

# Ion channel diseases (II)

School of Life Sciences, South China Normal University

April 17, 2012



# The content of this class

---

- **Ryanodine receptor related disease** (陈明)
- 心脏离子通道病的研究进展 (杨静芳)
- 偏头痛 (**migraine**) (朱慧敏)
- **ClC-2 voltage-gated channel and epilepsies** (Jiajia Zhang)
- **Episodic ataxia** (Jinzhao Wang)
- 中枢神经系统离子通道疾病——发作性运动障碍 (刘文元)



# Ryanodine Receptor Related Disease

---

汇报人：陈明

导师：杨莉教授



# Outline

---

1. RYR
2. RYR and Calcium Channel
3. Structure and function of RYR
4. Regulators of RYR
5. RYR gene mutation
6. RYR-related disease



# 1. RYR

---

兰尼碱受体（ryanodine receptor, RYR）是位于细胞内质网、肌质网膜上的钙离子通道，是细胞信号传导、骨骼肌和心肌细胞兴奋收缩耦联过程中的关键蛋白。

兰尼碱受体结构和功能的改变往往会导致肌纤维的兴奋收缩耦联障碍，导致细胞信号传导失常，引起各种疾病，如：恶心高热、**中央轴空病**、心率失常等。

Ryanodine receptor与细胞内钙离子通道、钙稳态存在着重要的联系。



## 2. RYR and Calcium Channel

---

钙离子的转运通常包括：

1. 钙离子通过细胞质膜钙通道进入到胞浆
- 2. 钙库内钙离子进入胞浆**
3. 钙离子转运出胞

# 钙库内钙离子进入胞浆

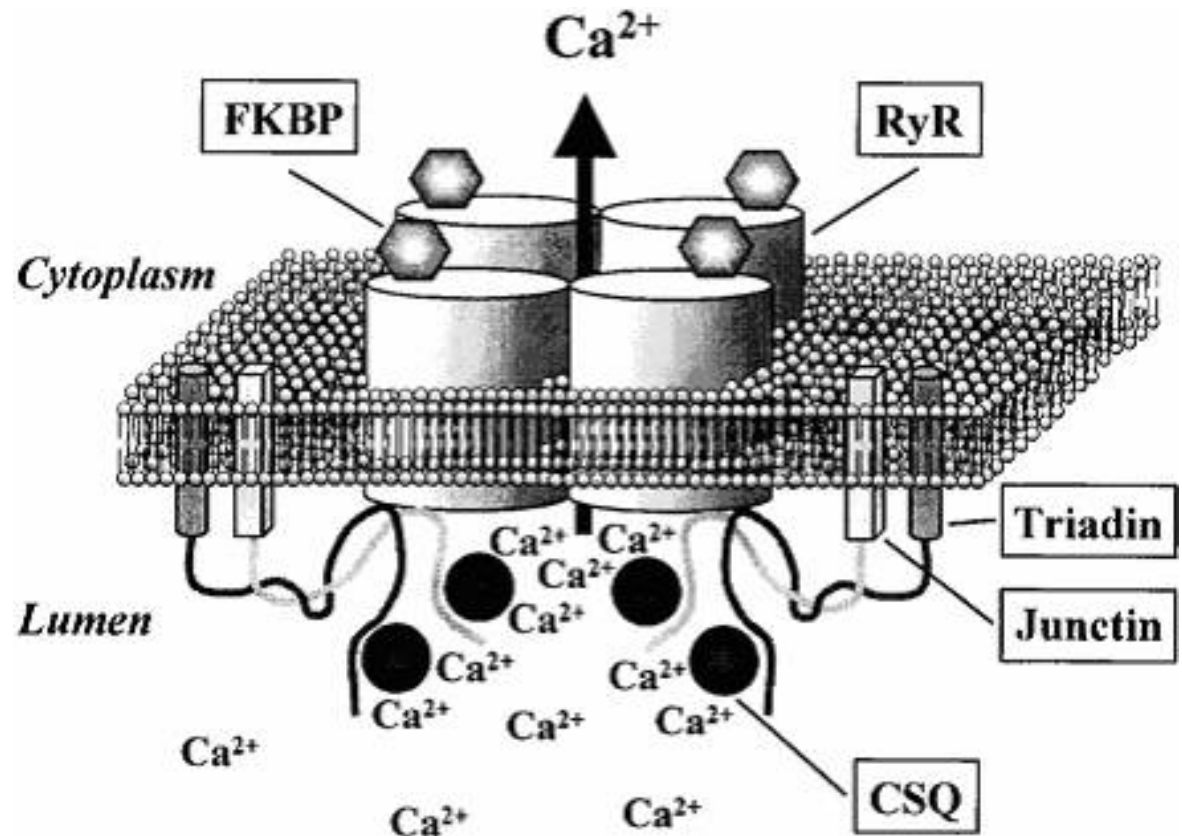
细胞内的钙库主要包括：内质网、肌质网以及线粒体，而我们通常根据受体的不同钙库包括IP3受体和RyR。



# 3. Structure and function of RYR

RYR是由四个完全相同的蛋白亚单位组成的，它们组成四叶体形状，中间的孔道即是钙通道。

RYR目前发现至少有3种亚型：RYR1（骨骼肌型）、RYR2（心肌型）和RYR3（脑型）。







## RYR异构体比较

参数	RYR1	RYR2	RYR3
基因位点	19q13.1	1q42.1-q43	15q14-q15
氨基酸长度	5038	4976	4872
分子质量 (KD)	565	565	552
功能活性形态	同源四聚体	同源四聚体	同源四聚体
单通道电导 (pS)	630	550	743
通道激活物	腺苷酸、咖啡因 钙离子、ATP等	同前	同前
通道抑制剂	普鲁卡因、镁离子等	同前	同前
钙离子<0.1微摩尔 或者>3微摩尔	抑制	抑制	抑制
钙离子0.1-1微摩尔	激活	激活	激活



## 4. Regulators of RYR

---

兰尼碱受体受到多种内源性和外源性的物质调节，包括各种激活剂、抑制剂和调节蛋白等。

磷酸化、氧化过程和一些内源性蛋白DHPR、FKBP、CaM、junctin和triadin等都对RYR功能有重要调节作用。



# 各种调节因子的功能

---

## 1. 钙离子

胞质及肌质网内部都含有钙离子的结合位点。钙离子的存在不仅是许多配体激活钙离子释放通道的前体条件，而且直接参与调节钙离子的释放过程。

## 2. ATP和镁离子

RYR1上至少有2个ATP结合位点，RYR2和RYR3上至少有2-4个ATP结合位点。通过ATP的作用，使得CICP作用加强，在兴奋收缩耦联中，ATP通过增加钙离子对RYR的敏感性，增加钙离子从肌质网中释放。

镁离子是RYR通道抑制剂。



### 3. 氧化还原状态

RYR通道中还有很多的半胱氨酸残基，而这些都是氧化调节位点。

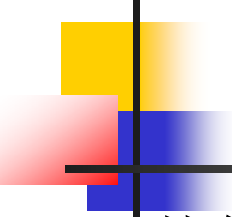
### 4. 环化ADP核糖（cADPr）

目前对于这方面还不是很清楚，但是知道cADPr是借助蛋白与RYR相互作用的。

### 5. 磷酸化与去磷酸化

RYR上面含有多个潜在的PKA、PKC、PKG、CaMKII磷酸化位点和PP2B的去磷酸化位点。可以对RYR进行磷酸化和去磷酸化，进而调节RYR通道。

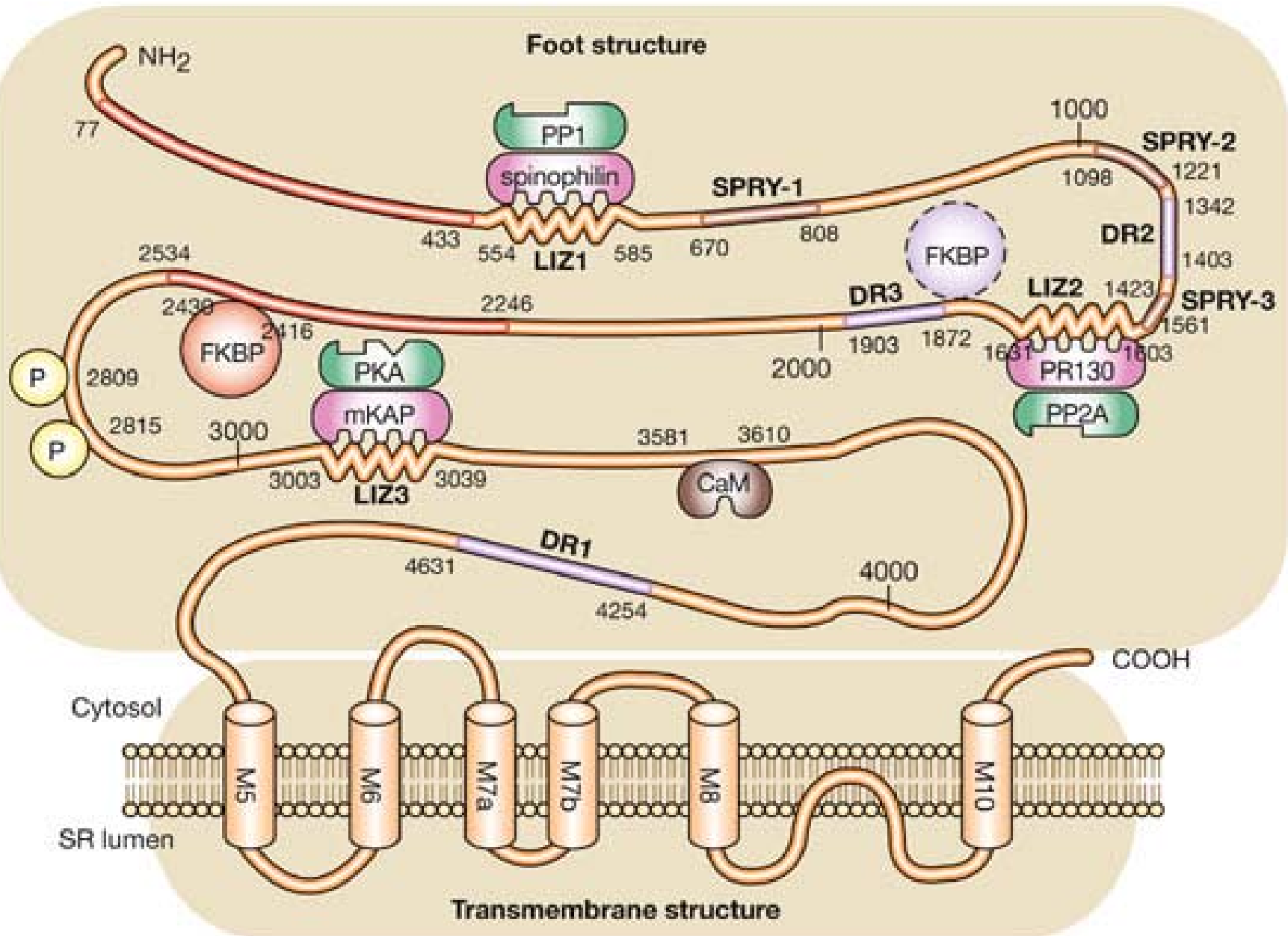




---

其他的调节因子还包括：钙调素（CaM）、集钙蛋白/junctin/triadin、钙释放通道稳定蛋白（FKBP）、二氢吡啶受体（DHPR）、兰尼碱、咖啡因等。





兰尼碱受体单体磷酸化位点和调控蛋白结合位点模式图

# 5. RYR gene mutation

外显子	核苷酸	蛋白变化	疾病
44	7039-7041del	Glu2347del	MH
91	12640-12648del	Arg4214-Phe4216del	CCD
95	13939-13945del	Leu4647-Ser4648del	CCD
100	14510del	Gln4837FsX4838	MH/CCD
101	14578-14580del	Phe4860del	CCD
101	14588-14606del	Phe4863del	CCD
101	14646+2.99kb	insert	MmD
102	14779-14784del	Val4927del	CCD
102	14869-1GC	Unknown	CCD

少见的RYR1基因缺失突变



## 2. RYR2基因突变

四个完全相同的蛋白亚单位（RYR2）与四个FKBP组成钙通道复合体，它受磷酸化影响，RYR2磷酸化会导致FK506与RYR2解离。RYR2的基因突变会导致以下不同的疾病。

0001常染色体显性室性心动过速(RYR2, Ser2246Leu)

0002常染色体显性室性心动过速(RYR2, Arg2474Ser)

0003常染色体显性室性心动过速(RYR2, Asn4104Lys)

0004常染色体显性室性心动过速(RYR2, Arg4497Cys)

0005 2型心率失常性右心室发育不良(RYR2, Asn2386Ile)

0006 2型心率失常性右心室发育不良(RYR2, Leu433Pro)

0007 常染色体显性室性心动过速(RYR2, Pro2328Ser)

0008 常染色体显性室性心动过速(RYR2, Val4653Phe)

0009 常染色体显性室性心动过速(RYR2, Gln4201Arg)





### 3. RYR3基因突变

---

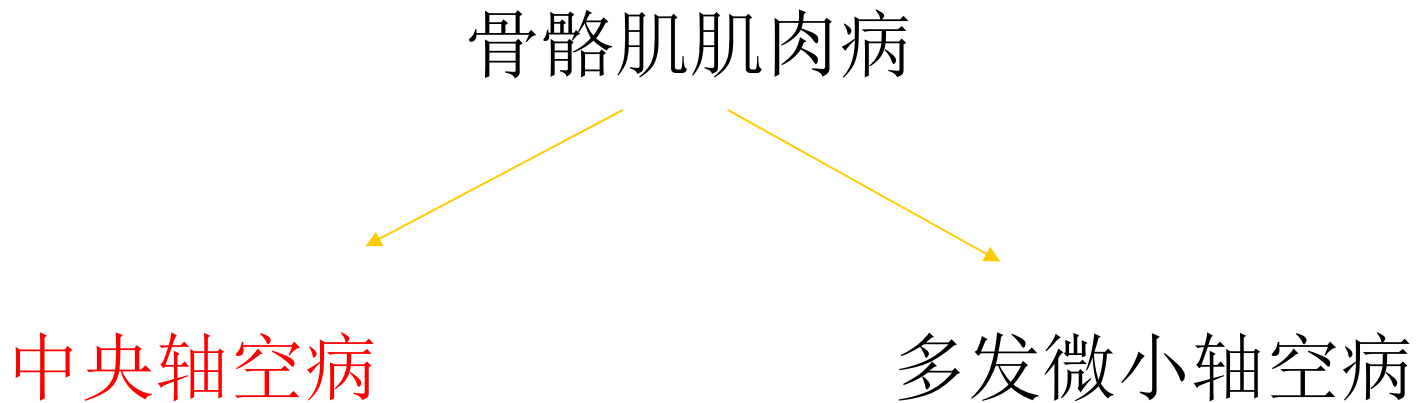
- 目前对于RYR3的研究不是很清楚，但有研究显示兰尼碱3882位氨基酸突变可以导致RYR3通道钙敏感度改变



## 6. RYR-related disease

---

兰尼碱受体的改变可以导致多种疾病，主要累及骨骼肌和心肌。





# 中央轴空病 (CCD)

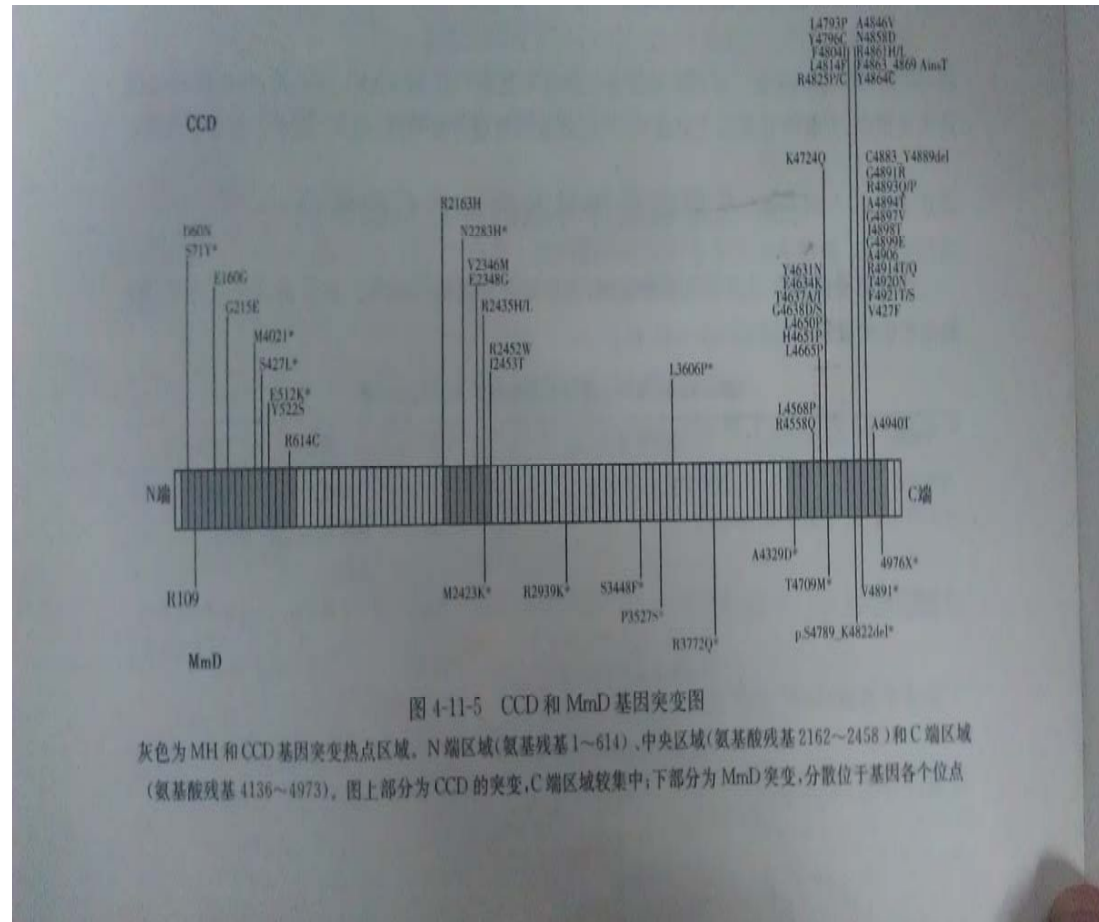
---

**概述：** 中央轴空病是一种先天性肌病，由Shy和Magee在1956年首先报道的

疾病	组织病理学改变	基因	蛋白	遗传方式
中央轴空病	沿肌纤维全长 在中央位置出 现单个的氧化 酶染色缺失区	RYR1 19q3.1	兰尼碱 受体	常染色 体显性 遗传及 隐性遗传

# 发病机制

CCD的RYR1突变主要集中在RYR1蛋白的C端区域，对于其C端区域的突变将直接影响通道的通透性和选择性，右图所示为CCD的基因突变图



## 病理改变

典型的CCD肌肉病理特征为：肌纤维大小不均，没有炎症细胞浸润，在磷酸化酶及氧化酶染色下显示中央位置出现染色缺失



典型中央轴空病骨骼肌病理改变

## 临床表现

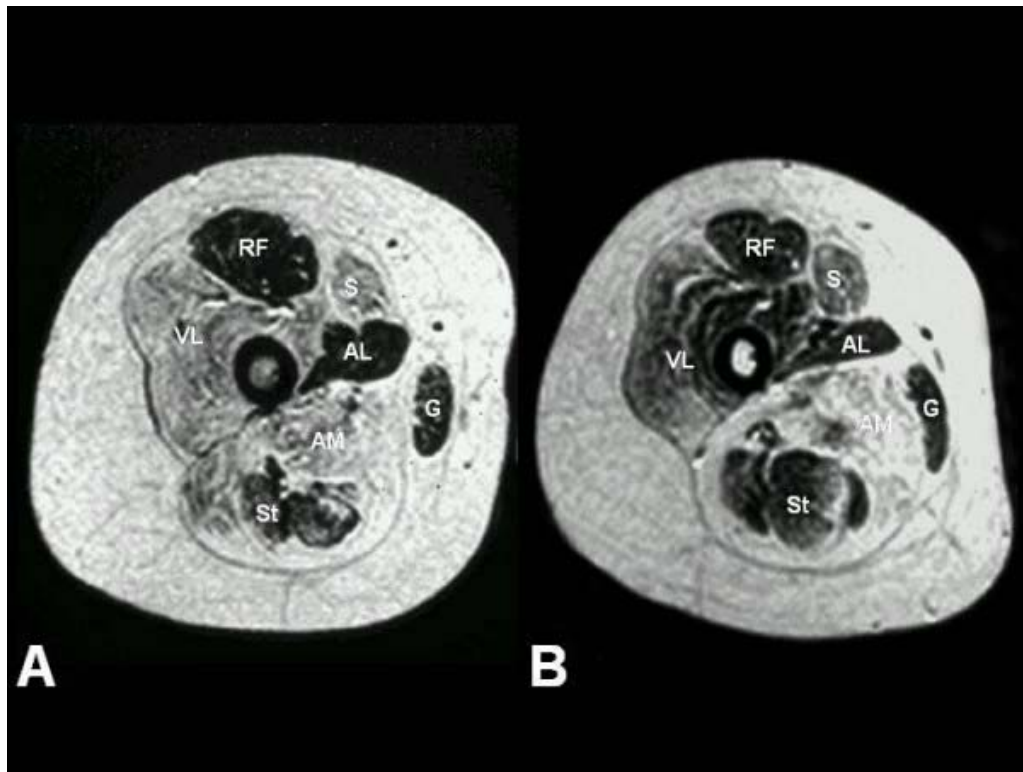
显性遗传的CCD表现为肌张力低下、运动发育迟缓，活动时肌肉僵直、无力是最常见的症状。

隐性遗传的CCD临床表现较重，胎儿时即表现无力。



## CCD诊断

- 目前对于CCD的诊断主要依靠典型的组织学和临床表现。在组织学上有争议时，肌肉的MRI改变可以辅助诊断，因为本病在核磁共振上可以表现特意形态。





## 治疗

---

目前对于CCD的治疗主要是支持疗法，常见的物理疗法目的在于保存肌力和功能，防治痉挛，特别是跟腱的痉挛。

而通常在隐性患者中，往往会伴随着呼吸功能不全，需要辅助呼吸。

因为CCD患者是一种心肌病，所以在临床症状不典型时，可以考虑心脏彩超辅助检查。



# 心脏离子通道病的研究进展

杨静芳

❖ 研究背景

❖ 心脏离子通道病的分类

❖ 细胞分子机制

❖ 治疗

# 一、研究背景

心脏离子通道病是离子通道病的重要组成部分,在心血管疾病中扮演着重要角色,几乎所有的心律失常都有离子通道病变参与,是心脏性猝死的主要原因。

- ❖ 1995年Keating 研究组确定了长QT间期综合征 (long QT syndrome ,LQTS) 与心脏离子通道基因突变有关,从此揭开了心律失常基因机制研究的新时代。
- ❖ 2002年1月,Nature 杂志刊登了“心脏离子通道病”一文,较系统地介绍了心脏离子通道分子缺陷在心律失常发生发展中的作用和地位。
- ❖ 2004年5月,Nature Medicine 杂志发表了“心脏离子通道病:基因的缺陷”一文,对心脏离子通道病的分子机制进行了详细阐述。
- ❖ 越来越多的心律失常被证实与基因缺陷有关,其中多数为心脏离子通道基因异常,少数为非离子通道基因异常。

## 二、分类

### ❖ 遗传性心脏离子通道病

1.LQTS: Long QT Syndrome

2.BRS: Brugada Syndrome

3.CPVT: Catecholaminergic Polymorphic Ventricular Tachycardia ,儿茶酚胺敏感的多形性室速

4.SQTS: Short QT Syndrome

### ❖ 获得性心脏离子通道病

# 三、细胞分子机制

## A. 遗传性心脏离子通道病

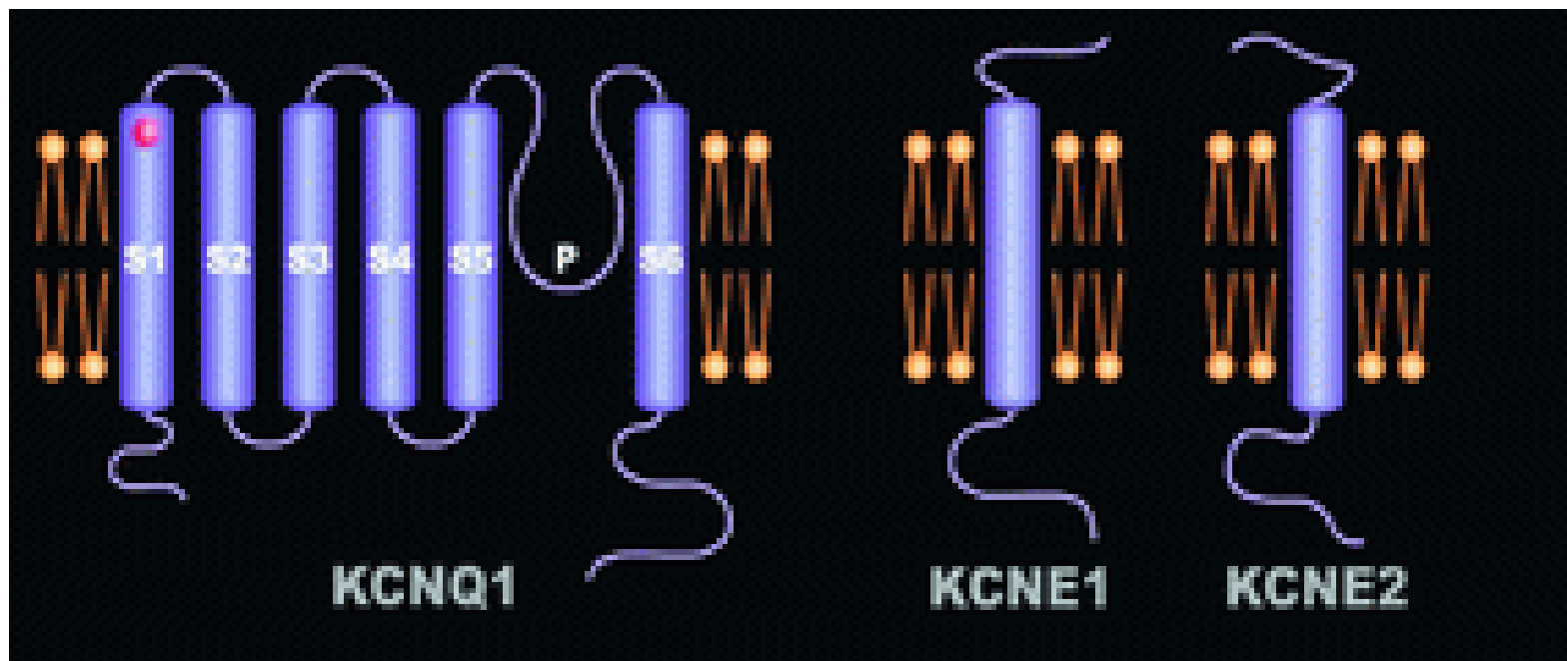
### 1、LQTS

- 遗传性LQTS 有两种形式:Romano-Ward 综合征 (RWS) 和Jervell and LangeNielsen 综合征(JLNS)
- 8 个基因与RWS综合征有关 ,分别是KCNQ1 (LQT1)、 KC-NH2 (LQT2)、 SCN5A(LQT3)、 Ankyrin B(LQT4)、 KC-NE1 (LQT5)、 KCNE2 (LQT6)、 KCNJ2 (LQT7)、 Cav 1.2 (LQT8) 。

- ① LQT1: KCNQ1 , I<sub>ks</sub>通道  $\alpha$  亚基。
- ② LQT2 :HERG(KCNH2) , I<sub>kr</sub>通道  $\alpha$  亚基,突变使I<sub>kr</sub> 电流减弱。
- ③ LQT3 :SCN5A ,钠通道  $\alpha$  亚基,突变使I<sub>Na</sub>电流增强。
- ④ LQT4:Ankyrin2B 蛋白。AnkyrinB 功能异常,引起Ca<sup>2+</sup> + 动力学异常。
- ⑤ LQT5 :KCNE1 , I<sub>ks</sub>通道  $\beta$  亚基,突变使I<sub>ks</sub> 电流减弱。
- ⑥ LQT6 :KC-NE2 (MiRP1), I<sub>kr</sub>通道  $\beta$  亚基,突变使I<sub>ks</sub> 电流减弱。
- ⑦ LQT7 :KCNJ2 , I<sub>kl</sub>通道亚基,突变使I<sub>kl</sub>电流减弱。
- ⑧ LQT8:Cav1. 2 , L2型钙通道  $\alpha$  亚基,突变导致L2型钙通道失活延缓、QT 间期延长。

❖ 除LQT4 外,其它相关基因均为编码离子通道蛋白基因,其突变可引起与之相对应的离子通道功能的增强(内向电流增强)或减弱(外向电流减弱),最终导致QT间期的延长

类别	基因	蛋白	位点	突变的影响
ATF1B1	KCNQ1	KvLQT1	11p15.5	功能获得-K <sup>+</sup> 外流 ↑
ATF1B2	KCNE2	MiRP	21q22.1	功能获得-K <sup>+</sup> 外流 ↑
ATF1B3	KCNJ2	Kir 2.1	17q23	功能获得-K <sup>+</sup> 外流 ↑





LQT1

LQT2

LQT3

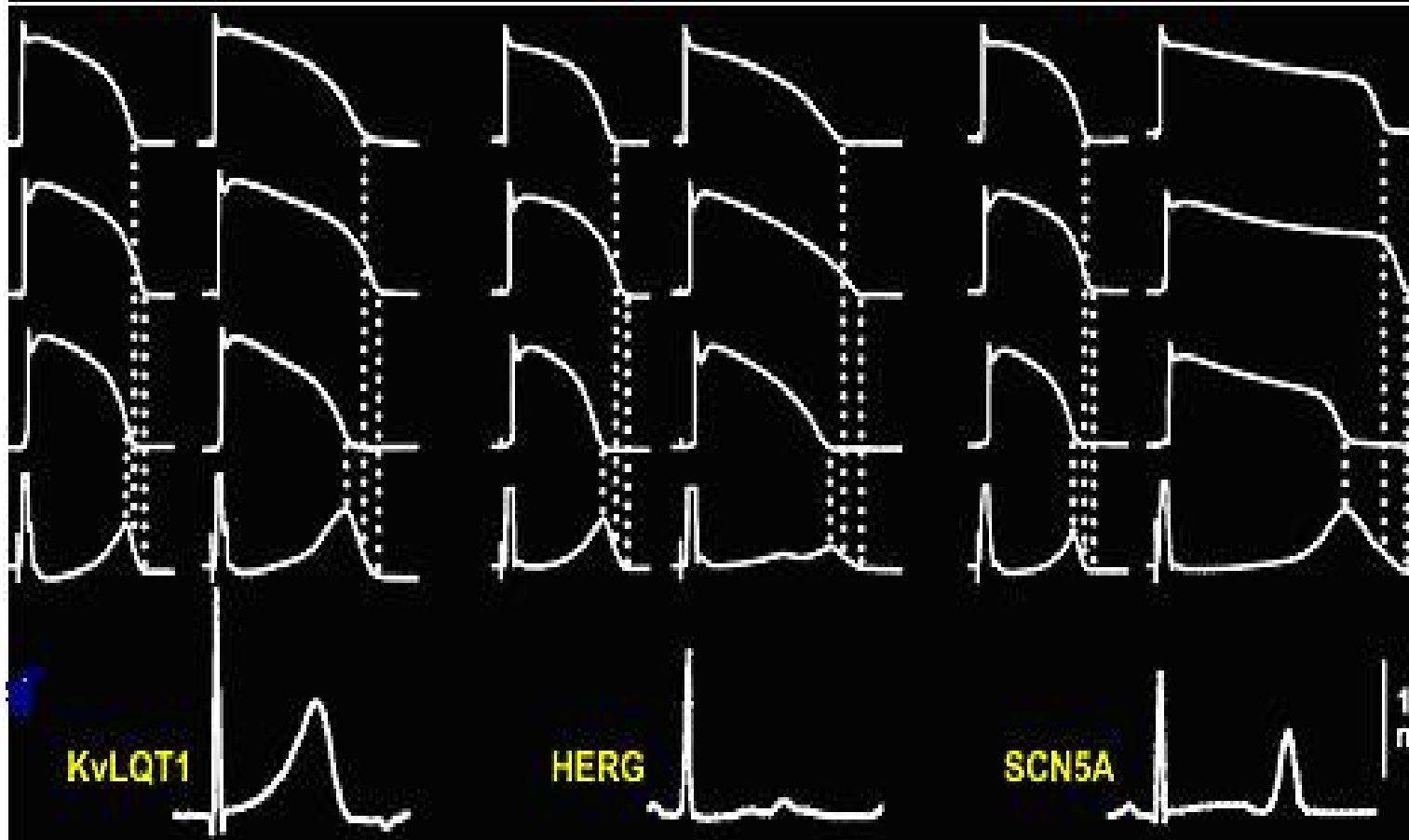
内膜

M层

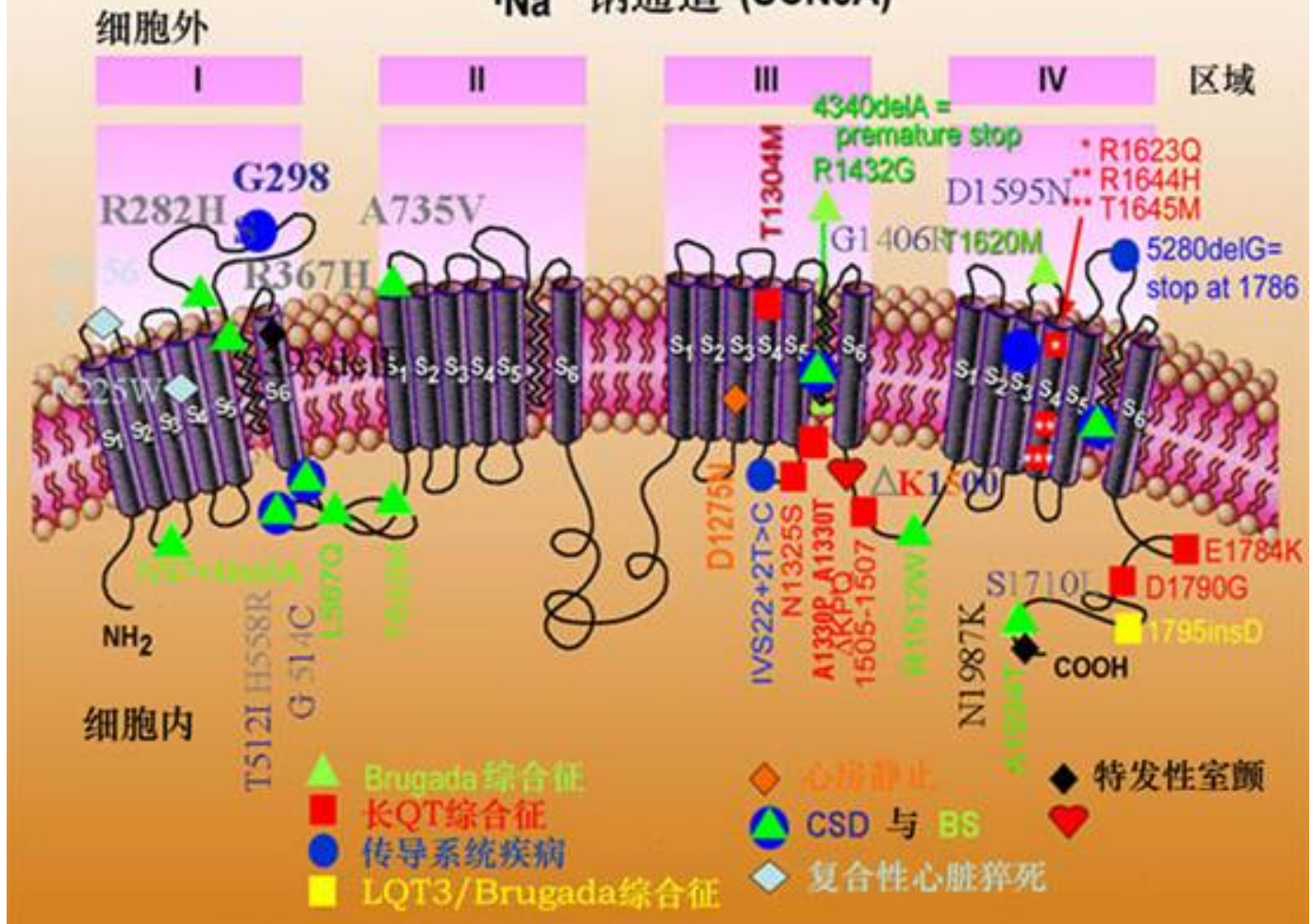
外膜

ECG

临床 ECG



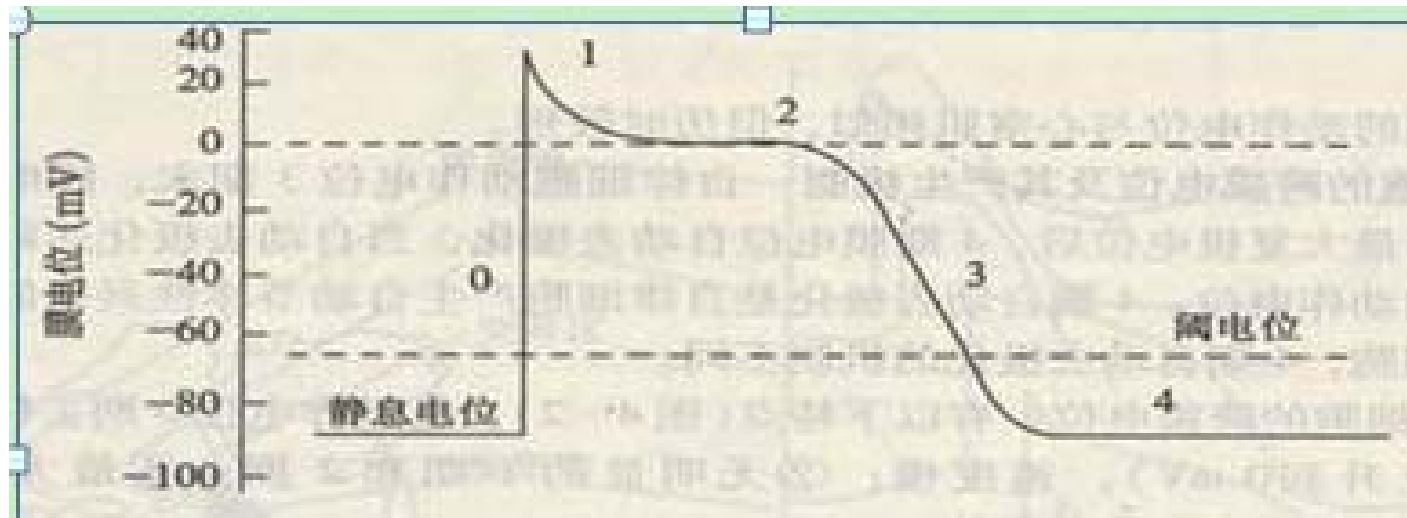
# I<sub>Na</sub> 钠通道 (SCN5A)



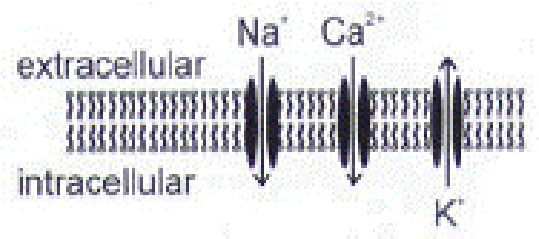
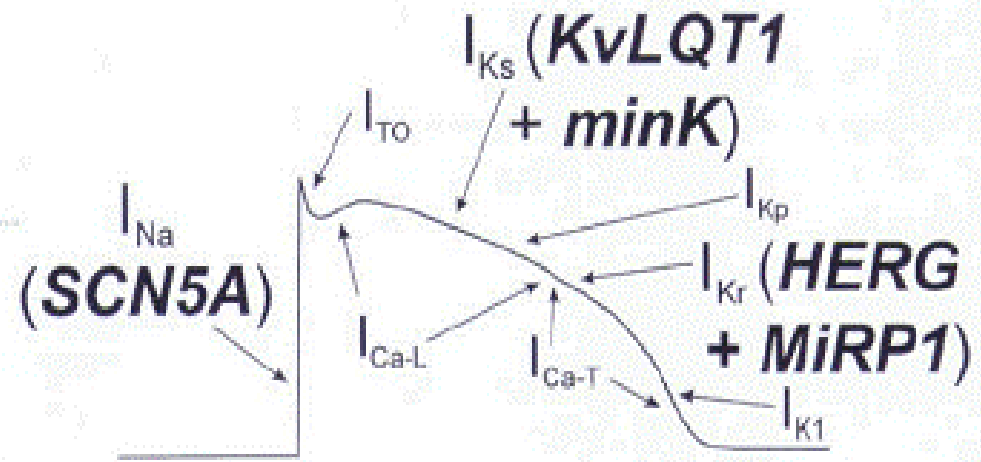
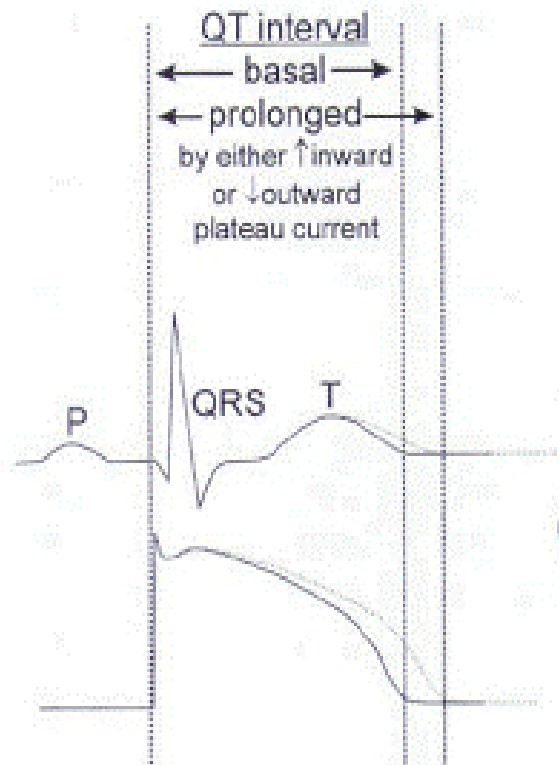
## 2、BRS

- ◆ **BRS** 是指具有心电图上特异性右胸导联(V1 - 3) ST 段抬高伴或不伴有右束支传导阻滞,结构正常,有致命性室性快速性心律失常反复发作倾向的一组综合征,是一种常染色体显性遗传性疾病。
- ◆ 目前惟一确定的钠通道  $\alpha$  亚单位基因是 **SCN5A**。
- ◆ **SCN5A** 突变后,钠通道功能减弱,而瞬间外向钾电流( **I<sub>to</sub>** ) 通道相对优势,心外膜下动作电位时程明显缩短,导致**AP**平台期的不均一性,引起明显的去极化和不应性的离散,形成相折返引起室性心律失常。

# 钠离子通道



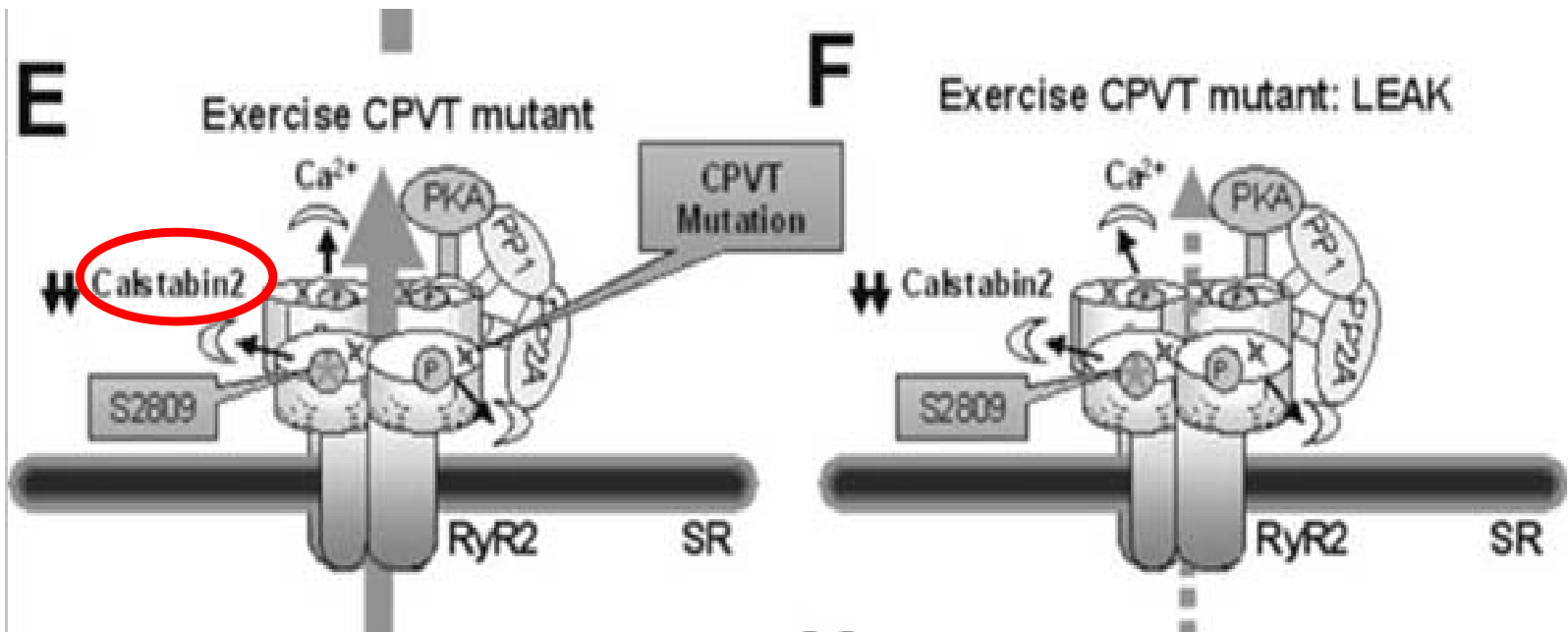
在动作电位平台期，提前激活钙离子通道，外向快速钾离子流（ $I_{to}$ ）相对加强，复极时程缩短。由于介导 $I_{to}$ 的离子通道在外层心肌比内层心肌表达量大，同一时间内，动作电位从平台期存在的部位向消失的部位传导。正常去极化的内层心肌可激活提前复极的外层心肌，造成心肌壁各层去极化和复极化不均一，从而容易引发心电紊乱，导致SCD



### 3、CPVT

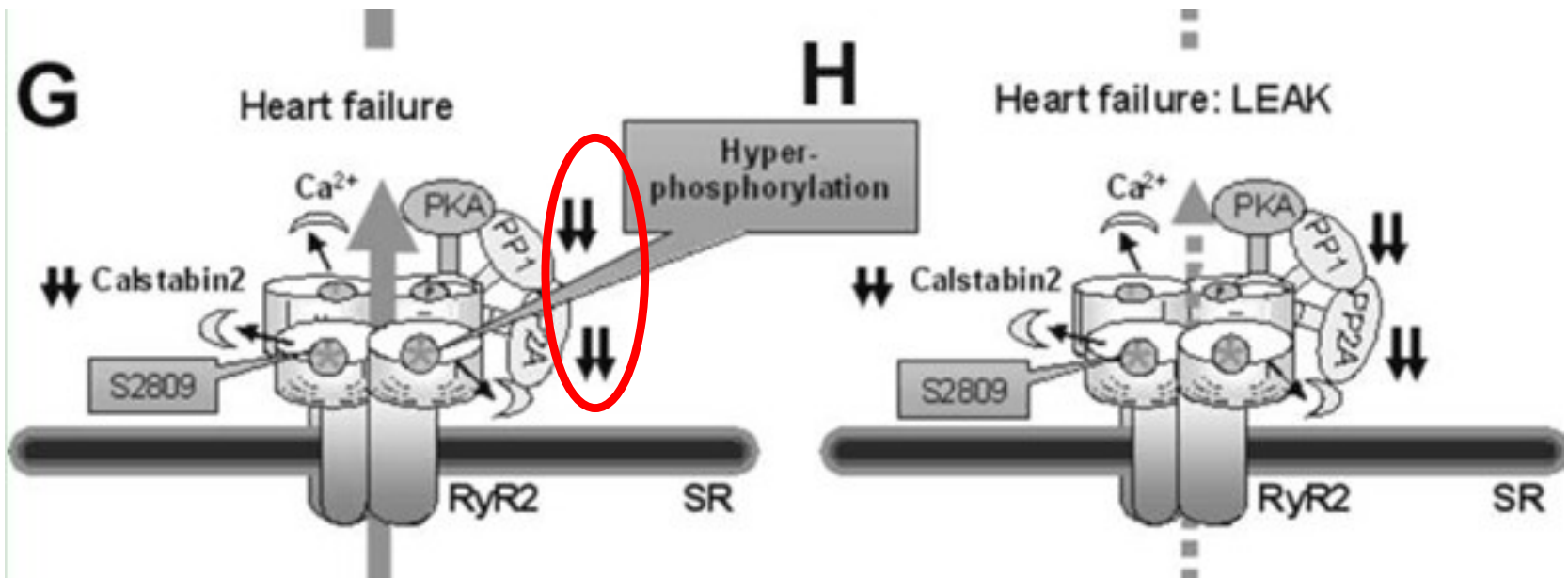
- ❖ **CPVT** 是一种严重的遗传性心律失常。临床上以运动或激动诱发的双向性、多形性室速、晕厥和猝死为特征,多发生于无器质性心脏病的青少年,心脏猝死率达**30 %~50 %**。
- ❖ **CPVT** 的致病基因为**RyR2** 和**CASQ2**。
- ❖ **RyR2**编码心肌细胞肌浆网上的**Ca<sup>2+</sup>** 释放受体,它是一种钙离子诱导的**Ca<sup>2+</sup>** 释放受体基因,调节细胞内钙离子水平,维持细胞正常的生理功能。在心脏的兴奋收缩偶联过程中,肌浆网对胞浆游离**Ca<sup>2+</sup>** 浓度的调节发挥重要作用。

# 钙离子通道 ----CPVT

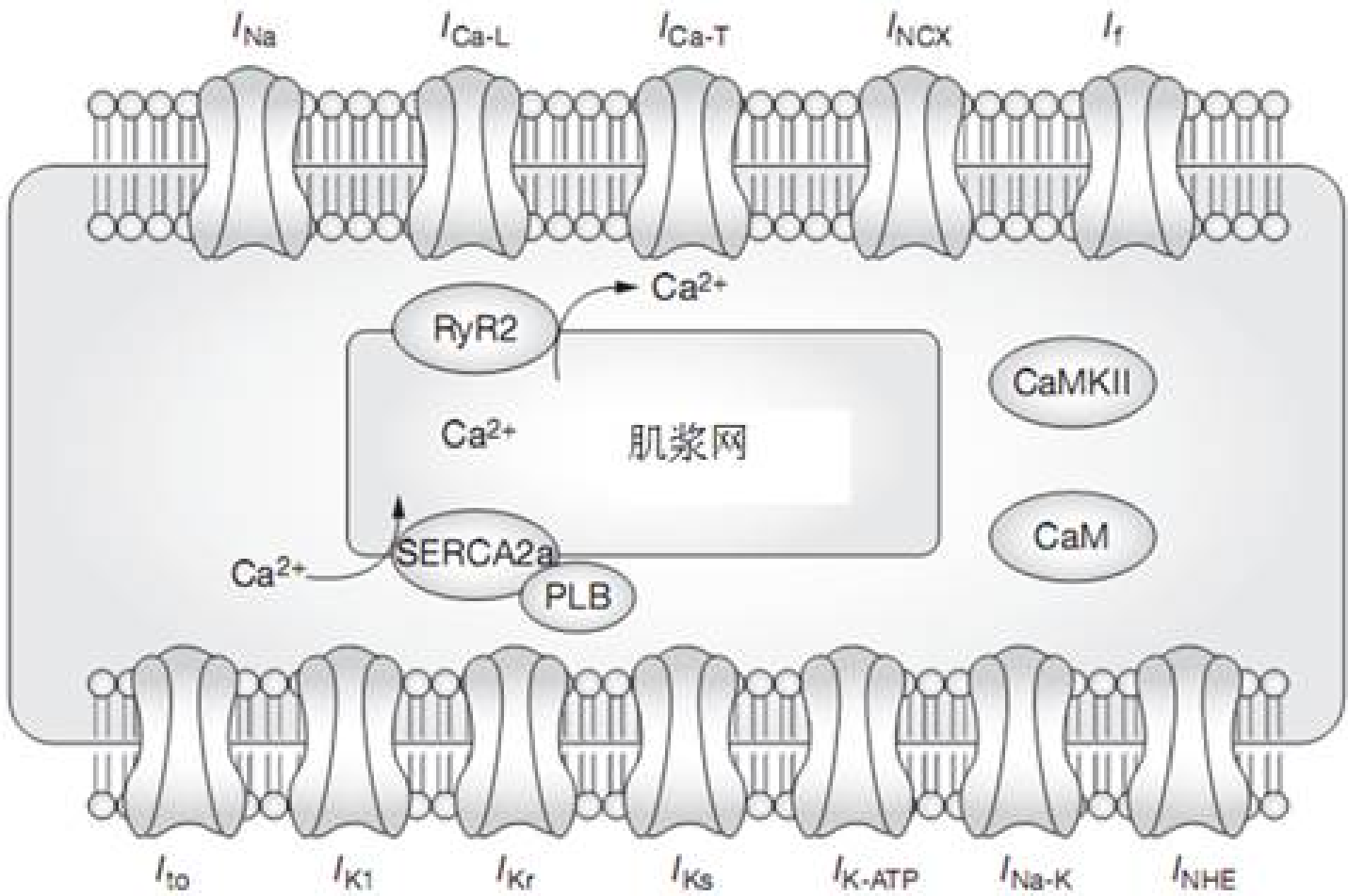


# 钙离子通道

## heart failure







- ❖ **CASQ2** 基因编码钙离子结合蛋白,是在心肌细胞中唯一表达的**CASQ2** 蛋白。
- ❖ **CASQ2** 蛋白在肌浆网对**Ca<sup>2+</sup>** 的储存、降低肌浆网内游离**Ca<sup>2+</sup>** 浓度、易化**Ca<sup>2+</sup>**和**ATP** 酶、向肌浆网腔内主动转运**Ca<sup>2+</sup>** 过程中将发挥重要的作用。
- ❖ 研究发现,**CASQ2** 基因突变降低了**CASQ2** 蛋白结合**Ca<sup>2+</sup>** 的能力,肌浆网储存和释放钙离子的能力降低,降低肌浆网腔中有效**Ca<sup>2+</sup>** 浓度和(或) 改变**Ca<sup>2+</sup>** 释放通道复合物对肌浆网腔中**Ca<sup>2+</sup>** 的反应性,来破坏**Ca<sup>2+</sup>** 介导的**Ca<sup>2+</sup>** 释放过程。

## 4、SQTS

- ❖ 已发现SQTS 的3 个致病基因: KCNH2、KCNQ1、KCNJ2,分别将SQTS 命名为SQT1、SQT2 及SQT3。
- ❖ SQT:HERG基因的N588K突变所起,N588K突变导致I<sub>kr</sub>电流的功能放大,从而引起复极相外向电流的增加,使动作电位时程缩短,动作电位时程和有效不应期不均匀缩短是心律失常发生的机制。
- ❖ SQT2 是由编码I<sub>ks</sub>离子通道  $\alpha$  亚单位的KCNQ1 基因V307L 突变使I<sub>ks</sub> 功能增强。
- ❖ SQT3是编码I<sub>K1</sub>钾通道KCNJ2 基因G514A 突变引起,基因突变增强了I<sub>K1</sub>,加速终末期复极,缩短动作电位时程。

疾病		染色体位置	缺陷基因	影响因素	
LQTS	LQT1	11p15.5	KCNQ1	$I_{ks}$	↓
	LQT2	7q35 - 36	HERG(KCNH2)	$I_{kr}$	↓
	LQT3	3q21 - 24	SCN5A	$I_{Na}$	↑
	LQT4	4q25 - 27	Ankyrin-B	引起 $Ca^{2+}$ 动力学异常	
	LQT5	21q22	KCNE1	$I_{ks}$	↓
	LQT6	21q22	KCNE2 (MiRP1)	$I_{kr}$	↓
	LQT7	17q23.1 - 24.2	KCNJ2	$I_{kl}$	↓
	LQT8	12p13.3	Cav1.2	$I_{ks}$	↓
	JLN1	11p15.5	KCNQ1	$I_{ks}$	↓
	JLN2	21q22	KCNE1	$I_{ks}$	↓
JLN3	?	?	?		
BRS		3p21 - 23	SCN5A	$I_{Na}$	↓
		3p22 - 25	?	?	
CPVT		1q42 - 43	RyR2	$Ca^{2+}$ 通道通透性增加	
		1P11 - P13.3	CASQ2	结合 $Ca^{2+}$ 的能力下降	
SQTS	SQT1	7p35 - 36	KCNH2	$I_{kr}$	↑
	SQT2	11p15.6	KCNQ1	$I_{ks}$	↑
	SQT3	17p23.1 - 24.2	KCNJ2	$I_{kl}$	↑

## B. 获得性心脏离子通道病

- ❖ 原因：药物、电解质紊乱、缺血性心脏病、结构性心脏发育不全等，阻滞了HERG和SENSA离子通道，致心肌细胞动作电位复极延迟，传导阻滞，QT间期的延长，诱发心律失常。
- ❖ 心衰时Ik1的下调可导致静息膜电位不稳定，从而引起延缓后除极、自发去极化等异常电活动，诱发室性心律失常；心力衰竭时常伴有明显的Ca<sup>2+</sup>稳态异常及收缩耦联障碍；心肌细胞早期后除极延长反映Ito和Ik1相关基因表达下调，Ito和Ik1电流减弱，使得早期后除极延长，结果QT间期延长，导致获得性长QT综合征。

## 四、治疗

### ❖ 遗传性心脏离子通道病

1. **LQTS**: 补钾、美西律等，心得安、美多心安、氨酰心安

2. **BRS**:  $\beta$  受体激动剂、磷酸二酯酶抑制剂、奎尼丁及 **Ito** 阻断剂

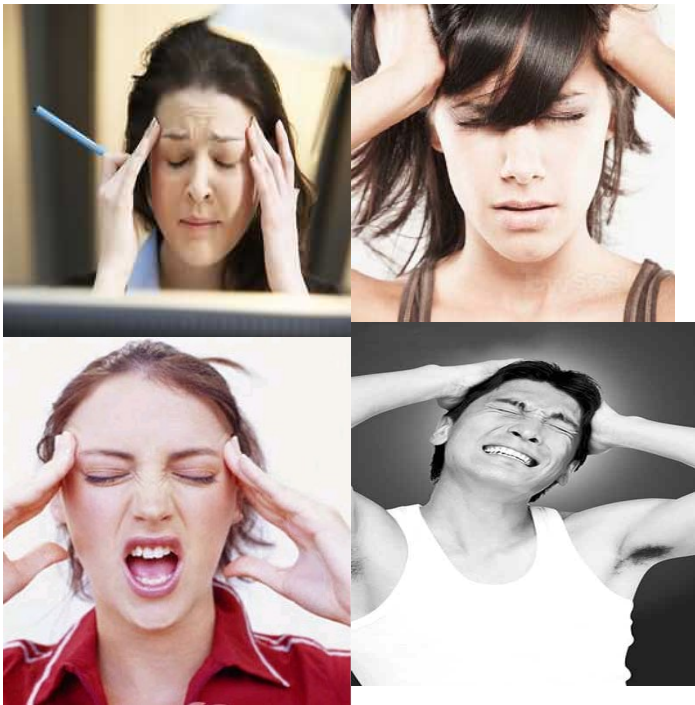
3. **CPVT**:  $\beta$  受体阻断剂、维拉帕米

4. **SQTS**: 植入 **ICD**

❖ 获得性心脏离子通道病：药物(如地高辛中毒用抗地高辛抗体)、电复律(电除颤) 等治疗。



# 偏头痛 (migraine)

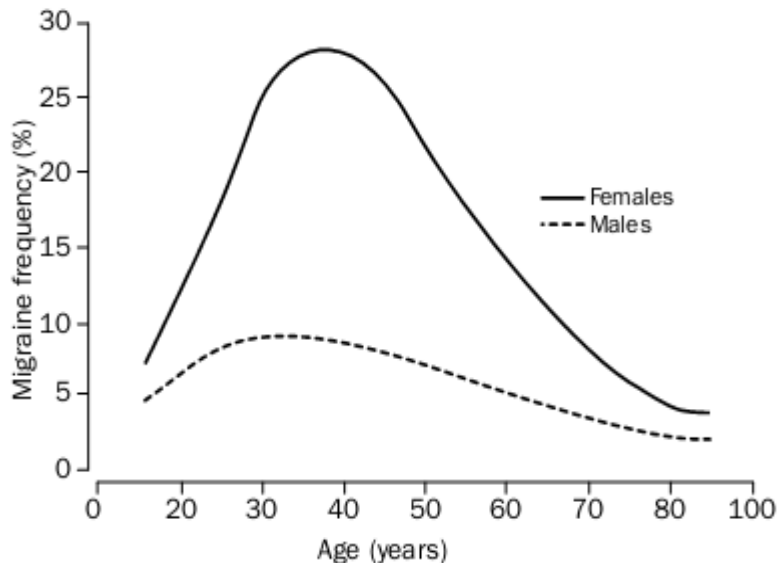


报告人：朱慧敏



# 偏头痛 (migraine)

**偏头痛 (migraine)**：是一种常见的、慢性发作的血管神经头痛。它具有广泛的临床和遗传特异性，主要表现为一侧或两侧搏动性头痛发作，常伴有恶心、呕吐、畏光、畏声等症状，可有家族史。



国际头痛协会 (HIS) 诊断标准的流行病学资料显示，美国偏头痛患者的男女比例是：1：2.9；我国男女患病之比例为1：4。10岁以下患病率最低，25~29岁最高，30~50岁随着年龄增加逐渐下降。

Figure 1: Adjusted age-specific prevalence of migraine by sex .

(THE LANCET • Vol 363 • January 31, 2004)





# 偏头痛的临床表现及分类

- 1.有先兆的偏头痛 (migraine with aura , MA)** :也称“典型偏头痛”，临床上分为三期：先兆期、头痛期、头痛后期。
- 2.无先兆的偏头痛 (migraine without aura , MO)** :也称“普通偏头痛”，是临床最常见的类型，约占偏头痛病人的**80%**。
- 3.特殊类型偏头痛**：偏头痛发作期或者头痛消退后可伴明显的神经功能缺损，包括偏瘫，偏侧感觉缺失、失语或视觉障碍等。
  - (1)、偏瘫型偏头痛(hemiplegic migraine)**，其中最典型的是**家族性偏瘫型偏头痛 (familial hemiplegic migraine , FHM)**；
  - (2)、基底型偏头痛 (basilar migraine)**；
  - (3)、复杂型偏头痛 (complicated migraine)** 等。

偏头痛发作持续时间在**72**小时以上，但期间可有**4**小时的缓解期。



# 偏头痛的病因及发病机制

偏头痛的病因尚未完全明了，可能与遗传、内分泌与代谢、饮食与精神因素等相关。

## 偏头痛的发病机制：

- ➔ **1、血管学说：**该学说认为偏头痛是颅内血管收缩（先兆期），继以颅外血管扩张（头痛期）引起的血管原发性变化。（wolff, et al. 1963）
- ➔ **2、神经学说：**认为偏头痛的发生是原发性中枢神经系统紊乱引起，而血管变化是继发的。
- ➔ **3、三叉神经血管假设：**根据此学说，偏头痛的发生是由于某种原因激活了脑血管周围的三叉神经末梢，三叉神经周围血管纤维释放血管活性肽，使脑膜血管过度扩张，血浆蛋白渗出，肥大细胞释放组胺，引起硬膜和其他三叉神经分布组织发生神经源性炎症，这种伤害性刺激沿着三叉神经传入纤维传至三叉神经核尾部，冲动达到延脑化学感受区，引起恶心、呕吐；传入下丘脑，出现畏光症状，传入大脑皮质产生痛觉。



#### 4、神经源性炎症与偏头痛：主要是降钙素基因相关肽（CGRP）释放假说。

#### 5、扩散性抑制（CSD）与钙离子通道假说：

Leao（1944年）在动物实验中用皮质脑电图首先观察到皮质受到有害刺激后出现枕部脑电活动低落，并以大约3mm/min的速度缓慢向前扩展，称之为CSD。

偏头痛中的头痛是继发现象，这是细胞外钾浓度增加的结果。

CSD逐渐向前扩展的机制可能是这样的：触发因素→去极化→突触前钙内流、突触后钠和钙内流→递质释放和细胞外钾增加→扩散至邻近组织→邻近神经元和胶质细胞去极化。

钙通道和其他离子通道（如钾通道）也和CSD的发生关系密切，因此基因突变引起的离子通道功能的改变可通过该途径引发偏头痛。

(THE LANCET • Vol 363 • January 31, 2004)

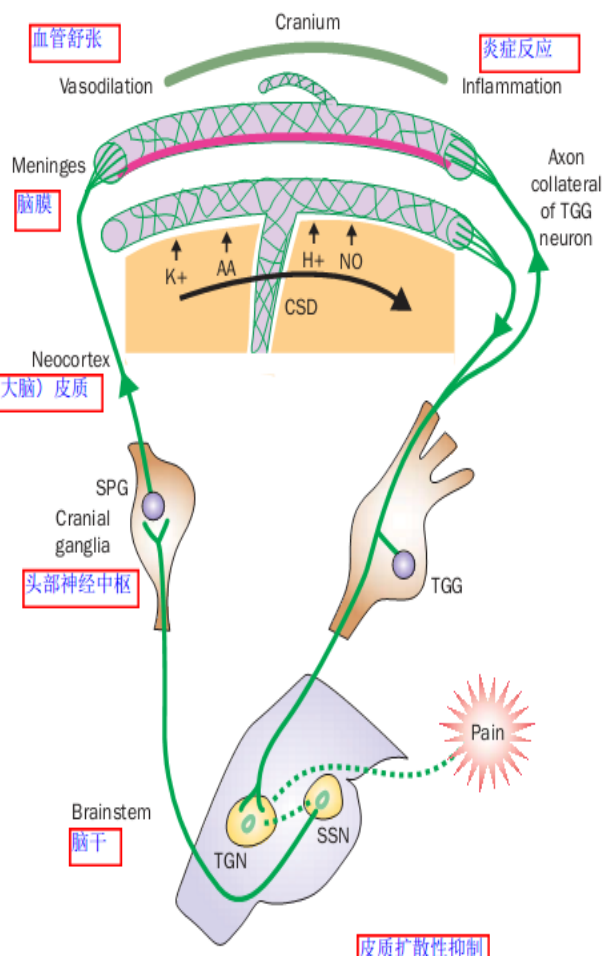


Figure 2: Cortical spreading depression



# 家族性偏瘫型偏头痛（FHM）的离子通道异常

FHM以常染色体显性遗传形式发病，FHM基因位点具有遗传异质性。Joutel和Ophoff（1994）分别在文献中指出，约50%的FHM与19p13连锁；Ducios等（1997）在3个与19q非连锁的家系中确立第二个基因位点为1q21-q23；Dichgans（2005）发现三个与19p、1q均非连锁的FHM家系与2q24连锁。

与19p连锁被命名为FHM1型，与编码电压门控P/Q型钙通道 $\alpha_1$ 亚单位的CACNA1A基因错义突变有关；

与1q21-q23连锁命名为FHM2型，与编码Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP酶 $\alpha_2$ 亚单位的ATP1A2基因错义突变有关；

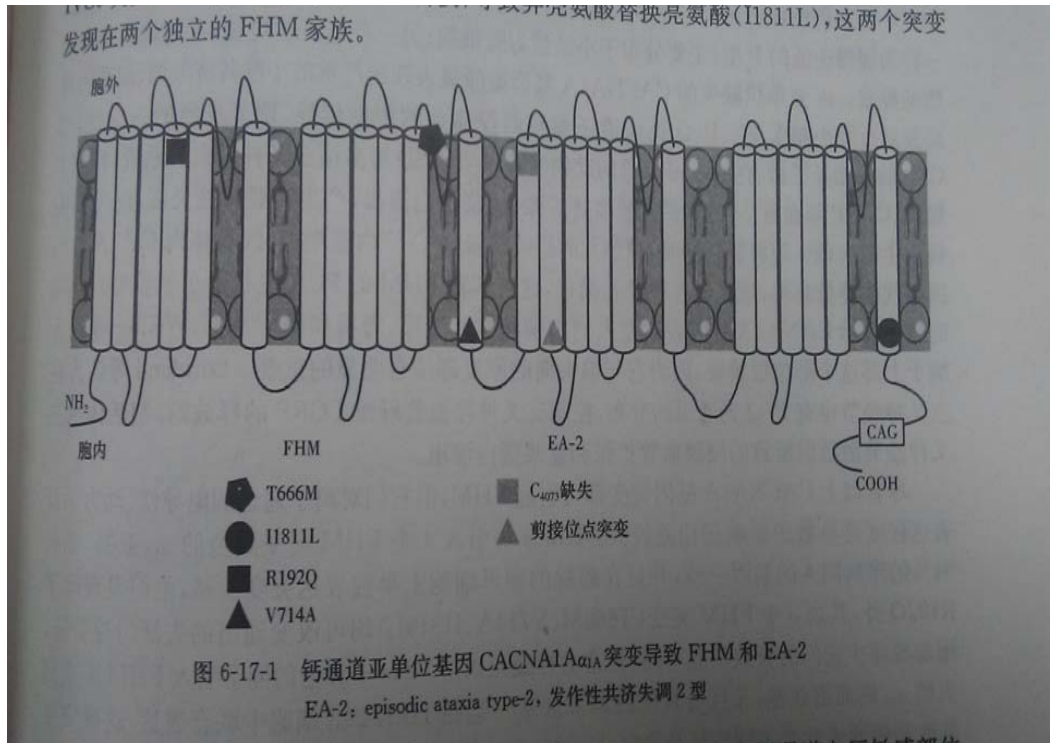
与2q连锁命名为FHM3，与编码电压门控通道 $\alpha_1$ 亚单位的SCN1A基因错义突变有关。

(Shyti R, de Vries B, van den Maagdenberg A. Headache. 2011 )



# FHM1与钙通道

FHM1的致病基因--CACNA1A基因位于19p13上，此基因编码P/Q型电压门控钙通道的 $\alpha_1$ 亚单位，约300kbp，含47个外显子。 $\alpha_1$ 亚单位形成P/Q型电压门控钙通道的通道壁，并且在电压敏感性和离子选择上起重要作用。



所有的突变均为错义突变，使保守 $\alpha_1$ 亚单位重要跨膜区域的一个氨基酸被替换。

FHM仅是整个CACNA1A疾病谱中的一部分。

FHM突变有两个普遍的功能效应：

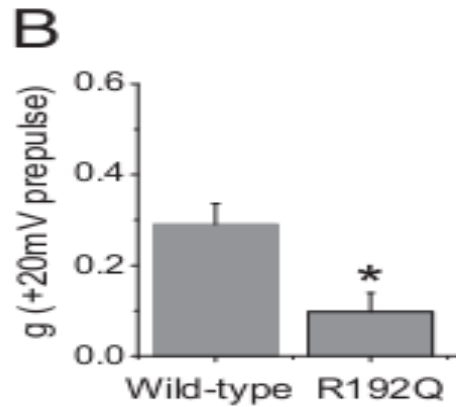
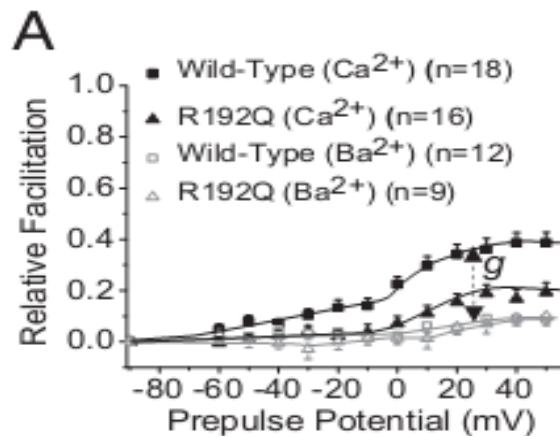
①增加单个钙离子通道的离子内流；

②减少整个神经细胞上通道的最大电流密度。

图3：钙通道亚单位基因CACNA1A $\alpha_1$ 突变导致FHM



(1) FHM1突变使得Ca<sub>v</sub>2.1的Ca<sup>2+</sup>依赖型促进和Ca<sup>2+</sup>依赖型失活都受到抑制；



(2) FHM1突变使得PF-PC (平行纤维-浦肯野细胞) 突触中的短时程突出促进作用减弱。

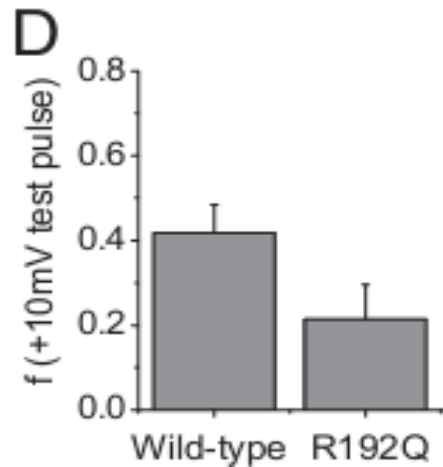
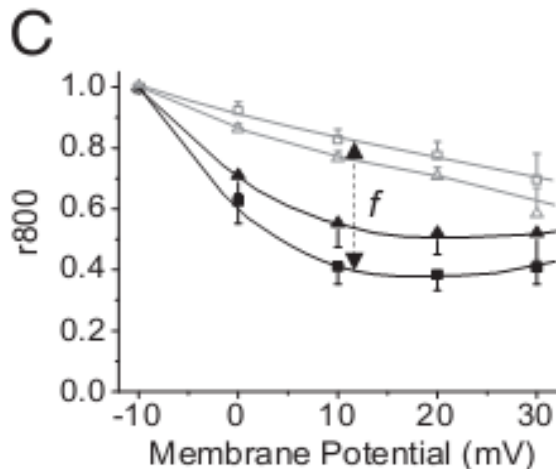


Figure 4 : R192Q FHM-1 mutations inhibit Ca<sup>2+</sup>-dependent modulation of human recombinant Ca<sub>v</sub>2.1 channels.

(Paul J. Adams, et al. 2010)



# FHM2与Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP酶

位于1q23上的ATP1A2是FHM<sub>2</sub>的致病基因。它编码Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPα<sub>2</sub>亚单位，约25kbp，含23个外显子。Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP酶是由αβ两个亚单位组成的二聚体，α亚单位包括α<sub>1</sub>、α<sub>2</sub>、α<sub>3</sub>三种同源体，是酶的功能核心单位，α<sub>1</sub>、α<sub>2</sub>、α<sub>3</sub>据可在中枢神经系统中表达，α<sub>2</sub>则在肌肉和脂肪组织中表达，在人脑中多存在于神经胶质细胞。**Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP酶**功能丧失可导致神经元除极，引起过度兴奋，并且细胞外的K<sup>+</sup>浓度增加可促进**CSD**产生。

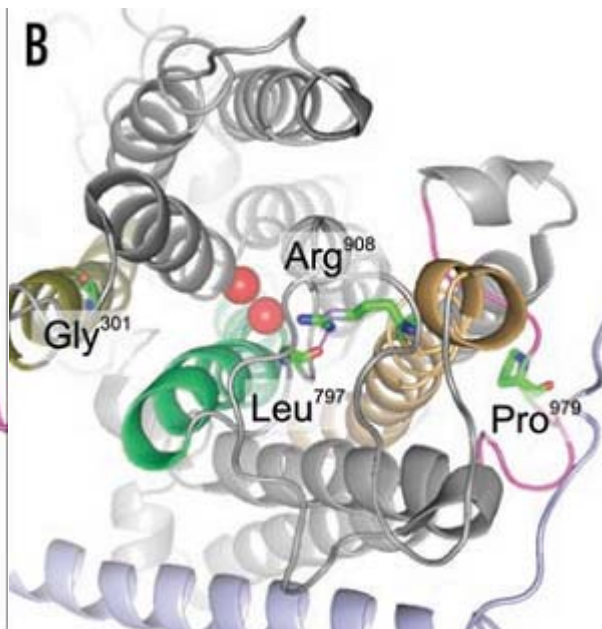
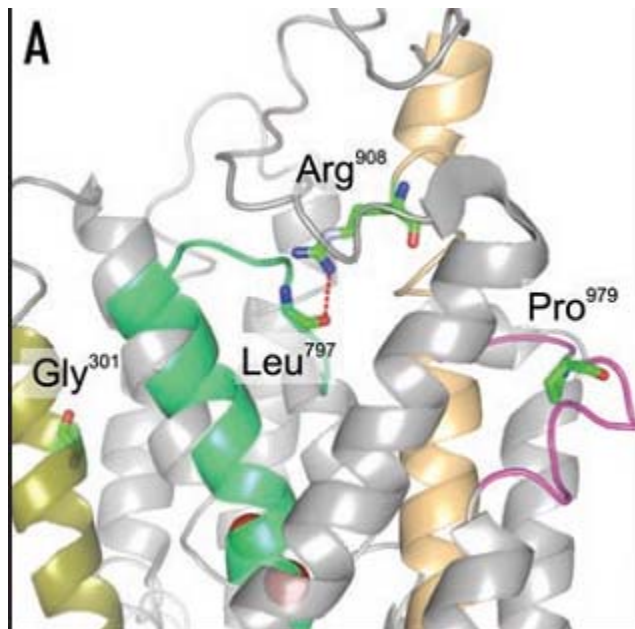


Figure 5 : Location of mutated residues within the Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase structure.

(A) Side view of the transmembrane part of the Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase α-subunit.

(B) View from the extracellular side roughly along helix M5. In this panel .

(Neslihan N. Tavraz, et al. 2009)



神经元过度兴奋与 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP}$ 酶功能的丧失有以下几种关联：

(1)、跨膜的 $\text{K}^+$ 浓度梯度降低会削弱电压门控 $\text{K}^+$ 通道的复极化，从而降低动作电位发放的起始点；

(2)、 $\text{Na}^+$ 梯度的降低一方面会限制神经元增加 $\text{Ca}^{2+}$ 发放的 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 运输活动，另一方面会减弱通过 $\text{Na}^+/\text{Glu}$ 共输送体进行的突触间隙 $\text{Glu}$ 的移除。

Table 1 Electrophysiological properties of ATP1A2 mutants

	$V_{0.5}$ (mV)	$z_q$	Turnover ( $\text{s}^{-1}$ )	N	$E_A$ (kJ/mol) 18°C–26°C	$E_A$ (kJ/mol) 26°C–34°C	N
WT	$4.3 \pm 3.5$	$0.82 \pm 0.03$	$12.8 \pm 3.0$	18	$132 \pm 14$	$87 \pm 15$	5
P979L	$3.8 \pm 7.1$	$0.79 \pm 0.04$	$18.6 \pm 5.4$	21	$124 \pm 6$	$80 \pm 2$	5

(Paul J. Adams, et al. 2010)





## Expression of ATP1A2 constructs in *Xenopus* oocytes and HEK 293FT cells.

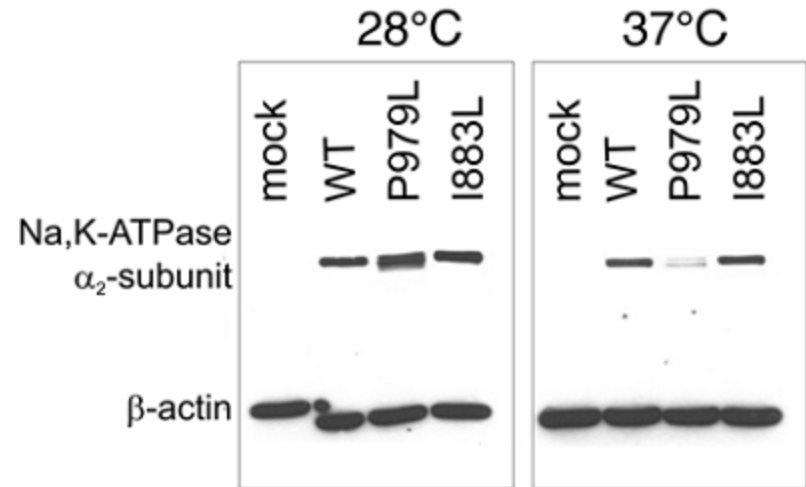
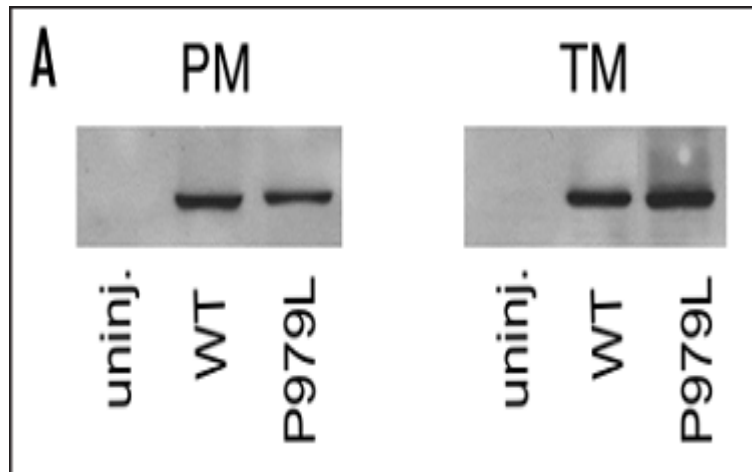


Figure 6 :Representative western blots of samples from plasma membrane (PM) and total membrane (TM) fractions from oocytes expressing various ATP1A2 constructs. .

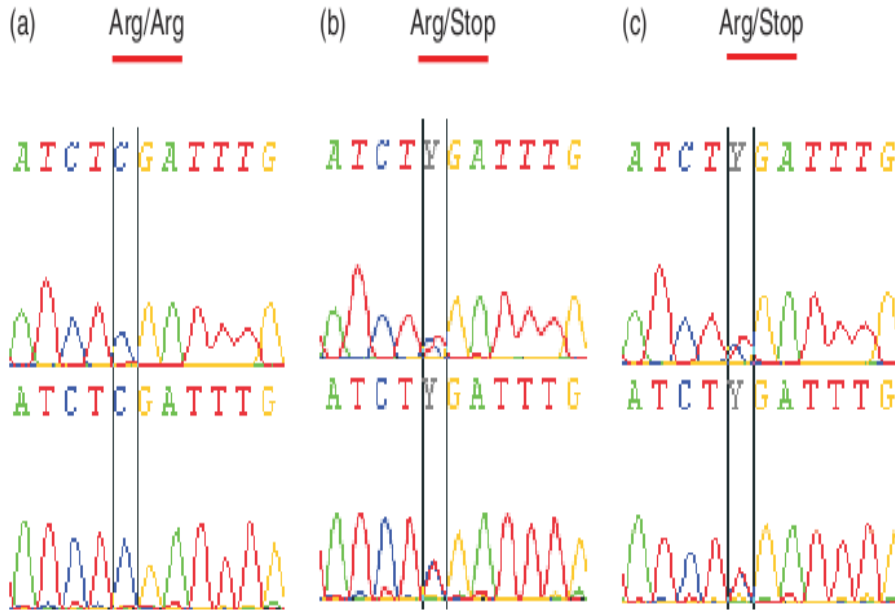
Figure 7 : Expression of ATP1A2 WT and mutants upon transient transfection in HEK 293FT cells and growth at permissive (28° C and non-permissive (37° C) temperature.

(Paul J. Adams, et al. ,2010)



# FHM3与钠离子通道

FHM3基因为SCN1A基因，位于染色体2q24，它编码神经电压门控钠通道（ $\text{Na}_v1.1$ ） $\alpha_1$ 亚单位， $\text{Na}_v1.1$ 在皮质神经元动作电位的产生和扩布过程中起关键作用。



神经元表达 $\text{Na}_v1.1$ 的突变引起通道的过度开放，能够促进皮质扩散性抑制（CSD）的启动和增强，可能是通过以下机制实现的：

①通道高频率的开放导致细胞外 $\text{K}^+$ 浓度的升高和进一步的移除直至失活；

②重复的开放增加兴奋性神经递质谷氨酸的释放，这是CSD中关键的部分。

(Selmer KK , Eriksson A-S, et al. 2009)



# 偏头痛的治疗

治疗的目的是终止头痛发作、缓解伴发症状和预防复发。

## 一、预防用药：

- (1)  $\beta$ 受体阻滞剂：阻滞 $\beta$ 受体，防止动脉扩张，如：普萘洛尔、阿替洛尔、美托洛尔等；
- (2) 5-羟色胺拮抗剂：甲基麦角酰胺（methyseride）；
- (3) 抗抑郁药：三环类抗抑郁药，如：阿米替林、去甲替林；
- (4) 抗癫痫药物：丙戊酸盐；
- (5) 钙通道阻断剂：通过两个机制治疗偏头痛。① 阻断各种刺激引起的 $\text{Ca}^{2+}$ 过量跨膜进入细胞，进而防止脑血管平滑肌收缩，增加血流量和氧分压；② 拮抗5-HT和组胺，减少血小板聚集。如硝苯地平、尼莫地平、氟桂利嗪等药物。

## 二、治疗用药：

- (1) 曲普坦类：如舒马普坦；
- (2) 镇静药；
- (3) 麦角类：如双氢麦角胺；
- (4) 其他药物：如阿司匹林。



## 参考文献:

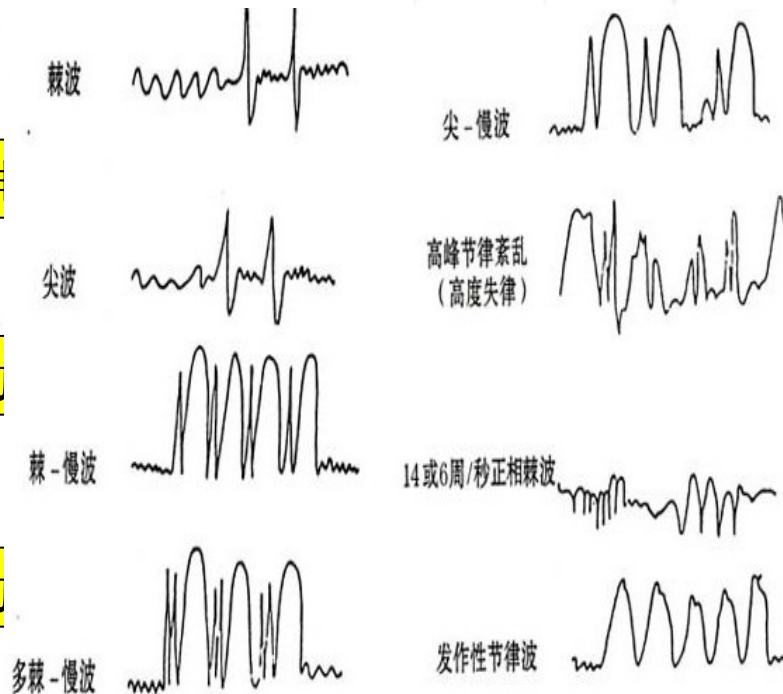
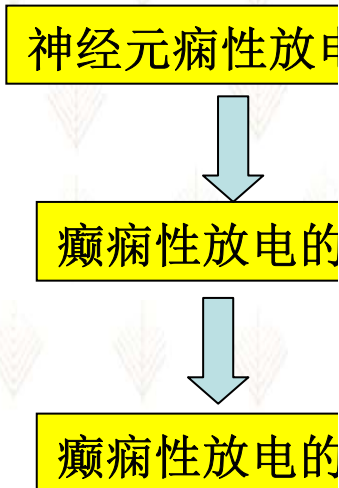
1. Stephen D Silberstein. THE LANCET 2004; Vol 363 .
2. Paul J. Adams, Ravi L. Rungta, Esperanza Garcia, Arn M. J. M. van den Maagdenberg, Brian A. MacVicar, and Terrance P. Snutch PNAS October 26, 2010; vol. 107:no. 43
3. Neslihan N. Tavraz, Katharina L. Dürr, Jan B. Koenderink, Tobias Freilinger, Ernst Bamberg, Martin Dichgans, Thomas Friedrich. Channels March/April 2009; 3:2, 82-87.
4. Selmer KK, Eriksson A-S, Brandal K, Egeland T, Tallaksen C, Undlien DE. Clinical Genetics 2009; 76: 398 – 403.
5. 神经系统离子通道病, 张黎明, 科学出版社, 2008 年.
6. 神经病学 第五版, 王维治主编, 人民卫生出版社, 2007年.

# **CIC-2 voltage-gated channel and epilepsies**

**Zhang Jiajia**

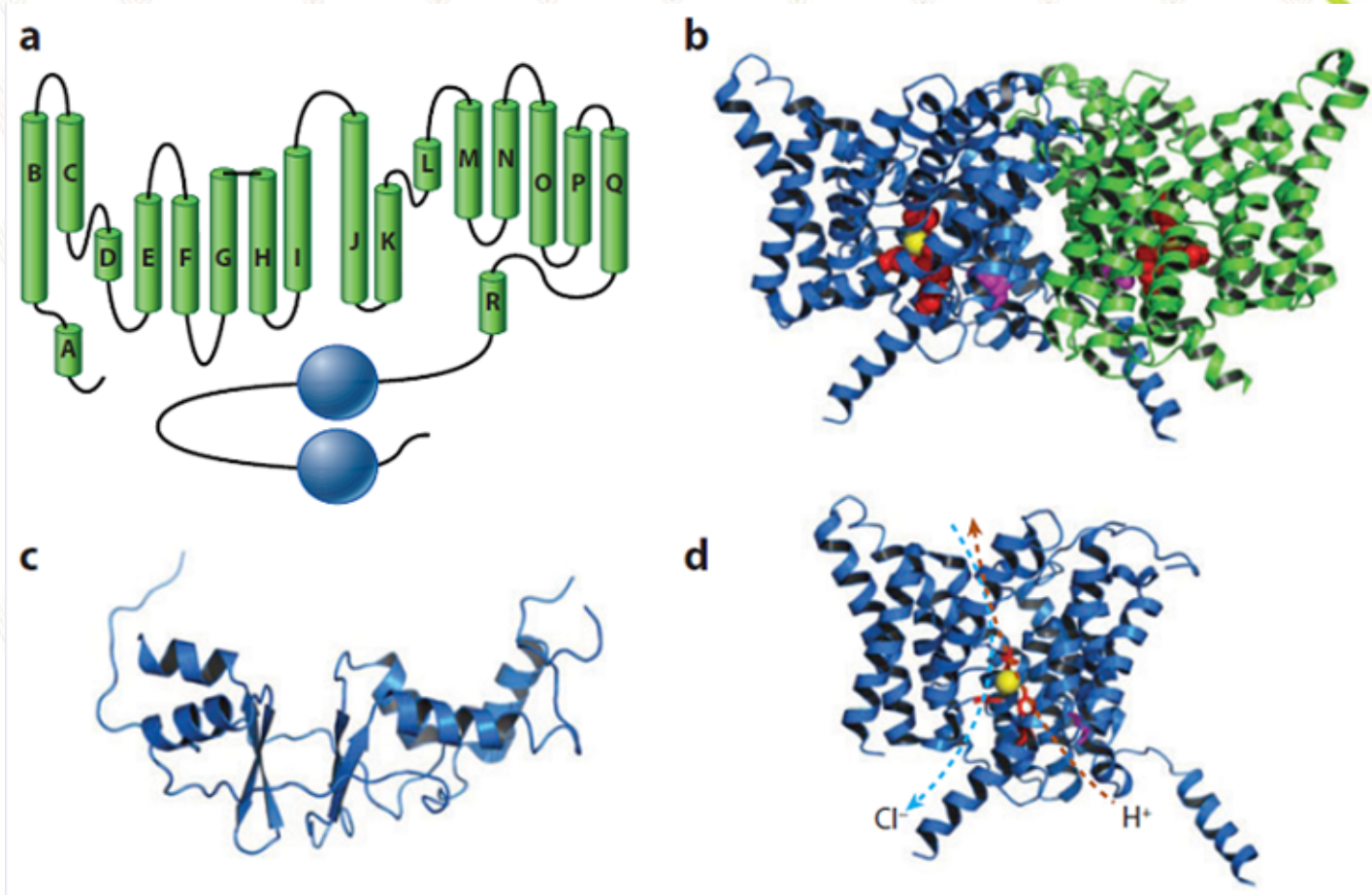
# 癫痫的发病机制

**癫痫**是由多种病因引起的脑功能障碍综合征，是脑细胞群异常的超同步放电而引起的发作性、突然的、暂时性的脑功能紊乱。

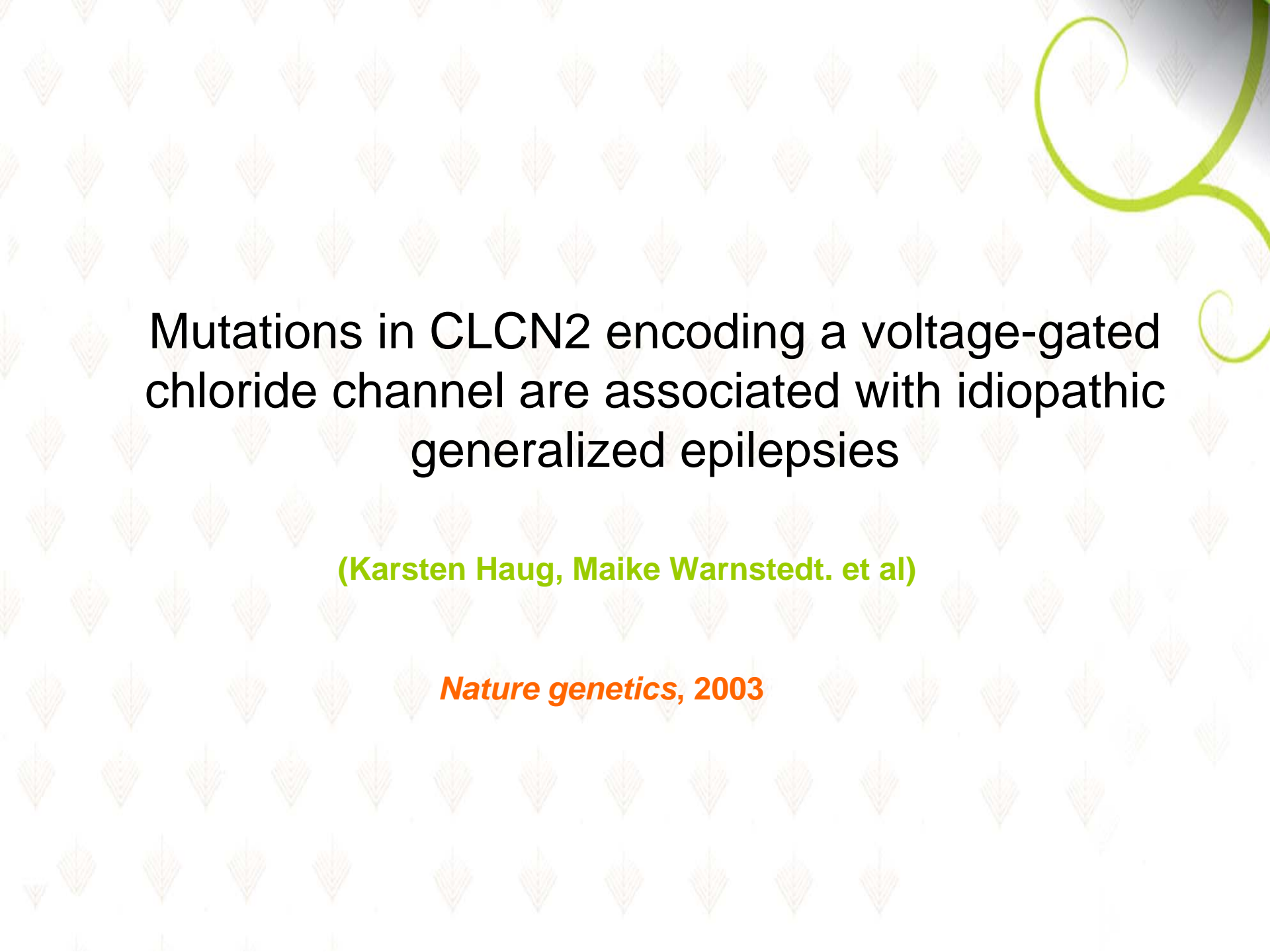


：癫痫性发电的发作、生化、电解质、免疫和...关。具有癫痫遗传特质在后天因素及促发因素...放电及临床发作。癫痫...极为密切。当兴奋性神...质过少，都能使**兴奋与**...定并产生癫痫性放电。...也影响膜的稳定性。

# CIC-2 channel structure



**CIC protein structure**



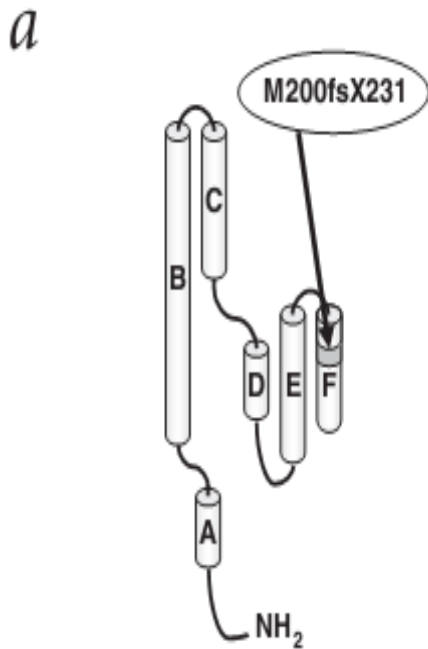
# Mutations in CLCN2 encoding a voltage-gated chloride channel are associated with idiopathic generalized epilepsies

(Karsten Haug, Maike Warnstedt. et al)

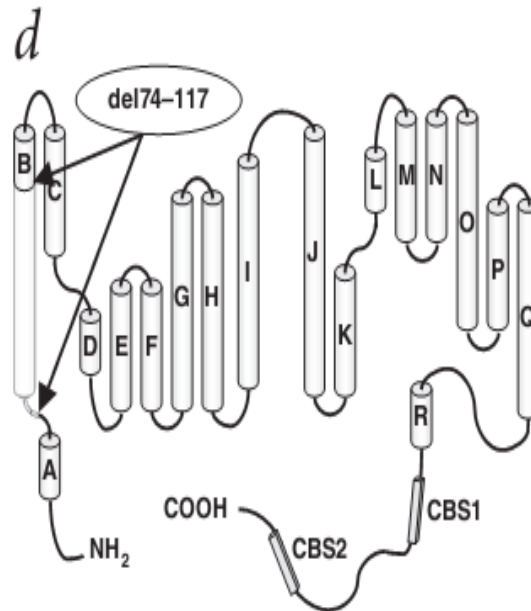
*Nature genetics, 2003*



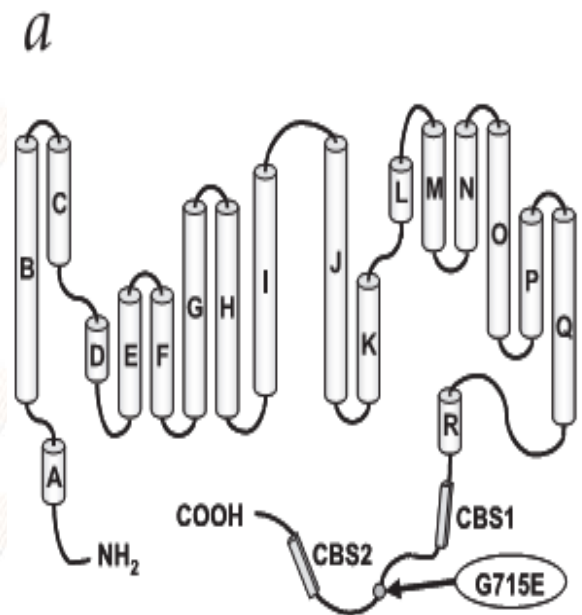
# Idiopathic generalized epilepsy (IGE) and mutations in *CLCN2*



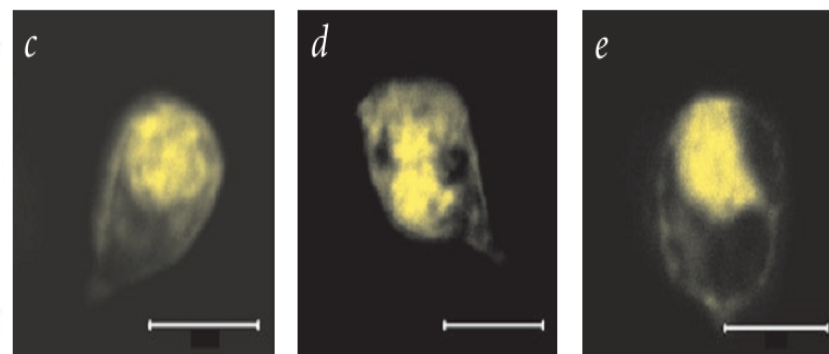
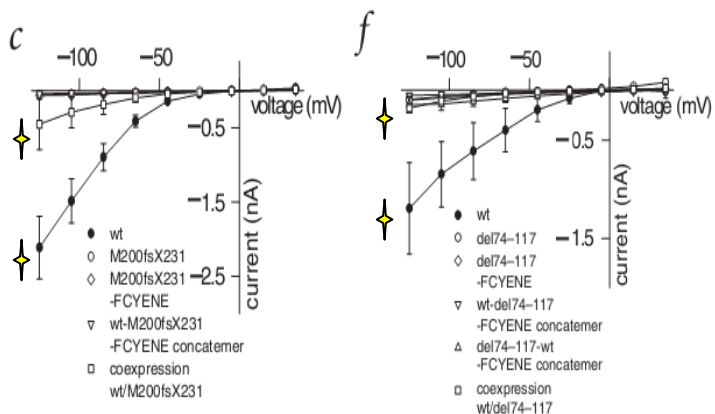
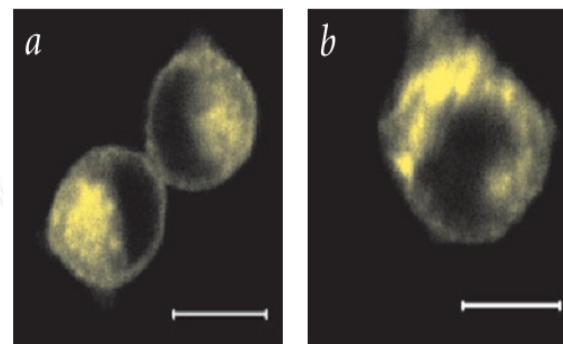
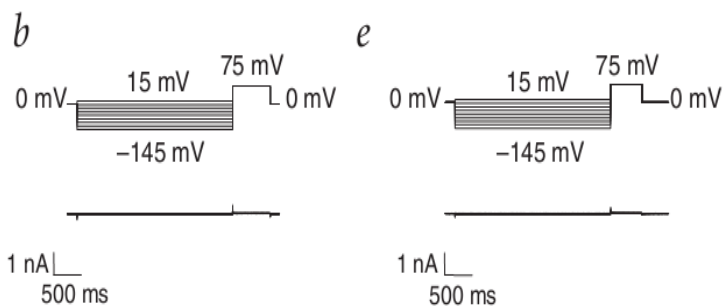
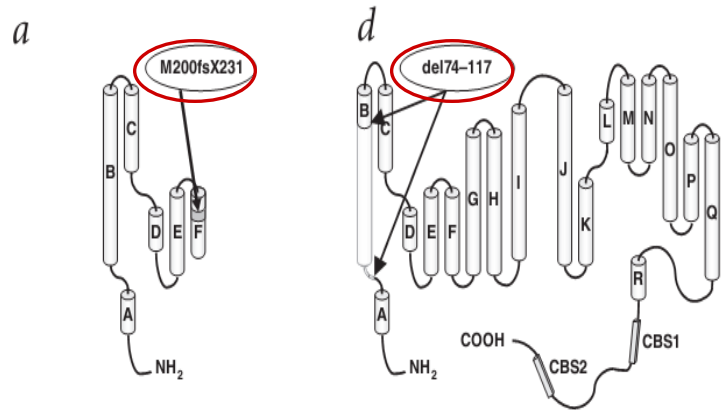
(i) a premature stop codon (M200fsX231)

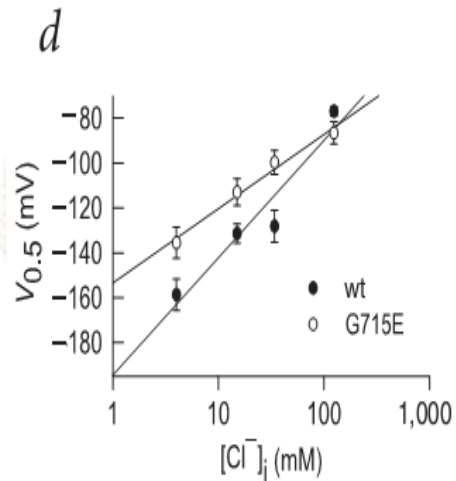
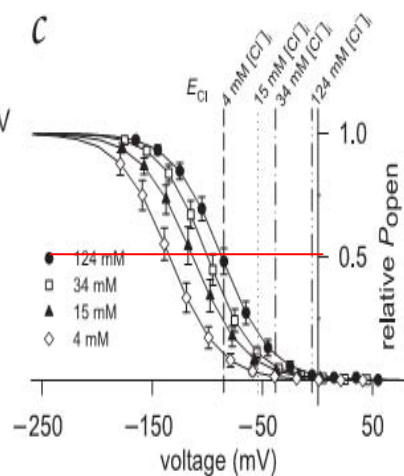
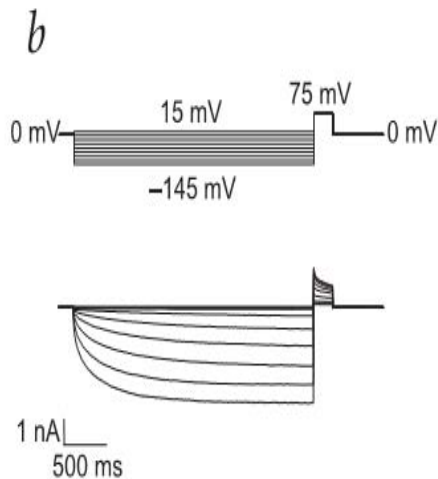
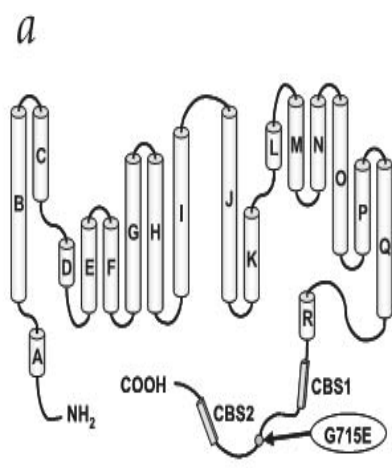
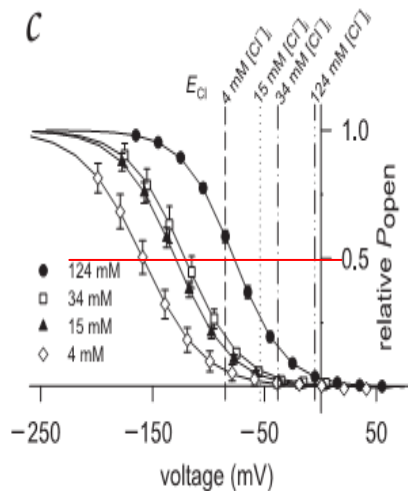
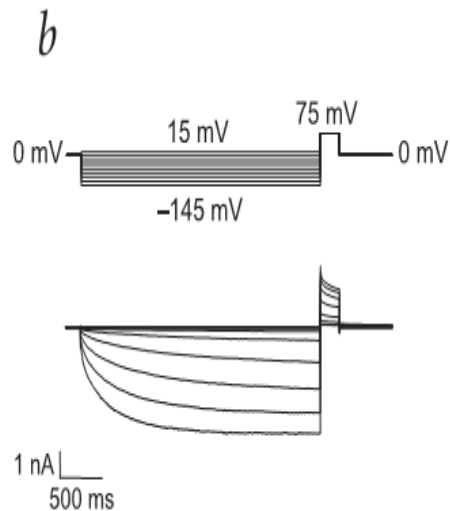
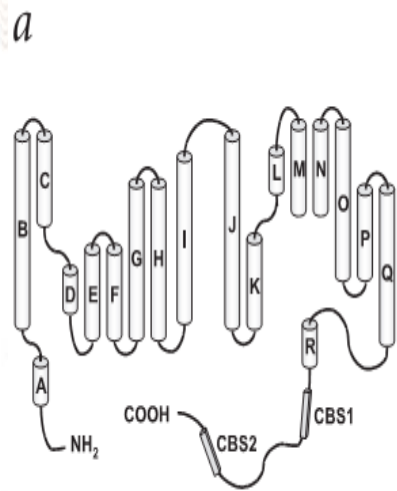


(ii) an atypical splicing (del74-117)



(iii) a single amino-acid substitution (G715E)





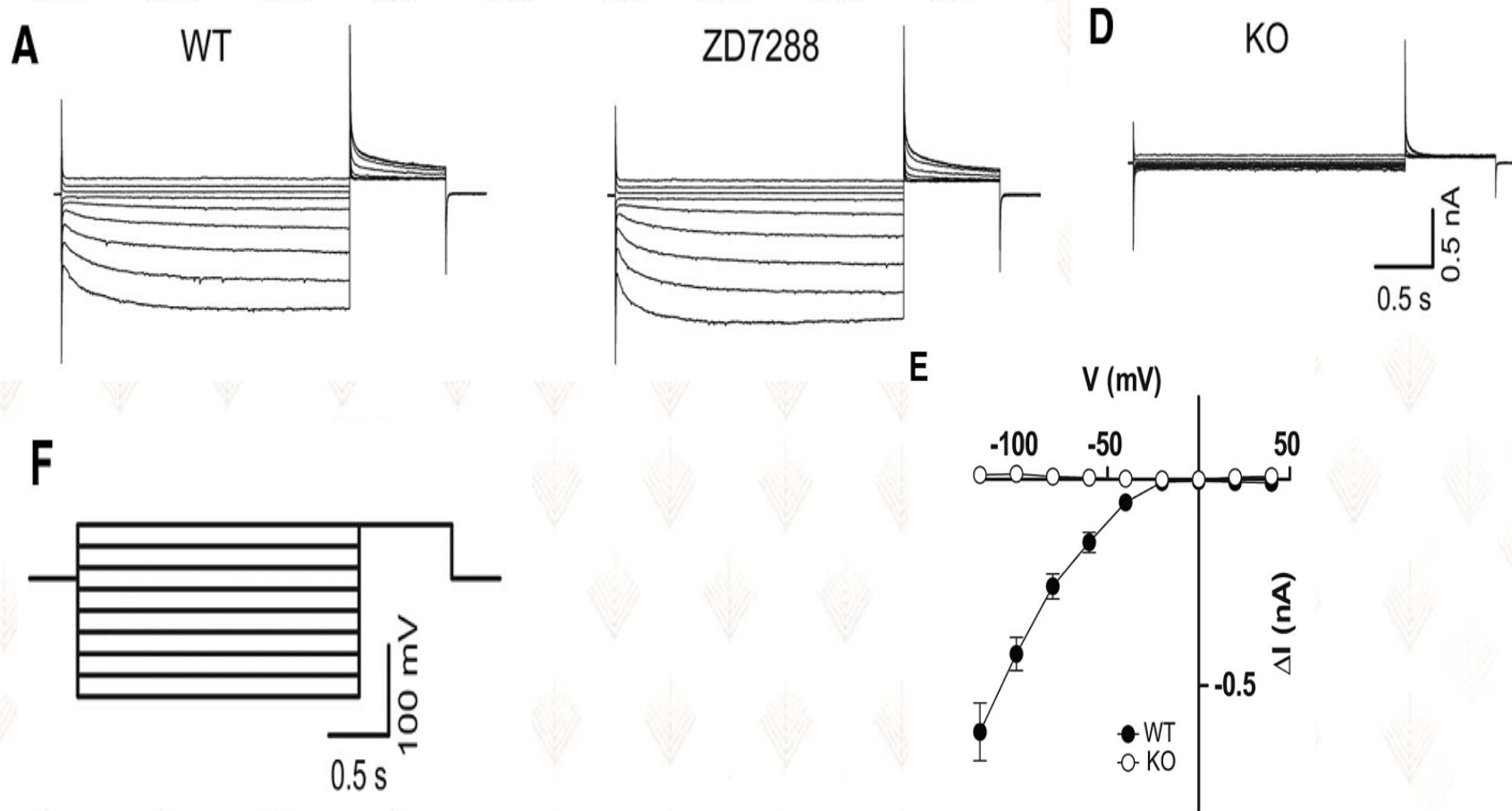


# CIC-2 Voltage-Gated Channels Constitute Part of the Background Conductance and Assist Chloride Extrusion

**Ilka Rinke, Judith Artmann, and Valentin Stein**

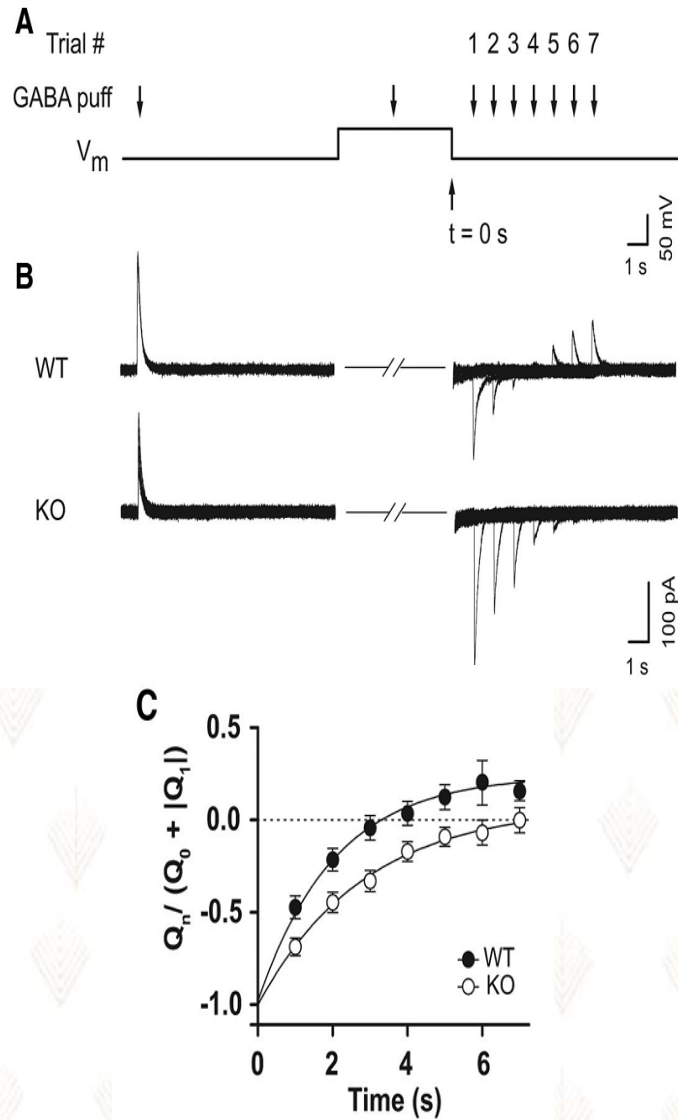
**The Journal of Neuroscience, March 31, 2010**

# CIC-2 Voltage-Gated Channels and Chloride Extrusion

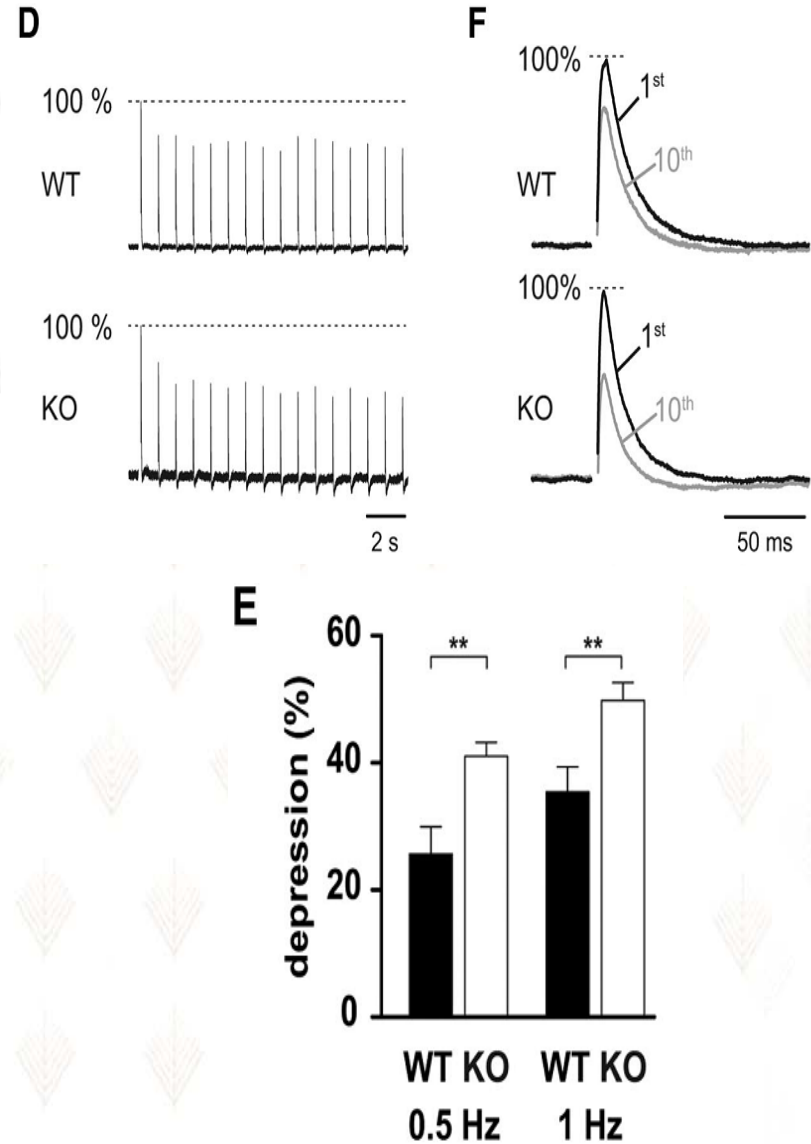


Properties of CIC-2 currents in CA1 pyramidal cells

## Chloride transport

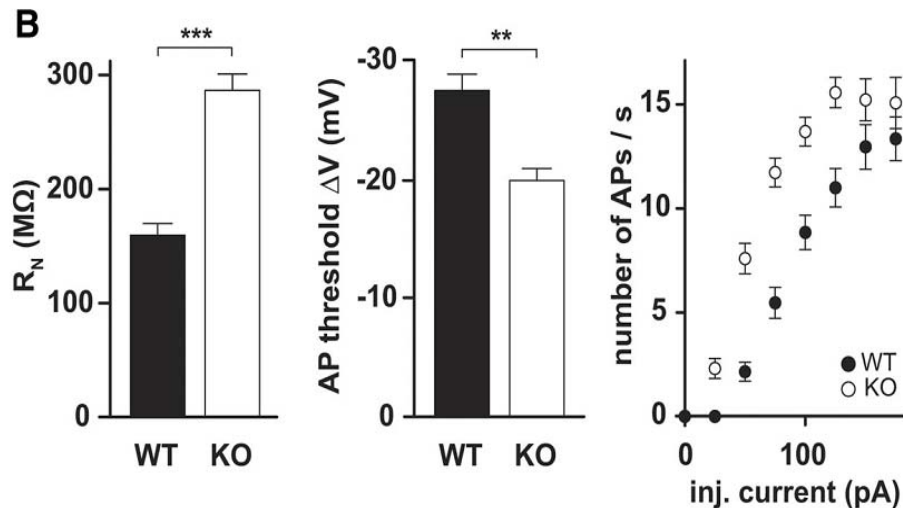
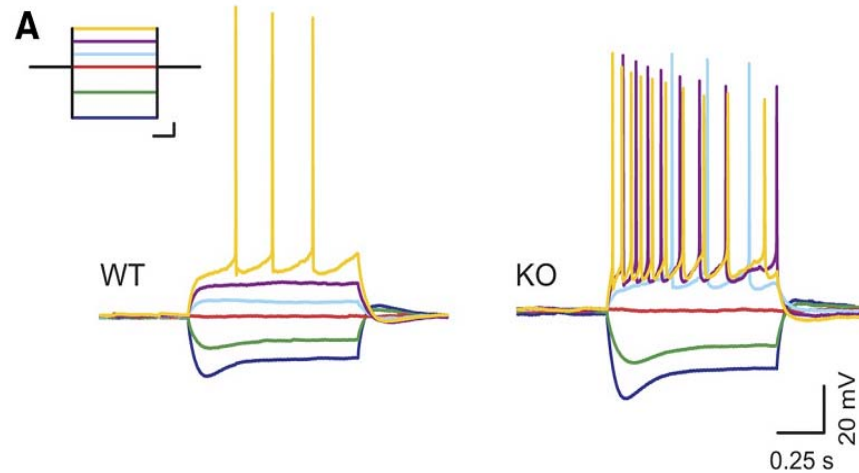


## Chloride accumulation



# Intrinsic membrane properties of $Clcn2^{-/-}$ pyramidal neurons are altered

dark blue: -100pA;  
green: -50 pA;  
red: 0 pA;  
light blue: 25 pA;  
magenta: 50 pA;  
yellow: 75 pA.





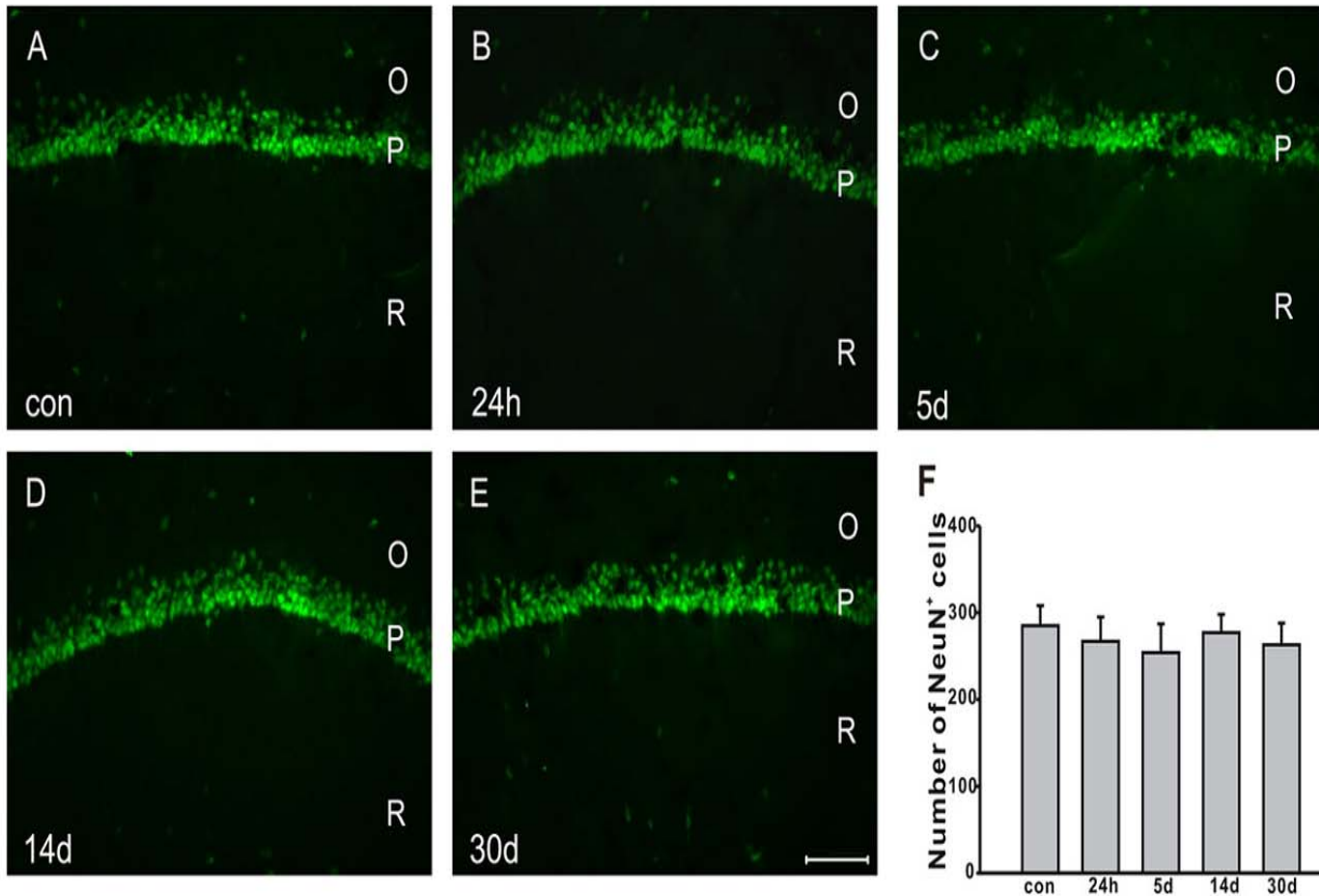
**CIC-2 contributes to tonic inhibition mediated  
by  $\alpha 5$  subunit-containing GABA<sub>A</sub> receptor in  
experimental temporal lobe epilepsy**

**(Y.-X. GE, Y. LIU, H.-Y. TANG, X.-G. LIU, X. WANG)**

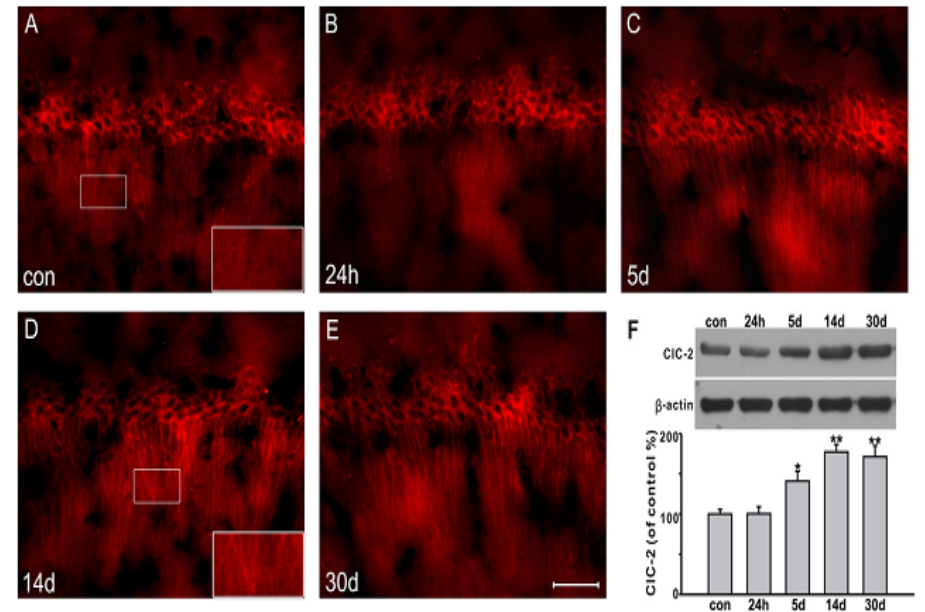
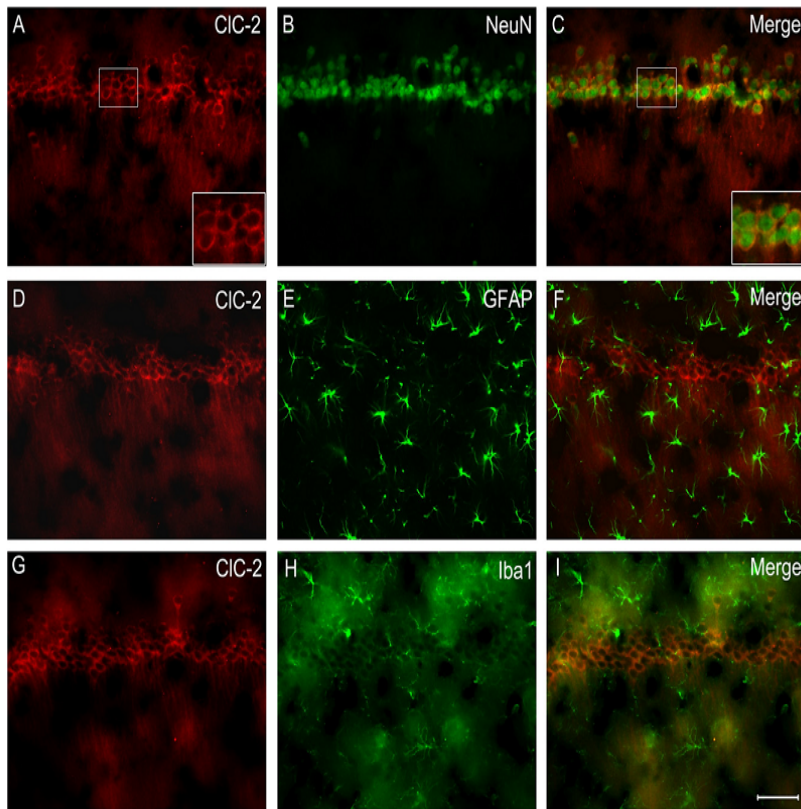
***Neuroscience, 2011***



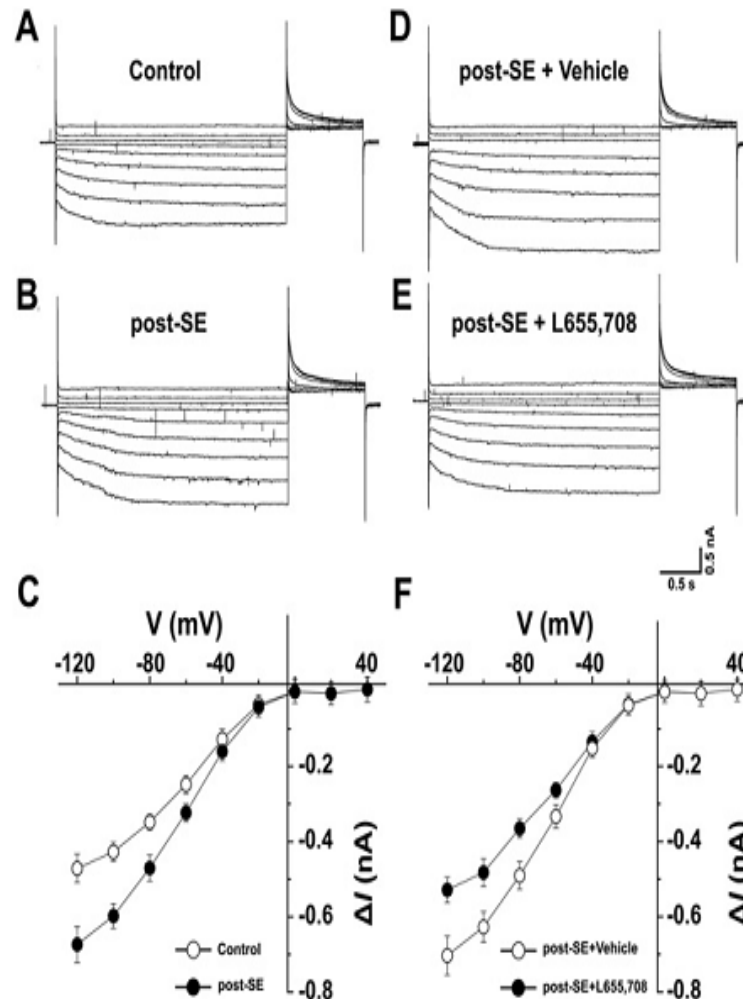
# No significant neuronal loss in the CA1 pyramidal cell layer in pilocarpine-treated rats



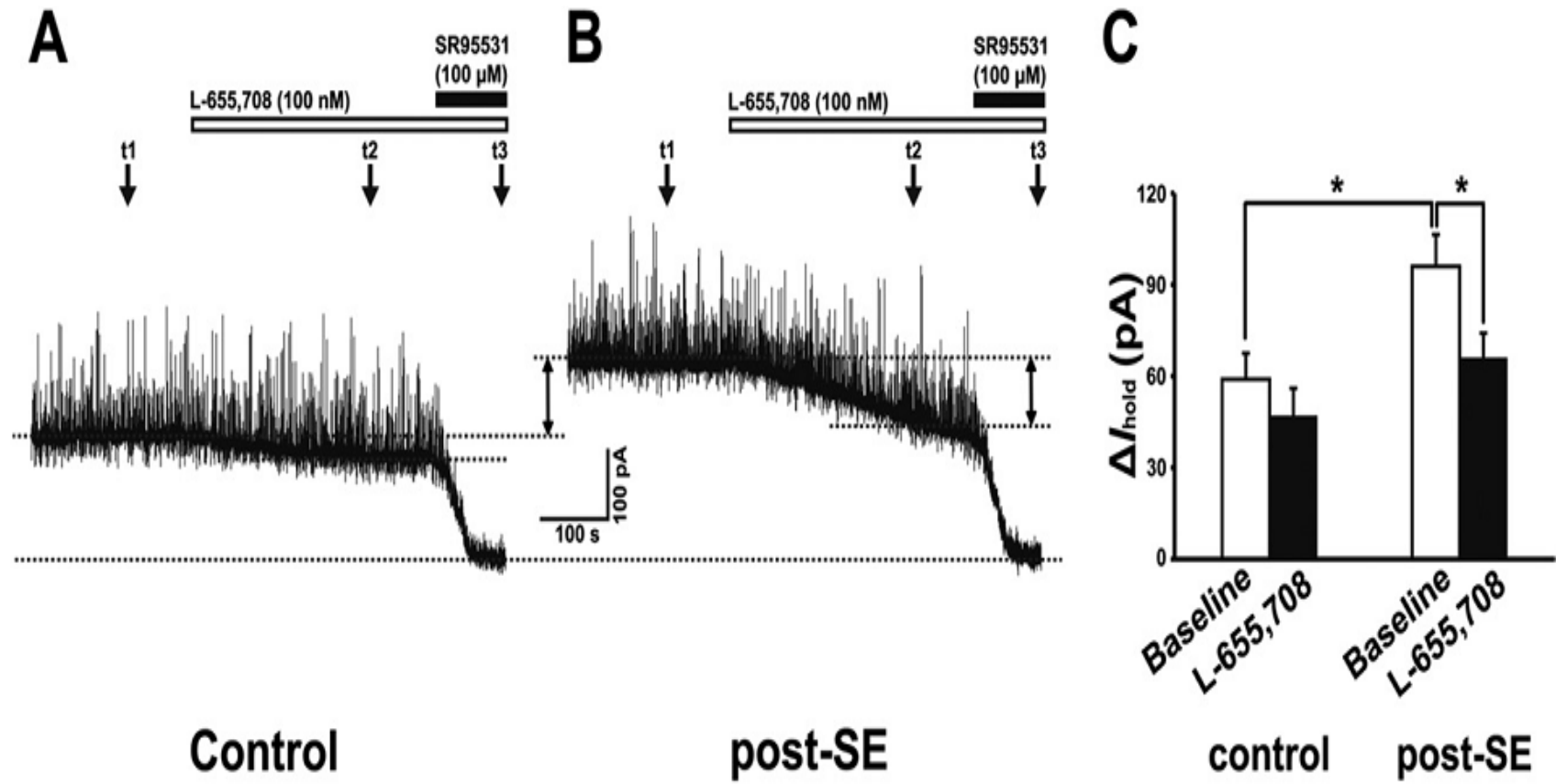
# Increased CIC-2 IR in the pyramidal cells in CA1 region of pilocarpine-treated rats



CIC-2 currents increased in CA1 PCs in pilocarpine-treated rats, and L-655,708 reversed the increase in CIC-2 currents in vitro

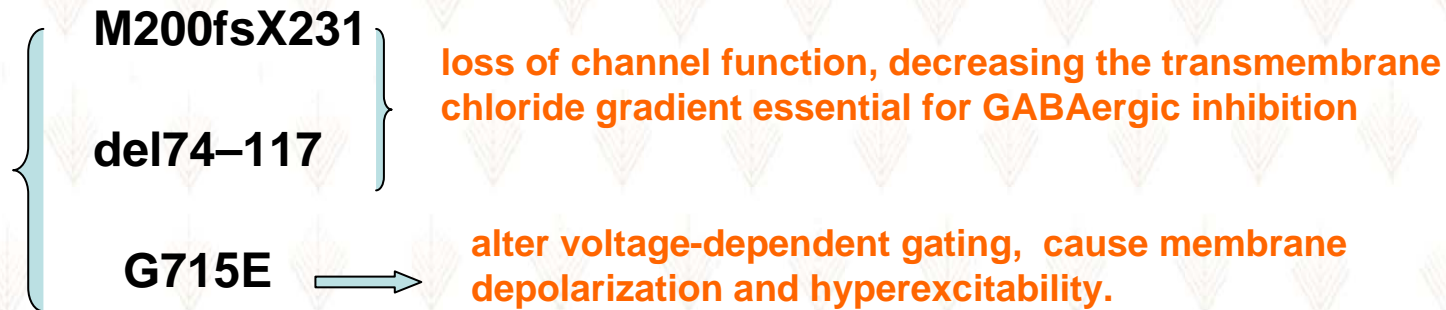


# The tonic currents ( $I_{tonic}$ ) in CA1 PCs of pilocarpine-treated rats



# summary

- CIC-2 voltage-gating channel mutations in IGE



- CIC-2 voltage-gating channel in TLE



# Episodic Ataxia

Jinzhao Wang

TEST FOR ATAXIA:



Hold a finger or a toy in front of the child and ask him to touch it on the first try. The child with ataxia cannot do it.



# contents

- ◆ **Introduction**
- ◆ **Pathogenesis**
- ◆ **Clinical feature of EA**
- ◆ **Treatment of EA**



# Introduction:

- ◆ 1946 Parker firstly report

**Autosomal dominant inheritance diseases**

**Hereditary paroxysmal cerebellar ataxia**

**Emotional**

**Tired**

**Alcohol intake**



**EA**





	Episodic ataxia type 1	Episodic ataxia type 2
Human gene	KCNA1 chromosome 12p13	CACNA1A chromosome 19p13
Channel	Potassium channel, K <sub>v</sub> 1.1	Calcium channel, Ca <sub>v</sub> 2.1
Duration of acute ataxia	Brief: Seconds to minutes	Prolonged: Hours to days
Association with seizures	Yes	Yes
Peripheral nerve features	Neuromyotonia	Occasional reports of intermittent weakness
Headache during acute episodes	No	Sometimes seen
Persistent or progressive cerebellar syndrome	No	Yes

## EA1 and EA2

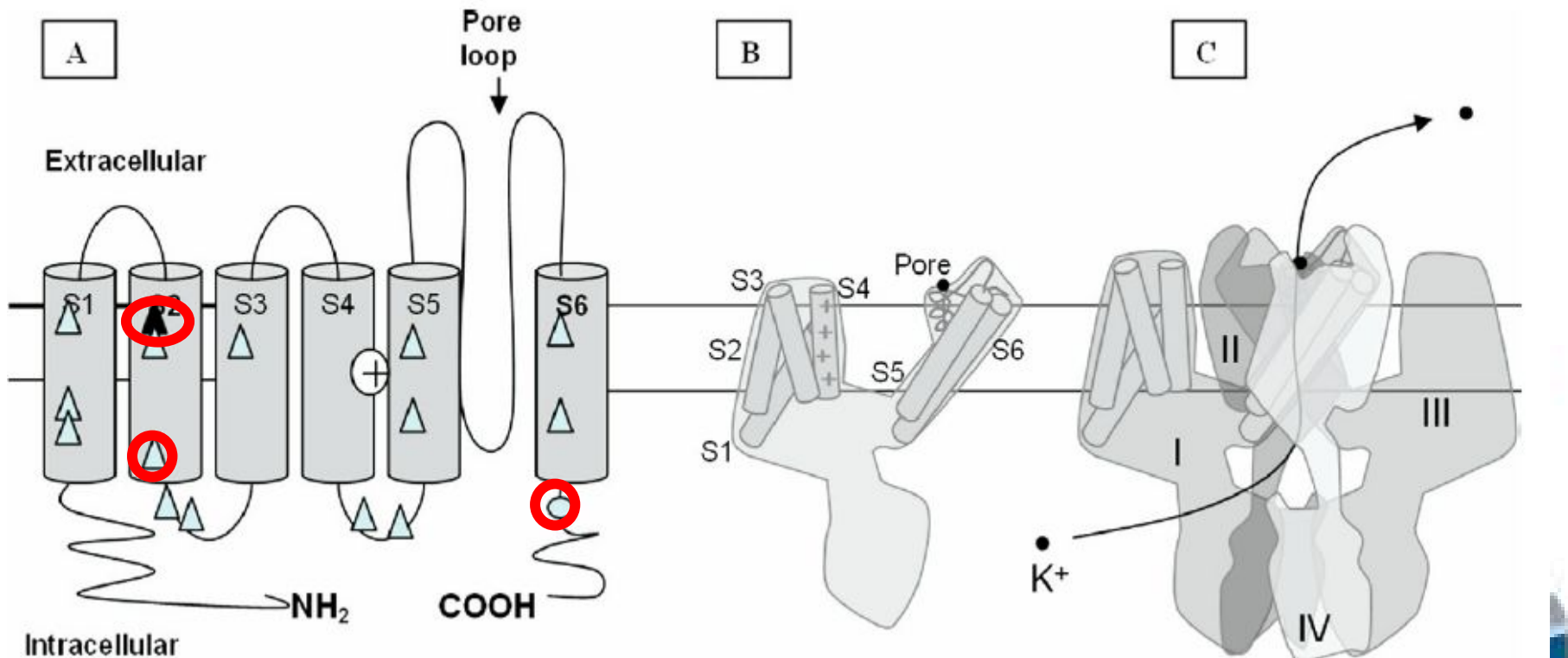
**EA3-EA6 (less, unclear)**



# Pathogenesis:

- ◆ EA1 is caused by mutations in the KCNA1 gene encoding the K<sub>v</sub>1.1 potassium channel  $\alpha$  subunit.

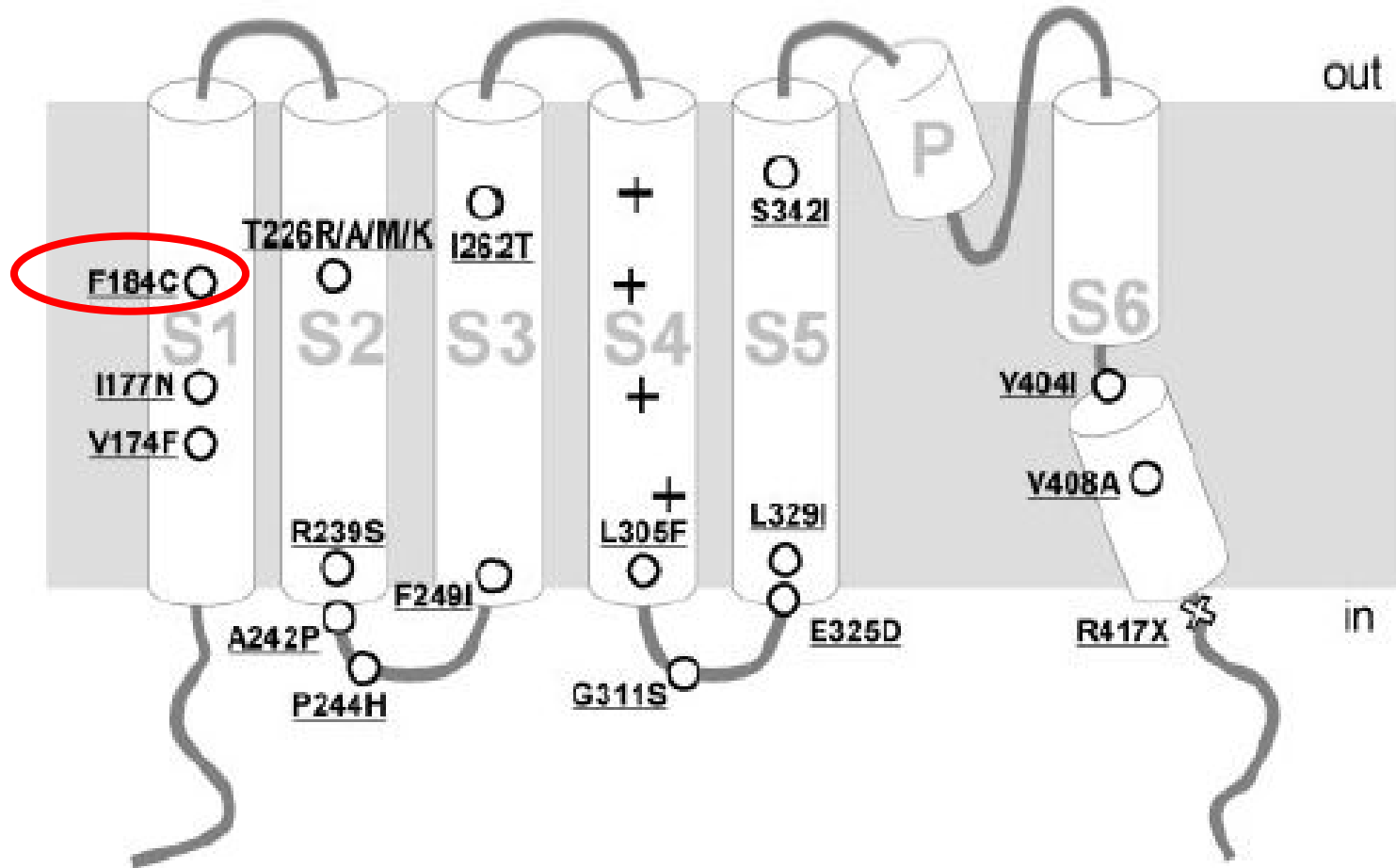
(Browne et al., *Am. J. Hum. Genet* ,1994)



(Sanjeev R et al., *Neurotherapeutics* , 2007)



# Pathogenesis:



(JC. Jen et al., *Brain*, 2007)



Mutation (Segment Involved)	Phenotype	Functional Consequences	References
V174F (S1) I177N (S1)	EA-1 with epilepsy EA-1	Mutant channels are not functional Reduction in K <sup>+</sup> current amplitude; alters channel kinetics	Adelman et al., <sup>58</sup> 1995 Imbrici et al., <sup>63</sup> 2003
F184C (S1)	EA-1	Alters voltage dependence and kinetics of activation	Adelman et al., <sup>58</sup> 1995
T226A (S2)	EA-1	Profound reduction in K <sup>+</sup> current amplitude. Slowed activation and deactivation kinetics	Zerr et al., <sup>61</sup> 1998
T226R (S2)	EA-1 with epilepsy and infantile contractures, postural abnormalities, skeletal deformities	Reduction in K <sup>+</sup> current, with mutant subunits exerting a dominant negative effect	Zuberi et al., <sup>17</sup> 1999
T226M (S2)	EA-1	Profound reduction in K <sup>+</sup> current amplitude; shift in threshold of activation	Zerr et al., <sup>61</sup> 1998
T226K (S2)	Isolated myokymia	No K <sup>+</sup> current, with mutant subunits exerting a dominant negative effect	Hisama et al., <sup>69</sup> 2006
R239S (S2) A242P (S2)	EA-1 Myokymia and seizures	Minimal K <sup>+</sup> current Profound reduction in K <sup>+</sup> current amplitude	Adelman et al., <sup>58</sup> 1995 Eunson et al., <sup>14</sup> 2000
P244H (S2–S3 linker)	Isolated neuromyotonia	Functionally no difference between wild-type and mutant channels	Eunson et al., <sup>14</sup> 2000
F249I (S2–S3 linker) I262T (S3) G311S (S4–S5 linker) E325D (S4–S5 linker)	EA-1 EA-1 with distal weakness EA-1 EA-1	No detectable K <sup>+</sup> current N/A Reduction in K <sup>+</sup> current Altered kinetics of activation and voltage dependence	Zerr et al., <sup>62</sup> 1998 Zerr et al., <sup>61</sup> 1998 Adelman et al., <sup>58</sup> 1995
L329I (S5) S342I (S5)	EA-1 EA-1 without myokymia seizures	N/A N/A	
V404I (S6)	EA-1	Relatively small effect on channel properties; responds well to treatment	Eunson et al., <sup>14</sup> 2000
V408A (S6)	EA-1	Minor alterations in kinetics of activation and voltage dependence	Adelman et al., <sup>58</sup> 1995
R417X (C-terminus)	Drug-resistant EA-1	Profound reduction in K <sup>+</sup> current amplitude	Eunson et al., <sup>14</sup> 2000

EA-1 = episodic ataxia type 1; N/A = data not available.

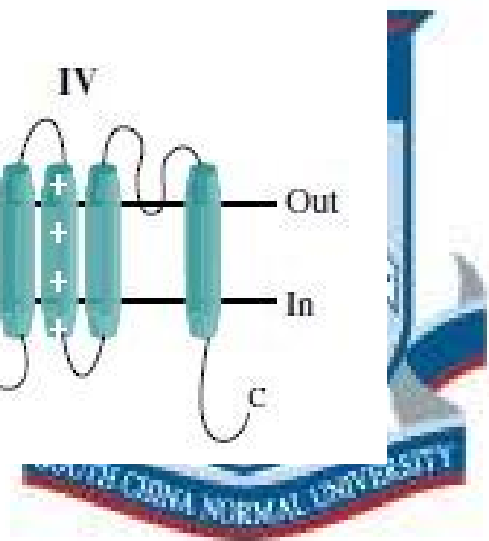
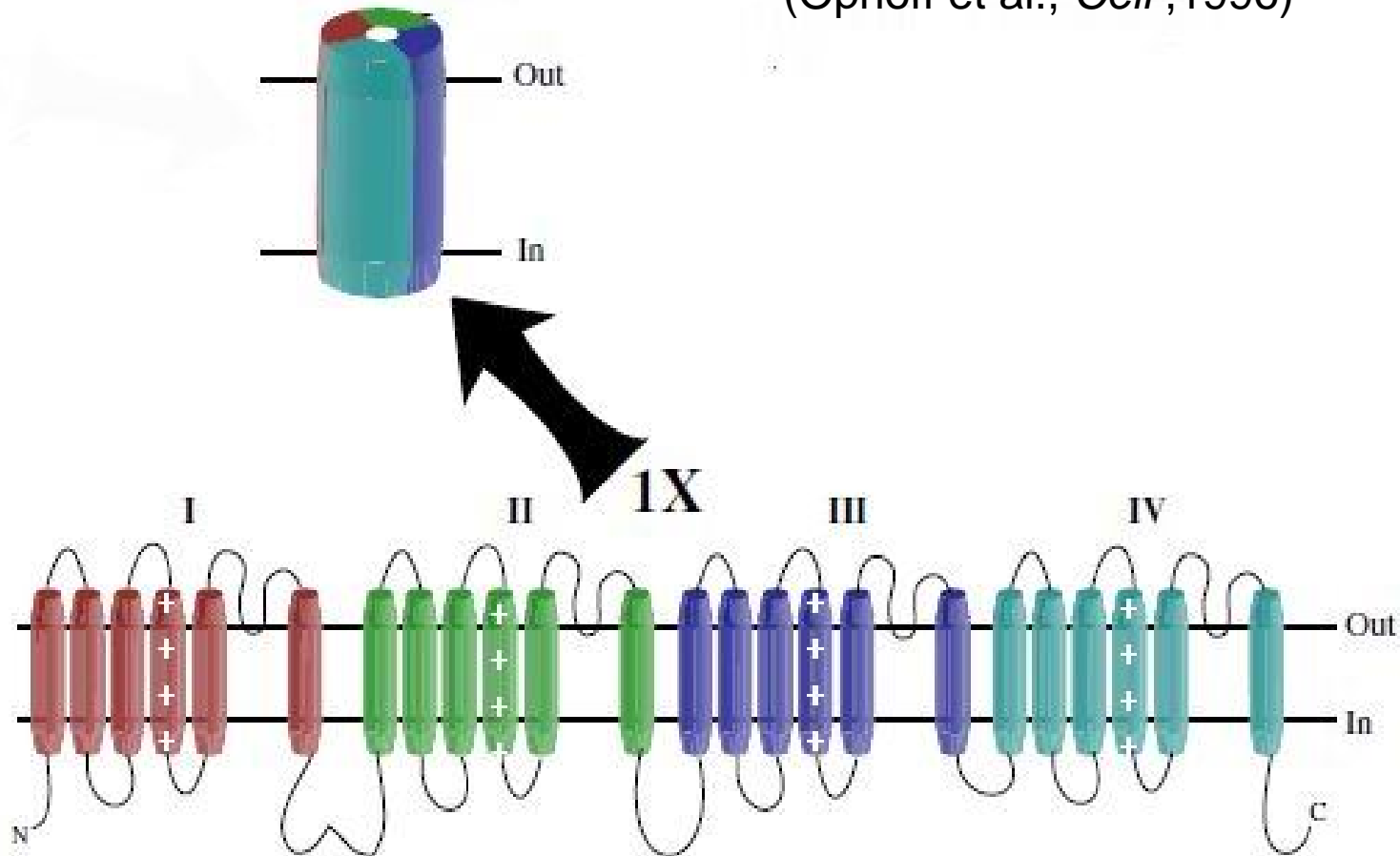
(Sanjeev R et al., *Neurotherapeutics*, 2007)



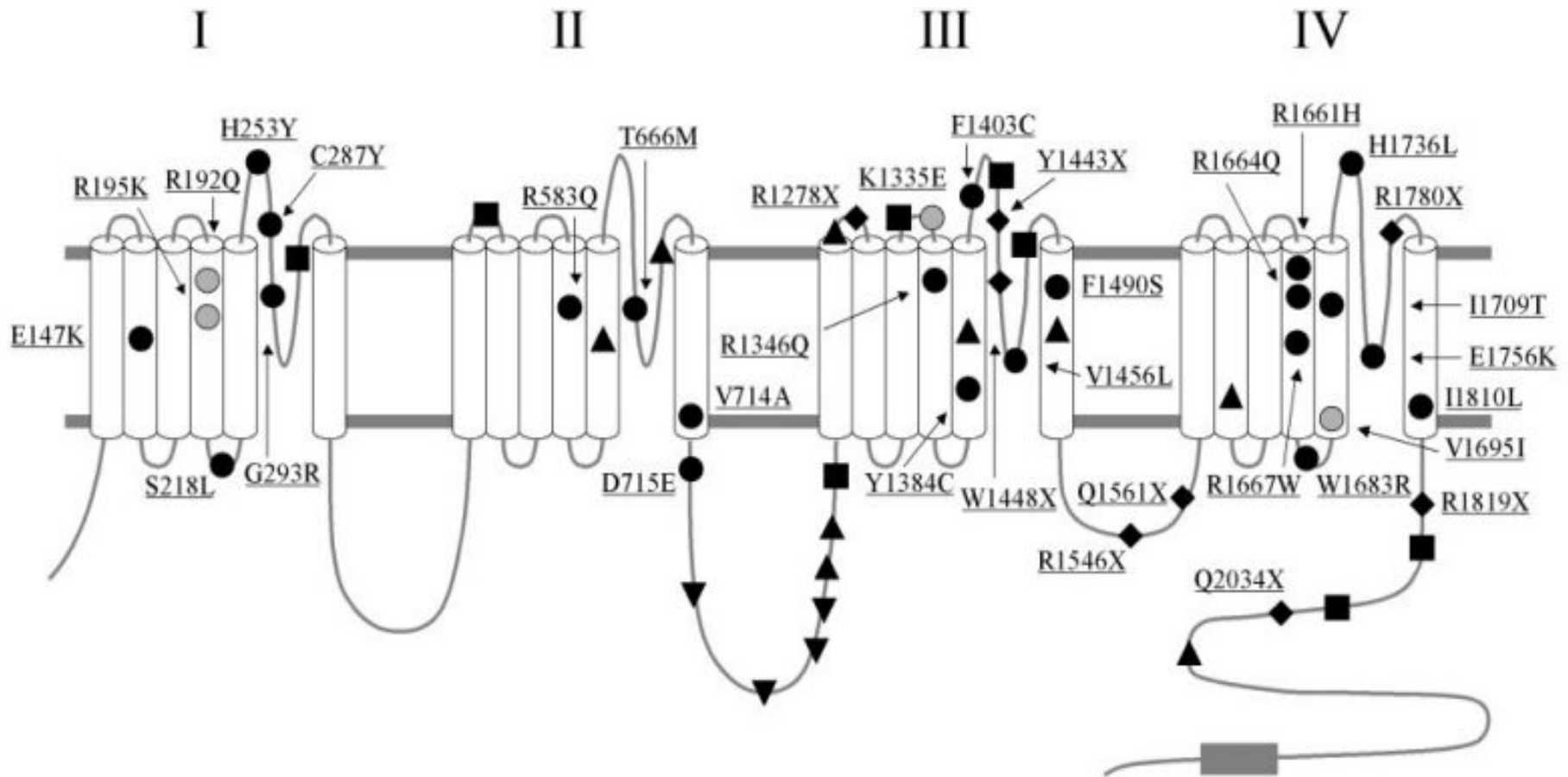
# Pathogenesis:

- ◆ EA2 is caused by mutations in the CACNA1A gene encoding the  $\alpha_{1A}$  subunit of the Cav2.1 calcium channel, also known as the P/Q type calcium channel.

(Ophoff et al., *Cell*, 1996)



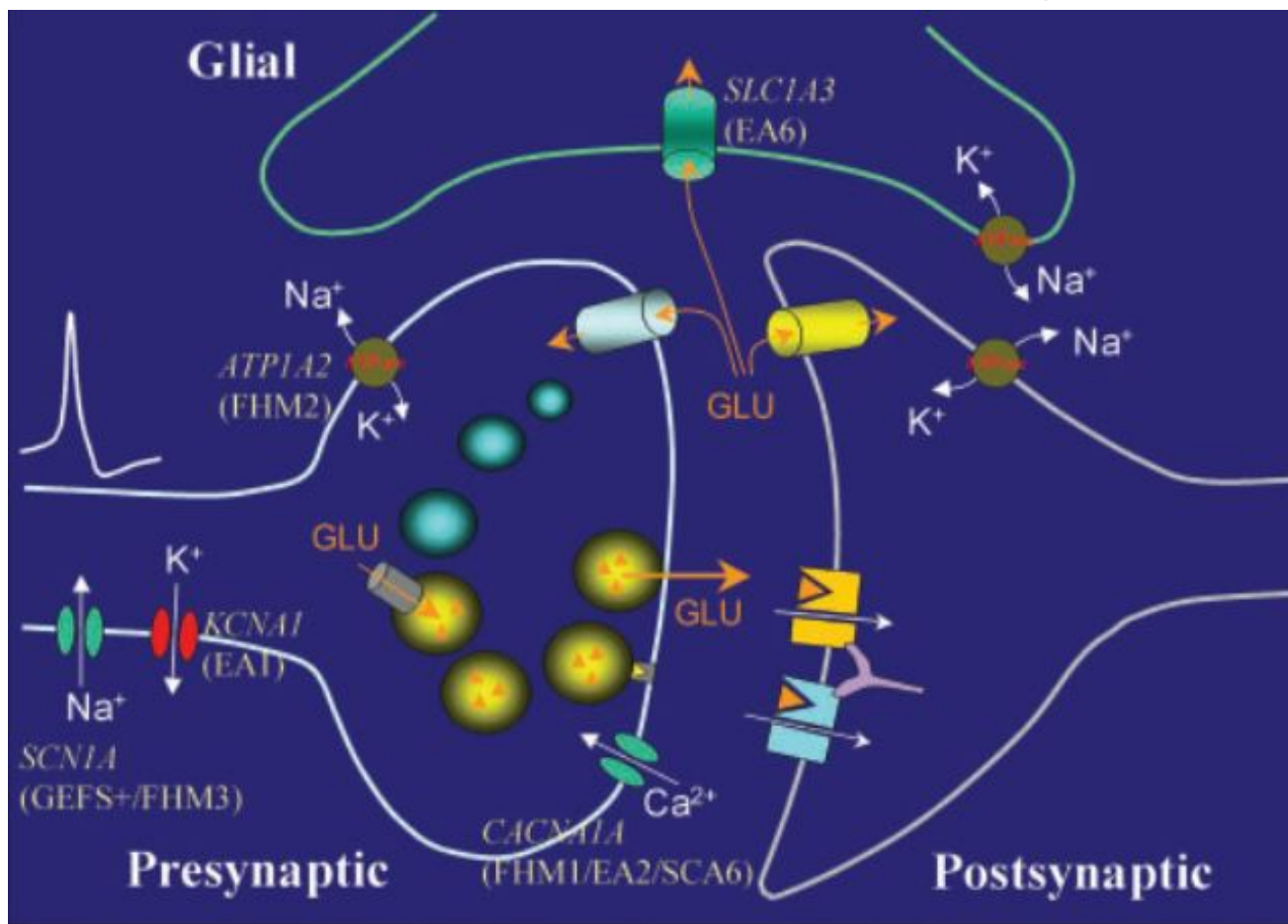
# Pathogenesis:



(JC. Jen et al., *Brain*, 2007)



# All of the currently identified genes play an important role in excitatory neurotransmission in the nervous system



(JC. Jen et al., *Brain*, 2007)



# Clinical feature of EA

## ◆ EA1 :

The onset is typical in early childhood.

Associated with dysarthria and a coarse tremor.

Phenotypic variants such as the combination with partial epilepsy, shortening of the Achilles tendon in children, transient postural abnormalities infancy, peripheral weakness and neuromyotonia without episodes of ataxia.

The typical duration of attacks is seconds to minutes.





# Clinical feature of EA

## ◆ EA2 :

**EA2 is characterized by longer episodes of ataxia (hours) with interictal nystagmus and mildly progressive baseline ataxia.**

**About half of the patients report headaches that meet the International Headache Society (IHS) criteria for migraine.**

**EA2 is allelic with familial hemiplegic migraine type 1, EA2 patients can also have progressive ataxia, fluctuating weakness, epileptic seizures and dystonia.**



# Treatment of EA

## ◆ EA1 :

Carbamazepine

valproic acid

Acetazolamide:

Acetazolamide was used in a single blinded study for treatment of hypokalemic paralysis over 30 years ago, which focused on prevention of attacks.

## ◆ EA2 :

4-aminopyridine





# 中枢神经系统离子通道疾病 — 发作性运动障碍

---

刘文元



# Outline

---

- PD概述
- PDs的历史发展
- 临床类型
- 病因及发病机制
- 临床表现
- 治疗及预防



# 概述

---

发作性运动障碍（发作性异常运动，paroxysmal dyskinesias, PDs）是一组表现多样的、异常的不自主运动，以短暂的、反复发作性运动过度为共同特征的运动障碍。

它们可以是特发性的（通常呈家族性），亦可以是由一系列因素引发的获得性疾病。主要表现为肌张力障碍、舞蹈症、手足徐动、投掷或这些过度运动的组合（Lotze,2003）。发作时无意识障碍，在发作期间神经系统通常无异常表现。



# PDs的历史发展

---

1940年Mount和Reback首次用“家族性发作性舞蹈手足徐动症”（familial paroxysmal choreoathetosis）描述了一例23岁的男性家族性舞蹈病的发作。

1967年，Kertesz报道了另一型发作性运动障碍，并建议称其为“发作性运动型舞蹈手足徐动症”（PKC），主要表现为由突然运动诱发的短暂运动障碍。

1968年Richards和Barnett又引入了“发作性张力障碍性舞蹈手足徐动症”（PDC）用来描述上述由非突然性运动引起的长时间发作性运动过度疾病。



# PDs的历史发展

---

后来Lance于1977年报告了介于PKC和PDC的中间型，即“发作性持续运动诱发的肌张力障碍”（PED）。在这一型当中，受累的家庭成员常由于长时间运动如步行，跑步等诱发出现发作性肌张力障碍。所以Lance就根据诱发因素以及持续时间将发作型运动障碍分为3型，即PDC、PKC和中间型PED。

到了1978年Goodenough又根据是否由突然运动诱发将家族性发作性运动障碍分为运动型和非运动型，并指出发作性运动障碍也可为其他疾病，如多发性硬化、脑性麻痹、特发性甲状旁腺功能减退等表现形式，这一类成为获得性PDs。



# 临床类型

---

近年来，根据促发因素、发作持续时间以及病因将PDS划分为以下四种类型：

1. 运动诱发的发作性运动障碍（PKD）
2. 非运动诱发的发作性运动障碍（PNKD）
3. 持续运动诱发的发作性运动障碍（PED）
4. 夜间发作性运动障碍（PHD）





# 病因及发病机制

---

目前对于PDs的发病机制主要是三种学说，即癫痫学说、基底核功能异常学说和离子通道病学说。



# 离子通道病学说

---

临床上认为PDs和其他的神经系统疾病如：发作性共济失调，偏头疼，癫痫等疾病有着共同的病理机制。与钠通道、钾通道以及钙通道的突变异常有关。

运动诱发的发作性运动障碍（PKD）与发作性共济失调相同，都是由于钾通道KCNA1基因突变所导致的。

最近的研究发现，一些抗惊厥的药物对于PDs的发生同样具有改善作用，因此研究者认为家族性发作性运动障碍是由于调节离子通道的相关基因的突变所致的，离子通道病可能是PDs发生的根本原因。

# 不同发作性运动障碍的相关基因或位点

发作性运动障碍	染色体位点	基因	离子通道
PKD	16p11.2-q12.1	nk	nk
ICCA	16p12-q12	nk	nk
PNKD	2q35	MR-1	nk
CSE	1q21-p13.3	nk	nk
PHD	16p13.2-p11.2	nk	nk
ADNFLE1	20q13.2-q13.3	CHRNA4	nAChR
ADNFLE2	15q24	CHRNA3/5	nAChR
ADNFLE3	1q21	CHRNA2	nAChR
ADNFLE4	8p21	CHRNA2	nAChR

家族性发作性运动障碍的基因位点



# 运动诱发的发作性运动障碍

目前对于PKD的研究还比较浅显，但已确定这类运动障碍的发生是定位在16p11.2-q12.1染色体区域上的，我们称为EKD1位点。

PKD遗传学上相关的疾病为：婴儿惊厥伴发作性舞蹈手足徐动症，称为：ICCA。此类疾病对于钠离子通道的药物治疗是有较好疗效的，提示PKD的发生可能与钠离子通道有关，但是对于PKD的病因还有待于进一步的研究。



# 非运动诱发的发作性运动障碍

---

肌原纤维调节因子-1（MR-1）是目前已知的唯一与家族性PNKD有关的基因。

1996年Fouad和Fink等人分别注意到其他形式的神经系统发作性疾病如低钾和高钾性周期性瘫痪，是由位于2号染色体远端的一簇编码钠通道的基因突变所致。后来Fouad又提出SLC4A3基因可能和PNKD的发生有关。



# 持续运动诱发的发作性运动障碍（PED）

---

近年来有研究发现，钠通道亚单位（SCNN1G）、钠葡萄糖协同转运蛋白（SLC5A2）、ATP酶钙转运蛋白基因、水孔蛋白8、CaCNG3钙通道、SCNN1B钠通道对于PED的发生具有一定影响，但还有待进一步的研究。



# 夜间发作性运动障碍（PHD）

---

此病分为四种类型：ADNFLE1-4，对于这类的运动型障碍的发生主要是由于编码神经烟碱型乙酰胆碱受体的不同亚单位突变所引起的。

烟碱型乙酰胆碱受体是配体门控性离子通道超家族的成员，主要介导突触间的短时信号传递。

所以认为PHD的发生可能和乙酰胆碱门控的离子通道有关联，但仍需进一步研究。



# 临床表现

---

## 1. PKD

对于PKD来说，主要表现为有僵硬感、不安、头晕、肌肉紧张、感觉异常、患肢上有爬行感等。是目前发现最多的一类表现型。

## 2. PNKD

PNKD的临床表现和PKD相似，主要以单侧或双侧不自主运动为特征，表现为舞蹈症、手足徐动、投掷运动等肌张力障碍姿势的各种组合，意识状态不受累。







# 临床表现

---

## 3. PED

通常来说PED的发生是比较罕见的，仅有少数常染色体显性遗传模式被报道，对于PED通常婴儿期起病，常伴有颜面部的部分性癫痫发作以及伴随运动的颈部，躯干或者四肢发作性肌张力障碍，可伴有水平性眼震。

## 4. PHD

PHD典型发作症状为夜间患者大叫而醒，伴有不自主的肌张力障碍、投掷运动等





# 治疗及预防

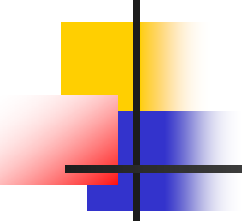
---

## (一) 运动诱发的发作性运动障碍

治疗的药物：抗惊厥剂戊巴比妥、扑痫酮、丙戊酸等。

在一例表现为短期发作性PKD的11岁女孩，苯妥因可以有效地控制症状，同时给予麦角钙化醇也有助于缓解PKD的发作。





---

(二) 非运动诱发的发作性运动障碍  
治疗的药物：左旋多巴、加吧喷丁等



# 总结

---

- 目前有效治疗PDs的药物的作用机制多与离子通道相关，随着分子生物学、生物物理学、遗传学、药理学以及电生理等多学科快速发展，临床上已经能够对PDs做出准确的诊断、分析以及治疗。虽然知道了这种神经系统性疾病和离子通道有着密切的关系，但是具体哪些离子通道参与到PDs中去，又是如何导致PDs的，还有待于进一步的研究。

Thank you

