

特集

心筋収縮における Ca^{2+} と Ca^{2+} 拮抗薬

遠藤 政夫*

要 旨

心筋細胞内 Ca^{2+} ($[\text{Ca}^{2+}]_i$) は興奮・収縮連関 (E-C coupling) の中心的な役割を占めている。 Ca^{2+} 感受性発光タンパクまたは Ca^{2+} 感受性蛍光色素を心筋細胞に適用することによって E-C coupling における Ca^{2+} の意義を生筋において分析することが可能となった。 Ca^{2+} 拮抗薬は L 型 Ca^{2+} チャンネルからの Ca^{2+} influx を減少させることによって心筋収縮抑制作用を発揮する。その心筋収縮性に対する細胞レベルにおける基本的な作用様態の解明は、電気生理学的、生化学的、および薬理学的実験により著しく進み、ほぼ確立されるに到っている。ある種の Ca^{2+} 拮抗薬は心筋収縮抑制を起こしにくく、血管平滑筋選択性をもつ。心筋収縮抑制機構の分子レベルにおけるより詳細な分析とともに、このような臓器選択性が発揮される機序の解明は Ca^{2+} 拮抗薬の治療効果に直結する今後の大きな研究課題である。

はじめに

心臓が生体内で血液循環のためのポンプとして機能している時、心筋細胞は骨格筋細胞と異なり、すべての細胞がポンプ機能維持のために活動している。したがって、骨格筋細胞がその活動細胞数の調節により機能を変化させることが出来るのに対して、心筋細胞は活動細胞数を変化させることにより機能調節を行うことはできない。このため心筋収縮機能調節は個々の心筋細胞自身の機能を修飾することによってのみ達成される。見方を変えると心筋細胞は内因性および外因性機能調節因子に非常に敏感に反応しうる予備能力を蓄えつつ

活動しているということが出来る。このことが細胞レベルにおける心筋収縮の促進性および抑制性調節機構を分析し理解することの重要性をさらに高めている。

図 1 に Ca^{2+} を中心とした心筋細胞における機能調節機構を示す。個々の心筋細胞は心筋細胞内在性あるいは細胞外からの調節過程によって非常に広範囲にわたってその機能を変化させることができる。心筋細胞収縮性の調節は細胞内 Ca^{2+} 変化を介して達成される。細胞膜脱分極に引き続いて細胞内に一過性に上昇した Ca^{2+} は収縮蛋白質トロポニン C に結合することにより、トロポニン I による太いフィラメント (主としてミオシン分子よりなる) と細いフィラメント (アクチン、トロポニン、トロポミオシン分子などよりなる) のスライディングの抑制を解除することにより心筋細胞の短縮または張力の発生をひき起こす¹⁾。

その過程は Ca^{2+} を中心に大きくふたつのステップに分けられる。すなわち①細胞内 Ca^{2+} 動員機構の調節と②収縮蛋白質 Ca^{2+} 感受性の修飾である²⁾。細胞内 Ca^{2+} 動員・除去は形質膜 (SL) および筋小胞体 (SR) 膜イオン・チャンネルとイオン交換および輸送機構を介して達成される。

心筋細胞内 Ca^{2+} 濃度変化と心筋収縮性

最近の $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 測定実験方法の進歩により $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 動態と収縮張力との関係のより詳細な検討が可能となった。すなわち、生理的条件下で収縮・弛緩を繰り返している摘出心筋標本において収縮張力と同時に $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 濃度の変化を測定する方法が開発された²⁾。これにより両者の関係を直接的に分析することができるようになった。この生筋における $[\text{Ca}^{2+}]_i$ と心筋収縮張力の同時測定、および $[\text{Ca}^{2+}]_i$ と収縮性との関係の分析は心筋収

*山形大学医学部薬理学教室

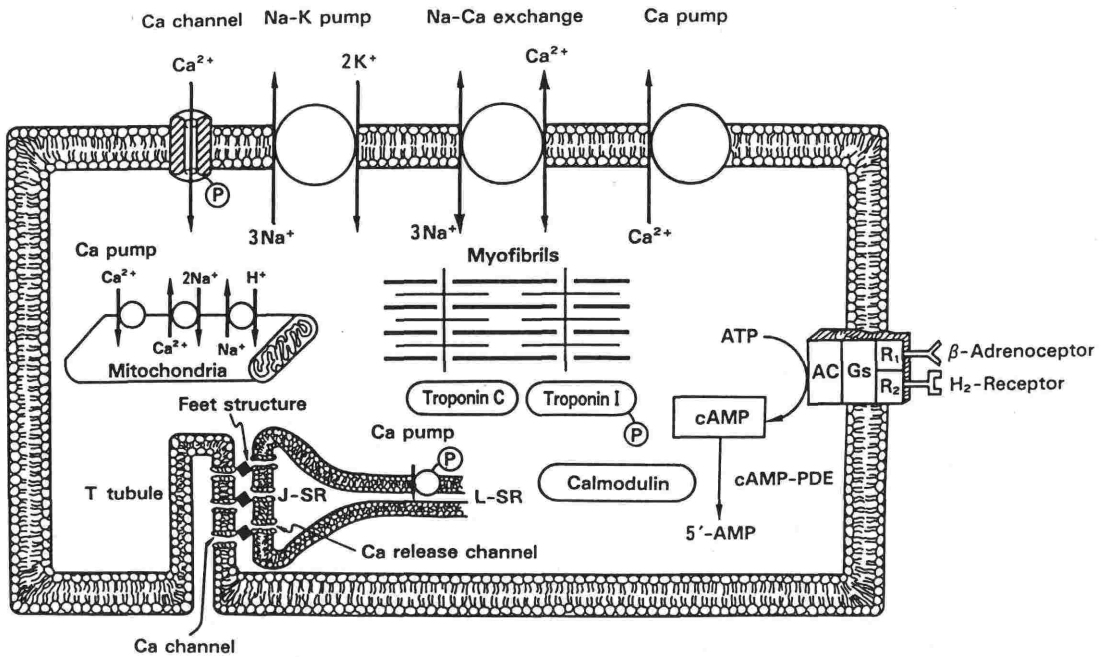


図1 心筋細胞内 Ca^{2+} 動態を修飾する種々の細胞膜および細胞内小器官のチャンネルおよび輸送機構。
 SR:心筋小胞体, J-SR:junctional SR (膨大部), L-SR:longitudinal SR (直部), R:レセプター, G_s :促進性 GTP 結合タンパク, AC:アデニル酸シクラーゼ活性化サブユニット, P:cAMP 依存性プロテイン・キナーゼAによるリン酸化

縮における Ca^{2+} と Ca^{2+} 拮抗薬の作用機序を検討する上できわめて有用である。

心筋細胞の収縮・弛緩のサイクルに先行して $[\text{Ca}^{2+}]_i$ は急激に上昇する。収縮張力がピークに到達するときには $[\text{Ca}^{2+}]_i$ はほぼ弛緩時のレベルに下降する。この収縮張力発生に先行して起こる一過性の $[\text{Ca}^{2+}]_i$ の上昇はカルシウム・トランジェント (CaT) と呼ばれる。心筋収縮張力の大きさは CaT に依存して変化する。CaT の大きさおよび持続時間は心筋細胞膜と細胞内小器官の Ca^{2+} 動員・輸送機構さらには細胞内 Ca^{2+} 結合タンパクへの結合・解離などの多くの因子より調節されている。

発光クラゲから抽出した Ca^{2+} 感受性タンパク・エクオリンを負荷したイヌ摘出心室筋標本において細胞外液 Ca^{2+} 濃度 ($[\text{Ca}^{2+}]_o$) を段階的に変化させることにより、CaT と収縮張力のピークはほぼ平行して変化するが、両パラメータの形状に著明な変化は見られない。

心筋細胞の興奮ともなう $[\text{Ca}^{2+}]_i$ の動員は主として① SL 膜 Ca^{2+} チャンネル (膜電位依存性

L-型 Ca^{2+} チャンネル) および Na^+ - Ca^{2+} 交換機構を介して細胞外から流入する Ca^{2+} 、および② SR から遊離される Ca^{2+} に依存して起こる。トロポニンCや細胞内 Ca^{2+} 結合機能制御タンパク・カルモデュリンなどに結合する Ca^{2+} 量は $[\text{Ca}^{2+}]_i$ に依存して増加するので Ca^{2+} による機能調節が達成される。

心筋の収縮・弛緩と CaT の消長との関係についてはまだ細かい点で異論があるが、基本的には CaT の消長は心筋収縮・弛緩に中心的な役割を演じていると考えてよい。

心筋弛緩 (休止) 状態において $[\text{Ca}^{2+}]_i$ は 10^{-7} M のレベルにある。 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ がこのように低い状態では心筋収縮の基本単位である収縮タンパクの細いフィラメントと太いフィラメントの相互作用はトロポニンIによって抑制されているので収縮張力の発生は起こらない。

活動電位の速い立ち上がり相において Na^+ チャンネルが開口し心筋細胞膜の脱分極が起こる。それにひき続いて膜電位依存性L-型 Ca^{2+} チャンネルが開口する。 $[\text{Ca}^{2+}]_o$ は 10^{-3} M のオーダー

存在しているので活動電位のプラトー相の間に $[\text{Ca}^{2+}]_i$ は開口した Ca^{2+} チャンネルを介して細胞内に流入する。この Ca^{2+} 流入は電気生理学的に slow inward current (I_{si}) または単一 Ca チャンネル電流 (I_{ca}) として測定される。哺乳類心筋細胞においてはカエルなどの両棲類の心筋細胞と異なり、流入した Ca^{2+} は直接的に収縮タンパク系を活性化するのではなく、一度 SR に取り込まれてから次回の収縮で遊離される⁴⁾。

また流入する Ca^{2+} は SR の Ca^{2+} 貯蔵部位からの "Ca-induced Ca release" (心筋においては生理的狀態における収縮張力の発生に重要な役割を果たしている可能性が提唱されている) の始動に重要な役割を演じている可能性がある⁵⁾。

$[\text{Ca}^{2+}]_i$ が $5 \times 10^{-7} \text{M}$ 程度以上に上昇するとその濃度に応じて Ca^{2+} はトロポニン C に結合する。これによりトロポニン I による障害が解除され、フィラメント間のスライディングがおり、筋原線維の短縮または収縮張力の発生が生ずる。

上昇した $[\text{Ca}^{2+}]_i$ は SR による Ca^{2+} 取り込み (Ca^{2+} ポンプ) および SL- Na^+ - Ca^{2+} 交換機構と Ca ポンプを介する心筋細胞外への Ca^{2+} 汲みだしなどによって CaT の下降相を形成し静止レベルに下降する。 CaT 低下に呼応して Ca^{2+} はトロポニン C より解離し心筋細胞の弛緩が起こる。

細胞内 Ca^{2+} 動員機構の調節

L-型 Ca^{2+} チャンネルと SR- Ca^{2+} ポンプ

細胞内 Ca^{2+} 動員機構の中で、SL 膜 Ca^{2+} チャンネル (膜電位依存性 L-型 Ca^{2+} チャンネル) および SR- Ca^{2+} ポンプが種々の制御因子によって修飾を受ける過程としてもっとも重要な位置を占めている⁶⁾。 Ca^{2+} チャンネルからの Ca^{2+} influx は SR- Ca^{2+} store を充たすために使用され、 CaT のピークは SR- Ca^{2+} store から遊離される Ca^{2+} により形成される。

SL 膜 Ca^{2+} チャンネルおよび SR- Ca^{2+} ポンプはそれぞれ交感神経 β -受容体刺激に引き続いて起こる cAMP 依存性 A-キナーゼ活性化によるチャンネル蛋白質およびホスホランパンのリン酸化によって促進性の調節を受けている (図 1)。脱リン酸化型ホスホランパンは SR- Ca^{2+} ATPase に抑制的調節を行っており、リン酸化による脱抑制が活性化の機序であることが示されている。

β -受容体刺激による陽性変力作用はこれらふたつの機構によって惹起されることがほぼ確立されている⁶⁻⁸⁾。

最近、促進性 GTP 結合蛋白質 (Gs) が cAMP を介さずに、直接的に L-型 Ca^{2+} チャンネルを活性化する過程も存在するらしいことが実験的に示されている^{9), 10)}。

SL- Na^+ ポンプ (Na^+ , K^+ -ATPase) と Na^+ - Ca^{2+} 交換機構

Na^+ ポンプ (Na^+ , K^+ -ATPase) 阻害は強心配糖体ジギタリスの作用機序との関連性において重要な役割を占めている。 Na^+ ポンプ阻害の結果おこる細胞内 Na^+ 蓄積が Na^+ - Ca^{2+} 交換機構を介して $[\text{Ca}^{2+}]_i$ レベル上昇をひき起こし、その結果陽性変力作用が惹起されると推定されている。

SL- Ca^{2+} ポンプ

SL- Ca^{2+} ポンプはカルモデュリンの存在下で Ca^{2+} に対して高い親和性を示す。しかしその Ca^{2+} 輸送能はそれほど大きくないので、 CaT よりもむしろ弛緩状態における $[\text{Ca}^{2+}]_i$ レベルの調節により重要な役割を演じていることが推定されている⁵⁾。

ミトコンドリア

ミトコンドリアは、心筋虚血などによる心筋細胞の膜透過性の上昇により $[\text{Ca}^{2+}]_i$ が顕著に高まったようなときに生ずる、過剰な $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 上昇を下げるのに寄与するが、生理的狀態における収縮・弛緩のサイクルの制御には関与していないと考えられている⁵⁾。

カルモデュリン

血管平滑筋細胞などと異なり心筋細胞におけるカルモデュリンの収縮性調節における意義は、非常に興味を持たれているにも関わらず、ほとんど判っていない。我々はエクオリン注入心筋細胞標本においてカルモデュリン拮抗薬 W-7 とトリフルオペラジンの影響を検索した。両薬物がともに刺激頻度依存性に CaT と収縮張力を抑制し、さらに収縮張力を CaT から解離させる作用を持つことをあきらかにした。一方カルモデュリンの心筋収縮性修飾における意義の確立は今後に残された大きな研究課題となっている¹¹⁾。

収縮タンパク Ca^{2+} 感受性修飾

$[\text{Ca}^{2+}]_i$ 動員以降の過程を修飾することにより

E-C coupling に影響を与える機構としてもっともよく知られているのがAキナーゼ活性化によるトロポニンIリン酸化と関連して生ずると考えられているトロポニンCの Ca^{2+} 親和性低下である。この機序も β -受容体刺激による弛緩促進効果に寄与していると推定される。しかしSR- Ca^{2+} ポンプ促進による弛緩効果との寄与の比率はまだ判っていない⁶⁾⁻⁸⁾。

最近、 α -受容体刺激は β -受容体刺激とは逆に Ca^{2+} 感受性増強効果をもつことが実験的に示されている⁶⁾。

また新しい強心薬の中のある化合物、たとえばサルマゾールやテオフィリンなどはPDE阻害作用のほかに Ca^{2+} 感受性増強効果をもつことを示唆する実験データが得られている²⁾。

Ca^{2+} 拮抗薬の作用機序

一連の有機化合物(ジヒドロピリジン誘導体、ジルチアゼム、ベラパミルなど)は前述のように、多岐にわたる $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 動員調節機構の中で主要な位置を占めているL型 Ca^{2+} チャンネルを選択的に抑制する。これによりCaTの大きさを減じて心筋収縮張力を抑制する。このような特徴からこれらの薬物は Ca^{2+} 拮抗薬と呼ばれている。一方、最近の研究である種の薬物はこれらの $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 調

節過程の種々の段階で選択的に Ca^{2+} 動員機構あるいは細胞内タンパクへの Ca^{2+} 結合を阻害することにより Ca^{2+} を介する細胞内情報伝達系を抑制あるいは遮断することが明らかにされた。これらの化合物も広義の Ca^{2+} 拮抗薬に包含される。

Fleckenstein¹²⁾は心筋細胞膜活動電位と収縮張力を同時に記録しニフェジピンがfast Na^+ channelを介する Na^+ の流入に依存する活動電位の速い立ち上がり相に影響を与えることなしに、活動電位のプラトー相と収縮張力を選択的に抑制することを観察した。さらに $[\text{Ca}^{2+}]_o$ を上昇させるとこれらの抑制効果が拮抗されることを発見した。これらのことからニフェジピンを含むいくつかの有機化合物は心筋細胞膜slow channel(Ca^{2+} チャンネル)を介する Ca^{2+} 流入を選択的に抑制することにより、収縮張力を抑制すると結論した。これらの有機化合物は Ca^{2+} 拮抗薬(calcium antagonists)と命名され、その後、膜電位固定法によるCa電流やパッチクランプ法による単一 Ca^{2+} チャンネル電流のレベルにおける Ca^{2+} 拮抗薬による抑制様態が詳細に分析された。その結果 Ca^{2+} 拮抗薬がチャンネル・タンパクに特異的に結合することによりL型 Ca^{2+} チャンネルを遮断するという概念は一般的に広く受け入れられるところとなった。

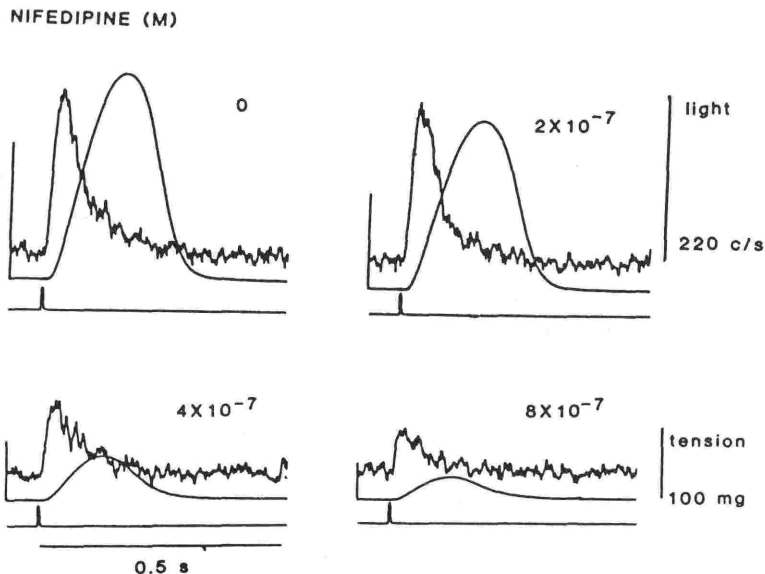


図2 カルシウム拮抗薬ニフェジピンのエクオリン注入ネコ摘出右心室乳頭筋標本のエクオリン光シグナルと収縮張力に対する濃度依存性効果。刺激頻度は0.25 Hz。(文献13より引用)

Ca^{2+} 拮抗薬の心筋細胞に対する抑制作用は非常に選択性が高い。すなわち、 Ca^{2+} 拮抗薬は膜電位依存性 Ca^{2+} チャンネルの開口確率を減少させる濃度では細胞膜 Na^+ - Ca^{2+} 交換機構、SR における Ca^{2+} の遊離・取り込み速度、カルモデュリンへの Ca^{2+} の結合・解離、ミトコンドリアへの Ca^{2+} 取り込みなどの機構には影響を与えない。したがって、 Ca^{2+} 拮抗薬により CaT および収縮張力のピークは抑制されるがそれらの時間経過は変化しない (図 2)¹³⁾。

Ca^{2+} 拮抗薬と $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 。変化の類似点と相異点

前述のように $[\text{Ca}^{2+}]_i$ は、脱分極による Ca チャンネル開口時に細胞内外の Ca^{2+} 電気化学的勾配を駆動力として細胞内に流入する。したがって Ca^{2+} 拮抗薬の収縮張力抑制作用は $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 減少による抑制効果および K^+ チャンネル開口による活動電位持続時間減少による収縮抑制 (ACh, adenosine, K^+ channel opener などによる) と現象的には識別しえない。 Ca^{2+} 拮抗薬と後二者との作用の顕著な相違は Ca^{2+} 拮抗薬の心筋収縮抑制作用が刺激頻度依存性に発揮されるという点である。後二者の抑制作用は刺激頻度に関係なく発揮されるので頻度と収縮張力の関係は下方に平行移動する。それに対して Ca^{2+} 拮抗薬による抑制作用は刺激頻度が高いほど著明となる。すなわち Ca^{2+} 拮抗薬のチャンネルに対する作用は局所麻酔薬の Na^+ チャンネルに対する効果と同様に “use-dependent” である。これは Ca^{2+} 拮抗薬分子が開口状態にある Ca^{2+} チャンネルよりも閉口状態あるいは不活性化状態にある Ca^{2+} チャンネルにより高い親和性をもつことによる。また細胞外液中において Ca^{2+} 拮抗薬分子は生理的 pH では高い比率で解離 (イオン化) しているためにその作用部位に到達できず、膜電位が深いときには効果的な抑制効果を発揮出来ないことによると考えられている。ジヒドロピリジン Ca^{2+} 拮抗薬の結合部位への親和性とそれらの化合物の機能抑制効果とのあいだには千倍近いへだたりがある。通常結合実験は破碎細胞膜標本でおこなわれるため膜電位がゼロすなわち脱分極時の膜電位で施行される。このために生筋に対するよりも高い結合親和性が得られることによると考えられる¹⁴⁾。

麻酔薬の E-C coupling に対する作用修飾機序

ハローセン (Halothane) はエクオリンを注入した摘出ネコ乳頭筋において活動電位持続時間にほとんど影響することなしに CaT を抑制する。 Ca^{2+} 拮抗薬との相違点はその抑制効果が刺激頻度非依存性に生ずることである。Halothane の抑制効果は $[\text{Ca}^{2+}]_i$ の上昇により拮抗される。またその抑制効果は Ca^{2+} 拮抗薬のそれと相加的である¹⁵⁾。

一方骨格筋細胞において enflurance は CaT 抑制効果とともに Ca^{2+} 感受性増強作用を有する¹⁶⁾。麻酔薬の E-C coupling に対する効果および Ca^{2+} 拮抗薬と心筋収縮性に対する相互作用の詳細も今後の研究の積み重ねによって解明されなければならない重要な課題のひとつである。

文 献

- 1) Ebashi, S., Endo, M.: Calcium ion and muscle contraction. *Prog. Biophys. Mol. Biol.* 2:351-384, 1968.
- 2) Blinks, J. R., Endoh, M.: Modification of myofibrillar responsiveness to Ca^{2+} as an inotropic mechanism. *Circulation* 73 (suppl III): III-85-III-98, 1986.
- 3) Blinks, J. R.: Intracellular $[\text{Ca}^{2+}]_i$ measurements. In: *The Heart and Cardiovascular System*, eds. H. A. Fozzard et al., Raven Press, New York (1986), p. 671-701.
- 4) Morad, M., Goldman, Y.: Excitation-contraction coupling in heart muscle: membrane control of development of tension. *Prog. Biophys. Mol. Biol.* 27:257-313.
- 5) Reiter, M. Calcium mobilization and cardiac inotropic mechanisms. *Pharmacol. Rev.* 40: 189-217, 1988.
- 6) Endoh, M., Blinks, J. R.: Actions of sympathomimetic amines on the Ca^{2+} transients and contractions of rabbit myocardium: reciprocal changes in myofibrillar responsiveness to Ca^{2+} mediated through α - and β -adrenoceptors. *Circ. Res.*, 62:247-265, 1988.
- 7) Kurihara, S., Konishi, M.: Effects of β -adrenoceptor stimulation on intracellular Ca transients and tension in rat ventricular muscle. *Pfluegers Arch.*, 409:427-437, 1987.
- 8) Okazaki, O., Suda, N., Hongo, K., Konishi, M., Kurihara, S.: Modulation of Ca^{2+} transients and contractile properties by β -adrenoceptor stimulation in ferret ventricular muscles. *J. Physiol.*, 423:221-240, 1990.
- 9) Yatani, A., Imoto, Y., Codina, J., Hamilton, S. L., Brown, A. M., Birnbaumer, L.: The stimulatory G protein of adenylyl cyclase, G_s , also stimulates

- dihydropyridine-sensitive Ca^{2+} channels. Evidence for direct regulation independent of phosphorylation by cAMP-dependent protein kinase or stimulation by dihydropyridine agonist. *J. Biol. Chem.*, **263**:9887-9895, 1988.
- 10) Brown, A.M., Yatani, A., Codina, J., Birnbaumer, L.: Direct G protein gating of cardiac K and Ca channels. In: Hondeghem, L. (ed.): *Molecular and Cellular Mechanisms of Antiarrhythmic Agents*, Futura Publishing Co. Inc., Mount Kisco, N. Y., pp. 73-80, 1989.
- 11) Endoh, M.: Frequency-dependent inhibition of the intracellular calcium transients by calmodulin antagonists in the aequorin-injected rabbit papillary muscle. *Adv. Exp. Med. Biol. (Calcium Protein Signaling, ed. by H. Hidaka)* **255**: 461-470, 1989.
- 12) Fleckenstein, A.: Specific Pharmacology of calcium in myocardium, cardiac pacemakers, and vascular smooth muscle. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **17**:149-166, 1977.
- 13) Morgan, J. P., Wier, W. G., Hess, P., Blinks, J. R.: Influence of Ca^{++} -channel blocking agents on calcium transients and tension development in isolated mammalian heart muscle. *Circ. Res.* **52** (suppl 1):47-52, 1983.
- 14) Sanguinetti, M. C., Kass, R. S.: Voltage-dependent block of calcium channel current in the calf cardiac Purkinje fiber by dihydropyridine calcium channel antagonists. *Circ. Res.* **55**:336-348, 1984.
- 15) Bosnjak, Z. J., Kampine, J. P.: Effects of halothane on transmembrane potentials, Ca^{2+} transients, and papillary muscle tension in the cat. *Am. J. Physiol.*, **251**:H374-H381, 1986.
- 16) Kurihara, S., Konishi, M., Miyagishima, T., Sakai, T.: Effects of enflurane on excitation-contraction coupling in frog skeletal fibers. *Pfluegers Arch.* **402**:345-352, 1984.

Intracellular Ca^{2+} and Cardiac Contractility: Modulation by Ca^{2+} Antagonists

Masao Endoh

Department of Pharmacology, Yamagata University School
of Medicine, 990-23 Yamagata

Intracellular Ca^{2+} ($[\text{Ca}^{2+}]_i$) plays a central role for the excitation-contraction coupling (E-C coupling) in myocardial cells. Application of the Ca^{2+} sensitive bioluminescent protein aequorin or fluorescent dyes fura-2 and indo-1 made it possible to analyze the role of $[\text{Ca}^{2+}]_i$ in regulation of E-C coupling in intact myocardial cells. In mammalian cardiac muscle, Ca^{2+} influx through L-type Ca^{2+} channels is important as a source to fill the Ca^{2+} releasable store in the sarcoplasmic reticulum available for activation of contractile proteins and/or as a trigger of Ca^{2+} -induced Ca^{2+} release mechanism. Organic Ca^{2+} antagonists decrease the Ca^{2+} influx through L-type Ca^{2+} channels to result in reduction of the amplitude of intracellular Ca^{2+} tran-

sients, and thereby cause a negative inotropic effect. While characteristics of myocardial depression caused by these compounds are therefore essentially the same as those elicited by either lowering the extracellular Ca^{2+} concentration, recently developed K^{+} channels openers, or some volatile anesthetic agents, Ca^{2+} antagonists produce a characteristic frequency-dependent depression of contractility because of their higher affinity to open or inactivated channels compared to the channel in the closed state. In addition, some Ca^{2+} antagonists (e. g., dihydropyridines) show a higher selectivity to vascular smooth muscle cells compared to myocardial cells, the underlying mechanism of which is still unknown and awaits further study.