

特集

冠循環ならびに心筋細胞の防御機構における アデノシン受容体の役割

三浦 哲嗣*

アデノシンの心血管系への効果に関する研究は1920年代にさかのぼることができるが、1978年にBurnstockがプリン受容体をP1ならびにP2受容体に分類して以来、その生理的役割と機構の解明が展開するようになった。ことにP1受容体すなわちアデノシン受容体は、心筋虚血/再灌流の際に内因性の防御機構としても重要な役割をはたす可能性が最近注目されている。本稿では心筋/冠循環系におけるアデノシンの動態ならびにアデノシン受容体の役割について概説する。

アデノシンの産出

心筋において産生されるアデノシンの直接の前駆物質はAMPとS-adenosylhomocysteine (SAH)である (Fig.1)。種々の条件下でAMPとSAH

のそれぞれがどの程度アデノシン産生に寄与するかは詳細が明らかではない。しかし、SAH-hydrolaseによる反応は可逆性であり、むしろSAH産出に傾いていることから、心筋におけるアデノシン産生は5'-nucleotidaseによるAMPからのものが主たる経路と考えられている。

5'-Nucleotidaseにはcytosolic 5'-nucleotidaseならびに細胞膜にecto 5'-nucleotidaseとして存在するものがあり、その局在の他にも前者のKmがより大きいこと、またcytosolic 5'-nucleotidaseはATPやADPにより活性化するのに対し、ecto 5'-nucleotidaseはそれらのヌクレオチドによりむしろ抑制されるなどの違いが知られている。心筋でのアデノシン産生にはcytosolic 5'-nucleotidaseがより大きく寄与していると考えられているが、

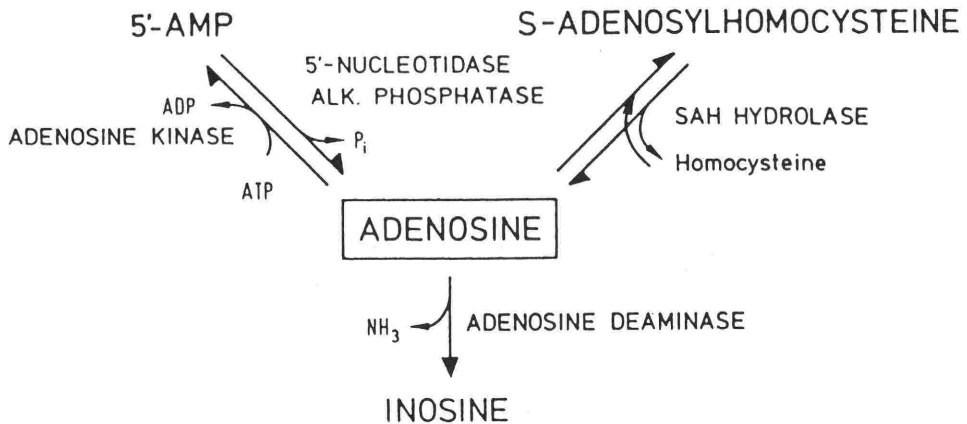


Fig. 1 Pathways of adenosine metabolism in the heart (Schutz et al. 1981)

*札幌医科大学医学部第二内科

その活性とアデノシン産生調節との関連についても詳細は明らかではない。Olsson and Bungert¹⁾はアデノシン産生は cytosolic 5'-nucleotidase の活性ではなく、むしろ基質である free AMP の濃度により制御されていることを提唱している。すなわち、myokinase による反応、 $2ADP \leftrightarrow ATP + AMP$; $[AMP]_{free} = K_{MK} [ADP]_{free}^2 / [ATP]_{free}$ を考えると、心筋酸素需要の増大により ATP ポテンシャル ($[ATP]_{free} / [ADP]_{free} [Pi]_{free}$) がわずかでも減少すると $[AMP]_{free}$ 、すなわち cytosolic 5'-nucleotidase の基質が増加する。細胞質に存在する free AMP はナノモルのオーダーであるのに対し cytosolic 5'-nucleotidase の AMP に対する K_m は桁違いに大きいことからアデノシン産生が cytosolic 5'-nucleotidase 活性の変化により調節されているとは考えがたいとしている。しかし、心筋虚血の際には ecto 5'-nucleotidase 活性の増大がアデノシン産生に寄与することを示唆する成績も最近報告されている。

心筋間質アデノシン濃度の調節

アデノシン受容体は組織間質のアデノシンにより活性化される。従って、間質アデノシン濃度の測定はアデノシン受容体の機能を解析する上で極めて重要であるが、心臓においても数多くの要因が間質アデノシンレベルに影響を与えること、またその直接的な測定が方法論的に可能でないことが、研究の上での大きな問題となっている。心筋間質アデノシン濃度を規定するものには、細胞内におけるアデノシンの代謝、細胞膜内外への単純拡散、nucleoside transporter²⁾による輸送がある。細胞内でアデノシンは adenosine kinase によるリン酸化により AMP に、また adenosine deaminase によりイノシンへ代謝される。Adenosine kinase は adenosine deaminase に比し K_m が小さいが、 V_{max} は adenosine deaminase の方がむしろ大きい。このため、細胞内アデノシンレベルが上昇するとリン酸化よりも脱アミノ化が優位となり、その結果イノシンが増加し、ヒポキサンチンへの代謝後、あるいはそのままの形で細胞外へ流出する。

Nucleoside transporter はアデノシンなどのヌクレオシドを stereoslective に認識し、両方向性輸送を行なっている。細胞内で産生されたアデノシンがアデノシン受容体に到達するため、また間

質からアデノシンが除去されてその作用を終えるためにも nucleoside transporter の意義は大きいと考えられる。

心筋間質アデノシンは先に述べたように心筋細胞の AMP に由来するものが多いと考えられるが、心筋虚血の際には、細胞内の AMP に加えて血管内皮細胞、交感神経より放出される ATP の関与も推定されている。すなわち、心筋間質に放出された ATP が ecto-ATPase ならびに ecto 5'-nucleotidase によりアデノシンとなる経路である。細胞膜を透過しない 5'-nucleotidase 阻害薬である adenosine 5'-methylenediphosphate (AOPCP) の処理により虚血心筋でのアデノシン産生ならびに反応性充血 (reactive hyperemia) が抑制されるという成績³⁾はこの仮説を支持する。

アデノシン受容体の分類とその効果器

アデノシン受容体はアデノシンアナログの相対活性順位と adenylylase 活性への影響の違いより A1受容体と A2受容体に分類される。すなわち、A1受容体では活性順位は R-PIA > adenosine > NECA となり、その刺激により adenylylase が抑制され cAMP レベルが低下するのに対し、A2受容体では活性順位は NECA > adenosine > R-PIA であり A2受容体の刺激は adenylylase を活性化し cAMP を増加させる。さらに、カップリングする G 蛋白も A1受容体、A2受容体ではそれぞれ G_i , G_s と異なっていることが明らかとなっている。

さらに A1, A2受容体とは異なるアデノシン受容体が運動神経終末と心臓に存在することを Riberiro ら⁴⁾が報告し A3受容体と名付けている。この受容体でのアデノシンアナログの相対活性順位は A1, A2受容体いずれのものとも一致せず、またその活性化は adenylylase に影響をあたえないが、神経終末や心筋細胞への Ca^{++} 流入を抑制するといわれている。この受容体の分布や機能についての検討も今度の課題となっている。

新しいアデノシンアナログを用いて、その構造と各受容体での活性との関連が詳細に検討された結果、A2受容体はさらに細分類できることが示唆されている。Bruns ら⁵⁾は非選択的な A2受容体リガンドである NECA に対し親和性の高い A2a 受容体と低い A2b 受容体の存在を提唱した

が、最近では A2a 受容体を選択性の高いリガンドの報告もいくつか見られる。一方、A1受容体に関しても subtype (A1a, A1b 受容体) の存在を示唆する成績が神経組織において得られているが、この考えはまだ一般的には受け入れられていない。

アデノシン受容体の分類に関するの大きな進展のひとつはその構造の解明である。現在まで、7種類のアデノシン受容体(ラット、イヌ、ウシの A1受容体, ラットの A2a 受容体, ラットの A2b 受容体, ラットの TGPCR/A3受容体)がクローニングされその一次構造が明らかにされている⁶⁾。これらはいずれも心血管系の組織から得られたものではないが、COS cell や Xenopus oocyte に express させた場合の薬理学的な特徴からは心血管系のアデノシン受容体と同一であることが示唆されている。

アデノシン受容体、ことに A1受容体の機能は極めて多岐にわたっており、その理由としては、前述のように A1受容体に subtype が存在することも否定できないが、同一あるいは同様な受容体が組織により異なった G 蛋白あるいは効果器を作動させているとも考えられる。A1受容体と adenylate cyclase 以外の効果器との連関の例を Table 1 に示す。

冠動脈循環におけるアデノシンの役割

局所血流量の調節にアデノシンの役割が最も大きいと考えられている臓器は心臓であるが、その詳細は必ずしも明らかではない。アデノシンの血

管拡張作用が冠循環調節に関与しているとする根拠には、(1)心筋酸素消費を変化させた場合、心筋酸素消費量と冠血流量ならびに心筋間質アデノシン濃度の指標 (pericardial perfusate のアデノシン濃度など) との間に正の相関関係が認められること、(2)ノルエピネフリン投与や心臓ペースングによる冠血流量の増加や、一過性虚血や hypoxia 後の反応性充血が、アデノシン受容体の遮断や adenosine deaminase による内因性アデノシンの分解により有意に抑制され、(3)アデノシンの細胞内への取り込みやアデノシンの分解の抑制する薬剤により逆に増強することが挙げられる。

先に述べたようにアデノシンの産生は ATP ポテンシャルを介して心筋酸素需要と連関しており、また組織アデノシンレベルは収縮期に上昇、拡張期に低下するとの成績もある。これらのことからアデノシンが冠循環調節に係わることが窺われるが、その冠血管系の basel tone や、冠血流量の自動調節における役割に関してはむしろ否定的であることを示唆する成績が多い^{7,8)}。例えば、冠動脈灌流圧を変化させた場合の冠血流量は adenosine deaminase による処置に影響されない⁷⁾。さらにまた、心筋酸素消費量とアデノシンの放出、冠動脈血流量の変化の関係も必ずしも一定ではなく、心筋仕事量を増加させる刺激の種類によって異なる。例えば、麻酔開胸犬においてノルエピネフリンの冠動脈内投与により冠静脈血のアデノシンは増加するが、心臓ペースングではそのようなアデノシン放出の増加は見られないとする報告⁹⁾

Table 1 Effectors of A1 receptors other than adenylate cyclase

Effector and effect of A1 agonists	Tissue
Activation of K-Ach channels	Atria, Striatal neurons
Activation of K-ATP channels	Heart
Inactivation of Ca ²⁺ channels	Dorsal root ganglia
Stimulation of Cl ⁻ conductance	Hippocampal dendrites
Enhanced glucose transport	Adipose tissue
Increased inositol phosphates	Guinea pig cortex, Vas deferens
Decreased inositol phosphates	Mouse cortex, Brown fat
Activation of Na ⁺ /Ca ²⁺ exchange	Heart

や、覚醒犬での実験では運動による心拍数ならびに冠血流の増加にアデノシン放出の増加が伴っていないかとする報告¹⁰⁾もある。イソプロテレノールの持続投与により心筋酸素消費を増加させた場合にアデノシンの放出増加は一過性であり¹¹⁾、また冠血流増加に対する adenosine deaminase の効果もその初期相を抑制するのにとどまること¹²⁾も、アデノシンのみでは代謝性の冠血流調節を説明できないことを示唆する。

従って、アデノシンは hypoxia や虚血に対する冠血流変化の機序に重要な役割を担っていることは確かであり、酸素供給が制限されていない条件では冠拡張の initiation に寄与すると考えられるが、心筋酸素消費増加による持続的冠血管拡張におけるアデノシンの役割は確かとは言えない。この点に関しては、アデノシンとその他の内因性冠血管拡張因子、ことに EDRF、CO₂ やカリウムとの相互作用が重要であるのかも知れない。

心拍数並びに房室伝導の制御

生理的条件下で心筋間質に存在するアデノシンが洞結節あるいは房室結節の制御に寄与しているか否かは未だに明らかではない。しかし、hypoxia や虚血の際には洞結節あるいは房室結節の機能に影響を与える程度のアデノシンが蓄積すると推定されている。洞結節のペースメーカー細胞に対するアデノシンの negative chronotropic action は A1 受容体を介したものであり、最大拡張期電位の低下と活動電位第 4 相の勾配が低下させることによる。房室伝導に対するアデノシンの効果も A1 受容体とカリウムチャネルを介したものであろうと推定されている。

アデノシンの Negative Inotropic Action

アデノシンは心室筋の収縮力には影響を与えないが、心房筋の活動電位を短縮し収縮力を低下させる。その機序は、少なくともモルモットの心房筋においては、K⁺外向き電流の増加と Ca⁺⁺チャネルの抑制によることが報告されている。

アデノシンによるカテコールアミン作用の修飾

交感神経活性が亢進する際、アデノシンはカテコールアミンの作用が心仕事量の過剰な増加をもたらさないように、その効果を抑制する negative

feedback の一端を担っていると考えられてきた。このアデノシンによる negative feedback は、交感神経末端からのノルエピネフリンの放出を抑制するというシナプス前のレベル、また活性化した adenylate cyclase を抑制するというシナプス後のレベルで作用する。しかし、この機序の存在を示唆する成績は心筋標本あるいは crystalloid により灌流された摘出心標本で得られており、またその殆どは嚙歯類の心臓を用いて行なわれたものである。一方、*in vivo* での麻酔開胸犬や覚醒犬を用いた検討では、アデノシン受容体刺激による交感神経作用の抑制は必ずしも明確ではなく、アデノシンあるいは A1 受容体アゴニストである R-PIA の冠動脈内投与が、イソプロテレノールの positive inotropic action をむしろ僅かながら増強するとの報告さえみられている¹³⁾。アデノシンの抗交感神経作用が *in vitro* では明らかなのに対し、*in vivo* でみられないこと理由は明らかにされていない。しかし *in vivo* においても、心筋虚血領域では β 刺激による収縮性の増加をアデノシンが抑制していることを最近、Sato ら¹⁴⁾が見いだした。さらに彼らは、その機序がノルエピネフリンの放出抑制とは異なることを示唆する興味深い成績を報告している。

また逆に、カテコールアミンが心筋でのアデノシン動態を修飾していることも示唆されている。すなわち、 α 1 受容体遮断により虚血心筋からのアデノシン放出は抑制され、またアデノシンによる血管拡張は α 2 受容体刺激で増強し α 2 受容体遮断で減弱する¹⁵⁾。従って、カテコールアミンは α 受容体の活性化を介して心筋虚血時のアデノシン産生ならびにその効果に促進的に作用している可能性がある。

アデノシンによる心筋虚血/再灌流障害の抑制

冠循環制御の他にもアデノシンの重要な機能として心筋虚血/再灌流障害の抑制が考えられている。冠動脈閉塞による心筋虚血の際には交感神経が活性化されるが、先に述べたように、心筋虚血領域における β 刺激による収縮性の増加をアデノシンは抑制し、心筋酸素消費の増加を抑制することにより虚血心筋細胞を保護している可能性がある。また、Kitakaze ら¹⁶⁾は冠灌流圧の低下させて局所血流を約 5 分の 1 にした場合、アデノシンの

著明な放出とともに局所血流は同程度に保たれるが、アデノシン受容体の拮抗的阻害薬である 8-phenyltheophylline (8-PT) で前処置した後に同じ操作を行なうと、局所血流は漸減し、微小血管系には血栓形成が観察されることを報告している。さらにその8-PTによる局所血流の低下ならびに血栓形成は dibutyryl cAMP や forskolin により抑制された。これらの成績は、心筋低灌流状態で産生されるアデノシンが血小板の A2受容体を刺激し、その凝集を抑制することにより虚血心筋での微小循環を保つ上でも重要な役割を有していることを示すものである。

多核白血球に対するアデノシンの作用も心筋保護に関与する可能性がある。虚血/再灌流域では多核白血球が活性化されており、その産生する活性酸素や過酸化水素は細胞障害性が高く、心筋組織破壊に寄与すると考えられる。多核白血球には A2受容体が存在し、その活性化によって多核白血球の活性酸素産生ならびに血管内皮への接着は抑制される。また血小板と多核白血球の相互作用が再灌流後の no-reflow 現象を引き起こすことも示唆されている。従って、心筋細胞が可逆性障害にある領域では放出されたアデノシンが多核白血球、血小板などのアデノシン受容体を活性化し、活性酸素による細胞障害ならびに微小循環障害を軽減している可能性もある。もし、そうであれば再灌流はアデノシンを虚血域より washout することにより、多核白血球や血小板による心筋ならびに微小血管の障害をむしろ増悪させ得る。この仮説は再灌流時にアデノシン投与することにより、心筋壊死の抑制と、局所壁運動ならびに局所血流量の改善が見られた Olafsson ら¹⁷⁾の報告に支持される。しかし、家兎を用いた我々の実験¹⁸⁾、ならびに最近の Vander Heide ら¹⁹⁾の犬を用いた検討では、Olafsson らと同様な成績は認められず、これら成績の不一致の理由は不明である。

心筋虚血障害とアデノシンとの関連でも最近新たに注目されているものに preconditioning²⁰⁾、すなわち短時間虚血による心筋虚血耐性の増強がある。例えば、家兎において30分の冠動脈閉塞により虚血域心筋の約50%は梗塞に陥るが、それに先立ち5分間虚血/5分間再灌流を施しておく、30分虚血後の梗塞量は20%以下に抑制される。この preconditioning 効果は種々のアデノシン受容

体拮抗薬で阻害され、A1受容体アゴニストで疑似されるが A2受容体アゴニストにはそのように心筋保護作用が見られないことから、A1受容体が preconditioning の機序の重要なメディエーターであると推測されている。A1受容体の活性化がいかなる心筋代謝の変化を導いて心筋虚血耐性を増強するのかは明らかにされていないが、ATP sensitive K channel の役割を示す成績、また C キナーゼの活性化の関与を示唆する preliminary な成績がごく最近報告されており、今後の研究の展開が期待される。

おわりに

近年、アデノシン受容体の構造と機能について多くの知見が集積された。しかし、生理的ならびに虚血などの病的な条件におけるアデノシン受容体各サブタイプの意義、カテコールアミンなど他の循環調節因子との相互作用の詳細、preconditioning での役割、またアデノシンアナログの治療薬としての可能性など、アデノシン受容体に関して興味深い課題は数多く残されているように思われる。

文 献

- 1) Olsson, R. A. and Bünger, R.: Metabolic control of coronary blood flow. *Prog Cardiovasc Res* **29** : 369-387, 1987.
- 2) Paterson, A. R. P., Harley, ER, Cass, C. E.: Measurement and inhibition of membrane transport of adenosine. *Methods in Pharmacology*, vol 6. Edited by Paton, D. M., New York, Plenum, 1985, pp 165-180.
- 3) Imai, S., Nakazawa, M, and Imai, M. et al.: 5'-Nucleotidase inhibitors and the myocardial reactive hyperemia and adenosine content. *Topics and perspectives in adenosine research*. Edited by Gerlach, E. and Becker, B. F., Berlin, Springer-Verlag, 1987, pp416-24.
- 4) Riberiro, J. A., Sebastiao, A. M.: Adenosine receptors and calcium : basis for proposing a third (A3) adenosine receptor. *Prog Neurobiol* **26** : 176-209, 1986.
- 5) Bruns, R. F., Liu, G. H., Pugsley, T. A.: Characterization of the A2 adenosine receptor labeled by [³H] NECA in rat striatal membranes. *Mol Pharmacol* **29** : 331-46, 1986.
- 6) Tucker, A. L., Linden, J.: Cloned receptors and cardiovascular response to adenosine. *Cardiovasc Res* **27** : 62-67, 1993.
- 7) Dole, W. P., Yamada, N., Bishop, V. S. et al.: Role of adenosine in coronary blood flow regulation after reductions perfusion pressure. *Circ Res* **56** : 517-524, 1985.
- 8) Hanley, F. L., Gattan, M. T., Stevens, M. B. et al.: Role

- of adenosine in coronary autoregulation. *Am J Physiol* **250** : H558-H556, 1986.
- 9) Manfredi, J. P., Sparks, Jr., H. V.: Adenosine's role in coronary vasodilatation induced by atrial pacing and norepinephrine. *Am J Physiol* **243** : H536-H545, 1982.
 - 10) Bache, R. J., Dai, X-Z, Schwartz, J. S., et al.: Role of adenosine in coronary vasodilation during exercise. *Circ Res* **62** : 846-853, 1988.
 - 11) Dewitt, D. F., Wangler, R. D., Thompson, C. I., et al.: Phasic release of adenosine during steady state metabolic stimulation in the isolated guinea pig heart. *Circ Res* **53** : 636-643, 1983.
 - 12) Gewirtz, H., Olsson, R. A., Most, A. S.: Role of adenosine in mediating myocardial blood flow response to isoproterenol : observaton in closed chest, sedated, domestic swine. *Cardiovasc Res* **20** : 504-511, 1986.
 - 13) Seitelberger, R., Schutz, W., Schlappack, et al.: Evidence against the adenosine catecholamine antagonism under in vivo conditions. *Nauuyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* **325** : 234-239, 1984.
 - 14) Sato, H., Hori, M., Kitakaze, M. et al.: Endogenous adenosine blunts β -adrenoceptor-mediated inotropic response in hypoperfused canine myocardium. *Circulation* **85** : 1594-1603, 1992.
 - 15) Katakaze, M., Hori, M., Kamada, T.: Role of adenosine and its interaction with α adrenoceptor activity in ischemic and reperfusion injury of the myocardium. *Cardiovasc Res* **27** : 18-27, 1993.
 - 16) Katakaze, M., Hori, M., Sato, H. et al.: Endogenous adenosine inhibits platelet aggregation during myocardial ischemia in dogs. *Circ Res* **69** : 1402-1408, 1991.
 - 17) Olafsson, B., Forman, M. B., Puett, D. et al.: Reduction of reperfusion injury in the canine preparation by adenosine : Importance of the endothelium and the no-reflow phenomenon. *Circulation* **76** : 1135-45, 1987.
 - 18) Goto, M., Miura, T., Iliodoromitis, E. K. et al.: Adenosine infusion during early reperfusion failed to limit myocardial infarct size in a collateral deficient species. *Cardiovasc Res* **25** : 943-949, 1991.
 - 19) Vander Heide, R. S., Jennings, R. B., Reimer, K. A.: Intravenous adenosine before reperfusion does not limit infarct size after 90 minutes of ischemia in dogs. *FASEB J* **7** : A193, 1993.
 - 20) Miura, T., Iimura, O.: Infarct size limitation by preconditioning : its phenomenological features and the key role of adenosine. *Cardiovasc Res* **27** : 36-42, 1993.