“心筋機能不全の生化学” 病的心筋における細胞内カルシウムハンドリング ——異常カルシウム流入と弛緩障害——

Abnormal Intracellular Calcium Handling as a Cause of Diastolic Dysfunction in the Failing Myocardium

富山医科薬科大学 第二内科

木原 康樹・篠山 重威

Beth Israel Hospital and Harvard Medical School

James P. Morgan

Second Department of Internal Medicine, Toyama Medical and Pharmaceutical University, and Cardiovascular Division, Department of Medicine, Beth Israel Hospital and Harvard Medical School*. Yasuki Kihara, Shigetake Sasayama, James P. Morgan*

〔目 的〕

近年、弛緩・拡張障害は心不全の二次的修飾因子であるのみならず、心筋障害の初期より観察される基本的病態の1つであることが明らかにされて来た。この機能障害は血行力学上、等容弛緩期左室圧減衰時間の延長や、拡張期左室圧—容積関係の上方偏位として定量的に把握されるが、しばしば病態の改善あるいは増悪に伴って変化することが観察され、可逆的な要素を含むものであることが示唆されている^{1,2)}。しかしながらその機序は現在の処、明かでない。我々は細胞内カルシウム(Ca^{2+})指標として、発光蛋白エクオリンを用いた実験系により、病的心筋における細胞内 Ca^{2+} 動態の研究を行ってきた。心筋を急性虚血にさらすと細胞内 Ca^{2+} は急速に上昇し、収縮蛋白に対する脱感作用が介在しなければ Ca^{2+} 上昇に伴って左室拡張期圧も上昇することが示された³⁾。また特殊な拡張障害を呈する心室細動では細胞内 Ca^{2+} の著しい上昇と持続性振動が生じていることが観察された⁴⁾。これらの結果は Ca^{2+} 動態の異常が弛緩・拡張能を規定する因子である可能性を示している。本研究においては慢性心不全での Ca^{2+} 動態の異常を、慢性犬を用いたうっ血性心不全モデル²⁾の心筋切片、及び心移植を供受した末期心不全患者の摘出心筋^{5,6)}において明らかにし、更に薬理学的手法によって、異常 Ca^{2+} 動態のシュミレーションを試みた。

〔方 法〕

対象：雑種成犬(12~20 kg, $n = 6$)に石坂らの方法²⁾により2週間頻拍右室ペーシングを加えうっ血性心不全を作製した。麻酔下に心臓を摘出し、酸素化溶液中で右室肉柱を切離し標本とした。ヒト不全心筋切片はボストン地域で行われた心臓移植手術時

に摘出された患者心臓の両室(特発性心筋症9例、虚血性心不全4例)より得た⁵⁾。正常ヒト心筋($n = 8$)には、種々の理由で移植に供されなかったドナー心臓が同地域の臓器移植センターより提供された。薬理学的検討には、8~12週令のモルモットより同様に切離された右室乳頭筋($n = 6$)を用いた。

実験設定：切離された心筋切片は、30℃の恒温浴槽内に固定され、酸素化されたKrebs-Henseleit溶流灌流下に3秒毎の電気刺激により等尺収縮を行わせた。切片の一端はロードセルに接続して発生張力を記録した。浴槽周囲は遮光され、化学的方法⁷⁾により標本表在心筋細胞内に投与した Ca^{2+} 依存性発光蛋白エクオリンの微光を光電子増倍管を用いて測定し、一心拍毎に発生張力と共に記録した。一部の標本では微小電極法(3 M KCl, 先端抵抗15-20 M Ω)にて表在心筋の細胞内電位を測定した。

〔結 果〕

心不全犬心筋の力学特性と細胞内 Ca^{2+} 動態：図1には、上段に正常犬、下段に心不全犬の右室肉柱による発生張力パターンを示す。正常心筋と不全心筋とで、その最大発生張力は、1 mM Ca^{2+} 存在下に、 1.6 ± 0.4 vs. 1.4 ± 0.5 mN/mm²と差を認めなかったが、不全心筋では、時間経過が延長しており、最大張力到達時間は、 272 ± 47 vs. 349 ± 30 msec、80%弛緩時間は 248 ± 49 vs. 311 ± 79 msecとともに有意に大であった。収縮過程の延長に伴い、2相性収縮を呈した例も1例認められた。各パネル下段にこれら筋肉の刺激頻度応答を示す。正常心筋は1 Hzまでの刺激頻度増加に対して陽性変力作用を示した。それに対して、不全心筋では、0.33 Hzを頂点としてそれ以上の刺激頻度では発生張力の低下を認めた。その際の拡張期張力レベルは上昇し、弛緩・

拡張性が制限されていることを示唆している。

図1 正常及び慢性心不全犬の右室心筋切片張力曲線と刺激頻度応答。

図2には、これらの心筋より記録した細胞内 Ca^{2+} トランジェントと張力パターンを示す。正常心筋では、これまで哺乳類心筋で報告されて来た如く一相性の Ca^{2+} トランジェントが認められ、収縮はそれに続いている。それに対して、不全心筋では、正常心筋 Ca^{2+} の頂点の時相 (矢印) に1つのピークが示されるが、その後もう一つドーム状の Ca^{2+} 上昇相があり、全体として Ca^{2+} トランジェントが基線に復するまでの時間は著しく延長している。張力曲線は、常に Ca^{2+} トランジェントの経過に遅れて変化しているのが分かる。

ヒト不全心筋の細胞内 Ca^{2+} 動態：図3左には正常ヒト心筋、右には移植に至った拡張型心筋症患者の心筋より得られた細胞内 Ca^{2+} トランジェントと

図2 正常及び慢性心不全犬の右室心筋切片より記録した細胞内 Ca^{2+} トランジェントと発生張力。

発生張力を示す。両者の張力曲線を比較すると、発生最大張力レベルに差はないものの、不全心筋の時間経過は著しく延長しており、弛緩過程の緩徐化が明かである。 Ca^{2+} トランジェントは、正常心筋ではスパイク状の単相性であるが、不全心筋では、スパイク状の成分 (L_1) の後に巾広い独立した Ca^{2+} 上昇 (L_2) が認められた。これら不全心筋の細胞内 Ca^{2+} と張力における異常は、患者の基礎疾患とは無関係に観察された。以上のヒト不全心筋における所見は、イヌを用いた実験的心不全モデルと類似しており、ともに、収縮後期における異常な Ca^{2+} 上昇の持続が、弛緩特性を障害していると考えられた。

図3 正常及び拡張型心筋症患者より摘出された心室筋切片の細胞内 Ca^{2+} トランジェントと発生張力(文献5より引用)。

薬理学的方法による不全心筋 Ca^{2+} 動態のシュミレーション: DPI 201-106 は, Na^+ チャンネル活性化作用を有する強心薬であるが, ヒト不全心筋の L_2 成分を増強し, 弛緩特性を更に増悪させることが分かった⁸⁾. この薬物をモルモット右室乳頭筋に作用させると, 図 4 左の如く, 不全心筋と同様な 2 相性の Ca^{2+} トランジェントが現れ, 張力曲線は延長し 2 相性収縮を示した. Na^+ チャンネル阻害薬テトロドキシシン (TTX) は, 出現した L_2 成分を抑制し, 張力曲線を正常方向へ短縮した (左上→右上図). それに対して SR (筋小胞体) 機能阻害薬ライアノジンは, 正常のスパイク状 Ca^{2+} 成分を抑制するものの, L_2 成分を抑制せず, 弛緩障害を回復しなかった (左下→右下図). 同じ DPI 201-106 作用下のモル

モット心筋にて, Ca^{2+} チャンネル拮抗剤ベラパミルは, 両 Ca^{2+} 成分を抑制したが, 灌流流中の Ca^{2+} 濃度を上昇させると, L_2 成分は再び出現することが示された.

〔考 察〕

以上の結果は, 1) 慢性不全心筋は, 弛緩・拡張障害をその力学的特徴としており, 2) その機能的障害は, 異常な細胞内 Ca^{2+} 動態により媒介されている事を示している. イヌ不全心モデルは心重量の増加を認めず, これらの異常は付随する心肥大を一次的要因とするものではないと考えられる. また正常心筋を用いて薬理的手法で類似した動態を再現できることは, 不全心筋の異常が不可逆的障害に基づくものではなく, 心筋細胞自体が本来内在している機能

図 4 DPI 201-106 作用下モルモット右室乳頭筋における細胞内 Ca^{2+} トランジェントと発生張力. 上段はテトロドキシシン (TTX), 下段はライアノジンの効果を示す (文献 9 より引用).

図 5 哺乳類心筋細胞における Ca^{2+} ハンドリング (文献 10 より引用).

の特殊な発現である可能性を示唆している。モルモットにおける DPI 201-106 の作用は、異常 Ca^{2+} 動態が、細胞内 Na^+ 活性や、活動電位と関連しており、逆に、SR や細胞膜 Ca^{2+} チャンネルを介する Ca^{2+} コントロールとは直接関係がないことを示していると思われる。このような条件にかなう細胞内機構としては、 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 交換器が挙げられる (図 5)。

図 6 では正常イヌ心筋で同時記録した活動電位と Ca^{2+} トランジェント (上段) を用いて、いくつかの仮定の下に一心周期間の $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 交換の活動様式を推定し下段に表示した。細胞内 Na^+ 濃度を正常値である 10 mM 前後と設定すると、 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 交換電流は心周期を通して内向き (基線下方) 示し、基本的に細胞外へ Ca^{2+} を排出する役割を果たしている。しかしながら、 Na^+ 濃度が 2 倍に上昇した際には電流の方向は、外向き (基線上方) を示し、 Ca^{2+} 流入を介助する逆転した働きを行いうることが示されている。しかも、その際の Ca^{2+} 流入は、収縮後期、 L_2 が示された時相において最大となる。このような推定には、様々な限界があるが、不全心筋における Ca^{2+} 動態の異常が、 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 交換と関係している可能性を支持する所見と考えることが出来る。

[文 献]

- 1) Sasayama S. et al., J. Am. Coll. Cardiol. 1985; 5: 599~606.
- 2) Ishizaka S. et al., Circulation 82 (Suppl III): III-204, 1990.
- 3) Kihara Y. et al., Circ. Res. 1989; 65: 1029~1044.
- 4) Kihara Y. and Morgan J.P., Circ. Res. 1991; 61: 70~76.
- 5) Gwathmey J. K. et al., Circ. Res. 1987; 61: 70~76.
- 6) Kihara Y. and Morgan J.P., J. Mol. Cell Cardiol. 22 (Suppl II): S18, 1990.
- 7) Kihara Y. and Morgan J.P., Biochem. Biophys. Res. Commun. 1989; 162: 402~407.
- 8) Gwathmey J.K. et al., J. Clin. Invest. 1988; 82: 1592~1605.
- 9) Kihara Y. et al., Br. J. Pharmacol. 1989; 96: 927~939.
- 10) Morgan J.P. et al., J. Am. Coll. Cardiol. 1984; 3: 410~418.

図 6 活動電位と細胞内 Ca^{2+} トランジェントの同時記録 (上段) より推定される $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 交換電流 (下段). 細胞内 Na^+ (Na^+_i) の仮定値を 9 ~ 25 mM と変化させている。