K⁺チャネルのしくみ*I*_{K1} (Kir2.1) チャネルの細胞外 K⁺ 依存性の分子機構

柳(石原)圭子*

*I*_{K1} は、心筋の静止電位をカリウムイオン(K⁺)の平衡電位(*E*_K)に近い大きな負電位に維持する、内向き整流性 K⁺ 電流である。*I*_{K1} チャネルの透過性(コンダクタンス)は、活動電位が生じて膜が脱分極すると速やかに失われるが(強い内向き整流性)、これは細胞内のポリアミン、なかでもスベルミンがチャネルを電位依存性にブロックすることによる。ポリアミンによる *I*_{K1} 外向き電流の抑制は、心筋活動電位の特徴である長い脱分極(プラトー相)の主要な形成要因であり、再分極相ではブロックの解放で生じる外向き電流が再分極を加速する。高/低カリウム血症では、*I*_{K1} の二つの特徴的な細胞外 K⁺ 濃度([K⁺])依存性¹⁾によって、心筋の静止電位や活動電位持続時間/再分極が変化する。その一つは、細胞外[K⁺]が変化すると *I*_{K1} の電流-電圧関係が *E*_K の変化とともにシフトする、すなわちポリアミンによるブロックが事実上膜電位と *E*_K の電位差で決まるというものである。もう一つは、開状態の *I*_{K1} チャネルのコンダクタンスが細胞外[K⁺] (の平方根)に比例するというものであり、再分極に寄与する *I*_{K1} 外向き電流の振幅は、細胞内外の[K⁺]勾配の変化に反した増減を示す。本稿では、これらの *I*_{K1} チャネルの性質の分子メカニズムについて、最新の知見を紹介する。

(心電図, 2020 ; 40 : 95-100)

I. はじめに

*I*_{K1} チャネルは、2回膜貫通型の Kir2 サブファミリーに属する Kir2.1, Kir2.2, Kir2.3 サブユニットのホモ/ヘテロ四量体であり(図 1), なかでも

Keywords

- 内向き整流性 K⁺ 電流
- *I*_{K1}
- Kir2.1
- 高カリウム血症
- ポリアミン

久留米大学医学部生理学講座統合自律機能部門
(〒830-0011 福岡県久留米市旭町 67 番地)

*は責任者を示す

KCNJ2 遺伝子がコードする Kir2.1 が中心的役割を担う²⁾。*I*_{K1} は様々な細胞に見られる古典的 inward 整流性 K⁺ 電流に対する心筋独自の名称であり、心筋電気生理学研究の初期にイギリスの D. Noble が Purkinje 線維(細胞)の 2 種類の K⁺ 電流の一つとして示したことに由来する³⁾。*I*_{K1} は、膜が脱分極すると流れるべき外向き電流が瞬時に抑制される inward 整流性 K⁺ 電流であり、もう一種類の K⁺ 電流は、膜が脱分極すると遅れて活性化されるために外向き整流性を示す遅延整流性 K⁺ 電流である(*I*_{K2} の名称は現在使われていない)。*I*_{K1} チャネルの開口は、作業心筋である心室筋や心房筋、特殊心筋である

Molecular Mechanisms Underlying the Extracellular K⁺ Dependences of I_{K1}

Keiko Ishihara

図1 Kir2チャネルの構造モデル

左は側面から、右上は上から、右下は下から見た構造モデル(PDB 3JYC)であり、ポリアミン結合に関与するアミノ酸残基(Kir2.1ではD172, E224, E299)を赤で示した。K⁺選択フィルター内の4つのK⁺結合部位のうちの2カ所に位置するK⁺を緑で示した。長いイオン透過路中にはさらに多くのK⁺(陽イオン)結合部位の存在が推定されている^{8), 17)}。

Purkinje線維の静止電位を E_K 近傍の大きな負電位に維持することで、これらの細胞で活動電位を引き起こす電位依存性ナトリウム(Na⁺)チャネルの不活性化を防いで心筋組織内に速い興奮伝播を引き起こす。一方の遅延整流性K⁺チャネルは、 E_K 付近の負電位では閉じ、膜電位の E_K からのずれ(脱分極)を感知すると開いて、膜電位を E_K へ戻す再分極を引き起こす。

II. 内向き整流性(外向き電流抑制)のメカニズム

Kir2チャネルは電位依存性チャネルに見られる膜電位センサーを有さず、電位変化が引き起こすチャネルの構造変化(ゲーティング)が直接K⁺透過を抑制することはない。その強い内向き整流性はあらゆる細胞に内在するポリアミン、なかでも生理的な細胞内pHでは炭化水素鎖の両端と途中にある4個のアミノ基がほぼすべて正に帯電しているスぺルミン

(図1)が、膜電位が正(細胞外が負電位)になると静電的な相互作用によって細胞内からチャネルに進入し、K⁺選択フィルターを通過できずに留まり、K⁺透過をブロックするために生じる(電位依存性ブロック)⁴⁾。ブロックはポリアミン濃度依存性であり、高濃度では内向き電流も抑制される。心室筋 I_{K1} の電流-電圧関係は、Kir2.1やKir2.2チャネルを発現する細胞膜片に接する細胞質液に5~10 μ M程度のスぺルミンを加えると再現され^{5), 6)}、これは I_{K1} チャネル近傍の膜直下の遊離スぺルミン濃度だと推定される⁷⁾。

Kir2チャネルは大きな細胞質領域を含む長いイオン透過路をもち、膜領域のK⁺選択フィルター内側の中心腔と細胞質領域の2カ所に輪状に存在する負電荷がポリアミンの結合に関与する⁸⁾(図1)。ポリアミンによるブロックの電位依存性は単純ではなく、電流にはブロックに対する感受性が異なる少な

図2 I_{K1} の2つの細胞外 $[K^+]$ 依存性とその心室筋活動電位への影響

A: I_{K1} の電流-電圧関係は、細胞外 $[K^+]$ が変わると E_K (逆転電位)の変化とともに移動し、その振幅は細胞外 $[K^+]$ の平方根に比例して増減する。 I_{K1} はスperミン5 μ M存在下でのKir2.1電流をブロックの理論式⁶⁾を用いて計算し、細胞外 $[K^+]$ 依存性はHagiwaraらの理論式¹⁾により再現した。挿入図は、定説となっている細胞外 K^+ によるブロックのknock-off機構を示す。
B: ヒト心室筋モデル¹⁸⁾で計算した静止電位と活動電位波形、およびその間に流れる I_{K1} と遅延整流性 K^+ 電流(急速活性型、 I_{Kr} ; 緩徐活性型、 I_{Ks})。 I_{K1} モデルは Mg^{2+} ブロックによるトランジェント成分を含む⁹⁾。細胞外 $[K^+]$ の変化によって、静止電位や再分極過程とともに活動電位の立ち上がり速度(0相)も変化している。

くとも2成分が含まれ、 I_{K1} の外向き電流はブロック低感受性の小成分によって生じる^{6), 9)}。高親和性ブロックは中心腔の負電荷に、低親和性ブロックは細胞質領域の負電荷にポリアミンが結合して生じると考えられるが、2成分が生じる理由はよくわかっていない^{5), 10)}。ポリアミンが結合したKir2チャネルの構造はいまだに解かれておらず、ポリアミンによるブロックは定常状態の分布のみならず、キネティクスも複雑であり、鎖状のポリアミンが長いイオン透過路のどこに、どのような形で、何個結合するのか、現時点ではいずれの疑問に対しても明確な結論は得られていない。

Ⅲ. I_{K1} チャネル・ブロックの細胞外 $[K^+]$ 依存性

I_{K1} チャネルの外向き電流は逆転電位近傍で流れるが、膜が大きく脱分極すると完全に抑制される。この電流-電圧関係は細胞外 $[K^+]$ が変化すると E_K

の変化とともに移動し、あたかも内向き整流性が「 K^+ の流れ」によって生じるかのごとく振る舞う^{1), 11)}(図2A)。 I_{K1} の電位依存性は極めて急峻であるが、この性質によって、血清 $[K^+]$ が多少変動しても E_K (逆転電位)のプラス側では必ず外向き電流が流れて、静止電位は E_K に導かれる。また逆転電位近傍の外向き電流は、特に心室筋では活動電位第3相の大きな再分極速度にも寄与する(図2B)。病態生理学的には、たとえば高カリウム血症では I_{K1} の外向き電流がより正電位側で生じるために活動電位持続時間が短縮し(心電図QT時間短縮)、さらに静止電位がより大きく正電位側に移動すると、電位依存性 Na^+ チャネルの不活性化が進んで興奮伝播速度が低下し(QRS時間延長、P波減高など)、ついには活動電位が生じなくなる。

実際に、スperミンによるブロックの作用で生じるKir2チャネルの内向き整流性は、細胞外 $[K^+]$ が

図3 「開状態」のKir2.1チャネルのコンダクタンスに見られる細胞外 $[K^+]$ 依存性のメカニズム

- A: ポリアミンや Mg^{2+} フリーの細胞質液を用いて記録したKir2.1電流。内向き整流性のないKir2.1電流のコンダクタンスは、細胞外 $[K^+]$ を変えただけではほとんど変化せず、細胞外 K^+ を Na^+ に置換すると電位依存性に抑制される。
- B: 細胞外 Na^+ は単一Kir2.1チャネル電流振幅を減少させるため、 Na^+ によるKir2.1チャネル・ブロックのキネティクスは非常に速いと思われる。
- C: 細胞外 Na^+ によるブロックの理論式を用いて再現した I_{K1} 振幅の細胞外 $[K^+]$ 依存性。細胞外 Na^+ (140 mM)によるブロックは細胞外 K^+ と競合するため、細胞外 $[K^+]$ が低い/高いほど Na^+ ブロックが増加/減少して、内向き電流のみならず外向き電流も減少/増大する。

[文献16より引用改変]

5.4 mMから150 mMまでで正確に E_K に連動する⁵⁾。この細胞外 $[K^+]$ 依存性は、細胞内からチャネルに進入する正電荷を帯びたブロッカーと、細胞外から選択的にチャネル内に進入する K^+ とが競合するために、細胞外 $[K^+]$ の増加/減少がブロックの減少/増加を招くというスキームで、古くから説明されてきた^{11), 12)}(細胞外 K^+ によるknock-off機構; 図2A挿入図)。その背景には、古典的な実験では内向き整流性の電位依存性は細胞内 $[K^+]$ の変化に

よってシフトしないと結論され、内向き整流性は膜電位と細胞外 $[K^+]$ に依存すると考えられてきたことがある¹³⁾。しかし今日では、内向き整流性は2~4価の多様な細胞内陽イオンによるブロックで生じることが明らかになり、細胞外から進入する一価陽イオンの K^+ との競合でそれらのブロックの電位依存性が E_K に依存して変化する必然性を説明するのは難しい。われわれがあらためてKir2チャネルのスペルミン・ブロックと細胞内 $[K^+]$ の関係を調べ

たところ、細胞内 $[K^+]$ が変化した際にもブロックは E_K に連動しうることが示された¹⁴⁾。この結果は、内向き整流性をきたすブロックが選択的に細胞外から中心腔に進入する K^+ との競合(knock-off)のみで調節を受けるのではなく、細胞内からチャンネル内に進入する陽イオン(主に K^+)によって押し込まれる knock-on タイプの機構で駆動されるか、もしくは安定化される lock-in 機構を考える必要性を示唆している。

IV. I_{K1} チャンネル・コンダクタンスの細胞外 $[K^+]$ 依存性

I_{K1} が示す、二つめに重要な $[K^+]$ 依存性は、「開状態」のチャンネルのコンダクタンスが細胞外 $[K^+]$ のほぼ平方根に比例して増減するというものである¹⁾。このため、細胞外 $[K^+]$ が変化した際に、 I_{K1} の外向き電流は細胞内外の $[K^+]$ 勾配の変化とは逆の増減を示す(図 2A)。この性質は、上述の電流-電圧関係が E_K に連動してシフトする性質とともに、血清 $[K^+]$ の増加/減少が心室再分極の促進/遅延を招く要因であり(図 2B)、心電図 T 波の狭高/平低が生じる主因のひとつでもある。古典的には、そのメカニズムは複数の K^+ がチャンネル内を一系列になって透過するマルチイオンポアの性質として、チャンネル内の K^+ 間の反発力の増加が電流の流れやすさを増すなどの仮説が提唱されてきた¹¹⁾。しかし近年、細胞外 Na^+ を除くと、 E_K 近傍で生じる外向き電流振幅に細胞外 $[K^+]$ 依存性が見られなくなることが報告され¹⁵⁾、われわれが細胞質側のポリアミンを除いて内向き整流性を示さなくなった「開状態」の Kir2.1 チャンネルの細胞外 $[K^+]$ 依存性を検討したところ、細胞外 Na^+ が非常に速いキネティクスで電位依存性に、しかも細胞外 K^+ と競合的に、イオン透過路をブロックすることが示された(図 3A, B)¹⁶⁾。つまり、生理的な状況下で I_{K1} チャンネルの K^+ 透過は細胞外 Na^+ によって常にある程度抑制されており、細胞外 K^+ の増加/減少は、この Na^+ による K^+ 透過の抑制を減少/増加させることによって、 K^+ 透過

を増加/減少させるのである(図 3C)。なお、臨床で遭遇する低ナトリウム血症の範囲では、この効果による I_{K1} への影響は計算上非常に小さいと考えられ¹⁶⁾、これは一般に低ナトリウム血症では心電図変化が生じにくいことと一致する。

V. おわりに

日常の診療において血清 K^+ 濃度は、特に不整脈のリスクの点で注意を要し、逆に心電図所見は血清 K^+ 濃度の異常を知る手がかりとなる。 I_{K1} (Kir2)チャンネルは心筋の興奮性を規定するイオンチャンネルであり、高/低カリウム血症では I_{K1} の変化が心筋の活動電位持続時間/再分極や興奮伝播速度に大きな変化を引き起こす。本稿で紹介したように、内向き整流性 K^+ チャンネルに特徴的な細胞外 $[K^+]$ 依存性の分子メカニズムは臨床にも関連する重要な部分であるが、まだ意外なほどよくわかっていない。従来の電気生理学的手法に加えて、今後はさらにナノスケールの時空間分解能で解き明かされると期待される。

【文 献】

- 1) Hagiwara S, Takahashi K : The anomalous rectification and cation selectivity of the membrane of a starfish egg cell. J Membr Biol, 1974 ; 18 : 61-80
- 2) Anumonwo JM Lopatin AN : Cardiac strong inward rectifier potassium channels. J Mol Cell Cardiol, 2010 ; 48 : 45-54
- 3) Noble D : A modification of the Hodgkin-Huxley equations applicable to Purkinje fibre action and pacemaker potentials. J Physiol, 1962 : 160 : 317-352
- 4) Shin HG, Lu Z : Mechanism of the voltage sensitivity of IRK1 inward-rectifier K^+ channel block by the polyamine spermine. J Gen Physiol, 2005 ; 125 : 413-426
- 5) Ishihara K, Yan DH : Low-affinity spermine block mediating outward currents through Kir2.1 and Kir2.2 inward rectifier potassium channels. J Physiol, 2007 ; 583 : 891-908
- 6) Ishihara K, Ehara T : Two modes of polyamine block regulating the cardiac inward rectifier K^+ current I_{K1} as revealed by a study of the Kir2.1 channel expressed in a human cell line. J Physiol, 2004 ; 556 : 61-78
- 7) Yan DH, Nishimura K, Yoshida K, et al. : Different intracellular polyamine concentrations underlie the

- difference in the inward rectifier K^+ currents in atria and ventricles of the guinea-pig heart. *J Physiol*, 2005 ; 563 : 713-724
- 8) Tao X, Avalos JL, Chen J, et al. : Crystal structure of the eukaryotic strong inward-rectifier K^+ channel Kir2.2 at 3.1 Å resolution. *Science*, 2009 ; 326 : 1668-1674
 - 9) Yan DH, Ishihara K : Two Kir2.1 channel populations with different sensitivities to Mg^{2+} and polyamine block : a model for the cardiac strong inward rectifier K^+ channel. *J Physiol*, 2005 ; 563 : 725-744
 - 10) Liu TA, Chang HK, Shieh RC : Revisiting inward rectification : K ions permeate through Kir2.1 channels during high-affinity block by spermidine. *J Gen Physiol*, 2012 ; 139 : 245-259
 - 11) Hille B, Schwarz W : Potassium channels as multi-ion single-file pores. *J Gen Physiol*, 1978 ; 72 : 409-442
 - 12) Armstrong CM : Potassium pores of nerve and muscle membranes. *Membranes*, 1975 ; 3 : 325-358
 - 13) Hagiwara S, Yoshii M : Effects of internal potassium and sodium on the anomalous rectification of the starfish egg as examined by internal perfusion. *J Physiol*, 1979 ; 292 : 251-265
 - 14) Ishihara K : “Knock-off” and “lock-in” of the polyamine block by K^+ ions determine the position along the voltage axis of the current-voltage relationship of the Kir2.1 inward rectifier. *J Physiol Sci*, 2020 ; 70 : S116
 - 15) Chang HK, Lee JR, Liu TA, et al. : The extracellular K^+ concentration dependence of outward currents through Kir2.1 channels is regulated by extracellular Na^+ and Ca^{2+} . *J Biol Chem*, 2010 ; 285 : 23115-23125
 - 16) Ishihara K : External K^+ dependence of strong inward rectifier K^+ channel conductance is caused not by K^+ but by competitive pore blockade by external Na^+ . *J Gen Physiol*, 2018 ; 150 : 977-989
 - 17) Xu Y, Shin HG, Szép S, et al. : Physical determinants of strong voltage sensitivity of K^+ channel block. *Nat Struct Mol Biol*, 2009 ; 16 : 1252-1258
 - 18) Himeno Y, Asakura K, Cha CY, et al. : A human ventricular myocyte model with a refined representation of excitation-contraction coupling. *Biophys J*, 2015 ; 109 : 415-427