T型Ca²⁺チャネル($\alpha 1H$)電流のmibefradilによる抑制

李 泰成*¹ 小野克重*¹ 賀来俊彦*¹ 有田 眞*²

ヒトの心臓にはL型およびT型という2種類の電位依存性Ca²⁺チャネルが存在している。このうち、T型Ca²⁺チャネルは主として刺激伝導系細胞に分布しており、ペースメーカー細胞の脱分極に関与していると考えられている。1998年にCribbsらは、ヒト心臓由来のT型Ca²⁺チャネル $\alpha 1$ サブユニットのcDNAをクローニングすることに成功した。そのヒト型 $\alpha 1$ サブユニット蛋白をhuman embryonic kidney(HEK)-293細胞に発現させて、細胞全膜電流を記録した。この電流はnative T型Ca²⁺チャネルの特徴を呈し、T型Ca²⁺チャネルに選択的なCa²⁺拮抗薬であるmibefradilによって抑制された。50%抑制濃度(IC₅₀)は0.89 μ Mであった。さらに、mibefradilによるT型Ca²⁺チャネル電流抑制の機序が活性化曲線および定常状態不活性化曲線を過分極方向へ偏位させることによるものであることが判明した。

(心電図, 2001; 21: 308~315)

I. はじめに

心筋細胞には、L型とT型の2種類の電位依存性Ca²⁺チャネルが存在しており、その電気生理学的特

徴や薬理学的特徴について様々な研究がなされてきた。なかでもL型Ca²⁺チャネルは、1987年に骨格筋型のcDNAがクローニングされたのを期に、そのチャネル構造や開閉特性に関する研究が飛躍的に進歩した^{1)~6)}。L型Ca²⁺チャネルに対する拮抗薬は、狭心症や高血圧症などの治療において大きく貢献している。これに対し、T型Ca²⁺チャネルは最近までその構造が明らかでなかったため、電気生理学的研究は専ら新鮮単離した心筋細胞の全膜電流、あるいは単一チャネル電流解析によって行われており^{7)~9)}、そのcDNAのクローニングが待たれていた。T型Ca²⁺チャネルは、ヒトの心臓において、主として刺激伝

Keywords

- T型Ca²⁺チャネル
- HEK-293細胞
- パッチクランプ法
- mibefradil
- Ca²⁺拮抗薬

*1大分医科大学生理学第2

(〒879-5593 大分県大分郡挾間町医大ヶ丘1-1)

*2湯布院厚生年金病院

The effects of mibefradil on the cloned T-type Ca²⁺ channel current
Tae Seong Lee, Katsushige Ono, Toshihiko Kaku, Makoto Arita

2000年8月1日 原稿受領/2001年1月16日 掲載承認

JPN. J. ELECTROCARDIOLOGY Vol. 21 No. 3 2001

導系細胞に分布しており、ペースメーカー細胞の脱分極に関与していると考えられている^{10), 11)}。1998年にCribbsらは、心臓のT型Ca²⁺チャネル α 1サブユニットのcDNAのクローニングに成功した¹²⁾。T型Ca²⁺チャネルは、L型Ca²⁺チャネルに比べて深い活性化電位閾値を有し、急速な不活性化とL型Ca²⁺チャネルのそれよりはるかに小さい単一チャネルコンダクタンスを示すことがその特徴として知られている。しかし既存のCa²⁺拮抗薬に対する感受性に関しては不明な点が多い。cDNAの同定を期にT型Ca²⁺チャネルの薬理学的および生物物理学的な研究が急速に発展している。本研究では、 α 1H(Ca_v3.2)をhuman embryonic kidney(HEK)-293細胞に発現させて、T型Ca²⁺チャネルを選択的に抑制すると考えられているmibefradil(Ro 40-5967)、L型Ca²⁺チャネルを選択的に抑制するとされているジヒドロピリジン系のニフェジピン、そしてジヒドロピリジン系でありながら両チャネルに対する抑制作用が示唆されているエホニジピンの α 1Hチャネル電流に対する作用について比較検討した。

II. 方 法

1. 遺伝子導入

ヒト心筋由来T型Ca²⁺チャネル α 1HサブユニットをコードするcDNA(CACNA1H)を導入ベクター(pcDNA3)に組み込み、リン酸カルシウム法を用いてHEK-293細胞に発現させた¹²⁾。遺伝子導入したHEK-293細胞を、G418(1g/l, Gibco), 10%ウシ胎児血清, ペニシリン100units/ml, ストレプトマイシン100 μ g/mlを含んだダルベッコ改変イーグル培地を用いて、CO₂インキュベーター(95% O₂ + 5%CO₂; 37℃)内で継代培養することによって安定発現細胞を得た。

2. 電気生理学の実験

1.8mMのCa²⁺を含む実験槽液中に静置されたHEK-293細胞に対して膜電位固定法を施行し、室温(20~23℃)において細胞全膜電流を測定した。実験槽液の組成(単位: mM)は、NaCl 137, KCl 5.6,

MgCl₂ 0.5, NaH₂PO₄ 0.16, HEPES 5, NaHCO₃ 3, CaCl₂ 1.8, Glucose 5.55であり、pHは1N NaOHにて7.4に調整した。ピペット溶液の組成(単位: mM)は、CsCl 130, MgCl₂ 2, ATP 2, GTP 0.5, EGTA 5, HEPES 5であり、pHは1N TEA-OHにて7.3に調整した。電流増幅器はEPC8(HEKA Electronic社: ドイツ)を、AD/DA変換器はITC-16(Instrutech社: 米国)を使用し、HEKA Electronic社製のプログラム(Pulse/Pulsefit v8.11)を用いて刺激とデータのコンピュータ(Endeavor, エプソン社)への取り込みを行った。ガラス電極はDrummond社(米国)のHematocrit Tubes(75mm Plain)を、多段引きコンピュータ制御プレー Model P-97(Sutter Instrument社: 米国)で作成し、前述ピペット溶液で充満した際に電極抵抗値が1.8~3.0M Ω となるように設定した。図の作成および曲線のフィットのためにSigmaPlot V4.00(SPSS社: 米国)を用いた。データは平均 $\pm$ SEで表記した。

III. 結 果

α 1Hサブユニットを発現したHEK-293細胞に膜電位固定法を施行し、保持電位-100mVから種々の電位変化を与えたときの細胞全膜電流を図1に示す。図1A下段は、-80mVから0mVまでの脱分極刺激を10mV間隔で与えたときの細胞全膜電流の実例である。活性化が急速であり、-40mVにおいては9msecで最大電流に達した。図1Bはこの電流トレースの最大電流を用いた電流電圧関係である。-70mV近傍より電流の活性化が生じており、約-40mVで最大電流を呈して低電位活性化Ca²⁺チャネルの特徴を示した。全9例における最大電流発生電位は-45.0 $\pm$ 0.8mVであった。

α 1Hサブユニットを発現し、T型Ca²⁺チャネルの特徴を示すこの電流に既存の3種のCa²⁺拮抗薬(mibefradil, ニフェジピン, エホニジピン)をそれぞれ1 μ M投与したところ、mibefradil, ニフェジピン, エホニジピンのいずれにおいても投与後速やかに電流の抑制が認められた(図2)。刺激持続が

図1 $\alpha 1H$ を発現させたHEK-293細胞から記録した細胞全膜電流

A: -80mV から 0mV までの脱分極刺激を 10mV 間隔で与えたときの電流ファミリー。L型 Ca^{2+} チャンネルと比較して活性化と減衰過程が急速である。B: 代表例における電流電圧関係。 -70mV あたりで電流が活性化し、 -40mV 近傍で最大電流を呈しており、低電位活性化 Ca^{2+} チャンネルの性質を示している。

100msec の場合、刺激頻度が 0.2Hz 以下では、このチャンネルは不活性化から完全に回復するため(データ非表示)、 0.1Hz の刺激頻度で得られた Ca^{2+} 電流の抑制(図2)は、いずれも tonic block によるものであると考えられる。この3種の Ca^{2+} 拮抗薬の $\alpha 1H$ 電流に対する濃度反応曲線を図3に示す。mibefradil, ニフェジピン, エホニジピンの 50% 抑制濃度(IC_{50})は $0.89, 1.91, 0.43\text{ }\mu\text{M}$ であり、ヒル係数は $2.29, 0.98, 2.11$ であった。

次にT型 Ca^{2+} チャンネル電流の活性化と定常状態における不活性化に対するmibefradilの抑制効果を検討した(図4)。 $0.89\text{ }\mu\text{M}$ のmibefradilは、最大電流をほぼ半減させ、電流電圧関係を過分極方向へ偏位させた(図4A)。ボルツマン曲線との一致によって得られた活性化曲線および定常状態不活性化曲線(種々の電位の脱分極刺激を1秒間先行させた後、 40mV のテスト電位において得られる最大電流値をもとに作成し、先行性脱分極刺激がない時の最大電流値を1として補正)は、両者とも $0.89\text{ }\mu\text{M}$ のmibefradilによって過分極方向へそれぞれ 7.1mV , 6.2mV 偏位した(図4B)。4例の平均値の比較により、mibefradil($0.89\text{ }\mu\text{M}$)によって、半値活性化電位

は -59.8 ± 0.1 から $-66.1 \pm 0.1\text{mV}$ へ、半値不活性化電位は -70.0 ± 0.3 から $-76.1 \pm 0.2\text{mV}$ へと偏位することが明らかとなった。

IV. 考 察

ヒトの心筋細胞にはL型とT型の2種類の電位依存性 Ca^{2+} チャンネルが存在している^{10), 11)}。L型 Ca^{2+} チャンネルを介する Ca^{2+} の細胞内流入は Ca^{2+} induced Ca^{2+} release (CICR)のトリガーとして、興奮収縮連関において極めて重要な役割を担っている¹¹⁾。これに対しT型 Ca^{2+} チャンネルは、洞房結節、房室結節、プルキンエ細胞に大量に存在してペースメーカー電位形成に関与していると想定されている^{7), 13)~15)}。また、肥大型心筋症等の病的状態においては心室筋細胞においても有意に発現しているとの報告もあり¹⁶⁾、このT型 Ca^{2+} チャンネルの性質を明らかにすることは極めて重要であると考えられる。しかしT型 Ca^{2+} チャンネルの薬理学的特徴や阻害薬の抑制様式に関する研究は少なく、新鮮単離細胞を使った実験では、L型 Ca^{2+} 電流をはじめその他の電位依存性チャンネル電流の混在等の理由により、その正確な評価は困難であった^{7)~9)}。こうした背景のなか、1998年にCribbsらが

図2 Mibefradil, nifedipine, efonidipine による T 型 Ca^{2+} チャンネル電流の抑制
コントロール電流 (○) と各薬剤 $1 \mu\text{M}$ 投与 5 分後 (●) の電流トレース。いずれにおいても T 型 Ca^{2+} チャンネル電流が抑制されている。最上段は脱分極のプロトコルを示す。

ヒト心筋由来の T 型 Ca^{2+} チャンネル $\alpha 1\text{H}$ サブユニットの cDNA のクローニングに成功した¹²⁾。これを期に、T 型 Ca^{2+} チャンネルに関する研究は飛躍的な発展をとげつつある。

$\alpha 1\text{H}$ サブユニットを発現させた HEK-293 細胞から記録した細胞全膜電流は、低電位活性化 Ca^{2+} チャンネル (T 型 Ca^{2+} チャンネル) 電流と同じ特徴を示した (図 1)。この電流は低濃度 ($10 \mu\text{M}$) のニッケルによって完全に抑制された (データ非表示)。これまでに知

られている T 型 Ca^{2+} チャンネルの抑制物質としては、mibefradil (Ro 40-5967)^{15), 17)~20)}, kurtoxin²¹⁾, ニッケル^{7), 22)}, ニガルジピン²³⁾, フェロジピン⁹⁾ などがある。そのなかで最も選択性が高いと考えられている薬剤は mibefradil である。また、ジヒドロピリジン (DHP) 系薬剤は一般的に感受性が低いと思われているが、一方でエホニジピンは T 型 Ca^{2+} チャンネル抑制を介して陰性変時作用を示すことが報告されている^{24), 25)}。そこで mibefradil とエホニジピンの 2 剤に加えて、代表的な DHP 系薬剤であるニフェジピンを用いて T 型 Ca^{2+} チャンネルに対する抑制作用を検討した。mibefradil とエホニジピンは過去の新鮮単離心筋細胞の T 型電流での報告のとおり、中等度濃度 ($1 \mu\text{M}$) で 50% 以上の電流抑制を示した。mibefradil の T 型 Ca^{2+} チャンネルの抑制に対する濃度反応曲線 (図 3) からはヒル係数 2.29 が得られ、正の協調性を示しているが、これは同様の実験を施行している Cribbs らの報告 (ヒル係数 1.1)¹²⁾ と若干異なっている。彼女らの実験方法では 10mM の Ba^{2+} を通過イオンに使用し、異なる電圧固定プロトコル (保持電位 -90mV から -30mV への 100msec 長のテスト電位を 0.067Hz の頻度で適用) を用いている。これらの実験条件の相違を考慮すると、本結果は、① mibefradil の結合部位への到達が通過イオンに依存している② mibefradil のチャンネルへの結合が膜電位に依存している③ mibefradil の結合部位が複数個存在しているなどの可能性を示唆しているのかもしれない。一方、中等度濃度のニフェジピンが T 型 Ca^{2+} チャンネルを抑制したこと ($\text{IC}_{50}=1.91 \mu\text{M}$) については予想外であった (図 2, 3)。今までの報告では数 μM 程度のニフェジピンが T 型 Ca^{2+} チャンネルを抑制したという例はなく、 $\alpha 1\text{H}$ チャンネル電流を用いた本報告が最初のものとなる。ニフェジピンが T 型 Ca^{2+} チャンネルに対して抑制作用を示さないとの報告は、すべてヒト以外的心筋 T 型チャンネルを用いた実験であり、本実験で用いたヒト心筋型の T 型 Ca^{2+} チャンネルのニフェジピン感受性が、他動物のそれとは異なっている可能性が示唆される。あるいは、T 型 Ca^{2+} チャンネルを構成す

図3 mibefradil, ニフェジピン, エホニジピンのT型Ca²⁺チャネルの最大電流振幅の抑制からみた濃度反応曲線

薬剤投与5分後における最大電流の抑制。保持電位-100mVから400msec, -40mVの脱分極刺激を0.1Hzの頻度で与えている。50%抑制濃度(IC₅₀)は, mibefradil(○), ニフェジピン(●), エホニジピン(▽)の順に, 0.89 μM, 1.91 μM, 0.43 μMであり, ヒル係数(n)はそれぞれ2.29, 0.98, 2.11であった。例数はすべて4例。

る因子としての未知の付属サブユニットや心筋細胞における何らかの修飾経路が今回の実験系で欠如している可能性も考えられる。T型Ca²⁺チャネルの孔を形成するα1サブユニットに対する付属サブユニットに関してはいくつかの報告があるが、他のサブユニットがα1サブユニットと結合し、その機能に調節を加えているとの確証は得られていない^{26), 27)}。ジヒドロピリジン系薬剤のL型Ca²⁺チャネル抑制様式については、過去に詳細な報告がある。ニフェジピンのL型Ca²⁺チャネル抑制のIC₅₀は、5～56nM程度と報告されており^{24), 28)}、本研究で得られたニフェジピンのT型Ca²⁺チャネル抑制のIC₅₀(1.91 μM)と比較すると、L型Ca²⁺チャネルに対する有効濃度は30～400倍程低い濃度である。したがって臨床使用濃度のニフェジピンが心筋T型Ca²⁺チャネル電流を抑制する可能性は低いものと理解される。一方、単離心筋を用いた実験により、mibefradilおよびエホニジ

ピンのL型Ca²⁺チャネルに対するIC₅₀はそれぞれ、28 μM²⁰⁾、約100nM²⁴⁾とされている。

T型Ca²⁺チャネルは血管平滑筋にも存在しており、血管の緊張性の維持に関与している¹⁵⁾。したがって、選択的なT型Ca²⁺チャネルの抑制は、心筋抑制をきたすことなく血管を拡張することが期待される。また洞房結節細胞での歩調取りにおいてT型Ca²⁺チャネルが主要な役割を果たしているのであれば、T型Ca²⁺チャネルの抑制は、陰性変時作用をもたらすことによって反射性頻脈を相殺することも可能である。降圧薬および抗狭心症薬として期待されたmibefradilは、cytochrome P450の抑制作用²⁹⁾のため、現在臨床応用が中断されている。またmibefradilは選択的なT型Ca²⁺チャネル拮抗薬と思われていたが、L型Ca²⁺チャネルや副腎におけるATP活性化K⁺チャネルなども抑制することが報告された^{30), 31)}。しかしT型Ca²⁺チャネル電流の抑制に

図4 mibefradilによる電流電圧関係、活性化曲線、定常状態不活性化曲線の変化

A: mibefradil投与による電流電圧関係の変化。最大電流が半減し、曲線全体が過分極方向へ偏位している(○:対照, ●:0.89 μ M mibefradil投与後5分目)。B: mibefradil投与による活性化曲線(○●:単位 $G/G_{\max}$)および定常状態不活性化曲線(□■:単位 $I/I_{\max}$)の変化(代表例)。記号○□が対照例, 記号●■が0.89 μ M mibefradil投与後(5分)を示す。mibefradilの投与により半値活性化電位は-59.5mVから-66.6mVへと偏位した。また, 半値不活性化電位は-72.1mVから-78.3mVへと偏位した。実線はボルツマン曲線を示す。

よって反射性交感神経緊張に起因する頻脈がその自動能抑制作用によって相殺されることが期待される点や, L型 Ca^{2+} チャンネルと血管分布が異なることを

利用した特殊な血管拡張作用が期待される点などから, T型 Ca^{2+} チャンネルの薬理学的評価は今まで以上に必要とされるであろう。

本研究では、ヒト心臓型T型Ca²⁺チャネルの $\alpha 1$ サブユニット($\alpha 1H$)を哺乳類細胞に発現させ、T型およびL型Ca²⁺チャネル拮抗薬であるmibefradilの作用を既存の2種のジヒドロピリジン系Ca拮抗薬と比較した。その結果mibefradilのみならず、中～高濃度のニフェジピンとエホニジピンはともにT型Ca²⁺チャネルを抑制することが判明した。今後はこのT型Ca²⁺チャネルのクローンを利用して、T型Ca²⁺チャネルの分子構造に依存した機能と薬理学的特性や臓器分布などの研究が発展していくことが期待される。

〔文 献〕

- 1) Tanabe T, Takeshima H, Mikami A, Flockerzi V, Takahashi H, Kangawa K, Kojima M, Matsuo H, Hirose T, Numa S : Primary structure of the receptor for calcium channel blockers from skeletal muscle. *Nature*, 1987 ; 328 : 313 ~ 318
- 2) Catterall WA : Structure and function of voltage-sensitive ion channels. *Science*, 1988 ; 242 : 50 ~ 61
- 3) Mikami A, Imoto K, Tanabe T, Niidome T, Mori Y, Takeshima H, Narumiya S, Numa S : Primary structure and functional expression of the cardiac dihydropyridine-sensitive calcium channel. *Nature*, 1989 ; 340 : 230 ~ 233
- 4) Singer D, Biel M, Lotan I, Flockerzi V, Hofmann F, Dascal N : The roles of the subunits in the function of the calcium channel. *Science*, 1991 ; 253 : 1553 ~ 1557
- 5) Schultz D, Mikala G, Yatani A, Engle DB, Iles DE, Segers B, Sinke RJ, Weghuis DO, Klöckner U, Wakamori M, Wang J, Melvin D, Varadi G, Schwartz A : Cloning, chromosomal localization, and functional expression of the α_1 subunit of the L-type voltage-dependent calcium channel from normal human heart. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1993 ; 90 : 6228 ~ 6232
- 6) Lee TS, Ono K, Gondo N, Uchida Y, Hadama T, Arita M : Facilitation of cardiac L-type Ca²⁺ channels depending on α_1 and/or β subunits. *Circulation*, 1998 ; Suppl 98 : I - 821
- 7) Hagiwara N, Irisawa H, Kameyama M : Contribution of two types of calcium currents to the pacemaker potentials of rabbit sino-atrial node cells. *J Physiol*, 1988 ; 395 : 233 ~ 253
- 8) Droogmans G, Nilius B : Kinetic properties of the cardiac T-type calcium channel in the guinea-pig. *J*

- Physiol*, 1989 ; 419 : 627 ~ 650
- 9) Cohen CJ, Spires S, Van Skiver D : Block of T-type Ca channels in guinea pig atrial cells by antiarrhythmic agents and Ca channel antagonists. *J Gen Physiol*, 1992 ; 100 : 703 ~ 728
- 10) Katz AM : Molecular biology of calcium channels in the cardiovascular system. *Am J Cardiol*, 1997 ; 80 : 17I ~ 22I
- 11) Bers DM, Perez-Reyes E : Ca channels in cardiac myocytes : structure and function in Ca influx and intracellular Ca release. *Cardiovasc Res*, 1999 ; 42 : 339 ~ 360
- 12) Cribbs LL, Lee J, Yang J, Satin J, Zhang Y, Daud A, Barclay J, Williamson MP, Fox M, Rees M, Perez-Reyes E : Cloning and characterization of $\alpha 1H$ from human heart, a member of the T-type Ca²⁺ channel gene family. *Circ Res*, 1998 ; 83 : 103 ~ 109
- 13) Brown H : Electrophysiology of the sinoatrial node. *Physiol Rev*, 1982 ; 65 : 505 ~ 530
- 14) Bean B : Two kinds of calcium channels in canine atrial cells. Differences in kinetics, selectivity and pharmacology. *J Gen Physiol*, 1985 ; 86 : 1 ~ 30
- 15) Massie BM : Mibefradil : a selective T-type calcium antagonist. *Am J Cardiol*, 1997 ; 80 : 23I ~ 32I
- 16) Sen L, Smith TW : T-type Ca²⁺ channels are abnormal in genetically determined cardiomyopathic hamster hearts. *Circ Res*, 1994 ; 75 : 149 ~ 155
- 17) Osterrieder W, Holck M : In vitro pharmacologic profile of Ro 40-5967, a novel Ca²⁺ channel blocker with potent vasodilator but weak inotropic action. *J Cardiovasc Pharmacol*, 1989 ; 13 : 754 ~ 759
- 18) Mishra SK, Hermsmeyer K : Selective inhibition of T-type Ca²⁺ channels by Ro 40-5967. *Circ Res*, 1994 ; 75 : 144 ~ 148
- 19) Cremers B, Flesch M, Südkamp M, Böhm M : Effects of the novel T-type calcium channel antagonist mibefradil on human myocardial contractility in comparison with nifedipine and verapamil. *J Cardiovasc Pharmacol*, 1997 ; 29 : 692 ~ 696
- 20) Clozel JP, Ertel EA, Ertel SI : Discovery and main pharmacological properties of mibefradil (Ro 40-5967), the first selective T-type calcium channel blocker. *J Hypertension*, 1997 ; 15 : S17 ~ S25
- 21) Chuang R S-I, Jaffe H, Cribbs L, Perez-Reyes E, Swartz KJ : Inhibition of T-type voltage-gated calcium channels by a new scorpion toxin. *Nat Neurosci*, 1998 ; 1 : 668 ~ 674
- 22) Lee J, Gomora JC, Cribbs LL, Perez-Reyes E : Nickel block of three cloned T-type calcium channels : low concentrations selectivity block $\alpha 1H$. *Biophys J*, 1999 ; 77 : 3034 ~ 3042
- 23) Romanin C, Seydl K, Glossmann H, Schindler H : The

- dihydropyridine nifedipine inhibits T-type Ca^{2+} currents in atrial myocytes. *Pflügers Arch*, 1992 ; 420 : 410 ~ 412
- 24) Masumiya H, Shijuku T, Tanaka H, Shigenobu K : Inhibition of myocardial L-and T-type Ca^{2+} currents by nifedipine : possible mechanism for its chronotropic effect. *Eur J Pharmacol*, 1998 ; 349 : 351 ~ 357
- 25) 田中 光, 重信弘毅 : T型カルシウムチャネルと心拍数の制御. *Clinical Calcium*, 1998 ; 8 : 1352 ~ 1357
- 26) Lacinová L, Klugbauer N, Hofmann F : Absence of modulation of the expressed calcium channel $\alpha 1\text{G}$ subunit by $\alpha 2\delta$ subunits. *J Physiol*, 1999 ; 516 : 639 ~ 645
- 27) Klugbauer N, Dai S, Specht V, Lacinová L, Marais E, Bohn G, Hofmann F : A family of γ -like calcium channel subunits. *FEBS Letters*, 2000 ; 470 : 189 ~ 197
- 28) Niidome T, Teramoto T, Murata Y, Tanaka I, Seto T, Sawada K, Mori Y, Katayama K : Stable expression of the neuronal BI (class A) calcium channel in baby hamster kidney cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 1994 ; 203 : 1821 ~ 1827
- 29) Glasser SP : The relevance of T-type calcium antagonists : a profile of mibefradil. *J Clin Pharmacol*, 1998 ; 38 : 659 ~ 669
- 30) Pinto JMB, Sosunov EA, Gainullin RZ, Rosen MR, Boyden PA : Effects of mibefradil, a T-type calcium current antagonist, on electrophysiology of Purkinje fibers that survived in the infarcted canine heart. *J Cardiovasc Electrophysiol*, 1999 ; 10 : 1224 ~ 1235
- 31) Gomora JC, Enyeart JA, Enyeart JJ : Mibefradil potently blocks ATP-activated K^{+} channels in adrenal cells. *Mol Pharmacol*, 1999 ; 56 : 1192 ~ 1197