不整脈受攻性因子としての性差と加齢

2. 性ホルモン非ゲノム作用による心筋イオンチャネル制御機構

古川哲史*¹ 黒川洵子*¹ 中村浩章*^{1, 2} 白 長喜*¹
浅田 健*¹ 玉川正次*³ 中谷晴昭*³ Ronit Vaknin*⁴
Jun Xu*⁴ Colleen E. Clancy*⁴ 磯部光章*²

QT延長症候群に伴うtorsade de pointes (TdP) 型不整脈リスクは男性に比べて女性で高く、女性に限定しても性周期などにより変動することが知られている。多くの臨床データから性ホルモンであるテストステロンおよびプロゲステロンが保護的に働くことが示唆されている。複数の研究グループがテストステロン、プロゲステロンの心筋イオンチャネルに対する慢性作用を検討しているが、現時点では保護作用を支持するデータは得られていない。そこでわれわれは、モルモット心筋細胞を用いてテストステロン、プロゲステロンの非ゲノム作用を検討した。いずれも活動電位幅を急性作用として短縮させ、基底状態では I_{Ks} 活性化、交感神経刺激状態では $I_{Ca,L}$ 抑制がイオン機序であった。この作用をコンピュータシミュレーションFaber-Rudyモデルに導入すると、活動電位幅ならびに先天性・薬物誘発性不整脈リスクが性周期により変動することが予測された。生命科学的実験と計算科学的アプローチを用いることにより、QT延長症候群の不整脈のリスク予測と患者管理を向上させる可能性が示唆される。

(心電図, 2008 ; 28 : 119 ~ 128)

Keywords

- エストロゲン
- テストステロン
- プロゲステロン
- QT延長症候群
- 性差

I. はじめに

QT延長症候群に伴うtorsades de pointes (TdP) 型不整脈の発症リスクは男性に比べて女性で高い^{1)~3)}。女性に限定しても、性周期や妊娠時期でTdPリスクが変動することが報告されている^{4), 5)}。その機序として性ホルモンの関与が示唆されており、複数の臨床データが男性ホルモン(テストステロン)および黄

*1 東京医科歯科大学難治疾患研究所生体情報薬理分野
(〒101-0062 東京都千代田区神田駿河台2-3-10)

*2 東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科循環制御内科学

*3 千葉大学大学院医歯薬学研究院薬理学

*4 Weill Medical College of Cornell, Department of Physiology
and Biophysics, Institute for Computational Biomedicine

図1 活動電位に対する作用

A：基底状態(basal condition)，isoproterenol(Isp)による交感神経刺激模倣状態(SNS stimulation)でのプロゲステロン(P4) 40.6 nMの作用。
B：テストステロン 100 nMの作用の時間経過。
〔文献15〕より引用改変
〔文献14〕より引用改変

体ホルモン(プロゲステロン)が保護的に働くことを示唆している^{4)~7)}。性ホルモンにはcanonical作用として遺伝子転写制御を介した“ゲノム作用”がよく知られているが、最近の10年間にゲノム作用では説明できない迅速な“非ゲノム作用”が複数報告され注目を集めている⁸⁾。心筋イオンチャネルに対する性ホルモン作用の検討は主にゲノム作用を中心に行われているが、テストステロンの心筋K⁺チャネル発現に関しては増加と減少の相反する報告がなされており^{9)~11)}、プロゲステロンに関する報告では心筋K⁺チャネル、Ca²⁺チャネルに対して明らかなゲノム作用を示さない^{12), 13)}。すなわち、現時点での成績ではテストステロン、プロゲステロンのTdPに対する保護的作用は、ゲノム作用だけで説明することは難しい。一方、テストステロン、プロゲステロンの非ゲノム作用に関する検討の報告は皆無であったため、われわれは非ゲノム作用に焦点を絞り検討を行った^{14), 15)}。

II. 電気生理作用

心臓電気活動が比較的にヒトに近いことから、モット単離心筋細胞を用いてパッチクランプ法により膜電位、膜電流を記録した。

1. 活動電位に対する作用

TdPの重要なトリガー因子として交感神経刺激が知られているため、基底状態と交感神経刺激状態の両方で検討を行うと、テストステロン、プロゲステロンいずれも活動電位幅が短縮した(図1A)。図1Bにテストステロン作用の時間経過を示すが、ホルモン添加後数分から作用が出現し、約10分ではほぼ定常状態に達したことから、ホルモン受容体のブロッカーにより回復したことから、性ホルモン受容体を介する急性作用、すなわち非ゲノム作用を介する作用であることがわかる。

2. イオン電流に対する作用

テストステロン、プロゲステロンによる活動電位短縮のイオン機序は基本的に同様であったため、ここではプロゲステロンの作用を代表として示す。基底状態では緩徐活性型遅延整流K⁺電流(I_{Ks})を活性化し、L型Ca²⁺チャネル電流(I_{CaL})に対しては作用を示さなかった(図2A)。I_{Ks}およびI_{CaL}は心室筋イオン電流のなかでは主要な交感神経刺激の標的であり、cAMP細胞内還流により著しく増強された。その状態でプロゲステロンを投与すると、I_{Ks}に対してはほとんど作用を示さなかったが、I_{CaL}はほぼ基底状態まで電流の減少がみられた(図2B)。

3. イオン電流制御の濃度-反応曲線

濃度-反応曲線を図3に示すが、テストステロン、

図2 イオン電流に対する作用

A：基底状態での I_{Ks} および $I_{Ca,L}$ に対する P4 40.6 nM の作用。

B：細胞内 cAMP 還流により活性化した I_{Ks} および $I_{Ca,L}$ に対する P4 40.6 nM の作用。

[文献15)より引用改変]

図3 濃度-反応曲線

A：テストステロンの I_{Ks} 増大, $I_{Ca,L}$ 抑制の濃度-反応曲線。臨床男性ホルモンレベルを帯で示す。

[文献14)より引用改変]

B：プロゲステロンの I_{Ks} 増大, $I_{Ca,L}$ 抑制の濃度-反応曲線。臨床男性ホルモンレベルを帯で示す。卵胞期は最低値 2.5 nM, 黄体期は最高値 40.6 nM となる。

[文献15)より引用改変]

プロゲステロンいずれも濃度依存性に I_{Ks} を増強し, $I_{Ca,L}$ を抑制した。 I_{Ks} に対する EC_{50} は $I_{Ca,L}$ に対する IC_{50} の 1/10 程度である。図に生理的ホルモン濃度を帯で示してあるが、テストステロンはヒト男性の生理的血中濃度範囲内で作用がみられる。プロゲステロンは女性性周期により変動するが、 I_{Ks} に対する EC_{50} はプロゲステロン濃度の最も低い卵胞期 (約 2.5 nM) の濃度範囲内にあり, $I_{Ca,L}$ に対する IC_{50} はプロゲステロン濃度が高くなる黄体期 (約 40.6 nM) の濃度範囲内にある。状況は異なるもののいずれも臨床的に意味を有す作用であることが示唆される。交感神経刺激

による $I_{Ca,L}$ 増大はプロゲステロンを高濃度与えると完全に基底状態まで抑制されるため、これだけをみると女性では交感神経刺激が $I_{Ca,L}$ には全く影響しないという錯覚を抱く可能性がある。しかし臨床プロゲステロン濃度では最も高濃度の黄体期 40.6 nM でも抑制は 50% 程度にとどまるため、交感神経刺激による $I_{Ca,L}$ 増強作用は黄体期であっても依然としてみられることになる。

4. イオン電流キネティクスに対する作用

イオン電流制御メカニズムを検討するために、キネティクスに対する作用を検討した (図4)。プロ

図4 キネティックスに対する作用

A: I_K のI-V曲線に対するプロゲステロンの作用. Insetはnormalized I_{Ks} に作用.

B: $I_{Ca,L}$ の活性化曲線(実線), 不活性化曲線(点線)に対するプロゲステロンの作用.

[文献15)より引用改変]

図5

I_{Ks} , $I_{Ca,L}$ に対するプロゲステロン作用のコンピュータシミュレーション

A: I_{Ks} のコンダクタンスのみを変化させたシミュレーション結果.

B: $I_{Ca,L}$ の電位依存性のみを変化させたシミュレーション結果.

[文献15)より引用改変]

ゲステロンによる I_{Ks} 増強は各膜電位でみられ, 最大電位を1とした擬似的な活性化曲線から作用が電位非依存性であることがわかる(図4A). 一方, $I_{Ca,L}$ に対しては活性化曲線を脱分極側に, 不活性化曲線を過分極側にシフトすると $I_{Ca,L}$ が抑制されることが示唆された(図4B).

コンピュータモデリングを用いて, プロゲステロンの作用を検討したところ, I_{Ks} に対しては電流のコンダクタンスのパラメーターを変化させると, キネティックスのパラメーターを変化させなくても実験データはほぼ忠実に再現できた(図5A). 一方 $I_{Ca,L}$ に対してはコンダクタンスのパラメーターを一切変化させずにキネティックスのパラメーター, すなわち活性化曲線と不活性化曲線のシフトを変化させるだけで実験データはほぼ忠実に再現できた(図5B). 以

上のウェット実験およびドライ実験から, I_{Ks} に対してはコンダクタンス, $I_{Ca,L}$ に対してはキネティックスに対する作用が主体であると考えられた.

Ⅲ. 一酸化窒素NOの関与

NOは性ホルモン非ゲノム経路の主要なメディエーターであり, テストステロン, プロゲステロンによる I_{Ks} 活性化, $I_{Ca,L}$ 抑制いずれもNOトラッパーで抑制され, NOドナーにより再現されたことからNOを介するものであると考えられる^{14)~16)}. 前記したように I_{Ks} 活性化と $I_{Ca,L}$ 抑制にはいくつかの相違点があるが, これらはNOの作用メカニズムが両電流に対して異なることに起因する¹⁷⁾. NOの主な作用機序には二つあり, 一つはsoluble guanylate cyclase (sGC)の活性化を介してcGMPを産生し, protein

図6 NOの二つの作用機序とI_{Ks}増大, I_{Ca,L}抑制

kinase G (PKG)あるいはprotein phosphodiesterase (PDE)を制御するcGMP依存性経路であり、もう一つは蛋白質システイン残基を直接ニトロソ化するcGMP非依存性のprotein s-nitrosylation経路である(図6)。cGMP依存性経路はsGCの阻害薬1H-(1,2,4)oxadiazolo(4,3-a)quinoxalin-1-l (ODQ)により抑制することができ、protein s-nitrosylation経路はアルキル化剤N-ethylmaleimide (NEM)、還元剤dithiothreitol (DTT)により抑制することができる。

NOドナーによるI_{Ca,L}抑制はODQによりブロックされ、NEMおよびDTTの影響は受けないことからODQ感受性経路、すなわちcGMP依存性経路を介するものと考えられる(図6)。これはcAMPシグナルとcGMPシグナルがクロストークし、PDE2を介してcAMP分解を促進すること、あるいはPKAによるI_{Ca,L}チャネルのリン酸化がPKGによるリン酸化を原因に拮抗されることが考えられる(図7)。どちらの経路が関与するかは動物種、細胞種により異なる¹⁸⁾。モルモット心室筋細胞ではPKG経路による拮抗作用の関与が報告されているが¹⁸⁾、これに関してはわれわれはまだ確認していない。

一方、NOドナーによるI_{Ks}活性化はODQでは影響を受けず、NEM・DTTにより抑制されることから

図7 cAMPとcGMPの作用のクロストーク

cGMP依存性のprotein s-nitrosylation経路を介することが示唆される(図6)。Protein s-nitrosylation反応はcAMPあるいはPKAに無関係に起こることから、I_{Ks}活性化は基底状態から観察され、一方I_{Ca,L}抑制は交感神経刺激状態でのみ観察されることがよく理解できる。

IV. 性ホルモンによるNO産生経路

次に性ホルモンがNOを産生する経路を種々のシ

図8 ホルモン刺激によるNO産生メカニズム

A：テストステロンによる I_{Ks} 増大に対する各種ブロッカーの作用。

B：テストステロンによるeNOSリン酸化に対する各種ブロッカーの作用。

〔文献14〕より引用改変〕

グナル伝達分子のブロッカーを用いた電気生理学、生化学的実験から検討した¹⁴⁾。図8に示すようにテストステロンによる I_{Ks} 増大は、アンドロゲン受容体ブロッカー nilutamide, c-Src 阻害薬 (4-amino-5-[4-chlorophenyl]-7-[t-butyl]pyrazolo[3,4-d]pyrimidine) PP2, PI3-kinase 阻害薬 2-(4-morpholinyl)-8-phenyl-1(4H)-benzopyran-4-1-hydrochloride (LY-294,002), Akt 阻害薬 D-2,3-dioxy-myo inositol 1-(R)-2-methoxy-3-(octadecyloxy) propyl hydrogen phosphate (SH6), eNOS 阻害薬 L-N₅-(1-lminoethyl) ornithine (L-NIO) により抑制された。

リン酸化 eNOS に対する抗体を用いた Western blotting 実験により、テストステロンが eNOS のリン酸化を誘導することが判明した。このリン酸化も nilutamide, PP2, LY-294,002, SH-6 により抑制された。

次にこれらのシグナル分子の細胞内局在を、スクロース密度勾配遠心法を用いて検討した¹⁵⁾。モルモット心室筋細胞膜をスクロース密度5～40%の11フラクション(F1～F11)に分け、細胞質分画と一緒に Western blot 解析を行った(図9)。Caveolin-3および flotillin-1が主にF5に局在したことから、われわれの実験ではF5が主なカベオラ、脂質ラフト分画であるものと考えられる。Androgen receptor (AR) の短

図9 スクロース密度勾配遠心法

モルモット細胞膜をスクロース密度5～40%の11の分画に分離し、細胞質分画とともに Western blot 解析を行った。

〔文献15〕より引用改変〕

縮型 AR45 および progesterone receptor (PR) の短縮型 PR78, eNOS, I_{CaL} チャネル α -サブユニット $Ca_v1.2$, I_{Ks} チャネル α -サブユニット KCNQ1 はカベオラ分画に局在した。c-Src, PI3-kinase の調節サブユニット p85, Akt, および I_{Ks} チャネル β -サブユニット KCNE1 は比較的広い範囲に存在したが、少

図 10
シミュレーション実験：活動電位に対する
プロゲステロンの作用

A：基底状態および交感神経刺激状態のコントロール(破線)，プロゲステロン2.5 nM(実線)，40.6 nM(破点線)の活動電位のシミュレーション。

B：(a)1次元カップリング細胞に対するコントロール，プロゲステロン2.5 nM，40.6 nMの活動電位伝搬。100個の細胞をギャップジャンクションで結合し，Cell #1で刺激を行い，Cell #100方向への伝搬を観察。(b)パネルaから構築した擬似心電図。

〔文献15〕より引用改変〕

なくともカベオラ分画に一定量存在することが示された。以上の検討から，性ホルモンがNOを産生する経路は，カベオラドメインで細胞膜局在短縮型性ホルモン受容体→c-Src→PI3-kinase→Akt→eNOSのシグナル伝達経路で行われるものと考えられる。

V. コンピュータシミュレーションモデル

ウェットの実験から得られた結果をもとに，二つの目的でコンピュータシミュレーションモデリングを行った。一つは I_{Ks} ， I_{CaL} に対する作用から活動電位に対する性ホルモン作用を説明できるかの検討，もう一つは先天性QT延長症候群モデル，薬剤誘発性QT延長症候群モデルの不整脈に対して性ホルモンが保護的に作用するかの検討である。モデルはFaber-Rudyモデルを改良して用いた¹⁹⁾。

性ホルモン濃度に変動があるプロゲステロンのほうが複雑な状況を再現でき臨床的に有用性が高いと

考えられたため，プロゲステロンの作用を卵胞期の2.5 nMと黄体期の40.6 nMの濃度で導入したところ，基底状態，交感神経刺激状態のいずれにおいてもプロゲステロンが濃度依存性に活動電位幅を短縮し，その程度はウェットの実験結果とほぼ同程度であった(図10A)。実際の心筋細胞では細胞同士が電気的にカップリングしており電気緊張性に影響しあっているため，状況が異なる可能性も考えられる。そこで，1次元細胞カップリングモデルを作成し，活動電位幅および擬似心電図をモデル化したが，QT間隔が性周期に応じて変動することが示された。臨床においても性周期でQT間隔が変動することが報告されているが⁵⁾，その程度とも比較的良好一致がみられた(図10B)。したがって，さらなる改善は当然必要ではあるものの，今回のモデルはある程度実験結果および臨床データを反映する精度の高いモデルと考えられる。

図 11
先天性LQTと薬物誘発性LQTにおける
不整脈に対するプロゲステロンの作用
の予測

A：先天性LQT5モデル(KCNE1 D76N変異)
で、心拍数を150 bpmにすると卵胞期
(プロゲステロン2.5 nM)では2：1応答
となる．黄体期(プロゲステロン
40.6 nM)では活動電位幅は短縮し、1：
1応答へと正常化する．

B： I_{Kr} を50%に減少し、刺激頻度を30 bpm
の徐脈にすることにより卵胞期(プロゲ
ステロン2.5 nM)ではEADが発生(=薬
物誘発性LQTモデル)．黄体期(プロゲ
ステロン40.6 nM)ではEADが完全に
消失．

[文献15)より引用改変]

そこで、この再現性のあるモデルを用いて先天性、薬物誘発性QT延長症候群モデルの不整脈に対する作用の予測を試みた．先天性QT延長症候群はLQT5で交感神経に対する I_{Ks} の反応が消失し交感神経緊張時に不整脈が起りやすいD76N KCNE1変異モデルを用いた²⁰⁾．高頻度刺激を行うとプロゲステロン2.5nM(卵胞期の濃度)では刺激に対して1：1応答がみられない(図11A)．臨床状態では1：1応答がみられる心筋細胞と2：1応答の心筋細胞が混在することが考えられ、再分極時間の不均一によって不整脈基質となることが予想される．プロゲステロンを40.6 nM(黄体期の濃度)にすると活動電位幅が短縮し1：1応答がみられようになった(図11A)．薬物誘発性QT延長症候群モデルとしては、 I_{Kr} を50%に減らし、徐脈にすることによってプロゲステロン2.5 nMでは早期後脱分極 early after-

depolarization (EAD)が誘発されたが、プロゲステロンを40.6 nMにするとEADが消失した(図11B)．したがって、先天性QT延長症候群でも薬物誘発性QT延長症候群でも不整脈がプロゲステロンにより濃度依存性に予防され、性周期において不整脈リスクが変動する可能性が予測された．

VI. おわりに

以上の検討から、図12に示すような性ホルモン非ゲノム作用による心筋イオンチャネル制御機構があることを初めて示すことができた．エストロゲンのゲノム作用によるKv4.3の発現低下をもって性差を説明する報告がなされており¹²⁾、ゲノム作用と合わせて包括的に考える必要があると思われる．ただし、多くの臨床データから示唆されているテストステロンやプロゲステロンの保護作用を説明するゲノ

図12 テストステロン、プロゲステロン非ゲノム作用による心筋イオンチャネル制御モデル

ム作用のデータは今のところない。また心臓に発現する androgen receptor は今回非ゲノム作用に働くことが示された AR45 が主要な受容体であることも報告されており²¹⁾、非ゲノム作用の関与は予想以上に大きいものと考えられる。今回細胞レベルと1次元カップリング細胞レベルで、コンピュータシミュレーションモデルが不整脈リスク予測に有用である可能性が示唆された。エストロゲンには異なった作用があることが予備実験から示唆されている。エストロゲン作用も含めた包括的モデル、さらには2次元・3次元モデルの開発が進行中であり、臨床に役立つモデルの構築を目指していきたい。

謝辞：本研究は「文部科学省科学研究費」，「車両財団研究助成」ならびに「三井厚生財団特別研究助成」による援助を受けて行われた。また，以下に列举する多くの方々のご協力に，この場を借りて深い感謝の意を表する。東京医科歯科大学難治疾患研究所生体情報薬理分野：貝原麻美，大石咲子，小崎恵理，林万紀子，渡辺圭子，共立薬科大学基礎生物学講座：角坂祥子，黒羽笑加，鈴木岳，藤田保健衛生大学医学部生化学講座：本田伸一郎，原田信広，ユタ大学：Michael C. Sanguinetti。

〔文 献〕

- 1) Hashiba K : Hereditary QT prolongation syndrome in Japan : Genetic analysis and pathological findings of the conduction system. *Jpn Circ J*, 1978 ; 78 : 1133 ~ 1150
- 2) Makkar RR, Fromm BS, Steinman RT, Meissner MD, Lehmann MH : Female gender as a risk factor for torsades de pointes associated with cardiovascular drugs. *JAMA*, 1993 ; 270 : 2590 ~ 2597
- 3) Priori SG, Schwartz PJ, Napolitano C, Bloise R, Ronchetti E, Grillo M, Vicentini A, Spazzolini C, Nastoli J, Botteli G, Folli R, Cappelletti D : Risk stratification in the long-QT syndrome. *N Engl J Med*, 2003 ; 348 : 1866 ~ 1874
- 4) Rodriguez I, Kilborn MJ, Liu XK, Pessullo JC, Woosley RL : Drug-induced QT prolongation in women during the menstrual cycle. *JAMA*, 2001 ; 285 : 1322 ~ 1326
- 5) Nakagawa M, Ooie T, Takahashi N, Taniguchi Y, Anan F, Yonemochi H, Saikawa T : Influence of menstrual cycle on QT interval dynamics. *Pacing Clin Electrophysiol*, 2006 ; 29 : 607 ~ 613
- 6) Locati EH, Zareba W, Moss AJ, Schwartz PJ, Vincent GM, Lehmann MH, Towbin JA, Priori SG, Napolitano C, Robinson JL, Andrews M, Timothy K, Hall WJ : Age- and sex-related differences in clinical manifestations in patients with congenital long-QT syndrome : findings from the International LQTS Registry. *Circulation*, 1998 ; 97 : 2237 ~ 2244
- 7) Kadish AH, Greenland P, Limacher MC, Fishman WH, Daugherty SA, Schwartz JB : Estrogen and progestin use and the QT interval in postmenopausal women. *Ann Noninvasive Electrocardiol*, 2004 ; 9 : 366 ~ 374
- 8) Furukawa T, Kurokawa J : Regulation of cardiac ion channels via non-genomic action of sex steroid hormones : Implication for the gender difference in cardiac arrhythmias. *Pharmacol Therapeut*, 2007 ; 115 : 106 ~ 115
- 9) Carnes CA, Dech SJ : Effects of dihydrotestosterone on cardiac inward rectifier K⁺ current. *Int J Androl*, 2002 ; 25 : 210 ~ 214
- 10) Brouillette J, Rivard K, Lizotte E, Fiset C : Sex and strain differences in adult mouse cardiac repolarization : importance of androgens. *Cardiovasc Res*, 2005 ; 65 : 148 ~ 157
- 11) Drici MD, Burklow TR, Haridas V, Glazer RI, Woosley RL : Sex hormones prolong the QT interval and downregulate potassium channel expression in the rabbit heart. *Circulation*, 1996 ; 94 : 1471 ~ 1474
- 12) Song M, Helguera G, Eghbali M, Zhu N, Zarei MM, Olcese R, Toro L, Stefani E : Remodeling of Kv4.3 potassium channel gene expression under the control of

- sex hormones. *J Biol Chem*, 2001 ; 276 : 31883 ~ 31890
- 13) Helguera G, Olcese R, Song M, Toro L, Stefani E : Tissue-specific regulation of Ca^{2+} channel protein expression by sex hormones. *Biochim Biophys Acta*, 2002 ; 1569 : 59 ~ 66
 - 14) Bai CX, Kurokawa J, Tamagawa M, Nakaya H, Furukawa T : Nontranscriptional regulation of cardiac repolarization currents by testosterone. *Circulation*, 2005 ; 112 : 1701 ~ 1710
 - 15) Nakamura H, Kurokawa J, Bai CX, Asada K, Xu J, Oren RV, Zhu ZI, Clancy CE, Isobe M, Furukawa T : Progesterone regulates cardiac repolarization through a non-genomic pathway : an in vitro patch-clamp and computational modeling study. *Circulation*, 2007 ; 116 : 2913 ~ 2922
 - 16) Bai CX, Namekata I, Kurokawa J, Tanaka H, Shigenobu K, Furukawa T : Role of nitric oxide in Ca^{2+} -sensitivity of the slowly activating delayed rectifier K^{+} current in cardiac myocytes. *Circ Res*, 2005 ; 96 : 64 ~ 72
 - 17) Bai CX, Takahashi K, Masumiya H, Sawanobori T, Furukawa T : Nitric oxide-dependent modulation of the delayed rectifier K^{+} current and the L-type Ca^{2+} current by ginsenoside Re, an ingredient of panax ginseng, in guinea-pig cardiomyocytes. *Br J Pharmacol*, 2004 ; 142 : 567 ~ 575
 - 18) Fischmeister R, Castro L, Abi-Gerges A, Rochais F, Vandecasteele G : Species- and tissue-dependent effects of NO and cyclic GMP on cardiac ion channels. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol*, 2005 ; 142 : 136 ~ 143
 - 19) Faber GM, Rudy Y : Action potential and contractility changes in $[\text{Na}^{+}]$ overloaded cardiac myocytes : a simulation study. *Biophys J*, 2000 ; 78 : 2392 ~ 2404
 - 20) Terrenoire C, Clancy CE, Cormier JW, Sampson KJ, Kass RS : Autonomic control of cardiac action potentials : role of potassium channel kinetics in response to sympathetic stimulation. *Circ Res*, 2005 ; 96 : e25 ~ e34
 - 21) Ahrens-Fath I, Politz O, Geserick C, Haendler B : Androgen receptor function is modulated by the tissue-specific AR45 variant. *FEBS J*, 2005 ; 272 : 74 ~ 84