I. 基礎

心臓の中のカルシウム：旧友の新たな役目

南沢　　享

早稲田大学先進理工学部生命医科学科

Key words：
Ca^{2+}, sarcoplasmic reticulum, ryanodine receptor, sarcoplasmic reticulum calcium ATPase 2a, heart failure

Calcium in the Heart: New Roles for An Old Friend

Susumu Minamisawa

Department of Life Science and Bio-medical Science, Waseda University, Tokyo, Japan

The sarcoplasmic reticulum (SR) is an organellae that has been developed for intracellular Ca^{2+} storage. Periodic changes in Ca^{2+} concentration in cardiomyocytes, which are essential for cardiac contraction and relaxation, are integrally regulated by proteins associated with the SR. The activity of the cardiac ryanodine receptor (RyR2) and the SR calcium ATPase 2a (SERCA2a) are known to be under fine-tuning by their intrinsic regulatory domains and associated SR proteins. A growing body of evidence, including studies using genetically engineered mouse models and human genetics, has shown that both Ca^{2+} release by RyR2 and Ca^{2+} reuptake by SERCA2a play a pivotal role in heart failure and lethal arrhythmias. The improvement of the SR function has ameliorated effects on cardiac pump function and it has potential therapeutic value for heart failure and arrhythmias.

要　旨

筋小胞体は，細胞内Ca^{2+}貯蔵庫として発達した細胞内小器官である．心筋の収縮弛緩時における細胞内Ca^{2+}濃度の変化は，おもに心筋筋小胞体でのCa^{2+}の出入りによって制御されている．その制御に主役を演じる分子は，筋小胞体からCa^{2+}を放出する心筋ライアノジン受容体（ryanodine receptor：RyR2）と，筋小胞体へCa^{2+}を取り入れる心筋筋小胞体膜Ca^{2+}ポンプ（筋小胞体Ca^{2+} ATPase：SERCA2a）である．さらに心筋筋小胞体には，RyR2やSERCA2aに相互作用する分子が多く存在し，それぞれの機能を巧妙に調節している．心筋筋小胞体機能の低下や異常は，心不全の発症・進行に極めて深刻な影響を及ぼす．さらに，心筋筋小胞体分子の遺伝子変異が，心筋症や致死性不整脈の原因となることがわかってきている．心不全や不整脈に対する本質的な治療法の開発を考えるとき，心筋筋小胞体蛋白は新たな標的として非常に重要である．

はじめに

心臓の第一義的な役割は，全身の血液循環を維持するため，血液を汲み出すポンプとして働くことである．心筋細胞内外に存在する数種類のイオンによって，このポンプの働きが制御されていることは，まさに生命の妙といって過言ではない．特にカルシウムイオン（Ca^{2+}）は，心筋収縮弛緩を制御する最も重要なイオンである．現在では当たり前のこの事実に最初に気付いたのは，今からわずか百数十年前の19世紀後半，リンゲル液の名前の由来となったSydney Ringer博士であった[1]．彼の実験助手が生理食塩水の代わりに水道水を使ったために，Ca^{2+}が筋の収縮に欠かせないことを発見したエピソードはあまりにも有名である[2]．しかしこの発見の後も，筋収縮を司っているのがCa^{2+}であることは永らく認知されず，江橋節郎博士によるトロポニンの発見によって，ようやく筋収縮カルシウム説が支持されるようになった（http://www.brh.co.jp/s_library/j_site/scientistweb/no12/）．

筋が正常に収縮弛緩するには筋細胞内外のCa^{2+}濃度が適正に制御されている必要がある．心筋細胞質のCa^{2+}濃度は，細胞外Ca^{2+}濃度と比べると，弛緩時には約１万分の１の低濃度である．心拍に伴い，心筋細胞質のCa^{2+}濃度は周期的に増加（収縮時），低下（弛緩時）を繰り返す．この周期的心筋細胞内Ca^{2+}濃度の変化によって，心臓は正常なポンプ機能を営んでいる．周期的心筋細胞内Ca^{2+}濃度変化は，Ca^{2+}貯蔵庫である心筋筋小胞体を介するCa^{2+}の出入りによって，おもに制御

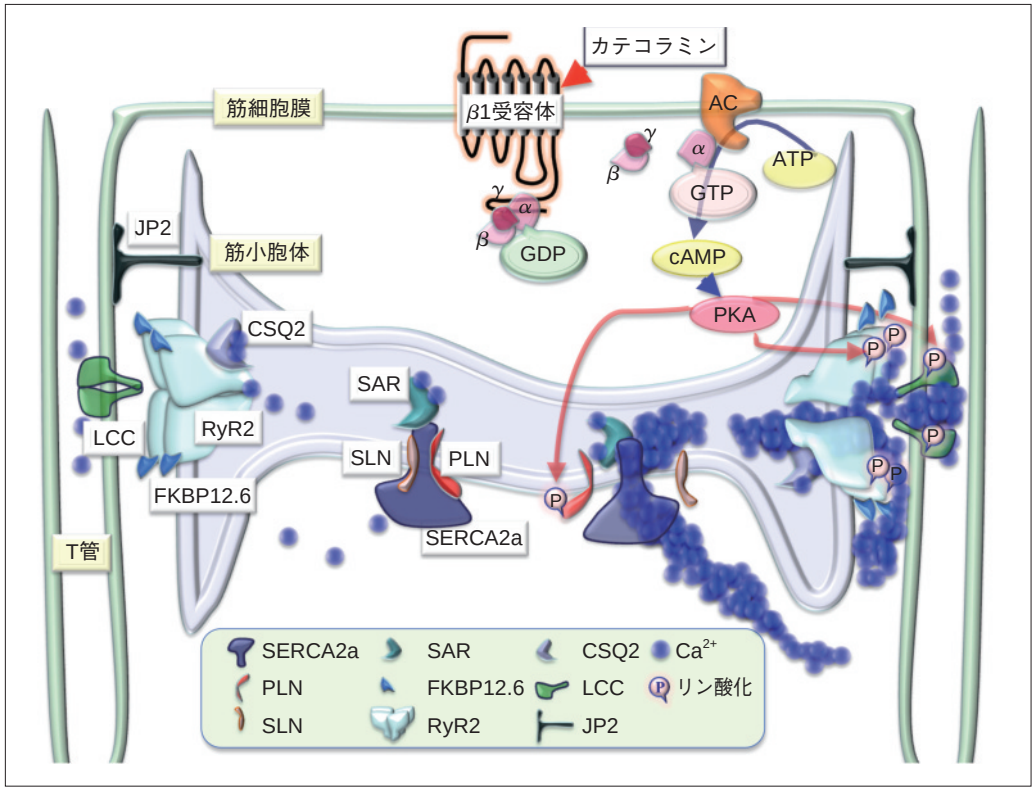

図 1　心筋筋小胞体におけるカルシウムサイクリングについての模式図.
図の左半分は交感神経刺激のない状態でのカルシウムサイクリングを，右半分は交感神経刺激に伴うカルシウムサイクリングの増強を示す．交感神経刺激によって，Gsα-GTP複合体によるアデニル酸シクラーゼ(AC)活性化が生じ，cAMP産生が増加する．これによってcAMP依存性プロテインキナーゼA(PKA)が活性化し，電位依存性L型カルシウムチャネル(LCC)，ライアノジン受容体(RyR2)，ホスフォランバン(PLN)がリン酸化される．このリン酸化によって，心筋細胞膜からのカルシウム流入，心筋筋小胞体膜からのカルシウム流出，筋小胞体内へのカルシウム再取り込みがそれぞれ増加促進する．心筋筋小胞体でのカルシウムサイクリング全体の回転の増強・促進が，心筋の収縮性拡張性を高めることになる．
SERCA2a：心筋型筋小胞体カルシウムATPase，PLN：ホスフォランバン，SLN：サルコリピン，SAR：サルカルメニン，FKBP：FK506 binding protein，RyR2：心筋ライアノジン受容体，CSQ2：カルセクエストリン，LCC：L型カルシウムチャネル，JP2：心筋型ジャンクトフィリン，Ca^{2+}：カルシウムイオン，P：リン酸化，PKA：cAMP依存性プロテインキナーゼA，cAMP：環状アデノシン一リン酸，ATP：アデノシン三リン酸，AC：アデニル酸シクラーゼ，GDP：guanosine diphosphate，GTP：guanosine triphosphate

されている．したがって，心筋筋小胞体におけるCa^{2+}調節は，心臓のポンプ機能を決定する重要な因子となる．本稿では，心筋筋小胞体におけるCa^{2+}調節について概説するとともに，心疾患，特に心不全や致死性不整脈への心筋筋小胞体機能異常の関与，および心筋筋小胞体を標的とする治療法に関する最新の研究成果を紹介する．

心筋筋小胞体におけるCa^{2+}調節

1. 興奮収縮連関(excitation-contraction coupling)

心筋細胞膜の興奮から心筋が収縮・弛緩する過程は，特定の連鎖する反応により生ずる．これを興奮収縮連関(excitation-contraction coupling：EC coupling)と呼ぶ(図 1)．その連鎖反応は，心筋細胞膜に活動電位が生じ，電位依存性L型Ca^{2+}チャネルが開口して，細胞外Ca^{2+}が細胞内に流入することから始まる．L型Ca^{2+}チャネルは心筋筋小胞体に存在するCa^{2+}放出チャネル－RyR2と構造的に非常に近接して存在する．RyR2はL型Ca^{2+}チャネルを介する細胞内Ca^{2+}流入を感知すると，そのチャネルを開口する．すると心筋筋小胞体内Ca^{2+}がRyR2を介して，心筋細胞内へと一斉に放出される．そのCa^{2+}は，細い筋原線維(アクチンフィラメント)上にあるトロポニンCと結合する．トロポニンCはCa^{2+}が結合すると，立体構造が変化する．その変化によって細い筋原線維が太い筋原線維(ミオシンフィラメント)に接近すると，心筋の収縮が開始する．した

がって，心筋筋小胞体から放出されるCa^{2+}量とその速度は，心筋の収縮性を決定する第一義の要因となる．

弛緩期には，細胞質内Ca^{2+}の大部分が，心筋筋小胞体膜に存在するCa^{2+}ポンプであるSERCA2aにより，再び心筋筋小胞体内へ取り込まれる．また一部のCa^{2+}は細胞膜に存在するNa^+/Ca^{2+}交換機構（Na^+/Ca^{2+} exchanger：NCX）と細胞膜Ca^{2+}-ATPaseを介して，細胞外に排出される．こうして心筋細胞質内Ca^{2+}濃度が低下するとともに，トロポニンCからCa^{2+}が乖離し，筋原線維は弛緩し，心臓は拡張する．興奮収縮連関をカルシウムの視点から見ると，カルシウムが循環利用されているように見えるため，これをカルシウムサイクリングと呼ぶこともある．このように心筋筋小胞体は興奮収縮連関に深く関わり，Ca^{2+}放出にはRyR2が，Ca^{2+}再取り込みにはSERCA2aが，それぞれ主役を演じている．

2. RyR2－Ca^{2+}放出チャネル

ライアノジン受容体は筋小胞体Ca^{2+}貯蔵庫からのCa^{2+}放出を司るチャネルである．ライアノジン受容体には3種類のアイソフォームが存在し，心筋には2型アイソフォーム（RyR2）が特異的に発現している．L型Ca^{2+}チャネルから細胞内に流入したCa^{2+}濃度の増加を感知して，RyR2が開口し，心筋筋小胞体から細胞質へCa^{2+}が放出される．この機構は遠藤実博士らによって発見され，Ca^{2+}誘発性Ca^{2+}放出と呼ばれている[3]．RyR2は心筋筋小胞体終末槽に存在し，T管（横行小管）に存在するL型Ca^{2+}チャネルと極めて近接して，お互いがわずかな細胞質の間隙を挟んで向かい合うような構造をとる．この構造を接合部複合体と呼ぶこともある．Ca^{2+}誘発性Ca^{2+}放出が正常に行われるには，この接合部複合体構造が正常に形成されていることが重要である．この構造がいかなる分子機序で形成されるかについては，長らく不明であった．しかし近年ジャンクトフィリン（junctophilin）という，細胞膜と筋小胞体膜を架橋する蛋白が発見され，これが正常な接合部構造の形成に重要であることが判明した[4]．

RyR2は1分子で約5,000個のアミノ酸からなる非常に大きな蛋白であるが，さらにホモ四量体となって一つのチャネルを形成している[5]．RyR2は心筋筋小胞体膜を貫通する．RyR2の細胞質側・筋小胞体側に多くの分子が結合し，RyR2の機能を調節している（図1）．FKBP12.6〔カルスタビン（calstabin）とも呼ばれる〕は，細胞質側で四量体それぞれに1対ずつ結合する．FKBP12.6が結合したRyR2は，構造が安定し，Ca^{2+}がリークしにくくなる．免疫抑制剤FK506はFKBP12に作用することが知られているが，FKBP12.6にも作用し，RyR2からFKBP12.6を乖離させる働きがある．このためRyR2のチャネル開閉は不安定となり，あたかもジッパーがゆるんでしまったかのようになり，Ca^{2+}リークが増加すると考えられている．RyR2の細胞質側にはFKBP12.6以外にも，リン酸化酵素，脱リン酸化酵素，それらのアンカー蛋白などが存在し，大きな複合体を形成するとともに，RyR2の機能を制御している．心筋筋小胞体内では，カルセクエストリン（calsequestrin）と呼ばれるカルシウム結合蛋白がRyR2に結合し，RyR2の機能を調節している．その機能調整に関しての詳細な分子機構はまだあまりよくわかっていない．カルセクエストリンはカルシウムを結合し，筋小胞体内Ca^{2+}を保持する役割もあると考えられている．

交感神経β受容体刺激は，RyR2からのCa^{2+}放出を促進する．その機序は，次のように考えられている．交感神経β受容体刺激によって，アデニル酸シクラーゼ-cyclic AMP経路を介して，プロテインキナーゼAが活性化される．活性化PKAによってRyR2がリン酸化される．その部位は2808番目のセリン残基と考えられているが，最近2030番目のセリン残基もPKAでリン酸化されると報告された[6]．リン酸化されたRyR2は，FKBP12.6との結合が弱まり，RyR2のチャンネル部分をより開口状態へと調節し，Ca^{2+}放出が量・速度ともに増大する．したがって，収縮時細胞内Ca^{2+}濃度が増加するために，心筋の収縮性が増強する（図1）．RyR2のリン酸化状態はPKAばかりではなく，protein phosphatase 1のような脱リン酸化酵素によっても制御されており，実に巧妙で微細な調節を受けている．また，本稿では触れることができないが，最近の研究では，cAMP-PKA系のリン酸化ばかりではなく，プロテインキナーゼ Cα，Ca^{2+}-calmodulin-dependent protein kinase IIなどのリン酸化酵素が，筋小胞体を介するCa^{2+}調節に重要な役割を演じていることが明らかにされている．

3. SERCA2a

SERCA2aのおもな役割は，RyR2によって細胞質に放出されたCa^{2+}を，拡張期に心筋筋小胞体内へと回収し，心筋筋小胞体内Ca^{2+}濃度を保持することである[7]．そのためには，能動的にCa^{2+}を細胞質から筋小胞体内へと汲み上げる必要があり，SERCA2aはATPを分解して得たエネルギーを利用する．RyR2が心筋筋小胞体終末槽に局在するのに対し，SERCA2aは心筋筋小胞体縦走管部に局在し，位置的に離れてお互いの機能を分担している．分子量は約11万，約1,000個のアミノ酸

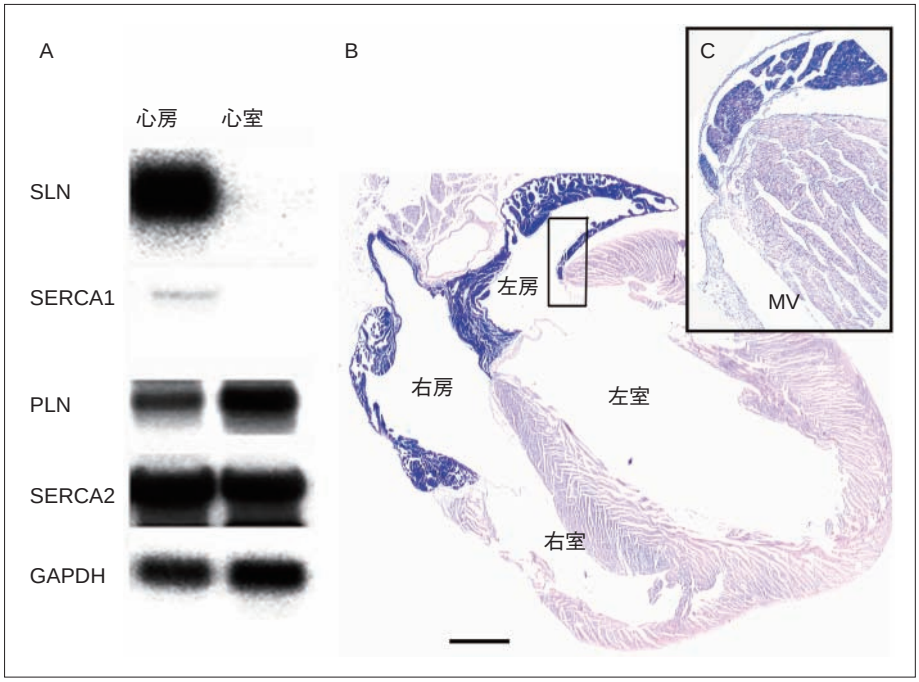

図 2　心臓でのサルコリピン（sarcolipin）mRNA発現様式.
A：ノザンブロット解析．サルコリピン（SLN）の発現は心房筋で非常に高く，心室筋ではほとんど検出できない．一方，サルコリピン蛋白と相同性の高いホスフォランバン（PLN）のmRNAは，心室筋の方が心房筋に比べ，高発現している．B：サルコリピンmRNAの*in situ*ハイブリダイゼーション解析．サルコリピンmRNAの発現が心房筋特異的であることがよくわかる．C：Bの部分の拡大図.
SLN：サルコリピン，SERCA1：骨格筋型筋小胞体カルシウムATPase，PLN：ホスフォランバン，SERCA2：心筋型筋小胞体カルシウムATPase，GAPDH：glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase（内因性コントロール用），MV：僧帽弁

からなり，心筋筋小胞体膜を10回貫通している．その立体構造は詳細に解析されており，他の総説[8]を参照されたい．RyR2同様，SERCA2aにもさまざまな分子が結合し，SERCA2aの活性を調節している．心筋でのSERCA2a機能を調節する最も重要な因子は，ホスフォランバン（phospholamban：PLN）と呼ばれる筋小胞体膜蛋白である．PLNがSERCA2aと結合すると，SERCA2aによるCa^{2+}再取り込みが抑制される．PLNはわずか52アミノ酸からなる 1 回膜貫通型蛋白であり，心筋に極めて高い局在性があるが，骨格筋や平滑筋にも分布している．心筋の中では，心房筋よりも心室筋に多く発現している（図 2）．一方，われわれはPLNと分子構造が類似しているサルコリピン（sarcolipin）と呼ばれる筋小胞体膜蛋白が，心房筋に特異的に発現し，心室筋にはほとんど発現していないことを見出した[9]（図 2）．サルコリピンもPLN同様，SERCA2aに結合し，その活性を抑制する．

またRyR2におけるカルセクエストリンのように，サルカルメニン（sarcalumenin）と呼ばれるカルシウム結合蛋白が心筋筋小胞体内でSERCA2aに結合している．われわれはサルカルメニンノックアウトマウスを用いた研究で，サルカルメニンが存在すると，SERCA2a蛋白が安定化し，その半減期を延ばすこと，サルカルメニンと結合したSERCA2a はCa^{2+}再取り込みが促進すること，などを見出した[10]．サルカルメニンによる心筋筋小胞体内Ca^{2+}調節機構に関しては，まだよくわかっておらず，今後の検討課題である．

交感神経β受容体刺激は，SERCA2aによる心筋筋小胞体内へのCa^{2+}再取り込みを促進する．その機序は，次のように考えられている．通常，脱リン酸化状態にあるPLNが存在し，SERCA2aと結合し，その活性を抑制している．交感神経β受容体刺激によって，PKAが活性化されると，PLNの16番目に位置するセリンがリン酸化される．リン酸化されたPLNはSERCA2aとの結合が弱まる．その結果，SERCA2a活性の抑制が解除され，活性が増加する．SERCA2a自体はPKAによってリン酸化されず，機能制御を受けていない点が，RyR2の制御機序と異なる点である．PLNのリン酸化状態も

RyR2同様，protein phosphatase 1 のような脱リン酸化酵素やPKA以外にもほかのリン酸化酵素によって，二重，三重の調節を受けており，巧妙に細胞内や筋小胞体内のCa^{2+}濃度を調節していることがうかがわれる．

ここで強調すべき点は，PLNが全く存在しないマウスでは，交感神経刺激がなくても，最大の交感神経刺激をしたときと同程度にまで心機能が亢進していたことである[11]．このことは，生理的条件下で，交感神経刺激による心筋収縮拡張性の亢進は，その大部分がPLNに起因することを示唆している．さらに興味深いことには，PLNが全く存在しないマウスは，生涯にわたり収縮拡張機能が交感神経刺激時と同程度に亢進しているにもかかわらず，病的な心肥大もなく，長期の生存率も野生型マウスと変わらない．この点は，交感神経刺激が長期間維持されると，初期にはポンプ機能が亢進するが，次第に心肥大や心筋細胞のアポトーシスが進んでくる現象と明らかに異なる．すなわちポンプ機能の亢進だけでは，心臓への悪影響はほとんどないことを示している点で重要である．

心筋筋小胞体機能異常の要因とその改善策

1. 心疾患と心筋筋小胞体機能異常

心臓がポンプとしての役割を十分に果たせなくなると，生体が恒常性を保てなくなり，全身の器官・組織の機能に異常が生じる．これが慢性化すると，それぞれの器官の機能異常が相互に作用し，さらなる機能異常や器質的変化をもたらす．それは心臓自体にも悪影響を及ぼし，心機能はさらに低下する．その結果，全身の器官が機能異常を起こす悪循環はいっそう加速し，全身にさまざまな症状が現れる．この状態を心不全と呼ぶ．したがって，「心不全」は単一の病名ではなく，心臓がポンプとしての役割を果たせなくなったために生じた症候群としてとらえられる．心臓のポンプ機能を決定する重要な因子が，心筋筋小胞体におけるCa^{2+}調節であることから，心筋筋小胞体機能低下がいかに心不全の病態へ関与しているのかが検討されてきた．これまでの研究では，心不全を来す原因の違いにかかわらず，心不全時には心筋筋小胞体の機能低下がほぼ共通に認められることから，心不全の発症機転および進行に極めて重要であることがわかってきている[12, 13]．

心不全の病態には，カルシウム制御の異常のみならず，神経体液性因子の乱れや局所血流不足など多彩な要因が複合的に絡み合うため，病態が進行すればするほど，その治療が困難になる．したがって，心不全の治療は，病初期にその進行を防ぐことが非常に重要となる．心臓のポンプ機能が低下すると，生体ではそれに適応するために交感神経系の活性化が生じる．しかし，交感神経系の活性化は一時的なポンプ機能の改善には役立つが，長期的にはむしろ心不全の病態を悪化させることが知られるようになった．ゆえに，交感神経刺激薬を含む，いわゆる「強心剤」は慢性心不全の治療に用いられなくなった．しかしもう一度，病態の発端＝心機能の低下，を改めて考えてみると，心臓のポンプ機能を改善させること自体が，本当に有害なのであろうか？　これは心不全の治療を考えるうえで非常に重要であり，本稿の後半で改めて考察してみたい．

不整脈はリエントリーや異所性自動能亢進などによって生じるが，心筋筋小胞体の機能が不整脈の発症や進行に深く関わっていることが明らかとなってきた．特にRyR2からの不規則なカルシウム放出が，遅延後脱分極を生じて致死性の心室性頻拍の原因となることが判明し，注目を集めている[14]．

2. 心筋筋細胞膜と筋小胞体膜接合部複合体に関わる障害

心筋筋小胞体からのCa^{2+}放出が，細胞膜からのCa^{2+}流入によって誘発されるために，このCa^{2+}流入障害が心不全と関連するか検討されてきた．しかし現在までのところ，L型Ca^{2+}チャネル異常などに起因するCa^{2+}流入障害を積極的に示唆する研究は乏しい．一方，以前より，筋細胞膜と筋小胞体膜の構造的ないし機能的なカップリングが，心機能を維持するうえで重要であることが示されている[15]．前述したように，ジャンクトフィリンが接合部複合体構造を形成するうえで非常に重要な蛋白であることから，ジャンクトフィリンの発見とともに，心疾患との関わりが精力的に調べられてきた．われわれの研究では，心筋型ジャンクトフィリン（junctophilin type 2：JP2）の発現は，肥大心で著しく低下していた[16]．さらに2007年には，2 つのグループから肥大型心筋症とJP2遺伝子異常が関連するとの報告がなされた[17, 18]．今後，その分子機序を検討する必要があるが，JP2の機能的特性を考えると，接合部でのカップリング障害に起因するCa^{2+}調節異常が心筋症発症に関わっていることが推察される．

3. 心筋筋小胞体からのCa^{2+}放出に関わる障害

心不全時には交感神経の過剰な活性化などの要因によって，RyR2のリン酸化が正常以上に進み（過リン酸化状態），RyR2に結合するFKBP12.6が著しく低下する．その結果，RyR2のチャネル開閉が不安定化し，収縮時の周期的なCa^{2+}放出以外に，拡張期にもRyR2か

らの細胞内へのCa^{2+}リークが増加する．不規則なCa^{2+}リークによって，心筋筋小胞体内Ca^{2+}が枯渇するために，収縮期に放出されるCa^{2+}量が低下する．その結果，心筋収縮性の低下をいっそう悪化させることになる[19]．さらに重要な現象として，不規則なCa^{2+}リークによって遅延後脱分極が生じ，不整脈の引き金となり，心臓突然死の原因となり得る．これは心不全時の心室性不整脈の発生機序として，注目されている．

また，最近のヒトRyR2遺伝子解析の研究によって，RyR2遺伝子異常が不整脈原性右室異形成（arrhythmogenic right ventricular dysplasia：ARVD）の原因となることが明らかとなった[20]．ARVDは，心室性不整脈を主徴候とする右室主体の心筋症と考えられ，青年期の突然死の原因として比較的頻度が高い．常染色体優性遺伝形式を呈するARVDでは，10種類の遺伝子異常が想定されており，ARVD2の原因遺伝子がRyR2である．その遺伝子変異は，FKBP12.6との結合領域に認められ，変異によってRyR2とFKBP12.6の結合能が低下するため，心筋筋小胞体からの不規則なCa^{2+}リークが増加すると考えられている．しかしながら，なぜ心筋に異常を来すのか，その異常が右室主体であるのはどうしてか，など未解決の点も多く，今後のさらなる研究が必要とされる．RyR2遺伝子異常はARVDばかりではなく，カテコラミン感受性多形性心室頻拍を生じることが報告された[21]．さらに，ほぼ同時期に心筋筋小胞体内に存在するRyR2結合蛋白カルセクエストリンの遺伝子変異によっても，カテコラミン感受性多形性心室頻拍を生じることが報告された[22]．カルセクエストリン遺伝子変異は，カルセクエストリン蛋白の低下を招き，その結果，心筋筋小胞体内に非結合型Ca^{2+}が増加するために，不規則なCa^{2+}リークが生じると推察されているが，詳しい機序についてはさらなる検討を要する．いずれにしても，これらの遺伝子異常によって，心筋筋小胞体からの不規則なCa^{2+}リークが起き，遅延後脱分極を生じ，不整脈が誘発されやすい素因を作っている．その上に交感神経刺激が加わると，いっそうCa^{2+}リークが増大し，致死性不整脈へと進展させると考えられる．

RyR2の過リン酸化による不規則なCa^{2+}リークが心不全を悪化させることから，過リン酸化を改善させる治療が有効であると想定される．交感神経β受容体遮断薬（β遮断薬）は，すでに多くのメタアナリシスによって，心不全に有効であることが判明しているが，その一つの機序はRyR2の過リン酸化を改善するためであると考えられている．一方，FKBP12.6に直接作用して，RyR2のチャネル構造を安定化させることも，心不全治療に有効と考えられる．事実，JTV519という薬剤が開発され，RyR2のチャネル構造を安定化させることによって，心不全や致死性不整脈に対して有効であるという動物実験が報告されている[23]．ただ，JTV519はCa^{2+}拮抗薬であるジルチアゼムと同じベンゾジアゼピン骨格を有しているため，高濃度の投与ではCa^{2+}チャネルの拮抗作用が出現することが指摘されている．現在，世界中でRyR2に特異性の高い薬物の開発競争が繰り広げられている．

4. 心筋筋小胞体へのCa^{2+}再取り込みに関わる障害

心不全時には心筋筋小胞体へのCa^{2+}取り込み能力が低下している．そのために心筋筋小胞体内Ca^{2+}が低下する原因となる．心不全時にはRyR2が過リン酸化状態になっているのとは対照的に，PLNのリン酸化は抑制されている（脱リン酸化状態）．脱リン酸化PLNはSERCA2aと結合し，SERCA2a活性がより抑制されるため，心筋筋小胞体へのCa^{2+}取り込み能力が低下する．さらに心不全ではSERCA2a蛋白自体の発現量が減少しており，心筋筋小胞体へのCa^{2+}取り込み能力がいっそう低下する原因となる．

最近のヒトPLN遺伝子解析の研究によって，PLNの遺伝子変異が心筋症の原因となることが判明し，PLNの重要性はさらに増した．現在までにコーディング領域に 3 カ所，プロモーター領域に 3 カ所の変異部位が同定されている[24]．SERCA2a遺伝子異常に伴う心筋症や不整脈の発症については，いまだ報告されていない．

心不全時にはSERCA2aによるCa^{2+}取り込み能力が低下していることから，SERCA2a機能を選択的に改善させることで，心不全の発症・進展を予防する試みが行われている．PLN遺伝子欠損マウスと拡張型心筋症モデルマウスとの交配実験では，PLNを欠くことによって，SERCA2a機能が亢進し，心不全の発症および進行を抑制できる結果が示された[25]．特にβ1 交感神経受容体を心筋特異的に過剰発現させた交感神経刺激負荷モデルマウスとPLN欠損マウスの交配実験の結果は注目に値する[26]．β1 交感神経受容体過剰発現マウスは，若年時には心機能が亢進しているが，やがて拡張型心筋症となり，死亡してしまう．ところが，PLN蛋白がないと，心機能は亢進したままであるにもかかわらず，拡張型心筋症にはならなかった．この結果は，SERCA2a機能を改善させることは，交感神経刺激による心不全進行因子ではないこと，また心機能を良くさせること自体は心不全の進行を防ぐことを明確に示している点で極めて重要である．なぜなら，交感神経β受

容体遮断薬が心不全に有効であることが明らかとなって以来，強心薬はすべて，慢性心不全治療には悪影響があると考えられるようになったからである．しかしながら，上記の動物実験の結果は，心機能を改善すること自体は，心不全治療にとって有効であることを示している．交感神経β受容体刺激による心不全の悪化は，別のシグナル伝達系（例えばアポトーシス経路の活性化など）に起因していることが示唆される．

別の研究グループは，大動脈絞扼による圧負荷によって生じた心不全モデルラットに対して，SERCA2a遺伝子を導入することによって，心機能の改善のみならず，生存率や心筋代謝の改善をも認めた[27]．さらに同じグループは心筋梗塞モデルにおいて，SERCA2a活性改善によって不整脈の発生頻度が減少することも報告している[27]．一方，PLN遺伝子の16番目のセリンをグルタミンに変異を加えて，人為的に偽リン酸化状態を作り出し，PLN-SERCA2a相互作用を解除させる手法が考案されている．変異PLN遺伝子をアデノ随伴ウイルスベクターに組み込み，心不全モデルハムスターの心筋に遺伝子導入した実験において，遺伝子導入されたハムスターはされないものに比べ，6 カ月以上の長期にわたり，有意に心機能の改善を認めた[28]．さらに心筋梗塞モデルラットに偽リン酸化変異PLNを導入することによって，心機能が改善することが示された[29]．こうした動物実験の結果は，心筋筋小胞体へのCa^{2+}再取り込みを改善するという，心不全遺伝子治療法の有望性を示している．

おわりに

心筋筋小胞体機能は，正常の心機能を保つうえで，極めて重要である．しかし小児循環器領域では，心筋筋小胞体機能が心疾患の病態にどの程度，関わっているのかについては，実はよくわかっていない．さらにCa^{2+}の放出と再取り込みの重要性は，本稿のなかで繰り返し強調したが，心筋筋小胞体内のCa^{2+}調節に関しては，その機構，役割，病態との関連などまだ不明な点が多く，これからの研究課題である．また，本稿では触れることができなかったが，心筋筋小胞体の発生・発達の分子機序についても不明な点が多く，解決すべき重要な課題である．発生段階で，心筋筋小胞体は筋原線維などに比べ，遅れて発達する．したがって，新生児や乳児では心筋筋小胞体が十分に発達していないため，Ca^{2+}調節の予備能が低いと考えられる．心筋筋小胞体の発生発達の分子機序の研究は，小児科領域ばかりでなく，例えば，心筋再生医療などを考えてゆくうえでも，欠かすことができない．

心筋筋小胞体機能を改善させて，心不全を治療するという概念は，まだ確立されたばかりであり，実際に心不全患者に応用するまでには多くのハードルがある．例えば，Ca^{2+}ハンドリングの改善を目的とした心不全治療は，必ずしもすべての心不全に対して有効というわけではなく，心不全モデルにより効果が異なる[30]．これらの違いが何によって規定されるのか，治療を考えるうえで重要な検討課題である．また，遺伝子導入する場合には，より有効で安全性の高いベクターの開発が必須であり，遺伝子導入法に関しても現状は必ずしも満足できるものではない．汎用性をめざすためには，遺伝子導入には依らない薬剤の開発も進めていかなくてはならない．薬剤の場合は，細胞内小器官が標的となるため，いかに薬剤を効率よく細胞内へ導入するかが問題となる．さらには安全性に関しても未解決の部分が残されている．特に最近，PLNのナンセンス変異がヒトの拡張型心筋症を引き起こすとの報告がされ[31]，マウスとの違いが波紋を呼んでおり，克服すべき問題はまだまだ多く残されている．しかし，すでに米国では，筋小胞体機能改善を標的とした臨床治験が開始されており，急速にこの分野は進歩している．こうした研究分野に，小児循環器医がひとりでも積極的に参入するきっかけに本稿がなれば，筆者にとっては，望外の喜びである．

謝　辞　本稿は第44回日本小児循環器学会総会・学術集会での，「第 5 回若手医師のための教育セミナー」（2008年 7 月，郡山）での講演「Calcium in the Heart: New roles for an old friend」を，内容を一部改変し記述したものである．発表の機会を与えてくださいました，中澤　誠会長ならびに日本医科大学 小川俊一先生（日本小児循環器学会学術委員会委員長）には，この場をかりて，心よりお礼申し上げます．なお，本稿に挙げた筆者らの研究の一部は，文科省科学研究助成金，財団法人先進医薬研究振興財団・循環医学研究助成金によるものである．

【参 考 文 献】

1）Ringer S: A further Contribution regarding the influence of the different Constituents of the Blood on the Contraction of the Heart. J Physiol 1883; **4**: 29–42.3
2）Miller DJ: Sydney Ringer; physiological saline, calcium and the contraction of the heart. J Physiol 2004; **555**: 585–587
3）Endo M, Tanaka M, Ogawa Y: Calcium induced release of calcium from the sarcoplasmic reticulum of skinned skeletal muscle fibres. Nature 1970; **228**: 34–36
4）Takeshima H, Komazaki S, Nishi M, et al: Junctophilins: a novel family of junctional membrane complex proteins. Mol

Cell 2000; **6**: 11–22
5）Hamilton SL: Ryanodine receptors. Cell Calcium 2005; **38**: 253–260
6）Xiao B, Jiang MT, Zhao M, et al: Characterization of a novel PKA phosphorylation site, serine-2030, reveals no PKA hyperphosphorylation of the cardiac ryanodine receptor in canine heart failure. Circ Res 2005; **96**: 847–855
7）Tada M: Calcium cycling proteins of the cardiac sarcoplasmic reticulum. Circ J 2003; **67**: 729–737
8）杉田有治，豊島　近：カルシウムポンプの構造と機能. 蛋・核・酵 2005；**50**：1271–1277
9）Minamisawa S, Wang Y, Chen J, et al: Atrial chamber-specific expression of sarcolipin is regulated during development and hypertrophic remodeling. J Biol Chem 2003; **278**: 9570–9575
10）Shimura M, Minamisawa S, Takeshima H, et al: Sarcalumenin alleviates stress-induced cardiac dysfunction by improving Ca2+ handling of the sarcoplasmic reticulum. Cardiovasc Res 2008; **77**: 362–370
11）Luo W, Grupp IL, Harrer J, et al: Targeted ablation of the phospholamban gene is associated with markedly enhanced myocardial contractility and loss of beta-agonist stimulation. Circ Res 1994; **75**: 401–409
12）Minamisawa S, Sato Y, Cho MC: Calcium cycling proteins in heart failure, cardiomyopathy and arrhythmias. Exp Mol Med 2004; **36**: 193–203
13）Yano M, Ikeda Y, Matsuzaki M: Altered intracellular Ca2+ handling in heart failure. J Clin Invest 2005; **115**: 556–564
14）Ter Keurs HE, Boyden PA: Calcium and arrhythmogenesis. Physiol Rev 2007; **87**: 457–506
15）Gómez AM, Valdivia HH, Cheng H, et al: Defective excitation-contraction coupling in experimental cardiac hypertrophy and heart failure. Science 1997; **276**: 800–806
16）Minamisawa S, Oshikawa J, Takeshima H, et al: Junctophilin type 2 is associated with caveolin-3 and is down-regulated in the hypertrophic and dilated cardiomyopathies. Biochem Biophys Res Commun 2004; **325**: 852–856
17）Matsushita Y, Furukawa T, Kasanuki H, et al: Mutation of junctophilin type 2 associated with hypertrophic cardiomyopathy. J Hum Genet 2007; **52**: 543–548
18）Landstrom AP, Weisleder N, Batalden KB, et al: Mutations in JPH2-encoded junctophilin-2 associated with hypertrophic cardiomyopathy in humans. J Mol Cell Cardiol 2007; **42**: 1026–1035
19）Marx SO, Reiken S, Hisamatsu Y, et al: PKA phosphorylation dissociates FKBP12.6 from the calcium release channel (ryanodine receptor): defective regulation in failing hearts. Cell 2000; **101**: 365–376
20）Tiso N, Stephan DA, Nava A, et al: Identification of mutations in the cardiac ryanodine receptor gene in families affected with arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy type 2 (ARVD2). Hum Mol Genet 2001; **10**: 189–194
21）Laitinen PJ, Brown KM, Piippo K, et al: Mutations of the cardiac ryanodine receptor (RyR2) gene in familial polymorphic ventricular tachycardia. Circulation 2001; **103**: 485–490
22）Lahat H, Pras E, Olender T, et al: A missense mutation in a highly conserved region of CASQ2 is associated with autosomal recessive catecholamine-induced polymorphic ventricular tachycardia in Bedouin families from Israel. Am J Hum Genet 2001; **69**: 1378–1384
23）Wehrens XH, Marks AR: Novel therapeutic approaches for heart failure by normalizing calcium cycling. Nat Rev Drug Discov 2004; **3**: 565–573
24）赤池　徹，南沢　享：心筋症の分子生物学. 小児科 2008；**49**：795–801
25）Minamisawa S, Hoshijima M, Chu G, et al: Chronic phospholamban-sarcoplasmic reticulum calcium ATPase interaction is the critical calcium cycling defect in dilated cardiomyopathy. Cell 1999; **99**: 313–322
26）Engelhardt S, Hein L, Dyachenkow V, et al: Altered calcium handling is critically involved in the cardiotoxic effects of chronic beta-adrenergic stimulation. Circulation 2004; **109**: 1154–1160
27）Gianni D, Chan J, Gwathmey JK, et al: SERCA2a in heart failure: role and therapeutic prospects. J Bioenerg Biomembr 2005; **37**: 375–380
28）Hoshijima M, Ikeda Y, Iwanaga Y, et al: Chronic suppression of heart-failure progression by a pseudophosphorylated mutant of phospholamban via in vivo cardiac rAAV gene delivery. Nat Med 2002; **8**: 864–871
29）Iwanaga Y, Hoshijima M, Gu Y, et al: Chronic phospholamban inhibition prevents progressive cardiac dysfunction and pathological remodeling after infarction in rats. J Clin Invest 2004; **113**: 727–736
30）南沢　享，池田安宏：筋小胞体カルシウム関連遺伝子と心不全治療―臨床応用への可能性. Clin Calcium 2006; **16**: 37–44
31）Haghighi K, Kolokathis F, Pater L, et al: Human phospholamban null results in lethal dilated cardiomyopathy revealing a critical difference between mouse and human. J Clin Invest 2003; **111**: 869–876