

AMCoR

Asahikawa Medical University Repository <http://amcor.asahikawa-med.ac.jp/>

医療 (1998.03) 52巻3号:158～163.

心機能と β -アドレナリン受容体情報伝達

飛世 克之

心機能と β -アドレナリン受容体情報伝達

飛 世 克 之

要旨 心細胞膜にある β アドレナリン受容体 (β -AR) のような G 蛋白質共役受容体系は, アゴニスト依存性に β -adrenergic receptor kinase (β ARK) によってリン酸化される. GRK のうち GRK2 は β ARK と呼ばれ, β -AR をリン酸化することで G 蛋白質との間に uncoupling を作り, 同種脱感作 (homologous desensitization) を引き起こす.

1) 加齢に伴う心筋 β -AR 系の反応性の低下は, 主に β -AR の down-regulation とアデニル酸シクラーゼ (AC) の触媒部位活性の低下に依存し, 後者は AC mRNA VI 型の減少と平行していた.

2) 心不全では, β -AR 系の脱感作は β -AR1 の down-regulation と mRNA の低下, β 2-AR では β ARK の活性と遺伝子の増加が脱感作の原因である. 加えて, Gi2 の増加と AC 活性の低下が出現する.

しかし, ヒト心不全では AC mRNA V 型は動物実験の成績とは逆に増加しており, AC 活性の低下は mRNA 量ではなく, Gi2 の増加の方が大きく効いていると思われる.

(キーワード: 心機能, β アドレナリン受容体, 脱感作, アデニル酸シクラーゼ mRNA)

CARDIAC FUNCTION AND β -ADRENERGIC RECEPTOR SIGNALING

Katsuyuki TOBISE

G protein-coupled receptor kinases (GRK) phosphorylate only activated G protein-coupled receptor such as β -adrenergic receptor (β -AR) in myocardial membrane. GRK2 is commonly known as β -adrenergic receptor kinase (β -ARK), leading to a process termed homologous desensitization that is related to uncoupling between phosphorylated β -AR and G protein.

1) The age-related changes in myocardial β -AR pathway is primarily regulated by the down-regulation of β -AR and by reduced activity of the catalyst adenylyl cyclase (AC). In addition, the level of AC mRNA (type VI) correlated with a decrease in catalytic activity of AC with age.

2) In heart failure, β AR desensitization is due to both diminished β 1-AR number (down-regulation) that is associated to reduced content of β 1-AR mRNA, and impaired β 2-AR function (uncoupling related to enhanced β ARK activity and its mRNA). In addition to this, both increased Gi α and reduced catalytic unit of AC are found. However, the gene expression of AC (type V) was reported to increase in human end-stage heart failure, while the result of animal study was contrary to that of human study. Therefore, diminished AC activity in human heart failure may not be associated to the content of AC mRNA, but rather to increased Gi α activity.

(Key Words : cardiac function, β -adrenergic receptor, β -adrenergic receptor kinase, desensitization, adenylyl cyclase mRNA)

国立療養所道北病院 National Dohoku Hospital 院長

Address for reprints : Katsuyuki Tobise, Director, National Dohoku Hospital, 7-Hanasaki, Asahikawa, Hokkaido 070-8644, JAPAN

Received October 17, 1997

Accepted November 21, 1997

β-アドレナリン受容体情報伝達系

1) その構成

すべての臓器は交感神経と副交感神経の二重支配下において、活動期は交感神経の、休息期は副交感神経の支配が優勢となるように巧妙に調節されている。交感神経の興奮は、シナプス後 norepinephrine (NE) を介して、心細胞膜にある β-アドレナリン受容体 (adrenergic receptor; AR) を刺激し、さらに、G 蛋白質からアデニル酸シクラーゼ (adenylyl cyclase; AC) と伝達され、β-AR 情報伝達系を構成する。

心臓の β-AR は β1 が 75~80%、β2 が 20% 前後を占める。心臓以外の血管、気管支壁などでは、β2 がほとんどである。β1, 2-AR とも“細胞膜を 7 回貫通する G 蛋白質共役型構造”である。膜貫通部は、アゴニストやアンタゴニストの結合部位であり、細胞内配列部は G 蛋白質との結合部、C 末側はリン酸化を受けやすいセリン/スレオニン残基をもつ。G 蛋白質は Gα, βγ より成る三量体であり、AC, Phospholipase C やイオンチャンネルを調節している。Gs は AC 活性を促進し、逆に Gi は AC 活性を抑制する。Gi には Gi1, Gi2, Gi3 と 3 種類の分子種が存在する。AC は、唯一 cAMP を産生する酵素であるが、脳より精製されたカルモジュリン感受性の I 型を始めとして 9 種類の分子種が発見されている。心臓の AC mRNA は IV から VII 型が存在しているが、とくに多いのは V, VI 型である。“6 回膜貫通ドメインに引き続く細胞質内触媒ドメイン”が 2 回繰り返される構造であり、膜型酵素というより Ca チャンネルとよく似ている。刺激を受けた AC は、ATP と Mg²⁺ から cAMP を産生する。cAMP はセカンドメッセンジャーとして protein kinase A (PKA) を活性化し、そのリン酸化作用によって電位依存性 L 型 Ca チャンネルは開き、Ca²⁺ 流入が促進される。この流入は、calcium-induced calcium release を引き起こし、心拍数や心収縮性をさらにあげる。しかし、cAMP 濃度が 10⁻⁹ Mol に達すると、phosphodiesterase で一瞬に分解され、機能を終える。逆に A1 アデノシン受容体と M2 ムスカリン受容体は、Gi を介して AC を抑制して Ca²⁺ の流入を防ぎ、心機能を保護するように働く。

2) 脱感作 (desensitization)

β-AR のような G 蛋白質共役受容体系は、アゴニスト依存性あるいは非依存性にリン酸化される。アゴニスト依存性にリン酸化する一連の酵素を、G-protein-coupled receptor kinase (GRK) と呼ぶ。GRK はセリン/スレオニンキナーゼで、哺乳類では GRK 1 から

GRK 6 まであり、GRK 2 は β-AR キナーゼ (β-adrenergic receptor kinase; βARK 1) と呼ばれる。βARK 1 は主に細胞質にある酵素であり、膜への移動には Gβγ が必要である。βARK は β1-AR や angiotensin II 受容体を標的とし、AR をリン酸化することで G 蛋白質との uncoupling を引き起こし、刺激をブロックする。βARK は、β-AR がアゴニストで占有されているときだけリン酸化し、かつ β-arrestin との結合を高め、脱感作が完成する。

アゴニストの反復曝露により、アゴニストの作用が減弱する現象を脱感作と呼んでいる。用いたアゴニストにのみ反応性の低下を示す場合を同種脱感作 (homologous desensitization), 前処理をしたアゴニストに対してのみだけでなく、異種のアゴニストや受容体を介さない GTP analogue や forskolin に対しても反応性の低下を示す場合を異種脱感作 (heterologous desensitization) と呼ぶ。同種脱感作には、前述したように GRK によるアゴニスト依存性リン酸化が、異種脱感作には PKA のようなアゴニスト非依存性リン酸化が関与していると考えられている。脱感作には作用機序によって、①数分以内に G 蛋白質との間に脱共役がおきる (uncoupling), ②数十分で、受容体が細胞内へ取り込まれる (sequestration/internalization), ③数時間で受容体の一部が細胞内で分解され、細胞膜でも細胞内でも受容体数が減少する down-regulation の 3 種に分類される。

疾患と β-アドレナリン受容体情報伝達系

1) 加齢と β-AR

加齢に伴い β-AR を介する情報伝達は減弱する。NE に対する心筋の反応性も低下するが、これは主に β-AR と心収縮機構間の伝達障害のためと考えられる。我々は、加齢に伴う心筋 β-AR 情報伝達系の変動をラットで検討した。加齢によって β-AR 数は減少していたが、促進系の Gs には変化なく、抑制系の Gi は新生児期より老齢期になるにつれ、かなり減少しており、伝達抑制には関与しない。isopreterenol + Gpp (NH)p や forskolin 刺激による AC 活性は、新生児期と比較して、老年期では 40% 位減少していた。したがって、加齢に伴う心筋の反応性の低下は、β-AR の down-regulation とともに AC の触媒部位活性の低下が大きいと考えた。その原因解明のため、AC の mRNA レベルでの変動も調べたが、加齢とともに V 型は増加していたが、VI 型は減少しておりそれが AC 活性の低下と平行していることを発見した¹⁾ (Fig. 1)。臨床例での右心耳の成績で

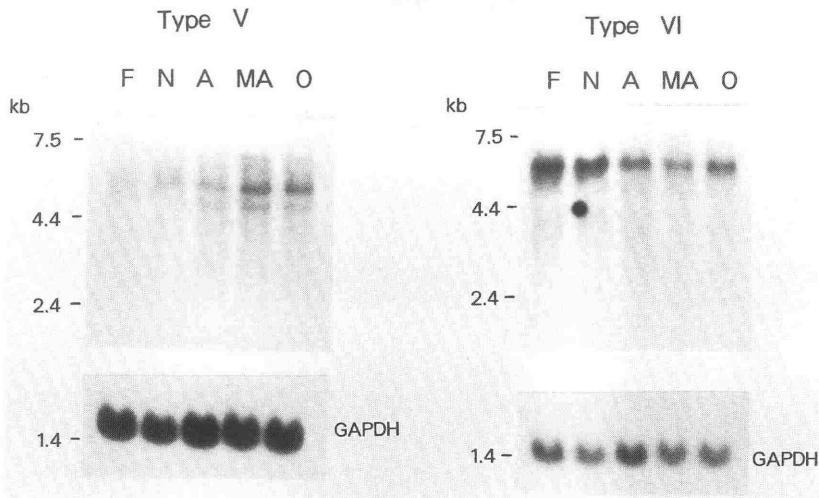


Fig. 1 Northern blot analysis of adenylyl cyclase. The adenylyl cyclase probe (types V and VI) each detected a principal message of ~6.0 kb corresponding to adenylyl cyclase mRNA in fetal (F), neonatal (N), adult (A), mature adult (MA) and old (O) stages. The level of type V adenylyl cyclase mRNA was greatest in the mature adult (MA) and old (O) stages. In contrast, the level of type VI adenylyl cyclase mRNA paralleled the functional activity of adenylyl cyclase changing with age.

は加齢に伴い β -AR 数, G_s には変化はなかったが, $G_i\alpha$ の増加が western blot で認められた。この $G_i\alpha$ の増加は我々の動物実験の成績とは逆である。AC 活性はすべての刺激で, 加齢とともに低下しており, とくに AC の触媒部位活性の低下が $G_i\alpha$ の増加とともに大きな役割を担っていると推定している²⁾。

2) 心肥大と β -AR

心臓は後負荷増大の代償機転として心肥大になるが, それは心不全に移行する危険因子ともなる。心肥大は, Framingham study でも心不全成立への独立因子であると報告されている。代償機転としての肥大心が, いつ, またどのようなプロセスで心不全状態に陥るかについてのメカニズムは不明であり, それを予測する指標もはっきりしていない。

多くの高血圧動物モデルでは, AC の脱感作が証明されている。その原因として, $G_i\alpha$ の増加と AC の触媒部位活性の低下が観察される。しかし, モデルでは, それが先天性か後天性かによって, AC 脱感作のメカニズムは異なる。高血圧性心肥大から心不全の移行には, 種々のレベルでの β -AR 系の脱感作がおきている³⁾。興味の

あることに, ヒト心不全と異なって, 高血圧動物モデルでは β -AR は変化していないが, AC は強く脱感作されている。代表的モデルである SHR (12 W) では, $G_i2\alpha$, $G_i3\alpha$ の蛋白レベルと mRNA は増加していたが, G_s には変化はなかった。また, AC 活性はかなり低下していた。経時的に高血圧発症時期と比較してみると, これらの変化は高血圧になる前よりすでにできあがってお

り, 高血圧が原因で出来たか, 高血圧の結果のためかは不明であった⁴⁾。多くの心肥大モデルでは, AC の heterologous desensitization が β 1-AR の down-regulation と $G_i\alpha$ の増加とともに発現し, isopreterenol 刺激による心機能亢進作用も弱い。Dahl salt-sensitive ラットでは, AC 活性の低下とくに触媒部分の低下が認められた。 $G_i\alpha$ は増加し

ていたが, G_s と β -AR は変化していなかった。このモデルでは, β -AR 数の変化とは関係なく, 末期での収縮不全に先行して AC の脱感作が起きていた⁵⁾。

我々もモノクローリン投与による右室肥大・不全心を作製し, 不全心に伴う β -AR 系の変動を検討した。心不全に至るとともに, β -AR 数, AC 活性は圧負荷の加わる右室, 心室中隔で減少していた。また, 直接圧負荷が加わらない左室でも, β -AR の down-regulation がないのに, AC 活性低下がみられた。この現象は G_s の低下か G_i の増加, または AC の触媒部位活性の低下によっておきたと考えた⁷⁾。しかし, ADP リボシル化と western blot による G_s , $G_i\alpha$ の量は変化は少なく, AC の触媒部位活性の低下が最も関与している結果をえた。また, AC mRNA V, VI型の低下も確認できた⁸⁾ (Fig. 2)。この左室での heterologous desensitization のメカニズムは, PKA による AC のリン酸化によるかもしれない。事実, in vitro の実験では, AC 自身が下流酵素である PKA によってリン酸化を受け, AC 活性が低下することが証明されている⁹⁾。

心肥大に伴う β -AR 系の脱感作のメカニズムは, β 1-AR 数の減少と $G_i\alpha$ の増加であり, これは ACEI の投

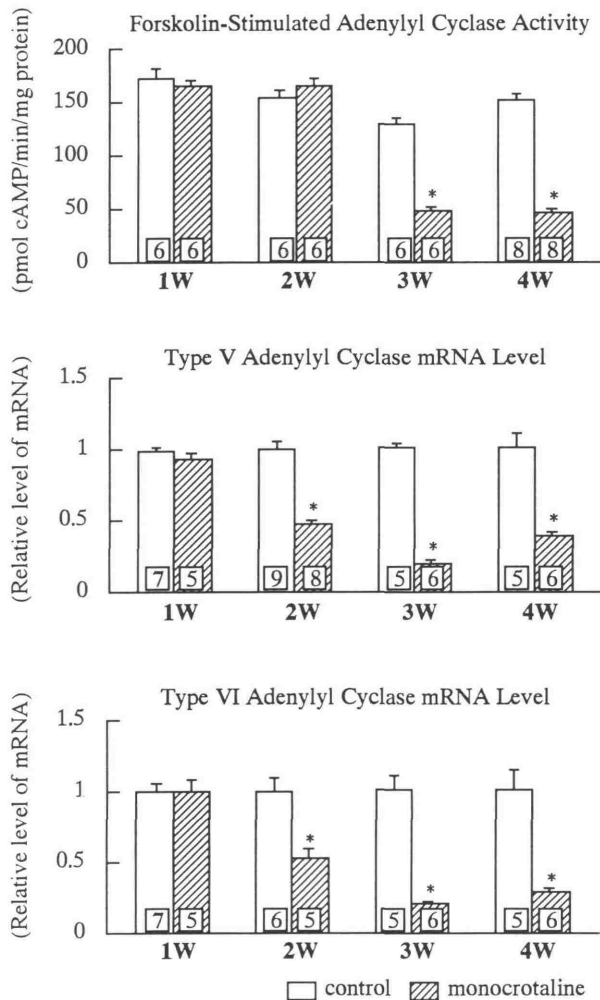


Fig. 2 Bar graphs show forskolin-stimulated adenylyl cyclase activity (top) and type V and VI adenylyl cyclase mRNA levels (middle and bottom, respectively) in right ventricle after the administration of saline or monocrotaline. Values represent mean±SEM. Open bars, control rats; hatched bars, monocrotaline-treated rats. The number in each group is included in each column *p<0.01 vs the controls in each group.

こす老年正常血圧者でも, GRK 活性の上昇はなかったという¹²⁾.

3) 心不全とβ-AR

左室機能不全になるにつれて血漿 NE は上昇する. そのため, β-AR 数は著明に減少し, isopreterenol 刺激 AC 活性も低下する. これはβ-AR 付近の局所 NE の濃度上昇によるβ-AR の down-regulation のせいである. 心肥大に伴う心不全については前章で概説してあるが, 拡張型心筋症のβ-AR 数の低下は心不全の程度に比例し, その低下は主にβ1 だけであり, β2 の変化は少ない. ただ, β2-AR signaling も完全に解明されたわけではない. β2-AR は確かに収縮性を亢進させるが, cAMP 依存性ではないという報告もみられる. 心不全が形成される過程によってβ-AR signaling は異なった変動を示す. β1-AR の方は, mRNA の低下とβ1-AR の down-regulation が起きている. 一方, β2-AR の mRNA の低下はなく, βARK の遺伝子との活性の増加によるリン酸化のための uncoupling が情報伝達阻害の原因である. βARK の機能を確認するため, βARK の過剰発現とβARK inhibitor の過剰発現した transgenic mice が作製された. 前者では isopreterenol 刺激による左室心機能の抑制と AC 活性の低下がみられた. 後者では isopreterenol に関係なく心機能の増加が観察され, βARK が心機能の修飾因子として重要であることを証明している¹³⁾. 加えて, β2-AR 自体の構造も, βARK と PKA にリン酸化されやすくなっている. β-AR の脱感作では, アゴニストの濃度が 10^{-9} Mol では PKA によるリン酸化, 10^{-6} Mol の濃い濃度ではβARK と PKA の二重のリン酸化が観察されている.

心不全では, Gs は種々の方法で測定しても変化なく, mRNA の変動もない. 一方, Giα は心不全では40~90%増加し, AC の脱感作に関係するという. さらに, Giα の増加が二次性高血圧症の心肥大とともに代償的におきて, AC を抑制する. これはβ-AR の down-regulation がなくても起きるといふ. したがって, Giα の増加が, 心肥大から心不全への独立した予測因子になりうるという¹³⁾. Gi の活性増加のメカニズムはよく判っていない. Giα の mRNA レベルの増加は, 拡張型心筋症, 虚血性心筋症ともに75~90%であった¹⁴⁾. しかし, western blot での Gi 蛋白質量は拡張型心筋症では増加していたが, 虚血性心筋症では変化しなかった¹⁵⁾. 拡張型心筋症と虚血性心疾患での心不全末期では, ACmRNA V型は動物実験の成績⁸⁾とは異なって,

与で改善する¹⁰⁾. この病態は, βARK の overexpression モデルによく似ている¹¹⁾. 臨床例でのβARK も検討された. GRK 活性は, 若年性高血圧患者のリンパ球で増えていて, GRK 2 (=βARK 1) 蛋白の増加と関連していた. したがって, この増加が高血圧状態でのβ-AR 反応特性の減少をきたす. 一方, PKA や GRK 5, 6 に変化は認められなかったし, β-AR 系伝達障害を引き起

85~115%も増加していた¹⁶⁾。したがって、心不全末期での

AC 活性の低下は mRNA によるものではなく、ヒトの心不全では Gi の増加が大きく効いている可能性がある。ただ、これは心不全末期の代償的な up-regulation かもしれないが、証明はされていない。

これらの生化学的変化の結果、生理学的には運動に対する心拍数増加ができないという代償機能の低下がある。dobutamine に対する心収縮性の低下もみられる。この心拍反応と収縮反応の低下は、血漿 NE 濃度と反比例する。一方、交感神経のみならず、副交感神経系の機能も低下しており、血圧上昇時の徐脈作用や心機能抑制作用も低下しているという。

4) 心移植と β -AR

臨床的に、心臓移植の対象となった不全心ではカテコラミンに対する心筋の反応性が著しく低下しており、その時の β -AR 数、AC 活性も50%位減少している。移植後の心臓では神経支配がないため、 β -AR 数の up-regulation や AC 系の感受性の亢進が推定されるが、実際にはほとんど正常範囲内である。ただ GTP 依存性の AC 活性のみ低下していたので、G 蛋白の機能異常が予想されるという¹⁷⁾。実際、移植6ヵ月以上たった心筋生検では、Gs 61%の低下と Gs mRNA の低下と GTP 依存性の AC 活性78%の低下および AC の触媒部位活性83%の低下が確認されている¹⁸⁾。

5) β -ブロッカーと β -AR

心臓の局所 NE の増加は、 β -AR 系の脱感作をおこし、運動機能の障害を招く、一方、NE の増加自体も心筋細胞毒となり、心機能の低下を引き起こす。理論的には、 β -ブロッカーは前述した両方のメカニズムを遮断することが期待される。しかし、すでに心拍出量を心拍数に依存している心不全患者では、 β -ブロッカーの投与で最大運動能を改善することは難しい。亜運動能程度の改善は可能であったとの報告はみられる。心不全の形成過程によって、 β -AR と G 蛋白質の変動は異なるが、 β 1-選択制ブロッカーである metoprolol が心不全の治療に初めて成功し、 β 1-AR の down-regulation を改善させた。bucindolol は虚血性心筋症よりも特発性心筋症患者でより有効であったという。長期効果でも β -AR 数の up-regulation とカテコラミンに対する反応性の回復が確認されている。また動物実験では、 β ブロッカーによって GRK レベルと活性の低下の報告もあり、作用機序に関与しているものと思われる¹⁹⁾。

以上、心機能と β -AR 情報伝達系について主に分子生物学的成績を中心に概説した。

文 献

- 1) Tobise K, Ishikawa Y, Holmer SR et al : Changes in Type VI adenylyl cyclase isoform expression correlate with a decreased capacity for cAMP generation in the aging ventricle. *Circ Res*, **74** : 596, 1994
- 2) Brodde-OE, Zerkowski-HR, Schranz-D et al : Age-dependent changes in the beta-adrenoceptor-G-protein (s) -adenylyl cyclase system in human right atrium. *J-Pharmacol*, **26** : 20, 1995
- 3) Castellano M, Boehm M : The cardiac β -adrenoceptor-mediated signaling pathway and its alterations in hypertensive heart disease. *Hypertension*, **29** : 715, 1997
- 4) Anand-Srivestava MB : G-proteins and adenylyl cyclase signalling in hypertension. *Mol Cell Biochem*, **157** : 163, 1996
- 5) Bohm M, Gierschik P, Knorr A et al : Cardiac adenylyl cyclase, β -adrenergic receptors, and G proteins in salt-sensitive hypertension. *Hypertension*, **22** : 715, 1993
- 6) Tobise K, Yoshie H, Uekita K et al : Enzyme-specific desensitization of adenylyl cyclase in hypertrophied heart in monocrotaline-treated rats. In *New Aspects in the Treatment of Failing Heart*. (eds. Yasuda H and Kawaguchi H), pp 70, Springer-Verlag. Tokyo, 1992
- 7) Yoshie H, Tobise K, Onodera S : Interventricular differences of β -adrenoceptor adenylyl cyclase system of rat heart with the progress of right ventricular hypertrophy induced by monocrotaline. *Jpn Circ J*, **58** : 855, 1994
- 8) Fujita M, Tobise K, Hasebe N et al : Alteration in Type V and VI adenylyl cyclase isoform gene expression in rat heart with monocrotaline-induced pulmonary hypertension. *Circulation*, **90** : I-584, 1994
- 9) Iwami G, Kawabe J, Ebina T, et al : Regulation of adenylyl cyclase by protein kinase A. *J. Biol Chem*, **270** : 12481, 1995
- 10) Bohm M, Castellano M, Agabiti-Rosei E et al : Dose-dependent dissociation of ACE-inhibitor

- effects on blood pressure, cardiac hypertrophy, and beta-adrenergic signal transduction. *Circulation*, **92** : 3006, 1995
- 11) Koch WJ, Rockman HA, Samama P et al : Cardiac function in mice overexpressing the β -adrenergic receptor kinase or a β -ARK inhibitor. *Science*, **268** : 1350, 1995
- 12) Gros R, Benovic JL, Tan CM et al : G-protein-coupled receptor kinase activity is increased in hypertension. *J Clin Invest*, **99** : 2087, 1997
- 13) Bohm M, Flesch M, Schnabel P : Role of G-proteins in altered β -adrenergic responsiveness in the failing and hypertrophied myocardium. *Basic Res Cardiol* 91 Suppl, **2** : 47, 1996
- 14) Eschenhagen T, Mende U, Nose M et al : Increased messenger RNA level of the inhibitory G protein alpha subunit Gi alpha-2 in human end-stage heart failure. *Circ Res*, **70** : 688, 1992
- 15) Bohm M, Gierschik P, Jakobs KH et al : Increase of Gi in human hearts with dilated but not ischemic cardiomyopathy. *Circulation*, **82** : 1249, 1990
- 16) Holmer SR, Eschenhagen T, Nose M et al : Expression of adenylyl cyclase and G-protein beta subunit in end-stage human heart failure. *J Cardiac Failure*, **2** : 279, 1996
- 17) Denniss AR, Marsh JD, Quigg RJ et al : β -Adrenergic receptor number and adenylyl cyclase function in denervated transplanted and cardiomyopathic human hearts. *Circulation*, **79** : 102, 1989
- 18) Loh E, Barnett JV, Feldman AM et al : Decreased adenylyl cyclase activity and expression of Gs α in human myocardium after orthotopic cardiac transplantation. *Circ Res*, **76** : 852, 1995
- 19) Ping P, Gelzer-Bell R, Roth DA et al : Reduced beta-adrenergic receptor activation decreases G-protein expression and beta-adrenergic receptor kinase activity in porcine heart. *J Clin Invest*, **95** : 1271, 1995
- (平成9年10月17日受付)
(平成9年11月21日受理)