



# CaMK II と不整脈

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科(医学系)分子生理学  
辻 幸臣

## I. はじめに

カルシウム・カルモジュリン( $\text{Ca}^{2+}/\text{CaM}$ )依存性プロテインキナーゼ II (CaMK II) は、心不全や不整脈を引き起こす重要な細胞内リン酸化酵素である<sup>1)~3)</sup>。CaMK II は、心肥大関連遺伝子や炎症誘発遺伝子の転写因子、細胞死を導くミトコンドリア  $\text{Ca}^{2+}$  ユニポーターを活性化することにより、心肥大から心不全への非代償性変化にかかわる心不全シグナル分子であることに加え、イオンチャネルの機能異常を引き起こし、早期・遅延後脱分極(EAD/DAD)の発生を促す不整脈シグナル分子である<sup>1)~3)</sup>。CaMK II 阻害によってもたらされる抗不整脈効果は様々な実験モデルで示され、CaMK II は肥大心・不全心などの心臓疾患のみならず、QT延長症候群(LQTS)やカテコラミン誘発多形性心室頻拍(CPVT)などの遺伝性不整脈疾患の病態においても、重要な役割を果たすことが示唆されている。

## II. CaMK II 活性化機構

CaMK II の活性化機構<sup>1)~3)</sup>を図に示す。細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  濃度が増加すると、 $\text{Ca}^{2+}$  は CaM と結合する。CaMK II は、 $\text{Ca}^{2+}/\text{CaM}$  と結合することによって活性化される。活性化された CaMK II は 2 つの特徴を有する。1 つ目は、CaMK II 自身がリン酸化(自己リン酸化)もしくは酸化されやすくなることである。自己リン酸化 CaMK II や酸化 CaMK II は、たとえ  $\text{Ca}^{2+}/\text{CaM}$  解離しても、その活性は維持される(自律的な CaMK II の活性化)。細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  動態異常や酸化ストレスの増加は、CaMK II の活性を持続させ、 $\text{Ca}^{2+}$  依存性シグナルから  $\text{Ca}^{2+}$  非依存性シグナルへと転換する。もう 1 つの特徴は、CaMK II が活性化されると、CaM との結合親和性が 1000 倍増大することである(CaM trapping)<sup>4)</sup>。その結果、細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  濃度が低下しても、CaMK II 活性は高いレベルで維持される。しかし、CaMK II 結合 CaM と free CaM とは平衡関係にあることから、free CaM 濃度が減少すれば、CaMK II からの解離が促進される(CaM untrapping)。W-7 などの CaM 阻害剤は、CaM untrapping を促すことで CaMK II 抑制作用を発揮すると考えられている<sup>5)</sup>。

## III. CaMK II は EAD/DAD の発生に必要とされるシグナル分子

$\text{Ca}^{2+}$  制御蛋白のリン酸化は、心筋収縮・拡張機能を調節する重要な制御機構である。しかし、CaMK II の活性が過度に亢進し、その標的である  $\text{Ca}^{2+}$  制御蛋白が過リン酸化状態になると、機能異常が引き起こされる。CaMK II による L 型  $\text{Ca}^{2+}$  チャネル、筋小胞体  $\text{Ca}^{2+}$  放出チャネル・リアノジン受容体(RyR2)、 $\text{Na}^+$  チャネルの過リン酸化に伴う機能異常が、EAD/DAD の発生に寄与する<sup>1), 2)</sup>。L 型  $\text{Ca}^{2+}$  チャ

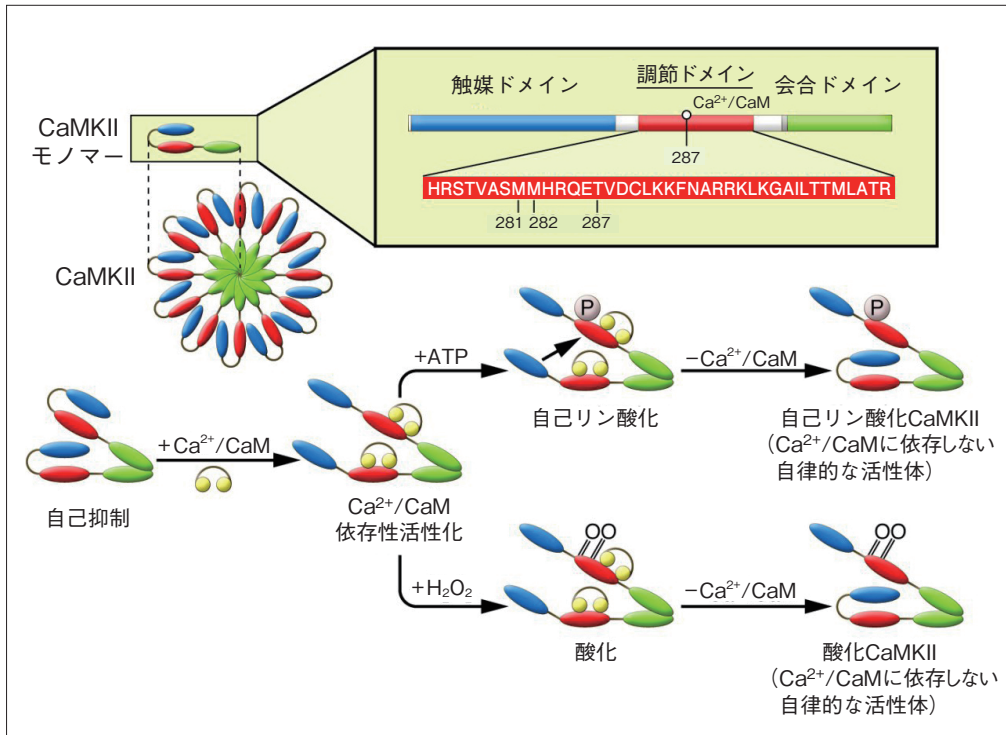


図 CaMK IIの活性化機構

CaMK IIは、触媒ドメイン(青)、調節ドメイン(赤)、および会合ドメイン(緑)からなるモノマーが会合ドメインを介し結合し、リング様に形成される。Ca<sup>2+</sup>/CaM複合体(黄)が調節ドメインに結合すると自己抑制が解除され、CaMK IIが活性化される(Ca<sup>2+</sup>/CaM依存性活性化)。調節ドメインには、自己リン酸化部位(T287)と酸化部位(M281とM282)が存在する。自己リン酸化CaMK IIと酸化CaMK IIが、心不全や不整脈を引き起こす病態シグナル分子として働く。詳細は本文参照。

[文献 25)より引用改変]

ネルがCaMK IIにより過リン酸化されるとそのチャネル活性が亢進し、チャネルの開口確率が増加する。通常、活動電位第2相においてL型Ca<sup>2+</sup>チャネルは不活性化されているが、CaMK IIにより過リン酸化状態にある場合、不活化からの再開口が生じやすくなる。活動電位持続時間が延長する状況下では、膜電位が第2相に留まる時間が延長するので、EADがより惹起されやすくなる。CaMK IIによるRyR2の過リン酸化は、筋小胞体からCa<sup>2+</sup>の自然漏出を引き起こす。その結果、筋小胞体Ca<sup>2+</sup>含量が低下し心収縮力を減弱させるのみならず、拡張期の細胞内Ca<sup>2+</sup>過負荷とNa<sup>+</sup>-Ca<sup>2+</sup>交換機構の働きにより、DADが誘発されやすくなる。Na<sup>+</sup>チャネルでは、CaMK IIの過リン酸化により遅延Na<sup>+</sup>電流が増加する。遅延Na<sup>+</sup>電流は催不整脈電流で、その増加は再分極遅延を引き起こし、EADが惹起されやすくなる。また、遅延Na<sup>+</sup>電流の増加に伴う細胞内Na<sup>+</sup>蓄積は、Na<sup>+</sup>-Ca<sup>2+</sup>交換機構を介して細胞内Ca<sup>2+</sup>負荷を増やし、DADが発生しやすくなる。

#### IV. CaMK II 阻害が抗不整脈効果を発揮する疾患

薬理的または遺伝学的CaMK II阻害が、不整脈の抑制・予防に有用であることが示された疾患・実験モデルを表にまとめた。ヒト不全心から単離された心室筋細胞のCa<sup>2+</sup>イメージング解析によると、

表 CaMK II 阻害の抗不整脈効果が示されている疾患

疾患と実験モデル	文献
肥大心・不全心	
末期心不全患者の心筋組織・単離心室筋細胞	Sossalla <i>et al.</i> <sup>6)</sup>
肥大型心筋症患者の切除心筋組織・単離心室筋細胞	Coppini <i>et al.</i> <sup>7)</sup>
冠動脈結紮によるマウス梗塞後心不全モデル	Zhang <i>et al.</i> <sup>8)</sup>
大動脈縮窄によるマウス圧負荷心不全モデル	Toischer <i>et al.</i> <sup>9)</sup>
大動脈縮窄と大動脈弁閉鎖不全による家兎心不全モデル	Ai <i>et al.</i> <sup>26)</sup>
CPVT	
<i>RyR2</i> <sup>R4496C/+</sup> ノックインマウス	Liu <i>et al.</i> <sup>10)</sup>
CPVT 患者 ( <i>RyR2</i> E2311D) のiPS 細胞由来心筋細胞	Di Pasquale <i>et al.</i> <sup>11)</sup>
QT 延長症候群	
Timothy 症候群のラット心室筋細胞モデル ( <i>CACNA1C</i> G406R)	Thiel <i>et al.</i> <sup>12)</sup>
LQTS2 の遺伝子改変家兎 ( <i>KCNH2</i> G628S)	Terentyev <i>et al.</i> <sup>13)</sup>
薬剤性 TdP の家兎灌流心モデル (Ⅲ群抗不整脈薬)	Anderson <i>et al.</i> <sup>14)</sup>
完全房室ブロックと ICD を組み合わせた VF ストーム家兎モデル	Tsuji <i>et al.</i> <sup>15)</sup>
心房細動	
慢性心房細動患者の右心耳から単離された組織・心房筋細胞	Voigt <i>et al.</i> <sup>16)</sup>
転写因子 CREM を過剰発現させた遺伝子改変マウス	Li <i>et al.</i> <sup>18)</sup>
アンジオテンシン II 持続注入によるマウス心房細動モデル	Purohit <i>et al.</i> <sup>19)</sup>

CPVT: カテコラミン誘発性多型性心室頻拍, iPS: 人工多能性幹細胞, TdP: Torsade de Pointes, ICD: 植込み型除細動器, VF: 心室細動

CaMK II 阻害薬 KN-93 は, RyR2 からの拡張期 Ca<sup>2+</sup> 漏出を減少させることで, Ca<sup>2+</sup> スパークの発生頻度が低下, 筋小胞体 Ca<sup>2+</sup> 含量が回復した<sup>6)</sup>. 心筋切除術が施行された肥大型心筋症患者の組織や単離心室筋細胞を用いて行われた研究にて, CaMK II 活性の亢進や遅延 Na<sup>+</sup> 電流の増加が, 拡張不全や不整脈の発生に重要な役割を果たすことが明らかにされた<sup>7)</sup>. マウスモデルを用いた研究では, 梗塞後心室リモデリングの形成が遺伝学的 CaMK II 阻害によって抑制されること<sup>8)</sup>, 不全心の特徴とされる再分極異常が CaMK II 阻害ペプチド AC3-I によって是正されること<sup>9)</sup>が報告された. 肥大心・不全心のみならず, CPVT や先天性 LQTS などの遺伝性不整脈疾患, 薬剤誘発性 TdP のモデル動物でも, CaMK II 阻害の抗不整脈作用が示されている. CPVT の実験モデルである *RyR2*<sup>R4496C/+</sup> ノックインマウスの単離心室筋細胞, *RyR2* ミスセンス変異 E2311D をもつ CPVT 患者から作成された iPS 細胞由来心筋細胞の活動電位波形記録にて, 高頻度に発生する DAD が CaMK II 阻害薬 KN-93 によって抑制された<sup>10), 11)</sup>. LQT8 (Timothy 症候群) を引き起こす *CACNA1C* 変異 (G406R) を遺伝子導入して作成されたラット心室筋細胞モデルにおいて, CaMK II 阻害ペプチド AC3-I は, L 型 Ca<sup>2+</sup> チャネルの機能異常を軽減, 活動電位波形を正常化し, 後脱分極の発生が消失した<sup>12)</sup>. *KCNH2* 変異 (G628S) を過剰発現させた LQT2 家兎モデルの単離心室筋細胞, 薬剤誘発性 TdP の摘出灌流心モデルで記録される EAD や膜電位振動は, CaMK II 阻害薬 KN-93 によって抑制された<sup>13), 14)</sup>. LQTS に類似した電気生理学的特徴を呈する家兎完全房室ブロックモデルと植込み型除細動器の埋め込みを組み合わせて作成された心室細動ストームモデ

ルでは、その心室筋の CaMK II 活性が著しく亢進し、Ca<sup>2+</sup> 制御蛋白に際立ったリン酸化変化が生じていることが観察された。このモデル動物に CaM 阻害薬 W7 を投与し CaMK II 活性が低下すると、不整脈の発生が抑制されるとともに、心室細動ストームに伴う心機能悪化が改善されることが示された<sup>15)</sup>。CaMK II は、心室不整脈のみならず、心房細動(AF)の治療標的でもある。慢性 AF 患者の右心耳から単離された心房筋細胞の活動電位記録にて、高頻度に発生する DAD が KN-93 によって抑制されることが示された<sup>16)</sup> 転写因子 CREM (cAMP-response element modulator) を心臓特異的に強発現させた遺伝子改変マウスは、心房拡大や伝導障害、Ca<sup>2+</sup> 制御異常を示し、期外収縮、発作性 AF から持続性 AF に自然進展する特徴を有する<sup>17)</sup>。このマウスモデルに、RyR2 の CaMK II リン酸化部位をセリンからアラニンに置換した遺伝子改変マウス (*RyR2* S2814A) を交配させると、その子孫では、基質が改善し心房不整脈の進行という表現型が完全になくなることが報告された<sup>18)</sup>。また、野生型マウスにアンジオテンシン II を持続投与すると、高頻度ペーシングによって AF が誘発されやすくなるが、CaMK II 酸化部位 (M281 と M282) をバリンに置換した遺伝子改変マウス、酸化 CaMK II の活性を低下させた遺伝子改変マウスでは、AF の誘発率が著しく低下することが示された<sup>19)</sup>。

## V. CaMK II 活性を低下させる治療戦略

心臓特異的 CaMK II 阻害薬は、いまだ開発されておらず、CaMK II 活性の低下を試みる治療戦略が提案されている<sup>20), 21)</sup>。心臓突然死を減少させることが証明されている心不全治療薬  $\beta$  遮断薬、アンジオテンシン変換酵素阻害薬、アンジオテンシン II 受容体拮抗薬、スピノラクトンには、細胞内 Ca<sup>2+</sup> 過負荷や活性酸素種産生を軽減することによって、CaMK II 活性を低下させる作用があると考えられている。これらの心不全治療薬には急性の抗不整脈作用はないが、CaMK II 活性を低下させる薬理作用を有し、心臓突然死の減少に貢献していることが示唆される。

CaMK II には、ポジティブフィードバック効果があり、その活性は高いレベルで維持される<sup>2)</sup>。CaMK II 活性亢進による RyR2 や Na<sup>+</sup> チャネルの機能異常は、細胞内 Ca<sup>2+</sup> 過負荷を招くことで自己リン酸化 CaMK II が増加し、その活性はさらに亢進する。したがって、遅延 Na<sup>+</sup> 電流遮断作用や RyR2 安定化作用を有する薬剤には、過度な CaMK II 活性を軽減させる作用があると考えられる。悪性高熱症の治療薬ダントロレン、治験薬 JTV519、 $\beta$  遮断薬カルベジロールには、RyR2 安定化作用がある。抗狭心症治療薬 ranolazine には遅延 Na<sup>+</sup> 電流遮断作用があり、その有用性が広く知られている<sup>22)</sup>。選択的遅延 Na<sup>+</sup> 電流遮断薬 eleclazine (GS-6615) が開発され、欧米で臨床治験が進行している。近年、遅延 Na<sup>+</sup> 電流阻害薬は新しい抗不整脈薬として注目されているが、本邦では、いずれも利用することができない。また、リドカインの適量投与により、遅延 Na<sup>+</sup> 電流を選択的に抑制することができる<sup>23)</sup>。このように、先天性 LQTS のみならず<sup>24)</sup>、不全心や肥大心の治療薬として、古典的な IB 群抗不整脈薬の価値が見直されることが予想される。



〔文 献〕

- 1) Swaminathan PD, Purohit A, Hund TJ, Anderson ME : Calmodulin-dependent protein kinase II : linking heart failure and arrhythmias. *Circ Res*, 2012 ; 110 : 1661 ~ 1677
- 2) Rokita AG, Anderson ME : New therapeutic targets in cardiology : arrhythmias and Ca<sup>2+</sup>/calmodulin-dependent kinase II (CaMKII) . *Circulation*, 2012 ; 126 : 2125 ~ 2139
- 3) Luo M, Anderson ME : Mechanisms of altered Ca<sup>2+</sup> handling in heart failure. *Circ Res*, 2013 ; 113 : 690 ~ 708
- 4) Meyer T, Hanson PI, Stryer L, Schulman H : Calmodulin trapping by calcium-calmodulin-dependent protein kinase. *Science*, 1992 ; 256 : 1199 ~ 1202
- 5) Mazur A, Roden DM, Anderson ME : Systemic administration of calmodulin antagonist W-7 or protein kinase A inhibitor H-8 prevents torsade de pointes in rabbits. *Circulation*, 1999 ; 100 : 2437 ~ 2442
- 6) Sossalla S, Fluschnik N, Schotola H, Ort KR, Neef S, Schulte T, Wittkopper K, Renner A, Schmitto JD, Gummert J, El-Armouche A, Hasenfuss G, Maier LS : Inhibition of elevated Ca<sup>2+</sup>/calmodulin-dependent protein kinase II improves contractility in human failing myocardium. *Circ Res*, 2010 ; 107 : 1150 ~ 1161
- 7) Coppini R, Ferrantini C, Yao L, Fan P, Del Lungo M, Stillitano F, Sartiani L, Tosi B, Suffredini S, Tesi C, Yacoub M, Olivetto I, Belardinelli L, Poggesi C, Cerbai E, Mugelli A : Late sodium current inhibition reverses electromechanical dysfunction in human hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation*, 2013 ; 127 : 575 ~ 584
- 8) Zhang R, Khoo MS, Wu Y, Yang Y, Grueter CE, Ni G, Price EE, Jr., Thiel W, Guatimosim S, Song LS, Madu EC, Shah AN, Vishnivetskaya TA, Atkinson JB, Gurevich VV, Salama G, Lederer WJ, Colbran RJ, Anderson ME : Calmodulin kinase II inhibition protects against structural heart disease. *Nat Med*, 2005 ; 11 : 409 ~ 417
- 9) Toischer K, Hartmann N, Wagner S, Fischer TH, Herting J, Danner BC, Sag CM, Hund TJ, Mohler PJ, Belardinelli L, Hasenfuss G, Maier LS, Sossalla S : Role of late sodium current as a potential arrhythmogenic mechanism in the progression of pressure-induced heart disease. *J Mol Cell Cardiol*, 2013 ; 61 : 111 ~ 122
- 10) Liu N, Ruan Y, Denegri M, Bachetti T, Li Y, Colombi B, Napolitano C, Coetzee WA, Priori SG : Calmodulin kinase II inhibition prevents arrhythmias in RyR2<sup>R4496C/+</sup> mice with catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia. *J Mol Cell Cardiol*, 2011 ; 50 : 214 ~ 222
- 11) Di Pasquale E, Lodola F, Miragoli M, Denegri M, Avelino-Cruz JE, Buonocore M, Nakahama H, Portararo P, Bloise R, Napolitano C, Condorelli G, Priori SG : CaMKII inhibition rectifies arrhythmic phenotype in a patient-specific model of catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia. *Cell Death Dis*, 2013 ; 4 : e843
- 12) Thiel WH, Chen B, Hund TJ, Koval OM, Purohit A, Song LS, Mohler PJ, Anderson ME : Proarrhythmic defects in Timothy syndrome require calmodulin kinase II. *Circulation*, 2008 ; 118 : 2225 ~ 2234
- 13) Terentyev D, Rees CM, Li W, Cooper LL, Jindal HK, Peng X, Lu Y, Terentyeva R, Odening KE, Daley J, Bist K, Choi BR, Karma A, Koren G : Hyperphosphorylation of RyRs underlies triggered activity in transgenic rabbit model of LQT2 syndrome. *Circ Res*, 2014 ; 115 : 919 ~ 928
- 14) Anderson ME, Braun AP, Wu Y, Lu T, Wu Y, Schulman H, Sung RJ : KN-93, an inhibitor of multifunctional Ca<sup>++</sup>/calmodulin-dependent protein kinase, decreases early afterdepolarizations in rabbit heart. *J Pharmacol Exp Ther*, 1998 ; 287 : 996 ~ 1006
- 15) Tsuji Y, Hojo M, Voigt N, El-Armouche A, Inden Y, Murohara T, Dobrev D, Nattel S, Kodama I, Kamiya K : Ca<sup>2+</sup>-related signaling and protein phosphorylation abnormalities play central roles in a new experimental model of electrical storm. *Circulation*, 2011 ; 123 : 2192 ~ 2203
- 16) Voigt N, Li N, Wang Q, Wang W, Trafford AW, Abu-Taha I, Sun Q, Wieland T, Ravens U, Nattel S, Wehrens XH, Dobrev D : Enhanced sarcoplasmic reticulum Ca<sup>2+</sup> leak and increased Na<sup>+</sup>-Ca<sup>2+</sup> exchanger function underlie delayed afterdepolarizations in patients with chronic atrial fibrillation. *Circulation*, 2012 ; 125 : 2059 ~ 2070
- 17) Kirchhof P, Marijon E, Fabritz L, Li N, Wang W, Wang T, Schulte K, Hanstein J, Schulte JS, Vogel M, Mougnot N, Laakmann S, Fortmueller L, Eckstein J, Verheule S, Kaese S, Staab A, Grote-Wessels S, Schotten U, Moubarak G, Wehrens XH, Schmitz W, Hatem S, Muller FU : Overexpression of cAMP-response element modulator causes abnormal growth and development of the atrial myocardium resulting in a substrate for sustained atrial fibrillation in mice. *Int J Cardiol*, 2013 ; 166 : 366 ~ 374
- 18) Li N, Chiang DY, Wang S, Wang Q, Sun L, Voigt N, Respress JL, Ather S, Skapura DG, Jordan VK, Horrigan FT, Schmitz W, Muller FU, Valderrabano M, Nattel S, Dobrev D, Wehrens XH : Ryanodine receptor-mediated calcium leak drives progressive development of an atrial fibrillation substrate in a transgenic mouse model. *Circulation*, 2014 ; 129 : 1276 ~ 1285

- 19) Purohit A, Rokita AG, Guan X, Chen B, Koval OM, Voigt N, Neef S, Sowa T, Gao Z, Luczak ED, Stefansdottir H, Behunin AC, Li N, El-Accaoui RN, Yang B, Swaminathan PD, Weiss RM, Wehrens XH, Song LS, Dobrev D, Maier LS, Anderson ME : Oxidized  $Ca^{2+}$ /calmodulin-dependent protein kinase II triggers atrial fibrillation. *Circulation*, 2013 ; 128 : 1748 ~ 1757
- 20) Tsuji Y, Heijman J, Nattel S, Dobrev D : Electrical storm : recent pathophysiological insights and therapeutic consequences. *Basic Res Cardiol*, 2013 ; 108 : 336
- 21) Tsuji Y, Ishikawa T, Makita N : Molecular mechanisms of heart failure progression associated with implantable cardioverter-defibrillator shocks for ventricular tachyarrhythmias. *J Arrhythmia*, 2014 ; 30 : 235 ~ 241
- 22) Belardinelli L, Giles WR, Rajamani S, Karagueuzian HS, Shryock JC : Cardiac late  $Na^+$  current : proarrhythmic effects, roles in long QT syndromes, and pathological relationship to CaMKII and oxidative stress. *Heart Rhythm*, 2015 ; 12 : 440 ~ 448
- 23) Qiu XS, Chauveau S, Anyukhovskiy EP, Rahim T, Jiang YP, Harleton E, Feinmark SJ, Lin RZ, Coronel R, Janse MJ, Opthof T, Rosen TS, Cohen IS, Rosen MR : Increased late sodium current contributes to the electrophysiological effects of chronic, but not acute, dofetilide administration. *Circ Arrhythm Electrophysiol*, 2016 ; 9 : e003655
- 24) Shimizu W : The long QT syndrome : therapeutic implications of a genetic diagnosis. *Cardiovasc Res*, 2005 ; 67 : 347 ~ 356
- 25) Anderson ME : CaMKII and a failing strategy for growth in heart. *J Clin Invest*, 2009 ; 119 : 1082 ~ 1085
- 26) Ai X, Curran JW, Shannon TR, Bers DM, Pogwizd SM :  $Ca^{2+}$ /calmodulin-dependent protein kinase modulates cardiac ryanodine receptor phosphorylation and sarcoplasmic reticulum  $Ca^{2+}$  leak in heart failure. *Circ Res*, 2005 ; 97 : 1314 ~ 1322