

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/](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  $\text{Ca}^{2+}$  濃度が適正に制御されている必要がある。心筋細胞質の  $\text{Ca}^{2+}$  濃度は、細胞外  $\text{Ca}^{2+}$  濃度と比べると、弛緩時には約 1 万分の一の低濃度である。心拍に伴い、心筋細胞質の  $\text{Ca}^{2+}$  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  $\text{Ca}^{2+}$  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  $\text{Ca}^{2+}$  濃度変化は、 $\text{Ca}^{2+}$  貯蔵庫である心筋筋小胞体を介する  $\text{Ca}^{2+}$  の出入りによって、主に制御されている。従って、心筋筋小胞体における  $\text{Ca}^{2+}$  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  $\text{Ca}^{2+}$  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筋小胞体機能異常の関与、及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まとめる。

## 心筋筋小胞体における $\text{Ca}^{2+}$ 調節

### 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  $\text{Ca}^{2+}$  チャネルが開口して、細胞外  $\text{Ca}^{2+}$  が細胞内に流入することから始まる。L 型  $\text{Ca}^{2+}$  チャネルは心筋筋小胞体に存在する  $\text{Ca}^{2+}$  放出チャネルーライアノジン受容体 (ryanodine receptor) と構造的に非常に近接して存在する。心筋ライアノジン受容体 (RyR2) は L 型  $\text{Ca}^{2+}$  チャネルを介する細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  流入を感知すると、

そのチャネルを開口する。すると筋小胞体内  $\text{Ca}^{2+}$  が RyR2 を介して、心筋細胞内へと一斉に放出される。その  $\text{Ca}^{2+}$  は、細い筋原繊維 (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  $\text{Ca}^{2+}$  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繊維が太い筋原繊維 (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。従って、心筋筋小胞体から放出される  $\text{Ca}^{2+}$  量とその速度は、心筋の収縮性を決定する第 1 義の要因となる。

弛緩期には、細胞質内  $\text{Ca}^{2+}$  の大部分が、心筋筋小胞体膜に存在する  $\text{Ca}^{2+}$  ポンプである筋小胞体  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 2a (SERCA2a) により、再び筋小胞体内へ取り込まれる。また一部の  $\text{Ca}^{2+}$  は細胞膜に存在する  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  交換機構 ( $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  exchanger; NCX) と細胞膜  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase を介して、細胞外に排出される。こうして心筋細胞質内  $\text{Ca}^{2+}$  濃度が低下するとともに、トロポニン C から  $\text{Ca}^{2+}$  が乖離し、筋原繊維は弛緩し、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みえるため、これをカルシウムサイクリング、と呼ぶこともある。このように筋小胞体は興奮収縮連関に深く関わり、 $\text{Ca}^{2+}$  放出にはライアノジン受容体が、 $\text{Ca}^{2+}$  再取り込みには筋小胞体  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase が、それぞれ主役を演じている。

### 心筋ライアノジン受容体 (RyR2)- $\text{Ca}^{2+}$ 放出チャネル

ライアノジン受容体は筋小胞体  $\text{Ca}^{2+}$  貯蔵庫からの  $\text{Ca}^{2+}$  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  $\text{Ca}^{2+}$  チャネルから細胞内に流入した  $\text{Ca}^{2+}$  濃度の増加を感知して、RyR2 が開口し、筋小胞体から細胞質へ  $\text{Ca}^{2+}$  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、 $\text{Ca}^{2+}$  誘発性  $\text{Ca}^{2+}$  放出と呼

ばれている<sup>3</sup>。RyR2は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<sup>2+</sup>チャン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<sup>2+</sup>誘発性Ca<sup>2+</sup>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。この構造が如何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<sup>4</sup>。

RyR2は1分子で約5000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ひとつのチャンネルを形成している<sup>5</sup>。RyR2は筋小胞体膜を貫通し、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。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<sup>2+</sup>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のチャン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<sup>2+</sup>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。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分かっていない。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<sup>2+</sup>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<sup>2+</sup>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、protein kinase A（PKA）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<sup>6</sup>。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<sup>2+</sup>放出が量・速度ともに増大する。従って、収縮時細胞内Ca<sup>2+</sup>濃度が増加するために、心筋の収縮性が増強する。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出来ないが、最近の研究では、cAMP-PKA系のリン酸化ばかりではなく、protein kinase C・、Ca<sup>2+</sup>-calmodulin-dependent protein kinase IIなどのリン酸化酵素が、筋小胞体を介するCa<sup>2+</sup>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。

### 心筋筋小胞体Ca<sup>2+</sup>ATPase（SERCA2a）

心筋筋小胞体Ca<sup>2+</sup>ATPase（SERCA2a）の主な役割は、RyR2によって細胞質に放出されたCa<sup>2+</sup>を、拡張期に筋小胞体内へと回収し、筋小胞体内Ca<sup>2+</sup>濃度を保持することである<sup>7</sup>。そのためには、能動的にCa<sup>2+</sup>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が筋小胞体終末槽に局在するのに対し、SERCA2aは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1000個のアミノ酸からなり、筋小胞体膜を1

0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<sup>8</sup>を参照されたい。RyR2同様、SERCA2aにも様々な分子が結合し、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、ホスホランバン (phospholamban、以下PLNと略す) 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<sup>2+</sup>再取り込みが抑制される。PLNはわずか52アミノ酸からなる一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。一方、我々は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、心室筋には殆ど発現していないことを見出した<sup>9</sup> (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筋小胞体内でSERCA2aに結合している。我々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<sup>2+</sup>再取り込みが促進すること、などを見出した<sup>10</sup>。サルカルメニンによる筋小胞体内Ca<sup>2+</sup>調節機構に関しては、まだよく分かっておらず、今後の検討課題である。

交感神経β受容体刺激は、SERCA2aによる筋小胞体内へのCa<sup>2+</sup>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、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以外のリン酸化酵素によって、2重、3重の調節を受けており、巧妙に細胞内や筋小胞体内のCa<sup>2+</sup>濃度を調節していることが窺われる。

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時と同程度にまで心機能が亢進していたことである<sup>11</sup>。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、心臓への悪影響は殆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

### 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おこす悪循環は一層加速し、全身に様々な症状が現れる。この

状態を心不全と呼ぶ。従って、「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るなったために生じた症候群である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如何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、心不全をきた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、心不全の発症機転及び進行に極めて重要であることがわかってきている<sup>12, 13</sup>。

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。従って、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。故に、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、本当に有害なのだろうか？ これは心不全の治療を考える上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。特にライアノジン受容体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<sup>14</sup>。

この病態が形成される過程において、神経体液性因子を含む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。従って、病初期に、心臓のポンプ機能を維持することが出来れば、心不全の進行を防ぐことが容易となるはずである。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。故に、交感神経系賦活剤を含む、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てきた歴史的背景があるが、病態の発端を考えると、心臓のポンプ機能を改善させること自体が、心不全の治療に有害となるとは考えがたい。そこで本稿では、心臓のポンプ機能を調節する重要な因子である心筋細胞内 $Ca^{2+}$ 、特に心筋筋小胞体における $Ca^{2+}$ 調節機構に注目し、心不全の病態との関連や心筋筋小胞体における $Ca^{2+}$ 調節をターゲットとした新たな治療法開発の可能性について論じたい。はじめに心不全と心筋筋小胞体機能の関連について説明し、次いで実際に心筋筋小胞体機能を改善させることが、新たな心不全治療法となり得ることを示した実験例を紹介する。

### 心不全と心筋筋小胞体機能異常

$Ca^{2+}$ には心筋細胞が適正に収縮弛緩を繰り返すための働きとともに、セカンドメッセンジャーとして、細胞内のシグナル伝達を調節する働きがある。従って、細胞内 $Ca^{2+}$ ホメオスタシスの乱れが、心不全の発症とその進展に関わっている可能性は以前より示唆されていた。心筋筋小胞体は、細胞内 $Ca^{2+}$ 貯蔵庫として発達した細胞内小器官であり、心筋の収縮弛緩時における細胞内 $Ca^{2+}$ 濃度の変化は、主に筋小胞体によって調節されている。その主役は心筋R

ryanodine受容体(以下RyR2と略す)と心筋筋小胞体膜Ca<sup>2+</sup>ポンプ(sarco/endoplasmic reticulum Ca<sup>2+</sup>ATPase 2a; 以下SERCA2aと略す)であり、これらの蛋白の機能を調節する分子の存在も知られている。収縮時にはRyR2を介して、細胞内にCa<sup>2+</sup>が放出され、弛緩時にはSERCA2aによって、再びCa<sup>2+</sup>は心筋筋小胞体内に貯えられる。心筋筋小胞体機能の異常は

### 心筋筋細胞膜と筋小胞体膜接合部複合体に関わる障害

筋小胞体からのCa<sup>2+</sup>放出が、細胞膜からのCa<sup>2+</sup>流入によって誘発されるために、このCa<sup>2+</sup>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<sup>2+</sup>チャンネル異常などに起因するCa<sup>2+</sup>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(coupling)が、心機能を維持する上で重要であることが示されている<sup>15</sup>。前述したように、ジャンクトフィリン(junctophilin)が接合部複合体構造を形成する上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共に、心疾患との関わりが精力的に調べられてきた。我々の研究では、心筋型ジャンクトフィリン(JP2)の発現は、肥大心で著しく低下していた<sup>16</sup>。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<sup>17, 18</sup>。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<sup>2+</sup>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。

### Ca<sup>2+</sup>調節異常

1) 心筋筋小胞体からのCa<sup>2+</sup>放出に関わる障害、  
2) 心筋筋小胞体へのCa<sup>2+</sup>取り込みに関わる障害、の2つに大きく分けられる。心不全をきたす原因の違

いにかかわらず、心筋筋小胞体機能の異常は、心不全時にはほぼ共通に認められる所見であり、現在はこの双方が心不全の発症機転及び進行に極めて重要であることがわかってきている<sup>1, 2</sup>。さらに心筋筋小胞体蛋白の遺伝子異常がヒト心筋症の原因となることが最近の研究により明らかとなり、心筋筋小胞体機能の異常が心不全の原因として、密接なものであることがより直截に証明されている<sup>3-7</sup>

### Ryanodine受容体(RyR2)安定化による心不全治療

Ryanodine受容体はL型Ca<sup>2+</sup>依存性チャンネルから細胞内に流入したCa<sup>2+</sup>により活性化され、筋小胞体Ca<sup>2+</sup>貯蔵庫からのCa<sup>2+</sup>放出を司るチャンネルである。交感神経刺激では、β受容体-アデニル酸シクラーゼ-cyclic AMP経路を介して活性化されたprotein kinase A(PKA)がRyR2のセリン残基(2808)をリン酸化し、チャンネルを開口状態へと調節する(図1)。これにより筋小胞体から細胞内へのCa<sup>2+</sup>放出の振幅・速度が増大し、収縮性が増強される。しかし心不全時には交感神経活性の過剰な増大活性化などの要因によって、正常以上にRyR2のリン酸化が正常以上に進むと、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のチャンネル開閉が不安定化し、収縮時の周期的なCa<sup>2+</sup>放出以外に、拡張期にもRyR2からの細胞内へのCa<sup>2+</sup>リークが増加する。不規則なCa<sup>2+</sup>リークによってし、筋小胞体内Ca<sup>2+</sup>が枯渇するために、収縮期に放出されるCa<sup>2+</sup>量が低下する。その結果、心筋収縮性の低下を一層悪化させることになる<sup>19</sup>。さらに重要な現象として、不規則なCa<sup>2+</sup>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うる。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源性右室異形成(arrhyth

mogenic right ventricular dysplasia: ARVD)の原因となることが明らかとなった<sup>20</sup>。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、ARVD 2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、筋小胞体からの不規則なCa<sup>2+</sup>リークが増加すると考えられている。しかしながら、何故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<sup>21</sup>。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<sup>22</sup>。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、筋小胞体内に非結合型Ca<sup>2+</sup>が増加するために、不規則なCa<sup>2+</sup>リークが生じると推察されているが、詳しい機序には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、筋小胞体からの不規則なCa<sup>2+</sup>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つくっている。その上に交感神経刺激が加わると、一層Ca<sup>2+</sup>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。不整脈の発生原因となったり、筋小胞体Ca<sup>2+</sup>貯蔵の減少をきたし、収縮時放出Ca<sup>2+</sup>の低下を生じる。近年、Yanoら、Marksらのグループが心不全時にはRyR2蛋白が過リン酸化状態となり、心収縮性の低下を助長し、致死性不整脈を誘発することを報告した<sup>1, 7</sup>。

さらにRyR2の過リン酸化による不規則なからのC

a<sup>2+</sup>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、既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、そのひとつの機序は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のチャンネル構造を安定化させることも、を安定化させる薬物療法(β遮断薬、JTV519)が心不全治療に有効であると考えられる。ことを報告している<sup>1, 7</sup>。β遮断薬はRyR2の過リン酸化を改善することによって、JTV519はRyR2のチャンネル構造を正常に回復させることによって、その効果を発揮していると考えられている。事実、JTV519という薬剤が開発され、RyR2のチャン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<sup>23</sup>。ただ、JTV519はCa<sup>2+</sup>拮抗薬であるdiltiazem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<sup>2+</sup>チャン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。

ただ、JTV519はCa<sup>2+</sup>拮抗薬であるdiltiazem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<sup>2+</sup>チャンネルの拮抗作用が出現することが指摘されており、RyR2に特異的に作用する薬物の開発が今後の課題である。

### 心筋筋小胞体へのCa<sup>2+</sup>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<sup>2+</sup>取り込み能力が低下している。そのために筋小胞体内Ca<sup>2+</sup>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<sup>2+</sup>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<sup>2+</sup>取り込み能力が一層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coding領域に3箇所、promoter領域に3箇所の変異部位が同定されている<sup>24</sup>。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 機能改善による心不全治療

SERCA2aはATPを分解して得たエネルギーを利用して、能動的にCa<sup>2+</sup>を筋小胞体内へと汲み上げる。心室筋でのSERCA2a機能を規定する最も重要な因子は、phospholamban(以下PLNと略す)と呼ばれる筋小胞体膜蛋白である。PLNはSERCA2aと特異的に結合し、その活性を抑制する。構造はわずか52アミノ酸からなる一回膜貫通型蛋白であり、心筋での局在性が極めて高く、骨格筋や平滑筋にもわずかに分布している。交感神経刺激によって、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。リン酸化型PLNはSERCA2aから解離し、SERCA2aの抑制が解除され、活性が増加する(図2)。PLN遺伝子欠損マウスの心機能は、交感神経刺激を最大に負荷したときの野生型マウスの心機能に匹敵していた<sup>8</sup>。このことは、生理的条件下の交感神経刺激によって心筋収縮拡張性が亢進するのは、大部分がPLNのSERCA2aに対する抑制が解除されるために生じることを示唆している点で極めて重要である。さらに興味深いことには、PLN遺伝子欠損マウスでは収縮拡張機能の亢進が生涯にわたり維持されるにもかかわらず、長期の生存率が野生型マウスと変わらないといわれている。これは他の方法、特に交感神経刺激によって、心機能を長期にわたり亢進・

維持させた場合に生じる、好ましくない結果とは対照的である。

以上の観点から、SERCA2a機能によるCa<sup>2+</sup>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・進展を予防し、また既に進行した心不全を改善させることを目的とした試みが行われてい動物実験が実施され、一定の成果を収めてきている。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を欠損させるくことによって、SERCA2a機能を亢進し、心不全の発症及び進行を抑制できる結果が示されている<sup>25</sup>。なかでも特に、1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されるに値する<sup>26</sup>。1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蛋白が欠損していると、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心不全症状が改善された。この結果は、SERCA2a機能を改善させることは、直接的にSERCA2a機能を改善させることによるポンプ機能の改善は、交感神経刺激による伴う他の心不全進行因子が存在していても、ではないこと、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、を明確に心不全の進行を抑制できることを示している点で極めて重要である。なぜなら、交感神経・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、ベータ受容体刺激薬やphosphodiesterase阻害剤などの強心薬が心不全患者の長期予後を悪化させ、b遮断薬が心不全治療薬として認知されるようになってから、強心薬は全て、心不全の慢性心不全治療には悪影響があるとの風潮があると考えられるようになった。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。心筋筋小胞体へのCa<sup>2+</sup>取り込み促進作用とは異なるシグナル伝達系路を活性化することが、交感神経・受容体刺激薬による心不全の悪化の主体は、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）であることを、この報告に起因していることが示唆される明確に示している。

別の研究グループは、これらの動物実験から得られた成果を基に、心筋筋小胞体へのCa<sup>2+</sup>取り込みを促進する試みが相次いでなされた。その試みを分類すると1) SERCA2a蛋白の発現を増加させること（SERCA2a遺伝子導入や内因性SERCA2a発現を促すなど）、2) SERCA2自体に修飾を加え、SERCA2a活性を亢進させる、3) PLN蛋白発現を減少させること（アンチセンスRNA, siRNAなど）、4) PLN-SERCA2a相互作用解除させること、の4つに大きく分けられる。以上の方法のうち、SERCA2a遺伝子導入<sup>13, 14</sup>とPLN-SERCA2a相互作用を解除させる偽リン酸化変異PLN遺伝子導入<sup>15, 16</sup>による心不全の治療が、既に動物実験レベルではあるが、生体内への遺伝子導入によって試みられている。

Harvard大学Hajjar博士のグループによって、SERCA2a遺伝子導入による心不全治療の開発が進められている。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遺伝子を導入をすることによって、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<sup>27</sup>。さらに彼ら同じグループは心筋梗塞モデルにおいて、SERCA2a活性改善が不整脈の発生頻度が減少することも報告している<sup>27, 17</sup>。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ヶ月以上の長期にわたり、有意に心機能の改善を認めた<sup>28</sup>。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<sup>29</sup>。こうした動物実験の結果は、心筋筋小胞体へのCa<sup>2+</sup>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。

一方、PLN-SERCA2a相互作用を解除させる偽リン酸化変異PLN遺伝子導入による心不全の実験的治療が、California大学San Diego校のChien博士、Ross博士のグループによって試みられている<sup>15, 16</sup>。PLNの16番目のセリンをグルタミンに変異させ、偽リン酸化状態となるS16E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ヶ月以上の長期にわたり、有意に心機能の改善を認めた（図3）<sup>15</sup>。さらにその後、ラット心筋梗塞モデルによって生じる心機能低下に対し、偽リン酸化変異PLNを心筋細胞に導入することによって、心機能が改善させるという研究が発表され<sup>16</sup>、PLNのSERCA2a抑制効果を取り除くという、新たな心不全遺伝子治療法の有効性が証明されている。

さらに、これらCa<sup>2+</sup>制御蛋白のリン酸化状態を制御するリン酸化酵素や脱リン酸化酵素によっても同じような心不全の改善がみられることが最近明らかにされた。すなわち、protein kinase Ca<sup>18</sup>、Ca<sup>2+</sup>-calmodulin-dependent protein kinase II<sup>19</sup>などのリン酸化酵素活性あるいはprotein phosphatase 1<sup>20</sup>のような脱リン酸化酵素活性をコントロールすることでCa<sup>2+</sup>ハンドリングを改善させ、また細胞障害を抑制する効果があることが提唱されている。



## おわりに

心筋筋小胞体機能は、正常の心機能を保つ上で、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、実はよく分かっていない。さらにCa<sup>2+</sup>の放出と再取り込みの重要性は、本稿の中で繰り返し強調したが、筋小胞体内のCa<sup>2+</sup>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出来なかったが、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、筋小胞体は筋原繊維などに比べ、遅れて発達する。従って、新生児や乳児では筋小胞体が十分に発達していないため、Ca<sup>2+</sup>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上でも、欠かすことが出来ない。

筋小胞体機能を改善させて、心不全を治療したり改善させるという治療は、その概念は、まだが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<sup>2+</sup>ハンドリングの改善を目的とした心不全治療は、必ずしも常に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<sup>30</sup>(表)。これらの違いが何によって規定されるのか、今後治療を考える上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、遺伝子導入法につい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、如何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<sup>31</sup>、マウスとの違いが波紋を呼んでおり、いる。克服すべき問題はまだまだ多く残されているが、心筋筋小胞体機能を改善させるという新たな治療法について、われわれが取り組むべき方向性は既に示されている。今後はその道を開拓し、実用化に向けた展開が精力的に進められていくものと思われる。しかし、既に米国では、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。

## 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 23.
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. 蛋白質核酸酵素. 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 Ca<sup>2+</sup> 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 Ca<sup>2+</sup> 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. Gomez 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;3:5  
65-573.

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 reticu-  
lum calcium ATPase interaction is the critical c-  
alcium cycling defect in dilated cardiomyopath-  
y. *Cell.* 1999;99:313-322.

26. Engelhardt S, Hein L, Dyachenkow V, et  
al. Altered calcium handling is critically in-  
volved in the cardiotoxic effects of chronic b-  
eta-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;37:375-3  
80.

28. Hoshijima M, Ikeda Y, Iwanaga Y, et al.  
Chronic suppression of heart-failure progress-  
ion by a pseudophosphorylated mutant of phosph-  
olamban via in vivo cardiac rAAV gene delivery.  
*Nat Med.* 2002;8:864-871.

29. Iwanaga Y, Hoshijima M, Gu Y, et al. C-  
hronic phospholamban inhibition prevents progr-  
essive cardiac dysfunction and pathological re-  
modeling after infarction in rats. *J Clin Inve-  
st.* 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へ臨床応用への可能性へ. *Cl-  
in Calcium.* 2006;16:37-44.

31. Haghghi K, Kolokathis F, Pater L, et  
al. Human phospholamban null results in lethal  
dilated cardiomyopathy revealing a critical d-  
ifference between mouse and human. *J Clin Inve-*

*st.* 2003;111:869-876.

### サルカルメニン欠損マウスにおける、加齢や運動負 荷ストレスによる心機能の低下について

サルカルメニンは心筋および骨格筋筋小胞体に発  
現するカルシウム結合蛋白であり、SERCA活性を維持  
し、筋小胞体内カルシウム調節に関与する。先行研  
究において、サルカルメニン欠損マウスでは、心臓  
への圧負荷によって、より強く心機能低下やSERCA  
活性低下を引き起こすことが示されている。圧負荷  
のような病的ストレスと生理的ストレスとでは生体  
の応答はしばしば異なるため、本研究では、サルカ  
ルメニンの有無によって、加齢と運動負荷による生  
理的ストレスに対する心機能の変化が異なるか否か  
を調べた。野生型 (WT) 高齢マウス (n=12) や若齢サ  
ルカルメニン欠損マウス (SARKO) (n=12) と比べて、  
高齢SARKO (n=13) では心機能やSERCAの発見量の低  
下が著しかった。LV dp/dtmax (mmHg/s) は高齢SARK  
Oが3897 ± 134、高齢WTが7091 ± 657、若齢SARKO  
が6836 ± 29であった。若齢WTマウスのSERCA蛋白  
量と比べて、高齢 SARKO, 高齢 WT, 若齢 SARKOのS  
ERCA蛋白量はそれぞれ16 ± 17%, 72 ± 8%, 56  
± 17%と低下していた。運動負荷への影響をみるた  
め、若齢SARKOマウスとWTマウスに対して、トレッド  
ミルを用いた運動トレーニングを実施した。最大運  
動耐用スピートの65%のトレッドミル速度で、60分/  
日、5日/週を12週間行った。12週間のトレーニング  
の後、WTトレーニングマウス (n=6) では軽度ではある  
が有意に最大運動耐用能が増加した(5%上昇)が、SA  
RKOトレーニングマウス (n=5) では有意に低下した(3  
7%低下)。トレーニングの後、心室筋SERCA2a蛋白質  
の発見量は、WTマウスが170%増加していたのに対し、  
SARKOマウスでは68%減少していた。以上の結果は、

サルカルメニンが加齢や運動負荷のような生理的ストレス時に心機能を保つために重要な役割を果たしていることを示している。

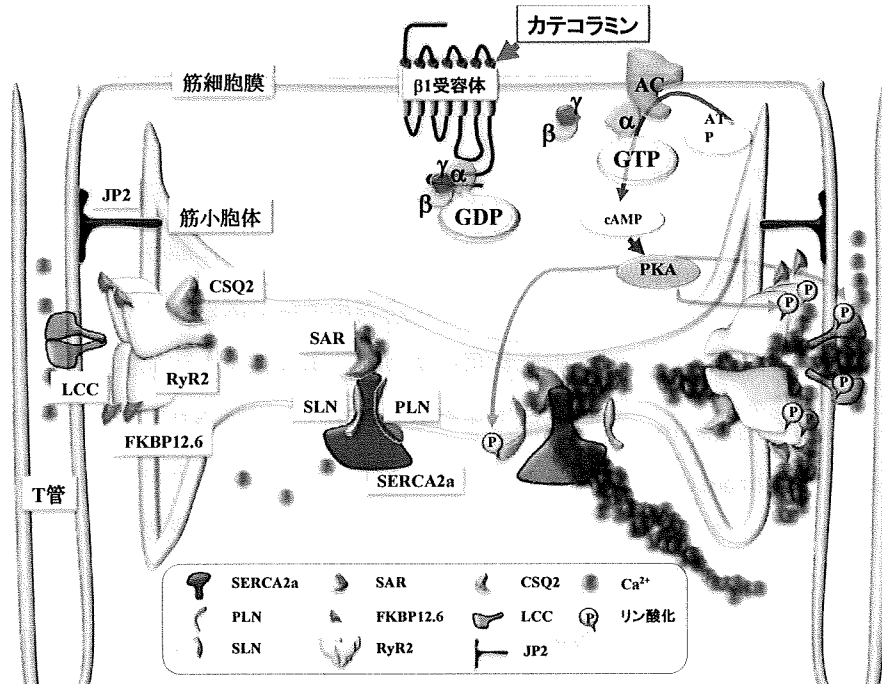
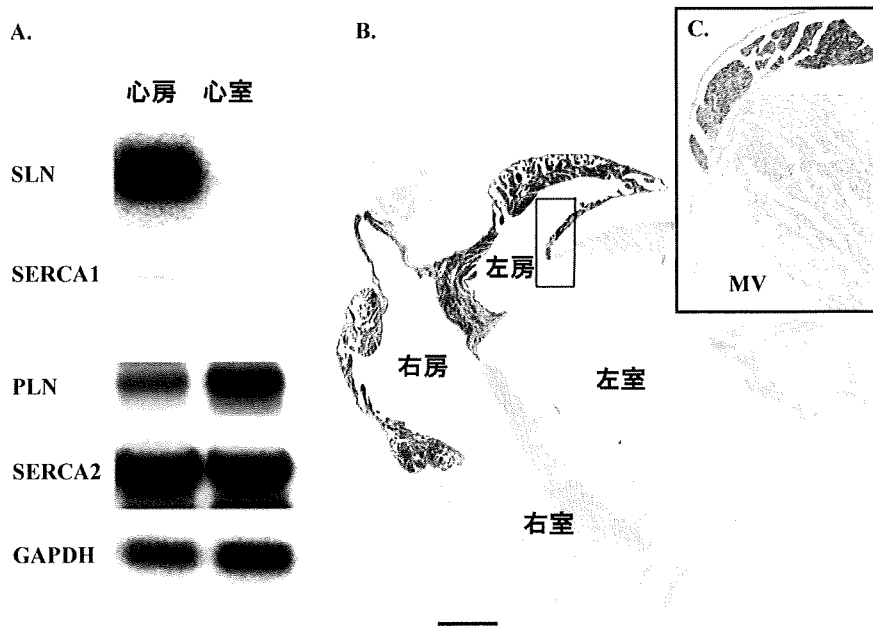


図1の説明

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、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、Gs・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)、ホスフォランパン (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。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: 筋小胞体カルシウムATPase、PLN: ホスフォランパン、SLN: サルコリピン、SAR:サルカルメニン、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: 心筋ジャンクトフィリン、Ca<sup>2+</sup>: 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、GDP: guanosine diphosphate、GTP: guanosine triphosphate



## 図2の説明

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、心室筋では殆ど検出できない。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分かる。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

## 研究成果の刊行に関する一覧表

## 書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書 籍 名	出版社名	出版地	出版年	ページ

## 雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Ebina T, <b>Ishikawa Y</b> , Uchida K, Suzuki S, Imoto K, Okuda J, Tsukahara K, Hibi K, Kosuge M, Sumita S, Mochida Y, Ishikawa T, Uchino K, Umemura S, and Kimura K	A case of giant coronary aneurysm and literature review.	<i>J. Cardiol.</i>	53	293-300	2009
Jiao Q, Bai Y, Akaike T, Takeshima H, <b>Ishikawa Y</b> , and Minamisawa S	Sarcalumenin is essential for maintaing cardiac function during endurance exercise training.	<i>J. Physiol. Heart Circ. Physiol.</i>	297	H576-82	2009
Akaike T, Jin MH, Yokoyama U, Izumi-Nakaseko H, Jiao Q, Iwasaki S, Iwamoto M, Nishimaki S, Sato M, Yokota S, Kamiya Y, Adachi-Akahane S, <b>Ishikawa Y</b> and Minamisawa S	T-type Ca <sup>2+</sup> channels promote oxygenation-induced closure of the rat ductus arteriosus not only by vasoconstriction but also by neointima formation.	<i>J. Biol. Chem.</i>	284	24025-34	2009
Hu CL, Chandra R, Ge H, Pain J, Yan L, Babu G, Depre C, Iwatsubo K, <b>Ishikawa Y</b> , Sadoshima J, Vatner SF, Vatner DE.	Adenylyl cyclase Type 5 protein expression during cardiac development and stress.	<i>Am J Physiol Heart Circ Physiol.</i>	297	H1776-82,	2009
Baljinnyam E, Iwatsubo K, Kurotani R, Wang X, Ulucan C, Iwatsubo M, Lagunoff D and <b>Ishikawa Y</b> .	Epac Increases Melanoma cell migration by Heparan Sulfate-Related Mechanism.	<i>Am. J. Physiol. Cell Physiol.</i>	297	C802-13	2009

Sato M, Honda T, Jiao Q, Kurotani R, Toyota E, Okumura S, Lanier SM, and <b>Ishikawa Y</b>	An involvement of activator of G protein signaling 8 on hypoxia-induced apoptosis of cardiomyocytes and its interaction with connexin 43.	<i>J. Biol. Chem.</i>	284,	31431-40	2009
--	---	-----------------------	------	----------	------



ELSEVIER

CASE REPORT

JOURNAL of  
CARDIOLOGY

Official Journal of the Japanese College of Cardiology

www.elsevier.com/locate/jjcc

## A case of giant coronary artery aneurysm and literature review

Toshiaki Ebina (MD)<sup>a,\*</sup>, Yoshihiro Ishikawa (MD, FJCC)<sup>b</sup>,  
Keiji Uchida (MD)<sup>a</sup>, Shinichi Suzuki (MD)<sup>a</sup>, Kiyotaka Imoto (MD)<sup>a</sup>,  
Jun Okuda (MD)<sup>a</sup>, Kengo Tsukahara (MD)<sup>a</sup>, Kiyoshi Hibi (MD)<sup>a</sup>,  
Masami Kosuge (MD)<sup>a</sup>, Shinichi Sumita (MD)<sup>a</sup>, Yasuyuki Mochida (MD)<sup>c</sup>,  
Toshiyuki Ishikawa (MD, FJCC)<sup>c</sup>, Kazuaki Uchino (MD, FJCC)<sup>c</sup>,  
Satoshi Umemura (MD, FJCC)<sup>c</sup>, Kazuo Kimura (MD, FJCC)<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Division of Cardiology, Yokohama City University Medical Center,  
4-57 Urafune-cho, Minami-ku, Yokohama, 232-0024, Japan

<sup>b</sup> Cardiovascular Research Institute, Yokohama City University, Graduate School of Medicine,  
3-9 Fukuura, Kanazawa-ku, Yokohama 236-0004, Japan

<sup>c</sup> Department of Medical Science and Cardiorenal Medicine, Yokohama City University,  
Graduate School of Medicine, 3-9 Fukuura, Kanazawa-ku, Yokohama, 232-0004, Japan

Received 31 January 2008; received in revised form 13 June 2008; accepted 23 July 2008  
Available online 7 September 2008

### KEYWORDS

Coronary artery  
aneurysm;  
Kawasaki disease

**Summary** A 40-year-old man was referred to our hospital because of an abnormal shadow on the left cardiac border on the chest roentgenogram at the regular medical health examination without any symptoms. A giant coronary artery aneurysm of left anterior descending artery with a maximum diameter of approximately 50 mm was detected with computed tomography and coronary angiography. The patient was treated and followed up medically. Four years later, the size of the coronary artery aneurysm became larger. Then resection of the coronary artery aneurysm and coronary artery bypass grafting were successfully performed. Coronary artery aneurysms are rare in adults and are usually found in association with Kawasaki disease, coronary atherosclerosis, and so on. We also review the literature of giant coronary artery aneurysms exceeding 50 mm in diameter.

© 2008 Japanese College of Cardiology. Published by Elsevier Ireland Ltd. All rights reserved.

### Introduction

Coronary artery aneurysms are rare lesions. They are caused by Kawasaki disease (mucocutaneous lymphnode syndrome), coronary atherosclerosis,

\* Corresponding author. Tel.: +81 45 261 5656;  
fax: +81 45 261 9162.  
E-mail address: tebina@med.yokohama-cu.ac.jp  
(Y. Ishikawa).



trauma (including percutaneous coronary intervention), autoimmune diseases (polyarteritis nodosa, systemic lupus erythematosus, scleroderma), coronary artery dissection, and so on. In Kawasaki disease, coronary artery aneurysms are not rare complications. However, giant coronary artery aneurysms are rare. We treated a case with a giant coronary artery aneurysm, the size of which is about 50 mm in diameter, and report here with a literature review.

### Case presentation

A 40-year-old man was referred to our hospital for the evaluation of an abnormal shadow on the left cardiac border on the chest X-ray film at the regular medical health examination. The abnormal shadow on the left cardiac border was not pointed out at the previous regular medical examination. He did not experience angina-like chest pain. He had no history of Kawasaki disease or chest trauma. However, he had been admitted to hospital because of high fever and cervical lymphadenopathy and had had tonsillectomy at the age of 12.

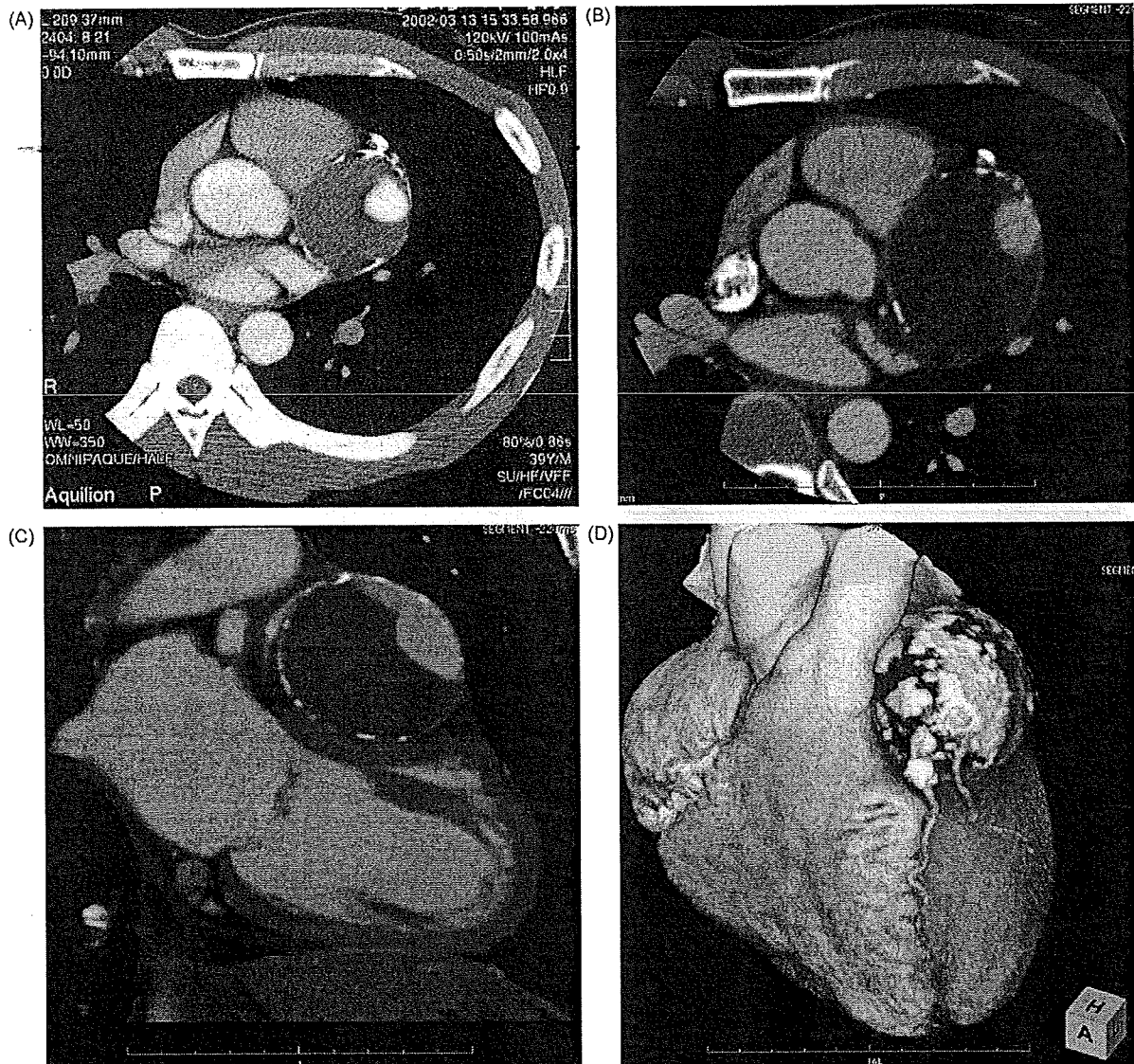
On physical examination, his blood pressure was 110/76 mmHg and pulse rate was 72/min. Precordial auscultation disclosed no abnormalities. Physical examination results were normal. The results of blood test were normal. The chest roentgenogram showed an abnormal shadow on the left cardiac border. Electrocardiogram showed normal and no Q waves. Treadmill exercise testing was negative.

Computed tomography (CT) of the chest showed a 50 mm round mass with calcification beside the aorta (Fig. 1A). Intravenous contrast medium injection revealed a large cavity inside the mass. Cardiac magnetic resonance imaging (MRI) with gadolinium enhancement demonstrated a 50-mm mass adjacent to the left ventricle.

Coronary angiography and left ventriculography were performed. Right coronary artery (RCA) was totally occluded at the proximal portion with well-developed collateral artery from left circumflex artery to distal RCA. Oval calcification was identified at the distal portion of RCA and it was thought to be a coronary artery aneurysm. Proximal left anterior descending artery (LAD) opened into a large spherical cavity that was filled with contrast medium in a swirling fashion with slow opacification of distal LAD, confirming the diagnosis of a giant coronary artery aneurysm. Diagonal branch had 75% stenosis at the outlet of the aneurysm. Left ventriculogram revealed no asynergy, and ejec-

tion fraction was 77%. The anterobasal portion of left ventricle was compressed by the aneurysm. Stress myocardial perfusion imaging showed mild ischemia at diagonal branch area and inferior wall without any symptoms. Coronary artery bypass grafting (CABG) with coronary artery aneurysm resection was first considered. However, he was asymptomatic with good exercise capacity, and had no significant stenosis and ischemia in the LAD. Because the management of patients with coronary artery aneurysms is somewhat controversial, we decided to treat him medically with a low dose of aspirin and followed him carefully with periodical CT and MRI examinations; this was what he wished also.

The size of the coronary artery aneurysm remained unchanged for 3 years. He had no symptoms. However, 4 years later, the size of the aneurysm started to increase and reached 60 mm × 53 mm on the CT (Fig. 1B, C, and D). Coronary angiography was performed again (Fig. 2A and B), which showed similar results to the previous study except for the progression to 75% stenosis at the ostium of LAD aneurysm. Therefore, he underwent surgery. Median sternotomy was performed. Giant LAD aneurysm (Fig. 3) and small (approximately 1 cm in diameter) distal RCA aneurysm were identified. Two venous cannulae were inserted into superior and inferior vena cava via right atrium, and arterial cannula was inserted into ascending aorta. After cardiopulmonary bypass was initiated, the aorta was cross-clamped. Free gastroepiploic artery (GEA) graft was anastomosed to the posterolateral branch of the RCA. When coronary aneurysmal sac was opened, yellow fluid was released and the remaining part of the sac was filled with organized thrombi. The organized thrombi were removed. The inlet of the aneurysm was the proximal LAD, and the outlets were the distal LAD and diagonal branch. Proximal LAD was ligated at the ostium of the aneurysm, and distal LAD and diagonal branch were ligated at the ostia. The aneurysmal sac was excised. Free radial artery (RA) graft was anastomosed to diagonal branch. Left internal thoracic artery (LITA) was anastomosed to distal LAD. The proximal ends of the free GEA and RA were anastomosed to ascending aorta. The resected aneurysm was atheromatous, and histological examination of the coronary artery aneurysm wall revealed marked wall thickening with calcification and hyalinization of the media. Hemosiderosis was also observed, but no evidence of active vasculitis was observed. The postoperative course was uncomplicated. Coronary angiograms after CABG showed patent grafts without stenoses (Fig. 4A–D). Proximal septal branches



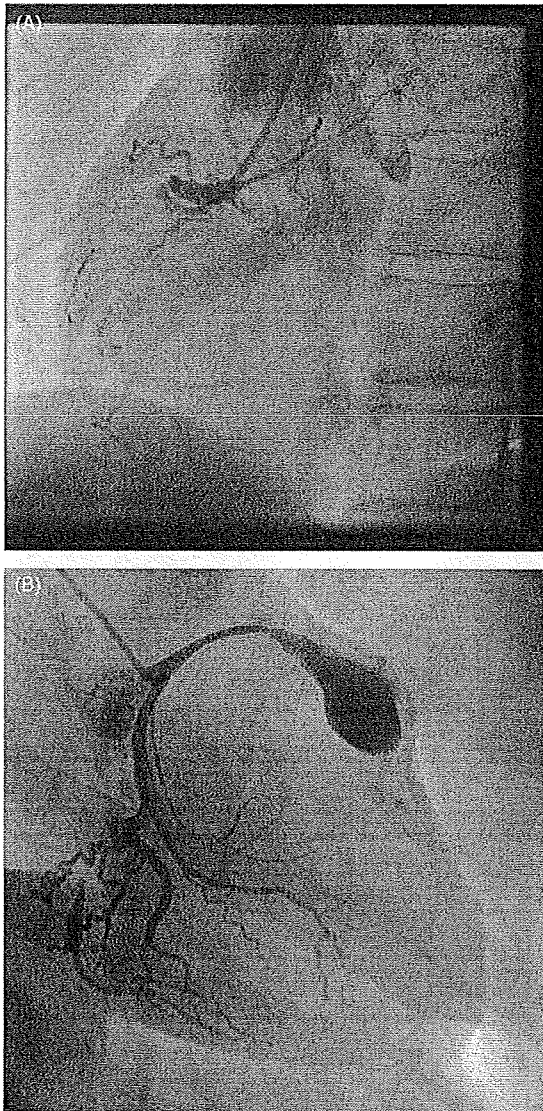
**Figure 1** Enhanced computed tomography. (A) At the initial examination. An approximately 50 mm round mass with calcification is shown. Partial enhancement beside the aorta is also shown. (B and C) Four years later. The size of the coronary artery aneurysm became 60 mm  $\times$  53 mm. (D) Three dimensional reconstruction of the follow-up CT.

of the LAD were filled by collaterals from the posterior descending branch of the RCA.

## Discussion

Coronary artery aneurysms are detected in 1.2–4.9% of patients undergoing coronary angiography and are reportedly present in 1.4% of post-mortem examinations. They occur in males more frequently than females. The most affected coronary artery is the RCA. They are frequently asymptomatic. In symptomatic cases, it is usually caused by myocardial ischemia. The causes of

coronary artery aneurysms are Kawasaki disease (mucocutaneous lymph node syndrome), atherosclerosis, autoimmune diseases (polyarteritis nodosa, systemic lupus erythematosus, scleroderma), trauma (including coronary angioplasty), coronary artery dissection, rheumatic, mycotic coronary emboli, syphilis, and so on [1]. Kawasaki disease was initially described by Kawasaki in 1967 in Japan [2]. It is a generalized vasculitis of unknown etiology and occurs in children. Coronary artery abnormalities develop in approximately 20% of children with untreated Kawasaki disease. Abnormalities of coronary arteries include ectasia or aneurysms that may be



**Figure 2** Coronary angiograms. (A) Right coronary artery was occluded at the proximal portion, and oval calcification was identified at the distal portion of right coronary artery. (B) Giant coronary artery aneurysm of left anterior descending artery.

fusiform or saccular [3,4]. Burns et al. described the sequelae of Kawasaki disease in adolescents and young adults [5]. Of Seventy-four patients, who were identified with presumed late sequelae of Kawasaki disease at the mean age of 24.7 years, 93.2% had coronary artery aneurysms and 66.1% coronary artery occlusion. A striking radiographic finding of the ring calcification representing calcium deposition in the walls of the coronary artery aneurysms was noted in about 36% of patients.

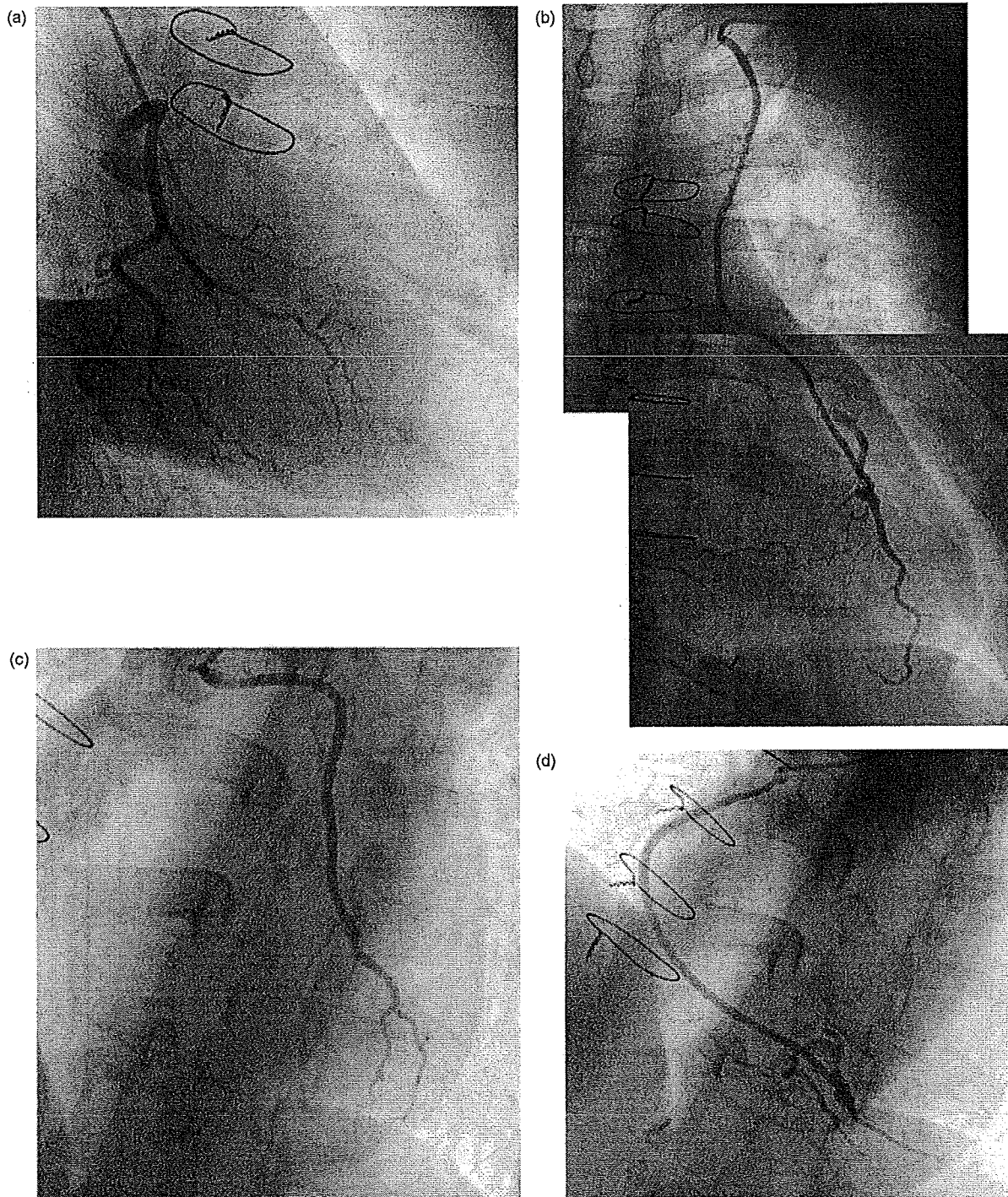
In the present case, Kawasaki disease was not diagnosed in childhood. However, he had been

admitted to hospital because of high fever and cervical lymphadenopathy at the age of 12. The possibility of Kawasaki disease cannot be ruled out, even though the age of 12 was somewhat older for the onset of Kawasaki disease. The findings of CAG and CT showed coronary artery aneurysms in two coronary arteries, calcification, and occlusion without coronary risk factors. These findings suggest the possibility of the consequence of Kawasaki disease. Because the size of the aneurysm was already 50 mm, and there was some risk of rupture of the aneurysm, CABG with coronary artery aneurysm resection was considered. Most of the cases with giant coronary artery aneurysm in previous reports were surgically treated. However, the management of patients with coronary artery aneurysms is somewhat controversial [6,7]. He was asymptomatic and had good exercise capacity. Also he had no significant stenosis and ischemia in the LAD. Therefore, he was treated medically with a low dose of aspirin, and was followed carefully. Multislice CT is useful for diagnosis and follow-up in this situation. However, 4 years later after the initial examination, the size of the coronary artery aneurysm became larger, and the LAD had significant stenosis. Therefore, we performed surgery including resection of the aneurysm and CABG. Histological findings did not show evidence of vasculitis. The inflammation had been already resolved, and only atheromatous change remained.

Giant coronary artery aneurysm, especially with a diameter exceeding 50 mm, is extremely rare. Table 1 shows a summary of giant coronary artery aneurysms with a diameter of 50 mm or more without fistula, which were described in a previous report [8] and others [9–39]. There is no sex predomination. The most affected coronary



**Figure 3** Coronary aneurysm during surgery. Giant left anterior descending artery aneurysm is shown.



**Figure 4** Coronary angiograms after CABG. (A) Left anterior descending artery was occluded at the ostium. (B) Left internal thoracic artery to left anterior ascending artery was patent without stenosis. (C) Radial artery graft to diagonal branch was patent without stenosis. (D) Gastroepiploic artery graft to distal right coronary artery was patent without stenosis.