

Na⁺/Ca²⁺交換輸送体の構造・機能・病態生理

岩本 隆宏¹、根本 隆行¹、喜多 紗斗美^{1,2}

要 旨

Na⁺/Ca²⁺交換輸送体 (NCX) は、3 個のNa⁺と 1 個のCa²⁺を両方向性に交換輸送する細胞膜トランスポーターである。哺乳類には 3 種のNCXアイソフォーム (NCX1、NCX2、NCX3) が存在している。NCXは細胞内Ca²⁺濃度を制御する主要なCa²⁺トランスポーターであることから、新規Ca²⁺調節薬の創薬標的として以前から有望視されてきた。これまでに、特異的NCX阻害薬として、KB-R7943、SEA0400、YM-244769などのベンジルオキシフェニル系誘導体が開発されている。筆者らは、長年に渡り、NCXの構造と機能の基盤的研究に取り組んできた。また、特異的NCX阻害薬および各種NCX遺伝子改変マウスを研究ツールに用いて、NCXが食塩感受性高血圧、肺動脈性肺高血圧、虚血再灌流障害、神経変性疾患などの発症・病態機序に関わることを明らかにしてきた。本稿では、NCXの構造・機能・病態生理に関するこれまでの研究成果を紹介するとともに、NCXを標的とした治療応用の可能性について概説する。

Key words : Na⁺/Ca²⁺交換輸送体、イオン輸送機構、食塩感受性高血圧、肺動脈性肺高血圧、虚血再灌流障害、概日リズム、神経変性疾患

I. はじめに

Na⁺/Ca²⁺交換輸送体 (NCX) は、Na⁺とCa²⁺を両方向性に交換輸送する細胞膜トランスポーターであり、細胞内Ca²⁺ホメオスタシスの維持や各種Ca²⁺シグナルの形成に関わっている。哺乳類には 3 種のNCXアイソフォーム (NCX1、NCX2、NCX3) が存在している。NCX1は心臓、血管、腎臓、脳など様々な臓器に普遍的に発現し、NCX2とNCX3は主に脳、骨格筋に発現している¹⁻³⁾。NCXは細胞内Ca²⁺濃度を制御する主要なCa²⁺トランスポーターであることから、新規Ca²⁺調節薬の創薬標的として以前から有望視されてきた。1996年に、最初の特異的NCX阻害薬となるベンジルオキシフェニル系誘導体KB-R7943が開発された⁴⁾。筆者らは、これまでにKB-R7943をはじめ、その後の改良型NCX阻害薬 (SEA0400、YM-244769) の特性解析および薬効評価に取り組んでき

た³⁻⁵⁾。そして、これら特異的NCX阻害薬を研究ツールに用いて、さらに各種NCX遺伝子改変マウスを作出することにより、NCXが食塩感受性高血圧、肺動脈性肺高血圧、虚血再灌流障害、神経変性疾患などの発症・病態機序に関わることを明らかにしてきた。また近年、構造生物学の飛躍的な進歩により、NCXのイオン輸送機構が分子レベルで明らかになりつつあり、筆者らもその一端に携わってきた。本稿では、NCXの構造・機能・病態生理に関する筆者らの研究成果を主に紹介するとともに、NCXを分子標的とした治療応用の可能性について概説したい。

II. NCXの構造と機能

1) NCXの生理機能

NCXは、細胞膜を介して 3 個のNa⁺と 1 個のCa²⁺を交換輸送するイオントランスポーターである。このイオン輸送は両方向性であり、その輸送方向は細胞内外のイオン濃度勾配と膜電位によって決定される¹⁾。NCXは、通常、細胞膜を介するNa⁺濃度勾配に従って、細胞内Ca²⁺を細胞外へ汲み出しており (Ca²⁺流出モード)、筋収縮や神経伝達、ホルモン分泌などに関わる各種Ca²⁺シグナ

¹ 福岡大学医学部薬理学
(〒814-0180 福岡県福岡市城南区七隈 7-45-1)

² 徳島文理大学薬学部薬理学
(〒770-8514 徳島県徳島市山城町西浜傍示180)

ルを終結させて、静止時の低濃度Ca²⁺を維持する役割を担っている。心筋細胞において、NCX1はL型Ca²⁺チャネルとともにT管膜に沿って局在し、心拍毎にL型Ca²⁺チャネルから流入するCa²⁺の相当量を細胞外へ汲み出している^{1, 2)}。ヒト心筋細胞のCa²⁺汲み出し機構の寄与率は、NCX1が28%、細胞膜Ca²⁺ポンプが70%、筋小胞体Ca²⁺ポンプが2%であると試算されている^{6, 7)}。また、NCX1は筋小胞体Ca²⁺ポンプと比較して、Ca²⁺親和性が約20倍低く ($K_{m(Ca)} = 5 \mu\text{M}$)、Ca²⁺輸送能が約50倍高いこと ($V_{max} = 5,000$ 個/秒) が知られている²⁾。一方、血管平滑筋細胞や内分泌細胞において、NCX1は脂質ラフト (マイクロドメイン) 内でNa⁺透過性チャネルや他のNa⁺輸送体と機能連関することにより、Ca²⁺流入系として機能し (Ca²⁺流入モード)、細胞内Ca²⁺シグナル形成に積極的に関与することが報告されている^{3, 8)}。

2) NCXのイオン輸送機構

NCXのイオン輸送機構については、古くから「外開き構造」⇔「内開き構造」の連続的な構造変化モデル (図1: 交互アクセスモデル) が提唱されている^{1, 2)}。2013年に、筆者らはX線結晶構造解析 (東京大学・濡木理教授との共同研究) により、NCXホモログである原核生物CaCA (Ca²⁺/陽イオン交換輸送体) の構造基盤を明らかにした⁹⁾。原核生物CaCAと哺乳類NCXの全アミノ酸はかなり異なっているが¹⁰⁾、基質イオン結合に関わる主要アミノ酸は良く保存されているので、ホモロジーモデリングにより哺乳類NCX1の立体構造モデル (膜貫通領域のみ) を構築した (図2、文献9の筆頭著者である横浜

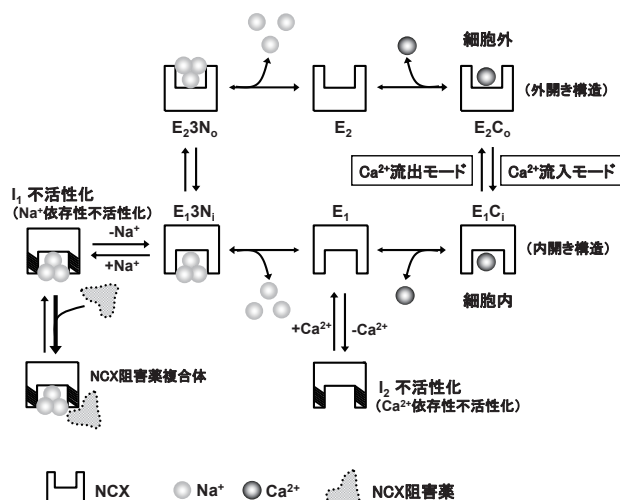


図1. NCXのイオン輸送機構およびNCX阻害薬の作用機序

NCXの構造状態 (コンフォメーション) には、イオン輸送サイクルを駆動する外開き構造 (E₁) と内開き構造 (E₂) に加えて、イオン輸送能のないI₁不活性化構造とI₂不活性化構造がある。ベンジルオキシフェニル系NCX阻害薬はI₁不活性化構造に結合し、「I₁不活性化状態への固定化」を引き起こすと考えられる。

市立大学・西澤知宏教授による作成)。この立体構造モデルを概説すると、哺乳類NCX1の基本構造は10回膜貫通ヘリックス (TM) 型であり、TM2-3とTM7-8には原核生物から哺乳類までの保存配列 (αリピード領域) が存在し、分子中央のNa⁺/Ca²⁺結合ポケット (3個のNa⁺もしくは1個のCa²⁺が結合する部位) を構成している。TM1とTM6のクロスフィンガー状のゲーティングバンドルが上下にスライドすることにより、Na⁺/Ca²⁺結合ポケットに通じるイオン透過経路が細胞外側 (外開き構造) と細胞内側 (内開き構造) に交互に形成されると考えられる (文献9のSuppl. Movie参照)。このように、哺乳類NCX1の立体構造モデルの構造基盤は「交互アクセスモデル (図1)」に良く一致している。

3) NCX阻害薬の作用機序

NCX阻害薬 (KB-R7943, SEA0400, YM-244769) は、NCXのCa²⁺流入モードを選択的に阻害する特性を有している^{3-5, 11-13)}。NCXのイオン輸送機構において (図1)、その輸送サイクル (「外開き構造」⇔「内開き構造」の連続的な構造変化) は、細胞内Na⁺増加時の「I₁不活性化」 (別称: Na⁺依存性不活性化) と細胞内Ca²⁺減少時の「I₂不活性化」 (別称: Ca²⁺依存性不活性化) により活性制御されている^{1, 2)}。興味深いことに、NCX阻害薬はI₁不活性化を欠失させた恒常活性型NCX1変異体に対して阻害作用を示さない¹¹⁻¹³⁾。このことから、著者らは、NCX阻害薬の作用機序は「I₁不活性化状態への固定化」 (図1) であると予測した³⁻⁵⁾。また、NCX阻害薬はそれぞれ異なるアイソフォーム選択性を有してお

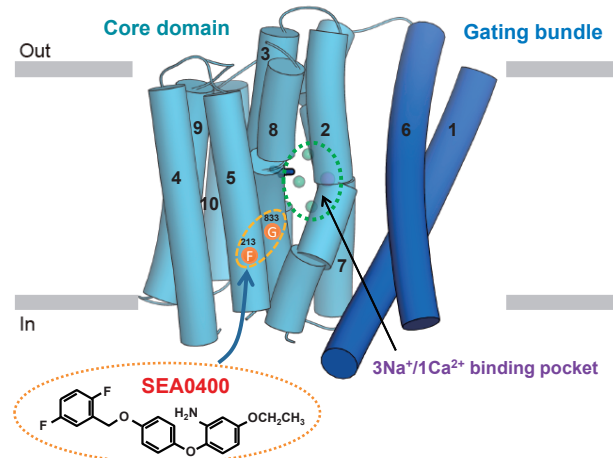


図2. 哺乳類NCX1分子モデル (膜貫通領域) のホモロジーモデリング

F213およびG833 (イヌ型配列) はベンジルオキシフェニル系NCX阻害薬の阻害活性に影響する変異部位であり、SEA0400の結合部位と考えられる。

り、SEA0400はNCX1に極めて特異的であり、またYM-244769とKB-R7943はNCX1、NCX2を阻害するものの、NCX3を最も強力に阻害する^{3-5,11,12)}。これらのNCX阻害薬はCa²⁺流入モードに選択性があるため、静止時の細胞内Ca²⁺濃度にはあまり影響を与えず、虚血再灌流時のCa²⁺過剰負荷を特異的に抑制する理想的なCa²⁺調節薬(後述)になり得る可能性がある^{3,5)}。

筆者らは、NCX阻害薬のアイソフォーム選択性を利用したNCX1/NCX3キメラ解析および変異機能解析により(NCX1はイヌ型配列、NCX3はラット型配列を用いた)、NCX1阻害作用に関わる主要アミノ酸(G833)およびアイソフォーム特異性に関わる主要アミノ酸(F213)を同定した^{11,12)}。実際に、SEA0400はNCX1-G833C変異体およびNCX1-F213L変異体に対して阻害作用を示さない。興味深いことに、哺乳類NCX1の立体構造モデルにおいて、これら両アミノ酸は三次元構造的に近傍に存在していることから(図2)、筆者らはこの領域を「NCX阻害薬結合部位」と予測した。この直截的検証にはNCX阻害薬の結合したNCX1の構造解析が必要となるが、本年(2024年)初めに、クライオ電子顕微鏡法によりヒトNCX1とSEA0400の複合体構造が3.5Åの高分解能で報告された¹⁴⁾。感動したことに、G833相同アミノ酸(ヒト型G832)およびF213相同アミノ酸(ヒト型F248)は、実際にSEA0400の直接的な結合部位になっていた。また、SEA0400結合部位はイオン輸送通路の近傍に存在し(アロステリック阻害部位)、「I₁不活性化構造」と推定される「Ca²⁺流入モードの内開き構造」において安定的に形成された。この構造基盤は、筆者らが予測したNCX阻害薬の作用機序である「I₁不活性化状態へ

の固定化」(図1)と正に合致している^{3,5)}。このように、ベンジルオキシフェニル系NCX阻害薬は、NCX1に直接結合してCa²⁺流入モードを特異的に阻害することが構造生物学的に実証された。

Ⅲ. NCXの病態生理

1) NCXと食塩感受性高血圧

教科書的に、食塩感受性高血圧は、高食塩摂取によりNa⁺が体内に貯留し、体液量の増加により血圧が上昇すると考えられている。しかし、食塩感受性高血圧の発症機序は必ずしも明確ではなく、Na⁺貯留や体液量増加がどのような機序で血圧を上昇させるのかについては不明な点が多い。著者らは、特異的NCX1阻害薬であるSEA0400が正常血圧ラットの血圧に影響を及ぼすことなく、食塩感受性高血圧ラット(Dahl食塩感受性ラット、DOCA食塩高血圧ラット)の血圧を顕著に低下させることを見出した¹⁵⁾。さらに、NCX1欠損マウス(NCX1^{-/-})では血圧上昇に対する食塩感受性が低下し、一方、血管平滑筋特異的NCX1高発現マウス(NCX1^{Tg/Tg})では逆に食塩感受性が亢進することを実験的に確認した。この分子機序を詳細に解析したところ、食塩感受性高血圧の発症には動脈平滑筋細胞へのNCX1を介するCa²⁺流入が重要な役割を果たしていることが判明した^{3,15)}。さらに、著者らはACTH依存性クッシング症候群の血圧上昇においても、同様の機序が関与することを実験的に検証した。具体的には、マウスにACTH(740μg/kg/day)を6日間持続注入すると、野生型マウスでは血圧が経時的に上昇したが、NCX1^{-/-}マウスではその血圧上昇がよ

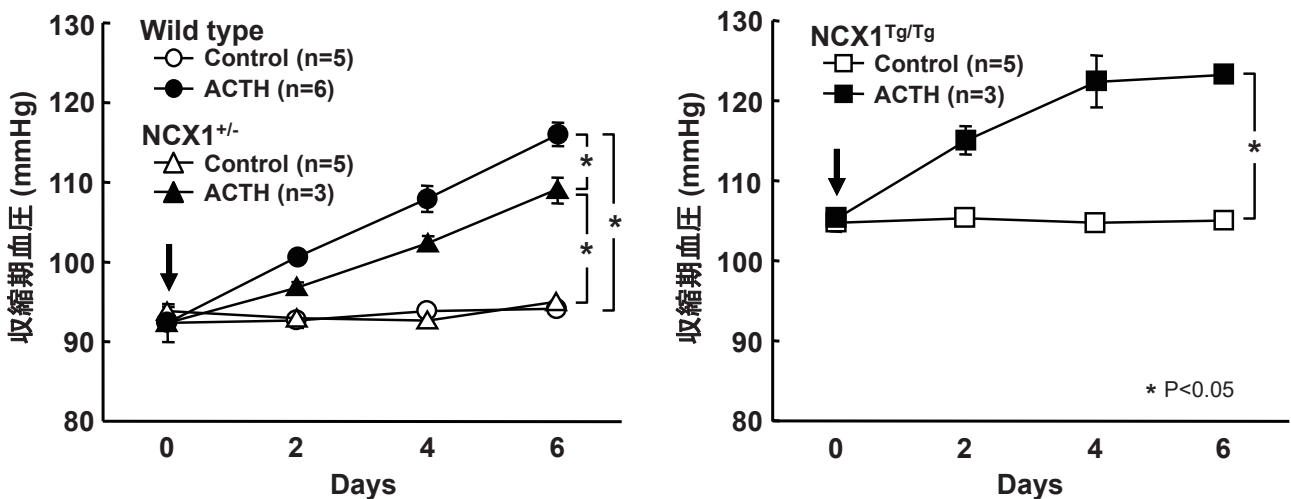


図3. 野生型マウス、NCX1欠損マウス、NCX1高発現マウスのACTH誘発高血圧

野生型マウス、NCX1欠損マウス(NCX1^{-/-})、血管平滑筋特異的NCX1高発現マウス(NCX1^{Tg/Tg})に、浸透圧ポンプを用いてACTH(740μg/kg/day)を6日間持続注入した。収縮期血圧はtail-cuff法により測定した。

り軽度であった。また逆に、血管平滑筋特異的NCX1^{Tg/Tg}マウスではその血圧上昇が増強された(図3)。さらに、これらのACTH誘発高血圧は、ウアバイン拮抗薬rostafuroxinおよび特異的NCX阻害薬YM-244769の投与により正常血圧レベルまで回復された(図4)。

従来から、高食塩摂取やACTH分泌亢進により血中の内因性Na⁺ポンプ抑制因子が増加することが報告されている⁸⁾。内因性Na⁺ポンプ抑制因子は動脈平滑筋細胞のNa⁺濃度を増加させるため、NCX1のCa²⁺流入モードが誘導され、末梢動脈の血管緊張が高まり、血圧が上昇すると考えられた(図5)。興味深いことに、NCX1とウアバイン高親和性のNa⁺ポンプ($\alpha 2$)は細胞膜と筋小胞体の隣接部位(細胞膜マイクロドメイン)に共局在することが報告されている⁸⁾。SEA0400はNCX1のCa²⁺流入モードを特異的に阻害するため、食塩感受性高血圧およびACTH依存性クッシング症候群の血圧上昇に対する特效薬となる可能性がある¹⁵⁾。

2) NCXと肺動脈性肺高血圧

肺動脈性肺高血圧症(PAH)は、肺小動脈が狭窄し肺動脈圧が上昇する病的状態であり、終末期に右心不全に至る難治性疾患である。PAHの発症には、肺小動脈の過収縮ならびに肺動脈平滑筋細胞の増殖・遊走に基づく肺血管リモデリング(肺血管病変)が深く関与している¹⁶⁾。この病態形成には、肺動脈平滑筋細胞のCa²⁺シグナル異常が関わると考えられているが、その分子機序の全容は未だ不明である¹⁷⁾。著者らは、NCX1^{+/-}マウスや特異的NCX1阻害薬SEA0400投与マウスにおいて、低酸素誘発PAHの発症が抑制されることを見出した¹⁸⁾。さらに、低酸素処置した培養ヒト肺動脈平滑筋細胞におい

て、エンドセリン刺激時の細胞内Ca²⁺シグナルが顕著に増大しており、この増大反応がSEA0400および特異的TRPC3/6阻害薬により抑制されることを確認した。また最近、NCX2欠損マウスにおいて、低酸素誘発PAHが重篤化することを見出している(未発表)。これらの知見より、著者らは、肺動脈平滑筋細胞においてTRPC3/6/NCX1機能連関を介するCa²⁺シグナル異常(Ca²⁺過剰流入)がPAH発症に促進的に関与する一方で、NCX2を介するCa²⁺恒常性維持(Ca²⁺汲み出し)がPAH発症に保護的に関与するという作業仮説を立てている(図6)。今後、血管平滑筋特異的NCX1/NCX2欠損・高発現マウスを用いて、この作業仮説を実験的に検証していく予定である。

3) NCXと虚血再灌流障害

一般的に、臓器が虚血に陥ると、嫌氣的代謝の亢進により細胞内アシドーシスとなり、増加したH⁺がNa⁺/H⁺交換輸送体を介して細胞外へ汲み出され、代わりにNa⁺が細胞内へ流入してくる。また、ATP欠乏によりNa⁺ポンプ活性が低下し、細胞内Na⁺濃度がさらに増加する。その後、再灌流が起こると、NCXを介してNa⁺が汲み出され、代わりにCa²⁺が細胞内へ流入し、Ca²⁺過剰負荷による細胞障害を引き起こされる³⁾。実際に、著者らは、NCX阻害薬(KB-R7943, SEA0400, YM-244769)が腎虚血再灌流モデル動物の腎障害を抑制すること、またNCX1^{+/-}マウスでは腎虚血再灌流障害が野生型マウスに比べて軽減されることを実験的に証明した¹⁹⁻²¹⁾。

また、臓器移植後の細胞障害は虚血再灌流障害(低酸素/再酸素化障害)に起因すると考えられている。重症糖尿病患者への膵島移植においても、膵島移植後に起こ

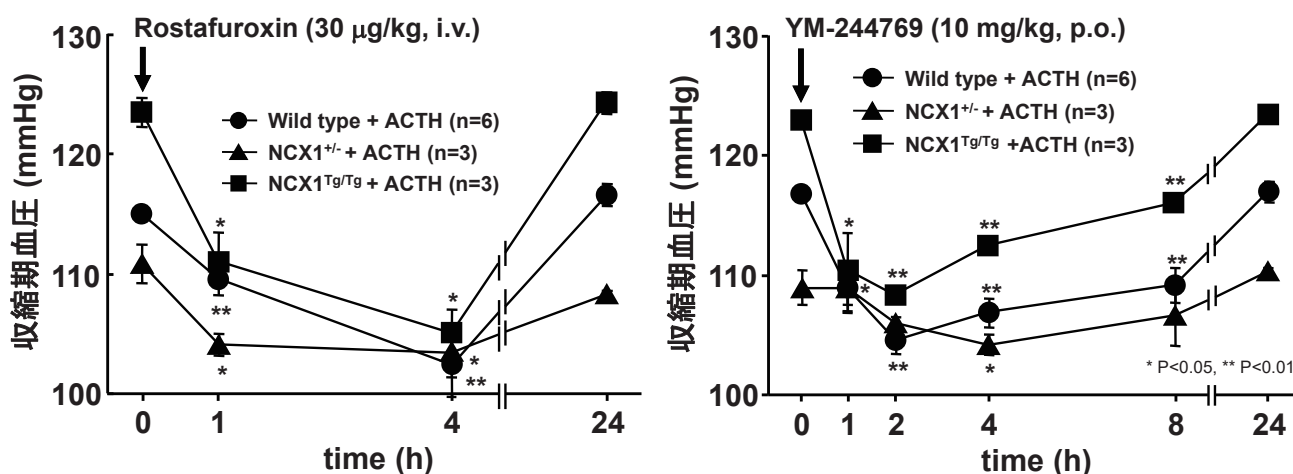


図4. ACTH誘発高血圧に対するウアバイン拮抗薬とNCX1阻害薬の降圧効果

野生型マウス、NCX1^{+/-}マウス、NCX1^{Tg/Tg}マウスにACTH (740 μg/kg/day) を6日間持続注入した後、ウアバイン拮抗薬Rostafuroxin (30 μg/kg, i.v.) とNCX1阻害薬YM-244769 (10mg/kg, p.o.) を投与し、降圧反応を観察した。

る細胞障害が問題となっている²²⁾。ドナー膵島は経門脈的に肝臓内に移植されるため、移植膵島は動脈血の供給を受けるまでは静脈血下の環境となり、低酸素/再酸素化障害を受けると考えられている。そこで、移植膵島の細胞保護技術の開発が望まれている。著者らは、特異的NCX1阻害薬SEA0400が低酸素/再酸素化処置後の膵β細胞障害を抑制することを見出した²³⁾。この作用機序について、膵島細胞にはNCX1が高発現しており、低酸素/再酸素化時にNCX1のCa²⁺流入モードを介するCa²⁺過剰負荷が引き起こされ、SEA0400はそれを阻止することにより膵島保護作用を示すことを確認した²³⁾。さらに、ストレプトゾトシン誘発糖尿病マウスを用いた膵島移植モデル実験により、NCX1阻害薬の膵島保護作用を検証したところ、SEA0400処置した膵島では移植後細胞障害が抑えられ、肝臓内への生着率が上昇し、有効な血糖降下作用が認められた²³⁾。ドナー臓器・細胞を標的としたNCX1阻害薬の細胞保護作用 (Ca²⁺過剰負荷阻止作用) の臨床応用は、膵島以外の移植治療にも応用可能と考えられる。

脳虚血再灌流障害の場合、脳には3種のNCX分子種 (NCX1、NCX2、NCX3) が異なる分布様式で発現しているため²⁴⁾、その病態機序の解釈はより複雑である。脳虚血再灌流の初期において、NCXのCa²⁺流入モードはCa²⁺過剰負荷を引き起こして神経障害を誘導する可能性が高いが、細胞内Na⁺過剰負荷を軽減させて細胞膨張による神経障害を抑制する側面もあると考えられる²⁵⁾。一方、脳虚血再灌流の後期において、NCXのCa²⁺流出モードは細胞内Ca²⁺を減少させるため、神経細胞のCa²⁺過剰負荷による細胞障害を軽減する役割を担うと考えられる²⁵⁾。著者らは、NCX1^{+/-}マウスでは、野生型マウスに比較して中大脳動脈一過性閉塞による脳虚血再灌流障害が軽減されることを見出した²⁶⁾。一方、NCX2^{+/-}マウス

およびNCX3^{+/-}マウスでは野生型マウスと同程度の脳虚血再灌流障害が認められた。さらに、選択的NCX1阻害薬SEA0400を野生型マウスの同閉塞モデルに投与すると、脳虚血再灌流障害に対する治療効果が観察された²⁶⁾。一方、海外の研究グループによる類似閉塞モデル実験の報告では、NCX1^{+/-}マウスは脳虚血障害に対して抑制的であるか²⁷⁾、NCX2^{+/-}マウスおよびNCX3^{+/-}マウスでは脳虚血再灌流障害が悪化することが報告されている^{28,29)}。このように、脳虚血再灌流障害におけるNCX2およびNCX3の病態学的意義については今後さらに検討が必要であるが、選択的NCX1阻害薬は適切な投与条件を設定できれば、脳卒中治療薬の候補となり得る可能性がある。

4) NCXと概日リズム制御

哺乳動物の血圧や心拍数は概日リズムを有しており、この概日リズム異常は高血圧や虚血性心疾患などの発症要因となることが示唆されている。著者らは、体内時計の中核である視交叉上核 (SCN) の概日リズム形成には自律Ca²⁺オシレーションが関わっており、そのCa²⁺制御にはNCX2およびNCX3が重要な役割を果たしていることを見出した³⁰⁾。具体的な実験データとして、NCX阻害薬 (KB-R7943, SEA0400) はRat-1線維芽細胞における時計遺伝子発現誘導の概日リズムおよびその制御に関わる自律Ca²⁺オシレーションを抑制した。また、NCX2^{+/-}マウスおよびNCX2/NCX3二重欠損マウス (NCX2^{+/-}; NCX3^{-/-}) では、概日リズム異常による行動リズムの遅延や乱れが観察された³⁰⁾。さらに最近、各種NCX欠損マウス (NCX1^{+/-}, NCX2^{+/-}, NCX3^{-/-}) における血圧・心拍数の概日リズムを明暗条件下および恒常暗条件下でテレメトリー法により観察したところ、NCX3^{-/-}マウスでは、暗条件下 (活動期) での昇圧反応が野生型マウスに比べて抑制されており、また恒常暗条件下での活動期

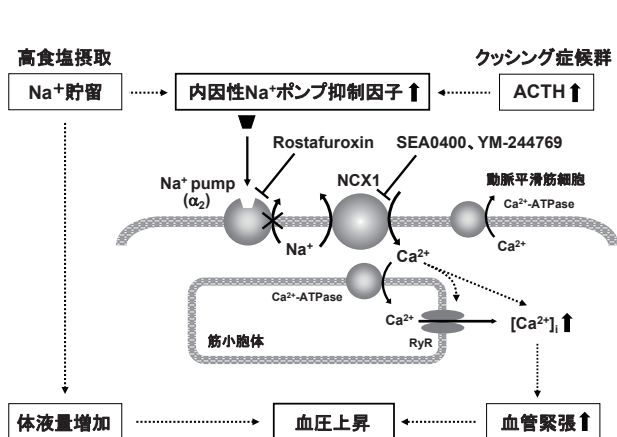


図5. 食塩感受性高血圧、ACTH誘発高血圧の発症機序

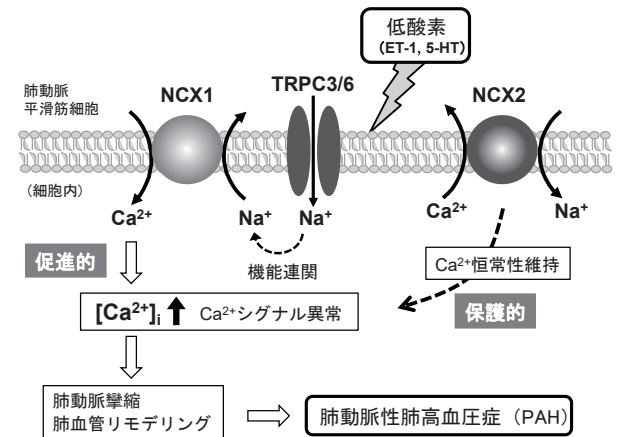


図6. 低酸素誘発PAHにおける肺動脈NCX1/NCX2の異なる制御機構

の昇圧開始時期が少し早まる傾向が認められた (図7)。一方、NCX1^{+/-}マウスおよびNCX2^{+/-}マウスでは、明暗条件下・恒常暗条件下の血圧・心拍数の概日リズムは野生型マウスと同様であった。このように、NCX3^{-/-}マウスではNCX3機能不全によるSCN⁺の自律Ca²⁺オシレーション異常により血圧の概日リズムが乱れていると推察された。このように、NCX3^{-/-}マウスは概日リズム異常 (自律Ca²⁺オシレーション異常) モデル動物であると考えられ、循環器系疾患と概日リズム異常の関係を調べるツールとしても今後有用である。

5) NCXと神経変性疾患・ADHD

神経細胞には、NCX1、NCX2、NCX3の3種が発現しているが、各アイソフォームの機能的役割の差異はまだ不明な点が多い²⁴⁾。神経細胞においてNCXは通常Ca²⁺流出モードで機能すると考えられており、脱分極刺激時や受容体刺激時の神経細胞内Ca²⁺シグナリングを終結させる役割を担っている。一方、アルツハイマー病やパーキンソン病などの神経変性疾患では、神経細胞内Ca²⁺恒常性の破綻が神経変性の一因と考えられており、これまでCa²⁺シグナル異常と神経変性疾患の関係が研究されてきた。興味深いことに、アルツハイマー病患者の大脳皮質ではNCX3の発現が低下していることが報告されて

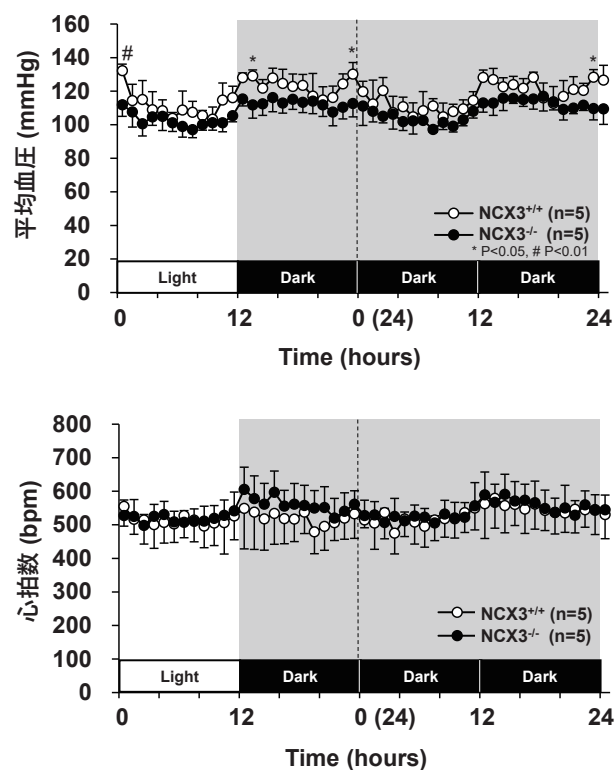


図7. NCX3^{-/-}マウスの血圧・心拍数の概日リズム
明暗条件下・恒常暗条件下でのテレメトリー測定

いる³¹⁾。著者らは、アルツハイマー病モデル動物であるAPP-KIマウス・APP23マウスにおいて、同様に大脳皮質でNCX3の発現が減少し、また海馬でもNCX2およびNCX3の発現が減少していることを確認した³²⁾。そこで、NCX2^{+/-}マウスおよびNCX3^{+/-}マウスの記憶学習関連行動を解析したところ、いずれも認知機能の低下が認められた。さらに、NCX2^{+/-}マウスおよびNCX3^{+/-}マウスの海馬において、長期増強現象 (LTP) が減弱していることを観察した³²⁾。興味深いことに、NCX2^{+/-}マウスの海馬ではCaMKIIの活性低下が認められ、また、NCX3^{+/-}マウスの海馬では逆にCaMKIIの活性亢進が見られた。このように、海馬におけるNCX2およびNCX3の発現低下は、それぞれ異なるCa²⁺シグナル破綻の機序を介してアルツハイマー病の認知機能障害の原因になると考えられた³²⁾。

また最近、ゲノムワイド関連解析研究によって、注意欠如・多動症 (ADHD) の関連遺伝子としてNCX3が同定された³³⁾。筆者らはこの実験的検証を行ったところ、前頭前皮質 (PFC) への主なドーパミン投射源である腹側被蓋野のドーパミン神経においてNCX3が発現局在していることを特定した³⁴⁾。さらに、N27ドーパミン神経細胞株においてNCX3を発現抑制したところ、CaMKII α とドーパミントランスポーターの相互作用増強により神経細胞へのドーパミン取り込みが阻害されることを見出した。また、NCX3^{+/-}マウスでは認知機能の低下が認められるが (上述)、この症状はドーパミントランスポーター再取り込み阻害薬メチルフェニデート処置によって回復された。また、NCX3^{+/-}マウスのPFCではD1受容体シグナルの下流に位置するPKAおよびDARPP-32のリン酸化亢進が確認され、これらのリン酸化亢進はメチルフェニデート処置によって抑制された³⁴⁾。さらに、このD1受容体シグナルの亢進と一致して、NCX3^{+/-}マウスのPFCでは、細胞外ドーパミン基礎遊離量の顕著な増大が確認された。このように、NCX3の発現低下はPFCにおけるドーパミン神経伝達障害を介してADHD様症状を惹起すると考えられた。

IV. おわりに

本稿で紹介したように、特異的NCX1阻害薬は、食塩感受性高血圧、肺動脈性肺高血圧、虚血再灌流障害 (移植後細胞障害) の動物モデルに対して有効な治療効果を発揮する。また、NCX1^{+/-}マウス (=NCX1の50%機能抑制マウス) は正常な生理機能を保持しているが、食塩感受性高血圧、肺動脈性肺高血圧、虚血再灌流障害を発症しにくい健康的特性を有している。これらの実験的エビデンスより、今後、臨床応用可能な特異的NCX1阻害

薬が開発されれば、NCX1を50%抑制する投与量において、有望な新規治療薬となることが期待される。

利益相反：本論文に関して開示すべきCOIはない。

V. 参考文献

- Blaustein MP, Lederer WJ. Sodium/calcium exchange: its physiological implications. *Physiol Rev*. 1999; 79 (3) : 763–854.
- Shigekawa M, Iwamoto T. Cardiac Na⁺-Ca²⁺ exchange: molecular and pharmacological aspects. *Circ Res*. 2001; 88 (9) : 864–876.
- Iwamoto T. Sodium-calcium exchange inhibitors: therapeutic potential in cardiovascular diseases. *Future Cardiol*. 2005; 1 (4) : 519–529.
- Iwamoto T, Watano T, Shigekawa M. A novel isothioureia derivative selectively inhibits the reverse mode of Na⁺/Ca²⁺ exchange in cells expressing NCX1. *J Biol Chem*. 1996; 271 (37) : 22391–22397.
- Iwamoto T, Watanabe Y, Kita S, Blaustein MP. Na⁺/Ca²⁺ exchange inhibitors: a new class of calcium regulators. *Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets*. 2007; 7 (3) : 188–198.
- Bers MD. Calcium fluxes involved in control of cardiac myocyte contraction. *Circ Res*. 2000; 87(4) : 275–281.
- Bers DM. Cardiac excitation-contraction coupling. *Nature*. 2002; 415 (6868) : 198–205.
- Blaustein MP, Zhang J, Chen L, Song H, Raina H, Kinsey SP, Izuka M, Iwamoto T, Kotlikoff MI, Lingrel JB, Philipson KD, Wier WG, John M Hamlyn JM. The pump, the exchanger, and endogenous ouabain: signaling mechanisms that link salt retention to hypertension. *Hypertension*. 2009; 53 (2) : 291–298.
- Nishizawa T, Kita S, Maturana AD, Furuya N, Hirata K, Kasuya G, Ogasawara S, Dohmae N, Iwamoto T, Ishitani R, Nureki O. Structural basis for the counter-transport mechanism of a H⁺/Ca²⁺ exchanger. *Science*. 2013; 341 (6142) : 168–172.
- Liao J, Li H, Zeng W, Sauer DB, Belmares R, Jiang Y. Structural insight into the ion-exchange mechanism of the sodium/calcium exchanger. *Science*. 2012; 335 (6069) : 686–690.
- Iwamoto T, Kita S, Uehara A, Imanaga I, Matsuda T, Baba A, Katsuragi T. Molecular determinants of Na⁺/Ca²⁺ exchange (NCX1) inhibition by SEA0400. *J Biol Chem*. 2004; 279 (9) : 7544–7553.
- Iwamoto T, Kita S. YM-244769, a novel Na⁺/Ca²⁺ exchange inhibitor that preferentially inhibits NCX3, efficiently protects against hypoxia/reoxygenation-induced SH-SY5Y neuronal cell damage. *Mol Pharmacol*. 2006; 70 (6) : 2075–2083.
- Lee C, Visen NS, Dhalla NS, Le HD, Isaac M, Choptiany P, Gross G, Omelchenko A, Matsuda T, Baba A, Takahashi K, Hnatowich M, Hryshko LV. Inhibitory profile of SEA0400 [2-[4-[(2,5-difluorophenyl) methoxy]phenoxy]-5-ethoxyaniline] assessed on the cardiac Na⁺-Ca²⁺ exchanger, NCX1.1. *J Pharmacol Exp Ther*. 2004; 311 (2) : 748–757.
- Dong Y, Yu Z, Li Y, Huang B, Bai Q, Gao Y, Chen Q, Li N, He L, Zhao Y. Structural insight into the allosteric inhibition of human sodium-calcium exchanger NCX1 by XIP and SEA0400. *EMBO J*. 2024; 43 (1) : 14–31.
- Iwamoto T, Kita S, Zhang J, Blaustein MP, Arai Y, Yoshida S, Wakimoto K, Komuro I, Katsuragi T. Salt-sensitive hypertension is triggered by Ca²⁺ entry via Na⁺/Ca²⁺ exchanger type-1 in vascular smooth muscle. *Nat Med*. 2004; 10 (11) : 1193–1199.
- Lau EMT, Giannoulatou E, Celermajer DS, Humbert M. Epidemiology and treatment of pulmonary arterial hypertension. *Nat Rev Cardiol*. 2017; 14 (10) : 603–614.
- Makino A, Firth AL, Yuan JX. Endothelial and smooth muscle cell ion channels in pulmonary vasoconstriction and vascular remodeling. *Comp Physiol*. 2011; 1 (3) : 1555–1602.
- Nagata A, Tagashira H, Kita S, Kita T, Nakajima N, Abe K, Iwasaki A, Iwamoto T. Genetic knockout and pharmacologic inhibition of NCX1 attenuate hypoxia-induced pulmonary arterial hypertension. *Biochem Biophys Res Commun*. 2020; 529 (3) : 793–798.
- Yamashita J, Kita S, Iwamoto T, Ogata M, Takaoka M, Tazawa N, Nishikawa M, Wakimoto K, Shigekawa M, Komuro I, Matsumura Y. Attenuation of ischemia/reperfusion-induced renal injury in mice deficient in Na⁺/Ca²⁺ exchanger. *J Pharmacol Exp Ther*. 2003; 304 (1) : 284–293.
- Ogata M, Iwamoto T, Tazawa N, Nishikawa M, Yamashita J, Takaoka M, Matsumura Y. A novel and selective Na⁺/Ca²⁺ exchange inhibitor, SEA0400, improves ischemia/reperfusion-induced renal injury. *Eur J Pharmacol*. 2003; 478 (2-3) : 187–198.
- Nemoto T, Gotoh Y, Kuwahara M, Kita T, Shinoda Y, Kita S, Iwamoto T. YM-244769, a highly potent Na⁺/Ca²⁺ exchange inhibitor, efficiently protects renal ischemia-reperfusion injury in mice. *J Mag Res*. 2023; 41 (2) : 66–72.
- Kojima D, Mera T, Nishinakamura H, Itoh T, Ogata T, Matsuoka N, Kodama S, Yasunami Y. Prevention of high-mobility group box 1-mediated early loss of transplanted mouse islets in the liver by antithrombin III. *Transplantation*. 2012; 93 (10) : 983–988.
- Mera T, Itoh T, Kita S, Kodama S, Kojima D, Nishinakamura H, Okamoto K, Ohkura M, Nakai J,

- Iyoda T, Iwamoto T, Matsuda T, Baba A, Omori K, Ono J, Watarai H, Taniguchi M, Yasunami Y. Pretreatment of donor islets with the Na⁺/Ca²⁺ exchanger inhibitor improves the efficiency of islet transplantation. *Am J Transplant.* 2013 ; 13 (8) : 2154 – 260.
24. Quednau BD, Nicoll DA, Philipson KD. Tissue specificity and alternative splicing of the Na⁺/Ca²⁺ exchanger isoforms NCX1, NCX2, and NCX3 in rat. *Am J Physiol.* 1997 ; 272 (4) : C1250 – C1261.
25. Annunziato L, Pignataro G, Renzo GFD. Pharmacology of brain Na⁺/Ca²⁺ exchanger : from molecular biology to therapeutic perspectives. *Pharmacol Rev.* 2004 ; 56 (4) : 633 – 654.
26. Morimoto N, Kita S, Shimazawa M, Namimatsu H, Tsuruma K, Hayakawa K, Mishima K, Egashira N, Iyoda T, Horie I, Gotoh Y, Iwasaki K, Fujiwara M, Matsuda T, Baba A, Komuro I, Horie K, Takeda J, Iwamoto T, Hara H. Preferential involvement of Na⁺/Ca²⁺ exchanger type-1 in the brain damage caused by transient focal cerebral ischemia in mice. *Biochem Biophys Res Commun.* 2012 ; 429 (3-4) : 186 – 190.
27. Luo J, Wang Y, Chen H, Kintner DB, Cramer SW, Gerdtz JK, Chen X, Shull GE, Philipson KD, Sun D. A concerted role of Na⁺-K⁺-Cl⁻ cotransporter and Na⁺/Ca²⁺ exchanger in ischemic damage. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2008 ; 28 (4) : 737 – 746.
28. Jeon D, Chu K, Jung KH, Kim M, Yoon BW, Lee CJ, Oh U, Shin HS. Na⁺/Ca²⁺ exchanger 2 is neuroprotective by exporting Ca²⁺ during a transient focal cerebral ischemia in the mouse. *Cell Calcium.* 2008 ; 43 (5) : 482 – 491.
29. Molinaro P, Cuomo O, Pignataro G, Boscia F, Sirabella R, Pannaccione A, Secondo A, Scorziello A, Adornetto A, Gala R, Viggiano D, Sokolow S, Herchuelz A, Schurmans S, Di Renzo G, Annunziato L. Targeted disruption of Na⁺/Ca²⁺ exchanger 3 (NCX3) gene leads to a worsening of ischemic brain damage. *J Neurosci.* 2008 ; 28 (5) : 1179 – 1184.
30. Kon N, Wang HT, Kato YS, Uemoto K, Kawamoto N, Kawasaki K, Enoki R, Kurosawa G, Nakane T, Sugiyama Y, Tagashira H, Endo M, Iwasaki H, Iwamoto T, Kume K, Fukada Y. Na⁺/Ca²⁺ exchanger mediates cold Ca²⁺ signaling conserved for temperature-compensated circadian rhythms. *Sci Adv.* 2021 ; 7 (18) : eabe8132.
31. Sokolow S, Luu SH, Headley AJ, Hanson AY, Kim T, Miller CA, Vinters HV, Gylys KH. High levels of synaptosomal Na⁺-Ca²⁺ exchangers (NCX1, NCX2, NCX3) co-localized with amyloid-beta in human cerebral cortex affected by Alzheimer's disease. *Cell Calcium.* 2011 ; 49 (4) : 208 – 216.
32. Moriguchi S, Kita S, Fukaya M, Osanai M, Inagaki R, Sasaki Y, Izumi H, Horie K, Takeda J, Saito T, Sakagami H, Saido TC, Iwamoto T, Fukunaga K. Reduced expression of Na⁺/Ca²⁺ exchangers is associated with cognitive deficits seen in Alzheimer's disease model mice. *Neuropharmacology.* 2018 ; 131 : 291 – 303.
33. XiaoCan J, YongLi Y, YuanCheng C, ZhiWei C, Yuhui D, Zhenhua X, Weiping Z, Chao X, Qiang Z, Xin X, HongWen D, XueZhong S. Multivariate analysis of genome-wide data to identify potential pleiotropic genes for five major psychiatric disorders using MetaCCA. *J Affect Disord.* 2019 ; 242 : 234 – 243.
34. Inagaki R, Kita S, Niwa N, Fukunaga K, Iwamoto T, Moriguchi S. Aberrant extracellular dopamine clearance in the prefrontal cortex exhibit ADHD-like behavior in NCX3 heterozygous mice. *FEBS J.* in press.

Structure, Function, and Pathophysiology of Na⁺/Ca²⁺ Exchangers

Takahiro Iwamoto¹, Takayuki Nemoto¹, Satomi Kita^{1, 2}

¹*Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, Fukuoka University*

²*Department of Pharmacology, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Tokushima Bunri University*

Conflict of interest

The authors have no conflict of interest regarding this manuscript.
