

골격근 수축에 있어서 근장그물로부터의 Ca^{2+} 유리 기전에 대한 고찰

대구대학교 대학원 재활과학과 물리치료전공

구 현 모

대구대학교 재활과학대학 물리치료학과

김 진 상

Review of Sarcoplasmic Reticulum Ca^{2+} Releasing Mechanisms in Skeletal Muscle Contraction

Koo, Hyun-Mo, P.T.

Major in Physical Therapy, Dept. of Rehabilitation Science, Graduate School, Taegu University

Kim, Jin-Sang, D.V.M., Ph.D.

Department of Physical Therapy, College of Rehabilitation Science, Taegu University

< Abstract >

Skeletal muscle cells are activated by α -motorneurons which release acetylcholine at the neuromuscular junction. This results in a local depolarization of surface membrane which triggers an action potential. The action potential propagates along the surface membrane and also into the T-tubule system. In the triads T-tubules are in close connection with the terminal cisternae of the sarcoplasmic reticulum(SR). The action potential activates T-tubule voltage sensors(DHP receptors), which activates SR Ca^{2+} release channels(ryanodine receptors). Ca^{2+} have a key role in skeletal muscle in that an increase of free myoplasmic Ca^{2+} concentration.

The process of coupling chemical and electrical signals at the cell surface to the intracellular release of Ca^{2+} and ultimate contraction of muscle fibers is termed excitation-contraction coupling(ECC). Coupling of cell surface signals to intracellular Ca^{2+} release proceeds by several mechanisms in skeletal muscle cells.

This review focus on sarcoplasmic reticulum(SR) Ca^{2+} releasing mechanisms from sarcoplasmic reticulum in the skeletal muscle. The mechanisms include DCCR, CICR, and IICR.

I . 서 론

골격근 세포의 신경근 접합부에서 유리된 아세틸콜린(acetylcholine)이 골격근 세포막의 수용체와 결합하면

세포막의 국소적인 탈분극이 유발되어 활동전압이 발생하게 된다. 활동전압은 T-세관계를 따라 전파되어 DHP 수용체(dihydropyridine receptor: DHPR)와 같은 전압 감지 분자의 구조적인 변화(conformational

II. 본 론

1. 흥분-수축 연결 과정과 SR Ca²⁺ 통로

골격근의 흥분-수축 연결 과정은 T-세관 막에 위치하는 전압-감지 DHPR과 SR 막에 위치하는 ryanodine 수용체(Ca²⁺ 유리 통로; RyR)사이의 단백질-단백질 상호작용(protein-protein interaction)을 포함하는 연결 기전에 의해 발생된다.

이러한 흥분-수축 연결 과정에는 RyR(SR Ca²⁺-유리 통로), DHPR, triadin, FKBP 12, calsequestrin, calmodulin, junctin 등과 같은 단백질들이 관여하고 있다(Favero, 1999)(그림 1).

이들 단백질들은 복합체를 형성하여 골격근 및 심장근의 흥분-수축 연결 과정 동안에 Ca²⁺ 유리에 중요한 역할을 담당한다(Zhang 등, 1997). 형태학적인 분석 방법을 통하여 포유류 골격근 세포의 삼조체(triad) 부위에 DHPR과 RyR-Ca²⁺ 통로가 위치하고 있음이 밝혀졌다. Dulhunty의 연구(1992)에서는 RyR의 20% 정도가 삼조체(triad) 외부에도 위치하고 있음을 확인하였는데, 그 기능은 규명하지 못하였다.

change)를 유발함으로써(Fitts, 1994; Melzer 등, 1995) 근장그물(sarcoplasmic reticulum; SR)의 종말수조(terminal cisternae)로부터 근형질내로 Ca²⁺을 유리시키게 된다(Catterall, 1991; Sutko와 Alrey, 1996; Westerblad 등, 2000). 근육 세포막의 화학적 신호를 전기적 신호로 전환시켜 궁극적으로 근수축을 유발시키는 이러한 일련의 과정을 흥분-수축 연결(excitation-contraction coupling)이라 한다(Catterall, 1991). 골격근, 심장근, 그리고 평활근은 서로 다른 Ca²⁺ 유리 기전을 가지고 있으며, 세포막의 막전압-의존성 Na⁺ 및 K⁺ 통로와 SR의 세포내 Ca²⁺-유리 통로가 중요한 역할을 하고 있다(Catterall, 1991).

골격근에 있어서 세포내 Ca²⁺농도의 증가는 근수축을 유발하는데 있어서 핵심적인 역할을 수행하게 되는데(Westerblad 등, 2000), 이러한 Ca²⁺ 유리의 기전은 최근까지 몇 가지가 제시되어 오고 있다.

본 연구에서는 골격근의 근수축 과정에서 흥분-수축 연결 과정인 SR로부터의 Ca²⁺ 유리를 활성화시키는 기전에 대한 최근까지의 가설들을 살펴봄으로써 근육의 수축에 관하여 분자생물학적·생리학적으로 이해하고자 한다.

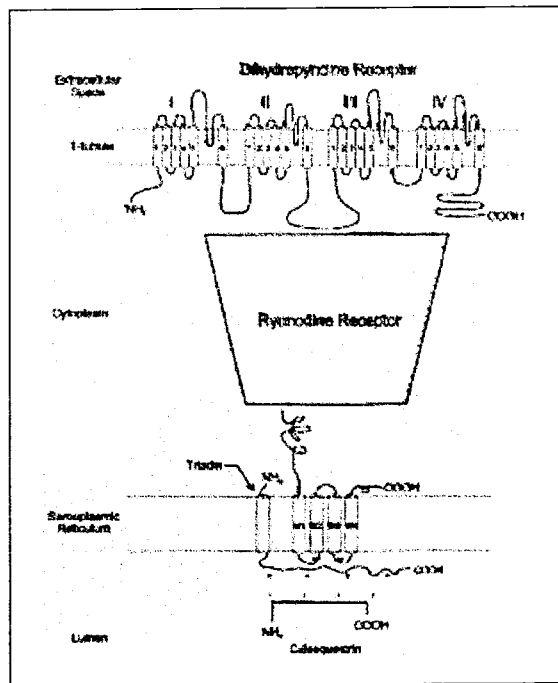


그림 1. SR Ca²⁺ 유리에 관여하는 단백질의 모델(Guo 등, 1996)

RyR 단백질은 흥분-수축 연결과정에서 매우 중요한 구성 요소이다(Takekura 등, 1994). 포유류에서는 세 가지 형태의 RyR이 알려져 있는데, 골격근의 RyR 1(Takeshima 등, 1989; Zorzato, 1990), 심장근의 RyR 2(Ostu 등, 1990; Nakai 등, 1990), 그리고 평활근과 뇌의 RyR 3(Hakamata 등, 1992)가 밝혀져 있다. 골격근의 근장그물에 존재하는 RyR은 4 subunit로 구성된 고분자량의 동종사량체(homotetramer)로서 클로버 잎 모양(quetrefoil)의 구조를 가지고 있으며(Radermacher 등, 1994), 단량체 단백질은 5,035개의 아미노산으로 구성되어 있다. 이는 Ryanodine에 대해 높은 친화성을 갖는 매우 큰 cytoplasmic domain을 가지고 있는 Ca^{2+} 통로로서(Franzini-Amstrong과 Feliciano, 1997), T-세관의 DHPR에 의해서 열림이 조절된다(Layer 등, 2000). 이 수용체의 작용은 Ca^{2+} , Mg^{2+} , ATP, 그리고 pH와 같은 세포내의 많은 인자들에 의해서도 영향을 받는다(Meissner, 1994).

DHPR은 α_1 , α_2 , β , γ , δ 의 5 subunit로 이루어져 있는데, α_1 -DHPR은 4 transmembrane domain (I-IV)을 가지고 있어서 막전압-의존성 Na^+ 통로와 구조적으로 유사하고, 각각의 transmembrane domain은 6 membrane spanning segment(S1-S6)로 구성되어 있다(Mikami 등, 1989; Tanabe 등, 1987). S4가 전압 감지 역할을 하는 것으로 알려져 있는데, 이 부위는 양전하를 띠는 아미노산 잔기가 존재하는 부위로서 전기적 이동에 대한 반응으로 RyR을 활성화시키는 신호를 촉발시켜 근수축을 유발하게 된다(Beam 등, 1992;

Tanabe 등, 1987). 즉, 전기적 움직임이 α_1 -DHPR subunit isoform의 II-III loop를 통해 Ca^{2+} 투과성을 가진 RyR로 전달됨으로써 다음 단계인 Ca^{2+} 유리가 일어나게 된다(Adams, 1990). 그리고 α_1 과 β -subunit에는 인산화 부위가 존재하고 있다(Favero, 1999).

Triadin은 삼조체 부위에 위치하는 95-kDa의 당단백질로서 DHPR과 SR Ca^{2+} -유리 통로 사이의 상호작용에 관여하고 있는 것으로 생각되고 있으나, 명확한 역할 규명이 요구된다(Kim 등, 1990).

FKBP 12(12-kDa FK506 부착 단백질)는 각각의 기능적 RyR과 관련된 저분자량의 부착 단백질로서, FKBP 12 단백질을 제거한 실험에서 통로 기능에 영향을 미치는 것으로 보이지만 어떻게 통로의 관문작용(gating)에 관여하는지는 알려지지 않았다(Lamb과 Stephenson, 1996).

Calmodulin은 트로포닌(troponin)과 유사한 세포질 Ca^{2+} 의존성 단백질로서(Cheung, 1982), 골격근에서 SR Ca^{2+} 유리의 활성화와 억제에 관여하는 것으로 보인다(Tripathy 등, 1995).

Calsequestrin은 SR 내강(lumen)에 위치하고 있는 Ca^{2+} 에 대하여 낮은 친화성 및 높은 용량의 특징을 가진 Ca^{2+} -부착 단백질로서 RyR이 아닌 triadin과 결합하고 있으며(Guo 등, 1996), SR로부터의 Ca^{2+} 유리를 조절하는데 관여하고 있다(Donoso 등, 1995).

Junctin은 SR 막의 내강부위에 위치하고 있고, triadin, calsequestrin, RyR과 복합체를 형성하여 정상적인 Ca^{2+} 유리에 관여하고 있다(Zhang 등, 1997).

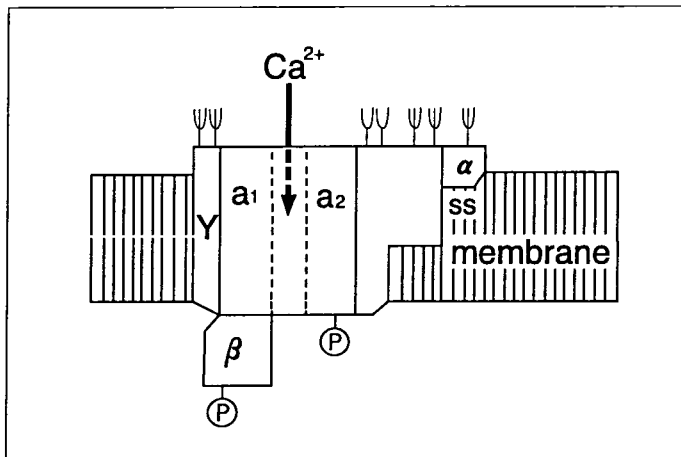


그림 2. T-세관 전압 감지 Ca^{2+} 통로의 하위단위 구조(Catterall, 1988)

2. 근장그물로부터 Ca²⁺ 유리의 활성화 기전

1) 막전압-의존성 Ca²⁺ 유리(Voltage-dependent Ca²⁺ release)

직접적으로 연결된 Ca²⁺ 유리(Directed coupled Ca²⁺ release; DCCR) 기전으로서, Schneider와 Chandler(1973)에 의해 최초로 제시되었다. 이 기전에서는 T-세관 막에 존재하는 단백질인 DHP 수용체가 전압의 변화를 감지하는 것으로 설명되는데, 즉 탈분극이 DHPR의 구조적 변화를 초래하여 RyR 통로를 열리도록 하는 신호를 발생시킨다(Fitts, 1994; Melzer 등, 1995). 이러한 DHPR의 구조적 변화가 어떻게 RyR로 전달되는지는 명확하게 밝혀져 있지 않으나, RyR과 직접적 상호작용을 할 것이라는 하나의 가능성이 제시되었다(Tanabe 등, 1990; Tanabe 등, 1988). 이러한 작용은 RyR 통로를 활성화시키고 DHPR(L-type) 통로를 여는 것과 관련되어 있다(Sutko와 Airey 1996). 배양된 생쥐 골격근 세포에서 α_1 -DHPR subunit isoform의 II-III loop(Glu666 - Leu791)가 DCCR에 의해 근장그물로부터 Ca²⁺ 유리를 활성화시킨다는 실험 결과가 이 기전을 뒷받침한다(Lu 등, 1994; Adams, 1990; Beam, 1992; Tanabe 등, 1990).

골격근과 심장근의 흥분-수축 연결 과정에서 근본적인 차이는 DHPR과 RyR 사이의 상호작용에 있어서의 차이이다. 골격근에서는 전기적 이동이 감지되더라도 Ca²⁺ 전류가 느리고 작다(Tanabe 등, 1990). 그 전류

는 장력 발달 후에 절정을 이루고, 흥분-수축 연결 과정은 세포의 Ca²⁺이 존재하지 않는 조건에서도 정상적으로 이루어진다. SR로부터 Ca²⁺이 유리되어 발생하는 Ca²⁺ 전류의 일시적인 변화(transient)는 빠르고, 막전압-의존적인 S자형의 전류곡선으로 나타난다(Tanabe 등 1990). 골격근 DHPR에서 Ca²⁺ 전류가 작게 나타나는 원인으로서 α_1 -subunit의 2 isoform이 존재할 것으로 생각되어지고 있다(De 등, 1989).

2) Ca²⁺에 의한 Ca²⁺ 유리(Ca²⁺-induced Ca²⁺ release; CICR)

심장근에서는 CICR이 근장그물로부터의 Ca²⁺ 유리에 있어서 일차적인 활성화 기전으로서 작용하는데(Fabiato, 1983), T-세관의 막에 위치하고 있는 DHP 수용체, 즉 L-type Ca²⁺ 통로가 활동전압에 의해 활성화되면 세포의 Ca²⁺이 SR Ca²⁺ 통로 인접 부위로 유입되고, 이로 인해 SR로부터 세포내 Ca²⁺의 급격한 증가를 초래한다(Wier, 1990). 이 과정이 Ca²⁺에 의해 유도되어지는 Ca²⁺ 유리 기전(CICR)이다. CICR은 골격근에서도 관찰되었는데(Endo 등, 1968; Endo 등, 1970; Ford와 Podolsky; 1968; Ford와 Podolsky, 1970), CICR에 있어서 심장근은 세포의 Ca²⁺이 필요하지만(Tanabe 등, 1990), 골격근은 생리적 수준의 세포의 Ca²⁺을 필요로 하지 않는다는 점에서 차이가 있다(Sutko와 Airey, 1996; Xiangyang 등, 1994)(그림 3).

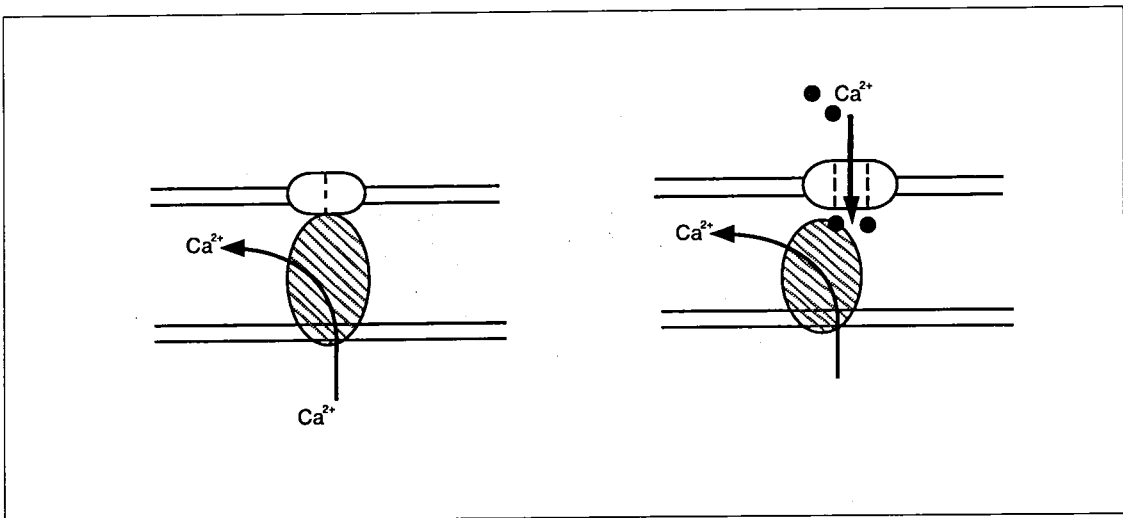


그림 3. 흥분-수축 연결에 관한 모델(Meissner, 1996)

3) InsP₃에 의한 Ca²⁺ 유리(InsP₃-induced Ca²⁺ release; IICR)

많은 형태의 세포들은 수용체-유래성 신호전달(receptor-mediated signalling) 기전으로 이차 전달자(second messenger)에 의해 활성화된다(Favero, 1999). InsP₃ 수용체는 세포내 Ca²⁺ 저장고로부터 Ca²⁺을 유리하는 역할을 담당하고 있는 RyR과 같은 세포내 통로들과 서열(sequence) 및 일반적인 구조가 유사하다(Nixon 등, 1994). 평활근과 신경원에서는 Ca²⁺의 유리 기전으로써 InsP₃가 핵심적인 역할을 하고 있는데, 이후의 연구에서 InsP₃가 골격근의 Ca²⁺ 유리 과정을 조절할 수 있다는 결과들이 제시된 바 있다(Meissner, 1994). InsP₃는 삼조체 연결부에서 생성되어 SR Ca²⁺ 유리의 화학적 활성인자로 제안되어 왔는데(Hidalgo와 Jaimovich, 1989; Vergara 등, 1985) IICR의 존재 및 중요성은 아직 논쟁의 여지를 가지고 있다. 골격근에서 InsP₃-의존성 Ca²⁺ 유리 통로의 분포 및 역할에 대한 규명이 요구된다.

III. 결 론

홍분-수축 연결과정에서 SR로부터 Ca²⁺이 유리되는 단계에는 RyR, triadin, FKBP 12, calsequestrin, calmodulin, junctin, DHPR과 같은 단백질들이 복합체를 형성하여 상호작용을 함으로써 정상적인 Ca²⁺ 유리 기전을 작동시키게 된다.

세포내 Ca²⁺ 유리 기전으로서 현재 막전압-의존성 Ca²⁺ 유리 기전(DCCR), Ca²⁺에 의한 Ca²⁺ 유리 기전(CICR), 그리고 InsP₃에 의한 Ca²⁺ 유리 기전(IICR)이 제시되어 있으나 ryanodine 수용체가 InsP₃ 수용체보다 전도도(conductivity)가 높기 때문에 골격근의 홍분-수축 연결과정과 같이 많은 Ca²⁺의 빠른 유리가 요구되는 상황에서는 DCCR 기전이 기능적으로 더욱 적합한 기전으로 받아들여지고 있으나 골격근에서의 CICR 및 IICR의 기전에 대한 추가적인 연구가 요구된다.

< 참고 문헌 >

Adams BA, Tanabe T, Mikami A, et al :

Intramembrane charge movement restored in dysgenic skeletal muscle by injection of dihydropyridine receptor cDNA, *Nature Lond*, 346, 569-572, 1990.

Beam KG, Adams BA, Niidome T, et al : Function of a truncated dihydropyridine receptor as both voltage sensor and calcium channel, *Nature Lond*, 360, 169-177, 1992.

Catterall WA : Excitation-contraction coupling in vertebrate skeletal muscle: a tale of two calcium channels, *Cell*, 64, 871-874, 1991.

Cheung WY : Calmodulin, *Sci Am*, 246, 62-70, 1982.

Csernoch L, Jacquemond V, Schneider MF : Microinjection of strong calcium buffers suppresses the peak of calcium during depolarization in frog skeletal muscle fibers, *J Gen Physiol*, 101, 297-333, 1993.

De JKS, Merrick DK, Catterall WA : Subunits of purified calcium channels: a 212-kDa form of alpha 1 and partial amino acid sequence of a phosphorylation site of an independent beta subunit, *Proc Natl Acad Sci, USA* 86, 8585-8589, 1989.

Delbono O : Ca²⁺ modulation of sarcoplasmic reticulum Ca²⁺ release in rat skeletal muscle fibers, *J Membr Biol*, 146, 91-99, 1995.

Dulhunty AF : The voltage-activation of contraction in skeletal muscle, *Prog Biophys Mol Biol*, 57, 181-222, 1992.

Donoso P, Prieto H, Hidalgo C : Luminal calcium regulates calcium release in triads isolated from frog and rabbit skeletal muscle, *Biphas, J*, 68, 507-515, 1995.

Endo M : Calcium release from the sarcoplasmic reticulum, *Physiol Rev*, 57, 71-108, 1997.

Endo M, Tanaka M, Ebashi S : Release of calcium from sarcoplasmic reticulum in skinned fibers of frog, *Proc Int Cong Physiol Sci*, 7, 126, 1968.

Endo M, Tanaka M, Ogawa Y : Calcium induced release of calcium from the sarcoplasmic reticulum

- of skinned muscle fibres, *Nature Lond*, 228, 34-36, 1970.
- Fabiato A : Calcium-induced release of calcium from the sarcoplasmic reticulum, *Am J Physiol.*, 245(Cel Physiol. 14), C1-14, 1983.
- Favero, Terence G : Sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} release and muscle fatigue, *J Appl Physiol*, 87(2), 471-483, 1999.
- Fitts RH : Cellular mechanisms of muscle fatigue, *Physiol Rev*, 74, 49-94, 1994.
- Ford LE, Podolsky RJ : Force development and calcium movements in skinned muscle fibers, *Federation Proc*, 27, 375, 1968.
- Ford LE, Podolsky RJ : Regenerative calcium release within muscle cells, *Science*, 167, 58-59, 1970.
- Franzini-Armstrong C, Feliciano Protasi : Ryanodine Receptors of striated Muscles: a complex channel capable of multiple interactions, 77(3), 699-729, 1997.
- Garcia J, Schneider MF : Suppression of calcium release by calcium or procaine in voltage clamped rat skeletal muscle fibres, *J Physiol Lond*, 485, 437-445, 1995.
- Guo W, Jorgensen AO, Campbell KP : Triadin, a linker for calsequestrin and ryanodine receptor, *Soc Gen Physiol Ser*, 51, 19-28, 1996.
- Hakamata Y, Nakai J, Takeshima H, Imoto K : Primary structure and distribution of a novel ryanodine receptor/calcium release channel from rabbit brain, *FEBS Lett*, 312, 229-235, 1992.
- Hidalgo C, Jaimovich E : Inositol triphosphate and excitation-contraction coupling in skeletal muscle, *J Bioenerg Biomembr*, 21, 267-281, 1989.
- Jacquemond V, Csernoch L, Klein MG, Schneider MF : Voltage-gated and calcium-gated calcium release during depolarization of skeletal muscle fibers, *Biophys J*, 60, 867-873, 1991.
- Kim KC, Caswell AH, Talvenheimo JA, et al : Isolation of a terminal cisternae protein which may link the dihydropyridine receptor to the junctional foot protein in skeletal muscle, *Biochemistry*, 29, 9282-9289, 1990.
- Lamb GD, Stephenson DG : Effects of FK506 and rapamycin on excitation contraction coupling in skeletal muscle fibers of the rat, *J Physiol(Lond)*, 494, 569-576, 1996.
- Layer DR, Eager KR, Taoube L, Lamb GD : Effects of cytoplasmic and luminal pH on Ca^{2+} release channels from rabbit skeletal muscle, *Biophysical Journal*, 78, 1835-1851, 2000.
- Meissner G : Ryanodine receptor/ Ca^{2+} release channels and their regulation by endogenous effectors, *Annu Rev Physiol*, 56, 485-508, 1994.
- Melzer W, Herrmann-Frank A, Lüttgau HC : The role of Ca^{2+} ions in excitation-contraction coupling of skeletal muscle fibres, *Biochim Biophys Acta*, 1241, 59-116, 1995.
- Mikami A, Imoto K, Tanabe T, et al : Primary structure and functional expression of the cardiac dihydropyridine-sensitive calcium channel, *Nature*, 340, 230-233, 1989.
- Nakai J, Imagawa T, Hakamata Y, et al : Primary structure and functional expression from cDNA of the cardiac ryanodine receptor/calcium release channel, *FEBS Lett*, 271, 169-177, 1990.
- Nixon GF, Mignery GA, Somlyo AV : Immunogold localization of inositol 1,4,5-triphosphate receptors and characterization of ultrastructural features of the sarcoplasmic reticulum in phasic and tonic smooth muscle, *J Muscle Res Cell Motil*, 15, 682-700, 1994.
- Ostu K, Willard HF, Khanna VK, et al : Molecular cloning of cDNA encoding the Ca^{2+} release channel(ryanodine receptor)of rabbit cardiac muscle sarcoplasmic reticulum, *J Biol Chem*, 265, 13472-13483, 1990.
- Radermacher MV, Grassucci RR, Frank J, et al : Cryo-electron microscopy and three-

- dimensional reconstruction of the calcium release channel/ryanodine receptor from skeletal muscle. *J. Cell Biol.* 127, 411-423, 1994.
- Rios E, Pizarro G : Voltage sensor of excitation-contraction coupling in skeletal muscle. *Physiol Rev.* 71, 849-908, 1991.
- Schneider MF, Chandler WK : Voltage dependent charge movement of skeletal muscle: a possible step in excitation-contraction coupling. *Nature Lond.* 242, 244-246, 1973.
- Sutko JL, Airey JA : Ryanodine receptor Ca^{2+} release channel: Dose diversity in form Equal diversity in function. *Physiol Rev.* 76(4), 1027-107, 1996.
- Takekura H, Bennet L, Tanabe T, et al : Restoration of junctional tetrads in dysgenic myotube by dihydropyridine cDNA. *Biophys J.* 67, 793-803, 1994.
- Takeshima H, Nishimura S, Matsumoto T, et al : Primary structure and expression from complementary DNA of skeletal muscle ryanodine receptor. *Nature.* 339, 439-445, 1989.
- Tanabe T, Beam KG, Adams BA, et al : Region of skeletal muscle dihydropyridine receptor critical for excitation-contraction coupling. *Nature Lond.* 346, 567-569, 1990.
- Tanabe T, Beam KG, Powell JA, et al : Regulation of excitation-contraction coupling and slow calcium current in dysgenic muscle by dihydropyridine receptor complementary DNA. *Nature Lond.* 336, 134-139, 1988.
- Tanabe T, Takekura, Mikami H, Flockerzi V, et al : Primary structure of the receptor for calcium channel blockers from skeletal muscle. *Nature.* 328, 313-318, 1987.
- Tanabe T, Mikami A, Numa S, et al : Cardiac-type excitation-contraction coupling in dysgenic skeletal muscle injected with cardiac dihydropyridine receptor cDNA. *Nature.* 344, 451-453, 1990.
- Tripathy A, Xu L, Mann G, et al : Calmodulin activation and inhibition of skeletal muscle calcium release. *Biophys J.* 69, 106-119, 1995.
- Vergara J, Tsien RY, Delay M : Inositol 1,4,5-triphosphate : a possible chemical link in excitation-contraction coupling in muscle. *Proc Natl Acad Sci USA.* 82, 6352-6356, 1985.
- Westerblad H, Bruton JD, Allen DG, et al : Functional significance of Ca^{2+} in long-lasting fatigue of skeletal muscle. *Eur J Appl Physiol.* 83, 166-174, 2000.
- Wier WG : Cytoplasmic $[Ca^{2+}]$ in mammalian ventricle: dynamic control by cellular processes. *Annu Rev Physiol.* 52, 467-485, 1990.
- Xiangyang Lu, Xu Le, Meissner G : Activation of the skeletal muscle calcium release channel by a cytoplasmic loop of the dihydropyridine receptor. *J Biol Chem.* 269(9), 6511-6516, 1994.
- Zhang Lin, Kelley J, Schmeisser G, et al : Complex formation between junctin, triadin, Calsequestrin, and the Ryanodine receptor. *J Biol Chem.* 272(37), 23389-23397, 1997.
- Zorzato F, Fujii J, Otsu, K, et al : Molecular cloning of cDNA encoding human and rabbit forms of the Ca^{2+} release channel(ryanodine receptor) of skeletal muscle sarcoplasmic reticulum. *J Biol Chem.* 265, 2244-2256, 1990.