

12) モルモットひらめ筋 (赤筋) の筋小胞体

豊倉 康夫*

研究協力者 高木 昭夫* 遠藤 実**

モルモットの長趾伸筋 (EDL, 白筋) とひらめ筋 (Soleus, 赤筋) より single skinned fiber を作製し, 小胞体機能を比較した. とくに, 筋小胞体よりの Ca-遊離に重点をおいて検討した. 従来よりこの問題は, 分離筋小胞体 (FSR) の標本を使用して検討されており, 赤筋よりの FSR は, i) その収量がより少ない, ii) Ca-uptake 量がより少ない, iii) uptake の速度も小さい, 等の事実が報告されている (1, 2). 本報告では, ii) を確認するとともに, 従来記載されていない 2~3 の特性を明らかにした.

方 法

モルモットは, 300g前後の雄を使用し, 瀉血屠殺後, 後肢より EDL と soleus を摘出し, 0°C のリンゲル液中にて保存した. skinned fiber の作製および実験は, Endo らの方法によった (3, 4). 小胞体膜の“脱分極”による Ca-遊離は, (i) methansulfonate を chloride で置換する (Cl-溶液), (ii) potassium (K⁺) を lithium (Li⁺) で置換する (Li-溶液), の 2 方法に依った. まず, skinned fiber を Ca-溶液 (pCa 6) にて 2 分間 incubate して, Ca-uptake を行なわせた後, Cl-溶液や Li-溶液に 10 秒間接触させた. その後に, 小胞体中に残存する Ca-量を測定して, 遊離された Ca-量を計算した.

結 果

1) 遊離 Ca 濃度 ($[Ca^{2+}]$)*** と Ca-uptake の関係.

Soleus では, pCa 7 より Ca-uptake が開始する. pCa 5.5 で, maximal uptake を呈し, pCa 5~pCa 4 では, uptake は減少する. この減少は, 10mM プロカインにより阻止される. EDL においては, Ca-uptake は pCa 6.5 より開始される. pCa 4.5 にて maximal uptake を呈し, その後, pCa 4 や 3.5 では, Ca-uptake は減少する.

2) skinned fiber 内の Ca-濃度

⁴⁵Ca を利用して, 筋小胞体の Ca-uptake 後と, 25mM カフェインにより Ca-遊離後の細胞内 Ca-濃度を測定した. pCa 6 の Ca-溶液中で 2 分間処理した後の Ca-濃度は,

表 1 筋小胞体による Ca-摂取の比較

| | Soleus | EDL |
|-----------------------------|----------------------|------------------------|
| Ca-摂取開始時の $[Ca^{2+}]$ | 10^{-7} (M) | 3×10^{-7} (M) |
| 最大摂取を呈する $[Ca^{2+}]$ | 3×10^{-6} | 3×10^{-5} |
| 半飽和時の $[Ca^{2+}]$ | 3×10^{-7} | 2×10^{-6} |
| 最大 Ca-摂取時の 筋肉 Ca-濃度 (推定) | 0.5×10^{-3} | 1.5×10^{-3} |

表 2 イオン置換による筋小胞体よりの Ca-遊離.

| | Soleus | EDL |
|--------------------------------------|---------|------------------------|
| Methansulfonate →chloride (130mM) | 57 ± 4% | 100% ± 0 (p < 0.01) |
| K ⁺ → Li (158mM) | 32 ± 8 | 36 ± 5 (n.s.) |

* 東京大学医学部脳研神経内科

** 東北大学医学部薬理

*** $-\log_{10} [Ca^{2+}] = pCa$

soleus では、0.40mM、EDLでは、0.56mMである。カフェイン処理後には、0.14mM (soleus) と0.22mM (EDL)であった。これらの結果より、maximal uptake 時のCa-濃度を推算すると、0.5mM (soleus) 及び1.5mM (EDL)となる。

3) CaイオンによるCa-遊離

Ca-溶液中 (pCa6) にて2分間、Ca-uptake を行った後、各種の濃度のCa-溶液に10秒接触させた。その後、小胞体に残存するCa-量を定量した。この条件下では、外液のCa-濃度が、soleus では、pCa 5に、又、EDLでは、pCa 4に達すると、Ca-遊離が生じた。このCa-イオンによるCa-遊離は、プロカインにより阻止される。

4) 小胞体膜の脱分極によるCa-遊離

Methansulfonate をClで置換すると、後者は、より膜透過性が大きいため、小胞体内腔は、より陰性側にかたむく。あるいは、K⁺をLi⁺で置換する時には、Li⁺は、K⁺より透過性が小さいため、同様に内腔は陰性側にかたむく。いずれの場合にも、小胞体の膜電位は低下すると考えられる。このようなイオン置換の操作によって、小胞体よりCaの遊離が発生する。この現象を、定量的に観察すると、Cl-溶液中でのCa-遊離は、EDLでは発生しやすいのに比し、soleus では発現しにくい。Li-溶液中では、両筋において、同程度のCa-遊離がみられる。しかしLi-溶液中では、全Ca量が遊離されることはない。

考 察

収縮系に関しては、soleus は、EDL に比してやや低濃度の [Ca²⁺] により張力を発生した (昭和49年報告)。筋小胞体に関しても、同様な傾向があり、soleus は10⁻⁷M [Ca²⁺] で既に、Ca-uptake を呈するのは興味がある。

Eisenberg らによると、小胞体の占める、space volume は、EDLが soleus の約1.4倍であるといわれる (5)。我々の測定では、maximal uptake の際のCa-濃度は、EDL

は soleus の約3倍である。したがって単位容積当りのCa-uptakeの比活性は、EDLが約2倍大きいと推定される。この結果は、FSRによる測定とよく一致するものである。

Ca-イオンによるCa-遊離の機序の作動には、i)小胞体外の [Ca²⁺]、ii)小胞体内のCa-量、iii)小胞体外の [Mg²⁺] の因子が関係している (6)。今回の実験条件としては、小胞体内のCa-量は、生理的濃度の少なくとも3~4倍以上と推定される。外液の[Mg²⁺] は、カエルのデータから類推して0.7mMとした。このような条件下では、soleus で、Ca-イオンによるCa-遊離が作動しやすいことを発見した。この機序が、赤筋の生理的な興奮・収縮連関に重要であるか否かは、今後に残された大きな問題である。

小胞体膜の電位変化によるCa-遊離は、カエルの骨格筋における生理的な興奮・収縮連関の機序と考えられている (7)。モルモットのEDLに関しては、状況はほぼ同一であろうと考えられる。しかし、soleus では、イオン置換によっては、貯留されたCaの一部のみが遊離されるに過ぎない。この事実の生理的意義は、現時点では不明である。Cl-溶液とLi-溶液の効果を比較すると、soleus ではEDLより、Cl⁻の膜透過性が低いものと推定される。

結 論

- (1) Soleus では、pCa 7でCa-uptakeが始まり、pCa 5.5で最大となる。EDLではpCa 6.5で開始し、pCa 4.5で最大となる。
- (2) Maximal Ca-uptake 時の筋内Ca濃度は、soleus では、0.5mM、EDLでは1.5mMと推定される。
- (3) Ca-イオンによるCa-遊離は、soleus において作動しやすい。この機序が、生理的に重要か否かは今後の追求が必要である。
- (4) カリウムをリチウムで置換すると、いずれの筋でも約30%のCaが遊離された。methansulfonateを塩素イオンで置換した

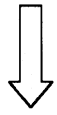
際には, soleus での Ca-遊離は, EDL より少ない. soleus の小胞体膜では, 塩素イオンの透過性がより少ないものと考えられる.

文 献

- 1) Harigaya, S. Ogawa, Y. and Sugita. H. :
J. Biochem. 63 : 324, 1968.
- 2) Fiehn
- 3) Endo, M., Tanaka, M. and Ogawa, Y.,

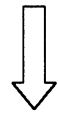
Nature 228 : 34, 1970.

- 4) Endo, M. and Nakajima, Y. : Nature New Biol. 246 : 216, 1973.
- 5) Eisenberg, B. R., Kuda, A. M. and Peter J. B. : J. Cell Biol. 60 : 732, 1974.
- 6) Endo, M. : Proc. Japan Acad. 51 : 467, 1975.
- 7) Endo, M. : Proc. Japan Acad. 51 : 473, 1975.



検索用テキスト OCR(光学的文字認識)ソフト使用

論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります



モルモットの長趾伸筋(EDL, 白筋)とひらめ筋(Soleus, 赤筋)より single skinned fiber を作製し, 小胞体機能を比較した. とくに, 筋小胞体よりの Ca - 遊離に重点をおいて検討した. 従来よりこの問題は, 分離筋小胞体(FSR)の標本を使用して検討されており, 赤筋よりの FSR は,)その収量がより少ない,)Ca-uptake 量がより少ない,)uptake の速度も小さい, 等の事実が報告されている(1,2). 本報告では,)を確認するとともに, 従来記載されていない2~3の特性を明らかにした.