

Title	カエル骨格筋における電流刺激時の脱分極と収縮との関係
Sub Title	The relation between depolarization produced by electrical current and contraction in the frog skeletal muscle fibres
Author	中山, 雪麿(Nakayama, Yukimaro)
Publisher	共立薬科大学
Publication year	1968
Jtitle	共立薬科大学研究年報 (The annual report of the Kyoritsu College of Pharmacy). No.13 (1968. ) ,p.40- 51
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	
Genre	Technical Report
URL	<a href="https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00062898-00000013-0040">https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00062898-00000013-0040</a>

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

## カエル骨格筋における電流刺激時の脱分極と収縮との関係\*

中山 雪 麿

## The relation between depolarization produced by electrical current and contraction in the frog skeletal muscle fibres

Yukimaro NAKAYAMA

1. The mechanical threshold potential ( $V_{Th}$ ) was measured and the relation between membrane potential and tension was determined by the application of electrical current in the frog skeletal muscle fibres.
2.  $V_{Th}$  was independent of the duration of current pulse applied.
3. At the resting potential of more than 60mV  $V_{Th}$  did not show much change, but at less than 60mV it was markedly decreased with decreasing resting potential.
4.  $Na^+$  suppressed the decrease in  $V_{Th}$  in the depolarized fibre.
5.  $Br^-$  or  $SO_4^{--}$ , substituted for  $Cl^-$ , markedly increased the  $V_{Th}$ .
6. Excess  $Ca^{++}$  depressed the decrease in  $V_{Th}$  in the depolarized fibre, but Ca removal markedly accelerated the increase in  $V_{Th}$  in the non-depolarized fibre.
7. In the depolarized fibre the tension development for the unit depolarization was decreased.

## I. 緒 論

従来骨格筋線維の収縮は形質膜の脱分極によって引き起こされるものであって、膜または筋線維内を流れる電流によるものではないことが知られている Kuffler<sup>1)</sup>, (1946); Sten-Knudsen<sup>2)</sup>, (1954); Watanabe<sup>3)</sup>, (1958); Hodgkin & Horowicz<sup>4)</sup> (1960)).

しかし一方においてK拘縮に見られるように、深い脱分極が引き続き維持されていると、1~2分後には収縮は抑制され張力が減少する事実も知られている (Frank<sup>5)</sup>, 1960). このK拘縮張力の減少が収縮物質の疲労または収縮エネルギーの涸渇によるものでないことは、脱分極によって張力が減少した筋でも *caffeine* を作用させると再び張力を発生することから明らかである (Axelsson & Thesleff<sup>6)</sup>, 1958).

脱分極による筋収縮の抑制 (inactivation) については、Hodgkin & Horowicz<sup>4)</sup>, (1960) は脱分極によってK拘縮張力が減少すると述べ、Curtis<sup>7)</sup>, (1964) は脱分極が深い程K拘縮後の回復が遅れると述べ、また Zachar & Zacharova<sup>8)</sup>, (1966) はザリガニの筋における拘縮回復の速さは、脱分極が浅い程速かであると述べている。しかし以上の研究はすべて脱分極後のK拘縮

\* 日本生理学雑誌, **30**, 221 (1968) に発表

1) S.W.Kuffler: J.Neurophysiol., **9**, 367~377 (1946).

2) O.Sten-Knudsen: J.Physiol., **125**, 396~404 (1954).

3) A.Watanabe: Jap. J.Physiol., **8**, 123~137 (1958).

4) A.L.Hodgkin and P.Horowicz: J.Physiol., **153**, 386~403 (1960).

5) G.B.Frank: J.Physiol., **154**, 345~353 (1960).

6) J.Axelsson and S.Thesleff: Acta Physiol. Scand., **44**, 55~66 (1958).

7) B.A.Curtis: J.Gen. Physiol., **47**, 953~964 (1964).

8) J.Zachar and D.Zacharová: J.Physiol., **186**, 596~618 (1966).

回復を指標として行なわれて来た。本論文においては外液のK濃度を増すことによって膜電位をある程度減少させておき、しかる後細胞内電極を用いて筋に短時間の電流刺激を重畳させて、その時生ずる収縮の様相から膜電位の減少による収縮の抑制を調べた。

電流刺激によっておこる収縮を調べる場合、収縮閾電位、電流による脱分極と発生張力との関係が問題になる。収縮閾電位とは顕微鏡で観察しうる最小の収縮を引き起こすに必要な膜電位の値であるが、従来この値は静止電位の大きさや速筋、遅筋など筋の質的な差にはあまり関係がなく、 $-50\sim-55\text{mV}$  といわれていた (Zachar & Zacharova<sup>9)</sup>, 1966)。しかし膜電位が減少して収縮が抑制されている時には当然収縮閾電位にも変化を来すと思われる。また同時に膜電位と収縮張力との関係も Hodgkin & Horowicz<sup>4)</sup>, (1960) によって示されたものとは異ってくるものと思われるので、それらの点を確かめる目的で以下の実験を行なった。

なお本論文の結果の一部はすでに速報として報告された (Mashima & Nakayama<sup>9)10)</sup>, 1967)。

## II. 方 法

実験材料はトノサマガエル (*Rana nigromaculata*) の縫工筋を用いた。まず収縮閾電位を測定するために切り出した筋を全筋のまま、または約100本の筋線維を含む小束に分け、15 ml のアクリル製容器に水平に固定した。刺激および膜電位の測定には 3M KCl 溶液を満した2本の細胞内微小電極を骨盤端近くの神経終末のない部分に  $100\mu$  以下の間隔で刺入する。一方を刺激用電極に、他方は膜電位記録用電極である。電極抵抗は  $10\sim 15\text{M}\Omega$  のものを使用した。不関電極には Ag-AgCl 電極を用い、刺激時間は 20 msec と 200 msec の2種類 (大部分 200 msec) の矩形波定電流刺激を用いた。刺激装置の出力端子に  $10\text{k}\Omega$  の固定抵抗を直列に入れて分圧し、刺激電流を同時に記録した (Fig. 1)。

収縮閾電位とは形質膜の脱分極によって筋に最小の収縮がおこったことを双眼実体顕微鏡下で観察して確かめ、その時の膜電位 (以後全部絶対値で表わす) をいう。

一方発生張力と膜電位の関係を求める場合には、膜の長さ常数 (約 2mm) を考慮して、筋の

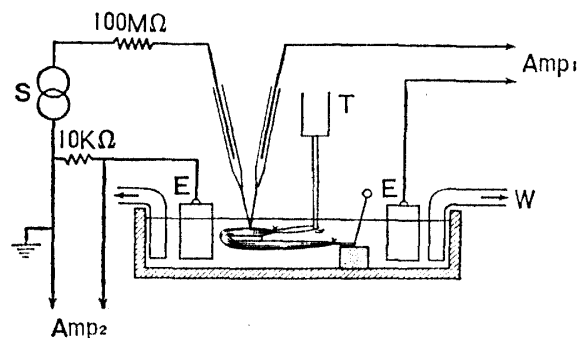


Fig. 1. Schematic diagram of simultaneous recording system for membrane potential and tension. Amp<sub>1</sub>: amplifier for potential recording, Amp<sub>2</sub>: amplifier for current recording, E: Ag-AgCl electrode, S: pulse generator, T: mechano-electronic transducer (RCA 5734), W: suction.

9) H. Mashima and Y. Nakayama: J. Physiol. Soc. Japan., 29, 264~265 (1967).

10) H. Mashima and Y. Nakayama: J. Physiol. Soc. Japan., 29, 546~547 (1967).

骨盤端から 4mm の部位で筋に直角に置かれた直径 0.5mm の細いガラス棒を軸として下方へ 180° 筋を折り曲げ、筋の末梢端は容器の底のコルク片に針で固定した (Fig. 1). 骨盤端には RCA 5734 の陽極ピンを細いガラス管で延長した先端に結びつけた。骨盤端から 4mm の筋線維の中央部に細胞内電極を刺入して矩形波刺激電流を流せば、その近傍で記録された膜電位はその周囲  $\pm 2\text{mm}$  の範囲には大きな減少なく拡がっているとみなすことができる。したがって同一部位 (骨盤端から 4mm の部位) の膜電位と張力とが同時記録されることになる。

本実験に用いた Ringer 液の組成は次のとおりである。NaCl 110mM, KCl 2.5mM,  $\text{CaCl}_2$  1.8mM,  $\text{NaHCO}_3$  10mM, amelysol 0.06%, pH は 7.2~7.4 であった。

活動電位を除くためには Ringer 液中の Na を choline で置き換えた choline-Ringer 液を用いた。外液の K 濃度を増すためには 250mM KCl 溶液を適量加えて各種 K 濃度を含む溶液を作り、各試験液には 15~30 分間筋を浸け十分環境になじませた。Cl または他の陰イオンの効果を調べるためには Ringer 液中の Cl を Br または  $\text{SO}_4$  に置き換えた。 $\text{SO}_4$  は二価の陰イオンであるために濃度を 2/3 にして浸透圧を等しくした。同じく Ca の影響を調べるためには choline-Ringer 液中の Ca 濃度を増したり除去したりした。実験はすべて室温 (17°~22°C) で行なった。

### III. 結 果

#### A. 収縮閾電位

##### 1. 刺激時間と収縮閾電位

筋を choline-Ringer 液に浸けて 30 分後に細胞内電極によって筋線維膜に 200msec の脱分極性矩形波電流を流し、その強さを次第に増すと顕微鏡下で電極周囲に最小収縮が観察されるようになる。Watanabe<sup>3)</sup>, (1958) は直流刺激による発生張力は刺激が続いている間増大し続けると述べているが、実際細胞内電極刺激による収縮の時間経過を顕微鏡下で観察すると、持続時間 200 msec の比較的長い電流を流した場合、収縮は一方的上昇の経路をたどるものではなく、まず単収縮状の早い動きの収縮がおこり、その後に拘縮状の緊張的収縮が続くのが見られた。ここでは最小収縮として前半の速い収縮を採用した。一方持続時間 20 msec の短い刺激を与えた場合は速い動きの収縮のみが観察された。そこでこの長短 2 種類の矩形波刺激について最小収縮のおこった時の膜電位すなわち収縮閾電位を測定した。その結果は Fig. 2 に示されているように、収縮閾電位は刺激時間の長短に関係なく等しかった。ただし収縮閾電位まで脱分極させるのに必要な電流値すなわち収縮閾 (電流) 値は短い刺激の方がわずかに高かった。

##### 2. 脱分極による収縮閾電位の減少

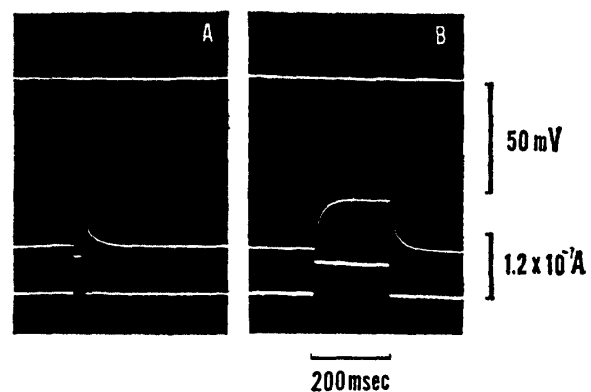


Fig. 2. Membrane potential and current at the mechanical threshold. Bottom curve represents current applied. Resting potential, 79 mV. A: pulse duration, 20 msec; threshold potential 54 mV; threshold current,  $0.72 \times 10^{-7}$  A. B: pulse duration, 200 msec; threshold potential 54 mV; threshold current,  $0.64 \times 10^{-7}$  A.

Hodgkin & Horowicz<sup>4)</sup>, (1960) は choline-Ringer 液の K 濃度を 2.5 mM から急に 20 mM に増した時膜電位は K 拘縮の閾電位 (54 mV) まで脱分極して最小の K 拘縮が始まると述べている。しかし外液の K 濃度を 2.5 mM から 5 分間隔で 2 倍にしなが 20 mM まで時間をかけて増すと, Nastuk & Hodgkin<sup>11)</sup>, (1950) の結果に一致して膜電位は外液の K 濃度の対数に比例して減少した。しかし膜電位が 54 mV に達しても K 拘縮はおこらなかった。収縮閾電位についても一種の適応があると考えられる。

そこで筋を 5 分間試験液中に浸けた後の収縮閾電位を 3 例の筋線維について測定した。その結果 K 濃度 2.5 mM における収縮閾電位は 52 mV, K 濃度 5 mM では 52 mV, K 濃度 10 mM では 48 mV であった。ここで (52-48) mV=4 mV が収縮閾電位の減少した分である。さらに K 濃度を 20 mM に増すと収縮閾電位は 6 mV 減少して 42 mV になった。Fig. 3 は以上の実験の 1 例を示したものである。

次に K 濃度 20 mM の choline-Ringer 液中において膜電位が K 拘縮閾電位の近くまで脱分極している筋について、その収縮閾電位の減少の時間経過を調べた。その結果 Fig. 4 に示されて

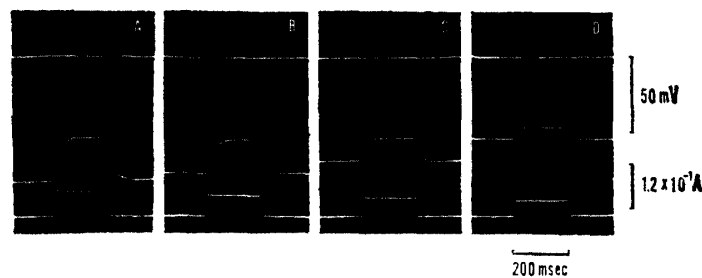


Fig. 3. The decrease in mechanical threshold potential and threshold current strength with increasing potassium concentration. Bottom curve represents current. Potassium concentration and resting potential were 2.5 mM, 53 mV in A, 5 mM, 53 mV in B, 10 mM, 51 mV in C, 20 mM, 46 mV in D. Sodium was replaced by choline.

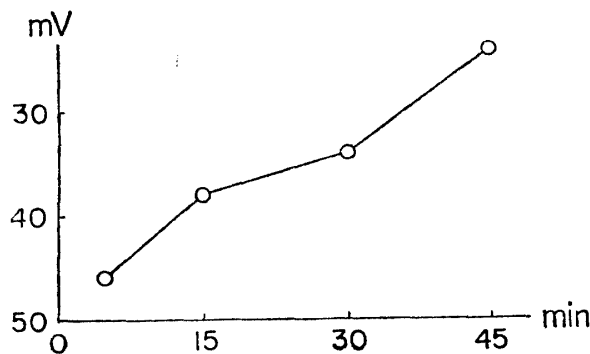


Fig. 4. Decrease of mechanical threshold potential ( $V_{Th}$ ) with time in choline-Ringer solution with 20 mM K. Resting potential, 52 mV. The soaking time and  $V_{Th}$  were 5 min, 46 mV in A, 15 min, 38 mV in B, 30 min, 34 mV in C, 45 min, 24 mV in D, respectively.

11) W.L.Nastuk and A.L.Hodgkin: J. Cell. Comp Physiol., 35, 39~74 (1950).

いるように時間が経つにつれて収縮閾電位は次第に減少した。ただし 15~30 分の収縮閾電位の減少はその前後と比べてやや緩徐であることがわかる。そして 1 時間後には収縮は完全に抑制されて如何なる脱分極もはや収縮を引き起こすことができなくなった。すなわち収縮は完全に不活性化された。しかしこのような筋を再び K 濃度 2.5 mM の choline-Ringer 液に戻せば 15 分後には膜電位は 70 mV に回復した。この時電気刺激によって収縮がおこるようになり収縮閾電位は 36 mV であった。

以上の事実に基き膜電位を変えてから 15 分~ 30 分の比較的収縮閾電位の変化の少ない時期を利用して、種々の膜電位に対する収縮閾電位を 10~25 例について求めた (Fig. 5 の  $V_{Th}$ )。その結果 K 濃度 10 mM 以下 (膜電位約 60 mV 以上) のとき収縮閾電位はほとんど変化しないが、K 濃度 10 mM 以上 (膜電位約 60 mV 以下) になると収縮閾電位は著しく減少することがわかった。

### 3. 収縮閾値と収縮閾電位との関係

Jenerick<sup>12)</sup>, (1953) はカエルの骨格筋線維を用い、外液の K 濃度を増して形質膜を脱分極させると膜抵抗が減少すると述べている。そこで収縮閾電位の変化分 ( $V$ ) すなわち閾脱分極 = (静止電位 - 収縮閾電位) と、静止時の膜の実効抵抗 ( $R$ ) とから計算によって収縮閾電流 ( $I$ ) を求めた。以上の 3 者を各静止電位 (K 濃度) について測定してみると Fig. 6 をうる。V については K 濃度 10 mM 附近に最小値があることがわかる (Fig. 6, 曲線 V), 静止時の形質膜の実効抵抗は細胞内電極によって 200 msec の過分極電流を膜に流し、その最終膜電位変化分と流した電流値から求めた。このようにして測定された R については、膜の脱分極によって一方的減少の

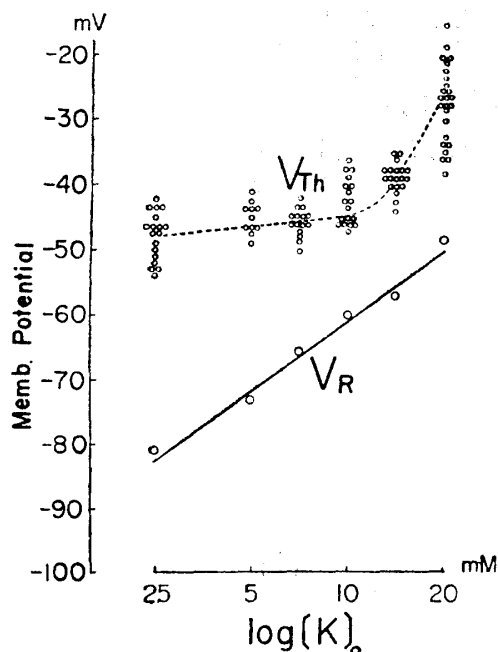


Fig. 5. Changes in the resting potential ( $V_R$ ) and mechanical threshold potential ( $V_{Th}$ ) plotted against the potassium concentration on a logarithmic scale.

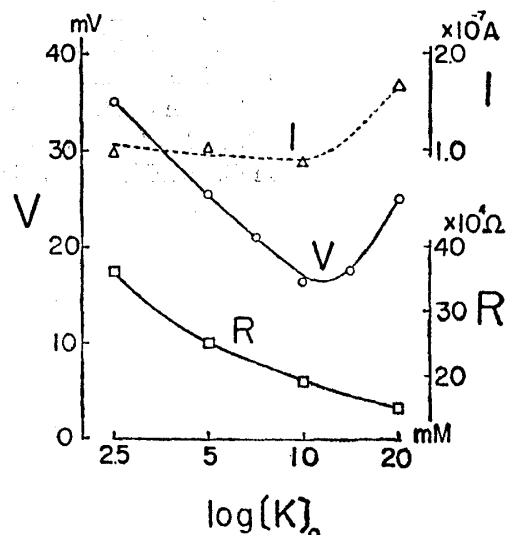


Fig. 6. Changes in threshold depolarization ( $V$ ), effective membrane resistance ( $R$ ) and threshold current ( $I$ ) at the mechanical threshold with increasing potassium concentration.  $V$ : resting potential ( $V_R$ ) minus mechanical threshold potential ( $V_{Th}$ );  $R$ : effective membrane resistance;  $I$ : calculated from  $V$  and  $R$ .

12) H.P. Jenerick: J. Cell. Comp. Physiol., 42, 427~448 (1953).

経路をたどることが確かめられた (Fig. 6, 曲線 R). 最後に I については K 濃度 10 mM 以下ではその値はほとんど変化しないがそれ以上の濃度において著しく増大している. 静止電位が 60 mV 以上 (K 濃度にして 10 mM 以下) のところでは膜抵抗が減少しても閾脱分極も同時に減少するため, 閾電流には大きな変化がないといえる. しかし静止電位が 60 mV 以下になると, 膜抵抗が減少するにもかかわらず閾脱分極が著しく増大するために閾電流も増大するのである.

以上の事実から収縮閾電位が静止電位の減少するにつれて減少する原因として膜抵抗の減少を考慮することは無理である. そうではなく収縮の閾としては収縮閾電位が本質的なものであり, 静止電位の変化に伴う膜抵抗の変化のために, その閾電位まで脱分極させるに要する閾脱分極あるいは閾 (電流) 値が変化すると考えるのが妥当であろう.

#### 4. 外液の Na 濃度と収縮閾電位

外液に Na が 120 mM 存在する場合には, 形質膜の脱分極が発火レベルすなわち活動電位の閾電位に達すると活動電位が発生し, 脱分極は急速に進行してしまう. 収縮の閾電位は発火レベルに極めて近いところにあるため収縮閾電位を正確に測定できない. しかし外液の K 濃度が 10 mM 以上になると, 静止電位は活動電位の閾電位に近い 60~55 mV まで脱分極されるので膜は活動電位を発生しなくなり収縮の閾電位を求めることができるようになる. したがって静止電位 60 mV 以上における静止電位と収縮電位との関係は choline-Ringer 液中でえられる結果から類推するものとして, 膜電位が 60 mV 以下における収縮閾電位を外液に Na がある場合とない場合について筋線維各 10 例づつを検討した.

すなわち外液に Na が存在しない場合静止電位が 60 mV 以下になると収縮閾電位が急激に減少しているが, 外液に Na が存在する場合は減少が著しくないことがわかる (Fig. 7). このように外液中に Na の存在することにより脱分極筋の収縮閾電位の減少は抑制される. すなわち Na は脱分極の収縮抑制作用を減少せしめると考えられる.

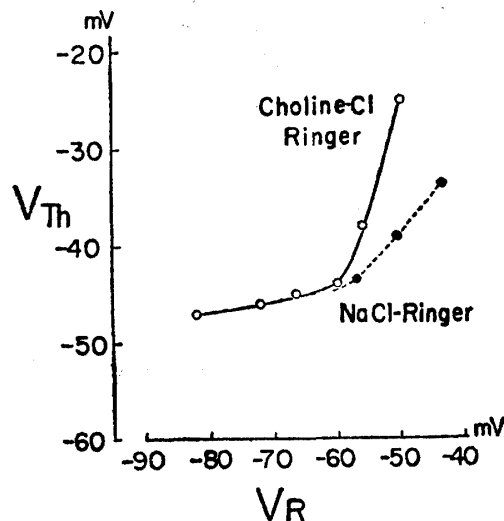


Fig. 7. Relations between resting potential ( $V_R$ ) and mechanical threshold potential ( $V_{Th}$ ) in Ringer solution and in choline-Ringer solution. Each point represents a mean of 10~25 measurements.

## 5. 陰イオン置換

外液の Cl を他の陰イオンに置換すると発生張力が増強されることが知られている (Sandow<sup>13)</sup>, (1952); Mashima & Matsumura<sup>14)</sup>, (1962)). その原因として Hutter & Padsha<sup>15)</sup>, (1959) は陰イオンが膜抵抗を増大させるためだとしているが, Washio & Mashima<sup>16)</sup>, (1963) は筋内部の興奮収縮連関にも作用するとしている. また Hodgkin & Horowicz<sup>17)</sup>, (1960) は陰イオンによって収縮閾電位が約 10 mV 増大することを見ている.

そこで本実験においては膜を脱分極させた場合の収縮閾電位に対して陰イオンがどのように作用するかということについて検討した.

## a. Br の効果

Choline-Ringer 液において choline-Cl を choline-Br に置きえると, Fig. 8 に示すように K 濃度 2.5 mM における静止電位は 6 例の筋線維の平均で 10 mV 増加し, 収縮閾電位は約 55 mV となり choline-Cl の場合より 8 mV 増大した (Fig. 8). 外液の K 濃度を増して膜を脱分極させると静止電位が 65 mV 以下において収縮閾電位は著しく減少した.

b. SO<sub>4</sub> の効果

外液の NaCl を Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> に等浸透圧になるように置き換え, 脱分極による SO<sub>4</sub> の作用を調べた. まず液置換直後に激しい律動性収縮がおりそれが 4~5 分間続いて静止状態に戻った. 静

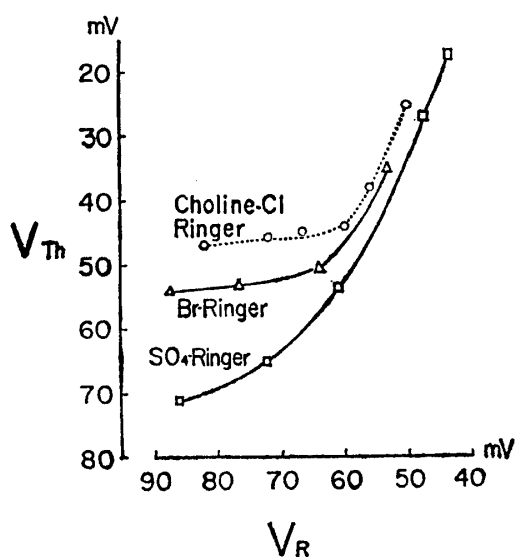


Fig. 8. Relation between resting potential ( $V_R$ ) and mechanical threshold potential ( $V_{Th}$ ) in bromide or sulphate substitution. Br-Ringer, Cl<sup>-</sup> was replaced by Br<sup>-</sup>; SO<sub>4</sub>-Ringer, Cl<sup>-</sup> was replaced by SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>.

13) A. Sandow : J. Biol. Med., **25**, 176~201 (1952).

14) H. Mashima and M. Matsumura : Jap. J. Physiol., **12**, 639~653 (1962).

15) O. F. Hutter and S. M. Padsha : J. Physiol., **146**, 117~132 (1958).

16) H. Washio and H. Mashima : Jap. J. Physiol., **13**, 617~629 (1963).

17) A. L. Hodgkin and P. Horowicz : J. Physiol., **153**, 404~412 (1960).



止時の Cl に対する膜のコンダクタンスは非常に大きく、全体の 2/3 を占めるという (Hutter & Noble<sup>18)</sup>, 1959). したがって外液の Cl を他の陰イオンに置き換えた場合, Cl の濃度勾配にしたがって Cl が膜を一過性に移動し膜を脱分極させる (Hodgkin & Horowicz<sup>17)</sup>, 1960). 液交換後の律動性収縮はこの脱分極によるものと考えられる. 従来この律動性収縮を止めるために外液中の Ca 濃度を 5 倍程度高めることが行なわれているが, ここでは Ca 濃度を変えなかった.

液を交換してから 20 分後に活動電位の閾電位を測定してみると, 著しく増大し 3 例の平均が 72 mV に達した. 次に外液の K 濃度を 5 mM に増すと同じく律動性収縮が観察され 5 分後に静止状態に戻った. このとき活動電位の閾電位は 65 mV に減少していた. 以下同様に外液の K 濃度を増して脱分極させ収縮閾電位を測定した. その結果 Fig. 8 に示すように膜電位の減少に伴ない閾電位は一方向的に著しい減少を示した.

#### 6. 外液の Ca 濃度と収縮閾電位

外液の Ca 濃度を増すと膜抵抗が増大し活動電位の閾値が上昇する (Cole<sup>19)</sup>, 1949; Frankenhaeuser & Hodgkin<sup>20)</sup>, 1967). 逆に Ca 濃度を零にすると逆の現象がおこる (Koketsu & Noda<sup>21)</sup>, 1962). 結局 Shanes<sup>22)</sup>, (1958) のいうように Ca は形質膜の Na 透過を減じ安定化する物質 (stabilizer) といえる. 一方 Ca は筋収縮に対して不可欠であり, 外液の Ca を除くと収縮閾電位が増大するといわれている (Lüttgau<sup>23)</sup>, (1963); Lännergren<sup>24)</sup>, (1967); Frankenhaeuser & Lännergren<sup>25)</sup>, (1967)). そこで Ca の収縮閾電位に対する効果を量的に検討した.

##### a. Ca 増加の効果

Choline-Ringer 液中の Ca を 5 倍 (9 mM) に増した後, 種々の静止電位における収縮閾電位を測定した. その結果は Ca 1.8 mM の対照に比べて収縮閾電位には大きな変化がなかった. ただ静止電位が 65 mV 以下のとき収縮閾電位の減少は少くなる (Fig. 9, 曲線 Ca×5). Ca 増加は脱分極筋には収縮閾電位減少の抑制すなわち収縮保護作用があるといえる.

##### b. Ca 除去の効果

一方 choline-Ringer 液の Ca を除去すると収縮閾電位は著しく増大し 60~65 mV になった. しかし外液の K 濃度を 5 mM に増すと収縮閾電位は著しく減少し 55 mV になった. さらに K 濃度を 10 mM に増すと静止電位が 65~60 mV で収縮閾電位は 25 mV に減少した. しかし中には静止電位が 70 mV もあるのにもかかわらず収縮が完全に抑制された線維もあった. すなわち Ca 除去は収縮閾電位を著しく増大せしめるが, 同時に収縮保護作用も減少して脱分極筋の収縮閾電位はかえって著明に減少してしまう.

#### B. 発生張力と膜電位との関係

Choline-Ringer 液中に筋を 30 分以上浸けた後細胞内電極を用いて持続 200 msec の矩形波

18) O.F.Hutter and D.Noble: J.Physiol., **151**, 89~102 (1960).

19) K.S.Cole: Arch Sci. Physiol. (Paris), **3**, 253~258 (1949).

20) B.Frankenhaeuser and A.L.Hodgkin: J.Physiol., **137**, 218~244 (1957).

21) K.Koketsu and K.Noda: J.Cell. Comp. Physiol., **59**, 323~332 (1962).

22) A.M.Shanes: Pharmacol. Rev., **10**, 59~273 (1958).

23) H.C.Lüttgau: J.Physiol., **168**, 679~697 (1963).

24) J.Lännergren: Acta Physiol. Scand., **70**, 16~25 (1967).

25) B.Frankenhaeuser and J.Lännergren: Acta Physiol. Scand., **69**, 242~254 (1967).

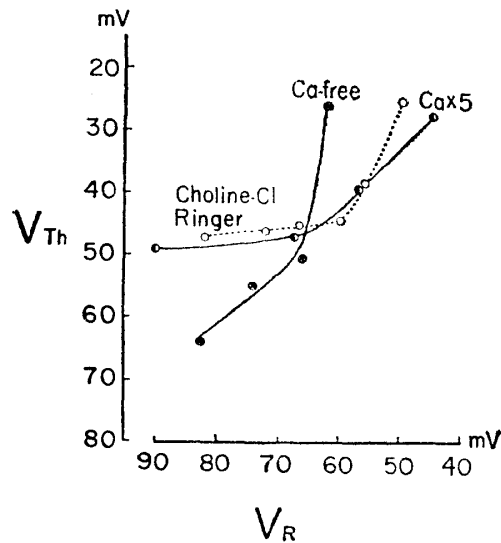


Fig. 9. Effect of external calcium concentration to the relation between resting potential ( $V_R$ ) and mechanical threshold potential ( $V_{Th}$ ). External calcium concentration was raised to 9 mM ( $Ca \times 5$ ) or removed ( $Ca$ -free) from choline-Ringer solution.

刺激を与えると、電流強度を増すことによって筋の長軸方向に沿って収縮が拡がり、発生張力を測定することができる。このときの張力の大きさと膜電位の関係を Fig. 10, 11 に示した。まず Fig. 10 には正常 Ringer 液中の K 濃度を 5 mM に増し 0.06% の procaine によって活動電位の発生を押え、細胞内電極をとおして刺激電流強度を増すことによってえられた微少な張力が示されている。さらに刺激強度を増すと次第に発生張力が増す (Fig. 10, B, C)。このようにして choline-Ringer 液の K 濃度を 5 mM から 8 mM, 15 mM, と増して各々における発生張力と膜電位の関係を求めた (Fig. 11, A, C, E)。その結果膜の脱分極によって収縮閾電位が減少すると同時に単位の脱分極によって発生する張力も減少する。たとえば Fig. 11, 曲線 A の勾配は 7.7 mg/mV であるが, C では 3.3 mg/mV, E では 1.2 mg/mV と著しく減少している。すなわち脱分極による収縮の抑制は単に閾電位の減少として現われるばかりでなく、単位脱分極あたりの発生張力の減少としても現われてくるといえる。本実験においては持続 200 msec という短い脱分極刺激を用いているから、単位脱分極あたりの発生張力とは、もし充分長い脱分極刺激 (たとえば高 K 液刺激) を用いた場合には、張力発生速度を表わすと考えてもよい。

次に外液に Na がある場合の張力と脱分極との間の関係を求めた。静止電位が 60 mV 以上では活動電位の発生により両者の関係がえられないため、0.06% の procaine を加えて活動電位を押えた後、K 濃度を 5 mM として張力と膜電位の関係を求めると Fig. 11, B がえられる。収縮閾電位は procaine によって約 5 mV 低下するが発生張力は 6.3 mg/mV で choline-Ringer 液の場合と大差ないことがわかる。したがって膜電位が 60 mV 以上であれば外液 Na があってもなくても膜電位と発生張力との関係には変化がない。しかし静止電位が 60 mV 以下で活動電位が押えられた条件下においては、Fig. 11, C, D に見られるように、Na が存在すれば同じ脱分極に対する発生張力が Na のない場合の約 1/2 に減少している。また K 濃度が 15

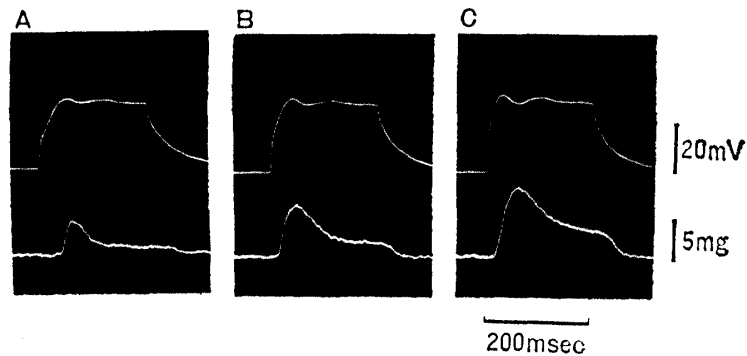


Fig. 10. Potential change (upper curve) and developed tension (lower curve) by depolarizing current in normal Ringer solution with 0.06% procaine. Resting potential, 72 mV. Current strength was  $3.2 \times 10^{-7}$  A in A,  $3.5 \times 10^{-7}$  A in B,  $4.0 \times 10^{-7}$  A in C.

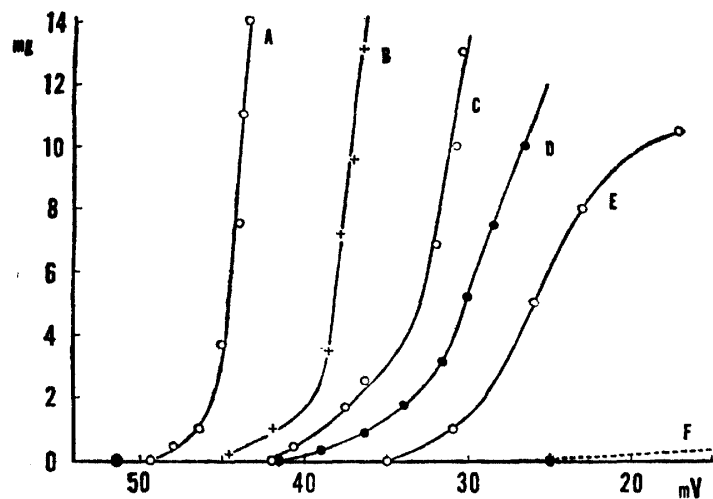


Fig. 11. The relation between the developed tension and the membrane potential by 200 msec depolarizing current. Potassium concentrations were 5 mM in A, 8 mM in C, 15 mM in E in choline Ringer's solution, and 5 mM+0.06% procaine in B, 10 mM in D, 20 mM in K in normal Ringer's solution.

mM, 20 mM では Fig. 11, E, F に見られるように発生張力は著しく減少し, 収縮閾電位も減少した。

以上の事実から静止電位が 60 mV 以下のときは, 外液に Na があることが同じ脱分極に対する発生張力に対して抑制的に作用しているといえる。

#### IV. 考 案

Hodgkin & Horowitz<sup>4)</sup>, (1960) はカエル骨格筋について脱分極によるその後の K 拘縮張力の減少を収縮の不活性化 (inactivation) と呼んだ。その後 Frankenhaeuser & Lännergren<sup>25)</sup>,

26) L.D. Peachey: J. Cell. Biol., 25, 209~231 (1965).

(1967) ははじめの脱分極が大きい程 K 拘縮からの回復が遅れるという。

本実験において著者は低膜電位 (60~50 mV) が 5 分以上維持された場合、収縮閾電位が時間と共に減少すること、低膜電位の持続によって一定の膜電位変化に対して発生する張力が減少すること、以上二つの基本的事項に基いて収縮の不活性化を検討した。

骨格筋はその構造上の特徴として小管系ならびに筋小胞体の発達が著明で (Peachey<sup>26)</sup>, 1965), 筋収縮について論ずる場合形質膜および小管系の膜電位のもとにこれら筋内部構造の種々の場所に種々の形で存在している Ca の状態を考えなければならない (Constantin & Franzini-Armstrong, et al<sup>27)</sup>, (1965); Constantin & Podolsky<sup>28)</sup>, (1967))。

Ebashi<sup>29)</sup>, (1960) によればアクチンおよびミオシンと ATP との反応を調節しているものは小胞体から遊離される Ca であろうという。したがって脱分極により Ca の遊離がおこり収縮に至るものと考えられる。しかしまた脱分極が持続した場合には、一時遊離された Ca が不活性化された結果弛緩がおこるものと考えられる。

Bianchi & Shanes<sup>30)</sup>, (1959) は膜の脱分極により筋の内外の Ca が移動するといっている。しかし Winegrad<sup>31)</sup>, (1965) によれば筋小胞体内部の結合 Ca は移動せず、それ以外の場所にある自由な Ca イオンが収縮に際して移動するのであろうと述べている。

たしかに脱分極によって収縮が完全に不活性化された筋でも K 濃度を 2.5 mM に戻せば膜電位も回復して収縮がえられるようになるし、また脱分極筋に caffeine を作用させることによって拘縮をおこすこともできる (Axelsson & Thesleff<sup>6)</sup>, 1958)。したがって脱分極は収縮の不活性化に対しては十分条件ではあっても必要条件でないことがわかる。では何が収縮を不活性化する必須条件であろうか。おそらく筋小胞体の Ca が抑制されるか、あるいは遊離された Ca が結合されてしまうかして、不活性化されることによるのであろう。

もし収縮の不活性化が筋内の遊離 Ca の不活性化によると考えると、Fig. 4 に示される収縮閾電位の減少の経過はそのまま筋線維内部の Ca イオンの不活性化の経過を表わしていることになる。

外液に Na がある場合に低膜電位における収縮の不活性化が押えられたが、これは脱分極によりイオンの透過性が増し、恐らく外液の Na が筋内部に入って Ca イオンの不活性化を妨げるのではないかと考えられる。

収縮の不活性化は形質膜の膜抵抗の減少によるということも一応考えられるが、たとえば陰イオンの影響によって静止時の膜抵抗が増大しているときでも、膜分極による収縮の不活性化は著しく促進されること、また Ca を除いた場合には逆に膜抵抗は減少したが収縮閾電位は増大し、抵膜電位における収縮の不活性化は静止時の膜抵抗には関係なく、むしろ膜電位そのものに存在していることが明らかである。また外液の Ca を増加した場合に収縮の不活性化が押えられることから、脱分極により外液の Ca が筋内部に入り易くなり収縮に必要な Ca 源を提供していることも考えられる。

また発生張力と膜電位の関係において、膜電位が 60 mV 以下で発生張力が減少している。外液

27) L.L.Constantin, C.Franzini-Armstrong and R.Podolsky: Science., **147**, 158~159 (1965).

28) L.L.Constantin and P.J.Podolsky: J.Gen Physiol., **50**, 1101~1124 (1967).

29) S.Ebashi: J.Biochem (Tokyo), **48**, 150~151 (1960).

30) C.P.Bianchi and A.M.Shanes: J.Gen Physiol., **42**, 803~815 (1959).

31) S.Winegrad: J.Gen Physiol., **48**, 455~479 (1965).

に Na がある場合にこの減少は一層著しい。すなわち Na は発生張力に対しては抑制的に作用するらしい。その作用機序については不明である。

Hill & Howarth<sup>32)</sup>, (1962) は外液の K 濃度を 10 mM 以上にすると、酸素供給下でも creatine 磷酸の分解が促進されると述べている。K 濃度 10 mM というのはたまたま活動電位の閾電位附近の脱分極に相当し、これ以上の脱分極に対して収縮の不活性化が著しいということと考え合わせると、膜電位の減少が代謝系を介して小胞体の Ca を不活性化しているという可能性も考えられる。

#### V. 要 約

1. 骨格筋線維の形質膜を電気刺激してえられた収縮閾電位から膜電位と張力の関係を求めた。
2. 収縮閾電位は電流による刺激時間の長短によって変化しなかった。
3. 静止電位が減少すると収縮閾電位は減少する。とくに静止電位が 60mV のとき顕著である。
4. 持続的脱分極に伴う収縮閾電位の減少は時間と共に進行する。膜電位 50 mV に 1 時間維持すると収縮は完全に抑制される。
5. 外液の Na<sup>+</sup> は脱分極による収縮の不活性化に対して抑制的に作用する。
6. 外液の Cl<sup>-</sup> を Br<sup>-</sup> に置き換えると収縮閾電位は著しく増大する。Cl<sup>-</sup> を不透過な陰イオン（たとえば SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>）に置換するとさらに著しく増大する。
7. 外液の Ca を増した場合に脱分極の収縮閾電位減少が抑制される。外液の Ca を除くと収縮閾電位が著しく増大するが、同時に収縮閾電位減少を抑制する作用も減少する。
8. 電流刺激によって発生する張力は、あるいは張力発生速度は、膜電位の減少と共に低下する。外液に Na が存在する場合にこの傾向が著しい。
9. 脱分極による収縮不活性化の機序は筋内の遊離 Ca イオンの不活性化に関係があることを討論した。

稿を終るにあたり、終始御懇篤な御指導と御校閲を賜った順天堂大学第二生理学講座真島英信教授に衷心より感謝の意を表します。

32) A.V.Hill and J.V.Howarth : Proc Roy. Soc., 147, 21~43 (1966).