

Title	脱連関したモルモットtaenia coliの収縮性に対する交流刺激とTTXの影響
Sub Title	Effect of AC stimulus and TTX to the contractility of the decoupled guinea pig taenia coli
Author	中山, 雪麿(Nakayama, Yukimaro) 先崎, 美恵子(Senzaki, Mieko)
Publisher	共立薬科大学
Publication year	1975
Jtitle	共立薬科大学研究年報 (The annual report of the Kyoritsu College of Pharmacy). No.20 (1975.) ,p.51- 55
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	原報
Genre	Technical Report
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00062898-00000020-0051

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.

脱連関したモルモット taenia coli の収縮性に対する
交流刺激と TTX の影響

中山 雪麿, 先崎美恵子

Effect of AC stimulus and TTX to the contractility of
the decoupled guinea pig taenia coli

Y. Nakayama and M. Senzaki

(Received September 30, 1975)

- 1) Effect of AC stimulus and TTX to the decoupled taenia coli was investigated after exposed for 2 to 6 hrs. in the G-free Krebs solution.
- 2) Decoupling mechanism of the smooth muscle was improved by AC stimulation. Then the evoked tension and the spontaneous responses appeared for 3 hrs.
- 3) Prolonged exposure (6 hrs.) in G-free solution did not occur the significant potentiation of tension, but ACC was markedly augmented by TTX.
- 4) Transient contracture of the de-coupled taenia coli appeared after being exposed in Na-G-free solution, but the recovery time of the contracture delayed when the TTX was added to the solution.

緒 論

G-free 液 (glucose-free Krebs 液) で taenia coli を処理すると, 膜電位は脱分極し, 自発性放電頻度は増加する。しかしそれに対応する収縮は徐々に減少し, 80分後に興奮収縮連関の脱連関が起こり, spike は出ていても収縮はほぼ完全に消失してしまう。さらに数時間同じ環境に置くと, 6時間後には筋内 glycogen も枯渇するといわれている (Axelsson, Högberg et al 1965)¹⁾。一方, Hagemeyer (1968)²⁾ は K^{42} を用いた実験で, 筋を頻回刺激した後に K の efflux が増加することにより, 形質膜および小胞体の膜電位に影響がおよぶことを暗示している。さらに Winegrad (1968)³⁾ も Ca^{45} を用いた骨格筋の実験から, やはり頻回刺激後に筋小胞体の Ca 分布が刺激前のそれと比較してかなり変化していることを報告している。

Ebashi and Endo (1968)⁴⁾ によって収縮が筋の内部に遊離された Ca イオンの濃度によって調節されていることが明らかになっているが, もしも上記の交流刺激によって膜の電位変化を左右しているイオンの透過性および筋内の Ca 遊離量等が影響を受け, 収縮が増強され易い条件が作られるとすると, G-free 処理によって脱連関された筋を交流刺激した場合にも上記の事象が筋内におこるといふ可能性が考えられる。そこで本実験においては, モルモットの taenia coli を G-free 液で長時間処理して得られる脱連関筋を用いて交流刺激した際に, その収縮性などのような変化が現われるかということを中心に二, 三の実験を試みた。

方 法

体重約 300g の雄モルモットを断頭瀉血した後開腹し, taenia coli を長さ 10mm で切り離

し、直ちに 35°C に維持した正常の Krebs 液に入れ、95% O₂+5% CO₂ ガスを飽和させた。そして1時間後に筋をとり出し G-free 液に入れた後、さらに2時間静置した。その後一対の白金電極を取り付けた容量約 20ml のアクリル製の小容器に筋を入れ換え、筋の一方の端は容器の底に固定し、他の端は張力変換器（日本光電製、FD-pickup）に連結してその発生張力を直線書きペンレコーダー（渡辺測機製 WTR-2C 型）で記録した。

Na-free Krebs 液は正常 Krebs 液の NaCl を Choline Cl に、その他の Na⁺ は全て K⁺ に置換した。さらに KCl を除き K⁺ の濃度を低い値に抑えた。また Tetrodotoxin (TTX) は三共製薬または日本生化学工業製のものを使用し、最終濃度は 1×10⁻⁶g/ml になるように Krebs 液に加えた。そして全ての液に、Atropine を 1×10⁻⁶g/ml になるように加えた。

結 果

(1) G-free 液で処理した筋に対する交流刺激の影響

G-free 液で筋を処理すると、*taenia coli* では、興奮-収縮連関機構が切り離されて脱連関状態となる。しかし交流刺激 (50Hz, 5V/cm, 5sec) を与えると、Winegrad (1970)³⁾, Lüllman and Mohns (1969)⁵⁾, Miyamoto and Kasai (1973)⁶⁾ 等が指摘しているように、筋内の Ca 遊離機構が改善されて、平滑筋の場合には、一過性の活動張力 (ACC; Alternative Current Contraction) が発生する。Fig. 1 は取り出した *taenia coli* を2時間 G-free 液に浸して脱連関させた後、交流刺激を与えた際の張力を記録したものである。各記録の左端に示した速やか

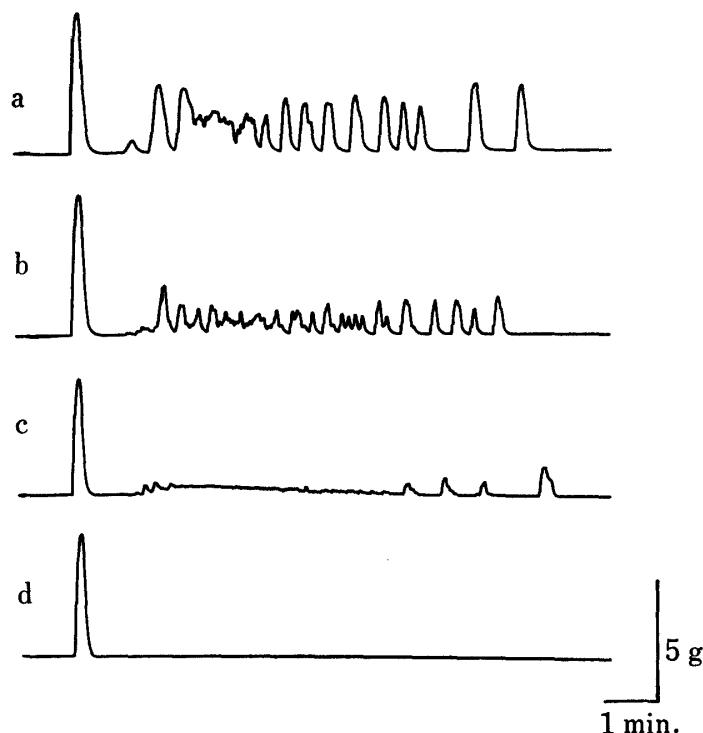


Fig. 1 Effect of AC stimulus after exposing for 2 hrs. in G-free Krebs solution. Each exposed time is the a) 120, b) 150, c) 180 and d) 210 minutes. Spontaneous and irregular responses appeared after ACC and these were suppressed as the immersed time passed, though the ACC still occurred.

な張力変化が交流刺激に対するもので、それに続く不規則な張力変化が自発性張力である。まず Fig. 1 a では ACC の後に顕著な自発性収縮が現われ、約10分間持続していることがわかる。そして同図 b, c と時間を経るにしたがって自発性収縮は減弱し、dにおいては、ACC は依然として発生しているにも拘らず自発性収縮は全く認められなくなっていることがわかる。このことは、それまで脱連関していた系が交流刺激によって賦活され、Ca 遊離機構が回復して収縮が発生するようになったものと解釈される。このような交流の作用は、骨格筋、心筋で研究されているところの収縮の増強作用（階段現象とも呼ばれている）と関連があり、恐らく交流による条件刺激が筋内 Ca 濃度を増加させるものと考えられる。

(2) G-free 処理筋に対する TTX と Na-free の影響

G-free 液で6時間処理することにより筋内 glycogen が枯渇すると、前記の報告から、そのような長時間 G-free で処理した後、1分間隔で交流刺激を与えた場合に、前述のような脱連関機構の改善作用が見られるかどうかということについて次のような実験を試みた。すなわち、Fig. 2 a に示されているように、初めは ACC の繰り返しがわずかに増強する傾向が見られた

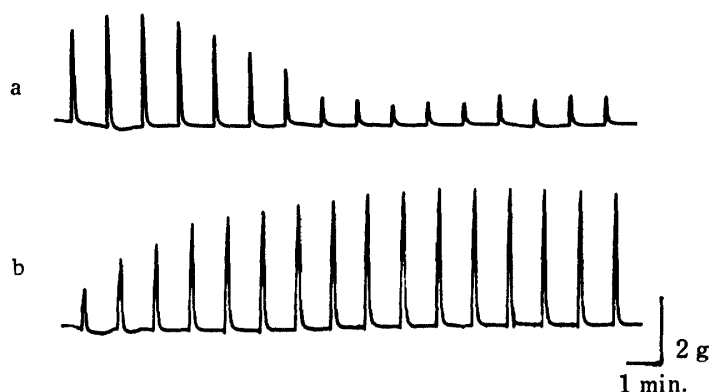


Fig. 2 A train of ACC after prolonged exposure (6 hrs.) in G-free solution. a) shows the down stair case in G-free Krrrebs solution and b) shows the up stair case in the solution added TTX.

が、数分後からは負の階段現象（疲労曲線）に転じ、収縮高は一方向的に減少し、10分後には最初の値の1/5にまで減少していることがわかった。したがっていかに交流刺激を与えて連関系を賦活しても、収縮のエネルギー源が枯渇していたのでは、細胞内に増加したCaの流出さえも抑えることが不可能であろうと予想される。ところが、同様な一連の実験において、G-freeの他に TTX を加えて6時間後の影響を観察すると、Fig. 2 b に示すように一連の ACC を比較した場合初めの交流刺激が次の収縮高を増大させ、それがまた次の収縮高を増大させるというように、いわゆる階段現象が現われている。これは恐らく TTX の作用が、交流の作用と相乗的に働き、細胞内 Ca の流出を抑え、収縮が増強しているものと推測される。

一般に TTX は膜の Na イオンの細胞内への流入を抑え、Na 起源の活動電位の発生を阻止する作用のあることが知られているが、taenia coli の場合にはその活動電位が Ca 起源であることがわかっているので、TTX はその活動電位を阻止しているのではなく、筋内に流入または遊離された Ca^{+} が、筋外に流出することを抑え、それが収縮の増強につながっているものと考えられる。そこで、Krebs 液中の glucose および Na^{+} を全て他の陽イオンに置換した

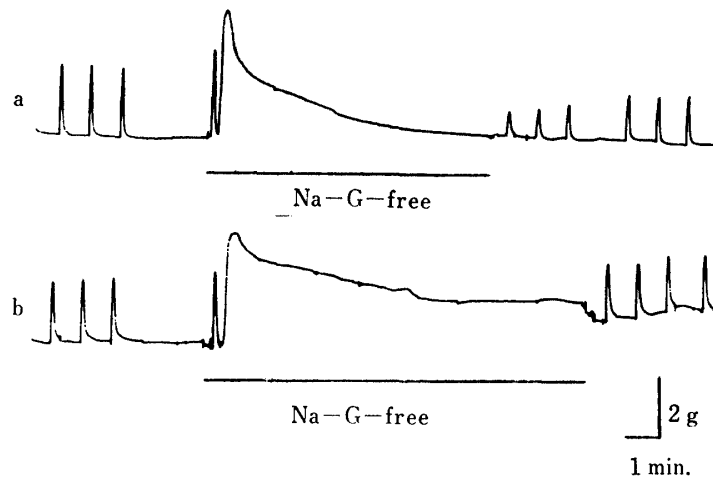


Fig. 3 Effect of TTX and Na-G-free solution for the de-coupled taenia coli. Note the time course of each contracture. a) shows the abrupt down of the contracture without the TTX, but b) maintains the height longer than 10 minutes in the solution added TTX.

Na-free 液を作用させその影響について検討した。

まず G-free 液で2時間処理して脱連させた筋を Na-G-free 液で処理した。その結果 Fig. 3 a に示されているように、非常に速やかな経過の張力発生があり、その直後に ACC よりも約50%も大きな一過性の拘縮が発生した。しかしその持続時間は短かく、拘縮終了後の ACC も初めのその1/2以下に減少した。しかし初めの G-free 液に TTX を加えておくと、Fig. 3 b に示されているように同図 a、と同様な拘縮が得られるが、その持続時間が TTX を加えないものよりも著しく延長し、拘縮高は10分後にもまだ最初の1/2に維持されたままであった。その上10分後の ACC は拘縮発生前のそれとほとんど変わりなく得られることがわかった。このように TTX は taenia coli に対しては、一般に知られているような Na^+ の作用よりも Ca^{2+} の動きに対する作用の方が顕著に現われたものと解釈される。

考 察

筋収縮の増強作用は一般に階段現象として知られているが、その機序については、従来収縮を繰り返すうちに、筋タンパク自身の粘性抵抗が減少して収縮高の増大をもたらすものと考えられていたが、最近 Chiarandini and Stefani (1974)⁷⁾ が外液のK濃度を増した後、またはK拘縮終了後に筋内の遊離Ca量が増加し収縮の増強が起こることを、骨格筋の単一筋線維を用いた実験で明らかにしている。

本実験においては、G-free で脱連した筋を交流刺激すると、脱連状態が修飾され張力発生に結びつくということ、および TTX のような薬物が交流作用と同時にどのように収縮系に対して影響をおよぼすかということについて種々検討した。その結果、適当な交流刺激は脱連状態を改善し、恐らく筋内遊離Caの増量をもたらす、収縮発生のための内部条件を良好にする一方、遊離Caの流失を抑えて収縮を増強する働きをも兼ねそなえていることがわかった。また TTX は従来知られているNaの細胞内流入を抑える作用の他に、Persson (1971)⁸⁾ および本実験で示しているように、細胞内からのCa流失を抑えて収縮の増強を惹き起こす働きがあり、かなり張力発生には不都合な条件下においても、正の階段現象が観察され、Fig. 3 b で示

したような拘縮張力に対してもそれを維持する作用があり、結果的には交流の作用と共通した点のあることがわかった。

しかし、本実験では神経阻害剤としてコリン作動性神経を阻害する Atropine を用いているが、アドレナリン作動性神経は阻害剤を用いていない。二三の実験で用いている TTX は神経の興奮伝播の阻害剤あるから当然全神経線維は阻害されている訳であるが、これを加えていない実験ではアドレナリン作動性神経は正常のままである。この点に関しては特に Fig. 3 の実験が関連している。すなわち、同図 a では、拘縮発生と同時にアドレナリン作動性神経によつて拘縮高が速やかに抑制されており、b では TTX によつて全神経の働きが阻止されているために、両者の拘縮の時間経過が著しく異なるのだとする考え方である。しかし Fig. 3 の実験では、外液中の Na が全て choline に置き換えられていることを見逃すことはできない。つまり Na 起源の神経の活動電位は TTX の存在しない Fig. 3 a においても発生し得ない筈であり、拘縮の経過が速やかに終了するのは、単にアドレナリン作動性神経の作用にのみ起因するのではなく、G-free および Na-free により Ca に対する透過性が増大しているために収縮高を維持することができないのであろうと考えられる。ところが TTX が溶液中に含まれていると、それが筋膜あるいはその近傍に存在すると予想されている平滑筋の小胞体に作用し、何らかの経緯で遊離された Ca の細胞外流失を抑え、収縮の維持効果を現わしているものと結論される。

参考文献

- 1) Axelsson, J., S.G.R. Högberg and A.R. Timms (1965)
The effect of removing and readmitting glucose on the electrical and mechanical activity and glucose and glycogen content of intestinal smooth muscle from the taenia coli of the guinea pig. *Acta Physiol. Scand.* **64** 28-42
- 2) Hagemeyer, F. (1968)
Potassium movements during electrical stimulation of the isolated rat aorta. *Arch. Int. Physiol. Biochem.* **76** 71-75
- 3) Winegrad, S. (1968)
Intracellular calcium movements of frog skeletal muscle during recovery from tetanus. *J. gen. Physiol.*, **51** 65-83
- 4) Ebashi, S., and M. Endo. (1968)
Calcium ion and muscle contraction. *Prog. Biophys. Mol. Biol.* **18** 123-183
- 5) Lüllman, H., and P. Mohns (1969)
The Ca metabolism of intestinal smooth muscle during forced electrical stimulation. *Pflügers Arch.* **308** 214-224
- 6) Miyamoto, H. and M. Kasai (1973)
Reexamination of electrical stimulation on sarcoplasmic reticulum fragments in vitro. *J. gen. Physiol.* **62** 773-786
- 7) Chiarandini, D. J. and E. Stefani (1974)
Twitch potentiation of potassium contractures in single muscle fibres of the frog. *J. Physiol.* **240** 1-14
- 8) Persson, G. A. (1971)
Excitatory effect of TTX on an isolated smooth muscle organ. *J. Pharm. Pharmacol.* **23** 986-987