

## 原 著

# Rb 拘縮の若干の特徴について

別 府 穂 積

信州大学医学部順応医学研究施設 (主任: 上田五雨教授)

## ON SOME PROPERTIES OF Rb-CONTRACTURES

Hozumi BEPPU

Department of Adaptation Physiology and Biophysics,  
Institute of Adaptation Medicine, Shinshu University  
(Director: Prof. G. UEDA)

Key words: 骨格筋線維群 (skeletal muscle fibers), 拘縮 (contracture),  
Rb-Ringer 液 (Rb-Ringer solution)

### I 緒 言

100mM K-Ringer 液に骨格筋線維標本を十数秒浸す方法で、外液のK濃度を急激に増加させると、直ちに強い拘縮が発生し、その後一定時間、Ringer 液に標本をもどして保存すると、ほぼ正常な状態に回復する<sup>1)</sup>。また、K拘縮の閾値は30mMで、その経過が可逆的であることなどは Hodgkin ら<sup>2)</sup>により報告されている。しかし、Kとの類似イオンであるRbによる拘縮についてはあまり知られていないので、今回は、Rb濃度増加の際にみられる拘縮が、いかなる特徴を示すかについて検討した。Sandow ら<sup>3)</sup>のRb拘縮に関する研究では収縮曲線には触れていないし、Guttmann ら<sup>4)</sup>のそれは平滑筋を材料としたものであり、しかも十分な拘縮曲線は記録されていない。したがって、ここでは骨格筋の拘縮曲線にもとづく諸性質を明らかにすることを目的として、これまでに求められた結果を報告することとした。

### II 実験方法

200~220gの雄の食用ガエルをもちい、脊椎破壊後、背位に固定し、皮膚を開き、M. sartorius, M. semitendinosus等を剔出した。剔出後、標本は5°Cの冷蔵庫に保存された。保存用のRinger液の組成は、NaCl 117.4mM, KCl 2.0mM, CaCl<sub>2</sub> 2.0mM,

Tris buffer 0.15mMで、pHは7.4である。実験に使用したRb-Ringer液とは、Ringer液中のKイオンをRbイオンと置換してRbをそれぞれの濃度にしたものである。実験方法<sup>5)</sup>および解析方法<sup>6)</sup>の概略はすでに報告したので省略するが、主な相違点のみを次に記載する。

もちいた標本の筋線維の数の測定にあたっては、実験後、使用した筋線維群を10%フォルマリン液で固定し、パラフィン包埋後、7~10 $\mu$ の厚さに切り、Nikon 万能投影器6C型で100倍に拡大して、その数を計測した。その結果、100~500本前後のものがもちいられたことがわかっている。ただし、同一実験に対しては、線維の本数をそろえるようにつとめた。なお、筋線維群の長さは4~5cmに統一した。

張力曲線の記録には、筋の一端を上方からの支持金具に固定し、他端に日本光電製力-電圧変換用のピクアップSB-IT型を連結し、その変化をほぼisometricの条件として、レコーダーの紙上に記録した。

また、液の交換に際しては、空中に水平に張った標本に対し、vesselを下から押し上げることによって、標本を液内に浸すようにし、次に液交換の場合は、予め用意した各種の濃度のRbまたはKを含む別々のvesselをそれぞれ上下させて、液のとりかえを行い、拘縮を発生させることとした。この方法によれば、吸引法で液を交換するより、速やかにかつ完全に交換す

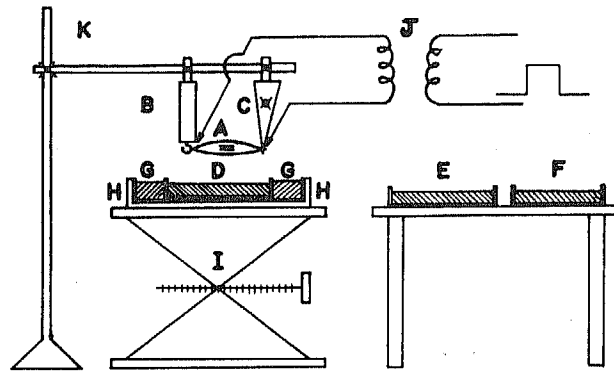


図1 標本の配置

- A: 筋標本
- B: 力-電圧変換用 pick-up
- C: holder
- D, E, F: 各種の作用液
- G: 温水または冷水
- H: 発泡スチロール製保温箱
- I: 上下可動 stage
- J: 刺激装置の isolator
- K: stand

ることが可能で、しかも標本に振動を与えることは少い。さらに、外液温度を下げる場合は vessel の周囲を冷水にて冷却し、上昇させる場合には温水にてあたためたが、急速な冷却には、予め冷却した液と、前述の方法で交換するようにした(図1)。

実験は、特に記載のない場合、 $18\sim 20^{\circ}\text{C}$  の下で行われている。

### III 実験結果

拘縮の際に現われる力は拘縮高で示されるので、以下には拘縮力のことを拘縮高とも表現する。

#### 1. 濃度変化と拘縮高の関係

標本を溶液に浸す時間を20秒として、その濃度を20, 30, 50, 60, 75, 100mM と増加させ、Rb およびKの拘縮高を $18^{\circ}\text{C}$ の下で比較すると、同一濃度に対する反応では常に、K拘縮高の方が大となった。また、20mM濃度では、両イオンとも拘縮を発生せず、30mM濃度が閾値とみなされた。拘縮高は外液のRb濃度が大きくなるにつれて大きくなるが、ここでは急速に発現する spike 状の成分のものを除き、緩徐に経過する成分について、拘縮高の時間経過に関する図を作製してみた(図2, 3)。

#### 2. 作用時間と拘縮高の関係

Ringer 液内の Rb の濃度を 75mM Rb として、そ

の液に浸す時間の差による効果を示すと、図4のごとくなり、溶液濃度を一定として、3秒間浸したものと、10秒間浸したものとを比較すると、作用時間が長くなるものほど拘縮高は増大した。すなわち、10秒間作用させたものの拘縮高は $1.8\pm 0.2g$ で、3秒間作用させたものの10秒後の拘縮高は $1.0\pm 0.1g$ で、一元配置法の統計処理をすると、危険率5%で有意の差が認められた(図5)。

高 Rb 液曝露の時間が長ければ、液の内部への拡散がより完全になり、効果もより大であることが期待されるが、個々の例に関しては、必ずしも時間延長が拘縮高の増大を招くとは限らない。

#### 3. Rb および K 拘縮のくり返し可能性について

同一標本を 75mM Rb-Ringer 液に浸し、拘縮を発生させ、次に10分間正常 Ringer 液に浸して休ませ、さらに 75mM K-Ringer 液に再度浸して、拘縮を発生させ、10分間正常 Ringer 液に浸して休ませる。これを2回くり返し、合計4回拘縮を発生させても、拘縮高の減少は僅かであり、75mM K および Rb 拘縮高の差は明らかに認められるが、同一濃度の同一イオンによる第1回拘縮の高さと第2回のそれとの間にはあまり大きい差は認められなかった。その中で、典型的な一例を図6に示した。

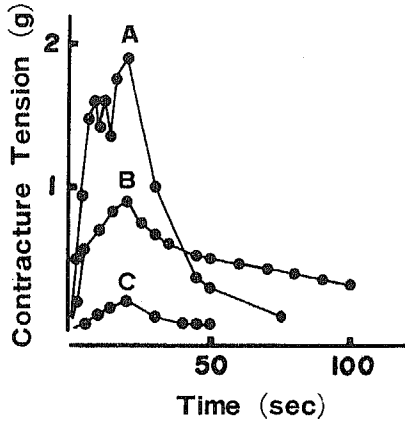


図2 Rb 濃度変化の効果  
 縦軸：拘縮高 (g)  
 横軸：時間経過 (秒), A, B, C 液の作用時間を20秒とし、その後、正常 Ringer 液にもどす  
 標本：M. semitendinosus, 筋線維数約 100 本  
 液温：20°C  
 A：100mM Rb-Ringer 液の効果  
 B：60mM Rb-Ringer 液の効果  
 C：30mM Rb-Ringer 液の効果

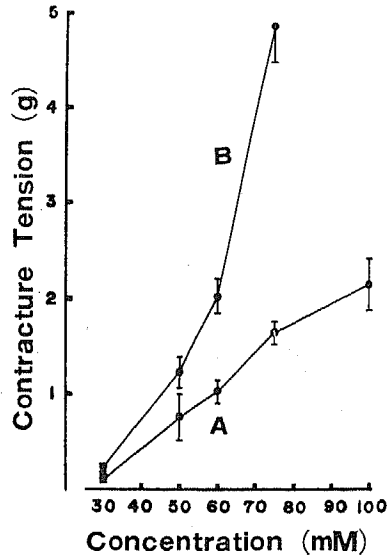


図3 Ringer 液中の K および K と置換した Rb の濃度変化による拘縮高の変化  
 縦軸：拘縮高 (g)  
 横軸：外液中の K または Rb イオンの濃度 (mM)  
 液温：18°C  
 A：Rb 拘縮  
 B：K 拘縮  
 図中各点は平均値および標準偏差値

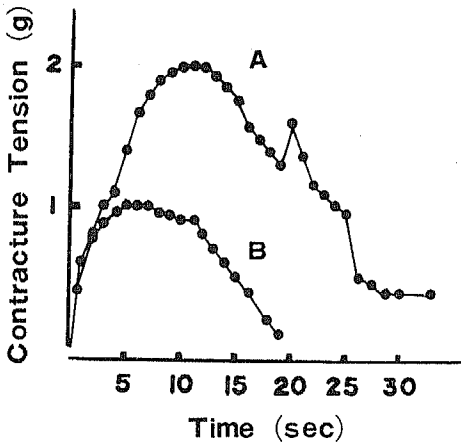


図4 拘縮経過に対する作用時間の影響  
 縦軸：拘縮高 (g)  
 横軸：時間 (秒)  
 標本：M. semitendinosus, 筋線維数約 200 本  
 液温：20°C  
 A：75mM Rb-Ringer 液に10秒間浸す  
 B：75mM Rb-Ringer 液に5秒間浸す  
 A, B いずれの場合も、作用後直ちに正常 Ringer 液にもどす

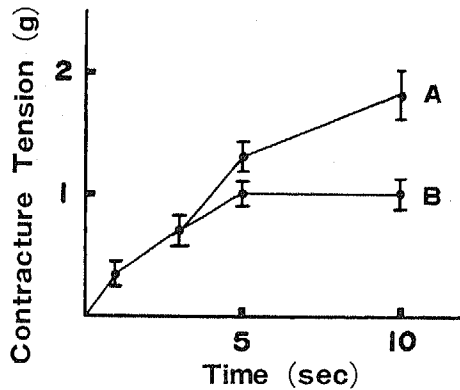


図5 75mM Rb-Ringer 液における作用時間と Rb 拘縮高の関係  
 縦軸：拘縮高 (g)  
 横軸：拘縮の経過時間 (秒)  
 液温：18°C  
 A：10秒間溶液に作用させたもの  
 B：3秒間溶液に作用させたもの  
 A, B いずれの場合も、作用後正常 Ringer 液にもどさず、標本は空中に固定されている  
 図中各点は平均値および標準偏差値

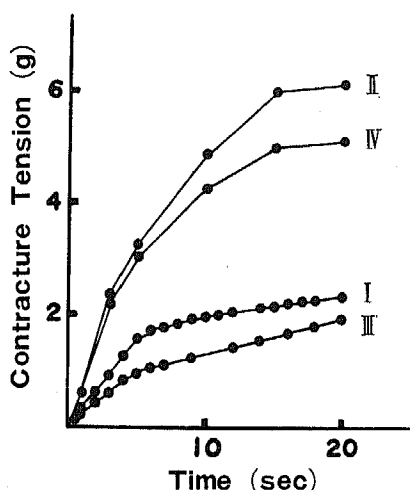


図6 Rb およびK拘縮の再現性

縦軸：拘縮高 (g)

横軸：作用時間 (20秒)

標本：M. semitendinosus, 筋線維数約100本  
液温：18°C

I, II, III, IVの順にそれぞれの液に浸した。  
その際、10分間ずつ正常 Ringer 液にもどし、  
拘縮を休ませるための間隔をおいた

I, III：75mM Rb-Ringer 液

II, IV：75mM K-Ringer 液

#### 4. 拘縮高と外液温度の関係

75mM KおよびRb-Ringer液で作用時間を20秒として、液の温度が18~30°Cの場合はKによる拘縮高の方が常に大であるが、液を5°Cの低温に冷却した場合は、K拘縮高は $5.6 \pm 0.3g$ 、Rb拘縮は $5.9 \pm 0.3g$ となった(図7, 8)。拘縮力発生時の時間経過を忠実に記録すると図7のようになる。

#### 5. 浸透圧と拘縮力

KおよびRb拘縮が外液における陽イオン濃度の増加にもとづく浸透圧変化によるものであるとすれば、NaCl濃度を増加させても拘縮が起るはずである。しかし、NaCl濃度を587mM(正常の5倍)に増加させても、拘縮は発生しないで、1174mM(正常の10倍)までに増加させると、始めて $4.8 \pm 0.2g$ の拘縮が発生している。ただし、この拘縮には再現性がなく、一度1174mM Na-Ringer液で拘縮を発生させた後、正常Ringer液にもどしたが、単収縮、テタヌスはもとより拘縮を再度発生させることはできなかった。その意味においては、これらの収縮はむしろ硬直というべきである。なおNaを置換したLi-Ringer液でも1174

mMにて $1.2 \pm 0.1g$ の拘縮を発生した<sup>5)</sup>。これらの事実から、KおよびRb拘縮が高浸透圧によるものではないことは明らかである。

#### 6. 拘縮誘発指数(Contracture Inducing Index : C. I. I.) について

各種物質のMol当りの拘縮力(g)を拘縮誘発指数(C. I. I.)と定義し、拘縮誘発物質濃度変化によるC. I. I.を求めた。もちろん、

$$C. I. I. = \frac{\text{Contracture Tension}}{\text{Maximum Tetanic Tension}} / \text{Mol.}$$

と定義してもよいが、Maximum Tetanic Tensionを求めるために、何回も強縮を与えると標本が弱まるので、今回の指数としては前の定義のものをもちいることとした。

C. I. I.は表1, 2に示すごとく、溶液Mol濃度当りの拘縮高(g)にて求めた値である。それぞれの溶液によるC. I. I.値を比較すると、Caffeine 10mMによるC. I. I.値が最大であり、最小値は1174mM Saccharoseによるものであった。その順位はCaffeine > KCl > RbCl > NaCl > LiCl > Saccharoseとなった。今回、参考までに示したイオン、薬物などについては、相互に非常にC. I. I.が異なっているので、この方法でも十分に、どの程度拘縮誘発の能力が異なるものであるかが明らかとなっている。

#### IV 考 察

Rb拘縮については現在までにあまり知られていないので、Kまたはその他の薬物による拘縮と比較しながら、Rb拘縮の特徴についての検討を行ってみた。その結果、まず、Rb拘縮もK拘縮もともに浸透圧変化によって起るものでないことは明らかであると言えよう。すなわち、浸透圧変化はこのような拘縮力の直接原因とはならない。しかし、Caputo<sup>7)</sup>は高浸透圧溶液内で、Caffeineによる拘縮力が強まることを報告している。標本外液は正常状態で約240mOsmの浸透圧を有するが、RbまたはKで拘縮を発生させる場合は300~400mOsmとなっている。ところで、浸透圧変化のみで拘縮状態を起させるには約2000mOsm以上の圧が必要であるし、その際みられる拘縮はむしろ硬直的である。

また、拘縮を誘発させる際に、溶液の濃度変化およびその作用時間によっても拘縮高をかえることができ、可逆的であることも確認されている。このような拘縮はくり返し発生させられるが、Irwinら<sup>8)</sup>がslow

Rb 拘縮の若干の特徴について

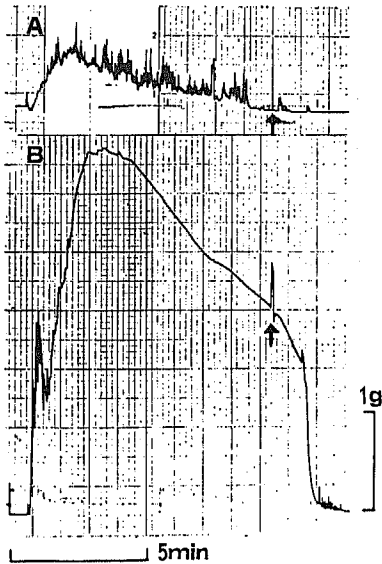


図7 拘縮曲線に対する低温の影響

縦棒：1g  
 横棒：5分  
 標本：M. sartorius, 筋線維数約500本  
 A：60mM Rb-Ringer液, 25°Cの拘縮  
 B：60mM Rb-Ringer液, 0°Cの拘縮  
 矢印の時点で、正常 Ringer 液にもどす。Aの曲線にのった spike 状の変化は、ノイズとみなされる

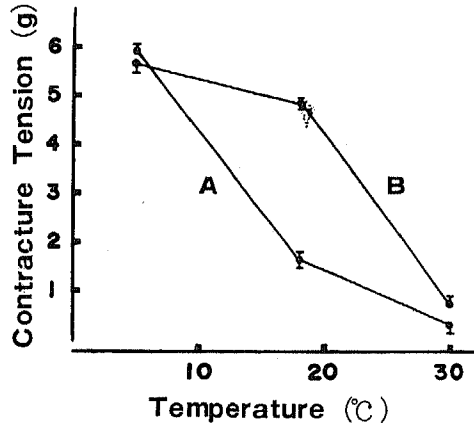


図8 温度変化と拘縮高の関係

縦軸：拘縮高 (g)  
 横軸：外液温度  
 A：75mM Rb-Ringer 液  
 B：75mM K-Ringer 液  
 図中各点は平均値および標準偏差値

表1 RbおよびKの拘縮誘発指数 (C.I.I.)

標本：M. semitendinosus, 筋線維数約100本。各数値は平均値±標準偏差値。

C.I.I. \ mM	20	30	50	60	75	100
Rb-Ringer 液	0	3.3 ±1.7	14.6 ±4.8	16.7 ±2.0	21.3 ±1.6	21.0 ±2.5
K-Ringer 液	0	6.7 ±1.3	24.0 ±3.2	33.3 ±3.0	64.0 ±5.3	76.0 ±3.0

表2 各種溶液の拘縮誘発指数 (C.I.I.)

標本：M. semitendinosus, 筋線維数約100本。各数値は平均値±標準偏差値

1174 mM Na-Ringer 液	4.1±0.2
1174 mM Li-Ringer 液	1.1±0.1
1174 mM Saccharose-Ringer 液	0.9±0.1
10 mM Caffeine + 正常 Ringer 液	352.0±0.2

type の骨格筋線維で示した ACh 拘縮などにくらべると、Rb および K による拘縮では、拘縮高がくり返し過程で若干減少する傾向も認められる。ただし、作用時間の長さによって拘縮高が異なる問題は、一つは Rb イオンの拡散、透過に時間がかかることを意味している。このことは図9に示すように、拘縮の経過中におも電気刺激に応じて単収縮があらわれていること

からも、推察される。すなわち、筋線維群の中心部では脱分極が完了していないことを示している。筋線維群が単一筋線維であれば、反応は濃度には依存するが、作用時間にはそれほど依存しないと考えられるが、力学的な実験では標本にある程度の強度を必要とするので、単一筋線維は実験材料として適当ではない。

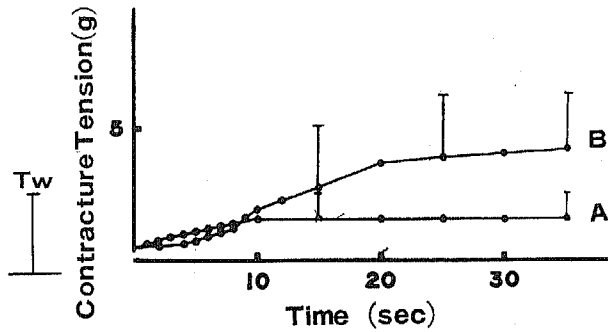


図9 RbおよびK拘縮の比較と単収縮高の減少経過

縦軸：拘縮高 (g)

横軸：作用時間 (秒)

標本：M. semitendinosus, 筋線維数約200本

液温：20°C

Tw：正常 Ringer 液中の単収縮高

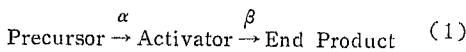
刺激条件：40V, 1.0msec

A：Rb拘縮 (75mM Rb-Ringer 液) 経過および拘縮中の単収縮高経過

B：K拘縮 (75mM K-Ringer 液) 経過および拘縮中の単収縮高経過

図7に示したような拘縮曲線には、spike 状の部分と dome 状の部分があるが、拡散に時間を要しない表層細胞群が速やかに反応し、内層の細胞が徐々に反応するので、そのような波形が得られるとも解釈されるが、一方、Isaacson ら<sup>9)</sup>の述べているように、fast 線維群と slow 線維群の混在がその理由であるかもしれない。

今、拘縮の過程を実験式で表現することとし、その過程が Hodgkin ら<sup>2)</sup>の言うごとく、



の、反応の経過であられるものとすれば、その経過は slow 線維群に対しては (S) の集積、

$$(S) = \frac{\alpha_1}{\beta_1 - \alpha_1} (e^{-\alpha_1 t} - e^{-\beta_1 t}) \quad (2)$$

が拘縮曲線に関係し、fast 線維群に対しては (F) の集積、すなわち、

$$(F) = \frac{\alpha_2}{\beta_2 - \alpha_2} (e^{-\alpha_2 t} - e^{-\beta_2 t}) \quad (3)$$

が拘縮曲線に関係し、それらを合成すると、図7、Bのごとく筋線維群全体の曲線が求められるとすべきである。(2)、(3)の $\alpha$ 、 $\beta$ はそれぞれ(1)の矢印部分での反応速度定数で、波形の立ち上り、下りの時定数の逆数を示している。時定数は図7、Bの例

では、(S)の例に対してはそれぞれ数分の程度であり、(F)の例に対しては1分以内の程度である。Hodgkin らは Activator を1種類としているが、ここでは(S)、(F)の2種類と考えてみた。 $\alpha$ 、 $\beta$ の添字1、2はそれぞれ(S)、(F)のものであることを示している。

なお、Rbイオンの作用については、単収縮、テタヌスの他、拘縮の面からも、Kイオンとの類似点が多く認められた。特に dome 状の slow な相に対し、拘縮曲線に関する結果を位相平面上に示すと、図10のような結果が求められている。

ところで、K拘縮のおこる原因として、筋線維の脱分極による電位変化が一般には考えられているが、Rb拘縮も同じ原理であるとすれば、筋細胞はKとRbの原子構造の類似性のために両者を判別できなかったとも考えられる。そこで微小電極法により、KおよびRb拘縮中の静止電位を測定し、脱分極の経過を記録すると、速やかに経過する脱分極のあとに緩やかな経過の電位変動が起っている。この脱分極経過は、Kに比しRbの場合の方がより緩やかである。外液をRbに交換した場合、静止電位E (mV)は、

$$E = 58 \log \left\{ \frac{U_{(K)} K_{(in)}}{U_{(Rb)} Rb_{(out)}} \right\} \quad (4)$$

とみなされている<sup>3)</sup>。ただし、Uは( )内で示したイ

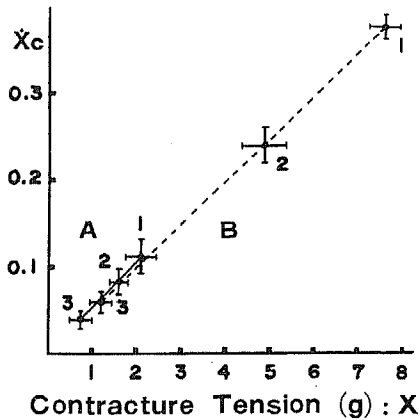


図10 Rb 拘縮とK拘縮における平均拘縮速度と拘縮高の関係

縦軸  $\bar{X}_c$ : 平均拘縮速度 (g/sec)

横軸 X: 拘縮高 (g)

液温: 18°C

A: Rb 拘縮

B: K 拘縮

Rb および K 濃度: 1 は 100mM, 2 は 75mM,

3 は 50mM

図中各点は平均値および標準偏差値

オンの mobility であり,  $K_{(in)}$  は細胞内の K,  $Rb_{(out)}$  は細胞外の Rb の濃度である。  $U_{(K)} : U_{(Rb)}$  は 1 : 0.33 であると言われているので, 当然, Rb の効果は K の効果より弱いことになる。 K, Rb の細胞膜透過性 P に対しては, Sjodin<sup>10)</sup> はそれぞれ  $P_K : P_{Rb} = 9 : 2.1$  として,

$$E = 58 \log \frac{P_K K_{(in)}}{P_{Rb} Rb_{(out)}} \quad (5)$$

の関係式を与えている。上田ら<sup>11)</sup>の計測では Rb イオンの半径は 1.71Å, K イオンの半径は 1.46Å であり, Rb の方が大ではあるが, イオン伝導度に関しては, 5mM RbCl (21°C) では  $703.5 \mu\sigma/cm$  であり, 5mM KCl (21°C) では  $662.5 \mu\sigma/cm$  であり, Sandow<sup>9)</sup>, Sjodin<sup>10)</sup> らの示したような大きい比率とはならぬことを示している。このことは, Rb 効果と K 効果との違いに, イオンの物理学的ないしは幾何学的因子以外の, 膜における何らかの生理学的因子の関与があることを示している。

前記実験成績の中で, 最も奇異な現象は図 7, 8 に示したように, 低温による Rb 拘縮の増強の現象である。Caffeine 拘縮の rapid cooling による増強に関しては, 酒井ら<sup>12)13)</sup>が報告しているが, この冷却効果

は, K ではあられわれず Rb に対して, 特に 0~5°C でよくあらわれる。低温, 特に 0°C で, Rb 拘縮が K 拘縮より増強することに対する説明は, 今後解明するべき問題であると言えよう。

最後に, 筆者ら<sup>14)</sup>の導入した拘縮誘発指数 (C.I.I.) について補足する。これは, 理論的には N を筋線維数とすると,  $C.I.I./N$  としなければならぬが, 実用的には, ほぼ太さの等しい筋線維群について, 拘縮力の測定を行い, 単一筋線維当りの値に換算しなかった。

## V 結 論

食用ガエル骨格筋をもちい, K の類似イオンである Rb により拘縮を発生させ, 次のごとき結果が求められた。

1. 外液の濃度を変化させその作用時間は 20 秒に固定し, Rb 拘縮を K のそれと比較すると, 同一濃度において 18~30°C では, 常に K 拘縮の方が拘縮高は大となった。その閾値は 30mM で, さらに, Rb 拘縮は K 拘縮に比べて, 約  $\frac{1}{2}$ ~ $\frac{1}{4}$  の大きさであった。
2. Rb 濃度を 75mM とし, 標本を浸す時間を変化させると, 作用時間の長いものの拘縮高は大となる傾向が認められた。
3. 75mM Rb-Ringer 液で, 液温を 5°C まで冷却し, 拘縮を発生させると, 反応は著明となり, K 拘縮とほぼ等しい拘縮高を生じた。さらに 0°C まで冷却すると, Rb 拘縮は K 拘縮よりかなり大となる。
4. Rb および K 拘縮が高浸透圧による現象でないことを検討するために, 1174mM Na-Ringer 液, 1174mM Li-Ringer 液, および 1174mM Saccharose-Ringer 液にて拘縮的収縮を発生させ, また 587mM Na-Ringer 液, 587mM Li-Ringer 液, および 587mM Saccharose-Ringer 液などの高張液では拘縮が生じないことを確めた。
5. 拘縮誘発物質の Mol 当りの拘縮力 (g) を, 拘縮誘発指数と定義し, ほぼ同じ位の太さの筋線維群で比較し, その値の大きさの順序に誘発物質名を並べると Caffeine > KCl > RbCl > NaCl > LiCl > Saccharose となった。

終りに臨み, 御指導と御校閲を賜った上田五雨教授に深謝いたします。また, 教室員の方々の御助力に厚く御礼申し上げます。

## 文 献

- 1) 名取礼二：骨格筋の生理学. 藤森聞一編, 生理学大系Ⅶ, 第1版, 第1章, p. 20, 医学書院, 東京, 1966
- 2) Hodgkin, A. L. and Horowicz, P. : Potassium contractures in single muscle fibres. *J. Physiol.*, 153 : 386-403, 1960
- 3) Sandow, A. and Mandel, H. : Potassium and rubidium potentials. *J. cell. comp. Physiol.*, 38 : 271-291, 1951
- 4) Guttman, R., Dowling, J. A. and Ross, S. M. : Muscle response to cooling and K. *J. cell. comp. Physiol.*, 50 : 265-276, 1957
- 5) 別府穂積：筋収縮に対する Ringer 液組成変化および陽イオン置換の影響について. *日本生理誌*, 36 : 163-175, 1974
- 6) 別府穂積：Ringer 液陽イオン組成変化の筋収縮に対する効果. *信州医誌*, 22 : 173-179, 1974
- 7) Caputo, C. : Calcium in excitation contraction coupling. *J. gen. Physiol.*, 51 : 180-187, 1968
- 8) Irwin, R. L. and Hein, M. M. : Contracture of slow striated muscle during calcium deprivation. *J. gen. Physiol.*, 47 : 133-149, 1963
- 9) Isaacson, A., Hinkes, M. J. and Taylor, S. R. : Contractile activity of fast and slow muscles. *Amer. J. Physiol.*, 218 : 33-41, 1970
- 10) Sjodin, R. : Rubidium and calcium fluxes in muscle. *J. gen. Physiol.*, 42 : 983-1003, 1959
- 11) 上田五雨, 別府穂積, 富田和英：筋収縮における陽イオン効果の理論. *日本生理誌*, 35 : 381, 1973
- 12) 酒井敏夫：興奮収縮連関. *生体科学*, 14 : 295-302, 1963
- 13) Sakai, T. and Iizuka, T. : Caffeine and rapid cooling. *Jap. J. Physiol.*, 22 : 135-145, 1972
- 14) 別府穂積, 上田五雨：Rb 拘縮とK拘縮の比較について. *日本生理誌*, 35 : 187-188, 1973

(1974. 10. 15 受稿)