

原 著

Ringer 液陽イオン組成変化の筋収縮に対する効果

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)

THE EFFECTS OF CONCENTRATION CHANGE OF
CATIONS IN RINGER SOLUTION ON MUSCLE
CONTRACTIONS

Hozumi BEPPU

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

Key words: 骨格筋 (skeletal muscle), 位相平面法 (phase-plane method), Ringer 液 (Ringer solution)

I 緒 言

時間的に変化する現象は、一般に、変量のみではなくその変化速度についても考慮しなければならない。ところで具体的な例をあげると、Close¹⁾は骨格筋の単収縮曲線を、速度、変位をそれぞれ縦軸、横軸とした位相平面であらわし、また、Jenerick²⁾は筋活動電位波形を位相平面に移して研究を進めているが、Brady³⁾らは心筋の張力曲線群を重ね書きによって検討し、時間的な変量が他の要因により変化するパターンを動的に把握することを試みている。そこで、著者は骨格筋単収縮曲線群の収縮弛緩波形を重ね書きし、さらにその特性をグラフの上で吟味するため、それらの個々の波形の収縮高を X 、平均収縮速度を \dot{X}_c 、平均弛緩速度を \dot{X}_r として、 \dot{X}_c または \dot{X}_r を縦軸、 X を横軸とする位相平面上で Ringer 液陽イオン濃度変化の効果を検討することとした。その結果、筋収縮力とその速度の変化するパターンは、原理的には4つの分類のどれかに属することとなり、陽イオン濃度変化の効果は、筋収縮力および速度を位相平面上の点で表わした場合、それらの点群によって形成される直線の特徴から理解されることとなった。筋弛緩期について

も収縮期の場合と同様の検討が加えられた。ここにこれらの方法を紹介しつつ、得られた結果の一部を報告する。ただし、位相平面上に表現される収縮速度は、ほとんど等速度になっているので、平均速度で速度に関する項を代表させ、最終到達値である収縮高と組み合わせ、位相平面の示す性質を数値化して、解析が行われている。位相平面を図形のままで解析することは、従来もすでに行われているので、今回は全く新しい方法としての数値化された位相平面法により、Ringer 液組成の影響の解析を行っている。

II 実験方法

実験には200~220gの雄の食用ガエルをもちい、脊髄破壊後、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, CaCl₂ 2.0mM, Tris buffer 0.15mM で、pHは7.4である。もちいた標本の筋線維の数はそれぞれ100~500本前後である。

張力曲線は、筋の一端を固定し他端に力電圧変換用のピックアップを連結し、ほぼ isometric の条件とし

て増巾の後、レコーダーに記録した。また、刺激には強度 10~20V、持続時間 0.05~3.0msec の単一矩形波電流をもちい、筋標本に通電した。固定部から斜上方に標本を張り、固定端には被覆した刺激電極を置いて電流滑走を防ぎ、他の一端の電極はわずかに液面より上にでた標本の一部、すなわち液面の外側に置いて刺激を行った。

はじめに、正常 Ringer 液内での筋収縮波形を記録し、次に、液交換をして、Ringer 液組成変化の際の収縮曲線について検討を行った。もちいた溶液は、1) 234.0mM NaCl の高 NaCl Ringer 液、2) 浸透圧調整をしない 11.7mM NaCl の低 NaCl Ringer 液、3) 浸透圧調整をした 11.7mM NaCl の NaCl Ringer 液 (Saccharose : 198.7mM 液にて浸透圧調整をした)、4) 10.0mM KCl の高 KCl Ringer 液、5) 10.0 mM CaCl₂ の高 CaCl₂ Ringer 液、6) 0.2mM CaCl₂ の低 CaCl₂ Ringer 液である。

実験はすべて室温にて行った。

Ⅲ 実験結果

1. 平均収縮速度、平均弛緩速度、および 4 種類の筋収縮の型について

図 1 の如く、筋収縮曲線の収縮高 QS を X (g) とし、平均収縮速度 \dot{X}_c を X/PQ (g/sec)、平均弛緩速度 \dot{X}_r を X/QR (g/sec) とした。また重ね書きにより、筋収縮の型は理論的には次の 4 種類に分類された⁴⁾。そこで、図形と記号、数式的関係を示すと次のようになる。

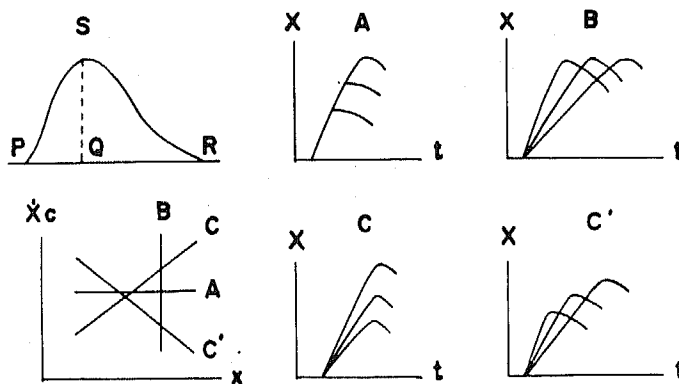


図 1 基本的波形 (左上)、位相平面 (左下)、および 4 種類の筋収縮の型 (A, B, C, C') について

X : 収縮高, t : 秒, \dot{X}_c : QS/PQ : 平均収縮速度,

\dot{X}_r : QS/QR : 平均弛緩速度

収縮群重ね書き : 分類記号 : 位相平面上のデータの数式表示

図 1 中上の如き例 : A : $\dot{X}_c = \text{constant}$

図 1 右上の如き例 : B : $X = \text{constant}$

図 1 中下の如き例 : C : $\dot{X}_c = aX$ ($a > 0$)

図 1 右下の如き例 : C' : $\dot{X}_c = aX$ ($a < 0$)

ただし、上の式に表われた a は何れも定数である。

次に説明する図 2, 3, 4, 5, 6, 7 は、それぞれの溶液の収縮曲線に対する影響をみたものであるが、典型的な結果を示したものの例を重ね書きにし、かつそれらについて、 \dot{X}_c -X, \dot{X}_r -X 平面上に効果を示したものである。

2. 234.0mM NaCl Ringer 液の効果

経時的にみて、X, \dot{X}_c , \dot{X}_r 値の著しい低下が認められた。(図 2)

3. 浸透圧調整をしない 11.7mM NaCl Ringer 液の効果

経時的にみて、X, \dot{X}_c 値の低下が著明であるが、さらに筋弛緩期は基線にもどりにくく、 \dot{X}_r 値は著しく低下した。(図 3)

4. 198.7mM Saccharose で浸透圧調整をした 11.7mM NaCl Ringer 液の効果

Saccharose にて浸透圧調整をした 11.7mM NaCl Ringer 液は、234.0mM NaCl Ringer 液、および浸透圧調整をしない 11.7mM NaCl Ringer 液と同様に、X, \dot{X}_c , \dot{X}_r 値の低下を認めた。(図 2, 3, 4)

5. 10.0mM KCl Ringer 液の効果

一過性に \dot{X}_c , \dot{X}_r 値の上昇が認められたが、経時

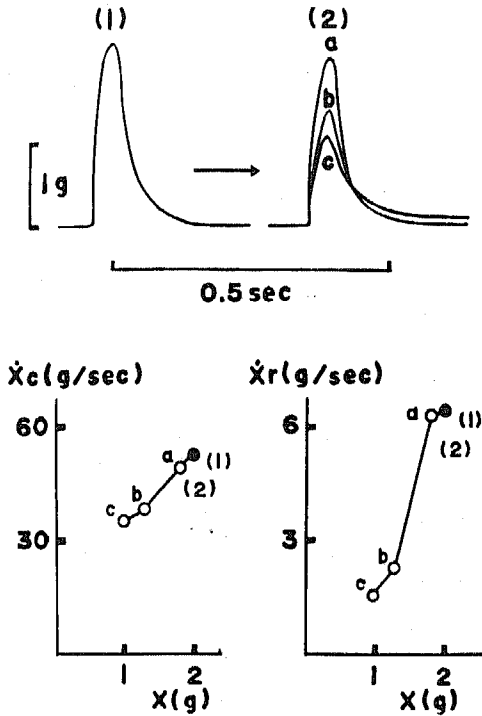


図2 234.0mM NaCl Ringer 液の効果

- (1) 正常 Ringer 液
 - (2) 234.0mM NaCl Ringer 液
 - a : 30秒
 - b : 5分
 - c : 10分
- 標本: M. sartorius, 約 500 本
刺激条件: 20V, 0.05 msec

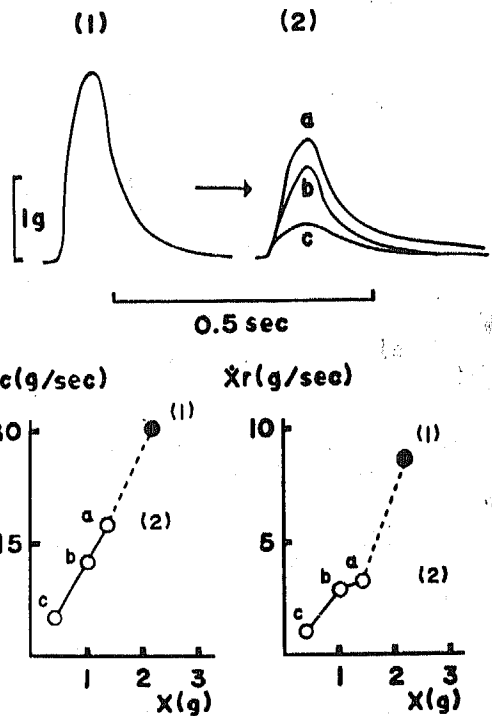


図3 浸透圧調整をしない 11.7mM NaCl Ringer 液の効果

- (1) 正常 Ringer 液
 - (2) 11.7mM NaCl Ringer 液
(Saccharose : 0 mM)
- a : 3分
 - b : 5分
 - c : 10分
- 標本: M. semitendinosus, 約 200 本
刺激条件: 10V, 2.0 msec

的にみると、それらの値も、しだいに低下し続けた。(図5)

6. 10.0mM CaCl₂ Ringer 液の効果

経時的にみて、X, \dot{X}_c , \dot{X}_r 値の上昇が認められた。(図6)

7. 0.2mM CaCl₂ Ringer 液の効果

経時的にみて、X の上昇, \dot{X}_c , \dot{X}_r 値の低下が認められた。(図7)

8. Ringer 液組成変化の影響の

正常 Ringer 液での収縮波形の X, \dot{X}_c 値をそれぞれ 100% とし、Ringer 液組成変化後の X, \dot{X}_c 値を% で求め、それらの平均値を表 1 に総括した。すなわち、10.0mM CaCl₂ Ringer 液, 0.2mM CaCl₂ Ringer 液および 10.0mM KCl Ringer 液の X 値, 10.0

mM CaCl₂ Ringer 液と 10.0mM KCl Ringer 液の \dot{X}_c 値は対照値 (100%) より増加し、浸透圧調整をしない 11.7mM NaCl Ringer 液, 浸透圧調整をした 11.7mM NaCl Ringer 液と 234.0mM NaCl Ringer 液でのそれぞれの値は減少した。

9. Ringer 液組成変化の影響の位相平面上への表現

横軸に正常 Ringer 液の X (100%) に対する Ringer 液組成変化後の X の% をとり、縦軸に正常 Ringer 液の \dot{X}_c (100%) に対する Ringer 液組成変化後の \dot{X}_c の% をとり、表 1 の値を図 8 に示した。図 8 から明らかのように、 \dot{X}_c に関して、表 1 に示した実験条件下

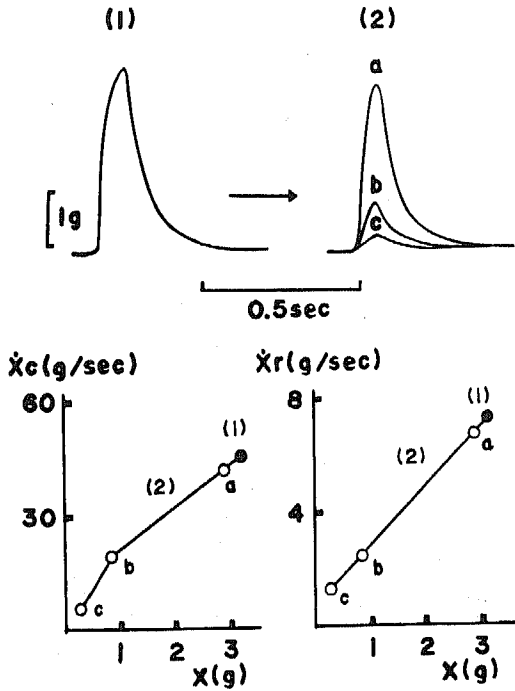


図4 浸透圧調整をした 11.7mM NaCl Ringer 液の効果

- (1) 正常 Ringer 液
- (2) 11.7mM NaCl Ringer 液
(Saccharose : 198.7mM)
- a : 1分
- b : 10分
- c : 20分
- 標本 : M. sartorius, 約 100 本
- 刺激条件 : 20 V, 0.1 msec

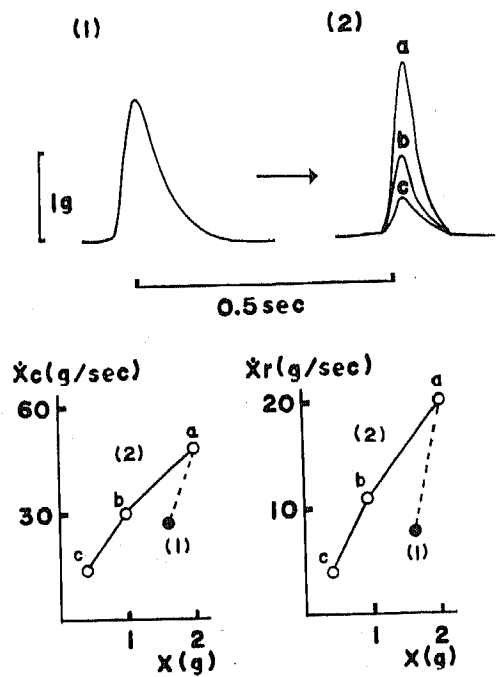


図5 10.0mM KCl Ringer 液の効果

- (1) 正常 Ringer 液
- (2) 10.0mM KCl Ringer 液
- a : 3分
- b : 6分
- c : 9分
- 標本 : M. semitendinosus, 約 100 本
- 刺激条件 : 20 V, 1.0 msec

表1 Ringer 液成分の組成変化後の筋収縮波形パラメーターの変化率

	※	X (%)	\dot{X}_c (%)	備考
234.0mM NaCl Ringer 液	1	62.5 5.6	68.1 18.1	6 例 5 分後
11.7mM NaCl Ringer 液 (Saccharose : 0mM)	2	37.0 16.2	34.1 12.6	9 例 5 分後
11.7mM NaCl Ringer 液 (Saccharose : 198.7mM)	3	42.5 11.3	45.9 6.9	7 例 5 分後
10.0mM KCl Ringer 液	4	120.3 12.6	121.3 121.3	6 例 6 分後
10.0mM CaCl ₂ Ringer 液	5	152.7 28.7	133.3 39.3	8 例 10 分後
0.2mM CaCl ₂ Ringer 液	6	108.6 42.4	94.5 49.0	9 例 10 分後

正常 Ringer 液中の X, \dot{X}_c の値を 100% とした場合の各グループの値。上が平均値, 下が標準偏差
※の欄の数字 : 各々の溶液に 1 ~ 6 の番号をつけたが, それらの番号は図 8 のものと対応している。

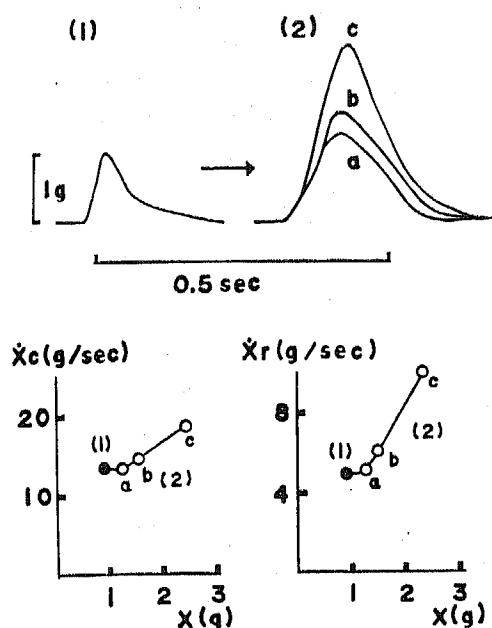


図6 10.0mM CaCl₂ Ringer 液の効果

- (1) 正常 Ringer 液
- (2) 10.0mM CaCl₂ Ringer 液
- a : 1分
- b : 5分
- c : 10分
- 標本 : M. sartorius, 約 100 本
- 刺激条件 : 20 V, 0.1 msec

では、筋収縮高が増大する時、低 CaCl₂ Ringer 液の場合を除いては、その速度も大きくなり、収縮高が低下すると速度も減少することが認められた。

IV 考 察

Ringer 液陽イオン濃度変化の影響を重ね書きし⁷⁾筋収縮の波形変化を、 \dot{X}_c -X、 \dot{X}_r -X の位相平面で見ると、従来の X のみでみる方法より詳細に状態が把握できる。また筋収縮の波形は4種類の型に分類できた。

Ringer 液陽イオン濃度変化の影響を \dot{X}_c -X 平面にて示すと、多くはC型を示した。すなわち 234.0mM NaCl Ringer 液、浸透圧調整をしない 11.7mM NaCl Ringer 液、浸透圧調整をした 11.7mM NaCl Ringer 液、10.0mM KCl Ringer 液、10.0mM CaCl₂ Ringer 液にてみられ、C'型は 0.2mM CaCl₂ Ringer 液の効果の一部に認められた。また図7の \dot{X}_r -X 平面

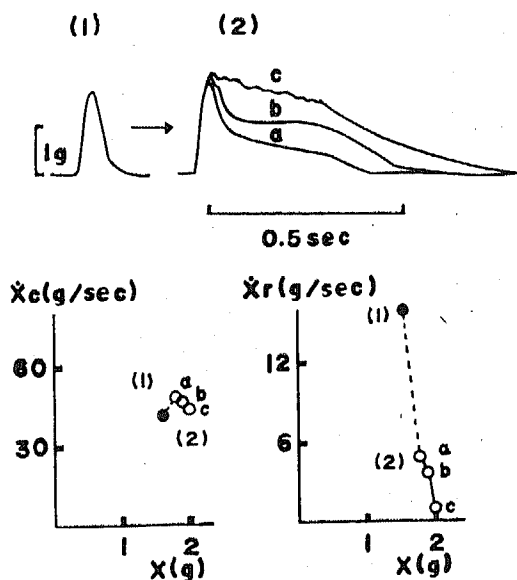


図7 0.2mM CaCl₂ Ringer 液の効果

- (1) 正常 Ringer 液
- (2) 0.2mM CaCl₂ Ringer 液
- a : 1分
- b : 5分
- c : 10分
- 標本 : M. sartorius, 約 100 本
- 刺激条件 : 20 V, 0.1 msec

で 0.2mM CaCl₂ Ringer 液の影響はややB型的となっている。低 CaCl₂ Ringer 液の弛緩期の分析では多くの例でB型的となるものを認めた。

Na イオンの主な作用は活動電位の発生と、浸透圧調整であるが、Saccharose 等で浸透圧調整を行った 11.7mM NaCl Ringer 液でも収縮高の減少が認められる。Lännergren & Noth⁹⁾は高張液では静止張力を増し、低張液では静止張力が低下するとしているが、今回の実験からは収縮高、収縮速度等に関しては両者に差がみられず、ともに値の低下が認められた。

標本剔出後、結局、収縮高、収縮速度等は最終的には Ringer 液内に保存しても、低下するものであるが、過渡的には逆に増加する例がみられるということであり、その一つの例が高 KCl の作用の場合である。この際、細胞膜の電位は脱分極的に変化し、拘縮をおこし易い状態になるが、電気刺激に対しては、Sandow & Kahn¹⁰⁾、Chapman¹¹⁾らも高 KCl での収縮高の増大を観察している。特に Chapman は、刺激に対し、筋の横行小管系の膜電位が細胞内 Ca の結合

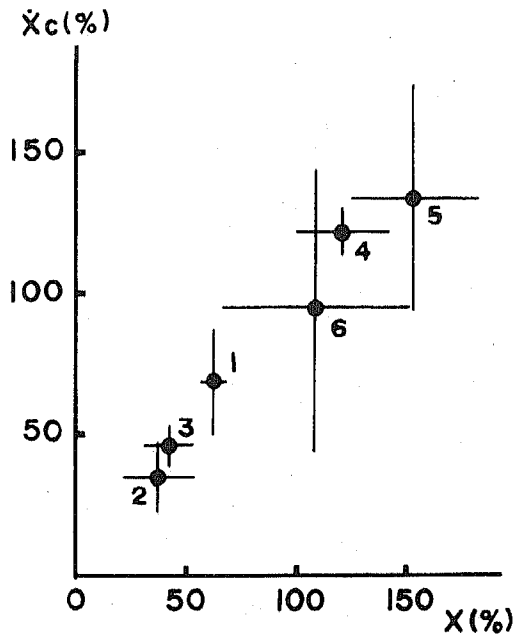


図 8 Ringer 液組成変化の影響の総括

横軸：正常 Ringer 液の X に対する Ringer 液組成変化後の X の比率 (%)

縦軸：正常 Ringer 液の \dot{X}_c に対する Ringer 液組成変化後の \dot{X}_c の比率 (%)

図中の各平均値のそばに記した数字 1~6 は、表 1 に記したものに相当する。

状態を変化させ、triad からの Ca の放出の効率を高めるので、一時的に収縮高が高まると解釈している。また、Lännergren の言うように高 KCl 側で筋の弾性率が低下するとすれば¹²⁾、それが収縮高の増加の一因となることも考えられる。一方、Thames らは¹³⁾、skinned fiber をもちいて、高 KCl 下での高 CaCl₂ 性収縮に対し、 \dot{X}_c の大となることを記載している。また、予想と逆になる今一つの例は、0.2mM CaCl₂ Ringer 液の変化である。Edman ら¹⁴⁾は、低 CaCl₂ Ringer 液で静止電位の低下があり 2 時間で筋線維群の実験例数の 55% には興奮性の消失がみられ、残りのものも収縮高は対照の半分位に低下すると述べているが、Caputo¹⁵⁾は脱 CaCl₂ Ringer 液で、単一筋線維を 1 秒 1 回の割合で刺激し、収縮高の増加は 150 回位、すなわち 2 分 30 秒位続き、その後急激に収縮高の低下することを観察し、その説明としては、筋線維膜の変化により、収縮要素の閾値が変化することを想定している。

さらに CaCl₂ と KCl の拮抗作用は心筋等では古くから知られているが、骨格筋についても、Burton¹⁶⁾によって説明されている。今回の実験に際し 0.2mM CaCl₂ Ringer 液で、 \dot{X}_r 値が低下するところから、脱 CaCl₂ Ringer 液に 10.0mM KCl を加え、正常 Ringer 液の筋張力曲線の重ね書きと比較してみたが、500 本位の筋線維群で 5 分以内では、X、 \dot{X}_c 、 \dot{X}_r 値ともに著明な差が現われないことが認められた。この事実は骨格筋の張力における CaCl₂ と KCl の拮抗的な作用を示すものである。

また、脱 KCl Ringer 液の効果はこの位相平面で検討したが、正常 Ringer 液の場合との間に著明な差は認められなかったため、ここでは省略することとした。

最後に、平均収縮速度、平均弛緩速度は、本来、速度なので、長さ/時間 (cm/sec) で表示しなければならないものであるが、収縮高を力すなわち重さ (g) に換算しており、この g 数は長さ (cm) に比例するものなので、 \dot{X}_c 、 \dot{X}_r 値は図表中では g/sec の unit として表示した。また単収縮発生時、刺激電圧を V、刺激電流持続時間を t (msec) とすれば、張力 X は、 $X = f(t, V)$ となり、たえず変化するものであるし、収縮高の絶対値は、筋の長さ、太さ、温度等によっても変化する¹⁷⁾。そこで個々の X、 \dot{X}_c 、 \dot{X}_r 値ではなく、正常 Ringer 液の X、 \dot{X}_c 、 \dot{X}_r 値を対照として、Ringer 液陽イオン濃度変化の効果を百分率 (%) に換算したもの (表 1) によって、データの解釈を行うこととした。

V 結 論

食用蛙骨格筋収縮曲線について、次の如き結果が求められた。

1. 234.0mM NaCl Ringer 液、浸透圧調整をしない 11.7mM NaCl Ringer 液、および 198.7mM Saccharose で浸透圧調整をした 11.7mM NaCl Ringer 液のいずれも 5 分までの比較では、X、 \dot{X}_c 、 \dot{X}_r 値の低下を認めた。

2. 10.0mM KCl Ringer 液の効果としては、 \dot{X}_c 、 \dot{X}_r 値がともに増加を示し、かつ一過性の X 増加が示されている。

3. 10.0mM CaCl₂ Ringer 液の中で収縮期および弛緩期時間は延長するが、X の増加もみられるので、結局、 \dot{X}_c 、 \dot{X}_r 値の増大が認められた。

4. 0.2mM CaCl₂ Ringer 液の効果としては、筋弛

緩期の延長による \dot{X}_r 値の低下が著しく、多くの例で一過性の X 増加も認められた。

稿を終るにあたり、御指導御校閲をいただいた上田五雨教授に深く感謝の意を表します。また、御援助下さった教職員の方々に厚く御礼申し上げます。

文 献

- 1) Close, A.: The pattern of activation in the sartorius muscle of the frog. *J. gen. Physiol.*, 46: 1-18, 1962
- 2) Jenerick, H.: Phase plane trajectories of the muscle spike potential *Biophys. J.*, 3: 363-377, 1963
- 3) Brady, A. J., Abbott, B. C. & Mommaerts, W. F. H. M.: Effect of impulse trains on cardiac contraction. *J. gen. Physiol.*, 44: 415-432, 1960
- 4) 上田五雨, 別府穂積: 3種類の筋収縮の型について. *日本生理誌*, 34: 245, 1972
- 5) Ueda, G., Beppu, H. & Beppu, Y.: Phase plane analysis of muscular contraction and relaxation. *Proc. int. Un. Physiol. Sci.*, 9: 573, 1971
- 6) 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
- 7) 上田五雨, 別府穂積: 筋収縮群の重ね書き理論. *日本生理誌*, 43: 539, 1972
- 8) 上田五雨: 筋収縮類型群の理論. *日本生物物理学会*, 第12回年会記録: 113, 1973
- 9) Lännergren, J. & Noth, J.: Resting tension of muscle fiber. *J. gen. Physiol.*, 62: 737-755, 1973
- 10) Sandow, A. & Kahn, A. J.: The immediate effects of potassium on responses of skeletal muscle. *J. cell. comp. Physiol.*, 40: 89-114, 1952
- 11) Chapman, J. B.: Potentiating effect of potassium on skeletal muscle twitch. *Amer. J. Physiol.*, 217: 898-902, 1969
- 12) Lännergren, J.: Low-level activation and mechanical properties of muscle. *J. gen. Physiol.*, 58: 145-162, 1971
- 13) Thames, M., Teichholz, L. E. & Podolsky, R. J.: Ionic strength and contraction kinetics. *J. gen. Physiol.*, 63: 509-530, 1974
- 14) Edman, K. A. P. & Grieve, D. W.: Calcium lack and contractility. *J. Physiol.*, 170: 138-152, 1964
- 15) Caputo, C. & Gimenez, M.: Calcium effect on muscle fibers. *J. gen. Physiol.*, 50: 2177-2193, 1967
- 16) Burton, R. F.: Ionic concentrations in internal media of animals. *Biol. Rev.*, 48: 195-231, 1973
- 17) 上田五雨: 筋運動の力学的原理. *現代医療*, 4: 1243-1245, 1972

(1974. 8. 19 受稿)