

氏 名 長 沢 純 一 郎

授 与 学 位 医 学 博 士

学位授与年月日 昭和 4 0 年 3 月 2 5 日

学位授与の根拠法規 学位規則第 5 条第 1 項

研究科・専攻の名称 東北大学大学院医学研究科  
内科学系

学 位 論 文 題 目 Calcium Movement in the smooth Muscle  
of Guinea-pig Taenia coli  
「モルモット平滑筋におけるカルシウムイオンの  
移動

指 導 教 官 東北大学教授 鳥 飼 龍 生

論文審査委員 東北大学教授 和 田 正 男

東北大学教授 石 橋 俊 実

## 論 文 内 容 要 旨

近年生理学に細胞内微小電極法の技術が導入され、神経、筋などの興奮性組織における静止電位及び活動電位の精密な観察が可能となつた。この結果、組織の興奮並びに筋収縮の過程にはKと共にNa及びCa等の無機ionが重要な役割を果たしている事が明らかにされた。即ち静止電位は一般に細胞内外のK ionの濃度差により決定され、活動電位は細胞内へのNa ionの一過性の移動により生ずると考えられる。これに対しCa ionは筋収縮に密接な関係を有し、筋細胞膜の興奮と筋細胞内の収縮蛋白の活動の仲介をなすといわれる。平滑筋も自発活動を有する興奮性組織であつて、各種ionの作用も骨格筋の場合と共通な点が多い。細胞活動の際におこるionの移動は放射性同位元素を用いて追跡する事が可能であるが、Caについてはその正確な化学的定量が困難な事、Na、Kに比し組織のCa含有量が低い事、 $^{45}\text{Ca}$ の放射線のenergyが弱い事などにより組織における $^{45}\text{Ca}$ の追跡実験には困難が多く、平滑筋に關しては従来Schatzmann等二三の報告があるに過ぎない。本研究は平滑筋組織としてモルモットの結腸紐(taenia coli)を用い、この組織におけるCa ionの移動を諸種の条件下で観察したものである。

### 実 験 方 法

実験に用いた材料はモルモット結腸紐で、これを生体時の長さからガラス枠に固定し、酸素を通じた $37^{\circ}\text{C}$ のKrebs-Ringer液に保存し実験を行なつた。放射性 $^{45}\text{Ca}$ 或は $^{42}\text{K}$ を含む実験液は、正常Krebs-Ringer液にこれ等isotopeの一定量を加えて調整された。組織へのisotopeの取り入れ(uptake)及び組織からのisotopeの放出(efflux)は、一定時間ごとに組織を連続的に実験液から取り出し、その放射能をG-M counterで測定する事により得られた。薬物によるeffluxは、あらかじめ $^{45}\text{Ca}$ でLabelした組織を3分間づつ2 mlのKrebs-Ringer液にひたし、この液中に遊出した $^{45}\text{Ca}$ をgas flow counterで計測して得られた。組織の電解質含有量は組織を硝酸で灰化した後、焰光光度計で測定した。

### 実 験 結 果

1) Caの移動に対する温度の影響;  $^{45}\text{Ca}$ の組織への取り入れ(uptake)は、外液の温度にほとんど影響されない。外液の温度が $37^{\circ}\text{C}$ 及び $20^{\circ}\text{C}$ の際 $^{45}\text{Ca}$ のuptakeは、ほぼ同じ経過を示して約150分後に平衡状態に達し、その最終値は外液のCa濃度(1.8 mM)にほぼ一致した。これに対し $^{45}\text{Ca}$ が組織から失なわれる割合(efflux rate)は温度に著し

く影響され、外液の温度が高い程、組織から $^{45}\text{Ca}$ が早く失なわれ、又低温で組織に残留している $^{45}\text{Ca}$ は外液の温度を上げる事により急速に減少する結果が得られた、以上の事から外液の温度が低い際には、組織に $^{45}\text{Ca}$ が貯留する傾向がある事が判明した。2) Caの移動に対するEDTAの影響；筋収縮の際のCa及びMg ionの作用を調べる為これ等に対する強力なChelating agentであるEDTA(ethylenediamine-tetraacetic acid)が屢々用いられる。EDTA(4mM)を含むRinger中では組織内の $^{45}\text{Ca}$ は正常Ringerの場合に比し速やかに減少し、この際のhalf-timeは正常Ringer中では55分、EDTA-Ringer中では25分であつた。単にRinger中のCaを除いただけでは、この様な著しい $^{45}\text{Ca}$ の減少は認められなかつた。EDTAは更に組織内のK含有量をも著しく低下せしめ、この減少はCa ion投与により或程度まで可逆的に回復する事が、 $^{42}\text{K}$ を用いて確かめられた。結腸紐のNa, K含有量は正常Ringer中では、 $\text{Na}=82.1 \pm 7.14$ ,  $\text{K}=77.9 \pm 8.31 \text{ m-mole/Kg wet wt.}$ であるが、EDTA-Ringer中で30分孵置すると、 $\text{Na}=137.4 \pm 7.05$ ,  $\text{K}=17.3 \pm 6.70 \text{ m-mole/kg wet wt.}$ となり、この間に約60 m-moleのK ionの減少と55 m-moleのNa ionの増加が生ずる事が観察された。

3) カリウムによる脱分極及び諸種薬物の影響；平滑筋は高濃度のKで脱分極をおこさせると、Potassium contractureといわれる持続的収縮をおこす。KCl及び $\text{K}_2\text{SO}_4$ により結腸紐の $^{45}\text{Ca}$ のeffluxは明らかな増加を示した。結腸紐はACh, histamine及びSerotoninにより収縮し、adrenalineによつては弛緩するが、これらの中histamine, serotonin及びadrenalineはいずれも $^{45}\text{Ca}$ のeffluxを増加せしめた。しかし、AChは最も強い結腸紐収縮作用を有するにも拘わらず、 $^{45}\text{Ca}$ のeffluxに関しては著明な変化を示さなかつた。

## 考 按

著者は先に結腸紐において $^{24}\text{Na}$ 及び $^{42}\text{K}$ の移動に対する温度の影響を観察し、この組織において温度に依存するNaのactive transport mechanismが存在する事を指摘したが、本実験で得られた $^{45}\text{Ca}$ の移動の結果は $^{24}\text{Na}$ の場合とよく一致し、CaについてもNaと同様のactive transport mechanismが存在する事が推測される。しかしこの問題に関しては更に精密な $^{45}\text{Ca}$ のnet influx及び組織Ca含有量の測定が必要と考えられる。EDTAは従来Ca ionのchelate剤としての作用のみが取り上げられて来たが、本実験に示された如くEDTAは同時に組織内のNa, K組成にも大きな変化をもたらすものである。これは細胞膜に結合型として存在するCaもEDTA投与により同時に減少する為、膜に構造的変化を生じNa ionに対する膜の選択的透過性が障害された為に生ずると考えられる。骨格筋や心筋においては収縮に際しCaのeffluxも増加するが、同時にそれを上まわるinfluxの増加が生じ、その為細胞内に遊離のCaが増加する事が認められている。結腸紐の収縮の際のinfluxの測定は現在まだ技術的に困難な点が多く、本実験では単にeffluxの変化をみるに止まつた。一般に結腸紐において $^{45}\text{Ca}$ のeffluxもKの場合と同様に収縮により増加するが、AChについては著明な変化が認められず、Kの場合とは異なる機構が存在すると考えられる。今后更にinfluxの追求等によりこれを解明する事が必要である。

## 審 査 結 果 の 要 旨

生理学においてHodgkin, Huxley等のイオン説が提唱されて以来、各種興奮性組織の活動に際して生ずる電気現象が多く研究者によつて精細に報告されて来ている。しかし本来細胞の電気活動と同時に研究されるべき、細胞活動に際しての細胞膜を通してのイオンの移動については、殊に我国においては、従来ほとんどその報告を見ていない。

著者は平滑筋組織としてモルモットの結腸紐を用い、この組織におけるNa, K, Caイオンの移動を各種条件下で、これ等イオンの放射性同位元素を用いて追究した。本論文は特にCaイオンを中心として研究したものであるが、その結果、Caイオンは低温のKrebs-Ringer液中では細胞内に貯留する傾向を示し、且つこのCaは外液の温度を上昇させる事により急速に減少するという、Naイオンの移動の場合とほぼ等しい傾向が認められ、CaについてもNaの場合と同様にactive transport mechanismがこの組織に存在する可能性が示された。又Caのchelate剤であるEDTAの存在下では結腸紐平滑筋細胞内のCaイオンが急速に減少するのみならず、同時に細胞内のKイオンが多量に失われ、これがほぼ同量のNaイオンにより補なわれる事が判明した。これはEDTAの作用が単にCaイオンを減少させるだけでなく、同時に細胞膜に存在する結合型Caをも減少せしめ、その結果細胞膜に構造学的な変化をおこすためと考えられる。高カリウム液による結腸紐のpotassium contractureの状態ではCaイオンのeffluxが増加する事が示されたが、これは骨格筋のpotassium contractureの場合と一致する所見である。又平滑筋に作用する種々の薬物即ちhistamine, serotonin及びadrenalineによりCaのeffluxが増加する結果が得られたが、acetylcholineによつてはeffluxの変化は一定の傾向を示さず、acetylcholineの作用はCaイオンに関しては他の薬物と異なる点がある事を推定させた。

これらの結果は、平滑筋生理学における筋収縮とCaイオンとの関係を解明する上に、貢献する点があるものと考えられる。よつて本論文は学位に値するものと認める。