



北海道公立大学法人
札幌医科大学
Sapporo Medical University

札幌医科大学学術機関リポジトリ *ikor*

SAPPORO MEDICAL UNIVERSITY INFORMATION AND KNOWLEDGE REPOSITORY

Title	カエル縫工筋に対するプロスタグランジンの収縮増強作用
Author(s)	乾, 公美;石澤, 光郎
Citation	札幌医科大学保健医療学部紀要,第 1 号: 31-36
Issue Date	1997 年
DOI	10.15114/bshs.1.31
Doc URL	http://ir.cc.sapmed.ac.jp/dspace/handle/123456789/6597
Type	Journal Article
Additional Information	
File Information	n13449192131.pdf

- コンテンツの著作権は、執筆者、出版社等が有します。
- 利用については、著作権法に規定されている私的使用や引用等の範囲内で行ってください。
- 著作権法に規定されている私的使用や引用等の範囲を越える利用を行う場合には、著作権者の許諾を得てください。

カエル縫工筋に対するプロスタグランジンの収縮増強作用

乾 公美¹, 石澤光郎²札幌医科大学保健医療学部理学療法学科¹札幌医科大学保健医療学部作業療法学科²

要 旨

カエル縫工筋標本の収縮に対するプロスタグランジン (PGs) の作用およびその作用機序について検討した。100 μ MのPGE₂とPGF₂ α は、筋の静止張力に影響を与えなかったが、1 μ M以上では、単収縮張力を増大させた。PGsの単収縮増大作用は、カフェイン存在下でさらに強化された。10 μ MのPGE₂は、収縮潜時に影響を与えることなく、単収縮張力と50%弛緩時間を著しく増大、遅延させた。カフェイン拘縮もまた、10 μ MのPGE₂を添加したK脱分極筋や400 μ Mグリセリン高張リングル液に60分間処理した筋で強化された。

以上の結果から、PGsは興奮収縮連関に作用するのではなく、弛緩過程に作用するものと考えられる。カエル縫工筋標本におけるPGsの収縮強化効果は、筋小胞体へのCa²⁺の取り込み過程の抑制による可能性が示唆された。

<索引用語> カエル縫工筋、単収縮、プロスタグランジンE₂、-F₂ α 、カフェイン

緒 言

ラット横隔膜標本の収縮時にプロスタグランジン (PG) の遊離が認められ^{1, 2)}、しかもヒト骨格筋細胞にPGの代謝酵素が存在すること³⁾などから、PGは骨格筋において何らかの生理的役割を果たしていると考えられる。

骨格筋に対するPGの収縮作用はPG発見当初から注目されている。1935年にGoldblatt⁴⁾はエゼリン処理したカエル腹直筋においてヒト精液がアセチルコリンと同等の収縮を示すと報告している。その後Khairalla⁵⁾はカエル腹直筋においてPGE₁がACh収縮を増強することを報告している。またHortonとMain⁶⁾は非麻酔ヒヨコにPGF₂ α を静注すると腓腹筋が収縮することを報告し、その作用点は神経-筋接合部にあると推定した。しかし、GinsbergとHirst⁷⁾はカエルの神経-縫工筋標本の終板電位がPGE₁で何ら変化を示さないことから、PGは終板における神経伝達物質の遊離には影響を与えないと結論した。

一方、MarcoとCoceani⁸⁾はカエル半腱様筋や縫工筋標本においてPGE₁は単収縮を増強すると報告し、その

機序は筋細胞内の収縮要素の感受性の上昇によると推定した。また、Dhumalら⁹⁾はカエル腹直筋標本におけるPGF₂ α のACh収縮増強作用は細胞内Ca²⁺濃度の上昇によると推定した。

このように、PGは骨格筋の収縮を増強する作用があるが、その機序については明確ではない。

本研究は、カエル縫工筋標本を用いてPGE₂とPGF₂ α が筋収縮にどのように影響するかを検討した。さらに、その作用機序を種々条件下での収縮反応に対するPGE₂の影響から検討した。

実験材料および方法

1. 標本と薬物

カエル (*Rana japonica*) から摘出した縫工筋標本を用いた。実験には、Sigma社製のPGE₂、PGF₂ α 、カフェイン、プロカイン、グリセリンおよびd-ツボクラリンの薬物を使用した。

2. 方法

1) 筋収縮の測定

摘出した縫工筋の両端を糸で結紮したのち、Ringer液 [NaCl 100.0、KCl 2.0、CaCl₂ 2.0、Trisbuffer

5.0 (mM)、pH 7.2] 10mlを満した浴槽 (chamber) に水平に標本を装置した。

単収縮は筋の直接電気刺激 (5V, 1ms) による収縮張力の変化を張力計を用いて記録した。なお、電気刺激の間隔は30秒とした。

単収縮曲線は単収縮を一旦メモリーに入れた後、時間軸を延長して出力し記録した。

2) 薬物の影響

PGの影響は、浴液に10-100 μlのPG溶液を添加する方法を用いて検討した。

K脱分極筋標本はRinger液中のNaClをKClに置換したK-Ringer液にて10分以上処理して作成した。また、高張グリセリン処理筋標本は、Ringer液に400mMのグリセリンを加えた高張 Ringer 液にて60分処理して作成した。

一連の実験は、室温 (23-25℃) で行なった。

結果の有意差検定はt-検定を用い、p<0.05を有意差ありとした。

結 果

1. 静止筋に対するPGの影響

PGE₂は10および100 μMの濃度でカエル摘出縫工筋の静止張力に何ら影響を与えなかった (図1)。また、PGF₂ αも同濃度でも何ら影響を及ぼさなかった。

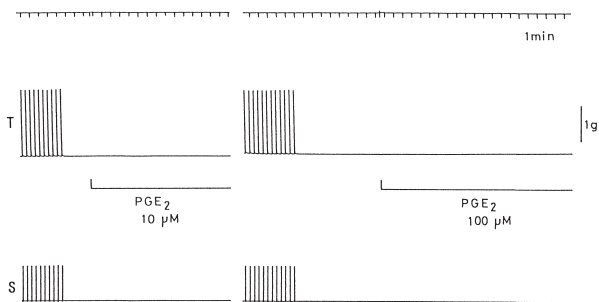


図-1 カエル縫工筋標本に対するPGE₂の作用。
Ringer液中の標本に電気刺激 (強度5V、通電時間1ms、頻度0.03Hz) を与えた後の筋静止張力と、PGE₂10 μM、100 μMを電気刺激なしに添加した時の筋静止張力は不変である。
S: 刺激マーカー、T: 張力

2. 単収縮に対するPGの影響

単収縮の張力が一定になった時点で、浴液に1 μMのPGE₂を添加したが単収縮の張力は何ら影響をうけなかった。しかし、10 μMのPGE₂を添加すると単収縮はわずかな増大を認めた。一方、カフェイン (1mM) の添加は静止張力に影響を与えないが、単収縮の張力は対照 (100%) に比し有意に増大した (107.4 ± 8.4%, p<0.05, n=7)。さらにカフェイン存在下にPGE₂ (0.01-10 μM) を添加すると、PGE₂は1 μM以上の濃度で明らかに単収縮の増大がみられ、10 μMのPGE₂では図2、表1に示す

表1 単収縮の潜時、収縮時間および50%弛緩時間に対するカフェイン (1mM) とPGE₂ (10 μM) の作用

	Latency (ms)	Contraction time (ms)	Half relaxation time (ms)	Twitch tension (%)
Control n = 10	10.67 ± 0.60	20.24 ± 1.6	9.80 ± 0.56	100
Caffeine n = 7	10.68 ± 0.50 ns	22.0 ± 2.8 p < 0.1	11.21 ± 2.00 p < 0.05	107.4 ± 8.4 p < 0.05
Caffeine + PGE ₂ n = 9	10.91 ± 0.55 ns	26.9 ± 3.7 p < 0.05	14.36 ± 1.70 p < 0.05	142.6 ± 21.9 p < 0.05

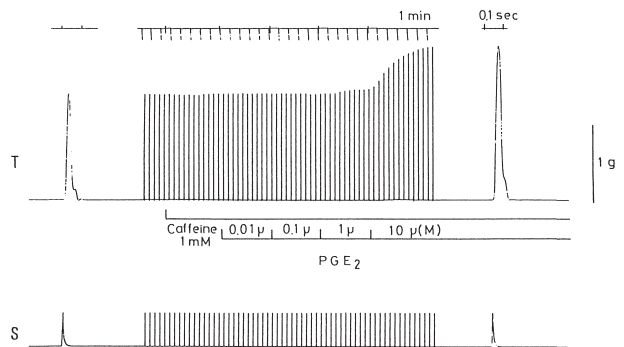


図-2 単収縮に対するPGE₂の作用
Ringer液にCaffeine (1mM) を添加し電気刺激を与えながらPGE₂の濃度を上げていくと、単収縮張力はPGE₂の濃度に依存して増大する。
S: 刺激マーカー、T: 張力

ように張力の著明な増大が認められた (142.6 ± 21.5%, p<0.05, n=9)。また、PGF₂ α (10 μM) の添加はPGE₂ (10 μM) と同程度の増強作用を示した。

電気刺激が筋標本内の神経を刺激する可能性が考えられるが、神経-筋遮断薬のクラール (d-ツボクラリン) が1 μMの濃度でPGによる単収縮増強作用に何ら影響を及ぼさなかったことから、PGが電気刺激による筋標本内の神経刺激する可能性はないと考えられた。

図3 Aにカフェイン (1mM) 存在下におけるPGE₂ (10 μM) の単収縮増強作用を示した。図3 Bは、そのときの単収縮曲線である。この単収縮曲線から求めた潜時、収縮時間および50%弛緩時間に与えるPGE₂ (10 μM) の影響を表1にまとめた。すなわち、PGE₂やカフェインは潜時に対しては何ら影響を与えず、収縮時間はカフェイン 1 mMで多少延長したが有意差は認められなかった (p<0.1)。一方、PGE₂ (10 μM) は、カフェイン (1mM) 存在下で約33%の著明な延長を示した (p<0.05)。また、カフェイン1mM存在下での50%弛緩時間は約14%延長したが、カフェイン (1mM) 存在下でのPGE₂ (10 μM) は約46%と著明な延長を示した。なお、カフェインによる筋小胞体からのCa²⁺放出作用を抑制するプロカイン (1mM) は¹⁰⁾、カフェインによる単収縮増強作用を完全に抑制したが、PGE₂ (10 μM) 単独投与による増強効果には影響を与えなかった (図4)。

3. K-脱分極筋に対するPGE₂の作用

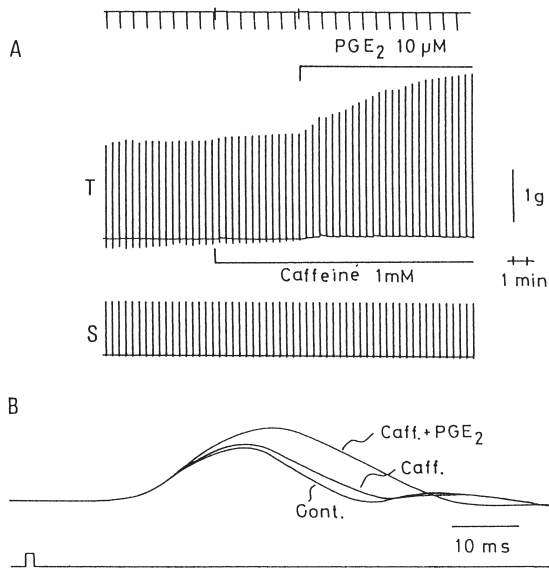


図-3 単収縮曲線に対するCaffeineとPGE₂の作用
A: 単収縮に対するCaffeine (1mM) とPGE₂ (10 µM) の作用
 Ringer液中の標本に電気刺激を与えながらCaffeine (1mM) を添加し、さらにPGE₂ (10 µM) を加えると単収縮張力は次第に増大する。
B: 単収縮曲線に対するCaffeine (1mM) とPGE₂ (10 µM) の作用
 電気刺激から張力発生までの潜時は、Ringer液 (cont.)、Caffeine (1mM) 液 (caff.)、Caffeine (1mM) +PGE₂ (10 µM) 液中で変わらないが、収縮時間、弛緩時間は、Caffeine (1mM) 液とCaffeine (1mM) +PGE₂ (10 µM) 液中で遅延する。また、Caffeine (1mM) +PGE₂ (10 µM) 液中での張力の増大が著明である。
S: 刺激マーカー、T: 張力、Cont.: 対照、Caff.: caffeine

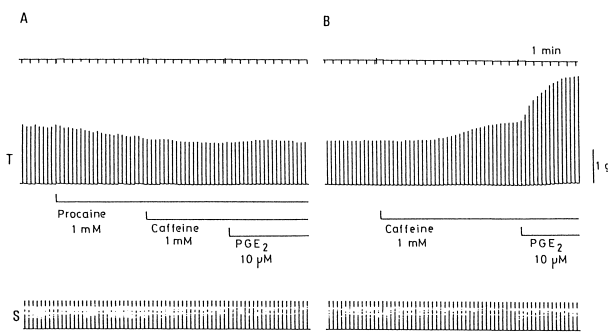


図-4 Procaineの影響
A: Procaine存在下でのCaffeineとPGE₂の単収縮増強作用
 Ringer液中の標本に電気刺激を与えながらProcaine (1mM) とCaffeine (1mM) を添加していくと単収縮張力は次第に減少するが、さらにPGE₂ (10 µM) を加えると僅かに単収縮が増強する。
B: CaffeineとPGE₂の単収縮増強作用
 Ringer液中の標本に電気刺激を与えながらCaffeine (1mM) を添加すると単収縮張力は次第に増大し、さらにPGE₂ (10 µM) を加えると一層増大される。
S: 刺激マーカー、T: 張力

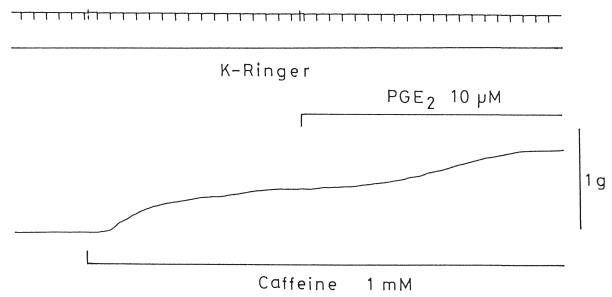


図-5 K脱分極筋のCaffeine拘縮に対するPGE₂の作用
 標本をK-Ringer液に1分以上浸した後、Caffeine (1mM) を添加するとCaffeine-拘縮を起こす。さらにPGE₂ (10 µM) を加えると拘縮は一層増強される。

Ringer液をK-Ringer液に置換すると、標本は脱分極し一過性の収縮 (K-拘縮) を生じ1分以内に静止長に戻る。この脱分極状態の標本に対するPGE₂ (10 µM) の影響を検討した。PGE₂ (10 µM) のみではK-脱分極筋に何ら影響を与えなかったが、図5に示すように3mMのカフェインは収縮 (カフェイン拘縮) を起こした。このカフェイン拘縮は10 µMのPGE₂の添加でさらに増大した。すなわち、筋細胞膜が脱分極状態の標本においてもPGの収縮増強作用がみられた。

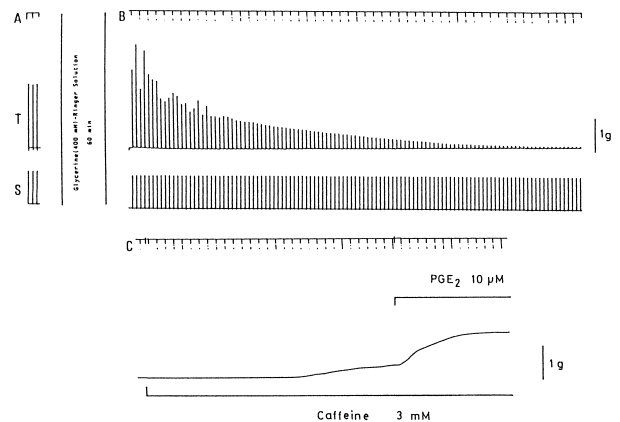


図-6 高張グリセリンRinger液処理筋におけるCaffeineとPGE₂の作用
A: 高張Ringer液中での電気刺激における単収縮張力
B: 400mMグリセリン加Ringer液にて60分処理後の電気刺激による単収縮張力
 単収縮張力は減衰し、やがて消失する。
C: 単収縮消失後のCaffeine拘縮に対するPGE₂の作用
 400mMグリセリン加Ringer液にて60分処理した標本に電気刺激を経時的に与え単収縮張力が消失した後、電気刺激を停止しCaffeine (3mM) を添加すると標本は張力を発生する。さらにPGE₂を加えると一層大きな張力を発生する。
S: 刺激マーカー、T: 張力

4. グリセリン高張Ringer液処理筋に対するPGE₂の作用
 Ringer液にグリセリン400mMを加えた高張Ringer液で標本を60分処理すると、単収縮は時間と共に減少し消失したが、カフェイン拘縮 (3mM) は惹起した。この拘縮は10 µMのPGE₂添加によりさらに増大した (図6)。

考 察

摘出した骨格筋に脱分極性の電気刺激を与えると、筋細胞膜が興奮し活動電位を発生する。この活動電位は筋細胞膜から横行小管に脱分極性の電位変化が伝播し、三連構造を経て筋小胞体が脱分極する。その結果、筋小胞体からカルシウムイオン(Ca^{2+})が細胞内に放出し、細胞内の Ca^{2+} 濃度が上昇する。この Ca^{2+} がアクチンフィラメントのトロポニンと結合しトロポニンが活性化されると、ミオシンのATPaseによってATPが分解する。アクチンとミオシンフィラメントはこのATP分解エネルギーを使って、互いに滑走し収縮力を発生する¹¹⁾。一方、細胞膜の興奮が消失すると、細胞内の Ca^{2+} は再び筋小胞体に取り込まれて筋は弛緩する。

このような筋の収縮-弛緩機構において、PGがどのような機序で筋収縮力を増強するかを興奮-収縮過程および弛緩過程の順に考察する。

1. 神経-筋接合部に対する作用

本実験において、カエル縫工筋の電気刺激による単収縮に対し、 $1\mu\text{M}$ 以上の PGE_2 はカフェイン存在下で収縮力を増大することが示された。しかし、神経-筋遮断薬であるd-ツボクラリンの影響はうけなかった。

GinsborgとHirst⁷⁾は、カエル縫工筋において PGE_1 ($23\mu\text{M}$)は微小終板電位や終板電位に何ら影響を与えないと報告している。また、Dhumalら⁹⁾は、カエル腹直筋のACh収縮に対する $\text{PGF}_2\alpha$ ($100\mu\text{g/ml}$)の増強効果はd-ツボクラリンの影響をうけないとしており、我々の結果と一致する。したがって、PGの収縮増強の作用点は神経-筋接合部ではなく筋細胞への直接作用によると考えられる。

2. 筋細胞膜に対する作用

本実験において、電気刺激を与えない静止筋に対し高濃度の PGE_2 ($100\mu\text{M}$)は何ら作用を示さなかった。Dhumalら⁹⁾はカエル腹直筋標本において PGE_2 および $\text{PGF}_2\alpha$ は $200\mu\text{M}$ の濃度でも筋自体に何ら影響を与えないと報告している。したがって、PGは筋細胞膜に対する脱分極性の作用はないと考えられる。

3. T管に対する作用

グリセリン 400mM を加えた高張Ringer液にカエル縫工筋を60分浸すと、膜の興奮性を示す活動電位は電気刺激で発生するが収縮は起きなくなる。これは高張グリセリンRinger液処理によりT管の破壊が生じ興奮-収縮連関が解離するためであるといわれている¹²⁾。本実験において、このような標本に 3mM のカフェインを加えると拘縮を生じる。 PGE_2 ($10\mu\text{M}$)はこの拘縮をさらに増強することから、PGの収縮増強作用はT管を介する作用によらないと考えられる。

4. 筋小胞体に対する作用

カフェインによる収縮は筋細胞膜に対する影響ではな

く筋小胞体から Ca^{2+} を放出することによる。本実験において、静止筋はカフェイン 1mM 以上の濃度で拘縮を生じたが、 PGE_2 は高濃度の $100\mu\text{M}$ でも拘縮を生じなかった。また、MarcoとCoceani⁸⁾はカエル半腱様筋標本において PGE_1 は 1.4mM の高濃度でも何ら反応がみられないとしている。したがって、PGはカフェインと異なり筋小胞体からの Ca^{2+} 放出作用はないと考える。

一方、PGが筋小胞体への Ca^{2+} の取り込みを抑制することにより細胞内の Ca^{2+} 濃度の上昇が持続し、その結果収縮力が増大する可能性が考えられる。骨格筋小胞体への Ca^{2+} 取り込みに対するPGの作用を直接検討した報告はみられないが、 Ca^{2+} ionophoreであるA23187をラット骨格筋に作用させて細胞内の Ca^{2+} 濃度を上昇させると、細胞内の PGE_2 と $\text{PGF}_2\alpha$ の産生が3ないし6倍増加するという報告¹³⁾がある。この結果は、細胞内の Ca^{2+} とPGとが関わりのあることを示している。Carsten¹⁴⁾は、ウシやヒト子宮筋から分離した筋小胞体標本で、 PGE_2 と $\text{PGF}_2\alpha$ はATP依存性の小胞体へのCa結合を抑制することから、これらは筋小胞体への Ca^{2+} 取り込みを抑制することにより子宮収縮作用を生ずると推定している。また、本実験において、 PGE_2 はカフェイン存在下で単収縮の50%弛緩時間を著明に延長することを示したが、これは筋小胞体への Ca^{2+} 取り込み抑制の結果と考えられる。以上の報告と本実験結果から、PGは筋小胞体への Ca^{2+} の取り込みを抑制することにより収縮が増大すると推定する。

さらに、Baylorら¹⁵⁾はカエル骨格筋において、細胞内に放出された Ca^{2+} は興奮が消失すると、先ず細胞内のparvalbuminに結合したのち筋小胞体に取り込まれると報告している。したがって、PGは Ca^{2+} とparvalbuminとの結合を抑制している可能性もある。

5. 収縮機構の Ca^{2+} 感受性に対する作用

PGがアクチンとミオシンフィラメントの収縮機構における Ca^{2+} 感受性を上昇することも考えられる。しかし、この場合は単収縮の立ち上がり速度が速くなり、収縮時間が短くなると考えられる。本実験では、 PGE_2 は立ち上がり速度に何ら影響を与えず、収縮時間は逆に延長を示した。また、坂部¹⁶⁾はイヌ回腸グリセリン処理筋に対する PGE_1 と PGE_2 の影響を検討し、PG ($1-10\mu\text{M}$)はATPによる収縮に何ら影響を与えないと報告している。したがって、PGはアクチンとミオシンフィラメントの収縮機構における Ca^{2+} 感受性の上昇作用はないと考えられる。

結 語

カエル縫工筋標本の収縮に対するプロスタグランジン(PG)の作用およびその作用機序について検討した。 PGE_2 と $\text{PGF}_2\alpha$ ($100\mu\text{M}$)は筋自体に対して何ら影響を与えなかったが、単収縮張力は $1\mu\text{M}$ 以上の濃度で増大

した。この増大作用はカフェイン1mMの存在下で著明に増強し、特に張力の増大と弛緩時間の延長が著明であった。このような収縮増強作用はK脱分極筋や400mMグリセリン高張リソルゲル液処理筋でもみられた。

以上の結果から、PGの収縮増強の作用点は収縮過程ではなく弛緩過程にあると考えられた。さらにPGによる筋収縮増強作用が筋小胞体へのCa²⁺の取り込み過程の抑制による可能性について考察した。

文 献

- 1) Ramwell PW, Shaw JE, Kucharski J : Prostaglandin: Release from the rat phrenic nerve-diaphragm preparation. *Science* 149 : 1390-1391, 1965
- 2) Laity JLH : The release of prostaglandin E₁ from the rat phrenic nerve-diaphragm preparation. *Brit. J Pharmacol* 37 : 698-704, 1969
- 3) Nowak J, Bohman S-O, Berlin T et al : Prostaglandin synthesis in human skeletal muscle and kidney microsomes; formation of substantial amounts of an unknown polar compound. *Acta Physiol Scand* 113 : 557-559, 1981
- 4) Goldblatt MW : Properties of seminal plasma. *J. Physiol* 84 : 208-218, 1935
- 5) Khairalla PA, Page IH, Turker RK : Some properties of prostaglandin E₁ action. *Arch Int Pharmacodyn* 169 : 328-341, 1967
- 6) Horton EW, Main IHM : Further observation on the central nervous actions of prostaglandin F₂ α and E₁. *Brit J Pharmacol* 30 : 568-581, 1967
- 7) Ginsborg BL, Hirst GDS : Prostaglandin E₁ and noradrenaline at the neuro-muscular junction. *Brit. J Pharmacol* 42 : 153-154, 1971
- 8) Marco LA, Coceani F : The action of prostaglandin E₁ on frog skeletal muscle. *Can. J Physiol Pharmacol* 51 : 627-634, 1973
- 9) Dhupal VR, Jindal MN, Joshi NJ et al : PGF₂ α on drug-induced contractile responses of frog rectus abdominis muscle. *Arch Int Pharmacodyn* 246 : 215-223, 1980
- 10) Endo, M : Mechanism of calcium-induced calcium release in the SR membrane. In *The Mechanism of Gated Calcium Transport Across Biological Membranes*. Ohnishi, S T and Endo, M, NY, Academic Press, 1981, p257-264
- 11) 真島英信: 興奮収縮連関 生理学 真島英信 第12版 東京 文光堂, 1982, p56
- 12) Fujino M, Yamaguchi T, Fujino S : 'Glycerol effect' in various kinds of muscle cell. *Jpn J Physiol* 22 : 477-489, 1972
- 13) Rodemann HP, Waxman L, Goldberg AL : The stimulation of protein degradation in muscle by Ca²⁺ is mediated by prostaglandin E₂ and does not require the calcium-activated protease. *J Biol Chem* 257 : 8716-8723, 1982
- 14) Carsten ME : Prostaglandin's part in regulating uterine contraction by transport of calcium. *J Reprod Med* 9 : 277-281, 1972
- 15) Baylor SM, Chandler WK, Marshall MW : Sarcoplasmic reticulum calcium release in frog skeletal muscle fibres estimated from arzenazo III calcium transients. *J Physiol* 344 : 625-666, 1983
- 16) 坂部勝朗 : イヌ回腸グリセロール処理筋に対する Prostaglandin の影響. *札幌医誌* 42 : 412-419, 1973

Enhancement Effect of Prostaglandins on the Contractile Responses of the Frog Sartorius Muscle

Kimiharu INUI¹, Mitsuo ISHIZAWA²

Department of Physical Therapy, School of Health Sciences, Sapporo Medical University¹

Department of Occupational Therapy, School of Health Sciences, Sapporo Medical University²

Abstract

The effects of prostaglandins (PGs) on contractile responses of the frog sartorius muscle were studied. PGE₂ and PGF₂ α at a concentration of 100 μM did not affect static muscle tone, but these PGs at concentrations higher than 1 μM enhanced twitch tension. The increasing effects of PGs on twitch tension were enhanced in the presence of caffeine. PGE₂ at a concentration of 10 μM markedly increased tension of the twitch and 50% relaxation time, without having any effect on latency. Caffeine contracture was also enhanced by PGE₂ (10 μM) in the K-depolarized muscle and in the muscle treated with 400mM glycerol in addition to Ringer solution for 60 min.

From these results and reports, it is surmised that PGs may act on relaxation process, not on the excitation-contraction process, and that the enhancement effect of PGs on contractile responses of frog sartorius muscle may depend on an inhibition of Ca²⁺ re-up take into the sarcoplasmic reticulum in the muscle cell.

Key words : Frog sartorius muscle, Twitch, Prostaglandin E₂, -F₂ α, Caffeine