—総 説—

血管平滑筋におけるカルシウム分画

唐 木 英 明

東京大学農学部家畜薬理学教室*

(昭和55年9月10日)

平滑筋の収縮時における細胞内 Ca イオン濃度の上昇は外液 Ca の流入あるいは細胞内結合 Ca の遊離によるものであることが主に張力実験の成績から推測されている。 ^{45}Ca を用いた tracer 実験の成績は必ずしも張力実験から得られた仮説とは一致せず、これは平滑筋における Ca 分画が ^{45}Ca movements の kinetics からは明らかに区別されないため実験成績の解釈があいまいであることが一つの大きな原因と考えられる。この総説は血管平滑筋材料として広く用いられているウサギ大動脈における ^{45}Ca の動態に関する最近の報告をとりまとめ、その問題点を整理すると共に、この血管平滑筋における Ca 分画を最近多く用いられている La イオンおよび Scatchard plot を利用して分類し、これらと収縮張力との関連を求めることを目的としたものである。

血管平滑筋収縮の model として広く用いられているのは高濃度 K と norepinephrine (NE) による収縮である^{1,2)}。前者は外液 Ca の除去、有機 Ca 拮抗剤 (verapamil, D-600 等) により容易に抑制されることから、voltage-dependent Ca channel を介する外液 Ca の細胞内への流入によるものと思われる。他方 NE による収縮は phasic と tonic component から成り、共に単なる外液の Ca 除去や有機 Ca 拮抗剤によりほとんど抑制されず、比較的高濃度の EGTA あるいは La イオンによりその tonic component のみが抑制されることから、その tonic component は細胞膜表面に比較的に強く結合した Ca の細胞内への移動が関与するものと考えられる。NE による phasic component はこれらの処理により影響を受けない (比較的高濃度の EDTA により tonic component と共に抑制されるが、これは EDTA の非特異的抑制作用によるものと思われる: Karaki and Weiss: 未発表) ので、この component は細胞内蓄積 Ca の遊離によるものであろう。

このような Ca の動態を ^{45}Ca を用いて証明するためにまず考えられるのは ^{45}Ca uptake の実験である。筋組織を ^{45}Ca を含む液に漬け、筋に取り込まれた ^{45}Ca の量全体を測定するいわゆる conventional ^{45}Ca uptake の成績には NE は影響を与えない (唐木、浦川: 未発表)。外液 Na を K で等張に置換した液 (等張 K 液) 中でもこれは変化しない³⁾が、高張に K を添加した液 (高張 K 液) 中では ^{45}Ca uptake (exchangeable Ca の量) は増加する^{3,4)}。この conventional ^{45}Ca uptake により取り込まれた ^{45}Ca の 40~50% は細胞間隙に^{1,2)}、そして約 40% は細胞表面の結合 Ca として分布する^{4,5)}ため、この方法のみを用いて収縮に関与する Ca の動態をとらえることは困難であろう。また等張 K (低 Na) 液中では平滑筋細胞の膨潤が起り^{6,7)}、また高張 K 液中では細胞は水分を失ない、さらに細胞間隙量もこれらの液中では変化するため、組織湿重量当りで表現された Ca 含有量の増減は筋細胞当りの Ca 含有量の増減とは必ずしも一致しないことは注意を要する。

この conventional ^{45}Ca uptake を改変することにより平滑筋収縮と ^{45}Ca 含有量との相関を始めて見出したのは Briggs^{8,9)} である。彼はウサギ大動脈条片に ^{45}Ca を取り込ませた後、筋を正常栄養液で 10~15 分間洗浄し、残存する ^{45}Ca の量を測定したところ、この残存 ^{45}Ca 量は高濃度 K あるいは epinephrine により増加した。同様の方法 (5 分間洗浄) を用いて ouabain によるウサギ大動脈収縮時にも残存 ^{45}Ca 量が増加することが報告された¹⁰⁾ (後にこの ouabain 収縮は内因性 NE の放出によるものであることが見出された¹¹⁾)。NE も

* 113 東京都文京区弥生1-1-1

またこの残存 ^{45}Ca 量を増加させ¹²⁾, Mn イオンはこの ^{45}Ca 量の増加と筋収縮を共に抑制した¹³⁾. このような成績は筋収縮時に細胞内への Ca influx の増加が起ることを示すものと解釈されてきたが, その後の細胞内 Ca イオンの測定 (後述) では NE により細胞内への Ca の蓄積は認められず, また正常栄養液による筋の洗浄により細胞間隙の ^{45}Ca のみでなく細胞内外の exchange の速い分画の ^{45}Ca も失なわれる (後述) ことから, この手法により得られた ^{45}Ca は細胞内に存在するものではなく, むしろ細胞膜表面に結合したものを主にとらえているものと思われる. この手法は腸管平滑筋にも応用され^{14~23)}, この残存 ^{45}Ca 量はモルモット *taenia coli* の高濃度 K あるいは histamine 収縮中に徐々に増加し, 筋弛緩後に徐々に減少することが見出され, この Ca 分画は筋収縮時に増加した細胞内 Ca が (多分細胞膜に) 徐々に蓄積される経過をとらえたものと考えられた²²⁾. その後この方法を用いた実験成績がほとんど報告されていないこともあり, この Ca 分画の詳細は未だ明らかでない. しかしこの Ca 分画は平滑筋収縮と良い対応が見られる唯一のものであり, Ca extrusion mechanism との関係も考えられ, 今後の研究が待たれる.

La イオンは平滑筋細胞膜において Ca influx を阻止し, 膜表面に結合した Ca と置換することが知られている²⁴⁾. この La の性質を利用し, 筋に ^{45}Ca を取り込ませた後にその筋を La を含む液で洗浄し, 細胞間隙および細胞外に結合した ^{45}Ca を除去し, La により除去されない ^{45}Ca (細胞内の ^{45}Ca と考えられる: 以下 La 分画と略す) を測定するいわゆる La 法が1972年に van Breemen ら^{4,25)} により提唱されて以来, この方法は多くの平滑筋において広く利用されている. この La 法の一つの欠点は La 液での洗浄中に筋から ^{45}Ca が漏出する (すなわち La は Ca efflux を完全には抑制しない) ことで, この漏出を抑制するためにいくつかの改良法が考案された. Godfraind²⁶⁾ は La 濃度を原法の 2~10 mM から 50 mM にまで引き上げ, 洗浄時間を原法の45~60分から5分に短縮することを提唱した. しかし5分間の洗浄時間では細胞膜表面の ^{45}Ca を除去しきれないこと, また高張に加えられた 50 mM LaCl_3 液中では筋組織の湿重量は急速に減少することから, 湿重量当りの La 分画は過大に表現されるところに問題がある (Karaki and Weiss: 未発表). La 液による洗浄を低温で行なうと ^{45}Ca の漏出はかなり遅くなる^{27,28)}が, 栄養液中の陽イオンを全て La で置換することによる高濃度 La 液と低温洗浄の組合せにより ^{45}Ca の漏出はほぼ完全に抑制されることが Karaki and Weiss により見出された^{5,29)}. 例えばウサギ大動脈条片に正常栄養液 (1.5 mM Ca) 中で1時間 ^{45}Ca を取り込ませ, その筋を60分間 10 mM La 液 (34°C) で洗浄 (van Breemen ら原法^{4,25)}) したものと, 同様の筋を60分間等張 80.8 mM La 液 (0.5°C) で洗浄 (Karaki and Weiss 変法⁵⁾) したものと La 分画を比較すると, 前者では 100 n mol/g, 後者では 300 n mol/g wet tissue であり, 原法では洗浄中に細胞内 ^{45}Ca の約 2/3 が失なわれているものと思われる.

このような La 法を用いてウサギ大動脈^{4,5,25,28,30~33)}, モルモット大動脈³⁴⁾, ラット大動脈³⁵⁾, ヒト臍動脈³⁶⁾, イヌ腎動脈^{29,37)} および静脈³⁷⁾, イヌ冠状動脈³⁸⁾, モルモット *taenia coli*³⁹⁾, イヌ大動脈 (Karaki and Weiss: 未発表) 平滑筋の細胞内 Ca 量は高濃度 K 収縮中に増加すること, その増加は K 濃度^{5,32)} あるいは高濃度 K 収縮の大きさ⁴⁰⁾ に比例すること, そして verapamil 等の有機 Ca 拮抗剤はこの増加を抑制すること^{5,29,32~36)} が報告された. これらの成績は張力実験のそれと良く一致しているので, 細胞内への Ca influx の増加は La 分画の増加としてとらえられるという概念が出来たようである^{4,41)}. そして NE 収縮時には La 分画の増加が見られないことから, NE 収縮は Ca influx の増加によるものではないと考えられた^{4,41)}. しかし前述のように NE 収縮の tonic component は細胞膜表面の Ca への依存性が認められている. この矛盾は以下に述べるように, Ca influx の増加は必ず La 分画の増加として表現される, という前提の誤りから来るものであろう.

Freeman and Daniel³⁰⁾ はウサギ大動脈の La 分画について検討し, 高濃度 K により増加した Ca influx の一部は筋収縮蛋白の活性化に利用され, 残りの部分は細胞内のどこかに結合し, La を用いて測定できるのは後者の結合 Ca のみであること, そして NE にはこの細胞内結合 Ca 量を増加させる作用が無いため, NE による La 分画の増加が見られないのではないか, と示唆した. 高濃度 K で脱分極されたウサギ大動脈条片の La 分画は増加するが, この脱分極筋に NE を添加すると La 分画はさらに増加すること^{5,30,42)}, histamine も分極筋においては La 分画をほとんど増加させないが, 脱分極筋においてはこれを増加させること⁵⁾, 脱分極作用の強い

海産毒 palytoxin による収縮時に La 分画は増加すること³²⁾等の成績は、脱分極筋においてのみ La 分画に Ca が蓄積することを示している。また Karaki and Weiss⁴³⁾ は高濃度 K 収縮を抑制しない（すなわち収縮に必要な Ca influx は抑制しないと思われる）濃度の呼吸阻害剤を用いて高濃度 K による La 分画の増加を完全に抑制できることを見出し、細胞内への Ca influx と La 分画への Ca の蓄積が独立した現象であることを示した。脱分極筋における NE による La 分画の過剰な増加は NE 収縮を抑制する濃度の phentolamine, sodium nitroprusside により抑制されるが、D-600 は NE 収縮、NE による La 分画の過剰な増加を共にほとんど抑制しないことも見出され^{5,41)}、NE は receptor-operated pathway を介して Ca influx を引起すが、この流入 Ca は分極筋においては La 分画には蓄積されず、脱分極筋においてのみその蓄積が起るものと考えられる。高濃度の NE により La 分画のわずかな増加が見られるのは、NE 自身による脱分極作用に関係したものであろう^{5,29)}。このように分極筋を用いて非脱分極性の薬物が Ca influx を増加させるかどうかを La 分画の増減から判断することは困難であるが、脱分極筋を用いればこれは可能になり、NE および histamine はこのような実験成績からウサギ大動脈平滑筋の Ca に対する透過性を増すものと考えられる。

La 分画が細胞内の Ca 蓄積部位を表現するものであるならば、その Ca は細胞内小器管のいずれかに結合したものであろう。KCN (1 mM), antimycin A (10^{-6} g/ml) あるいは oligomycin (10^{-6} g/ml) によりウサギ大動脈の高濃度 K による収縮は影響を受けないが、La 分画の増加はほぼ完全に抑制されること⁴³⁾、NaCN (1 mM), carbonyl cyanide *m*-chlorophenyl hydrazone (CCCP, 5×10^{-7} M) でもラット尾動脈の La 分画は減少すること²⁷⁾、これらの薬物は平滑筋の酸素消費量を減少させること⁴³⁾から、これらの薬物は細胞内でミトコンドリアに作用し、その Ca uptake を抑制しているものと考えられる。すなわち高濃度 K による La 分画の増加はミトコンドリアへの Ca の蓄積を表現するものであろう。Karaki and Weiss⁵⁾ の方法によるウサギ大動脈条片での La 分画は正常栄養液 (1.5 mM Ca) 中で約 300 n mol/g wet tissue、高濃度 K 液中では約 600 n mol/g、そして高濃度 K 液に NE 10^{-6} M を添加すると約 900 n mol/g にまで増加する^{5,41,43)}。ウシ腸管膜静脈⁴⁴⁾、ウシ肺動脈⁴⁴⁾、ウシ大動脈⁴⁵⁾、モルモット taenia coli⁴⁶⁾、ラット子宮⁴⁷⁾、ヒト子宮⁴⁸⁾等の平滑筋から取り出されたミトコンドリアは 145~454 n mol/mg protein の Ca を取り込むことができ、ミトコンドリアの収量は 0.37~1.33 mg protein/g wet tissue と報告され、これらの平滑筋に含まれる Ca のうち 300 n mol/g wet tissue 以上がミトコンドリアに存在することになる^{44~46)}。これらの実験においてミトコンドリアの収量は実際の平滑筋のミトコンドリア含有量より低いことなどから考え、ミトコンドリアは La 分画への多量の Ca 蓄積を説明するに足る Ca 取り込み能力を持つものと考えられる。

もしこのように La 分画がミトコンドリアへの Ca 蓄積を表わすものであるなら、この Ca 蓄積は脱分極筋では増加することになる。細胞膜の脱分極が直接ミトコンドリアの Ca uptake を増加させる可能性は考えにくく、むしろ脱分極により Ca influx が増加し、ミトコンドリア周辺の Ca 濃度が増加することがその原因かと思われる。そして脱分極筋に NE を添加するとさらに大きな Ca influx が起り、これがミトコンドリアに取り込まれるのであろう。しかしもしこのようにミトコンドリア周辺の Ca 濃度だけから説明を試みると、分極筋の NE 収縮時には Ca 濃度の上昇が無いことになる。筋収縮の成績では高濃度 K と NE はほぼ同様の張力を発生させるので、NE も少く共筋収縮蛋白周辺の Ca 濃度は上昇させているはずである。この問題に対する明確な実験成績からの解答は未だ無いが、ラット大動脈²⁶⁾ およびウサギ耳動脈⁴⁹⁾では NE は La 分画の大きさはほとんど変えずにその Ca exchange の速度を増加させることが報告されていることから、分極筋では NE は Ca influx と共に Ca extrusion をも増加させ、その extrusion mechanism への Ca の affinity はミトコンドリアへのそれより高いために Ca は細胞内に蓄積されずに細胞外へ排出される可能性も考えられる。そして脱分極はこの extrusion を抑制するのかもしれない。

最近 Thorens and Haesler³³⁾ はウサギ大動脈条片において高濃度 K 収縮を抑制しない濃度の papaverine が La 分画の増加を抑制し、その結果高濃度 K 収縮に対する IC₅₀ よりも “Ca influx” に対する IC₅₀ の方が 10 倍低いという “puzzling” な現象を報告した。しかし papaverine は平滑筋において強い呼吸抑制作用を持つことが知られている⁵⁰⁾ので、彼らの成績は papaverine によるミトコンドリアの Ca uptake 抑制作用が筋収縮抑制作用（その本態は未だ明らかでない）より低濃度で発現することを示すものであり、Ca influx の抑制を示

すものではないものと考えられる。このように La 分面の増減を Ca influx の増減の指標として利用することは可能ではあろうが、その成績の解釈には十分な注意を要する。

La 法をウサギ大動脈条片以外の平滑筋組織に用いる際の問題点は La イオンの細胞膜透過性である。もし La イオンが細胞内に入り、細胞内の Ca を遊離しこれが細胞外に放出されるようなことがあると正確な細胞内 Ca 量を得ることが不可能になる。少なくともウサギ大動脈⁵¹⁾およびラット大動脈⁵²⁾平滑筋では La イオンは細胞膜を通過しないようであるが、spontaneously hypertensive rat (SHR) 大動脈⁵²⁾、腸管平滑筋⁵³⁾、ラット子宮平滑筋^{54,55)}、モルモット taenia coli⁵⁶⁾ では La は細胞内に入る可能性があるとされている。

平滑筋においてその結合 Ca を分類するもう一つの方法として最近用いられているのは Scatchard plot⁵⁷⁾ である。これは各濃度の Ca を含む栄養液中で筋に ^{45}Ca を取り込ませ、取り込まれた ^{45}Ca の量と外液 Ca 濃度の比 (tissue/medium ratio に等しい) と取り込まれた ^{45}Ca の量の関係をグラフ上に plot し、Ca イオンの筋細胞への結合の様式を知ろうとするものであり、Ishiyama ら⁵⁸⁾、Kawamura and Yabu⁵⁹⁾ はモルモット taenia coli の細胞表面には少なくとも2つの Ca 結合部位が存在することを示した。その後ラット大動脈⁶⁰⁾、ウシ脳底動脈⁶⁰⁾、ウサギ大動脈^{61,62)}、イヌ大動脈⁶³⁾、イヌ腎動・静脈³⁷⁾、イヌ冠状動脈³⁸⁾等でも同様の成績が得られている。Karaki and Weiss⁵⁾ はこの方式を用いてウサギ大動脈条片の La 分面を解析し、細胞内にも同様に2つの Ca 分面が存在することを見出した。外液 Ca 濃度の低い時 (0.1 mM 以下) には high affinity site のみが Ca を結合し、正常 Ca 濃度 (1.5 mM) 以上の時には low affinity site もまた Ca を取り込むが、実際の Ca 結合量は high affinity site に比べて low affinity site が非常に大きいため、正常 Ca 濃度以上の時に得られる La 分面は実質的には low affinity site の性格を反映する。このように適当な外液 Ca 濃度を選択することによりそれぞれの分面への Ca 結合の様子を知ることができる。さらに外液に Sr (5 mM) を添加することにより high affinity site への ^{45}Ca uptake は完全に抑制され、low affinity site への uptake はほとんど影響を受けない⁶⁴⁾ことを利用して、より詳細に各分面への Ca 結合を調べられる。このような細胞内 Ca 分面への各種 stimulants の影響を検討したところ、high affinity site への Ca 結合は高濃度 K によりほとんど影響を受けないが、NE, histamine を与えると投与後1分間以内に結合 Ca 量の減少 (結合 Ca の急速な遊離) が認められた^{5,41)}。prostaglandin (PG) E_1 , angiotensin III にも同様の結合 Ca 遊離作用が認められた⁶⁵⁾。他方 low affinity site の結合 Ca 量は高濃度 K 液中では著明に増加するが、NE, histamine によりほとんど変化しなかった。しかし高濃度 K 液に NE を添加すると low affinity bound Ca は高濃度 K 単独投与時よりさらに大巾に増加した^{5,42)}。histamine も NE と同様の作用を示した⁵⁾が、 PGE_1 および angiotensin III は高濃度 K の有無にかかわらず low affinity bound Ca に影響を与えなかった⁶⁵⁾。

従来の La 分面に関する成績のほとんどが正常濃度範囲の Ca を含む液を用いて得られたものであり、その La 分面は主に細胞内 low affinity bound Ca を表現するものであり、その本態はミトコンドリアに結合した Ca であろう。high affinity bound Ca はその kinetics だけでなく薬理学的にも low affinity bound Ca とは異った態度を示すことから、ミトコンドリア以外の細胞内小器官に結合した Ca を表現するものと考えられよう。イヌ大動脈 (Karaki and Weiss: 未発表)、イヌ腎動・静脈³⁷⁾およびイヌ冠状動脈³⁸⁾においても細胞内 high および low affinity bound Ca が分類され、low affinity bound Ca は高濃度 K により増加すること、腎静脈以外の血管では high affinity bound Ca は NE, $\text{PGF}_{2\alpha}$ により遊離されることが見出された。high affinity bound Ca の NE による遊離はウサギ大動脈において約 20 nmol/g wet tissue であった^{5,42)}。この量の Ca はこの平滑筋において最大収縮を引起すには不足であると報告されている⁴⁰⁾が、La 法の一つの欠点は細胞内結合 Ca が細胞外へ放出された時に始めて遊離としてとらえられ、細胞内の他の分面への転移は検出することができないので、実際にはもっと多くの Ca が NE により動かされている可能性は否定できない。

多くの平滑筋組織において ^{45}Ca efflux curve は compartmental analysis を行なうことはできない^{1,2,66)}。すなわち ^{45}Ca を取り込ませた筋を正常栄養液中で洗浄すると組織中の ^{45}Ca は急速に失われ、efflux の速度定数は次第に減少し、一定の値をとらない。Ca 欠除液で筋の洗浄を行なうと、 ^{45}Ca efflux は著しく遅くなり、

Ca, Sr, Ba⁶⁷⁾, EDTA, EGTA⁶⁸⁾ あるいは La⁵⁾ を添加することにより efflux の速度は増加する。このような洗浄液中の Ca 濃度の差が平滑筋のどの Ca 分画に影響を与えるのか、La 法と Scatchard plot を利用して解析を試みた⁶⁹⁾。すなわち ⁴⁵Ca efflux の途中の時点で筋組織中に残存している ⁴⁵Ca 量を Scatchard graph に plot することによりどのような結合部位に ⁴⁵Ca が残存しているかを知ることができ、また efflux の途中で洗浄液を La 液に変えることにより、その時点での残存 ⁴⁵Ca 結合部位が細胞膜表面かあるいは細胞内か知ることができる。この方法を用いた実験成績では、細胞内外の low affinity bound ⁴⁵Ca のほとんどは洗浄液中の Ca 濃度に関係無く急速に ($t_{1/2} \leq 5$ 分) 失われ、膜表面にわずかな low affinity bound ⁴⁵Ca が残るだけである。他方 high affinity bound ⁴⁵Ca の efflux は外液 Ca 濃度により大きく影響され、外液 Ca 濃度に比例してその efflux の速度は増加する。すなわち Ca 欠除液中での ⁴⁵Ca efflux 実験ではその初期に細胞内外の low affinity bound ⁴⁵Ca が流出し、その後細胞内外の high affinity bound ⁴⁵Ca がゆっくり流出するが、量的には細胞表面の high affinity site からの ⁴⁵Ca efflux がそのほとんどを占めると考えられる。正常 Ca 液中では初期に組織中の ⁴⁵Ca の大半 (efflux 開始後20分で約95%) が流出し、残るのは細胞内 high affinity bound ⁴⁵Ca の一部と膜表面の low affinity bound ⁴⁵Ca の一部のみである。このような ⁴⁵Ca efflux curve への NE の作用を検討すると、正常 Ca 液による洗浄中に NE を添加すると ⁴⁵Ca efflux の一過性の増加が見られる^{64,70)}。この増加は筋を EGTA, La で処理することにより消失する^{28,64,71)}、Sr イオンを用いて細胞内 high affinity site への ⁴⁵Ca の結合を無くした筋でもまだ見られる⁶⁴⁾ことから膜表面に残存する low affinity bound ⁴⁵Ca の一部が遊離したものと考えられる⁶⁴⁾。NE による ⁴⁵Ca efflux の一過性の増加はウサギ耳介動脈⁴⁹⁾およびラット大動脈²⁶⁾においても報告されているが、ウサギ耳介動脈における efflux の増加は La⁴⁹⁾ あるいは EGTA⁷²⁾ 前処置により抑制されないため、その ⁴⁵Ca 源はウサギ大動脈のそれと異なり、細胞内結合 Ca であろうと思われる。Ca 欠除液中での緩徐な ⁴⁵Ca efflux は NE によりさらに遅くなる^{64,73,74)}。高濃度 K³⁾ と dopamine⁷⁴⁾ も NE と同様の作用を持つ。NE の作用は phentolamine, sodium nitroprusside により抑制され^{74,75)}、高濃度 K の作用は D-600 により抑制される⁷⁵⁾。sodium nitroprusside 自身この efflux を遅くするが、D-600 にはこのような作用は認められない⁷⁵⁾。他の血管平滑筋収縮抑制物質でも mannitol⁷⁶⁾、lactate³⁸⁾ は Ca 欠除液中での ⁴⁵Ca efflux を遅くし、neomycin^{77~81)}、gentamycin, kanamycin および streptomycin⁸⁰⁾ はこれを増加させた。phosphatidyl serine⁸¹⁾ は高濃度 K 収縮には影響を与えずに NE 収縮を増強するが、Ca 欠除液中での ⁴⁵Ca efflux を増加させた。このような変化は主に膜表面の high affinity bound ⁴⁵Ca の変化を反映しているものと思われる⁶⁴⁾が、それらがどのような Ca 動態の変化を反映しているのか未だ明らかでなく、多分この high affinity site は複数の機能的に異った Ca 分画を含むためにこのような複雑な変化が観察されるものとも思われる。

以上の成績を要約すると、Table 1 に示したように血管平滑筋の細胞膜表面には high および low affinity bound Ca が存在し、low affinity bound Ca は Ca 欠除液中で急速に失われることから高濃度 K 収縮の Ca

Table 1 Calcium components in vascular smooth muscle of rabbit aorta

		Loss of Ca in Ca free solution	Pharmacological characteristics	Role in muscle contraction	Binding sites
Superficial	High affinity bound Ca	Slow	Affected differently by various agents	Supplies Ca for NE-tonic contraction	Membrane surface
	Low affinity bound Ca	Rapid		Supplies Ca for K-contraction	
		Slow	Released by NE but not by PGE ₁ Not displaced by Sr	?	
Intracellular	High affinity bound Ca	Slow	Released by NE and PGE ₁ Displaced by Sr	Supplies Ca for NE-phasic contraction	Inner surface of membrane? Sarcoplasmic reticulum?
	Low affinity bound Ca	Rapid	Increased by K	Accumulates excess Ca in depolarized muscle	Mitochondria

源とも考えられる。またこの low affinity bound Ca は均一な Ca 分画ではなく、その一部は exchange が遅く、NE により一過性に遊離されるが、その意義については明らかでない。他方細胞膜表面の high affinity bound Ca は Ca 欠除液中では容易に失なわれず、La, EGTA により除去されることから NE 収縮 tonic component の Ca 源とも考えられるが、これもまた均一な Ca 分画ではなく、種々の薬物によりその Ca の動きは複雑に変化し、その実体は明らかでない。平滑筋細胞内にも high および low affinity binding sites が存在し、その low affinity bound Ca はミトコンドリアへの結合 Ca を表現するものと思われ、脱分極筋において多量の Ca を取り込む。high affinity bound Ca は NE により一過性に遊離され、収縮に関与するものと思われる。histamine も同じ site から Ca 遊離を引起す。このように血管平滑筋における Ca の動態は La 法、Scatchard plot, efflux curve 等の組合せによりそれぞれの Ca 分画における変化を解析することが可能であるが、それぞれの実験により得られた成績の解釈には慎重な考察が必要であり、これらの Ca の動態と筋収縮との関連についてはさらに詳細な検討が必要である。

謝辞：本総説は著者が Department of Pharmacology, University of Texas Health Science Center at Dallas に滞在中に Professor George B. Weiss と共に行なった研究に基いていることを記し、同教授に謝意を表します。さらに本総説に助言を頂いた浦川紀元教授に感謝いたします。

文 献

- 1) WEISS, G. B.: *Advances in General and Cellular Pharmacology*, Edited by NARAHASHI, T. AND BIANCHI, C. P., Vol. II, p.71, Plenum Press, New York (1977)
- 2) JONES, A. W.: *Handbook of Physiology*, Section 2: The Cardiovascular System, Vol. 2, Vascular Smooth Muscle, Edited by BOHR, D. F., SOMLYO, A. P. AND SPARKS, H. V. JR., p.253, Williams and Wilkins Co. Baltimore (1980)
- 3) GOODMAN, F. R., WEISS, G. B., WEINBERG, M. N. AND POMARANTZ, S. D.: *Circulation Res.* **31**, 672 (1972)
- 4) VAN BREEMEN, C., FARINAS, B. R., GERBA, P. AND McNAUGHTON, E. D.: *Circulation Res.* **30**, 44 (1972)
- 5) KARAKI, H. AND WEISS, G. B.: *J. Pharmacol. exp. Ther.* **211**, 86 (1979)
- 6) JONES, A. W., SOMLYO, A. P. AND SOMLYO, A. V.: *J. Physiol.* **232**, 247 (1973)
- 7) KARAKI, H., SUZUKI, T. AND URAKAWA, N.: *Japan. J. Pharmacol.* **28**, 633 (1978)
- 8) BRIGGS, A. H.: *Am. J. Physiol.* **201**, 365 (1961)
- 9) BRIGGS, A. H.: *Am. J. Physiol.* **203**, 849 (1962)
- 10) BRIGGS, A. H. AND SHIBATA, S.: *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* **121**, 274 (1966)
- 11) KARAKI, H. AND URAKAWA, N.: *Europ. J. Pharmacol.* **43**, 274 (1977)
- 12) SEIDEL, C. L. AND BOHR, D. F.: *Circulation Res. Supp. II* to **28** and **29**, II-88 (1971)
- 13) KEENE, J. J., SEIDEL, C. L. AND BOHR, D. F.: *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* **139**, 1083 (1972)
- 14) URAKAWA, N. AND HOLLAND, W. C.: *Am. J. Physiol.* **207**, 873 (1964)
- 15) URAKAWA, N., KARAKI, H. AND IKEDA, M.: *Japan. J. Pharmacol.* **18**, 291 (1968)
- 16) KARAKI, H., IKEDA, M. AND URAKAWA, N.: *Japan. J. Pharmacol.* **19**, 291 (1969)
- 17) KARAKI, H., GANESHANANDAN, S. S., IKEDA, M. AND URAKAWA, N.: *Japan. J. Pharmacol.* **19**, 569 (1969)
- 18) URAKAWA, N., KARAKI, H. AND IKEDA, M.: *Japan. J. Pharmacol.* **20**, 360 (1970)
- 19) KARAKI, H., IKEDA, M. AND URAKAWA, N.: *Japan. J. Pharmacol.* **20**, 530 (1970)
- 20) NASU, T., KARAKI, H., IKEDA, M. AND URAKAWA, N.: *Japan. J. Pharmacol.* **21**, 597 (1971)
- 21) NASU, T. AND URAKAWA, N.: *Japan. J. Pharmacol.* **23**, 553 (1973)
- 22) KARAKI, H. AND URAKAWA, N.: *Japan. J. Pharmacol.* **22**, 511 (1972)
- 23) 唐木 英明, 那須 哲之, 浦川 紀元: 日薬理誌 **68**, 129 (1972)
- 24) WEISS, G. B.: *Ann. Rev. Pharmacol.* **14**, 343 (1974)
- 25) VAN BREEMEN, C., FARINAS, B. R., CASTEELS, R., GERBA, P., WUYTACK, F. AND DETH, R.: *Phil. Trans. R. Soc. (Lond. B)* **265**, 57 (1973)
- 26) GODFRAIND, T.: *J. Physiol.* **260**, 21 (1976)
- 27) PALATÝ, Y.: *Excitation-Contraction Coupling in Smooth Muscle*, Edited by CASTEELS, R., GODFRAIND, T. AND RUEGG, J. C., p.279, Elsevier/North-Holland, Amsterdam, New York, Oxford (1977)
- 28) DETH, R.: *Am. J. Physiol.* **243**, C139 (1978)

- 29) KARAKI, H., HESTER, R. K. AND WEISS, G. B.: *Archs. int. Pharmacodyn. Thér.* **245**, 198 (1980)
- 30) FREEMAN, D. J. AND DANIEL, E. E.: *Canad. J. Physiol. Pharmacol.* **51**, 900 (1973)
- 31) DETH, R. AND VAN BREEMEN, C.: *Pflügers Arch.* **348**, 13 (1974)
- 32) ITO, K., KARAKI, H. AND URAKAWA, N.: *Europ. J. Pharmacol.* **46**, 9 (1977)
- 33) THORENS, S. AND HAEUSLER, G.: *Europ. J. Pharmacol.* **54**, 79 (1979)
- 34) OZAKI, H. AND URAKAWA, N.: *Naunyn-Schmiedeberg's Arch.* **309**, 171 (1979)
- 35) ISHIDA, Y., OZAKI, H. AND SHIBATA, S.: *Brit. J. Pharmacol.* (in press)
- 36) OZAKI, H., KITANO, H. AND SHIBATA, S.: *Japan. J. Pharmacol.* **30**, Supp. (in press)
- 37) HESTER, R. K. AND WEISS, G. B.: *J. Pharmacol. exp. Ther.* (in press)
- 38) HESTER, R. K., WEISS, G. B. AND WILLERSON, J. T.: *Circulation Res.* (in press)
- 39) KISHIMOTO, T., OZAKI, H. AND URAKAWA, N.: *Naunyn-Schmiedeberg's Arch.* **312**, 199 (1980)
- 40) VAN BREEMEN, C.: *J. Physiol.* **272**, 317 (1977)
- 41) VAN BREEMEN, C. AND LESSER, P.: *Microvascular Res.* **3**, 113 (1971)
- 42) KARAKI, H. AND WEISS, G. B.: *J. Pharmacol. exp. Ther.* **213**, 450 (1980)
- 43) KARAKI, H. AND WEISS, G. B.: *Blood Vessels* (in press)
- 44) VALLIERES, J., SCAPA, A. AND SOMLYO, A. P.: *Archs. Biochem. Biophys.* **170**, 659 (1975)
- 45) ROSENFELD, M. E. AND ELSON, C. E.: *Fedn Proc.* **39**, 832 (1980)
- 46) RAEYMAEKERS, L., WUYTACK, F., BATRA, S. AND CASTEELS, R.: *Pflügers Arch.* **368**, 217 (1977)
- 47) JANIS, R. A., CRANKSHAW, D. J. AND DANIEL, E. E.: *Am. J. Physiol.* **232**, C59 (1977)
- 48) JANIS, R. A., LEE, E. Y., ALLEN, J. AND DANIEL, E. E.: *Pflügers Arch.* **365**, 171 (1976)
- 49) DROOGMANS, R., RAEYMAEKERS, L. AND CASTEELS, R.: *J. gen. Physiol.* **70**, 129 (1977)
- 50) TSUDA, S., URAKAWA, N. AND FUKAMI, J.: *Japan. J. Pharmacol.* **27**, 845 (1977)
- 51) WEISS, G. B. AND GOODMAN, F. R.: *J. Pharmacol. exp. Ther.* **198**, 366 (1976)
- 52) GOLDENBERG, M. T. AND TRIGGLE, C. R.: *Canad. J. Physiol. Pharmacol.* **55**, 1084 (1977)
- 53) TRIGGLE, C. R. AND TRIGGLE, D. J.: *J. Physiol.* **254**, 39 (1976)
- 54) HODGSON, B. J., KIDWAI, A. M. AND DANIEL, E. E.: *Canad. J. Physiol. Pharmacol.* **50**, 730 (1972)
- 55) HODGSON, B. J. AND DANIEL, E. E.: *Canad. J. Physiol. Pharmacol.* **51**, 914 (1973)
- 56) MAYER, C. J., VAN BREEMEN, C. AND CASTEELS, R.: *Pflügers Arch.* **337**, 333 (1972)
- 57) SCATCHARD, G.: *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **51**, 660 (1949)
- 58) ISHIYAMA, Y., YABU, H. AND MIYAZAKI, E.: *Japan. J. Physiol.* **25**, 719 (1975)
- 59) KAWAMURA, M. AND YABU, H.: *Japan. J. Physiol.* **28**, 447 (1978)
- 60) YAMASHITA, K., TAKAGI, T. AND HOTTA, K.: *Japan. J. Physiol.* **27**, 55 (1977)
- 61) WEISS, G. B.: *Excitation-Contraction Coupling in Smooth Muscle*, Edited by CASTEELS, R., GODFRAIND, T. AND RUEGG, J. C., p.253, Elsevier/North-Holland, Amsterdam, New York, Oxford (1977)
- 62) WEISS, G. B.: *Calcium and Drug Action*, Edited by WEISS, G. B., p.57, Plenum Press, New York (1978)
- 63) KUTSKY, P., WEISS, G. B. AND KARAKI, H.: *Gen. Pharmacol.* (in press)
- 64) WEISS, G. B. AND KARAKI, H.: *Fedn Proc.* **39**, 1070 (1980)
- 65) WHEELER, E. S. AND WEISS, G. B.: *Prostaglandins* **19**, 761 (1980)
- 66) DANIEL, E. E. AND JANIS, R. A.: *Pharmacol. Ther.* **1**, 695 (1975)
- 67) HUDGINS, P. M. AND WEISS, G. B.: *Am. J. Physiol.* **217**, 1310 (1969)
- 68) WHEELER, S. AND WEISS, G. B.: *J. Pharmacol. exp. Ther.* **211**, 353 (1976)
- 69) KARAKI, H. AND WEISS, G. B.: *Fedn Proc.* **39**, 832 (1980)
- 70) DETH, R. AND VAN BREEMEN, C.: *J. Membrane Biol.* **30**, 363 (1977)
- 71) DETH, R.: *Fedn Proc.* **36**, 1036 (1977)
- 72) DROOGMANS, R. AND CASTEELS, R.: *J. gen. Physiol.* **74**, 57 (1979)
- 73) HUDGINS, P. M. AND WEISS, G. B.: *J. Pharmacol. exp. Ther.* **159**, 92 (1968)
- 74) HESTER, R. K., WEISS, G. B. AND FLY, W. J.: *J. Pharmacol. exp. Ther.* **207**, 364 (1978)
- 75) HESTER, R. K., WEISS, G. B. AND FLY, W. J.: *J. Pharmacol. exp. Ther.* **208**, 155 (1979)
- 76) GOODMAN, F. R., WILLERSON, J. T., HESTER, R. K. AND WEISS, G. B.: *Cardiovasc. Pharmacol.* **1**, 265 (1970)
- 77) ADAMS, H. R., GOODMAN, F. R., LUPEAN, V. A. AND WEISS, G. B.: *Life Sciences* **12**, 279 (1973)
- 78) GOODMAN, F. R., WEISS, G. B. AND ADAMS, H. R.: *J. Pharmacol. exp. Ther.* **188**, 472 (1974)
- 79) GOODMAN, F. R., WEISS, G. B. AND ADAMS, H. R.: *Blood Vessels* **12**, 248 (1975)
- 80) ADAMS, H. R., GOODMAN, F. R. AND WEISS, G. B.: *Antimicrobial Agents Chemother.* **5**, 640 (1974)
- 81) GOODMAN, F. R., WEISS, G. B. AND GOTH, A.: *J. Pharmacol. exp. Ther.* **198**, 168 (1969)

Abstract—Hideaki KARAKI (Department of Veterinary Pharmacology, Faculty of Agriculture, University of Tokyo, Bunkyo-ku, Tokyo 113, Japan). Calcium components in vascular smooth muscle. *Folia pharmacol. japon.* 77, 1~8 (1981)

Using Scatchard plots, high and low affinity Ca binding sites were detected on the surface membrane of vascular smooth muscle. Superficial low affinity bound Ca was rapidly lost in Ca-depleted solution and K-induced contraction appears to depend upon this Ca source. A part of this low affinity bound Ca exchanged slowly and was rapidly released by norepinephrine. Superficial high affinity bound Ca was not readily lost in Ca-depleted solution and was removed by La and EGTA, suggesting that the sustained contraction induced by norepinephrine may be supported by this Ca component. The La-inaccessible (cellular) Ca was also separated into high and low affinity bound Ca. Cellular low affinity bound Ca increased in high-K solution but not by norepinephrine. In depolarized muscle, however, norepinephrine increased the cellular low affinity bound Ca. Inhibitors of mitochondrial respiration inhibited Ca binding to the cellular low affinity binding site but not the K-induced contraction, suggesting that this Ca component represents mitochondrial Ca uptake. Cellular high affinity binding site took up Ca slowly and the bound Ca was released rapidly by norepinephrine. This source of Ca may be utilized for norepinephrine-induced phasic contraction.