心筋の膜系における Ca^{2+} 調節*

澄 田 道 博** 奥 田 拓 道**

I. はじめに

心筋の収縮および弛緩は、 Ca^{2+} 濃度変化により制御されており、同 Ca^{2+} 制御は筋小胞体(CSR)膜上の Ca^{2+} 、 Mg^{2+} -ATPase による Ca^{2+} ポンプ、あるいは心筋細胞膜 (SL) による Na^{+} - Ca^{2+} チャネルにより行われていることが知られている¹⁾。すでにわれわれは CSR の Ca^{2+} 制御機構を Ca^{2+} 、 Mg^{2+} -ATPase の反応機構を解析して詳細に調べてきた²⁾ が、今回血管筋弛緩剤として使われるニコモールおよび類似構造体などが、CSR の Ca^{2+} 制御に与える影響を調べたので報告する。

II. 材料および方法

イヌの左心室心筋をホモジナイズして、遠心分画法により CSR を主に含むミクロゾームを調製した²⁾。日立 557 型二波長分光光度計を使用し、 Ca^{2+} 感受性色素アルセナゾ III (AIII) の吸光度変化 (Fig. 1) から、ミクロゾームによる Ca^{2+} の取り込み量を測定した (Fig. 2)。同系にニコモール (NM) やその構造類似体としてニコチン酸 (N) あるいはニコチン酸アミド (NA) を添加して、 Ca^{2+} 取り込みに及ぼす影響を調べた。

III. 結果および考察

心筋から単離分画されたミクロゾーム (CSR) はキュベット内 (in vitro) においても、ATP の添加によりメディウム中の Ca^{2+} を取り込むことが知られている。Figure 2 にはその経時変化をアルセナゾ III (AIII) の吸光度変化 (たて軸) により示した。1) まず CSR (1 mg/ml) および AIII (50 μM)

を含むキュベットに 2 回 Ca^{2+} (5 μM) を添加すると、各 Ca^{2+} 濃度に対応して吸光度が増加した。2) 次に ATP (0.1 mM) を 0 分で添加すると直ちに吸光度が減少し始めた。これは CSR によりメディウム中の Ca^{2+} が取り込まれたことを示しており、この Ca^{2+} 取り込みの分子機構はすでに明

Fig. 1 Absorbance of arsenazo III with microsomes & CaCl_2 .

Fig. 2 Ca^{2+} -uptake by cardiac SR.

* 1982年7月, 第14回日本動脈硬化学会において発表

** 愛媛大学医学部第二生化学教室

Table 1 Effects of agents on Ca^{2+} -uptake by cardiac sarcoplasmic reticulum

	Maximum activity (Ca^{2+} nmol/mg)	Ratio (%)
Control	18.5 ± 1.4	100
Nicotinic acid	18.4 ± 0.8	99
Nicotinic acid amid	13.4 ± 0.8	72
Nicomol	11.2 ± 0.8	61

0.5 mM each agents, 1 mg/ml CSR, 50 μM arsenazo III, 10 μM CaCl_2 , 0.1 mM ATP, 30°C, pH 6.8.

らかにされている²⁾。ATP 添加の約 1 分後に最大 Ca^{2+} 取り込み量に達し、その後再び Ca^{2+} は次第に CSR から遊離していくのが観察された。

Table 1 にこの Ca^{2+} 取り込みに対する NM, N, NA (各 0.5 mM) の影響を調べて表示した。この結果 N は無添加のコントロールに比べて影響が無く、NA は約 72% に減少、NM は約 61% までへと減少していた。しかしその後の Ca^{2+} 遊離への効果はほとんど認められず、この結果から CSR による Ca^{2+} 調節機能への NM および NA の低下作用があることが考えられ、さらに心筋における筋収縮および弛緩相への遅延効果が予想された。

Fig. 1 Ca^{2+} 添加によるアルセナゾ III の吸光度変化——アルセナゾ III (50 μM) 心筋ミクロゾーム (1 mg/ml), KCl (0.1 M), MgCl_2 (5 mM), Tris maleate (5 mM) を含むメディウム (pH 6.8) に CaCl_2 (0.1 mM) を添加した時の吸光度変化をコントロールとして、NaCl (0.1 mM) 添加の場合と比較した。図から明らかなように 685 nm を対照として 675 nm の吸光度の増加が観られた。両者は MgCl_2 や pH の影響の少ない波長として選んだ。

Fig. 2 心筋ミクロゾームによる Ca^{2+} 取り込みの経時変化——Fig. 1 の系に ATP (0.1 mM) を 0 分で添加した時のアルセナゾ III の吸光度の減少を示す。同減少は約 1 分後に最大値 ($\Delta A = 0.01$) に達した後、次第に増加した。

Table 1 心筋ミクロゾームの Ca^{2+} 取り込みに対するニコモールの阻害効果——Fig. 2 の Ca^{2+} 取り込みに対するニコチン酸、ニコチン酸アミド、ニコモール (各 0.5 mM) の添加効果を示す。おのおの ATP 無添加では Ca^{2+} 添加によるアルセナゾ III の吸光度の増加には影響が認められなかった。

文 献

- 1) 多田道彦監訳：心臓生理学 (Katz, A. M. 著)-9 章。学会出版センター、東京 (1981 年)。
- 2) Sumida, M., Wang, T., Mandel, F., Froehlich, J. P. and Schwartz, A.: Transient kinetics of Ca^{2+} transport of sarcoplasmic reticulum, J. Biol. Chem., **253**: 8772-8777 (1978)。

Summary

Ca²⁺-regulation in Dog Cardiac Microsomes

Michihiro SUMIDA and Hiromichi OKUDA

Second Department of Medical Biochemistry, Ehime University, School of Medicine, Ehime

Isolated dog cardiac microsomes (CSR) showed Ca²⁺-uptake by adding ATP, which was measured with the optical density change of Arsenazo III (Ca²⁺-sensitive dye) using Hitachi dual wave length spectro photometer at 30°C. Maximal Ca²⁺-uptake (18.5 ± 1.4 nmol/mg) was attained at 1 min after adding 0.1 mM ATP to 1 mg/ml of CSR in the presence of 50 μ M Arsenazo III. This Ca²⁺-

uptake was inhibited by 0.5 mM Nicomol (about 39%) and Nicotinic Acid Amid (about 28%) but not by Nicotinic Acid. It was suggested that the Nicomol and Nicotinic Acid Amid possibly delay the cardiac muscle contraction and relaxation.

Key words: cardiac microsomes, Ca²⁺-uptake, nicomol.