原 著

銀イオンにより誘起された骨格筋収縮の
分子機序に関する研究

二本柳 賢 司* 大 羽 利 治

要旨 銀イオン(Ag)の骨格筋への生理作用を知る為、Agによる収縮に対する外液 Ca^{2+} ・Caチャンネル阻害剤・SH基酸化還元剤の効果を調べた。 Ca^{2+} 存在下、Agは一過性の収縮(P_1)と持続性の収縮(P_2)を発生した。 Ca^{2+} 非存在時 P_1 のみ観察された。 P_1 はニフェジピンで、 P_2 はニフェジピンと Cd^{2+} で抑制された。収縮発生途中のDTT投与は収縮を中断した。0.1% H_2O_2 処置筋へのAg投与は張力を生じなかった。 H_2O_2 処置後、10mM DTTで2分間処置すると、筋は再びAgに対する収縮性を回復した。20 μM Hg^{2+} 処理筋に10 μM Agを投与しても、収縮はみられなかった。以上の結果は次の事を示している。①Agが骨格筋に対し2つの作用部位を持ち、異タイプの筋収縮を誘起する。②収縮の発現はSHの酸化による。③この反応にCaチャンネルが関与している。

I 結 言

鍼治療の際、生体内に刺入した刺激鍼から溶出した成分(特に金属イオン)¹⁻³⁾の生体への影響に関する生理学的研究は皆無に等しく、不明な点が多い。銀(Ag)イオンは骨格筋細胞に対し毒性を持ち、壊死させる事は昔からよく知られている。現在も東洋医学における基本的治療法の一つとしてしばしば鍼治療に銀鍼が用いられている。そのため、Agイオンの骨格筋細胞に対する生理作用を解明する事は重要な意義を持っている。最近、我々は、リンゲル液中でカエル下肢骨格筋を取り出し、その単一筋線維標本に極く微量のAgイオンを投与した

所、ゆっくりした筋収縮の発現と細胞の壊死を観察した^{4,5)}。一方、リンゲル液中のCaイオンをMgイオンに置換した所、Agイオンによる収縮は一過的で直ちに静止張力に戻り、組織学的に細胞の壊死は見られなかった。この一過的な張力の発現のためには、神経からの細胞外の情報(細胞表面膜に発生した活動電位)を細胞内へと伝える役割を担う骨格筋横行小管(T管)の存在を必要とした⁵⁾。これらの知見は外液Caイオンの有無により、骨格筋のAgイオンによる収縮の発現機序が異なることを示唆している。Caイオンが細胞外液として存在する場合には、そのCaイオンが収縮の引金として働いているのであらうと思われる。我々人間を含めた動物の細胞外液には約2~3mMのCaイオンが存在しているので、Caイオン存在下でのAgイオンの作用が重要である。一方、Agイオンは膜タンパク質に存在するSH基と結合する事が知られている。

本研究の目的はCaイオン存在下でのAgイオンによる筋収縮の分子機序を解明し、Caイオン非存

* Kenji NIHONYANAGI 名古屋市立大学医学部第一生理学教室

共同研究者：Toshiharu OBA 名古屋市立大学医学部第一生理学教室

Key Words：銀イオン、Caイオンチャンネル、SH基、張力、骨格筋細胞

在下での効果と比較することである。

II 材料・方法

ウシガエル (*Rana catesbeiana*) の下肢骨格筋 (*Musculus flexor brevis digiti V*) を取り出し、先端の鋭利なピンセットと眼科用ハサミを用い、氷で冷やしたリンゲル液 (115mM NaCl, 2.5mM KCl, 3 mM リン酸緩衝液, 1.8mM CaCl₂, pH7.0) 中で単一筋線維を取り出す。筋長は約0.9cm, 直径は70~100 μ m のものを用いた。両端の腱を各々薄いアルミ箔でラップし、一端を5mlのリンゲル液を満たした実験槽に固定する。他端は張力トランスジューサーのフックに固定し、発生張力を測定する⁶⁾。筋は約20%伸張し、電気刺激に応答し最大張力を示すようにセットする。20分間リンゲル液中に筋をインキュベートした。その際、電気刺激に応答し発現する強縮が維持されない細胞は実験から除外した。Ag イオンはリンゲル液中に存在するCl イオンと反応し、AgCl を形成し沈殿するため、溶液はCl イオンをNO₃ イオンに置換したMOPS液 (115 mM NaNO₃, 2.5mM KNO₃, 3 mM Ca(NO₃)₂, 10mM 3 (N-morpholino)propane sulfonic acid (MOPS), pH7.0) とした。Ca イオン非存在下の実験の場合、Ca イオンをMg イオンと置き換えたMOPS液 (115mM NaNO₃, 2.5mM KNO₃, 3mM Mg(NO₃)₂, 10mM MOPS, pH7.0) を用いた。筋線維を3分間MOPS液の中でインキュベートした後、電気刺激装置から一対の白金電極を介し、筋を電気刺激し、単収縮および強縮 (単発刺激および50Hz, 1秒間刺激, 刺激時間はいずれも0.2ms) を観察する。次に、5~10 μ M Ag イオンを投与する。銀イオンが膜蛋白質のSH基に作用するか否かを確かめるために、Ag イオンによる収縮発生の途中にSH基還元剤であるdithiothreitol (DTT) を1 mM 投与し、収縮に対する効果を観察した。また、過酸化水素 (H₂O₂) は強力な酸化剤である。蛋白質を過酸化水素で処理すると2つのSH基が酸化され、SS結合を形成する。もし、Ag イオンにより発生した張力がfreeのSH基を必要とするならば、過酸化水素であらかじめ処置した筋はもはやAg イオンに応答しないと思われる。一方、水銀 (Hg) イオンは、Ag イオンと同様に、膜蛋白質のSH基

に結合することが知られているので、Hg イオンの前処置によりAg イオンによる収縮が抑制されると考えられる。これらの点をHg イオンと過酸化水素を用いてチェックした。また、ガラス管微小電極法でHg イオンの膜電位に及ぼす効果も調べた。

カドミウム (Cd) イオンは骨格筋のCa イオンチャンネルを流れる電流をブロックすると報告されている⁷⁾。もし、Ag イオンによる収縮がこのチャンネルを流れるCa イオンにより誘起されるとすれば、Cd イオンにより持続性の収縮の抑制が観察されるであろうと期待される。リンゲル液に加えた1~3mMCd イオンの存在下でこの点をチェックした。我々は前の研究でCa イオン非存在下、筋はAg イオンに反応し一過性の張力発生を観察した⁴⁾ので、この一過性の張力発生に対する1~3mMCd イオンの効果も調べた。一方、骨格筋のT管膜にはCa イオンチャンネル内に電位センサーが存在し、Ca イオンの細胞内流入とは無関係にこの電位センサーの働きで収縮が誘起されると考えられている⁸⁾。一過性の張力はAg イオンがT管膜に存在するこの電位センサーに作用した結果であるかも知れない。この点をL型Ca イオンチャンネルの抑制剤であり、かつ、電位センサーの働きを阻害する試薬であるジヒドロピリジン (DHP) 誘導体 (ニフェジピン) の投与でチェックした。

実験はすべて室温 (20~23°C) で行った。

結果は平均値土標準誤差で表した。

III 結 果

<Ag イオンにより誘起された張力に対するSH基およびその還元剤の効果>

MOPS液に3mMCa イオンを加えた溶液中で、単収縮と強縮を観察した後、5 μ M Ag イオンを投与した。図1A-aに見られる様に、筋線維はAg イオン投与後6秒で発生し始める比較的立ち上がりの速い一過性の張力 (P₁) とその後ひき続きゆっくり立ち上がる持続性の張力 (P₂) を示した。P₂ は溶液のCa イオンを等モルのMg イオンで置換したときには消失した (図1B-a)。P₁ の大きさは外液Ca イオンの有無に関係なくほぼ一定であった (0.59 $\times$ T $\pm$ 0.05, n=10; Tは強縮による最大張力を示す)。一方、P₂ は、前の報告⁵⁾と同様、外液にCa イオン

図1 Agイオンによる収縮に対するSH基還元剤(1 mM DTT)の効果

3 mM Ca-MOPS 液(A)および3 mM Mg-MOPS 液(B)中で $5 \mu\text{M}$ Ag イオンにより誘起した収縮(a)に対する色々な時間に投与(矢印)した DTT の張力抑制効果(b-d)を示す。t, T および Caf はそれぞれ単収縮, 強収縮および20 mM カフェイン拘縮を示す。校正時間: t, T は 3 秒, Ag イオンによる収縮, カフェイン拘縮は30秒を示す。

の存在を必要とした。この張力はピークに達した後、壊死のためゆっくりと張力を減じた。次に、これらのAgイオンによる張力が筋膜蛋白質のSH基へのAgイオンの結合によるか否かをSH基還元剤であるDTTを用いて調べた。 $5 \mu\text{M}$ Agイオン投与11秒(図1 A-b)及び17秒(A-c)後(それぞれ収縮開始4秒及び9秒後)、1 mM DTTを筋に投与した時、発生していた張力は中断され直ちに静止張力に戻った。 P_2 も観察されなかった。DTTの投与を更に遅らせ P_2 発生直前(Agイオン投与48秒、収縮開始37秒後)に与えたところ、 P_2 の張力も中断した(図1 A-d)。いずれの筋線維も20 mM カフェインに応答しほぼ最大張力に相当する大きな張力を発生した。外液からCaイオンを除去し P_1 のみ発生する条件(図1 B-b, c)でも、DTTの効果は同じであった。

単収縮と強収縮を観察後、筋を0.1%過酸化水素(H_2O_2)で10分間処置した。過剰の H_2O_2 を3 mM Mg-

MOPS液で2分間洗い、 $10 \mu\text{M}$ Agイオンを投与した。しかし、張力の発生は観察されなかった。この筋は20 mMのカフェインには応答した(図2 A)。一方、10分間の H_2O_2 処置後、10 mM DTTで2分間処置、3 mM Mg-MOPS液で洗った後、筋は再びAgイオンにたいする収縮性を回復し、一過性の張力の発生を見た(図2 B)。静止張力に戻った後、筋は再び20 mMのカフェインに応答した。

10数本の筋束から成る筋線維の1本に3 M KCl液をつめた微小ガラス毛細管を刺入し静止膜電位を測定した。2分後、 $40 \mu\text{M}$ Hgイオンを投与し、連続的に膜電位を20分間観察し続けた。図3 Aに示される如く、膜電位は-94 mVから9分後-75 mVへと時間とともに脱分極した。その後の脱分極は僅かであった。Hgイオンによる2個の蛋白質SH基のS-Hg-Sへの化学反応が膜電位を脱分極したと思われる。次に、HgイオンのAgイオンによる収縮に対する効果を調べた。 $20 \mu\text{M}$ Hgイオンで30分

図2 0.1% H_2O_2 によるAg収縮の抑制とDTTの効果

A. 筋を10分間0.1% H_2O_2 処置後、Mg-MOPS液で過剰の H_2O_2 を洗い流した。その後 $10\mu\text{M}$ Ag イオンを投与した。B. 0.1% H_2O_2 処置後、10mM DTTに2分間作用させMg-MOPS液で洗い、 $10\mu\text{M}$ Ag イオンによる収縮を観察した。他は図1と同じ。

処理した筋(張力の発生は見られなかった)を2分間 Mg-MOPS 液で洗い、過剰の Hg イオンを除去後 $10\mu\text{M}$ Ag イオンを投与した。しかし、収縮はみられなかった(図3B)。次に投与した20mM カフェインに応答してほぼ最大の張力が観察されたことから、この筋の筋小胞体及び収縮タンパク質は正常に機能していたと思われる。

〈銀イオンによる収縮に対する Cd イオンの効果〉

3 mM Ca-MOPS 液で2分間インキュベートした筋線維に3 mM Cd イオンを投与した。筋は3分後与えた $10\mu\text{M}$ Ag イオンに应答し、図4A-b)に見られるような張力を発生した。この収縮曲線は3 mM Mg-MOPS 液中で3mMCd イオン存在下で $10\mu\text{M}$ Ag イオンでみられた曲線(図4B-b)と似ていた。即ち、Ag イオンによる一過性の収縮は抑制される事はなかった。しかし、収縮の立ち上がり速度に僅かな抑制が観察された。対照的に、弛緩速度は大幅に遅れ、その結果収縮期間の延長を来した。Ca イオン存在下に遅れて発生する持続性張力(P_2)は消失した。1 mMCd イオンの張力抑制効果

は弱く、図1A-a)と図4A-a)の比較から解るように、持続性収縮のわずかな遅延を観察したに過ぎなかった。外液に Ca イオンが存在しない場合の Ag イオンによる一過性の張力(P_1)に対する Cd イオンの抑制効果も弱かった(図4B-a)。1 mM Cd イオンで筋を3分間処置した後、3 mM Mg-MOPS 液に置き換えたところ、 $10\mu\text{M}$ Ag イオンにより発生した張力は対照(図1B-a)と似て、ピーク後直ちに静止張力に戻った(図4B-c)。この結果は Ca イオンチャンネルに作用していた Cd イオンは直ちに洗い流され、その効果が消失したことを示している。

〈銀イオンによる収縮に対するニフェジピンの効果〉

正常リンゲル液中で単収縮と強縮を測定後、 $10\mu\text{M}$ ニフェジピンを投与した。投与中2分に一度の頻度で電気刺激し収縮(強縮)を観察した。図5に見られるように、15~20分で張力の大きな抑制がみられ、30分後にはほとんど観察されなくなった。筋を更に30分ニフェジピン溶液中でインキュベートし、その後3 mM Ca- または3 mM Mg-MOPS 液で2分間洗い溶液中の過剰のニフェジピンを除

図3 膜電位と Ag 収縮に及ぼす Hg イオンの効果

A. $40\mu\text{M}$ Hg 存在中の膜電位と張力の同時記録。B. 30分間の $20\mu\text{M}$ Hg イオン処置後 Ag($10\mu\text{M}$)による張力の抑制を示す。Hg イオン処置中, t と T は抑制された。

去した。 3mM Ca イオン存在中, $20\mu\text{M}$ Ag イオンの投与にも関わらず, 筋は一過性の収縮応答を示さず, 僅かな持続性の収縮を発生した(図5A)。一方, 3mM Mg-MOPS 液中では, 筋はニフェジピン処置後, もはや $20\mu\text{M}$ Ag イオンに反応しなかった(図5B)。いずれの場合も, 20mM カフェインには応答し, 大きな収縮を示した。

IV 考 察

この研究結果は以下の事を示している。①Ag イオンが骨格筋に対し2つの異なる作用部位(細胞表面膜とT管膜)を持ち, 異なった機序で異タイプの筋収縮を誘起する。②収縮の発現には膜蛋白質に free の SH の存在が必要である。③その SH 基の Ag イオンによる酸化が収縮に必須である。また, ④この反応に Ca イオンチャネルが関与している。

骨格筋における生理的な収縮・弛緩は細胞内 Ca イオンの貯蔵器官である筋小胞体(SR)からの Ca

イオンの放出とそこへの取り込みにより制御されている。終板に発生した活動電位はT管系を伝導し, 細胞内部へと伝えられる。T管の興奮はSRからCaイオンを遊離する。しかし, T管からSRへの情報伝達機構はまだ充分には解明されていない⁹⁾。最近, その糸口が見いだされてきた。骨格筋T管膜には膜電位変化を感じるCaイオンチャネル蛋白質が豊富に存在しており¹⁰⁾, この蛋白質はCaイオンチャネルとして^{11,12)}のみならず, T管膜での charge movement を生じる膜電位センサーとして機能している⁸⁾。しかし, このチャネルを介するCaイオン流入は筋収縮に重要な役割を果たしていないと考えられている^{13,14)}。一方, ニフェジピンなどのCaイオンチャネル阻害剤(ジヒドロピリジン: DHP)で筋線維を処置すると収縮および charge movement が同時に抑制されること, また, 遺伝的にこの蛋白質を欠くマウスへのDHP α_1 サブユニットの導入により筋収縮が回復すること^{15,16)} か

図4 Agイオンによる収縮に対するCdイオンの効果

A. 3 mM Ca-MOPS 液中で3分間Cdイオンに感作させた所、1 mM では10 μ M Agイオンによる持続性収縮は影響されなかった(a)が、3 mM ではその完全な抑制(b)がみられた。一方、一過性収縮は1 mM ですでに収縮期間の延長がみられた。B. 3 mM Mg-MOPS 液中では、一過性収縮についてAと同様であった(a, b)。1 mM Cdイオンで感作後Mg-MOPS液で洗うと、再びAgイオンによる収縮が観察された(c)。各トレイスの下に矢印はその溶液の存在期間を示す。

ら、DHP受容体蛋白質がT管からSRへの情報伝達に重要な役割を果たしていると推測されている。著者の一人はAgイオンがこのDHP受容体蛋白質に特異的に結合することを観察した¹⁷⁾。さらにT管を破壊した筋ではもはやAgイオンによる一過性の収縮が消失した事⁵⁾および図4, 5に見られるように、この収縮はニフェジピンで抑制されたがCdイオンでは抑えられなかったことから、DHP受容体蛋白質を介した反応により誘起されたことを示唆している。一方、外液に3 mM Caイオンが存在する場合、図1 A-aに見られる如く、立ち上がりの速い一過性の収縮(P₁)とその後起こるゆっくりとした持続性の収縮(P₂)が観察された。P₂は外液Caイオンの等モルのMgイオンへの置き換えにより消失した(図1 B-a)。これは高張グリセリン液でT管を破壊した筋ではもはやP₁を発生しないが、P₂は外液Caイオン濃度に依存したという以前の研究結

果⁵⁾と一致していた。3 mM Cdイオンで完全に、ニフェジピンではほぼ完全に抑制されたことから、P₂が外液に存在するCaイオンの流入により誘起されたことを示している。

Agイオンは蛋白質SH基に作用することはよく知られているので、Caチャネル蛋白質SH基の酸化が筋収縮を誘起する可能性を調べた。図1に見られるように、多量のSH基還元剤であるDTTをAgイオンによる収縮発生途中に投与すると以後の収縮は抑制されたこと、また、H₂O₂でSH基を酸化しSS結合を形成(図2 A)させたり、HgイオンでSH基をS-Hg-Sに変換させる(図3 B)とAgイオンによる収縮が発現しなくなること、さらに、H₂O₂でSH基をSS結合へと酸化後再度DTTで還元した場合、筋は投与したAgイオンにตอบสนองし対照群と似た収縮を示した(図2 B)ことは蛋白質SH基の酸化がAgイオンによる筋収縮に必須であること

図5 10 μ M ニフェジピンによるAg収縮の抑制。A. 3 mM Ca-MOPS 液中, B. 3 mM Mg-MOPS 液中, ニフェジピンはリンゲル液中で1時間処置した。ニフェジピン存在中の最初のt, Tは15分(A)及び20分(B)後, 2 番目のt, Tは30分後のものである。20 μ Mの多量のAgイオンを用いたにも関わらず, 収縮はほぼ完全に抑制された。

を証明している。T管に豊富に存在するDHP受容体 α_1 サブユニットに存在すると推察されている電位センサーが生理的な筋収縮に必須であり, このセンサーの活動はCdイオンでは抑制されないが, ニフェジピンで抑えられる^{7,8)}。Agイオンによる一過性の収縮にたいするこれらの薬物の効果は生理的筋収縮に対するものと同様であった。この知見はAgイオンが電位センサーのSH基に作用した可能性を示唆している。一方, 表面膜にも僅かであるがT管と同じCaイオンチャネルの存在が免疫蛍光法を用い組織学的に報告されている¹⁸⁾。このCaイオンチャネルがAgイオンによる持続性の筋収縮の発現に関与している可能性がある。2つのCaイオンチャネル阻害剤で収縮抑制が観察されたこと(図4, 5)と張力が外液Caイオン濃度に依存した²⁾ことはこのチャネルを流れるCaイオンが収縮を誘起したことを強く示唆している。最近, 我々はAgイオンにより表面膜のCaイオンチャネルが開状態に固定されることを示す知見を得ている¹⁹⁾。

本研究結果はCaイオン存在下でAgイオンが起源を異にする性質の異なる2種類の筋収縮を誘起する事を示しており, 生体内に座置した銀鍼から溶出したAgイオンがin vitroの実験と同様, 生体

内で実際に筋を収縮させ, 壊死させるか否かを研究することは今後に残された重要な点であると思われる。

引用文献

- 1) 二本柳賢司, 成田正次: 鍼成分のイオン化に起因する諸効果について, 自律神経雑誌 25(3,4);112~117. (1979)
- 2) 二本柳賢司, 小野了一, 加藤隆平: 特性X線による組織内遷移金属の分析(I)——筋・皮膚内Au鍼刺入による各種金属イオンの動静——全日本鍼灸学会雑誌 31(3);223~231. (1982)
- 3) 二本柳賢司: 特性X線, NMR, ESRによる組織内遷移金属の分析(II)——筋肉内へのAu鍼刺入による金属イオンの動静(II)——全鍼灸誌 32(3);204~209. (1983)
- 4) Oba, T. and Hotta, K.: Silver ion-induced tension development and membrane depolarization in frog skeletal muscle fibres, Pflügers Arch, 405, 354-359, 1985.
- 5) Oba, T. and Hotta, K.: Effects of extracellular calcium and calcium channel blocker on silver-induced contractures in frog skeletal muscle fibers, Jpn. J. Physiol, 37, 125-135, 1987.

- 6) Oba, T., Yamamoto, M., Aoki, T. and Hotta, K. : Mechanical, electrical, and morphological characteristics of skeletal muscle fibers from *Xenopus* and other species of frogs, *Jpn. J. Physiol*, 33, 521-534, 1983.
- 7) Cognard, C., Rivet, M. and Raymond, G. : The blockade of excitation / contraction coupling by nifedipine in patch-clamped rat skeletal muscle cells in culture, *Pflügers Arch*, 416, 98-105, 1990.
- 8) Rios, E. and Brum, G. : Involvement of dihydropyridine receptors in excitation-contraction coupling in skeletal muscle, *Nature*, 325, 717-720, 1987.
- 9) 大羽利治 : 骨格筋での情報伝達機構, *日本臨床*, 48, 33-40, 1990.
- 10) Curtis, B. M. and Catterall, W. A. : Purification of the calcium antagonist receptor of the voltage-sensitive calcium channel from skeletal muscle transverse tubules, *Biochemistry*, 23, 2112-2118, 1984.
- 11) Hymel, L., Striessnig, J., Glossman, H. and Schindler, H. : Purified skeletal muscle 1, 4-dihydropyridine receptor forms phosphorylation-dependent oligomeric calcium channels in planar bilayers, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 85, 4290-4294, 1988.
- 12) Schwartz, L. M., McCleskey, E. W. and Almers, W. : Dihydropyridine receptors in muscle are voltage-dependent but most are not functional calcium channels, *Nature*, 314, 747-751, 1985.
- 13) Armstrong, C. M., Bezanilla, F. M. and Horowicz, P. : Twitches in the presence of ethylene glycol bis-(β -aminoethyl-ether)-N, N'-tetraacetic acid, *Biochim. Biophys. Acta*, 267, 605-608, 1972.
- 14) Gonzalez-Serratos, H., Valle-Aguilera, R., Lathrop, D. A. and Garcia, M. C. : Slow inward calcium currents have not obvious role in muscle excitation-contraction coupling, *Nature*, 298, 292-294, 1982.
- 15) Tanabe, T., Beam, K. G., Powell, J. A. and Numa, S. : Restoration of excitation-contraction coupling and slow calcium current in dysgenic muscle by dihydropyridine receptor complementary DNA, *Nature*, 336, 134-139, 1988.
- 16) Adams, B. A., Tanabe, T., Kikami, A., Numa, S. and Beam, K. G. : Intramembrane charge movement restored in dysgenic skeletal muscle by injection of dihydropyridine receptor cDNAs, *Nature*, 346, 570-572, 1990.
- 17) Oba, T. : Silver ion selectively modulates the Ca^{2+} channel voltage sensor of frog skeletal muscle, *Jpn. J. Physiol*, In press, 1991.
- 18) Jorgensen, A. O., Shen, A. C.-Y., Arnold, W., Leung, A. T. and K. P. Campbell : Subcellular distribution of the 1, 4-dihydropyridine receptor in rabbit skeletal muscle in situ : An immunofluorescence and immunocolloidal gold-labeling study, *J. Cell Biol*, 109, 135-147, 1989.
- 19) 青木貴子・大羽利治 : Ag^{+} によって生ずる骨格筋収縮と内向き電流, 第37回生理学中部談話会講演要旨集, p.43, 1991.

(〒621 京都府亀岡市蕨田野町芦ノ山杉森6の29)

Molecular Mechanism Underlying Silver Ion-induced Contraction in Skeletal Muscle

Kenji Nihonyanagi and Toshiharu Oba

Department of Physiology, Nagoya City University Medical School

Effects of external Ca^{2+} concentration, Ca^{2+} channel blockers and chemical modification of SH groups in membrane proteins on silver ion(Ag^+)-induced contraction were studied with single fibers of frog toe muscle. In the presence of 3mM Ca^{2+} , Ag^+ produced phasic(P_1) and subsequent tonic(P_2) contractions. When Ca^{2+} were replaced by Mg^{2+} , only P_1 occurred upon Ag^+ . This type of contraction was completely blocked by 10 μM nifedipine. P_2 was inhibited by application of 10 μM nifedipine or 3mM Cd^{2+} . When exposed to 1mM dithiothreitol(DTT) during contraction, the fiber rapidly decreased the tension to the resting level and then tension no longer developed. The fiber pretreated with 0.1% H_2O_2 for 10 min did not respond upon 10 μM Ag^+ . In such a fiber, reduction of SH groups by 10mM DTT for 2 min restored the responsiveness of the fiber to Ag^+ . Ag^+ -induced contraction was not observed after exposure of the fiber to 20mM Hg^{2+} for 30 min. These findings suggest that Ag^+ has 2 sites to induce different types of contraction and that oxidation of SH groups in Ca^{2+} channels participates in Ag^+ -induced contraction.