〔綜 説〕

筋細胞膜と内部膜*

堀 田 健**

はじめに	膜の生化学
筋細胞膜の形態学	膜の生物活性, receptor の存在
電気的特性	おわりに

Fig. 1 Observation of intact skeletal muscle surface membrane (sarcolemma) by light microscope. $\times 340$ (Maruro *et al.*¹⁾)

はじめに

筋は刺激に対応して収縮し、その役割を果たす組織である。機能単位は筋細胞 (muscle cell, 骨格筋では fiber とよぶ) で主役を演ずるのは収縮蛋白 (myosin, actin) であり, myosin ATPase がそのエネルギー供給源になっている。

細胞膜 (sarcolemma) は収縮蛋白や代謝性酵素をつつみ、外界との境界をつくる。筋細胞膜は典型的な興奮性膜 (excitable membrane) で興奮によって収縮蛋白を一過性に活性化させるはたらきをもっている。筋細胞の大きさからして微小電極の使用が可能なので、古くからイカ巨大神経線維と共に電気生理の研究材料としてよく使用されてきた。生化学的な性質の解明はそれほど進んでいない。これは膜成分を純粋な形で分離することが他の材料に比してむずかしいためであろうが、一方骨格筋は種特異性のない均一な素材が比較的容易に得られるという点ですてがたい利点がある。精製法の改良と共に今後膜の基本的研究の材料として用いられる可能性は充分にある。

内部膜は筋細胞のなかでシールされた膜系として、小胞体から分化したものと考えられ、すべての筋細胞に認められる。形質膜と異なる機能があり、共通していることは、カルシウムのとりこみを行ない、細胞内カルシウムをブールしてその濃度を調節することである。分離した骨格筋小胞体はカチオン (cation) 能動輸送と ATPase 活性の系の研究対象としてよく使われている。

本論では骨格筋細胞膜を中心に筋細胞膜全般についてその微細構造、生理、生化学的性質、生物活性や筋機能逐行上の役割等について、最近までの知見をのべる。

筋細胞膜の形態学

骨格筋線維を顕微鏡下で分離していくとき、わずかな損傷を受けた細胞は、内部が収縮して表面の膜のみが中空でひばられている状態になり、膜の存在が写真¹⁾ (図1) のようにはっきりと認識される。筋線維の力学的性質に対する膜の寄与についての報告^{2,3)} も古くから見出される。

筋線維から内容物を除き、膜成分のみを集めて位相差顕微鏡のもとで観察

すると⁴⁾ (図2), 膜は形態を保ったまま筋蛋白のない中空円筒となっている。この形態は collagenase 処理によってくずれてしまう。

* Surface and Internal Membranes of Muscle

** Ken Hotta: 名古屋市立大学医学部 生理

電顕的に調べられた膜の微細構造¹⁾は図3に示されるように4層に分類できる構造をもっている。最も外側の層は極めて細いフィラメント(filament)(直径100 Å)からできていて、網目状をなしている。そのすぐ内側にはコラーゲン(collagen)線維を主とする網目があり、その内側には構造のはっきりしない300～500 Åの層がある。これがアモルフラス(amor-

Fig. 2 Observation of isolated skeletal sarcolemma (frog) by phase contrast microscope.
(McColleston *et al.*¹⁾)

phous)又は基底膜(basement membrane)とよばれる部分であり、多分ムコ多糖体(mucopoly saccharide)が局在している部分であろう。最も内側の層は約100 Åの厚さがあり細胞内に接する形質膜(plasma membrane)である。多くの顆粒が存在し重要な膜酵素が局在している。この部分が分離精製の際失われると、膜が形態的に美しい形を保っていても酵素活性が低くなってしまう。

分離細胞膜を使用しての電気生理学的な試みはいまだ成功していない。

心筋：Tadaら⁵⁾はモルモット心筋から osmotic shock と高濃度KCl処理で筋蛋白を除くことによって、形態を保った心筋細胞膜を分離することに成功した。骨格筋からのものと同様横紋構造のない標品であるが内容を完全に除くことは極めてむずかしい。カエルの心筋はこれに反し、内部膜系が少なく、細胞膜の分離精製には有利な材料であり、Barr⁶⁾らは Na⁺-

Fig. 3 Electron microscopic of skeletal muscle cell membrane.
×50,000 (Maruro *et al.*¹⁾)
f; thin filaments(outer layer)
c; collagen fibers
cc; cluster of collagen fibers
a; basement membrane
pm; plasma membrane(inner layer)
mf; myofibrils

a ; Before extraction of myoplasm ($\times 7,200$) b ; Cell membrane preparation after extraction of myoplasm ($\times 34,800$)

Fig. 4 Electron micrograph of cardiac muscle cell preparation from frog heart.
Note that inside is empty. (Barr *et al.*⁶⁾)

K⁺ATPase 的に極めて純度の高い標品を得ているがその外観は vesicle 状を呈しもとの形態は保っていない (図 4 ab)。

平滑筋：平滑筋は細胞が小さく固い結合組織にとりかこまれているので、強い homogenization 以外に細胞を分ける方法がない。従って膜を無傷な形でとり出すことはむずかしく、得られる標品はフラグメントとなり、Vesicle 状を呈する (Kidwaii ら⁷⁾)。更に遠心によって内部膜ミトコンドリアなどに分画して精製する。

内部膜：筋細胞特に横紋筋 (骨格筋, 心筋) においては内部膜の発達が特徴的である。即ち小胞体膜の分化した網様体 (sarcoplasmic reticulum, SR) が筋

原線維のまわりにまきつき、それと細胞膜が入りこんだ横管系 (longitudinal system, T-tubule) が接合部 (terminal cisternae) を作っている。図 5 は心筋細胞の内部膜系の構造の模式図である⁸⁾。これら内部膜は興奮の内部への伝達 (T-system), Ca store 及びその放出による筋蛋白の活性化 (SR) に重要な役割を果たしている。

平滑筋においては内部膜の発達は悪く、長い間それは存在しないと考えられてきた。然るに、電子顕微鏡技術の改良に伴い、表面膜と明らかに区別される内部膜が表面膜に近接して存在することが Devine, Somlyo ら⁹⁾ によって報告されて以来、多くの研究者によって存在が確められた (図 6)。平滑筋内部膜の機能

Fig. 5 Fine structure of cardiac muscle cell : Relationship of sarcolemma, transverse tubules (T-system), sarcoplasmic reticulum (L-system) and cisternae. (Fawcett⁸⁾)

Fig. 6 Fine structures of surface area of smooth muscle from portal-anterior mesenteric vein. relationship between surface vesicles and tubular components of SR. (x 16,500) small arrow (SV); surface vesicle, Large arrow head: surface membrane, SR; sarcoplasmic reticulum, M; mitochondria (Devine *et al.*⁹⁾)

が果たして骨格筋のそれと同じようなものかどうかについては多くの論議があるがカルシウムプール (Ca pool) として収縮制御のある部分を受けもっていることは間違いのないと思われる^{9,10)}。

筋細胞の膜はすべて形質膜 (plasma membrane) を含む表面膜 (sarcolemma) と、これと直接連絡していない筋細胞内部に別に発達した膜 (sarcoplasmic reticulum) よりなっているといえる。横紋筋では形質膜が一部陥没して横管系 (T-tubule) を形成しているが、平滑筋では T-tubule はなく、内部膜が表面近くにあり、直接に形態膜と機能的な結合を保っているものと思われる。内部膜が筋細胞内で占める割合は相当大きく Mobley & Eisenberg¹¹⁾ によると骨格筋は terminal systemae, longitudinal system を含めて約 10 % である。平滑筋では SR の多い筋 (aorta など) で 5 %, 少ないもの (tenia coli, portal vein など) で 2 % 程度⁹⁾ である。

細胞膜の中で筋の構造的特徴の一つは、表面膜が平坦でなく、突起やくぼみ (folds, caveolae, surface vesicle) が非常に多いことで、これらは収縮弛緩や外部環境によって変動する¹²⁾。更に平滑筋では表面膜のくぼみ (caveolae) と内部膜 (SR) が入りくんでいる (図 6)。これは筋細胞の伸展短縮に伴う表面のメカニカルな変化に対応するためと考えられる¹²⁾ が、一方、膜自体に ATP に依存する収縮や弛緩があると考えられる¹³⁾ もある。

細胞膜の電気的特性

骨格筋、特にカエル骨格筋はイカ巨大神経とともに微小電極による膜の電気的特性の研究に最もよく使われてきた材料である。細胞膜は静止時 Ringer 中で約

80mV の電位差がある。これは主に細胞内外の K^+ 濃度に依存し、

$$E(V) =$$

$$0.059 \log \frac{[K_i^+] + P_{Na}/P_K [Na_i^+] + P_{Cl}/P_K [Cl_o^-]}{[K_o^+] + P_{Na}/P_K [Na_o^+] + P_{Cl}/P_K [Cl_i^-]}$$

$$P_{Na}/P_K = 0.027 \quad P_{Cl}/P_K = 0.23$$

(P_K, P_{Na}, P_{Cl} はそれぞれ K^+, Na^+, Cl^- の透過性を示す)

で表わされる¹⁴⁾。

膜の抵抗は約 3000 ohm/cm² で脱分極を与えるとケーブル理論に従って減衰し、スペース常数 (space constant, 脱分極が $1/e$ になる距離) は約 1.5mm で定性的には神経線維と変わらないが容量 (capacity) は $6 \sim 8 \mu F/cm^2$ と非常に大きな値を示す。膜容量は電媒常数と膜の厚さの電気的表現として重要であるが、膜成分は大部分脂質であり、その厚さが約 80 Å であるとすれば膜容量は $1 \mu F/cm^2$ 程度である筈であり、実際神経線維ではこれくらいの値が得られている。骨格筋の膜は、(1) 伸長によって面積が大きく変わることで、(2) 内部膜構造がある、など複雑な要素があり、Gage, Eisenberg ら^{15,16)} は総容量 (約 $6 \mu F/cm^2$) のうち $2.1 \mu F$ は表面膜に $4 \mu F$ は T-tubule に由来することを示した。また表面膜を通して流れる電流は外から内への Cl^- の流れにより、また T-tubule を横切る分はほとんど内から外への K^+ の流れによることが明らかになった。T-tubule の膜はもともと表面膜から発達したものであるが、イオンに対する選択的な透過性は表面膜のそれと異なっていると思われる (神経膜では脱分極による電流は K^+, Cl^- がほとんど等分に寄与している)。

膜を脱分極させ閾値に達すると一過性の“興奮”が起こる。これは膜が自己再生的 (positive feed back) に脱分極し膜電位が逆転して静止レベルから約 120 mV に達する現象である。イカ巨大神経線維についての Hodgkin-Huxley の Na^+ 説は骨格筋にもそのままあてはまる。T-tubule の膜についても同じことが言える。即ち興奮はケーブル的に伝達されるのではなく、 Na^+ の流入による T 膜自身の興奮による¹⁷⁾。膜興奮の分子的機作 (Na^+ conductance の急激な変化) についてはまだ憶測の域を出ていないが、膜蛋白の構造変化によることが複屈折、蛍光変化による研究から裏づけられている。いずれにしろ、興奮現象の分子機序の研究は緒についたばかりである¹⁸⁾。縦管系 (小胞体膜) は、 Ca のとりこみ能力をもっていて、そのため myoplasmic Ca は低濃度におさえられている。内部膜も膜電位をもっている間接的な証拠もあり、脱分極、再分極に Ca の放出とりこみが共役していると思われる。実際、名取線維 (skinned fiber, 表面膜を除去した線維) も電気刺激に対応して収縮し^{19,20)} また Cl^- によって収縮をおこさせることも出来る²¹⁾。

心筋、平滑筋についての微小電極による研究は骨格筋よりずっと困難であり、非常に細い電極を用いなければならない (直径 $0.1\mu\text{m}$ 以下、抵抗 $30\text{M}\Omega$ 以上)。平滑筋の静止電位は $-60\text{mV} \sim -40\text{mV}$ と低いが、この値は K^+ の平衡電位であり、その他すべての性質は

神経膜、骨格筋の膜と同じである。

興奮に際しての活動電位の特徴は心筋でプラトー相 (plateau) があり、これは K^+ 電流によるものと考えられている。またこの間に Ca^{2+} の流入がある。一方平滑筋では次のような著しい特徴がある。即ち、(1) 自動能をもっているものが多い。(2) テトロトキシン (TTX) の存在下でも活動電位を発生する。(3) Na^+ イオンなしでも興奮を起こす。(4) Ca なしでは興奮を起こさない。これらの事実から Ca 電流 (Ca spike) が活動電位の原因であると考えられる。収縮の trigger となる細胞内 Ca の増加機構についての骨格筋心筋平滑筋の細胞膜及び内部膜の機能の統一的な解明が今後の課題であろう。図 7 に各種筋細胞の典型的な活動電位をかかげてある。

膜の生化学

膜の分離：膜の生化学的性質を研究するには相当大量の膜成分を分離精製することが要求される。骨格筋の膜成分は細胞全体に対する割合が小さく内容物との結合が強いので生物活性をもった純度の高い細胞膜、内部膜成分を得ることはほとんど不可能に近い。研究者によるデータのバラつきも製法 (preparation) にもとづくものが多いと思われる。

細胞膜を集めるにはまず筋蛋白を含む細胞質 (myoplasm) を除かなければならない。それには原理的に 2 つの方法がある。(1) Mc Colleser²²⁾ によってはじめられた低イオン強度溶液中で浸透圧により筋蛋白を流出させる方法 (osmotic shock 法)²³⁾、さらに後、高イオン環境で残存筋蛋白を可溶化させる方法があり、心筋細胞膜にもこの方法が適用出来る。(2) Kono & Colowick²⁴⁾ にはじまる高濃度 LiBr 中で KCl, KBr による長時間処理によって筋蛋白を可溶化し除去する方法で複雑な遠心分画の操作を含む。この改良法もいくつかある²⁵⁻²⁷⁾。低イオン強度で抽出したものは一般に美しい形態を保っている (図 2) が plasma membrane の性質及び局在酵素活性がどれほど保存されているかは不明である。高イオン強度抽出のものはもとの形態は失われ中空の vesicle (図 4 b) となって内部膜由来のものと形態的に区別出来ないが後述の酵素化学的研究の多くはこの vesicle についてなされている。

骨格筋小胞体膜の抽出は筋ホモジネートのミクロゾーム分画として得る Ebashi ら^{28,29)} の方法が標準化されている。ホモジネーションによって分断された膜

Fig. 7 Typical action potential recording (intracellular) of various types of excitable cells. a; squid axon, b; frog sartorius muscle, c; dog ventricular muscle, d; guinea pig vas deferens (smooth muscle). Note that variation of time scale.

は再びシールされて vesicle となり、もとの生物活性を保つ。これが Ca 能動輸送の研究材料として使われる。

平滑筋の膜成分の純化は容易でない。結合を破壊するために強力なホモジネーションを必要とすることが膜成分に少なからぬ影響を与えるからである。

Hurwitz ら³⁰⁾ 戸塚³¹⁾ Devynck³²⁾ らはそれぞれ血管、腸管、子宮筋から膜成分の分離を試みているが、細胞膜、内部膜及びミトコンドリアフラグメントの完全な分離は困難のようである。

化学成分：骨格筋細胞の主成分は蛋白質と磷脂質でそれぞれ全成分の 60～70%，15～25% を占めている。その他少量の糖蛋白、ヌクレオチド及び無機磷酸が含まれている³³⁾。一般に温血動物では磷脂質の割合が多い。

蛋白成分のアミノ酸分析^{24, 23)}によると glycine 量が極めて多く (13～25%)，proline, glutamate 及び aspartate がこれにつづいている。これはコラーゲンの組成と類似しているの、膜成分のなかに占めるコラーゲンの割合が大きいことを示していると考えられ、また電顕の所見もそれを裏づけている。内部膜でも同様の傾向が認められる。SDS 電気泳動によると、ペプチドの主成分は細胞膜では分子量 109,000 (糖蛋白) と 9,300 のものがあり、小胞体では 9,300 のもののみである³⁴⁾。またシアル酸は大部分が細胞膜成分に含まれている (24 mmol/mg)。

磷脂質：表 1 に示すようにかなり多くの報告があ

る。主成分は細胞膜、内部膜とも phosphatidyle choline が最も多く、ついで ethanolamine, serine の順であることはいずれも一致している。しかし cholesterol 含量 (表 1) についてはバラつきが多く、特に Schapira ら³⁷⁾ は非常に高い含量 (磷脂質比 0.65) を出しており、形質膜の特徴と考えている。機能的にも phosphatidyl choline は最も大切である。

膜局在の酵素活性：内外の電解質分布を保つエネルギー減としての ATPase 活性 ($\text{Na}^+ - \text{K}^+$ activated) をはじめ、膜には adenylate kinase, AMP deaminase が存在する。その他 adenyle cyclase, alkaliphosphatase などがあるが、解糖系の電子伝達酵素はないと思われる。

膜 ATPase : $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ ATPase は分離膜について多くの報告がある^{23, 26, 27, 37, 39-41)}。形態のとのつたものの活性は低い²³⁾ (0.2 nmol/mg/sec) が、精製したもの (detergent 処理, NaI 処理を行ない形態がこわれたもの) は活性が高く (1.2 nmol/mg/sec)。ウバインの抑制も 95% に達する²⁷⁾。また Ca によって賦活される ATPase も局在しているらしい⁴²⁾。

Adenylate kinase, AMP deaminase ($2\text{ADP} \rightarrow \text{ATP} + \text{AMP}$, $\text{AMP} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{IMP} + \text{NH}_3$): 基質として加えた ATP は ADP を経て IMP まで分解されることが認められる^{35, 36, 43)}。さらに無傷の筋と分離細胞膜の比較から、ATPase は膜に強固に結合し膜の両側にあるが、adenylate kinase は膜の外側にゆるく結合して存在し、AMP deaminase は膜の内側

Table 1 Phospholipids composition of sarcolemma and isolated SR.

components (reference)	tod (35)	bulfrog (33)	rabbit (23)	frog heart (6)	tod (36)	SR, tod (35)	SR, rat (38)		
cholesterol	3.3	30.0	4.0	—	12	30	—		
phosphatidic acid	1.9	3.0	—	1.5	5	3.4	—		
phosphatidylethanolamine	21.7	10.0	31.3	22.6	19	23.4	13.2		
phosphatidylcholine	46.1	24.0	51.1	45.0	} 31.1	43.4	49.9		
phosphatidylserine	7.1	6.0	7.2	8.6		5.4	—		
sphingomyeline	1.3	—	5.1	} 22.2	10.1	—	—		
phosphatidylinositol	—	—	—		9	—	—		
fatty acid	—	80	—	—	—	—	6.7		
lipid-peptide complex	—	10.0	—	—	—	—	—		
glycolipids	—	2	—	—	—	—	—		
glycerides	17.7	9.0	—	—	21	21.5	20		
cholesterol/phospholipids									
	tod (ref.) (35)	bulfrog (33)	rabbit (23)	frog heart (6)	tod (36)	rat (37)	frog (27)	rat (7)	rabbit (26)
	3.3	43	4.0	6.4	13.5	65	11	11	55

Fig. 8 ATPase activity of skeletal muscle sarcolemma (rabbit). Activation and inhibition by Mg^{2+} , Ca^{2+} , Na^+ and K^+ in the medium of 10 mM tris-histidine buffer, pH 7.0, at $25^\circ C$.
Na; —○— K; —●— Mg^{2+} ; —△— Ca^{2+} ; —▲— (Hotta and Usami²³)

にのみ局在することが明らかにされている。

Adenyl cyclase ($ATP \rightarrow \text{cyclic AMP} + PP$): 筋細胞中の adenyl cyclase は大部分が細胞膜に存在が局限されている²⁶⁾。F⁻で著しく活性化されるほか、カテコールアミン (catecholamine) によって2～4倍に増強されるがピロリン酸 (pyrophosphate) には著しく活性を抑制される。これらの性質は他の細胞膜から得られたものと同じである。

5'-Nucleotidase (5'-nucleotide $\rightarrow$ nucleoside): 平滑筋では形質膜のマーカーと考えられているが、骨格筋では報告にかなりの差があり膜に局在しているかどうかははっきりしていない。

その他の酵素活性: Schapira ら³⁷⁾は sucrose gradient を用いて骨格筋膜成分を、①精製形質膜、

②粗細胞膜、小胞体、ミトコンドリア、③ミトコンドリア、リゾソーム、④リゾソーム、核、小胞体の4つの分画に分けてそれぞれの酵素活性を測定した。表2に示すように細胞膜酵素は ATPase 活性以外はほとんど小胞体やミトコンドリアの酵素と共通していない。

心筋: 心筋の細胞膜を特徴づける酵素は adenyl cyclase ($ATP \rightarrow c\text{-AMP}$) であり、心筋のカテコールアミンに対する陽性変力作用 (positive inotropic effect) は slow inward current (Ca 電流) の増大に c-AMP が直接関与している⁴⁴⁾。また心筋細胞膜 Ca (Mg)-ATPase 活性は AMP によって特異的に抑制される⁴⁵⁾ (c-AMP と逆)。これは細胞膜自身が c-AMP 依存性の Ca 調節を行なっていることを暗示する。平滑筋の細胞膜にも同様な機能があると推察される。

内部膜: 特に骨格筋のものには Mg で活性化される強い ATPase 活性が局在し、微量の Ca で著しく増強される。これが Ca 輸送と共役している⁴⁶⁾。adenylate kinase, deaminase 活性もこの膜に存在しているが膜との結合は弱い³⁵⁾。心筋内部膜の標品には以上のほか Ca (Mg)-ATPase 活性が c-AMP によって著しく促進される特徴があり、心筋の Ca による収縮調節の一環をなしている⁴⁷⁾。

平滑筋内部膜はその preparation において表面膜成分との分離は望むべくもないと思われるが、sub-cellular membrane fraction について局在酵素が調べられている^{30, 48, 49)}。Mg-ATPase の存在及び Ca とりこみ能力があることが示されているが、Ca (Mg) ATPase についてははっきりした結果は得ら

Table 2 Enzymatic activities of fractionated cell membrane components

a; plasma membrane, b; fragmented plasma membrane, SR and mitochondria, c; mitochondria, lysosome and cytoplasm, d; lysosome, nuclei and SR (Schapira³⁷⁾)

Enzyme	Fraction	a	b	c	d
5'-nucleotidase (U/mg/h)		1.65	1.02	0.49	0.31
ATPase (U/mg/h)	Mg activated	3.89	3.24	1.33	1.50
	Na-K activated	11.05	5.55	1.11	1.64
succinate dehydrogenase ($\times 10^{-2}$)		0.103	8.43	20.62	4.57
NADH cytochrome C reductase ($\times 10^{-2}$)		1.71	19.26	26.96	20.06
NADPH cytochrome C reductase ($\times 10^{-2}$)		1.02	24.96	5.69	19.62
IDP phospho hydrolase		0.57	2.62	0.78	1.65
acid phosphatase ($\times 10^{-2}$)		7.52	40.92	41.25	71.49
lactate dehydrogenase ($\times 10^{-2}$)		2.02	7.92	7.97	1.33
DNA (g/mg)		4.38	103.25	357.3	752.4

れていない。

膜の生物活性, receptor の局在

筋細胞膜は膜電位、活動電位の発生という興奮性膜に共通な機能をもっているほか、興奮と収縮という筋の機能との関連において他の膜にみられないいくつかの特徴も併せもっている。即ち、(1)筋の収縮、伸張によって膜が受動的、能動的に変形する。(2)程度の差はあるがいずれの筋においても細胞膜とは別の内部膜構造があり、表面膜と機能的連関がある。(3)内部膜にはCaポンプがあり、また結合して貯蔵を行なっていることもある。

興奮という電気的現象が収縮蛋白のエネルギー遊離をもたらすための trigger は細胞内Caの急激な一過性の増加 ($10^{-7} \rightarrow 10^{-6} \text{M}$) である。この過程は、(1)細胞膜の興奮によってCa透過性が増加し、Caが外液から流入する。(2)内部に興奮が伝わり、内部膜を脱分極(興奮)させ、そのstoreからCaを放出する。(3)または外部から流入したCaがひきがねになり、内部膜からCaを自己再生的に放出する、の3つが考えられる。骨格筋の場合は外液のCaに依存する割合が少なく、Caなしでも収縮を繰り返すことができる^{50,51)}など専ら内部膜storeが主役を果たしているものと思われるが、T-管の内部に結合されているCaがtriggerであるのかも知れない⁵²⁾。心筋ではCaを含まないリンゲル液中では収縮が起きないので外部からのCaの導入は必須条件であり、Ca spikeといわれる興奮に伴う電流のうちCaに依存するものも認められる。然し、1回の興奮によるCaの流入量は筋蛋白を賦活するのに必要な濃度に達しないので、細胞内storeからの遊離も起こっているに違いない。また細胞膜に果たして本当にCa-pumpがあるのか、それともNa⁺との交換(electrogenic pump)によるものかも論議がわかれている⁵³⁾。

平滑筋では長い間もっぱら外液Caの流入が収縮を誘起する原因であるとされてきた。最近Somlyo⁹⁾, van Breemen¹⁰⁾などによって内部膜の存在とそのCa store siteとしての意義が強調されてから、内部膜(SR)の役割についての研究が盛んに行なわれるようになった。内部膜の完全な分離精製は容易でないが、心筋と同様表面膜を通して導入されたCaが内部膜内のCaを放出する機構がある可能性は大きい。

内部膜のCa輸送とATPase活性の共役機構の解明は、骨格筋小胞体を用いて行なわれる。その反応は

一般に

で表わされる⁵⁴⁾。Ca_oとCa_iはそれぞれ小胞体の外と内のCa表わし、1molのATP分解に2molのCaが共役して輸送されることがわかっており、E_p^{Ca₂}は反応中間体である。またこの反応は可逆的で反応の方向は内外のCa濃度によって決まる⁵⁴⁻⁵⁷⁾。ATP分解及び逆反応の合成にはMgの存在を必要としており、かつ合成されたATPは遊離形となる。Na⁺-K⁺ATPase活性でも逆反応によってATPの合成が行なわれ、この共役はイオン輸送に関与するATPの合成は細胞においてイオンの“もれ”に共役して行なわれるとすれば、能動輸送に必要なエネルギーの外部からの供給は最小限ですみ、生体にとって極めて好都合な機構である。

平滑筋、心筋の収縮は薬物(drug)やホルモン(hormone)によって強く影響される。薬物に対する細胞の反応の第一段階は受容体(receptor)との相互作用であり、receptor siteは細胞膜または細胞内(内部膜を含む)に存在して薬物と結合する。それによって膜のイオン透過性が変わるかあるいは膜に結合した酵素活性が変化する。筋の場合それが細胞内Caの増減に対応する。

受容体蛋白即ち薬物ホルモン等と特異的に結合する蛋白が、細胞膜その他の膜から数種類分離されている。カテコールアミン(catecholamine)、アセチルコリン(acetylcholine)受容体の存在は、心筋、平滑筋によく知られており、前者は膜局在のadenyl cyclaseを活性化し、細胞内c-AMPの増加をもたらす。c-AMPはCaと共にphosphorylaseを活性化してATP合成を促進することはよく知られている⁵⁸⁾が、同時にprotein kinaseを刺激して膜蛋白、特に小胞体膜蛋白の磷酸化をもたらす。磷酸化膜はCaとりこみ能力が増強されることから、この経路で心筋の陽性変力作用(positive inotropic effect)の発現が考えられる⁵⁹⁾。なお最近c-AMP dependent protein kinaseは心筋小胞体膜だけでなく、おそい骨格筋(slow fiber)からの小胞体も基質になり、そのCa uptakeを増すことが知られた⁶⁰⁾。従ってc-AMPを介する収縮調節の機構は心筋特有のものではないと考えられる。血管平滑筋ミクロソーム分画にはangiotensin receptorが存在すること及びangiotensin II, c-AMPが血管平滑筋ミクロームのCa-ATPaseを抑制し、Caとりこみをおさえる。

このような経路で **angiotensin** 血管拡張 (**vasodilation**) に関与している可能性が示されている^{61, 62)}。恐らく心筋、平滑筋におけるノルアドレナリン (**nor-adrenaline**) による細胞内 store からの **Ca** 放出もこのような機構がからんでいるものと思われる。細胞内 **Ca** 濃度の調節は、このように細胞膜、内部膜の能動輸送を制御する一群の酵素活性によって決まり、極めて複雑なのでこれがすっきりした形で解明されるためには、更に多くの実験事実の積み重ねが必要である。

おわりに

筋生理学の立場から最も興味ある課題は膜電位の変化 (**Na**, **K** の動きの電気的表現) により、内部膜に蓄えられている **Ca** が放出されるという極めて速い過程が、どんな機序で行なわれるかを細胞下ないし分子レベルで **consistent** に理解することであろう。前述のようにすべての筋は独立な表面膜と内部膜をもっている。細胞内 **Ca** 濃度の変化は外液 **Ca** に影響される。骨格筋ではその影響の度合は少ないけれども、明らかに認められるし、特に温血動物からの筋紡錘線維において著しい (未発表)。従って細胞内 **Ca** の増加は表面膜の興奮時に起こる内部膜との機能的相関によってもたらされると考えられるが、その機序は今のところ明らかではない。骨格筋分離小胞膜は、カチオンの能動輸送研究の最もよい材料として膜酵素反応機構の生化学的解明に役立ってきた。しかし筋の機能とカチオン能動輸送との関連、即ち **Ca** の速い放出及びとりこみの起こる機序 (果たして脱分極か) の解析はほとんどない。今後、膜生化学的な性質と筋の生理機能を結びつける実験が望まれる。

文 献

- 1) Maruro, A. and W. R. Adams: *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, 10, 177 (1961)
- 2) Maruro, A. and Q. Sten-Kwrdsen: *Acta Med. Scand.*, 142, sup. 266, 715 (1952)
- 3) Casella, C.: *Acta Physiol. Scand.*, 21, 380 (1951)
- 4) McColester, D.: *Biochim. Biophys. Acta*, 57, 427 (1962)
- 5) Tada, M., J. O. Jr. Finney, M. H. Swartz and A. M. Katz: *J. Mol. Cell. Cardiol.*, 4, 417 (1972)
- 6) Barr, L., A. J. Cornor, N. M. Bewey, J. Appille and P. V. Johnston: *Biochim. Biophys. Acta*, 345, 336 (1974)
- 7) Kidwaii, A. M., M. A. Radcliffe and E. E. Daniel: *Biochim. Biophys. Acta*, 298, 593 (1973)
- 8) Fawcett, D. W. and N. S. McNutt: *J. Cell Biol.*, 42, 1 (1969)
- 9) Devine, C. E., A. V. Somlyo and S. P. Somlyo: *J. Cell. Biol.*, 52, 609 (1972)
- 10) van Breemen, C., B. R. Farinas, R. Casteels, P. Gerba, F. Wuytack and R. Deth, *Phil. Trans. R. Soc. London*, B 265, 57 (1973)
- 11) Mobley, B. A. and B. R. Eisenberg: *J. Gen. Physiol.*, 66, 31 (1975)
- 12) Dulhunty, A. F. and C. Pranzini-Armstrong: *J. Physiol.*, 250, 513 (1975)
- 13) Carvalho, A. P., V. M. C. Madeira and A. Madeira: *Biochim. Biophys. Acta*, 234, 210 (1971)
- 14) Jenerick, H. P.: *J. Cell Comp. Physiol.*, 42, 427 (1953)
- 15) Eisenberg, R. S. and P. W. Gage: *J. Gen. Physiol.*, 53, 279 (1969)
- 16) Gage, P. W. and R. S. Eisenberg: *J. Gen. Physiol.*, 53, 265 (1969)
- 17) Costantin, L. L.: *J. Gen. Physiol.*, 55, 703 (1970)
- 18) Tasaki, I., A. Watanabe, R. Scmdlin and L. Carnay: *Proc. N. A. S.*, 61, 883 (1968)
- 19) Natori, R. and C. Isojima: *Jikeikai Med. J.*, 9, (1962)
- 20) Costantin, L. L. and R. J. Podlsky: *J. Gen. Physiol.*, 50, 1101 (1967)
- 21) Thorens, S. and M. Endo: *Proc. Jap. Acad.*, 51, 473 (1975)
- 22) MaCollester, D. L.: *Biochim. Biophys. Acta*, 57, 427 (1962)
- 23) Hotta, K. and Y. Usami: *J. Biochem.*, 61, 407 (1967)
- 24) Kono, T. and S. P. Colowick: *Arch. Biochem. Biophys.*, 93, 520 (1961)
- 25) Koketsu, K., R. Kitamura and R. Tanaka: *Amer. J. Physiol.*, 207, 509 (1964)
- 26) Severson, D. L., G. I. Crummond and P. V. Sulakhe: *J. Biol. Chem.*, 247, 2949 (1972)
- 27) Boegman, R. T., J. F. Marery and L. Pinterie: *Biochim. Biophys. Acta*, 203, 506 (1970)
- 28) Ebashi, S. and F. Lipman: *J. Cell Biol.*, 14, 389 (1962)
- 29) Ebashi, S. and I. Yamanouchi: *J. Biochem.*, 55, 504 (1964)
- 30) Hurwitz, L., D. F. Fitzpatrick, G. Debbas and E. J. Landon: *Science*, 179, 3841 (1973)
- 31) 戸塚守夫: 札幌医誌, 27, 268 (1965); 28, 378 (1965)
- 32) Devynck, M. A., M. G. Persorillet and D. Meyer: *Nature, new biol.*, 245, 55 (1973); 249, 67 (1974)
- 33) Abood, L. G., K. Kurahashi, E. Brunngraher and K. Koketsu: *Biochim. Biophys. Acta*, 112, 330 (1966)
- 34) Andrew, C. and S. H. Appel: *J. Biol. Chem.*, 248, 5156 (1973)

- 35) 佐藤恒久：日本生理誌, **32**, 317 (1970)
- 36) 酒井良介：日本生理誌, **34**, 685 (1972)
- 37) Schapira, G., I. Dobocz, J. P. Pian and E. Delain : *Biochim. Biophys. Acta*, **345**, 348 (1972)
- 38) Sanslane, R., H. A., Bertrand B. P. Yu and E. J. Masoro : *J. Cell Physiol.*, **79**, 97 (1972)
- 39) Herffron, J. J. A. and D. F. Duggan : *Biochem. J.*, **103**, 46p (1967)
- 40) Peter, J. B. ; *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **40**, 1362 (1970)
- 41) Nagatomo, T. and J. B. Peter : *Exp. Neurol.*, **49**, 345 (1975)
- 42) Sulakhe, P. V., G. I. Drummond and D. C. Ng : *J. Biol. Chem.*, **248**, 4158 (1973)
- 43) Dunkley, C. R., J. F. Manery and E. E. Dryden : *J. Cell Physiol.*, **68**, 241 (1966)
- 44) Ruter, H. : *J. Physiol.*, **242**, 429 (1974)
- 45) Dietze, G. and K. D. Hepp : *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **46**, 269 (1972)
- 46) Hasselbuch, W. and M. Makinose : *Biochem. Z.*, **333**, 118 (1961)
- 47) Tada, M., M. A. Kirchberger, D. I. Pepke and A. M. Katz : *J. Biol. Chem.*, **249**, 6164 (1974)
- 48) Fitzpatrick, D. F., G. Debbas and L. Hurwitz : *Science*, **176**, 305 (1972)
- 49) Aoki, K., N. Ikeda, K. Yamashita, K. Tazumi, I. Sato and K. Hotta : *Jap. Circ. J.*, **38**, 115 (1974)
- 50) Armstrong, C. M., F. M. Bezanilla and P. Horowitz : *Biochim. Biophys. Acta report*, **267**, 605 (1972)
- 51) Sandow, A., M. K. D. Pagala and E. C. Sphicas : *Biochim. Biophys. Acta*, **404**, 157 (1975)
- 52) Oota, I., I. Kosaka and T. Nagai : *Jap. physiol.*, **26**, 117 (1976)
- 53) van Breemen, C., F. Wuytack and S. Casteel : *Pflugers Arch.*, **359**, 183 (1975)
- 54) Tonomura, Y. : "Muscle proteins, muscle contraction and cation transport", Univ. of Tokyo press, Tokyo (1972)
- 55) Makinose, M. and W. Hasselbach : *FEBS letters*, **12**, 271 (1971)
- 56) Panet, R. and Z. Selinger. : *Biochim. Biophys. Acta*, **255**, 34 (1972)
- 57) Umemura, Y. and K. Hotta : *Nagoya Med. J.*, **19**, 101 (1974)
- 58) Sutherland, E. W., G. A. and R. W. Butcher : *Circ.*, **37**, 279 (1968)
- 59) Tada, M., M. A. Kirchberger and A. M. Katz : *J. Biol. Chem.*, **250**, 2640 (1965)
- 60) Schwartz, A., M. L. Entman, K. Kanüke, L. K. Lane, W. B. van Vinkel and E. P. Bornet : *Biochim. Biophys. Acta*, **426**, 57 (1976)
- 61) Devynck, M., M. Pernollet and P. Meyer : *Nature*, **245**, 55 (1973) ; **249**, 67 (1974)
- 62) Cohn, J. N. ; *Nature*, **245**, 53 (1973)

合成高分子膜による能動輸送

pHによってラクトン環が開閉することを利用してカチオンを能動輸送させるというアイデアが清水剛夫氏(京大工学部, 石油化学教室)らのグループで具体化されている。

ビニルラクトンとアクリロニトリルを共重合させる

と、ラクトン含量が低いとき機械的強度の良好な膜を与える。この膜をはさんでNaCl + HCl 溶液とNaOH

溶液をおくと、当初二相のNa⁺濃度を同一にしておいても、ある程度時間がたつと、L相のNa⁺濃度がR相のそれより高くなっていく。この機能は次のように解釈されている。図に示すようにR相ではラクトンは開

いておりNa⁺はカルボキシル基と塩を作っているが、L相では閉環している。膜内ではL相に近いほど、閉環の分率が高く、R相に近づくにつれて開環構造が多くなる。Na⁺は熱運動と静電引力によってR→L方向に移動し、ラクトンの閉環により放出され膜内部L相近辺に濃縮され、ついでL相中に拡散する。

要するにこの能動輸送のエネルギーはH⁺からくる。

H⁺がラクトン環を開閉し、膜の荷電状態をコントロールし、この荷電がNa⁺を移動させている。

HCl//NaOH+KOHの場合も、Na⁺とK⁺がL相に移動することは当然であるが、H⁺濃度によってNa⁺とK⁺のいずれかが選択的に輸送されている。

(伊勢典夫)