

短縮にともなう骨格筋収縮能の変化

川崎医科大学 生理学

松木吉継, 松村幹郎

(昭和59年1月27日受付)

Deactivation of Contractility Induced by Active Shortening in Frog Skeletal Muscle

Yoshitsugu Matsuki and Moto Matsumura

Department of Physiology, Kawasaki Medical School

(Accepted on January 27, 1984)

骨格筋が短縮するとその収縮能が低下する,あるいは,短縮の制限されるときは収縮能が増大し延長する,という特性を説明するために,短縮中の筋に新たな負荷を急激に加えたときの負荷維持能力およびその後の短縮速度を測定した.等張力性強縮の短縮しつつある筋に追加の負荷を急に加えると,その筋は一たん引き伸ばされた後,再び新しい負荷のもとで短縮する.もし,負荷の増加が短縮の初期になされるならば,この負荷の増加にともなう伸展は小さいけれども,負荷の増加が短縮の後期にあたる減速期になされるときは,伸展は増大される.負荷の増加分と伸展量との比は,これは短縮しつつある筋の剛度に相当し負荷維持能力を示す値であるが,短縮が進むにつれて減少し,また,負荷の増量分が増すにつれて減少する.負荷が与えられて一たん伸ばされた後,筋は再び短縮するときの短縮速度は,通常の等張力性短縮の速度よりも小さい.短縮したことによる収縮能力の減退が,一度もとの長さに引き伸ばされた後もなお数百 msecの間残存していることが示唆される.

Muscle shortening produced deactivation of the contractile mechanism. The property and nature of this deactivation were investigated by means of decreases in the capacity to bear a load and in the capacity to shorten during isotonic contraction. Materials were the sartorius muscle and a small bundle of the semitendinosus muscle fibers. The muscle was at first allowed to shorten under a small load and then was subjected to heavier loads at different times after the start of shortening. Thus, the muscle was once lengthened and then shortened again under the initial load plus additional loads. Adjustment of the amount and time of loading was performed by electro-mechanical transducers. The degree of lengthening was measured by a photoelectric device and changes in muscle tension were measured by an RCA 5734 tube.

The ratio of the degree of lengthening to the increase in muscle tension is indicative of instantaneous stiffness or the capacity to bear a load. This capacity was sufficiently large when measured by loading at the initial stage of shortening, but

it decayed as the shortening advanced. The extent of this deactivation was also load-dependent. After lengthening, the muscle started to shorten again. The velocity of re-shortening, however, was always smaller than that in the ordinary afterloaded contraction. The results suggest that active shortening deactivates the contractile machinery in a manner that it decreases both the capacity to bear a load and that to shorten.

Key Words ① Muscle contraction ② Tension and shortening ③ Deactivation

I. 緒 論

骨格筋の収縮能力は2種の指標によって表示される。ひとつは負荷を維持する能力 capacity to bear a load であり、収縮に際して筋が発生する力によって量的に表現され、他は短縮する能力 capacity to shorten であり、短縮速度によって表現される^{1), 2)}。この2種の能力は互いに独立であり、種々の外的要因によって、両者が同時に増大あるいは減少する場合もあり、必ずしも平行して変化しない場合もあることがすでに知られている³⁾⁻⁵⁾。この2種の能力の相違は、収縮時に発生する力はアクチンフィラメントとミオシンフィラメント間の結合の数に比例するのに対し、短縮速度はフィラメント間の結合解離の反応速度によって決定されることに基づいている。

骨格筋が短縮するとき、負荷が大きくて短縮が妨げられるときは収縮能力が増強され、逆に小さい負荷のもとで短縮が速やかになされるときは収縮能力が减弱される、という現象は古くから知られるところであった。その原因として、(1)細胞膜や筋小胞体の並列弾性要素が短縮に対する抵抗として作用する、(2)筋線維の表面から内奥部に向かっての興奮伝導が遮断され、内奥部の筋原線維が脱落する、(3)短縮が持続すると Ca^{2+} 放出量が減少する、(4)収縮調節蛋白質であるトロポニンの Ca^{3+} 感受性が減る⁴⁾、(5)短縮にともなって脱水が起こり、

細胞内イオン環境が変化する⁶⁾、(6)連結橋 cross-bridge の反応が短縮量依存性である⁷⁾、などの可能性が考えられる。これらの原因の妥当性は、短縮中に負荷を急に変えたときの長さの変化すなわち剛度 stiffness とその後生じる短縮能力とを測定することによって説明が可能となる。本研究においては、最初小さい負荷で短縮している筋に新たな負荷を加えるときの対応を測定し、短縮にともなう収縮能力減退の性質を検討した。

II. 実験方法

実験材料にはトノサマカエル *Rana nigromaculata* の縫工筋、半腱様筋より得た筋線維束を用いた。実験は $1-3^{\circ}C$ において行った。リンガー液の組成は NaCl 117 mM, KCl 2 mM, $CaCl_2$ 1.8 mM, NaOH で pH=7.2 になるよう滴定した HEPES 緩衝液 4 mM である。縫工筋を用いた実験方法は Jewell and Wilkie⁸⁾ の

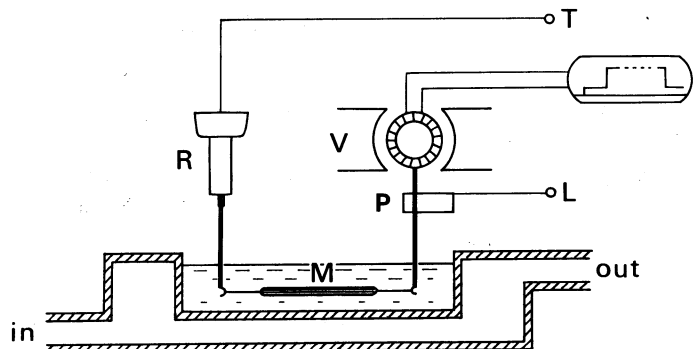


Fig. 1. Diagram of the experimental arrangement. The muscle fibers (M) were immersed in the inner chamber, and the cold water was circulated through the outer chamber. R: force transducer RCA 5734, T: force output, P: photocell for length transducer, L: length output, V: current-to-force converter.

それに従った。縫工筋の恥骨端を固定し、脛骨附着腱端をナイロン糸でしばり、DC シンクロを応用した等張力性槓杆に接続した。筋にかかる前負荷は1gとした。電気刺激は持続1msec最大刺激の1.5倍の方形波パルスである。刺激が与えられると、筋は1gの負荷のもとで短縮するが、短縮していく経過の適当な時点で5—50gの負荷を急に与える。その時筋は一時的に引き伸ばされ、ついで新しい負荷のもとで再び短縮する。急に引き伸ばされる伸張の量を測定して剛度を求め、伸張後の再短縮の速度を測定して負荷-短縮速度関係を求めた。負荷を増加するタイミングを設定するためには、短縮に応じた信号を取り出し、リレー回路に接続するような装置を自作した。

Fig. 1には半腱様筋より得た小数の筋線維束についての実験装置の配列を示す。筋線維束を水平に横たえ、一端は張力測定用真空管 RCA 5734に接続し、他端は電流計の指針に接続した。電流計は市販のもので、指針につけられたスプリングをとりはずし、また指針には細いガラス管を附して補強してある。この指針の動きは光電的にとらえられた。電流計に通電するとき、筋に加えられる力は、指針の回転角が小さいかぎりコイルを流れる電流に比例する。このような電気系—機械系変換器を使うと、負荷の量や負荷を与えるタイミングを任意に連続的に選ぶことができる。筋の張力および長さの変化は、陰極線オシロスコープに表示するか、あるいは直記式ペンレコーダ(日本光電, RJG-4000)に記録した。

III. 結果

1. 単収縮中の負荷維持能力の時間経過筋の最大張力 (P_0) の0.08以下の小さい負荷のもとで、等張力性単収縮

を起こし、その短縮経過中に急速に負荷を加えるような操作を与える。Fig. 2はその実験の記録であるが、単収縮はその開始後290 msecにおいて頂に達している(記録1)。もし筋にかかる負荷を0.08 P_0 から0.26 P_0 に増すと、それが収縮開始後の100 msec以内であれば、最初から0.26 P_0 の負荷の下でなされる短縮の経過(記録7)と同じ経過で短縮する(記

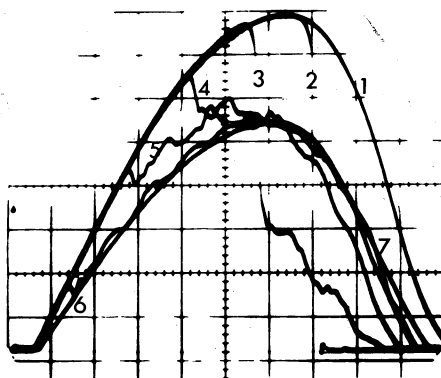


Fig. 2. Length changes after sudden loading at different times during an isotonic twitch. Initial load is 3.1 g and additional load is 10.1 g. Sartorius muscle length 34 mm, tetanus tension 39 g. Calibrations are 50 msec/box and 0.85 mm/box. 1°C.

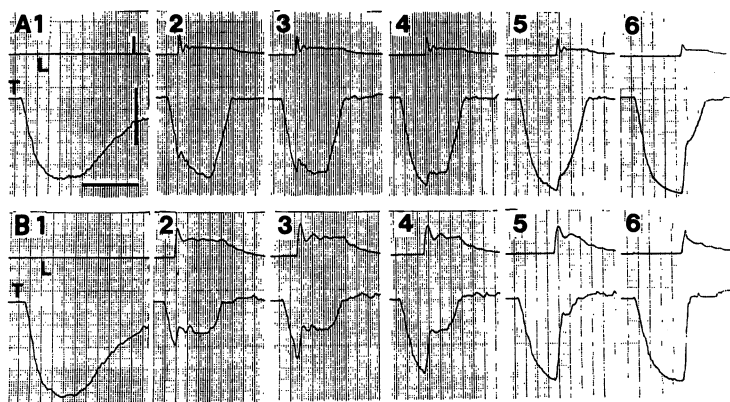


Fig. 3. Length changes after sudden loading at different times during a tetanus. Initial load is 1.0 g in all experiments, additional load is 7.5 g in A and 20 g in B. Sartorius muscle length 35 mm. Muscle was stimulated for 0.7 sec at 33/sec. Trace T shows tension (positive tension, upwards) and trace L the length (shortening, downwards). Calibrations are 20g, 5 mm and 1 sec. 3°C.

録5, 6). しかし, 負荷の増加が150 msec 以後になされるときは, 最初の伸張は大きくしかも収縮が速やかに終わってしまう(記録2, 3, 4). 短縮曲線の後半においては, 筋の短縮は進行しているにもかかわらず, 負荷を維持する能力が減退しつつあることがわかる.

2. 強縮中の短縮にともなう負荷維持能力の変化

負荷が1.0 gのもとで短縮している縫工筋に, さらに7.5 gおよび20 gの負荷を加えたときの短縮と張力との経過をFig. 3に示す. 負荷を増す操作が十分調節されていないので筋槓杆系の固有振動が重畳されているが, 負荷を与えた直後の伸びは, 短縮が進行するに従って増加していく(A1, 2, ..., 6, B1, 2, ..., 6). Fig. 3A 4, 5や3B 2, 3, 4においては, 刺激は33/秒の頻度で0.7秒間与えられているので, 負荷が増加されたときははまだ刺激が持続され収縮が継続されているが, それにもかかわらず短縮が果たされていない状態にある. 最初に小さい負荷のもとで一度短縮したために, 負荷を維持する能力が低下してしまったとみるべきである. Fig. 4は同様の負荷増加の操作を細い筋線維束に対して行った実験の記録である. Fig. 4Aでは負荷を0.1 P₀から0.39 P₀へ, Fig. 4Bでは0.1 P₀から0.51 P₀へ, 短縮の種々の段階において, それぞれ増したときの張力および筋張の変化が示されてある. Fig. 3と同様に, 負荷の増加分は一定であっても, 短縮が進んだ後に負荷が与えられるときは, 加えられた負荷に対する伸びも大きい.

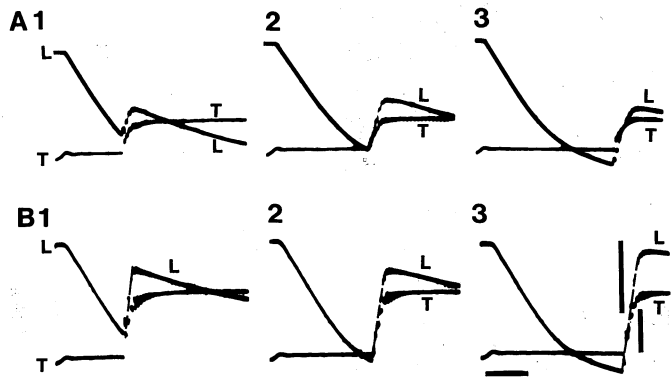


Fig. 4. The same experiment as the one in Fig. 3, but the muscle preparation is a small fiber bundle obtained from the semitendinosus muscle. Trace T shows tension (positive tension, upwards) and trace L (shortening, downwards) length. Initial load is 0.17 g and total load is 0.42 g in A and 0.82 g in B. Maximum tetanus tension 1.61 g. Calibrations are 2 mm, 1 g and 100 msec. 3°C.

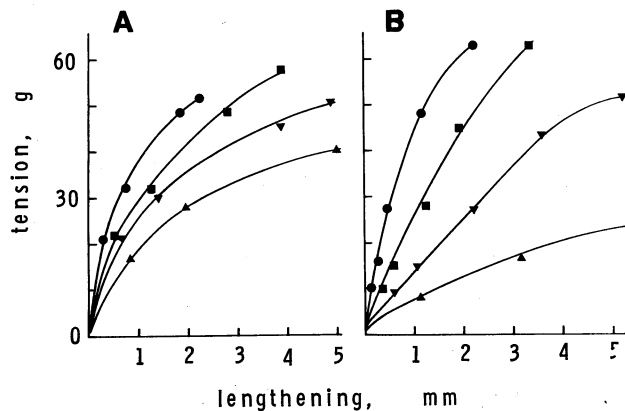


Fig. 5. Relationship between tension step of loading and resulting length change, obtained from the experimental records shown in Fig. 3. Two results from different frogs are shown in A and B. The timings of loading are 190 msec (●), 280 msec (■), 480 msec (▼) and 680 msec (▲).

縫工筋より得た記録について, 短縮中の種々なタイミングで負荷を増したとき, 負荷の増加分とそれにとりなす伸びの量との関係について, 異なる二つの縫工筋試料より得た結果をFig. 5A, Bに示してある. 負荷と伸びとの関係は直線関係にはなく, 負荷変化分が大きいほど単位負荷量に対する伸びの量も大きくなる.

また、負荷を増加するタイミングが遅いほど、換言すれば、短縮の経過が進んでいるほど、同じ負荷増加量に対する伸張の量が大きくなる。剛度は曲線の勾配によって表されるから、短縮が進行して等速短縮期から減速短縮期に移行するにつれて剛度が減少していることがわかる。

3. 再短縮経過における負荷-速度関係

Fig. 4A において $0.1 P_0$ から $0.39 P_0$ に負荷を増すと、筋は一たん伸ばされた後新しい負荷のもとで再び短縮する。**Fig. 4A1** を **A2, 3** と比較すると、負荷を加える時期が短縮の後期にあるほど再短縮の短縮速度が小さいことが明瞭である。筋が十分短縮してしまった後では、負荷の増加によってもとの長さに伸ばされても、再び短縮するときの速度は減少されており、一度短縮したという履歴が次の短縮を減弱していることになる。この所見は負荷変化量が大きいほど著明である (**Fig. 4B**)。負荷を加えるタイミングを 340 msec の一定の値に決めておいて負荷増加分を変え、再短縮中の短縮速度を測定して、負荷-短縮速度関係を求めると **Fig. 6**

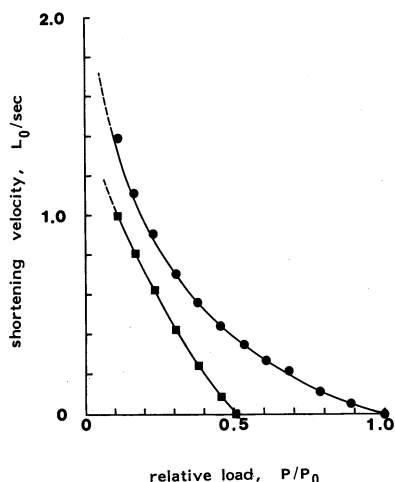


Fig. 6. Force-velocity relationship for an ordinary isotonic afterloaded tetanus (●) and for re-shortening after having once been lengthened by sudden loading (■). Timing of loading is 340 msec after the start of contraction in all experiments. Results from small bundle of 5 muscles are indicated.

が得られる。後負荷法による負荷-短縮速度関係は直角双曲線によって表されるが、十分短縮した筋に負荷を与えて一度伸ばされた後に再短縮するときの短縮速度は特に負荷軸に沿って減少されているのが特徴的である。十分短縮した筋については、負荷維持能力ばかりでなく、短縮能力もまた減弱されると結論することができる。

IV. 考 察

骨格筋の収縮性は短縮が進むにつれて減弱する、という性質が存在することを確認した。Edman⁷⁾によれば、この収縮性の減弱は一度能動的に短縮したという履歴が重要であって、最初から短い長さで収縮した状態よりも、生理的長さから短縮した状態の方が収縮能力が低いという。本研究においては、短縮の途中で負荷を急に増大させるときの剛度、ならびにその後の短縮速度を測定し、収縮能力の減弱を量的に表現することができた。その結果得られた主な知見は、(1) 等張力性単収縮中の短縮後期に負荷が加えられたとき、以後の収縮が速やかに終わってしまう、(2) 等張力性強縮において、短縮が進むほど筋の剛度すなわち負荷維持能力は減少し、特に短縮の減速期には著明である。また、与えられる負荷の変化分が大きいほどこの剛度の減少が一層顕著になる、(3) 一度引き伸ばされた後に再び短縮するときの速度もまた低下しており、負荷-短縮速度関係を示す曲線は負荷軸に沿って減少する、などである。Huxley and Simmons⁸⁾の急速伸張の実験からは、骨格筋の粘弾性は2種の筋フィラメントの連結橋にあることが示されている。この実験では負荷を与える操作が完了するのに30-40 msecの時間を要しており、また**Fig. 3**の実験では慣性成分が除去されずに振動が残っていて定常状態に至っていない。このような条件下では、筋全体として連結橋の形成解離の過程を含めた動的粘弾性を測定していることになる。したがって短縮が進んだ場合の見かけ上の剛度の減少は、連結橋の形成速度が減少するか解離速度が

増加するかの要因を含んでおり、収縮機構内部の負荷維持能力の低下を示していると言える。また、負荷を増した後に筋は新しく加えられた負荷のもとで再び短縮するが、その短縮速度も減少している。この短縮速度の減少は恢復されることがなく、負荷を加えて引き伸ばした後少なくとも数百 msec にわたって継続されることが示唆される。負荷が筋の発生張力よりも大きく収縮中に引き伸ばされるような条件では、負荷維持能力が増強され延長されるという事実はすでに報告されているところであって^{7), 9)}、本研究で得られた知見とうらはらの関係にある現象である。

短縮したことによって収縮能力が减弱するという性質の原因についてはいくつかの可能性が考えられるが、細胞膜の関与は除外できる。筋細胞膜を剝離した名取の線維を使った実験では、筋線維を生理的長さの30%以上に伸ばさない限り細胞膜の有無にかかわらず筋線維の弾性は変わらないことが明らかにされているから

である¹⁰⁾。骨格筋の収縮は、筋小胞体からCaが放出されて筋形質のCaイオン濃度が上昇することによって開始され、再び筋小胞体にとり込まれてCaイオン濃度が低下すると弛緩するが¹¹⁾、短縮とともに筋小胞体に可逆的変形が起こりCa放出量が減少するか¹²⁾、あるいは、Ca受容蛋白質であるトロポニンのCa²⁺親和性が短縮とともに変わる⁴⁾という可能性がある。それは、短縮に際してアクチンフィラメントの変形があり得ることが指摘されているし¹³⁾、あるいは、先行する収縮の間に生じたpHやMgイオン濃度の変化に由来することが報告されている⁶⁾からである。また、短縮中筋線維の体積が一定であれば直径が増すことになり、フィラメント間隔が拡大すると連結橋の形成される確率が小さくなる¹⁴⁾という要因も関与するであろう。

本研究は Project 研究 56-604 によってなされた。

文 献

- 1) Hill, A. V.: The effect of tension in prolonging the active state in a twitch. Proc. R. Soc. B. 159: 589-595, 1964
- 2) Sandow, A.: Potentiation of muscular contraction. Arch. phys. Med. Rehabil. 45: 62-81, 1964
- 3) Jewell, B. R. and Wilkie, D. R.: An analysis of the mechanical components in frog's striated muscle. J. Physiol. 143: 515-540, 1958
- 4) Endo, M.: Length dependence of activation of skinned muscle fibers by calcium. Cold Spring Harbor Symp. Quat. Biol. 37: 505-510, 1972
- 5) Julian, F. J., Moss, R. L. and Sollins, M. R.: Controversies of cardiovascular research: the mechanism for vertebrate striated muscle contraction. Circ. Res. 42: 2-14, 1978
- 6) Gulati, J. and Podolsky, R. J.: Isotonic contraction of skinned muscle fibers on a slow time base. J. gen. Physiol. 78: 233-257, 1981
- 7) Edman, K. A. P.: Depression of mechanical performance by active shortening during twitch and tetanus of vertebrate muscle fibres. Acta physiol. Scand. 109: 15-26, 1980
- 8) Huxley, A. F. and Simmons, R. M.: Proposed mechanism of force generation in striated muscle. Nature 233: 533-538, 1971
- 9) Sugi, H. and Tsuchiya, Y.: Isotonic velocity transients in frog muscle fibres following quick changes in load. J. Physiol. 319: 219-238, 1981
- 10) Natori, R.: The property and contraction process of isolated myofibrils. Jikeikai med. J. 1: 119-126, 1954
- 11) Ebashi, S.: Regulation of muscle contraction. Proc. R. Soc. B. 207: 259-286, 1980

- 12) Taylor, S. R. and Rüdel, R.: Striated muscle fibers: inactivation of contraction induced by shortening. *Science* 167: 882—884, 1970
- 13) 杉 晴夫：筋収縮の滑り説の現状と問題点について. *生物物理* 23: 221—230, 1983
- 14) 馬詰良樹：筋収縮とスキンドファイバー. *日本生理誌* 45: 657—669, 1983