

9129 血管平滑筋細胞に対する外液Naイオンの影響

富田 忠雄(名古屋大学)

前年度の電気生理学的研究で血管平滑筋の細胞膜には Na-Ca 交換過程が存在することが確認されたので、外液の Na イオンを除いたときの収縮(0 Na 収縮)はこの過程によって細胞内 Ca イオン濃度が増加することによって起こると説明できる。しかし、単離した細胞においてパッチクランプ法で記録される Na-Ca 交換電流と筋切片での張力発生との間の関係を調べてみるといくつかの点でかなりな差があることが明らかになった。例えば、1)外液の Na を除いたとき、Na-Ca 交換電流は数十秒で最大に達した後次第に減少し、1 分以上ではほぼ消失するが、収縮の方は4-5分で最大に達し、持続する。2)電流は外液の Ca の除去に対して敏感に応答するが、収縮の方は抵抗性を示し、10 分程度の Ca 除去(0.1 mM EGTA を含む)でも僅かな反応がみられることが多い。3)外液の Mg 濃度を増したときの抑制効果は収縮よりも電流に対して著明である。このような差は 0 Na 収縮には Na-Ca 交換過程を介した Ca の流入だけでなく、Na に依存しない Ca 流入や、細胞内貯蔵部からのCa の遊離、あるいは細胞内 pH の変化の影響などに起因している可能性がある。また、筋切片では細胞間隙の Ca の除去にかなりな時間を要することも影響していると考えられる。前もって筋切片を 10 分程度 Na も Ca も含まない液で処理して Ca を加えるとかなり大きい収縮を起こし得るので、Na が存在しないと Ca の透過性が高まると考えられ、この過程も 0 Na 収縮に関与していると推測される。なお、この過程は Na-Ca 交換過程よりも 外液 Mg による抑制が弱い可能性が考えられる。

外液の Na を N-methyl-D-glucamine (NMDG) などで置換すると(Cl⁻の濃度は一定)細胞内は酸性に傾く。また、propionate などの弱酸を与えると細胞内が酸性になると同時に持続的な収縮が発生する。このような結果は、0 Na 収縮の一部は細胞内の酸性化によるとも考えられるが、NaCl を蔗糖で置換したときは細胞内 pH の変化が小さいにも拘わらず、収縮の大きさは NMDG で置換した場合とほぼ同じか、より大きいので、細胞内の酸性化はある程度の影響はあるにしても本質的なものではないといえる。

Ouabain (50 μ M)による 0 Na 収縮の増強効果は、モルモットの肺動脈、下大静脈、門脈、あるいは家兎の門脈によって大きい差は見られなかったが、ouabain 処理だけで発生する持続性の収縮は肺動脈や門脈ではかなり大きいのが、下大静脈では非常に小さかった。このことは細胞内 Na 濃度が増加しても、下大静脈などの血管では ATP を用いた Ca ポンプによって細胞内 Ca を低く保ち得るものと推測され、血管の種類によって細胞内 Ca 濃度の調節への Na-Ca 交換機構と Ca ポンプの相対的関与の程度に差があるものと考えられる。

9129 血管平滑筋細胞に対する外液Naイオンの影響

富田 忠雄 (名古屋大学)

1. 研究目的

神経や骨格筋における活動電位はナトリウムイオン (Na) の細胞内への流入によって発生しているので、細胞外液の Na を除くと興奮できなくなる。しかし、平滑筋での活動電位は主にカルシウムイオン (Ca) を利用しているため、この筋では Na の役割が違っていることが推測される。多くの平滑筋では外液の Na 濃度を減らすと収縮を起こすことが知られ、また収縮は細胞内 Ca 濃度の増加を必要とするので、外液 Na 濃度の減少は何らかの機構で細胞内 Ca 濃度を上昇させることが考えられる。平滑筋によっては、細胞内 Na を汲み出す Na ポンプを抑制する ouabain で処理して細胞内 Na 濃度を増したときにも収縮が発生するので、これらの収縮には Na の濃度勾配を利用して細胞内 Ca を細胞外へ汲み出す機構 (Na-Ca 交換過程) が関与している可能性がある。特に、血管平滑筋においては、食塩の過剰摂取により細胞内外の Na 濃度勾配が低下し、Na-Ca 交換過程の機能が落ちて細胞内 Ca 濃度が増すため高血圧になるという説が出されて注目されている。^{1) 2)} しかし、外液の Na 濃度を減らしたときの収縮は必ずしも Na-Ca 交換過程を介したものでなく、細胞内 Ca 濃度の調節には ATP を用いて Ca を汲み出す Ca ポンプの働きを重視する考えもあって、³⁾ 平滑筋における Na-Ca 交換過程の意義はまだ明確でない点もある。外液の Na を除いたときの収縮 (0 Na 収縮) には幾つかの違った過程が関与している可能性があり、また、Na-Ca 交換過程の関与の程度も平滑筋によって異なっていることも考えられる。Na-Ca 交換過程では 3 個の Na が 1 個の Ca と交換するため、これらの電荷の差から Na が運ばれる方向へ電流が流れることになる。このことを利用して、心筋細胞では実際にこの膜電流が記録され、^{4) 5)} Na-Ca 交換過程が心筋の機能にかなり重要な役割を演じていることが明らかにされてきている。平成2年度の研究において我々は平滑筋においても Na-Ca 交換電流を記録することに成功し、その性質をある程度明らかにすることができた。この結果、少なくとも平滑筋の細胞膜にも Na-Ca 交換機構が存在し、条件によってはこの機構を介して収縮が起こり得ると結論される。本研究では、さらに Na-Ca 交換電流と 0 Na 収縮との関係を追究すると共に、外液から Na を除去した場合の細胞内 pH の変化と収縮との関連についても調べる。

2. 研究方法

機械的反応の実験にはモルモットの肺動脈、下大静脈、門脈、および家兔の門脈の筋切片(巾約 1.5 mm、長さ 5-10 mm)を用いて、等尺性に張力発生を記録した。筋切片は小さいガラス管(約 1 ml)の中に取り付け、ペリスタポンプを用いて 3 ml/min 程度の一定速度で灌流した。灌流を始めてから少なくとも 1 時間経過した後に実験を開始した。Na-Ca 交換過程による収縮を調べる目的で外液に、Ca チャネルを遮断する verapamil、神経からのノルアドレナリンの放出による収縮を抑える phenoxybenzamine、血管内皮からの弛緩物質(EDRF)の産生を抑制する nitro-L-arginine、および Na ポンプの阻害剤である ouabain を加えた条件下で実験を行った。

Na-Ca 交換過程で運ばれる膜電流は家兔の門脈からコラゲナーゼ処理で単離した細胞を用いて、いわゆる whole-cell clamp 法で記録した。この交換電流以外の電流系(膜電位依存性 Ca および K チャネル、Ca 依存性 K チャネル)を流れる電流を遮断するため、verapamil、tetraethylammonium を外液に加え、またパッチクランプ用の電極の内液に CsClを用いた。また、Na ポンプを介しての電流を抑制するために ouabain を用いた。数回の実験で Na チャネルを遮断するため tetrodotoxin (10 μ M)を外液に加えたが、明確な影響は観察できなかったため、Na チャネルを流れる電流は無視できるものと考えられた。膜電位は -40 mV に保持して電流の記録を行った。Na-Ca 交換電流は外向き電流のときは細胞外に Ca を加えて、内向き電流のときは Na を細胞外に加えることによって発生させた。

細胞内 pH の測定実験には主にモルモットの門脈の筋切片を用いて、pH に感受性をもつ色素(dimethylcarboxyfluorescein, Me₂CF)を細胞に取り込ませて、筋組織の吸収スペクトルを瞬間マルチ測光検出器(大塚電子)で測定した。測定するスポットの大きさは直径 1.5 mm であった。このスペクトルの 510 nm と 470 nm の波長における吸光度の比(510/470)から較正曲線を基にして細胞内 pH を求めた。pH の較正曲線は nigericin によって細胞膜の H⁺イオンの透過性を高めた状態で外液の pH を変化させて求めた。筋切片は石英ガラスの壁からなる試料槽(横 10、高さ 10、巾 2 mm)に等尺性に取り付け、細胞内 pH の変化と張力発生とを同時に記録した。試料槽は 3 ml/min の一定速度で灌流した。

正常液の組成(mM)は NaCl 127, KHCO₃ 6, CaCl₂ 2.4, MgCl₂ 1.2, glucose 12, Tris-buffer 10 (pH 7.4)であった。外液の NaCl を除くときは多くの場合、等モルの N-methyl-D-glucamine Cl (NMDG)で置換したが、0 Na 収縮については choline Cl や sucrose で置き換えても本質的には同様の結果が得られた。実験は 35°C で行った。

3. 研究結果

1) Ouabain の効果

正常の液から Na を除くと、緩やかな弱い収縮(0 Na 収縮)が発生した。細胞内の Na 濃度を増して Na を除いた時の Na-Ca 交換過程の関与を大きくするため、多くの 0 Na 収縮の実験は ouabain (50 μM) の存在下で行った。Fig. 1 に示すように、0 Na 収縮は verapamil の存在下であっても ouabain で処理すると次第に著明に増強してきて、20 分の間隔で 0 Na 収縮を繰り返し発生させると、1 時間程度ではほぼ一定に達した。この場合、ouabain の処理によって肺動脈および門脈では緊張性の収縮が次第に発生し、かなりの大きさに達したが、下大静脈では 0 Na 収縮の増大はみられても、静止張力は僅かな影響しか受けなかった。肺動脈および門脈では多くの場合 ouabain 存在下で繰り返し 0 Na 収縮を起こさせると、その回復速度が次第に遅くなる傾向を示した。

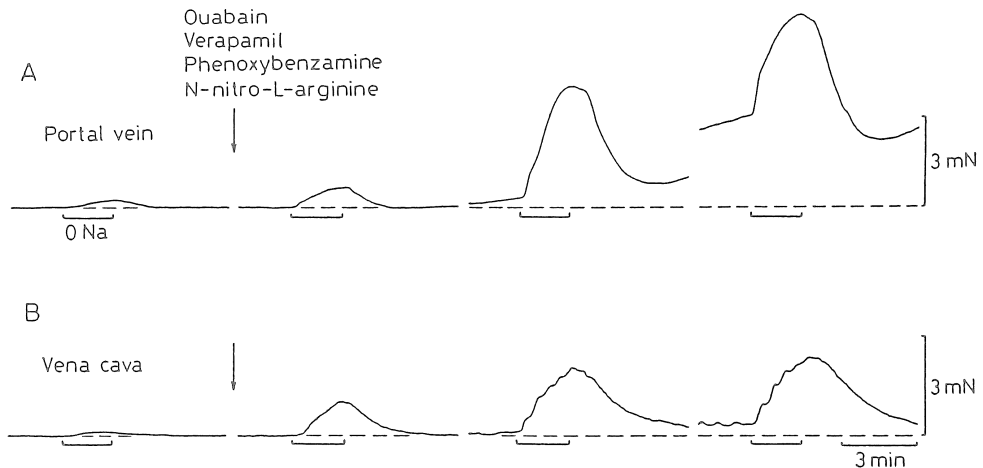


Fig. 1. Potentiation of 0 Na-contracture with ouabain (A: portal vein; B: vena cava of guinea-pig). Na was replaced with NMDG. In this experiment, ouabain (50 μM) was applied together with verapamil (3 μM), phenoxybenzamine (3 μM), N-nitro-L-arginine (20 μM), but a similar potentiating effect was obtained when ouabain was applied after pretreatment with these drugs for more than 30 min. Preparations were exposed to 0 Na solution for 4 min at intervals of 20 min.

2) Na 除去の時間と反応との関係

単離した細胞からパッチクランプ法で記録される、Na-Ca 交換過程の活性化によって発生すると考えられる膜電流は細胞内外の Ca や Na の濃度勾配を変化させた直後に流れ始め、約 30 秒で最大に達し、その後減少してきた。このため、Fig. 2A に示すように、外液に Ca を与えている時間を 30 秒から 2 分へと延長しても外向き電流の大きさや波形にはあまり大きい変化がみられなかった。しかし、0 Na 収縮の方は 10 分程度までは Na 除去の時間が長いほど大きくなった (Fig. 2 B)。また、0 Na 収縮の回復は Na 除去の時間が短くても非常に遅く、その収縮は Na を再投与するまで持続した。

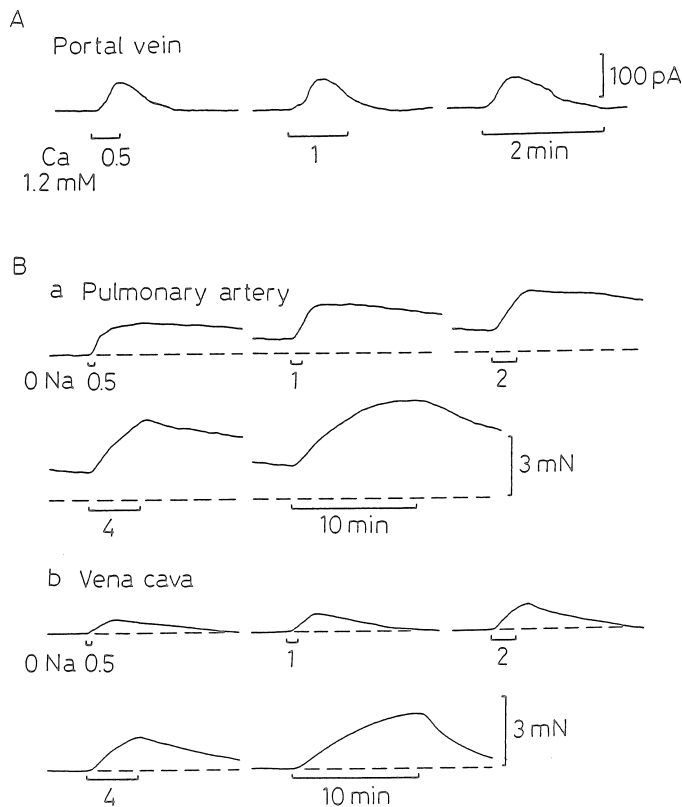


Fig. 2. A: Na-Ca exchange currents recorded with the whole-cell clamp method in a single cell freshly dispersed from rabbit portal vein. Membrane potential was held at -40 mV and the current was elicited by applying 1.2 mM Ca to bathing solution at 10 min intervals for different durations (0.5 - 2 min), as indicated by horizontal bars. Upward deflection indicates outward current. B: 0 Na contractures induced by perfusing with 0 Na solution (NMDG substitute) for varying periods (0.5 - 10 min) at 20 min intervals in guinea-pig portal vein (a) and vena cava (b).

3) Na 除去後における Ca の再投与

Ca を含まない液(0.1 mM EGTA を含む)で灌流した後に Na を除くと、0 Na 収縮の大きさは Ca 除去後の時間が長いほど小さくはなったが、その減少速度は遅く、10 分後であってもある程度の収縮が発生し、その収縮の時間的経過は持続性であった。Ouabain によって発生した持続性の収縮を Ca を除いて抑えた後で Ca (2.4 mM)を再投与すると緩やかな収縮が起こってくるが、Ca の再投与と同時に Na を除くと速い経過の収縮がみられた(Fig. 3)。Na を 5-10 分間除いた後で 2.4 mM Ca を再投与すると、Na が存在しない状態でも、Ca 存在下における 0 Na 収縮とあまり差がないような大きい収縮を起こすことができ、この収縮は Na が存在しないと、Ca を除いただけでは回復しなかった。つまり、Na に依存しない Ca の流入によって収縮が起こり、この Ca 流入は verapamil で遮断されない経路を介したものであると考えられる。

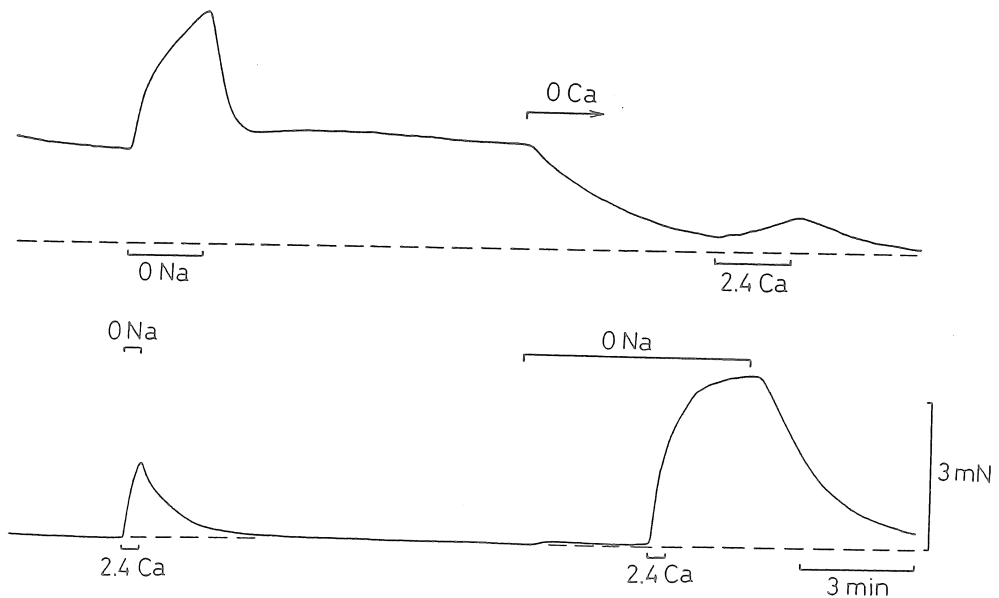


Fig. 3. Contractions induced by readmission of 2.4 mM Ca in the presence and absence of Na (guinea-pig portal vein). Perfusing solution contained ouabain (50 μ M), verapamil (3 μ M), phenoxybenzamine (3 μ M), and N-nitro-L-arginine (20 μ M). 0 Na-contraction at the beginning was the third response after ouabain application. When Ca was removed EGTA (0.1 mM) was added. NMDG was used as an Na substitute. Note a large contraction induced by Ca readmission and no recovery in the absence of Na.

4) Mg イオンによる抑制作用

外液中の Mg 濃度(1-10 mM)を増すと、外液に 1.2 mM の Ca を加えて発生させた外向きの Na-Ca 交換電流、つまり内向きの Ca および外向きの Na 動きは明らかに抑制され、この抑制は可逆的であった(Fig. 4A)。しかし、0 Na 収縮に対しては外液の Mg 濃度を増しても非常に弱い抑制作用しか示さなかった(Fig. 4B)。この図に示す実験では予め外液の Ca を除いて、Ca (2.4 mM) を与えるのと同時に Na を除いて収縮を発生させたが、Ca 存在下での 0 Na 収縮、特に Na を除く時間が長いときには Mg による効果は弱かった。Fig. 4B のように Na を除く 10 分前から Mg を増していても、Na を除くときだけ Mg の濃度を増しても、Mg の抑制効果に大差はみられなかった。

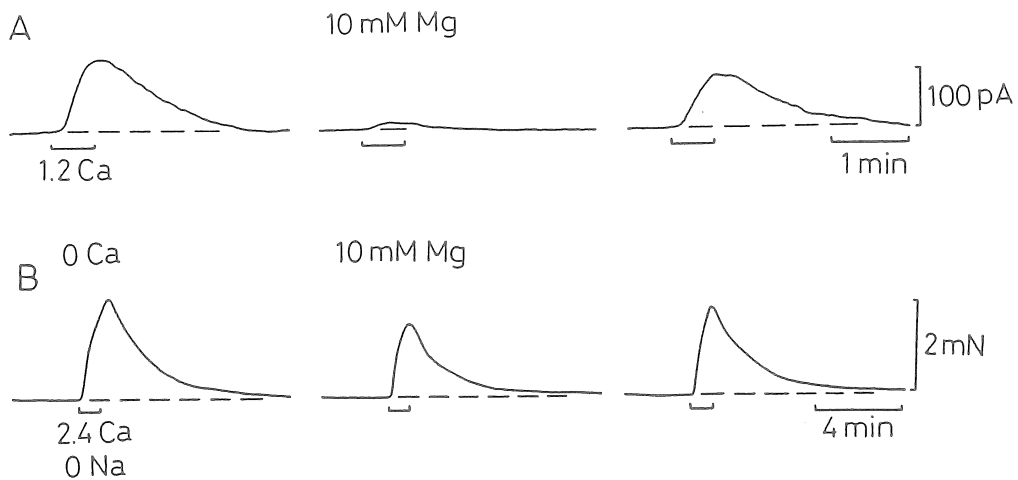


Fig. 4. Inhibitory effects of 10 mM Mg on Na-Ca exchange current in rabbit portal vein (A) and on 0 Na-contraction in guinea-pig portal vein (B). Outward currents induced by external application of 1.2 mM Ca under the condition in which the external medium contained 0 Na (NMDG) and patch electrode contained 30 mM Na, 0.2 μ M Ca. Control bathing solution contained no Mg and 10 mM Mg was applied 3 min before Ca application. 1.2 mM Ca was applied for 30 sec at 10 min intervals. 0 Na-contraction was evoked by applying 2.4 mM Ca on simultaneous removal of Na for 1 min after exposing to 0 Ca (0.1 mM EGTA). In the middle record in B, Mg was increased from 1.2 to 10 mM 10 min before, and again returned to 1.2 mM 4 min after, Ca application. Note weaker effect of excess Mg on the contraction than the current.

5) Na 除去による細胞内の酸性化と張力発生

外液の Na を NMDG あるいは choline で置換すると(Cl 濃度は一定)細胞内は次第に酸性に傾き、15-20分で pH は 7.2 から 6.7 へと低下した。しかし、NaCl を sucrose で置換して Cl 濃度も同時に減少させると、細胞内酸性化の程度は弱く、pH は 6.9-7.0 程度にしか低下しなかった(Fig. 5A)。HCO₃ の存在下で外液の Cl だけを gluconate などで置換すると細胞内はアルカリに傾くので、細胞内 pH 調節系には Cl-HCO₃ 交換機構を介したものが存在していることが示唆され、sucrose で Na を置換したとき酸性化が弱いのは同時に Cl 濃度が減少したため Cl-HCO₃ 交換過程が抑制されることによるものと推測される。

外液に 10 mM の propionate や butyrate などの弱酸を与えると、細胞内が酸性になると共に、収縮が発生する。それで、0 Na 収縮には細胞内での酸性化も関与している可能性も考えられる。しかし、0 Na 収縮には Na の置換物質として NMDG を用いても、sucrose を用いても、本質的な差はみられないか、むしろ sucrose の場合の方が大きい傾向を示したので(Fig. 5B)、0 Na 収縮に対する細胞内 pH の影響は弱いものと考えられる。

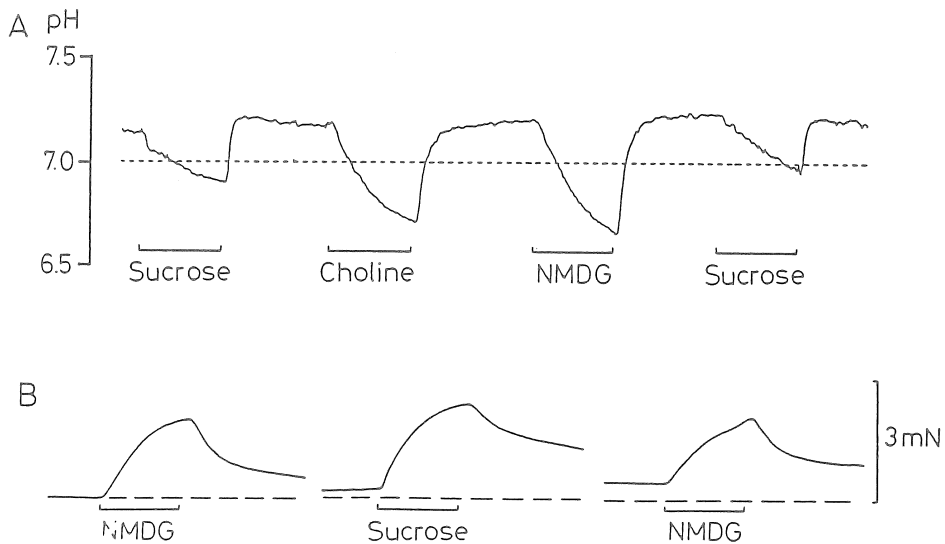


Fig. 5. A: Changes in intracellular pH caused by Na removal in guinea-pig vena cava. pH was measured with Me₂CF. NaCl was replaced for 20 min with sucrose, choline Cl, or NMDG Cl isoosmotically. B: 0 Na-contractions using NMDG Cl or sucrose as an NaCl substitute in guinea-pig vena cava. The first contraction was the 2nd response to NaCl removal for 4 min after addition of ouabain (50 μM), verapamil (3 μM), phenoxybenzamine (3 μM) and N-nitro-L-arginine (20 μM). 0 Na contraction was produced at 20 min intervals.

4. 考察

家兎門脈から単離した平滑筋細胞において、細胞内外の Na や Ca の濃度勾配を変化させたとき whole-cell clamp 法で記録される膜電流は、その膜電位依存性などの電気生理学的性質が心筋で報告されている Na-Ca 交換電流^{4) 5)}と同じであるので、少なくともこの平滑筋にも Na-Ca 交換過程が存在していると考えられる。それで、今回用いたモルモットの数種の血管平滑筋における 0 Na 収縮にも Na-Ca 交換過程を介した細胞内への Ca の流入が関与している可能性が高いが、Na-Ca 交換電流の性質と 0 Na 収縮の性質との間には必ずしも密接な相関はみられなかった。

Ouabain で処理すると、今まで報告されているように^{6) 7) 8)}、細胞内 Na 濃度が高まって Na-Ca 交換過程の関与が大きくなるため 0 Na 収縮は著明に増強されてくる。これと共に肺動脈や門脈では静止張力も増加してくるが、下大静脈においてはこの傾向は非常に弱かった。このような差は下大静脈では他の血管に比べて細胞膜における Ca ポンプによる細胞内 Ca の汲み出し機構の機能が相対的に大きいことによるものと推測される。恐らく、血管の種類によって細胞内 Ca 濃度の調節機構への Na-Ca 交換過程の関与の程度に差があるものと考えられる。

Na-Ca 交換電流は外向きの場合でも、内向きの場合でも一過性で、1-2 分で非常に小さくなってしまう。イオンの濃度勾配が外向き電流によっても、内向き電流によっても、ほぼ同じように、しかも、このように速く減少するとは考えにくいので、Na-Ca 交換電流が小さくなるのは Na-Ca 交換過程の不活性化による可能性が高いと考えられるが、この点に関してはさらに検討することが必要である。

一方、0 Na 収縮の方は Na-Ca 交換電流に比較して、かなり緩やかな時間経過で発生し、しかも持続的であり、回復も遅いという性質をもっている。これらの差はある程度、電流は単離した細胞で、収縮は細胞の集団である筋切片で記録しているので、それらの細胞膜近くにおける細胞外液の拡散速度の違いによるのかも知れないが、少なくとも収縮が持続的であるのは外液に Na が存在しない状態では一度増加した細胞内 Ca 濃度は減少できないことによるものと考えられる。つまり細胞内 Ca 濃度を低下させる機構に Na 依存性のもの(恐らく Na-Ca 交換過程)が存在しているといえる。

外液の Ca を除いた後で Na を除いて 0 Na 収縮を起こすと、Ca 除去の時間が長いほど 0 Na 収縮は小さくはなるが、かなり緩やかな時間経過でしか減少せず、Ca を除いて 10 分程度たった後でも明らかな持続的な収縮を起こすことができる。これは 細胞間隙の Ca を除くことが難しいためなのか、ある程度 0 Na 収縮に細胞内 Ca の放出が関与していることによるのか明確でない。培養した血管平滑筋細胞で ouabain 処理した条件下では Na-Ca 交換過程で流入した Ca によって細胞内 Ca が遊離されることが示唆されている⁹⁾。Ca と同時に Na も除いても、前もって Na を除き細胞内 Na 濃度を減少さ

せたと考えられる条件で Ca だけを与えても、同じ程度の速度で大きい収縮を発生させることができる。これらの結果は Na が存在しない状態では Ca に対する細胞膜の透過性が増している可能性が考えられる。モルモットの盲腸紐の平滑筋において、K 除去液で長時間処理して細胞内 Na 濃度を高めた状態で外液 Na を除くと細胞膜の透過性が増すことがみられ、細胞内 Ca 濃度が増加する結果であると考えられている¹⁰⁾。本実験でみられた Ca 透過性の増加がこれと本質的に同じものであるかどうか現在のところ明確でない。Na が存在しないときの Ca 再投与によって起こした収縮は verapamil の存在下での実験であるので、この収縮はいわゆる膜電位依存性の Ca チャネルを介した Ca の流入によるものではないと推測される。今後さらに、Ca 再投与までの Na 除去の時間と収縮の大きさとの関係などを詳しく調べ、この Ca 流入経路の性質を明らかにする必要がある。また、この Ca 流入が電荷を運ぶ可能性についても電気生理学的に注意して検討しなければならない。

パッチクランプ法で記録される Na-Ca 交換電流と 0 Na 収縮との違いは外液の Mg 濃度を増したとき、収縮の方は Na-Ca 交換電流に比べて非常に弱くしか抑制されないことにも現れている。Mg の抑制効果は外液の Ca を除いておいて、Na の除去と同時に Ca を与えて起こした収縮に対しても弱い。この収縮は Ca の流入によって起こっているで、電流と収縮への Mg の抑制効果の差を細胞内 Ca の関与の有無で説明することはできない。0 Na 収縮には少なくとも Na-Ca 交換過程による Ca 流入によるものと Na に依存しない Ca 流入によるものとの 2 つの要素が含まれ、後者は Mg によって抑制され難いという可能性が考えられる。0 Na 収縮の機序として今まで Na-Ca 交換過程のみが強調されてきた傾向があるが^{11) 2) 8)}、それ以外の過程の関与の可能性について考慮する必要があると考えられる。

5. 今後の課題

血管平滑筋細胞に Na-Ca 交換過程が存在することは間違いないといえるが、外液の Na を除いたときにみられる 0 Na 収縮がすべてこの過程で生じているかどうかについてはかなり疑問がある。今まで既に指摘されているように¹¹⁾、血管によっては神経からの伝達物質の遊離による収縮も無視できない要素である。恐らく、0 Na 収縮には Na-Ca 交換過程が主役を演じていると結論できると思われるが、しかし、これ以外に外液から Na を除くことによって細胞膜の Ca に対する透過性が増すことも収縮を起こすかなり重要な要素である可能性が考えられる。この機序の解明が今後の主要な課題である。さらに、今回の実験では、現象を明確にするため、外液の Na を完全に除いた非常に非生理的条件下での反応を調べたが、今後は Na 濃度と張力発生との関係についても詳しく調べていかなければならない。

6. 参考文献

- 1) Blaustein, M.P. (1974) Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol. 70, 33-82.
- 2) Blaustein, M.P. (1977) Am. J. Physiol. 232, C165-173.
- 3) Van Breemen, C., Aaronson, P., Loutzenhiser, R. & Meisheri, K. (1982) Fed. Proc. 41, 2891-2987.
- 4) Kimura, J., Miyamae, S. & Noma, A. (1987) J. Physiol. 384, 199-222.
- 5) Miura, Y. & Kimura, J. (1989) J. gen. Physiol. 93, 1129-1145.
- 6) Savineau, J.P., Mironneau, J. & Mironneau, C. (1987) Gen. Physiol. Biophys. 6, 535-560.
- 7) Maseki, T., Abe, T. & Tomita, T. (1990) Europ. J. Pharmacol. 190, 355-363.
- 8) Ashida, T. & Blaustein, M.P. (1987) J. Physiol. 392, 617-635.
- 9) Gillespie, J.I., Otun, H., Greenwell, J.R. & Dunlop, W. (1992) Exptl. Physiol. 77, 141-152.
- 10) Brading, A.F. (1978) J. Physiol. 275, 65-84.
- 11) Karaki, H. & Urakawa, N. (1977) Europ. J. Pharmacol. 43, 65-72.

Effects of removal of external Na^+ ions on vascular smooth muscles

Tadao Tomita, Hiroyuki Tokuno,
and Toshihiro Matsumoto
Department of Physiology, School of
Medicine, Nagoya University

Summary

In single cells dispersed from the rabbit portal vein, Na-Ca exchange currents could be recorded with the whole-cell clamp method, under the condition in which all other possible ionic pathways had been blocked. Although Ca-influx mediated by the Na-Ca exchange may be responsible for contraction produced by Na removal (0 Na-contraction) observed in several vascular muscles in the guinea-pig, there are some discrepancies between properties of Na-Ca exchange current and 0 Na-contraction. Na-Ca exchange current was transient, lasting for about 1 min, whereas 0 Na-contraction was slow and long-lasting. The exchange current may be inactivated relatively quickly, but intracellular Ca concentration increased by this process may not be reduced without Na. 0 Na-contraction was only slowly reduced in Ca-free solution, containing 0.1 mM DGTA, suggesting a partial contribution of intracellular Ca release, in addition to a slow decrease in Ca concentration in the extracellular space in muscle strips. Excess Mg was less effective in inhibiting 0 Na-contraction compared with Na-Ca exchange current.

Removal of external Na decreased intracellular pH from about 7.2 to 6.7 when Na was replaced with choline or N-methyl-D-glucamine (NMDG), keeping Cl concentration constant. When NaCl was replaced with sucrose, however, intracellular acidification was much less, but 0 Na-contraction was similar to, or even larger than, those produced by choline or NMDG substitution, suggesting that intracellular acidification is not an important factor in 0 Na-contraction.

When Ca was readmitted after more than 10 min exposure to Ca- and Na-free solution, a quick large contraction could be elicited in the presence of verapamil. This suggests that there is some Ca-influx pathway which is Na-independent and is unlikely voltage-gated Ca channel. This pathway seems resistant to excess Mg and the contribution of this Na-independent pathway to 0 Na-contraction may explain the discrepancies described above. 0 Na contraction was greatly potentiated with ouabain (50 μM) in all vascular muscles studied. On the other hand, ouabain increased resting tension in the pulmonary artery and the portal vein, while it had a marginal effect on the vena cava. Activity of Na-Ca exchange mechanism relative to that of Ca-pump in the plasma membrane seems to vary in different vascular muscles.