

右心不全ラットにおける骨格筋筋小胞体の Ca²⁺取り込み能およびSERCA発現について

森永 慎也¹⁾, 和田 正信²⁾, 山田 崇史¹⁾, 原 温子¹⁾, 若居佐恵子¹⁾,
堤 恵理子³⁾, 弓削 類³⁾, 梶原 博毅³⁾

キーワード (Key words) : 1. 右心不全 (right congestive heart failure)
2. 筋小胞体 (sarcoplasmic reticulum)
3. 筋小胞体 Ca²⁺-ATPase (sarcoplasmic reticulum Ca²⁺-ATPase)

右心不全に伴って、速筋および遅筋の筋小胞体Ca²⁺取り込み能が減少するという仮説を検証した。右心不全は、モノクロタリン (30 mg/kg) を投与することにより引き起こし、投与後4週で、長指伸筋およびヒラメ筋を両後肢から採取した。筋の疲労耐性は、連続的な強縮刺激を行うことにより測定した。長指伸筋では刺激開始1分後、ヒラメ筋では4分後の張力を測定し、初期値に対するそれらの割合を疲労の指標とした。長指伸筋およびヒラメ筋の疲労耐性は、右心不全群で有意に低下した。筋小胞体Ca²⁺取り込み速度は、Indo- を付加したホモジネートで測定した。その結果、Ca²⁺取り込み速度は、長指伸筋で25.4% (p < 0.01), ヒラメ筋で30.4% (p < 0.05) 低下した。このCa²⁺取り込み速度の低下は、筋小胞体Ca²⁺-ATPaseタンパク量の低下と一致した。筋小胞体Ca²⁺取り込み能の低下は、筋張力の低下を引き起こし、このCa²⁺ handlingの低下は、少なくとも右心不全による運動耐容能の低下の一因であろう。

緒 言

慢性心不全患者の大きな特徴として、息切れと疲労を主症状とした運動耐容能の低下があげられる¹⁾。慢性心不全患者の運動耐容能を制限する因子としては、心機能の障害はもちろぬ末梢骨格筋の変化が特に関係しているといわれ、これまで組織学的筋線維タイプの遅筋から速筋への変換^{2, 3)}, ミオシン重鎖の遅筋型isoformから速筋型isoformへの変換^{1, 4-7)}, 末梢骨格筋における血流量の低下^{6, 8, 9)}, 酸化酵素活性の低下^{2, 7)}, 骨格筋におけるアポトーシスの出現^{4, 5, 10)}などが報告されてきた。しかしながら、これらの変化からは心不全に伴う疲労耐性の低下に関するすべてを説明することはできない。

筋小胞体は、筋筋質内のCa²⁺濃度を調節し、筋の収縮と弛緩に関わる重要な小器官であり、疲労と密接な関係があるといわれている¹¹⁾。このような役割を担う筋小胞体の機能的な変化が、心不全患者における運動耐容能の低下の要因となっている可能性が考えられる。心不全ラットの骨格筋筋小胞体の機能についていくつか報告があるが、左心不全における報告のみで、右心不全を対象

とした報告は過去にはみられない。

そこで今回筆者は、肺性心を惹起させる植物性アルカロイドであるモノクロタリンを注入した右心不全モデルラットを用い、右心不全に伴う運動耐容能の低下に関する知見を得るため、筋小胞体の機能およびそれに関するタンパク質の解析を行った。

材料と方法

1. 実験動物および実験モデル

Sprague Dawley系ラット雌 (80~100 g) 49匹を使用し、対照群 (n = 18) と心不全群 (n = 31) の2群に分けた。心不全群には、10 mg/mlのモノクロタリン溶液を肩甲骨内側部に皮下注入 (30 mg/kg) し¹²⁾、対照群には生理食塩水 (3 ml/kg) のみを注入した。投与後は、両群ともケージ内で自由に摂食、飲水できる環境で飼育を行った。下記の項目全てを満たすラットを心不全ラットと断定し、それ以外のラットは、モノクロタリン耐性ラットとし実験データより除外した。

(1) 心、肝重量が対照群の平均値より10%以上高い

・ Function of skeletal muscle sarcoplasmic reticulum and expression of sarcoplasmic reticulum Ca²⁺-ATPase in right congestive heart failure rats
・ 所属: 1) 広島大学大学院医学系研究科保健学専攻 2) 広島大学総合科学部 3) 広島大学医学部保健学科理学療法学専攻
・ 広島大学保健学ジャーナル Vol. 2(1): 19~25, 2002

こと。

(2) 肝臓のうっ血が組織学的に観察されること。

(3) 心筋細胞に組織学的に肥大，変性および脱落が観察されること。

なお，今回の実験は広島大学医学部における倫理委員会の承認を得て行った。

2. 疲労耐性の測定

モノクロタリン投与4週後に，ペントバルビタール麻酔下(50 mg/kg)で，右後肢のヒラメ筋，長指伸筋を採取した。採取後，リンガー溶液(137 mM Na⁺，5 mM K⁺，5.04 mM Ca²⁺，2 mM Mg²⁺，121 mM Cl⁻，20 mM HCO₃⁻，1.9 mM HPO₄²⁻，0.012 mM d-tubocurarine)中で，筋を筋張力計(日本光電，FD ピックアップ)に垂直に固定した。リンガー液には，実験中常に95% O₂・5% CO₂を通入した。筋両端より電気刺激装置(日本光電，SEN-7203)を用いて電気刺激を負荷した。長指伸筋では60 Hz(矩形幅・1 msec，1 trainにおける刺激パルス数・20回，trainの頻度1回/秒)の強縮刺激を連続的に1分間，ヒラメ筋では20 Hz(矩形幅・1 msec，1 trainにおける刺激パルス数・7回，trainの頻度・0.5回/秒)の刺激を4分間行った。長指伸筋では刺激開始1分後，ヒラメ筋では2および4分後の張力を測定し，初期値に対するそれらの割合を疲労の指標とした。データは，パーソナルコンピューターに取り込みScope(Ver. 3.6)を用いて解析した。

3. 組織学的検査

張力を測定した筋の一部を，液体窒素で十分に冷却されたイソペンタン内で急速凍結し，-70℃で保存した。実験動物は下大静脈を切断することで出血死させた後，速やかに心臓，肝臓および肺を摘出し，それぞれ湿重量を測定した。その後，これらの臓器は10%(v/v)ホルマリンで固定し，アルコールで脱水の後パラフィン包埋を行った。骨格筋については凍結切片で10μmに，心臓，肝臓および肺についてはパラフィン切片で4μmに薄切し，ヘマトキシリンエオジン(Hematoxylin-Eosin，以下HE)染色を行った。

4. 筋小胞体のCa²⁺取り込み速度の解析

左後肢から採取した筋を9倍量(w/v)の抽出液(40 mM Tris，300 mM sucrose，pH 7.9)中でホモジナイズ，その後3000 gで10分間遠心分離し，その上清を筋小胞体Ca²⁺取り込み速度のサンプルとした。Ca²⁺の筋小胞体への取り込み速度は，Ward et al.¹³⁾の方法に従い，Ca²⁺蛍光指示薬であるIndoを用い，その蛍光値を細胞内イオン測定装置(JASCO，CAF-110S)で測定した。Incubation medium(100 mM KCl，20 mM HEPES，6.8

mM potassium oxalate，10 mM NaN₃，0.5 mM MgCl₂，1 μM Indo，pH 7.0)1 mlに，長指伸筋では20 μl，ヒラメ筋では40 μlのサンプルを加え，Mg-ATPを加え反応を開始した。溶液中のCa²⁺濃度が1000 nM通過時から10秒後のCa²⁺濃度を算出し単位時間，単位筋湿重量あたりのCa²⁺濃度の変化率を示した。測定中，Incubation mediumは常に攪拌し，また溶液の温度は37℃に保った。

5. 筋小胞体Ca²⁺-ATPaseタンパク量の解析

筋小胞体Ca²⁺-ATPaseには，fast typeであるSERCA(sarcoplasmic endoplasmic reticulum Ca²⁺-ATPase)とslow typeであるSERCAが存在し，本研究ではこれらのタンパク量についても測定を行った。筋の20倍量(w/v)の抽出液(125 mM Tris-HCl，pH 6.8，2%(w/v)ドデシル硫酸ナトリウム，20%(v/v)glycerol，4%(v/v)mercaptoethanol，0.02%(w/v)bromophenol blue)中でホモジナイズし，70℃で保存した。得られたサンプルをリン酸カリウム緩衝液(pH 7.5)と反応させ，ドデシル硫酸ナトリウム-カリウム沈殿を生成させた後，3000 gで10分間遠心分離し，その上清をBradford protein assayによりタンパク質濃度を測定した。解析は，Western blot法により行った。電気泳動法の分離ゲルにおけるアクリルアミドの濃度は10%とした。電気泳動に負荷したタンパク量は，長指伸筋では10 μg，ヒラメ筋では100 μgであった。電気泳動終了後，2.5 mA/の定電流でPVDF膜にブロッティングした。1次抗体は，SERCAを認識する抗SERCAモノクローナル抗体(Affinity Bioreagent，MA3-911)，SERCAを認識する抗SERCAモノクローナル抗体(Affinity Bioreagent，MA3-919)を用いた。希釈倍率はそれぞれ2500倍，500倍とした。2次抗体は，抗マウスIgG HRP(Dako，P0260)を用いた。ECL detection reagent(Amersham Pharmacia Biotech，ECL RPN 2209)を用いて化学発光させ，フィルムに露光し現像した。バンドの解析は，デジタルカメラでフィルムを撮影し，その画像をパーソナルコンピューターに取り込み，NIH Image(Ver. 1.61)を用いて解析した。

6. 統計学的処理

数値はすべて平均±標準誤差で示した。2群の検定は，2群が等分散の場合スチューデントのt検定を行い，2群が異分散の場合，ウェルチのt検定を行った。統計学的有意差は，危険率が5%未満とした。

結 果

1. 心不全ラット生存率

心不全群31匹中10匹が屠殺前に死亡し，4週間の生存

率は68%であった。4週間生存したラットのうち、モノクロタリン耐性ラットが2匹存在し、心不全と断定されたラットは、19匹であった。心不全群のラットでは、屠殺直前には程度の差はあるものの呼吸切迫や息切れの兆候が確認された。

2. 組織重量

体重に対する各組織の相対重量を表1に示した。対照群と比べて心不全群の心臓、肝臓湿重量は有意な高値 ($p < 0.01$) がみられたのに対し、筋湿重量は両群で差異はなかった。

表1 組織重量

| | CON | CHF |
|-----------------|-------------|--------------|
| 体重 (g) | 190 ± 2.8 | 164 ± 3.8* |
| 心臓 / BW (mg/g) | 3.33 ± 0.07 | 4.83 ± 0.26* |
| 肝臓 / BW (mg/g) | 37.9 ± 1.1 | 42.6 ± 1.3* |
| EDL / BW (mg/g) | 0.47 ± 0.01 | 0.47 ± 0.01 |
| SOL / BW (mg/g) | 0.41 ± 0.02 | 0.45 ± 0.01 |

CON: 対照群, CHF: 心不全群, EDL: 長指伸筋, SOL: ヒラメ筋 * $p < 0.01$ vs CON

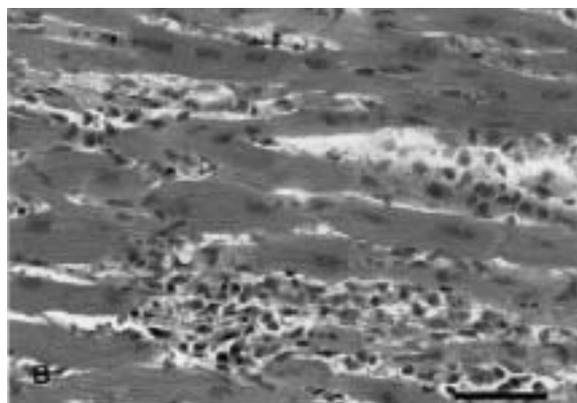
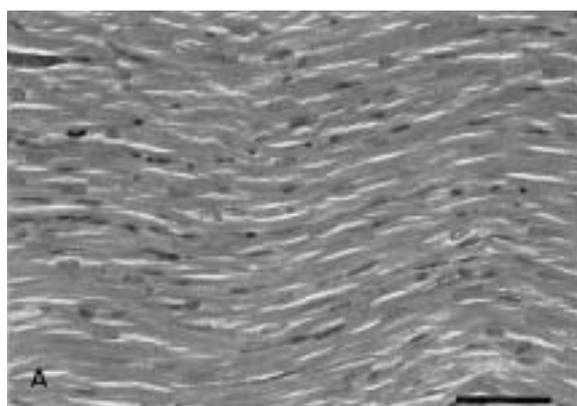


図1 右心室のHE染色像

A: 対照群 B: 心不全群 scale bar: 50 μ m

3. 形態学的所見

[心臓]

肉眼的には、心不全群の右心室は対照群よりも肥大、拡張していた。組織学的には、対照群と比べて右心室心筋細胞の著明な肥大と核の多倍化がみられ、部分的には心筋細胞の崩壊と巣状の炎症細胞浸潤がみられた(図1)。

[肝臓]

心不全群は肉眼的にはうっ血が強く、組織学的にも中心静脈周辺に赤血球のうっ滞がみられた。また、中心静脈付近に核破砕がおり、肝細胞の壊死、脱落がみられる部位もあった。

[骨格筋]

肉眼的には、対照群と比較して心不全群の筋では乏血性であった。組織学的には、対照群と比較して心不全群の筋細胞では、多くの細胞において軽度の肉漿野のひろがり観察された。さらに、浮腫による間質の拡張を伴った部位がみられた。

4. 疲労耐性

対照群と比較して心不全群において、長指伸筋では1分値に ($p < 0.05$), またヒラメ筋では4分値に ($p < 0.05$) 有意な低値が認められた(図2)。

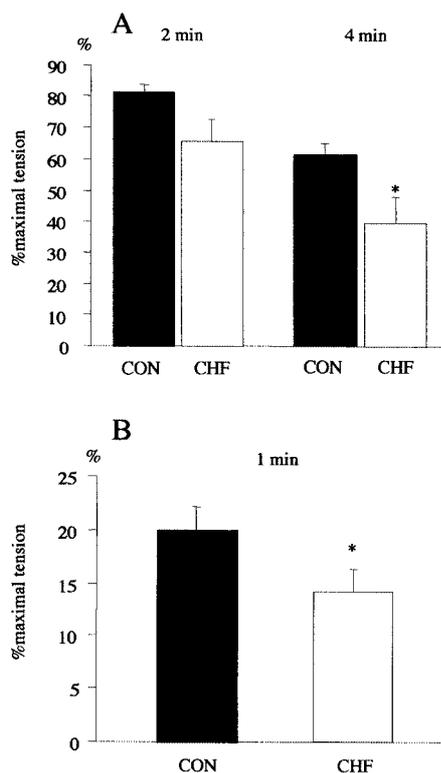


図2 筋張力の結果

A: ヒラメ筋 B: 長指伸筋

CON: 対照群 CHF: 心不全群

* $p < 0.05$ vs CON

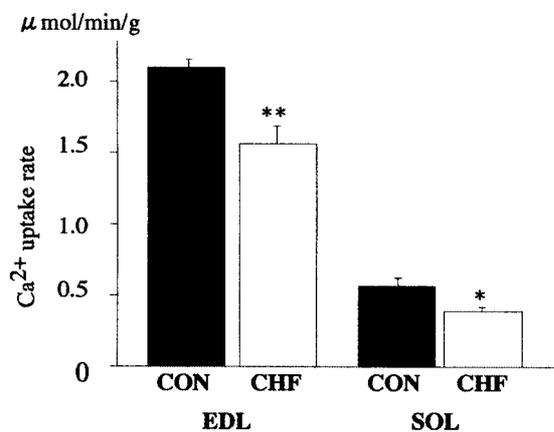


図3 筋小胞体におけるCa²⁺取り込み速度
 CON: 対照群 CHF: 心不全群
 EDL: 長指伸筋 SOL: ヒラメ筋
 **p < 0.01 *p < 0.05 vs CON

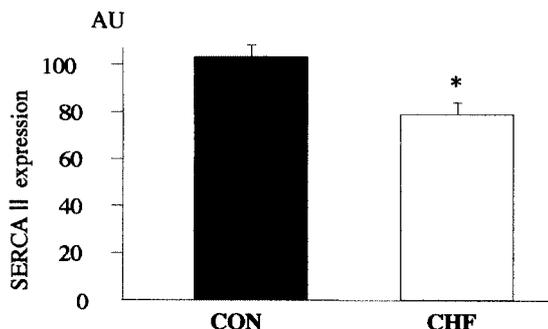


図5 ヒラメ筋におけるSERCA 発現
 CON: 対照群 CHF: 心不全群
 **p < 0.05 vs CON
 AU: arbitrary unit RV: right ventricle

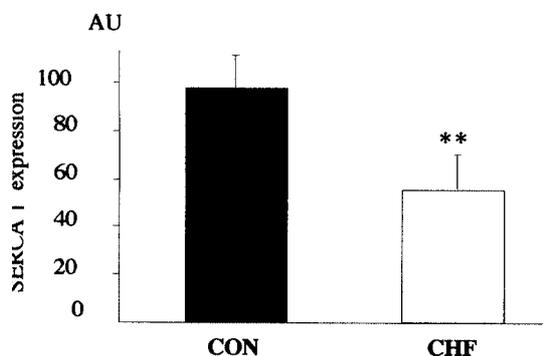


図4 長指伸筋におけるSERCA 発現
 CON: 対照群 CHF: 心不全群
 **p < 0.01 vs CON AU: arbitrary unit

ヒラメ筋におけるSERCA の発現は微量であり定量解析はできなかった。

考 察

本研究では、右心不全に伴う運動耐容能の低下に関する知見を得るため、末梢骨格筋における筋小胞体の機能およびそれらに関わるタンパク質の解析を行った。筋原線維の活動は、細胞内遊離Ca²⁺濃度によって制御されており、Ca²⁺濃度が1~10 μMに上昇すると収縮し、0.1 μM以下に低減すると弛緩することはよく知られている。骨格筋では、筋小胞体がこの遊離Ca²⁺濃度の調節を担っており、その意味では筋の収縮活動に極めて重要な小器官であり、疲労と密接な関係があると考えられている¹¹⁾。心不全に伴う運動耐容能の低下に関して、この小器官の変化が関係していると考えられる。しかし、心不全に関して筋小胞体の機能を解析したものの大部分は心筋細胞における研究であり、骨格筋における筋小胞体の解析を行ったものは極めて少ない。特に、右心不全においては過去に報告はみられない。左心不全における報告では、心筋梗塞モデルラットの腓腹筋における筋小胞体のCa²⁺放出・取り込み機能の上昇を示したWilliams and Wardの報告¹⁴⁾など、本研究とは相反する結果を認める報告もなされている。一方、冠状動脈結紮による心筋梗塞モデルラットの速筋においては、強縮刺激中の筋小胞体のCa²⁺放出・取り込み機能の低下を認めたPerreault et al. の報告¹⁵⁾、また同様に、単一速筋筋線維

5. Ca²⁺取り込み速度

筋小胞体のCa²⁺取り込み速度は、実験で用いた両筋において、対照群と比較して心不全群で有意な低値がみられ、対照群に対する心不全群の値は、長指伸筋では74.6% (p < 0.01)、ヒラメ筋では69.6% (p < 0.05)であった(図3)。

6. SERCAタンパク量

長指伸筋において速筋型であるSERCA 発現は、心不全群では対照群より約42%減少していた (p < 0.01) (図4)。長指伸筋において速筋型であるSERCA の発現は両群ともみられなかった。ヒラメ筋におけるSERCA 発現は、約20%の減少が観察された (p < 0.05) (図5)。

においてCa²⁺取り込み量の低下を認めたLunde et al. の報告¹⁶⁾にみられるように、筋小胞体の機能が低下することが示唆されている。

本研究で用いた手法は、これらの先行研究とは異なるものではあったが、右心不全により速筋および遅筋の筋小胞体Ca²⁺取り込み速度は、25%以上低下することが認められ、Perreault et al.¹⁵⁾やLunde et al.¹⁶⁾の結果を支持するものであった。この筋小胞体の機能低下により、筋小胞体内へ取りこまれるCa²⁺量が徐々に減少し、筋小胞体内腔に保持されるCa²⁺濃度が低下すると考えられる。そのため、Ca²⁺の放出に利用可能なCa²⁺量が低下し、疲労する前と比べ十分なCa²⁺が筋小胞体から放出されなくなるため、張力の低下すなわち疲労に結びつくことと推察される。

本研究と同様に先行研究においても、筋小胞体Ca²⁺取り込み能の低下の要因について検討するために、SERCAの活性およびタンパク量の解析が行われてきたが、意見の統一はみられていない。Simonini et al.¹⁷⁾は、心筋梗塞を起こしたラットのヒラメ筋において、SERCAのタンパク量およびmRNA量を解析した結果、それぞれ16%、59%低下したと報告した。同様にPeters et al.¹⁸⁾は、特発性高血圧心不全ラットを用いて、骨格筋のSERCA遺伝子について解析し、前脛骨筋、足底筋、横隔膜におけるSERCA mRNAが著明に減少し、それに伴いSERCA活性も同様に減少したことを認めている。しかしながら、最近のLunde et al.¹⁶⁾は、左心不全ラットの短母指屈筋とヒラメ筋のSERCAタンパク量は変化がなかったと報告している。このように先行研究において異なる知見が得られた原因については、現在の段階では明らかにはなっていないが、長指伸筋では速筋型isoformであるSERCA発現量が減少、およびヒラメ筋では遅筋型isoformであるSERCA発現量が減少することを認める本研究の結果は、Simonini et al.の結果を支持するものであり、このSERCAのタンパク量の減少が筋小胞体Ca²⁺取り込み速度の低減の要因であると考えられる。

Libera et al.¹⁹⁾は、本研究と同様の処置を施したラットを用い、心不全に伴い炎症性サイトカインである腫瘍壊死因子(tumor necrosis factor- α , 以下TNF- α)が上昇したことを報告した。近年、TNF- α の骨格筋への影響が報告されており、張力の低下などの収縮機能障害をもたらすことが示されている²⁰⁾。したがって、本研究でみられた収縮機能障害にも、TNF- α が関与している可能性は十分考えられる。TNF- α のシグナル伝達系において、活性酸素種が大きな役割を担っていると言われており、心不全モデルラットにおいて筋細胞内の活性酸素種の濃度が上昇していることが最近示された²¹⁾ことから、TNF- α が産出した活性酸素種が骨格筋に影響を及

ぼしていることが推察される。一方、活性酸素種の一種がSERCA活性の低下を引き起こすことも報告されている。今回、速筋である長指伸筋と遅筋であるヒラメ筋を被験筋としたが、心不全に伴う変化は、速筋の変化のほうが大きかった。遅筋であるヒラメ筋は抗酸化防御機能が長指伸筋より優れているため²²⁾、心不全に起因して起こる種々の変化が、より少なかったのかもしれない。活性酸素種がSERCAタンパク量の減少を引き起こすかについては不明であるが、今後その点についても詳細な検討が必要であると思われる。

心不全時における骨格筋の生化学的变化は、筋線維タイプやミオシン重鎖のfast typeへの移行あるいは酸化系酵素活性の低下など、不活動後の萎縮に伴ってみられるものと類似していることが報告されている。これらのことより、心不全時にみられる骨格筋変化の要因の一つは萎縮にあると論議されてきた。しかしながら、Simonini et al.²³⁾は、心不全ラットの活動をモニターした結果、心不全ラットの活動量にはばらつきがあったにもかかわらず、萎縮に伴ってみられる変化(ミオシン重鎖の減少や酸化系酵素活性の低下)が、各ラットに同様に現れたと報告した。これらのことより、心不全に伴う骨格筋の変化は、筋活動量の変化以外のメカニズムが働いているのではないかと提唱している。萎縮に伴って筋小胞体に起こる変化としては、Ca²⁺取り込み能力の亢進やSERCAのタンパク量の増大などが報告されている²⁴⁻²⁶⁾。本研究においては、これとは逆にCa²⁺取り込み速度は低下し、また筋湿重量には変化がみられず、Simonini et al.²³⁾の知見を支持する結果となった。

本研究の結果から、右心不全によって骨格筋の疲労耐性が低下し、それを引き起こす要因としては、筋小胞体の機能的な変化が主に関与していることが明らかになった。この筋小胞体の変化には、SERCAタンパク量の減少が関わっているものと推察される。

文 献

1. Vescovo, G., Libera, L. D., Leprotti, C. and Ambrosio, G. B. : Exercise capacity and skeletal muscle myosin heavy chains in CHF. *G. Ital. Cardiol.*, 29: 214-219, 1999
2. Drexler, H., Riede, U., Munzel, T., Konig, H., Funke, E. and Just, H. : Alterations of skeletal muscle in chronic heart failure. *Circulation*, 65: 1751-1759, 1992
3. Massie, B. M., Simonini, A., Sahgal, P., Wells, L. and Dudley, G. A. : Relation of systemic and local muscle exercise capacity to skeletal muscle characteristics in men with congestive heart failure. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 27: 140-145, 1996
4. Libera, L. D., Zennaro, R., Sandri, M., Ambrosio, G. B. and Vescovo, G. : Apoptosis and atrophy in rat slow skeletal

- muscles in chronic heart failure. *Am. J. Physiol.*, 277: C982-C986, 1999
- 5 . Vescovo, G., Zennaro, R., Sandri, M., Carraro, U., Leprotti, C., Ceconi, C., Ambrosio, G. B. and Libera, L. D. : Apoptosis of skeletal muscle myofibers and interstitial cells in experimental heart failure. *J. Mol. Cell. Cardiol.*, 30: 2449-2459, 1998
 - 6 . Vescovo, G., Ceconi, C., Bernocchi, P., Ferrari, R., Carraro, U., Ambrosio, G. B. and Libera, L. D. : Skeletal muscle myosin heavy chain expression in rats with monocrotaline-induced cardiac hypertrophy and failure. Relation to blood flow and degree of muscle atrophy. *Cardiovasc. Res.*, 39: 233-241, 1998
 - 7 . De Sousa, E., Veksler, V., Bigard, X., Mateo, P. and Ventura-Clapier, R. : Heart failure affects mitochondrial but not myofibrillar intrinsic properties of skeletal muscle. *Circulation*, 102: 1847-1853, 2000
 - 8 . Musch, T. I. and Terrell, J. A. : Skeletal muscle blood flow abnormalities in rats with a chronic myocardial infarction: rest and exercise. *Am. J. Physiol.*, 262: H411-H419, 1992
 - 9 . Lindsay, D. C., Holdright, D. R., Clarke, D., Anand, I. S., Poole-Wilson, P. A. and Collins, P. : Endothelial control of lower limb blood flow in chronic heart failure. *Heart*, 75: 469-476, 1996
 - 10 . Adams, V., Jiang, H., Yu, J., Mobius-Winkler, S., Fiehn, E., Linke, A., Weigl, C., Schuler, G. and Hambrecht, R. : Apoptosis in skeletal myocytes of patients with chronic heart failure is associated with exercise intolerance. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 33: 959-965, 1999
 - 11 . Favero, T. E. : Sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} release and muscle fatigue. *J. Appl. Physiol.*, 87: 471-483, 1999
 - 12 . Kajihara, H. : Electron microscopic observations of hypertrophied myocardium of rat produced by injection of monocrotaline. *Acta. Path. Jap.*, 20: 183-206, 1970
 - 13 . Ward, C. W., Spangenburg, E. E., Diss, L. M. and Williams, J. H. : Effects of varied fatigue protocols on sarcoplasmic reticulum calcium uptake and release rates. *Am. J. Physiol.*, 275: R99-R104, 1998
 - 14 . Williams, J. H. and Ward, C. W. : Changes in skeletal muscle sarcoplasmic reticulum function and force production following myocardial infarction in rats. *Exp. Physiol.*, 83: 85-94, 1998
 - 15 . Perreault, C. L., Gonzalez-Serratos, H., Litwin, S.E., Sun, X., Franzini-Armstrong, C. and Morgan, J. P. : Alterations in contractility and intracellular Ca^{2+} transients in isolated bundles of skeletal muscle fibers from rats with chronic heart failure. *Circ. Res.*, 73: 405-412, 1993
 - 16 . Lunde, P. K., Dahlstedt, A. J., Bruton, J. D., Lannergren, J., Thoren, P., Sejersted, O. M. and Westerblad, H. : Contraction and intracellular Ca^{2+} handling in isolated skeletal muscle of rats with congestive heart failure. *Circ. Res.*, 88: 1299-1305, 2001
 - 17 . Simonini, A., Chang, K., Yue, P., Long, C. S. and Massie, B. M. : Expression of skeletal muscle sarcoplasmic reticulum calcium-ATPase is reduced in rats with postinfarction heart failure. *Heart*, 81: 303-307, 1999
 - 18 . Peters, D. G., Mitchell, H. L., McCune, S. A., Park, S., Williams, J. H. and Kandarian, S. C. : Skeletal muscle sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} -ATPase gene expression in congestive heart failure. *Circ. Res.*, 81: 703-710, 1997
 - 19 . Libera, L. D., Sabbadini, R., Renken, C., Ravara, B., Sandri, M., Betto, R., Angelini, A. and Vescovo, G. : Apoptosis in the skeletal muscle of rats with heart failure is associated with increased serum levels of TNF- α and sphingosine. *J. Mol. Cell. Cardiol.*, 33: 1871-1878, 2001
 - 20 . Li, X., Moody, M. R., Engel, D., Walker, S., DVM, F. J. C. J., Sivasubramanian, N. Mann, D. L. and Reid, M. B. : Cardiac-specific overexpression of tumor necrosis factor- α causes oxidative stress and contractile dysfunction in mouse diaphragm. *Circulation*, 102: 1690-1696, 2000
 - 21 . Tsutsui, H., Ide, T., Hayashidani, S., Suematsu, N., Shiomi, T., Wen, J., Nakamura, K., Ichikawa, K., Utsumi, H. and Takeshita, A. : Enhanced generation of reactive oxygen species in the limb skeletal muscles from a murine infarct model of heart failure. *Circulation*, 104: 134-136, 2001
 - 22 . Jenkins, R. R. and Teng, J. : Catalase activity in skeletal muscle of varying fibre types. *Experientia*, 37: 67-68, 1981
 - 23 . Simonini, A., Long, C. S., Dudley, G. A., Yue, P., McElhinny, J. and Massie, B. M. : Heart failure in rats causes changes in skeletal muscle morphology and gene expression that are not explained by reduced activity. *Circ. Res.*, 79: 128-136, 1996
 - 24 . Patterson, G. T. and Dettbarn, W. D. : Changes in skeletal muscle properties following hindlimb suspension. *Physiologist*, 28: S133-S134, 1985
 - 25 . Stevens, L. and Mounier, Y. : Ca^{2+} movements in sarcoplasmic reticulum of rat soleus fibers after hindlimb suspension. *J. Appl. Physiol.*, 72: 1735-1740, 1992
 - 26 . Schulte, L. M., Navarro, J. and Kandarian, S. C. : Regulation of sarcoplasmic reticulum calcium pump gene expression by hindlimb unweighting. *Am. J. Physiol.*, 264: C1308-C1315, 1993

Function of skeletal muscle sarcoplasmic reticulum and expression of sarcoplasmic reticulum Ca²⁺-ATPase in right congestive heart failure rats

Shinya Morinaga¹⁾, Masanobu Wada²⁾, Takashi Yamada¹⁾,
Atsuko Hara¹⁾, Saeko Wakai¹⁾, Eriko Tsutsumi³⁾, Rui Yuge³⁾
and Hiroki Kajihara³⁾

1) Health Sciences, Graduate School of Medical Sciences, Hiroshima University School of Medicine

2) Faculty of Integrated Arts and Sciences, Hiroshima University

3) Division of Physical Therapy, Institute of Health Sciences, Faculty of Medicine, Hiroshima University

Key words : 1 . right congestive heart failure 2 . sarcoplasmic reticulum

3 . sarcoplasmic reticulum Ca²⁺-ATPase

In this study, we investigated the hypothesis that right congestive heart failure (CHF) would impair sarcoplasmic reticulum (SR) Ca²⁺ uptake in skeletal fast- and slow-twitch muscles. To induce CHF, the rats were injected with monocrotalin (30 mg/kg). After 4 weeks of injection, extensor digitorum longus (EDL) and soleus (SOL) muscles were sampled from both hind limbs. Muscle fatigue resistance was measured in vitro as the relative decline in force production of tetanic contraction induced by electrical stimulation over 1 and 4 min in EDL and SOL, respectively. Evaluation of fatigue characteristics showed that CHF significantly reduced fatigue resistance in both muscles under study. SR Ca²⁺ uptake rate was measured in vitro with Indo-1 on muscle homogenates. As hypothesized, Ca²⁺ uptake rate was decreased by 25.4% (P < 0.01) and 30.4% (P < 0.05) in EDL and SOL, respectively. This decline in Ca²⁺ uptake rate was accompanied by an immunochemically determined decrease in SR Ca²⁺-ATPase protein. Taking into account previous findings that the depressed SR Ca²⁺ uptake leads to the reduce in muscle force production, these results suggest that impaired SR Ca²⁺ handling capacity in skeletal muscle may account at least partly for deteriorations in exercise tolerance resulting from right CHF.