ウシ、ウマとブタの筋線維の組織化学的研究、特にヒラメ筋を構成する筋線維の特異性について

森 田 重 広

日本獣医畜産大学畜産食品工学科，東京都 180

(1973. 9. 3 受付)

要 約 ラット，モルモット，ウサギとネコにおいてはヒラメ筋 *M. soleus* を構成する筋線維の線維は他の一般の筋を構成する筋線維の種類より少ないと報告されている。この実験は成牛，成馬と成豚のヒラメ筋，胸最長筋，僧帽筋，半腱様筋の筋線維の型の類別を組織化学的に行なったものである。採取した筋に対して benzidine によるミオグロビン染色， NADH_2 -TR 染色，amylophosphorylase 染色を行なった。ウシのヒラメ筋は2種類の筋線維で構成されていた，1つは筋線維の横断面が小型でミオグロビン含量多く， NADH_2 -TR 活性が高く，phosphorylase 活性低く，胸最長筋，僧帽筋，半腱様筋に見出される赤筋線維とよく似ていたが sarcolemma 下の formazan の顆粒は赤筋線維よりはるかに豊富であった。他のものはやや大型の筋線維でミオグロビン含量， NADH_2 -TR 活性，phosphorylase 活性はいずれも中等度で，他の筋に見出される中間型筋線維と同一と思われる。ウマのヒラメ筋は1種類の筋線維のみで構成されていた，これはミオグロビン含量， NADH_2 -TR 活性共に高く，この意味では赤筋線維と思われるが，amylophosphorylase 活性も中等度にあり，この点で他の筋に見出される赤筋線維と異なる。ブタのヒラメ筋を構成する筋線維は3種に類別出来る，これらはすでに胸最長筋などの他の筋で見出されている赤筋線維，中間型筋線維，白筋線維と全く同一であった。

筋を構成する筋線維の組織化学的研究によると，ラット，モルモット，ウサギとネコにおいてはヒラメ筋は動物体を構成する他の多くの筋より筋を構成する筋線維の種類が少なく，また組織化学的にいくらか異った特異な筋線維の構成成分をもつと報告されている^{1,2,3,4,5,6,7)}。

著者は食肉資源であるウシ，ウマとブタにおいて筋の組織化学的な研究の結果，従来報告されていない，ヒラメ筋の特異性を見出したので報告する。本文中赤筋線維，中間型筋線維，白筋線維の定義は DUBOWITZ and PEARSE^{8,9)} によって提唱されたものによった。すなわち，赤筋線維とは筋線維の直径が小さく，ミトコンドリアが多く，ミオグロビン（以下 Mb と略記）が多く，酸化還元系酵素活性が高く，phosphorylase 活性が低いものであり，白筋線維とは赤筋線維とは反対に筋線維の直径が大きく，ミトコンドリアが少なく，Mb が少なく，酸化還元系酵素活性が低く，phosphorylase 活性が高いものであり，中間型筋線維とは赤筋線維と白筋線維の中間の特性を示すものである。

材料および方法

材料とした動物は成牛2頭，成馬2頭，成豚2頭であ

る。動物はサクシニールコリン 0.17 g/kg を静注後，放血にて致死せしめ，死後30分以内に筋肉を採取した。採取した筋はヒラメ筋 *M. soleus*（以下 SL と略記），胸最長筋 *M. longissimus thoracis*（以下 LT と略記），僧帽筋 *M. trapezius*（以下 TR と略記），半腱様筋 *M. semitendinosus*（以下 ST と略記）である。benzidine による Mb の組織化学的染色は MORITA ら¹⁰⁾ の方法により，切片の厚さは 20μ とした。Reduced nicotinamide-adenine dinucleotide tetrazolium reductase（以下 NADH_2 -TR と略記）と amylophosphorylase（以下 PL と略記）の組織化学的染色は，筋肉をドライアイスにて冷却してあるイソペンタン中で凍結し，以下は MORITA ら¹⁰⁾ に記載してある方法によった。切片の厚さは 10μ である。

観 察

ウシの SL の Mb 染色 (Fig. 1) によると，2種の筋線維が見られる，すなわち1つは筋線維の横断面がやや小型で Mb 反応の強いもの (Type A と名づける) と，他は筋線維の横断面がやや大型で Mb 反応が Type A のものに比較して少し弱いもの (Type B と名づける) で

Cross sections of solues musculus in cattle (Figs. 1, 2), horses (Figs. 3, 4), and pigs (Figs. 5, 6). All figures $\times 150$. Figs. 1, 3, and 5, benzidine reaction for myoglobin. Figs. 2, 4, and 6, reduced nicotinamide-adenine dinucleotide tetrazolium reductase ($\text{NADH}_2\text{-TR}$) reaction. Fig. 1 and 2, two fiber types are seen, the small fibers exhibit high myoglobin content, great $\text{NADH}_2\text{-TR}$ activity, whereas the large fibers exhibit medium myoglobin content, $\text{NADH}_2\text{-TR}$ activity. Fig. 3 and 4, only one fiber type is seen, the fibers are rich in myoglobin, $\text{NADH}_2\text{-TR}$ activity. Fig. 5 and 6, three fiber types—red, intermediate and white—are seen.

ある。 $\text{NADH}_2\text{-TR}$ 染色 (Fig. 2) によると、ここでも 2 種の筋線維が見られる、すなわち 1 つは筋線維の横断面がやや小型で、筋線維のほぼ全周の sarcolemma 下に強く反応した formazan の顆粒を多く有し、その顆粒が所々で多く集って塊状となっている。また sarco-plasm 中にも formazan の反応顆粒が多く見られ、その顆粒が所々連珠状 また 塊状に集った所があるものであ

る。他のものは筋線維の横断面がやや大型で sarcolem-ma 下には反応顆粒がほとんどなく、sacoplasm 中には反応が見られるが、この顆粒が小さく、所々に小さい連珠状の塊しか見られないものである。前者は Mb 染色の場合の Type A に相当し、後者は Type B に相当するものと判定される。 $\text{NADH}_2\text{-TR}$ 染色のものと連続切片による PL 染色では Type A のものはほとんど反応が

なくヨードのうすい黄色であった。Type B のものはヨードグリコーゲン複合体の中等度の反応が見られ、うすい黄緑色であった。

ウシの LT, TR, ST ではすでに著者ら¹¹⁾が報告した LT のものと同じように赤筋線維、白筋線維、中間型筋線維の 3 種の筋線維が明瞭に見られた。数量的な取扱はしなかったが、各筋で 3 種の筋線維の占める割合は明らかに異なっている。

ウマの SL の筋線維の Mb 染色 (Fig. 3) では、どの筋線維も一様に強い反応を示し、種類分けは不可能であった。NADH₂-TR 染色 (Fig. 4) においても、どの筋線維もほとんど同じようであって、formazan の顆粒は sarcolemma 下にも sarcoplasm 中にも多数あり、筋線維の中心部は周辺部に比していくらか粗であり、周辺部の formazan の顆粒は全体に一樣でなく、偏った一部の周辺部で非常に多く集っていた。PL 染色では、全体的には中等度のうすい黄緑色のヨードグリコーゲンの反応であったが、個々の筋線維によって色の濃さに多少の差があった。しかし同一筋線維の内部に反応の差は見られない。ウマの筋線維についての組織化学的研究の報告は従来皆無であるが、SL については上述の通りであり、LT, TR, ST については本報告のウシ、ブタのものとまた従来報告¹²⁾された多くの他の動物のものと本質的な差はなく、赤筋線維、中間型筋線維、白筋線維の 3 種から構成され、また 3 種の筋線維の各筋で占める数量的比率は異なっているようである。

ブタの SL において Mb 染色 (Fig. 5) のものは本報告のウシ、ウマの SL におけるものとは大いに異なっていた。すなわち Mb 反応の強いもの、中等度のもの、と弱いものの 3 種類が認められた。ブタの筋肉の Mb の化学的含量はウシ、ウマに比してもとともと少ないので反応は全体として弱いが、3 種の筋線維の区別はほぼ明瞭で、3 種の筋線維の分布の様相も本報告のウシ、ウマの LT, TR, ST の格子縞の分布と異なっており、赤筋線維を中心として中間型筋線維が島嶼状に所々にあつまるという従来の著者ら^{10, 11, 13, 14)}の報告のブタの他の筋の特徴を SL でももっていた。NADH₂-TR 染色 (Fig. 6) においても、赤筋線維、中間型筋線維、白筋線維の区別は明瞭で、分布の様相も Mb 染色のものと同じであり、formazan 顆粒の密なるもの、粗なるもの、と中等度のものの 3 種の筋線維に類別される。これらはすべて従来のブタの他の筋で行なわれた赤筋線維、白筋線維、中間型筋線維の観察^{10, 12)}とよく一致していた。連続切片における PL 染色においても、赤筋線維、中間型筋線維、白筋線維の 3 種の筋線維の区別は明瞭であった。ブタの LT,

TR, ST においては、Mb 染色、NADH₂-TR 染色、PL 染色について従来の報告^{10, 11, 13, 14)}にあるものと同じで、赤筋線維、中間型筋線維、白筋線維の 3 種の筋線維から成り、それぞれの筋において 3 種の筋線維の数量的比率は異なっているようであった。

考 察

本実験ではウシの SL は 2 種—Type A と Type B—の筋線維から成り、LT, TR, ST では 3 種—赤筋線維、中間型筋線維、白筋線維—の筋線維から成り立つことはすでにのべたが、Mb 染色性、NADH₂-TR 染色性、PL 染色性の組織化学的特性から見てウシの SL の Type A の筋線維は LT, TR, ST の赤筋線維と非常によく似ていた。しかし NADH₂-TR 染色の formazan の顆粒の分布は Type A と赤筋線維とはいくらか異なっており Type A のものは sarcolemma 下の formazan の顆粒が赤筋線維のものよりはっきりと多量であった。またウシの SL の Type B の筋線維は Mb 染色性、NADH₂-TR 染色性、PL 染色性の組織化学的特性から見て LT, TR, ST の中間型筋線維と同じである。したがって、ウシの SL を構成する筋線維は NADH₂-TR 活性の高い赤筋線維と中間型筋線維の 2 種類であると推論できる。

ラットの SL では本報告のウシの SL と同じように赤筋線維と中間型筋線維から成ると報告されている^{1, 4, 7)}。

ウマの SL の筋線維は 1 種類のみしか見られず、これを LT, TR, ST の筋線維と比較すると、Mb 染色性、NADH₂-TR 染色性については赤筋線維であるようである。しかし PL 反応がウマの SL の筋線維で中等度の反応を示したことは、赤筋線維の一般の特徴である解糖系酵素活性が弱いという定義から外れる。Mb 含量、酸化還元系酵素活性、解糖系酵素活性が赤筋線維と白筋線維で反対関係にあることは reciprocal relationship として有名であるが、DUBOWITZ and PEARSE^{8, 9)}のこの提言以後、他の研究者達によって、reciprocal relationship の説がいつも正しいわけではなく、酸化還元系酵素活性も解糖系酵素活性も同時に高いというような筋線維も存在することが確かめられた^{4, 15, 16)}。上述のことによりウマの SL を構成する筋線維は解糖系酵素活性も中等度に高い特異な赤筋線維であると推論できる。

他の動物ではモルモットの SL の筋線維は中間型筋線維の 1 種類のみから成ると報告され^{4, 6)}、ネコではほとんど全部赤筋線維のみから成ると報告されている⁵⁾。

ブタの SL の筋線維の構成は、組織化学的に LT, TR, ST の筋線維の構成と全く一致し、赤筋線維、中間型筋線維、白筋線維の 3 種の筋線維を持っていた。この

ことは従来の報告と全く趣を異にし、従来の報告で SL について組織化学的に検索されたラット^{1,2,4,7)}、モルモット^{4,6)}、ネコ⁶⁾、ウサギ⁸⁾においては、つねに LT, TR, ST などの体を構成する一般の長大な筋よりも筋を構成する筋線維の種類は少ない。本報告のブタの SL では、その筋線維の型が体を構成する一般の長大な筋と同じであったのはブタの SL は他の動物の SL に比して発達がよく、厚く、幅広く¹⁷⁾、結合織も発達していて分化の程度が高いことと関係があると思われる。

結論として従来の報告と本報告を併わせて考えられることはラット、モルモット、ウサギ、ネコ、ウシ、ウマでは SL は動物体を構成する他の多くの筋の筋線維よりは少ない筋線維の種類をもつが、ブタの SL では動物体を構成する他の多くの筋の筋線維と同じ筋線維の種類をもつ、これらのことは SL の分化と関係があると推論される。

この研究の費用の一部は昭和 47 年度文部省科学研究費補助金 673-6001-756158 によった。

文 献

- 1) STEIN, J.M., and H.A. PADYKULA, Amer J Anat 110: 103-123. 1962.
- 2) ROMANUL, F.C.A., Arch Neurol 11: 355-368. 1964.
- 3) ARANGIO, G.A., and J.W.C. HAGSTROM, J Histochem Cytochem 17: 127-128. 1969.
- 4) EDGERTON, V.R., and D.R. SIMPSON, J Histochem Cytochem 17: 828-838. 1969.
- 5) PREWITT, M.A., and B. SALAFSKY, Amer J Physiol 218: 69-74. 1970.
- 6) BARNARD, R.J., V.R. EDGERTON, T. FURUKAWA, and J.B. PETER, Amer J Physiol 220: 410-414. 1971.
- 7) NOLTE, J., and D. PETTE, J Histochem Cytochem 20: 577-582. 1972.
- 8) DUBOWITZ, V., and A.G.E. PEARSE, Nature 185: 701-702. 1960.
- 9) DUBOWITZ, V., and A.G.E. PEARSE, Histochemie 2: 105-117. 1960.
- 10) MORITA, S., R.G. CASSENS, and E.J. BRISKEY, Stain Technol 44: 283-286. 1969.
- 11) MORITA, S., R.G. CASSENS, and E.J. BRISKEY, J Histochem Cytochem 18: 364-366. 1970.
- 12) CASSENS, R.G., and C.C. COOPER, Adv Food Res 19: 2-64. 1971.
- 13) MORITA, S., R.G. CASSENS, E.J. BRISKEY, R.G. KAUFFMAN, and L.L. KASTENSCHMIDT, J Food Sci 35: 111-112. 1970.
- 14) MORITA, S., C.C. COOPER, R.G. CASSENS, L.L. KASTENSCHMIDT, and E.J. BRISKEY, J Anim Sci 31: 664-670. 1970.
- 15) BOCEK, R.M., and C.H. BEATY, J Histochem Cytochem 14: 549-559. 1966.
- 16) SUZUKI, A., Jap J Zootech Sci 42: 39-54. 1971.
- 17) 加藤嘉太郎, 家畜比較解剖図説 上巻 増改 4 版 156. 養賢堂. 東京. 1972.

Histochemical Studies on the Muscle Fibers of Cattle, Horses, and Pigs, Especially in Soleus Muscles

Shigehiro MORITA

Meat Science Laboratory, Nippon Veterinary and Zootechnical College, Tokyo 180

Recent results from histochemical study have proved that the number of fiber types in soleus muscles of the rat, guinea pig, rabbit, and cat was fewer than that of other muscles. In this experiment, the fibers of the *soleus*, *longissimus thoracis*, *trapezius*, *semitendinosus* muscles in mature cattle, horses, and pigs were studied histochemically. The samples were treated by benzidine for myoglobin, by NADH₂-TR, and amylophosphorylase reactions. The soleus muscles of cattle were composed of two fiber types. The small fibers exhibited high myoglobin content, great NADH₂-TR activity and low phosphorylase activity, whereas the large fibers exhibited medium myoglobin content, NADH₂-TR, and phosphorylase activity. The former is similar to the red fiber, but stronger in NADH₂-TR enzyme under subsarcolemma than red fibers which are found in other muscles. The latter is the same to the intermediate fiber which is found in other muscles. In the soleus muscles of horses, only one fiber type was found. These fibers were rich in myoglobin, NADH₂-TR activity, and medium in phosphorylase activity. However, in respects of myoglobin content and NADH₂-TR activity, these fibers were classified into category of the red fiber, differed from the red fibers which were found in other muscles in other respect of phosphorylase activity. In the soleus muscles of pigs, the same three fiber types were found as found in other muscles. It was determined that these were the red, intermediate, and white fibers.