ヒト内喉頭筋の筋紡錘の酵素組織化学的検討

田村 公一・小池 靖夫

Enzyme-Histochemistry of Muscle Spindles in Human Intrinsic Laryngeal Muscles

Koichi Tamura and Yasuo Koike

(The University of Tokushima School of Medicine)

Muscle spindles were investigated using enzyme histochemistry in serial sections of human intrinsic laryngeal muscles obtained from surgical specimens. Muscle spindles were demonstrated in the middle one third of each laryngeal muscle. Five muscle spindles were observed in the interarytenoid, three in the posterior cricoarytenoid, two in the cricothyroid and thyroarytenoid, and one in the lateral cricoarytenoid. The maximum width of the muscle spindles ranged from 35 to 150 μm . Each muscle spindle contained three to eight intrafusal fibers, and the intrafusal fibers ranged from 7.7 to 15.6 μm in diameter. On the basis of enzyme reactivity, intrafusal fibers could be classified into three kinds of muscle fiber, nuclear bag₁ fibers, nuclear bag₂ fibers and nuclear chain fibers, which is the same classification observed in other skeletal muscles.

Key words : muscle spindle, intrafusal fiber, human intrinsic laryngeal muscle, enzyme-histochemistry

はじめに

運動神経とともに豊富な知覚神経支配を受ける骨格筋は、両神経の働きにより、円滑で巧妙な筋運動の調節が行われている。骨格筋には、神経自由終末・パチニ小体・筋紡錘・腱紡錘など種々の受容器が存在し、筋運動の調節機構において機能している。これらのなかで、筋紡錘は、複雑な構造と神経支配を受ける高度に分化した感覚器であり、伸展受容器として姿勢反射・筋運動の調節にあずかっている。喉頭にも骨格筋に認められるような受容器を含む調節機構が存在し、その呼吸・発声・嚥下などの機能が遂行されている。

本格的な Kerschner (1888), Ruffini (1893), Sherrington (1894) らの筋紡錘の発見後¹⁾, 1950年代以降ヒト内喉頭筋においても筋紡錘の存在が明らかにされてきた²⁾。また、電子顕微鏡による微細構造については甲藤 (1987)²⁾, Hirayama (1987) ら³⁾ により明らかにされた。

著者は、これらの研究に続き、これまで行われていなかった内喉頭筋の筋紡錘の錘内筋線維の酵素組織化学的検討を初めて行った。

材料および方法

54歳男性喉頭癌患者の摘出喉頭より採取した内喉頭筋を材料に用いた。肉眼的に健常な輪状甲状筋(前筋), 後輪状披裂筋(後筋), 披裂筋(横筋), 甲状披裂筋(内筋)および側輪状披裂筋(側筋)をそれぞれ喉頭組織より取り外し, 未固定のまま OCT コンパウンドにて包埋, 冷却したイソペンタンにて凍結した。凍結材料は, クリオスタットにて 15 μm 厚の連続横断切片とした。

組織化学染色では, グリコーゲン含有量の指標として PAS 反応を行った。酵素組織化学染色では, 以下のものを行った。筋収縮系酵素として myosin ATPase を pH 4.35, 4.60, 10.7 の各前処置の後, 活性を調べた^{4)~8)}。

酸化還元系酵素としては、nicotinamide adenine denucleotide-tetrazolium reductase (NADH-TR), succinate dehydrogenase (SDH), menadione-linked alpha-glycero-phosphatase (MAG) の3種類を用いた⁹⁾。以上7種類の染色を順次繰り返し全切片について行った。

全切片にわたり筋紡錘を検索し、各内喉頭筋における局在を調べた。各筋紡錘で錘内筋線維数を数え、筋紡錘径および錘内筋線維径を計測した。錘内筋線維の染色結果の判定については、錘外筋線維の染色結果を参照しながら行った。その結果を基に、錘内線維の型分類を行った。

結 果

1. 筋紡錘の検索

内喉頭筋の筋線維(錘外筋線維)より細い筋線維(錘内筋線維)およびそれを包む明瞭な被膜(紡錘鞘)から成り立っている構造物を筋紡錘として検索した。図1に横筋で認められた筋紡錘の横断像を示す。筋紡錘径は、150 μm あり、内部には8本の錘内筋線維が存在していた。紡錘腔が比較的広く拡大していることから、赤道部付近での筋紡錘が横断されたものである。観察された筋紡錘数は、内筋2個、側筋1個、前筋2個、横筋5個、後筋3個であった。

図1 横筋の筋紡錘横断像
SDH 染色。
BAG1 : bag₁ fiber, BAG2 : bag₂ fiber.
N.C : nuclear chain fiber
bar scale : 100 μm

2. 酵素組織化学的分類

図2および図3に横筋での染色結果を、表1に反応結果のまとめを示す。内喉頭筋筋紡錘の錘内筋線維は、骨格筋錘外筋線維^{4)~8)}ほど明瞭な染色性の違いを認めにくかった。骨格筋錘内筋線維の分類^{10)~15)}を参考に、次の3種類に分類された。酸性前処置 myosin ATPase で高活性、アルカリ前処置で低活性、酸化還元系酵素活性は

図2 横筋の線維型分類
Myosin ATPase 活性。
pH 10.7, 4.60, 4.35 前処置

図3 横筋の酵素組織化学染色
NADH-TR, MAG, PAS 反応

表1 錘内筋線維の酵素組織化学反応のまとめ

	内喉頭筋錘内筋線維			骨格筋錘内筋線維			骨格筋錘外筋線維			
	Bag 1	Bag 2	N. C.	Bag 1	Bag 2	N. C.	1	2A	2B	2C
Myosin ATPase										
pH 10.7	○	◎	●	○	◎	●	○	●	●	●
pH 4.60	●	○～◎	◎～●	○～●	●	○	●	○	●	●
pH 4.35	●	○	○	○～●	●	○	●	○	○	◎
NADH-TR	◎	●	●	◎	◎	●	●	◎	◎	◎
SDH	○～◎	◎	◎～●	◎	◎	●	●	◎	◎	◎
MAG	○～◎	◎	◎～●	○	◎	●	○	◎	◎	◎
PAS	○～●	◎	●	○	◎	●	◎	●	◎	◎

(文献10～15による)

(文献4～8による)

○：低活性 ◎：中等度 ●：高活性

低く、グリコーゲン含有量は一定しなかったI型核袋線維(nuclear bag₁ fiber; Bag 1)。逆に、酸性前処置 myosin ATPase で低活性、アルカリ前処置で高活性、酸化還元系酵素活性・グリコーゲン含有量がともに高い、核鎖線維(nuclear chain fiber; N. C.)。そして両者の中間の反応を示すII型核袋線維(nuclear bag₂ fiber; Bag 2)。ただし、錘内筋線維の染色結果は、切片部位により一致しないことがあった。

3. 筋紡錘の大きさ、錘内筋線維数と筋線維径

筋紡錘径、錘内筋線維数および錘内筋線維径を表2に示した。筋紡錘径は35～150 μm であった。最も大きい

ものは、横筋に認められた。筋紡錘の全長については、観察に十分な構造物での追跡ができず、行わなかった。錘内筋線維数は、内筋で3, 5本、側筋で4本、前筋で4本、横筋で4～8本、後筋で3～6本であり、いずれも複数個認められた。錘内筋線維径は、内筋で8.2～14.3 μm 、側筋で7.9～13.7 μm 、前筋で8.2～15.3 μm 、横筋で8.0～15.6 μm 、後筋で7.7～14.6 μm であった。染色反応の時のように、筋線維径も切片部位により、異なっていた。

4. 筋紡錘分布

観察された13個の筋紡錘の分布を図4に示す。各内喉

表2 内喉頭筋の筋紡錘と錘内筋線維の大きさ

	紡錘径 (μm)	筋線維数 (本)	錘内筋線維径 (μm)
内 筋	35	3	8.5, 12.6, 14.3
	83	5	8.2, 9.7, 9.7, 11.8, 13.9
側 筋	52	4	7.9, 8.4, 9.2, 13.7
前 筋	45	4	8.2, 8.6, 10.9, 15.3
	60	4	8.3, 9.1, 11.7, 14.2
横 筋	53	4	9.1, 10.7, 12.9, 15.0
	72	4	8.4, 9.0, 13.2, 14.1
	92	6	8.5, 8.6, 9.8, 10.2, 12.8, 13.7
	110	6	8.0, 8.3, 9.4, 11.6, 13.5, 14.3
後 筋	150	8	8.1, 8.1, 9.3, 10.2, 11.7, 12.2, 15.2, 15.6
	64	3	7.7, 12.3, 12.6
	82	4	8.2, 9.7, 11.3, 13.8
	121	6	8.4, 8.7, 9.0, 9.9, 13.2, 14.6

図4 筋紡錘の局在

◇が筋紡錘の位置を示す。

左上：頭側より内筋・側筋，左下：前方より前筋，右：後方より後筋・横筋

頭筋において，筋紡錘は筋肉の中央 1/3 の筋腹に当たる部分に存在していた。

考 察

筋紡錘における筋伸展受容機構は，Hunt (1974)¹⁵⁾によると，1)機械的刺激としての筋の伸張，2)これともなう錘内筋線維の受動的な伸張とそれを支配する知覚終末の変形，3)終末軸索のコンダクタンスの変化，4)受容器電位の発生，5)求心線維の放電発射とその伝搬，

という一連の過程から成り立っている。喉頭の持つ発声・呼吸・嚥下といった機能の中で，内喉頭筋は，主として声門の開閉運動を行うことで末梢効果器としての役割を果たしている。したがって，内喉頭筋における筋紡錘は，声門の開閉運動時，声門の閉鎖あるいは開大の維持時に，機能していることが推察される。筋紡錘によって，どのような運動が制御されているかは不明である。

今回の研究では，同一個体においてすべての内喉頭筋に筋紡錘が存在することがはじめて確認された。喉頭に

おける筋紡錘の分布に関して、これまで Paulsen (1958), Grim (1967), Baken (1971), 甲藤(1987)²⁾らの報告がある。しかし、個々の内喉頭筋における筋紡錘の分布状態については、観察結果の一致をみていない。喉頭内での神経の走行、神経の分岐様式、各内喉頭筋への神経の侵入部位がこの結果に関係していると考えられる。加えて、内喉頭筋の筋線維の走行状態や、合目的に筋紡錘が筋運動を最も感知しやすい部位ということも、神経・筋接合部分布の場合¹⁶⁾と同じように考えられる。また、横筋は他の筋肉より筋紡錘の個数が多かった。このことは、分布頻度が他の内喉頭筋より多いことから、より高度の神経性運動調節を受けている²⁾と考えるより、横筋が両側の神経支配を受ける結果と考えた方がよい。

ヒト筋紡錘内の錘内筋線維の酵素組織化学分類は、Spiro ら (1969)¹⁰⁾ によって行われ、ATPase 活性により nuclear bag fiber と nuclear chain fiber とが区別された。斎藤(1976, 1977)¹¹⁾¹²⁾ は、ATPase 活性に加え、NADH-TR 反応の結果により、nuclear bag fiber を bag I fiber と bag II fiber とに、nuclear chain fiber を chain I fiber と chain II fiber とに分類した。Sahgal ら (1976)¹³⁾ および Kucera ら (1979)¹⁴⁾ は酸・アルカリ前処置 ATPase 活性を用い 2 種類の nuclear bag fiber を区別した。生理学的には、nuclear bag₁ fiber は dynamic action に反応し、遅い収縮性を示し、nuclear bag₂ fiber ならびに nuclear chain fiber は static action に反応し、速い収縮性を示すと考えられている。これらと照らし合わせて、今回のヒト内喉頭筋の筋紡錘の錘内筋線維の観察結果は、機能発現に充分な酵素組織学的特性を示していると考えられた。

ま と め

ヒト内喉頭筋の筋紡錘について、酵素組織化学的検討を行った。全ての内喉頭筋において、筋紡錘が確認された。筋紡錘数は、内筋 2 個、側筋 1 個、前筋 2 個、横筋 5 個、後筋 3 個であり、それぞれの筋肉の中央 1/3 付近に分布していた。筋紡錘は、35~150 μm の直径を有し、3~8 本の錘内筋線維を含んでいた。錘内筋線維は、7.7~15.6 μm の最大径を示し、酵素組織化学反応から 2 種類の nuclear bag fiber と nuclear chain fiber とに区別された。

参考文献

- 1) 上原康生, 出崎順三: 筋紡錘. 人体組織学 概説・運動器 (小川和朗編). 385~406頁, 朝倉書店, 東京, 1988.
- 2) 甲藤洋一: ヒト内喉頭筋の筋紡錘の分布と構造. 日耳鼻 90: 59~67, 1987.
- 3) Hirayama M, Matsui T, Tachibana M, et al: An electron microscopic study of the muscle spindle in the arytenoid muscle of the human larynx. Arch Oto 244: 249~252, 1987.
- 4) Padykula HA and Herman E: The specificity of the histochemical method of an adenosine triphosphatase. J Histochem Cytochem 3: 170~195, 1955.
- 5) Guth L and Samaha FJ: Qualitative differences between actomyosin ATPase of slow and fast mammalian muscle. Exp Neurol 25: 138~163, 1969.
- 6) Brooke MH and Kaiser KK: Some comments on the histochemical characterization of muscle adenosine triphosphatase. J Histochem Cytochem 17: 431~432, 1969.
- 7) Brooke MH and Kaiser KK: The use and abuse of muscle histochemistry. Ann NY Acad Sci 228: 121~144, 1974.
- 8) Brooke MH and Kaiser KK: Muscle fibre type; how many and what kind? Arch Neurol 23: 369~379, 1970.
- 9) Dubowitz V: Histological and histochemical stains and reactions. Muscle Biopsy (ed by Dubowitz V). pp 19~40, Bailliere Tindall, London, 1985.
- 10) Spiro AJ and Beilin RL: Human muscle spindle histochemistry. Arch Neurol 20: 271~275, 1969.
- 11) 斎藤光典: 正常ヒト筋紡錘の組織科学的研究 (I) —錘内筋線維の組織化学的分類—. 脳と神経 28: 1251~1257, 1976.
- 12) Saito M, Tomonaga M, Hirayama K, et al: Histochemical study of normal human muscle spindle. Histochemical classification of intramuscular muscle fibers and intramuscular nerve endings. J Neurol 216: 79~89, 1977.
- 13) Sahgal V and Morgen CA: Histochemical and morphological changes in human muscle spindle in upper and lower motor neuron lesions. Acta Neuropath (Berl) 34: 41~46, 1976.
- 14) Kucera J and Dorovini-Zis K: Types of human intramuscular muscle fibers. Muscle Nerve 2: 437~451, 1979.
- 15) Hunt CC: The physiology of muscle receptors. Handbook of Sensory Physiology. III Pt. 2, Muscle Receptors (ed by Hunt CC). pp 191~234, Springer-verlag, Berlin, 1974.
- 16) 田村公一: ヒト内喉頭筋の神経・筋接合部分布. 喉頭 1: 89~92, 1989.

(別刷請求先: 田村公一
〒770-8503 徳島市蔵本町 3 丁目18-5
徳島大学医学部耳鼻咽喉科学教室)