末梢神経切断による骨格筋線維の変化 に関する組織学的研究

菊 地 邦 雄

(昭和48年7月24日受付)

Histological Study on the Change in Skeletal Muscle Fibers after the Cutting of Peripheral Nerve

Kunio Kikuchi

(Faculty of General Education, Hiroshima University)

末梢神経切断による骨格筋線維の萎縮の現象を追求するために、同腹の Wistar 系ラットの雌雄を用い、生後70日目に *M. tibialis ant.* を支配する *N. fibularis profundus* を切断したのち、10日目、20日目に組織学的検討を行い、次のような成績を得た。

- (1) 神経切断による体重の減少はみとめられない。
- (2) *M. tibialis ant.* の重量は、神経切断後10日目では28.4%、20日目では39.8%の減少を示した。
- (3) *M. tibialis ant.* の全横断面積の萎縮率は、神経切断後10日目では赤筋線維19.3%、中間筋線維34.7%、白筋線維43.7%を示した。
- (4) *M. tibialis ant.* の一本あたりの平均横断面積の萎縮率は、神経切断後10日目で赤筋線維13.2%、中間筋線維19.6%、白筋線維33.9%を示し、全横断面積の場合と同じ傾向を示した。

The atrophy of muscle fibers after the cutting of *N. fibularis profundus* to *M. tibialis ant.* was studied histologically by making a distinction among red muscle fibers, medium muscle fibers and white muscle fibers.

The experimental animals, Wistar-strain rats, were divided into two groups, namely the nerve-cutting group and the control group. In the nerve-cutting group, *N. fibularis profundus* was cut on the 70 days after birth. *M. tibialis ant.* was removed on the 10 days and 20 days after the cutting of nerve.

The histological method, using Sudan black B stain, was adopted.

The results obtained were as follows:

- 1) No apparent effect of the nerve cutting on the rats' body weight could be observed.
- 2) The decreasing rate of the weight of *M. tibialis ant.* was 28.4% on the 10 days and 39.8% on the 20 days after the nerve cutting.
- 3) In the group of the 10 days after the nerve cutting, the decreasing rate of the entire area of cross section at the middle part of *M. tibialis ant.* was 19.3% in red muscle fibers, 34.7% in medium muscle fibers, and 43.7% in white muscle fibers.

4) The effect of the nerve cutting on the average area of cross section per fiber showed the same tendency as that on the entire area of cross section in red muscle fibers, medium muscle fibers and white muscle fibers.

(Kikuchi, K.: Histological Study on the Change in Skeletal Muscle Fibers after the Cutting of Peripheral Nerve, *Research Journal of Physical Education*, Vol. 18, No. 3, December, 1973. pp. 145~152)

緒 言

骨格筋線維の萎縮について、南⁷⁾は神経切断やギプス固定の際の変性筋をつくり、骨格筋線維を赤筋線維、白筋線維に分けて組織学的に検討している。また、日野⁸⁾は末梢神経および骨格筋に外科的侵襲を加えた際の骨格筋線維の変化について細胞学的な検討を行っている。しかし、骨格筋線維を赤筋線維、中間筋線維および白筋線維に分けて筋萎縮の現象を追求した資料はみられない。

著者⁵⁾は、すでに中間筋線維の形態的特徴と分布、および筋トレーニングを行った場合の筋肥大の様相について、赤筋線維、白筋線維と比較しながら報告したが、本研究では、支配神経切断による骨格筋線維の萎縮の現象を赤筋線維、中間筋線維および白筋線維に分類して組織学的に検討することを試みた。

実 験 方 法

同腹の Wistar 系ラットの雌雄 (12例) を用い、生後70日目に M. tibialis ant. を支配する N. fibularis profundus を脛骨頭の部位で、長さ約5 mm を切断したのち、10日目、20日目に M. tibialis ant. の顕微鏡標本を作成して組織学的検討を行った。

実験グループは、次の5群に設定した。

- (1) 生後70日の対照群
- (2) 神経切断後10日目 (生後80日) の実験群
- (3) 神経切断後10日目 (生後80日) の対照群
- (4) 神経切断後20日目 (生後90日) の実験群
- (5) 神経切断後20日目 (生後90日) の対照群

なお、神経切断後10日目および20日目の各対照群の設定には、それぞれ実験群の健側の M. tibialis ant. を選んだ。

顕微鏡標本作成の手順は、次のとおりである。

a) 固定：被検筋を10%ホルマリンに浸液し、約3週間固定する。

b) 包埋：固定した筋肉をゼラチン液 (1%の石炭酸 30cc, ゼラチン粉末 10g の割合) に入れて、約24時間恒温槽で包埋する。

c) 薄切：Sartrius 型ミクロトームを用い、電子冷凍式ミクロトームで氷結し、15~25 μ に薄切して染色する。

d) 染色：染色は、脂肪染色の Sudan black B を使用した Lison 氏法⁹⁾である。染色時間は組織の種類、液温によって異なるが、約30分である。

筋線維の横断面積の測定は、顕微鏡写真を取り、筋線維毎に写真印画紙を切り抜き、赤筋線維、中間筋線維および白筋線維に分けて秤量し、重さから面積に換算する方法をとった。

ラットの飼育には、オリエンタル固型飼料を用い、室温は 18°~22°C になるように注意した。

実 験 結 果

1) ラットの体重および下肢筋重量の変化

ラットの体重変化について、生後3週間目から雌雄別に検討した結果は図1に示すとおりであ

Fig. 1 Variation of Rats' Body Weight

Table 1 Effect of Cutting of Nerve upon Weight of Each Muscle of Rats' Lower Limbs

	Sex	M. tibialis ant.	M. gastrocnemius	M. soleus	M. plantaris	M. ext. longus
(1) control group of 70 days after birth	♂	0.568 g	1.680 g	0.552 g	0.128 g	0.144 g
	♀	0.322	1.028	0.370	0.080	0.088
	Mean	0.445	1.353	0.461	0.104	0.116
(2) nerve cutting group of 80 days after birth (10 days after nerve cutting)	♂	0.426	1.648	0.564	0.154	0.112
	♀	0.284	1.148	0.390	0.100	0.084
	Mean	0.355	1.398	0.477	0.127	0.098
(3) control group of 80 days after birth	♂	0.644	1.706	0.556	0.130	0.140
	♀	0.348	1.220	0.414	0.100	0.086
	Mean	0.496	1.463	0.485	0.127	0.113
(4) nerve cutting group of 90 days after birth (20 days after nerve cutting)	♂	0.310	1.540	0.528	0.130	0.094
	♀	0.240	1.198	0.410	0.104	0.074
	Mean	0.275	1.369	0.469	0.117	0.084
(5) control group of 90 days after birth	♂	0.540	1.724	0.524	0.126	0.128
	♀	0.374	1.192	0.408	0.111	0.090
	Mean	0.457	1.458	0.466	0.119	0.109

Fig. 2 Effect of Cutting of Nerve upon Weight of M. tibialis ant.

る。ラットの体重には、雌雄とも神経切断の影響はみられなかった。

表1は、下肢筋 M. tibialis ant., M. gastrocnemius, M. soleus, M. plantaris および M. ext. longus の各筋重量によぼす神経切断の影響を検討したものである。図2は、被検筋 M. ti-

bialis ant. の筋重量の減少率を検討したものであるが、神経切断後10日目で28.4%，20日目で39.8%の減少を示し、生後70日目を対照群として減少率を求めると、神経切断後10日目で20.2%，20日目で38.2%を示し、N. fibularis profundus 切断による M. tibialis ant. の重量減少は著るしい傾向を示した。神経切断の傷害を直接うけない M. gastrocnemius について筋重量の減少率を検討した結果、神経切断後10日目で4.4%，20日目で6.1%の減少を示し、M. ext. longus では、各々13.3%，22.9%であった。しかし、M. soleus, M. plantaris では、神経切断の影響はほとんどみとめられなかった。

2) M. tibialis ant. の全横断面積の変化

写真1は、神経切断後10日目、20日目の M. tibialis ant. の組織像を示したものである。神経切断後10日目では、赤筋線維、中間筋線維の色調がやや褪せる程度で、形の変形はみとめられなかつ

Photo. 1 Effect of Nerve Cutting upon Rats' Anterior Tibial Muscle Fibers of 70 days after birth

たが、神経切断後20日目になると、骨格筋線維は全体として丸味を帯びるようになり、さらに赤筋線維、中間筋線維および白筋線維の識別が困難であった。そのために、神経切断後20日目の *M. tibialis ant.* の全横断面積および一本あたりの平均横断面積の測定をさけた。

表2および図3は、神経切断後10日目の *M. tibialis ant.* の全横断面積におよぼす影響を、赤筋線維、中間筋線維および白筋線維について萎縮率を求めて検討したものである。その結果、赤筋線維19.3%、中間筋線維34.7%、白筋線維43.7%を

Table 2 Effect of Cutting of Nerve upon Entire Area of Cross Section of Rats' Anterior Tibial Muscle Fibers

Group	Sex	Entire area of cross section		
		Red fibers	Medium fibers	White fibers
(1) control group of 70 days after birth	♂	3.80mm ²	1.60mm ²	7.09mm ²
	♀	2.92	1.07	4.32
	Mean	3.36	1.34	5.71
(2) nerve cutting group of 80 days after birth (10 days after nerve cutting)	♂	2.99	0.70	3.67
	♀	3.52	1.21	4.85
	Mean	3.26	0.96	4.26
(3) control group of 80 days after birth	♂	4.67	1.66	9.25
	♀	3.41	1.27	5.86
	Mean	4.04	1.47	7.56

Fig. 3 Effect of Nerve Cutting upon Entire Area of Cross Section of Rats' Anterior Tibial Muscle Fibers

Photo. 2 Effect of Nerve Cutting upon Rats' Anterior Tibial Muscle Fibers of 150 days after birth

示し、特に白筋線維の萎縮が著るしく、次いで中間筋線維、赤筋線維の順に大きかった。

写真2は、生後150日の成熟後のラットについて、N. fibularis profundus を切断してから10日目の M. tibialis ant. の組織像を示したものである。明らかに、筋線維の変形と色調の変化がみられ、成熟後の筋萎縮の速度は、生後70日の場合と比べると早い傾向がみられた。

3) M. tibialis ant. 一本あたりの平均横断面

Table 3 Effect of Cutting of Nerve on Average Area of Cross Section per Fiber in Peripheral, Innermost and Whole regions of Rats' Anterior Tibial Muscle Fibers

		peripheral			innermost			whole		
		red fibers	medium fibers	white fibers	red fibers	medium fibers	white fibers	red fibers	medium fibers	white fibers
		μ^2	μ^2	μ^2	μ^2	μ^2	μ^2	μ^2	μ^2	μ^2
(1) control group of 70 days after birth	♂	839.5	1031.0	1472.0	631.4	770.2	928.2	711.5	916.9	1284.8
	♀	604.2	802.0	1079.7	521.4	756.3	890.8	556.3	778.9	1014.1
	Mean	721.9	916.5	1275.9	576.4	763.3	909.5	633.9	847.9	1149.5
(2) nerve cutting group of 80 days after birth (10 days after nerve cutting)	♂	620.9	660.6	859.8	609.7	664.9	766.5	614.9	662.6	829.6
	♀	633.8	719.7	921.7	514.5	735.7	814.7	567.7	727.2	889.0
	Mean	627.4	695.2	890.8	562.1	700.3	790.6	591.3	694.9	859.3
(3) control group of 80 days after birth	♂	868.4	1083.8	1717.1	705.9	880.5	1224.2	766.4	965.7	1536.4
	♀	640.6	799.3	1210.4	528.9	732.1	793.0	571.8	763.3	1064.6
	Mean	754.5	941.6	1463.8	617.4	806.3	1008.6	669.1	864.5	1300.5

Fig. 4 Effect of Cutting of Nerve upon Average Area of Cross Section per Fiber of Rats' Anterior Tibial Muscle Fibers

Fig. 5 Comparison of Ratio of Cross Section per Medium Fiber and White Fiber to Cross Section per Red Fiber

積の変化

表3および図4は、*M. tibialis ant.* の一本あたりの平均横断面積におよぼす神経切断の影響を、赤筋線維、中間筋線維、白筋線維について検討したものである。神経切断後10日目の筋萎縮率を求めると、赤筋線維13.2%、中間筋線維19.6%、白筋線維33.9%を示したが、さらに生後70日を対照群として萎縮率を求めると、それぞれ6.7%、17.0%、25.3%を示し、白筋線維の萎縮する割合が一番著明で、ついで中間筋線維、赤筋線維の順に大きい値を示した。

観点をかえて、骨格筋線維のなかでも萎縮する割合が最も小さい赤筋線維の一本あたりの平均横断面積(R)を基にして、白筋線維の平均横断面積(W)および中間筋線維の平均横断面積(M)との比、すなわち W/R 、 M/R を求めて、生後70日の対照群、神経切断後10日目(生後80日)の実験群および神経切断後10日目の対照群について筋萎縮の様相を検討した結果は、図5に示すとおりである。どの群においても、 W/R の比率は、 M/R のそれより大きい傾向を示し、また W/R の比率では、神経切断後10日目の実験群が他の対照群に比べて小さい値を示した。この傾向は、神経切断群の白筋線維の萎縮する割合が、中間筋線維や赤筋線維よりも大きいことを示唆するものである。

論 議

哺乳動物の骨格筋線維は、赤筋線維、中間筋線維および白筋線維の三種類から構成されていることは、すでに組織学的、組織化学的に解明されていることである²⁾⁸⁾¹⁰⁾¹¹⁾¹⁵⁾。

著者も⁴⁾⁵⁾、ラットおよびマウスの *M. tibialis ant.* を用いて、Sudan black B 染色により骨格筋線維を赤筋線維、中間筋線維および白筋線維に分類し、それらの形態的特徴とその分布、さらに筋トレーニングの影響について検討し、すでに報告した。特に筋トレーニングに関しては、等張性筋収縮を主とするトレッドミルを用いた動的筋トレーニングにおいて、白筋線維の肥大する割合が最も著るしく、ついで中間筋線維、赤筋線維の順に大きいことが明らかとなった。

筋萎縮に関する資料として、Beckett 等¹⁾は進行性筋ジストロフィー症で罹患筋のコハク酸脱水酵素活性の減少を報告したをはじめ、Nachmias 等⁸⁾は、神経切断筋の phosphorylase の変化を調べ、白筋線維のそれは赤筋線維より大きいと述べている。また最近では、南⁷⁾、日野⁹⁾は支配神経切断や挫滅の骨格筋線維にあたえる影響を検討し、白筋線維の萎縮は赤筋線維よりも著明であったことを報告し、さらに末永¹²⁾はギプス固定の際に招来される筋萎縮についての電顕的検索を行い、同様に白筋線維の萎縮する割合は赤筋線維よりも著明であったと述べている。

以上のように、骨格筋線維を赤筋線維、白筋線維に分けて筋萎縮の現象を追求しているものの、中間筋線維の萎縮について検討した資料はなく、さらに被検筋全体について検索した文献はみられないのである。

本研究では、ラットの *M. tibialis ant.* を支配する *N. fibularis profundus* 切断後の筋萎縮の様相を筋腹の全横断面積および一本あたりの平均横断面積を筋線維の種類毎に求めて検討したのであるが、南⁷⁾、日野⁹⁾等の報告と同じように白筋線維の萎縮率は赤筋線維のそれより大きい値を示した。また、中間筋線維の萎縮率は、白筋線維、赤筋線維のそれらの中間的値を示したが、これらの傾向はすでに報告している動的筋トレーニング

の際の筋肥大の現象とよく似ているのである。すなわち、神経切断や筋トレーニングを骨格筋線維に与える一つの stimulus と考えると、いずれの場合でも、その stimulus に対する response は白筋線維では一番大きく、ついで中間筋線維、赤筋線維の順にあると考えられる。

白筋線維の萎縮率が赤筋線維のそれより大きい理由の一つとして、つぎのことがあげられよう。Sréter¹³⁾¹⁴⁾は、哺乳類の細胞内外の水分量、sodium および potassium のイオン濃度を検討し、細胞外の sodium イオン濃度は白筋線維の方が赤筋線維より高く、一方 potassium イオン濃度は、白筋線維の方が赤筋線維より低い傾向がある。また、外的な刺激を与えた直後の dehydration と sodium, potassium のイオン変化は、白筋線維の方が赤筋線維より著明であると報告している。中間筋線維の細胞内外の水分量および sodium, potassium のイオン変化については、まだ明らかでないので、どうして中間筋線維の萎縮率が赤筋線維と白筋線維の間の値を示したのかについては、今後の課題として検討する予定である。

総 括

同腹の Wistar 系ラットの雌雄を用い、生後70日目に M. tibialis ant. を支配する N. fibularis profundus を脛骨頭の部位で切断したのち、10日目、20日目に筋萎縮の現象を組織学的に検討し、次のような成績を得た。

1) 神経切断による体重の減少はみとめられない。

2) M. tibialis ant. の筋重量は、神経切断後10日目では28.4%、20日目では39.8%の減少を示した。また、M. gastrocnemius, M. ext. longus では、筋重量の減少は僅かにみとめられたが、M. soleus および M. plantaris では殆んどみとめられなかった。

3) M. tibialis ant. の筋腹における全横断面積の萎縮率は、神経切断後10日目では赤筋線維19.3%、中間筋線維34.7%、白筋線維43.7%を示した。

4) M. tibialis ant. の一本あたりの平均横断面積の萎縮率は、神経切断後10日目で赤筋線維

13.2%、中間筋線維19.6%、白筋線維33.9%を示し、全横断面積の場合と同じような傾向を示した。

(本論文要旨は、第21回日本体育学会で発表した。)

参 考 文 献

- 1) Beckett, E.B. and Bourne, G.H.: *Histochemistry of skeletal muscle and changes in some muscle diseases, Structure and function of muscle*, Vol. 3, 275-320, Ed. Bourne, G.H., Academic press, 1960.
- 2) Henneman E. and Olson C.B.: *Relations between structure and function in the design of skeletal muscles*, J. Neurophysiol., Vol. 28, 581-598, 1965.
- 3) 日野博夫：末梢神経および骨格筋に外科的侵襲を加えた際における骨格筋の変化に関する細胞学的研究，第三編 腱切断およびギプス固定における骨格筋線維の変化に関する組織化学的研究，岡山医学誌，Vol. 9-10, 571-578, 1969.
- 4) 菊地邦雄：筋トレーニングの組織学的研究—静的筋トレーニングと動的筋トレーニングの骨格筋線維に及ぼす影響の比較—，体育学研究，Vol. 16, No. 2, 67-74, 1971.
- 5) 菊地邦雄：中間筋線維に及ぼす筋トレーニングの影響に関する組織学的研究，体力科学，Vol. 22, No. 1, 17-25, 1973.
- 6) M. Man-i, K. Ito, and K. Kikuchi: *Histological studies of muscular training, Report 1 Effect of training upon skeletal muscles fibers*, Research Journal of Physical Education, Vol. 11, No. 3, 153-165, 1967.
- 7) 南 有：実験的変性筋の組織化学的研究，和歌山医学，Vol. 17, No. 1, 137-148, 1966.
- 8) Nachmias, V.I. and Padykula, H.A.: *A histochemical study of normal and denervated red and white muscles of the rat*, J. Biophys. Biochem. Cytol., Vol. 4, 47-54.
- 9) 岡本耕造，上田政雄，，前田隆英：顕微鏡的組織化学，医学書院，276-277, 1955.
- 10) Ogata T. and Mori, M.: *Histochemical Study of Oxidative Enzymes in Vertebrate Muscles*, Journal of Histochemistry and Cytochemistry, Vol. 12, No. 3, 171-182, 1964.
- 11) Ogata T., and Mori, M.: *Histochemical Study*

of Oxidative Enzymes in Vertebrate Muscles, J. Histochemistry and Cytochemistry, Vol. 12, 171-182, 1964.

- 12) 末永政治：骨格筋の機能組織学的研究，第2編ギプス固定による筋萎縮とその回復過程についての光顕的ならびに電顕的検索，鹿児島大学医学誌，Vol.20, No. 4, 864-877, 1969.
- 13) Sréter F.A. and Woo, G. : Cell water, sodium, and potassium in red and white mammalian muscles, Am. J. Physiol. Vol. 205, No. 6, 1290-

1294, 1963.

- 14) Sréter F.A. : Cell water, sodium, and potassium in stimulated red and white mammalian muscles, Am. J. Physiol. Vol. 205, No. 6, 1295-1298, 1963.
- 15) Stein J.M. and Padykula H.A. : Histochemical classification of individual skeletal muscle fibers of the rat, Am. J. Anatomy, Vol. 110, 103-123, 1962.