赤筋線維，中間筋線維および白筋線維の発達に およぼす性ホルモンの影響に関する組織学的研究

菊 地 邦 雄*

(昭和50年5月1日 受付)

Histological Study of the Effect of Sexual Hormones on the Development of Red, Medium and White Muscle Fibers in Skeletal Muscle

Kunio KIKUCHI

(School of Integrated Arts and Sciences, Hiroshima University)

同腹の Wistar 系ラット16例を用い，骨格筋線維の発達におよぼす性ホルモンの影響を組織学的に検討し，つぎのことが明らかになった。

(1) 体重の増加する割合は，雄の去勢群では，雄の対照群に比べて低下し，雄の去勢 + Ovahormon 投与群では，その傾向は著明であった。

(2) 下肢筋の各筋重量の増加する割合は，雄の去勢群では，雄の対照群に比べて低下し，雄の去勢 + Ovahormon 投与群では，その傾向は著るしかった。

(3) *M. tibialis ant.* の全横断面積は，雄の去勢群では雄の対照群に比べて，赤筋線維 5.1%，中間筋線維 8.8%，白筋線維 3.6% の低下を示し，雄の去勢 + Ovahormon 投与群では，それぞれ 20.3%，25.0%，29.0% の低下を示した。

(4) *M. tibialis ant.* の筋線維一本あたりの平均横断面積は，雄の去勢群，雄の去勢 + Ovahormon 投与群とも，赤筋線維，中間筋線維および白筋線維において，全横断面積の場合と同じ傾向を示した。

The purpose of this study was to inquire histologically the effect of sexual hormones on the development of skeletal muscle fibers making a distinction among red muscle fibers, medium muscle fibers and white muscle fibers.

The experimental animals, Wistar-strain rats of the same venter, were divided into the following four groups on 21 days after birth: (1) Control group of males (2) Castration group of males (3) Injection group of Ovahormon (Benzoate Suspension 1000 Unit) into the male castration (4) Control group of female.

The 0.2 ml of Ovahormon was injected into the third group on every other day. *M. tibialis ant.* of each group was removed on 70 days after birth and the histological method, using Sudan black B, was adopted in this experiment.

The results obtained were as follows:

(1) Rate of increasing of rats' body weight in the castration group of males was smaller

than that in the control group of males and the tendency of that in the injection group of Ovahormon into the male castration was smallest among the four groups.

- (2) Rate of increase in muscle weight of rats' lower limbs (*M. tibialis ant.*, *M. gastrocnemius*, *M. soleus*, *M. plantalis* and *M. ext. digi. longus*) showed the same tendency as that of body weight.
- (3) The decreasing rate of the entire cross sectional area of *M. tibialis ant.* in the castration group of male was 5.1% in red muscle fibers, 8.8% in medium muscle fibers and 3.6% in white muscle fibers. In the injection group of Ovahormon into the male castration each respective value of those was 20.3%, 25.8% and 29.0%.
- (4) The decreasing rate of the average cross sectional area per fiber in the castration group of males and the injection group of Ovahormon into the male castration showed the same tendency as that of the entire cross sectional area in red, medium and white muscle fibers.

(Kunio KIKUCHI: Histological Study of the Effect of Sexual Hormones on the Development of Red, Medium and White Muscle Fibers in Skeletal Muscle. *Research Journal of Physical Education*, Vol. 20, No. 4, Feb., 1976, pp.195~202).

緒 言

性ホルモンの骨格筋線維の発達におよぼす影響について検討した資料として、Kochakian 等⁸⁾は、去勢によって雄性動物の骨格筋重量は減少するが、Androgen を連続投与することによって回復せしめ得ることを報告し、また、Kawakami⁶⁾は、筋活動電流におよぼす性ホルモンの影響について検討しているが、骨格筋線維を種類別、すなわち赤筋線維、中間筋線維および白筋線維に分けて筋細胞のレベルで組織学的に検討した資料はみられない。

著者⁷⁾は、いままでに、骨格筋線維の発達と性的特徴を追究する目的で、生後の日数を追いつながら、ラット *M. tibialis ant.* の筋腹における赤筋線維、白筋線維の全横断面積および一本あたりの平均横断面積などについて、雌雄別に検討した結果、性差は生後20日頃からみとめられ、以後その差は著明になり、生後70日になると、筋線維一本あたりの平均横断面積では、雄の赤筋線維は雌のその1.2倍、白筋線維ではその値が1.4倍を示し、性差が著明になることを報告した。

本研究では、以上のような骨格筋線維の雌雄を決定する因子として性ホルモンの影響に注目し、骨格筋線維を赤筋線維、中間筋線維および白筋線

維に分類して骨格筋線維の発達と性ホルモンの関係を明らかにすることを目的とする。

実験方法

Wistar 系ラット4腹を用い、生後3週間目に、各腹から雄3匹、雌1匹の割合で、体重の似たもの16匹を選び、次のようなグループを設定した。

- (1) 雄の対照群 (以下, ♂ cont. 群という)
- (2) 雄の去勢群 (以下, ♂ cast. 群という)
- (3) 雄の去勢 + Ovahormon 投与群 (以下, ♂ cast. + Ovahor. 群という)
- (4) 雌の対照群 (以下, ♀ cont. 群という)

ラットの去勢手術は、生後3週間目に行ない、回復を待ってその後4日目から、♂ cast. + Ovahor. 群には、卵胞ホルモンの Ovahormon (水溶注射液 1,000 単位) を隔日おきに、0.2 ml ずつ腹部皮下注射を行った。そして生後70日目に4群のラットを殺し、体重および下肢筋の重量を上皿天びん[®](Sartrius 製)で秤量した。

また、下肢の *M. tibialis ant.* を被検筋として組織学的検索を行ない、次の手順で顕微鏡標本を作成した。

- a) 固定: 被検筋を10%ホルマリンに約3週間固定する。
- b) 包埋: セラチン溶液 (1%石炭酸 30ccにゼ

ラチン粉末 10g の割合) に入れて，恒温槽に約 1 昼夜包埋する。

c) 薄切：電子冷凍式ミクロトーム (EFM-A 型) を用いて，15~30 μ に薄切する。

d) 染色：脂肪染色の Sudan black B を使用した Lison 氏法¹²⁾である。

脂肪染色の Sudan black B を用いての骨格筋線維の種類分けは，すでに Jinnai⁵⁾，近藤⁹⁾，万井等¹⁰⁾によって証明され，本研究でも色調が濃青色を呈し，形は丸味を帯びた筋線維を赤筋線維，白色を呈し，形が角ばりを示した筋線維を白筋線維とし，そして色調および形の点でそれらの中間的様相を呈する筋線維を中間筋線維とした。

筋線維の横断面積の測定は，*M. tibialis ant.* の下端からはば 3 分の 2 にあたる筋腹の横断面積全体の顕微鏡写真を取り，筋線維の種類毎に切り抜き，秤量して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°C~22°C になるように注意した。

実験結果

1. 体重の増加

各実験群の体重の増加を生後の日数を追って検討した結果は Fig. 1 に示すとおりである。 δ cast. 群の体重の増加する割合は， δ cont. 群に比べて少ない傾向を示し，また δ cast. + Ovahor. 群の体重の増加する割合は，ホルモン投与後約 30 日頃から著しく減少し，37 日頃に δ cont. 群に近づいて以後， δ cont. 群より少なくなる傾向を示した。生後 70 日目の各実験群のラットの体重は，

Fig. 1 Increment of Rats' Body Weight in Each Group.

Table 1 に示すとおりである。各実験群の体重を比較すると， δ cont. 群に比べて， δ cast. 群では 10.1%， δ cast. + Ovahor. 群では 33.2% の低下を示し，さらに各実験群間の平均値の差の検定を行った結果， δ cont. 群と δ cast. 群， δ cont. 群と δ cast. + Ovahor. 群の間には有意の差がみとめられた (それぞれ $p < 0.1$ ， $p < 0.01$)。

2. 下肢筋の重量変化

ラット下肢筋の *M. tibialis ant.*，*M. gastrocnemius*，*M. soleus* および *M. ext. digi. longus* の筋重量を各実験群について求めた結果は，Table 1 に示すとおりである。生後 70 日目の *M. tibialis ant.* の筋重量を各実験群毎に比較検討してみると， δ cast. 群の筋重量の平均値は δ cont. 群のそれに比べて 12.0% の減少を示し，また， δ cast. + Ovahor. 群では 35.9% の減少を示した。これらの傾向は，*M. gastrocnemius*，*M. soleus*，*M. plantaris* および *M. ext. digi. longus* についても同様であった。

さらに，*M. tibialis ant.* の筋重量について各実験群間の平均値の差の検定を行った結果， δ cont. 群と δ cast. 群の間には有意の差はみとめられないが， δ cont. 群と δ cast. + Ovahor. 群の間では有意の差がみとめられた ($p < 0.1$)。

つぎに，ラットの体重に対する下肢筋の各重量比を各実験群毎に検討した結果は，Table 2 に示すとおりである。*M. tibialis ant.* では， δ cont. 群， δ cast. 群および δ cast. + Ovahor. 群のそれぞれの間には著明な差はみとめられないが， δ cont. 群では前者 3 群に比べて大きい値を示した。*M. gastrocnemius*，*M. soleus* についても，*M. tibialis ant.* と同じような傾向を示したが，*M. plantaris*，*M. ext. digi. longus* については一定の傾向はみられなかった。

3. 筋全横断面積の比較

生後 70 日目の *M. tibialis ant.* の筋腹における全横断面積を赤筋線維，中間筋線維および白筋線維に分けて各実験群毎に平均値を求めて検討した結果は，Table 3 に示すとおりである。

δ cast. 群の赤筋線維，中間筋線維 および 白筋線維の全横断面積は， δ cont. 群の各筋線維のそれに比べて僅かに少ない傾向がみられ，その差を

Table 1 Effect of Sexual Hormone on Body Weight and Weight of Each Muscle of rats (Each A. B. C. D of sample number shows each rat of the same venter)

Group	Sample number	Body weight	M. tibialis ant.	M. gastrocnemius	M. soleus	M. plantaris	M. ext. digi. longus
Male control	A	230.0 g	0.480 g	1.296 g	0.496 g	0.096 g	0.110 g
	B	211.5	0.440	1.350	0.470	0.100	0.112
	C	233.0	0.494	1.566	0.488	0.106	0.110
	D	217.0	0.414	1.200	0.390	0.072	0.072
	Mean	222.9	0.457	1.353	0.461	0.094	0.101
Male castration	A	197.0	0.372	1.132	0.348	0.076	0.080
	B	215.0	0.460	1.486	0.440	0.102	0.098
	C	200.0	0.436	1.304	0.408	0.094	0.094
	D	190.0	0.340	1.132	0.336	0.086	0.074
	Mean	200.5	0.402	1.264	0.383	0.090	0.087
Male castration + Ovahormon	A	164.0	0.306	0.912	0.246	0.074	0.064
	B	156.0	0.290	0.926	0.324	0.072	0.076
	C	168.0	0.392	1.145	0.406	0.094	0.101
	D	107.0	0.184	0.520	0.194	0.044	0.040
	Mean	148.8	0.293	0.876	0.293	0.071	0.070
Female control	A	175.0	0.348	1.042	0.328	0.058	0.064
	B	156.0	0.460	1.486	0.440	0.102	0.098
	C	153.0	0.368	1.074	0.356	0.076	0.046
	D	171.0	0.336	0.946	0.302	0.062	0.078
	Mean	163.8	0.378	1.137	0.357	0.075	0.072

Table 2 Comparison of Rate of Each Muscle Weight to Body Weight in Four Experimental Groups

Group	N	M. tibialis ant.	M. gastrocnemius	M. soleus	M. plantaris	M. ext. digi. longus
		Body weight	Body weight	Body weight	Body weight	Body weight
Male control	4	205×10^{-5}	607×10^{-5}	207×10^{-5}	42×10^{-5}	45×10^{-5}
Male castration	4	201×10^{-5}	630×10^{-5}	191×10^{-5}	45×10^{-5}	43×10^{-5}
Male castration + Ovahormon	4	197×10^{-5}	589×10^{-5}	197×10^{-5}	48×10^{-5}	47×10^{-5}
Female control	4	231×10^{-5}	694×10^{-5}	218×10^{-5}	46×10^{-5}	44×10^{-5}

百分率で表わすと、赤筋線維 5.1%，中間筋線維 8.8%，白筋線維 3.6%であった。また同様に、♂ cast. + Ovahor. 群では、それらの値は赤筋線維で 20.3%，中間筋線維で 25.8%，白筋線維で 29.0%を示し、♂ cont. 群に比べて著しく低下する

傾向を示した。しかし、M. tibialis ant. の全横断面積については ♂ cont. 群と ♂ cast. 群、♂ cont. 群と ♂ cast. + Ovahor. 群の間で各群の平均値の差の検定を行った結果、赤筋線維、中間筋線維および白筋線維とも有意の差はみとめられなかつ

Table 3 Effect of Sexual Hormone on Entire Area of Cross Section of Rats' Tibialis ant. Muscle Fibers

Group	Sample number	Red fibers mm ²	Medium fibers mm ²	White fibers mm ²
Male control	A	2.78	1.51	6.46
	B	3.87	1.79	8.56
	C	4.61	1.33	8.77
	D	3.68	1.74	6.99
	Mean	3.74	1.59	7.70
Male castration	A	2.65	1.29	5.09
	B	4.28	1.56	3.83
	C	3.71	1.50	3.40
	D	3.54	1.44	7.57
	Mean	3.55	1.45	7.27
Male castration + Ovahormon	A	2.22	1.10	4.11
	B	3.53	1.05	6.76
	C	3.40	1.60	7.28
	D	2.76	0.90	3.82
	Mean	2.98	1.18	5.47
Female control	A	2.56	1.32	5.22
	B	3.56	1.62	6.56
	C	3.92	1.17	7.40
	D	2.60	1.17	4.65
	Mean	3.16	1.32	5.42

Each A.B.C.D = Each rat of the same venter

た。

Fig. 2は，性ホルモンの骨格筋線維におよぼす影響について，各実験群の顕微鏡写真を示したものである。各写真とも M. tibialis ant. の深層部の同じ場合の組織像であるが，特に $\text{cast.} + \text{Ova-hor.}$ 群の性ホルモンの影響がこの顕微鏡写真からもうかがえる。

2. 筋線維一本あたりの平均横断面積の比較

M. tibialis ant. の筋線維一本あたりの平均横断面積を赤筋線維，中間筋線維および白筋線維について各実験群毎に求めた結果は Fig. 3 に示すとおられる。

cast. 群の筋線維一本あたりの平均横断面積は cont. 群のそれに比べて赤筋線維では 13.7%，中間筋線維で 5.4%，白筋線維で 0.1% の低下を示したが，著明な差はみとめられなかったが， $\text{cast.} + \text{Ova-hor.}$ 群では cont. 群に比べてそれらの値はそれぞれ 13.7%，17.0%，21.2% を示し，卵胞ホルモンの Ovahormon 影響が大きい傾向がうかがわれた。さらに，M. tibialis ant. の筋線維一本あたりの平均横断面積について， cont. 群と cast. 群， cont. 群と $\text{cast.} + \text{Ova-hor.}$ 群の間で平均値の差の検定を行った結果，赤筋線維，中間筋線維および白筋線維とも有意の差はみとめられなかった。

Fig. 2 Photographs show the Effect of Sexual Hormone on Rats' Anterior Tibial Muscle Fibers on the 70 Days after Birth. R : red muscle fiber, M : medium muscle fiber, W : white muscle fiber (Sudan black Bstain, $\times 400$)

Fig. 3 Effect of Sexual Hormone on Average Area of Cross Section per Fiber

論 議

骨格筋線維の発達には、遺伝的な因子、内分泌的な因子、栄養上の因子等多くの因子によって影響を受けている。特に内分泌的な因子としての性ホルモンは、骨格筋線維の形態と機能に大きく影響し、雌雄の第二性徴や筋力の雌雄差を生じせしめる要因となっている。

一般に、男性ホルモンの Androgen は、第二性徴の出現を促す作用のほかに、体内の蛋白同化作用があり、骨格筋線維の肥大に大きく関与しているといわれ¹³⁾ 一方女性ホルモンの卵胞ホルモンは、Target organである子宮、腔に対してはその上皮、筋層を著明に増殖肥厚させるという蛋白同化的作用を持っているが、全身の蛋白代謝に対しては蛋白異化的に作用すると言われている¹⁴⁾

本研究では、♂ cast. 群の体重、筋重量および筋横断面積が ♂ cont. 群に比べて増加する割合が少なかったが、これは男性ホルモンの Androgen の影響と考えられる。また、♂ cast. + Ovahor. 群の体重、筋重量および筋横断面積は ♂ cont. 群に比べて増加する割合が著明に低下したことは、卵胞ホルモンの Ovahormon が体内の蛋白代謝に対して異化的に作用したものと解される。

人において、全身の発育が完成しない幼年期や

成長期に、卵巣を摘除すると発育不良になり、また卵胞ホルモンは、少量であれば蛋白代謝に対して蛋白同化的に作用するという報告¹⁵⁾ もあり、骨格筋線維が正常な発達をするためには、適量の卵胞ホルモンは是非とも必要であると思われる。

本研究の卵胞ホルモンの Ovahormon 投与量の設定は、赤須²⁾が成鼠の去勢ラットに 0.5ml/a day を投与して実験を行っている文献を参考にして決定したが、♂ cast. + Ovahor. 群の体重、筋重量および筋横断面積の著しい増加率の低下を考えると、本研究の Ovahormon の投与量 0.2ml/two days が生後24日目という幼若ラットにとって大量でなかったかと思われる。今後、ラットの生後の日数と投与するホルモン量を吟味して更に追試する予定である。

つぎに、骨格筋線維の種類別に卵胞ホルモンの Ovahormon が骨格筋に及ぼす影響について考察すると、M. tibialis ant. の全横断面積および一本あたりの平均横断面積において、白筋線維の肥大する割合が一番少なく、ついで中間筋線維、赤筋線維の順であったことは、筋線維を構成する筋原線維数と蛋白質量は、白筋線維の方が赤筋線維より多いという阿南⁸⁾、名取等¹¹⁾の報告があり、Ovahormon の蛋白異化作用の影響を白筋線維の方が赤筋線維より多くうけたことも原因の一つと解される。中間筋線維については、その化学的成分や組織学的構成がまだ十分に明らかにされていないので考察できないが、今後、構成、機能および化学的成分等の側面から中間筋線維の特性について追求し、さらに中間筋線維の発達と性ホルモンとの関係を明らかにしていく予定である。

総 括

同腹(4腹)の Wistar 系ラット(16例)を用い、(1) ♂ cont. 群、(2) ♂ cast. 群、(3) ♂ cast. + Ovahor. 群 および (4) ♀ cont. 群を設定し、生後の日数を追って性ホルモンが骨格筋線維の発達に及ぼす影響を検討した結果、つぎのような成績を得た。

1) ♂ cast. 群の体重の増加する割合は ♂ cont. 群に比べて少ない傾向を示した。また、♂ cont. + Ovahor. 群のその傾向は著明で、♀ cont. 群の体

重よりも少ない値を示した。

2) 下肢筋の *M. tibialis ant.*, *M. gastrocnemius*, *M. soleus*, *M. plantaris* および *M. ext. digi. longus* の筋重量は，♂ *cast.* 群では ♂ *cont.* 群に比べて増加する割合が少なく，♂ *cast.* + *Ovahor.* 群ではその傾向は著明であった。

3) 生後70日目の *M. tibialis ant.* の全横断面積は，♂ *cast.* 群では ♂ *cont.* 群に比べ，赤筋線維 5.1%，中間筋線維 8.8%，白筋線維 3.6% の低下を示し，♂ *cast.* + *Ovahor.* 群では ♂ *cont.* 群に比べ，赤筋線維 20.3%，中間筋線維 25.0%，白筋線維 29.0% の低下を示した。

4) 生後70日目の筋線維一本あたりの平均横断面積は，♂ *cast.* 群では ♂ *cont.* 群に比べて，赤筋線維 2.4%，中間筋線維 5.4%，白筋線維 0.1% の低下を示し，また ♂ *cast.* + *Ovahor.* 群では，♂ *cont.* 群に比べて，赤筋線維 13.7%，中間筋線維 17.0%，白筋線維 21.2% の低下を示した。

(本論文の要旨は，第22回日本体育学会で発表した。)

参 考 文 献

- 1) 赤須文男，西田悦郎：女性ホルモンの代謝作用，ホルモンと臨床，14，43～45，1966.
- 2) 赤須文男：女子における生体防衛機序に関する研究，日産婦誌，7(5)，105～139，1955.
- 3) 阿南功一，他：医学領域における生化学実験法，医学書院，86～87，1959.
- 4) Corner, G.W.: The ovarian hormones and experimental menstruation, *Am. J. Obst & Gynec.*, 38, 862～871, 1939.
- 5) Jinnai, D.: Functional differentiation of skeletal muscles. *Acta Med. Okayama*, 14, 159～169, 1960.
- 6) Kawakami, M.: Electromyographic study of sexual and other hormones on skeletal muscles, *Jap. J. Physiol.*, 5, 251～273, 1955.
- 7) 菊地邦雄：骨格筋線維の発達に関する組織学的研究，体力科学，16(2)，38～44，1967.
- 8) Kochakian, C.D. and Cockrell, D.: Response of individual muscles of the guinea pig to "large" doses of testosterone propionate, *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 97, 148～149, 1958.
- 9) 近藤正美：骨格筋の機能分化と構造との相関性に関する組織学的研究，第一編骨格筋線維の機能分化と構造との相関性に関する研究，岡山医学誌，71，3569～3580，1959.
- 10) 万井正人，伊藤一生，菊地邦雄：筋持久性に関する研究(Ⅳ)，骨格筋線維の種類とその分布，体力科学，15(1)，30～35，1966.
- 11) 名取礼二：筋生理学，丸善出版，p. 24～25，1951.
- 12) 岡本耕造，上田政雄，前田隆英：顕微鏡的組織化学，医学書院，p. 276，1955.
- 13) 徳山一郎，吉住孝之：男性ホルモンの代謝作用，ホルモンと臨床，14，37～41，1966.