ラット咬筋における運動終板の分布

松 本 林^{*)**)} 桂 茂^{*)}

徳島大学歯学部口腔解剖学第1講座^{*)} (主任: 桂 茂教授)

徳島大学医学部第1解剖学講座^{**)} (主任: 山田正興教授)

[受付: 昭和60年8月22日]

Distribution of motor endplates in rat masseter muscle

Hayashi Matsumoto^{*)**)} and Shigeru Katsura^{*)}

Department of Oral Anatomy, School of Dentistry, Tokushima University,
Tokushima 770, Japan^{*)}

(Chief: Prof. Shigeru Katsura)

Laboratory for Cytochemistry, Department of Anatomy, Tokushima University,
Tokushima, 770, Japan^{**)}

(Chief: Prof. Masa-oki Yamada)

[Accepted for publication: August 22, 1985]

Key words: Motor endplate / acetylcholinesterase (Ach E) / masseter muscle / rat

Abstract: The spatial distribution of motor endplates in rat masseter muscle was investigated histochemically by staining for acetylcholinesterase (Ach E) activity in serial frozen sections cut in coronal, horizontal and parasagittal planes. Motor endplates were found to be scattered in several regions of this muscle. These regions were identical with the muscular compartments in this muscle previously reported by us (Matsumoto, H. & Katsura, S: Multiple compartmentalization in the fiber architecture of rat masseter muscle. *Acta Anat. Nippon.* 60: 90-98, 1985). Several motor endplates were found in each region. All motor endplates were of the 'terminaisons en plaque' type. One motor endplate for each muscle fiber was situated in approximately the central one-third of the fiber and one motor nerve ending was found in each motor endplate.

緒 言

骨格筋線維の運動終板の形態 (Coërs¹⁾; Cole²⁾; Couteaux^{3,4)}; Tiegs⁵⁾; Yamada⁶⁾) や筋線維上での分布位置 (Barker, *et al.*⁷⁾; Bennett & Pettigrew^{8,9)}; Christensen¹⁰⁾; Coërs^{1,11)}; Couteaux^{3,4)}; Diamond & Miledi¹²⁾; Ginsborg & Mackay¹³⁾; Kaczmariski¹⁴⁾) および支配神経の数 (Brown, *et al.*¹⁵⁾; Hess¹⁶⁾; Macky & Peters¹⁷⁾; Pachter¹⁸⁾) 等については多数の研究が見が報告されている。しかし、器官全体としての筋組織内における運動終板の分布状態についての研究は少なく、わずかにネコの腓腹筋の外側頭と足底筋

(English & Letbetter¹⁹⁾) や橈側手根屈筋 (Galvas & Gonyea²⁰⁾)、数種の哺乳類の外眼筋 (Kaczmariski¹⁴⁾; Mayr, *et al.*²¹⁾; Pachter¹⁸⁾)、ラットの縫工筋、薄筋、殿筋、外肛門括約筋 (Repiciuc & Timus²²⁾) およびブタの咬筋 (Herring, *et al.*²³⁾) 等における報告に接するだけである。特にラットの咀嚼筋についての研究としては Karlsen²⁴⁾ の報告があげられるのに過ぎない。筋内における運動終板の分布位置を知るためには、筋組織の筋線維構築を検討しておく必要がある。さきに著者等 (Matsumoto & Katsura²⁵⁾) はラット咬筋についてこの点を研究し報告したので、今回はアセチルコリンエステラーゼの組織化学的検出法である Beermann & Cassens²⁶⁾ の方法を活用して、ラ

ットの咬筋における運動終板の筋内における分布状態と単一筋線維上での存在部位を検討することにした。

材料および方法

成熟雄ウィスター系ラット5匹(150-470g)をエーテル麻酔下で殺し、左側の咬筋を採取した。ついで、筋を液体窒素であらかじめ冷却しておいたイソペンタン中に投入して凍結固定し、 -20°C のクリオスタット(Bright Cryostat Model FS/FAS, 5030 Microtome)内で $30\mu\text{m}$ の連続切片を作製した。切断はFig. 1に示した方向に行った。染色に先立って、Pearson & Sabarra²⁷⁾の方法に従って、あらかじめエチレンジアミン四酢酸(EDTA)でコートしたスライドガラス上に切片を貼布し、室温下で乾燥した後に、Beermann & Cassens²⁸⁾の方法に従って同一切片上でアセチルコリンエステラーゼ(Ach E)染色と鍍銀とを行った。一部の切片については筋線維の構築を知るためにH & E染色を行った。紡錘外筋線維上での運動終板の位置の算定は、切断方向、切断さ

れた組織切片の外形、切片の切断順位等によることにした。下顎孔の下部に付着点を有するcompartment No. 3部域の筋(Matsumoto & Katsura^{25,1)})の採取には時間がかかったので、筋をあらかじめ10%ホルマリン+1% CaCl_2 溶液で固定した後に上記の方法により運動終板の検出を行った。本研究においては、Weijs²⁸⁾の分類による浅層筋と深層筋の紡錘外筋線維について観察した。

結 果

Beermann & Cassens²⁵⁾の方法によると、神経筋接合部は濃褐色に、軸索は黒色に、筋線維は淡黄色もしくは黄褐色に染色され、これらの識別は容易であった。神経筋接合部は楕円形を呈するterminaison en plaqueであり、その長軸は筋線維の長軸に並行していた。また単一筋線維には1個の運動終板が存在し、1個の運動終板には、1本の運動神経終末しか見出すことができなかった(Fig. 2)。各運動終板の短軸方向に連結した線(innervation band)は筋線維の長軸に対してほぼ直角であった。また、切断面上の運動終板は集

Fig. 1 Directions in which sections were cut. a; lateral view of the left masseter muscle of rat; b; coronal view. Coronal cuts: F1, F2, F3 and F4; horizontal cuts: H1, H2, H3, H4 and H5; parasagittal cuts: S1, S2 and S3. SM; superficial masseter; DM; deep masseter; R; rostral; C; caudal; D; dorsal; V; ventral; I; inner; O; outer.

Fig. 2 Motor endplates in the rat masseter muscle stained with the method of Beermann & Cassens (1976). Motor endplates are oval and their long axes are parallel to the long axes of the muscle fibers. Each muscle fiber has only one motor endplate. There is one motor nerve ending in each motor endplate. Bar 10 μ m.

団をなして存在していたので、群として記載することにした。

I) 浅層筋における運動終板の分布パターン

a) 前頭断面の所見：前頭断面の連続切片を吻側から観察すると、Fig. 3b に示したように吻側の腹側部の深部にまず運動終板の集団（A群）が認められ、ついで中間部になると、背腹方向にほぼ直線状に走る帯状域に分布する集団（B1, B2群）と腹側部で塊状の集合を示す集団（C群）とが認められた（Fig. 3c）。また、尾部では、筋の外表に近い部域で背腹方向に走る直線状の帯状域に分布する集団（D群）が認められた（Fig. 3d）。

b) 水平断面の所見：連続切片を背側から腹側へかけて観察すると、Figs. 4c, 4d and 4e に示したように a₁, a₂, a₃, a₄, b 群がほぼ直線状に走る帯状域に分布していた。なお b 群の運動終板は横断され、a 群の運動終板は縦断されており、両群の筋線維の走行が異なることが知られた。

c) 準矢状断面の所見：連続切片を表層から深層へかけて観察すると、Fig. 5a に示すように表層では吻尾方向に走るほぼ直線状の帯状域に分布する集団（I群）と尾側背部で塊状の集合を示す集団（II群）とが認められた。また深部では、吻尾方向に配列する集団（III群）とやや背腹方向に配列する集団（IV群）とが認められた（Fig. 5b）。さらに深部の腹側では塊状の集合を示す集団（V

群）が見出された（Fig. 5c）。

II) 深層筋における運動終板の分布パターン

a) 前頭断面の所見：連続切片を吻側から尾側へかけて観察すると、吻側では、Fig. 3a に示したように内外方向にほぼ直線状に走る帯状域に分布する集団（E1, E2, E3 群）が認められ、中間部から尾側にかけては、F, G, H 群（Fig. 3b）、I, J, K 群（Fig. 3c）、L, M, N, O, P1, P2 群（Fig. 3d）が認められた。

b) 水平断面の所見：連続切片を背側から腹側へ観察すると、背側では、c₁, d₁, e₁ 群（Fig. 4a）、c₂, f, g, d₂, d₃, e₂, e₃, e₄ 群（Fig. 4b）が認められ、中間部では、h, i₁, d₄, d₅, j₁, j₂, e₅, e₆ 群が認められた（Fig. 4c）。また腹側では、k₁, k₂, i₂, j₃, j₄ 群が見出された（Fig. 4d）。

c) 準矢状断面の所見：連続切片を浅層から深層へかけて観察すると、浅部から中間部にかけて、VI, VII, VIII, IX 群（Fig. 5a）、X, XI, XII, XIII, XIV 群（Fig. 5b）が認められた。また深部では、XV, XVI, XVII, XVIII, XIX, XX, XXI, XXII, XXIII, XXIV 群（Fig. 5c）が認められた。

考 察

骨格筋の運動神経終末の形態については、*terminaison en plaque* や *terminaison en ligne* と *terminaison en grappe* 型等が報告されている（Cole²⁾）。著者等の本研究所見からすると、ラットの咬筋の紡錘外筋線維は *terminaison en plaque* に属することが明らかになった。この点では Cole²⁾ がラットの腸脛骨筋と椎骨下筋で *terminaison en plaque* 型の運動神経終末だけを認めている所見と一致していた。

また、骨格筋線維は筋線維上での運動終板の分布位置によって2型に大別されている。すなわち、タイプ1線維は運動終板が筋線維の特定の部域に局限しているものであり、大部分の成熟哺乳類の紡錘外筋線維（Brown, *et al.*¹⁵⁾；Christensen¹⁰⁾；Coërs^{1,11)}；Couteaux^{3,4)}；English & Letbetter¹⁹⁾；Galvas & Gonyea²⁰⁾；Herring, *et al.*²³⁾）やヘビの肋間筋（Mackay & Peter¹⁷⁾）でみられているものであり、タイプ2はびまん性に散在するもので

Fig. 3a-d Distribution of motor endplates in the rat masseter. Coronal sections of the masseter viewed from the anterior surface. Sections at a; level F1; b; level F2; c; level F3; d; level F4. $\odot$: motor endplate cut obliquely; $\circ$: motor endplate cut transversely; $\blacksquare$: motor endplate cut longitudinally; ap; aponeurosis.

未成熟の紡錘外筋線維 (Bennett & Pettigrew^{8,9)}; Brown, *et al.*¹⁵⁾; Diamond & Miledi¹²⁾) や紡錘内筋線維 (Barker, *et al.*⁷⁾; Coërs^{1,11)}) およびマウスやラットの外眼筋 (Kaczmariski¹⁴⁾; Pachter¹⁸⁾) やヒト・サル・ネコ等の縫工筋と薄筋 (Christensen¹⁰⁾; Coërs^{1,11)}; Couteaux⁴⁾) 等でみられている。また、筋組織はその内部に存在する運動終板の種類によって 3 型に分類されてい

る (Ginsborg & Mackay¹³⁾; Hess¹⁶⁾; Pachter¹⁸⁾)。すなわちタイプ I は 前述のタイプ 1 線維のみから構成されているものであり、タイプ II はタイプ 2 のみから、タイプ III はタイプ 1 とタイプ 2 線維の混在によって構成されているものである。

本研究における前頭・水平・準矢状断面上で 見出された各群の相互関係を比較検討すると、(A, b, IV), (B1, a₁, I), (B2, a₃, III), (D, a₂, II),

Fig. 4a-e. Distribution of motor endplates in the rat masseter. Horizontal sections of the masseter viewed from the dorsal surface. Sections at a; level H1; b; level H2; c; level H3; d; level H4; e; level H5.

(C, a₄, V), (E1, h, VI), (E2, j₁, X), (E3, k₃, XV), (F, i₁, VII), (G, j₂, XI), (H, e₂, XVI), (I, f, VIII), (J, e_s, XII), (K, e_s, XX), (L, c₂, IX), (M, c₁, XIV), (N, d₃, XXIII), (O, d₅, XXI), (P1, e₆, XXII), (P2, e₁, XXIV) はそれぞれ同一の運動終板の集団を異なった断面で見ることが知られた。また各群は著者等²⁵⁾が咬筋

組織の筋線維構築所見から区画した各区画に1群宛存在していることも明らかになった。なお運動終板は単一筋線維に1個ずつ存在し、ほぼ中央1/3の部分に局限していることも知られた。従って、ラットの咬筋はタイプI筋線維のみから構成されるタイプI筋に分類されることが判明した。Karlsson²⁴⁾はラットの咬筋のパラフィン切片や分離筋

Fig. 5a-c. Distribution of motor endplates in the rat masseter. Parasagittal sections of the masseter viewed from the lateral surface. Sections at a; level S1; b; level S2; c; level S3.

線維について運動終板の存在様式を検討して、大部分の線維はタイプ1であるが、ごくまれにタイプ2が存在することを報告している。しかし、著者等はそのような像を見出すことはできなかった。

次に、器官としての1個の筋内における運

動終板の分布状態を検討すると、English & Letbetter¹⁹⁾ はネコの腓腹筋の外側頭と足底筋で、Galvas & Gonyea²⁰⁾ はネコの橈側手根屈筋で、運動終板が筋の起始—停止方向にほぼ並走する狭い帯状域に分布していることを報告している。またラットの上斜筋 (Kaczmariski¹⁴⁾; Pachter¹⁸⁾)

やハタネズミやマウスの外側直筋 (Kaczmariski¹⁴⁾) で、大部分の運動終板は起始部から停止部へかけての中央部で筋の走行にほぼ直交する帯状域に分布しているが、一部のものはそれ以外の場所に分散していることを報告し、Mayr, *et al.*²¹⁾ はネコの外眼筋で、運動終板が筋の起始部から停止部の間で筋線維の走行に直交する数個の直線状の帯状域に分布することを、Herring, *et al.*²³⁾ はブタの咬筋で運動終板が腱膜間の中央部の狭い帯状域に分布することを報告している。また Rossi & Cortesina²⁹⁾ はヒトの声帯筋や外側輪状披裂筋と輪状甲状筋で、Repiciuc & Timus²²⁾ はラットの外肛門括約筋や眼輪筋で、運動終板が散在性に存在していることを指摘している。これらの所見に反して、著者等のラットの咬筋では運動終板が集団(群)をなしながら筋の種々な部域に広く分布していた。このことは著者等²⁵⁾ が既報したようにラット咬筋の筋線維構築が複雑なことによるものである。

結 論

成熟雄ウィスター系ラット咬筋の運動終板の分布状態をアセチルコリンエステラーゼ検出法である Beermann & Cassens 法によって組織化学的に検討して下記の所見を得た。

1. 紡錘外筋線維における運動終板は浅層筋、深層筋ともに筋の種々な部位に集団をなして存在していた。
2. それらの分布域は、著者等が既報した咬筋組織の筋線維区画に一致していた。
3. いずれの運動終板の形態も *terminaison en plaque* 型であり、単一筋線維のほぼ中央1/3の部位に1個ずつ存在していた。また1個の運動終板には、1本の運動神経終末が見出された。

謝辞：稿を終えるにあたり、終始御懇篤な御指導と御校閲を戴いた徳島大学医学部第1解剖学講座山田正興教授に深謝いたします。

抄録：ラット咬筋における運動終板の分布状態を検討するために、三方向（前頭・水平・準矢状）の連続切片を作製し、acetylcholinesterase 検出法である Beermann & Cassens 法（1976）を使用して組織化学的に検討した。紡錘外筋線維における運動終板は浅層筋、深層筋ともに筋の種々な部位に集団をなして存在しており、集団の分布域は、著者等が既報した咬筋組織の筋線維区画（Matsumoto & Katsura, 1985）に一致していた。またいずれの運動終板の形態も *terminaison en plaque* 型であり、単一筋線維のほぼ中央1/3の部位に1個ずつ存在し、1個の運動終板には1本の運動神経終末が認められた。

文 献

- 1) Coërs, C.: Structure and organization of the myoneural junction. *Int. Rev. Cytol.* **22**: 239-267, 1967.
- 2) Cole, W. V.: Motor endings in the striated muscle of vertebrates. *J. Comp. Neurol.* **102**: 671-715, 1955.
- 3) Couteaux, R.: Localization of cholinesterases at neuromuscular junctions. *Int. Rev. Cytol.* **4**: 335-375, 1955.
- 4) Couteaux, R.: motor end plate structure. In: *The Structure and Function of Muscle.* (Bourne, G.H. ed.), 2nd. edn., Vol. II, pp. 483-530, Academic Press, New York & London, 1973.
- 5) Tiegs, O. W.: Innervation of voluntary muscle. *Physiol. Rev.* **33**: 90-144, 1953.
- 6) Yamada, M. O.: Architecture in Histology. (Yamada, M. O. ed.), pp. 98-101, Hirokawa Publish. Co., Tokyo, 1985.
- 7) Barker, D., Stacey, M. J. and Adal, M. N.: Fusimotor innervation in the cat. *Philos. Trans. Soc. Lond. [Biol.].* **258**: 315-346, 1970.
- 8) Bennett, M. R. and Pettigrew, A. G.: The formation of synapses in striated muscle during development. *J. Physiol.* **241**: 515-545, 1974.
- 9) Bennett, M. R. and Pettigrew, A. G.: The formation of synapses in reinnervated and cross-reinnervated striated muscle during development. *J. Physiol.* **241**: 547-573, 1974.
- 10) Christensen, E.: Topography of terminal motor innervation in striated muscles from stillborn infants. *Am. J. Phys. Med.* **38**: 65-78, 1959.
- 11) Coërs, C.: Structural organization of the motor nerve endings in mammalian muscle spindles and other striated muscle fibers. *Am. J. Phys. Med.* **38**: 166-175, 1959.

- 12) Diamond, J. and Miledi, R.: A study of foetal and new-born rat muscle fibres. *J. Physiol.* **162** : 393-408, 1962.
- 13) Ginsborg, B. L. and Mackay, B.: A histochemical demonstration of two types of motor innervation in avian skeletal muscle. *Bibl. Anat.* **2** : 174-181, 1961.
- 14) Kaczmarek, F.: Motor end-plates in the extraocular muscles of small mammals. *Acta Anat.* **89** : 372-386, 1974.
- 15) Brown, M. C., Jansen, J. K. S. and van Essen, D.: Polyneuronal innervation of skeletal muscle in new-born rats and its elimination during maturation. *J. Physiol.* **261** : 387-422, 1976.
- 16) Hess, A.: Structural differences of fast and slow extrafusal muscle fibres and their nerve endings in chickens. *J. Physiol.* **157** : 221-231, 1961.
- 17) Mackay, B. and Peters, A.: Terminal innervation of segmental muscle fibres. *Bibl. Anat.* **2** : 182-193, 1961.
- 18) Pachter, B. R.: Rat extraocular muscle. 1. Three dimensional cytoarchitecture, component fibre populations and innervation. *J. Anat.* **137** : 143-159, 1983.
- 19) English, A. W. and Letbetter, W. D.: Anatomy and innervation patterns of cat lateral gastrocnemius and plantaris muscles. *Am. J. Anat.* **164** : 67-77, 1982.
- 20) Galvas, P. E. and Gonyea, W. J.: Motor-end-plate and nerve distribution in a histochemically compartmentalized pennate muscle in the cat. *Am. J. Anat.* **159** : 147-156, 1980.
- 21) Mayr, R., Gottschall, J., Gruber, H. and Neuhuber, W.: Internal structure of cat extraocular muscle. *Anat. Embryol.* **148** : 25-34, 1975.
- 22) Repciuc, E. und Timus, M.: Die Synaptoarchitektonik des Muskels als Synchronapparat für die Muskelkontraktion. *Z. Mikrosk. Anat. Forsch., Leipzig* **94**(3) : 545-555, 1980.
- 23) Herring, S. W., Grimm, A. F. and Grimm, B. R.: Functional heterogeneity in a multipinnate muscle. *Am. J. Anat.* **154** : 563-576, 1979.
- 24) Karlsen, K.: The location of motor end plates and the distribution and histological structure of muscle spindles in jaw muscles of the rat. *Acta Odontol. Scand.* **23** : 521-547, 1965.
- 25) Matsumoto, H. and Katsura, S.: Multiple compartmentalization in the fiber architecture of rat masseter muscle. *Acta Anat. Nippon.* **60** : 90-98, 1985.
- 26) Beermann, D. H. and Cassens, R.G.: A combined silver and acetylcholinesterase method for staining intramuscular innervation. *Stain Technol.* **51** : 173-177, 1976.
- 27) Pearson, J. and Sabarra, A.: A method for obtaining longitudinal cryostat sections of living muscle without contraction artifacts. *Stain Technol.* **49** : 143-146, 1974.
- 28) Weijs, W. A.: Morphology of the muscle of mastication in the albino rat, *Rattus norvegicus* (Berkenhout, 1769). *Acta Morphol. Neerl. Scand.* **11** : 321-340, 1973.
- 29) Rossi, G. and Cortesina, G.: Morphological study of the laryngeal muscles in man. Insertions and courses of the muscle fibres, motor end-plates and proprioceptors. *Acta Oto-laryngol.* **59** : 575-592, 1965.