ラット下肢筋の筋線維伝導速度と筋線維組成

松 永 智* 佐渡山亜兵** 中村友浩*** 勝 田 茂****

MUSCLE FIBER CONDUCTION VELOCITY AND MUSCLE FIBER COMPOSITION OF RAT HINDLIMB MUSCLE

SATOSHI MATSUNAGA, TSUGUTAKE SADOYAMA, TOMOHIRO NAKAMURA
and SHIGERU KATSUTA

Abstract

To investigate whether muscle fiber conduction velocity reflects muscle fiber type, we studied the extensor digitorum longus (EDL) and soleus (SOL) muscle in 7 male rats aged 12 weeks. Muscle fiber conduction velocity was measured with a surface electrode array during stimulated contraction and calculated from the delay between two action potentials along muscle fibers for a given inter-electrode distance. Conduction velocity in the EDL (2.71 ± 0.50 m/s) was significantly higher ($p < 0.05$) than that in the SOL (2.14 ± 0.34 m/s). Fiber type, fiber area and fiber diameter were determined by myosin ATPase staining and NADH-tetrazolium reductase staining. Muscle fiber composition of the EDL and SOL was $94.6 \pm 1.8\%$ and $14.8 \pm 4.3\%$ FT fibers, respectively, and mean muscle fiber diameter was $62.7 \pm 6.2 \mu\text{m}$ and $79.2 \pm 7.8 \mu\text{m}$, respectively, that of the EDL being significantly smaller ($p < 0.01$) than that of the SOL. It was suggested that individual differences in conduction velocity were caused by differences in muscle fiber composition rather than differences in muscle diameter.

(Jpn. J. Phys. Fitness Sports Med. 1992, 41: 63~69)

key words : Muscle fiber conduction velocity, Fiber composition, Rat, Electrostimulation

I. 結 言

一流競技選手の主働筋の筋線維組成は競技種目によって異なることが知られている²⁾。これは筋線維組成が瞬発性や持久性といった筋の収縮特性と関係があることによる。すなわち遅筋線維の比率が高いと持久能力が高いが瞬発能力が低く、逆に速筋線維の比率が高いと瞬発性が高いが疲労しやすいという特性と密接に関係しているためである。

しかしながら、筋線維組成を知るためにはニ-

ドルバイオプシー法に頼らざるをえない。この方法は外科的処置を必要とするため方法上の制約をともない、幼少年などへの適用は難しい。このため非侵襲的に筋線維組成を推定する方法の必要性が高まり、筋電図^{3,7,13,14)}や核磁気共鳴⁶⁾による方法などが報告されている。筋電図による方法の一つで、筋が収縮する際、筋線維に沿って伝わる活動電位の速さから筋線維組成を推定する方法が宮田たち¹¹⁾により提案されている。これは、バイオプシー法によって外側広筋の筋線維組成を調べ、その外側広筋の収縮活動中の筋線維伝導速度

*大阪市立大学教養部
〒558 大阪市住吉区杉本3-3-138

**製品科学研究所
〒305 茨城県つくば市東1-1-4

***大阪工業大学一般教育科
〒535 大阪市旭区大宮5-16-1

****筑波大学体育科学系
〒305 茨城県つくば市天王台1-1-1

Department of Liberal Arts, Osaka City University, Osaka-shi, Osaka 558

Human Factors Research Department, Industrial Products Research Institute, Tsukuba-shi, Ibaraki 305

Osaka Institute of Technology, Osaka-shi, Osaka 535

Institute of Health and Sports Sciences, University of Tsukuba, Tsukuba-shi, Ibaraki 305

との関係を検討したもので、かなり高い相関関係を得ており、そこから筋線維組成の推定が可能だとしている。

もしこの仮説が正しいとすれば、典型的に筋線維組成の異なる速筋と遅筋とでは当然筋線維伝導速度に違いがあると考えられる。しかしながら、ヒトの筋はほとんどが速筋線維と遅筋線維の混在筋であることから、典型的な速筋、遅筋からこの速度を表面電極により計測することはほとんど不可能である。

そこで本研究はラットの典型的遅筋であるヒラメ筋と速筋である長指伸筋の筋線維伝導速度を全筋レベルで計測し、両筋の計測部位を組織化学的に分析し、筋線維タイプと筋線維伝導速度の対応関係を調べようとするものである。

II. 方 法

実験には、Wistar 系雄ラット、12週齢 (350～440 g)、7匹を用いた。被検筋には、遅筋と速筋の筋線維伝導速度を検べる上で、筋線維方向が筋の長軸方向に近いことならびに神経を直接刺激するため神経と筋を摘出しやすいことから、ヒラメ筋と長指伸筋を選んだ。測定は一脚につき一つの筋、すなわち1匹につき両足で二つの筋、ヒラメ筋と長指伸筋について行った。

ラットを麻酔状態下におくために、ペントバルビタールナトリウム (ダイナボット社製、ネプタール注射液) を腹腔内に体重 100 g 当り 0.1 ml 投与した。麻酔状態を確認した上でヒラメ筋あるいは長指伸筋を露出、遠位腱の周囲を絹糸できつ

くしぼり、その部位の腱を切断、さらに筋への血流や神経支配を途絶えさせないように留意しながら、近位腱の付着部を残し分離した。ラットは仰臥位に寝かせ、木製台上の止め具に大腿部および足関節を固定し脚が動かないようにした。次に絹糸でしばった遠位腱を張力トランスデューサー (日本光電社製、TB-654 T) に接続した。温度による影響をできるだけ取り除くために¹²⁾、筋および神経は37℃に温めたリンガー液 (NaCl 6.0 g/l, KCl 0.075 g/l, CaCl₂ 0.1 g/l, NaHCO₃ 0.1 g/l) で常時湿らせるとともに、空調設備によって室温を25～27℃に維持した。

等尺性最大強縮中の張力、筋線維伝導速度を測定するために、刺激装置に接続した双極性刺激電極を、ヒラメ筋の場合は脛骨神経を、長指伸筋の場合は深腓骨神経に対し、強度を極大とし0.2 msecの矩形波 (単一相性パルス)、50 Hz で1秒間刺激した。なお測定は5回行い、疲労の影響をできるだけ除去すること、ならびに筋の露出時間を最小限にすることから、その間隔は2分とした。またこれはデータの取り込み及びコンピュータープログラムの始動など、実験上最低限必要な時間でもある。図1は電気刺激によって誘発された筋電位を計測するためのシステムである。

最大強縮張力測定はトランスデューサーとアイソメトリックアンプ (日本光電社製 TB-654 T) を通して、データレコーダーに記録した (図1)。後に X-Y プロッターに張力発揮曲線を出力し、校正値をもとに張力を計算した。なおこの測定は、固定した脚の足関節を 90°、膝関節を 180° と

Fig. 1. Schematic representation of measurement.

Fig. 2. Schematic diagram of electrode connections to the amplifiers.

した時の筋の長さで行なった。

筋線維伝導速度の計測のための筋電位導出には、金メッキした直径 1 mm の燐青銅線を 1.27 mm 間隔で 14 本配列したアレイ電極を用いた (図 2)。このアレイ電極が筋線維方向と直角になるよう、予備的に最大下の刺激を行い、モニター画面上に一定時間遅れを持つ波形が得られるように電極位置と方向を調整した¹⁶⁾。電極は測定ごとに同一位置になるよう万能スタンドを用い固定した。筋電図は隣りあった電極から双極性に、13 チャンネル同時に生体増幅器を介して記録した。図 3 は電気刺激によって誘発された筋活動電位パターンの例である。筋電図は第一刺激から 60 msec の間記録した。

生体増幅器の周波数帯域は 53 Hz ~ 1 KHz とし、増幅された筋電信号をサンプリング周波数 5 KHz で A/D 変換し、フロッピーディスクに記録した。筋線維伝導速度は運動単位の発火頻度が増すほど速くなるため^{12, 15)}、本研究ではできるだけ早い時期の刺激で、かつ特に筋電波形が安定して得られた第 2 刺激による筋電波形を選んだ。そして神経支配帯の影響を受けていない筋電波形で、かつ筋腹から遠位方向に一定時間遅れを持つ波形の伝播時間差と電極間距離から筋線維伝導速

度を計算した⁹⁾。筋線維伝導速度の決定は 5 回の測定値の平均とした。また筋温は温度測定装置 (宝工業社製 K 720, K 923) に接続したセンサーを直接筋にあてることにより測定した。

刺激実験終了後、筋を摘出し、収縮特性の面から mATPase 染色 (pH 10.3) を行い、速筋線維 (FT 線維)、遅筋線維 (ST 線維) に分類し、筋線維組成を求めた。また筋線維横断面積、筋線維直径を測定するために NADH-TR 染色を行い、筋線維タイプ別の平均筋線維横断面積を求めた。筋線維直径は筋線維を円と仮定した上で筋線維横断面積と筋線維組成から平均筋線維直径を計算した⁶⁾。

III. 結 果

表 1 に長指伸筋とヒラメ筋の筋線維組成、タイプ別筋線維横断面積、筋線維直径の平均値と標準偏差を示した。筋線維組成は長指伸筋では $94.6 \pm 1.8\%$ FT 線維で、ヒラメ筋のそれは $14.8 \pm 4.2\%$ FT 線維であった。また筋線維横断面積を考慮にいった筋線維構成比は長指伸筋で $97.2 \pm 0.9\%$ area FT 線維、ヒラメ筋で $11.5 \pm 5.2\%$ area FT 線維であった。筋線維直径はヒラメ筋 ($79.2 \pm 7.8 \mu\text{m}$) の方が長指伸筋 ($62.7 \pm 6.2 \mu\text{m}$) より 1 % 水準で有意に大きかった ($p < 0.01$)。

図 4 は長指伸筋とヒラメ筋の機能的な特性としての電気刺激によって誘発された活動電位の筋線維伝導速度の平均値およびその標準偏差である。筋線維伝導速度は長指伸筋で $2.71 \pm 0.50 \text{ m/sec}$ 、ヒラメ筋で $2.14 \pm 0.34 \text{ m/sec}$ で 5 % 水準で有意に長指伸筋の方が速かった。

図 5 は電気刺激で引き起こされた最大強縮力の違いを示した。長指伸筋、ヒラメ筋はそれぞれ $32.0 \pm 19.2 \text{ g}$, $49.8 \pm 25.4 \text{ g}$ で、ヒラメ筋の強縮力が大きかった。しかし、有意差が認められるほどの違いはなかった。

IV. 考 察

ラットの長指伸筋とヒラメ筋を神経経由の電気刺激とアレイ電極を用いてほぼ全筋を覆うようにして筋電波形を記録し、筋線維伝導速度を測定し

Fig. 3. Schema of example of thirteen myoelectric signals in extensor digitorum longus (EDL) and soleus (SOL).

Table 1. The average values of fiber composition, fiber area and fiber diameter in extensor digitorum longus (EDL) and soleus (SOL) of rats.

	Fiber Composition		Fiber Area (μm^2)		Fiber Diameter μm
	%FT fibers	%FT area fibers	FT fibers	ST fibers	
EDL	94.6 $\pm$ 1.8	97.2 $\pm$ 0.9	2940 $\pm$ 67	1617 $\pm$ 343	62.7 $\pm$ 6.2
SOL	14.8 $\pm$ 4.2	11.5 $\pm$ 5.2	3607 $\pm$ 350	5204 $\pm$ 1119	79.2 $\pm$ 7.8

Values show means $\pm$ S.D. *: $p<0.05$ **: $p<0.01$

EDL : m. Extensor digitorum longus

SOL : m. Soleus

Fig. 4. The average values of conduction velocity in extensor digitorum longus (EDL) and soleus (SOL) of rats.

* indicates significant difference at $p<0.05$.

Fig. 5. The average values of tetanic force in extensor digitorum longus (EDL) and soleus (SOL) of rats.

た。その結果、長指伸筋の速度は、ヒラメ筋に比べて27%速かった ($p<0.05$, 図4)。

筋線維伝導速度は静止時と活動時の膜電位差、比膜容量、比膜抵抗、筋線維の太さに影響されることが示されている^{10,12)}。Yonemura¹⁹⁾はヒラメ筋と長指伸筋の膜電位を測定し、長指伸筋の方がヒラメ筋より静止時の電位は低く、活動時のそれは逆に高いことを示した。活動時と静止時の膜電位差が大きくなるほど筋線維伝導速度が速いことから¹⁰⁾、ヒラメ筋より長指伸筋の方が筋線維伝導速度が速いことが推察される。

ヒラメ筋と長指伸筋の細胞内カリウムイオン濃度は長指伸筋の方が高いことが^{4,19)}、また交叉神経支配実験から細胞内カリウムイオン濃度は運動単位特性に起因することが示されており、FT線維の細胞内外のカリウムイオン濃度勾配がST線維のものより高いことが明らかにされている。Juel⁵⁾はマウスを用いた実験で筋線維伝導速度は、筋線維内と筋線維外のカリウムイオン濃度の違いに影響を受けることを示唆している。

Sadoyama et al.¹⁷⁾は筋線維直径に差がない長距離ランナーとスプリンターの筋線維伝導速度は異なることを示し、筋線維伝導速度は筋線維の太さのみでは説明しきれないことを示唆している。Broman et al.¹⁾は収縮レベルの増大にともない筋線維伝導速度が増加するのは、強度が増すにつれて大きな筋線維直径を持つ運動単位が動員されるためとする報告や、Troni et al.¹⁸⁾の上腕周径か

ら推察される筋線維直径の違いが筋線維伝導速度に影響を及ぼすという報告のように筋線維伝導速度と筋線維の太さの関係については議論が分かれている。本研究では、ラット下肢筋であるヒラメ筋と長指伸筋の筋線維直径は有意にヒラメ筋の方が有意に大きいにもかかわらず ($p < 0.01$), 筋線維伝導速度は長指伸筋の方がヒラメ筋より有意に速いものであった ($p < 0.05$)。

以上のことから、筋線維伝導速度に影響を与える主な要因として、筋線維タイプの違いによることが示唆され、このことから、筋線維伝導速度は筋線維タイプの電気生理学的特性を反映する指標となる可能性が高められた。

V. 総 括

筋線維伝導速度と筋線維タイプの異なる筋の関係を明らかにするために、電気刺激を用いてラットの長指伸筋とヒラメ筋の筋線維伝導速度を測定した。さらに同筋に組織化学的分析を実施し、筋線維組成、筋線維直径を検べた。結果は以下の通りである。

(1) 長指伸筋とヒラメ筋の平均筋線維伝導速度はそれぞれ 2.71 ± 0.50 m/sec, 2.14 ± 0.34 m/sec であり、5%水準で有意に異なるものであった。

(2) 長指伸筋とヒラメ筋の筋線維組成の平均はそれぞれ $94.6 \pm 1.8\%$ FT 線維, $14.8 \pm 4.3\%$ FT 線維であった。

(3) 平均筋線維直径は長指伸筋で 62.7 ± 6.2 μ m, ヒラメ筋で 79.2 ± 7.8 μ m であり、ヒラメ筋の方が有意 ($p < 0.01$) に高値を示した。

以上の結果より筋線維伝導速度は、筋線維組成の違いに起因する可能性が高められた。

謝 辞

本稿を終えるにあたり、懇切丁寧なる御指導を賜りました通商産業省工業技術院製品科学研究所、増田 正氏に深く感謝の意を表します。

(受付 平成2年10月18日)

文 献

- 1) Broman, H., Bilotto, G. and DeLuca, C. J. (1985) : A note on the noninvasive estimation of muscle fiber conduction velocity. *IEEE Trans. Biomed. Eng.*, BME-32, 341-344.
- 2) Fox, E. L. (1979) : *Sports physiology*. Philadelphia, Saunders College Publishing, P 105-107.
- 3) Gerdle, B., Wretling, M. L. and Henriksson-Larsen, K. (1988) : Do the fibre-type proportion and the angular velocity influence the mean power frequency of the electromyogram? *Acta Physiol. Scand.*, 134, 341-346.
- 4) Hanson, J. (1974) : The effects of repetitive stimulation on the action potential and the twitch of rat muscle. *Acta Physiol. Scand.*, 90, 387-400.
- 5) Juel, C. (1988) : Muscle action potential propagation velocity changes during activity. *Muscle & Nerve*, 11, 714-719.
- 6) 勝田 茂 (1974) : ラット骨格筋線維の活動性肥大に関する電子顕微鏡的研究. *体力医学*, 23, 67-76.
- 7) Komi, P. V. and Tesch, P. (1979) : EMG frequency spectrum, muscle structure, and fatigue during dynamic contractions in man. *Eur. J. Appl. Physiol.*, 42, 41-50.
- 8) Kuno, S., Katsuta, S., Inouye, T., Anno, I., Matsumoto, K. and Akisada, M. (1988) : Relationship between MR relaxation time and muscle fiber composition. *Radiology*, 169, 567-568.
- 9) Masuda, T., Miyano, H. and Sadoyama, T. (1982) : The measurement of muscle fibre conduction velocity using a gradient threshold zero-crossing method. *IEEE Trans. Biomed. Eng.*, BME-29, 673-678.
- 10) 三木威勇治, 時実利彦編 (1967) : 筋電図入門, 3版. 東京, 南山堂, p 18-19.
- 11) 宮田浩文, 佐渡山亜兵, 勝田 茂 (1985) : 等尺性収縮における外側広筋の筋電位伝導速度—その筋線維組成との関連—. *体力科学*, 34, 231-238.
- 12) Morimoto, S. and Masuda, M. (1984) : Dependence of conduction velocity on spike interval during voluntary muscular contraction in human motor units. *Eur. J. Appl. Physiol.*, 53, 191-195.
- 13) Moritani, T., Gaffney, F. D., Carmichael, T. and

- Hargis, J. (1985) : Interrelationships among muscle fiber types, electromyogram, and blood pressure during fatiguing isometric contraction. *Bio-mechanics*, **9**, 287-292.
- 14) Moritani, T., Nagata, A and Muro, M. (1982) : Electromyographic manifestations of muscular fatigue. *Med. Sci. Sports Exercise*, **14**, 198-202.
 - 15) Nishizono, H., Kurata, H. and Miyashita, M. (1989) : Muscle fiber conduction velocity related to stimulation rate. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.*, **72**, 529-534.
 - 16) Sadoyama, T., Masuda, T. and Miyano, H. (1985) : Optimal conditions for the measurement of muscle fibre conduction velocity using surface electrode arrays. *Med. Biol. Eng. Comput.*, **23**, 339-342.
 - 17) Sadoyama, T., Masuda, T., Miyata, H. and Katsuta, S. (1988) : Fibre conduction velocity and fibre composition in human vastus lateralis. *Eur. J. Appl. Physiol.*, **57**, 767-771.
 - 18) Troni, W., Cantello, R. and Rainero, I. (1983) : Conduction velocity along human muscle fibers in situ. *Neurology*, **33**, 1453-1459.
 - 19) Yonemura, K. (1967) : Resting and action potentials in red and white muscle of the rat. *Jpn. J. Physiol.*, **17**, 708-719.