電気刺激によるニジマス体側筋の等尺性単収縮

内田 和男・難波 憲二・村地 四郎

(1985 年 1 月 10 日受理)

Isometric Twitch of Rainbow Trout *Salmo gairdneri* Lateral Musculature Evoked by Electrical StimulationKazuo UCHIDA,*¹ Kenji NANBA,*² and Shiro MURACHI*²

Isometric twitch of lateral musculature by electrical stimulation was examined using rainbow trout *Salmo gairdneri* 105–365 g in weight. Fish were restrained on an experimental apparatus, and perfused through the mouth with oxygenated fresh water. The suitable electrode positions at which electrical stimulation evoked a maximal twitch tension and a normal tail beat were selected: an anode and a cathode were inserted directly into the muscle or placed on the body surface, at the lateral line between the posterior limit of the operculum and the anterior limit of the base of the dorsal fin, respectively. The twitch tension increased with the elevation in stimulating voltage to a maximum at around 10–30 V by 2 ms square pulse using surface electrodes, and at around 4–20 V by 3 ms square pulse and at around 5–35 V by 0.005 ms square pulse using needle electrodes, and maintained approximately maximum at a stimulating voltage of up to at least 50 V. Therefore, the supramaximal stimulation has been shown to be applicable to development of a maximal twitch tension.

魚類体側筋の収縮力に関する従来の研究は主として魚体から摘出された筋を材料としたものであり,^{1,2)} 筋を摘出せず自然位で収縮力を測定した報告はほとんど見当たらない。一方、魚類の遊泳運動は体側筋の律動的収縮に基づくものであるから、体側筋の収縮力を遊泳運動との関連において検討する場合には、どうしても自然位での解析が必要である。

魚類の体側筋は中脳,³⁾ 脊髄,⁴⁾ あるいはマウスナー細胞⁵⁾ などに電気刺激を加えても収縮することが知られているが、本研究では装着が最も容易で魚体の損傷も少ないという利点がある、体側筋を電気刺激する方法を採った。この方法はコイ⁶⁾ や *Macrozoarces americanus*⁷⁾ の筋収縮運動に伴う代謝産物を研究する際に既に用いられているが、これ等の研究では電気刺激の条件と体側筋の収縮状態との関係についての検討が充分になされていない。そこで本研究では、魚の体側筋に加える電気刺激の諸条件が体側筋の単収縮に及ぼす影響を与えるかということについて検討した。

実験方法

実験魚にはニジマス *Salmo gairdneri* (体重 105～365 g) を用いた。実験期間中の飼育水の温度は 6.8～

8.9°C、室温は 7～10°C であった。

電気刺激のための刺激電極には、直径 0.5 mm の銀-塩化銀線の先端部を 2～3 cm 露出させた針電極か、あるいは直径 1 cm の銀製の円板である表面電極を使用した。

針電極は電極の先端から 1～1.5 cm の部分が体側筋内の刺激部位に位置するように挿入し、さらに体外に出ている電極部分以外の銀-塩化銀線を布で包み、電極の魚体への固定を確実にした。

表面電極の場合、二個の円板型の電極を電極間の距離が 3～5 cm になるように調節して木片にとりつけ、次にこれらの電極を木片ごと体表面に密着させた。表面電極を体表面に確実に固定するために、木片部を接着剤で体表面に接着させ、さらにその上から布で電極と木片を魚体に巻きつけた。

実験魚の筋張力測定装置への取付けは Fig. 1 に示すように、刺激電極を装着した魚の鰓蓋後縁から背鰭の基底後端までを鉛板のわくで固定し、尾柄部を二本のナイロン糸で結び、一方を張力トランスデューサ (日本光電 TB-612T) に、他方を固定棒に接続して行った。

実験魚の口腔内に清水を灌流しながら電気刺激を加えて体側筋を収縮させ、尾部を振動 (tail beat) させた。

*¹ 東京大学海洋研究所 (Ocean Research Institute, University of Tokyo, Nakano, Tokyo 164, Japan).

*² 広島大学生物生産学部 (Faculty of Applied Biological Science, Hiroshima University, Fukuyama 720, Japan).

Fig. 1. The experimental arrangement showing the measurement of isometric twitch tension of lateral musculature during a tail beat. The contraction was evoked by electrical stimulation.

この時の体側筋の等尺性単収縮張力は張力トランスデューサを歪圧力用ブリアンプ（日本光電 AP-300G）に接続してインク書記録器（日本光電 PMP-3002）で記録した張力曲線から読み取った。

電気刺激には電気刺激装置（日本光電 S-7272A）による矩形波刺激を用いた。

筋張力が最大となる刺激部位を選定するために、5本の針電極を電極の先端から1~1.5 cmの部分が各々、魚の側線直下に位置するように背側から体側筋に挿入し（Fig. 2）、これらの針電極のうちから一対を順次選択して組合せ、単発刺激を加えて筋張力を測定した。

Fig. 2. Positions of electrodes through which electrical stimulation was applied. The rostral electrode and the caudal electrode were connected to the anode (+) and the cathode (-) of the stimulator, respectively. The numbers of the positions at which stimulation evoked the maximal tension are 4 for the cathode and 1 or 2 for the anode.

刺激電圧と筋張力の関係を調べるために、表面電極を用いる場合には刺激パルス幅を3 ms、針電極を用いる場合には同一個体に対し刺激パルス幅を0.005 msと3 msに固定し、それぞれ電圧のみを変化させた単発刺激を30秒以上の間隔をおいて加え、筋張力を測定した。

また、同一個体に表面電極と針電極の両方の電極を装着し、それぞれの電極による刺激で記録された最大筋張力に基づいて両電極の刺激効果を比較する実験も行なった。

電気刺激による体側筋への刺激効果が直接刺激と間接刺激のいずれによるものかを知るためには、体重1 kg 当り1 mlのgallamine triethiodide (3 mg/ml)を体側筋に注射し、単発の超最大刺激を0.2 Hzで加え、筋張力を連続的に測定した。

結 果

体側表面の種々の部位に表面電極を用いて単発刺激を加えた結果、側線上を体軸方向に刺激した場合にのみ、体側筋の単収縮による尾部の運動方向は魚体の左右方向に限定されることを確めた。その際、刺激電極の陰極を魚体の後部に、陽極を前部に置いた。この極性を逆転させると頭部への刺激効果が大きく、鰓蓋が刺激に応じて開くことなどから、刺激方向としては不適当であった。

Fig. 2に示した5部位の電極一対ずつの組合せによる刺激実験の結果はTable 1に示す通りであり、筋の張力が高い値を示すのは、刺激電極の陰極が背鰭基底部の後端に、陽極が背鰭基底部の前端から鰓蓋後縁との間に、それぞれ位置するときであった。したがってこれから後の実験では、これらの部位に刺激を加えた。

筋の単収縮張力は表面電極を用いた場合（Fig. 3）も

Table 1. Twitch tensions evoked by electrical stimulations at different positions of stimulating needle electrodes as shown in Fig. 2. (Stimulating voltage 10V, pulse duration 3 ms)

Electrode Position		Tension (g)
Anode (+)	Cathode (-)	
1	2	162
1	3	175
1	4	210
1	5	188
2	3	166
2	4	202
2	5	187
3	4	195
3	5	178
4	5	168

針電極を用いた場合 (Fig. 4) も刺激電圧を高めると増大した。単収縮張力が最大となる刺激電圧は、表面電極の場合、刺激パルス幅 3 ms で約 10~30 V 以上、針電極の場合、刺激パルス幅 3 ms では約 4~20 V 以上、刺激パルス幅 0.005 ms では約 5~35 V 以上であり、同じ種類の刺激電極で同じ刺激パルス幅を用いても個体差が認められた。しかし、いずれの実験魚の場合でも、刺激電圧がある値以上になると単収縮張力は増大しなくなり、ほぼ一定の値を示したので超最大刺激 (supramaximal stimulation) を設定することもできた。

同一個体に表面電極と針電極の両方を用いて、それぞれ電気刺激を加える実験を 2 尾の魚について行った結果を Table 2 に示した。それぞれの魚の最大単収縮張力は表面電極では 123 g と 410 g であり、針電極では 125 g と 404 g であった。これらの結果から、表面電極と針電極との間にはほとんど刺激効果の差がないと言えよう。

Fig. 3. Relationship between isometric twitch tensions in lateral musculature of five rainbow trout and stimulating voltage by 3 ms pulse duration with surface electrodes.

Fig. 4. Relationships between isometric twitch tensions in lateral musculature of five rainbow trout and stimulating voltage by 0.005 ms (upper trace) and 3 ms (lower trace) pulse duration with needle electrodes. Symbols in upper and lower traces denote different individuals.

Table 2. Maximal twitch tension evoked by electrical stimulation with surface electrodes or needle electrodes (pulse duration 3 ms).

Fish No.	BW (g)	Surface Electrodes		Needle Electrodes	
		Tension (g)	Voltage (V)	Tension (g)	Voltage (V)
1	205	123	50	125	20
2	205	410	50	404	12

Table 3. Maximal isometric twitch tensions in different individuals.

Fish No.	BW (g)	Stimulus		
		Pulse duration (ms)	Voltage (V)	Tension (g)
1	365	0.005	50	225
2	215	3	40	307
3	235	3	20	588
4	275	0.005	5	460
5	285	3	40	450
6	262	3	35	482
7	250	3	60	265
8	220	3	50	263
9	160	3	100	385
10	205	3	50	250

Fish No. 1-5; Stimulated through needle electrodes.

Fish No. 6-10; Stimulated through surface electrodes.

Table 2 及び Table 3 の結果からも明らかなように、最大単収縮張力には 123 g から 588 g までの個体差が認められた。この差異は魚体の大小の差によるものではなく、実験魚を固定わくに固定する部位が体重 200 g 以

Fig. 5. Effect of Gallamine (3 mg/kg fish) on isometric twitch tension in lateral musculature of rainbow trout. Twitches were evoked by the supramaximal stimulation at 0.2 Hz. The arrow indicates Gallamine injection.

○: Fish injected with Gallamine, ●: Control fish.

上の魚では個体ごとに異なってしまったためである。したがって筋張力の測定値を個体間で比較検討することは、ここでは行わなかった。

gallamine triethiodide を注射した魚の筋張力は、注射後約 8 分から急激に低下し始め、23 分後にはほとんど測定されなくなった。gallamine triethiodide を注射しなかった魚の筋張力も刺激を加え続けると徐々に低下したが、30 分後（収縮積算回数 360 回）においても開始直後の値の約 30% 程度の筋張力を示した (Fig. 5)。

考 察

本研究で選定した、電気刺激を側線上の体軸方向に加えるという刺激方法は、尾部の運動方向が魚体の左右方向に限られ、しかも刺激を加えた側の体側筋全体が強く収縮するという条件をほぼ満足させるので tail beat の誘発を必要とする実験に適している。

刺激電圧を高めるにしたがい、ニジマス体側筋の張力は増大した。この筋張力の増大は各筋節における筋線維の収縮する数、すなわち神経筋単位の動員数の増加と、個々の筋線維の収縮力の増大の両者によるものであろう。何故ならば、本研究の単発の電気刺激による筋収縮の場合には、収縮力が運動神経のインパルス発射頻度によって調節されることがないからである。

神経筋単位の動員数が変化することは、遊泳中の魚の血合筋と普通筋が遊泳速度に応じて使い分けられていることや、^{1,8,9)} 多重神経支配を受けているニジマスの普通筋が sustained swimming をしている場合にも働いている⁹⁾ ことなどからも推測されている。

一方、個々の筋線維の収縮力が変化することは、血合

筋についてその可能性が考えられている。¹⁾ また *Cottus scorpius* の多重神経支配を受けている普通筋の筋線維では、伝導性の活動電位と段階的に大きさの変化する接合部電位の両者が刺激強度に応じて発生すると報告されているので、¹⁰⁾ これら二種類の電気的応答に対応して、単収縮と局所的な収縮の両者がなされる可能性がある。したがって後者の場合には普通筋の筋線維の収縮力も段階的に変化することも考えられる。

gallamine triethiodide を注射した魚の筋張力が 23 分後にはほとんど測定されなくなったことは、gallamine が神経筋接合部の興奮伝達を遮断したために筋収縮が阻害されたことを示し、⁹⁾ 針電極による体側筋への刺激が主として間接刺激（神経刺激）であることを意味する。また、体側筋に対する刺激効果が針電極とはほぼ等しかったことから、表面電極による経皮的な体側筋への刺激も間接刺激であろうと類推された。

一般に間接刺激は直接刺激よりも大きな筋群を刺激することができるという。¹¹⁾ また、本研究では超最大刺激強度の設定が可能であったことから、本研究で得られた体側筋の等尺性単収縮張力は、刺激を加えた側の体側筋のほぼ全体に由来するものであろうと考えられた。

文 献

- 1) Q. BONE: In "Fish Physiology" (ed. by W. S. HOAR and D. J. RANDALL), Vol. 7, Academic Press, New York, 1978, pp. 361-424.
- 2) I. A. JOHNSTON: In "Vertebrate Locomotion" (ed. by M. H. DAY), Academic Press, New York, 1981, pp. 71-113.
- 3) S. M. KASHIN, R. W. BRILL, W. N. IKEHARA, and A. E. DIZON: *J. Exp. Zool.* **216**, 327-329 (1981).
- 4) J. GRAY: *J. Exp. Biol.* **8**, 170-180 (1936).
- 5) E. ALJURE, J. W. DAY, and M. V. L. BENNETT: *Brain Research*, **188**, 261-268 (1980).
- 6) C. WITTENBERGER and I. V. DIAUC: *J. Fish. Res. Bd. Canada*, **22**, 1397-1406 (1965).
- 7) W. R. DRIEDZIC, G. MCGUIRE, and M. HATHEWAY: *J. Comp. Physiol. B* **141**, 425-432 (1981).
- 8) D. COLQUHOUN and R. E. SHERIDAN: *Proc. R. Soc. Lond. B*, **211**, 181-203 (1981).
- 9) R. C. L. HUDSON: *J. Exp. Biol.* **58**, 509-522 (1973).
- 10) R. C. L. HUDSON: *J. Exp. Biol.* **50**, 47-67 (1969).
- 11) 矢部京之助: 人体筋出力の生理的限界と心理的限界, 杏林書院, 東京, 1977, pp. 45-63.