

13) 家兎外肛門括約筋の組織化学的研究

豊倉 康夫*

研究協力者 葛原 茂樹**

はじめに

全身性の筋萎縮を主徴とする疾患の代表的なものとして、進行性筋ジストロフィー症(DMP)と運動ニューロン疾患(MND)があるが、この両者に共通した特徴として筋病変の部位の選択性の存在があげられる。すなわち、例外的に存在する特殊な型のみオパチーを除けば、DMPやMNDでは、全身の横紋筋が強度の萎縮に陥る末期においても、尿道と肛門の外括約筋、および外眼筋は普通、障害を免れる。

この、病気に対する抵抗性のちがいが、筋肉そのものの性質のちがいに由来するのか、それとも神経支配のちがいに由来するのか、それ以外の要因によって規定されているのかは、未だ明らかでない。この問題を解く1つの方法として、我々は家兎を用いて、外肛門括約筋と四肢筋との間に、酵素組織化学的性質にちがいがどうかを検討した。

材料と方法

実験動物には、体重2500g以上の雄の成熟家兎4羽を用いた。過量のエーテルを吸入させて屠殺した後、外肛門括約筋 external anal sphincter muscle (EAS)、赤筋としてヒラメ筋 soleus (SOL)、白筋として長趾伸筋 extensor digitorum longus (EDL) を採取

した。これらの3筋を互に平行になるようにくっつけて1塊となし、液体窒素で -160°C に冷却したイソペンタン中で瞬間凍結した後、クリオスタットで $10-15\mu$ の横断面連続切片を作製した。これに、以下の組織化学的反応を行った。

1) ATPase 染色 (Khan 法)¹⁻³⁾: 標準法 (pH 9.4)、および変法 (酢酸緩衝液中で preincubation したもの、pH 4.5で10分および pH 4.3で5分)。2) NADH-tetrazolium reductase 反応。3) phosphorylase 反応。4) PAS 反応。5) cholinesterase 反応 (Koelle 法)。

結 果

同一スライドガラス上で同時に反応させた上記3筋の巨視的所見を、図1に示した。

まず ATPase 反応は、pH 9.4では EAS は SOL と EDL の中間にあるが、pH 4.5および pH 4.3で preincubation すると速やかに活性が抑制される。殆ど活性の変わらない EDL や、次第に活性が上昇してゆく SOL とは対照的である (図1の ABC)。NADH-TR 活性もやはり SOL と EDL の中間にある (図1の D) が、phosphorylase 反応と PAS 反応では、EDL と EAS は共に活性が強く、SOL では弱かった (図1の EF)。

巨視的レベルでこのように表われた3筋の間の差が、光顕レベルでは筋線維のどのような相違に基づくものであるかを、表1、表2

* 東京大学医学部脳研神経内科

** 筑波大学臨床医学系神経内科

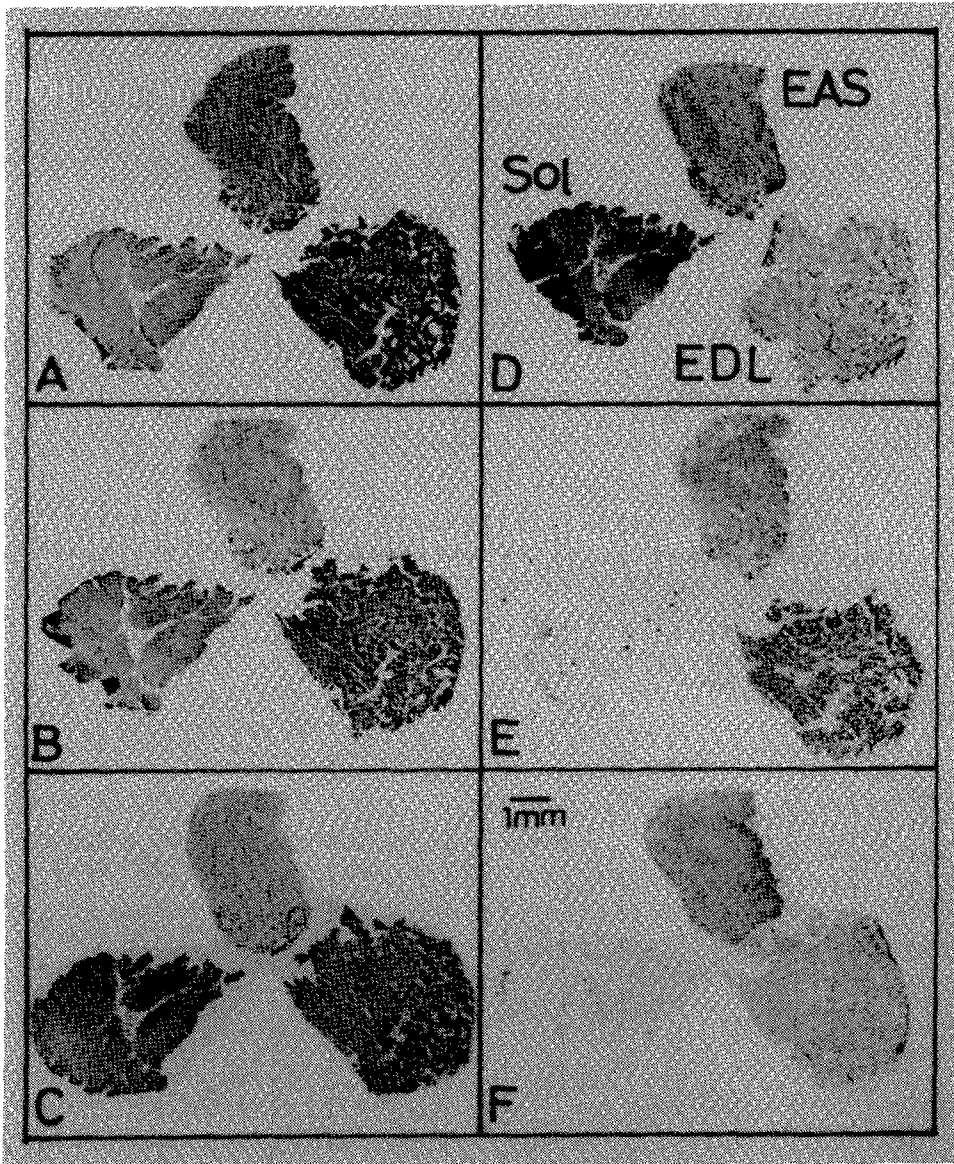


図1 連続切片による3筋の組織化学反応の比較

EAS : 外肛門括約筋, SOL : ヒラメ筋,

EDL : 長趾伸筋

A) ATP ase (pH 9.4)

B) ATP ase (pH 4.5で10分間 preincubation)

C) ATP ase (pH 4.3で5分間 preincubation)

D) NADH-TR 反応 E) フォスフォリラーゼ

反応 F) PAS 反応

表1 Histochemical staining characteristics of each fiber type in extensor digitorum longus (EDL), soleus (SOL) and external anal sphincter (EAS)

Fiber Type of Each Muscle	slow-twitch intermediate		fast-twitch red		fast-twitch white	
	EDL SOL	EAS	EDL	EAS	EDL SOL	EAS
ATPase (pH 9.4) Standard	+	+	+++	+++	++++	++++
Acid preincubation at pH 4.5	++	++	++	++	++++	++++
pH 4.3	++~+++	++~+++	+	+	++	++~+++
Phosphorylase	+	+	+++	++++	+++	++++
PAS	+	+	+++	++++	+++	++++
NADH-TR	+++	+++	++	++	+	+

Grade of activity : (+) low, (++) intermediate, (+++, +++++) high

表2 Comparison of the fiber type ratio (A) and fiber diameter (B) among SOL, EDL and EAS

A. Fiber Type Ratio (%)	slow-twitch intermediate	fast-twitch red	fast-twitch white
	SOL	99.5 ± 1.9	
EDL	7.5 ± 4.3	21.7 ± 0.7	70.8 ± 4.2
EAS	0.4 ± 0.6	61.3 ± 4.4	38.3 ± 4.4
B. Fiber Diameter (μ)	SOL	55.1 ± 9.9	—
	EDL	41.9 ± 7.2	43.0 ± 6.6
EAS	—	24.6 ± 2.1	26.0 ± 3.5

* Values are means ± SD of two hundreds or more fibers with each muscle in each of four rabbits.

に示した。家兎の四肢筋は、fast-twitch white, fast-twitch red, slow-twitch intermediate という3種類の fiber type で構成されているが⁴⁻⁶⁾、EASにもこの3種類の fiber type が存在しており、それぞれの組織化学的性質は、対応する四肢筋の各々の fiber type のそれとほぼ一致しており、EASだけに特有な fiber type は認められなかった。しかし、各々の fiber type の構成比率は3筋の間で大きく異なっており、fast-twitch white, fast-twitch red, slow-twitch intermediate の比は、EASでは38.3% : 61.3% : 0.6%、EDLでは70.8% : 21.7% : 7.5%であり、SOLではほぼ100%がslow-

twitch intermediate であった(表2A)。また、筋線維の直径は、EASでは他の2筋の1/2~2/3と小さかった(表2B)。

運動終板は、EASにおいてもEDL、SOLと同様に cholinesterase 反応によって示されたが、その大きさはSOLやEDLのそれよりもやや小さく、分布密度はSOLやEDLよりもかなり高いように見えた。

考 察

哺乳動物の四肢筋においては、基本的には3種類の fiber type が存在し、組織化学的性質と生化学的および生理学的な性質の間には密接な相関があることが、Peterとそ

の一門によって明らかにされた⁴⁻⁶⁾。しかし、四肢筋以外には、外眼筋や錘内筋線維⁷⁾、咬筋⁸⁾などにおいて、四肢筋とは異った **fiber type** が見出されている。

また、杉田ら⁹⁾は最近、家兎の EAS を生化学的に分析し、EDL (いわゆる白筋) や SOL (いわゆる赤筋) と比較した結果、EAS は多くの性質が白筋に似るが、一部は赤筋に似た性質もあることを見出し、生化学的には白筋、赤筋のいずれにも属さない新しいタイプの筋である可能性を示唆した。

今回の実験の結果からは、EAS を構成する **fiber type** は、四肢筋のそれと、組織化学的には本質的な差は認められず、新しい **fiber type** も認められなかった。

しかし、その **fiber type** の構成比率をみると、EAS では **fast-twitch red fiber** が60% 以上を占め、**fast-twitch white fiber** で構成されるいわゆる白筋や、**slow-twitch intermediate fiber** から成るいわゆる赤筋とは異っていた。Peter ら^{4,6)}によって、**fast-twitch red fiber** と **fast-twitch white fiber** は、生化学的性質と生理学的性質に共通点が多いことが明らかにされているので、上述した杉田ら⁹⁾の生化学的成績と、我々が明らかにした組織化学的成績とは矛盾するものではないと考えられる。

EAS の神経・筋伝達物質は、運動終板が **cholinesterase** によって明瞭に示されることから、他の横紋筋と同じく **acetylcholine** であると推定される。

以上のごとく、家兎に関しては、外肛門括約筋と四肢筋の組織化学的性質には、**fiber type** の構成比には大きな相違があったが、各々の **fiber type** の性質や、神経・筋伝達物質には本質的な差異はないと考えられた。

従って、ヒトの DMP や MND における病変選択性との関連で考えた場合、病変部位だけでなく、各々の部位での **fiber type** レベルでの病変選択性の有無、およびヒトの外肛門括約筋や外眼筋の組織化学的性質が四肢筋

と同じかどうかを、今後、正常例および疾患例について明らかにしてゆくことが必要であろうと考える。

文 献

- 1) Khan MA, Papadimitriou JM, Holt PG and Kakulas BA : A calcium-citro-phosphate technique for the histochemical localization of myosin ATPase. *Stain Technology* 47 : 277, 1972.
- 2) Khan MA, Papadimitriou JM, Holt PG and Kakulas BA : Further histochemical properties of rabbit skeletal muscle fibers. *Histochemie* 36 : 173, 1973.
- 3) Khan MA, Papadimitriou JM and Kakulas BA : The effect of temperature on the pH stability of myosin ATPase as demonstrated histochemically. *Histochemistry* 38 : 181, 1974.
- 4) Barnard RJ, Edgerton VR, Furukawa T and Peter JB : Histochemical, biochemical, and contractile properties of red, white, and intermediate fibers. *Am J Physiol.* 220 : 410, 1971.
- 5) Peter JB, Sawaki S, Barnard RJ, Edgerton VR and Gillespie CA : Lactate dehydrogenase isoenzymes: distribution in fast-twitch red, fast-twitch white, and slow-twitch intermediate fibers of guinea pig skeletal muscle. *Arch Biochem Biophys.* 144 : 304, 1971.
- 6) Peter JB, Barnard RJ, Edgerton VR, Gillespie CA and Stempel KE : Metabolic profiles of three fiber types of skeletal muscle in guinea pigs and rabbits. *Biochemistry* 11 : 2627, 1972.
- 7) Yellin H : Unique intrafusal and extraocular muscle fibers exhibit dual actomyosin ATPase

- activity. *Exp Neurol.* 25 : 153, 1969.
- 8) Schiaffino S : Histochemical enzyme profile of the masseter muscle in different mammalian species. *Anat Rec* 180 : 53, 1974.
- 9) Sugita H, Shimizu T and Toyokura Y: Biochemical studies of the external anal sphincter muscle of the rabbit. *Exp Neurol.* 55 : 102, 1977.

↓ 検索用テキスト OCR(光学的文字認識)ソフト使用 ↓
論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります

はじめに

全身性の筋萎縮を主徴とする疾患の代表的なものとして、進行性筋ジストロフィー症(DMP)と運動ニューロン疾患、(MND)があるが、この両者に共通した特徴として筋病変の部位の選択性の存在があげられる。すなわち、例外的に存在する特殊な型のみオパチーを除けば、DMP や MND では、全身の横紋筋が強度の萎縮に陥る末期においても、尿道と肛門の外括約筋、および外眼筋は普通、障害を免れる。