

ラット大腿直筋の各種筋線維に対する Lincomycin の影響

— 組織化学的研究 —

八 木 直 美

札幌医科大学生理学第1講座 (主任 永井寅男教授)

水 口 守

札幌医科大学整形外科科学講座 (主任 河邨文一郎教授)

松 島 達 明

琴似協立診療所 (所長 松島達明)
札幌医師会 副会長

Effect of Lincomycin on the Red, White and Intermediate Fibers in Rat Rectus Femoris Muscle

— Histochemical Study —

Naomi YAGI

Department of Physiology (Section 1), Sapporo Medical College
(Chief: Prof. T. Nagai)

Mamoru MIZUGUCHI

Department of Orthopedics, Sapporo Medical College
(Chief: Prof. B. Kawamura)

Tatsuaki MATSUSHIMA

Kotoni Kyoritsu Clinic (Chief: T. Matsushima)
Vice-President of Sapporo Medical Association

Summary

In order to clarify the mechanism by which a contracture occurs following injections of various drugs in M. rectus femoris or M. deltoideus of human beings, the effect of lincomycin on the activity of succinic dehydrogenase (SDH) and phosphorylase (PhR) in rat rectus femoris muscle was studied histochemically. The following results were obtained.

1) It was demonstrated that rat rectus femoris muscle is composed of three types of fibers; red, white and intermediate fibers. White fibers predominate in the superficial portion of this muscle and red and intermediate fibers are located in the deeper portion. The diameter of three types of fibers was larger in the order of white>intermediate>red fibers. Moreover, in the cross-section of individual fibers, reticular structure (network) was observed by SDH and PhR staining.

2) One hour after injection of 65~650 mM lincomycin, SDH activity in individual fibers tended to increase. The degree of the increase was greater in the order of red \geq white>intermediate fibers. On the other hand, PhR activity was markedly inhibited by 65~650 mM lincomycin. The degree of the inhibition was greater in the order of white>red>intermediate fibers. Furthermore, the short diameter of individual fibers was increased by the drug and as a result the cross-section of the fibers took on an almost round appearance. This change was marked in the order of white>red>intermediate fibers. The intercellular space was markedly enlarged and thus each fiber tended to be separated. The destruction of the internal structure of fibers and the irregularity of the network were outstandingly prominent in white fibers, while the internal structure of the intermediate fibers remained relatively normal.

3) The structural changes mentioned above were found to be more marked 4 and 6 hours after injection of lincomycin. Three days after injection, atrophy, degeneration and necrosis were markedly

observed in the individual fibers.

From these results, it was histochemically induced that lincomycin affects the oxidative and glycolytic metabolism of the individual fibers, although there is a difference of the lincomycin effect between the three types of fibers, and that the drug also affects the form and the internal structure of the muscle fibers and the connective tissue surrounding the fibers.

結 論

最近、諸種の治療用薬剤の筋肉内注射により、大腿四頭筋および三角筋などに拘縮が起り、後遺症として上肢あるいは下肢の運動障害をきたすため、臨床的にとくに小児科の領域でこれが問題にされている。これまでに動物実験において、薬物注射後の筋の病理学的変化を証明する2〜3の報告^{1,2)}もあるが、本症の発現機序の詳細については現在なお明らかにされていない。

そこで、このような拘縮症をもたらす各種薬物のうち lincomycin を選び、その筋組織に対する作用機序を明らかにする目的で、ラットの M. rectus femoris に含まれる赤筋、白筋および中間型線維の代謝系酵素、形態ならびに内部構造に対する lincomycin の作用を組織化学的に検討した。

実験材料ならびに方法

1. 材 料

体重 200〜300 g の雄または雌の Wistar 系ラットの大腿直筋 (M. rectus femoris 以下 rectus femoris) を用いた。

2. 使用薬物

感染症に頻用される抗生物質の中から、従来、筋拘縮症と関連して問題にされている lincomycin hydrochloride (以下 lincomycin) を選び、これを用いた。

3. 薬物の投与法

通常、臨床的に使用されている濃度 (300 mg/ml) を原液とし、その3および10倍希釈液 (蒸留水による) を調製した。これら溶液の濃度はそれぞれ 65 mM (10倍希釈液)、217 mM (3倍) および 650 mM (原液) であり、pH は 4.9〜5.1 であった。薬物投与に当り、これらの液の 0.1 ml をそれぞれ後肢大腿部の後面より rectus femoris—中間広筋 (M. vastus intermedius) の上層に在る一内に注射した。

また control として lincomycin と同じ pH (約 5.0) の histidine-HCl 緩衝液ならびに 0.9% 生理的食塩水の注射も行なった。

4. 凍結切片の作製

薬物注射後のラットについて、エーテル麻酔下で注射部位を中心にほぼ 10×12×3 mm の小肉片を切り出し、これを直ちにアセトン・ドライアイスで凍結し、これをさら

に −20°C のクリオスタットへ移した。ついで、この凍結筋からマイクロームにより厚さ約 10 μm の横断切片を作製し、これをスライドガラス上にとり、60〜120 分間室温下で乾燥させた。

5. 組織化学的検索法

1) Succinic dehydrogenase (SDH) 活性

SDH の証明法は Nachlas *et al.*³⁾ にしたがった。すなわち、前記の切片を Nachlas *et al.*³⁾ の基質反応液中で 37°C 下に 15〜20 分間 incubate し、10% の中性ホルマリン溶液で固定したのちグリセリン・ゼラチン液で封入後、検鏡した。

2) Phosphorylase (PhR) 活性

PhR の証明法は Takeuchi and Kuriaki⁴⁾ の方法にしたがい、ヨード反応によった。すなわち、切片を基質混合液中で 37°C 下に約 60 分間 incubate し、その後 Gram 原液の 10 倍希釈液に 2〜3 分間浸漬したものを直ちにヨード・グリセリンで封入し、検鏡した。

対照標本として、基質混合液から glucose-1-phosphate を除去したものをを用い、同様の操作を行なった。

なお、組織化学的に示される PhR 活性の種々の色調については、α-1,4-polyglucose の直鎖の分子数が多いほど PhR 活性が高く青紫色を呈し、分子数が少なくなるにつれて赤紫〜褐色ないし無色になるとされている⁵⁾。本実験でも活性の強弱はこの判定規準にしたがった。また、PhR 染色で染色された各筋線維の種類は、同じ連続切片について行なわれた SDH 染色により同定した。

6. 形態的变化

白筋、赤筋および中間型線維の太さおよび横断面の形のほか、内部構造などにも注目した。太さ (直径) の測定は北⁶⁾の方法に準じ、長径と短径の平均値で表わした。

7. 試 薬

lincomycin hydrochloride (Lincocin, Upjohn), Nitro-BT (Sigma 社), adenosin-5'-monophosphate (和光純薬), glycogen (和光純薬) および α-D-glucose-1-phosphate 2 K salt (半井化学) を使用し、その他の試薬はすべて市販特級製品を用いた。

実 験 成 績

1. 対照実験

1. 染 色 性

1) SDH 活性

正常の rectus femoris につき組織化学的検討を行ない Photo. 1 に示すような成績を得た。これは数例の実験のうちの代表的なものである。Photo. 1 において SDH 活性が最も高く組織標本の上で紫青色に濃染している線維は、従来の分類⁷⁻¹³⁾にしたがえば酸化的酵素活性が高い赤筋線維 (red fiber; R) であり、活性が最も低いため明るく見える線維は酸化的酵素活性が低い白筋線維 (white fiber; W), さらに両者の中間の活性を示すのは中間型線維 (intermediate fiber; I) であるとみなされている。これより, rectus femoris は以上の 3 種類の筋線維からなる混合筋であることが示された。

つぎに以上の実験で得られた成績にもとづき, rectus femoris における各種筋線維の分布状態とその割合を検討した。本実験では rectus femoris の起始部と停止部の中間の部位を用いたが, ここにおける筋線維の割合は, 表層部では赤筋線維が 19%, 白筋線維が 66% および中間型線維が 15% であり, 深層部ではそれぞれ 36%, 31% および 33% であった。以上の成績は従来ラットの rectus femoris に関する報告がほとんど行なわれていないため直接比較できないが, ラットの他の下肢筋についての成績¹⁴⁾ とほぼ一致する。

2) PhR 活性

Rectus femoris を構成する筋線維は PhR 活性によっても 3 種類に分類された (Photo. 2)。連続切片において SDH 活性が低く白筋線維とみなされたものは PhR 活性が青～青紫色に染まり, また SDH 活性が最も高く赤筋線維とみなされたものは PhR 活性が低く赤紫～淡紅色に染

まり, さらに SDH 活性がこれらの中間を示していた中間型線維は PhR 活性についても白筋および赤筋線維の中間を示し青紫～赤紫色を呈した。またそれぞれの筋線維の割合は SDH 活性によるものと一致した。

なお, glucose-1-phosphate を除いた対照実験から, PhR 活性がない場合, 各筋線維はヨード色のみを呈することを確認した。

2. 形 態

1) 各筋線維の太さ (直径)

以上 3 筋に含まれる各種筋線維の直径を測り Table 1 に示した。白筋線維の直径が最も大きく 89 (75~100) μm , 次いで中間型線維が 68 (55~85) μm , 最も小さいのが赤筋線維で 50 (35~65) μm であった。また, これら筋線維の横断面の形は三角形ないし多角形であった (Photos. 1, 2, 5-A, 6-A, 7-A および 8)。

2) 内部構造

Photo. 1 および Photo. 2 に示されるように, 赤筋, 白筋ならびに中間型線維の内部には reticular structure (network) が認められた。SDH 活性に関し (Photo. 1), 赤筋線維の内部では SDH 活性の非常に高い紐状の部分が不規則に交差して細かい network を形成し, またこの交差した部分には活性の高い diformazan 顆粒が認められた。この diformazan 顆粒は線維の周辺部により多く存在し, かつ大きかった。したがって, SDH 活性は周辺部できわめて高かった (Photos. 5-A, 6-A および 8 参照)。なお, この network で囲まれた小区画は myofibrils の存在を反映するものとみなされている¹⁵⁾。一方, 白筋線維ではこの network は赤筋線維のそれに比べ著しく淡染し, か

Table 1 Diameter of individual fibers

diameter (μm)	Control muscle			
	long	short	$\frac{\text{long} + \text{short}}{2}$	$\frac{\text{short}^*}{\text{long}}$
red fiber	61 (40-90)	38 (20-60)	50 (35-65)	0.62
white fiber	112 (90-140)	66 (50-90)	89 (75-100)	0.59
intermediate fiber	83 (60-110)	54 (30-70)	68 (55-85)	0.66
diameter (μm)	Lincomycin-injected muscle			
	long	short	$\frac{\text{long} + \text{short}}{2}$	$\frac{\text{short}^*}{\text{long}}$
red fiber	62 (40-100)	50 (30-70)	56 (35-80)	0.79
white fiber	101 (70-130)	82 (60-110)	92 (70-115)	0.82
intermediate fiber	80 (70-110)	59 (40-90)	70 (55-90)	0.74

The diameter of different fiber types was numbered on 50 fibers each.

Two numbers in parenthesis represent minimum and maximum diameter, respectively.

*: ratio of short to long average diameter.

つ network も細い線状を呈した。また, diformazan 顆粒も赤筋線維に比べて小さく, 均一に散在していた。中間型線維ではこれら両筋線維の中間の像が認められた。

PhR 活性においても (Photo. 2) SDH 活性と同様, 横断面全体にわたり network が認められた。この network は SDH 染色による場合よりも明瞭であった。

この網目状の SDH および PhR の活性分布は筋小胞体 (sarcoplasmic reticulum; SR) の存在とほぼ一致すると考えられている^{16,17)}。

II. Lincomycin 処理筋

i. 注射 1 時間後

1. 染色性

1) SDH 活性

Photos. 5-A, B に示されるように 217 mM の lincomycin 注射 1 時間後における赤筋, 白筋ならびに中間型線維の SDH 活性はいずれも低下することではなく, むしろ増強された。すなわち, 赤筋線維は対照 (Photo. 5-A) において線維の周辺部がとくに濃染されるのが特徴であるが, lincomycin により線維内全体が著しく活性化された (Photo. 5-B)。また, 白筋線維でも同様の変化が起こり, その結果対照の中間型線維に近い活性を示すようになった。中間型線維の活性については対照と差がないかあるいはやや増強される傾向があった。以上の変化は lincomycin の濃度を 65 mM (Photos. 6-A, B) に低下させても, また, 650 mM に増加させてもほとんど同様であった。

なお, 松島^{1,2)}によれば生理的食塩水に対する原液 (650 mM) lincomycin の浸透圧比は 7.4~7.9 であるというが, 上のように lincomycin の濃度を種々に変えても SDH 活性の変化に差がなかったことは, SDH 活性に対する以上の作用は, 単なる浸透圧的影響によらないことを示す。

2) PhR 活性

一方, 各種筋線維の PhR 活性は, 650 mM lincomycin の注射 1 時間後において, いずれも完全に失活し, そのためこれら 3 種類の筋線維に対する lincomycin の作用には差を認めることができなかった。したがって, 本実験ではこの点を考慮し, 65 mM lincomycin を用いて検討した。

Photo. 7-B は Photo. 6-B に示された標本の連続切片につき PhR 染色を行なったものである。そこで Photo. 6-B にもつぎ筋線維を同定し, かつ対照 (Photo. 7-A) と比較した結果, lincomycin により白筋ならびに赤筋線維の PhR 活性はほとんど完全に抑制されたが, 中間型線維では程度には差があるが, なお活性を保持するものが多いことが示された (Photos. 7-A, B. Photo. 4 参照)。

2. 形態

1) 各筋線維の太さ (直径)

上の Photos. 5-A, B から明らかなように, 各種筋線維の形態は 217 mM lincomycin により, 対照筋における三角形ないし多角形からほぼ円形に変化した。この変化をさらに筋線維の直径に関し検討すると, Table 1 に示すように筋線維の長径は lincomycin によりあまり変化しなかったが, 短径が著しく増加した。この増加は白筋線維において最も著明であり, 赤筋線維がこれについた。また, このような各筋線維の円形化は長径に対する短径の割合によっても表わすことができ, この割合は対照の白筋・赤筋ならびに中間型線維でそれぞれ 0.59, 0.62 および 0.66 であったが, lincomycin により 0.82, 0.79 および 0.74 に増加し, より 1.0 に近づいた。

なお, lincomycin 注射後の筋線維間に存在する endomysium および perimysium が断裂あるいは破壊され, 線維間の間隙が著明に広くなり, その結果, 一視野に存在する筋線維の数が対照におけるその約 60~70% に減少することが認められた (Photos. 5~7)。この点は各種筋線維の円形化とともに注目を要する。

2) 内部構造

上述のように各種筋線維の PhR 活性は 65~650 mM の lincomycin により低下ないしはほとんど完全に失活されたため (Photos. 4 および 7-B), 筋線維の内部構造の詳細な観察は SDH 活性にもとづいて行なった。

65 および 217 mM の lincomycin (Photos. 3 および 5-B) により SDH 活性が著明に増強された赤筋線維では, 筋線維内全体に diformazan 顆粒が密に存在するため内部構造とくに network の観察は比較的困難であった。これに対し, 白筋線維では, SDH 活性の増加により network は対照筋に比べより明瞭となったが, その構造は不規則となり, 場合により破壊していた (Photo. 3)。さらに中間型線維では, 白筋線維と同様に network は対照に比べやや明瞭となった。また, この線維の構造は 3 者の中で比較的保存される傾向があった (Photo. 5-B)。これらの中間型線維に関する成績は PhR 活性についても認められた (Photo. 4)。

なお, lincomycin 溶液の pH は約 5.0 であることを考慮し, histidine-HCl 緩衝液 (pH 5.0) の注射 1 時間後における各筋線維の SDH と PhR 活性および形態につき検討したが結果は対照筋のそれと異ならなかった。また, 生理的食塩水の注射によっても変化は認められなかった。

ii. 注射 4 および 6 時間後, ならびに 3 ないし 6 日後

1. 染色性ならびに形態

lincomycin (650 mM) 注射後の作用時間をさらに延長

させた場合について観察した。

注射4時間後 (Photos. 8 および 9) では上述の注射1時間後の変化がさらに増強され、各種筋線維の SDH 活性は著しく活性化された。とくに注射1時間後ではあまり顕著な変化を示さなかった中間型線維でも活性化される傾向があった。さらに注射6時間後 (Photos. 8 および 10) では、赤筋線維における変化は注射4時間後とほとんど同様であったが、白筋線維では活性がやや低下する傾向があった。なお、注射4および6時間後の各筋線維の PhR 活性は完全に失活していた。

一方、形態の変化については、注射1時間後に観察された白筋および赤筋線維の円形化ならびに内部構造の不規則性および破壊はさらに著明となった。この変化は赤筋線維よりも白筋線維でより著しかった。また、中間型線維においても注射1時間後とは異なり変形ないし破壊を示す場合が認められた (Photos. 8~10)。

注射3日後では、各種筋線維の太さが著しく減少し、また変形および筋線維そのものの構造の破壊も著明となった。そのため、染色性の面から3種類の筋線維を区別することは困難であった (Photo. 11)。これらの変化は、注射6日後でも同様に認められた。また、各種筋線維において、萎縮、変性ならびに壊死が著明に認められ、筋線維の消失や間質における線維化も著明であった。

考 察

1) Lincomycin による SDH の活性化

一般に、SDH は主としてミトコンドリアに含まれる還元酵素の一つであることが知られており、その活性は正常筋においては赤筋線維で高く、一方、白筋線維で低いとされている⁷⁻¹³⁾。上述のわれわれの成績において、ラットの M. rectus femoris を構成する各種筋線維の SDH 活性は、65~650 mM lincomycin を1~6時間作用させることにより、いずれも低下することはなく、むしろ増強され、とくに、この変化は線維の円形化の著明に現われた赤筋ならびに白筋線維で顕著であった (Photos. 3, 5~6 および 9)。これらの事実は、筋線維に対する lincomycin の作用点の一つがミトコンドリアにあること、および lincomycin は SDH に対し activator として作用することを示唆する。しかも、この活性化の機序については、もし SDH がミトコンドリアの膜構造と密接な関係をもって局在するとすれば、lincomycin により筋線維内のミトコンドリアの膜構造に変化が起り、その結果、SDH の活性部位が unmask されるか、あるいは lincomycin が SDH に直接作用してそれを活性化することが示唆される。ただし、この点に関しては、ミトコンドリアの SDH 活性に対する lincomycin

の作用を生化学的に検討する必要がある。なお、中間型線維において、lincomycin による SDH 活性の増強が赤筋ならびに白筋線維にくらべ弱かったことは、後述の理由 (5 参照) によるものと思われる。

2) Lincomycin による PhR 活性の抑制

本実験の成績において、各種筋線維の PhR 活性は、注射1時間後ですでに著しく抑制された (Photos. 7-A, B)。これより、lincomycin は PhR に対して SDH の場合と逆に一種の inhibitor として作用することが示唆されるが、その作用機序の詳細については現在不明である。しかし、lincomycin による SDH の活性化がミトコンドリアの膜の構造変化と関係があるかもしれないという前述の可能性、ならびに PhR 活性の分布は sarcoplasmic matrix 中の glycogen の分布および SR の存在にはほぼ一致する^{16,17)} という報告などを考慮すれば、PhR は SDH と異なり、細胞内の小器官 (organelle) の構造とは無関係に存在する可能性も考えられ、それゆえに PhR は lincomycin の作用を受けやすいのかもしれないことが考えられる。ただし、この点についても PhR の細胞内における局在部位をさらに明らかにするとともに、PhR 活性に対する lincomycin の作用を生化学的に検討する必要があると思われる。

3) 筋線維の構造維持と代謝

lincomycin 注射1, 4 および6時間後の SDH 活性に関する成績において、lincomycin による形態ならびに内部構造の変化は赤筋線維よりも白筋線維においてより著明であることが示された (Photos. 3, 9 および 10)。しかも、このような構造変化の著明な時期に SDH 活性はなお活性化されたのに、PhR 活性はすでに完全に抑制されていた。これらの事実から、筋線維の構造の維持には酸化的代謝よりも解糖的代謝の方がより関係するかのように見える。ただし、SDH 活性の活性化が膜構造の変化によるものとする、この限りではない。

4) 筋線維の円形化

前述の成績で明らかのように lincomycin により筋線維の形態は正常時の三角形ないし多角形からほぼ円形に変化した (Photos. 3~7, 9~10 および Table 1)。また、この円形化は lincomycin 注射1時間後では赤筋ならびに白筋線維でとくに著明であり、中間型線維ではあまり目立たず、形態は正常のそれに近いものが多かった。

一方、lincomycin により筋線維間に存在する endomysium ならびに perimysium が断裂あるいは破壊され、筋線維間の間隙が著しく広がった (Photos. 5~7)。一般に正常筋では、perimysium により取囲まれた primary muscle bundle 中に多数の各種筋線維が compact に存在するために隣接する筋線維は互いに圧迫されて多角形を

示すといわれている^{18,19)}。それゆえに、幼若筋線維が円形を示すのは、この primary muscle bundle 内の線維の数が少なく、compact でないためであると解されている^{18,20)}。一方、隣接する細胞間に接着力 (adhesive force) のあることも知られている²¹⁾。Dubowitz and Pearse¹⁹⁾によれば、ジストロフィーの筋では、筋線維の著明な萎縮とともに筋線維の形が正常時の多角形から円形に変化するが、この変形は筋線維間に結合組織あるいは脂肪組織が増加するために線維間の接着力が減少することによるという。これらの事実を考慮し、かつわれわれの成績で lincomycin により endomysium, perimysium および epimysium などの結合組織の断裂あるいは破壊などが起こっていることを考慮すれば、筋線維の円形化も lincomycin による線維間の接着力の低下に帰せられるかもしれない。しかし、細胞間の接着性の問題に関しては、最近ようやく諸種の培養細胞を用いて実験的検討が開始されたばかりであり、接着の機構に関しても、2~3 の見解が提示されているが定説がないのが現状である²¹⁾。ここに述べた lincomycin による筋線維の円形化の問題と関連して細胞間の接着性に対する lincomycin の影響を検討することは今後に残された興味ある課題と思われる。

5) 中間型線維に対する Lincomycin の作用

哺乳動物の骨格筋における筋線維の種類と収縮速度の関係についての最近の報告²²⁾によれば、赤筋ならびに白筋線維が fast twitch fiber であるのに対し、中間型線維は slow twitch fiber であることが示唆されている。われわれの上述の成績において、lincomycin による SDH の活性化は、中間型線維では他の2種類の筋線維にくらべて低い傾向があり (Photos. 3, 5 および 6)、また lincomycin による PhR 活性の抑制ならびに筋線維の円形化や構造の破壊なども他にくらべて弱くことが認められた (Photos. 4 および 7, Table 1)。

Adams²³⁾によれば、筋線維間の結合組織中の elastic fiber の量は筋の機能により異なり、持続的な収縮を特徴とする筋、たとえば眼筋、舌筋および横隔膜筋では endomysium の elastic fiber の量が多く、一方、四肢筋 (速筋) では perimysium 中の小線維束間の中隔にのみそれが局在するという。このことを考慮すれば、slow twitch fiber であるとみなされている中間型線維ではその周囲に elastic fiber が多いため、その保護作用によって lincomycin が作用しにくく、また円形化が起こりにくいという可能性が考えられる。しかし、この点についてはさらに elastic fiber に対する lincomycin の作用ならびに速線維および遅線維の収縮に対する lincomycin の作用を検討する必要があると思われる。

6) Lincomycin による筋線維の萎縮

以上は各種筋線維に対する lincomycin の作用を注射後の比較的早期 (1~6時間) に観察した結果に関するものである。

lincomycin 注射3および6日後になると、筋線維の SDH 活性は線維の種類に関係なくほとんど一様に染色され、3種類の区別は困難となった (Photo. 11)。また、各種筋線維の萎縮・変性ならびに壊死も著明であり、筋線維の消失や間質における線維化も認められた。

現在、臨床的に問題にされている大腿四頭筋あるいは三角筋拘縮症は、これらの変化がさらに進行した結果もたらされるものと思われる。

以上より、lincomycin は各種筋線維に対し程度の差はあるが酸化的ならびに解糖的代謝に影響を与え、また筋線維の形態ならびに内部構造および周囲の結合組織にも作用することが組織化学的に明らかにされた。すでに述べたように、さらに筋の収縮に対する lincomycin の作用を生理学的な立場から検討することは、今後に残された重要な課題であると思われる。

要 約

薬物の筋肉内注射によりもたらされる大腿四頭筋あるいは三角筋拘縮症の発現機序の解明のため、ラットの大腿直筋に対する lincomycin の影響を succinic dehydrogenase (SDH) および phosphorylase (PhR) 活性を示標として組織化学的に検討し、以下の成績を得た。

1) ラットの大腿直筋は赤筋、白筋ならびに中間型線維からなる混合筋であることが示された。この筋の表層部には白筋線維が多く、深層部に赤筋および中間型線維がより多く存在した。また、3種類の筋線維の直径は白筋線維が最も大で、中間型線維がこれにつぎ、赤筋線維が最も小であった。さらに、SDH および PhR 染色により各種筋線維に reticular structure (network) が認められた。

2) 65~650 mM lincomycin 注射1時間後における各種筋線維の SDH 活性は増強される傾向を示した。増強の程度は、赤筋線維 ≧ 白筋線維 > 中間型線維の順に大であった。一方、65~650 mM lincomycin により PhR 活性は著明に抑制された。抑制の程度は、白筋線維 > 赤筋線維 > 中間型線維の順に著明だった。さらに、各種筋線維の短径が増加し、その結果、筋線維の横断面はほぼ円形に変化した。この円形化は、白筋線維 > 赤筋線維 > 中間型線維の順に著明だった。また、筋線維間の間隙が目立ち、そのため個々の筋線維が独立して存在する傾向があった。内部構造はとくに白筋線維においてその破壊あるいは network

の不規則化が目立ち、中間型線維では比較的構造が保たれていた。

3) 以上の構造変化は lincomycin 注射 4 および 6 時間後ではさらに著明となり、3 日後になると各種筋線維の萎縮変性ならびに壊死などが著明となった。

これらの成績により、lincomycin は各種筋線維に対し程度の差はあるが酸化的ならびに解糖的代謝に影響を与え、また筋線維の形態ならびに内部構造および周囲の結合組織にも作用することが組織化学的に明らかにされた。

稿を終るにわたり、本研究に種々ご指導いただきました第 1 生理学教室の高氏昌講師また、ご協力いただきました教室の諸先生に深く感謝いたします。

(昭和 52. 1. 24 受付)

文 献

- 1) 松島達明：注射剤の pH, 浸透圧比と溶血性の関係. 北海道医報 **365**, 26-30 (1975).
- 2) 松島達明：筋肉注射によるラット大腿直筋の病理組織学的変化. 北海道医報 **377**, 9-13 (1975).
- 3) Nachlas, M. M., Tsou, K. C., DeSouza, E., Cheng, C. S. and Siligman, A. M.: Cytochemical demonstration of succinic dehydrogenase by the use of a new p-nitrophenyl substituted ditetrazole. *J. Histochem. Cytochem.* **5**, 420-436 (1957).
- 4) Takeuchi, T. and Kuriaki, H.: Histochemical detection of phosphorylase in animal tissues. *J. Histochem. Cytochem.* **3**, 153-160 (1955).
- 5) 武内忠男：Transferase (転移酵素). 武内忠男, 清水信夫, 小川和朗編集：酵素組織化学, 187-221, 朝倉書店, 東京 (1967).
- 6) 北 進一：イス舌筋および咬筋の組織化学的観察. 札幌医誌 **39**, 225-234 (1971).
- 7) Dubowitz, V. and Pearse, A. G. E.: A comparative histochemical study of oxidative enzyme and phosphorylase activity in skeletal muscle. *Histochemie*, **2**, 105-117 (1960).
- 8) Ogata, T. and Mori, M.: Histochemical study of oxidative enzymes in vertebrate muscles. *J. Histochem. Cytochem.* **12**, 171-182 (1964).
- 9) Peachey, L. D.: Muscle. *Ann. Rev. Physiol.* **30**, 401-440 (1968).
- 10) Sandow, A.: Skeletal muscle. *Ann. Rev. Physiol.* **32**, 87-138 (1970).
- 11) Hess, A.: Vertebrate slow muscle fibers. *Physiol. Rev.* **50**, 40-62 (1970).
- 12) Needham, D. M.: Enzymic and other effects of denervation, cross-innervation and repeated stimulation. In: Machina Carnis, The Biochemistry of Muscular Contraction in its Historical Development. 484-498, Cambridge, at the University Press (1971).
- 13) Close, R. I.: Dynamic Properties of Mammalian Skeletal Muscles. *Physiol. Rev.* **52**, 129-134 (1972).
- 14) 水口 守, 高氏 昌：ラットの赤筋および白筋線維に対する除神経の影響に関する組織化学的研究. I. Succinic dehydrogenase 活性について. 札幌医誌 **46**, 262-276 (1977).
- 15) Romanul, F. C. A. and Hogan, E. L.: Enzymatic changes in denervated muscle. I. Histochemical studies. *Arch. Neurol.* **13**, 263-273 (1965).
- 16) 宇尾野公義：組織化学よりみた筋機能. 里吉宮二郎, 豊倉康夫編集：筋肉病学, 180-188, 南江堂, 東京 (1973).
- 17) Pellegrino, C. and Franzini, C.: An electron microscope study of denervation atrophy in red and white skeletal muscle fibers. *J. Cell. Biol.* **17**, 327-349 (1963).
- 18) Wirsén, C. and Larsson, K. S.: Histochemical differentiation of skeletal muscle in foetal and newborn mice. *J. Embryol. exp. Morph.* **12**, 759-767 (1964).
- 19) Dubowitz, V. and Pearse, A. G. E.: A histochemical study. *J. Path. Bact.* **81**, 365-378 (1961).
- 20) Dubowitz, V.: Enzyme histochemistry of skeletal muscle. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiat.* **28**, 516-524 (1965).
- 21) 岡田節人：細胞の接着. 太田行人, 岡田節人, 岡田善雄編：岩波講座現代生物科学 3. 細胞の構造と機能 II. 267-301, 岩波, 東京 (1975).
- 22) Barnard, R. J., Edgerton, V. R., Furukawa, T. and Peter, J. B.: Histochemical, biochemical, and contractile properties of red, white, and intermediate fibers. *Am. J. Physiol.* **220**, 410-414 (1971).
- 23) Adams, R. D.: The nature of skeletal muscle. Embryology and histology of skeletal muscle. In: Diseases of Muscle, Part I, Chapter 1, 46-48, Harper and row, Publishers. Hagerstown, Maryland, New York, Evanston, San Francisco, London (1975).

Explanation of Photographs

- Photo. 1** Cross-section of normal rectus femoris of the rat incubated for SDH. There are three types of fibers. R, W and I indicate red, white and intermediate fibers, respectively. The reticular structure (network) within fibers is seen. $\times 670$.
- Photo. 2** Cross-section of normal rectus femoris of the rat incubated for PhR. There are three types of fibers and the network within fibers is seen as Photo. 1. $\times 670$.
- Photo. 3** Cross-section of lincomycin-injected rectus femoris. 217 mM lincomycin. One hour after lincomycin-injection. SDH. SDH activity in red and white fibers is increased. The network become irregular. Compare with Photo. 1. $\times 670$.
- Photo. 4** Cross-section of lincomycin-injected rectus femoris. 217 mM lincomycin. One hour after lincomycin-injection. PhR. The network is seen within intermediate fibers, but is not seen clearly within red and white fibers. $\times 670$.
- Photo. 5** A: Cross-section of normal rectus femoris. SDH. $\times 340$.
B: Cross-section of lincomycin-injected rectus femoris. 217 mM lincomycin. One hour after lincomycin-injection. SDH. SDH activity is increased. The polygonal shape of normal muscle fibers in the section is changed round by lincomycin-injection. Compare with Photo. 5-A. $\times 340$.
R, W and I; as Photo. 1.
- Photo. 6** A: Cross-section of normal rectus femoris. SDH. $\times 70$.
B: Cross-section of lincomycin-injected rectus femoris. 65 mM lincomycin. One hour after lincomycin-injection. SDH. Note the intercellular spaces. Compare with Photo. 6-A. $\times 70$.
- Photo. 7** A: Cross-section of normal rectus femoris. PhR. $\times 70$.
B: Cross-section of lincomycin-injected rectus femoris. 65 mM lincomycin. One hour after lincomycin-injection. PhR. The types of individual fibers are identified on the basis of Photo. 6-B. PhR activity in white and red fibers is mostly lost, while that of intermediate fibers is maintained. Compare with Photo. 7-A. $\times 70$.
- Photo. 8** Cross-section of normal rectus femoris. SDH. $\times 420$.
- Photo. 9** Rectus femoris 4 hours after lincomycin-injection. 650 mM lincomycin. SDH. SDH activity in three fiber types is still increased. $\times 420$.
- Photo. 10** Rectus femoris 6 hours after lincomycin-injection. 650 mM lincomycin. SDH. Note the marked structural destruction of white fibers. $\times 420$.
- Photo. 11** Rectus femoris 3 days after lincomycin-injection. 650 mM lincomycin. SDH. Note the atrophy, necrosis and fibrosis. It is difficult to distinguish among three fiber types because of SDH activity being stained uniformly. $\times 210$.







