

ネコ軟口蓋筋の組織化学的研究

1. Succinic Dehydrogenase 活性について

中 地 進

札幌医科大学口腔外科学講座 (主任 小浜源郁教授)

太 田 勲

札幌医科大学生理学第1講座 (主任 永井寅男教授)

Histochemical Observation on Soft Palate Muscle of Cat

1. Succinic Dehydrogenase Activity

Susumu NAKACHI

Department of Oral Surgery, Sapporo Medical College

(Chief: Prof. G. Kohama)

Isao OOTA

Department of Physiology (Section 1), Sapporo Medical College

(Chief: Prof. T. Nagai)

The soft palate muscle of the cat (consisting of M. levator veli palatini, M. tensor veli palatini and M. palatinus) was studied histochemically for SDH activity and the following results were obtained.

1) M. levator veli palatini is composed of two types of fibers; red and intermediate. Most fibers (61%) are intermediate with no differences in the diameters between the types of fibers.

2) M. tensor veli palatini is composed of two types of fibers; red and intermediate with proportions of 37% and 63%, respectively. In diameter, intermediate fibers are larger than the red fibers.

3) M. palatinus is composed of three types of fibers; red, white and intermediate, with proportions of 24%, 22% and 56%, respectively. There are no differences in diameters among the three of fibers. In comparison to M. gastrocnemius, the SDH activity of these muscle fibers was relatively high.

4) In a cross-section of individual fiber, the reticular structure (network) was observed. This structure was ribbon-like in red fibers, but had thin lines randomly throughout the intermediate and white fibers. Diformazan particles were observed, particularly a number of particle in the red muscle fiber.

5) It was confirmed that M. gastrocnemius is composed of three types of fibers; red, white and intermediate, in proportion of 20%, 56% and 24%, respectively. The diameter of red muscle fiber is the smallest, while that of white muscle fiber is the largest. M. soleus is composed of two types of fibers; red and intermediate. Most fibers (72%) are intermediate with no differences in the diameters between the types of fibers.

On the basis of these results, it was clarified that the M. levator veli palatini and M. tensor veli palatini of the soft palate muscle of the cat are composed of red and intermediate fibers, while the M. palatinus is composed of red, white and intermediate fibers.

(Received March 20, 1978 and accepted June 6, 1978)

1 緒 言

口唇・口蓋裂疾患では、摂食・言語障害を来すことが知られている。これらの機能的障害を改善する目的で手術が行われているが、術後の構音障害はなお約30%にもお

よぶと言われている^{1,2)}。咽頭部に存在する諸筋、特に軟口蓋の諸筋は、発語構成への関与が大きいことが知られている^{2~5)}。また軟口蓋筋は骨格筋であることが知られているが^{6,7)}、これらの諸筋の生理学的性質については、ほとんど明らかにされていない。

従来、骨格筋を構成する筋線維の性質を知るための一手段として、代謝酵素系を組織化学的に検索する方法が用いられている⁸⁻²⁰⁾。本論文では、ネコの軟口蓋筋がいかなる筋線維から構成されているかを知るために、酸化酵素の代表的なものとされているコハク酸脱水素酵素 (SDH) 活性を組織化学的に検討した成績を述べる。

2 材料および方法

2.1 材 料

体重約 4 kg の成猫 (以下ネコと略称) を用い、これを Succinylcholine chloride (50 mg/kg) の筋肉内注射によって処理し、死亡後直ちに軟口蓋に分布する *M. levator veli palatini*, *M. tensor veli palatini*, *M. palatinus* を採取し、これらを実験に供した。なお、ネコの下肢から *M. gastrocnemius*, *M. soleus* を採取し、これらを対照実験材料として使用した。

2.2 凍結切片の作製

ネコより摘出した筋組織片 (約 5 mm × 5 mm) を直ちに acetone dry ice で冷却された *n*-hexan 中 (−70°C) に投入して凍結し、これらより −25°C ~ −30°C の cryostat の中で厚さ 12~20 μm の連続切片を作製した。

2.3 組織化学的方法

SDH 活性; SDH 活性の証明方法は, Nachlas *et al.*²¹⁾ の方法に従い、脱水素酵素検出のための水素受容体として Nitro Blue Tetrazolium (Nitro-BT) を使用した。切片は基質反応液 (0.2 M コハク酸ナトリウム, 0.2 M リン酸緩衝液 (pH 7.6), Nitro-BT (1 mg/ml)) 中で、37°C 下に 30 分間処理された後 10% 中性フォルマリン溶液で固定し、グリセリン・ゼラチンで封入し検鏡された。

2.4 筋線維の直径

筋線維の直径は、北¹⁹⁾の方法に準じて測定された。すなわち長径と短径の和の平均をその筋線維の直径とした。

2.5 試 薬

Nitro-BT は Sigma 社製のものを使用し、その他の試薬はすべて市販特級製品を用いた。

3 実験成績

3.1 予備的実験

骨格筋の酵素活性に関する組織化学的研究は、主としてウサギ、ラットなどの四肢筋について行われており、それらの筋を構成する筋線維は、SDH 活性の程度により 3 種類に分類されることが報告されている^{8-15, 17-19)}。ネコの軟口蓋筋が、いかなる筋線維から構成されているかを SDH 活性の面から検討するための予備的実験として、ネコの *M. gastrocnemius* ならびに *M. soleus* について、既報

の成績との比較検討を試みた。

ネコの *M. gastrocnemius* では Photo. 1 に示されるように、SDH 活性の程度により 3 種類の線維が区別された。すなわち、SDH 活性が最も高く濃染されている線維、活性が低く、したがって最も淡染されている線維、および両者の中間の染色性を示す線維が認められた。これらは従来の分類にしたがえば、SDH 活性が最も高い線維は赤筋線維、活性が最も低い線維は白筋線維、その活性が中等度のものは中間型線維にそれぞれ相当すると思われる。したがってネコの *M. gastrocnemius* は、以上 3 種の筋線維から構成されていることが確認された。以上の 3 種類の筋線維の内部には reticular structure (network) が認められ、とくに赤筋線維ではこれが著明であった (Photo. 2)。すなわち、赤筋線維では 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、それらは線維全体にほぼ均一に分布していた。一方、白筋線維における network は、赤筋線維のそれに比し著しく淡染し、かつ network も細い線状を呈し、diformazan 顆粒も赤筋線維のそれより小さく、筋線維全体にわたり均一に散在していた。また中間型線維では赤筋線維と白筋線維の中間型の像が認められ、diformazan 顆粒は線維の辺縁により多く分布していた。

筋線維の直径については、赤筋線維が最も細く、30~70 μm の範囲に分布し、その大部分は 45~55 μm のものであった。中間型線維は 45~100 μm の間に分布し、55~75 μm の範囲に大多数の線維が存在した。最も太い線維は白筋線維で、50~120 μm に分布し、その大部分は 70~90 μm のものであった。また、本実験で得られた各線維の割合は、赤筋線維が 20%、白筋線維が 56% および中間型

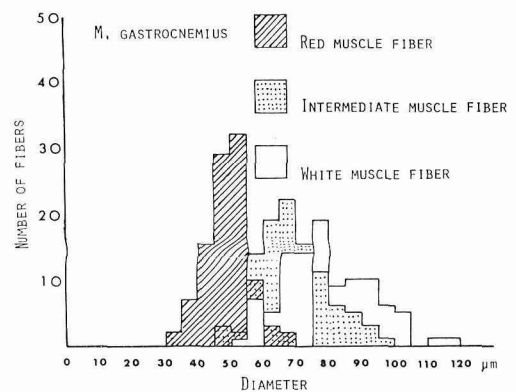


Fig. 1 Histogram of the diameter of fibers in cat gastrocnemius muscle. The total number of fibers measured was 100 in each muscle fiber type.

線維が24%であった (Fig. 1).

ネコの *M. soleus* には SDH 活性の高い赤筋線維と、比較的その活性の低い中間型線維の2種類が認められ、SDH 活性の低い白筋線維は認めることができなかった (Photo. 3). また赤筋線維ならびに中間型線維の内部には reticular structure ならびに diformazan 顆粒が、それぞれ上述の *M. gastrocnemius* における赤筋線維ならびに中間型線維とほぼ同様の状態で認められた (Photo. 4). これら2種の筋線維の直径に関して、赤筋線維は50~110 μm の間に分布し、その大部分は65~100 μm の間にあり、中間型線維は60~120 μm の間に分布し、80~100 μm のものが大部分であった (Fig. 2). 本実験で得られた各線維の割合は、赤筋線維が28%, 中間型線維が72%で、中間型線維が大部分を占めていた.

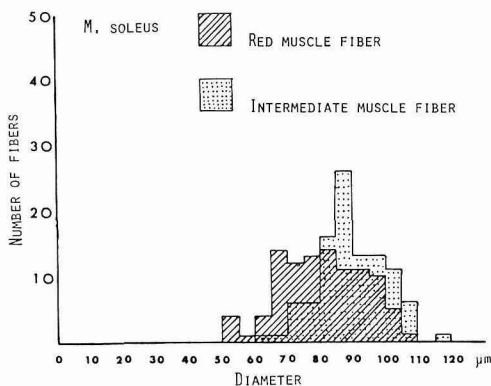


Fig. 2 Histogram of the diameter of fibers in cat soleus muscle. The total number of fibers measured was 100 in each muscle fiber type.

3.2 ネコ軟口蓋筋について

3.2.1 *M. levator veli palatini*

Photo. 5 に示されるように、この筋には SDH 活性の高い筋線維と比較的低い筋線維の2種類が認められた。これらは、Photo. 1 および 3. における赤筋線維ならびに中間型線維にそれぞれ相当すると思われる。また赤筋線維、中間型線維の内部には、各筋線維に対応した reticular structure が認められた (Photo. 6). 以上の赤筋線維ならびに中間型線維の直径は、両者とも30~80 μm の間に分布し、40~55 μm の太さの線維が大部分であり、これら2種類の線維の直径には、ほとんど差が認められなかった (Fig. 3). また、この実験で得られた各筋線維の割合は赤筋線維が39%, 中間型線維が61%であった.

3.2.2 *M. tensor veli palatini*

この筋は、上述の *M. levator veli palatini* と同様に

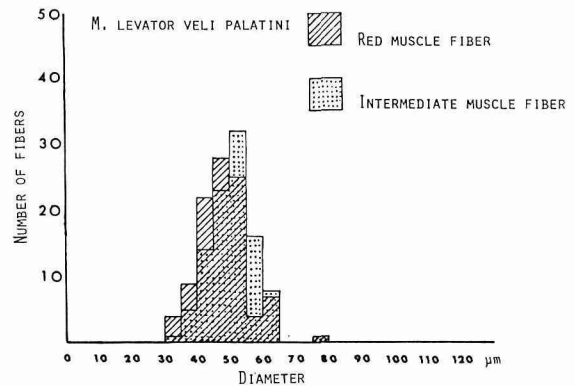


Fig. 3 Histogram of the diameter of fibers in cat levator veli palatini muscle. The total number of fibers measured was 100 in each muscle fiber type.

SDH 活性の高い赤筋線維と比較的低い中間型線維の2種類から成ることが認められた (Photo. 7). しかし、この筋は *M. levator veli palatini* に比較して、SDH 活性が全体的にわずかに低い傾向があった。また、各線維の内部には、Photo. 8 に示されるように、reticular structure (network) が確認された。これら2種類の筋線維の直径に関しては、中間型線維が比較的大きく35~80 μm の間に分布し、そのほとんどは45~65 μm の大きさであった。赤筋線維は20~65 μm の間に分布し、そのほとんどは35~55 μm の大きさであった (Fig. 4). なお、各筋線維の割合は赤筋線維が37%, 中間型線維が63%であり、この比率は *M. levator veli palatini* とほぼ同様な値を示した.

3.2.3 *M. palatinus*

この筋は、SDH 活性が最も高く赤筋線維と思われる線維と、SDH 活性が最も低く白筋線維と思われる線維と、

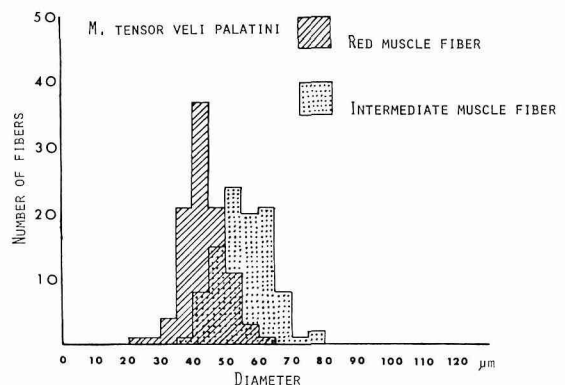


Fig. 4 Histogram of the diameter of in cat tensor veli palatini muscle. The total number of fibers measured was 100 in each muscle fiber type.

その中間型を示す中間型線維との3種類に分けられた (Photo. 9). しかし予備の実験で得られた *M. gastrocnemius* の結果と比較すると *M. palatinus* の赤筋線維、白筋線維、中間型線維はともに SDH 活性がやや高い傾向が認められた。ことに SDH 活性の高い赤筋線維は、著しく濃染し、この筋線維の内部にみとめられた reticular structure (network) の上には、diformazan 顆粒が密に存在していた (Photo. 10). これら3種類の筋線維の直径は、赤筋線維では $20 \sim 65 \mu\text{m}$ の間に分布し、 $30 \sim 50 \mu\text{m}$ の間に大多数があり、白筋線維では $25 \sim 60 \mu\text{m}$ の間に分布し $30 \sim 50 \mu\text{m}$ の間に大多数があり、中間型線維では $25 \sim 60 \mu\text{m}$ の間に分布し $30 \sim 50 \mu\text{m}$ の間に大多数があった (Fig. 5). 以上より各筋線維の直径にはほとんど差がないことが示された。また、各筋線維の割合は赤筋線維 24%, 白筋線維 22%, 中間型線維 54% で、約半分は中間型線維で占められていた。

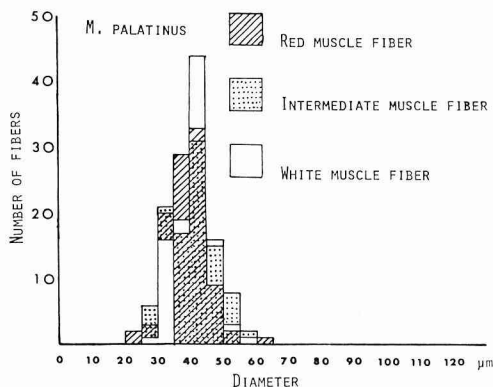


Fig. 5 Histogram of the diameter of fibers in cat palatinus muscle. The total number of fibers measured was 100 in each muscle fiber type.

4 考 察

4.1 予備の実験

哺乳動物の骨格筋を構成する筋線維は、SDH 活性の程度によりその活性の高い順に赤筋線維、中間型線維および白筋線維の3種類に区別されることが知られている^{8-15,17-19}). 本実験において、ネコの *M. gastrocnemius* は、上述の3種類の筋線維から、また *M. soleus* は赤筋および中間型筋線維の2種類からそれぞれ構成されていることが示された (Photo. 1 and 2). この成績は Ogata⁸) のネコの下肢筋についてのそれと一致している。また、SDH 染色により筋線維内部に reticular structure (network) が観察された (Photos. 2 and 4). この構造は、赤筋線維で最も強く染色されることが示された。この成績は、水口・

高氏²²) のラットの下肢筋におけるそれとほぼ同様であった。彼ら²²) は、この構造は sarcoplasmic reticulum (SR) に相当するものと考えている。もし、そうであるとすれば、赤筋線維の SR は、かなり高い SDH 活性を有することが示唆される。また筋線維内部には diformazan 顆粒が認められ、とくに赤筋線維においてその量が多いことが示された (Photos. 2 and 4). この顆粒の分布は、mitochondria のそれと一致することが報告されている^{9,10,16,25,26,27}). したがって、mitochondria は赤筋線維においてより多いことが示唆される。

ネコの *M. gastrocnemius* を構成する筋線維の直径は、赤筋線維で最も小さく、白筋線維で最も大きかった (Fig. 1). 一方 *M. soleus* においては赤筋線維と中間型線維の直径の間にはほとんど差が認められず、両者の直径は *M. gastrocnemius* のそれらに比しやや大きいことが認められた (Fig. 2). これらの成績は従来のそれとほぼ一致する^{8,11,22,23}). なお、ネコの *M. gastrocnemius* では、白筋線維が全体の 56% を占め、赤筋線維、中間型線維は、それぞれ 20% ならびに 24% を占めていた。一方 *M. soleus* では、中間型線維が全体の 72% を占めていた。これらの成績は、ラット下肢筋についての水口・高氏²²) のそれとほぼ一致した。

4.2 ネコ軟口蓋筋について

本実験において、ネコの軟口蓋筋のうち *M. levator veli palatini* および *M. tensor veli palatini* は、赤筋線維と中間型線維の2種類の筋線維から、*M. palatinus* は赤筋線維、中間型線維ならびに白筋線維の3種類の筋線維からそれぞれ構成されていることが示され (Photos. 5, 7, and 9), また、*M. palatinus* に含まれる3種類の筋線維は前述の *M. gastrocnemius* に含まれるそれらより、いずれも SDH 活性が高い傾向が認められた (Photos. 1 and 9). *M. levator veli palatini* および *M. tensor veli palatini* に含まれる赤筋線維は、それぞれ 39% および 37% であり、これらの筋では中間型筋線維が約 60% 強含まれることが示された。一方 *M. palatinus* においては、中間型線維が全体の 54% を占め、赤筋線維および白筋線維は全体のそれぞれ 24% および 22% を占めることが示された。以上よりネコの軟口蓋筋は、それを構成する筋線維の種類ならびにそれらが含まれる割合において *M. levator veli palatini* および *M. tensor veli palatini* は前述の *M. soleus* に、*M. palatinus* は *M. gastrocnemius* にそれぞれ類似することが認められた。

軟口蓋筋を構成する筋線維の内部には前述の *M. gastrocnemius* ならびに *M. soleus* において認められたと同様 SDH 染色により reticular structure が認められた

(Photos. 6, 8 and 10). この構造が、水口・高氏²²⁾が示唆するように、SR の存在を示唆するものと思われ、これらの筋には、かなりの量の SR が存在するものと思われる。また diformazan 顆粒が、いずれの筋線維にも認められたが、とくに赤筋線維で著明であった。この事実は、赤筋線維において、とくに多量の mitochondria が存在することを示唆すると思われる。以上の点をさらに明らかにするためには今後、電顕的観察が必要となろう。

ネコの *M. tensor veli palatini* を構成する筋線維の直径は、赤筋線維の方が中間型線維より小さい傾向が認められたが (Fig. 4). *M. levator veli palatini* に含まれる 2 種類の筋線維ならびに *M. palatinus* に含まれる 3 種類の筋線維の直径の間には、ほとんど差が認められなかった (Figs. 3 and 5). この成績は、*M. levator veli palatini* および *M. palatinus* においては筋線維の直径のみによって筋線維の Type を分けることが困難であることを示している。

以上のように、ネコの軟口蓋筋について、SDH 活性の面から検討したが、従来一般に骨骼筋を構成する筋線維を分類するには、SDH 活性からだけでなく、さらにそれを裏づけるために phosphorylase 活性についても検討されている^{19,23)}。また筋線維の ATPase 活性の程度は、その線維の収縮速度と密接に関連しているものとして注目されている¹⁷⁾。したがって、軟口蓋筋の生理的機能を組織化学的手段によりさらに解明するためには、上述の phosphorylase 活性ならびに ATPase 活性の面からの検討が必要であると考えられ、これらの点について現在検討中である。

5 要 約

ネコ軟口蓋に存在する筋、*M. levator veli palatini* *M. tensor veli palatini* および *M. palatinus* について組織化学的に SDH 活性を検討し、以下の結果を得た。

5・1 *M. levator veli palatini* は、赤筋線維および中間型線維の 2 種類の筋線維より成ることが示され、中間型線維が全体の 61% を占めていた。しかし、これら両筋線維の直径の間には、差が認められなかった。

5・2 *M. tensor veli palatini* には、赤筋線維および中間型線維がそれぞれ 37% および 63% の割合で含まれていた。中間型線維の直径は、赤筋線維のそれよりやや大きいことが認められた。

5・3 *M. palatinus* には、赤筋線維、中間型線維および白筋線維の 3 種類が認められ、それぞれが占める割合は 24%、54%、および 22% であった。しかし、これらの筋線維の直径には差が認められなかった。なお、この筋肉に含まれる 3 種類の筋線維は、いずれも *M. gastrocnemius* に比べて

SDH 活性が高い傾向が認められた。

5・4 以上の筋肉を構成するそれぞれの筋線維の内部には reticular structure (network) が認められた。赤筋線維におけるこの構造は、SDH 活性の高い紐状の部分が不規則に交差したものであり、白筋線維および中間型線維のそれは線状のものであった。また diformazan 顆粒の存在が認められ、これはとくに赤筋線維で多量に認められた。

5・5 ネコの *M. gastrocnemius* には赤筋線維、白筋線維、中間型線維が認められ、それぞれは 20%、56% および 24% の割合で存在していた。また赤筋線維の直径は最も小さく、白筋線維のそれは最も大きかった。一方 *M. soleus* は赤筋線維および中間型線維の 2 種類の筋線維から構成されており、中間型線維が全体の 72% を占めていた。これら両筋線維の直径の間に差は認められなかった。

以上の成績から、ネコの軟口蓋筋のうち、*M. levator veli palatini* および *M. tensor veli palatini* は、それぞれ赤筋線維と中間型線維から、*M. palatinus* は赤筋線維、中間型線維および白筋線維から構成されることが明らかにされた。

文 献

1. 筒井英夫：唇裂、口蓋裂の外科、堀越達郎編；図説・顔面・口腔手術学、第 1 版 119-146、書林、東京 (1976)。
2. Ross, R. B. and Johnston, M. C.: Cleft lip and palate, the Williams & Wilkins Company, Baltimore (1972)。
3. Westlake, H. and Rutherford, D.: Cleft palate, Prentice-Hall, Inc., New Jersey (1966)。
4. Travis, L. E.: Handbook of speech pathology, Appleton-Century-Crofts, Inc., New York (1957)。
5. 森本正紀、一色信彦：口蓋裂の手術、耳鼻咽喉科手術全書 (2)、河田政一、切替一郎、森本正紀編 339-370、金原出版、東京 (1975)。
6. Sicher, H.: Oral anatomy, third edition, the c. v. Mosby Company St. Louis (1960)。
7. 戸近太郎、伊藤 隆：組織学、第 15 版、南山堂、東京 (1972)。
8. Ogata, T.: A histochemical study of the red and white muscle fibers. 1. Activity of the succinoxidase system in muscle fibers. Acta Med. Okayama 12, 216-273 (1958)。
9. Romanul, F. C. A. and Hogan, E. L.: Enzymatic changes in denervated muscle. 1. Histochemical studies. Arch. Neurol. 13, 263-273 (1965)。
10. Stein, J. M. and Padykula, H. A.: Histochemical classification of individual skeletal muscle fibers of the rat. Am. J. Anat. 110, 103-123 (1962)。

11. Romanul, F. C. A.: Enzymes in muscle. 1. Histochemical studies of enzymes in individual muscle fibers. *Arch. Neurol.* **11**, 355-368 (1964).
12. Arrngio, G. A. and Hagstrom, J. W. C.: The histochemical classification of rabbit hindlimb striated muscle. *J. Histochem.* **17**, 127 (1969).
13. Vincelette, J. and Jasmin, G.: On the heterogeneity of skeletal muscle fibers: The intermediate fibers. *Experientia* **25**, 288-290 (1969).
14. Edgerton, V. R. and Simpson, D. R.: The intermediate muscle fiber of rat and guinea pigs. *J. Histochem. Cytochem.* **17**, 828-838 (1969).
15. Gauthier, F. G. and Padykula, H.: Cytological studies of fiber type in skeletal muscle. *J. Cell Biol.* **28**, 333-354 (1966).
16. Padykula, H. A. and Gauthier, F. G.: Cytological studies of adenosine triphosphatase in skeletal muscle fiber. *J. Cell Biol.* **18**, 87-107 (1963).
17. Close, R. I.: Dynamic properties of mammalian skeletal muscles. *Physiol. Rev.* **52**, 129-133 (1972).
18. Ogata, T. and Mori, M.: Histochemical study of oxidative enzyme in vertebrate muscles. *J. Histochem. Cytochem.* **12**, 197-182 (1964).
19. 北 進一: イヌ舌筋および咬筋の組織化学的観察. 札幌医誌 **39**, 225-234 (1971).
20. 早津良和, 篠崎文彦: ハムスター舌筋の組織化学的観察. 札幌医誌 **45**, 181-184 (1976).
21. Nachlas, M. M., Tsou, K. C., DeSousa, E., Cheng, C. S. and Seligman, A. M.: Cytochemical demonstration of succinic dehydrogenase by the use of a new p-nitrophenyl substituted ditetrazole. *J. Histochem. Cytochem.* **5**, 420-436 (1957).
22. 水口 守, 高氏 昌: ラットの赤筋ならびに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: 1. Succinic Dehydrogenase 活性について. 札幌医誌 **46**, 262-276 (1977).
23. 八木直美, 水口 守, 松島達明: ラット大腿直筋の各種筋線維に対する Lincomycin の影響. 札幌医誌 **46**, 325-332 (1977).
24. 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).
25. 宇尾野公義: 組織化学よりみた筋機能. 里吉啓二郎, 豊倉康夫編集: 筋肉病学, 180-188, 南江堂, 東京 (1973).
26. 宇尾野公義, 木下真男: 筋病理アトラス, **15**, 医学書院, 東京 (1972).
27. 宇尾野公義: ミオパチーの組織化学臨床病理 **17**, 421-432 (1969).

Explanation of Photographs

- Photo. 1** Cross section of the gastrocnemius medialis muscle of the cat incubated for SDH. There are three types of fibers. R, W and I indicated, red, white and intermediate fibers, respectively. ($\times 310$)
- Photo. 2** The same muscle as Photo. 1. ($\times 640$)
- Photo. 3** Cross section of the soleus muscle of the cat incubated for SDH. Note the two types of fibers (R and I). ($\times 310$).
- Photo. 4** The same muscle as Photo. 3. ($\times 500$).
- Photo. 5** Cross section of the levator veli palatini muscle of the cat incubated for SDH. Note the two types of fibers (R and I). ($\times 310$).
- Photo. 6** The same muscle as Photo. 5. ($\times 620$).
- Photo. 7** Cross section of the tensor veli palatini muscle of the cat incubated for SDH. Note the two types of fibers (R and I). ($\times 310$).
- Photo. 8** The same muscle as Photo. 7. ($\times 550$).
- Photo. 9** Cross section of the palatinus muscle of the cat incubated for SDH. Note the three types of fibers. (R, I and W). ($\times 640$).
- Photo. 10** The same muscle as Photo. 9. ($\times 1075$).

