

外眼筋遅筋線維の動的粘弾性に関する研究
—第 2 報 急速短縮法と周波数—張力反応法を用いた
家兎外眼筋の動的粘弾性特性の検討—

平木 泰典, 木村 久, 水川 憲一, 田淵 昭雄

川崎医科大学眼科学教室

要 約

目的：外眼筋を構成する遅筋線維と速筋線維の動的粘弾性特性を調べるために quick release method と frequency response method を応用して，家兎の上直筋と眼球後引筋を用いて検討した。

対象と方法：成熟白色家兎 8 匹の上直筋と眼球後引筋を用いた。筋長を急速に短縮させて張力の回復過程を求める ① quick release method と，速度変化に対する張力変化を求める ② frequency response method を用いて両筋の粘弾性特性を検討した。

結果：① quick release method では，上直筋は眼

球後引筋よりも張力回復に時間を要した。② frequency response method では，dynamic stiffness の変化比が無収縮時は両筋に差はなかったが，強縮時は上直筋において高い傾向を示した。

結論：クロスブリッジの粘性特性は，速筋線維よりも遅筋線維において高いと推察された。(日眼会誌 105 : 745—749, 2001)

キーワード：外眼筋，遅筋線維，速筋線維，動的粘弾性

Studies on Kinetic Viscoelasticity of Slow Muscle Fibers
—2. Dynamic Stiffness Changes Studied by Quick Release Method
and Frequency Response Method—

Yasunori Hiraki, Hisashi Kimura, Kenichi Mizukawa and Akio Tabuchi

Department of Ophthalmology, Kawasaki Medical School

Abstract

Purpose : To evaluate the mechanical properties of slow fibers and fast fibers which make up the extraocular muscles in rabbits.

Subjects and Method : I studied the contractile properties and viscoelastic properties of the superior rectus muscle (SR) and the retractor bulbi muscle (RB) of rabbits using the quick release method and the frequency response method.

Results : In the quick release method, isometric tension transients were slower in the SR than in the RB. In the frequency response method, the muscle length is perturbed sinusoidally to measure kinetic

viscoelasticity. In resting muscle, dynamic stiffness was not changed with increasing frequency. In contracted muscle, dynamic stiffness was increased with increasing frequency, and the rate of increase was greater in the SR than in the RB.

Conclusion : It was concluded that the viscoelasticity of the activated cross bridge is greater in slow fibers than in fast fibers. (J Jpn Ophthalmol Soc 105 : 745—749, 2001)

Key words : Extraocular muscles, Slow fibers, Fast fibers, Dynamic viscoelasticity

I 緒 言

哺乳類の外眼筋は，速筋線維の他に遅筋線維とそれらの中間型が存在する¹⁾²⁾。各筋線維の眼球運動における

働きは，一種類の筋線維が種々の収縮を行うのではなく，各筋線維が役割を分担し，速筋線維が衝動性眼球運動のような迅速な運動に，遅筋線維が滑動性眼球運動のような緩やかな運動や眼球を固定する運動に働くと考え

別刷請求先：701-01 倉敷市松島 577 川崎医科大学眼科学教室 平木 泰典
(平成 12 年 2 月 7 日受付，平成 13 年 4 月 17 日改訂受理)

Reprint requests to: Yasunori Hiraki, M.D. Department of Ophthalmology, Kawasaki Medical School. 577
Matsushima, Kurashiki 701-01, Japan

(Received February 7, 2000 and accepted in revised form April 17, 2001)

られている³⁾⁴⁾が、詳細は不明である。各筋線維の機械的特性の解明には、それぞれの持つ粘弾性特性⁵⁾について検討する必要がある、著者は本研究の第1報⁶⁾において、遅筋線維は速筋線維よりも高い動的粘弾性特性を有することを報告した。この理由として筋の太いフィラメントと細いフィラメントの間に存在し、収縮に際してフィラメント間の滑り込みを起こさせているクロスブリッジが有する粘弾性特性が遅筋線維と速筋線維において異なるためではないかと推察した。第1報においては frequency response method において、振動速度を 20 Hz と固定して粘性要素を剛体化させ、粘性の張力を均一張力として弾性要素との和として検討したが、今回は粘弾性要素の時間的特性をさらに検討するために quick release method と周波数を変化させた frequency response method を用いて検討した。

II 実験方法

1. 試料の作製

試料作製の方法は第1報⁶⁾に準じた。成熟白色家兔(体重 3.4~4.0 kg)8 匹を用い、ペントバルビタールナトリウム(ネンブタール[®])0.4 ml/kg を約 3 分間かけて耳静脈に注射して麻酔した後に開頭して、外眼筋付着部周辺の骨を切除し、すべての外眼筋を無傷のまま眼球とともに摘出した。上直筋および眼球後引筋の両端を 4-0 シルク糸で結紮し、付着部強膜と起始部骨片を付けたまま分離して筋試料に用いた。外眼筋分離の操作は、室温の Krebs-Ringer 液 (NaCl 115 mM, KCl 4.6 mM, CaCl₂ 2.46 mM, MgSO₄ 1.15 mM, Glucose 8.85 mM, Tris-HCl 24 mM, pH 7.0~7.2) 中で、100% 酸素を供給しながら行った。

2. 実験装置の概要

実際の測定の様子を図 1、実験装置のブロックダイアグラムを図 2 に示す。外眼筋を Krebs-Ringer 液で満たした液槽内(温度を 36 ± 0.5 (平均値 \pm 標準偏差)°C に設定し、100% 酸素を供給した)において、強膜側の腱を半導体ロードセル (UT 50 gf, NMB) に、起始部側の腱を直線型ポテンシオメータ (LP-20 F, 緑電子) にそれぞれ 4-0 シルク糸を用いてたるみのないよう強固に縫着した。張力の測定は、マイクロマニピュレータに固定された半導体ロードセルを使用し、張力変化に伴って発生する歪みを電位変化として増幅 (4006-F, Shinkoh) した。筋長を変化させるためにバイブレータ (GWV 4/2, Gearing & Watson) を使用し、デジタルファンクションシンセサイザ (FG-122, NF electronic instruments) からの信号を DC ドライバアンプ (Technics A 7, ナショナル) で増幅することにより駆動した。筋長変化の測定は、バイブレータの同軸上に取り付けられた直線型ポテンシオメータを使用し、筋長の変化によって発生する電流変化を自作アンプにより増幅した。この張力と筋長の変化を

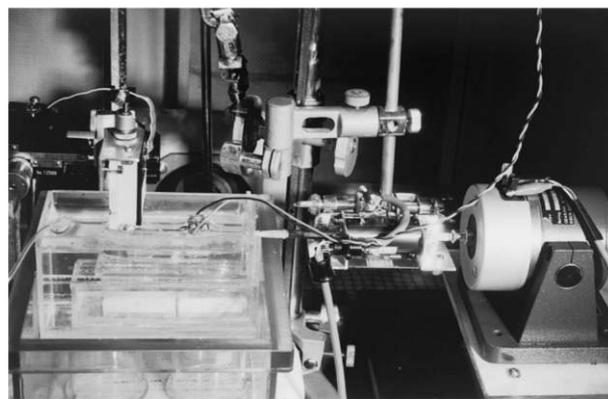


図 1 実験装置。
チャンバー(左)とバイブレータ(右)

データレコーダ (MR-10, TEAC) に記録し、オシロスコープ (SS-5710, 岩通電子) およびペンレコーダ (8 K 30, 日本電気三栄) に表示した。測定精度はキャリブレーションの結果、張力は 1,000 mg に対し $\pm 0.6\%$ 、長さ変化は 10 mm に対し $\pm 0.5\%$ で、半導体ロードセルの固定時固有振動数は 170 Hz、バイブレータの無負荷時の共振周波数は 12 kHz であった。

筋収縮は電気刺激による massive 刺激を用いた。刺激装置には SEN-1101, SS-101 J (日本光電) を用い、裏面を絶縁した $35 \times 5 \times 0.2$ mm 大の銀塩化銀電極一对を筋試料の長軸方向の両側に挟んで置き、全筋線維を等尺性に収縮させた。至適強縮条件は、第1報で得た持続時間 0.8 msec、刺激頻度 100 Hz、最大刺激の 1.4 倍に相当する 100~200 V の刺激強度を用いた⁶⁾。また、マニピュレータによって 0.5 mm 単位で筋長を可変させ、各々の筋長下において単刺激を行い、最大収縮張力を発生する筋長を生体長とし、以下の実験はすべて生体長 (L_{max}) で行った。

3. 実験項目

筋試料に用いた上直筋には速筋線維および遅筋線維が含まれ^{7)~10)}、眼球後引筋には速筋線維のみが含まれる^{11)~13)}。速筋線維と遅筋線維との構成比率が異なるこれら 2 筋について、以下の項目を比較検討した。

1) 筋長を急激に変化させた場合の発生張力の変化 (quick release method)

生体長において等尺性に全筋を強縮させ、張力が平坦化したところでバイブレータによって筋長を矩形波的に 0.1 mm の急速短縮 (2 m/sec) させた。このようにすると筋が弛緩させられるので、その張力は急激に低下するが、新たな収縮の余地を与えられて再び収縮を始め張力は回復してゆく。この張力曲線は指数関数曲線に類似するので、63% まで回復するのに要する時間を測定して、これを時定数とした。

2) 筋長を振動変化させた場合の発生張力の変化 (frequency response method)

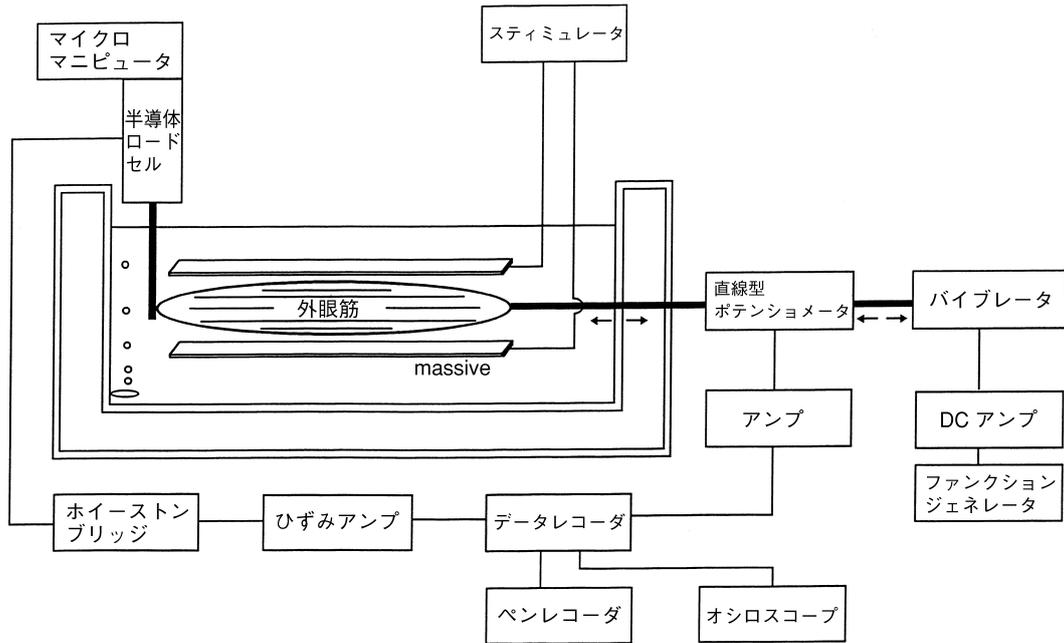


図 2 実験装置のブロックダイアグラム.

生体長の筋に対して無収縮時と強縮時において、それぞれ振幅 0.1 mm のサイン波振動をパイプレータによって与え筋長を変化させた。サイン波振動の周波数は 0.5, 1, 5, 10, 20 Hz と変化させた。これらの筋長変化によって得られる受動的張力変動を記録し、筋長変動と受動的張力変動から dynamic stiffness (g/mm) (動的弾性率) を求めた。また、20 Hz と 0.5 Hz の dynamic stiffness からその変化比を求めた。

III 結 果

1. 筋長を急激に変化させた場合の発生張力の変化 (quick release method)

最大収縮張力を発生した状態から急速短縮を行うと、張力は急激に低下した後、急速に回復に向かうが、その後回復速度は徐々に低下して緩やかな曲線を描いた。なお、筋長を生体長に戻すと張力はオーバーシュートした後に再び元の値に向かった(図 3)。

急速短縮後にみられる張力回復過程の時定数は、上直筋では 300 ± 50 (平均値 \pm 標準偏差) msec (n=8)、眼球後引筋では 250 ± 30 msec (n=8) であった。上直筋と眼球後引筋では $p < 0.01$ の危険率で有意差があった (Welch の t 検定)。

2. 筋長を振動変化させた場合の発生張力の変化 (frequency response method)

無収縮時と強縮時の上直筋および眼球後引筋に振幅 0.1 mm、周波数 0.5~20 Hz の振動を与えて得られた両筋の dynamic stiffness を図 4 に示す。20 Hz における dynamic stiffness の平均は、上直筋で無収縮時では 3.0 ± 0.9 (平均値 \pm 標準偏差) g/mm (n=8)、強縮時では 10.1 ± 1.9 g/mm (n=8)、眼球後引筋はそれぞれ $2.9 \pm$

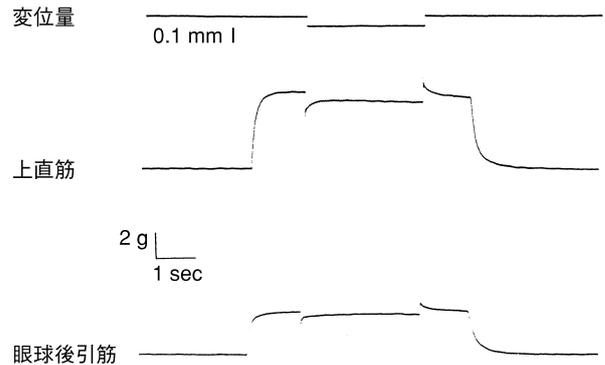


図 3 筋長を急速に変化させた場合の発生張力の変化.

0.9 g/mm (n=8), $6.2 \pm 1.5 \text{ g/mm}$ (n=8) であった。速度を変化させた際の dynamic stiffness の変化は、無収縮時では振動周波数を変化させてもほとんど変化しなかったのに対し、強縮時では 5 Hz までは振動周波数の増加とともに dynamic stiffness が増加する傾向があった。20 Hz と 0.5 Hz における動的弾性率の変化比は、無収縮時において上直筋で 1.08、眼球後引筋で 1.05 であった。強縮時においては上直筋で 1.20、眼球後引筋で 1.13 であった。上直筋と眼球後引筋の強縮時における動的弾性率の変化比は $p < 0.02$ の危険率で有意差があった (Welch の t 検定)。

IV 考 按

筋の機械的特性は、哺乳類の心筋や両生類の骨格筋を用いて、frequency response method や音響インピーダンス法を用いて詳細に研究され^{14)~17)}、心筋や平滑筋は骨格筋より粘弾性が高いこと、粘性要素発現の機序などが明らかにされている。筋には細いフィラメントを形成

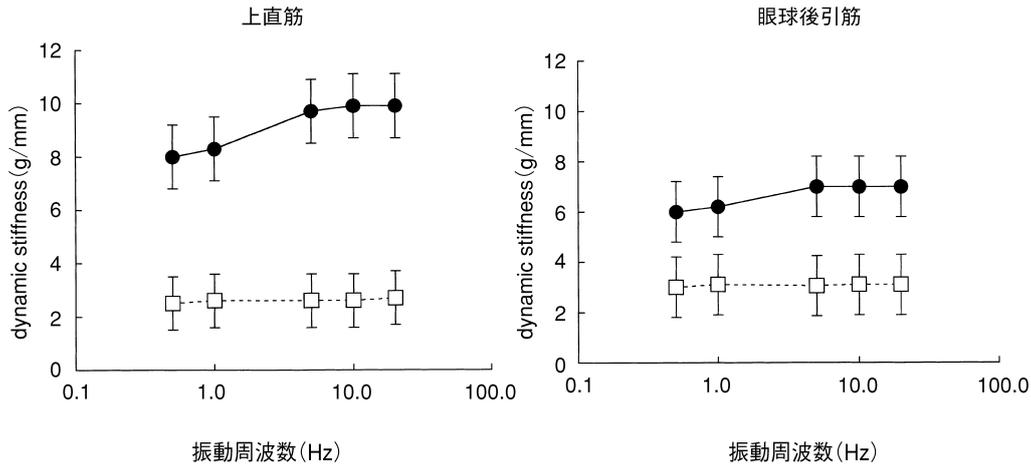


図 4 振動周波数の変化と dynamic stiffness の関係。

●：強縮時，□：無収縮時。エラーバーは 1 SD

するアクチンと太いフィラメントを形成するミオシンが存在し、ミオシンの頭部は周囲に突出しており、これはクロスブリッジ(筋間橋)と呼ばれる。筋の収縮の際にはクロスブリッジが細いフィラメントをたぐり込むような運動をするといわれ、クロスブリッジ自体の粘弾性も論じられている。一方、外眼筋には大別して速筋線維と遅筋線維が存在することは広く知られているが、各筋線維におけるこれらの機械的特性については不明な点が多い。

著者は第 1 報において、frequency response method を用いた外眼筋の動的粘弾性特性について報告し、遅筋線維が速筋線維よりも高い動的粘弾性を有することを報告したが、今回さらに同法を進めるとともに速度変化における両筋線維の粘弾性特性を検討することを試みた。

まず、quick release method を用いた検討では、Huxley ら¹⁸⁾が筋線維の長さを急激に変化させた際に起こる張力の過渡的变化(isometric tension transients)を、①筋線維長変化と同期した弾性的な張力低下、②筋線維長の変化完了に続く急激な張力の回復期、③張力変化の停止期、④ゆっくりした張力回復期の 4 過程に区分されることを報告¹⁸⁾している。これらのうち、①の過程はクロスブリッジの弾性、②の過程はクロスブリッジ頭部の回転によるものと推察し、Huxley らの滑り模型として報告し、クロスブリッジのアクチン-ミオシン間の結合解離サイクルを説明した。本研究の quick release method における張力回復時間は Huxley らのクロスブリッジ頭部の回転に相当する。このため、張力回復時間が上直筋において眼球後引筋よりも長かった結果は、上直筋に含まれる遅筋線維のクロスブリッジ頭部のアクチンへの再結合が遅いために弾性要素の張力発現が遅れるためであり¹⁹⁾、これは遅筋線維のクロスブリッジにおいて、結合解離のサイクリック反応の回転が速筋線維のクロスブリッジよりも遅いために結合状態に留ま

っている時間が長いと推察された。

次に、周波数変化に対する張力変化は、Saeki ら¹⁵⁾がネコ右室乳頭筋を用いた frequency response method の実験において、dynamic stiffness と振動周波数との関係について、0.8~8 Hz の間では振動周波数の増加とともに dynamic stiffness の増加がみられるが、それ以上の振動周波数では増加がみられないことを報告している。これは、ある一定の速度までは速度の増加に伴ってクロスブリッジの粘性要素の張力が増加してゆくが、ある速度を超えるとクロスブリッジの粘性要素が剛体化して、それ以上の張力増加がみられないことによるためであると説明している。本研究では、5 Hz までは周波数の増加とともに張力が増した。弾性要素は振動周波数の変化に反応しないため、この変動はクロスブリッジの粘性要素の変動によるものと考えられた。この変動比が上直筋において眼球後引筋よりも高かったことは、上直筋により多く含まれる遅筋線維のクロスブリッジにおける粘性要素が速筋線維よりも高く、振動周波数の増加に対して dynamic stiffness が増加する傾向があり、また無収縮時よりも強縮時において高かったことは、伸張速度に依存する粘性要素がクロスブリッジの活動時に張力を発生するためと推察された。

稿を終えるに当たり、本研究に際しご指導と論文のご校閲を賜りました川崎医科大学松村幹郎名誉教授に深謝いたします。

本稿の要旨は、第 100 回日本眼科学会総会および第 33 回日本神経眼科学会総会において報告した。

本研究の一部は、平成 7 年度日本私学振興財団私立大学等経常費補助金特別補助(高度化推進特別経費)大学院重点特別経費、平成 7 年度文部省科学研究費補助金 一般研究 C (No. 07671944)、川崎医科大学プロジェクト研究(8-709, 9-806)の援助を受けた。

文 献

- 1) **Peachey LD** : Skeletal Muscle : Structure. Contraction. Excitation-Contraction Coupling. In : Adrian RH, et al (Eds) : Handbook of Physiology (Section 10). American Physiology Society, Bethesda, Maryland, 1—485, 1983.
- 2) **高氏 昌** : 骨格筋生理学の現状と外眼筋の構造ならびに機能 Skeletal muscle physiology and structure and function of extraocular muscles. 眼臨 85 : 1426—1433, 1991.
- 3) **Kimura H, Matsubayashi K, Kitahata T, Fukai S, Tabuchi A** : Spectral analysis of surface EMG to evaluation of extraocular muscles. 川崎医療福祉会誌 1 : 217—221, 1991.
- 4) **伊藤文雄** : 外眼筋の生理的特性. 神経進歩 19 : 845—855, 1975.
- 5) **岡 小天** : バイオレオロジー. 裳華房, 東京, 1—30, 1984.
- 6) **平木泰典** : 外眼筋遅筋線維の動的粘弾性に関する研究—第 1 報 家兎外眼筋の収縮張力・疲労抵抗性・剛度について—. 日眼会誌 101 : 3—11, 1997.
- 7) **長谷川一郎, 沢 正博, 竹田 真** : ウサギ上直筋の Slow Fiber の特性について—第 1 報—. 日眼会誌 85 : 12—18, 1981.
- 8) **Bach-y-Rita P, Ito F** : *In vivo* studies on fast and slow fibers in cat extraocular muscles. J Gen Physiol 49 : 1177—1198, 1966.
- 9) **Browne JS** : The contractile properties of slow muscle fibers in sheep extraocular muscle. J Physiol 254 : 535—550, 1976.
- 10) **Kern R** : A comparative pharmacologic-histologic study of slow and twitch fibers in the superior rectus muscle of the rabbit. Invest Ophthalmol 4 : 901—910, 1965.
- 11) **Alvarado J, Steinacker A, Bach-y-Rita P** : The ultrastructure of the retractor bulbi muscles of the cat. Invest Ophthalmol 6 : 548, 1967.
- 12) **Bach-y-Rita P, Levy J. V, Steinacker A** : The effect of scincylcholine on the isolated retractor bulbi muscle of the cat. J Pharm Pharmacol 19 : 180—181, 1967.
- 13) **Lennerstrand G** : Mechanical studies on the retractor bulbi muscle and its motor units in the cat. J Physiol 236 : 43—55, 1974.
- 14) **Loeffler L, Sagawa K** : A one dimensional viscoelastic model of cat muscle studied by small length perturbation during isometric contraction. Circ Res 36 : 498—512, 1975.
- 15) **Saeki Y, Sagawa K, Suga H** : Dynamic stiffness of cat heart muscle in Ba²⁺-induced contraction. Circ Res 42 : 324—333, 1978.
- 16) **Hatta I, Sugi H, Tamura Y** : Stiffness changes in frog skeletal muscle during contraction recorded using ultrasonic waves. J Physiol 403 : 193—209, 1988.
- 17) **Tsuchiya T, Iwamoto H, Tamura Y, Sugi H** : Measurement of transverse stiffness during contraction in frog skeletal muscle using scanning laser acoustic microscope. Jpn J Physiol 43 : 649—657, 1993.
- 18) **Huxley AF, Simmons RM** : Tension responses to sudden length change in stimulated frog muscle fibers near slack length. J Physiol 269 : 441—515, 1977.
- 19) **木村 久, 榎本 弘, 松村幹郎** : 外眼筋遅筋線維の動的粘弾性. 日本バイオレオロジー学会論文集 5 : 69—72, 1982.