家兎上直筋の等張性収縮

—特に遅筋線維について—

梅本　亨*，沢　正博*，大谷地裕明*，竹田　眞*，松田　整二**，長谷川一郎***
*札幌医科大学眼科学教室，**誠心眼科病院，***長谷川眼科医院

要　約

著者らは家兎上直筋より遅筋線維束標本を作成し，等張性収縮実験を行い，その収縮速度と刺激頻度，負荷との関係について検討した．又，同時に中間型を含む速筋線維束標本との比較も行なった．遅筋線維の収縮速度は刺激頻度に依存し，40～200Hzまで連続的に増加し250Hzでは減少した．速筋線維もその周波数依存性は遅筋線維のそれと類似が認められ，筋線維レベルでは遅筋線維の収縮への不参加が速筋線維の収縮の妨げにはならないことが示唆された．収縮速度の最大値は両者とも200Hzの時に得られ，遅筋線維で4.3±1.53mm/sec，速筋線維で26.9±3.48mm/secとほぼ6倍の差が認められた．又，遅筋線維の速度—負荷関係は負荷が0～50%の間では直角双曲線状になると推定された．（日眼会誌　94：779—785，1990）

キーワード：遅筋線維，速筋線維，等張性収縮，家兎上直筋，速度負荷曲線

Isotonic Contraction of Rabbit Superior Rectus Muscle

Toru Umemoto*, Masahiro Sawa*, Hiroaki Ohyachi*
Makoto Takeda*, Seiji Matsuda and Ichiro Hasegawa*****
**Department of Ophthalmology, Sapporo Medical College*
***Seishin Eye Hospital, ***Hasegawa Eye Clinic*

Abstract

It is well known that the mammalian extraocular muscle has slow muscle fiber morphologically. But the contraction speed of slow muscle fiber has not been mentioned in previous reports. We studied the isotonic contraction of slow muscle fiber and compared it with fast muscle fiber. Each fiber bundle was isolated from the rabbit superior rectus muscle. Both light microscopic findings and the reaction to isotonic contraction in Ca^{2+} free Ringer's solution could identify each of the two muscle fiber types. Contraction speed depended on the frequency of stimuli (40～200Hz) in both slow and fast muscle fiber. Maximum velocities of slow and fast fiber bundles were 4.3±1.53mm/sec and 26.9±3.48mm/sec at 200Hz, respectively. It was suggested that the relaxation of slow muscle fiber did not interfere with the contraction of the fast muscle fiber. The relation between contraction velocity and afterload showed an approximately right angle hyperbolic curve. (Acta Soc Ophthalmol Jpn 94 : 779—785, 1990)

Key words: Slow muscle fiber, Fast muscle fiber, Isotonic contraction, Rabbit superior rectus muscle, Force-velocity curve

---

別刷請求先：060　札幌市中央区南1条西16丁目　札幌医科大学眼科学教室　梅本　亨
（平成元年8月25日受付，平成元年12月12日改訂受理）
Reprint requests to: Toru Umemoto, MD　Dept. of Ophthalmol., Sapporo Medical College
S-1, W-16, Chuo-ku, Sapporo 060, Japan
(Received August 25, 1989 and accepted in revised form December 12, 1989)

I 緒 言

哺乳類の外眼筋は，組織学的に速筋線維と遅筋線維及びその中間型の線維から成るという大きな特徴を持つ[1)2)]．一方，外眼筋の生理的特性としての収縮能を評価する方法として等尺性収縮と等張性収縮が知られている．前者は，筋の張力発生をみるものであるのに対し，後者は，収縮速度を知ることができる．従来，外眼筋の電気的及び機械的応答をみる場合，その中心はwhole muscleを用いた等尺性収縮による張力特性の検討であり，遅筋線維については，whole muscle全体から間接的に測定するという方法がとられてきた[3)~5)]．しかし，眼球運動における各筋線維の果たす役割を理解するためには，各筋線維束の張力特性の検討も必要と思われる．長谷川ら[6)]は家兎上直筋より，遅筋線維のみからなる筋線維標本を作成し，その等尺性収縮について報告した．

一方，等張性収縮の検討は臨床上のEOGと対比しうるという点で重要である．大谷地ら[7)]はwhole muscleで等張性収縮をおこなわせ，その収縮速度を検討している．今回，著者らは長谷川ら[6)]の報告した遅筋線維標本を利用し，等張性収縮実験を行い，遅筋線維の収縮速度と刺激頻度，負荷の関係を速筋線維と比較検討した．

II 実験方法

1. 対象

体重2.0~2.5kgの白色家兎10羽で全て左眼上直筋を使用した．10羽のうち5羽は遅筋線維標本のみを作成し，残りの5羽は同一筋標本より遅筋線維標本と速筋線維標本を作成した．

2. 筋線維標本の作成（図1）

筋線維標本の作成は，長谷川ら[6)]の方法に従った．強膜と前頭骨をつけたまま取り出し，遅筋線維は耳側かつ眼窩側最表層部より幅1mmとし，比較に用いた速筋線維は筋腹のやや鼻側で眼球側から幅1.0~1.5mmの筋線維束とした．両端を絹糸にて結紮した後，強膜および骨を切り離した．以上の作業は，12℃のRinger液中で100%酸素通気下にて行なった．Ringer液は，Krebs-Henseleit液中の重炭酸リン酸緩衝液をTris-HCl緩衝液に置換したものを使用した．

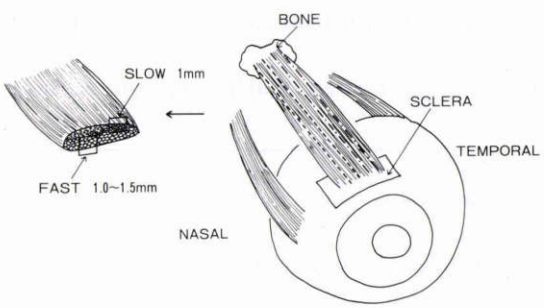

図1 Diagram of muscle preparation.

3. 実験装置および条件（図2）

作成された筋線維標本は，一端をtransducerに，もう一端をcripping rodに固定し，チェンバー内に設置された．電気刺激はmassive stimulation法を採用し，2枚の白金平板電極で筋線維標本全体をはさむようにした．刺激電流はパルス幅0.8msecの矩形波で刺激時間は2.0sec，電極間の実効電圧は6Vである．初期負荷は，大谷地ら[7)]がwhole muscleで自然長とするのに必要な負荷を約500mgと実測していることと今回の筋線維標本の幅が約1mmであることより，遅筋線維標本で30mg，速筋線維標本で60mgとした．電気刺激実験中はチェンバー内のRinger液温は36℃~37℃に保たれ，100%酸素にて通気された．

4. 等尺性収縮

等張性収縮実験に先立ち，まず初期負荷の状態で最大発生張力を測定した．これは，次の等張性収縮における後負荷が最大発生張力を越えていないかどうかを確認するためである．刺激頻度は長谷川[6)]，大谷地ら[7)]の報告により，100，150，200Hzとした．測定にはアイソメトリックトランスデューサー（日本光電，TB-

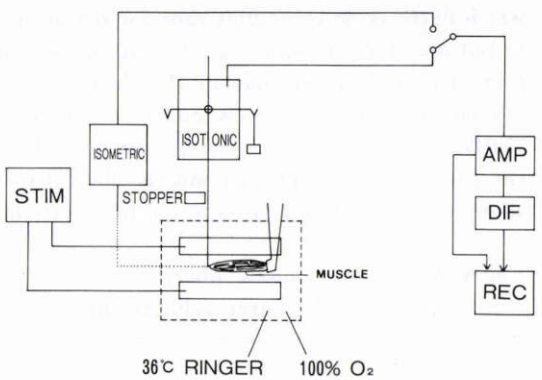

図2 Diagram of the experimental apparatus
STIM : electronic stimulater, AMP : amplifier, DIF : differential amplifier, REC : recticorder, ISOMETRIC : isometric transducer, ISOTONIC : isotonic transducer

651T)を，記録はレクチコーダー(日本光電，WT-645G)を使用した．

5. 等張性収縮

引きつづき同一筋標本にて，まず初期負荷で等張性収縮を行なわせ，収縮速度を微分波形をもちいて記録した．刺激頻度は40，100，150，200(250)Hzの各周波数とした．遅筋線維標本については，さらに後負荷を30，60，90mgとし，同様に各周波数について等張性収縮を繰り返した．刺激間隔は約1分とし，可能な限り筋疲労の因子を排除した．アイソトニックトランスデューサーは日本光電のTD-112S，記録はレクチコーダー(日本光電，WT-645G)を用いた．

6. 外液 Ca^{2+} を除いた場合の等張性収縮

これは使用された筋標本が，生理学的に遅筋線維かどうかを確認するために行なった．まず一定の刺激条件のもとに前述Ringer液中で等張性収縮を行なわせ，速やかに Ca^{2+} free Ringer液に置換し，10分後同じ刺激条件で等張性収縮を行なわせた．更に再度Ringer液に戻し，10分後再刺激した．なお Ca^{2+} free Ringer液は上記2のRinger液において $CaCl_2$ を除いたもので EGTA などのキレート剤は加えなかつた．

7. 組織標本作成

一連の刺激実験終了後，各筋標本を10%ホルマリンで固定し，パラフィン包埋後，厚さ10μmの横断切片としヘマトキシリン—エオジン及び，マッソン—トリクローム染色を行なった．

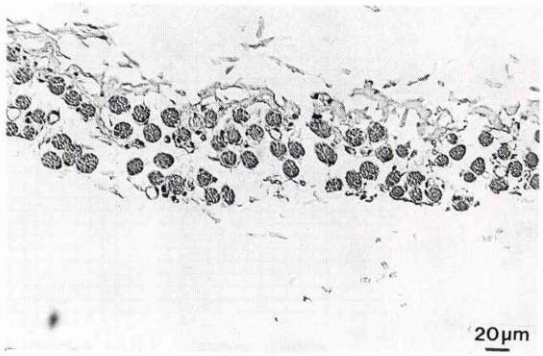

図3　Slow muscle fiber bundle showing "Felderstruktur" type. (H-E staining) ×200.

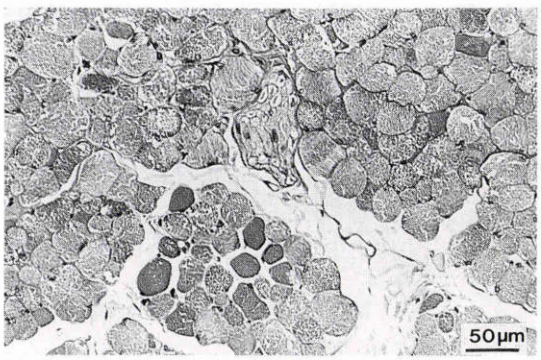

図4　Fast and intermediate muscle fiber bundle showing predominantly "Fibrillenstruktur" type. (H-E staining) ×200.

III 結　果

1. 遅筋線維標本の確認

1) 光学顕微鏡による組織学的観察

図3，図4は実験に使われた筋線維標本の代表的なものである．図3は一部に中間型と思われるやや径の大きい筋線維の混在が認められるものの，その数は非常に少なく，全体に小径でFelderstruktur型をしめした．比較のための速筋系標本は図4にしめすが，筋線維の径も大きく筋原線維も明瞭でFibrillen-struktur型を示すものが圧倒的に多い．

2) Ca^{2+} free Ringer液における等張性収縮(図5，図6)

Ringer液中での収縮速度を100%とすると遅筋系として作成された筋線維標本は，外液 Ca^{2+} を除去すると収縮速度は，ほぼ0に抑えられた．又，再びRinger液に戻すことで平均81%の回復が得られた．対照的に速筋系標本では，Ca^{2+} free Ringer液中でも収縮速度は約80%保たれた．

2. 等尺性収縮の最大発生張力

初期負荷において最大発生張力(P_0)は遅筋線維標本，速筋線維標本ともに150Hzの反復刺激で得られ，その平均値はそれぞれ0.32±0.083g，2.32±0.640gであった．等張性収縮における後負荷(P)はこの最大発生張力を越えない範囲に設定した．

3. 等張性収縮の収縮速度

1) 収縮速度と刺激頻度の関係(図7，図8)

図7には実際の記録波形を，図8には収縮速度と刺激頻度の関係を遅筋線維と速筋線維の両者について片対数グラフにしめす．遅筋線維，速筋線維ともに収縮速度は刺激頻度に依存し，40Hzから200Hzまで漸次に増加し，250Hzでは減少した．つまり，遅筋線維と速筋線維の周波数依存性は類似していた．これは大谷地ら[7]のwhole muscleにおける収縮速度特性とも類

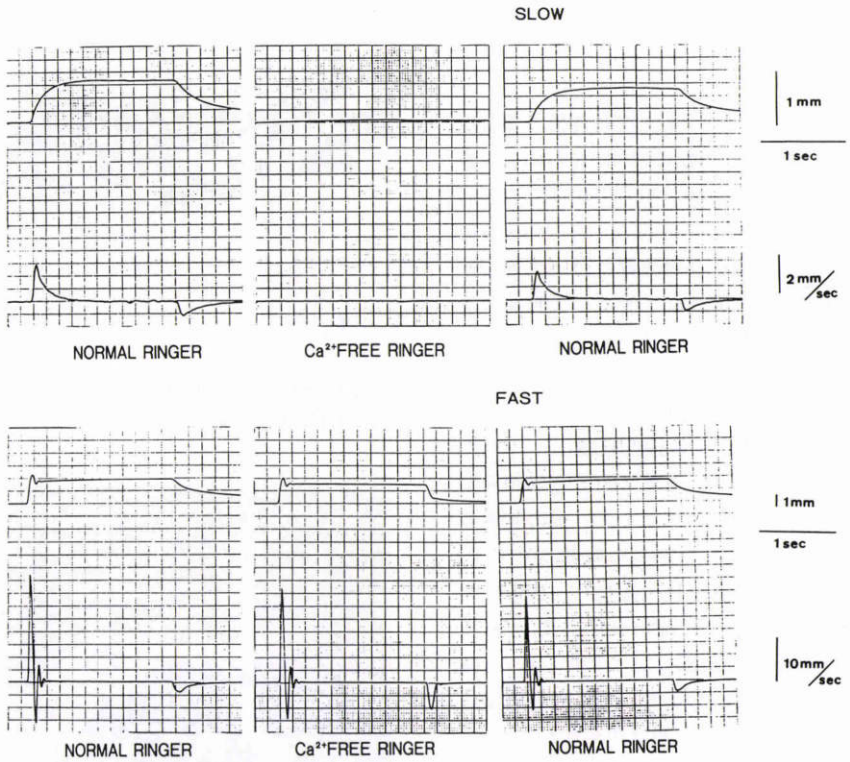

図5 Top: Isotonic contraction of the slow fibers. Velocity was 0 in Ca^{2+}free Ringer.
Bottom: Isotonic contraction of the fast fibers. The contraction speed decreases only 20% in Ca^{2+} free Ringer.

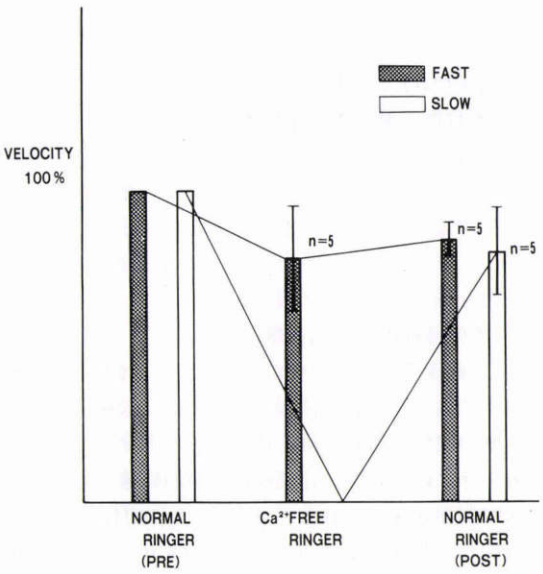

図6 Isotonic contraction. Velocity in Ringer solution (Pre) is set at 100%.

似していた．即ち，200Hz まで増加し250Hz で減少した．但し，最大収縮速度の80%に達する時の刺激頻度は遅筋線維に比べ，速筋線維の方が低かった．

2）最大収縮速度（図8）

最大収縮速度は両者ともに初期負荷かつ200Hz のときに得られ，遅筋線維で4.3±1.53mm/sec，速筋線維で26.9±3.48mm/sec と約6倍の差があった．40Hz から200Hz までの各周波数で比較しても収縮速度に6倍から8倍の非常に大きな違いが認められた．

3）収縮速度と負荷の関係（図9）

各遅筋線維標本の最大発生張力 P_0 に対し，各後負荷を P としてその比 P/P_0 を求め，P/P_0 が10%から50%となる収縮速度を推定し，速度—負荷関係を求めた．その結果，負荷が50%までの間では収縮速度は負荷の増加とともに遅くなり，直角双曲線状をしめした．

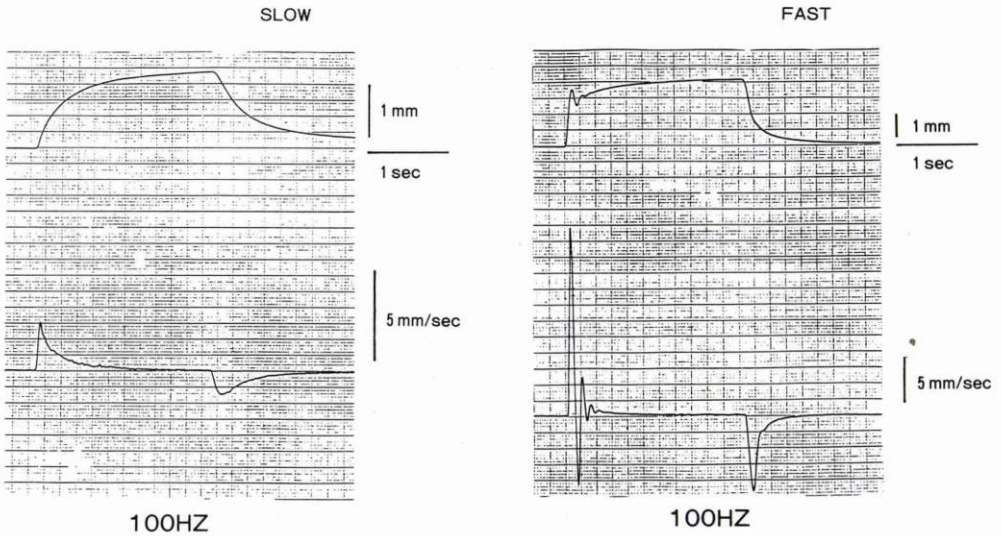

図7　Isotonic contraction (upper traces) and velocity (lower traces) at 100Hz stimulation.
Left : slow muscle fibers. Right : fast muscle fibers.

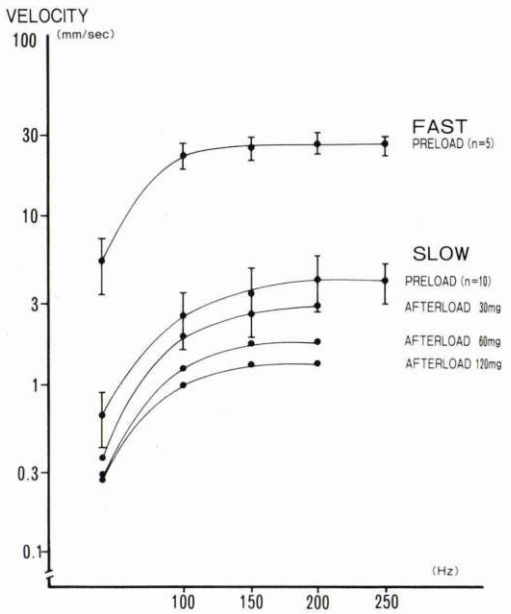

図8　Relationship between contraction speed and frequency of stimulus. Maximum velocity was 4.3±1.53mm/sec, 26.9±3.48mm/sec at 200Hz respectively.

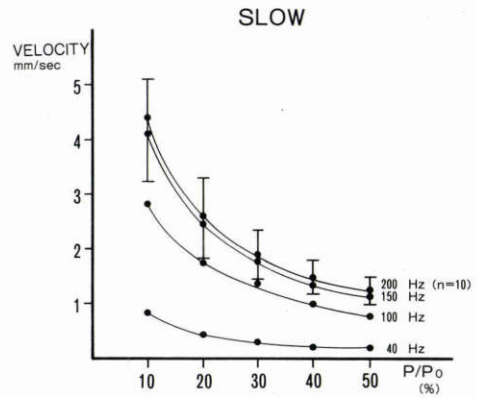

図9　Relationship between afterload and velocity. P_0 : Maximum tetanic tension. P : Preload plus afterload. Vertical bars show the S.D. of 200Hz stimulation.

IV　考　按

速筋線維及び，遅筋線維が眼球運動においてどのような役割を担っているかという問題は非常に興味深く，Hess と Pillar[1]は急速な眼球運動が twitch fiber により又，眼位の保持には slow fiber が関与すると推論している．又，伊藤[8]，木村ら[9]もネコ外眼筋の遅筋線維が眼球の持続的固定に役立つと述べている．この問題のさらなる解明には末梢レベルでの各筋線維の収縮特性の違いを検討しておくことが重要と思われる．特に遅筋線維のみからなる筋線維標本を作成し，その収縮速度を測定した報告は，ほとんどない．木村[5]は速

筋線維が伝導性の活動電位を発生するのに対し，遅筋線維が伝導性の活動電位を発生しないという性質を利用し，刺激方法を変えることで間接的に2種の筋線維を分離した．即ち，point stimulationで速筋系の収縮を，massive stimulationで速筋系と遅筋系の収縮をとらえ，その差を遅筋線維の収縮とした．しかし，木村[5]も指摘しているようにpoint stimulationの場合も刺激電流が大きくなるにつれ，遅筋線維の局所の収縮の範囲が大きくなりこの影響を無視しえなくなると思われる．従って，より直接的なアプローチとして同一筋線維型の筋標本の作成が必要である．Kern[10]は家兎上直筋を用い眼窩側表層部に遅筋線維のみからなる筋層があり，眼球側の筋層との間は厚い結合組織で境され，両筋層を機械的に剝離できることをしめした．また，小原ら[11]は上記実験を組織化学的に追試検討し，眼窩側表層に一部他の型の筋線維も混在することを確認している．この2つの報告より，長谷川ら[6]は眼窩側表層の筋層を部分的に薄く細く剝離することで遅筋線維のみからなる筋線維標本の作成に成功し，multiinnervated fiberであることも電顕及び，コリンエステラーゼ染色で確認している．また，光顕的にも速筋系標本が大径でFibrillenstruktur型が高率に認められるのに対し，遅筋系では径が小さく，Feederstruktur型と思われる筋線維がほとんどを占めていた．更にCa^{2+} free Ringer液中で等尺性収縮をおこなわせると遅筋線維ではほぼ100%張力が抑えられると報告している．今回，著者らの等張性収縮実験において用いた遅筋線維標本はCa^{2+} free Ringer液中では，ほぼ100%収縮が抑えられたのに対し，速筋線維標本では20%の収縮速度の減少にとどまっていた．遅筋線維は収縮に際し，その活性化Ca^{2+}を外液に強く依存していることから考えて生理学的に遅筋線維のみからなる筋線維標本が作成できたと考える．速筋線維標本は厳密には，中間型を含む筋線維群であるが，光顕的には，ほぼ速筋線維と考えて差し支えないものと思われる．各筋線維標本のvolumeは遅筋線維標本に比べ，速筋線維標本で大きいが，初期負荷を前者の2倍に設定することで初期長をほぼ等しくすることが可能であった．又，このvolumeの差は浸透時間の関係する薬物刺激と異なり，massive stimulation法を用いた電気刺激では実験結果にほとんど影響を与えないものと考えられた．

遅筋線維における等張性収縮の収縮速度は刺激頻度依存性があり，40～200Hzまで連続的に増加し250Hzでは減少した．これは後負荷をかけてもほぼ同じ傾向であった．速筋線維についても同様の刺激頻度依存性が認められ200Hzで最大収縮速度が得られたが，遅筋線維に比べると最大収縮速度の80%に達する周波数は低かった．即ち，遅筋線維では150Hzであるのに対し，速筋線維では100Hz以下であった．これは筋疲労の程度が遅筋線維に比して速筋線維でより大きいことによるかもしれない[4]，又，大谷地ら[7]のwhole muscleでの実験でも200Hzで最大収縮速度が得られている．以上のことより，筋線維レベルでは遅筋系も速筋系も同じ刺激頻度まで連続的に応答できるということが確認された．これは速筋線維の収縮に際して遅筋線維が速筋線維の収縮の抵抗とはならないことを示唆するものである．木村[5]はネコ外直筋の速度—負荷曲線において，負荷を小さい方へextrapolateする時に，point stimulationとmassive stimulationでの収縮速度に差がなくなることより，同様のことを報告している．

遅筋線維の最大収縮速度は速筋線維と比べ，ほぼ1：6であり大谷地ら[7]のwhole muscleでの収縮速度と比較すると1：10となった．この差はwhole muscleが筋標本作成の際，筋線維表面膜を機械的に損傷する程度が少ないからと思われる．この点を差し引いても収縮速度に6倍の開きがあることは，やはり両筋線維の眼球運動におけるある種の機能分担を示唆するものである．Collinsら[12]はヒト内直筋の層別EMG記録で，完全なall or noneの分業ではないが，眼窩側の小径線維群が主に固視，smooth pursuitに寄与し，眼球側の大径線維は固視よりはむしろsaccadeに主として関与していると報告しており，今回の実験結果とも矛盾するものではない．

Barmack[13]は，家兎の垂直，水平眼球運動における粘弾性をVORを利用して測定し，第一眼位から35°までは0.11 ± 0.03g/degとしている．これはヒトの眼球における粘弾性の約1/10にあたる[13][14]がこの差は両者の眼位コントロールシステムの正確さを反映しているという．いずれにしろ家兎では30°上転位で少なくとも約3gの静止張力が必要ということであるが，今回の幅1mmの遅筋線維標本の最大張力が0.3g程であるからこれを筋腹全体に換算すると2gであり若干少ないが，やはり眼位の保持には大きく関与していると推測される．

筋肉は，負荷が大きくなるにつれ短縮速度が小さくなるという性質をもつが，その負荷—速度関係を表す経験式として一般にHill[15][16]による次式が知られている．

$(P+a)(V+b)=b(P_0+a)$

P—負荷，V—収縮速度，P_0—最大発生張力，a，b—定数

即ち，PとVは直角双曲線であらわせるというものである．この式でa/P_0はWilkie[17]によると筋によらない一定の値で，ほぼ0.2～0.48であり，仮に$a/P_0=0.2$としb=1.32として曲線を描くと周波数200Hzにおける曲線とよく相関する．従って遅筋線維の速度—負荷曲線は，負荷が50%までの間ではほぼ直角双曲線状と推定される．

Closeら[18]はラット下直筋より速度—負荷関係を求めているが，最大収縮速度は1筋節あたり約60μm/secと報告している．比較のため便宜上，最大収縮速度の50%となるところのP/P_0に注目すると約13%で大谷地ら[7]の実験では18%である．今回の遅筋線維より得られた速度—負荷曲線で約25%であり，whole muscleに比べやや高くやっている．これは遅筋線維が相対的に負荷による影響を受けにくいという可能性を示唆する．

稿を終えるにあたり，御校閲，御助言を頂いた中川教授に深謝いたします．

文　献

1) **Hess A, Pilar G**: Slow fibers in the extraocular muscles of the cat. J Physiol 169: 780, 1963.
2) **箕田健生**：外眼筋の形態—電顕的観察—．神経進歩　19：829—843, 1975.
3) **Bach-y-Rita P, Ito F**: In vivo studies on fast and slow muscle fibers in cat extraocular muscles. J Gen Physiol 49: 1177—1198, 1966.
4) **Browne JS**: The contractile properties of slow muscle fibers in sheep extraocular muscle. J Physiol 254: 535—550, 1975.
5) **木村　久**：ネコ外眼筋の張力発生および短縮における遅筋線維の役割．日本生理誌　42：151—159, 1980.
6) **長谷川一郎, 沢　正博, 竹田　眞**：ウサギ上直筋の緩筋線維の特性について．札幌医誌　52：339—350, 1983.
7) **大谷地裕明, 沢　正博, 竹田　眞**：ウサギ上直筋の等張性収縮，特に負荷・速度関係について．神経眼科　5：427—433, 1988.
8) **伊藤文雄**：外眼筋の生理学的特性．神経進歩　19：845—855, 1975.
9) **木村　久, 榎本　弘, 松村幹朗**：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.
10) **Kern RL**: 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) **小原永律子, 小野弘美, 竹田　眞**：ウサギ上直筋の組織化学的検討．眼臨　72：575—578, 1978.
12) **Collins CC**: The human oculomotor control system, In Lennerstrand and Bach-y-Rita eds, Basic Mechanism of Ocular Motility and Their Clinical Implications. 145, Pergamon Press, Oxford, 1975.
13) **Barmack NH**: Measurements of stiffness of extraocular muscles of the rabbit. J Neurophysiol 39: 1009—1019, 1973.
14) **Collins CC, Carlson MR, Scott AB,** et al: Extraocular muscle forces in normal human subjects. Invest Ophthalmol 20: 652—664, 1981.
15) **Hill AV**: The heat of shortening and the dynamic constants of muscle. Proc R Soc B126: 136—195, 1938.
16) **Hill AV**: The effect of load on the heat of shortening of muscle. Proc R Soc B159: 297—318, 1964.
17) **Wilkie DR**: The relation between force and velocity in human muscle. J Physiol 110: 249—280, 1950.
18) **Close R, Luff A**: Dynamic properties of inferior rectus muscle. J Physiol 236: 259—270, 1974.