ネコ外眼筋における速筋線維および遅筋線維の筋電図周波数分析

松林光太

川崎医科大学眼科学教室

要 約

ネコ上直筋の眼窩側層および眼球側層から筋電図を導出記録して、そのパワースペクトラム解析を行った. 眼球側層から得られた筋電図のスペクトラムは 400~700 Hz にその中心をもち、速筋線維の活動状態を示すと 思われた. 眼窩側層の筋放電の振幅は 35~70 μ V であり、対応するスペクトラムは 1,000 Hz 以上を主体とす る高い周波数成分群と、振幅がやや大きく 500 Hz 近傍に中央値を持つ低い周波数成分群とに分離された.高い 周波数成分は多重神経支配を受ける遅筋線維に由来し、低い周波数成分は単一神経支配をうける速筋線維ある いは両者の中間型筋線維に由来すると推測された. 速筋線維と遅筋線維の筋電図干渉波が、パワースペクトラ ム解析によって、分離して評価することが可能となった. (日眼会誌 96:572-579, 1992)

キーワード:外眼筋,多重神経支配遅筋線維,筋電図干渉波,パワースペクトラム

Power Spectral Analysis of Electromyograms in Fast and Slow Fibers of Cats Extraocular Muscles

Kohta Matsubayashi

Department of Ophthalmology, Kawasaki Medical School

Abstract

Electromyogram (EMG) was recorded from the muscle fibers in the orbital layers through the global layers of superior rectus muscle of the cat. Power spectram analysis was applied to investigate the quantitative differences between EMG patterns in both layers. The median of the power spectrum in frequency from the global layers was $400 \sim 700$ Hz, which was considered to be an EMG pattern of the fast fibers. On the other hand, EMG from the orbital layers showed a small amplitude of $35 \sim 70$ μ V and two different types of power spectrum ; one had the median frequency of more than 1,000 Hz and the other, about 500 Hz. It was suggested that the high frequency component was due to multi-innervated slow fibers and the low frequency component was due to singly innervated and intermediate fibers. The study of the power spectrum of interference electromyograms provides an advantage to differentiate the electrical activities of the slow fibers from the fast ones. (Acta Soc Ophthalmol Jpn 96: 572-579, 1992)

Key words : Extraocular muscles, Multi-innervated slow fiber, Electromyograms, Power spectrum

(平成3年1月18日受付,平成3年10月29日改訂受理)

別刷請求先:701-01 倉敷市松島 577 川崎医科大学眼科学教室 松林 光太

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

⁽Received January 18, 1991 and accepted in revised form October 29, 1991)

I 緒 言

外眼筋には体幹や四肢に広く存在する速筋線維に加 えて、多重神経支配を受ける遅筋線維が含まれること が、Hess ら1), Bach-y-Rita ら2), 伊藤3)によって証明 されてきた、Peachev⁴⁾はネコ外眼筋の微細構造を詳細 に調べて、筋線維を5型に分類し、遅筋線維の中にも 亜型のあることを指摘している。また Mayr5)は組織化 学的研究から遅筋線維は眼窩側により多く存在してい ることを見い出している、本邦においても、箕田ら6)7) はコハク酸脱水素酵素の組織化学的研究から, Mavr の結果を支持する結果を得ており、松林ら8)のレー ザー解析による研究もこれを裏付けた、春田ら9)は筋 興奮伝導速度の点から速筋線維と遅筋線維の相違に関 して知見を得ており、木村10)は興奮伝導性の違いを応 用して両線維の張力割合を測定した. また長谷川 ら11)12)はウサギ上直筋の緩筋のみからなる標本を用い て,形態的,生理的な検討を加え,速筋との相違につ いて考察している.近年 Pachter¹³⁾はサル上直筋の組 織学的検討を行って, 眼窩側筋線維には多重神経支配 をうける筋線維が20%含まれることを報告し、Spencer ら¹⁴⁾は botulinum toxin により, 眼窩側層単一神経 支配筋線維が選択的変化を受けることを見い出してい る. 形態的な差以外にアセチルコリンあるいはサクシ ニルコリンに対する反応も2種の筋線維の間に差異が あり、Nemet ら15)はネコ外眼筋において速筋線維のみ の放電がサクシニルコリン投与により増強されること を報告し、Hess ら1)と Kern¹⁶⁾は、持続性収縮は遅筋線

維によることを証明している.

本研究においては形態的,機能的に違いをもつこれ ら2つの筋線維について, in vivo での活動状態の差を 検討するために, 眼窩側層と眼球側層から筋電図 (EMG)を誘導し,その干渉波形から遅筋線維と速筋線 維との活動を分離して評価することを試みた. また EMGの解析手段としてパワースペクトラムを用い た. これらの利点は,干渉波形からは筋肉全体の活動 を検討することが可能であり,パワースペクトラムか らは干渉波の中に含まれる個々の筋線維の活動状態を 抽出し,定量化できる点である¹⁷⁾¹⁸⁾.

II 実験方法

実験動物には体重3~5kgの成ネコを用いた. ketamine hydrochloride 20 mg/kgを筋肉内に注射し 麻酔した後,気管切開を行い気管カニューレを挿入し 人工呼吸器に接続した.下肢大腿静脈を露出して静脈 路確保を行い,持続的に輸液しながら,頸筋から外眼 筋への投射の影響を除くため第1~第2頸髄で脊髄を 横切断し下位離断脳とした.続いて脳定位固定装置 (David-Kopf 社製)にネコを固定し,笑気ガス70%と 酸素 30%の混合気にて人工呼吸を行い麻酔を継続し ながら眼窩上壁を取り除き上直筋を露出した.呼吸回 数は毎分25回,一回の換気量は35~40 ml で,体温は 灌流式ブランケットにて直腸温39度を維持し,心電図 を監視しながら実験の準備をすすめた.上直筋周囲の 結合組織を注意深く除去し筋肉を露出,その後100%



図1 実験装置の配列,模式図:説明本文. 左上は電極の顕微鏡写真をスケッチした 図で,電極の先端の直径と長さをあらわす.

定しているのを確認した後、上直筋に2.5gの負荷を かけて伸張を与えた、実験装置の配列を図1に示す、 筋の眼窩側表面から眼球側層に向かって、manipulator に装着した電極(先端直径 0.08 mm, 先端部 0.25 mm が露出した単極針電極を使用)を僅かに刺入し、 眼球の自発運動中の上直筋筋電図を陰極線オシロス コープ(日本光電 VC-10)上で観察した。得られた筋 電図は data recorder (TEAC MR-30) を通して tape に記録した、次に電極を僅かに進めて再び筋電図を記 録し、同様の操作を電極が眼球側に達するまで繰り返 し行った、なお電極の深さは筋表面を0,内面を100と し相対値で表現した(図2).更に眼窩側層,眼球側層 において、サクシニルコリンに対する反応性を検討す るため、筋表層と筋腹のほぼ中央部でサクシニルコリ ン投与前後の筋電図を経時的に記録した、投与量は 100µg/kg で, 静脈内投与とした. tape に記録された EMG は Fourier 変換した後、パワースペクトラム解 析を行った(日本電気三栄 signal processor 7 T 08, power spectrum No. 210 G program). なお data recorder の記録周波数帯域は、DCから5KHzであ り、筋電図の波形は tape speed を電位記録時の 1/8 に 遅くして描出した。またパワースペクトラムの解析周 波数は5 KHz, 解析時間は2,500 msec, sampling clock は 100 µsec で, hamming window を使用した.



図2 上直筋の断面図:眼窩側を0%,眼球側を 100%とし筋電図断面上の深さの位置を%で表示。

EMG data 記録後,最後の電極刺入部位を確認するた め,30 mA の直流電流を1分間,筋肉内へ通電し凝固 瘢を作成後,ヘマトキシリン・エオジン染色にて組織 学的な確認を行った.

III 結 果

1. 眼窩側層および眼球側層から得られる筋放電

上直筋の各位置において得られた筋電図を図3に示した. 眼窩側の深さ20%までの筋電図には振幅が100



図3 眼窩側層から眼球側層に至る各層で得られる筋電図.2種の異なるタイムス ケールで表している.電極の深さは各記録の左上に表示.14%の記録中の▲印は振 幅の小さい単相性の活動を示す.

平成4年5月10日



図4 眼窩側層から眼球側層に至る各層で得られる筋 電図とパワースペクトラム:深さ12%の部位と 22%の部位で特に著明なスペクトラムの分布の違い を認める.矢印はパワースペクトラムの中央値 (fmed)を示す. μ V 以上で3 相性を示す放電に加えて、約 30 μ V と振幅が小さく、1.0 msec から 1.2 msec の持続時間で、単相性バターンを示すものが多く認められた(図3 印). 電極を刺入していって 20%を超える深さに達すると、100~200 μ V の振幅をもつ2~3 相性の放電バターンを示し、2 あるいは3 種類の single NMU が認められるようになった。放電の持続や頻度は自発運動の持続や強さによって決まるが、振幅や頻度は自発運動の持続や強さによって決まるが、振幅や頻度は刺入につれて増大し、電極の位置がほぼ 29%に達する時に最大に達した。電極の位置が眼球側に進むに従い、再び放電頻度ならびに振幅は減少した。

2. 眼窩側層と眼球側層の筋放電パワースペクトラム

筋電図波形を周波数分析してパワースペクトラムで 表現すると,筋放電に含まれる周波数は3,000 Hz 以 上の頻度の成分にまで及ぶことがわかる.EMG に加 えて周波数分析の結果を図4に併せて示した.眼窩側 層から得られる筋電図のスペクトラムは特定の周波数 に最高値を示すことはなく,1,000~3,000 Hz の間の 広い範囲にわたってほぼ均等な分布を示した.眼球側 へ電極を進めるに従い,EMGのスペクトラムは周波 数の低い成分の増加が認められるようになった.周波 数分布は2,000 Hz 以内で,パワースペクトラムの中 央値(fmed)は主として 500~700 Hz の範囲に分布し ており,このような周波数分布は電極の位置の 22~71%の広い範囲で一定に保たれていた.スペクト



図5 電極の深さと fmed との関係:眼窩側層から眼球側層に至るに従いスペクトラムの中心を示す fmed は高い周波数側から低い周波数側に移行する.また筋表層から深さ 30%までの部位で得られる筋放電は, 900 Hz 以下の fmed を持つ筋群に加えて 1,200~1,900 Hz の fmed を持つ筋群が存在する.図内の横線は 深さ 50%以上の深さにある筋活動から求められた fmed の平均値 (590 Hz)を示す.



ラムの偏位は、図4の例では22%の位置で起こってい るが、別の例では30%の位置において観察され、また 40%になって初めて確認される場合もあった。図5に 電極の位置と fmed との関係を示す。40%を超える深 さでは、fmed は250~900 Hz にあり、1,000 Hz を超 えることはなかった。深さ50%以上の点から得られた 筋電図のパワースペクトラムについては、すべての fmed は350~900 Hz の範囲にあり、平均590 Hz で あった。これに対して、30%以内の深さから得られる 筋放電は900 Hz 以下の fmed を持つ筋群に加えて、 1,000~1,900 Hz の fmed を持つ筋群も認められた。 3. サクシニルコリン投与による筋電図およびパ ワースペクトラムの変化

前項に記した結果は自発放電のパターンに関するも のであり、ここではサクシニルコリンを投与して収縮 を起こした時の上直筋眼窩側層、眼球側層、及び速筋 線維のみから構成される眼球後引筋の筋電図とパワー スペクトラムの分布について得られた結果を述べる. 図6Aに示されるように、眼窩側層では5秒後に放電 が出現し15~20秒後に最大に達した.しかし約2分経 過した時点で放電はほとんど認められなくなり、この 状態は約12分間持続した.投与前と投与直後のパワー スペクトラムから求められる fmed はそれぞれ1,300



図8 上直筋横断面のヘマトキシリン・エオジン染色(×300):矢印は電極に通電し てできた凝固瘢で図4の depth 12%の部位と41%の部位に対応する.

Hz と 743 Hz で, 放電の増強により周波数成分は低い 側へ移行した.一方, 眼球側層においては眼窩側層と 同様に, 投与後約 15 秒で放電の頻度および振幅が著明 に増加した (図 6 B). 投与後約 2 分経過した時点から 放電が散発的となり約 5 分で電位の出現が認められな くなった.この状態は約 15 分間持続した.投与前と投 与直後の パワースペクト ラムの fmed は 460 Hz と 410 Hz で, わずかに低い周波数帯域への移行を示した が, 400~500 Hz の範囲内に留まり, 眼窩側層で見られ たような中間値の大きな変動は認められなかった.

同様の実験を眼球後引筋に対しても行った.図7A に示すごとくサクシニルコリン投与後約15秒で放電 頻度とその振幅が増加し,30秒前後で最大値を得た. また投与前,投与20秒後のパワースペクトラムの fmed は430 Hz,303 Hz であった(図7B).上直筋眼 窩側層で認められた1,000 Hz 以上の成分は眼球後引 筋の実験からは得られなかった.

4. 組織学的検討

ネコ外眼筋の小径筋線維と大径筋線維の分布と電極 刺入部位の確認のため、ヘマトキシリン・エオジン染 色による組織学的な確認を行った。図8にその組織像 を示す。6µmの連続切片より得られた組織から眼窩 側層に小径筋線維が、また眼球側層に大径筋線維が多 く分布していることが確認された。また矢印の部位に 凝固瘢の形成が認められており、同部位は図4で示し た筋の深さ12%と41%の筋電図の部位に相当する。

IV 考 按

今回, 骨格筋筋電図の解析手段として用いられてい るパワースペクトラム17)~21)を,外眼筋筋電図の解析に 応用した.筋電図におけるパワースペクトラムの意義 は,筋放電の周波数成分とその成分の振幅の量的関係 を示し, mass response から個々の筋線維の活動状態 を抽出し、しかも筋放電を定量化できる点である.従 来,一般的に外眼筋筋電図の解析には干渉波が多用さ れてきた、しかし干渉波は多数の電位の集合体である ため筋肉全体の活動をみる場合には非常に有効な方法 であるが、放電頻度や振幅から筋線維の活動を推測す ることは困難であった。外眼筋筋電図の周波数分析は すでに以前から検討されており²²⁾²³⁾、近年、Kimura ら24)はヒト外眼筋の干渉波の周波数分析の結果から外 眼筋筋電図の周波数は2,000 Hzにまで及び,四肢骨 格筋のそれが 250 Hz 以内であるのに比して高い値を 示すという結果を得ている. この値の差異がどの要因 に基づくかは明らかではないが、外眼筋に含まれる遅 筋線維に由来するという可能性を考察した。本研究よ

り, 眼球側層の筋電図には fmed が 400~700 Hz の成 分を含むのに対して, 眼窩側層には同じ成分に加えて fmed が 1,000 Hz 以上の成分を含むことが明らかと なった. 眼窩側層には多重神経支配を受ける筋線維が 全体の 20~30%含まれることから⁵⁾, 1,000 Hz 以上の 高い周波数成分は遅筋線維によることが示唆された. そしてこれはサクシニルコリンの実験により裏付けら れた.

遅筋線維の放電と速筋線維の放電を区別する手段の 一つとして, サクシニルコリンを投与し, それに伴う 活動を誘導記録した。眼球側層の筋電図はサクシニル コリンを投与すると放電頻度の著明な上昇を認める が, fmed の値は 460 Hz から大きく変動することはな かった(図6B). これに対して, 眼窩側層の1,000 Hz 以上を示す運動単位の fmed は、サクシニルコリンの 刺激によって明らかに減少した(図6A). これは fmed の低い値を持つ運動単位が新たに参加したためと考え られる. Nemet ら¹⁵⁾は、サクシニルコリンによる放電 が増加するのは、主として fast unit 群であり slow unit 群は影響されないことを報告している。また図7 A, Bに示される如く, 速筋線維しか含まれていない眼 球後引筋25)においてもサクシニルコリン投与により明 らかな放電の増大があり、fmed が 400 Hz 前後を中心 に変動したことも, fmed の低い運動単位は速筋線維 であることを示唆する所見である.

これら一連の実験から、対照時には遅筋線維の活動 のみが記録されており、サクシニルコリン投与によっ て速筋線維の活動が活発となって両線維の放電が併せ て記録される結果、fmed が低い値に移行したと推察 できる.以上の結果を要約すると、1,000 Hz 以上の高 い周波数成分は多重神経支配をうける遅筋線維の放電 によるものであり、400~700 Hz の低い周波数成分は 速筋線維に対応すると結論できる.

単一神経筋単位について、敏速筋の筋放電は速やか であり緩徐筋の筋放電の経過は遅いことから、遅筋線 維の筋放電の周波数はむしろ低いと予想されたが、測 定値は逆の結果を示した。一つの説明として、遅筋線 維は直径が小さいので、記録される筋放電にはより多 数の神経筋単位の活動が含まれ、しかもその放電は非 同期であり、多数の神経筋接合部が存在するために相 互に重畳しあって高い周波数成分を形成すると考えら れる。あるいは遅筋線維は膜容量も膜抵抗も大きく²⁶⁾ 脱分極が長く続くことが多数の神経筋単位の放電が複 合することを容易にしていることも考えられる。また 本研究で調べられた軽度の自発運動においては、速筋 線維群の放電頻度は低いが固視に関係する遅筋線維群 の方が放電頻度が高く、それがパワースペクトラムの 上で高い周波数成分をもたらしているかもしれない. Schulze²⁷⁾はウサギ上直筋においてガラス微小電極を 用いた電気生理学的所見から遅筋線維の活動状態を3 型に分類し、それぞれのシナプス後電位の持続時間に ついて検討を行っている. それによると, wave form をとる type 1 の遅筋線維は 24 msec, spike form をと る type 2 の遅筋線維は 1.0 msec である. これは遅筋 線維からおこる電位に持続の短いものから長いものま で存在する可能性を示唆し、持続時間の短い電位は周 波数の上では高い周波数成分として,持続の長い電位 は低い周波数成分としてパワースペクトラム上表示さ れ、今回得られた周波数成分の広がりと矛盾しない. 以上のことから眼窩側層はあらゆる持続時間を持つ筋 線維が非同期的に、ほぼ均等な力で活動しており、そ れに対し眼球側層では400~700 Hzの狭い範囲に中 心をもつ形をとるため,ある点で大きな力を発揮する 能力を有すると思われる. Collins ら28)は miniature multiple electrode を用いたヒト内直筋の層別筋電図 の記録で、眼窩側層の小径筋線維群は固視および滑動 性追従運動に関与し, 眼球側層の大径筋線維群は衝動 性眼球運動に関与すると報告している. 今回の結果と 対応させて考えると、眼窩側層の1,000 Hz以上のス ペクトラムを中心とする多重神経支配筋線維群(遅筋 線維)と500 Hz 近傍に中心を有する単一神経支配筋 線維群(速筋線維)が協調して主に固視,滑動性追従 運動に関与し、眼球側層の400~700 Hz にスペクトラ ムの中心をもつ速筋線維が衝動性眼球運動に寄与する と推測される.しかし、今回は主にネコの自然状態で の記録であり速筋線維の活動が十分でない可能性もあ り、今後の課題として速筋線維の活動状態を明らかに するために、衝動性眼球運動時の EMG の同定および 対応するスペクトラムの解析を進める必要があると考 えている.

稿を終えるにあたり,終始懇切丁寧なる御指導,御校閲を 賜った田淵昭雄教授,松村幹郎教授に深謝致します.また終 始御指導頂きました教室の木村 久助教授に深謝致しま す.

(本論文の要旨は第94回日本眼科学会総会において発表した。)

文 献

1) Hess A, Pilar G: Slow fibres in the

extraocular muscles of the cat. J Physiol 169: 780-798, 1963.

- 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.
- 3) 伊藤文雄:外眼筋の生理学的特性.神経進歩 19: 845-855, 1975.
- 4) Peachey LD: The structure of the extraocular muscle fibers of mammals, in Bach-y-Rita P, Collins CC, Hyde JE (eds): The Control of Eye Movements, New York & London, Academic Press, 47-66, 1971.
- Mayr R: Structure and distribution of fibre types in the external eye muscles of rat. Tissue Cell 3: 433-462, 1971.
- Cheng-Minoda K, Sato Y: Distribution of twitch and slow fibers in extraocular muscles. Jpn J Ophthalmol 17: 2-10, 1973.
- 7) 箕田健生:外眼筋の形態-電顕的観察-. 神経進歩
 歩 19:829-843, 1975.
- 松林光太,松村幹郎:外眼筋遅筋線維のレーザー 光回折像の特性、日眼会誌 95(抄録):189,1991.
- 9) 春田龍吾,宇山 淳,三村 治,他:外眼筋筋線維 伝導速度の記録,神経眼科 3:528-532,1987.
- 10)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.
- 長谷川一郎,沢 正博,竹田 真: ウサギ上直筋の slow fiber の特性について一第1報一. 日眼会誌 85:12-18, 1981.
- 12) 長谷川一郎,沢 正博,竹田 真: ウサギ上直筋の slow fiber の特性について一第2報一. 日眼会誌 85:979-985, 1981.
- 13) Pachter BR: Fiber composition of the superior rectus extraocular muscle of the rhesus macaque. J Morphol 174: 237-250, 1982.
- 14) Spencer RF, McNeer KW: Botulinum toxin paralysis of adult monkey extraocular muscle. Structural alterations in orbital, singly innervated muscle fibers. Arch Ophthalmol 105: 1703 -1711, 1987.
- Nemet P, Miller JE: Evoked potential in cat extraocular muscle. Invest Ophthalmol 7: 592 -598, 1968.
- 16) Kern R: A comparative pharmacologichistologic study of slow and twitch fibers in the superior rectus muscle of the rabbit. Invest Ophthalmol 4: 901-910, 1965.
- 17) Sadoyama T, Masuda T, Miyano H: Rela-

tionships between muscle fibre conduction velocity and frequency parameters of surface EMG during sustained contraction. Eur J Appl Physiol 51: 247-256, 1983.

- 18) Lindström L: Spectral analysis of EMG, in Struppler A, Weindl A (eds): Electromyography and Evoked Potentials, Berlin, Heidelberg, Springer-Verlag Inc, 103-107, 1985.
- Hermens HJ, Boon KL, Zilvold G: The clinical use of surface EMG (1). Electromyogr Clin Neurophysiol 24: 243-265, 1984.
- 20) Latash ML: Spectral analysis of the electromyogram (EMG) in spinal cord trauma patients. I. Different types of the EMG and corresponding spectra. Electromyogr Clin Neurophysiol 28: 319-327, 1988.
- 21) Latash ML: Spectral analysis of the electromyogram (EMG) in spinal cord trauma patients. II. Motor unit and interference EMG power spectra. Electromyogr Clin Neurophysiol 28: 329-334, 1988.
- 22) 稲葉光治:眼筋の電気生理学的研究.第1報,外眼筋筋電図周波数分析.日眼会誌 72: 750-757, 1968.
- 23) 山崎 篤巳,石川 哲:核間麻痺 (Internuclear Ophthalmoplegia) について、日眼会誌 75:810 -820, 1971.
- 24) Kimura H, Matsubayashi K, Tsutsui J, et al: Spectral analysis of electromyograms for extraocular muscles in normal and ophthalmoplegia cases. Electromyogr Clin Neurophysiol 1992 (in press).
- 25) Bach-y-Rita P, Ito F: In vivo microelectrode studies of the cat retractor bulbi fibers. Invest Ophthalmol 4: 338-342, 1965.
- 26) Chiarandini DJ, Stefani E: Electrophysiological identification of two types of fibres in rat extraocular muscles. J Physiol 290: 453-465, 1979.
- 27) Schulze F: Elektrophysiologischer Nachweis von 3 differenten Muskelfasertypen der "slow fibers" äußerer Augenmuskeln. Albrecht v Graefes Arch klin exp Ophthalmol 203: 31-43, 1977.
- 28) Collins CC: The human oculomotor control system, in Lennerstrand G, Bach-y-Rita P (eds): Basic Mechanism of Ocular Motility and Their Clinical Implications, Oxford, Pergamon Press, 145, 1975.