

生後発育にともなうマウス骨格筋線維長と筋節長の変化

春日規克* 馬詰良樹**

VARIATION OF MUSCLE LENGTH AND SARCOMERE LENGTH
DURING POSTNATAL GROWTH IN MICE

NORIKATSU KASUGA AND YOSHIKI UMAZUME

Variation of the length of skeletal muscle fibers and sarcomere lengths were investigated in extensor digitorum longus (EDL) and soleus (SOL) muscles in mice (ICR) during postnatal growth in the range from 2 to 12 weeks after the birth. EDL and SOL were fixed in 2.5% glutaraldehyde contained Lock's solution at right angle position of articulation genus and talocruralis. Single muscle fibers were dissected and lengths of fibers were measured under the dissecting microscope. For measuring sarcomere lengths, laser diffraction technique was used. Following results were obtained; (1) the length of muscles and muscle fibers increased rapidly up to 8 and 5 weeks in EDL and SOL respectively; (2) relative muscle and fiber lengths at 12 weeks against 2 weeks were 1.72 and 1.30 in EDL, 1.60 and 1.32 in SOL; (3) sarcomere lengths at both ends of the fiber showed no significant change during growth; (4) on the other hand, sarcomere lengths at mid point showed maximum values at 8 and 5 weeks in EDL and SOL respectively. These observations suggest that the sarcomere are stretched especially at mid point when lengths of muscle fibers increase rapidly. It would be possible to consider that this changes of the sarcomere length during postnatal growth affect the contractile properties of muscles.

(J. Physical Fitness Japan 1983, 32 : 134~139)

I. 緒 言

生後発育にともない筋力は増大する。この筋力の決定因子としては、運動神経線維の放電パターンなど神経由来のもの¹⁰⁾、骨格筋自体の形態等に由来するものに大別できる。筋由来の因子としては、筋断面積、筋組成、筋節長などが考えられる。筋断面積が増大する発育過程時においても成人同様、筋力と筋断面積には高い相関関係が認められる⁴⁾。また、筋組成が発育にともない変化することが報告されている¹⁴⁾。これらの筋断面積や筋組成がいわゆる骨格筋の横方向の構造を表わすのに対し、筋線維長と筋節長は縦方向の構造を表

わす。この筋線維は骨の成長にともない長軸方向に伸びる。この時、筋節長は筋線維長の増加にともない、如何なる経過で変化するかを知ることが、発育期の骨格筋の機能および形態的变化を考察する上で重要な問題と思われる。

本研究では、生後発育にともなう筋長、筋線維長と筋節長の変化を求め、これらの関係を検討した。

II. 実験方法

実験材料には ICR 系の雄マウスを用いた。生後 2 週齢から 12 週齢まで一週齢ごとに各 5 匹を実験に用いた。被験筋には速筋の代表として長趾伸

* 愛知教育大学保健体育科 愛知県刈谷市

** 東京慈恵会医科大学第一生理学教室 東京都港区

Department of Health and Physical Education, Aichi University of Education, Kariya City, Aichi 448.
Department of Physiology, The Jikei University School of Medicine, Minatoku, Tokyo 105.

筋 (EDL) を、遅筋の代表としてヒラメ筋 (SOL) を選んだ。固型飼料は CA-1 (日本クレア) を用い、水とともに自由摂取の状態に飼育した。

体重の測定後屠殺、大腿骨上部から両脚を切断し、ただちにロック液 (NaCl 137 mM, KCl 5 mM, CaCl₂ 2 mM, MgCl₂ 1 mM, NaH₂PO₄ 1 mM, NaHCO₃ 1 g/l, glucose 2 g/l) 中にて、EDL と SOL を傷つけぬよう残し、他の筋をすべて除去した。その後、膝および足関節角度を90度になるよう固定し、2.5% グルタルアルデヒドを含むロック液中に2時間浸漬し、室温 (19~20°C) で固定した。固定後、EDL と SOL は骨から剔出し、乾燥を防ぐため流動パラフィン中にて、筋長 (中枢と末梢側の腱と筋附着部の最大距離) の測定を行った。次に実体顕微鏡下でピンセットとメスを用い、筋線維に過伸展を与えないよう注意し、単一筋線維を分離した。また、SOL では筋中央部の EDL では第3足指に終止する筋線維を選んだ。この筋線維長を実体顕微鏡下で測定した後、筋線維の中枢側端と末梢側端および筋線維の四等分点の計5点において筋節長の測定を行った。これらの点に中枢端より①~⑤の番号を付した。筋節長の測定は He-Ne レーザーによる光回折法によった¹⁵⁾。筋線維からの光回折像は、筋線維から 200 mm の位置に設置されたスクリーンに投影し、1次光回折線間距離より1次回折角 (θ) をもとめ、筋節長 (d) を算出した。筋節長は次式よりもとめた。

$$d = \lambda / \sin \theta$$

ただし、 λ は光の波長であり、He-Ne レーザーの場合は 0.6328 μm である。

両脚の筋より得た1~2本の単一筋線維を測定に用いたが、筋線維の端から端までを完全に無傷の状態に分離することができなかった場合には、計測を行わなかった。

グルタルアルデヒド固定による筋節長の変化の有無を調べた。筋の両端の腱を静止長で固定し、2.5% グルタルアルデヒドを含むロック液中に2時間浸漬し、その間、同一部位からレーザー光回折線像を観察したが、これに変化が生じなかった。このことにより、固定による筋節長の変化はないものと確認した。

III. 結 果

Table 1 に生後発育時の体重と EDL および SOL の筋長と筋線維長を示した。EDL の筋長と筋線維長は8週齢付近まで高い増加率を示し、その後若干の変動はみられたが、大きな増加はみられなかった。2週齢時の値に対する12週齢時の増加率は筋長では約172%、筋線維長では約130%であった。SOL の筋長および筋線維長の急速な増加が停止する時期は EDL より早く、5週齢付近であり、12週齢までの増加率では、筋長では約160%、筋線維長では約132%であった。

Table 2-A に各週齢における筋節長を5点の部位別に、またそれらの全測定値の平均値と標準

Table 1. Body weight, muscle and fiber lengths. (Mean \pm S.D.)

Age	Body weight (n)	EDL muscle length (n)	SOL muscle length (n)	EDL fiber length (n)	SOL fiber length (n)
weeks	g	mm	mm	mm	mm
2	7.8 \pm 1.35 (5)	8.66 \pm 0.49 (6)	7.22 \pm 0.30 (8)	5.31 \pm 0.41 (10)	5.58 \pm 0.35 (14)
3	14.8 \pm 0.84 (5)	10.76 \pm 0.66 (8)	8.93 \pm 0.47 (6)	5.74 \pm 0.56 (14)	6.30 \pm 0.31 (12)
4	20.3 \pm 0.45 (5)	12.01 \pm 0.33 (8)	9.61 \pm 0.45 (8)	6.35 \pm 0.41 (13)	6.39 \pm 0.39 (11)
5	27.1 \pm 0.45 (5)	13.17 \pm 0.22 (7)	10.91 \pm 0.68 (7)	6.37 \pm 0.55 (14)	7.26 \pm 0.21 (14)
6	28.7 \pm 1.93 (5)	13.34 \pm 0.38 (9)	10.95 \pm 0.61 (8)	6.58 \pm 0.73 (17)	7.28 \pm 0.43 (13)
7	31.5 \pm 1.87 (5)	13.91 \pm 0.49 (9)	11.21 \pm 0.28 (9)	6.91 \pm 0.41 (18)	7.48 \pm 0.35 (18)
8	33.2 \pm 1.75 (5)	14.31 \pm 0.64 (10)	11.15 \pm 0.25 (9)	6.96 \pm 0.59 (19)	7.40 \pm 0.69 (12)
9	34.8 \pm 0.84 (5)	14.53 \pm 0.27 (10)	11.28 \pm 0.60 (8)	7.01 \pm 0.58 (16)	7.53 \pm 0.64 (14)
10	38.1 \pm 0.55 (5)	14.49 \pm 0.31 (10)	11.44 \pm 0.33 (7)	6.78 \pm 0.59 (17)	7.61 \pm 0.35 (14)
11	38.5 \pm 1.87 (5)	14.49 \pm 0.49 (8)	11.29 \pm 0.24 (10)	6.77 \pm 0.66 (12)	7.49 \pm 0.49 (19)
12	41.6 \pm 1.95 (5)	14.85 \pm 0.28 (10)	11.50 \pm 0.24 (9)	6.92 \pm 0.63 (20)	7.37 \pm 0.68 (17)

Table 2-A. Sarcomere lengths in μm . (Mean \pm S. D.)

Age weeks	(n)	E D L					
		①	②	③	④	⑤	Total
2	(9)	2.44 \pm 0.15	2.51 \pm 0.16	2.61 \pm 0.14	2.58 \pm 0.15	2.52 \pm 0.12	2.53 \pm 0.16
3	(10)	2.55 \pm 0.10	2.66 \pm 0.10	2.69 \pm 0.16	2.65 \pm 0.16	2.53 \pm 0.11	2.62 \pm 0.17
4	(11)	2.56 \pm 0.13	2.71 \pm 0.13	2.73 \pm 0.11	2.71 \pm 0.10	2.57 \pm 0.12	2.66 \pm 0.14
5	(9)	2.55 \pm 0.12	2.66 \pm 0.15	2.75 \pm 0.16	2.67 \pm 0.11	2.55 \pm 0.09	2.63 \pm 0.15
6	(11)	2.52 \pm 0.10	2.66 \pm 0.19	2.76 \pm 0.12	2.77 \pm 0.13	2.56 \pm 0.13	2.66 \pm 0.16
7	(9)	2.51 \pm 0.14	2.69 \pm 0.20	2.76 \pm 0.17	2.70 \pm 0.17	2.52 \pm 0.11	2.64 \pm 0.19
8	(11)	2.50 \pm 0.11	2.66 \pm 0.20	2.78 \pm 0.20	2.71 \pm 0.18	2.52 \pm 0.15	2.63 \pm 0.20
9	(9)	2.45 \pm 0.09	2.58 \pm 0.13	2.67 \pm 0.10	2.60 \pm 0.11	2.48 \pm 0.12	2.56 \pm 0.14
10	(11)	2.47 \pm 0.20	2.63 \pm 0.23	2.68 \pm 0.25	2.63 \pm 0.22	2.54 \pm 0.19	2.60 \pm 0.24
11	(10)	2.53 \pm 0.10	2.67 \pm 0.11	2.69 \pm 0.11	2.66 \pm 0.13	2.56 \pm 0.15	2.62 \pm 0.13
12	(11)	2.48 \pm 0.06	2.60 \pm 0.13	2.63 \pm 0.10	2.59 \pm 0.11	2.48 \pm 0.13	2.54 \pm 0.13

S O L							
2	(11)	2.55 \pm 0.12	2.63 \pm 0.12	2.61 \pm 0.13	2.59 \pm 0.13	2.53 \pm 0.14	2.58 \pm 0.13
3	(8)	2.46 \pm 0.12	2.50 \pm 0.09	2.55 \pm 0.05	2.56 \pm 0.05	2.52 \pm 0.06	2.52 \pm 0.07
4	(8)	2.48 \pm 0.08	2.55 \pm 0.10	2.56 \pm 0.07	2.58 \pm 0.11	2.43 \pm 0.08	2.52 \pm 0.10
5	(9)	2.57 \pm 0.07	2.62 \pm 0.08	2.70 \pm 0.12	2.67 \pm 0.11	2.46 \pm 0.08	2.60 \pm 0.12
6	(12)	2.54 \pm 0.11	2.61 \pm 0.10	2.66 \pm 0.12	2.65 \pm 0.12	2.50 \pm 0.10	2.59 \pm 0.12
7	(10)	2.54 \pm 0.10	2.65 \pm 0.09	2.65 \pm 0.05	2.59 \pm 0.04	2.50 \pm 0.06	2.59 \pm 0.09
8	(8)	2.53 \pm 0.10	2.63 \pm 0.10	2.62 \pm 0.06	2.58 \pm 0.13	2.50 \pm 0.12	2.57 \pm 0.13
9	(9)	2.56 \pm 0.09	2.63 \pm 0.10	2.66 \pm 0.06	2.65 \pm 0.08	2.52 \pm 0.06	2.60 \pm 0.10
10	(10)	2.56 \pm 0.07	2.68 \pm 0.06	2.66 \pm 0.06	2.61 \pm 0.12	2.52 \pm 0.10	2.60 \pm 0.10
11	(10)	2.51 \pm 0.08	2.61 \pm 0.14	2.62 \pm 0.08	2.58 \pm 0.11	2.54 \pm 0.09	2.57 \pm 0.11
12	(11)	2.58 \pm 0.07	2.66 \pm 0.07	2.66 \pm 0.06	2.62 \pm 0.12	2.51 \pm 0.03	2.60 \pm 0.10

Table 2-B. P-values referred to the differences between the sarcomere lengths at ① and ③ points, and ③ and ⑤ points.

Age Weeks	E D L		S D L	
	① and ③	③ and ⑤	① and ③	③ and ⑤
2	*	n. s.	n. s.	n. s.
3	*	*	n. s.	n. s.
4	***	**	n. s.	***
5	*	**	*	****
6	****	***	*	***
7	**	**	**	****
8	****	***	n. s.	*
9	****	***	*	****
10	*	n. s.	***	***
11	***	*	**	n. s.
12	****	**	*	****

n. s. means "not significant".

* $p < .05$, ** $p < .01$, *** $p < .005$ **** $p < .001$

偏差を示した。両筋の筋節長の変化は、筋端部(①⑤)より中央部(②③④)の方が大きかった。特に中間点(③)においては、EDLでは8週齢まで徐々に筋節長の増加がみられ、SOLでは5週齢に最大値が得られた。しかし、全測定値の平均値を各週齢間で比較した場合、EDLの2と12週齢時の値がそれぞれ3と11週齢との間に、SOLの3と4週齢時の値がそれぞれ2と5週齢との間に5%水準以上で有意に低い筋節長の値を示した。他の週齢間では有意差が認められなかった。

Table 2-Bには、各週齢における筋線維中間点の筋節長(③)と筋線維中枢側端または末梢側端の筋節長(①⑤)との有意差検定の結果を示したものであり、中間点の筋節長は筋端部より有意に大きな値を示した。Table 2-A, Bに示したこれらの結果は発育経過時、筋線維の伸長にともない、特に筋線維中央部の筋節長が引き伸ばされることを示唆している。

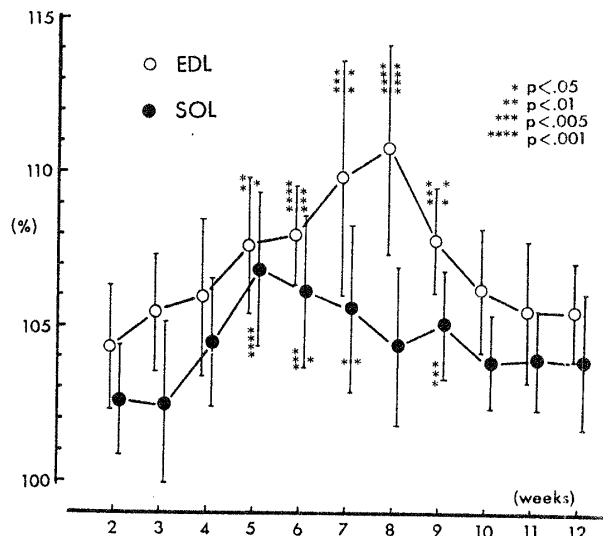


Fig. 1. Relative sarcomere lengths at the mid point of the fibers. The sarcomere length at the mid point was normalized by the mean sarcomere length at the both ends of the fiber.

そこで、各筋線維について、両側端の平均筋節長に対する中間点の筋節長の比を求めた。Fig. 1は各筋線維において求めた両筋端の筋節長の平均値に対する中間点筋節長の割合の平均値と標準偏差を各週齢により示した。EDLは8週齢を、SOLは5週齢をピークに、その前後において順次増加、減少がみられた。また、EDLでは2週齢と5、6、7、8、9週齢間に（平均値の左上*で示す）、12週齢と5、6、7、8、9週齢間に（平均値右上*）に、SOLでは2週齢と5、6、7週齢間（平均値左下*）、12週齢と5、6週齢間（平均値右下*）にそれぞれ図に示した水準で有意差が認められた。

IV. 考 察

筋長及び筋線維長の増加が盛んな時期は、EDLでは8週齢まで、SOLでは5週齢までであった。勝田⁹⁾により筋の生後の成長には2つの時期があり、この最初の時期はラットにおいても個体としての成長が著明で、性成熟に至る生後30~60日であると報告されており、本研究で得た筋長、筋線維長の急速な増加が停止する時期に一致する。しかし、EDLとSOLでの筋長、筋線維長の増加が盛んな時期に差がみられることは、筋の違いによる発育期の筋断面肥大時期に差があるよう

に¹⁾¹⁰⁾、筋のもつ性質によるものと考えられる。SOLがEDLより早い時期に筋線維長の急速な増加が停止することは、支持筋として行動に必要な機能をはたしている筋ほど、早期に完成されることになり、合目的な現象と考えられる。

筋長と筋線維長の増加率はEDLではそれぞれ172%と130%であり、SOLでは160%と132%であった。この筋長と筋線維長の増加率の差は、両筋とも紡垂筋であり、筋線維の走行が筋の長軸方向に対し角度をもっているため、腱部分の長さが発育にともない筋長より大きく増加することや、発育にともない筋線維の直径が長さの増加より大きな比率を示すこと¹⁰⁾などが要因となっているのであろう。

発育にともなう筋線維の増加は筋節数の増加と筋節長の変化に由来する⁵⁾⁶⁾。Elliottたち³⁾によればウサギのすべての年齢において筋節長に差がみられなかったことを報告している。また、筋節数の増加する時期が筋線維長の増加時期と一致するという報告もある¹³⁾¹⁶⁾。これに対し、Close²⁾の報告する生後1日と100日のラットのEDLとSOLの筋線維長と筋節数より計算すると、生後1日のEDLとSOLの筋節長はそれぞれ3.7 μ m、3.5 μ mとなり、100日ではそれぞれ2.3 μ m、2.5 μ mとなり、発育後の筋節長が低値を示すことになる。Goldspink⁶⁾はマウスの上腕二頭筋において、youngとadultの筋節長を比較し、ばらつきは大きいですが、平均筋節長ではyoungでは2.3 μ m、adultでは2.8 μ mと明らかにadultの方が増加することを認めている。今回、我々の得た筋線維の各部位の筋節長を総合した結果では、Goldspinkが報告するような大きな差異は発育を通して認められなかった。これらの結果の違いが、筋種あるいは動物種の差によるものか、または測定方法の違いによるものかは不明である。

今回の結果で特に興味深いことは、測定部位別に筋節長を比較した場合に、発育にともなう変化が認められたことである。特に筋端に対する中間点の筋節長の比率に、筋線維長の急速な増加にともない増大がみられ、筋線維長が一定になった後、低下が認められた。これは筋線維が急速に伸長する時期には、新しい筋節の生成が時間的遅延

をもつため、中央部が引き伸ばされ、その後筋節数が増加し、各部位の筋節長がある程度一定の長さに戻ると考えれば理解しやすい。筋線維中央部の筋節長が筋端部より有意に短い値を得たことについては、多くの報告があるように⁹⁾¹¹⁾¹²⁾、筋線維端で新しい筋節が生成され、この際に細いフィラメントと太いフィラメントが充分重なり合い相互作用を保った状態が必要であること¹⁶⁾、機械的に筋を引き伸ばした場合には、筋端の筋節長の変化が中央部より少ないこと⁶⁾などの知見と矛盾しない結果である。

以上のように骨格筋の縦方向の構造は発育期に均一な状態を保ち全体が伸長するのではないと考えられる。発育期において中央部筋節長が増す時期には、発揮張力に大きな影響を与えるのみならず、この筋節長の不均一による各筋節の発揮張力の差異は筋に不可逆的崩壊を生じさせる可能性も考えられる。

V. 結 語

生後発育にともなう骨格筋線維長と筋節長の変化を、生後2から12週齢まで各週齢5匹の雄マウスの長趾伸筋 (EDL) とヒラメ筋 (SOL) において、He-Ne レーザーと実体顕微鏡を用い求めた。その結果を以下に示す。

1) EDL は筋長および筋節長とも生後8週齢まで、SOL では5週齢までに急速な増加が認められた。2週齢に対する12週齢の筋長および筋線維長の比は、EDL ではそれぞれ1.72, 1.30であり、SOL では1.60, 1.32であった。

2) 各部位別に筋節長をみた場合、筋端では変化が少ないが、中間点の筋節長は EDL では8週齢、SOL では5週齢時に最高値を示し、筋端の筋節長に対する中間点の比は、EDL では1.12、SOL では1.07となった。すなわち、これらの時期には筋線維長の増加に対し、筋節数の生成が時間的遅延をもつため、中央部の筋節が引き伸ばされるものと考えられる。このような筋節長の変化は、発育時の骨格筋の機能に大きな影響を与えると考えられる。

(本研究は文部省科学研究費、特定研究「発育期の体力に関する基礎的研究」により行われた。)

(受付 昭和58年2月19日)

参 考 文 献

- 1) Chiakuias, J. J. and J. E. Pauly (1965) : A study of postnatal growth of skeletal muscle in rat. *Anat. Rec.*, **152** : 55-62.
- 2) Close, R. I. (1972) : Dynamic properties of mammalian skeletal muscles. *Physiol. Rev.*, **52** : 129-197.
- 3) Elliott, D. H. and G. N. C. Crawford (1965) : The thickness and collagen content of tendon relative to the cross-sectional area of muscle during growth. *Proc. Roy. Soc. (London), Ser. B.*, **162** : 198-202.
- 4) 福永哲夫 (1973) : ヒトの絶対筋力, 5章 発育発達からみた絶対筋力. 杏林書院, pp.132-163.
- 5) Goldspink, G. (1964) : Increase in length of skeletal muscle during normal growth. *Nature, London.*, **204** : 1095-1096.
- 6) Goldspink, G. (1968) : Sarcomere length during postnatal growth of mammalian muscle fibers. *J. Cell. Sci.*, **3** : 539-548.
- 7) Goldspink, G. (1972) : Changes in muscle length during postnatal growth. A sarcomere length and number. *The Structure and Function of Muscle*. 2nd, Vol. 1, Part 1, Academic Press, pp. 181-185.
- 8) 勝田 茂 (1979) : 骨格筋線維の生後発育に関する光顕的, 電顕的研究. *体育学研究*, **24** : 201-208.
- 9) Kitiyakara, A. and D. M. Angevine (1963) : A study of the pattern of postembryonic growth of *M. gracilis* in mice. *Develop. Biol.*, **8** : 322-340.
- 10) Layman, D. K., P. V. J. Hegarty and P. B. Swan (1980) : Comparison of morphological and biochemical parameters of growth in rat skeletal muscles. *J. Anat.*, **130** : 159-171.
- 11) Mackay, B. and T. J. Harrop (1969) : An experimental study of the longitudinal growth of skeletal muscle in the rat. *Acta. Anat.*, **72** : 38-49.
- 12) Mackay, B., J. J. Harrop and A. R. Muir (1969) : The fine structure of the muscle tendon junction in the rat. *Acta. Anat.*, **73** : 588-604.

- 13) Rowe, R. W. D. and G. Goldspink (1969) : Muscle fiber growth in five different muscles in both sexes of mice. I. Normal mice. *J. Anat.*, **104** : 519-530.
- 14) 寺田光世 (1980) : 筋発育について —線維構成と化学組成からの検討. *体育学研究*, **25** : 207-214.
- 15) Umazume, Y. and S. Fujime (1975) : Electro-optical property of extremely stretched skinned muscle fibers *Biophys. J.*, **15** : 163-180.
- 16) 矢部京之助 (1977) : 人体筋出力の生理的限界と心理的限界, 5章 筋出力の神経支配と疲労についての検討. 杏林書院, pp. 114-189.