

26. 培養筋細胞の Acetylcholinesterase および Acid Phosphatase 活性について

大阪市立大学医学部第1解剖
○小林 紀男・山形 健三

神経支配確立前の鶏胚骨格筋細胞の単層培養を行ない、Acetylcholinesterase, Acid Phosphatase 活性および PAS 陽性物質の時間的ならびに細胞内分布の相互関係を検索した。

材料として孵卵9日の鶏胚上腿筋を用い、trypsin 処理後一定細胞数を Rose-chamber に植え込み、培養10日目まで観察した。Medium は Eagle's basal medium に Horse serum, C. E. E., L-Glutamin などを添加、pH は 7.2~7.3 に調整した。Acetylcholinesterase 活性の検出には、 10^{-5} M iso-OMPA を含む Karnovsky & Roots の反応液を用い、Acid Phosphatase 活性の検出は、Gomori 改良法ならびに Barka & Anderson 法に従い、おのおの BW284C51 および NaF の抑制効果を検した。

両酵素活性および PAS 陽性反応は、まず筋細胞の Golgi 域に出現する粗大顆粒中に認められ、のち胞体内に拡がるのが認められた。これらの活性顆粒の意義を in vivo の骨格筋線維において筋腱接合、および神経筋接合形成前に発達する Acetylcholinesterase 陽性顆粒との関連において考察する。

27. 微小電極染色法による外眼筋線維型の研究

東京大学医学部眼科
○箕田 健生・小沢 哲磨

外眼筋に異なつた機能と構造を持つた2種類の筋線維

型が存在することは最近の生理学的、組織化学的、電子顕微鏡学的研究によつて明らかにされている。しかし、単一筋線維の機能と構造を同時に観察することによつて、各筋線維型の生理学的、解剖学的特性を系統的に明らかにした研究はまだない。そこで、われわれは、つぎのような実験を行なつた。微小電極によつて家兎外眼筋の単一筋線維から細胞内電位記録をした後に同一電極を通して、あらかじめ満してある色素液 (fast green) を筋細胞内に注入する。色素によつて mark された筋線維を隣接する少数の筋線維とともに可及的長く周囲組織から剝離切除する。これを Karnovsky の Cholinesterase 反応液に incubate して運動神経終末に局在する Cholinesterase を染色する。双眼顕微鏡下で mark した筋線維を周囲の筋線維より完全に分離し、同筋線維の運動神経終末の分布を観察した。その結果、単一運動終末を有する筋線維 (singly-innervated fiber) は直接刺激によつて典型的な活動電位を生じるが、多数の終末が広い範囲にわたつて分布する所謂葡萄状終末を有する筋線維 (multiply-innervated fiber) は自発性、多巢性の slow potentials を示し、また直接刺激によつては活動電位を示し得ることが明らかになつた。

さらに上記の方法で分離同定された singly-innervated fiber と multiply-innervated fiber の微細構造を電顕下に比較観察した結果、前者では筋小胞体、横管系の発達が良好でM線が明瞭に存在するが、後者では筋小胞体、横管系の発達不良で、M線が認めがたいことが判明した。

(誌) 28. 赤筋、白筋、中間筋の SDH 活性に関する細胞化学的研究

岡山大学医学部第1外科
○河島 隆男・村田 文雄・緒方 卓郎

TCNBT を用いる dehydrogenase の組織化学的証明方法は Seligman らによつて開発された。TCNBT は thiocarbamyl group をもつた nitro BT で、電子受容体として nitro BT と同様の能力をもち、しかも生成した diformazan は osmiophilic なので、OsO₄ による後処置により電子顕微鏡的観察が可能である。この方法によると組織の微細な局在と強い contrast をもつた像が得られるので、SDH 活性の局在を容易に知ることができた。

私達はラットの Extensor digitorum longus や Soleus に応用して良好な mitochondria における局在を得た。そして赤筋、白筋、中間筋の3種類の筋線維を明らかに識別しえたので報告する。

(誌) 29. **Tenotomy, 四肢の固定, 神経挫減後の骨格筋線維の変化に関する組織化学的研究**

岡山大学医学部第1外科
緒方 卓郎・○日野 博夫

成熟ラットを用いて、座骨神経圧挫、アキレス腱切断、下肢ギブス固定における骨格筋線維の変化を sudan black B, S.D.H. などにより観察し、Denervation における変化と比較した。

Denervation においては、筋線維の萎縮に伴つて、ミトコンドリア (以上 Mt. と省略) の量的な低下や部分的欠除などの配列異常、スダン染色性の低下が示す質的な変化がみられる。腱切断、ギブス固定においては、筋線維の著明な萎縮、赤筋、白筋の直径比率の変化が認められるが、Mt. のスダン染色性の変化は少なく、また Mt. の部分的な欠除もみられない。座骨神経圧挫においては、術後初期には Denervation atrophy に類似の変化をみるが、下肢運動機能の回復に平行して筋線維の萎

縮、変性、Mt. の配列異常の正常化が認められ、広範囲に強く挫滅した後では神経再縫合と同様に、同一筋線維の grouping がみられた。

(誌) 30. **神経の Re-unification, Cross-innervation による骨格筋線維の変化に関する組織化学的電子顕微鏡的研究**

岡山大学医学部第1外科
○緒方 卓郎・日野 博夫・河島 隆男

ラットの座骨神経を切断後、これを再縫合し、これに伴う骨格筋の再生の過程を Sudan black B 染色や SDH 染色などで検索した。術後2週間後には Denervation による萎縮に陥るが、術後50日頃より機能の回復とともに、筋線維の再生をみ、著しいミトコンドリアの増加をみる。正常の筋では、赤筋、白筋、中間型線維が格子様に入り乱れて分布するが、再縫合後では、数10コの同一の型の筋線維が group をなす傾向をみる。

つぎに赤筋、白筋、中間型よりなる M. extensor digitorum longus (EDL) と、赤筋、中間型のみよりなる M. soleus (SOL) の支配神経の cross-innervation を行なつたところ、SOLの中に EDL と同様3種の筋線維が出現し、とくに組織化学的にも、電顕的にも、明らかに白筋線維の性格をもつ線維がみられ、EDL では逆の現象がみられた。EDL, SOL とも神経の self-reunification を行なつたものでは、Fiber type の変化はみられなかつた。