

筋線維の空間パターンについて

川崎医科大学 数学教室

有 田 清三郎

広島大学 医学部整形外科

宮本義洋・畑野栄治

(昭和58年9月9日受理)

Spatial Patterns of Muscle Fibers

Seizaburo ARITA

Department of Mathematics, Kawasaki Medical School, Kurashiki, 701-01

Yoshihiro MIYAMOTO and Eiji HATANO

Department of Orthopedic Surgery, Hiroshima University,

School of Medicine, Hiroshima, 734

(Received on Sept. 9, 1983)

概 要

組織写真上の筋線維を配置に注目して観察すると、赤筋線維は正常では比較的規則正しく分布しているのに対し、神経再生過程では異なった様式の配置を呈している。この神経再生後の配置から、赤筋線維間には相互の関係があるように思われる。

我々はこれらの空間配置が筋線維の再生メカニズムを解くひとつの鍵となりうるのではないかと考え、ラットの実験データを用いて赤、白筋線維の空間パターン解析を行った。解析の結果、赤、白筋線維はともに密集して再生されていることが示唆された。

Abstract

By the analysis of the spatial pattern we can classify the spatial distributions, such as the regular, random or the clustered distribution. In this paper we applied the analysis by the distance method to the muscle fibers.

Analytical results of experimental data of rats showed that the spatial pattern of reinnervated red muscle was considered to be clustered.

1. はじめに

細胞が組織写真上にどんなパターンで散布されているか、すなわち細胞の空間配置は、細胞の個数(密度)、細胞の大きさ(横断面積)等と共に形量の重要な要素である。このような個体の空間配置は一般に「空間パターン」(Spatial Pattern)とよばれている。

筋線維の横切組織写真を観察すると、赤筋線維の空間パターンは正常では比較的規則正しいパターンを呈しているのに対して、神経再生後のそれは様式を異にしている。これらの空間パターンは“再生後の空間パターンは筋線維の再生メカニズムに起因している。逆に再生後の空間パターンから筋線維の再生メカニズムを解き明かす糸口が把めないだろうか”という筋線維の再生に関する興味ある課題を投げかけている。

我々はこれらの空間パターンが筋線維の再生メカニズムを解く鍵となりうるかを検討するため、ラットの前脛骨筋による実験データを用いて赤、白筋線維のそれぞれについて距離法による空間パターン解析を行った。また赤、白筋線維の構成割合や、平均横断面積を求めた。空間パターン解析の結果、神経再生後の赤、白筋線維の空間パターンはともに集塊型であることが示唆された。

2. 空間パターン解析

空間に分布した個体の配置がランダム（ポアソン分布に従う）かどうかを検定するため導入された解析手法が空間パターン解析であるが、この空間パターン解析を用いて、個体の空間分布を①規則型、②ランダム型、③集塊型の3つのカテゴリーに分類することができる（図1）。またこの解析手法では個体を点で代表させるため個体の空間分布は Point Process となる。

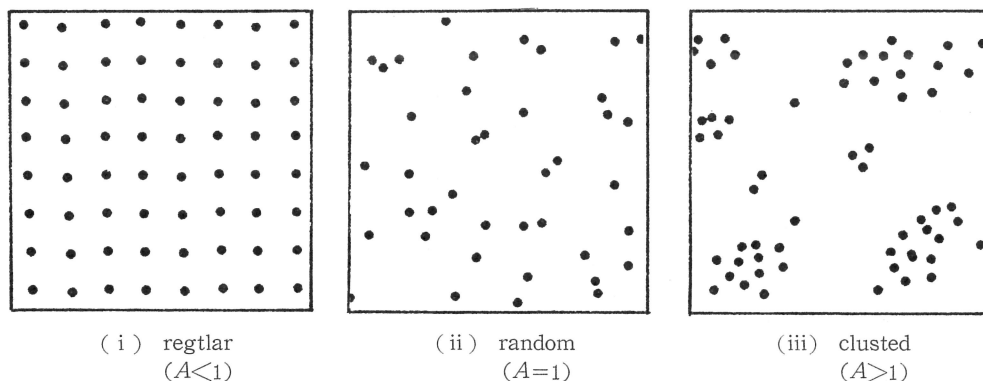


Fig. 1. The classification of the spatial patterns.

空間パターンの解析手法としては与えられた空間を多数の小区画に分け、各区画内の個体の個数データから解析を行う区画法や、個体間の距離に着目した距離法¹¹⁾などがあり、さらに最近ではポテンシャル関数の利用¹⁰⁾、面積比法⁷⁾などの改良がなされている。

本稿では最近接距離を用いた距離法による解析手法—Hopkins and Skellam 法⁵⁾を採用した。この解析手法ではランダムな点と個体との距離 (u_i) と個体間の距離 (v_j) のそれぞれの2乗の比を指標としている。

$$A = \frac{\sum_{j=1}^n v_j^2}{\sum_{i=1}^n u_i^2}$$

n は個体数である。いま個体がランダム分布すなわちポアソン分布をしていれば $\sum u_i^2 = \sum v_j^2$

すなわち $A=1$ となる。 $A<1$, $A=1$, $A>1$ に応じて個体の空間パターンはそれぞれ規則型、ランダム型、集塊型に分類される。実際には A の値が 1 と有意な差があるかどうかを調べるために導入された統計検定量 $x=A/(A+1)$ によって分類される。 x は近似的に平均 $1/2$, 分散 $1/4(2n+1)$ の正規分布に従う²⁾。換言すれば個体の空間分布は個体数 n と個体間の距離, ランダム点と個体間の距離によって 3 つのカテゴリーに分類される。

3. 赤筋線維と白筋線維

解析の対象としたラット前脛骨筋(骨格筋)の赤筋線維, 白筋線維について簡単に説明する。骨格筋には赤筋線維と白筋線維があり, さらにその中間型として中間筋線維がある¹²⁾。

赤筋線維はミトコンドリアが豊富で, 酸化系の酵素に富み, 遅いが持続的な収縮を行う。赤筋線維は赤味がかって見えるが, これは筋線維の筋形質にヘモグロビンに近い物質で酸素を離合するミオグロビンと呼ばれる色素が含まれている事によるとも言われている。赤筋線維が多い筋の運動は緩徐であるが疲労しにくい。

一方, 白筋線維はミトコンドリアが少なく, 組織化学的には解糖系の酵素を多く含む。電気生理的には敏速なけいれん的な収縮を行う。白筋線維は白っぽく見え, 白筋線維の多い筋は敏捷な運動に適するが疲れやすい。

組織化学的手法による筋線維の分別と筋線維の収縮様式との対応から, 赤筋線維, 白筋線維の間の中間的段階を示す筋線維が提唱され, これは中間筋線維と呼ばれている³⁾。

赤筋線維, 白筋線維を計量的側面から観察すると, 赤筋線維は細く, 白筋線維は太い筋線維である。また動物の下肢筋では白筋線維は体表面に近い層に, 赤筋線維は体表面より深い層に多く分布すると言われている。

ここでは赤筋線維, 白筋線維のそれぞれについて計測領域内での個数(構成割合), 筋線維の横断面の面積を計量すると共に, これら筋線維の空間配置について検討を行なう。

4. 実験方法

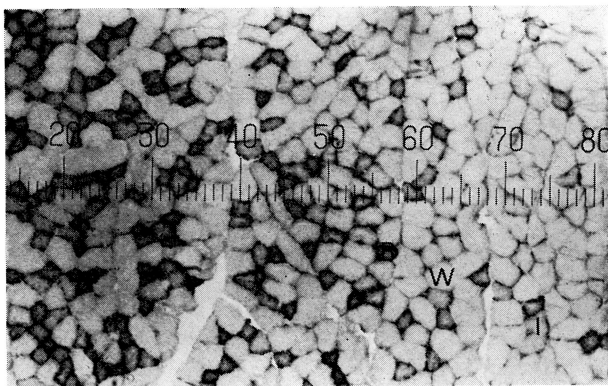
実験に用いた筋肉は Wistar 系ラット雄の前脛骨筋である。ソムノベンチル全麻下に筋肉を採取し, 直ちに凍結後クライオスタットにて厚さ 10 ミクロンの横断切片を作製レコハク酸脱水素酵素染色(Nachlas)⁹⁾を行った。40 倍の顕微鏡写真をさらに印画紙上に 184 倍に拡大した。この写真を 350×350mm のタブレット area を持つ Graf/Pen, Model GP₃ と Mini-Computer NOVA-01 システムを使用し, それぞれの筋線維の面積と短径の端点の座標を入力した。入力された短径の中点を筋線維の代表点とした。

赤, 白筋線維及び中間筋線維の識別は James の方法⁶⁾によった。赤, 白筋線維の構成割合や空間配置は計測部分が皮膚に近い部分か骨に近い部分かによって異なるため, 皮膚に近い部分を「浅層」, 骨に近い部分を「深層」と名づけ, 前脛骨筋の浅層, 深層の各々について標本を作った。一方坐骨神経切断後直ちに縫合した術後 3 カ月の前脛骨筋(再生筋線維)の標本も

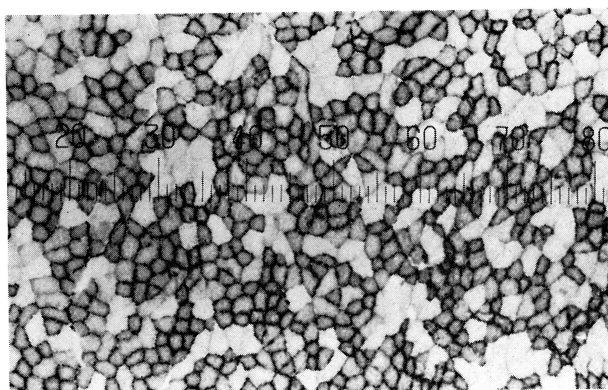
作製し、両者の筋線維を比較検討した。

5. 結果と考察

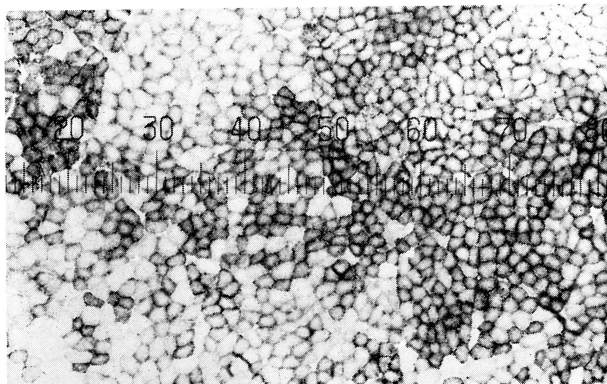
図2(a), (b)はラット前脛骨筋(正常)の浅層と深層の組織写真である。図2(c)は坐骨



(a) (Normal) At the site near the skin



(b) (Normal) At the site near the bone



(c) Rt generation after 3 months

Fig. 2. Cross section of the anterior tibial muscle

神経切断後縫合術後3カ月の前脛骨筋の組織写真である。これらの組織写真を基に次の解析を行った。

1. 各筋線維の構成割合

各写真について同面積の計測領域を作り、赤、白筋線維及び中間筋線維を計数し、各々の構成割合を求めた(表1)。表1から正常では浅層では白筋線維の割合が多く、逆に深層では赤筋線維が多く分布していることがわかる。

Table 1. Percentages of red and white muscle fibers. (NORMAL)

| | At the site near the skin | At the site near the bone |
|----------------------------|---------------------------|---------------------------|
| | Number (%) | Number (%) |
| Red muscle fibers | 100 (31%) | 541 (71%) |
| White muscle fibers | 171 (53%) | 177 (23%) |
| Intermediate muscle fibers | 52 (16%) | 42 (6%) |
| Total | 323 | 760 |

2. 各筋線維の横断面積

組織写真上における各筋線維の横断面の面積の平均値と標準偏差(SD)を求めた(表2)。表2から正常では白筋線維は赤筋線維に較べて面積が大きいことがわかる。表2は従来からの知見(赤筋線維は細く、白筋線維は太い)を数量的な立場から裏づけている。

Table 2. The cross section area of the anterior tibial muscle (μm^2)

| | At the site near the skin | At the site near the bone |
|----------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| | Red muscle fibers | 1434.4 \pm 425.9 (n=219) |
| White muscle fibers | 3563.1 \pm 970.7 (n=312) | 3046.1 \pm 561.1 (n=136) |
| Intermediate muscle fibers | 2550.4 \pm 619.6 (n=75) | 2779.5 \pm 507.1 (n=42) |

($\times 184$, n: No. of muscle fibers)

3. 各筋線維の空間パターン

表3は正常及び神経再生後の筋線維についての空間パターン解析を行った結果である。表3より、赤筋線維は浅層ではランダム型、深層では規則型の空間パターンを呈している。これに対して神経再生後のそれは集塊型と顕著な差異を示している。また白筋線維については正常では、浅層、深層ともに規則型を示し、神経再生後では集塊型の空間パターンを示してい

Table 3. The spatial patterns of muscle fibers

| | Red muscle fibers | White muscle fibers | (Total) |
|------------------------------------------------|--------------------------------------------------|--------------------------------------------------|--------------------------------------------------|
| (Normal) At the site near the skin | $A=1.045$ $x=0.511$ ($n=64$) random | $A=0.567$ $x=0.362$ ($n=82$) regular | $A=0.468$ $x=0.319$ ($n=182$) regular |
| (Normal) At the site near the bone | $A=0.634$ $x=0.388$ ($n=332$) regular | $A=0.643$ $x=0.391$ ($n=88$) regular | $A=0.326$ $x=0.246$ ($n=446$) regular |
| (Regeneration) At the site near the skin | $A=6.353$ $x=0.864$ ($n=310$) cluster | $A=7.475$ $x=0.882$ ($n=107$) cluster | $A=0.751$ $x=0.429$ ($n=483$) regular |

る。

筋線維の横断面は丸味を帯びた三角形、四角形などの様々の形状を呈し、かつモザイク状に張りつめられている。空間パターン解析では筋線維を点で代表させた。面積を有する個体の配置と点の配置は異なるか、筋線維の中心点は筋線維が束状に packing されたとき、各筋線維の中心点あまり変動を生じないと仮定すれば今回の解析結果も近似的な意味で適用しうであろう。

6. ま と め

1) ラットの実験データの解析結果から、正常では皮膚に近い部分では白筋線維が多く、骨に近い部分では赤筋線維が多く分布し、また白筋線維は太く、赤筋線維は細い事が計量学的な立場から示された。

2) 赤筋線維と白筋線維について空間パターン解析を行なった結果、正常では赤、白筋線維はランダム型または規則型の空間パターンを示したのに対して、神経再生後の各筋線維はともに集塊型の空間パターンを示した。神経再生過程は個体の再生能力や縫合術の良否等によって異なるが、各筋線維がともに集塊型の空間パターンを示し、赤、白筋線維はそれぞれ密集して再生されることが示唆された。

文 献

- 1) 有田清三郎, 宮本義洋, 仮谷太一: 神経軸索の分布について。京都大学数理解析研究所講究録 384: 143-160, 1980
- 2) 有田清三郎, 宮本義洋: 再生軸索の空間パターン解析について。川崎医学会誌教養編, No. 8: 9-15, 1982
- 3) Engel, W. K. and R. L. Irwin: A histochemical-physiological correlation of frog skeletal muscle fibers. Am. J. Physiol., 213, 511-518, 1967
- 4) Hatano, E., Arita, S., Miyamoto, Y. et al: Application of computer system to analysis of muscle morphology: statistical analysis on spatial pattern of muscle fibers. Proc. of International Conference of Rehabilitation, Mexico, 1982

- 5) Hopkins, B. and Skellam, J. G.: A new method for determining the type of distribution of plant individuals. *An. of Botany* 18 : 213-227, 1954
- 6) James, N. T.: Studies on the responses of different types of muscle fiber during surgically induced compensatory hypertrophy. *J. Anat.*, 129, 769-776, 1979
- 7) Mase, S.: A Test of Complete Randomness of Point Processes, Tech. Rep. No. 75 Stat. Re. G. of Hiroshima Univ., 1982
- 8) Miyamoto, Y., Arita, S., Hori, Y. and Miyamoto, H.: Statistical analysis on spatial pattern of transected peripheral nerve regeneration, *Posttraumatic peripheral nerve regeneration*, New York, Raven Press, 1981 pp. 271-275
- 9) Nachlas, M. M. et al: Cytochemical demonstration of succinic dehydrogenase by use of a new pritrrophy substituted ditetrazole. *J. Histochem. Cytochem.*, 5, 420, 1957
- 10) Ogata, Y. and Tanemura, M.: Likelihood analysis of spatial point patterns, Research Memorandum No. 241, The Institute of Statistical Mathematics, 1982
- 11) Ripley, B. D.: *SPATIAL STATISTICS*, John Wiley & Sons, 1981, pp. 152-157
- 12) 酒井敏夫, 遠藤実, 杉田秀夫編: 筋の構造と機能. 医学書院, 1977, pp. 112-113