

# A Histochemical Study on the Atrophied Soleus Muscle of Rats

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/2297/7851">http://hdl.handle.net/2297/7851</a>

## ラットヒラメ筋萎縮に関する組織化学的検索

金沢大学医学部整形外科科学講座 (主任: 野村 進教授)

染 矢 富士子

(昭和61年1月29日受付)

骨格筋萎縮にともなう組織化学的変化がどのような機序で行われるのか未だ不明な点が多い。一方, tetrodotoxin (TTX) は軸索流を阻害せず神経伝導を遮断する。そこで, 筋線維の性質や大きさにその神経伝導と軸索流がそれぞれどのように作用するのか検索した。今回, 雌 Wistar 系ラットを使用し, 右足関節を背屈位固定した群, 右坐骨神経を切断した群を作成した。その他に, 坐骨神経にシリコンチューブをはめこみそれを通して TTX 溶液を持続的に注入できるようにした群を作成した。またその半数のラットの右足関節を背屈位に 10 日間ギプス固定しヒラメ筋を伸張させておいた。その後ヒラメ筋を採取しアデノシン 3 リン酸酵素染色を施した。結果として, TTX を作用させずにヒラメ筋を伸張させておくとタイプ I 線維の比率の減少及び筋線維横断面積の増加をみた。TTX を作用させた筋は坐骨神経を切断した脱神経筋より萎縮の程度は少なかったが, 前者の筋萎縮は筋肉の伸張によって防止することができなかった。TTX 作用筋の筋線維タイプの比率も変化し, この比率は伸張位固定筋との間に有意差は認めなかった。ところが脱神経筋の筋線維の比率は正常筋と変わらなかった。以上のことから, 神経伝導が筋線維の萎縮の防止に重要であることがわかった。しかし, 神経伝導が欠如している場合は軸索流も筋萎縮を軽減させるのに働いていた。また, 軸索流は筋線維の組織化学的な性質にも影響を与えていることがわかった。

---

**Key words** muscle atrophy, tetrodotoxin, the soleus muscle, rat

---

骨格筋萎縮に関する研究は古く<sup>1)</sup>, しかも脱神経筋萎縮と廃用性筋萎縮とは異なった変化を呈することが知られている<sup>2)</sup>。つまり筋の支配神経の存在の有無により, 筋の萎縮の程度や質的変化が違ってくるということがわかっていて, 特に筋萎縮に伴う電気生理学的, 組織化学的性質の変化は速筋であるヒラメ筋でよく報告されており, 廃用性ヒラメ筋は次第に速筋の性質を示すようになる<sup>2)-6)</sup>。その理由としてヒラメ筋の支配神経を流れる軸索流や筋に作用する活動電位のパターンが変化するためであると考えられている<sup>4)7)</sup>。また脱神経されたヒラメ筋では, そのまま放置すると3~6か月間は組織化学的変化はみられず<sup>2)8)</sup>, 100 Hz で直接筋を電気刺激すると速筋の性質を示すようになってくる。たとえ脱神経されていなくても, 坐骨神経を 100 Hz で電気刺激するとヒラメ筋の電気生理学的性質は速筋と似てくる<sup>10)</sup>。

一方, 脊髄中の前角細胞の電気生理学的タイプ別分類は Burke<sup>11)</sup>, Dum<sup>12)</sup>らにより詳細に報告されており, 各前角細胞が支配する筋線維のタイプはその前角

細胞のタイプに対応していると述べている。またそのタイプ別による前角細胞の光顕下における形態の相違についても Burke ら<sup>13)</sup>は報告している。一方沖<sup>14)</sup>は電顕で神経筋接合部の形態を筋線維タイプ別に解析している。以上のことから, 今後筋線維の質的変化を論ずるには, 神経筋運動単位全体の変化における筋という位置づけが必要と思われる。

骨格筋は前述したように神経内の軸索流と活動電位の影響を受けながら維持されていると考えられているが, 詳細については未だ不明の点も多い。ところで tetrodotoxin (TTX) は神経の電気的活動のみを遮断し軸索流を温存することが知られている<sup>15)</sup>。そこで今回 TTX をラット坐骨神経に作用させしかもギプス固定による廃用性筋変化を加えながら, ヒラメ筋の組織化学的変化がどのようにみられるか検索した。筆者が以前行った実験<sup>9)</sup>において正常な坐骨神経支配を受けるヒラメ筋は, どの角度で足関節を固定しても組織化学的変化は変わりなくおこり, 背屈位固定により筋線維横断面積の増加がみられ, 脱神経筋萎縮との区別が可能であった。そこで本実験では廃用性筋変化をみるにあたり足関節を背屈位固定する群を加え検討した。

---

Abbreviations: TTX, Tetrodotoxin.

## 材料および方法

### I. 動物

生後8週のWistar系雌ラット(平均体重185g)を48匹使用し8匹を1群として6群に分けた。うち1群は対照群とした。

### II. 坐骨神経処理法

#### 1. ギプスによる関節固定群

ギプス固定はラット右足関節が最大背屈位をとるように骨盤部より右足趾にかけて施行した。

#### 2. 坐骨神経切断群

右坐骨神経の切断術はエーテル麻酔下で行い、切断端の中枢側は反転したうえでシリコンチューブ(長さ10mm, 内径1mm, 外径2mm)にて覆い神経再支配を阻止しておいた。

#### 3. TTX 注入法

3群のラットの右坐骨神経にはエーテル麻酔下で滅菌した長さ8mmのシリコンチューブ(内径2.5mm, 外径5.0mm)をはめこみ、その側壁中央部に連絡する長さ750mmのビニールチューブ(内径0.7mm, 外径1.0mm)は皮下をくぐらせてラットの後頸部から体外へ出した。シリコンチューブにはあらかじめ縦切開が1本加えられており坐骨神経を損傷することなくはめこむことが可能で、操作終了後はシリコンの弾性によりチューブが元の管状に戻る事が観察された(図1)。その後シリコンチューブ内を0.9%塩化ナトリウム・10%デキストローゼ液で満たし創を閉じた。ビニールチューブには $3 \times 10^{-4}M$  TTXを0.9%塩化ナトリウム・10%デキストローゼ液で調整したものを事前に注入しておきラット用ジャケット(Alice King Chatham)のスプリングを通してケージ外のオートインフューザー(MODEL M-2V 医工精器)と接続した。TTX溶液のオートインフューザーによる持続注入に

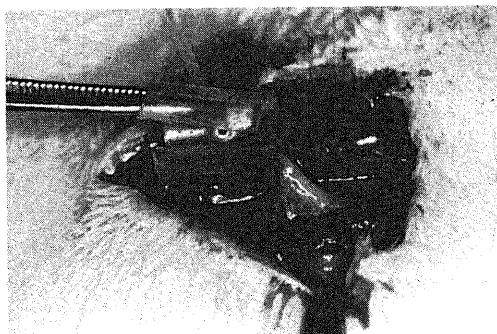


Fig. 1. Technique of encasing the sciatic nerve with a silicone tube.

は50 $\mu$ lマイクロシリンジ(Hamilton)を使用し速度を1 $\mu$ l/hrと設定した(図2)。

TTX注入後、坐骨神経をシリコンチューブの中核側で直接電気刺激をしてヒラメ筋の収縮がEMG上消失するまで約15分要した。この時点であってもシリコンチューブの末梢側で神経を電気刺激すると正常とかわらず活動電位が出現した。TTX持続注入したラットのうち1群はそのままとし、別の1群は右足関節をギプスにて背屈位に固定しヒラメ筋を伸張させた。なお、シリコンチューブを挿入したラットのうち1群は対照としてTTXを加えていない0.9%塩化ナトリウム・10%デキストローゼ液をビニールチューブを通して注入し、ラット用ジャケットを装着した。

### III. 組織化学的検索

各操作施行後10日目にすべてのラットをネブタール麻酔し、右後肢のヒラメ筋を取り出し、ただちに液体窒素-アセトン固定後8 $\mu$ mの凍結切片を作製した。組織化学的検索のために連続切片をアデノシン3リン酸酵素染色(pH9.4, 4.6, 4.3)し、筋線維をタイプI, II a, II cに分類した<sup>17)</sup>。ヒラメ筋の採取時には、肉眼的にシリコンチューブによる神経損傷は見られなかった。この時点での筋電図上の観察でも、チューブより末梢における坐骨神経の電気刺激の伝導性に問題はなかった。またギプス固定による足部の浮腫および褥創は生じなかった。

### IV. 統計的処理

ラットの体重の増減については各群ごとにpaired t testを行った。

横断切片の筋線維は各ヒラメ筋につき200本数えた。写真判定により組織化学的に筋線維タイプを分類し、その大きさの比較のために筋線維横断面積<sup>18)</sup>を測定した(PC9801M2 NEC使用)。得られた結果に対してはDuncan法にて検定し有意差を求めた。

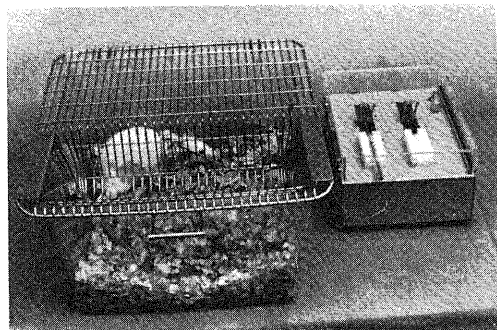


Fig. 2. Continuous and automatic infusion of TTX solution to the rat with a silicone tube.

## 成 績

## 1. 体重変化

実験前後でのラットの体重変化を表1に示した。一般に生後8週のラットは体重増加をするが、今回ギプス固定した群の体重は減少しており、ラット用ジャケットを装着した場合は体重の増減に有意差はみられなかった。各実験操作がヒラメ筋にだけ働いているというわけではなく、全身的な運動にも制限を与えていることが十分考えられる。この全身性のストレスがどの程度ヒラメ筋に影響を与えているか明確に示すことは困難であるが、筋萎縮の指標である筋線維の横断面積の大きさの比較をするときに体重の推移を目安に考慮した。

## 2. 筋線維横断面積

筋線維横断面積は右坐骨神経切断群のすべての筋線維タイプで著明な減少がみられ ( $p < 0.01$ )、右足関節固定群のタイプI、IIc線維で増加がみられた(表2, 図3 b,c)。一方0.9%塩化ナトリウム・10%デキストローゼ液注入群のタイプI線維の横断面積が対照群より小さいが、この群の体重の増加がみられなかったことを考慮すると、ヒラメ筋だけではなく全身的に筋肉の成長が抑制されたことが考えられる。TTX溶液注入群はこのTTXを加えなかった群よりも更に筋萎縮をきたしており、すべての筋線維タイプで横断面積が減少している。またTTX溶液を注入し足関節固定した群でも筋萎縮は著明でTTX溶液注入のみの群より強い萎縮を示している(タイプI、IIa線維で  $p < 0.01$ )。このことは足関節固定群で筋肥大をみたのと対照的である。ここでもTTXを注入し足関節固定した群での体重減少の大きさが考慮されねばならないであろうが、少なくともこの群では筋肥大がみられなかったことがわかる。ところで、TTX注入群の筋萎縮は坐骨神経切断群ほど強くなかった(type I線維で  $p < 0.01$ ) (図3 b,d)。

## 3. 筋線維タイプの比率

筋線維タイプの比率を表3に示した。一般にタイプI線維は遅筋線維、タイプII線維は速筋線維といわれている。ヒラメ筋は遅筋のため、対照群のタイプI線維の比率が大きい。各群間の比較をすると、タイプI線維では対照群と坐骨神経切断群、0.9%塩化ナトリウム・10%デキストローゼ液注入群との間に有意差はなく、関節固定群、TTX注入群、TTXを注入し関節固定した群で比率の減少がみられた(図3)。タイプIIa、IIc線維では各群間における有意差はなかった。筋線維タイプの比率でみる限り0.9%塩化ナトリウム・10%デキストローゼ液注入群は対照群と差はなく、シリコンチューブ挿入による影響はないように思われた。

以上の結果をヒストグラムで示すと図4のようになる。これにより各横断面積の分布が明瞭となる。筋萎縮をきたすとヒストグラム上横断面積の出現頻度のピークが高くなり、肥大するとピークが低くなった。

## 4. 巨大筋線維

ギプス固定した群に組織標本中、巨大なリング状線維、スネークコイル(snake coil)と呼ばれる<sup>2)</sup>円形、渦巻き状の筋線維がみられた。これはTTXを注入した群であってもギプス固定したものに多数みられ他の

Table 1. Change of body weights (g)

Group	Before	After
Control	179.8 ± 7.0	214.0 ± 10.3*
Denervated	178.9 ± 7.8	197.0 ± 4.8*
Stretched	187.4 ± 6.3	174.9 ± 6.8*
Saline	183.8 ± 15.8	193.8 ± 13.2
TTX-treated	190.8 ± 9.5	188.9 ± 11.4
TTX & stretched	189.9 ± 6.1	161.9 ± 19.5*

Values are mean ± SD.

\*,  $p < 0.01$  significant difference

Table 2. Fiber cross-sectional areas ( $\mu\text{m}^2$ )

Group	I	IIa	IIc
Control	3055 ± 737	2193 ± 453	2082 ± 424
Denervated	1509 ± 467*	1313 ± 297*	1119 ± 305*
Stretched	3235 ± 1109*	2185 ± 667	2473 ± 816*
Saline	2534 ± 715*	2024 ± 425	2091 ± 463
TTX-treated	1734 ± 578**	1461 ± 379**	1221 ± 447**
TTX & stretched	1522 ± 545**	1244 ± 397**	1014 ± 374**

Values are mean ± SD.

\*,  $p < 0.01$  significantly different from the control group

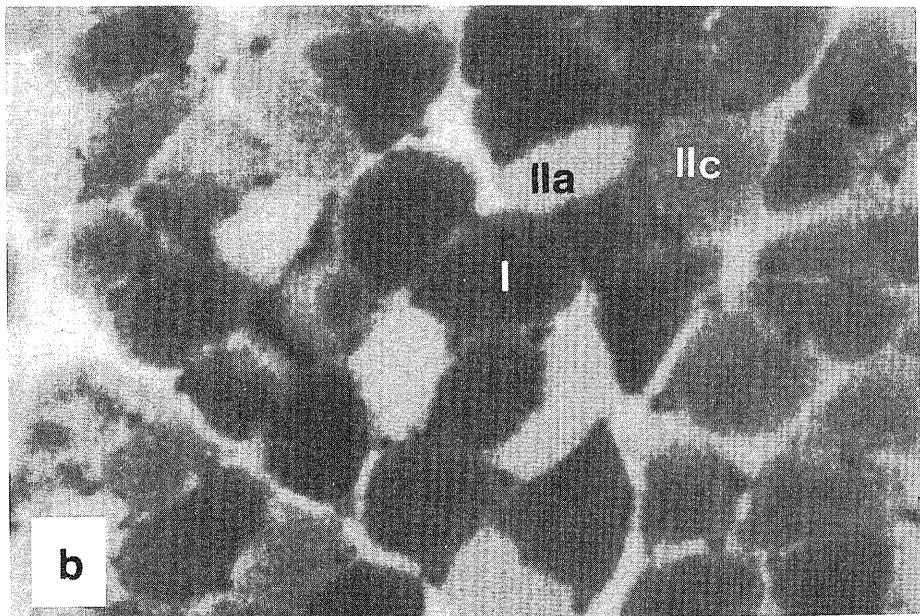
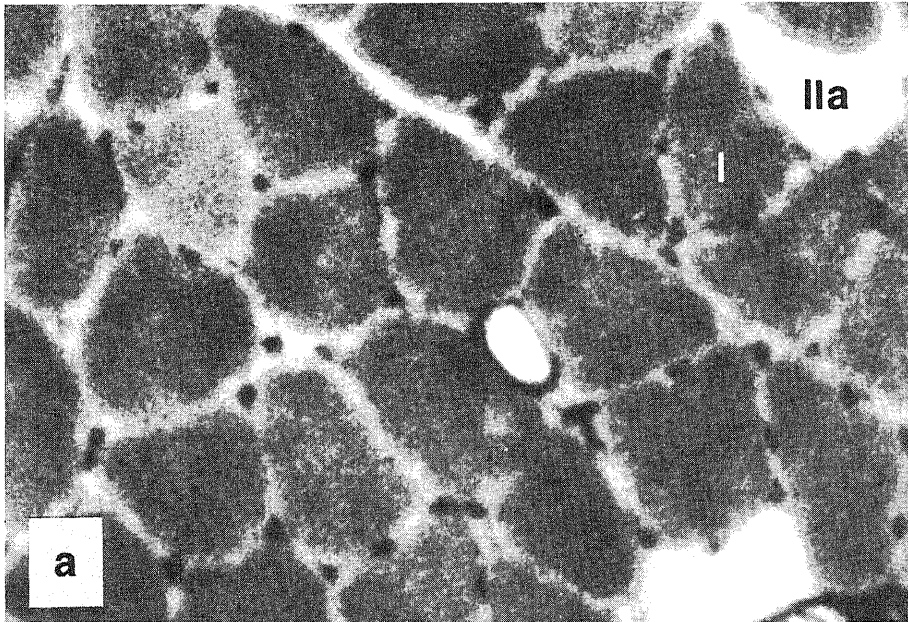
\*\*\*,  $p < 0.01$  significantly different from the saline infused group

群には出現しなかった。この巨大筋線維は、今回選択した3種類のどのpHでも比較的濃く染まり、筋線維タイプの分類ができなかった(図5)。

#### 考 察

TTXを坐骨神経に作用させる方法はこれまでにいろいろ考案されてきた。Albuquerqueら<sup>19)</sup>は薬剤を含

ませたシリコンカフを使用したが生骨神経をカフにより損傷する可能性が高いことが指摘された。Millsら<sup>20)</sup>はTTX溶液を封入した細いガラス管を生骨神経内に埋め込む方法を発表したが生骨神経の持続的な放出の確実性に問題があった。Wanら<sup>21)</sup>は薬剤溶液を生骨神経鞘に反復注入することを提案した。しかし、この操作中神経損傷をきたさないまでも周囲の結合組



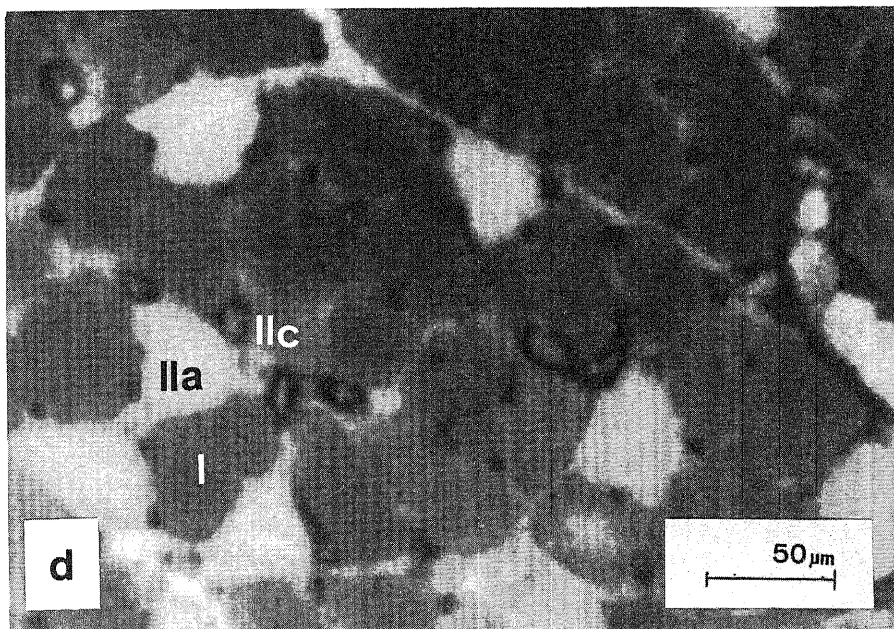
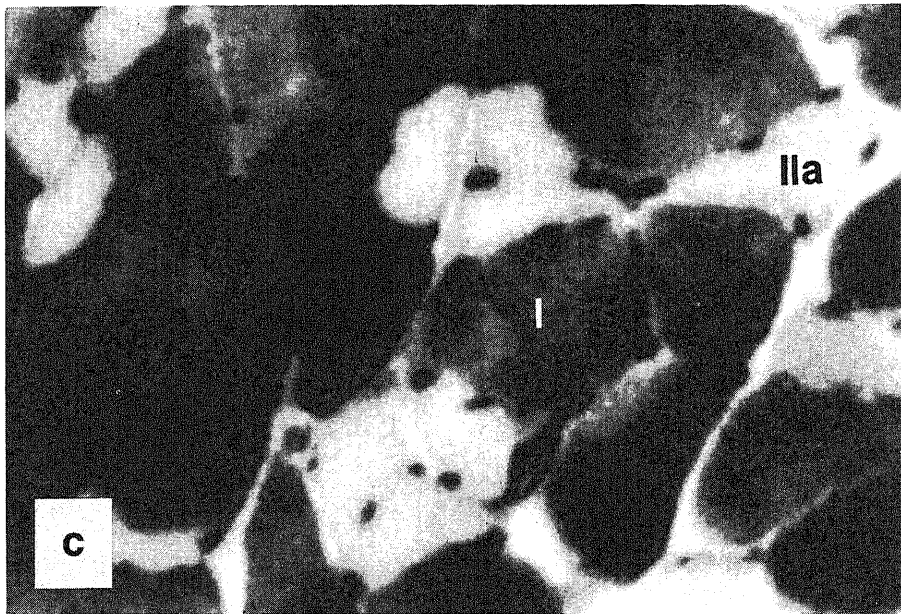


Fig. 3. Myosin ATPase staining (pH 4.6) of the soleus muscle.  
 a, the control muscle ; b, the denervated muscle ; c, the stretched muscle ; d, the TTX infused muscle.  
 I, type I fiber ; II a, type II a fiber ; II c, type II c fiber.  
 The proportion of type I fiber decreased in the stretched muscle and the TTX infused muscle. The stretched muscle showed hypertrophy. There was less atrophy of the TTX infused muscle than the denervated muscle.

織の反応が次第に強くなり数度目の注入時には瘢痕組織により術中操作が困難となった。そこで Labovitz ら<sup>22)</sup>は神経の周囲にゆるくシリコンカフを巻き、皮下に埋め込んだミニポンプで薬液を注入した。ところが、ミニポンプは容量に限界があり、7日間しか作動しな

いものであった。以上の点、今回用いた方法はシリコンチューブの内径がかなり大きいため坐骨神経を挫滅する心配がなく、また滅菌操作が十分なされれば特に問題なく長期の使用にも耐えられるものと思われた。

軸索流には神経内を1日1~2mm移動するslow

Table 3. Proportion of muscle fiber types (%)

Group	I	IIa	IIc
Control	82.9±5.2	10.5±2.5	6.6±4.8
Denervated	78.5±7.8	17.1±6.3	4.4±3.4
Stretched	70.9±6.3*	20.3±10.2	8.9±5.6
Saline	78.6±6.6	18.3±7.6	3.1±2.6
TTX-treated	71.5±5.6*	21.0±4.5	7.5±5.6
TTX & stretched	70.0±9.0*	22.0±9.7	8.0±4.6

Values are mean±SD.

\*, p<0.01 significantly different from the control group

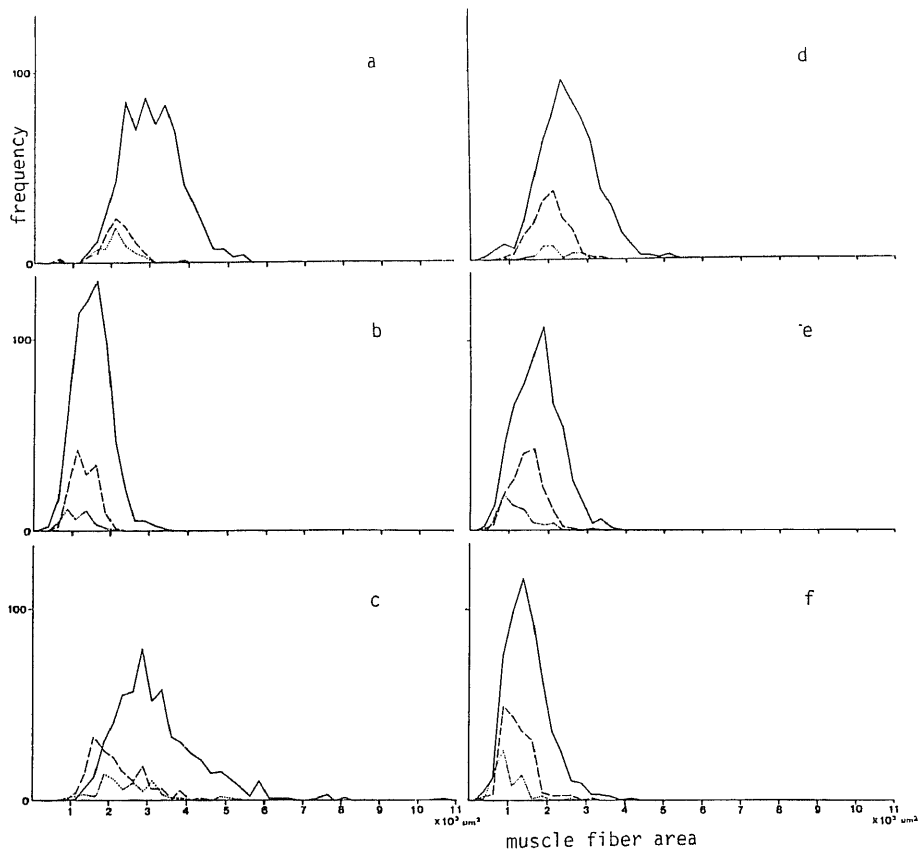


Fig. 4. Histograms of the soleus muscle.

a, the control group; b, the denervated group; c, the stretched group; d, the saline infused group; e, the TTX infused group; f, the TTX stretched group. type I fiber (—), type II a fiber (---), and type II c fiber (.....).

axoplasmic transport とその数倍から数百倍の速度を持つ fast axoplasmic transport がある<sup>23)</sup>が、今回の実験期間が 10 日間という短期間であることから fast axoplasmic transport についてのみ考慮した。前述したように fast transport は TTX により阻害されないが、骨格筋の性質維持にどの程度かかわって

るのかはわかっていない。また、やはり速度の速い retrograde axoplasmic transport の存在も知られており<sup>23)24)</sup>これも運動単位の維持に関与しているようである。

電気生理学的には TTX を坐骨神経に作用させることによりヒラメ筋の性質が速筋様変化をし、この変化

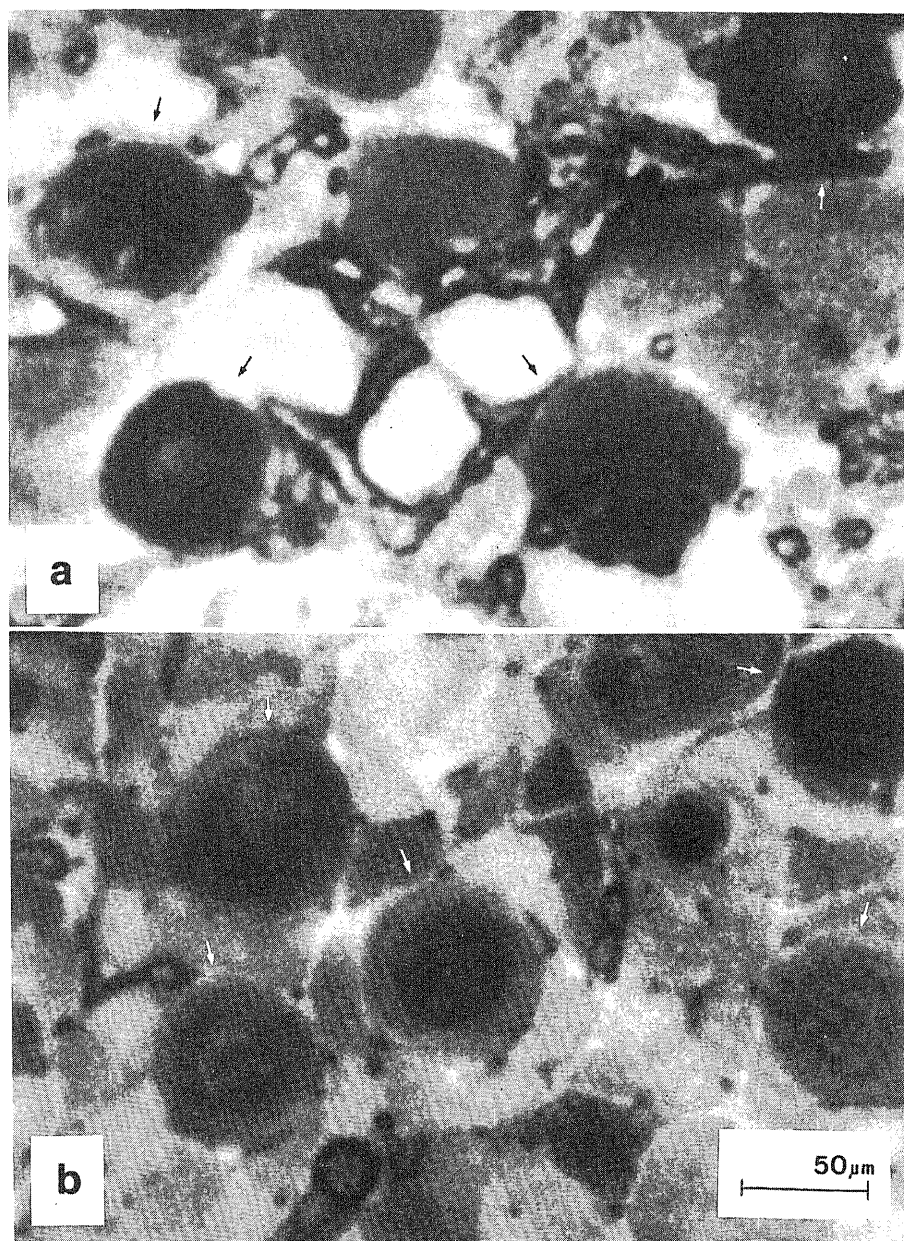


Fig. 5. Myosin ATPase staining (pH 4.6) of the soleus muscle. a, the stretched muscle; b, the TTX stretched muscle. Large round muscle fibers are shown in the both muscles (→).



が TTX のカフより末梢での電気刺激で防止され、中枢では防止できないことを Czéh ら<sup>25)</sup>は報告している。このことから彼らは、末梢より中枢にむかう retrograde transport が運動単位に影響を与えていると述べている。今回組織化学的にも TTX によりヒラメ筋の速筋線維の増加がみられ脱神経筋とあきらかに異なった変化を示した。そこで retrograde transport により変化した運動単位の影響が順行性にヒラメ筋の筋線維にまで伝えられていることになるが、これは 10 日間という期間を考慮すると、fast transport によりなされていると考えられる。しかし、ここで注意しなければならないことは脱神経筋であっても電気刺激の周波数により筋の性質が変わる<sup>26)</sup>ため、axoplasmic transport だけが骨格筋の質的維持をしているとはいえない。足関節固定群で筋肥大がおこることから筋はギブス内で等尺性運動による活動をしているものと思われる。実際、ラット後肢を中間位で関節固定すると、ヒラメ筋の電気的活動は正常の 5~15%に減少する一方、その活動パターンが tonic pattern から速筋のもつ phasic pattern へ移行することが Fischbach ら<sup>27)</sup>によって報告されている。

筋萎縮についてみると TTX 注入群は 0.9%塩化ナトリウム-10%デキストローゼ液注入群に比し筋線維横断面積が減少しており神経伝導が働かないと萎縮していくことがわかる。一方、骨格筋は伸張位に不動化されると、神経損傷がないかぎり筋萎縮をきたさないか筋肥大をすることが知られている<sup>1)4)8)20)</sup>。しかし、TTX を注入し関節固定した群でヒラメ筋が伸張位に固定してあってもこの筋萎縮が防止できないことから、やはり神経伝導は筋線維の萎縮の防止に重要であるといえる。ところが、坐骨神経切断群の筋萎縮は TTX 注入群以上に強くみられた。このことから軸索流も筋線維の萎縮防止に幾らかは関与していることがいえる。Wan ら<sup>22)</sup>はラットのヒラメ筋の湿重量で変化をみている。それによると脱神経筋では 20 日目に既に著明な筋萎縮がみられるのに対し、TTX を作用させた場合 20 日目では湿重量の減少はほとんどみられず 40 日目ようやく減少してくることを報告している。今回は 10 日目で早くも筋線維横断面積の減少に有意差がでており、脱神経筋にも TTX 作用筋にも神経伝導が加わっていないことから fast transport が筋線維の大きさを保つのに働いていることがうかがえる。

筋線維の横断面積の分布をヒストグラムで示すと、萎縮筋ではその出現頻度のピークが高くなることが知られている<sup>28)</sup>。本実験でも同様な結果が得られ、神経や筋への実験操作の相連によりこの傾向が変わるといふことはなかった。

Karpati ら<sup>29)</sup>は脊損モルモットのヒラメ筋で巨大なリング状線維やスネークコイル状を示した筋線維を報告しており、これらを筋原性疾患様変化と述べている。この変化は脊損後 7 日目ぐらいに出現しはじめ、脱神経筋や関節固定による廃用性筋にほとんどみられなかったことから、上位神経損傷に関連したのだろうと言っている。しかし、今回はギブス固定したヒラメ筋にも巨大筋線維が多数みられ、しかも TTX 作用筋であってもギブス固定をすとやはり同様に変形線維が出現した。この巨大筋線維がどういう意味をもっているのかは明らかではないが、正常筋や脱神経筋には稀にしかみられなかったことから、廃用性筋変化の一つとして出現するものと思われる。

筋線維の組織化学的性質及び大きさに関して、従来言われてきたように、神経伝導と軸索流の両者が関与していることが明らかにできた。しかし、どちらか一方だけしか活動していなくてもある程度、骨格筋の性質を変化させたり萎縮を防止したりすることが可能であることから互いに不可欠のものではないようである。この二要素、つまり神経伝導と軸索流が骨格筋の性質と大きさに関して完全に別々に働いているのかそれとも少なからず影響しあっているのか依然不明のままであり、今後軸索流の変化を定量、定性的にとらえることが必要となってくるであろう。また fast transport と retrograde transport が具体的にどのように運動単位の性質を変化させていくのかも今後の課題である。

## 結 論

ラットのヒラメ筋に実験的操作を 10 日間加え組織化学的検索をしたところ次の結果を得た。

1. TTX 作用筋ではすべての筋線維タイプに筋萎縮がみられたが、脱神経筋ほど著しくなかった。
2. 筋線維タイプの比率をみると脱神経筋では正常筋と変わらないのに対し、ヒラメ筋の伸張位固定筋あるいは TTX 作用筋ではタイプ I 線維の減少をみた。
3. 筋線維の横断面積をヒストグラムで示すと筋萎縮ではその分布のピークが高くなる傾向を示した。
4. ヒラメ筋をギブス固定すると、TTX の作用の有無にかかわらず巨大筋線維が多数出現した。

## 謝 辞

稿を終るに臨み、御指導、御校閲頂いた恩師野村進教授に深甚なる謝意を表します。また、終始御指導御教示をいただいた金沢大学医療技術短期大学部立野勝彦教授に感謝の意を表します。

## 文 献

- 1) Thomsen, P. & Luco, J. V.: Changes of weight and neuromuscular transmission in muscles of immobilized joints. *J. Neurophys.*, **7**, 245-251 (1944).
- 2) Karpati, G. & Engel, W. K.: Correlative histochemical study of skeletal muscle after suprasegmental denervation, peripheral nerve section and skeletal fixation. *Neurol.*, **18**, 681-692 (1968).
- 3) 助川卓行: 廃用性筋萎縮の病態——単一筋線維と微細構造の変化について——. *日整会誌*, **57**, 779-787 (1983).
- 4) Gallego, R., Kuno, M., Núñez, R. & Snider, W. D.: Dependence of motoneurone properties on the length of immobilized muscle. *J. Physiol.*, **291**, 179-189 (1979).
- 5) Herbison, G. J., Jaweed, M. M. & Ditunno, J. F.: Muscle fiber atrophy after cast immobilization in the rat. *Arch. Phys. Med. Rehabil.*, **59**, 301-305 (1978).
- 6) Booth, F. W. & Kelso, J. R.: Effect of hind-limb immobilization on contractile and histochemical properties of skeletal muscle. *Pflügers Arch.*, **342**, 231-238 (1973).
- 7) Fischbach, G. D. & Robbins, N.: Changes in contractile properties of disused soleus muscles. *J. Physiol.*, **201**, 305-320 (1969).
- 8) 染矢富士子・立野勝彦: 不動性脱神経筋の組織化学的变化. *医学のあゆみ*, **131**, 599-600 (1984).
- 9) Lømo, T., Westgaard, R. H. & Dahl, H. A.: Contractile properties of muscle: control by pattern of muscle activity in the rat. *Proc. R. Soc. London, B* **187**, 99-103 (1973).
- 10) Smith, D. M.: Miniature stimulator for chronic animals. *Pflügers Arch.*, **376**, 93-95 (1978).
- 11) Burke, R. E.: Motor unit types of cat triceps surae muscle. *J. Physiol.*, **193**, 141-160 (1967).
- 12) Dum, R. P., Burke, R. E., O'Donovan, M. J. & Hodgson, J. A.: Motor-unit organization in flexor digitorum longus muscle of the cat. *J. Neurophysiol.*, **47**, 1108-1125 (1982).
- 13) Burke, R. E., Dum, R. P., Fleshman, J. W., Glenn, L. L., Lev-Tov, A., O'Donovan, M. J. & Pinter, M. J.: An HRP study of the relation between cell size and motor unit type in cat ankle extensor motoneurons. *J. Comp. Neurol.*, **209**, 17-28 (1982).
- 14) 沖 卓明: 異種筋線維タイプの神経筋接合部の走査型電子顕微鏡による構造解析. *日整会誌*, **59**, 597-662 (1985).
- 15) Ochs, S. & Hollingsworth, D.: Dependence of fast axoplasmic transport in nerve on oxidative metabolism. *J. Neurochem.*, **18**, 107-114 (1971).
- 16) Dubowitz, V. & Brooke, M. H.: *Muscle biopsy: A modern approach*, p32, WB Saunders, Philadelphia, 1951.
- 17) Brooke, M. H. & Kaiser, K. K.: Muscle fiber types: How many and what kind?, *Arch. Neurol.*, **23**, 369-379 (1970).
- 18) Venema, H. W. & Overweg, J.: Analysis of the size and shape of cross-sections of muscle fibers. *Med. Biol. Engr.*, **9**, 681-692 (1974).
- 19) Albuquerque, E. X., Warnich, J. E., Tasse, J. R. & Sansone, F. M.: Effect of vinblastine and colchicine on neural regulation of the fast and slow skeletal muscles of the rat. *Exp. Neurol.*, **37**, 607-634 (1972).
- 20) Mills, R. G. & Bray, J. J.: A slow-release technique for inducing prolonged paralysis by tetrodotoxin. *Pflügers Arch.*, **383**, 67-70 (1979).
- 21) Wan, K. K. & Boebman, R. J.: Changes in rat muscle sarcoplasmic reticulum following neural application of batrachotoxin or tetrodotoxin. *Exp. Neurol.*, **70**, 475-486 (1980).
- 22) Labovitz, S. S. & Robbins, N.: A maturational increase in rat neuromuscular junctional acetylcholine receptors despite disuse or denervation. *Brain Res.*, **266**, 155-158 (1983).
- 23) Sumner, A. J.: *The physiology of peripheral nerve disease*, p221-237, WB Saunders, Philadelphia, 1980.
- 24) LaVail, J. H. & LaVail, M. M.: The retrograde intraaxonal transport of horseradish peroxidase in the chick visual system: A light and electron microscopic study. *J. Comp. Neurol.*, **157**, 303-358 (1974).
- 25) Czéh, G., Gallego, R., Kudo, N. & Kuno, M.: Evidence for the maintenance of motoneurone properties by muscle activity. *J. Physiol.*, **281**, 239-252 (1978).
- 26) Booth, F. W.: Time course of muscular atrophy during immobilization of hindlimbs in

rats, *J. Appl. Physiol. : Respirat. Environ. Exercise Physiol.*, **43**, 656-661 (1977).

27) Wan, K. K. & Boegman, R. J. : Response of

rat skeletal muscle to neural application of batrachotoxin or tetrodotoxin: Effect on sarcoplasmic reticulum., *Exp. Neurol.*, **74**, 439-446 (1981).

**A Histochemical Study on the Atrophied Soleus Muscle of Rats** Fujiko Someya, Department of Orthopedic Surgery, Kanazawa University, Kanazawa 920 — *J. Juzen Med. Soc.*, **95**, 89—98 (1986)

**Key words** muscle atrophy, tetrodotoxin, the soleus muscle, rat

#### Abstract

Taking advantage of the pharmacological action of tetrodotoxin (TTX), which blocks the nerve conduction without affecting the axoplasmic transport, the present study was conducted to determine how much the nerve conduction or axoplasmic transport would play a role in influencing the histochemical property and size of muscle fibers. In 48 female rats of the Wistar strain, the right ankle joints of eight rats were immobilized to be in dorsiflexion to keep the soleus muscle on stretch by the plaster cast for ten days. The right sciatic nerves of other eight rats were severed at thigh. In 16 rats the sciatic nerve was encased by a silicone tube, through which TTX solution was infused into the nerve in a concentration of  $3 \times 10^{-4}$  M by means of the continuous and automatic pump. And the ankle joints of half of these TTX-treated rats were also immobilized. As a control saline was infused through the tube. They were then histochemically examined with myosin ATPase staining at pH 9.4, 4.6 & 4.3. Stretch of the soleus muscle without TTX treatment resulted in a decreased proportion of the type I fiber and hypertrophy of their cross-sectional areas. TTX-treated muscle was less atrophied than the denervated muscle; the former atrophy was not prevented by immobilization with stretch, however. The proportion of fiber types in the TTX-treated muscle also changed. However, there was no significant difference in proportion among three groups: stretched, TTX-treated but unstretched, and TTX-treated and stretched muscles. The proportion of fiber types in the denervated muscle did not differ from the control. In the basis of these results, the nerve conduction thus seems important to prevent to be atrophied, but the axoplasmic transport also functions to some degree in this respect when the nerve conduction is blocked. Loss of nerve conduction provides change to certain muscle property as evidenced by the present study which showed a decrease of type I fiber in the soleus muscle after TTX-treatment. Therefore, the axoplasmic transport also has an influence on the histochemical property of muscle fibers.