

Agingにともなう骨格筋線維の変化に関する組織化学的研究

勝田 茂・久野 譜也*・土肥 徳秀

Histochemical study on the changes of skeletal muscle fibers with age

Shigeru KATSUTA, Shin-ya KUNO and Tokuhide DOI

The purpose of this study was to obtain fundamental materials on the changes of human muscle fibers with age. The subjects were 7 male and 17 female patients, who were operated on in the hospital of the University of Tsukuba. Muscle samples were taken from M. vastus lateralis or M. gluteus medius with open biopsy technique, and serial sections of the muscle were stained for Myosin ATPase, DPNH-diaphorase and Amylase PAS, respectively.

The results were summarised as follows;

- 1) The atrophy of muscle fibers was highest from 40's to 50's in both the FT and ST fibers with age.
- 2) The decrease in the FT/ST area ratio, which is an index of the preferential atrophy of FT fibers, was highest from 60's to 70's.
- 3) Both the capillary per fiber ratio (C/F ratio) and the mean number of capillaries in contact with each fiber (CC) were decreased with age. The CC of the FT and ST fibers showed no preferential change between each other with age.

From these results, it might be suggested that the atrophy of muscle fibers could be prevented by the high activity level of muscle in middle age.

1. 緒 言

加齢による老化現象は、人間にとって避けられないものである。しかし、その進行をいくらかでも遅延させることは可能であるかもしれない。そのためには身体における老化現象を捉え、そのメカニズムを解明し、その抑制方法を明らかにしなければならないであろう。

骨格筋においても老化に関する研究は各方面からなされており、多くの報告がみられる。ヒトにおける老化現象として報告されているのは、加齢にともなう総筋線維数の減少^{2,10)}、筋線維の萎縮^{1,9,12,19,24)}、速筋線維の割合の減少^{12,13)}、type grouping現象の発現¹⁹⁾などが挙げられる。その中でも特に筋線維の萎縮については、1978年以来 Larsson^{12,13)}によって精力的に研究がなされ、加齢

にともない速筋線維が選択的に萎縮することが明らかにされている。

また、中高年者に対するトレーニングが身体に及ぼす影響を検討することにより、老化の抑制方法を解明しようとする試みもなされている^{4,14,15,17,18,21)}。それらによると、高齢期においても成人と同様のトレーナビリティが認められるとする報告もある^{4)13,14,15)}。

しかしながら、なぜ速筋線維が選択的に萎縮するかなど、多くの解明されていない問題も存在している。それを明らかにするためには、より多くの基礎的資料が必要であると考えられる。

そこで本研究は、筋の老化現象、そのメカニズム、抑制方法などを明らかにするための基礎的資料を得るために、オープンバイオブシー法を用いて、加齢にともなう筋線維の変化を検討することを目的とした。

* 筑波大学大学院修士課程体育研究科

2. 方 法

a. 被 検 者

被検者には、筑波大学付属病院整形外科において手術をうけた19歳から82歳までの男子7名・女子17名の計24名を用いた。各被検者を20, 40, 50, 60, 70歳代にグルーピングし、それぞれの年齢群別の被検者数および被検筋を表1に示した。これら24名の被検者はすべて、神経性以外の疾患であり、また、長期仰臥安静も行っていなかった。

b. 組織化学的分析

オープンバイオブシーは、筑波大学付属病院整形外科の医師によって行われた。

被検筋には、外側広筋 (M. vastus lateralis) あるいは中殿筋 (M. gluteus medius) を用いた。約20-30mgの筋を採取し、液体窒素中で冷却されたイソペンタン中で瞬間凍結した。その後、ミクロトームによって厚さ10 μ mの連続凍結切片を作成し、これに組織化学的染色を施した。染色法は、収縮特性を反映するMyosin ATPase染色法²²⁾、酸化能力を反映するDPNH-diaphorase染色法²⁰⁾、毛細血管を評価するためのAmylasePAS染色法¹⁾を用いた。次に、Gollnickら⁶⁾によって提唱された方法に従って速筋線維 (FT線維) と遅筋線維 (ST線維) に分類し、速筋線維数の割合 (%FT線維) を算出した。また、筋線維タイプ別の平均横断面積をデジタイザーを用いて算出し、速筋線維と遅筋線維の相対的面積比を表すFT/ST area ratioを求めた。さらに、毛細血管のパラメーターである筋線維1本当たりの毛細血管数 (capillary per fiber ratio, 以後C/F ratioと略す), 筋線維1本

をとり囲んでいる毛細血管数 (mean number of capillaries in contact with each fiber, 以後CCと略す) について検討を行った。

3. 結 果

a. 筋線維横断面積

表2に、全被検者のFT線維とST線維の平均横断面積と、筋線維の相対的面積比を表すパラメーターであるFT/ST area ratioを示した。

FT線維の平均横断面積は、953~5889 μ m²の範囲内にあるのに対し、ST線維は1341~5154 μ m²の範囲内であり、ST線維の方が分布の範囲が比較的小さい傾向を示した。FT/ST area ratioは、0.42~1.19と広範に渡った。図1は、この値が最大値を示した被検者A (FT/ST area ratio 1.19) と最小値を示した被検者B (FT/ST area ratio 0.42) における筋線維の光学顕微鏡写真である。一般にFT線維の選択的萎縮がおきているとされるのは、FT/ST area ratioが0.8以下であるが¹⁶⁾、本研究の被検者においては24人中10人が、この値が0.8以下を示した。

図2に、各年齢群の平均横断面積とFT/ST area ratioを示した。20歳代から40歳代にかけて、FT線維の面積の減少は832 μ m²、ST線維では826 μ m²であり、両筋線維タイプの減少の割合は、ほぼ同様であった。また、FT/ST area ratioも0.98から0.93へと、わずかな減少であった。

40歳代から50歳代にかけては、FT線維の面積の減少は857 μ m²、ST線維は628 μ m²であった。両筋線維タイプとも、他の年齢群と比較して、面積の減少率がこの時期に最も大きいことが認められた。FT/ST area ratioは、40歳代が0.93、50歳代が0.86であり、50歳代においてFT線維の選択的萎縮の兆候が認められた。

50歳代から60歳代・70歳代にかけて、FT線維の面積の減少は、367 μ m²、327 μ m²といずれも減少傾向が続くのに対し、ST線維では60歳代は219 μ m²の減少、70歳代では減少が認められず、ST線維の減少の割合に頭打ちの傾向がみられた。さらに、60歳代のFT/ST area ratioは0.80、70歳代では各年齢群の中で最も低い0.66を示し、60歳以後急激にFT線維の選択的萎縮が進む傾向が認められた。

b. 毛細血管

図3に加齢にともなう毛細血管数の変化を示し

Table 1 Number of subjects and muscle samples on each age group.

Age Group	Males (n)	Females (n)	Total (n)	V.L. (n)	G.M. (n)
20 (19-22)	1	2	3	3	0
40 (39-49)	1	3	4	2	2
50 (50-56)	1	7	8	5	3
60 (64-69)	3	3	6	1	5
70 (72-82)	1	2	3	0	3
Total	7	17	24	11	13

V.L.: vastus lateralis
G.M.: gluteus medius

Table 2 Muscle fiber area of individual subject.

	sex	age	muscle	%FT	FTarea (μm^2)	STarea (μm^2)	FT/STarea ratio
Y. In	F	19	V.L.	66.5	4128	4137	1.00
A. Yo	M	20	V.L.	57.6	4554	4409	1.03
T. Mu	F	22	V.L.	60.2	3360	3722	0.90
O. Ho	M	39	G.M.	44.0	5889	4938	1.19
K. Ya	F	48	V.L.	55.6	1792	1962	0.91
T. Ka	F	49	V.L.	62.1	2952	3228	0.91
T. Ko	F	48	G.M.	36.1	2093	2924	0.72
T. Ya	F	50	G.M.	37.6	1235	1596	0.77
T. Ko	F	50	V.L.	40.7	1894	2486	0.76
E. Ar	F	52	V.L.	53.7	2493	2772	0.90
T. Ao	F	52	V.L.	62.4	2087	2293	0.91
K. Wa	F	54	V.L.	66.2	1845	2038	0.91
S. Na	M	55	G.M.	49.3	5044	5154	0.98
T. Sh	F	56	V.L.	72.4	2746	3035	0.90
A. Ao	F	56	G.M.	31.4	1254	1712	0.73
M. Ki	M	64	V.L.	44.8	2137	2484	0.86
Y. Ta	F	64	G.M.	23.3	2609	2711	0.96
M. Ha	F	65	G.M.	41.0	1771	2451	0.72
K. Ao	M	67	G.M.	40.6	1874	2425	0.77
A. Ta	F	68	G.M.	38.5	957	1341	0.71
S. Ko	M	69	G.M.	54.3	2394	3088	0.80
M. Wa	F	72	G.M.	25.3	2294	2553	0.90
I. Sh	M	73	G.M.	42.6	1643	2484	0.66
S. Mi	F	82	G.M.	58.5	953	2244	0.42

V.L. : vastus lateralis

G.M. : gluteus medius

た。筋線維 1 本当たりの毛細血管数を示す C/F ratio と 1 本の筋線維の回りをとり囲んでいる毛細血管数を筋線維タイプ別に示す CC のいずれのパラメーターにおいても、加齢にともなって毛細血管数の減少傾向がみられた。また、C/F ratio および CC (FT および ST 線維) と年齢との間に、1% 水準で有意な相関関係が認められた。さらに CC において、ST 線維の値の方が FT 線維の値より、全被検者においてより高値を示した。ST 線維の方が FT 線維より多くの毛細血管を有するという関係について、加齢による影響は認められなかった。

4. 考 察

a. 筋線維横断面積

本研究の 19 歳から 82 歳の筋線維横断面積は、FT 線維で $953\sim 5889\mu\text{m}^2$ 、ST 線維で $1341\sim 5154\mu\text{m}^2$ の範囲内であり、FT/ST area ratio は $0.42\sim 1.19$ という結果が得られた。これに対し Larsson ら¹²⁾

は、22~65 歳のヒトについて FT 線維が $4072\sim 9558\mu\text{m}^2$ 、ST 線維が $2663\sim 9005\mu\text{m}^2$ であり、FT/ST area ratio は $0.96\sim 1.24$ の範囲内にあったと報告している。両者を比較すると、筋線維横断面積において本研究の方が、両タイプともより萎縮した筋線維がみられる。さらに、FT/ST area ratio においても本研究の値の方が、FT 線維の選択的萎縮度が高いことが認めらる。この原因は、Larsson ら¹²⁾ の研究では健康人に対してニードルバイオプシー法を用いているのに対し、本研究では、神経性の疾患を原因としている者は除外しているが、手術を必要とする患者から、オープンバイオプシー法によって被検筋を得ているため、より萎縮した筋線維が存在している可能性が考えられる。しかしながら勝田ら¹¹⁾ が、日本人健康青年男子 (20 歳代) の外側広筋について、FT 線維では $2685\sim 7105\mu\text{m}^2$ 、ST 線維では $2420\sim 7741\mu\text{m}^2$ であると報告していることから、ヒトの筋線維横断

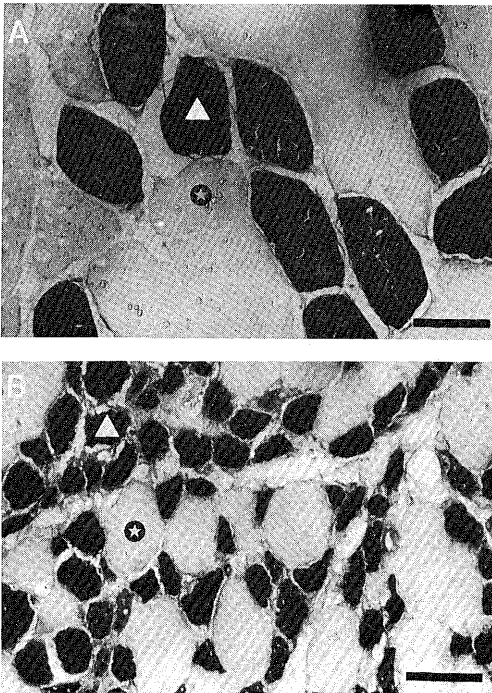


Fig. 1 Cross-section of muscle fiber stained for myosin ATPase (preincubation pH. 10.3). A) This subject was 39 years old (male) with FT/ST area ratio of 1.19. B) This subject was 82 years old (female) with FT/ST area ratio of 0.42. Bar indicates 100µm. Δ ; FT fiber \star ; ST fiber.

面積は個人差が大きいことが示唆され、よって本研究の筋線維横断面積の結果は、個人差を考慮すれば妥当なものであると思われる。

次に、筋線維の萎縮のメカニズムについて検討してみると、Anianssonら³⁾は萎縮の原因と考えられるものとして、1) 筋自体の活動水準の低下、2) 神経系の疾患、3) 神経自体の萎縮、を挙げている。また、Larssonら¹³⁾は、神経線維の減少より以前に筋線維の減少が起こるのではないかと推察している。本研究の結果において、20歳代から40歳代にかけてFT線維とST線維の両タイプが同様な減少傾向を示したのは、神経系の疾患にともなうものとは考えにくく、筋自体の活動水準の低下により両タイプが萎縮したものと思われる。また、短時間で高強度の活動ではFT線維が選択的に

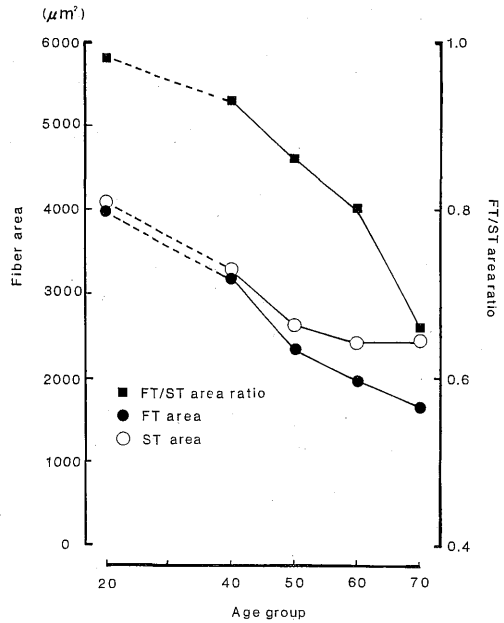


Fig. 2 Changes of fiber area (FT fiber and ST fiber) and FT/ST area ratio with age.

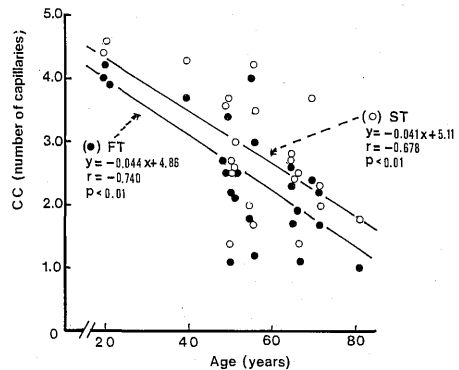
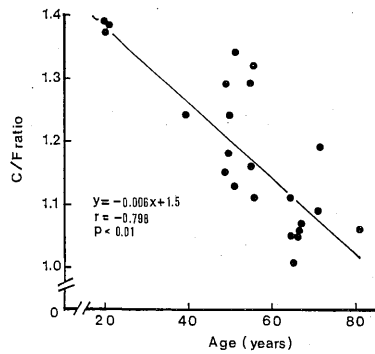


Fig. 3 C/F ratio and CC of the FT and ST fibers with age.

動員され、長時間で低・中強度の活動ではST線維が選択的に動員されることが明らかにされている^{7,8)}。このことから、日常生活では主にST線維が動員されていることが考えられるが、20歳代から40歳代にかけて両タイプの筋線維ともその断面積が減少していることから、座位的な日常生活による運動刺激だけでは、筋に対して十分な刺激強度となっていないことが予想される。

MoritaniとdeVries¹⁸⁾は、高齢者における筋線維の萎縮の原因は、神経細胞における栄養機能の漸次減少による神経接合部の不調であると報告しており、Tomonaga²⁴⁾やScelsiら²³⁾も同様な見解を示している。本研究の結果において、60歳代・70歳代になるとST線維の萎縮が頭打ちになるのに対し、FT線維の萎縮が進むのは、FT線維において前述のような現象がより高い頻度で起こるためと推察される。一方、この年代におけるST線維は日常生活によって最低限の筋の活動水準が維持されるため、筋線維の萎縮の進行が抑制されるものと思われる。また、高齢期における筋力トレーニングの効果は、筋肥大に起因するものではなく、神経系の改善によるものであることが示されている^{15,17,18)}。これは、極度に萎縮が進行した筋線維は、その後肥大しにくいことを示していると考えられるので、FT線維の選択的萎縮の兆候がみられる50歳代以前に、筋線維の萎縮を抑制する対策が必要であると考えられる。

Grimbyら⁹⁾は、70歳代以降FT線維の選択的萎縮が著しくなると報告しているが、本研究においてもFT/ST area ratioが0.80 (60歳代) から0.66 (70歳代) に減少した。この現象は、Tomonaga²⁴⁾やScelsiら²³⁾が高齢者における運動単位の減少を示唆していることから、正常な神経支配を受けないFT線維が多く存在するためであると考えられる。

そこで、ここまで述べてきた筋線維の萎縮のメカニズムを模式化したものを図4に示した。

b. 毛細血管

Anianssonら²³⁾は、毛細血管の数が加齢による影響をうけないことを示している。しかしながら、本研究では加齢にともなって、C/F ratio, CCいずれのパラメーターにおいても減少傾向を示した(図3)。この原因については、現時点では不明であり、今後さらに検討が必要である。

CCにおいて、筋線維タイプ別には特異的な変化

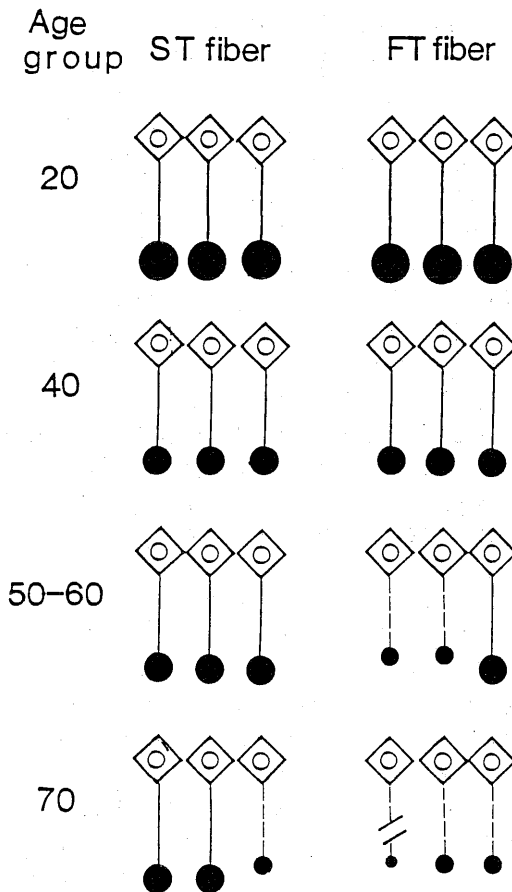


Fig. 4 Hypothetic model of atrophy of muscle fiber with age.

が示されなかったことから、加齢による毛細血管の変化は、FT線維が選択的萎縮をおこす筋線維横断面積の変化とは、独立したものであることが示唆された。

終りに、骨格筋における老化現象の抑制の一つとして、筋線維の萎縮の予防を考えるならば、筋線維の萎縮の割合が最も高く、その原因が筋自体の活動水準の低下に起因していると考えられる中年期において、十分な筋活動が必要であると思われる。

5. 総 括

加齢にともなう筋線維の変化に関する基礎的資料を得ることを目的として、オープンバイオプシー法によって得られた筋の組織化学的検討を試

みた。被検者は、筑波大学付属病院整形外科で手術を受けた男女24名であり、被検筋には外側広筋あるいは中殿筋を用いた。組織化学的染色を施すことによって、筋線維をタイプ別に分類し、FT・ST線維の平均横断面積を算出し、毛細血管数について検討を行った。

結果の要約は以下の通りである。

1. 加齢にともなって、両筋線維タイプともに横断面積の減少を示した。20歳代から40歳代にかけては速筋線維と遅筋線維が同様な減少傾向を示したが減少率はわずかであったのに対し、40歳代から50歳代にかけてその減少率は最も高かった。

2. 速筋線維の選択的萎縮を示す速筋線維と遅筋線維の相対的面積比は、60歳代で0.80、70歳代で0.66を示した。したがって、60歳代から70歳代にかけて速筋線維の選択的萎縮が著しく進むことが示された。

3. 毛細血管のパラメーターである筋線維1本当たりの毛細血管数と筋線維1本をとり囲んでいる毛細血管数は、ともに加齢にともなって減少傾向を示した。また、筋線維1本をとり囲んでいる毛細血管数においては、筋線維タイプ別に特異的な変化は示さなかった。

これらの結果から、両筋線維タイプが著しく萎縮する40歳代から50歳代において、さらに、速筋線維の選択的萎縮の兆候がみられる50歳代において、筋への十分な活動刺激を確保することが必要であると考えられる。

参 考 文 献

- 1) Andersen, P.: Capillary density in skeletal muscle of man. *Acta Physiol. Scand.*, 95: 203-205, 1975.
- 2) Aniansson, A., G. Grimby, E. Nygaard and B. Saltin: Muscle fiber composition and fiber area in various age groups. *Muscle & Nerve*, 2: 271-272, 1980.
- 3) Aniansson, A., G. Grimby, M. Hedberg and M. Krotkiewski: Muscle morphology, enzyme activity and muscle strength in elderly men and women. *Clin. Physiol.*, 1: 73-86, 1981.
- 4) Aniansson, A. and E. Gustafsson: Physical training in elderly men with special reference to quadriceps muscle strength and morphology. *Clin. Physiol.*, 1: 87-98, 1981.
- 5) Bergström, J.: Muscle electrolytes in man. *Scand. J. Lab. Invest. Suppl.*, 68, 1962.
- 6) Gollnick, P.D., R.B. Armstrong, C.W. Saubert IV, K. Piehl and B. Saltin: Enzyme activity and fiber composition in skeletal muscle of untrained and trained men. *J. Appl. Physiol.*, 33: 312-319, 1972.
- 7) Gollnick, P.D., R.B. Armstrong, C.W. Saubert IV, W.L. Sembrowich, R.E. Shepherd and B. Saltin: Glycogen depletion patterns in human skeletal muscle fibers during prolonged work. *Pflügers Arch.*, 344: 1-12, 1973.
- 8) Gollnick, P.D., R.B. Armstrong, W.L. Sembrowich, R.E. Shepherd and B. Saltin: Glycogen depletion pattern in human skeletal muscle fibers after heavy exercise. *J. Appl. Physiol.*, 34: 615-618, 1973.
- 9) Grimby, G. and B. Saltin: The aging muscle. *Clin. Physiol.*, 3: 209-218, 1983.
- 10) Grimby, G., A. Aniansson, C. Zetterberg and B. Saltin: Is there a change in relative muscle fiber composition with age? *Clin. Physiol.*, 4: 189-194, 1984.
- 11) 勝田茂, 麻場一徳, 田淵健一, 高松薫, 田中守: ニードルバイオプシー法による日本人健康青年男子の筋線維組成. 筑波大学体育科学系紀要, 8: 173-179, 1985.
- 12) Larsson, L., B. Sjödin and J. Karlsson: Histochemical and biochemical changes in human skeletal muscle with age in sedentary males, age 22-65 years. *Acta Physiol. Scand.*, 103: 31-39, 1978.
- 13) Larsson, L.: Morphological and functional characteristics of the ageing skeletal muscle in man. *Acta Physiol. Scand. Suppl.*, 457: 1-36, 1978.
- 14) Larsson, L., G. Grimby and J. Karlsson: Muscle strength and speed of movement in relation to age and muscle morphology. *J. Appl. Physiol.*, 46: 451-456, 1979.
- 15) Larsson, L.: Physical training effects on muscle morphology in sedentary males at different ages. *Med. Sci. Sports Exer.*, 14: 203-206, 1982.
- 16) Larsson, L.: Histochemical characteristics of human skeletal muscle during aging. *Acta Physiol. Scand.*, 117: 469-471, 1983.
- 17) 宮下充正, 武藤芳照, 小田伸午, 岩岡研典: 中年齢女子・高齢男子および高齢年齢チャンピオン・ジャンパーの筋出力にみられる身体トレーニングの効果. *デサントスポーツ科学*, 7: 156-164, 1986.

- 18) Moritani, T. and H.A. deVries: Potential for gross muscle hypertrophy in older men. *J. Gerontol.*, 35: 672-682, 1980.
- 19) Nygaard, E. and J. Sanchez: Intramuscular variation of fiber types in the brachial biceps and the lateral vastus muscles of elderly men. *Anat. Rec.*, 203: 451-459, 1982.
- 20) Novikoff, A.B., W. Shin and J. Drucker: Mitochondrial localization of oxidative enzymes; Staining results with two tetrazolium salts. *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, 9: 47-61, 1961.
- 21) Örlander, J. and A. Aniansson: Effects of physical training on skeletal muscle metabolism and ultrastructure. *Acta Physiol. Scand.*, 109: 149-154, 1980.
- 22) Padykula, H.A. and E. Herman: The specificity of the histochemical method for adenosine triphosphatase. *J. Histochem. Cytochem.*, 3: 170-195, 1955.
- 23) Scelsi, R., C. Marchetti and P. Poggi: Histochemical and ultrastructural aspects of M. vastus lateralis in sedentary old people (age 65-89 years). *Acta Neuro. Pathol.*, 51: 99-105, 1980.
- 24) Tomonaga, M.: Histochemical and ultrastructural changes in senile human skeletal muscle. *J. Am. Geriat. Soc.*, 25: 125-131, 1977.