

ウシ心筋の横細管について

村上隆之*・黒木正子**

The Transverse Tubule in the Bovine Cardiac Muscle

Takayuki MURAKAMI and Masako KUROKI

(昭和63年5月6日 受理)

脊椎動物の心筋の微細構造は透過型電子顕微鏡 (TEM) を用いて種々の動物について広く調べられている。現在では、筋細胞膜が筋形質内に深く陥入して横細管 (T細管) を形成することが一般的に認められており^{11, 13, 21)}、それは収縮刺激の細胞内伝播に参与することが示唆されている¹⁰⁾。近年、走査型電子顕微鏡 (SEM) が細胞内構造の観察に利用されるようになり、とくに筋細胞では筋原線維やミトコンドリア、T細管などの立体的観察に有効であることが示され¹⁵⁾、ラット¹⁾やイヌ^{4, 22)}、ブタ³⁾、ヒツジ^{5, 15, 19)}などの心筋のT細管が観察されている。ウシの心筋にT細管が存在することは TEM による観察で明らかにされているが、その SEM 観察による報告はない^{6, 9, 20)}。そこで著者らはウシの心筋のT細管を TEM と SEM で観察することにした。

材 料 と 方 法

観察材料は生後4~118日齢の子ウシ4例から採取した肉眼的に正常な心臓である。子ウシを放血と殺ののち心臓と肺を一括して採取し、冠状動脈からカルノフスキー液で心臓を灌流固定した。TEM (HITACHI H-800 MU) 観察用の試料は右心室から組織片を採取し、以下常法に従い、四酸化オスミウム後固定、suppur resin 包埋、超薄切片としてウランと鉛の重染色を施した。SEM (JSM-35C) 観察用の試料は右心室から組織片を採取、80% ジメチルスルホキシドに浸漬、液体窒素中で切断、2% 四酸化オスミウムで4°C、2時間後固定。続いて0.1%四酸化オスミウムで室温、1~5日間処理した²³⁾。その後、導電染色¹⁴⁾、臨界乾燥 (HITACHI CHP-2)、金蒸着 (JEOL JEC-1000) を施した。

結 果 と 考 察

ウシの心室筋では他の哺乳類の場合と同じく、筋細胞膜が管状をなして筋原線維のZ線レベルを細胞内へ深く陥入してT細管を形成することが TEM 観察で認められている^{6, 9, 20)}。今回の TEM 観察でもT細管が明瞭に認められた (Fig. 1)。このT細管は細胞膜がその表層の糖衣 (cell coat) を伴ったまま管状を呈して細胞内へ深く陥入したものであった。T細管の直径は筋小胞体よりも太く、またその内腔は電子密度の高い均質な糖衣によって満されているので、他の細胞内小器官とは容易に識別できた。T細管は細胞膜から筋細胞の長軸に対して垂直に細胞内へ進入し、筋原線維の部分では常にZ線レベルを、また筋原線維間では豊富なミトコンドリアの間を、ほぼ直線状に横走していた。

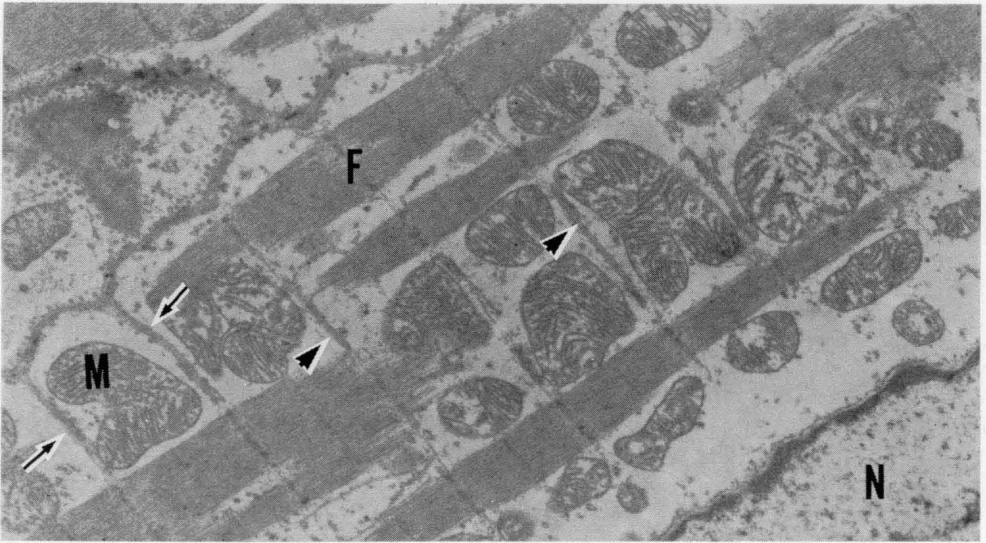


Fig. 1 TEM photograph of longitudinal section from the ventricular myocardium showing the T tubules invaginated (arrows) from the cell membrane and run (arrowheads) at the Z-line level. X 12000.

F: myofibril M: mitochondria N: nucleus

SEMで観察すると、心筋細胞はしばしば分岐していたが、その部以外はほぼ円筒状を呈していた。心筋細胞の外表面で切断された試料を観察すると、細胞膜直下のT細管に一致して筋細胞の外表面を規則的に横切る低い隆起が認められた (Fig. 2)。その低い隆起にはしばしば小孔が存在していたが、

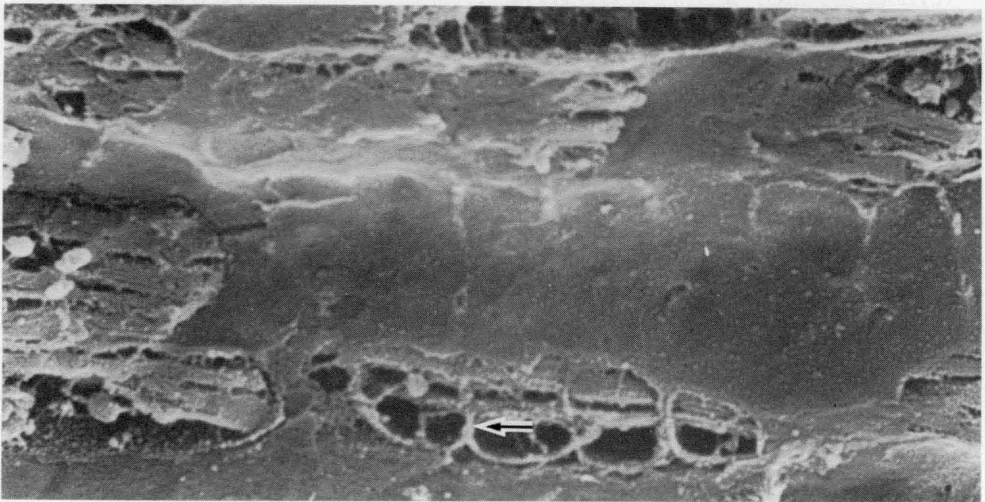


Fig. 2 SEM photograph of outer surface of cell membrane showing the regular cross striated banding pattern corresponding to the ridges of the T tubules (arrow) through the cell membrane. X 15000.

それはネコ¹²⁾やラット¹⁸⁾の心筋表面で観察されているT細管の開口部に一致するものではなく、試料作製過程で細胞膜が破壊されて生じたものと考えられた。

心筋細胞の内部構造に特徴的なSEM像は筋原線維が細胞の長軸に水平、一方T細管は垂直に、それぞれ規則正しく配列していることであった。また、ミトコンドリアは核領域では群在していたが、筋原線維間ではT細管の走行を妨げることなく、水平方向に規則的に並んでいた。パラフィン切片を脱パラフィンしたブタの心筋や³⁾、Freon 113に浸漬して液体窒素中で切断したイヌの心筋²²⁾などのSEM観察では、T細管はZ線上に小隆起として認められたと報告されている。しかし、今回の観察では0.1%オスミウム酸処理によって細胞基質が適度に除去された場合はT細管の管状構造が立体像として明瞭に把握できた (Fig. 3)。

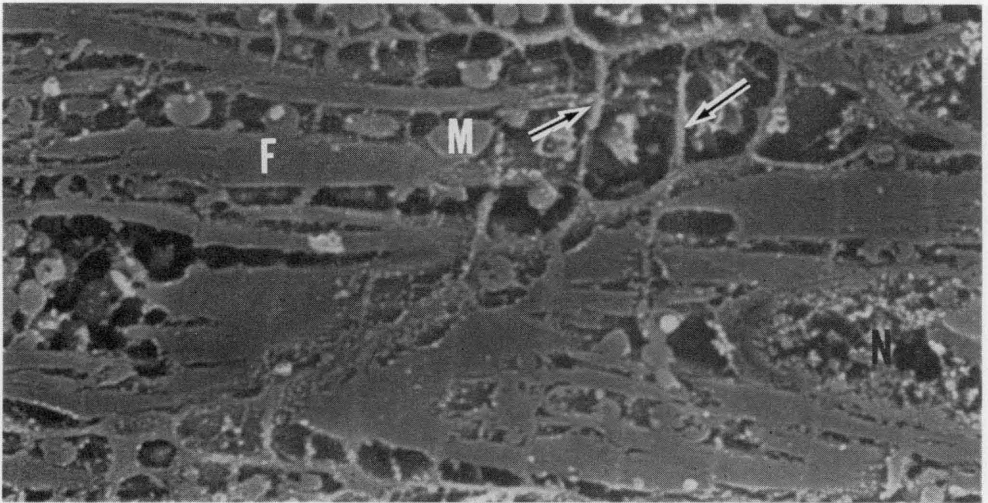


Fig. 3 SEM photograph of the ventricular myocardium showing the T tubules (arrows) invaginated from the cell membrane. X 12000. F: myofibril M: mitochondria N: nucleus

T細管は筋節の幅に一致して一定の間隔で細胞膜から内方へ垂直に陥入し、筋原線維を貫くことなく、そのZ線上を横切って筋細胞の中心部へ向かっていた (Fig. 4)。ラット^{2,8,23)}、モルモット²⁰⁾、ウサギ¹⁶⁾、ネコ⁷⁾、ウシ²⁰⁾などの心筋のTEMおよびウサギ¹⁾、イヌ²²⁾、ヒツジ^{15,19)}などの心筋のSEM観察で、T細管を横に連絡するT細管の分枝、または縦細管が認められているが、今回の観察ではそのような隣接するT細管を連絡する管は認められなかった (Fig. 5)。ウシ心筋の縦細管の太さは明らかにされていないが、ラットの縦細管の太さはT細管の半分以下といわれている²⁾。ウシの縦細管も細いとすれば、試料作製過程で破壊された可能性も考えられる。

筋小胞体はT細管よりかなり細い管であったが、比較的よく保存されていた。それは筋原線維の周囲で疎な網を形成し、Z線上にも広がっていた。T細管と筋小胞体は筋原線維のZ線上で互いに密接して coupling, または二ツ組構造¹⁷⁾を形成するといわれ、その coupling を SEM で報観した報告がある¹⁵⁾。しかし、解像力の低いSEMで coupling を同定するのは困難であり⁵⁾、今回の観察でもそれを明瞭なSEM像として得ることはできなかった。

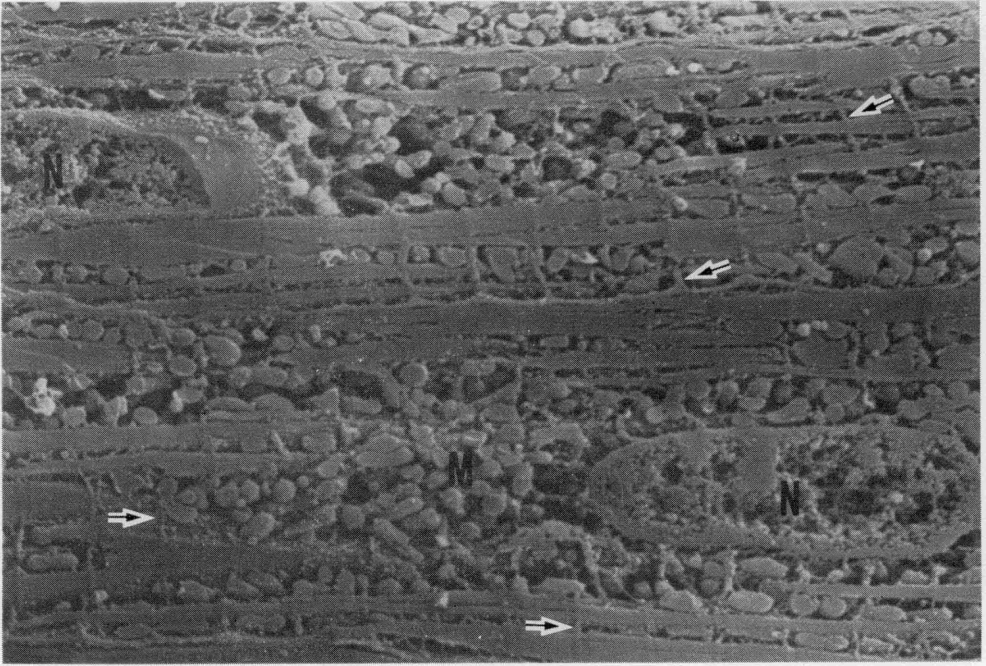


Fig. 4 SEM photograph of two ventricular muscle cells showing transversely arranged T tubules (arrows). X 9000. M: mitochondria N: nucleus

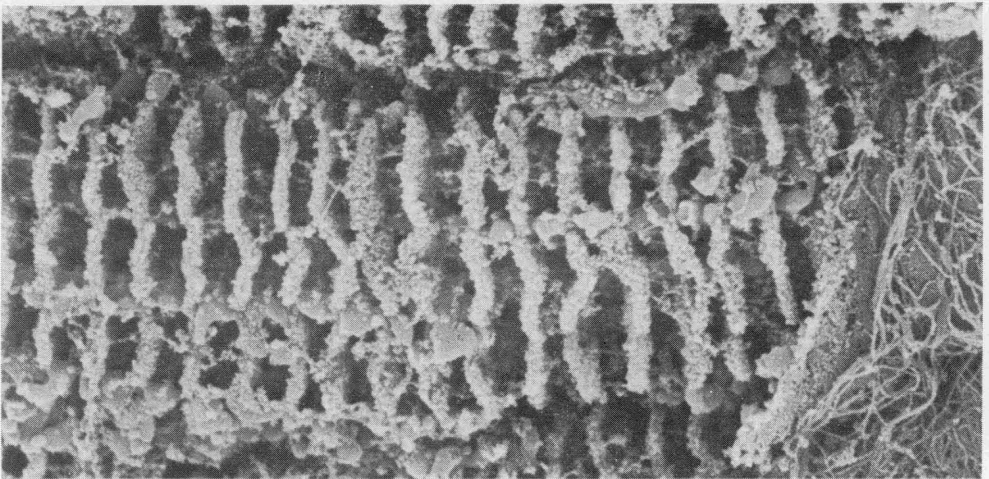


Fig 5 SEM photograph of the T tubules in a ventricular muscle cell immersed in 0.1% osmium tetroxide for 5 days at room temperature. X 9900.

要 約

ウシの心室筋を TEM と SEM で観察した。心室筋の T 細管は、それが細胞膜と連続していること、直径が比較的大きいこと、管腔内に均質な糖衣を保有していること、隣接する筋原線維の Z 線レベルを横走すること、などから TEM によって容易に識別できた。SEM 観察では、T 細管は筋節の幅に一致した一定の間隔で細胞膜から内方へ陥入し、細胞に対して垂直方向に走り、Z 線レベルで筋原線維の表面を横切り、細胞の中心部へ向かっていた。T 細管の分岐、または縦細管は認められなかった。

参 考 文 献

- 1) Ashraf, M. and Bloor, C. M.: J. Mol. Cell. Cardiol., **8**, 489-495 (1976).
- 2) Ayettey, A. S. and Navaratnam, V.: J. Anat., **127**, 125-140 (1978).
- 3) Bytzer, P.: Anat. Anz., **145**, 490-403 (1979).
- 4) Crissman, R. S., Lane, R. D., Didio, L. J. A. and Jodnson, R. C.: J. Submicr. Cytol., **10**, 155-162 (1978).
- 5) Dalen, H., Myklebust, R. and Saetersdal, T. S.: J. Microsc., **112**, 139-151 (1977).
- 6) Epring, G. P.: Am. J. Vet. Res., **26**, 224-238 (1965).
- 7) Fawcett, D. W. and McNutt, N. S.: J. Cell Biol., **42**, 1-45 (1969).
- 8) Forssman, W. G. and Girardier, L.: *ibid.*, **44**, 1-19 (1970).
- 9) Hirakow, R.: Am. J. Cardiol., **25**, 195-203 (1970).
- 10) Huxley, A. F. and Taylor, R. E.: J. Physiol., **144**, 426-441 (1958).
- 11) James, T. N. and Sharf, L.: Am. J. Cardiol., **22**, 389-416 (1968).
- 12) McCalliester, L. P. and Christman, E. W.: J. Electro Microsc., **27**, 229-233 (1978).
- 13) McNutt, N. S.: Circul. Res., **37**, 1-13 (1975).
- 14) Murakami, T., Yamamoto, K., Itoshima, T. and Irino, S.: Arch. Histol. Jap., **40**, 35-40 (1977).
- 15) Myklebust, R., Dalen, H. and Saesterdal, T. S.: J. Microsc., **105**, 57-65 (1975).
- 16) Nelson, D. A. and Benson, E. S.: J. Cell Biol., **16**, 297-313 (1963).
- 17) Porter, K. R. and Palade, G. E.: J. Biophys. Biochem. Cytol., **3**, 269-300 (1957).
- 18) Powell, T., Steen, E. M., Twist, V. W. and Woolf, N.: J. Mol. Cell. Cardiol., **10**, 287-292 (1978).
- 19) Sheldon, C. A., Friedman, W. F. and Sybers, H. D.: *ibid.*, **8**, 853-862 (1976).
- 20) Simpson, F. O.: Am. J. Anat., **117**, 1-18 (1965).
- 21) Sommer, J. R. and Johnson, E. A.: Am. J. Cardiol., **25**, 184-194 (1970).
- 22) Sybers, H. D. and Ashraf, M.: Lab. Invest., **30**, 441-450 (1974).
- 23) Tanaka, K. and Mitsushima, A.: J. Microsc., **133**, 213-222 (1984).

Summary

Bovine ventricular myocardium was observed by transmission (TEM) and scanning electron microscopy (SEM). By TEM observation, the transverse (T) tubules could be easily identified owing to their continuity with the cell membrane, relatively large diameter, retention of amorphous cell coat material in the lumina and their running transversely to Z-line levels of adjacent myofibrils. By SEM observation, T tubules were noted to invaginate inward from the cell membrane at constant intervals consistent with sarcomere length, run perpendicular to the cells and cross the surface of the myofibrils at the Z-line levels to the central region of the cells. Longitudinal tubules or branches of the T tubules could not be detected in the present SEM observations.