

甲状腺除去鶏の烏口上筋および胸筋における重量変動と筋線維型の構成割合および径の変化について

仁木隆博・信國喜八郎

九州東海大学農学部, 熊本県阿蘇郡南阿蘇村河陽 869-1404

本実験では, 10~11 日齢時に外科的に甲状腺を除去した雄雛 (白色レグホーン系コマージュ) を用いて, 甲状腺ホルモン欠如による烏口上筋 (*M. supracoracoideus*) の成長の抑制に筋線維型の構成割合および径が関与しているかを, 胸筋 (*M. pectoralis*) の場合と比較して検討した。実験区には無手術, 甲状腺自家移植 (自家移植) および甲状腺除去 (甲除) の 3 区を設定し, 40~41 日齢まで育成したのち, 採血後, pentobarbital sodium 麻酔下で放血屠殺し, 烏口上筋および胸筋を採取した。組織化学的方法により, これらの筋肉の筋線維型を分類して, その構成割合および径を計測した。また, 血漿中の T_3 および T_4 濃度を測定した。

甲除区の血漿 T_3 および T_4 濃度は他の 2 区よりも著しく低くなった。甲除区は体重, 烏口上筋および胸筋の重量とも著しく軽くなり成長が悪いことが示され, とくに烏口上筋では剥皮体重に対する相対値においても他の 2 区に対して有意に小さく, 甲状腺ホルモン欠如による影響は胸筋よりも大きかった。烏口上筋および胸筋の筋線維はすべての区で II A 型および II B 型に分類した。甲除区の烏口上筋では, 他の 2 区よりも解糖型エネルギー代謝に依存した II B 型筋線維の割合が減少し, 逆に酸化的エネルギー代謝に依存した II A 型筋線維の割合が増え, 平均的に径の大きな II B 型筋線維から径の小さな II A 型筋線維への変換が生じた。一方, 胸筋では II A 型や II B 型の筋線維割合に各区間で差はみられなかった。また, 甲除区の両筋の重量が軽いのは筋線維の成長不全によるもので, とくに烏口上筋では両型における筋線維径はともに甲除区が他の 2 区に比べそれぞれ有意に小さくなり, 胸筋に比べ甲状腺ホルモン欠如の影響は大きいように思われた。

以上の結果から, 甲状腺ホルモン欠如によって烏口上筋および胸筋の成長はともに抑制されるが, 烏口上筋の方が胸筋よりもその程度は顕著であった。また, このホルモン欠如による両筋の成長抑制には筋線維の構成割合が深く関与し, 烏口上筋の成長が胸筋よりも悪いのは, II B 型よりも径の小さい II A 型筋線維の割合が増加したことに関係していると推察された。

キーワード: 外科的甲状腺除去, 甲状腺ホルモン, 筋線維型, 烏口上筋と胸筋, 鶏

緒 言

著者らは, 白色レグホーン系雄雛において, 外科的な甲状腺除去によって幼雛時より甲状腺ホルモンを欠如させると, 筋肉, 骨および内臓の正常な発育が阻害され (仁木と信國, 1994 b), さらに 17 種の主な骨格筋の成

長を著しく抑制し, 中でも烏口上筋 (*M. supracoracoideus*) は他の骨格筋よりもこのホルモン欠如の影響を強く受けること (仁木と信國, 1998) を明らかにした。また, これらの骨格筋の成長抑制には筋線維径の減少が深く関与し, 筋線維数には変化が認められないこと, さらに骨格筋の成長抑制の程度と筋線維径の減少の程度は必ずしも呼応していないこと (仁木と信國, 2002) を報告した。しかし, 烏口上筋が他の骨格筋とは異なり, 甲状腺ホルモン欠如の影響を強く受ける原因については明らかにされていない。

一般に, 鶏の骨格筋線維はその収縮速度や代謝特性の違いから I, II A および II B 型 (Iwamoto *et al.*, 1993 ;

2006 年 3 月 3 日受付, 2006 年 4 月 3 日受理

連絡者: 仁木隆博

〒869-1404 熊本県阿蘇郡南阿蘇村河陽

Tel : 0967-67-3941

Fax : 0967-67-3960

E-mail : tnikki@ktmail.ktokai-u.ac.jp

Ono *et al.*, 1993) に分類される。鶏の骨格筋におけるこれらの筋線維型の構成割合や径に及ぼす甲状腺ホルモンの影響について検討された報告は数少なく (Bacou *et al.*, 1980; Dainat *et al.*, 1991; 仁木と信國, 2004), 骨格筋の成長との関係を追究した報告はほとんどみあたらない。著者らは前報 (仁木と信國, 2004) において, 外科的な除去手術により甲状腺ホルモンを欠如させた白色レグホーン系雄雛における頸二腹筋 (*M. biventer cervicis*) の成長と各筋線維型の構成割合や径との関係について検討し, 甲状腺ホルモンの欠如によって生じた本筋の成長抑制には各型の筋線維の成長不全, とくに酸化的エネルギー代謝に依存した II A 型筋線維の割合や径の減少が関与している可能性を示唆した。しかしながら, 前述したように甲状腺ホルモン欠如による成長の抑制程度が最も顕著であった烏口上筋 (仁木と信國, 1998) について, 筋線維型の構成割合や径に及ぼすこのホルモンの影響についての報告はみあたらず, King *et al.* (1987) が孵化後 1 ケ月間 propylthiouracil を投与した雄雛において, 烏口上筋と同じ胸部に位置する胸筋 (*M. pectoralis*) の筋線維径の低下を認めているに過ぎない。

本実験では, 甲状腺を除去した雄雛を用いて, 成長の抑制程度が最も顕著な烏口上筋における成長抑制に筋線維型の構成割合や径が関与しているかを, 胸筋との比較によって調べた。

材料および方法

供試鶏および飼育方法: 白色レグホーン系コマースタル (デカルブ) 雄雛 17 羽を用いた。雛は初生から 28 日齢までは育雛器 (ゴトウ育雛器製作所, 静岡) にて常法どおりに, 29 日齢以降は 21~24°C, 照明時間 14 時間 (午前 5 時~午後 7 時) に調整された室で中雛バッテリーにて飼育した。飼料には市販の配合飼料 (伊藤忠飼料, 東京) を用い, 初生から 28 日齢までは幼雛用を, 29 日齢から 40~41 日齢までは中雛用を自由摂取させた。水は自由飲水とした。

実験区の設定および処理方法: 実験区として, 無手術, 甲状腺自家移植 (自家移植) および甲状腺除去 (甲除) の 3 区を設定した。10~11 日齢時に Marvin and Smith (1943) の方法に準拠して甲状腺を除去した。甲除鶏の半数は除去のままとし, 残りの半数は摘出した甲状腺を信國ら (1972) および仁木と信國 (1994a) の方法によって直ちに前胸部皮下 (胸筋 *M. pectoralis* 前部) に自家移植した。

供試筋の採取および処理: 供試鶏は 40~41 日齢に採血後, pentobarbital sodium (大日本製薬, 大阪) 麻酔下で頸動脈切断により屠殺した。直ちに頭部を環椎後頭

関節より, 脚部を足根間関節より切断し, 剥皮して剥皮屠体とした。重量測定後, 屠体をビニール袋に入れ水中に 30 分間浸漬した。その後, 素早く背面から見て右側の烏口上筋 (*M. supracoracoideus*) および胸筋 (*M. pectoralis*) を摘出し, 重量測定後, 各筋ともに筋体の中央部の同一の場所を約 5 mm 幅で切り出し, その筋肉片の横断面部を直径約 1.5 cm の円形濾紙の中央部に付着させドライアイス-イソペンタンで急速凍結した。凍結した筋肉片は同じ冷媒中であらかじめ冷却しておいた蓋付の保存瓶 (5 cc) に入れ, -70°C の冷凍庫で保存した。

つぎに, 剥皮屠体から甲状腺を摘出し, 重量を測定した。さらに内臓を分離し重量を測定した後, 消化器官から糞や飼料などの内容物をピンセットで丁寧に取り出しその重量を測定した。前述の剥皮直後に測定した屠体重からこの内容物の重量を差し引いて剥皮体重とした。

組織化学的な筋線維型の分類: 凍結保存した筋肉片をクリオスタット (庫内温度 -25°C, SLEE 社, Germany) を用いて 15 μm の連続切片とし, 30 分間風乾後, 筋線維型を分類するため myosin adenosine triphosphatase (ATPase) 活性 (Padykula and Herman, 1955) および NADH-tetrazolium reductase (NADH-TR) 活性 (Burstone, 1962) の検出を行った。myosin ATPase 活性の検出では酸性 (pH 4.3) の前処理液に 20°C, 5 分間, またはアルカリ性 (pH 9.4) の前処理液に 20°C, 30 分間浸漬した後, 基質として ATP を含む浸漬液で前者では 45 分間, 後者では 20 分間の処理を行った。その後, Iwamoto *et al.* (1993) の方法に従って, myosin ATPase 活性および NADH-TR 活性の検出結果に基づいて供試筋の筋線維型を II A および II B 型に分類した。

各型の筋線維の径および割合の測定: myosin ATPase および NADH-TR 活性の検出処理を行った切片のうちで, 中央部とその左右のほぼ等間隔に離れた部位の合計 3 個所の筋束からそれぞれ約 150 個ずつ, 合計約 450 個の輪郭が鮮明な筋線維を任意に選定し, 径の測定を行った。測定は倍率 400 倍の顕微鏡下でマイクロメーターを用いて行い, 測定部位は短径の最大長とした。筋線維型の割合については, 径の測定に用いた切片上の同じ 3 筋束において, まず鏡倍率 100 倍であらかじめ筋線維型を分類し, つぎに各筋束から約 150 個ずつ合計約 450 個の筋線維について 400 倍で精査し, 各型の割合を求めた。

血漿 T₃ および T₄ 濃度の測定: 屠殺直前に翼下静脈から約 2 ml の血液を採取し, 直ちに 3,000 rpm で 15 分間遠心した後, 血漿を分離した。この血漿を用いて, 酵素免疫測定法 (伴ら, 1982) による T₃ および T₄ テストキット (Boehringer Mannheim 社, Germany) にて血

漿 T₃ および T₄ 濃度を測定した。

統計処理：測定結果については Student's *t* test により各区間の有意差検定を行った。

なお、甲除区の鶏のうち、屠殺時に残存甲状腺が肉眼的に認められ、血漿 T₃ および T₄ 濃度が無手術区や自家移植区に近い値を示した個体についてはデータから除外した。

結 果

各区の剥皮体重、甲状腺重量および血漿 T₃、T₄ 濃度を示すと表 1 のとおりである。剥皮体重については、無手術区と自家移植区はほぼ同じ値であったが、甲除区はこれら 2 区よりも著しく軽かった ($P < 0.01$)。甲状腺重量は実測値、相対値ともに無手術区と自家移植区は同様の

値を示した。血漿 T₃ および T₄ 濃度については、甲除区は両濃度ともに明らかに少なく他の 2 区に比べて T₃ で約 10%、T₄ で約 20% の値を示し、有意な差が認められた ($P < 0.01$)。無手術区と自家移植区との間には差はなかった ($P > 0.05$)。

つぎに、各区の烏口上筋および胸筋の重量を表 2 に示した。実測値では両筋ともに甲除区は無手術区と自家移植区よりも著しく軽く ($P < 0.01$)、後者の 2 区間には有意差は認められなかった ($P > 0.05$)。一方、相対値では両筋とも甲除区は無手術区と自家移植区よりも小さい値となったが、烏口上筋では両区との間に、胸筋では無手術区との間にのみ有意差が認められた ($P < 0.01$)。無手術区と自家移植区との間には有意差はなかった ($P > 0.05$)。

表 1. 無手術鶏、甲状腺自家移植鶏および甲状腺除去鶏における剥皮体重、甲状腺重量ならびに血漿 T₃ および T₄ 濃度

Table 1. Carcass weight, thyroid glands weight and plasma concentration of T₃ and T₄ in male chickens of intact, autotransplantation and thyroidectomy groups

	実験区 Experimental groups		
	無手術 Intact	自家移植 Autotransplantation	甲状腺除去 Thyroidectomy
羽 数 No. of birds	7	5	5
剥皮体重 (g) Carcass wt. (g)	363.2 ± 20.6 ^a	340.0 ± 35.0 ^a	230.2 ± 27.9 ^b
甲状腺重量 (mg) (mg%)	32.5 ± 5.7 ^a 8.9 ± 1.2 ^a	30.0 ± 7.8 ^a 8.8 ± 2.0 ^a	— —
Thyroid glands wt. (mg) (mg%)			
T ₃ 濃度 (ng/ml) T ₃ concentration (ng/ml)	4.0 ± 0.4 ^a	3.9 ± 0.8 ^a	0.4 ± 0.3 ^b
T ₄ 濃度 (ng/ml) T ₄ concentration (ng/ml)	15.4 ± 1.1 ^a	14.0 ± 1.5 ^a	3.1 ± 0.8 ^b

羽数以外の値は平均値 ± 標準偏差。

Figures except the number of birds show Means ± SD.

剥皮体重は剥皮後の体重から頭部（環椎後頭関節より上部）、脚部（足根間関節より下部）および消化管の内容物を差し引いた値。

Carcass wt. was evaluated by subtracting the weights of head (upper atlas part), feet (under metatarsal part) and digestive tract content from the skinned body weight.

甲状腺重量の上段の値は実測値、下段の値は剥皮体重 100 g 当たりの重量。

Values of upper and lower lines on thyroid glands wt. show absolute wt. and its percentage wt. of carcass wt., respectively.

同列の平均値の異符号間に有意差あり ($P < 0.01$)。

Means with different superscripts differ significantly within the same row ($P < 0.01$).

表 2. 無手術鶏, 甲状腺自家移植鶏および甲状腺除去鶏における烏口上筋および胸筋の重量

Table 2. Weights of *M. supracoracoideus* and *M. pectoralis* from male chickens of intact, autotransplantation and thyroidectomy groups

	実験区 Experimental groups		
	無手術 Intact	自家移植 Autotransplantation	甲状腺除去 Thyroidectomy
羽数 No. of birds	7	5	5
剥皮体重 (g) Carcass wt. (g)	363.2±20.6 ^a	340.0±35.0 ^a	230.2±27.9 ^b
烏口上筋重量 (g) (g%)	6.9±0.5 ^a 1.9±0.03 ^a	6.5±0.6 ^a 1.9±0.1 ^a	3.3±0.5 ^b 1.4±0.1 ^b
Wt. of (g) <i>M. supracoracoideus</i> (g%)			
胸筋重量 (g) (g%)	18.4±1.3 ^a 5.1±0.2 ^a	18.4±2.2 ^a 5.4±0.3 ^{ab}	10.9±1.5 ^b 4.7±0.3 ^b
Wt. of (g) <i>M. pectoralis</i> (g%)			

羽数以外の値は平均値±標準偏差.

Figures except the number of birds show Means±SD.

剥皮体重は表1参照.

Carcass wt.: see Fig. 1.

表中の数値は上段が実測値, 下段は剥皮体重 100 g 当たりの重量.

Values of upper and lower lines show absolute wt. and its percentage wt. of carcass wt., respectively.

同列の平均値の異符号間に有意差あり (P<0.01).

Means with different superscripts differ significantly within the same row (P<0.01).

烏口上筋および胸筋の筋線維型の分類結果を図 1-1~6 に示した。両筋のいずれの試験区においても、酸処理後の myosin ATPase 活性が高い筋線維 (I 型) は認められず、活性の低い筋線維 (II 型) のみが存在した。さらに II 型の筋線維は NADH-TR 活性が高いもの (II A 型) と低いもの (II B 型) に区別され、両筋の筋線維型は II A および II B の 2 型で構成されていた。また、NADH-TR 反応に見られるフォルマザン顆粒は、無手術区と自家移植区では II B 型の反応顆粒は散在していたが、II A 型の反応顆粒は濃く密に存在していた。一方、甲除区においては両筋ともに II B 型では散在していたが、II A 型の反応顆粒は他の 2 区とは異なり粗大で数も少なかった。

そこで、烏口上筋および胸筋における各実験区の両筋線維型の構成割合を求めた (表 3)。両筋線維型間で比較すると、両筋ともにいずれの区でも II B 型筋線維の占める割合は II A 型よりも約 2 倍から 3 倍程度高く、有意差が認められた (P<0.01)。つぎに、両筋線維型の割合を

各区间で比較すると、烏口上筋については甲除区は II A 型筋線維では他の 2 区より明らかに高く (P<0.05)、II B 型では低く (P<0.05)、他の 2 区とは明らかに構成割合が異なっていた。一方、無手術区と自家移植区との間では両筋線維型ともに差はみられなかった。これに対して、胸筋については両筋線維型の割合に各区间で差は認められなかった (P>0.05)。

烏口上筋および胸筋における両筋線維型の径を表 4 に示した。まず、各実験区ごとに両筋線維型間で比較すると、烏口上筋では各区ともに II A 型筋線維の径は II B 型より明らかに小さい値を示した (P<0.01)。一方、胸筋でも各区で II A 型筋線維が II B 型より小さかったものの、甲除区と無手術区の間でのみ有意差が認められた (P<0.01)。つぎに、両型の筋線維径の実験区間での比較では、烏口上筋については甲除区が両型ともに他の 2 区より小さな値を示し、有意差が認められた (P<0.05)。無手術区と自家移植区の間では II A 型筋線維で自家移植区が無手術区よりも小さい傾向を示したが、II B 型で

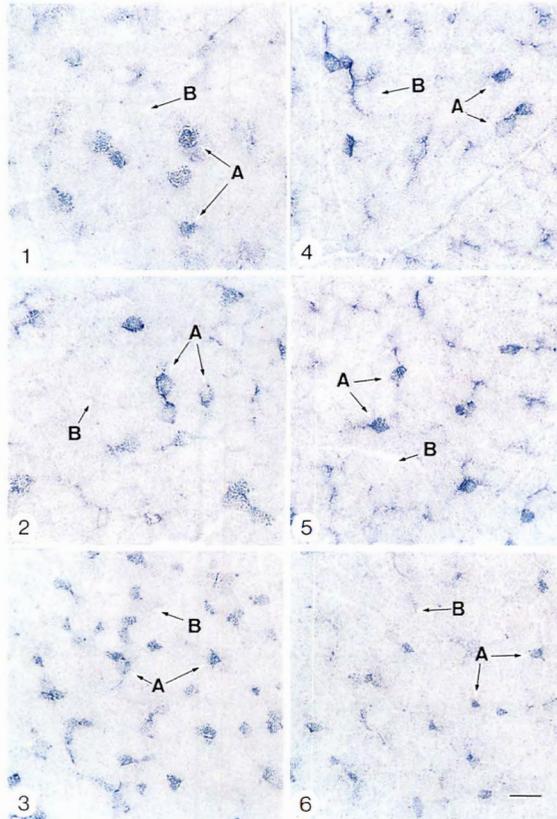


図 1-1~6. 無手術鶏, 甲状腺自家移植鶏および甲状腺除去鶏における烏口上筋および胸筋の組織像.

Figs. 1-1~6. Microscopic photographs of *M. supracoracoideus* and *M. Pectoralis* in male chickens of intact, autotransplantation and thyroidectomy groups.

図 1-1: 烏口上筋, 無手術区; NADH-tetrazolium reductase (TR) 活性.

Fig. 1-1: *M. supracoracoideus*; Intact; NADH-tetrazolium reductase (TR) activity.

図 1-2: 烏口上筋, 甲状腺自家移植区; NADH-TR 活性.

Fig. 1-2: *M. supracoracoideus*; Autotransplantation; NADH-TR activity.

図 1-3: 烏口上筋, 甲状腺除去区; NADH-TR 活性.

Fig. 1-3: *M. supracoracoideus*; Thyroidectomy; NADH-TR activity.

図 1-4: 胸筋, 無手術区; NADH-TR 活性.

Fig. 1-4: *M. Pectoralis*; Intact; NADH-TR activity.

図 1-5: 胸筋, 甲状腺自家移植区; NADH-TR 活性.

Fig. 1-5: *M. Pectoralis*; Autotransplantation; NADH-TR activity.

図 1-6: 胸筋, 甲状腺除去区; NADH-TR 活性.

Fig. 1-6: *M. pectoralis*; Thyroidectomy; NADH-TR activity.

筋線維はつぎの 2 型 (図中の A, B) に分類:

Muscle fibers can be classified into following two types (A, B on photographs):

A: II A 型; 高い NADH-TR 活性.

A: Type II A shows a high NADH-TR activity.

B: II B 型; 低い NADH-TR 活性.

B: Type II B shows a low NADH-TR activity.

各図とともに図 1-6 において bar (50 μ m) で示された倍率に同じ.

All figures are at the same magnification indicated by the bar (50 μ m) in Fig. 1-6.

表 3. 無手術鶏, 甲状腺自家移植鶏および甲状腺除去鶏における烏口上筋および胸筋の各筋線維型の構成割合
 Table 3. Percentage distribution of fiber types in *M. supracoracoideus* and *M. pectoralis* from male chickens of intact, autotransplantation and thyroidectomy groups

	実験区 Experimental groups		
	無手術 Intact	自家移植 Autotransplantation	甲状腺除去 Thyroidectomy
羽 数 No. of birds	7	5	5
烏口上筋の筋線維型 Muscle fiber types in <i>M. supracoracoideus</i>			
II A 型 (%) Type IIA (%)	24.1±4.1 ^{Aa}	25.7±3.4 ^{Aa}	31.8±3.5 ^{Ab}
II B 型 (%) Type IIB (%)	75.9±4.1 ^{Ba}	74.3±3.4 ^{Ba}	68.2±3.5 ^{Bb}
胸筋の筋線維型 Muscle fiber types in <i>M. pectoralis</i>			
II A 型 (%) Type IIA (%)	24.3±2.9 ^{Aa}	23.1±2.3 ^{Aa}	23.9±4.0 ^{Aa}
II B 型 (%) Type IIB (%)	75.7±2.9 ^{Ba}	76.9±2.3 ^{Ba}	76.1±4.0 ^{Ba}

羽数以外の値は平均値±標準偏差。

Figures except the number of birds show Means±SD.

同列の平均値の異符号間に有意差あり [A, B: 筋線維型間 (P<0.01), a, b: 実験区間 (P<0.05)].

Means with different superscripts differ significantly within the same row or column [A, B: between muscle fiber types (P<0.01), a, b: between experimental groups (P<0.05)].

は両区とも同様であった (P>0.05)。胸筋については、両筋線維型ともに甲除区が他の2区より小さく、無手術区との間にのみ有意差が認められた (P<0.05)。無手術区と自家移植区の間には差はなかった (P>0.05)。

考 察

本実験において、外科的手術により甲状腺を除去した甲除鶏は、無手術鶏や自家移植鶏に比べ血漿 T₃ および T₄ の濃度は明らかに減少し、剥皮体重も著しく軽かった。したがって、甲除鶏は前回の報告 (仁木と信國, 2004) と同様に明らかな甲状腺ホルモン欠如の状態であったことが確認された。外科的な除去によって甲状腺ホルモンが欠如することはこれまでもいくつか報告されている (Davison *et al.*, 1980; Harvey *et al.*, 1983; Moore *et al.*, 1984)。一方、甲除鶏と同様な手術で甲状腺を摘出しそれを自家移植した鶏 (自家移植鶏) は、無手術鶏と比較して、血漿 T₃ および T₄ 濃度、移植甲状腺の重量、さらに剥皮体重についても差のない値を示した。このことは、本実験における自家移植鶏 (移植後 30 日

目) でも無手術鶏と同様に甲状腺ホルモンが正常に分泌されていたことを示すものである。仁木と信國 (1994 a) は 10, 11 日齢時に前胸部皮下へ移植した甲状腺が移植後 25 日目前後には十分活着し、成長を正常に維持するためのホルモン量を分泌していることを確認している。したがって、以降の考察は前報 (仁木と信國, 2004) と同様に、甲除鶏と自家移植鶏との比較により行った。

甲除鶏において、烏口上筋 (*M. supracoracoideus*) および胸筋 (*M. pectoralis*) の成長は抑制され、とくに烏口上筋の相対値 (剥皮体重比) は自家移植鶏のそれよりも明らかに小さく有意な差が認められたが、胸筋の相対値は両筋の間には有意差はなかった。また、自家移植鶏の両筋重量に対する甲除鶏のそれらの重量の減少率を算出すると、烏口上筋および胸筋はそれぞれ実測値では 49.2% ((6.5-3.3)/6.5) および 40.8% ((18.4-10.9)/18.4)、相対値では 26.3% ((1.9-1.4)/1.9) および 13.0% ((5.4-4.7)/5.4) となり、烏口上筋の方が胸筋よりも明らかに大きな減少率を示した。著者らは前肢部、体幹部および後肢部の主要な 17 種の骨格筋の成長に及ぼす甲状腺ホル

表 4. 無手術鶏, 甲状腺自家移植鶏および甲状腺除去鶏における烏口上筋および胸筋の各筋線維型の径
 Table 4. Fiber diameter of each fiber in *M. supracoracoideus* and *M. pectoralis* from male chickens of intact, autotransplantation and thyroidectomy groups

	実験区 Experimental groups		
	無手術 Intact	自家移植 Autotransplantation	甲状腺除去 Thyroidectomy
羽数 No. of birds	7	5	5
烏口上筋の筋線維型 Muscle fiber types in <i>M. supracoracoideus</i>			
II A 型 (μm) Type IIA (μm)	24.7 \pm 2.7 ^{Aa}	21.9 \pm 2.1 ^{Aa}	17.6 \pm 1.2 ^{Ab}
II B 型 (μm) Type IIB (μm)	30.2 \pm 2.2 ^{Ba}	29.0 \pm 2.0 ^{Ba}	24.8 \pm 1.9 ^{Bb}
胸筋の筋線維型 Muscle fiber types in <i>M. pectoralis</i>			
II A 型 (μm) Type IIA (μm)	22.5 \pm 2.5 ^{Aa}	22.1 \pm 3.4 ^{Aab}	17.4 \pm 2.1 ^{Ab}
II B 型 (μm) Type IIB (μm)	28.3 \pm 1.8 ^{Ba}	27.0 \pm 3.1 ^{Aab}	25.1 \pm 2.5 ^{Bb}

羽数以外の値は平均値 \pm 標準偏差。

Figures except the number of birds show Means \pm SD.

同列の平均値の異符号間に有意差あり [A, B: 筋線維型間 ($P < 0.01$), a, b: 実験区間 ($P < 0.05$)].

Means with different superscripts differ significantly within the same row or column [A, B: between muscle fiber types ($P < 0.01$), a, b: between experimental groups ($P < 0.05$)].

モン欠如の影響について調査し、烏口上筋は胸筋をはじめとする他のどの部位の主要な骨格筋よりも甲状腺ホルモン欠如の影響を強く反映する骨格筋であることを明らかにしており(仁木と信國, 1998), 本実験においても烏口上筋に対する甲状腺ホルモン欠如の影響は胸筋に対するそれよりも大きいことが示された。

そこで、顕著な成長抑制が示された甲除鶏の烏口上筋について、各筋線維型の割合および径に対する甲状腺ホルモン欠如の影響に着目した。甲除鶏の烏口上筋では自家移植鶏に比べ解糖型エネルギー代謝に依存した II B 型筋線維の占める割合が減少し、ほぼその割合分だけ酸化的エネルギー代謝に依存した II A 型筋線維が増加する結果となった。このことは、烏口上筋では甲状腺ホルモンの欠如によって II B 型筋線維の中に II A 型筋線維へと変換する筋線維が存在していたことによるものと考えられた。これに対して、胸筋では甲除鶏および自家移植鶏ともに両筋線維型の占める割合に大きな変動はなかった。このことは、烏口上筋と胸筋における II A 型と II B 型の構成割合に対する甲状腺ホルモン欠如の影響が異なる

ことを意味している。著者らは甲除鶏の頸二腹筋において、本実験の烏口上筋で認められた II B 型の一部の筋線維からの II A 型筋線維への変換とは逆に、II A 型の一部の筋線維からの II B 型筋線維への変換が生じたことを明らかにしている(仁木と信國, 2004)。甲除鶏の烏口上筋においてなぜ頸二腹筋と相反する筋線維型の変換が生じたかについては明らかではないが、このことは烏口上筋が胸筋や頸二腹筋よりも甲状腺ホルモン欠如による成長の抑制程度が大きいことに関係していると考えられる。鶏において甲状腺ホルモンが欠如すると筋線維型の変換が生じることはこれまでもいくつかの報告があり、Bacou *et al.* (1980) および Dainat *et al.* (1991) は孵卵中に抗甲状腺剤を投与すると足底筋 (*M. plantaris*) では本実験における烏口上筋の場合と同様に II A 型筋線維が増加することを明らかにしている。しかし、足底筋が烏口上筋のように甲状腺ホルモン欠如の影響を強く受ける骨格筋のひとつであるか否かについては明らかではない。また、これまでも Rat (Nwoye *et al.*, 1982, Gagnon *et al.*, 1985, Jeffery *et al.*, 1987, Norenberg *et*

al., 1996) や羊 (Finkelstein *et al.*, 1991) でも骨格筋の種類によって各筋線維型の変換のパターンや割合は異なり、甲状腺ホルモン欠如の影響に違いがみられることは報告されている。骨格筋の所在部位や働きによって筋線維型の構成割合や径が異なることから (George and Berger, 1966), 甲状腺ホルモン欠如による筋線維型の変換に骨格筋の所在部位による違いが生じることは十分考えられる。こうしたことは、甲状腺ホルモン以外のホルモンについても同様のことが知られている。例えば去勢鶏に testosterone propionate を投与すると、外側腸頭骨筋・寛骨臼後部 (*M. iliotibialis lateralis pars postacetabularis*) の一部の II B 型筋線維が II A 型へ変換されるが (尾野ら, 1983), 頸半棘筋 (*M. semispinalis cervicis*) では筋線維型の構成割合は有意な変化を示さないこと (Ono *et al.*, 1984) が報告されている。

甲除鶏の鳥口上筋および胸筋における II A 型および II B 型の筋線維径は、両筋の成長の悪化を反映して小さくなり、鳥口上筋では自家移植鶏および無手術鶏の両方に対して、胸筋では無手術鶏に対してのみ有意差が認められた。したがって、甲状腺ホルモンの欠如による両型の筋線維径への影響を自家移植区と比較するとその影響の程度は鳥口上筋の方が胸筋よりも大きいように思われる。また、鳥口上筋ではすべての区において II B 型に比べ II A 型の筋線維径は明らかに小さく、前述したように甲除鶏の鳥口上筋において II B 型の一部の筋線維がこの型よりも径の小さい II A 型筋線維へと変換し、II A 型の割合が増加したことも、この筋肉の著しい成長の悪化に密接に関係するものと思われる。著者らは前報 (仁木と信國, 2004) において、甲除鶏の頸二腹筋の II A 型の筋線維径が著しく減少し、II A 型筋線維は甲状腺ホルモンの欠如に対して感受性が高いことを示唆している。

II A 型筋線維はフォルマザン顆粒が数多くみられる oxidative な筋線維である。しかし、甲除鶏の鳥口上筋において構成割合が増加した II A 型筋線維ではフォルマザン顆粒は粗大で数も少なかった。フォルマザン顆粒の増減 (NADH-TR 活性の高低) はミトコンドリアの数の増減に比例している。また、ミトコンドリアには T₃ の受容体が存在し蛋白合成に関与していることが報告されている (Sterling *et al.*, 1977)。したがって、甲除鶏の鳥口上筋では甲状腺ホルモンの欠如の影響を受けミトコンドリアが粗大となり数が減少したものと思われ、結果的に蛋白合成が抑制され、この骨格筋の成長が著しく阻害された可能性が考えられる。

以上の結果から、甲状腺ホルモン欠如によって鳥口上筋は胸筋よりもその成長の抑制程度は顕著であった。また、このホルモンの欠如による両筋の成長抑制には筋線

維の発育の悪化が深く関与し、鳥口上筋の成長の悪さは II B 型よりも径の小さい II A 型筋線維の増加に密接に関係するものと推察された。

引用文献

- Bacou F, Jallageas M, Nougues J and Vigneron P. Influence of experimental hypothyroidism on chick myogenesis. *Reproduction Nutrition Development*, 20 : 217-224. 1980.
- Burstone MS. *Enzyme Histochemistry*. Academic Press, London, England. 1962.
- 伴 良雄・沖 卓史・木村 肇・井上 健・児島孝典・飯野史郎. Enzyme-linked immunosorbent assay による血中サイロキシン濃度の測定. *ホルモンと臨床*, 30 : 301-305. 1982.
- Dainat J, Saleh L, Bressot C, Margar L, Bacou F and Vigneron P. Effects of thyroid state alterations in ovo on the plasma levels of thyroid hormones and on the populations of fibers in the *plantaris* muscle of male and female chickens. *Reproduction Nutrition Development*, 31 : 703-716. 1991.
- Davison TF, Misson BH and Freeman BM. Some effects of thyroidectomy on growth, heat production and the thermoregulatory ability of the immature fowl. *Journal of Thermogenesis Biology*, 5 : 197-202. 1980.
- Finkelstein DI, Andrianakis P, Luff AR and Walker D. Effects of thyroidectomy on development of skeletal muscle in fetal sheep. *American Journal of Physiology*, 261 : R1300-R1306. 1991.
- Gagnon J, Ho-Kim MA, Champagne C, Tremblay RR and Rogers PA. Modulation of a major 30-kDa skeletal muscle protein by thyroid hormone. *Federation of European Biochemical Societies Letters*, 180 : 335-340. 1985.
- George JG and Berger AJ. *Avian Myology*. Academic Press, New York, 169-198. 1966.
- Harvey S, Sterling RJ and Klandorf H. Concentrations of triiodothyronine, growth hormone, and luteinizing hormone in the plasma of thyroid ectomized fowl (*Gallus domesticus*). *General and Comparative Endocrinology*, 50 : 275-281. 1983.
- Iwamoto H, Hara Y, Gotoh T, Ono Y and Takahara H. Different growth rates of male chicken skeletal muscles related to their histochemical properties. *British Poultry Science*, 34 : 925-938. 1993.
- Jeffery S, Carter ND and Smith A. Thyroidectomy significantly alters carbonic anhydrase III concentration and fiber distribution in rat muscle. *The Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 35 : 663-668. 1987.
- King DB, Bair WE and Jacaruso RB. Thyroidal influence on nuclear accumulation and DNA replica-

- tion in skeletal muscles of young chickens. *Journal of Experimental Zoology*, 1 : 291-298. 1987.
- Marvin HN and Smith GC. Technique for thyroidec-tomy in the pigeon and the early effect of thyroid removal on heat production. *Endocrinology*, 32 : 87-91. 1943.
- Moore GE, Harvey S, Klandorf H and Goldspink G. Muscle development in thyroidectomized chickens (*Gallus domesticus*). *General and Comparative Endocrinology*, 55 : 195-199. 1984.
- 仁木隆博・信國喜八郎. 鶏における自家移植甲状腺の甲状腺ホルモン分泌. *日本家禽学会誌*, 31 : 181-188. 1994 a.
- 仁木隆博・信國喜八郎. 鶏の筋肉, 骨, 内臓および脂肪の重量に及ぼす甲状腺ホルモンの影響. *日本家禽学会誌*, 31 : 262-269. 1994 b.
- 仁木隆博・信國喜八郎. 鶏の前肢部, 体幹部および後肢部における個々の筋肉の重量に及ぼす甲状腺ホルモンの影響. *日本家禽学会誌*, 35 : 295-302. 1998.
- 仁木隆博・信國喜八郎. 甲状腺除去鶏の骨格筋重量に及ぼす筋線維の数と径の大きさの影響. *日本家禽学会誌*, 39 : J130-J138. 2002.
- 仁木隆博・信國喜八郎. 甲状腺除去鶏の頸二腹筋における筋線維型構成と筋線維径の変化について. *日本家禽学会誌*, 41 : J151-J159. 2004.
- 信國喜八郎・久木田敬一・古賀 脩. 雄雛の成長に及ぼす甲状腺ホルモンの影響. *九州大学農学芸誌*, 26 : 351-358. 1972.
- Norenberg KM, Herb RA, Dodd SL and Powers SK. The effects of hypothyroidism on single fibers of the rat soleus muscle. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 74 : 362-367. 1996.
- Nwoye L, Mommarerts WFHM, Simpson D R, Seraydarian K and Marusich M. Evidence for a direct action of thyroid hormone in specifying muscle properties. *American Journal of Physiology*, 242 : R401-R408. 1982.
- 尾野喜孝・岩元久雄・高原 齊. 雄鶏の大腿二頭筋筋線維に及ぼす Androgen の影響に関する組織化学的研究. *日本畜産学会報*, 54 : 453-459. 1983.
- Ono Y, Iwamoto H and Takahara H. The effects of androgen on histochemical fiber composition of *M. semispinalis cervicis* in the cock. *Japanese Journal of Zootechnical Science*, 55 : 568-576. 1984.
- Ono Y, Iwamoto H and Takahara H. The relationship between muscle growth and the growth of different fiber types in the chicken. *Poultry Science*, 72 : 568-576. 1993.
- Padykula HA and Herman E. Factors affecting the activity of adenosine triphosphatase and other phosphatases as measured by histochemical techniques. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 3 : 161-169. 1955.
- Sterling K, Milch PO, Brenner MA and Lazarus JH. Thyroid hormone action : The mitochondrial pathway, *Science*, 197 : 996-999. 1977.

Changes in Weight and Proportional Distribution of Fiber Types and Diameters in the *M. supracoracoideus* and *M. pectoralis* of Male Chickens Following Thyroidectomy

Takahiro Nikki and Kihachiro Nobukuni

School of Agriculture, Kyushu Tokai University, Aso-gun 869-1404

The present study was conducted to examine the effects of thyroid hormone deficiency on the weight and proportion and diameter of each fiber type in *M. supracoracoideus*, in comparison with *M. pectoralis*. Male White Leghorn chickens were surgically thyroidectomized at 10- to 11- days old. Experimental birds were divided into intact, autotransplant and thyroidectomy groups. After collecting blood samples, chickens were slaughtered under anesthesia with pentobarbital sodium at 40- to 41-days old. Plasma T_3 and T_4 levels were immediately determined. The 2 specimens were rapidly dissected. Myofibers were classified according to reactivities of myosin ATPase and NADH-tetrazolium reductase, and percentage compositions and fiber diameters of myofiber types were calculated.

Removal of thyroid glands caused marked reductions in plasma T_3 and T_4 levels. Body weights and weights of *M. supracoracoideus* and *M. pectoralis* in the thyroidectomy group were significantly lower than in the other groups. Relative weight of *M. supracoracoideus* to carcass weight in the thyroidectomy was much less than intact or autotransplant group while the relative weight of *M. pectoralis* was similar to one another. Muscle fibers of *M. supracoracoideus* and *M. pectoralis* in all groups were divided into types II A and IIB. Percentage distribution of fiber types in *M. supracoracoideus* changed following thyroidectomy, indicating the transformation of fast-twitch glycolytic (IIB) fibers to fast-twitch oxidative glycolytic (IIA). No such transformation was observed in *M. pectoralis*. Conversely, diameter of each fiber type in *M. supracoracoideus* following thyroidectomy was significant smaller compared to other groups.

These results suggest that muscle growth in *M. supracoracoideus* and *M. pectoralis* is retarded by thyroid hormone deficiency, and thyroid hormones are closely related to the growth of *M. supracoracoideus*, and particularly to the differentiation of type IIA fibers in this muscle.

(*Japanese Journal of Poultry Science*, 43 : J46-J55, 2006)

Key words : surgical thyroidectomy, thyroid hormones, muscle fiber types, *M. supracoracoideus* and *M. pectoralis*, chickens