

부검조직에서 관찰한 비복근, 가자미근, 장비골근 및 전경골근의 근섬유형에 관한 효소조직화학적 연구

전남대학교 의과대학 임상병리학교실

양진철·유주용

서론

Dubowitz와 Pearse¹⁾는 조직화학적 방법을 이용하여 골격근의 근섬유를 succinic dehydrogenase(SDH)와 NADH₂ diaphorase가 풍부한 type I fiber와 myosin ATPase와 phosphorylase가 풍부한 type II fiber로 구분하였으며, Brooke 및 Kaiser²⁾와 Karpanti등³⁾은 근조직 절편을 pH 4.3, 4.6 범위에서 5분간 전처치시켜 myosin-ATPase 염색으로 type II fiber를 type IIa와 type IIb로 세분하였다.

그러나 이외에도 골격근의 근섬유형은 각종 효소조직화학적 염색의 복합특성에 의하여 IIc등 서로 다른 유형의 근섬유로 세분할 수 있으며 이에 따라 8종류 이상이 보고되고 있으나, type I, IIa, IIb와 IIc 등 이외에 더욱 세분된 근섬유형의 생리적 및 임상적 연관성은 아직까지 숙제로 남아있다.

효소조직화학적 특성에 의한 포유동물 근섬유형의 구분은 동물의 종류나 골격근의 종류에 따라서 구성비가 다양한 것으로 알려져 있다^{5,6)}. 사람의 골격근 역시 해부학적 위치나 근의 종류 또는 기능에 따라 실험동물에서와 같이 근섬유형의 구성비에 차이가 있음이 보고되고 있어^{2,3,7-9)} 사람의 골격근에 대한 근종류별 또는 부위별 근섬유형의 구성분포 확립은 각종 근질환시 근섬유형이 선택적 또는 비선택적으로 침범된다는 보고^{10,11)}를 근거로 할 때, 각종 근질환의 병태 생리 규명이나 근 질환을 진단하는데 있어 먼저 해결해야 할 중요한 과제중의 하나이다.

Brooke와 Engel¹²⁾은 사람의 골격근은 60~75%가

type II fiber로 구성된다 하였으며 Climie⁷⁾ 역시 골격근 생검조직의 근섬유형은 type I이 1/3, type II가 2/3라 하였다. 그러나 이러한 성적은 침생검성적이고 1차적 또는 2차적인 근질환이 있는 환자에서만 침생검을 실시할 수 있다는 점, 또한 골격근에서도 부위에 따라 근섬유형의 구성비에 차이가 있다는 보고¹³⁻¹⁵⁾ 등으로 미루어 정상 골격근에 대한 근섬유형 구성비라고 보기에는 문제가 많다.

이에 저자들은 한국인 정상인의 각종 골격근에 대한 효소조직화학적 특성과 근섬유형의 구성분포를 관찰하는 일환으로 부검조직에서 사람의 경골주위의 골격근에 대한 조직화학적 및 효소조직화학적 염색을 시행하여 각 골격근에 대한 근섬유형의 구성비를 관찰코자 본 연구를 시도하였다.

재료 및 방법

재료는 1983년 1월부터 1985년 7월까지 부검이 의뢰된 성인 사체중 2~6°C 사체 냉장고에 보관된 사후 3일 이내의 사체로서 육안상 사후변화가 경미하고 사인의 추정에 있어 교통사고나 뇌출혈, 질식이나 실혈등으로 급사한 21구를 대상으로 하였으며 이중 조직학적 검색상이나 효소조직화학적 검색상 병적인 근섬유가 관찰되거나 acid phosphatase(Ac-Pase) 및 alkaline phosphatase(Alk-Pase) 양성섬유가 출현한 경우, 그리고 효소활성이 저하되어 근섬유형의 구분이 불가능한 6예를 관찰대상에서 제외하여 최종적인 검색대상은 15구였다. 성별분포는 남자가 9명 여자가 6명이었고 연령별 분포는 16세부터 52세까지 었다. 골격근의 채취는 경골주위 근육으로 주로 족척굴절에 관여하는 비복근, 가자미근 및 장비골근과 주로 족의 배굴곡에 관여하는 전경골근으로 하였

* 본 논문의 요지는 1986년 대한병리학회 제11차 춘계학술대회에서 발표되었음.

으며 경골 중앙부에서 2 cm×1 cm×1 cm 크기로 절취하였다.

채취한 조직은 액체질소통에서 급속냉동시켰으며 냉동된 조직편을 냉동절편기(Ames Tissue-Tek II)에 옮겨 10 μ 두께로 연속절편을 만들어 다음과 같은 조직학적 및 조직화학적 염색을 시행하였다.

조직학적 및 조직화학적 염색

1) Hematoxylin-Eosin(H&E) 염색 : 냉동 근조직은 eosin 친화력이 강하기 때문에 통상의 H&E 염색법과는 달리 hematoxylin에는 1분간, 그리고 eosin에는 2~5초간 짧게 염색하였다.

2) Trichrome 염색 : Gomori trichrome 염색법의 변법¹⁶⁾으로 Harris hematoxylin에 5분간 염색하였고 chromotrope 2R 과 fast green FCF 등으로 만든 Gomori 염색액(pH 3.4)에 10분간 염색하였으며 0.2% 초산으로 분별시켜 balsam 봉입하였다.

3) PAS 염색 : 통상의 염색방법으로 하였으나 전과정에서 염색시간을 4배로 하였다.

4) Regular myosin ATPase(ATPase) 염색 : Calcium법¹⁷⁾을 이용하였다. 즉 calcium barbital buffer

(0.02M, pH 9.4)에서 15분간, 그리고 37°C ATP 기질액(0.05M, pH 9.4)에서 30분간 부치시켰으며 1% calcium chloride와 2% cobalt chloride로 각각 치환수 세시킨 뒤 1% ammonium sulfide로 2분 동안 발색시켰다.

5) Reversed myosin ATPase 염색 : Regular myosin ATPase의 염색법과 동일하나 근 조직편을 calcium barbital buffer에 부치시키기 전 acetate buffer (pH 4.6)에 5분간 전처치 시켰다.

6) Succinic dehydrogenase(SDH) 염색 : Nachlas 등의 방법¹⁸⁾을 이용하여 10 ml phosphate buffer(0.2 M, pH 7.6)와 10 ml의 0.2M sodium succinate 및 20 ml의 nitroblue tetrazolium(1 mg/ml)이 함유된 기질액에서 37°C로 1시간 부치시킨 후 통상방법으로 처리하였다.

7) Acid phosphatase(Ac-Pase)와 Alkaline phosphatase(Alk-Pase) 염색 : Burstone 변법¹⁹⁾으로 Ac-Pase는 acetate buffer(pH 4.5)에 naphthol AS-TR phosphoric acid와 fast red violet LB salt 혼합기질액에서 2시간 동안 부치시킨 후 통상의 방법으로 처리하였다.

Table 1. Enzyme histochemical criteria of the muscle fiber types (I, IIa and IIb) in the autopsied skeletal muscles

Stains	Fiber types	Type I	Type IIa	Type IIb
ATPase(pH9.4)				
Fiber size		Small to medium	Small to medium	Large
Intensity of staining		Weak	Strong	Strong
Reversed ATPase (pretreated at pH4.6)				
Fiber size		Small to medium	Small to medium	Large
Intensity of staining		Strong	Weak	Moderate
Succinic dehydrogenase (SDH)				
Fiber size		Small to medium	Small to medium	Large
Intensity of staining		Strong	Moderate	Weak

Another literatures				
	Stein & Padykula (1962) ²⁰⁾	B	C	A
	Padykula & Gauthier (1967) ²¹⁾			
	Guth & Samaha (1969) ²²⁾	Red	Intermediate	White
	Edgerton & Simpson (1969) ²³⁾			
	Brooke & Kaiser (1970) ⁴⁾	I	IIa	IIb
	Guth & Yellin (1971) ²⁴⁾			
	Yellin & Guth (1970) ²⁵⁾	β	α	αβ

Table 4. The mean proportions (%) and ranges of muscle fiber types of autopsied human Gastrocnemius, Soleus, Peroneus longus and Tibialis anterior muscles by SDH stain (n=15)

Fiber \ Muscle	Gastrocnemius	Soleus	Peroneus longus	Tibialis anterior
I	48.0(37.9~55.5)	62.3(51.0~68.4)	40.8(32.4~45.3)	39.8(27.7~47.8)
IIa	27.4(17.5~36.9)	37.7*(31.6~49.0)	36.6(32.6~40.4)	31.2(25.9~40.0)
IIb	24.6(18.0~29.6)		22.7(18.5~28.5)	29.2(26.2~45.5)

() : Range of individual difference

* : Including few proportion (%) of intermediate fibers between IIa and IIb characteristics

나 PAS 염색에서는 양성당원과립의 함량에 따라 3가지 유형의 근섬유가 구분되었는데, 비복근, 가자미근, 장비골근, 전경골근 모두 중등도의 양성 과립을 갖는 M섬유형이 제일 많았다(부도 3). 그러나 양성 반응의 정도는 골격근마다 차이가 있었고 특히 전경골근에서는 양성 과립이 많은 S섬유형이 30.4%나 되었는데 이러한 PAS 반응양상에 의한 근섬유형의 구성비는 개체에 따라 심한 차이를 보였다.

2. Regular ATPase 및 reversed ATPase 활성에 의한 근섬유형의 구분

표 3과 같다. 즉 regular ATPase에 의해서는 type I 과 II의 두가지 유형의 근섬유만이 구분되어 전 골격근 모두 ATPase 염색상 약하게 염색되는 type I 이 67.3%에서 74.5%까지 주를 이루었고 강하게 염색되는 type II는 25.5%에서 32.7%까지의 분포였다(부도 4, 5).

그러나 reversed ATPase에서는 가자미근을 제외하고는 효소 활성에 따라 3가지 유형의 근섬유가 구분되었다. 즉 비복근, 장비골근, 전경골근에 있어서는 효소 활성이 가장 낮은 IIa 섬유가 48.9%에서 59.9%까지로 제일 많은 근섬유형을 이루고 효소 활성이 중등도인 IIb형 역시 20.5%~23.8% 분포이며(부도 6, 7) 가장 강한 활성을 보이는 type I 은 전경골근이 가장 낮아 17.3%였으며(부도 8) 비복근은 30.7%에 불과하였다. 반면 가자미근은 reversed ATPase 염색상 가장 강한 활성을 보이는 type I 이 개체에 따른 차이는 심하나 68.2%로 전체 근섬유중 2/3이상을 차지하고 있으며 일부에서 약 내지는 중등도의 활성을 보이는, 즉 IIb와 IIa의 중간형의 근섬유가 관찰되기는 하나 IIb형이 거의 보이지 않으며 31.8%가 IIa형에 속하였다(부도 9). 즉, reversed ATPase 염색에서는 가자미근을 제외하고는 나머지 골격근의 type I 이 근섬유중 1/3이하이고 2/3이상인 type

IIa 및 IIb인데 비하여 regular ATPase 염색에서는 골격근 모두 종류에 관계없이 type I 이 주를 이루어 regular ATPase와 reversed ATPase 활성에 의한 근섬유형의 구분은 서로 상당한 차이가 있음을 보여줬다.

3. SDH 활성에 의한 근섬유형의 구분

표 4와 같다. SDH 염색상 골격근의 근섬유형은 reversed ATPase 염색에서와 같이 가자미근을 제외하고는(부도 10) 3가지 유형으로 구분되었다. 즉, 가장 강한 활성을 보이는 type I 이 가자미근에서는 62.3%로 근섬유형의 2/3정도를 차지하나 비복근, 장비골근 및 전경골근에서는 48.0%, 40.8% 및 39.8% 였으며 가장 약한 활성을 보이는 type IIb는 가자미근에서는 보이지 않으며, 전경골근이 29.2%로 제일 높고 장비골근이 22.7%였다.

그러나 type IIa형은 가자미근에서는 33.7%이며 비복근, 장비골근 및 전경골근에서는 27.4%, 36.6% 및 31.2%로 관찰된다(부도 11). 한편 SDH 활성에 의한 근섬유형의 구분 역시 다른 염색에서와 같이 다양한 개체차를 보였다.

4. Ac-Pase 및 Alk-Pase 효소활성에 의한 근섬유형 구분

근질환이 없는 골격근에 있어서는 Ac-Pase와 Alk-Pase 염색상, 효소활성은 근섬유초 주위나 결체조직에 국한되어 경한 활성을 보일 뿐, 근섬유의 근형질내에서는 효소활성이 관찰되지 않아 본 염색에 의한 근섬유형의 구분은 불가능하였다(부도 12).

5. 근섬유 크기 측정

근섬유형이 명확히 구분되는 SDH 염색표본에서 type I, IIa 및 IIb의 근섬유형 크기는 표 5에서와 같다. 다

Table 5. Cross sectional area (long axis X short axis)* of muscle fiber types in autopsied human Gastrocnemius, Soleus, Peroneus longus and Tibialis anterior muscles by SDH Stain (mean±SD, n=15)

Type \ Muscle	Gastrocnemius (900)	Soleus (871)	Peroneus longus (8,150)	Tibialis anterior (982)
I	73.7±11.30× 57.7± 8.99	93.1±17.16× 67.5±12.23	74.2±11.05× 58.7±10.03	64.7±10.35× 51.6±33.90
IIa	82.2±14.25× 65.1±10.17	100.9±18.50× 78.2±14.57	83.9±13.50× 63.5±10.63	71.6± 9.26× 58.4± 7.67
IIb	85.2±13.15× 66.3±10.50		84.3±11.97× 65.9± 9.48	77.2±10.85× 61.0± 8.24

() : Number of measured muscle fibers
 * : Unit, micron (μ)

Table 6. Histochemical muscle fiber types of autopsied human Gastrocnemius, Soleus, Peroneus longus, Tibialis anterior muscles by combination patterns of regular myosin ATPase, reversed ATPase, and SDH activities in serially sectioned identical muscle fibers

Type	Patten			Gastrocnemius (1,088)	Soleus (1,426)	Peroneus longus (1,168)	Tibialis anterior (1,780)
	Regular ATPase	Reversed ATPase	SDH				
Type I	○	●	●	40.8%	57.2%	42.9%	55.3%
Type IIa	●	○	●	2.6%	10.0%	4.7%	8.2%
Type IIb	●	●	○	5.5%	—	6.8%	1.8%
Subtotal				48.2%	67.2%	54.4%	65.3%
Type IIc	●	●	●	9.2%	8.1%	3.8%	3.4%
Other				42.6%	24.7%	41.8%	31.3%

() : Counted numbers of individual muscle fibers, which are serially sectioned and stained enzymatically
 ○ : Weak enzyme activity
 ● : Moderate enzyme activity
 ● : Strong enzyme activity

큰 골격근에 비하여 가자미근의 크기가 제일 컸으며 골격근의 종류에 따라 다소 차이가 있었으나 type I 근섬유형이 가장 작았으며 type IIa는 중등도였고 type IIb가 가장 컸었다(부도 13).

6. 동일 근섬유의 복합적인 효소활성에 의한 근섬유형 구분

동일 근섬유에 대한 regular ATPase, reversed ATPase 및 SDH의 복합효소활성으로 근섬유형을 구분한 성적은 표 6에서와 같다. 즉 type I은 골격근의 종류에 따라 40.1%에서 57.2%까지의 성적으로 SDH 단독효소활성에 의한 근섬유형의 구분성적과 커다란 차이가 없으나 type IIa나 IIb에 있어서는 현저한 차이가 있어서 복합효소활성상 전형적인 type IIa에 해당되는 근섬유형은 골격근에 따라 2.6%에서 8.2%에 불과하였고

type IIb 역시 1.8%에서 10.0%에 지나지 않아 type IIa와 IIb가 현저히 저하됨을 보여주며 더우기 효소염색에 의한 통상적인 근섬유형인 type I, IIa, IIb의 전체 구성비를 보면 비복근 48.2%, 가자미근 67.2%, 장비골근 54.4% 그리고 전경골근은 65.3%에 불과하다. 나머지는 희귀 근섬유형인 type IIc가 골격근 종류에 따라 3.4%에서 9.2%가 관찰되며 분류가 어려운 미확인 섬유가 24.7%에서부터 42.6%까지 관찰되었다(부도 14-A, B,C).

고 찰

사람의 골격근도 실험동물에서와 같이 효소조직화학적 성상에 의해 3가지 유형의 근섬유로 구분할 수 있음은 여러 학자에 의하여 보고되고 있다. 그러나 대부분이 근질

환을 가진 환자에서 시행한 침생검 성적^{2,3,9,14,26)}으로, 근섬유형의 구성분포나 또는 병변양태가 기존 근질환에 따라 상당한 차이가 있음이 알려져 있는 점^{2,3,7,10,11)}이나 침생검 성적과 절편 성적과는 근섬유형의 구성분포비가 많은 차이가 있다는 보고⁸⁾등으로 미루어 이들 성적을 해당 골격근의 근섬유형 구성비로 단정짓기에는 많은 문제점이 있다. 따라서 정상 골격근의 근섬유형 구성비는 절편생검성적이 가장 이상적이라 하겠으나 현실적으로 생검에 의한 근조직 절취에는 어려운 점이 많아 본 연구에서는 부검조직을 관찰대상으로 하였다.

비복근은 후각 근육중 가장 표층에 존재하는 근으로서 장단지 근육의 주를 이루고 있으며 주된 기능은 족의 족척굴곡과 하지의 굴곡에 관여한다. 가자미근은 비복근 직하부에 있는 넓적하고 편편한 근으로서 주된 기능은 족의 족척굴곡이다. 장비골근은 측방각 근육으로서 그 기능은 족의 회내작용과 족척굴곡에 관여한다고 알려져 있다. 한편 전경골근은 경골의 측면에 위치하는 근육으로서 족의 배굴곡과 회외작용에 관여한다고 알려져 있는데 즉 비복근, 가자미근 및 장비골근과는 기능상 차이가 있다²⁷⁾.

본 연구에서 관찰한 상기 골격근의 근섬유형 구분을 보면 H&E와 trichrome 염색에서는 근섬유형의 구분이 불명확하였는데, 이러한 성적은 유와 김¹¹⁾, 김과 유¹⁴⁾가 백서의 전경골근과 가자미근에서 비교적 용이하게 두가지 유형의 근섬유를 구분할 수 있다는 성적과는 차이가 있었으나 배와 유¹⁵⁾가 보고한 사람의 복직근에서 근섬유의 유형별 구분이 불가능하였다는 성적과는 유사하였다. 그러나 PAS 염색에서는 인간의 골격근 역시 3가지 유형의 근섬유로 구분되었는데 PAS 양성 과립은 주로 당원 과립에 의하나 이외에도 근형질막내 mucopolysaccharides, glycoprotein, mucoprotein, glycolipids 및 phospholipid등이 관여한다고 한다²⁸⁾. 근육내 당원함량은 백섬유보다 적섬유에서^{29,30)} 그리고 type I 보다는 type IIa에서 높다는 견해도 있으나²⁶⁾ Ogata³¹⁾는 그와 다른 의견을 제시하고 있다. 즉 섬유내 당원함유는 동물의 종류^{32,33)}, 근육의 위치³⁴⁾ 및 운동량^{35,36)}에 따라 차이가 많음을 암시하고 있는데, 본 연구에서 관찰한 개체별 차이나 근 종류별 PAS 양성반응 정도의 차이 역시 이런 측면에서 검토되어야 할 것 같다.

한편 myosin ATPase 염색에 의한 사람 골격근의 근섬유형 분포는 염색방법에 따라 상당한 차이가 있었다.

즉 regular ATPase 염색에서는 활성정도에 따라 근섬유내 활성이 약한 type I 섬유형과 활성이 강한 type II 섬유로만 구분되었으며 이러한 구성비는 개체에 따라서 그리고 근 종류별로 상당한 차이가 있음을 보여주나 근섬유형의 대부분인 2/3이상, 관찰한 골격근 모두에서 type I 섬유형임을 보여준다. 그러나 myosin ATPase 염색전 pH 4.6으로 전처리한 reversed ATPase 염색에서는 근섬유형이 가자미근을 제외하고는 3가지 유형으로 구분되며 3가지 근섬유형중 type IIa가 가장 많고 type IIb, type I의 순서임을 보여준다. 즉 type I의 근섬유형비가 reversed ATPase에서는 가자미근의 68.2%를 제외하고는 현저히 저하되어 전경골근에서는 regular ATPase 염색상 74.5%에서 17.3%로 바뀌어져 있다.

SDH 염색에 있어서 사람골격근의 구성분포를 보면 근섬유형은 reversed ATPase에서와 같이 가자미근을 제외하고는 3가지 유형의 근섬유로 구분되며 근섬유형의 구성비에 있어서 type I의 구성비가 전경골근이 39.8%로 제일 낮고, 장비골근이 40.8%, 비복근이 48.0%이며 가자미근은 62.3%를 보여 reversed ATPase보다는 type I의 구성비가 다소 높으나 regular ATPase 활성에 의한 type I의 근섬유형보다는 낮음을 보여줘 동일 골격근에 대한 근섬유형의 구성비는 효소염색의 종류에 따라 상당한 차이가 있음을 보여준다.

근섬유형의 구성비가 효소염색의 종류에 따라 차이가 있음은 Pullen¹³⁾, 유와 김¹¹⁾ 및 김과 유¹⁴⁾, 배와 유¹⁵⁾ 등에 의해 이미 지적된 바 있는데 이러한 차이에 대하여 Pullen¹³⁾은 SDH에서 관찰되는 type IIa 섬유가 myosin ATPase 염색에서는 type I이나 IIb등으로 관찰되기 때문이라 하였다. 그러나 이러한 이유만으로 본 실험에서 관찰한 효소염색 종류별, 특히 동일한 myosin ATPase에서 regular 및 reversed ATPase 염색방법시의 저명한 차이를 설명하기에는 많은 어려움이 있다.

효소조직화학적 염색에 의한 근섬유형은 원발적으로 근섬유 자체의 특성보다는 지배되는 운동신경원과 밀접한 관련이 있음이 지배적인 견해이다^{10,37,38)}.

그러나 신경절단이나 병변등과 관련이 없는 근질환이나 동물실험 성적에서 효소조직활성에 의한 근섬유형의 전환이 보고됨은^{10,11,39)} 근속을 지배하는 운동신경의 영향 이외에도 근섬유의 이차적인 대사활성변화, 즉 효소활성변화가 오히려 더 크게 작용함을 시사해 준다. Holloszy⁴⁰⁾와 Gollnick 및 King⁴¹⁾ 등은 근육의 운동이

근섬유내 사립체의 효소활성을 증가시킨다고 하였으며, Dostill등⁴²⁾은 장거리 육상선수와 단거리 육상선수의 골격근을 비교하여 본 결과 장거리 선수에서 type II 섬유가 많음을 보고하였다. 또한 Henriksson⁴³⁾, Henriksson과 Reitman⁴⁴⁾ 및 Thorstensson⁴⁵⁾들은 골격근의 신체적 훈련은 type IIa 섬유의 수나 크기를 증가시킨다고 하여 골격근 근섬유의 운동량에 따른 효소활성의 변화로 인하여 기존의 근섬유 유형별 구성비가 변화될 수 있음을 시사해 주었다.

한편 본 연구에서 관찰한 골격근은 부검조직이다. 즉 골격근은 사후변화로 골격근의 사후강직을 형성한다. 사후강직의 형성기전에 대해서는 유산⁴⁶⁾, ATP⁴⁷⁾등이 관여한 것으로 알려져 있으나 특히 ATP에 의한 사후강직설이 유력하다. 즉 골격근에 사후강직이 형성됨은 골격근내 ATP 재합성의 저하로 인하여 ATP 함량이 1/4이하로 저하되었을 때 유발된다고 알려져있다. Myosin ATPase는 골격근내 ATP에 작용하는 효소로서 사후에 야기되는 ATP 기질의 감소가 효소의 활성 역시 감소시킴은 유추될 수 있는 사실이다. 또한 사후에는 혈장 및 골격근의 pH가 산성화되어 사체의 보존상태에 따라 차이는 있으나 양⁴⁸⁾에 의하면 사후 2~3일에는 혈장 및 골격근의 pH가 5.4~5.8 전후임이 보고되고 있다. 즉 부검조직에 있어서 골격근은 사후변화인 ATP의 저하로 인하여 ATPase 효소활성이 현저히 저하될 수 있음을 가정할 수 있다⁴⁷⁾.

또한 myofibrillar ATPase 활성을 저하시키는 산성 상태에서 부검골격근은 비교적 오랜동안 노출될 수 있다는 점⁴⁸⁾으로 미루어 본 연구에서 관찰한 regular ATPase에서의 비교적 높은 type I 섬유형의 구성비와 reversed myosin ATPase에서의 type I 근섬유형의 현저한 저하는 부분적이거나 사후변화로 인한 myosin ATPase 활성의 전반적인 저하에 기인한 것 같다.

한편 본 실험에서 type IIb 섬유가 없다고 알려진 가자미근^{2,14,49)}에서 reversed ATPase나 SDH 염색상 type IIa와 IIb의 중간형의 섬유가 소수나마 존재했는데 이는 사후변화에 의한 골격근의 효소활성 저하를 간접적이거나 확인해 주는 소견이었다.

근섬유형의 크기를 보면 type I 섬유가 제일 작으며 type IIa가 중등도 그리고 type IIb가 가장 크게 관찰되었다. 이와 같은 성적은 대체로 다른 골격근에서 관찰한 여러 학자들의 소견^{3,13,43,44)}과 유사하였다.

Ac-Pase와 Alk-Pase 활성으로 정상 골격근의 근섬유형 구분이 불가능함은 잘 알려져 있는 사실로서, 골격근내에 Ac-Pase 및 Alk-Pase 양성 근섬유는 다발성 근염, X-linked pseudohypertrophic dystrophy나 일반적인 근질환에서와 같은 병적인 상태에서에서만 출현한다고 한다^{11,50)}.

사람 골격근에 대한 근섬유형을 단일 효소염색상이 아닌 복합된 효소활성상으로 구분하여 보면 통상의 type I, IIa, IIb 섬유는 가자미근과 전경골근을 제외하고는 절반정도에 지나지 않고 나머지 근섬유형은 type IIc나 미분류 근섬유형이었다.

이러한 성적은 효소조직화학적 염색에 의한 근섬유형의 성상은 지배하는 신경의 영향뿐 아니라, 2차적인 대사변화 등을 반영함을 고려할 때 사후변화에 의한 효소활성의 변조로 전형적인 근섬유형별 효소활성이 변화되었을 가능성과 함께 효소염색 종류별 근섬유형 구성비의 심한 차이를 설명해 주었고, 또한 단일 효소염색 성적에 의한 근섬유형의 구분은 절대적이라기 보다는 상대적 개념의 분류임을 간접적이거나 증명해 주는 소견이었다.

결 론

사람 골격근에 대한 근섬유 특성 및 근섬유 유형별 빈도를 관찰코자 부검조직을 대상으로 비복근, 가자미근, 장비골근 및 전경골근에 대한 조직화학적 및 각종 효소조직화학적 염색을 시행하여 다음과 같은 성적을 얻었다.

1) 전 골격근 모두 H&E, trichrome 염색에 의한 근섬유의 유형별 구분은 불명확하였으나 PAS 염색에서는 3가지 유형으로 구분되었다.

2) Regular ATPase 염색에서는 type I 과 type II의 두가지 근섬유형으로 구분되었는데 ATPase 활성이 강한 type II가 비복근 32.7%, 가자미근 27.1%, 장비골근 30.2%, 전경골근 25.5%로 전 골격근 모두 type I 섬유형이 많았다.

3) 그러나 reversed ATPase 염색에서는 가자미근을 제외하고는 3가지 유형의 type I, IIa, IIb로 구분되었으며 type I 근섬유형의 분포비가 제일 적었고 type IIa가 제일 많았다.

4) SDH 염색에서도 역시 가자미근에서 type IIb가 관찰되지 않는 외에는 3가지 근섬유형을 구분할 수 있었는데 type I의 구성비가 비복근 48.0%, 가자미근 62.3

%, 장비골근 40.8%이었고 전경골근은 39.8%였다.

5) 사지 골격근의 근섬유형 구성비는 골격근 종류 이외에도 개체에 따라 그리고 효소염색 종류에 따라 상당한 차이를 보였다.

6) 근섬유형 크기는 type I 이 가장 작았고 type IIa 는 중등도였으며 type IIb는 큰 섬유였다.

7) 동일 근섬유에 대한 각종 효소조직 염색상을 종합하여 근섬유형을 구분해 보면 부검조직의 사람골격근은 type IIa 및 IIb가 현저히 저하되고, type I 보다 기타 type IIc 및 미분류 근섬유가 주를 이루고 있었는데 이러한 성적은 사후변화로 인한 효소활성 변화 특히 myosin ATPase 효소 활성의 저하와 밀접한 관련이 있는 것으로 사료되었다.

REFERENCES

- 1) Dubowitz V, Pearse AGE: *Reciprocal relationship of phosphorylase and oxidative enzymes in skeletal muscle. Nature* 185:701, 1960
- 2) Brooke MH, Kaiser KK: *Muscle fiber types: How many and what kind? Arch Neurol* 23:369, 1970
- 3) Karpanti G, Eisen AA, Carpenter S: *Subtypes of the histochemical type I muscle fibers. J Histochem Cytochem* 23:89, 1975
- 4) Brooke MH, Kaiser KK: *The use and abuse of muscle histochemistry. Ann NY Aca Sa* 228:121, 1974
- 5) Schiaffino S, Hanzlikova V, Pierobon S: *Relations between structure and function in rat skeletal muscle fibers. J Cell Biol* 47:107, 1970
- 6) Close RI: *Dynamic properties of skeletal muscle. Physiol Rev* 52:129, 1972
- 7) Climie ARW: *Muscle biopsy, technique and interpretation. AJCP* 60:753, 1973
- 8) Engel WK: *Selective and non-selective susceptibility of muscle fiber types, a new approach to human neuromuscular diseases. Arch Neurol* 22:97, 1977
- 9) Eisler T, Wilson JH: *Muscle fiber type disproportion. Arch Neurol* 35:823, 1978
- 10) Engel WK: *Selective and non-selective susceptibility of muscle fiber types. Arch Neurol* 22:97, 1970
- 11) 柳柱容, 金熙淳: 白鼠 前脛骨筋의 脫神經性 萎縮에 關한 組織化學的 研究. 대한의학협회지 23:888, 1980
- 12) Brooke MH and Engel WK: *The histographic analysis of human muscle biopsies with regard to fiber types: Adult male and female. Neurology* 19:221, 1960
- 13) Pullen AH: *The distribution and relative sizes of three histochemical fiber types in the rat tibialis anterior muscle. J Anat* 123:1, 1977
- 14) 金鍾宅, 柳柱容: 白鼠 前脛骨筋과 가자미筋의 筋纖維 類型別 分布에 對한 組織化學的 研究. 전남의대잡지 18:191, 1981
- 15) 裴晟佑, 柳柱容: 成人 腹直筋의 筋纖維 類型에 關한 연구. 대한의학협회지 29:89, 1986
- 16) Engel WK, Cunninham GG: *Rapid examination of muscle tissue. An improved trichrome method for flash frozen biopsy sections. Neurology* 13:919, 1963
- 17) Padykula HA, Herman E: *The specificity of the histochemical method of adenosine triphosphatase. J Histochem Cytochem* 3:170, 1955
- 18) Nachlas MM, Tsou KC, de Souza E, Cheng CS, Seligman AM: *Cytochemical demonstration of succinic dehydrogenase by the use of a new p-Nitrophenyl substituted Ditetrazole. J Histochem Cytochem* 5:420, 1957
- 19) Burstone MS, Kaplow LS: *Cytochemical demonstration of acid phosphatase in hemopoietic cells in healthy and in various hematological disorders using azo dye technique. J Histochem Cytochem* 12:805, 1964
- 20) Stein JM, Padykula HA: *Histochemical classification of individual skeletal muscle fibers of the rat. Am J Anat* 110:103, 1962
- 21) Padykula HA, Gauthier GF: *Morphological and cytochemical characteristics of fiber types in normal mammalian skeletal muscle. In exploratory concepts in muscular dystrophy and related processes (ed. A. T. Milhorat), pp 177 ~ 128, International Congress Series, no. 147, Amsterdam: Excerpta Medica Foundation.*
- 22) Guth L, Samaha FJ: *Qualitative differences between actomyosin ATPase of slow and fast mammalian muscle. Exp Neurol* 25:138, 1969
- 23) Edgerton VR, Simpson DR: *The intermediate fiber of rats and guinea pigs. J Histochem Cytochem* 17: 828, 1969
- 24) Guth L, Yellin H: *The dynamic nature of the so-called 'fiber types' of mammalian skeletal muscle. Exp Neurol* 31:227, 1971
- 25) Yellin H, Guth L: *The histochemical classification of muscle fibers. Exp Neurol* 26:424, 1970
- 26) Edwards R, Young A and Wiles M: *Needle biopsy of*

- skeletal muscle in the diagnosis of myopathy and the clinical study of muscle function and repair. NEJM* 302:261, 1980
- 27) Goss CM: *Anatomy of the Human Body*. 28th ed. Lea & Febiger Co. Philadelphia, 1970, p 428
- 28) Swash M, Schwartz MS: *Biopsy pathology of muscle*. Chapman and Hall Medical Co, London, 1984, p 23
- 29) Tahenchi T, Sasaki M: *Histochemical and electron microscopic difference between native glycogen and polyglucose synthesized by phosphorylase in tissue cells. Acta Histochem Cytochem* 1:63 1968
- 30) Gillespie CA, Simpson DR, Edgerton VR: *High glycogen content of red as opposed to white skeletal muscle fibers of guinea pig. J Histochem Cytochem* 18:552, 1970
- 31) Ogata T: *The differences in some labile constituents and some enzymatic activities between the red and the white muscle. J Biochem* 6:726, 1960
- 32) Bocek RM, Beatly CH: *Glycogen synthetase and phosphorylase in red and white muscle of rat and rhesus monkey. J Histochem Cytochem* 14:549, 1966
- 33) Bocek RM, Peterson RD, Beatly CH: *Glycogen metabolism in red and white muscle. Am J Physiol* 210:1,101, 1966
- 34) Stubbs SS, Blanchaer MC: *Glycogen phosphorylase and glycogen synthetase activity in red and white skeletal muscle of the guinea pig. Canad J Biochem* 43:463, 1965
- 35) Lamb DR, Peter JB, Jebbress RN, Wallace H: *Glycogen hexokinase and glycogen synthetase adaptations to exercise. Am J Physiol* 217:1,628, 1969
- 36) Edgerton VR, Simpson DR, Barnard RJ, Peter JB: *Phosphorylase activity of acutely exercised muscle. Nature* 225:866, 1970
- 37) Buller AJ, Eccles JC, Eccles RM: *Interactions between motoneurons and muscle in respect of the characteristic speeds of their responses. J Physiol* 150:417, 1960
- 38) Karpati G, Engel WK: *Transformation of the histochemical profile of skeletal muscle by 'foreign innervation'. Nature* 215:1,509, 1967
- 39) 박현수, 유주용 : 백서 전경골근의 폐용성 위축에 관한 실험적 연구. 대한정형외과학회지 19:1,051, 1984
- 40) Holloszy JO: *Biochemical adaptation in muscle. Effects of exercise on mitochondrial oxygen uptake and respiratory enzyme activity in skeletal muscle. J Biol Chem* 242:2,278, 1967
- 41) Gollnick PD, King DW: *Effect of exercise and training on mitochondria of rat skeletal muscle. Am J Physiol* 216:1,502, 1969
- 42) Costill DL, et al: *Skeletal muscle enzyme and fiber composition in male & female track athletes. J Appl Physiol* 40:149, 1978
- 43) Henriksson J: *Human skeletal muscle adaptation to physical activity. Thesis, Karolinska Institute Stockholm, 1976*
- 44) Henriksson J, Reitman JS: *Quantitative measure of enzyme activities in type I and type II muscle fibers of man after training. Acta Physiol Scand* 37:392, 1976
- 45) Thorstensson A: *Muscle strength, fiber types and enzyme activities in man. Acta Physiol Scand Suppl* 443, 1976
- 46) 문국진 : 最新 法醫學, 시체현상 및 사후경과시간. — 組閣, 서울 1981, p 31
- 47) Huxley AF: *Muscular contraction. J Gen Physiol* 243:1, 1974
- 48) 양동욱 : 사후경과시간에 따른 혈액 및 골격근의 pH 변화에 관한 연구 : 인쇄중
- 49) Pullen AH: *The distribution and relative sizes of fiber types in the extensor digitorum longus and soleus muscles of the adult rat. J Anat* 123:476, 1977
- 50) Englel WK, Cunningham GG: *Alkaline phosphatase positive abnormal muscle fibers of Humans. J Histochem Cytochem* 18:55, 1970

— Abstract —

Histochemical Muscle Fiber Types of Autopsied Human Gastrocnemius, Soleus, Peroneus longus and Tibialis anterior Muscles

Jin Chul Yang, M.D. and Joo Yong Yoo, M.D.

Department of Clinical Pathology,
Chonnam University Medical School, Kwang-ju, Korea

This study was designed for the evaluation of the mean proportions and range of individual difference of muscle fiber types in human Gastrocnemius, Soleus, Peroneus longus and Tibialis anterior muscles, respectively.

Flash-frozen muscle sections obtained from 15 cadavers were stained for H&E, trichrome, PAS, regular & reversed myosin ATPase, succinic dehydrogenase (SDH), acid phosphatase (Ac-Pase) and alkaline phos-

phatase (Alk-Pase).

The results obtained were as follows.

- 1) Differentiation of muscle fiber types was not evident in H&E and trichrome stained specimen. Three types of muscle fibers were, however, evident in PAS-stained sections according to the degree of positivity in observed skeletal muscles.
- 2) Two fiber types (Type I and II) were only differentiated and the predominant muscle fiber type was type I by regular myosin ATPase reaction in Gastrocnemius, Soleus, Peroneus longus and Tibialis anterior muscles.
- 3) Three muscle fiber types (Type I, IIa and IIb) were, however, differentiated and the predominant muscle fiber type was type IIa, contrary to patterns of regular myosin ATPase in skeletal muscles except for Soleus muscle by reversed myosin ATPase stains. Only two muscle fiber types (Type I and IIa) and predominant type I fibers were shown in Soleus muscle.
- 4) SDH stains showed three types of muscle fiber

except Soleus muscle. The mean proportions (%) of type I fibers were 48.0% in Gastrocnemius, 62.3% in Soleus, 40.8% in Peroneus longus, and 39.8% in Tibialis anterior muscles, respectively.

- 5) The mean proportions (%) of muscle fiber types in human skeletal muscles were markedly different, according to individuals and various enzyme histochemical stains.

- 6) The size of muscle fibers was relatively small in type I fibers compared with type IIb.

- 7) Evaluation for the combination patterns of various enzyme histochemical activities showed that the common muscle fiber types (Type I, IIa and IIb) were markedly reduced in the mean proportions and unusual rare muscle fibers predominant.

This predominance of unusual muscle fiber types and marked discrepancy in muscle fiber types between regular and reversed myosin ATPase seemed to be ascribed to decreased muscle enzyme activities following post-mortem period.

Figure Legend

- Fig. 1.** Non-discrimination of muscle fiber types.
Tibialis anterior, H&E $\times 200$
- Fig. 2.** No difference of muscle fiber types.
Peroneus longus, Trichrome $\times 200$
- Fig. 3.** Three muscle fiber types, strong (S), moderate (M) and light (L) reactive fibers, were evident according to the PAS-positive reaction. Of three muscle fiber types, moderate (M) reactive fiber type was the predominant one.
Gastrocnemius, PAS $\times 100$.
- Fig. 4.** Two muscle fiber types (type I and II) were shown. Type I was more prevalent than type II.
- Fig. 5.** The majority of muscle fiber type was type I, which showed weak enzyme activity.
Tibialis anterior, Regular myosin ATPase $\times 100$
- Fig. 6.** Three muscle fiber types (type I, IIa and IIb) were shown. Patterns of enzyme activities were reversed to those of regular myosin ATPase; Type I showed strong enzyme activity, type IIa weak and type IIb moderate enzyme activities.
Gastrocnemius, Reversed myosin ATPase $\times 100$
- Fig. 7.** The most frequent muscle fiber type was IIa and the least frequent one was type I.
Peroneus longus, Reversed myosin ATPase $\times 100$
- Fig. 8.** The same pattern of muscle fiber types as Fig. 7.
Tibialis anterior, Reversed myosin ATPase $\times 100$
- Fig. 9.** Two muscle fiber types (type I and IIa) were only shown and type I fibers were more frequent.
Soleus, Reversed myosin ATPase $\times 100$
- Fig. 10.** Only two muscle fiber types (type I and IIa) were shown. Type I showed strong enzyme activity and type IIa weak one.
Soleus, SDH $\times 100$
- Fig. 11.** Three muscle fiber types were evident. Type IIa which showed intermediate enzyme activity were shown.
Peroneus longus, SDH $\times 200$
- Fig. 12.** No existence of alkaline phosphatase positive fibers were shown.
Tibialis anterior, Alkaline phosphatase $\times 200$
- Fig. 13.** Relative size of each muscle fiber type was as follows: Type I was smallest and type IIb the largest.
Gastrocnemius, SDH $\times 200$
- Fig. 14. A,B,C:** Reactive enzyme patterns of muscle fiber type were reciprocal or different in the same region of muscle by three different enzyme stains. Patterns of myosin enzyme activities by regular myosin ATPase stain (A), were partially or completely reversed by reversed myosin ATPase stain (B). Partially or nonreversed muscle fibers seemed to be rare muscle fiber types (R).
Type I fibers showing strong SDH enzyme activities (C) was the most frequent one.
Soleus, Regular (A) myosin ATPase, Reversed (B) myosin ATPase, SDH (C) $\times 100$





