

ラットヒラメ筋の持続的伸張モデルについて

田 中 信 行 太 田 勲
札幌医科大学生理学第1講座 (主任 藪 英世 教授)

A Model of Chronically Stretched Soleus Muscle in Rat

Nobuyuki TANAKA and Isao OOTA
Department of Physiology (Section 1) Sapporo Medical College
(Chief : Prof. H. Yabu)

To obtain an experimental model which could be used to investigate the effect of chronic muscle stretching on neuromuscular transmission, a series of experimental observations were carried out using rats. The following results were obtained.

1. Not only the soleus muscle but also the gastrocnemius muscle was stretched in the leg-lengthening (LL)-operated leg. In contrast, in the leg subjected to the leg-lengthening operation with dislocation of the knee joint (LLD operation), the gastrocnemius muscle was not stretched, although the soleus muscle was stretched as much as in the LL-operated leg.

2. The degree of dorsiflexion of the foot and the extent of the restriction of the ankle joint's movement were severe in the LL-operated leg. They were slight in the LLD-operated leg.

3. The wet weight of the soleus muscle in the LL-operated leg decreased gradually as the stretching period increased. The wet weight in the leg subjected to a fixation procedure performed by a plaster cast, so as to obtain an immobilization model, was similar to that in the LL-operated leg. However, no significant difference in wet weight in the LLD-operated leg was observed during the stretching period, compared with the control.

On the basis of these results, it was concluded that the LLD operation was more suitable than the LL operation as a method to obtain a model which could be used to investigate the effect of chronic muscle stretching on neuromuscular transmission.

(Received November 11, 1987 and accepted November 27, 1987)

Key words: Neuromuscular transmission, A model of chronically stretched muscle, Leg-lengthening operation, Leg-lengthening operation with dislocation of the knee joint, Rat soleus muscle

1 緒 言

我々の教室では、持続的な筋伸張が神経筋伝達機能に及ぼす影響を、下腿に脚延長術 (leg-lengthening operation: LL術) を施行したラットより摘出した脛骨神経—ヒラメ筋標本について、主として電気生理学的に検討してきた^{1,2)}。しかし、LL術ではヒラメ筋のみならず、下腿に存在するすべての筋肉が伸張される。また、下腿屈筋群のうち二関節筋である腓腹筋は、ヒラメ筋と共同して足関節を底屈させる作用がある³⁾。ヒラ

メ筋と腓腹筋が同時に伸張されると、足関節には強い底屈力が働き、足関節が底屈位で固定されることによって、ヒラメ筋の不動化 (immobilization) が増強される可能性がある。しかも、ヒラメ筋の不動化は、その筋の神経筋伝達機能に影響を及ぼすという報告⁴⁾がある。また、LL術では神経や血管などの軟部組織の伸張も予想される。我々は、これらの種々の条件が二次的にヒラメ筋の伝達機能に影響を与える可能性のあることを以前より指摘してきた^{1,2)}。このように、神経筋伝達機能に対する持続的な筋伸張の影響を検討するために、LL

術による伸張モデル(LLモデル)を用いることに関しては、現在なお種々の問題が残されている。

本論文では、LLモデルについて指摘された上述の諸点を改良する目的で、LL術に加えて膝関節を脱臼させる方法、すなわち膝関節脱臼脚延長術 (leg-lengthening operation with dislocation of the knee joint: LLD術)による新しい伸張モデル(LLDモデル)を考案し、LLDモデルとLLモデルについて解剖学的並びにヒラメ筋の湿重量の面から比較検討した。

2 材料及び方法

2.1 脚延長術、膝関節脱臼脚延長術並びにギプス固定術

実験には雄のウィスター系成熟ラット130匹を使用した。実験開始時のラットは、すべて8週齢(体重200~250g)に揃えた。

脚延長術(LL術)は、片平と太田¹⁾の方法に準じて47匹のラットに施行した。すなわち、田島式K-wire(直径:0.8mm)を片側脛骨に刺入し、ラット用の脚延長器を経皮的に取り付けた。その後、脚延長器を装着した部分の脛骨並びに腓骨の骨切術を行なって、下腿骨を一度に術前下腿骨長の20%にあたる長さ(約7mm)だけ延長した。

膝関節脱臼脚延長術(LLD術)では、41匹のラットの下腿にLL術と同様に脚延長器を取り付け、骨切術を行なった後、膝関節脱臼術を施行した。その後、下腿骨を一度にLL術の場合と同じ程度に延長した。膝関節脱臼術は、膝関節支持組織を前方からメスで切離することによって行なった。

ヒラメ筋の不動化モデルを得るために、42匹のラットの下肢にギプス固定術(fixation procedure performed using plaster cast: PC術)を施行した。PC術は、片側肢の大腿中央部から足部(足関節を含む)までギプスを巻くことを行なった。その際、膝関節は安静位(resting position; 140°)とし、足関節は下腿三頭筋が静止長(resting length)になるように軽度底屈位(107°)とした。ギプス固定により下肢に血行障害が起こる可能性が考えられるので、足尖部にはギプスを巻かずに、足尖部の皮膚の色を観察することにより血行をチェックした。また、下肢筋の萎縮により下肢がギプス内で動くことによって、皮膚潰瘍が起こることも予想されるので、ギプスは2週間おきに巻き変えた。なお、各処置は麻酔下で行なった。また、LL術あるいはLLD術を施行したラットには感染防止のため、Cephmetazon(300mg/kg body weight/day)を

腹腔内に術後3日間、毎日投与した。

LL術、LLD術あるいはPC術を施行した下肢をそれぞれLL肢、LLD肢及びPC肢とした。これらの処置を施行したラットの対側健常側の下肢を対照とした。

2.3 解剖学的計測

LL術あるいはLLD術後21日を経過したラットについて、ヒラメ筋及び下腿骨の長さ、脛骨神経の位置の変化ならびに足関節の安静位(θ)及び可動域(range of motion: ROM)などを計測した。足関節の θ 及びROMは、覚醒時に測定した。自動的ROMは麻酔導入時に数回測定し、最大値をもって表示した。他の諸部位は、麻酔下で各部を露出した後に測定した。

2.4 ヒラメ筋の湿重量の測定

ヒラメ筋の湿重量は、麻酔下でヒラメ筋のみを注意深く摘出し、乾燥しない程度にヒラメ筋の周辺の水分会を濾紙(東洋濾紙, No. 2)で拭取った後、測定した。有意差の検定には、Student's *t* test(両側検定)を用いた²⁾。なお、麻酔はPentobarbital(50mg/kg body weight)をラットの腹腔内に投与して行なった。

3 成績

LL術を施行したラットは、LL肢の足関節を歩行中も尖足位のままにしていたのに対して、LLD術を施行したラットは、LLD肢の足関節を自由に動かして歩行していた。腓腹筋は二関節筋であるのに対して、ヒラメ筋は一関節筋であり、両者は共同して足関節を底屈させる作用がある。LLD肢ではLL肢と異なり、下腿近位端を大腿遠位端の前上方に脱臼させたので、下腿骨の延長により生ずる腓腹筋の緊張が除かれ、足関節の可動性が維持されたと思われる。このことによって、LLD肢では足関節を歩行中も自由に動かすことができたと考えられる。

Fig. 1には、LL肢とLLD肢のヒラメ筋、腓腹筋、下腿骨(腓骨を含まない)、大腿骨及び脛骨神経の解剖学的位置関係を対照と比較して示した。なお、LLD肢では、膝関節の脱臼の程度は全ての個体においてほぼ一定であった。ヒラメ筋の長さは、LL肢でもLLD肢でも対照の $18 \pm 1\%$ (mean \pm S. D., $n=5$)だけ伸張されていた。腓腹筋の伸張の程度及びヒラメ筋の不動化の程度を知るために、大腿骨遠位端(C点)から踵骨隆起下面(D点)までの最短距離(CD距離)と足関節の安静位(θ)を測定し、あわせて足関節の可動域(ROM)も測定した。対照ではCD距離は 38 ± 2 mm ($n=24$)であり、足関節の θ は $107 \pm 10^\circ$ ($n=24$)であった。足関節の自動的及び他動的ROMは、それぞれ $100 \pm 10^\circ$

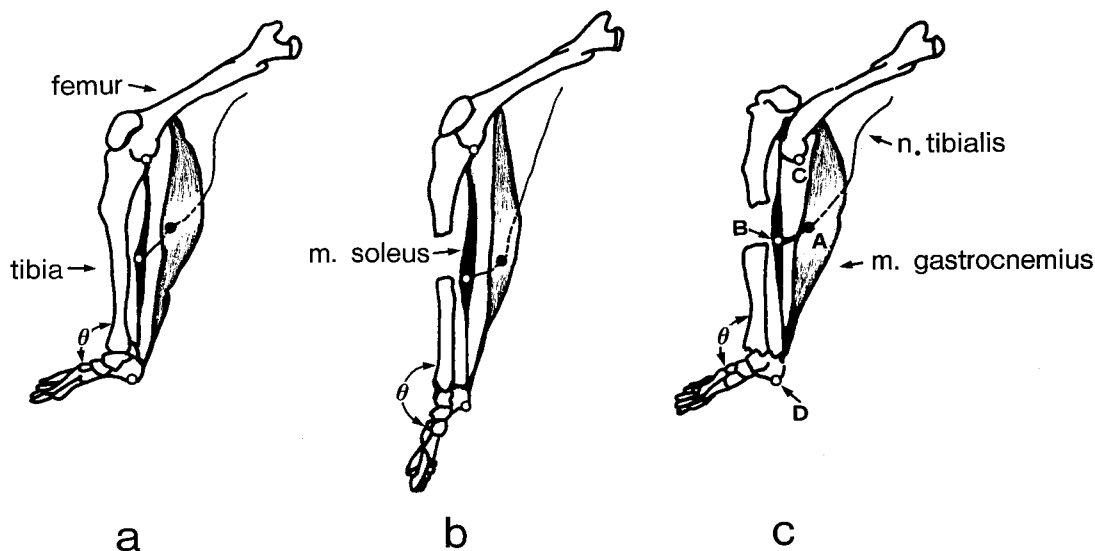


Fig. 1 Anatomical aspects of control leg (a), leg-lengthening (LL)-operated leg (b) and the leg subjected to leg-lengthening operation with dislocation of the knee joint (LLD operation) (c). A: Point where the tibial nerve branches into the gastrocnemius muscle. B: Point where the tibial nerve inserts into the soleus muscle. C: Distal end of the femur. D: Under surface of 'Tuber calcanei'. θ : Resting position of the ankle joint.

($n=24$)及び $110 \pm 5^\circ$ ($n=24$)であった。LL肢ではCD距離は、対照の $20 \pm 1\%$ ($n=12$)だけ延長されていた。足関節は著しい尖足位を示し、 θ は $165 \pm 5^\circ$ ($n=12$)であった。足関節のROMは、対照に比べて著しく制限されていた。すなわち、自動的ROMは対照の $5 \pm 2\%$ ($n=12$)、他動的ROMも対照の $11 \pm 3\%$ ($n=12$)の可動域を示すにすぎなかった。これに対して、LLD肢のCD距離は対照とほとんど変わらなかった。足関節はわずかな尖足位を示すにすぎず、 θ は $115 \pm 10^\circ$ ($n=12$)であった。また、足関節の自動的及び他動的ROMは、対照のそれぞれ $80 \pm 10\%$ ($n=12$)及び $82 \pm 16\%$ ($n=12$)の可動域を示していた。この抑制の程度はLL肢に比べて軽度であった。

脛骨神経は、腓腹筋へ短い分枝を出す部分(A点)とヒラメ筋への進入部(B点)で固定されていたので、この部分では脛骨神経の動きは少ないとみなし得る。脛骨神経の伸張度を知るために、C点からA点までの最短距離(CA距離)及びA点からB点までの最短距離(AB距離)を測定した。対照のCA距離は 16 ± 1 mm ($n=10$)であり、AB距離は 4 ± 1 mm ($n=10$)であった。LL肢のCA距離は対照に比べて $44 \pm 5\%$ ($n=5$)だけ長くなっていたが、AB距離は対照とほとんど変わらなかった。一方、LLD肢のCA距離及びAB距離は、

対照のそれらと大差がなかった ($n=5$)。

次に、PC肢ではヒラメ筋が静止長になるように下肢の固定が行なわれたので、LL肢におけるようにヒラメ筋や脛骨神経が伸張される可能性はほとんどない。また、足尖部の皮膚の色を観察した結果、血行障害は認められなかった。したがって、PC肢は、ヒラメ筋の動きのみを制限した不動化モデルとみなすことができる。

LL肢、LLD肢あるいはPC肢から摘出したヒラメ筋の湿重量をそれぞれの対照に対する相対値で表わし、その経時的変化をFig. 2に示した。LL肢のヒラメ筋の湿重量は、4日目では $95 \pm 8.0\%$ (mean \pm S. D., $n=6$)であり、対照との間に有意差がなかった。しかし、14日目以降の湿重量は対照に比べ有意に低下し、この低下は伸張期間の延長とともに著しくなり、90日目の湿重量は $52 \pm 7.0\%$ ($n=6$)であった。これに対して、LLD肢のヒラメ筋の湿重量は、全期間を通じて対照の90%前後を保持し、対照との間に有意差がなかった。一方、PC肢のヒラメ筋の湿重量は、4日目では $84 \pm 16.0\%$ ($n=6$)であり、対照との間に有意差がなかったが、10日目では $65 \pm 6.0\%$ ($n=6$)で対照に比べて有意な低下を示した。その後もヒラメ筋の湿重量は低下し続け、伸張90日目では $41 \pm 6.5\%$ ($n=6$)であった。

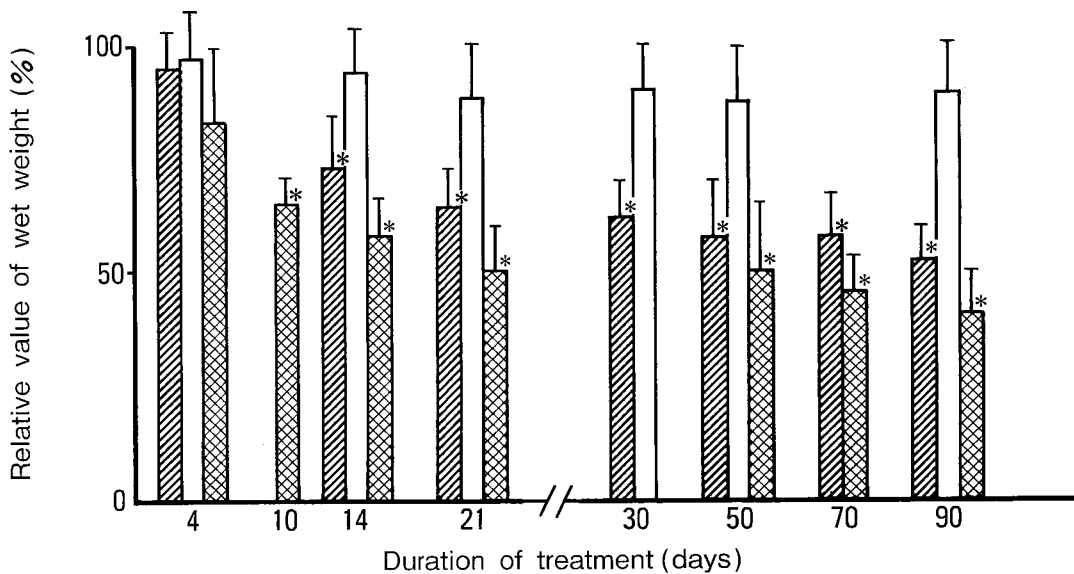


Fig. 2 Relationship between duration of treatment and wet weight of the soleus muscles. The ordinate indicates the relative value of wet weight to the control. Columns and vertical lines represent mean \pm S. D. of the mean (n=6).

* p < 0.05 vs. control.

▨ soleus muscles obtained from LL-operated rats.

□ soleus muscles obtained from LLD-operated rats.

▩ soleus muscles obtained from rats subjected to fixation procedure performed with plaster cast.

4 考 察

本成績において、下腿骨を延長することによりヒラメ筋が伸張される程度は、LL肢とLLD肢で等しかったが、腓腹筋が伸張される程度及び足関節のROMに関しては、両者の間に著しい相違が認められた(Fig. 1)。すなわち、LL肢では腓腹筋がヒラメ筋と同程度に伸張され、足関節のROMが著しく制限されていた。これに対して、LLD肢の腓腹筋は伸張されておらず、足関節のROMの制限の程度もわずかであった。また、歩行中の足関節は、LL肢では著しい尖足位のままであったのに対して、LLD肢では自由に動いていた。一般にヒラメ筋は、腓腹筋と共同して足関節を底屈させる作用がある³⁾ので、足関節のROMの制限の程度は、ヒラメ筋の不働化の程度を反映すると考えられる。したがって、LLD肢のヒラメ筋では不働化の程度はわずかであり、このわずかな不働化は、ヒラメ筋自体が伸張されることによって生じたと思われる。一方、LL肢におけるヒラメ筋の不働化の程度は、LLD肢に比べて著しく増強されており、これは腓腹筋の伸張が関与したこと

によると考えられる。

ヒラメ筋の湿重量に関して、LL肢とLLD肢の間に明らかな相違が認められた(Fig. 2)。湿重量は、LL肢ではPC肢とほぼ同様の経過で次等に減少したが、LLD肢では全期間を通じて、ほとんど変化しなかった。Booth⁹⁾は、本実験のPC術とほぼ同様の方法を施行したラットから得たヒラメ筋を不働化モデルとみなし、このヒラメ筋の湿重量の変化が本実験の成績とほぼ同様の経過を示すことを報告している。したがって、LL肢のヒラメ筋には著しい不働化が起こっていることが湿重量の面からも示唆される。

神経の伸張の可能性を検討するために計測した諸部位の変化(Fig. 1)から、LL肢では神経が伸張される可能性が示唆されたが、LLD肢ではその可能性は少ないことが明らかにされた。したがって、LL肢では、神経が伸張されることにより、二次的に神経筋伝達機能が影響を受ける可能性が示唆される。

ヒラメ筋は、脛骨神経の伴走血管である外腓腹動脈と膝窩動脈から下腿末端まで走行する幾つかの分枝によって、血液の供給をうけている³⁾。膝窩動脈は膝部後

部で固定されているので、この部分では血管の動きは少ないと思われる。LL 肢では、LLD 肢と違って脛骨神経が伸張されているので、その併走血管も伸張されると思われる。同時に膝窩部より遠位の供給血管も伸張されることにより、ヒラメ筋に循環障害が起こる可能性が考えられる。

以上より、LLD 術を用いれば腓腹筋が伸張されないで、LL 術で生じるような腓腹筋の伸張によるヒラメ筋の不動化の増強が除外でき、同時に神経や血管の伸張もかなり避けることができるとと思われる。したがって、少なくともヒラメ筋の神経筋伝達機能を観察するための持続的な筋伸張モデルを得るためには、LL 術より LLD 術の方が適切であると結論される。

5 結 論

神経筋伝達機能に対する持続的な筋伸張の影響を検討するためのヒラメ筋の伸張モデルを得る方法についてラットを用いて検討し、以下の成績を得た。

1. 下腿に脚延長術を施行した下肢 (LL 肢) では、ヒラメ筋のみならず、腓腹筋も伸張されていた。一方、膝関節脱臼脚延長術を施行した下肢 (LLD 肢) では、ヒラメ筋は LL 肢のものと同程度に伸張されていたが、腓腹筋が伸張されていることはなかった。

2. LL 肢の足関節は著しい尖足位を示し、その可動域が著しく抑制されていた。一方、LLD 肢の足関節はわずかな尖足位を示すにすぎず、足関節の可動域の抑制も軽度であった。

3. LL 肢のヒラメ筋の湿重量は、ヒラメ筋の不動化モデルを得るために、ギプスで固定した下肢 (PC 肢) のヒラメ筋の湿重量と同様の経時的変化を示し、次第に低下した。一方、LLD 肢のヒラメ筋の湿重量は、伸張 90 日目でも対照のそれと大差がなかった。

以上の成績より、少なくとも神経筋伝達機能を検討するためのヒラメ筋の伸張モデルを得る方法としては、

脚延長術より膝関節脱臼脚延長術の方が適切であると考えられる。

稿を終えるにあたり、ご指導とご校閲をいただいた札幌医科大学生理学第 1 講座藪英世教授、ご校閲いただいた札幌医科大学整形外科学講座石井清一教授、札幌医科大学解剖学第 1 講座高橋杏三教授に深謝いたします。また、ご助言をいただいた札幌医科大学生理学第 1 講座及び整形外科学講座の諸先生に深謝いたします。

本論文の要旨の一部は、第 2 回日本整形外科学会基礎学術集会並びに第 67 回北海道医学大会生理系分科会において発表した。

文 献

1. 片平弦一郎, 太田 勲: ラット骨格筋の神経筋伝達機能に及ぼす筋伸張の影響. 札幌医誌 53, 627-638 (1984).
2. Yamashita, T. and Oota, I.: Changes in post-tetanic potentiation of neuromuscular transmission in chronically stretched muscle. Comp. Biochem. Physiol. 87A, 791-796 (1987).
3. Greene, E. C.: Viscera. In: Greene, E. C.: Anatomy of the rat. 85-108, Hafner Publ. Co., New York. London (1963).
4. Robbins, N. and Fischbach, G. D.: Effect of rat soleus neuromuscular junction on presynaptic function. J. Neurophysiol. 34, 570-578 (1971).
5. 石居 進: 生物統計学入門. 157-169, 培風館, 東京 (1975).
6. Booth, W.: Time course of muscle atrophy during immobilization of hind limbs in rats. J. Appl. Physiol. 43, 656-661 (1977).

別刷請求先:

(〒 060) 札幌市中央区南 1 条西 17 丁目

札幌医科大学生理学第 1 講座 田中德行