

[原著]

細胞内超微小電極法の人体骨格筋への 応用に関する研究

千葉大学大学院医学研究科外科系整形外科学

(指導 鈴木次郎教授)

山 根 友 二 郎

TOMOJIRO YAMANE

(昭和 42 年 5 月 15 日受付)

目 次

<p>I. 緒 論</p> <p>II. 健常筋静止膜電位の検討</p> <p>III. 筋原性疾患における筋静止膜電位の検討 ことに、進行性筋ジストロフィー症を中心として</p>	<p>IV. 神経原性疾患における筋静止膜電位の検討 ことに、脊髄損傷患者を中心として</p> <p>V. 総括ならびに結語 文 献</p>
--	--

I. 緒 論

A. 本研究の目的

通常、神経筋系の疾患の解析には、筋電図法が用いられているが、その活動電位の基盤となる筋静止膜電位を測定することは、個々の筋線維の生理的ならびに病的状態を把握する、より良き手段となり得ると考えられる。なぜなら、筋電図法は、単一神経筋単位の電気的現象を捉えたものであって、一本の筋線維の生理的状态を表現しておらず、したがって、筋線維単位の解析には充分なる手段となり得ないからである。

さて、1949年、Ling & Gerard¹⁾により考案された微小電極法は、生体の個々の細胞の静止時および活動時の状態を電気的現象として把握し、解析することができ

る。しかし、まだ、本法の人体骨格筋への臨床応用はなされていない。本研究は、人体骨格筋をできるだけ in situ の状態に置いて筋静止膜電位を測定し、その生理的ならびに病的状態を知り、さらにその成績を患者の診断、予後の判定および治療のための有力な資料とすることを目的として行なわれた。

B. 人体骨格筋静止膜電位

微小電極法による骨格筋静止膜電位の測定は、Ling & Gerard¹⁾の報告以来、種々の動物につき行なわれている。しかし、人間の筋静止膜電位については、まだ多くの報告がない。健常筋静止膜電位については、第1表のようである。その成績については、報告者により多少の相違が認められる。さらに、人間の罹患筋静止膜電位についての報告はきわめて少なく、重症筋無力症、周期性四肢麻痺など数種の疾患に限られている。これらの報

表 1. Resting Membrane Potentials in Human Muscles

Reporter	Method	Subject	R. M. P. (mV)
Johns (1960)	in situ		-77.8±5.5
Norris et al. (1961)	〃		-70.0±6.0
Satoyoshi et al. (1963)	〃		-80~-90
Bolte et al. (1963)	〃	Upper Limb.	-87.2±5.2
Creutzfeld et al. (1963)	〃		-87.4±8.9
Creese et al. (1957)	in vitro	Intercostal Muscle	-72.6±10.0
Shinozaki (1962)	〃	Pectoral Muscle	-73.5±7.8
	〃	Abdominal Muscle	-77.2±7.8

告によれば、罹患筋の静止膜電位は小さくなる傾向が認められている。しかし、罹患筋の静止膜電位についての詳細な報告はなく、これからの問題として残されている現状である。

II. 健常筋静止膜電位の検討

A. 本検査の目的

健常筋静止膜電位は、既述のように、報告者により、その値に多少の相違が認められる。その原因は検査方法の相違にあると考え、著者の方法により静止膜電位を測定し、かつ検討を加えた後、その成績を罹患筋静止膜電位を測定し解析するための基礎的データとすることを目的としている。

B. 検査方法

Ling & Gerard の微小電極法を改良し、人間の in situ の状態において測定できるように考案したものである。装置の概略は第1図に示すようである。前置増巾器には、日本光電製の HI-Input IMP Amplifier MZ-3A を使用し、主増巾器には三栄測器製の筋電計 UB-203A を用い、ブラウン管オシログラフにて観察しながら、毛細管ガラス電極を刺入し、同社製の IR-201 型インク書きオシログラフにて記録した。電極は外径 1 mm のパイレックスキャピラリーを引き伸ばし、田崎法²⁾に従って 3MKCl を充てんした。電極の電気抵抗は待山氏³⁾考案の抵抗測定器にて測定し、10-40 Megohm の範囲のもののみを使用した。被検者は仰臥位または腹臥位にて、検査中の動揺を防ぐため、検査筋の起始部および附着部における関節は良肢位にて固定した。検査筋の周辺は手術同様に 厳重な消毒を行ない、0.5% または 1% プロカインを用いて、筋膜以下に達しないよう注意しつつ皮下に浸潤麻酔を行なった後、皮膚切開を行なった。皮膚は 5~7 cm 切開し、なるべく出血しないように

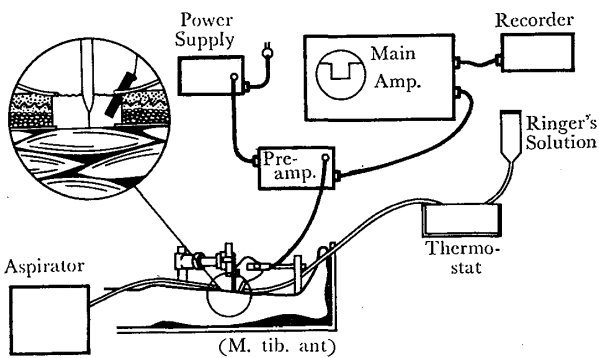


図 1. Method

注意しつつ筋に達し、これを露出した。直ちに、銀板を輪状にした不関電極を創内に挿入し固定した。筋表面は 36°C 前後に加温した市販のリンゲル液にて灌流した。検査中のリンゲル液灌流速度は毎分 120 cc 程度である。測定に際し、同一症例に関して場所を変えて少なくとも 5 回以上測定した。また、筋線維は 3-5 層の深さのものを測定した。静止膜電位計測に当たって、数秒以上安定した電位を示したもののみを採用し計測した。

C. 検査対象

検査対象は、正常人 14 名、全 14 筋である。(第 2 表) 対象となった 14 名は、すべて本検査に同意もしくは志願した者である。

表 2. Normal Cases

Case	Sex	Age	Examined Muscle
1	♀	13 yrs.	M. tib. ant.
2	♀	28	M. tib. ant.
3	♂	28	M. brachiorad.
4	♂	15	M. tib. ant.
5	♂	29	M. brachiorad.
6	♂	19	M. gastrocun.
7	♂	45	M. brachiorad.
8	♂	17	M. tib. ant.
9	♂	49	M. tib. ant.
10	♂	28	M. tib. ant.
11	♂	15	M. tib. ant.
12	♀	12	M. tib. ant.
13	♂	20	M. biceps fem.
14	♀	14	M. tib. ant.

D. 検査成績

1) 健常筋静止膜電位。第 2 図のように、その平均値は -82.4 ± 10.8 mV. であった。

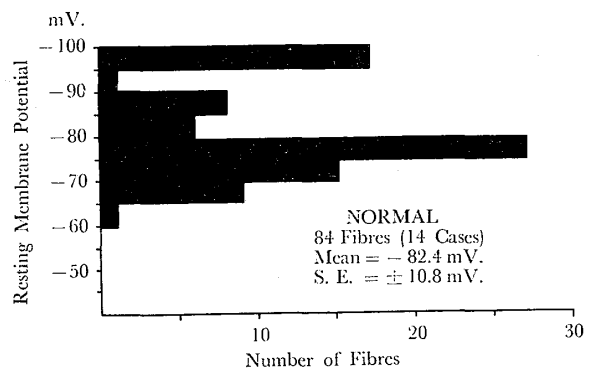


図 2. Resting Membrane Potentials in Normal Human Muscles

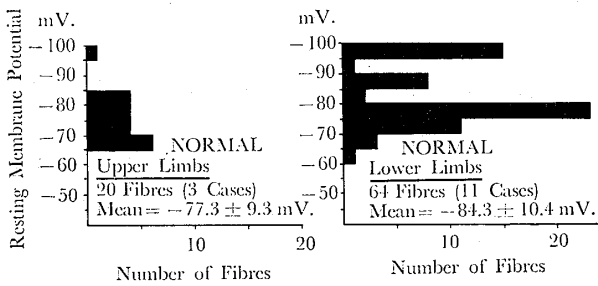


図 3. Resting Membrane Potentials in Normal Upper and Lower-Limb Muscles

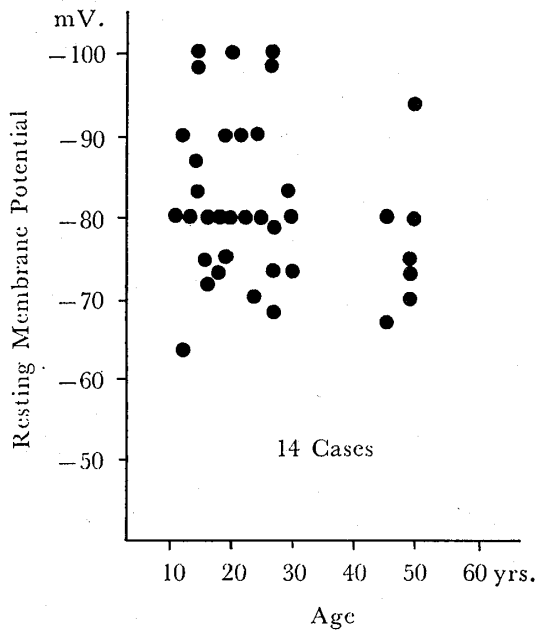


図 4. Resting Membrane Potentials at Several Ages

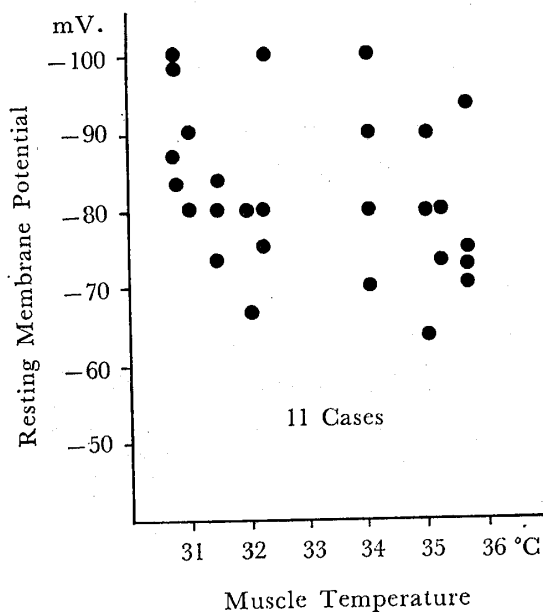


図 5. Resting Membrane Potentials and Muscle Temperature

2) 上肢筋および下肢筋の静止膜電位。下肢筋の平均値は上肢筋の平均値より大きい値を示し、その差は -7 mV. であった。(第 3 図)

3) 年齢と静止膜電位。年齢との間には相関関係は認められない。しかし、10 才代より 20 才代後半には大きい電位を示すものが多い。(第 4 図)

4) 筋温と静止膜電位。筋温との間には一定傾向は認められない。(第 5 図)

5) 筋肉の受動的伸展時または弛緩時の静止膜電位。静止膜電位測定に際して、検査筋の起始部または附着部の関節を受動時に、できるだけ伸展または屈曲することにより、検査筋を伸展または弛緩させ、直ちに測定した。この時得られた電位と良肢位固定時との変動をみるべく、両者の差を求め、これを $0-5$ mV., $6-10$ mV. などに分類した。第 6 図のように、伸展時、弛緩時とも、 11 mV. 以上の変動を示したものはなかった。

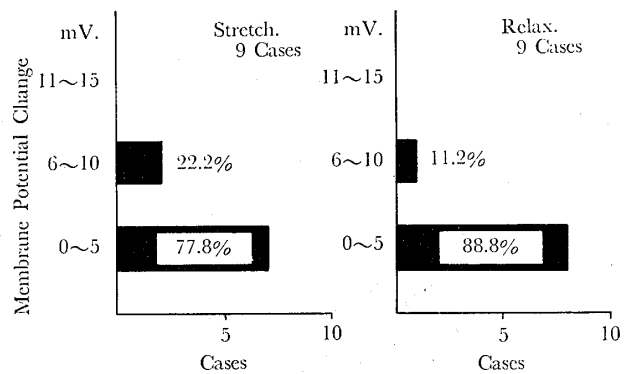


図 6. Changes of Resting Membrane Potentials in Stretched or Relaxed Muscle

E. 小括ならびに考案

著者の実測した静止膜電位は、平均 -82.4 ± 10.8 mV. であり、諸家の報告とほぼ一致している。また、同一症例において、2, 3 の静止膜電位を示したものがあつた。これは同一症例でも、筋線維により異なった電位をもつものがあることを示唆している。静止膜電位は、下肢筋の方が上肢筋より大きい値を示した。かかる事実の原因が筋線維の太さに関係しているのではないかと考えて筋線維径について検討してみた。第 7 図、第 8 図の症例のように、前脛骨筋の線維径の平均値 40μ は腕橈骨筋の 33μ に比し大きい。この成績よりすれば、上下肢筋の電位の相違は、筋線維径の太さの相違によるものようである。このように、部位により静止膜電位に相違があることは、2, 3 の文献⁸⁾²²⁾にもみられる。筋温は筋表面を灌流するリンゲル液によって相当影響される。灌流液を

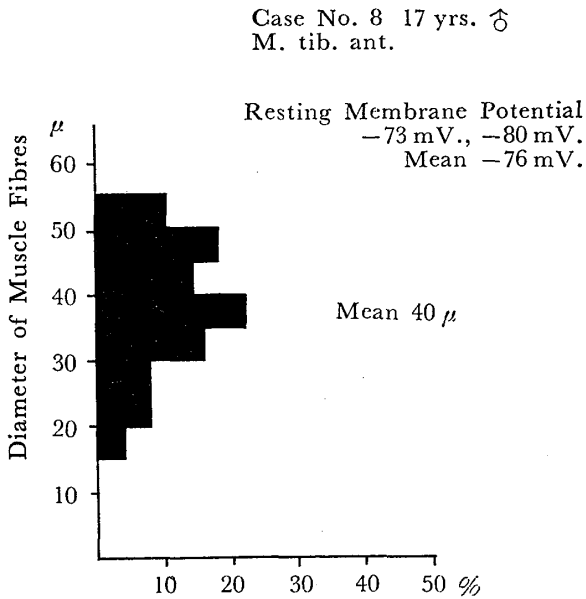


図 7. Diameter of Muscle Fibres

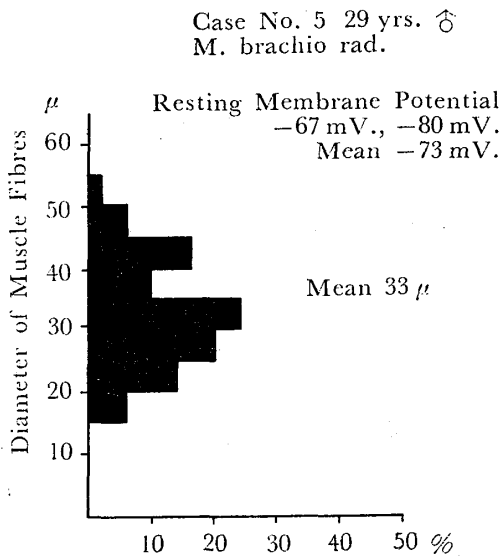


図 8. Diameter of Muscle Fibres

常に一定温度に調節することはきわめて高度の技術を要する。したがって、測定条件として、この外的因子を無視することはできない。著者の成績によると、温度差による静止膜電位の相違は認められなかった。筋温 31°C から 36°C 程度の変化では、Nernst の理論式にあてはめて考えてみても、電位の変化は約 1% 程度である。また、実測上著明な変化がなかったことは、細胞または細胞膜における新陳代謝に著明な変化がなかったものと思惟される。測定時の被検者の肢位の問題は、罹患筋を対象とする場合、しばしばその上下の関節拘縮のため、良肢位をとり得ないことがあるので重要な条件となってくる。

そこで、被検者の肢位が膜電位にどんな影響を与えるかを検討した。著者の成績では著明な変動を示したものはなく、したがって、短時間においては、検査時に必ずしも良肢位に固定して測定する必要はないと考えられる。

かかる基礎的データに基づき、罹患筋静止膜電位を測定するに当たり、検査方法につき、2, 3 の点を考慮しなければならない。

1) 検査筋の選択：切開することにより、機能上の障害などを残さないようにこの配慮は言を待たない。検査の難易に関しては、前脛骨筋が固定し易く、また、灌流も容易であり、呼吸性の動揺が少ないので最も測定に適していると考えられる。呼吸性移動の大きい筋では、電極刺入の間の十数秒間、呼吸を止めさせるのが最も簡易な方法である。

2) 灌流液の選択：灌流液に市販のリンゲル液を用いた。これまでの報告の多く⁴⁾⁵⁾はタイロード液が用いられている。タイロード液の方がより生理的液に近い組成をしているが、この研究の目的が微小電極法の臨床応用ということにあり、より安価で入手しやすいリンゲル液を使用した。

3) その他の問題：電位測定の際、どの筋線維を測定するかが問題となる。in situ の状態では、筋内へ電極を深く刺入するに従って静止膜電位は大きくなり、ある深さに達すると一定の値になることは、Bolte⁶⁾、Creese⁷⁾、竹田⁸⁾、阿部⁹⁾らも認めており、著者の経験でも同様であった。この原因は、切開および筋膜剝離時の筋線維の損傷または灌流液の影響と考えられている。そこで、著者は内部に向かって 3—5 層の筋線維の静止膜電位を測定することを原則とした。

II. 筋原性疾患における筋静止膜電位の検討。

ことに、進行性筋ジストロフィー症を中心として

A. 緒言

進行性筋ジストロフィー症（以下進ジ症と略す）の研究は、従来主として、病理組織学および筋の生化学、ことに酵素学的方面より行なわれてきた。病理組織学的には、主として罹患筋線維の肥大および萎縮、結合組織および脂肪組織の増殖が認められ、酵素学的には、筋崩壊に伴い、Creatin phosphokinase などの諸酵素の血清中異常増加が認められている。かかることから、現今では、本症の主体は、一次的には筋自身にあるという考えが強い。しかし、生理学的研究において、Kugelberg⁹⁾

は筋電図上、多相性で持続時間の短い低電位が認められることを指摘し、また、教室の富田、石田¹⁰⁾らは低電位のほか、Fibrillation voltage, Complex NMU voltage, High amplitude NMU voltage などの異常波形を認めており、さらに誘発筋電図の所見より脊髄レベルの機能不全をも想定している。一方、猪狩¹¹⁾および齊藤¹²⁾は神経染色により、末梢神経終末に変化があることを認め、筋電図学的な多種多様性に対応する変化であると述べている。すなわち、彼らは、一次的か二次的かはさておき、本症が神経原性要素をも混じていると考えている。しかし、進シ症の静止膜電位については、まだ報告がない。しかし、本症にきわめて類似しているといわれる Bar Harbor Strain の dystrophic mice において、Lenman¹³⁾、Conrad¹⁴⁾らにより静止膜電位が測定されている。彼らによると健常筋に比し、10—20%の電位の減少が認められている。著者は、進シ症の本態の一端を解明すべく、活動電位の基盤となる筋静止膜

電位を測定し、種々の観点より検討を加えた。さらに、進シ症と対比検討する意味で廃用萎縮時の静止膜電位を合せて測定した。

B. 検査項目

- a) 進行性筋ジストロフィー症の筋静止膜電位の検討
 - 1) 静止膜電位の測定
 - 2) 筋生検
 - (i) 組織学的検討
 - (ii) 筋線維の生化学的検討
 - (iii) 核酸合成に関する検討
- b) 廃用萎縮時の筋静止膜電位の検討

C. 検査方法

- 1) 静止膜電位の測定。既述のように、Ling & Gerard の微小電極法を用いて測定した。また、関節拘縮

表 3. Dystrophic Cases

Case	Sex	Age	Type	Examined Muscle	Muscle Power
1	♂	14 yrs.	Duchenne	M. vast. med.	3
2	〃	11	〃	M. tib. ant.	4
3	〃	11	〃	M. rect. fem.	0~1
4	〃	12	〃	M. tib. ant.	3
5	〃	15	〃	M. gastr.	3
6	〃	14	〃	M. tib. ant.	3
7	〃	16	〃	M. adduct.	2
8	〃	12	〃	M. tib. ant.	3
9	〃	16	〃	M. gastr.	3
10	♀	14	Limb-Girdle	M. brachior.	4
11	♂	14	Duchenne	M. peron. long	4
12	〃	8	〃	M. tib. ant.	4
13	〃	14	〃	M. peron. long	4
14	〃	13	〃	M. gastr.	1
15	〃	8	〃	M. tib. ant.	4
16	〃	15	〃	M. tib. ant.	2
17	〃	13	〃	M. tib. ant.	4
18	〃	9	〃	M. brochior.	4
19	〃	11	〃	M. gracilis	3
20	〃	11	〃	M. gracilis	4
21	〃	6	〃	M. brachior.	4
22	〃	8	〃	M. tib. ant.	4
23	〃	12	〃	M. tib. ant.	3
24	♀	15	Limb-Girdle	M. tib. ant.	4
25	♂	9	Duchenne	M. tib. ant.	3
26	〃	18	〃	M. tib. ant.	3
27	〃	8	〃	M. tib. ant.	4

などのある患者は良肢位固定に拘泥せず、患者の最も楽な肢位にて検査筋を固定して測定した。

2) 筋生検。電位測定後、当該部位より、5×30 mm 大の筋線維を採取し、一般組織標本用に供した。さらに、細胞内電解質、あるいは、核酸合成を検討する場合には、それぞれ、150—300 mg. あるいは、1 gr 前後の肉塊を採取した。細胞内電解質は村山¹⁵⁾の方法に準じて測定した。核酸、すなわち、RNA (リボ核酸) と DNA (デオキシ・リボ核酸) の測定には Schmidt, Thannhauser 法の Schneider 変法¹⁶⁾¹⁷⁾にて測定し、これより、RNA と DNA の比を求めた。

D. 検査対象

a) 進シ症

検査対象は国立療養所下志津病院入院中の進シ症患者 27 名である。(第 3 表) 本症の分類は Walton & Nattress¹⁸⁾に従った。しかし、本検査の対象となった型は、2 例の Limb-girdle type を除き、すべて Duchenne type である。病期の進行程度を表わすのに、徒手筋力テストの成績をもって表示した。(第 4 表) 検査対象筋が症例により異なるのは、一つには、病期の種々の進行程度を示す筋を選んだためと、第二には、検査することにより予後を悪化させないためとの配慮からである。

b) 廃用萎縮

検査対象は、第 5 表に示すように、全 4 例である。こ

表 4. 筋力テスト判定基準

5 (Normal)	重力にも、外部からさらに加えられた強い抵抗にも抗して、完全な生理的範囲の運動の可能なもの。
4 (Good)	抵抗力をある程度加減すると充分運動できるもの。
3 (Fair)	抵抗力を加えないで患者自身の重力にだけ抗して完全な運動のできるもの。
2 (Poor)	重力の影響を取去ってやると運動のできるもの。
1 又は 0 (Trace or Zero)	関節の運動を起こすことはできずに、筋にわずかの収縮をみるだけ、または収縮すらみられぬもの。

表 5. Cases in Disuse Muscle Atrophy

Case	Sex	Age	Examined Muscle	Muscle Power	Periods of Disuse
1	♂	30 yrs.	M. tib. ant.	4	5 m.
2	♂	22	M. gastro.	4	3 m.
3	♂	22	M. tib. ant.	4	10 m.
4	♂	61	M. deltoid.	2	18 m.

これらの症例はいずれも神経筋系の疾患もない健常人で、第 1 例は骨折後ギプス固定、第 2 および第 3 例は関節固定術、第 4 例は肩関節拘縮により disuse の状態におかれたものである。

E. 検査成績

a) 進シ症の静止膜電位。

本症の静止膜電位は著しい低下を示し、その平均値は -25.5 ± 13.6 mV であった。(第 9 図) 筋力テストとの関係を見ると、筋力 3, 4 に属するものには大きな静止膜電位を示すものがあるが、その筋中にも低電位を有する筋線維が多数含まれている。(第 10 図) しかし、最大静止膜電位と筋力とは、ほぼ平行関係を有している。第 6 表は筋力別に電位の平均値をあらわしたものである。筋力が大になるに従って静止膜電位も増大している。一方、第 11 図は、同一症例において静止膜電位のばらつきが多いことを示している。

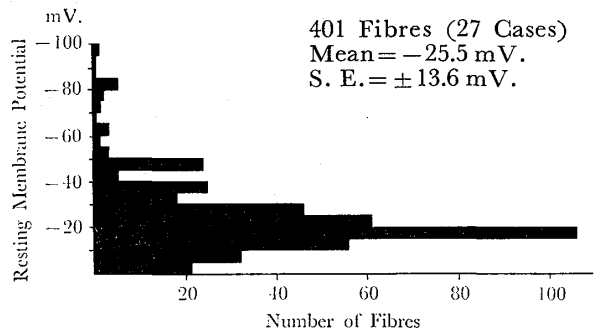


図 9. Resting Membrane Potentials in Dystrophic Human Muscle

表 6. Resting Membrane Potentials and Muscle Power

Muscle Power	Resting Membrane Potential (Mean)
0~1	-8.3 ± 3.1 mV
2	-14.2 ± 5.3 mV
3	-23.5 ± 13.0 mV
4	-25.7 ± 11.3 mV

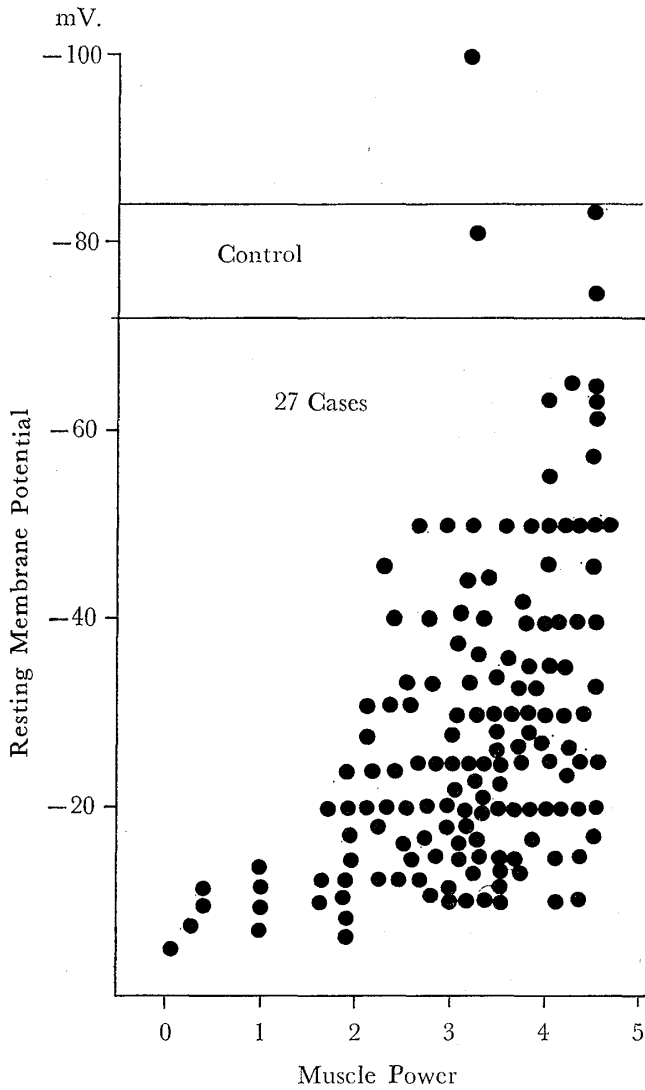


図 10. Resting Membrane Potentials and Muscle Power

さて、そこで本症の静止膜電位が健常筋の約 32% という異常低電位を示したことの探索を、筋生検の成績と比較しつつ検査項目で述べた順に従って行なった。

(i) 組織学的検討，ことに、筋線維径と筋静止膜電位の相関性についての検討。

ヘマトキシリン・エオジン染色標本より筋線維の直径を計測した。まず、筋力と筋線維径との関係を見ると、最大筋線維径は筋力とほぼ平行するが、筋力の強いものにおいても、なお、平均以下の細い線維が混在している。(第 12 図) すなわち、太さのばらつきが大きい。これを一例についてみると、第 13 図のようである。静止膜電位と筋線維径との関係を見ると、第 14 図のように、それぞれの平均値の間に平行関係が認められる。

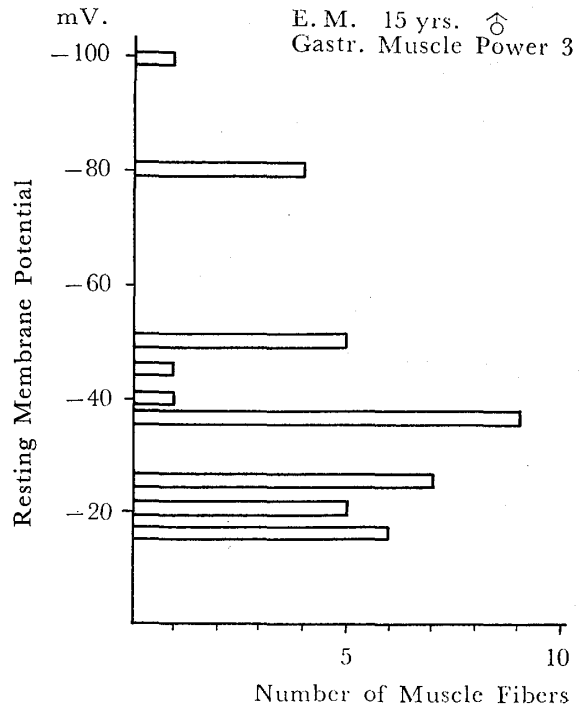


図 11. Resting Membrane Potentials

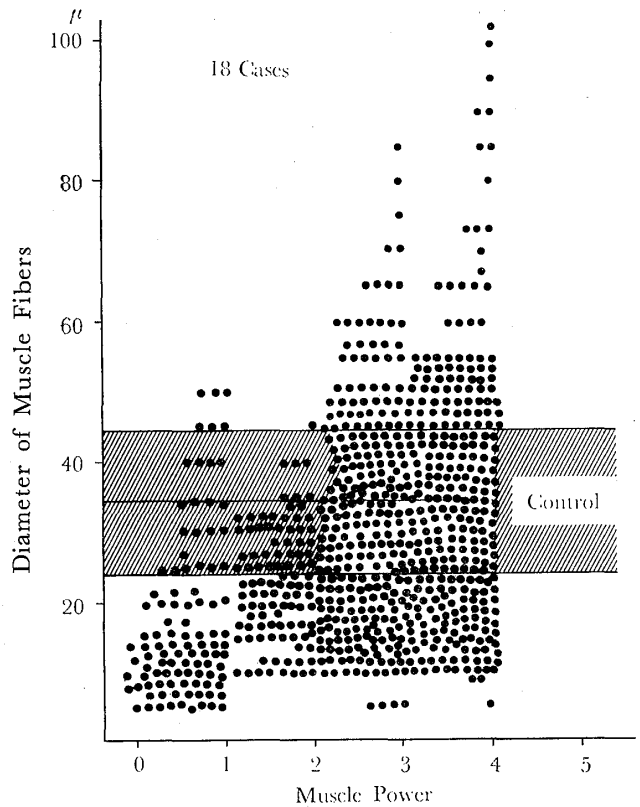


図 12. Diameter of Muscle Fibres and Muscle Power

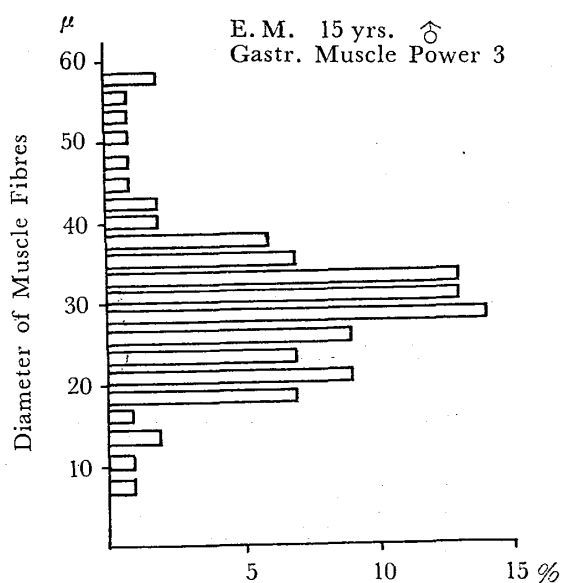


図 13. Diameter of Muscle Fibres

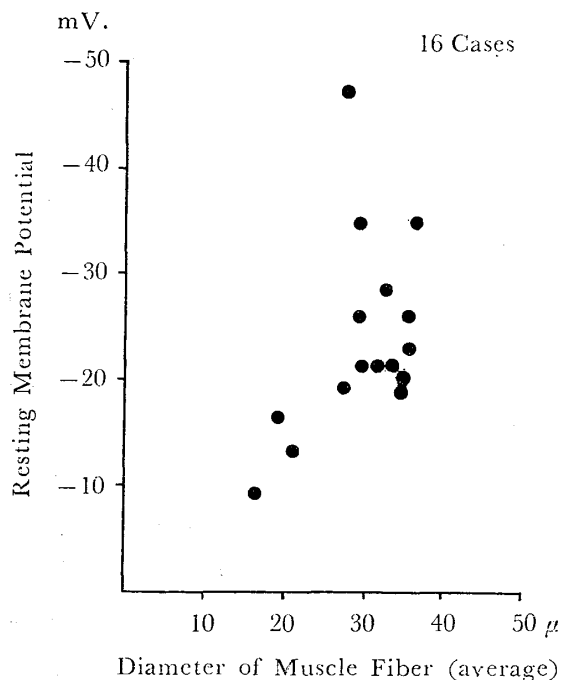


図 14. Resting Membrane Potentials and Diameter of Muscle Fibres

(ii) 筋線維の生化学的検討。ことに細胞内外K濃度比による静止膜電位の理論値と実測値に関する検討。

静止膜電位発生に最も関与するといわれるK濃度につき検討を加えた。対象は12症例、全14筋である。(第7表) 2筋は同症例を2週後同じ場所より再度電位を測定した際、K濃度をも測定したものである。細胞内K濃度は、通常150 mEq/L前後であるが、本症においては

減少を示すものが多い。細胞内K濃度比より算出した理論値と実測値との間には、ほぼ平行関係が認められる。(第15図)しかし、理論値は実測値より大なる値を示している。この計算は筋線維の形質膜において、KイオンがDonnan膜平衡を保っていると考え、Nernstの式

表 7. Intracellular Potassium and Resting Membrane Potential

Case	E.C.W.	I.C.W.	I.C.K. mEq/L I.C.W.	Ki/Ko	Calcul. R.M.P. mV.	Measur. R.M.P. mV.
	g/100g solid					
3	75.3	107.8	69.3	22.2	-78.0	-10.0
5	72.1	184.4	88.0	22.0	-77.7	-24.0
9	91.5	179.0	135.6	33.3	-88.1	-17.5
11	52.3	195.6	166.3	41.7	-94.0	-26.2
12	22.3	312.8	151.0	33.9	-88.7	-26.1
13	40.0	434.8	75.9	19.8	-74.3	-19.5
16	30.0	144.4	144.4	33.6	-88.2	-16.1
17	36.4	143.4	143.6	32.6	-87.5	-28.7
18	181.9	234.5	220.0	50.0	-98.0	-43.0
21	263.2	489.6	170.4	42.5	-94.0	-50.8
〃	289.1	503.5	85.2	21.3	-76.6	-20.6
22	149.4	134.5	107.9	25.7	-81.2	-28.8
26	138.7	600.7	102.5	25.5	-81.2	-29.2
〃	210.8	302.3	100.0	25.0	-80.3	-29.8

E.C.W. = Extracellular water
I.C.W. = Intracellular water
I.C.K. = Intracellular Potassium

Calcul. = Calculated
Measur = Measured
R.M.P. = Resting Membrane Potential

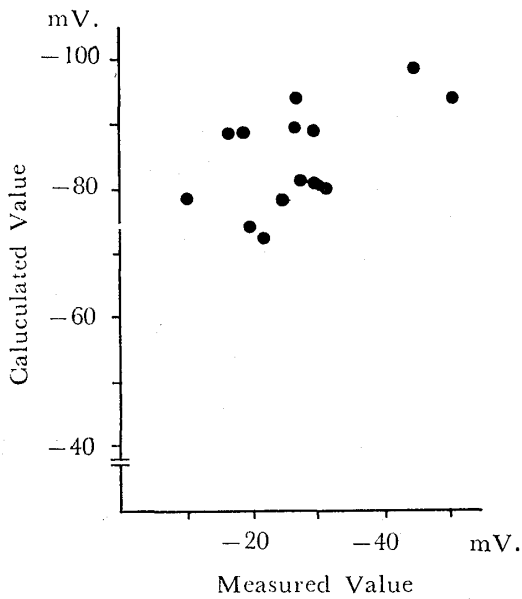


図 15. Calculated-and Measured Resting Membrane Potentials

より計算した。なお、ここでいう細胞外K濃度とは血清中K濃度のことである。

(iii) 核酸合成に関する検討

DNA (デスオキシ・リボ核酸) は主として細胞核にあって遺伝子の伝達に参与しており、その量は個体につき比較的安定しているといわれる。一方、RNA (リボ核酸) は蛋白合成に重要な役割をしている。そこで、DNA に対する RNA の比をとり、蛋白合成能を検討した。(第 16 図) 本症においては、この比の著明な低下が認められた。

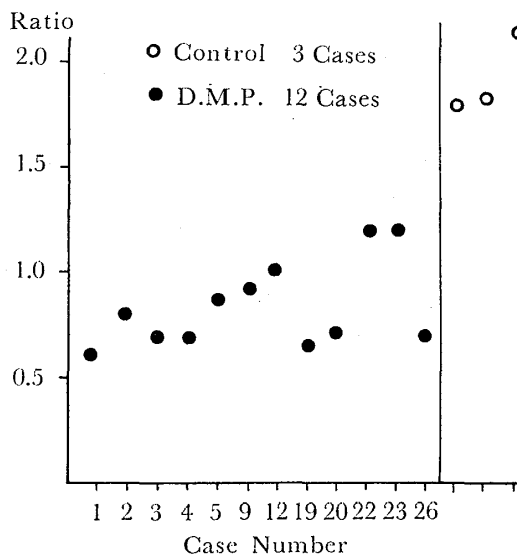


図 16. RNA: DNA Ratio

b) 廃用萎縮時の筋静止膜電位。

静止膜電位の平均値は -59.1 ± 5.7 mV であった。(第 17 図) また、標準偏差の小なることは、症例別および同一症例における電位のばらつきが小さいことを示している。経過年数との関係を見ると、電位は経過とともに低下の傾向をたどるが、最低は -50 mV にとどまっている。(第 18 図)

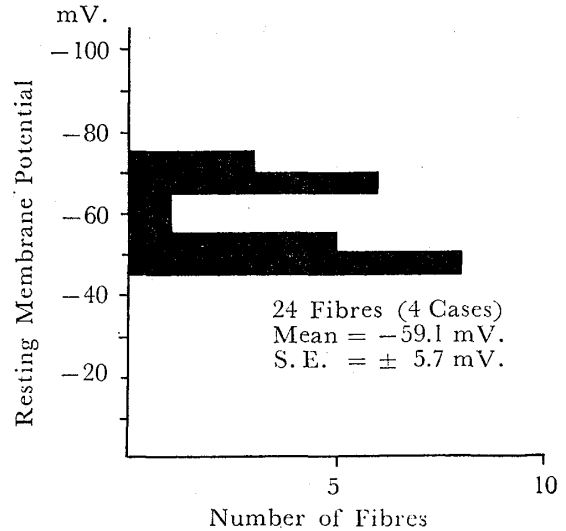


図 17. Resting Membrane Potentials in Disuse Muscles

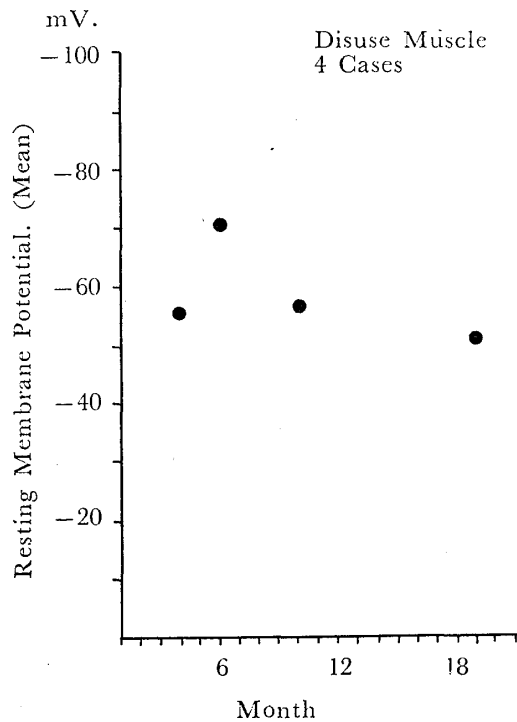


図 18. Resting Membrane Potentials and Periods of Disuse

F. 小括ならびに考案

進シ症の筋静止膜電位は異常な低電位を示し、その平均値は -25.5 ± 13.6 mV であった。かかる低電位の原因の探索を種々の観点より行なった。

第一には、光学顕微鏡学的に各種の変化が認められた。光学顕微鏡所見については、共同研究者の斉藤¹²⁾、奥山¹⁹⁾が詳細な検討を行なっているため、その所見については、本文では省略した。著者は筋線維径の面より詳しく検討を行なった。筋力と最大筋線維径とは平行関係を有し、また、筋線維径と膜電位とは平行関係があり、静止膜電位の低下の原因は光学顕微鏡のレベルでは筋線維の細小化が問題となると思われた。

第二には、蛋白合成能の低下および代謝障害が認められた。すなわち、RNA:DNA は対照に比し低下を示した。RNA は蛋白代謝に関与し、DNA は細胞核内において、個体につきほぼ一定であるとされている。また、電子顕微鏡学的に、奥山は筋原線維の Z-Band の変化のほか、蛋白代謝に関与するといわれる Sarcoplasmic Reticulum の変化を認めていることからしても、進シ症における著しい代謝障害がうかがわれる。一方、静止膜電位が代謝と関係することは知られている。Ling & Gerard²⁰⁾ はカエル縫工筋にモノヨード酢酸と NaCN を作用させると、膜電位は -97 mV より急速に低下するが、約 -55 mV で一時停止した後、さらに 0 mV まで低下するという二段階の過程を経ることを認めた。前者を A-Potential と呼び、後者を B-Potential と呼ぶ。A-Potential は主として代謝に関係しており、したがって、A-B Potential の境界が筋興奮の閾値であろうと推測されている。かかることから進シ症の静止膜電位は、代謝障害により、A-Potential の減少より、さらに B-Potential となった筋線維が多数含まれている姿と思惟される。さて、これを廃用萎縮時の電位とくらべてみると、膜電位は経過の推移とともに低下を示したにもかかわらず、最低 -50 mV に止った。そこで、A-, B-, Potential の境界が -55 mV ということと考え合わせると、廃用萎縮時には代謝障害のみに止まり、進シ症のように、細胞自体の崩壊にまで至らぬことを示している。

第三の膜電位の低下の原因は細胞内K濃度の低下によるものと考えられる。理論値と実測値との間には相当の差がみられた。この原因は、第一には、K濃度のみを問題にし、他のイオンを計算に入れなかったこと。第二には、K濃度の何%がイオン化しているかが問題となる。すなわち、この理論値ではK濃度の全部のイオン化を前

提条件としているが、進シ症では、大部分がイオン化していないと考えられる。第三には、測定方法の問題である。本症では、脂肪などの増殖が多く、水分乾燥時、K抽出時に大きな誤差が生じ易い。かかる原因が重なって、実測値との間に差が生じたものと考えられる。

進シ症の静止膜電位の特徴の一つは、同一症例における電位のばらつきが認められたことであった。一方、筋線維径も多くばらつきを示しており、かかる電位のばらつきは筋線維径の大小に関係しているものと考えられた。そこで一例をあげて、廃用萎縮時と比較してみると、廃用萎縮時には電位のばらつきは少なく、また、筋線維径の大小のばらつきも少ない。(第19図)このことより進シ症では一定の萎縮をたどるのではなく、各筋線維が種々の程度に萎縮していくことを示している。

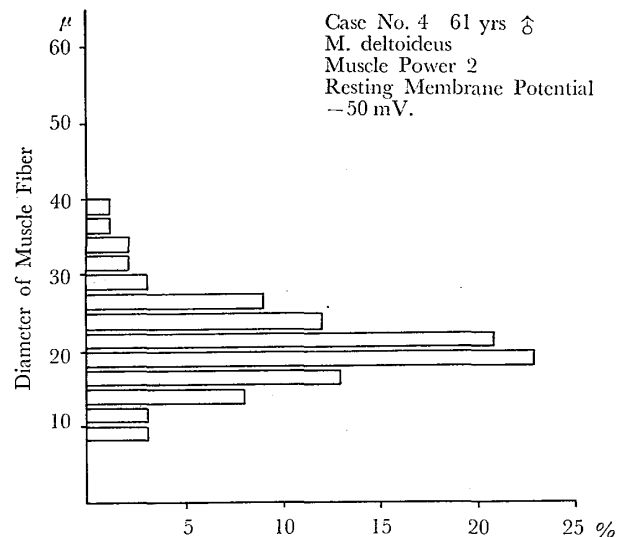


図 19. Diameter of Muscle Fibres

次に病型と膜電位との関係を検討すると、全 27 例中 2 例のみ Limb-girdle type で、他は Duchenne type であった。2 例とも、筋力 4 を保持し、また、電位もそれに従って大なる値を示した。

さて、進シ症の静止膜電位の特徴を総括すると、本症では異常な低電位と同一症例における電位の大きなばらつきが認められた。また、電位は病期の進行に従い低下を示した。かかる低電位の原因は筋線維の細小化と代謝障害が関与しているものと考えられた。

IV. 神経原性疾患における筋静止膜電位の検討。ことに、脊髄損傷患者を中心として

A. 緒言

脊髄損傷は産業の発展と交通事故などの頻発により、近時しばしば遭遇する疾患である。したがって、脊髄損傷に関する業績も数多くみられるが、その内容は整形外科または泌尿器科学的治療、あるいは、リハビリテーションに関するものが主であって、その病理生理学的見地からの研究は少ない。

著者は微小電極法により、筋静止膜電位を測定し、このことより脊髄損傷の病態を推測し、併せて患者の治療および予後との関係を検討せんと試みた。さらに、脊髄損傷がどんな特徴を有するかを知るべく、末梢神経損傷時の筋静止膜電位との比較検討を試みた。

B. 検査項目

- a) 脊髄損傷時における筋静止膜電位の検討
 - i) 筋静止膜電位の測定
 - ii) 誘発筋電図
- b) 末梢神経損傷時における筋静止膜電位の検討
 - i) 筋静止膜電位の検討

C. 検査方法

- i) 静止膜電位の測定。微小電極法により既述した方法に従って測定した。
- ii) 誘発筋電図。誘発筋電図は電位測定後数日以内

に行なった。本検査は H 波および M 波の出現の有無を知る目的で行なった。方法は、被検者を腹臥位にした後、膝窩部にて脛骨神経上に直径 8mm 程度の陰極刺激電極をおき、次いで 3×15 cm 大の不関電極を前腕に固定した。誘導導子として表面電極用のものを腓腹筋上に縦に約 1 cm の間隔をおいて固定した。導子の一端は筋電計に導いた。電極刺激装置は平和電子製作の Electro-Stimulo-Analyzer を使用した。脛骨神経を刺激し、まず M 波を求めてから、刺激強度を種々に変えながら、その周辺で H 波を探索した。この方法で H 波を確認できない場合には、250 c/s 7 mA 程度の連続刺激を 30 秒間与えた後、すなわち、Post-tetanic potentiation (PTP) 効果を与えた後、再び H 波を探索した。かくして H 波および M 波の有無を記録した。

D. 検査対象

a) 脊髄損傷例

千葉労災病院入院中の外傷性脊髄損傷患者 10 名と千葉大学附属病院入院中の同患者 2 名および脊髄々内腫瘍 (Glioma) 1 名の合計 13 名である。(第 8 表) 外傷部位は頸椎より腰椎に及んでいるが下部胸椎に最も多い。また、経過年数は最長 4 年である。検査対象はすべて前脛骨筋である。検査対象として、すべて前脛骨筋を選んだ理由は次のことによる。第 1 には、脊髄損傷高位に相当した筋のすべてより静止膜電位が測定できぬこと。第 2 には、前脛骨筋は測定し易いこと。第 3 には、前脛骨筋は膝蓋腱反射およびアキレス腱反射の反射弓ならびに腓腹筋よりの H 波の反射弓と高位に近いこと。第 4 には、全患者において前脛骨筋の麻痺が認められたこと。第 5

表 8. Cases in Spinal Lesion

Case	Sex	Age	Moment	Vertebral Column Injury	Neurol. Defect (Hypesthesia)	History	Examined Muscle
1 K. S.	♂	23 yrs.	Trauma	C ₅	C ₅	3 yrs. 0 m.	M. tib. ant.
2 S. H.	♂	28	〃	Th ₁₀	D ₁₁	0. 7	〃
3 Y. I.	♂	34	〃	Th _{9,10}	D ₁₁	2. 5	〃
4 K. Y.	♂	25	〃	Th ₁₂	D ₁₂	1. 0	〃
5 Y. I.	♂	24	〃	Th ₁₀	D ₁₁	0. 9	〃
6 S. H.	♂	27	〃	Th ₁₂	D ₇	1. 2	〃
7 T. H.	♂	24	〃	Th ₅	D ₈	4. 0	〃
8 T. F.	♂	31	〃	L ₁	D ₁₁	0. 11	〃
9 Y. T.	♂	40	〃	Th ₁₂	D ₉	1. 2	〃
10 T. S.	♂	27	〃	Th ₁₂	D ₁₁	2. 2	〃
11 S. T.	♂	23	〃	Th ₁₂	D ₁₀	0. 6	〃
12 T. K.	♂	22	〃	Th ₁₁	D ₁₁	0. 4	〃
13 I. S.	♂	14	Tumor of Spinal Cord		D ₉	0. 6	〃

表 9. Cases in Peripheral Nerve Lesion

Case	Sex	Age	Moment for Injury	Affected Nerve	Examined Muscle	Muscle Power	Periods after Injury	Prognosis
1	♀	65 ^{YRS.}	Pressure	N. peron.	M. tib. ant.	1	1 m.	Good
2	♂	57	Contusion	N. brach.	M. brachior.	1	2 m.	?
3	♂	16	Avulsion	Plex. brach.	M. brachior.	0	4 m.	Poor
4	♀	42	Injection	N. ischiad.	M. tib. ant.	3	3 y.	Fair
5	♂	38	Pressure	N. brach.	M. brachior.	1	3 m.	Good

には、前脛骨筋の静止膜電位を指標として比較検討してみたいこと、などの理由による。

b) 末梢神経損傷例

症例は全 5 例である。(第 9 表) 神経損傷の機転は症例により異なっている。検査筋は障害された神経支配の筋肉を対象とした。

E. 検査成績

a) 脊髄損傷時の静止膜電位

脊髄損傷患者の前脛骨筋静止膜電位は平均 -34.6 ± 17.6 mV であった。これら静止膜電位は -30 mV 附近に集中しているが、なお、 -10 mV より -82 mV まで広範囲にわたって存在している。(第 20 図) すなわち、症例による電位のばらつきが大きいことを示している。かかる電位のばらつきを示す原因に脊髄損傷の多彩な病態が関係しているであろうことは十分に考えられる。すなわち、外傷性脊髄損傷では、受傷直後の完全な弛緩性麻痺を示す spinal shock の後、一定期間を経て痙攣性麻痺に移行するものとしなないものがある。その出現の頻度は一定でない。このような脊髄損傷の病態が筋静止膜電位を支配しているものと考え、次のような検討を行なった。

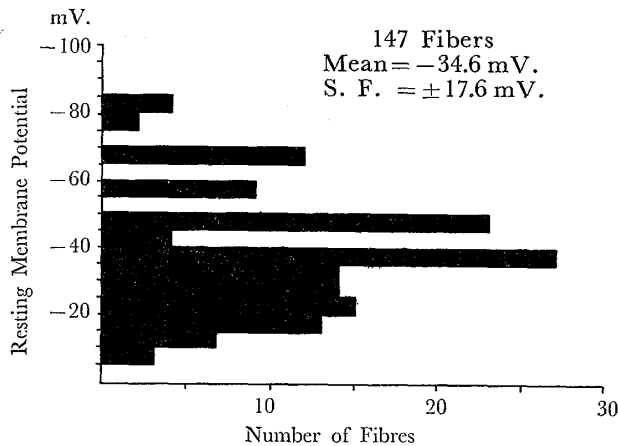


図 20. Resting Membrane Potentials (13 Cases of Spinal Lesion)

1) 経過年数と静止膜電位。経過年数別にみると一定傾向は認められない。(第 21 図)

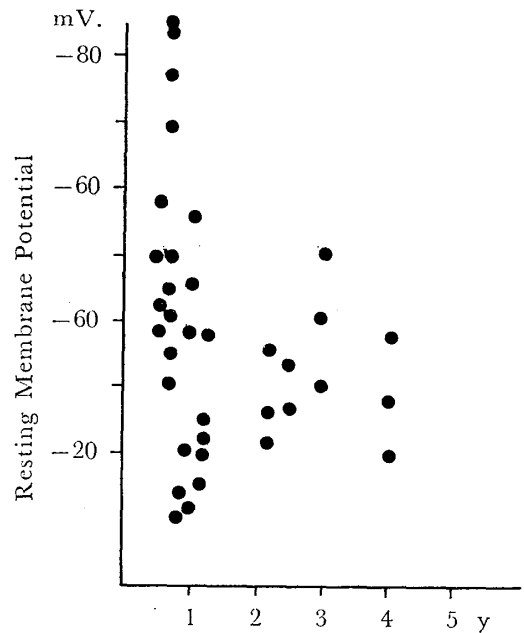


図 21. Resting Membrane Potentials and Periods after Accident to Today

2) 損傷高位と静止膜電位。脊髄損傷高位を他覚的に決定することはきわめて困難であるので知覚鈍麻の上界をもって高位をあらわした。筋静止膜電位は脊髄損傷部位により一定傾向認め難く、症例の多い第 10, 11, 12 胸髄附近の電位のばらつきは大きい。ゆえに、経過年数、損傷高位は必ずしも電位に影響を与えるものではないことがわかる。(第 22 図)

3) 腱反射の有無と静止膜電位。腱反射の存在するのは電位は大きく、腱反射を欠くものは小さい傾向が認められる。しかし、その中でも大きい電位を示すものも存在する。(第 23 図) この図では、膝蓋腱およびアキレス腱反射ともに存在した例は少ないので、いずれか一つでも存在するものを腱反射プラス群とした。

4) 誘発筋電図と静止膜電位。これら症例に誘発筋電図を施行してみると、腱反射と H 反射には明らかな相関関係が存在するものの、腱反射無き例にも、なお H

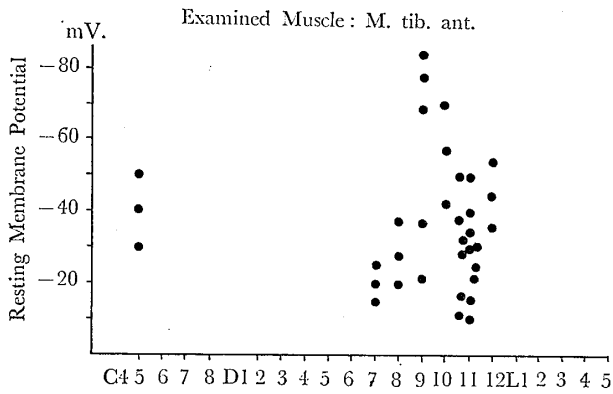


図 22. Region of Spinal Cord Injury and Resting Membrane Potentials

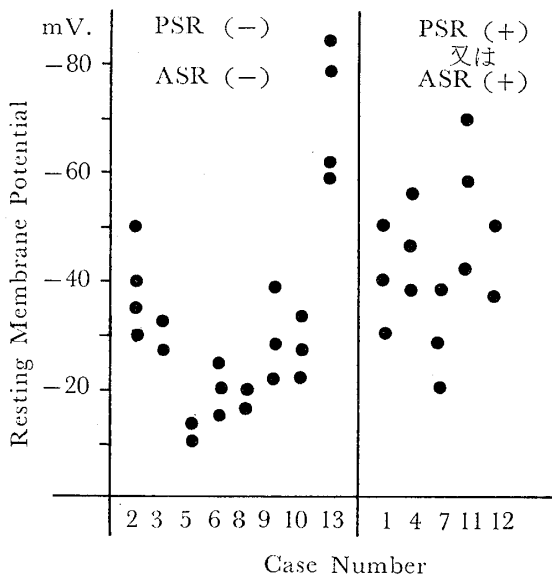


図 23. Resting Membrane Potentials and Tendon Reflexes

波出現をみるものもあり (第 24 図), H 反射がより正確な指標たりうることをわかる。そこで本症を誘発筋電図により, 第 10 表のように, 4 群に大別した。すなわち, A 群は, M 波, H 波とも容易に出現する群, B 群は, M 波は容易に出現するが H 波は確認し難く, PTP 効果により H 波を認めうる群, C 群は, M 波は出現するが, PTP 効果によってもなお H 波の出現しない

表 10. Classification of Spinal Lesion by Evoked E. M. G

- A—Group: M Wave (+), H Wave (+)
- B—Group: M Wave (+), H Wave (+) after P.T.P. (7 mA 250 c/s. 30')
- C—Group: M Wave (+), H Wave (-)
- D—Group: M Wave (-), H Wave (-)

群, D 群は, M 波, H 波とも出現しない群である。この分類に従うと, A 群の静止膜電位が最も大きく, B, C, D にいくに従って小さくなる。すなわち, その平均値は, A 群; -58.9 mV B 群; -38.9 mV C 群; -25.3 mV D 群; -19.5 mV であり, 群別により明らかに有意の差が認められる。(第 25 図)

(by Classification of Evoked E.M.G.)

Group	Cases	Reflexes			
		Patellar Jerk	Anclc Jerk	Anclc Clonus	Plantar Refl.
A	4	Reflex (+)	Reflex (+)	Reflex (+)	Reflex (+)
B	4	Reflex (+)	Reflex (+)	Reflex (+)	Reflex (+)
C	1	Reflex (-)	Reflex (-)	Reflex (-)	Reflex (-)
D	4	Reflex (-)	Reflex (-)	Reflex (-)	Reflex (-)

図 24. Reflexes and Evoked E. M. G.

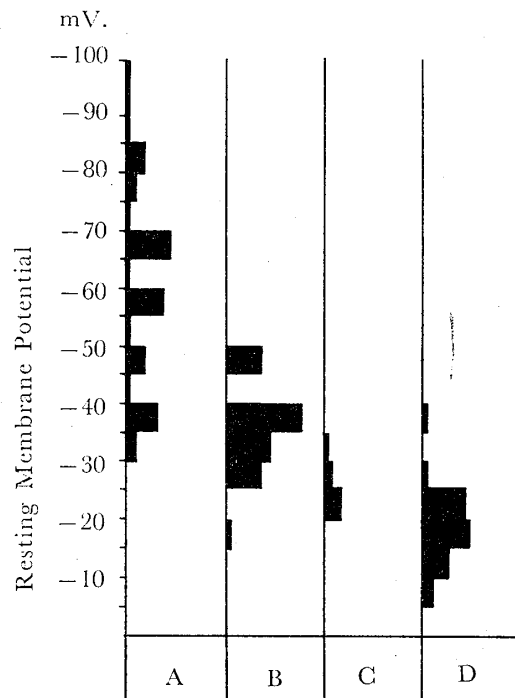


図 25. Resting Membrane Potentials and Grade of Spinal Lesion

b) 末梢神経損傷時の筋静止膜電位

全 5 例の平均値は -45.9 ± 9.3 mV であった。(第 26 図) 症例別にみる電位のばらつきは少ない。予後との関係を見ると予後の良いものは電位が大きい傾向が認められる。予後の判定の基準は徒手筋力テストにより, 著明

な改善のみとめられたものを“Good”，ある程度改善を認めたが，その後遅々として改善の認められぬものを“Fair”とし，ほとんど改善無きものを“Poor”とした。(第27図) 経過年数との関係を見ると年数を経るに従って電位は緩徐な低下を示している。(第28図)

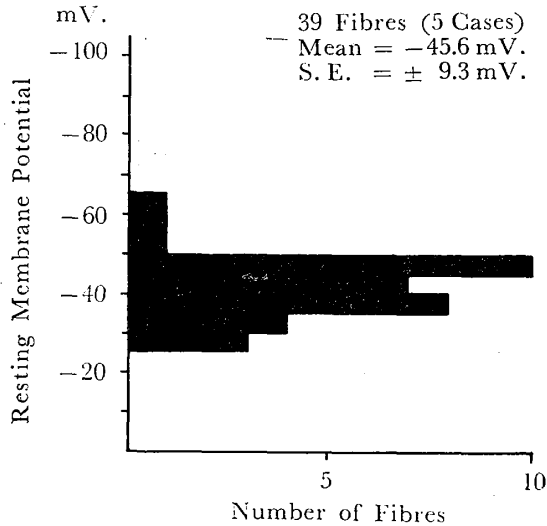


図 26. Resting Membrane Potentials in Peripheral Nerve Lesion

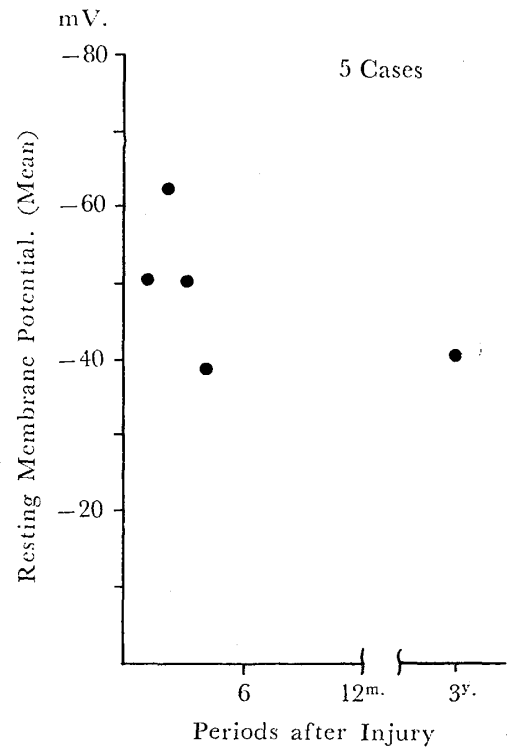


図 28. Resting Membrane Potentials and Periods after Injury

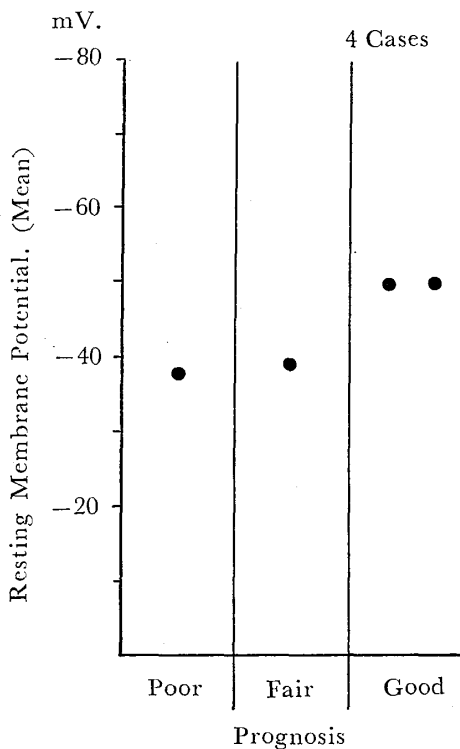


図 27. Resting Membrane Potentials and Prognosis

F. 小括ならびに考案

脊髄損傷患者の前脛骨筋静置膜電位は，平均 -34.6 ± 17.6 mV と末梢神経損傷時の平均 -45.6 ± 9.3 mV に比し一層低い値を示した。この原因に脊髄反射が関与するものと考えられる。脊髄反射には monosynaptic reflex と polysynaptic reflex の二種存在する。すなわち，筋紡錘より出る GIa 線維のように，刺激の興奮が求心性神経より脊髄に達し，ただちに，monosynaptic に脊髄前柱細胞に達してその筋の運動を支配するものと，腱受容器から出る GIb 線維のように，いくつかの介在細胞を経て脊髄前柱細胞に達し，その筋の運動を支配する polysynaptic reflex とがある。さらに，脳の諸機構から運動反射中枢に対して，錐体路，錐体外路系を通して促進ならびに抑制効果がおよんでいる。

さて，脊髄損傷はかかる機構が種々の程度に障害されているものである。すなわち，その程度は，運動神経細胞である前柱細胞について考えてみると，前柱細胞の完全な廃絶をおこしているもの，ある程度の機能の低下を示しているもの，あるいは，上部中枢からの抑制効果の低下または廃絶により，むしろ前柱細胞の機能亢進状態にあるものなどがあると考えられる。かかる事情を如実に表わしているのが痙性麻痺の出現の有無である。Tönnis D.²¹⁾によれば痙性麻痺の出現率は，上部胸髄 52

%, 頸髄 34%, 下部胸髄 29%, 腰髄 7.4% であり, その出現には一定の規則がないと報告している。すなわち, 脊髄損傷はいかに多彩な病態が関与しているかがうかがわれる。

本症の静止膜電位は, 経過年数, 損傷高位とは相関関係なく, 腱反射の有無とはある程度の相関関係を示し, 腱反射を有するものは, 大なる電位を呈し, 腱反射無きものは小さな電位を示す傾向があった。しかし, その中でも大なる値を示すものもあり, 腱反射は必ずしも脊髄機能を正しく表現する指標たりえないためと考え, 誘発筋電図に検討を行なった。かくて行なった M 波, H 波の出現の有無による分類は前脛骨筋静止膜電位に一定傾向を与えた。A 群に属するものは比較的脊髄機能が侵されていないものか, あるいは, 上位中枢からの抑制が減弱または消失して, むしろ前柱細胞の亢進状態にあるもの, B 群は前柱細胞の機能低下の著しいもの, C 群は脊髄レベルではほとんど廃絶の状態にあるが, なお末梢神経は残存しているもの, D 群は脊髄および末梢神経ともまったく廃絶したものと考えられる。さて, 末梢神経損傷は, 脊髄機能は恐らく正常に保持されていることより, A と C 群の間に位置するものと考えられる。すなわち, 末梢神経損傷においても, 長期にわたるに従い求心性神経を経る刺激減弱または廃絶のため, 前柱細胞の機能低下が考えられる。末梢神経損傷における筋静止膜電位は -45.6 mV と A—B 群の中間にあり, このことを裏付けている。

これらの成績より, 脊髄反射の残存の有無が静止膜電位に影響を与えることを知った。かかる観点からすると, 脊髄反射をできるだけ良く保持することが患者の予後にとって有効であると考えられ, PTP などによる脊髄興奮性を保持することは治療上意義あることと思われる。

V. 総括ならびに結語

筋静止膜電位の成績を健常筋および 2, 3 の疾患につき総括すると, 疾患により電位に相違が認められた。すなわち, 電位は健常筋, 廃用萎縮, 末梢神経損傷, 進行性筋ジストロフィー症の順に減少し, 脊髄損傷時の筋静止膜電位は脊髄反射機能の残存の程度により種々の値を示した。(第 11 表, 第 29 図) かかる 2, 3 の疾患別による電位の相違は, 筋線の萎縮の程度, 筋線維の新陳代謝障害の程度の相違に基づくものと思われた。これら罹患筋の中で電位の低下が最も小さい廃用萎縮筋でも経過年数に従って, 漸次電位の低下を示すが, 最低 -50 mV

表 11. Resting Membrane Potentials in Several Diseases

Cases	Resting Membrane Potential Mean (mV)
Normal	82.4 ± 10.8
Disuse	59.1 ± 5.7
Peripheral Nerve Lesion	45.6 ± 9.3
D. M. P Spinal Lesion.	25.5 ± 13.6
A-group	58.8
B-group	38.9
C-group	25.3
D-group	19.5

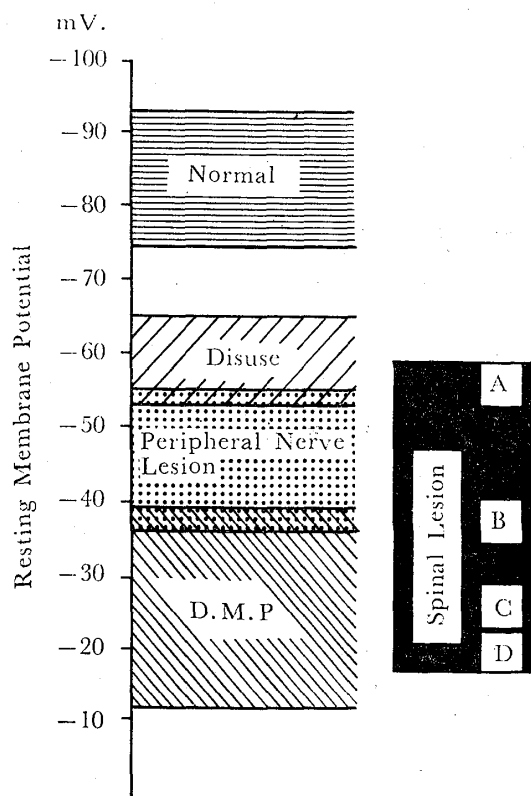


図 29. Resting Membrane Potentials in Several Diseases

に止った。代謝機能低下の最低限界を意味する A—B Potential の境界が -55 mV であることから, 廃用萎縮筋における電位の低下は新陳代謝障害に基因するものと考えられた。末梢神経損傷では, 神経損傷のための運動障害による廃用萎縮に神経栄養障害が加わったため, ある程度の筋線維の崩壊がおり, 廃用萎縮筋より低い電位を示したものと思われる。進行性筋ジストロフィー

症では異常な低電位を示したが、これは筋自体の著明な新陳代謝障害および筋崩壊に基づくものと考えられた。脊髄損傷の筋静止膜電位は症例によりばらつきを示したが、脊髄機能の残存の程度が膜電位に多大な影響を及ぼしていることを知った。

一方、末梢神経損傷中、後に著明な回復を示したものは、 -50 mV 程度までしか電位の低下を示さず新陳代謝障害に止まっていることを示した。

結語、微小電極法の臨床応用を目的として数種の神経筋系の疾患につき筋静止膜電位を測定した。本法は従来主として基礎医学方面で使用されてきたが、本研究により、*in situ* における人体骨格筋線維に適用でき、筋静止膜電位は疾患により特徴ある値を示すことがわかった。また、疾患の程度の軽いもの、または予後の良いものは電位は大きい値を示すことから、電位を測定することにより病態の把握および予後の推測のための資料となりうることを知った。

稿を終るに当たり、ご指導、ご校閲を賜った恩師鈴木次郎教授に深謝の意を表するとともに、数々のご助言とご指導を賜った本間三郎教授に深甚なる謝意を表します。また、終始ご指導ご援助をいただいた富田、立岩両講師を始め整形外科教室の諸兄および、これまでご援助くださった父および肉親に感謝の意を表します。

参 考 文 献

- 1) Ling, G. and Gerard, R. W.: The normal membrane potential of frog sartorius fibres. *J. Cell. Comp. Physiol.*, **34**, 383-396, 1949.
- 2) Tasaki, I., Polley, E. W. and Orreg, F.: Action potentials from individual elements in cat geniculate and striate cortex. *J. Neurophys.*, **17**, 454, 1954.
- 3) 待山昭二・田中一郎・登板恒夫: 簡易な超微小電極用抵抗計について, 生体の科学, **9**(3), 241-243, 1958.
- 4) Dahbäck, O., Elmqvist, D., Johns, T. R., Radner, S. and Thesleff, S.: An electrophysiologic study of the neuromuscular junction in myasthenia gravis.
- 5) 竹田昌暉: 骨格筋線維の電気的特性, 生理学大系 **V**. 26-72, 医学書院
- 6) Bolte, H. D. and Riecker, G. and Röhl, D.: Messungen der Membrane-potentials an einzelnen quergestreiften Muskelzellen des Menschen *in situ*: Normal Werte. *Klin. Wschr.*, **41**, 356-359, 1963.
- 7) Creese, R., Dillon, J. B., Marshall, J., Sabawala, R. B. and Zinn, D. E.: The effect of neuromuscular blocking agents on isolated human intercostal muscles. *J. Pharmacol.*, **119**, 485-494, 1957.
- 8) 安部龍秀: 微小電極法による骨格筋線維の膜電位についての実験的研究, 医学研究, **34**, 161-186, 1964.
- 9) Kugelberg, E.: Electromyography in muscular dystrophies. Differentiation between dystrophies and chronic motor neuron lesion. *J. Neurol. Neurosurg. and Psychiat.*, **12**, 129-136, 1949.
- 10) 富田 裕・石田三郎・ほか: 進行性筋ジストロフィー症の研究, 一特に電気生理学的研究一, 千葉医学会雑誌特集, 脳と神経の研究, **41**, 361-376, 1965.
- 11) 猪狩 忠: 進行性筋ジストロフィーの筋電図と神経終末, 整形外科, **16**, 319-334, 1965.
- 12) 斎藤 篤: 筋生検による進行性筋ジストロフィー症の組織学的研究 一特に神経終末を中心として一, 千葉医学会雑誌特集, 脳と神経の研究, **41**, 348-356, 1965.
- 13) Lenman, J. A.: *In Research in Muscular Dystrophy*. Pitman, London 1963.
- 14) Conrad, J. T., Glaser, G. H. and Conn, N. H.: Bioelectric properties of dystrophic mammalian muscle. *Arch. Neurol.*, **5**, 58-71, 1961.
- 15) Murayama, K.: Studies on the intracellular water, sodium and potassium in thyrotoxic myopathy and in thyrotoxic periodic paralysis. *Endocrinol. Japan.*, **11**, 291-307, 1964.
- 16) Schneider, W. C.: Phosphorus compounds in animal tissues. *J. Biol. Chem.*, **164**, 747-751, 1964.
- 17) 大沢省三・ほか: 核酸, 24-26, 広川書店
- 18) Walton, J. N. and Natress, F.: On the classification natural histology and treatment of the myopathies. *Brain*, **77**, 169, 1954.
- 19) 奥山隆保・ほか: 進行性筋ジストロフィー症における筋静止膜電位と筋生検との関連について, 臨床脳波, **7**, 207-215, 昭40
- 20) Ling, G. and Gerard, R. W.: The membrane potential and metabolism muscle fibres. *J. Cell. Comp. Physiol.*, **34**, 413-438, 1949.

- 21) Tönnis, D.: Mangel durchblutung als Ursache von Rückenmarkschädigungen. Münch. med. Wsch., 103, 1338-1348, 1961.
- 22) 篠崎 有: 人体骨格筋の電気生理学的ならびに組織学的研究, 岡山医学会雑誌, 74, 478-507, 1962.
-