実験的除神経・廃用筋の収縮弛緩にかんする研究 ジストロフィー筋との対比検討を中心として

長崎大学医学部第一内科

高守 正治[◇] 辻畑 光宏 森 正孝
迫 竜二 井手 芳彦

CONTRACTION-RELAXATION PROPERTIES OF EXPERIMENTAL DENERVATED AND IMMOBILIZED MUSCLE: COMPARISON WITH DYSTROPHIC MUSCLE

Masaharu TAKAMORI, MD, Mitsuhiro TSUJIHATA, MD, Masataka MORI, MD,
Ryuji HAZAMA, MD and Yoshihiko IDE, MD

The First Department of Internal Medicine, Nagasaki University School of Medicine, Nagasaki

概要 筋細胞の諸性質が神経制御下にあることは周知のことであるが、一方筋自体にその制御機構があることも事実である。本研究はactive stateの概念のもとに、家兎の実験的除神経、廃用筋の収縮弛緩機構を調べ、その結果とヒト・ジストロフィー筋とを対比検討し、本病の成因、病態にかかわるneurotrophic factorの役割と限界、および筋自体のactivityの演ずる役割を調べた。① 筋小胞体Ca⁺⁺動態を反映する単収縮張力発生加速度低下や、β受容体を介する対エピネフリン異常反応は、除神経筋のみに認めた。② 筋小胞体Ca⁺⁺動態のみでなく、トロポニンによるCa⁺⁺-binding以後のプロセスや、収縮蛋白を表現する単収縮張力弛緩時間、階段現象、強縮負荷後誘発単収縮張力の弛緩時間延長現象、強縮張力とその発生速度など諸指標の異常は、除神経、廃用筋群に認めるが、後者で著明であつた。③ 筋小胞体Ca⁺⁺遊離・結合過程に作用するカフェインに対し、ヒト・ジストロフィー筋同様正常以下の反応を示すのは廃用筋であつた。④ カフェインとは一部異なるステップを介し興奮収縮連関に作用するダントロレンには、ジストロフィー、除神経、廃用筋群とも正常反応を示した。以上の諸結果から、本病の病態をもたらす機序には、神経、筋両因子異常の重合が多く、単一でない複雑さが示唆された。

緒 言

神経性栄養因子neurotrophic factorが筋の電気的、化学的、機械的諸性質をコントロールする役割については、神経交叉支配実験をはじめとして、神経筋接合、軸索流、筋活性などを色々変えるこ

とによる影響を観察することによつて研究が行なわれて来た。このneurotrophic factorの概念は、進行性筋ジストロフィー症の神経原説に一つの支持を与えて来たものの、決定的な結論を下すには至っていない。すなわち、神経-筋の関係は正常に維持したまま、disuse, overuseの諸処置を施すことによつて、筋収縮性を変化調節出来ることから、少なくとも一部筋自体の活性が担う役割も論じられている。tenotomized, denervated musclesに異なる頻度の電気刺激を人工的に与えることによ

〔昭和52年8月18日受稿〕

本論文の要旨の一部は、Fifth International Conference of the Muscular Dystrophy Association (Durango, Colorado, USA, June, 1976) 招待講演、および第18回日本神経学会総会(名古屋市, 1977年5月) 一般講演において発表した。

り、それぞれの頻度に応じてその筋の収縮性を調節出来るという実験もあり、神経交叉支配実験の結果は、運動ニューロンに特異的なchemotrophic factorが存在するためではなく、nerve impulseのパターン(phasic, tonic)の変化によると解釈する考え方もある。しかし筋活性に関する実験でも、fast筋とslow筋を人工的に相互完全に転換出来るものではない。われわれは、先にヒト・ジストロフィーの特に末梢筋で、神経筋伝達、筋表面膜など電気的指標で表現されるレベルに、生理学的手段でみるかぎり、まだ異常が認められない、いわゆる病初の時期を選んで、筋張力曲線分析を中心に検討した。その結果、筋細胞内機構、および、その膜受容体を介する対カテコラミン反応性に異常が存在することを明らかにした¹⁾。

病的プロセスが進行し、活動電位など電気的指標に変化をみる時期に筋張力を分析しても、細胞下構造の表現は、表面膜電気的変化によつて修飾され、真の姿を観察出来ないおそれがあり、またあまりに進行した時期では、非特異的变化の占める部分が多くなり、ジストロフィー筋に特異的に存在するかもしれない異常を見逃すきらいがある。本研究は、この点を留意した上で、時期を選んだ家兎実験筋の諸変化と上述ジストロフィー筋のそれとを対比し、ジストロフィー筋収縮弛緩の諸異常のうち、いずれが神経因子を、いずれが筋自体の因子を、よりつよく反映しているものかを調べた。神経因子の検討には、支配神経切断一定時間後の筋を用い、筋自体の因子の検討には、関節固定によるimmobilized筋(以下“廃用筋”と呼ぶ)を用いた。後者では、末梢神経および神経筋接合の状態は正常のままであり、コリン作働性シナプス、およびその他に筋に対して何らかの影響を及ぼすと仮想される因子の可能性も含めて、正常に維持されたまま、ほぼ不動の状態にある。この条件下で、筋肉側細胞膜、細胞内諸機能に変化をみるとすれば、それは筋自体の活性の影響をうけたものとして評価出来よう。

方 法

Pentobarbitone sodium (20mg/kg) 麻酔下の家兎(体重2~2.5kg)前脛骨筋を用いた。denervation実験は、10羽の家兎について、右坐骨神経を前脛骨筋より約8cm proximalの部位で切断、該部皮膚は無菌的に縫合したのち、20~24時間後、神経刺激による誘発筋活動電位振幅低下あるも筋直接刺激によるそれはまだ不変である時期(すなわち筋表面膜レベルに先行して神経筋伝達レベルに異常が始まる時期)を選んで分析した。針電極筋電図でfibrillationや刺入活動電位増大をみないことも確認した。immobilization実験は、10羽の家兎につき、右脚膝、足関節をキルシナー鋼線で90°に固定(無菌的)、4週間後に行なつた。両実験の各家兎で、左前脛骨筋はコントロールに供した。生理学実験のあとは、当該筋は対側のコントロール筋とともに、重量測定と病理組織学的検査(hematoxylin-eosinおよびmasson-trichrome染色とmyofibrillar ATPase活性)に供した。

電気生理学の実験は、各家兎を膝、足関節部固定台の上に仰臥位とし、pentobarbitone麻酔下(20mg/kg)で筋肉温度33°Cに一定として行なつた。前脛骨筋活動電位は、間接刺激の場合は膈窩部で露出した腓骨神経に白金線電極を掛け、直接刺激の場合は筋に直接刺入した双極針電極を介して、矩形波電気刺激し誘発した。記録にはmid-bellyおよびtendonに接着した銀盤表面電極(直径1.5mm)を用いた。直接刺激では、筋肉内神経の刺激を避けるため、0.03% d-tubocurarine chlorideを耳介静脈を介して、電動式微量注入器を用い注入下に行なつた。前脛骨筋張力は、同筋および腱の一端を周囲から切り離して水平方向にステンレス鋼線を掛け、isometric strain gauge myographに連結し、上述直接刺激法で誘発、記録した。静止時張力は、最大単収縮力が得られる張力をもつて固定した。単一刺激で誘発する単収縮張力曲線からは、最大単収縮力(Pt)、張力発生からPtを経てその1/2の張力まで弛緩する時間 $T_{1/2}$ R、活動電位発生時から張力の一次微分ピーク値(張力発生最大速度)までの時間TdPt/dt、張力の二次微分ピー

表 1

Abbreviations	Measurements	Active state properties
Pt	最大単収縮張力	Force generated by contractile component plus series elastic component.
$T_{1/2R}$	張力発生より単収縮力ピークを経てその1/2の張力まで弛緩する時間	Decay of active state.
$TdPt/dt$	活動電位発生時から単収縮張力曲線の一次微分ピーク値までの時間	Duration of active state.
d^2Pt/dt^2	単収縮張力曲線の二次微分ピーク値 (単収縮張力発生の最大加速度)	Active state intensity of shortening.
Po	250/100Hz反復刺激で誘発する最大強縮張力	Active state intensity of load-bearing.
dPo/dt	強縮張力曲線の一次微分ピーク値 (強縮張力発生の最大速度)	Force-velocity relation; Rate of formation of cross-bridges; Series-elastic component.

ク値(張力発生最大加速度) d^2Pt/dt^2 を測定した。また100Hz反復刺激で強縮張力曲線を描き、その最大値Poと、一次微分ピーク値 dPo/dt を記録した。これら筋収縮弛緩の生理学的諸指標の意義付けは、active stateの概念にもとづき表1に示す^{1)~3)}。

単収縮張力の階段現象(staircase phenomenon)は1Hz反復刺激を2分間与え、第120発目の単収縮を第1発目のそれと比較計算して算出した。強縮負荷後誘発の単収縮張力増大現象(posttetanic potentiation)は、50Hz反復刺激10秒間の強縮負荷後1分目に誘発した単収縮を、負荷前誘発の単収縮と比較算出した。いずれの場合も、同時記録の筋活動電位は、刺激負荷前後で変化しないこと、誘発単収縮張力は、前者で負荷終了後10分目まで、後者で負荷終了後15分目までに、それぞれ負荷前の状態にもどることを条件とした。

薬理学的検査では、耳介静脈を介して、isoproterenol (5 μ g/kg), caffeine (50mg/kg), dantrolene (4 mg/kg) を注入し、筋張力曲線諸指標を、薬剤投与前後で比較測定した。なお、ヒト・ジストロフィー筋張力の対エピネフリン反応測定については別報に述べた¹⁾。本報で詳述する対ダントロレン反応の対象には、末梢筋に電氣的指標異常の来していない肢帯型筋ジストロフィー症5例、正常コントロール(age-matched)5例をえらんだ。本剤100mg内服3時間後、尺骨神経刺激で誘発する母指内転筋の等尺性単収縮力および強縮力(250 Hz反復刺激)を測定、微分分析し、同時誘発の

筋活動電位とともに、投与前のそれと比較した。

結 果

I. 単収縮、強縮張力

正常神経支配の家兎前脛骨筋(20例)から得られた測定値は、最大単収縮力(Pt) 104~144 g, 1/2弛緩時間($T_{1/2R}$) 37~48 msec, 最大強縮力(Po) 690~1000 gで、それぞれの微分分析の結果を含めFig 1 (shadow) に示している。坐骨神経切断による除神経筋(10例, Fig 1 ●印)の筋張力分析値は、筋直接刺激による誘発筋活動電位振幅は正常範囲内(22~26 mV)にあるが、神経刺激によるそれには低下(8.8~19 mV)がみられる時期をえらんで得たものである。4週間immobilizationによる廃用筋(10例, Fig 1 ×印)では、神経刺激・筋直接刺激とも誘発筋活動電位振幅は等しく、かつ正常範囲内にあつた。除神経筋で特に異常な指標は、張力発生加速度(d^2Pt/dt^2)の低下に伴う単収縮力(Pt)の低下であり、廃用筋で目立つのは、単収縮張力曲線の弛緩時間($T_{1/2R}$)延長と、強縮力(Po)およびその発生速度(dPo/dt)

Fig 1. Effects of denervation and immobilization on contractile properties

Fig 2

の低下であつた。正常，除神経，廃用諸筋張力曲線とその分析の実例をFig 2 に示している。組織化学検査では正常筋type II fiber dominant，廃用筋にfiber type atrophy，結合組織増加なく重量低下は-11~-22%であつた。

II. Staircase phenomenonとposttetanic potentiation

正常神経支配の家兎前脛骨筋(16例)を，1Hz 2分間，直接反復刺激した結果，単収縮張力発生加速度(d^2Pt/dt^2)の増大(125~160%)と弛緩時間($T_{1/2}R$)の短縮(87~94%)を伴う単収縮力(Pt)増大(115~139%)がみられた(staircase phenomenon)(Fig 3 SC; Fig 4 左shadow)。また50Hz 10秒間強縮刺激後1分後に誘発した単収縮力(Pt)は，張力発生加速度(d^2Pt/dt^2)増大(120~157%)と弛緩時間($T_{1/2}R$)延長(102~110%)を伴つて増大(128~154%)した(posttetanic potentiation)(Fig 3 PTP; Fig 4 右shadow)。両現象を除神経筋(8例，●印)，廃用筋(8例，×印)について調べ，上述正常コントロール(shadow)と対比し，まとめてFig 4 に示している。staircase phenomenonは，両筋群で正常

Fig 3

Fig 4

以下の増大にとどまるか，または反復刺激負荷前レベル以下に低下(negative staircase)するが，定量的にみて，特に廃用筋群に異常は著明であつた。posttetanic potentiationも両筋群で正常範囲以下にとどまるが，単収縮弛緩時間($T_{1/2}R$)の異常延長は廃用筋群に著明であつた。

III. Isoproterenol, caffeine, dantroleneに対する筋張力曲線の反応

1) 対isoproterenol反応：正常神経支配の家兎前脛骨筋(10例)の単収縮力(Pt)は，isoproterenol(5μg/kg)静注(耳介静脈)によつて，その弛緩時間($T_{1/2}R$)延長(+10~+27%)を

Fig 5

Effects of drugs on contractile properties

Fig 6

伴い増大した(+5~+23%) (Fig 5左; Fig 6左shadow). 強縮張力(P_o)およびその発生速度(dP_o/dt)や、神経刺激・筋直接刺激による誘発活動電位には、薬剤投与前後で変化はみとめなかつた。廃用筋(5例)(Fig 6左×印)は正常同様の反応を示したが、除神経筋(5例)(Fig 6左●印)は逆に単収縮力(P_t)低下反応を示し、弛緩時間($T_{1/2R}$)の短縮を伴っていた。各筋群で活動電位、強縮張力などは正常コントロール同様変化を示さなかつた。

2) 対caffeine反応: 正常家兎前脛骨筋(10例)単収縮力(P_t)は、caffeine(50mg/kg)静注により、張力発生加速度(d^2P_t/dt^2)増大(+6~+12%), 弛緩時間($T_{1/2R}$)延長(+5~+10%)を伴って増大した(+7~+13%) (Fig 5中央; Fig 6中央shadow). 除神経筋(Fig 6中央●印)は5筋中4筋で正常範囲以上の過敏反応を示し、一方廃用筋(Fig 6中央×印)は4筋中3筋が変

化せず、のこり1筋は正常範囲内の反応を示した。各筋群で、誘発筋活動電位、強縮張力とその速度曲線にはcaffeine投与前後で変化をみなかつた。

3) 対dantrolene反応: 正常家兎前脛骨筋(7例)の単収縮力(P_t)は、dantrolene(4mg/kg)静注によつて著明な低下を示した(-77~-92%) (Fig 5右; Fig 6右shadow). これに伴う主な変化は張力発生加速度(d^2P_t/dt^2)低下(-70~-87%)で、収縮時間(T_dP_t/dt , -11~-13%), 弛緩時間($T_{1/2R}$, -7~-24%)など時間要素の変化は軽度にとどまつた。また強縮力(P_o , -21~-40%)とその発生速度(dP_o/dt , -20~-40%)の変化も、単収縮力のそれに比べると少ない。除神経筋(3例)(Fig 6右●印), 廃用筋(3例)(Fig 6右×印)の単収縮、強縮張力諸要素の本剤による変化は、上述正常神経支配筋のその範囲内にあつた。いずれの場合も、同時誘

Fig 7

発筋活動電位には薬剤投与前後で変化をみなかった。

ヒト・筋ジストロフィー症肢帯型 5 例の母指内転筋（誘発および針電極筋電図など電気的指標は正常所見を示す）の、単収縮、強縮張力およびその分析値に対する本薬剤（経口100mg, 3時間後に判定）の影響を、正常コントロール 5 例のそれと比較検討した結果をFig 7 に示す。ヒト・筋ジストロフィー筋の反応は正常範囲内にあつた。また、いずれの場合も、同時誘発筋活動電位には、薬剤投与前後で変化をみなかった。

考 案

筋表面膜に活動電位が発生したあと、数msec遅れて筋の機械的反応（張力）があらわれるまでの間には、T-tubules脱分極、筋小胞体 Ca^{++} 遊離・結合、troponin-tropomyosin complex, actin-myosin crossbridgesなど一連の機構が存在する。これら筋細胞内諸要素を生理学的に調べる手段として、ストレンゲージを用いて記録する等尺性単収縮、強縮張力曲線とその微分分析を用い（活動電位も同時記録）、active stateの概念を導入して、生理学的

諸指標の意義付けを行なつて来た（表1）^{1)~3)}。これまで、神経筋伝達、筋表面膜に電気生理学的指標でみるかぎりまだ異常が来ていない（膜の生化学的变化やinternal membrane system, 筋小胞体膜の変化についてはその存否は言及していない）、病初の時期のヒト・筋ジストロフィー末梢筋に、筋収縮弛緩の異常を証明¹⁾、Fig 8 にその結果を要約している。これらが、近年提唱されているneurotrophic factorの考えによつてどこまで解釈可能であるかを、家兎前脛骨筋を用いた実験的除神経筋で調べた。また、神経筋接合は正常のまま関節固定によつて不動とした廃用筋の収縮性も測定して、ヒト・筋ジストロフィー筋との異同を調べ、筋自体因子の異常の関与についても検討した。

Fig 1~2 はdenervation(●印), immobilization(×印)が筋収縮弛緩の諸要素に及ぼす影響を示している。単収縮張力発生加速度(d^2Pt/dt^2)低下とともに単収縮力(Pt)の著明な低下を示すのは除神経筋である。廃用筋は正常範囲内であつた。 d^2Pt/dt^2 の低下はヒト・筋ジストロフィー筋の

Fig 8

72%にみられた異常所見でもある (Fig 8). この指標はactive stateの“つよさ要素” (intensity of shortening) を表現し、刺激により筋小胞体から遊離される Ca^{++} 量を反映するとされる⁴⁾. 本研究の除神経筋でこの指標の異常がみられたという事実は、生化学の立場から、除神経筋の筋小胞体 Ca^{++} 動態異常を指摘した報告⁵⁾とも一致する. これらの事実は、ヒト・筋ジストロフィー症で高率に見出された本指標異常が示唆するsubcellular Ca^{++} transport systemの病的プロセスが、神経側 (neurotrophic factor) 異常の反映であろうことを推定せしめる.

単収縮張力弛緩時間 ($T_{1/2}R$) の異常延長は、除神経筋に比べ廃用筋に著明であつた (Fig 1, 2). ヒト・筋ジストロフィー筋では55%に見出された (Fig 8). active stateの概念に基づけば、本指標はactive state decayを表現し、troponinからの Ca^{++} -removalと筋小胞体 Ca^{++} 再結合、およびtroponinによる Ca^{++} -bindingとmyosinによるATP-bindingの関係を反映するものとされる⁶⁾. 単収縮張力弛緩時間延長は、これまで除神経筋で報告され⁷⁾、またBotulinum toxinによるコリン作働性シナプス・ブロックによつて起こりうることから、アセチルコリンを情報伝達物質とするneurotrophic influence異常を示唆するものと推論された⁸⁾. しかし本研究の結果は、除神経筋 (電気生理学的指標でみて、神経筋伝達異常、筋表面膜正常の時期) に延長はみとめるが、廃用筋 (神経筋接合は正常の状態) に比べ軽度にとどまつた. これまでの除神経実験の多くは、その記録を神経切断・薬理的ブロック後2~3週目以降に行なつており、従つて、筋表面膜電気的性質の変化やchronic disuseが筋張力曲線に影響している可能性を除外出来ないと思われる. なお、組織化学的検査では、正常家兎前脛骨筋はtype II fiber dominantであり、廃用筋では散在性に萎縮筋線維をみとめるも、specific fiber type atrophyを決定出来なかつた. 従つてimmobilizationによる弛緩時間延長は、fast筋線維変性がつよくて、正常に機能するslow筋線

維の特徴が表面に出た結果であるというよりも、fiber typeに関係なく一様に起こる筋細胞内変化を反映したものであろう.

Active stateの“つよさ要素” (intensity of load-bearing) を表現し、actin-myosin crossbridges形成の数と力を反映する強縮力 (P_o)⁹⁾の低下は、除神経、廃用両筋群でみとめるものの、後者でより著明であつた (Fig 1, 2). これはヒト・筋ジストロフィー筋の28%に異常をみた指標であり (Fig 8), 本研究の結果は、これが筋自体の因子異常をよりつよく表現していることを示唆する. 強縮張力発生速度 (dP_o/dt) の低下も、ヒト・筋ジストロフィー筋の55%にみとめ (Fig 8), これは筋収縮要素の力-速度関係、actin-myosin crossbridges形成率、直列弾性要素を表現する指標とされる⁹⁾. 本研究では、 P_o 同様、除神経、廃用両筋群で本指標の低下をみとめるが、後者で著明であり、筋自体因子異常のよりつよい反映が示唆される. また本実験廃用筋重量の低下は、コントロール側と比べて時-11~22%で、 P_o の低下の著明さ (Fig 1) に平行していなかつた. 従つて、 P_o 低下の主原因は、機能する筋線維の消失というよりも、個々筋線維内におけるactivation processまたは収縮蛋白の生理、生化学的变化を示唆している. また病理組織学的検査で、結合織 (直列弾性要素) の増加はなく、 dP_o/dt 低下も、収縮要素そのものの変化を意味していると解釈される.

Fast twitch筋で、低頻度反復刺激中または高頻度刺激 (強縮) 負荷後誘発の等尺性単収縮張力が増大する現象は、それぞれstaircase phenomenon, posttetanic potentiationと呼ばれ、活動電位の変化を伴わず、細胞内機構を調べるのに有用な現象である. staircase phenomenonはactive stateの“つよさ要素” (intensity of shortening; sarcoplasmic Ca^{++} 遊離に関係) の増大に伴うものとされている¹⁰⁾. 正常家兎前脛骨筋を用いた本研究でも、この考え方に一致して、張力発生加速度 ($d^2Pt/dt^2 = \text{active state intensity of shortening}$) の増大に伴つて本現象がみられ、収縮および弛緩時間 ($TdPt/dt$.)

($T^{1/2}R$) の短縮も伴っていた (Fig 3 SC ; Fig 4 左shadow). posttetanic potentiationは、筋小胞体 Ca^{++} 遊離過程¹¹⁾, あるいはtroponinによる Ca^{++} -binding以後のステップ¹²⁾にその機序を求める考え方がある。われわれの正常家兎前脛骨筋を用いた実験でも、強縮負荷後、活動電位は負荷前と変わらないまま、単収縮力増大がみられた。分析すると、張力発生加速度 (d^2Pt/dt^2 =active state intensity of shortening) の増大と、弛緩時間 ($T^{1/2}R$ =active state decay) 延長が伴っており、上述の考え方と矛盾しない結果を得た (Fig 3 PTP ; Fig 4 右shadow). ヒト・ジストロフィー筋の分析では、症例の48%にstaircase phenomenon異常、24%にposttetanic potentiationに伴う弛緩時間異常延長をみている (Fig 8). 実験の除神経、廃用筋についてみると、両筋群で両現象異常を高率に見出すが、定量的には後者でより著明であつた (Fig 4). 本来両現象とも正常fast筋にみられるもので、正常slow筋では条件負荷前単収縮力より低下するnegative staircase phenomenon, posttetanic depressionがみられ、特にposttetanic changesは、神経支配交叉によつて、増大・低下変換が出来るとする報告がある¹³⁾. 従つてneurotrophic factorの制御下にある筋細胞内機構を表現する現象のように思われる。われわれの実験でも、除神経筋の示す態度をみるとこれを示唆するものの、上述のように廃用筋分析の結果をみれば、筋自体の因子の反映もつよく受けうる事が示唆される。ヒト・ジストロフィー筋で見出した両現象異常発現の解釈に当つても、この点が考慮されるべきであろう。

エピネフリンがactive stateの諸要素に及ぼす作用、その結果筋張力曲線上に現われる反応を調べることも、膜受容体と筋細胞内機構の情報をつかむ手段として有用である。エピネフリンのこの面に対する作用は、 β 受容体を介し、筋小胞体の Ca^{++} 遊離・結合でコントロールされるcontraction-relaxation cycle (少なくとも一部cyclic AMP-dependent) に影響するものと、phosphorylase活性化からglycogenolysisを促すもの (少なくとも一部

cyclic AMP-dependent) がある¹⁴⁾. 一般に、エピネフリン投与により、fast筋の単収縮力は、その収縮・弛緩時間 (特に後者) の延長に伴つて増大し、slow筋は弛緩時間の短縮に伴つて低下すること、最大強縮力には変化をみないこと、などが知られている¹⁴⁾. われわれは、ヒト母指内転筋について調べた結果、ジストロフィー症の71%に正常範囲を越えた対エピネフリン異常低下反応をみとめた (Fig 8)¹¹⁾. 本研究では、これが神経因子の反映か、筋自体の問題の反映かを明らかにする実験を、isoproterenol (β -stimulant) を用いて行なつた。まず正常神経支配の家兎前脛骨筋単収縮力 (Pt) は従来の報告通り、その弛緩時間 ($T^{1/2}R$) 延長とともに増大し、強縮力 (P_0)、活動電位の変化はみられなかつた (Fig 5 左 ; Fig 6 左shadow). ところが除神経筋の単収縮力 (Pt) は、isoproterenol投与により、あたかも正常神経支配下のslow筋が示すように、弛緩時間 ($T^{1/2}R$) の短縮を伴つた低下反応を示した (Fig 6 左●印). 一方、廃用筋は正常同様の増大反応を示した (Fig 6 左×印). これらの事実は、上述したジストロフィー筋細胞内機構の β 受容体を介した対エピネフリン異常反応が、運動ニューロンの筋に対するtrophic influence異常の結果であろうことを示唆している。

カフェインは、骨格筋に対しては電氣的反応に変化をもたらすことなく、筋小胞体からの Ca^{++} 遊離促進と筋小胞体 Ca^{++} uptake抑制とによつて筋張力に影響する作用 (contracture, twitch potentiation) のあることが知られている¹⁵⁾. われわれの正常神経支配家兎前脛骨筋は、カフェイン投与によつて、神経・筋直接両刺激による誘発筋活動電位に変化なく、張力発生加速度 (d^2Pt/dt^2) 増大と弛緩時間 ($T^{1/2}R$) 延長とともにその単収縮力 (Pt) 増大を示した (強縮張力は無変化) (Fig 5 中央 ; Fig 6 中央shadow) ことは、上述の本剤作用機序に関する考えと矛盾しない。本剤に対する病的筋張力の反応については、ヒト・ジストロフィー筋は正常反応以下¹⁶⁾, 運動ニューロ

ン疾患筋¹⁶⁾、実験的除神経筋¹⁷⁾は正常以上の反応を示すと報告されている。colchicineによる神経軸索流ブロックでは、当該筋の対カフェイン異常反応はみられず、神経伝導性および神経終末からのアセチルコリン遊離がブロックされた状態のときのみ異常反応が発現するという¹⁸⁾。われわれの実験的除神経筋でも、神経筋伝達ブロックが発現した時期での対カフェイン反応は、張力発生加速度 (d^2Pt/dt^2) と弛緩時間 ($T^{1/2}R$) の異常増大に伴って、単収縮力 (Pt) の正常範囲を越えた増大がみられた (Fig 6 中央●印)。一方、廃用筋のそれは正常または正常以下の反応に止まり (Fig 6 中央×印)、ヒト・ジストロフィー筋のin vitro studyで報告されているもの¹⁹⁾に一致し、これは筋自体の因子の異常の反映であろうことを示唆する。

中枢神経系には影響のない筋弛緩剤として、臨床的にも広く用いられているダントロレンは、神経筋伝達、筋細胞膜電気の性質には影響することなく、筋小胞体 Ca^{++} 遊離阻害によつて単収縮張力低下 (強縮張力や高濃度 K^+ による筋contractureには影響が少ない) をもたらしことが知られており、trigger Ca^{++} influx $\rightarrow$ Ca^{++} -induced Ca^{++} release from sarcoplasmic reticulumを阻害する機序が示唆されている¹⁹⁾。われわれの正常家兎前脛骨筋について、ダントロレンに対する筋張力の反応をみた結果も、主に張力発生加速度 (d^2Pt/dt^2 = Active state intensity of shortening, 筋小胞体 Ca^{++} 遊離に関与) の変化に伴う単収縮力 (Pt) の低下であつた。収縮・弛緩時間、強縮張力とその発生速度 ($TdPt/dt$, $T^{1/2}R$, Po , dPo/dt) などが受ける影響は軽度で止まつた (Fig 5 右; Fig 6 右shadow)。従つてカフェインとは少なくとも一部作用部位が同じで、かつ、拮抗することが推定されるが、カフェインで考えられている筋小胞体 Ca^{++} uptake過程に対する作用は、ダントロレンでは否定されている。すなわち、筋小胞体 Ca^{++} 遊離促進に基づくとされる高濃度カフェインによるcaffeine-contractureは、つよく本剤の影響をう

け、主に筋小胞体 Ca^{++} uptake阻害によるとされる低濃度カフェインによる単収縮張力増大現象に対しては本剤の拮抗力は弱い。また、カフェインにより増大された単収縮力よりも、 NO_3^- によつて増大された単収縮力の方が、本剤の拮抗作用をつよくうけるという²⁰⁾。 NO_3^- との拮抗を考えれば、ダントロレンの作用部位としてT systemの関与も考慮される。以上のように、ダントロレンは必ずしもカフェインと作用部位を同じくしないと思われるので、疾患筋の本剤に対する反応を調べる実験を行なつた。その結果、ヒト・ジストロフィー筋は正常ヒト母指内転筋の反応程度範囲内にあり (Fig 7)、家兎の除神経、廃用前脛骨筋も正常コントロールのその範囲内にあつた (Fig 6 右●, ×印)。ダントロレンの薬理作用が標的とするE-C couplingの一過程は、ジストロフィー、除神経、筋活性低下のいずれの病的プロセスでも、少なくともそれらの或る時期には、機能的に侵され難いことが示唆される。

ヒト・ジストロフィー筋でみとめられた筋細胞内機構の諸要素異常を、denervation, immobilizationの実験筋検討の結果と関連付け、Fig 9に要約した。一部をのぞいて、ジストロフィー筋の病態をもたらし機序が、神経因子と筋自体の活性両者の組み合わせである場合が多く、必ずしも単一で

Fig 9. Contractile abnormalities in dystrophic muscles with normal electrical activities.

ないことが暗示される。本実験の結果のみからは、神経因子が問題となる場合、その筋に対する trophic influence はアセチルコリンそのものによるか、アセチルコリン以外の trophic substance (s) がありうるかは結論出来ない。また筋自体の活性が問題となる場合も、廃用筋でみられる細胞内機構異常が、nerve activity のパターンの変化 (phasic, tonic 神経放電パターンの変化) にかかる trophic effect によるか、筋にかかる機械的ストレスの変化によるかの鑑別は容易ではない。

文 献

- 1) Takamori M: Contractility and supersensitivity to adrenaline in dystrophic muscle. *J Neurol Neurosurg Psychiatr* 38: 438, 1975.
- 2) Takamori M, et al: Contractile properties of human skeletal muscle. *Arch Neurol* 25: 535, 1971.
- 3) Takamori M: Nerve, muscle, and serotonin. *J Neurol Neurosurg Psychiatr* 40: 89, 1977.
- 4) Taylor SR, et al: Mechanical threshold as a factor in excitation-contraction coupling. *J Gen Physiol* 54: 352, 1969.
- 5) Sreter FA: Effect of denervation on fragmented sarcoplasmic reticulum of white and red muscles. *Exp Neurol* 26: 52, 1972.
- 6) Close RI: Dynamic properties of mammalian skeletal muscles. *Physiol Rev* 52: 129, 1972.
- 7) Kean CJC, et al: Dynamic properties of denervated fast and slow twitch muscles of the cat. *J Physiol* 237: 103, 1974.
- 8) Drachman DB and Johnston DM: Neurotrophic regulation of dynamic properties of skeletal muscle: Effects of botulinum toxin and denervation. *J Physiol* 252: 657, 1975.
- 9) Buller AJ and Lewis DM: Further observations on the differentiation of skeletal muscles in the kitten hind limb. *J Physiol* 176: 355, 1965.
- 10) Desmedt JE and Hainaut K: Kinetics of myofilament activation in potentiated contraction: Staircase phenomenon in human skeletal muscle. *Nature* 217: 529, 1968.
- 11) Close R and Hoh JFY: The after-effects of repetitive stimulation on the isometric twitch contraction of rat fast skeletal muscle. *J Physiol* 197: 461, 1968.
- 12) Hoh JFY: Neural regulation of muscle activation. *Exp Neurol* 45: 241, 1974.
- 13) Close R and Hoh JFY: Posttetanic potentiation of twitch contractions of cross-innervated rat fast and slow muscles. *Nature* 221: 179, 1969.
- 14) Bowman WC, et al: A comparison between the effects of a tetanus and the effects of sympathomimetic amines on fast- and slow-contracting mammalian muscles. *Brit J Pharmacol Chem* 19: 464, 1962.
- 15) Weber A and Herz R: The relationship between caffeine contracture of intact muscle and the effect of caffeine on reticulum. *J Gen Physiol* 52: 750, 1968.
- 16) Gruener R, et al: Caffeine-modulated acetylcholine sensitivity in denervated rat and diseased human muscle. *Life Sci* 17: 1557, 1975.
- 17) McArdle JJ and albuquerque EX: A study of the reinnervation of fast and slow mammalian muscles. *J Gen Physiol* 61: 1, 1973.
- 18) Albuquerque EX, et al: The effects of vinblastine and colchicine on neural regulation of muscle. *Ann NY Acad Sci* 228: 224, 1974.
- 19) Ebashi S: Excitation-contraction coupling. *Ann Rev Physiol* 38: 293, 1976.
- 20) Homma I, et al: Effect of dantrolene sodium on excitation-contraction coupling of frog toe muscle. *Jap J Physiol* 26: 53, 1976.