

原 著

機能的遊離筋肉移植に対する
治療的電気刺激の効果の実験的検討金子 昇
(指導：河合伸也教授)

山口大学医学部高次統御系・整形外科科学講座 宇部市南小串1丁目1-1 (〒755-8505)

Key words : 遊離筋肉移植, 電気刺激, 機能再建

緒 言

近年の医学, 医療技術および医療機器の進歩により, 臓器移植は一般的な治療として認知されてきた。本邦では, 心臓や腎臓などの移植においては, ドナーの関係で未だ制限があるが, 自家組織の移植が可能な皮膚や骨などは, 外傷や腫瘍の患者においてマイクロサージャリーを応用して色々な部分の再建に用いられている。筋肉組織も機能を有する一機能的臓器として考え, 微小血管・神経縫合を用いることにより遊離機能的筋肉移植が可能である。

1976年Harii¹⁾らにより, Bell麻痺の表情筋の再建に薄筋が, 上海第6人民病院²⁾でVolkman拘縮の手指屈曲再建に大胸筋が用いられたのが最初の臨床応用例である。Volkman拘縮の病態は前腕部のコンパートメント症候群であり, 前腕屈側の筋群の阻血性壊死の結果, 前腕回内・鷲指変形を来すものである。これは小児の上腕骨顆上骨折にしばしば起こりうる重篤な合併症であり, 重症例の指屈曲機能の再建の為に, 遊離機能的筋肉移植が唯一の手段となる。また交通災害などにより上肢の完全な機能喪失・廃用を来す腕神経損傷(全型麻痺)は若年者に好発し, 多大な社会的損失を伴うため本邦だけでなく東南アジア諸国においても大きな社会問題となっている。本損傷に対する治療は近年発達したマイクロサージ

ャリーの導入により格段の進歩を遂げつつあり, 遊離機能的筋肉移植術と多数神経移行術の併用^{3,6)}により, これまで機能的再建が不可能と考えられていた全型麻痺に対しても手指の随意的作動により物体を把持する機能の獲得が可能となってきた。

服部ら⁶⁾によれば, 全型腕神経叢損傷に対する手指機能再建をDouble Muscle法によって行った症例36例で, 17例(48%)がTotal active motion (TAM) 30°以上の独立した手指の自動運動が獲得できたと報告している。

遊離機能的筋肉移植は有用な治療ツールの一つの方法ではあるが, 臨床上いくつかの問題点をかかえている。なかでも移植後の筋力低下は重要な課題である。この理由としては, 脱神経による筋萎縮, 周囲組織との癒着, 術後の固定(不動化)による筋線維化, 不十分な神経再支配などが挙げられる。

神経・血管を温存したまま腱の付着部のみをつなぎ変える腱移行術は有茎機能的筋移植術と言い換えることができる。この脱神経による筋萎縮, 不十分な神経再支配という要素が除外できる手技でさえ, 腱縫合部の保護の為に術後数週の外固定を必要とし, 結果として術後の筋力が低下する事は臨床的事実である。遊離機能的筋肉移植は, さらに神経・血管縫合, 筋肉起始部の縫着といった手技が加わる。神経の切断・再縫合による脱神経のみならず, 元々別の作動神経で作動していた筋肉組織を移植床に移行するため, ドナーとなる新たな作動神経との間に

平成15年11月6日受理

運動神経線維数の過不足を生じる可能性もある。ドナー神経の運動線維数が移植筋の要求する運動線維数より多い場合は問題は少ないと考えられるが、その逆の場合には完全な神経再生が獲得できたとしても移植筋の筋力は移植前よりは低下することは否めない。

これまでの実験的研究から、支配神経に部分的な損傷を加えた骨格筋の筋力回復には筋肉内残存神経からのcollateral sproutingによる脱神経筋への神経再支配が関与することが判明している⁷⁻¹⁰。すなわち支配運動神経線維数の減少を、一つの神経が支配する筋線維数 (motor unit) を増やすことにより代償する機構である。また、それ以外にも神経の支配を受けている筋線維が肥大することによって筋収縮力が増加することも報告されている。神経縫合後には全ての運動神経線維が理想的に再支配をするとは考えられず、同様の機序での筋力回復が生じるものと思われる。金谷¹¹は、神経交差縫合を行い、再生神経は新しく終板を作るのではなく、既存の終板に到達すると推察しており、遊離機能的筋肉移植のような作動神経が異なる神経縫合の神経再支配機序も単純な神経縫合同様であることを証明した。

同様の現象は遊離筋肉移植でも生じる可能性は期待できるがこれを証明した研究はない。よりよい機能再建を目指すためには、この移植後の筋力低下に対する対策が不可欠である。

電気治療は、古くは紀元前に電気鯨の電気刺激により頭痛や痛風の治療に使用されたとされている。電気刺激を治療的に用いることを治療的電気刺激 (Therapeutic electrical stimulation; TES) と呼び、鎮痛・筋萎縮の予防・痙性の軽減などに用いられてきた。1952年には人工ペースメーカーとして刺激伝導路障害の治療にも用いられ、このような機能を改善するために直接的に電気刺激を利用することを機能的電気刺激 (Functional electrical stimulation; FES) と呼び分けるようになった。

近年、電気工学の進歩によりこれを利用した治療的、機能的電気刺激 (TES・FES) は脊髄損傷の治療に応用され多大な効果をあげている。治療的電気刺激は古くから臨床的に用いられているにも拘わらず、その作用機序については不明な部分が多い。脱神経筋萎縮に対する電気刺激の効果についても、有効説と無効説が多数見られる。近年の臨床応用を想

定した研究¹²においては、末梢神経損傷による脱神経筋萎縮に対しても筋力回復の面でも有効であることが示唆されてきている。しかし、この実験は純粋な神経損傷を想定しており、作動神経と移植筋の要求する運動線維数に差が無いこと、また神経縫合後直ちに電気刺激を行うなど筋・腱の縫合操作を必要とする遊離機能的筋肉移植では不可能な刺激条件であるなど、この結果をそのまま応用するには危険がある。

本実験的研究は、遊離機能的筋肉移植の筋力低下に対する電気刺激の効果を臨床に即した実験モデルを用いて検討することを目的とした。

実験動物及び方法

(1)使用動物

年令4才、体重10-15kgの雌のビーグル犬12頭を用いた。

(2)実験モデル

作動神経の運動線維数を半減させた機能的遊離筋肉移植モデルとして、上腕二頭筋とその支配神経である筋皮神経を用いた。

手術操作はPentobarbital 20mg/kgを静脈内投与で導入し、気管内挿管後、酸素33%、笑気66%、ハロセン0.5%で人工呼吸にて麻酔を行った。

手術操作としては、右側の上腕二頭筋と筋皮神経の二頭筋枝を同定し、神経筋入口部より1cmの部位で切断した (図1)。断面積がほぼ等しくなるように中枢側を二分し、一方を約1cm中枢で結紮し、切除した。量的に半減した中枢側神経束を末梢側全神経束と神経縫合した。このとき神経筋入口部にコイル電極をループ状に加工し、設置した (図2)。コイル電極は経皮的埋め込み電極 (日本精線社) を用いた (図3)。この電極は直径25 μ mのSUS 316L硬質線を19本よりにしてテフロン被覆した後、ヘリカル巻きに加工したものである。コイル電極は、犬の動きでループ部が神経をcut outしないように皮下で縫合糸を用いて固定した後、さらに皮下でループを設けて余裕を持たせた。

ビーグル犬のストレスに配慮して電気刺激装置は刺激期間中ビーグル犬を無拘束の環境におくため、テレメータ方式の電気刺激装置 (送信機: SRG-3100 日本光電社, 受信機: ZR-301J 日本光電社)



図1. A. ビーグル犬の上腕二頭筋内側を展開し、筋皮神経を露出した。その後上腕二等筋枝を同定し、可能な限り中枢まで剥離を行った。



図1. B. 剥離後、上腕二等筋枝を神経筋入口部より1 cm中枢で切断した。

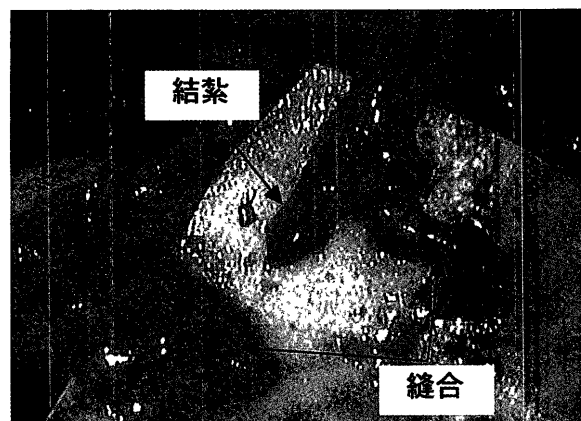


図2. A. 神経切断部中枢側を断面積がほぼ等しくなるように二分し、一方を約1 cm中枢で結紮し、切除した。



図2. B. 量的に半減した中枢側神経束を末梢側全神経束と神経縫合した。このとき神経筋入口部にコイル電極をループ状に加工し、設置した。

を用いた。

背側より体外に出したコイル電極と、皮下に別に埋没設置した不感電極を受信機に接続した。

受信機はビーグル犬のサイズに合わせたポケット付きのジャケットを制作し、アルカリ単一電池4個をソケットに入れ受信機と接続したのちポケット内に収納した。術後、ギブス等の外固定は行っていない。発信器は飼育室の外に設置し、発信アンテナを飼育ゲージ外部のビーグル犬から見えない位置に設置した。

ビーグル犬の右側前肢に手術操作を加え、左側前肢の非手術側をコントロールとし、TESを施行した群と、TESを併用しなかった群を6頭ずつ作成した。

(3)TES

術後4週の時点で神経再支配を電気生理学的に確

認した後、TES群のみTESを8週行った(図4)。

刺激条件は、パルス幅0.2msec、周波数20Hzで、刺激強度は-10V、1サイクルの刺激時間を15秒、休止時間を45秒とし、1回に15サイクル行い、これを1時間ごと1日12回施行した。

(4)評価

①最大筋力評価

測定は、一定室温(25-27℃)で行い、筋肉が乾燥しないように生理的食塩水を用い、保湿環境を保った。

術後12週の時点で、手術操作時と同様に、全身麻酔下で筋力の計測を行った。計測方法は、服部の方法¹³⁾に準じて肩甲骨が回旋しないように、創外固定器にて肩甲骨を手術台に固定した。上腕二頭筋の橈骨停止部を橈骨より切離し、切離端に4-0ステンレスワイヤーを通した。上腕二頭筋が肘関節90°で

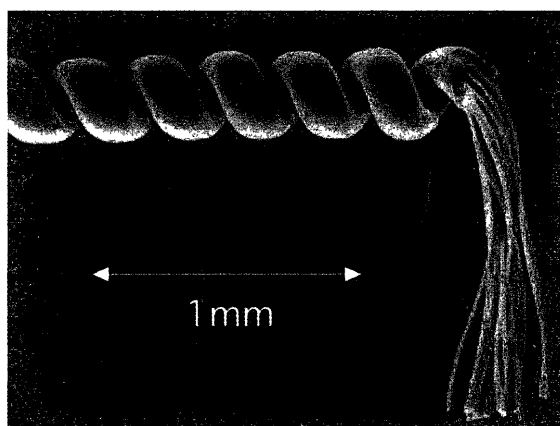


図3. コイル電極

7本の316ステンレス線をより合わせ、テフロンコーティングしたものを、コイル状に巻いてある。

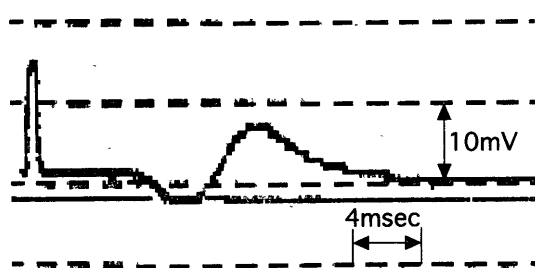


図4. 術後4週の時点で、神経縫合部より中枢での刺激により上腕二頭筋から針電極にて記録された筋電図。

の長さをinitial tensionとし、ワイヤーを牽引して、ボールベアリング式の滑車を使用した移動滑車に固定した。移動滑車は3台使用し、筋力の1/8が伝わるようにし、圧トランスデューサ (TB-612T 日本光電社) に結んだ。移動滑車を使用し、筋力を1/8にしたのは圧トランスデューサの最大測定値が約350gNであったためである。テタノス刺激 (パルス幅0.2msec, 周波数20Hzで、刺激強度は-15V) を神経縫合部より中枢側で行い、右側の上腕二頭筋の最大筋力を測定した。

左側も右側同様に神経、筋肉を展開し、神経筋入口部からの距離が右側と同じになる位置でテタノス刺激を行い、最大筋力を計測した。

②筋耐久性評価

筋耐久性も同様の操作で、最大筋力を維持できた時間を計測し、評価した。

③筋湿性重量評価

末梢端は筋力評価時に上腕二頭筋の橈骨停止部を橈骨より切離しているため、中枢端は上腕二頭筋中枢側筋腱移行部で上腕二頭筋を切離し、筋肉摘出後直ちに筋湿性重量を測定した。

④組織学的評価

筋湿性重量を測定した後、ホルマリンにて5日間固定しHE染色により染色した。組織標本の切り出しは、筋腹中央部で行い、光学顕微鏡 (オリンパス社製) 200倍で筋線維束断面および間質の組織学的変化を観察した。さらにこの映像をコンピュータ (Power PC 4400/200:Macintosh) に取り込み、1検体につき100個以上の筋線維束断面積を画像解析ソフト (NIH Image) で計測し比較した。またAzan-Mallory染色もを行い筋線維束断面および間質の組織学的変化についても、TES群と非刺激群を比較し検討した。

検定はStudent's t-testおよびFisher's PLSD法を用い、 $p < 0.05$ を有意差ありとした。

尚、本実験は山口大学動物実験倫理委員会の承認を得て行った (実験計画書No 35-016)。

結 果

(1)最大筋力

最大筋力はTES群の右側600~880N (平均 710 ± 82.9 N), 左側1800~2880N (平均 2203 ± 408.4 N)で、非刺激群の右側360~560N (平均 455 ± 71.5 N), 左側1650~2400N (平均 1992 ± 299.1 N)であった (表1)。

ビーグル犬間に個体差が大きい為、同一個体での手術側 (右側) とコントロール側 (左側) との最大筋力の比率を算出し、TES群と非刺激群とを比較検討した。

最大筋力比はTES群平均 $32.4 \pm 2.17\%$ 、非刺激群平均 $22.9 \pm 2.52\%$ と有意 ($P < 0.05$) にTES群で最大筋力は向上した。

(2)筋耐久性

筋耐久性も最大筋力と同様にTES群の右側32~69秒 (平均 50.2 ± 11.9 秒), 左側83~128秒 (平均 102.0 ± 15.7 秒)で、非刺激群の右側16~31秒 (平均 23.8 ± 5.27 秒), 左側80~111秒 (平均 97.0 ± 12.5 秒)であった (表1)。

やはりビーグル犬間に個体差が大きい為、同一個体での手術側とコントロール側との耐久性の比率を算出し、TES群と非刺激群とを比較検討した。

筋耐久性もTES群平均 $48.8 \pm 5.95\%$ 、非刺激群平均 $24.6 \pm 4.44\%$ と有意 ($P < 0.05$) にTES群で筋耐久

TES群	刺激期間	右側最大筋力 (N)	左側最大筋力 (N)	最大筋力比 (%)	右側筋耐久性 (秒)	左側筋耐久性 (秒)	筋耐久比 (%)
No.003	8w	620	2100	29.5	50	99	50.5
No.005	8w	600	1800	33.3	32	83	38.6
No.008	8w	640	1800	35.6	50	91	54.9
No.011	8w	800	2400	33.3	53	110	48.2
No.012	8w	720	2240	32.1	47	101	46.5
No.015	8w	880	2880	30.6	69	128	54
平均		710±82.9	2203±404.4	32.4±2.17*	50.2±11.9	102.0±15.7	48.8±5.95*
非刺激群							
No.004	0w	360	1800	20	16	92	17.4
No.006	0w	460	2100	21.9	23	101	22.8
No.007	0w	390	1650	23.6	24	80	30
No.010	0w	480	2240	21.4	28	111	25.5
No.013	0w	480	1760	27.3	21	88	23.9
No.014	0w	560	2400	23.3	31	110	28.2
平均		455±71.5	1992±299.1	22.9±2.52*	23.8±5.27	97.0±12.5	24.6±4.44*

(*: P<0.05)

表1 最大筋力と筋耐久性

TES群	刺激期間	右側湿性重量 (g)	左側湿性重量 (g)	湿性重量比 (%)	右側組織断面積 (μm ²)	左側組織断面積 (μm ²)	断面積比 (%)
No.003	8w	15.6	15.6	100	18124	21322	85
No.005	8w	14.8	15.1	98	24219	22678	106.7
No.008	8w	15.9	15.8	100.6	19871	20324	97.7
No.011	8w	15.4	15.5	99.4	17645	18190	97
No.012	8w	14.9	15	99.3	16583	17187	96.5
No.015	8w	15.6	15.5	100.6	20483	19809	103.4
平均		15.4±0.43	15.4±0.31	99.7±0.98	19488±2728	23392±12168	97.7±7.44
非刺激群							
No.004	0w	13.8	14.2	97.2	19331	18793	102.9
No.006	0w	15.4	15.6	98.7	47980	42611	112.6
No.007	0w	14.1	14.2	99.3	18724	19856	94.3
No.010	0w	15.3	15.4	99.4	16883	17865	94.6
No.013	0w	14.8	14.9	99.3	16334	16926	96.5
No.014	0w	15.4	15.4	100	21098	20189	104.5
平均		14.8±0.70	15.0±0.63	99.0±0.97	19918±2010	22707±9827	100.9±7.16

表2 湿性重量と筋線維束断面積

性も向上した。

(3)筋湿性重量

筋湿性重量はTES群の右側14.8~15.9g (平均15.4±0.43g), 左側15.0~15.8 (平均15.4±0.31g) で, 非刺激群の右側13.8~15.4 (平均14.8±0.70g), 左側14.2~15.6g (平均15.0±0.63g) であった (表2)。

筋湿性重量も個体差なくするため手術側とコントロール側との重量の比率を算出し, TES群と非刺激群とを比較検討した。

筋湿性重量比はTES群平均99.7±0.98%, 非刺激群平均99.0±0.97%と有意差を認めなかった。

(4)組織学的評価

上腕二頭筋のHE染色ではコントロール群, TES群, 非刺激群とも筋線維は多角形で, 大小不同はほとんどなく, 細胞質も一様に染まっていた。核の局在性・染色濃度に変化はなかった。炎症細胞等の浸潤も認められなかった。非刺激群においてのみ間質の拡大が認められ (図5), Azan-Mallory染色で非刺激群の間質に著明な線維化を認めた。筋線維束内

には線維化は認めなかった (図6)。

筋線維束断面積はTES群の右側16583~24219 μm² (平均19488±2728 μm²), 左側16334~47980 μm² (平均23392±12168 μm²) で, 非刺激群の右側17187~22678 μm² (平均19918±2010 μm²), 左側16926~42611 μm² (平均22707±9827 μm²) であった (表2)。

筋線維束断面積も個体差をなくするため手術側とコントロール側との筋線維束断面積の比率を算出し, TES群と非刺激群とを比較検討した。

筋線維束断面積比はTES群97.7±7.44%, 非刺激群100.9±7.16%と有意差を認めなかった。

考 察

今回の研究では, 実際の遊離機能的筋肉移植を想定して, 作動神経の運動線維数を半減させた機能的遊離筋肉移植モデルを用いて, 神経再支配後の筋力増強に対するTESの効果を検討し, 最大筋力と筋耐久性の増加を認め, その有用性を確認した。

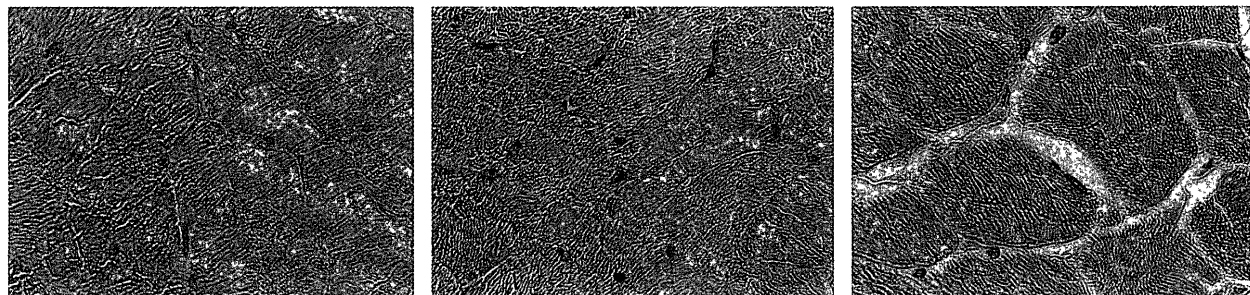


図5. HE染色 A:コントロール群 B:TES群 C:非刺激群

コントロール群, TES群, 非刺激群とも筋線維は多角形で, 大小不同はほとんどなく, 細胞質も一様に染まっていた。核の局在性・染色濃度に変化はなかった。炎症細胞等の浸潤も認められなかった。非刺激群においてのみ間質の拡大が認められた。

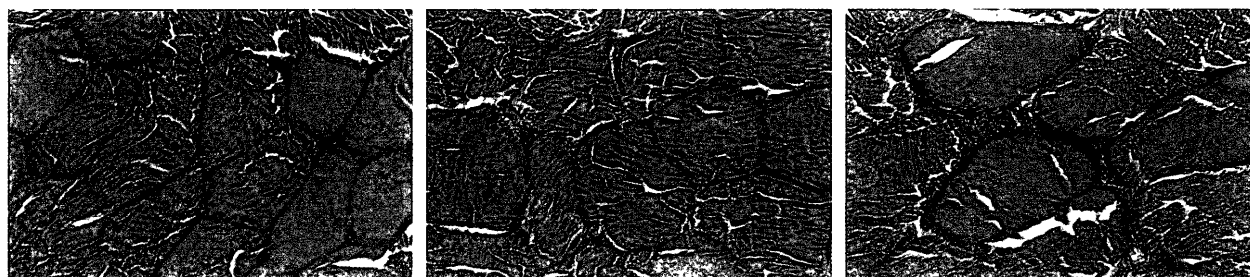


図6. Azan-Mallory染色 A:コントロール群 B:TES群 C:非刺激群

非刺激群の間質に著明な線維化を認めた。筋線維束内には線維化は認めなかった。

これまでの実験的研究^{11, 12, 18, 21)}により末梢神経損傷による脱神経筋の筋萎縮を電気刺激で軽減できることが報告されてきた。しかし電気刺激がどのような機序で筋萎縮の程度を軽減するかについて明確な報告はない。末梢神経損傷による脱神経筋の筋線維は経時的に不可逆的な萎縮に陥る。理論的には、この筋萎縮が可逆的な時期に再神経支配が生じれば、その筋線維の萎縮は予防され得る。これまでのEdds⁷⁾, Guth⁸⁾, Hoffman⁹⁾の研究から、支配神経に部分的な損傷を加えた骨格筋の筋力回復には筋肉内残存神経からのcollateral sproutingによる脱神経筋への神経再支配が関与することが判明している。すなわち支配運動神経繊維数の減少を、一つの神経が支配する筋線維数 (motor unit) を増やすことにより代償する機構であり、ラットやマウスでは4～5倍のmotor unitの増加が報告されている。また、

それ以外にも神経の支配を受けている筋線維がoverwork effectで肥大することによって筋収縮力が増加することも報告されている¹⁴⁾。神経縫合後には全ての運動神経線維が理想的に再支配するとは考えられず、同様の機序での筋力回復が生じるものと推測できる。金谷¹¹⁾は、神経交差縫合後に一旦萎縮した筋終板は回復し、その带状配列が不変なことから再生神経は新しく終板を作るのではなく既存の終板に到達すると推察しており、遊離機能的筋肉移植のような作動神経が異なる神経縫合の神経再支配機序も単純な神経縫合同様であることを証明した。本実験の結果、筋線維束断面積比はTES群と非刺激群に有意差なく、電気刺激による筋線維の肥大による筋力の増強では無かった。実験結果からは、最大筋力と筋耐久性が増加した理由としては、次の事柄が考えられる。

筋線維数の実測は行ってないが、非刺激群の方がTES群に比較して間質の拡大が認められたにもかかわらず、筋湿性重量比に差がなく、筋線維束断面積比にも差を認めなかった。このことより筋線維数はTES群のほうが多いと推察した。

筋線維数がTES群で非刺激群より多くなった理由としては、電気刺激による筋線維の増殖あるいは筋線維の減少抑制の二通りの考え方が可能である。現在の筋肉再生の主流な考え方では、骨格筋が損傷を受けると損傷部位に隣接する筋線維上の筋衛星細胞は活性化され、分裂増殖を開始する。活性化された筋衛星細胞は筋芽細胞に分化し、損傷部位に遊走する。損傷した筋線維にはマクロファージが浸潤し、これを貪食する。筋芽細胞はその周りを取り囲むように配向し、やがて互いに融合して新たな筋管細胞を形成し最終分化を遂げる。埜中¹⁵⁾は筋線維が再生に至るには筋線維の壊死と、壊死に陥った後の筋線維へのマクロファージの進入が不可欠であるとしている。糖尿病等の代謝性疾患や神経原性筋萎縮症では筋線維は変性あるいは萎縮するがマクロファージの進入がないので再生は起こらない。マクロファージなどの浸潤細胞や障害周囲組織から分泌される何らかのサイトカインが筋衛星細胞を活性化すると述べている。今回の実験では、後述するように電気刺激条件も組織損傷を起こさない点に配慮したものを選択しており、組織学的にも筋肉内にマクロファージ等の炎症細胞の浸潤は認められなかったことから、筋線維の増殖は否定的であるといえる。しかしながらin vitroの実験的研究では筋衛星細胞の成長因子として多くのものが報告されており、電気刺激により何らかの作用機序が働き、筋衛星細胞の成長因子が分泌されたり、あるいは電気刺激が直接筋衛星細胞を活性化させた可能性は否定できない。

一方、電気刺激が神経再支配後の筋線維の減少抑制に作用したとすれば、遅れている神経再生を電気刺激が促進した可能性と、再支配神経からまだ神経再支配されていない脱神経筋へのcollateral sprouting⁷⁻¹⁰⁾を電気刺激が促進させ、非刺激群より多くの筋線維がTES群において維持できた可能性が挙げられる。前者については、金谷¹¹⁾、根本ら¹²⁾の神経縫合直後からの電気刺激の実験的研究において、非刺激群との間に神経再支配までの期間に差が無かったことから否定的であり、後者の関与を推察

しているがこの点に関しては更なる検討が必要である。

TES群では非刺激群より間質の線維化が、少なかった。これは金谷¹¹⁾や根本ら¹²⁾の実験と同様であった。金谷¹¹⁾は電気刺激が筋血流量を増加させることにより筋萎縮を軽減させるとし、筋内膜・筋周膜における浮腫の停留を軽減することによりその線維化を軽減しているとしている。このことから筋拘縮がTES群において少なかったと考えられ、筋線維の滑走性がよく、TES群において最大筋力と筋耐久性が良好であったことが考えられる。

筋耐久性の増加は酸化酵素や毛細血管密度の増加と関連があるとする報告もある。Martinら¹⁶⁾は脊髄損傷患者に電気刺激を行い、筋肉内の酸化酵素活性が上昇と筋耐久性の向上の関連を報告している。また、金谷ら¹¹⁾は脱神経筋において電気刺激で筋肉内の血流量の増加することを水素クリアランス法により示し、神経再支配後の筋肉の回復が電気刺激群の方がよいことを示している。また酸化酵素や血流の増加のみで筋の耐久性が増加するのではないという報告もある^{17, 18)}。Kubisら¹⁷⁾は筋組織培養で細胞内Ca濃度が増加すると、酸化酵素の増加と解糖系酵素の減少に伴ってslow myosinの発現が増加しType1線維が増加すると報告している。このことより田中ら¹⁸⁾は低頻度持続的電気刺激(20Hz以下)でCa濃度が上昇し、筋線維のfast-to-slow変換が起こり、筋耐久性が上昇すると報告している。電気刺激には刺激条件により様々な効果があり、今回の実験でも最大筋力と筋耐久性の両方が増加する結果となったと考える。

刺激条件については、周波数を20Hz、パルス幅を0.2ms、刺激強度を-10Vとする半田ら¹⁹⁾の機能的電気刺激の刺激条件に準じた。半田らは、より強い収縮力を得るために刺激周波数を上げると、周波数に比例して等尺性収縮力は増えるものの、等張性収縮力の時間依存性低下をきたすいわゆる疲労現象が生じ、15Hz以下の刺激では機能的な収縮力は得られないと述べている。さらに、周波数は15-20Hzに固定して収縮力の調整はパルス幅で調節すると最大筋力は0.1-0.2msの間でplateauになるとしている。刺激振幅は、筋肉によって差があり埋め込み電極の場合、1V~10数Vであるとしている。今回の実験に際して予備実験を行ったが、ビーグル犬において

はパルス幅を0.2msに固定して周波数を上げると最大筋力は上昇したが、50Hzを越えたところより筋力の時間依存性の低下が著明となった。10Hz以下では肉眼的に機能的な収縮を示さなかった。周波数を20Hzに固定しパルス幅を0.1msより徐々に上げると0.2msでplateauに達した。予備実験では周波数を20Hz、パルス幅を0.2msに固定した条件で刺激電圧を上げていくと10~15Vの間に最大刺激電圧が存在することを確認した。大場ら²⁰⁾は最大上刺激を越える電気刺激は神経・筋ならびに周囲軟部組織を障害するとしている。このため刺激電圧は10Vと設定した。

最大筋力より筋耐久性の増加が顕著に認められたのは、刺激条件が遅筋優位であったためと考えられる。原田ら²¹⁾は低頻度電気刺激はType 1線維、高頻度電気刺激ではType 2線維の萎縮を予防できるとし、大場ら²⁰⁾は、電気刺激には、麻痺によるType 1線維比率の低下を抑制する効果があるとしている。これらより今回の実験の刺激頻度は遅筋優位であったといえる。

麻痺筋における代償性肥大による筋力の回復の報告^{14, 22)}はあるが、認められなかったという報告^{11, 12, 16, 18)}もある。今回の実験では筋肥大は認められなかった。この理由としては刺激条件および刺激期間にあるのではないかと考えている。半田ら¹⁹⁾は最大筋力の増加はFES開始後2~3ヶ月後から著明に認められるとし、Kernら²²⁾は周波数を16~25Hz、パルス幅を30-50ms、刺激強度を250mAの刺激条件で1日1.5~2時間、2年以上FESを行い筋肥大と筋力の増強を得たと報告している。今回の実験では1日の刺激回数と刺激期間の不足から筋肉の代償性肥大が認められなかったのではないかと考えている。

これまでのTESの実験的・臨床的研究^{11, 12)}は脱神経筋の筋萎縮を予防することに主眼がおかれてきた。Gundersen²³⁾は筋肉組織に影響する因子の中で、筋の電氣的活動が最も重要な因子であるため、随意的な電氣的活動が減少した脱神経筋は筋萎縮を生じると述べている。このことより根本ら¹²⁾は、脱神経筋にペースメーカーによる刺激を行い、脱神経による筋萎縮と筋肉の線維化による拘縮の予防ができると報告している。今回の実験は、神経再支配後にTESを開始する点で、これまでの研究とは異なるが、Azan-Mallory染色においてTES群に間質の線

維化が少なかったことなどから、神経再支配後においても、電気刺激により筋萎縮と筋肉内の線維化による拘縮の予防もできると考えている。

今回の実験ではTES群において非刺激群より最大筋力と筋耐久性の向上を認めたが、健常筋と同等のレベルまでの向上は得られなかった。刺激条件については今回一条件でしか行っておらず、他の刺激条件での検討を行っていない。また刺激期間も8週間に設定しているのみで、経時的変化の検討がなされていない。今回の条件よりもより最適な刺激条件が存在する可能性がある。諸家のFESによるデータを考慮すると刺激回数、刺激時間および刺激期間を増やせば、さらにTESの効果が期待できる可能性があると考えている。

ま と め

機能的筋肉移植におけるTESの有用性に関する実験的検討を行い、8週間のTESにより移植筋モデルの最大筋力ならびに筋耐久性の向上を認めた。刺激条件や刺激期間の変更により、今後さらに効果が期待できる可能性があると考えている。

謝 辞

稿を終えるにあたり、御指導ならびに御校閲を賜りました山口大学医学部高次統御系・整形外科講座 河合伸也教授に深甚なる謝意を表します。また本実験に際し、終始直接御指導下さいました重富充則助手に深甚なる謝意を表します。ならびに本実験に御協力、御助言いただきました小郡第一総合病院 土井一輝院長、服部泰典部長に心より感謝いたします。

本稿の一部は、第15回日本骨・軟骨・軟部組織移植研究会、第24, 25回日本マイクロサージャリー学会、第42回日本手の外科学会、第8回International Research Society of Orthopaedic Surgery and Traumatology Meeting (SIROT)において発表しました。

参考文献

- 1) Harii K, Ohmori K, Sekiguchi J. Free gracilis muscle transplantation with microvascular anastomosis for the treatment of facial paralysis. *Plast Reconstr Surg.* 1976 ; 57 : 133-143.
- 2) Sixth Peoples Hospital, Microvascular Service, Shanghai. Free muscle transplantation by microsurgical neurovascular anastomoses. *Clin Med J.* 1976 ; 2 : 47.
- 3) Doi K, Sakai K, Kuwata N, Ihara K, Kawai S. Reconstruction of finger and elbow function after complete avulsion of the brachial plexus. *J Hand Surg* 1991 ; 16A : 796.
- 4) Doi K, Sakai K, Kuwata N, Ihara K, Kawai S. Double free-muscle transfer to restore prehension following complete brachial plexus avulsion. *J Hand Surg.* 1995 ; 20A : 408-414.
- 5) Ikuta Y, Kubo T, Tsuge K. Free muscle transplantation by microsurgical technique to treat severe Volkmann's contracture. *Plast Reconstr Surg* 1976 ; 58 : 407-411.
- 6) 服部泰典, 土井一輝, 池田慶裕. 全型腕神経叢損傷に対する手指機能再建術 - Double Muscle 法の長期成績 -. 日本手の外科学会誌. 2003 ; 20 : 164-168.
- 7) Edds, MV. Jr. Collateral nerve regeneration. *Q. Rev. Biol.* 1953 ; 28 : 260-276.
- 8) Guth, L. Neuromuscular function after regeneration of interrupted nerve fibers into partially denervated muscle. *Exptl. Neurol.* 1962 ; 6 : 129-141.
- 9) Hoffman, H. Local re-innervation in partially denervated muscle: a histo-physiological study. *Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci.* 1950 ; 28 : 383-397.
- 10) 朴 修三, 波利井清紀, 上田和毅. 神経部分切除後の等尺性収縮力の経時的変化. 日本手の外科学会雑誌. 1988 ; 5 : 6-10.
- 11) 金谷文則. 脱神経性筋萎縮に関する実験的検討 - それに対する電気刺激の効果と不動性萎縮との比較 -. 日本整形外科学会雑誌. 1988 ; 62 : 635-651.
- 12) 根本孝一. 持続的電気刺激の脱神経筋におよぼす影響に関する実験的研究. 日本手の外科学会雑誌. 1988 ; 5 : 11-14.
- 13) Hattori Y, Doi K, Fuchigami Y, Abe Y, Kawai S. Experimental Study on Donor Nerves for Brachial Plexus Injury : Comparison Between the Spinal Accessory Nerve and the Intercostal Nerve. *Plast. Reconstr. Surg.* 1997 ; 100 : 900-906.
- 14) Kinney CL, Jaweed MM, Herbison, GJ, Ditunno JF. Overwork effect on partially denervated rat soleus muscle. *Arch. Phys. Med. Rehabil.* 1986 ; 67 : 286-289.
- 15) 壺中征哉. 筋肉の再生機構. 医学のあゆみ. 2001 ; 199 : 1045-1048.
- 16) Martin TP, Stein RB, Hoepfner PH, Reid DC. Influence of electrical stimulation on the morphological and metabolic properties of paralyzed muscle. *J Appl Physiol* 1992 ; 72 : 1401-1406.
- 17) Kubis HP, Haller EA, Wetzel P, Gros G. Adult fast myosin pattern and Ca²⁺-induced slow myosin pattern in primary skeletal muscle culture. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1997 ; 94 : 4205-4210.
- 18) 田中尚文. ラット長腓骨筋の電気刺激に関する生理・組織学的研究. リハビリテーション医学. 2000 ; 37 : 445-452.
- 19) 半田康延, 小松 繁, 中土幸男, 八木 了, 杉本良洋, 星宮 望. 麻痺上肢への機能的電気刺激. 信州医誌. 1983 ; 31 : 389-401.
- 20) 大場雅史. 麻痺筋に対する電気刺激による筋組織や筋力, 筋疲労の経時的変化に関する実験的研究. 日本整形外科学会雑誌. 1995 ; 69 : 708-720.
- 21) 原田義昭. 脱神経筋の実験的研究 (2) 脱神経筋に対する電気刺激の影響に関する実験的研究. 日本整形外科学会雑誌. 1983 ; 57 : 859-867.
- 22) Kern H, Hofer C, Modlin M, Forstner C, Raschka-Hogler D, Mayr W, Stohr H. Denervated Muscles in Humans ; Limitations

and Problems of Currently Used Functional
Electrical Stimulation Training Protocols.
Artif. Organs. 2002 ; **26** : 216-218.

- 23) Gundersen, K. Determination of muscle
contractile properties : the importance of the
nerve. *Acta. Physiol. Scand.* 1998 ; **162** : 333-
341.

Effect of Therapeutic Electrical Stimulation Following Functioning Muscle Transplantation

Noboru KANEKO
(Director : Prof. Shinya KAWAI)

*Dept of Orthopedics. and. Human Science, Yamaguchi University School of Medicine
1-1-1 Minami kogushi, Ube,755-8505, Japan*

SUMMARY

Functioning muscle transplantation (FMT) can provide useful in extremity reconstruction, but the motor nerve fascicles available for reinnervation are often insufficient. The purpose of this study was to investigate the effect of therapeutic electrical stimulation (TES) following FMT when there were insufficient motor nerve fascicles available. The right musculocutaneous nerve, which innervates the biceps brachia in a beagle dog, was used. The motor branch of the nerve was severed 1 cm proximal to the neuromuscular junction. The proximal nerve stump contained several fascicles. Half of these fascicles were shortening by 1 cm then ligated. The remainder was sutured to the distal stump. An electrode of stimulator was placed at the neuromuscular junction of the biceps brachia. Half of the dogs received TES for eight weeks, while the other half (control group) received no stimulation. In both groups, power and endurance of the muscle were measured. After eight weeks, the power and endurance of the muscle in the dogs receiving the TES were greater than for the control group. These results suggest that TES following FMT increases the power and the endurance of the reinnervated muscle.