

7) ジストロフィーマウスの運動ニューロンの 電気的性質

江橋節郎*

研究協力者 宮田雄平** 大塚正徳**

従来、我々はマウスを用いてジストロフィー症の成因に関する基礎的研究を続けてきた。筋移植の実験からは筋以外の要素がマウスのジストロフィー症に関与していることを示唆した (Hironaka & Miyata, 1975)。さらに、ジストロフィーマウスに神経系の異常が存在することを見出し、報告した (大塚ら, 1974)。

筋肉の性質は、これを支配する運動ニューロンの性質によりある程度規定されていることが交叉神経支配の実験 (Buller, Eccles & Eccles, 1960) などから知られている。一方、運動ニューロンの正常の性質が維持されるためには、少くとも筋肉の存在、特に筋肉のある活動状態が必要であることが最近の我々の実験 (Kuno, Miyata & Muñoz-Martinez, 1974; および未発表データ) で明らかとなった。すなわち、運動ニューロンと筋肉はお互いに影響を与えあい、各々の正常の機能を維持していると考えられる。

ジストロフィー症のように筋肉に異常のみられる場合、運動ニューロンの性質が、どのようであるかを知ることがジストロフィー症の理解にとって重要である。ジストロフィーマウスの運動ニューロンの性質についてはわずかに組織学的に調べられているだけで (Papapetropoulos & Bradley, 1972)、膜の性質、興奮性等はいまだ調べられていない。

今回、微小電極法をジストロフィーマウスに用いて、細胞内記録により運動ニューロン

の電気的性質を調べた (Huizar, Kuno & Miyata, 1975) ので報告し、従来の我々の実験結果とあわせて考察を加える。

実験方法

ジストロフィーマウスは129/ReJ dy/dy でコントロールとして+/+及び?/+を用いた。一部の実験で C57 BL/6J dy^{2J}系マウスを用いた。

ペントバルビタール麻酔 (75mg/kg, 腹腔内) 下に椎骨除去術を行ない腰部脊髓を露出し、左側後根は切断した。露出した脊髓に接した頭尾両端の椎骨を、先端が細くなった金属棒で固定し、矢状方向に伸展し脊髓の動きを少なくした。露出した脊髓表面は2%寒天で覆った。左側下肢で坐骨神経を露出し、電気的に刺激し、運動ニューロンの固定に用いた。坐骨神経はパラフィンで覆い、実験中に乾燥しないようにした。

ガラス微小電極 (2M K-acetate, 電極抵抗 8-30MΩ) を脊髓運動ニューロンに刺入し、電気的諸性質の解析を行った。

結果

運動ニューロンの伝導速度 図1は正常 (図1A, D) およびジストロフィーマウス (図1B, C および E) の運動ニューロンからの細胞内記録を示している。

坐骨神経を刺激しながら運動ニューロンに微小電極を刺入し、逆向性活動電位を記録すると、正常マウスの運動ニューロン (以下正常運動ニューロンと呼ぶ) とジストロフィー

* 東京大学医学部薬理

** 東京医科歯科大学医学部薬理

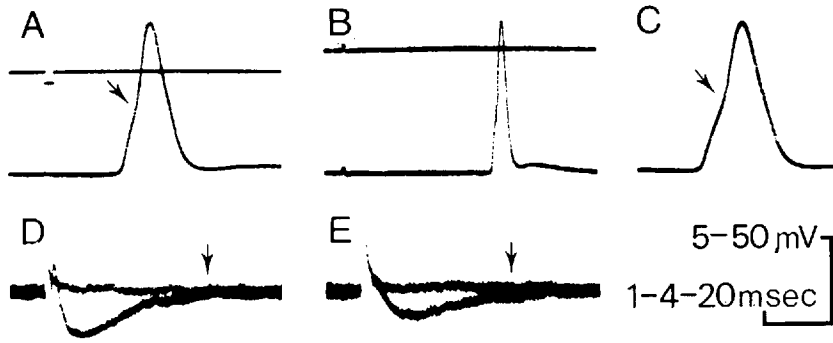


図1 運動ニューロンからの細胞内記録
 A.D.正常マウス, B.C.E.ジストロフィーマウス。
 CはBの活動電位を早い掃引で記録したもの。
 A.B.の時間軸の違いに注意。
 校正は A.C. 1 msec, 50mV; B. 4 msec, 50mV;
 D.E. 20 msec, 5mV.

表1 正常及びジストロフィーマウスの運動ニューロンの性質

	伝導速度 m/sec	静止電位 mV	活動電位 mV	後過分極 msec
正常	55 ± 9 (33)	67 ± 6 (18)	86 ± 7 (18)	31 ± 5 (17)
ジストロフィー	5.3 ± 1.5* (22)	65 ± 7 (8)	85 ± 5 (8)	38 ± 8* (8)

数値は平均値 ± S.D. () 内は細胞の数。* は正常とジストロフィーの間に有意差のあることを示す (P < 0.05)。

マウスの運動ニューロン (以下 dy-運動ニューロンと略す) の著しい違いは、dy-運動ニューロンの伝導時間が極度に長いことであった。伝導距離 (刺激部位より記録部位までの距離) を伝導時間で割り、伝導速度を算出すると、dy-運動ニューロンでは 5.3 m/sec と正常運動ニューロン (55 m/sec) の約 1/10 であることがわかった (表 1)。

坐骨神経を刺激し、足底神経より記録して末梢の伝導速度を測定したところ、ジストロフィーマウスの末梢の伝導速度は 30 m/sec であって正常の 41 m/sec よりもやや遅いが、10 倍の差は説明しえない。従って伝導速度の低下は主に前根でおこっていると云える。前根

の伝導速度は 2.3 m/sec 以下であることが計算により求められた。

細胞体の性質 生後 100 日以上のマウスからの細胞内記録 (図 1) より活動電位が 75 mV 以上の運動ニューロンにつき解析をおこなったところ、静止電位 (正常, 66 mV; dy, 65 mV) および活動電位 (正常, 86 mV; dy, 85 mV) は正常とジストロフィーの間に有意の差はみられなかった (表 1)。

図 1 A (正常), C (ジストロフィー) の矢印は活動電位の屈曲点 (IS-SD 移行部) を示している、この電位レベルは運動ニューロン細胞体の閾値を示すと考えられるが、正常 (38 mV) とジストロフィー (35 mV) との間に差はみられなかった。さらに細胞内に矩形波電流を流し膜抵抗を測定したところ、dy-運動ニューロンは 3.4 MΩ で正常 (3.5 MΩ) との間に差はみられなかった。

細胞内に脱分極性の短いパルスを流し、活動電位を発生させ、活動電位に続く後過分極の期間を測定すると (図 1 D, E), ジストロフィーでは 38 msec と正常の 31 msec よりやや長く有意の差が認められた (表 1)。

神経線維間の電気的干渉 正常運動ニューロンでは、一回の坐骨神経刺激に対応して一個

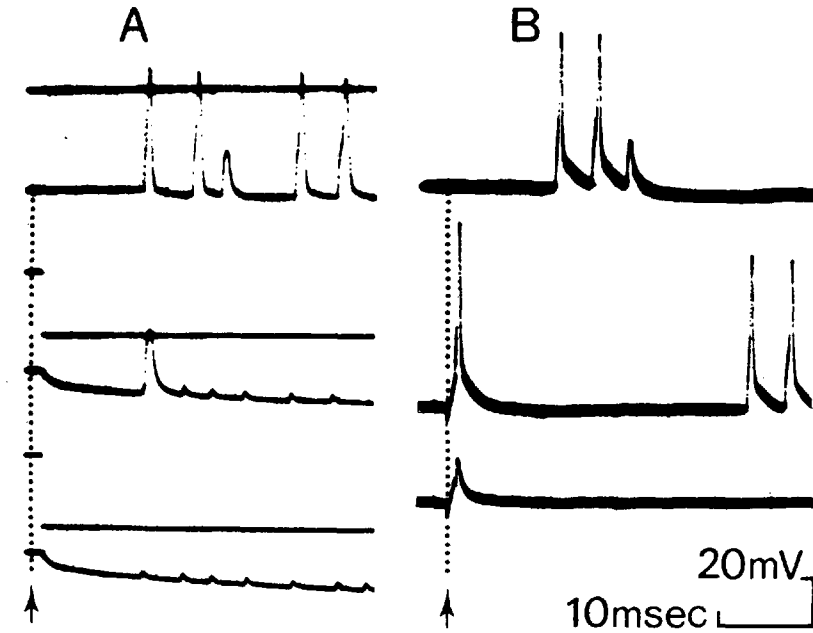


図2 逆向性刺激(A)および細胞内刺激(B)に対するジストロフィーマウスの運動ニューロンの反応。矢印は刺激の時点。Aの中および下段では刺激後に過分極性電流を通电した。Bの上段は逆向性刺激に対する反応。中下段は脱分極パルス(閾値上及び閾値下)に対する反応。

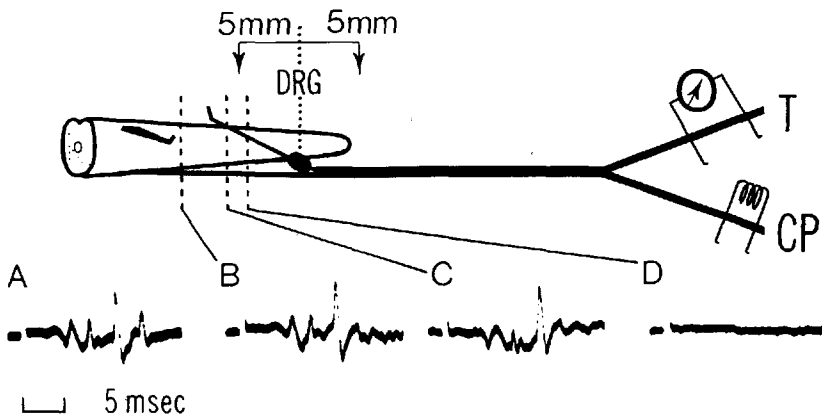


図3 上の図は実験方法を模式的に示している。DRG; 後根神経節, T: 脛骨神経, CP: 総腓骨神経。Aは前根切断前, B.C.Dは切断箇所に対応する記録。

の逆向性活動電位が記録される(図1 A)が、*dy-*運動ニューロンでは一回の刺激に対し、一定の伝導時間をもった逆向性活動電位とそれに続いて間隔不規則な反復性スパイクがしばしば観察された(図2)。細胞内に過分極性電流を流すと(図2 A)、これらの反復性活動電位のSDスパイクはブロックされ、IS或いはMスパイクのみが残ることが観察された。細胞内に脱分極性の短いパルスを流し、活動電位を発生させても、反復性スパイクは直後にはおこらず、約30msecの遅れの後に出現した(図2 B)。これらのことは反復性スパイクのおこる部位が細胞体ではなく、軸索のどこかであることを示している。

下肢で脛骨神経と総腓骨神経を刺激するとどちらの神経刺激にも応ずる運動ニューロンにしばしば遭遇したことなどから、反復性スパイク現象の一つの説明として、活動電位が神経線維から神経線維へととり移ることが考えられた。

後根を切断しておき、脛骨神経および総腓骨神経を遊離し、一方を刺激し他方より記録を行なうと図3 Aのように刺激時点から数

msecの遅れ後に反復性発射がおこることが観察された。反復反射のおこっている部位を調べるために、前根を脊髄側より少しずつ切断してゆくと後根神経節から約4 mmの部位で反復発射は消失した(図3 D)。さらに別の例で後根神経節の末梢側で神経を切断しても同様に反復発射は消失した。これらの実験は、一方の神経線維の神経活動が他方の神経線維に興奮をひきおこす(これを以下 *cross-talk* と呼ぶ)可能性を支持するものであり、その部位は前根の末梢部分でおこっていることを示している。

反復発射の筋収縮に対する影響 ジストロフィーマウス(C57 BL/6J *dy^{2J}/dy^{2J}*)の一例の下肢において、坐骨神経を刺激し、腓腹筋より収縮を記録すると、早い収縮成分のあとに遅い収縮成分が約100msecと続くのが観察された(図4 a)。坐骨神経を切断し、その末梢側で刺激すると速い成分は変化ないが遅い成分は消失した(図4 b)。後根を切断してにおいて坐骨神経の中枢端を刺激し、同時に記録を行なうと図4cのように反復発射が認められた。

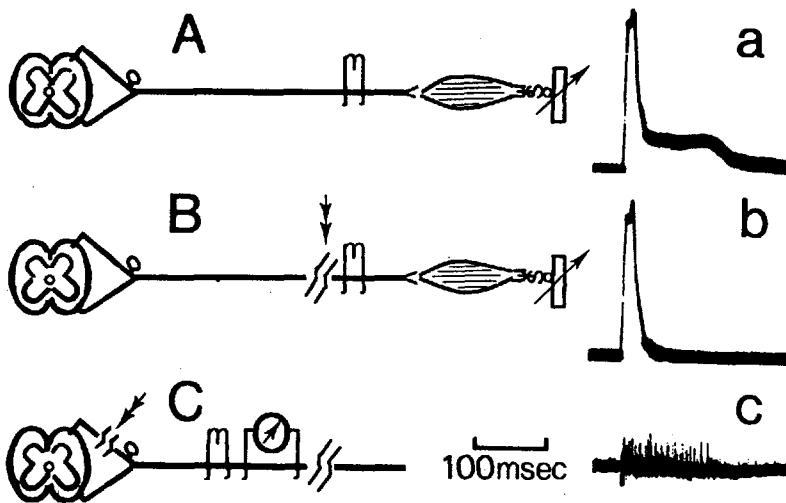


図4 A.B.Cは実験方法を模式的に示している。
 a. b. cはそれぞれの実験に対応する腓腹筋の等尺性収縮(a, b)と神経活動(c) この実験ではC57 BL/6J *dy^{2J}/dy^{2J}*を用いた。

考 察

ジストロフィーマウスの運動ニューロンの性質は調べた限りでは二つのパラメーター(伝導速度および後過分極の期間, 表1)において正常と異なっていることが明らかとなった。特に伝導速度を指標にとる限りすべてのジストロフィーマウスの運動ニューロンは一様に異常であると云える。最近の組織学的検索により, ジストロフィーマウスの前後根に髄鞘が無いことが報告されているが (Bradley & Jenkison, 1973; Salafsky & Stirling, 1973), ジストロフィーマウスの運動ニューロンの伝導速度の低下は, 髄鞘の無いことにより説明されよう。特に伝導速度の低下が前根に限局していることは, 組織学的検索と一致する。さらに, ジストロフィーマウスでみられる神経線維間の興奮伝達 (cross-talk) も髄鞘欠損のためにおこっていると考えられる。Cross-talkの発生機構は今後の実験で明らかにされねばならないが, 一つの可能性として無髄部で神経活動に伴ってK⁺イオンの流出がおこり, それが線維間隙に蓄積されるために (Kuffler & Nicholls, 1966), それ自身あるいは隣接した神経線維が脱分極され反復発射がおこると考えられる。

以前の報告 (大塚ら, 1974) でジストロフィーマウス (C57 BL/6J dy/dy) の末梢神経を刺激し, 神経活動および筋電図を記録すると反復放電が観察され, また中枢側で神経を切断すると神経と筋電図の反復放電が消失したことより, ジストロフィーマウスにおいては中枢の反射が亢進していることを推定した。今回報告した実験結果からは以前の反復放電は cross-talk によるものと考えられるが, 用いたマウス種が異なっていることと, 以前の実験では後根を切断していないので, 反射の亢進によるものか, cross-talkかは今後明らかにする必要がある。しかしながら, 筋電図の反復放電や図4の筋肉収縮の遅い成分は, 神経由来の反復放電によりひきおこされたものであり, 神経筋接合部の異常や筋線維の反復放電 (Adrian & Bryant, 1974) に

よるものでないことは明らかである。

ジストロフィーマウスの運動ニューロンの異常と筋肉の異常がどのような関係にあるかは明らかでないが, 1) 筋肉の異常により運動ニューロンの変化がひきおこされた, 2) 運動ニューロンの変化により筋肉の異常がひきおこされた, 3) 各々の異常は独立しておこっている, 三つの可能性が考えられよう。髄鞘欠損によっておこると考えられる cross-talk は正常の運動ニューロンの発火パターンを変え, 筋肉の収縮に影響を与えている (図4) ことから2)の可能性を示唆するが, 最も臨床像の重い 129 ReJ dy/dy マウスでも最も臨床像の軽い C57 BL/6J dy²¹/dy²¹ マウスでも cross-talk は同様に存在することからは3)の可能性を否定できない。

ネコの実験からは運動ニューロンの性質, とくに後過分極の期間は筋肉の存在状態により変化することから (宮田, 1975参照), 後過分極の期間がジストロフィーマウスでは正常より長いということは筋肉からの影響 (図1) の可能性) を反映しているのかもしれない。ジストロフィーと正常マウスの坐骨神経を切断すると正常54msec, ジストロフィー 55msecと軸索切断後に後過分極の期間は延長する (Huizar et al., 1975) このことは, 正常及びジストロフィー運動ニューロン共に軸索切断に対する反応は同じであり, 両マウスとも運動ニューロンの性質は筋肉からの影響を受け, 維持されていると考えられる。

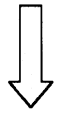
後 記

本報告での実験はアメリカ, ノースカロライナ大学医学部生理学教室において, 久野教授及び Dr. Huizar と行なった共同実験である。

文 献

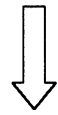
- 1) R.H. Adrian & S.H. Bryant : J. Physiol., 240, 505, 1974.
- 2) W.G. Bradley & M. Jenkison : J. neurol. Sci., 18, 227, 1973.

- 3) A. J. Buller, J. C. Eccles & R. M. Eccles :
J. Physiol., 150, 417, 1960.
- 4) T. Hironaka & Y. Miyata : Exp. Neurol.,
47, 1, 1975.
- 5) P. Huizar, M. Kuno & Y. Miyata : J.
Physiol., 248, 231, 1975.
- 6) S. W. Kuffler & J. G. Nicholls : Ergebn.
Physiol., 57, 1, 1966.
- 7) M. Kuno, Y. Miyata & E. J. Muñoz-Mar-
tinez : J. Physiol., 242, 273, 1974.
- 8) 宮田雄平 : 日本臨床, 33, 3, 1975.
- 9) 大塚正徳, 弘中哲治, 宮田雄平, 小西史朗 :
厚生省進行性筋ジストロフィー症研究業
績集 (II), 223, 1974.
- 10) T. A. Papapetropoulos & W. G. Bradley :
J. Neurol. Neurosurg. Psychiat., 35,
60, 1972.
- 11) B. Salafsky & C. A. Stirling : Nature,
New Biol., 246, 126, 1973.



検索用テキスト OCR(光学的文字認識)ソフト使用

論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります



従来,我々はマウスを用いてジストロフィー症の成因に関する基礎的研究を続けてきた.筋移植の実験からは筋以外の要素がマウスのジストロフィー症に関与していることを示唆した(Hironaka & Miyata,1975).さらに,ジストロフィーマウスに神経系の異常が存在することを見出し,報告した(大塚ら,1974).