

氏 名	楊 青
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2217 号
学位授与の日付	平 成 12 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	医 学 研 究 科 脳 統 御 医 学 系 専 攻
学位論文題目	Effect of maturation on nerve excitability in an experimental model of threshold electrotonus (閾値電気緊張法の動物実験モデルを用いた末梢神経の興奮性に対する成熟の影響について)

論文調査委員 (主 査)
教 授 大 森 治 紀 教 授 井 出 千 束 教 授 柴 崎 浩

論 文 内 容 の 要 旨

Threshold electrotonus 法 (閾値電気緊張法; TE 法) は, 1988 年に Bostock らにより考案された検査法で, 生体においてヒトの末梢神経の膜電位変化や K⁺チャネルなどの機能を, 簡単に非侵襲的に評価することができる方法である。従来の神経伝導検査は, 伝導速度, 伝導ブロック, 伝導している神経線維数を調べるものであり, それらのもたらす情報は神経線維そのものよりも, それを取りまく髄鞘の機能を, より多く反映している。従って, TE 法は従来の神経伝導速度を補完し, 神経線維そのものの機能を臨床的に知る有力な検査法となることが期待される。

最近, TE 法の臨床応用がなされ, 筋萎縮性側索硬化症や糖尿病性ニューロパチー, 中毒性ニューロパチー, Lewis-Sumner 症候群, monomelic amyotrophy with spinal hemiatrophy (MASH) の患者において, その異常が報告されてきたが, それらの解釈については未だ不明な部分が多い。そこで動物を用いて TE 法でみられる変化の意味する生理学的意義を調べることとし, ラットの尾神経を用いた TE 法の実験モデルを考案した。本方法を用いて, ラットの成長による末梢神経軸索機能の変化を検討した。

『対象と方法』

(1) 対象:

Wistar rat 90 g から 650 g までの 77 匹を用いた。ヒトの結果と比較するため健常成人 8 人 (男性 6 人) について TE 法を用いて記録を行った。

(2) 実験的 TE 法の記録:

Wistar rat にペントバルビタールを腹腔内注射して麻酔し, その尾部を 35℃ に保ったゴム製の台の上に置く。尾の近位部に刺激電極を置き, その末梢側 6 cm に記録用針電極を挿入し, 尾部に 20%, 40% の脱分極及び過分極の条件刺激 (100 ms) を与えて, 最大 CMAP 振幅の 30% の振幅を得るために必要な試験刺激電流を計測した。試験刺激は, 0 ms ~ 100 ms までの条件刺激中及びその後の 100 ms の計 200 ms の間に, 刺激タイミングを順次ずらしながら与えた。

(3) TE 記録の解析:

Fast K⁺チャネルの機能の評価として, 40% 脱分極時の 10 ~ 20 ms 部分 (TEd 10-20) の閾値変化の平均を, slow K⁺チャネルの機能の評価として, 40% 脱分極時の 90 ~ 100 ms 部分 (TEd 90-100) の閾値変化の平均から TEd 10-20 を減じたものを, また髄節間抵抗 (R) の評価として, 40% 過分極時の 10 ~ 20 ms 部分 (TEh 10-20) の閾値変化の平均を用いた。それらの値と日齢の指標となる体重との相関を統計学的に分析した。

(4) 薬理学実験:

Wistar rat 15 匹 (90 ~ 100 g: 5 匹, 200 ~ 310 g: 5 匹, 440 ~ 650 g: 5 匹) を用いて薬理学実験を行った。6 匹のラッ

トに fast K⁺チャンネルのブロッカーである 4-aminopyridine (4-AP) を腹腔内に投与し、9 匹には、内向き較正電流 (inward rectifier) のブロッカーである CsCl を腹腔内に投与、20 分後に TE の記録を行った。

『結果』

- (1) 成熟したラットの TE 記録は、ヒトの TE 記録とよく似ていたが、閾値変化はヒトよりも少なかった。
- (2) 髄節部 fast K⁺チャンネルは、成長に伴って体重 330 g まで発現の増加が認められたが、330 g 以降、突然低下し、400 g 以降は安定していた。
- (3) slow K⁺チャンネル活性は成長に伴う有意の変化を示さなかった。
- (4) 髄節間抵抗 (R) は成長に伴って軸索径の増大がおこるために次第に減小してくるが、体重 330 g 以降は安定していた。潜時も同様の変化がみられた。
- (5) 4-AP は、幼若ラット (90 g–310 g) において fast K⁺チャンネルを選択的ブロックした。CsCl は幼若、成熟ラットの内向き較正電流 (inward rectifier) を同様にブロックした。

『結論と考察』

- (1) 幼若ラットでは加齢とともに fast K⁺チャンネルの髄節での発現が増加するが、成熟ラット (400 g–650 g) では、髄節の脱分極によっても fast K⁺チャンネルは活性化されなくなる。これは髄鞘の完成に伴って傍髄節部の fast K⁺チャンネルが機能的に隔絶されるためと考えられた。
- (2) 成熟ラット (400 g–650 g) では、TE 法での記録では体重に伴う変化がみられなかった。
- (3) 上記の結果から TE 法を用いてラットの群間比較や経時的変化の観察を行う場合には、400 g 以上のラットを使用する必要がある。
- (4) TE 法は fast K⁺チャンネル、内向き較正電流、軸索と髄鞘のケーブル特性を反映することが実験的に証明された。
- (5) TE 法の臨床応用はまだ始まったばかりであり、今後様々な末梢神経障害の検査に利用されるだけでなく、病態解明や治療法の開発に貢献していくものと考えられる。その解釈にあたってラットのモデルは重要である。

論文審査の結果の要旨

Threshold electrotonus 法 (閾値電気緊張法; TE 法) は、生体においてヒトの末梢神経軸索の膜電位変化や K⁺チャンネルなどの機能を短時間に非侵襲的に評価する方法であり、臨床的に神経線維軸索機能を検査する有力な手段となることが期待されている。本研究では、ラットの尾神経を用いた TE 法の実験モデルを作成し、ラットの成長に伴う末梢神経軸索機能の変化を検討した。ウィスターラット 77 匹を用いて、尾の近位部に刺激電極を置き、その末梢側 6 cm に記録用針電極を挿入し、尾部に 20% および 40% の脱分極及び過分極の条件刺激 (100 ms) を与えて、最大活動電位の 30% の振幅を得るために必要な試験刺激電流を計測した。TE 記録の解析として fast K⁺チャンネルの機能、slow K⁺チャンネルの機能、およびそれらの値と体重との相関を統計学的に解析した。その結果、幼若ラットでは、加齢とともに髄節において fast K⁺チャンネルの発現が増加するが、体重 350 g を境界として、髄節の脱分極によっても fast K⁺チャンネルは活性化されなくなった。成熟ラットでは、TE の記録では体重に伴う変化がみられなかった。従って、TE 法を用いてラットの群間比較または経時的変化の観察を行う場合には、成熟ラットを使用する必要がある。また、TE は K⁺チャンネルや内向き整流電流 (I_r) を反映することが実験的に示された。

以上の研究は、TE 法を末梢神経障害の検査に応用するに当たってその理論的裏付けを与え、その病態の解明と治療法の開発に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士 (医学) の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成 12 年 2 月 2 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。