

触覚センサーを用いた広背筋耐疲労性

および収縮能評価に関する研究

福 菜 英 隆

触覚センサーを用いた広背筋耐疲労性および  
収縮能評価に関する研究

稲葉 博隆

## 目次

|  |    |
|--|----|
| 緒言   | 2  |
| 第1章 触覚センサー(tactile sensor)                       | 5  |
| 1. 構造  | 5  |
| 2. 原理  | 8  |
| 3. 計測システム  | 8  |
| 4. tactile stiffness (gram/mm <sup>2</sup> )への較正 | 9  |
| 第2章 対象と方法  | 12 |
| 1. 実験1   | 13 |
| 2. 実験2   | 17 |
| 3. 実験3   | 18 |
| 4. 実験4   | 22 |
| 5. 統計  | 22 |
| 第3章 結果   | 23 |
| 1. 実験1   | 23 |
| 2. 実験2   | 26 |
| 3. 実験3   | 28 |
| 4. 実験4   | 43 |
| 第4章 考察   | 49 |
| 第5章 結語   | 59 |

参考文献

## 緒言

広背筋は近年 dynamic cardiomyoplasty や骨格筋ポンプといった方法で心補助への応用が研究され、実用化されてきている。dynamic cardiomyoplasty では広背筋を心臓に巻つけ心補助を行う。即ち、胸背動静脈と胸背神経を除き左広背筋を周囲の組織から剥離し、第3肋骨を一部(約5cm)切除しそこから広背筋を胸腔内に挿入、心臓に巻つける。そして、burst pulse による刺激が可能な pace maker を広背筋に縫着し、心臓の収縮、弛緩に同期させて広背筋を収縮、弛緩させ心補助に利用する(1)。dynamic cardiomyoplasty は拡張型心筋症、虚血性心筋症の外科的治療方法として行われてきているが、心不全症状の軽減や患者の quality of life の向上が期待できる方法であり、すでに800例以上の症例に対してこの術式が適応されている(2、3、4)。また、様々な type の骨格筋ポンプの研究も動物実験において進められている(4、5、6、7)。dynamic cardiomyoplasty、骨格筋ポンプのいずれの方法であっても、広背筋を心補助に利用するためにはあらかじめ electrical preconditioning と vascular delay を行い、広背筋が耐疲労性を獲得した段階で行うことになる(8)。広背筋の筋線維は、収縮速度の速い解糖系に依存した易疲労性の type 2 fiber と収縮速度の遅い有酸素代謝に依存する耐疲労性の type 1 fiber の両方から成るが、electrical pre-conditioning によって type 2 fiber が type 1 fiber に変換し、広背筋は筋肉全体として耐疲労性を獲得する。また、広背筋の終末端側、即ち近位端は胸背動脈が、起始端側即ち遠位端は肋間動脈の枝が支配血管であるが、心補助として利用

する際には胸背動静脈および胸背神経を温存し他の血管を全て処理するため、広背筋全体への十分な血流を得るためには広背筋内の側副血行の形成を待つ必要がある。これが vascular delay である。現在、広背筋の耐疲労性獲得のためのプロトコールとして 8 週間の preconditioning が提唱されており、プロトコールが終了すると耐疲労性獲得の有無を確認することなく、広背筋は一律に心補助に利用され始める。しかし、実際には筋線維によって変換の程度は異なっている可能性があり、全ての筋肉が一律に耐疲労性を獲得するかどうかは不確かである。そこで、広背筋の耐疲労性の獲得の有無を評価したうえで心補助に使用するのがより望ましいと考えられる。従来、type 2 fiber から type 1 fiber への変換を評価する方法としては筋線維の組織を確認する方法、筋肉の疲労実験を行い張力の低下で評価する方法、そして筋肉の収縮、弛緩パターンを張力の経時変化で計測し、それを比較する方法が、いずれも実験的に行われている(8、9)。これらの方法を臨床で行おうとする場合、筋肉の組織を確認する方法を用いるとすれば心補助に使用するための広背筋の一部を切除し生検しなければならず、また張力で評価する方法をとる場合でも広背筋の張力の測定は臨床で行うには侵襲が大きい。そのため、いずれの方法も実施困難である。このことが、現在耐疲労性獲得の有無を確認しないで心補助が行われている理由の一つと考えられる。

我々は以前から触覚センサー(tactile sensor)の心臓外科領域および呼吸器外科領域における臨床及び実験への応用を研究してきた(10-22)。本研究では、触覚センサーを用いて、心補助に用いるための広背筋の耐疲労性を検出する方法、及び広背筋の収縮能を評



価する方法に関しての検討を行った。始めに広背筋の張力と触覚センサーで計測した硬さ(tactile stiffness)との関係を検討し、‘硬さ’(tactile stiffness)が従来から筋力の評価に用いられている‘張力’に変わりうる評価方法であるどうかを検討した。そして、in situ の状態で収縮、弛緩時の広背筋の硬さを計測し、張力の測定を行わずに広背筋の収縮能を評価する方法の臨床応用への可能性についても検討を加えた。

## 第1章 触覚センサー(tactile sensor)

触覚センサーは圧電素子による共振を利用して計測物の周波数変化をとらえることにより物体の硬さを計測するセンサーで、日本大学の尾股らによって開発された(10、11、12)。

### 1. 構造

触覚センサーのプローベは直径7mm、長さ55mm、重さ2.4gの円筒型である(図1、図2)。

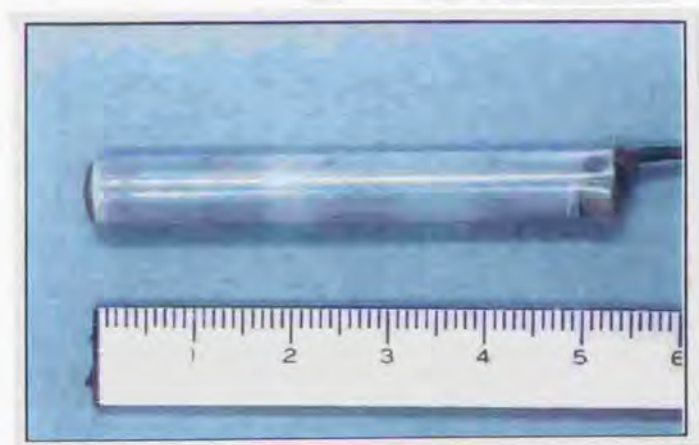


図1 触覚センサー (tactile sensor) 本体側面全体像

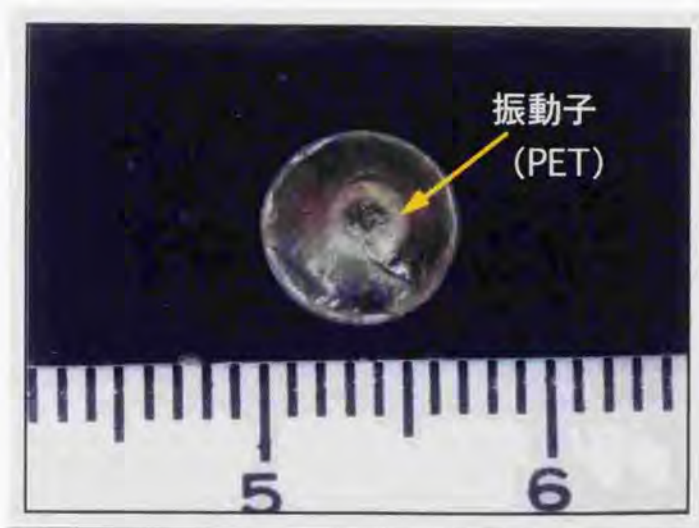


図2 触覚センサー (tactile sensor) センサー先端部拡大図

先端の接触面は硬質エポキシ樹脂で作製されており、中央の直径 5mm のほぼ平面状の部分が計測する物体に接触する。プローベの内部構造は、直径 3mm の振動子であるセラミック製 piezoelectric transducer (PTE) と振動を検出する検出素子 vibration detector が一体化して構成されている。検出素子からの出力は増幅器で増幅され、再び振動子に帰還する。この帰還回路によって振動子を機械的共振周波数で発振状態にすることが可能である。本センサーではこの共振周波数は 68kHz である (図3)。



### センサー形状図

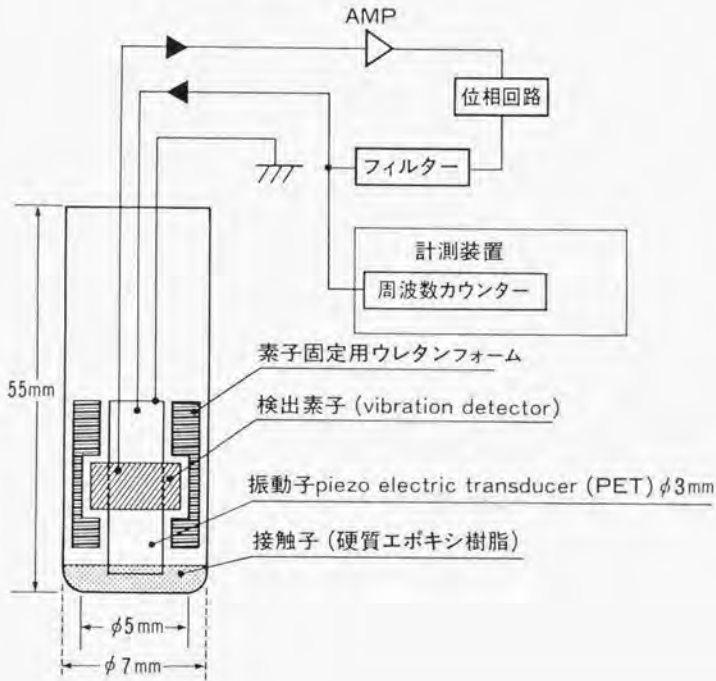


図3 センサー形状図

AMP：増幅器。触覚センサーの内部構造、および計測システムを示す。

## 2. 原理

物体はすべて固有の振動数即ち固有振動周波数を有している。一定の共振周波数  $f_0$  で振動している物体がある別の物体に接触すると、接触した物体の固有振動周波数の影響で振動数が変化し新たな共振周波数  $f_x$  となる。この共振周波数の差、すなわち

$$\Delta f = f_x - f_0$$

は接触する物体の硬さ、軟らかさによってそれぞれ異なるので、 $\Delta f$  を測定すれば物質の硬さ、軟らかさを求めることが可能となる (9、10、11)。今回使用した触覚センサーは  $f_0 = 68\text{kHz}$  の共振周波数で振動しており、測定する物体の硬さを、接触した際の新たな共振周波数  $f_x$  との差である  $\Delta f$  として検出する。その単位は振動数の単位である Hz である。

## 3. 計測システム

触覚センサーが測定対象の物体に接触した際に生じる共振周波数の変化  $\Delta f$  を振動子 PET に隣接した検出素子 vibration detector が関知し、増幅器に信号を送る。増幅器は変化した共振周波数で PET を持続的に振動させることが可能である (図3)。今回のシステムでは、この  $\Delta f$  を frequency counter (AX-CN1001, AXIOM 社製)によって毎秒 150 回計測することが可能である。

#### 4. tactile stiffness (gram/mm<sup>2</sup>)への較正

今回使用している触覚センサーは測定対象の物体に接触することで生じる共振周波数の変化 $\Delta f(\text{Hz})$ を測定しており、これを硬さの絶対値、すなわち tactile stiffness の単位である gram/mm<sup>2</sup> に変換するためには、両者の変換式もしくは較正式が必要である。較正式は粘弾性測定装置(AX-SFD001, AXIOM 社製) (図 4) を使用して、ウシの皮膚から製造した stiffness の異なる 4 種類のゼラチンを用いて、尾股らの報告している counter balance 法 (11) より求めた。



図 4 粘弾性測定装置 (Axiom 社製、AX-SFD001)

即ち、粘弾性測定装置に触覚センサーを固定し、ゼラチンに接触させ加重をかける。この加重によって生じた歪より装置はゼラチンの stiffness を計測することが可能である。同時にセンサーが関知した固有振動数の変化  $\Delta f$  を計測した。実測された stiffness (gram/mm<sup>2</sup>) の対数値と  $\Delta f$ (Hz)の値の間には  $r = 0.986$  の良好な相関が認められた (図 5)。

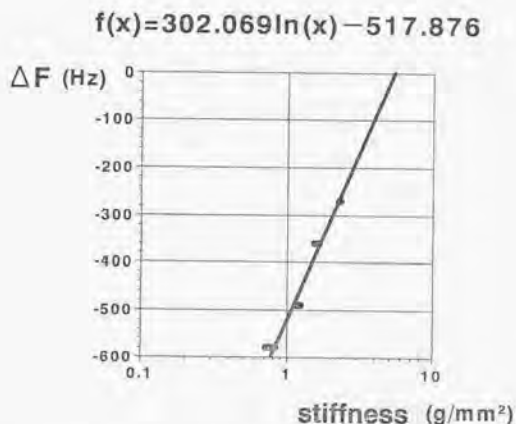


図 5 tactile stiffness と  $\Delta f$  との相関関係

粘弾性測定装置を用いて得られた、硬さ tactile stiffness と  $\Delta f$  との相関関係を示す。両者には強い相関関係を認めた。 ( $r = 0.986, r^2 = 0.972$ )。

本研究に用いた形状以外の種々の触覚センサーが開発されており、それらの触覚センサーで計測された硬さ tactile stiffness と  $\Delta f$  との相関関係から推定すると、図 5 に示された範囲外においてもこの相関関係は成立すると考えられる。

相関の回帰式から算出した較正式は

tactile stiffness (gram/mm<sup>2</sup>)

$$= \text{EXP} \{ (\Delta f (\text{Hz}) + 517.876 / 302.069) \}$$

であり、本研究ではこの較正式を使用し、硬さ tactile stiffness の較正を行った。

なお、ここで示した較正においては高度に均一な物質であるゼラチンを使用しているが、実際の測定対象である広背筋はそれに比べて組成が不均一と考えられる。触覚センサーはその特性上、接触させた測定対象物の表面から 5~10 mm の深さまでの各層の硬さの平均値を検出することになるので、本研究においては広背筋の全層における硬さの平均値を測定していると考えられる。



## 第2章 対象と方法

### 対象

実験1から実験4まで、いずれの実験も実験動物として雑種成犬(9.5-18.5 kg、計24頭)を用いた。

### 広背筋の張力、および硬さの定義

実験1から実験4で広背筋の張力と硬さを計測している。本研究においては、広背筋の張力とは発生張力、すなわち広背筋の収縮前と収縮後の張力の差と定義し、広背筋の硬さとは広背筋の収縮前の硬さと収縮後の硬さの差、すなわち「広背筋の硬さの収縮による増分」と定義した。張力については広背筋を自然長、すなわち非収縮時の張力が0 N（ニュートン）となるようにして固定して収縮させたので、収縮前の広背筋張力は0 Nとなり収縮後の張力と発生張力が一致する。硬さについては収縮前の広背筋もある硬さを持っているので、収縮後の硬さと硬さの増分は一致しない。しかし、発生張力と硬さの増分との相関関係等を検討するにあたり、便宜上前者を張力、後者を硬さと定義し、以下の実験の方法、実験結果、考察、結語を記載することとした。

## 1. 実験 1

広背筋における、触覚センサー(tactile sensor)で検出される硬さ(tactile stiffness)と張力の相関関係。

雑種成犬 6 頭を用いた。この 6 頭の両側の広背筋計 12 の筋肉で張力と硬さの測定を行った。ketamine 15 mg/kg の筋注と sodium pentobarbital 35 mg/kg の静注による全身麻酔下に気管内挿管し、人工呼吸器による調節呼吸を施行した。術中の麻酔の維持には sodium pentobarbital 0.5-1.0 mg/kg を随時追加した。術中の体位は側臥位とした(図 6)。腋窩から腸骨稜に至り皮膚を切開し広背筋を腸骨稜、肋骨付着部、椎体棘突起から切離、さらに上腕骨への終止端(近位端)を除きすべての周囲組織から剥離した。肋間動脈からの枝はすべて結紮切離し、胸背動脈及び胸背神経のみを温存した。剥離した広背筋の起始端(遠位端)を鉄製の棒に固定し、張力計(9E01 - L31 - 20K、NEC medical system 社製)に接続した。この際、広背筋の全長は剥離前の広背筋の筋の長さと同じ長さになるように固定した。また、測定時の実験動物の身体の動きをなくすために雑種成犬の前足は手術台に強固に固定した。触覚センサーのプローベはレコードの腕を改良した、自由に動く‘てこ’に固定し、自重の 2.4g で広背筋に接するよう調節した。

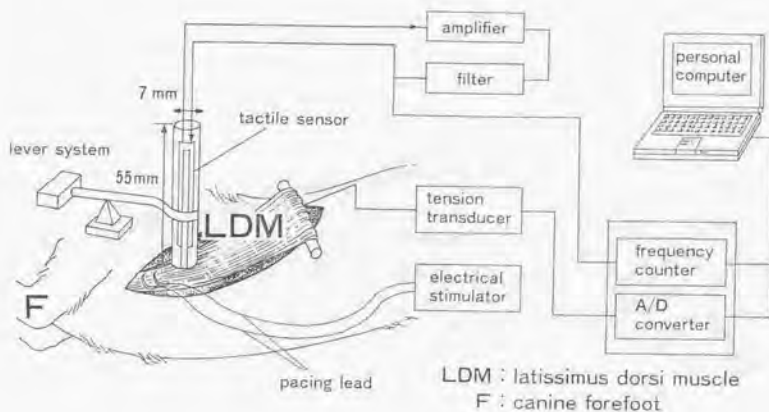


図6 張力と硬さの同時測定の方法。

広背筋は上腕骨の付着部のみを残し剥離し、burst pulse で刺激した。触覚センサーのプローベは広背筋に接触させ、広背筋の末梢端に張力計を取り付けた。

実際の測定時にはセンサーのプローベは肩甲骨下角近くで広背筋に接触させた。広背筋を刺激する電極は、Carpentier らが報告しているものと同様に (8)、2本の神経刺激用の電極を広背筋の中枢端に縫着した。電極は心筋電極用の pacing lead (Medtronic Model 6500) の絶縁シールを広背筋の幅の分だけ除去して用いた。2本の電極の間隔は 2~3cm とし、広背筋内を胸背神経の枝の周囲を通過するように縫着した (図7)。

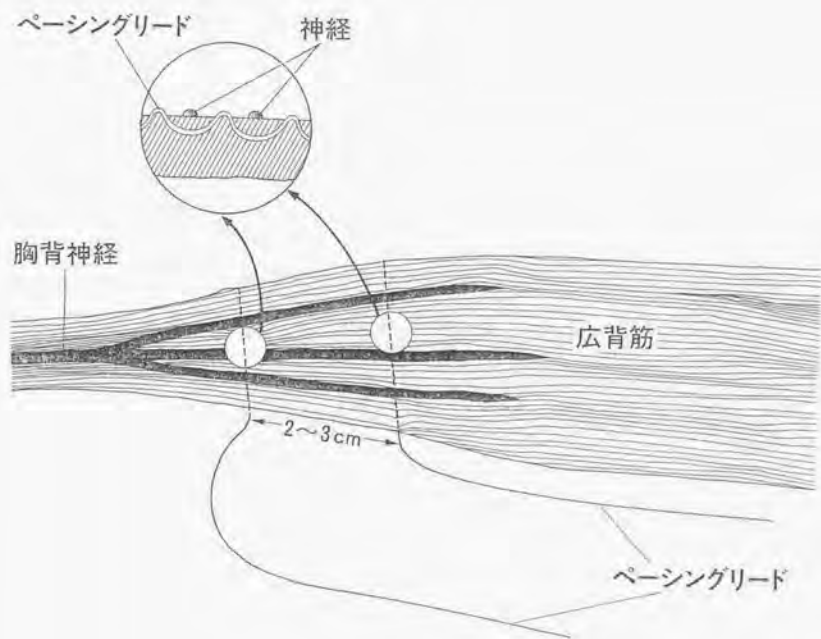


図7 刺激電極の縫着方法。

2本の電極の間隔は2~3cmとし、広背筋内を胸背神経の枝の周囲を通過するように縫着した。

刺激電極は電気刺激装置(フクダ電子社製)に接続した。この刺激装置は様々なタイプのburst pulseによる刺激が可能で、本実験では、burst frequency 50 Hz、burst duration 500ms、pulse width 0.2 msに設定し、amplitudeは0.5~5.0V間で変化させた。初

めに、広背筋を burst 刺激で収縮させたときの張力と硬さ tactile stiffness の同時測定を行った。一回の測定では広背筋は 30 秒間 burst pulse による 2 秒に一回の pacing で刺激し、この間に burst amplitude を 5.0 V から 0.5 V まで変化させた。各 amplitude では 3 回ずつ広背筋を刺激し張力と硬さを同時測定した。筋肉の疲労を避けるため、次の測定までには 15 分間の休憩を挟んだ。これらの測定が終了した後、引き続いて 45 分間の連続刺激による疲労実験を行った。この疲労実験では burst pulse の条件は burst amplitude は 5.0V に固定した以外は上記の同時測定時と同じ設定にした。広背筋の張力と硬さ tactile stiffness が経時的に低下していく様子を同時記録した。



## 2. 実験 2

in situ で測定された広背筋の硬さ(tactile stiffness)の検討。

別の雑種成犬 6 頭を用いた。この 6 頭の両側の広背筋計 12 の筋肉で広背筋を in situ の状態のまま、硬さ tactile stiffness の変化を測定した。麻酔は実験 1 と同様に行った。体位は側臥位とし (図 8)、肩甲骨下角で 3cm の皮切を広背筋の筋線維に平行におき、触覚センサーをこの皮切を通して広背筋に接触させた。神経刺激の電極はもう一つの皮切を腋窩におき、この皮切を通して実験 1 と同様の方法で広背筋に縫着した。測定は 45 分間の疲労実験を行い、硬さ tactile stiffness の経時変化を記録した。burst pulse の条件は実験 1 の疲労実験と同じ条件とした。結果を実験 1 の、同時記録時の硬さの変化と比較した。

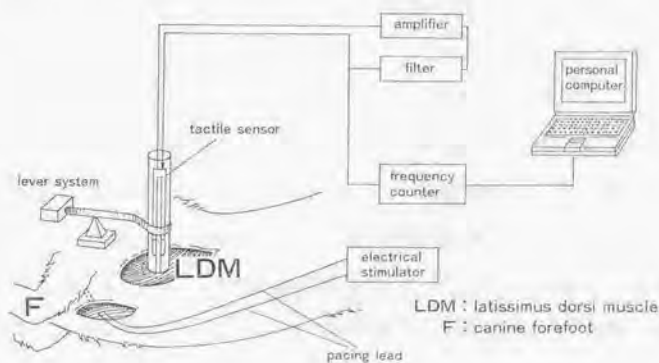


図 8 in situ の状態で広背筋の硬さを測定する測定方法。

広背筋は同時測定とは異なり剥離をせず、小さな皮切を通して広背筋の硬さを測定した。腋窩にもう一つ切開を加え、刺激電極を取り付けた。

### 3. 実験 3

広背筋における耐疲労性の相違の検出および収縮弛緩の評価 ～ 張力と硬さ tactile stiffness の同時測定での検討。

実験 3 では雑種成犬 6 頭を用い、始めにこれらの 6 頭の左の広背筋に electrical preconditioning と vascular delay を行った。その後、広背筋の耐疲労性の検出と収縮弛緩の評価を行った。

#### 実験 3-1 electrical preconditioning と vascular delay

麻酔は実験 1 同様に行った。左側臥位とし、腋窩よりやや尾側で 10cm の皮切をおき unipolar の pace maker (Programalith, Pacemaker 社製) を埋め込んだ。電極は広背筋近位端から 3-5cm 遠位の筋肉内に埋め込み、本体は前胸部皮下に固定した。single pulse による刺激を、rate 60/分、pulse width 0.2 ms、pulse amplitude 5V の設定で、埋め込んだ直後より開始した(3)。pace maker の埋め込みと同時に、広背筋に入る全ての肋間動静脈の枝を結紮切離した。pace maker の埋め込みと肋間動静脈切離の操作の補助手段として内視鏡を使用した。electrical preconditioning と vascular delay は 10-14 週行った。酸性 ATPase 染色 (pH 4.1~4.5) を両側の広背筋で行い、type 1 fiber への変換を確認した。また胸背動脈から血管造影を行い、広背筋内の側副血行を確認した。造影剤はウログラフィンを 3~5 ml 使用し、撮影条件は、レントゲンの出力は 30 kV - 40 mA、時間を 0.8 ~1.6 秒として行った。

### 実験 3-2 耐疲労性獲得の検出

実験 1 の疲労実験と同様の方法で 6 頭の雑種成犬の両側広背筋において張力と硬さ tactile stiffness の 45 分間の同時測定を行った。preconditioning の有無による張力と硬さの低下の違いを検討した。

### 実験 3-3 広背筋の収縮弛緩の評価

広背筋の収縮、弛緩を解析するパラメータとして、従来筋肉の張力を測定し、張力の変化から算出されてきた次の 3 つのパラメータを、張力と硬さ tactile stiffness の両方に関して分析した。そして、preconditioning の有無による違いを検討した。

(a) time to peak 即ち、広背筋収縮時に張力および硬さ tactile stiffness が最高値に達するまでの時間 (図 9)

この値は、張力においては収縮の速い速筋で収縮の遅い遅筋よりも時間が短い (9)。この事実を応用して、preconditioning の有無によって硬さ tactile stiffness の変化から算出した time to peak に差が生じるか否かを検討した。今回の実験では、同時に計測されている張力についても検討した。

(b) ripple 即ち、burst 刺激で広背筋が収縮する際に最大収縮時に生じる痙攣の振幅 (図 9)

張力においては preconditioning された広背筋ではされていない広背筋より、痙攣の振幅が小さいことが示されている (8)。本研究では、図に示したように張力及び硬さの最大値に対する、広背筋痙攣時の張力及び硬さの振幅の割合を ripple と定義し、

preconditioning の有無の指標として使えるか否かを検討した。

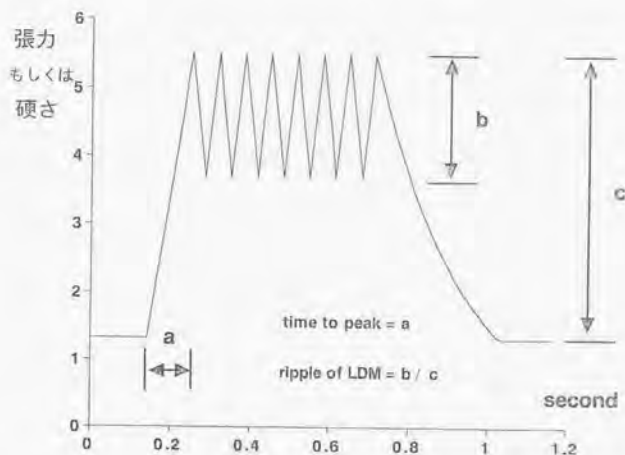


図9 time to peak と ripple の説明図。

広背筋の収縮弛緩にともなう張力もしくは硬さの変化を模式的に表現した。図の中の a に当たる時間を time to peak、広背筋の収縮の幅 b を全体の振幅 c で除したものを、即ち  $b/c$  を ripple と定義した。

(c) 時定数 即ち、広背筋弛緩時の time constant

従来より筋肉の弛緩時には張力が指数関数的に減少することが示されている (23)。この弛緩時の時定数が測定値から計算できる。

(図 10)。硬さも張力同様に指数関数的に減少するか否かを検討

し、さらに時定数を比較することで preconditioning の有無を検出できるか否かを検討した。同時に、張力についても時定数を算出し、比較検討した。

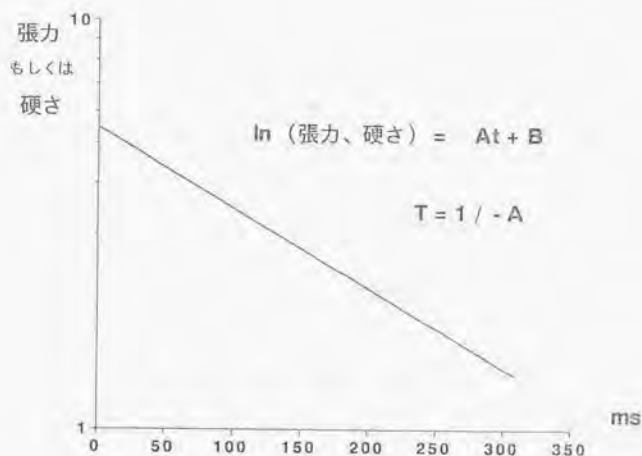


図10 時定数の説明図。

広背筋の弛緩時の張力、もしくは硬さの経時変化を片対数グラフで表現したさいの模式図を示す。A: 張力、もしくは硬さの直線の傾き、B: 張力、もしくは硬さの広背筋弛緩時の初期値、T: 時定数、即ち、 $T = 1 / -A$ 。ms: 1000分の1秒。

使用したデータは 45 分間連続刺激測定時の、刺激開始直後、すなわち疲労前の測定データとした。各筋肉での測定時間は 12~16 秒で、この間に収縮波形を 5~7 波形記録した。これらの波形において上記 3 パラメータを計算し、比較検討した。



#### 4. 実験 4

##### 実験 4-1 in situ での広背筋耐疲労性獲得の検出

雑種成犬 6 頭を用いた。これらの 6 頭の左の広背筋には実験 3 と同様の方法で electrical preconditioning と vascular delay を行った。実験 2 と同様の方法で両側広背筋の硬さ tactile stiffness の経時変化を 45 分間、広背筋を burst 刺激による pacing で収縮させて計測した。実験 3-2 と同様に、preconditioning の有無による硬さの低下の違いを検討した。

##### 実験 4-2 in situ での広背筋の収縮弛緩の評価

実験 3-3 と同様に広背筋の収縮、弛緩を解析するパラメータとして、time to peak、ripple、時定数を in situ で測定された硬さ tactile stiffness についても算出し、preconditioning の有無による違いを検討した。

#### 5. 統計

データは平均値  $\pm$  標準偏差で表示した。張力と硬さ tactile stiffness の相関関係については、両者の相関係数を算出し、回帰分析を行った。時系列のデータに対しては repeated measure ANOVA を行った。preconditioning された広背筋とされていない広背筋の比較では、paired T test を行った。統計学的有意差は 5%未満とした。

### 第3章 結果

#### 1. 実験1

広背筋における、触覚センサー(tactile sensor)で検出される硬さ(tactile stiffness)と張力の相関関係。

硬さと張力には強い相関関係を認めた。burst amplitude を 5.0 V から 0.5 V に漸減していくと、硬さ、張力共に減少した(図11)。

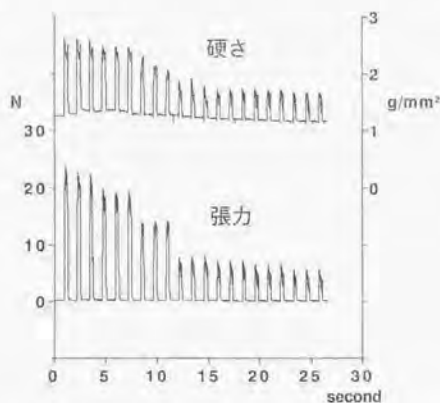


図11 広背筋の張力と硬さの同時測定の実験。

burst pulse の amplitude を下げていくと張力硬さとも低下していくのがわかる。

6 頭の合計 12 の広背筋から得られた硬さと張力の間には強い相関関係を認めた( $r = 0.935$ ,  $p < 0.001$ )。(図12)。(表1)。

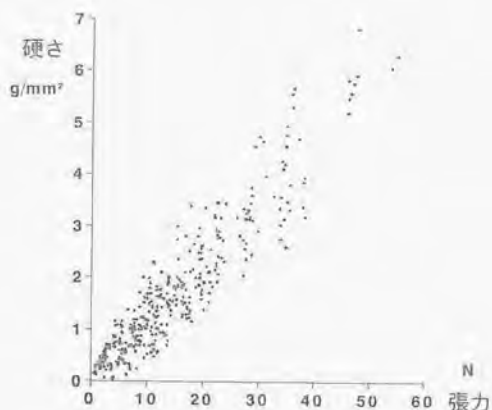


図12 張力と硬さの関係。

12の広背筋から得られた張力と硬さの関係を示す。両者の間には強い相関関係が成り立った。

表1 張力と硬さの相関

相関係数  $r = 0.935$ ,  $r^2 = 0.874$ ,  $p < 0.001$

回帰直線  $s = 0.0015 + 0.113 t$

s; 硬さ tactile stiffness    t; 張力

45 分間の連続刺激時には硬さ、張力とも有意に減少した。(p < 0.0001)。(図 13)。硬さと張力の経時的な減少を、広背筋刺激開始時の硬さと張力、即ち疲労前の硬さと張力を基準とした低下で示したのが図 14 である。硬さは初期値の  $22.8 \pm 3.9\%$  に、張力は初期値の  $18.6 \pm 4.7\%$  に低下した。硬さと張力の減少パターンは統計学的には両者の間には有意差を認めなかった(p = 0.0594)。

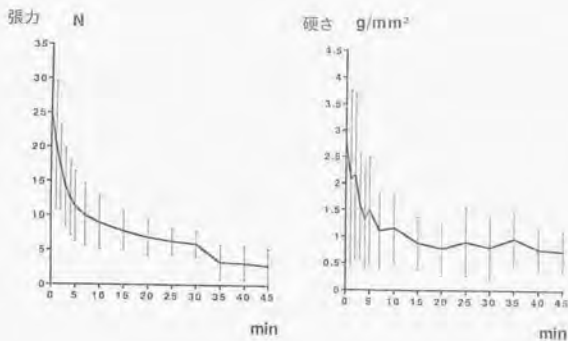


図13 硬さと張力の経時変化。

burst pulseによる連続pacingを行ったときの硬さ（左）と張力（右）の経時変化を示す。両者とも広背筋の疲労を反映し、値が低下した。

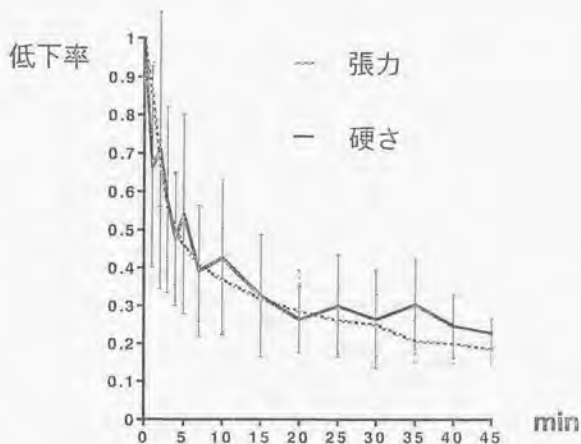


図14 図13を初期値を基準に低下率で表示したグラフ。

張力と硬さはよく相関しており、統計学的にも有意差は認めなかった。（ $p = 0.0594$ ）。

## 2. 実験 2

in situ で測定された広背筋の硬さ(tactile stiffness)の検討。

実験 1 で広背筋の硬さと張力の関係を検討した後、in situ で測定した硬さの、45 分間の連続刺激時の経時変化を測定した (図 15)。in situ においても経時的に硬さが減少する所見が観察され、その低下は有意であった ( $p < 0.0001$ )。in situ で測定された硬さの経時変化を、実験 1 の張力との同時測定の際に得られた硬さの経時変化のデータと比較すると、その低下に関しては統計学的には有意差を認めなかった ( $p = 0.2735$ )。

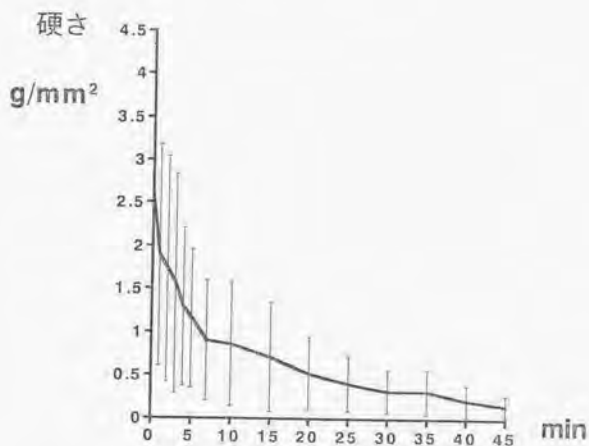


図15 in situ で測定した硬さの経時変化。

張力との同時測定の際と同様に硬さは経時的に低下した。この低下は、統計学的に検討すると同時測定の際の硬さの低下との間に有意差を認めなかった。

( $p = 0.2735$ )。



実験 1 同様、疲労前の初期値に対する低下率で検討すると、45 分の連続刺激で *in situ* で測定した硬さは  $8.0 \pm 6.2\%$  に低下した。(図 16)。

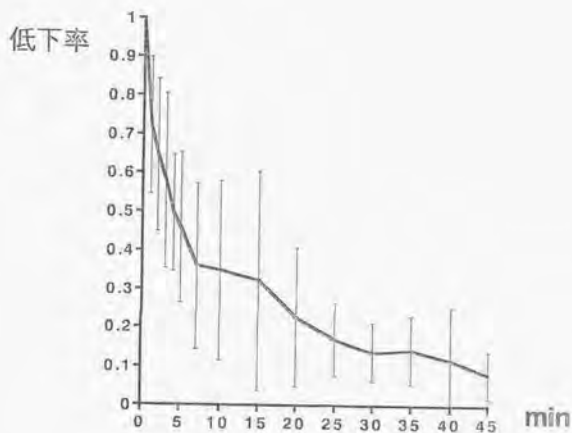


図16 図15を低下率で表示したグラフ。

### 3. 実験 3

広背筋における耐疲労性の相違の検出 ～ 張力と硬さ tactile stiffness の同時測定での検討。

#### 実験 3-1 electrical preconditioning と vascular delay

実験 3 及び実験 4 に用いた全ての雑種成犬の両側広背筋で酸性 ATPase 染色を行ない、その全例で筋線維の変換を確認した。最も明瞭な結果の得られた組織所見を図 17 に示す。preconditioning を行った広背筋では、type 2 fiber がほぼ完全に type 1 fiber に変換している所見を認めた。

実験 3 及び実験 4 に用いた全ての雑種成犬の両側広背筋で胸背動脈の血管造影を行った。その 12 例のうち 10 例で造影に成功し、いずれも preconditioning 側での側副血行の発達を認めた。最も典型的な結果を図 18 に示す。

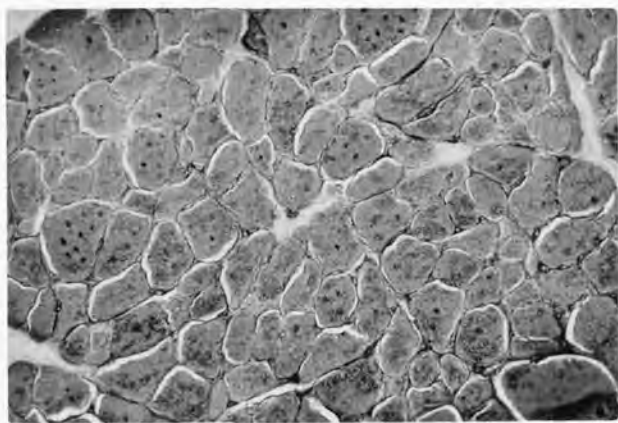
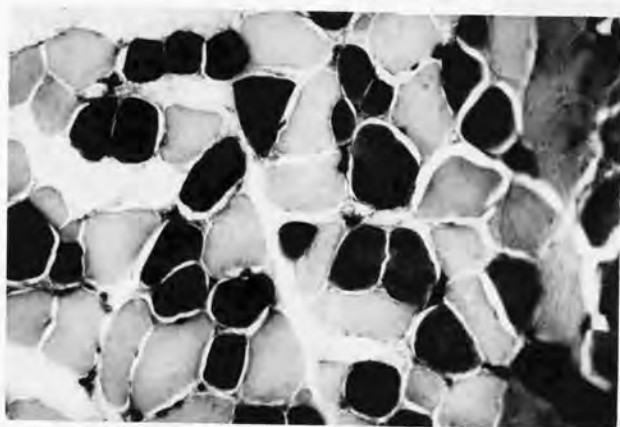


図17 広背筋のATPase染色像 (pH 4.5)。

preconditioningを行っていない広背筋(上)と行った広背筋(下)のATPase染色像(pH 4.5)を示す。preconditioningを行うと、type 2 fiber(上図の明るい筋線維)がtype 1 fiber(上図の暗い筋線維)に変換し、下図のように広背筋全体がtype 1 fiberから構成されるようになる。

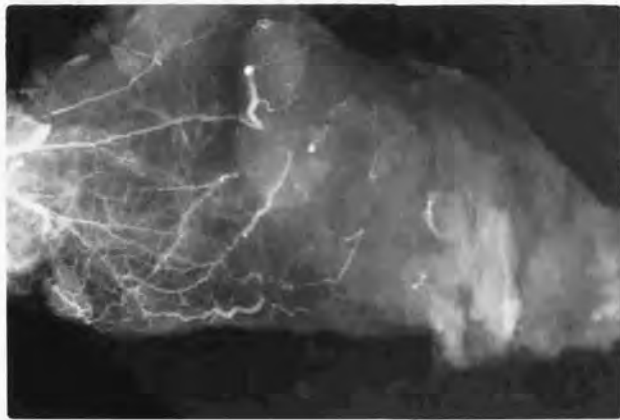


図 18 広背筋の血管造影所見。

preconditioning を行っていない広背筋（上）と行った広背筋（下）の血管造影を示す。vascular delay によって広背筋内に側副血行が発達する。

### 実験 3-2 耐疲労性獲得の検出

preconditioning を行った広背筋では、刺激開始時、すなわち疲労前の張力が preconditioning を行っていない広背筋の 66.4%であった。しかし、burst 刺激による連続 pacing の間に両者の関係は逆転し、45 分後には preconditioning を行った広背筋の張力のほうが強かった (図 19)。どちらの広背筋においても 45 分の間に有意に張力は低下した ( $p < 0.0001$ )。

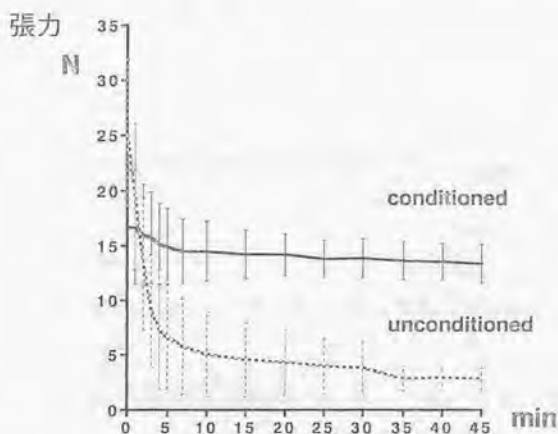


図19 連続刺激時の張力の低下。

preconditioning の有無による張力の低下の違いを示す。実線が preconditioning された広背筋で点線がされていない広背筋である。初めは preconditioning されていない広背筋の方が張力は強いが、連続刺激によって途中で逆転する。



図 20 には刺激開始時の値を基準とした張力の低下率を示した。

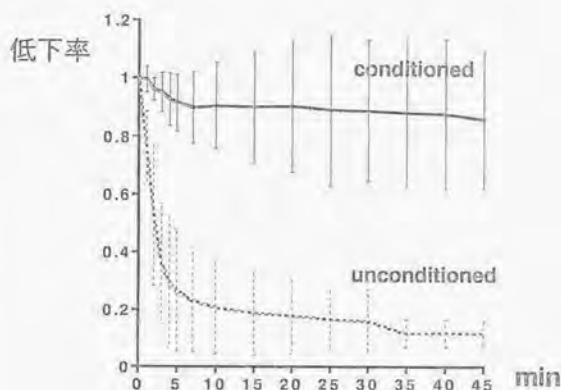


図20 図19を張力の低下率で表示したグラフ。

preconditioningの有無によって明らかな差を認める。

preconditioningの有無による張力の減少の仕方を検定すると有意差を認めた ( $p < 0.0001$ )。45 分間の連続刺激後の張力は、preconditioningを行った広背筋で初期値の  $86.1 \pm 24.1\%$ 、行っていない広背筋では  $11.6 \pm 4.5\%$ であり、そして、45 分後の張力の低下率の間にも有意差を認めた ( $p = 0.0043$ )。

preconditioning を行った広背筋では、刺激開始時の硬さが preconditioning を行っていない広背筋の 55.3%であった。そして張力のときと同様に、burst 刺激による連続 pacing の間に両者の関係は逆転し、45 分後には preconditioning を行った広背筋の硬さのほうが硬かった。(図 21)。どちらの広背筋においても 45 分間に有意に硬さは低下した ( $p < 0.0001$ )。

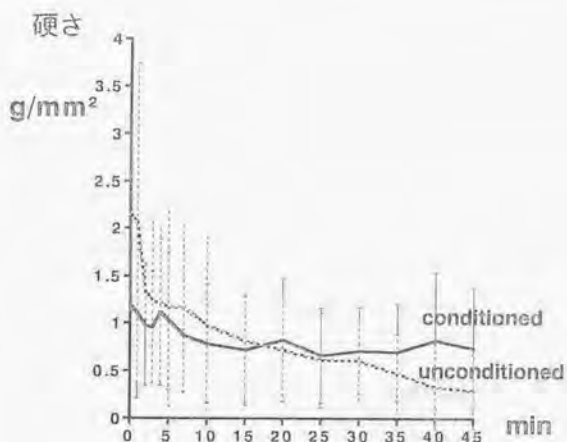


図21 連続刺激時の硬さの低下。

preconditioning の有無による硬さの低下の違いを示す。実線が preconditioning された広背筋で点線がされていない広背筋である。初めは preconditioning されていない広背筋の方が硬いが、連続刺激によって途中で逆転する。

張力同様に刺激開始時の硬さを基準にその低下率を算出し、図 22 に示した。張力の場合同様に、preconditioning の有無によって硬さの減少の仕方には有意差を認めた ( $p = 0.007$ )。45 分間の連続刺激後の硬さは、preconditioning を行った広背筋で初期値の  $61.1 \pm 24.6\%$ 、行っていない広背筋では  $13.5 \pm 13.8\%$  であり、45 分後の低下率の間にも有意差を認めた ( $p = 0.026$ )。

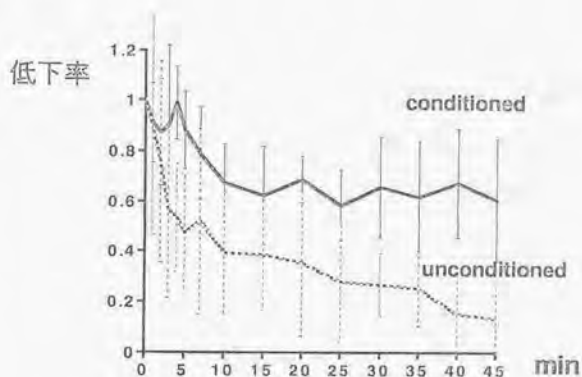


図22 図21を硬さの低下率で表示したグラフ。  
preconditioningの有無によって明らかな差を認める。

張力においては測定開始から 1 分後の値ですでに preconditioning の有無による張力低下に有意差を認めた ( $p = 0.0028$ )。また硬さにおいては、測定開始から 4 分後に一度有意差が生じるが ( $p = 0.000725$ )、7 分後に有意差がなくなり、30 分後以降の値では有意差を認めた ( $p = 0.0040$ )。

### 実験 3-3 広背筋の収縮弛緩の評価

preconditioning の有無による、広背筋の収縮弛緩時の張力と硬さ tactile stiffness の波形の相違を、図 23 (張力)、図 24 (硬さ) に示す。time to peak は preconditioning によって張力、硬さ共に延長している。

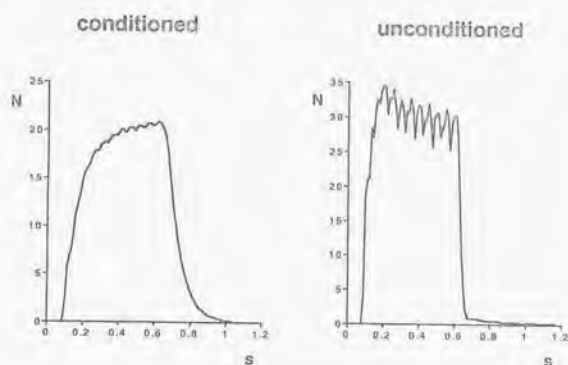


図23 広背筋の収縮弛緩時の張力の波形。

burst pulseで刺激したときの張力の波形を示す。左がpre conditioningをした広背筋で、右がしていない広背筋である。

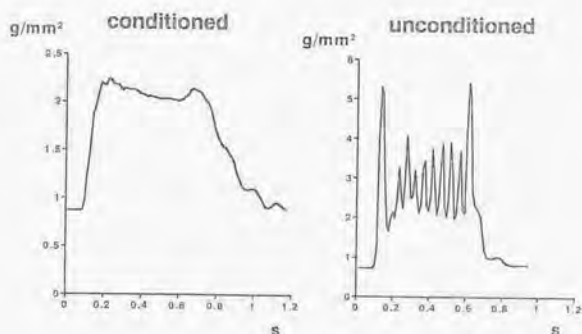


図24 広背筋の収縮弛緩時の硬さの波形。

burst pulseで刺激したときの硬さの波形を示す。左がpre conditioningをした広背筋で、右がしていない広背筋である。



各々の雑種成犬で、time to peak を算出し比較すると、いずれも preconditioning の有無による有意差を認めた。(張力:表 2、硬さ:表 3)。各々の雑種成犬によって time to peak の値は大きくばらついた。そのため比較を各々の雑種成犬において行い、time to peak の平均値等の解析は行わなかった。

表2 張力と硬さの同時測定時の張力のtime to peak (ms)

| dog | unconditioned | conditioned | p             |
|-----|---------------|-------------|---------------|
| 1   | 189±23        | 486±24      | 0.00000077    |
| 2   | 243±24        | 479±10      | 0.00000015    |
| 3   | 134±18        | 499±51      | 0.00000020    |
| 4   | 192±29        | 497±27      | 0.00000000020 |
| 5   | 204±17        | 367±130     | 0.048         |
| 6   | 217±17        | 515±26      | 0.00000000097 |

表3 張力と硬さの同時測定時の硬さのtime to peak (ms)

| dog | unconditioned | conditioned | p           |
|-----|---------------|-------------|-------------|
| 1   | 28±6          | 497±36      | 0.000097    |
| 2   | 55±8          | 146±12      | 0.0000011   |
| 3   | 47±10         | 117±26      | 0.000049    |
| 4   | 96±14         | 434±40      | 0.000000082 |
| 5   | 62±17         | 171±54      | 0.0084      |
| 6   | 91±5          | 407±67      | 0.000016    |

ripple は preconditioning によって張力、硬さとも減少している。各々の雑種成犬で、ripple を算出し比較すると、いずれも preconditioning の有無による有意差を認めた。(張力:表 4、硬さ:表 5)。各々の雑種成犬によって ripple の値も大きくばらついた。そのため比較を各々の雑種成犬において行い、ripple の平均値等の解析は行わなかった。

表4 張力と硬さの同時測定時の張力のripple(%)

| dog | unconditioned | conditioned | p            |
|-----|---------------|-------------|--------------|
| 1   | 11.4±0.6      | 1.4±0.1     | 0.0000031    |
| 2   | 4.1±0.2       | 1.5±0.3     | 0.0000000014 |
| 3   | 10.8±1.4      | 1.3±0.3     | 0.00000015   |
| 4   | 6.4±1.1       | 1.6±0.1     | 0.0000059    |
| 5   | 13.2±0.4      | 3.5±0.4     | 0.0000000026 |
| 6   | 6.8±2.0       | 0.8±0.2     | 0.000052     |

表5 張力と硬さの同時測定時の硬さのripple(%)

| dog | unconditioned | conditioned | p          |
|-----|---------------|-------------|------------|
| 1   | 12.2±3.2      | 6.2±3.1     | 0.030      |
| 2   | 47.6±7.0      | 3.5±1.1     | 0.00000028 |
| 3   | 86.5±13.9     | 18.6±0.5    | 0.00000053 |
| 4   | 20.1±4.7      | 3.6±1.0     | 0.000013   |
| 5   | 25.3±6.8      | 8.2±0.6     | 0.0047     |
| 6   | 36.4±10.1     | 5.2±1.9     | 0.000038   |

広背筋弛緩時の張力、硬さの低下を時間軸に対する片対数グラフに記録すると、張力（図 23）も硬さ（図 24）も高い相関で直線回帰を示した。張力、硬さ各々の相関係数を表 6、表 7 に示す。すなわち、張力のみではなく硬さも広背筋の弛緩時には指数関数的に減少することが示された。

表6 張力と硬さの同時測定時の、広背筋弛緩時の張力の対数値を直線回帰させた相関係数

| dog | unconditioned | conditioned  |
|-----|---------------|--------------|
| 1   | 0.96 ± 0.01   | 0.98 ± 0.003 |
| 2   | 0.97 ± 0.005  | 0.98 ± 0.003 |
| 3   | 0.95 ± 0.01   | 0.99 ± 0.01  |
| 4   | 0.95 ± 0.01   | 0.98 ± 0.003 |
| 5   | 0.98 ± 0.005  | 0.99 ± 0.001 |
| 6   | 0.98 ± 0.01   | 0.99 ± 0.004 |

表7 張力と硬さの同時測定時の、広背筋弛緩時の硬さの対数値を直線回帰させた相関係数

| dog | unconditioned | conditioned  |
|-----|---------------|--------------|
| 1   | 0.96 ± 0.02   | 0.98 ± 0.004 |
| 2   | 0.97 ± 0.01   | 0.99 ± 0.004 |
| 3   | 0.97 ± 0.01   | 0.99 ± 0.003 |
| 4   | 0.98 ± 0.01   | 0.96 ± 0.02  |
| 5   | 0.97 ± 0.01   | 0.99 ± 0.001 |
| 6   | 0.98 ± 0.02   | 0.97 ± 0.02  |

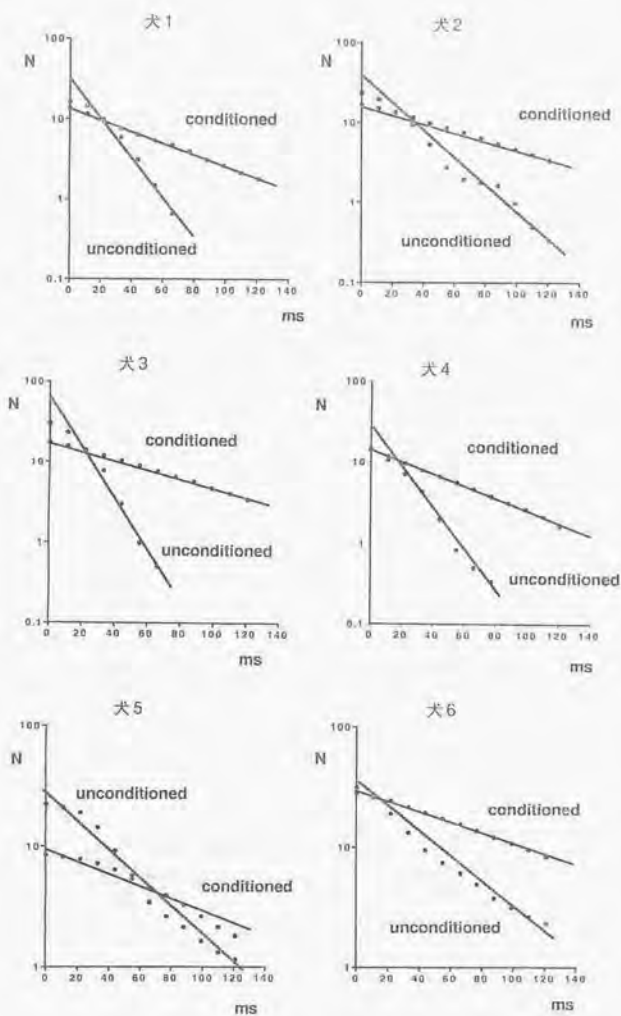


図25 広背筋弛緩時の張力の減少。

各雑種成犬の広背筋の弛緩時の張力を、時間を横軸として縦軸を対数目盛にして表示した。一つのグラフには各犬の左 (preconditioningされた側) と右 (されていない側) の広背筋での結果を表示した。

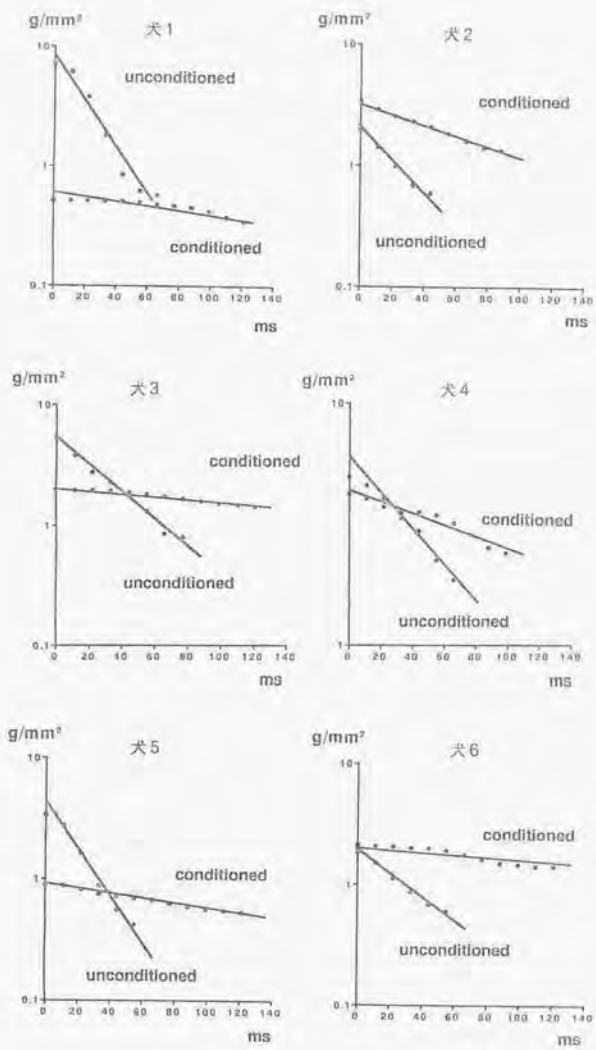


図26 広背筋弛緩時の硬さの減少。

各雑種成犬の広背筋の弛緩時の硬さを、時間を横軸として縦軸を対数目盛にして表示した。一つのグラフには各犬の左 (preconditioningされた側) と右 (されていない側) の広背筋での結果を表示した。



各々の雑種成犬で時定数を算出し比較すると、preconditioning の有無で有意差を認めた（張力：表 8、硬さ：表 9）。各々の雑種成犬によって時定数の値も大きくばらついた。そのため比較を各々の雑種成犬において行い、時定数の平均値等の解析は行わなかった。

表8 張力と硬さ同時測定時の、張力の時定数(ms)

| dog | unconditioned | conditioned | p              |
|-----|---------------|-------------|----------------|
| 1   | 22±4.5        | 65±2.1      | 0.00000047     |
| 2   | 33±1.3        | 70±3.5      | 0.0000000077   |
| 3   | 18±1.2        | 75±3.5      | 0.000000000042 |
| 4   | 25±3.1        | 59±0.9      | 0.0000068      |
| 5   | 51±2.8        | 72±1.5      | 0.0000051      |
| 6   | 50±1.3        | 78±1.0      | 0.000000012    |

表9 張力と硬さ同時測定時の、硬さの時定数(ms)

| dog | unconditioned | conditioned | p            |
|-----|---------------|-------------|--------------|
| 1   | 15.7±3.3      | 261±9.8     | 0.0000041    |
| 2   | 58.3±20       | 126±21      | 0.000047     |
| 3   | 61.8±9.3      | 364±32      | 0.0000000027 |
| 4   | 92.0±15       | 288±36      | 0.00000062   |
| 5   | 24.7±2.7      | 232±16      | 0.0000059    |
| 6   | 97.8±37       | 215±46      | 0.00063      |

#### 4. 実験 4

##### 実験 4-1 in situ での広背筋耐疲労性獲得の検出

preconditioning を行った広背筋では、硬さの初期値は行っていない広背筋の 58.1%であった。初期値は preconditioning されていない広背筋の方が硬かったが、連続刺激の間に逆転し、45 分後には preconditioning された広背筋の方が優位であった。(図 27)。両者とも硬さは 45 分の間に有意に低下した ( $p = 0.0070$ )。

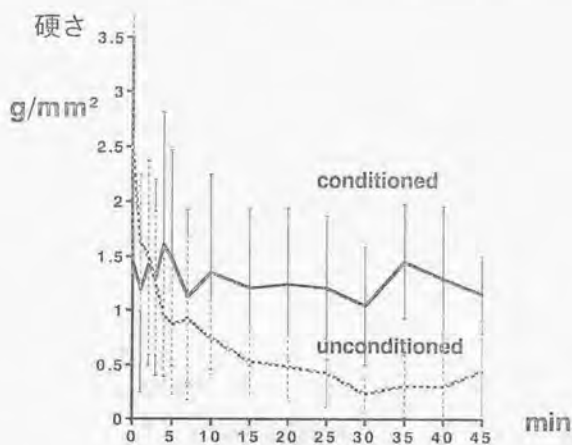


図27 連続刺激時のin situでの硬さの低下。

preconditioning の有無による in situ で測定された硬さの低下の違いを示す。実線が preconditioning された広背筋で点線がされていない広背筋である。初めは preconditioning されていない広背筋の方が硬いが、連続刺激によって途中で逆転する。

刺激開始時の値を基準とした低下率を図 28 に示す。

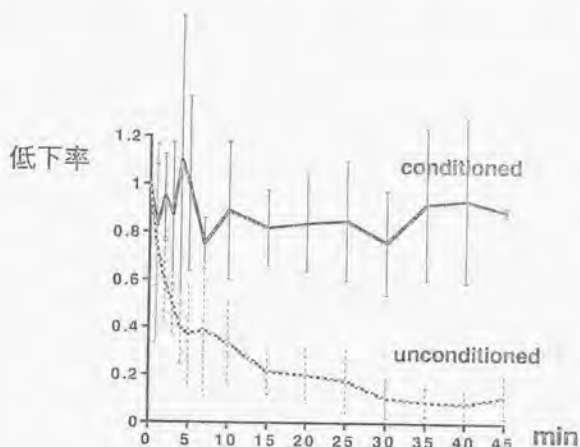


図28 図27を硬さの低下率で表示したグラフ。

preconditioningの有無によって明らかな差を認める。

preconditioningの有無によって、硬さの低下の仕方には有意差を認めた ( $p = 0.0255$ )。45分後の硬さの値は、preconditioningされた広背筋では初期値の  $89.0 \pm 21.8\%$ 、されていない広背筋で  $11.5 \pm 9.3\%$ であり、有意差を認めた ( $p = 0.0016$ )。測定開始から2分の時点で、すでに両者の間には有意差を認めた ( $p = 0.026$ )。

#### 実験 4-2 in situ での広背筋の収縮弛緩の評価

preconditioningの有無による、広背筋の収縮弛緩時の硬さ tactile stiffness の波形の相違を、図 29 に示す。

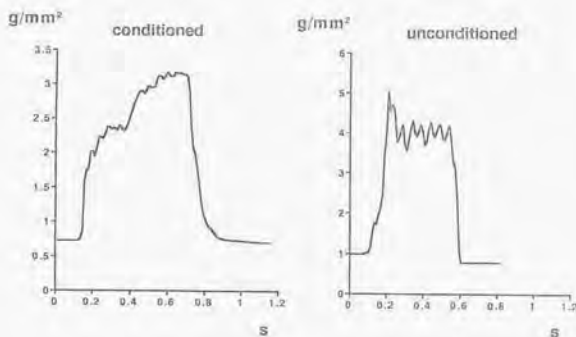


図29 広背筋の収縮弛緩時の硬さの波形。

burst pulseで刺激したときのin situで測定した硬さの波形を示す。左がpreconditioningをした広背筋で、右がしていない広背筋である。

実験3と同様に、in situで測定した硬さをもとに算出したtime to peakもpreconditioningによって延長している。各々の雑種成犬で、time to peakを算出し比較すると、いずれもpreconditioningの有無による有意差を認めた(表10)。

表10 in situで測定した硬さのtime to peak (ms)

| dog | unconditioned | conditioned | p            |
|-----|---------------|-------------|--------------|
| 1   | 330 ± 25      | 420 ± 4.9   | 0.000934     |
| 2   | 238 ± 50      | 495 ± 70    | 0.000241     |
| 3   | 47 ± 21       | 248 ± 60    | 0.00408      |
| 4   | 219 ± 12      | 475 ± 86    | 0.000196     |
| 5   | 153 ± 63      | 495 ± 52    | 0.0000000165 |
| 6   | 46 ± 4.9      | 106 ± 42    | 0.033        |

また、ripple も preconditioning によって減少している。各々の雑種成犬で、ripple を算出し比較すると、いずれも preconditioning の有無による有意差を認めた。(表 11)。

表11 in situ で測定したripple (%)

| dog | unconditioned | conditioned | p            |
|-----|---------------|-------------|--------------|
| 1   | 5.59±0.77     | 1.27±0.11   | 0.000187     |
| 2   | 19.8±4.2      | 11.4±2.0    | 0.007341     |
| 3   | 42.0±7.1      | 12.3±3.0    | 0.001397     |
| 4   | 34.0±3.7      | 10.9±2.6    | 0.0000000035 |
| 5   | 9.27±4.7      | 2.58±2.6    | 0.004616     |
| 6   | 38.7±1.4      | 3.38±0.77   | 0.000000552  |

in situ においても各々の雑種成犬によって time to peak、ripple ともその値は大きくばらついた。そのため比較を各々の雑種成犬において行い、平均値等の解析は行わなかった。

広背筋弛緩時の硬さの低下を時間軸に対する片対数グラフに記録すると、やはり高い相関で直線回帰を示した。(表 12)。(図 30)。

表12 広背筋弛緩時に in situ で測定した硬さの対数値を直線回帰したときの相関係数

| dog | unconditioned | conditioned |
|-----|---------------|-------------|
| 1   | 0.95±0.01     | 0.99±0.003  |
| 2   | 0.97±0.02     | 0.98±0.001  |
| 3   | 0.95±0.02     | 0.96±0.004  |
| 4   | 0.95±0.02     | 0.99±0.003  |
| 5   | 0.98±0.01     | 0.99±0.004  |
| 6   | 0.96±0.01     | 0.99±0.01   |



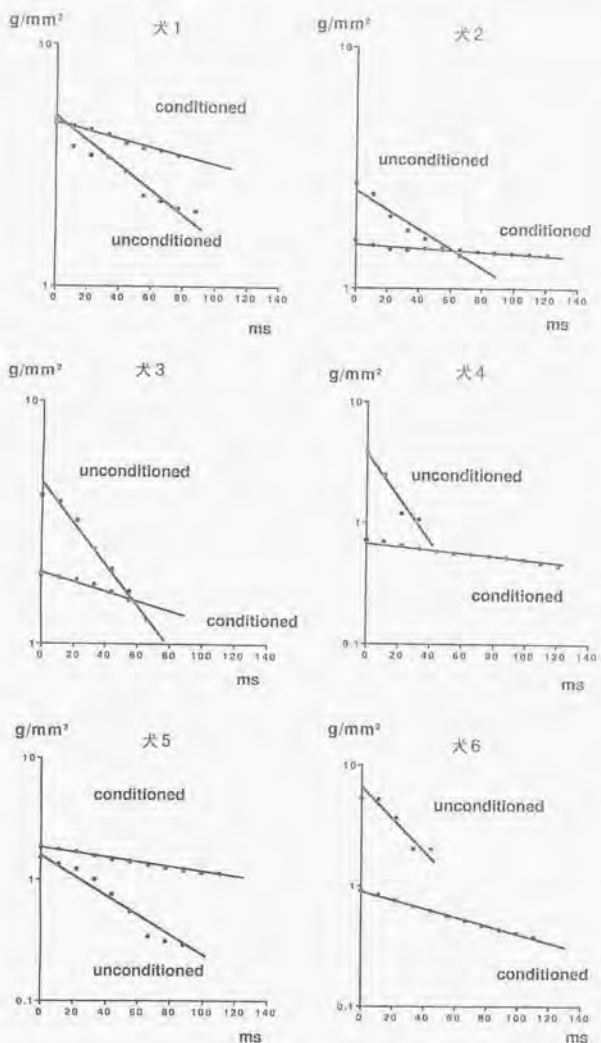


図30 広背筋弛緩時のin situでの硬さの減少。

各雑種成犬で、in situ で測定された広背筋弛緩時の硬さを時間を横軸として縦軸を対数目盛にして表示した。一つのグラフには各犬の左 (preconditioning された側) と右 (されていない側) の広背筋での結果を表示した。

すなわち、in situ で測定された硬さも広背筋の弛緩時には指数関数的に減少することが示された。各々の雑種成犬で時定数を算出し比較すると、preconditioning の有無で有意差を認めた（表 13）。

表13 in situで測定した時定数(ms)

| dog | unconditioned | conditioned | p              |
|-----|---------------|-------------|----------------|
| 1   | 118±43        | 281±7.4     | 0.000873       |
| 2   | 99±46         | 948±157     | 0.000107       |
| 3   | 57±6.6        | 159±52      | 0.028848       |
| 4   | 26±5.8        | 202±14      | 0.000000000028 |
| 5   | 79±28         | 179±21      | 0.0000023      |
| 6   | 33±6.9        | 128±11      | 0.0000017      |

in situにおいて各々の雑種成犬によって時定数の値は大きくばらついた。そのため比較を各々の雑種成犬において行い、平均値等の解析は行わなかった。

#### 第4章 考察

心補助に利用するために preconditioning された広背筋の、耐疲労性及び収縮能を臨床の現場で評価する方法は確立していない。これまでも実験的には広背筋の生検を行い組織学的に検討する方法や、広背筋を剥離し、体外で張力を測定して検討する方法がとられてきている。しかし臨床の場合においては心補助を必要とする重症心不全の患者に行うわけであるから、これらの方法は侵襲が大きく実際には実行不可能と考える。広背筋の張力を測定する方法は広背筋を体から剥離し、張力計に接続しなければならない。剥離せずに測定する方法としては全身麻酔下で筋弛緩薬を用いずに体を測定台に固定し、前腕を張力計に固定する方法が犬の実験において報告されている(24)。しかしこの方法では測定される張力は他の筋肉、例えば上腕や前腕の筋肉の影響も含んだ値であり、さらに測定の度に全身麻酔を行う必要もあるため侵襲も大きくなる。広背筋を生検する方法は(25)心補助に利用する目的の広背筋を損傷することになり、特に繰り返して行う検査としては侵襲が大きい。いずれの方法も臨床的には避けるべき方法と考えられる。最近 dynamic cardiomyoplasty の際に心臓と心臓を包む広背筋との間に balloon を留置しておき、その内圧をモニターすることで広背筋の評価を行う方法が Guldner らによって報告されている(26)。この方法は張力を測定せずに広背筋の収縮能と cardiomyoplasty の機能を in situ の状態で測定する方法である。この方法は張力を測定する必要はないが、引き続き心補助を開始した場合、広背筋と心筋の間に balloon が挿入されたままとなり、cardiomyoplasty そのものの効

果を損なう可能性があると考えられる。

我々は今までに心臓外科領域及び呼吸器外科領域において触覚センサーを応用し、臨床の診断や実験においてその有用性を示してきた(13-16)。そこで本研究では触覚センサーの心不全の外科への応用として、心補助に用いる目的で preconditioning を施行した広背筋の評価に触覚センサーが有用であるか否かを検討した。そのために、初め広背筋の張力と触覚センサーで測定した硬さ tactile stiffness との間の関係を検討した。筋線維の張力と硬さの関係を検討し報告した文献は多数認められるが(11、15、27-29)、その中で尾股らは触覚センサーを用いて膀胱の内圧と膀胱の壁の硬さの間に直線的な相関関係があることを示している(11)。また宮地からも触覚センサーで測定した局所心筋の硬さが局所壁応力即ち張力に相関することを示し、局所心筋収縮能の評価に応用している(15)。これらの経験から広背筋の張力と硬さの間にも直線的な相関関係が成立するか否かを第1の仮説とした。

実験1で示したように触覚センサーで測定した硬さ tactile stiffness は硬さの絶対値である gram/mm<sup>2</sup> の単位に変換することで張力と直線的な相関関係を示した(図12)。この実験では広背筋への刺激電極の amplitude を変化させることで広背筋の張力と硬さを変化させて両者の関係を検討した。広背筋の刺激電極は、電気刺激が神経刺激となるように縫着されており、そのため burst 刺激の電圧を低下させることで興奮する筋線維の数を減らしていることになる。即ちこの場合、張力は収縮している筋線維と収縮していない筋線維の総和としての筋肉全体の張力を反映する。また、触覚センサーの較正の項で述べたように、触覚センサーはその特性上、



測定部位の広背筋の全層にわたる硬さの平均値を検出することになるので、本実験では測定部分に存在する収縮している筋線維と収縮していない筋線維の総和としての硬さを見ていると考えられる。これらから、実験1で得られた相関関係は、広背筋全体の総和としての張力と、そのときのある決められた定点（本実験では肩甲骨下角付近）での広背筋の全層における硬さとのあいたに認められる相関関係といえる。

実験1の結果の図12では、硬さの測定値のなかに図5の較正グラフの範囲外の値が含まれている。これは、ここでいう広背筋の硬さとは実際には広背筋の収縮によって生じる「硬さの増分」のことを示しているからである。対象と方法の初めに定義したように本研究における広背筋の硬さとは広背筋の収縮によって生じる「硬さの増分」である。図11、図24、図29には実際に計測された広背筋の硬さが示されている。その値をみると広背筋の収縮前の硬さの値も図5の較正グラフの範囲内にあることがわかる。これらの図は各実験における典型的な例として提示されたものであるが、本研究で行った実験では測定値のほぼ全てが図5の較正グラフの範囲内に入っていた。また、触覚センサーの較正の項で述べたように、仮に較正グラフの範囲外の値であっても触覚センサーの特性から硬さと $\Delta f$ の間には相関関係が成立すると考えられるので、同じ較正式の使用が可能、と考えられる。

実験1では非疲労時の広背筋の硬さと張力の相関関係に加え、広背筋を連続的に pacing して刺激することで疲労させた場合にも、張力の低下と同様に硬さも低下することが示された（図13、14）。これは、硬さの経時変化をモニターすることで広背筋の疲労を検出

できることを示したと考えられる。

なお本研究では硬さの測定部位をいずれの広背筋においても肩甲骨下角付近で行った。これは、同じ張力を発生している状態でも触覚センサーで検出される硬さは測定部位によって異なっているため測定部位を固定する必要があったことと、実際の臨床応用を考えた際には体外からもでもわかりやすいメルクマールが必要であると考えたためである。

次に検討したのが *in situ* での測定である。実験 2 で示した測定方法で行ったが (図 8)、張力計は接続できないので硬さの測定のみとなる。そのため実験 1 で得られた硬さの経時変化と比較することで *in situ* での測定の可否を検討した。結果は実験 1 の張力との同時測定時の硬さの経時変化と同様に、連続刺激による *pacing* で *in situ* で測定した硬さは低下した。このことは、*in situ* での硬さの測定が可能であることと、*in situ* の状態のままで筋肉疲労を硬さを測定することで検出できることを示した、と考えた。

以上の検討から触覚センサーを用いた *in situ* での広背筋の疲労の検出が可能であることが分かったので、実際に雑種犬を使って広背筋に *preconditioning* を行い、検討を加えることとした。

一般に、広背筋に *preconditioning* を行うと刺激開始時には *preconditioning* を行う前よりも張力が減少するが、連続刺激による張力の低下が少ないため長時間の刺激後には *preconditioning* を行った広背筋の張力がより強くなる (8)。本研究の実験 3 ではこの現象を張力だけではなく硬さにおいても示すことができた。

(図 21)。そして *preconditioning* を行った広背筋と行っていない広背筋の間には連続刺激時の経時変化において、張力だけではな



く硬さについても有意差を認めた。さらに実験 4 では in situ の測定でも疲労実験で有意差を認めた。このことから in situ での硬さの測定によって連続刺激時の広背筋の、preconditioning の有無による疲労の差を検出することができた、と考えた。

このように、疲労実験を行えば in situ で硬さの経時変化をモニターすることで広背筋の耐疲労性が検出できることが示されたが、これらの測定の際に肉眼的にも広背筋の収縮速度が preconditioning の有無によって異なることが観察され、また硬さの波形そのものに差があることがわかった。そこで、硬さの波形を解析することで広背筋収縮能を評価し、耐疲労性の検出が可能か否かを検討した。一般に type 2 の線維で構成される筋肉のほうが type 1 の線維で構成される筋肉よりも収縮速度は速い (8, 9)。preconditioning によって広背筋の type 2 線維が type 1 線維に変換することから、従来から広背筋の収縮弛緩時の張力の経時変化の波形を解析することで preconditioning の有無を検出する方法は示されている (8)。本研究の実験 3 と実験 4 の後半部分では広背筋収縮弛緩時の硬さの波形の検討を行い、張力の場合同様に広背筋の収縮弛緩の分析が可能か否か、そして preconditioning の有無を検出できるか否かを検討した。

preconditioning の有無による張力、硬さの波形の相違は実験 3 の結果から得られたものを図 23 および図 24 に、また実験 4 の結果から得られたものを図 29 に示した。いずれの結果からも、preconditioning を行った広背筋において burst 刺激による収縮の連結がより高度であることがわかる。一般に筋肉は、neuromuscular junction における acetylcholine の放出で生じた

活動電位によってカルシウムイオンが myofibrillar fluid 内に放出され収縮する。引き続き、放出されたカルシウムイオンが endoplasmic fluid 内に能動輸送され収縮が終了する。myofibrillar fluid 内のカルシウムイオン濃度がある濃度以上であると筋肉は収縮を続ける。そのため、筋肉の収縮が終了しないうちに次の新しい収縮が生じると収縮力が加算され、収縮の連結が起こる。type 1 fiber では筋肉の収縮弛緩に 50-100 millisecond かかり、type 2 fiber では 10 millisecond 程である (30)。このように収縮弛緩に要する時間が異なるため burst 刺激の際の収縮の連結が異なっていると考えられる。筋肉の収縮弛緩の時間を決定する要素としては、カルシウムイオンの myofibrillar fluid 内濃度の調節に関わる因子と筋線維の収縮 system に関わる因子の2つの関与が指摘されている。前者は myofibrillar fluid 内に放出されたカルシウムイオンを endoplasmic fluid 内に能動輸送する速度で、これは sarcoplasmic reticulum/sarcolemmal Ca ATPase activity (SR/SL ATPase activity) によく相関する。すなわち、SR/SL ATPase activity の高い筋肉ではカルシウムイオンの uptake が速く、収縮弛緩も短時間である。また後者は myosin の type の相違である。fast skeletal-muscle myosin (FM1,2,3) を持つ type 2 fiber は slow skeletal-muscle myosin (SM) をもつ type 1 fiber より収縮が速い。骨格筋は electrical preconditioning によってよって SR/SL ATPase activity が低下し、fast skeletal-muscle myosin (FM1,2,3) が消失し slow skeletal-muscle myosin (SM) のみに変換する (31)。すなわち、本研究の実験 3 と実験 4 で認められた preconditioning の有無による広背筋の収縮弛緩の

波形、収縮の連結の相違は、preconditioning によって広背筋の myosin が SM type のみに変換し、また SR/SL ATPase activity が低下したことで preconditioning 前に比べ収縮が連結しやすくなったためと考えられる。本研究では burst frequency は 50 Hz で一定であるが、収縮の連結に必要な burst frequency が preconditioning によって低下するという報告もある (8)。

実験 3 では張力と硬さの両方において、広背筋収縮時の time to peak が preconditioning によって延長することが、また広背筋の最大収縮時の攣縮である ripple が減少することが示された。(図 23、図 24、表 2、表 3、表 4、表 5)。従来から筋肉は弛緩時には指数関数的に張力が低下していくことが示されている (23)。この指数関数的な低下は、例えば心臓においても拡張期の左室圧にも認められる (32、33)。実験 3 ではこの事実を張力の測定で確認することができた。(図 25、表 6)。さらに硬さの測定においても広背筋の弛緩時には硬さも指数関数的に低下することが示された。(図 26、表 7)。筋肉の弛緩時の分析は重要な意義を持っており、例えば心筋の場合この過程が energy dependent であることから病態によって様々に変化するといわれている (33)。時定数は広背筋が弛緩する際の初期値に影響されないパラメータなので、弛緩を表現するパラメータとして本研究では張力と硬さの時定数を算出し、比較することにした。一般に、弛緩時の張力と硬さの初期値は conditioning 側の方が conditioning されていない側より値が小さくなると考えられるが、実験 3 の結果である図 26、および実験 4 の結果である図 30 では弛緩時の硬さの初期値が conditioning 側の方が大きい個体、すなわち初期値が逆転している例が示されてい



る。(図 26 の犬 2 と犬 6、図 30 の犬 5)。これらは、0.5 秒間の burst 刺激の間に硬さの値が漸次低下したため生じる現象と考えられるが、弛緩時の初期値に影響されない時定数の比較を行えば、このような burst 刺激の間に生じる広背筋疲労による影響を考えずに conditioning 側と、対照側の比較が可能であると考えられる。結果は表 8、表 9 に示すように preconditioning の有無によって各々の広背筋で時定数には有意差を認めた。さらに実験 4 で、in situ で測定した硬さについても広背筋の収縮弛緩を硬さの変化を記録することで解析できることを示した。特に、弛緩時の時定数の算出においては従来の張力の測定と同様に、広背筋の弛緩時には硬さも指数関数的に減少することが in situ においても示すことができた。(図 30、表 12)。そして、preconditioning の有無が in situ の硬さの測定においても time to peak、ripple、時定数を比較することで可能であることが示された。ただ、各々の雑種成犬ごとに time to peak、ripple、時定数の値は異なっており、これらの数値の標準値を決定することはできなかった。これは、各雑種成犬ごとに広背筋の大きさ、厚さ、重さが異なっているためと考えられる。本研究では左の広背筋に preconditioning を行い、右をそのコントロールとした。他の犬との比較ではなく一頭の犬において比較する限りは、全ての犬で左右の広背筋で有意差を認めているので、これらのパラメータを計測し検討することの有用性は示されたと考える。実際の臨床で preconditioning のモニターを行う場合を想定すると、同一の広背筋における変化を検出ことになるので、標準値もしくは参考値は必ずしも必要ではないと考えられる。触覚センサーは今までに臨床及び実験に応用され、有効性が示され

てきている(10-22)。その操作は簡単で、超音波検査のプローベと同様に、硬さを計測したい対象に接触させればよい。本研究では、広背筋の収縮による筋線維の動きに追従できるよう、触覚センサーを自由に動かせてこ(レコード針を固定している tone arm を改良したもの)に固定した。また触覚センサーの筋線維への追従をより確実にするため、たこ糸を利用して作成したレールの間にセンサーを挿入し、その可動範囲を広背筋の筋線維方向のみに限局させる方法を行い、これも有効であった。触覚センサーで測定した広背筋の硬さ tactile stiffness は広背筋の疲労の検出に際しては張力に代わって利用できるパラメータであり、収縮弛緩の解析においても張力と全く同様に用いることが可能であることを、本研究では示すことができた。臨床の場では広背筋の張力の測定は実際には不可能であるが、触覚センサーであれば広背筋に接触させるだけで硬さの計測が可能である。測定された硬さは張力の代わりに広背筋の収縮能を様々な角度から評価できるパラメータでもあるので、触覚センサーは、広背筋の収縮能を評価する有効な手段として臨床応用可能であると考えられる。特に広背筋の conditioning の評価を行う際には、45分間の疲労実験を行って判定する方法よりも、より短時間の広背筋刺激を行い、広背筋の収縮弛緩時の硬さの波形を解析する方法がより実用的であると考えられる。

本研究では *in situ* の測定を行う際にわずかではあるが皮膚を切開している。この切開口から触覚センサーのプローベを挿入し広背筋に接触させ硬さを測定しているのも、正確には侵襲を伴う。真の意味で無侵襲の検査方法とするには、皮膚の上から測定できるセンサーや、pace maker 埋め込みのさいに同時に広背筋に埋め込む、埋

め込み式のセンサーを開発する必要があると考える。例えば埋め込み式のセンサーの場合、preconditioning の開始時から随時硬さをモニターすることで広背筋の preconditioning の進行を評価することができるであろう。このようなモニターによって、従来の8週間のプロトコールよりも短期間で広背筋が preconditioning されていることが検出されるかもしれないし、その場合はより早期から心補助に活用することも可能である。将来的には現在の触覚センサーをさらに改良することで、dynamic cardiomyoplasty の臨床や心補助への広背筋の応用に関する研究の場においてより有用な応用が期待される。



## 第5章 結語

1：広背筋においては、張力と触覚センサーで測定した硬さの間には強い相関関係を認めた。

2：触覚センサーで広背筋の硬さを *in situ* の状態で計測することは可能であり、広背筋の疲労を検出することができた。

3：触覚センサーで硬さを計測することで、*preconditioning* を行った広背筋と行っていない広背筋の耐疲労性の相違を検出することが可能であった。

4：広背筋の収縮と弛緩の解析に、張力に代えて触覚センサーで計測した硬さを利用することが可能であった。*in situ* の状態での測定、解析も可能であった。

5：触覚センサーは、広背筋の収縮能の評価を通じて骨格筋の心補助への応用に関する臨床及び研究において、有用な活用方法が期待できると考える。

## 参考文献

1. Carpentier A, Chachques JC. Cardiomyoplasty: surgical technique. In: Carpentier A, Chachques JC, Gardjean P, eds. *Cardiomyoplasty*. New York: Futura, 1991:105-22.
2. Carpentier A, Chachque JC, Acar C, Relland J, Mihaileanu S, Bensasson D, Kieffer JP, Guibourt P, Tournary D, Roussin I, Grandjean PA. Dynamic cardiomyoplasty at seven years. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1993;106:42-54.
3. Kaneko Y, Ezure M, Inaba H, Tambara K, Kohno T, Furuse A. Thoracoscopic cardiomyoplasty: a canine feasibility study. *Ann Thorac Surg* 1997;63:477-81.
4. Salmons S. Permanent cardiac assistance from skeletal muscle: a prospect for the new millennium. *Artif Org* 1999;23:380-7.

5. Kaneko Y, Ezure M, Inaba H, Furuse A. Circulatory Assistance Using Linear Skeletal Muscle Ventricle. In: Akutsu T, Koyanagi H, editors. Heart Replacement-Artificial Heart 6. Tokyo: Springer-Verlag, 1998: 257-61.

6. Acker MA, Hammond RL, Mannion JD, Salmons S, Stephenson LW. Skeletal muscle as the potential power source for a cardiovascular pump: assessment in vivo. Science 1987;236:324-7.

7. Salmons S, Jarvis JC. Cardiac assistance from skeletal muscle: a critical appraisal of the various approaches. Br Heart J 1992;68:333-8.

8. Chachques JC, Carpentier A. Experimental Basis of Cardiomyoplasty. In: Carpentier A, Chachques JC, Gardjean P, eds. Cardiomyoplasty. New York: Futura, 1991:77-96.

9. Salmons S, Vrbova G. The influence of activity on some contractile characteristics of mammalian fast and slow muscles. J Physiol 1969;201:535-49.

10. Omata S. Development of a new type of sensor for detecting hardness. Technical Digest of the 8th Sensor Symposium 1989:267-70.

11. Omata S, Terunuma Y. New tactile sensor like the human hand and its applications. Sensors and Actuators 1992;35:9-15.

12. Omata S, Yoshida S, Constantinou CE, Kayata K, Yamaguchi O, Shiraiwa Y. New medical sensor for detecting compliance of living tissue and its applications. Technical Digest of the 12th Sensor Symposium 1994:245-8.

13. Ohtsuka T, Furuse A, Kohno T, Nakajima J, Yagyu K, Omata S. Application of a new tactile sensor to thoracoscopic surgery: experimental and clinical study. Ann Thorac Surg 1995;60:610-3.

14. Miyaji K, Furuse A, Nakajima J, Kohno T, Ohtsuka T, Oka T, Omata S. The stiffness of lymph nodes containing metastatic lung cancer: A new diagnostic parameter measured by a tactile sensor. Cancer 1997;80:1920-5.

15. Miyaji K, Sugiura S, Omata S, Kaneko Y, Ohtsuka T, Takamoto S. Myocardial Tactile Stiffness : A Variable of Regional Myocardial Function. *J Am Coll Cardiol* 1998;31:1165-73.

16. Miyaji K, Furuse A, Kaneko Y, Ohtsuka T, Sugiura S, Omata S. Regional myocardial stiffness measured by a new tactile sensor system. *Jpn Heart J* 1997;38:709-15.

17. Kaneko S, Mizunaga M, Yachiku S, Yamaguchi O, Omata S. Clinical applicability of a new tactile sensor for evaluating rigidity of penis: a comparative study with Regiscan. *Int J Urol* 1996;3:379-82.

18. Kaga N, Ktsuki Y, Kakinuma C, Obata M, Shibutani Y, Omata S. Usefulness of a new tactile sensor for measurement of uterine cervical ripening in mice in a quantitative and noninvasive manner. *Am J Obstet Gynecol* 1996;175:713-8.

19. Niino T, Sato S, Saito Y. An objective measurement of softening of uterine cervix using tactile sensor for hardness. Act Obstet Gyn Jpn 1995;47:619-26.

20. Omata S, Constantinou CE. Modeling of micturition characteristics based on prostatic stiffness modulation induced using hormones and adrenergic antagonists. IEEE Trans Biomed Eng 1995;42:843-8.

21. Hara K, Motooka N, Omata S, Mabuchi T, Kimijima I, Abe R. Development of mammography instrument using new tactile sensor capable of sensing stiffness of tissue. Technical Digest of the 14th Sensor Symposium 1996:101-4.

22. Constantinou CE, Omata S. Analysis of the relative biomechanical effects of  $\alpha 1$  and  $\alpha 2$  antagonists in modifying the compliance of the prostate and micturition parameters of the hormonally manipulated male rat. Neurourol Urodyn 1996;15:85-101.



23. Jewell BR, Wilkie DR. The mechanical properties of relaxing muscle. *J Physiol* 1960;152:30-47.

24. Veen FH, Dassen WRM, Havenith MG, Lucas C, Nagel T, Penn OCKM, Wellens HJJ. In vivo contraction analyses as a measure of canine latissimus dorsi muscle adaptation following chronic electrical stimulation. In: Chiu RCJ, Bourgeois IM, eds. *Transformed muscle for cardiac assist and repair*. New York: Futura, 1990:105-15.

25. Chachques JC, Grandjean PA, Carpentier A. Dynamic Cardiomyoplasty: Experimental cardiac wall replacement with a stimulated skeletal muscle. In: Chiu RCJ, eds. *Biomechanical cardiac assist: cardiomyoplasty and muscle-powered devices*. New York: Futura, 1986:59-84

26. Guldner NW, Klapproth P, Hasenkam JM, Fischer T, Keller R, Noel R, Keding B, Joubert-Hübner E, Kuppe Hermann, Sievers HH. New method for monitoring the functional state of a dynamic cardiomyoplasty. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1997;114:1097-106.

27. Capady C. The effects of baclofen on the stretch reflex parameters of the cat. *Exp Brain Res* 1995;104:287-96.

28. Higuchi H, Yanagida T, Goldman YE. Compliance of thin filaments in skinned fibers of rabbit skeletal muscle. *Biophys J* 1995;69:1000-10.

29. Kraft T, Chalovich JM, Yu LC, Brenner B. Parallel inhibition of active force and relaxed fiber stiffness by caldesmon fragments at physiological ionic strength and temperature condition: additional evidence that weak cross-bridge binding to actin is an essential intermediate for force generation. *Biophys J* 1995;68:2404-18.

30. Grandjean PA. Electrical stimulation of skeletal muscles. In: Carpentier A, Chachques JC, Grandjean PA, eds. *Cardiomyoplasty*. New York: Futura, 1991:39-62.

31. Ianuzzo CD, Hamilton N, O'Brien PJ, Dionisopoulos T, Salerno T, Chiu RCJ. Biochemical character of cardiac and transformed canine skeletal muscle. In: Chiu RCJ, Bourgeois IM, eds. Transformed muscle for cardiac assist and repair. New York: Futura, 1990:25-40.

32. Weiss JL, Fredriksen JW, Weisfeldt ML. Hemodynamic determinants of the time-course of fall in canine left ventricular pressure. *J Clin Invest* 1976;58:751-60.

33. Hirota Y. A clinical study of left ventricular relaxation. *Circulation* 1980;62:756-63.

