

筋再教育訓練が損傷末梢神経(運動神経線維)の再生に
およぼす効果

-平衡速動反応を利用した動物実験モデルによる検討-

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/9482

筋再教育訓練が損傷末梢神経（運動神経線維）の再生におよぼす効果

—平衡速動反応を利用した動物実験モデルによる検討—

金沢大学医学部医学科整形外科科学講座（主任：富田勝郎教授）

八 幡 徹 太 郎

リハビリテーション医療では、単一の末梢神経障害による運動麻痺に対し治療を行う機会が多い。臨床現場で頻用されている治療の一つに運動療法的アプローチである筋再教育訓練があるが、原理や治療効果はいまだ十分に解明されていない。その理由として、臨床現場における筋再教育訓練が原則的に随意収縮を利用する治療手技であるため、動物実験モデルの作成が難しいことが挙げられる。そこで本研究では、固有感覚系からの刺激による反射等を利用し筋収縮反応を誘発するというKenny法の概念に着目した。つまり、モルモットにおいて平衡速動反応の一部として誘発されると考えられる下腿三頭筋群の筋収縮に注目し、圧挫による脛骨神経麻痺を人為的に与えたモルモットに対し、同反応を用いた筋再教育訓練を施行する実験モデルを作成した。今回の研究では、再支配期に行う筋再教育訓練が運動神経線維に与える影響について検討することを目的とし、筋再教育訓練を施行する治療群（ $n=10$ ）と施行しない対照群（ $n=10$ ）を電気生理学的、組織学的に比較検討した。脛骨神経に対するプライヤーを用いた圧挫損傷は、神経遮断（neurapraxia）は混在せず軸索断裂（axonotmesis）が主体であると考えられ、どのモルモットでも一律に圧挫後20日前後に筋収縮反応の再出現を認め、一定の回復過程を呈することを確認した。筋再教育訓練は一日20分のプログラムを作成し、圧挫21日目から60日目まで施行した。電気生理学的検討では、坐骨神経刺激により下腿三頭筋群から導出される複合筋活動電位（compound muscle action potential, CMAP）を圧挫20日目以降5日毎に導出し、潜時・頂点間振幅・持続時間の経時変化を比較検討した。その結果、潜時・持続時間は初期には大きく延長し、以降は徐々に短縮し正常化する傾向を認めたが、両群間の有意差はなかった。一方、振幅は初期は微小で多相性を呈し、以降は徐々に増大しつつ2～3相性へと変化した。その増大傾向は対照群に比し治療群の方が有意に大きく認めた。組織学的検討は、圧挫61日目に採取した下腿三頭筋群筋枝の有髄神経線維に対し、光顕的検討を行った。その結果、横断切片像において、両群の有髄線維総数は正常筋枝の約2倍認めたものの両群間の有意差はなかった。軸索径（axon diameter, AD）では両群の分布は類似していたが、髄鞘厚（myelin thickness, MT）では治療群の分布は対照群に対し全体的に右方偏位を、つまり治療群のMTが厚い傾向を示した。次に、ときほぐし線維においてAD・MT・髄鞘間距離（internode length, IL）の関係を比較したところ、ADとILでは両群間の顕著な有意差はなかったが、MTでは治療群の方が有意差をもって厚いことが示され、横断切片での右方偏位現象を支持する結果が得られた。以上から、再支配期に行う筋再教育訓練は運動神経線維のMTの増大を促進せしめると考えられた。CMAPの振幅が治療群でより大きく増大することは、MTの増大を介して刺激伝導性のより高い運動神経線維が増加するためと推察した。リハビリテーション医療において、末梢神経損傷後の再支配期に施行する筋再教育訓練の意義は、再生神経の髄鞘成熟をより早く、このことを介した運動神経線維の刺激伝導性向上、および支配筋の機能発揮向上をより早く得ることにあると考えた。

Key words peripheral nerve injury, muscle re-education, statokinetic reflex, reinnervation, myelin

リハビリテーションでは、腓骨神経麻痺や顔面神経麻痺に代表される単一の末梢神経障害による運動麻痺に対し治療を行う機会が多い。回復が期待される場合の治療原則^{1)~3)}は、関節拘縮・筋短縮などの二次的合併症の予防、再形成された運動単位の随意反応増加と分離協調性発達のための運動療法（筋再教育訓練）の施行である。

末梢神経障害による運動麻痺に対して行われてきた筋再教育訓練の原点は20世紀初頭にある⁴⁾⁵⁾。この頃猛威をふるったボリオの経験から、Lovett⁶⁾は重力と抵抗の概念に基づく徒手筋

力テストを考案した。この筋力の段階づけという概念から麻痺筋に対しての運動療法が注目され始め、DeLormeら⁷⁾の漸増抵抗運動に代表されるような運動療法プログラムが多く提唱された⁴⁾⁸⁾。その特徴は、一つの筋（主動筋）に治療の焦点が置かれたこと、および筋力の回復に応じ治療を段階的に漸増する概念が生まれたことである。また、訓練手法にも様々なアイデアが取り入れられた。その集大成はSister Elizabeth Kenny⁹⁾による段階的プログラムといえる。本法では、特に随意収縮が微弱な場合、腱や筋、関節包内の固有感覚を刺激することで脊髄反射

平成12年5月22日受付，平成12年7月18日受理

Abbreviations : AD, axon diameter : CMAP, compound muscle action potential : EFD, external fiber diameter : IL, internode length : MT, myelin thickness

経路を介して惹起される筋収縮反応を利用する方法や、視覚や触覚で筋収縮を認識させることでより大きな筋収縮反応を惹起する方法が提唱された。本法は筋再教育訓練の基本概念として現在に受け継がれている。

末梢神経障害に対する筋再教育訓練は、脊髄前角細胞-運動神経線維-筋からなる運動単位の機能不全に対する治療として発展してきたと言える^{3)~5)}。すなわち、脊髄前角細胞に興奮刺激を与え遠心性刺激を惹起し、これが運動神経線維を伝導することにより支配筋の筋収縮が得られる。このことから、筋再教育訓練の効果は収縮する筋だけでなく、興奮刺激をうける前角細胞体、および興奮が伝導する運動神経線維にもあると考えられてきた。しかし、多分に経験的で理論だけが先行してきた歴史的経緯があり、その効果の解明は十分とは言えない。その理由として、動物実験モデルでは随意運動を喚起することが難しいため、科学的裏付けが十分になされ得なかったことが挙げられる。

筋再教育訓練の効果解明は、リハビリテーション医学の今後の発展を考える上で欠かせない課題と考える。そこでまず著者は、反射(平衡速動反応, statokinetic reflex)¹⁰⁾を利用した筋再教育訓練動物実験モデルを作成した。筋再教育訓練に反射(平衡速動反応)を利用した報告は皆無であるが、著者はKennyの概念⁹⁾を発展させた方法であると考えている。次に、一般に可塑性のある末梢神経損傷の回復過程¹¹⁾には、脱神経期(denervation phase)とそれに続く再支配期(reinnervation phase)があるとされる。前者では、損傷直後の神経線維の変性(degeneration)とその後の再生(regeneration)により筋に達するまでの二つの過程があり、筋収縮を認めない時期である。一方、後者では、再生線維が筋に達した後に徐々に成熟(maturation)していく過程であり、これに伴い随意筋収縮が出現し始め徐々に増大する時期である。臨床における筋再教育訓練は、手技的に随意収縮を利用することが多い^{3)~9)}ため、再支配期において施行されることが多い。したがって、今回の動物モデルにおいても筋再教育訓練は再支配期に施行することとし、その回復途上にある運動神経線維におよぼ影響の有無を電気生理学的、組織学的に検討した。

材料および方法

I. 筋再教育訓練の動物実験モデルの作成

1. 被検動物および麻酔法

ハートレー系の雌モルモット9匹(月齢4ヵ月、体重700~800g)を使用し、実験期間中は同一飼料、同一形状の飼育ケージで個別に飼育した。麻酔は、塩酸ザイラジン(xylazine hydrochloride)(Sigma, St. Louis, USA) 10mg/kgと塩酸ケタミン(三共、東京) 50mg/kgの混合溶液を脊柱筋に筋肉内注射して全身麻酔を得た(以下、全麻)。さらに、組織標本採取時はペントバルビタール(大日本製薬、東京) 50mg/kgの腹腔内注射を併用した深麻酔(以下、深麻)で安楽的に行った。

2. 平衡速動反応における下腿三頭筋群の活動

モルモットに高所から落下する外乱刺激を加えると、ある一定の自動反応が両下肢に誘発されるが(図1)、これは平衡速動反応の一種¹⁰⁾であると考えられる。この反応には足関節底屈運動が伴う。つまり、反応を誘発する毎に下腿三頭筋群が収縮するものと考えられる。このことを証明するため、モルモット9匹を用い本手技を覚醒状態で行った際の下腿三頭筋群の活動を筋電図で導出した。導出には脳波用針電極NE-223S(日本光電、東京)を使用し、活性電極を下腿三頭筋内側頭、基準電極をアキレス腱付着部、接地電極を対側下肢足底に刺入し、はずれないように固定した。筋電図機器はCounterpoint MK2(Dantec medical, Denmark)を使用した。

3. 神経の損傷方法と損傷程度

損傷を加える神経は、今回の筋再教育訓練法を想定し、下腿三頭筋群の支配神経である脛骨神経を選択した。神経損傷後の回復過程としては、どの個体でも同様の自然経過をたどり、脱神経期から再支配期に移行する時点が明確かつ一定した神経損傷モデルになることを求めた。すなわち、損傷程度¹²⁾として回復能力のある軸索断裂(axonotmesis)が主体となり、神経遮断(neurapraxia)が混在しない方法を追究した。

1) 損傷方法

圧挫法¹³⁾を選択し、市販の表面平滑な幅4 mmのプライヤーFN-100(トップ、三条)を使用した(図2A)。本器具の先端部の

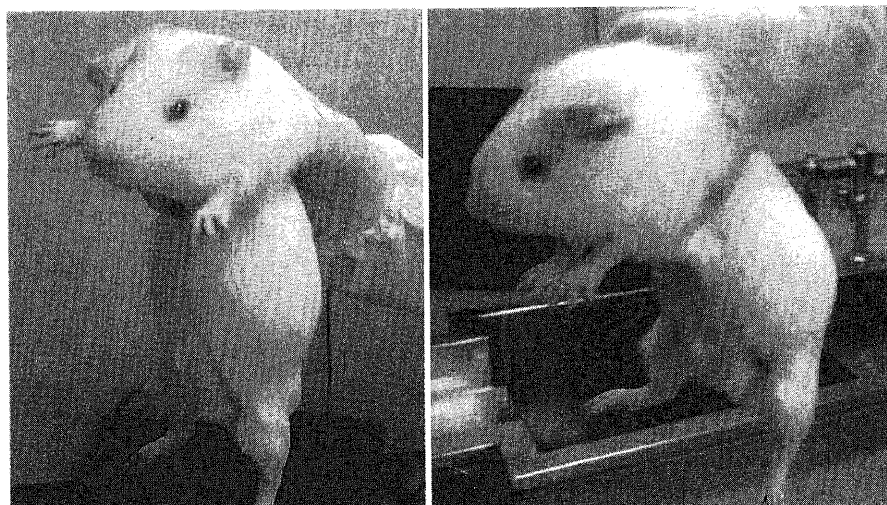


Fig. 1. Auto-response of extremities of guinea pigs during falling down. This response was thought to be a kind of statokinetic reflex. The left photograph shows the posture at rest, and the right shows the response during falling down.

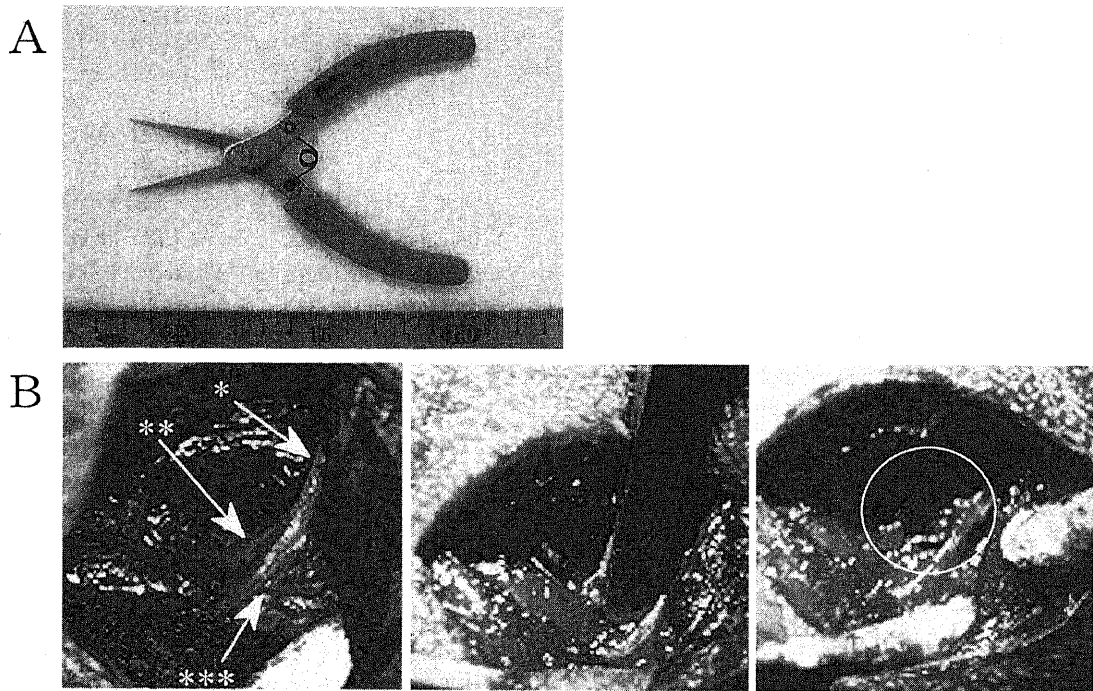


Fig. 2. Tibial nerve crushing. (A) Plier for the aid of nerve crushing. (B) Process of crushing the tibial nerve approaching from the postero-lateral aspect of the left knee. Maximum compressive force of the plier was exerted on the tibial nerve by hand-grasping for 30 seconds. Circle in B shows the lesion immediately after nerve crushing, which was completely compressed and flattened. *Sciatic nerve, **Tibial nerve, ***Peroneal nerve.

特徴は、表面が平滑で柄を握り込むと完全に重なり合う。柔らかい物であれば、形状的に完全に扁平化するまで潰すことが可能である。圧挫の程度は、徒手により本器具の最大限の圧迫力を加え、直視下に神経が完全に扁平化するまで行った(図2B)。圧迫時間は30秒間とした。

筋電図導出を終えたモルモット9匹に全麻を施し、左側下肢の大腿後外側面より坐骨神経を露出し、膝方向へと脛骨・腓骨神経分岐部を求めることで脛骨神経を同定した。圧挫部位は分岐部から遠位方向4 mm長とした(図2B)。上記手技にて圧挫を施行した後は、創を縫合して飼育ケージに戻し、以降は飼育観察のみを継続した。なお、右側下肢は正常肢として温存した。

2) 損傷程度の組織学的確認

Bradley¹⁴⁾の述べる末梢神経損傷後の組織学的変化を参考に、圧挫後5日目と10日目の神経組織を光学顕微鏡にて観察することとした。神経標本は横断切片標本・ときほぐし標本¹⁵⁾の二種類を作成し、横断面と縦走面の両面から観察した。圧挫後のモルモット9匹のうち、圧挫5日目と10日目に各々3匹づつを無作為に選び、以下の操作を行った。

i. 神経標本の採取

深麻下に開胸した後、心尖より左心室内へカニューレを挿入し、5%グルタルアルデヒド-0.15M カコジル酸緩衝液(pH7.3)で心灌流を施し初期固定を行った。次に両下肢の坐骨神経・脛骨神経・下腿三頭筋群を露出し、これを一塊にして採取した後、グルタルアルデヒド-カコジル酸緩衝液内に0℃で一晩保存した。これをカコジル酸緩衝液で洗浄後、実体顕微鏡下に脛骨神経圧挫部ならびにその下腿三頭筋群の筋枝を同定した。標本と

しての採取部位は、圧挫部を避け、その遠位端から5 mm離れた位置より遠位方向1 cm長の筋枝とした。正常肢からもこれに一致する部分を採取した。

ii. 横断切片用試料

1 cm長の採取標本のうち、近位部5 mmを試料とした。1%オスミウム酸-0.15M カコジル酸緩衝液による後固定および髄鞘染色(0℃、2時間)を行い、蒸留水で洗浄後、上昇系列アルコールで脱水し、パラフィン包埋して横断薄切切片を作成した。

iii. ときほぐし用試料

採取標本の遠位部5 mmを試料とした。コラーゲナーゼ(collagenase type II) (Sigma, St. Louis, USA) 150単位/mlを溶解した0.15M カコジル酸緩衝液に0℃で2時間浸した後¹⁶⁾、カコジル酸緩衝液で洗浄し1%オスミウム酸による後固定および髄鞘染色(0℃、2時間)を行った。蒸留水で洗浄後、室温にて30%グリセリン溶液で一晩保存したのち、90%グリセリン溶液で保存した。ときほぐし術¹⁵⁾は、スライドガラス上に滴下したグリセリン原液に試料を浸し、実体顕微鏡下に確認しつつ市販の先端鋭な針器具2本を用いて両手動作で行った。同操作を終えた後、カバーガラスをかけ光学顕微鏡で観察できるようにした。

3) 損傷後の自然経過の確認

圧挫後のモルモット9匹のうち残り3匹を使用し、下腿三頭筋群の複合筋活動電位(compound muscle action potential, CMAP)を圧挫後10日毎に導出した。導出時は毎回全麻を施し、圧挫時に準じた手術手技で坐骨神経を露出し、双極電極UM2-5050(ユニークメディカル、大阪)を刺激電極として設置した。

設置位置は脛骨・腓骨神経分岐部より近位1 cmの坐骨神経とし、大腿屈筋群筋枝は回避した。導出電極は脳波用針電極NE-223S (日本光電) を用い、活性電極を下腿三頭筋内側頭の筋腹、基準電極をアキレス腱付着部、接地電極を対側下肢足底に刺入した。刺激と計測はCounterpoint MK2 (Dantec medical) を使用し、刺激は最大上刺激閾値の強さで毎秒1回、持続時間0.2ミリ秒の矩形波による定電流で行った。なお、腓骨神経支配筋群を無反応とするため、腓骨小頭部に腓骨神経を2%キシロカイン注射液 (藤沢, 大阪) 微量でブロックした。

II. 末梢神経損傷による運動麻痺に対する筋再教育訓練の効果検討

今回の筋再教育訓練の動物実験モデルが適切なものであることを確認した後、以下の実験をすすめた。

1. 被検動物および麻酔法

ハートレー系の雌モルモット20匹 (月齢4ヵ月, 体重700~800g) を用いた。麻酔法はIの1.に準じた。

2. 実験プロトコルの概要 (図3)

モルモット20匹に対し、全麻下に左下肢の坐骨神経・脛骨神経を露出し、圧挫前の下腿三頭筋群CMAPを導出した後、脛骨神経に圧挫損傷を与えた。これら無作為に2群に分け、筋再教育訓練を行う治療群 (n=10)、行わない対照群 (n=10) とした。実験期間は圧挫後61日間とし、後述する脱神経期に相当する圧挫20日目までは両群とも同一飼料、同一形状の飼育ケージで個別に飼育し経過観察のみ行った。筋再教育訓練は、再支配期に相当する圧挫21日目から治療群に対して開始し、圧挫60日目まで継続した。電気生理学的評価は下腿三頭筋群のCMAPにて行い、圧挫20日目以降60日目まで5日毎に全麻下に評価した。組織学的評価は、最終日 (圧挫61日目) に深麻下に採取した下腿三頭筋群筋枝を使用した。

3. 筋再教育訓練

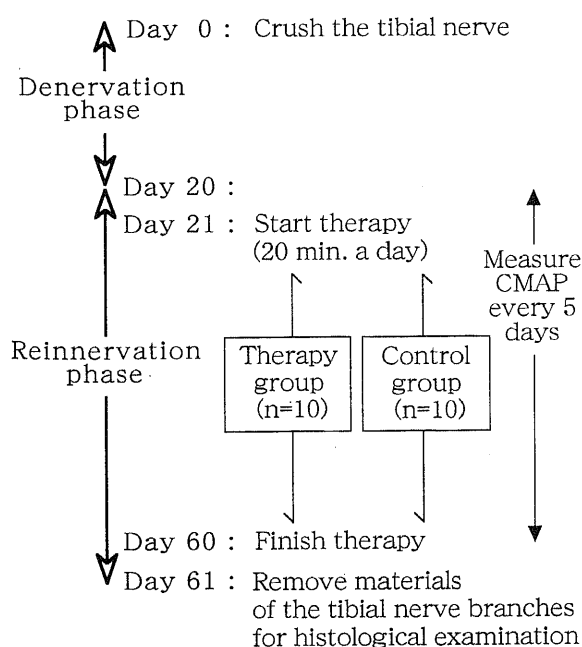


Fig. 3. Program of the experiment. This was planned to start with tibial nerve crushing (day 0), and to end by removal of histological samples (day 61).

筋再教育訓練は、CMAP導出の日を除いて一日一回施行した。一回の施行時間は、リハビリテーション診療における理学療法簡単な規準に準じ約20分間となるようにした。具体的には、落下時間を約1秒、休止間隔を約1~2秒としてこれを40回反復することを1セットとし、セット所要時間を約1分30秒、セット間休憩¹⁷⁾¹⁸⁾を30秒として、一日に行う訓練量を10セットとした。手技 (図4A) は、検者の右手で背側からモルモット体部を把持し、そのまま約1 m高をすばやく (約1秒間) 落下させた。落下方向は垂直ではなく、筋収縮反応が出現しやすい前下方向へとした。

4. CMAPの検討

両群間の比較検討項目は、潜時・頂点間振幅 (陰性波頂点と陽性波頂点の間)・持続時間 (立ち上がりから陽性波頂点まで間) の3項目とした。CMAP導出時は、導出電極の先端を下腿三頭筋内側頭の筋腹を中心として少しずつ移動させながら、各個体毎に計12波形を導出した。続いてCounterpoint MK2 (Dantec medical) で潜時・振幅・持続時間を計測し、12データ分を加算平均した値を各個体のデータとした。5日毎に求めたデータは、群別に平均値±標準偏差を算出した。両群間の比較検定はt検定 (Macintosh, Statview J 4.5) を用い、 $p < 0.05$ を有意とした。

5. 下腿三頭筋筋枝の組織学的検討

観察対象は、光学顕微鏡下に観察される有髄神経線維とした。

1) 横断切片標本

治療群、対照群とも各々2つずつが染色不良であったため対象から除外し、ともにn=8として比較検討した。なお、横断

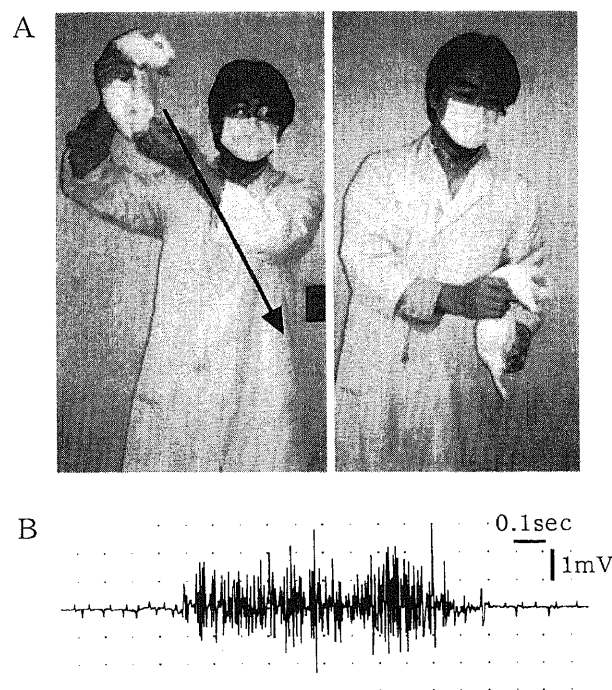


Fig. 4. Muscle re-education by statokinetic reflex in guinea pigs. (A) Procedure of muscle re-education. Guinea pigs were forced to fall down to antero-inferior direction for about one second. (B) Electromyogram recorded from the medial head of the gastrocnemius muscle while muscle re-education was performed. This apparently showed the response of muscle contraction during falling down.

像では健側下肢の下腿三頭筋群筋枝を正常群 ($n=8$) として比較に加えた。顕微鏡下の横断面 (倍率 $\times 400$) の全体像を分割撮影 (富士フィルム, Fujicolor super100) した後、画像処理装置 (Macintosh, Adobe Photoshop 3.0J) にて解像度400で再現した。検討項目は有髄線維総数、全有髄線維の軸索径 (axon diameter, AD) および髄鞘厚 (myelin thickness, MT) とした。

まず、画像解析装置 (Macintosh, NIH Image 1.61) を用いて標本毎に有髄線維総数を計数し、群別に平均有髄線維総数 $\pm$ 標準偏差を求めた。群間の比較検定は t 検定 (Statview J 4.5) を用い、 $p < 0.05$ を有意とした。次に、全有髄線維の軸索面積 (axon area)、髄鞘を含む線維面積 (external fiber area) の2つを画像解析装置 (NIH Image 1.61) で計測し、自動計算式 (Statview J 4.5) にてまず AD と線維径 (external fiber diameter,

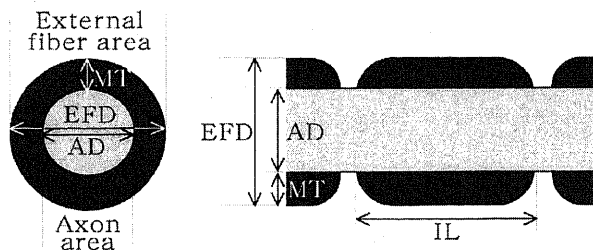


Fig. 5. Measuring portion of AD, EFD, MT, and IL of myelinated nerve fiber for histological examination by light microscopy. The left schematic diagram shows the transverse section, and the right shows the longitudinal section. In transverse section, each AD and EFD was calculated from axon area and external fiber area. In both sections, MT was calculated by $(\text{EFD} - \text{AD}) / 2$. AD, axon diameter; EFD, external fiber diameter; IL, internode length; MT, myelin thickness.

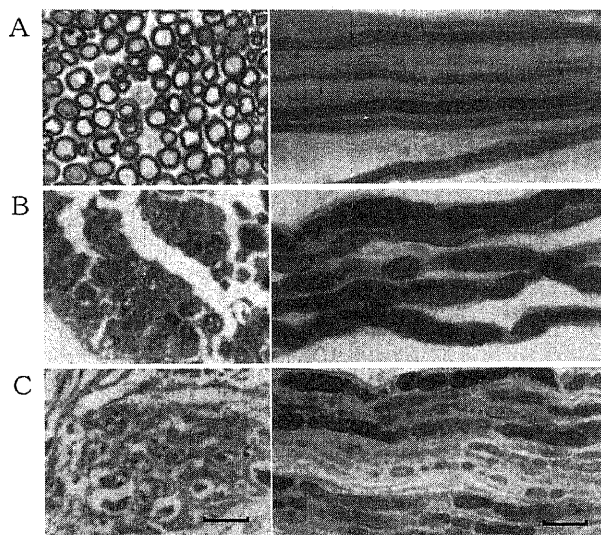


Fig. 6. Light micrographs of the transverse sections and the teasing fibers of the tibial nerve branches to the gastrocnemius-soleus muscle. The process of Wallerian degeneration is presented in B and C. (A) Normal nerve. (B) Day 5 after nerve crushing. (C) Day 10 after nerve crushing. Scale bars in photos indicate $20 \mu\text{m}$.

EFD) を求め、さらに、AD と EFD から MT を算出した (図5)。この2項目について標本毎にパーセント度数分布を求めた後、群別に平均パーセント度数分布を算出し、分布を三群間で比較した。

2) ときほぐし線維標本

標本は、治療群と対照群ともに各々3つずつが染色不良であったため対象から除外し、両群とも $n=7$ とした。顕微鏡下のときほぐし線維 (倍率 $\times 200$) を分割撮影 (Fujicolor super100) した後、画像処理装置 (Adobe Photoshop 3.0J) を用いて解像度400で再現した。髄節画像は、各標本から無作為に約150ヶずつを得た。検討項目は、AD と髄節長 (internode length, IL), AD と MT, IL と MT, 以上3項目の二変量関係とした。

まず画像解析装置 (NIH Image 1.61) を用いて全髄節の IL $\cdot$ AD $\cdot$ MT を計測した。AD, MT の値は、髄節の5カ所を無作為に選びその計測値の平均値を用いた (図5)。これらを群別に集計し、AD と IL, AD と MT, IL と MT, の各々につき二群間

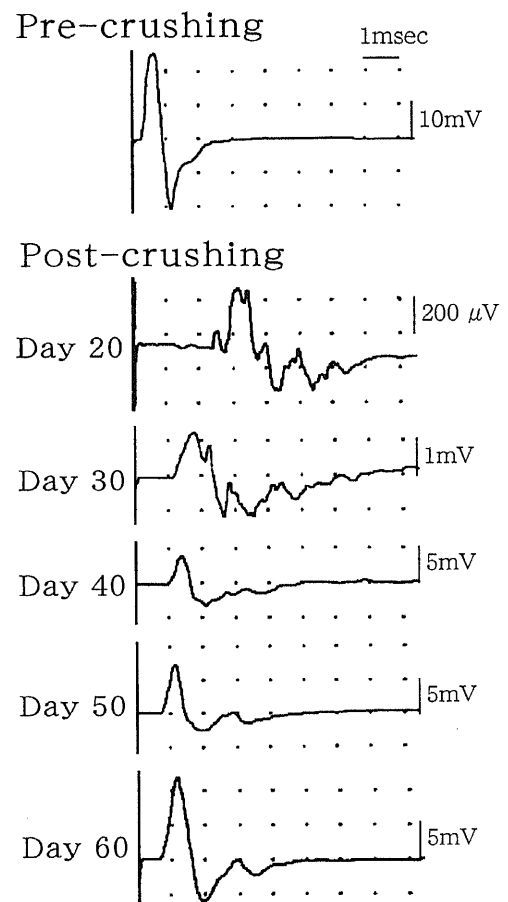


Fig. 7. Changes of typical wave form pattern of CMAP of the medial head of the gastrocnemius muscle. Electrical response was absent for the first 20 days after tibial nerve crushing, corresponds to the "denervation phase". A feeble poly-phasic wave with delayed latency and long duration was appeared at day 20 after nerve crushing, which is the sign of the beginning of reinnervation. Then CMAP developed to two- or three-phasic wave with latency and duration gradually shortened, and amplitude getting gradually higher. This period corresponds to the "reinnervation phase". CMAP, compound muscle action potential.

比較検討を行った。検定は t 検定 (Statview J 4.5) を用い、 $p < 0.05$ を有意とした。

成 績

I. 筋再教育訓練の動物実験モデルの妥当性

1. 落下中の下腿三頭筋群の活動

図4Bの筋電図に示されるように、落下中に誘発される平衡速動反応に一致して下腿三頭筋群の筋収縮反応が一律に誘発された。この筋収縮反応は、被験モルモットである9匹全てに認めた。

2. 圧挫神経の組織所見

図6に、下腿三頭筋群筋枝の光顕像を示した。圧挫5日目(図6B)、10日目(図6C)の横断像では、全領域に髄鞘の変性所見が認められ、正常構造(図6A)を持つ有髄線維は全く観察されなかった。ときほぐし像では、確認できた範囲内全てにおいて髄球の鎖状配列を主体とした髄鞘崩壊の所見を呈し、その変性過程としても5日目より10日目の方が進行していた(図6B、

C)。これはBradley¹⁴⁾の報告するワラー変性(Wallerian degeneration)およびその推移を示す所見に矛盾しないと考えられた。

3. 圧挫後の神経再生の経過

圧挫後のCMAPの推移について一例を図7に示したが、同様の経過は被験モルモット3匹全てに認められた。すなわち、圧挫10日目は無反応であったが、20日目には多相性で微小振幅のCMAPが出現し、以降は振幅の増大傾向、潜時と持続時間の正常化傾向とともに2~3相性のCMAPへと変化した(図7)。これは軸索断裂の回復途上を示す所見¹⁹⁾に相当すると考えられた。また初期の20日間が脱神経期に相当し、その後が再支配期に相当すると考えられた。

4. 再教育訓練実験モデルとしての妥当性

モルモットの落下刺激で誘発される平衡速動反応では、下腿三頭筋の筋収縮が一定して誘発されるため下腿三頭筋群運動単位に興奮刺激を与える手法となり得る。一方、月齢4ヵ月のモルモットの脛骨神経にプライヤーFN-100(トップ)を用いた最大圧迫を30秒間与えると、下腿三頭筋群筋枝が軸索断裂主体で神経遮断の混在しない損傷に至る。これは一定の再生過程を呈し、どの個体でも圧挫後20日目頃に再支配期が始まる。

つまり、上記神経損傷モデルの圧挫20日以降に平衡速動反応を利用した手技を施すことで、目的とする再支配期の筋再教育訓練実験モデルになると結論した。

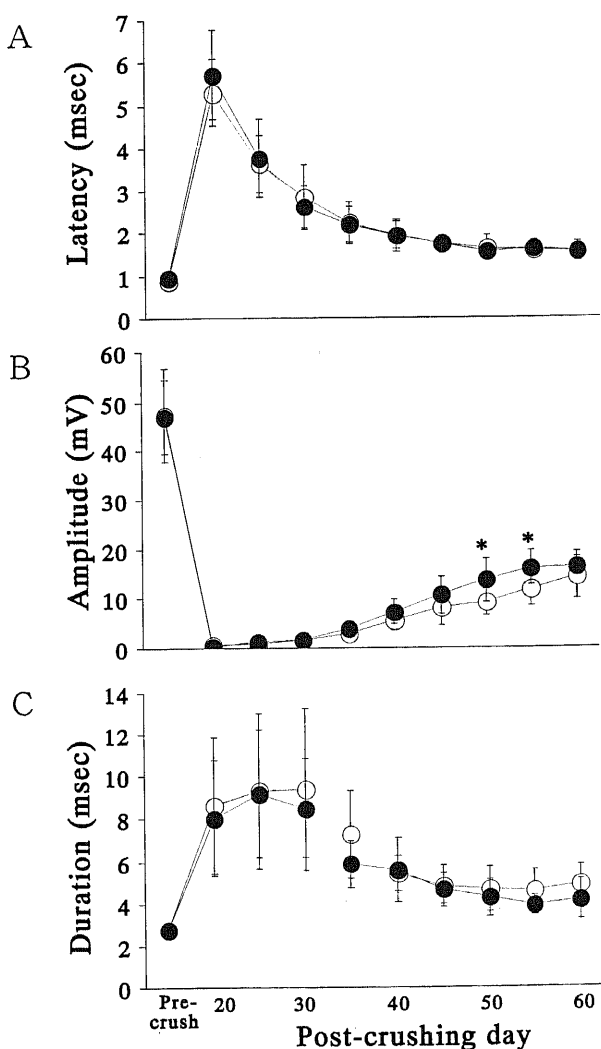


Fig. 8. Changes of three parameters of CMAP. (A) Latency. (B) Amplitude. (C) Duration. ○, control group (n=10); ●, therapy group (n=10). Each value represents $\bar{X} \pm SD$. * $P < 0.05$ vs. control group. CMAP, compound muscle action potential.

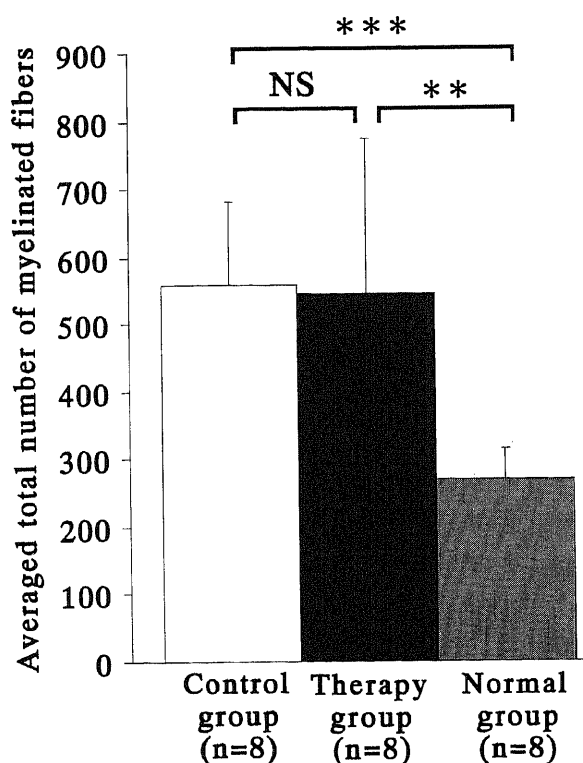


Fig. 9. Averaged total number of myelinated fibers in the transverse sections of the tibial nerve branches to the gastrocnemius-soleus muscle on day 61. Value in each group represents $\bar{X} \pm SD$. ** $P < 0.01$ vs. normal group. *** $P < 0.0001$ vs. normal group. NS, no significant difference.

II. 筋再教育訓練が神経線維に及ぼす効果に関する電気生理学的, 組織学的検討結果

1. CMAPの経時的变化

1) 潜時

図8Aに正常値および圧挫20日目以降の推移を示した。両群とも圧挫20日目は損傷前に比し大きな遅延を呈したが、以降は経時的に正常値へと近づく傾向を認めた。両群間の有意差はどの時期にも認めなかった。

2) 頂点間振幅

図8Bに正常値および圧挫20日目以降の推移を示した。両群とも経時的に増大する傾向を示した。両群間の比較では、治療群の方がより大きい増大傾向を呈し、50日目と55日目には両群間に有意差が生じた。

3) 持続時間

図8Cに正常値および圧挫20日目以降の推移を示した。両群とも圧挫20日目は損傷前に比し大きく延長し、その後は経時的に短縮する傾向を認めた。両群間の有意差はどの時期にも認めなかった。

2. 圧挫61日目の横断像

1) 有髄線維総数

下腿三頭筋群筋枝の有髄線維総数の平均値は対照群558±123, 治療群543±230, 正常群267±46であった。図9に示した通り、対照群と治療群の有髄線維総数は正常群の約2倍に達し、統計学的には両群ともに正常群に対し有意な増加を認めた。しかし、対照群と治療群の間では有髄線維総数に有意差は認めなかった。

2) 有髄線維のヒストグラム

ADに基づいたヒストグラム (図10A) では、正常群の分布は

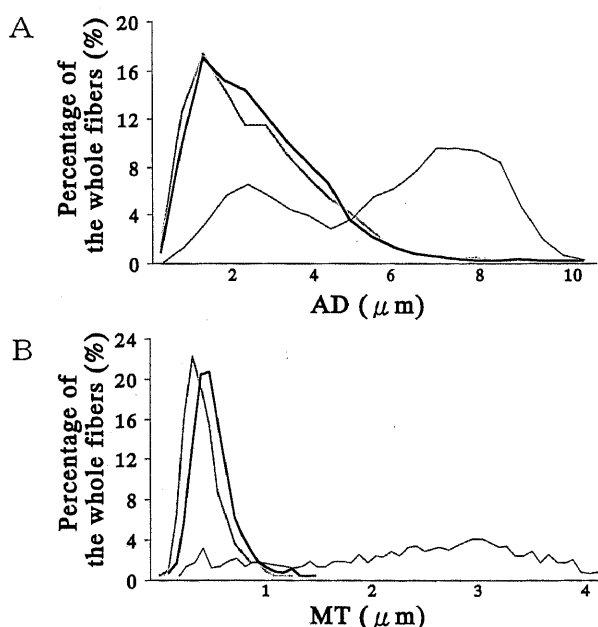


Fig. 10. Histograms of the tibial nerve branches to the gastrocnemius-soleus muscle on day 61 analysed from the transverse sections. (A) Histogram based on AD. (B) Histogram based on MT. Thick black line, therapy group (n=8); Thick gray line, control group (n=8); Thin black line, normal group (n=8). AD, axon diameter; MT, myelin thickness.

Ecclesら²⁰⁾の報告にあるように二峰性を示した。これに対し、治療群と対照群はともに一峰性で、分布は左方すなわち小径側に偏位していたが、両者は類似した分布曲線を示した。一方、MTに基づいたヒストグラム (図10B) では、治療群と対照群はともに一峰性で、正常群に対して極端に左方すなわち薄い側へと分布が集中した。さらに治療群の分布は、対照群に対して明らかに全体的に右方偏位を示し、治療群でのMTの増大が示唆された。

3. 圧挫61日目のときほぐし像

渉猟し得た髄節数は対照群1200, 治療群1073の計2273であった。なお以下の1) 2) の検討では、ADが6~7 μmに相当する範囲の髄節は度数が少ないため (表1), 検討対象から除外した。同様に以下の3) の検討では、ILが0~100 μmおよび350~500 μmに相当する範囲の髄節は、度数が少ないか欠損するため (表2), 検討対象から除外した。

Table 1. Distribution of all samples of internodes acquired by teasing method based on axon diameter

AD (μm)	Number of internodes	
	Control group	Therapy group
0~1	60	77
1~2	196	226
2~3	266	234
3~4	354	280
4~5	236	193
5~6	78	57
6~7	10	6
Total	1200	1073

Because of small number, the samples of 6~7 μm were eliminated from examination (see Figure 11A). Number of materials is seven in both groups. AD, axon diameter.

Table 2. Distribution of all samples of internodes acquired by teasing method based on internode length

IL (μm)	Number of internodes	
	Control group	Therapy group
0~50	2	0
50~100	35	7
100~150	117	81
150~200	289	293
200~250	356	371
250~300	252	225
300~350	107	75
350~400	32	17
400~450	8	2
450~500	2	2
Total	1200	1073

Because of small number, the samples of 0~50 μm, 50~100 μm, 350~400 μm, 400~450 μm and 450~500 μm were eliminated from examination (see Figure 11B and 11C). Number of materials is seven in both groups. IL, internode length.

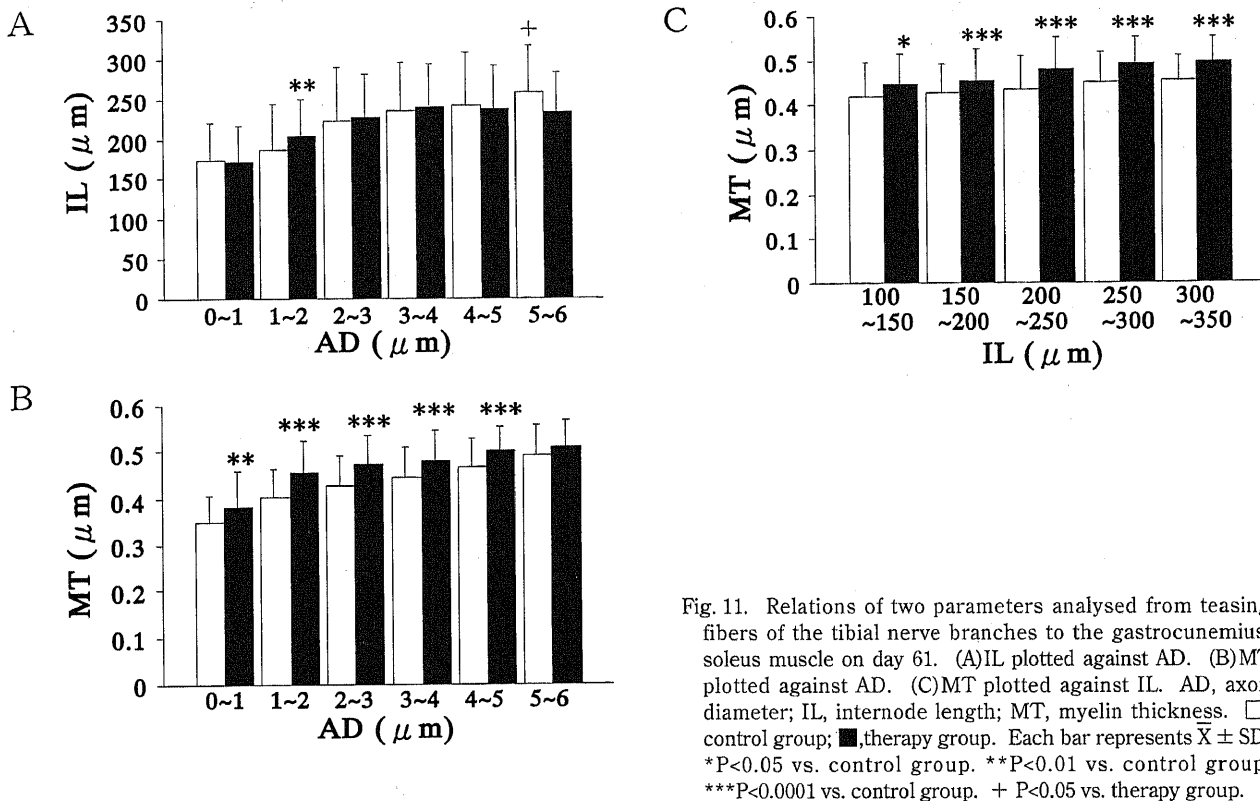


Fig. 11. Relations of two parameters analysed from teasing fibers of the tibial nerve branches to the gastrocnemius muscle on day 61. (A) IL plotted against AD. (B) MT plotted against AD. (C) MT plotted against IL. AD, axon diameter; IL, internode length; MT, myelin thickness. □, control group; ■, therapy group. Each bar represents $\bar{X} \pm SD$. * $P < 0.05$ vs. control group. ** $P < 0.01$ vs. control group. *** $P < 0.0001$ vs. control group. + $P < 0.05$ vs. therapy group.

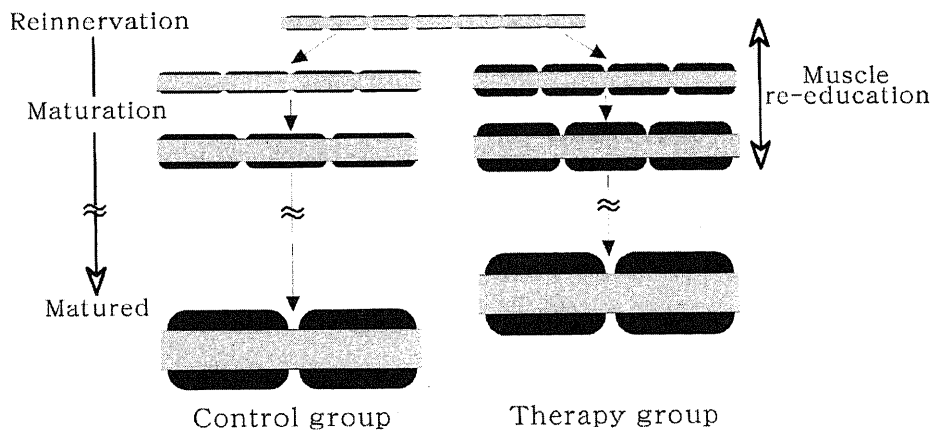


Fig. 12. A schematic diagram for the hypothesis of the effect of muscle re-education performed in reinnervation phase. As showing, muscle re-education may leads to earlier maturation of motor nerve fibers as a result of greater MT, but neither AD nor IL are affected by muscle re-education. The final matured appearance of the both groups is supposed to be the same. AD, axon diameter; IL, internode length; MT, myelin thickness.

1) ADとILの関係

ADとILの関係を両群間で比較検討した結果を図11Aに示した。ADが1~2 μmおよび5~6 μmの範囲で両群のILは有意差を認めたが、その他の大部分の範囲で両群のILに有意差がなく、全体として両群のADとILの間に顕著な相違は認めなかった。

2) ADとMTの関係

ADとMTの関係を両群間で比較検討した結果を図11Bに示した。ADが5~6 μmを除いた大部分の範囲において、治療群

のMTが対照群に対して有意に大きい値を示し、両群のADとMTの間に有意な相違を認めた。

3) ILとMTの関係

ILとMTの関係を両群間で比較検討した結果を図11Cに示した。ILの全範囲において治療群のMTが有意に大きい値を示し、両群のILとMTの間に有意な相違を認めた。

考 察

今回の筋再教育訓練に利用した動物の平衡運動反応について

は、Marey²¹⁾とMonnier²²⁾が高所から背中を下にして落下させたネコに無意識的に発現する着地動作、すなわち頭部・体幹を回転して姿勢を正し、四肢を伸展して地面に着地するという動作を分析している。これは落下中、自己の運動や姿勢を感知する迷路・固有感覚・触覚・視覚入力に延髄で統合処理され、四肢や体幹の相互関係が重力とバランスをとるよう無意識に調整する一種の姿勢保持機構¹⁰⁾であり、抗重力筋の反射的筋活動で行われる自動反応であると説明している。その中の一つに、小児の運動発達診断手技の一つである下肢パラシュート反応²³⁾がある。これは、小児を垂直位置にしてから急に下方へ動かす時に着地を目前に発現する下肢の自動反応である。今回のモルモットの反応は、手技的にこれに相当するものと考えている。筋電図で確認した下腿三頭筋群の収縮は、落下刺激により延髄で統合された遠心性刺激が脊髄を下行し、腰仙髄レベルで下腿三頭筋支配の前角細胞体に興奮刺激を与え生じると考えられる。

一般に、運動負荷は正常末梢神経に対してなんらかの変化をもたらすことが知られている。Samorajskiら²⁴⁾はマウスに自由走行を21ヵ月施行すると軸索径が増大したと述べている。一方、Royら²⁵⁾はラットに強制走行を8~12週施行したところ軸索径・線維径・髄鞘面積のいずれも縮小したと報告し、Keyら²⁶⁾はラットに強制走行を13週施行したが、線維数・線維径・軸索径・髄鞘のいずれも変化がなかったと報告している。近年ではKandaら²⁷⁾が17ヵ月齢のラットに10ヵ月間の水泳を施行し、前角細胞数・軸索径の増大傾向ならびに前角細胞体の有意なサイズ増大を認めたことより、運動負荷が神経の加齢性変化を遅らせると述べている。このように、運動負荷には正常神経の形態変化や機能変化をもたらす可能性があると考えられる。

一方、末梢神経麻痺に対する運動負荷の効果に関しては、いまだ一定の見解が得られていないのが現状である。Vecchi²⁸⁾はラット坐骨神経圧挫後の随意収縮の認めない脱神経期にトレッドミル負荷を強制したところ、神経線維の側芽形成が増加したと報告し、Wedeles²⁹⁾は随意収縮の出現した再支配期に過負荷を行うと神経線維数が増加したと報告している。一方、Gutmannら³⁰⁾は脱神経期の運動負荷により軸索再生が促進されたが、再支配期の運動負荷では軸索径の縮小と神経内空素量の減少を認め、神経回復に悪影響だったと述べている。逆に、Badkeら³¹⁾は脱神経期の運動負荷が軸索再生を遅延させる反面、再支配期の運動負荷では終板シナプス伝達が促進されたと述べている。近年では、Soucyら³²⁾が部分脱神経筋ラットに強制走行と自由走行を組み合わせた運動負荷を施行し、脱神経期の運動負荷は軸索再生に有害である可能性を示している。一般に、末梢神経麻痺に対する運動負荷は悪影響が多いとする報告が多い。しかし、これらの研究での運動負荷は強制負荷や長時間の負荷が多く、過負荷が神経再生に有害であるとの報告^{32)~36)}が多いことに注目する必要がある。すなわち、有効な運動負荷量がいまだ明確にされていないと言える。

ところで、上述してきた基礎研究では、運動負荷の方法として水泳³⁷⁾やトレッドミル走行³⁸⁾といった方法を用いている。しかし、臨床現場における末梢神経麻痺に対する運動療法としては、麻痺筋のみに対して重点的に筋収縮を誘発させる治療法^{3~9)}が多く施行されている。これに準じた方法で動物実験を施行した研究は、渉猟し得た中ではPachterら³⁹⁾⁴⁰⁾とvan-Meeterenら⁴¹⁾の研究のみであった。Pachterら³⁹⁾⁴⁰⁾は腓骨神経

圧挫ラットを用い、圧挫後4日間長趾伸筋に対して受動伸張訓練を施した。11日目の終板では神経終末枝数の増加を認めたことより、脱神経期の受動伸張訓練により終板構造が維持され、さらに再支配期の神経再生が助長される可能性を述べている。一方、van-Meeterenら⁴¹⁾は水ボトルを天井に設置した飼育ケージを用い、水分補給時は両下肢での爪立ち姿勢を強制する環境で坐骨神経圧挫ラットを飼育したところ、脱神経期の運動機能向上、および再支配期の運動神経伝導速度の改善を認めたと述べている。いずれも臨床での筋再教育訓練に類似した手法を用いた研究として、ともに神経再生が助長されたとする点で注目される。しかし、両者とも筋再教育訓練を施行したのは脱神経期である。今回の著者の研究は、再支配期に施行した場合の効果を検討しており、この点でPachterら³⁹⁾⁴⁰⁾とvan-Meeterenら⁴¹⁾の研究とは異なる。

著者の研究の組織学的検討では、大部分が運動神経線維で構成される筋枝を選択して検討した。まず、横断切片像での比較では、有髄線維総数(図9)は両群間での有意差を認めず、ADに基づいたヒストグラム(図10A)にも両群の相違がなかった。しかし、MTに基づいたヒストグラム(図10B)では対照群に対し治療群は右方偏位を示し、治療群の全般的なMT増大傾向を認めた。つまり、筋再教育訓練は、髄鞘に対して影響を与えている可能性が考えられた。

ときほぐし線維の検討では、ILをAD別に比較検討した場合(図11A)、全般的に両群間での有意差は認めないと言える。このことと図10Aの結果を考えあわせると、筋再教育訓練はAD、IL、およびその二変量関係には影響を及ぼさないと考えられた。次に、MTをAD別に両群で比較検討した場合(図11B)、全般的に治療群のMTが対照群に比し有意に厚いことが示された。このことから、筋再教育訓練にはMTを増大せしめる効果があると考えられた。これは横断切片像における右方偏位(図10B)を支持する結果であった。また、MTをIL別に両群で比較検討した場合(図11C)も、治療群のMTが対照群に比し有意に厚いことが示された。以上を総合的に判断すると、筋再教育訓練が施行された場合、有髄線維のADとILの二変量関係は維持されつつMTのみが増大すると考えられた。

電気生理学的評価を行ったCMAPは、運動神経線維の機能的性を反映するとともにその組織学的状態を推測することができる。また運動神経線維が機能的に成熟しているほど、振幅は増大し、潜時と持続時間は短縮すると言われている⁴²⁾。今回の実験では、両群ともこれらの変化を認めており(図8)、両群とも再生と成熟が進行中であることが言える。一方、両群の比較では、潜時・持続時間の経時的変化(図8A、C)には有意差を認めず、振幅の経時的変化(図8B)に有意差を認めた。

一般に、CMAPの潜時・持続時間は組織学的にADおよびILと大きく関係があると考えられている⁴²⁾⁴³⁾。いずれも経時的には収束傾向を示すことから、組織学的にはADの増大とILの延長化が両群ともに進行していると推測される。しかし、両群間の推移に有意差がなかったのは、組織学的検討で示されたとおり筋再教育訓練の影響がADやILには及ばなかったためと考えられる。

CMAPの振幅は、一般にAD・IL・有髄線維数と大きく関係があり、ADおよびILの大きい有髄線維数が多いほど持続時間が収束し振幅が増大するといわれている⁴²⁾⁴³⁾。しかし、今回の実験では、AD・IL・有髄線維総数は両群間での有意差を認め

なかった。ところで、髄鞘は有髄神経の跳躍伝導を担うため、神経線維の伝導性に大に関係がある。例えば、神経線維に脱髄性病変がある場合、その伝導性が低下する。脱髄線維が増加するほどCMAPの振幅は減少する⁴²⁾⁴³⁾。このことは逆に、脱髄変化のない有髄線維が多いほどCMAPの振幅が増大すると言える。つまり、MTの大きさは有髄神経の機能性つまり刺激伝導性と関係があると考えられる。今回、MTの大きさにおいて両群間の有意差を認めた一方、有髄線維総数には有意差を認めなかった。このことは、同数の有髄線維を有する両群の下腿三頭筋群筋枝を比較した場合、MTの増大を有意に認める治療群では刺激伝導性のより良好な有髄線維が多いと言える。このことがCMAPの振幅増大として反映されたと推察した。

以上、組織学的結果と電気生理学的結果は、相互に説明可能なものと考えられた。つまり、再支配期に施行する筋再教育訓練は、運動神経線維の再生過程においてMTの増大という形で髄鞘成熟を促進せしめ、有髄線維の刺激伝導性をより高める効果を与えたと考えた。また、CMAPの振幅増大がより大きいことから、この髄鞘成熟を介して支配筋も機能的により高い効果を発揮できるものと考えられた。さらに、筋再教育訓練の影響はADやILにはおよぼすMTのみに変化を与えていることから、図12に示すように、再生線維の長期的な成熟過程としてはその再生過程を時間的に早める効果である可能性がある。一方、今回の実験では、筋再教育訓練の適切な継続期間、今回の運動負荷量の妥当性など課題を残す面がある。また、本法を脱神経期に施行した場合、あるいは再支配期中期や後期に施行した場合の検討という新たな命題も生じ、今後さらなる検討が必要と考える。

結 論

末梢神経損傷の再支配期において施行される筋再教育訓練が、神経線維によぼす影響を電気生理学的および組織学的に検討した。

1. 治療群では、組織学的に髄鞘厚の増大を有意に認めたが、有髄線維総数・軸索径・髄鞘長には対照群との有意差がなかった。

2. CMAPの経時的変化では、潜時と持続時間には両群間の有意差がなかったが、振幅は治療群でより大きな増大傾向を認めた。

以上より、筋再教育訓練は運動神経線維の髄鞘厚増大を促進せしめ、このことを介して有髄線維の刺激伝導性をより高めると同時に、支配筋の機能発現もより高めると考えた。なお、これは再生神経の成熟過程を時間的に早める効果として発現していると考えた。

謝 辞

稿を終えるに臨み、御指導、御校閲を賜りました恩師富田勝郎教授に深甚なる感謝の意を表します。また直接研究の御指導を賜りました金沢大学医学部保健学科立野勝彦教授に心より感謝の意を表わします。また神経組織学の基礎を御指導、御教示いただきましたノースカロライナ大学脳神経外科学部門Andrew R. Blight博士に深く感謝の意を表わします。

なお、本論文の要旨は第35回日本リハビリテーション医学会(1998, 青森)、第36回日本リハビリテーション医学会(1999, 鹿児島)においてそれぞれ第一報、第二報として発表した。

文 献

1) Frykman GK, Waylett J. Rehabilitation of peripheral nerve

injuries. *Orthop Clin North Am* 12: 361-379, 1981

2) Herbison GJ, Jaweed MM, Ditunno JF. Exercise therapies in peripheral neuropathy. *Arch Phys Med Rehabil* 64: 210-205, 1983

3) 本田哲三, 千野直一. 末梢神経損傷と機能訓練. 総合リハ 12: 947-951, 1984

4) Knapp ME. Exercise for lower motor neuron lesion. In JV Basmajian (ed), *Therapeutic Exercise*, 3rd ed, p349-374, Williams and Wilkins, Baltimore, 1978

5) 真野行生. 神経生理学的アプローチと運動学習. リハビリテーション神経学(福井園彦編), 第1版, 342-355頁, 医歯薬出版, 東京, 1984

6) Lovett RW. *Treatment of Infantile Paralysis*, 2nd ed, Blakiston's Son and Co, Philadelphia, 1917

7) DeLorme TL, Watkins AL. Techniques of progressive resistance exercise. *Arch Phys Med Rehabil* 29: 263-273, 1948

8) Gurewitsch AD. Intensive graduated exercise in early infantile paralysis. *Arch Phys Med Rehabil* 31: 213-218, 1950

9) Knapp ME. The contribution of Sister Elizabeth Kenny to the treatment of poliomyelitis. *Arch Phys Med Rehabil* 36: 510-517, 1955

10) 中村隆一, 斎藤 宏. 基礎運動学, 第4版, 102-126頁, 医歯薬出版, 東京, 1992

11) Sunderland S. *Nerve and Nerve Injuries*, 2nd ed, p82-132, Churchill Livingstone, Edinburgh London, 1978

12) Seddon HJ. Three types of nerve injury. *Brain* 66: 237-288, 1943

13) Bridge PM, Ball DJ, Mackinnon SE, Nakao Y, Brandt K, Hunter DA, Hertl C. Nerve crush injury: a model for axonotmesis. *Exp Neurol* 127: 284-290, 1994

14) Bradley WG. *Disorders of Peripheral Nerves*, 1st ed, p132, Blackwell, Oxford, 1974

15) Gomibuchi S, Iwasaki Y, Yamamoto T, Miyasaka Y, Sakurai M. The fan-wise split preparation method for quantitation of peripheral nerve injury. *J Neurotrauma* 8: 145-148, 1991

16) Tatke M, Doyle D. Effect of collagenase on nerve fibre teasing. *J Clin Pathol* 47: 774-775, 1994

17) Roberts AD, Billeter R, Howald H. Anaerobic muscle enzyme changes after interval training. *Int J Sports Med* 3: 18-21, 1982

18) Prevost MC, Nelson AG, Morris GS. Creatine supplementation enhances intermittent work performance. *Res Q Exerc Sport* 68: 233-240, 1997

19) Ludin HP. Electrodagnosis and electrical therapy. In M Mumenthaler, H Schliack (eds), *Peripheral Nerve Lesions: Diagnosis and Therapy*, 1st ed, p75-91, Thieme, Stuttgart, 1991

20) Eccles JC, Sherrington CS. Numbers and contraction-values of individual motor-units examined in some muscles of the limbs. *Proc R Soc Lond B* 106: 326-357, 1930

21) Marey EJ. Des mouvements que certains animaux exécutent pour retomber sur leurs pieds, lorsqu'ils sont précipités d'un lieu élevé. *C R Acad Sci Paris* 119: 714-717, 1894

22) Monnier M. *Functions of the Nervous System. volume 2: Motor and Psychomotor Functions*, 1st ed, p418-431, Elsevier,

Amsterdam, 1970

- 23) Shumway-Cook A, Woollacott MH. Development of postural control. In JP Butler (ed), *Motor Control: Theory and Practical Applications*, 1st ed, p143-168, Williams and Wilkins, Baltimore, 1995
- 24) Samorajski T, Rolsten C. Nerve fiber hypertrophy in posterior tibial nerves of mice in response to voluntary running activity during aging. *J Comp Neurol* 159: 553-558, 1975
- 25) Roy RR, Gilliam TB, Taylor JF, Heusner WW. Activity-induced morphologic changes in rat soleus nerve. *Exp Neurol* 80: 622-632, 1983
- 26) Key B, Parker AW, Giorgi PP. Endurance exercise does not modify nerve fibre morphology in rat soleus nerve. *Brain Res* 297: 137-144, 1984
- 27) Kanda K, Hashizume K. Effects of long-term physical exercise on age-related changes of spinal motoneurons and peripheral nerves in rats. *Neurosci Res* 31: 69-75, 1998
- 28) Vecchi G. Sulla rigenerazione del nervo sciatico in animali costretti alla corsa. *Arch Sci Med* 53: 778-783, 1929
- 29) Wedeles CH. The effect of increasing the functional load of a muscle on the composition of its motor nerve. *J Anat* 83: 57, 1949
- 30) Gutmann E, Jakoubek B. Effect of increased motor activity on regeneration of the peripheral nerve in young rats. *Physiol Bohemoslov* 12: 463-468, 1963
- 31) Badke A, Irintchev AP, Wernig A. Maturation of transmission in reinnervated mouse soleus muscle. *Muscle Nerve* 12: 580-586, 1989
- 32) Soucy M, Seburn K, Gardiner P. Is increased voluntary motor activity beneficial or detrimental during the period of motor nerve regeneration/reinnervation? *Can J Appl Physiol* 21: 218-224, 1996
- 33) Bennett RI, Knowlton GC. Overwork weakness in partially denervated skeletal muscle. *Clin Orthop* 12: 22-29, 1958
- 34) Bensman A. Strenuous exercise may impair muscle function in Guillain-Barre patients. *JAMA* 214: 468-469, 1970
- 35) Herbison GJ, Jaweed MM, Ditunno JF, Scott GJ. Effect of overwork during reinnervation of rat muscle. *Exp Neurol* 41: 1-14, 1973
- 36) Okajima Y, Maloney FP. Overwork weakness in rats with acrylamide neuropathy. *Am J Phys Med Rehabil* 68: 66-69, 1989
- 37) Herbison GJ, Jaweed MM, Ditunno JF. Effect of swimming on reinnervation of rat skeletal muscle. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 37: 1247-1251, 1974
- 38) Herbison GJ, Jaweed MM, Ditunno JF. Reinnervation of rat muscle: effect of 35% grade treadmill exercise. *Arch Phys Med Rehabil* 63: 313-316, 1982
- 39) Pachter BR, Eberstein A. Effects of passive exercise on neurogenic atrophy in rat skeletal muscle. *Exp Neurol* 90: 467-470, 1985
- 40) Pachter BR, Eberstein A. Passive exercise and reinnervation of the rat denervated extensor digitorum longus muscle after nerve crush. *Am J Phys Med Rehabil* 68: 179-182, 1989
- 41) van-Meeteren NL, Brakkee JH, Hamers FP, Helders PJ, Gispen WH. Exercise training improves functional recovery and motor nerve conduction velocity after sciatic nerve crush lesion in the rat. *Arch Phys Med Rehabil* 78: 70-77, 1997
- 42) Kimura J. Nerve conduction studies and electromyography. In PJ Dyck, PK Tomas (eds), *Peripheral Neuropathy*, 3rd ed, p598-644, Saunders, Philadelphia, 1983
- 43) Sunderland S. *Nerve and Nerve Injuries*, 2nd ed, p3-30, Churchill Livingstone, Edinburgh London, 1978

The Effects of Muscle Re-education on Recovery from Peripheral Nerve Injury: Experimental Model using the Statokinetic Reflex in Guinea Pigs Tetsutaro Yahata, Department of Orthopaedics, School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920-8640 — *J. Jusen Med Soc.*, 109, 216 — 227 (2000)

Key words peripheral nerve injury, muscle re-education, statokinetic reflex, reinnervation, myelin

Abstract

Muscle re-education, a type of physical therapy for motor palsy generally performed by voluntary muscle contraction, is indicated for peripheral nerve injury usually during the reinnervation phase. The therapeutic mechanism of muscle re-education remains unclear, because of the difficulty of making an experimental animal model. The statokinetic reflex of guinea pigs was examined for suitability in this experiment, which provided stable contraction of the gastrocnemius-soleus muscles, and this response was applied to muscle re-education. Twenty guinea pigs were divided into two groups, 10 in the therapy group and 10 in the control group. To create motor palsy of the gastrocnemius-soleus muscles, the tibial nerve was crushed with the aid of smooth, flat-tip pliers with maximum compressive force exerted on the nerve in order to induce "axonotmesis", not "neurapraxia". Compound muscle action potential (CMAP) of the medial head of the gastrocnemius muscle was completely absent for the first 20 days after nerve crushing, corresponding to the "denervation phase", following which CMAP then appeared and began to increase, corresponding to the "reinnervation phase". A program of muscle re-

education for the therapy group was run for 20 min a day during the reinnervation phase from post-crushing day 20 until day 60. CMAP examination was performed every five days during the same period. On day 61, the tibial nerve branches to the gastrocnemius-soleus muscle were removed for histological examination by light microscope. CMAP showed no significant differences between the two groups in terms of changes in latency and duration, but the amplitude in the therapy group became significantly higher than that in the control group. Histologically, the total number of myelinated fibers in the transverse sections showed no significant difference between the two groups. The axon diameter (AD) histograms for the two groups showed a similar distribution, but the myelin thickness (MT) distribution in the therapy group was skewed obviously to the right in comparison with that in the control group, meaning a greater increase of MT. An analysis of the relation between AD, MT and internode length (IL) of teasing fibers found no significant difference in AD and IL, but MT in the therapy group appeared to be significantly thicker. These results suggest that muscle re-education performed during the reinnervation phase may lead to earlier maturation of motor nerves as a result of greater MT, and thus to earlier functional recovery of motor nerves.