

## 2週間および6週間の後肢懸垂が 部分脱神経筋に及ぼす影響

*Effect of 2 weeks or 6 weeks Unloading on Partially Denervated Muscle*

椿 淳裕<sup>1)</sup> 田中 正二<sup>2)</sup> 立野 勝彦<sup>2)</sup>

ATSUHIRO TSUBAKI<sup>1)</sup>, SHOJI TANAKA<sup>2)</sup>, KATSUHIKO TACHINO<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> Department of Physical Therapy, Faculty of Medical Technology, Niigata University of Health and Welfare: 1398 Shimami-cho, Kita-ku, Niigata-shi, Niigata 950-3198, Japan. TEL +81 25-257-4455 E-mail tsubaki@nuhw.ac.jp

<sup>2)</sup> Department of Impairment Study, Graduate Course of Rehabilitation Science, Division of Health Sciences, Graduate School of Medical Science, Kanazawa University

*Rigakuryoho Kagaku 23(6): 777-784, 2008. Submitted May 7, 2008. Accepted Jul. 14, 2008.*

**ABSTRACT:** [Purpose] The purpose of this study was to investigate the effect of unloading on partially denervated soleus muscles. [Subjects] Twenty-three twelve-week-old female Wistar rats were used. [Methods] We developed a rat model for partial denervation of the soleus muscle by resecting the fifth lumbar vertebral nerve on the right side. To avoid regeneration of the resected nerve, the central side of the fifth lumbar vertebral nerve was ligated. After 2 or 6 weeks of hindlimb suspension, we measured soleus muscle mass and cross-sectional area of the tibial nerve fibers and soleus muscle fibers. [Results] Soleus muscle mass and cross-sectional area of the soleus muscle fibers showed the same declining tendency as on the unaffected side at 2 weeks and on both sides at 6 weeks were significantly smaller. The distribution of cross-sectional area of the soleus muscle fibers showed bimodal peaks at 2 weeks, and one smaller peak at 6 weeks. [Conclusion] These results suggest that unloaded atrophy depends on innervation of muscle fiber.

**Key words:** partial denervation, soleus muscle, unloading

**要旨:** [目的] 神経支配を失い、かつ重力負荷を失った状態での筋線維の萎縮について、支配神経の変化とともに同時に観察することで、筋萎縮における神経と筋の関係を明らかにすることができる。部分脱神経後の寡運動が脛骨神経およびヒラメ筋の形態変化に及ぼす影響を明らかにすることを目的に本研究を行った。[対象] 12週齢のウィスター系雌ラット23匹を対象とした。[方法] 右第5腰髄神経を切断したのち両側後肢を懸垂して、部分脱神経筋の寡運動モデルを作製した。2週後および6週後の脛骨神経髄鞘内横断面積、筋湿重量、ヒラメ筋タイプI線維横断面積の変化を観察した。[結果] 脛骨神経の髄鞘内横断面積は部分脱神経側で小さい傾向にあった。寡運動下の筋湿重量とヒラメ筋タイプI線維横断面積は、2週の非手術側、6週の手術側および非手術側で有意に小さかったが、2週の手術側では有意差はなかった。寡運動下部分脱神経筋の筋線維横断面積の分布を比較したところ、2週では分布の多い箇所が2つあったが、6週では2週より小さい面積の筋線維が多く、また分布の多い箇所は1つのみあった。「結語」部分脱神経された筋を寡運動下においた場合、脱神経後2週間では神経支配の有無により萎縮の速度が異なるが、6週経過すると同程度に萎縮することが示された。

**キーワード:** 部分脱神経、ヒラメ筋、寡運動

<sup>1)</sup> 新潟医療福祉大学 医療技術学部理学療法学科: 新潟県新潟市北区島見町1398番地 (〒950-3198) TEL 025-257-4455

<sup>2)</sup> 金沢大学大学院 医学系研究科保健学専攻リハビリテーション科学領域機能障害学講座

受付日 2008年5月7日 受理日 2008年7月14日

## I. はじめに

脊髄神経や末梢神経が損傷を受けると、その損傷の程度に応じて、骨格筋には完全にあるいは部分的に脱神経が生じる。部分的に脱神経された筋では、損傷部からの再生軸索が終末に辿り着く前に、残存する無傷の神経の終板、あるいはランビエ絞輪から神経線維の突起が伸展し、脱神経筋線維に機能的なシナプスを再形成する<sup>1,2)</sup>。この脱神経筋の再支配に関しては、動物を用いて種々の実験が行われている<sup>1-4)</sup>。

Slawinska ら<sup>5,6)</sup>、Tyć ら<sup>7,8)</sup>は、ラットの第4腰髄神経を切断して長趾伸筋を部分脱神経の状態にし、表面筋電図を測定あるいは長趾伸筋を神経枝付きで採取し、神経刺激して張力を測定することによって、その回復過程を調べている。また Connold ら<sup>9)</sup>や White ら<sup>10)</sup>は、種々の神経成長因子やカルシウム阻害剤を部分脱神経筋の神経筋接合部に作用させて、発芽が促進されたことを報告している。Herbison ら<sup>11)</sup>や Gutierrez ら<sup>12)</sup>も末梢神経損傷後の発芽に関する実験を行っており、坐骨神経あるいは第4腰髄神経切断後2～8週において、部分的に脱神経されたヒラメ筋や足底筋、長指伸筋の運動単位が拡大したとしている。このほか、部分脱神経後の神経筋活動の影響に関する研究は発芽の点からのみ観察した報告が多い<sup>15-20)</sup>。一方、Chen ら<sup>13,14)</sup>は、ラットの脛骨神経を部分的に損傷させることによって、ヒラメ筋における部分脱神経モデルを作製した。そして、筋湿重量の変化、筋組織のタイプ分類を調べ、これらを全脱神経モデルとも比較している。Sakakima ら<sup>21)</sup>はラットの坐骨神経を凍結損傷させ、ラットのヒラメ筋に部分脱神経を生じさせ、筋線維タイプごとの横断面積の測定と筋線維タイプ構成比を、1週ごとに5週までその経過を追っている。これらの報告は部分脱神経を生じた筋にのみ着目しており、その筋を支配している神経線維の大きさについては対象としていない。

部分脱神経後の筋線維の変化を調べるにあたり、それらを支配する神経線維の大きさの変化も同時に観察することで、部分脱神経後における筋と神経の関係を明らかにすることができる。したがって本研究においては、まず Tanaka ら<sup>22)</sup>の方法に準じ恒常的な部分脱神経モデルを作製した。その後、後肢を懸垂することで神経筋活動の減少モデルとし、脱神経筋を寡運動の状態においた。そして、2週間後および6週間後の脛骨神経およびヒラメ筋の形態の変化を観察した。これにより、部分脱神経を生じた筋肉とそれを支配する神経に対する寡運動の影響について検討した。

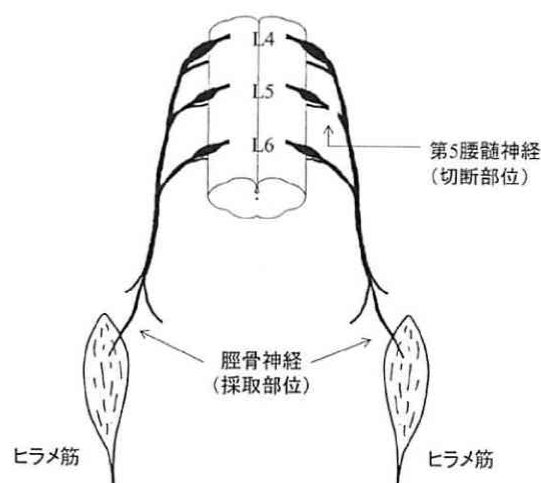


図1 切断部位および採取部位の簡略図

## II. 実験動物と方法

### 1. 実験動物

成熟したメスのウィスター系ラット23匹(生後12週、体重182～246 g)を使用し、無作為に对照(control, CON)群、部分脱神経(partial denervation, PD)群、部分脱神経後に後肢を懸垂する(PD + hindlimb suspension, PD + HS)群の3群に分けた。

実験期間中、飼育温度の日内変動をできるだけ少なくし23±2℃に保ち、照明には蛍光灯を利用して12時間照射した。飼育期間中は自由に飲水、食餌、移動させ、苦痛を可能な限り与えないよう配慮した。また、金沢大学宝町地区動物実験指針に基づいて飼育、実験を行った。

### 2. 方法

PD群およびPD + HS群には、右の第5腰髄神経を切断する手術を行った。塩酸ザイラジン(和光純薬工業)4.2 mg/kgと塩酸ケタミン(和光純薬工業)105 mg/kgの混合溶液を傍脊柱筋内に注射して全身麻酔を得た後、腹臥位に固定した。皮膚を正中切開した後、傍脊柱起立筋を鈍的に剥離し、第5腰椎の右肋骨突起を露出させた。肋骨突起をリーマーで削って取り除き、右第5腰髄神経を露出した。十分軟部組織を取り除いた後、前根と後根が合流した直後から末梢へ向かって約5 mm切除した(図1)。中枢側はナイロン糸で固く結紮し、神経線維の再生がおこらないようにした。止血を確認したところで十分に消毒し閉創した。手術日を含め3日

間は安静期間として、手術創の管理を徹底した。この後PD+HS群は手術創の離開がないことを確認した上で、後肢の懸垂を開始した。懸垂には特性ジャケット(金沢義肢製作所)を用いた。

PD+HS群が懸垂を開始してから2週目と6週目に、週齢を一致させて脛骨神経およびヒラメ筋をCON群、PD群、PD+HS群からそれぞれ採取し、標本材料とした(図1)。その後、25%グルタルアルデヒド溶液(和光純薬工業)をカコジル酸緩衝液で希釈した2.5%グルタルアルデヒド溶液中に摘出した脛骨神経を120分間浸し、初期固定を行った。次に2%オスミウム酸(和光純薬工業)をカコジル酸緩衝液にて希釈した1%オスミウム酸溶液に24時間浸漬し後固定を行った。アルコール脱水後、パラフィンに包埋し、厚さ約2.0  $\mu\text{m}$ の神経横断切片を作製した。脱パラフィン操作を行い、ズダン黒B染色を施して髄鞘を鮮明に染め出した。ヒラメ筋は筋湿重量を測定した後に凍結保存し、約-30度に冷却されたコールドトーム内で、厚さ10  $\mu\text{m}$ の横断切片にしてミオシンATPase染色を施行した。

脛骨神経は1本につき200本以上の髄鞘内横断面積を測定した。ヒラメ筋は1つにつき100本以上のタイプI線維横断面積を測定した。

脛骨神経髄鞘内横断面積、ヒラメ筋筋湿重量、ヒラメ筋横断面積の比較において、3群間での比較には繰り返しのある一元配置分散分析を行い、有意差が認められた場合は多重比較検定を行った。また、手術側と非手術側との比較には対応のあるt-検定を用いた。なお、有意水準は5%とした。

### III. 結 果

脛骨神経の顕微鏡像を観察すると、CON群においてはすべての髄鞘が均一に染色されていた。第5腰髄神経を切断し、部分脱神経モデルを作製したPD群およびPD+HS群において、2週間後では残存している髄鞘に混じり、Waller変性により髄鞘の変性像が散在していた。6週間後では変性像は除去され、2週間後よりも減少していた(図2, 3)。

髄鞘内横断面積は、3群いずれも2週および6週ともに手術側と非手術側とで有意差はなかった。しかしPD群の6週、PD+HS群の2週および6週で手術側がやや小さい傾向にあった。3群間で比較した結果、2週および6週いずれも有意差はなかった(表1)。

筋湿重量は体重で除し、補正值として表した(表2)。CON群、PD群ではいずれの週においても手術側と非手

術側との差はなく、2週と6週との差もなかった。PD+HS群では、2週において手術側( $0.282 \pm 0.037 \text{ mg/g}$ )が非手術側( $0.306 \pm 0.039 \text{ mg/g}$ )より有意に小さかった( $p < 0.05$ )。非手術側においては、2週( $0.306 \pm 0.039 \text{ mg/g}$ )よりも6週( $0.221 \pm 0.029 \text{ mg/g}$ )で有意に小さかった( $p < 0.05$ )。3群間で比較すると、2週の手術側ではPD+HS群がCON群およびPD群より有意に小さかった( $p < 0.01$ ,  $p < 0.01$ )が、2週の手術側では有意差がなかった。6週では手術側でPD+HSがCON群およびPD群より有意に小さく( $p < 0.01$ ,  $p < 0.05$ )、非手術側もPD+HSがCON群およびPD群より有意に小さかった( $p < 0.01$ ,  $p < 0.01$ )。

ヒラメ筋は、ミオシンATPase染色により、CON群、PD群、PD+HS群いずれもタイプI線維とタイプII線維に分けることができた。CON群ではタイプI線維に混じりタイプII線維が散在しており、筋線維比率においてタイプI線維が優位であることが確認できた。2週および6週のPD群およびPD+HS群では、CON群に比べてタイプII線維が多く観察された。またタイプI線維、タイプII線維ともに萎縮した筋線維が各視野に存在していた。さらにPD+HS群では、タイプI線維、タイプII線維ともに萎縮しており、6週では萎縮が著明であった(図4, 5)。

筋線維横断面積を比較すると、CON群ではいずれの週においても手術側と非手術側との差はなく、2週と6週との差も認められなかった。PD群では手術側と非手術側のいずれも6週が2週よりも有意に大きかった( $p < 0.05$ )。PD+HS群では手術側と非手術側いずれも6週が2週よりも有意に小さかった( $p < 0.01$ )。

3群間で比較すると、2週の手術側ではPD+HS群がCON群およびPD群より有意に小さかった( $p < 0.01$ ,  $p < 0.01$ )が、2週の手術側では有意差がなく、CON群とPD群は手術側・非手術側ともに有意な差がなかった。6週では手術側でPD+HS群がCON群およびPD群より有意に小さく( $p < 0.01$ ,  $p < 0.05$ )、非手術側もPD+HS群がCON群およびPD群より有意に小さかった( $p < 0.01$ ,  $p < 0.01$ )。CON群とPD群とは手術側・非手術側ともに有意な差がなかったが、6週手術側ではPD群がCON群よりも大きい傾向にあった(表3)。

ヒラメ筋横断面積の分布を比較するため、200  $\mu\text{m}^2$ ごとに割合を求めた。2週における割合を比較すると、CON群およびPD群手術側の分布のピークは同じ1600~1800  $\mu\text{m}^2$ にあったが、PD+HS群では1200~1400  $\mu\text{m}^2$ にあった(図6)。また、PD+HS群の2週を手術側と非手術側とで比較すると、ピークは1200~1400  $\mu\text{m}^2$ で変

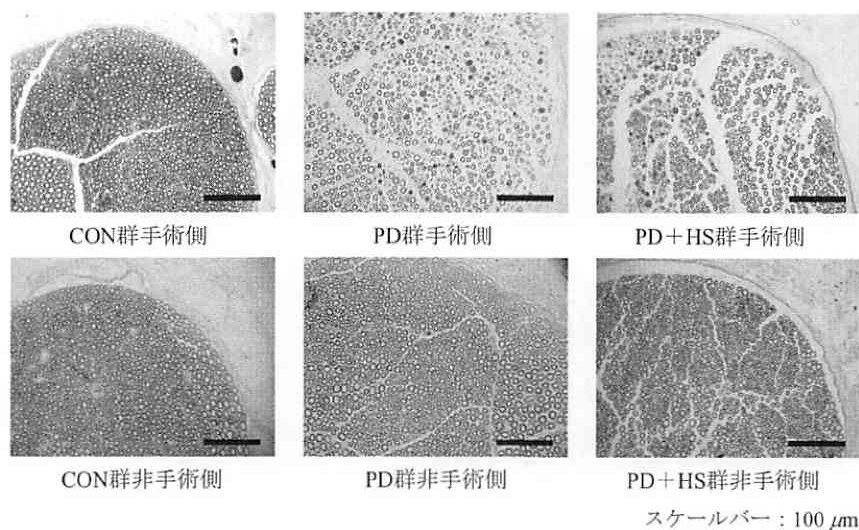


図2 2週における脛骨神経の横断面（オスミウム染色+ズダン黒B染色）

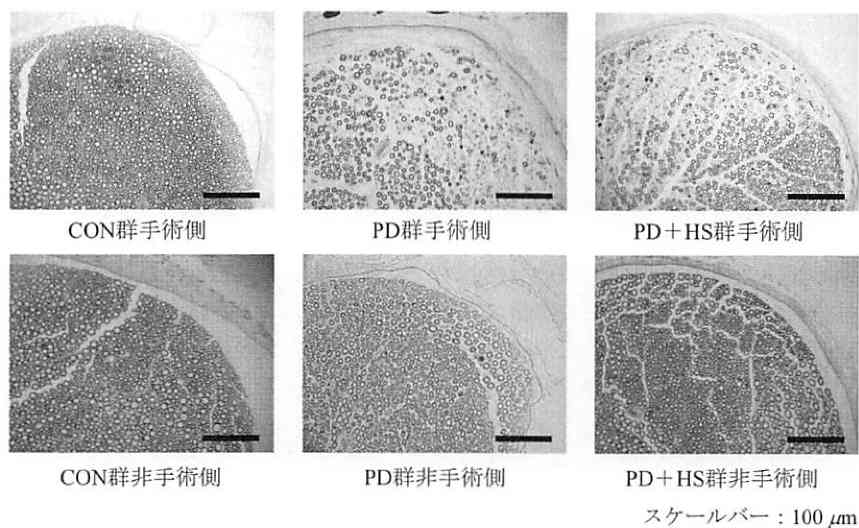


図3 6週における脛骨神経の横断面（オスミウム染色+ズダン黒B染色）

表1 髄鞘内横断面積の変化（平均値±標準偏差，単位： $\mu\text{m}^2$ ）

	2 週		6 週	
	手術側	非手術側	手術側	非手術側
CON 群	15.73 ± 4.11	17.56 ± 4.68	18.18 ± 2.18	16.69 ± 1.71
PD 群	16.64 ± 6.95	19.02 ± 2.86	13.36 ± 2.66	17.99 ± 5.80
PD + HS 群	10.03 ± 4.08	13.71 ± 1.89	13.85 ± 1.73	17.40 ± 3.90

手術側と非手術側との比較および3群間の比較において有意差なし

わからないものの，手術側では1800～2000  $\mu\text{m}^2$ に2つ目のピークが存在していた（図6）。6週目では分布のピークは左右ともに600～800  $\mu\text{m}^2$ にあり，2週でみられた2つ目のピークは存在しなかった（図7）。さらに手術側

における分布を比較すると，PD群において2週目のピークが1600～1800  $\mu\text{m}^2$ にあるのに対し，6週目では2000～2200  $\mu\text{m}^2$ に存在し，全体に横断面積が増加していた（図8）。

表2 ヒラメ筋筋湿重量の変化 (平均値±標準偏差, 単位: mg/g)

	2 週		6 週	
	手術側	非手術側	手術側	非手術側
CON 群	0.438 ± 0.074 (100%)	0.424 ± 0.020 (100%)	0.396 ± 0.046 (100%)	0.418 ± 0.044 (100%)
PD 群	0.390 ± 0.028 (89.0%)	0.432 ± 0.023 (101.9%)	0.368 ± 0.047 (92.9%)	0.435 ± 0.039 (104.1%)
PD + HS 群	0.282 ± 0.037 <sup>‡</sup> (64.4%)	0.306 ± 0.039 <sup>**†‡§</sup> (72.2%)	0.258 ± 0.050 <sup>**†</sup> (65.2%)	0.221 ± 0.029 <sup>**††</sup> (52.9%)

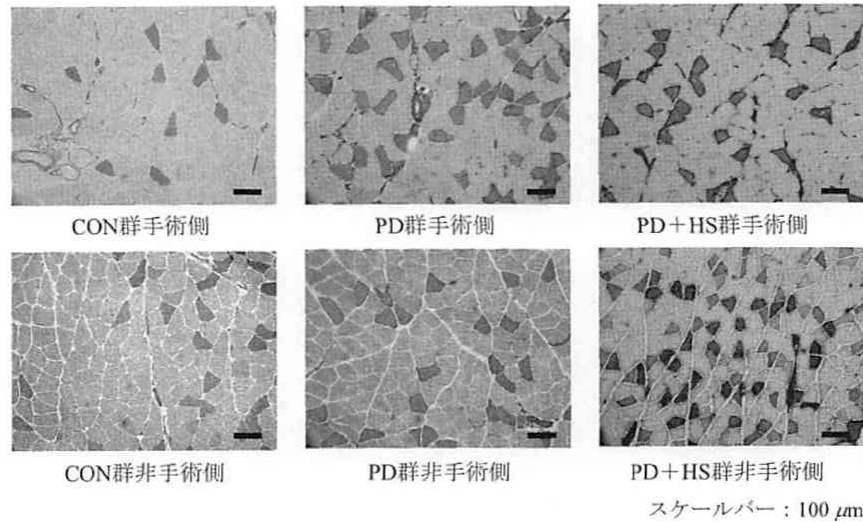
<sup>‡</sup> 手術側と非手術側との比較で有意差 ( $p < 0.05$ )<sup>\*</sup> CON 群との比較で有意差 ( $p < 0.01$ )<sup>†</sup> PD 群との比較で有意差 ( $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$ )<sup>§</sup> 2 週と 6 週との比較で有意差 ( $p < 0.05$ )

図4 2週におけるヒラメ筋の横断面 (ミオシンATPase染色)

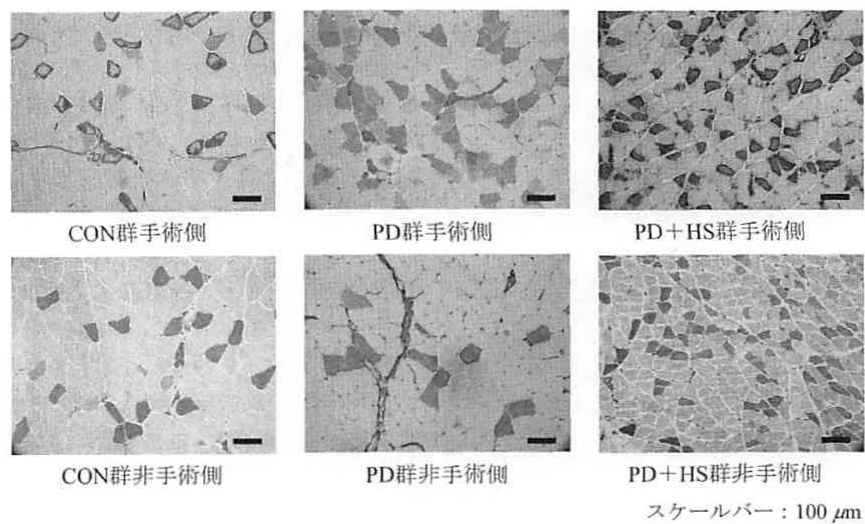


図5 6週におけるヒラメ筋の横断面 (ミオシンATPase染色)



表3 ヒラメ筋横断面積の変化 (平均値±標準偏差, 単位:  $\mu\text{m}^2$ )

	2 週		6 週	
	手術側	非手術側	手術側	非手術側
CON 群	2164.91 ± 359.51 (100%)	2193.36 ± 302.85 (100%)	2241.35 ± 271.72 (100%)	2434.04 ± 408.77 (100%)
PD 群	1827.27 ± 359.71§ (84.4%)	2002.55 ± 309.32§ (91.3%)	2409.93 ± 103.54 (107.5%)	2743.22 ± 269.92 (112.7%)
PD + HS 群	1565.31 ± 279.51§§ (72.3%)	1330.64 ± 155.00**†§§ (60.7%)	880.77 ± 203.03**†† (39.3%)	793.65 ± 79.66**†† (32.6%)

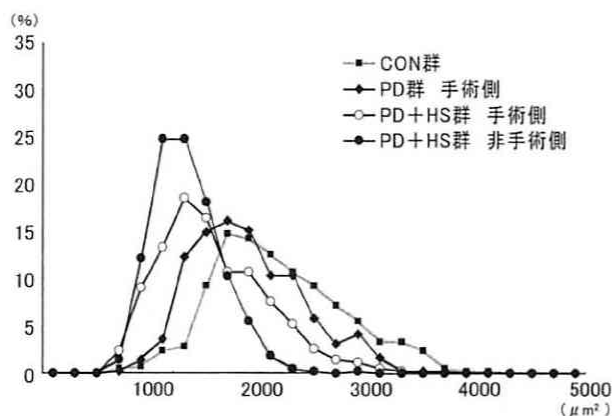
\* CON 群との比較で有意差 (\*\*:  $p < 0.01$ )† PD 群との比較で有意差 (†:  $p < 0.05$ , ††:  $p < 0.01$ )§ 2 週と 6 週との比較で有意差 (§:  $p < 0.05$ , §§:  $p < 0.01$ )

図6 2週でのヒラメ筋横断面積の分布の比較

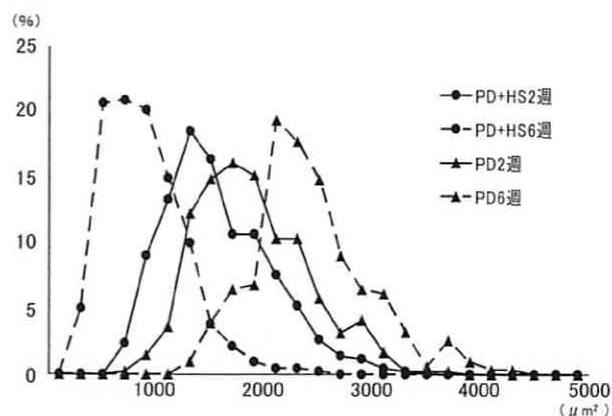


図8 手術側のヒラメ筋横断面積の分布の比較

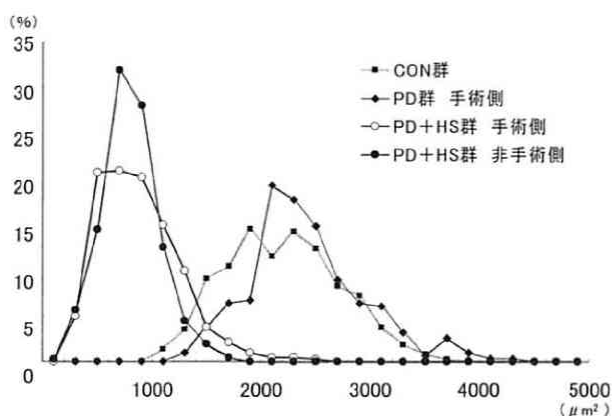


図7 6週でのヒラメ筋横断面積の分布の比較

#### IV. 考 察

過去に、脱神経による筋萎縮あるいは後肢懸垂法を用いた寡運動下での筋萎縮の研究は多く行われている。

しかしそれぞれが単独で行われている研究がほとんどであり、同時に行われた研究は、今回渉猟した限りにおいては皆無であった。今回の研究は、部分脱神経と後肢懸垂による寡運動とを同時に生じさせた点で新しい報告である。

脛骨神経の髄鞘内横断面積を計測し比較した結果(表1), 後肢懸垂を行ったPD + HS群では、手術側の面積は非手術側に比べ小さい傾向にあった。Gordon と Rafuse<sup>23)</sup>はネコの第7腰髄神経または第1仙髄神経を切断し、内側腓腹筋を支配する神経の横断面における有髄神経の直径と、同神経の伝導速度および活動電位を計測している。その結果、有髄神経の直径は脊髄神経切断により小さくなったが、伝導速度あるいは活動電位は部分脱神経の程度によらず一定であったとし、残存する神経線維の大きさは標的器官と接合していることが重要であり、その数ではないと述べ、標的器官である筋の活動に依存すると報告している。よって、PD + HS群においては後肢の懸垂により筋の活動量が減少

した結果、髄鞘内横断面積の縮小傾向があらわれたと考えられた。

筋湿重量(表2)は体重で除し、補正して比較した。一般に、部分的に除神経された筋では、神経支配を失った筋線維は萎縮し、筋湿重量は減少する<sup>10,20,24)</sup>。Ikenaga<sup>25)</sup>によれば、ラット第5腰髄神経の切断により、ヒラメ筋の70~80%に部分脱神経が生じる。後肢を懸垂することにより筋を寡運動下においた場合、筋線維は全般的に萎縮し、筋湿重量も減少する<sup>26-28)</sup>。本研究では、後肢懸垂による筋の変化を見るため、2週および6週で非手術側ヒラメ筋を比較したところ、筋湿重量およびタイプI線維横断面積ともにCON群に比べPD+HS群で有意に減少していた。また6週ではその減少が著しく、過去の報告と一致した。後肢懸垂による寡運動と部分脱神経が同時に生じているPD+HS群の手術側ヒラメ筋については、筋萎縮を生じうる要因が重なって存在しているにもかかわらず、筋湿重量の比較では2週においてCON群あるいはPD群と有意な差はなく、横断面積は後肢懸垂のみの非手術側よりも大きい傾向にあった。横断面積の分布を比較した結果(図6)、2週においてCON群およびPD群の分布のピークは同じ1600~1800  $\mu\text{m}^2$ にあったのに対し、PD+HS群は1200~1400  $\mu\text{m}^2$ にあった。この結果から、PD+HS群は後肢懸垂によりCON群およびPD群に比べ筋萎縮は広範囲に生じていることが考えられる。また同じ2週でPD+HS群の手術側と非手術側の分布を比較(図6)すると、ピークは同じ1200~1400  $\mu\text{m}^2$ に存在するものの、部分脱神経側ではさらに2000~2200  $\mu\text{m}^2$ に2つ目のピークを認め、2峰性であることが判明した。PD+HS群の手術側では神経支配をうけている筋線維に混じり、第5腰髄切断による除神経された筋線維も存在している。このうち、ヒストグラムにおける左側すなわち1200~1400  $\mu\text{m}^2$ をピークとする分布は、PD+HS群の非手術側のピークと同じであることから、神経支配をうけている筋線維をあらわしていることが考えられた。また右側すなわち2000~2200  $\mu\text{m}^2$ をピークとする分布は、PD+HS群の非手術側にはないことから、除神経された筋線維をあらわしていることが推察され、神経支配の有無により筋線維の萎縮の程度が異なることが考えられた。Tischler<sup>29)</sup>はタンパク質の分解の点から後肢懸垂による筋萎縮と脱神経による筋萎縮とを比較し、脱神経筋ではリソソームによるタンパク質の分解が増加し、後肢懸垂では細胞基質でのタンパク質の分解が主体であるとしており、筋萎縮のメカニズムも異なることが考えられた。

一方PD群の手術側において、ヒラメ筋の横断面積の

分布およびそのピークは2週目よりも6週目で大きかった(図8)。この原因として、脱神経されなかった筋線維は、脱神経筋線維の機能損失を補うために負荷が大きくなり線維の肥大を生じ、脱神経された筋線維においては神経の再支配とその後の荷重負荷によって筋線維が肥大したことが考えられる。

神経筋相互作用に関して、脱神経後にヒラメ筋を伸張位に固定しても短縮位に固定しても筋萎縮は同程度であったとの報告<sup>30)</sup>がある。Someya<sup>31)</sup>はテトロドトキシンを坐骨神経に持続的に作用させた場合と、完全に坐骨神経を切断した場合とでヒラメ筋線維タイプの構成比を比較している。その結果、テトロドトキシンを投与したヒラメ筋ではタイプI線維の比率が減少し、神経を切断したものでは筋線維タイプの構成比の変化を認めないとしている。また、筋を除神経した後、遅筋のヒラメ筋を速筋の運動ニューロンの活動パターンで刺激すると速筋の性質を示すようになり、遅筋の活動パターンで刺激すると遅筋の性質を示したとの報告もある<sup>32)</sup>。脱神経筋において神経線維の終板では、脊髄および神経根にも存在する成長因子の一種である蛋白(growth-associated protein-43, GAP-43)が多く発現する<sup>33,34)</sup>ことや、残存する神経線維の大きさは標的器官である筋の活動に依存する<sup>23)</sup>ことから、筋あるいは神経は単独に変化するのではなく、相互に作用してそれぞれを変化させていることがうかがえる。PD+HS群の手術側ヒラメ筋において、神経支配を有する筋線維は活動が減少したことで萎縮が生じ、神経支配もなく筋活動もない線維は萎縮が遅れ、2峰性に分布したことが推察される。Tischler<sup>29)</sup>の報告を考え合わせると、筋萎縮におけるタンパク質の分解には神経支配の有無も関与している可能性も考えられる。しかし本実験ではこれらを説明できる根拠がないため、今後神経支配の有無とタンパク質分解との関係について明らかにしていく必要がある。

第5腰髄神経を切断された神経や筋への負荷の影響を考えると、脛骨神経の髄鞘内面積では変化が小さい。部分脱神経されたヒラメ筋においては、後肢懸垂によって負荷のない状態におくと萎縮が著しい。しかし荷重という負荷が加わることで、部分脱神経筋であっても筋の萎縮が予防できることが示された。

本実験により、部分脱神経筋における寡運動の影響は明らかになった。運動療法の効果を示すにあたり、今後は脱神経筋萎縮あるいはこれに寡運動が加わった筋萎縮に対する運動療法の質的あるいは量的な検討を行っていく必要がある。

## 引用文献

- 1) Brown MC, Holland RL, Hopkins WG: Motor nerve sprouting. *Ann Rev Neurosci*, 1981, 4: 17-42.
- 2) Edds MV: Collateral nerve regeneration. *Q Rev Biol*, 1953, 28(3): 260-276.
- 3) Korneliusen H, Waerhaug O: Three morphological types of motor nerve terminals in the rat diaphragm and their possible innervation of different muscle fibre types. *Z Anat Entwickl Gesch*, 1973, 140(1): 73-84.
- 4) Peyronnard JM, Charron L: Muscle reorganization after partial denervation and reinnervation. *Muscle Nerve*, 1980, 3(6): 509-518.
- 5) Slawinska U, Tyč F, Kasicki S, et al.: Functional reorganization of the partially denervated hindlimb extensor and flexor muscle in rat. *Acta Neurobiol Exp*, 1996, 56(1): 441-447.
- 6) Slawinska U, Navarrete R, Kasicki S, et al.: Motor activity patterns in rat soleus muscle after partial denervation. *Neuromuscul Disord*, 1995, 5(3): 179-186.
- 7) Tyč F, Vrbová G: The effect of partial denervation of developing rat fast muscles on their motor unit properties. *J Physiol*, 1995, 482(Pt 3): 651-660.
- 8) Tyč F, Vrbová G: Increased activity improves recovery of partially denervated fast rat muscles. *Dev Brain Res*, 1998, 8(2): 149-155.
- 9) Connold AL, Vrbová G: Neuromuscular contacts of expanded motor units in rat soleus muscles are reduced by leupeptin. *Neurosci*, 1994, 63(1): 327-338.
- 10) White CM, Vrbová G: Recovery of rat skeletal muscles after partial denervation is enhanced by treatment with nifedipine. *Brain Res*, 1998, 779(1-2): 125-135.
- 11) Herbison GJ, Jaweed MM, Ditunno JF: Contractile properties of reinnervating skeletal muscle in the rat. *Arch Phys Med Rehabil*, 1981, 62(1): 35-39.
- 12) Gutierrez GP, Herbison GJ, Vega P, et al.: Recovery of the extensor digitorum longus muscle in the rat following L4 nerve sectioning. *Arch Phys Med Rehabil*, 1993, 74(9): 922-927.
- 13) Chien YY, Chu NS: Effects of partial and total denervation on the distribution of fiber size of rat soleus muscles: A quantitative computer imaging analysis. *Acta Histochem Cytochem*, 1995, 28(3): 255-261.
- 14) Chien YY, Chu NS: Fiber type profile change after partial and total denervation in rat soleus muscles. *Acta Histochem Cytochem*, 1995, 28(5): 431-437.
- 15) Kinney CL, Jaweed MM, Herbison GJ, et al.: Overwork effect on partially denervated rat soleus muscle. *Arch Phys Med Rehabil*, 1986, 67(5): 286-289.
- 16) Brown MC, Ironton R: Motor neuron sprouting induced by prolonged tetrodotoxin block of nerve action potential. *Nature*, 1977, 265(5593): 459-461.
- 17) Holland RL, Brown MC: Postsynaptic transmission block can cause terminal sprouting of a motor nerve. *Science*, 1980, 207(4431): 649-651.
- 18) Connold AL, Vrbová G: Temporary loss of activity prevents the increase of motor unit size in partially denervated rat soleus muscles. *J Physiol*, 1991, 434: 107-119.
- 19) Connold AL, Vrbová G: The effect of muscle activity on motor unit size in partially denervated rat soleus muscles. *Neurosci*, 1990, 34(2): 525-532.
- 20) Tam SL, Archibald V, Tyreman N, et al.: Tetrodotoxin prevents motor unit enlargement after partial denervation in rat hindlimb muscles. *J Physiol*, 2002, 543(Pt 2): 655-663.
- 21) Sakakima H, Yoshida Y: The effect of short duration static stretching and reinnervation on the recovery of denervated soleus muscle in the rat. *J Jpn Phys Ther Assoc*, 2002, 5: 13-18.
- 22) Tanaka S, Tsubaki A, Tachino K: Effect of exercise training after partial denervation in rat soleus muscles. *J Phys Ther Sci*, 2005, 17: 97-101.
- 23) Gordon T, Rafuse VF: Size of myelinated nerve fibres is not increased by expansion of the peripheral field in cats. *J Physiol*, 2001, 532(Pt 3): 835-849.
- 24) Einsiedel LJ, Luff AR: Activity and motor unit size in partially denervated rat medial gastrocnemius. *J Appl Physiol*, 1994, 76(6): 2663-2671.
- 25) Ikenaga Y: Interaction of nerves and muscles after partial denervation: morphological changes in the sciatic nerve and soleus muscle after resection of the L5 nerve in rat. *J Jpn Med Soc*, 2001, 110: 149-158.
- 26) Musacchia XJ, Deavers DR, Meininger GA, et al.: A model for hypokinesia: effects on muscle atrophy in the rat. *J Appl Physiol*, 1980, 48(3): 479-486.
- 27) LeBlanc A, Marsh C, Evans H, et al.: Bone and Muscle atrophy with suspension of the rat. *J Appl Physiol*, 1985, 58(5): 1669-1675.
- 28) Tischler ME, Jaspers SR, Henriksen EJ, et al.: Responses of skeletal muscle to unloading—a review. *Physiologist*, 1985, 28(6 Suppl): S13-S16.
- 29) Tischler ME, Kirby C, Rosenberg S, et al.: Mechanisms of accelerated proteolysis in rat soleus muscle atrophy induced by unweighting or denervation. *Physiologist*, 1991, 34(1 Suppl): S177-S178.
- 30) 染矢富士子, 立野勝彦: 不動性脱神経筋の組織化学的变化. *医学のあゆみ*, 1984, 131(9): 599-600.
- 31) Someya F: A histochemical study on the atrophied soleus muscle of rats. *J Jpn Med Soc*, 1986, 95: 89-98.
- 32) Lomo T, Westgaard RH, Dahl HA: Contractile properties of muscle: control by pattern of muscle activity in the rat. *Proc Roy Soc*, 1974, B187(1086): 99-103.
- 33) Biffo S, Verhaagen J, Schrama LH, et al.: B-50/GAP-43 expression correlated with process outgrowth in embryonic mouse nervous system. *Eur J Neurosci*, 1990, 2(6): 487-499.
- 34) Caroni P, Becker M: The downregulation of growth-associated proteins in motoneurons at the onset of synapse elimination is controlled by muscle activity and IGF1. *J Neurosci*, 1992, 12(10): 3849-3861.