

25. 成熟マウス再生筋由来 筋芽細胞及び胚筋芽細胞の研究

国立療養所刀根山病院

智片英治 香川 務
蔦宗俊明 谷 淳吉

我々はこれまで、筋ジストロフィー発症マウスの骨格筋から筋芽細胞を取り、その *in vitro* での筋形成過程を観察し、正常のそれと比較検討して来た。しかし従来用いてきた細胞は成熟動物の再生筋由来の筋芽細胞であり、胚芽細胞との関係において、その性格は必ずしも明らかでなかった。そこで今回は、両者を同一条件で培養し、*in vitro* 筋形成過程験をした。尚再生筋芽細胞は R-Mb、胚筋芽細胞は E-Mb と略す。

〔材料と方法〕

動物：正常 C57Bl 系マウス、成熟或は胚（16日～19日）。R-Mb：従来の方法に従った(1)。少数細胞培養の場合は 0.125 % トリプシン液で 37°C、15分×2回の処理で得た。

E-Mb：マウス胚の後肢より 0.125 % トリプシン処理（37°C、15分×2回、又は 4°C、3時間×2回）で細胞を得た。細胞培養法：従来の方法(1)によった。少数細胞の培養の場合はコラーゲン処理した 60mm のシャーレを用い 500～2,000 コの細胞を植込んだ。又培地も Eagles MEM を Ham's F-12 に代えた。

〔結果と考察〕

1. 細胞収量、生存率について

R-Mb はイ肢当たり $1.0 \sim 1.5 \times 10^6$ であった E-Mb は、トリプシン処理 37°C、15分×2回の場合 $4.5 \sim 8.5 \times 10^5$ で、4°C 3時間×2回の場合より多く、以後の培養には前者の方法を用いた。分離法の違いによる E-Mb の培養内での増殖能には差は認められなかった。生存率は R-Mb、E-Mb 共略 80% 以上であった。

2. 増殖率について

培養各時期に、形態学的に筋芽細胞と判明されるものを算定し増殖曲線を求めた。この場合両者のシャーレ面接着性に相違がある為に、シャーレ当りの筋芽細胞数が略に同数のものを得るべく、 5×10^4 から 4×10^5 /シャーレまで数段階で植込んだ。R-Mb は E-Mb の場合の 2 倍の細胞数を植込んだシャーレにおいて、ほぼ同程度の筋芽細胞数が得られた。このようにして得られた増殖曲線をもとにした結果、R-Mb は低濃度で植込む程、対応する E-Mb の方が、他に比べて population doubling time が短い傾向がみられた。

3. 少数細胞を植込んでコロニー形成率を比較したところ、R-Mb においては前述の通り少

数の細胞を植込む程増殖能が低下するという結果が更に明確となった。E-Mb のコロニー形成率が 1.34 ~ 12.4 %であったが、R-Mb はこの植込み細胞数ではコロニー形成は殆んど認められなかった。

4. R-Mb 及び E-Mb の培養内での形態的観察の限りにおいて、両者がほぼ同程度の細胞数を有する場合、単核の筋芽細胞も融合によって出来た myotube も形態的に差は認められず、更に myotube 形成過程も殆んど差が認められなかった。
5. 従って、R-Mb は少数細胞を植込む場合 E-Mb より増殖能が低い傾向があるが、高濃度の植込みの場合、両者の間に殆んど差はない。今後更に生化学的に両者の比較を行なうことも必要である。

<参考文献>

(1) Kagawa, et al (1977) Develop. Biol. 55, 402 - 407.

尚、本報告の論旨は第10回日本発生生物学会 1977年5月(東京都町田市)、第8回国際発生生物学会、1977年8~9月(東京)で発表した。

26. 正常成熟及び筋ジストロフィー発症マウス 再生筋芽細胞の筋線維形成及びその維持過程の研究

国立療養所刀根山病院

香川 務 智片 英治
薦 宗俊 明 谷 淳吉

上記研究課題に従い主に下記の研究を行った。

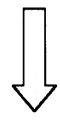
- (1) 正常及び筋ジストロフィー発症マウス再生筋からの再生筋芽細胞分離法の改良^①

〔方 法〕

再生筋^②を細切し、40ml硝子遠心管に入れ、培地(“the fresh medium”又は“the growth medium”)^③を10ml加え、駒隠ピペットで50回攪拌、1~2分間放置し組織片が沈下して後液を採取、白金メッシュ(150-mesh)で漏過、同様の操作を2回行い細胞浮遊液を得た。

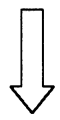
〔結 果〕

- (a) 細胞収量は正常再生筋で一肢当り90万、筋ジス再生筋では10~15万であった。再生筋芽細胞は正常再生筋の場合50%以上、筋ジス再生筋の場合は動物 age により変動があり明確で



検索用テキスト OCR(光学的文字認識)ソフト使用

論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります



我々はこれまで、筋ジストロフィー発症マウスの骨格筋から筋芽細胞を取り、その *in vitro* での筋形成過程を観察し、正常のそれと比較検討して来た。しかし従来用いてきた細胞は成熟動物の再生筋由来の筋芽細胞であり、胚芽細胞との関係において、その性格は必ずしも明らかでなかった。そこで今回は、両者を同一条件で培養し、*in vitro* 筋形成過程験をした。尚再生筋芽細胞は R-Mb、胚筋芽細胞は E-Mb と略す。