

3) ジストロフィーチキンにおける筋移植の研究

大塚正徳*

研究協力者 弘中哲治** 森本昇司**
角尾彰信* 宮田雄平*

ニワトリの筋ジストロフィー症に見られる筋の異常の原因が筋側にあるとする多くの報告がある一方¹⁾⁻³⁾, 原因が神経側にあるとの報告もある⁴⁾⁻⁸⁾, 神経と筋の間には trophic な相互作用があることを示す多くの実験があるので^{9), 10)}, どの性質を指標に分析を行なうかによって, どちらに原因があるのか, あるいはどちらの原因がより重要であるかに関して結論に違いが生ずることが考えられる. そこで我々は筋ジストロフィー症の度合をより直接的にあらわすと思われる筋重量の変化と筋の収縮力およびその kinetics を主な指標にして, 筋に対する神経支配の有無に注意しながらより定量的な実験を試みた.

先に我々はマウスの長趾伸筋を用いてミンスすることなく全筋を交換移植することが出来, 再生した筋はドナーの筋の殆んど完全な replica であることを示した¹¹⁾. この実験系をマウスの筋ジストロフィー症の原因の解明に適用し, マウスの筋ジストロフィー症では神経原性の要因がより重要であることを示唆する結果を報告した^{12), 13)}.

この実験方法をニワトリの筋ジストロフィー症に適用し, ニワトリの筋ジストロフィー症の病因が筋原性であるか, または神経原性であるか, あるいはどちらの要因がより重要であるかを明確にする目的で以下の実験をお

こなった.

本実験において特に考慮した点は以下の如くである.

1) 移植筋への神経の再支配を企てる.

2) ホスト側の筋と移植した筋の混同をさけるために, まわりの筋と比較的分離した筋を使用する.

3) 移植筋についての収縮を in situ で測定しやすくするために, 神経および血管が近位端より侵入している筋を用いる.

4) 完全な replica を得るために小さな筋を使用する (cf. Hironaka & Miyata, 1973a).

これらの条件を充たすものとして生後 2 ~ 3 日目のヒヨコの長橈側手根伸筋 (ECRL) を移植筋として選んだ.

方 法

孵化後 2 ~ 3 日目のヒヨコをエーテルで麻酔して背位で羽根を固定し実体顕微鏡下に ECRL 筋を露出した. ECRL 筋に侵入する神経をなるべく筋に近い所で切断した後, 全筋をとり出し他のヒヨコのそれと交換して移植筋が一定の張力を保った状態で両端を固定した. また, もう一つの試みとして, 胸筋ではジストロフィー性の変化が著明に現われることが知られているので, 胸筋を支配している胸神経で ECRL 筋を innervate させることを試みた. このため ECRL 筋を腋窩前縁部で上腕骨頭部と肋骨の間に固定し, 胸神経の一部を切断し, その断端を移植筋に結びつけ

* 東京医科歯科大学医学部薬理学教室

** 帝京大学医学部薬理学教室

た。これらの手術は無菌的に行なった。

移植後60～65日目に、エーテル麻酔下に皮膚を切り開きこの皮膚でパラフィンプールをつくり温度を41～42℃に保って等尺性筋収縮をオッシロスコープ上に観察した。

筋の刺激には白金電極を用い、twitch tensionには持続0.2 msecで supramaximal の矩形波刺激を与えた。Tetanus tensionには0.2 msecのパルスを100 cpsの頻度で100～200 msecの間与えた。

筋収縮を観察した後、筋重量を測定し、すみやかに凍結して、組織化学的検索に用いた¹⁴⁾。神経支配の成立は神経刺激による移植筋の収縮およびコリンエステラーゼ活性の組織化学的証明により確認した。

結 果

非移植 ECRL 筋の性質：移植に用いた ECRL 筋の移植前の重量は正常のヒヨコで 9.7 ± 0.4 (mean \pm SEM) mg、ジストロフィ

一のヒヨコでは 10.3 ± 0.5 mgであった。これらの値の間には統計上の有意差は見られなかった。

術後60～65日目の正常チキンとジストロフィーチキンの間で、非移植 ECRL の重量に有意差は見られなかった(表1)。

筋収縮：ジストロフィーチキンの非移植 ECRL 筋の twitch tension は正常チキンのその約3分の1であり、著明な減少を示したが、tetanus tension の差は比較的少なかった。Contraction time (CT) はジストロフィー筋でわずかに減少が見られた。Half relaxation time (1/2 RT) には差が見られなかった(図1, 2, 表1)。上記の結果はジストロフィーチキンの筋小胞体の機能に異常がある可能性を示唆していると思われるが、これに関連して Sylvester と Baskin のジストロフィーチキンの筋小胞体におけるカルシウムの取り込みが促進しているとの報告¹⁵⁾は興味深い。

表1 正常およびジストロフィーチキンの長機側手根伸筋 (ECRL) の性質

	Muscle weight (mg)	Twitch tension (g)	Tetanus tension	$\frac{\text{Twitch}}{\text{Tetanus}}$	CT (msec)	1/2 RT
Unoperated						
Normal	1042	25.0	38.7	0.650	24.0	16.5
n=3	± 37	± 0.3	± 3.4	± 0.050	± 0.1	± 4.5
Dystrophy	1077	8.4	31.2	0.270	21.2	16.1
n=7	± 63	± 2.0	± 5.5	± 0.062	± 1.1	± 1.1
Operated						
ECRL-Exchange						
Nd	579					
Nd	52	0.31			18	25
Dn	490					
Dn	843	7.33	23.1	0.317	20	11
ECRL-Pectoralis						
Nd	175	0.11			14	28
Dn	496					
Dn	140	0.07	1.56	0.046	18	31
Dd	500	1.73	31.7	0.055	25	26
Dd	450	0.78	5.8	0.134	19	10

術後60～65日目, Nd, Dn, Dd: N, Dはホストを, n, dはドナーを示す。

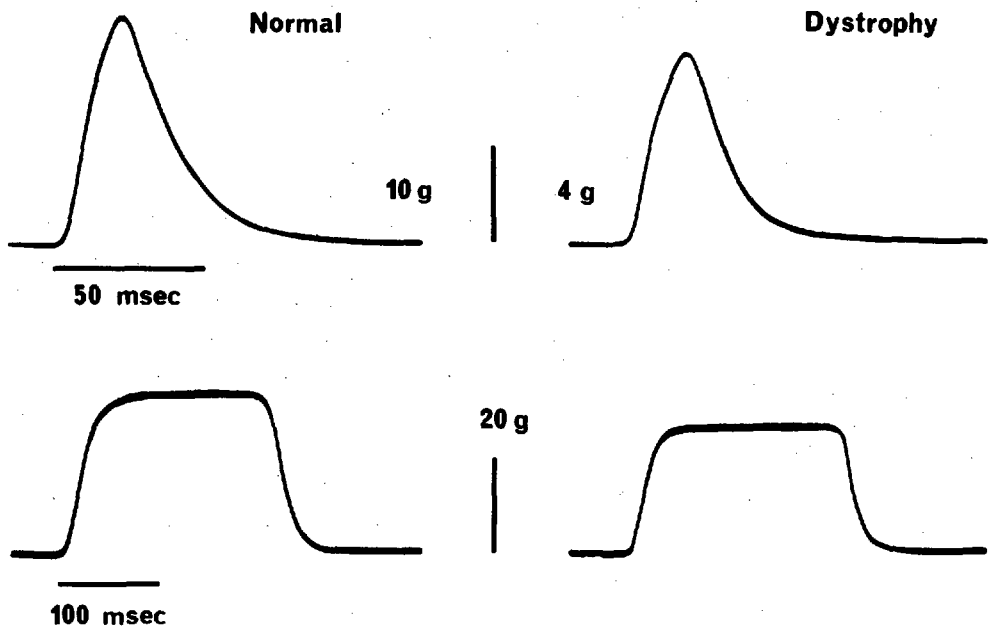


図1 非移植 ECRL 筋の収縮. 上, 単収縮. 下, 強縮.

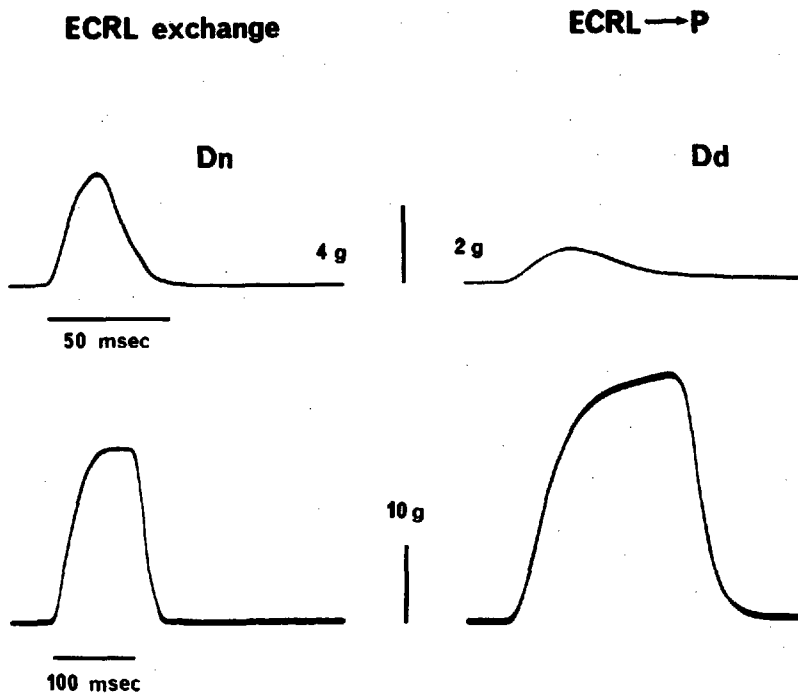


図2 移植 ECRL 筋の収縮. 上, 単収縮. 下, 強縮.

移植 ECRL 筋の性質：移植筋の神経支配はいずれの筋でも成立していた（図3）。

筋重量：最も大きな成長を示した移植筋は移植時（8 mg）に比較して100倍以上の重量増加を示し、非移植筋の平均重量（1067mg）の79%におよんだが、移植筋全体の平均では39%であった（表1）。筋の重量変化には種々の要因が関係していることが考えられるので、筋側の要因と筋以外の要因に分けて分析してみると、ホストが正常の場合すべての移植筋の平均重量は269 mg、ジストロフィーの場合のそれは487 mgであった。また、ドナーの違いで比較してみると正常の移植筋は平均で492 mg、ジストロフィーの筋は351 mgであった。

筋収縮：移植筋の CT は非移植ジストロフィー筋のそれとほぼ同じであった。ホストがジストロフィーの場合 twitch-tetanus ratio はいずれの移植筋においても正常移植筋のそれより小さかった（図2、表1）。ホストが正常の場合に関しては今回の3例からはデータが得られなかった。非移植 ECRL 筋の収縮の実験で twitch tension がジストロフィーチキンの ECRL で著しく小さいことが際立った特徴であった。この著しいジストロフィー変化が、筋側の要因によって起っているのか、あるいは筋外性の要因が関与しているのかを解明するためには、さらに移植実験の結果を積み重ねることが重要と思われる。



図3 移植筋における ChE 活性（術後64日目）。
Dd, 移植筋の中央部の横断切片。

文 献

- 1) Cosmos, E. and Butler, J. (1972). Differentiation of muscle transplanted between normal and dystrophic chickens. In "Research in Muscle Development and the Muscle Spindle" eds. B.Q. Banker, R.J. Przybylski, J. P. Van Der Meulen, and M. Victor, pp.149-162. Excerpta Medica, Amsterdam.
- 2) Linkhart, T. A., Yee, G.W. and Wilson, B. W. (1975). Myogenic defect in acetylcholinesterase regulation in muscular dystrophy of the chicken. *Science* 14, 549-551.
- 3) Linkhart, T.A., Yee, G.W., Nieberg, P.S. and Wilson, B.W. (1976). Myogenic defect in muscular dystrophy of the chicken. *Developmental Biol.* 48, 447-457.
- 4) Wilson, B.W., Kaplan, M.A., Merhoff, W.C. and Mori, S.S. (1970). Innervation and the regulation of acetylcholinesterase activity during development of normal and dystrophic muscle. *J. exp. Zool.* 174, 39-54.
- 5) Jedrzejcyk, J., Wieckowski, J., Rymaszewska, T. and Barnard E.A. (1973). Dystrophic chicken muscle: Altered synaptic acetylcholinesterase. *Science* 180, 406-408.
- 6) Askanas, V. and Hee, D. (1974). Histochemical and tissue culture studies of dystrophic and experimentally denervated animal muscle. *J. Neuropathol. exp. Neurol.* 33, 541-551.
- 7) Rathbone, M.P., Stewart, P.A. and Vetrano, F. (1975). Dystrophic spinal cord transplants induce abnormal thymidine kinase activity in normal muscles. *Science* 189, 1106-1107.
- 8) Stokes, B.T. (1977). Multiunit activity pattern in the brachial spinal cord of dystrophic chick embryos. *Exp. Neurol.* 56, 179-188.
- 9) Gutmann, E. (1962). "The Denervated Muscle" Czech. Acad. Sci., Prague.
- 10) Guth, L. (1968). Trophic influences of nerve on muscle. *Physiol. Rev.* 48, 645-687.
- 11) Hironaka, T. and Miyata, Y. (1973a). Transplantation of an entire muscle in mice. *Experientia* 29, 1584-1586.
- 12) Hironaka, T. and Miyata, Y. (1973b). Muscle transplantation in the aetiological elucidation of murine muscular dystrophy. *Nature* 244, 221-223.
- 13) Hironaka, T. and Miyata, Y. (1975). Transplantation of skeletal muscle in normal and dystrophic mice. *Exp. Neurol.* 47, 1-15.
- 14) Karnovsky, M.J. and Roots, L. (1964). A "direct-coloring" thiocholine method for cholinesterases. *J. Histochem. Cytochem.* 12, 219-221.
- 15) Sylvester, R. and Baskin, R. J. (1973). Kinetics of calcium uptake in normal and dystrophic sarcoplasmic reticulum. *Biochemical Med.* 8, 213-227.

↓
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
↓

ニワトリの筋ジストロフィー症に見られる筋の異常の原因が筋側にあるとする多くの報告がある一方 1)-3),原因が神経側にあるとの報告もある 4)-8).神経と筋の間には trophic な相互作用があることを示す多くの実験があるので 9),10),どの性質を指標に分析を行なうかによって,どちらに原因があるのか,あるいはどちらの原因がより重要であるかに関して結論に違いが生ずることが考えられる.そこで我々は筋ジストロフィー症の度合をより直接的にあらわすと思われる筋重量の変化と筋の収縮力およびその kinetics を主な指標にして,筋に対する神経支配の有無に注意しながらより定量的な実験を試みた.