

4) ジストロフィーチキンの筋肉のヌードマウスへの異種移植に関する研究

寺尾 寿夫*

研究協力者 榎本 昭* 稲垣 直*
近藤 行男* 大沢 仲昭*

目 的

筋ジストロフィー症をはじめ、種々の病的筋肉を他の正常な動物に移植した場合に、移植筋に再生が起るか、また再生した筋が長期間に如何なる変化を受けるかを知るため、細胞免疫不全を有し、移植された他種動物の組織に拒絶反応を示さないヌードマウスを用いて筋の移植の研究を行なっている。

昨年、われわれは、異種動物の正常筋の移植を行い、その結果を報告したが、今回はジストロフィーチキンの筋肉をヌードマウスへ移植し、筋の再生現象を研究したので、その結果について報告する。

方 法

ヌードマウス

ヌードマウスの飼育条件は昨年検討し報告した如く、SPF下（specific pathogen free）に飼育し、実験を行なった。研究に使用したヌードマウスは生後2ヶ月前後のものである。

移 植 筋

移植筋はジストロフィーチキン（成鶏）のgastrocnemius, pectoralis major, ALD, PLD等を用い、対照はヘテロの成鶏の同じ

ものを用いた。筋肉は断頭屠殺後、直ちに取出し以下に述べる方法によりヌードマウスに移植した。

移 植 法

移植はネンブータル麻酔下に①直径3mmのトロカールを使用し、ヌードマウスの背部皮下に移植する方法と、② Studitsky¹⁾により始められた minced fragment を用いる方法とを行なった。①の皮下への移植は通常2～3mm角の筋肉片を1個ずつ4～6個所に同時に移植しておき、種々の時間的経過後に1個ずつ取り出し、組織標本を作製した。②の Studitsky の方法はヌードマウスの gastrocnemius, soleus, palmaris より成るいわゆる jumping complex をできるだけ神経を残して取り去り、その同じ部分に移植筋を直径約1mmの細片にして多数移植し、皮膚を縫合するものである。

多くの実験では一匹のヌードマウスの体の右側にジストロフィー筋をまた左側にコントロール筋の移植を行なって比較した。

標本作製および染色：

取り出した筋肉はすぐにドライアイス、イソペンタンを用いて凍結し、グリオスタットにより厚さ10 μ の標本を作製した。

染色はH-E染色、Trichrome染色を行な

* 東京大学医学部第3内科

い結合織に Heidenhain または Mallory の染色を行なった。

また組織化学的染色としては、ATPase, NADH, 酸性およびアルカリ性 フォスファターゼ染色を行なった。

一部はグルタールアルデヒド固定後、電顕を用いて研究を行なった。

結 果

肉眼的には minced fragment は数日にして癒合を始め、また皮下に移植したものには皮膚側や筋膜側より血管が入るのがみられる。

組織学的にみると、移植した筋肉片には2～3日経過すると、組織球、線維芽細胞、筋芽細胞等の増殖が始まる。これらの細胞の増殖は移植筋肉片の周辺に盛んで、これが中央の変性した donor 側の残存筋線維を囲んでいる像がみられる。これらの残存筋線維は光顕では正常に見えるものから、壊死状のものまでであるが、一見正常のものでも電顕で観察すると著明な変性がみられる。また変性筋

線維の筋膜に沿い、核が環状に並ぶこともある。myoblast は約10日～2W経つと数個が一行に並び myotube が形成され basophilic な胞体の中央に核が鎖状に並ぶ様になる(図1)。これらの新生筋線維はグループをなして再生する傾向があり、そのため2～3週を経過した移植筋切片では新生筋線維の一群をなした部分と fibroblast の増殖が盛んで、線維化した部分とが混在する形をとる。また興味深いことに、移植筋の周辺に多くの神経線維が、増加して移植筋の中に入ってくるのをみる(図2)。これらの新生した筋には3週間前後で横紋が明らかになってくる(図3)。この頃には鎖状核はほとんどなくなり、一見正常筋線維に見えるが、新生した筋は、きわめて細く、直径は正常の1/4～1/5のものが多い。またその走行は大体一定の方向に走っているが、なかには一定方向への排列が乱れて、別々の方向に向いているのもみられた(図4)。

次にこれらの再生線維を組織化学的にみると、まずAChE染色では、再生筋に多数のAChE

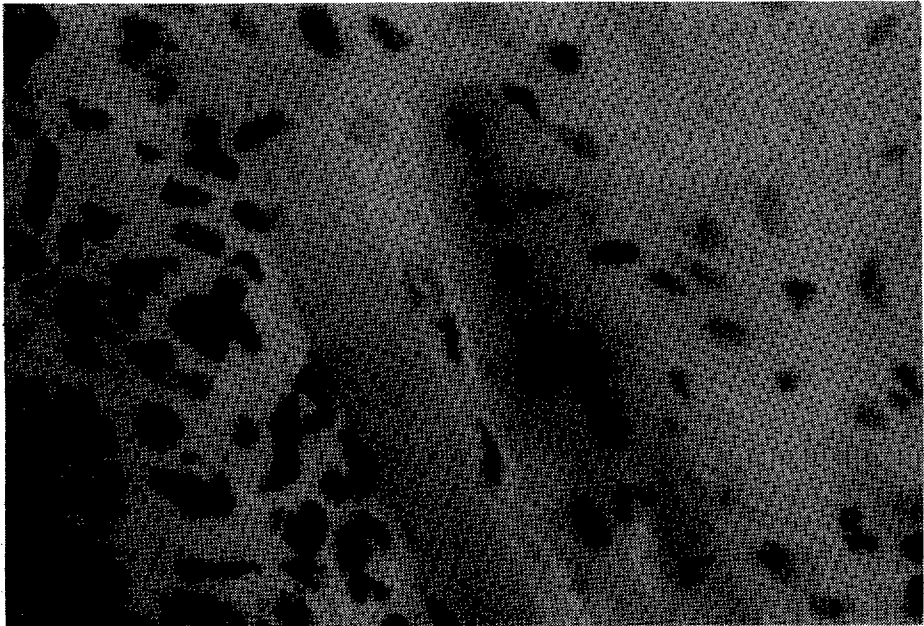


図1

活性部位がみられた(図5)。また移植後1月以上を経ると、再生筋には fiber type の分化がみられるようになった。酸性フォスファ

ターゼ染色は2ヶ月を経た再生筋でも陰性であった。

以上の筋の再生はジストロフィー筋とコン

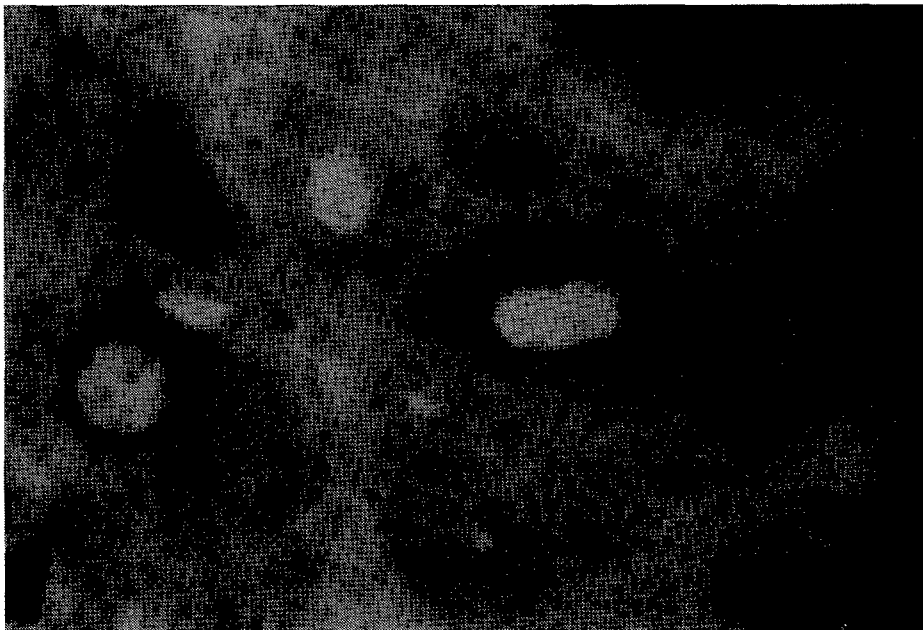


図 2



図 3

トロールの間で明瞭な差は少ないように見えるがさらに例数を増し検討している。

なお移植筋をあらかじめ crush し myoblast

を増加させて移植した場合は、移植後2週までは再生促進傾向がみられたが、それ以後はほとんど差がなかった。



図4

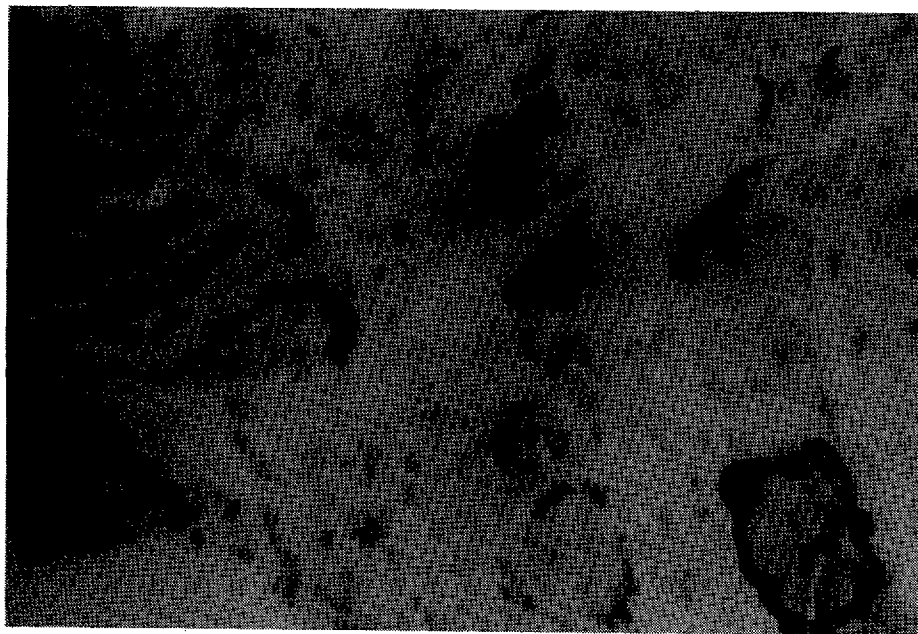


図5

考 案

進行性筋ジストロフィー症の成因は多くの研究にも拘らず不明であり、また筋を萎縮に導く異常が筋そのものに遺伝的に付与されたものか、また他の因子によるのかも明らかでない。この解明にはジストロフィー筋の非ジストロフィー性環境下での観察が1つの手掛りを与えると考えられる。一方、ジストロフィーチキンはヒトのジストロフィーと種々の点で類似性があり、この研究はヒトの筋ジストロフィーの研究上きわめて良い実験モデルとされている。そこでジストロフィーチキンの筋肉を他の正常動物に移植し、その再生を見ることが必要となってくる。しかし Carlson ら²⁾によれば、heterotransplantation は勿論 homotransplantation の場合でも、約1週間後には移植筋のまわりに強いリンパ球浸潤が始まり、再生は抑制されるという。この点先天的に胸腺を欠如し、高度の免疫不全を有するヌードマウスは異種組織に対する拒絶反応がないためこの目的に適している³⁾上述の如く、ヌードマウスへのジストロフィーチキンの移植筋中には再生現象がみられた。この筋の再生は正常ヌードマウス筋を用いた同種移植の場合の再生よりは劣るが対照に比べては再生の程度や再生筋そのものに大きな差がみられなかった。これに関しては例数を増し、さらに長期の観察を続行中である。また再生筋が host 側に由来する可能性があるが、

皮下に移植した場合も移植筋肉に再生が起ることにより、少なくとも皮下では donor 側の筋由来の可能性が大きいと考えられる。

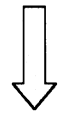
結 語

ジストロフィーチキンの筋肉をヌードマウスに移植し次の結果を得た。

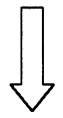
- 1) 移植されたジストロフィー筋には新しい筋線維の再生がみられた。
- 2) これらの再生筋には多くの神経線維が入るのがみられた。
- 3) ジストロフィー筋肉の再生は対照正常筋との間に著しい差はみられなかった。

文 献

- 1) Studitsky, A. W. : Free auto- and homografts of muscle tissue in experiments on animals, Ann. N. Y. Acad. Sci., 120 : 789, 1964.
- 2) Carlson, B. M. : The regeneration on entire muscles from minced fragments, In "Regeneration of striated muscle, and myogenesis" edited by Mauro, A. et al, Excerpta Medica, Amsterdam, 1970, p. 25.
- 3) 大沢伸昭, 上山義人 : ヌードマウスに移植されたヒト悪性腫瘍を用いる制癌研究について, 医学のあゆみ, 96 : 278, 1976.



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



目的

筋ジストロフィー症をはじめ、種々の病的筋肉を他の正常な動物に移植した場合に、移植筋に再生が起るか、また再生した筋が長期間に如何なる変化を受けるかを知るため、細胞免疫不全を有し、移植された他種動物の組織に拒絶反応を示さないヌードマウスを用いて筋の移植の研究を行なっている。