

## 12) ジストロフィーチキンの神経・筋接合部の性質 について

栗山 熙\*

研究協力者 平岩 徳一\* 是永 進\*  
森田 鏡子\* 伊東 祐之\*

### 序

ヒト筋ジストロフィーと類似したニューハンプシャーチキンで見られる遺伝性筋ジストロフィーの病因は不明であり、筋原性あるいは神経原性であるかについても明確な結論は出されていない。ニューハンプシャー種筋ジストロフィーチキンの神経-筋接合部に於いては *cholinesterase* の分布の異常 (Wilson, Kaplan, Merhoff & Mori 1970; Wilson, Linkhart & Nieberg 1973; Jedrzejczyk, Wiekowski, Rymaszeska & Barnard 1973) あるいは運動神経末端部の形態学的異常 (Sansone, Labeda & Albuquerque 1973) が報告されている。従って筋ジストロフィーチキンにおける神経-筋伝達の生理を正常のそれと比較することは重要であると考えられる。しかし電気生理学的方法によるこの種の研究は Albuquerque & Warnick (1971) の報告以外には殆ど例が見られない。

我々は正常ならびに筋ジストロフィーチキンにおける速筋と遅筋の細胞膜の電気的性質を孵化後経時的に観察した上で、神経-筋伝達の電気的特質を比較検討しさらに電子顕微鏡により微細構造をも検索した。

### 方 法

孵化後 6 週後のニューハンプシャー種筋ジ

ストロフィーチキンライン 413 および正常チキンライン 412 を使用した。用いた筋組織は速筋の例として大胸筋 (以下 PM と省略) および長前翼張筋 (以下 EPL), 遅筋の例としては前闊脊筋 (ALO) でペントバルビタール麻酔下 (50~60mg/kg) に分離し実験に供した。

細胞内電位の記録と細胞内刺激は電極抵抗 30~50M $\Omega$  のガラス微小電極を用いて行なった。終板電位 (以下 e. p. p.) は  $10^{-6}$ ~ $2 \times 10^{-6}$ g/ml d-tc 存在下にそれぞれの運動神経を二本の銀線を通して期間 0.5~1msec の短形波で刺激して記録した。終板部 *cholinesterase* を Koelle の変法により、さらに筋細胞の *myosin ATPase*, *succinic dehydrogenase* (SDH) を染色し光学顕微鏡下に観察した。さらに電子顕微鏡を用いて神経、筋接部の微細形態をも正常および筋ジストロフィー筋と比較した。

### 結 果

孵化 6 週後から筋ジストロフィーチキンの筋筋質膜の電気的性質について正常チキンと比較した。静止電位はいずれの筋組織においても正常筋とジストロフィー筋で差異がみとめられなかった。さらに速筋である PM で記録された直接筋刺激による活動電位発生の閾値と、overshoot の振幅は正常筋と筋ジストロフィー筋で両者に差は見られない。遅筋で

\*九州大学医学部薬理学教室

あるALDでも孵化後2.5ヶ月までは、正常およびDMにおいて full size の活動電位が発生し両者に相違は認められない。その後両筋織において同様に full size の活動電位は graded response にと変化する。

しかしいずれの筋組織もDMでは1.5ヶ月で、筋細胞が有意に肥大した。またいずれの筋組織でも入力抵抗 ( $R_{in}$ ) は減少しているにもかかわらず比抵抗 ( $R_m$ ) は増加し、空間定数 ( $\lambda$ ) も時定数 ( $\tau_m$ ) も増加した。例えば孵化3ヶ月後で正常筋とDMとを比較すると速筋のPMでは  $R_{in}$  は  $0.18M\Omega$  から  $0.14M\Omega$  へと減少し、 $R_m$  は  $285\Omega\text{cm}^2$  から  $528\Omega\text{cm}^2$  へ、 $\tau_m$  は  $2.9\text{msec}$  から  $4.9\text{msec}$  へ、 $\lambda$  は  $0.69\text{mm}$  から  $1.44\text{mm}$  へそして直径は  $22\mu$  から  $26\mu$  へと

それぞれ増加した。遅筋であるALDにおいて孵化後2.5ヶ月で正常筋とDMで膜定数を比較すると  $R_{in}$  は前者で  $0.68M\Omega$  後者で  $0.51M\Omega$ 、 $R_m$   $2873\Omega\text{cm}^2$  と  $4581\Omega\text{cm}^2$ 、 $\tau_m$  は  $15.6\text{msec}$  と  $28.0\text{msec}$ 、 $\lambda$  は  $1.44\text{mm}$  と  $2.12\text{mm}$ 、直径は  $24$  と  $28\mu\text{m}$  となり、速筋の場合と同様、DMでは  $R_{in}$  のみが減少し、 $R_m$ 、 $\tau_m$ 、 $\lambda$  および筋細胞の直径は増加する。すなわち速筋と遅筋はM・Dでは同様な変化を示し、直径の増大と筋形質抵抗 ( $R_i$ ) の低下が主要な変化とも考えられる。現在ではまだ推測の域を出ないが筋内部構造とその性質の変化が形質の抵抗の変化をもたらしている可能性がある。

孵化10週後のPMにおいて微小終板電位(以下 m. e. p. p.) を正常およびDMにおいて比較す

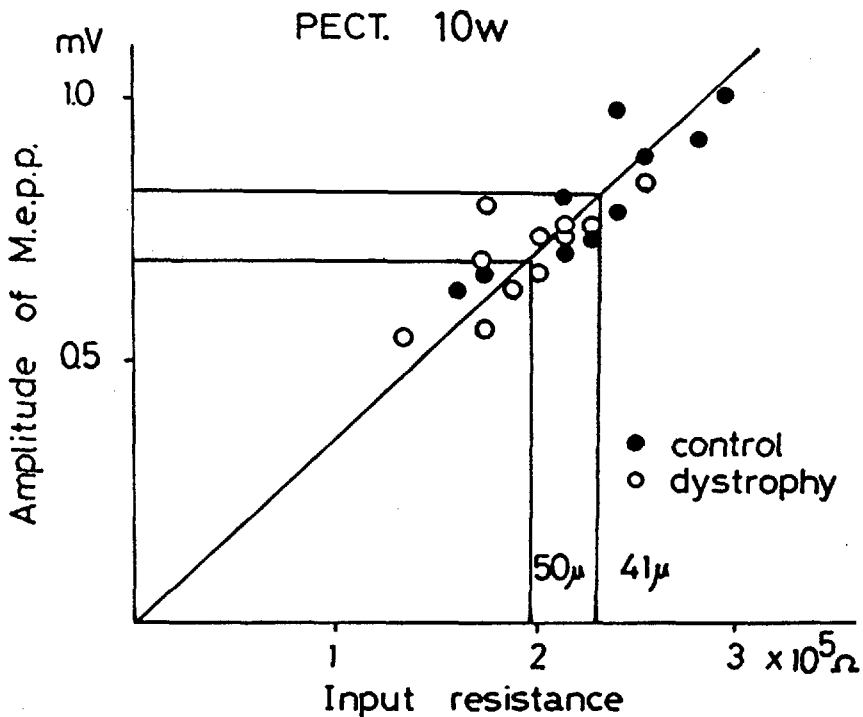


図 孵化後10週の正常および筋ジストロフィーチキン大胸筋で観察される m. e. p. p. の平均振幅を筋細胞膜の実効抵抗に対して plot した。横軸は細胞膜の  $R_{in}$ 、縦軸は m. e. p. p. の平均振幅。

○ dystrophy                      ● control

ると、その発生の平均間隔は $180 \pm 19 \text{msec}$ および $190 \pm 24 \text{msec}$ とほとんど差が見られない。さらにその大きさは前者で $0.67 \pm 0.01 \text{mV}$ 、後者で $0.51 \pm 0.01 \text{mV}$ とDMに於て減少する傾向が見られる。しかしDMは筋細胞の肥大によるRinの減少があり、この減少を補正すると両者に差はないと考えられる。図は筋細胞膜のRinに対してm. e. p. p.の振幅をplotしたもので、正常(●)およびDM(○)でその勾配に差がないことも個々のvesicleとそのシナプス後膜効果に差がないということを意味している。同様に孵化10週後のALDでもm. e. p. p.の平均振幅と発生間隔に両筋組織で殆ど差が見られない。すなわち正常筋の場合には平均振幅が $0.58 \pm 0.06 \text{mV}$ 、平均間隔が $673 \pm 79 \text{msec}$ 、DMではそれぞれ $0.54 \pm 0.05$ 、お

よび $802 \pm 88 \text{msec}$ である。

神経刺激によって発生する筋活動電位にも両筋組織において差異が認められない。さらにcurarizeした筋で観察されるe. p. p. 150~200個の大きさのcoefficient of variationからquantal contentを計算しても正常PMでは $94.1 \pm 22.5$ ( $n=10$ ,  $\pm \text{SD}$ )、ジストロフィーPMでは $94.5 \pm 14.18$ ( $n=11$ ,  $\pm \text{SD}$ )と殆ど相差不い。また連続神経刺激( $0.3 \sim 10 \text{c/sec}$ )によるe. p. p.のfatigueにも両者で差異が認められない。

終板部のAChEを染色してみても、さらに電子顕微鏡により神経筋接合部の微細構造を観察しても正常およびジストロフィー筋に於て変化は認められなかった。

表 種々の膜定数を孵化後6~20週目に、PM, EPL, ALD, 筋細胞膜において測定した。

	AGE (#)	N	Rin (MΩ)	λ (mm)	τ <sub>m</sub> (msec)	r (μ)	R <sub>m</sub> (n $\text{cm}^2$ )	R <sub>i</sub> (n $\text{cm}$ )	C <sub>m</sub> (μF/cm <sup>2</sup> )	
PECT.	C	10	9	$0.22 \pm 0.01$	$0.67 \pm 0.04$	$2.7 \pm 0.1$	$21 \pm 1$	$390 \pm 34$	$91 \pm 9$	$7.5 \pm 0.7$
	D	10	8	$0.19 \pm 0.01$	$0.92 \pm 0.06$	$4.6 \pm 0.3$	$25 \pm 1$	$553 \pm 50$	$77 \pm 8$	$8.9 \pm 0.8$
	C	15	7	$0.18 \pm 0.01$	$0.69 \pm 0.02$	$2.9 \pm 0.1$	$22 \pm 1$	$372 \pm 33$	$81 \pm 8$	$7.9 \pm 0.8$
	D	15	7	$0.14 \pm 0.01$	$1.14 \pm 0.02$	$4.9 \pm 0.2$	$26 \pm 1$	$528 \pm 40$	$53 \pm 4$	$9.5 \pm 0.5$
EPL	C	20	7	$0.22 \pm 0.02$	$0.65 \pm 0.04$	$2.9 \pm 0.5$	$27 \pm 1$	$468 \pm 22$	$160 \pm 7$	$6.9 \pm 0.5$
	D	20	14	$0.19 \pm 0.01$	$0.99 \pm 0.05$	$4.4 \pm 0.1$	$31 \pm 2$	$715 \pm 44$	$123 \pm 13$	$6.4 \pm 0.2$
ALD	C	6	10	$1.29 \pm 0.09$	$0.94 \pm 0.11$	$9.5 \pm 0.6$	$16 \pm 1$	$2380 \pm 108$	$221 \pm 18$	$4.5 \pm 0.4$
	D	6	9	$1.26 \pm 0.11$	$1.43 \pm 0.18$	$18 \pm 1.4$	$18 \pm 1$	$3674 \pm 156$	$171 \pm 13$	$5.4 \pm 0.6$
	C	12	8	$0.68 \pm 0.05$	$1.44 \pm 0.11$	$15.6 \pm 1.5$	$24 \pm 1$	$2873 \pm 314$	$171 \pm 19$	$5.9 \pm 0.5$
	D	12	8	$0.51 \pm 0.02$	$2.11 \pm 0.42$	$28 \pm 1.7$	$28 \pm 1$	$4581 \pm 515$	$118 \pm 16$	$6.5 \pm 0.7$

## 考察と総括

本実験から筋ジストロフィーチキンにおける速筋および遅筋の筋細胞は孵化6週で肥大を示しこの時実測した細胞膜の実効抵抗( $R_{in}$ )は減少しその時定数( $\tau_m$ )および空間定数( $\lambda$ )が増加することが明らかとなった。同様の実験結果が速筋である、PLDでも観察されているので(Albuquerque & Warnick 1971; Labeda & Albuquerque 1975), このような膜の電気的特性の変化はニワトリの筋ジストロフィーの一般的特徴であると推定される。さらに  $R_{in}$  は減少するにもかかわらず、 $\tau_m$  および  $\lambda$  が増加することは細胞内筋形質の電気抵抗( $R_i$ )の減少を示唆している。その  $R_i$  の減少がはたして、ジストロフィー筋で見られる細胞内膜系の変性によるものか今後の研究課題であろう。

Albuquer et al (1971) の報告によればニューハンプシャー種筋ジストロフィーチキンのPLDに於ては孵化後10週目では、微小終板電位の振幅および頻度が激減するという。しかし本実験では同じ速筋であるPMに於いて孵化後24週後でもこのような変化は見られない。この時ジストロフィー筋の特徴であると考えられる  $R_{in}$  の減少と筋細胞の肥大は観察されるので筋肉における病変は発生していると考えられる。さらにこのとき神経刺激による筋活動電位、終板電位の **quantal content**, および連続神経刺激(0.3~10c/sec)による **fatigue** にも正常およびジストロフィー筋で差が認められずこの点も彼等の実験結果とは異なる。この相違は用いた筋組織の違いによるのかもしれない。しかしすくなくともジストロフィーチキンのPMおよびALDにおける神経-筋伝達は正常のそれと差がないと考えられる。

## 文 献

- 1) Albuquerque, E. X., & Warnick, J. E. Electrophysiological observations in normal and dystrophic chicken muscles. *Science* 172, 1260-1262 (1971)
- 2) Jedrzejczyk, J., Wieckowski, J., Rymaszewska, T. & Barnard, E. A. Dystrophic chicken muscle; Altered synaptic cholinesterase. *Science* 180, 406-408 (1973)
- 3) Labeda, F. J. & Albuquerque, E. X. Membrane cable properties of normal and dystrophic chicken muscle fibres. *Exp. Neurology* 47, 544-557 (1975)
- 4) Wilson, B. W., Kaplan, M. A., Merhoff, W. D. & Mori, S. S. Innervation and the refulation of acetylcholinesterase activity during the development of normal and dystrophic. *J. Exp. Zool.* 174, 39-54 (1970)
- 5) Wilson, B. W., Kaplan, M. A., Merhoff, W. D. & Mori, S. S. Innervation and the refulation of acetylcholinesterase activity during the development of normal and dystrophic chick muscle. *J. Exp. Zool.* 174, 39-54 (1970)
- 6) Wilson, B. W., Linkhart, S. G. & Neeberg, P. A. Acetylcholinesterase in singly and multiply innervated muscle of normal and dystrophic chickens. *J. Exp. Zool.* 186, 187-192 (1973)

↓  
**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  
↓

序

ヒト筋ジストロフィーと類似したニューハンプシャーチキンで見られる遺伝性筋ジストロフィーの病因は不明であり,筋原性あるいは神経原性であるかについても明確な結論は出されていない.ニューハンプシャー種筋ジストロフィーチキンの神経 - 筋接合部に於いては cholinesterase の分布の異常(Wilson, Kaplan, Merhoff & Mori 1970;Wilson, Linkhart & Nieberg 1973;Jedrzejczyk, Wieckowski, Rymaszeska & Barnard 1973)あるいは運動神経末端部の形態学的異常(Sansone, Labeda & Albuquerque 1973)が報告されている.従って筋ジストロフィーチキンにおける神経 - 筋伝達の生理を正常のそれと比較することは重要であると考えられる.しかし電気生理学的方法によるこの種の研究は Albuquerque & Warnick(1971)の報告以外には殆ど例が見られない.