

14) *in vitro* での筋ジスチキンの神経・筋接合について

米 沢 猛*

研究協力者 有 菌 直 樹* 岡 部 英 俊*
長谷川 通 規* 西 明 真 理*

筋ジストロフィーの動物モデルと見做されていたジストロフィーマウスでは、筋の病変は筋原性のものというより、支配神経の障害にもとづく筋の二次変性像と見做される所見が多く、これは特に脊髄神経根の先天的病変に基くものと考えられるに至った。これに反し、筋ジスチキンでは神経原性の障害というより筋原性の変性が顕著であるとされている。この点で筋ジスチキンの筋変性はひとの筋ジストロフィーに類似していると考えられる。この筋ジスチキンでの筋変性の経過を観察し、神経・筋接合の検索を行うため、以下に述べる如くジストロフィーチキンの筋および脊髄を培養し *in vitro* での筋の変性過程を検べた。

実験方法

筋ジスおよび健康チキンの10-13日鶏胚の脊髄および下肢筋を下記の組み合わせでコラジェンを塗布したカバーグラス上に Maximow の二重カバーグラス法にて培養し、以後の筋の発育および変性、神経・筋接合形成を各々の組み合わせについて検討した。これらの組み合わせは、

- A. 対照鶏脊髄と同下肢筋
- B. 対照鶏脊髄と筋ジス鶏下肢筋
- C. 筋ジス鶏脊髄と同下肢筋
- D. 筋ジス鶏脊髄と対照鶏下肢筋
- E. 対照鶏下肢筋のみ

F. 筋ジス鶏下肢筋のみ
の各種のものを用いた。

検索には May-Giemsa 染色, Bodian 法による鍍銀染色, Karnovsky 法による AchE 染色および電顕検索を行った。なお, AchE 染色標本について組織化学的反応の大きさを計測し、活性部位の長さの変動を対照のそれと比較検討した。

結 果

一般光学所見：先ず上述の培養組織での一般光学所見について述べる。

上述の組織片を植え付けた後、筋組織の周囲には紡錘状の単核細胞の増殖が始まり、約12時間後にはこれら細胞の一部に細胞の融合が始まる。この多核の合胞細胞は移植筋組織の周囲に略々放射状に配列する。この合胞細胞の一部に脊髄前角細胞からの軸索の先端が附着し神経・筋接合を作る(24-48時間)。

このような筋管細胞は神経支配をうけるか否かにより、以後の発育分化および維持に著しい違いを示してくる。神経支配をうけた合胞細胞(筋管細胞)は、数日内に自発性筋収縮が見られ、横紋が出現し、中心核は辺縁部へ移動する。この神経支配をうけた筋は神経支配をうけないものに比し表面の凹凸は少い。これに対し神経支配のない筋管細胞は、表面は凹凸不平のまま残り、筋の径は不規則である。自発性収縮の出現および横紋の出現は著しく遅延する。このような神経支配のない筋

* 京都府立医科大学病理学教室

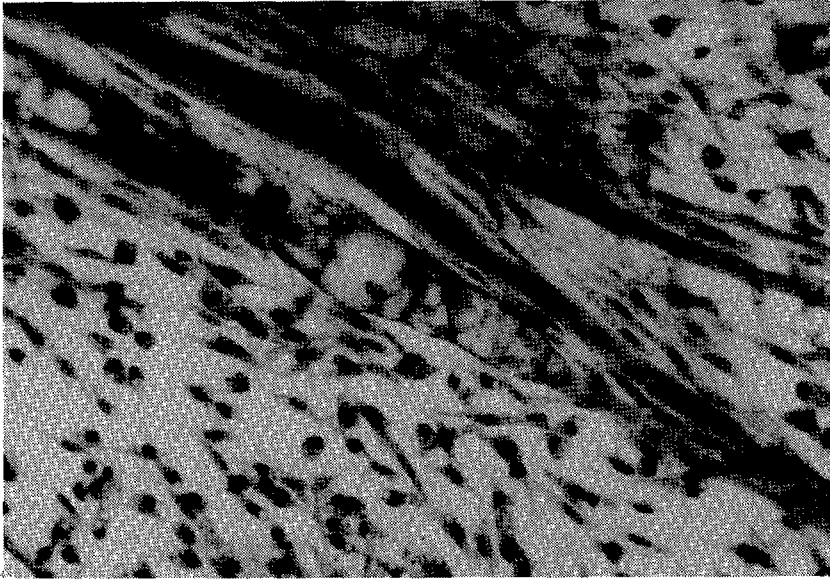


図1 筋線維の泡沫状の変性を示す。ジストロフィー筋培養2週，メイ・ギムザ染色

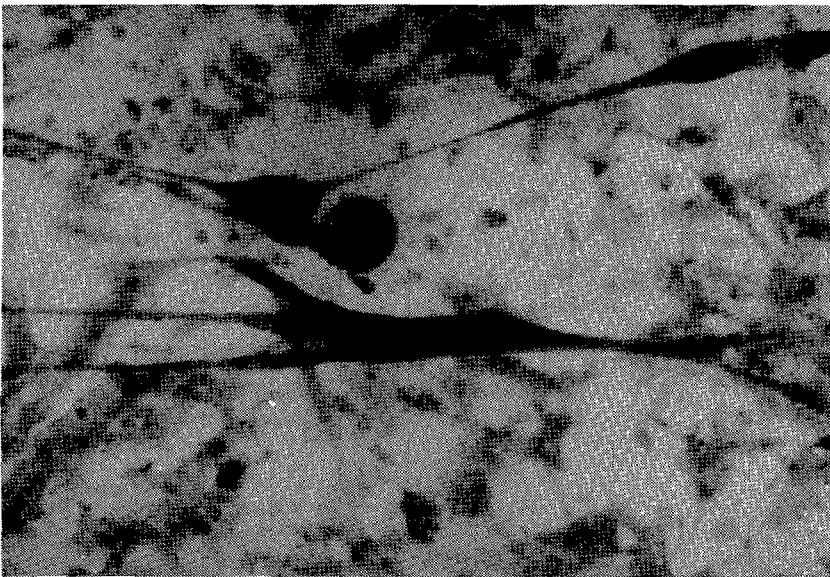


図2 ジストロフィー筋の変性所見，メイ・ギムザ染色

管細胞では培養10日を経過した後は神経・筋接合の形成される可能性は極めて少い。そしてこれら細胞は徐々に変性に陥る。

その変性像の一つとして空胞変性がある。これは筋漿内に多数の空胞が出現してくるもので、筋漿は著しく腫大し泡沫状の筋漿を示してくる。その内容は蛋白成分の殆どないものと思われる。この空胞の出現に拘らず、近傍の核その他に変性所見は見られない。この変化は次第に増強して筋は蜂窩状になる。

また別の変性像として筋管細胞の断裂がある。これは同細胞内の多数の核が筋漿の一部に蟻集し、筋細胞の中が著しく大となる。このようにしてこの核の集って横径が太くなった部と核のない径の細い部とが交互に出現してくる。そして培養の経過と共に後者の中の細い核の無い部で筋管細胞は狭小化が進み、離断する。離断した筋は次第に球状の多核細胞となる。

この二種の変性像は対照の健康筋でも、ジストロフィー筋に於てもともに見られる変化であるが、健康筋の空胞変性は培養3-4週後に出現するのに反し、ジストロフィー筋では培養1週後に見出される。また筋管細胞の離断は健康筋では培養1ヶ月以上のものに見られるがジストロフィー筋では3週例ですで見出されてくる。しかし神経支配のある筋ではこの筋細胞の離断は見られない。

一方、神経・筋接合の形成について Bodian 法によりしらべると前述の A, B, C, および D 群で多少の違いが認められる。これは質的な違いではなく量的なもので、健康筋を用いた A および D 群では神経・筋接合の形成が B および C 群に比しやや多いと思われた。鍍銀法による接合部の所見は、主幹となる軸索からの小枝が筋との間に接合を作ったり、あるいは軸索の走行の途中でシュワン細胞の被覆を失い、軸索が筋に直接接触して接合部を形成するなど様々な型が見られるが、何れも極めて簡単な形をしており、接合部での分枝は極めて少く単純なクラブ状の軸索終末の

膨大を形作っていることが多い。

この N-M-J の組織化学的 AchE 活性部位の計測結果を見ると、前述の A, B, C, および D 群で略々同様の活性の推移が見られその活性部位の大きさも各群の間で有意差は認められない。

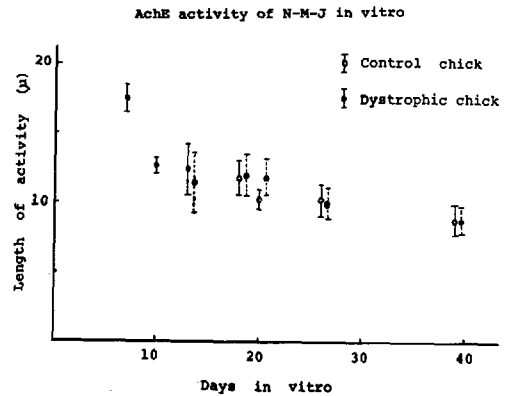


図3 ジストロフィー筋および健康筋での N-M-J の AchE 活性の推移を示す。

考 按

筋ジストロフィー症での筋の変性の原因は筋そのものの代謝の異常にあると考えられるが、形態学的には種々の変性像を示して筋の消失を来す。上述の *in vitro* の筋での変性像は、正常筋に比しジストロフィーチキンの筋では変性が早く出現してくることに特徴がある。その変性期像は筋の空胞化と離断とが指摘される。とくに後者は一応発育成長した筋で、核が1ヶ所に集まり、多核の部と無核の部とが交互にならんで来て、無核の部で筋が離断する。この所見は *in vivo* のジストロフィー筋にも見られるものであり、ジストロフィーでの変性像の一つと見做されている。*in vitro* の筋ではこの変化の出現する全過程が観察される。さらにジストロフィー筋では個々の筋の幅が一定していないこと、筋の表面に凹凸が多いことも健康筋の所見と異なるものである。

このような変性像は神経支配のない筋に見られ、神経支配をうけた筋では筋の維持がよく、この変性像は出現し難い。すなわち神経支配のあるジストロフィー筋では培養1ヶ月に及ぶものでも筋の離断は見られない。従って神経支配による筋の変性像は出現し難いことが指摘されうるであろう。

しかし筋の変性は神経支配のない場合であっても健康チキンの筋では出現し難い。このことから、筋細胞の離断という現象はジストロフィー筋により一層特徴的な変性像といえる。そしてこの変化は神経支配によって、ある程度防ぎうると云いうる。

このように考えるとジストロフィー性変化は本来筋の有する代謝異常が第一に問題となるが、神経支配がその異常の影響をある程度防いでいると見做しうるであろう。この点で神経性因子の関与が考えられる所であるが、神経支配の有無により変動する AchE 活性は上述の如く両種の筋で違いは認められない。そして神経・筋接合も形態学的に違いは見られないことは、神経性因子の関与はこの動物でのジストロフィーには筋原性因子に比し軽いものと思われる。

結 語

筋ジストロフィー症の筋の維持と神経支配の関係や筋の変性所見を検索するため、ジストロフィーおよび対照の健康鶏胚(10-13日)の脊髄および下肢筋を種々の組み合わせの下に二重カバーグラス法にて培養し、筋の成長、維持、変性および神経・筋接合(N-M-J)の所見をしらべた。結果として、

①ジストロフィー筋では培養1週頃より筋管

細胞に空胞変性が始まり、以後急速に変性像が拡って行く。同様の変化は対照筋にも出現するが、出現時期は可成り遅れ、約3週頃より始まり徐々に進行する。

②培養2週頃より筋管細胞内で筋核が所々に集積し、これら部位の間は次第に筋漿が狭小化を示して、やがてその部で離断し、球形の多核細胞となる。

③培養されたジストロフィー筋では、横径は対照筋に比し大径のものや小径のもの等が入り混じり径の違いが著しい。また表面は凹凸不平のことが多い。

④神経・筋接合の形成は前述の何れの組み合わせに於ても、形成される速さは同一と思われるが、ジストロフィー筋では形成される接合は数が少ない。

⑤鍍銀法で観察される神経終末は単純な形を示しており、分枝の数は少く棍棒状の膨みを示すことが多い。

⑥ AchE 活性はN-M-J形成後、何れの群でも同様の経過を示す。

参 考 文 献

- 1) 中村晴臣：ジストロフィーマウス坐骨神経の変化—特に軸索内微小器官について—、筋ジストロフィー症の病因の究明に関する研究、昭51年度研究報告書、p.60、1977。
- 2) 野村達次：ジストロフィーマウスおよびチキンの飼育管理と生産—筋ジストロフィーチキンの導入とその生産—、筋ジストロフィー症の病因の究明に関する研究、昭51年度研究報告書、p.59、1977。
- 3) 米沢 猛、岡部英俊：神経・筋接合の培養—神経性栄養因子解明への試み—、神経研究の進歩、20巻4号、p.617、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
↓

筋ジストロフィーの動物モデルと見做されていたジストロフィーマウスでは、筋の病変は筋原性のものというより、支配神経の障害にもとづく筋の二次変性像と見做される所見が多く、これは特に脊髄神経根の先天性病変に基くものと考えられるに至った。これに反し、筋ジスチキンでは神経原性の障害というより筋原性の変性が顕著であるとされている。この点で筋ジスチキンの筋変性はひと筋ジストロフィーに類似していると考えられる。この筋ジスチキンでの筋変性の経過を観察し神経・筋接合の検索を行うため、以下に述べる如くジストロフィーチキンの筋および脊髄を培養し *in vitro* での筋の変性過程を検べた。