

2) ジストロフィーチキンにおける筋微細構造の 電顕的研究

小 口 喜三夫*

研究協力者 加賀谷 肇* 井上 憲 昭*

目 的

筋ジストロフィーチキン(以下D.C.と略す)およびコントロールチキン(以下C.C.と略す)の大胸筋を光顕および電顕により、経時的に筋構造上の異常を観察することを目的とした。またD.C.にみられた筋線維内の空胞の性状を検索するため、組織化学的方法により電顕的観察を行なった。

方 法

D.C., C.C.共に孵卵後、1週、3週、5週でフリップテスト(ニワトリの背を下にして床に静置し、飛び起きるかどうかを観察する)を行ない、陽性・陰性を判定し、断頭採血後、剖検を行なった。大胸筋を採取し、凍結標本を作製し、H&E染色、Gomori-Trichrome染色にて観察した。電顕用として、

①2.5% glutaraldehyde(pH7.4)固定。cacodylate buffer で洗浄後、1% OsO₄ で後固定を行ない、routineの方法に従いEpon-Aralditeに包埋した。

②Tice¹⁾の方法によりMg-dependent ATPase染色を行なった。0.4M sucroseを含む4% glyoxal(pH6.9)固定。ATP, MgCl₂, Tris-Malate, Pb(NO₃)₂, sucroseを含む溶液内で20分間バイプレーターにより攪拌し、incubateした。その後6.25% glutaraldehyde

で固定、2% OsO₄後固定しroutineの方法に従いEpon-Araldite包埋した。

③Revel-Karnovsky法²⁾を一部変更し、2.5% glutaraldehyde 30分固定。0.15M cacodylate buffer で洗浄し、1.3% OsO₄, 2% 硝酸ランタンを含む0.2M s-collidin bufferで2時間後固定を行なった。この間バイプレーターにより攪拌した。その後routineの方法に従いEpon-Araldite包埋した。

①, ②, ③のそれぞれにおいて厚さ1μの標本切片を作製し、toluidine blue染色した。光顕により観察した後、トリミングし、超薄切片を作製、酢酸ウラン・水酸化鉛の二重染色を行ない、日立HS-9電顕で観察した。

結 果

①臨床的観察および血清CPK値

フリップテストではD.C.は2週令より起き上がれなくなった。CPK値はC.C.では1週令195 I. U (ROSALKI変法)、3週令88 I. U, 5週令61, 376 I. Uと400 I. U以下であった。D.C.では1週令13 I. U, 3週令5740 I. U, 5週令7100 I. U, 9320 I. Uであり、3週令以後には5,000~10,000 I. Uであった。

②光顕所見

1週令大胸筋では、C.C.とD.C.との間に差はなく、筋線維径の大小不同がみられ、筋核は中央部に存在するが、筋線維に殆ど変化は認められなかった。3週令からD.C.で

* 信州大学医学部第三内科

は筋線維径の大小不同が著明となり、肥大線維が増加し、2～3個から数個の中心核をもつ肥大線維を認め、necrosis, phagocytosis が出現、筋線維内に約1～15 μ 位までのさまざまな空胞が認められた(図1)。5週令では、これらの所見は著明となった。3,5週令のC.C.では、筋線維径は大きくなり、大小不同も少なくなり、中心核の増加はみられなかった。

③電顕所見

1週令のC.C.とD.C.では、myofilamentの発育が充分ではなく、myofilament間にはmatrixに豊んでいた。D.C.には軽度のZ-streamingがみられたが、他に著変はなかった。3週令以後では、局所的にmyofibrilの崩壊(図2)、長径0.8～15 μ のさまざまな空胞(図3)がみられた。小空胞では空胞の膜構造がはっきり認められるが、6～7 μ 以上の大きな空胞では膜は明らかでなかった。空

胞内には淡く染まる顆粒を認めるものもあった。

Mg-dependent ATPase 染色による観察では、C.C.は図4の如く、sarcoplasmic reticulum (以下SRと略す)が顆粒状に染まり、Mg-dependent ATPase 染色は陽性であった。D.C.でも同様にSR陽性所見が得られ、空胞について観察すると、図5に示すように数 μ 以下の空胞では、空胞内にdense granulesが認められた。

lanthanum 処置では、C.C., D.C.共にcytoplasm外は多量の膠原線維に覆われているため、lanthanumはT-system内に浸入し難く、sarcoplasmic membraneの付近のみに浸入していた。T-systemはZ帯に存在し、観察し得た範囲内では、径の拡大、破壊はみられなかった。次に空胞内の観察では、空胞内に明らかなlanthanumの浸入は認められなかった。

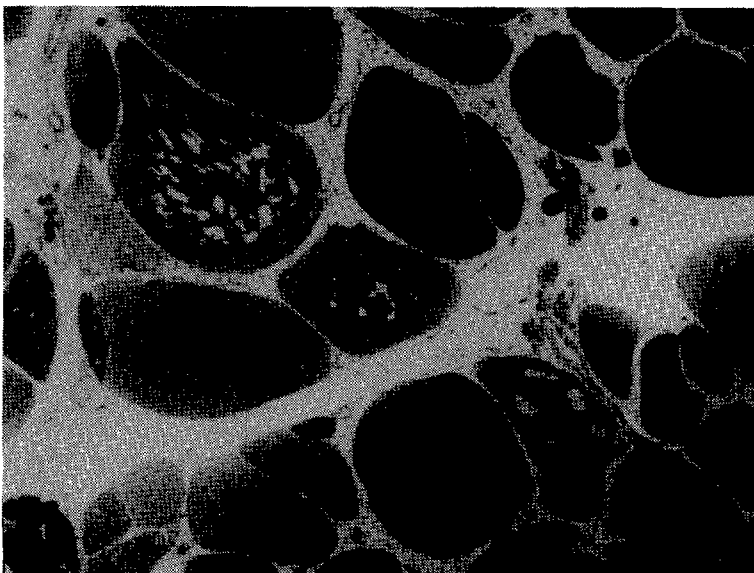


図1 5週令D.C.の大胸筋(Toluidine blue染色)
筋線維径の著明な大小不同、数個の中心核をもつ筋線維の増加と空胞形成がみられる。(×400)



図2 3週令D.C.の大胸筋
Subsarcolemmal regionに局所的なmyofibrilの崩壊を認める。
($\times 7,000$)

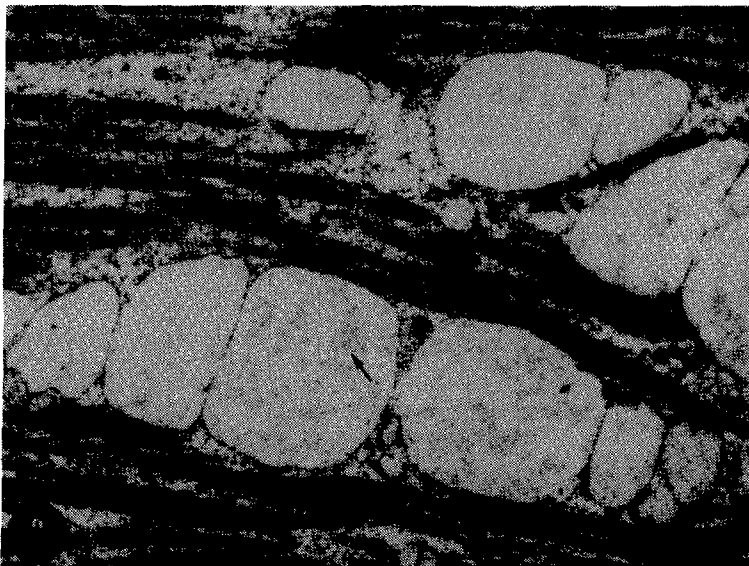


図3 3週令D.C.の大胸筋
空胞(2~5 μ)内には淡い顆粒状物質(↑)を入れたものも認められる。($\times 5,000$)

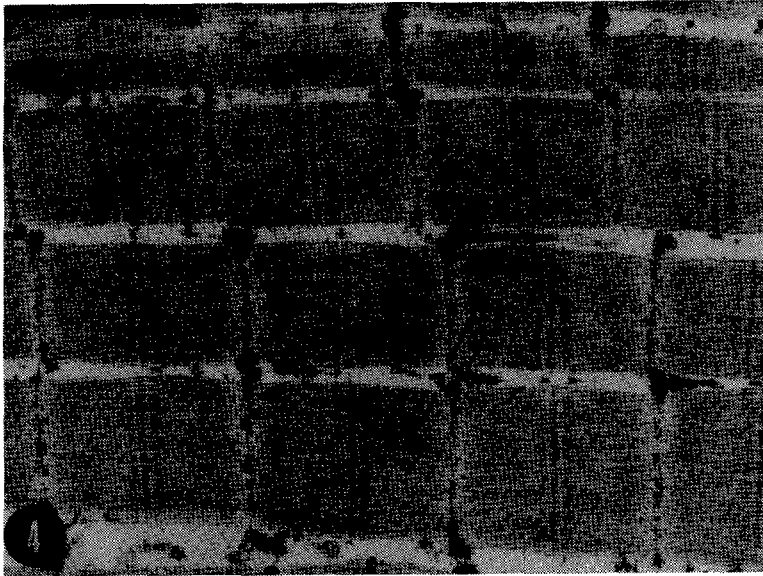


図4 5週令 C.C.の大胸筋 (Mg-dependent ATPase 染色)
S R内に dense granules (↑) を認める. (×18,000)

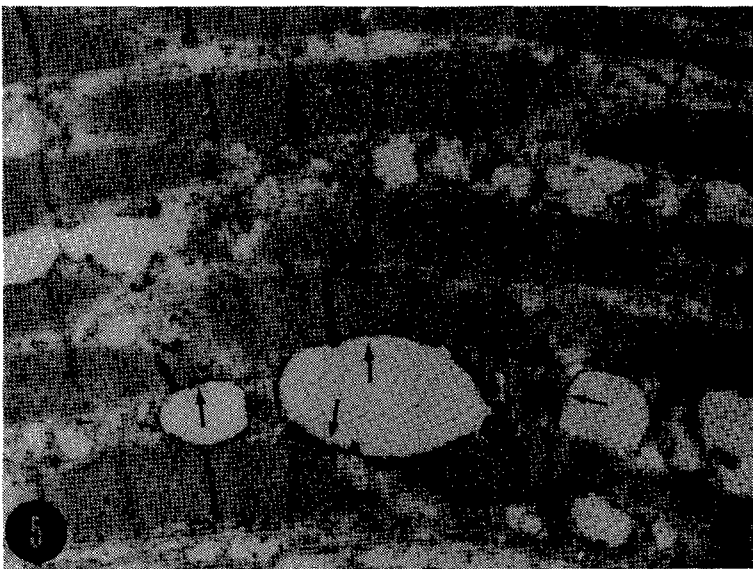


図5 5週令 D.C.の大胸筋 (Mg-dependent ATPase 染色)
空胞内に dense granules (↑) を認める. (×13,000)

考 擦

D. C. は 2 週令からフリップテスト陽性となり、血清 CPK 値は 3 週令から C. C. (400 I. U 以下) に比し、5,000~10,000 I. U と 10~25 倍に上昇した。光顕的観察では、大胸筋の 1 週令 D. C. では C. C. と差はみられなかったが、3 週令の病理学的所見は変性線維、肥大線維の出現、中心核の増加、筋線維内の空胞出現が観察された。従って D. C. における筋線維の変化は 2~3 週令位から始まるものと思われる。

次に Mg-dependent ATPase 染色において数 μ 以下の小空胞は陽性であったが、それ以上の大きな空胞は陰性であった。このことは 6~7 μ 以上の大きな空胞に膜構造が明らかでなかったことと関連していると思われる。つまり、空胞が大きくなるに従い、膜構造はなくなり、Mg-dependent ATPase が存在しなくなるためと考えられた³⁾。この小空胞は Mg-dependent ATPase 染色陽性であったが、Tice ら¹⁾によれば Mg-dependent ATPase 染色陽性を示すものは、SR, mitochondria, nuclear membrane である。空胞の形態から nuclear membrane は除外でき、空胞の近くに観察される mitochondria は正常であり、空胞の形成は否定できるものと思われる。従って SR から空胞が形成された可能性がある。一般的電顕による観察において、Baskin⁴⁾は空胞の形態の性状から、D. C. にみられる空胞は SR の拡大によると述べている。

一方、T-system の拡大による空胞形成も考えられ、Malouf ら⁵⁾は Peroxidase および Ferritin の使用により、空胞内に Peroxidase, Ferritin が認められることから空胞は T-system 起源としている。

我々が今回用いた lanthanum は、細胞外と連続性をもち T-system に満されることが知られている。しかし、今回の検索では T-system 内に十分な lanthanum の浸入が得られなかったため、空胞内に lanthanum がなかつ

たという事実から、T-system 起源の空胞ではないと否定出来なかった。

空胞の起源については、現在のところ SR と T-system の両者が考えられ、我々の Mg-dependent ATPase 染色では、SR 起源の可能性が考えられたが、T-system 起源は否定も肯定も出来なかったため、今後 Peroxidase や Ferritin 法により、Malouf らの追試も必要である。

結 語

① D. C. では、2 週令からフリップテスト陽性となり、血清 CPK 値は 3, 5 週令で 5,000~10,000 I. U (ROSALKI 変法) と C. C. に比し、10~25 倍に上昇した。

② 光顕的観察では、1 週令で C. C. と D. C. に差はなく、3, 5 週令 D. C. で変性線維、肥大線維の出現、多核中心核の増加、筋線維内空胞がみられた。

③ 電顕的観察では、1 週令 D. C. で軽度の Z-streaming がみられ、D. C. 3 週令以後では局所的に myofibril の崩壊、空胞がみられた。数 μ 以下の小空胞では膜構造を認めるが、6~7 μ 以上の大きな空胞では明らかでなかった。

④ Mg-dependent ATPase 染色では、数 μ 以下の小空胞内に dense granules を認めた。

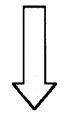
⑤ lanthanum を tracer として使用し T-system を観察したが、cytoplasmic membrane の付近しか浸入しなかった。観察できた範囲の T-system に拡大、破壊はなく、空胞内に明らかな lanthanum の浸入は認められなかった。

⑥ 空胞の起源については、SR の起源と考えられたが、T-system 起源も否定出来なかった。

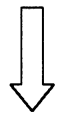
文 献

- 1) Tice, L. W., & Engel, A. G.: Cytochemistry of phosphatases of the

- sarcoplasmic reticulum. II. In situ localization of the Mg-dependent enzyme. *J. Cell Biol.*, 31 : 489-499, 1966.
- 2) Revel, J. P. & Karnovsky, M. J. : Hexagonal array of subunits in intercellular junctions of the mouse heart and liver. *J. Cell Biol.*, 33 : C7, 1967.
- 3) 小口喜三夫, Chou, S. M. : バキエオラ—ミオパチ——コルヒチンによる実験的 segmental vacuolar myopathy について— . *神経進歩*, 20 : 59-67, 1976.
- 4) Baskin, R. J. : Ultrastructure and calcium transport in dystrophic chicken muscle microsomes. *Lab. Invest.*, 23 : 581-589, 1970.
- 5) Malouf, N. N. & Sommer, J. R. : Chicken Dystrophy. The geometry of the transverse tubules. *Am. J. Pathol.*, 84 : 299-316, 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

筋ジストロフィーチキン(以下 D.C.と略す)およびコントロールチキン(以下 C.C.と略す)の大胸筋を光顕および電顕により,経時的に筋構造上の異常を観察することを目的とした.また D.C.にみられた筋線維内の空胞の性状を検索するため、組織化学的方法により電顕的観察を行なった.