

9) 筋ジストロフィー鶏の肥大筋線維. Skinned fiber 法による研究

高木 昭夫*

ジストロフィー筋の病理所見の1つとして、肥大筋線維の出現が知られている。しかしその病態生理上の意義については、未だ定説はないようである。筋ジストロフィー鶏の骨格筋より肥大筋線維の single skinned fiber を作製し、収縮系及び内部膜系の性状を分析した。

方 法

孵化後6~12ヶ月の鶏の主として後広背筋より skinned fiber を作製した。実験法は既報に準じた^{1,2)}。ジストロフィー筋の直径は78~127 μm 、対照では70~96 μm であった。

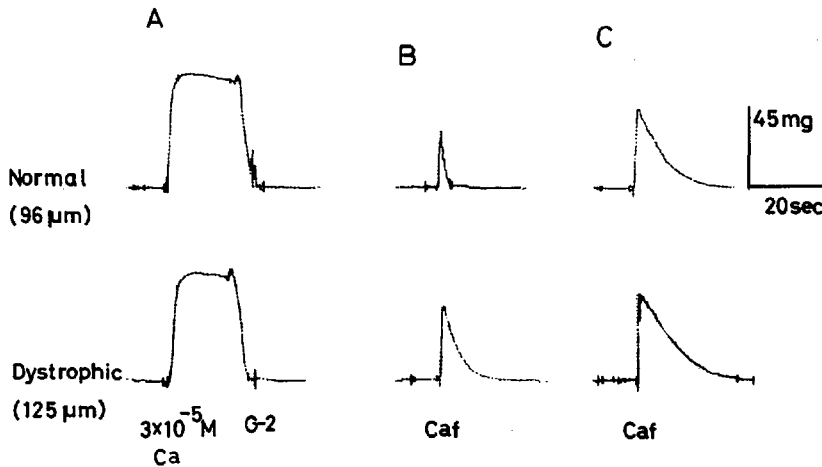


図1 記録の実例。上段は正常対照の skinned fiber の実験記録、下段は筋ジストロフィーの実験記録である。A: skinned fiber を $3 \times 10^{-5} \text{M} [\text{Ca}^{2+}]$ の溶液に接触させると、最大張力が記録される。弛緩溶液 (G-2) にて洗滌すると静止張力に復する。

B: skinned fiber 作製直後に G-0.2 溶液中にて、カフェイン拘縮を起させたもの。この拘縮の大きさは、静止時の小胞体内 Ca 量を反映している。Caf: 40mM Caffeine in G-0.2。C: skinned fiber を $10^{-6} \text{M} [\text{Ca}^{2+}]$ を含む溶液に2分間接触させた。この際には小胞体の Ca 摂取能はほぼ飽和される。この時点でのカフェイン拘縮の大きさを表現している。

* 東京大学医学部脳研神経内科

結 果

1) 記録の実例 (図1)

skinned fiber 作製直後に40mM カフェインによる拘縮を起させた (G-0.2液中にて)。図1のBの如き張力発生をみた。この収縮の大きさは筋小胞体中に存在する生理的なCa量と関係していると推定した。skinned fiber を $10^{-6}M$ Ca^{2+} を含む溶液中にて2分間処理後のカフェイン拘縮は図1Cの如くであった。又、外液の Ca^{2+} を $3 \times 10^{-5}M$ に増加させると図1Aの如き張力の発生をみた。これは skinned fiber の発生する最大張力である。

2) 最大張力 (図2)

single fiber の発生する単位断面積当り

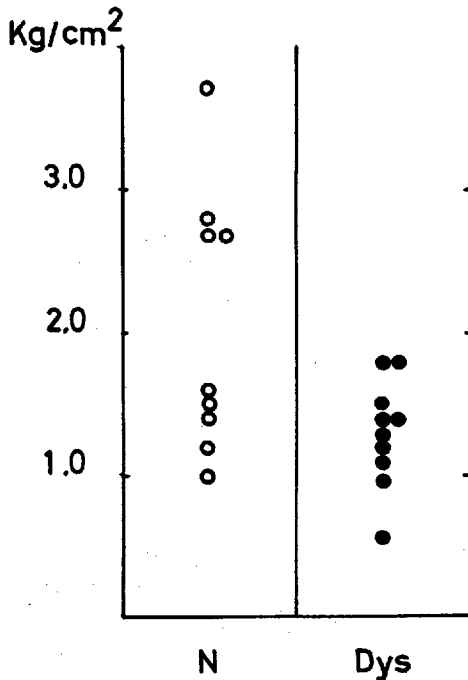


図2 対照(N)および筋ジストロフィー(Dys)よりの single muscle fiber の最大張力 (kg/cm^2)。対照群では0.8-3.7 (平均2.0, $N=9$)、筋ジストロフィーでは、0.6-1.8 (平均1.3, $N=10$) に分布した。筋ジストロフィーでは、有意に低下している。

の最大張力を比較した。張力は Intact single fiber をサポニン処理した chemical skinned fiber ⁴⁾で測定した。断面積の測定には、筋線維を静止時の約1.5倍に伸展して(この際断面は正円形に近くなるとされている)、直径を測定し、その値から静止時の断面積を逆算した。対照例では最大張力は0.8-3.7 kg/cm^2 に分布している (平均2.02, $N=9$)。筋ジストロフィーでは0.6-1.8 kg/cm^2 (平均1.31, $N=10$) であり、有意に低値であった ($0.05 < P < 0.1$)。

3) 遊離カルシウム濃度 ($[Ca^{2+}]$) と張力の関係

筋ジストロフィーおよび対照のいずれにおいても、 $10^{-6}M$ $[Ca^{2+}]$ にて一部の筋線維で張力の発生をみた。 $10^{-5} \sim 3 \times 10^{-5}M$ $[Ca^{2+}]$ にて最大張力を呈した。 $[Ca^{2+}]$ と張力の関係について両者の間に差は認められない (図3)。

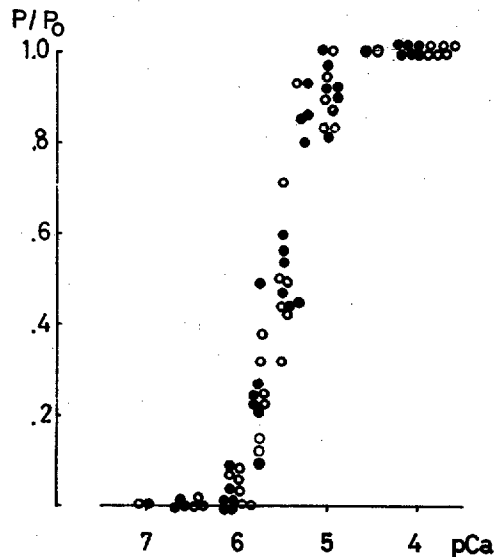


図3 skinned fiber における外液の遊離Ca濃度と発生張力の関係。張力は最大張力に対する比率で表現してある (P/P_0)。横軸は遊離Ca濃度。pCa = $-\log [Ca^{2+}]$ 。白丸：対照、黒丸：筋ジストロフィー。両者間に有意な差はみとめられない。

4) 筋小胞体中の生理的 Ca 量

図1において説明したように、1Bの収縮の大きさは静止時の小胞体中Ca量を反映しているものと考えられる。B:Cの面積比を指標としてこの量を比較した(図1B)。筋ジストロフィーでは、この比の増加している筋線維が散見される(図4)。おそらく静止時の小胞体内Ca量が増加しているためと推定される。

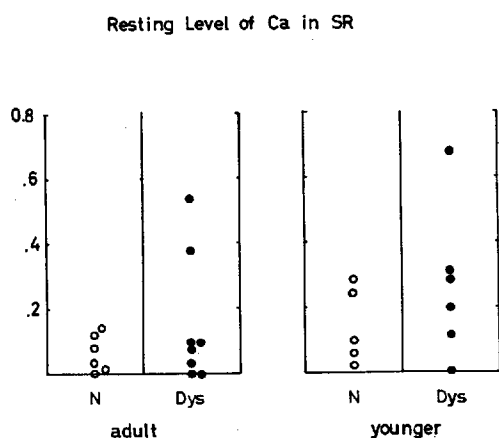


図4 静止時における筋小胞体内Caレベル。この指標として図1におけるB対Cの面積比を使用した(従軸)。adultはふ化後6ヶ月以上の成鶏, youngerは6ヶ月未満の幼鶏よりのskinned fiberを使用した。筋ジストロフィー(Dys)では、この比率の増加した筋線維が存在した。

5) 筋小胞体のCa摂取容量

skinned fiberを $10^{-6}M$ $[Ca^{2+}]$ の溶液中にて、2分間処理すると、筋小胞体はほぼ最大量に近いCaを摂取する。この状態でのカフェイン拘縮の大きさを(図1C)、そのfiberの最大張力(図1A)と比較した(図5)。対照と筋ジストロフィーではこの比率に差異はない。即ち、筋小胞体のCa容量は、収縮系に見合う分だけ保持されているといえる。

Ca-Capacity of SR

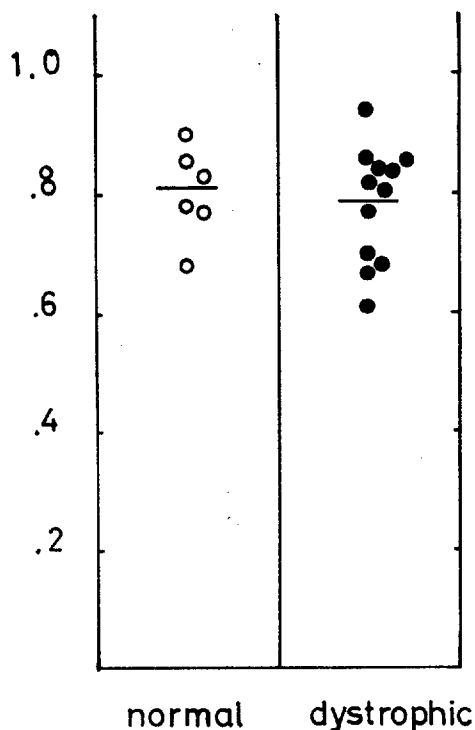


図5 筋小胞のCa摂取容量。この指標として図1におけるCのカフェイン拘縮の張力対Aの最大張力の比率で表現した。この指標で判断する限り、Ca摂取容量は両者間に差はみとめられない。

6) 筋小胞体よりのCaの漏出

skinned fiberの小胞体に一定量のCaを摂取させた後で、2mM EGTAを含む弛緩溶液に一定時間接触させ、その後、小胞体に残存するCa量をカフェイン拘縮の大きさから推定した。筋ジストロフィーでは、 Ca^{2+} の漏出が対照より亢進している筋線維が数多く存在した(図6)。この Ca^{2+} 漏出の亢進は、0.2mMないし10mM EGTAの溶液中でも観察された。

Ca-Leakage from SR (in 2mM EGTA)

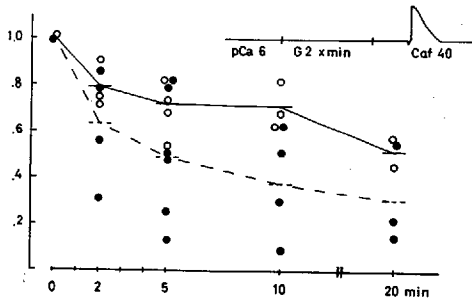


図6 筋小胞体よりのCa漏出。Ca漏出は右上段の挿図に従って測定した。skinned fiberをCa溶液に接触させ一定量Caを小胞体に摂取させた後、弛緩溶液(G-2, 2mM EGTAを含む)に、×分間接触させる(横軸)。その後小胞体中に残存するCa量をカフェイン拘縮の大きさから推定した。筋ジストロフィー(黒丸)では、2-5分後に小胞体Caが急速に減少するfiberがあった。

考案及び結語

本研究で明らかにした事実は、

- i) 筋ジストロフィーでは断面積当りの最大張力の低下した筋線維が存在する。しかし張力発生時のCa²⁺による調節には(これはトロポニンの性質であるが)、異常はみとめられない。
- ii) 筋小胞体のCa摂取容量は正常に保持されている。EGTAを含む弛緩溶液中では、筋小胞体よりのCa漏出が対照より大きい筋線維が存在した。
- iii) 静止時における小胞体中の生理的なCa量が増加している筋線維が稀に存在した、等である。以下、skinned fiber法という方法論上の制約を考慮しつつ、上記の知見の意義を検討してみる。

断面積の測定は、筋線維を伸展すると断面は正円に近づき、その際に筋線維の容積は変

化せず一定である³⁾、との仮定にしたがって計算した。この仮定は正常筋については妥当であろうが、ジストロフィー筋においても有効かどうかは知られていない。将来組織標本を作製して検討する必要がある。前述したように対照群の筋径は70-96 μ m、筋ジストロフィーでは78-127 μ mに分布しており、後者は大部分が100 μ m以上であつた。この両者間の比較ではたしかに、断面積当りの張力は筋ジストロフィーで低下しているといえる。しかし、筋径と断面積当りの張力の関係を検討してみると、筋径が大きくなるにつれ、単位面積当りの張力が低下傾向を呈することが、正常対照群でも観察された。この成因は断面積の計算に問題がある事実を示唆しているのかもしれない。肥大筋線維における単位断面積当りの張力低下が、筋ジストロフィーに特異的か否かの結論は保留したい。現時点ではっきりしている点は、筋ジストロフィーのsingle fiberの最大張力にはかなりのばらつきがあり、一部では明らかに低下したものとあるということであろう。

筋小胞体よりのCa漏出の亢進の原因として、小胞体内腔のCa-binding proteinの異常、小胞体膜を構成するCa-ATPase蛋白の異常等の可能性が考えられる。筋小胞体からのCa-遊離の問題を含めて、小胞体膜の性状は今後検索を進める予定である。

若干のジストロフィーの筋線維では、静止時の小胞体内Caレベルが増加していた。おそらく細胞外液からのCa-influxの増加を反映していると推定される。細胞膜を介してのCa-influxも今後の重要な課題であろう。

これまでの検索の範囲では、被検筋に共通して認められる異常はない。一部の筋線維には、収縮系あるいは筋小胞体の変化が認められた。この種の筋線維には、いわゆる“dystrophic process”が進行しつつあるのであろう。しかし、筋細胞内のどの部位に病変が初発するのか?その病因は何かという疑問に対する解答は得られていない。

文 献

- 1) Takagi, A., Endo, M., *Exper. Neurol.*
55 : 95, 1977.
- 2) Takagi, A. et al, *Neurology*
28 : 497, 1978.

- 3) Blinks, J. R. : *J. Physiol.* 177 : 42,
1965.
- 4) Endo, M., *Folia Pharmacol.*
Japan. 79 : 9p, 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
↓

ジストロフィー筋の病理所見の 1 つとして,肥大筋線維の出現が知られている.しかしその病態生理上の意義については,未だ定説はないようである.筋ジストロフィー鶏の骨格筋より肥大筋線維の single skinned fiber を作製し,収縮系及び内部膜系の性状を分析した.