

10) ジストロフィー筋の生理機能と内部構造

堀 田 健^{*}

研究協力者 大 羽 利 治^{*} 蟹 江 良 一^{**}
渡 仲 三^{***}

われわれはジストロフィー筋の生理的機能と構造との関連を究明すべく研究を続けているが今回は筋細胞の発達にともなう筋の電気生理学的機能と微細構造の関連を細胞内部膜系を中心としてマウス長指伸筋 (EDL) の単一線維を用い、正常およびジストロフィー筋を比較検討した。特に T-system の形態を高圧電子顕微鏡によって立体的に観察し、機能との関連を追求した。

材料ならびに方法

材料として生後3, 5, 7, 9及び15週のジストロフィーマウス (C57 BL/6 J-dy, dy/dy) 及び同年令の正常マウス (+/+ , dy/+) を用い、断頭後直ちに酸素95%, 炭酸ガス5%を飽和したタイロッド液中に分離した筋を浸し、拡大鏡下で後肢長指伸筋 (M. extensor digitorum longus, EDL) を細分し、20本程度の線維を含む束を作った。これを半導体ストレンゲージに接続し、細胞内直接刺激によって発生する張力を測定した。ストレンゲージは約0.5mgの張力が十分に検出出来る感度を有している。

測定は各週例数十本の筋線維について静止電位、活動電位を発生させるに要する刺激電

流の最小値 (閾値)、張力について行った。刺激は約6M Ω の抵抗をもつ微小電極を通して行い静止電位、活動電位の記録も同じ電極を通して導出し ATAC250を用いて記憶させ、ブラウン管の上に画かせ、かつレコーダーに記録した。刺激電流、活動電位、発生張力はインク書きオシログラフ上に同時記録した。すべて測定は35°Cで行った。実際の装置の説明は前の報告¹⁾に詳しい。

T-system の形態の観察のための試料は石川らの方法²⁾に従い、グルタルアルデヒド、フォルムアルデヒド固定後ジメチルアミノベンチジン-H₂O₂ で T-system を選択的に染色した。のち、オスミック酸で後固定を行い包埋した。0.5 μ の厚い切片を作製した。試料は高圧電子顕微鏡 (125KV) で+7°, -7°の傾斜をつけて2枚の写真をとり、立体鏡で観察出来るようにした。

結 果

静止膜電位 生後3週の筋線維における膜電位は図1aのヒストグラムに示すように正常マウスで-90~-40mV、ジストロフィー筋では-80~-45mVと巾広く分布し、平均値ではジストロフィーの方がひくい。然しいずれも安定な値を示しているとはいえない。成長に伴い、膜電位は極端に高いものと低いものは消失し、平均値のまわりに集中する傾向があらわれた。7週、9週になると正常マ

*名古屋市立大学医学部第一生理学教室

**名古屋市立大学医学部整形外科教室

***名古屋市立大学医学部第一解剖学教室

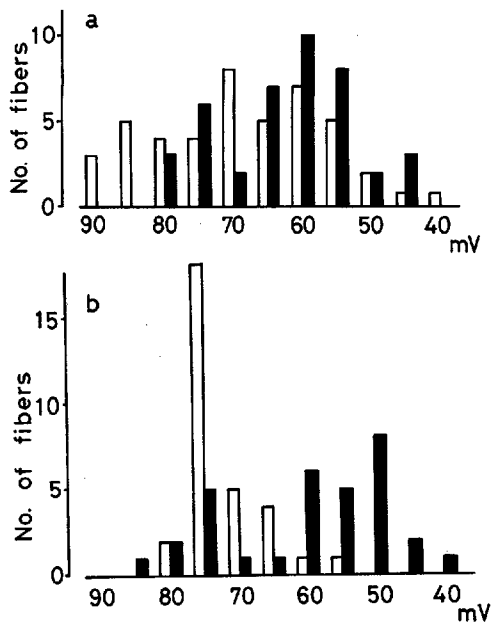


図1 DISTRIBUTION OF MEMBRANE POTENTIAL IN NORMAL AND DYSTROPHIC MOUSE

ウスの平均は -74mV に上昇し、分散も少ないがジストロフィーのそれは3~5週と同じレベルにとどまり、 $-60\sim-65\text{mV}$ 程度で分散は大きかった。

15週目のマウスでは成長は完成していると思われ、又ジストロフィーの臨床症状も著しい。この時期では正常筋の電位は -75mV あたりに集中している。面白いことに図1bのヒストグラムに示すように、ジストロフィー筋では2つのピークがあらわれる。その一方は正常と同じで1/4の線維が含まれる。その他の線維は $-50\sim-60\text{mV}$ の低い値を示した。

閾値電流 興奮性は幼弱時期の方が高く、9週目までは正常とジストロフィーの間に差はみとめられなかった。9週以降の正常マウスでは高い閾値になり、幼弱時の2倍になるがジストロフィー筋では 30nA どまりであり正常に比して膜がやや不安定であることを示す(表1)。

表1 MEMBRANE POTENTIAL AND MECHANICAL RESPONSE OF EDL MUSCLE FROM NORMAL AND DYSTROPHIC MICE

Age (weeks)	No. of fibers	Resting Potential (mV)	Threshold (nA)	Tension (mg)
Normal mice				
3	46	$69.3 \pm 1.9^*$	19.6 ± 1.6	0.84 ± 0.12
5	41	68.5 ± 1.0	18.8 ± 1.5	1.06 ± 0.09
7	40	73.9 ± 1.0	26.8 ± 1.9	0.92 ± 0.15
9	47	73.6 ± 0.9	31.6 ± 1.7	1.09 ± 0.11
15	31	73.4 ± 1.0	38.6 ± 3.7	2.37 ± 0.25
Dystrophic mice				
3	41	63.5 ± 1.5	20.9 ± 1.8	0.95 ± 0.08
5	14	58.0 ± 2.3	13.6 ± 3.0	0.60 ± 0.08
7	54	63.8 ± 1.3	30.0 ± 2.6	0.53 ± 0.11
9	41	63.5 ± 1.5	31.4 ± 3.4	0.37 ± 0.06
15	31	61.5 ± 2.1	30.7 ± 3.9	0.79 ± 0.13

* Mean \pm S.E.

張力 単一筋線維の発生する張力は小さく最大数mgであった。これは約1~2 kg/cm²に相当する。正常筋の張力曲線は典型的な速筋タイプであり、強い刺激に対してはくりかえしの放電があらわれ、張力の著しい増大及び収縮期間の延長がみられた。一般にジストロフィー筋は刺激に応じての張力は極めて弱く、活動電位はそんなに変わらないにもかかわらず、正常の半分ないしそれ以下、15週例では約1/3にとどまっていた。

各週例ごとの静止膜電位、閾値電流及び張力の平均値を表1にまとめた。

T-systemの立体構造 ジメチルアミノペンチジンによって特異的に染色されたT-systemは厚い切片のなかでその立体的な構造をよくあらわしていた。図2に示すように正

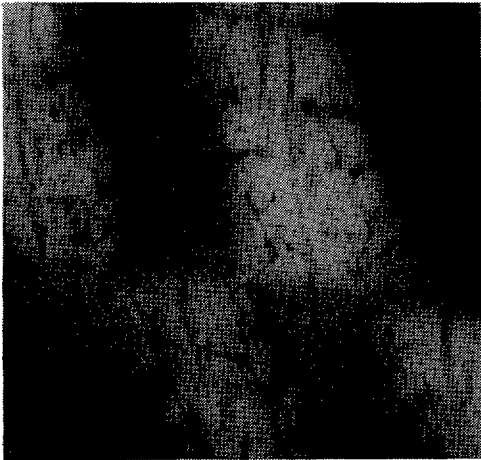


図2

常筋(9週)でのT管はA-I移行部にそって網状に発達し極めて密に分布している。三重構造(triad)の部位は平たくなった部分として認められる。時にはI帯にそって線維と平行にはしる部分もある。幼弱マウス筋のT-systemはこれよりずっと疎であり走行も一様ではなかった。このことはT-systemが筋全体の成長とともに発達しnetworkが完成されるのはかなり日数がたってからである

ことを示し、筋の生理機能と形態が関連していることをうらづけている。これに反し、ジストロフィー筋のT-systemは発達がわるく管腔も小さく分布が密でないばかりでなく、ところどころ切断していると思われる所見が得られた。図3は生後3週のジストロフィー

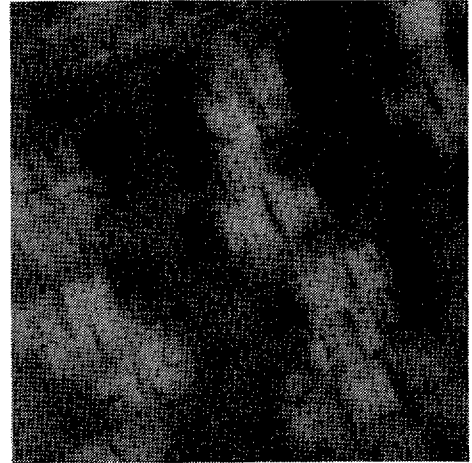


図3

マウスからの試料を示すが9週例でも同様に発達がわるく、断裂は甚しくなる。筋原線維の配列は正常のものと同差がない。

考 察

温血動物骨格筋についての単一線維レベルでの生理学的な研究は試料の作製が困難であるため非常に少く、通常マウスについてはLuffとAtwood³⁾の測定があるのみでジストロフィー筋についての報告はなく、ここに企画した研究は有意義なものと思われる。

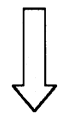
この実験で得られた結果は正常及びジストロフィーマウス筋の細胞レベルでの生理機能の獲得、病状の進行と形態変化の関係をある程度明らかにしている。昨年もししたように⁴⁾筋細胞の興奮が正常とジストロフィーで殆んど同じように認められるにもかかわらず、張力発生能力においてジストロフィー筋が著しくおとる⁵⁾原因の主なものとして、興奮を内

部に伝える T-system の缺陷があげられる。T-system の発達不全は興奮—収縮連関がジストロフィー筋で阻害されていることを示す。一般にジストロフィー筋でも初期には筋原線維そのものは相当よい状態であり、配列も正常と変りがない。従って T-system の発達不全の方が、筋原線維の退行よりも、ジストロフィー筋における収縮力減退の一次的原因であると考えられる。

この実験で使用したマウスは愛知県心身障害者コロニー発達障害研究所戸塚武氏より提供をうけたものである。ここに深謝する。

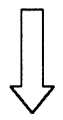
文 献

- 1) Yamamoto, Y., Hasegawa, Y. and Hotta, K (1976) Depolarization and contraction of skeletal muscle induced by intracellular stimulation Jap. J. physiol. 26 : 333—343.
- 2) Ishikawa, H. & Tsukita, S. (1977) Three-dimensional distribution of the T-system in mouse skeletal muscle Proceedings; 5th International Conference on high voltage electron microscopy.
- 3) Luff, A. R. and Atwood, H. L. (1972) Membrane properties and contraction of single muscle fibers in the mouse. Am. J. Physiol. 222 : 1435—1440.
- 4) 蟹江良一, 堀田健. (1977) : ジストロフィー筋の形態と機能の関連, 冲中班, 昭和51年度研究報告, 64—65.
- 5) Douglas, W. B. Jr. and Baskin, R. J. (1971) Contractile properties of developing mouse dystrophic muscle. Am. J. Physiol. 220 : 1344—1354.



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



われわれはジストロフィー筋の生理的機能と構造との関連を究明すべく研究を続けているが今回は筋細胞の発達にともなう筋の電気生理学的機能と微細構造の関連を細胞内部膜系を中心としてマウス長指伸筋(EDL)の単一線維を用い、正常およびジストロフィー筋を比較検討した。特に T-system の形態を高圧電子顕微鏡によって立体的に観察し、機能との関連を追求した