

14) ジストロフィーチキンにおける栓球セロトニンの異常

宇尾野 公 義*

研究協力者 別 府 宏 圀* 八 木 皓 一* 山 田 克 浩*

ジストロフィーチキン (Dy-Ch) はヒトの進行性筋ジストロフィー症 (DMP) の疾患モデルとされ、主にその神経・筋について検討が行われて来た。しかしヒト DMP の病変は決して筋肉に限局するものではなく、全身疾患であることが近年ますます明らかにされつつある。Duchenne 型 DMP 患者及び保因者に関しては血小板中セロトニン (5-HT) の含量と取込の低下が指摘されており¹⁾²⁾ 栓球系におけるこれらの異常が Dy-Ch にも認められるか否かは、疾患モデルとしての Dy-Ch の意義を検討する上で、更には又 DMP の発症機序を考える上で重要である。

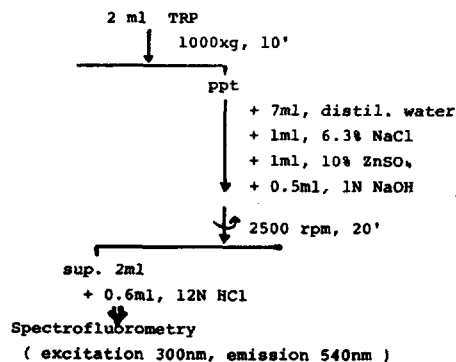
材料と方法

対象は Dy-Ch (413ライン) 雄成鶏 6羽を用い、コントロールとしては 412ラインの正常雄成鶏 3羽を用いた。翼の尺側皮下静脈より 1% EDTA 生食 1ml を予め加えたディスプレイザブル注射器 (18G 1 1/2 針) で 10ml 採血し、直ちにこれをシリコン処理試験管にとり、4°C、400×g、1分間ずつの遠心を繰返し、その都度上清をとった。このような操作を 6~7 回繰返すことにより栓球に富む血漿 (thrombocyte rich plasma, 以下 TRP と略す) が得られた。鶏の栓球は有核で、その比重はリンパ球のそれと近似しており、遠心操作の

みで両者を完全に分離することは不可能である。上記の操作でも多くの場合 30~80% が栓球で、残りの部分は概ねリンパ球によって占められていた。又、温度その他の外的条件で栓球の形態は様々に変化し、生の標本で栓球、リンパ球、単球を正確に鑑別することは、位相差顕微鏡などを使っても甚だ困難である。しかしメイギムザ染色塗抹標本では、細胞質の染色性が乏しいこと、及び細胞質内に存在する大きな顆粒によって比較的容易に見分け得る。そこで今回は TRP 中の総細胞数を Neubauer 血算盤で算定したのち、これに同一試料の塗抹標本から算定した栓球百分率を乗じて TRP 中の栓球数を求めた。

5-HT の測定は Weissbach の方法³⁾ に

ASSAY METHOD OF 5-HT IN FOWL THROMBOCYTE



* 都立府中病院神経内科

準じて行った(図1)。即ち2mlのTRPを1000×g, 10分間遠心し, 沈渣に蒸留水7ml, 6.3%食塩水1ml, 10%ZnSO₄水溶液1ml, 1N NaOH0.5mlを加え充分に混和したのち, 2500 rpm 20分間遠心し上清を分離。この上清2mlに12N HCl0.6mlを加えて直ちに分光蛍光光度計(Farrand Model, MK-1: excitation wave 300 mμ, emission wave 540 mμ)で測定を行った。¹⁴C-5-HTの取込に

UPTAKE of 5-HT-2-¹⁴C by FOWL THROMBOCYTES

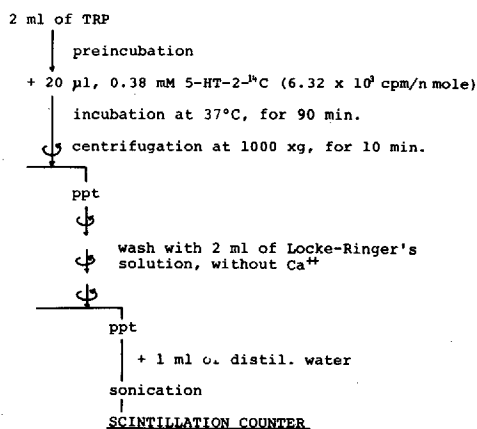


図2

関しては図2の如く, 2mlのTRPを10分間 preincubation 后, 0.38mM 5-HT-2-¹⁴C (6.32×10³cpm/n mole)20μlを加えて37°C, 90分間 incubation した。incubation timeを90分間としたのは, あらかじめ白色レグホンをういた予備実験により, 5-HT取込が90分迄はほぼ直線的に増加することを確認した結果である。incubation 后は1000×g, 10分間遠心を行い, 沈渣をCa freeのLocke-Ringer溶液で3回洗浄したのち, 蒸留水1mlを加えて約20秒間超音波処理を行いドータイトシンチゾル500(同仁化学)10mlを加えて, liquid scintillation counter (Packard model 3320)にて測定した。

結 果

栓球の収量は前述の如く鶏によってかなり異り, TRP中の栓球:リンパ球比はバラツキを示していた。これは採血, 遠心分離操作を厳密に保っても避け難いもので, リンパ球の混入度が測定データに大きな影響を及ぼす可能性が懸念された。しかし現実に測定した結果, 単位TRP中に含まれる5-HTの量はほぼ完全にTRP中の栓球数のみによって決定され, 両者の関係はリンパ球の混入度, 栓球の収率にかかわらず直線的な比例関係を示していた(図3)。白丸が正常鶏, 黒丸がDy-Chであるが, Dy-Chでは直線の傾きが正常対照に比しゆるやかで, 栓球1個あたりの5-HT含量が低いことを示している。

同様な結果は5-HTの取込についても確認された。即ち単位TRPあたりの5-HT取込はTRP中栓球数(白丸及び黒丸)とはよく比例しているが, TRP中白血球数(×印)とは全く相関を示していない(図4)。こ

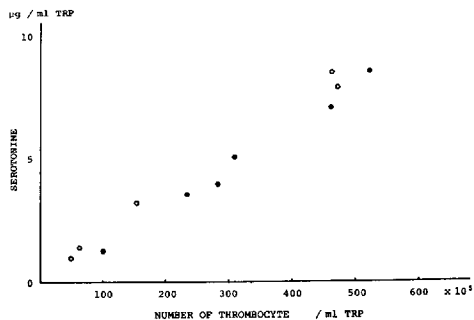


図3

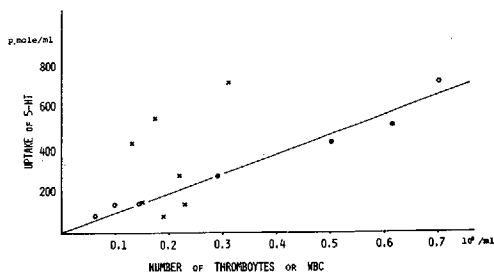


図4

のことは5-HT取込が専ら栓球のみによって行われていることを意味し、リンパ球の混入が栓球の5-HT取込に全く影響していないことを意味する。

以上の測定結果を栓球単位数(10^8 個)あたりの5-HT含量, 及び5-HT取込として表現すると図5のようになる。即ち5-HT

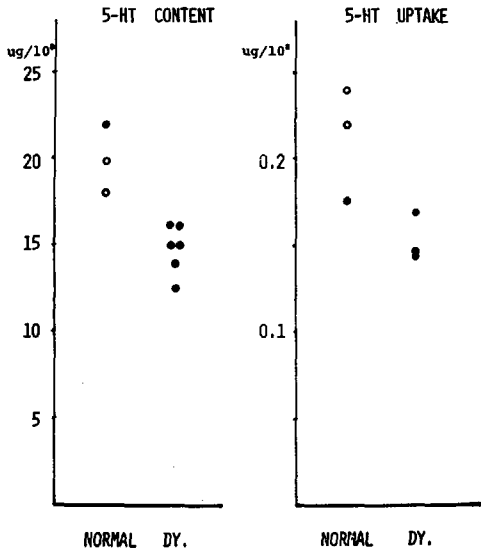


図5

含量はDy-Chで $12.4 \sim 16.2 \mu\text{g} / 10^8$ 個, 対照で $18.0 \sim 22.0 \mu\text{g} / 10^8$ 個, 5-HT取込はDy-Chで $0.14 \sim 0.17 \mu\text{g} / 10^8$ 個/90分, 正常対照では $0.19 \sim 0.24 \mu\text{g} / 10^8$ 個/90分であった。

考 察

Duchenne型DMP患者の血小板中5-HT含量及びその取込が低下していることは1973年, Murphyら¹⁾により指摘され, 更にその保因者においても低下を示すことが福永ら²⁾によって見出された。筋疾患の成立にこれらの異常が一次的な役割を果たしていると言ふ仮説も立てられたが, 今日ではむしろ全体を, 筋, 血

小板等における共通した膜の異常としてとらえる考え方が有力である。Dy-Chが筋肉のみならず栓球系においてもDuchenne型ヒトDMPと同様な異常を示したと云うことは, 単なる表面的な臨床病像の類似性をこえて, 両者の間に疾患の成立自体にかかわる共通な機序が働いていることを示唆するものではなからうか。哺乳類, 鳥類を通じて, 栓球にはdense tubular system (DTS) と surface connected system (SCS) のふたつの膜系の存在が知られている⁴⁾。両者の機能, 相互関係については未だ十分に解明されているとは云い難いが, 5-HTを多量に含むdense body (DB) は前者(DTS)に由来するものと考えられ⁵⁾, 一方細胞外からの5-HT取込は主に後者(SCS)を通じて行われるものとされている⁶⁾。組織化学的電顕的観察によれば, 両膜系が相接している像が屢々認められ⁴⁾, 5-HTの取込から貯蔵への過程は, 両膜系のこのような構造を通じてなされるものと考えられる。このような構造は又, 筋肉における筋小胞体と横管系の関係にも類似しており⁷⁾, 共通した膜系の異常が, 一方において筋病変をもたらし, 他方において栓球への5-HTの取込の異常をきたすと考えることも可能であろう。

結 論

ジストロフィーチキン(413ライン)の栓球中セロトニン含量及びセロトニン取込は対照鶏(412ライン)に比し低下していた。これらの結果をもとに, ジストロフィーチキンの疾患モデルとしての意義を病態発生機序と関連して論じた。

文 献

- 1) Murphy, D. L., Mendel, J. R. & Engel, W. K.: Serotonin and platelet function in Duchenne muscular dystrophy. Arch. Neurol., 28: 239, 1973.

- 2) 福永秀敏, 堀真一郎, 佐橋功, 宇尾野公義: Duchenne 型筋ジストロフィー症における血小板セロトニンの生化学的組織化学的研究——保因者判定への新しい試み——. 臨床神経, 17: 316, 1977.
- 3) Weissbach, H., Waakles, T. P. & Udenfriend, S.: A simplified method for measuring serotonin in tissues, simultaneous assay of both serotonin and histamine. J. biol. Chem., 230: 865, 1958.
- 4) Daimon, T. & Uchida, K.: Electron microscopic and cytochemical observations on the membrane systems of the chicken thrombocyte. J. Anat., 125: 11, 1978.
- 5) Parmley, R. T., Spicer, S. S. & Wright, N. J.: Diaminobenzidine activity in the platelet dense body. J. Histochem. Cytochem., 22: 1063, 1974.
- 6) 瀬川富朗: セロトニン. 中外医学社, 東京, 1975, p.107
- 7) White, J. G.: Interaction of membrane systems in blood platelets. Amer. J. Pathol., 66: 295, 1972.

↓
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
↓

ジストロフィーチキン(Dy-Ch)はヒトの進行性筋ジストロフィー症(DMP)の疾患モデルとされ,主にその神経・筋について検討が行われて来た.しかしヒトDMPの病変は決して筋肉に限局するものではなく,全身疾患であることが近年ますます明らかにされつつある.Duchenne型DMP,患者及び保因者に関しては血小板中セロトニン(5-HT)の含量と取込の低下が指摘されており,1)2)栓球系におけるこれらの異常がDy-Chにも認められるか否かは,疾患モデルとしてのDy-Chの意義を検討する上で,更には又DMPの発症機序を考える上で重要である.