

23) 筋ジストロフィー症マウスの preclinical stage における筋の形態並びに生化学的研究

徳 臣 晴比古*

研究協力者 内 野 誠* 安 藤 正 幸* 出 田 透*
上 野 洋* 植 川 和 利*

はじめに

我々は進行性筋ジストロフィー症(PMD)における筋変性崩壊の機序解明のため、PMD個体の成長発育過程で筋病変が最初に出現する時期を決定し、また微細構造の上で、どの単一細胞小器官が最初にどのような形態変化をおこすのかを確認する目的で、newbornからadultに至るさまざまな年齢の dystrophy mouse を使って電子顕微鏡及び SDSゲル電気泳動による筋病変の検索を行なった。

材料と方法

I. 形態学的研究：実験には年齢1日から148日の C57BL/6J系 dystrophic mouse (以下 dy mouse と略)計56匹、control mouse 計71匹を用い、下肢骨格筋について光顕及び電顕的観察を行なった。またT-systemの観察には小口法が用いられた。

II. 生化学的研究：年齢5～15週の dy mouse 17匹、control mouse 13匹の大腿四頭筋において、粗アクトミオシンの SDS ゲル電気泳動による分析を行なった。泳動には主に10%アクリルアミドゲルを用い、ゲル棒1本につき4～5 mA で約7時間通電を行なった。

結 果

I. 形態学的研究：(1) adult dy mouse

①光顕所見：dy mouse 筋は横断像で、筋線維の著明な大小不同像、中心核の増加、円形の肥大あるいは萎縮筋線維、fibersplittingの増加を示し、endomysium や perimysium に結合織の増加、脂肪浸潤が中等度に認められた。縦断像で、染色性の悪い、横紋構造を失なった筋線維を散在性に認め、また中心核の鎖状配列がしばしば観察された。

②電顕所見：同一筋肉中に、微細構造の上でほぼ正常と思われる筋線維から高度の変性壊死に陥った筋線維まで、種々の変性段階の筋線維が観察された。比較的早期の、かつ顕著な変化は筋原線維の変化であり、これに二種類の変性変化がみられた。一つは Z-band streaming であり、他の一つは筋原線維周辺部からの myofilament の解離及び消滅を示すものがあり、いずれも変化が進行したものは横紋構造の破壊や筋原線維の高度の粗鬆化を呈した。筋原線維の変性が進んだ筋線維ではミトコンドリアの膨化や筋小胞体の空胞化がみられ、同時に lysosome の増加を認めた。これに対して核や細胞膜の変化は乏しく、変性の末期までよく保たれていた。その他筋紡錘の錘内筋線維は殆ど変性変化を示さず、また終板の一部に subneural cleft が萎縮し、

*熊本大学医学部第一内科

不明瞭となったものがみられたが、多くは殆ど変化を認めなかった。

③ T-system の観察：小口法に従ってランタン金属をトレーサとして用いることにより、T-system の系統的観察を行なった。control mouse では T-system は A-I 移行部に位置し、筋原線維の走行に対して直角に走る口径 $260 \sim 350 \text{ \AA}$ の細管として観察され、一部は筋原線維と平行に走り、直角に走る T-tubule と接続するものも認められた。一方 dy mouse においては Z-band streaming など筋原線維の変化を有する筋線維において、変性筋原線維周辺部の T-system の乱れが顕著であったが、筋原線維の変化を全く認めないほぼ正常と思われる筋線維においても、T-system の一部は走行の規則性が乱れ、局部的拡張や蛇行、二重・三重の走行、tangle の形成などを示した (図 1, 2)。

(2) suckling dy mouse

① 光顕所見：生後一日目の dy mouse において既に筋線維に軽度の大小不同がみられ、著明な核小体を有する中心核も $5 \sim 15\%$ の頻度が増加していた。また筋線維内の粗大脂肪顆粒の増加がみられた。筋線維の変性所見は光顕的に殆ど認められず、筋紡錘や筋内神経線維も殆ど異常を示さなかった。筋線維の大小不同像は年令と共に著明になり、間質結合織の増加、筋線維の変性変化が漸次顕著になった。逆に粗大脂肪顆粒は長ずるに従って減少した。

② 電顕所見：newborn control mouse では核は生下時に大部分が周辺部移動を完了しており、筋原線維の形態もよく発達しているのに対して、newborn dy mouse では細くて未熟な筋原線維と大きな中心核を有する小径の幼若筋線維が増加しており、またこれら

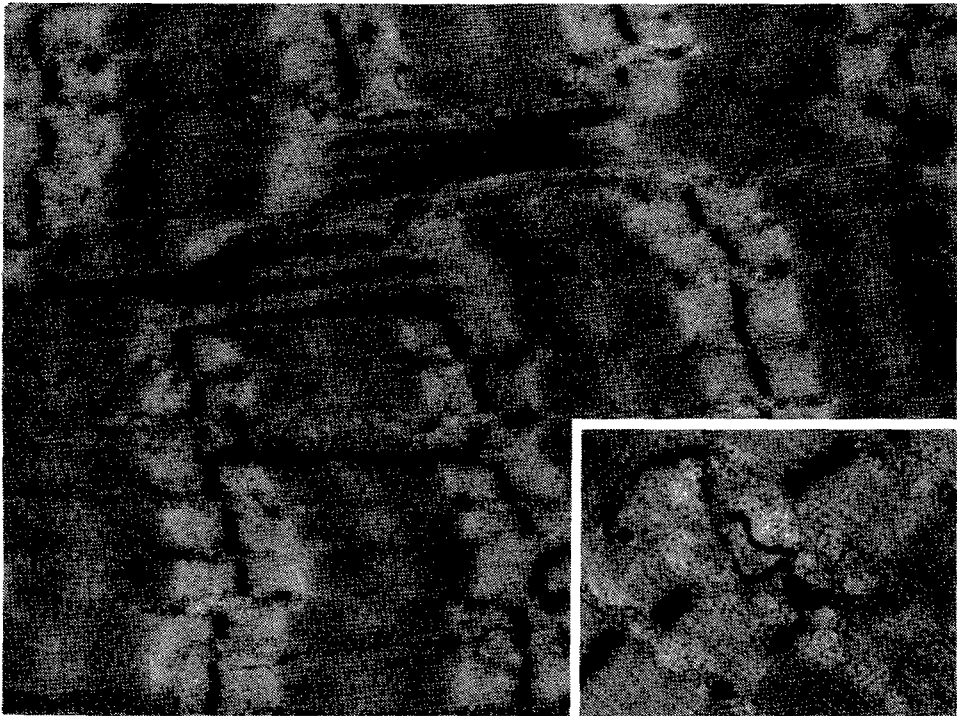


図 1 $\times 31000$ (Inset $\times 56000$)



図2 ×56000

の幼若筋線維がより成熟した筋線維と融合していく種々の段階が同一標本内に観察された。その他再生筋線維を思わせるような大きな胞状中心核を有し、未熟な筋原線維が縦横に錯綜して走り横紋も未完成で、ribosomeに富む幼若筋線維も少数認められた。その他変性筋線維は殆ど認められず、Z-band streamingと思われる所見や筋原線維周辺部からのmyofilamentの束状解離が極めて稀に認められるのみであり、他の細胞小器官の変化は観察されなかった。

③ T-systemの観察：newborn control mouseにおいてはadult control mouseと比較すると、T-systemは未発達であった。しかしながら、T-systemの多くは比較的均等な口径をもって、ほぼA-I移行部に位置し、筋原線維に対して直角に走る傾向が認め

られた(図3)。一方newborn dy mouseでは筋原線維は比較的良好に発達した成熟筋線維において、T-systemはA-I移行部に無関係に全くat randomに走り、著明な屈曲・蛇行、局所的拡張を示した(図4)。Honeycomb structureもしばしば観察された。

II. 生化学的研究：臨床症状が軽い5~8週令のdy mouseでは粗アクトミオシンの電気泳動パターンの変化はあまり明瞭ではない。しかし症状が重い12~15週令のものでは、myosin light chain 2のbandの前後に2個の余分なbandが認められ、臨床症状に関連して次第に顕著になった(図5)。各筋構造蛋白の含有量に関しては、myosin light chain 2, troponin T-tropomyosin complex, α -actininについて推計学的に有意差を認めた。

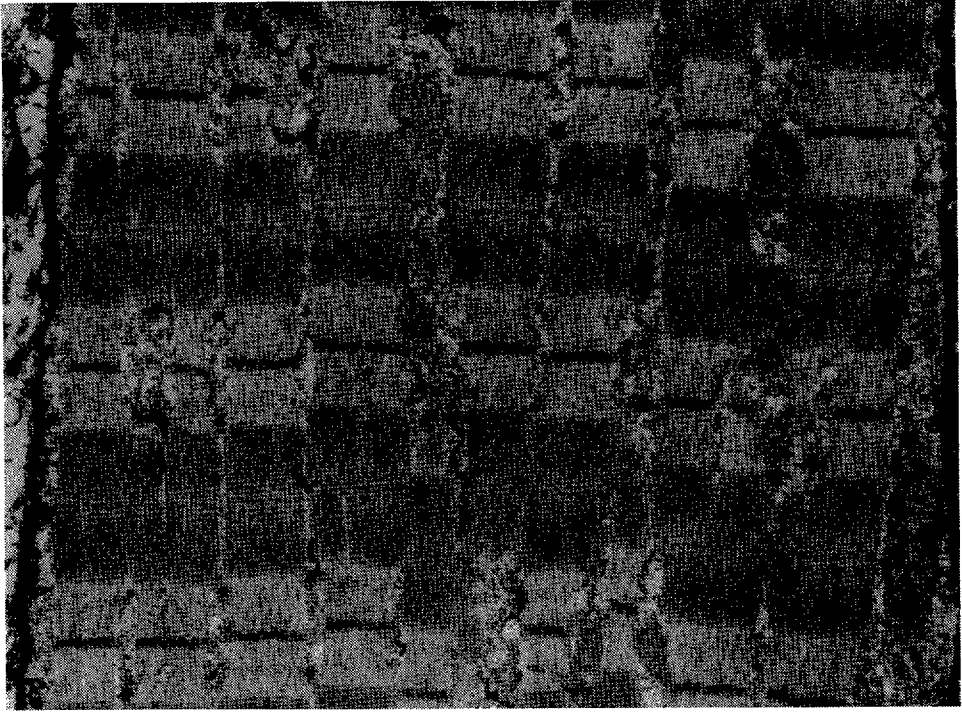


图 3 × 31000

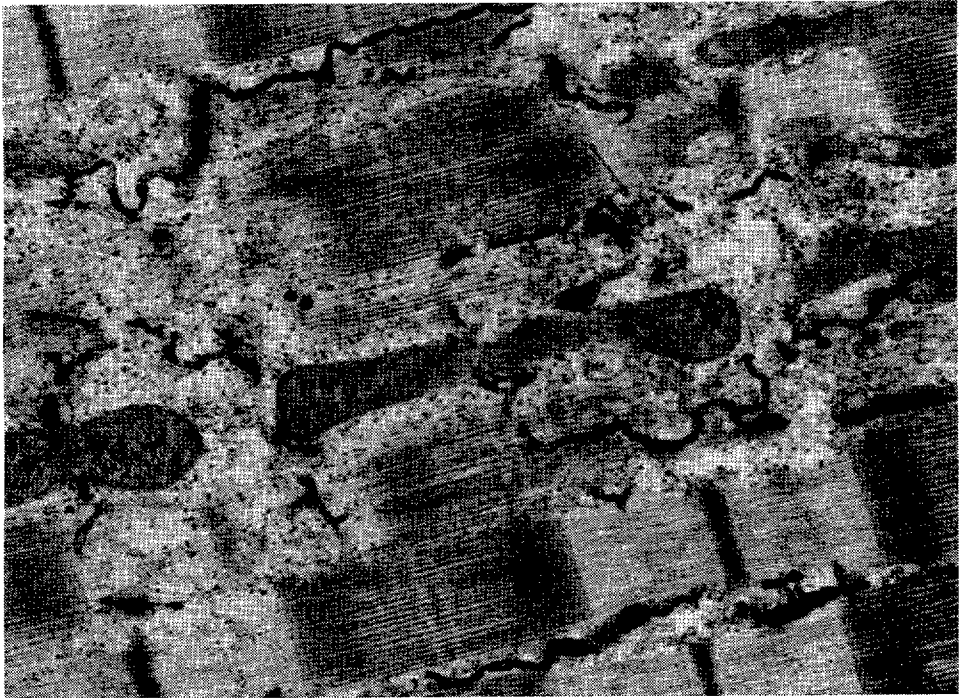


图 4 × 56000

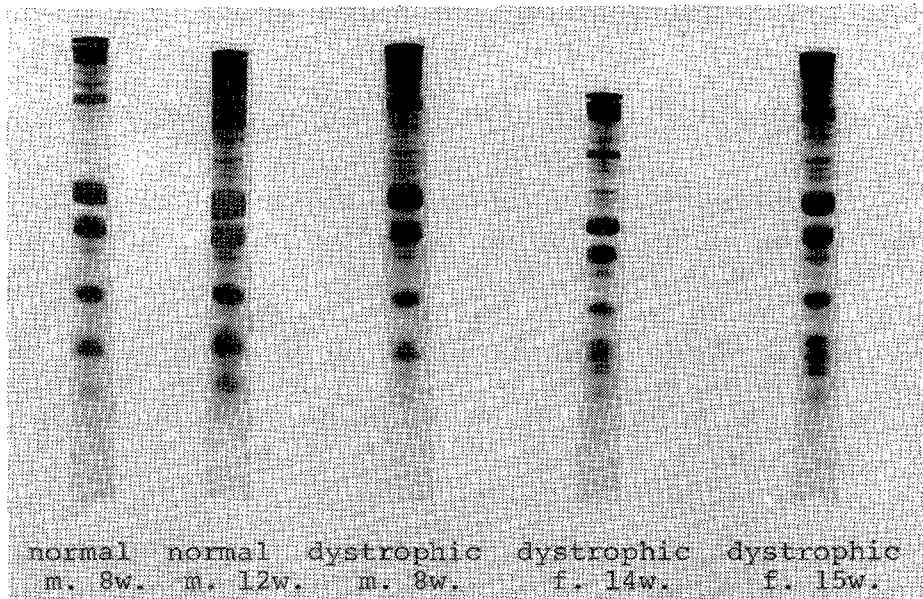


図5 Electrophoretic patterns of myofibrillar proteins from the normal and dystrophic mice

考 按

ジストロフィー筋の微細構造の上で、最も早期に変化をきたす organelle について種々の異なる報告があるが、通常電顕的観察では Z-band streaming など筋原線維の変化をあげる報告が多い。我々の adult dy mouse における観察でも同様の結果が得られた。newborn dy mouse では幼若筋線維の増加が顕著であったが、軽微ながら筋原線維の変化も認め、基本的には Banker の報告に類似した所見が得られた。ただ Z-band streaming など筋原線維の変化は他の神経筋疾患においても観察されることが報告されており、PMD に特異的な所見ではないと考えられる。PMD においては早期から種々の肉漿酵素の血中漏出がみられ、形質膜の異常により逸脱することが推察されるが、形態学的には形質膜は筋変性の末期までよく保たれているというのが通説であった。しかしながら最近小口らは、ランタン金属をトレーサとして T-system の

系統的観察を行ない、Duchenne 型 PMD において著明な T-system の異常を認め、また一部 triad の破綻を示唆する所見があることを報告した。このことから酵素の逸脱を説明することが可能で、T-system、形質膜、筋小胞体を含む膜系が PMD における最初の障害部位として最近注目を集めている。我々の dy mouse についての観察でも、ヒト PMD と同様に筋原線維の変性変化のない殆ど正常と思われる筋線維において、顕著な T-system の異常を認めた。さらにこの T-system の異常は既に生下時より認められ、最も早期の構造変化であることが示唆された。一方筋構造蛋白の電気泳動に関しては、症状の重い adult dy mouse のみに泳動パターンの変化がみられ、膜系の変化より遅れて出現する変化と考えられた。すなわち dy mouse においても T-system を含む膜系の異常が先行し、筋構造蛋白の変化は膜の異常に起因して続発的に出現する変化で、最近問題になっている種々の

proteaseの作用による可能性も考えられた。ジストロフィー筋の膜系についての今後の広汎な研究によって、筋線維変性の機構が解明されることが期待される。

ま と め

C57BL/6J系 dystrophy mouse で年齢 1~148日の73匹の dy mouse, 84匹の control mouse を用いて、その骨格筋病変について電子顕微鏡並びに SDS ゲル電気泳動による検索を行なった。ランタン金属をトレーサとして使用することにより、T-system を系統的に観察することが可能で、この結果 dy mouse における最も早期の、かつ顕著な微細構造の変化は T-system の異常であった。adult dy mouse は Z-band streaming を伴う局所的な横紋構造の破壊から高度の変性壊死に陥った筋線維まで種々の変化を示したが、筋原線維の変化を認めない殆ど正常と思われる筋線維においても、T-system の一部は正常の A-I 移行部から離れて配列の乱れ、局所的拡張、蛇行、二重・三重の走行、一つのからまりの形成等の変化を示した。さらに

この T-system の異常は既に newborn stage より認められた。生化学的に粗アクトミオシンの電気泳動パターンの変化は adult dy mouse においてのみ観察され、臨床症状の重症度と平行していた。これらの実験結果から T-system を含む膜系の異常が newborn stage あるいはさらに以前より存在し、続発的に筋原線維や他の organelle の変性が惹起されて、筋線維の変性崩壊が進行することが示唆された。

文 献

- 1) Platzer, A. C. and Chase, W. H.: Am. J. Path., 44(1964): 931-946.
- 2) Banker, B. Q.: J. Neuropath. Exper. Neurol., 26(1967): 259-275.
- 3) Santa, T.: Arch. Neurol., 20(1969): 479-489.
- 4) Bradley, W. G. and Jenkison, M.: J. Neurol. Sci., 18(1973): 227-247.
- 5) Schotland, D. L., Bonilla, E. and Van Meter, M.: Science, 196(1977): 1005-1007.

↓
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
↓

はじめに

我々は進行性筋ジストロフィー症(PMD)における筋変性崩壊の機序解明のため、PMD 個体の成長発育過程で筋病変が最初に出現する時期を決定し、また微細構造の上で、どの単一細胞小器官が最初にどのような形態変化をおこすのかを確認する目的で、newborn から adult に至るさまざまな年令の dystrophy mouse を使って電子顕微鏡及び SDS ゲル電気泳動による筋病変の検索を行なった。