

27) Duchenne 型進行性筋ジストロフィー症 赤血球膜の脂質分析

黒 岩 義五郎*

研究協力者 後 藤 幾 生* 馬 渡 志 郎** 小 林 卓 郎***

進行性筋ジストロフィー症の原因は未だ不明であるが、最近とくに筋細胞膜の異常が注目されてきている。また1967年 Brown ら¹⁾が筋ジストロフィー症赤血球膜の $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -ATPase の Ouabain に対する反応の異常を報告して以来、数々の赤血球膜異常が報告され、かつそれに対し否定的な報告もなされている。我々は赤血球膜脂質構成成分の分析を前回行い、リン脂質脂肪酸の異常を報告したが、²⁾今回 Duchenne 型筋ジストロフィー症の患者数を増加するとともに対照として同一平均年齢の男児を用いて検索を行ったので報告する。

対象および方法

Duchenne 型筋ジストロフィー症(7-17才) 11名、対照として小児(7-14才)および成人男子(22-46才)を用いた。上記対象よりヘパリン加採血を行い、3,000rpm で遠沈し、更に0.85% NaCl で3回洗浄、遠沈を行い、buffy coat をできうる限りとりのぞいた。その後、赤血球は10mM Tris buffer (pH7.4) で溶血させ、同溶液で2,500 g 遠沈、洗浄を

5-6 回行い、ただちに -80°C に保存した。調製した赤血球膜0.4ml を Folch らの方法で脂質を抽出し、その下層を用いた。なお脂肪酸の酸化防止のため BHT (Butylated hydroxy toluene) を 5 mg/dl の割合で有機溶剤に混入した。リン脂質の分画はシリカゲル HR プレートを用い、クロロホルム：メタノール、酢酸：水を展開溶剤として用いた。ヨードで発色させ、各分画をはぎとり、上記 Bartlett 法にて脂質リンを測定し、各成分比を求めた。リン脂質脂肪酸の分析は上記薄層クロマトグラフィーにて分画したものをはぎとり BF_3 -メタノールにてメチル化を用い、薄層クロマトグラフィー(トルエン展開溶剤)にて精製したのち15% DEGS (chromosorb W) のカラム、FID 検出器にて分析を用い、各ピーク面積比を重量化として表わした。

結 果

表1に赤血球膜の全リン脂質、コレステロールの量を示すが、蛋白あたりのリン脂質およびコレステロールにおいて小児と成人で差があり、またコレステロールとリン脂質のモル比においても差がみられた。しかしながら、Duchenne 型筋ジストロフィー症患者と小児コントロールとは全く差がみられなかった。リ

*九州大学医学部脳研神経内科

**九州工業大学保健管理センター

***国立赤坂療養所

表1 Phospholipid and cholesterol content of erythrocyte membranes.

	DMD	Child Controls	Adult Controls	
<u>Lipid Phosphorus (g)</u> <u>Protein (g)</u>	0.018±0.002 (n=7)	0.016±0.002 (n=11)	0.020±0.004 (n=7)	(p<0.01)
<u>Cholesterol (g)</u> <u>Protein (g)</u>	0.13±0.02 (n=7)	0.11±0.03 (n=11)	0.17±0.04 (n=7)	(p<0.005)
<u>Cholesterol (mol)</u> <u>Lipid Phosphorus (mol)</u>	0.60±0.06 (n=9)	0.52±0.11 (n=11)	0.65±0.10 (n=8)	(p<0.02)

Values are shown as mean±S.D.

No significant differences were noted between Duchenne muscular dystrophy(DMD) and child controls. P values indicate the differences between child and adult controls.

ン脂質各構成成分比では Duchenne 型筋ジストロフィー症において phosphatidyl ethanolamine が低く, sphingomyelin が高い傾向にあるが, 推計学的に有意の差とはならなかった. (0.05<p<0.1)(表2). リン脂質脂肪

酸構成は表3, 4 に示すが如く, phosphatidyl ethanolamine および phosphatidylserine において arachidonic acid (20:4) が成人において小児より低値を示した. しかしながら, 筋ジストロフィー症と小児コント

表2 Phospholipid composition of erythrocyte membranes.

	DMD	Child Controls	Adult Controls
Number of subjects	10	10	8
Age	10.0±2.6	10.9±2.7	23.6±1.3
Phosphatidylethanolamine	30.0±1.4	31.5±1.9	30.6±0.7
Phosphatidylserine	15.1±0.7	15.1±0.9	15.4±1.0
Phosphatidylcholine	28.8±1.1	28.0±1.9	28.5±0.5
Sphingomyelin	26.1±1.1	25.5±1.5	25.5±0.8

Values are shown as gram percent of total phospholipid phosphorus (mean±S.D.)

No significant differences were noted among Duchenne muscular dystrophy (DMD) and controls.

表3 Fatty acid composition of phosphatidylethanolamine of erythrocyte membranes.

Fatty acid	DMD (n=8)	Child Controls (n=10)	Adult Controls (n=7)
16:0	19.8±1.2	18.7±1.2	20.5±2.0
18:0	9.0±0.8	8.8±0.7	9.6±1.0
18:1	19.9±1.3	18.8±1.3	21.0±1.1
18:2	5.5±0.7	5.7±1.0	5.9±1.0
20:0	-	-	0.1±0.1
20:1	0.4±0.1	0.5±0.1	0.5±0.1
20:2	0.2±0.1	0.2±0.1	0.2±0.0
20:3) 22:0)	1.0±0.2	0.8±0.1	0.7±0.1
20:4	22.9±1.9	23.2±2.3	18.2±1.9*
23:0	0.6±0.1	0.6±0.2	1.2±0.7
20:5	2.1±0.5	3.1±0.6	3.3±0.8
22:4	4.4±0.8	4.3±1.0	3.5±0.7
22:5	3.0±0.6	3.5±0.6	3.6±0.8
22:6	11.1±1.0	11.9±1.2	11.6±0.9

Values are shown as g/100g of total fatty acids (mean±S.D.).

No significant differences were noted between Duchenne muscular dystrophy(DMD) and child controls.

*: significant difference between child and adult controls ($p<0.001$).

ロールの間では全く差がみられなかった。然し、phosphatidyl choline および sphingomyelin においてはすべての脂肪酸で Duchenne 型筋ジストロフィー症、小児コントロール、成人コントロールの間で差がみられなかった。

考案および結論

進行性筋ジストロフィー症赤血球膜脂質の

分析は1973年 Kunze ら³⁾が報告し、sphingomyelin の増加と、sphingomyelin の脂肪酸構成成分の異常を指摘している。この結果は我々の結果とは異っている。その主な理由として考えられるものは第1に Kunze らは control を age-match させていないことである。第2に脂肪酸の同定にかなり誤がみられること。第3に Duchenne 型と常染色体劣

表4 Fatty acid composition of phosphatidylserine of erythrocyte membranes.

Fatty acid	DMD (n=8)	Child Controls (n=10)	Adult Controls (n=7)
16:0	3.7±0.5	3.9±0.6	5.0±1.3
18:0	48.7±2.9	46.5±3.1	47.8±3.1
18:1	6.4±0.9	7.2±0.7	7.3±0.6
18:2	1.3±0.4	1.6±0.3	3.5±2.6
20:0	0.2±0.0	0.2±0.1	0.2±0.0
20:1	0.3±0.1	0.4±0.1	0.3±0.1
20:2	0.2±0.1	0.2±0.1	0.2±0.1
20:3) 22:0)	1.2±0.3	1.2±0.3	1.3±0.4
20:4	18.5±1.5	18.7±1.5	15.1±1.8*
23:0	1.0±0.4	0.9±0.2	1.7±1.1
20:5	0.7±0.2	0.9±0.2	1.2±1.0
22:4	1.7±0.3	1.9±0.5	1.5±0.4
22:5	2.4±0.3	2.9±0.4	2.9±0.7
22:6	13.1±2.1	13.6±1.4	12.1±1.5

Values are shown as g/100g of total fatty acids (mean±S.D.).

No significant differences were noted between Duchenne muscular dystrophy(DMD) and child controls.

*: significant difference between child and adult controls (p<0.001).

性遺伝型の筋ジストロフィーを同一に分析していることである。私共の今回の結果で、年齢により赤血球膜リン脂質やコレステロールの成分が異なることは従来報告されておらず、今後筋ジストロフィー症赤血球膜の分析に際しては年齢を考慮する必要があるということを示唆している。

文 献

- 1) Brown, H. D. et al: Science. 157: 1577, 1967.
- 2) 黒岩義五郎, 他: 筋ジストロフィー症の究明に関する研究. 昭和51年度研究報告書, p.162, 1977.
- 3) Kunze, D. et al: Clin. Chim. Acta. 43: 333, 1973.

↓
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
↓

進行性筋ジストロフィー症の原因は未だ不明であるが、最近とくに筋細胞膜の異常が注目されてきている。また1967年Brownら¹⁾が筋ジストロフィー症赤血球膜のNa⁺ - K⁺ - ATPaseのOuabainに対する反応の異常を報告して以来、数々の赤血球膜異常が報告され、かつそれに対し否定的な報告もなされている。我々は赤血球膜脂質構成成分の分析を前に行い、リン脂質脂肪酸の異常を報告したが、²⁾今回 Duchenne 型筋ジストロフィー症の患者数を増加するとともに対照として同一平均年齢の男児を用いて検索を行ったので報告する。