

3) 筋ジストロフィー症の薬物療法

井村裕夫*

研究協力者 鈴木将夫* 林恭三**
古川昭栄** 西谷裕***

目 的

神経成長促進因子(nerve growth factor: NGF)は、チキンやマウスの知覚および交感神経節細胞に特異的に働いて、その分化成長を促進する作用をもつタンパクであり、鳥類や哺乳類では正常の生体内成分である。特に成熟マウス顎下腺やヘビ毒に多く含まれており、これらから分離精製されたNGFについて蛋白化学的研究が進められている。¹⁾一方NGFと各種神経疾患との相関性についても最近多くの研究がなされるようになってきた。

著者らは、1) NGFと筋ジストロフィーとの関連性について、2) NGFやその他の物質の筋ジストロフィーチキンに対する治療効果について、検討したので報告する。

1) 筋ジストロフィーマウス顎下腺中のNGF活性

方 法

NGF活性の測定法

8日から10日のチキン embryo の知覚神経節または12日から14日の交感神経節を摘出し、PBSに溶解したNGF試料、Eagle's MEM

medium, rooster heparinized plasma を等量混合した培地で懸滴培養した。約20時間培養のち神経節周囲から伸びる神経線維の密度と長さの度合いによって+1から+5までのランクに分け、+4を示すときのサンプル濃度を1生物学的活性単位(Biological Unit)とした。

筋ジストロフィーマウスの顎下腺を摘出したのち10倍量(v/w)のPBSを加えてホモジナイズし、3500rpmで10分間遠心分離した。その上清についてNGF活性を上記の方法で測定した。

結 果

表1-Aは、オスでは発症しているマウスは発症していないマウスに比べ、NGF活性は1/10から1/1000に低下していることを示す。又、表1-Bよりメスの発症マウスでは活性が極めて低く、上述の測定系ではほとんど活性が検出できなかったが、発症と非発症とを比べるとオスとほぼ同様の傾向がみられた²⁾。なお、図1はオスにおいて体重とNGF活性の関係を検討した成績を示したものである。

2) 筋ジストロフィーチキンに対するSodium dipropylacetate の治療効果

最近、Pattersonら³⁾は筋ジストロフィー

* 京都大学医学部第二内科

** 京都大学薬学部生物化学教室

*** 大阪北野病院神経内科

表1-A NGF Activity in Submaxillary Grands of Dystrophic Mice

	Body Weight (g)	Protein Concentration Required to Elicit +4 Response (µg Protein/ml)	Biological Unit /mg Protein	Significance
male heterozygous dystrophic mice (dy/+)	20.0	7	140	P < 0.01
	20.0	7	140	
	20.5	2	500	
	23.0	7	140	
	21.0	7	140	
male homozygous dystrophic mice (dy/dy)	9.0	500	2	
	9.0	9000(+3) ^a	0.1	
	10.5	9000	0.1	
	10.0	500	2	
	12.0	63	16	

(a) Nerve fiber outgrowth was +3 response at 9000 µg/ml.

表1-B NGF Activity in Submaxillary Grands of Dystrophic Mice

	Body Weight (g)	Protein Concentration Required to Elicit +4 Response (µg Protein/ml)	Biological Unit /mg Protein
female heterozygous dystrophic mice (dy/+)	15.5	9000	0.1
	15.5	3000	0.3
	18.5	500	2
	17.0	3000	0.3
	17.5	3000	0.3
female homozygous dystrophic mice (dy/dy)	9.5	9000(±) ^a	
	9.0	9000(±) ^a	
	8.5	9000(±) ^a	
	5.5	- ^b	

(a) Nerve fiber outgrowth was ± response at 9000 g/ml.

(b) Nerve fiber outgrowth was not observed at protein concentration by 9000 µg/ml.

チキンに抗てんかん剤 diphenylhydantoin を投与すると、筋機能の低下抑制、筋肉中のアセチルコリンエステラーゼ活性の上昇抑制がみられることを報告している。著者らは diphenylhydantoin とは化学構造の全く異った脂肪酸の誘導体である Sodium dipropylacetate⁴⁾を用いて検討した。

方 法

Sodium dipropylacetate をチキンの体重

1 g あたり 170µg 1 日 1 回投与し、筋ジストロフィー症の症状を観察した。

結 果

図2はSodium dipropylacetate 投与チキンと無投与チキンの exhaustion score を日令で比較したものである。無投与チキンでは、生後20日以後急激に立ち上り回数が減少したが、投与チキンでは、生後40日までほとんど減少はみられなかった。一方、血清中のCP

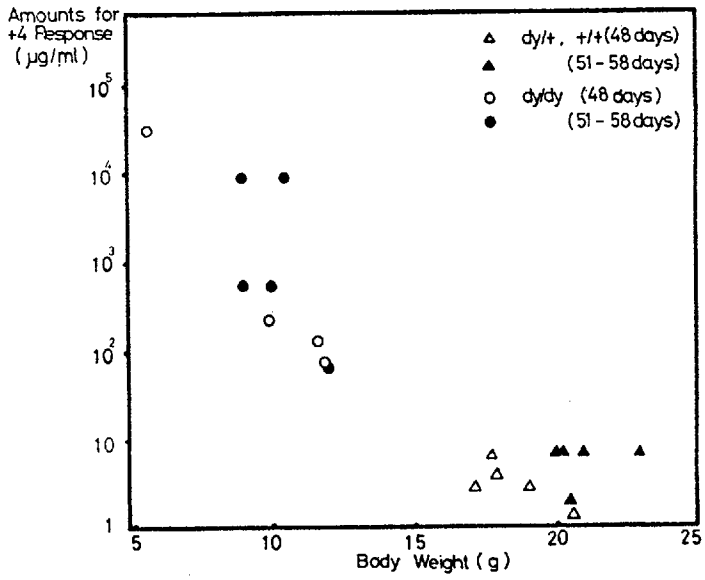


Figure 1: The Correlation of NGF Activity and Body Weight of Male Dystrophy Mice

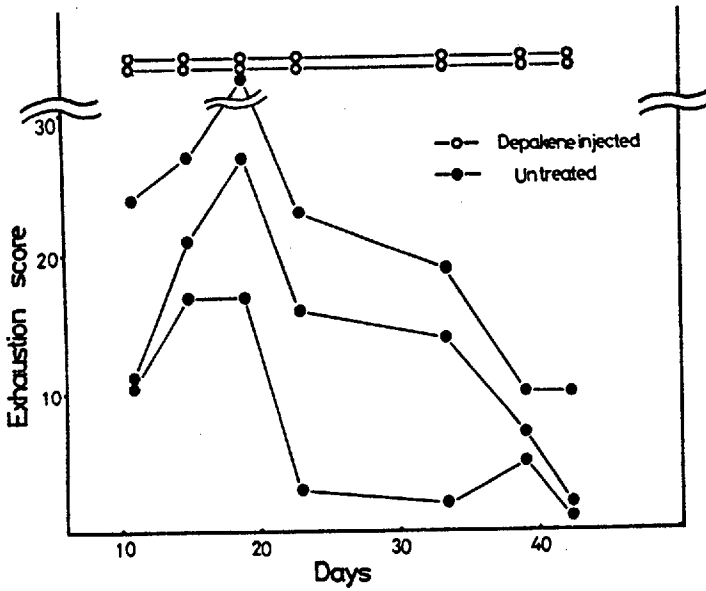


Figure 2: Exhaustion Scores Plotted against Age of Dystrophy Chicks

表2 Effect of Depakene Treatments on Enzyme Activity of Dystrophy Chicks

		CPK (10^3 U/l)		aldolase (U/l)		GOT (10^2 u/l)	
			mean		mean		mean
38 days	Depakene*-treated	1.3		8.4		5.1	
		0.6	0.95	4.8	6.5	4.8	5.0
	untreated	2.2		16.0		13.0	
		2.2		13.0		8.6	
		1.9	2.10	13.0	14.0	8.6	10.1
48 days	Depakene-treated	1.7		10.0		10.0	
		1.0	1.35	6.6	8.3	11.0	10.5
	untreated	3.3		23.0		27.0	
		3.3		23.0		23.0	
		2.1	2.90	10.0	18.7	14.0	21.3

* Depakene (= Sodium dipropylacetate)

表3 Influence of Depakene Treatments on the Duration of Myotonic Discharge of Dystrophy Chicks

	age (day)	number	myotonic discharge duration (sec.)	mean
Normal control	60	4	0.10 - 2.50	0.77
Untreated dystrophy	60	4	2.60 - 5.90	3.90
Depakene-treated dystrophy	60	5	0.45 - 3.75	1.66

K, aldolase, GOT といった酵素活性も表2に示すように投与チキンでは無投与チキンより低く抑えられていた。また筋電図においても、表3に示すように投与チキンでは myotonic discharge の duration の著明な減少がみられた。

考 察

一般にマウスの顎下腺中の NGF 活性は性差があり、オスのそれはメスの顎下腺の NGF 活性の5~10倍である。上述の結果は、オスとメスで約100倍近い差があったがその原因は不明である。このような筋ジス・発症

マウスにおける NGF 活性の低下は NGF そのものの量的減少、変性、あるいは阻害物の存在等が考えられるが、現在のところ阻害物は見い出せなかった。また、Bioassay 以外にマウス顎下腺 7SNGF の抗血清を用いた radial immunodiffusion assay による定量でも、オス・発症マウスの顎下腺 NGF レベルが、非発症に比べ著しく低いところから、NGF 量そのものが発症マウスでは少なくなっているものと思われる。

一方、筋ジストロフィー・発症マウスは非発症マウスの約半分の体重しかないのが特徴である。図 1 は、オスマウスの顎下腺中の NGF 活性とその体重との関係を示したもので非発症マウスは体重の差には関係なくほぼ一定の NGF 活性を示すが、発症マウスでは指数関数的に変動がみられる。

一般にマウス顎下腺中の NGF 活性には性差があると同時に、日令によって著しい変動を示す。つまり、生後 17 日くらいまではほとんど活性は見い出されず、生後 25 日くらいから 50 日にかけて著しく増加し、その後は一定値を示す。

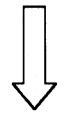
筋ジストロフィーマウスはほぼ同一令のものを用いたが、発症マウスは発育が悪く、その結果として NGF レベルが低く抑えられている可能性が残る。そこでマウス顎下腺に存在し、NGF とほとんど同じような分布、変動をする epidermal growth factor (EGF)

レベルをその抗血清を用いた radial immunodiffusion で定量したところ発症マウスと非発症ではほとんど差をみ出さなかった。以上の結果は、NGF のみの特異的に顎下腺中で減少していることを示すもので、筋ジストロフィー症に NGF がなんらかのかかわりを持つことが強く示唆される。

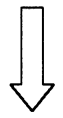
また、著者らは Sodium dipropylacetate の筋ジストロフィーチキンに対する発症抑制効果を観察した。その結果、exhaustion score として観察した筋力においても、また血清酵素活性においても著しい改善が認められた。この時筋電図において myotonic discharge の持続時間の減少を認めたので、myotonic の減少がこうした筋力や血中酵素の改善をもたらした可能性が考えられる。この点については更に検討する必要がある。

文 献

- 1) 林恭三, 古川昭栄: 生化学. 49: 389, (1977).
- 2) Furukawa, S., Nishitani, H., and Hayashi, K., Biochem. Biophys. Res. Commun. 76: 1202, (1977).
- 3) Entrikin, R. K., Swanson, K. L., Weidoff, P. M., Patterson, G. T. and Wilson, B. W.: Science, 196: 540, (1977).
- 4) Miribel, J. and Marinier, R.: Rev. Neurol. 119: 313, (1968).



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



目的

神経成長促進因子(nerve growth factor:NGF)は,チキンやマウスの知覚および交感神経節細胞に特異的に働いて,その分化成長を促進する作用をもつタンパクであり,鳥類や哺乳類では正常の生体内成分である.特に成熟マウス顎下腺やヘビ毒に多く含まれており,これらから分離精製された NGF について蛋白化学的研究が進められている.1)一方 NGF と各種神経疾患との相関性についても最近多くの研究がなされるようになってきた.