

3) 筋ジストロフィーマウスの筋肉におけるタンパク質、核酸の生合成能と DNA, RNA, Phospholipid の含量

戸塚 武*

研究協力者 林 幸正* 渡辺 貴美*

遺伝性筋ジストロフィーマウスの罹患後肢筋における顕著な異常として、低タンパク質含量、高 RNA 含量、高タンパク質合成能、高 RNA 合成能を多くの研究者が報告している。それらの報告は筋湿重あたりの定量分析によっている。筋湿重量は、環境の影響を受け易いと考えられるうえ、筋細胞の状態についての情報は与えていない。そこで我々は、細胞あたりの含量が一定した DNA 量を基準として上記の異常現象を再検討してみた。その結果、罹患筋では、DNA あたり、いかえれば、細胞あたりのタンパク質と RNA の含量は減少しており、RNA 生合成能は少し高くなっていた。しかし、タンパク質生合成能に有意の異常はみられなかった。これらの結果は、J. Biochemistry 77, 761-768 (1975) で報告した。次いで、このような細胞レベルでの異常は何を意味するのであろうかということをも研究課題にした。筋ジストロフィーが細胞の発達障害による疾病ではないかという作業仮説に立って、DNA あたりの RNA、タンパク質、等の含量について、マウスの生後発達との関連を検討した。当研究で、筋ジストロフィーマウスの後肢筋において、外見的に発病の確認される生後 2~3 週令以降、細胞生長がほとんど完全に停止していることが究明された。

材 料

遺伝性筋ジストロフィーマウスである C57BL/6J-dy の株を実験動物中央研究所から分けていただき（東大の江橋教授と実中研の江崎部

長の御厚意により）、当研究室で飼育しており、現在年間約 150 頭の罹患マウス (dy/dy) と略同数の正常マウス（同株からの+/+）を生産している。今回の実験では、生後 2.5 週令から 20 週令にわたる、60 頭の罹患マウス (dy/dy) と、同週令の 60 頭の正常マウス (+/+) を使用した。

方 法

マウスの後肢筋をハサミで細断し、ポリロンで破碎した後、シュミット・タンハウザー・シュナイダー法に従って分画し、酸可溶性 (AS)、ホスホリピド (PL)、RNA、DNA、タンパク質分画を得た。AS、RNA、DNA、分画の 260nm における紫外吸収量を、また、ビュレット法で、タンパク質分画のタンパク質量を定量した後、各分画を過塩素酸と硫酸の混液中で湿式灰化した。灰化後の試料について、マーチン・ドーティー法に従い、リン量を定量した。

結 果

1. DNA 含量。正常マウス後肢筋の筋湿重量あたりの DNA リン (DNA-P) 量は、マウスの生後発達に伴い、2 週令 ($60 \pm 4 \mu\text{g/g}$) から 7 週令 ($16 \pm 2 \mu\text{g/g}$) と顕著に減少し、それ以後ほぼ一定になった（例えば、16 週令で $15 \pm 2 \mu\text{g/g}$ ）。ところが、罹患筋では、2.5 週令 ($54 \pm 2 \mu\text{g/g}$) から 20 週令 ($59 \pm 12 \mu\text{g/g}$) にわたってほとんど変化なく一定であった。2~3 週令のところで、罹患筋と正常筋の値はほぼ同じであった。紫外吸収量からの結果もリン定量による結果とほぼ同じであっ

*愛知コロニー研究所

た。

2. 酸可溶性 (AS) 分画。正常筋の湿重量あたりのAS分画のリン量は、2週令 (1520±80μg/g) から16週令 (1540±30μg/g) にわたってほとんど一定であったが、罹患筋では、3週令 (1390±42μg/g) から10週令 (1030±170μg/g) にかけて減少し、その後ほぼ一定となった (例えば、21週令で 960±220μg/g)。紫外吸収量からの結果もリン定量の結果と同様であった。従って、この分画中のリン含有物質の中で、ヌクレオチドリンの寄与が大きいことを示している。DNA-PあたりのAS-P量は、正常筋では2週令 (26±3μg/μg) から10週令 (83±13μg/μg) にかけて急激に増加したのに、罹患筋では3週令 (23±4μg/μg) から10週令 (20±3μg/μg) にかけてほぼ一定であった。

3. ホスホリピド・リン (PL-P) 含量。筋湿重あたりのPL-P量は、3週令から16週令にわたって、正常筋と罹患筋で有意の差は認められず、週令に伴って減少傾向を示した。しかしながら、DNA-Pあたりでみると、正常筋では2週令 (9.2±0.8μg/μg) から10週令 (23±3μg/μg) にかけて急激な増加がみられたのに、罹患筋では、3週令 (8±0.8μg/μg) から10週令 (8.5±1.3μg/μg) にわたってほとんど変化を示さず一定であった。2~3週令で正常筋と罹患筋の値はほぼ同じであった。

4. RNA-P含量。筋湿重量あたりのRNA-P量は、正常筋、罹患筋とも加令に伴って減少した。4週令以降は、罹患筋の値は、常に正常筋の値よりは高かった (例えば、13週令で、罹患筋 107±1μg/g に対し、正常筋 57±10μg/g)。DNA-PあたりのRNA-P量をみると、正常筋では、2週令 (23±0.4μg/μg) から8週令 (4.6±0.7μg/μg) にかけて急激に増加し、その後ほぼ一定になった (例えば、16週令で 4.1±0.9μg/μg) のに対して、罹患筋では、3週令 (2.5±0.5μg/μg) から10週令 (2.6±0.3μg/μg) にかけてほとんど変化なく一定であり、その後少し減少の傾

向がみられた (例えば21週令で 1.5±0.6μg/μg)。

5. タンパク質含量。筋湿重量あたりのタンパク質量は、正常筋で2週令 (48±2mg/g) から10週令 (89±3mg/g) にかけて顕著に増加したのに、罹患筋では、4週令 (60±5mg/g) から10週令 (57±5mg/g) にわたりほとんど変化なく一定で、その後加令に伴い少し減少の傾向がみられた (例えば、21週令で 41±7mg/g)。DNA-Pあたりのタンパク質量をみると、正常筋で、2週令 (1±0.1mg/μg) から10週令 (4.9±0.5mg/μg) にかけて急激に増加したのに、罹患筋では、4週令 (1.6±0.2mg/μg) から11週令 (1.3±0.4mg/μg) にかけてほぼ一定で、その後21週令 (0.7±0.1mg/μg) にかけて少し減少する傾向がみられた。

考 察

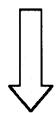
生後発達に伴って正常マウス後肢筋でみられた動的変化、既ち、筋湿重量あたりのDNA-P量、DNA-PあたりのAS-P、PL-P、RNA-P、タンパク質量の顕著な変化は、下記のいくつかの理由から、細胞の生長 (伸長、肥大) を示していると考えられる： 1. 筋肉組織では、DNAの合成と分解の速度はほとんど同程度である…Gerber, G., and Altman, K. I., J. Biol. Chem., 235, 1433-1436 (1960). 2. 正常マウス後肢の全筋肉中のDNA含量は週令と関係なくほぼ一定である…Watts, D. C. and Reid, J. D., Biochem. J., 115, 377-382 (1969). 3. 筋組織の細胞外スペースは筋の大きさの増加 (または、加令) に伴って逆に減少する傾向にある…Burr, L. H. and McLennan, H., Can. J. Biochem. Physiol., 38, 829-835 (1960). 4. 一般的に認められていることとして、細胞分裂をほとんど行っていない組織では、細胞あたり (筋の場合は多核だから核あたり) のDNA含量は一定である。

罹患筋においては、正常筋の場合とは対照的に、筋湿重あたりのDNA-P量、DNA-P

あたりのAS-P, PL-P, RNA-P, タンパク質量が生後発達と関係なくほぼ一定で、2~3週令のままであったことは、細胞の生長が2~3週令で停止してしまっていることを強く示唆している。罹患マウスの後肢あたりの筋湿重は正常マウスのそれと比較して、加齢と共に顕著に減少することは周知のことであるけれど、生後12週令のマウスの後肢における全筋肉中のDNA含量は、罹患マウスと正常マウスの間に差がないという報告…Watts and Reid(上記)…も上述のことを支持している。

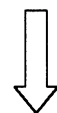
結 論

正常マウスの後肢筋組織の細胞は、マウスの生後発達に伴い、2週令から10週令にかけて、急激に生長(伸長と肥大)するのに、罹患マウスの後肢筋組織の細胞生長は、2~3週令の段階のままで停止してしまっている。この事実は、細胞生長を促進してやることによって疾病の治療への可能性を開くことができるのではないかということを示唆している。発病前に生長ホルモン等の投与をすることが有効であると考えられる。



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



遺伝性筋ジスマウスの罹患後肢筋における顕著な異常として、低タンパク質含量、高 RNA 含量、高タンパク質合成能、高 RNA 合成能を多くの研究者が報告している。それらの報告は筋湿重あたりの定量分析によっている。筋湿重量は、環境の影響を受け易いと考えられるうえ、筋細胞の状態についての情報は与えていない。そこで我々は、細胞あたりの含量が一定した DNA 量を基準として上記の異常現象を再検討してみた。その結果、罹患筋では、DNA あたり、いいかえれば、細胞あたりのタンパク質と RNA の含量は減少しており、RNA 生合成能は少し高くなっていた。しかし、タンパク質生合成能に有意の異常はみられなかった。これらの結果は、J.Biochemistry 77,761-768(1975)で報告した。