

14.0 mEq/kg FFWTであった。これを正常対照群と比較すると、総水分量は有意差はなく、Na量は増加している有意ではなかった。K量は有意に減少していた。またCa量はやや増加しており、Mg量は有意に減少していた。

進行性筋ジストロフィー症の筋電解質についての報告はあまり多くなく、特にMg, Caについては殆んどみられない。今回の私共の成績はまだ小数例であるために充分ではないが、K, Mg量の有意の減少がみられたが、これはPMDの筋萎縮、筋細胞内の代謝異常と関係するものと思われ、更に細胞膜の透過性との関係を示唆する成績が得られ、目下検討中である。

10) 筋の発生分化過程に対応した、細胞培養法による形態学的分析

国立療養所西多賀病院
中川原 寛 一

正常及びDMP発症マウス由来筋芽細胞の培養条件の検討、並びに発生分化過程の形態を観察比較し、さらに継代培養も試みた。

< 方法・材料 >

C57BL系マウス(1~2ヶ月令)大腿部に20%滅菌食塩水を注入し3日後の再生筋を消化時にトリプシン酵素濃度、温度、時間の各々を変えて生細胞の最も多い条件を探した。またゼラチンコートしたシャーレと未処理シャーレに細胞数、 1×10^5 cells/mlの割合で植込み、37°Cの炭酸ガスインキュベーター内で培養し増殖の度合を観察した。培地はM-199 85%、HS-10%、CEE(11日令、濃度1:1)5%からなるGrowth Medium(GM)を用いた。継代培養は筋芽細胞が融合する前か、その初期を指標として分散継代した。初代培養、継代培養とも培地交換は約3~4日の割合で実施した。観察はニコンの倒立位相差顕微鏡を用いた。

< 結果・考察 >

再生筋を消化する際1) 0.125%, 4~10°C一昼夜、2) 0.25%, 4~10°C一昼夜、3) 0.125%, 20~25°C60分、4) 0.25%, 20~25°C60分、5) 0.25%, 30°C60分の各々の条件で実施したところ1)の条件がトリプシンによる細胞の障害が少なく、増殖の良好な筋芽細胞を得ることができた。またゼラチンコートしたシャーレは未処理のシャーレよりも細胞増殖が良好であった。

細胞植込み後、24時間頃には比較的長い紡錘形の単核の細胞となり、3~4日頃には細胞の融合が活発になり多核の細胞が出現した。培養開始後10~14日頃にはmyotubeが長い筋線維までに分化しているのを観察した。また筋線維には周期的な収縮が認められた。初代培養において正常及びDMP発症マウスの分化過程の形態的な相違を検討したところ、例えばExplant法では正常マウスよりD

MP発症マウスに異常な細胞の出現があり、また多核細胞が少ないなどがあるが、単層培養法では Explant 法のような異常な点は認められなかった。継代培養においては正常及びDM P発症マウス共に3～5代目までは増殖するが、6代目頃からは細胞の死が目立ち、ついには増殖不可能の状態となった。

以上の結果から筋線維をさらに長時間保持する事により形態学的に、組織化学的、生化学的に変化が出るか、検討したい。また継代培養では継代数を高め、細胞株の確立を試み、さらに細胞を生化学的、遺伝学的に追求していきたい。

(1) ジストロフィーマウスの筋及び肝における脂質の検討

国立療養所西多賀病院
阿部 英治

筋ジストロフィー症では血中へ多くの酵素が流出していることは周知の事実である。最近、赤血球肝ミトコンドリアにおけるカチオン等の透過性や膜に結合する酵素の異常を示唆する報告が現われている。そこで膜の構成を検討するためまず組織から脂質を抽出分離して分析する必要があった。

<方 法>

筋及び肝からの脂質の抽出

夫々の組織を20倍容量のクロロホルム、メタノール混液(2:1)で3分間づつ3回、potter型ホモチナイザーで脂質を抽出し、その漏液を0.2倍容量の水で洗滌してからクロロホルム層をとり、N₂ gas 中で減圧にして溶媒を除去した後脂質量を秤量した。この脂質をクロロホルム、メタノール混液に溶解して夫々の分析資料に供した。

脂質の分離及び分析

資料中のレシチン及びセファリンはクロロホルム:メタノール:水=65:25:4の溶媒を使用してシリカゲルを塗布したTLCで分離した。分離された脂質は2.7 dichlorofluorecein をスプレーした後、紫外線を利用して確認し、その相当する部分をかきとり、メタノールで夫々の脂質を抽出した。そして抽出液中の燐の測定値からレシチン、セファリンの値を夫々決定した。燐の測定はFiske-SubbaRow法を利用した。

全脂質及びレシチン、セファリン中の脂肪酸の測定

一定資料中の溶媒をN₂ gasで除去後、14%BF₃を加えて100°Cで加熱し脂質を分解すると脂肪酸はMethyl esterとして得られる。これをペンタンで抽出し日立BDUゴーレイカラムを利用したガスクロマトグラフィーにかけ170°Cで各脂肪酸を分離分析した。

↓ **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

正常及び DMP 発症マウス由来筋芽細胞の培養条件の検討、並びに発生分化過程の形態を観察比較し、さらに継代培養も試みた。

<方法・材料>

C57BL 系マウス(1~2 ヶ月令)大腿部に 20%滅菌食塩水を注入し 3 日後の再生筋を消化時にトリプシン酵素濃度、温度、時間の各々を変えて生細胞の最も多い条件を探した。またゼラチンコートしたシャーレと未処理シャーレに細胞数、 1×10^5 cells/ml の割合で植込み、37 °C の炭酸ガスインキュベーター内で培養し増殖の度合を観察した。