

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DMP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。

以上の結果から筋繊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。

11) 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型ホモジ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。そして抽出液中の磷の測定値からレシチン、セファリンの値を夫々決定した。磷の測定は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。

資料中の全コレステロールの測定

一定資料中の溶媒をN₂gas で除去後、アルコール性KOHで加熱し冷後、石油エーテルでコレステロールを抽出した。溶媒を除去後、Eecl₃ とH₂SO₄を利用するZeitman の方法で測定した。

< 結 果 >

表1に示される如く、Dystrophic muscleの脂質中の全磷の量はNormal muscle のそれよりも約300%多いにも拘らず脂質中の全磷に対するレシチンの磷の含量の割合は15%、セファリンの場合は2~3%のみ低いだけである。これらの事実はDystrophic muscle では凡、脂質当りに対するレシチン、セファリン等磷脂質の含有量がかなり多い事を示している。一方、liver の場合を比較するとDystrophic mouse の場合は全磷の量がNormal の場合より約50%も高いが、レシチン、セファリン何れの場合も約4%低いだけである。一方、表2は全脂質中に含まれる脂肪酸量をガスクロマトグラフィーで分析した結果であるが、Dystrophic muscle の場合は16:0+16:1の量が少く18:0+18:1、20:4、そして22:6がかなり多い事がわかった。レシチン、セファリン中の脂肪酸の分析では表3に示す如くDystrophic muscle の20:4がNormal のそれよりも約2倍高いがその他は大差はみられない。表4は全脂質中の全コレステロール量を示しているが、Dystrophic muscle の場合はNormal のそれよりも2~3倍高い事がわかった。又liver でも凡脂質当りでは約40%高い事がわかった。

以上の様にDystrophic muse の場合はmuscleばかりでなくliver においても脂質特に磷脂質の含量が増大している事が注目された。

表1 ANALYSIS OF EXTRACTED LIPIDS

	Normal		Dystrophic	
	Muscle	Liver	Muscle	Liver
Total Lipid (mg/g·W.W)	53.6	154.4	32.7	116.2
Total Phosphorus (μ moles/g·lipid)	225.6	214.4	617.0	326.5
Lecithin (% of total lipid phosphrus)	46.6	37.0	31.0	33.3
Cephalin (% of total lipid phosphrus)	22.2	24.7	19.7	20.0

表2 DISTRIBUTION OF FATTY ACIDS IN TOTAL LIPID

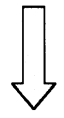
Components	Normal		Dystrophic	
	Muscle	Liver	Muscle	Liver
	(μ moles/g. lipid)			
16:0+16:1	311.9	297.1	270.7	300.0
18:0+18:1	370.2	339.5	547.0	422.8
18:2	378.0	494.6	404.3	463.1
20:4	35.0	55.2	75.6	89.2
22:6	108.0	98.3	198.9	104.9
Other	39.3	35.8	69.5	62.8
Total	1241.6	1320.5	1566.5	1442.8

表3 DISTRIBUTION OF FATTY ACIDS IN LECITHIN(PC) AND CEPHALIN(PE)

Components	Normal				Dystrophic			
	Muscle		Liver		Muscle		Liver	
	PC	PE	PC	PE	PC	PE	PC	PE
	(μ moles/ μ mole phosphorus) suroh							
16:0+16:1	0.53	0.32	0.48	0.34	0.45	0.27	0.44	0.29
18:0+18:1	0.26	0.40	0.27	0.42	0.40	0.46	0.33	0.42
18:2	0.29	0.23	0.35	0.21	0.30	0.24	0.44	0.26
20:4	0.13	0.04	0.16	0.26	0.10	0.09	0.15	0.30
22:6	0.30	0.42	0.15	0.32	0.22	0.37	0.13	0.23
Other	0.08	0.05	0.16	0.06	0.03	0.09	0.04	0.03
Total	1.59	1.46	1.57	1.61	1.50	1.43	1.53	1.53

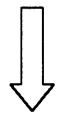
表4 CONTENT OF CHOLESTEROL IN EXTRACTED LIPID

Muscle	Normal		Dystrophic	
	Liver	Muscle	Liver	Muscle
	(μ moles/g. lipid)			
82.0	74.6	237.1	104.3	
	(μ moles/g. WW)			
4.4	11.5	7.8	12.1	



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



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。