

## 20) 進行性筋ジストロフィー症患者の染色体 Breakage の検討

国立療養所松江病院  
鳥取大学脳神経小児科

加藤典子  
鈴木康之

我々は、*Ethidium Bromide* 法による *Plasma DNA* 濃度の測定を行ない、*Duchenne* 型筋ジストロフィー症患者が高値を示すのを経験した。この疾患が筋肉障害のみならず、中枢神経系の異常も含めた系統疾患であることも考えあわせ、細胞 *level* での異常、核酸代謝の障害を有する可能性もあると考えた。そこで中胚葉系組織であるリンパ球を用いて、*Chromosome aberration* の頻度を検討した。

### <方 法>

- (1) 通常の染色体分析と同様、ヘパリン採血による *rich plasma* 約 0.5 ml に、*Eagle MEM* 2 ml、*P.H.A.-M type* 0.1 ml を添加して、48時間後にコルヒチン処理をして標本作製した。判定に際しては、*Gap* と呼ばれる *chromatid* の切断が完全でないものは除外して、各個体 100~200 の核型を分析して *aberration* の頻度を測定した。
- (2) *sister chromatid exchange* は、(1)と同様に *P.H.A.* と *medium* に加えて、*S-Bromodeoxy-uridine* を 20  $\mu\text{g/ml}$  となるように添加した。これを暗室にて 72時間 *incubation* してから標本作製した。染色は *Hoechst 33258* で蛍光染色後 15W 殺菌灯下にて 24時間照射しさらに *Giemsa* 染色をした。分裂期細胞の中で、2細胞周期のものを対象とし、3ヶ所以上 *sister chromatid* が判明できない核型は、3細胞周期を経ている可能性もあり、判定からは除外した。原則として、8枚のプレパラートを作製し、判定しうる核型すべてを対象とした。

### <結 果>

- (1) 正常群で *chromosome breakage* の判定をしたのは 3名であり、各例とも 100ヶの核型分析を行なった。1例では *aberration* を認めず、2例では *chromatid break* をそれぞれ 1ヶずつ認めた。年令的影響がないこと、水痘、麻疹等の感染を除外したことなどは当然である。*Duchenne* 型患児では、1名は 200核型中 *chromatid breakage* 7、*chromosome breakage* 1、*acentric* 2であった。1名は 100核型中 *chromatid breakage* 5、*acentric* 2であった。*chromatid breakage* を 1、*chromosomal breakage* を 2、*acentric dicentric* も 2として *break point* を数え、対照群では、0/100、1/100、1/100、であるのに対し、*Duchenne* 型では 9/100、13/200であった。
- (2) *sister chromatid exchange* は、*S-Bromodeoxy-uridine* の濃度により頻度が異なり、*Bartram* らによると 20  $\mu\text{g/ml}$  で約  $9.8 \pm 1.9$  であるという。我々の場合、*Down* 症患児で  $6.64 \pm 2.63$  (25核型中)、 $9.23 \pm 2.86$  (22核型中)であったのに対し、*Duchenne* 型患児では  $6.6 \pm 2.61$  (30核型中)、 $7.9 \pm 2.42$  (34核型中)、 $8.5 \pm 2.51$  (58核型中)であった。共に

Bartramらの報告と差異はない。

なお、*chromosome aberration* の *break point* や、*sister chromatid exchange*。

#### <結果及び考察>

1. *Duchenne* 型筋ジストロフィー症患者で末梢血培養による *chromosome aberration* の頻度を判定した。正常対象群に較べ、*chromatid break* を中心とし *aberration* 頻度の上昇がみられた。今後別の機会に再検し、本態的变化か否か制定する必要がある。少なくとも今のところ *Duchenne* 型筋ジストロフィー症患者では、核酸レベルに及び異常がおこっている可能性が考えられる。
2. *sister chromatid exchange* は、*E* に *Recombination* 系の反映と考えられるが、*Down* 症でも筋ジストロフィー症でも正常値を示しており、生体内で *Recombination* に影響を及ぼすような異常はおこっていないと思われる。

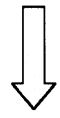
## 2) 正常成熟マウス及び筋ジストロフィー発症マウス再生筋芽細胞の形態学的及び生化学的研究

国立療養所刀根山病院

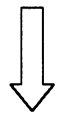
香 川 務 智 片 英 治  
谷 淳 吉

### 1 *In vitro* における筋線維の *maintenance* の条件について

- (a) *Dystrophy* (以後 *Dys* と略す) 筋に高張食塩水を注射すると正常筋の場合と同じく筋線維には *Dys* 変性を認めなかった。(1, 2)。
- (b) *Dys* 再生筋から分離した再生筋芽細胞は *in vitro* で横紋筋線維に分化するが、筋線維分化後少くとも1週以内には *Dys* 変性を示さなかった。比等の事実は筋ジス再生筋芽細胞の筋線維分化の過程には著明な異常の無い事を示すと同時に、筋線維の *maintenance* の研究の必要性を示している。本年度は *in vitro* で分化した筋線維の *in vitro* における *maintenance* の条件について実験を行ったので報告する。筋線維の *in vitro* における *maintenance* の為には線維芽細胞の増殖を抑える事が重要であるが、その手段として突然変異を起す可能性を持つ *DNA* 合成阻害剤を使用する事は、遺伝疾患である本症研究を目的とする実験系としては不合理である。又、神経支配を受けない筋線維のみの *in vitro* における *maintenance* は本来不完全であり、筋線維としての最少限の特性である収縮性をもってその *maintenance* の指標とした。比等の事を考察に入れ、次の実験を行った。正常成熟マウス (C57BL) 骨格筋から分離した再生筋芽細胞を既報の条件(1)で6日間培養し、多核 *myo-*



**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



我々は、Ethidium Bromide 法による Plasma DNA 濃度の測定を行ない、Duchenne 型筋ジストロフィー症患者が高値を示すのを経験した。この疾患が筋肉障害のみならず、中枢神経系の異常も含めた系統疾患であることも考えあわせ、細胞 level での異常、核酸代謝の障害を有する可能性もあると考えた。そこで中胚葉系組織であるリンパ球を用いて、Chromosome aberration の頻度を検討した。