

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 *myof-*

ube (一部の線維は既に横紋を持つ) を形成した時点で、培地を Table 1 の A~D に示す各組成の培地と全量交換、更に22日間培養した。5日毎に培地更新を行った。結果は Table 1 に示した通りである。以上結果から、(a) 牛胎児血清 (10%) を含む培地で長期間培養すると筋線維は収縮性を失う。(b) 鶏胚抽出液 (CEE) を含まない培地で長期間培養すると、筋線維に多数の空胞を生ずるが、その収縮性はCEEの有無に関係なく維持された。(c) Eagle MEM (90%) 馬血清 (10%) の培地中で、筋線維の収縮性は長期間維持された。筋ジス発症における筋外因子の役割の研究や生化学的研究にとって、Eagle MEMと馬血清より成る単純な培地で筋線維の収縮性が長期間維持され得る事は都合の良い事であり、現在馬血清の割合をどこまで減少せしめ得るかについて検討中である。

II 再生筋から再生筋芽細胞を分離する方法の改善について

低温トリプシン処理法 (1) は良質の再生筋芽細胞が得られる点においては秀れているが、細胞収量 (特にDys再生筋の場合) は良いとは云えない。Dys筋からの細胞収量が少い為生化学的な研究の障碍になっている。細胞収量を増加させる目的で種々の方法を検討して来たが、次の方法は細胞収量が多く又結果に再現性を有するので報告する。既報の方法 (1) で正常成熟マウス骨格筋から再生筋を得て、細切後タイロイド液で3回洗滌、Table 2に示した各酵素及びEDTAで各表示した時間攪拌処理 (37℃) し、各処理段階で細胞を採り24時間培養し、細胞の分類と各細胞の計数を行い Table 2に示した。

- (1) T.Kagawa, E.Chikata and J.Tani
 Develop. Biol. 55, 402-407. (1977)
 (2) T.Kagawa, E.Chikata and J.Tani
 日本発生物学会報告 (1976年5月大阪)

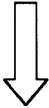
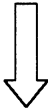
Table 1

	Contents of medium				Result	
	CEE	FCS	HS	MEM	Contraction	Vacuoles
A	1%	0%	10%	89%	(+)	(-)
B	1%	10%	10%	79%	(-)	(-)
C	0%	0%	10%	90%	(+)	(+)
D	0%	10%	10%	80%	(-)	(+)

Table 2

Treated with the sequential procedures as follows,

		Cell yield of each type of cells/leg. (X 10 ⁴)		
		Myobl.	Fibro.	Leuko.
(1) Treated with hyaluronidase (50 units/ml) for	30 min	3.3	0.55	30.0
(2) Further treated with collagenase (Sigma-Type 1, 0.1%) supplemented with 10% horse serum for	30 min	7.2	1.1	84.0
	60 min	56.0	5.0	170.0
	90 min	72.0	10.0	200.0
	120 min	89.0	18.0	190.0
(3) Further treated with EDTA (0.025%) for	30 min	630.0	48.0	180.0

 **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

In vitro 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) Day 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 Day 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 研究の必要性を示している。