

4. 神経筋接合の機能分化とその形態学に関する細胞培養法を用いた研究

国立療養所下志津病院

斎藤 篤 斎藤 敏郎

千葉大学医学部第一解剖

増子 貞彦 石川 裕二

嶋田 裕

筋ジストロフィーの発症に対する原因究明に、発生学的見地から手がかりを得るための基礎的研究として、発生期における神経と筋との間の相互作用を、培養糸を用いて追求した。今回は神経筋混合細胞培養における筋細胞表面のアセチルコリンリセプター (AChR) の発生について報告し、さらにジストロフィー鶏の後広背筋の AChR の崩壊速度について、器官培養法を用いた予備実験の結果について言及する。

1. AChR の発生

孵卵12日の鶏胚大腿筋よりトリプシンで解離した筋細胞と、孵卵 2.5 日の鶏胚脊髄より分離した運動神経細胞を混合培養し、これに ^{125}I でラベルした α -bungarotoxin (^{125}I - α -BGT) を加えた後に、オートラジオグラフィーを行った。

α -BGT は AChR と特異的に結合するので、オートラジオグラフィーで観察される銀粒子の分布は、AChR の分布と対応すると考えられる。

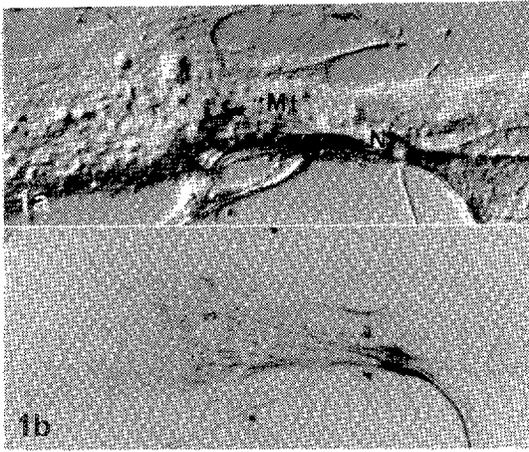
このような銀粒子は単核筋細胞では認められず、筋管形成後その表面に散在性に出現するようになる。その数は培養の進行に伴って次第に増加し、所々に銀粒子の集合が限局的に観察されるようになる。Sytkowski¹⁾らは筋細胞の表面に AChR の集合が形成され、そこに神経の突起が接触してシナプスが形成されるというモデルを提唱している。しかし本研究では、神経線維末端の筋への接触部位には、必ずしも AChR の集合はみられなかった。筋細胞表面上に神経細胞体が直接に接触している場合には、通常その周辺に多数の銀粒子が集合しているのがみられたので (図1 a、b)、神経と AChR との間は何らかの相互作用が存在することは明らかである。今後、長期培養することにより神経接触と AChR の集合との間の因果関係を追求し、また AChR と直接関係しない神経線維の性質についても調べたい。

2. ジストロフィー鶏における AChR の崩壊速度

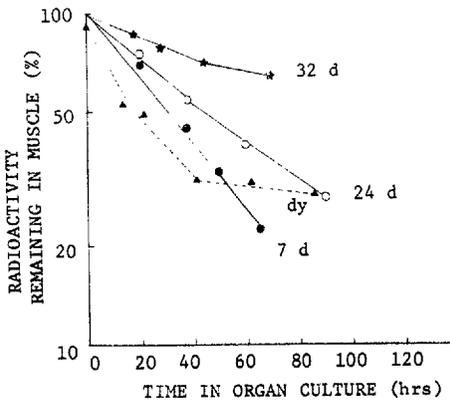
孵化後5ヶ月のジストロフィー鶏の後広背筋を器官培養し、その AChR に ^{125}I - α -BGT を結合させたのち、AChR の崩壊によって培養液中に遊離してくる ^{125}I の放射能を測定することにより、AChR の崩壊速度を調べた。その結果を Burden²⁾が調べた正常鶏後広背筋の AChR の

崩壊速度と比較すると、ジストロフィー鶏筋では正常な成熟筋より崩壊速度が早く(図2)、幼若な筋と類似していた。この結果のみでは、ジストロフィー筋ではAChRの代謝回転の調節機構に障害が存在するのか、あるいは器官培養に移された筋が変性に陥ることにより二次的に ^{125}I が培養液中に放出されることによるのかは、一義的には結論できない。今後、正常およびジストロフィーの筋と神経を各種組合せて細胞培養を行うことにより、AChRの発生病理についても追求したい。

(図1.)



(図2.)



<文 献>

- 1) Sytkowski, A.J., Vogel, Z. and Nirenberg, M. W. (1973) Proc. Nat. Acad. sci. USA 70: 270 - 274.
- 2) Burden, S. (1977) Develop. Biol. 61: 79 - 85.

<図の説明>

図1. 混合培養7日の微分干涉顕微鏡写真(1a)と、その同一部位のオートラジオグラム(1b)。筋管(Mt)表面上に神経細胞(N)が重なっており、その周辺に銀粒子の集合しているのがみられる。X 420。

図2. 後広背筋のAChRと結合している ^{125}I - α -BGTの量。器官培養開始時の結合量を100

%として表わしてある。●—● 孵化7日、○—○ 孵化24日および☆—☆ 孵化32日の正常鶏 (Burden²)より)。▲—▲ 孵化150日のジストロフィー鶏。

5. PMD 患児 (者) における ステロイドホルモン分泌動態について (尿中ステロイドホルモンの分析)

国立療養所長良病院
桑原 英明

Horning の方法に準じて β -glucuronidase 加水分解、酢酸エチルによる抽出、Methoxylamine Trimethyl silylether による前処置の後、昇温ガスクロマトグラフィーにより尿中ステロイドホルモンの分析を行った。

対照は表 I の如く年令13才5ヶ月から22才1ヶ月、体重 18.3 kg から 52.5 kg 障害度は Swin-jard の分類で VI~VIII の D 型 PMD 患児10人で control としてほぼ同年令と思われる。13才から15才の殆んど発作なく経過観察中の気管支喘息患児及び同様経過観察中の慢性腎炎患児5人をえらんだ。

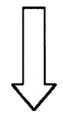
結果は表 II の如くで androsterone (An) etiocholanolone (ET) dehydroepiandrosterone (DHEA) といった17-K S、Tetrahydrocortisol (THF) Cortolone といった17-OHCS ともに PMD 児で低い傾向を示し、特に症例 5.10 でその傾向が強くみられた。これらは、るいそうが目立ち、機能障害の著しい者であった。

〔ま と め〕

症例数、対照に問題はあがあるが、ガスクロマトグラフィーにより尿中ステロイドホルモンを分析し比較したところ

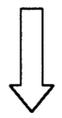
1. PMD 児で17-K S、17-OHCS とも全体に低い傾向をつかんだ。
2. PMD 児の中でも、るいそう、機能低下の著しいものでその傾向が強くみられた。

以上は D 型 PMD に関して一次的なものか、あるいは二次的なものかは判断しがたいが、これをもとに、今後更に症例を増すとともに負荷テスト等も加えて検討する予定である。



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



筋ジストロフィーの発症に対する原因究明に、発生学的見地から手がかりを得るための基礎的研究として、発生期における神経と筋との間の相互作用を、培養系を用いて追求した。今回は神経筋混合細胞培養における筋細胞表面のアセチルコリンリセプター(AChR)の発生について報告し、さらにジストロフィー鶏の後広背筋のAChRの崩壊速度について、器官培養法を用いた予備実験の結果について言及する。