

数の細胞を植込む程増殖能が低下するという結果が更に明確となった。E-Mb のコロニー形成率が 1.34 ~ 12.4 %であったが、R-Mb はこの植込み細胞数ではコロニー形成は殆んど認められなかった。

4. R-Mb 及び E-Mb の培養内での形態的観察の限りにおいて、両者がほぼ同程度の細胞数を有する場合、単核の筋茂細胞も融合によって出来た myotube も形態的に差は認められず、更に myotube 形成過程も殆んど差が認められなかった。
5. 従って、R-Mb は少数細胞を植込む場合 E-Mb より増殖能が低い傾向があるが、高濃度の植込みの場合、両者の間に殆んど差はない。今後更に生化学的に両者の比較を行なうことも必要である。

<参考文献>

(1) Kagawa, et al (1977) Develop. Biol. 55, 402 - 407.

尚、本報告の論旨は第10回日本発生生物学会 1977年5月(東京都町田市)、第8回国際発生生物学会、1977年8~9月(東京)で発表した。

## 16. 正常成熟及び筋ジストロフィー発症マウス 再生筋芽細胞の筋線維形成及びその維持過程の研究

国立療養所刀根山病院

香川 務 智片 英治  
蔦 宗俊 明 谷 淳吉

上記研究課題に従い主に下記の研究を行った。

- (1) 正常及び筋ジストロフィー発症マウス再生筋からの再生筋芽細胞分離法の改良<sup>①</sup>

### 【方 法】

再生筋<sup>②</sup>を細切し、40ml硝子遠心管に入れ、培地(“the fresh medium”又は“the growth medium”)<sup>③</sup>を10ml加え、駒隠ピペットで50回攪拌、1~2分間放置し組織片が沈下して後液を採取、白金メッシュ(150-mesh)で漏過、同様の操作を2回行い細胞浮遊液を得た。

### 【結 果】

- (a) 細胞収量は正常再生筋で一肢当り90万、筋ジス再生筋では10~15万であった。再生筋芽細胞は正常再生筋の場合50%以上、筋ジス再生筋の場合は動物 age により変動があり明確で

ない。

- (b) 混在する線維芽細胞は正常筋、筋ジス筋のいずれの場合も少く、全細胞の2%以下であった。従って本法によって得た細胞は、selective platingを必要としない。
- (c) 得られた細胞の殆んど全てが単一の細胞であり、細胞塊は認められなかった。
- (d) 本法で得た細胞浮遊液は、酵素処理で得たそれと異り、殆んど粘張性を示さず、又37°Cで1時間放置しても細胞同志の粘着は余り見られなかった。
- (e) トリプシン法<sup>②</sup>では細胞の分離に約8時間を要したが、本法では僅か15分を要するのみである。

以上に示す如く、本法は実用に耐える方法であると思われる。なお、トリプシン法及び本法によって正常再生筋より得た細胞集団の諸性質は表(1)にまとめた。

Fig. 1.  
Cell type analysis and yield/leg  
of each type of cells( $10^4$ )

Type of cells	Tryptic digestion	Pipetting
Total cells	150	90
After selection	75	
Plated cells	53 (70%)	72 (80%)
Myogenic cells	24 (45%)	36 (50%)
Fibroblasts	4 (7%)	1 (1.3%)
<u>Fibro.</u>		
<u>Myo + Fibro</u>	14%	3%

T. Kagawa, E. Chikata, J. Tani and T. Tsutamune  
(1977)

- (2) パイペッティング法で得た正常及び筋ジス再生筋芽細胞の in vitro に於ける筋線維の分化及びその維持 (maintenance) について。
- (a) 正常再生筋芽細胞、シャーレ当り10万の細胞を既報の方法<sup>②③</sup>で培養した。8日目の筋線維形成の状態は表2に示す如く、筋の初代培養としては非常に良好であった。筋線維の自発収縮は培養7~8日目より見られたが、収縮によると思われる線維の剔離と線維の変性が一部の筋線維に認められた。現在20日間以上の培養は充分可能である。
- (b) 筋ジス再生筋芽細胞。同様の方法でシャーレ当り10万の筋ジス再生筋芽細胞を培養した。筋線維分化の過程は正常再生筋芽細胞のそれと比較して1~2日の遅れは見られたが両者の間で形態学的な差を認めなかった。又“pseudostrips”<sup>④</sup>の形成も全く見られなかった。自発的収縮は培養11日目より活発に見られた。その後、筋線維のシャーレからの剔離及び変性が認められ、培養20日目迄には、殆んど筋線維が失われた。しかし、上記の如く、同様の変性は正常

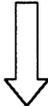
再生筋芽細胞に由来する筋線維にも一部見られるので、この変化は現在迄には筋ジス遺伝子(dy/dy) に依るとの証明はない。

Fig. 2.  
Per cent of the number of nuclei  
in each type of cells(8 days  
after the initiation of culture)

Total muscle cells	84.5%
Multinucle.	71.7%
Mononucl.	12.8%
Fibroblasts	5.4%
Round cells	10.1%
<hr/>	
Multinucle. cell	84.8%
Total muscl. cell	
<hr/>	
Fibroblasts	6%
Total muscl.+Fibro.	

T.Kagawa, E.Chikata, J.Tani and  
T.Tsutamune(1977)

- (1) T. Kagawa, E. Chikata, J. Tani and T. Tsutamune (1977)。  
第30回日本細胞生物学会報告
- (2) T. Kagawa, E. Chikata and J. Tani (1977) *Develop. Biol.*, **55**, 402。
- (3) T. Kagawa, (1977) 第10回日本発生生物学会報告
- (4) R. Parsons (1974). *Nature* **251**, 621  
M. J. Moore (1975). *J. neurol. Sci.* **24**, 77  
C. V. Paul and J. A. Powell (1974). *J. neurol. Sci.*, **21**, 365.

 **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

上記研究課題に従い主に下記の研究を行った。

(1)正常及び筋ジストロフィー発症マウス再生筋からの再生筋芽細胞分離法の改良

〔方法〕

再生筋 を細切し、40ml 硝子遠心管に入れ、培地(“ the fresh medium” 又は “ the growth medium” ) を 10ml 加え、駒隠ピペットで 50 回攪伴、1~2 分間放置し組織片が沈下して後液を採取、白金メッシュ(150-mesh)で漏過、同様の操作を 2 回行い細胞浮遊液を得た。