

厚生省

神経疾患研究委託費

筋ジストロフィー症動物の生産・  
開発に関する研究

野村班

昭和56年度研究報告書

昭和57年3月

## 研究報告書の作成にあたり

厚生省神経疾患研究委託費による、筋ジストロフィー症研究班の第5班として3年間を終了いたしました。

本研究班の目的は、1) 筋ジストロフィー症モデル動物の生産・供給、2) 新しい筋ジストロフィー症モデル動物の開発・改良、および3) 筋ジストロフィー症動物の飼育管理方法の検討、であります。

従来から申しあげておりますとおり、新しいモデル動物の開発には、その遺伝的背景を確立するため、極めて長い歳月を要するものであります。また、このようにして育成されたモデル動物も、その飼育・維持方法によっては疾病感染により、実験に供することができなくなるなど、これらのモデル動物の飼育管理方法の検討も併せて実施する必要があります。

本研究班では、筋ジストロフィー症研究進展のため、より良いモデル動物の開発・改良を目指すとともに、大量の実験動物を供給できるよう、今後もなお一層努力を重ねる所存であります。そのため、本研究班では、例えば、発生工学の手法をもちまして新しいモデル動物を開発する、などの検討も進めております。

今後も、諸般の先生方のご協力をお願い申しあげる次第であります。

おわりに、ご協力下さった班員各位、ならびに本研究委託費の取扱いに種々お世話いただいた厚生省当局、国立神経センター、日本筋ジストロフィー協会の方々に心から感謝いたします。

# 目 次

筋ジストロフィー症動物の生産・開発に関する研究	総括概要（3年間）	1
	野村達次	
I. 筋ジストロフィー症に関する文献調査		5
	野村達次	
II. 筋ジストロフィー症動物の生産と飼育管理方法の研究		
1. 筋ジストロフィー症動物の生産・供給		13
	水谷 誠	
	江橋 節郎	
	斉藤 宗雄	
2. 筋ジストロフィーチキンの飼育管理とその問題点		15
	斉藤 宗雄	
III. 筋ジストロフィー症モデル動物の開発		
1. ニホンウズラにおける疾患モデル系統の開発		25
	若杉 昇	
	近藤 恭司	
2. 糖原病Ⅱ型ウズラの育成		35
	水谷 誠	
3. 産業の場で見い出される異常ウズラの調査 — 疾患モデル動物の素材としての検討 —		53
	伊藤 慎一	
4. 筋ジストロフィー症鶏浅胸筋の除神経に伴う組織学的、酵素組織 化学的变化		67
	菊池 建機	
5. 新たに発見された遺伝性骨・軟骨異常マウス		79
	江崎 孝三郎	
6. 後軀麻痺を好発するJc1:ICRマウス由来の1系統		95
	江崎 孝三郎	

# 筋ジストロフィー症動物の生産・開発に関する研究 総 括 概 要 ( 3 年 間 )

班長 野 村 達 次\*

本研究班は、筋ジストロフィーのモデル動物を生産し、他の研究班々員に供給するとともに、新しいモデル動物を開発することを目的として組織された。そして、昭和54年度より3年間にわたって、筋ジストロフィー症モデル動物に関する文献調査、モデル動物の生産・供給ならびに飼育管理方法、および新しいモデル動物の開発についての調査・研究を実施した。以下に3年間の研究成果の概要ならびに反省点と将来への展望を述べる。

## 研究 成 果 の 概 要

### I. 筋ジストロフィー症モデル動物に関する文献調査

筋ジストロフィー症のモデル動物の生産・開発に当り、国際的にどのようなモデル動物が開発され、研究に使用されているかを知る目的で、文献調査がなされた。

野村班員は、1978年～1981年に報告された筋ジストロフィーに関する文献のなかより、モデル動物を用いた論文約300編を選び、集録して、神経疾患研究委託費による研究班々員に紹介した。

これらの論文のなかで高頻度で使用されている動物は、マウス、ニワトリ、ハムスターであったが、一部ではウサギ、ラット、ヒツジ、ウマ、サル類なども使用されていた。

また江崎班員は、マウスにみられる遺伝性神経・筋疾患について調査し、50余りの突然変異形質について、特性の要約を報告した。

### II. 筋ジストロフィー症モデル動物の生産・供給ならびに飼育管理方法に関する研究

各研究者の要望によって、筋ジストロフィーモデル動物の生産・供給をおこなった。

水谷班員は、筋ジストロフィーニワトリを維持し、種卵の生産をおこなうとともに、各班員への供給をおこなった。3年間の供給数は累計約2万5千個となった。なお、江橋班員は、種卵配布の手続き、調整を分担した。

斉藤班員は、筋ジストロフィーマウスを維持、生産し、約1,500匹の筋ジストロフィーマウスを供給した。

野村班員は、筋ジストロフィーハムスターを米国より輸入する手続きをおこない、昭和56年より輸入を開始した。

一方、筋ジストロフィーニワトリの飼育・管理に関し、多くの班員から、その困難なことが指摘

\* (財)実験動物中央研究所

された。そこで、水谷班員は、飼育・管理についての基準を作製し、それを各班員に配布した。また斉藤班員は、実験中のニワトリがコクシジウムなどの病気に感染することを防御するための、ニワトリ用ビニールアイソレータを開発し、作製した。

### III. 筋ジストロフィー症モデル動物の開発

筋ジストロフィーニワトリの基礎的特性の検索、筋ジストロフィーニワトリの機能障害の検討、筋ジストロフィーニワトリの改良、および神経・筋異常についての新しいモデル動物の開発がなされた。

#### 1. 筋ジストロフィーニワトリの基礎的特性の検索

水谷班員は、現在使用されている筋ジストロフィーニワトリ413系と、その対照となる正常ニワトリ412系の遺伝的背景を検索した。同種自然凝集素、同種免疫抗血清、抗ウズラ赤血球ニワトリ血清、および植物性凝集素のいずれに対する反応においても、413系と412系の間に差がみられ、両系の遺伝的背景がかならずしも同一でないとする成績を得た。そして、このことは、両系でみられる特性の差を直ちに、筋ジストロフィーと正常との違いと関連させて論議することは危険であり、十分な配慮が必要であることを指摘した。

菊池班員は、正常ニワトリ、筋ジストロフィーニワトリ、およびそれらのF<sub>1</sub>ニワトリ(キャリア)について、組織学的、酵素組織化学的、および血液生化学的検索をおこなった。キャリアの浅胸筋において、1)巨大線維が一次筋束のなかに散在し、周辺を小径線維がとりかこむ、2)巨大線維の多核化や再生現象は、筋ジストロフィーニワトリより遅れるが、周辺の小径線維の場合は急激に進行する、3)筋線維の崩壊像、空胞形成は個体により差はあるが、一般には稀である。また、キャリアの血清PK活性は、孵卵後70~86日から正常ニワトリより有意に高くなる、などの知見を得た。

#### 2. 筋ジストロフィーニワトリの機能障害の測定法についての検討

従来、筋ジストロフィーニワトリの機能障害の測定としてflip testが広く用いられているが、この方法は定量的な測定には、かならずしも満足できるものではない。菊池班員は、前肢の肘関節伸展度を、翼膜縁—尺骨角(WEUA)を測定し、上腕骨—尺骨角(HUA)を算出し、この値を比較することによって、症状の進行度を知ることができることを見出した。この方法は、定量的な比較が可能であると同時に、ヘテロニワトリの異常の進行も測定することができる。

#### 3. 筋ジストロフィーニワトリの改良

前述のように、現在使用されている412系と413系は、それらの遺伝的背景がかならずしも同一でない、体型が大きいなどの欠点がみられる。そこで、遺伝的背景が明確で、小型の筋ジストロフィーニワトリの作出がおこなわれている。菊池班員は、白色レグホン岩谷系へ、水谷班員は、ファヨウミGSN/2系へ、筋ジストロフィー遺伝子を導入している。現在、もどし交配を継続中であるが、近い将来には、遺伝的背景が同一の対照ニワトリと筋ジストロフィーニワトリのライン

が育成されるであろう。

#### 4. 新しい神経・筋疾患モデル動物の開発

##### a. 鳥類におけるモデル動物の開発

近藤班員は、鳥類は飛翔という行動、卵生である特性を利用できる点で、実験動物として高い価値のあることを指摘している。そして、愛玩用、観賞用などの品種の中に生理的に特異的な筋をもつ系（シャモ、烏骨鶏）があり、これらが研究に利用できるであろう、と示唆している。

若杉、伊藤、水谷班員は、研究室および産業の場で飼育されているニホンウズラのなかから、神経・筋異常を呈するものを発掘することを試みている。若杉班員は、興奮すると頭を後に引きあげ、空を見上げるような姿勢をする（star-gazingに類似）異常を発見し、系統の育成ならびに異常発現様式についての検索をおこなっている。伊藤班員は、産業の場で発見された幾つかの羽色異常のウズラのなかから、ホモになると首をねじまげ、前方への回転を繰り返えず行動異常を発現するウズラを発見した。この異常ウズラは生後1週以内に死亡し、系統維持が不可能であるので、ヘテロの状態で、形質を保存している。これら2つの異常は、いずれも神経異常に起因するものであろう、と予想され、今後の検索が期待される。

水谷班員は、彼が飼育しているウズラのなかに翼が開かない個体を発見した。このウズラの子孫を得ると同時に、病理、生化学的検索をおこない、この異常がヒト糖原病Ⅱ型に類似していることを明らかにした。また、酸性マルターゼ値の低いものを選択することにより、糖原病モデルウズラの系を確立した。

##### b. マウスにおけるモデル動物の開発

江崎班員は、マウスを用い、神経・筋異常のモデル動物の発掘をおこなっているが、新たに、3種類の異常を発見し、検索を進めている。その1つは、生後200日頃に、後軀麻痺を発症するものである。この異常を発現する系は、リンパ性白血病を発症するものであるが、それらの50%以上に後軀麻痺が現われる。筋組織の検索によって、3種のタイプの異常がみられた。第1のタイプは、筋外より間質にそってリンパ球が浸潤し、重症のものでは、リンパ腫細胞の間に筋細胞が浮んでいるようになる。第2のタイプは、筋線維内にリンパ腫細胞が転移しているものである。第3のタイプでは、リンパ腫細胞の浸潤はみられず、筋壊死のみがみられるものである。この異常の検索はまだ不十分であるので、ヒト疾患との類似性を示すことはできないが、筋壊死の原因の検索などによって、興味ある知見が得られると期待される。

第2は、出生時に内反足様の症状を呈し、生長すると下垂足歩行をおこなうものである。この異常には、総腓骨神経の欠失または退行、前・外側下腿筋群の萎縮のみられることが明らかになっている。Charcot-Marie-Tooth型筋萎縮症あるいはWarding-Hoffman症のモデルとなる可能性がある。

第3の異常は、生後3週頃より、四肢関節が屈曲せず、つま先立ちで歩行するものである。症状は加齢とともに進行し、脊椎関節も固定し、体軀が強直したようになる。この異常では、関節部に無構造な石灰沈着がみられ、脊椎は軟骨部が骨化し、一本の棒のようになっている。肋骨の胸骨あるいは背骨関節部も骨化している。さらに、アキレス腱、ヒゲの毛包、血管壁にも石灰の沈着がみ

られる。詳細については検索中であるが、強直性脊椎炎、変形性関節症、骨軟骨代謝異常症、石灰代謝異常症、あるいはこれらの類似疾患のモデルとなる可能性をもっている。

### 反省点と将来への展望

1. 筋ジストロフィーニワトリの供給に関して、種卵を研究者に供給してきたが、採卵から孵卵までの貯蔵期間が長い、輸送が繰り返えられる、研究者の孵卵技術がかならずしも十分でない、などのために、供給卵数に比して、使用できるヒナの数が極めて少ないと云える。今後は、孵卵技術の安定している個所で孵化をおこない、ヒナを供給することを検討する必要がある。
2. モデル動物の開発・改良に関して、動物の異常を発見し、それを系統化する技術は可成り進歩していると云える。一方、発見された異常について、速やかに病理学的あるいは生化学的検索をおこない、ヒト疾患との類似性、相異性を検討するための研究組織は十分とはいえなかった。今後、この点の組織作りが必要である。
3. 動物の開発、系統の育成には、ある程度の年月が必要なことは云うまでもない。神経・筋疾患のモデル動物の開発・改良のためには、長期的な、かつ安定した研究体制を立てる必要があると考えられる。
4. 疾患モデル動物の開発には、自然発生の突然変異個体の出現を待つだけでなく、将来は、発生工学の手法を用いて、積極的に神経・筋疾患モデル動物を作成しうる研究体制をつくる必要がある。

# I. 筋ジストロフィー症に関する文献調査 (1980・1981)

野村達次\*

筋ジストロフィー症モデル動物の開発研究の一環として「疾患モデル動物」「哺乳類・トリ類における筋ジストロフィーとその近縁疾患」ならびに「筋ジストロフィーとその近縁疾患に関する動物実験」についての、文献調査をおこなっている。それらの中から、筋ジストロフィーに関する文献(1980~1981)を以下に紹介する。

## M I C E

Submandibular glands in mice with muscular dystrophy: Studies with nerve growth factor. Murphy, R.A., Watson, A.Y., et al. Anat. Rec., 200, 2, 177-94, 1981.

Serum creatine phosphokinase variations in dystrophic mice. Lieberman, J.S., Taylor, R.G. & Fowler, W.M., Jr. Exp. Neurol., 73, 3, 716-24, 1981.

Slowing of fast-twitch muscle in the dystrophic mouse. Parslow, H.G. & Parry, D.J. Exp. Neurol., 73, 3, 686-99, 1981.

Fiber type susceptibility in the dystrophic mouse. Parry, D.J. & Parslow, H.G. Exp. Neurol., 73, 3, 674-85, 1981.

The three-dimensional cytoarchitecture and pattern of motor innervation of branched striated myotubes. Ontell, M. & Feng, K.C. Anat. Rec., 200, 1, 11-31, 1981.

Phosphodiesterase activity in muscles of control and dystrophic mice. Garbagna, L., Cojazzi, M., Marcucci, F. & Mussini, E. Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol., 31, 3, 537-44, 1981.

Differences in enzyme efflux from dystrophic mouse skeletal muscle and heart. Morgan, J., Bozyk, M.E., Bittner, S. & Cohen, L. Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol., 30, 3, 555-76, 1980.

Plasma creatine kinase isoenzymes in the Bar Harbor dystrophic mouse. Nicholson, G.A. & Matheson, E. J. Neurol. Sci., 51, 1, 3-10, 1981.

Muscle fiber necrosis in murine dystrophy. Ontell, M. Muscle Nerve, 4, 3, 204-13, 1981.

.....  
財実験動物研究所

Altered acetylcholinesterase isozyme patterns in mice with hereditary muscular dystrophy. Kuhn, D.E., Logan, D.M. & Rathbone, M.P. *J. Exp. Zool.*, 216, 2, 213-33, 1981.

Rate and extent of functional reinnervation in fast-twitch and slow-twitch muscles of the dystrophic mouse (C57BL/6J DY2J/DY2J). Parry, D.J. & Melenchuk, S. *Exp. Neurol.*, 72, 2, 446-61, 1981.

Biochemical changes in progressive muscular dystroph. XI. Cyclic nucleotides in the skeletal and cardiac muscle of normal and dystrophic mice. Srivastava, U., Sebag, M. & Thakur, M. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 59, 4, 329-34, 1981.

The membrane morphology of the neuromuscular junction, sarcolemma, sarcoplasmic reticulum and transverse tubule system in murine muscular dystrophy studied by freeze-fracture electron microscopy. Ellisman, M.H. *Brain Res.*, 214, 2, 261-73, 1981.

Endocytosis in skeletal muscles of dystrophic mice and chickens. Jirmanova, I., Libelius, R., Lundquist, I. & Thesleff, S. *Folia Morphol. (Praha)*, 29, 2, 186-8, 1981.

Partial purification and characterization of the components of the neutral ribonuclease II-inhibitor system of normal and dystrophic mouse skeletal muscle. Little, B.W. & Meyer, W.L. *Can. J. Biochem.*, 59, 3, 220-31, 1981.

Ongoing block of schwann cell differentiation and deployment in dystrophic spinal roots. Perkins, C.S., Bray, G.M. & Aguayo, A.J. *Brain Res.*, 227, 2, 213-20, 1981.

Increased calcium accumulation by brain mitochondria in dystrophic mice. Frosthalm, A., Baudry, M. & Rennet, W.F. *Brain Res.*, 210, 1-2, 437-40, 1981.

Plasma enzyme determinations in normal and dystrophic mice. Morgan, J., Shanahan, W. & Cohen, L. *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.*, 31, 2, 341-56, 1981.

Control of abnormal guanine nucleotide concentration in dystrophic mouse muscle. Shuttlewood, R.J. & Griffiths, J.R. *Biochem. Soc. Trans.*, 9, 1, 74-5, 1981.

Developmental changes in glycopeptides synthesized by normal and dystrophic satellite cells in culture. Cossu, G., Pacifici, M., et al. *Exp. Cell Res.*, 132, 2, 349-57, 1981.

Immunologic function and cell surface antigen expression of lymphocytes of dystrophic mice. Ludwig, C.L., Kanellopoulos-Langevin, C., et al. *Cell Immunol.*, 59, 1, 138-50, 1981.

Necrotic extrafusal muscle fibers of the dystrophic mutant mouse: The ultrastructure of the myoneural junction. Ontell, M. & Haller, E. *Anat. Rec.*, 197, 4, 397-411, 1980.

Collagenase-releasable and -resistant cholinesterases in normal and dystrophic muscles. Sung, S.C. *Neurochem. Res.*, 5, 9, 935-41, 1980.

Membrane elasticity of erythrocytes from normal and dystrophic mice. Missirlis, Y.F., Vanderwel, M. & Brain, M.C. *Muscle Nerve*, 4, 2, 141-8, 1981.

Intracellular potassium activities in muscles of normal and dystrophic mice: An in vivo electrometric study. Charlton, M.P., Silverman, H. & Atwood, H.L. *Exp. Neurol.*, 71, 1, 203-19, 1981.

Fatty acid metabolism in skeletal muscle mitochondria from two strains of dystrophic mice. Martens, M.E. & Lee, C.P. *Can. J. Biochem.*, 58, 7, 549-58, 1980.

Ephaptic transmission between single nerve fibres in the spinal nerve roots of dystrophic mice. Rasminsky, M. *J. Physiol. (Lond)*, 305, 151-69, 1980.

Aberrant axon-schwann cell junctions in dystrophic mouse nerves. Rosenbluth, J. *J. Neurocytol.*, 8, 5, 655-72, 1979.

In vitro differentiation of satellite cells isolated from normal and dystrophic mammalian muscles. A comparison with embryonic myogenic cells. Cossu, G., Zani, B., et al. *Cell Differ.*, 9, 6, 357-68, 1980.

Skeletal muscle lipids in normal and dystrophic mice. Pearce, P.H. & Kakulas, B.A. *Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci.*, 58, 4, 397-408, 1980.

Dystrophic mouse muscles have leaky cell membranes. Molak, V., Stracher, A. & Erlij, D. *Exp. Neurol.*, 70, 2, 452-7, 1980.

Esterase activity in the skeletal muscles of dystrophic and normal mice. Bianchi, R., Pagliacci, E., Spreafico, F. & Mussini, E. Biomedicine [Express], 33, 4, 116-9, 1980.

Animal models of muscle diseases. Part III: Compilation of therapeutic trials for hereditary muscular dystrophy. Cosmos, E. & Butler, J. Muscle Nerve, 3, 5, 427-35, 1980.

Effects of slow frequency electrical stimulation on muscles of dystrophic mice. Luthert, P., Vrbova, G. & Ward, K.M. J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry, 43, 9, 803-9, 1980.

Surface density of T tubules in normal and dystrophic mouse muscle. Silverman, H. & Atwood, H.L. Exp. Neurol., 70, 1, 40-6, 1980.

Animal models of muscle diseases. Part II: Murine dystrophy. Cosmos, E., Butler, J., Mazliah, J. & Allard, E.P. Muscle Nerve, 3, 4, 350-9, 1980.

Characterization of ATPase in sarcoplasmic reticulum from two strains of dystrophic mice. Neymark, M.A., Kopacz, S.J. & Lee, C.P. Muscle Nerve, 3, 4, 316-25, 1980.

Skeletal muscle protein and amino acid metabolism in hereditary mouse muscular dystrophy. The role of disordered cyclic nucleotide metabolism in the accelerated alanine and glutamine formation and release. Garber, A.J., Birnbaumer, L., et al. J. Biol. Chem., 255, 17, 8325-33, 1980.

Skeletal muscle protein and amino acid metabolism in hereditary mouse muscular dystrophy. Accelerated protein turnover and increased alanine and glutamine formation and release. Garber, A.J., Schwartz, R.J., et al. J. Biol. Chem., 255, 17, 8315-24, 1980.

Animal models: What is their relevance to the pathogenesis of human muscular dystrophy? Harris, J.B. & Slater, C.R. Br. Med. Bull., 36, 2, 193-7, 1980.

Studies of muscular performance in normal and dystrophic subjects. Edwards, R.H. Br. Med. Bull., 36, 2, 159-64, 1980.

Skeletal muscle: Regeneration and transplantation studies. Sloper, J.C. & Partridge, T.A. Br. Med. Bull., 36, 2, 153-8, 1980.

## CHICKENS

Enhanced functional ability in drug-treated dystrophic chickens: Trial results with indomethacin, diphenylhydantoin, and prednisolone. Hudecki, M.S., Pollina, C.M., Heffner, R.R. & Bhargava, A.K. *Exp. Neurol.*, 73, 1, 173-85, 1981.

Serum IgG levels in the Storrs strain of hereditary muscular dystrophic chickens. Sanders, B.G., Kline, K. & Morton, C.J. *Biochem. Genet.*, 18, 11-12, 1149-58, 1980.

Enzymatic activity of dystrophic chicken sarcoplasmic reticulum. Hanna, S., Kawamoto, R., McNamee, M. & Baskin, R.J. *Biochem. Biophys. Acta*, 643, 1, 41-54, 1981.

Endocytosis in skeletal muscles of dystrophic mice and chickens. Jirmanova, I., Libelius, R., Lundquist, I. & Thesleff, S. *Folia Morphol. (Praha)*, 29, 2, 186-8, 1981.

Creatine kinase isozyme transition in chicks with hereditary muscular dystrophy. Stewart, P.A., Percy, M.E., Chang, L.S. & Thompson, M.W. *Muscle Nerve*, 4, 2, 165-73, 1981.

Avian muscular dystrophy: Thyroidal influence on pectoralis muscle growth and glucose-6-phosphate dehydrogenase activity. King, D.B., King, C.R. & Jacaruso, R.B. *Life Sci.*, 28, 5, 577-85, 1981.

In vivo effects of protease inhibitors on chickens with hereditary muscular dystrophy. Hudecki, M.S., Pollina, C.M. & Heffner, R.R. *J. Clin. Invest.*, 67, 4, 969-74, 1981.

Phenytoin, methysergide, and penicillamine in hereditary muscular dystrophy of the chicken. Entrikin, R.K., Patterson, G.T. & Wilson, B.W. *Exp. Neurol.*, 72, 1, 82-90, 1981.

Intracellular concentration of elements in normal and dystrophic skeletal muscles of the chicken. Misra, L.K., Smith, N.K., Chang, D.C., et al. *J. Cell Physiol.*, 103, 2, 193-200, 1980.

The effects of dietary selenium and vitamin E on avian white muscle disease as measured by both chemical and physical parameters. Gill, T.A., Sundeen, G.B., Richards, J.F. & Bragg, D.B. *Poult. Sci.*, 59, 9, 2088-97, 1980.

Parallel regulation of acetylcholinesterase and pseudocholinesterase in normal, denervated and dystrophic chicken skeletal

muscle. Silman, I., Di Giamberardino, L., et al. *Nature*, 280, 5718, 160-2, 1979.

Animal models of muscle diseases. Part III: Comilation of therapeutic trials for hereditary muscular dystrophy. Cosmos, E. & Butler, J. *Muscle Nerve*, 3, 5, 427-35, 1980.

Electrical properties of muscle membrane and of neuromuscular junctions in normal and dystrophic chickens. Korenga, S. *JPN J. Physiol.*, 30, 3, 313-31, 1980.

Effect of leupeptin on protein turnover in normal and dystrophic chicken skeletal muscle cells in culture. Riebow, J.F. & Young, R.B. *Biochem. Med.*, 23, 3, 316-23, 1980.

Screening of antiserotonergic drugs with the genetically dystrophic chicken. Hudecki, M.S., Pollina, C.M., Bhargava, A.K. & Hudecki, R.S. *Arch. Neurol.*, 37, 9, 545-50, 1980.

Animal models: What is their relevance to the pathogenesis of human muscular dystrophy? Harris, J.B. & Slater, C.R. *Br. Med. Bull.*, 36, 2, 193-7, 1980.

Morphological changes in dystrophic muscle. Cullen, M.J. & Mastaglia, F.L. *Br. Med. Bull.*, 36, 2, 145-22, 1980.

Microtubules and Duchenne muscular dystrophy. Shay, J.W., Cook, J., Fuseler, J.W., et al. *Trans. Am. Neurol. Assoc.*, 104, 12-5, 1979.

#### HAMSTERS

Erythrocyte life-span in dystrophic hamsters. Toffelmire, E.B. & Boegman, R.J. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 58, 10, 1245-7, 1980.

Nerve physiology in hamster dystrophy. Hunter, E.G. & Elbrink, J. *Proc. West Pharmacol. Soc.*, 24, 49-51, 1981.

Axonal transport in dystrophic hamsters. Boegman, R.J. & Wood, P.L. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 59, 2, 202-4, 1981.

Cholinesterase in muscle of dystrophic hamsters (BIO-40.54). Henderson, N.S., Tweedle, C.D. & Kabara, J.J. *Neurochem. Res.*, 5, 12, 1221-30, 1980.

Growth of neonatal hamster skeletal muscle in culture. Tautu, C., Jasmin, G. & Solymoss, B.C. *Muscle Nerve*, 4, 2, 149-54, 1981.

Incorporation of amino acids into soluble and membrane protein fractions of dystrophic hamsters. Nicholls, D.M., Creasy, R.C., Chin-See, M.W., et al. *Biochem. J.*, 190, 2, 341-8, 1980.

Surface-membrane defects in muscular dystrophy. Pennington, R.J. *Biochem. Soc. Trans.*, 8, 6, 690-2, 1980.

Protein synthesis and degradation in skeletal muscle of normal and dystrophic hamsters. Li, J.B. *Am. J. Physiol.*, 239, 6, E401-6, 1980.

Animal models of muscle diseases. Part III: Compilation of therapeutic trials for hereditary muscular dystrophy. Cosmos, E. & Butler, J. *Muscle Nerve*, 3, 5, 427-35, 1980.

On the ultrastructure of primary cultures of normal and dystrophic hamster tongue muscle. Thakar, J.H., Thede, A. & Strickland, K.P. *Muscle Nerve*, 3, 4, 340-4, 1980.

Cobra venom cardiotoxins as probes of altered membrane structure in dystrophic skeletal muscle. Parker, C.J., Jr. & Hudson, R.A. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 100, 2, 746-52, 1981.

Animal models: What is their relevance to the pathogenesis of human muscular dystrophy? Harris, J.B. & Slater, C.R. *Br. Med. Bull.*, 36, 2, 193-7, 1980.

Tissue culture of dystrophic muscle cells. Thompson, E.J. *Br. Med. Bull.*, 36, 2, 181-5, 1980.

Morphological changes in dystrophic muscle. Cullen, M.J. & Mastaglia, F.L. *Br. Med. Bull.*, 36, 2, 145-, 1980.

Similar in vitro fatigue patterns of normal and BIO 40.54 dystrophic hamster extensor digitorum longus muscle. Kozachuk, W.E., Oteruelo, F.T. & Bressler, B.H. *Exp. Neurol.*, 65, 1, 29-41, 1979.

#### R A T S

A biochemical and ultrastructural study of skeletal muscle from rats fed a magnesium-deficient diet. Robeson, B.L., Martin, W.G. & Friedman, M.H. *J. Nutr.*, 110, 10, 2078-84, 1980.

Skeletal muscle: Regeneration and transplantation studies. Sloper, J.C. & Partridge, T.A. *Br. Med. Bull.*, 36, 2, 153-8, 1980.

## RABBITS

Immunologic function and cell surface antigen expression of lymphocytes of dystrophic mice. Ludwig, C.L., Kanellopoulos-Langevin, C., et al. Cell Immunol., 59, 1, 138-50, 1981.

## SWINE

Synthetic oligopeptide substrates: Their diagnostic application in blood coagulation, fibrinolysis, and other pathologic states. Huseby, R.M. & Smith, R.E. Semin. Thromb. Hemostas., 6, 3, 175-314, 1980.

[Methodic aspects of creatine-kinase-test (CK-test) in pigs] Bickhardt, K. & Richter, L. DTW, 87, 8, 296-8, 1980 (DE).

## SHEEP

Trophic activity of sheep sciatic nerve extracts in skeletal muscle cultures from normal and dystrophic chick embryos: Failure of dystrophic muscle to respond. Johnson, D.D., Bailey, S. & Wenger, B.S. Exp. Neurol., 73, 2, 421-9, 1981.

An outbreak of white muscle disease in lambs born of ewes on a zero grazing system in natal. Bryson, R.W. & Zumpt, G.F. J.S. Afr. Vet. Assoc., 50, 3, 159-60, 1979.

## Ⅱ. 筋ジストロフィー症動物の生産 と飼育管理方法の研究

### 1. 筋ジストロフィー症動物の生産・供給

水谷 誠<sup>\*</sup>, 江橋節郎<sup>\*\*</sup>, 斉藤宗雄<sup>\*\*\*</sup>

研究協力者 布谷鉄夫<sup>\*</sup>, 日置恭司<sup>\*\*\*</sup>

前年度に引き続き筋ジストロフィーニワトリおよびマウスを生産し、厚生省神経疾患研究委託費による各研究班へ供給した。

また本年度は、従来から供給していた筋ジストロフィーニワトリおよびマウスに加えて、各班から要望のあった筋ジストロフィーハムスターを、米国BIO Research Inc. より輸入し、各班員へ供給した。

#### 1. 筋ジストロフィーニワトリの生産・供給

種卵の生産コロニーとして、筋ジストロフィー発症ラインNH-413の雄10、雌40、合計50羽および対照正常ラインNH-412の雄10、雌30、合計40羽を維持している。

前年度、生産コロニーの老令化により種卵の生産率が低下したため、これらのコロニーを更新した。しかしながら、前年度中に、全部の更新が行なえず、一部が今年度に延引した。このため、生産数は次第に向上しているが、本年度の種卵供給数は約6,000個で、次年度以降は7,000個以上を供給できるみとおしである。

#### 2. 筋ジストロフィーマウスの生産

筋ジストロフィーマウスの生産コロニーとして約200匹の種マウスを維持し、年間約700匹の筋ジストロフィーマウスおよび約900匹の正常マウスを生産・供給した。

#### 3. 筋ジストロフィーハムスターの供給

従来、本研究班では筋ジストロフィーニワトリおよび筋ジストロフィーマウスの生産・供給を実施してきたが、今年度は、新たに筋ジストロフィーハムスターを輸入、400匹を供給した。

なお、将来は当研究班において維持・繁殖することを検討する。

---

\* (財)日本生物科学研究所

\*\* 東京大学医学部

\*\*\* (財)実験動物中央研究所

## 2. 筋ジストロフィーチキンの飼育管理とその問題点

齊藤宗雄\*

研究協力者 松崎哲也\*

筋ジストロフィー症の研究の進展に伴ない、近年、筋ジストロフィー症チキン(筋ジスチキン)を使用する研究者が増えている。

一方、筋ジスチキンは胸筋が弱いため、一度倒れると自力では起きあがれない。また、感染症に弱く動物実験の場では、コクシジウム症と思われる病気によって、斃死するが多い。

このことは、筋ジスチキンをを用いた動物実験の障害となるばかりでなく、実験成績をしばしば狂わせる原因となる。

このような状況にかんがみ、我々は昭和54、55、56年にわたって、筋ジスチキンのいくつかの飼育を試みた。そこで、ここでは、それらの飼育管理を比較し、今後、筋ジスチキンをを用いた研究において、実験動物学の立場から解決されなければならない問題について考察した。

### 1. 筋ジスチキンのいくつかの飼育管理

筋ジスチキンの飼育管理は、維持・繁殖を目的としたものと動物実験を目的としたものに大別される。さらにそれらは、飼育施設の状況に応じて、コンベンショナルな飼育、SPF状態での飼育ならびにビニールアイソレータを用いた飼育が考えられる。以下、これらの飼育状況について説明する。

#### 1) 繁殖、生産場の飼育管理

現在、筋ジスチキンの維持と生産は、山梨県八ヶ岳高原にある、財団法人日本生物科学研究所附属実験動物研究所でおこなわれている。(写真1, 2) ここでの筋ジスチキンの飼育施設は木造トタン屋根で、床は土間、換気扇のみで空調機は設置されていない。感染防御施設(例えばSPF動物舎)としては充分とはいえない。また飼育器材等の定期的な滅菌もおこなっていない。

しかしながら、この地域は周囲に人家は少なく、ニワトリの飼育場はない。東京からは比較的遠方であり外来者も少ない。飼料は施設内で製造し、水は井戸水である。動物は自家繁殖動物のみで、外部からの導入はほとんどなく、まれに搬入する資材は、隔離、消毒などを厳重におこなっている。

筋ジスチキンの生産は、このような飼育環境で7年間にわたって維持・繁殖が事故なくおこなわれている。これらのことは動物飼育施設の周辺環境が良く、外来者、搬入物品等に十分な注意を

\* (財)実験動物中央研究所

払うことによって、コンベンショナルな施設でも、病気の感染を防ぎ、長期の飼育が可能なことを示している。

## 2) 動物実験施設での飼育管理

### (1) 通常（コンベンショナル）の動物実験の場合

筋ジストキチンを用いた通常飼育室における動物実験は、各地の研究室で、いろいろな飼育実験がおこなわれている。そこで、ここでは、飼育技術者が信頼でき、飼育記録が明確で、途中飼育方法の改善をおこなった動物室の一例を示す。

#### i 改造前

飼育室は通常、白色レグホン種を用いた実験がおこなわれているニワトリ用飼育実験室であった。昭和54年10月より、筋ジストキチンの飼育にその一角をあてた。飼育室は空調機付きで、温度、湿度ともコントロールされていた。飼育器材は筋ジストキチン専用とし、他との共用は避けたが、滅菌はおこなわなかった。飼育者にはニワトリ係専任者がたずさわった。しかし、飼育室へは白色レグホンの実験も含めて不特定多数の実験者が常時出入りしていた。

筋ジストキチンの実験は、研究班から供給された受精卵を、隣接した洗滌室に設置された孵卵器で孵化し、飼育室内に移し育雛した。実験用ケージには10週令で移した。

数回にわたっておこなわれた飼育実験では、孵化率の低下、ヒナの死亡、成鶏の下痢、血便が多発した。このような現象はコクシジウム症の典型である。

日本の産業用ニワトリのほとんどがコクシジウムに汚染されており、動物実験に使用されるニワトリも、その流用であることから、例外とはいえない。この動物室のコクシジウム汚染は濃厚で、使用前に動物室を消毒し、飼育器材を別けてみても、コクシジウムの伝播を防ぐことはできなかった。

#### ii 改造後

そこで、その動物室で飼育されているニワトリ（白色レグホンも含む）すべてを処分し、動物室ならびに洗滌室などを洗滌消毒し、飼育管理方法を根本的に改善した。

すなわち、飼育室は従来と同じであるが、飼育動物は筋ジストキチンのみを収容し、飼育者は専任とするのみならず、実験者の入室も限定し、入室にあたっては専用の作業衣、履物を着けるようにした。オートクレーブを設置し、飼育器材の滅菌を定期的におこなうようにした。

その結果、その後、数回にわたっておこなわれた飼育実験では、ヒナの死亡、成鶏の下痢、血便などはなくなり、発育も良好で、コクシジウム症は排除されたと推定された。

### (2) SPF動物施設における飼育実験の場合

実験動物分野で普及している、SPF動物施設（Barrier System と呼ぶこともある）では、外からの病原体の感染を防御するために、次のような飼育管理が成される。すなわち、導入される動物は、SPFとして信頼のおける動物を感染のない経路で搬入する。飼育器材はすべて、両扉の

オートクレーブを用いる。その方法は外側（汚染域）の扉を開け器材を入れ、蒸気滅菌後内側（清浄域）の扉を開け滅菌済器材を搬入する。飼育者ならびに実験者は汚染側の更衣室で全裸となり、シャワーを浴び、清浄側の更衣室で、滅菌済作業衣を着用して、清浄区域内に入室する。空気は、高性能（HEPA）フィルターを通し除菌され、温度20～23℃、湿度50～60%に調節されて送られる。飼育室の構造は気密で、壁、床、天井等は消毒がおこない易いものである。このような動物舎は、マウス、ラットを始め感染防御飼育室として広く利用されている。

そこで、この動物施設の1つの動物室を用い、筋ジスチキンの飼育実験をおこなった。

筋ジスチキンの飼育管理は次のようである。

受精卵は、輸送の影響を少なくするため、繁殖場より直接入手した。対象とした卵は、NH-412系20個、NH-413系60個である。

孵化は、昭和卵器研究所製P-008型卵器を用い、ホルマリン消毒後入卵した、検卵は4日目と10日目に行なった、発生枠には19日目に下した。

SPF動物室には、孵化直後のヒナを、滅菌輸送箱に入れ、バスボックスを通して搬入した。飼育器材はすべて滅菌又は消毒した。飼育者はニワトリ係専任とした。飼料は3Mrad $\gamma$ 線照射済のものを用いた、水は水道水をそのまま与えた。搬入ヒナは、30日迄育雛器で飼育し、以後、中離用ケージに収容した。

その結果、2ヶ月令迄の飼育実験でヒナの死亡、下痢は全く見られず、発育も順調であった。

このようなことから、SPF動物舎においては、筋ジスチキンの飼育は可能であり、コクシジウム等の発生も防止できた。

### (3) ビニールアイソレータによる、筋ジスチキンの飼育実験

無菌動物飼育装置（ビニールアイソレータ）は、外界からの感染を確実に絶つことのできる、簡易な飼育装置である。この装置は、1956年、P.C. Trexlerの考案によるものである。その概要は、軟質塩化ビニール製の120×60×60cmほどの大きさの袋（ビニール本体）に動物を収容し、空気は、細菌を完全に汚過できるフィルターを通して送り、同じ性能のフィルターを通して排出する。飼料、その他飼育器材は専用の特殊滅菌缶に入れ、高圧蒸気滅菌し、物品搬入口より術式に順って搬入する。飼育操作は、ビニール本体に密着した長い手袋を介しておこなう。

このようなビニールアイソレータは、長期にわたり、微生物感染を確実に絶つことができるので、無菌動物の飼育実験に広く用いられている。また、本体が軟質ビニールフィルムであるので、飼育する動物種や、実験目的によって種々の形のもを製作することも容易である。とくに、動物実験において、小数の動物を微生物感染から防止するには、大きさも適当で、価格も比較的安価であり、実験台サイドにも置けることから、筋ジスチキンの実験用飼育装置として適当であると考えられた。

従来、ニワトリ用アイソレータとしては、NIH, USAにおける白血病フリー卵採取用など、一般に大型のものが使用されている。我々は、実験用として、小型で取扱い易いことを目的として、筋ジスチキン用アイソレータを製作した。

試作したビニールアイソレータは、写真3, 4に示すものである。ビニール本体の大きさは120×90×90cmで、その底より10cmの位置に金網を敷いた。手袋は両側に2双、物品搬入口は、直径45cmのもの、30cmのもの2個を取付けた。フィルターは給気、排気とも同型の円筒型とした。ブローアは70Wのもので、換気回数は12回/時間である。

このアイソレータの使い方は、基本的にはマウス、ラット用アイソレータに準じた。但しビニール本体の滅菌にはエチレンオキサイドガスを用い、飼料は3Mrad r線照射滅菌した。

筋ジスチキンの飼育は次のように行なった。

受精卵は繁殖場より直接導入し、孵卵器には、ホルマリン消毒後入卵した。

ビニールアイソレータへは、孵化直前の卵を育雛用アイソレータのジャーミサイドトラップを通して搬入した。孵化のためにアイソレータの底に保温マットを敷いた。育雛はそのまま放飼いとし、給餌は孵化後2日目より、予めアイソレータ内に搬入してある、飼料を床にまいた。水はオートクレーブで滅菌したものを与えた。汚物処理は週2回、床に留った残余飼料および糞尿をすて、新しい紙と交換した。(床には滅菌新聞紙を敷いてある。)

前述のニワトリ用アイソレータには、育雛30日目に移した。アイソレータ内では筋ジスチキンは放飼いとし、飼料は滅菌済のものを給餌器で、水は滅菌したものを給水器で与えた。また爪と嘴はビニール製本体が破られるのを防ぐために、ニッパーで切断した。

その結果、ビニールアイソレータ内で筋ジスチキン18羽を孵化し、育雛2ヶ月迄16羽を得ることができた。これらのチキンの発育は良好で、微生物的には極めて清浄であった。

このように、筋ジスチキンはビニールアイソレータで飼育できることが判った。この飼育方法は微生物統御が確実であることから、動物実験用飼育に利用されるばかりでなく、マウス、ラットなどの大量生産に応用されているように、繁殖、生産群の感染事故対策の一環として、原種維持への応用も考えられる。

以上、筋ジスチキンについて、いくつかの飼育方法を試みた。その結果、いずれの飼育方法によっても、①汚染チキンと同居しない、②汚染した作業者と接しない、③飼育器材は熱による消毒あるいは滅菌をおこなうなど、基本的な感染防御の心づかいがおこなわれれば、環境が、コンベンショナル動物室、SPF動物室あるいはビニールアイソレータであっても、正常な発育が得られる。

動物は、ヒト同様呼吸し、毎日エサを食べ水も飲む、糞尿も排泄する。1日1回動物の状態を観察するなどの心づかいが、飼育管理をとどこおりなく行なうために最も重要なコツである。

## 2. 筋ジスチキン飼育管理の今後の問題点

筋ジスチキンを用いた動物実験は、従来実験動物分野でとられている、微生物感染を防止する方法により、飼育はとどこおりなくおこなえることが判った。

とはいえ、筋ジスチキンを実験動物としてみた場合、改良すべき点が多い。飼育器具器材についてみると、現在用いられているものは、大量の飼育を目的とした、畜産用のもので、少数の動物を

いくつかの群で扱うような、実験動物用として造られたものは少ない。今後、孵卵器、育雛器、成鶏ケージならびに飼育装置の開発、改良が待たれる。

一方、孵化率の問題もある。表に、前述の飼育実験における入卵数に対する得られたヒナの数（孵化率）と、5週令迄の育雛率を示した。育雛率は90%前後でいづれの飼育場でも良好であった。

飼育場間の孵化・育すう成績の比較

	入卵年月	系 統	入卵数	孵化数	孵化率	5週令育すう率
繁 殖 場 (日生研)	56. 4	NH-412	59個	28羽	47.5%	89.3 %
	〃	NH-413	45	24	53.3	79.2
	10	GSN	35	15	42.8	93.3
共 同 研 究 (実中研)	56. 7	NH-412	20	13	65.0	92.3
	〃	NH-413	60	28	46.7	96.4
	10	GSN	49	18	36.7	88.4
S 機 関	56. 9	NH-412	40	17	42.5	100.0 (7日令)
	〃	NH-413	70	28	40.0	100.0 ( 〃 )
	54. 10	NH-412	36	25	69.4	※92.0 ( 〃 )
		NH-413	60	19	31.6	※89.4 ( 〃 )

※ 下痢多発、治療剤使用

但し下痢がみられた場合もある。しかしながら、筋ジスチキンの孵化率はいづれの場合でも40%前後で極めて悪い。これは繁殖場においても同程度で、筋ジスチキン自体の問題ともいえる。

ニワトリ受精卵の孵化率は、採卵鶏の年令、採卵の時期ならびに採卵後入卵迄の期間や、その保存状況に著しく影響を受けると言われている。とくに、高温や振動の影響は大きい。そこで、筋ジスチキン研究班の受精卵の配布経路を省りみると、山梨県小淵沢で採卵された卵は、15℃の冷室に保存され、2週間に1回トラックで東京本郷の一時抑留所に届けられる。ここに保存された卵を、研究者がいろいろな輸送手段で各地の研究機関に引きとり、その後孵卵器に入卵している現状である。この間、短時間で振動も少ない場合の障害は比較的少ないが、長距離を輸送する場合の障害は、かなり大きいものと予想される。

孵化率30%の場合、100個の卵の分与があっても、得られるヒナは30羽で、オスメスを別けた場合、15羽前後の実験群が得られるに過ぎない、この状況にコクシジウム等の感染症が発生すると、実験そのものがむづかしくなる。

今後、生産された筋ジスチキン受精卵を動物実験に有効に使うためには、輸送によるロス、孵化技術によるロス、性差のロスをなくすべく、すでに畜産の分野などで行なわれている、孵化直後のヒナの配布が検討されるべきである。なお、ニワトリの輸送は、孵化直後のヒナが最も強いと言われている。

筋ジストロフィー症研究進展のために、今後、実験動物としての筋ジスチキンの検討が望まれる。

文 献

- 1) 近藤恭司：実験動物としてのニワトリ。実験動物学各論，田嶋嘉雄編，朝倉書店，1972。
- 2) 水谷誠：わが国における筋萎縮症ニワトリの繁殖。実験動物，26(3) 288~289，1977。
- 3) 前島一淑，田嶋嘉雄，野村達次：Germfree, Gnotobiotte ならびにSPF。実験動物学総論，田嶋嘉雄編，朝倉書店，1970。
- 4) Trexler, P.C. and Reynolds, L.I. : Flexible film apparatus for the rearing and use of germ-free animals. Applied Microbiology, 5, 406-412, 1957.
- 5) 齊藤宗雄：ビニールアイソレータとその使用法。クレアニュース，No.8, 1, 1969。
- 6) 齊藤宗雄：筋ジストロフィーニワトリ飼育用アイソレータの開発。昭和54，55年度厚生省神経疾患委託研究「筋ジストロフィーニワトリの生産・開発に関する研究」報告書。



写真 1. 財団法人 日本生物科学研究所（日生研）  
附属 実験動物研究所全景



写真 2. ニワトリ 飼育室内部（日生研）



写真3. ニワトリ飼育用ビニール アイソレータ



写真4. アイソレータ内で飼育中の筋ジスチキン

### Ⅲ. 筋ジストロフィー症モデル動物の開発

#### 1. ニホンウズラにおける疾患モデル系統の開発

若杉 昇\*, 近藤 恭司\*

##### 1. 実験動物としてのニホンウズラ

実験動物としてのニホンウズラは次のような利点を有する。(1)小型であるため飼育管理が容易である。(2)性成熟が早い世代更新を早く行うことができる。(3)産卵率が高いため一定数の交配より多数の子孫を得ることができる。(4)野生種との交配が可能である。<sup>1, 2)</sup> しながらニホンウズラは家禽としての歴史が浅くニワトリの品種に相当するものがないこと、言いかえれば遺伝的多様性に欠けることが実験動物としては不都合な点である。生物学、医学における研究は多種多様であるため多数の系統が用意され、それぞれの研究の目的に合致した系統を選出できることが望ましい。

系統育成の第一段階は突然変異遺伝子を発見しその特徴を反映した特性ある系統を育成することである。疾患モデル系統も同様に異常形質を示す個体を発見し系統化することによって育成することができる。本研究においては数種類の羽装に関する突然変異を使用してニホンウズラにおける系統育成を試みた。この過程において耳口の異常を示す個体および行動異常を示す個体が発見されたのでこれらを基礎にして神経疾患のモデル系統を育成できる可能性が示唆された。以下に系統育成の過程および発見された異常形質について述べる。

##### 2. 突然変異遺伝子

野生型羽装系統および以下の8種類の突然変異遺伝子を保有する8系統、合計9系統の育成を試みた。遺伝子記号に関しては異った名称でもって二重に命名されたものをカッコ内に示した。

###### A. 伴性劣性遺伝子

##### (1) 不完全アルビノ、伴性白 $al$ ( $Sw$ 、 $C^{sw}$ )

眼は赤色で白色羽装を示すが背部の羽毛に薄灰色の斑点 (ghost barring) が出現する。<sup>3, 4)</sup>

##### (2) 赤目ブラウン、シナモン $c$ ( $reb$ )

眼は暗赤色で羽毛は薄茶色である。上記の  $al$  座位に位置し不完全アルビノに対して優性であるがヘテロ型雄 ( $reb/al$ ) はホモ型雄 ( $reb/reb$ ) または雌 ( $reb/o$ ) よりやや淡い羽色を示す。<sup>5, 6)</sup> 外国において発見された暗色眼淡色羽 ( $al^D$ ) と同じ遺伝子である可能性が高い。<sup>7)</sup>

##### (3) ブラウン $br$ ( $e$ 、 $b$ )

眼は正常で羽毛は褐色である。上記二つの遺伝子とは異った座位に位置する。両遺伝子座間の組換え率は約35%である。<sup>5, 6)</sup>

\*名古屋大学農学部

これら三つの伴性遺伝子に関しホモ型の雄と野生型羽装の雌との交配より得られた雛では十文字遺伝により雄は野生型羽装、雌は突然変異型羽装（不完全アルビノ、赤目ブラウン、またはブラウン）になり、羽色でもって雌雄鑑別を行うことができる。不完全アルビノまたは赤目ブラウンを使用した場合には網膜への色素沈着の有無によって孵卵4～5日においてすでに胚の性別を知ることができる。

#### B. 常染色体性遺伝子

##### (4) 優性黒色羽装、ブラウン $E (+^D, DB)$

ヘテロ型は濃褐色羽装を示し、ホモ型は黒色羽装を示す。両者とも正常な繁殖力を有する。<sup>7,8)</sup>

##### (5) シルバー $B(S)$

ヘテロ型は胸、腹および翼の先端の羽毛が白色でその他の部位の羽毛は灰色である。ホモ型は生存力が弱く大部分が孵化後1週間以内に死亡するが稀に成体が得られることもある。白色羽装を示し網膜の中心部に円形の色素欠損部位が存在する。<sup>6,9)</sup>

##### (6) 黄色致死遺伝子 $Y$

ヘテロ型羽毛は野生型羽毛に比べ黄色部分の面積が大きく全体として黄金色にみえる。ホモ型致死胚は受精後約24時間で死亡する。<sup>6,10)</sup>

##### (7) 白色羽装 $W$

ヘテロ型は淡野生色（灰褐色）羽装を示す。ホモ型は半致死で孵化後1週間以内にほとんどすべてが死亡する。羽毛は白色であるが皮膚は黒色である。<sup>6)</sup>

##### (8) 黒色初毛致死遺伝子 $Bh$

ヘテロ型は孵化時全身が黒っぽく頭部および背部の縦縞が消失しているかまたは不明瞭である。成体になると野生型羽装との違いが明瞭でなくなるが注意すれば容易に区別できる。ホモ型は孵卵6日前後において全身皮下出血および肝臓組織の変性を示して死亡する。<sup>11)</sup>

### 3. 系統育成方式の検討

最初にマウスで行われている兄妹交配方式がウズラにおいても可能であるかどうかを検討したが近交退化が著るしく、この方法による系統育成は極めて困難であることが明らかにされた。<sup>6)</sup> その後、種々の方式について検討を行ったが3～4ペアーのローテーション交配によって維持する系統を三つ用意し相互の間で定期的に個体を交換して繁殖力および生存力の低下を防ぎながら系統育成を行っていく方法が可能であることが示唆され、現在は三つの提携群に属する9系統：第1群；伴性アルビノ系統（SW）、赤目ブラウン（REB）およびブラウン系統（B）、第2群；優性黒色羽装系統（DB）、野生型羽装系統（WP）およびシルバー系統（S）、第3群；黄色羽装系統（Y）、白色羽装系統（W）および黒色初毛系統（BH）を維持している。

### 4. 免疫学的標式遺伝子ならびに生化学的標式遺伝子の均一化

免疫学的形質に関しては血液型の均一化を目的として血液型判定用抗血清の開発を行い、次の3

種類の抗血清を作製した。<sup>12)</sup>

(1) QN 1 抗血清：同種正常血清より作製されたもので、114羽のウズラの正常血清を採取して8羽のウズラの赤血球に対する凝集反応を調べたところ1例において特異凝集素が発見され、これをQN 1 抗血清とした。

(2) R 抗血清：兎の正常血清より作製されたもので、4羽の兎の正常血清を調べたところ1例がウズラ赤血球に対して異った凝集力価を示した。吸収操作により単一の特異性を有する抗血清を調整することができ、これをR 抗血清とした。

(3) H 抗血清：ホルスタイン牛および見島牛それぞれ5頭の正常血清を調べたところ1頭のホルスタイン牛の血清がウズラ赤血球に対し異った凝集力価を示した。吸収操作により特異抗血清を作製することができ、これをH 抗血清とした。

これら3種類の抗血清によって検出される赤血球抗原が遺伝子によって支配されているかどうかを交配実験を行って調べたところ、それらは別々の座位に位置する常染色体性の優性遺伝子によって支配されていることが明らかになった。またこれらの抗原を有する個体と有しない個体との組合せによる同種免疫によって同じ特異性をもつ抗血清を再生産することができ、3種類の抗血清QN1、RおよびHをそれぞれA、BおよびC抗血清と命名し直した。これらの抗原の有無に関し毎世代淘汰選抜を行って前述の9系統の血液型の統一化をはかり表現型において表1に示されているような統一性を得た。

表 1. 9系統のニホンウズラの遺伝学的特徴

系 統	羽装遺伝子	血 液 型			Amy-1
		QN1	R	H	
伴性白色羽装 (SW)	<i>al/al, al/o</i>	-	+	+	<i>a, b</i>
赤目ブラウン (REB)	<i>reb/reb, reb/o</i>	-	+	+	<i>a, b</i>
ブラウン (B)	<i>b/b, b/o</i>	-	+	+	<i>a, b</i>
優性黒色羽装 (DB)	<i>E/E, E/+, +/+</i>	-	-	-	<i>a</i>
野生型羽装 (WP)	<i>+/+</i>	-	-	-	<i>a</i>
シルバ (S)	<i>(B/B)*, B/+, +/+</i>	-	-	-	<i>a</i>
黄色羽装 (Y)	<i>Y/+, +/+</i>	+	-	-	<i>a</i>
白色羽装 (W)	<i>(W/W)*, W/+, +/+</i>	+	-	-	<i>a</i>
黒色初毛 (BH)	<i>Bh/+, +/+</i>	+	-	-	<i>a</i>

\*生存力が弱く孵化後1週間以内に大部分が死亡する。

生化学的形質に関しては膀胱アミラーゼにおいて電気泳動的変異（易動度の異なる2本のバンド）が発見され、それらは常染色体性の共優性遺伝子によって支配されていることが交配実験によって明らかにされた。遅く移動するバンドを支配する遺伝子を  $Amy-1^a$ 、速く移動するバンドを支配する遺伝子を  $Amy-1^b$  と命名した。<sup>13)</sup> これらの遺伝子についても淘汰選抜を加え系統内の個体の遺伝形質の統一化をはかりつゝある（表1）。

### 5. 主要組織適合遺伝子の検索

赤血球および白血球に共有される抗原は組織適合抗原である可能性がある。そこで白血球免疫（同種免疫）によって作製された抗血清の特異性およびそれによって検出される抗原の遺伝様式について調べた。<sup>14)</sup> 白血球浮遊液 0.5 ml（Hank's balanced salt solution pH 7.2 に浮遊： $10^6 \sim 10^7$  個の白血球を含む）を5～7日間隔で約1ヶ月間免疫を行い、抗体産生のみられた組み合せについては更に免疫を続け抗血清を採取した。

同一の donor によって免疫された6羽の recipients のうち3羽において抗体産生がみられた。表2に各々の抗血清の17羽のウズラの赤血球（テスト赤血球）に対する凝集力価を示した。吸収前の3種類の抗血清は似かよった凝集パターンを示したが凝集力価および特異性において若干の差

表2. 白血球免疫により産生された3種類の抗血清の凝集力価

翼帯番号	テスト赤血球			抗血清（吸収前）			抗血清（吸収後）*		
	血液型			9686	9711	9712	9686	9711	9712
A	B	C							
9877	+	-	-	2	3	3	0	4	0
9878	+	-	-	2	3	3	0	4	0
9880	+	-	-	3	3	3	0	4	0
9881	+	-	-	2	3	3	0	4	0
9883	-	+	-	0	0	1	0	0	0
9884	-	+	+	0	0	1	0	0	0
9886	-	+	-	4	2	4	4	0	4
9888	-	-	-	4	2	4	4	0	4
9889	-	+	-	4	2	4	4	0	4
9890	-	+	-	4	2	4	4	0	4
9892	-	+	-	1	0	1	0	0	0
9893	+	-	-	4	4	4	0	4	0
9895	+	-	-	4	4	4	0	4	0
9897	+	+	-	4	4	4	4	4	4
9898	-	-	-	4	4	4	4	0	4
9899	-	-	+	0	0	0	0	0	0
9900	-	-	-	1	1	0	0	0	0

\* 抗血清 9711 はテスト赤血球 9886, 9888, 9889, 9890 によって吸収した。抗血清 9686 および 9712 はテスト赤血球 9877, 9878, 9880, 9881 によって吸収した。

異がみられた。吸収後抗血清 9686 と 9712 は同じ特異性を示した。また吸収後の抗血清 9711 は血液型判定に使用した A 抗血清と同じ特異性を有することが知られた。以上のことよりこれらの抗血清は単一の特異性を有するとみなし抗血清 9711 を “Ly-1”、抗血清 9686 と 9712 を “Ly-2” と命名し、これらの抗血清によって検出される抗原をそれぞれ Ly<sub>1</sub> および Ly<sub>2</sub> とした。

Ly<sub>1</sub> および Ly<sub>2</sub> 抗原が赤血球以外の細胞にも存在するかどうかを検討するため、赤血球、白血球および脾臓細胞を用いて吸収試験を行った。Ly-1 抗血清は 9878 および 9880 の個体より採取した 3 種類の細胞によって完全に吸収されたが個体 9898 より採取した細胞では吸収されなかった。Ly-2 抗血清も同様に個体 9886 および 9889 より採取した 3 種類の細胞によって完全に吸収されたが個体 9893 より採取した細胞では吸収されなかった。したがって Ly<sub>1</sub> および Ly<sub>2</sub> 抗原は赤血球、白血球および脾臓細胞に共有されている抗原であることが示された。次に Ly<sub>1</sub> および Ly<sub>2</sub> 抗原を有する個体と有しない個体の組合せで白血球免疫により Ly-1 および Ly-2 抗血清の再生産を試みた。Ly-1 抗血清は 8 羽の recipients すべてに産生され、Ly-2 抗血清は 3 羽の recipients のうち 2 羽において産生された。したがってこれらの抗血清の再生産は比較的容易であるとみなし得る。

Ly<sub>1</sub> および Ly<sub>2</sub> 抗原が遺伝子の支配下にあるかどうかを調べるために交配実験を行った。表 3 に示されている結果より Ly<sub>1</sub> および Ly<sub>2</sub> 抗原はそれぞれ常染色体性の優性遺伝子によって支配さ

表 3. Ly<sub>1</sub> および Ly<sub>2</sub> 抗原に関する遺伝子分析

抗原	交配		交配数	子孫の分離比		期待値	x <sup>2</sup> テスト
	雌	雄		+	-		
Ly <sub>1</sub>	+	×	1	16	11	1 : 1	0.3 < P < 0.5
	(+/-)	(-/-)					
	-	×	1	15	17	1 : 1	0.7 < P < 0.8
	(-/-)	(+/-)					
	-	×	3	0	30	0 : 1	
	(-/-)	(-/-)					
Ly <sub>2</sub>	+	×	4	35	34	1 : 1	0.9 < P < 0.95
	(+/-)	(-/-)					
	-	×	1	8	12	1 : 1	0.3 < P < 0.5
	(-/-)	(+/-)					
	-	×	4	0	43	0 : 1	
	(-/-)	(-/-)					

カッコ内は推定遺伝子型を示す。

れていると結論できる。次にこれらの遺伝子が同一座位に位置しているのかあるいは別々の座位に位置しているのかを検討した。交配 (Ly<sub>1</sub><sup>+</sup>, Ly<sub>2</sub><sup>+</sup>) × (Ly<sub>1</sub><sup>-</sup>, Ly<sub>2</sub><sup>-</sup>) より得られた 56 羽の子孫のうち 35 が (Ly<sub>1</sub><sup>+</sup>, Ly<sub>2</sub><sup>-</sup>) 型で 21 羽が (Ly<sub>1</sub><sup>-</sup>, Ly<sub>2</sub><sup>+</sup>) 型であった。(Ly<sub>1</sub><sup>+</sup>, Ly<sub>2</sub><sup>+</sup>) 型あるいは (Ly<sub>1</sub><sup>-</sup>, Ly<sub>2</sub><sup>-</sup>) 型は 1 例もなかった。したがって Ly<sub>1</sub> および Ly<sub>2</sub> 抗原を支配する遺伝

子は同一座位に位置していることが明らかにされた。次にこれら二つの抗原の各系統における出現頻度を調べたところLy<sub>1</sub>抗原は第1群(SW, REB, B系統)で6.7%(2/30)、第2群(DB, WP, S系統)で0%(0/27)、第3群(Y, W, BH系統)で100%(14/14)であった。Ly<sub>2</sub>抗原の出現頻度は第1群および第2群で0%(0/30および0/27)、第3群で7.1%(1/14)であった。前述のA, BおよびC抗血清による血液型の判定も同時に行われ、A抗原とLy<sub>1</sub>抗原は少数の例外を除いて常に同一個体において出現することが認められた。このことはこれら両抗原は同一であるかあるいは密接に関連していることを示している。以上のことよりLy座位が組織適合遺伝子座の一つである可能性が示唆されたがこの点に関しては今後皮膚移植等によって追求する必要がある。

## 6. 疾患モデルの発見

上述の系統育成の過程において耳口に房毛を有する個体(外見的には耳口の異常が観察されるが中耳、側頭骨ならびに脳の形態的異常を併有する可能性がある—写真2)が第1群において、さらに第3群において行動異常(スターゲイジング:興奮すると頭を後に引き空を見上げるような姿勢を示す—写真1)を示す個体が発見された。現在これらの特性を有する系統の作成を試みているが神経疾患のモデル系統となり得るであろう

## 文 献

- 1) Kawahara, T.: Comparative study of quantitative traits between wild and domestic Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*). *Experimental Animals*, 22 (Suppl.), 139-150, 1973.
- 2) 河原孝忠: 実験用ウズラの由来と有用性。実験動物, 25, 351-354, 1976.
- 3) Lauber, J.K.: Sex-linked albinism in the Japanese quail. *Science*, 146, 948-950, 1964.
- 4) 本間運隆, 神野雅宏, 佐藤孝二, 安藤昭弘: ウズラにおけるアルビノ形質に関する研究。日本畜産学会報, 39, 348-352, 1968.
- 5) 本間運隆, 倉益茂実: 実験動物学—各論—ウズラ。PP 267-285 (田嶋嘉雄: 編集) 朝倉書店 1972.
- 6) Wakasugi, N. and Kondo, K.: Breeding methods for maintenance of mutant genes and establishment of strains in the Japanese quail. *Experimental Animals*, 22 (Suppl.), 151-159, 1973.
- 7) Truax, R.E. and Johnson, W.A.: Genetics of plumage color

- mutants in Japanese quail. *Poultry Science*, 58, 1-9, 1979.
- 8) 近宗千城, 金井幸雄: 白色および暗色ウズラの遺伝について I. 野生色との関係。日本家禽学雑誌, 15, 236-241, 1978.
  - 9) 本間運隆, 神野雅宏, 鬼頭純三: ウズラにおける新しい羽色の変異・シルバー・に関する研究。日本畜産学会報, 40, 129-130, 1969.
  - 10) 本間運隆, 神野雅宏, 朱宮正剛: 黄色ウズラの遺伝。日本畜産学会報, 38, 163-166, 1967.
  - 11) Minezawa, M. and Wakasugi, N.: Studies on a plumage mutant (Black at hatch) in the Japanese quail. *Japanese Journal of Genetics*, 52, 183-195, 1977.
  - 12) Katoh, H. and Wakasugi, N.: Studies on the blood groups in the Japanese quail: Detection of three antigens and their inheritance. *Developmental and Comparative Immunology*, 4, 99-110, 1980.
  - 13) Watanabe, T. and Wakasugi, N.: Genetic variants of pancreatic  $\alpha$ -amylase in the Japanese quail. *Japanese Journal of Genetics*, 53, 55-57, 1978.
  - 14) Katoh, H. and Wakasugi, N.: Studies on blood groups in the Japanese quail: The common antigens possessed by red blood cells and leukocytes, and their inheritance. *Immunogenetics*, 13, 109-114, 1981.



写真 1. 行動異常 ウズラ : スターゲイジング



写真 2. 耳口に房毛を有するウズラ (左) と正常ウズラ (右)

## 2. 糖原病Ⅱ型ウズラの育成

水谷 誠\*

研究協力者 村上博彦\*\*, 高木昭夫\*\*, 埜中征哉\*\*

石浦章一\*\*, 杉田秀夫\*\*

### I. 糖原病とは

糖原病とはグリコーゲンの分解系あるいは合成系に関与する種々の酵素の異常により、主として肝あるいは筋肉にグリコーゲンが沈着する疾患である。

ヒトの糖原病は欠損酵素の種類により8型、亜型を入れればそれ以上の型に分類されている。しかし、異常のみられる酵素の種類により分類すれば以下の5つのカテゴリーのいずれかに入る。

#### 1. グリコーゲンそのものを基質とし、その分解に関与している酵素の異常

##### a. glycogen phosphorylase の異常

この酵素の異常には筋 glycogen phosphorylase の異常 (V型) と肝 glycogen phosphorylase の異常 (VI型) の2型がある。

b. 脱分枝酵素 (amylo-1-, 6-glucosidase oligo-, 1, 4→1, 4 glucan transferase) の異常 (III型)

2. 酵素活性の欠乏の結果、組織内に蓄積する中間代謝物によってグリコーゲンの合成の促進あるいは分解の抑制がおこる場合

これには glucose-6-phosphatase の異常 (I型) と筋 phosphofructokinase の異常 (VII型) の2型がある。

3. グリコーゲン合成系の異常であっても、合成されたグリコーゲンの構造が変化し、水に難溶となり組織に沈着する場合

これには分枝酵素 ( $\alpha$ -1, 4-glucan 6-glucosyl transferase の異常 (IV型) ) がある。

#### 4. 以上の諸酵素が互変転換を行なう場合の活性化に関与する酵素の異常

これには phosphorylase kinase の異常 (VIII型) がある。

#### 5. リソゾームにおいてグリコーゲンに働らく水解酵素の異常

これには  $\alpha$ -1, 4-glucosidase (acid maltase) の異常 (II型) がある。

### II. 糖原病Ⅱ型について

糖原病Ⅱ型とは Niemann-Pick 病あるいは Gaucher 病などの先天性リソゾーム性蓄積症の発見の糸口となった病気で、リソゾーム中のグリコーゲン分解酵素の acid maltase が欠損あるいは欠乏しているためリソゾーム内にグリコーゲンが蓄積する病気である。リソゾーム酵素は全身の臓器

\* (財)日本生物科学研究所

\*\* 国立武蔵療養所 神経センター

に分布しているため、その欠損は重篤な障害をおこし、幼少期に死亡する場合が多い。発症年齢の違いにより乳児型、幼児型および成人型に分類される。これらの違いに neutral maltase 活性の高低が関与しているらしいという報告もあるが、詳細な発現機序については不明である。

### Ⅲ. 種々の動物における糖原病Ⅱ型の発生

内貴の総説にも述べられているように、イヌ、ネコ、ヒツジなどで報告例がある。病理組織学的および生化学的にグリコーゲンの蓄積は認められているが、acid maltase の欠損は証明されていない。最近、ウシの糖原病Ⅱ型で詳細な検索がなされ、骨格筋の acid maltase 活性の欠損していることが証明された。しかし、これらの例は偶然に発見されたものが多く、実験動物として計画的に生産されたものではない。

### Ⅳ. 糖原病Ⅱ型ウズラの発見

1976年4月当研究所において維持されていたニホンウズラの一系統 PNN系に両翼が体に固定されているかのように、上にあがらない雄（発見時月齢：6カ月齢）1羽が発見された。この特徴はニワトリの筋ジストロフィー病のそれと似ていたが、ニワトリより症状は激しかった。この形質の遺伝性を検索するため、PWE系の正常雌をこの雄と交配した。交配結果は表1に示すごとく、

表1. 異常ウズラの交配試験

交 配		子※	
雄	雌	正常	異常
1182 (異常)	× 1000 (PWE)	8	0
1182	× F <sub>1</sub> (1182 × 1000)	21	0
F <sub>1</sub>	× F <sub>1</sub>	14	0

※ 10週齢時に異常の有無が調査された。

10週齢時の異常の有無の検索において、F<sub>1</sub> 8羽、F<sub>2</sub> 14羽およびもどし交配から得られた21羽のすべてが正常であった。そこで、これらのウズラを起源として RW closed colony をつくり、異常ウズラの発見時月齢の6カ月齢まで観察を行なうとともに、子孫に異常

ウズラが出現するか否かを検索した。その後、1977年に雌（3カ月齢）1羽、1978年に雄2羽（8カ月齢、7カ月齢）が発症し、この形質の遺伝性が示唆された。

筋ジストロフィー症ニワトリあるいは異常ウズラとも両翼のあがり方が悪いが、翼膜の開き方も悪い。正常なニワトリあるいはウズラにおいても翼膜の開き方の悪い個体が存在し、RW系においても両者が混在した。そこで、RW系について1977年2月より翼膜の開き方の悪い方向への選抜を開始した。一方、異常ウズラの授精能力が悪くなったため、病理学的検索を東京大学医学部江橋研究室へ依頼し、都立臨床研において検索がなされた。当初、異常ウズラは筋ジストロフィー症と判定されたが、その後の詳細な検索により糖原病Ⅱ型であることが明らかとなった。

### Ⅴ. 糖原病Ⅱ型ウズラの組織生化学的検索

#### 1. 組織学的、組織化学的所見

糖原病Ⅱ型ウズラ（以下糖原病ウズラと略す）の最も顕著な変化は、写真1-2に示すごとく、HE染色によって筋線維に最大3  $\mu m$  径程度の多くの空胞がみられることである。この空胞は写真1-3に示すごとく、PAS染色陽性を示し、ジアスターゼ消化試験で消失することから、グリコーゲンであることが示唆された。最も強く侵されていたのは胸筋で、多くの線維は脂肪組織に置換されていた。

## 2. 電子顕微鏡的所見

電子顕微鏡的には、写真2に示すごとく、多数のグリコーゲン顆粒が筋線維間に認められた。このグリコーゲン顆粒の多くは集塊をなして存在し、膜で被われていないものが多数であったが、膜に被われているものも存在した。ミトコンドリアなどには変化は少なく、また筋部の配列の乱れも少なかった。また、筋線維内にミエリン様小体、グリコーゲン顆粒の集塊、autophagic vacuolesの集合した部分が存在した。

## 3. 組織グリコーゲン含量

湿重量当りのグリコーゲン含量は表2に示すごとく、大腿筋、浅胸筋、心筋および肝臓のすべてで著大な増加が認められた。その増加は浅胸筋では正常の約3.5倍、大腿筋や心筋では約2.0倍、肝臓では約20.0倍にも達した。このグリコーゲン含量の増加の原因追求のため、骨格筋の解糖系

表2. 組織グリコーゲン含量

	正常ウズラ	糖原病Ⅱ型ウズラ	
		№ 9280	№ 4064
大腿筋	0.7 - 1.9 mg/g	11.2 mg/g	6.9 mg/g
浅胸筋	0.6 - 1.9	6.7	1.3
心筋	0.1 - 0.6	13.7	3.7
肝臓	0.3 - 0.7	84.3	2.4

表3. 4-MUGを基質としたacidおよびneutral maltase活性

( $n$  moles 4-MU produced/mg prot/hr)

	pH 4.0		pH 6.5	
	正常	糖原病Ⅱ型	正常	糖原病Ⅱ型
大腿筋	24.4	3.3	17.2	22.8
浅胸筋	44.8	3.5	38.9	31.3
心筋	4.3	1.5	4.5	17.3
肝臓	50.0 $\uparrow$	13.8	50.0 $\uparrow$	50.0 $\uparrow$

$\uparrow$ : scale over したことを示す。

の異常の有無を検討したが、嫌気性解糖による乳酸生成に異常は認められなかった。また、phosphorylase, pyruvate kinase, LDH など解糖系の主要な酵素の活性も測定したが、その比活性に差はみられなかった。

#### 4. maltase ( $\alpha$ -1, 4-glucosidase) 活性

合成基質である 4 MUG (4-Methylumbelliferyl- $\alpha$ -D-glucopyranoside) を用い、大腿筋、浅胸筋、心筋および肝臓の maltase 活性を pH 4.0 と pH 6.5 で測定し、その結果を表 3 に示した。Acid maltase (pH 4.0) 活性は、臓器による差は認められるが、正常の  $\frac{1}{3}$  ないし  $\frac{1}{20}$  に低下していた。一方、neutral maltase (pH 6.5) 活性は、心筋以外の臓器では差はみられなかった。これら上述の観察結果はヒトの糖原病 II 型にみられる所見と類似していた。

### VI. 糖原病ウズラの育種

当初、糖原病ウズラの系統を育種するにあたり、以下に述べるような困難な事項が存在した。すなわち、糖原病を発症する個体が少数でしかも老齢な雄に発症したため、糖原病ウズラ同士の交配を行なうことが不可能であったことと、老齢時になって糖原病を発症する個体を若齢時にウズラを殺すことなく識別するための適当な選抜形質がなかったことの 2 つであった。

これらの理由のため、以下にのべるような種々の形質による選抜が試みられた。

#### 1. 選抜形質の変遷

最初の選抜形質は翼膜の開き方であり、その悪い方向への選抜をおこなった。この形質による選抜の効果は不明であるが、ある程度糖原病を発症させる遺伝子の頻度を RW 系内に多くするのに役立ったと思われる。その理由は、これまでに糖原病を発症した 100 羽以上のウズラすべてにおいて翼膜の開き方が悪かったからである。2 番目に試みられた選抜形質は血清 CPK 活性であった。老齢時に糖原病を発症する個体を若齢時に識別するため、筋疾患において活性の上昇する CPK 活性の測定が行なわれた。結果はかんばしくなく、糖原病を発症した個体が識別された場合とされない場合があり、確実性がなかった。3 番目の選抜形質は、ヒトの糖原病 II 型において欠損している acid maltase の血清中における活性であり、その低値への選抜をおこなった。その基礎となった検索結果である糖原病ウズラ 4 羽および正常ウズラの血清中の acid maltase 活性を表 4 に示した。

表 4. 血清中の acid および neutral maltase 活性  
( $n$  moles 4-MU produced/ml/hr)

	pH 4.0	pH 6.5
9141 (糖原病ウズラ)	10.0	35.6
9567 ( " )	8.0	62.8
4064 ( " )	6.8	33.2
3835 ( " )	2.8	14.0
正常ウズラ	32.0-60.0	43.2-122.8

た。表からも明らかなように、糖原病ウズラの血清中の acid maltase 活性は正常ウズラのそれよりあきらかに低値であった。また、若齢時血清中の acid maltase 活性が低値を示した雄 6、雌 1 について糖原病を発症するか否かを検索した結果、雄 6 のうち 5 が老齢時に糖原病を発症した。この形質

による選抜の有効性が示唆された。現在、糖原病ウズラ同士の交配から後代がとれているが、発症時期が 2 カ月齢前後のものと 3 カ月齢以後のものが出現している。2 カ月齢前後で発症する個体は 2~3 週齢時にすでに翼のあがり方が悪い傾向にある。今後の選抜は、2~3 週齢時における翼の

あがり方および血清中の acid maltase 活性の両形質により行ない、2カ月齢前後に発症する系統と3カ月齢以後に発症する系統をそれぞれ分離育成する予定である。

## 2. 交配方法

育種を開始した頃は糖原病を発症する時期が6カ月齢以後で、雄に発症し雌ではほとんど発症はみられなかったため、糖原病を発症した雄と正常雌との交配からの子が優先的に可能なかぎり多く残された。血清中の acid maltase 活性による選抜が開始されてからは、若齢時に血清中の acid maltase 活性の低い雌雄が交配された。そして、これらの交配からの子が可能なかぎり多く育成され、性成熟時における血清中の acid maltase 活性の測定結果から低値の雌雄が交配用として選抜された。若齢時に acid maltase 活性の低いウズラが老齢になり糖原病を発症した後も授精率に大きな変化はみられず、ふ化率、育成率も良好であった。このため、糖原病雄×acid maltase 活性の低い正常雌の交配が可能になった。以後はこれらの交配からの子が優先して可能なかぎり多く育成された。これら acid maltase 活性の低い個体同士の交配から得られた acid maltase 活性の低いウズラは月に1回糖原病を発症しているか否かが翼のあがり方で調査され、糖原病を発症した雌雄が選抜され、糖原病同士の交配が可能になった。糖原病同士の交配から受精卵が得られるか否かが心配されたが、幸い受精卵が得られ、子もふ化した。これらの交配から子がとれはじめると、2カ月齢前後で糖原病を発症する個体が出現しはじめた。そこで、現在は2カ月齢前後に糖原病を発症した雌雄の交配および3カ月齢以後に糖原病を発症した雌雄の交配がそれぞれ行なわれ、発症時期の異なる2系統の分離育成が行なわれている。

## 3. 血清中の acid maltase 活性による選抜の経過

血清中の acid maltase 活性による選抜が有効と思われたので、この形質による選抜を開始するにあたり、コントロール系としてこれまでに糖原病を発症したことの無い AMRP 系と AWE 系およびこれから選抜が行なわれる RW 系の血清 acid maltase 活性を測定した。結果は図1、図2および図3に示されるごとく、血清 acid maltase 活性は AMRP 系の雄では  $41.7 \pm 8.2$  n moles 4-MU/ml/hr、雌では  $49.5 \pm 8.6$  (雌雄平均  $46.5 \pm 9.1$ )、AWE 系の雄では  $22.9 \pm 8.3$ 、雌では  $42.7 \pm 25.9$  (雌雄平均  $33.6 \pm 22.0$ ) で AWE 系の1羽の雌を除いてすべて  $10.0$  n mole 4-MU/ml/hr (糖原病を発症すると思われる血清 acid maltase 活性) 以上であった。一方、RW 系の acid maltase 活性は雄で  $29.6 \pm 12.6$ 、雌で  $46.5 \pm 18.0$  (雌雄平均  $37.9 \pm 17.6$ ) となり、 $10.0$  以下の個体が雄6、雌1存在した。

糖原病ウズラ同士の交配が可能になるまでの選抜過程の家系図の1例を図4に示した。図からも明らかなように、選抜前期は糖原病を発症する個体のほとんどは雄であったが、acid maltase 活性の低い個体同士の交配が行なわれた結果、雌においても発症する個体が出現しはじめた。家系図に示された交配で  $4270 \times 4713$ 、 $3014 \times 3062$ 、 $2865 \times 2819$  および糖原病同士の交配の各交配から得られた子の acid maltase 活性を図5および図6に示した。acid maltase 活性の低い個体同士の交配から得られた子の活性は選抜の効果があられ、選抜開始前の平均値より低くなったが、両親の活性より高い個体も少数出現した。同様の結果は糖原病同士の交配からの子においても

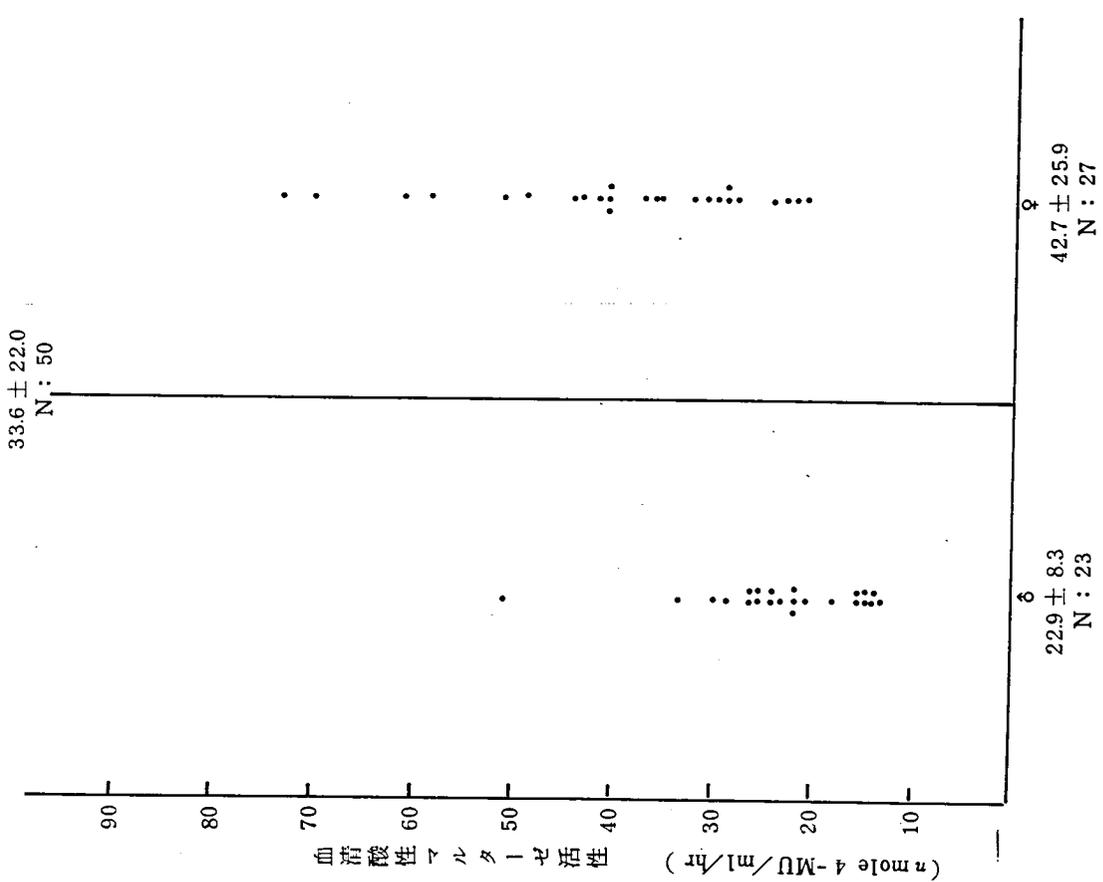


図1. AMRP系の血清酸性 maltase 活性

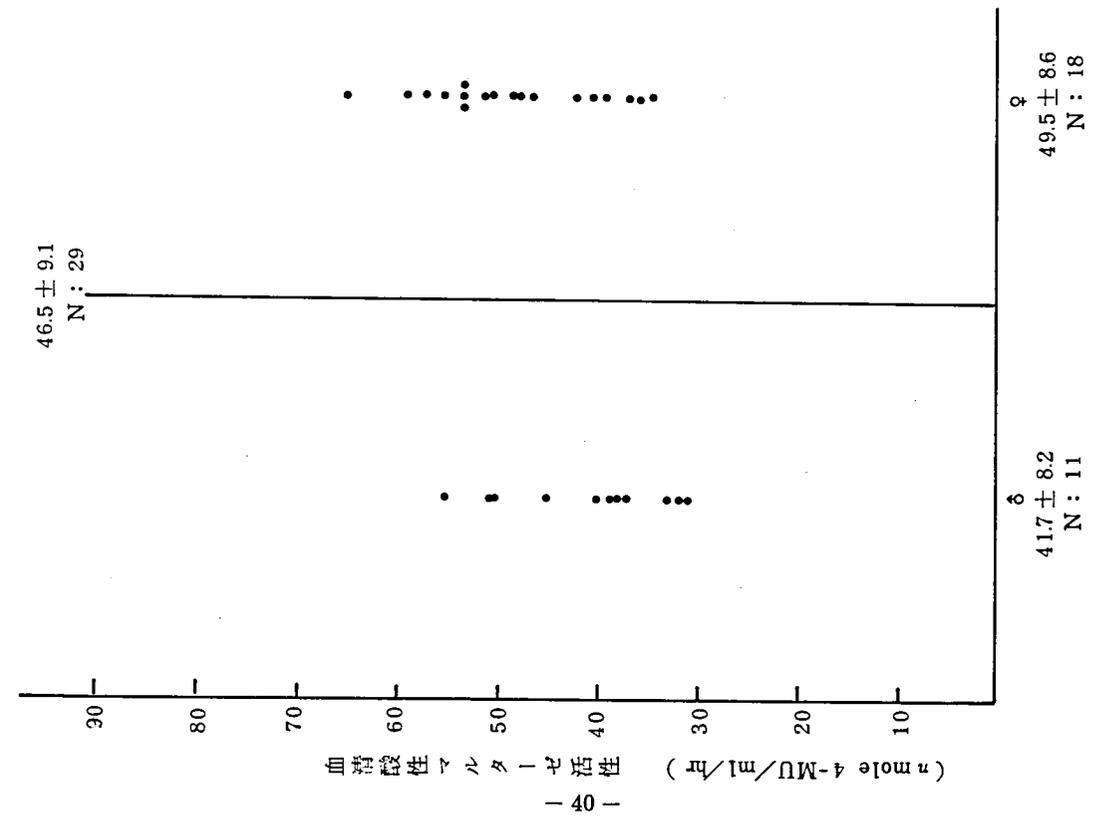


図2. AWE系の血清酸性 maltase 活性

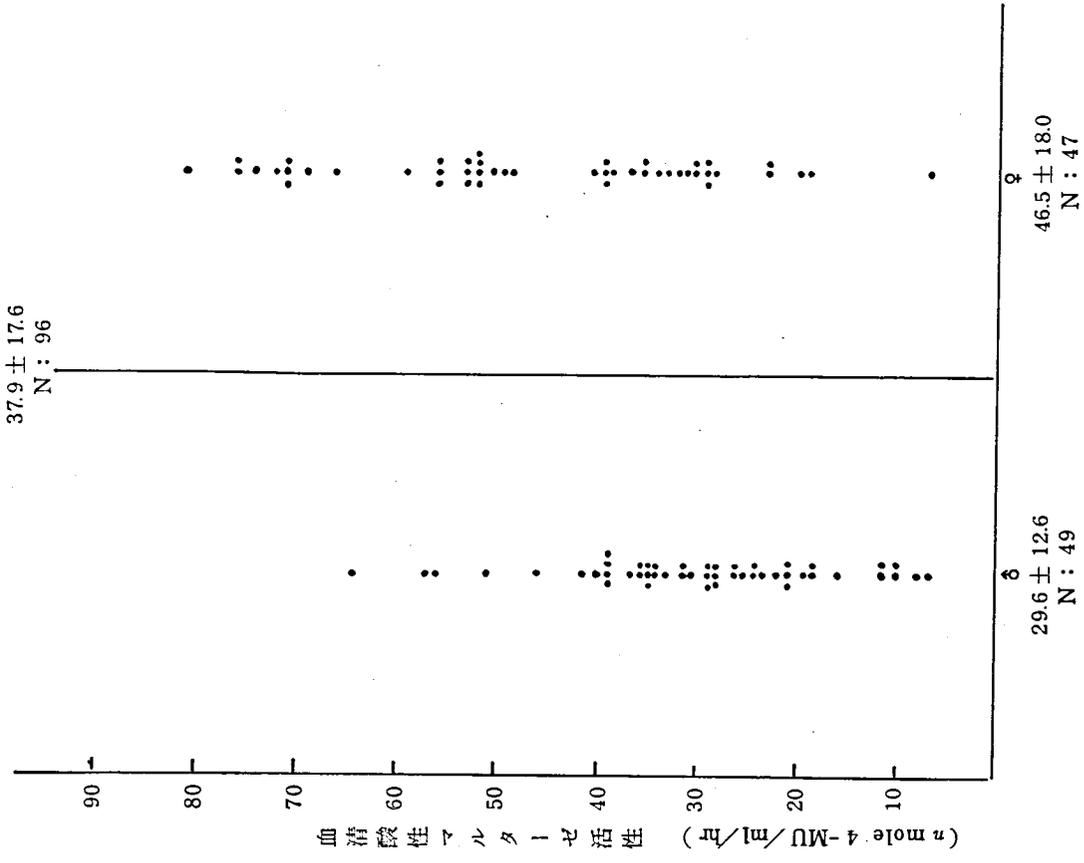


図 3. 選抜開始前のRW系の血清 acid maltase 活性

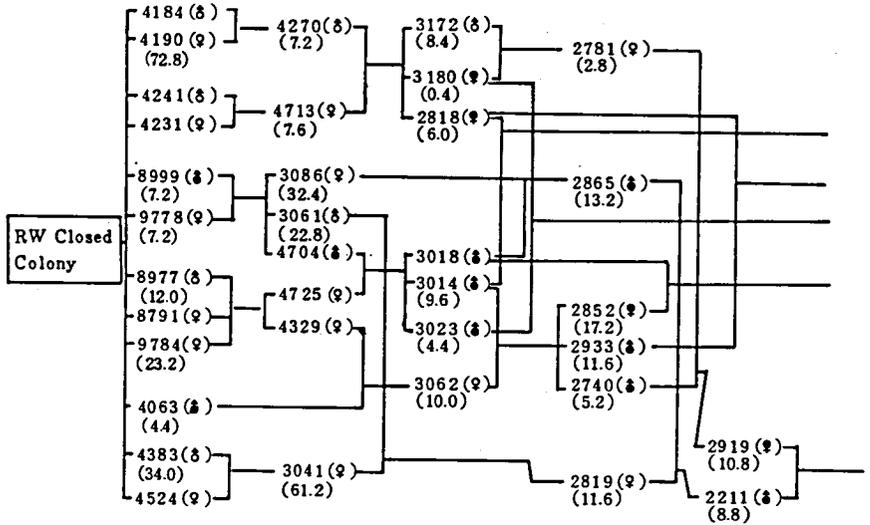


図 4. 糖原病同士の交配を作出するまでの家系図の 1 例  
 ♂ ♀ : 糖原病 ウズラ、( ) 内の数字は血清 acid maltase 活性

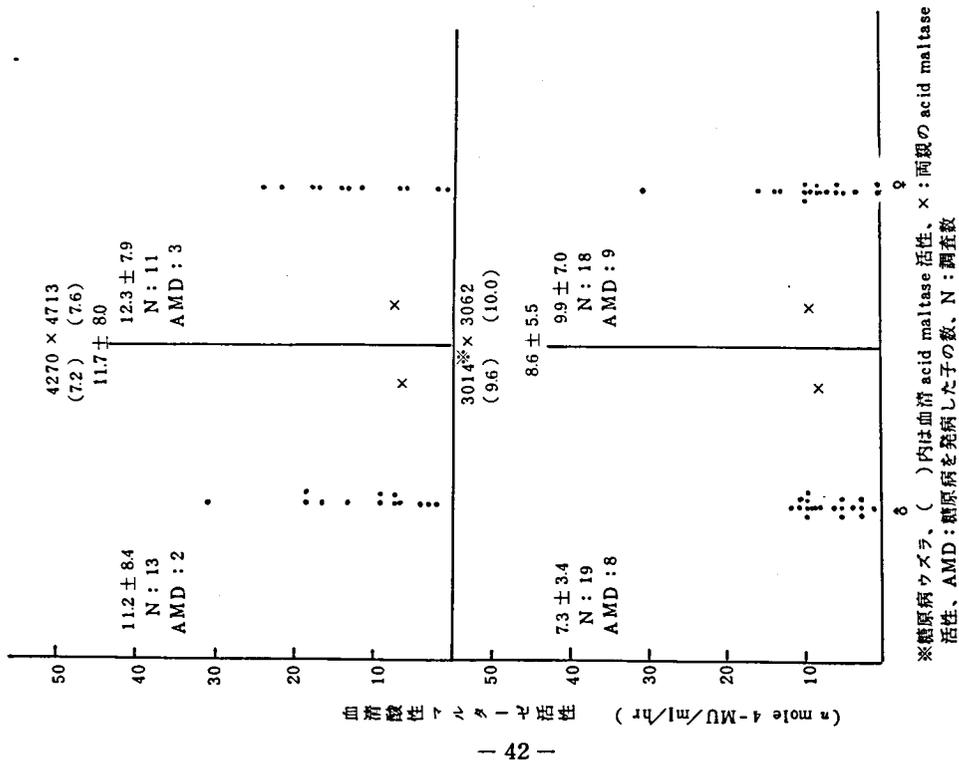


図 5. 血 清 acid maltase 活性の低い同士の交配から得られた子の  
血 清 acid maltase 活性

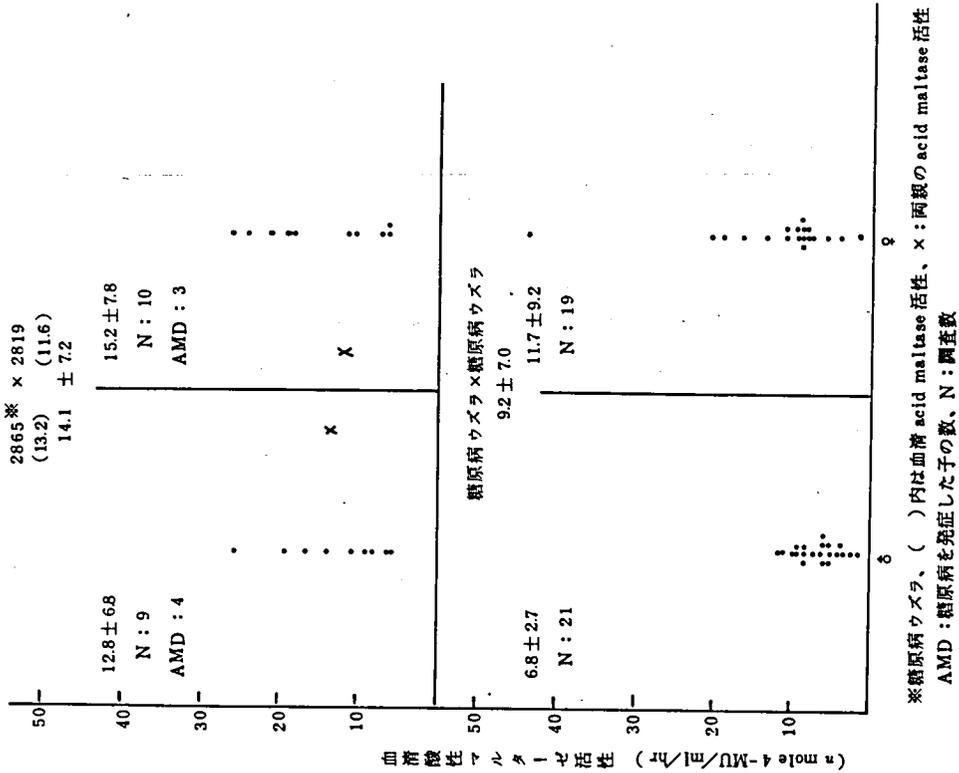


図 6. 糖 原 病 症 × 血 清 acid maltase 活性の低い雌および糖原病ウズラ  
同士の交配から得られた子の血 清 acid maltase 活性

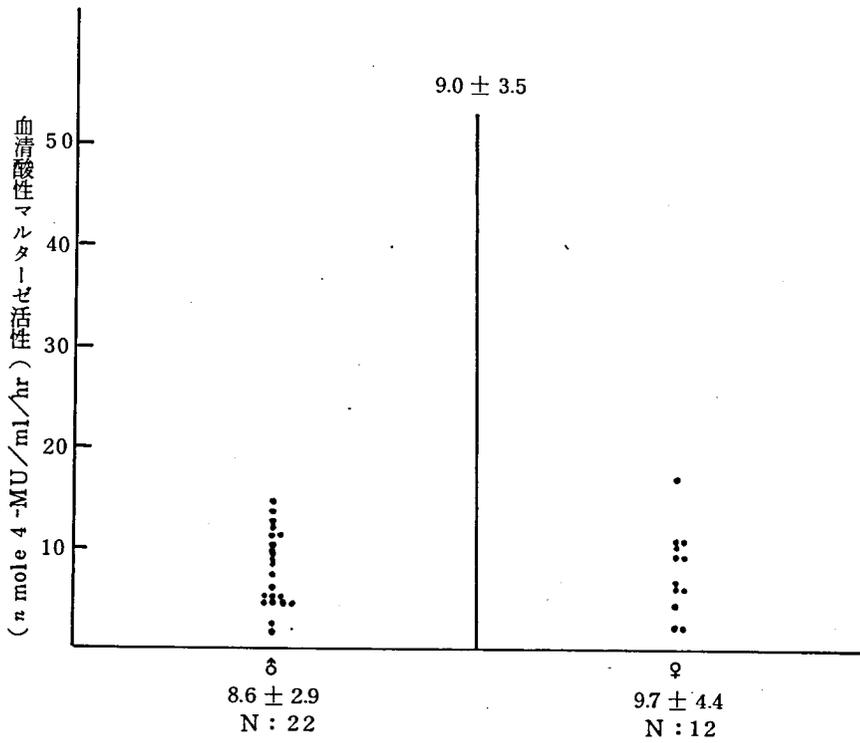


図7. 糖原病II型ウズラの血清 acid maltase 活性

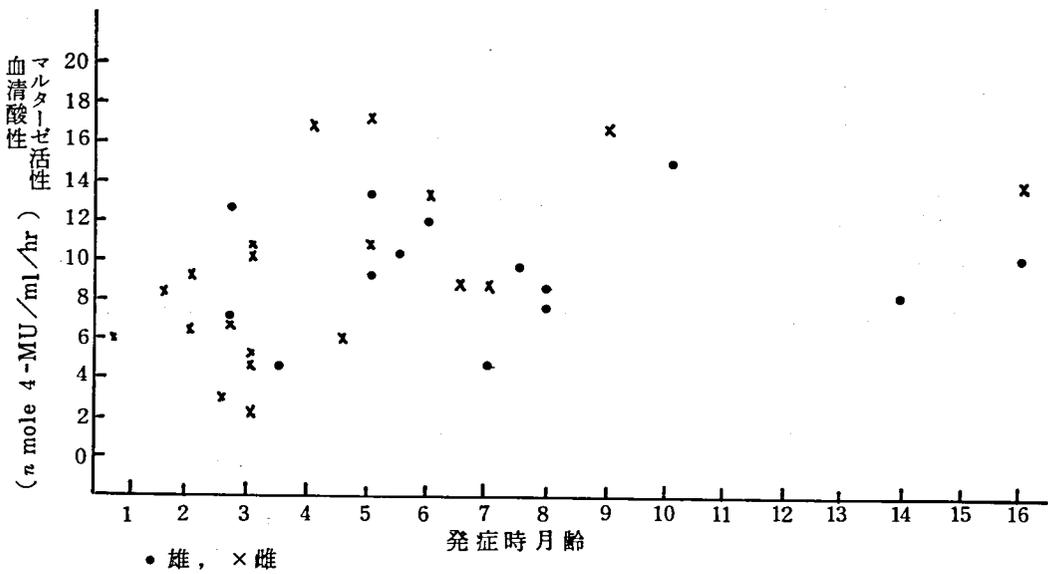


図8. 血清 acid maltase 活性と発症時月齢の関係

観察された。

これまでに糖原病を発症したウズラの血清 acid maltase 活性を総括して図7に示した。糖原病を発症した個体の acid maltase 活性最大値の17.2を上回る個体が糖原病同士の交配からも出現し、雌に多い傾向がみられる。acid maltase 活性が雄より雌で高い傾向はコントロール系である AWE系、AMRP系およびRW系でも観察されている。血清 acid maltase 活性は採血の際、組織の破壊物あるいは浸出液が混入すると高くなることが観察されており、今回用いている採血方法の心臓採血では雌で失敗することが多い傾向にあるためとも考えられるが、詳細な原因については現在のところ不明である。

#### 4. 糖原病ウズラの血清 acid maltase 活性と発症月齢の関係

糖原病の発症月齢には1.5～16カ月齢とかなり幅が存在し、acid maltase 活性の低い個体が早く発症し、高い個体が遅く発症するのではないかと考えられた。そこで、acid maltase 活性と発症月齢の相関関係を検索してみた。結果は図8に示されるごとく、両者に相関はみられなかった。ここでは発症の判定に翼のあがり方の良否を用いているが、良否に一定の規準を設定することが困難であり、判定時期の間隔が1カ月に1回であることが相関をみい出せなかったことに影響していると思われる。今後、判定時期の間隔を1週間とし、翼が全くあがらなくなる月齢を発症月齢として、acid maltase 活性と発症月齢の相関関係を調査する予定である。

#### 5. 糖原病ウズラの出現頻度

現在、糖原病同士の交配から得られた子における糖原病ウズラの出現頻度を調査しているが、これまでの選抜過程で観察された出現頻度について交配別に調査した結果を表5に示した。調査に用

表5. 糖原病ウズラの出現頻度

交配 雄 雌	調査された 子の月齢	調査数	糖原病	正常	頻度(%)
2933 <sup>※</sup> × 2818 <sup>※</sup> (11.6) (6.0)	4-6	18	10	8	55.6
3014 <sup>※</sup> × 3062 (9.6) (10.0)	5-9	37	17	20	45.9
2865 <sup>※</sup> × 2819 (13.2) (11.6)	4.5-5.5	19	7	12	36.8
4270 × 4713 (7.2) (7.6)	7-9	24	5	19	20.8

※ 糖原病ウズラ、( ):血清 acid maltase 活性

いた子の月齢がまちまちであるが、最も出現頻度の高い交配は糖原病ウズラ同士の交配(2933 × 2818)の55.6%、ついで糖原病雄ウズラ × acid maltase 活性の低い雌の2交配(3014 × 3062 および 2865 × 2819)の45.9%と36.8%、最も出現頻度の低い交配は acid maltase 活性の低い同士の交配(4270 × 4713)の20.8%であった。今後、1カ月ごとに発症調査を行えば出現

頻度は高くなると思われる。

### 6. 糖原病を発症する形質の遺伝的分析

糖原病を発症する形質の遺伝的分析を行なうため、糖原病雄ウズラ×AWE系の正常雌の交配を行なった。AWE系はAlbinoで白色卵を産む系統である。AWE系を用いた理由は、糖原病ウズラの選抜をはじめた頃、糖原病を発症する個体は雄に多く雌に少ないという性による差が存在したため、将来羽装による胎児期の雌雄鑑別を可能にすることを意図したためである。

糖原病雄ウズラ×AWEの交配からのF<sub>1</sub>、F<sub>2</sub>およびもどし交配で得られたウズラの acid maltase 活性値を図9に示した。F<sub>1</sub>の acid maltase 活性の平均は  $16.5 \pm 5.5$  でAWE系の  $33.6 \pm 22.0$  と糖原病ウズラの  $9.0 \pm 3.5$  の中間であった。F<sub>2</sub>においては10以下の個体が6(雄4、雌

2)、10以上の個体が13(雄8、雌5)であった。もどし交配では10以下の個体が6(雄5、雌1)、10以上の個体が8(雄4、雌4)であった。これらの結果から糖原病を発症する形質

(血清 acid maltase 活性を低くする形質)は常染色体性の劣性遺伝子により支配されていることが示唆された。

1つの酵素の欠損は1つの遺伝子により支配されていることが期待されるが、現実には acid maltase 活性が低くても糖原病をなかなか発症しない個体が存在すること、あるいは翼のあがらなくなる月齢は個体により異なっているなど、糖原病の発症の有無で遺伝的分析を行なうには多くの問題点がある。今後、糖原

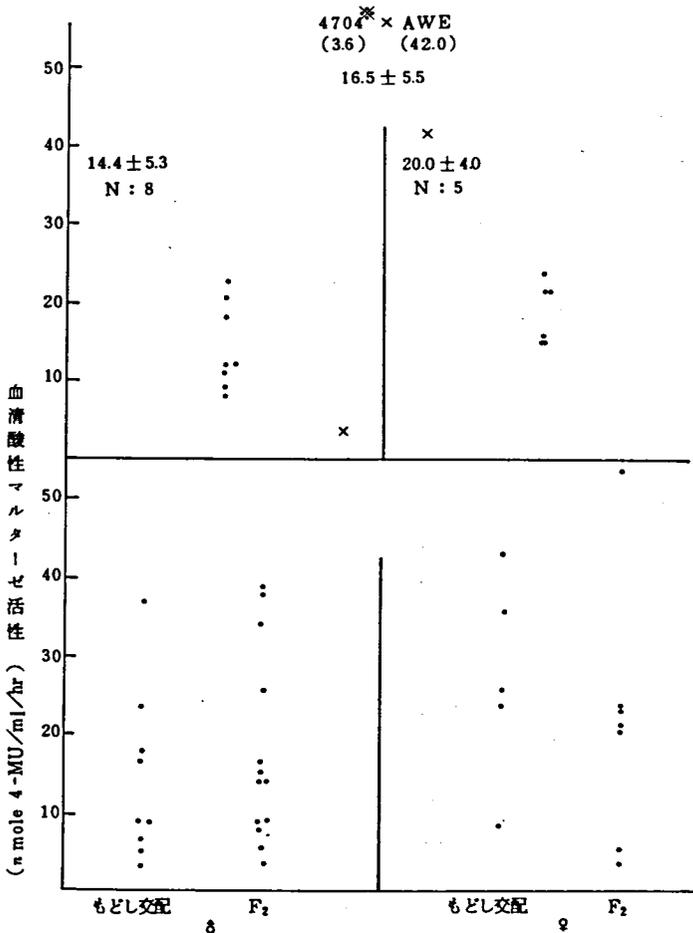


図9. 糖原病II型形質の遺伝的分析

病を若齢で100%の個体で発症する系統が確立されれば、糖原病の発症の有無による遺伝的分析は可能になると思われる。

#### 7. RW系の繁殖成績

Acid maltase 活性による選抜を開始した初期のコロニー、若齢で糖原病を発症したもの同士の交配および老齢で糖原病を発症したもの同士の各交配における産卵率、受精率、ふ化率および2週齢までの育成率の結果を表6に示した。表からも明らかなように、若齢で糖原病を発症したもの同

表6. RW系の繁殖成績

交配	産卵率 (%)	受精率 (%)	ふ化率 (%)	育成率 (2週齢まで) (%)
選抜初期の コロニー	86.8	65.8	59.6	93.5
若齢で糖原病を 発症した同士	82.4	46.9	37.5	57.1
老齢で糖原病を 発症した同士	73.8	80.6	56.0	78.6

士の受精率、ふ化率および育成率は老齢で発症したもの同士のそれらより悪くなっている。ヒトでは前述のごとく、糖原病は乳児型、幼児型、成人型に区分されており、乳児型は生後1年以内に、幼児型は6~8才で死亡する。ウズラにおいて若齢で発症したもの同士の交配の受精率、ふ化率および育成率の低いことはヒトでの乳児型、幼児型の糖原病がウズラにおいても出現しているからかもしれない。

#### Ⅶ. 糖原病ウズラ飼育の注意点

糖原病の発症初期は翼が少し動くので正常なウズラと比較し、飼育に関して特に注意する点はない。しかし、症状が進み、翼が全く動かなくなると、主翼羽が歩行時じゃまになり転倒しやすくなる。これを防ぐには主翼羽および副翼羽の1部を切りとってやるとよい。また、ケージ内で一度転倒すると起きあがるのが困難であるため、餓死する時があるので朝・夕ウズラの状態を観察せねばならない。

#### 文 献

- 1) 山下文雄, 北川照夫編: 糖原病. 医学書院, 1975.
- 2) 内貴正治: 疾患モデルとしての動物のリソゾーム性蓄積症. 実験動物, 26: 65-77. 1977.
- 3) Corrado A., Andrew G. Engel and Rochester Minn: Comparative study of Acid maltase deficiency. Arch. Neurol., 26: 344-349, 1972.

- 4) Peter R. Dorling, J. M. Howell and J. M. Gawthorne : Skeletal-muscle  $\alpha$ -glucosidase in bovine generalized glycogenosis type II. *Biochem. J.*, 198: 409-412, 1981.
- 5) 水谷誠：鳥類における神経・筋疾患モデル動物の開発。昭和54年度厚生省神経疾患委託研究「筋ジストロフィー症動物の生産・開発に関する研究」報告書。
- 6) 松井高峯ら：ウズラにおける糖原病類似疾患について1. 全身臓器における組織所見。第88回日本獣医学会講演要旨集, 146, 1979.
- 7) 黒田静夫ら：ウズラにおける糖原病類似疾患について2. 筋組織における電顕的観察。第88回日本獣医学会講演要旨集, 147, 1979.
- 8) 村上博彦ら：日本ウズラの糖原病II型。実験動物, 29 : 475 - 478, 1980.

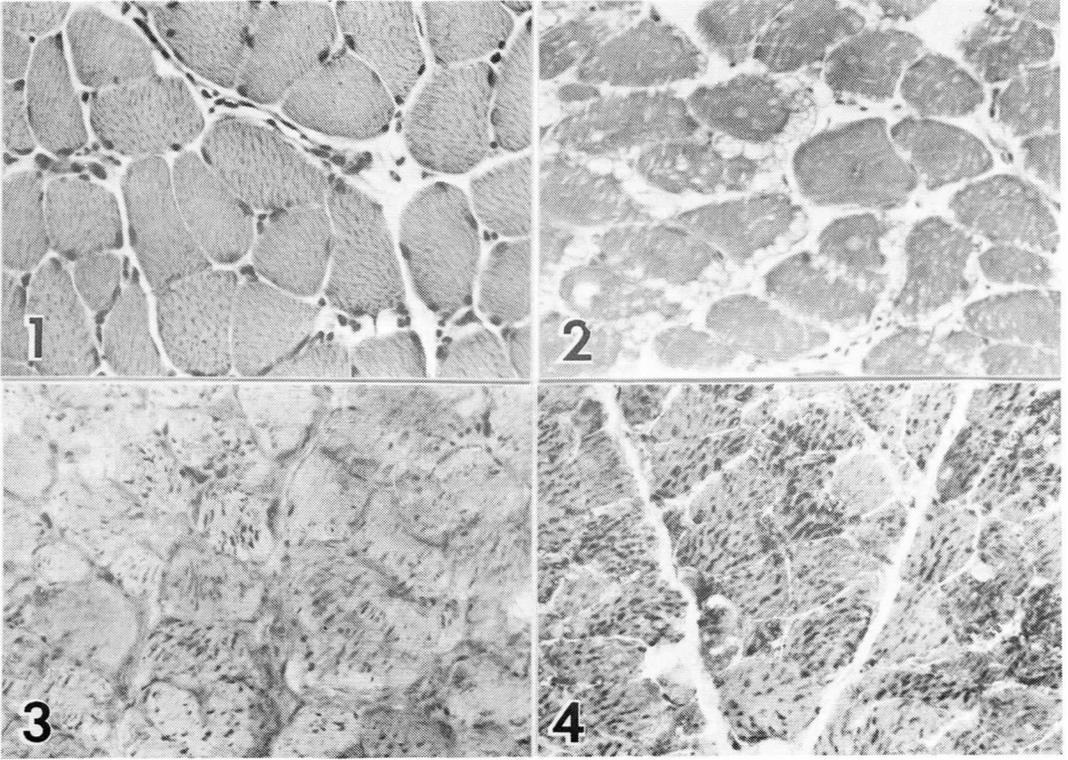


写真 1. 正常ウズラ骨格筋(1)に比べ糖原病ウズラでは筋線維内に多くの空胞が存在(2)、さらに空胞はPAS陽性物質(写真では黒い点)で満たされ(3)、酸フォスファターゼ活性陽性(黒い点)である。1, 2 : HE、3 : PAS染色、4 : 酸フォスファターゼ染色。1-4 × 300

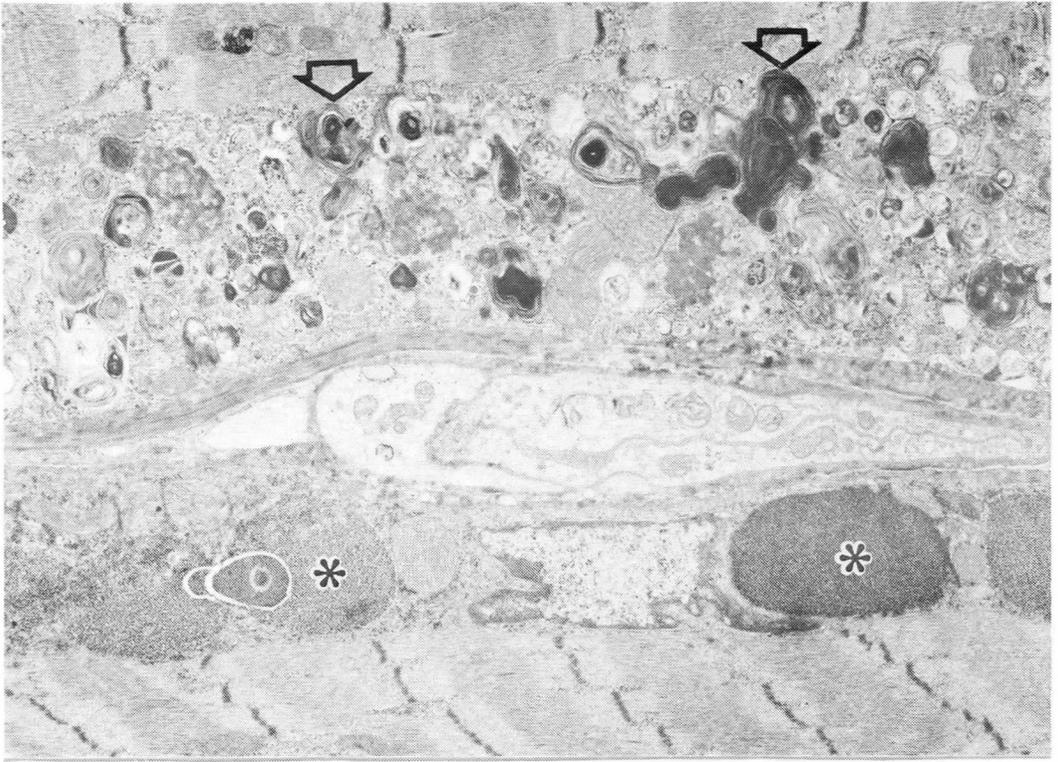


写真 2. 糖原病 ウズラ骨格筋の電顕像。グリコーゲン顆粒の集塊（星印）、ミエリン様小体（矢印）、autophagic vacuoles などがみられる。 × 10,500

### 3. 産業の場で見い出される異常ウズラの調査

— 疾患モデル動物の素材としての検討 —

伊藤 慎一\*

研究協力者 木村儀明\*, 中村由加里\*

愛知県の豊橋市は、わが国のウズラ産業の中心地である。そのため、市内には、ウズラの孵化（初生雛の生産）と雛の雌雄鑑別を専門的に行なっている孵化場が集中的に存在し、これまでのおおよその調査によると、これらの孵化場から年間生産される初生雛の羽数は、約1,000万~1,500万羽と推定される。

私共の研究室では、莫大な遺伝子給源（gene pool）として、様々な遺伝子を数限りなく供給してくれる産業の場、とくに雛の雌雄鑑別が行なわれている孵化場を足場として、ここ数年来、種々の突然変異遺伝子を見出すために調査を重ねてきた。私共が調査を行なった孵化場では、一回の孵化で平均しておおよそ2万羽の初生雛が生産され、雌雄鑑別をへたのち、雌雛は豊橋市とその近郊地域の需要家に供給されている。これらの初生雛のなかに、これまでしばしば羽毛の色変わりであるとか、行動のおかしなもの、あるいは形態に異常のある奇形などが見い出されてきた（写真1）。その出現率は1万羽当りにしておおよそ10羽ぐらゐと見うけられた。これらのなかで、行動や形態に異常を示す雛は、孵化場においては“くずビナ”と称して、淘汰されている。本班に加えられたからは、これらの異常ビナを研究室へ持ち帰り、これまで育成を試みてきたが、正常のものに比べて生存力が弱く、大部分のものは孵化後1週間以内に死亡した。ウズラの雛は、寒さに対してとりわけ抵抗力が弱いのと、孵化場から研究室に持ち帰るまでのおおよそ2時間程かかる輸送中の保温維持の工夫がむつかしいことも重なって、とくに冬場の調査では、正常のものでも輸送中の保温装置（熱湯を入れたポリびんで加温する）の温度低下により、孵化後1~2日以内の死亡率が高まる傾向にある。また、これらの異常ビナが性成熟（6~7週齢）に到達するまでの生残率はおおよそ1/20であった。そして、種々の異常を示した形質が遺伝的なものであると判明するには、異常形質を支配する遺伝子が、単一の常染色体性優性遺伝子ならば次の世代まで、それが常染色体性劣性遺伝子ならばさらにもう一世代まで、繁殖を行なわなければならない。以上の点を念頭において、これまでの調査で見い出された異常ビナを育成し、繁殖を行なってきたけれども、遺伝形質と判明しえたものはまだ一例も見い出されていない。以上の結果を検討すると、産業の場で“くずビナ”と称している異常ビナより、各種の遺伝性疾患モデルを開発するのは、きわめて困難であると結論された。

他方、上記に述べた行動・形態に異常のあるヒナの調査とは別に、数年前より調査を重ねてきた羽毛の色変わりなどの中に、各種の遺伝性疾患のモデルとして、可能性を含んでいると思われるものがこれまでに三種見い出された。

\*岐阜大学農学部

第一は、すでに前年度の報告書<sup>1)</sup>でおおよそふれた神経疾患のモデルとして可能性を有すると思われるもので、前回、この形質に、仮に「淡色初毛」と名づけたが、今回、「淡色綿毛」と改名することにした。前回の遺伝子分析で、「淡色綿毛」は常染色体性の不完全優性の対立遺伝子によって発現することが明らかにされたので、この対立遺伝子の記号を  $Ld$ （「淡色綿毛」の英語名 Light-coloured down の略）とし、それに対する野生型の対立遺伝子の記号を  $ld^+$  とした。したがって、「野生型」の遺伝子型は  $ld^+/ld^+$  のホモ型、「淡色綿毛」の遺伝子型は  $Ld/ld^+$  のヘテロ型、このヘテロ型同士の交配から分離した体全体が一様に「淡黄色」の遺伝子型は  $Ld/Ld$  のホモ型と判断した。表 1 は、前年度の交配成績にさらに調査例数を増した結果である。表中の「淡黄色」のホ

表 1. ウズラの新しい羽色変異「淡色綿毛」に関する交配成績

交配		交配数	雛の数	初生雛の羽色			期待比	P
父	母			野生型 ( $ld^+/ld^+$ )	淡色綿毛 ( $Ld/ld^+$ )	淡黄色 ( $Ld/Ld$ )		
淡色綿毛 ( $Ld/ld^+$ )	× 野生型 ( $ld^+/ld^+$ )	29	609	311	298	0	1:1:0	>0.50
野生型 ( $ld^+/ld^+$ )	× 淡色綿毛 ( $Ld/ld^+$ )	22	464	241	223	0	1:1:0	>0.25
淡色綿毛 ( $Ld/ld^+$ )	× 淡色綿毛 ( $Ld/ld^+$ )	47	709	220	365	124*	1:2:1	<0.01

\*孵化できなかつた雛 6 2羽を除く。(これらを加えたとき、 $P > 0.05$ )

モ型個体の初生雛のすべてにおいて、症状に程度の差はあるものの、前方なめに首が曲がり、間断なく前へ転倒する動作がくり返されるなど、行動あるいは平衡性に異常があるように見うけられた。「淡色綿毛」のヒナには、このような異常は 1 例も見い出されなかつた。また、「淡黄色」のヒナの孵化率は悪く、運良く孵化(割卵)しえたとしても、自ら餌や水を摂取する姿勢を保てないため、ほとんどのヒナが 1 週間以内に死亡してしまうことが判明した。これまでに 1 例だけ 6 週齢まで生存したものがあつたが、正常のものに比べて、餌を摂取中の動き(カナヅチを大きく振りおろすような動作)、あるいは飽食時の姿態(首を横に曲げて考えこむような様子)には異常と思われるところが観察された。「淡黄色」のヒナの育成にあたっては、孵化後 1 週間以内の死亡率を少しでも低くするように、飼育方法の面における研究が今後必要であると考えられる。なお、今回見い出された「淡色綿毛」の遺伝子座の常染色体上における位置関係を明らかにするため、これまでに報告されている 10 の羽色・酵素・蛋白質を支配する遺伝子座との間で、連鎖関係の調査を行なつた。調査した遺伝子座は、シルバー羽( $B$ )<sup>2)</sup>、黒色初毛( $Bh$ )<sup>3)</sup>、優性黒色羽( $E$ )<sup>4)</sup>、白色羽( $W$ )<sup>5)</sup>、黄色羽( $Y$ )<sup>6)</sup>、アルブミン( $Alb$ )<sup>7)</sup>、エステラーゼ  $D$  ( $Es-D$ )<sup>8)</sup>、ヘモグロビン( $Hb-1$ )<sup>9)</sup>、ホスホグルコース・イソメラーゼ( $PGI$ )<sup>10)</sup>、およびトランスフェリン( $Tf$ )<sup>11)</sup> である。表 2 は、前年度の結果にさらに調査組数および例数を加えたものである。いずれも  $Ld$  との連鎖は見い出されず、上記の 10 の遺伝子座のある染色体とは別の染色体上に  $Ld$  遺伝子座は位置するものと思われ

表2. 「淡色綿毛」と10の羽色・酵素・蛋白質間の連鎖の調査

遺伝子座	交配数	子の数			P
		合計	非組換型	組換型	
<i>Ld</i> : <i>B</i>	4	68	39	29	>0.10
<i>Ld</i> : <i>Bh</i>	4	49	28	21	>0.25
<i>Ld</i> : <i>E</i>	9	127	66	61	>0.50
<i>Ld</i> : <i>W</i>	11	177	100	77	>0.05
<i>Ld</i> : <i>Y</i>	6	71	41	30	>0.10
<i>Ld</i> : <i>Alb</i>	8	88	39	49	>0.25
<i>Ld</i> : <i>Es-D</i>	4	24	10	14	>0.25
<i>Ld</i> : <i>Hb-1</i>	11	165	77	88	>0.25
<i>Ld</i> : <i>PGI</i>	19	285	147	138	>0.50
<i>Ld</i> : <i>Tf</i>	36	478	257	221	>0.05

る。ウズラの染色体数は  $2n = 78$  で、連鎖の検出されるチャンスがきわめて低いことがわかる。今後、さらに多くの遺伝子座との間で連鎖関係を明らかにしていく計画である。

第二は、眼疾患のモデルとして可能性を有すると思われるもので、すでに国外で報告されている「バフ (Buff)」<sup>12)</sup> と形質および遺伝様式が類似しているのを、今回見い出されたものを、仮に「バフ様」と名づけることにした。この形質 (バフ) に類似したヒナが最初に発見されたのは、1977年11月25日 (♂) で、続いて第2のヒナが1979年5月31日 (♂) に発見され、これらの子孫によって、すでに報告された「バフ」と同一のものであるか、現在、遺伝子分析を行なって、検討中である。表3は、現在までに得られた交配成績の結果である。遺伝子分析の結果、今回見い

表3. ウズラの新しい羽色変異「バフ様」に関する交配成績

交配 父 × 母	交配数	雛の数	初生雛の羽色		期待比	P
			野生型 ( $Pk^+/Pk^+$ または $Pk^+/pk$ )	バフ様 ( $pk/pk$ )		
バフ様 × 野生型 ( $pk/pk$ ) ( $Pk^+/Pk^+$ )	8	78	78	0	1:0	-
バフ様 × 野生型 ( $pk/pk$ ) ( $Pk^+/pk$ )	2	36	20	16	1:1	>0.50
野生型 × 野生型 ( $Pk^+/pk$ ) ( $Pk^+/pk$ )	29	268	204	64	3:1	>0.50
野生型 × バフ様 ( $Pk^+/pk$ ) ( $pk/pk$ )	2	15	9	6	1:1	>0.25
バフ様 × バフ様 ( $pk/pk$ ) ( $pk/pk$ )	2	14	0	14	0:1	-

出された「パフ様」は、常染色体性の劣性の対立遺伝子によって発現することが明らかにされたので、この対立遺伝子の記号を  $pk$ （「パフ様」の眼が淡紅色であるので、その英語名 pink eye の略）とし、それに対する野生型の対立遺伝子の記号を  $Pk^+$  とした。したがって、「野生型」の遺伝子型は  $Pk^+/Pk^+$  のホモ型か、あるいは  $Pk^+/pk$  のヘテロ型、そして「パフ様」の遺伝子型は  $pk/pk$  のホモ型である。この「パフ様」の個体の中に、性成熟を過ぎたころから、水晶体が白濁してくるのが観察された（写真 2）。その症状が白内障であるかは、現在のところ断定はできないが、遺伝性の眼疾患のモデルとしての可能性を有するのではないかと考えている。

第三は、当初、皮膚疾患のモデルとしての可能性を有するものと考えていたが、その後の調査で、皮膚というよりも羽毛の構造に異常のあることが明らかになったので、今回見いだされたこの形質を、仮に「ほつれ羽毛」と名づけることにした。この形質を有するヒナがはじめて発見されたのは、1980年5月20日（♀）のことで、その後の調査では同じものは発見されていない。現在、この個体の子孫を増殖して、遺伝子分析を行なっているが、表 4 は、これまでに得られた交配成績の結果である。

表 4. ウズラの新しい羽性変異「ほつれ羽毛」に関する交配成績

交配 父 × 母	交配数	雛の数	初生雛の羽性		期待比	P
			正常羽 ( $Fr^+/Fr^+$ または $Fr^+/fr$ )	ほつれ羽毛 ( $fr/fr$ )		
正常羽 × ほつれ羽毛 ( $Fr^+/Fr^+$ ) ( $fr/fr$ )	1	26	26	0	1:0	—
正常羽 × 正常羽 ( $Fr^+/fr$ ) ( $Fr^+/fr$ )	10	79	64	15	3:1	>0.10
ほつれ羽毛 × 正常羽 ( $fr/fr$ ) ( $Fr^+/fr$ )	8	113	90	23	1:1	<0.01
ほつれ羽毛 × 正常羽 ( $fr/fr$ ) ( $Fr^+/Fr^+$ )	6	35	35	0	1:0	—

分析の結果、「ほつれ羽毛(♂)」と「正常羽(♀)のヘテロ型」との交配で分離比の偏りが見られたので、今後検討を加える必要があるが、この形質(ほつれ羽毛)は、常染色体性の劣性の対立遺伝子によっておおむね発現することが明らかにされたので、この対立遺伝子の記号を  $fr$ （「ほつれ羽毛」の英語名 fray の略）とし、それに対する正常羽（野生型）の対立遺伝子の記号を  $Fr^+$  とした。したがって、「正常羽」の遺伝子型は  $Fr^+/Fr^+$  のホモ型か、あるいは  $Fr^+/fr$  のヘテロ型、そして「ほつれ羽毛」の遺伝子型は  $fr/fr$  のホモ型と推定される。この「ほつれ羽毛」と名づけたヒナの背部の綿毛が、正常のものに比べて脱け落ちたように見え、そのために浅黒い皮膚の色が全体的に表面に浮きでて見えるもので、これまでの交配結果から、この形質の発現の程度にはかなり個体差があり、このことが観察された分離比の偏りの一つの原因となっていることも考えられる（写真 3）。この形質を有する個体の発育の速度は、正常のものに比べて、著るしく遅いことも観察された。この形質が、今後、いかなる遺伝性の疾患モデルとして有用となるかは、現在のところ

明らかでない。

以上の調査結果を総括的に検討すると、産業の場で、各種の遺伝性の疾患モデルを発掘していく可能性の高い方法として、上記に示したような羽色・羽性の異常なヒナに着目して、その形質を支配する遺伝子の多発現の中から見い出してゆくのが、現在のところ、より効率がよいのではないかと考えている。

最後に、産業の場ではないが、遺伝研で1975年に発見された小脳の部位に異常があつて体全体に間断なく震えを示す「暗色羽神経異常」<sup>13,14)</sup>(写真4)と、日生研で1976年に発見された「糖尿病Ⅱ型ウズラ」<sup>15)</sup>を私共の研究室に導入し、電気泳動法で検出できる血液・臓器中の酵素・蛋白質に関する遺伝形質との間での関連性について、現在、分析を進めている。

#### 文 献

- 1) 伊藤慎一：産業の場で見い出される異常ウズラの調査 — 疾患モデル動物の素材としての検討 — 筋ジストロフィー症動物の生産・開発に関する研究(野村班)昭和55年度研究報告書, 35-40, 1981.
- 2) 本間運隆, 神野雅宏, 鬼頭純三：ウズラにおける新しい羽色の変異・シルバー・に関する研究。日畜会報, 40: 129-130, 1969.
- 3) Minezawa, M. & Wakasugi, N.: Studies on a plumage mutant (Black at hatch) in the Japanese quail. *Japan. J. Genetics* 52: 183-195. 1977.
- 4) 若杉昇, 近藤恭司：ニホンウズラにおける神経疾患研究用系統の開発。筋ジストロフィー症動物の生産・開発に関する研究(野村班)昭和55年度研究報告書, 27-34, 1981.
- 5) Wakasugi, N. & Kondo, K.: Breeding methods for maintenance of mutant genes and establishment of strains in the Japanese quail. *Experimental Animals*, 22 (Suppl.): 151-159, 1973.
- 6) 本間運隆, 神野雅宏, 朱宮正剛：黄色ウズラの遺伝。日畜会報, 38: 163-166, 1967.
- 7) Haley, L. E.: Serum albumin polymorphism in quail and chicken-quail hybrids. *Genetics* 51: 983-986. 1965.
- 8) 渡辺誠喜, 芝田猛, 河原孝忠：ニホンウズラにおけるエステラーゼD・アイソザイムの変異。家禽会誌, 14: 66-70, 1977.
- 9) Maeda, Y., Hashiguchi, T. & Taketomi, M.: Genetic variation of hemoglobin in Japanese quail. *Japan. J. Genetics*, 50: 265-268, 1975.

- 10) Juneja, R. K. & Wilhelmsson, M.: Genetical control of phosphoglucose isomerase isozymes in the Japanese quail erythrocytes. *Animal Blood Groups and Biochemical Genetics*, 6: 3-7, 1975.
- 11) Ito, S., Asano, H., Hanai, H., Ishikawa, K., Kimura, M. & Isogai, I.: Genetic control and population survey of transferrin in the Japanese quail. *Animal Blood Groups and Biochemical Genetics*, 12: 145-147, 1981.
- 12) Sittmann, K., Wilson, W. O. & McFarland, L. Z.: Buff and albino Japanese quail. *J. Heredity*, 57: 119-124, 1966.
- 13) Ueda, S., Ito, H., Masai, H. & Kawahara, T.: Abnormal organization of the cerebellar cortex in the mutant Japanese quail, *Coturnix coturnix japonica*. *Brain Research*, 177: 183-188, 1979.
- 14) 河原孝忠：家禽類，特にウズラにおける神経異常突然変異。実験動物，29：93 - 98，1980.
- 15) 水谷誠：糖原病Ⅱ型ウズラの育成。筋ジストロフィー症動物の生産・開発に関する研究（野村班）昭和56年度研究報告書，35，1982.



写真1. 野生型の羽装の初生雛で見いだされた形態の異常  
(a) 首曲がり (b) 短嘴および短脚



写真2. 新たに見いだされた羽色変異  
(a) パフ様 ( $pk/pk$ ) の初生雛、(b) 同、10 週齢



写真 3. 新たに見い出された羽性変異

(a) ほつれ羽毛 ( $fr/fr$ ) の初生雛、(b) 左 : 正常羽、右 : ほつれ羽毛

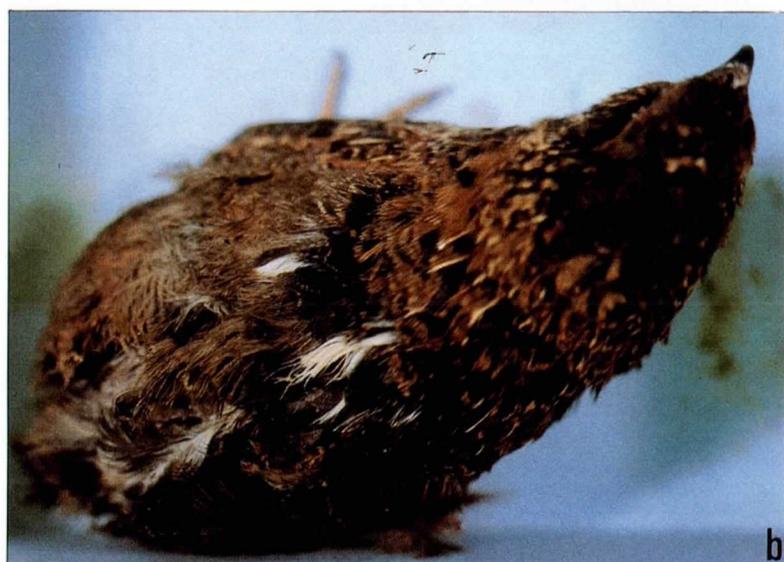


写真 4. 遺伝研で発見された羽色変異

(a) 暗色羽神経異常 ( $dn/dn$ ) の初生雛、(b) 同、10 週齢

## 4. 筋ジストロフィー症鶏浅胸筋の除神経に伴う組織学的、酵素組織化学的变化

菊池建機\*

### 研究目的

ニューハンプシャー種筋ジストロフィー症鶏（以下筋ジス鶏と略）の筋ジストロフィー遺伝子（am）を白色レグホン種鶏（+/+）へ導入する過程で、種々の交配によりその遺伝様式を調べた。その結果 am 遺伝子は不完全優性遺伝の様式に従っており、ヘテロタイプ鶏（+/am）（以下ヘテロ鶏と略）浅胸筋にも酵素組織化学的所見および血清酵素、特に pyruvate kinase の分析値から明瞭な病変を認め、これが筋ジストロフィー症発現の遺伝的キャリアーとして介在することが明らかとなった。<sup>1)~4)</sup>しかしヘテロ鶏は筋ジス鶏の臨床的病勢進展の判定法である flip test を行うと正常鶏と区別のつかない事が多く、ヘテロ鶏は筋ジス鶏に発現する筋組織の病変が何らかの点で改善されていたことを示している。我々は今回、このヘテロ鶏を実験鶏として正常および筋ジス鶏に加えて、浅胸筋の除神経を孵化後 5 週令で実施し、かかる神経の生理機能除去という負荷がこれら三者の浅胸筋組織にいかなる作用を有するかを検討した。

### 実験材料および方法

実験鶏は東北大学農学部において作出した筋ジス鶏（WL）15羽、正常鶏（WL）20羽およびこれらの交配によるヘテロ鶏（WL）22羽を用いた。<sup>4)</sup>また少数ではあるがニューハンプシャー種筋ジス鶏（413系）においても実験を行った。除神経は5週令で行なわれ、実験鶏はペントバルビタール（30mg/Kg）皮下注射にて麻酔された。胸筋神経（N. pectoralis）は腕神経叢（plexus brachialis）の腹側より出る上腕神経（Nn. brachiales inferiores）の主幹が分枝し、この細枝がさらに2分して浅胸筋（M. pectoralis superficialis）に浸入する。今回は血管より分離の容易な胸筋前部を支配する神経枝を切断した。この神経切断により浅胸筋の約 $\frac{2}{3}$ は除神経される。切断後本幹に近い神経枝を反転して皮膚へ縫合するか、ポリエチレンチューブへ挿入してこれを包み、かつ反転して皮膚へ縫合した。この方法により術後の神経の再生、再支配を長期間防ぐことができる。除神経術後4、12、25日目に浅胸筋を採取し、無処置側の浅胸筋は対照区とした。

上腕二頭筋（M. biceps brachii）の除神経はWilson等（1970）<sup>5)</sup>の方法に従い、正中神経（N. medianus）の本幹を血管より分離後上腕二頭筋神経（N. biceps）が分枝する直前で切断し、前述と同様ポリエチレンチューブで神経を包み、皮転して皮膚へ縫合した。採取日令は浅胸筋の場合と同様である。対照筋は無処置側の筋を用いた。

酵素組織化学的検索を加えるため、筋組織をドライアイスアセトンにて急速凍結、10 $\mu$  クリオスタート切片を作製し、H-E, NADH-TR, ミオシンATPase（pH 4.2, pH 10.3 前処理）

\* 東北大学農学部

を行った。Acetylcholinesterase (AchE) は  $20\mu$  連続切片において  $10^{-4}$  iso-OMPA にて Butyrylcholinesterase を阻害して観察した。

筋線維径の測定は H-E 染色標本において接眼マイクロメーターを使用し、任意に選ばれた小筋束中の全線維の径を測定した。

### 実験結果

写真-1に5週令で除神経後、12日目の正常、ヘテロ、筋ジス鶏の対照浅胸筋のH-E染色標本およびNADH-TR酵素反応を示す。正常鶏の浅胸筋は線維径のほぼ一様で小型の筋線維から成り、しばしば中心核を認め、NADH-TR反応は一様に低い(写真-1, a, d)。ヘテロ鶏では大径の肥大線維とその周辺に扁平となった小型線維を含み、肥大線維の核は主に周辺に位置するが、小径線維では中心核の増殖が著しい。NADH-TR活性は肥大線維で高く、小径線維では低い(写真-1, b, e)。これに対して筋ジス鶏浅胸筋では筋線維大小不同が著しく、大径線維でもすでに中心核の増加を認め、中には線維断裂(fiber splitting)の所見を認める。NADH-TR活性は大径線維の方が高い傾向にあるが、線維径と活性の強度にはあまり関係がない(写真-1, c, f)。

5週令で除神経された浅胸筋では4日目ですでに線維径の減少がはじまる。写真-2, a~fに除神経後12日目、写真-2, g~lに25日目の正常、ヘテロ、筋ジス鶏での除神経された浅胸筋の組織および酵素反応を示す。正常筋の場合除神経後急激に線維径を減じ、NADH-TR活性は一様に低い。また線維径の大小不同は認められない(a, d, g, j)。ヘテロ鶏浅胸筋は神経機能除去により、4~12日目では線維径大小不同が認められ、対照筋にみられた肥大線維は除神経12日目でやや酵素活性の高く、線維径の大なる筋線維として残るが、25日目では正常筋の場合と同様に線維径はほぼ一様に減少し、酵素活性にも差が認められなくなる(b, e, h, k)。筋ジス鶏浅胸筋では除神経4~12日目で線維径の減少を示し、対照筋でみられる中間の線維径を有する線維の著減を認めるが、大型線維が多数組織内に残っている。この傾向は25日目でも同様であり、大型の肥大線維が周辺の小径線維中に多数分布している(c, f, i, l)。

除神経後12、25日令で正常および筋ジス鶏浅胸筋線維の径を測定すると、正常筋の25日目では対照筋が  $3.190 \pm 11.55\mu$ 、除神経筋が  $20.95 \pm 5.10\mu$  となり、線維径は一様に萎縮している。筋ジス鶏筋での対照筋は日令を追って径を増加させているが、除神経筋では12日目で  $25.53 \pm 16.78\mu$ 、25日目でも  $25.15 \pm 18.75$  で25日目で約36%減少する(表-1)。しかし筋ジス鶏筋で線維径の分布を25日目で調べると、除神経筋では大部分の筋線維は萎縮して径の小さい方へ移行するが、比較的大型の線維も多数含まれており、線維径の大なる方にも分布している。この点を筋ジス鶏(413系)と筋ジス鶏(WL)で比較すると、前者ではこの術後日令でも後者より多くの大径線維が筋中に含まれている(図-1)。

筋ジス鶏除神経筋において比較的長期間残存する大径線維が線維タイプでは何に属するかを検討するため、NADH-TR反応に加えてミオシンATPase反応を行った。その結果アルカリ側前処

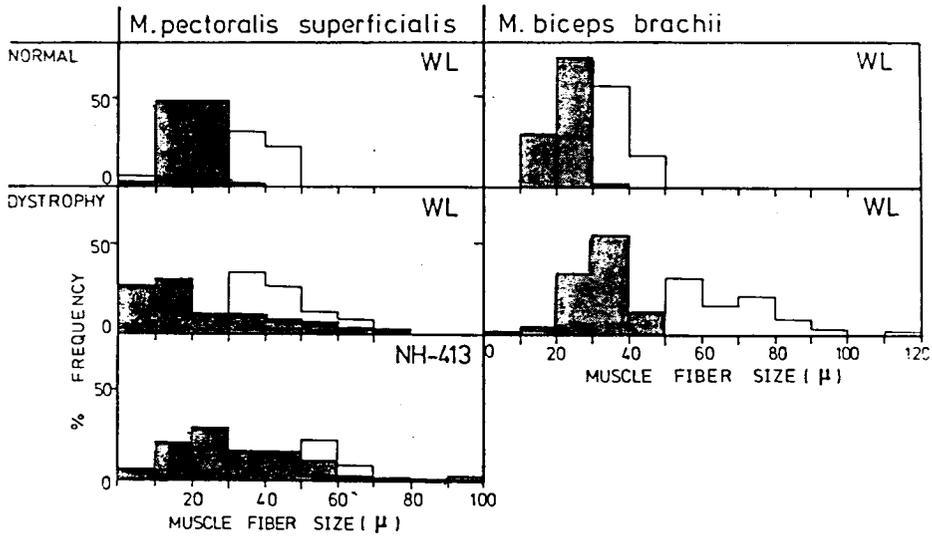


図-1. 除神経後 25 日目の正常及び筋ジス鶏浅胸筋、上腕二頭筋組織内筋線維径の分布。

days after operation	normal				dystrophy			
	M. pectoralis superficialis		M. biceps		M. pectoralis superficialis		M. biceps	
	control	denervation	control	denervation	control	denervation	control	denervation
12	—	—	—	—	32.38±18.00 (n=3) <sup>2)</sup>	25.53±16.78 (n=3)	34.83±19.00 (n=4)	26.10±11.83 (n=4)
25	31.90±11.55 (n=3)	20.95±5.10 (n=3)	34.85±5.88 (n=4)	22.73±3.40 (n=4)	39.18±14.88 (n=4)	25.15±18.75 (n=4)	61.23±17.55 (n=3)	33.08±6.88 (n=3)

1) The values are mean ( $\mu\text{m}$ )  $\pm$  SD.

2) The number of experimental chickens are in parentheses.

表-1. 除神経が術後 12 及び 25 日目の正常及び筋ジス鶏浅胸筋、上腕二頭筋の筋線維径に及ぼす影響。

理 (pH 10.3) で強い活性を示し、酸側前処理 (pH 4.2) で活性を失うことから、Type II または  $\alpha$  型線維の特性を有することがわかった (写真-3, a)。また NADH-TR 反応は低下しているものもあるが、大部分は高活性であることが多く、 $\alpha$ R 型線維に属している (写真-2, e)。また除神経により小径線維の線維内 AchE 活性は線維胞体内に diffuse しており、一方では神経-筋終末部 (MEP) の AchE 活性は著しく低下する。しかしこの肥大線維は線維胞体内の酵素の diffuse は周辺の小径線維に比して少なく、全体として低い活性を示していた (写真-3, b)。ヘテロ鶏浅胸筋は除神経されると 25 日目で一様に線維径を減じ、正常鶏の場合と区別がつかなくなるが、少数例ではあるが、除神経浅胸筋の深層部に ring fiber が出現した。この深層部には  $\alpha$ R 線維が密に存在する

部位で、これらの線維の除神経に対する何らかの反応であろうと思われる(写真3, c, d)。

上腕二頭筋の除神経の結果はヘテロ鶏の場合とほぼ同様であり、筋ジス鶏の除神経筋に出現する肥大線維に相当するものは4、12日目の除神経筋で限られた部位で、しかも少数例にしかみられなかった。筋ジス鶏上腕二頭筋の線維径は浅胸筋に比して大きい傾向があり(表-1)、また中心核も数的に大である(写真-3, e)。しかし除神経25日目では筋ジス鶏浅胸筋に特有の大型肥大線維は残存せず、ほぼ一様に萎縮している(写真-3, f)。線維径の分布を測定すると対照筋では線維の大小不同が顕著であるが、除神経に伴い筋線維径は著減する(図-1)。

## 考 察

正常鶏浅胸筋は孵化後10日目頃まで少数の $\alpha$ R型および大部分の $\alpha$ W型線維で構成されるが、以後 $\alpha$ R型線維は急激に $\alpha$ W型線維へ移行する。一方筋ジス鶏浅胸筋の $\alpha$ R型線維は孵化後60日を経ても約30~40%みられ、この移行が遅れる<sup>6), 7)</sup>ヘテロ鶏ではこの $\alpha$ R型線維の $\alpha$ W型線維への移行が遅れる点は筋ジス鶏と同様であるが、かつ肥大を示す点の特徴である。筋ジス鶏では $\alpha$ W型線維径の大小不同が顕著で、中に壊死および再生過程にあるものを認める。一方ヘテロ鶏ではこのような $\alpha$ W型線維径の大小不同は若鶏ではそれ程目立たず、むしろ一様に径を減じており、しかも酸化還元酵素(SDH, NADH-TR)活性は筋ジス鶏の $\alpha$ W型線維程には上昇せず、若鶏では正常筋の場合と差が認められない。<sup>4)</sup>かかる小径線維もAchE活性が筋線維胞体内にdiffuseしており、神経-筋の機能に障害があるか、または線維の分化が未熟な状態に止っているかの可能性が考えられた。<sup>4)</sup>

今回我々はかかる筋ジスおよびヘテロ鶏にみられる $\alpha$ R型線維が質的に同じものなのかを検討するため、浅胸筋神経を切断し、除神経後の $\alpha$ W型および $\alpha$ R型線維の変化を酵素組織化学的に検討してみた。浅胸筋の除神経はStracher等(1979)<sup>8)</sup>が正常鶏で行っているのみで、筋ジス鶏での報告はない。筋ジス鶏では上腕二頭筋で除神経が行われており、主にAchE isozyme アクリルアミド電気泳動パターンと筋中のAchE総量の術後変化が検討されている。また除神経後21日目の組織学的所見として正常、筋ジス筋ともに一様な線維萎縮をみている。<sup>5)</sup>今回我々が行った上腕二頭筋除神経の結果、正常、ヘテロ、筋ジス鶏とも筋線維の萎縮をみており、この報告の結果と一致している。

一方浅胸筋除神経では、ヘテロ鶏浅胸筋の肥大した $\alpha$ R型線維は12日目までは比較的径を大に維持しうるが、25日目では全線維に一様な萎縮を認め、多数の萎縮した $\alpha$ W型線維と区別がつかなくなるが、筋ジス鶏浅胸筋には肥大した $\alpha$ R型線維がこの時期でも多数残存している点が、上腕二頭筋除神経の結果と際立ったちがいがあがる。しかしこれらの肥大線維が全て個体発生中に形成された $\alpha$ R型線維に属するかは直ちに結論づけられない。何故ならば、除神経を行った5週令の筋ジス鶏筋には $\alpha$ R型線維に属するものに加えて、 $\alpha$ W型線維の中にも肥大し、かつ酸化還元酵素の活性が著しく上昇したものが多数含まれており、ミオシンATPase反応で調べた線維型の分類ではこれらも $\alpha$ R型線維の特性に近づいているからである。除神経筋ではこれらの $\alpha$ W型線維の一部も

大径線維として残存する可能性もある。ヘテロ鶏と筋ジス鶏筋の $\alpha$ R型線維はNADH-TRとミオシンATPase反応を用いた線維型の分類では差がない。しかし除神経に際して示す反応のちがいが何故惹起されるかは明らかでない。

鶏筋の前広背筋(ALD)はSlow muscleとして、また後広背筋(PLD)はfast muscleとして研究されている。前者は除神経により筋線維は長期間肥大し、後者は日令とともに萎縮する。<sup>9)</sup> また最近Feng等(1981)は鶏のmix muscleで除神経を行い、slow twitch筋線維が長期間にわたって肥大を維持することを報告している。<sup>10)</sup> この場合肥大を維持しうるのはType Iまたは $\beta$ R型線維で、浅胸筋に含まれるような $\alpha$ R型線維は萎縮を示す。筋ジス鶏筋の $\alpha$ R型線維がこのような事実と反して長期間線維径を維持しうる理由は明らかではないが、ヘテロ鶏筋の $\alpha$ R型線維は正常筋に含まれる $\alpha$ R型線維の特性に止まっており、筋ジス鶏筋の場合は $\alpha$ R型線維が、それを越えて $\beta$ R型またはType I筋線維へ移行しつつあったことが考えられる。筋ジス鶏の上腕二頭筋と浅胸筋にみられる差もこのような理由によるものと考えられる。

ミオシンアイソザイムを正常および筋ジス鶏浅胸筋で日令を追って比較すると、2週令までは両者で差がないが、5週令以後両者の間に3種のアイソザイムの量的関係に差が生ずる。筋ジス鶏筋ではアイソザイムの組成に関して、幼若期の筋への逆行している点が指摘され、<sup>11)</sup> またトロポニンの研究でも筋ジス鶏浅胸筋が発症に伴い肢型に移行している事実が報告されている。<sup>11)</sup> トロポミオシンの $\beta$ -subunitの変化では正常筋では孵化後早期に $\beta$ -subunitが減少または消失するが筋ジス鶏筋では一度減少し25~30日に極小比をとるが、以後再び増加してくる。<sup>12)</sup> いずれの結果からも5週令の筋ジス鶏筋では、今回我々が行った酵素レベルの変化では把握できないが、構造蛋白質に何らかの変化が起っていた時期と考えられ、ジストロフィー症発症とともに多くの筋線維が幼若または肢型へ移行しつつあったと思われる。

## 結 論

孵化後5週令で正常、ヘテロ、筋ジス鶏において浅胸筋および上腕二頭筋の除神経を行い、術後4、12、25日目に酵素組織化学的に筋組織を検索した。

- (1) 正常、ヘテロ鶏浅胸筋線維は除神経25日目でほぼ一様に萎縮する。
- (2) 筋ジス鶏筋では $\alpha$ R型線維に属する筋線維は術後日を経ても萎縮せず、肥大した状態を維持するが、他の大部分の線維は萎縮する。
- (3) 上腕二頭筋は術後25日目で全ての筋線維は萎縮し、筋ジス鶏浅胸筋の場合と除神経に対する反応がちがう。

## 引用文献

- 1) 菊池建機：筋ジストロフィー鶏新株の開発 — 白色レグホン種とのF<sub>1</sub>、B<sub>1</sub>鶏について。筋ジストロフィー症の基礎的研究(江橋班)53年度研究報告書、82-87、1979。
- 2) 菊池建機：ニワトリ筋ジストロフィー症の遺伝分析 — 特にキャリア鶏浅胸筋の組織学的・酵

素組織化学的研究. 筋ジストロフィー症動物の生産・開発(野村班)54年度研究報告書, 41-51, 1980.

- 3) 菊池建機, 大和田修一, 石浦章一: 筋ジストロフィー症鶏のCarrierにおける血清 pyruvate kinase 活性. 医学のあゆみ, 第116巻: 147-150, 1981.
- 4) Kikuchi, T. et al: Genetic Heterozygous Carriers in Hereditary Muscular Dystrophy of Chickens. Tohoku J. Agr. Res., 32: 14-26, 1981.
- 5) Wilson, B.W. et al: Innervation and the Regulation of Acetylcholinesterase Activity during the Development of Normal and Dystrophic Chick Muscle. J. Exp. Zool., 174: 39-54, 1970.
- 6) Ashmore, C.R. & Doerr, L.: Postnatal Development of Fiber Types in Normal and Dystrophic Skeletal Muscle of the Chick. Exp. Neurol., 30: 431-446, 1971.
- 7) 埜中征哉: 1)ジストロフィーチキン骨格筋の組織学的, 組織化学的検討. 筋ジストロフィー症の病因に関する臨床的研究(三好班)54年度研究報告書, 17-21, 1980.
- 8) Stracher, A. et al: *In vivo* Effect of Protease Inhibitors in Denervation Atrophy. Exp. Neurol., 66: 611-618, 1979.
- 9) Feng, T.P. et al: The Contrasting Trophic Changes of the Anterior and Posterior Latissimus Dorsi of the Chick following Denervation. Acta physiol. Sinica, 25: 304-311, 1962.
- 10) Feng, T.P. et al: The Occurrence of Post-Denervation Hypertrophy in Chick Slow Muscle Fibers after Complete Elimination of Stretch and Tension. 24: 554-562, 1981.
- 11) 大日方昂: 幼若筋及び筋ジストロフィー筋の筋蛋白質についての研究. 筋ジストロフィー症の基礎的研究(江橋班)55年度研究報告書, 108-113, 1981.
- 12) Takeda, S. & Nonomura, Y.: Presence of the Tropomyosin  $\beta$ -Chain in Dystrophic Chicken Breast Muscle. Biomed. Res., 1: 176-179, 1980.

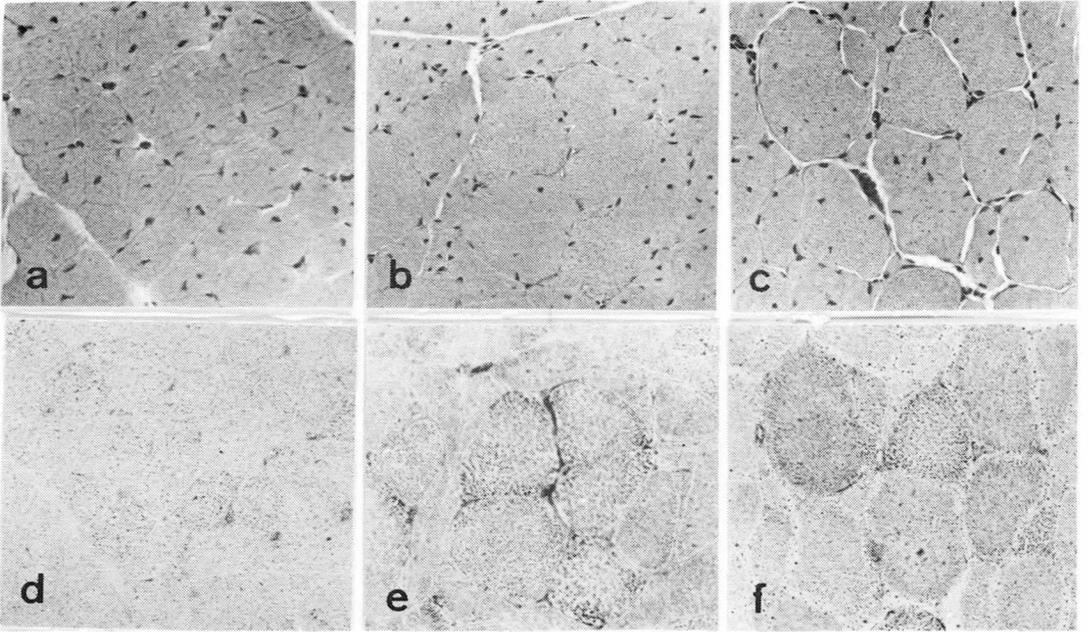


写真-1. 孵化後47日令の正常、ヘテロ、筋ジス鶏浅胸筋組織 ( a, b, c ) と NADH-TR 酵素活性 ( d, e, f )。 × 264

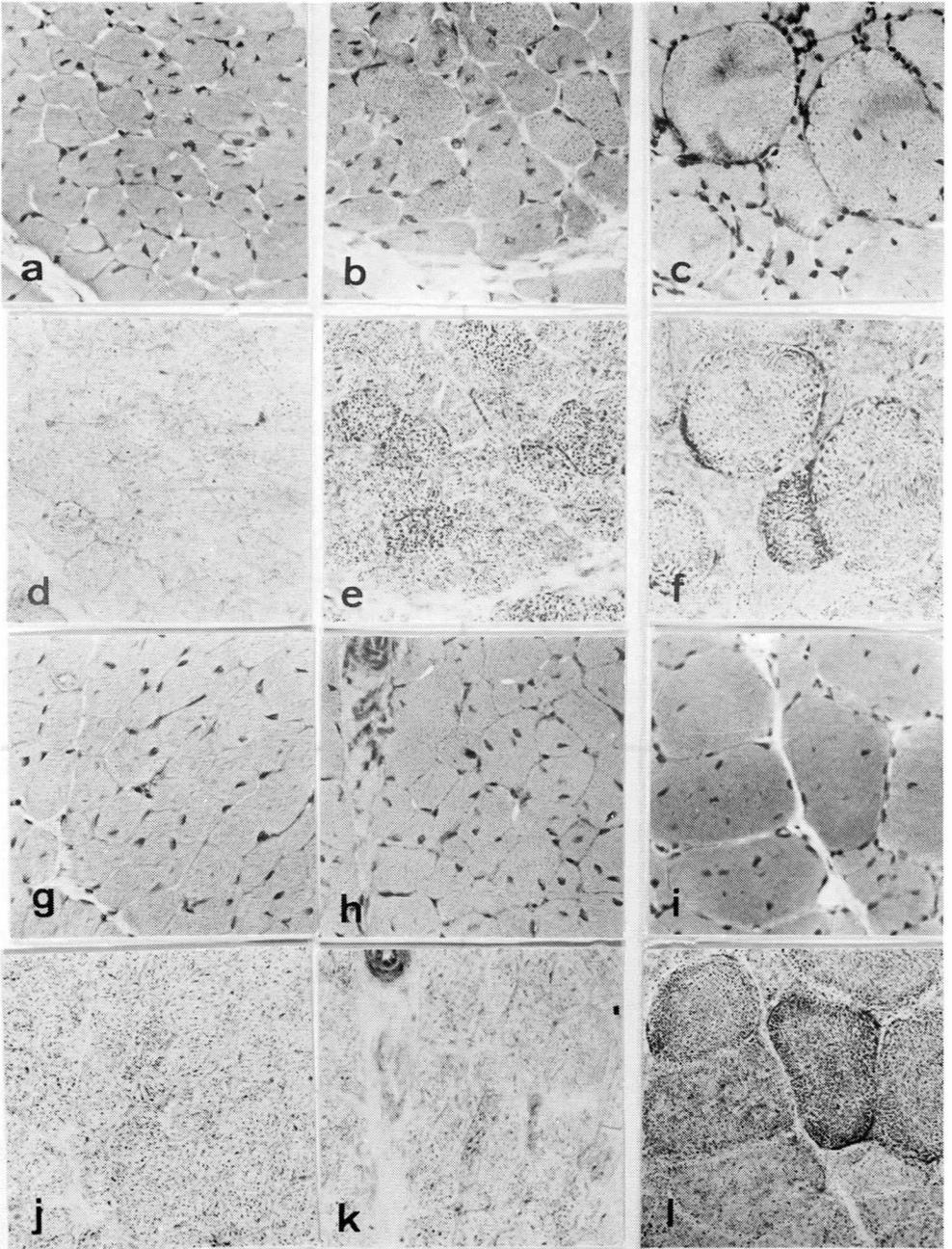


写真-2. 除神経後12日目(a~f)、25日目(g~l)の浅胸筋組織(a, b, cおよびg, h, i)とNADH-TR酵素活性(d, e, fおよびj, k, l)。a, d, g, jは正常鶏、b, e, h, kはヘテロ鶏、c, f, i, lは筋ジス鶏の場合を示す。×264

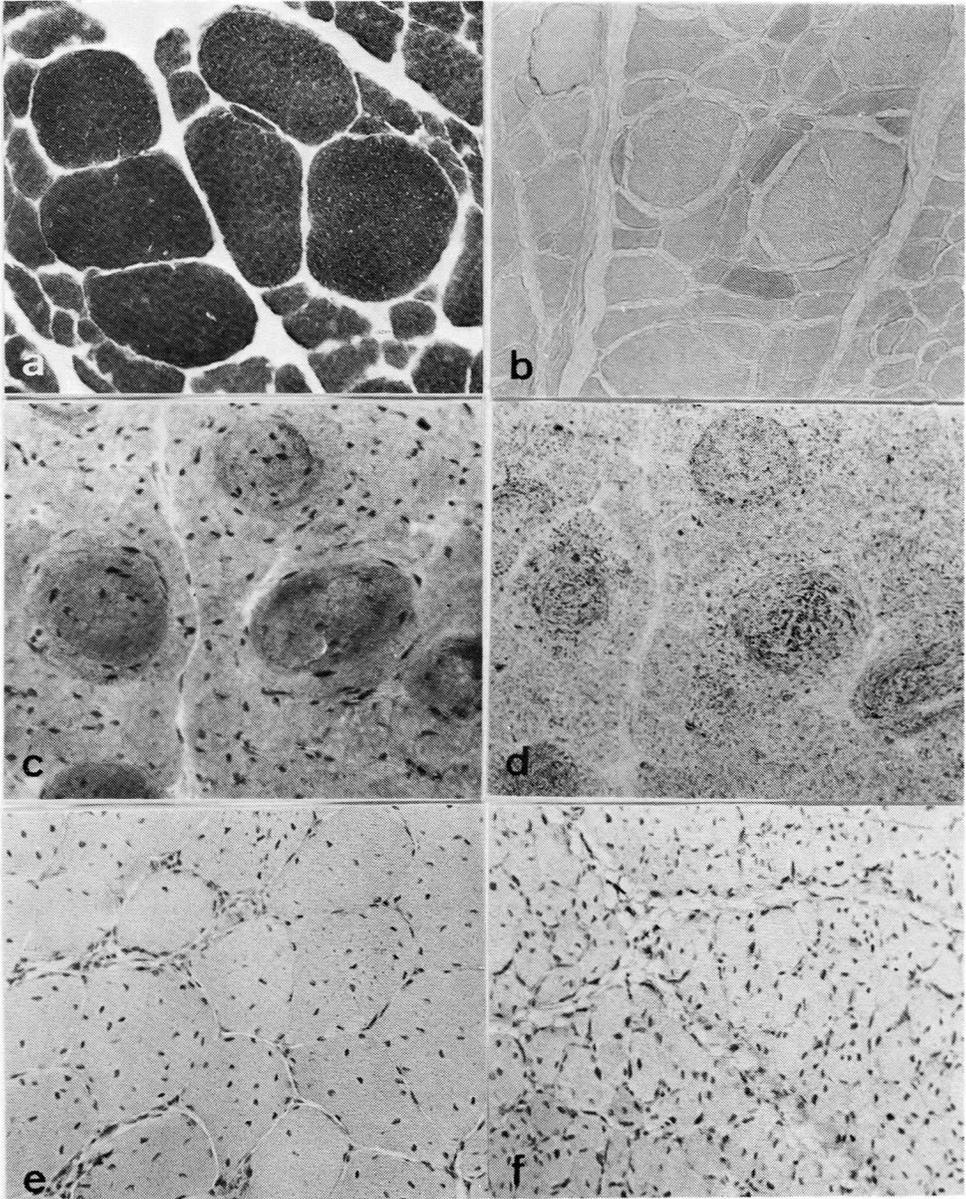


写真-3. 除神経後25日目の筋ジス鶏浅胸筋のミオンATPase(a)及びAcetylcholinesterase(b)反応を示す。aは写真-2. i, 1と連続切片である。×264 除神経後12日のヘテロ鶏浅胸筋深層部にみられたRing fiber(c)とそのNADH-TR反応(d)を示す。×264 除神経25日目の筋ジス鶏上腕二頭筋の対照筋(e)と除神経筋(f)。×200

## 5. 新たに発見された遺伝性骨・軟骨異常マウス

江崎 孝三郎\*

研究協力者 吉村幸夫\*, 上山義人\*\*

ヒトの骨・軟骨異常としては、強直性脊椎炎、変形性関節症、軟骨石灰症など多くの疾患がみられ、それらのいくつかのものは難治性疾患とされている。そして、これらの疾患の病因の解析に重要な役割をはたすと考えられるモデル動物の開発が進められ、実験動物あるいは家畜のなかに類似の疾患を見出す努力がなされている。特に、マウスにおいては、cartilage anomaly<sup>1)</sup>, chondrodysplasia<sup>2)</sup>, achondroplasia<sup>3)</sup>, osteosclerotic<sup>4)</sup>, osteopetrosis<sup>5)</sup> などいくつかの突然変異形質が発見され、検索が進められている。

筆者らは ICR マウスを近親交配している過程で、歩行異常を示す個体を発見した。そして、この異常形質が遺伝性の骨・軟骨異常によるものであると推定される成績を得たので報告する。

### 材料および方法

使用動物は、ICR マウスを起源とする近交系を育成している過程で発見された歩行異常を示すマウスである。

動物の飼育環境は、温度  $23 \pm 1^\circ\text{C}$ 、湿度  $65 \pm 5\%$  とし、放射線滅菌した飼料（日本クレア製、CA-1）および  $128^\circ\text{C}$  で 20 分間加熱滅菌した水道水を不断給与した。

### 1. 一般症状ならびに繁殖能力の検索

症状の発現の有無および進行を週 2 回観察するとともに、一部の個体については体重を測定し、症状の変化を終生観察した。

繁殖能力の検索のために、異常個体と同腹の正常メス・オスの交配、異常メスと他系の正常オスの交配、他系の正常メスと異常オスの交配および異常メス・オスの交配をおこない、妊娠の成立の有無、産仔数、哺育成績を調査した。

### 2. 遺伝様式の分析

異常個体と同腹の正常メス・オスの交配および異常メスと C57BL/6 オスの交配をおこない、 $F_1$  および  $F_2$  における異常の発現を観察した。さらに、異常メスと C57BL/6 オスとの交配で得られた  $F_2$  を用いて、この異常を支配する遺伝子座と Pep-3（第 1 染色体）、a（第 2）、Car-2（第 3）、Gpd-1（第 6）、c（第 7）、Hbb（第 7）、Es-1（第 8）および Es-3（第 11）の各遺伝子座との連関関係を検索した。

\* (財)実験動物中央研究所

\*\* 東海大学医学部

### 3. 全身骨格標本の作成

全身骨格観察のために、生後20日、60日および6ヶ月の異常動物および正常動物をエーテル麻酔で殺処分した。内臓を除去した後、アルコール固定をおこない、0.001%のアリザリンレッドSで染色し、2% KOHおよびグリセリンで透明化して骨格標本を作成した。

## 成 績

### 1. 異常動物発見の経過ならびに一般的特徴

起源となった動物は1976年2月に日本クレア株式会社から入手したJcl:ICRマウスである。近交系を育成する目的で兄妹交配を継続していたところ、第8代の動物のなかに体型が小さく、体躯が強直した症状を呈し、つまさき立ちで歩行する異常(写真1)がメス2匹、オス2匹に発見された。そこで、これらの異常メス・オスを交配したけれども仔を得ることはできなかった。しかし、異常個体と同腹の正常メス・オスの交配の組からの第10世代の離乳仔のなかに前回と同様の症状を示す異常個体が発見された(図1)。その後は異常個体と同腹の正常メス・オスを交配し、

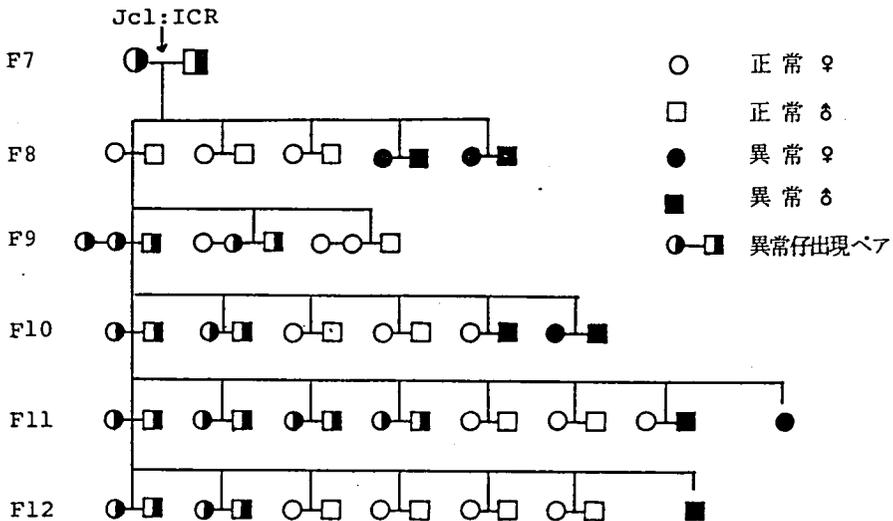


図1. 骨・軟骨異常マウスの系統図

その仔のなかに異常の発現を確認することによってこの形質を保存している。

異常動物の外見的症状をみると、前・後肢の手関節、足関節および指趾が屈曲せず、物をつかむ

ことができず、つまさき立ちで歩行する。これらの症状は生後19~21日頃より発現した。従って、出生時および哺乳期に正常個体と異常個体を識別することはできなかった。症状は加齢とともに進行し、脊椎関節も固定して体躯が強直した様相を呈するようになる。最後には起立、歩行も不能になり、衰弱して死亡する。

異常個体およびそれらと同腹の正常個体の体重の変化と死亡時期を図2に示した。離乳時の体重

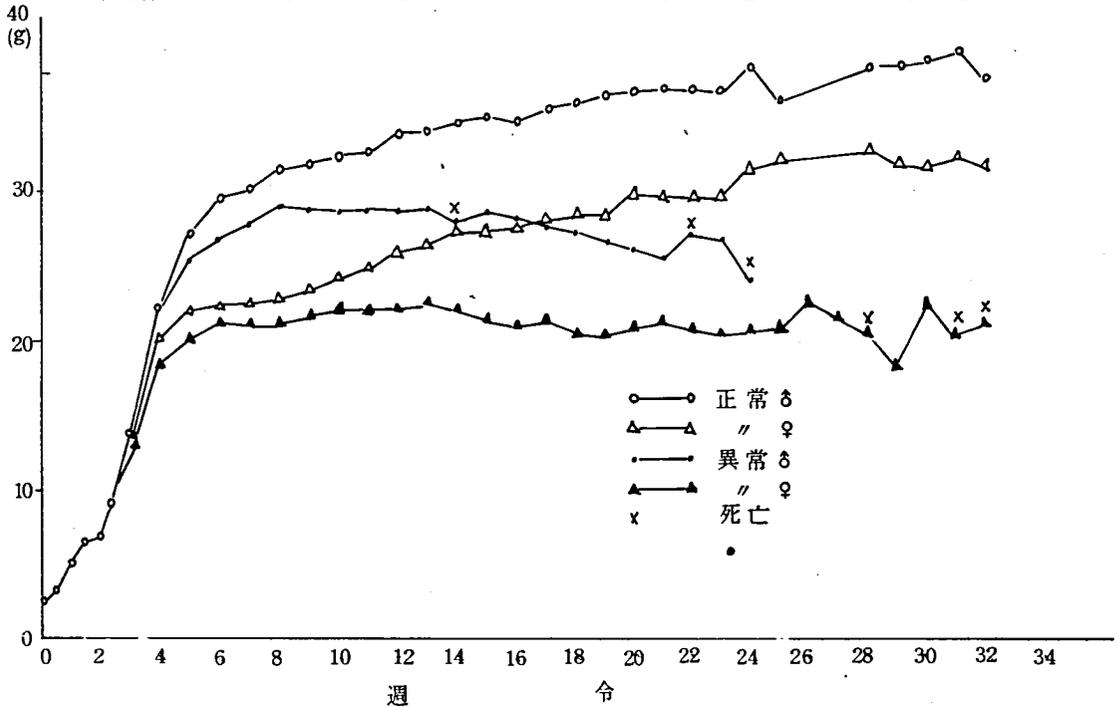


図2. 骨・軟骨異常マウスおよび同腹正常マウスの体重変化

にはメス、オスともに異常個体と正常個体の間に差は認められなかった。しかし、異常個体の離乳後の発育は悪く、8週齢頃に体重の増加が停止し、以後の体重は徐々に減少する傾向にあった。異常個体の死亡は14週よりみられ、32週までに全例が死亡した。

## 2. 繁殖能力

正常個体、異常個体を用いた種々の交配の組合せによる繁殖成績を表1に示した。系統維持のためにおこなった異常個体と同腹のメス・オスの交配19組のうち異常仔の生れなかった8組での成績は産仔数  $1.6 \pm 3.3$  匹、離乳率97%であった。一方、19組のうち異常仔の出現した11組での平均産仔数は  $1.2 \pm 3.2$  匹、離乳率は95%であり、異常仔の出現しなかった交配8組での成績との間に差はみられなかった。なお、離乳仔の中での異常仔の出現率は22%であった。

異常メスと他の系統の正常オスの交配を6組おこなったところ、いずれの交配でも1回のみ出産がみられ、平均産仔数は  $8.8 \pm 1.2$  匹であった。これらの母体(異常個体)においては哺育状態が

表1. 異常マウスの繁殖能力

交配の組合せ ♀ × ♂	組数	平均出 産回数	平均産仔数 ( $\bar{x} \pm SD$ )	離乳率 (%)	異常出現率 (%)	備考
正常 × 正常 <sup>a)</sup>	8	4.4	11.6 ± 3.3	97	—	正常仔のみの組 異常仔の出現した組
	11	4.7	11.2 ± 3.2	95	22	
異常 × 正常 <sup>b)</sup>	6	1.0	8.3 ± 1.2	87	0	正常マウスに里仔
正常 <sup>b)</sup> × 異常	2	0	—	—	—	
異常 × 異常	3	0	—	—	—	

a) 異常マウスと同腹の正常マウス

b) 正常ホモマウス

極めて不良であったので、ICR系のメスに里仔したところ87%の離乳率であった。

正常メスと異常オスの交配および異常メス・オスの交配では妊娠が成立せず、仔は得られなかった。

### 3. 遺伝様式の分析

遺伝様式の分析のためにおこなった交配実験の成績を表2および表3に示した。

表2. 異常マウスと同腹の正常メス・オスの交配による遺伝支配の分析

交配の組数	総仔数	正常仔数	異常仔数	異常出現頻度
16	7	230	0	—
	8	313	70	22.4%
	1	不妊		

表3. 異常マウスとC57BL/6マウスの交配による遺伝支配の分析

交配の組合せ	交配組数	総仔数	正常仔数	異常仔数	異常出現頻度
異常 × C57BL	5	42	42	0	
F <sub>1</sub> × F <sub>1</sub>	10	479	371	108	22.5%

異常個体と同腹の正常メス・オスの交配を16組おこなったところ、1組は不妊で、7組からは正常の仔のみが生まれ、8組からは総仔数313匹中に異常仔が70匹(22.4%)出現した。次に、異常メスとC57BL/6オスの交配を5組おこない、出生仔をICR系のメスに里仔して育成したところ、42匹の仔(F<sub>1</sub>)が得られ、すべて正常であった。ここで得られたF<sub>1</sub>のメス・オスを交配して得られたF<sub>2</sub>においては、479匹中108匹(22.5%)に異常が発現した。

これらの異常マウスの出現頻度は、この異常が常染色体上の1個の劣性遺伝子によって支配されていると仮定したときの理論比すなわち、異常動物と同腹の正常メス・オスの交配の組のうち異常

仔が出現する組の割合<sup>4</sup>/9、それらの組での正常仔と異常仔の比3:1および異常メスとC57BL/6オスの交配におけるF<sub>2</sub>での正常仔と異常仔の比3:1のいずれとも良く一致していた。

次に、すでに染色体上の遺伝子座が明らかにされているいくつかの形質とこの形質の関連を知るために、異常メスとC57BL/6オスの交配から得られたF<sub>2</sub>の一部について検索し、その成績を表4に示した。Pep-3, a, Car-2, Gpd-1, c, Hbb, Es-1およびEs-3遺伝子座の形質と

表4. 異常マウスとC57BL/6マウスの交配F<sub>2</sub>による連関群検査

染色体番号	遺伝子座名	遺伝子型	正常 異常		計
1	Pep-3	aa	13	4	17
		ab	21	9	30
		bb	10	3	13
		計	44	16	60
2	a	A-	24	7	31
		aa	8	4	12
		計	32	11	43
3	Car-2	aa	12	7	19
		ab	21	6	27
		bb	11	3	14
		計	44	16	60
4	Gpd-1	aa	13	7	20
		ab	22	7	29
		bb	9	2	11
		計	44	16	60
7	c	C-	32	11	43
		cc	12	5	17
		計	44	16	60
7	Hbb	dd	11	5	15
		ds	23	6	29
		ss	10	5	16
		計	44	16	60
8	Es-1	aa	7	6	13
		ab	28	8	36
		bb	9	2	11
		計	44	16	60
11	Es-3	aa	15	5	20
		ac	17	7	24
		cc	12	4	16
		計	44	16	60

異常マウス : Pep-3<sup>b</sup>, A, Car-2<sup>b</sup>, Gpd<sup>b</sup>, c, Hbb<sup>d</sup>, Es-1<sup>b</sup>, Es-3<sup>c</sup>

C57BL/6 : Pep-3<sup>a</sup>, a, Car-2<sup>a</sup>, Gpd<sup>a</sup>, C, Hbb<sup>s</sup>, Es-1<sup>a</sup>, Es-3<sup>a</sup>

異常形質はいずれの対応においても、独立して遺伝していると仮定したときの理論値と一致した。

#### 4. 全身骨格標本の観察結果

20日齢の動物の標本においては、前肢の手および指の関節部の骨端がやゝ粗で、その周囲にアリザリンレッドSで染色された無構造の異物が存在している以外に特記すべき変化はみられなかった。

60日齢の動物の標本では、上記の無構造の異物がさらに明瞭になったほかに、肘関節、ひざ関節および足関節にも同様な変化がみられた。また、正常動物と比較して、長骨の骨壁が薄くなる傾向がみられた。さらに、脊椎骨間の軟骨部に石灰化がみられた。骨格系以外では、耳介軟骨およびくちひげの毛包がアリザリンに染色されていた(写真2)。

6ヶ月齢の動物の標本では、尾椎を除く脊椎の全域で椎間軟骨が骨化し、脊椎は1本の棒状になっていた(写真3)。さらに、胸骨と肋骨の関節部にも骨化がみられ(写真4)、四肢、指趾関節周辺(写真5)と同様に、アリザリンに染色された無構造の異物が散在していた。

四肢関節の異常はすべての関節で

みられたが、四肢の末端にゆくほど早期にまた、強度に発現していた。さらに、アキレス腱は濃く、動脈壁は淡く染色されていた。

## 考 察

異常の遺伝様式についてみると、異常メス・オスの交配から仔は得られなかったけれども、異常動物と同腹の正常メス・オスの交配から得られた仔および、異常メスと C57BL/6 オスの交配から得られた  $F_1$ 、 $F_2$  の成績から、この異常は常染色体上の 1 個の劣性遺伝子によって支配されていると推定された。そこでこの遺伝子を tiptoe-walking-Yoshimura, 遺伝子記号を *twy* と命名した。次いで、この遺伝子座と染色体との関係を検索したけれども、標識として用いた形質のいずれとも関連はみられず、この異常形質を支配する遺伝子 *twy* は染色体番号 1, 2, 4, 7, 8 および 11 の染色体とは関連していないものと推定された。

この異常は外見的には 3 週齢頃より発症し、進行性で、四肢、脊椎関節の骨化、ひげ毛包、耳介軟骨、アキレス腱への石灰沈着のみられることが判明した。Hosoda et al.<sup>6)</sup> および 松山ら<sup>7)</sup> はこの動物について病理組織学的検索をおこない以下の成績を得ている。

脊椎においては、椎間軟骨の辺縁部に軟骨基質の変性、崩壊および椎体縁より外側への突隆がみられる。また、椎間関節周囲には上下の椎体を結ぶように丘状の無構造ないし不整顆粒状の堆積が認められ、この部分を中心として椎間軟骨の増殖および部分的な石灰沈着が認められる。四肢関節においては関節軟骨の変性、薄化、消失、軟骨細胞の不整配列、骨の関節面への露出や滑膜増殖が認められる。関節周囲には椎間関節と同様の異物の沈着が認められる。

さらに、松山ら<sup>7)</sup> は、関節周辺に存在する無構造物質が EDTA 処理で消失し、カルシウムとリンの比が 1 であることおよび、X 線析で  $2\text{\AA}$  と  $3.77 \sim 3.48\text{\AA}$  の間にピークがみられることからハイドロキシアパタイトを含むカルシウムリン酸塩であることが示唆されると報告している。

一方、耳介軟骨、アキレス腱などに石灰沈着がみられることから、カルシウム代謝異常なども考えられる。小数例について測定した血清中のカルシウム、リンの値はそれぞれ  $8.8 \sim 9.4 \text{ mg/dl}$  および  $5.2 \sim 7.3 \text{ mg/dl}$  と正常範囲にあり高カルシウム血症の所見は得られなかった。しかし、詳細な検討はまだおこなわれていない。

以上のごとく、*twy* マウスの異常の発現機序についての検討は十分であるとはいえないが、現在までに得られた成績からヒトの類似の疾患との比較をおこなってみる。

まず、強直性脊椎炎と比較すると、遺伝性であること、脊椎・椎間関節に強度の変化がみられ、いわゆる bamboo spine 様の症状を呈する点はよく類似している。しかし、関節に炎症症状が少く、リンパ球や炎症性細胞の浸じゅんのみられない点、椎間関節での石灰化の形成様式が異なるなどの相異点がみられる。

次に、四肢関節の変化を変形性関節症と比較すると、関節面の不整型、軟骨の菲薄化、骨面の露出および滑膜の増殖などは類似する点であるが、一部に炎症性細胞の増殖、軟骨の破壊のみられる点が異なる。

また、臨床症状は仮性痛風と類似する点が多いが、関節の沈着物に結晶構造の認められない点は異なり、沈着物がピロリン酸カルシウムでなく、ハイドロオキシアパタイトを含むカルシウムリン酸塩である点は汎発性石灰症と類似している。

以上のごとく今回発見されたマウスの骨・軟骨異常は、ヒトでみられる疾患と完全に一致するものではないが、いくつかの疾患との類似点を見出すことができ、骨・関節症のモデルとなり得ると考えられる。

#### 文 献

- 1) Johnson, D.R. and J.M. Wise : Cartilage anomaly (can); a new mutant gene in the mouse. *J. Embryol. exp. Morph.*, 25: 21-31, 1971.
- 2) Seegmiller, R., F.C. Fraser and H. Sheldon: A new chondrodystrophic mutant in mice. *Electron microscopy of normal and abnormal chondrogenesis. J. Cell. Biol.*, 48: 580-593, 1971.
- 3) Green, M.C.: Mutant genes and linkages. In *Biology of the Laboratory Mouse*, 2nd edit. Editor E. L. Green, 87-150, 1966, McGraw-Hill Book Company, New York.
- 4) Dickie, M.M.: *Mouse News Letter*, 36: 39, 1967.
- 5) Marks, S.L.Jr., P. W. Lane: Osteopetrosis, a new recessive skeletal mutation on chromosome 12 of the mouse. *J. Hered.*, 67: 11-18, 1976.
- 6) Hosoda, Y., Y. Yoshimura and S. Higaki; A new breed of mouse showing multiple ostrochondral lesions---twy mouse---. *The Ryumachi*, 21 (Suppl.): 157-164, 1981.
- 7) 松垣昇三, 君塚葵, 吉村幸夫, 林泰夫, 黒沢尚, 上山義人: カルシウム磷酸塩沈着をきたして関節拘縮をきたす JCL: ICR マウスの 1 系, 骨・軟骨代謝の生理と病態. 443-452, 1981. 骨・軟骨を語る会編集・発行, 名古屋.



写真1. 骨・軟骨異常マウス



写真2. アリザリンレッドSによって染色された口ひげ毛包と耳介軟骨  
左：正常マウス　　右：異常マウス

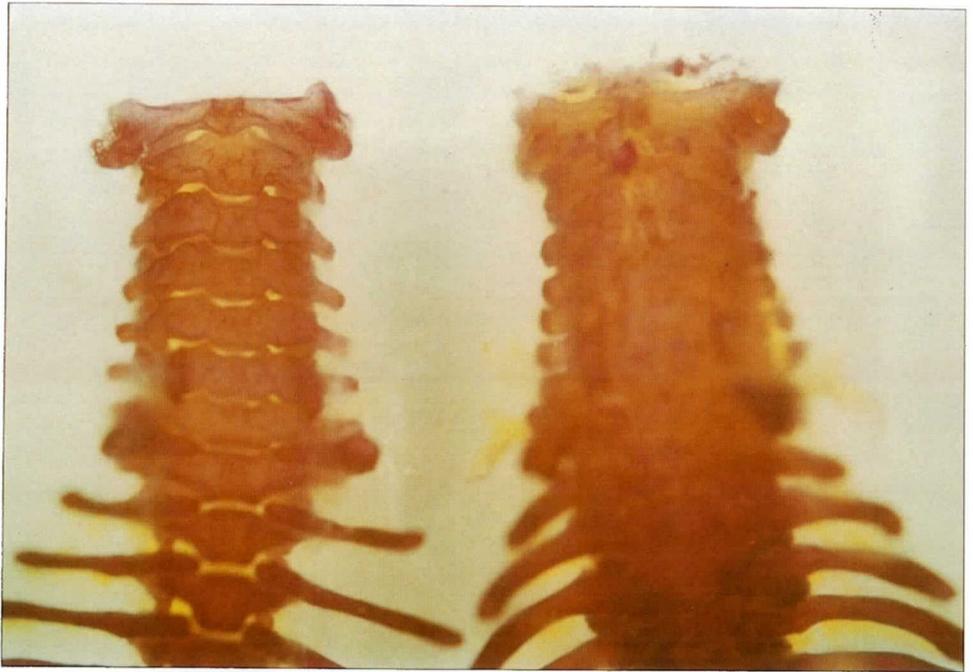


写真3. 異常マウスの頸椎(上)と胸椎(下)のアリザリンレッドS染色標本  
左:正常マウス 右:異常マウス

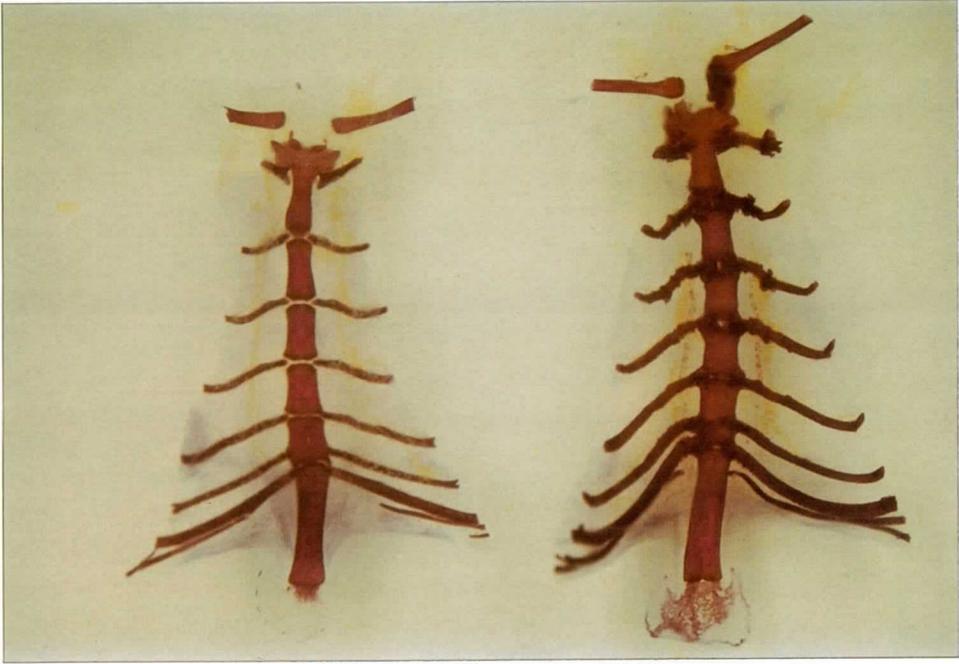


写真 4. 異常マウスの肋骨および胸骨  
左：正常マウス 右：異常マウス



写真 5. 異常マウスの股関節およびひざ関節部(上)と足関節部(下)  
左: 正常マウス 右: 異常マウス

## 6. 後軀麻痺を好発する Jc1 : ICR マウス由来の 1 系統

江 崎 孝三郎\*

研究協力者 吉村幸夫\*, 岩井 法\*

後藤義孝\*, 石原傳幸\*\*

Jc1 : ICR マウス由来の近交系を育成する目的で兄妹交配をおこなっている過程で、100日齢以後に後軀麻痺を多発することをみ出した。この系統の異常の出現状況ならびに解剖、病理組織学的な検索をおこなっているが、この動物の疾患モデルとしての利用価値については不明である。多方面からの意見を仰ぐために現在までに得られている知見について報告する。

起源となった動物は、日本クレア株式会社石部生育場より入手した Jc1 : ICR マウスである。動物の飼育条件は温度を  $23 \pm 1^\circ\text{C}$ 、湿度を  $65 \pm 5\%$  とし、3 M. rad の  $^{60}\text{C}$  r 線照射固型飼料（日本クレア製、CA-1）および  $128^\circ\text{C}$  20 分間オートクレーブ滅菌した水道水を不断給与した。

1976年2月より兄妹交配を開始したところ、4代目のオスのなかに、120日齢頃より後軀をひきずるように歩行する異常個体を発見した。このオスの仔を残し、正常ラインとは区別して兄妹交配をおこなうとともに、動物の状態を観察したところ、約半数の動物に親と同様の症状（写真1）が発現した。以後は症状の発現した動物の仔を次世代に残すことを目やすにして系統の育成をおこなっている。

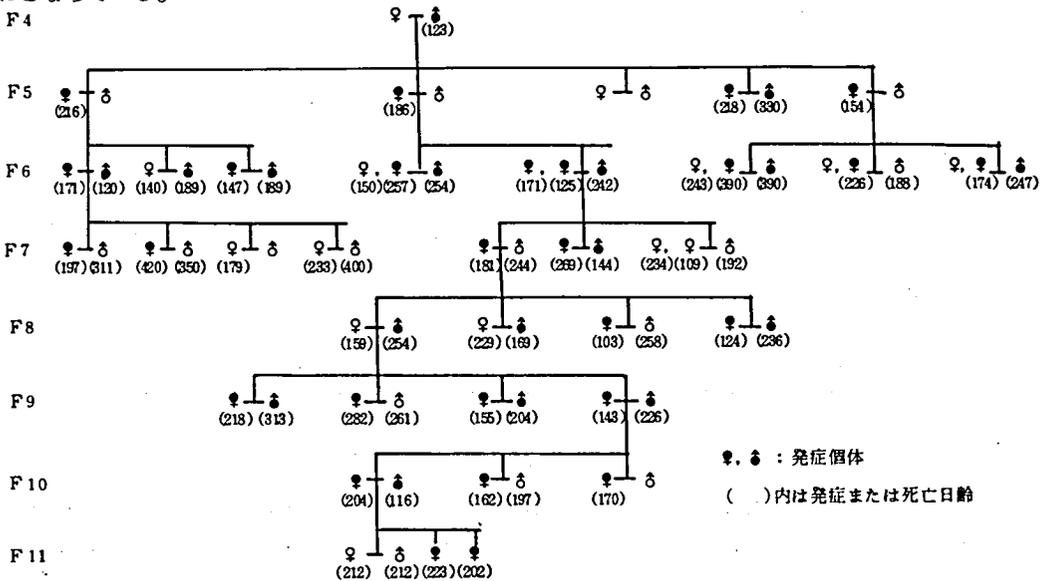


図 1. 後軀麻痺出現状況

\* (財) 実験動物中央研究所

\*\* 国立療養所東埼玉病院

図 1 に系統図と後軀麻痺の出現状況を示した。最初に発見された異常個体の次の世代 (F5) から F11 までの発症例数は、メス 40 匹中 27 匹 (67%)、オス 32 匹中 16 匹 (50%) であり、発症日齢はメスで 103 ~ 420 日、平均 203 日、オスで 116 ~ 390 日、平均 226 日であった。発症個体の多くは発症後 1 週間以内に、残りも 10 日前後に死亡した。また、後軀麻痺を示さずに死亡した例の多くのもに体表リンパ節の腫大が認められた。この系統の F4 から F11 までのメス親 40 匹の繁殖成績は、平均産仔数 9.9 匹、離乳率 90% で正常ラインのそれらと差はなかった。

後軀麻痺を認めた 8 例、無症状の 7 例、計 15 例のマウスを剖検したところ、表 1 に示すように 15 例中 11 例にリンパ節または脾臓の腫大が認められ、一部について実施した血液検査、病理組織学的所見からリンパ性白血病と診断された。さらに、後軀麻痺を呈した 8 例全例に脾臓の腫大と、7 例にリンパ節の腫大が認められ、後軀麻痺と白血病の間に密接な関連があると考えられた。

病理組織学的検索において、麻痺のみられたマウスでは、腰部椎骨での骨染は消失し、骨髄は増殖したリンパ性腫瘍細胞によって占められ、多数の腫瘍細胞が骨髄から脊髄硬膜腔へ浸潤していた (写真 2)。さらに、リンパ性腫瘍細胞は脂肪組織および筋線維間にびまん性に浸潤し、部位によ

表 1. 剖検および組織検査成績

性	日令	後軀麻痺	リンパ節腫大	脾臓腫大	頭骨、脊椎硬膜下腔への細胞浸潤		腰部筋萎縮
					頭部	腰部	
♂	187	-	-	-	NT	NT	NT
♂	154	-	-	-	NT	NT	NT
♂	?	-	+	+	NT	NT	NT
♂	170	-	-	-	-	-	-
♂	205	-	-	-	NT	-	-
♀	131	-	+	+	+	+	-
♀	205	-	+	+	NT	+	-
♀	187	+	+	+	NT	NT	NT
♀	154	+	+	+	NT	NT	NT
♀	218	+	+	+	NT	NT	NT
♀	?	+	+	+	NT	NT	NT
♀	170	+	-	+	+	+	+
♂	119	+	+	+	+	NT	NT
♂	127	+	+	+	+	NT	+
♂	131	+	+	+	+	+	+

NT : 検査せず

ってはわずかに神経線維束を残して筋線維は消失し、腫瘍性細胞に置換されていた (写真 3)。一部のマウスの頭蓋骨骨髄にはリンパ球様細胞が多数みられ、megakaryocyte や赤血球は減少していた。さらに、脳硬膜腔あるいはクモ膜腔への腫瘍細胞浸潤もみとめられ、脳底部では実質が圧迫されている例もみられた。しかし、脳実質にはほとんど変化は認められなかった (写真 4)。

麻痺を認めなかった個体でも、腰部椎骨骨髄をはじめ、リンパ節、脾臓に大型リンパ球様細胞が充満していた。拡張した椎骨骨髄腔内には大型リンパ球様細胞が充満し、一部は脊髄硬膜腔にも浸潤

がみられた。しかし、脊髄実質には特に変化は認められなかった。

筋における病理組織学的変化をさらに詳細に検索するために、後軀麻痺を起したマウスの腸腰筋、大腿四頭筋、大腿二頭筋、ヒラメ筋、長指伸筋などをドライアイス・アセトンで凍結固定し、 $-20^{\circ}\text{C}$ で厚さ $10\ \mu\text{m}$ の連続切片を作成した。HE, PAS, Oil red O, Gomoriのトリクローム変法、ATPase染色、NAPH-TR染色、menadione linked  $\alpha$ -glycerophosphate dehydrogenase染色、phosphorylase染色、酸およびアルカフォスアターゼ染色、アセチルコリンエステラーゼ染色、nonspecific エステラーゼ染色を施行して観察をおこなった。リンパ腫と直接関係すると考えられる筋の変化としては、写真5のように間質からリンパ腫細胞が浸潤している所見、写真6のようにリンパ腫細胞が筋線維内に転移したと考えられる所見の2つがみられた。さらに、筋肉内にリンパ腫細胞はみられないが、写真7のような細胞壊死が出現し、進行すれば写真8のように著明な壊死へと進展して行くと考えられる所見もみられた。この壊死の発症機序については現在のところ明らかでない。また、筋への糖の蓄積はみられず、神経原性の筋の異常を思わせる所見はまったく認められなかった。

一部の動物について実施した血清生化学的検索においては、CPK, LDH活性の上昇、グルコース値の低下がみられたけれども、ナトリウム値およびカリウム値に異常はみられなかった。

以上の成績を考察すると次のようになる。こゝで発見された後軀麻痺は、それを頻発する系とそうでない系に分離されたことから、遺伝的素因が強く関与している疾患と考えられる。また、この系統においてはリンパ性白血病を好発し、筋線維間に腫瘍性リンパ球の強い浸潤がみられることから、この病状は白血病と密接な関係にあると考えられた。しかし、同様の外見的症状を示すにもかかわらず、リンパ腫細胞の浸潤のみられない筋細胞の壊死像が多くみられることから、単にリンパ球細胞の浸潤が症状の原因であるとは結論できない。

Gardner et al.<sup>1)</sup>はリンパ腫好発の野生マウスに高率に後肢の麻痺が起ることを報告し、内在性のC型RNAウイルスによる後部脊髄前角神経細胞の直接的な障害と、それに続発する後肢運動筋の萎縮によるとしている。一方、今回の例では脊髄神経細胞および末梢神経には変化はみられず、筋の神経原性の萎縮もみられないことから、神経原性の運動障害である可能性は少ないと考えられる。

以上のように、リンパ性白血病と何らかの関連を有する筋萎縮が原因と考えられる後軀麻痺が多発する系統が育成されたが、ヒトにおいても筋肉内への腫瘍細胞浸潤の例が報告されており<sup>2,3,4)</sup>、本系統マウスがヒト疾患モデルとなり得る可能性がある。

## 文 献

- 1) Gardner, M.B., B.E. Henderson et al. : J. Nat. Cancer Inst., 51 : 1243-1254, 1973.
- 2) Carr, I. and F.R.C. Path : Human Pathol., 7 : 791, 1976.

- 3) Galasko C.S.B. and D.W. Muckle : Br. J. Cancer, 29 : 59-65,  
1974.
- 4) Slatkin, D.N. and J. Pearson : Human Pathol., 7 : 347-349,  
1976.



写真1. 後軀麻痺を発症したマウス

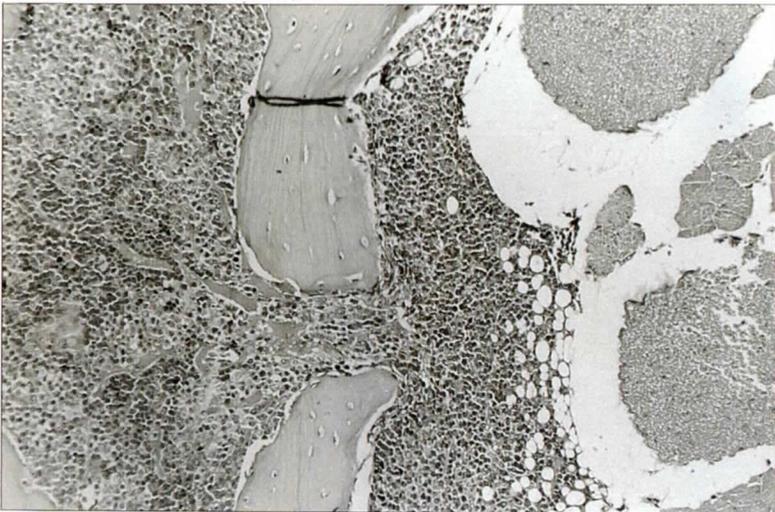


写真2. 腰部脊椎骨から硬膜腔にかけての腫瘍細胞の浸潤

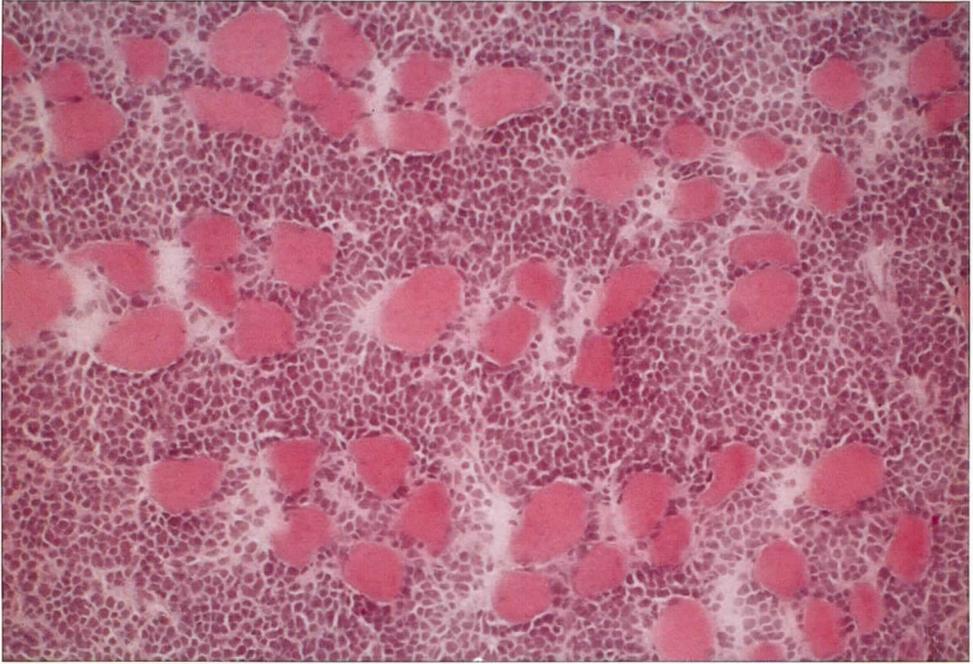


写真3. 腫瘍細胞浸潤による筋線維の萎縮・消失



写真4. 頭蓋骨および大脳底部、骨髄内には腫瘍細胞が充満、  
硬膜腔への浸潤もみられる

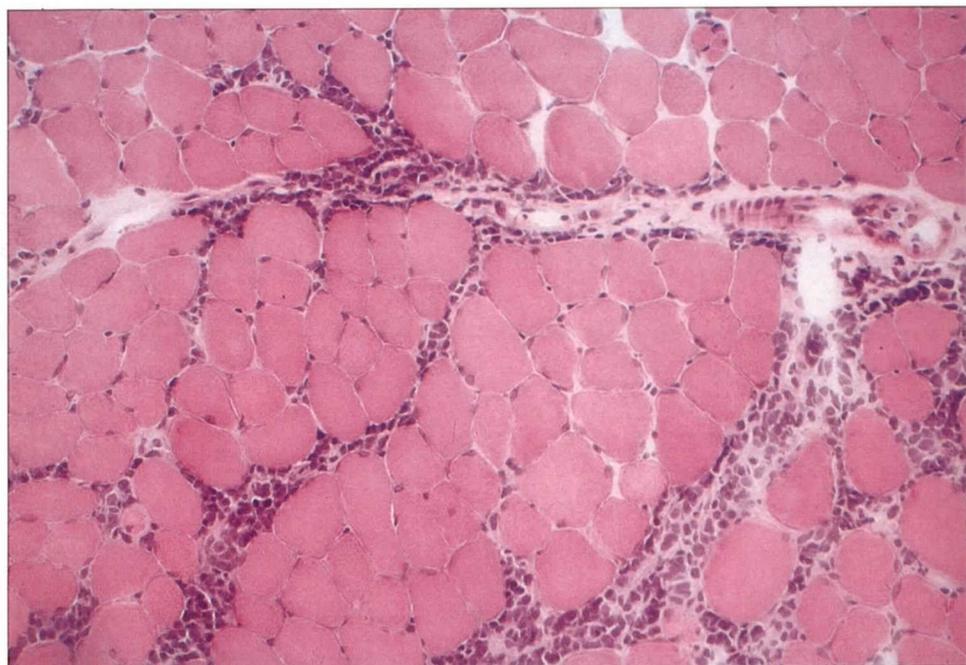


写真 5. リンパ腫細胞の間質への浸潤

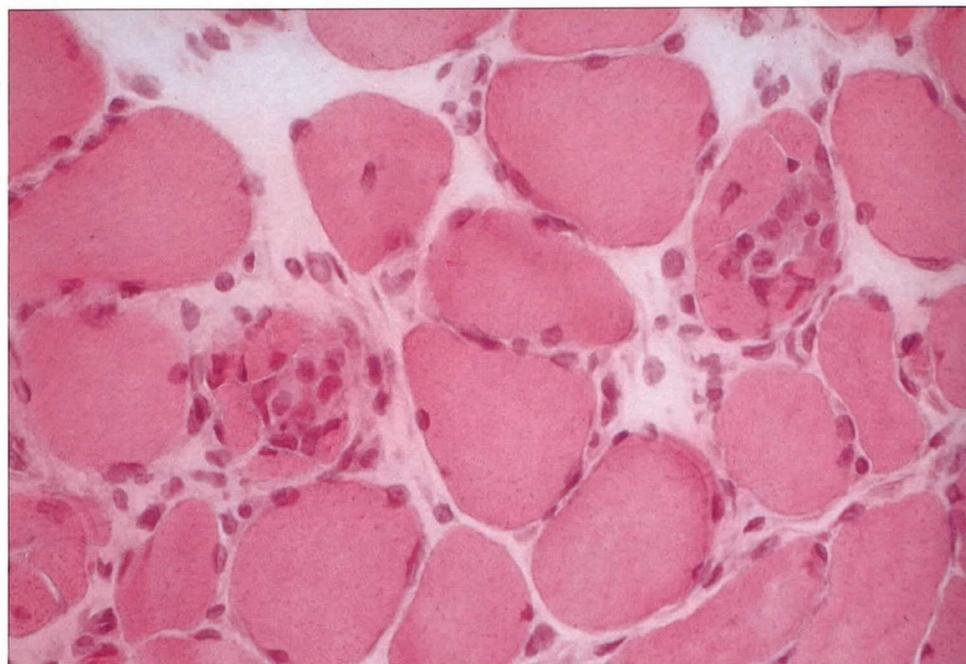


写真 6. リンパ腫細胞の筋線維内への転移

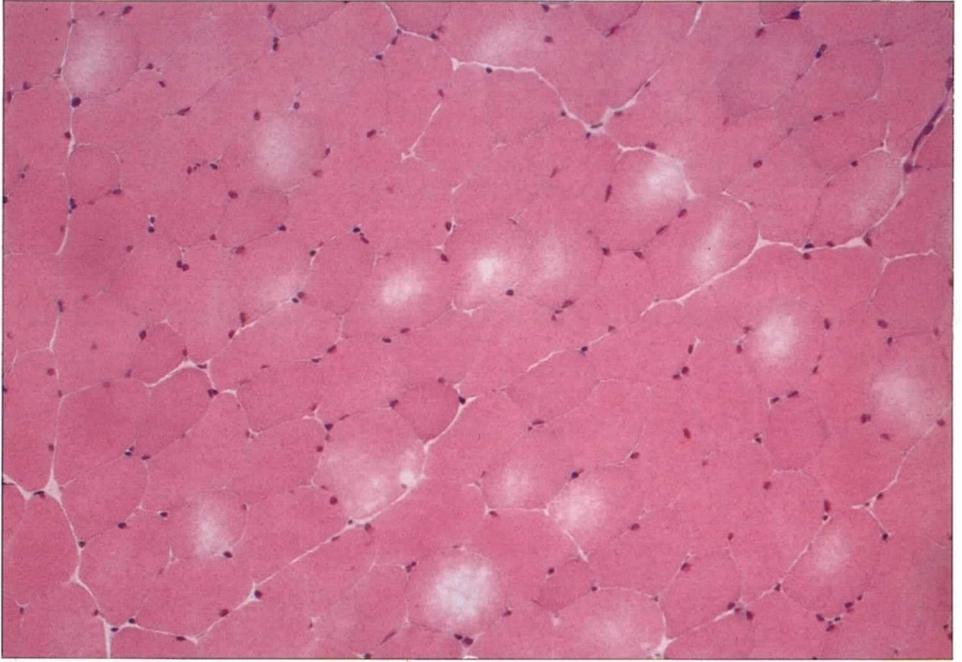


写真7. リンパ腫細胞の浸潤はみられないが、筋細胞の壊死が出現している

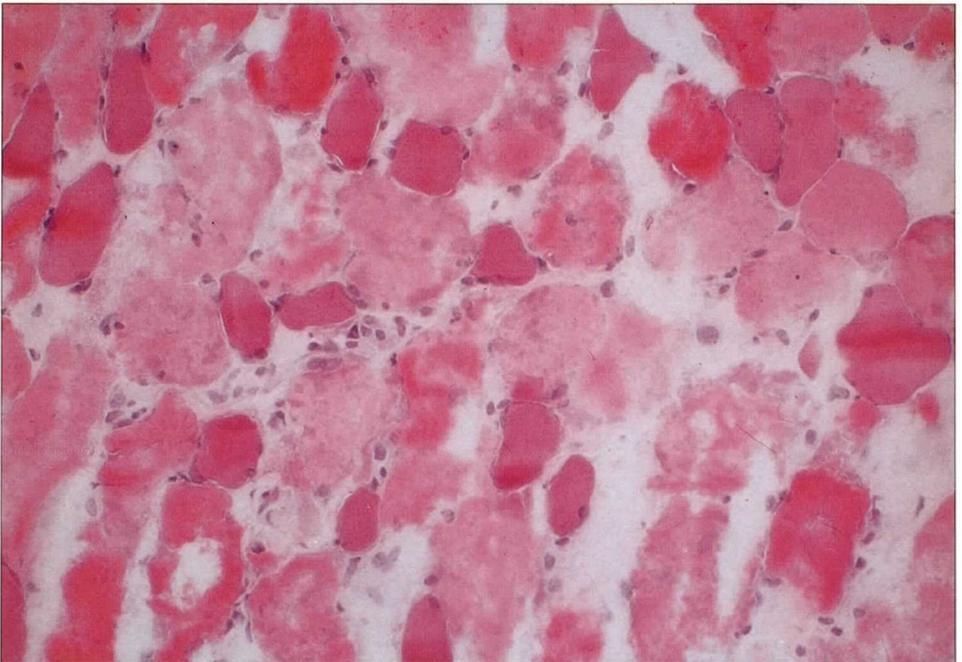


写真8. 写真7が進行したと思われる著明な細胞壊死

昭和56年度第5班（野村班）名簿

区 分	氏 名	所 属 機 関 名 所 在 地	電 話 番 号
班 長	野 村 達 次	財団法人 実験動物中央研究所 〒213 川崎市高津区野川1430	044-755-5441
幹 事	近 藤 恭 司	名古屋大学農学部家畜育種学 〒464 名古屋市千種区不老町	052-781-5111
	江 崎 孝 三 郎	財団法人 実験動物中央研究所 〒213 川崎市高津区野川1430	044-755-5441
班 員	江 橋 節 郎	東京大学医学部薬理学 〒113 東京都文京区本郷7-3-1	03-812-2111
	伊 藤 慎 一	岐阜大学農学部家禽育種学 〒504 岐阜県各務原市那加門前町	0583-82-1201
	菊 池 建 機	東北大学農学部家畜形態学 〒980 仙台市提通雨宮町1-1	0222-72-4321
	水 谷 誠	財団法人 日本生物科学研究所 〒409-16 山梨県北巨摩郡小淵沢町上笹尾	055136-2333
	斉 藤 宗 雄	財団法人 実験動物中央研究所 〒213 川崎市高津区野川1430	044-755-5441
	若 杉 昇	名古屋大学農学部家畜育種学 〒464 名古屋市千種区不老町	052-781-5111
運営幹事	中 尾 博 文	財団法人 実験動物中央研究所 〒213 川崎市高津区野川1430	044-755-5441