

厚生省「神経疾患研究委託費」

筋ジストロフィー症の発症機序に関する臨床的研究

三好班

昭和57年度研究報告書

昭和58年 3 月

## 研究報告書の作成にあたって

厚生省神経疾患研究委託費「筋ジストロフィー症の発症機序に関する臨床的研究」班として、昭和57年度の研究報告書を作成する運びとなりました。

当研究班としては本年は昨年につづいて2年目であります。研究は、現象論ともいべき病状、所見の把握、ついで実態論としての病態の解明、そして、これらを通しての本質論である成因の究明の3段階を意識して進めています。本症のように未だ究極の成因のみつかっていない疾患の研究にあっては、それぞれの研究の意味をこのように確認しながら行うことが大切であると思います。

本年度の研究成果はこの報告書に示されていますが、各自の自由の発想の中に総体として上述の意味でのひきしまりとまとまりがみられます。班員各位の不断の努力に班長として心からの敬意を表します。本報告書は当研究班の今後の研究に格段の飛躍を期待させるとともに、直ちに内外の本症の研究者や医師達に大きな影響を及ぼすものと思います。

報告書の作成に当っては、本年度はその出来を早めるために論文の提出時期を57年の12月に繰上げました。私もこの序文を班会議の終わった時点で、緊張の中に、活発であったあの雰囲気を感じながら書いています。本年度の研究はなおつづいているところ、班員各位の御協力に謝意を申し述べます。

本研究班に賜った、厚生省当局、国立神経センター、そして日本筋ジストロフィー協会の深い御理解と多大の御支援に深く感謝致します。

昭和57年12月

〈班長〉 三好和夫

## 目 次

昭和57年度総括研究報告	7
昭和57年度総合班会議研究報告抄録	13
分担研究報告	25
I. 実験動物	33
II. 筋ジストロフィー症の遺伝・臨床と病理	87
a) 遺 伝	89
b) 臨 床	97
c) 形 態	114
d) 培 養	132
III. 筋ジストロフィー症の病態生理	139
a) 赤血球など	141
b) 生 理	153
c) 生化・代謝など	171
IV. いわゆる distal myopathy	225
昭和57年度研究班名簿	273

昭和 57 年度

総括研究報告

# 総括研究報告

班長 三好和夫

〔はじめに〕

本年（昭和57年）12月4日(土)、5日(日)に当研究班の班会議を開催し、予め作られた抄録集に基づいて発表、討議された研究報告を論文にまとめて本報告書が作成された。51編が集録されている。

〔研究班の方針〕

当研究班の目的は筋ジストロフィー症の成因の発見と発症機序の解明であるので、研究はすべて独創的で新しいものでなければならない。

班では、本年6月、改めて班員各位に研究計画の提出を求めるに際し、班長の意向を次のように伝えた。

「筋ジストロフィー症の発症機序に関する臨床的研究」を次の3段階に分けてみた。

1) 症例の症状、所見の把握と解析からの新しい疾患、症型の発見と確立、2) 筋の変性、崩壊、再生の実態の形態学的、生理学的、そして生化学的特徴の確立、3) 本症遺伝子の表現としての蛋白質、酵素の異常の発見、である。

これらは本症の成因究明に対してそれぞれ1)現象論的、2)実態論的、3)本質論的な研究といえるが、その特徴は、これら3段階の研究が個別に成立するものではなく、現象を通して実態が、実態を通して本質が明らかにされることであると思う。

班員の各位は、本研究班のテーマからして1)、2)の研究を行いながら、少しく意識して3)の研究を施行されるようお願いしたい。

以上のとおりであるが、すでに昨年、昭和56年度の筋ジストロフィー症総合班会議では、当研究班からは、上述の1)、2)、3)に概当すると思われる研究テーマを一つずつ選んで代表演者らが発表した。

すなわち、1)いわゆる distal myopathies について(予報的 review, 文献集を当班56年度報告書に掲載)、2)筋ジストロフィー症における筋の変性と再生; a) 壊死と Ca イオ

ン、b)再生、サテライト細胞、筋核のDNA合成とcell cycle、筋線維の構造蛋白、3)単一酵素(解糖系酵素)欠損によるミオパチー、である。

また、これらのうち、1)と2)は当研究班でこれまでに相当の業績をあげてき、次年度以降の当研究班のテーマとすることを昨年度に決定している。

#### [分担研究報告]

研究報告会議は、終始して学術的に緊張度の極めて高いものであった。

報告の内容は、(数字は概括数)1)新しい症例、病型に関するもの 15(うち、いわゆる distal myopathies 10)、2)筋の再生 6、変性・崩壊 15、新しい研究手技 5、3)本症ならびに類縁ミオパチーの成因に関するもの 5、その他である。

各報告はしかし、常に本症の成因との関係を意識しながら行われた。また、内容的には相互に種々に重複し、それぞれの中に前述の3段階の要素を含んでいる。

#### いわゆる distal myopathy :

例えば、distal myopathy についていえば、古典的 Welanders 型と別に、本班で発見された狭義の筋ジストロフィー症ともいふべき末梢型が示され、これに対し、筋組織所見で空胞変性を伴ういくつかの症例と家系例が集積された。後者のものでは、空胞変性から筋崩壊の一つの具体的パターンが推定され、また、その中には debrancher enzyme deficiency がその成因であることを思わせるものが発見された。

この部門においては、筋ジストロフィー症としての、遺伝・臨床型の確立、筋崩壊の機序、そして成因論がこの中だけで組み立てられているといえることができる。本症の末梢型に関するものであるが、筋ジストロフィー症自身の問題を包含し、国外に類をみないもので、本研究班における大きな成果といえる。

#### 筋の崩壊 :

また、別の例として筋崩壊に関しても、筋線維の変性 (opaque fiber など) 所見、Ca の細胞内への異常流入、そして CANP、カテプシン、セリンプロテアーゼなどの各種の蛋白分解酵素の段階的な蛋白質分解の機序が関連づけられて解明されてきた。幾多の筋漿酵素や特殊な構造蛋白の血中への流出の機序を併せた筋崩壊の全貌が近く示されることであろう。

#### 報告の概括と見通し :

班報告を総括的にいえば、新しい症例が家系例とともにそれぞれ遺伝・臨床型として整理され、筋の変性、再生と崩壊が、形態、生理、そして生化学、代謝の面から関連をもつ

て解明されてきた。この分野では、モデル動物を用いる研究が併せ行われている。そして、本症の成因の探求がいくつかの独特の着想から進められるとともに、すでに成因の決められている解糖系酵素の異常によるミオパチーでは、成因と実態の関連が明らかにされつつある。

これらの研究の中から本症の成因である筈の何らかの蛋白質、酵素の異常が発見されることが期待される。本研究班では、そのような態勢を十分に培ってきたし、その状況は換言すれば、ひとたび本症各型の一次的な成因が確認された時には、現状の研究成果は直ちにそれらに連結して、本症の症状、実態、成因の全体の解明が一挙にもたらされることが予測される。

〔本年度の総合班会議への参画〕

本年度（来春1月）の総合班会議での当研究班の課題は上述の研究成果を踏まえて、次のごとく決められた。

1. 序論, 2. 罹患筋の再生能, 3. 筋壊死とプロテアーゼ, 4. 組織対応法による筋構造蛋白の分解, 5. いわゆる distal myopathies, 1)問題点, 2)rimmed vacuole と封入体の特異性, 3)distal myopathy と debrancher enzyme.

〔おわりに〕

筋ジストロフィー症の成因と発症機序の発見と解明を目標として、当研究班は目標に限りないアプローチを行うとともにその達成を意図している。そして当研究班はまた、そこで毎年、新しい本症の研究者と医師達が育ち、巣立ってゆく場であるということが出来る。

本研究報告書は筋ジストロフィー症に関する内外の研究者や医師達の今後の研究と臨床に大きく影響するものと思う。

昭和57年度厚生省神経疾患研究委託費

「筋ジストロフィー症」総合班会議

筋ジストロフィー症の発症機序に関する臨床的研究  
研究報告抄録



# 筋ジストロフィー症の発症機序に関する臨床的研究 序 論

三 好 和 夫

(沖中記念成人病研究所)

## 〔筋ジストロフィー症の発症〕

本症では、a) 各病型の遺伝子に該当するそれぞれの異常蛋白質、酵素が在り、b) そのために筋細胞の崩壊、筋の萎縮がひき起され、c) 結果として各病型の病者が生じる。

現在、a) は全く不明、b) では不明の点が多く、c) でも不明の部分が残されている。

## 〔本症の研究と当研究班〕

研究は、本症の成因の究明を目的とする意味合いからは、次の3段階、1) 現象論的に、病者の症状、所見の把握から新しい症例や病型の発見、2) 実態論的に、筋の変性、再生、崩壊の機序の解明、そしてこれらを通して、3) 本質論的に、本症の病因の発見、が段階的に積み上げられて成就するものといえる。

筋ジストロフィー症のように、病因不明の疾患にとり組む場合には、各研究者の研究の意味がこのように明確にされながら進められることが大切である。当研究班ではこのことを意識して行い、1) と2) の研究で着実に実績をあげ、3) の目的達成をそれらを通して期するとともに、そのための独特のいくつかの研究を進めている。

## 〔本総合班会議におけるテーマ〕

当班で重点をかけてきたものの内から、「いわゆる distal myopathies」と「罹患筋の再生能」、「筋壊死とプロテアーゼ」をとりあげ、そして、「新しい手法」の1、2を加えた。

「distal myopathies」に関しては、その中に、まさに狭義の筋ジストロフィー症そのものとされる病型があり、別に、vacuolesの存在するものでは、筋崩壊の一つの具体的パターンが提示され、また、その中には酵素欠損 (debrancher deficiency) をみるものがあるなど、このテーマには上述の3段階の研究のすべてが含まれている。

「罹患筋の再生能」、「筋壊死とプロテアーゼ」と「新手法」のテーマは、筋線維の変性 (opaque fiber など)、Caの筋細胞内流入の異常、膜の透過性異常、筋の酵素、構造蛋白質の血中流出、など、着実に解明されつつある本症の筋崩壊の実態の全過程の中のそれぞれ部分としてとりあげた。

## 罹患筋の再生機能

黒 岩 義五郎

(九州大学医学部脳研神経内科)

DMP の罹患筋の再生現象に関して、今年度発表された研究成果についてのべる。

### 1. 脱神経筋の再生現象：

埜中らはラットで坐骨神経切除後、未分化なタイプ 2 C 線維の割合の増加を認め、筋線維分化の遅れを指摘した。又筋衛星細胞は、脱神経でも融合しうることを認めた。小口らはマウスの腓腹筋で坐骨神経切除後の光顕ラジオオートグラフィーにて、筋衛星細胞の活性化を認めた。

### 2. 実験的筋再生現象：

高瀬らは、ラットへのサポニン、プピバカイン筋注、筋損傷実験等で、筋肉漿の細胞流出機序の存在で、筋再生過程が生じうると論じた。又中村らは、筋ジス鶏の再生は cold injury 後の再生実験で、再生筋線維タイプ分化の遅れ、又筋線維径が細いことを述べた。

### 3. 培養実験：

宇尾野らは、筋ジス鶏筋で培養後大量の CPK 遊離を認め、筋細胞分化が特定の時期、条件で異常のあることを示した。又塚越らは、筋ジス鶏胸腺内 myoid cells で筋管細胞の横紋形成、自発収縮、Ach R 局在に異常を認めないが、筋管細胞の空胞が初期より筋ジス鶏で多く認める。

### 4. 移植実験：

若山らが、DMD 筋、対照筋をヌードマウスに移植し、DMD 筋で、2 週目に再生筋が有意に細い事を報告した。

### 5. 筋衛星細胞のモルフォメトリー：

黒岩らは、DMD、多発性筋炎、対照群の生検筋にて、筋衛星細胞の細胞体及び核の面積、核の長さ、ミトコンドリア数が、対照群と比較して、多発性筋炎で有意に増加しているが、DMD 筋では、増加傾向のみであることを示した。

以上より、筋ジストロフィー症では、少なくとも筋再生能は存在するが、その発達過程に異常のある可能性が示唆された。今後、筋再生の初期の再生現象に関して詳細な検討が必要と考えられる。

# 筋壊死とプロテアーゼ

杉田 秀夫

(国立武蔵療養所神経センター疾病研究第一部)

## 1) 筋蛋白分解酵素及びその機構

DMDにおける筋蛋白分解にはCANP, カテプシン, セリンプロテアーゼなどのプロテアーゼが段階的に作用するものと想定される。これらのプロテアーゼがどのような関連をもって筋蛋白を分解するのかを実験モデルを用いて検索した。方法としては, plasmocidを直接ラットのヒラメ筋に注射し, 筋蛋白の分解過程の時間経過を調べた。注射2~3時間後にDMDにおいて見られるのと同じopaque線維が出現し, 又, GBHAで染出された。罹患筋の構造蛋白の変化を経時的に見ると, Z帯に存在する $\alpha$ -アクチニンは注射2時間後すでに40%に低下し, 12時間で殆んど消失しその他の構造蛋白に比し著しく速く消失した。このようなZ帯の消失がCANPによるのか, 或いはカテプシンによるのかを検索する為, EGTA 或いはチオールプロテアーゼ阻害剤であるE-64-cと共に注射すると, 罹患筋の $\alpha$ -アクチニンの減少は部分的ではあるが抑制された。

次にリソゾーム酵素であるカテプシンの時間経過を調べてみると, カテプシンB&L, Dは注射3時間後は上昇せず, 従って $\alpha$ -アクチニンの選択的消失はCANPの作用によることが強く示唆される。

カテプシンB & L, Dは48時間後には数倍に増加し, 3日でピークに達する。この時間経過は筋線維崩壊の経過とよく一致している。各種リソゾーム酵素の中では著明な活性上昇のみられる群(カテプシンB & L,  $\beta$ -グルクロニダーゼ)と弱い活性上昇しかみられない群(酸フォスファターゼ等)に分けられる。内因性チオールカテプシンインヒターも著明な活性上昇がみられた。

さてこれらカテプシン系及びそのインヒターの活性上昇が筋細胞自体のリソゾームに由来するのか, それとも組織に浸潤したマクロファージに由来するのか調べる為にカテプシンB抗体を用い, 蛍光抗体法で染色してみると活性はマクロファージのみにみられ, 筋細胞は染色されなかった。又, ラット腹腔中のマクロファージを集めリソゾーム水解酵素活性と骨格筋の酵素活性とを比較した。筋蛋白の崩壊に伴い著しく上昇する酵素群はインヒターを除きマクロファージにおいても強い活性を示した。以上の事実はマクロファージのカテプシンが重要な役割を果していることを示唆している。又興味あるのは蛋白合成阻害剤であるシクロヘキシミッドを腹腔内に投与するとカテプシンB & L活性の上昇はみられず, 又組織学的にも浸潤細胞の増加は抑制された。

以上の現象を総括してみるとplasmocidによる筋蛋白の分解は少なくとも2段階に分けられると思われる。即ち第1段階は, plasmocidにより恐らく表面膜が障害され, 細胞外Caの流入によりCANPは活性化され限定分解を行いその結果, まずZ帯の消化,  $\alpha$ -アクチニンの遊離が起り筋原線維のdisassemblyが生じる。

第2段階は, リソゾームカテプシン群によりdisassemblyされた筋原線維は非限定分解を受け筋蛋白分解は更に進行する。この際浸潤したマクロファージ由来のカテプシンが重要な働きをすると考えられる。同時に肥満細胞由来のセリンプロテアーゼも関与すると思われる。このような機構は恐らくDMDの場合の筋蛋白分解の場合にもあてはまるものと想定される。

## 2) 筋ジストロフィー症の発症と活性酸素

筋ジストロフィー症における筋細胞変性を考える上で superoxide radical や peroxide による細胞障害を示唆するデータが特に鶏ジストロフィー (Dy チキン) 罹患筋で注目されている。Dy チキン (line413) 及びコントロール (line412) の浅胸筋について活性酸素の代謝に関連する superoxide dismutase (Cu-Zn, Mn), catalase, glutathione peroxidase, glutathione reductase の5つの酵素を孵化後経過を追って測定してみると、コントロールでは何れも成長と共にほぼ平行して漸減していくが、Dy チキンでは活性の絶対値の増加のみでなく成長に伴う活性の経時変化のパターンも異常であった。しかも未だ形態学的な変化が軽微である生後1週目より既に酵素系の上昇がみられ、発症初期に活性酸素系の代謝回転の亢進のあることが考えられる。これらの活性酸素は筋細胞膜を構成する脂質の過酸化を通じ筋細胞の機能障害をおこす可能性があり、本症の成因を追究する一つのアプローチと思われる。

## 組織対応法による筋構造蛋白の分析

荒木 淑郎

(熊本大学医学部第一内科)

### 【目的】

各種神経筋疾患の生検筋より目的とする筋線維のみを取り出し、生化学的に筋構造蛋白の分析を行う方法は、技術的に困難なこともあって、世界的にも殆んど着手されていなかったが、今回新しい試みとして福原ら、内野らがそれぞれ独自に病的筋線維の筋蛋白の分析を行う方法を開発したので、その分析方法、ならびに実験結果について概説する。

### 【対象及び方法】

(1)福原ら：対象は rimmed vacuole のみられる distal myopathy (3例) と rimmed vacuole を伴う Kearns-Sayre 症候群類似疾患 (1例)、ならびに nemaline myopathy (4例)。方法の概略は新鮮凍結生検筋を連続切片で Gomori, ATPase 染色を行い、続く 20~30 $\mu$ m 厚さの組織片を -20 $^{\circ}$ C 真空吸引下で凍結乾燥し、染色標本との対応のもとに実体顕微鏡下に目的線維を切離した。同一筋線維を連続して、あるいはこれらをあわせて取り出し、マイクロ化した SDS ゲル電気泳動及び O'Farrell らの方法を modify した 2次元電気泳動に供し、銀染色を行った。

(2)内野ら：Duchenne 型ジストロフィー症 (DMD) (12例) を対象とし、生検筋を氷冷の弛緩液中にて、実体顕微鏡及び偏光顕微鏡下に、いわゆる opaque fiber を single fiber として分離し、Laemmli の方法により SDS ゲル電気泳動を行った。

### 【結果】

(1)福原ら：

① Rimmed vacuole を有する筋線維は凍結乾燥切片で、i) 暗色にみえるもの、ii) 中心が明るいもの、iii) 周囲と全く変わらないものの 3種類であった。SDS 電気泳動では対照と比較して分子量 5.5 万の蛋白が増加しており、筋線維によって程度は異なっていた。また、周囲の rimmed vacuole を有しない線維でも同様の傾向が認められた。この蛋白は分子量と等電点から desmin と思われた。

② Nemaline myopathy では rod を認める type I fiber (R(+))I と、rod を光顕上認めない type II fiber (R(-))II とに分類して筋構造蛋白の分析を行ったが、正常筋 type I fiber では  $\alpha$ -tropomyosin, myosin light chain (LC), troponin-C のそれぞれの slow form に加えて少量の fast form LC<sub>2,3</sub> が認められ、type II でのそれぞれの fast form に slow LC<sub>2</sub> が混じる hybrid pattern であった。Nemaline myopathy の R(+))I は正常筋 type I と同様パターンであり、rod 由来の異常スポットは認めなかった。R(-))II では 2/4 例で、LC<sub>2</sub> の slow・fast form の量比が逆転していた。また、両タイプとも分子量 5.5 万の desmin と思われる band が増強していた。

(2)内野ら：Opaque fiber (OF) 9 検体、正常横紋構造を有する対照筋線維 (NF) 19 検体について比較検討したが、形態学的に OF としてとらえられる筋線維の約 70% は NF と比較して筋構造蛋白の泳動パターン及び各筋構造蛋白の含有量に変化がなかったが、約 30% の OF は myosin light chain をはじめ、actin を除く低分子蛋白の全般的な減少傾向が認められた。ただ、troponin-I・C は NF でも含有量が極めて微量であり、その増減について言及することは困難であった。

### 【考案ならびに結論】

(1)福原ら：Rimmed vacuole を有する筋線維で desmin の増加傾向が強いことは、vacuole 生成に関与している可能性を示唆するものである。Desmin が微細構造上のいずれに対応するか検索中であり、desmin 増加機序については今後検索が必要である。また nemaline myopathy では筋組織化学的所見から type I の分化過程での異常を想定したが、筋構造蛋白上は正常と差がなく、rod 由来の異常スポットも認められなかった。本症では type II の分布比が減少している例が多いが、今回 type II の LC に異常を認めたことは発生のより早期の障害が疑われ、type I 変化が type II 異常に伴う 2 次的なものである可能性も考えられる。

(2)内野ら：DMD の生検筋にみられる OF の一部は明らかに筋構造蛋白の変化を有しており、しかも泳動パターンの特徴から、その変化に CANP に代表されるある種の protease が関与していることが推定された。このことから OF は筋線維変性過程で生じる病的筋線維である可能性があり、今後 2 次元電気泳動による微量成分の解析も含めて更に検討する予定である。

## いわゆる distal myopathies

### 1) 問題点

豊 倉 康 夫

(東京大学医学部脳研神経内科)

いわゆる distal myopathy は Gowers (1902) の提唱に始まる長い歴史にもかかわらず、未だに統一的な疾患分類上の位置の定まらない一群の筋疾患である。唯一の共通点は、四肢遠位部を主として侵すミオパチーで、既知の神経原性筋萎縮症や、筋緊張性ジストロフィー、多発性筋炎を除くということに過ぎない。したがって単一疾患単位としての distal myopathy はもはや存在せず、疾患群としての“distal myopathies”が問題である。発症年齢、遺伝型または孤発型、初発部位、筋萎縮の分布、進行の程度、筋病理所見には、これまでの報告例の中でも様々な異同があり、多くの論議がなされてきた。

これらのいわゆる distal myopathies の中で、本研究班ではとくに以下の問題が検討された。

1) 常染色体劣性末梢型筋ジストロフィー (autosomal recessive distal muscular dystrophy) : 三好 (1974) によって提唱されたもので、他の臨床型と明らかに区別される筋ジストロフィーの一疾患単位として確立された。剖検例の検索により、特徴的な筋病変の分布様式が確認された。本症の臨床特徴は①常染色体劣性遺伝、②筋萎縮は下腿に始まり、もっとも強く、早期に爪先立ちができなくなる、③10歳後半～20歳台に発症、④進行性で、筋萎縮は下腿から大腿にも及ぶが上肢では軽い、⑤血清 CK 値が中等度～高度に上昇、⑥血清 CK 値が著しい上昇を示すホモ因子型のもと、軽度上昇を示すヘテロ因子型の2種類の生化学的保因者がある、⑦筋病変はジストロフィー変化で、vacuole はほとんど認めない。これらの特徴は、Welander 型の常染色体優性遺伝を示す晩発性遺伝性 distal myopathy のそれとは明らかに異なる。

2) 顕著な rimmed vacuoles あるいは封入体を伴う distal myopathies : これらの症例の中には、共通の臨床特徴を有するいくつかの疾患群があると思われる。ただし、この病理変化そのものには疾患特異性はないが、ライソゾーム系のなんらかの異常が示唆される。

3) 封入体筋炎, oculopharyngeal dystrophy, oculopharyngodistal myopathy, debrancher deficiency myopathy, 等との関係も注目されている。

# Rimmed vacuole と封入体の特異性

佐 藤 猛

(順天堂大学医学部脳神経内科)

いわゆる distal myopathy の筋病変の特徴として rimmed vacuole が注目されてから、その特異性や疾患概念について本研究班でいくつかの報告がなされた。さらに rimmed vacuole 型 distal myopathy の罹患筋の筋鞘核内に微小細管状ないしフィラメント状封入体が見出されたため (葛原, 1981; 藤井, 1982), 本疾患群と封入体筋炎との異同についても再検討された。

新しく提起された問題点を中心に本研究班の業績を総括して報告する。

## 1. Rimmed vacuole

Dubowitz & Brooke (1973) が oculopharyngeal dystrophy の筋病理における特徴的変化として rimmed vacuole を記載した。萎縮筋線維の中央ないし筋鞘下に比較的大きな空胞が認められ、縦断像でみると筋線維の全長に亘っていることが多い。空胞の辺縁には小顆粒が集積しており、trichrome 染色では赤染、H. E. では塩基性で、acid phosphatase 陽性である。Rimmed vacuole の形成にもかかわらず周辺の筋原線維の構造は比較的よく保たれている。電顕では自家融解空胞と無数の myoid body (multimembranous body, myelin-like figure) より成る。グリコーゲン顆粒の集積や粗大顆粒なども含まれている。かかる筋線維では同時に結晶状ミトコンドリア、小胞体や T-tube の蜂窩状変性、tubulomembranous structure, cylindrical laminated body なども認められ易い (福原, 中西・葛原, 埜中, 佐藤・安野)。

Rimmed vacuole は疾患特異性はなく、すでに Pompe 病や封入体筋炎で autophagic vacuole (Engel, 1968; 佐藤, 1971), lined vacuole (Carpenter, 1978) として記載されているものと同一構造である。しかし、三好型以外の distal myopathy, oculopharyngeal dystrophy, 封入体筋炎に高率に出現し、debrancher deficiency myopathy (納, 1981), quadriceps myopathy (佐藤・安野, 1981) にも比較的多く認められている。その他の疾患では多発性筋炎, myotonic dystrophy, Kugelberg-Welander 病, DMP (L-G, FSH), SPM などにも少数は見出されている (福原, 1980; 田辺, 1982)。

## 2. 筋鞘核内封入体

慢性多発性筋炎の罹患筋の筋鞘核内に微小細管状の封入体が見出され、はじめ myxovirus 様構造として報告された (Chou, 1967; 佐藤, 1969)。その後の検討で既知の paramyxovirus とは大きさ、配列などが若干異なること、筋炎以外のミオパチーにも見出されることなどから、核内の特殊な変性産物と推定されている。しかし、封入体筋炎からのウイルス分離例も報告されており (Gamboa, 1969; Mikol, 1982), 封入体の本態はなお不明である。また封入体筋炎として報告された文献を再検討すると前述の rimmed vacuole 型 distal myopathy, quadriceps myopathy, debrancher deficiency などが含まれている可能性が指摘されている。また封入体には 2 種類あることが明らかにされた。

①微小細管状構造：外径 130~180 Å であり、横断像では halo が認められる。核がかかる封入体で充満しているものでは核膜の重積像や断裂がみられ、断裂部を通じ、筋形質内へも流出しているような像がみられることもある。このような封入体は rimmed vacuole 型の変性筋線維に見出され易



い。②フィラメント状封入体：直径60Åの繊細な直線状フィラメントが核内に束状に認められる。典型的な急性多発性筋炎や皮膚筋炎に高率に見出される。動物の実験的筋炎にもみられ、非特異的と考えられる(表)。

### 3. Distal myopathy の筋病理の問題点

① Angulated fiber が群化傾向を示す。② Type 1 fiber predominance を示す症例がある。③ rimmed vacuole 型変性の特異性。④ 核内封入体の意義。⑤ 筋電図にて denervated pattern が認められるのに筋肉内末梢神経の形態変化は軽微である。

	MICROTUBULAR (130-180Å)	FILAMENTOUS (60Å)
	No. OF CASES	
INCLUSION MYOSITIS	11	11
NEUROMYOPATHY	4	4
DISTAL MYOPATHY	4	4
QUADRICEPS MYOPATHY	3	3
OCULOPHARYNGEAL DYSTROPHY	8	8
POLYMYOSITIS: CHRONIC	6	6
ACUTE, SUBACUTE		9
DERMATOMYOSITIS: CHRONIC	2	2
ACUTE, SUBACUTE		2
OTHERS		
CARRIER OF DUCHENNE	1	1
DEBRANCHER DEFICIENCY	1	1
	40	51

## Distal myopathy と debrancher enzyme

納 光 弘

(鹿児島大学医学部第三内科)

Debrancher enzyme の deficiency の認められる myopathy すなわち debrancher deficiency myopathy (DDM) の成人例は Brunberg ら (1971) の報告以来すでに10余例を数えるが、発症年齢も幼児～52歳と多様で、筋萎縮の分布も遠位優位～近位優位とまちまちである。我々が報告した DDM の4例<sup>1-4)</sup>も1例は近位優位、他の3例は遠位優位で、この後者の3例は筋病理の主体が rimmed vacuole を有すること、かつ筋線維核内外に約20nm の異常フィラメント集塊を有すること、かつ炎症細胞浸潤を認める部位も存在することにより、病的には inclusion body myositis (IBM) とよびうるものであり、臨床病的にはいわゆる“rimmed vacuole を伴う distal myopathy (DMRV)”に該当する症例といえる<sup>2,3)</sup>。しかし、IBM や DMRV の全てが DDM であるかは疑問で、実際我々も debrancher が正常の IBM をも経験している。しかし、IBM や DMRV の表現型をとる症例の中に DDM が少なくとも存在していることは診断上、また今後の治療への検索上重要と考える。我々の指摘により、現在幾つかの施設で IBM または DMRV の debrancher の検討がなされつつあり、それらのどれぐらいに DDM が混じているかは今後明らかになると期待される。

本年度班会議で塾中班員により、DMRV で同一症例における2個所の生検筋における測定で、障害の強い部位では debrancher 活性が1/10以下であったが、障害の殆んどない部位では正常活性を示したこと、かつまた、DMRV で debrancher 活性正常例をみたことが追加発言され<sup>6)</sup>、このことも今後 DMRV または、IBM の DDM との関連を考えていく上で重要と考える。

### 〔関連文献〕

- (1) Osame, M., et al.: Familiar muscle type amylo-1, 6-glucosidase deficiency, 4th International Congress on Neuromuscular Diseases, Sept. 1978, in Montreal, Abstract 207
- (2) 納 光弘, 他: Debrancher Deficiency Myopathy—Inclusion Body Myositis との関連—, 第23回日本神経学会総会抄録 IIIC-14 (258) (1982年5月東京)
- (3) Osame, M., et al.: Is “Inclusion Body Myositis” “Debrancher Deficiency Myopathy”? —The relationship between “Debrancher Deficiency Myopathy” and “Inclusion Body Myositis” —, 5th International Congress on Neuromuscular Diseases, Sept. 1982, in Marseilles, Abstract WE 63
- (4) 納 光弘, 他: Inclusion Body Myositis の筋病理を呈した Debrancher Deficiency Myopathy の同胞例. 代謝19巻10号: 1321, 1982
- (5) 納 光弘, 他: Debrancher Deficiency Myopathy—inclusion body myositis あるいは rimmed vacuole を伴った distal myopathy との関連—, 昭和57年度三好班, 演題番号35
- (6) 塾中: (5)への追加

# 分 担 研 究 報 告

# 目 次

## I. 実験動物

- 1) 筋線維の発育分化に対する神経の関与.....35  
国立武蔵療養所神経センター微細構造研究部 埜 中 征 哉
- 2) 筋ジストロフィーチキン骨格筋の修復能.....40  
鳥取大学医学部脳研神経病理 中 村 晴 臣
- 3) 神経切断による筋衛星細胞の活性化について  
——光顕ラジオオートグラフィーによる検討——.....44  
信州大学医学部第三内科 小 口 喜三夫
- 4) 実験的再生筋に関する研究.....48  
東北大学医学部脳研脳神経内科 高 瀬 貞 夫
- 5) 筋萎縮の発現機序に関する研究  
1) ステロイド萎縮筋(2).....53  
東邦大学医学部第四内科 木 下 真 男
- 6) 不動化による実験的筋萎縮の病態.....57  
国立武蔵療養所神経センター 高 木 昭 夫
- 7) 胸腺腫自然発症ラット (Buffalo/Mna rat) の下腿筋における  
組織化学的検討.....61  
名古屋大学医学部第一内科 飯 田 光 男
- 8) 正常及び筋ジストロフィー鶏胸腺内 myoid cells の形態学的検討.....68  
東京医科歯科大学医学部神経内科 塚 越 廣
- 9) ジストロフィー鶏・培養筋細胞からの CPK の遊離 .....75  
都立神経病院神経内科 宇尾野 公 義
- 10) ジストロフィー鶏発育早期における superoxide dismutase,  
catalase, glutathione peroxidase, glutathione reductase 活性  
の異常について.....78  
自治医科大学神経内科 水 野 美 邦
- 11) Dystrophy mouse 及び dystrophy hamster 組織中の  
Enkephalin 様免疫活性 .....83  
京都大学医学部第二内科 井 村 裕 夫

## II. 筋ジストロフィー症の遺伝・臨床と病理

- 12) 筋萎縮性疾患の遺伝分析  
——Duchenne 型ジストロフィー症について—— ..... 89  
杏林大学保健学部疫学 古庄敏行
- 13) Duchenne 型筋ジストロフィーの遺伝補遺  
——突然変異率と親の年齢..... 92  
東京都神経科学総合研究所臨床神経学研究部 近藤喜代太郎
- 14) Emery-Dreifuss muscular dystrophy の一例..... 97  
熊本大学医学部第一内科 荒木淑郎
- 15) 筋緊張性ジストロフィー症における脳 CT・脳波・WAIS  
を中心とした臨床的研究..... 103  
虎の門病院神経内科 田辺 等
- 16) Rigid spine syndrome の臨床型について ..... 107  
九州大学医学部脳研神経内科 黒岩義五郎
- 17) 軽度かつ持続的な運動により筋硬直を呈する家族性ミオパチー..... 109  
浜松医科大学第一内科 西村嘉郎
- 18) 骨格筋の組織病理学的研究  
——特に肥大線維, 中心核, Fiber splitting について—— ..... 114  
大阪医科大学第一内科 茂在敏司
- 19) Duchenne ジストロフィー症生検筋のヌードマウスへの移植実験  
——再生筋直径の定量的検討——..... 118  
昭和大学藤が丘病院神経内科 若山吉弘
- 20) 各種神経筋疾患における satellite cell の検討 ..... 124  
九州大学医学部脳研神経内科 黒岩義五郎
- 21) Carbonic anhydrase III (CA III) の人骨格筋における  
局在について..... 126  
北海道大学医学部脳神経外科 田代邦雄
- 22) 生検筋の primary culture の確立とその応用について ..... 132  
神戸市立中央市民病院小児科 吉岡三恵子
- 23) 糖脂質の神経筋培養に与える影響..... 135  
国立療養所宇多野病院臨床研究部 齋田孝彦

### III. 筋ジストロフィー症の病態生理

- 24) Duchenne 型筋ジストロフィー症の赤血球の polyphosphoinositide の同定 ..... 141  
国立武蔵療養所神経センター 吉田 瑞子
- 25) Duchenne 型進行性筋ジストロフィー症の赤血球カルシウム含量 ..... 144  
信州大学医学部第三内科 庄 司 進 一
- 26) Myotonic dystrophy における赤血球膜脂質構成 ..... 149  
国立赤坂療養所神経内科 馬 渡 志 郎
- 27) Duchenne 型筋ジストロフィーの筋小胞体機能：  
スキンドファイバー法による再検討 ..... 153  
国立武蔵療養所神経センター 高 木 昭 夫
- 28) 筋ジストロフィー症及びその他の神経筋疾患におけるM波の研究 ..... 158  
宮崎医科大学第三内科 栗 原 照 幸
- 29) A23187-induced myopathy におけるカルモデュリン・プロスタ  
グランジンの役割に関する生理学的検討 ..... 164  
金沢大学医学部神経内科 高 守 正 治
- 30) 筋病変とミオグロビンの局在  
——酵素抗体法 (PAP 法) による観察—— ..... 171  
熊本大学保健管理センター 出 田 透
- 31) 血清ミオグロビンの変動パターンからみた筋・心筋疾患  
ならびに運動時の筋崩壊量の推定 ..... 174  
徳島大学医学部第一内科 川 井 尚 臣
- 32) 筋におけるクレアチン代謝  
筋ホモジュネートによる  $1-^{14}\text{C}$  標識クレアチンからの  
 $1-^{14}\text{C}$  標識サルコシンの産生 ..... 179  
冲中記念成人病研究所 三 好 和 夫
- 33) 筋肉酵素の漏出について ..... 184  
愛媛大学保健管理センター 植 田 啓 嗣
- 34) Duchenne 型ジストロフィー症の線維芽細胞および  
白血球の生化学的研究 ..... 188  
国立赤坂療養所神経内科 馬 渡 志 郎
- 35) 神経筋疾患における白血球 proteolytic enzymes の検討 ..... 192  
九州大学医学部脳研神経内科 後 藤 幾 生

- 36) 筋タンパクの崩壊とリソゾームチオール性プロテアーゼ……………195  
徳島大学医学部酵素研酵素化学 木南英紀
- 37) Plasmocid による実験的ミオパチーの筋蛋白分解機構  
——筋ジストロフィー症との関連——……………198  
国立武蔵療養所神経センター疾病研究第一部 杉田秀夫
- 38) Duchenne 型筋ジストロフィー症にみられる opaque fiber の  
筋構造蛋白に関する研究……………202  
熊本大学医学部第一内科 荒木淑郎
- 39) 筋糖原病の病態分析  
——新しいスクリーニング指標物質について……………206  
大阪大学医学部第二内科 垂井清一郎
- 40) 多発性筋炎における抗ミオシン抗体の診断的意義について……………210  
大阪大学医学部第二内科 垂井清一郎
- 41) 核磁気共鳴による筋ジストロフィー症の研究  
(1)筋の発育に伴う proton 緩和時間ならびにナトリウム量の変化……………214  
新潟大学脳研究所神経内科 宮武正
- 42) 組織対応法による nemaline myopathy の生化学的研究……………219  
新潟大学脳研究所神経内科 福原信義
- IV. いわゆる distal myopathy
- 43) 筋線維束からみた rimmed vacuole を伴う distal myopathy  
の筋病変……………225  
東京大学医学部脳研神経内科 豊倉康夫
- 44) 筋病変における rimmed vacuole ないしはその類似所見について ……231  
虎の門病院神経内科 田辺等
- 45) Filamentous inclusion, Tubulomembranous inclusion と  
Rimmed vacuolar degeneration について……………237  
筑波大学臨床医学系神経内科 中西孝雄
- 46) Autosomal recessive distal muscular dystrophy (常染色体劣性  
末梢型筋ジストロフィー症) の特徴と文献的考察 (附) 1 剖検例……………242  
冲中記念成人病研究所 三好和夫
- 47) 特別発言: 常染色体劣性末梢型筋ジストロフィー症 (三好) の 1 剖検例……………248  
徳島大学医学部第一病理 檜澤一夫

- 48) Debrancher Deficiency Myopathy —inclusion body myositis  
 あるいは rimmed vacuole を伴った distal myopathy との関連——・255  
 鹿児島大学医学部第三内科 納 光 弘
- 49) Distal および Quadriceps myopathy における筋電図ならびに  
 末梢神経の電子顕微鏡所見…………… 259  
 順天堂大学医学部脳神経内科 佐 藤 猛
- 50) いわゆる「封入体筋炎」における筋鞘核内封入体の特異性…………… 264  
 順天堂大学医学部脳神経内科 佐 藤 猛
- 51) Rimmed vacuole を有する筋線維の電気泳動的な研究 …………… 269  
 新潟大学脳研究所神経内科 福 原 信 義



# I. 実 験 動 物

# 1) 筋線維の発育分化に対する神経の関与

埜 中 征 哉

研究協力者 岡 田 理 美\*

骨格筋は大きく赤筋と白筋に分けられる。ATPase 染色により赤筋はタイプ1線維、白筋はタイプ2線維とよばれている。タイプ2線維はさらにタイプ2 A と 2 B 線維に分けられる。ヒト正常成人骨格筋ではこのタイプ1, 2 A, 2 B の3種類の筋線維がほぼ1/3ずつモザイク状に分布する<sup>1)</sup>。この3種の筋線維タイプの決定は、筋線維を支配する神経によって左右される<sup>2)</sup>。神経支配を受ける以前、すなわち胎児筋は未分化で生化学的にも組織化学的にも白筋、赤筋の区別なく両者の中間的特徴を示す。このような未分化な線維はタイプ2 C 線維とよばれている。すなわち未分化なタイプ2 C 線維がタイプ1運動神経に支配されると、次第に分化し、生理学的、生化学的、組織学的にタイプ1線維の特徴を備えるようになる。同じことが、タイプ2 A, 2 B 線維にもいえる。もし筋線維がタイプ2 C 反応を示す未分化な時、神経支配を遮断したら筋線維ははたしてどのような態度をとるのかそれをみるため本実験を行った。

## 対象・方法

### 1. 新生児期脱神経筋の組織化学的検索

Sprague-Dawley 系ラットを使用した。生後24時間以内の新生児ラットの右坐骨神経を約5 mm の長さ切除し、切除後10, 15, 20, 30日目に各5匹ずつ(計20匹)について、赤筋であるヒラメ筋、白筋である長指伸筋をとり出し、凍結固定した。凍結切片に hematoxylin and eosin (HE) はじめ各種の組織化学的染色を行った。筋線維をアルカリ前処理 ATPase (routine ATPase) 染色で活性なく淡染するタイプ1線維と、活性あつて

濃染するタイプ2線維に分け、さらに酸性側前処理 ATPase 染色でタイプ2線維をタイプ2 A, 2 B, 2 C 線維に分けた。4種の筋線維の頻度と分布をしらべ、線維径を測定した。

### 2. 筋衛星細胞の頻度

上の組織化学的検索と同じく、生後24時間以内に右坐骨神経の切除を行い、術後5, 10, 15, 20, 30日目に各々5匹ずつ計25匹から、右側ヒラメ筋と長指伸筋をとり出し、グルタルアル液固定後、オスミウム酸にて後固定した。電子顕微鏡写真より、各個体から(今回はヒラメ筋のみ)約500本の筋線維の筋核、筋衛星細胞、筋衛星細胞核数を数えた。左側の筋を正常対照として使用した。

### 3. pma マウス<sup>3)</sup>の萎縮筋

pma マウスで総腓骨神経の完全欠如例から前脛骨筋、長指伸筋をとり出し、各種組織化学的染色を行いその分化の状態をみた。

## 結 果

1. 新生児期のラットの骨格筋は未分化で全てタイプ2 C 線維であったが、脱神経を行わない正常筋は生後3~5日目よりタイプ1線維が出現しはじめ、以後急速に分化していった<sup>3)</sup>。

新生児期に神経切除すると筋線維の分化は著明に遅延した(図1)。脱神経をうけたヒラメ筋は(表1)生後10日目でも全て未分化なタイプ2 C 線維であり、以後ゆっくりと分化するがタイプ2 B 線維までで、タイプ1や2 A 線維には分化しなかった。線維径も細く正常対照と比べて生後30日目では1/3以下であった。脱神経した長指伸筋(表2)もヒラメ筋と同じく、タイプ2 B 線維へは分化したが、タイプ1, 2 A 線維には分化しなかった。

\* 国立武蔵療養所神経センター微細構造研究部

