

厚生省
神経疾患研究委託費

筋ジストロフィー症モデル動物
の開発に関する研究

野村班

昭和60年度研究報告書

昭和61年3月

研究報告書作成にあたり

厚生省神経疾患研究委託費による「筋ジストロフィー症動物の開発・供給に関する研究」班は昭和59年度をもって3年間の研究期間を終了し、一応の成果をあげることができました。しかし、ヒト疾患のモデルとなる動物の開発は一朝一夕にできるものではなく、また、モデル動物の開発は研究がおこなわれている限り続けねばなりません。そこで今年度より「筋ジストロフィー症モデル動物の開発」班が発足することになりました。

モデル動物の開発には異常形質の発見、特性の分析、遺伝的背景の均一化など、極めて長い年月を要するものであります。また、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の問題点もあり、モデル動物の飼育・管理の方法も併せて開発する必要があります。従って、この班の目的は、前の班での目的、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、をそのまま引きつぐことになりましたが、本研究班では新しい技術、例えば発生工学の手法をもちいてモデル動物の開発・改良に一層の重点をおくために、一部班員の交代が行なわれました。

本研究班では、筋ジストロフィー症研究の進展のため、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努力を致す所存であります。

今後も、諸班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から感謝いたします。

昭和61年3月

野 村 達 次

目 次

筋ジストロフィー症に関する文献調査(1984)	1
野村達次	
筋ジストロフィー筋の発育分化と壊死発現に関する組織学的、組織化学的研究	11
埜中征哉	
研究協力者 禹 満	
横山峯介	
江崎孝三郎	
キメラマウスによる筋ジストロフィー症の解析	33
勝木元也	
研究協力者 横山峯介	
高橋利一	
日下部守昭	
膜結合蛋白質の単離と構造解析	37
高松研	
研究協力者 藤城正敏	
高坂新一	
塚田裕三	
新たに発見された後肢麻痺ラット	45
江崎孝三郎	
研究協力者 埜中征哉	
津金隆夫	
後肢麻痺マウス <i>hlp</i> の病態と遺伝について	63
富田武	
研究協力者 菊池建機	
埜中征哉	
若杉昇	
山崎一斗	

矮性鶏における筋ジストロフィー遺伝子発現 69

菊池建機
研究協力者 武田伸一

糖原病Ⅱ型ウズラの改良 77

水谷誠
研究協力者 新海久夫
小池雅春
中山一彦

筋ジストロフィーハムスターの繁殖ならびに系統育成について 89

斉藤宗雄
研究協力者 田中亨
松崎哲也

筋ジストロフィー症に関する文献調査(1985)

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、トリア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た。それらの中から、海外における筋ジストロフィーに関する文献(1985年分)を以下に紹介する。¹⁻⁹⁾

M I C E

Dick, D.J., Boakes, R.J., Harris, J.B.: A cerebellar abnormality in the mouse with motor end-plate disease. *Neuropathol. Appl. Neurobiol.*, 11(2), 141-7, 1985.

Peterson, A.C.: Peripheral nerves in shiverer --- Dystrophic mouse chimeras: evidence that a non-schwann cell component is required for axon ensheathment in vivo. *J. Neurosci.*, 5(7), 1740-54, 1985.

Srivastava, U., Sebag, M., Thakur, M.: Biochemical changes in progressive muscular dystrophy. XIII. Nucleic acids, proteins, and total nucleotides in the thymus and spleen of dystrophic mice. *Can. J. Biochem. Cell Biol.*, 63(5), 325-32, 1985.

Infante, J.P.: Defective synthesis of glycerophosphorylcholine in murine muscular dystrophy; The primary molecular lesion? *Febs. Lett.*, 186(2), 205-10, 1985.

Hoh, J.F., Fitzsimons, R.B.: Myosin isoforms in normal and dystrophic human and murine muscles. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 182, 43-62, 1985.

Pette, D., Klug, G., Reichmann, H.: Parvalbumin reduction in relation to possible perturbations of Ca^{2+} -homeostasis in muscular dystrophy. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 182, 265-7, 1985.

.....
* (財)実験動物中央研究所

Watson, A.Y., Leonard, J.L., Radie, K.A., Mellen, S.A., Murphy, R.A.: Alterations in the pituitary-thyroid axis and 5'-deiodinase activity in mice with muscular dystrophy. *Endocrinology*, 116(6), 2201-8, 1985.

Beuche, W., Friede, R.L.: A quantitative assessment of myelin sheaths in the peripheral nerves of dystrophic, quaking, and trembler mutants. *Acta neuropathol. (Berl.)*, 66(1), 29-36, 1985.

Noireaud, J., Leoty, C.: Potassium and caffeine contractures in limb muscles of normal and dystrophic (C57BL/6J dy2J/dy2J) mice. *Exp. Neurol.*, 87(3), 495-502, 1985.

Beuche, W., Friede, R.L.: Naked axon bundles enclosed by single segments of myelin sheaths in the nerves of non-dystrophic C57BL-ob/+ mice. *Neuropathol. Appl. Neurobiol.*, 10(5), 369-77, 1984.

Parry, D.J., Desypris, G.: Fatiguability and oxidative capacity of forelimb and hind limb muscles of dystrophic mice. *Exp. Neurol.*, 87(2), 358-68, 1985.

Mobley, B.A.: CA²⁺ capacity and uptake rate in skinned fibers of myodystrophic muscle. *Exp. Neurol.*, 87(1), 137-46, 1985.

Younger, L.E., Silverman, H.: Breeding and offspring rearing ability of C57BL/6J dystrophic mice. *Lab. Anim. Sci.*, 34(5), 471-4, 1984.

Cohen, A.I.: Some contributions to the cell biology of photoreceptors. Proctor lecture. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 25(12), 1354-65, 1984.

Whalen, R.G., Johnstone, D., Bryers, P.S., Butler-Browne, G.S., Ecob, M.S., Jaros, E.: A developmentally regulated disappearance of slow myosin in fast-type muscles of the mouse. *FEBS Lett.*, 177(1), 51-6, 1984.

Marcucci, F., Colombo, L., De Ponte, G., Mussini, E.: Decrease in N-acetyl-L-aspartic acid in brain of myodystrophic mice. *J. Neurochem.*, 43(5), 1484-6, 1984.

Peterson, A.C., Bray, G.M.: Normal basal laminae are

realized on dystrophic schwann cells in dystrophic in equilibrium shiverer chimera nerves. *J. Cell Biol.*, 99(5), 1831-7, 1984.

Semple, J.W., Wade, A.W., Szewczuk, M.R.: Natural killer (NK) cell activity in murine muscular dystrophy. II. Age-related tissue distribution and enhanced NK activity in the thymus of dystrophic mice. *Clin. Immunol. Immunopathol.*, 33(2), 144-53, 1984.

Cossu, G., Eusebi, F., Senni, M.I., Molinaro, M.: Increased endocytosis of acetylcholine receptors by dystrophic mouse myotubes in vitro. *Dev. Biol.*, 110(2), 362-8, 1985.

Gordon, T., Stein, R.B.: Temperature effects on the kinetics of force generation in normal and dystrophic mouse muscles. *Exp. Neurol.*, 89(2), 348-60, 1985.

Noireaud, J., Leoty, C., Schmidt, H.: Acetylcholine-sensitivity in fast and slow twitch muscle of normal and dystrophic (C57BL/6J dy2J/dy2J) mice. *Pflugers Arch.*, 404(2), 185-9, 1985.

Kirkeby, S., Moe, D.: Biochemical and histochemical studies on alkaline phosphatase in normal and dystrophic muscle. *Exp. Pathol.*, 27(3), 131-6, 1985.

Hayden, M.R., Nichols, J.L.: Molecular genetic approaches to the study of the nervous system. *Dev. Neurosci.*, 6(4-5), 189-214, 1983.

Parry, D.J., Desypris, G.: Succinic dehydrogenase activity of forelimb and hindlimb muscles of the dystrophic mouse. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 62(8), 905-11, 1984.

HAMSTERS

Walkiewicz, M.J., Nicholls, D.M.: Phosphorylation of the sarcolemma of dystrophic and normal hamster muscle following denervation. *J. Neurol. Sci.*, 69(1-2), 93-102, 1985.

Karpati, G., Jacob, P., Carpenter S., Prescott, S.: Hypophysectomy mitigates skeletal muscle fiber damage

in hamster dystrophy. *Ann. Neurol.*, 17(1), 60-4, 1985.

Hofker, M.H., Wapenaar, M.C., Goor, N., Bakker, E., Van Ommen, G.J., Pearson, P.L.. Isolation of probes detecting restriction fragment length polymorphisms from X chromosome-specific libraries: Potential use for diagnosis of Duchenne muscular dystrophy. *Hum. Genet.*, 70(2), 148-56, 1985.

Ingle, C., Williamson, R. De La Chapelle, A., Herva, R.R., Haapala, K., Bates, G., Willard, H.F., Pearson, P., Davies, K.E.: Mapping DNA sequences in a human X-chromosome deletion which extends across the region of the Duchenne muscular dystrophy mutation. *Am. J. Hum. Genet.*, 37(3), 451-62, 1985.

Roncuzzi, L., Fadda, S., Nochi, M., Prosperi, L., Sangiorgi, S., Santamaria, R., Sbarra, D., Besana, D., Morandi, L., Rocchi, M., et al.: Mapping of X-linked Becker muscular dystrophy through crossovers identified by DNA polymorphisms and by haplotype characterization in somatic cell hybrids. *Am. J. Hum. Genet.*, 37(2), 407-17, 1985.

Francke, U., Ochs, H.D., De Martinville, B., et al.: Minor XP21 chromosome deletion in male associated with expression of Duchenne muscular dystrophy, chronic granulomatous disease, retinitis pigmentosa, and McLeod syndrome. *Am. J. Hum. Genet.*, 37(2), 250-67, 1985.

De Martinville, B., Kunkel, L.M., Bruns, G., et al.: Localization of DNA sequences in region XP21 of the human X chromosome: Search for molecular markers close to the Duchenne muscular dystrophy locus. *Am. J. Human Genet.*, 37(2), 235-49, 1985.

CHICKENS

Sohar, I., Fekete, E., Yorke, G., Cosentino, B., Roisen, F.J., Bird, J.W.: Proteinase activities in normal and dystrophic chicken myoblasts in culture. *Prog. Clin. Biol. Res.*, 180, 629-31, 1985.

Dietert, R.R., Sanders, B.G.: Leukocyte cell populations in hereditary muscular dystrophic chickens. *J. Hered.*, 76(4), 285-8, 1985.

- Feit, H., Domke, R.: Changes in turbidity during microtubule assembly in brain extracts from normal chickens and chickens with muscular dystrophy. *J. Neurogenet.*, 1(2), 141-52, 1984.
- Huszar, G., Vigue, L., Haines, J.: Myosin heavy chain in avian muscular dystrophy corresponds to the neonatal isozyeme. *J. Biol. Chem.*, 260(18), 9957-60, 1985.
- Demichele, S.J., Brown, R.G., Krasin, B.W., Sweeny, P.R.: Connective tissue metabolism in muscular dystrophy. Amino acid composition of native types I, III, IV, and V collagen isolated from the gastrocnemius muscle of embryonic chickens with genetic muscular dystrophy. *Comp. Biochem. Physiol. (B)*, 81(1), 149-57, 1985.
- Sokolove, P.M.: Altered membrane association of glycogen phosphorylase in the dystrophic chicken. *Biochim. Biophys. Acta*, 841(2), 232-6, 1985.
- Bennett, V.D., Hall, N., Deluca, M., Suelter, C.H.: Decreased mitochondrial creatine kinase activity in dystrophic chicken breast muscle alters creatine-linked respiratory coupling. *Arch. Biochem. Biophys.*, 240(1), 380-91, 1985.
- Misra, L.K., Kasturi, S.R., Kundu, S.K., Harati, Y., Hazlewood, C.F., Luthra, M.G., et al.: Evaluation of muscle degeneration in inherited muscular dystrophy by nuclear magnetic resonance techniques. *Magn. Reson. Imaging*, 1(2), 75-9, 1982.
- Thacore, H.R., Kibler, P.K., Gregorio, C.C., Pollina, C.M., Hudecki, M.S.: Characterization of lymphocyte interferons with different species specificities from normal and genetically dystrophic chickens. *J. Interferon Res.*, 5(2), 279-88, 1985.
- Baxter, J.H., Suelter, C.H.: Resolution of the low-molecular-weight acid phosphatase in avian pectoral muscle into two distinct enzyme forms. *Arch. Biochem. Biophys.*, 239(1), 29-37, 1985.
- Bandman, E.: Distribution of slow myosin in dystrophic chicken muscle. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 182, 63-72, 1985.
- Matsuda, R., Strohman, R.C.: Myotrophic factor(s) in

normal and dystrophic chicken skeletal muscle. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 182, 137-40, 1985.

Oh, T.H., Markelonis, G.J., et al.: Stimulation of the synthesis of fructose 1,6-diphosphate aldolase by transferrin. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 182, 129-35, 1985.

Huszar, G., Vigue, L., Delucia, J., Elzinga, M., Haines, J.: Structure of myosin heavy chain in avian muscular dystrophy. *J. Biol. Chem.*, 260(12), 7429-34, 1985.

Rushbrook, J.I., Somes, R.G., Jr.: Myosin light chain-1: Genetic analysis of three variants found in fast white chicken muscle and investigation of linkage with the muscular dystrophy gene. *Biochem. Genet.*, 23(1-2), 17-27, 1985.

Davidson, W.S., Murphy, D.G.: Aldehyde reductases and their involvement in muscular dystrophy. *Prog. Clin. Biol. Res.*, 174, 251-63, 1985.

Misra, L.K., Luthra, M.G., Amtey, S.R., Elizondo-Riojas, G., et al.: Enhanced T1 differentiation between normal and dystrophic muscles. *Magn. Reson. Imaging*, 2(1), 33-5, 1984.

Lebherz, H.G.: Content and synthesis of glycolytic enzymes in normal, denervated, and dystrophic skeletal muscle fibers. *Int. J. Biochem.*, 16(12), 1201-5, 1984.

Wright, W.E.: Myoblast senescence in muscular dystrophy. *Exp. Cell Res.*, 157(2), 343-54, 1985.

Petell, J.K., Lebherz, H.G.: Content and synthesis of glycolytic enzymes and creatine kinase in skeletal muscles and normal and dystrophic chickens. *Arch. Biochem. Biophys.*, 237(1), 271-80, 1985.

Bandman, E.: Continued expression of neonatal myosin heavy chain in adult dystrophic skeletal muscle. *Science*, 227(4688), 780-2, 1985.

Entrikin, R.K., Larson, D.B.: Avian muscular dystrophy: Serum thyroid defect and limited improvement with methimazole and propylthiouracil. *Exp. Neurol.*, 87(2), 318-25, 1985.

- Shackelford, J.E., Lebherz, H.G.: Synthesis of apolipoprotein A1 in skeletal muscles of normal and dystrophic chickens. *J. Biol. Chem.*, 260(1), 288-91, 1985.
- Demichele, S.J., Brown, R.G.: Connective tissue metabolism in muscular dystrophy. Levels of collagen and mucopolysaccharides in embryonic chickens with genetic muscular dystrophy. *Comp. Biochem. Physiol. (B)*, 79(2), 203-9, 1984.
- Kester, M., Privitera, C.A.: Plasmalogenase activity in normal and dystrophic chicken erythrocytes. *Comp. Biochem. Physiol. (B)*, 79(1), 51-4, 1984.
- Kester, M., Privitera, C.A.: Phospholipid composition of dystrophic chicken erythrocyte plasmalemmae. II. Characterization of a unique lipid from dystrophic erythrocyte membranes as ethanolamine plasmalogen. *Biochem. Biophys. Acta*, 778(1), 121-8, 1984.
- Kester, M., Privitera, C.A.: Phospholipid composition of dystrophic chicken erythrocyte plasmalemmae. I. Isolation of a unique lipid in dystrophic erythrocyte membranes. *Biochem. Biophys. Acta*, 778(1), 112-20, 1984.
- Allen, E.R.: The musculus complexus of normal and dystrophic chicken embryos. *Poult. Sci.*, 63(10), 2087-93, 1984.
- Kang, C.W., Sunde, M.L., Swick, R.W.: Characteristics of growth and protein synthesis in skeletal muscles of normal and dystrophic chickens. *Biochim. Biophys. Acta*, 802(1), 1-8, 1984.
- Chown, P.J., Barvard, E.A., Barnard, P.J., Liu, P.K., Carter, N.D.: Plasma phosphoglycerate mutase as a marker of muscular dystrophy. *J. Neurol. Sci.*, 65(2), 201-10, 1984.
- Yeagle, S.P., Albuquerque, E.X.: Reinnervation of normal and dystrophic skeletal muscle. *Exp. Neurol.*, 86(1), 1-17, 1984.
- McLennan, I.S.: Inhibition of prostaglandin synthesis produces a muscular dystrophy-like myopathy. *Exp.*

Neurol., 89(3), 616-21, 1985.

Murphy, D.G., Davidson, W.S.: Inhibition studies on chicken muscle aldose reductase. *Biochem. Pharmacol.*, 34(16), 2961-5, 1985.

Barnett, R.I.: Developmental neuron cell death in dystrophic and normal chickens. *Exp. Neurol.*, 89(2), 382-90, 1985.

OTHERS

Promkhatkaew, D., Komaratat, P., Wilairat, P.: Ascorbic acid- FE_2^+ treatment mimics effect of vitamin E deficiency on sarcoplasmic Ca-ATPase of rabbit muscle. *Biochem. Int.*, 10(6), 937-43, 1985.

Schultz, E.: Satellite cells in normal, regenerating and dystrophic muscle. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 182, 73-84, 1985.

Chupukcharoen, N., Komaratat, P., Wilairat, P.: Effects of vitamin E deficiency on the distribution of cholesterol in plasma lipoproteins and the activity of cholesterol 7 alpha-hydroxylase in rabbit liver. *J. Nutr.*, 115(4), 468-72, 1985.

Hidiroglou, M., Proulx, J., Jolette, J.: Intraruminal selenium pellet for control of nutritional muscular dystrophy in cattle. *J. Dairy Sci.*, 68(1), 57-66, 1985.

Turner, R.J., Wheatley, L.E., Beck, N.F.: Impaired mitogen responses in lambs with white muscle disease. *Res. Vet. Sci.*, 37(3), 357-8, 1984.

Roneus, B., Jonsson, L.: Muscular dystrophy in foals. *Zentralbl. Veterinarmed. (A)*, 31(6), 441-53, 1984.

Davies, K.E., Briand, P., Ionasescu, V., Ionasescu, G., Williamson, R., Brown, C., Cavard, C., Cathelineau, L.: Gene for OTC: Characterisation and linkage to Duchenne muscular dystrophy. *Nucleic Acid Res.*, 13(1), 155-65, 1985.

Sirken, S.M., Fischbeck, K.H.: Freeze-fracture studies

of denervated and tenotomized rat muscle. J. Neuropathol. Exp. Neurol., 44(2), 147-55, 1985.

Lunkenheimer, P.P., Muller, R.P., Konermann, C., Lunkenheimer, A., Kohler, F.: Architecture of the myocardium in computed tomography. Invest. Radiol., 19(4), 273-8, 1984.

文 献

- 1) 野村達次：筋ジストロフィー症に関する文献調査（1978），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」班，昭和54年度研究報告書，1-7，1980.
- 2) 野村達次：筋ジストロフィー症に関する文献調査（1979），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」班，昭和55年度研究報告書，1-15，1981.
- 3) 野村達次：筋ジストロフィー症に関する文献調査（1980，1981），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」班，昭和56年度研究報告書，1-12，1982.
- 4) 野村達次：筋ジストロフィー症に関する文献調査（1982），厚生省神経疾患研究委託費「筋ジストロフィー症動物の開発・供給に関する研究」班，昭和57年度研究報告書，1-5，1983.
- 5) 野村達次：筋ジストロフィー症に関する文献調査（1983），厚生省神経疾患研究委託費「筋ジストロフィー症動物の開発・供給に関する研究」班，昭和58年度研究報告書，1-9，1984.
- 6) 野村達次：筋ジストロフィー症に関する文献調査（1984），厚生省神経疾患研究委託費「筋ジストロフィー症動物の開発・供給に関する研究」班，昭和59年度研究報告書，5-12，1985.

筋ジストロフィー筋の発育分化と壊死発現に関する組織学的、組織化学的研究

埜 中 征 哉*

研究協力者 禹 満*, 横山峯介**
江崎孝三郎**

進行性筋ジストロフィーは、筋の変性・壊死がその主病変である。筋の壊死発現のメカニズムを明らかにすることは、進行性筋ジストロフィーの病態を解き明かす鍵である。近年動物モデルの研究により、病態解明のための知見が多く得られるようになった。筋ジストロフィーの動物モデルは、現在までに様々なものが見出されているが、マウスでは今日主に2種類が知られている。1つは、Michelsonらが最初に報告し¹⁾、後に遺伝子名 *dy* を与えられた常染色体性劣性遺伝を示す 129/ReJ-*dy/dy* である。この遺伝子は C57BL/6J 系に導入され、C57BL/6J *dy/dy* として一般化している。もう1つは、最近 Bulfield ら²⁾ が最初に報告した X 染色体性劣性遺伝の形式をとる C57BL/10ScSn の mutant マウスで、遺伝子名 *mdx* が与えられている。

これらのマウスの間には、臨床的に明らかな差がみられる。*mdx* マウスでは、進行性の筋力低下はなく、見かけ上は正常と変わらない³⁾⁴⁾。これに対して、*dy* マウスでは、生後約2週目に後肢のひきずりや痙攣 (twitching) が出現し、これらの症状は成長に従って強くなり、3ヶ月頃より後肢は常に伸展したままとなり、前肢だけで移動するようになる。*mdx* マウスは2年以上生存するのに対して、*dy* マウスでは飼育条件にもよるが生後5~6ヶ月以内に死亡す

る。これらの2種類の筋ジストロフィーマウスの臨床症状の違いが、一体どのようなところから起因するのか、又、両者では組織病理上の違いがあるが、特にその壊死・再生の過程の違いがどこから起因するのかを明確にする必要がある。今回我々は、筋の発育分化という観点から壊死発現との関連について検討を加えたので報告する。

<対象・方法>

対象は、C57BL/10ScSn-*mdx* (*mdx* マウス) と C57BL/6J *dy/dy* (*dy* マウス) 及び対照として C57BL/10ScSn (対照マウス) を用いた。*dy* マウスは、体外受精によって得たホモを使用した。*mdx* マウスと対照マウスは、生直後、5日、10日、15日、20日、30日、60日、90日、180日目を、*dy* マウスは、5日、10日、15日、20日、30日、60日目の各時点を経時的にみた。*mdx* マウスと対照マウスは各5匹、*dy* マウスは各3匹から、各時点で、下肢の筋を採取し、電顕用と光顕用に固定した。15日目までは下腿全体を、20日目以後は右長指伸筋、右前脛骨筋(白筋)、右ヒラメ筋(赤筋)をとり出し、トラガカントゴムを用いてコルク片の上に筋の線維方向が垂直になるように立てて、液体窒素で冷却したイソペンタン中で凍結固定した。クリオスタットで横断

* 国立武蔵療養所神経センター

** (財)実験動物中央研究所

