

国立武蔵療養所神経センター年報

第 2 号

昭和 54 年度

National Center for Nervous,  
Mental and Muscular Disorders

—1979—

# 国立武蔵療養所神経センター年報

第 2 号

昭和54年度

## は し が き

神経センターは発足して以来2年を経過し、機器の整備をはじめ人の面でも次第に充足しつつあり、第2年目は各部門ともかなりの実績をあげつつあるのが現況といえよう。

此の度神経センター年報第2号をお届け出来ることになったが第1号に比べ内容もかなり進歩がみられている。

事実初年度はすべてについて新しい組織を造って行かねばならず、一方国立神経センター移行への準備計画をととのえるなどの二重の仕事に追われたが、委託研究費1億増額とともに企画室が整備され、これらの研究費処理、将来計画については一段と進歩がみられている。診療面でも特殊外来棟の建設が決定し、神経センターの診療は来年中にかなりの進展をみるものと期待される。

神経センターの第2年目のわれわれの歩みの概要を理解され、このセンターが名実ともに国立神経センターに発展する日の一日も早いことを祈りつつ、関係各位のご協力をお願いする次第である。

昭和55年3月末日

国立武蔵療養所神経センター長

里 吉 栄二郎

# 目 次

|                                  |     |
|----------------------------------|-----|
| I 神経センターの概要 .....                | 1   |
| 1. 1979年のあゆみ .....               | 1   |
| 2. 組 織 .....                     | 2   |
| 3. 研究活動 .....                    | 2   |
| 4. 神経疾患委託研究費 .....               | 3   |
| 5. 診療業務 .....                    | 3   |
| 6. 研究部門の将来計画 .....               | 4   |
| 7. 今後の問題点 .....                  | 5   |
| II 研究概要 .....                    | 17  |
| 1. センター長室 .....                  | 17  |
| 2. 疾病研究第1部 .....                 | 25  |
| 3. 疾病研究第2部 .....                 | 49  |
| 4. 疾病研究第3部 .....                 | 78  |
| 5. 疾病研究第4部 .....                 | 101 |
| 6. 診断研究部 .....                   | 166 |
| 7. 微細構造研究部 .....                 | 188 |
| 8. 機能研究部 .....                   | 219 |
| 9. 代謝研究部 .....                   | 232 |
| 10. 神経筋病棟症例報告要旨 .....            | 250 |
| III 診療概要 .....                   | 259 |
| IV 別 項 .....                     | 267 |
| 1. 国立神経センター（仮称）設立準備委員会中間報告 ..... | 267 |
| 2. 神経センター流動研究員運営要領，研究委員会内規 ..... | 278 |
| 3. 神経疾患研究推進委員会規程 .....           | 281 |
| 4. 研究部門将来計画 .....                | 284 |

---

# I 神経センターの概要

---

## I 神経センターの概要

### 1. 1979年のあゆみ

神経センターも第2年目にはいり、各部門もスタッフや機器の整備が整い、それぞれ研究も軌道にのり研究所本来の姿をとりもどしつつあるのが現状といえよう。一方、神経センターの研究推進のために設けられた神経疾患委託研究費も第2年目には1億円の増額をみ、研究課題も10課題に増加する一方、初年度に行われた研究報告の整理、新しい研究課題の設定など、各大学および研究所と連携をとりつつ研究推進の態勢をひろげていく必要があり、これにかなりの精力を費さねばならない状況にある。一方、厚生省薬務局によって企画された難治性疾患に対する新しい薬剤の開発研究が1979年度から始まり、筋ジストロフィー症の新しい薬剤として“ロイペプチンに関する研究班”（微生物化学研究所長梅沢班長）と“E64に関する研究”（東大生化学教授今堀班長）が発足した。両薬剤のジストロフィー動物に対する影響は当神経センターで動物実験の大部分をもたされることになり、疾病研究第一部、微細構造研究部、機能研究部の3部が研究にとりこんでおり今後の発展が期待される。

診療業務に関しては昨年来種々の問題を含みながらも外来を週2回おこない、7病棟を成人棟と小児棟にわけ新たに7病棟の2階を成人の筋ジストロフィー症を中心とした神経難病のベッド、7病棟1階を小児専用のベッドとした。このような入院体制の整備とともに外来日数の増加などが計画されたが、外来要員の不足などの理由から第2年目も小児神経週2回、成人神経週2回の外来しか実施できないのが実状である。外来に関しては新外来診療棟（特殊診療棟）の建設が許可され、設置場所、内容等について種々議論されたが調整に時間がかかりすぎ、当初3階建2,000㎡で手術室も含む予定であったが、最終案が出来ないまま3月に至り、実際の着工は昭和55年度に移行した。また、建築費の値上がりが著しいために当初計画された3階建特殊診療棟が2階建となり、手術室も削除するような不十分な状態になったことは残念である。これにもかかわらず外来および入院患者数は漸次増加し興味ある症例の入院があい次いでいる。初年度に比べ看護体制も次第に整いつつあるが、救急体制の整備が未だ十分ではなくセンターの役割を果せるまでには至っていない。

国立神経センターの設立準備委員会の計画書に照らし合わせると、神経センターの研究所に関しては第二次計画がほぼ終了しつつある段階である。一方、診療体制については、第一次計画も完了されておらず、診療体制の不備は研究所の活動に影響を与えている。国立武蔵療養所の臨床部門の整備を今後どのように進めて行くかが国立神経センター移行への最も大きな鍵を握っているといえよう。

## I 神経センターの概要

### 2. 組 織

昭和53年度に8部16室で発足し54年度には1部4室の増設をみた。即ち部としては診断研究部、その下に微量定量研究室、疾病研究第二部にアミノ酸代謝異常研究室、微細構造研究部に神経形態研究室、機能研究部に病態生理研究室の4室の増設がみられ、研究員2名が増員された。定員としては昭和54年度はセンター長1、部長7、室長20および研究員2の計30名の研究職と、本年度より企画調査係長1名が増員された。なお、併任研究員としては部長職2名を含み23名、流動研究員23名、賃金職員2名の計79名が職員数となっている。なお、昭和55年度においては先天代謝疾患研究部門として疾病研究第五部の新設が行われ、1部と3室の増設が予定されている。従って昭和55年度においては10研究部23室として運営される予定である(表1)。

現在の状況ではセンター長1、部長専任7、併任2、室長11で専任の研究部長室長は計19名、研究員は8名(7名は室長を代用)、併任研究員15名、流動研究員19名、の計60名の研究員のほか賃金研究助手計19名、研究生4名および企画調査係長を加えて計85名の大世界に発展している(表2)。なお、55年度予算においては、54年度に増員をみた疾病研究第二部第三室のアミノ酸代謝異常研究室と新たに内分泌代謝異常研究室の2室をあわせて疾病研究第五部とし、また、疾病研究第四部にはパーキンソン病を主体とする第三研究室を設け、また、診断研究部には新たに簡易診断研究室を設けることが決定されている。

### 3. 研究活動

神経センター各部門の研究活動の詳細についてはこの年報の各部の記録にまとめてあるので参考にして頂きたい。各部門とも2年目にはいり筋ジストロフィー症の研究、胎性アルコール症候群などの発生発達障害の研究、精神障害の研究、脊髄小脳変性症およびパーキンソン病などの変性疾患の研究など、臨床および基礎の両面にわたる研究が熱心に進められている。昭和55年3月24日には昭和54年度神経センター研究発表会(表3)が行われた。

また、原則として月に1回、センター職員、併任研究員、本邦を訪れた外国の権威者により神経センターセミナー(表4)が催されてきた。

なお、当センターは他の国立療養所および大学より長期ないし短期の研修および研究に利用されており、現在までのところ疾病研究第一部、第二部、微細構造研究部には教授クラスの流動研究員、長期および短期の研究技術修得のための見学者の訪問がかなり頻繁に行われつつある。早急に近代的研究施設の整備が望まれる。

#### 4. 神経疾患委託研究費

昭和54年度の委託研究費は前年度に比べて1億円の増額をみ、総計2億9千万円となった。研究課題の決定については昭和54年4月20日に神経疾患研究推進委員会を開催（於松本楼）、新たな4課題を含めて計10研究課題の決定をみた。53年度および54年度の委託契約金額と分担研究者の数については（表5）に示す通りである。また、54年度よりこれらの研究課題を官報に公示して約10%の一般公募をすることが決定された。この結果、9名の応募が採用され各班に配分された。9件の公募の配分額は計920万円で、全研究費の3.17%に当たっている。

昭和53年度の研究報告および会計報告はそれぞれ提出され各研究報告書は印刷されて厚生省、各大学医学部図書館、その他関連国立病院および療養所等に配布された。内容は極めて充実したものである。

なお、昭和54年度の研究班会議は昭和54年12月より55年3月中旬にかけて各所で2日ないし3日にわたって行われた。一部の研究班ではすでに報告の印刷終了をみたものもある。

昭和54年度の委託研究費は第2年目であり、従って来年度（昭和55年度）の委託研究費は第3年目となる。そのために研究成果の評価をどうするかが問題になり昭和55年3月21日、神経疾患研究推進委員会が松本楼において開催された。この際昭和55年度の神経疾患委託研究費に関する研究課題決定も同時に行われたが、神経疾患研究推進委員会の評価部会委員の推薦および評価方法に関する種々の意見の交換が行われ研究推進委員のうち新たに数名、更に医務局長が指名する数名の推進委員からなる評価部会を作り研究内容の評価、研究の継続の決定および委託費の調整など種々の問題を検討することとなった。

#### 5. 診療業務

神経センターの計画のうち最も遅れているのは診療業務に関する問題である。外来診療に関しては昨年3月末より神経内科および小児神経科の外来を週2回行っており、看護定員が得られない等の理由により外来日数の増加は認められず、現在まで週2回の外来診療活動を行っている。これらの制限にもかかわらず神経内科および小児神経科の外来患者数は54年4月以来漸次増加の傾向を示し、昭和55年3月まで神経内科では新患239名、再来延1019名、小児神経科では新患174名、再来延950名の外来患者の通院がみられている。

入院患者数については昨年5月、7病棟2階に病棟を開設し、7病棟1階を小児神経疾患、7病棟2階を成人神経疾患として計80床の病床となった。昨年4月以降本年3月末に至る成人の入院は66名退院が46名、小児では入院が77名退院が77名と割合回転はよく入退院の調節はよくなされているものと思われる。



## I 神経センターの概要

入院患者の種類では筋ジストロフィー症および類縁の筋疾患が約30%，その他運動ニューロン疾患，小脳変性疾患，パーキンソン病等の種々の神経難病および奇形症候群が他の70%を示している。成人患者では運動ニューロン疾患等の重症な神経難病の入院比率が次第に増加しており，現在半数以上をしめているために最近成人の神経病棟では稼働率がやや悪くなっているのが現状といえよう。

これら病棟における看護体制は昨年より漸次改善がみられており，神経難病に対する看護体制も次第に整備されつつあるが，関連部門の整備が未だ不十分で今後の大きな問題点となっている。即ちリハビリテーション部の新設，あるいは神経眼科，神経耳鼻科，その他尿路感染に伴う泌尿器科等の関連科がないこと，脳外科や放射線科がないためにこれらに関連した検査，診療には総合病院の数倍の時間を要するなど診療に極めて時間がかかることが問題である。なお，7病棟3階の40床は昭和55年1月に開床する予定と報告したが態勢が整わないため特殊診療棟完成予定の56年3月まで延期することとなった。

神経センターの外来部門の充実と関連診療科の増加については昨年来厚生省療養所課と種々の接渉を重ねており，本年約2,000㎡の特殊診療棟が完成することになっている。本来ならばこの計画は昭和54年秋に着工し，55年の春には完成する予定であったが，武蔵療養所内の合意を得るのに時間を要し，特殊診療棟の位置，内容などについて55年3月に至ってはほぼ了承をえた。予算執行までに時間がかかりすぎたためと値上りのために当初予定した3階建特殊診療棟が2階建となり内容的にもかなりの縮少をみたのは残念である。新外来棟の医師の充実および看護定員の確保を行い十分な診療活動を行えるように努力する予定である。

### 6. 研究部門の将来計画

神経センターの研究部門の増設は発足以来現在まで着々と進行がみられており，第二次の整備計画11部門の建設終了が近づいているのが現状である。病院部門では整備計画の第一次計画（52年度より53年度に至る第一次計画）がまだ完遂されておらず，神経筋病棟の120床の新設も終了せず，病理部門の新設，外来部門の増設も未了で，第二次計画として予定された神経筋病床の300床に到達するには今後かなりの期間がかかるものと想像される。

研究部門における初期の計画11部門のうち最後は疾病研究第六部門が要求されているが，過去2年にわたる神経センターの発展と研究態勢や委託研究の遂行にともない神経センターに新しい研究部門の増設を望む声が大学，研究所の研究班長などから要請されている。当初の18部門の研究部のなかには含まれているが，疾患モデル動物の開発研究部の増設と剖検材料および生検材料の集中管理設備，即ちブレインバンクー脳銀行一の設置である。現在筋ジストロフィーモデルについては実験動物中央研究所の野村所長の協力を得て種々の研究開発が進められているが，今後とも疾患モデ

ルに必要な特殊な動物の維持および開発を行うことが神経難病の解決に最も重要とされており、大学にもこのような設備がないために大至急この部の開設を望む声が多い。また、神経難病の患者から自分達の剖検の際に臓器を提供して今後の研究に役立ててほしいという声がありこれらの研究材料を維持していく大冷凍庫の設備が要望されている。正常および病的な材料を当センターで十分に保持することによって研究が極めて能率的に処理できると思われるのでこの2部門の増設は11部の新設が終った後すぐに増設を必要とする研究部門である。

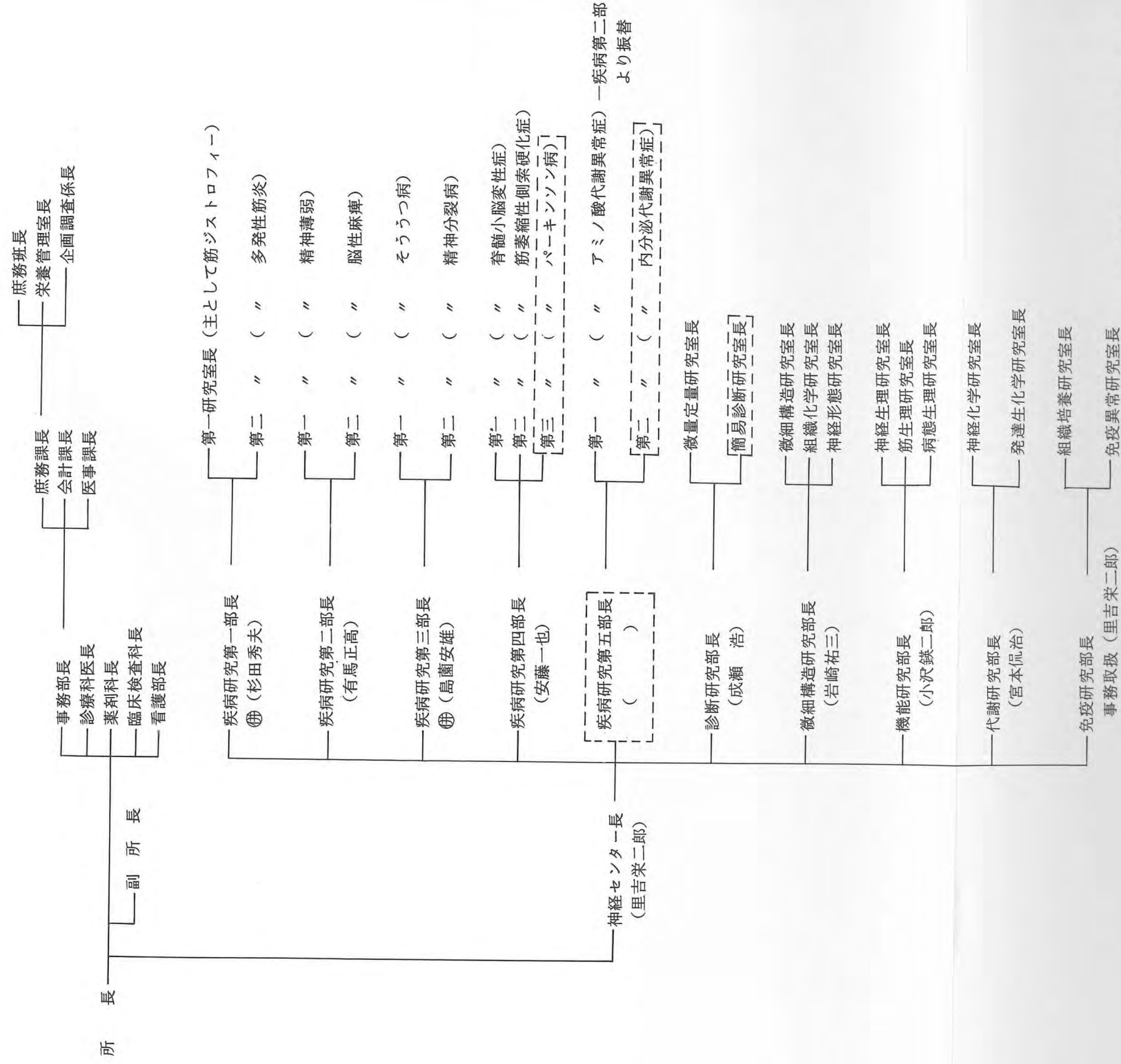
## 7. 今後の問題点

神経センターの昭和54年度の現状とその問題点、即ち研究所における研究活動と研究推進に関する諸問題や診療活動に関する問題点などをあげたが、現在最も問題とされるのは人的面の不足である。即ち本研究所における研究員の定員がわずかに2名にすぎないことで、今後とも十分な充足が要望される。また、本神経センターの研究活動に重要な関連診療各科の増設と意欲的な診療要員との連携活動が必要である。これらの新しい設備がない限り、今後とも国立神経センターとしての役割は果せるものとは考えられない。従って第二次計画遂行にあたっては研究所とともに診療面での充実が最も重要であり、早急な総合的な国立神経センターへの移行が最も急務と思われる。昭和56年は国際障害年であるとともに世界神経学会を日本で開催する極めて重要な年でもある。従って今後数年以内に国立神経センターに移行し、内容を充実していくことを切に希望するものである。

(センター長 里吉栄二郎)

(表1)

国立武蔵療養所神経センター組織



(注: [二] は55年度新設予定を示す)

| センター長 | 定 員   |     |       |     | 計 | 併任研究員 |     | 流 動<br>研究員 | 合 計 |
|-------|-------|-----|-------|-----|---|-------|-----|------------|-----|
|       | 研 究 職 |     | 行 (-) |     |   | 部 長   | 研究員 |            |     |
|       | 部 長   | 研究員 | 研究員   | 係 員 |   |       |     |            |     |
| 1     | 7     | 20  | 2     | -   | 1 | -     | 31  | 23         | 79  |
|       |       |     |       |     |   |       |     | 2          |     |

(54年度の計)

(表2)

神経センター組織

(昭和54年度)

(54年4月1日～55年3月31日)

| センター長 里吉 栄二郎    |  |              |                                       |  |   |              |   |
|-----------------|--|--------------|---------------------------------------|--|---|--------------|---|
| 部 名             | 部 長  | 室 長          | 研 究 員                                 | 併 任 研 究 員                                | 流 動 研 究 員   | 研 究 生        | 賃 金 職 員<br>○ = 研究員<br>* = 研究助手  |
| 疾病研究第一部         | 杉田秀夫 (併任)  | 高木昭夫<br>埜中征哉 |                                       | 林 恭三<br>遠藤 実<br>石原伝幸<br>山口 明 (55. 2/6 併) | 石浦章一<br>米本恭三<br>村上博彦 (54. 5/1 採)  | 春原経彦         | ○ 安部和子<br>○ 小川敬子<br>○ 岡本真美 (54. 4/2 採～<br>9/29 退)<br>○ 高瀬まさ美 (54.12/1 採)                  |
| 疾病研究第二部         | 有馬正高   | 田中晴美<br>桜川宣男 | 許斐博史 (55. 1/16 採)                     | 関口時彦                                     | 青木継稔 (55. 3/31 退)<br>渡辺和行<br>鈴木伸幸 (54. 5/16 採)  | 高田邦安<br>河野義恭 | ○ 許斐博史 (54. 4/1 採～<br>55. 1/15 退)<br>○ 牧野月子 (54. 4/9 採)<br>* 土橋久子 (55. 3/10 退)            |
| 疾病研究第三部         | 島蘭安雄 (併任)  | 融 道男<br>渡部修三 | 渋谷治男 (54. 7/16<br>配置換)                | 金野 滋 (54. 10/1 併)                        | 西川 徹 (54. 4/1 採)<br>仙波純一 (54. 4/1 採)  |              | ○ 俣賀 宣子<br>○ 高嶋瑞夫 (54. 4/2 採)   |
| 疾病研究第四部         | 安藤一也   | 向山昌邦<br>真野行生 | 吉田瑞子                                  | 間野忠明<br>飯田光男                             | 横山基子 (54. 4/30 退)<br>豊島英徳<br>寺本 純 (54. 10/1 採)<br>平井房子 (54. 5/1 採～<br>9/30 退)                   | 村本 治         | * 佐藤高志<br>○ 松井京子  |
| 微細構造研究部         | 岩崎祐三   | 加茂 功         | 多田愛子 (54. 4/1 採)<br>相川久志 (55. 1/16 採) | 林 皓三郎<br>佐々木公男<br>仁土賢一                   | 金子行子<br>相川久志 (55. 1/15 退)<br>渡辺 到 (54. 5/15 採,<br>55. 3/1 採)<br>S. U. Kim (54. 6/1 採～<br>9/7 退) |              | * 佐藤愛子<br>○ 安藤歌枝子 (54. 4/2 採<br>～55. 3/30 退)<br>○ 石井弘子 (54. 4/2 採)<br>* 神岡里子 (54. 7/23 採) |
| 機 能 研 究 部       | 小沢鍊二郎  | 木村一郎         | 萩原康子                                  | 小西史朗                                     | 三浦 力<br>伊井一夫 (55. 3/24 採)   |              | ○ 多田啓子  |
| 代 謝 研 究 部       | 宮本侃治   | 今沢正興         | 加藤進昌                                  | 上代淑人 (54. 5/1 併)<br>永山素男                 | 村上一行<br>四宮由美子   |              | ○ 中嶋サカエ   |
| 診 断 研 究 部       | 成瀬 浩 (54. 4/4 免疫部よ<br>り配置換)                                      |              | 石井澄和                                  | 栗田 広                                     | 等々力英美<br>鶴田恵美子  |              | ○ 百瀬 妙<br>* 佐山教子 (54. 10/2 採)   |
| 免 疫 研 究 部       | 里吉栄二郎 (54. 4/4 事務取扱)   |              |                                       |  | 古川昭栄 (55. 2/15 採)   |              |   |
| センター長室<br>事 務 室 | 企画係長：関 敏夫 (54. 8/1 配置換) 大関桂子<br>光村征子, * 鈴木美津子 (R I 室 55. 1/28 採) |              |                                       |  |   |              |   |

(表3) 昭和54年度 神経センター研究発表会

| 時間                  | 開 会           | 発表者    | 題目  | 発表者   |
|---------------------|---------------|--------|---|-------|
| 9:30                | 開 会           |        |   |       |
| 1) 9:40-10:25       | 微細構造研究部(岩崎部長) | 相川久志   | ・ピリチアミンによる中枢,末梢神経病変の電顕的観察<br>・培養細胞におけるヘルペスウイルス感染<br>一フリーズフラクチャーによる電顕的観察                       | 高木昭夫  |
|                     |               | 佐々木公男  | ・担瘤における免疫機能   | 梶中征哉  |
|                     |               | 加茂功    | ・細胞レベルにおけるロイペプチンの効果について   | 石浦章一  |
| 2) 10:25-11:10      | 代謝研究部(宮本部長)   | 村上一行他  | ・発達過程における脳蛋白合成—その1  | 村上博彦  |
|                     |               | 四宮由美子他 | ・ミエリン塩基性蛋白の酵素イムノアッセイ  |       |
|                     |               | 中嶋サカエ他 | ・MLD患者脳のスフィンゴ脂質について   |       |
|                     |               | 今沢正興他  | ・生体膜脂質研究へのGC/MSの応用  |       |
| 3) 11:10-11:55      | 機能研究部(小沢部長)   | 木村一郎   | ・筋成長因子 purification と characterization  |       |
|                     |               | 小沢鏡二郎  | ・in vitro 筋細胞の変性と治癒   |       |
|                     |               | 小沢鏡二郎  | ・E64の培養筋細胞への作用  |       |
| 11:55-1:00          | 昼 休 み         |        |   |       |
| 4) 1:00-1:45        | 診断研究部(成瀬部長)   | 成瀬浩他   | ・代謝異常及びクレチン症のマススクリーニングの研究   |       |
|                     |               | 石井澄和他  | ・全国的代謝異常マススクリーニングの精度管理  |       |
|                     |               | 等々力英美他 | ・レーザー高速液クロを用いた生体物質の超微量分析  |       |
|                     |               | 成瀬浩他   | ・酵素免疫法を用いたクレチン症スクリーニング法の開発  |       |
|                     |               | 鶴田恵美子他 | ・躁うつ病の血中アミノ酸ホルモンの分析   |       |
| 3月25日(火) 9:30-17:00 | 本館大会議室        |        |   |       |
| 5) 1:45-2:30        | 疾病研究第一部(杉田部長) |        | ・Duchenne型筋ジストロフィー症における未分化線維の意義<br>および最近の神経筋疾患での新所見   | 高木昭夫  |
|                     |               |        | ・Duchenne型筋ジストロフィー症でのopaque線維   | 梶中征哉  |
|                     |               |        | ・筋原線維の崩壊とCa依存性プロテアーゼ  | 石浦章一  |
|                     |               |        | ・ウズラにおける糖原病II型類似疾患<br>一組織学的,生化学的検討一   | 村上博彦  |
| 6) 2:30-3:15        | 疾病研究第二部(有馬部長) |        | ・結節性硬化症の成因についての検討   | 有馬正高  |
|                     |               |        | ・胎児性アルコール症候群—人間とラットの比較—   | 田中晴美  |
|                     |               |        | ・サイクロトロン医学的応用,家兔低血糖症における<br>$^{11}\text{CO}$ , $^{11}\text{C}$ -グルコース, $^{13}\text{NH}_3$ の動態 | 桜川宣男  |
| 3:15-3:30           | 休 憩           |        |   |       |
| 7) 3:30-4:15        | 疾病研究第三部(島菌部長) |        | ・ドーパミンアゴニストの反復投与後に生ずる逆耐性現象の発現<br>機序に関する研究   | 西川徹他  |
|                     |               |        | ・サーカディアンリズムの神経生化学的研究  | 仙波純一他 |
| 8) 4:15-5:00        | 疾病研究第四部(安藤部長) |        | ・薬剤による小脳障害モデル動物の病理  | 寺本純他  |
|                     |               |        | ・Rolling Mouse Nagoyaの脳内神経伝達物質  | 村本治他  |
|                     |               |        | ・運動スペクトロ分析による失調モデル動物に対するTRHとその<br>類似体の影響  | 豊島英徳他 |
|                     |               |        | ・脊髄小脳変性症の視運動刺激時の姿勢制御  | 真野行生  |

(表4)

## 昭和54年度 神経センターセミナー

| 月 日   | 演 者 名 (所 属)   | 演 題   | 担 当 部 |
|-------|---|---|-------|
| 4/23  | 野々村 禎 昭 (東大・医・薬理 助教授)   | 筋収縮機構のトピックス   | 機 能   |
| 5/1   | 渡 辺 到 (キャンサス大・医・病理 教授)<br>微細構造研究部流動研究員  | 実験的 Wernicke 脳症とゲンタマイシンミエロパチー                           | 微 細   |
| 5/21  | 遠 藤 実 (東北大・医・薬理 教授)<br>疾病研究第一部併任研究員   | 骨格筋細胞とカルシウムイオン  | 疾病第一部 |
| 6/18  | 田 中 晴 美 (疾病研究第二部)<br>桜 川 宣 男 ( " )<br>渡 辺 和 行 ( " )   | 胎児性アルコール症候群<br>実験的ニーマンピック病<br>AY 9944 によるスフィンゴミエリナーゼの動態 | 疾病第二部 |
| 7/16  | 島 菌 安 雄 ( 疾病研究第三部 )   | 精神生理学からみた眼球運動 疾病第三部                                     | 疾病第三部 |
| 8/13  | S. U. Kim (ペンシルバニア大・医・神経病理 教授)<br>微細構造研究部流動研究員  | 神経組織培養における最近の知見   | 微 細   |
| 9/17  | 間 野 忠 明 (浜松医大・生理 助教授)<br>疾病研究第四部併任研究員   | マイクロニューログラム (微小神経記録) について                               | 疾病第四部 |
| 10/3  | 江 尻 慎一郎 (岩手大・農芸化学 助教授)  | 真核細胞における蛋白合成  | 代 謝   |
| 10/11 | H. J. Oosterhuis (Associate Professor, Department of Neurology,<br>University Hospital of Groningen )   | Immunological aspects of myasthenia gravis              |       |
| 10/15 | 小 柳 新 策 (東京都精神医学総合研究所)  | 脳の老化: 変性構造の超微形態   | 微 細   |
| 10/22 | S. H. Appel (Professor and Chairman, Department of Neurology,<br>Baylor College of Medicine, Texas Medical Center)  | Biochemical aspects of muscle diseases.                 |       |
| 10/30 | E. H. Lambert (Professor, Department of Neurology and Physiology,<br>Mayo Clinic and Mayo Foundation)   | Myasthenic syndrome.                                    |       |
| 11/19 | 辻 章 夫 (昭和大薬学部 教授)   | 最近の生体成分の微量定量の発達   | 診 断   |
| 10/16 | J. A. Simpson (Professor and Chairman, Department of<br>Neurology, University of Glasgow, Institute of Neurological<br>Sciences, Southern General Hospital) | case Conference   | センター長 |
| 10/17 | A. G. Engel (Professor, Department of Neurology, Mayo Clinic<br>and Mayo Foundation)  | case Conference   | センター長 |

(表5)

## 昭和53～55年度 神経疾患研究委託費研究課題一覧表

| 研究課題名                           | 研究班長名<br>(契約の相手方) | 所属及び役職名              | 53年度         |         | 54年度         |         | 55年度         |                                     | 備考 |
|---------------------------------|-------------------|----------------------|--------------|---------|--------------|---------|--------------|-------------------------------------|----|
|                                 |                   |                      | 委託額          | 班員数     | 委託額          | 班員数     | 委託額          |                                     |    |
| 1 筋ジストロフィー症の基礎的研究               | 江橋節郎              | 東京大学医学部<br>薬理学教授     | 千円<br>50,000 | 名<br>31 | 千円<br>45,000 | 名<br>28 | 千円<br>45,000 |                                     |    |
| 2 筋ジストロフィー症の病因に関する臨床的研究         | 三好和夫              | 徳島大学医学部長<br>(内科学教授)  | 40,000       | 44      | 45,000       | 37      | 45,000       |                                     |    |
| 3 筋ジストロフィー症の臨床病態及び疫学的研究         | 祖父江逸郎             | 名古屋大学医学部長<br>(内科学教授) | 40,000       | 39      | 45,000       | 41      | 45,000       |                                     |    |
| 4 筋ジストロフィー症の療護に関する臨床社会学的研究      | 井上満               | 国立療養所<br>東埼玉病院長      | 20,000       | 29      | 38,000       | 28      | 40,000       | 昭和53, 54年度の班長<br>国立療養所松江病院長<br>中島敏夫 |    |
| 5 発生異常に基づく精神遅滞の本態に関する生化学的遺伝学的研究 | 福山幸夫              | 東京女子医科大学<br>小児科学教授   | 20,000       | 11      | 25,000       | 10      | 26,000       |                                     |    |
| 6 精神障害の生物学的研究                   | 島園安雄              | 東京医科歯科大学<br>神経精神学教授  | 20,000       | 10      | 37,000       | 18      | 28,000       |                                     |    |
| 7 本態不明の精神遅滞の成因に関する開発的研究         | 塚田裕三              | 慶応義塾大学医学部<br>生理学教授   |              |         | 15,000       | 11      | 16,000       |                                     |    |
| 8 低エネルギー低酸素症に基づく脳障害の形態学的生化学的研究  | 生田房弘              | 新潟大学脳研究所<br>神経病理学教授  |              |         | 15,000       | 9       | 16,000       |                                     |    |
| 9 老年期脳障害の臨床・発現機序・治療に関する研究       | 室伏君士              | 国立療養所<br>菊池病院長       |              |         | 10,000       | 11      | 11,000       |                                     |    |
| 10 筋ジストロフィー症動物の生産開発に関する研究       | 野村達次              | 実験動物中央研究所長           |              |         | 15,000       | 6       | 16,000       |                                     |    |
| 11 てんかんの成因と治療に関する研究             | 和田豊治              | 国立療養所<br>静岡東病院長      |              |         |              |         | 11,000       |                                     |    |
| 12 末梢神経の変性と再生過程に関する研究           | 中西孝雄              | 筑波大学医学部<br>神経内科教授    |              |         |              |         | 11,000       |                                     |    |
| 合計                              |                   |                      | 190,000      | 164     | 290,000      | 199     | 310,000      |                                     |    |

---

## II 研 究 概 要

---



## 1. センター長室

## A 論文

## a 原著

- 1) Satoyoshi, E.:  
Progressive muskelspasmen zentralen ursprungs.  
Fortschritte der myologie Band V. 4.  
Symposium des wissenschaftlichen Beirates im Juni 1978 in Würzburg, 1978, p.374
- 2) Satoyoshi, E.:  
Clinical Studies on Muscle Diseases.  
Japanese Journal of Medicine, 18: 126, 1979.
- 3) Satoyoshi, E. & Wakata, N.:  
Mechanism of neurotoxicity by antibiotics, particularly ethambutol and chloramphenicol.  
International Congress Series No. 450 – XXIII Concilium Ophthalmologicum, Kyoto,  
1978 – Excerpta Medica, 1979, p.185

## b 著書

- 1) 里吉宮二郎:  
ヤコブ・クロイツフェルド症候群. ミオクロノス. 小脳出血. 亜急性性脊髄小脳変性症. 坐骨神経痛. ミオパチー概説. Isaacs 症候群. Kearns – Sayre 症候群. 脂肪代謝異常によるミオパチー. 全身こむら返り病. DIC, 血管内血圧凝固症候群.  
里吉宮二郎, 佐久 昭:  
多発性硬化症.  
里吉宮二郎, 中里 厚:  
重症筋無力症. 筋無力症様症候群.  
神経病学 (祖父江逸郎, 椿 忠雄, 里吉宮二郎編), 金原出版, 東京, 1979, P. 63, 283, 337, 353, 631, 669, 689, 691, 708, 730, 787, 367, 657, 661
- 2) 里吉宮二郎:  
脳神経の疾患.  
分冊 内科学, 8. 神経疾患 (亀山正邦編), 南江堂, 東京, 1979, P. 161

## II 研究概要

3) 里吉宮二郎, 中里 厚:

重症筋無力症.

免疫治療学 (堀内淑彦, 松橋 直, 橋本嘉幸, 矢田純一編), 理工学社, 東京, 1980, P. 312

4) 里吉宮二郎:

呼吸筋麻痺.

救急プライマリケアハンドブック (本間日臣, 木村栄一, 西邑信男, 恩地 裕, 織畑秀夫編)  
克誠堂出版, 東京, 1980, P. 312

5) 里吉宮二郎:

めまい, ふらつき.

680 専門家による「私の治療」 (大淵重敬, 阿部恒男編), 日本医事新報, 1980, P. 592

6) 里吉宮二郎:

全身こむら返り病 (里吉病).

今日の治療指針 1980 (石山俊次, 日野原重明, 阿部正和編), 医学書院, 東京, 1980, P. 156

7) 里吉宮二郎, 埜中征哉:

脂質代謝異常によるミオパチー. その他の代謝性ミオパチー. ミトコンドリアの異常を伴うミオパチー.

新内科学大系56A, 筋・骨・関節疾患 I, 中山書店, 東京, 1980, P. 137, 144, 147

8) 里吉宮二郎:

甲状腺疾患に伴う筋疾患.

新内科学大系56A, 筋・骨・関節疾患 I, 中山書店, 東京, 1980, P. 317

9) 里吉宮二郎, 春原経彦:

Stiff-man 症候群, ニューロミオトニア. その他の内科疾患に伴うミオパチー.

新内科学大系56A, 筋・骨・関節疾患 I, 中山書店, 東京, 1980, P. 334, 339

### c 総 説

1) 里吉宮二郎, 祖父江逸郎:

神経・筋障害, 最近の進歩.

第20回日本医学会総会誌, 1979, P. 578

- 2) 里吉宮二郎, 村本 治 :  
痛みの治療特集・ニューロパチーの治療.  
臨床と研究, 56 : 1424 , 1979
- 3) 中里 厚, 里吉宮二郎 :  
特集神経疾患—最近の治療(4)・重症筋無力症, 筋無力症候群.  
神経内科, 11 : 320 , 1979
- 4) 里吉宮二郎 :  
血液化学検査・C P K, アルドラーゼ.  
medicina, 16 : 1902 , 1979
- 5) 里吉宮二郎, 春原経彦 :  
特集神経疾患—診療の現況・痙攣.  
診断と治療, 67 : 2231 , 1979
- 6) 里吉宮二郎 :  
筋力低下と筋萎縮.  
朝日新聞創刊100周年モダン・メディスン京都セミナー「神経疾患の臨床」記録, 1979 ,  
P. 83
- 7) 里吉宮二郎, 村本 治 :  
特集—神経精神疾患の生物学的基礎II・ミオクロームス.  
神経精神薬理, 1 : 291 , 1979
- 8) 向山昌邦, 里吉宮二郎 :  
特集—薬物治療の実際・パーキンソン病.  
診断と治療, 68 : 94 , 1980
- 9) 里吉宮二郎 :  
医学講座・重症筋無力症(1).  
東洋薬事報, 21(4) : 7 , 1980
- 10) 里吉宮二郎 :  
医学講座・重症筋無力症(2).  
東洋薬事報, 21(5) : 7 , 1980

## II 研究概要

### 11) 里吉宮二郎 :

特集・私の薬物治療一処方例とその解説・進行性筋萎縮.  
治療, 62 : 384 , 1980

d その他

### 1) 里吉宮二郎 :

症例検討.  
ドクターサロン, 23 : 526 , 1979

### 2) 里吉宮二郎 :

Scottsdale の3日間.  
PONS, 1 (3) : 8 , 1979

### 3) 里吉宮二郎 :

随想(ある視点)一試験地獄.  
新薬と治療, 29 (7) : 3 , 1979

### 4) 里吉宮二郎 :

こむらがえりはなぜ起こる.  
保健同人・暮しと健康, 34 (7) : 56 , 1979

### 5) 里吉栄二郎 :

特定疾患の現状とこれからの総合的対策.  
医事日報, 9649号, 1979

### 6) 里吉宮二郎, 広瀬和彦, 朝長正徳, 古和久幸 :

(座談会)末梢性ニューロパチーの診断とその限界.  
medicina, 17 : 226 , 1980

### 7) 里吉宮二郎 :

しびれ.  
診療手帖, 67 : 8 , 1980

B 学会発表

a 特別講演, シンポジウム

- 1) 里吉宮二郎, 祖父江逸郎:  
神経・筋障害, 最近の進歩.  
第20回日本医学会総会, 東京, 4. 7~9, 1979
  - 2) 里吉宮二郎:  
周期性四肢麻痺をめぐって.  
第3回三多摩神経疾患懇話会, 東京, 9. 1, 1979
  - 3) 里吉宮二郎:  
筋力低下と筋萎縮.  
朝日新聞創刊100周年モダン・メディスン京都セミナー 神経疾患の臨床, 京都, 11.  
17~18, 1979
  - 4) 里吉宮二郎:  
脳性痙性麻痺に対するバクロフェンの効果.  
痙性麻痺と薬物療法シンポジウム, 東京, 2. 9, 1980
- b 国際学会
- 1) Satoyoshi, E.:  
Present state of myasthenia gravis research in Japan.  
Symposium on Myasthenia Gravis "Pathogenesis and treatment", Tokyo, Oct. 18-20, 1979.
  - 2) Satoyoshi, E. & Hiroshi Nakazato:  
Radiation thymectomy on myasthenia gravis. Symposium on Myasthenia Gravis  
"Pathogenesis and treatment", Tokyo, Oct. 18-20, 1979.
- c 一般学会
- 1) 春原経彦, 杉田秀夫, 桢中征哉, 里吉宮二郎:  
ネマリンミオパチーの成因に関する一考察.  
第20回日本神経学会, 東京, 5. 9~11, 1979
  - 2) 村本 治, 桜川宣男, 桢中征哉, 有馬正高, 里吉宮二郎:

## II 研究概要

侏儒，精薄，特異な顔貌を主徴とする家系の1例に見られた進行性ミオパチー。

第20回日本神経学会，東京，5.9～11，1979

- 3) 春原経彦，高木昭夫，埜中征哉，向山昌邦，里吉宮二郎：

潜在性ミオパチーの2例—悪性高体温症との関連について—。

第70回日本神経学会関東地方会，東京，9.29，1979

- 4) 村本 治，真野行生，埜中征哉，安藤一也，里吉宮二郎：

1才未滿で発症し，思春期以後進行性経過をとる小脳失調症の2成人例。

第71回日本神経学会関東地方会，東京，12.1，1979

- 5) 春原経彦，向山昌邦，村本 治，里吉宮二郎：

脳血管障害後に見られた幻視の1例。

第72回日本神経学会関東地方会，東京，2.23，1980

## C 班 会 議

- 1) 里吉栄二郎，加茂 功，多田愛子，岩崎祐三：

酵素抗体法による抗アセチルコリンレセプター抗体測定を試み。

厚生省特定疾患・免疫性神経疾患調査研究班総会，東京，1.18～19，1980

- 2) 里吉栄二郎，金子行子，岩崎祐三：

不活化ウイルスによるウサギの実験的視神経炎。

文部省特定研究（難病）「脱髄性脳脊髄炎および神経炎の免疫学のおよびウイルス学的発生機構」班会議，東京，2.9，1980

- 3) 向山昌邦，里吉栄二郎：

2，3の内分泌疾患に伴う神経障害の病理学的研究。

文部省総合研究A「末梢神経障害の成因と病態に関する研究」班会議，東京，3.14，1980

- 4) 里吉栄二郎：

重症筋無力症のコバルト療法。

東京都委託研究報告会，東京，3.15，1980

D 研究会など

- 1) 里吉栄二郎：  
多発性硬化症について。  
第6回東京都難病講演会，東京，7.12，1979
- 2) 里吉宮二郎：  
全身こむらがえり病。  
第5回神経科学セミナー，東京，7.27，1979
- 3) 里吉宮二郎：  
筋疾患研究の進歩。  
第6回金沢医科大学神経科学セミナー，金沢，8.25，1979
- 4) 春原経彦，埜中征哉，向山昌邦，里吉宮二郎：  
Distal myopathy とされる一例。  
第3回三多摩神経疾患懇話会，東京，9.1，1979
- 5) 里吉宮二郎：  
重症筋無力症の病因と発症機構—最近の考え方。  
第2回東海神経疾患懇話会，名古屋，12.15，1979
- 6) 里吉宮二郎：  
重症筋無力症の治療をめぐる一胸腺照射。  
第2回東海神経疾患懇話会，名古屋，12.15，1979
- 7) 里吉宮二郎：  
難病とは何か。  
横浜市身障担当ケースワーカー研修会，横浜，3.13，1980
- 8) 里吉宮二郎：  
痙性麻痺の薬物療法—神経内科の立場から。  
バクロフェン発売記念講演会，札幌，3.22，1980
- 9) 里吉宮二郎，榎博太郎，豊倉康夫：  
臨床神経学の進歩。  
日本短波放送「日本医学の25年」，9.16，1979

## II 研究概要

10) 里吉宮二郎 :

パーキンソン病治療の現況と今後の展望.

日本短波放送「メディカル・ダイジェスト」, 11. 5, 1979

11) 里吉宮二郎 :

しびれ.

日本短波放送「診療手帖」, 11. 29, 1979

12) 祖父江逸郎, 里吉宮二郎, 小野村敏信 :

痙性麻痺診療の実際.

日本短波放送「チバガイギーメディカルファイル」, 12. 18~19, 1979



## 2. 疾病研究第1部

### 1. 研究部一年の歩み

疾病研究第1部の主たる研究目的は、筋疾患、特に筋ジストロフィー症の病因の究明にある。研究室は3室に分かれ、それぞれ生理学、病理学、生化学の研究に従事している。

生理学研究室では、高木昭夫（室長）の下、流動研究員の村上博彦（東京女子医大・助手）及び研究員の安部和子が常勤として病態生理学並びに先天性代謝異常症の実験モデルについての研究を行っている。室長の高木は又、併任研究員の遠藤実（東北大学教授）、流動研究員の米本恭三（慈恵医大助教授）、研究生の助川卓行、共同研究者の水沢英洋（東大病院・医員）と共に主としてスキンドファイバー法を適用して骨格筋でのCaの役割を中心とした研究を行うと共に、本年度村上らと共同で、ウズラにおける糖原病類似疾患を発見した。この他に高木はDuchenne型筋ジストロフィー症における未分化筋線維に注目しそれが疾患の特徴であることを証明した。

病理組織学研究室では桗中征哉（室長）の下、補助研究員の岡本真美（昭和54年8月退任）、高瀬まさ美（同9月就任）が常勤として、組織学的手法を用いて筋肉の発達分化に関する研究、並びに臨床系第7病棟の春原経彦（研究生）と共に生検筋による筋疾患の診断を行っている。研究室には併任研究員の石原伝幸（東埼玉病院医長）、山口明（国立東京病院）、並びに研究生の藤野修（日本医大小児科）の諸氏が週1～2回来室し、患者生検筋の組織化学的検索（石原、山口）、ビタミンE欠乏動物での筋の変化（藤野）などの研究を行っている。桗中は独自に、骨格筋線維内のCaの局在をX線分析電顕を使用して追跡すると共に、Duchenne型筋ジストロフィー症に見られる高Ca線維の意味から発症の原因を探っている。また来年度は、組織化学的検索よりヒト筋ジストロフィー症の実験モデルと言われている筋ジストロフィーチキンが必ずしもヒトと一致した筋病変を呈しているのではないことを指摘した。

生化学研究室では部長の杉田秀夫の下、流動研究員（昭和55年4月研究員就任）の石浦章一、研究員の小川敬子、土屋輝久江（昭和55年4月就任）が常勤として、筋肉生化学の研究に従事している。部長の杉田は石浦と共にCaで活性化される蛋白分解酵素による筋肉構造蛋白質の変性過程を追っており、また室長の高木、桗中と共にカルシウムの生体での役割と筋疾患におけるその動態について共同研究を行っている。石浦も両室長と共に、分化に応じた筋肉構造蛋白の変化を研究している。杉田はこの他に、先天性筋疾患（特にネマリンミオパチー）の研究を行っており、rodの構成成分の同定で新しい知見を得た。

疾病研究1部共通のテーマとしてはこの他に本年度より、微生物の二次代謝産物に由来する難病治療薬の開発にも力をそそいでおり、筋ジストロフィーチキンを指標として治療薬の効果を判定する基礎的実験を開始した。（部長 杉田秀夫）

## II 研究概要

### 2. 研究業績

#### A 論文

##### a 原著

- 1) Sugita, H., Ishiura, S., Suzuki, K. & Imahori, K.:  
Ca-activated neutral protease and its inhibitors. In vitro effect on intact myofibril.  
Muscle & Nerve, 1980 in press
- 2) Sugita, H., Ishiura, S., Suzuki, K. & Imahori, K.:  
Inhibition of epoxide derivatives on chicken calcium-activated neutral protease in vitro and in vivo.  
J. Biochem., 87: 339, 1980
- 3) 杉田秀夫:  
神経・筋障害, 最近の進歩.  
第20回日本医学会総会誌 1979. p. 578
- 4) Takagi, A. & Nonaka, I.:  
Duchenne dystrophy. Unusual activation of single skinned fibers in vitro.  
Muscle & Nerve, 1980 in press
- 5) 高木昭夫:  
クロールプロマジンによる筋小胞体よりのカルシウム遊離.  
医学のあゆみ, 110: 29, 1979
- 6) 埜中征哉, 春原経彦, 杉田秀夫, 石浦章一:  
筋ジストロフィー鶏骨格筋の組織学的, 組織化学的研究.  
神経内科, 11: 259, 1979
- 7) Ishiura, S., Sugita, H., Suzuki, K. & Imahori, K.:  
Studies of a calcium-activated neutral protease from chicken skeletal muscle. II Substrate specificity.  
J. Biochem., 86: 579, 1979
- 8) Suzuki, K., Ishiura, S., Tsuji, S., Katamoto, T., Sugita, H. & Imahori, K.:  
Calcium-activated neutral protease from human skeletal muscle.  
FEBS Lett. 104: 355, 1979

- 9) Ishiura, S., Sugita, H., Nonaka, I. & Imahori, K.:  
Calcium-activated neutral protease. Its localization in the myofibril, especially at the Z-band.  
J. Biochem., 87: 343, 1980.
- 10) 山下直秀, 福島泰男, 島田康夫, 藤浪謙至, 杉田秀夫, 豊倉康夫:  
Spinal seizure に関する症例. いわゆる Stiff-man 症候群の問題点について.  
最新医学, 35: 325, 1980
- 11) Muramoto, O., Sugishita, M., Sugita, H. & Toyokura, Y.:  
Effect of physostigmine on constructional and memory tasks in Alzheimer's disease.  
Arch. Neurol., 36: 501, 1979
- 12) 今堀和友, 石浦章一, 片本哲郎, 鈴木絃一, 辻 崇一, 杉田秀夫:  
カルシウム依存性プロテアーゼの比較生化学ならびに酵素学的研究.  
筋ジストロフィー症の基礎的研究. 厚生省江橋班 昭和53年度報告書, p. 177
- 13) 杉田秀夫, 石浦章一, 鈴木絃一, 今堀和友:  
カルシウム依存性プロテアーゼの阻害剤,  
同上, p. 177
- 14) 高木昭夫:  
筋ジストロフィー鶏の骨格筋スキンドファイバー.  
筋ジストロフィー症の病因に関する臨床的研究. 厚生省三好班 昭和53年度報告書, p. 30
- 15) 榎中征哉, 春原経彦, 石浦章一, 杉田秀夫, 高田邦安:  
筋ジストロフィーチキンに対する protease inhibitor (E-64) の効果. 形態学的側面. 及び  
筋ジストロフィーチキン骨格筋の組織化学的特徴.  
同上, p. 40
- 16) 杉田秀夫, 石浦章一:  
筋ジストロフィーチキンに対する protease inhibitor (E-64) の効果, 生化学的側面,  
同上, p. 45

## b 著 書

- 1) Ebashi, S. & Sugita, H.:

## II 研究概要

The role of calcium in physiological and pathological processes of skeletal muscle.

in Current topics in nerve and muscle research. ed. by Aguayo, A.J. & Karpati, G., Excerpta Medica, 1979, p.73

2) 高木昭夫, 杉田秀夫 :

進行性筋ジストロフィー .

新内科学大系, 56 A, 筋・骨・関節疾患 I, 中山書店, 東京, 1979, p. 70

3) Nonaka, I. & Chou, S.M. :

Congenital muscular dystrophy.

Handbook of clinical neurology. ed. by Vinken, P. J. & Bruyn, G. W. Vol. 41, part II,

North-Holland Pub. Co. Amsterdam, New York, Oxford, 1979, p.27

4) 里吉宮二郎, 埜中征哉 :

脂質代謝異常によるミオパチー, その他の代謝性ミオパチー, ミトコンドリアの異常を伴うミオパチー .

新内科学大系, 第56巻 A, 筋・骨・関節疾患 I, 中山書店, 東京, p.137, 144, 147

5) 杉田秀夫, 石浦章一 :

筋ジストロフィーチキン .

疾患モデル動物ハンドブック, 医歯薬出版, 東京, 1979, p. 414

6) 里吉宮二郎, 春原経彦 :

Stiffman 症候群, ニューロミオトニア .

新内科学会大系, 56巻 A, 筋・骨・関節疾患 I, 中山書店, 東京, 1980, p. 334

7) 里吉宮二郎, 春原経彦 :

その他の内科疾患に伴うミオパチー .

新内科学会大系 56巻 A, 筋・骨・関節疾患 I, 中山書店, 東京, 1980, p. 339

## c 総 説

1) 杉田秀夫, 埜中征哉, 石浦章一 :

筋ジストロフィーモデル (ニワトリ) .

神経進歩, 23 : 147, 1979

2) 杉田秀夫 :

血清CPKと筋肉疾患 —多発性筋炎を中心に—  
日本皮膚科学会誌, 89:947, 1979

3) 埜中征哉 :

先天性代謝異常症における末梢神経障害.  
脳と神経, 31:445, 1979

4) 石浦章一, 杉田秀夫 :

CPK.  
日本臨床, 37:500, 1979

5) 石浦章一, 杉田秀夫 :

CPKアイソザイム.  
medicina, 16:1904, 1979

6) 石浦章一, 埜中征哉 :

筋ジストロフィー症とジストロフィーチキン.  
遺伝, 33:30, 1979

7) 水沢英洋, 杉田秀夫 :

意識障害の鑑別診断に必要な臨床検査 —その選び方と読み方—  
臨床と研究, 15:13, 1979

8) 里吉宮二郎, 春原経彦 :

神経疾患 —診療の混乱, 痙攣,  
診断と治療, 67:11, 2331, 1979

9) 米本恭三, 鈴木清之, 白石伸明 :

脊髓空洞症の臨床.  
整形, 炎害外科 22:605, 1979

d 症例報告

1) 鎌倉恵子, 竹谷虎雄, 栗崎博司, 楠 進, 杉田秀夫, 豊倉康夫 :

低コレステロール血症, 低リポ蛋白血症を伴う変性神経疾患 —三例の症例報告—

## II 研究概要

神経内科, 10: 353, 1979

2) 宇根幸治, 桢中征哉, 中島敏夫:

Ullrich 病 (Kongenitale atonisch-sklerotische muskeldystrophie) の生検筋の組織学的, 組織化学的検討.

小児科診療, 42: 1415, 1979

3) 谷 吉彦, 米本恭三, 室田景久:

手の神経支配に破格を示した症例について.

## B 学会発表

### a 国際会議

Sugita, H.:

Biochemical and immunological studies of myoid cells in chicken thymus.  
International Congress of Myasthenia Gravis. Tokyo. 10. 18, 1979.

Yonemoto, K., Nukaga, K., et al.:

Clinical study on syringomyelia.  
6th Congress of Western Orthopadic Association. Taipei. 5. 1979.

Ohashi, M., Yonemoto, K., et al.:

Improved respiratory function by reciprocal vibratory facilitation of the respiratory muscles in quadriplegia.  
41st American Academy of Physical Medicine and Rehabilitation. Honolulu. 11. 1979.

### b 一般学会

1) 杉田秀夫, 清水輝夫, 豊倉康夫, 石浦章一, 片本哲郎, 鈴木紘一, 今堀和友:

筋ジストロフィー症とカルシウム依存性中性プロテアーゼ.

第76回 日本内科学会, 東京 4. 6, 1979 (日内会誌 68: 1035, 1979)

2) 杉田秀夫:

進行性筋ジストロフィー症 — C PKより protease まで.

第20回 日本医学会総会, 東京, 4. 6, 1979 (日本医学会総会会誌 20: 578, 1979)

3) 杉田秀夫 :

血清CPKと筋肉疾患.

第78回日本皮膚科学会学術大会, 東京, 4.13, 1979 (日本皮膚科学会雑誌 236, 1979)

4) 高木昭夫 :

クロールプロマジンによる骨格筋障害 — 細胞内カルシウム輸送に対する影響.

第20回日本神経学会, 東京, 5.9-11, 1979 (臨床神経 19: 923, 1979)

5) 埜中征哉, 杉田秀夫 :

進行性筋ジストロフィー症にみられる“opaque”線維について.

第20回 日本神経学会, 東京, 5.9-11, 1979 (臨床神経 19: 904, 1979)

6) 春原経彦, 杉田秀夫, 埜中征哉, 里吉宮二郎 :

ネマリンミオパチーの成因に関する一考察.

第20回 日本神経学会, 東京, 5.9-11, 1979 (臨床神経 19: 911, 1979)

7) 清水輝夫, 杉田秀夫, 豊倉康夫 :

神経切断による筋収縮蛋白の動向について (第3報).

第20回 日本神経学会, 東京, 5.9-11, 1979 (臨床神経 19: 922, 1979)

8) 埜中征哉, Chou, S. M. :

Werdnig-Hoffmann (W-H) 病の病因に関する実験的研究.

第21回日本小児神経学会, 東京, 7.8-9, 1979

9) 藤野 修, 橋本 清, 飛田正俊, 山下誠夫, 松岡和彦, 埜中征哉, Angelini, C. :

筋線維内ミトコンドリア異常, 脂質, グリコゲンの蓄積をみたミオパチーの1例.

第21回日本小児神経学会, 東京, 7.8-9, 1979

10) 春原経彦, 高木昭夫, 埜中征哉, 向山昌邦, 里吉宮二郎 :

潜在性ミオパチーの2例 — 悪性高体温症との関連について —.

第70回日本神経学会関東地方会, 東京, 9.29, 1979

11) 土屋陽子, 杉田秀夫 :

異常形態を示す赤血球の膜たんぱく質.

## II 研究概要

第52回日本生化学会，東京，10.6，1979

12) 石浦章一，杉田秀夫：

ニワトリ骨格筋のカルシウムプロテアーゼの局在，

第52回日本生化学会，東京，10.6，1979（生化学，51：807，1979）

13) 高木昭夫，埜中征哉，春原経彦，石浦章一，村上博彦，米本恭三，杉田秀夫：

ジストロフィー筋のカルシウムあるいはストロンチウムイオンによる活性化，

第34回国立病院療養所総合医学会，仙台，10.24：25，1979

14) 春原経彦，向山昌邦，村本 治，里吉菅二郎：

脳血管障害後に見られた幻視の1例，

第72回日本神経学会関東地方会，東京，2.23，1980

15) 米本恭三，高木昭夫，脊山洋右：

Cerebrotendinous xanthomatosis の1家系 — 血清 cholestanol 測定の意義 —

第28回東日本臨床整形外科学会，東京，9，1979

16) 高田邦安，東條 恵，埜中征哉，米本恭三：

3才頃に発症し，顔面肩甲上腕型の分布を示した神経原性筋萎縮症の1幼児例，

第70回日本神経学会関東地方会，東京，9.29，1979

### c 班会議

1) 杉田秀夫：

カルシウムプロテアーゼの骨格筋内局在とその生物学的作用，

筋ジストロフィー症の基礎的研究，厚生省 江橋班，12.6-7，1979

2) 杉田秀夫，石浦章一：

各種神経筋疾患罹患筋のCANP活性，

筋ジストロフィー症の病因に関する臨床的研究，厚生省 三好班，12.8-9，1979

3) 高木昭夫，村上博彦，石浦章一：

鶏ジストロフィー筋における糖および脂質代謝，

同上



- 4) 高木昭夫, 埜中征哉 :  
 Duchenne 型筋ジストロフィーにおける未分化筋線維の出現。  
 同上
- 5) 豊倉康夫, 杉田秀夫, 水沢英洋, 高木昭夫他 :  
 甲状腺機能低下症にみられる mounding 現象の問題点、  
 同上
- 6) 埜中征哉, 春原経彦, 石浦章一 :  
 ジストロフィーチキン骨格筋の組織学的, 組織化学的研究 — 筋線維の発達分化と筋病変の関  
 連について — ,  
 同上
- 7) 杉田秀夫 :  
 ネマリニンミオパチーの生化学的研究、  
 文部省難病班会議, 12. 1, 1979
- 8) 春原経彦, 埜中征哉, 高木昭夫 :  
 悪性高熱症候群および無症候性ミオパチーの筋組織所見、  
 文部省悪性高熱班会議, 12 1979
- 9) 杉田秀夫, 高木昭夫, 埜中征哉, 石浦章一, 村上博彦 :  
 E-64 の筋ジスチキンに対する効果 (臨床観察)、  
 厚生省微生物二次代謝産物に由来する難病治療薬 (E-64) 開発研究班(今堀班) 班会議,  
 3. 24, 1980
- 10) 高木昭夫, 埜中征哉, 石浦章一, 村上博彦, 杉田秀夫 :  
 ロイペプチンによる筋ジストロフィー鶏の試験的治療、  
 厚生省新薬開発 (梅沢班) 班会議, 3. 26, 1980
- 11) 埜中征哉, 高木昭夫, 石浦章一, 村上博彦, 杉田秀夫 :  
 ロイペプチンのジストロフィー鶏に対する作用、  
 同上
- d 研究会など

## II 研究概要

### 1) 高木昭夫, 春原経彦, 桒中征哉:

Skinned fiber 法による halothane 又は caffeine 感受性テスト.

第3回悪性高熱研究会シンポジウム「悪性高熱患者の診断法」11. 17, 1979

### 2) 杉田秀夫:

筋ジストロフィー症実験モデル — ニワトリ筋ジストロフィー症を中心に —.

難病シンポジウム, 2. 15-16, 1980

### 3) 春原経彦, 桒中征哉, 向山昌邦, 里吉宮二郎:

Distal myopathy とと思われる1例.

第3回三多摩神経疾患懇話会. 東京, 9. 1, 1979

### 4) 春原経彦:

神経内科領域における幻視について.

3. 11, 1980 武蔵療養所 医局セミナー

## 3. 主な研究報告

### Duchenne 型筋ジストロフィーにおける未分化筋線維の出現

高木昭夫

スキンドファイバー標本は、筋細胞の収縮糸や小胞体の機能の解析に適している。我々はDuchenne 型筋ジストロフィーを中心に各種の神経筋疾患の生検筋に本方法を応用し、以下の結果を得た。

(1) pSr 4.5 の溶液中 ( $pSr = -\log [Sr^{2+}]$ )での張力の発生の程度から正常筋は2群に分類される。すなわち full activation をうけて最大張力を発生するタイプ1 (赤筋) と殆んど張力の発生のないタイプ2 (白筋) である。Duchenne 型の筋線維はこの基準にしたがうと、3群に分類された。すなわち通常のタイプ1とタイプ2の他に、約50%程度活性化される中間型の線維である (図1)。この中間型の筋線維をタイプXと仮称した。

(2) タイプX筋線維のCaイオンによる活性化の程度は、タイプ1やタイプ2と大差はない。しかし各濃度のSrイオンによる活性化は丁度タイプ1とタイプ2の間であった (図2)。

(3) タイプX筋線維の出現頻度は、Duchenne 型で、4.1%と最高であった。小児期の他の神経筋疾患ではタイプXは観察されなかった。成人の疾患では、ALSやK. W. 病で少数のタイプXが出現した。その疾患別の出現頻度は約10%であった。

(4) タイプX筋線維の平均直径は $37\ \mu\text{m}$ と他のタイプより細い傾向であった。しかし例外も存在した。単一筋線維の発生する張力は、タイプXで $0.5\ \text{kg}/\text{cm}^2$ と他のタイプより低値であった。筋小胞体のカルシウム摂取容量には差はみとめなかった。

考案 Duchenne 型筋ジストロフィーにおいてのみ、多数の中間型の反応を呈する筋線維（タイプX）が出現した。この種の筋線維は未分化型のものであろうと考えている。その理由は、Srイオンに対する類似する反応が、出生直後のラットの骨格筋で観察されるからである。この点を明確にするには、今後、この筋線維の蛋白組成の分析などが必要であろう。何故 Duchenne 型筋ジストロフィーでタイプX線維が多数存在するのか？ i) 本症では筋線維の壊死再生が旺盛であり、再生途上のものをつかまえている。ii) 本症では筋線維の分化が遅延ないし停止している。iii) 本症では筋線維の分化や成熟が異常であり、正常には存在しない異常細胞が出現してくる。などの可能性が考慮される。今後上記の仮説を検討する必要がある。このようなタイプXは収縮による機械的刺激に対しても傷害をうけやすいかもしれない。それ故、細胞壊死・再生の悪循環を一層増長させるものと推定される。

図1 Duchenne 型ジストロフィーのタイプ1, タイプ2, タイプX筋線維のSrあるいはCaイオンによる活性化とカフェイン拘縮の実例を示した。タイプ1では $p\text{Sr}\ 4.5$

(Ca)と同程度の張力を発生した。タイプ2は $p\text{Sr}\ 4.5$ で殆んど張力を発生しない。タイプXは $p\text{Sr}\ 4.5$ で $p\text{Ca}\ 4.5$ の約58%の張力を呈した。カフェイン拘縮はCaを負荷したスキンドファイバーに $40\ \text{mM}$ カフェイン(Caf)を $0.1\ \text{mM}$ EGTAの中で投与して発生させた。カフェイン拘縮のpeak tensionと $P_0$ の比を小胞体のCa摂取指数とした。Calibrationは横棒20秒縦棒は $18\ \text{mg}$ (上, 下)と $36\ \text{mg}$ (中)である。

図2 各濃度のSrイオン( $p\text{Sr}$ )と相対張力( $P/P_0$ )の関係を筋ファイバータイプで比較した。 $P_0$ は $p\text{Ca}\ 4.5$ の溶液中で測定した。

タイプX(細線X)はタイプ1(黒丸破線)とタイプ2(白丸実線)の中間に存在した。

図 1

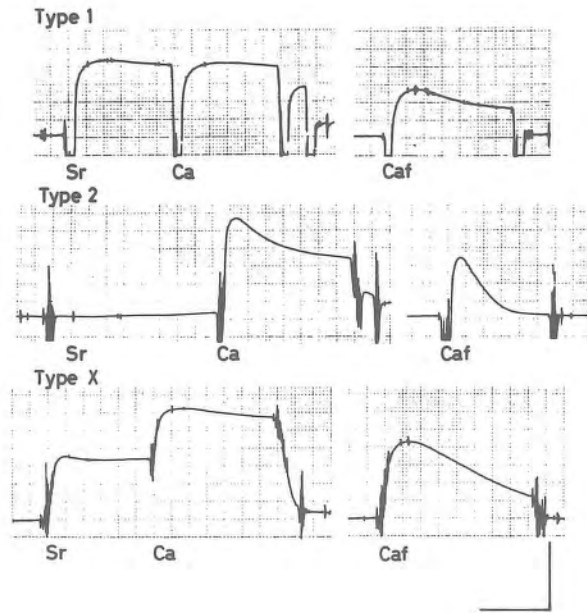
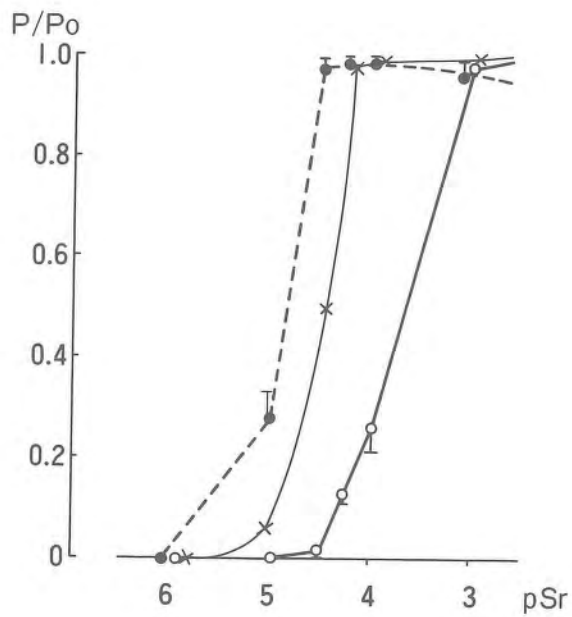


図 2



## ヒトおよび鶏筋ジストロフィーの組織学的，組織化学的研究

埜中征哉，高瀬まさ美

進行性筋ジストロフィーにおける筋変性がどのようにして生じ，また変性に陥った筋が如何にして再生をとげるのかを調べるため，ヒトDuchenne型筋ジストロフィーの生検に組織学的，組織化学的検索を行った。さらにヒトに近似した病理像を示すニューハンプシャー系筋ジストロフィー鶏についても検索しヒトとの対比研究も行った。

## 対象・方法

対象としたのはDuchenne型筋ジストロフィー症の10才以下若年例10例，筋ジストロフィー鶏(dy-チキン)(line 413)とその対照である正常鶏(line 412)のふ化直後の雛より成鶏にいたるものまでである。採取した筋は直に液体窒素で冷却したイソペンタン内にて凍結固定し，切片にはHE, modified Gomori trichrome, HADH-TR, MAG, PAS, oil red O, ATPase, acid phosphatase, GBHA, alkaline phosphatase, nonspecific esterase, acetylcholinesterase, phosphorylase 染色を施した。

## 結 果

## 1. ヒト(Duchenne型)筋ジストロフィー

全例に筋線維の大小不同などの筋原性変化と散在性の壊死線維を認めた。これらの壊死線維は酸フォスファターゼ染色で陽性の貧食細胞を多数入れていた。特異なのは散在性に存在する“opaque”線維と呼ばれるもので，この線維はHE, trichrome, PAS, NADH-TR, MAGにも濃染した。連続切片でみるとこのopaque線維は正常染色部位，壊死部位へと連結していた。Ca染色でみると，これらopaque線維は多くが陽性で，Caイオンが何らかの役割を果していることが推定できた。

壊死線維とともに多数の再生線維がみられた。この再生線維はやゝ塩基性の胞体をもち，明瞭な核小体をもつことを特徴とし，AchE, nonspecific esterase が胞体内でも活性を有し，アルカリフォスファターゼ染色でも活性を示した。この再生線維はATPase染色ではタイプ2C反応を示した。Duchenne型筋ジストロフィー症にはその筋線維の30%内外がタイプ2C線維であり，活発な再生が示唆された。

## 2. 筋ジストロフィー鶏(dy-チキン)

dy-チキンでは白筋が選択的に侵されており，赤筋は成鶏でもよく保たれていた。筋線維の大小不同，壊死線維の存在などはDuchenne型に似るが，壊死線維への貧食反応はdy-チキンの方に強かった。また胞体内に空胞が存在すること，Ca陽性線維の欠如，opaque線維がほとんどみられな

## II 研究概要

いこと、肥大線維の多いことは特記すべき所見であった。再生線維は多く認められ、これはAchE, nonspecific esterase に活性があった。またdy-チキンでは $\alpha R$ 線維から $\alpha W$ 線維への変換の遅れがみられた。

### 考 察

ヒト筋ジストロフィーでは膜の何らかの欠損により細胞外より大量のCaイオンが細胞内に流入し、筋線維は過収縮しopaque線維となり、カルシウム依存性中性プロテアーゼが活性化され、筋は崩壊壊死に陥入ると思われた。変性した筋は再生し、また再び壊死に陥入るという過程をくり返し、特異な所見をみるようになると思われた。

dy-チキンではCa陽性線維が存在しない。このことはdy-チキンではヒト筋ジストロフィーと異なる変性過程が存在する可能性が残された。dy-チキンで肥大線維の多いことはヒトとは異なる再生現象が活発である可能性も示唆される。さらにdy-チキンでは $\alpha R$ 線維からの $\alpha W$ 線維への変換の遅れがみられるように筋線維の分化にも問題が残された。

dy-チキンは現在ヒト筋ジストロフィーに近似のものといっても、形態学的にみて両者を等価のものとなすにはまだ問題があることを指摘した。

## 骨格筋の崩壊における蛋白分解酵素の役割

石浦章一, 小川敬子, 土屋輝久江, 杉田秀夫

通常タンパク質の分解はライソゾーム内で行われ、ライソゾーム内プロテアーゼであるカテプシンの作用が異化の速度を左右する。しかし、骨格筋の大部分を占める筋肉構造タンパク質は高度に組織化されたものであるにもかかわらず、その断片たりともライソゾーム内に見出されないことから、構造タンパク質の分解またはその脱重合にはカテプシン以外のプロテアーゼの関与が示唆された。著者らは1978年、ニワトリ骨格筋より、中性に至適pHを持ち、骨格筋内可溶性分画に存在する新しいプロテアーゼを精製した。同酵素はカルシウムによって活性化され、筋肉構造タンパク質のみを特異的に消化する奇妙な酵素であった。その中でも特にZ線を短時間で消失させる事実は、構造タンパク質の代謝の初期段階として構造にひずみが生ずることが必要であることを示しており興味深い。なぜZ線のみを特異的に消化するのかは明らかではなかった。本研究では、抗プロテアーゼ抗体を使用して、同酵素が骨格筋のZ帯に結合していることを証明し、その生理的役割を明らかにしたものである。<sup>1)</sup>

## 実験及び結論

ニワトリ骨格筋より精製した酵素（Ca依存性プロテアーゼ：Calcium-Activated Neutral Protease）の SDS 電気泳動図が図 1 である。本酵素をウサギに免疫し、抗プロテアーゼ抗体を得た。他方、ニワトリグリセリン筋を調整し、筋原線維に蛍光ラベルした抗体を加えて保温後、顕微鏡下で観察したのが図 2 である。この図より、蛍光は Z 線に局在し、酵素が筋原線維上の Z 帯に結合することが判明した。

次に、その筋結合型プロテアーゼの精製を試みた。調製法は、Z線局在タンパク質である $\alpha$ -アクチニン抽出法に準じた。ニワトリ骨格筋 1 kg を十分に洗浄し、その後ミオシンを抽出した残渣を出発物資とした。よく洗浄したアクチン主体の筋肉を低イオン強度（1 mM トリス，pH 7.5）で 24 時間抽出し、可溶化されたタンパク質を硫酸沈澱（45-65%）及び DEAE-セルロースクロマトグラ

図 1

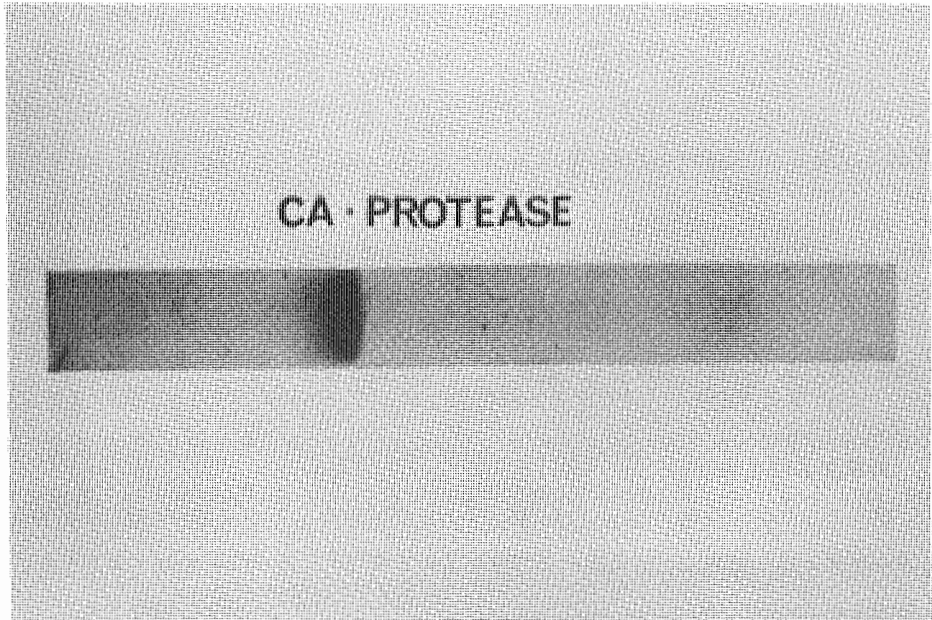
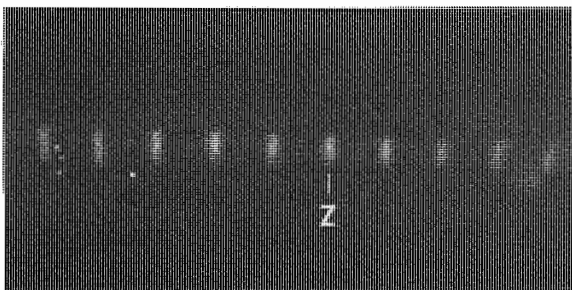


図 2



## II 研究概要

フィーで分離し、筋結合型プロテアーゼを精製した。筋結合型Ca依存性プロテアーゼは可溶型プロテアーゼの約24分の1存在し、1 kgの骨格筋中に約0.3 mg存在した。

筋結合型プロテアーゼは、そのCa依存性が可溶型とは違い、低濃度のCaでも活性化されることがわかりその生理的意義の重要性がうかがえる。

## 文 献

Ishiura, S., Sugita, H., Nonaka, I. & Imahori, K.: Calcium-activated neutral protease. Its localization in the myofibril, especially at the Z-band; J. Biochem. 87: 343, 1980.

## 筋ジストロフィー鶏における糖および脂質代謝

村上 博彦, 高木 昭夫

筋ジストロフィー症のモデルとして、筋ジストロフィー鶏を用いた検討が種々なされている。今回は、筋ジストロフィー鶏の筋病理組織所見上、PAS染色で濃染する筋線維が多数、存在する点に注目し、筋ジストロフィー鶏における糖代謝の検討を行なった。又、従来より問題にされている脂質異常に関し、鶏胚期の変化を観察し、この問題を追求した。

### 対象および方法

筋ジストロフィー鶏 (line 413, 筋ジス) 及び対照鶏 (line 412, 対照) の浅胸筋を用いた。グリコーゲンは、酵素法と抽出法の2方法により定量した。嫌気性解糖能をみるため、Schmid & Mahlerの方法に従い、*in vitro*で嫌気性の乳酸生成を行なわせた。脂質の分析は、Folchの方法により、脂質を抽出し、総脂質、リン脂質、コレステロールを定量した。リン脂質の垂分画は、薄層クロマトグラフで分析した。

### 結果及び考察

#### 1. 筋グリコーゲン含量 (表1)

Table 1. Glycogen content

|    | Control   | Dystrophy |
|----|-----------|-----------|
| A. | 7.64 mg/g | 6.18 mg/g |
| B. | 6.55      | 5.40      |



湿重量当りのグリコーゲン含量は、正常鶏 7.6 mg/g に対し、筋ジス鶏 6.2 mg/g と、筋ジス鶏で低下していた。筋蛋白当りに換算すると正常鶏 39 mg/g NCP, 筋ジス鶏 52 mg/g NCP と、逆に筋ジス鶏で高値を示した。グリコーゲンを抽出し測定した値も同様の傾向を示した (表 1-B)。

## 2. 嫌気性解糖 (表 2)

Table 2. Anaerobic glycolysis in vitro  
( $\mu$  mole lactate/g/30 min.)

|               | Control | Dystrophy |
|---------------|---------|-----------|
| no addition   | 18.15   | 8.64      |
| with glycogen | 52.26   | 18.38     |

次に、グリコーゲン利用を見る為に、嫌気性解糖能を検討した。湿重量当りの乳酸生成は、正常鶏 18.2  $\mu$  mol/g に対し、筋ジス鶏 8.6  $\mu$  mol/g と、筋ジス鶏で低下を示した。又、基質であるグリコーゲンを反応系に加えても、正常鶏 52  $\mu$  mol/g, 筋ジス鶏 18  $\mu$  mol/g と筋ジス鶏で低下していた。単位蛋白当りでも、 $\frac{1}{2}$ ~ $\frac{1}{3}$ に低下していた。

以上、筋ジス鶏では、グリコーゲン含量の軽度の低下が認められる。又、グリコーゲンを充分量添加しても、乳酸生成が正常の $\frac{1}{2}$ ~ $\frac{1}{3}$ にとどまる事実は、解糖系酵素の減少に対応する予備力の低下によるものと考えられる。文献的にも、筋ジス鶏で Aldolase 活性が40~50%に低下しているとの報告もあり、症状の進行に伴い phospholylase 活性の低下を報告したものもみられる。

## 3. 脂質分析 (表 3, 表 4, 表 5,)

総脂質, リン脂質, コレステロール, すべて筋ジス鶏で増加を示した (表 3)。

Table 3. Muscle lipid content

|              | Control (9)         | Dystrophy (5)        | 20 days embryo |
|--------------|---------------------|----------------------|----------------|
| Total lipid  | 11.2 $\pm$ 5.4 mg/g | 24.5 $\pm$ 11.7 mg/g | 20.0 mg/g      |
| Phospholipid | 4.1 $\pm$ 0.5       | 6.2 $\pm$ 1.3        | 7.8            |
| Cholesterol  | 1.35 $\pm$ 0.41     | 3.36 $\pm$ 0.74      | 4.45           |

(Mean  $\pm$  SD)

リン脂質亜分画に関しては、筋ジス鶏において、スフィンゴミエリンが増加、レシチン、フォスファチジルエタノールアミンが低下していた。また、二次元展開を行っても、同様の傾向を認めた。

## II 研究概要

これらは、Duchenne型ジストロフィーにおける変動と同一傾向の変化である(表4)。

Table 4. Phospholipid fraction

|     | Control (4) | Dystrophy (3) |
|-----|-------------|---------------|
| LPC | 5.6%        | 8.4%          |
| Sph | 9.3         | 17.3          |
| PC  | 69.9        | 66.4          |
| PE  | 14.1        | 7.3           |
| DPG | 1.1         | 0.6           |

20日目の鶏胚では、筋ジス胚で軽度のリン脂質の増加を認める以外、両者に著明な差は見られなかった。これを成鶏と比較すると、正常成鶏に比して、正常鶏胚では、総脂質、リン脂質、コレステロールとも、すべて高値を示した。又、筋ジス鶏は正常鶏胚と非常に類似しており、より鶏胚に近いと考えられる。鶏胚のリン脂質亜分画では、正常、筋ジス両者に差は認められなかった(表5)。

Table 5. Phospholipid fraction  
(20 days embryo)

|     | Control | Dystrophy |
|-----|---------|-----------|
| LPC | trace   | trace     |
| Sph | 11.0%   | 12.2%     |
| PC  | 63.6    | 61.5      |
| PE  | 24.4    | 23.4      |
| DPG | 1.0     | 1.0       |

### まとめ

筋ジス鶏では、グリコーゲン含量の軽度の低下と嫌気性解糖能の予備力の低下がある。筋ジス鶏の総脂質、リン脂質、コレステロールの増加、リン脂質亜分画の変動は、Duchenne型PMDのそれと類似している。20日目の鶏胚では、対照と筋ジスの間で有意の差はなかった。筋ジス成鶏の脂質組成は正常鶏胚筋にかなり類似している。この様な事実から、ジストロフィー筋の脂質組成の変化は、一部は筋細胞の成育遅延に由来する二次的現象である可能性が考えられる。

## タイプII筋線維欠損を伴ったNemaline Myopathyの1例

—特異なミオシンL鎖パターンを中心に—

春原 経彦, 杉田 秀夫

### 症例

28才の女性（長女）で下肢筋力低下及び筋萎縮を主訴として来院した。既往歴に特記すべきことはないが、家族歴では両親はいとこ結婚で、患者の妹（25才）にも同様の歩行障害がある。

現病歴では、満期安産、生下時体重2600gで顎定、処女歩行など軽度遅延を示し、幼少児期より上下肢の筋力低下の為に重い物を持つことができず、走ることもできなかった。18才頃には歩行時に左足先が、20才時には右足先も下垂するようになり、徐々に階段の昇降も困難となった。同時に下腿の筋萎縮も出現するようになり、25才頃には支持なしで立ちあがれなくなった。特徴的な症状として、持続的な運動は長時間可能であるのに、瞬発的な動きが非常に困難であった。

### 材料及び方法

筋病理学的検索：材料として患者の左上腕二頭筋の生検筋を用いた。10 $\mu$ の凍結連続切片を用い光顕的検索および電子顕微鏡的検索を行った。

免疫学的検査：材料として正常人上腕二頭筋、患者上腕二頭筋、モルモットヒラメ筋、モルモット長指伸筋の凍結切片で、ニワトリ抗myosin light chain 3 (L3)抗体を用い間接蛍光抗体法を施行した。

### 結果

I) 筋病理学的結果：筋構築自体には異常はなく、筋線維の軽度の大小不同は認められたが（図1A）、ヒストグラムは直径55-60 $\mu$ を中心とした20-80 $\mu$ 巾の正規分布を示した。Gomori染色では100本の筋線維の内1個の比率で、集積した小点状赤紫色のネマリン小体が認められた。エボン包埋切片のtoluidine blue染色では筋線維の長軸方向に沿って筋膜直下に集積する様に杆状の小体を認めた（図1B）。myosin ATPase染色では患者被験筋10693本の筋線維すべてがタイプIを示した（図1C, E, F, G）。しかしNADH, phosphorylase, MAG, PAS, 染色では、NADHで高活性、他の染色法では低活性を示す。Dahlら<sup>4)</sup>の言うタイプIA筋線維と、すべての染色に中等度の活性を示すタイプIB筋線維の二種類に分別された（図1D, H, I, J）。またnonspecific esteraseに濃染するangular fiberもごく少数だが認められた。

電子顕微鏡的には、ネマリン小体は従来報告されているのと等しく、Z帯と同じ電子密度をもつ桿状物質であることが確認された。

## II 研究概要

II] 筋生化学的検索：患者生検筋のLDHアイソザイムはウサギ赤筋であるヒラメ筋と同様のパターンを示した(図2) myosin light chain(L)分析では、SDS-discゲル電気泳動法で患者生検筋は人の白筋優位な大腿直筋と同様にL1, L2, L3, の3本のバンドが認められた(図3)。SDS-slabゲル電気泳動法では正常人ヒラメ筋(赤筋優位型)はL1と、移動度の異なる2本のバンドが濃い。)及びL3の4本のバンドを認め、大腿直筋(白筋優位型)はヒラメ筋と同様の移動度を示すL1と2本のL2(移動度の大きい白筋型L2のバンドが濃い。)及びヒラメ筋より高い濃度を示すL3は4本のバンドを認めた。患者生検筋では正常人白筋及び赤筋と同じ移動度を示すL1, 赤筋型L2, L3の3本のバンドを認めた(図4)。

Ureaゲル電気泳動法(SDSゲル電気泳動法は分子量により泳動度が決定されるが、Ureaゲル電気泳動法は分子量及び電荷の両者の因子が泳動度に関係する。)ではL1は人赤筋優位なヒラメ筋と人白筋優位な大腿直筋では異った移動度を示し、人白筋型L1の方が移動度は小であった。患者生検筋のL1は人赤筋型L1と同様の移動度を示した(図5)。

III] 筋免疫学的結果：正常人上腕二頭筋はタイプI筋線維に一致して蛍光陽性を示し、全体としてモザイク様概観を呈した。ウサギヒラメ筋は全体に蛍光陰性で、ウサギ長趾伸筋ではびまん性の蛍光陽性所見を示したが、所々タイプII筋線維に一致して陰性部分があった。患者生検筋では軽度の濃淡はあるが筋全体にびまん性の蛍光陽性所見を認めた。

## 考 察

本症例筋の特異な筋病理像及びmyosin light chainのパターンは胎生筋が神経支配を受ける過程で、即ちタイプ分化自体に何らかの異常が生じ、結果としてタイプII筋線維の欠損や特異なmyosin light chainパターンを示したと考えた方が妥当と思われる。脊髄の前角細胞の異常が指摘されているように、このような筋のタイプ分化の異常は筋線維の支配神経の異常が根源をなしていると思われ、例えば、タイプII筋線維支配神経が先天的に欠損しているとか、正常とは全く異った支配神経があるなどのような機構が考えられる。また臨床的な筋萎縮や筋力低下と筋分化の異常とはどのような関連があるのか、などの問題点が残されており、今後の検索が必要と思われる。

### <図・表の説明>

図1. 生検筋組織像、HE染色(A)では軽度の大小不同が、エポソ包埋切片のtoluidine blue染色(B)ではネマリン小体が認められる。ATPase染色(C, E~G)では筋線維すべてがタイプIを示したが、NADH(D)で高活性、MAG(H), PAS(I), phosphorylase染色(J)で低活性を示すタイプI A(a)と、これらの染色法すべてに中等度の活性を示すタイプI B(b)の二種類の筋線維が認められる。A: HE, X50, B: toluidine blue, X800, C: ATPase (pH 9.4), X80, D: NADH-TR, E: ATPase (pH9.4), F: ATPase (pH4.6),

G: ATPase (pH4.3), H: MAG, I: PAS, J: phosphorylase, E-J: X 200。

- 図2. LDHアイソザイムパターン。上段よりほとんど全て白筋のみよりなる脊髄性進行性筋萎縮症, 患者, ウサギ長趾伸筋(白筋), ウサギヒラメ筋(赤筋)の順である。患者生検筋は赤筋であるウサギヒラメ筋のLDHアイソザイムパターン類似している。
- 図3. SDS-disc ゲル電気泳動法による myosin light chain の泳動パターン。上段より正常人外側広筋(白筋優位型), 患者上腕二頭筋, 正常人ヒラメ筋(赤筋優位型)。患者生検筋はL1, L2, L3の3本のlight chainを示している。
- 図4. A: SDS-slabゲル電気泳動法による myosin light chain の泳動パターン。図左より人大腿直筋(白筋優位型), 患者生検筋, 人ヒラメ筋(赤筋優位型), 患者生検筋, 脊髄性進行性筋萎縮症患者の生検筋(白筋優位型), ウサギ長趾伸筋(白筋型), であり, Bにその模式図を示したが, 右端には他の泳動で認められたウサギヒラメ筋(赤筋型)の模式図を加えてある。患者生検筋はL1, 赤筋型L2, L3の3本のバンドしか認めず, 人の筋あるいはウサギの筋とも異った泳動パターンを示している。
- 図5. ureaゲル電動泳動法による myosin light chain の泳動パターン。図左より人大腿直筋, 人ヒラメ筋, 患者生検筋の順で, Bにはその模式図を示した。患者生検筋のL3は人筋のL3と同様の移動度を示している。L1は人大腿直筋と人ヒラメ筋では異なり, 患者生検筋のL1は赤筋型である人ヒラメ筋のL1と同様の移動度を示している。

图 I

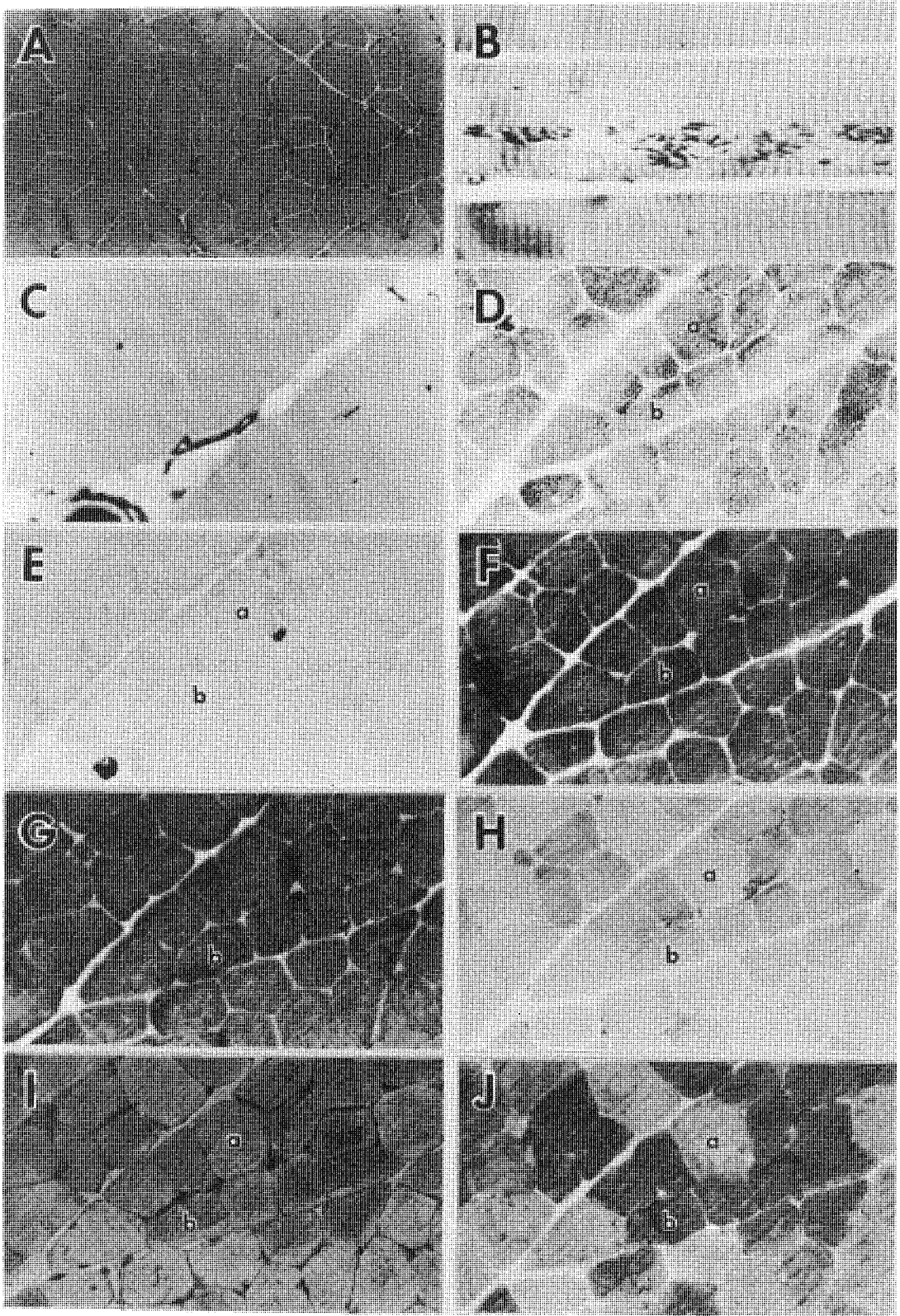


图 2

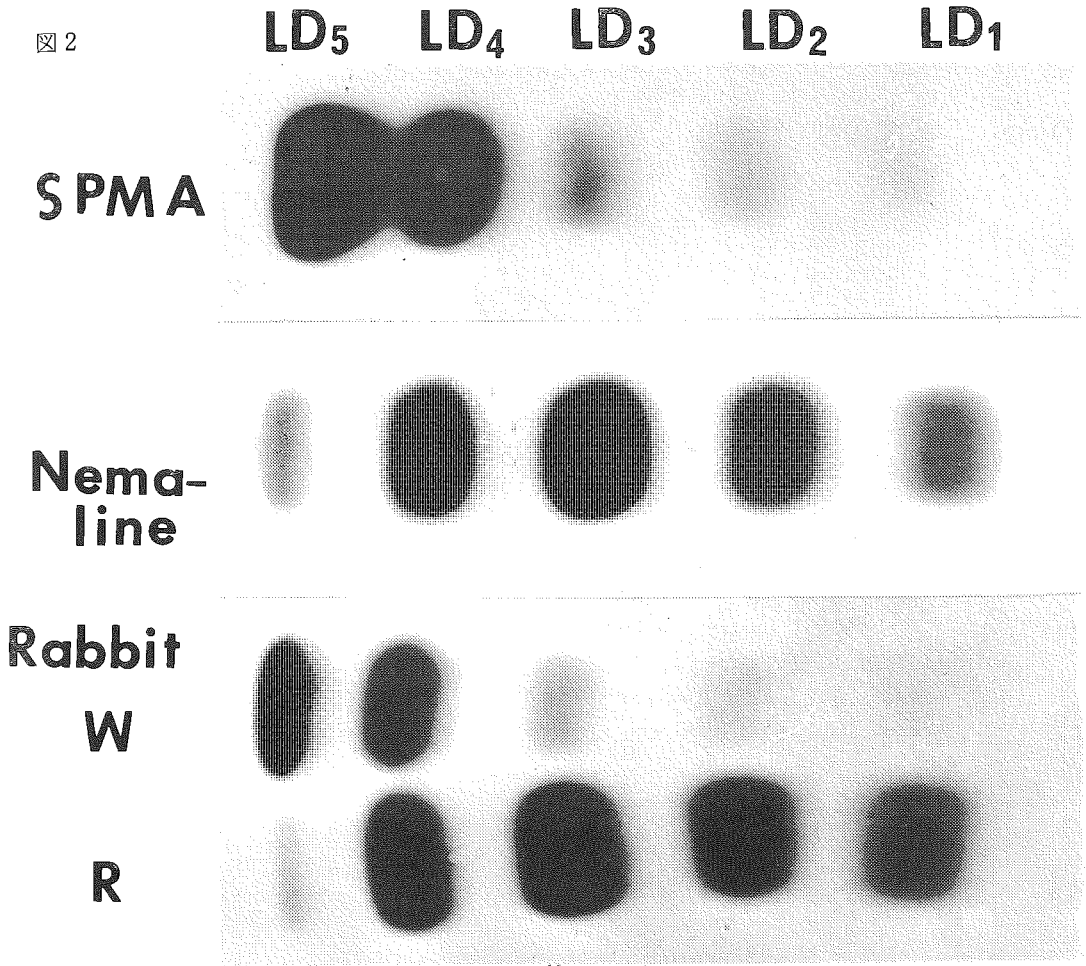
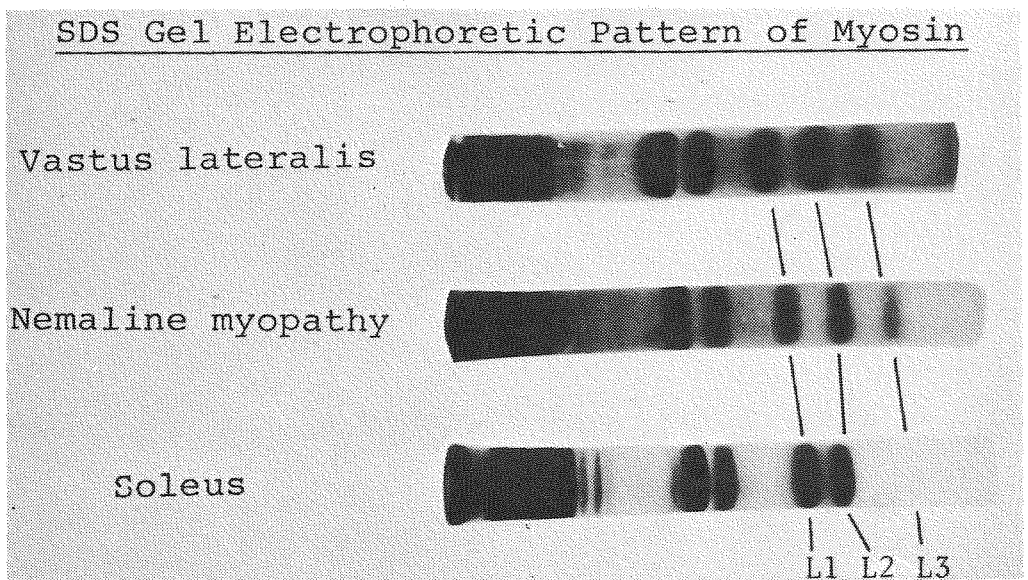
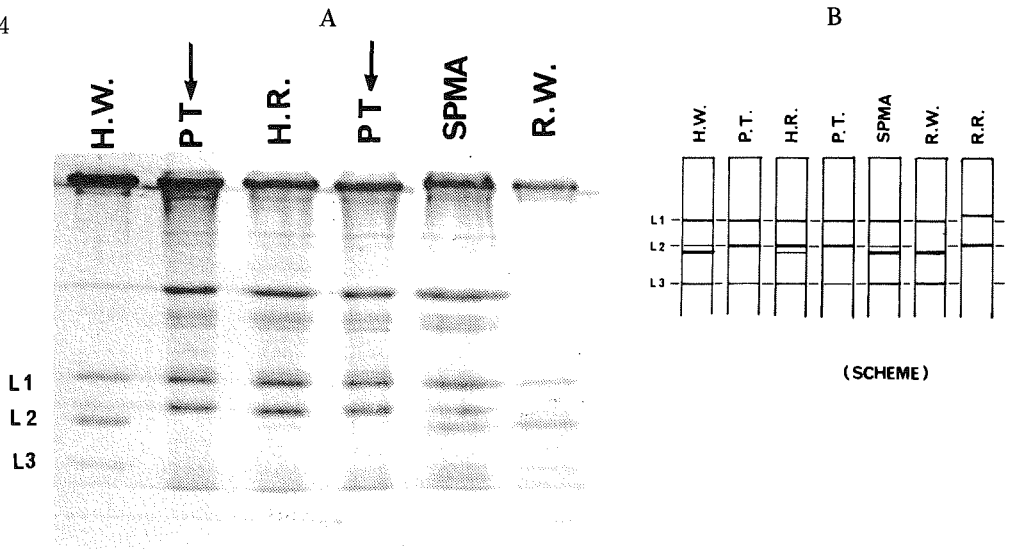


图 3

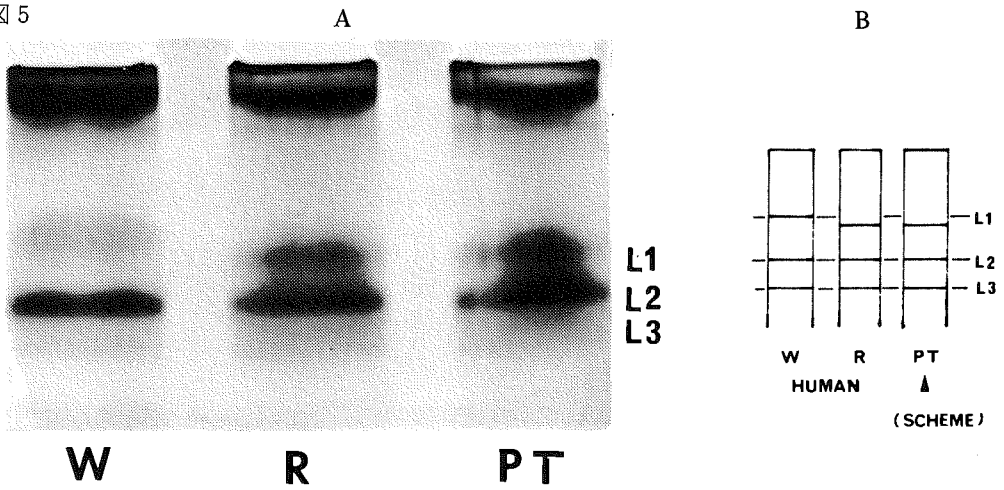


II 研究概要

☒ 4



☒ 5





### 3. 疾病研究第2部

#### 1. 研究部一年のあゆみ

本研究部は、出生前および出生後の小児期に生ずる知能障害、運動障害、脳奇形などの発生原因を知り、治療や予防の対策をたてることを使命としている。

開設後の実験室の配置と機器の整備の第一段階が終り、新しい設備のもとでの研究が開始されるようになった。また、臨床に関連が深いため、臨床的研究は6病棟、7病棟の医師と協同で前年度に引続き継続中である。

54年度の人事では、鈴木伸幸（慶大小児科）、牧野月子（昭和大薬学部卒）が研究員に加わり、それぞれ、胎児性アルコール症候群の実験、および、結節性硬化症の生化学的分析に従事するようになった。55年に入り、許斐博史（東京医歯大難治研）が研究員として加わり、コラゲン代謝の研究をすることになった。

この一年間の主な研究活動は以下のごとくである。

#### (1) 結節性硬化症の本態に関する研究（有馬，田中，桜川，牧野，許斐）

検体の収集について、各大学院などとも連絡をとり、剖検、手術材料、および、培養線維芽細胞の蓄積に努力し、かなりの例数を集めることが可能となった。本症にみられる組織の異常増殖性と膠原線維の増生を説明する実験系を培養線維芽細胞で検討を重ねているが、同時に、組織について、グリコサミノグリカン、金属などの分析を実施した。なお、生体内における膠原線維の増加に対応して、尿中のヒドロキシプロリン/クレアチニン比も高いことを見出した。

#### (2) 胎児性アルコール症候群の臨床的実験的研究（田中，鈴木，有馬）

臨床例については、定期的に現地に出向いて追跡観察し、成長にともなう精神・行動面の発達を検討してきた。知能面のおくれの程度は巾があり、また、多動の発現についても個体差を認めている。ラットについての実験により、母体のアルコール飲用の影響は胎仔の成長、DNA、RNAに障害を与えることを確認した。また、生後の発達において脳のRNAは回復がおくれ、脳機能障害の一要因と考えられる。出生の時期に仔に著しい低血糖症を生ずることを見出したが、人間についても重要な要因となりうることが示唆される。

#### (3) コレステロール代謝阻害剤によるライソゾーム酵素の変動（桜川，渡辺，有馬）

コレステロール代謝阻害剤により、脳、肝のスフィンゴミエリナーゼが選択的に低下することを

## II 研究概要

見出していたが、本年度はさらに、その作用の量依存性、発達の時期依存性を確認した。また、可逆性変化であり、生後における生化学的発達に明らかな危険期のあることを証明し得た。この事実は、発達期の低栄養の脳に対する影響を考慮する上に参考となるとともに、一方において、薬物の副作用、実験的リピードシスの酵素補充療法のモデルとしても有用性をもつと考えられる。

### (4) サイクロトンの医学的応用（桜川，河野）

サイクロトンにより生成される超短半減期の RI を用いて、非観血的、非侵襲的に生体内の代謝および脳循環血液量の測定を行うことを目的とした。臨床応用に先立つインシュリン低血糖動物において、代謝性アシドーシスの発現とともに、 $^{13}\text{NH}_3$  の脳内取り込みおよび尿中排泄増加を観察した。これは、急性の脳機能障害時の脳代謝の変化を動的に把握しつつ適切な対策を立てるための将来性を有すると考える。

### (5) 奇形脳の病理発生学的研究（高田）

先天性筋ジストロフィー症の脳構築異常について症例を集めながら検討を継続中である。

### (6) その他

点頭てんかんに対する ACTH 療法の問題点（東条，高田），重症心身障害児における脳幹機能の生理学的解析（河野），Lesch-Nyhan 症候群の薬物療法と全身管理の検討（河野）などが入院症例を中心に行なわれた。（部長 有馬正高）

## 2. 研究業績

### A 論文

#### a 原著

#### 1) 有馬正高，青木継稔：

Wilson 病の臨床的検討。

神経研究の進歩，23：1147，1979

#### 2) 田中晴美，有馬正高，石塚博子，鈴木伸幸，高島敬忠：

わが国における胎児性アルコール症候群。

日本医事新報，2897：27，1979

#### 3) 許斐博史，本間洋子，桑島克子，二瓶健次，鴨下重彦：

アナフィラクトイド紫斑病の中樞神経障害。

- 小児科診療, 42 : 579, 1979
- 4) 青木継稔, 水谷正興, 四宮雅子, 決文博, 有馬正高 :  
先天性銅代謝異常とセルロプラスミンとくに Wilson と Menkes 病の治療によるセルロプラスミンの推移。  
日本臨床代謝学会記録, (XV1) : 42, 1979
- 5) Sugiura, Y., Tsuchiya, K., Kida, M., & Arima, M. :  
Thalidomide dysmelia in Japan.  
Cong. Anom., 19: 1, 1979
- 6) Ohno, K., Enomoto, T., Imamoto, J., Takeshita, K., & Arima, M. :  
Lissencephaly (Agyria) on Computed Tomography.  
J. Comput. Assist. Tomogr., 3910: 92, 1979
- 7) Watanabe, K., Miura, K., Saneyoshi, M., Ueda, M. :  
Nucleosides and Nucleotides, XXV1, Synthesis and properties of cytidine nucleotides substituted at the N<sup>4</sup>-position.  
J. Carbohydrates-Nucleosides-Nucleotides, 6 (3), 279, 1979
- 8) 田中晴美, 鈴木伸幸, 有馬正高 :  
胎児性アルコール症候群。  
医学のあゆみ, 110 : 517, 1979
- 9) 桜川宣男, 有馬正高, 桜川真智子 :  
コレステロール代謝阻害剤 (Boxidine) による肝細胞封入体形成と Sphingomyelinase の低下,  
医学のあゆみ, 111 : 330, 1979
- 10) 佐藤修三, 白川健一, 椿忠雄, 桜川宣男 :  
多発性硬化症における血漿脂肪酸構成異常。  
脳と神経, 31 : 65, 1979
- 11) Quarles, R.H., Sakuragawa, N., Everly, J.L., Pasnak, C.F., deF. Webster, M., & Rapp, B.D. :  
A biochemical comparison of *Xenopus Laevis* and mammalian myelin from the central and peripheral nervous systems.  
J. Neurobiol., 9: 217. 1978

## II 研究概要

### b. 著 書

1) 有馬正高：

先天異常の予防と管理．

先天異常（馬場一雄，小林登編），小児科 Mook, 11：1979, P. 294

2) 有馬正高：

臨床神経学 — 臨床像と成因の関連 — ．

現代精神医学大系（懸田克躬編），16A 精神遅滞 1，中山書店，東京，1979, P. 181

3) 有馬正高，桜川宣男：

脳性麻痺の歴史 — Little の講演の紹介を兼ねて — ．

脳性麻痺（馬場一雄，小林登編），小児科 Mook, 7, 1979, P. 1

4) 有馬正高：

身体徴候，小奇形．

小児神経学の基礎（福山幸夫編），診断と治療社，1979, P. 112

5) 青木継稔，有馬正高：

Lesch-Nyhan 症候群と Hypoxanthine-guaninephosphoribosyltransferase ．

赤血球酵素の基礎と臨床（三輪央朗編），科学評論社，東京，1979, P. 318

6) 有馬正高：

研究の動向，医学．

精神薄弱者問題白書（日本精神薄弱者福祉連盟編），日本文化科学社，東京，1979, P. 56

7) 有馬正高：

奇形症候群．

新小児医学大系，7A 出生前小児科学 1，中山書店，東京，1979, P. 315

8) 田中晴美：

神経系の発達，生化学的発達．

小児神経学の基礎（福山幸夫編），診断と治療社，東京，1979, P. 51

9) Suzuki, K., Tanaka, H., Yamanaka, T., & Olga Van Damme.:

The specificity of  $\beta$ -galactosidase in the degradation of gangliosides.

Structure and Function of Ganglioside. ed. by Svennerholm, L. et al., plenum, N.Y. London, 1980. p. 307

10) 有馬正高：

Lesch-Nyhan 症候群，痛風（織田敏次ほか編），  
永井書店，大阪，1979，P. 179

c. 総説

1) 有馬正高：

遺伝性神経疾患における病像の変異，  
脳と神経，31：439，1979

2) 有馬正高：

特集 神経疾患・最近の治療 (3) Wilson 病の治療，  
神経内科，11：217，1979

3) 田中晴美，有馬正高：

胎児性アルコール症候群，  
日本小児科学会雑誌，83：1627，1979

4) 有馬正高：

小児の色素異常，  
皮膚病診療，1：145，1979

d. 症例報告

1) Sakuragawa, N., Adachi, K., Hayashi, M., and Fukuhara, N.:

Neurological complications of Ring (22) syndrome: A case report.  
Brain and Devel. 1: 91, 1979

2) 許斐博史，二瓶健次，鴨下重彦，今井正：

Indomethacin 使用によりPseudotumor Cerebriを呈した Bartter 症候群の1例  
脳と発達，11：53，1979

e. その他

1) 外村昌，井上英二，三輪史朗，有馬正高：

遺伝と臨床，  
臨床医，6：296，1980

## II 研究概要

### 2) 桜川宣男 :

脳発達への多角的アプローチ国際会議に出席して.

脳と発達, 11 : 363 , 1979

#### f. 学会抄録

### 1) Tanaka, H., Arima, M., Hasegawa, C., & Ohno, K. :

Biochemical Studies on Collagen and Inorganic Substances in Tuberous Sclerosis.

Brain and Development, 1: 218, 1979

## B 学会発表

### a. 特別講演, シンポジウム

### 1) 有馬正高 :

非外傷性, 非炎症性 Subdural effusion ,

日本脳神経外科学会総会, 東京, 11 : 3 ~ 5 , 1979

### b. 国際学会

### 1) Arima, M. :

Recent progress in prevention of congenital anomaly. From the standpoint of medical genetics.

IYC Commemorative International Congress. Tokyo, October 21-22, 1979.

### 2) Arima, M. :

Current problems in Wilson's disease.

Workshop of genetic metabolic diseases, Tokyo, June 23-24, 1979.

### 3) Arima, M., Tanaka, H., and Sakuragawa, N. :

Biochemical studies of tuberous sclerosis.

2nd International Congress of Child Neurology, Sydney, November 26-30, 1979.

### 4) Sakuragawa, N., Watanabe, K., Takada, K., Nonaka, M., Arima, M. :

Effects of hypocholesterolemic agent (Boxidine) to the sphingomyelinase and other lysosomal hydrolases in the brain and liver of developing rats.

International meeting on multidisciplinary approach to brain development. Italy. Apr.

16-21, 1979.

- 5) Sakuragawa, N., Watanabe, K., and Arima, M.:  
Effects of hypocholesterolemic agents to the suckling rats: Sphingomyelinase reduction and its reversibility in brain and liver.  
Second International Child Neurology Congress. Sydney, Nov. 28, 1979.
- 6) Tanaka, H., Arima, M., Suzuki, Y., & Takashima, H.:  
Fetal Alcohol Syndrome in Japan: Second International Child Neurology Congress  
Sydney, Nov. 26-30, 1979.
- 7) Nagai, Y., Hori, H., Sunada, H., Konomi, H. et al.:  
Anti-collagen antibodies in sera of patients with various connective tissue diseases.  
4th Congress of the Southeast Asia and Pacific Area League against Rheumatism. Manila.  
Jan. 20-24, 1980.

### C 一般学会

- 1) 渡辺和行, 桜川宣男, 有馬正高:  
脱コレステロール剤AY9944で処理したラット新生仔中のスフィンゴミエリナーゼ活性変化の年齢依存性と可逆性。  
第22回日本神経化学会, 東京, 11・16~17, 1979(神経化学, 18: 252)
- 2) 田中晴美, 有馬正高, 高島敬忠:  
日本における胎児性アルコール症候群。  
第21回日本小児神経学会総会, 東京, 7・8~9, 1979
- 3) 田中晴美, 有馬正高:  
妊娠ラットのアルコール飲用が胎生期, 周生期および生後の発育に及ぼす影響。  
第19回日本先天異常学会総会, 札幌, 7・11~12, 1979
- 4) 村本治, 桜川宣男, 埜中征哉, 有馬正高, 里吉宮二郎:  
低身長, 精薄, 皮下脂肪の減少, ミオパチー, 特異な顔貌を主徴とする姉弟例。  
日本神経学会, 東京, 5・9~11, 1979
- 5) 桜川宣男, 渡辺和行, 有馬正高:  
実験的リピドージス: ボキシジンによるスフィンゴミエリナーゼの減少と可逆性。

## II 研究概要

第19回日本先天異常学会総会，札幌，7・11～12，1979

6) 高田邦安，桜川宣男，埜中征哉，有馬正高：

コレステロール代謝阻害剤のラット発達脳に及ぼす影響．

第21回日本小児神経学会，東京，7・8～9，1979

7) 許斐博史，舟橋満寿子，石原昂：

Cleidocranial dysostosis の母子例．

第30回日本小児科学会東京地方会，東京，3・8，1980

8) 高田邦安，埜中征哉，桜川宣男：

良性乳児脊髄性筋萎縮症の2症例，古典的 Werdnig-Hoffmann 病との対比を中心に．

第69回神経学会関東地方会，東京，6，1979

9) 高田邦安，東条恵，埜中征哉，米本孝三：

3才頃発症し，顔面肩甲上腕型の分布を示した神経原性筋萎縮症の1幼児例．

第70回神経学会関東地方会，東京，9，1979

## D 班 会 議

1) 有馬正高，桜川宣男：

先天代謝異常症，コレステロール代謝阻害剤（Boxidine）による肝細胞内封入体形成およびスフィンゴミエリネース活性の低下．

文部省科学研究費特定研究（難病），東京，2月，1979

2) 桜川宣男，河野義恭，有馬正高，飯尾正明：

サイクロトロン of 医学的応用，インシュリン低血糖ウサギにおける<sup>13</sup>NH<sub>3</sub>の動態について  
厚生省低エネルギー低酸素症に基づく脳障害の形態学的，生物学的研究班，東京，12月，1979

3) 有馬正高，田中晴美，桜川宣男：

結節性硬化症の生化学的細胞学的研究．

厚生省神経疾患委託研究，発生異常にもとづく精神遅滞の本態に関する生化学的遺伝学的研究，  
東京，2月，1980

4) 田中晴美，有馬正高，鈴木伸幸：



中毒性物質と脳発達障害 — 胎児性アルコール症候群およびその動物モデル。 —  
昭和54年度厚生省神経疾患委託研究「本態不明の精神遅滞の成因に関する開発的研究」,  
東京, 2月, 1980

5) 有馬正高, 渡辺和行, 桜川宣男:

ニーマン・ピック病実験モデルの研究: コレステロール代謝阻害剤によるラット急性実験的リ  
ピドージス.

文部省難病研究班, 東京, 2月, 1980

6) 有馬正高:

精神遅滞のモニタリングに関する研究.

厚生省先天異常のモニタリングに関する研究班, 大阪, 3月, 1980

## E 研究会など

1) 東条恵, 高田邦安, 河野義恭, 桜川宣男:

Nevus Unis Iateris と 思われる症例.

第3回三多摩神経懇話会, 東京, 9月, 1979

2) 桜川宣男:

小児の中枢神経疾患: 小児の精神運動発達遅滞について.

新潟大学医学部合同講義, 新潟, 11月, 1979

3) 桜川宣男:

子供の神経学的診療法.

子供の神経学的診療法とその判定に関するセミナー, 東京, 5月, 1979

3. 主な研究報告

**Wilson 病のセルロプラスミン値**  
— マスクリーニングとの関連において —

有馬 正高, 青木 継稔

Wilson 病はわが国において比較的高率にみられる先天代謝異常症である。新生児のマスクリーニングの普及にともない、6種類の先天代謝異常について発症前の患者が数多く見出され、同時に治療が普及しつつある。同じく、発症予防が可能な Wilson 病も発症前診断が望まれるが、マスクリーニングを実施した場合に予想される偽陽性、偽陰性の頻度を推定しておくことは重要と考えられる。この点を明らかにする目的で、今までに測定した Wilson 病家系および対照のセルロプラスミン値を分析し、どのレベルを陽性とするのがもっとも効率がよいかを明らかにしようと試みた。

**対象および方法**

直接観察した治療開始前の患者、および、その健康な家族、または、その疑をもって検体の測定依頼を受け最終的に本症と診断された 未治療の患者を対象とした。対照は、ネフローゼなどの低蛋白血症の合併する疾患を除く6か月から15才までの各種疾患を選んだ。

セルロプラスミンの測定はパラフェニレンジアミンを基質とする Ravin の方法によった。

**成績**

1) 患者のセルロプラスミン値 (Table 1)

**Table 1. Ceruloplasmin levels in patients with Wilson's disease and their families**

|             | homo | parents | sibs | control |
|-------------|------|---------|------|---------|
| 0 - 5 mg/dl | 48   | 0       | 0    | 0       |
| 6 - 10      | 6    | 1       | 0    | 0       |
| 11 - 15     | 3    | 2       | 3    | 1       |
| 16 - 20     | 2    | 10      | 8    | 2       |
| 21 -        | 1    | 36      | 52   | 187     |
| Total       | 60   | 49      | 63   | 190     |

60例のうち、48例80%は5 mg以下、6例10%は6～10 mg/dlであった。正常域とみられる21mg/dl以上の例は1例であった。

#### 2) 家族のセルロプラスミン値

hetero とみられる両親49例には5 mg/dl 以下はなく、8.6～9.8 mg/dlの低値を示した1例があった他は全て11mg/dl 以上であった。11～20 mg/dlの低値を示したのは12例で約25%であった。

最終的に健康と診断された同胞63例については10 mg/dl 以下はなく、11～20 mg/dlの低域は11例であった。健康同胞がヘテロである可能性は理論的に3分の2であり、およそ40例のヘテロのうち4分の1がこの程度の低濃度を示したと考えられる。

#### 3) 対照のセルロプラスミン値

190例においては10 mg/dl 以下はなく、3例1.6%が11～20 mg/dlの低値であった。これがWilson病のヘテロか否かについては追跡を行なわなかった。

#### 4) スクリーニングの Cut-off level

1～3)の成績にもとづき、人口10万人を対象にスクリーニングを行なう時に予想される各濃度の分布を推定した。Wilson病の一般人口中の頻度には地域差があるが、平均8万人に1人と仮定すると、5 mg/dlをCut-off level とした場合、患者の80%は検出され、患者1に対し10以下のヘテロが含まれる可能性が推定された。6～10 mg/dlの範囲では、新たに患者の10% (80万人中1人)が検出され、ヘテロの一般人口中の頻度から患者の約60倍の偽陽性が出ると考えられた。しかし、その頻度は10対7.4人であり、マススクリーニングに耐えられる頻度と考えられた。11～15 mg/dlの場合、新しい患者を見出しうる率は150万人中1名であり、一方、偽陽性は20人に1人以上のぼると算定された。

### 考 察

#### 1) スクリーニングの必要性と妥当性

マススクリーニングの条件として、(1) 早期治療が行なわれないと死亡または非可逆的障害を生ずる。(2) 治療または予防の有効性が確認されている。(3) 一般人口中の頻度が比較的高い。(4) 発症前の診断がほぼ確実にできる。(5) 大量の検体を処理する方法が確立している。などを満足する必要がある。Wilson病についてはこれらの条件を全て満足しているので健康な生活を保証するためマススクリーニングに加えることが望まれる。

#### 2) スクリーニングの方法と適期

Wilson病の診断にはセルロプラスミン値の測定が簡単で、かつ、有用であるが、患者の場合で

## II 研究概要

もその濃度には差があることが経験され、どの濃度を Cut-off level に置くかを定めることが実施上には重要である。筆者らの成績から、少なくともわが国では 5 mg/dl におけば 80% の患者を検出できると予想され、かつ、偽陽性はきわめて低いと考えられた。10 mg/dl 以下におくとヘテロがかなり高率に含まれるが、その割合は 1 万人に 1 人以下でマスキングの支障として軽いと考えられる。11~15 mg/dl を含むと、新たに見いだされる患者は 5 % 以下であるのに対し、高率に陽性者がみられると予測され、スクリーニング時の問題が大であろう。

新生児のセルロプラスミンは一般にかなり低く、3 カ月頃までに増加がみられる。したがって、新生児の滷紙血液を用いた場合には、患者と正常対照の間で Overlap が大きい。6 カ月以降には 10 mg/dl 以下を示すことは特定疾患やヘテロを除くと殆ど経験されていないのでこの Overlap は低くなる。一方、Wilson 病の発症年齢は、今までに知り得た限り、4 才以後であり、治療開始も 4 才以前であれば予防の目的を達成できる。このような条件を考えれば、本症のスクリーニングは、6 カ月~3 才までの乳幼児健康診査の時期とするのが実用的であろう。

検査時期の決定に考慮すべきことは、他に同時にスクリーニングが望まれる疾患との組合せである。現行のマスキングの対象疾患に匹敵する条件をもつ疾患で微量血液により判定できるものとして無 $\alpha$ -グロブリン血症、高脂血症、高度の貧血、ヘモグロビン異常症、G6PD 欠損、低蛋白血症などが考えられる。これらのうち、数種類の組合せが行なわれれば、効率よく対策のルートに乗せることが可能と考えられる。

## 結 果

Wilson 病は発症前診断が望まれる疾患であり、血中セルロプラスミン 10 mg/dl 以下として 90% の患者をスクリーニング可能と考えられる。検査の適期は 6 カ月~3 才が望ましい。全国的に実施する場合には、他の必要疾患と組み合わせることが効率がよいと考えられる。

Table 2. Expected frequency of low ceruloplasmin levels

|                               | frequency per 100,000 |           |              |            | total |
|-------------------------------|-----------------------|-----------|--------------|------------|-------|
|                               | 0 - 5 mg              | 6 - 10 mg | 11 - 15 mg   | 16 - 20 mg |       |
| hetero                        | < 10                  | 7.4       | 37.2         | 133        | 178   |
| homo                          | 1                     | 0.13      | 0.06         | 0.04       | 1.23  |
| other                         | —                     | —         | 526          | 1050       | 1570  |
| suggested incidence of Homo   |                       |           | 1.25/100,000 |            |       |
| suggested incidence of Hetero |                       |           | 670/100,000  |            |       |

## 文 献

- 1) Sternlieb, I., Scheinberg, I.H.; Prevention of Wilson's disease in asymptomatic patients, N Engl. J. Med., 278, 352-359, 1968.
- 2) Arima, M., Komiya, K.; Prevention of Wilson's disease. A long-term follow-up, Pediat. Univ. Tokyo, 18, 22-14, 1970.
- 3) Arima, M., Takeshita, K., Yoshino, K., Kitahara, T. and Suzuki, Y.: Prognosis of Wilson's disease in childhood, Europ. J. Pediat., 126, 147-154, 1977.

## 結節性硬化症におけるプロリン・ヒドロキシプロリンの動態

田中 晴美, 有馬 正高

前回、白血球中のコラーゲン分解酵素活性に異常がみられない点より、結節性硬化症（TS）の病変部に蓄積するコラーゲンはコラーゲン代謝における分解の低下よりは合成の亢進が考えられると結論した。TSの本態あるいは生化学的診断を目的として、TSにおけるコラーゲン代謝の合成の亢進を証明するために、尿中、病変組織中のヒドロキシプロリン（Hyp）量および培養皮膚線維芽細胞のプロリン（P）要求性につき検討した。

## 対象および方法

尿は1時尿を採取し4℃に保存、3日以内にHypおよびクレアチニンを測定した。組織は1～3年ホルマリン固定されたTS 4名の脳、腎、脾、肺、心筋を肉眼および硬度によって病変部とその周辺の正常部とに分けHypを測定した。また、形成上採取された新鮮なTS 1名のfibrosisおよびその周辺のコラーゲン層と剖検による同年令対照皮膚のコラーゲン層中のHypを測定した。TS 4名の顔面のadenoma sebaceum、その周辺の皮膚、躯幹のfibrosisおよび正常人4名の上腕の皮膚をMcCoy 5a培養液（M）で培養し、適時DalbeccoのModified Eagle培養液（D）にかえ、添加P量あるいは牛胎児血清濃度の変化と細胞数、蛋白量、Hyp濃度との関係を検討した。Hyp測定は加水分解後Bergmanらの方法に準じた。培養皮膚線維芽細胞は培養フラスコの中でbuffered neutral formalinで固定し、Gomoriのone step trichrome法で染色した。

## II 研究概要

### 結 果

1) 尿中の Hyp / クレアチニン は年齢によって変化するが、TS は同年令のコントロールに比して高値を示し、コントロールと同様の年齢依存性変化を示した。抗けいれん剤未投与の TS も高値であった (図)。

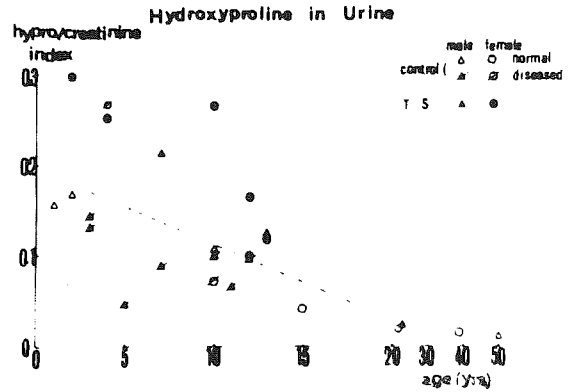
2) TS 組織の湿重量あたりの Hyp 量は、脳病変部では周辺の正常部と差を見いださなかった (病変部: 1.44, 1.17, 白質+灰白質: 1.47, 2.05  $\mu\text{g}/100\text{mg}$ ) が、コラーゲン含有量の高い腎, 脾, 肺, 心筋では未熟児の心筋以外はいずれも病変部に高値であった (病変部一周辺部の順に、腎: 148 - 82.1, 脾: 153 - 87.7, 肺: 458 - 385, 心筋: 164 - 86.1, 145 - 105  $\mu\text{g}/100\text{mg}$ )。

3) TS の fibrosis のコラーゲン層では、その周辺の正常と考えられるコラーゲン層や同年令の対照コラーゲン層と湿重量あたりの Hyp 量に差をみなかった (fibrosis: 2.92, 周辺: 3.13, 対照: 3.14  $\text{mg}/100\text{mg}$ )。

4) TS の adenoma 部分からの細胞を P 不含有 D で長期に培養すると、M 中の同継代数のものあるいは正常コントロール細胞に比し、染色性が変化して線維成分が少なくなってくる。

5) 17% 血清含有 D での培養では、1~2 代と D での培養期間が短いと、TS の adenoma および fibrosis の細胞は正常コントロール細胞に比し蛋白量増加のよいことが多いが、長期の D 培養では悪くなってくる。

6) adenoma 細胞は正常コントロール細胞より低血清濃度培養液中でも発育がよく、また P (7  $\text{mg}/100\text{ml}$  培養液) を加えると 15~17% 血清含有 D での発育がよくなる。



### 考 察

TS の皮膚病変には線維の増生をきたす種々な状態があり、顔面の adenoma sebaceum, 躯幹臀部などの扁平な線維増生 fibrosis もその 1 つである。これらは組織学的には膠原線維と推察されているが、生化学的にコラーゲンであるか否かの検討はなされていない。また TS では皮膚以外の臓器にも多発性の腫瘍や結節, のう胞腎などの分化の異常をみるが、これらの部にも何らかの線維増生をとまうことが多い。コラーゲンに特異的に含まれるアミノ酸である Hyp を marker とし、コラーゲン合成の増加が実際に病変部に存在するか否か検索した結果、正常でもコラーゲン含量の多い組織では、病変部で Hyp の増量が証明された。しかし、脳の結節硬化部においては Hyp

の含量はきわめて低く対照部と有意差をみいださず、また未熟児の心腫瘍例では対照部と差がなかった。以上より TS 病変におけるコラーゲンの増加は TS の全細胞に共通する基本的な性質ではなく、さらに根底に一次的な異常が存在すると推定される。容易に採取されうる検体である尿を用いて、TS における Hyp の高値をみたが、これは骨コラーゲン代謝を中心にした体内のコラーゲン代謝促進を示す 1 つの指標として興味あるものであろう。TS およびコントロールの培養皮膚線維芽細胞を用いた結果からは、低血清濃度培養液中でも発育がよいという TS 細胞の自立性および P 要求性が推定される。コラーゲンの Hyp は P に由来しており、P の水酸化はコラーゲンが細胞内を通過するために必要な条件である。TS 病変部でコラーゲンの蓄積が存在し、Hyp が増加するためには必然的に P も必要とされるであろうが、これが TS の本態といかにかかわっているかは今後の問題となる。

## 結 果

組織化学的検索および蛋白量の増加から、TS 病変の培養細胞には P の要求性が存在するといえ、これは尿中や病変組織の Hyp の増加からもうかがわれるコラーゲンの蓄積あるいは代謝亢進の結果を反映していると推定される。

## 文 献

- 1) Tanaka, H, Arima M., et al. : Brain & Development , 1 : 218, 1979.
- 2) 有馬正高, 田中晴美, 桜川宣男: 発生異常にもとづく精神遅滞の本態に関する生化学的, 遺伝学的研究, 昭和53年報告書, 14~20. 1979.
- 3) Bergman, I. and Loxley, R. : Anal. Chem., 35 : 1961 ~ 1965, 1963.

## わが国における胎児性アルコール症候群

田中 晴美, 有馬 正高 鈴木 伸幸

胎児性アルコール症候群 fetal alcohol syndrome (FAS) は妊娠中の母体のアルコール飲用による子供の異常で, (1) 知能障害を主とする中枢神経系の機能障害, (2) 出生前にはじまる発育障害, (3) 特徴的な顔貌, (4) 大および小奇形の頻度の増加を特徴とする。欧米では現在知能障害の第3の原因として大きな社会的問題となっている。わが国では1兄弟例の報告のみなので, 精神

## II 研究概要

遅滞の原因の追究，予防を目的として，日本における現状を把握，検討した。

### 方法および方法

1978年9月より1979年7月の間，全国の300～350床以上の病院の小児科，産婦人科，精神科および精神薄弱児収容・通園施設，重症心身障害児施設の計2,573の約7割から，アンケート・チェックリストにより20名の，また某多飲酒地区の乳幼児健診によって6名の，計26名のアルコール飲用母体からの異常児を対象とした。

### 結果

#### 1) 中枢神経系の機能障害

-2SD以下の小頭症は平均3割と少なかったが，知能障害は9割以上に存在した。IQは51～75が50%を占め，知能障害は軽度から中等度といえた。運動発達の1つの指標として独歩の月数をみると，IQの低下とともにおくれが著明となったが，すべての症例において最終的には歩けた。

#### 2) 発育障害

26名のうち，出生時体重2,500g以下は47%，このうちSFD (small for date)児は23%と低出生体重児の頻度はきわめて高率であった。一般精薄における低出生体重児の頻度は10～15%といわれているので，この対象は明らかに子宮内の身体発育遅延を高率に伴う精薄といえる。

#### 3) 特徴的な顔貌および大・小奇形の頻度の増加

わが国の症例では，顔面中央の形成不全を中心とする特有な顔貌は，一見したところ異常とは思えないような軽度のものなので見逃されやすいが，よく観察すると9割弱にみられた。写真に全体に鼻が小さく鼻先部，鼻翼の形成が悪く，鼻孔も著しく小さいが人中形成はよい症例を示す。手掌紋の異常を中心とするその他の異常も半数以上の症例にみられ高率であった。



#### 4) 母親の飲酒歴

対象児の母親の約半数は慢性アルコール中毒であり，また日本酒を飲んでいた。全体として平均すると，わが国のFASの母親の飲酒量は妊娠中常用して1日量0.3ℓ以上のウイスキー，焼酎，日本酒であった。

### 考察

本稿において，わが国にもFASが存在するという証拠を呈示した。欧米においては出生1,000



対1～2の頻度と算定されている本症候群が何故今までわが国において問題とされなかったかという点については、顔面の異常の軽い点、母親の飲酒量が少ない点、FASの知識の欠除があげられよう。今回の検討から、わが国においてFASを発見する糸口としては、原因不明の体の小さい、比較的軽度の知恵おくれをみつけた場合、母親の飲酒歴をチェックすることが必要であるといえる。現在のところFASの原因物質はエタノールそのものといわれている。しかし慢性アルコール中毒母体においてはかなりのカロリーをアルコールで補っているという栄養のアンバランスは存在しているので、このような低栄養状態がFASの本態に与える影響を全く除外してしまうことはできない。またこのような母体の栄養状態の検討はFAS予防の可能性もひき出しうるであろう。今後の課題としては、FASの概念を普及して、わが国の現状を把握し、その予防を徹底させるような対策が講じられることであろう。これはわが国の原因不明の精神遅滞の1つを明らかにすることであり、それを減少させることとなる。

## 結 果

26名のアルコール常用母体より出生した異常児をチェックし分析した結果、知能障害は9割以上に、低出生体重児は約半数に、特有な顔貌は9割弱にみられた。わが国の症例では顔貌の特徴は軽度で見逃されやすいので、中～軽度の知能障害をともなう身体発育遅延児には母親の飲酒歴の検討が必要である。

## 文 献

- 1) Jones, K.L., Smith, D.W., Ulleland, C.N. and Streissguth, A.P. : Lancet, I : 1267 - 1271, 1973.
- 2) 高島敬忠, 馬場一雄, 櫛田房男: アルコール研究, 13: 102 - 103, 1978.
- 3) 田中晴美, 鈴木伸幸, 有馬正高: 医学のあゆみ, 110: 517 - 523, 1979.
- 4) 田中晴美, 有馬正高, 石塚博子, 鈴木伸幸, 高島敬忠: 日本医事新報, No 2897, 27 - 30, 1979.
- 5) 田中晴美, 有馬正高: 日本小児科学会雑誌, 83: 1627 ~ 1631, 1979.

## ラットにおける胎児性アルコール症候群

田中 晴美, 鈴木 伸幸, 有馬 正高

臨床的に、身体発育遅延、知能障害、特有な顔貌、奇形の頻度の増加を特徴とする1つの症候群として確立されてすでに10年となる胎児性アルコール症候群について、本態、発症のメカニズムはまだ明らかでない。わが国でもその現状が把握されてきている。中核症状としての知能障害発生を防止するため、発症・予防の条件、治療の可能性の検討を目的として動物モデルを作製し、人間と対比しつつ問題点を検討した。

### 対象と方法

妊娠可能なウイスター系ラット雌113匹のうち90匹の胎児および子供935匹を用いて人間のモデルとして適当な条件を検討した。投与は経口とし、エタノール濃度は10, 20, 30, 35% (v/v) と変え、最終的には30%とした。コントロールには水を与え、等カロリーとするためには30%蔗糖を用いた。固形食は低栄養状態を作製するため制限した以外は自由に与えた。投与期間としては妊娠中3日, 15日, 18日, 21~22日間の群および妊娠前62日または100日間投与後、妊娠中21日間投与の群を用いた。交尾中は水を与え、児は自然分娩によってその後の経過を観察あるいは21日帝切後の検討をした。母体では体重、各臓器重量、デキストロステックスによる血糖、摂取量の測定を、児では異常状態、身体計測、大脳、肝重量、血糖、大脳、肝中のDNA、RNA、蛋白、<sup>14</sup>C-ロイシンの蛋白への組み込みを検討した。

### 結果

1) 胎内吸収：腔ぬぐい液で妊娠を確認した日を0日として妊娠21日帝切胎児における胎児保有の割合と母体の妊娠中の30%エタノール投与期間との関係では、胎児保有が75, 50%と低下して胎児吸収のおこった群は、妊娠初期を含む18日以上長期エタノール飲用のものであった。

2) 同腹数：コントロールと比較して、妊娠中のみのエタノール投与群では有意差を示さなかったが、妊娠前からひき続き30%エタノール投与の慢性アルコール群では有意の低値をみた。即ち妊娠前62日投与群では $10.0 \pm 0.8$  (4)匹 [平均±標準偏差(親の数)] (コントロール,  $12.8 \pm 1.1$  (5)匹,  $p < 0.01$ )、妊娠前100日投与群では $9.3 \pm 2.1$  (3)匹 (コントロール,  $14.0 \pm 1.7$  (3)匹,  $p < 0.05$ )であった。

3) 死亡率：妊娠中の30%エタノール投与期間と妊娠21日帝切時の死産率との関係では、死産率が54%, 79%と高値を示したのは妊娠末期を含む18日以上長期のエタノール投与群であった。ま

た妊娠中の15日間、種々の濃度のエタノール投与群での自然分娩による出生前および周生期の死亡率は、濃度に関係なく、生後12時間以内で平均33%（コントロール2%），50時間以内で平均77%（コントロール14%）と高値であった。

4) 異常所見：妊娠中15日間種々の濃度のエタノール投与群の自然分娩後の異常では、小頭症、頭形変形、頭骨部分欠損、小口症、血管腫、臍帯ヘルニアまたは硬結、痙攣、半身まひ、不器用などを114匹のうち43匹以上（38%）にみた。また妊娠前62日間、妊娠中21日間30%エタノール投与帝切児で体、とくに四肢、手足掌、臀部、下顎部の赤い所見および血管腫を45%の高率にみた（同期間水投与のコントロールでは0%）。

5) 体重、大脳・肝重量：妊娠前、中通してあるいは妊娠中の種々の期間、30%エタノール投与後、妊娠21日帝切時の胎児の体重、大脳・肝重量は、妊娠中の急性投与では、3重量とも投与期間が長くなる程、 $p < 0.01$  で有意に低下した。一方慢性投与では急性投与より低下は少ないが、妊娠前、中通して30%投与のものは同期間水投与あるいは妊娠前エタノール投与後妊娠中水投与のものより、 $p < 0.01$  で有意に低下していた。

6) 母体所見：妊娠前100日、妊娠中21日間、30%エタノール投与の母体所見をみると、エタノール群では100日投与後体重の低下を示したが（ $p < 0.05$ ），交尾期間が長い妊娠0日では有意差をみなかった。しかし妊娠21日間コントロールと同じカロリー量を摂取するにもかかわらず、その平均60%をエタノールでとるエタノール群では帝切時の体重は有意に低下した（ $p < 0.05$ ）。また脳重量に差はないが、肝重量は低下し（ $p < 0.05$ ），血糖も低値を示したが有意差はなかった。

7) 生化学的所見：妊娠21日胎児の所見では、体重、大脳・肝重量と同様に血糖も  $p < 0.01$  の有意水準でエタノール群に低下をみた〔エタノール群； $28 \pm 13(7)$  mg/dl，コントロール； $75 \pm 17(6)$  mg/dl，平均±標準偏差（胎児数）〕。DNA，RNA，蛋白は、大脳では単位重量あたりではむしろ高く、臓器あたりでは有意に低値となり、この傾向は肝では著明でなかった。RNA/DNA に差はなかった。 $^{14}\text{C}$ -ロイシンの蛋白への組み込みでも大脳において有意の低値をみた（ $p < 0.02$ ）。

## 考 察

我々の作製したラットモデルは奇形以外には人間例と類似の所見を呈している。妊娠中のエタノールによる児の奇形では、マウスでは眼球、眼瞼の異常や脳の異常が証明されているがラットでは著明でない。人間での死産、周生期死亡の高率、発育遅延は我々のモデルでも証明され、他著にも部分的にはみられる。我々の結果で、妊娠前のエタノールでなく妊娠中のエタノールが問題であるという点や、胎内吸収や死産は妊娠中のエタノール飲用の時期に関係し、周生期死亡はエタノールの濃度に関係なく、発育遅延は飲用の期間即ち量に比例している点は、人間の発生防止に示唆を与える。人間例での中核となる知能障害が何によってひき起こされるかは現在のところ推定の域を出

## II 研究概要

ない。剖検人間脳の所見からは構造上の変化が示されており、ラット胎芽培養ではエタノールによる細胞の発育・分化の遅延が証明されている。中枢神経系の発育遅延は我々の胎児の生化学的所見からも認められる。エタノール群の湿重量当りのDNA、蛋白の高値は一部にはコントロールの平均75%の水分摂取によっているであろう。アルコールによる低血糖の報告は散見されるが、今回我々はエタノール胎児に有意に低値の新知見を得た。これは妊娠末期に母親の固形食摂取が少なくなるにつれ顕著となるが、胎児性アルコール症候群児における脳障害の一要因として重視すべきものとして更に検討中である。

### 結 果

ラット母体の妊娠中に経口的に種々な濃度のエタノールを投与し胎児および出生児の状態を検討した。エタノール群では妊娠初期を含む長期投与で胎内吸収が、妊娠末期を含む長期投与で死産が高値を示し、同腹数の低下は妊娠前からの慢性アルコール症でおこった。新生児死亡率やその後の異常所見もエタノール群で有意に高値を示した。また、児の体重、大脳・肝重量、血糖値も低下し、臓器当りのDNA、RNA、蛋白、<sup>14</sup>C-ロイシンの蛋白への組み込みもとくに大脳において有意に低下していた。

### 文 献

- 1) 田中晴美, 有馬正高, 石塚博子, 鈴木伸幸, 高島敬忠: 日本医事新報, No 2897, 27~30, 1979.
- 2) Tze, W.J. and Lee, M.: Nature, 257: 479-480, 1975.
- 3) Brown, N.A., Goulding, E.H. and Fabro, S.: Science, 206: 573-575, 1979.
- 4) MacLaren, N.K., Valman, H.B. and Levin, B.: Brit. Med. J., I: 278-280, 1970.

## ラット胎児性アルコール症候群における胎生期および出生後の生化学的発達

鈴木 伸幸, 田中 晴美, 有馬 正高

1973年 Jones ら<sup>①</sup>が慢性アルコール中毒の母親から生まれた子供に、“特異な顔貌、発育遅延、精神運動発達遅延、各種の奇形”がみられることを指摘し、はじめて胎児性アルコール症候群（以下FAS）として報告した。その後各国での報告が相次ぎ、現在では出生1,000に対し3~5の頻

度といわれ、第3の精薄の原因として社会的にも大きな問題となっている。FASの最大の問題である知能発達遅延のメカニズムの生化学的解明についてもいくつかの報告が知られているが、胎生期から成育してゆく過程を経時的にとらえた報告はない。今回胎生17日目より生後35日目までのFASモデルラットの大脳および肝のRNA, DNA, 蛋白の定量を行ない、いくつかの点でコントロール群と差をみいだしたので報告する。

## 方 法

雌ウィスターラット41匹を2群に分け、コントロール群(C群)には水と固形食を、エタノール群(E群)には30%エタノールと固形食を与え自由に飲食させた。100日間の投与の後交尾を行なった。交尾期間中はE群もエタノールから水の投与に切換えた。連日腔スメアーをチェックし、精子が陽性になった日を妊娠0日目とし、E群は再び30%エタノールと固形食に、C群は水と固形食の投与にした。胎仔は妊娠17, 19, 21日目に帝切で取出した。出産させたものは生後1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35日目に殺し、脳および肝の摘出を行なった。母親は出産と同時にアルコールを中止し水の投与に切換えた。仔は体重測定後直ちに脳および肝を取出し、脳は大脳と小脳を分離し、胎生期のものは大脳全体を検体とした。出生後のものは大脳の大きさによっては前頭部の一部を検体とした。RNA, DNAの抽出はSchmidt-Thannhauser-Schneider法を用いた。RNA定量はOrcinol反応で、DNA定量はDiphenylamine反応で行なった。蛋白定量はLowryらの方法によった。

## 結 果

### 1) 母体に対するアルコールの影響

エタノールまたは水開始時のラットの初体重は両群に差はなかった。エタノール開始後交尾を開始するまでの100日間の両群の摂取カロリー量に差はみられなかった。この間死亡したものはC群で1匹(5.3%)、E群で6匹(27.3%)であり、E群の死亡率が著明に高かった。この間の体重増加はC群で1.3 g/day、E群で1.1 g/dayであった。交尾は両群とも全例で精子が陽性となった。妊娠中の母体の体重増加はC群で3.3 g/day、E群で1.0 g/dayであり、E群で有意に少なかった。妊娠中の摂取カロリー量はE群の方がむしろ多かった。

### 2) 胎仔および仔に対する影響

#### a) 胎仔および仔の成長

仔の体重は胎生期ではC群に比しE群で著明に低下しており、出生後の体重もC群に比し低値をつづけたが、35日目までみるとcatch upがみられた。

#### b) 大脳, 肝重量

## II 研究概要

仔の脳重量は体重と同様E群で胎生期に著明に低下していた。出生後は低値を示すものも多かったがC群の増加度とはほぼ同様に発達した。肝重量も胎生期にE群で著明に低下がみられたが、出生後は低値ではあるがC群とはほぼ同様な発達を示した。

### c) 生化学的変化

脳あたりのRNA量はE群で胎生期に低値を示し、出生後も低値を示す例が多かった。脳湿重量あたりのRNA量はE群で胎生期に高値を示した。肝臓あたりのRNA量はE群で胎生期にのみ低値を示した。肝湿重量あたりのRNA量は胎生期にのみやや高値を示した。

脳あたりのDNA量はE群で胎生期に著明な低下を認めたが、出生後は両群の発達にRNAほどは差はみられなかった。脳湿重量あたりのDNA量は生後1日目までE群で高値がみられた。肝あたりのDNA量は胎生19日目までE群で著明に低下していた。肝湿重量あたりのDNA量は両群に差はみられなかった。

脳あたりの蛋白量はE群で胎生期に低下がみられたが、出生後はやや低値を示したのみであった。脳湿重量あたりの蛋白量はE群で胎生期にのみ高値がみられた。肝臓あたりの蛋白量はE群で胎生期にのみ低値がみられた。肝湿重量あたりの蛋白量はE群で胎生期にのみ高値を示した。

RNA/DNA比は脳でE群で全体を通して低値を示した。肝臓でも出生後E群でやや低値を示した。蛋白/DNA比は脳、肝ともにE群で出生直後より低値がつづいた。

## 考 察

脳発達を生化学的にみるにあたって、FASの児に知能発達遅延がみられることを重要視し、まず第1回目として、細胞分裂、細胞機能の指標となりうるRNA、DNA、蛋白を選び測定した。

結果からDNAよりRNAが、肝より脳の方が出生後もエタノールの影響を強く受けていることが疑われた。胎生期に臓器あたりで非常な低値を示したのは臓器重量がE群で非常な低値を示したことが大きく影響していると思われる。また湿重量あたりで高値を示したのは母体の高濃度エタノール飲用による脱水も考慮しなくてはならない。Hendersonら<sup>②</sup>、Brownら<sup>③</sup>はそれぞれの実験モデルを使用し、その結果妊娠初期のDNA合成の低下を指摘している。我々の実験でもDNAは脳、肝臓ともにE群で低下が著明であり、上記報告ともあわせてFASの病態をおこす要因の1つは妊娠中の細胞増殖の低下によるものと思われる。また、出生後RNAの低値がつづいたことから、出生後のRNAの回復の遅れも身体および知能発達の遅れの1因をなしていると思われる。

## ま と め

胎児性アルコール症候群のラットモデルを作成し、その生化学的発達を脳および肝でコントロール群と比較検討した。胎生期における脳および肝でのDNA、RNAの著しい低下、出生後の

大脳の RNA の低下が認められた。以上のことより、胎生期の細胞分裂の遅れと出生後の細胞機能の低下が本症候群にみられる知能発達遅延と関連があると思われた。

## 文 献

- 1) Jones, K.L., Smith, D.W., Ulleland, C.N. and Streissguth, A.P.: Lancet, 1: 1267-1271, 1973.
- 2) Henderson, G.I. and Schenker, S: Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol. 16: 15-32, 1977.
- 3) Brown, N.A., Goulding, E.H. and Fabro, S: Science, 206: 573-575, 1979.

## サイクロトロン of 医学的応用

### < インシュリン低血糖ウサギにおける $^{13}\text{NH}_3$ の動態について >

桜川 宣男    河野 義恭    有馬 正高    飯尾 正明\*

サイクロトロンは超短半減期の放射性同位元素、 $^{11}\text{C}$  (20分)、 $^{13}\text{N}$  (10分)、 $^{15}\text{O}$  (2分)、 $^{18}\text{F}$  (2時間) を製造する加速器であり、医学的利用を目的として最近国立療養所中野病院に設置された。<sup>1)</sup> これらの放射性同位元素 (RI) から合成される標式化合物は Carrier free であり、生体内化合物と同様の生化学的活性を示すと考えられる。従って非侵襲的・非観血的に代謝・機能の映像化および定量化など体外計測を基盤にした診断が可能となった。我々は臨床応用の前段階として、合成 RI の生体内動態を調べるための基礎実験に、インシュリン投与による低血糖ウサギを作成し、 $^{13}\text{NH}_3$ 、 $^{11}\text{CO}$  の映像解析と生体内の動態を調べた。

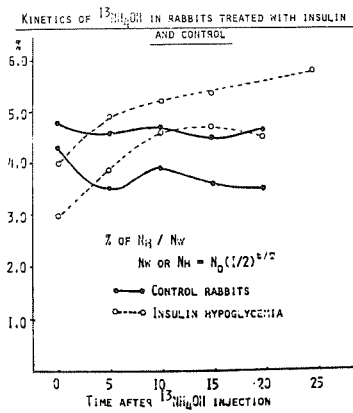
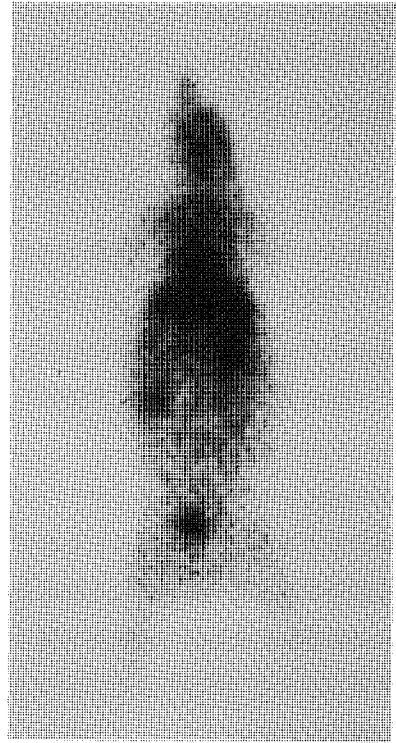
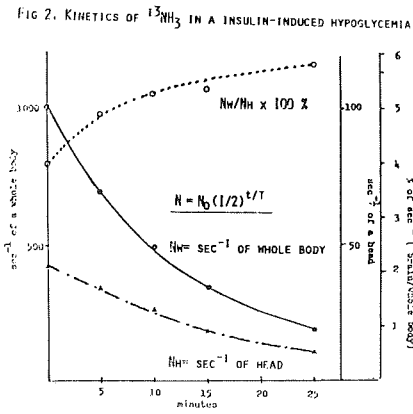
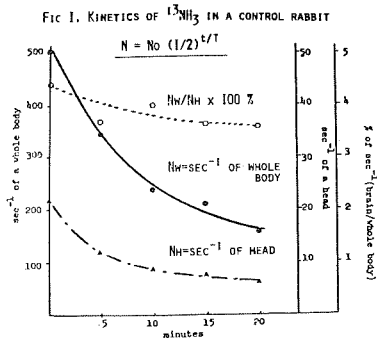
## 方 法

$^{13}\text{NH}_3$  の作成は  $^{16}\text{O}$  (p,  $\alpha$ )  $^{13}\text{N}$  の核反応を用い、Gelbard ら<sup>2)</sup> の方法により  $^{13}\text{NH}_4\text{OH}$  を合成する。2~3mCi/2ml を実験に使用した。 $^{11}\text{CO}$  は  $^{14}\text{N}$  (p,  $\alpha$ )  $^{11}\text{C}$  反応を用い作成し、ウサギに吸入させた。実験動物：日本白色在来種ウサギ (3kg) に、ノボレギュラーインシュリン 3 U/kg を筋肉内注射し、2時間後に RI 投与実験を行った。血液生化学：血糖と尿素窒素は Eyetone Mark II (京都第一科学) を用いて測定。血液ガス (自動分析)、血中アンモニア (藤井・奥田変法)、ピルビン酸 (BMY キット法) および乳酸 (BMY キット法) を測定した。

ポジトロン映像の解析と定量化：ウサギは非麻酔下で固定台に腹臥位で固定し、 $^{13}\text{NH}_4\text{OH}$  を耳静脈より投与し、 $^{11}\text{CO}$  はマスクを使用し吸入させた。映像化にはポジトロン用特製コリメーター

\* 国立療養所中野病院

## II 研究概要





Beattie 型を使用し、島津ガンマーカメラで撮影した。定量には計数值 1.5～2 分間、15～100 K カウント測定し、計数率 ( $\text{sec}^{-1}$ ) を求めた。全投与放射線量 (全身放射線量に等しい) に対する関心領域 (頭部、膀胱部など) の放射線量の百分比を求め、R I 摂取率とした。以上の画像解析と R I 定量を標式化合物投与後経時的に行って動態を調べた。

## 結 果

実験動物の血液生化学的变化。インシュリン投与 (3 U/kg) 2 時後に血糖は 20～30 mg/dl 尿素窒素 17～23 mg/dl (対照 28～31 mg/dl) に低下。血中アンモニアは、5～8  $\mu\text{g}/\text{dl}$  を変動。ピルビン酸と乳酸は血中アンモニアと同様、インシュリン投与 1～1.5 時間後に一過性の上昇 (軽度) を示す傾向にある。血液ガス分析では、pH は 7.05～7.28 base-excess は -19～-12 と代謝性アシドーシスを示した。

画像分析： $^{13}\text{NH}_3$  画像。主に肺・肝・腎および心臓に一致した hot area があり、頭部・筋肉部にも正常に認められる。大腿部筋肉部には、運動負荷の影響と考えられる R I 摂取の増強が認められた。興味ある所見として、代謝性アシドーシスを惹起した低血糖ウサギでは、腎臓部の R I 取り込みが増強し、標式化合物投与 20～25 分後に膀胱部にも出現した (Fig 4)。これは対照には認められず、代謝性アシドーシスの影響が考えられた。

$^{11}\text{CO}$  画像、主に呼吸・循環器系統に一致しており、ついで頭部・腎臓部に hot area が認められた。実験動物では画像解析で弁別できる程度の変化は認めなかった。

標識化合物の動態： $^{13}\text{NH}_3$  の動態。投与直後の頭部放射線量比 (RAC) は、対照で 4.3～4.8 % であり低血糖ウサギでは 3.0～4.0 % と低下傾向を示した。R I 投与後の経時的観察では、対照の RAC は plateau か軽度低下を示すが、低血糖ウサギの RAC は、4.0 から 6.0 % へと漸増が認められた (Fig 1, 2, 3)。

$^{11}\text{CO}$  の動態：吸入直後の RAC は低血糖ウサギでは 4.4～4.9 % (対照 4.5 %) と低下傾向を示す。継続的観察では著明な変動を認めない。

## 考 察

$^{13}\text{NH}_3$  は diffusable tracer であり、血中に投与されると速やかに組織中に取込まれる。Cooper<sup>3)</sup> らは、 $^{13}\text{NH}_3$  を内頸動脈に投与した直後 2～3 秒で脳内へ拡散され、 $^{13}\text{N}$ -glutamine になる事を観察している。Phelps ら<sup>4)</sup> は carotid bolus injection 法により  $^{13}\text{NH}_3$  の猿の脳への取込み率 (E) を測定した結果、動脈血 pH およびアンモニア濃度とは無関係であり、インシュリン 40 U/kg 投与された猿脳では E が 24% の減少を認めている。Carter ら<sup>5)</sup> の犬の実験成績では、静脈 pH の上昇により脳内  $^{13}\text{NH}_3$  / 血液  $^{13}\text{NH}_3$  の比は上昇し、pH の低下によって、この比は低下

## II 研究概要

すると報告した。同時に血中アンモニア濃度は肝および脳摂取率は変化しなかったという。我々の実験条件は、Phelps らおよび Carter らと異なり、かつ計算方法にも違いがある。即ち静脈内投与による〔頭部 $^{13}\text{NH}_3$ /全 $^{13}\text{NH}_3$ 投与量〕を経時的に20分間追跡した結果、頭部 $^{13}\text{NH}_3$  摂取率はインシュリン3 U/kg投与ウサギで上昇を認めた。これは短時間内における $^{13}\text{NH}_3$ の脳内拡散による細胞内 small pool を見ているのではなく、glutamine さらに asparatate への $^{13}\text{NH}_3$ の代謝過程の反映と推測できる。又、代謝性アシドーシスに対する $^{13}\text{NH}_3$ の膜透過性については、膀胱からの $^{13}\text{NH}_3$ 排泄増加実験が報告されているが、中枢神経系では未解決である。今後脳循環血液量および $^{13}\text{NH}_3$ 代謝産物の動態などの基礎データの集積が必要であり、臨床応用に有効に供したい。

### まとめ

サイクロトロンより生産される各種の超短半減期RIは、その特性を生かして生体内の代謝・機能の映像化および定量化に利用できるため、神経学の分野における応用が大いに期待される。例えば局所脳代謝と機能との関連、病的状態における代謝異常の早期発見、解剖学的異常と機能・代謝との関連などの研究などである。現在の生産核種は $^{11}\text{CO}$ ,  $^{11}\text{CO}_2$ ,  $^{13}\text{NH}_3$ ,  $^{11}\text{C}$ -glucose であり、主に $^{13}\text{NH}_3$ について検討を進めている。

### 文 献

- 1) 飯尾正明, シンポジウム「サイクロトロン核医学」国療中野病院における医用小型サイクロトロンの設置とその利用計画. 映像情報, 10: 742-746, 1978.
- 2) Gelbard, A.S., Clarke, L.P., McDonald, J.M., Monahan, W.G., Tilbury, R.S., Kuo, T.Y.T., Laughlin, J.S.: Engymatic Synthesis and organ distribution studies with  $^{13}\text{N}$ -labeled L-glutamine and L-glutamic acid. Radiology, 116: 127-132, 1975.
- 3) Cooper, A.J.L., McDonald, J.M., Gelbard, A.S., Gledhill, R.F., and Duffy, T.E.: The metabolic fate of  $^{13}\text{N}$ -labeled ammonia in rat brain. J. Biolog. Chem., 254: 4982-4992, 1979.
- 4) Phelps, M.E., Hoffman, E.J., and Rayband, C.: Factors which affect cerebral uptake and retention of  $^{13}\text{NH}_3$ . Stroke, 8: 694-702, 1977.
- 5) Carter, C.C., Lifton, J.F., and Welch, M.J.: Organ uptake and blood pH and concentration affects of ammonia in dogo determined with ammonia labeled with 10 minute half-lived nitrogen 13. Neurology, 23: 204-213, 1973.

## ニーマンピック病実験モデルの研究 ＜コレステロール代謝阻害剤AY9944によるラット急性実験的リピドーシス＞

渡辺 和行, 桜川 宣男, 有馬 正高

### 目的

7-dehydrocholesterol reductaseの阻害剤であるAY9944 (trans-1,4-bis-(2-chlorobenzylaminomethyl)cyclohexane), 50 mg/kg体重をラット新生仔に生後2日目より連日8日間腹腔内投与すると, 脳を含む各種臓器中の酸性スフィンゴミエリナーゼ活性が特異的に減少し, 基質であるスフィンゴミエリンの蓄積, 細胞内封入体の出現などニーマンピック病に酷似の症状を呈する<sup>1)</sup>。この動物実験モデルは特定の脂質分解酵素(スフィンゴミエリナーゼ)の生合成阻害がその基礎であると考えられる点で他のdrug-induced lipidosi<sup>2)</sup>と異なり, その特徴とスフィンゴミエリナーゼ活性低下のメカニズムを明らかにする事は, ニーマンピック病の病態および発病機序を理解すると共に, 治療実験への応用に有用な知見を与えてくれるものと思われる。著者は, まず基礎的段階としてAY9944によるスフィンゴミエリナーゼ活性低下の年齢依存性, 投与量依存性, 可逆性を調べると共にスフィンゴミエリナーゼ isozyme に与える影響を調べた。さらに薬物効果の選択性を知る目的で, 酸性ホスホジエステラーゼおよびMg依存中性スフィンゴミエリナーゼ活性に対する影響も合わせて検討した。

### 対象および方法 (ラットのAY9944処理)

1) 年齢依存性: ウィスターラット一腹仔を2群に分け, 処理群には生食に溶解したAY9944 (50 mg/kg体重)を, コントロール群には生食のみを生後2, 10, 25日目より連日8日間腹腔内投与し, 投与終了の翌日屠殺後, 臓器は使用するまで-80℃にて保存された。

2) 投与量依存: ラットに生後2日目より10~50 mg/kg体重のAY9944を連日8日間投与し, 投与終了の翌日屠殺した。

3) 可逆性: ラットに生後2日目より50 mg/kg体重のAY9944を連日8日間投与後, 投与を中止しその後10日目(生後19日目)に屠殺した。

スフィンゴミエリナーゼ活性の測定はPentchevの方法<sup>3)</sup>に従って2行になった。

等電点分画に用いた酵素溶液の調整は山口らの方法<sup>4)</sup>に準じて行ない, さらにpH 5処理(0℃, 30分間)処理を行なった。等電点分画はLKB社, アンホリンカラム(110 ml)を用い, 0.1%トリトン X-100存在下, LKBのマニュアルに従って行なった。分画終了後, 約1 ml ずつ分画を行ない, 各画分中の酸性スフィンゴミエリナーゼ活性の測定およびpHの測定を行なった。

## II 研究概要

### 結果および考察

#### 1) AY9944による酸性スフィンゴミエリナーゼ活性減少の選択性(表1)

酸性ホスホジエステラーゼ活性は処理群の肝臓でのみ軽度(約20%)の減少が観察され、酸性スフィンゴミエリナーゼ活性とのオーバーラップはほとんどない事が明らかとなった。また、Mg依存中性スフィンゴミエリナーゼ活性は軽度(15%)の活性減少が観察された。山口ら<sup>4)</sup>は、酸性スフィンゴミエリナーゼがMg依存下に中性付近にも活性を示すことを報告しており、この活性減少は酸性スフィンゴミエリナーゼ活性減少の結果を考えられた。

2) 年齢依存性: 生後2, 10, 25日目よりそれぞれAY9944投与を開始した3群について各種臓器中の酸性スフィンゴミエリナーゼ活性の減少率を比較すると、生後2日目および10日目より投与を開始した群では各種臓器中の減少率は同程度であったが、25日目より投与を開始した群では、いずれの臓器においても活性減少が軽度となりこの傾向は特に脳で顕著であった すなわち活性減少が観察されなくなった。これは、この時期に形成されつつある血液脳関門により薬物の脳への到達度が低下した結果と考えるのが一般的であるが、酵素自体の代謝速度または酵素合成調節の年齢的变化を示唆するものかもしれない。

3) 投与量依存(図1): AY9944の投与量を10~50 mg/kg体重と変化させた場合の酸性スフィンゴミエリナーゼ活性の変化は各臓器に特徴的であり、10 mg/kg体重の投与量では脳および脾臓に軽度(17.7%および11.3%)の活性増加傾向が観察された。

4) 可逆性(表2): 生後2日目より連日8日間AY9944処理した後薬物投与を中止し、10日間放置したラットについて酸性スフィンゴミエリナーゼ活性を調べると、活性値は腎臓を除くすべての臓器中でコントロール値の90~115%まで回復しており、この反応は可逆的である事が明らかとなった。

5) 等電点分画(図2): 生後2日目より連日8日間AY9944(50 mg/kg)を投与したラットの脳および肝臓の酸性スフィンゴミエリナーゼ isozyme 分画を等電的分画法で分析した。コントロールラット脳および肝臓酸性スフィンゴミエリナーゼ活性は数個の活性ピークに分離され、主ピークは肝臓ではpI 4.9に、脳ではpI 6.0付近であった。AY9944処理ラットでは、コントロールラットの肝臓および脳で観察されたすべての活性ピークにおいて減少が認められた。この結果は、もし、ラット臓器中に何種かの isozyme が存在すると仮定すると、AY9944による生合成阻害はそれらに共通に作用する事を示しているものと考えられる。

### まとめ

コレステロール代謝阻害剤AY9944による特異的な酸性スフィンゴミエリナーゼ活性低下について、選択性、年齢依存性、投与量依存性、可逆性およびスフィンゴミエリナーゼ isozyme の検

討を行ない、ニーマンピック病の実験モデルの可能性について検討した。

表1：AY9944 処理およびコントロールラットのスフィンゴミエリナーゼ活性および酸性ホスホジエステラーゼ活性

| tissue                  | (2 to 9 day) <sup>*1</sup>      |                                  | sphingomyelinase activity<br>(10 to 17 day) <sup>*1</sup> |                    |                   |                    | acid Phase activity<br>(2 to 9 day) <sup>*1</sup> |                  |
|-------------------------|---------------------------------|----------------------------------|---|--------------------|-------------------|--------------------|---|------------------|
|                         | C (7)                           | E (7)                            | C (4)   | E (5)              | C (5)             | E (6)              | C (7)   | E (7)            |
| brain (frontal lobe)    | 76.5±5.1<br>(100) <sup>*2</sup> | 36.4±3.9<br>(47.6) <sup>*2</sup> | 58.9±1.4<br>(100)   | 26.4±1.6<br>(44.8) | 53.4±6.2<br>(100) | 60.6±2.9<br>(113)  | 112±8<br>(100)                                    | 113±10<br>(101)  |
| (neutral) <sup>*4</sup> | 265±29<br>(100)                 | 224±28<br>(84.4)                 | ---   | ---                | ---               | ---                | ---   | ---              |
| liver                   | 179±33<br>(100)                 | 22.1±5.6<br>(12.1)               | 135±16<br>(100)   | 13.2±3.9<br>(9.7)  | 183±13<br>(100)   | 64.5±6.9<br>(35.2) | 218±8<br>(100)                                    | 169±11<br>(77.5) |
| (neutral) <sup>*4</sup> | 203±38<br>(100)                 | 21.1±5.6<br>(10.3)               | ---   | ---                | ---               | ---                | ---   | ---              |
| kidney                  | 54.0±2.4<br>(100)               | 19.0±2.8<br>(35.2)               | 70.1±1.4<br>(100)   | 18.6±0.4<br>(26.7) | 52.1±3.0<br>(100) | 23.2±1.6<br>(44.5) | 175±5<br>(100)                                    | 173±11<br>(98.9) |
| spleen                  | 45.0±3.9<br>(100)               | 14.6±3.2<br>(32.4)               | 37.8±5.2<br>(100)   | 12.3±0.6<br>(32.5) | 33.5±5.4<br>(100) | 20.7±2.0<br>(61.8) | 134±14<br>(100)                                   | 134±6<br>(100)   |

- \*1 AY9944 で処理した日数を示した。
- \*2 相対活性
- \*3 酸素溶液を山口の方法に準じて調整した。
- \*4 Mg 依存性中性スフィンゴミエリナーゼ  
酸素活性は nmoles/hr/mg protein で表現した。

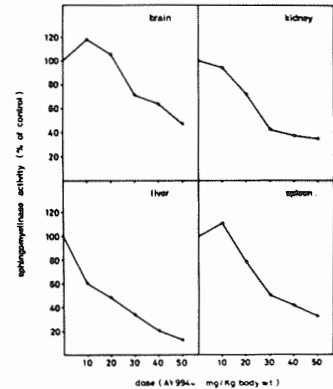


図1：AY9944 処理による酸性スフィンゴミエリナーゼ活性低下の薬物投与量依存性

表2：AY9944 処理ラットの酸性スフィンゴミエリナーゼ活性の可逆性

| Tissue               | sphingomyelinase activity<br>( nmoles/hr/mg protein) |                    |
|----------------------|--|--------------------|
|                      | C (3)  | E (4)              |
| brain (frontal lobe) | 60.0±1.1<br>(100)                                    | 69.8±3.3<br>(115)  |
| liver                | 130±6<br>(100)                                       | 122±18<br>(93.3)   |
| kidney               | 71.9±3.6<br>(100)                                    | 44.3±7.9<br>(61.6) |
| spleen               | 32.5±1.9<br>(100)                                    | 29.2±4.3<br>(89.8) |

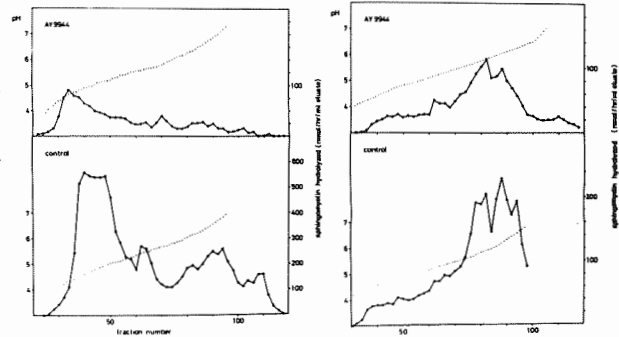


図2：AY9944 処理およびコントロールラット脳および肝臓酸性スフィンゴミエリナーゼの等電点分画パターン

文 献

- 1) Sakuragawa, N. Sakuragawa, M., Kuwabara, T., Pentchev, P.G., Barranger, J.A., and Brady, R.O.: Science, 196: 319, 1977.
- 2) Lüllmann, H., Lülman-Rauch, R., and Wassermann, O.: Biochem. Pharmacol., 27: 1103, 1978.
- 3) Penchev, P.G., Brady, R.O., Gal, A.E., and Hibbert, S.R.: Biochem. Biophys. Acta: 488: 312, 1977.
- 4) Yamaguchi, S., and Suzuki, K.: J. Biol. Chem, 252: 3805, 1977.

## 4. 疾病研究第3部

### 1. 研究部1年のあゆみ

本年度は4月1日より流動研究員として西川徹、仙波純一が東京医科歯科大学より、非常勤研究員として高嶋瑞夫が東邦大学より加わった。7月16日からは国立武蔵療養所より渋谷治男が研究員として参加し、10月1日には東京医科歯科大学助手の金野滋が併任研究員として採用された。渡部修三室長は、10月16日より1年間の予定でトロント大学薬理学教室の Seeman 教授のもとに出向した。島蘭安雄部長は、7月に東京で行われた第3回国際睡眠学会会長として会議の運営に当たった。会議に引き続きフランス INSERMより睡眠の研究者 A. Daszuta が研究生として1週間滞在し、研究の交流を行った。

本研究部門は、精神分裂病をはじめとする内因性精神病や、精神障害の発病に関与する睡眠障害、情動ストレスなどにおける生化学的な基盤を明らかにするための研究を行っている。ここでは神経伝達物質やモルフィン様ペプチドの関与が想定されるので、これらの物質の正確で感度のよい測定法についても研究を続けている。

脳内アミンとその代謝産物については、最近開発された高速液体クロマトグラフィと電極式検出器を併用することによって、セロトニン、5HIAA、ノルアドレナリン、ドーパミン、HVA、DOPACなどを測定しうようになった。これらは1~5mg程度の脳組織を用いて、2種以上同時に測定することが可能である。

アミンの合成酵素活性の測定法についても研究を続けており、トリプトファン水酸化酵素の測定法を開発した浜松医大市山新教授と協同して、チロシン水酸化酵素の高感度かつ簡便な測定法を確立した。

モルフィン様ペプチドについては、fmole 単位の微量定量が可能になり、マイクロウェーブで処理したラットの脳部位、下垂体から $\beta$ -エンドルフィン、メチオニンエンケファリン、ロイシンエンケファリンのラジオイムノアッセイによる同時定量法が可能となった。

微量の脳組織を正確にとり出す方法については、クライオスタットで凍結スライスを作り、直視下に組織を確認しながらパンチアウトする方法を確立した。

メトアンフェタミンの慢性投与は人間に精神分裂病に最もよく似た精神症状を惹き起こすものであるが、これを動物に投与した時に発現する常同行動が分裂病のモデルとして一般に用いられている。本部門では、メトアンフェタミンの慢性投与後に生ずるメトアンフェタミンに対する感受性の増加現象（逆耐性現象）に注目して研究を行った。メトアンフェタミンを反復投与した後に長期間休業してもメトアンフェタミンに対する逆耐性現象が残存することが、分裂病の再発のモデルとす

ることができると考え、一定期間の休薬を行った時のドーパミンニューロンについて生化学的に研究した。その結果、中脳辺縁系の神経細胞と神経終末においてドーパミンの合成酵素（チロシン水酸化酵素）が誘導される事実を見出した。寛解した分裂病が少量、短期間のアンフェタミン類で再発するとされていることからみて、これは重要な知見であると考ええる。

情動ストレスが分裂病の発病、再発の誘因となることが知られているが、本部門では各種のストレスを動物に負荷してさまざまな物質や酵素を測定している。例えば急性ストレスが下垂体の $\beta$ -エンドルフィンを減少させることを見出した。

この他、睡眠の発現機序を解明するために、サーカディアンリズムの発現について生化学的に研究している。視交叉上核をはじめとする脳内微小部位について伝達物質の日周性を検索し、また松果体のトリプトファン水酸化酵素のリズムについても研究を続行し、多くの生化学的・薬理的性質を明らかにした。（部長 島園安雄）

## 2. 研究業績

### A 論文

#### a. 原著

- 1) Kumakura, T., Hayashi, M. and Shimazono, Y.:  
A case of *epilepsia cursiva* whose running fits were precipitated by psychogenic factors.  
*Folia Psychiat. Neurol. Jap.*, 33: 255, 1979
- 2) 堀彰, 仮屋哲彦, 中河原通夫, 渡辺明子, 島園安雄 :  
イミプラミンとテトラベナジンの併用投与による多動ラットに関するカテコールアミンおよびセロトニン代謝の研究.  
精神薬療基金研究年報, 第10集 : 71, 1979
- 3) Ando, H., Kojima, T., Yamamoto, N. and Shimazono, Y.:  
Classification of schizophrenia with psychophysiological response of the eye movement and skin potential (抄), *Electroenceph.*  
*Clin. Neurophysiol.* 47. Society Proceedings; 14, 1979
- 4) 安藤晴延, 小島卓也, 島園安雄 :  
精神分裂病患者における精神生理学的反応——眼球運動と皮膚電位反射を中心に、  
*臨床脳波*, 21 : 657, 1979

## II 研究概要

- 5) Ando, K., Moriya, H., Toyota, T., Kojima, T. and Shimazono, Y.:  
Visual perception process in chronic schizophrenia and endogenous depression.  
Biological Psychiatry Today. (ed. by Obiols, J., Ballus, C., González Monclús, E., & Pujol, J.);  
Elsevier/North-Holland Biomedical Press, Amsterdam, N.Y., Oxford, 1979
- 6) 島藺安雄 :  
精神生理学の一指標としての眼球運動.  
臨床精神医学, 8: 1153, 1979
- 7) 中野隆史, 宮坂松衛, 山本紘世, 島藺安雄, 福沢等 :  
コンピュータ解析からみた老人脳波の特徴 — 一般成人群との比較において.  
脳波と筋電図, 7: 267, 1979
- 8) 宮坂松衛, 中野隆史, 大森健一, 大高忠, 森克己, 山本紘世, 島藺安雄 :  
脳機能の老化と脳波.  
第20回日本医学会総会誌, 275, 1979
- 9) 松浦雅人, 山本紘世, 福沢等, 上杉秀二, 菅野圭樹, 島藺安雄 :  
高校生および20才代若年成人脳波の性差について.  
臨床脳波, 22: 157, 1980
- 10) 島藺安雄, 小島卓也, 山本紘世 :  
眼球運動自動解析装置の作成とその精神医学的応用.  
昭和54年度科学研究費補助金 (一般研究B) 研究成果報告書, 1980
- 11) 島藺安雄, 山本紘世 :  
脳波の自動診断機器の開発に関する研究.  
財団法人医療技術研究開発財団, 「研究開発七年史」: 137, 1980
- 12) 新福尚武, 清水信, 島藺安雄, 伊藤隆太, 他  
多施設二重盲検法による新抗うつ薬 Mianserin と Dimetacrine の薬効比較.  
臨床精神医学, 9: 367, 1980



- 13) Toru, M., Watanabe, S., Nishikawa, T., Semba, J. & Shibuya, H.:  
 Physiological and pharmacological properties of circadian rhythm of tryptophan hydroxylase in rat pineals.  
 Adv. Biosci., Vol. 21: Pharmacology of the States of Alertness (eds. Passouant, P. and Oswald, I.), Pergamon Press, Oxford, 1979, p. 252
- 14) 融道男 :  
 精神症状を生ずる内科系薬剤について.  
 第20回日本医学会総会誌, 1429, 1979
- 15) 渋谷治男 :  
 肥満およびストレス負荷動物の下垂体と血液中の  $\beta$ -Endorphin の変動.  
 お茶の水医誌, 28 : 69, 1980
- 16) Watanabe, S., Toru, M., Ichiyama, A. & Kataoka, T.:  
 The activity of rat pineal and brain tyrosine hydroxylase during the daily cycle of light and darkness as determined by the modified  $^{14}\text{CO}_2$ -assay method.  
 J. Neurochem., in press.
- 17) Shibuya, H., Gale, K. & Pert, C.B.:  
 Supersensitivity to GABA's effect on benzodiazepine receptors develops after striatonigral lesions.  
 Eur. J. Pharmacol., 62: 243, 1980
- b. 著 書
- 1) 島藺安雄 (司会), 池見酉次郎, 石川中, 伊藤斉, 植木昭和, 高橋良, 村山智, 山下格 :  
 Round-table Discussion : ベンゾジアゼピン誘導体の現状と将来.  
 日本ロシュ株式会社医薬品本部, 1980
- 2) 安藤晴延, 島藺安雄 :  
 精神分裂病の神経生理学・精神生理学 精神疾患の病因研究.  
 —— 生物学的精神医学のストラテジー —— (融道男編) : 209, 金剛出版, 1980
- 3) 融道男 (編著) :  
 精神疾患の病因研究.  
 —— 生物学的精神医学のストラテジー ——, 金剛出版, 東京, 1980

## II 研究概要

### 4) 融道男 :

精神分裂病の生化学的病因仮説。精神疾患の病因研究。

— 生物学的精神医学のストラテジー — (融道男編) : 165, 金剛出版, 1980

### c. 総 説

### 1) 島蘭安雄 :

専門職のための脳波の知識。

てんかん講座 1 (専門職のための第 1 回てんかん医学基礎講座講演録) : 46, 日本てんかん協会, 1979

### 2) 金野滋, 島蘭安雄 :

産褥精神病。

産婦人科 Mook , 7, 産褥 : 188, 金原出版, 1979

### 3) 融道男 :

精神分裂病の病態生理。

治療学, 3 : 35, 1979

### 4) 融道男 :

Amphetamine 精神病。 — 精神分裂病研究のモデルとして —

神経精神薬理, 1 : 161, 1979

### 5) 融道男 :

精神分裂病の病態と治療。

葉の知識, 30 : 13, 1979

### 6) 融道男 :

医薬品による精神障害。

medicina, 17 : 158, 1980

### e. その他

### 1) 島蘭安雄 :

特集/精神分裂病の生物学序論。

精神医学, 21 : 1154, 1979

### 2) 島蘭安雄 :

ショック症状と治療。精神科，  
診断と治療，67：1363，1979

3) 島蘭安雄：

第3回国際睡眠学会開催に寄せて——広汎な問題を包括。  
医学界新聞，1356：1，1979. 7. 9

4) 島蘭安雄：

第3回国際睡眠学会の展望と抱負。  
Drug and Medical News，No 605：4，1979

5) 島蘭安雄：

脳へのアプローチ——精神科診療の立場から。  
脳と心を考える（シンポジウム「脳と心」より）（医学研究振興財団編）：139，講談社，1980

6) 島蘭安雄：

心氣的訴えの強いうつ病の遷延例〔臨床講義〕。  
日本医事新報（ジュニア版），No 190：3，1980

7) Toru, M.,

Discussion to Prof. S.S. Kety,  
World Issues in Problems of Schizophrenic Psychosis (ed. by Fukuda, T. and Mitsuda,  
H.), 11, Igaku-shoin, Tokyo, 1979.

8) 融道男（訳）H.M. van Praag：

精神病に関するカテコールアミン研究の現状。  
臨床精神医学，8：1209，1979

## B 学会発表

### a. 特別講演・シンポジウム

1) 融道男：

精神症状を生ずる内科系薬剤について。

第20回日本医学会総会シンポジウム「症状精神病をめぐる最近の話題」，東京，4. 9，1979

## II 研究概要

### 2) 融道男 :

分裂病治療薬の作用機序をめぐって.

第6回岡山大学脳研夏期セミナー, 岡山, 7.9~10, 1979

### 3) Toru, M. :

Sleep mechanisms.

The Seiriken Symposium on Sleep-substances and Mechanisms, 岡崎 8.1-2, 1979.

#### b. 国際学会

### 1) Toru, M., Watanabe, S., Nishikawa, T., Semba, J., Shibuya, H. and Shimazono, Y. :

Regulating mechanisms of circadian rhythm of tryptophan hydroxylase in rat pineals.

IIIrd Int. Congress of Sleep Research, Tokyo, July 27-31, 1979.

#### c. 一般学会

### 1) 西川徹, 渡部修三, 金野滋, 高嶋瑞夫, 俣賀宣子, 仙波純一, 渋谷治男, 融道男, 島菌安雄 :

分裂病症状の発現に關与する脳内 dopamine 作動機構に關する研究.

第34回国立病院療養所総合医学会, 10.24-25, 1979

### 2) 仙波純一, 俣賀宣子, 渋谷治男, 融道男 :

視交叉上核, 青斑核, 縫線核におけるモノアミンの日内変動について.

日本睡眠学会第4回学術集会, 名古屋, 11.10, 1979

### 3) 西川徹, 渡部修三, 高嶋瑞夫, 融道男 :

ラットにおける methamphetamine 常同行動の逆耐性現象に対応する脳内 tyrosine 水酸化酵素の変動.

第22回日本神経化学会, 東京, 11.16-17, 1979 (神経化学, 18:36)

### 4) 金野滋, 島菌安雄, 融道男 :

ドーパミン拮抗薬・作動薬の慢性投与によるドーパミン受容体機能の変化.

第3回神経科学学術集会, 東京, 1.26-27, 1980

### 5) 巻口宏平, 桜井俊一朗, 融道男 :

Diphenylhydantoin の高血中濃度によって舞蹈病様不随意運動を生じたと考えられる Lupus 腎炎の1例.

内科学会関東地方会, 東京, 3.8, 1980

## C 班 会 議

1) 島園安雄, 小島卓也, 金野滋 :

精神症状の発現機構に関する研究.

厚生省神経疾患研究委託費「精神障害の生物学的研究——生化学的及び生理学的研究——」

班会議, 東京, 2. 22—23, 1980

2) 融道男 :

睡眠・覚醒リズムの統御に関する神経伝達物質の研究.

文部省特定(1)「脳の統御機能」班会議, 勝浦, 8. 23, 1979

3) 融道男, 西川徹, 高嶋瑞夫, 渡部修三 :

精神分裂病の生化学的要因に関する研究.

厚生省神経疾患研究委託費「精神障害の生物学的研究——生化学的及び生理学的研究——」

班会議, 東京, 2. 22—23, 1980

## D 研究会など

1) 融道男 :

分裂病の精神薬理.

東京大学分院精神科研究会, 6. 18, 1979

2) 融道男 :

精神分裂病因のモノアミン仮説.

福島県精神科医協会, 郡山, 6. 30, 1979

3) 融道男 :

分裂病治療薬・最近の動向——作用機序を中心に——.

山梨県精神科医例会, 甲府, 7. 19, 1979

4) 融道男 :

精神分裂病の成因をめぐって—薬理・生化学的立場から.

第4回栃木県臨床と薬理研究会, 宇都宮, 12. 1, 1979

5) 融道男 :

睡眠の機構: 生化学的アプローチ.

## II 研究概要

第16回脳波・筋電図技術講演会，東京，12. 3, 1979

### 6) 融道男：

精神分裂病因の生化学的研究の現状。

埼玉県精神医学会学術研究会，浦和，3. 19, 1980

## 3. 主な研究報告

### ラット松果体の tryptophan—および tyrosine—水酸化酵素の研究

融道男 渡部修三 渋谷治男 仙波純一 保賀宣子 島藺安雄

松果体は melatonin を合成する器官であり，melatonin は性ホルモンをはじめとするホルモンの分泌に対してさまざまな影響をもつことで知られている。最近では，松果体はストレスを緩和する作用があるという報告もなされている。

#### 1. 松果体の tryptophan 水酸化酵素について

われわれは成熟ラット (Wistar 系，♂) の松果体における tryptophan 水酸化酵素 (Trp H) 活性が，明期に低く，暗期に高いサーカディアンリズムをもつことを見出し<sup>1)</sup> これは翌年他の研究者<sup>2)</sup>によっても確認された。その後の実験によって明らかになったことを以下に述べる。

(1) 両側の上頸神経節を除去し，術後3週間標準明暗条件下で飼育したラットの松果体 TrpH は，暗期に活性の上昇がみられない。

(2) TrpH 活性変動の物質的背景を調べるために，標準明暗条件で充分長く飼育したラットの松果体を午前10時と午後10時にとり出して集め，基質 L-tryptophan の量を展開して酵素活性を測定した。みかけの  $k_m$  を求めたところ，両群とも  $25 \mu M$  で一致した値を得たが，みかけは  $V_{max}$  は午後10時の値が午前10時の値の1.8倍であることが分かった (図1)。この  $V_{max}$  の差は，ちょうど明期と暗期の活性の差に相当することから，暗期に入ると酵素蛋白量が増加することによって活性が高くなる機構が推定された。

(3) ラットの飼育ケージを照明する白色蛍光灯の照度を，ケージの底面で測って50, 150, 500, 2000 ルックスになるように設定し，3週間飼育したのちに，午後6時と午後10時に松果体を取り出し酵素活性を測定したところ，500 ルックス以下では暗期の活性が明期に比し有意に ( $P < 0.01$ ) 増加したが，2000 ルックスでは暗期の活性の上昇がみられなかった (図2)。午前11時と午後11時の2点で測定し，ラット松果体の TrpH のリズムの存在を否定した報告<sup>3)</sup> およびリズムは見出したが，暗期の初期の活性上昇が緩徐であるとの報告<sup>2)</sup> は，論文中使用した照度の記載はな

いが、高い照度で飼育した結果ではないかと推察される。

2. 松果体の tyrosine 水酸化酵素について

松果体における TrpH のサーカディアンリズムは、松果体に分布する交感神経終末から遊出される noradrenaline (NA) 量が暗期に増加し、松果体の  $\beta$  - 受容体を刺激することによって生ずると考えられる<sup>1)</sup>  $\beta$  - 受容体が刺激されると、松果体の melatonin 合成の律速段階

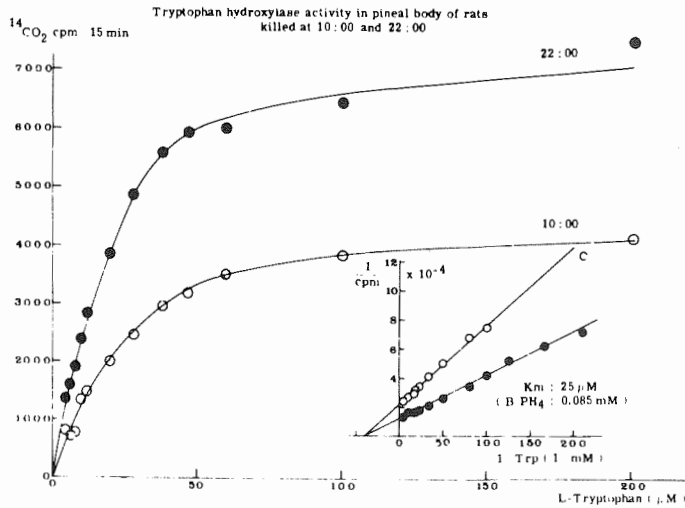


図 1. 午前10時と午後10時のラット松果体 tryptophan 水酸化酵素のカイネティックス

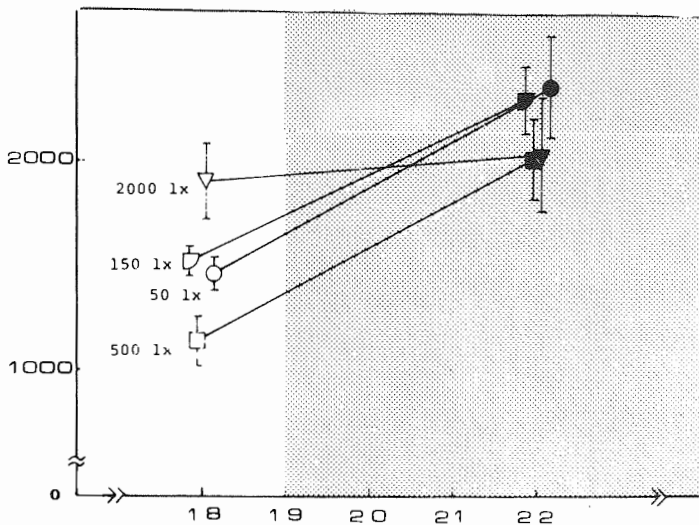


図 2. 明期の照度のラット松果体 tryptophan 水酸化酵素活性に対する影響。  
mean  $\pm$  S.E.M. (n = 7 ~ 8)

## II 研究概要

酵素である N-acetyltransferase の合成が促進され、基質の serotonin の消費量が多くなり、TrpH 活性が賦活されて上昇する過程が考えられる。

松果体における NA 遊出の変動を司る機構として、松果体の tyrosine 水酸化酵素 (TH) 活性が明期に近く、暗期に高いリズムをもつという Mc Geer らの報告<sup>4)</sup> がしばしば引用されている。彼らのデータは、現在 TH の測定に不可欠とされている pteridine 助酵素を使用しない方法で測定されたものである。今回、松果体のような TH 活性の低い部位でも測定しようように工夫した  $^{14}\text{CO}_2$  トラップ法<sup>5)</sup> で、天然の助酵素とされる 5,6,7,8-tetrahydrobiopterin を飽和した条件で24時間内の活性値の変動をくり返し検索したが、リズムを見出すことはできなかった (図3)。

そこで、松果体の NA 量の24時間リズムを電極式検出器付高速液体クロマトグラフィで調べたところ、明期の午前10時に最高値、暗期に入る1時間前に最低値を示す日周性がみられた。松果体における NA 量あるいは NA 遊出量の明・暗期のリズムに対応する合成酵素量の変動が得られないとすると、pteridine の availability、磷酸化による TH の活性化、上頸神経節の TH 量などにリズムを求めねばならなくなる。

### 文 献

- 1) Shibuya, H., Toru, M. and Watanabe, S.: Brain Research, 138: 364, 1977.
- 2) Sitaram, B.R. and Lees, G.J.: J. Neurochem., 31: 1021, 1978.
- 3) Deguchi, T.: J. Neurochem., 28: 667, 1977.

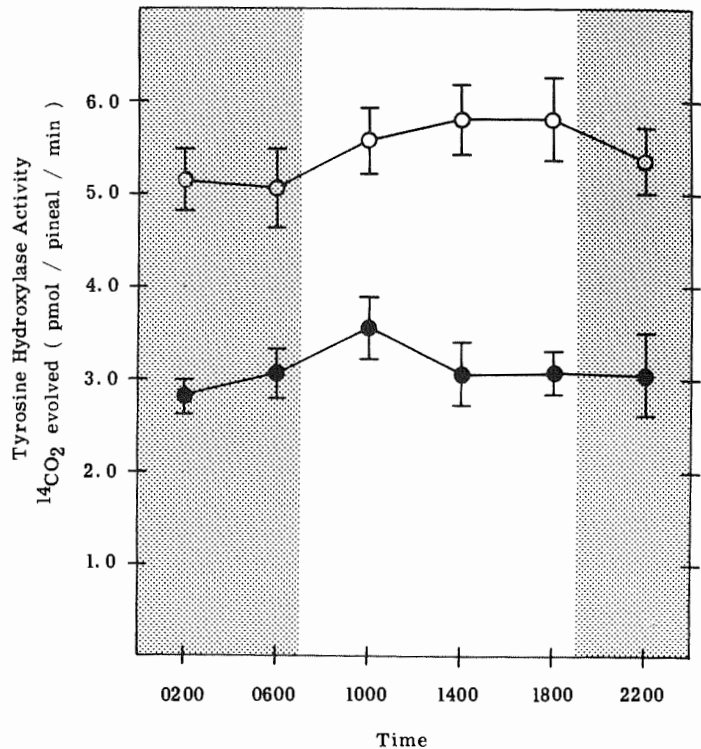


図3. ラット松果体における tyrosine 水酸化酵素の日周変動. 助酵素 biopterin を飽和 (330  $\mu\text{M}$ ) したものを上部に (n=10), 65  $\mu\text{M}$  にしたものを下部に (n=4) 示す.



- 4) McGeer, E.G. and McGeer, P.L.: Science, 153: 73, 1966.  
 5) Watanabe, S., Toru, M., Ichiyama, A. and Kataoka, T.: J. Neurochem., in press.

## 逆耐性現象の発現機序に関する生化学的研究

西川 徹 高嶋瑞夫 渡部修三 融 道男

ヒトの amphetamine (AMP) あるいは methamphetamine (MAP) 慢性中毒では、分裂病様症状の発現に関して連用した薬物に対する感受性増強が長期にわたってみられ、精神分裂病の症状発現機構との関連が注目されている。この現象は、薬物に対する耐性が生じないという観点から逆耐性現象と呼ばれているが、動物では種々の dopamine (DA) 作動薬による常同行動において認められる。逆耐性現象は DA の後シナプス受容体を遮断すると考えられている抗精神病剤の前処置によって刺激され、反復投与した薬物以外の DA 作動薬の再投与によっても惹起される(交叉逆耐性)ことから、脳内 DA 作動性ニューロンが深く関与していると推測される。本研究はラットに MAP を反復投与したのち逆耐性現象の生じている時点で、脳内 DA 作動性ニューロンの各部位における tyrosine 水酸化酵素 (TH) の酵素学的性質の変化について検討したものである。

### 方 法

雄性 Wistar 系ラット (180~250 g) に methamphetamine hydrochloride 注射液 6 mg/kg/day を反復投与した。対照として同容量の生理的食塩水を用い、1日1回一定時刻(午前10時~11時)に腹腔内投与した。一回の投与では、常同行動を生じない MAP 2 mg/kg を再投与した時に明らかな常同行動が認められた場合、逆耐性が形成されていると判断した。TH を測定した時点では行動観察用ラットで逆耐性現象を確認した。

MAP 3日間反復投与後8日目、あるいは14日間反復投与後65日目に断頭し、線条体・中脳辺縁領域(側坐核+嗅結節+中隔の一部)・黒質・腹側被蓋野・A8などの脳部位をとり出した。脳組織は部位によって3~7匹分をプールし、渡部ら<sup>5)</sup>の方法に従ってTH活性を測定した。

### 結 果

(1) MAP 3日間投与後8日目に基質濃度を一定にしてTH活性を測定したところ、線条体では対照群とほとんど差がみられなかったが、中脳辺縁領域では対照群に比し有意に増大した ( $P < 0.05$ )。同様の処置をしたラットでTHの酵素学的性質を検討してみると、 $V_{max}$  が中脳辺縁領

## II 研究概要

域では対照群の26% ( $P < 0.001$ ), DAニューロンの起始核が存する黒質+腹側被蓋野+A8では対照群の9% ( $P < 0.05$ ) 増大していたが, 両部位ともに  $K_m$  はほとんど変化しなかった。

(2) MAP14日間投与後65日目の中脳辺縁領域では  $V_{max}$  が対照群の23% ( $P < 0.01$ ), この領域のDAニューロンの起始核が存する腹側被蓋野では対照群の58% ( $P < 0.001$ ) 増大していたが,  $K_m$  はともに変化がみられなかった (図1)。

### 考 察

逆耐性現象は, 反復投与した薬物またはその代謝産物の体内への蓄積を伴わないため, 生体側に生じた永続性の変化に基づいて発現すると考えてよいと思われる。

本実験の結果, 逆耐性現象の生じている時点では少なくとも中脳辺縁系DAニューロンでTH活性が持続的に上昇していることがわかった。反応定数を検討してみると,  $V_{max}$  は増大するが,  $K_m$ には変化がないことからTH活性の上昇は酵素の誘導によってもたらされている可能性がある。

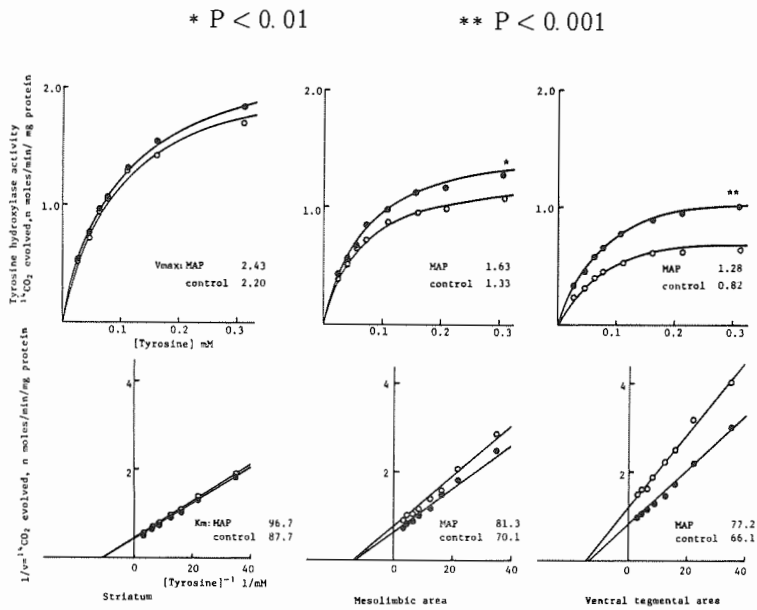
Klawansら<sup>3)</sup>はモルモットにAMPを反復投与すると, DA受容体に直接作用するといわれるapomorphineに対する感受性が増強することから, 逆耐性現象には後シナプスDA受容体の過感受性が関与していると推察した。しかし, これまでのところの考えを支持する生化学的所見は得られていない。今回の結果を援用すれば, TH活性が上昇して前シナプス側でDA合成が高まった結果, シナプス間隙へのDA遊出が恒常的に増加し, 少量のapomorphineに対して感受性が増強したと考えることも可能である。DA再とりこみ抑制あるいは放出促進によって作用するDA作動薬に対する感受性増強も同様の機序で説明されよう。

従来, DA作動薬による常同行動は, 線条体のDAニューロンによって惹き起こされていると考えられており, 逆耐性現象についての生化学的研究も線条体を対象にしたものしかない。Segalら<sup>4)</sup>は, 両側の側坐核に6-hydroxy-dopamineを注入して破壊するとAMPによる常同行動は消失しないが, 逆耐性は形成されなくなったという。また筆者ら<sup>2)</sup>はさきに, 逆耐性現象の発現を抑制する抗精神病剤の作用部位が側坐側と中隔を含む中脳辺縁領域にあることを示した。

AMP精神病や精神分裂病はストレスによってしばしば再発するが, AMPを慢性投与したラットではAMPばかりでなくストレスに対しても感受性が増強し, その逆もみられたという報告がある<sup>1)</sup>。一方, ストレスを与えた動物では側坐側や前頭葉皮質でDAの代謝回転が高まることが知られている。これらの事柄を考えあわせると, 中脳辺縁領域で認められたTH活性の増大が, AMP精神病や精神分裂病の再発の準備状態に対応する生物学的基礎の一側面を示している可能性がある。

図1: MAP14日間反復投与後65日目におけるラット脳内各部位のTH活性

下段のグラフはLineweaver-Burkプロットを示してある。MAP投与群(●—●)と対照群(○—○)の比較は, non-linear Gauss法で $K_m$ および $V_{max}$ とそれぞれの分散をもとめた



後、不等分散であることを考慮して Cochran の変法を用いて t 検定をおこなった。

$V_{max}$  については、線条体ではほとんど差がみられなかったが、中脳辺縁系では対照群の23%、腹側被蓋野で対照群の58%上昇していた。 $K_m$ はいずれの部位でもほとんど変化しなかった。

文 献

- 1) Antelman, S.M., Eichler, A.J., Black, C.A., Koob, D.: Science, 207: 329, 1980.
- 2) Kaneno, S., Watanabe, S., Toru, M., Shimazono, Y.: Brain Res., 152: 396, 1978.
- 3) Klawans, H.L., Margolin, D.I.: Arch. Gen. Psychiat., 32: 725, 1975.
- 4) Segal, D.S., Kelly, P.H., Koob, G., Roberts, D.C.S.: Catecholamines: Basic and Clinical Frontiers vol. 2, Vsdin, kopin, Barchas, eds. Pergamon Press, New York, 1979, p. 1672.
- 5) 渡部修三, 片岡徹, 市山新: 生化学 47; 56, 1976

## Dopamine 作動薬による常同行動の交差逆耐性現象に関する研究

高嶋瑞夫 西川 徹 融 道男

作用機序の異なる dopamine (DA) 作動薬をラットに反復投与し、逆耐性現象の形成過程を観察するとともに、薬物相互の交差逆耐性現象について検討した。

## 方法

雄性 Wistar 系ラットを用いた。投与薬物は、急性投与で運動失調を伴わない常同行動（既報<sup>1)</sup>の常同行動評価尺度で、評価 4 以上）が起こる量を反復投与し、対照として同容量の生理的食塩水を用い、1 日 1 回定時（10-11 時）に腹腔内投与した。逆耐性現象は、1 回の投与で常同行動を生じない量の薬物を再投与し、明らかな常同行動が起こった場合、逆耐性現象が形成されたと判断した。

## 結果および考察

## 1. 急性投与による常同行動の特徴

5 種の DA 作動薬の腹腔内投与によって生ずる常同行動の特徴をまとめて表 1 に示した（表 1）。

表 1：Dopamine 作動薬の急性投与による常同行動

|                 | 反復投与量             |          | 常同行動の出現時間(分) |        | 常同行動の持続時間(分) |         | 常同行動の持断               |
|-----------------|-------------------|----------|--------------|--------|--------------|---------|-----------------------|
|                 | 常同行動を生ずる量 (mg/kg) | (mg/kg)* | /日           | 反復14日目 | /日           | 反復14日目  |                       |
| METHAMPHETAMINE | 4                 | 6        | 25-30        | 1-2    | 60- 70       | 120-150 | BOBBING               |
| COCAINE         | 45                | 45       | 60           | 1-2    | 120-150      | 150-200 | BOBBING               |
| APOMORPHINE     | 1.25              | 2.5      | 10           | 5      | 30- 40       | 30- 40  | LICKING<br>GNAWING ** |
| NOMIFENSINE     | 15                | 30       | 10           | 2-3    | 180-200      | 180-200 | BOBBING<br>GNAWING ** |
| METHYLPHENIDATE | 100               | 100      | 10           | —      | 120          | —       | BOBBING               |

\* 急性投与実験に用いたラットの体重 200-250 g

\*\* 反復投与中 apomorphine, nomifensine の常同行動で boxing behavior が出現した。

投与したラットに 100% 常同行動を起こす cocaine の最低量は、従来の報告<sup>2)</sup> よりもかなり低いことが分かった。cocaine による常同行動は、methamphetamine よりも行動量が多く、前肢の運動が伴うという特徴があった。抗うつ剤 nomifensine は、DA の再取り込みを阻害すると報告さ

れているが<sup>3)</sup> 強い常同行動を生じた。

## 2. 慢性投与による常同行動の特徴

4種のDA作動薬を3-14日間反復投与し、一定期間休薬したのちに1回投与では常同行動を起こさない量の薬物を投与して、逆耐性・交差逆耐性現象発現について調べた(表2)。交差逆耐性現象の行動の特徴としては表2に示すように、原則として反復投与した薬物の行動がみられることである。

表2：Dopamine 作動薬による逆耐性・交差逆耐性現象

| 薬物(投与量/日)*     | 反復投与  |         | 再投与薬(mg/kg)† | 常同行動    |         |                  |      |
|----------------|-------|---------|--------------|---------|---------|------------------|------|
|                | 期間(日) | 休薬期間(日) |              | 出現時間(分) | 持続時間(分) | 行動の特徴            | 呼健段階 |
| MAP (6mg/kg)   | 15    | 309     | MAP (2)      | 2       | 120     | BOBBING          | 5    |
|                | 14    | 48      | APO (0.5)    | 10      | 50      | BOBBING          | 5    |
|                | 3     | 70      | NOM (5)      | 15      | 90      | BOBBING          | 5    |
|                | 7     | 274     | COC (20)     | 30      | 50      | BOBBING          | 5    |
| APO (2.5mg/kg) | 14    | 73      | APO (0.5)    | 2       | 40      | BOXING BEHAVIOR  |      |
|                | 14    | 73      | MAP (2)      | —       | —       | REARING          | 3    |
|                | 14    | 98      | NOM (5)      | 20      | 80      | BOXING BEHAVIOR  |      |
|                | 14    | 98      | COC (2)      | 20      | 80      | BOXING BEHAVIOR  |      |
| NOM (30mg/kg)  | 8     | 75      | NOM (5)      | 3       | 100     | BOBBING          | 5    |
|                | 8     | 75      | MAP (2)      | 1-2     | 100     | BOBBING          | 5    |
|                | 8     | 100     | APO (0.5)    | 10      | 45      | BOBBING, GNAWING | 6    |
|                | 8     | 100     | COC (2)      | 4       | 80      | BOBBING          | 5    |
| COC (45mg/kg)  | 14    | 15      | COC (20)     | 1-2     | 60      | BOBBING          | 4    |
|                | 14    | 25      | MAP (2)      | 15      | 65      | BOBBING          | 4    |

MAP—methamphetamine  
APO—apomorphine  
NOM—nomifensine  
COC—cocaine

\* 反復投与実験に用いたラットの体重：180-250g  
\*\* 再投与実験に用いたラットは1-10匹で、体重：250-500g

急性投与時の常同行動の差異は、おそらくその薬物の作用するDAニューロンの差を反映していると考えられる。異なったDA作動薬によって、反復投与した薬物の行動特徴が発現することは、あるDA作動薬の反復投与によって、それぞれの薬物に特徴的な常同行動の準備状態ができることを意味している。この背景には、それぞれの薬物の選択性が関与している可能性があり、作用するDAニューロン、あるいはシナプス膜の部位差などが考えられ、それに対応した生化学的変化が準備状態を形成するのであろう。

## II 研究概要

### 文 献

- 1) 西川徹, 渡部修三, 高嶋瑞夫, 融道男: 神経化学, 18: 36, 1979
- 2) Fog, R.: Psychopharmacologia (Berl.), 14: 299, 1969.
- 3) Hunt, P., Raynaud, J.P., Leven, M. and Schact, U.: Biochem. Pharmacol., 28: 2011, 1979.

## 電極式検出器付高速液体クロマトグラフィーによる脳内DOPAC, HVAの微量定量法

俣賀宣子 仙波純一 西川 徹 高嶋瑞夫 融 道男

微量脳組織中の dopamine (DA) およびその主な代謝産物である homovanillic acid (HVA), 3, 4-dihydroxy-phenylacetic acid (DOPAC) の測定は, 従来, 蛍光法, GC-MS, ラジオエンザイムアッセイなどで行われてきた。しかし, これらは誘導体化合物を作ったり, 個々に特異的な反応を行わせたりする煩雑な操作を必要とするという欠点をもつ。そこでわれわれは, 最近開発された電極式検出器を備えた高速液体クロマトグラフを用い, 特に微量定量が困難とされているHVAを中心に, 定量法を検討したので報告する。

### 実験方法

高速液体クロマトグラフ (HPLC) L-2000 型に電極式検出器 VMD-101 型を組み合わせた (柳本)。カラムは逆相イオン交換レジンを充填したヌクレオシルカラム (ケムコ) を用い, 図1に示すようなクロマト条件で, 20分以内に1サンプルを測定できるようにした。移動層は使用前に真空ポンプで脱気した。

Wistar 系雄性ラット (体重 230-270 g) を断頭し, ただちに脳をとり出し, 脳組織は 0℃以下に保たれた冷凍箱内で分割した。綿糸体, 側坐核は左半側, 嗅結節は両側を用い, これに 0.1 N perchloric acid 100  $\mu$ l, 内部標準物質として p-hydroxyphenylacetic acid (PHPA) 10  $\mu$ l を加え, sonication した後, タンパク定量用に10  $\mu$ l とり, 6500 xg 4℃で15分間遠心分離した。上清に n-heptane 100  $\mu$ l を加え脱脂肪した後 ethyl acetate 100  $\mu$ l を加え, 30分間振とうした。Ethyl acetate 層を80  $\mu$ l とり窒素ガスで乾燥させ, 残留物を移動層 40  $\mu$ l に溶かし, 10-20  $\mu$ l とって HPLC に注入した。

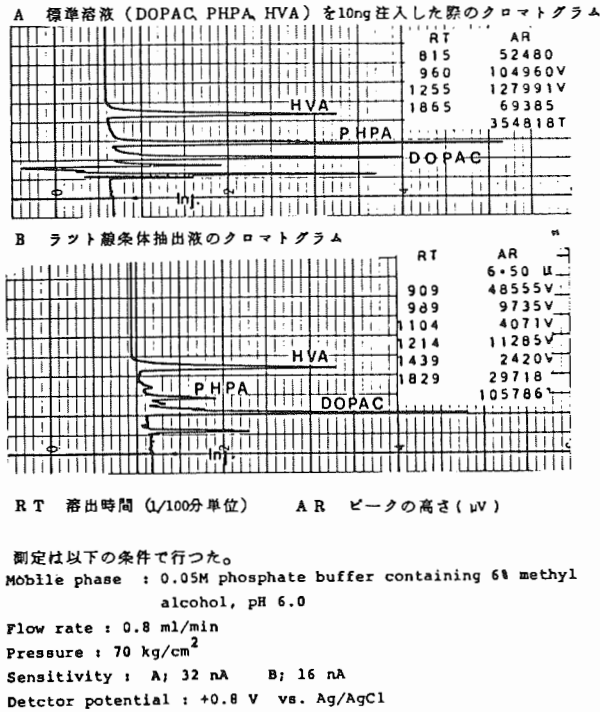


図1 DOPAC, HVAのクロマトグラム

実験結果および考察

1) 標準曲線 : DOPAC, PHPA, HVAは図2に示す範囲で直線となった。この範囲において、DOPAC, HVAとPHPAの間には相関関係があり、結果はピークの高さの比で充分求められることがわかった。

2) 分離能 : DOPAC, HVA 以外のDAおよび noradrenarine (NA) の代謝産物のピークを測定した結果、vanillylmandelic acid (VMA), 3-methoxytyramine (3MT), normetanephrine (NMN), 3-methoxy, 4-hydroxyphenylglycol (MHPG) のピークはDOPAC, PHPA, HVAそれぞれのピークと重ならないことがわかった。

3) 移動層と溶出時間 : 移動層の pH

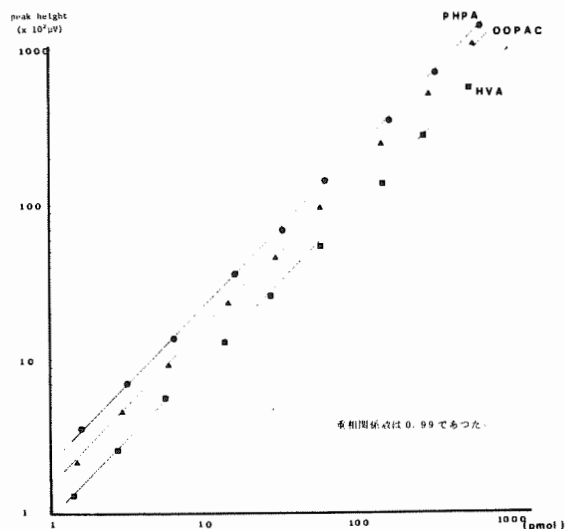


図2 HPLCによるDOPAC, HVA標準曲線

## II 研究概要

が変わると溶出時間 (R T) は変化し, pH が高くなると感度は低下した。しかし, H V A に関しては pH が低いとなかなか溶出しないため, 移動層の pH を 6.0 まで上げて測定した。

4) 回収率: Ethyl ether 抽出<sup>2)</sup>, n-butanol-heptane 抽出<sup>4)</sup>などに比べ, ethyl acetate 抽出による回収率はすぐれており (50-60%), またアルカリで逆抽出するよりも, 窒素ガスで乾燥させた方が分離能, 回収率ともによかった。

### 5) 脳組織中の DOPAC, HVA 濃度の測定

#### a) 線条体の DOPAC, HVA 濃度の温度による影響

冷凍箱内でとり出した線条体を 5 分間室温に放置したのちに抽出操作を行った群と抽出まで 0°C 以下に保った群について, DOPAC, HVA 濃度の変化を調べた結果, 濃度に有意な差はなかった (表 1-a)。

#### b) Haloperidol 急性投与の DOPAC, HVA 濃度への影響

Haloperidol 注射液を 1 mg/kg, 対照群には注射用溶液を同量, 正午前後に腹腔内投与し, 2 時間後に断頭し各部位における DOPAC, HVA 濃度を測定した。結果は表 1-b に示すように haloperidol に対する増加の程度は Hefti<sup>3)</sup> Westerink ら<sup>5)</sup> による報告と同様の傾向がみられた。

### 6) HPLC の応用

移動層の種類, Paired Ion Chromatography 試薬の量, methyl alcohol の量, pH などを選択することにより検出したい物質や R T をかなり変化させることができた。これを利用し indolamine 系の測定も行っている。又, Anton & Sayer<sup>1)</sup> のアルミナ法を微量化し, 組織量およそ 1 mg, アルミナ 5 mg, 溶液全量 60 μl という条件下で D A および N A も測定できる。

Haloperidol および vehicle は大日本製薬より供与を受けた。

## 文 献

- 1) A.H. Anton & D.F. Sayer: Journal of Pharmacology, 138: 29, 1962.
- 2) H. Corrodi & B. Werdinus: Acta Chemica Scandinavica, 19: 1854, 1965.
- 3) F. Hefti: Life Sciences, 25: 779, 1979.

表 1 温度および抗精神病剤の DOPAC, HVA 量に対する影響

a) 脳組織中の DOPAC, HVA の濃度による影響

|      | DOPAC       |            | HVA |  |
|------|-------------|------------|-----|--|
| S I  | 24.7 ± 4.0  | 11.6 ± 2.9 |     |  |
| S II | 33.0 ± 11.5 | 9.27 ± 3.1 |     |  |

mean ± S. D. n = 4 (ng/mg protein) S.I vs. S.II n.s.  
とり出した線条体を S I 群は 0°C に保存, S II 群は室温に 5 分間放置したのち, 抽出したもの

b) Haloperidol 投与における DOPAC, HVA 濃度への影響

| structure          | drug        | DOPAC                   |                     | I of control | HVA                     |                     | I of control |
|--------------------|-------------|-------------------------|---------------------|--------------|-------------------------|---------------------|--------------|
|                    |             | ng/mg of protein ± S.D. | p value vs. control |              | ng/mg of protein ± S.D. | p value vs. control |              |
| striatum           | control     | 22.0 ± 3.6              |                     |              | 14.2 ± 2.3              |                     |              |
|                    | haloperidol | 60.2 ± 11.6             | 0.001               | 273.6        | 54.1 ± 7.1              | 0.0001              | 380.9        |
| n. accumbens       | control     | 35.1 ± 3.9              |                     |              | 14.4 ± 2.0              |                     |              |
|                    | haloperidol | 77.9 ± 4.6              | 0.0001              | 221.9        | 47.9 ± 3.8              | 0.0001              | 332.6        |
| olfactory tubercle | control     | 16.1 ± 2.3              |                     |              | 7.04 ± 2.2              |                     |              |
|                    | haloperidol | 24.4 ± 9.0              | n.s.                | 151.6        | 16.7 ± 4.2              | 0.005               | 237.2        |



- 4) S. Sasa & C.L. Blank: *Analytica Chimica Acta*, 104: 29, 1979.  
 5) B.H. Westerink & J. Korf: *European Journal of Pharmacology*, 38: 281, 1976.

### 視交叉上核, 縫線核, 青斑核の神経伝達物質リズム

仙波純一 俣賀宣子 融 道男

われわれは, 睡眠覚醒の発現機序を生化学的に検索するために, まず serotonin (5HT) 作動性ニューロンである縫線核, noradrenaline (NA) 作動性ニューロンである青斑核, およびげっ歯類で睡眠覚醒を含めた各種生体リズムのペースメーカーとされている視交叉上核での 5HT, NA 量の日内変動を測定した。

#### 方 法

Wistar 系雄性ラットをLD条件下(7:00-19:00 明期, 照度 150 lx) で3週間以上飼育し, 朝10時から4時間ごとに断頭して脳を取出した。背側・正中縫線核, 青斑核, 視交叉上核は, Parkovitz<sup>1)</sup>の方法により, 250 μm の凍結脳切片から内径 0.5 mm のパイプでパンチした。パンチした組織は2匹ずつプールし, NAと5HTの定量は電極式検出器付きの高速液体クロマトグラフィーによって行なった<sup>2)</sup>。

#### 結 果 (図1)

背側・正中縫線核では, いずれも5HTの有意な変動はみられなかったが, やや明期に高値を示す傾向が示された。両部位でのNAは有意な変動を示さなかった。また, 青斑核のNA, 5HTとも有意な変動は見られなかった。しかし, 視交叉上核のNAに関しては, 明期前半に高値となる日内変動がみられた。

#### 考 察

睡眠覚醒に関して, 青斑核・縫線核の細胞活動が変化するという生理学的研究は数多いが, その反面, 生化学的研究に関しては報告が少ない。今回のわれわれの測定では, 青斑核・縫線核で5HT, NAとも有意な日内変動を示さなかった。しかし, 細胞の電気活動に関しては, 両者とも覚醒時に discharge が上昇するという報告が多い。amine 量の変動と神経細胞の活動を直接に関係づけることはむずかしく, むしろ代謝産物や合成酵素活性の変化を含めた amine 代謝の変化を

## II 研究概要

検討する必要があると思われる。一方、視交叉上核でみられたNAの変動は、この部位の電気活動が抑制性の神経伝達であることが示唆されているので、<sup>3)</sup> 抑制性伝達物質として働くことの多いNAが、生体リズムの発現に何らかの働きをしていることが考えられる。

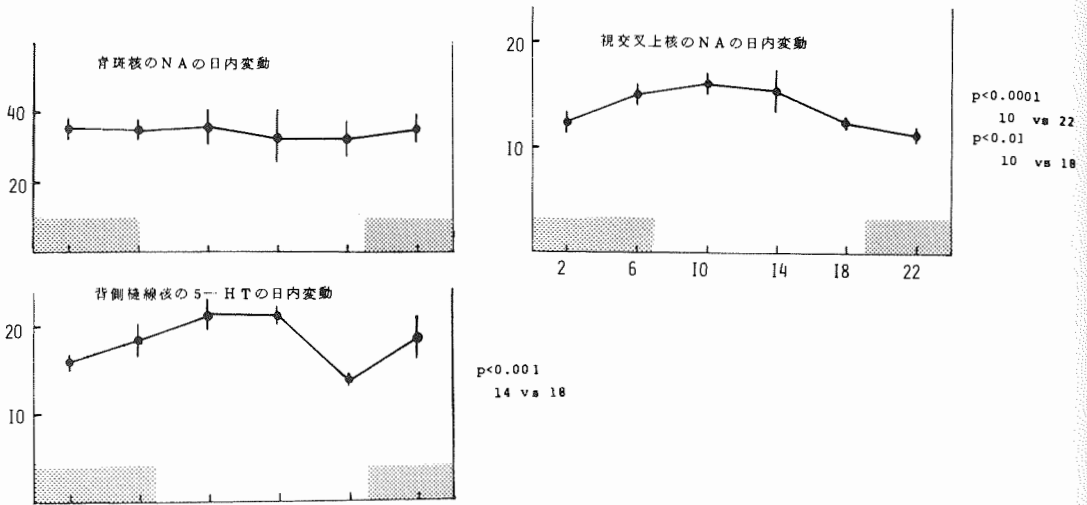


図1 青斑核、縫線核、視交叉上核の monoamine の日内変動

## 文献

- 1) Palkovitz, M.: Brain Res., 59: 449, 1973.
- 2) 俣賀ら：本報告書
- 3) Inouye, S.T. and Kawamura, H.: Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 76: 5962, 1979.

## ストレス負荷ラットの下垂体 $\beta$ -Endorphin の変動

渋谷治男 融 道男

Morphine 様生理作用を持つペプチド  $\beta$ -endorphin ( $\beta$ -lipotropin 61-91) は脳では視床下部・中隔領域・視床などに比較的多く分布するが下垂体に圧倒的に多い。<sup>1)</sup> とりわけ中間部に多く、次に前葉であり、神経葉にはほとんど存在しないことが免疫組織学的にも確認されている。 $\beta$ -Endorphin の標的臓器や生体内での役割などについては不明な点が多いが、強い鎮痛作用やラット脳室内への微量投与でカタトニーを起し、肥満動物で下垂体および血液の  $\beta$ -endorphin が増加していることが知られている。<sup>2)</sup>  $\beta$ -Endorphin と ACTH は共に下垂体中間部で共通の

前駆物質から作られると推察され、かつ下垂体の同一細胞中に共存する。また、ストレスを荷したラットの血液中  $\beta$ -endorphin と ACTH は時間的にも量的にも平行して変化する<sup>3)</sup> など、両者の密接な関係が示されている。今回、ラットに急性・慢性ストレスを荷し下垂体  $\beta$ -endorphin の変動を検討した。

### 実験方法

Wistar 系雄性ラット（体重 200–250 g）を使用。急性電気ストレスとして Skinner 箱を用い 3 mA 3 秒間のフットショックを 15 秒間に 1 回の頻度で 2 分間、5 分間、10 分間、30 分間与え、ストレス直後あるいは 30 分間ストレス負荷後 1.5 時間の休息を与えた後断頭し、下垂体を取り出した。慢性電気ストレスとして 1.4 mA 3 秒間の電気刺激を同様の頻度で毎日一定時刻に 1 時間、7 日間にわたって与え、最後の刺激の 24 時間後に断頭した。隔離ストレスラットは 1 ケージに 1 匹ずつを視覚的に他のラットと隔離した環境で 4 週間飼育した。対照として 1 ケージに 5 匹入れて飼育したラットを使用した。下垂体は 2N 酢酸中で 15 分間煮沸後 endorphin を抽出、凍結乾燥後 ラジオイムノアッセイで  $\beta$ -endorphin を測定した<sup>4)</sup>

### 結果および考察

対照ラットの下垂体  $\beta$ -endorphin は  $285.9 \pm 10.0$  pmoles/mg protein,  $398.9 \pm 44.9$  pmoles/a pituitary ( $n = 4$ ) であった。急性電気ストレス負荷ラットの単位蛋白量あたりの  $\beta$ -endorphin は 2 分間、5 分間の電気刺激でやや増加する傾向があったが、10 分間の刺激で対照の約 63% に有意に減少した ( $P < 0.0005$ )。30 分間の刺激でも同様に低下し、30 分間刺激後 1.5 時間の休息を与えると  $\beta$ -endorphin レベルは回復の傾向はあったが、なお対照の 74% と有意に低下していた ( $P < 0.005$ )。慢性電気ストレスを荷したラットの下垂体  $\beta$ -endorphin 量は対照との間に差がなかった。4 週間の隔離ラットの下垂体  $\beta$ -endorphin 総量は対照ラットの 78% であり、5% の危険率で有意に減少していた ( $n = 16$ )。

下垂体には少量の enkephalin, 大量の ACTH が含まれるが、使用した抗血清は methionine-enkephalin, leucine-enkephalin, ACTH に交叉感受性を示さず、 $\beta$ -lipotropin<sub>1-91</sub> と 10% の交叉反応を示すが、今回測定した endorphin は大部分  $\beta$ -endorphin と考えられる。急性電気ストレス負荷が示すように、下垂体の  $\beta$ -endorphin はストレスに対応し単位の迅速な変化を示す。1 週間にわたり電気ストレスを荷し、ストレス解除 24 時間後には下垂体  $\beta$ -endorphin 量に変動を認めなかったことは、慢性ストレスでも長時間その影響を下垂体  $\beta$ -endorphin に残さないことを意味する。非痛覚刺激である隔離が痛覚刺激同様  $\beta$ -endorphin を減少させていることは興味深い。下垂体前葉を  $\beta$ -endorphin の貯蔵部位、中間部を生合成部位と仮定すれ

## II 研究概要

ば、生理的条件下で各部位の  $\beta$ -endorphin は別個に増減している可能性が強く、現在下垂体を各部位に分けて endorphin レベルを検索している。

### 文 献

- 1) Rossier, J., Vargo, T.M., Minick, S., Ling, N., Bloom, F.E., Guillemin, R.: Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 74: 5162, 1977.
- 2) Margules, D.L., Moisset, B., Lewis, M.J., Shibuya, H., Pert, C.B.: Science, 202: 988-911, 1978.
- 3) Guillemin, R., Vargo, T., Rossier, J., Minick, S., Ling, N., River, C., Vale, W., Bloom, F.: Science, 197: 1367, 1977.
- 4) 渋谷治男：お茶の水医誌, 28: 69, 1980

## 5. 疾病研究第4部

### 1. 研究部1年の歩み

疾病研究第4部は脊髄小脳変性症、運動ニューロン疾患、錐体外路系変性疾患などの神経系変性疾患の病態と治療についての研究をテーマとした研究部門である。この1年間の研究概要を5つの分節に分けて整理してみた。

#### (1) 神経病理学的研究

向山昌邦（室長・神経筋病棟医長）と昭和54年10月より寺本 純（流動研究員—旧名大第一内科）が主にこの分野の研究に従事している。

脊髄小脳変性症のモデル実験動物としての Rolling Mouse Nagoya (RMN) の病理にひきつづき、cytosine arabinoside 投与による運動失調マウスおよび 3 acetyl-pyridine 投与による運動失調ラットを作製し、その病理学的研究を行い、ことに小脳病変の詳細について検索を進めてきた。

末梢神経障害についても内分泌代謝疾患に伴う病変、癲に伴う病変について研究を行い、末梢神経損傷からの再生過程の形態学的研究も行っている。

ほかに、人間の剖検脳についても progressive subcortical gliosis, multi-systemic degeneration, 人工透析患者の脳などの検索に当たった。

#### (2) 神経生理学的研究

真野行生（室長）、豊島英徳（流動研究員）、松井京子（非常勤研究員）がこの分野の研究を担当している。

RMNの電気生理学的検索で末梢神経および筋には障害のないことを明らかにし、中枢性統御系の障害を推測したが、このような小動物の運動障害のあり方を客観的に把握するため、ANIMEX IIを用いて、各種の運動失調モデルマウスの運動スペクトル分析を行ってきた。正常マウスに比し、RMNの運動スペクトルには特徴がみられたが、さらに、脊髄小脳変性症に対する臨床効果が注目されている TRH とその類似体である DN1417 を RMN に投与して、運動スペクトルへの影響を検討した。

臨床例についても電気生理学的手法により安静時と視運動刺激時の脊髄小脳変性症の立位能、脊髄小脳変性症、パーキンソニズム、Duchenne 型筋ジストロフィー症などの傾斜反応、表面筋電図による小脳性失調の上肢の運動分析、運動ニューロン疾患の脊髄内制御機構の検索などについて研究を行った。

## II 研究概要

### (3) 神経生化学的研究

安藤一也（部長），村本 治（神経筋病棟医，研究生）がこの分野の研究に当り，RMNのホモ，ヘテロおよび正常の littermate の脳の各部位におけるアミノ酸分析，substance P，choline acetyltransferase，glutamic acid decarboxylase，tyrosine hydroxylase 活性を測定し，ホモ（発症マウス）では小脳を中心に幾つかの伝達物質に異常のみられることを明らかにした。この研究にあたり，substance P の測定については筑波大神経内科金沢助教授の御援助をえた。

### (4) 細胞膜の物理化学的研究

吉田瑞子（研究員）は Duchenne 型筋ジストロフィー症の細胞膜の物理化学的研究として，走査電子顕微鏡により赤血球膜の形態について研究し，正常対照者と差はないが，経時的にみると外部環境条件の影響を受け易く，とくに  $Ca^{++}$  を含む磷酸緩衝食塩水中では経時的に変形を生じ易いことを明らかにした。

### (5) 臨床的研究

県立多治見病院神経内科との共同研究による“内科領域での治療薬による Parkinsonism”，“rigid-akinetic Parkinsonism の臨床鑑別”，“Parkinsonism のCT所見と知能障害”，“脳卒中のリハビリテーションにおける知覚障害の評価”，“各種振戦の病態に関する研究”（安藤），都立松沢病院との共同研究による“初老期および老年期痴呆に対するフィゾスチグミン内服療法の効果”（村本，向山，安藤），名大一内および理学療法部との共同研究による“スモンおよび脊髄小脳変性症の弾力帯緊縛による立位・歩行機能への影響”，大同病院と共同研究による“eye cameraによる各種神経疾患の歩行時の視線の動き”（真野），国立療養所鈴鹿病院，長良病院，東埼玉病院との共同研究による“Duchenne 型筋ジストロフィー症の歩行分析”（真野，豊島），市立四日市病院内科との共同研究による“肝性脳症のCT所見”（寺本），国立病院・療養所15施設とのプロジェクト研究による“スモンの現状調査”（安藤）などの研究を行った。

なおこの1年間に併任研究員として間野忠明助教授（浜松医大生理），飯田光男講師（名大1内）に電気生理学の分野で御協力，御助言を載いた。また，RMNの供給と飼育について亀山義郎教授，織田洗一先生（名大環研）に，生化学の分野では永津俊治教授（東工大大学院生命化学），金沢一郎助教授（筑波大神経内科）に御援助と御助言を載いた。

（部長 安藤一也）

## 2. 研究業績

### A 論文

#### a 原著

- 1) 安藤一也、印東利勝：  
Metoclopramide による Parkinsonism.  
総合臨床, 28 : 889, 1979
- 2) 印東利勝, 安藤一也：  
過換気症候群の症候発現への  $\beta$  受容体の役割.  
心身医学, 19 : 309, 1979
- 3) 安藤一也, 印東利勝：  
Parkinson 病とその他の Parkinsonism の C T 所見および知的機能の比較検討.  
厚生省特定疾患・異常運動疾患調査研究班昭和53年度研究報告書, 1979, P. 165
- 4) 安藤一也, 印東利勝：  
知覚障害—脳卒中のリハビリテーションにおける機能障害の評価—.  
リハビリテーション医学, 16 : 249, 1979
- 5) 安藤一也, 真野行生, 今枝 桂, 林 満彦, 川端健市：  
小脳性失調に対する弾力包帯緊縛の影響.  
厚生省特定疾患・神経筋疾患のリハビリテーションに関する研究, 昭和53年度実績報告書,  
1979, P. 122
- 6) 安藤一也, 祖父江逸郎, 池田久男, 大谷元彦, 中江公裕, 豊倉康夫：  
若年発症スモンに関する研究 (プロジェクト研究).  
厚生省特定疾患・スモン調査研究班昭和53年度研究業績, 1979, P. 27
- 7) 印東利勝, 安藤一也：  
Parkinsonism に於ける側彎について.  
臨床神経, 20 : 40, 1980
- 8) 向山昌邦, 佐々木紀典：  
らの末梢神経障害の病理組織学的研究, 剖検症例について.  
脳と神経, 31 : 403, 1979

## II 研究概要

- 9) Mukoyama, M., Sobue, I., Kumagai, T., Negoro, T. & Iwase, K.:  
The brain pathology in Fukuyama type congenital muscular dystrophy – CT and autopsy findings – .  
Jap. J. Med., 18: 218, 1979
- 10) Mukoyama, M., Sobue, I., Kumagai, T., Neogoro, T. & Iwase, K.:  
Fukuyama type congenital muscular dystrophy: Autopsied brain and computed tomography.  
The Proceedings of the Annual Meeting of Muscular Dystrophy Research Group. 1977. p. 102, 1979
- 11) 向山昌邦, 佐々木紀典:  
らいの末梢神経障害の病理学的研究—Morphometry と nerve teasing study による検索—.  
厚生省医療研究助成・らい神経病変研究班昭和53年度報告書, 1979, P. 61
- 12) 向山昌邦, 真野行生, 安藤一也, 河野慶三, 祖父江逸郎:  
Duchenne 型 PMD 保因者骨格筋の病理組織学的研究.  
厚生省神経疾患研究委託費・筋ジストロフィー症の臨床病態および疫学的研究班昭和53年度研究成果報告書, 1979, P. 243
- 13) 向山昌邦, 安藤一也, 真野行生, 横山基子, 深津 要, 河野慶三, 谷村英彦, 祖父江逸郎, 林活次:  
Duchenne 型筋ジストロフィー症剖検例の心臓病変に関する研究—心電図所見との対比—.  
厚生省神経疾患研究委託費・筋ジストロフィー症の臨床病態および疫学的研究班昭和53年度研究成果報告書, 1979, P. 294
- 14) 高柳哲也, 祖父江逸郎, 飯田光男, 高橋 昭, 向山昌邦, 室賀辰夫, 松岡幸彦, 加藤寿雄, 真野行生ほか:  
PMD ( Duchenne ) の経過からみた ADL と障害度.  
厚生省神経疾患研究委託費・筋ジストロフィー症の臨床病態および疫学的研究班昭和53年度研究成果報告書, 1979, P. 83
- 15) 高柳哲也, 水野恵介, 祖父江逸郎, 飯田光男, 高橋 昭, 向山昌邦, 室賀辰夫, 松岡幸彦, 加藤寿雄, 真野行生ほか:  
PMD ( L-G type と F S H type ) の型別単一性に関する検討.  
厚生省神経疾患研究委託費・筋ジストロフィー症の臨床病態および疫学的研究班昭和53年度



研究成果報告書, 1979, P. 55

- 16) 桧沢一夫, 篠田 実, 河野七郎, 小清水忠夫, 向山昌邦, 高柳哲也, 林 活次:  
生検骨格筋の同一ブロックから組織学および組織化学的観察を行う方法の検討.  
厚生省神経疾患研究委託費・筋ジストロフィー症の臨床病態および疫学的研究班昭和53年度  
研究成果報告書, 1979, P. 20
- 17) 飯田光男, 足立皓岑, 祖父江逸郎, 向山昌邦:  
Duchenne dystrophy の赤血球膜における $K^+$ 動態.  
厚生省神経疾患研究委託費・筋ジストロフィー症の病因に関する臨床的研究班昭和53年度研  
究成果報告書, 1979, P. 155
- 18) Sobue, I., Adachi, K., Mukoyama, M., Muroga, T. & Konagaya, M.:  
Changes in lipid microviscosity of erythrocyte membranes in progressive muscular dystrophy.  
The Proceedings of the Annual Meeting of Muscular Dystrophy Research Group (1977).  
p. 138, 1979
- 19) Mano, Y., Mano, K., Mayer, P.F., Deshpande, S.S. and Albuquerque, E.X.:  
The effect of paraplegia produced by intrathecal 6-amino-nicotinamide on motor units in the  
rat.  
Exp. Neurol., 65: 435, 1979
- 20) Mano, Y., Sobue, I.:  
Postural disturbance induced by optokinetic visual stimulation in spinocerebellar degeneration.  
Acta Neurol. Scand. suppl. 60: 104, 1979.
- 21) Mano, Y.:  
The postural effect of optokinetic stimulation in normal and spinocerebellar degeneration.  
Aggressologie, 20c: 225, 1979
- 22) Mano, Y., Yamamoto, H., Konagaya, M., Muroga, T., Hayashi, M. and Sobue, I.:  
Postural disturbance and its regulation in SCD: Relation to optokinetic visual stimulation.  
Spinocerebellar Degeneration, University of Tokyo Press, Tokyo, p. 275
- 23) 林 満彦, 奥田富雄, 高瀬弘司, 吉田和昭, 今枝 桂, 石神竜代, 川端健一, 真野行生:  
小脳性運動失調の重心動揺に対する弾力包帯の効果について.

## II 研究概要

理療, 9 : 238, 1980

- 24) 真野行生, 豊島英徳, 向山昌邦, 安藤一也, 河野慶三, 桑原英明, 野々垣嘉男, 祖父江逸郎 :  
Duchenne 型筋ジストロフィー症の歩行能・立位能について.  
厚生省神経疾患研究委託費・筋ジストロフィー症の臨床病態および疫学的研究班昭和53年度  
研究成果報告書, 1979, P. 77
- 25) 真野行生 :  
安静時および視運動刺激時における脊髄小脳変性症の立位能について.  
名古屋医学, 102 : 179, 1980
- 26) 吉田瑞子, 岩崎祐三, 安藤一也 :  
筋ジストロフィー症の細胞膜の物理化学的研究, I. 赤血球の形態.  
厚生省神経疾患研究委託費・筋ジストロフィー症の病因に関する臨床的研究, 昭和53年度研  
究報告書, 1979, P. 151
- 27) Muramoto, O., Sugishita, M., Sugita, H. and Toyokura, Y.:  
Effect of physostigmine on constructional memory tasks in Alzheimer's disease.  
Arch. Neurol., 36: 501, 1979
- 28) Kanazawa, I., Mogaki, S., Muramoto, O. and Kuzuhara, S.:  
On the origin of substance P-containing fibres in the entopeduncular nucleus and the substan-  
tia nigra of the rat.  
Brain Res., 184: 481, 1980
- b 著 書
- 1) 安藤一也 :  
パーキンソン病とパーキンソン症候群. チック. 脊髄炎. ギラン-バレー症候群. Fisher 症候群.  
神経病学 (祖父江逸郎, 椿 忠雄, 里吉宮二郎編), 金原出版, 東京, 1979, P. 248,  
289, 460, 559, 561
- 2) 安藤一也 :  
知覚障害.  
内科セミナー, P N 1, 神経学的診断法, 永井書店, 大阪, 1979, P. 115

- 3) 安藤一也：  
代謝，栄養障害による脳疾患。  
分冊内科学 8，「神経疾患」（亀山正邦編），南江堂，東京，1979，P. 391
- 4) 安藤一也：  
筋収縮性頭痛。  
頭痛（加瀬正夫，喜多村孝一，黒岩義五郎編），頭痛懇談会編，1979，P. 29
- 5) 安藤一也：  
アレルギー性頭痛。  
680 専門家による「私の治療」（大淵堂敬，阿部恒男編），日本医事新報，  
東京，1980，P. 584
- 6) 向山昌邦：  
ハンチントン舞踏病。  
神経病学（祖父江逸郎，椿 忠雄，里吉宮二郎編），金原出版，東京，1979，P. 266
- 7) Kanazawa, I., Bird, E.D., Gale, J.S., Iversen, L.L., Jessell, T.M., Muramoto, O., Spokes, E.G.,  
and Sutoo, D.:  
Substance P: Decrease in substantia nigra and globus pallidus in Huntington's disease.  
Advances in Neurology, vol. 23, Raven Press, N.Y., 1979, p. 495.

c 綜 説

- 1) 安藤一也：  
神経痛—脳神経領域—。  
Geriat. Med., 17 : 691, 1979
- 2) 安藤一也：  
SMON 治療法の現状。  
臨床麻酔，3 : 773, 1979
- 3) 安藤一也：  
Foville 症候群。  
現代医療，11 : 727, 1979
- 4) 安藤一也：

## II 研究概要

痙攣.

臨床医, 5 : 94, 1979

5) 安藤一也 :

私のパーキンソン病治療の実際.

クリニカ, 6 : 45, 1979

6) 安藤一也 :

過換気症候群の発現機序.

総合臨床, 28 : 1843, 1979

7) 安藤一也 :

頭痛.

臨床医, 5 : 1642, 1979

8) 安藤一也 :

神経精神疾患の生物学的基礎 II. パーキンソン病.

神経精神薬理, 1 : 325, 1979

9) 安藤一也 :

頭痛 (片頭痛と緊張性頭痛).

治療, 62 : 170, 1980

10) 安藤一也 :

早期・予後・診断基準. 運動ニューロン疾患

総合臨床, 29 増刊 : 382, 1980

11) 向山昌邦, 里吉宮二郎 :

パーキンソン病.

診断と治療, 68 : 94, 1980

12) 里吉宮二郎, 村本 治 :

ニューロパチーの治療.

臨牀と研究, 56 : 1424, 1979

13) 里吉宮二郎, 村本 治 :

神経精神疾患の生物学的基礎 II. ミオクローヌス,  
神経精神薬理, 1 : 291, 1979

d 症例報告

- 1) 向山昌邦, 真野行生, 山本紘子, 河野慶三, 祖父江逸郎:  
顔面肩甲上腕型筋障害分布を示した polymyositis の 2 症例,  
神経内科, 10 : 360, 1979

e その他

- 1) 安藤一也:  
振戦に対する  $\beta$  ブロッカーの応用の現状と作用機序,  
アドビオール振戦談話会講演集, 1979, P. 2
- 2) 加知輝彦, 安藤一也:  
振戦に対するアドビオールの使用経験,  
アドビオール振戦談話会講演集, 1979, P. 31
- 3) 安藤一也, 他:  
患者のみかた (座談会).  
臨床医, 5 : 1748, 1979
- 4) 安藤一也:  
新しいドパ・エコノマイザー (D I C) 療法の留意点,  
メディカルダイジェスト特集, 1979, P. 30
- 5) 安藤一也:  
Parkinson病,  
PTM, 10 (8) jan., 1980
- 6) 安藤一也:  
パーキンソン病の医療相談に答える(1).  
全国パーキンソン病友の会々報 No 10, 1980, P. 7
- 7) 安藤一也:  
変性疾患と筋緊張異常,  
痙性麻痺一診療の実際一, Ciba, 1980, P. 19

## II 研究概要

8) 安藤一也, 他:

座談会「頭痛」.

Medical News No 225, 1980, P. 2

9) 真野行生:

平衡障害の臨床神経生理学的分析.

東海めまい平衡障害懇話会講演集, 1979, P. 64

10) 村本 治:

抗コリンエステラーゼ剤による痴呆の治療 (letters to the editor).

神経内科, 12: 101, 1980

### B 学会発表 (1979. 4 ~ 1980. 3)

a シンポジウム

1) 安藤一也, 印東利勝:

知覚障害 (脳卒中のリハビリテーションにおける機能障害の評価).

第16回日本リハビリテーション医学会総会, 東京, 5, 11, 1979 (リハ医学, 16:249)

b 国際学会

1) Mukoyama, M. & Kohno, K.:

Pathology of the heart in Duchenne type muscular dystrophy – Comparison with ECG findings.  
Second International Child Neurology Congress. Sydney, November, 1979.

(Abstract of the Second International Child Neurology Congress,  
1979. p. 158)

2) Mano, Y.:

The postural effect of optokinetic stimulation in normal and spinocerebellar degeneration.  
Fifth International Symposium on Posturography, June 19, 1979. Amsterdam, Holland, (Program & Abstracts of Fifth International Symposium on Posturography: 20, 1979)

3) Mano, Y., Söbue, I.:

Postural Disturbance induced by Optokinetic Visual Stimulation in Spinocerebellar Degeneration.

Sixth International Congress of Electromyography, June 17, 1979. Stockholm, Sweden.

## c 一般演題

- 1) 加知輝彦, 印東利勝, 安藤一也 :  
本態性振戦症の臨床生理学的研究.  
第20回日本神経学会総会, 東京, 5.10, 1979 (臨床神経, 19 : 914)
- 2) 印東利勝, 安藤一也 :  
Metoclopramide induced Parkinsonism の臨床特徴.  
第34回日本神経学会東海北陸地方会, 名古屋, 6.16, 1979 (臨床神経, 20 : 55)
- 3) 加知輝彦, 印東利勝, 安藤一也 :  
神経症, 抑うつ症にみられる振戦の臨床生理学的研究.  
第20回日本心身医学会総会, 東京, 7.14, 1979 (心身医学, 19 抄録号 : 54)
- 4) 印東利勝, 安藤一也 :  
Rigido - akinetic Parkinsonism の鑑別診断.  
第35回日本神経学会東海北陸地方会, 名古屋, 11.24, 1979
- 5) 足立皓岑, 小長谷正明, 室賀辰夫, 飯田光男, 祖父江逸郎, 向山昌邦 :  
Duchenne dystrophy 患者の赤血球膜におけるカリウムイオン動態の変化.  
第20回日本神経学会総会, 東京, 5.9 ~ 11, 1979 (臨床神経, 19 : 907)
- 6) 村上信之, 祖父江逸郎, Chen, K-M., Gajdusek, D. C., 向山昌邦 :  
グアムにおける脊髄小脳変性症とその剖検例について.  
第20回日本神経病理学会総会, 前橋, 5.23 ~ 25, 1979
- 7) 向山昌邦, 村本 治, 真野行生, 安藤一也, 安藤 丞, 祖父江逸郎, 飯田光男, 高柳哲也, 岩瀬正次 :  
Huntington 舞蹈病の神経病理学的研究. (1) Common form と rigid form との比較. (2) CT像との関連.  
日本神経病理学会Huntington 舞蹈病ワークショップ, 京都, 7.13, 1979
- 8) 浜口吉克, 岡本 進, 山田堅一, 向山昌邦, 原 一夫 :  
後頭蓋窩腫瘍様症状を呈した巨大椎骨脳底動脈瘤の1例.  
第35回日本神経学会東海北陸地方会, 名古屋, 11.24, 1979
- 9) 臼井康臣, 新美藤昭, 藤井英樹, 木下肇彦, 向山昌邦 :

## II 研究概要

胸腺剔除後一過性寛解をみた全身性エリトマトーデスと重症筋無力症の合併した1例。  
第36回日本神経学会東海北陸地方会，名古屋，3.1，1980

10) 真野行生，安藤一也，吉田尚美：

神経疾患歩行時におけるEye Cameraによる分析。

第34回国立病院・療養所総合医学会，仙台，10.24，1979，(医療，33：215)

11) 真野行生，祖父江逸郎：

視運動刺激時における脊髄小脳変性症の立位能について。

第20回日本神経学会総会，東京，5.10，1979 (臨床神経，19：948)

12) 吉田尚美，加藤芳郎，吉見正雄，川端義光，柴田 秀，志野友義，真野行生，山本紘子，小長谷正明：

アイカメラによる歩行能の分析I。

第16回日本リハビリテーション医学会総会，東京，5.11，1979 (リハ医学，17：37)

13) 真野行生，豊島英徳：

Duchenne型筋ジストロフィー症の立位能について。

第9回日本脳波節電図学会学術大会，東京，12.5，1979 (脳波と筋電図8：76)

14) 真野行生，吉田尚美，山本紘子，小長谷正明，祖父江逸郎：

失調症歩行時の視覚-運動系について。

第36回日本神経学会東海北陸地方会，長久手，3.1，1980，

15) 真野行生，村上信之，祖父江逸郎，間野忠明：

弾力帯緊縛が歩行・立位障害に著効を示した多発性硬化症。

第36回日本神経学会東海北陸地方会，長久手，3.1，1980

16) 市村貴美子，真野行生，加藤芳郎，吉川公章：

失外套症候群の一例で観察された腹部-腕反射について。

第36回日本神経学会東海北陸地方会，長久手，3.1，1980

17) 吉田和昭，奥田富雄，高瀬弘司，今枝 桂，林 満彦，石神竜代，川端健一，真野行生：

弾力包帯により著明な歩行能の改善をみた一例。

第28回日本理学療法学会，鳥取，5.26，1979



- 18) 林 満彦, 奥田富雄, 高瀬弘司, 吉田和昭, 今枝 桂, 石神竜代, 川端健一, 真野行生 :  
小脳性運動失調の重心動揺に対する弾力包帯の効果について.  
第28回日本理学療法学会, 鳥取, 5.26, 1979
- 19) 村本 治, 桜川宣男, 埜中征哉, 有馬正高, 里吉宮二郎 :  
侏儒, 精薄, 特異な顔貌を主徴とする家系の一例に見られた進行性ミオパチー.  
第20回日本神経学会総会, 東京, 5.10, 1979 (臨床神経, 19 : 915)
- 20) 金沢一郎, 村本 治 :  
ハンチントン舞蹈病脳の大脳基底核におけるP物質の分布—特に淡蒼球内節での減少について.  
第20回日本神経学会総会, 東京, 5.10, 1979 (臨床神経, 19 : 915)
- 21) 村本 治, 向山昌邦, 宮川民平, 安藤 丞, 水島節雄 :  
臨床的に初老期痴呆と典型的ALS症状を呈し, 剖検にて progressive subcortical gliosis (Neumann) と思われた1例.  
第69回日本神経学会関東地方会, 東京, 6.9, 1979 (臨床神経 20 : 127)
- 22) 村本 治, 真野行生, 埜中征哉, 安藤一也, 里吉宮二郎 :  
1歳未満で発症し, 思春期以後進行性経過をとる小脳失調症の2成人例.  
第71回日本神経学会関東地方会, 東京, 12.1, 1979
- 23) 春原経彦, 向山昌邦, 村本 治, 里吉宮二郎, 中島康次 :  
脳血管障害後に見られた幻視の1例.  
第72回日本神経学会関東地方会, 東京, 2.23, 1980
- 24) 寺本 純, 村上信之, 向井栄一郎, 祖父江逸郎 :  
Parainfluenza II型血清抗体価上昇を伴った両側性顔面神経麻痺.  
第35回日本神経学会東海北陸地方会, 名古屋, 11.24, 1979
- 25) 衣斐 達, 古閑 寛, 寺本 純 :  
人工透析と神経障害(第1報)透析患者のCT所見.  
第35回日本神経学会東海北陸地方会, 名古屋, 11.24, 1979
- 26) 寺本 純, 向山昌邦, 安藤一也, 衣斐 達, 古閑 寛 :  
人工透析と神経障害(第2報)長期透析患者の1剖検脳所見.  
第36回日本神経学会東海北陸地方会, 長久手, 3.1, 1980

## II 研究概要

### 27) 豊島英徳, 真野行生 :

運動失調マウス — Rolling Mouse Nagoya—の末梢神経・筋機能に対する電気生理学的検討.

第9回日本脳波・筋電図学会, 東京12.5~7, 1979 (脳波と筋電図, 8: 62)

## C 班 会 議

### 1) 安藤一也, 印東利勝 :

内科領域の治療薬による薬物性パーキンソニズムの臨床特徴.

厚生省特定疾患・変性性神経疾患調査研究班, 昭和54年度研究報告総会, 東京, 1.25, 1980

### 2) 安藤一也, 村本 治 :

Rolling Mouse Nagoyaの脳内神経伝達物質.

厚生省特定疾患・脊髄小脳変性症調査研究班, 昭和54年度総会, 東京, 2.2, 1980

### 3) 安藤一也, 村本 治, 向山昌邦, 長尾佳子 :

初老期および老年期痴呆に対するフィゾスチグミン療法.

厚生省神経疾患・老年期脳障害調査研究班, 昭和54年度研究報告総会, 東京, 2.15, 1980

### 4) 安藤一也, 真野行生, 豊島英徳, 松井京子 :

運動失調の電気生理学的研究—上肢の運動分析—.

厚生省特定疾患リハビリテーション調査研究班・昭和54年度第2回総会, 東京, 2.22, 1980

### 5) 安藤一也, 真野行生, 豊島英徳, 松井京子, 寺本 純 :

Rolling Mouse Nagoyaに対するTRH-TおよびDN-1417の影響—ANIMEXによる運動分析より—.

脊髄小脳変性症治療剤開発研究班・昭和54年度総会, 東京, 3.15, 1980

### 6) 酒井晴忠, 安藤一也 :

脊髄小脳変性症の薬効評価法としての閉眼点打ち法.

脊髄小脳変性症治療剤開発研究班・昭和54年度総会, 東京, 3.15, 1980

### 7) 酒井晴忠, 安藤一也 :

脊髄小脳変性症に対するTRH療法とカテコールアミン代謝。

脊髄小脳変性症治療剤開発研究班・昭和54年度総会，東京，3.15，1980

- 8) 安藤一也，佐藤 哲，山本耕平，西谷 裕，谷口和寛，越島新三郎，渋谷統寿：  
スモン患者の現状調査（プロジェクト研究）。  
昭和54年度厚生省特定疾患スモン調査研究会会議，東京，3.21，1980
- 9) 飯田光男，祖父江逸郎，安藤一也，真野行生，間野忠明：  
最近におけるSMON患者の異常知覚の実態。  
昭和54年度厚生省特定疾患スモン調査研究会会議，東京，3.21，1980
- 10) 塚越 広，椿 忠雄，黒岩義五郎，豊倉康夫，井形昭弘，安藤一也，越島新三郎：  
加齢とスモン—老年スモンと青壮年スモンの比較（プロジェクト研究）。  
昭和54年度厚生省特定疾患スモン調査研究会会議，東京，3.21，1980
- 11) 向山昌邦，高田邦安，東条 恵，埜中征哉，祖父江逸郎，若山吉弘，河野慶三：  
F S H型筋障害分布を示す神経筋疾患。  
厚生省神経疾患・昭和54年度筋ジストロフィー症の臨床病態および疫学的研究会会議，  
東京，12.6～7，1979
- 12) 向山昌邦，野尻久雄，木寺よし子，松田りと，曾根妙子，野々垣嘉男：  
Duchenne 型筋ジストロフィー症患者へのペノブラント投与効果。  
厚生省神経疾患・昭和54年度筋ジストロフィー症の臨床病態および疫学的研究会会議，  
東京，12.6～7，1979
- 13) 椿 忠雄，乗松克政，笠木重人，近藤喜代太郎，向山昌邦，中島洋明：  
筋ジストロフィー症の疫学的研究。  
厚生省神経疾患・昭和54年度筋ジストロフィー症の臨床病態および疫学的研究会会議，  
東京，12.6～7，1979
- 14) 高柳哲也，水野恵介，祖父江逸郎，向山昌邦，真野行生，寺本 純ほか：  
Duchenne 型筋ジストロフィー症の長期観察—血清酵素の推移—。  
厚生省神経疾患・昭和54年度筋ジストロフィー症の臨床病態および疫学的研究会会議，  
東京，12.6～7，1979
- 15) 松沢一夫，林 活次，篠田 実，向山昌邦，高柳哲也，和田正士，小清水忠夫：

## II 研究概要

筋ジストロフィー症の病理組織学的研究.

厚生省神経疾患・昭和54年度筋ジストロフィー症の臨床病態および疫学的研究班班会議,  
東京, 12.6~7, 1979

16) 向山昌邦, 里吉堂二郎 :

2,3の内分泌疾患に伴う神経障害の病理学的研究.

文部省総合研究末梢神経障害の成因と病態に関する研究班班会議, 東京, 3.14, 1980

17) 真野行生, 豊島英徳, 松井京子, 安藤一也, 宮崎信次, 石原伝幸, 河野慶三, 小長谷正明, 桑原英明, 祖父江逸郎 :

Duchenne型筋ジストロフィー患者の傾斜反応および歩行能・立位能.

厚生省神経疾患・昭和54年度筋ジストロフィー症の臨床病態および疫学的研究班班会議,  
東京, 12.6, 1979

18) 真野行生, 今枝桂, 林満彦, 高瀬弘司, 田中良好, 徳田正昭, 大島元子 :

SMON患者に対する弾力帯の効果

昭和54年度厚生省特定疾患スモン調査研究班班会議, 東京, 3.21, 1980

19) 吉田瑞子, 岩崎祐三, 安藤一也 :

筋ジストロフィー症の細胞膜の物理化学的研究II 赤血球形態の経時変化及びカルシウムの影響,

厚生省神経疾患・昭和54年度筋ジストロフィー症の病因に関する臨床的研究班班会議,  
東京, 12.6~7, 1979

## D 研究会など

1) 安藤一也 :

パーキンソン症候群の鑑別診断.

第1回東海神経疾患懇話会, 名古屋, 6.9, 1979

2) 安藤一也 :

運動失調症とパーキンソニズムの臨床.

第2回基礎理学療法講習会, 名古屋, 6.24, 1979

3) 安藤一也 :

スモン臨床上の問題点.

厚生省特定疾患調査研究スモン班第2回療養分科会研修講演, 仙台, 10. 23, 1979

4) 安藤一也 :

臨床からみたスモンの老齡化.

第5回全国スモンの会研修会, 東京, 10. 26, 1979

5) 安藤一也 :

変性疾患と筋緊張異常.

日本短波放送, 10. 30, 1979

6) 安藤一也 :

スモンの異常知覚.

厚生省特定疾患調査研究スモン班東洋医学分科会, 東京, 11. 8, 1979

7) 安藤一也 :

パーキンソン病の療養相談.

全国パーキンソン病友の会第3回総会, 東京, 11. 18, 1979

8) 安藤一也 :

新しいドパ・エコノマイザー (D I C) 療法の留意点.

日本短波放送, 12. 3, 1979

9) 安藤一也 :

頭痛の治療.

頭痛に関する学術講演会, 名古屋, 1. 31, 1980

10) 安藤一也 :

(バクロフェン) 薬剤投与症例の集計結果.

痙性麻痺と薬物療法シンポジウム, 東京, 2. 9, 1980

11) 安藤一也 :

痙性麻痺の薬物療法・神経内科の立場から.

中枢性運動障害懇談会, 東京, 3. 8, 1980

12) 向山昌邦 :

## II 研究概要

神経内科疾患とCTスキャン.

国立武蔵療養所看護婦長・士長会セミナー, 5.29, 1979

13) 向山昌邦 :

神経内科疾患について.

国立武蔵療養所新採用者教育セミナー, 10.4, 1979

14) 真野行生 :

神経疾患のリハビリテーション.

理学療法士作業療法士養成施設等教員長期講習会, 名古屋, 2.1, 1980

15) 村本 治 :

簡易記憶検査法としての Selective Reminding 法の検討並びに本法を用いての健忘症状群患者の physostigmine 療法の有用性の検討.

第3回神経心理学懇話会, 東京, 9.8~9, 1979

16) 寺本 純, 向山昌邦, 左奈田精孝, 小関正倫, 小沢利治 :

らい患者の末梢神経症状発現時の腓腹神経病理所見.

らい神経病変研究会, 東京, 3.14, 1980

17) 寺本 純, 向山昌邦, 衣斐 達, 小坂稔男子 :

肝性脳症のCT所見.

第3回脳神経CT研究会, 東京, 1.20, 1980

18) 衣斐 達, 古閑 寛, 峰野達也, 杉江 開, 寺本 純 :

透析患者のCT所見.

第3回脳神経CT研究会, 東京, 1.20, 1980

19) 寺本 純, 向山昌邦, 左奈田精孝, 小関正倫, 小沢利治 :

らい患者の末梢神経症状発現時の腓腹神経病理所見.

らい神経病変研究会, 東京, 3.14, 1980

### 3. 主な研究報告

#### Cytosine arabinoside 投与による小脳障害の実験的研究 ——臨床像と小脳病変の局在について——

向山昌邦, 寺本 純, 村本 治, 安藤一也

薬物による小脳障害モデル動物の実験的研究の一つとして, 抗がん剤である cytosine arabinoside を新生マウスに投与して, その臨床像の観察と脳の病理学的検索をおこなった。

#### 方 法

ICR-suckling mouse 9匹を3群に分け, cytosine arabinoside をI群(3匹)には体重1kgあたり50mg, II群(3匹)には体重1kgあたり30mg, III群(3匹)には生理食塩水を, それぞれ生後第2日, 3日, 4日目に項部皮下に注射した。5週間生存させ, 臨床症状を観察した後 sacrifice し, 脳を取出し, ホルマリン固定, パラフィン包埋後, 光顕標本を作製した。

#### 結 果

##### 1) 臨床像の観察

第I群では, 毛並が悪く, 体重増加は他の群に比べて劣った。2週令から運動失調と振戦が発現した。その程度は3週令まで増悪し, それ以後5週令までは不変であった。

第II群では, 毛並みは第III群と同程度であったが, 体重増加は第III群よりやや劣った。運動失調や振戦は認めなかったが, 運動量は第III群と比べるとやや少なかった。

各群とも全例, 5週令まで生存した。

##### 2) 脳病理所見

脳の検索では小脳にのみ著明な変化を認めた。肉眼的には, 小脳の大きさは第I群では明らかに小さく, 第II群ではわずかに小さい所見を得た。

光顕による検索の結果, 第I群(図1)では, ①小脳小葉の幅が狭く, 従って, 分子層や顆粒層の幅が狭い, ②顆粒細胞の数の減少, ③プルキンエ細胞の配列が乱れており, 場所によっては2列~多列に重なっていた。また, 萎縮し濃染したプルキンエ細胞を認めた, ④プルキンエ細胞や顆粒細胞の位置異常(ヘテロトピー), ⑤外顆粒細胞の遺残, などの所見を得た。

これらの病変が, 半球部よりは虫部に目立ち, 虫部のうちでもとくに anterior lobe に顕著であった。第II群では, 第I群と同様の所見を虫部の anterior lobe にのみ認めたが, 病変の程度は第I群より軽度であった。小脳の他の部位では, 顆粒細胞の数が第III群に比べてやや少い以外には著変を認めなかった。

## II 研究概要

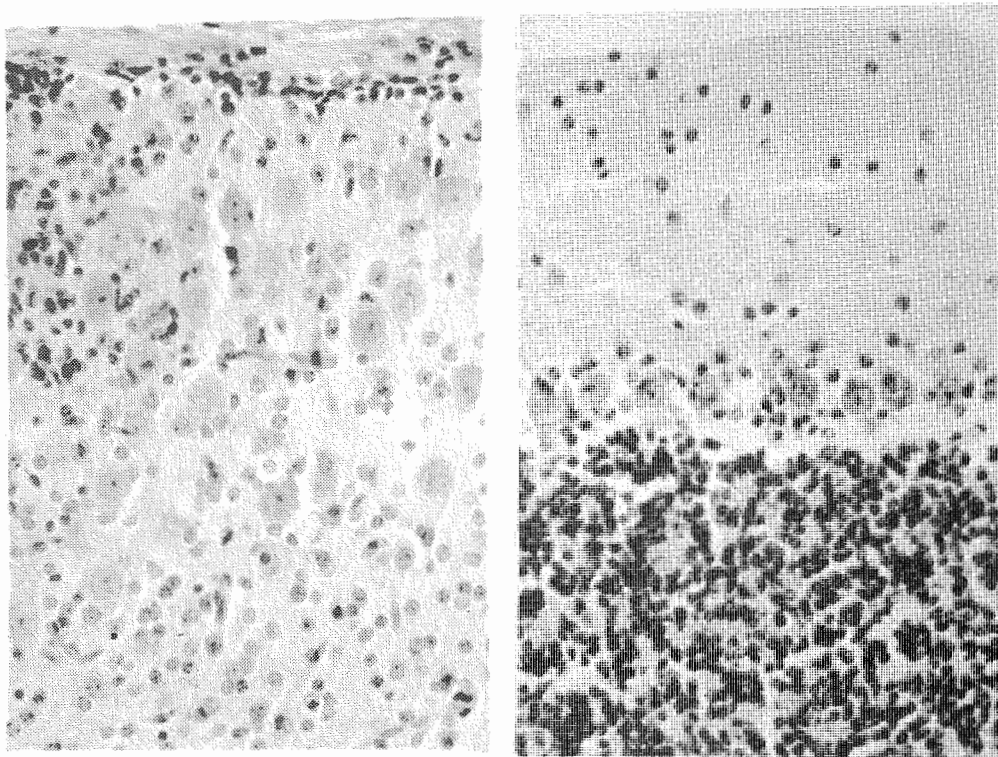


図1：5週令ICR mouse 小脳。左図は cytosine arabinoside 50mg/体重kg投与例。右図（対照例）と比べると顆粒細胞の減少，プルキンエ細胞の多層性配列，外顆粒層の遺残を認める。HE染色。600×。

### 考 察

本研究での病理変化は小脳に限られており，これはDNA polymerase を抑制する作用をもつ cytosine arabinoside を新生マウスに注射することによって，この時期の小脳の発育を選択的に障害することによると思われる。

第I群では小脳に著明な病変を認めたが，その程度は虫部に強く，そのうちでもとくに anterior lobeに強かったが，第II群でも虫部の anterior lobeに限って病変を認めたことは興味ある所見と考えられる。



小脳異常を伴うミュータントマウスである Weaver mouse や Leaner mouse では、虫部とくにその anterior lobeにおいて顆粒細胞の減少ないし消失が報告されている。また Rolling Mouse Nagoya について noradrenalin 神経終末を蛍光法で検索した Adachi らの成績でも小脳 anterior lobeに異常に強い蛍光を認めたとのことである。我々は実験的に 3-acetyl-pyridine を投与したラットの小脳において、やはり虫部の anterior lobeに強い病変を認めており、この部位が種々の内外要因によって障害されやすい可能性が考えられる。

今後、臨床症状の発現と薬剤の投与量との関係および病理形態学的変化、とくに病巣部位、との関連などについて、さらに検索を進めるつもりである。

## 文 献

- 1) 向山昌邦, 水野恵介: Rolling Mouse Nagoya の小脳. 最新医学, 31: 233, 1976
- 2) Adachi, K., Sobue, I., et al.: Changes in the cerebellar noradrenalin nerve terminals of the neurological murine mutant rolling mouse nagoya: A histofluorescence analysis. IRCS Med. Sci., Anat. Human Biol, Neurobiol. & Neurophysiol., 3: 329, 1975.
- 3) Shimada, M., et al.: Cytarabine and its effect on cerebellum of suckling mouse. Arch. Neurol., 32: 555, 1975.

## 薬物性小脳障害モデル動物の作製

### 3 acetyl- pyridine 投与による実験的研究

寺本 純, 向山昌邦, 安藤一也

ニコチン酸の antagonist である 3-acetyl-pyridine の実験的投与によって神経細胞が破壊されることが知られている。しかし従来の実験報告はいずれも急性実験であり、神経細胞の変性をひきおこしたのち一定の期間をおいた慢性実験の報告はない。今回われわれは、小脳障害モデル動物作製の目的で薬物投与後3カ月間の観察を行ない、その病理所見について検討した。

#### 方法と対象

対象は Wister 系ラットの9匹(♂, 250-300g)を用い、3-acetyl-pyridine を 50 mg/kg ずつ腹腔内へ one shot 投与し、その後3カ月間症状を観察した。投与2-3日目より hypokine-

## II 研究概要

sia, 失調性歩行等の症状が出現し, 日によって症状の強い日と弱い日があったが30日目頃より症状は固定した。なお9匹中6匹は肺炎, 下痢, 全身衰弱にて1カ月以内に死亡した。投与後3カ月の時点で, nembutal 麻酔下に於て10% formalin にて灌流固定し, paraffin 包埋後連続切片を作製し, H-E 染色を行ない光学顕微鏡下で観察した。

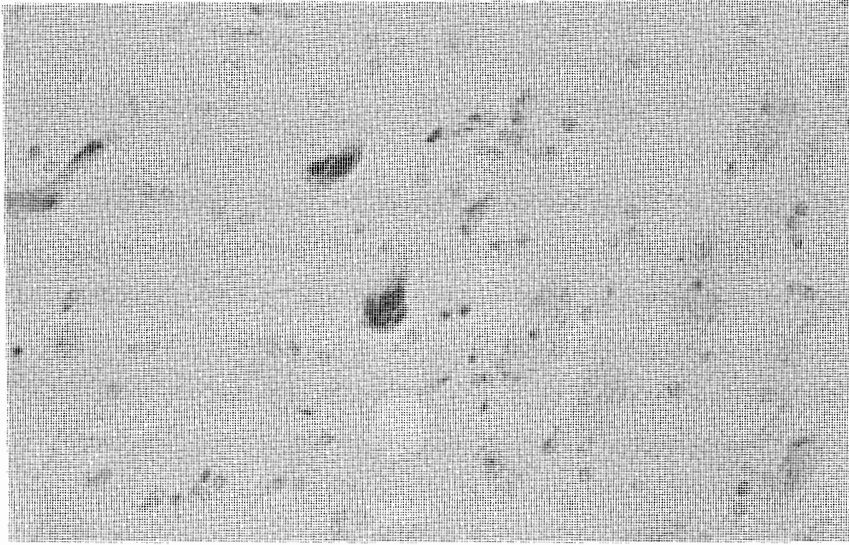
### 結 果

神経細胞の変性は, 小脳 purkinje 細胞にみられたほか, 嗅神経核, 視床下核, 動眼神経核, 三叉神経運動核, 下オリブ核にも認められた。さらに case によってはこのほか海馬, 顔面神経核にも変性がみられた。小脳 purkinje 細胞はところどころに萎縮, 細胞質の濃染, 不明確化などの所見がみられ, 細胞数も減少し, purkinje 細胞の脱落した部位では glia 細胞の増多が認められた。これら小脳病変の程度を(-), (±), (++) , (+++) の5段階に便宜上分類し, 表1に示した。小脳 purkinje 細胞以外の部位での神経細胞の変性は, 小脳に比し全体にその程度は軽かったが, 図1に示すように, 神経細胞の萎縮のみならず neuronophagia とと思われる所見もまれにみられる。

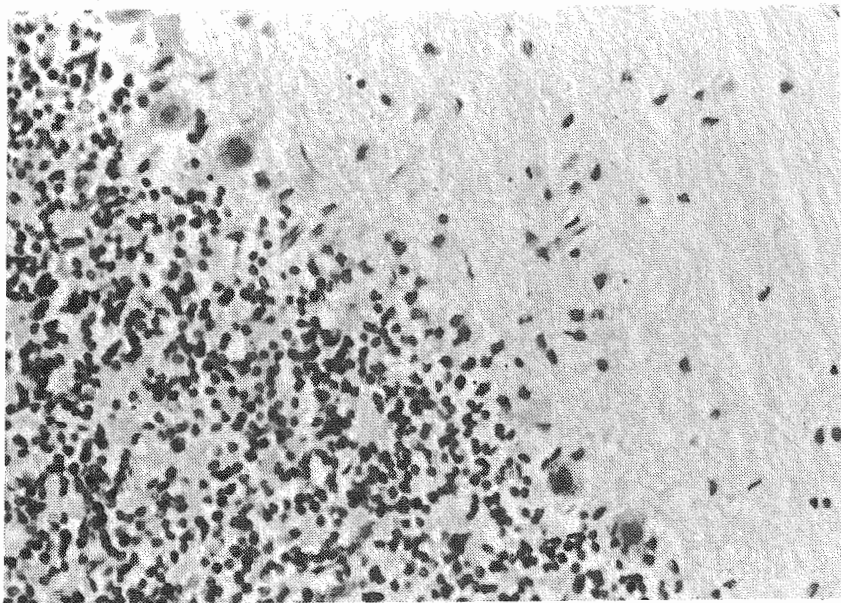
表1 Pathology of Purkinje cells

|        | decrease<br>in number |   | atrophy |     | irregularity of<br>cell's outline |   | astrocytosis |   |
|--------|-----------------------|---|---------|-----|-----------------------------------|---|--------------|---|
|        | v                     | h | v       | h   | v                                 | h | v            | h |
| case 1 | ++                    | + | +       | +++ | +                                 | ± | +            | ± |
| case 2 | +                     | ± | ++      | +   | ±                                 | - | +            | ± |
| case 3 | ++                    | + | +       | ++  | +                                 | + | +            | + |

v: 虫部 h: 半球部



図一 1 三叉神経運動核。神経細胞の萎縮と neuronophagia を認める。H-E 染色。× 400。



図一 2 小脳。purkinje 細胞の萎縮と脱落。脱落部位では glia 細胞が増加している。

HE 染色。× 200。

## II 研究概要

### 考 察

3-acetyl-pyridine による失調動物の作製については、Hicks<sup>1)</sup> Desclin<sup>2)</sup>らの報告がある。彼らはいずれも下オリーブ核に病変があることを報告しており、Hicksはこの所見が運動失調の原因であると結論づけている。

自験例では、下オリーブ核にも神経細胞の萎縮が認められたが、神経細胞数はあまり減少していなかった。これに対し、小脳 purkinje 細胞に、脱落、萎縮、胞体の不明確化などの所見がみられ、脱落部位に glia 細胞の増加を認めた点の特記すべきことと考える。これらの病変は一樣ではなく、神経細胞数の減少、astrocytosis などの所見は半球部よりも虫部に優位であった。(図-2)

今回の実験では、3-acetyl-pyridine 投与後2-3日より失調症状を発現させることができたが、同時に肺炎、下痢等の症状を呈し、1カ月以内に死亡する動物が多かった。しかし、この1カ月間で、失調症状が徐々に悪化するもの、軽度の改善と増悪をくり返すもの、投与後2-3日頃の症状がそのまま変らないで続くものなど、経過はさまざまであった。これらの症状の変遷と諸神経細胞の変性とがどのように関連しているのか今後検討が必要と考えられる。

現在までのところ、3-acetyl-pyridine 投与後長期的に観察を行なった実験は報告されておらず、また急性の実験報告の中には小脳、purkinje 細胞の変性は認められていない。

今回小脳に病変を認めた点が、長期経過観察の結果かどうかは今の所不明であるが、動物への3-acetyl-pyridine 投与によって実験的脊髄小脳変性症の疾患モデルを作製できる可能性が示されたわけで、今後、本研究で示した諸神経細胞の変性の病態について検討を加えることが重要な課題であると思われる。

### ま と め

Wister系ラット9匹に対し50mg/kgの3-acetyl-pyridineをone shotにて腹腔内投与し、3カ月間経過を観察した。全例に失調症状を認めたが、そのうち6例は経過観察中に死亡した。延命し得た3例の中樞神経系について連続切片の作製し光顕的に検索を加えた。

神経細胞の変性は、小脳 purkinje 細胞に最も強く、その他嗅神経核、視床下核、動眼神経核、三叉神経運動核などにも認められた。

### 文 献

- 1) Hicks, S.P.: Acute lesions in the hypothalamus, peripheral ganglia, and adrenal medulla, caused by 3-acetyl-pyridine and prevented by Nicotinamide. *Am. J. Path.*, 31: 189, 1955.
- 2) Desclin, J.C. and Escubi, J.: Effects of 3-acetyl-pyridine on the central nervous system of the rat, as demonstrated by silver methods. *Brain Res.* 77: 349, 1974.

## Rolling Mouse Nagoya の脳内神経伝達物質

村本 治, 安藤一也

Rolling Mouse Nagoya (RMN) は特異な失調症モデル動物として、また最近では TRH がその症状に有効であることから失調症状に対する TRH の作用機序を解明する手がかりとして注目されている。しかしその症状を充分説明するに足る形態学的異常は明らかでなく、生化学的にも catecholamine 系の異常を指摘する報告以外には、特に他の神経伝達物質系に関する知見は知られていない。今回われわれはスクリーニングの意味で、中枢神経系の各部位で、代表的な神経伝達物質ないしその合成酵素として遊離アミノ酸、substance P (SP) と choline acetyltransferase (CAT), glutamic acid decarboxylase (GAD), tyrosine hydroxylase (TH) の各酵素活性を測定してみた。

## 方 法

動物：4週令（アミノ酸のみ20週令）のRMN ホモとそのヘテロと正常の littermate は am 10時～12時の間に断頭し、速やかに脳・脊髄をとり出し dry ice 上で凍結した。ヘテロと正常の鑑別は織田らの方法<sup>1)</sup>により esterase-1 の isozyme pattern によった。-30°Cの下で拡大鏡を用い脊髄、延髄、橋、小脳、中脳、視床+視床下部、線条体、前頭皮質を切り出した。脊髄は頸および腰膨大部を用い、他の部位の境界は Glowinski & Iversen によった。アミノ酸分析：6%過塩素酸で抽出、日本電子 JLC-10 D 型アミノ酸分析装置を用いた。SP：2N 酢酸で抽出後、Powell の方法に従って RIA で測定した。CAT 活性：Fonnum の方法によった。GAD 活性：Albers & Brady の CO<sub>2</sub> 生成法によった。TH 活性：Hendry & Iversen の方法<sup>2)</sup>により cofactor は 6-methyl tetrahydropterin を用いた。

## 結 果

脳内遊離アミノ酸量：分析装置の感度限界に入り測定可能であったアミノ酸は15種類あるが、このうち神経伝達物質の可能性が高いと考えられている5種類を表1に示す。taurine は脳幹部以上で全般的にホモで高値の傾向であるが有意に達したのは小脳のみであった。glycine も同様にホモの小脳で有意に高値であり GABA も有意ではないが高値の傾向であった。これと対照的に glutamate はホモが低値の傾向であり、小脳で正常の86%に減少し有意であった。SP (表2)：線条体でホモは正常の160%に増加していた。CAT 活性 (表3)：線条体でホモ及びヘテロは正常の67%に減少していた。GAD 活性 (表4)：線条体でホモ及びヘテロは正常の77%と74%に減少してい

## II 研究概要

た。TH活性(表5)：全般的にはほとんどすべての部位でホモは高値を示したが有意に達したのは延髄，小脳，視床+視床下部であった。

### まとめ

RMNの小脳で見られた glutamate の低値，taurine と glycine の高値，GABA の高値傾向は McBride ら<sup>3)</sup> が既に報告した weaver や Mikoshiba ら<sup>4)</sup> 報告した reeler の小脳における変化によく似ており，staggerer, nervous とも部分的に似ている(表6)。glutamate が顆粒細胞の伝達物質として有力視されていることからRMN小脳における glutamate の低値は西村<sup>5)</sup> が報告した顆粒細胞数の減少に対応するものと思われる。線条体における CAT, GAD, SP の変化の意義は今後更に検討を要するが，本動物の症状に錐体外路系の要素が関与している可能性も考えられる。

表1 Free Amino Acid Contents in Brain Regions of Rolling Mouse Nagoya (*rol/rol*), Heterozygote (*+/rol*) and Normal Littermate (*+/+*)

| Region                  | Animal         | Taurine        | Aspartate   | Glutamate     | Glycine       | GABA         |
|-------------------------|----------------|----------------|-------------|---------------|---------------|--------------|
| Lumbar Cord             | <i>rol/rol</i> | 3.83 ± 0.12    | 2.53 ± 0.12 | 4.26 ± 0.15   | 4.34 ± 0.27   | 0.66 ± 0.05  |
|                         | <i>+/rol</i>   | 3.83 ± 0.15    | 2.90 ± 0.31 | 4.23 ± 0.41   | 4.19 ± 0.33   | 0.71 ± 0.06  |
|                         | <i>+/+</i>     | 4.10 ± 0.40    | 2.81 ± 0.23 | 4.50 ± 0.21   | 4.23 ± 0.14   | 0.63 ± 0.05  |
| Cervical Cord           | <i>rol/rol</i> | 4.01 ± 0.09    | 2.46 ± 0.17 | 4.19 ± 0.06   | 3.92 ± 0.10   | 0.54 ± 0.05  |
|                         | <i>+/rol</i>   | 4.17 ± 0.46    | 2.75 ± 0.08 | 4.18 ± 0.32   | 3.70 ± 0.23   | 0.61 ± 0.06  |
|                         | <i>+/+</i>     | 3.62 ± 0.20    | 2.54 ± 0.23 | 4.22 ± 0.21   | 3.75 ± 0.13   | 0.50 ± 0.04  |
| Medulla                 | <i>rol/rol</i> | 4.41 ± 0.05    | 3.11 ± 0.13 | 5.43 ± 0.09   | 4.06 ± 0.07   | 1.13 ± 0.09  |
|                         | <i>+/rol</i>   | 4.42 ± 0.14    | 3.52 ± 0.17 | 5.89 ± 0.14   | 4.01 ± 0.21   | 1.22 ± 0.12  |
|                         | <i>+/+</i>     | 3.89 ± 0.24    | 3.29 ± 0.19 | 5.58 ± 0.17   | 3.90 ± 0.13   | 0.99 ± 0.03  |
| Pons                    | <i>rol/rol</i> | 4.49 ± 0.12    | 3.20 ± 0.11 | 5.84 ± 0.12   | 2.95 ± 0.16   | 1.32 ± 0.15  |
|                         | <i>+/rol</i>   | 4.45 ± 0.18    | 3.50 ± 0.24 | 6.87 ± 1.01   | 2.94 ± 0.19   | 1.45 ± 0.16  |
|                         | <i>+/+</i>     | 4.07 ± 0.30    | 3.10 ± 0.23 | 5.89 ± 0.16   | 2.65 ± 0.15   | 1.15 ± 0.06  |
| Cerebellum              | <i>rol/rol</i> | 11.77 ± 0.61** | 2.43 ± 0.06 | 8.06 ± 0.12** | 0.74 ± 0.03** | 1.27 ± 0.09* |
|                         | <i>+/rol</i>   | 10.05 ± 1.00   | 2.97 ± 0.26 | 9.07 ± 1.16   | 0.80 ± 0.15   | 1.29 ± 0.09  |
|                         | <i>+/+</i>     | 9.44 ± 0.61    | 2.73 ± 0.27 | 9.33 ± 0.20   | 0.56 ± 0.04   | 1.03 ± 0.07  |
| Midbrain                | <i>rol/rol</i> | 5.37 ± 0.18    | 3.13 ± 0.08 | 6.25 ± 0.29   | 1.33 ± 0.06   | 3.47 ± 0.38  |
|                         | <i>+/rol</i>   | 5.30 ± 0.15    | 3.30 ± 0.08 | 6.39 ± 0.53   | 1.32 ± 0.11   | 3.55 ± 0.21  |
|                         | <i>+/+</i>     | 4.84 ± 0.31    | 3.09 ± 0.24 | 6.47 ± 0.22   | 1.32 ± 0.01   | 3.36 ± 0.13  |
| Thalamus + Hypothalamus | <i>rol/rol</i> | 7.30 ± 0.31    | 2.61 ± 0.10 | 7.92 ± 0.18   | 0.82 ± 0.04   | 2.95 ± 0.22  |
|                         | <i>+/rol</i>   | 6.73 ± 0.57    | 2.76 ± 0.28 | 7.97 ± 1.08   | 0.85 ± 0.07   | 2.77 ± 0.38  |
|                         | <i>+/+</i>     | 6.36 ± 0.60    | 2.67 ± 0.19 | 8.31 ± 0.22   | 0.82 ± 0.07   | 2.60 ± 0.07  |
| Striatum                | <i>rol/rol</i> | 18.17 ± 1.57   | 2.12 ± 0.15 | 7.74 ± 0.34   | 0.49 ± 0.04   | 2.40 ± 0.30  |
|                         | <i>+/rol</i>   | 16.32 ± 1.31   | 2.57 ± 0.14 | 8.42 ± 0.96   | 0.48 ± 0.06   | 2.25 ± 0.39  |
|                         | <i>+/+</i>     | 16.30 ± 1.78   | 2.02 ± 0.16 | 7.32 ± 0.20   | 0.53 ± 0.03   | 1.93 ± 0.13  |
| Frontal Cortex          | <i>rol/rol</i> | 14.56 ± 1.98   | 2.93 ± 0.05 | 10.88 ± 0.75  | 0.48 ± 0.03   | 1.56 ± 0.21  |
|                         | <i>+/rol</i>   | 12.26 ± 0.97   | 3.26 ± 0.26 | 10.66 ± 1.51  | 0.45 ± 0.03   | 1.89 ± 0.58  |
|                         | <i>+/+</i>     | 13.88 ± 0.88   | 3.08 ± 0.20 | 12.01 ± 0.46  | 0.42 ± 0.03   | 1.18 ± 0.05  |

\*; 0.05 < P < 0.1, \*\*; 0.02 < P < 0.05, \*\*\*; 0.01 < P < 0.02, \*\*\*\*; 0.001 < P < 0.002 compared to normal.

Values expressed as nmoles/mg wet weight are the mean ± S.E.M. of 4 animals.

表 2. Regional Distribution of Substance P in the Brain of Rolling Mouse Nagoya (*rol/rol*), Heterozygote (*+/rol*) and Normal Littermate (*+/+*)

| Region                  | Animal | Rolling Mouse ( <i>rol/rol</i> ) | Heterozygote ( <i>+/rol</i> ) | Normal ( <i>+/+</i> ) |
|-------------------------|--------|----------------------------------|-------------------------------|-----------------------|
| Spinal Cord             |        | 1.86 ± 0.27                      | 2.18 ± 0.35                   | 2.27 ± 0.38           |
| Medulla                 |        | 1.29 ± 0.17                      | 1.15 ± 0.09                   | 1.52 ± 0.10           |
| Pons                    |        | 2.07 ± 0.48                      | 1.34 ± 0.16                   | 1.33 ± 0.08           |
| Cerebellum              |        | 0.15 ± 0.04                      | 0.14 ± 0.06                   | 0.12 ± 0.03           |
| Midbrain                |        | 2.07 ± 0.61                      | 1.45 ± 0.40                   | 2.26 ± 0.19           |
| Thalamus + Hypothalamus |        | 1.63 ± 0.34                      | 1.85 ± 0.54                   | 1.95 ± 0.22           |
| Striatum                |        | 1.26 ± 0.07*                     | 0.79 ± 0.15                   | 0.78 ± 0.22           |
| Frontal Cortex          |        | 0.132 ± 0.045                    | 0.074 ± 0.016                 | 0.083 ± 0.012         |

\*; 0.005 < P < 0.01 compared to normal and 0.02 < P < 0.05 compared to heterozygote. Values expressed as ng/mg protein are the mean ± S.E.M. of 5 animals.

表 3. Regional Distribution of Choline Acetyltransferase Activity in the Brain of Rolling Mouse Nagoya (*rol/rol*), Heterozygote (*+/rol*) and Normal Littermate (*+/+*)

| Region                  | Animal | Rolling Mouse ( <i>rol/rol</i> ) | Heterozygote ( <i>+/rol</i> ) | Normal ( <i>+/+</i> ) |
|-------------------------|--------|----------------------------------|-------------------------------|-----------------------|
| Lumar Cord              |        | 31.1 ± 5.1                       | 34.7 ± 3.8                    | 29.1 ± 2.1            |
| Cervical Cord           |        | 25.6 ± 1.5                       | 26.0 ± 1.9                    | 26.1 ± 1.9            |
| Medulla                 |        | 24.2 ± 1.9                       | 22.2 ± 2.0                    | 20.6 ± 1.9            |
| Pons                    |        | 28.5 ± 1.6                       | 24.5 ± 2.6                    | 24.7 ± 0.9            |
| Cerebellum              |        | 5.7 ± 0.5                        | 5.3 ± 0.6                     | 4.6 ± 0.3             |
| Midbrain                |        | 20.5 ± 0.9                       | 20.8 ± 0.8                    | 21.2 ± 1.5            |
| Thalamus + Hypothalamus |        | 17.2 ± 0.5                       | 16.3 ± 0.9                    | 16.9 ± 0.9            |
| Striatum                |        | 35.9 ± 3.0*                      | 34.3 ± 4.4*                   | 53.7 ± 6.2            |
| Frontal Cortex          |        | 17.4 ± 1.4*                      | 20.9 ± 0.5                    | 22.0 ± 1.5            |

\*; 0.02 < P < 0.05 compared to normal. Values expressed as n moles acetylcholine/mg protein/hour are the mean ± S.E.M. of 5 animals.

表 4. Regional Distribution of Glutamic Acid Decarboxylase Activity in the Brain of Rolling Mouse Nagoya (*rol/rol*), Heterozygote (*+/rol*) and Normal Littermate (*+/+*)

| Region                  | Animal | Rolling Mouse ( <i>rol/rol</i> ) | Heterozygote ( <i>+/rol</i> ) | Normal ( <i>+/+</i> ) |
|-------------------------|--------|----------------------------------|-------------------------------|-----------------------|
| Spinal Cord             |        | 84 ± 4                           | 87 ± 3                        | 89 ± 10               |
| Medulla                 |        | 138 ± 14                         | 155 ± 10                      | 165 ± 14              |
| Pons                    |        | 185 ± 19                         | 203 ± 13                      | 188 ± 20              |
| Cerebellum              |        | 152 ± 20                         | 141 ± 12                      | 137 ± 5               |
| Midbrain                |        | 357 ± 26                         | 344 ± 35                      | 385 ± 26              |
| Thalamus + Hypothalamus |        | 340 ± 41                         | 290 ± 33                      | 298 ± 21              |
| Striatum                |        | 192 ± 10**                       | 183 ± 19*                     | 247 ± 15              |
| Frontal Cortex          |        | 167 ± 9                          | 156 ± 7                       | 158 ± 7               |

\*; 0.02 < P < 0.05, \*\*; 0.01 < P < 0.02 compared to normal. Values expressed as nmoles CO<sub>2</sub>/mg protein/hour are the mean ± S.E.M. of 5 animals.

## II 研究概要

表5. Regional Distribution of Tyrosine Hydroxylase Activity in the Brain of Rolling Mouse Nagoya (*rol/rol*), Heterozygote (*+/rol*) and Normal Littermate (*+/+*)

| Region                  | Animal | Rolling Mouse ( <i>rol/rol</i> ) | Heterozygote ( <i>+/rol</i> ) | Normal ( <i>+/+</i> ) |
|-------------------------|--------|----------------------------------|-------------------------------|-----------------------|
| Spinal Cord             |        | 16.4 ± 1.73†                     | 10.9 ± 0.70                   | 12.2 ± 0.86           |
| Medulla                 |        | 18.7 ± 1.88*                     | 14.8 ± 1.27                   | 12.9 ± 1.55           |
| Pons                    |        | 38.9 ± 7.85                      | 38.3 ± 14.7                   | 27.8 ± 5.49           |
| Cerebellum              |        | 10.6 ± 1.38*†                    | 5.23 ± 1.12                   | 7.10 ± 0.52           |
| Midbrain                |        | 109 ± 24.3                       | 65.9 ± 14.2                   | 86.6 ± 11.7           |
| Thalamus + Hypothalamus |        | 81.7 ± 6.99*†                    | 39.6 ± 6.90                   | 53.9 ± 8.28           |
| Striatum                |        | 545 ± 44.1                       | 487 ± 58.8                    | 455 ± 63.0            |
| Frontal Cortex          |        | 9.55 ± 1.99                      | 12.5 ± 4.02                   | 5.98 ± 0.54           |

P < 0.05 compared to normal (\*) and compared to heterozygote (†).

Values expressed as p moles DOPA/mg protein/hour are the mean ± S.E.M. of 5 animals.

表6. Previously Reported Changes of Amino Acid Content in the Cerebellum of Ataxic Mutant Mice

| weaver* | staggerer* | nervous* | reeler** | ***    |
|---------|------------|----------|----------|--------|
| Tau ↑   | Glu ↓      | Gly ↓    | Tau ↑    | Tau ↑  |
| Glu ↓   | Gly ↑      | Ala ↓    | Glu ↓    | Glu ↓  |
| Gly ↓   |            |          | Gly ↑    | Gly ↑  |
| GABA ↑  |            |          | GABA ↓   | GABA ↓ |
| Asp ↓   |            |          | Ala ↓    |        |

\* from McBride et al (1976) and Roffler-Tarlov et al (1978)

\*\* from Mikoshiba et al (1977)

\*\*\* present study

## 文献

- 1) 織田銑一, 中根一芳: マウス遺伝性運動失調症の発生遺伝学的研究. Rolling mouse Nagoya, *rol*とTottering mouse, *tg* における遺伝子の同座性. 名大還研年報, 27: 193-194, 1975.
- 2) Hendry, I.A. and Iversen, L.L.: Effect of nerve growth factor and its antiserum on tyrosine hydroxylase activity in mouse superior cervical sympathetic ganglion. *Brain Res.*, 29: 159-162, 162, 1971.
- 3) McBride, W.J., Aprison, M.H. and Kusano, K.: Contents of several amino acids in the cerebellum, brain stem and cerebrum of the 'staggerer', 'weaver' and 'nervous' neurologically mutant mice. *J. Neurochem.*, 26: 867-870, 1976.



- 4) Mikoshiba, K., Teichberg, I.V. and Changeux, J.P.: Biochemical studies on the cerebellum of neurological mutants of mice: Role for glutamic acid and cholinergic system. Proc. Internatl. Soc. Neurochem., 6: 286, 1977.
- 5) 西村嘉郎: Rolling Mouse Nagoya の小脳, 神経進歩, 19: 670-672, 1975.

### 運動スペクトル分析による Rolling Mouse Nagoya に対する TRH とその類似体の影響

豊島英徳, 松井京子, 真野行生, 寺本 純, 安藤一也

Rolling Mouse Nagoya (RMN) は運動失調症のモデル動物の1つである。最近 TRH (Thyrotropin Releasing Hormone) は脳内モノアミン系の代謝回転を促進するといわれ、脊髄小脳変性症の治療剤としての効果が期待されている。われわれは今回、この TRH が RMN の運動障害にいかなる作用を及ぼすかを主として運動スペクトルの面から検討した。

#### 対象及び方法

体重20~30 g の発症および非発症 RMN 各々4例、いずれも生後90日以上のものを測定の対象とした。これらのマウスに TRH-T 25 mg/kg およびその類似体である DN-1417 5 mg/kg を生理的食塩水を対照として腹腔内に注入し、この注入前後各々80分間について、ANIMEX II による運動スペクトルの測定並びに分析を行なった。測定は防音暗室内で、十分な馴化時間を取り、毎回午前11時より午後3時の定時間帯に行った。また同個体への薬剤の注入は1週間以上の間隔を置いて実行した。

ANIMEX II にはケージの四方および底面に電極が配置されている。マウスの動きはこれら電極間の電気容量の変化としてキャパシタンスブリッジで捕えられ、これが電位の変化として X-Y レコーダおよび分析器に出力される。運動スペクトルの分析は、マウスの動きを、ケージ全長(今回は420 mm)を1として、これらの  $1/2^n$  ( $n = 0 \sim 8$ ) のサイズに分類し、この分類された各サイズの動きの数をカウンタによって数えるという操作を経で行った。なお今回は1方向のみについて運動分析し、また立上がり運動も自由に記録するために押え板は使用しなかった。

#### 結 果

##### 1) 薬剤注入前の RMN の運動軌跡・スペクトル

図1 上部に典型的な薬剤注入前80分間のマウス運動軌跡を示した。左の非発症マウスはケージ内

## II 研究概要

一杯にしかも比較的一様に動き回り、立上がりも頻回で比較的直線的なケージ床上での走行軌跡を示した。一方、右の発症マウスの動きは著しく限局され、複雑な運動軌跡を示した。

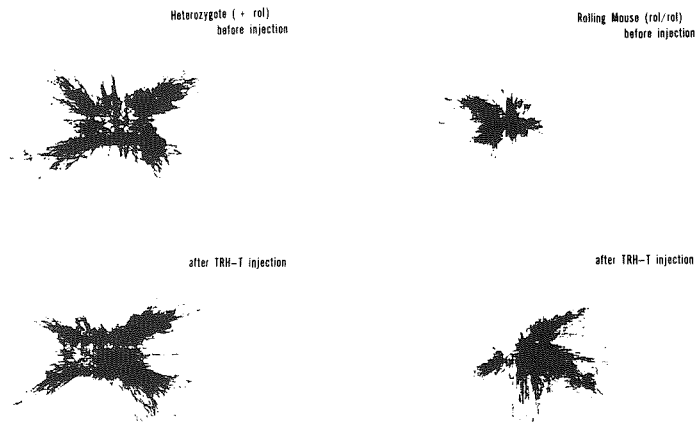


図-1. 薬剤 (TRH-T) 注入前後各々 80 分間の運動軌跡

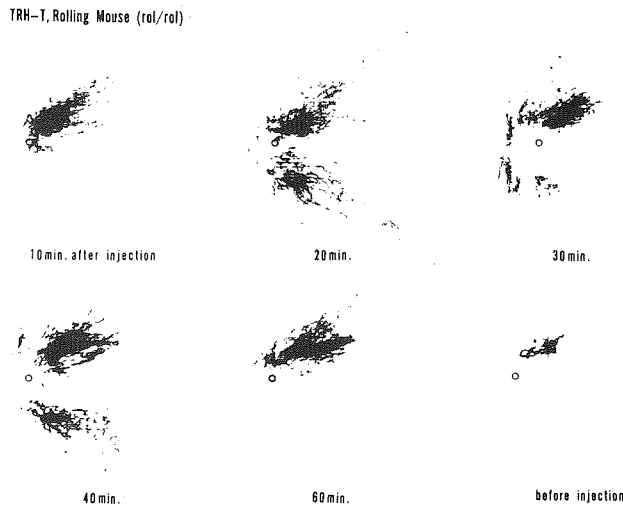


図-2. TRH-T 注入前10分より以後10分ごと10分間の運動軌跡

これらのことを運動スペクトルの面から分析してみると、立上がりないしは非常に大きな動きは非発症マウスに有意に多く、ついで中位のサイズの動きは逆に発症マウスに有意に多かった。なお、小さな細かい動きは両者間に有意な差を認めなかった。

#### 2) 薬剤注入後の RMN の運動軌跡・スペクトル

図 1 下部に TRH-T 注入後 80 分間のマウスの運動軌跡を示した。発症、非発症を問わず両薬剤 (TRH-T および DN-1417) の注入により著明な運動量の増加が認められた。発症マウスについては薬剤注入前余り見られなかった立上がり頻回に見られ、その軌跡は比較的滑らかなものであった。運動スペクトルでは非発症パターンへの近似傾向が見られた。

TRH-T 注入後 10 分毎 10 分間の運動軌跡の変化を示したのが図 2 である。TRH-T については図右下の注入前に比べて注入後 10 分で著しい運動量の増加を示し、20~40 分後最大の増加を示した。DN-1417 については、その作用時間が TRH-T より長く、注入後 80 分においても運動量の増加が見られた。運動スペクトルの面からもほぼ同様の傾向がえられた。

### 考 察

Rolling Mouse Nagoya (RMN) は生後 2 週より歩行異常を来し、以後この症状は消失せず、自発運動中に著明な体幹の動揺を伴ないしばしば横転する。現在このマウスの症状は小脳性運動失調が主体であると考えられ、その発現機序解明には多方面なアプローチがなされつつある。一方最近 TRH (Thyrotropin Releasing Hormone) は下垂体-甲状腺系を介するホルモン作用以外の中枢作用が明らかにされており、脳内モノアミン系の代謝回転を促進し、動物で自発運動を増加させることが知られている。

動物の自発運動を観察・記録する装置としては、近年電子技術を駆使した新たなものが開発されつつあり、<sup>1)</sup> ANIMEX II もそうした装置の 1 つである。この装置には他の装置にはないいくつかの優れた特徴があり、動物の動きに対して極めて高感度に装置をセットできる。これにより立上がり、走行のような非常に大きな動きから、静蹠時の呼吸運動のような小さな動きまで十分捕えることができる。また ANIMEX II においてはそれほど長い馴化時間は必要としない。さらに動きの検出に際しては死空間を持たないという特徴があり、ケージ全域にわたる動物の位置の同定が可能である。暗室内の動物の行動を X-Y レコーダ上に可視化することもでき、また動きの大きさを分類して、これについて分析することも可能でもある。

図 1 から明らかな通り、発症 RMN は、大きなサイズでの動きが少なく、これは自発的走行や歩行が阻害されているためであろう。歩行時の体幹の動揺・横転は、軌跡では極めて複雑な形となって表わされ、また運動スペクトルでは中位の運動サイズに表わされていると推定される。

## II 研究概要

両薬剤 (TRH-T および DN-1417) は RMN に対し著明な運動量の増加をもたらし、発症例では注入前余り見られなかった立上がり運動が見られ、また比較的滑らかな走行・運動軌跡がえられ、運動スペクトルでの非発症パターンへの近似傾向がえられた。しかし両薬剤の作用機序が単に自発運動の増加が主体であるのか、運動障害 (とくに運動失調) の改善があるのかについてはさらに詳細な検討が必要である。

### まとめ

発症および非発症 Rolling Mouse Nagoya (RMN) に TRH-T およびその類似体である DN-1417 を腹腔内に注入し、ANIMEX II により運動スペクトル分析を行った。

両薬剤とも非発症および発症 RMN の自発運動を著明に増加し、発症 RMN の運動障害の改善傾向が推察された。

### 文 献

- 1) 遠藤任彦: 動物行動の解析とその計量化による実験的研究. 日薬理誌 70: 175~192, 1974.

## 運動失調マウス — Rolling Mouse Nagoya — の電気生理 — 末梢神経・筋機能について

豊島英徳, 真野行生

Rolling Mouse Nagoya は本邦において開発された遺伝性運動失調症のモデル動物である。その著しい運動障害の症状観察からは小脳性運動失調が疑われているが本症の原因、病巣の主座についてはなお明確な結論はえられていない。われわれは、このマウスの、末梢神経・筋障害の有無について電気生理学的諸検査を行なった。

### 対象と方法

対象としたのはいずれも 8 週令以上の雄成獣で、筋電図の検査は DISA の筋電計を用い、針電極から導出されるマウス随意収縮時の前後肢筋放電パターンを記録した。単一筋線維筋電図の検査には、直径 25  $\mu\text{m}$  の微小針電極を使用した。末梢神経については坐骨神経および尾神経でその伝導速度および末梢部潜時を測定した。なお電気刺激には 0.1 ms 持続の最大上刺激を用いた。下肢骨格筋の収縮特性の測定は摘出筋を 37°C 恒温維持されたリンゲル液中懸垂し、これに適当な

前負荷をかけて、神経あるいは筋を直接、最大上電気刺激し、この時発生する等尺性収縮力をFDピックアップにより検出する方法をとった。単収縮時の最大収縮力、この最大収縮力に達するまでの時間、最大収縮力の10%に達するまでの時間、50%水準における収縮持続時間、収縮速度のほか、強縮の発生する刺激周波数、各刺激周波数における最大収縮力と単収縮時の最大収縮力との比、および最大の収縮力を発生する刺激周波数を求めた。

## 結 果

### 1) 筋電図

随意収縮時の前後肢筋放電パターンには発症、非発症を問わず特別な変化は認められず、線維攣縮、線維束攣縮あるいは陽性鋭波のような異常放電も見られなかった。また単一筋線維筋電図検査でも特別な異常は認められなかった。

### 2) 末梢神経伝導速度および末梢部潜時

末梢神経伝導速度および末梢部潜時共に、いずれの神経においても、発症例と対照例との間に有意な差は認められなかった。図1は測定の際の誘発筋放電の1例で、図2に各例についての伝導速度の分布を示した。

### 3) 後肢骨格筋の収縮特性

収縮特性においても発症例と対照例との間に大きな差異を認めなかった。ただ発症例では対照例に比して単収縮時最大収縮力が低下している傾向が見られた(図3)。

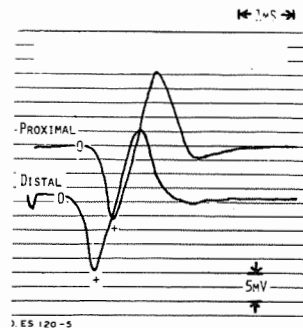


図1. 神経伝導速度測定時の誘発筋放電

## II 研究概要

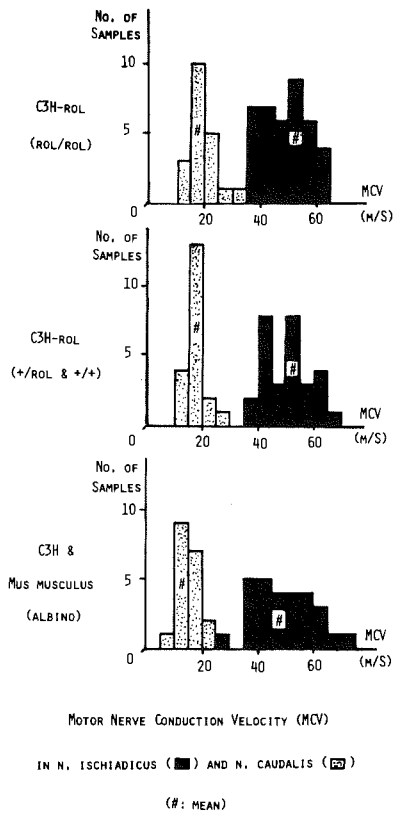


図 2. 末梢神経伝導速度の分布

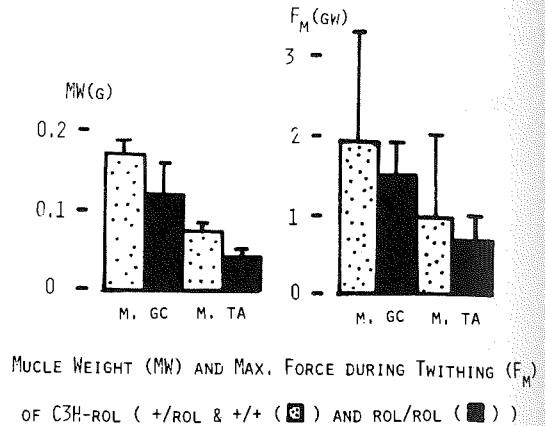


図 3. 後肢骨格筋の重量(左)と単収縮時最大収縮力(右)

## 考 察

Rolling Mouse Nagoya の運動障害の発現は生後 2 週にして明らかとなり、その後数週間進行して、固定する。本症の原因、病巣の主座がいかなる部位に存在するかは、これまでに多方面わたる研究にもかかわらず、なお一定の結論に達していない。われわれは、今回末梢神経と筋障害の有無について電気生理学的に検討した。

末梢神経伝導速度および末梢部潜時は、発症例と対照例との間に有意な差は認められず、これは坐骨神経についても尾神経についても同様であり、末梢神経に大きな障害があるとは考え難い、神経伝導速度測定の際、誘発筋放電として多相性のものが得られることはあったが、これは室賀ら<sup>1)</sup>が報告しているようには発症例に特徴的なものではなく、針電極刺入による損傷等によるものと考えられた。後肢に比して尾で、神経伝導速度が遅いのは、腰部皮下温度が 36°C のとき、尾皮下温度はほぼ室温と同じく 20°C と低いことによると考えられた。尾神経での神経伝導速度測定の利点は、尾神経が尾の根部より末端部にかけてほぼ直線的に伸びており、正確に刺激点間距離の測定を

行なえ、しかも簡単に伝導速度を測定できる点にある。

本動物の失調症状は前肢におけるよりも後肢においてより著しいが、この後肢骨格筋の収縮特性においても発症例を対照例との間に大きな差異を認めなかった。ただ発症例では対照例に比して単縮時最大収縮力が低下しているという傾向が見られたが、この傾向は発症例の軽い重量によるもので、筋の変性によるものではなかった。

### まとめ

遺伝性運動失調症のモデル動物の1つである Rolling Mouse Nagoya について、末梢神経、筋機能の電気生理学的検討を行なった。この結果、末梢神経・筋系の機能低下は認められず、他にを行った傾斜負荷に対する姿勢反射から、中枢性の姿勢統御系に障害のあることが推察された。

### 文献

- 1) 室賀辰夫, 足立皓岑, 向山昌邦, 祖父江逸郎: Rolling Mouse Nagoya. a. 電気生理学的および組織化学的研究. 最新医学, 31: 219~225, 1976

## 安静時および視運動刺激時における脊髄小脳変性症の 立位能について

真野行生

現在まで視運動刺激に対しての姿勢保持に関する生理学的研究は主として正常人で行われているのみであるが、本研究では、脳幹小脳に病変の主座がある脊髄小脳変性症および正常人を対象とし、安静立位時での体の重心動揺および視運動刺激を与えてその誘発された眼振およびその時の重心動揺を観察し、人間の立位姿勢制御、特に脳幹小脳の姿勢制御への役割について検索を試みた。

### 対象および方法

対象とした脊髄小脳変性症は56名であり、厚生省脊髄小脳班会議による脊髄小脳変性症の分類によると、小脳型36例、脊髄小脳型18例、脊髄型（座性脊髄麻痺）2例であった。小脳型は晩発性小脳皮質萎縮症, Holmes 型およびその亜型21例（小脳皮質障害型）とオリブ橋小脳萎縮型, Menzel 型およびその亜型15例（脳幹小脳障害型）に分類した。本症は運動失調、歩行障害を主徴としているが、知覚障害や視力障害を伴う被験者は本研究対象より除外した。被験者の年齢は15歳より65歳までであった。正常対象者は同様に15歳より65歳までの118名であった。

## II 研究概要

重心動揺記録には X-Y レコーダおよびポリグラフレコーダを重心動揺計に接続して記録した。視運動刺激には垂直方向および水平方向ともに刺激できる Jung 型視運動刺激器を用い、各々 10°, 50°, 70°, 90°, 150°/sec の速度の刺激を与えた。眼球運動は電気眼振計で記録した。さらに重心動揺記録時に下腿筋の表面筋電図をポリグラフレコーダーに同時記録した。被験者はネックカラーを装着し、首だけの分離した運動を防いだ。

### 結 果

安静立位時、脊髄小脳変性症の重心動揺は正常人よりはるかに大きく、閉眼するとその比はさらに増加することが認められた。

垂直性および水平性視運動刺激時の重心動揺は脊髄小脳変性症および正常人ともに安静開眼時よりも大きく、特に視運動眼振の適応限界よりも速い視運動刺激ではめまい感を訴えると同時に重心動揺は大きくなった。視運動眼振の適応限界速度は脊髄小脳変性症では 50°/sec 前後であり、一方正常人では 90°/sec であった。視運動眼振の分類において、脊髄小脳変性症は方向消失型または抑制型を示すのがほとんどであったが、小脳皮質障害型では方向消失型、脳幹小脳障害型では抑制型を示す傾向がみられた。視運動刺激時における重心動揺面積は視運動眼振抑制型を示す脊髄小脳変性症の脳幹小脳型に大きい傾向がみられた。表面筋電図では脊髄小脳変性症および正常人ともに下腿筋での相反性発射は保たれており、揺れが大きくなるとそれにつれて揺れの方向とは逆の方向にひっぱる筋の発射が増加した。

### 考 察

以上の結果より脊髄小脳変性症の病変の主症である小脳脳幹は姿勢保持に重要な働きをしていると考えられた。さらに脊髄小脳変性症では視運動刺激時に、生理的眼振の破綻が正常人よりひきおこされやすく、前庭系へ影響をおよぼし、めまい感を伴う体の動揺が増加したと推測された。障害部位と視運動刺激時での重心動揺を比較すると、視運動刺激時の立位保持には脳幹がより重要な役割をしていると考えられ、また視運動眼振がみられることは、より姿勢制御に役立っていると推測された。

### ま と め

脊髄小脳変性症での安静時および視運動刺激時の立位能について検索した。小脳・脳幹は姿勢保持に重要な役割をしており、特に視運動刺激時の立位保持障害と脳幹障害との関連が推測された。



## 各種神経疾患における傾斜反応

真野行生

人間の平衡機能を臨床的に検査する方法の一つに傾斜テストがある。これは被験者を支持する台の角度を変化させることによりひきおこされる姿勢の変化をみる検査法であり、この姿勢の変化は傾斜反応と呼ばれ、姿勢反応の一種である。傾斜反応は体を保持している点を結ぶ面内に重心中心点が投射されるように姿勢を保とうとする体の動きである。支持台の角度変化により、角度のモーメントは傾斜軸の回りに体の回転をひきおこし、傾斜の方向へ体が投げだされそうになる。これは傾斜に抗する体の反応によって拮抗され、姿勢の再調整がおこる。生体内で姿勢の変化をとらえる器官は、皮膚よりの接触・圧覚器官、筋・腱にある固有受容覚器官、内耳にある前庭器官、視覚器官などであり、これらの求心性刺激が中枢神経系で統合され、応答器へ遠心性インパルスを送る。この遠心性インパルスは、身体の重心線が支持面から逸脱しないようにそれぞれ頭部、躯幹、四肢の筋緊張と筋弛緩の連続的变化をひきおこす。

当初傾斜テストは迷路の機能を測定する方法として臨床に導入されたが、Martin は傾斜テストが神経疾患での前庭刺激からひきおこされた姿勢反応の検査、評価に有益な方法であることを強調した。我々は本法によりパーキンソン症候群や脊髄小脳変性症、進行性筋ジストロフィー症などの神経疾患における姿勢反応について検討を行った。

### 対象および方法

パーキンソン症候群58例、脊髄小脳変性症8例およびDuchenne型筋ジストロフィー症12例を検査対象とし、正常人12例を対照コントロールとした。

1°を約10 msecで傾斜する傾斜台を用いた。傾斜反応を記録する手段として、重心動揺計、筋電図、足関節角度計を用いた。重心動揺計は3個の圧力トランスジューサーを有する検出台で、各圧力トランスジューサーよりの出力をX(左右方向への変動)とY(前後方向への変動)に記録した。傾斜台は重心動揺計の検出台の上にのせ、傾斜させた。重心動揺計よりの出力はX-Yレコーダーおよびポリグラフレコーダーに接続した。ポリグラフレコーダーには足関節の角度および足関節をコントロールしている下腿三頭筋と前脛骨筋の表面筋電図を同時記録した。

### 結果

#### 1) パーキンソン症候群

重心動揺計の検出台上の傾斜台を前方へ傾斜させて傾斜テストを行った時の重心動揺の軌跡では、

## II 研究概要

正常群では重心点はまず少し後方へ、次いで前方へ、最後にほぼ原点へもどるという経過を示す。これに対してパーキンソン症候群では傾斜後、前方への重心点の移動がみられるが、平面安静立位時の重心点にもどらない症例があった。重心の移行の軌跡も、正常群ではスムーズなのに反し、パーキンソン症候群ではスムーズではない軌跡を示す症例がみられた。

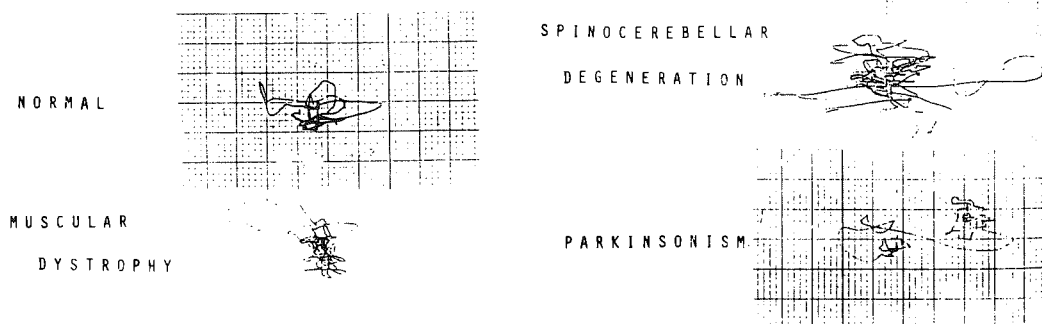
パーキンソン症候群の傾斜テスト時の下肢筋表面筋電図においては、正常人でみられる reciprocity をもった phasic discharge を欠くことが多く、相反筋に共同収縮が観察された。

### 2) 脊髄小脳変性症

脊髄小脳変性症の安静立位時の重心動揺は、正常群より増大している。開眼時では、正常に比べ脊髄小脳変性症では重心動揺面積は平均5倍位と大きく、閉眼するとさらに揺れは増した。前方への傾斜テストを行うと、 $5^{\circ} \sim 10^{\circ}$ の傾斜負荷でも多くの患者が転倒した。傾斜テストで、重心ははじめ後へ速く揺れ、ついで前への揺れがあり、その後数回続く後・前への揺れがある。揺れの振幅は大きく、動揺の持続時間も長い。この前後へ揺れる時の下腿筋の筋電図は reciprocity を有し、主働筋と拮抗筋の筋放電の重なりは正常と比較して、全くみられないかあるいはより短いことが多い。

### 3) Duchenne 型筋ジストロフィー症

Duchenne 型筋ジストロフィー症の安静立位時の重心動揺軌跡の面積および累積移行距離は正常対照者と比較すると大きな差はない。立っている台の前方への傾斜を行うと、筋ジストロフィー症では、初期の後方への速い揺れはあるが、それに続く前方への反応は小さい。筋ジストロフィー症での前方への重心移動は、通常ですら前方にある重心点がさらに前に行くことになり、短縮した heel cord、大腿四頭筋やハムストリングスがひっぱられ、この体の前方に行かせようとする回転力に抗し、重心点の前方への揺れが小さいことが観察された。



図：正常者，Duchenne 型筋ジストロフィー症，脊髄小脳変性症，パーキンソン症候群での前方への傾斜反応の比較

## 考 察

姿勢異常または姿勢反応の障害を示した3種の神経疾患の典型例において、立位時前方への傾斜テストによる重心動揺軌跡をもとにした傾斜反応を比較してみた。

尖足位を示す Duchenne 型ジストロフィー症では、立位接地面積は狭く、重心安定幅も狭く、前方への傾斜テストでは後方への揺れはみられるが、前方への揺れはみられない。これには筋拘縮による接地する面の減少と安静時の重心の前方への移動が関与し、このような末梢性要因によっても傾斜テストで異常パターンを示すことがわかる。

脊髄小脳変性症では、姿勢保持に重要な小脳・脳幹障害により、傾斜負荷により揺れは大きく、長く続き、揺れを止めるサーボ機構の働きが悪く、拮抗筋収縮の遅れによる異常な動揺への抑制の乏しい状態と推定された。

パーキンソン症候群の典型例に傾斜テストを行うと、重心点は前方へ行ったままで立ち直り反応の低下が認められる。このような症例では、pulsion テストで前方へ押しやると、軽度な pushing では体全体が棒のように前方へ傾くのみであったが、強い pushing では前傾したまま小股で走り始める。pushing 後、体の重心点が前にあり、あたかも重心点を追かけるように走り出す姿勢は、傾斜テストでの前方に移動した重心点の原点へのもどりの悪さと同じ機構と推測された。このことは基底核での高次姿勢中枢の統合的調節不全で生じたものと解釈され、Martin の述べる直接脱落症状である陰性徴候と考えられる。

## ま と め

パーキンソン症候群、脊髄小脳変性症、Duchenne 型筋ジストロフィー症を対象に傾斜テストを行い、各々に特徴ある異常な姿勢反応を記録した。Duchenne 型筋ジストロフィー症では、heel cord 短縮による尖足位での接地面の減少が、脊髄小脳変性症では小脳・脳幹のサーボ機構の障害が、さらにはパーキンソン症候群では基底核での姿勢の統合的調整不全が異常な姿勢反応に関与していると考えられた。

## 文 献

Martin, J.P.: The basal ganglia and posture. Pitman, London, 1967.

## Rigid-akinetic Parkinsonism の臨床鑑別

安藤一也, 印東利勝\*

パーキンソニズムはパーキンソン病のほかにも各種の症候性パーキンソニズムがあるが、治療上からできるだけ臨床鑑別しておくことが必要である。パーキンソン病は静止振戦を伴うものが大多数を占めるが、中には rigid-akinetic 型のものがあり、ほかのパーキンソニズムと鑑別がかなり困難な場合も少なくない<sup>1)</sup>。そこで rigid-akinetic 型をとり比較的頻度の高い4種のパーキンソニズムをとりあげ、その臨床鑑別について検討した。

### 対象と方法

国立武蔵療養所神経センターおよび県立多治見病院内科で経験した282例のパーキンソニズムの中には rigid-akinetic 型のパーキンソニズム(P)25例、血管障害性パーキンソニズム<sup>2)</sup>(VP)31例、線条体黒質変性症(SND)12例、分類不能の rigid-akinetic 型パーキンソニズム(U)12例があった。この4種のパーキンソニズムの臨床特徴について比較検討を行った。

### 結果

表に示したようにPでは男女差はないが、50才未満の発症例もかなりあるが、VPおよびUでは男が著しく多く、発症年齢70才以上のものが $\frac{1}{3}$ を占める。VPでは脳卒中既往、高血圧、糖尿病、TPHA陽性例が他群に比し著しく高い。

P以外のものでは片側発症例は少なく、寡動で発症するものが多い。また、P以外のものではパーキンソニズムの症候に加えて錐体路徴候、仮性球麻痺、知能低下、精神症状、尿失禁を伴うものが著しく多い。

SNDではさらに小脳症状、起立性低血圧などの自律神経症状を伴うものがある。

CTスキャンではP以外は脳室拡大、脳溝拡大が高率でとくにVPおよびUにこの傾向が強く、さらに実質内低吸収域も高率である。

P以外ではL-dopaの無効例がほとんどであるが、多少の効果はみるものもある。

また、P以外のものはPに比し進行速度が早く、発症五年以内にすべてstage IVに達する。

### 結論

Pでは15%が rigid-akinetic 型をとるが、他のパーキンソニズムに比べて片側発症例が多く、パーキンソニズム以外の随伴症候を欠き、CT異常は少なく、L-dopaが有効である。

\* 県立多治見病院神経内科

VPは脳血管障害の既往およびそれをおこしやすい要因をもち、CT異常がもっとも高率である。SNDはVPに比べると自律神経症状や小脳症状を呈するものがあり、CTによる脳室拡大はやや低率で、とくに実質内低吸収域は著しく低率である。

表 Parkinsonism の種類と各種要因の比較

|          |           | Parkinsonism の種類 |         |       |       |
|----------|-----------|------------------|---------|-------|-------|
|          |           | P                | VP      | SND   | U     |
| 男 女 比    |           | 1 : 1            | 3.4 : 1 | 2 : 1 | 5 : 1 |
| 発 症 年 令  | 50才未満     | 24%              | 6%      | 8%    | 0%    |
|          | 70才以上     | 0                | 32      | 16    | 33    |
| 背 景 因 子  | 脳卒中既往     | 4                | 74      | 8     | 0     |
|          | 高 血 圧     | 0                | 65      | 25    | 8     |
|          | 糖 尿 病     | 0                | 19      | 0     | 8     |
|          | T P H A陽性 | 4                | 23      | 0     | 8     |
| 片 側 発 症  |           | 52               | 16      | 8     | 17    |
| 初 発 症 状  | 寡 動       | 24               | 42      | 75    | 50    |
| 錐体路徴候    |           | 4                | 84      | 75    | 58    |
| 仮性球麻痺    |           | 0                | 48      | 75    | 33    |
| 小 脳 症 状  |           | 0                | 0       | 25    | 0     |
| 知 能 低 下  |           | 4                | 81      | 83    | 42    |
| 精 神 症 状  |           | 8                | 52      | 83    | 42    |
| 尿 失 禁    |           | 0                | 52      | 58    | 33    |
| 起立性低血圧   |           | 0                | 0       | 17    | 8     |
| C T      | 脳室拡大      | 25               | 83      | 67    | 83    |
|          | 脳溝拡大      | 33               | 100     | 100   | 100   |
|          | 実質内低吸収域   | 0                | 92      | 17    | 67    |
| L - dopa | 無 効       | 0                | 71      | 83    | 71    |
|          | やゝ有効      | 33               | 21      | 17    | 29    |

## 文 献

- 1) 安藤一也：パーキンソン病—病態生理と治療法—(加瀬正夫，安藤一也編)，金原出版，東京，1978，P. 8
- 2) 安藤一也：脳血管障害性パーキンソニズム，同上，P. 37

## 内科領域の治療薬による薬物性パーキンソニズムの臨床特徴

安藤一也, 印東利勝\*

薬物性パーキンソニズムは大量の抗精神病薬により惹起されるものがほとんどで, 内科領域で各種疾患の治療中に発現することは稀であるとされている。我々は内科領域で用いられる薬剤により惹起された14例のパーキンソニズムを経験したので, その臨床特徴をまとめ, パーキンソン病との鑑別について検討した。

### 対象と方法

国立武蔵療養所神経センターおよび県立多治見病院神経内科で経験した282例のパーキンソニズムの中で, 薬剤起因によると考えられるものは33例(11.7%)である。この中で内科領域で治療中に発現し, その治療薬剤についての詳細を確認できたものは14例である。その内訳は metoclopramide によるもの10例, reserpine によるもの2例, sulpiride によるもの2例である。これらの症例の薬剤服用状況と臨床特徴について検討を行った。

### 結 果

#### ① metoclopramide induced Parkinsonism

男3例, 女7例, 発症年齢は40才代2例, 50才代1例, 60才代5例, 70才代2例で, 全例に慢性胃炎などの消化器症状がある。パーキンソニズム発症までの服薬は全例1日量30mg, 期間は最短3週間, 最長2年で平均7.7カ月である。3例は急性, 7例は亜急性の発症様式で, 初発症状は両上肢または下肢の静止振戦2例, 頭部静止振戦+寡動1例, 上肢姿勢振戦+全身固縮1例, 上肢姿勢振戦+寡動1例, 寡動5例で, 片側性発症はない。受診時固縮と寡動は全例に, 静止振戦と姿勢反応障害はそれぞれ7例にみられ, ほかに上肢姿勢振戦を5例に, 口舌・下顎などのジスキネジーを4例にみとめた。この中で固縮・寡動型の3例は stage V の重度障害を呈した。薬剤投与中止后最短2週間, 最長1年, 平均4.2カ月でパーキンソニズムの全症状は消退した。

#### ② reserpine induced Parkinsonism

男女各1例で, 60才代と70才代で発症し, 発症までに1日量0.75mgを1例は1年, 他例は4年7カ月服用していた。初発症状は2例とも右上肢振戦(1例は静止性, 他例は姿勢性)で受診時にはパーキンソニズムの四大症候を具備し, ほかに1例では口舌ジスキネジー, 他例では両上肢姿勢振戦を伴った。比較的急速に発症し, 薬剤投与中止后5週間および8カ月で全治した。

\* 県立多治見病院神経内科

## ③ sulpiride induced Parkinsonism

2例とも70才代の男で、胃潰瘍に対してパーキンソニズム発症まで1例は1日量300mgを5カ月間、他例は150mgを1年6カ月にわたり服用していた。初発症状は1例は四肢静止振戦、他例は寡動で、受診時には1例は固縮・寡動型、他例は四大症候を具備し、いずれも口舌ジスキネジーを伴い、1例では両上肢姿勢振戦もみられた。亜急性に発症し、薬剤投与中止后1~3カ月で全治した。

## 結 論

内科領域の治療薬によるパーキンソニズムは受診時症候はパーキンソン病と類似したものがかなりある。しかし、口舌ジスキネジー、姿勢振戦を伴うものがかなり多く、発症は両側性で比較的急性であり、薬剤投与中止により数カ月以内にはほとんど全治する。

## 文 献

- 1) 安藤一也, 印東利勝: Metoclopramide による Parkinsonism. 総合臨床, 28: 889, 1979
- 2) 安藤一也: 薬物性パーキンソニズム, パーキンソン病—病態生理と治療法(加瀬正夫, 安藤一也編), 金原出版, 1978, P. 85
- 3) Tarsy, D., Parkes, J.D., Marsden, C.D.: Metoclopramide and pimozide in Parkinson's disease and levodopa induced dyskinesias. J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry., 38: 331, 1975.

## 初老期および老年期痴呆に対するフィゾスチグミン療法

村本 治, 向山昌邦, 安藤一也, 長尾佳子\*

近年 Alzheimer 病や老年痴呆患者の脳の生化学的分析から、脳内コリン作働系の選択的障害が明らかにされ注目されている。すなわち脳内の acetylcholine 合成酵素である choline acetyltransferase (CAT) の大脳皮質、海馬等での選択的低下が示されたことである。この事実から脳内コリン作働系を賦活することが本病の治療に有効であろうことが予想された。しかし choline chloride や lecithin (phosphatidylcholine) により脳内 choline 量を高める試みはいずれも成功しなかった。これらの試みはすべて節前性に acetylcholine の材料を増やすことを目標にしていた。しかし1979年に節後性に cholinesterase をおさえることによりコリン作働系を賦活する試みが相次いで行なわれ

\* 東京都立松沢病院

## II 研究概要

少なくとも3ヶ所の施設で有効性が報告された<sup>2)~4)</sup>これらの報告は共通して脳血液関門を通過する抗 cholinesterase 剤であるフィゾスチグミンを使用している。この度われわれは、この薬剤が一般に老年期の痴呆患者に対しどのような効果をもたらすか、臨床実用的な有用性はあるのか等、本剤の初老期および老年期痴呆に対する治療剤としての可能性を明らかにすることを目的として、何例かの患者に実際に使用し薬効を評価してみた。

### 対象と方法

国立武蔵療養所神経内科および都立松沢病院に入院または通院中の初老期痴呆5例、老年痴呆4例、血管障害性痴呆1例を対象とした(表1, 2)。初老期痴呆の内訳は、Alzheimer病4例、Pick病に近い像を呈する分類不明の初老期痴呆1例であり、全例痴呆は高度でGruhnthalのstage II以上に進行しており、客観化した定量的神経心理学検査は不可能であった。なお表1では便宜的に

表1 初老期痴呆群

| 症 例   | 臨 床 診 断             | 年 令・性 | 経 過 年 数 | stage     | physostigmine の効果                             |
|-------|---------------------|-------|---------|-----------|---|
| C. K. | Alzheimer           | 58 女  | 4       | II        | (+) 積極性の増加。看護者の誘導によく応じ、行動のまとまりの改善             |
| S. M. | Alzheimer           | 61 女  | 6       | II→IIIa   | (+) 破衣、不潔行動の改善、接触の改善                          |
| M. K. | Alzheimer           | 63 女  | 5       | IIIa→IIIb | (-) (triebhafter Enthemmung?) 精神運動興奮、常動行動、語間代 |
| A. S. | Alzheimer           | 55 女  | 9~10    | IIIb      | (-) (常動運動、精神運動興奮、多弁、語間代)                      |
| I. S. | Alzheimer of Pick?? | 62 女  | 6       | II        | (-) (Denkfaulheit?) 接触困難、徘徊、感覚失語(?), 放尿)      |

表2 老年痴呆群

| 症 例   | 臨 床 診 断    | 年 令・性 | physostigmine の効果           |
|-------|------------|-------|-----------------------------|
| T. S. | 老年痴呆       | 92 女  | (-) (Korsakoff 症状, 夜間譫妄)    |
| T. N. | 血管障害性痴呆(?) | 79 女  | (±) (Korsakoff 症状, 譫妄)      |
| T. H. | 老年痴呆       | 80 女  | (+) 徘徊、健忘症状とそれから派生する被害妄想の消失 |
| S. I. | 老年痴呆       | 84 男  | (±) 健忘症状の軽減                 |
| S. M. | 老年痴呆       | 78 女  | (-) (健忘症状, 徘徊)              |



最後の stage III を二つに分け stage IIIa と IIIb とした。これは IIIa はいまだ歩行可能な時期、IIIb は臥褥状態の時期ということで、terminal stage でも歩いている状態と臥褥を余儀なくされる状態とでは病期にかなりははっきりした進行があるように考えられたから便宜的に分けただけのことである。

フィゾスチグミンは 1.0~1.5 mg を経口投与した。患者の病期が進行しており客観化した定量的評価は困難であったので、今回は open study で 2 つの実験条件を交互にくり返す、いわゆる A B A B 方式をとり、1~4 週間の周期で薬物を入れたり切ったりし、使用時と非使用時の状態を比較観察した。

## 結 果

初老期痴呆 5 例中 2 例に明らかな効果が見られた(表 1)。1 例は夜間譫妄、徘徊の減少、自発性自発語の増加、日常動作の円滑化、失行性の動作障害の減少、看護者の誘導の容易化が明らかに認められた。他の 1 例には破衣、不潔行動の改善、接触の改善が見られた。無効であった 3 例のうち 2 例はいずれも臥褥状態に入った stage III の後半(IIIb)の状態、間歇的な精神運動興奮を繰り返していた症例であり、他の 1 例は種々の臨床特徴から典型的 Alzheimer 病とは考えられず、むしろどちらかといえば Pick 病に近いと思われる症例であった。老年痴呆群の中で有効であったのは 1 例であり、徘徊や、健忘症状とそれに基づく被害妄想の消失が見られた。

## 考 察

今回の検討は未だ症例数が少なく、直ちに結論的な判断は出せないが、フィゾスチグミンが有効であった症例と無効であった症例とを比較し、更に他の施設で行なわれた症例も参考にして考察してみると、一定の傾向はあるように思われる。すなわちフィゾスチグミンが有効なのは概して stage I や II の軽症例で、進行の軽い症例のようである。また臨床的に典型的な Alzheimer 病の病像をとり、欠落症状のみで強い精神症状を示さない例がよいようである。逆に stage IV 以上で特に臥褥状態にある患者、精神運動興奮の強い患者には効きにくいように思われる。

また今回の症例群の中では初老期痴呆には比較的有效例が多く、老年期痴呆には有効例が少なかったが、病理学的には同じ疾患と考えられている初老期痴呆と老年痴呆に薬効の差があるか否かは今後に残された興味ある問題である。

今回の検討からはその他 2~3 の意義が指摘できる。まず今までの報告ではすべて注射剤を使用しており、経口剤の有効性は予想されることではあるが報告されていない。今回の検討ではすべてフィゾスチグミンの経口剤を使用し、一定の効果が得られた。注射剤に多く見られる悪心、嘔吐や多くの自律神経性の副作用を考えると、副作用の少ない経口剤も有効であったことは今後の使用を

## II 研究概要

考えていく上でひとつの重要な情報と思われる。今後は経口剤と注射剤との間にどのような効果の差があるか、dosis の等価性はどの程度の比かなども検討していく必要がある。

更に今までの検討では記憶<sup>(2)(4)</sup>や構成行為<sup>(3)</sup>などの cognitive function を薬効の指標としており、今回のような behavioral な変化をみた検討はない。今回の検討からは本剤が痴呆患者の日常の行動異常を management していく上にも実用性のありうる可能性を示唆しており重要な問題と思われる。

最近 Bowen らは Alzheimer 病を今までの accerated aging としてとらえるのとらえ方から selective neuronal loss, すなわち他の系統変性疾患と同様、神経伝達物質に依存した neuron 系が選択的に変性を来す疾患としてとらえなおす考え方を提案している。<sup>(5)</sup> フィズスチグミンによる治療は単に患者の behavioral な管理の問題だけでなく、Alzheimer 病の疾患の本態をどのようにとらえるかの重要な問題を含んでいる。

### まとめ

初老期痴呆と老年痴呆の症例に対し、脳内コリン作働系の選択的障害の仮説に基づき、フィズスチグミンを経口投与し、主として behavioral な改善を何例かの患者において見た。この結果は、本剤がほとんど副作用なしに痴呆患者の behavioral な面での治療を行ないうる可能性を示唆していると思われる、今後の広範な検討が期待される。

### 文 献

- 1) Bowen, D.M., Smith, C.B., White, B., et al.: Neurotransmitter-related enzymes and indices of hypoxia in senile dementia and other abiotropyies. Brain, 99: 459-496, 1976.
- 2) Smith, C.M. & Swash, M.: Physostigmine in Alzheimer's disease. Lance, i: 42, 1979.
- 3) Muramoto, O., Sugishita, M., Sugita, H., et al.: Effect of physostigmine on constructional and memory tasks in Alzheimer's disease. Arch. Neurol., 36: 501-503, 1979.
- 4) Peters, B.H. & Levin, H.S.: Effects of physostigmine and lecithin on memory in Alzheimer's disease. Ann. Neurol., 6: 219-221, 1979.
- 5) Bowen, D.M., White, P., Spillane, J.A., et al.: Accelerated aging or selective neuronal loss as an important cause of dementia? Lancet, i: 11-14, 1979.

## 内分泌代謝疾患に伴う末梢神経障害の病理学的研究 ——糖尿病，甲状腺機能低下症，クッシング症候群に伴うノイロパチーについて——

向山昌邦，里吉宮二郎，松岡幸彦\*，高柳哲也\*，祖父江逸郎\*

2, 3 の内分泌代謝疾患に認められたノイロパチーの症例の生検腓腹神経について病理学的に検索し，各ノイロパチーの病変の特徴を検討した。

### 検索対象と方法

糖尿病性ノイロパチー18例（男11，女7．年齢31～72才），甲状腺機能低下症に伴うノイロパチー6例（男1，女5．年齢25～60才），クッシング症候群に伴うノイロパチー3例（女3．年齢29～36才）で，全例とも程度の差はあるが，glove and stocking 型の神経障害分布を示していた。

各症例の生検腓腹神経について光顕および電顕による検索をおこない，単位面積あたりの有髄神経線維の直径別ヒストグラムを作製した。一部の症例ではときほぐし線維法による検索をおこなった。

### 結 果

1) 糖尿病，甲状腺機能低下症，クッシング症候群に伴うノイロパチーに共通な病理所見として，髄鞘病変が軸索病変に比べて強いことがあげられる。

光顕所見では，Masson's trichrome 染色やKrüver-Barrera 染色の標本では，髄鞘はしばしば膨大，崩壊などの病変を示し，有髄神経線維数は減少しているが，Bodian 染色標本でみると軸索はかなり正常のままの状態に残存しているのを認めた。

電顕所見では，髄鞘の破壊，myelin ovoid の形成を認める症例があり，また軸索の太さに比べて髄鞘の厚さが異常に薄い神経線維が目立った。しかし軸索には著変を認めなかった。

ときほぐし線維法でも節性脱髄が目立ち，絞輪間距離の大小不同の著しい症例が多く，これらは節性脱髄とその再生像と考えられた。

以上の所見は，いずれも髄鞘病変が主体の像と考えられるが，病変の程度の強いものは，糖尿病性ノイロパチーの症例に多く認められた。

2) 単位面積あたりの有髄神経線維総数は，糖尿病性ノイロパチーの症例では正常対照例の半分以下に減少したものが多かったが，甲状腺機能低下症やクッシング症候群の症例では減少の程度が軽度であった。有髄神経線維総数の減少の程度と臨床像における重症度とはかなりよく対応してい

\* 名古屋大学第一内科

## II 研究概要

た。

3) 直径別ヒストグラムでは、重症例においては大径線維群の減少と一峰性分布が認められたが、今回検索した症例のうちには二峰性分布を示す症例もかなり認められた。

4) 慢性に経過した糖尿病性ノイロパチーの2症例で玉ねぎ様構造を認めた。

5) 糖尿病性ノイロパチーの症例では、神経周膜内の血管の壁の変性や血管内膜の肥厚がしばしば認められたが、神経周膜内の血管の病変の程度と神経線維の変性の程度との間には相関を認めなかった。

6) 甲状腺機能低下症に伴うノイロパチーでは、全例に神経周膜下に無構造物質の沈着があり、これはメチレンブルーやトルイジンブルー染色では異染性を示した。この無構造物質の出現頻度は、糖尿病性ノイロパチーやクッシング症候群の症例と比較しても、また正常対照例と比較しても高頻度であった。

### 考 察

糖尿病性ノイロパチーでは軸索の病変に比べて髄鞘の病変の程度が強いことや、節性脱髄の目立つことは、著者らがすでに報告しているが、本研究において甲状腺機能低下症やクッシング症候群に伴うノイロパチーでも同じ傾向が認められた。

これは、糖尿病、甲状腺機能低下症、クッシング症候群など内分泌代謝疾患における代謝異常が、末梢神経系では、神経細胞や軸索に対するよりも、髄鞘を栄養しているシュワン細胞に対して、より強い障害を与えている結果と考えられる。

今回検索した症例では、糖尿病性ノイロパチーでは、甲状腺機能低下症やクッシング症候群に伴うノイロパチーの症例に比べて、末梢神経病変の程度が強く、単位面積あたりの神経線維数の減少が著しく、またときほぐし線維法においても絞輪間距離のばらつきの著明な症例を多く認めた。これは糖尿病性ノイロパチーの症例の方が、甲状腺機能低下症やクッシング症候群に伴うノイロパチーの症例に比べて、末梢神経症状の重篤なものが多かったためと考えられる。

つぎに有髄神経線維の直径別ヒストグラムについて考える。病理変化の強い症例では、大径線維群の消失と一峰性分布を認めたが、多くの症例では、全体的な神経線維の小径化の傾向は認めるものの、二峰性分布はそのまま保存される傾向を認めた。これは大径線維群の減少と同時に小径線維群も減少した結果と考えられる。

糖尿病性ノイロパチー症例では、神経周膜中の血管の壁の変性や血管内膜の肥厚を認めることが多かったが、血管病変の程度と神経線維の変性、脱落の程度との間には相関を認めなかった。糖尿病における glove and stocking 型の末梢神経障害の原因として、局所の血管障害によるものよりも、糖尿病のもつ全身的な代謝異常を重視する従来の考え方に一致する所見と考えた。

甲状腺機能低下症に伴うノイロパチーでは、髄鞘病変が目立つという報告と、軸索病変が目立つという報告が文献中に認められるが、本研究では前者に近い所見を得た。ただ1例においては、ときほぐし線維法で waller 変性とそれに続く再生を示すと思われる、短い絞輪間距離を有する神経線維が多数混在して認められた。甲状腺機能低下症に伴うノイロパチーにおいて、髄鞘病変が強いのか、軸索病変が強いのかという問題は、臨床上の罹病期間や重症度とも関連することと思われるので慎重に結論を下すことが望まれる。

甲状腺機能低下症に伴うノイロパチーの症例で認められた、神経周膜下の異染性無構造物質の沈着は従来、Renaut bodyとして説明されており、正常例でも場合によっては認められることから、甲状腺機能低下症に伴うノイロパチーの症例での沈着の意義について、しばしば議論されてきた事項であるが、本研究では検索した6例の全例に沈着を認めており、ノイロパチーの発現に何らかの関連をもつ可能性が強いと思われた。

クッシング症候群におけるノイロパチーについては、従来散発的に報告がなされているが、本研究において、糖尿病性ノイロパチーや甲状腺機能低下症に伴うノイロパチーの場合と同様に髄鞘病変が目立つ末梢神経病変を認めたことより、かなりの数の潜在的な末梢神経障害がクッシング症候群に存在する可能性が考えられる。

クッシング症候群では、糖代謝異常や電解質異常を認めることが多く、これらの要因によって末梢神経障害が引き起こされるものと考えられる。

## まとめ

糖尿病、甲状腺機能低下症、クッシング症候群に伴うノイロパチーの症例の生検腓腹神経について病理学的に検索した。いずれも、軸索の病変に比べて髄鞘の病変が目立ったことから、これらのノイロパチーでは、全身の代謝異常によるシュワン細胞の機能障害がその主たる病態と考えられた。

## 文献

- 1) Bressler, R., et al.: Cushing's syndrome and the Guillain-Barré syndrome. *Ann. Intern. Med.*, 50: 1298, 1959.
- 2) Chopra, J.S., et al.: The pathogenesis of sural nerve changes in diabetes mellitus. *Brain*, 92: 391, 1969.
- 3) Mukoyama, M. & Matsuoka, Y.: Correlation between pathological alterations and functional disorders in the peripheral neuropathies. *Japanese J. Med.*, 12: 105, 1973.
- 4) Schindler, H. & Koller, K.: Schwere Myopathie und periphere Nervenläsion bei Cushing-Syndrom infolge eines Nebennierenrindenadenoms. *Wien Med. Wschr.*, 124: 758, 1974.

## II 研究概要

- 5) Shirabe, T., et al.: Myxoedematous polyneuropathy: A light and electron microscopic study of the peripheral nerve and muscle. J. Neurol. Neurosurg. Psychiat., 38: 241, 1975.

### らいに伴う末梢神経障害の臨床病理学的研究

寺本 純, 向山昌邦, 左奈田精孝\*, 小関正倫\*, 小沢利治\*\*

らい患者に知覚障害, 運動障害, 神経痛などの末梢神経障害が合併することが知られているが, これらの末梢神経障害の発生の機序, 病態, 経過などについては, 臨床的にも病理学的にもまだいくつかが問題を残している。今回われわれはこれらの点を検討する意味でらい患者の生検腓腹神経について病理形態学的に検討を加えた。

#### 対象と方法

対象は8例, 年齢は27才~78才の男女各4例。らい罹患期間は3年の症例が1例, それ以外は23~48年であった。全例に下肢知覚脱失を認め, 神経痛は5例に認められた。方法は, 腓腹神経生検を施行し, H-E 染色, Masson's trichrome 染色, Bodian 染色, Ziel-Nelsen 染色を行ない光顕的に検索した。

#### 結 果

線維化, Schwann 細胞核の増加, 有髄神経線維数の減少, 炎症細胞の浸潤, ライ菌の存在の5項目についてそれぞれの病変の程度を(-)~(卅)の4段階に分類して記載した(表-2)。

神経線維束の線維化は, 全例に認められ, 8例中6例においては図-1に示すように著明に線維成分におきかえられていた。他の2例でも神経束によっては線維化の強い部分が混在していた。Schwann 細胞の増加は, 線維化のやや乏しい2例およびらい菌の証明された1例を含む計5例に認められたが, その程度にはかなりばらつきがあった。有髄神経線維数は全例で著減しており, その減少の程度は先に述べた線維化の程度と逆相関の関係を示した。すなわち6例においては全く有髄神経線維は認められず, 比較的障害の乏しかった症例でも, 神経線維はごくまばらで, これらの神経線維では, 髓鞘の正円構造は乱れ, また菲薄化が認められた(図-2)。炎症細胞の浸潤は3症

\* 国立療養所多摩全生園

\*\* 国立多摩研究所

表 - 1 検索対象

| Name | Age | Sex | Type | Duration of illness | Anesthesia of lower ext. | Neuralgia |
|------|-----|-----|------|---------------------|--------------------------|-----------|
| M.S. | 39  | F.  | L    | 23 years            | +                        | -         |
| Y.S. | 78  | M.  | L    | 35 years            | +                        | +         |
| K.Y. | 52  | F.  | L    | 38 years            | +                        | +         |
| K.O. | 76  | M.  | L    | 48 years            | +                        | -         |
| K.H. | 27  | F.  | BL   | 3 years             | +                        | +         |
| S.K. | 71  | M.  | LL   | 32 years            | +                        | -         |
| T.N. | 72  | M.  | BT   | 36 years            | +                        | +         |
| H.Y. | 69  | F.  | BB   | 25 years            | +                        | +         |

表 - 2 病理学的所見

|      | Fibrosis | Increase of Schwann cells | Decrease of nerve fibers | Inflammatory cells | Lepra bacilli |
|------|----------|---------------------------|--------------------------|--------------------|---------------|
| M.S. | +++      | -                         | +++                      | -                  | -             |
| Y.S. | +++      | +                         | +++                      | +                  | +++           |
| K.Y. | +++      | +                         | +++                      | -                  | -             |
| K.O. | +++      | -                         | +++                      | -                  | -             |
| K.H. | ++       | ++                        | ++                       | ++                 | -             |
| S.K. | +        | +++                       | +                        | +                  | -             |
| T.N. | +++      | +                         | +++                      | -                  | -             |
| H.Y. | +++      | -                         | +++                      | -                  | -             |

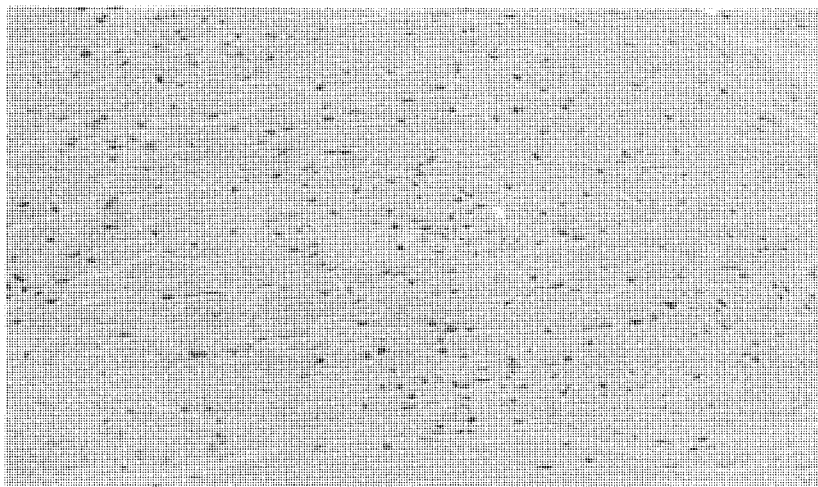


図 - 1 神経線維束の著明な線維化。Masson's trichrome 染色。× 200。

## II 研究概要

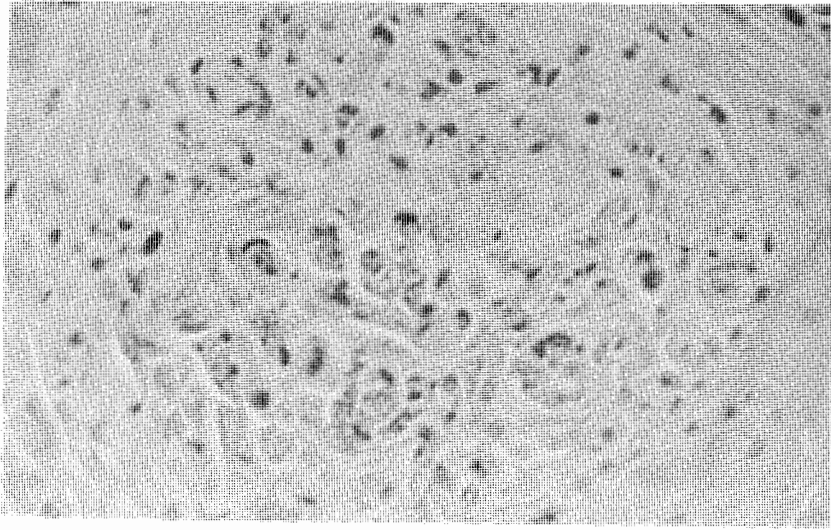


図-2 正円構造を失った髄鞘の散在。Masson's trichrome 染色。×400。

例にみられたが、これらの炎症所見は、リンパ球の浸潤のみならず、形質細胞、線維芽細胞なども出現していた。らい菌は1例のみに認められ、この症例では菌体が神経束内全体に均一に散在していた。

### 考 察

今回、われわれは、神経症状とりわけ患者の訴えとして最も苦痛と思われる神経痛とその病理所見との対比を検討しようと試みた。しかし、これらの各症例は、①神経痛の発現前に相当期間知覚脱失があった、②病理像のうえでも著明な変化がみられ、有髄神経線維はほとんどみられず、極めて線維化が強かった、③反応性変化としての細胞浸潤は、経過の短い1症例において最も明確であった。この炎症所見は、神経痛の発現との関連よりもむしろらい罹患期間が短いことと関連があるのではないかと考えられた。従って神経痛と末梢神経病変との対比はかなり難しい問題であり、今後の検討が待たれる。

今回われわれが検索を加えた8症例は、知覚障害が著明であり、腓腹神経病理所見はこれを支持するものではあったが、実際にこれらの所見が、中枢側、あるいは末梢側に向かってどのような拡がりをもっているかという点についての検索は不十分であり、この点の検討が今後必要であろう。しかし临床上、腓腹神経以外の生検は困難であり、病理形態学的検査のうえでは自ら制限をうけざるを得ないが、今後臨床的検討を充分に加えつつ、病勢の諸段階、諸病型、さらには年齢、投与薬物などとの相互関連をみながら症例の蓄積を行ない、らいの末梢神経病変の原因と病態を解明してい



くことが重要であろう。

### まとめ

末梢神経障害を有する8症例のらい患者（うち、下肢の神経痛を有するもの5症例）の腓腹神経病理所見について検索を加えた。全例に神経束の線維化と髄鞘の脱落がみられ、その程度は強かった。比較的らい罹患期間の短い1症例では炎症所見も認められた。これらの諸病理所見は症例によって若干のばらつきがあったが、臨床的な末梢神経障害と病理所見とはかなりよく対応していた。しかし、神経痛と病理所見との対比はかなり難しい問題と考えられた。

### 文 献

- 1) 向山昌邦, 佐々木紀典: らいの末梢神経障害の病理組織学的研究—剖検症例について—  
脳と神経, 31: 403, 1979
- 2) Rosenberg, R.N. & Lovelace, R.E.: Mononeuritis multiplex in lepromatous leprosy. Arch. Neurol., 19: 310, 1968.

## スモン患者に対する弾力帯の効果

真野行生, 安藤一也

スモン患者の機能改善の方法として弾力帯装着を試み、立位・歩行能への効果の検索を行った。

### 方 法

対象は歩行障害を示しながらも歩行可能な19例のスモン患者で、平均年齢は57才、罹病期間は平均12年であった。方法として骨盤部用と大腿部用に弾力帯を作成し、患者の骨盤部または両大腿部に装着させ、歩行足跡観察および重心動揺検査を行った。歩行足跡より、左および右脚での step length と、左右間の幅である stride width を測定し、それらが正常値に近くなる場合と、各ステップでのばらつきが小さくなる場合を改善とし、評価得点計算を行った。重心動揺検査では、閉眼でできるだけ閉脚した状態での重心動揺軌跡を X-Y レコーダに記録し、軌跡の面積、累積移行距離、左右と前後の長さを測定した。

## II 研究概要

### 結 果

弾力帯を骨盤部と大腿部に別々に装着し、比較すると、歩行評価での改善は、大腿部装着の方がより優っていた。効果のみられる症例では、歩行の stride width のばらつきが少なくなり、左右足の step length の違いが著明に改善された。臨床所見と弾力帯装着による歩行改善では、位置覚の障害が強い症例に比較的効果が認められた。重心動揺検査では、閉眼（EC）立位が保持できたのは19例中17例であった。弾力帯装着により11%以上の減少率を示した症例は面積で17例中11例（64%）、累積移行距離で9例（52%）、前後への揺れ幅で10例（58%）、左右への揺れ幅で13例（76%）であった。弾力帯装着による歩行評価と重心動揺面積減少率との比較では、歩行評価での改善症例のほとんどは重心動揺でも改善を示した（図）。

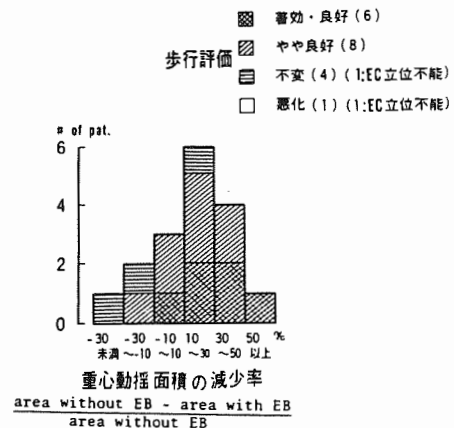
### 考 察

弾力帯装着により小脳障害患者の一部で上肢機能や、立位・歩行の改善がみられるが、最近我々は、弾力帯装着により筋紡錘からの求心性入力 of 著明な増加をみとめ、その効果機序との関連に興味をもっている。今回、臨床症状のうちかなりの位置覚障害の患者に効果をより認める傾向がみられた。弾力帯装着により、①筋紡錘よりの求心性入力 of 増加により運動出力の改善をみるか、②弾力帯そのものが関節の過剰な伸張に抗していると考えられるが、弾力帯を関節周囲ではなく、筋腹に装着した方が効果を認める症例が多いことから、

①の関与の方が高いと推測される。弾力帯が効果ある症例では弾力帯を骨盤部よりも大腿部装着した方がより効果があることは、下肢大腿部からの入力の増加が低下した立位・歩行能への改善と関連があると推測された。しかし臨床的には、一部の小脳疾患にみられた非常に著明な立位・歩行能の改善はみられず、その改善程度は比較的軽度である。スモン患者では小脳疾患と同時に、弾力帯装着により筋紡錘よりの求心性入力は増加すると推測されるが、脊髄末梢神経障害のため増加の程度は著明ではないとも考えられ、障害部位の相違による弾力帯効果機序の違いが推測される。

### ま と め

スモン患者の骨盤部あるいは大腿部に弾力帯を装着し、歩行分析および重心動揺検査により検討した。弾力帯により効果を認める症例は位置覚障害が強い患者に多く、今後長期間の経過を follow



図：SMON患者への弾力帯装着による歩行評価とその重心動揺減少率

したいと考えている。

## 文 献

- 1) 真野行生 他： 神経疾患における弾力帯の効果機序について。第21回日本神経学会総会抄録集，1980，P. 203.

## 筋ジストロフィー症の細胞膜の物理化学的研究 I 赤血球の形態

吉田瑞子，岩崎祐三，安藤一也

Matheson 等<sup>1)</sup>が，1974年に筋ジストロフィー症患者の赤血球の走査電子顕微鏡像の異常を報告して以来，今日迄筋ジストロフィー症患者の赤血球形態について，種々研究され討議が続けられて来た。しかし研究者により赤血球の形態観察の条件や試料作製の方法が異なるため，今迄発表された研究の結果を比較検討することは困難である。試料作成法の相違とは，①採血法の異なり，②使用溶液の相違，および③採血後形態観察までの処理方法の相違である。③には採血後に全血液を固定し赤血球を得る場合と，赤血球を洗滌後固定する場合の2通りがある。

我々はまず正常者の血液で上記②および③で赤血球形態に影響を与えない溶液を撰びだした。その溶液を用いて，患者と正常者の赤血球を処理し，電顕標本を作成，赤血球形態の比較検討を行った。

### 実験方法

赤血球形態観察に適当な溶液を選ぶために，Table 1 に示す7種類の溶液で，赤血球の洗滌液及びその溶液の固定液（1% glutaraldehyde）を作った。正常成人1名よりヘパリン採血し，直後に血液を各固定液に入れ赤血球を固定した場合と，赤血球を各溶液で洗滌後，同じ溶液の固定液で固定した場合の2通りの固定を行った。固定した赤血球は脱水後，臨界点乾燥を行いPt-Pd で coating し，走査電子顕微鏡用標本を得た。

患者の赤血球形態を観察した場合，7種類の溶液から撰んだ溶液（Alsever's solution）で赤血球洗滌液とその溶液の固定液（1% glutaraldehyde）を作成した。血液は Duchenne 型筋ジストロフィー症患者5名，およびほぼ同一年令の正常対照者4名よりヘパリン採血した。採血直後に血液を固定液に入れ固定した赤血球を得る場合と，採血後6時間4°Cに放置し，赤血球を洗滌後固定した場合の2通りの固定赤血球を得た。日立S-430型，走査電子顕微鏡を用いて，試料台を60°傾斜

## II 研究概要

して観察，写真撮影を行なった。さらに未処理の赤血球，固定する前の赤血球を光学顕微鏡でも観察し，走査電顕像との対比を行なった。

赤血球異常形態は Bessis 等<sup>2)</sup> の分類に従い echinocyte I 以上，stomatocyte I 以上の変化を異常とした。たゞし Table 1 では正常形 (discocyte) 以外を異常形態とみなし，異常赤血球の出現率を求めた。“+” は 0 から数%，“+++” はおよそ 50%，“+++++” は 100% 近い異常変形出現率を示す赤血球は 600 個以上を数えた。

### 結 果

Table 1 に示すように，血液保存に用いられる Alsever 液とリン酸緩衝食塩水 (PBS(+)) 中の赤血球は採血直後に固定した場合も，洗滌後固定した場合も共に異常形態の出現率が非常に少なかった。しかし採血後 4°C で 24 時間を経過すると PBS(+) 中の赤血球に echinocyte 型が増えた。以上の結果，Alsever 液がもっとも赤血球形態の異常を起しにくいことが解った。

そこで患者の赤血球形態を観察するために，Alsever 液を使用した。その結果を Table 2 に示す。患者と対照者の赤血球は処理過程のいかんにかゝらず数%の異常形態を示した。しかし患者と対照者の赤血球異常形態出現に差は認められなかった。

またヘパリン採血の血液中の赤血球を光学顕微鏡で観察したが，患者と対照者の赤血球形態の差はまったく認められなかった。

### 考 察

1974 年以来現在まで患者の赤血球形態異常の議論が続いたのは，それぞれの研究者によって試料の処理方法が異なっていたことが重要な原因のひとつであると考えられる。すなわち赤血球の処理条件が，赤血球の種々の形態異常を起し，それが疾患による形態異常に重複している可能性がある。

本研究では，まず赤血球形態に，処理条件と疾患による影響ができる限り重複しない赤血球処理条件を選び出した。その処理で，患者と対照者の赤血球形態を比較検討した結果，両者間にはまったく差は認められなかった。

Miller 等<sup>3)</sup> は赤血球形態の pH 依存性を調べて，患者の赤血球は正常対照者のそれに比べて pH の変化を受け易く，異常形態の出現が増加することを述べている。特に低い pH では，stomatocyte 型が増加することを示した。しかし本研究に用いた Alsever 液は pH 6 であるが，その中に浮遊した患者，正常者の赤血球は，正常な discocyte を示した。stomatocyte 型は数%に過ぎなかった。

Table 1

|   | pH  | Osmotic pressure<br>m osm/l | Occurance of deformed RBC<br>in solution |                           |
|---|-----|-----------------------------|--|---------------------------|
|   |     |                             | Fixation without<br>washing              | Fixation after<br>washing |
| Plasma  | 7.3 | 290                         |  |                           |
| Alsever's solution  | 6.0 | 331                         | +  | +                         |
| Phosphate buffered saline<br>containing Mg <sup>++</sup> and Ca <sup>++</sup> | 7.4 | 281                         | +  | +                         |
| 1/15 M phosphate buffer   | 7.4 | 150                         | ++                                       | +++                       |
| 0.9% NaCl   | 5.5 | 284                         | ++                                       | +++                       |
| Ringer's solution   | 5.5 | 288                         | +  | ++++                      |
| 1/15 M phosphate buffer<br>containing 5.4% dextrose                           | 7.4 | 442                         | +++                                      | ++++                      |
| 1/7 M veronal buffer  | 7.0 | 348                         | ++++                                     | +                         |

Table 2 Percentage of abnormal erythrocytes in Duchenne patients and controls

|          | age | severity of<br>the disease | fixed immediately in<br>1% glutaraldehyde solution |                 | 6 hours<br>in Alsever's solution |                 |
|----------|-----|----------------------------|--|-----------------|----------------------------------|-----------------|
|          |     |                            | stomatocyte<br>%                                   | echinocyte<br>% | stomatocyte<br>%                 | echinocyte<br>% |
| Controls | 18  |                            | 4.2  | 3.2             | 3.2                              | 3.6             |
|          | 10  |                            | 2.0  | 3.7             | 4.1                              | 1.4             |
|          | 9   |                            | 1.5  | 1.8             | 2.7                              | 1.1             |
|          | 6   |                            | 8.0  | 5.3             | 13.7                             | 3.5             |
| Duchenne | 18  | 8                          | 5.9  | 1.1             | 2.2                              | 6.8             |
|          | 17  | 8                          | 3.1  | 0.1             | 2.6                              | 1.1             |
|          | 14  | 8                          | 0.6  | 1.5             | 1.9                              | 2.6             |
|          | 12  | 5                          | 1.1  | 1.0             | 2.3                              | 0.7             |
|          | 9   | 5                          | 3.9  | 0.4             | 6.8                              | 1.3             |

## 結果

走査電子顕微鏡像による、Duchenne 型筋ジストロフィー症患者と正常対照者の赤血球形態に差は認められなかった。

## 文献

- 1) Matheson, D.W. & Howland, J.L.: Erythrocyte Deformation in Human Muscular Dystrophy. *Science*, 184: 165, 1974.
- 2) Bessis, M., Weed, R.I. & Leblond, P.F.: Red Cell Shape. Springer-Verlag, New York, Heidelberg, 1973.  
Miller, S.E., Roses, A.D. & Appel, S.H.: Scanning Electron Microscopy Studies in Muscular Dystrophy. *Arch. Neurol*, 33: 172, 1976.

## 筋ジストロフィー症の細胞膜の物理化学的研究 II 赤血球形態の経時変化

吉田瑞子, 岩崎祐三, 安藤一也

Duchenne 型筋ジストロフィー症患者の赤血球形態が, 正常者のものとまったく差がないことを上記に示した。処で, 筋ジストロフィー症患者の赤血球形態に関する今迄の研究結果より, 患者の赤血球は, その処理条件, 即ち外部環境条件の影響によって形態変形を生じ易く, 何か正常者の赤血球とは違った性質が有るように推測される。そこで, 患者の赤血球は実際に外部環境条件の影響を受け易いかどうかを, 赤血球形態に注目して, 対照者のそれと比較しながら調べた。即ち赤血球を浮遊させる緩衝溶液を2種類撰び, その緩衝溶液中で赤血球がどのように変化するか, 6日間に亘って, その経時変化を走査電子顕微鏡で観察した。

### 実験方法

緩衝溶液はアルスバ液とリン酸緩衝食塩水(PBS(+))CaとMgを含む)を使用した。血液はDuchenne型筋ジストロフィー症患者7名, ほぼ同一年令の正常男子対照者7名よりヘパリン採血した。採血直後5倍量のそれぞれの溶液に分注し, 3回洗滌を行った。その後ヘマトクリット値が, 10~15%になるように浮遊させ, 4℃に保存し毎日攪拌した。試料標本は24時間に, 6日間に亘って作成した。赤血球の固定は浮遊に使用した溶液の固定液(1% glutaraldehyde)で行った。電子顕微鏡標本作成, 観察は前記の通り行った。-試料1500個以上の赤血球を数え, 赤血球異常形態は, Bessis 等<sup>1)</sup>の方法に従い, echinocyte I, stomatocyte I 以上を異常形態とした。

### 結 果

図1はアルスバ液中の赤血球形態の経時変化を示す。破線が赤血球の stomatocyte 型の出現率を, また実線は echinocyte 型の出現率を示している。図から解るように患者と対照者間に變形出現率の経時変化に差は認められなかった。また6日目でも赤血球異常變形の出現率は低かった。

図2は赤血球が Ca と Mg を含むPBS(+))に存在した時の赤血球形態の経時変化を示す。赤血球の stomatocyte 型の出現は患者, 対照者の赤血球共に数%以下と非常に少なかった。一方 echinocyte 型の出現率は, 両者間に大きな差を生じた。両者共時間と共に echinocyte の變形が増加したが, 患者の赤血球の方がより多くの變形出現率を示し, 6日目で, 約70%に達した。これに比べ対照者は45%に過ぎなかった。このように Ca が含まれるPBS(+))中では患者と対照者赤血球は, echinocyte 型の経時変化に大きな差を示した。

## 考 察

一般に赤血球内のATPレベルが、正常な赤血球形態を保つことに重要な役割を果していることが知られている。赤血球内のATPが減少するとechinocyte型に変形する。患者と対照者の赤血球に、echinocyte型の変形出現率が非常に少なかったことは、アルスバ液にブドウ糖が含まれているため糖代謝系を持つ赤血球は、この溶液中でATP産生、消費が可能で、患者と対照者赤血球の多くが、6日間の保存中正常形を保つことが出来たと考えられる。患者と対照者の赤血球異常変形出現率に差が認められなかったことは、Igisu等<sup>2)</sup>のジストロフィー症患者の赤血球のATP産生、消費能力は正常者のそれと差がない、との報告と一致する。

一方PBS(+)中の患者と対照者の赤血球形態の経時変化は、図2に示されるようにechinocyte型が増加した。その出現率に、患者と対照者間に大きな差を生じた。患者と対照者の赤血球形態にechinocyte型が多く出現したことは、赤血球内にCaが蓄積するとechinocyte型になると一般に認められていることから、Caが含まれるPBS(+)中で、赤血球内のATPが消費されると共にCaの蓄積が生じたものと考えられる。対照者に比べて経時的に患者の赤血球に多くのechinocyte型が出現したことは、患者の赤血球内にCaが流入し、蓄積され易かったと考えられる。これは正常者の赤血球に比べMyotonic Dystrophy患者の赤血球内にCaがより多く蓄積されるというPlishker等<sup>3)</sup>の結果と一致する。

## ま と め

患者の赤血球は外部環境条件の影響を受け易いことが判った。

アルスバ液中で、患者の赤血球は対照者のものと同様に正常形態を保つことができた。

経時的に観察した赤血球の形態変形の出現率は少なく対照者と差がなかった。

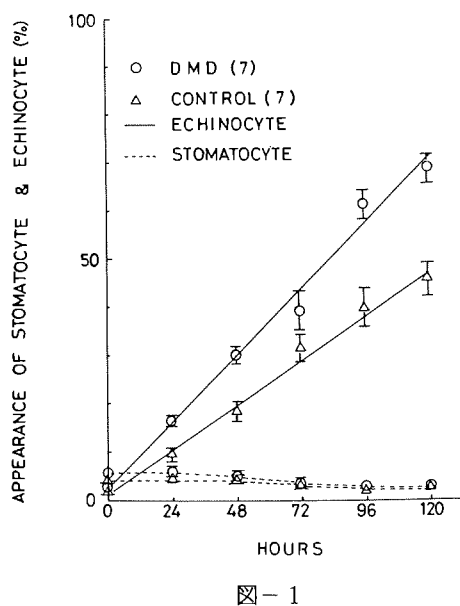
Caを含むPBS(+)中での、形態変形は多くのechinocyte型を生じ、対照者のものと大きな差を示した。

今後この外部環境条件を受け易い原因を、物理化学的手法を用いて調べて行く予定である。このことは患者の細胞膜の性質を究明するひとつの手がかりとなると考えられる。

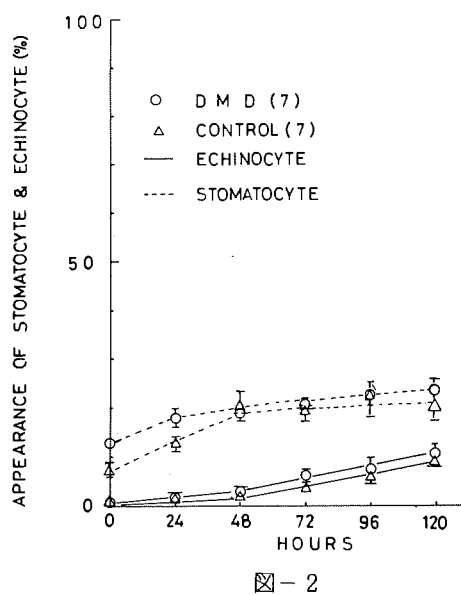
患者の血液を提供下さった、国立療養所東埼玉病院 石原傳幸先生、対照者の血液を提供下さった 東京女子医科大学 金子行子先生に感謝する。

## II 研究概要

ERYTHROCYTE IN PBS (+)  
(pH 7.4, 281 mOsm/lit.)



ERYTHROCYTE IN ALSEVER'S SOLUTION  
(pH 6.0, 331 mOsm/lit.)



## 文 献

- 1) Bessis, M., Weed, R.I. & Leblond, P.F.: Red Cell Shape. Springer-Verlag, New York, Heidelberg, 1973.
- 2) Igisu, H., Mawatari, S. & Kuroiwa, Y.: Erythrocyte ATP in Duchenne Dystrophy: Effects of Ouabain and Propranolol. Neurology, 29: 992, 1979.
- 3) Plishker, G.A., Gitelman, H.J. & Appel, S.H.: Myotonic Muscular Dystrophy: Altered Calcium Transport in Erythrocytes. Science, 200: 323, 1978.



## 神経・筋疾患患者の歩行分析 — Duchenne 型筋ジストロフィー 症の場合 —

豊島英徳, 松井京子, 真野行生, 石原傳幸\*, 宮崎信次\*\*

歩行の解析については最近筋電図学的なものからフォースプレートによる力学的なものまで多方面にわたって新たな試みがなされている。われわれは最近歩行の重要なパラメータの1つである床反力に注目し, この床反力計測のための特別な装具を開発し<sup>1)</sup>, この装具を用いて Duchenne 型筋ジストロフィー症患者の歩行分析を試みた。

### 対象及び方法

10才前後の ambulatory phase (日常生活動作は段階4) の施設入所中の Duchenne 型筋ジストロフィー症患者5名を対象とした。

床反力計測のための装具および圧センサーは靴底の前部および後部より成っている。圧センサー寸法は65×85×35×6 mm, 重量は前後合せて65 g と小型・軽量である。簡単に任意の靴底に取付けられ, 被装着者の随意の場所への歩行が可能であり, フォースプレート方式にはない利点がある。圧センサーからの信号はテレメータにより記録装置に伝送された。Duchenne 型筋ジストロフィー症患者あるいは対照としての健常者が, この装具を装着して約5 m隔った場所の往復歩行を行ない, この時の床反力の時間的変化を記録し, 分析した。

### 結 果

健常者の歩行時床反力は比較的規則正しく, 左右交互に荷重の平滑な移動が認められた。健常者の全床反力は双峰性であり, 前のピークは heel strike 時の後部センサーからの出力に一致し, 後のピークは toe off 時の前部センサーから出力に一致した。ほぼ定常と思われる歩行期にはこの前後のピーク値は一致した。

Duchenne 型筋ジストロフィー症患者の歩行時床反力は, いずれの症例においても, 後部センサーからの出力が極端に小さく, 全床反力はほとんど前部センサーからの出力であった。

ほぼ定常と思われる歩行期の10ステップの床反力を各圧センサーの無負荷となる点を基点として重ね合わせて見ると, Duchenne 型筋ジストロフィー症の場合には, 健常者の場合に比して, 床反力振幅のみならず, その時期においても大きな乱れがあった。

\* 国立東埼玉病院

\*\* 東京医科歯科大学医用器材研究所

### 考察とまとめ

歩行分析は各種疾患の異常歩行の解析に利用されているが、臨床面からいえば、余りに高価なものや心理的圧迫を伴う方式は好ましくない。

Duchenne 型筋ジストロフィー症の立位・歩行能は8～11才のわずか数年で急激に低下・喪失する傾向が見られ、その発症の初期より異常姿勢（尖足位）および動揺性歩行を示す。Duchenne 型筋ジストロフィー症にあつては、その病勢と歩行とは密接な関係がある。

われわれは今回床反力を計測するための特別な装具を用いて Duchenne 型筋ジストロフィー症の歩行分析を行なった。Duchenne 型筋ジストロフィー症では ambulatory phase にはほとんど尖足位をとり、ステップ毎の乱れが床反力の振幅のみならず、時相においても認められた。今後この床反力計測システムは、筋ジストロフィー症患者の歩行分析の簡便な方法として利用しうる。

### 文 献

1) 宮崎信次, 岩倉博光: 歩行評価のための床反力連続計測装置, 医用電子と生体工学, 15: 487～492, 1977

## 肝性脳症のCT所見

寺本純, 向山昌邦, 安藤一也・衣斐達\*, 古閑寛\*\*, 小坂稔男子\*\*\*

肝性脳症の神経症状発現の原因は従来諸代謝障害説<sup>1</sup>が有力であり、形態的变化については、肝脳疾患特殊型を除いてほとんど検討されていない。われわれは、長期間神経症状を呈する肝性脳症のCT所見についてすでに報告<sup>2</sup>したが、今回CT所見と臨床経過との関連について若干の検討を加えてみた。

### 対象と方法

対象は5例(男3, 女2), 年齢は40～55才で、肝性脳症発現後の経過は1～10年、原疾患は、肝硬変症3例、門脈大静脈短絡2例であった(表1)。これらの症例に対しCT検査を行ない図1に示すように brain skull ratio および、脳室が最大に描出される部位での cortical skull ratio を測定した。なお control として中枢神経症状を認めない肝障害の3例を合わせて検討した。

\* 名古屋大学第1内科 \*\* 市立四日市病院内科 \*\*\* 名古屋大学第3内科

## 結 果

A) brain skull ratio: 神経症状発現後1年の症例においては control 群と差異は認めなかったが、2年以上の症例においては全例各 index が高値となっており、脳室の拡大が認められた。脳室の拡大と経過年数の関連にはかなりばらつきがあった。

B) cortical skull ratio: (図2A) 頭蓋内面積に対する脳実質面積では、対象例全例が control 群に比し低値を示しており、その程度は臨床経過の長い症例に著明であるという傾向が得られた(図2B)。

## 考 察

1950年猪瀬<sup>3</sup>は non-Wilson 型の肝脳疾患を報告し、その病理所見を記載した。また Sherlock らは同様な疾患群を報告し、これを portal-systemic encephalopathy として、その脳症状発現の原因を肝外門脈シャントに求めた。

自験例5例の原因疾患として、症例1～3では肝硬変症と、症例4、5では肝外門脈閉塞症と診断された。いずれの症例においても高 ammonia 血症を伴っていたことが特徴的であった。特に症例4のシャントは稀な巨大シャントであった<sup>4)</sup> これら5症例に共通している点は、諸中枢神経症状が発現して以来、経過が長く、各々1～10年の間、神経症状が継続していることである。CT所見においては、いずれの症例にも大脳皮質の萎縮と脳室の拡大がみられ、更に小脳の萎縮を認めるものもあった(図3)。これらの所見は経過の長いものに著明であり、加齢現象による変化の程度を越えていた。したがってこのCT所見と、肝脳疾患の経過との間に何らかの関係があるものと考えられる。

肝性脳症の発現機序は、厳密には不明であるが、一般には代謝性変化に基づく結果とされており、CT所見のみで肝性脳症の神経症状を説明するのは困難である。しかし、自験3症例のように、長時間に亘って脳症状を呈する症例においてこのようなCT上の形態的異常が認められた点は非常に興味のあるところである。

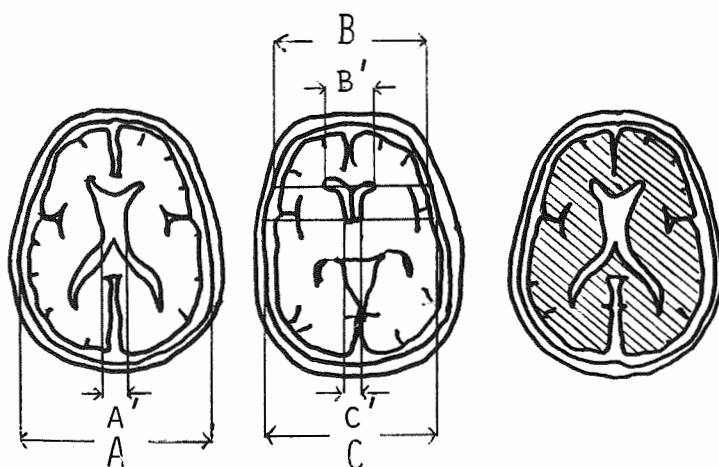
肝脳症患の生命予後については、肝の状態が大きな要因をなすため、自験例のように長期にわたって神経症状を観察できる症例はあまり多くはないが、このような症例に対して脳CT所見を検討することは、中枢神経症状の発現と経過を観るうえでかなり役立つものと思われる。

## ま と め

肝性脳症発現後1～10年の5症例に対し脳CT所見を検討した。CT像では大脳の萎縮、脳室の拡大が認められた。これらの異常の程度は経過の長いものに強い傾向が認められ、肝性脳症の病勢把握にCT検査が有用であると考えられた。

表 1. 对象症例

|        | Age | Sex | Period of encephalopathy | Basic disorder                      |
|--------|-----|-----|--------------------------|-------------------------------------|
| Case 1 | 40  | M   | 1 year                   | liver cirrhosis (non A, non B type) |
| Case 2 | 55  | M   | 2 years                  | liver cirrhosis (alcoholic ?)       |
| Case 3 | 54  | M   | 4 years                  | liver cirrhosis (Hbs-Ag positive)   |
| Case 4 | 52  | F   | 8 years                  | P-V shunt (portal to renal v.)      |
| Case 5 | 50  | F   | 10 years                 | P-V shunt (portal to hepatic v.)    |



- (A) brain skull ratio
1. bi-caudate  $A'/A \times 100$
  2. bi-frontal  $B'/B \times 100$
  3. bi-caudate  $C'/C \times 100$
- (B) cortical skull ratio

$$\frac{\text{brain cross-sectional area}}{\text{intracranial cross-sectional area}} \times 100$$

图1 测定法

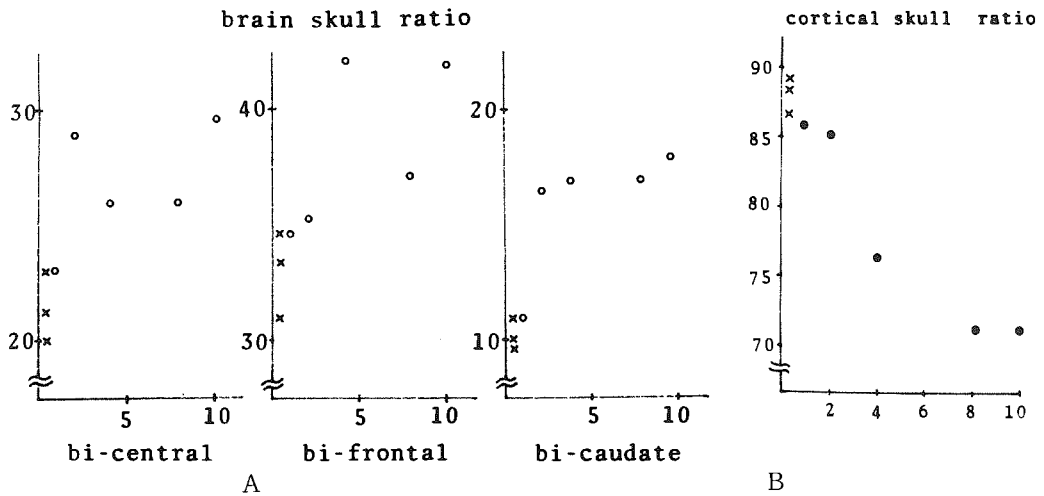


図2 対線群およびコントロール群 (×印)の brain skull ratio と cortical skull ratio

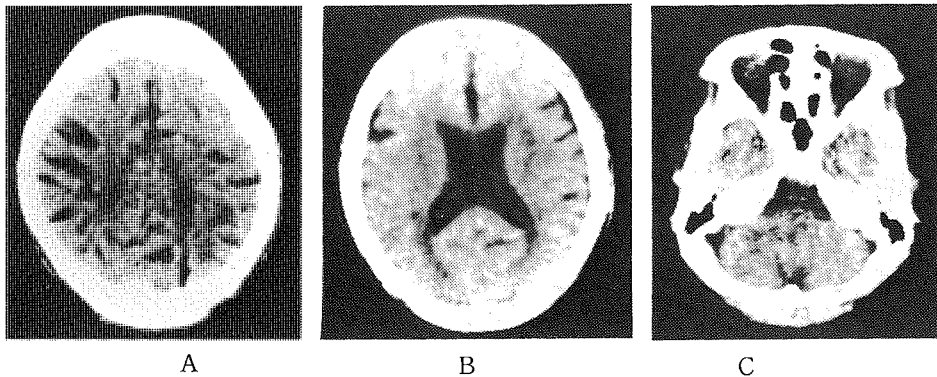


図3 症例4のCTスキセン

- A : 皮質の萎縮
- B : 脳室の拡大, 白質は全体に low density を呈している。
- C : 小脳にも萎縮が認められる。

文献

- 1) Sherlock, S. , Summerskill, W. H. J. , White, L. P. et al. : Portal-systemic encephalopathy, neuropathy. Neurological complication of liver disease. Lancet, 267 : 453, 1954.
- 2) 寺本純, 衣斐達, 小坂稔男子ほか : 肝性脳症の脳CT所見, 臨床神経 19 : 527, 1979(抄).
- 3) 猪瀬正 : 肝脳変性疾患の特殊型, 精神経誌, 51 : 245, 1950.
- 4) 小坂稔男子, 寺本純, 品川宏ほか : 右腎静脈門脈側副血行路を呈した肝外門脈閉塞型門脈圧亢進症の1例, 肝臓, 19 : 789, 1978.

## 6. 診断研究部

### 1. 研究部一年の歩み

診断研究部の研究は新生児スクリーニングに関する研究と、精神神経疾患の診断に必要な微量定量法の開発の研究に2大別される。前者の研究の中で、今年度の成果としてはまずクレチン症（先天性甲状腺機能低下症）のマススクリーニングのための、酵素免疫法（EIAと略）の確立があげられる。クレチン症スクリーニングは、目下世界各国で大きな関心をあつめているが、現状ではラヂオイムノアッセイ（RIA）を用うることが必要であり、このラヂオアイソトープを用うことの必要性が、クレチン症スクリーニングの普及を妨げている。そこでわれわれは、EIAによるTSH測定のスクリーニングの開発を志し、代謝研究部加藤・昭和大薬品分析社教授その他と共に、プロジェクトチームを結成し研究を行って来たが、54年度に、マススクリーニングとして使用可能な、EIAの確立に成功した（成瀬・石井・加藤ら）。RIAでないクレチン症スクリーニングの開発は、今迄は世界各国でも全く成功しなかったものであり、われわれの確立した方法は、世界各国にこのスクリーニングを普及するのに大いに役立つものと思われる。更に、サイロキシン（ $T_4$ ）のEIA法の確立の研究も行っており、近い将来TSH・ $T_4$ 共にEIAでスクリーニングを行うことが可能になるものと思われる。

クレチン症のスクリーニングに関しては、カナダで発表された $T_4$ による方法と、われわれ（入江・成瀬他、1975）のTSH測定による方法との比較をめぐり、意見の対立があった。

われわれは、東邦大第一内科入江教授らと協力し、同じ検体についてTSHと $T_4$ を測定し、両者の優劣を比較し、TSH法で見発見可能なクレチン症の一部が、 $T_4$ 法では見逃されることをたしかめた（百瀬ら）。この様なデータにもとづいて、第1回国際クレチン症スクリーニング会議（カナダ、1979.9）においてはクレチン症スクリーニングとして、最も望ましいのは、TSH・ $T_4$ の同時測定だが、1種を選ぶとすれば、TSH法が望ましいことが確認された。

われわれは、尚この点のデータを確立するために、同一検体での同時測定をつづけて行っており、またRIAによるTSH法の改良の研究も行っている。厚生省は、正式に54年度四半期より、クレチン症スクリーニングの全国実施を決めたので、われわれの技術的な基礎的検討は、行政的スクリーニングにとっても有用なものと思われる。

新生児スクリーニングに関しては、わが国の精度管理は、国際的に見ても、唯一のものとして高く評価されている。成瀬は、この精度管理の委員を委嘱され、全国スクリーニングセンターの技術水準の精度管理を行うと共に、全国スクリーニングセンターでの疑問のある検体についての依頼分析を行っている。このため濾紙上血液を用いての、アミノ酸・ガラクトース等の微量分析を確立し、

各地から送付される特別な検体の分析を行い、高シトルリン血症，高リジン血症なども発見している（成瀬・鶴田・石井ら）。尚この研究については，日本公衆衛生協会から派遣されている渡辺，金子らの協力を得ている。

次に微量定量法の開発研究としては，等々力は，レーザー蛍光をディテクターに用いる高速液体クロマトグラフィーを開発し，第一号機の作製に成功した。レーザー蛍光を液体クロマトによる微量定量に応用したのは，世界で初めてであり，目下これを用いて，アミン，アミノ酸の超微量分析法の開発を行っている。この装置は今後広く，生体物質の蛍光分析に応用しうるものである。

また鶴田，井上らは，アミノ酸超微量定量法を確立し，これを用いて，アミノ酸代謝異常症の研究を行うと共に，うつ病患者の血中アミノ酸異常についても研究を行い，うつ状態で，ロイシン，チロジン，フェニールアラニンが低下することを確認した。目下臨床像との関連についての分析を行っている。この研究は将来うつ病の生物学的診断法の確立に寄与しうるものと思われる。

（部長 成瀬 浩）

## II 研究概要

### 2. 研究業績

#### A 論文

##### a 原著

- 1) 小松せつ, 成瀬浩, 永山素男:  
ラットにおける実験的仮死分娩の脳蛋白質代謝に及ぼす影響について  
脳と発達, 11 : 285, 1979
- 2) 成瀬浩 :  
先天代謝異常の問題点  
日本医師会雑誌, 83 : 435, 1980
- 3) Kato, N., Naruse, N., Irie, M. & Tsuji, A.:  
Fluorophotometric Enzyme Immunoassay of Thyroid-Stimulating Hormone.  
Analytical Biochemistry, 96: 419, 1979
- 4) Todoriki, H. & Hirakawa, A.Y.:  
CW laser Fluorometry Using an Optical Fiber – An Application to High Performance  
Liquid Chromatography –  
Chem. Pharm. Bull., 28: 1337, 1980
- 5) Todoriki, H., Nishimura, Y., Higuchi, S., Hirakawa, A.Y. & Tsuboi, M.:  
A spectroscopic study of Hydrogen-Bonds Involving the 2-thiouracil Residue.  
Bull. Chem. Soc. Japan, 53: 1881, 1980

##### b 著書

- 1) 成瀬浩 :  
先天代謝異常,  
現代精神医学体系, 16巻B, 精神遅滞II, 中山書店, 東京, 1979, P 77
- 2) 加藤進昌, 成瀬浩 :  
内分泌障害—クレチン症を中心として—,  
現代精神医学体系, 16巻B, 精神遅滞II, 中山書店, 東京, 1979, P 159
- 3) 成瀬浩 :  
アミノ酸代謝異常,  
神経病学(祖父江, 椿, 里吉編), 金原出版, 東京, 1979, P 180



c 綜 説

1) 成瀬浩

新生児マススクリーニング. 特集先天異常の予防.  
産婦人科の世界, 31 : 1319, 1979

2) 成瀬浩 :

先天代謝異常マススクリーニング—環境変化と生物の対応—.  
Technicon International Symposia , 日本テクニコン社 : 120, 1979

3) 成瀬浩 :

先天代謝異常スクリーニングの面から.  
第20回日本医学総会誌 : 1400, 1979

4) 鶴田恵美子, 成瀬浩 :

心身障害児の早期発見・早期治療—新生児スクリーニングについて—.  
公衆衛生, 43 : 688, 1979

5) 石井澄和, 成瀬浩 :

新生児マススクリーニングの現状と展望.  
小児科 Mook , 9 : 1, 1979

6) 平川曉子, 等々力英美 :

レーザー医療—レーザーの薬学領域への応用—.  
新医療, 7 (4) : 75, 1980

**B 学 会 発 表**

a 特別講演, シンポジウム

1) 加藤進昌, 石井澄和, 成瀬浩, 入江実, 辻章夫 :

T S H のけい光酵素免疫測定法.  
第4回生体成分の分析化学シンポジウム, 仙台, 10. 17~18, 1979 (抄録集:P.  
136~139)

2) 成瀬浩 :

先天異常の予防・先天代謝異常スクリーニング.

## II 研究概要

日本医学会シンポジウム，東京，4. 8，1979

### 3) 成瀬浩：

先天代謝異常等の早期診断。

神経研シンポジウム（ヒトの発達とその異常），東京，11. 9，1979

### 4) 成瀬浩：

クレチン症スクリーニング国際会議の報告。

第7回代謝異常スクリーニング研究会，久留米，9. 28～29，1979

### b 国際学会

#### 1) Naruse, H.:

A nation-wide multiple screening including a Hypothyroid Screening in Japan.

International Conference on Hypothyroid Screening. Quebec, September 17～20, 1979

### c 一般学会

#### 1) 辻章夫，荒川秀俊，加藤進昌，石井澄和，成瀬浩，黒田裕子，榎本仁志，入江実：

乾燥濾紙血液中 TSH のけい光酵素免疫測定法の開発と応用。

第52回日本内分泌秋期大会，東京，10. 19～20，1979（日内誌，55：1136）

#### 2) 上村晃，入江実，成瀬浩，辻章夫：

甲状腺刺激ホルモンの酵素免疫測定法。

第52回日本内分泌学会秋期大会，東京，10. 19～20，1979（日内誌，55：1136）

#### 3) 等々力英美，平川曉子：

Laser けい光法—高速液体クロマトグラフへの応用—。

第15回応用スペクトロメトリー東京討論会，東京，10. 24，1979（抄録集：p. 981）

#### 4) 平川曉子，等々力英美：

オプティカルファイバーを利用した微量試料のラマン及びけい光スペクトルの測定。

第15回応用スペクトロメトリー東京討論会，東京，10. 26，1979（抄録集：p. 963）

#### 5) 石井澄和，鶴田恵美子，渡辺倫子，渡辺由美子，成瀬浩：

外部標準検体を用いた代謝異常スクリーニングの精度管理（第2報）。

第7回代謝異常スクリーニング研究会，久留米，9. 28～29，1979（抄録集：p. 38）

- 6) 成瀬浩, 加藤進昌, 石井澄和, 辻章夫, 荒川秀俊, 上村晃, 竹之内知春, 山田和彦, 笠原靖, 白根秀夫, 入江実, 榎本仁志:  
酵素免疫法による濾紙血中の甲状腺刺激ホルモンの測定—新しいクレチン症 マスクリーニング法の開発—  
第7回代謝異常スクリーニング研究会, 久留米, 9. 28~29, 1979 (抄録集:p. 32)
- 7) 百瀬妙, 成瀬浩, 伊藤裕美子, 黒田裕子, 梅田みほ子, 榎本仁志, 入江実:  
同一検体についての TSH, 及び T<sub>4</sub> の両者測定によるクレチン症のスクリーニング.  
第7回代謝異常スクリーニング研究会, 久留米, 9. 28~29, 1979 (抄録集:p. 31)
- 8) 梅田みほ子, 榎本仁志, 坂井由美, 入江実, 成瀬浩:  
乾燥濾紙血液を用いた TSH の測定による新生児クレチン症スクリーニング.  
第7回代謝異常スクリーニング研究会, 久留米, 9. 28~29, 1979 (抄録集:P 29)
- 9) 吉田篤子, 大矢栄子, 田所雄次, 石井澄和, 嶋恭子:  
ペイゲン・フェージ法の改良.  
第7回代謝異常スクリーニング研究会, 久留米, 9. 28~29, 1979 (抄録集:p. 25)
- 10) 小松せつ, 川村正彦, 伊東淑子, 石井澄和, 渡辺倫子, 水野春雄:  
新生児先天代謝異常 マスクリーニングにおける異型ガラクトース血症の1例.  
第7回代謝異常スクリーニング研究会, 久留米, 9. 28~29, 1979 (抄録集:p. 22)
- 11) 斎藤嘉禎, 笠原靖, 鴫田恵美子, 渡辺倫子, 成瀬浩, 鈴木直雄:  
血液濾紙におけるヒスチジン安定化に関する研究.  
第7回代謝異常スクリーニング研究会, 久留米, 9. 28~29, 1979 (抄録集:p. 12)

## C 班 会 議

- 1) 成瀬浩, 鴫田恵美子, 井上清美, 岸本英爾, 入江実:  
躁うつ病患者の血中アミノ酸・ホルモン分析.  
昭和54年度精神障害の生物学的研究班会議, 東京, 2. 23, 1980
- 2) 成瀬浩, 石井澄和, 鴫田恵美子, 渡辺倫子, 吉田篤子, 田所雄次:  
ガラクトース血症スクリーニング法の改良.  
昭和54年度先天代謝異常スクリーニングに関する研究班会議, 東京, 3. 1, 1980

## II 研究概要

3) 成瀬浩, 石井澄和, 鶴田恵美子, 渡辺倫子 :

濾紙血液中のアミノ酸定量の限界.

昭和54年度先天代謝異常スクリーニングに関する研究班会議, 東京, 3. 1, 1980

4) 成瀬浩, 石井澄和, 百瀬妙 :

1) E I A の開発, 2) T S H, T<sub>4</sub> の同時定量によるクレチン症スクリーニング

昭和54年度先天性甲状腺機能低下症のスクリーニングに関する研究班会議, 東京, 3. 2, 1980

5) 成瀬浩, 鶴田恵美子, 等々力英美, 石井澄和 :

原因不明の精神薄弱の生化学的分析システムの確立について.

昭和54年度本態不明の精神遅滞の成因に関する開発的研究班会議, 東京, 3. 15, 1980

## D 研究会など

1) 成瀬浩 :

先天性代謝異常症の早期発見とその治療.

昭和54年度母子保健指導伝達研修会第2回, 静岡, 1. 30, 1980

2) 成瀬浩 :

早期治療の可能な精神薄弱児.

1979年度精神薄弱児講習会, 東京, 8. 2~4, 1979

3) 成瀬浩 :

精神薄弱の早期発見と治療.

1979年精薄愛護協会研修会, 群馬, 8. 18~21, 1979

4) 武貞昌志, 成瀬浩 :

先天代謝異常性精神薄弱の問題, 殊にヒスチジン血症について.

第4回精神科学懇話会, 大阪, 8. 25~26, 1979

5) 成瀬浩 :

先天代謝異常の問題点.

日本医師会家族計画指導者講習会, 東京, 9. 8, 1979

### 3. 主な研究報告

#### 酵素免疫測定法による濾紙血液中の甲状腺刺激ホルモンの定量

石井 澄和, 成瀬 浩, 加藤 進昌

先天性甲状腺機能低下症（クレチン症）は、早期治療を行わなければ、精神遅滞を起す疾患であり、早期発見法が望まれていた。1975年入江、成瀬らにより、ラジオイムノアッセイ（RIA）を用いて、濾紙血中の甲状腺刺激ホルモン（TSH）の測定法が開発され、それ以後、濾紙血液によるクレチン症のマスクリーニングが、広く世界的に行われるようになった。我国では、昭和54年度よりTSH測定によるクレチン症のスクリーニングが、先天代謝異常スクリーニングプログラムに新たに加えられ、行政的に実施されている。しかし、現在のTSH測定はRIAを用いているため、ラジオアイソトープ使用に伴う特別の施設の必要性、廃棄物の処理、短い半減期、高価な機器が必要等、種々な問題をかかえている。その為、我々はアイソトープを用いない濾紙血液中のTSH測定法の検討を行い、酵素免疫測定法（EIA）による、TSH測定法を確立した。

#### 材料と方法

標識酵素として、ペルオキシダーゼ（HRP）、及び $\beta$ -ガラクトシダーゼ（ $\beta$ -GAL）を用いた。検体は、先天代謝異常スクリーニングに用いられた血液濾紙を用いた。直径3mmの血液濾紙検体、又は標準血液ディスク2枚に抗TSH抗体を加え、一夜抽出後、TSHと酵素を結合させた複合体と、抗ウサギIgG抗体を附着させたビーズを加え、さらに一夜反応させた。ビーズをよく洗浄後、ビーズに附着した酵素量を測定し、標準曲線からTSH量を測定した。酵素反応の基質には、HRPにチラミン、 $\beta$ -ヒドロオキシプロピオン酸、 $\beta$ -GALに4-メチルウンペリフェリル- $\beta$ -ガラクトシドを用いた。それぞれの手順は、図1、2に示した。

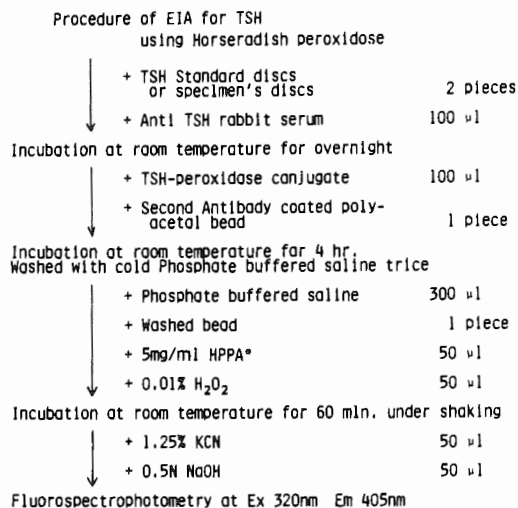
#### 結果

1) 標準曲線：HRPおよび $\beta$ -GALを用いた標準曲線を図-3に示した。0.05 $\mu$ U/assay tubeで、B/B<sub>0</sub>が85~90%に下がった。測定内の変動係数は4~10%であった。

2) RIAとの比較：従来方法であるRIAと比較したが、ほとんど同じ感度を示した。また、臨床的に異常と思われる検体で、RIAとEIA（ $\beta$ -GAL）の相関をとったのが図-4である。1ヶ所、EIAが低いのにRIA値が高い検体があるが、相関係数は0.9とまずまずの相関を示した。

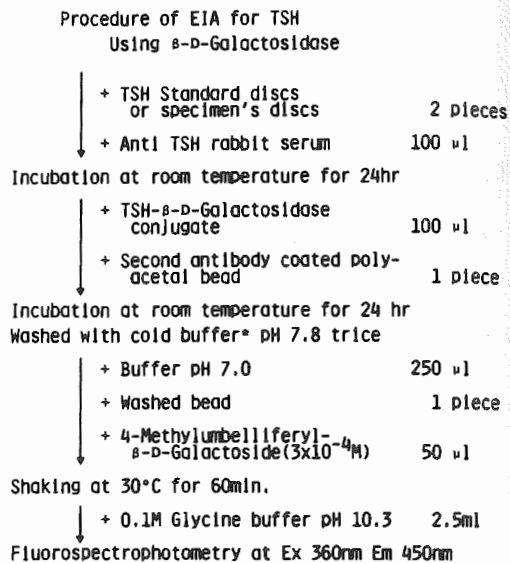
## II 研究概要

☒—1



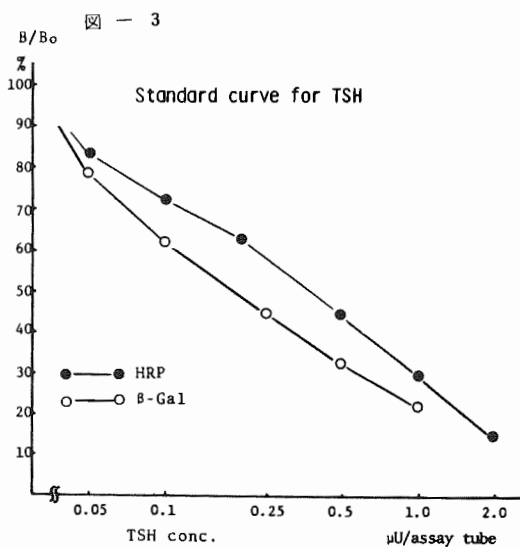
\* HPPA : 3-p-hydroxyphenyl propionic acid

☒—2

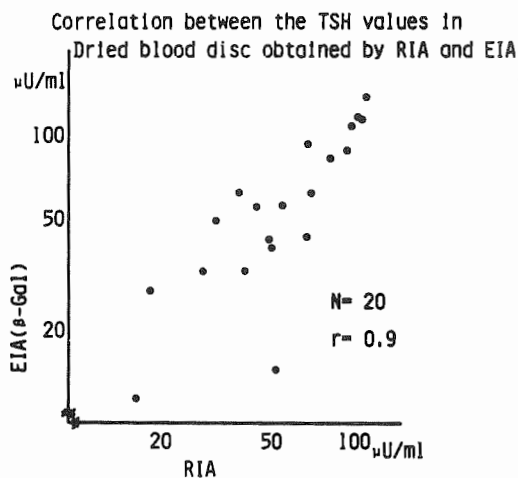


\* Buffer : 0.01M Phosphate buffer containing 0.1% of BSA, 1mM of MgCl<sub>2</sub>, 0.1M of NaCl and 0.1% of NaN<sub>3</sub>

☒—3



☒—4



## 考 察

HRP 及び  $\beta$ -GAL を標識酵素とした、EIA を確立した。直径 3mm の血液濾紙ディスクには、約 4 $\mu$ l の血液を含むので、0.05 $\mu$ U / assay tube は約 12.5 $\mu$ U/ml となる。クレチン症の典型例では、100 $\mu$ U/ml 以上であり、スクリーニングの Cut off point は、20 $\mu$ U/ml と考えられているので、この感度で十分測定可能である。標識酵素は、安価に出来、しかも長期間安定である。蛍光光度計があれば、測定出来るので、特別な施設を必要としない等の利点がある。

RIA 以外の方法で、4 $\mu$ l という微量血液でしかも濾紙血液中の TSH を測定したのは、世界でも全くその例を見ないのであり、第 1 回クレチン症スクリーニング会議で発表した折にも大きな反響があった。クレチン症は発生頻度が高く、しかも開発途上国では地方病としてのクレチン症の問題を抱えているので、先進国のみでなく、開発途上国においても、クレチン症スクリーニングの実施を希望する声がつよい。しかし、RIA の使用が、全世界的普及の大きな障害になっていた。われわれの確立したこの EIA 法は、わが国のみならず、世界各国での、クレチン症スクリーニングの普及に多大の貢献をなしうるものと思われる。

## 文 献

- 1) Irie, M., Enomoto, K., & Naruse, H.: Measurement of thyroid stimulating hormone in dried blood spot. *Lancet*, II, :1233, 1975.
- 2) Kato, N., Naruse, H., Irie, M. & Tsuji, A.: Fluorophotometric Enzyme Immunoassay of Thyroid-Stimulating Hormone. *Analytical Biochem.*, 96: 419-425, 1979.
- 3) Naruse, H.: A nation-wide multiple screening including a Hypothyroid screening in Japan, *Proceeding of Intern. Conf. on Neonatal Hypothyroid Screening*, in press.
- 4) 加藤進昌, 石井澄和, 成瀬浩, 入江実, 辻章夫: TSH のけい光酵素免疫測定法  
第 4 回生体成分の分析化学シンポジウム抄録集, 136~139, 1979

## クレチン症マススクリーニングの結果並びに TSH 測定法の検討

百瀬 妙, 石井 澄和, 成瀬 浩, 入江 実\*

乾燥濾紙血液を用いた新生児マススクリーニングが全国で実施されているが、昭和 54 年度より先天性甲状腺機能低下症（クレチン症）が検査項目に加わった。これは、原発性クレチン症のスクリ

\* 東邦大学第一内科

## II 研究概要

ーニングを第1の目標としており、そのためにTSH測定による方法がとられることになった。また、54年9月17～19日カナダにおいて行われた初のクレチン症国際会議において、スクリーニングに関する基礎的な討議がなされ、一応の合意が得られ、国際会議による勧告も出された。それによると、クレチン症スクリーニングは、その効果が実証されたので、早急に各国で実施されるべきであり、原発性クレチン症の早期発見の方法としては、TSHとT<sub>4</sub>の同時測定によるのが最も望ましく、1種を選択するとすれば、TSH法の実施が望ましいということであった。

我々は、RIAによるTSH、T<sub>4</sub>の両者測定によるスクリーニングを行ったので、その結果を報告するとともに、測定法の迅速化を目的とする検討と、より簡便に行うためのtube coatingによる固相法の開発を行った。

### 1. TSH、T<sub>4</sub>測定によるparallel assay

図1、2に示した方法により、TSH、T<sub>4</sub>の測定を行った。結果を表1に示す。発見されたクレチン症児は、大半はTSH高値、T<sub>4</sub>低値の患児であったが、一例はTSHが高くT<sub>4</sub>が正常で、千葉大中島教授によれば臨床的にはクレチン症との事であった。

また、測定依頼を受けた間脳性クレチン症児において、TSH値正常ながらT<sub>4</sub>値が0.84～1.93 μg/dlであったことにより、二性性、三次性クレチン症の発見のためにはT<sub>4</sub>測定による方法も重要である。以上のことから、我々は、今後、完全なクレチン症のマススクリーニングにはTSHならびにT<sub>4</sub>測定によるparallel assayが重要であると考え、今後も続ける予定である。

### 2. TSH測定法の検討

TSH測定は、TSHキット「第一」（第一ラジオアイソトープ社）、クレチンTSH「栄研」（栄研化学社）、新生児用TSH「コーニング」（コーニング社）を使用し、図1に示した方法に従って、①、②の時間を変えて行った結果、スクリーニングにはIncubation timeを短縮しても使用可能であることがわかった。

実際には、「第一」では4hr、24hr、「栄研」では24hr、24hrでも使用可能であった。「コーニング」では方法は若干異なるが、18hr～24hrの範囲で使用可能であるので、できるだけ速く結果の通知を要求されるスクリーニングにおいて、より速く行うためには適した方法であると思われる。

### 3. tube coating一固相法によるTSH-RIAの開発

TSH測定の簡便化並びに自動化のために、tube coatingによる固相法の開発を試みた。polyacetal製のdisposable tubeを用い、coatingの条件を①抗体溶液のpHの変化、②coating時間ならびに温度条件、③第一抗体ならびに第二抗体coatingについて若干検討した。結果、第二抗体coatingではpH5.56℃30分の条件が最も高いbound率が得られたが、高濃度の第二抗体溶液を使用しなければならないために高価になってしまう点や、微量の乾燥濾紙血液の使用が可能



な感度を得るためにはさらに改良を加える必要がある。同様に第一抗体 coating においても、コストや感度の面からマススクリーニングに使用し得るまでには至っていない。今後、さらに検討を加え、開発を続ける予定である。

図 1

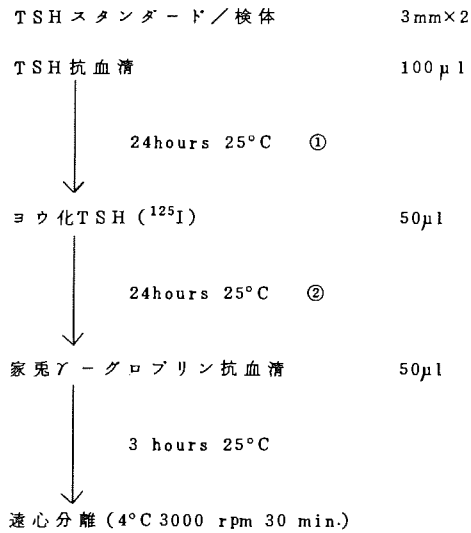


図 2

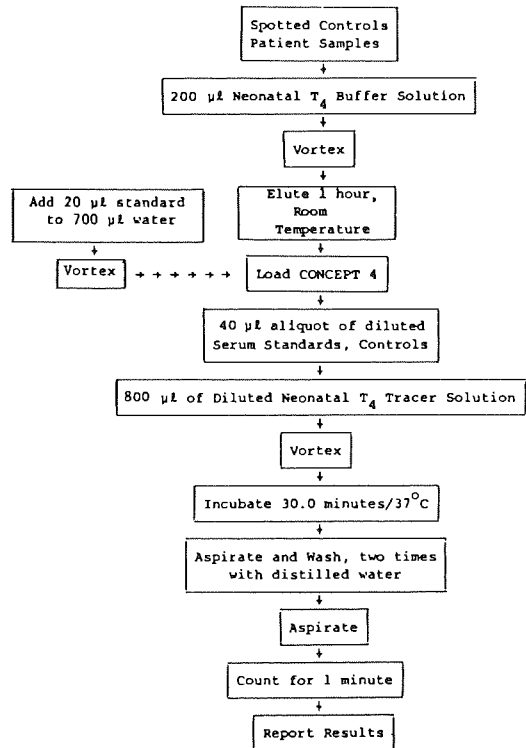


表 1

|      |                  |                 |
|------|------------------|-----------------|
| 検査総数 |                  | 81679           |
| TSH↑ |                  | 9               |
| 内訳   | T <sub>4</sub> ↓ | 6 (クレチン症)       |
|      | T <sub>4</sub> → | 1 (クレチン症)       |
|      | 、                | 2 (一過性甲状腺機能低下症) |
| T-4↓ |                  | 32              |
| 内訳   | TSH↑             | 6 (クレチン症)       |
|      | TSH→             | 19 (TBG欠損及び減少症) |
|      | 、                | 7 (検査中)         |

文 献

- 1) 成瀬浩, 入江実: 特別講演No III: クレチン症スクリーニングの実際  
代謝異常スクリーニング研究会会報, 4, (印刷中)
- 2) 百瀬妙, 成瀬浩, 伊東裕美子, 黒田裕子, 梅田みほ子, 榎本仁志, 入江実:  
同一検体についてのTSH及びT<sub>4</sub>の両者測定によるクレチン症のスクリーニング  
代謝異常スクリーニング研究会会報, 4, (印刷中)
- 3) 成瀬浩: 先天代謝異常の問題点, 日本医師会雑誌, 83: 435~446, 1980

代謝異常マススクリーニングの精度管理

成瀬 浩, 鶴田 恵美子, 石井 澄和, 井上 清美, 渡辺 倫子\*, 金子 由美子\*

代謝異常マススクリーニングの全国的実施にあたり, 産婦人科医その他関係者の心配の一つは, 全国52のスクリーニングセンターにおいて, 全く新しく導入されたスクリーニングが実施される場合, 技術的ミスのために, 発見もれになるようなことがないか否かであった。さらにまた, スクリーニングを行う側の心配は, 判断に迷うような結果が得られた場合, 各県で殆んどこの技術になれた人はいない状況の中で, どこに相談をしたらよいかということであった。

これらの不安はまことにもっともなことであり, 代謝異常スクリーニング研究班(代表森山豊, 成瀬浩)は, この対策として, 精度管理システムの導入を考えたのであった。マススクリーニングの精度管理は, アメリカ, イギリス, 西ヨーロッパのいくつかの国において議論はされていても, どうしても, 制度として発足することが出来なかった。われわれは, その原因を分析し, 対策を研究し, 実施可能な精度管理の方法を厚生省に意見書として提出した。これにもとづいて, 厚生省は昭和52年末より, 精度管理を実施することとし, その実施を日本公衆衛生協会に委託した。成瀬及び大阪市小児保健センター大浦所長とが委員として実際面の担当を命ぜられた。わが国の精度管理は, 2つの側面をもっている。

1) 外部標準検体による精度管理<sup>1)</sup>

マススクリーニングの検査対象となっている4種のアミノ酸及びガラクトースを, 正常上限を多少超える程度に加えた, ごく軽度の異常検体をつくる。これを正常のものと適当にまぜて, 毎週各スクリーニングセンターに送り, 異常のものと, 正常のものとを区別することを要請している。

表1に, この精度管理の結果の推移を示した。3ヶ月毎に, 異常検体の発見もれをしたセンター

\*日本公衆衛生協会

の数を記入した。また、1年毎の見逃し回数<sup>1</sup>の推移を表2に示した。初期の昭和52年～53年にかけては、3ヶ月の間に何回も間違えるセンターがあった。これらに対しては、適時技術的アドバイスを<sup>2</sup>を行い、場合によっては、神経センターあるいは大浦委員の下で技術研修をうけさせた。必要に応じ、成瀬あるいは石井がそこに行き技術的援助を行った。

最近<sup>3</sup>は、3ヶ月に2回以上間違えるセンターの数は激減しており、スクリーニング技術の水準が著しく上昇したことを示している。この外部検体による精度管理は、技術的には決して容易なものではない。この結果は、わが国のスクリーニング技術の水準が、世界的に見ても、高度のものであると言えよう。

表1 外部標準検体による精度管理結果

3ヶ月ごとの異常検体見逃しの回数

| エラー回数 | 53年 |     |      | 54年  |     |     | 55年  |      |
|-------|-----|-----|------|------|-----|-----|------|------|
|       | 2-4 | 5-7 | 8-10 | 11-1 | 2-4 | 5-7 | 8-10 | 11-1 |
| 0     | 23  | 32  | 37   | 45   | 46  | 42  | 45   | 46   |
| 1     | 10  | 11  | 10   | 8    | 5   | 7   | 7    | 7    |
| 2     | 7   | 5   | 2    | 0    | 2   | 3   | 0    | 0    |
| 3     | 0   | 2   | 2    | 0    | 0   | 0   | 1    | 0    |
| 4     | 3   | 0   | 0    | 0    | 0   | 1   | 0    | 0    |
| 5     | 1   | 0   | 0    | 0    | 0   | 0   | 0    | 0    |
| センター数 | 44  | 50  | 51   | 53   | 53  | 53  | 53   | 53   |

表2 1年間のエラー回数

| エラー回数 | センター数       |             |
|-------|-------------|-------------|
|       | 53.4 ~ 54.3 | 54.4 ~ 55.3 |
| 0     | 22          | 33          |
| 1     | 11          | 10          |
| 2     | 7           | 8           |
| 3     | 8           | 1           |
| 4     | 3           | 1           |
| 5     | 0           | 0           |
| 6     | 1           | 0           |
| 7     | 0           | 0           |
| 8     | 1           | 0           |
| 計     | 53          | 53          |

## II 研究概要

### 2) 依頼検体の精密検査<sup>2) 3)</sup>

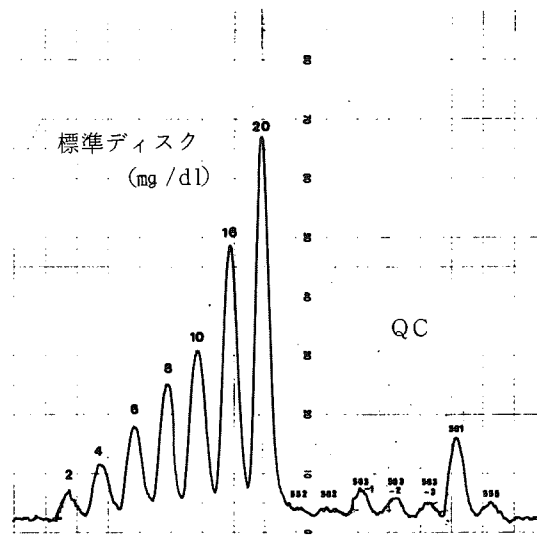
精度管理の第2の面は、各スクリーニングセンターに対しての、central reference laboratoryの役割をもつ施設をつくることであった。全国のスクリーニングセンターにおいて、判断に困る様な検体、陽性らしいので正確な測定が望まれる検体、その他何か相談をしたい検体が出た折には、いつでも成瀬あるいは大浦に精密検査依頼を行える制度がつくられた。それに応じ、われわれは、濾紙上血液から、アミノ酸、ガラクトース、ガラクトース-1-リン酸などを精密に測定しうる手段を確立した。

鶴田らは、濾紙上血液の3mmディスク1枚を用いて、テクニコン社のアミノ酸自動分析器により、多数の検体のアミノ酸を正確に測定する手段を確立した。<sup>2)</sup> 昨年度は、スクリーニングに直接関係のある、ロイシン、チロジン、フェニールアラニン、メチオニン、ヒスチジンのみを測定していたが、現在では全てのアミノ酸の分析が可能となった。このため、今年度は、スクリーニングで、メチオニン、チロジンの高値を示すものの中から、高シトルリン血症と思われる2例と、高リジン血症と思われる例を1例発見している。その他治療中の患者のフォローアップなどにも協力している。

ガラクトース、ガラクトース-1-リン酸の測定については、ガラクトース脱水素酵素を用いる藤村法という定量法があるが<sup>3)</sup>、石井らはそれを、自動分析により多数検体の測定が可能なる方法に発展させた。<sup>4)</sup> 第1図に示した如く、3mmディスク1枚で、ガラクトース、およびガラクトース-1-リン酸の測定が可能になった。この両者を正確に測定することにより、新生児ではガラクトース-1-リン酸がガラクトースより高い例が多いことを発見した。更にこれらの物質の軽度上昇群については、国立精神衛生研究所小松博士に依頼し、ガラクトース血症のVariantの検索を行い、1例のVariantを発見しえた。

今年度は、これらの依頼分析の件数は3,253件であり、全国39の施設から依頼をうけている。この依頼分析は、わが国の代謝異常マススクリーニングの実施のために、重要な役割りを果しているものと思われる。

図 ガラクトース定量のチャート図



## 文献

- 1) Naruse, H.: System of Neonatal screening for Inborn Error of Metabolism in Japan, (In Neonatal screening for Inborn Error of Metabolism ((Eds: Bickel, H., Guthrie, R. & Hammersen, G.)) Springer Verlag, Berlin, in press.
- 2) 鶴田恵美子, 大林やよい, 成瀬浩:  
MAS型の使用経験 Biomedical, J., 3: 827, 1979
- 3) 藤村有信, 川村正彦, 成瀬浩: 蛍光を利用した血中ガラクトースの新しい簡易定量法  
代謝異常スクリーニング研究会会報第2号: 19, 1977.
- 4) Fujimura, A., Ishii, S., Naruse, H. & Kawamura, M.: in preparation.

## レーザー高速液体クロマトグラフィーによる生体成分の微量分析の研究

等々力 英美, 成瀬 浩, 平川 暁子\*

高速液体クロマトグラフィー (HPLC) は, 臨床化学分析において生体試料中の成分を迅速, 簡便かつ正確に測定できる方法の一つである。現在, 我々の研究課題の中で測定が必要となる物質, たとえば血中アミン, 有機酸などの測定のためには, 現在の分析感度では不十分であり, 高感度検出法の開発が望まれている。HPLC の高感度検出法の一つとして蛍光法があり, この検出感度をさらに向上する事ができれば, 試料の少量化につながる。

一般に, 蛍光物質に強度の強い光を吸収させれば蛍光強度も強くなると考えられる。そこで我々は, 市販の蛍光検出器に用いられている光源とくらべ強度の強いレーザー光を光源とし, オプティカルファイバーを用いた, HPLC 用蛍光検出器を試作し, 高感度化に成功した。<sup>1)</sup>

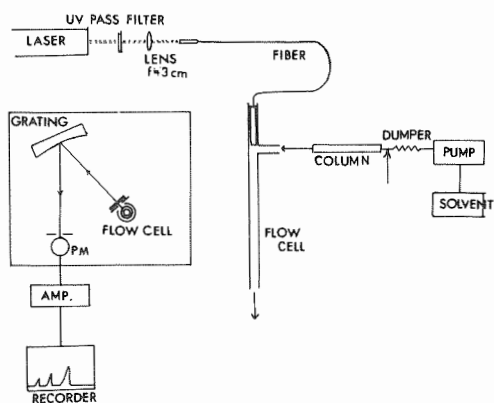


図1 レーザー HPLC の概念図

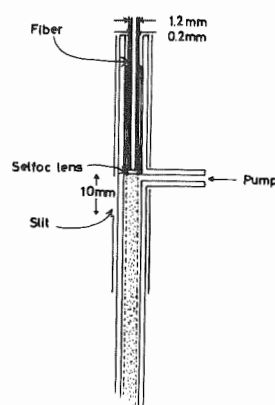


図2 レーザーHPLC に使用のフローセル

我々の開発した装置の全体図を図1に示す。レーザーはアルゴンイオンレーザーで, 励起線は紫外領域にあたる 351 および 363 nm を用いた。本検出器の特徴の一つであるオプティカルファイバーは直径  $200\mu\text{m}$  で, ファイバー入口にレーザー光を入れ, もう一方をフローセル内に直接さし込み, 照射できる様にしてある (図2)。ファイバーから出た光はフローセル壁面と平行近くなり, セル壁からの迷光, 散乱光の影響を受けることなく試料の蛍光を検出できる。HPLC および蛍光分光器は市販の装置を改良せず, そのまま使用している。図3にはレーザー蛍光HPLC装置の全容を示した。右からアルゴイオンレーザー, ファイバーへの光の導入装置, レーザー電源, HPLC 用蛍光分光器と記録計, 高速液体クロマトグラフである。今回, 我々が開発したHPLC用レーザー蛍光検出器の特徴をまとめると, ①セル内に直接光を入れるために気-液界面およびセル表面か

\* 東大・薬

らの迷光，散乱の影響が少ない。②既存の HPLC 用蛍光分光器の装置をそのまま使用でき，分離条件等の HPLC 機能に制約を与えない。③たて方向照射のため，スリット長が有効に利用できる。④照射光とセルが一体であるため，フローセル装置の調整が容易である。⑤多分岐型ファイバーを用いれば，1台のレーザーでも，数台の HPLC 用蛍光検出器を同時に稼働でき，ルーチン分析に有利である。⑥ファイバーを使用しているので，レーザーと HPLC の位置の自由度が大きくとれる等である。

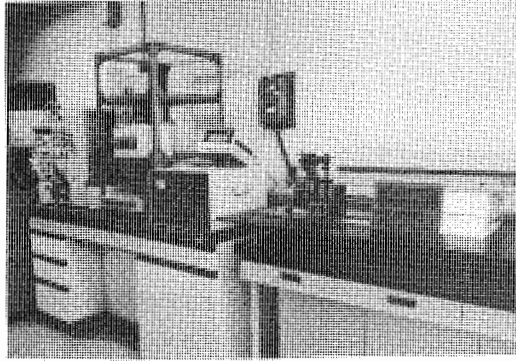


図3 オプティカルファイバーを用いたレーザー HPLC

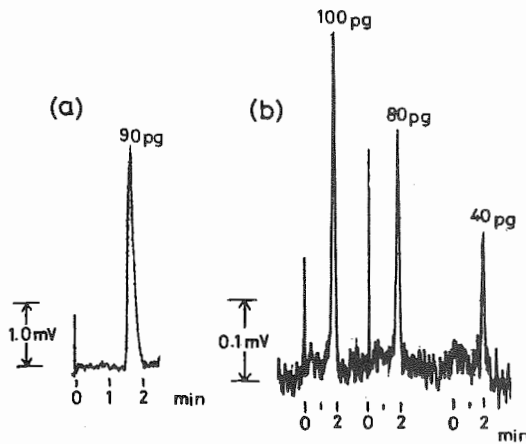


図4 DNS -Ala の液体クロマトグラム (a) レーザー，(b) 中圧水銀灯

図4に光源以外の条件を全て同一にした時の，ダンシルアラニン (DNS -Ala) のレーザーと水銀灯を用いた場合に得られた液体クロマトグラムの比較を示した。

レーザー光源の場合の検出限界 ( $S/N = 2$ ) は  $2 \sim 3 \text{ pg}$  で，市販の蛍光検出器に最もよく利用されている中圧水銀灯を利用した場合に比べて，検出感度が約10倍向上した。DNS -Ala の検

## II 研究概要

量線は、四ケタの濃度範囲 ( $10^{-1} \sim 10^{-7}$  g) にわたって直線性が得られた。励起光源としてのレーザーは、現在 1 mW の出力で使用しており、さらに出力を上げる事により検出感度を向上できると考えている。

また、フルオレスカミンでラベルしたカテコールアミン（ドーパミンとノルエピネフリン）の分離を行い、光源としてレーザー光を用いた場合と中圧水銀灯を用いた場合の比較を行ったところ、前者が約 1 ケタ感度がよく測定できた（図 5）。原則的にはレーザー蛍光 HPLC は現在までに確立した蛍光法に適用可能であり、従来血液数 ml を必要とした血中微量アミンの測定等も、感度が向上することによりわずかな血液で分析が可能になるものと考えられる。今後、レーザー蛍光 HPLC により、アミンの測定が日常の臨床検査に利用できる様、さらに感度の向上化を行いたいと考えている。

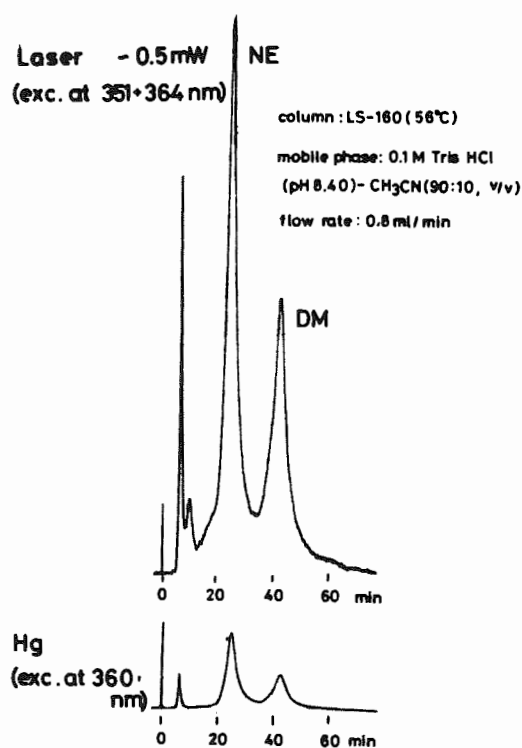


図 5 フルオレスカミン化カテコールアミンの液体クロマトグラム

## 文 献

- 1) Todoroki, H. & Hirakawa, A. Y.: "CW Laser Fluorometry Using an Optical Fiber. - An Application to High Performance Liquid Chromatography -  
Chem. Pharm. Bull., 28: 1337-1339, 1980.



## 躁うつ病における血液中アミノ酸の異常

鍋田 恵美子, 井上 清美, 成瀬 浩, 岸本 英爾\*

## 目 的

躁うつ病については、脳内および体液中のカテコールアミン・インドールアミンの異常を示すという報告があり、さらに、アミンの前駆物質であるチロシン・トリプトファンなどの異常がみられるという報告もある。しかし、相い反するデータもあり、いまだに結論は出ていない。最近、うつ病患者の血液中アミノ酸に関して、岸本らは、単にチロシン・トリプトファンのみでなく、他のアミノ酸の減少も観察されたという報告を行った。もしこれが事実ならば、うつ病の診断の補助手段として臨床応用が可能である。そこでわれわれは、うつ病患者の血液中アミノ酸分析を目標として研究を行った。

アミノ酸の分析は、以前は1検体あたり1 ml内外の血清が必要であり、さらに分析には数時間を費していた。われわれは、昨年度の年報に記したように、超微量血液を用いてアミノ酸を正確に、しかも迅速に分離定量する方法を研究して来た。今年度は、1全アミノ酸分析条件の検討、II濾紙上血液を用いてのアミノ酸分析における定量性の限界に関する検討、などを行いこれにもとづいて躁うつ病患者の血液中アミノ酸の分析を行った。

## 結 果

本法の分析システムは次の通りである。オートサンプラーを装着したアミノ酸自動分析器を用い、超微量分析を行うためにオルトフタルアルデヒドを用いた蛍光検出法を採用した。また、常に各ピークの分離が十分なため、インテグレータを用い自動的に定量した（詳しくは、53年度業績集p727～735参照）。昨年度までは、中酸性のアミノ酸の分析を行っていたが、今年度からは全アミノ酸の分析を可能とすることができた。

全アミノ酸の分析に関しては、従来法に加えてアミノ酸分離用カラムを検討し、さらに妨害物質の除去のためのアンモニアトラップカラムの設置と反応温度・反応時間の検討などを行った。全アミノ酸分析においても良好な分離条件を得ており、分析時間は80分内外である（54年度島蘭班研究報告書、「躁うつ病のアミノ酸・内分泌異常に関する研究」参照）。

濾紙上血液を用いての定量性の限界に関しては、アミノ酸の抽出率と安定性について検討した。濾紙からの抽出率は約98%であり、濾紙に残る量はごくわずかであった。さらに、安定性の問題であるが、ヒスチジンに関してはわれわれの研究により、保存時の温度・湿度条件により容易に分解することがわかっていた。メチオニンに関しては、何らかの保護を加えないと、数十分間でメチオ

\*横浜市立大学医学部精神科

II 研究概要

ニンオキサイドの形に変化し、アルギニンも溶血により著しく分解することが明らかになった。

うつ病患者の血液の分析のためには、横浜市大医学部精神科において、岸本らにより診断された患者から濾紙上に採血したものを、われわれは診断名を知ることなしに分析を行った。ただし上述のように、アルギニン・ヒスチジンには問題があるため、今年度は酸性・中性アミノ酸の分析を行った。なおメチオニンに関しては、酸化防止剤を添加して分析した。

うつ病の新患および治療中の患者の血液中アミノ酸値を表1に示した。この表で明らかのように、中等度および重症のうつ病新患において、ロイシン、チロシン、フェニルアラニン値が対照群に対し、危険率0.5%以下で有意差が認められた。治療中の患者については、症状の軽快した群では、全てのアミノ酸で有意差がなくなっており、治療効果のない群では差があった。

表1 うつ病患者の血液中アミノ酸 (mg/dl)

|          | 対照群 (n=8)  | うつ病新患 (n=9) | 軽度 (n=9)   | 中等度 (n=11) | 治療中、軽快良好 (n=10) | 治療中、軽快不良 (n=37) | 治療済 (n=7)   |
|----------|------------|-------------|------------|------------|-----------------|-----------------|-------------|
| ロイシン     | 1.85 ±0.84 | 2.29 ±0.29  | 2.20 ±0.32 | 2.95 ±0.46 | 2.54 ±0.40      | 0.32 ±0.06      | 0.78 ±0.11  |
| イソロイシン   | 0.32 ±0.06 | 0.78 ±0.11  | 1.33 ±0.15 | 1.03 ±0.10 | 0.72 ±0.10      | 0.25 ±0.05      | 0.97 ±0.22  |
| チロシン     | 1.11 ±0.39 | 2.18 ±0.36  | 2.19 ±0.56 | 2.95 ±0.55 | 1.92 ±0.58      | 0.23 ±0.10      | 0.65* ±0.25 |
| フェニルアラニン | 0.97 ±0.22 | 0.85 ±0.15  | 0.88 ±0.15 | 0.88 ±0.15 | 0.88 ±0.15      | 0.22 ±0.07      | 0.66* ±0.14 |
| メチオニン    | 1.71 ±0.75 | 2.16 ±0.69  | 2.32 ±0.59 | 3.17 ±0.52 | 1.92 ±0.53      | 0.22 ±0.07      | 0.66* ±0.14 |
| トリプトファン  | 1.01 ±0.02 | 2.14 ±0.05  | 2.18 ±0.68 | 3.55 ±0.62 | 2.77 ±0.75      | 0.33 ±0.05      | 0.87 ±0.26  |
| バリン      | 1.74 ±0.03 | 2.13 ±0.59  | 2.22 ±0.34 | 2.32 ±0.68 | 2.33 ±0.50      | 0.24 ±0.06      | 0.68* ±0.17 |
| グルタミン酸   | 1.68 ±0.15 | 2.18 ±0.26  | 2.28 ±0.25 | 3.03 ±0.76 | 2.37 ±0.20      | 0.29 ±0.03      | 0.75 ±0.19  |
| グルタミン    | 1.20 ±0.16 | 1.90 ±0.28  | 1.90 ±0.28 | 2.90 ±0.72 | 2.37 ±0.20      | 0.29 ±0.03      | 0.75 ±0.19  |

\*\*\* p<0.005  
\*\* p<0.01  
\* p<0.05  
+ p<0.1

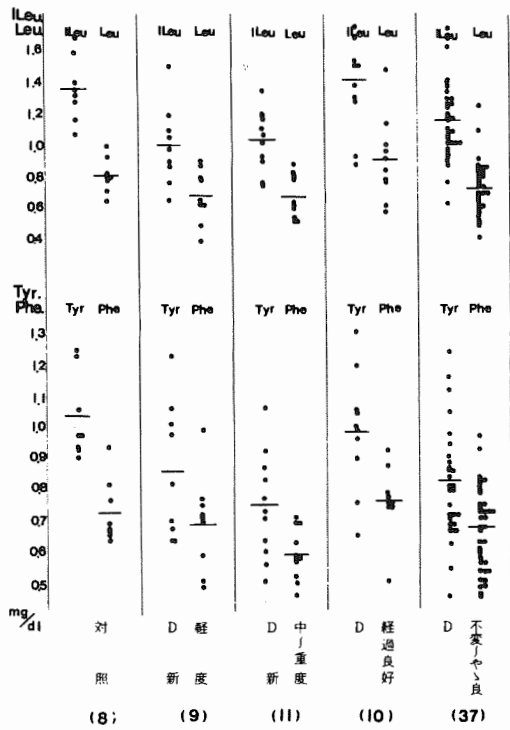


図1 うつ病患者の血液中イソロイシン・ロイシン・チロシン・フェニルアラニンの分布  
 ※ I Leu=ロイシン, I Leu=イソロイシン  
 Tyr=チロシン, Phe=フェニルアラニン  
 2 D新=うつ病新患 D=うつ病治療中  
 3 ( )内は例数

有意差のあるアミノ酸について、対照群とうつ病患者群における分布を図1に示した。この図で見ると、これらのアミノ酸の一部は、対照群の分布範囲に入っている。

うつ病以外の患者と対照群のアミノ酸値の比較を表2に示した。分裂症うつ状態という群は、うつ病様症状が前景に出ている患者で、ロイシン、チロシン、フェニルアラニンが有意に低値を示した。

表2 各種疾患者の血液中アミノ酸 (mg/dl)

| 疾患名           | アラニン          | グルタミン酸        | グルタミン         | チロシン          | ロイシン          | フェニルアラニン      | イソロイシン         | バリン             | メチオニン           | セリン             | プロリン |
|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|----------------|-----------------|-----------------|-----------------|------|
| 対照群 (n=8)     | 1.85<br>±0.84 | 2.29<br>±0.29 | 2.20<br>±0.32 | 2.95<br>±0.44 | 2.54<br>±0.40 | 0.32<br>±0.06 | 0.78<br>±0.11  | 1.33<br>±0.21   | 1.03<br>±0.13   | 0.71<br>±0.10   |      |
| 反応性うつ病 (n=1)  | 0.74          | 2.71          | 1.95          | 4.47          | 2.06          | 0.30          | 0.70           | 0.98            | 1.15            | 0.70            |      |
| 分裂症うつ状態 (n=4) | 1.20<br>±0.32 | 2.11<br>±1.04 | 2.37<br>±0.85 | 2.96<br>±0.62 | 1.67<br>±0.16 | 0.20<br>±0.03 | 0.63*<br>±0.09 | 0.93**<br>±0.16 | 0.57**<br>±0.16 | 0.42**<br>±0.11 |      |
| 分裂症 (n=4)     | 1.46<br>±0.35 | 1.88<br>±0.30 | 2.27<br>±0.30 | 3.23<br>±0.35 | 2.27<br>±0.42 | 0.24<br>±0.06 | 0.82<br>±0.11  | 1.31<br>±0.29   | 0.99<br>±0.23   | 0.69<br>±0.23   |      |
| てんかん (n=4)    | 2.00<br>±0.84 | 2.32<br>±1.03 | 2.30<br>±0.56 | 2.74<br>±1.01 | 2.35<br>±0.71 | 0.35<br>±0.08 | 0.74<br>±0.13  | 1.28<br>±0.41   | 0.95<br>±0.31   | 0.70<br>±0.35   |      |
| 躁鬱病寛化症 (n=2)  | 1.29          | 1.48          | 2.23          | 3.20          | 2.60          | 0.27          | 0.65           | 1.09            | 1.09            | 0.74            |      |

図1) \*\*\* p 0.005  
\*\* p 0.01  
\* p 0.1  
表2) \* 2列の平均を比較

考 察

中等度および重症のうつ病患者において、ロイシン、チロシン、フェニルアラニンが有意に減少していたが、これがうつ病に特異的なものか解明されておらず、またうつ病患者群のアミノ酸分布をみても一部は正常域に入っており、病気の程度の差によるのか、偶然の変動か全く不明である。このため今後の研究が必要であり、長崎大医学部精神科の高橋らに協力を依頼し、うつ病患者のサブグループについて、改良型の分析システムを用いたアミノ酸分析を実施中である。もしアミノ酸値の変化と、うつ病のサブグループとの間に相関があるとすれば、アミノ酸の分析はうつ病診断の補助手段として有効であろう。

文 献

- 1) Kishimoto, H., Hama, Y. & Nagasaki, T.: The Biochemical Studies of manic-Depressive Psychosis. II. Plasma Amino Acid Concentrations in Depressed Patients. *Yokohama Medical Bulletin*, 29:13-21, 1978.
- 2) van Praag, H.M.: *Depression and Schizophrenia*. Spectram Publication, Inc. N.Y. 1977.
- 3) 鶴田恵美子, 大林やよい, 成瀬浩: MAS 型の使用経験, *Biomedical J.*, 3: 827~835, 1979.

## 7. 微細構造研究部

### 1. 研究部一年の歩み

本研究部門では、神経、筋肉に関する疾患等について、主に形態学的側面から基礎的研究を行うことを目的とした。このために各種の実験モデルが考えられた。特に54年春には約2ヶ月間、米国カンサス大病理学、神経病理学の渡辺到教授が流動研究員として来室し、同じく順天堂大医学部より流動研究員（55年1月より微細構造部研究員）としてきていた相川久志と、ビタミンB<sub>1</sub>欠乏の動物実験を行った。即ち、ラットとマウスにビタミンB<sub>1</sub>欠乏食とピリチアミンを併用して投与することで発症における再現性の高い実験モデルをつくることに成功した。岩崎、多田らは神経系の培養細胞を用い、ピリチアミンの細胞レベルにおける作用を形態学的に調べ、その成果を厚生省の低エネルギー研究班において発表した。

次いで夏期には、米国ペンシルヴァニア大神経病理学教室の金博士が約2ヶ月間滞在され、筋細胞の培養や、神経細胞の培養を利用した研究を勧められ、そのかたわら、筋・神経等の培養の手技を伝授された。この培養の手技を使い、岩崎、佐々木、多田らは筋ジストロフィー症を遺伝的にもつ発育鶏卵から筋原細胞をとり出し、培養し、正常ニワトリの筋肉細胞との形態学的な差異について（特に膜内粒子数の差異について）凍結切断法を用いて、比較検討し厚生省の筋ジストロフィー班において報告した。

又、岩崎は筋ジストロフィーの薬として開発されつつあるロイペプチンの作用を *in vitro* に培養された筋細胞を用い、形態学的に観察し、多田らは、毒性濃度や変性壊死抑制効果等について、培養細胞のクレアチンフォスフォキナーゼを測定することで、薬効果の定量化を試み厚生省の新薬開発班で報告した。

岩崎と東京女子医大から流動研究員としてきている金子は、ウサギの眼球の有髄神経を利用して、脱髄と免疫反応の因果関係を調べ、厚生省脱髄研究班でその結果を報告した。

岩崎、佐々木、多田らはヘルペスウイルスをニューロblastoma等の細胞に感染させウイルスの吸着から成熟までの過程を蛍光抗体法や凍結切断法により研究し、スローウイルス感染の実態にせまろうとした。この結果は厚生省スローウイルス班にて報告した。

現在リュウマチなどの薬として利用されだしたペニシラミンの多量投与についてはあまり知られていないが、岩崎、伊藤は自己免疫疾患に陥入るNZBマウスを用い、連日数日間ペニシラミンを投与することによって、動物に運動障害がおこることを確認し、神経の終板が異常になることを電顕的に見出した。現在、重症筋無力症との相関を追求しており、厚生省、免疫性神経疾患班で報告した。

重症筋無力症の判定に最近では血中の抗アセチルコリンレセプター抗体の測定が大きな役割をはたすようになった。アイソトープ使用等の問題から酵素抗体法などの利用が望まれ、岩崎、加茂、多田、里吉らがこの点に取り組んだが解決は将来に残された。

加茂は、東北大細菌の中村、石田らと担癌状態での免疫機能の低下を癌細胞の産生する因子に求め、癌細胞を培養し、その培養上清に免疫反応を抑える数種の物質が存在することを見出し、文部省ガン特Iの班会議で報告した。

また、多田は東大医学部の橋本、平山らと共同し、沖縄各地、岩手、東京の妊婦の各年令層のペルベス中和抗体を調査し、地域差があること、又同年令層の抗体保有が減少し、母子感染の危険が増加しつつあることを指摘し、文部省周産期感染症研究班で報告した。

国立刀根山病院から併任研究員としてきている仁土は結核菌体成分で刺激したウサギ肺胞マクロファージを電子顕微鏡を使い観察し日本臨床電子顕微鏡学会で発表した。

以上の研究成果はいずれも、石井弘子、佐藤愛子、神岡里子、並びに安藤歌枝子の協力のもとに得られたものである。

(部長 岩崎 祐三)

## II 研究概要

### 2. 研究業績

#### A 論文

##### a 原著

- 1) 橋本和子, 多田愛子, 平山宗宏 :

単純ヘルペスウイルスの血清疫学的研究. —沖繩県における妊婦の中和抗体保有状況—,  
周産期医学, 9 : 1887, 1979

- 2) Taguchi, F., Toba, M. and Tada, A.:

Establishment of a Permanent Cell Line (HEL-R66) from Human Embryonic Lung Cells with High Susceptibility to Viruses.  
Arch. of Virology, 60:347, 1979

- 3) Yoshino, K., Isono, N., Tada, A. and Urayama, M.:

Studies on the Neutralization of Herpes Simplex Virus. X. Demonstration of Complement-  
Requiring Neutralizing (CRN) and Slow-Reacting CRN (s-CRN) Antibodies in Late IgG,  
Microbiol. Immunol., 23: 975, 1979

##### b 著書

- 1) 岩崎祐三, 里吉栄二郎 :

多発性硬化症の病因について.

内科セミナー, 脱髄性疾患(織田敏次他編), 永井書店, 大阪, 1980, P 71.

##### c 綜説

- 1) 岩崎祐三, 吉田瑞子 :

Duchenne 型筋ジストロフィー症の赤血球の形態および赤血球膜の構造について,  
最新医学, 35 : 960, 1980

##### d 症例報告

- 1) 佐々木公男, 梅津征男, 本谷尚, :

Respirator 使用により救命された新生児 massive pulmonary hemorrhage の1例.  
臨床小児医学, 27 : 167, 1979

- 2) 佐々木公男, 宇佐美卓, 堤 博, 本谷尚, 奥山富三:

硬膜下水腫および血腫を伴った hydranencephaly の 1 剖検例。  
脳と発達, 12: 60, 1980

## B 学 会 発 表

### a 一般学会

- 1) Nakamura M., Kamo, I., Koyama, K., Ishida, N.:

Inhibition of protein kinase activity by an immunosuppressive factor from the culture fluids of mastocytoma cells.

第 38 回日本癌学会, 東京, 9. 27, 1979 日本癌学会総会記事 p 83.

- 2) 橋本和子, 多田愛子, 平山宗宏:

沖縄県における妊婦の HSV 中和抗体保有状況。

第 20 回日本母性衛生学会, 沖縄, 11. 22, 1979

- 3) 仁士賢一:

Electron microscope observation of BCG-induced rabbit alveolar macrophages.

第 11 回日本臨床顕微鏡学会, 神戸, 10. 20, 1979

## C 班 会 議

- 1) 岩崎祐三, 伊藤直樹, 加茂功:

ペニシラミンによる重症筋無力症の実験的研究。

厚生省, 免疫性神経疾患研究班 東京, 1. 18, 19, 1980

- 2) 岩崎祐三, 佐々木公男, 多田愛子:

潜伏性ウイルス感染による細胞膜の修飾に関する形態学的研究。

厚生省, 遅発性ウイルス感染調査研究班, 東京 2. 2, 1980

- 3) 相川久志, 岩崎祐三, Itaru WatanabeI:

ピリチアミンによる中枢及び末梢神経疲労の電顕的観察。

厚生省, 低エネルギー研究班, 東京, 12. 14, 1980

## II 研究概要

- 4) 多田愛子, 加茂功, 岩崎祐三 :  
ロイペプチンの細胞レベルでの研究 .  
厚生省, 新薬開発, 東京, 2.26, 1980
- 5) 里吉栄二郎, 金子行子, 岩崎祐三 :  
不活化ウイルスによるウサギの実験的視神経炎 .  
文部省, 難病, 東京, 2.9, 1980
- 6) 岩崎祐三, 佐々木公男, 加茂功, 多田愛子, 石井弘子 :  
培養筋原細胞の細胞膜について .  
厚生省, 筋ジストロフィー研究班, 東京 12.6~7, 1979
- 7) 多田愛子, 橋本和子, 平山宗宏 :  
沖縄県および岩手の妊婦における単純ヘルペスウイルス中和抗体保有状況 .  
文部省, 周産期感染症, 東京, 2.20, 1980
- 8) 里吉栄二郎, 加茂功, 多田愛子, 岩崎祐三 :  
酵素抗体法による抗アセチルコリンレセプター抗体測定を試み .  
厚生省, 免疫性神経疾患, 1.18~19, 1980
- 9) 加茂功, 中村正孝, 石田名香雄 :  
癌細胞の産生する免疫抑制物質 .  
文部省, 癌特 I, 2.16, 1980

## 3. 主な研究報告

### ペニシラミンによる重症筋無力症の実験的研究

岩崎 祐三, 伊藤 直樹<sup>\*</sup>, 加茂 功

#### まとめ

d - ペニシラミンの投与によりマウスに, テンシロンテスト陽性の筋力の低下をおこすことができた。投与開始後発症までの期間は3ないし4週間で, 後肢筋の症状を主徴とする。症状の進行は

<sup>\*</sup>  
千葉大学医学部神経内科



緩徐で、少なくとも発症後2ヶ月は生存が可能である。神経筋接合部の形態学的変化は一般に軽微である。マウスの系の選択が発症させるための重要な鍵であるように思われる。

## 目 的

重症筋無力症の病態像の解析は、近年、実験モデル動物の確立に伴ない著しく進展し、この疾患が個体の免疫機構を介する運動終板の障害にもとづくものであることについては、疑いの余地がないように見える。しかしながら、病変発現の背景となる免疫機構の異常の実体や、発症の引きがねとなる要素については、ほとんど知られていないと云っても過言ではあるまい。つまりこの疾患の病因は未だに不明であると云わざるを得ないのである。

ところが、重金属のキレート剤として、ウイelson病など限定された疾患に使用されてきたペニシラミンが、リュウマチ様関節炎の治療にも有効であることが明らかになるとともに、重症のリュウマチ患者にもこれが用いられるようになり、その副作用の一つとして重症筋無力症の発症が報告されるようになった。このように、医原性ではあるが、病因の不明であった重症筋無力症の病因の一つとして、ペニシラミンの存在が明らかにされたことは、重症筋無力症の病因を解明するうえでの重要な手掛りであると云えよう。

そこで、実験動物にペニシラミンを投与して重症筋無力症をおこそうとする試みが、ラット、モルモットなどを使用して行われてきた。しかしその結果は、モルモットを用いた実験において、電気生理学的に異常を認めたとの報告があるのみで、臨床症状の発現には成功していない。

今回、私達はNZB系のマウスにペニシラミンを投与し後肢筋の筋力低下をひきおこすことができたので、その実験結果を報告する。

## 実験材料および方法

動物：予備実験に用いたICR系雌マウスは静岡実験動物より購入したもので、実験開始時の週令は14週である。NZB系雌マウスはJackson Labより購入したもので、実験開始時の週令は17週である。通常のマウス固型飼料と水道水で飼育した。

薬物投与：d-ペニシラミンの純度99.7%の粉末製剤を生理的食塩水に溶解し腹腔内注射を行った。電子顕微鏡用試料作製：エーテル麻酔のもとに取り出したM. soleus M. ext. dig. longを2.5%グルタルに固定した。次にEngelらの方法に従い、グルタル固定筋を実体顕微鏡下でときほぐし、神経終末を含む部分を選択的に切り出し、オスミウム酸で後固定し、アルコール系列で脱水後、エポキシ樹脂に包埋した。超薄切片は酢酸ウラン、クエン酸鉛で染色し観察した。

## II 研究概要

### 実験結果

予備実験ではICR系マウスを対照群と含めて4群に分け、体重1kg当り、250mg, 500mg, 1000mgのペニシラミンを3ヶ月間毎日腹腔内注射を続けたが、いずれの群にも症状の発現がみられず、筋の組織学的検索でも異常を認めなかった。この実験から明らかになったことは、少なくとも、体重1kg当り1000mgの量を長期間連用しても、体重の変化を指標としてみる限り全身状態に影響がみられず、また特に重篤な副作用の発現もみられないことであった。

そこで週令17週のNZBマウスに体重1kg当り1000mgのペニシラミンを週6日腹腔内投与を開始した。投与開始後3週間目の終りになり、ペニシラミン投与動物の動きが鈍く、歩行に際し後肢が開く傾向に出てきたのに気付いた。また、後肢で立上ることがしだいに困難になり、人為的に立上らせた場合には、尾のつけ根を床につけたまま、動かずにいることが、特徴的であった。また、人為的に運動を负荷した場合には急速に行動が鈍くなった。更にこの症状を特徴づけるのは、テンスロンの注射(0.03mg/マウス)により、鈍化した運動性と筋力の低下が、一過性に回復することであった。このような症状は5匹の実験群すべてにペニシラミン投与開始後4週目の終りまでに出現した。しかしながら、発症後もペニシラミンの注射を継続したにもかかわらず、症状の進行は一進一退で極めて寛徐であり、発症後少なくとも2ヶ月は生存し得るようである。発症動物の神経筋接合部の形態学的変化は軽微で、正常動物のそれに比べ、運動終板の単純化が部分的にみられるほかは、EAMGにみられる如き組織の明白な破壊や変性像はみられない。また、細胞浸潤、筋線維の変性像などもみられなかった。現在、神経筋接合部の免疫組織化学的検索をすすめている。

### 考 察

リュウマチ様関節炎に対するペニシラミンの使用におきた重症筋無力症の症例は、最近4年間の報告のみで少なくとも24例ある。<sup>1-5)</sup> 一方、ウイルソン病治療の合併症としては、臨床的に確からしい症例はMasters<sup>4)</sup>らの一例がのみであり、ペニシラミンによる重症筋無力症の発症には患者側の素因が関係していることが、第一に推測される。性別については20:4と女性に多い。年齢は29才~64才と巾が広い。次にペニシラミンによる重症筋無力症を特徴づけている点は、一般に症状が軽く、ocular typeが大部分である。しかしながら、Seitz<sup>2)</sup>らは全身型の症例も報告している。いずれの場合にも、ペニシラミン投与を中止することにより症状は寛解している。現在のところ、その病理所見については報告がない。最近の症例では抗レセプター抗体の測定が行われているが、発症時には抗体価の上昇がみられると報告されている。

ペニシラミンの投与量と投与期間についてみると、最大投与量は1日量500mgから1,250mgで、キレート剤としての使用量に比べ必ずしも多くない。また、使用期間も2ヶ月から20ヶ月までさまざまであるが、多くは使用開始後6~12ヶ月以内に発症している。しかし、Russel<sup>6)</sup>らは500mg

を2ヶ月投与で発症した例を報告しており、比較的少量を短期間用いた場合にも発症し得ることを示している。これと Masters<sup>4)</sup>らの報告したウイルソン病の合併例では1,000mgを11年間使用されていたことを対比してみる時、ペニシラミンによる重症筋無力症において患者側の素因が大きな要素となっていることが強く示唆される。

さて、このような症状を実験動物におこそうとする試みは、Lindstrom と Lennon<sup>6)</sup>により行われた。彼らは、Lewis系のラットに経口的にペニシラミンを2.5ヶ月投与したが、全く異常がみられなかったと報告している。同様なラットを使っての陰性例は、Aldrich<sup>7)</sup>らも報告している。一方、Lavaら<sup>8)</sup>やBurresら<sup>9)</sup>はHartley系のモルモットを使って、少なくとも電気生理学的な異常をおこすことができたと報告しているが、彼らの例でも臨床症状の発現は認めていない。ただしLavaら<sup>8)</sup>の例ではその病理所見が筋組織の壊死と炎症である点は留意すべき点であると思う。マウスを使っての実験は、私たちの今回の報告が最初であると思われる。これは予備実験で明らかになったことであるが、マウスには、モルモットやラットに比べてはるかに大量の薬物の投与が可能である点を指摘しておきたい。今回、私たちは1,000mg/kgを連用したが、Burresら<sup>9)</sup>のモルモットを用いた実験では、一回投与量が300mg/kgをこえた場合には全例実験開始後3週間以内に死亡したと報告している。今回の実験の最大のポイントは系の選択にある。繰り返し述べたが、ヒトの発症例において、患者例の素因が大きな要件になっているように思われる。NZB系マウスの免疫異常についての詳細を述べることは、本稿の目的を逸脱するが、一言で云えば、NZB系では自己抗体の産性が高く自己免疫疾患をおこしやすい動物である点に注目して今回使用したのである。素因の問題は、更に他の純系を用いた実験で解析していかねばならない点であるが、ともかくICR系では全く発症せず、NZB系ではより短期間の投与で全例発症したことは、今回の実験の最大の成果であった。

次に病理所見について述べる。今回の実験例では、神経筋接合部の構造は比較的良く保たれており、運動終板の単純化が対照例に比べ目立つ程度の変化である（形態変化の数量化は現在行いつつある）。これは、症状の進行が緩慢であることと対応するものであると思われるが、急性期にマクロファージの侵潤を伴う組織破壊がみられる、EAMGの病理とは明確に異なるものである。ヒトの重症筋無力症の病理とEAMGの病理の異同がしばしば論じられているが、ペニシラミン投与動物にみられる病変はよりヒトの病理により近いものと考え。現在、免疫組織化学的検索を行っている。

## 文 献

- 1) Bucknall, R.C. et al.: Brit. Med. J. 1: 600-602, 1975.
- 2) Seitz, D. et al.: Dtsch. Med. Wosch., 101: 1153-1158, 1976.

## II 研究概要

- 3) Gordon, R.A. et al.: Ann Int. Med.,87: 578-579, 1977.
- 4) Masters, C.L. et al.: Am. J. Med.,63: 689-694, 1977.
- 5) Vincent, A. et al.: Lancet,I: 1254, 1978.
- 6) Russel, A.S. et al.: Neurology,28: 847-849, 1978.
- 7) Aldrich, M.S. et al.: Muscle & Nerve,2: 180-185, 1979.
- 8) Lava, N.S. et al.: Neurology,29: 564, 1979.
- 9) Burres, S.A. et al.: Muscle & Nerve,2: 186-190, 1979.

### 潜伏性ウイルス感染による細胞膜の 修飾に関する形態学的研究

岩崎祐三 佐々木公男\* 多田愛子

#### 目 的

凍結割断法は生体膜構成蛋白の膜内局在を解析するための有力な研究方法である。ウイルス感染にともなう細胞膜の修飾については従来、主として免疫学的方法や生化学的方法を用いて研究されてきたが、今回、私たちは凍結割断法を用いて、ウイルス感染にともなう、細胞膜構成蛋白の構築の変化を形態学的にとらえることを試みた。

検索対象には、ヒトの神経細胞での潜在感染が実証されているヘルペスウイルス、その宿主には、神経細胞の *in vitro* での実験にひろく用いられている培養神経芽細胞を用いた。ウイルス感染にともなう細胞膜の抗原性の変化を抗ウイルス抗体を用いた蛍光抗体法により確認するとともに、ウイルス抗原の capping の現象を蛍光抗体法と走査型電子顕微鏡を用いて観察した。

#### 材料および方法

細胞：murine neuroblastoma C-1300由来のNA細胞はDr. McMorris から恵与をうけ、私たちのところで継代中のものも用いた。

ウイルス：Herpes simplex virus type 1 に属するHF株は東大医科研吉野教授より恵与されたものをVero細胞で増殖させて用いた。

感染：単層培養したneuroblastoma cellをトリプシン処理し、細胞浮遊液を作製、これにウイル

\* 国立療養所八雲病院

スを m. o. i. 5 の割合になるように加え、37°C で30分振とうを続けたのち、プラスチックまたはガラスのカバースリップにまき、10% FCS を添加した MEM 中で37°C の炭酸ガス培養器で静置培養した。

ウイルス抗原の検出：抗ウイルス抗体として東芝化学より購入した FITC 標識抗ヘルペスウサギ血清を 1 : 100 に希釈して用いた。未固定の細胞を緩衝塩溶液で洗ったのち、5 ~ 30分37°C で反応させ、蛍光顕微鏡で観察するとともに、標本の一部はグルタルアルデヒドで固定し、走査電顕、透過電顕および凍結切断の試料とした。

透過および走査電顕用試料：透過電顕用試料は、ペレットにした細胞を 2.5% グルタルアルデヒドで固定、更に 1% オスミウム酸で後固定したのち、アルコール系系列で脱水、エポキシ樹脂に包埋した。超薄切片は酢酸ウラン、クエン酸鉛で染色した。走査電顕用試料は、グルタルアルデヒドで固定、アルコール系系列で脱水後、液体炭酸で置換を行ない臨界点乾燥を行なった。プラスチックカバースリップ上の試料を細切、Pt-Pd でコーティングを行なったのち、日立 S-700 型走査電子顕微鏡を用いて観察した。

凍結切断法：プラスチックカバースリップに附着させたまま、細胞は 0.1 M カコディレート緩衝液 (pH : 7.4, 285 mOsm) で希釈した 2.5% グルタルアルデヒドで固定、次いで 20% および 25% グリセリンで 20分ずつ処理したのち Pauli らの方法に準じて、銅製試料台にマウントし、液体窒素で凍結した。凍結試料はエイコー社製凍結試料作製装置 (FD-2) を用い、ステージ温度 -105°C、真空度  $1 \times 10^{-7}$  Torr で切断、直ちに白金パラジウムの電子線蒸着を行なった。レプリカはハイターで処理したのち蒸留水で洗浄、グリッドにのせ日立 H-700 型電子顕微鏡で観察した。

## 結 果

Vero 細胞を指示細胞として検索した結果、感染後30時間目の培養上清から  $> 4 \times 10^5$  TCID<sub>50</sub>/ml のウイルスを得たことよりこの実験系は productive な系であることを知った。上述の実験条件下で、細胞変性効果は感染後ほぼ10時間目から現れ、30時間目には単層培養細胞全面にみられるようになる。細胞変性効果としては、多核巨細胞の出現と単核細胞の rounding-up がみられたが、大部分の細胞は少なくとも、感染後40時間はカバースリップに附着していた。蛍光抗体法による表面ウイルス抗原の検出では、感染後10時間目には約50%の細胞が陽性であり、30時間目には陽性率は 100% となった。1% 窒化ソーダの存在下で感染細胞と抗体を反応させた場合には、細胞膜全体が蛍光陽性となるが、1% 窒化ソーダを除いた場合には、抗体と反応後 5 ないし 10分で細胞表面の一部に蛍光をもつスポットの出現がみられる。このようにウイルス抗原の capping を行なった状態の細胞を走査電子顕微鏡で観察したが、lamellipodia や microvilli が一カ所に集まりその他の部分が平坦になっているのが認められる。この cap の部分にはウイルス粒子と考えられる小粒子も

## II 研究概要

みられる。次に凍結切断法による観察結果について述べる。非感染N A細胞の細胞膜のPおよびE面の切断像では膜内粒子はほぼ均一に分布している。ウイルス感染後30時間目の感染細胞の細胞膜で、膜内粒子の小さな集合がみられ膜内粒子の分布が非感染細胞に比べ不均一である。しかしながら、個々の粒子の形状は非感染細胞のそれと区別することができない。感染細胞における膜の変化は形質膜より核膜により強くみられ、しばしば膜内粒子の欠損したスポットが出現している。前述したようなウイルス抗原のcappingを行なった状態で切断した感染細胞に特有な所見は、0.1～0.3  $\mu\text{m}$ の大きさの膜内粒子の集合するスポットの存在で、ここには、膜内粒子が高い密度で集合している。しかしながら、個々の粒子の形状はスポットを形成していない粒子のそれと区別できない。また、このスポットは、capに相当する部分の切断面ではなく、その周辺の平坦な部分の切断面であろうと思われるしcap自体の切断面を得ることは技術的に困難であると思われる。したがって、ここにみられる膜内粒子の集合は、cap形成に伴った膜内粒子の分布の変化であると思われる。このことは、窒化ソーダ存在下でcap形成を阻止した状態で感染細胞を抗体と反応させた場合には、このようなスポットの出現がみられなかったことから推測させる。最後の膜内粒子の分布の変化と実験条件の関係を表にまとめて示す。

## 考 察

ウイルス感染細胞の凍結切断法による研究はTorpierらのRous sarcoma virus感染細胞についての報告とRodriquezらのherpes simplex virus感染細胞についての報告があるにすぎず、ウイルス抗原のcappingに伴う変化については、これが最初の報告と思われる。TorpierらはRous sarcoma virus感染に伴う形質膜の変化として膜内粒子密度の増加をあげている。私たちの今回の観察結果はRodriquezらの報告と一致し、感染細胞の変化としては、膜内粒子欠損部分の出現であった。このような観察結果はBachiらの仙台ウイルスと赤血球膜との癒合についての報告とも一致する。つまりいずれの場合にも、ウイルス抗原自体はとらえられていないが、ウイルス抗原の存在にともなう膜内粒子(恐らく既存の)の集合を観察していることである。更に、私たちは感染細胞に抗ウイルスを反応させることにより、今まで報告がない、膜内粒子集合の大きなスポットの形成が行なわれることを知った。このことは、将来、潜伏性ウイルス感染細胞の形質膜の構築の変化をさぐるうえで重要な指標となるものと考ええる。

| 表                                      | clustering of IMP |
|--|-------------------|
| NA cell                                | -                 |
| NA cell + HSV                          | +                 |
| NA cell + HSV + Ab                     | +++               |
| NA cell + HSV + Ab + Na N <sub>3</sub> | +                 |
| NA cell + Ab                           | -                 |

## 文 献

- 1) McMorris, F.A., and Ruddle, F.H.: Dev. Biol.,39: 226, 1974.
- 2) Yoshino, K. and Taniguchi, S.: Japan J. Exp. Med.,39: 223, 1969
- 3) Torpier, G. et al.: Proc. Nat. Acad. Sci U.S.A., 72: 1695, 1975.
- 4) Rodriguez, M. and Dubois-Dalcq, M.: J. Virol.,26: 435, 1978.
- 5) Bächli, T. et al.: J. Virol.,11: 1004, 1973.

## ロイペプチンの細胞レベルでの研究

多田愛子, 加茂 功, 岩崎祐三

### 目 的

ロイペプチンの筋細胞に対する影響を, 培養筋原細胞を用いて検討した. ロイペプチンの細胞毒性効果と, 筋原細胞の長期培養下でみられる自然変性に対する抑制効果を, 位相差顕微鏡及び走査電子顕微鏡による形態学的観察と共に, C P K ( creatine phosphokinase ) 値の変動の指標として検討を試みた.

### 材料および方法

白色レグホン並びにジストロフィーチキン ( 413 ), 同対照チキン ( 412 ) の11~13日胚の骨格筋より分離した筋原細胞を用いた. C P K測定は Nilsen らの N A D P H法, 総蛋白質量の測定は Lowry らの方法を用いた.

II 研究概要

結果

ロイペプチン液は培養液で、50mg/mlの原液を10倍階段希釈して調整した。この液については、pH, osmolality を測定した。ロイペプチンを含む培養液で筋原細胞を培養し、4~7日に細胞をharvestし、lysis bufferで可溶化後超音波破碎したものを、-90℃に凍結保存し測定直前に融解し、CPK測定に供した。

1. 培養条件の検討のひとつとして、培養液への添加血清について、表1のような実験を行なった。ウシ胎仔血清(FCS)のみでも、myotubeの形成は通常用いられる馬血清に鶏胎抽出液(CEE)を加えたものに劣らず、CPK値もそれを裏書きした

2. 50,000 μg/ml ~ 5,000 μg/ml のロイペプチンを培地中に加える

と毒性効果があったがそれらはpH値やosmolalityによるものではないことを確かめた。(図1)

3. 60mmのペトリディッシュにうえた筋原細胞を、4日目にharvestし、そのCPK比活性とprotein

表1

Comparison of culture medium

| MEM added with              | CPK (mU/ml) | Protein (mg/ml) | CPK (mU/mg) |
|-----------------------------|-------------|-----------------|-------------|
| (Exp 1) 4 days in culture   |             |                 |             |
| 20% FCS                     | 3685        | 4.90            | 752         |
| 10% HS + 3% CEE             | 3518        | 4.50            | 782         |
| 10% HS                      | 2764        | 4.45            | 621         |
| (Exp 2) 4 days in culture   |             |                 |             |
| 20% FCS + ArC*              | 2680        | 2.80            | 957         |
| 20% FCS + ArC + Leupeptin** | 2429        | 3.20            | 759         |
| (Exp 3) 4 days in culture   |             |                 |             |
| 10% HS + ArC                | 979         | 3.20            | 306         |
| 10% HS + ArC + Leupeptin    | 725         | 3.70            | 196         |
| (Exp 4) 4 days in culture   |             |                 |             |
| 20% FCS                     | 3685        | 4.90            | 752         |
| 20% FCS + Leupeptin         | 3015        | 4.45            | 678         |

\* 1 mcg/ml  
\*\* 50 mcg/ml

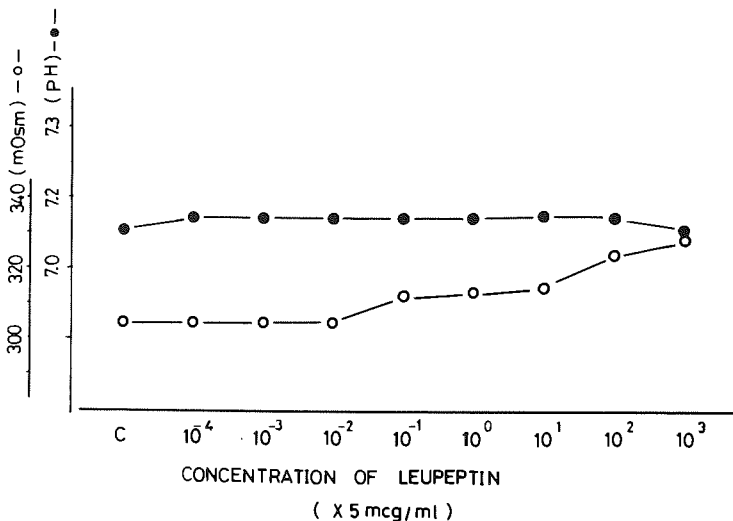


図1. 培養液にとかしたロイペプチンの各濃度におけるpH値および浸透圧



量をしらべた。この値の変動は位相差顕微鏡による観察とよく並行していると思われた。500  $\mu\text{g}/\text{ml}$  ロイペプチンの系で、protein量が変わらないのにCPK値がさがっているのは、いったん形成されかけたmyotubeが変性壊死し、残存する繊維芽細胞が急速にその数を増しあたかも筋原細胞群とおきかわっていく過程を示していた。(図2)

4. ロイペプチンを含む培養液を毎日かえても3日ごとにかえても、後者について全体にCPK活性が下がるが、ロイペプチン添加による影響には大差なかった。(表2, 表3)

5. 図3, 図4は、表3の観察の1部である。

6. 表4と表5に、ジストロフィーチキン(413)とその対照チキン(412)についての、ロイペプチン添加による培養筋原細胞の影響をしらべた。ジストロフィーチキンに於いては、5  $\mu\text{g}/\text{ml}$  ロイペプチンで、ロイペプチン無添加より高いCPK値をえたが、この点については一応再現性はえているが、なお詳細な検討は今後の課題としたい。

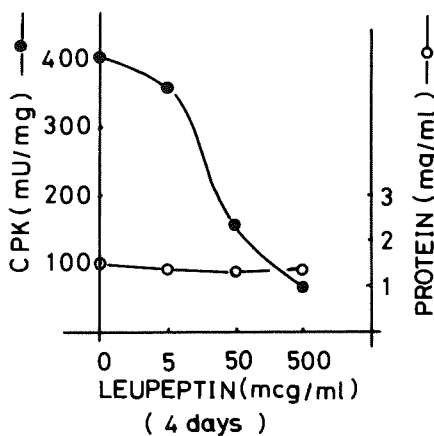


図2. ロイペプチン添加による培養筋原細胞のCPK比活性と総蛋白量の変動

考察

ロイペプチンの効果判定の一助としてCPK測定を試みたが、CPK値は、毒性試験での光顕レベルのmyotube残存量をよく反映し、また低ロイペプチン量では対照との差違を光顕レベルでは仲々見出し難いが、5  $\mu\text{g}/\text{ml}$  では、CPK値が対照に比べると、ときに高値が得られたこと

表2.

Effect of Leupeptin on CPK activity of chick embryonic muscle cells in culture

| Concentration of Leupeptin (mcg/ml) | CPK (mU/ml) | Protein (mg/ml) | CPK (mU/mg) |
|-------------------------------------|-------------|-----------------|-------------|
| 5 days in culture                   |             |                 |             |
| Control                             | 5109        | 5.65            | 904         |
| 5                                   | 3063        | 5.01            | 661         |
| 50                                  | 1678        | 5.02            | 334         |
| 7 days in culture                   |             |                 |             |
| Control                             | 2643        | 5.56            | 472         |
| 5                                   | 2140        | 5.40            | 396         |
| 50                                  | 1804        | 5.25            | 344         |

[ロイペプチンを含む培養液を3日ごとに交換]

II 研究概要

は、ロイペプチン効果判定の一助となるのではないかと考えられる。

表 3.

Effect of Leupeptin on CPK activity of chick embryonic muscle cells in culture

| Concentration of Leupeptin (mcg/ml) | CPK (mU/ml) | Protein (mg/ml) | CPK (mU/mg) |
|-------------------------------------|-------------|-----------------|-------------|
| 5 days in culture                   |             |                 |             |
| Control                             | 804         | 3.30            | 244         |
| 5                                   | 506         | 4.30            | 118         |
| 50                                  | 287         | 3.75            | 82          |
| 7 days in culture                   |             |                 |             |
| Control                             | 253         | 2.55            | 99          |
| 5                                   | 388         | 3.50            | 111         |
| 50                                  | 219         | 3.70            | 59          |

〔ロイペプチンを含む培養液を毎日交換〕

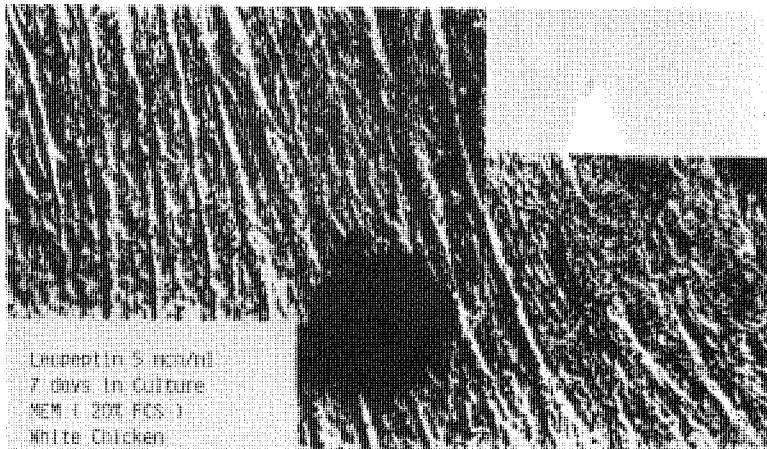


図 3.

表 4.

Effect of Leupeptin on CPK activity of Normal (412) chick embryonic muscle cells in culture

| Concentration of Leupeptin (mcg/ml) | CPK (mU/ml) | Protein (mg/ml) | CPK (mU/mg) |
|-------------------------------------|-------------|-----------------|-------------|
| 5 days in culture                   |             |                 |             |
| Control                             | 3853        | 3.75            | 1027        |
| 5                                   | 2932        | 4.50            | 652         |
| 50                                  | 3434        | 4.50            | 763         |
| 500                                 | 1927        | 4.55            | 424         |
| 7 days in culture                   |             |                 |             |
| Control                             | 713         | 4.90            | 146         |
| 5                                   | 629         | 5.60            | 112         |
| 50                                  | 294         | 5.00            | 49          |
| 500                                 | N.D.        | 5.00            | N.D.        |

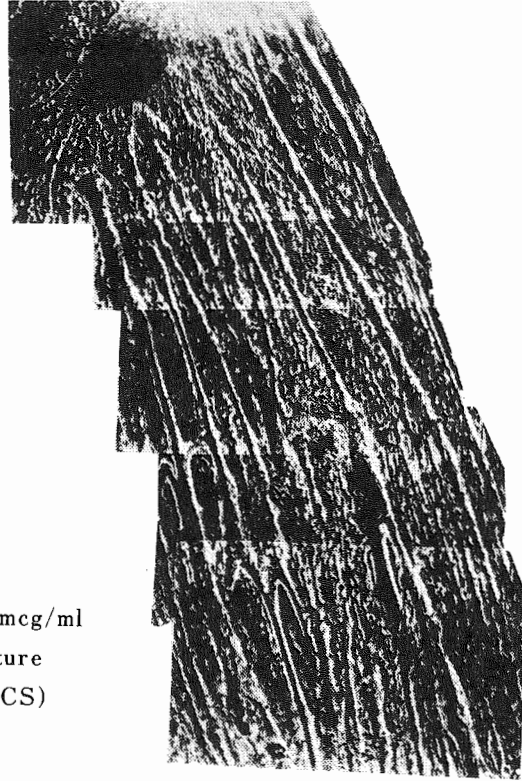


図 4.

Leupeptin 50 mcg/ml  
7 days in Culture  
MEM (20% FCS)  
White Chicken

表 5.

Effect of Leupeptin on CPK activity of Dystrophic ( 413 )  
chick embryonic muscle cells in culture

| Concentration<br>of Leupeptin (mcg/ml) | CPK<br>(mU/ml) | Protein<br>(mg/ml) | CPK<br>(mU/mg) |
|--|----------------|--------------------|----------------|
| 5 days in culture                      |                |                    |                |
| Control                                | 2534           | 2.90               | 874            |
| 5                                      | 4774           | 4.35               | 1097           |
| 50                                     | 2848           | 4.70               | 606            |
| 500                                    | 1423           | 4.30               | 331            |
| 7 days in culture                      |                |                    |                |
| Control                                | 420            | 4.95               | 85             |
| 5                                      | 930            | 4.00               | 208            |
| 50                                     | N.D.           | N.D.               |                |
| 500                                    | 0              | 2.50               | 0              |

### 不活化ウイルスによるウサギの実験的視神経炎

里吉宮二郎 金子行子\* 岩崎祐三

#### はじめに

ヒトの脱髄疾患,特に多発性硬化症の病因として,ウイルス感染が示唆されて久しいが,ウイルスによる脱髄の機序については,未だ,解明されていない点が多い.ウイルスによる脱髄の一つの作用機転として,ウイルス抗原による標的組織,つまり髄鞘の抗原性の修飾を,それにとまなう自己免疫反応による組織の破壊が想定されている.これは postinfectious leukoencephalopathy の発病機序として有力な作業仮説であるが,これを実験的に証明することは,容易でない.私達は,パラインフルエンザウイルスをマウスの脳内に接種すると,ウイルスの増殖がおこらないにもかかわらず,白質の広範な破壊がおこることを見出した<sup>1</sup>.次いで,同じ現象を不活化ウイルスでもおこしうること<sup>2</sup>,更に,その反応の胸腺依存性を明らかにした<sup>3</sup>.今回,私達は,不活化したパラインフルエンザウイルスを白色家兎の硝子体内に接種,これによりひきおこされた epiretinal fiber の病変の電顕的観察を行なった.

#### 材料および方法

動物:体重 2.0~2.5 kg の雄白色家兎.

ウイルス:parainfluenza type 1, strain 6/94 を紫外線照射により不活化したものを用いた.(HA 1024).

動物をネブタールで麻酔,眼球を脱臼させ,直視下で,強膜の部分から硝子体内へ抗原の注入を行なった.一側に 0.1 cc のウイルス,対側に同量の PBS,または allantoic fluid を対照として注入,更に 0.5 cc のウイルスを静注した.

眼球を接種後,3,5,7,8,14日目に摘出,2.5%グルタルアルデヒドで浸透固定した.

乳頭部と視神経の epiretinal portion を含む網膜の一部を細切し,1%オスミウム酸溶液で後固定し,アルコール系列で脱水後,エポキシ樹脂に包埋した.1 $\mu$ 切片をトルイジンブルーで染色観察したのち,超薄切片を作製,酢酸ウラン,銻酸鉛で染色し,日立 H-600 型電子顕微鏡で観察した.

#### 結 果

正常組織の電顕像:視神経と硝子体とは一層の基底膜により境されており,更に epiretinal fi-

\*東京女子医科大学眼科

ber とこの internal limiting membrane の間には、Muller 細胞の突起とグリア線維束からなる厚さ数ミクロンの層が形成されている。

epiretinal fiber は大部分は有髄神経で直径 3～4  $\mu$  の大きな線維と径が 1～1.5  $\mu$  の線維が混在している。稀に小径の無髄線維がみられるがその頻度は 2～3% で、散在性である。

有髄線維層の間質を形成しているのはグリア線維で、介在する細胞成分は、オリゴデンドログリアと、アストログリアが大部分を占めている。

ウイルス接種後の変化：ウイルスを接種後 3 日目の網膜では、internal limiting membrane に隣接して、その硝子体側に単核細胞が散見されるが、多核白血球は全くみられない、有髄神経層には著変を認めない。5 日目には、硝子体内の単核細胞の数がふえ、少数ながら形質細胞もみられるようになる。また、軽度ながら internal limiting membrane の網膜側にも単核細胞の増加がみられる。7 日目になると、強度な単核細胞の侵潤が internal limiting membrane に沿って、広範に有髄神経層にみられる。この時期にみられる侵潤細胞の大多数は形質細胞である。このような初期病巣に、隣接する有髄線維の髄鞘の一部を、胞体のなかにとりこみ貪食している細胞がみられた。この細胞は外部から侵入した炎症細胞のようにみえるが、その胞体内にグリアフィラメントに類似したフィラメントのたばがみられ、これが、有髄神経層内にあったグリア細胞である可能性も否定できない。8 日目の所見も、7 日目のそれに類似している。14 日目になると、硝子体内の単核細胞の侵潤はほぼ消失しており、有髄神経層でも、単核細胞は、硝子体との境界部に散見されるのみである。有髄神経層内では、有髄線維の数が著しく減少、大小さまざまな naked axon がみられ、その周囲にはグリア線維の増加が顕著である。有髄線維の減少の結果、有髄神経層の厚さは、全体として減少している。

対照側：allantoic fluid の注入でも形質細胞を主体とする強い炎症細胞の侵潤がみられた。

PBS の注入例には全く病変がみられなかった。

## 考 案

今回、私達が観察した、不活化ウイルスを接種後の網膜の病変は、かつて Silverstein<sup>4</sup> らが報告した、ウサギの硝子体内に異種蛋白を接種した場合の、光顕による観察の結果に、極めて類似したものであった。つまり、いずれの場合にも、主体となる変化は、接種後 7 ないし 8 日にピークをもつ、形質細胞を主体とする炎症細胞の硝子体周辺組織への侵潤像である。今回の実験でも、対照として用いた allantoic fluid を接種した側の病変が、ウイルス接種した側のそれに、類似していたことは、ここでみられた病変の主体が、異種蛋白に対する非特異的な反応であることを強く示唆している。しかし、今回の実験で極めて興味ある所見と思われるのは、その組織内の既存の細胞成分であると考えられるグリア細胞の変化である。これらの細胞は、炎症細胞の侵潤による、組織破壊の

## II 研究概要

これらの細胞は、炎症細胞の侵潤による、組織破壊の場からやゝはなれて、その周辺は、少なくとも形態学的には、正常と考えられる有髄線維にとりかこまれて、位置している。また、これらの細胞がとりこみつつある髄鞘はいまだに、軸索を含む部分との連続性がたもたれ、しかし胞体内にとりこまれた部分でも、髄鞘本来の形態がよく保たれていることは、これが決して炎症細胞の侵潤により破壊された髄鞘の清掃機転による貪食ではなく、これらの細胞自体が正常に見える髄鞘に対し、積極的に破壊を行なっている像をとらえるべきであろう。本来これら髄鞘の支持を行なっていると考えられるグリア細胞が、何故、破壊的に働いているのであろうか。

この変化の機序として、様々なことが想定し得るが、硝子体内に注入された物質は徐々に、周辺組織内へ侵透すること、更に、不活化したウイルスとの接触により、細胞膜の抗原性の修飾がおこり得ることなど、既知の事々を組み合わせる時、グリアによる髄鞘破壊の過程は、硝子体内に注入された、ウイルス浮遊液による組織の抗原性の修飾に対する反応と考えられないであろうか。とまれ、この機序の解明は、plaque の marginal zone<sup>5</sup> にみられる病態像を理解する手がかりになるであろう。

## 文 献

- 1) Iwasaki, Y. and Koprowski, H.: Parainfluenza virus infection in mouse brain: A possible model for virus-induced demyelination. *Lancet*, I: 738-739, 1974.
- 2) Iwasaki, Y., McMichel, J. & Koprowski, H.: Experimental parainfluenza type 1 virus-induced encephalomyelopathy in the adult mouse. *Acta Neuropath.*, 31: 315-324, 1975.
- 3) Iwasaki, Y., Aden, D. & Koprowski, H.: Thymus-dependent sensitising process involved in the induction of CNS disease in mice by parainfluenza type 1 virus. *J. Immunol.*, 114: 1846-1847, 1975.
- 4) Silverstein, A.M., & Zimmerman, L.E.: A progressive immunization reaction in the actively sensitized rabbit eye. *J. Immunol.*, 86: 312-323, 1961.
- 5) Prineas, J.: Pathology of the early lesion in multiple sclerosis. *Human Pathology*, 6: 531-554, 1975.

## 凍結割断法による培養ヒト星状膠細胞の細胞膜構造の観察

岩崎祐三, 佐々木公男\*

## 目 的

ビタミンB<sub>1</sub>は解糖系において補酵素として働くほかに、生体膜に対し直接作用することが Cooper 糸川ら<sup>1, 2</sup>により指摘されている。後者については、B<sub>1</sub>が興奮性膜に結合してNa<sup>+</sup>イオンの細胞内への流入に関与していることが推測されている。一方、Watanabe ら<sup>3, 4</sup>により示された、ピリチアミンによる実験的ウェルニッケ脳症においても、ヒトのウェルニッケ脳症と同様、星状膠細胞の急激な浮腫状変化がみられる。今回の実験は、上述したような星状膠細胞の変化に、B<sub>1</sub>あるいはピリチアミンの細胞膜に対する直接作用が関与しているか否かを検討する目的で計画された。

## 方 法

著者らの研究室で確立されたヒト胎児由来の星状膠細胞(F Bcell)の24ないし25代継代のものを用いた。この細胞をプラスチックカバースリップにまき、単層の培養細胞層が形成されたのち、10<sup>-3</sup>Mのピリチアミン(シグマ)を含む培地に変え、10日間培養をつづけた。この間、培地は3日に一度かえた。凍結割断は、Pauliらの方法<sup>5</sup>にしたがい、エイコー社製凍結割断装置を用いて行ない、直ちにPt-Pdの蒸着を行なった。

## 結 果

位相差顕微鏡による細胞の形態の観察では対照培養とピリチアミン存在下の培養の間に明白なちがいを発見することができなかった。図1はこの細胞を臨界点乾燥後、透過電顕で観察したもの<sup>6</sup>でmitochondria, dense bodyなどのほか、幾つかの線維束(f)を認めることができる。この細胞は蛍光抗体法により、抗GFA血清に強染することからここにみられる線維束はグリア線維であると考えられる。さて、凍結割断による細胞膜の観察はピリチアミン存在下で培養を開始後48時間、90時間そして10日目に行なった。図2は10日目に検索した細胞膜の凍結割断像であるが、対照培養細胞との間に明白な差異を認めることができなかった。48時間目、90時間目の細胞について明らかな異常を認めなかった。

## 考 案

培養神経細胞に対するピリチアミンの影響についての研究はYonezawaら<sup>7</sup>のものが唯一のもの

\* 国立療養所八雲病院

## II 研究概要

であると思われる。彼らはラットおよびマウスの神経組織の器官培養を行ない、その培地に $10^{-3}$ ~ $10^{-4}$ Mのピリチアミンを加え形態の変化を観察した。その結果、ピリチアミン添加後2~3日で神経細胞の高度な変性がおこることを見い出した。しかしながら星状膠細胞には異常を認めなかったと報告している。今回の私たちの実験では、ピリチアミンが膜に直接作用しており、それがイオンの透過性に関与していることを想定して、細胞膜構築の検索を行なったのであるがこの仮定をうらづける所見を得ることができなかった。したがって、ピリチアミン投与動物の脳内にみられる星状膠細胞の変化に対応する所見は、培養細胞を用いた実験からは得られなかったと結論せざるを得ない。

## 文 献

- 1) Itokawa, Y., Cooper, J.F.: Science, 166: 759, 1969
- 2) 糸川嘉則 : ビタミン49 : 415 , 1975
- 3) Watanabe, I. and Kanabe, S.: J. Neuropath Exper Neurol., 37: 401, 1978.
- 4) Watanabe, I.: Exper Mol Pathology, 28: 381, 1978.
- 5) Pauli, B.U., Weinstein, R.S. et al.: J. Cell Biol., 72: 763, 1977.
- 6) Iwasaki, Y.: Intervirology, 9: 214, 1978.
- 7) Yonezawa, T. and Iwanami, H.: J Neuropath Exper Neurol., 25: 362, 1966.

## ピリチアミンによる中枢及び末梢神経病変の電顕的観察

相川久志 岩崎祐三 Watanabe, I.\*

## 目 的

ビタミンB<sub>1</sub>欠乏により、ウェルニッケ脳症や脚気神経炎が生ずることは周知の事実であるが、その病態に関しては不明の部分が多い。最近、Watanabeらによって、ビタミンB<sub>1</sub>の拮抗剤であるpyrithiamine投与により組織学的にヒトのウェルニッケ脳症に類似した病変を高い再現性をもって作製し得ることが示された<sup>1, 2</sup>。我々はこの実験系を用い、中枢及び末梢神経病変の電顕的観察を行なうとともに、B<sub>1</sub>血中濃度を経時的に測定し、発症時期との関係を明らかにしようと試みた。

\*カンサス大学病理学教室



## 方 法

使用動物はウィスター系ラット（平均体重 200 g）と ICR 系マウス（平均体重 40 g）である。実験群は（A）ピリチアミン投与群（ $B_1$  欠乏食 + ピリチアミン 500  $\mu\text{g} / \text{kg} / \text{day}$  連日腹腔内注射）、（B） $B_1$  欠乏食群、（C）対照群の 3 群に分け、神経症状の観察、チオクローム蛍光法による  $B_1$  血中濃度の経時的測定及び神経筋組織の電顕的観察を行った。

## 結 果

ピリチアミン投与群は投与開始 5 日目より、毛並の粗さ、摂食不良、体重減少が出現、10 日目前後に急激に失調性歩行、tonic seizure、後弓反張、rigid tail movement を呈し発症する。これらの発症動物は放置すれば 2～3 日で死亡するが、発症後、直ちに  $B_1$  を投与すれば症状は寛解した。 $B_1$  欠乏食群は軽度の体重減少と毛並の粗さを示したのみで、行動学的に異常を認めなかった。 $B_1$  血中濃度測定の結果、ピリチアミン投与群では、血中濃度は急速に低下、発症時には正常の 1/5 以下であった。一方、 $B_1$  欠乏食群も  $B_1$  血中濃度の低下は著しいが、この群には急性病変は出現していない。（表 1）

組織学的には、視床、乳頭体、第 3 第 4 脳室周辺灰白質、特に前庭核を含む pontine tegmentum における海綿状態、浮腫性壊死像が主体であった。稀に同部に小出血を認めたが、炎症所見は認められなかった。電顕的に最も著明な変化は小血管周囲の Astroglia の endfoot に認められた浮腫性変化であり、次いで髄鞘の inner loop の腫脹であった。Astroglia、Oligodendroglia の細胞質は中等度～高度に浮腫性変化を呈していた。一方、神経細胞の subplasmalemmal area にも浮腫性変化を認めたが、グリア細胞と比較して程度は軽く、軸索の変化は軽微であった。グリア細胞、神経細胞ともにミトコンドリアの変化は軽い。海綿状態を呈する病変部での小血管では、内皮細胞、周皮細胞、tight junction 及び基底膜に著変を認めなかった。初期病変を検討する意味で発症前日の pontine tegmentum を検索したが、前述したグリア細胞の浮腫性変化は認めず、Dendrite の局所性腫脹と microtubulus の乱れが軽度認められた。発症動物の視神経において、血管周囲の Astroglia の浮腫に加え、dystrophic change を呈した視神経軸索や、異常な走行を示した髄鞘などが散見された。小脳及び脊髄病変に関しては現在検索中である。末梢神経では、坐骨神経と後肢 Interosseimucle の筋内神経を検索したが、異常を認めない。筋肉系では、M. soleus M. ext. dig. longus を検索し、10 例中 2 例に macrophage を伴う diffuse な necrotic fiber を認めた。

## 考 按

ピリチアミンによる  $B_1$  欠乏実験は、従来の欠乏食による実験と比較して、①短期間で発症するため他の栄養因子の影響が少ないこと、②ほぼ 100% に中枢神経病変を作製し得ること、③実験動

## II 研究概要

物がラット、マウス等取り扱いやすい小動物ですむこと、などの利点をもつ。B<sub>1</sub> 血中濃度測定により分ることは、同程度に低下している欠乏食群に病変が認められぬ事であり、おそらく脳内サイアミン欠乏を反映していないと推測された。ピリチアミンは薬理的に thiamine より thiamine pyrophosphate (TDP) への生合成を阻害するとされており、このTDPは補酵素として、TCA cycle における  $\alpha$ -ketoglutarate や hexose monophosphate shunt における transketolase に働くとしてされている。従来より B<sub>1</sub> 欠乏による病変は、グリア細胞が hexose monophosphate shunt を有するため thiamine 欠乏の代謝性変化を受けやすいという様に、酵素学的に説明されることが多い。しかしながら、初期病変についても、Astroglia の浮腫状変化とするもの<sup>1, 2, 3</sup> presynaptic boutons と terminal axon とするもの<sup>4</sup>、髄鞘の blister formation とするもの<sup>5</sup> など多様であり、全てが酵素学的に説明し得ぬものと思われる。我々は初期に dendrite に変化をみたが、人工産物としての影響を考慮した上で、その意味づけは慎重にしなければならぬであろう。以上の酵素学的説明とは別に、B<sub>1</sub> が神経細胞の膜興奮性に関与し、膜の透過性を調節しているという Itokawa, Cooper<sup>6</sup> らの意見は、浮腫を主体とする病理像を説明する上で重要であろう。更に近年、B<sub>1</sub> が serotonergic system に関連しており、選択的な病変部位との関係を論及していることは注目すべきと思われる。

### まとめ

ピリチアミンによる急性 B<sub>1</sub> 欠乏状態を小動物に生ぜしめ、行動学的観察、血中 B<sub>1</sub> 濃度の経時的測定及び中枢、末梢神経系の電子顕微鏡的検討を行った。その結果、ヒトのウェルニッケ脳症に類似する病変が認められた。血中 B<sub>1</sub> 濃度の低下と病変の発現は必ずしも平行しないことが分った。病理像の原因について若干の考察を加えた。

### 培養筋原細胞の細胞膜について

岩崎祐三 佐々木公男\* 加茂 功 多田愛子 石井弘子

筋ジストロフィー症の発症機転に生体膜の異常が関与している可能性を、生化学的な研究から示唆されてから久しい。しかしながら、筋ジストロフィー症患者の細胞膜の構築についての形態学的研究は乏しく、筋ジストロフィー症患者の細胞膜の形態が、正常人のそれと異っているのか否か

\* 国立療養所八雲病院

については、未だに明らかではないと言ってよいであろう。

筋ジストロフィー症における細胞膜の研究の一つとして、今回は、疾患モデル動物として広く使用されている、ジストロフィーチキン (line 413) 由来の筋細胞と対照群である line 412 由来の筋細胞について、凍結切断法を用いて、細胞膜構築の比較検討を行った。凍結切断法により明らかにされる膜内粒子の分布については、環境因子による影響が極めて大きいことが種々な実験系において知られており、また、膜内粒子の単位面積当りの密度も細胞のサイクルにより、著しく変動することが知られている。したがって、凍結切断法による膜構造の研究には、環境因子の調節が比較的容易な組織培養系を用いて、始めて、膜構造の変化が遺伝的に定められたものか、或いは、環境因子により支配される見かけ上の変化かを区別することが可能になるとと思われる。更に、細胞のサイクルによる膜内粒子密度の変動を一定にするために、今回の実験では、細胞分裂が停止した筋管形成初期の培養細胞について、line 412 由来のものと line 413 由来の細胞との比較を行った。

#### 実験材料および方法

研究班長より供給された line 412 と line 413 の第11日胚の下肢筋をトリプシン処理し、得られた単細胞をプールし、24時間、単層培養を行ったのち凍結保存しておいたものを原材料とした。個々の実験においては、解凍した細胞から、plating により線維芽細胞を可能なかぎり除去したものをを用いた。電子顕微鏡用試料作製のためには、プラスチック製カバースリップ (Lux, Scientific) にまいた細胞を、20%ウシ胎児血清を添加した Eagle's MEM中で、5%CO<sub>2</sub> 存在下で、37°Cで培養した。

電顕試料作製時、カバースリップを二分し一部は培養細胞の全体像を観察するために、走査型電顕試料として処理し、残りを凍結切断のために使用した。凍結切断には、リン酸緩衝食液 (pH 7.3, 285 mOsm) で稀釈した 2.5%グルタミンアルデヒドで10~30分固定した細胞を用いた。切断法は Pauli らの方法に準じた。銅製の標準試料台にポリビニールアルコール30%、グリセリン30%、DMSO 2%を含む溶液を少量滴下、これをはさむようにして、細切したカバースリップを試料台にのせ、細胞面を下にして液体窒素中で凍結したあと、エイコー社製凍結切断装置 (FD-2) を用い-100°C、 $1\sim 2 \times 10^{-7}$  Torr で切断、直ちに Pt-Pd、カーボンの蒸着を行ない、切断面のレプリカを作製した。膜内粒子の密度の算定のためには、日立H-600 研およびH-700 型電子顕微鏡を用い、直接倍率 40,000 倍でそれぞれの試料について10枚ずつ、P面、E面の写真を撮影、12万倍の拡大写真を作成、コントロール社製画像解析装置を用いて粒子数を算定した。それぞれの写真について、1.5~2.0 平方ミクロンの広さの部分の粒子数を実測した。

## II 研究概要

### 結 果

上述の培養条件下では、培養細胞の形態および筋管形成の時期について、line 412 由来の細胞と line 413 由来の細胞に差異がみられなかった。つまり、両者とも培養開始後、12~14時間は錘型の単核細胞が大多数を占めていた。筋管の形成は14時間目から72時間目の間にみられ、培養開始後96時間目には、培養は筋管細胞とその間に介在する少数の線維芽細胞から構成されるようになる。この時、みられる筋管細胞の多くは直径が小さい初期筋管細胞と呼ばれているもので、まだ横紋の形成はみられない。また、その表面は少数の小突起と bleb がみられるほかは、比較的平坦である。この時期の細胞について、凍結切断法による検索を行った。

Table 1. IMP density in chick myotubes

| Hours in culture | Control   |         | Dystrophic |        |
|------------------|-----------|---------|------------|--------|
|                  | P         | E       | P          | E      |
| 65               | 614 ± 17* | 89 ± 6  | 371 ± 31   | 65 ± 5 |
| 96               | 844 ± 51  | 106 ± 7 | 529 ± 25   | 70 ± 5 |

\* mean ± S.E., N = 10

この方法によると細胞膜の広範な検策が可能であり、P面とE面の判別も膜内粒子密度の差が大きいのので容易であった。表1に、膜内粒子密度算定の結果を示すが、P面については、line 412の由来の細胞と line 413 由来の細胞の間に重り合いがなく、差異は明確である。E面については、測定部位によるばらつきがやや大きくなっているが、t-検定を行なうとP面、E面とも両者の間に有意の差異があることを知る ( $P < 0.005$ )。

### まとめ

今回用いた実験系では、培地に growth factor, あるいは trophic factor などを加えておらず、substrate もコーティングをしてないプラスチックの上に直接筋原細胞を生育させるなど、筋細胞の培養条件としては過酷なものであるが、それ故に、環境因子による細胞生育の修飾現象をかなり除外し得たものとする。このような実験条件で line 412 由来の細胞膜と line 413 由来の細胞膜の膜内粒子の密度に差をみとめたことは、両者の膜構築に本質的なちがひがあることを示唆しているように思われる。

## 無血清培地中で培養されたマストサイトーマ細胞の産生する免疫抑制物質

加茂 功 中村正孝\* 石田名香雄\*

一般的に担癌状態の免疫機能の低下については、さまざまなアツセイ方法によって証明されている<sup>1)</sup>。この抑制の原因となる物質を担癌宿主の血清や腹水、又は癌組織そのものから抽出する試みがなされている。しかし、これらを抑制物質抽出のための出発材料とすると、宿主由来成分の混入する可能性が大きかった。著者らは今回癌細胞を試験内で増殖させ、宿主成分を完全に除き、さらに無血清培地中で培養し、この癌細胞の培養上清に免疫抑制活性のあることを確め、その抑制因子をとり出す目的で、培養上清をさまざまな方法で分画し、4つの活性ある分画を得た。

## 材料と方法

2年以上継代培養されたマストサイトーマ P 815-×2 をフルシートになるまで10%牛胎児血清加RPMI 1640 培地中で培養し、ハンクス液で2度、RPMI 1640 で1度細胞を洗滌し、洗滌後12~24時間培養、この培養上清を出発材料とした。500~600 ml の培養上清を透析膜(10000 MW カットオフ)に入れ約3 l のイオン交換水にて72時間透析し、透析膜内外両液を凍結乾燥法で濃縮した。透析外液の場合はさらに2000 MW カットオフの透析膜で透析の内外液に分け、この外液はセファデックスG-10カラムを通して脱塩し、MW 700-2000 分画とした。2000 MW カットオフ膜の内液で10000 MW カットオフ膜の外液はMW 2000-10000 であり、10000 MW カットオフの内液はさらに、セファデックスG-75により、MW 10000-30000 の分画と > MW 30000 の分画に分けられた。

in vitro の抗体産生には、Kamoetal の系をマイクロカルチャ用に変法した系を使用した<sup>2)</sup> MW 700~2000 分画と、MW 2000-10000 分画についてはセルロースの薄層板を用いて、n-ブタノール/ピリジン/酢酸/水(10:5:4:10)でクロマトを行なった。MW 10000-30000 分画と > MW 30000 は1% SDSと5 M Urea を含む10%ポリアクリルアミドゲル中で泳動し、そのパターンを調べた。マイトーゲンとしては、コンカナバリンAと大腸菌リポポリサッカライドを用い、<sup>3)</sup>H-サイミジンのとりこみ度合を液体シンチレーションカウンターで測定した。

## 結 果

アミコンUM10で約30倍に濃縮したマストサイトーマの培養上清を in vitro の抗体産生系に加えると抗体産生細胞数は約1/10に減少していた。この30倍液を1 ml ずつ2日連続マウス i.p に注

\* 東北大学医学部細菌学教室

## II 研究概要

射し, *in vitro* の時と同様な方法で抗体産生数を調べると, 30倍液を注射された群はコントロールの70%のPFCを産生するにとどまった。

次に上述の方法に従って分画した各画分を *in vitro* の抗体産生系, 並びにマイトーゲンによる幼若化反応系に加え抑制活性をみると4画分ともに認められた。また, これらの画分を5日間連続 *ip* 投与し, 羊赤血球に対する抗体産生への影響をみると, 4分画全部に活性が認められたが, MW 2000-10000 の分画の抑制活性は他に比べ著しく低かった (表1)。

これらの分画を生化学的に調べると, MW 700-2000 分画はさらに3つのサブコンポーネントから成っていた。MW 10000-30000 の分画は主に3つのニンヒドリン反応陽性物からなり, MW 15000 のコンポーネントは > MW 30000 分画中にも認められ, 会合した型と考えられた。両分画の抑制のパターンが類似しているところから, このMW 15000 コンポーネントが抑制の一本体ではないかと考えられる。

表 1

| Table Anti-SRBC response of mice administrated with F-I, F-II, F-III and F-IV |                          |                          |                     |                                   |
|---|--------------------------|--------------------------|---------------------|-----------------------------------|
| Fraction  | Thymus weight<br>mg ± SE | Spleen weight<br>mg ± SE | PFC/culture<br>± SE | PFC/10 <sup>6</sup> cells<br>± SE |
| Exp 1   |                          |                          |                     |                                   |
| Control   |                          | 166.5 ± 5.3              | 424,000 ± 4930      | 3500 ± 105                        |
| Saline  |                          | 144.8 ± 2.9              | 382,000 ± 2300      | 3180 ± 195                        |
| F-IV  |                          | 138.4 ± 2.8              | 194,000 ± 9480*     | 1620 ± 170*                       |
| F-I+II  |                          | 138.6 ± 3.1              | 186,000 ± 6600*     | 1730 ± 135*                       |
| Exp 2   |                          |                          |                     |                                   |
| Control   | 31.9 ± 1.3               | 134.2 ± 9.9              | 278,000 ± 6380      | 2210 ± 133                        |
| RPMI 1640   | 30.3 ± 3.4               | 182.0 ± 22.5             | 238,250 ± 8440      | 2480 ± 120                        |
| F-I   | 27.3 ± 3.1               | 146.3 ± 9.0              | 163,250 ± 6320*     | 1935 ± 210****                    |
| F-II  | 26.9 ± 4.1               | 143.6 ± 8.4              | 147,250 ± 9450*     | 1355 ± 191**                      |
| F-III   | 27.8 ± 6.8               | 156.8 ± 12.4             | 193,500 ± 5590*     | 1637 ± 124***                     |

Mice were injected intraperitoneally for 5 consecutive days with 24 µg of F-I, 24 µg of F-II, 180 µg of F-III, 30 µg of F-IV, 15 µg of F-I+II, 0.5 ml of physiological saline and two times concentrated RPMI 1640 and then immunized intravenously with  $2 \times 10^8$  SRBC on the day after the last injection of samples.  
\*P < 0.001, \*\*P < 0.01, \*\*\*P < 0.02, \*\*\*\*Not significant.

## 考 察

マウス癌細胞のひとつであるマストサイトーマは *in vitro* の無血清状態で, 免疫反応に影響を与える様々な物質を産生することがわかった。これらの4分画は *in vitro* の免疫反応を抑えるところから, 免疫担当細胞に直接働きかけて抑制するのではないかと考えられるが, 宿主に働きかけて間接的に抑制する可能性もあるものと思われる。MW 700-2000 分画は, その後の実験で, B細胞のマイトーゲンであるリポポリサッカライドによるリンパ球の幼若化反応を著しく抑制するが, T細胞のマイトーゲンであるコンカナバリンAに対する反応には影響を与えないことがわかり, この分画の抑制本体と, B細胞抑制のメカニズムについて検討中である。

## 総 括

マストサイトーマを *in vitro* の無血清培地中で培養し, 分子量的に4つの分画を得た。これらの分画はいずれも *in vitro*, *in vivo* の抗体産生を抑制した。

## 文 献

1) Kamo, I. and Friedman, H., Immunosuppression and the role of suppressive factors in cancer.

Adv. Cancer Res., 25: 271-322, 1977.

- 2) Nakamura, M., Ishida, N. and Kamo, I., Immunosuppressive factors from mastocytoma cells cultured in serum-free medium. J. Natl. Cancer Inst., in press.

## マウス神経芽細胞腫における単純性疱疹ウイルス感染に伴う膜の形態学的変化 — フリーズ・フラクチャー法による観察

佐々木公男\* 多田愛子 橋本和予 加茂 功 岩崎祐三

単純性疱疹ウイルス I 型 (HSV-1) は歯 口内炎, 湿疹, 角膜炎, 髄膜脳炎などをひきおこす病原ウイルスであるが, これらの急性顕性感染のみならず神経組織において潜伏感染をおこす点でも注目されている。

HSV-1 の感染に伴う病理学的, 電顕的報告は少なくないが, HSV-1 の侵入および放出過程そのものに関しては, いまだ仮説の段階である。現在までに HSV-1 感染に伴う培養細胞の形態的变化をフリーズ・フラクチャー (FF) 法で観察した報告は少なく<sup>1)-4)</sup> ウイルスの侵入過程については記載がみられない。この技法は, 細胞膜を脂質二重層の間でへき開することによって膜の疎水性部分を断面面上に露出させるものであり, 従来の超薄切片法で観察することのできなかった細胞膜および核膜などの膜構造をよく観察できる利点がある。

著者らは FF 法を用いることによって HSV-1 感染に伴う細胞膜, 核膜およびウイルスのエンペロープの形態的变化を追求した。

### 材料と方法

細胞: マウス神経芽細胞腫 (line C-1300, clone NA) は Dr. McMorris<sup>5)</sup> より分与された。

ウイルス: Vero 細胞に感染させた HF 株 (HSV-1) を用いた (吉野教授より分与)。

感染: NA 細胞の単層培養を行ない, HSV-1 を感染させた。細胞はプラスチック製カバースリップにうえ, 侵入過程の観察には multiplicity of infection (M.O.I.) 50 で, また, 出芽および放出過程の観察には M.O.I. 5 でウイルスを接種した。接種後 4°C の条件下で 1 時間吸着させ 37°C に加温し, 5, 10, 15 分後および 10, 20, 30 時間後に細胞を処理した。

電子顕微鏡: 試料は 0.1 カコジル酸緩衝液加 2.5% グルタルアルデヒド (pH 7.4) で固定し

\* 国立療養所八雲病院

## II 研究概要

た後、グリセリン処理を行なった。次に銅製試料台にポリビニルアルコール溶液<sup>6)</sup>を盛り、その上に試料を載せて液体窒素で急速に凍結した後、温度 $-105^{\circ}\text{C}$ 、真空度 $1\sim 2\times 10^{-7}$  Torr で割断し、直ちに $P_t = P_a, C$ の蒸着を行ないレプリカを作製した。

### 結 果

#### 1. ウイルスの吸着と侵入

$37^{\circ}\text{C}$ に加温後5分ですでにエンベロップと細胞膜が融合して、細胞内に侵入していくところが観察された(写真1)。この部分はP面において半球状ないし丘状の隆起として認められ、それぞれの侵入段階が観察された。表面は膜内粒子(I MP)を欠き、わずかに顆粒状の凹凸を認めた。すなわちウイルス粒子は細胞表面でエンベロップを失ってヌクレオカプシドのみ細胞質内に侵入するものと考えられた。侵入部付近の細胞膜のI MPに特別な変化は認められなかった。また、FF法では pinocytosis によるウイルス粒子のとり込みは観察することができなかった。

#### 2. ウイルスの形成と放出

ウイルス粒子は感染後10時間の観察で核内に認められた。FFではカプシドおよびコアの断面が得られ、カプシドは円形に縁どられた顆粒状を成し、その中に同様の顆粒状を成すコアが観察された。また、核膜の一部が細胞質側へ向かって半球状に膨隆している像が観察された。この部分のI MPは減少ないし消失しており、ウイルスの出芽部位と考えられた(写真2)。全くI MPを欠く平坦な部分も認められ、これはウイルス粒子の出芽後におきる核膜の変化と推測された。さらに、一部の核膜のP面においてI MPの凝集が認められた。細胞質内のウイルス粒子は phagosome などの区別がしばしば困難であった。また、細胞質内の空胞の一部が細胞膜と融合してその中のウイルス粒子が細胞外に放出されるところが観察された。感染後10時間ですでにウイルス粒子は細胞外に放出されており、エンベロップのI MPは認められなかった。

### 考 按

ウイルス粒子の細胞内侵入は、まずエンベロップが宿主細胞の表面に存在するレセプターに吸着し、次にエンベロップと細胞膜の融合がおこり、同時にその部位における細胞膜のI MPの消失を伴うものと考えられる。ウイルス粒子は吸着後、数分で細胞内に侵入するものと思われる。しかも、この反応は温度依存性であることから酵素が関与していると考えられる。pinocytosis によるウイルス粒子侵入は観察されず、エンベロップと細胞膜との融合が主体を成すものと思われた。侵入部位のI MPが消失する理由は明らかでないが、核内に存在する新たに形成された progeny ウイルスのカプシドの蛋白とエンベロップに存在する蛋白が同じものであるという報告<sup>7)</sup>もあり、エンベロップに存在する膜構成蛋白が宿主の細胞質内にあるいはカプシド内にとり込まれる可能性が考え



られる。

ウイルス粒子の出芽に際して生ずる最初の変化は、核膜の細胞質へ向かっての膨隆と思われる。核膜および細胞膜に認められたIMPの凝集は、感染に伴ってIMPの主要な構成成分である糖蛋白の膜内分布に変化をきたしたことを示すが、蛋白質の反応が一次的なものかあるいは脂質の反応が一次的なものかは明らかでない。核膜孔の感染に伴う形態的变化は認められなかった。細胞質より細胞外へのウイルス粒子の放出は、細胞質内の空胞や膜構造を利用して行なわれ、いわゆる reverse phagocytosis<sup>8)</sup> によるものと考えられた。

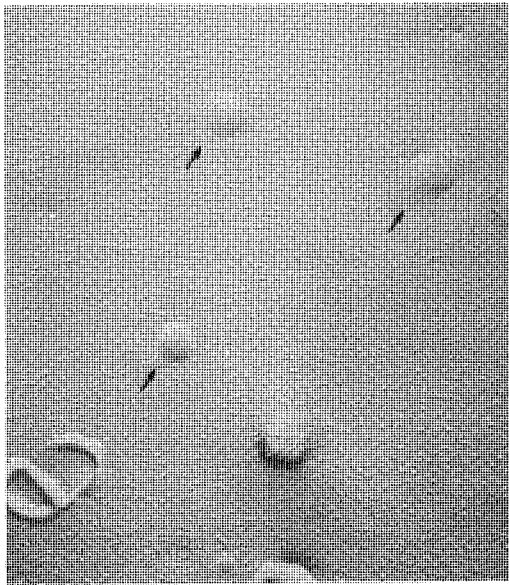


写真1：P面におけるエンベロープと細胞膜の融合を示す。感染後5分経過。×40000

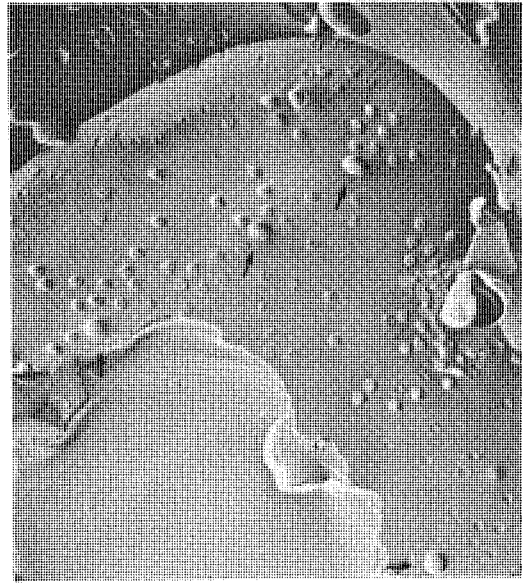


写真2：ウイルス粒子の核膜腔への出芽像。感染後10時間経過。×15000

### 総括

HSV-1の感染に伴う膜の形態的变化をFF法で観察した。侵入に際してエンベロープと細胞膜の融合がおきること、出芽に際する核膜の変化として、核膜の膨隆およびIMPの消失を示した。細胞外へのウイルス粒子の放出は、空胞が細胞膜と融合することによって行なわれることを示した。

### 文献

- 1) Hasegawa, T., Hata, S.: J. Electron Microsc., 24: 43, 1975.
- 2) Hasegawa, T., Hata, S.: Arch. Derm. Res., 255: 139, 1976.

## II 研究概要

- 3) Heines, H., Baerwald R. J.: J. Virol., 17: 1038, 1976.
- 4) Rodriguez, M., Dubois-Daloq, M.: J. Virol., 26: 435, 1978.
- 5) McMorris, F.A., Ruddle, F.H.: Dev. Biol., 39: 226, 1974.
- 6) Pauli, B., Weinstein, R.S., Soble, L.W., Alroy, J.: J. Cell Biol., 72: 763, 1977.
- 7) Ben-Porat, T., Kaplan, A.S.: Virology, 41: 265, 1970.
- 8) Morgan, C., Rose, H.M., Holden M., Jones, E.P.: J. Exp. Med., 110: 643, 1959.

## 8. 機能研究部

### 1. 研究部一年の歩み

本研究部では昨年度において、小沢鎧二郎、木村一郎、萩原康子、三浦力、多田啓子が着任し、併任研究員として小西史朗が任じられたが、本年度も大部分の期間はこのスタッフで運営が行われた。昭和55年3月より、伊井一夫が流動研究員としてこれに参加した。伊井は東京大学理学部生化学科大学院卒業後米国ヴァージニア大学に留学し、帰国後直ちに本研究部に着任した。伊井はリポ蛋白の精製等の研究に従事しており、本研究部における筋成長因子の研究において大きな力を発揮することが期待される。また、東京医科歯科大学医学部薬理学教室より研究生として鈴江俊彦が一時的に参加した。また、九州大学医学部臨床薬理学教授大槻磐男と共同実験を行った。

本研究部の研究目標は、筋ジストロフィー症の病因解明と治療法の開発に関して基礎になる諸種の研究を行うことである。筋ジストロフィー症の原因は依然として不明であるが、本症が筋の発生や再生過程において何らかの異常がある可能性が大きいことが推定されている。それ故我々は、筋の形成およびその健康な状態を保つために必要な条件を一つ一つ記載してゆくことを当面の目的としている。それを行うためには、細胞培養、電顕、生化学、電気生理学等の技術を駆使して研究を行っている。

本年度も昨年度に引続き研究の最も大きな対象は筋成長因子についてであり、さらに蛋白分解酵素阻害剤 E<sub>04</sub> についての研究も行った。これらの研究には部員全員が参加している。主要な研究成果については別にのべるが、この他にもラット脊髄の組織培養と、その電気生理学的研究が、小西及び鈴江によって試みられた。

研究活動を円滑に行うために、部内において随時のディスカッションを行う他、主として文献抄読を行う会合を週一度持っている。その他に、センター外の関連した大学研究室、特に東京大学医学部薬理学教室江橋研究室とは色々と連絡を持ちながら研究を行っている。

対外的な活動は、小沢は昨年に引続き厚生省神経疾患研究費による筋ジストロフィー症の基礎的研究班の運営幹事として事務局を担当した。また、本症関連の患者諸団体との協議や講演を行った。小沢は東京大学医学部、東京医科歯科大学医学部、富山医科薬科大学医学部の非常勤講師として、生理学及び薬理学の教育に参加した。

(部長 小沢鎧二郎)

## II 研究概要

### 2. 研究業績

#### A 論文

##### a. 原著

- 1) Shimizu, T., Kimura, I., Murofushi, H. and Sakai, H.:

The initial burst of phosphate liberation by 30S dynein ATPase from Tetrahymena cilia.  
FEBS letters, 108:215, 1979

##### b. 著書

- 1) Sakai, H., Hamaguchi, M., Kimura, I. and Hiramoto, Y.:

Chromosome motion in the isolated mitotic apparatus and comparison with *in vivo* anaphase A.

Cell Motility, Molecules and Organization, ed. by Hatano, S., Ishikawa, H. and Sato, H.  
Univ. Tokyo Press. 1979, p. 609.

- 2) 小沢鉄二郎 :

発生分化に伴う脊髄神経外由来因子.

発生薬理学 (江橋節郎, 萩原弥四郎, 野々村禎昭編) 医学書院, 東京, P 190

- 3) 小沢鉄二郎 :

発生にともなう薬物効果の変動.

分子薬理学 (吉田博, 田中正三編), 朝倉書店, 東京, P 129

##### e. その他

- 1) 小沢鉄二郎, 萩原康子 :

筋成長因子の精製とその作用.

難病の発症機構に関する基礎的研究, 昭和53年度研究業績, 文部省特定研究難病班, 1979  
P 250,

- 2) 小沢鉄二郎, 木村一郎, 萩原康子, 三浦力 :

筋成長因子の精製とその欠乏による筋変性症 in vitro モデル.

厚生省神経疾患研究委託費, 筋ジストフィー症の基礎的研究昭和53年度研究報告書, 1979  
P 25,

- 3) 小沢鉄二郎, 木村一郎, 萩原康子, 三浦力 :

培養筋細胞の変性とその治癒過程の再検討.

厚生省神経疾患研究委託費，筋ジストロフィー症の基礎的研究，昭和54年度研究報告書，1980，  
P 33,

## B 学会発表

### a. 特別講演シンポジウム

1) 小沢鉄二郎：

非神経性筋成長因子。

第53回日本医学会シンポジウム，発生と分化，箱根 8. 29～31，1979

2) 小沢鉄二郎：

発生薬理学。

第6回発達薬理シンポジウム，東京 10. 30，1979

### b. 一般学会

1) 萩原康子，小沢鉄二郎：

筋成長因子の精製と培養筋細胞におよぼす影響。

第12回日本発生生物学会大会，札幌 6. 27～29，1979

2) 小沢鉄二郎，萩原康子，三浦力，木村一郎：

筋成長因子の精製とその作用。

第53回日本薬理学会総会，岐阜 3. 26～29，1980

## C 班会議

1) 小沢鉄二郎：

In vitro 変性筋細胞とその治療過程の再検討。

文部省特定研究「難病」遺伝子性筋疾患と筋の発生分化（三好班），東京 12. 1，1979

2) 小沢鉄二郎：

培養筋細胞の変性とその治療過程の再検討。

厚生省神経疾患研究委託費，筋ジストロフィー症の基礎的研究（江橋班），東京 12. 6～7，  
1979

3) 小沢鉄二郎：

## II 研究概要

培養筋細胞に対する E<sub>64</sub> の作用.

厚生省薬務局助成金, 微生物二次代謝産物に由来する難病治療薬 (E-64) の開発研究班 (今堀班), 東京 3. 24, 1980

### 3. 主な研究報告

#### 筋成長因子の精製と性状に関する研究

木村一郎 三浦 力 多田啓子 萩原康子 小沢鉄二郎

本研究は小沢ら<sup>1)</sup>により見い出され, 部分精製されたニワトリ血清中に存在するニワトリ筋芽細胞の成長と分化を促進する物質 (筋成長因子, MTF) について, その精製法を確立し, 性状と作用のメカニズムを解明することを目的としている。

#### 材料と方法

ニワトリ筋芽細胞の採取と培養はすでに報告した方法に従った<sup>2)</sup>

MTF の調製は小沢らの方法<sup>2)</sup>によったが, 今回は DEAE-Sephadex 分画を水に透析した後凍結乾燥し, 精製の中間標品として使用した。これは活性を失なうことなく長期にわたって保存利用でき, 実験上極めて有用なものであり, 以後種々の実験での中間出発材料とした。この凍結乾燥標品を以後 FrD と称することとする。

FrD の塩酸-アセトン処理は図 1 に示した手順で行い, 可溶分画 (HA-S) と不溶分画 (HA-P) を得た (図 1)。

#### 結果と考察

上記 FrD は充分精製されたものとは言い難く, 図 2 に示した通り SDS 電気泳動でみると分子量 8.1 万の主成分の他に 2.7 万の成分などを微量含んでいる。このように FrD は部分精製標品と言わざるを得ないものであるが, これを等電点電気泳動など他の方法を用いてさらに精製することを意図しても大きな進展がみられなかったことと, 収量の減少などの難点もあるため, 本実験ではこれ以上の精製はせずに用いた (図 2)。

HA-S と HA-P は MTF 活性をほぼ完全に喪失しており, それぞれ単独では筋芽細胞の増殖・分化をほとんど促進しない。しかし, 両分画を混合して一定時間おくと MTF 活性の再構成がみられ,

活性が再び生じてくる (図3)。このことからMTF 活性は複数成分の関与によることが強く示唆される。同様の活性回復現象は, Fr Dを沸騰水中で10分間処理して得られる可溶分画 (H-S)を HA-Pと混合した場合にも観察される (図4)。これら複数成分は本来 Fr D 中で複合体を形成しており, 塩酸-アセトン処理で解離してきたものと思われるが, 単に共存していた可能性も否定はできない。HA-Pの一定量に対して混合するHA-Sの量を変化させたとき, そのMTF 活性はHA-Sの量に依存して増大し, また逆に一定量のHA-Sに対してHA-Pの量を変化させると, 後者の量に依存して活性増大がみら

HA-Sの SDS電気泳動像は, Fr D 中に含まれる前記 2.7 万の成分がその主成分であることを示しているが (図2), HA-S分画を酸性条件下で透析すると活性が失われること, 活性成分は熱に対して抵抗性を示すことなどを考慮すると, HA-S中の有効成分はかなり低分子のものであり非タンパク質性のものである可能性がある。

HA-S中の活性成分は, 中性付近の pH 条件下でゲル濾過すると Sephadex G 200 でも素通り分画に現れ, その分画の SDS電気泳動像は上記 2.7 万の成分のそれと完全に一致することから, HA-S中の真の活性成分は 2.7 万成分とともに aggregate を形成しやすいものと思われる。

他方, HA-P中に含まれる有効成分は 8.1 万成分 (図2)であるのか, あるいは他の微量成分であるのかも現在のところ明らかではない。

いずれにせよ, このMTF 活性に関与する複数成分の化学的本体, 相互作用, 活性発現のメカニズムなどの説明は今後の課題である。

Preparation of HCl-Acetone Sup and Ppt Fractions from Fr. D

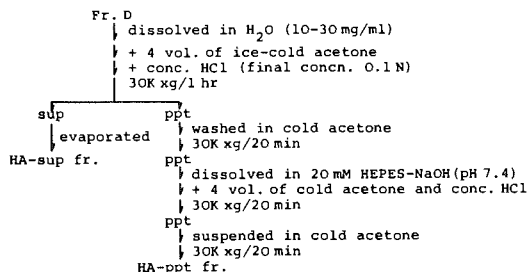


図1

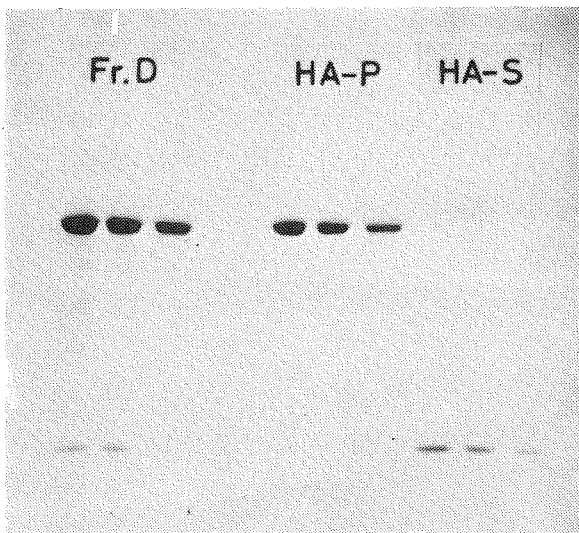


図2 FrD, HA-P, HA-Sの SDS 電気泳動像

## II 研究概要

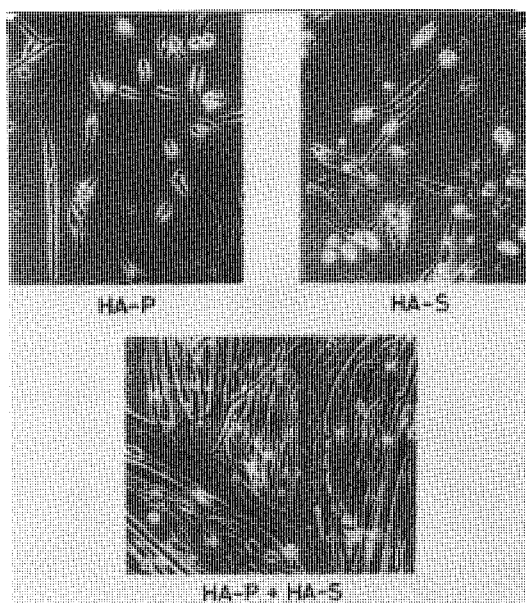


図3 HA-PとHA-SによるMTF活性の再構成

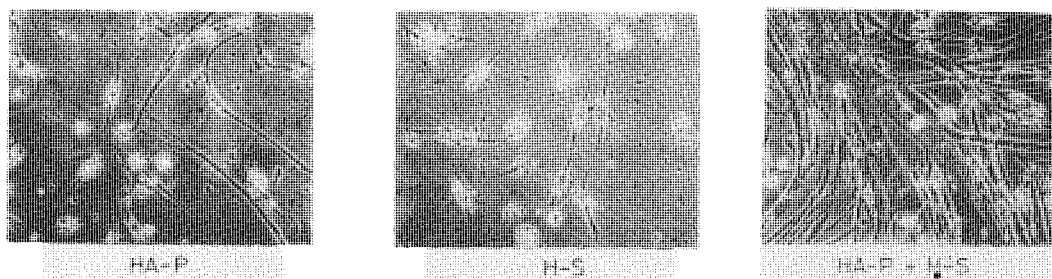


図4 HA-PとH-SによるMTF活性の再構成

### 文献

- 1) Ozawa, E. & Kohama, K.: Partial purification of a factor promoting chicken myoblast multiplication *in vitro*. Proc. Japan Acad., 49: 852-856, 1973.
- 2) Ozawa, E.: Differences in sensitivity to Ca ion lack between myoblasts and large myotubes from chicken breast muscle. 20: 179-189, 1978.



## In vitro 筋細胞変性症とその治癒

小沢 鉄二郎   萩原 康子   木村 一郎   三浦 力   多田 啓子

### はじめに

筋ジストロフィー症の基礎的研究のためには、本症の疾患モデルについて研究することが必須のことになるが、そのためには「筋ジストロフィー症」のマウスやニワトリなどが用いられる。これらは人間のジストロフィー症と全く同じものであることは望めないにしても、やはり遺伝性の骨格筋の変性疾患を持つ動物であるから、研究材料として重要な意義を持つ。それはこうした疾患モデルを研究することによって人間の疾患の本質を探りその治療を工夫するためのパターンを示すことになるし、それらを手がかりにして飛躍することが期待されるからである。しかし一方、こうした動物モデルにおける疾患の本質を探ることはやはり人間の疾患の本質を探るのに似た困難がつきまとうものである。たとえば動物における疾病発現の原因がどこにあるかを調べることは非常に重要ではあるが、その発症が、まるごとのままの動物で起るために、条件が非常に複雑であることなどである。その他にも疾患の本態を明らかにするためには、もっと二次的な意味しか持たないにしても、株の保存、飼育その他にも困難性はつきまとう。

我々はこれらの困難性を解決し、しかも筋の変性モデルとして利用し得るような in vitro の疾患モデルを開発してきた!<sup>1) 2)</sup> すなわち、筋芽細胞を筋成長因子を用いて培養すると融合成長して筋管細胞となるが、このような細胞を成長因子含まない培養液中で更に培養を続けると筋管細胞は変性する。しかし変性像は色々な形を示す。これらの変化のあるものについては既に発表してきた。このような変性細胞を含む培養細胞群を、成長因子を含む培養液と共に更に培養すると再び正常に近い筋管細胞ができる。このことから筋管細胞の変性及び「治癒」の鍵をにぎるものが、成長因子であることが明らかである。このことは、しかし筋ジストロフィーと筋成長因子との直接的な結びつきを必ずしも示すものではないが、丸ごとの動物とはまた別な疾患モデルとして筋の変性の病態生理学を研究する場を提供するものである。

ここでは変性の際に初期に“spot”が現われた筋管細胞がその後どのような変化を示すかということの記載と、上に述べた「治癒過程」において、再び現われる正常な筋管細胞の由来についてのである。後者については、かつて未発達な細い筋管細胞と筋芽細胞がその由来であろうことを報告した。ここではさらに筋管細胞自体の修復機序が認められることを記載する。

### 材料と方法

筋成長因子は、ニワトリ血清を原料として、前述の方法によった。

## II 研究概要

ニワトリ筋芽細胞の採取法および培養法も、同報告集記載の方法と同じである。すなわち、ニワトリ11日ないし12日胚の胸筋をコラゲナーゼ処理して細胞を分散した後、differential adhesion法により精製した。レンズペーパーを通して単核細胞のみを集め、径30mmプラスチックペトリシャーレ（以下培養皿と書く）に $6.6 \times 10^5$ 細胞を播いた。この細胞を成長因子（ $18 \mu\text{g}/\text{ml}$ ）を含む培養液と共に培養した。2日後成長因子を含まない培養液中で培養を続けた。その8日後に培養液を交換してあるものは成長因子（ $30 \mu\text{g}/\text{ml}$ ）を加えた培養液と共に培養を続けた。ある場合には培養液そのものは交換することもなくただ成長因子を加えただけで培養を続けた。これらの経過中、適当に倒立位相差顕微鏡で観察し写真を撮った。

### 結 果

大きな筋管細胞が成長因子欠乏下で変性する場合、比較的初期に細胞内に無数の小さな点が現われる。これは直径 $2 \sim 3 \mu\text{m}$ の大きさのそろった球状の構造と思われる。こうしたspotは細胞の殆んど全体にわたってみられることもあるし、細胞体の一部に限局していることもある。このspotを含む筋管細胞を成長因子を含まない培養液中で更に培養を続けると、変性が進んでいろいろな変化が現われる。こうした変化を次のように分類して記載することは可能であるが、どういう条件下でどの形が現われるかは分らない。一つの培養皿の中でも一つの形式の変化のみが起るとは限らないし、一ケの細胞に着目した場合でも、同一細胞に二つ以上の形式が時間を違えて、あるいは殆んど同時に起ってくることもある。

形式1) 浮上型：spotを沢山生じた筋管細胞が、培養筋管細胞特有の形を保ったままで浮び上ってくるもの。浮び上る際にはそっくりそのままはがれてくることの他に、形式2)の漏出球を生じ、それをつけたままで浮き上ってくるもの、漏出球の変化で筋管細胞の一部がやせ細った状態になって浮き上るもの、また浮き上ってから漏出性の変化が進んでいるのではないかと想像されるものなどの色々な変種がある。ただし形状3)の突起性変形をみたものが少くともそのままの形を保ったままで浮き上ることは殆んどないように思われる。

このようにして筋管細胞が浮き上ると、浮き上った細胞に接していた他の細胞はそのまま残っている。そのため場合によってはどこから浮き上ったか明らかであることが分る。また、筋管細胞の大部分が浮き上りながらも、一部が培養皿についたままゆれていることもある。

形式2) 漏出型：大きな筋管細胞から数多くの球あるいは楕円球状の物体が突出してくるもので、直径数 $\mu\text{m}$ から数十 $\mu\text{m}$ に及ぶ。この物体（いまかりに漏出球とよぶ）が細胞体に附着していることは明らかであるが、顕微鏡の焦点をずらして観察すると、細胞体に焦点を合わせた場合には漏出球は焦点からはずれ、漏出球に合わせた時には細胞体からはずれる。このことから漏出球は細胞の外に主体があると思われる。この物質の本態や微細構造は不明だが、この変化が現われるとやがて細

胞がやせほそってゆくことからすると、原形質が形質膜を通してもれだしている可能性がある。このようにしてやせ細った筋管細胞は、成長因子欠乏に抵抗して比較的長い時間残っており、ある場合には形式3)の変化を受けたりする。

太い細胞が変性を起した後も細い筋管細胞は数多く残っている。これらは1)未発達の筋管細胞がそのまま残っているか、2)上記のように漏出球型の変化を受けてできる細い筋管細胞か、あるいは3)はっきりした漏出球がでていなくても何らかの機序で萎縮してできた細い筋管細胞かの何れかであろうと思われる。

形式3)突起変形型：細胞体が何等かの原因で薄く広がり、特有の長い突起を出す。突起は幅数 $\mu\text{m}$ 、長さ数十 $\mu\text{m}$ のもので先は尖っており、それが筋管細胞の横の方へ伸びて培養皿に附着している。これが細胞の両側に並び鋸歯状に見えることが多い。こうした細胞は一見ねじれたようにみえることが多い。

大きな筋管細胞は変性して上のような変化をおこしだんだんに数がへる。しかし、あるものは細胞の一部が比較的正常のまま、その両端はちぎれて *resealed* されたような形で残っていることがある。また筋芽細胞や、細い筋管細胞（その由来は上記のように色々であるとしても）は成長因子欠乏に抵抗して残っているものが多い。

こうした細胞集団を成長因子を含む培養液中で培養を続けると、比較的正常に見える大きな筋管細胞ができてくる。この大きな筋管細胞の由来については、二つの可能性があることを報告してきた。すなわち1)筋芽細胞や未発達の小さな筋管細胞から新しく大きな筋管細胞ができること、および2)一度変性におちいった細胞が修復をうけることによってできることがある。1)についてはその可能性が十分に認められること、およびある程度の証拠については既に報告した。今回は後者の可能性についてのべる。

大きな筋管細胞が変性を起すとかなり多くのものが培養皿から離れて消失するが、いくらかのものが皿についたままで残ることは先にのべた。太い筋管細胞の両端がちぎれて残っている場合や細い筋管細胞が残っている場合でも、成長因子を含む培養液と一緒に培養を続けると、融合をくりかえしたり、あるいは単純に太くなり横紋も生じ自発的収縮をくりかえすようになる。すなわち、障害をうけた細胞が修復をうける際にも初めに *primary culture* から大きな筋管細胞を作る際と似たような過程がみられることになる。

このようにして修復をうけた大きな筋管細胞も、成長因子欠乏に耐えて残ったものからできたものではあるが、再び成長因子欠乏状態におくと容易に変性をうける。この際には初めの変性過程と同様な変化をうけるが、印象としては、初めの変性過程の場合より激しい変化をうけて破壊されるようである。

## II 研究概要

### 考 察

以上のべた点から明らかなように、変性過程においてみられる現象はいろいろあるけれども、我々の関心をそそる最も大きなものは漏出球の本態である。現在のところこれに関しては光顕による観察しかないのではっきりは分らない。サポニン<sup>4)</sup>を培養筋管細胞に作用させて蛋白質のように大きな分子が形質膜を通過することができるようにした場合にも、光顕的には非常に似た漏出球ができること、また今回の実験のように漏出球が失われた後は細胞体がやせてゆくことを考え合わせると、この球を作っているものはおそらく原形質そのものであろうと想像される。すなわち、原形質が形質膜を通過して漏れだしている可能性を考える訳であるが、上に述べた程度の状況証拠しかないので、その確認は今後の問題である。筋ジストロフィー症の患者において、クレアチンキナーゼ等の血中酵素活性が高まる<sup>5)</sup>ことから筋細胞から酵素が漏れだしていると考えられているが、その形式は不明である。こうした現況をふまえる時、上記の漏出球に対する研究は、あるいはこの問題解決の手がかりを与えるかもしれないという意味で重要である。

次に変性細胞の「治療」が、成長因子を用いて可能であることは、成長因子欠乏症に対する Ersatztherapie が可能であることを示すが、このようなことはホルモンの欠乏症の際にみられることである。成長因子が血中に存在することを考え合わせると、この事実は成長因子の本態に対して何らかの方向性を示唆しているかのようにみえる。

こうした「治療」の際に、我々が以前のべたように新しく大きな筋管細胞が、筋芽細胞や未発達の筋管細胞から生じるばかりでなく、今回のべたように修復過程が大きな役割を果していることが分った。この二つの過程は決して峻別されるべきものではないにしても、in vivo で障害を受けた細胞が、治癒する際には修復過程もかなり重要な役割を果していることを併わせて考えると、ここで報告している in vitro 変性モデルが、筋変性の病態生理を研究する上に果すであろう役割に明るい展望を与えるものである。

### 文 献

- 1) Ozawa, E.: Trophic, effects on chick muscle cells of a factor promoting chicken myoblast multiplication. Proc. Japan Acad. 53, Ser. B: 130-132, 1977.
- 2) 小沢 鎧二郎: 培養筋細胞の変性と再生. 筋ジストロフィー症の病因の究明に関する研究. 冲中 班昭和52年度研究報告書. P 60-63, 1978.
- 3) 木村一郎他: 筋成長因子の精製と性状に関する研究. 本年報 P. 222, 1980.
- 4) Ohtsuki, I. and Ozawa, E.: Difference in saponin sensitivity between myotubes and mononucleated cells from chick breast muscle. *Cell Structure and Function*, 2: 367-370, 1977.
- 5) Ebashi, S., Toyokura, Y., Momoi, H., and Sugita, H.; High creatine phosphokinase activity of sera of progressive muscular dystrophy. *J. Biochem.*, 46: 103-104, 1959.

培養筋細胞に対する E<sub>64</sub> の作用

小沢鉄二郎 木村一郎 萩原康子 三浦 力 多田啓子 大槻磐男

筋ジストロフィー症は筋の萎縮を主病変とするので、これは筋肉中に含まれる蛋白分解酵素によると想像されるので、この酵素を阻害することによって萎縮の進行を止めることができるかもしれないという観点から、チオール系蛋白分解酵素阻害剤である E<sub>64</sub> を、薬剤として開発する試みのもとに研究班が組織された。この報告文はそのプロジェクトに基づく研究結果である。

培養筋細胞、すなわち *in vitro* で発生分化を行っている細胞に対して適当な時期に E<sub>64</sub> を作用させ、それが及ぼす影響を主として筋細胞に含まれるクレアチンキナーゼ活性をマーカーとして観察した。その他に光学顕微鏡による観察をも行った。

結果的には培養初期の単核細胞期には E<sub>64</sub> は成長阻害的に働き、細胞融合が起って筋管細胞を形成すると促進的に働くように思われるが、実験試行により必ずしも一定ではなく、今後検討課題を残している。

## 材料と方法

正常ニワトリ受精卵を孵卵し、10日から12日胚を得た。これらの胚から胸筋を切り出し、コラゲナーゼで処理し、単一細胞を集めて使用した。Eagle の minimum essential medium 85%、馬血清15%の混合溶液中に、2%以下のニワトリ血清を加えた液中で一晩培養した後、細胞を0.05%トリプシン溶液にて培養皿から剥離して集めた。この細胞を20分ないし40分培養し、その時点でもまだ培養液中に浮遊している細胞を集めて実験に用いた。

実験用の培養皿 (Falcon 30mmプラスチックペトリ皿) に  $3 \sim 5 \times 10^5$  cells / dish まき、上記培養液 2.5 ml と共に CO<sub>2</sub> インキュベーター中で培養した。

ラセミ体又は *l* 型の E<sub>64</sub> を生理的食塩水に溶かし、培養の始めからあるいは途中から培養液に加えた。適当時間後光学顕微鏡、あるいは電子顕微鏡で観察した。また、培養皿に附着した細胞を 155 mMNaCl、1 mMCaCl<sub>2</sub> 溶液で洗った後に、蒸留水中で剥離して集めた。細胞内に含まれるクレアチンキナーゼの活性を Noda らの方法の変法で測定した。なお E<sub>64</sub> はクレアチンキナーゼの測定そのものには影響を与えなかった。

## 結 果

単一細胞を上記培養液中で培養すると、初めは培養皿に定着し、筋芽細胞や線維芽細胞などに分化して特有の形をとるようになる。すなわち、筋芽細胞は単核の紡錘形であり、線維芽細胞は平に

## II 研究概要

展びた多角形をとる。筋芽細胞を2～3日培養すると融合して筋管細胞となる。この時期以降、筋管細胞にはクレアチンキナーゼが急速に蓄積して測定可能になる。また形態的にも大きな網目構造をとり、分化が進むと横紋が見られ自発的収縮を行うようになる。

以上のような成長の種々の時期に  $E_{64}$  を例えば  $10 \mu\text{g}/\text{ml}$  与えた場合の経過について述べる。全経過中培養液に  $E_{64}$  を加えなかった場合をコントロールとし、それに対して  $E_{64}$  を与えた培養筋細胞に含まれるクレアチンキナーゼの活性を考える。細胞をまいた段階から  $E_{64}$  を与えると、細胞を最終的に取り入れて酵素活性を測定すると、コントロールよりも低いか、高くともわずかであった。この時期に起る細胞の変化は、細胞が培養皿に定着すること、細胞が分裂して数がふえること、および細胞がお互に融合し合って多核になるのであるが、 $E_{64}$  は少くとも定着には影響を与えなかった。しかし、 $E_{64}$  を与えた群と与えない群とも比較する場合、用いられた Student の t 検定は差についての検定であり、細胞分裂は指数関数的に増加するので、t 検定で差のない程度の定着の差でも、後には大きな差となって出ることがあり得ることは考慮すべきであろう。

分裂に対する影響は正確に調べていない。それは筋芽細胞が、 $10 \mu\text{g}/\text{ml}$  という比較的高濃度の  $E_{64}$  の存在下では形が変ってしまっていて、線維芽細胞との区別が困難になるためである。しかし、電子顕微鏡的な観察では、単核細胞は  $E_{64}$  の存在下では空胞やおそらく lysosome の活動が激しくなった結果と思われるミトコンドリアなどの分解像がみられたりして、少くとも分裂に関して好ましい影響を与えているとは思われない。

細胞融合は、定量的には上にのべたと同じ困難性のために調べていない。しかし、概観したところ  $100 \mu\text{g}/\text{ml}$  の  $E_{64}$  存在下でもかなりよく融合していることから考えても、積局的に融合を阻害していることは考えにくい。

次に、融合がほぼ完成して大きな筋管細胞を形成してから  $E_{64}$  を与えた場合には、コントロールに比べてクレアチンキナーゼ活性の蓄積が大きかった。しかし、効果の大きいのはやはり長い間  $E_{64}$  を作用しつづけたものであり、大きな筋管細胞を形成した場合でも、1日程度与えたのでは効果は殆んどなかった。

以上の実験をふまえて次の実験を行った。大きな筋管細胞が形成されてから  $E_{64}$  を加えたグループと加えないグループを作り、毎日各群から一定数の培養皿の上に生えた細胞を集め、その細胞に含まれるクレアチンキナーゼ活性を測定したところ、 $E_{64}$  を加えたグループではかなり高い値を示し、上記の実験の結果が確かめられた。

同様に、一度大きな筋管細胞ができてから  $E_{64}$  を加える実験で、種々の濃度のものを用いた。コントロールに比して  $0.3 \mu\text{g}/\text{ml}$  でもクレアチンキナーゼ活性の蓄積は多かったが、濃度を上げるとより高くなった。しかし、さらに濃度を上げてゆくと、かえって下降した。これに対応して光学顕微鏡的には  $50\sim 70 \mu\text{g}/\text{ml}$  以上では筋管細胞の破壊がみられた。

## 考 察

この研究は、E<sub>64</sub>を bath application を行うことにより、筋原細胞への作用をみたものであり、その際、効果は主としてクレアチンキナーゼ活性の蓄積を指標として判定され、それに附随して光学・電子顕微鏡的な観察結果をも用いた。従ってここで指標としてのクレアチンキナーゼ活性蓄積の意味について述べる必要がある。培養筋細胞を定量的に取扱う際にはいくつかの方法が考えられる。まず、単核筋細胞の特性である分裂は、核の数を算えることによって推定することができる。しかし、primary culture では線維芽細胞が必ず混入するために、核の数を算える際に両者を形態的に識別しながら筋芽細胞のみを算えてゆくことになる。この方法の詳細については我々は既に報告している。しかし、今回の実験のように E<sub>64</sub> で細胞の形自体が変化してしまっている場合には、殆どこの方法を用いることはできない。一方、筋管細胞を取扱うには、その特徴であるミオシンなどのいわゆるぜいたくな蛋白の合成をマーカーとして用いることは、理論的には可能であるが、操作は必ずしも容易ではない。この際には、細胞が大きくなるから、細胞の大きさやあるいは細胞が占める面積などが考慮の対象になるが、これもあまり信頼できない。それは、細胞の厚さが均一でないためである。クレアチンキナーゼもぜいたくな蛋白であるので、筋管細胞が形成された後に増加してくる。この際、クレアチンキナーゼ活性の殆どが筋管細胞に由来するものであって、単核細胞に由来するものではないことを我々は既に示している。詳しくは述べないが、クレアチンキナーゼ活性を筋管細胞の“量”を示すものとして指標として考え得ることは自然であろう。その手技の容易なこととも利点である。

さて、上に述べた実験結果からは、E<sub>64</sub>は少くともクレアチンキナーゼ活性の蓄積を促進するようみえる。初めにも述べたように、これらの結果には実験によりバラツキがみられるし、特にL型のE<sub>64</sub>を用いた場合には全く作用がでないことも経験しているので、結論を下すためには慎重を要する。

## 9. 代謝研究部

### 1. 研究部一年の歩み

脳の発達とその障害の生化学的研究を主な課題として研究をすすめ、現在では次の3課題が進行中である。

#### (1) 発達過程における脳の蛋白合成

まず形態学的には発達の極く初期に著しい増殖、分化を認める中枢神経系において、発達過程に伴う脳の生化学的变化を研究する場合、生体の基本的機能単位の一つである脳の蛋白合成、特にその制御機構の検討を選んだ。一方脳の発達障害機構を生化学的に解明する場合にも、蛋白合成の各ステップを制御機構の面から追求することが、侵襲の種類と時期の関連性を検索するための手段となりうることを期待して研究を行っている。

まず翻訳ステップに重要な役割をもつポリペプチド合成の延長因子(EF)を検討し、分子量の異なる延長因子(EF-1<sub>L</sub>とEF-1<sub>H</sub>)の出現形式の問題、およびEF-1<sub>H</sub>のもつポリペプチド合成の促進因子について、国際神経化学会および日本神経化学会で発表した。つぎにリン酸化などにより調節されている可能性のあるポリペプチド開始因子、さらには転写の各スラップについても検討を行う予定である。

#### (2) 脳発達障害と生体膜

脳神経系に特異的な生体膜の一つであるミエリンは発達の或時期に形成され、遺伝性または免疫性疾患により障害される。そこで発達過程のミエリンの形成とその障害の機構を、生化学的に検索する手段を固めつつある。

今回はミエリンに関連のある塩基性蛋白(myelin basic protein, MBP)、ミエリン脂質としてのプラズマローゲン、スフィンゴ脂質の検討を行った。まずミエリン形成に伴うMBPの生成を検討するため、酵素イムノアッセイを用いた定量法を確立し、日本神経化学会で発表した。つぎにプラズマローゲンの定量にガスクロ質量分析(GC/MS分析)を応用する方法を検討中であり、その一部を医用マス研究会で発表した。

別に臨床との協力でミエリン障害をもつ成人型 metachromatic leucodystrophy 患者の剖検材料をえて、脳白質のスフィンゴ脂質の脂酸をガスクロ、GC/MS分析を行い、医用マス研究会、日本神経病理学会で発表した。



### (3) てんかん薬物療法および薬物レセプター

抗てんかん薬の血中濃度と、ターゲット器官である脳の濃度がほぼ等しいことが示された。そこで薬物の作用機序を解明する目的で脳内薬物レセプターの検索を行っている。代表的な抗てんかん薬である phenytoin の脳内レセプターをアフィニティークロマトなどを用いて分離、精製する試みを行い、日本てんかん学会で発表した。

別に国立武蔵療養所、国立療養所静岡東病院と協力して homogeneous 酵素免疫アッセイを遠心型自動分折機に応用する条件を定めた。また抗てんかん薬測定の精度管理を全国的規模で実施した成績を報告した。

最後に代謝研究部の現スタッフを付加える。

部長に宮本侃治（昭53.1，国立武蔵療養所より），発達生化学室長に今沢正興（昭54.3，北大，薬学部より），もう一つの神経化学室長は宮本が兼任し，研究員転用として加藤進昌（昭53.5，国立精研より，昭54.9よりカナダ，マニトバ大留学中）が任にあっている。流動研究員として村上一行（昭53.5，岩手大，農芸化学，大学院より）と，四宮由美子（昭53.5，全国心身障害児障害福祉財団より）が参加している。また中嶋サカエ（東邦大，理，化学卒）は機器分析を中心に研究にあっている。それぞれの研究のバックグラウンドは，宮本が脳の脂質および薬物代謝，今沢が核酸とその関連酵素および生体物質化学合成，加藤が脳内活性ペプチド，村上が蛋白代謝，四宮が臨床化学などに関する研究を行ってきた。

その他の兼任研究員として上代淑人（東大，医科研，化学教授）と，アイソトープ関係で永山素男（国立武蔵療養所，研究検査科長）に，また研究協力者として黒川正則（東大，脳研，生化学教授）および江尻慎一郎（岩手大，農芸化学，助教授）に協力をお願いしている。

（部長 宮本侃治）

## 2. 研究業績

### A 論文

#### a 原著

##### 1) 加藤進昌：

甲状腺刺激ホルモンの酵素免疫測定法の開発と臨床応用。

日内分泌会誌，55：720，1979

##### 2) 宮本侃治，池田佳子：

Centrifugal Analyzer を用いた5種の抗てんかん薬測定。

脳と発達，11：554，1979

## II 研究概要

- 3) 宮本侃治, 清野昌一 :  
日本における抗てんかん薬測定の精度管理 (第2報).  
脳と発達, 11 : 561, 1979
- 4) Imazawa, M., and Eckstein, F. :  
Facile synthesis of 2'-amino-2'-deoxyribofuranosyl purines,  
J. Org. Chem., 44: 2039, 1979
- 5) Kato, N., Naruse, H., Irie, M., and Tsuji, A. :  
Fluorophotometric enzyme immunoassay of thyroid-stimulating hormone.  
Anal. Biochem., 96: 419, 1979
- 6) Imazawa, M., and Eckstein, F. :  
Synthesis of sugar-modified nucleoside 5'-triphosphates with partially purified nucleotide  
kinases from calf thymus.  
Biochim. Biophys. Acta, 570: 284, 1979
- 7) 宮本侃治, 中嶋サカエ, 今沢正興, 池田佳子 :  
脳脂質の構成脂酸および長鎖アルデヒドのGC/CI/MSによる分析,  
医用マス講演集, 4 : 299, 1979
- 8) 四宮由美子, 加藤進昌, 今沢正興, 宮本侃治 :  
ミエリン塩基性蛋白の酵素イムノアッセイについて,  
神経化学, 18 : 176, 1979
- 9) 村上一行, 宮本侃治 :  
発達過程における脳のポリペプチド延長因子.  
神経化学, 18 : 368, 1979
- 10) Shinomiya, Y., Kato, N., Imazawa, M., and Miyamoto, K. :  
Enzyme immunoassay of myelin basic protein.  
Neurochem. Res., in press.
- 11) Murakami, K., and Miyamoto, K. :  
Polypeptide elongation factors of the developing chick brain.  
Neurochem. Res., in press.
- 12) Imazawa, M., and Miyamoto, K. :

Purification of phenytoin-binding site from the brain.  
Folia Psychiatrica Neurologica, in press

b 著 書

1) 加藤進昌, 成瀬 浩 :

内分泌障害—クレチン症を中心として—

現代精神医学大系16巻B「精神遅滞Ⅱ」, 中山書店, 東京, 1979, p. 159

2) 清野昌一, 宮本侃治 :

抗てんかん薬の臨床,

内科セミナー, P N 3「てんかん」(織田敏次, 祖父江逸郎他編), 永井書店, 大阪, 1980, P. 209

c 総 説

1) 宮本侃治 :

特集・薬物療法の実際 “てんかん”.

診断と治療, 68: 99, 1980

2) 宮本侃治 :

血液中(血液中)薬物濃度の測定値の信頼度.

月刊薬事, 22: 341, 1980

B 学 会 発 表

b 国際学会

1) Namura, I., Saito, Y., Ohira, K., *Kato, N.*, and Ishikawa, B.

A case with extremely prolonged stage-REM sleep and its EEG frequency analysis.

The 3rd Int'l Congress of Sleep Research, Tokyo, July, 1979.

2) Ishikawa, B., Namura, I., Saito, Y., Ohira, K., *Kato, N.*, and Asaka, A.

All-night polygraphy of schizophrenic with specific dreaming experience.

ibid, 1979.

3) Ohira, K., *Kato, N.*, Namura, I., and Ishikawa, B.

A psychopathology of schizophrenic dreaming; a feeling passivity.

ibid., 1979.

## II 研究概要

- 4) Kato, N., Tsuji, A., Nakamura, Y., and Takahashi, Y.:  
Enzyme immunoassay of delta sleep inducing peptide (DSIP).  
The Int'l Symposium on Sleep Substances and Sleep Mechanisms, Okazaki, August, 1979.
- 5) Murakami, K., and Miyamoto, K. :  
Elongation factors of the developing chick brain.  
7th Int'l Soc. for Neurochemistry, Jerusalem, Israel, Sept., 1979 (abstract, p. 497).

### c 一般学会

- 1) 加藤進昌, 花田耕一, 風祭 元, 小柳新策, 松下正明, 安田寛基, 小田雅也, 阿部敏明 :  
同一家系内に視床系統変性症のみられた家族性ズダン好性白質異栄養症 (SLD).  
第20回日本神経病理学会総会, 前橋, 5月, 1979
- 2) 成瀬 浩, 加藤進昌, 石井澄和, 辻 章夫, 荒川秀俊, 上村 晃, 竹之内知春, 山田和彦, 笠原 靖, 白根秀夫, 入江 実, 榎本仁志 :  
酵素免疫法による濾紙血中の甲状腺刺激ホルモンの測定—新しいクレチン症マスキリーニング法の開発.  
第7回代謝異常スクリーニング研究会, 久留米, 9月, 1979
- 3) 加藤進昌, 石井澄和, 成瀬 浩, 入江 実, 辻 章夫 :  
TSHのけい光酵素免疫測定法.  
第4回生体成分の分析化学シンポジウム, 仙台, 10月, 1979
- 4) 今沢正興, 宮本侃治 :  
脳内フェニトインレセプターの分離・精製(1).  
第13回日本てんかん学会, 長崎, 10月, 1979 (抄録集p. 50)
- 5) 辻 章夫, 荒川秀俊, 加藤進昌, 石井澄和, 成瀬 浩, 黒田裕子, 榎本仁志, 入江 実 :  
乾燥濾紙血液中 TSHのけい光酵素免疫測定法の開発と応用.  
第52回日本内分泌学会秋季大会, 東京, 10月, 1979
- 6) 兜 真徳, 加藤進昌, 大沢伸昭 :  
男子 Down 症候群患者における性腺機能の加齢に伴う変動について.  
第52回日本内分泌学会秋季大会, 東京, 10月, 1979

### C 班 会 議

1) 宮本侃治, 四宮由美子, 今沢正興 :

ミエリン形成と塩基性蛋白.

厚生省神経疾患委託研究, 発生異常研究班会議, 東京, 2月, 1980

2) 宮本侃治, 中嶋サカエ, 今沢正興 :

Metachromatic leucodystrophy 患者脳のスフィンゴ脂質について.

厚生省神経疾患委託研究, 発生異常研究班会議, 東京, 2月, 1980

3) 宮本侃治, 村上一行 :

化学的低エネルギーと脳発達時の蛋白合成.

厚生省神経疾患委託研究, 本態不明の精神遅滞研究班会議, 東京, 3月, 1980

### 3. 主な研究報告

#### 発達過程における脳の蛋白合成 (1)

#### 脳発達とポリペプチド合成

宮本侃治, 村上一行

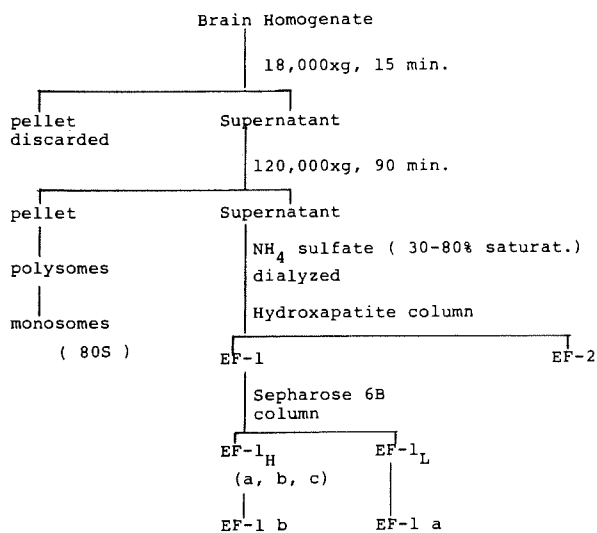
脳の構成蛋白, 機能蛋白の生成は, ともに発達の時期により異った合成速度, 制御機構をもつ可能性があり, まず脳蛋白合成の時期的変動を検討した。つぎに蛋白合成の過程としては, DNA のもつ情報を複製, 転写を経て mRNA に伝達す諸ステップ, および mRNA の情報をさらに翻訳して特定の蛋白合成に到る諸ステップに大別することができる。現時点では翻訳ステップの諸段階, 特に翻訳ステップに大きな役割をしめるポリペプチド合成反応について検討を行いつゝある。

#### 材料および方法

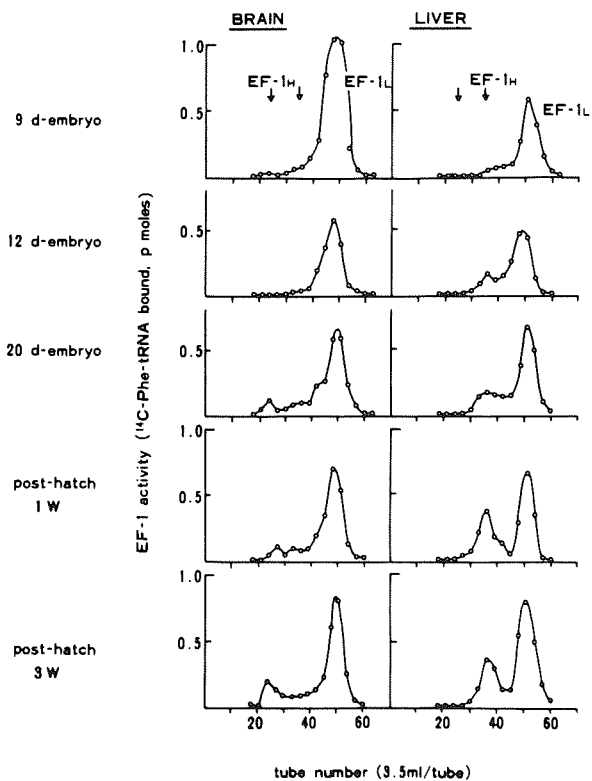
白色レグホン有精卵を孵卵し, 発達過程の各時期の脳(小脳, 脳幹を除く)を用いた。図1に示すように分画し, 120,000 × g, 90分の上清を, さらに硫酸分画, hydroxyapatite カラムにより, ポリペプチド延長因子(EF)をEF-1とEF-2に分離した。このEF-1をさらに65%硫酸飽和により沈澱させ, Sepharose 6Bカラムにより, 高分子量のEF-1<sub>H</sub>と, 低分子量のEF-1<sub>L</sub>に分離した。

EFの活性測定として, (i)EF-1: poly(U), <sup>14</sup>C-Phe-tRNA, GMP-PCPにより, モノソームに結合した<sup>14</sup>C-Phe-tRNAを測定。(ii)EF-2: ジフテリア毒素と<sup>14</sup>C-NADにより生成す

☒ 1 PREPARATION PROCEDURES



☒ 2 Developmental Changes in EF-1  
(Sepharose 6B Chromatography)



る $^{14}\text{C}$ -ADP-ribosyl EF-2 を測定。(iii)ポリペプチド合成能: EF-1 とほぼ同様の系 (GM P-PCP の代わりにGTP)により合成された $^{14}\text{C}$ -poly Phe を測定した。

### 結果および考察

ポリペプチド延長因子には、リボソームのA部位にaat-RNAを結合させるEF-1と、A部位に新しく生成されたpolypeptidyl-tRNAをリボソームのP部位に転位させるEF-2がある。脳単位蛋白量あたりのEF-1とEF-2活性は、ともに発達初期に高く、以後漸減することを認めた。一方ポリペプチド合成能は孵卵第3週から孵化後第1週にかけて高値を示し、その後下降する傾向を示した。このようにポリペプチド合成能の高い時期と、各延長因子の活性が高い時期が一致しないことは、ポリペプチド合成過程に何らかの制御因子が存在する可能性を示唆する。

そこでEF-1をSephrose 6BカラムでEF-1<sub>H</sub>とEF-1<sub>L</sub>に分離すると、図2に示すようにEF-1<sub>L</sub>は発達初期から存在するが、EF-1<sub>H</sub>は孵卵第3週目になり始めて出現することを認めた。この時期は脳の蛋白合成が盛んな時期と一致し、また好氣的代謝に移行する時期にも一致するため、EF-1<sub>H</sub>が何らかの促進因子となる可能性を考慮してさらに分析をすすめた。

従来の報告では、保存中の*artemia salina*の卵はEF-1<sub>H</sub>のみをもつが、孵化するとEF-1<sub>L</sub>に変換するという。このようにEF-1<sub>H</sub>とEF-1<sub>L</sub>の変換の生理的意義は今後の問題点である。

(本研究の一部は7th International Soc. for Neurochemistry (Jerusalem, Sept. 1979), abstract p. 497, および神経化学 18, 368-371 (1979)に報告した。)

## 発達過程における脳の蛋白合成 (2)

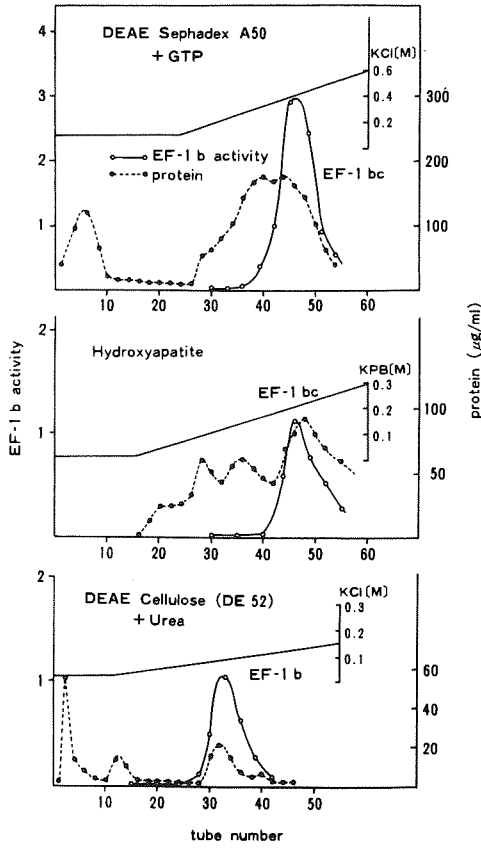
### ポリペプチド合成の促進因子について

村上一行, 宮本侃治

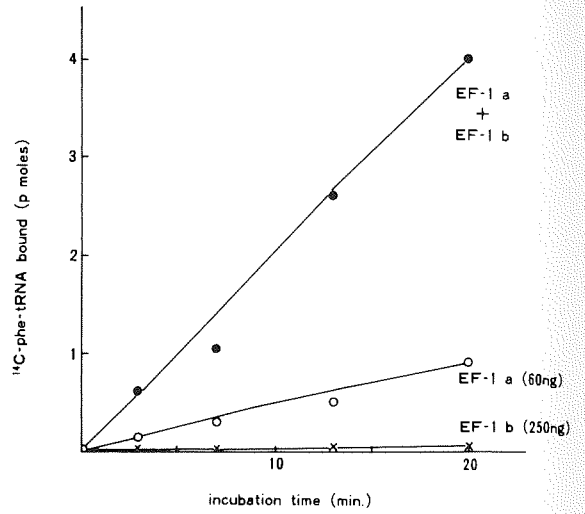
真核細胞のEF-1は分子量の多形性を示し、またEF-1<sub>H</sub> (分子量130,000以上)とEF-1<sub>L</sub> (分子量約50,000)の関連性、EF-1<sub>H</sub>のサブユニットの種類などに不明な点が残されている。前核細胞でEF-1に相当するのはEF-Tで、それにEF-T<sub>U</sub> (熱不安定性)とEF-T<sub>S</sub> (安定性)があり、T<sub>S</sub>はT<sub>U</sub>との共同作用によりT<sub>U</sub>作用の促進効果を示す。真核細胞のEF-1<sub>H</sub>から、カイコ絹糸腺、ブタ肝などでは3種(a, b, cまたは $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ )のサブユニットが見出され、b (または $\beta$ )がT<sub>S</sub>と同様の作用をもつことも報告されている。しかし脳(仔ウシ, ラット)では単一のサブユニットEF-1<sub>a</sub>からなると報告されている。我々はニワトリ胚脳の発達過程における検討に

II 研究概要

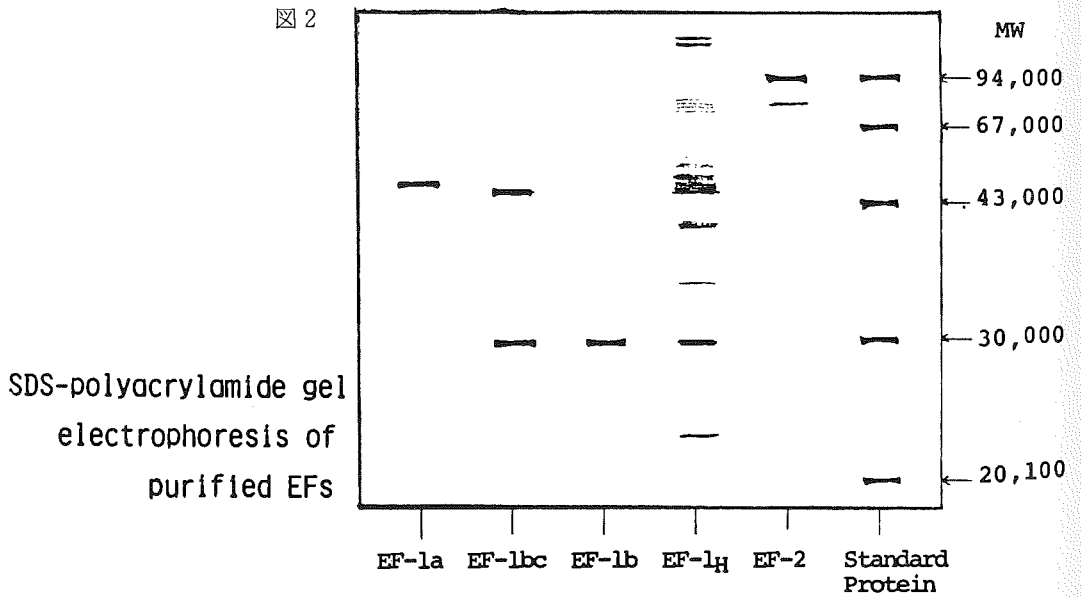
☒ 1 Purification of EF-1 b



☒ 3 The accelerating activity of subunit EF-1 b



☒ 2





より、孵卵第3週にEF-1<sub>H</sub>の出現を見出し、この時期が脳蛋白合成の盛んな時期にあたることから蛋白合成促進作用をもつサブユニットの存在を推測し、これを分離、精製して性質を検討した。

### 材料および方法

材料は前報と同様。Sephacrose 6Bにより分離された脳のEF-1<sub>H</sub>を、さらにhydroxylapatite (HA) カラムにより精製し、0.4 M NH<sub>4</sub>Cl, 0.1 mM GTP 存在下で37℃, 30分処理し、25 μM GTP により平衡化したDEAE-Sephadexカラムクロマトを行った。さらにHAカラム, 6 M尿素存在下のDE-52カラムにより精製を行った(図1)。

精製蛋白の純度確認と、分子量測定にSDS-PAGE (12.5% ポリアクリルアミド; 50mA, 2時間)を用いた。(図2)

### 結果および考察

(1)EFの精製: Sephacrose 6BによるEF-1<sub>L</sub>を、さらにCM-Sephadex C 50 で精製し、SDS PAGEで単一バンド(分子量54,000)となったものをEF-1<sub>a</sub>とした(図2)。EF-1<sub>H</sub>をGTP処理, GTP存在下のDEAE-Sephadexで分離する(図1)と、分子量27,000と48,000の2ケのバンド(図2)をえた。さらにHA, 尿素存在下のDE-52カラム(図1)を用いて精製し、27,000(EF-1<sub>b</sub>)と48,000(EF-1<sub>c</sub>)に分離した(図1と2)。

(2)サブユニットの性質: 精製されたEF-1<sub>a</sub>のみでもaa-tRNAをリボソームに結合させる作用をもつ。精製EF-1<sub>b</sub>はそれ自身ではEF-1<sub>a</sub>の作用を示さないが、EF-1<sub>a</sub>に添加することによりその活性を促進する(図3)。この促進作用はリボソーム結合のみならず、ポリペプチド合成, GTP-GDP交換反応においても示され、数倍から十数倍の促進効果を示した。なおEF-1<sub>c</sub>の作用はまだ不明である。

このことから脳の3種のサブユニットは、カイコ絹糸腺、ブタ肝で示されたものと同様で、脳では単一サブユニットEF-1<sub>a</sub>のみからなるという従来の報告は改められなければならないことを示した。またEF-1<sub>H</sub>の分子量の多形性として、ニワトリ脳では100万以上、ニワトリ肝では約70万であることも認められた。

(本研究の一部は7th International Soc. for Neurochemistry (Jerusalem, Israel, Sept. 1979) abstract p. 497, および神経化学18, 368-371 (1979)に報告した。)

脳発達障害と生体膜 (1)

ミエリン塩基性蛋白の酵素免疫アッセイ (EIA) による定量

宮本侃治, 四宮由美子, 今沢正興, 加藤進昌

ミエリン形成に伴い, ミエリン脂質 (cerebroside, sulfatide, plasmalogen. inositide), 2', 3'-cyclic nucleotide 3'-phosphohydrolase (CNP) という酵素, ミエリン塩基性蛋白 (MBP, myelin basic protein) などが増量することが知られている。我々はミエリン脂質, CNP などの検討を行ってきたが, 今回はMBPの検索を行うため酵素免疫アッセイによる定量法を確立した。なおこの方法を用いて, 脳発達過程のMBP量とミエリン形成, およびミエリン障害とその発現機序の関連性の追求を行っている。

材料および方法

成熟ニワトリ脳からミエリンを精製し, これからMBPを塩酸抽出し, MeOHを加えて沈澱してえた。これはSDS-PAGEにより単一バンドであることを確認した。つぎにこれを抗原として, Freundのアジュバントを加え, ウサギに免疫, 2週間間隔で4~5回追加免疫して, 抗血清をえた。

定量に用いる酵素標識抗原作製のために, ワサビperoxidase (HRP)をperiodate( $\text{NaIO}_4$ )によりHRP-アルデヒドとし, つぎにMBPをHRP:MBP(2:1, モル比)の割合で反応させ, Sephadex G-100により酵素標識抗原を分離した。これは $-30^\circ\text{C}$ で少くとも9ヶ月間は安定であった。また定量に用いる不溶化第二抗体はSephadex 4BをBrCNで活性化し, 抗ウサギIgG抗血清(ヤギ)を結合させ調製した。

結果および考察

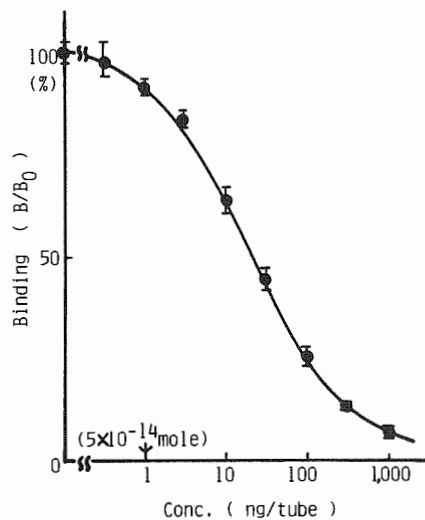
酵素免疫アッセイとしては, 試料, 抗体, 酵素標識抗原を加えた場合の反応時間, および第二抗体の添加時期と反応時間などを検討し, 図1に示す方法を定めた。試料と競合して抗体に結合した標識抗原のもつ酵素の活性を, 基質を $\text{H}_2\text{O}_2$ とp-OH-phenyl propionateとして, 生成するdimerの蛍光から測定し, 試料のMBPを定量した。標準曲線(図2)の縦軸には標識抗原の結合率を%表示し, 横軸にはMBP量(ng)をlog表示した。測定感度は $1\text{ ng}(5 \times 10^{-14}\text{ mole})$ で, 測定範囲は $1-100\text{ ng}$ , 測定値の変動係数は15%以下であった。また交叉反応はウシ脳MBPでは約 $1/300$ 程度と弱く, 塩基性の胸腺ヒストンでは交叉反応を示さず, 我々のえたものは特異性の高い抗体であることが認められた。

MBP定量については, 従来電気泳動法を用いた半定量法が行われ, 最近ラジオ免疫アッセイ

☒ 1 Enzyme immunoassay of MBP

|   |             |
|---|-------------|
| Sample  | 100 $\mu$ l |
| Anti-MBP serum                                | 100 $\mu$ l |
| HRP-MBP conjugate                             | 100 $\mu$ l |
| 4°C, 18hrs                                    |             |
| Sepharose 4B-anti rabbit                      | 500 $\mu$ l |
| 0.2M Tris-acetate (pH 7.3)                    | 500 $\mu$ l |
| 4°C, 3hrs                                     |             |
| centrifuged (2500rpm, 5min)                   |             |
| Conjugate bound on Sepharose 4B               |             |
| 0.5% p-OH-phenyl propionate                   | 50 $\mu$ l  |
| 0.01% H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>           | 50 $\mu$ l  |
| 0.2M Tris-acetate (pH 7.3)                    | 800 $\mu$ l |
| room temp., 60min                             |             |
| Supernatant was assayed fluorophotometrically |             |
| ( ex. 320nm, em. 405nm )                      |             |

☒ 2 Standard curve of basic protein  
( Enzyme immunoassay )



(RIA)が報告された。イムノアッセイで試料と競合させる標識抗原の標識は、RIA では多くの場合<sup>125</sup>Iで、EIAでは酵素(本報ではHRP)である。<sup>125</sup>Iの半減期は60日であるため標識抗原の作製を頻回に行う必要があり、また放射性物質取扱いに制約がある。本報での標識抗原は少くとも9ヶ月間は安定で、EIAでの測定感度は既報のRIAとほぼ同様で、特異性も高かった。

## II 研究概要

この方法を用いて、発達過程におけるニワトリ脳のMBPを測定して、孵卵第3週から急激に増し、ミエリン形成に平行することを認めた。

(本研究の一部は神経化学 18, 176-179 (1979) に報告した。)

### 脳発達障害と生体膜 (2)

#### 脳リン脂質の脂酸および長鎖アルデヒドのガスクロマトー質量分析 (GC/MS分析)

宮本侃治, 今沢正興, 中嶋サカエ

脳の生体膜のリン脂質 (ethanolamine-と serine-glycerophosphatide (EGP, SGP)) のGC/MS分析を行った。まず脳のミトコンドリア, ミクロゾームのリン脂質 (EGP, SGP) に特徴のあるポリ不飽和脂酸である docosahexaenoic acid (22:6), およびミエリンのリン脂質 (EGP) に多いプラズマローゲンに含まれる長鎖アルデヒドについて, 化学イオン化 (CI) 分析を中心にGC/MS分析を行い, さらにマスフラグメントグラフィーによる長鎖アルデヒドの定量を試みている。

#### 材料および方法

孵卵12日目のニワトリ胚脳のミトコンドリア, ミクロゾーム, および孵卵20日目胚と成鶏の脳のミエリンからFolch法により脂質を抽出, 硅酸カラムクロマトグラフィー, 薄層クロマトグラフィーなどにより, ethanolamine glycerophosphatide (EGP), serine glycerophosphatide (SGP)と choline glycerophosphatide (CGP)をえた。各々を  $2\text{NH}_2\text{SO}_4 - \text{MeOH}$  還流 1 hrでメタノリシスを行い, 脂酸とその関連物質をメチル化合物としてえた。ミエリン分析の場合には, プラズマローゲン由来のアルデヒドはメタノリシスでdimethyl acetal (DMA)となるため, アルカリ処理を行い, メチルエステルから分離した。

ガスクロカラムには10%Apolar 10 Cを用い, GC/MS分析にはLKB 9000 Bを用いた。

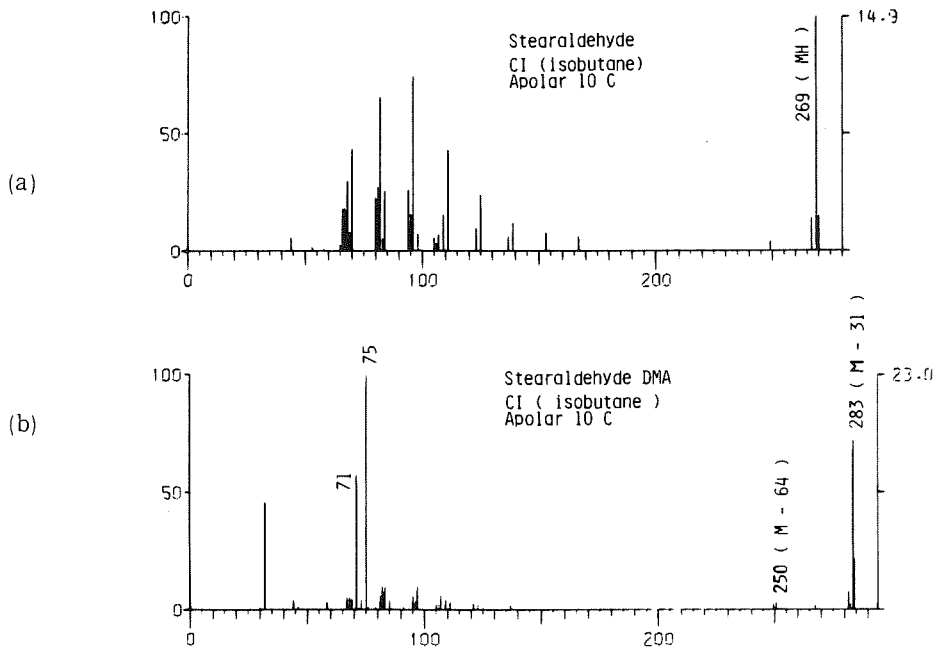
#### 結果および考察

##### a) ポリ不飽和脂酸 (PUFA)

脳リン脂質のPUFAとしては22:6, 20:4が多く, 生体膜としてはミトコンドリア, ミクロゾーム, シナプトゾームのEGP, SGPに特に多く, CGPには少ない。一方ミエリンではEGP, SGPにもPUFAは少ない。

GC/MS分析によれば, 電子衝撃 (EI) 分析でえられなかったPUFAの分子イオンは, CI

図1 長鎖アルデヒドとその dimethylacetal 誘導体のGC/CI/MS分析



(isobutane) 分析を行うことにより擬似分子イオン (MH) としてえられた。すなわち PUFA の MS 分析は、CI 分析を用いない限り不可能であることを認めた。

#### b) プラズマローゲン由来の長鎖アルデヒド

ミエリンのプラズマローゲンのアルデヒドをジメチルアセタール (DMA) としてガスクロ分析を行い、18:1 DMA がミエリン形成に従い増加することを認めた。

アルデヒドの DMA の GC/MS 分析を行い、EI だけでなく CI を用いても、分子イオンを得ることはできなかった (図 1(b))。一方合成した長鎖アルデヒド (18:0 aldehyde) を誘導体とすることなく、GC/MS 分析を行ったところ、EI では分子イオンが認められず、CI では擬似分子イオン (MH) が基準ピークとして認められた (図 1(a))。ミエリンのプラズマローゲンの定量を行うために、アルデヒドのマスフラグメントグラフィーによる測定を用いることが可能で、そのためにはフリーのアルデヒドの GC/CI/MS 分析を行うことが適当と考えられ、研究を続行中である。

(本研究の一部は医用マス研究会講演集 4, 299-306 (1979) に報告した。)

### 脳発達障害と生体膜 (3)

#### ミエリンスフィンゴ脂質の分析—成人型metachromatic leucodystrophy (MLD) 剖検例の分析

宮本侃治, 今沢正興, 中嶋サカエ

遺伝的に aryl sulfatase の欠損のため sulfatide が増量し, ミエリン障害をひきおこすことが知られている metachromatic leucodystrophy (MLD) の成人型患者の剖検例をえた。そこで患者脳白質のミエリン脂質としての cerebroside sulfatide の脂酸を中心にガスクロおよびガスマス(GC/MS)分析を行った。

#### 研究材料および方法

37才, 男性の成人型MLD患者の剖検例の前頭葉白質を, ホルマリン固定することなく,  $-80^{\circ}\text{C}$  に保存したものをを用いた。

ホモジナイズ後,  $1\text{N KOH}-\text{MeOH}$  によりアルカリ水解を行い, リン脂質などのエステル結合を分解した後, Folch 法により脂質抽出を行った。つぎにケイ酸カラムクロマトグラフィー, 薄層クロマトグラフィーにより, cerebroside, sulfatide を分離, 精製した。各スフィンゴ脂質の定量は, イヤトロスキャン (FID 装備) によった。

スフィンゴ脂質を  $4\text{N H}_2\text{SO}_4-\text{MeOH}$ , 還流 3 hr でメタノリシスし, 薄層クロマトグラフィーにより, non-hydroxy 脂酸と hydroxy 脂酸 (各メチルエステル) に分離した。hydroxy 脂酸はさらに trimethyl silyl 化を行った後, 分析を行った。

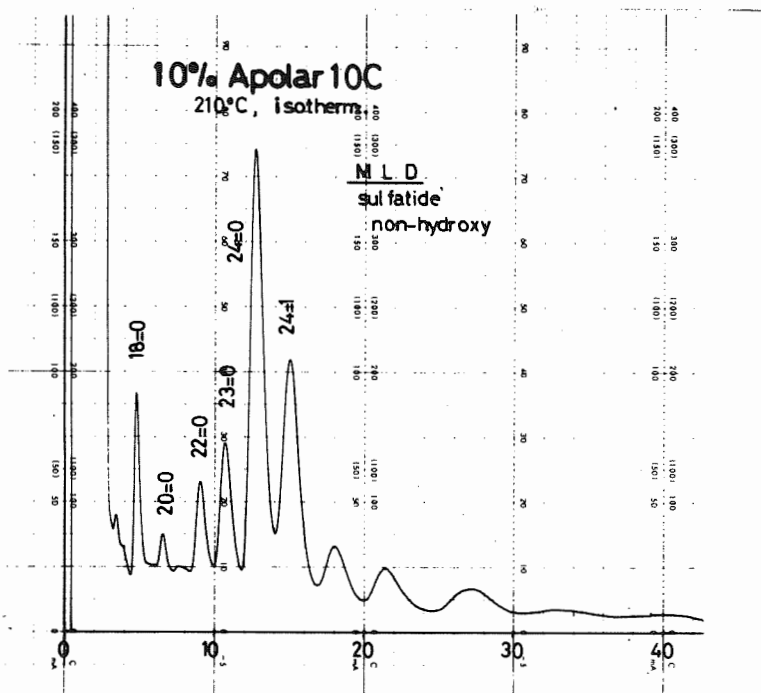
#### 結果および考察

cerebroside と sulfatide の量比は, 対照では 85% : 15% であるのに対して, MLD では 40% : 60% であり, MLD での sulfatide の顕著な増加が認められた。

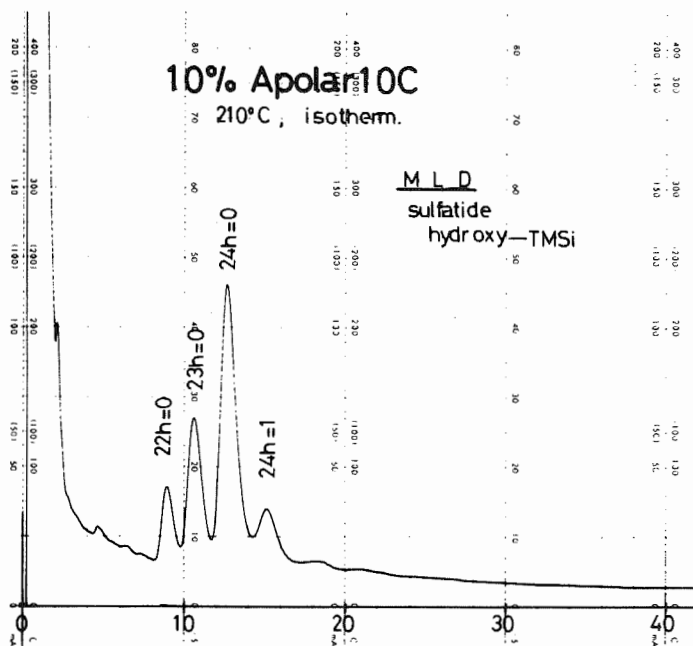
スフィンゴ脂質の構成脂酸のガスクロ分析によると, non-hydroxy 脂酸については, 対照の幼若脳の cerebroside, sulfatide とともにリグノセリン酸 (24 : 0) とネルボン酸 (24 : 1) がほぼ等量存在するが, 対照の成熟脳では 24 : 1 が著しく増加して, 24 : 0 と 24 : 1 は 10% : 50~70% となる。しかし MLD 脳では, cerebroside の 24 : 0 と 24 : 1 がそれぞれ約 21% と 24% であり, また sulfatide の 24 : 0 と 24 : 1 はそれぞれ約 37% と 24% であった (図 1 a)。つぎに hydroxy 脂酸においても同様な傾向が認められ, MLD スフィンゴ脂質中のオキシネルボン酸 (24h : 1) は対照成熟脳に比べて顕著に少なかった (図 1 b)。以上, 24 : 0 と 24 : 1, および 24h : 0 (セレブロン酸) と 24h : 1 の関係が幼若型にとどまることを認めた。一方従来の報告にみられる中鎖脂酸の増加は本

図 1

(a)



(b)



例の分析では認められなかった。

G/C/MS 分析において、電子衝撃法 (EI) では 24 h : 0 などの hydroxy 脂酸の分子イオンがえられ難かったが、化学イオン化法 (CI, isobutane) を行うと擬似分子イオン MH が著明なピークとして認められた。このように hydroxy 脂酸の分析においても EI に比べ CI の方が有用であるこ

## II 研究概要

とを認めた。

(本研究は医用マス研究会講演集 4, 299-306 (1979)に報告した。)

### てんかん薬物療法と薬物レセプター

今沢正興, 宮本侃治

#### (1) 抗てんかん薬の脳内レセプター

てんかんの薬物療法では, 各種てんかん病態に適合した薬物の選択を行い, 治療有効血中濃度の下限を定めることが第一の条件である。この下限を求めるために, われわれは薬物作用の面からてんかん病態を追求することを試みている。まず代表的な抗てんかん薬であるフェニトイン (DPH) について, その作用を生化学的に追求することを試みている。従来脳内にとりこまれた DPH の存在様式は不明であったが, 最近 Burnham<sup>1)</sup> により, 脳内に DPH の高親和性結合部位が存在すると報告されている。現時点では DPH の作用機序検索のため, ラジオレセプターアッセイおよび DPH を結合させたアフィニティーゲルを用いて, 脳内の DPH レセプターを検討中である。

#### 材料および方法

セファロース 6B を 0.2 N NaOH 存在下, 1, 4 -butanediol diglycidyl ether と反応させた。この活性化されたセファロース 6B を, 次に DPH・ナトリウム塩と dioxane - H<sub>2</sub>O 中, 50℃ で反応させ, DPH を結合したアフィニティーゲル (2.5 μmole DPH / ml ゲル) をえた (図 1)。

実験動物として Wistar ラットを用い, 脳 (小脳, 脳幹部を除く) の 0.32 M ショ糖ホモジェネートより, 核分画, 粗ミトコンドリア分画, ミクロゾーム分画, 上清分画をえた。

DPH の結合活性はダイアフロームメンブレンを用いた限外濾過法により, <sup>3</sup>H-DPH を用いて行った。

#### 結 果

蛋白量あたりの DPH 結合活性としてみると, 粗ミトコンドリア分画, ミクロゾーム分画では上清分画に比べ約 3 倍高いことが認められた。そこでまずシナプトゾームを含んだ粗ミトコンドリア分画を用い, この分画を 1% Triton X-100 で処理することにより, 約 40% の DPH 結合活性と約 50% の蛋白を可溶化した。この可溶化された DPH 結合性の蛋白を DPH -アフィニティーゲルにより, 現時点では数倍に精製し, さらに検討中である。

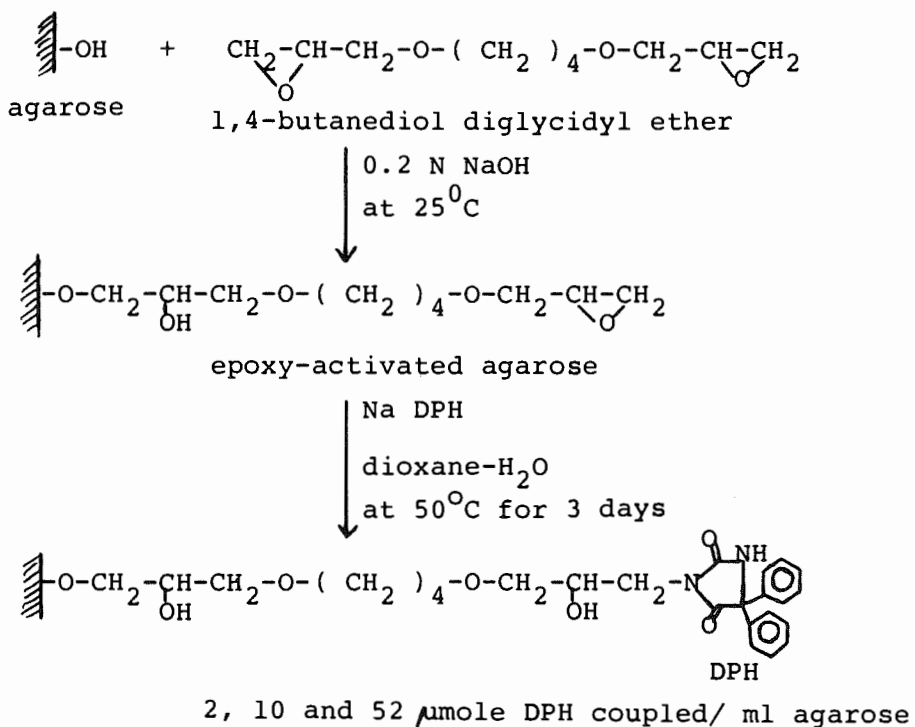


(本研究の一部は第13回てんかん学会〔1979年10月〕, 抄録集p.50に報告した。)

## (2) 抗てんかん薬の血中濃度

以前から宮本が清野昌一(国立療養所 静岡東病院〔てんかんセンター〕)および池田佳子(国立武蔵療養所)との協同研究により, 抗てんかん薬の血中濃度測定について種々の方法的検討を行ってきたが, 今回は homogeneous 酵素イムノアッセイ法を多数検体処理に利用するため, 遠心型自動分析機を用いた応用方法を確立した。また最近我国でも, 種々の測定法が普及したため, 測定の正確さを期すように各方法および施設間の精度管理を実施した。以上の成果を脳と発達, 11, 554-560.および 561-566 (1979)に報告した。

図1 Preparation of Affinity Gel



## 文献

- 1) Burnham, W. M. and Spero, L. : Epilepsy International Symposium, 1978, abstract p. 79.

## 10. 神経筋病棟症例報告要旨

### ネマリンミオパチーの成因に関する一考察

春原経彦, 杉田秀夫, 埜中征哉, 里吉宮二郎

(目的) ネマリンミオパチーについて筋病理学的, 生化学的検討を加え, その成因について考察した。

(材料及び方法) 従来のネマリンミオパチーの報告と同様の臨床像を示す28才女性の上腕二頭筋を用い, 各種筋組織化学的検索を行い更にこのネマリン筋及び人ヒラメ筋, 大腿筋よりミオシンを抽出し, SDSゲル電気泳動法, slabゲル電気泳動法によりミオシンlight chain (LC)を比較した。又筋LDH分画も検索した。

(結果) 1.組織化学的検討: ミオシンATPase染色では横断切片で10673本の筋線維すべてがタイプ1を示した。しかし他の筋組織化学的検索(MAG, Phosphorylase, PAS)ではタイプ1A, 1B類似の二種に分別できた。2.生化学的検討: 本症筋のミオシンLCはSDS及びslabゲル電気泳動で3個であった。本症筋ミオシンを正常人ヒラメ筋, 大腿筋ミオシンと共にslab電気泳動で観察すると, LC<sub>1</sub>は三者共同じ移動度を示し, 本症のLC<sub>2</sub>はヒラメ筋のそれに一致し大腿筋即ちタイプII線維とは一致しなかった。又本症のLC<sub>3</sub>はタイプII LC<sub>3</sub>と一致した。LDH分画はLD<sub>3</sub>>LD<sub>4</sub>>LD<sub>2</sub>>LD<sub>1</sub>でLD<sub>5</sub>は認められなかった。

(考察) 本症筋は組織化学的には100%タイプI筋線維からなると考えられるが, 生化学的にはミオシンLCはタイプII線維と同じく3個であり且つLC<sub>2</sub>はタイプIと, LC<sub>3</sub>はタイプIIと一致し, この結果から本症筋のミオシンのLCはタイプI, IIのいずれにも属さない事を示唆している。かかるミオシンLCの変化についての説明としては1), 成熟停止, 2), 脱神経後の再神経支配, 3), 筋分化の異常などが考えられるが, 我々は3)の可能性が強いと想定している。(第20回日本神経学会総会)

### 侏儒, 精薄, 特異な顔 を主徴とする家系の1例に見られた進行性ミオパチー

村本 治, 桜川宣男, 埜中征哉, 有馬正高, 里吉宮二郎

侏儒, 精薄, 特異な顔貌, 咬合不全, 巨舌, 遠位小関節の拘縮, 全身皮下脂肪の減少を主徴とする3姉弟。両親いとこ婚。第1例, 姉(27歳)に幼児期より進行性のミオパチーがあった。筋生検で

は大小不同の筋線維周囲にて結合織が著明に増生，脂肪浸潤が少ない。CPK 高値。第2 (22歳)，第3 (18歳) 例の弟の筋は逆に隆々と盛り上がっている。3例ともGTTでinsulin の過剰分泌を示し，第1，2例は糖尿病型。3例ともgrowth hormone 分泌不全がある。現時点ではムコ多糖症，ムコ脂質症は証明されず。lipotrophic diabetes, progeria, Werner 症候群, Cockayne 症候群と近縁に位置する新しい代謝疾患と考えた。ミオパチーが単なる合併か否かの疑問は残るが，新しい症候群の可能性を考え報告した。(第20回日本神経学会総会)

### 臨床的に初老期痴 と典型的 ALS 症状を呈し，剖検にて **progressive subcortical gliosis (Neumann)** と思われた1例

村本 治，向山昌邦，宮川民平\*，安藤 蒸\*，水島節雄\*\*

57歳女性，54歳健忘症状。55歳小手筋の萎縮。痴呆は軽度。滞続言語(+)。巢症状(-)。56歳顔面舌を含む全身の著明な筋萎縮，筋力低下，fasciculation。痴呆進行し多幸的。57歳球麻痺症状 進行し死亡。初老期痴呆の型分類は困難であったが，やや pick 病に近いと思われた。脳重1,040g。脳萎縮は軽度でびまん性。白質に脱髄の割に比して強い gliosis。大脳皮質，皮質下諸核の軽い神経細胞脱落と gliosis。黒質の変化は高度。脊髓前角の細胞脱落と gliosis。側索の変化。老人性変化(-)，Pick 細胞(-)，嗜銀球(-)。限局性萎縮がなく白質の gliosis が他の変化に比し特に強い点より progressive subcortical gliosis (Neumann) に近い像と考えた。このような臨床・病理像が系統変性疾患の1つの移行型を形成する可能性を示唆した。(第69回日本神経学会関東地方会)

\* 国立武蔵療養所精神科，\*\* 同愛記念病院精神科

### 良性乳児脊髄性筋萎縮症の2症例

#### —古典的 Werdnig-Hoffmann 症の筋組織との対比を中心にして—

高田邦安，桜川宣男，埜中征哉

歩行可能な良性乳児脊髄性筋萎縮症の2症例を経験したので，その筋組織像を古典的 Werdnig-Hoffmann 病と比較検討した。前者では筋組織化学(とくにATPase 染色)上著明な fiber type を遮断する病態とが共存することが必要であると考えた方が，合理的であろうと思われる。(第72回

## II 研究概要

日本神経学会関東地方会)

grouping を示し, reinnervation が活発であることをうかがわせる。W-H病にみる専らタイプ1線維よりなる肥大線維は認めない。1例ではSmall group atrophy の像が, 他例ではlarge group atrophy の像が主体を占めたが, 病期の差によるものと思われた。W-H病では萎縮線維中に多数のタイプ2C線維を認め, 筋線維分化の停止状態を示唆するが, 本2症例ではタイプ2C線維はごく小数で, denervation が一定程度筋線維分化の進んだ出生後に起きていることを示唆した。(第69回日本神経学会関東地方会)

### 潜在性ミオパチーの2例—悪性高熱との関連について—

春原経彦, 高木昭夫, 埜中征哉, 向山昌邦, 里吉宮二郎

臨床所見に異常がなく, 血清CPKが著高を示す2症例に, 筋組織学的及びskinned fiberによる検索を行った。症例1は家族歴に特別なことはなく, 症例2は長女が悪性高熱を示した。筋病理では, 症例1は軽度の筋原性変化を示し, 症例2ではpyknotic nuclear clumpを含む小径線維や群集萎縮など神経原性変化を示唆する所見を認めた。halothane, caffeineに対するskinned fiberの感受性では, 症例1には異常線維の出現率が低く, 症例2ではほとんどの筋線維が異常を示した。症例2は特異な筋病理を示す悪性高熱素因者と考えられた。症例1は素因者とは言い難く, こうした症例は悪性高熱との関連のみでなく, 多方面の検索が必要と思われた。(第70回日本神経学会関東地方会)

### 3才頃に発症し, 顔面肩甲上腕型の分布を示した, 神経厚生筋萎縮症の1幼児例

高田邦安, 東条 恵, 埜中征哉, 米本恭三\*

4歳6カ月の男児, 主訴は両上肢挙上困難で, 家族歴に筋疾患はない。生下時体重4350gだが新生児期, 乳児期は正常だった。3歳3カ月頃, 肩甲帯・上腕の筋萎縮と筋力低下にきづいた。皮膚筋炎様の症状はなく, その後殆ど進行を認めない。診察上肩甲上腕の筋萎縮・筋力低下があり, 著明な翼状肩甲を示す。ミオパチー顔貌ではないが「まつ毛徴候」は陽性。腱反射は低下。ファスシ

\* 慈恵医大整形外科

クレーションは認めない。CPKは軽度上昇。筋電図で脱神経電位を時に認めるが、神経原性所見は明らかではない。左上腕二頭筋生検で、small group atrophyの像があり、萎縮線維は殆どタイプ2線維、肥大線維は90%以上がタイプ1線維で、神経原性筋萎縮の所見だった。(第70回日本神経学会関東地方会)

### 1歳未満で発症し、思春期以後進行性経過をとる小脳失調症の2成人例

村本 治, 真野行生, 桢中征哉, 安藤一也, 里吉宮二郎

症例1は31才男性。正常出産で生後10ヶ月までの精神運動発達は正常だったが、40℃の発熱が3日続いた後より著明な失調症状が出現し、以後持続した。18才より飲酒をするようになってから悪化を見、現在に至る。症例2は21才男性。生後10カ月まで正常であったがこの時Vavicellaによる脳炎に罹患。その後より失調症状が出現し、14,5才以後著明な進行を見ている。家族歴で症例1に両親の血族結婚がある。神経症状で両側に共通して失調性及び痙性の歩行障害、四肢、言語の小脳症状、両側錐体路徴候が見られ、症例2で水平性、垂直性眼振と固視時のsquare wave jerksを、症例1で足首以下の軽い知覚障害を認めた。CTでは両例とも小脳正中部の萎縮が著明。また両例に血清IgAの低値をみた。小児期のacute cerebellar ataxiaの後遺症、post-infections cerebellitis, ataxia telangiectasiaの不全型等の可能性について考察を加えた。(第71回日本神経学会関東地方会)

### 脳血管障害後に見られた幻視の1例

春原経彦, 向山昌邦, 村本 治, 里吉宮二郎, 中島康次\*

脳血管障害に伴った幻視と病巣との関連を検討し、幻視発現機構につき考察した。症例は76才、73才の女性で、視野欠損部に小動物の幻視をみた。視野欠損を生じさせた病巣が幻視発現に密接な関連があると考えた。しかし2症例とも他に、側頭葉や頭頂葉にも病巣があり、同時に全般的脳機能低下が想定された。幻視についての報告例でも多発性病巣や脳圧亢進を示す症例が多いこと、同病巣を有する症例でも幻視の発現しない例が多いこと、幻視をもつ症例でも閉眼により幻視が消失すること、などの点から幻視の抑制機構が想定され、幻視発現に際しては、刺激性病巣と抑制機構

\* 西武中央病院

### 長期人工透析患者の1剖検脳所見

寺本 純, 向山昌邦, 安藤一也, 古閑 寛\*, 衣斐 達\*

38才の女性。主症状は痴呆。現病歴：S45年より腎障害。50年より透析療法。同年暮より自発性欠如。以後四肢筋力低下，痴呆，病的反射，下肢不随意運動が次々と出現，53年に脳血栓症を呈し左半身麻痺。その後 Adams - Stokes 発作にて死亡。大脳は左側半球にて検索。基底核は全体に lipofuscin 沈着が著明で神経細胞数も軽～中等度減少。淡蒼球には pseudocalcium の沈着がみられ，尾状核，視床などでは neuronophagia が認められた。皮質，小脳には著変なし。白質はごく一部に astrocyte の増生がみられた。なお虚血性病変，老人斑，Alzheimer 原線維変化などは認めなかった。

従来透析患者の諸中枢神経症状は代謝障害説などがとられていたが Burks らにより病理所見が報告された。自験例の臨床，病理所見は Burks らの報告例によく似ており，従って同一の病態に基づくものと考えられる。本邦では透析脳に関する病理学的検討は未だなされておらず，人工透析の普及とともに今後重要な課題になると思われるので若干の検討を加えた。（第36回日本神経学会東海北陸地方会）

\* 市立四日市病院内科

### Distal myopathy とと思われる1例

春原経彦, 埜中征哉, 向山昌邦, 里吉宮二郎

7年の経過で，下肢遠位筋優位の筋萎縮と筋力低下を示した29才男性例を報告した。家族歴はない。下肢遠位筋では前脛骨筋に比べ 腹筋に著明な筋萎縮が認められた。血清CPK値は2000～4000 IU/L（正常値：75 IU/L以下）と高値を示し，筋電図は筋原性変化を示した。筋生検所見では，筋線維の中等度の大小不同があり，壊死線維，fiber spilling，whorled fiber が散見された。組織化学的検索では，タイプII線維優位があった。多数の再生線維が認められた。プレドニン投与により，血清CRKおよび臨床使見に変化はなかった。

本例は markesbery ら，三田ら，Miller らの報告した孤発性の distal myopathy 例に類似するが，前脛骨筋に比べ 腹筋に著明な筋萎縮が認められる点で特異である。（第3回三多摩神経疾患懇話会）

### Linear nevus syndrome と思われる2症例

東條 恵, 河野義恭, 高田邦安, 桜川宣男, 有馬正高

Nevus unis lateris とは、神経皮膚症候群に含まれる疾患であり、線状皮脂腺母斑症候群と共に、線状母斑症候群として一括されている。皮膚所見は、多くは半身に分布する線状～帯状の黒褐色、隆起性母斑で、組織学的には表皮母斑である。しばしば同側の半身肥大を伴う。神経学的には、精神運動発達遅滞を呈し、難治性痙攣を合併しやすい。水頭症、麻痺、眼症状なども伴いやすい。本症と思われる2症例（2才4ヶ月女、2才8ヶ月女）を経験し、比較して報告した。（第3回三多摩神経懇話会）

### 興味ある臨床経過を示したmultiple system atrophyの1例

向山昌邦, 寺本 純, 安藤一也, 松岡幸彦\*, 加知輝彦\*

症例は41才男。身体のみらつき、言語障害、うつ状態で発症し、立ちくらみ、排尿障害、インポテンツなどの自律神経症状と仮面様顔貌、動作緩慢などのパーキンソン症状が出現し、神経内科へ入院。

入院時所見：一般理学的所見に著変なし。仮面様顔貌。膏顔。動作緩慢。起立時後方へ倒れる。歩行時上肢を振らぬ。姿勢反応障害。つき足歩行不能。変換運動拙劣。下顎反射・四肢深部反射亢進。経過：トリプタノール、L-DOPA、アーテン、シンメトレルなどの投与によっても上記症状は改善せず、徐々に増悪し、さらに振戦、固縮、四肢、口、舌などのアテトーゼ様不随意運動や背中・頸の後屈姿勢、上方視障害が出現し、末期には幻覚、錯乱などの精神障害が加わり、5年の経過で死亡した。既往歴、家族歴に特記すべきものなし。末梢血、血液生化学、レ線検査、検尿、髄液検査などに異常は認めなかった。

〔剖検所見〕脳重1,200g。肉眼的には小脳がやや萎縮しており、割面では被殻の褐色調と黒質の軽度脱色を認めた。

光顕では、下オリブ核、橋核、プルキンエ細胞、被殻、黒質に著明な神経細胞の変性脱落とgliosisを認めた。その他、淡蒼球、とくにその外節部、ルイ体、動眼神経核、中脳被蓋部、青斑、脳幹網様体、迷走神経背側核、頸髄中間外側核などにも、中等度の神経細胞の脱落とgliosisを認めた。なおLewy小体、Alzheimer神経原線維変化、老人斑などは認めなかった。

## II 研究概要

本例はオリブ核・橋核・小脳系，自律神経系，被殻・黒質系，淡蒼球・ルイ体・黒質系など多系統にわたる変性疾患であり，臨床像と病理像の対比の上で興味ある症例と考え報告した。（第4回三多摩神経疾患懇話会）

\*名古屋大学第一内科

### ACTH療法に伴う硬膜下水腫の発生

東條 恵，高田邦安，有馬正高

CTスキヤンの普及により，ACTH，ステロイド投与で可逆性の脳容積縮小をきたすことが知られてきた。我々は點頭てんかんのACTH療法中に，脳縮小に続発したと思われる硬膜下水腫を経験した。脳縮小はACTH投与1カ月目で最大であり，臨床的に不活発，精神運動機能低下がみられた。ACTHの漸減とともに，臨床像は改善してきたが，臨床的には不顕性の硬膜下水腫を発見した。その診断にはCTスキヤン，脳波，頭蓋透光試験が有用であった。

點頭てんかんのACTH療法に際し，硬膜下水腫併発の危険があることに注意を喚起した。

（第4回三多摩神経疾患懇話会）

### 悪性高熱回復者及び素因者などの筋組織所見

春原経彦，桢中征哉，高木昭夫

〔目的〕悪性高熱回復者及び素因者などの筋組織所見の比較。〔対象と方法〕症例1；悪性高熱罹患後2カ月の22才男性例，症例2；臨床的に全く異常を認めないが，血清CPK高値を示し，家族に悪性高熱を有する42才男性例，症例3；CPK高値のみを示す30才男性例の3例の生検筋を用い，組織化学的検索を行なった。〔結果〕症例1では再生線維と再生現象を示唆するタイプⅡC筋線維の増加以外著変は無かった。症例2では群集萎縮，angular fiberの存在，タイプⅡ筋線維優位などの神経原性変化を主体とし，症例3は筋線維の大小不同，壊死線維の存在など筋原性変化を主とした所見を認めた。〔まとめ〕スキンドファイバーによるハロセン感受性は3例とも異常を示したが，筋病理所見では，悪性高熱回復者はほぼ正常の所見を，素因者には神経原性変化を主体とした所見を認めた。又悪性高熱の家族歴のない例では筋原性変化を主とし，3例は各々異った病理所見を示



し、共通点は得られなかった。(第3回悪性高熱研究会シンポジウム)

### 筋ジストロフィー症の器具の開発—抑制衣の研究—

當間節子<sup>\*</sup>、山本紀代子<sup>\*</sup>、猪瀬 正<sup>\*\*</sup>

神経筋ジス(小児神経科)病棟は、対象が生後より15才迄の小児であり、乳幼児の治療検査時(たとえば筋生検時、点滴固定時、CT撮影時、抑制必要時)に適当な抑制が必要ことが多い。各年令に見合った適切な抑制衣について研究を重ね試作した。

抑制衣の必要条件として、①抑制固定が安全、安楽であること。②着脱し易く、洗濯などの取り扱いが簡単であること。③乳幼児の各年令層にも応用可能なこと、などが考えられた。

抑制衣の作製にあたっては、①抑制衣のベットへの固定のために帆布を用い、周りに2cm巾の綿テープを縫いつけ補強し、又結びひもとした。②抑制衣の部分的な取りはずしを可能にした。③色合いや、柄模様をかえたものを作製し、子供に興味をもたせるようにした。④材質には、小児は発汗汚染が激しいため、ジャージ、裏ネル、木綿、胸・背部にタオル地を裏打ちしたものをを用いた、などの点を考慮した。

試作した抑制衣を使用した結果、抑制固定が児にとって恐怖心をやわらげ、安全に処置し易くなった。又家族からも、他科受診の際にも使用されており使用頻度がとても高い。又車椅子からの転落防止にも抑制衣の一部のみを使用したり、処置台に付けたりして使用している。

(厚生省神経疾患研究委託「筋ジストロフィー症の療護に関する臨床社会学的研究」班昭和54年度班会議)

---

\* 神経筋病棟

\*\* 国立武蔵療養所長



---

### III 診 療 概 要

---



## Ⅲ 診 療 概 要

### 1. 国立武蔵療養所診療状況

国立武蔵療養所の昭和54年度の診療科別外来患者数の実態および病棟別月別新入院患者数はそれぞれ表1. 表2のようである。

### 2. 神経科外来部門

前年度から神経内科, 小児神経科外来をそれぞれ週2回ずつ実施していたが, 外来患者数の増加に伴い, 診察室を増設し, 昭和54年5月より神経内科外来を月曜日に安藤一也部長, 高木昭夫室長, 向山昌邦医長が, 水曜日に里吉栄二郎センター長が担当し, 小児神経科外来を月曜日に桜川宣男室長が, 木曜日に有馬正高部長が担当し, 外来診療をおこなっている。

外来患者数は表3の通り漸次増加しており, 現在の診察室では手狭なため, 特殊診療棟として神経内科・小児神経科外来を中心とする施設が昭和55年度に建築されることになっている。

早急な外来棟の建築と同時に脳神経外科, 整形外科, 神経耳鼻科, 神経眼科, 内科など関連診療科目の職員と設備・診療機器の充実が必要と思われる。

### 3. 神経科病棟部門

神経筋病棟(武蔵療養所7号館)として完成している120床のうち, すでに開棟されていた1病棟40床に加え, 昭和54年5月より, さらに1病棟40床が開棟され, それぞれ神経内科病棟(7-2病棟), 小児神経科病棟(7-1病棟)として入院患者を受入れている。

向山昌邦医長のもとに, 神経内科病棟は春原経彦, 村本 治医師が, 小児神経科病棟は高田邦安, 東條 恵, 仲村佳久医師が病棟診療に従事している。

入退院患者数の月別統計は表4の通りで, 入院患者数は着実な伸びをみせており, 疾患の種類は表5の通り, 筋ジストロフィー症, 神経難病をはじめ多彩である。

病棟症例検討会を1~2カ月に1回の割で開き, 入院症例について神経内科, 小児神経科, 精神科の医師をはじめパラメディカルスタッフを加えて幅広い討議をおこなっている。検討会で提示した症例は表6の通りである。

病棟看護職員も神経内科病棟垣花和子婦長, 小児神経科病棟當間節子婦長を中心として入院症例ごとの受持医を含めた検討会を1~2週に1回の割で開き, また, 厚生省神経疾患研究委託「筋ジストロフィー症の療護に関する臨床社会学的研究」班および厚生省特定疾患「難病の治療・看護に

### III 診療概要

関する研究」班に所属し、それぞれのテーマについて調査研究と研究成果の発表をおこなった。

病棟の運営は現在の診療要員では手一杯の状態であり、今後、入院予約をしている患者の受け入れを促進し、診断と治療をすすめてゆくためには、医師および看護婦（士）の増員が必要である。

さらに、表5のように入院患者は全例ともなんらかの身体機能障害を有し、機能訓練などの理学療法、作業療法、言語訓練が必須である。55年4月よりPTが1名配置されることになったが、現在のように病棟の一部での姑息的な機能訓練では神経筋病棟としての機能を果すことができず、外来患者も含めて本格的なリハビリテーションの可能な施設の建築と器具の整備、PT、OT、STの充足が早急に必要である。

また、難治性の疾患が多いために患者の社会的、家庭のおよび心理面でも種々の問題があり、ケースワーク活動が病棟の運営に必要で、7-1病棟の非常勤ケースワーカーに加えて、55年4月より7-2病棟にもケースワーカーが1名配置されることになりその活躍が期待されている。

いづれにしても医師、看護婦の増員と共に、これらのパラメディカルスタッフの充足が今後の診療活動の発展に不可欠である。

（医長 向山昌邦）

表1 国立武蔵療養所外来患者数の実態（昭和54年度）

|     | 精神科   |      |        |       | 神経科（神経内科・神経小児科） |      |       |      | 歯科  |      |       |      | デイクエア |       | 診療日数 |  |
|-----|-------|------|--------|-------|-----------------|------|-------|------|-----|------|-------|------|-------|-------|------|--|
|     | 新     |      | 再      |       | 新               |      | 再     |      | 新   |      | 再     |      | 延数    | 1日平均  |      |  |
|     | 実数    | 1日平均 | 延数     | 1日平均  | 実数              | 1日平均 | 延数    | 1日平均 | 実数  | 1日平均 | 延数    | 1日平均 |       |       |      |  |
| 54年 |       |      |        |       |                 |      |       |      |     |      |       |      |       |       |      |  |
| 4月  | 118   | 4.9  | 4,609  | 192.0 | 24              |      | 82    |      | 30  | 1.3  | 239   | 10.0 | 483   | 20.1  | 24   |  |
| 5月  | 179   | 7.2  | 4,838  | 193.5 | 44              |      | 116   |      | 27  | 1.1  | 192   | 7.7  | 527   | 21.1  | 25   |  |
| 6月  | 142   | 5.5  | 4,459  | 171.5 | 35              |      | 116   |      | 37  | 1.4  | 179   | 6.9  | 501   | 19.3  | 26   |  |
| 7月  | 95    | 3.7  | 4,484  | 172.5 | 36              |      | 153   |      | 56  | 2.2  | 234   | 9.0  | 501   | 19.3  | 26   |  |
| 8月  | 100   | 3.8  | 4,183  | 160.9 | 35              |      | 147   |      | 23  | 0.9  | 135   | 5.2  | 383   | 14.7  | 26   |  |
| 9月  | 103   | 4.5  | 4,318  | 187.7 | 31              |      | 137   |      | 48  | 2.1  | 159   | 6.9  | 433   | 18.8  | 23   |  |
| 10月 | 95    | 3.7  | 4,569  | 175.7 | 47              |      | 206   |      | 56  | 2.2  | 227   | 8.7  | 552   | 21.2  | 26   |  |
| 11月 | 100   | 3.8  | 4,539  | 189.1 | 31              |      | 165   |      | 36  | 1.5  | 188   | 7.8  | 559   | 23.3  | 24   |  |
| 12月 | 90    | 3.9  | 4,757  | 206.8 | 29              |      | 213   |      | 35  | 1.5  | 197   | 8.6  | 398   | 17.3  | 23   |  |
| 55年 |       |      |        |       |                 |      |       |      |     |      |       |      |       |       |      |  |
| 1月  | 112   | 4.9  | 4,198  | 182.5 | 33              |      | 188   |      | 49  | 2.1  | 186   | 8.1  | 454   | 19.7  | 23   |  |
| 2月  | 100   | 4.2  | 4,527  | 188.6 | 33              |      | 199   |      | 43  | 1.8  | 255   | 10.6 | 550   | 22.9  | 24   |  |
| 3月  | 118   | 4.7  | 4,680  | 187.2 | 35              |      | 247   |      | 49  | 2.0  | 205   | 8.2  | 568   | 22.7  | 25   |  |
| 合計  | 1,352 | 4.6  | 54,161 | 183.6 | 413             |      | 1,969 |      | 489 | 1.7  | 2,396 | 8.1  | 5,909 | 20.03 | 295  |  |

注1. 精神科再来患者数の中にはデイクエア分も含んでいる（従ってデイクエア分は再掲である）

2. 神経科は外来診療日が週1～2回なので1日平均は算出しなかった

3. 歯科には第二共済組合員は含まない。

Ⅲ 診療概要

表 2 国立武蔵療養所病棟別月別新入院患者数

(昭和54年度)

| 診療月<br>病棟  | 54 |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    | 55  |  |  | 合計 |
|------------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|-----|--|--|----|
|            | 4  | 5  | 6  | 7  | 8  | 9  | 10 | 11 | 12 | 1  | 2  | 3  |     |  |  |    |
| 1-1 (脳器質)  |    |    |    |    |    |    |    | 1  |    |    |    |    | 1   |  |  |    |
| 1-2 (てんかん) | 3  | 1  |    |    | 2  | 2  | 2  |    | 2  | 3  | 3  | 2  | 20  |  |  |    |
| 1-3 (女子急性) | 4  | 1  | 1  | 3  |    | 3  | 3  | 2  | 1  | 2  | 5  | 4  | 29  |  |  |    |
| 1-4 (男子急性) | 1  | 2  | 4  | 5  | 4  | 4  | 5  | 1  | 3  | 2  | 6  | 3  | 40  |  |  |    |
| 2-1 (男子慢性) |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |     |  |  |    |
| 2-3 (結核合併) | 2  | 2  | 2  | 3  | 2  | 3  | 3  | 3  | 2  | 2  | 1  | 2  | 27  |  |  |    |
| 3-1 (女子慢性) |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    | 2  |    | 2   |  |  |    |
| 3-2 (男子慢性) |    |    | 1  |    |    |    |    |    |    |    |    |    | 1   |  |  |    |
| 3-3 (女子慢性) |    | 1  |    | 1  |    | 1  | 1  | 1  | 1  |    |    | 1  | 7   |  |  |    |
| 4-1 (老年精神) |    | 1  | 1  |    |    |    |    |    |    |    | 2  |    | 4   |  |  |    |
| 4-2 (男子急性) | 2  | 1  | 2  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  |    | 1  | 2  | 14  |  |  |    |
| 4-3 (中毒)   | 8  | 11 | 19 | 8  | 14 | 15 | 13 | 6  | 10 | 14 | 17 | 6  | 141 |  |  |    |
| 4-4 (男子慢性) |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    | 1  | 1   |  |  |    |
| 5-2 (社会復帰) | 1  | 2  |    |    | 2  | 2  | 2  |    |    |    | 3  |    | 12  |  |  |    |
| 5-3 (社会復帰) |    | 2  | 1  | 2  |    | 2  | 2  |    |    | 3  | 2  | 2  | 16  |  |  |    |
| 精神合計       | 21 | 24 | 31 | 23 | 25 | 33 | 32 | 15 | 20 | 26 | 42 | 23 | 315 |  |  |    |
| 6-1 (重心)   |    |    |    |    |    | 1  |    |    |    |    |    |    | 1   |  |  |    |
| 6-2 (重心)   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |     |  |  |    |
| 重心合計       |    |    |    |    |    | 1  |    |    |    |    |    |    | 1   |  |  |    |
| 7-1 (小児神経) | 6  | 10 | 6  | 8  | 9  | 4  | 7  | 1  | 3  | 8  | 6  | 9  | 77  |  |  |    |
| 7-2 (神経内科) |    | 17 | 4  | 7  | 4  | 6  | 4  | 9  | 3  | 4  | 4  | 4  | 66  |  |  |    |
| 神経合計       | 6  | 27 | 10 | 15 | 13 | 10 | 11 | 10 | 6  | 12 | 10 | 13 | 143 |  |  |    |
| 総計         | 27 | 51 | 31 | 38 | 38 | 44 | 43 | 25 | 26 | 38 | 52 | 36 | 459 |  |  |    |



表 3 神経内科および小児神経科外来患者数月別統計表

Ⅲ 診療概要  
(昭和54年度)

| 診療月  | 神 經 内 科 |        |        | 小 児 神 経 科 |        |        |        |
|------|---------|--------|--------|-----------|--------|--------|--------|
|      | 新来(実数)  | 再来(延数) | 計 (延数) | 診療月       | 新来(実数) | 再来(延数) | 計 (延数) |
| 54 4 | 13      | 37     | 50     | 54 4      | 11     | 45     | 56     |
| 5    | 29      | 64     | 93     | 5         | 15     | 52     | 67     |
| 6    | 24      | 60     | 84     | 6         | 11     | 56     | 67     |
| 7    | 24      | 101    | 125    | 7         | 12     | 52     | 64     |
| 8    | 21      | 71     | 92     | 8         | 14     | 76     | 90     |
| 9    | 21      | 71     | 92     | 9         | 10     | 66     | 76     |
| 10   | 20      | 113    | 133    | 10        | 27     | 93     | 120    |
| 11   | 22      | 87     | 109    | 11        | 9      | 78     | 87     |
| 12   | 14      | 100    | 114    | 12        | 15     | 113    | 128    |
| 55 1 | 21      | 99     | 120    | 55 1      | 12     | 89     | 101    |
| 2    | 16      | 92     | 108    | 2         | 17     | 107    | 124    |
| 3    | 14      | 124    | 138    | 3         | 21     | 123    | 144    |
| 計    | 239     | 1, 019 | 1, 258 | 計         | 174    | 950    | 1, 124 |

表 4 54年度 7 病棟入退院患者数月別統計表

| 診療月  | 神経内科病棟<br>(7-2病棟) |     | 小児神経科病棟<br>(7-1病棟) |     |
|------|-------------------|-----|--------------------|-----|
|      | 入 院               | 退 院 | 入 院                | 退 院 |
| 54 4 |                   |     | 6                  | 2   |
| 5    | 17                | 1   | 10                 | 17  |
| 6    | 4                 | 4   | 6                  | 12  |
| 7    | 7                 | 6   | 8                  | 3   |
| 8    | 4                 | 7   | 9                  | 10  |
| 9    | 6                 | 3   | 4                  | 6   |
| 10   | 4                 | 5   | 7                  | 6   |
| 11   | 9                 | 7   | 1                  | 1   |
| 12   | 3                 | 5   | 3                  | 5   |
| 55 1 | 4                 | 3   | 8                  | 6   |
| 2    | 4                 | 2   | 6                  | 5   |
| 3    | 4                 | 3   | 9                  | 4   |
| 計    | 66                | 46  | 77                 | 77  |

Ⅲ 診療概要

表 5 54年度7病棟入院患者内訳

|           | 神経内科病棟<br>(7-2病棟) | 小児神経科病棟<br>(7-1病棟) |
|-----------|-------------------|--------------------|
| 筋ジストロフィー症 | 8                 | 13                 |
| その他の筋疾患   | 11                | 12                 |
| 運動ニューロン疾患 | 11                | 3                  |
| パーキンソン病   | 5                 | 0                  |
| ハンチントン舞蹈病 | 5                 | 0                  |
| 脊髄小脳変性症   | 4                 | 3                  |
| 脱髄疾患      | 5                 | 1                  |
| 脳変性疾患     | 6                 | 6                  |
| 先天性奇型     | 0                 | 18                 |
| 末梢神経疾患    | 3                 | 0                  |
| その他の神経疾患  | 8                 | 21                 |
| 計         | 66                | 77                 |

## 表 6 54年度 7 病棟症例検討会提示症例表

昭和54年 5 月14日 神経内科担当

幼児期発症の進行性小脳失調症状を呈する 2 症例  
(脊髄小脳変性症)

昭和54年 6 月25日 小児神経科担当

Hemimegalencephaly, hemihypertrophy, hemipigmentation, mental retardation, epilepsy を  
呈する 2 症例.  
(Linear Nevi syndromes)

昭和54年 7 月23日 神経内科担当

Painful seizure の 1 例.  
(多発性硬化症)

昭和54年10月 8 日 小児神経科担当

1 年半の経過で除皮質硬直に陥った 8 才男子例  
(Adrenoleukodystrophy)

昭和54年11月12日 神経内科担当

眼球運動障害, 頸部後屈位の dystonic rigidity, 痴呆を呈する 67 才女性例  
(核上性麻痺の疑)

昭和55年 1 月14日 小児神経科担当

特異な顔貌と精神発達遅滞を呈する 4 才男子  
(Sanfilippo's disease)

昭和55年 2 月18日 神経内科担当

Pes cavus をもつ Sensori-motor neuropathy の 1 例  
(Idiopathic chronic polyneuropathy)

昭和55年 3 月17日 小児神経科担当

小脳失調を呈する 2 症例  
(Myoclonic epilepsy?)



---

IV 別 項

---



(別項 1)

# 1. 国立神経センター(仮称) 設立準備委員会中間報告 (S. 52. 1)

## 1. はじめに

進行性筋ジストロフィー症、精神薄弱、脳性麻痺、変性性神経疾患、精神疾患などの精神・神経・筋疾患および発達障害は、その多くのものが原因不明であり、治療方法も予防方法もまだ確立していない。このために、患者はもちろん家族の苦悩は、測り知れないものがある。

これらの難治疾患に対する医療と研究を速かに整備、充実すべきだとする世論に依って、厚生省は昭和39年以降、筋ジストロフィーおよび重症心身障害の専門病床の整備を進めるとともに、「進行性筋ジストロフィーの成因と治療」、「心身障害の発生予防」の研究の強化を計り、また昭和47年度以後には、重症筋無力症、筋萎縮性側索硬化症、多発性硬化症などの神経系難病の研究を推進して今日に至っている。しかし、その成果は必ずしも満足すべきものではないとして、これらの難治疾患の原因解明と治療開発をより一層推進するために、医学のみならず、関連諸科学を含めた大規模な総合的研究機構を、国家的見地に立って建設する必要があることが各方面から要望された。

このような状況のもとで、昭和43年には国立脳・神経センターの構想が国立武蔵療養所から厚生省に提出され、さらに昭和48年からは患者家族と研究者の協力により、この種の研究機構の構想が検討された。昭和49年には厚生大臣官房科学技術審議官室が、精神・神経・筋・発達障害研究体制検討会(委員長森山豊)を設置し、昭和50年に中間報告をまとめた。翌昭和51年、国立精神・神経・筋・発達障害センター(仮称)発足のための施設整備費が認められ、具体化の第一歩を踏み出した。昭和51年1月、本センター設立準備委員会の設置が決まり、16名の委員が厚生省事務次官より委嘱された(表1)。

本委員会は昭和51年1月から8月迄に8回(その他小委員会2回)開催され、毎回長時間の熱心な討議が行なわれた。細部についてはまだ十分検討が加えられていない憾みがあるが、現在迄に得られた本委員会の結論の大綱をここに報告する。

## 2. 目標と使命

本センターが対象とする精神疾患、神経・筋疾患、発達障害は各種の解明困難な疾患を含んでるが、おむね次の3群に大別される。

1. 進行性筋ジストロフィー症等の神経・筋・変性性疾患群
2. 代謝異常などによる精神疾患群及び神経疾患群

#### IV 別 項

##### 3. 染色体異常および胎内・周産期異常による精神薄弱、脳性麻痺などの発達障害群

これらの疾患群および発達障害群は、従来精神科、神経内科、小児科、産科などの諸分野でそれぞれの専門的立場から研究されてきた。

しかしこれらは中枢神経系、末梢神経系、神経・筋接合を経て筋に至る一貫した機能系に障害のある難治疾患であるため、共通の基盤に立って研究を行なうことが可能かつ必要であり、臨床医学の関連諸分野および基礎医学のみならず、近年めざましい進歩をとげている分子生物学、発生学、遺伝学、情報処理などの関連諸科学との密接な協力のもとに、原因の解明、新しい治療法の開発、予防法の確立を期することを目標とする。

このような目標の達成には既存の治療・研究体制から脱皮し、新しい発想のもとに関連諸分野の研究者が協力しうる組織、機構、運営を考慮することが必要である。

本センターの目標と使命は具体的にはおよそ次のように要約される。

1. 本センターは目的指向型の研究施設として、合理的かつ効果的な研究と施設の運営を行なう。
2. 本センターは独自の研究施設、組織と十分な研究費をもつとともに、大型研究プロジェクトを全国的に推進できる中枢としての機能をもつ。
3. 本センターは医学のみならず、分子生物学、発生学、遺伝学、情報処理などの関連諸科学の総力を結集できる組織と機構をもち、研究プロジェクトに対応できる流動的な研究態勢を確立する。
4. 本センターは共通の目標をもつ全国の大学その他の医療、研究機関と密接な連携を保ち、門戸を広く開放して施設の共同利用、人的交流をはかる。
5. 本センターは流動研究員制度およびレジデント制度を設け、国内および、国外からの研究者を受け入れる体制を備える。
6. 本センターは研究を推進するために必要な国内および国外の情報を収集し、国内および国外に対して情報サービスを行なう。
7. 本センターに研究者、専門医、その他の医療従事者、医療保健従事者などの養成、研修のための施設を設ける。

### 3. 名称及び設置場所

国立神経センター（仮称）と称し、東京都小平市小川東町 2620 国立武蔵療養所に設置する。



#### 4. 組織及び機構

厚生省設置法を改正して、国立がんセンターと同様の国立センターとする。国立武蔵療養所はセンターの病院部門に包括される。

センターはセンター長の下に研究所，病院，研修所，運営部を置き，センター長はセンター運営委員会および研究委員会を統轄して，各部門の連繋と円滑な運営をはかるものとする。

##### (1) 研究所

イ. 次に掲げる疾患研究部門8部及び基礎研究部門10部の計18部を設置する。

- (1) 疾患研究第1部（主として筋疾患）
- (2) 疾患研究第2部（主として先天性代謝異常）
- (3) 疾患研究第3部（主として周産期・胎内発達異常）
- (4) 疾患研究第4部（主として精神疾患）
- (5) 疾患研究第5部（主として変性性神経疾患）
- (6) 疾患研究第6部（主として染色体異常）
- (7) 疾患研究第7部（主として脳器質疾患）
- (8) 疾患研究第8部（主として発作性疾患）
- (9) 心身障害診断研究部
- (10) 疾患モデル動物開発部
- (11) 疫学研究部
- (12) 神経・筋微細構造研究部
- (13) 神経機能研究部
- (14) 代謝研究部
- (15) 分析化学研究部
- (16) 薬物反応研究部
- (17) 感染・免疫研究部
- (18) 発生・発達研究部

ロ. 共同利用部門として (1)情報センター（図書館を含む），(2)実験動物管理室，(3)中央機器室，(4)電子顕微鏡室，(5)アイソトープ室，(6)工作室，(7)写真室 を設置する。

##### (2) 病院

イ. 病棟部門：既設の病棟の他に，神経疾患および筋疾患のための病棟（120床）を新設し，将来300床程度とする。なおリハビリテーション施設を新設する。

#### IV 別 項

ロ. 外来部門：既設のものゝほかに、神経疾患、筋疾患および精神薄弱などの発達障害のための外来部門を新設し、全国の対象疾患々々への医療サービス（他の医療機関からの紹介、対象患者の追跡など）にあてる。

また、専門外来として、精神科、神経内科、神経小児科、神経外科、麻酔科、口腔外科を置き、常勤医をあてる。その他内科（循環器、内分泌、血液などの各科）、小児内科、整形外科、神経耳科、神経眼科、皮膚科、泌尿器科、産婦人科を設け、非常勤医をあてる。

ハ. 共同利用部門：センター病院としての機能を果たすため国立武蔵療養所の現有施設を拡充強化し、病院共同利用部門として次の各部を設置する。

- (1) 中央検査部（生化学、生理、血液、血清、微生物、診断用アイソトープなど）
- (2) 病理部（剖検センター、一般病理、神経病理）
- (3) 放射線部      (4) メディカル・リハビリテーション部      (5) 心理部
- (6) ソシアルワーク部

#### (3) 研 修 所

研究者、専門医、医療従事者、医療保険従事者の養成、研修を行なうための施設および宿舎を設置する。

#### (4) 運 営 部

庶務、会計、医事、調査、企画、図書、研修などの部局をおき、センター運営にあたる。

### 5. 職 員

本センターがその使命を達成するためには、高度の医療と研究の水準を確保するのに十分な人材をもつことが不可欠の条件である。そのためには医学および関連諸科学の優秀な研究者は勿論、その他情報部門（図書館司書を含む）、共同利用部門、実験動物管理部門に、専門技術と経験をもった技術者を充足することが必要である。また病院については、検査、リハビリテーション、ソシアルワーク、心理などのパラメディカル部門の職員を十分に持つことが必要である。

さらに重要なことは、流動研究員、併任研究員などの制度を活用して、全国の関連する医療・研究機関との交流を推進することである。

**(1) 研究所**

各研究部には次の職員を置くものとする。

|            |             |
|------------|-------------|
| 部長         | 1 名         |
| 室長（主任研究員）  | 2 - 4 名     |
| 研究員        | 4 - 8 名     |
| 技術員（研究助手）  | 6 - 10 名    |
| 事務員（秘書その他） | 1 - 2 名     |
|            | 計 14 - 25 名 |

その他に流動研究員若干名，併任職員若干名を置く。

**(2) 病院**

部長，医長，専任医員の他にレジデントを置き，病棟および外来の診療にあたるものとする。

医師，看護者，パラメディカル要員については，センターの使命にふさわしい高度の医療水準の確保にこと欠かないだけの定員が設定されなければならない。

なお研究所と病院の人事交流を緊密にするために併任制度を活用すべきである。

**6. 設立計画**

患者，家族の方々の期待に応えるためにも，センターの構想が一気に実現することを望むものであるが，現在の諸般の状況からは設立計画を段階的に遂行せざるを得ない。

まず研究所については，表2に示す18研究部門，共同利用部門，図書館，動物管理室などを完成するためには少なくとも17,000㎡の規模を必要とする。昭和52年10月に予定された開設のための第一次計画としては，昭和51年度予算7億円で4,400㎡（4階建）の建物が建設されることになった。また第一次計画として本委員会は基礎4部門（神経・筋微細構造研究部，神経機能研究部，代謝研究部，感染・免疫研究部）および疾患研究7部門（筋疾患，先天性代謝異常，周産期・胎内発達障害，精神疾患，変性性神経疾患，脳器質疾患の各疾患研究部および心身障害診断研究部）の計11部門をもって発足することを決定した。しかし，厚生省の要請により，第一次計画は基礎4部門，疾患研究4部門の計8部門で発足することになった。

研究のために必要な機器類の経費として27億円が計上されたが，初年度は13億円が予定されている。

研究要員については本委員会は8研究部で108名程度の専任職員が必要であるとしたが，第一次計画では8研究部門で26名（他に事務職員3名）が予定されているにすぎない。

#### IV別 項

病院部門には当面現在の国立武蔵療養所が充当されるが、センターの病院の機能としては不十分であるため、第一次計画として神経・筋疾患病棟（120床）の新設と、外来、中央検査部、病理部の拡充、整備を行なう。さらに第二次計画以後、リハビリテーション部の新設および神経・筋疾患の病床を300床に増設させるために必要な改築、整備を順次行なう。

第一次計画につゞく第二次、第三次整備計画（表3）を一日も早く完成し、構想に示されたセンターの機能が十分に発揮できるようにすべきである。

### 7. おわりに

患者、家族の方々と関係者の多年の努力が実って、本センターが建設の第一歩を踏み出したことはまことによろこばしい。これはひとえにこれらの方々の協力のたまものである。

この報告でも明らかにしたように、いま発足しようとするセンターの態勢はその任務の重いのに比べて、決して十分とは云えない。本委員会はセンターの将来に希望を託し、その完成に向かって力をつくしたいと思う。全国の患者、家族の方々はもとより、医療関係者、研究者、さらには広く国民各位の一層の理解と支援を願ってやまない。

昭和52年 1月

国立神経センター（仮称）設立準備委員会

委員長 秋元波留夫  
副委員長 里吉栄二郎

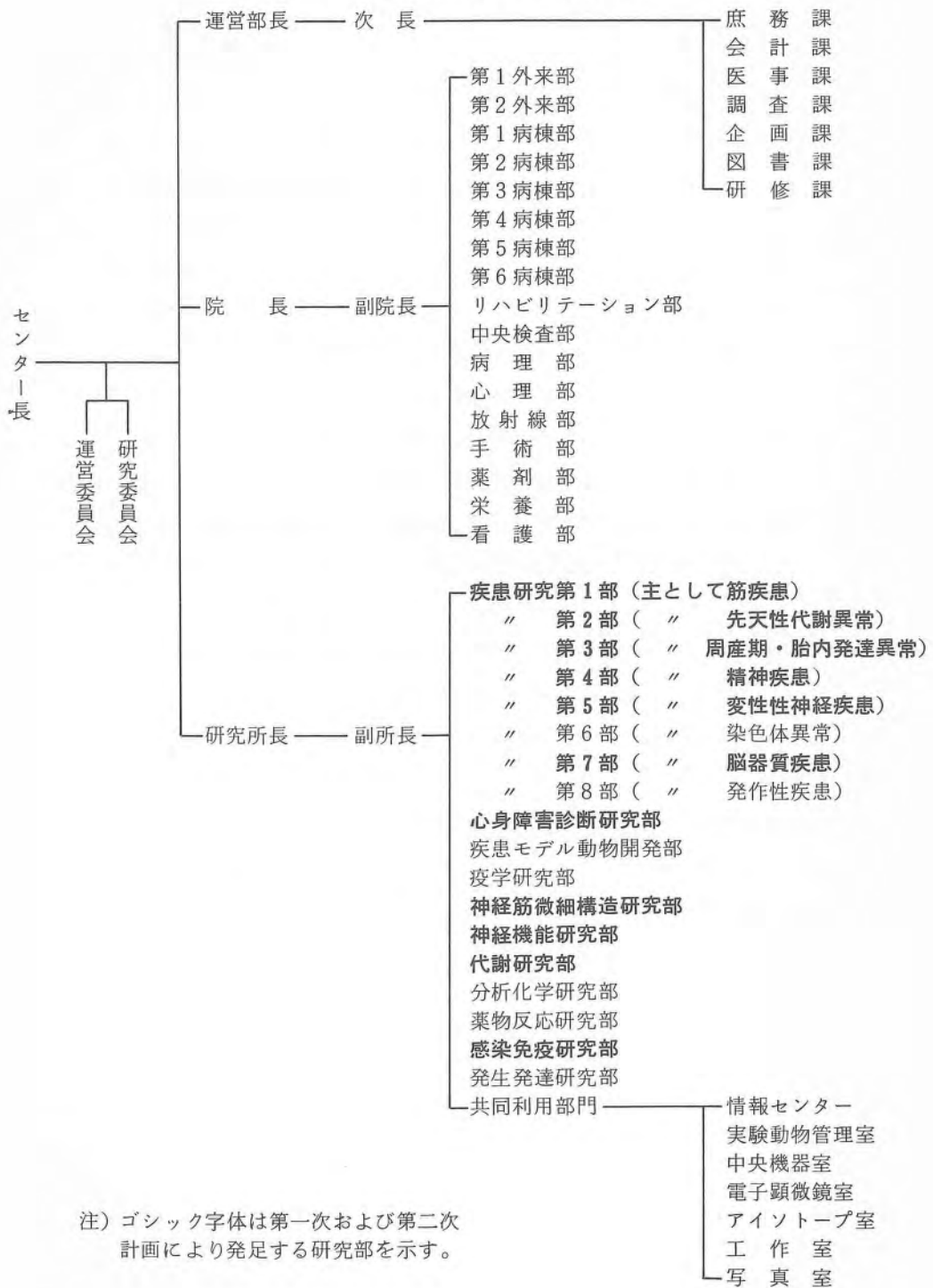
表 1. 国立神経センター（仮称）設立準備委員会委員名簿

| 氏 名       | 所 属                      |
|-----------|--------------------------|
| ◎ 秋 元 波留夫 | 国立武蔵療養所々長                |
| ○ 里 吉 栄二郎 | 東邦大学医学部教授（神経内科）          |
| 島 藺 安 雄   | 東京医科歯科大学教授，附属病院長（精神科）    |
| 椿 忠 雄     | 新潟大学医学部教授，脳研究所長（神経内科）    |
| 豊 倉 康 夫   | 東京大学医学部教授，附属脳研究施設長（神経内科） |
| 祖父江 逸 郎   | 名古屋大学医学部教授，附属病院長（神経内科）   |
| 成 瀬 浩     | 国立精神衛生研究所優生部長            |
| 森 山 豊     | 日本母性保護医協会長               |
| 福 山 幸 夫   | 東京女子医科大学教授（小児科）          |
| 塚 田 裕 三   | 慶応義塾大学医学部教授（生理学）         |
| 勝 沼 信 彦   | 徳島大学教授，附属酵素研究施設長（生化学）    |
| 江 橋 節 郎   | 東京大学医学部教授（薬理学）           |
| 生 田 房 弘   | 新潟大学脳研究所教授（実験病理学部）       |
| 黒 岩 義五郎   | 九州大学教授，脳神経病理研究施設長（神経内科）  |
| 山 中 和     | 厚生省大臣官房科学技術審議官           |
| 石 丸 隆 治   | 厚生省医務局長                  |

備 考：事務局 厚生省医務局国立療養所課

- ◎ 委員長
- 副委員長

表 2. 国立神経センター（仮称）の組織



注) ゴシック字体は第一次および第二次計画により発足する研究部を示す。

表3 整備計画

|                          | 研 究 所  | 病 院   |
|--------------------------|--|---|
| 第 一 次 計 画<br>(52～53年度)   | 一期工事(約4,400 m <sup>2</sup> )<br>8 研究部門発足<br>流動研究員, レジデント宿舎新設                           | 神経・筋病棟新設(120床)<br>病理部門新設<br>外来部門増設<br>中央検査部増設 |
| 第 二 次 計 画<br>(できるだけ早い時期) | 3 研究部門を増設(計11部)  | 神経・筋病床を300床に増床するために必要な病棟の改築, 整備を行なう           |
| 第 三 次 計 画<br>(なるべく早い時期)  | 7 研究部門を増設(計18部)<br>大型動物室, 図書館, 研修部門の新設<br>当初予定の規模にするため約13,000 m <sup>2</sup> の増築を必要とする | 必要部門の拡充, 整備, 改築を行なう                           |

### 国立神経センター（仮称）設立準備委員会経過

- 第 1 回 51. 1. 16 厚生省高木事務次官より本センターへの抱負開陳および委員委嘱  
精神・神経・筋・発達障害研究体制検討会の中間報告説明  
委員長に秋元委員を選出し、委員長より里吉委員に副委員長を委嘱  
センターの基本構想の検討
- 第 2 回 51. 2. 6 センターの基本方針の検討
- 第 3 回 51. 2. 24 センターの将来構想案決定
- 第 4 回 51. 3. 12 国立武蔵療養所視察  
研究所の第一次計画（11研究部）検討  
病院拡充，整備案（神経・筋病棟 120床新設）の検討
- 第 5 回 51. 3. 27 研究所，病院の第一次計画検討，決定
- 第 6 回 51. 4. 16 基礎研究部門，疾患研究部門別に各部門の面積配分，必要人員などの  
細部検討
- 第 7 回 51. 5. 11 研究所の必要機器の検討  
病棟新設（神経・筋病棟）に併せて，検査部，病理部，外来の増設決  
定
- 小委員会 51. 7. 16 昭和52年度予算要求案の定員および機器予算額の検討
- 小委員会 51. 7. 23 全上検討継続
- 第 8 回 51. 8. 11 昭和52年度予算要求（療養所課）の説明および討議  
センターの名称検討（その決定は委員長，副委員長に一任）  
センター設置について，石丸医務局長より厚生省設置法を早急に改正  
する旨の方針表明



## 附 記

厚生省医務局療養所課の昭和52年度予算要求は、下記左欄に示めたものであったが、昭和52年1月右欄に示めす内示があった。

|             | 要 求                                 | 内 示   |
|-------------|-------------------------------------|---|
| 必要機器設備費など   | 約 1,300,000 <sup>千円</sup>           | 624,000 <sup>千円</sup><br>(内宿舎整備費<br>100,000千円を含む) |
| 人 員         |                                     |   |
| 専 任 職 員     | 29人<br>(センター長1, 部長6,<br>研究員19, 事務3) | 15人<br>(センター長1, 部長6,<br>研究員 8, 事務0)               |
| 流 動 研 究 員   | 20人                                 | 20人   |
| 併 任 研 究 員   | 20人                                 | 20人   |
| レ ジ デ ント    | 19人                                 | 0人  |
| 賃 金 職 員     | 2人                                  | 2人  |
| その他         |                                     |   |
| 専 門 外 来 職 員 | 7人                                  | 5人  |

## 参 考 資 料

1. 国立脳・神経センターの構想：国立武蔵療養所 昭和43年 5月。
2. 国立精神神経センターの基本構想：国立武蔵療養所 昭和47年12月。
3. 精神・神経・筋・発達障害研究体制について（中間報告）：厚生省 昭和50年 3月。
4. 神経センター（仮称）設置について：厚生省 昭和51年 8月。

Ⅳ別 項  
(別項2)

## 2-A 神経センター流動研究員運営要領

(S53. 5. 22 国立武蔵療養所)

### 1. 目 的

神経センターの研究体制の方針即ち

- ア. 本センターではプロジェクト研究を中心に研究を行う。
  - イ. 共通の目的をもつ全国の大学、その他の医療機関と密接な連携を保ち、門戸を広く開放して施設の共同利用、人的交流をはかる。
  - ウ. 独自の研究施設、組織、研究委託費を総合的に活用し、大型研究プロジェクトを全国的に推進できる中枢としての機能をもつ。
- 以上の方針のもとに、研究員制度として、流動研究員制度を設け、国内および国外からの研究者を受け入れるものとする。

### 2. 募集方法

公募とし、公務員以外の者を対象として、募集要綱（昭和53年度は別紙1のとおり）を関連する大学、試験研究機関等に配布し希望者を募集する。

### 3. 選 考

研究委員会で選考する。神経センター内に、所長の任命する委員で構成された「研究委員会」を設け、その任務の一つとして流動研究員の応募者（別紙2. 流動研究員採用申請書を提出させる）の審査、選考を行い、所長にその結果を報告する。

### 4. 定数、任命及び任用期間

毎年度その定める各研究課題毎の定数内において所長が任命する。  
任用期間は6カ月以内の期間を定め任命する。  
但し、研究成果に基き、さらに6カ月以内の延長を認めることができる。

### 5. 身 分

国家公務員で、非常勤職員とする。

### 6. 服 務

その任期内について、国家公務員法第3章第7節（服務）各条の適用者となる。

## 7. 勤務時間

週33時間とする。

## 8. 災害補償

国家公務員災害補償法の適用を受ける。

## 9. 給 与

非常勤職員手当と、給与法第22条の定めるところにより支給する。

1) その基準は下記のとおりとし、その格付は「研究委員会」において検討し、所長に上申する。

|    |    |           |        |
|----|----|-----------|--------|
| A級 | 時給 | 2,000 円   |        |
|    | 月給 | 300,000 円 | 教授クラス  |
| B級 | 時給 | 1,700 円   |        |
|    | 月給 | 250,000 円 | 助教授クラス |
| C級 | 時給 | 1,500 円   |        |
|    | 月給 | 200,000 円 | 講師クラス  |
| D級 | 時給 | 1,100 円   |        |
|    | 月給 | 150,000 円 | 助手クラス  |

2) 通勤手当、扶養手当、期末手当、勤勉手当等其他手当は一切支給しない。

3) 食事、厚生施設等は、所内施設の利用を認める。

## 10. 適用時期

この規程は、昭和53年4月1日から適用する。

ただし、給与に関する事項は昭和53年5月1日から適用する。

#### Ⅳ別 項

(別項2)

### 2-B 研究委員会内規

神経センター流動研究員運営要領に基づき、流動研究員の採否、格付け、及びその評価を行なうため、下記の研究委員会を設ける。

研究委員会は神経センター長、各部部长をもって構成し、センター長が運営の任にあたる。

委員会の決定は多数決による。

流動研究員を段階にわけ、決定にあたっては、経歴及び研究業績を審査し、原則として下記の基準にしたがうものとする。

- A) 文部省大学令に基づく大学教授、又はそれに準ずる研究歴を有し、大学卒業後15年以上のもの
- B) 文部省大学令に基づく大学助教授、又は大学卒業後10年以上の研究歴を有するもの
- C) 文部省大学令に基づく大学講師、又は大学卒業後5年以上の研究歴を有するもの
- D) 大学卒業後3年以上の研究歴を有するもの、もしくはこれに準ずるもの

上記の大学とは4年制大学及びこれに準ずるものをさし、医学部医学科及び歯学部歯学科卒の場合は卒業の時点において既に2年の研究歴を有するものと認定する。

(別項3)

### 3. 神経疾患研究推進委員会規程

(設置目的)

**第1条** 神経センター研究活動推進を図るため、神経疾患研究推進委員会（以下「委員会」という。）を設置する。

2. 医務局長は、神経センターの研究活動に関し必要に応じ委員会の意見を聞くことができる。

(組 織)

**第2条** 委員会は、委員16名以内をもって組織し、会長1名を置く。

(委 員)

**第3条** 委員は、次の各号に掲げる者のうちから医務局長が委嘱する。

(1) 関係行政機関及び国立武蔵療養所の職員。

(2) 学識経験のある者。

(会 長)

**第4条** 会長は、国立武蔵療養所長の職にある者とする。

2. 会長は、会務を総理する。会長に事故あるときは、委員のうちからあらかじめ会長の指名する者がその職務を代理する。

(任 期)

**第5条** 委員の任期は2年とし、原則として継続した再任は認めない。

2. 委員に欠員を生じたときあらたに委嘱される委員の任期は、前任者の残任期間とする。

(評価部会)

**第6条** 委員会に評価部会を置くことができる。

2. 評価部会は、研究評価を行い、委員会に報告しなければならない。

3. 評価部会の委員は、委員会の委員の中から医務局長が依頼する者若干名とし、部会長を置く。

4. 評価部会に上記委員のほか、医務局長の依頼する専門委員若干名を置くことができる。

(開 催)

**第7条** 委員会（評価部会を含む。）は、必要に応じ医務局長が招集する。

(庶 務)

**第8条** 委員会の庶務は、国立武蔵療養所事務部において処理する。

(雑 則)

**第9条** この規程に定めるもののほか、委員会の運営に関し必要な事項は医務局長が会長と協議の

#### IV別 項

うえ定める。

(附 則)

1. この規程は、昭和53年11月7日から施行する。
2. この規程の施行後最初に委嘱する委員のうち医務局長の指定する者の任期は、本文の規定にかかわらず3年とする。

## 神経疾患研究推進委員会委員名簿

(昭和55年3月31日現在)

| 委員名     | 所属及び役職名                                  |
|---------|--|
| 秋元波留夫   | 国立武蔵療養所名誉所長 (S.53.11.1~S.55.10.31)       |
| 江橋節郎    | 東京大学医学部薬理学教授 (S.53.11.1~S.56.10.31)      |
| 島 蘭 安 雄 | 東京医科歯科大学医学部神経精神学教授 ( " )                 |
| 祖父江逸郎   | 名古屋大学医学部長 ( " )                          |
| 多田啓也    | 東北大学医学部小児科学教授 (S.53.11.1~S.55.10.31)     |
| 塚田裕三    | 慶応義塾大学医学部生理学教授 ( " )                     |
| 椿 忠 雄   | 新潟大学脳研究所長 ( " )                          |
| 福山幸夫    | 東京女子医科大学医学部小児科学教授 (S.53.11.1~S.56.10.31) |
| 湊 治 郎   | 国立療養所西多賀病院長 ( " )                        |
| 山田憲吾    | 前徳島大学長 (S.53.11.1 ~ S.55.10.31)          |
| 竹中浩治    | 厚生省大臣官房科学技術審議官                           |
| 大谷藤郎    | " 公衆衛生局長                                 |
| 竹内嘉巳    | " 児童家庭局長                                 |
| 猪瀬 正    | 国立武蔵療養所長                                 |
| 里吉栄二郎   | 国立武蔵療養所神経センター長                           |

## 昭和54年度神経疾患研究推進委員会議題

| 開催地            | 議 題  |
|----------------|--|
| 昭. 54年4月20日(金) | <ol style="list-style-type: none"> <li>1) 神経センターの現状について</li> <li>2) 昭和54年度神経疾患研究委託費にかかる研究課題の決定について</li> <li>3) 同委託費にかかる研究課題の公募について</li> <li>4) 神経疾患研究推進委員会評価部会の設置について</li> <li>5) その他</li> </ol> |
| 昭. 55年3月21日(金) | <ol style="list-style-type: none"> <li>1) 神経センターの現状について</li> <li>2) 昭和55年度神経疾患研究委託費にかかる研究課題の決定について</li> <li>3) 神経疾患研究推進委員会評価部会の運営について</li> <li>4) その他</li> </ol>                                 |

## IV別 項

(別項 4)

## 4. 研究部門将来計画

| 部                          | 室 名  | 主として行う研究テーマ  |
|----------------------------|--|--|
| 疾病研究第1部<br>(主として筋疾患)       | 1. 筋ジストロフィー<br>2. 筋炎および筋無力症<br>3. 先天性筋疾患       | 筋ジストロフィーの病因の解明と治療法の研究<br>筋炎および筋無力症の病因, 病態生理, 治療法の研究<br>先天性筋疾患の分類, 成因, 代謝, 治療の研究                  |
| 疾病研究第2部<br>(主として発生・発達障害疾患) | 1. 精神遅滞<br>2. 運動感覚発達障害<br>3. 奇形症候群             | 精神遅滞の機序の生化学, 形態学, 症候学的研究と対策<br>運動感覚発達障害の生化学, 形態学, 症候学的研究と対策<br>脳奇形および随伴症状の発現機序の研究と予防対策           |
| 疾病研究第3部<br>(主として精神疾患)      | 1. 精神分裂病<br>2. 躁うつ病<br>3. 非定型精神病               | 精神分裂病の成因の生化学的および薬理学的研究<br>躁うつ病の成因の生化学的および薬理学的研究<br>非定型精神病の病態と成因に関する生理学のおよび生化学的研究                 |
| 疾病研究第4部<br>(主として変性性神経疾患)   | 1. 脊髄小脳変性症<br>2. 運動ニューロンおよび末梢神経疾患<br>3. 錐体外路疾患 | 脊髄小脳変性症の成因, 病態の解明と治療法の研究<br>運動ニューロン・末梢神経疾患の成因, 病態の解明と治療法の研究<br>パーキンソン病などの錐体外路疾患の原因, 病態の解明と治療法の研究 |
| 疾病研究第5部<br>(主として先天代謝異常症)   | 1. 遺伝生化学<br>2. 分子病<br>3. 治療開発                  | 先天代謝異常症の遺伝生化学に関する研究<br>酵素蛋白異常などを伴ういわゆる分子病の本態解明に関する研究<br>先天代謝異常症の治療の開発に関する研究                      |
| 疾病研究第6部<br>(主として脳器質疾患)     | 1. 第1研究室<br>2. 第2研究室<br>3. 第3研究室               | 多発性硬化症などの脱髄性疾患, 中毒性神経疾患, 脳炎などの中枢神経感染症, 脳血管障害, 脳腫瘍, 脳外傷, 初老期および老年期などの多くの脳器質                       |



| 部                         | 室 名  | 主として行う研究テーマ  |
|---------------------------|--|--|
|                           |  | 疾患につき適時これらの疾患の本態および治療法につき研究する  |
| 疾病研究第7部<br>(主として染色体異常性疾患) | <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 常染色体異常症</li> <li>2. 染色体切断症候群</li> <li>3. 染色体構造</li> </ol>    | <p>ダウン症候群などの常染色体異常症の成因, 予防, 治療に関する研究</p> <p>染色体の不安定性を伴う疾患の成因, 予防, 治療に関する研究</p> <p>染色体の分析技術の開発と構造の個体差などに関する研究</p>               |
| 疾病研究第8部<br>(主として発作性疾患)    | <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 本態性てんかん</li> <li>2. 症候性てんかん</li> <li>3. 発作性脳幹障害</li> </ol>   | <p>原因不明(本態性)てんかんの成因に関する生理学および生化学的研究</p> <p>種々の脳障害に基づくてんかん, 特に難治性てんかんの本態, 治療に関する研究</p> <p>ナルコレプシーなど脳幹性の意識・睡眠障害の本態, 治療に関する研究</p> |
| 診断研究部                     | <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 微量定量</li> <li>2. 新生児スクリーニング</li> <li>3. 発達異常診断開発</li> </ol>  | <p>生体異常成分の微量測定法の開発に関する研究</p> <p>代謝異常等の新生児期早期診断に関する研究</p> <p>精神発達障害, 自閉症などの早期診断に関する研究</p>                                       |
| 疾患モデル動物用開発研究部             | <ol style="list-style-type: none"> <li>1. モデル動物診断</li> <li>2. モデル動物遺伝解析</li> <li>3. モデル動物生産</li> </ol> | <p>神経・筋疾患モデル動物の開発に関する研究</p> <p>神経・筋疾患モデル動物の遺伝的因子の分析</p> <p>神経・筋疾患モデル動物の生産と維持</p>   |
| 疫学研究部                     | <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 疾患統計調査</li> <li>2. 遺伝疫学</li> <li>3. 実験疫学</li> </ol>          | <p>神経・筋疾患の発生率, 有病率, 死亡率等に関する調査</p> <p>神経・筋疾患の遺伝, 遺伝子頻度, 外因等の分析</p> <p>疫学的に推定される諸因子と疾病の関連に関する実験的研究</p>                          |

## IV 別 項

| 部         | 室 名   | 主として行う研究テーマ   |
|-----------|---|---|
| 微細構造研究部   | <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 超微構造</li> <li>2. 微細組織化学</li> <li>3. 生 体 膜</li> </ol>    | <p>神経・筋組織における正常および病的構造の電子顕微鏡による研究</p> <p>細胞・組織内の元素分布の変動の分析電顕による解析と構造・機能の関連に関する研究</p> <p>生体膜の構造および抗原・レセプター分布の免疫学的手法による解析</p> |
| 機 能 研 究 部 | <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 筋生理学</li> <li>2. 神経生理学</li> <li>3. 病態生理学</li> </ol>     | <p>筋収縮およびそれに関連する機能の生理学的研究</p> <p>神経の興奮・伝導およびそれに関連する機能の生理学的研究</p> <p>神経系・筋疾患における機能変化の生理学的研究</p>                              |
| 代 謝 研 究 部 | <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 神経化学</li> <li>2. 発達生化学</li> <li>3. 細胞化学</li> </ol>      | <p>神経系の化学的構成および代謝機構の研究</p> <p>神経系の発達に伴う生体物質の代謝機構の変動に関する研究</p> <p>ニューロン・グリアなどの神経系の細胞における生化学的調節機構の研究</p>                      |
| 免 疫 研 究 部 | <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 免疫発現機構</li> <li>2. 免疫化学</li> <li>3. 免疫異常</li> </ol>     | <p>免疫発現機構の細胞学および免疫化学的研究</p> <p>免疫関連因子の化学的構造と機能に関する研究</p> <p>神経・筋疾患における免疫異常の解析と制御機構に関する研究</p>                                |
| 分析化学研究部   | <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 生体物質分析</li> <li>2. 物質構造解析</li> <li>3. 生物有機化学</li> </ol> | <p>未知の生体物質の分離および化学構造の研究</p> <p>生体高分子物質の構造のX線回析, 核磁気共鳴, 電子スピン共鳴などによる研究</p> <p>生体物質とその近縁物質の化学合成と, これを用いて生体物質の化学反応機構の研究</p>    |
| 薬物作用研究部   | <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 細胞薬理</li> <li>2. 発生薬理</li> </ol>                        | <p>細胞内における薬物の反応機構に関する研究</p> <p>発生, 分化の過程における薬物作用の変動の研究</p>  |

| 部                  | 室 名                           | 主として行う研究テーマ  |
|--------------------|-------------------------------|--|
|                    | 3. 薬物代謝                       | 生体内における薬物代謝の機構に関する研究   |
| 発 生 生 物 学<br>研 究 部 | 1. 細胞分化<br>2. 分子発生<br>3. 発生生理 | 発生過程における細胞分化の機構の生理学のおよび生化学的研究<br>発生過程における核酸・蛋白質などの機能の分子レベル的研究<br>発生・発達に伴う生体機能の制御機構に関する研究 |
| 生体工学研究部            | 1. 生体情報<br>2. 機器開発            | 生体情報の受容，制御および動作発現に関する電子工学的研究<br>神経・筋疾患に対する医用機器の開発と応用                                     |

---

国立武蔵療養所神経センター年報  
第2号〔昭和54年度〕

発行 昭和55年3月31日  
発行者 里吉栄二郎  
編集者 安藤一也  
印刷 株式会社文栄社

---

国立武蔵療養所神経センター  
〒187 東京都小平市小川東町2620  
電話 0423 (41) 2711

---