

国立武蔵療養所神経センター年報

第 6 号

昭和58年度

National Center for Nervous,  
Mental and Muscular Disorders

—1983—

# 国立武蔵療養所神経センター年報

第 6 号

昭和58年度



## は し が き

神経センターは発足以来本年度で満6年を経過した。昭和53年1月、8部16室で発足した神経センターは昭和56年度までは毎年1部2ないし3室の増設が行われ、11部門25室までに発展をとげたが、その後は第2研究棟の設立を期待しつつ部門の増設は一時中休みの状況にある。神経疾患研究委託費も初年度は1億9千万、6研究課題で発足したが、昭和56年度国際障害者年を記念し、総額4億円に達し、16研究課題について研究委託が行われ、これに関与している研究者の総数は300名をこえる状況にまで達している。昭和56年度以後は政府の財政状態の悪化や行政改革などの進展にともない、やゝ足踏みの状況となつてはいるが、病院の診療部門の方は昭和56年度には新たに特殊診療棟が開かれ、昭和57年度には立派なりハビリテーション施設の完成と理学診療科の開設、昭和58年度には手術棟および中央材料室の整備が終了した。昭和58年度からは4階建2800㎡の実験動物研究棟の建設が開始され、60年度には運用出来るものと期待している。病棟に関しては発足時に予定した第7病棟3階40床も昭和58年度には活動が始まり、小児神経科40床、神経内科80床、重症心身障害児病床80床の200床が精神科と並んで運用されているが、看護定員、患者の重症度、診療設備および態勢の問題など多くの点から満床になるには至っていない。

神経センター設立準備委員会が昭和52年に立案した整備計画からみると、研究所については既に第2次計画は終了し、第3次計画の段階に入っており、新しい第2研究棟の建設と新しい部門の増設が目下の問題といえよう。一方診療面では遅れが目立っており整備計画のうち第1次計画が終りつつある程度に止まっている。昨年以來病床への入院患者の確保が保険財政の上から強く要求され、病棟、病床内容の転換を計りつつあった計画が一時中止の状況に止まっているのは神経センター移行への準備をととのえる上で大きな障害になっている。この点診療内容の整備と転換をもう少し年次計画にそつて発展させて行く必要があるものと考えている。

国家財政の厳しい折にも拘らず過去6年をふり返ると可成りの整備が着々と進行しつつあることは確かで、国立神経センターへの移行への時期が次第に近づきつつあるものと大いに期待しているのが現状である。6年前に国立神経センター設立の希望に燃え、大学や病院、研究所からこのセンターに集まって来た研究者も7年目に入って今後の発展の仕方に誰しも

関心を向けざるを得ないのが実状であろう。行政改革の推進に全力をあげている現在、過大な設備の増設は望まないが、国立神経センターへの移行を一日も早く実行し、将来計画への道程を早く立てることが現在最も望まれるところである。神経センターにともった新しい力と協力が失われないように、今後の神経センターへの移行、設立を一日も早く実現出来ることを心から祈っている。

昭和59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. 1983年のあゆみ	1
2. 組 織	1
3. 研 究 活 動	2
4. 神経疾患研究委託費	3
5. 診 療 業 務	3
6. 神経センターの将来と国立神経センター(仮称)への移行	4

## II 研究業績

1. センター長	17
2. 疾病研究第1部	25
3. 疾病研究第2部	46
4. 疾病研究第3部	67
5. 疾病研究第4部	84
6. 疾病研究第5部	107
7. 疾病研究第6部	122
8. 診断研究部	134
9. 微細構造研究部	157
10. 機能研究部	175
11. 代謝研究部	185
12. 免疫研究部	195
13. 神経筋病棟報告要旨	204

## III 中央施設

213

## IV 診療概要

221

## V 別 項

1. 国立神経センター(仮称)設立準備委員会中間報告	235
2. 神経センター流動研究員運営要領, 研究委員会内規	246
3. 神経センター併任研究員運営要領, 神経センター研究生研究見習生内規	249
4. 神経センター勤務心得	252
5. 神経疾患研究推進委員会規定	253
6. 研究部門将来計画	255

---

# I 神経センターの概要

---

## 神経センターの概要

### 1. 1983年の歩み

神経センターは昭和53年1月の発足以来満6年を経過した。この間、本省の御尽力並びに関係各位の御声援によって研究部門の増設、病院における臨床部門の整備、委託研究費の増額などが着々と行われ、財政の厳しい状況下にも拘らず一段と整備が進められている。昭和53年、8部16室で発足した神経センターは昭和56年には11部25室に拡大整備され、その後は研究室のスペースの問題などもあり、2年間はこの現状を維持するに止まっている。一方神経疾患研究委託費も発足当時1億9千万円であったが年々増額し、昭和56年には総額4億円に達し、16の研究課題に対し委託研究がすすめられている。国の財政事情の厳しさの為に研究所自体の拡大は小休止の状況にあるが、種々の面で進歩がみられている。

診療業務については神経センター関連の特殊診療棟が建設され、昭和57年2月から週3日の外来が、昭和58年度には週4日、神経内科、小児神経科の外来業務が行われるようになった。またリハビリテーション棟は昭和57年度に完成し、理学診療科の診療も開始され、患者の増加も著しい。昭和58年度には手術棟と中央材料室の完成をみており、病棟診療に関しては昭和57年度末に5年越しでやっと開いた7号館3階は58年度には患者も増加し、20床を越える状況となり、神経内科80床、小児神経40床、重心80床となったが、関連した診療科の増設がみられず、診療内容の向上をみるに至っていない。これは療養所という枠によるところが大きいのが、診療内容の強化、向上をもたらす強力な推進が必要と思われる。診療日数の増加や患者の増加は療養所の枠をこえた神経センターのスタッフの援助によるところが大であるが、昭和52年度にたてた国立神経センター設立準備委員会の整備計画のうち診療面では第1次計画が終りつつあるのが現状である。

神経センターについては第2次整備計画は完成し、第3次計画に入りつつあり、懸案の実験動物研究棟2800㎡の建設が始まり、4階建の立派な研究棟の外観は完成している。昭和60年度に完成の予定となっているが、完成時には研究部門（疾患モデル動物開発研究部）の新設や念願の第2研究棟の建設が始まるようになることを祈っている次第である。

### 2. 組 織

神経センターの組織は昭和56年度と変わらず11部25室であるが、人事異動にともなう変動が多少みられ、疾病研究第3部長は成瀬部長の併任がとかれ、融室長の部長昇任が昭和58年10月1日付で決定している。その他の部長については昨年度と変りないが、疾病研究第5部、第6部の整備に

ともない、研究員の決定をみ、表1、2の如き構成となっている。

現在室長定員のうち13を研究員で充足しており、現状では神経センター長以下部長10名、室長12名、研究員15名、併任研究員20名、流動研究員25名、その他賃金研究員および賃金研究助手33名、事務助手4名、企画調査係長1名の計121名の大世帯となっている。この他に研究生が19名在籍している。なお部長以下流動研究員までの常勤研究者のうち医師は25名を占めている。

### 3. 研究活動

詳細は本年報の各部門の報告を参考にされたい。各部の研究状況を簡単に記しておくが各研究部門も体制が整い、研究成果も可成りあがりつつある。

疾病研究第1部は杉田部長のもとで進行性筋ジストロフィー症の発症機序と治療に関する生化学的研究が行われており、更にクロロキン・ミオパチーによる実験的筋萎縮症の発現、筋の変性および再生に関する組織化学的研究などが行われている。疾病研究第2部は有馬部長のもとで発達期脳障害の解明と予防を目的に研究が進んでおり、神経皮膚症候群の本態に関する研究、アルコール、カフェイン、煙草、低血糖など母胎の状況の変化による小児の知能障害発生機序に関する研究、ニーマン・ピック病の発生および治療に関する研究が進められ、注目すべき成果をあげている。

疾病研究第3部は融部長のもとで分裂病患者の剖検脳の生化学的分析を引続いて行っており、分裂病が生化学的な代謝異常による病気であるというヒポテーゼの確立に努力している一方、向精神薬剤の脳内 Substance P に対する影響、慢性分裂病モデルマウスの作成も試みられている。

疾病研究第4部は安藤部長のもとで脊髄小脳変性症のモデル動物を用いて脳蛋白の分析、TRH 含量の測定、アセチルコリン剤の効果の他、vincristine 神経炎の研究、筋ジストロフィー患者赤血球の膜脂肪酸の構成の研究が進行しつつある。

疾病研究第5部は鈴木部長のもとで GM 1-gangliosidosis,  $\beta$ -galactosialidosis の病態と特性に関して線維芽細胞を用いて研究が進んでおり、疾病研究第6部は田平部長が着任して1年であるが、慢性再発性アレルギー性脳脊髄炎の発症機序を中心に研究が進められ、急性 EAE、ミエリン脂質蛋白複合体の EAE 活性の研究などが行われている。

基礎部門では診断研究部は成瀬部長の下で新生児スクリーニングに関する技術開発が進められており、種々の有機酸代謝のスクリーニング法、神経ペプチドの酵素免疫的測定法の開発が進められている。

微細構造研究部は荃中部長の下で筋ジストロフィーの変性と再生についての実験的研究が行われているが、vacuolar myopathy に関する実験的研究、加茂室長による胸腺の myoidcell に2種ある

ことの発見など新しい成果を得ている。

機能研究部では小沢部長の発見した筋生長因子であるトランスフェリンの特異性、体内代謝の研究が進められ、臨床に役立つ日の早いことが期待される。

代謝研究部は宮本部長のもとでミエリン塩基性蛋白とミエリン脂質に関する基礎的研究の他、抗てんかん薬の結合部位に関する研究が進んでおり、てんかん治療に有効なものと思われる。

免疫研究部は重症筋無力症の抗 Ach R 抗体の酵素免疫測定法の開発、抗原としての猿骨格筋の応用を見出したが、神経成長因子の研究も進み、疾患との関係を検討しつつある状況となっている。

以上各部の研究状況の概略をのべたが、従来問題となっていた実験動物研究棟の建設が始まり、動物に関しては将来に明るい希望もてる状況となってきた。また問題となっていた危険薬品貯蔵庫、有機溶媒処理装置も整備され研究に伴う施設の整備が進んだ点は喜ばしい次第である。

流動研究員については各部門がそろそろと定員が一杯となって来ており、一方発足以来非常勤職員の給与の値上げが少ない為に優秀な研究者を得難くなりつつあるのは極めて問題である。尚海外からは昭和58年度も流動研究員としてカンサス大学神経病理の渡辺到教授、オランダのエラスムス大学細胞生物学遺伝学教室の Hooegeven 主任研究員がそれぞれ1ヶ月余り、NIH のミエリン生化学研究室の Marian Kies 博士が1ヶ月滞在して研究指導を行っている。

その他国外、国内より多くの研究者が訪れ、種々のセミナーを行っており、その内容は表3の如くである。3月末に行った年度末の研究発表会の内容は表4の如くである。

#### 4. 神経疾患研究委託費

神経疾患研究委託費は昭和56年の国際障害者年に4億円に増額され、表5の如く16課題について研究委託が行われているが、その後も研究費総額は変わらず6年目を迎えた。昭和52年より発足した筋ジストロフィー症研究班4班、福山班、宮尾班、精神分裂病に関する研究班、そううつ病に関する研究班、脊椎異常に関する研究班、サイクロトロン核医学に関する研究班等10班が満3年を経過し、評価部会において各班長よりのヒヤリングと内容についての検討が行われ、その結果については推進委員会において討議された。推進委員会の委員、評価部会の委員もそれぞれ2年の期間をへた方々があるために新たな委員や再任の方々が加わり、表6、7の如くになっている。研究班のうち2期6年をへた研究班は新たな班長に交代し、昭和59年度の神経疾患研究委託費の課題は表8の如くに決定されている。

#### 5. 診療業務

神経センター関連の業務のうち最も遅れているのは診療業務である。昭和56年度に特殊診療棟が完成し外来診療を行っているが、診療日数の増加が看護および薬局の体制から強い制限をうけてい

た。昭和58年7月よりやっと週4日の診療が可能となったが、希望している週5日の体制には未だ拡大出来ないでいる。しかしながら外来日が増えた関係で年間外来患者数は昨年比べて増加しており、神経内科では6992名（昨年5950名）、小児神経科4157名（昨年3815名）となっている。細かい点は本誌の診療概要を参考にされたい。

入院患者については7-3病棟が昨年度末より5年ぶりに開棟となり、昭和58年度には看護婦の教育を兼ねて増床し、約20床の入院患者を収容し得るようになり、神経内科は80床、小児神経科40床の運営を行っている。入院患者の疾患別一覧表は診療概要の項で一覧表を呈示するが、7-1病棟約150名、7-2病棟約100名、7-3病棟約60名の入退院を行っている。入院患者の内訳は昨年とほぼ同様で、筋ジストロフィー症および類縁筋疾患は33名と比較的少ないが、成人ではパーキンソン病、脊髄小脳変性症、小児では精神運動発達遅滞、てんかん・けいれんなどが多数を占めている。

#### 6. 神経センターの将来と国立神経センター(仮称)への移行

神経センターの将来像については将来計画委員会等で折に触れ検討をしているが、政府の財政状況から整備の遅れを生じていることは仕方がない。設立準備委員会の整備計画に従えば神経センターは第3次計画に入っており、可及的速かに国立神経センターへの移行を行ってのちに総合的な建設計画を行うことが最も望まれるところである。事実、診療部門の整備の遅れは療養所の枠内での発展の難しさを物語っている。この点移行措置を行った上、年度計画で全体を推進して行く時期になっているものと思うが、行政改革の実施と同時に移行と内容転換の行われるよう当局の御指示を一日も早く得たいものと思っている。

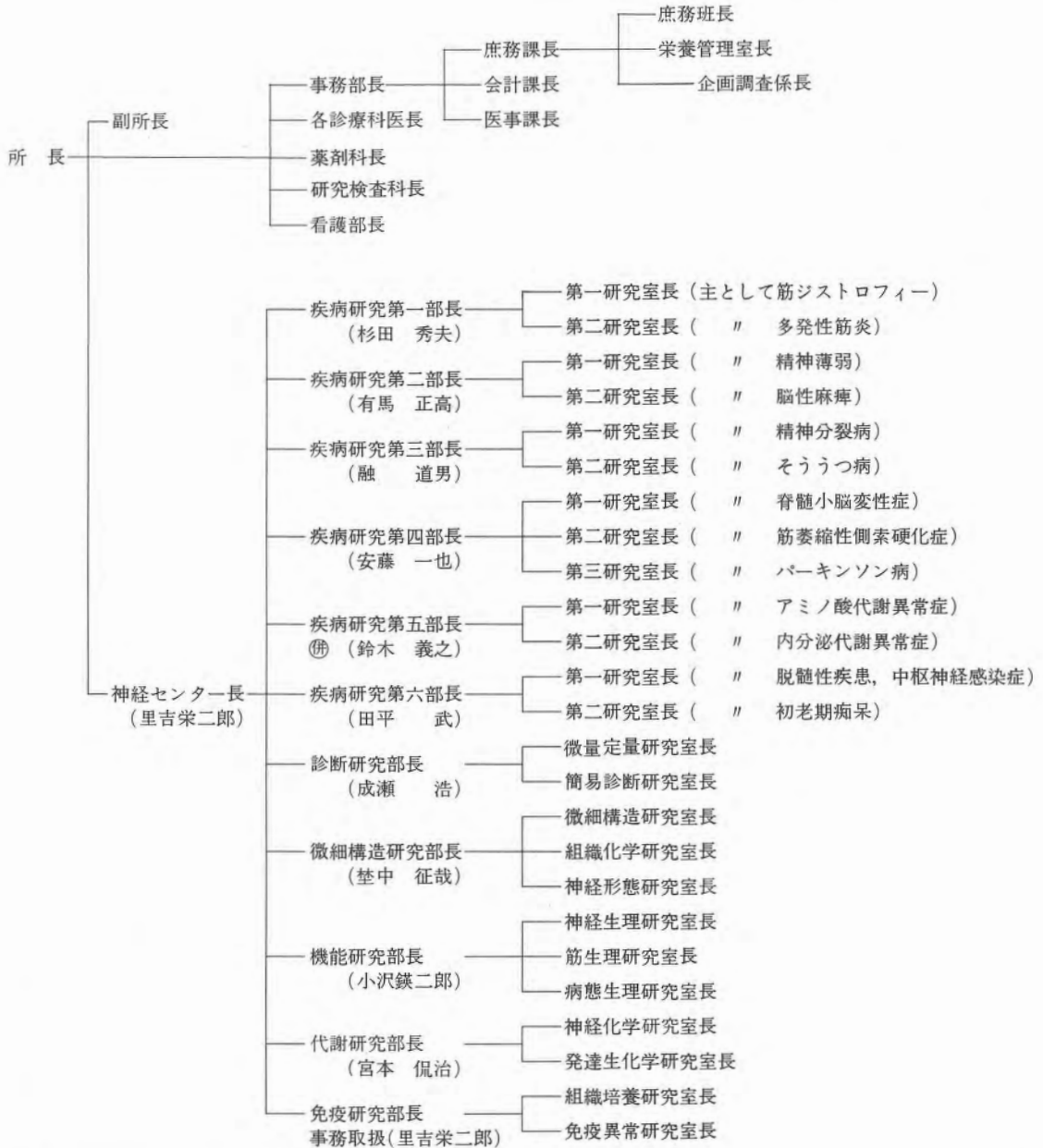
国立武蔵療養所神経センター長

里 吉 栄二郎



(表1)

国立武蔵療養所神経センター組織



定員							計	併任研究員		流動 研究員	賃金	合計
センター長	部長	室長	研究員	研究補助員	係長	係員		部長	研究員			
1	9	25	2	—	1	—	38	2	26	28	2	96

(58年度の計)

I 神経センターの概要

(表2)

神経センター組織

(昭和58年度) (58年4月1日～59年3月31日)

センター長	里吉 栄二郎							賃金職員	○-研究員	*-研究助手
部 名	部 長	室 長	研 究 員	併任研究員	流動研究員	研 究 生				
疾病研究第一部	杉田 秀夫	高木 昭夫	石浦 章一 藤田 武久	石山 原博 山 春中	原 明彦 口 経浩 原 史	宮 沢 寛 (59.3/31退) 猪 飼 哲夫 (58.12/31退) 荒 木 誠 (59.3/1採)	村上 博彦 上 倉 恵英 水 沢 元 佐 野 規	○安部 和子 ○土屋 輝久 ○小川 敬治 ○安 美子 (58.6/1採) ○岡本 真美 (58.11/1採)		
疾病研究第二部	有馬 正高	田中 晴美 桜川 宣男	許斐 史昭 工 藤 英昭 (59.2/16採)	林中 利彦 込 彌男	吉田 豊光 佐 崎 説 岩 龍		伊藤 秀晴	*須貝 千恵子 ○野口 悦一 ○中 花 美昭 ○竹 昭 ○林 (58.4/1採) ○工藤 英昭 (59.1/4採-2/15退)		
疾病研究第三部	成瀬 浩 (58.9/30まで併任) 融 道 男 (58.10/1より)	融 道 男 (58.9/30まで) 渡部 修三 (59.3/31退)	野田 恭平 (58.5/16採)	金市 野山 洪 谷 治	滋新 野田 男 恭平 (58.5/15退) 三ツ汐 洋 (59.3/31退) 小川 篤子 (58.4/1採)		小本 渡橋 敬高 伸 高	○保賀 宣瑞 ○高 瑞		
疾病研究第四部	安藤 一也	向山 昌邦 足立 皓岑	吉田 瑞子	横井 風児	松井 京子 紀 平 為 (59.3/31退)			*佐藤 高志 ○大杉 圭子 *中 村 昌子 *和 田 恵子 (58.6/23採-59.2/29退) *保坂 由美子 (59.3/5採)		
疾病研究第五部	鈴木 義之 (併任)		桜庭 均隆 桃井 隆	飯田 静夫	飯森 裕一 (59.1/23退) 古屋 達子 加藤 梧郎 André Hoozeven (58.10/7採-11/11退)		渡来 仁樹 妹 春 樹	*古里 弘子 (59.1/31退) ○稲山 順子 ○粕谷 淳子 (58.4/1採)		
疾病研究第六部	田平 武		並河 正 (58.6/16採) 国 下 龍英 (58.8/1採)		酒井 安一郎 (58.9/1採) 由村 健夫 (58.10/1採) Marian Kies (59.3/16採)			○遠藤 真澄 (58.4/1採) *野尻 志津江 (58.7/1採)		
診断研究部	成瀬 浩	林 時司 加藤 進昌 (58.4/1より)		栗田 広	渡辺 倫智 藤田 智 (58.11/26退) 水 木 茂		上野 元子 芝 みね子 野下 裕次	○南 恭子 ○等々力 英美 (59.3/30退)		
微細構造研究部	埜中 征哉	加茂 功	多田 愛子 相川 久志	岩崎 祐三 大 迫 芳 郎	赤堀 宏 寺 健二 (58.4/1採) 渡辺 到 (58.5/20採-6/25退) 斉藤 陽子 (58.10/1採-59.3/退)		伊小 直樹 宮 藤 陽 山 藤 照 福 葉 俊 澤 村 智和 北野 班 野 班 松 内 宮 田 本	*佐藤 愛子 (58.12/27退) *神岡 里子 ○岡田 理美 ○藤 加津美 (59.3/1採)		
機能研究部	小沢 鉄二郎	木村 一郎 斎 藤 公 司	萩原 康子	若林 健之 熱 海 佐保子	下岡 正志 (59.3/31退) 庄 司 明子 (58.4/1採)			*毛 涯 夏 ○後藤 いづみ (59.3/31退)		
代謝研究部	宮本 侃治	今沢 正興	中嶋 一行	江尻 慎一郎 水 野 素一 清 野 昌一	西村 成子 (58.9/30退) 大泉 信行 熊 谷 博道 (58.4/1採)			○佐藤 七枝 ○田口 文子 (58.4/1採)		
免疫研究部	里吉 栄二郎 (事務取扱)		古川 昭栄	林 恭三 (講師委嘱)	橋 滋国 (59.3/31退) 三 井 公 彦 (58.6/1採)		遠藤 斗志也 伊 藤 昭夫	○古川 美子 ○赤 沢 左衛子		
事務室	企画調査係長：関 敏夫(58.6/30まで) 望月 久雄(58.7/1より)							光村 征子 (58.7/30退) 森山 典子 (59.3/31まで) 土橋 久子 (58.7/1採)		
R I 室								*保川 淳子 *内田 史江 (59.3/26採)		
図書室								大槻 美知子		
電顕室								○石井 弘子		
センター長室								大関 桂子		

(表3)

## 昭和58年度 神経センターセミナー

月 日	演 者 ・ 所 属	演 題	担 当
58年 4.25	John S. O'Brien カリフォルニア大サンディエゴ校 神経科学教室教授	Exploring genetic diseases in man	疾病研究第五部
9.8	小暮 久也 東北大学医学部神経内科教授	変性, 脱髄疾患の治療に関する 試み SAM(S-adenosil-methionine) について	センター長 疾病研究第六部
10.14	André Hoogveen オランダ エラスムス大学医学部 細胞生物学遺伝学教室主任研究員	Biosynthesis of human $\beta$ -galactosidase in normal and mutant fibroblasts	疾病研究第五部
10.27	Henry deF. Webster Assoc. Chief, Laboratory of Neuropathology and Neuro- anatomical Sciences, NINCDS, NIH, U.S.A	Myelin Protein Immunocyto- chemistry and Mechanisms of CNS Myelin Breakdown	センター長 疾病研究第六部
10.28	William S. Sly ワシントン大学医学部 小児科 助教授	リソソーム酵素の認識機構とレ セプター —高マンノース型糖蛋白質酵素 の細胞内輸送及びエンドサイト シスについて—	疾病研究第五部
11.2	柳原 武彦 Professor, Department of Neurology, Mayo Medical School, Univ. of Minnesota, Mayo Clinic, U.S.A.	Biochemical Markers in Neo- plastic Meningitis	センター長
11.11	Geoffrey Rushworth Unit of Clinical Neurophysio- logy, Department of Clinical Neurology, University of Oxford, U.K.	Some Aspects of the Physio- logy of Spasticity in Spinal Cord Disorders	センター長
11.29	Donald W. Baxter Professor and Chairman, Department of Neurology and Neurosurgery, McGill University, Montreal, Canada	Current role of Thalamotomy in Management of Parkinso- nism	センター長
12.5	Salvatore DiMauro Professor, Department of Neurology, College of Physi- cians & Surgeons of Columbia University, New York, U.S.A.	Metabolic myopathies	疾病研究第一部 センター長
12.14	B. Geyer Biochemical Diseases Clinical Ser., Vancouver Children's Hospital, Canada	先天性代謝異常症 (フェニルケトン尿症など)の 食事療法について	疾病研究第二部 小児神経科
59年 3.21	Marian W. Kies Chief, Section on Myelin Chemistry, Laboratory of Ce- rebral Metabolism, National Institute of Mental Health, Bethesda, Maryland, U.S.A.	Myelin Basic Protein and Experimental Allergic Ence- phalomyelitis	センター長 疾病研究第六部

(表4) 昭和58年度 神経センター研究発表会

昭和59年3月15日(木)

於: 本館第二会議室

- |                |                           |       |   |
|----------------|---------------------------|-------|---|
| 1) 9:35~10:10  | 微細構造研究部                   |       |   |
|                | ・胸腺の筋様細胞                  | 加茂 功  |   |
|                | ・筋ジストロフィーにおける再生の問題点       | 寺沢健二郎 |   |
| 2) 10:10~10:45 | 代謝研究部                     |       |   |
|                | ・オリゴデンドロサイトのミエリン塩基性蛋白について | 熊谷 博道 | 他 |
|                | ・ミエリン塩基性蛋白とミエリン脂質について     | 中嶋 一行 | 他 |
|                | ・脳内抗てんかん薬結合部位の部分精製の試み     | 大泉 信行 | 他 |
| 3) 10:45~11:20 | 機能研究部                     |       |   |
|                | ・筋成長因子としてのトランスフェリンの網特異性   | 下岡 正志 |   |
|                | ・外来性トランスフェリンの体内代謝         | 木村 一郎 |   |
| 4) 11:20~11:55 | 診断研究部                     |       |   |
|                | ・新生児スクリーニングのその後の発展        | 鈴木恵美子 | 他 |
|                | ・有機酸代謝異常・うつ病・小児自閉症に関する研究  | 林 時司  | 他 |
|                | ・神経ペプチドの酵素免疫測定法           | 加藤 進昌 | 他 |

—昼 食—

- |                |                              |       |   |
|----------------|------------------------------|-------|---|
| 5) 13:10~13:45 | 疾病研究第1部                      |       |   |
|                | ・実験的筋萎縮症—クロロキンミオパチーを中心に—     | 佐野 元規 |   |
|                | ・急性筋崩壊及び再生におけるマクロファージの役割     | 藤田 武久 | 他 |
|                | ・筋ジストロフィーの骨格筋よりのクレアチンキナーゼの遊離 | 高木 昭夫 |   |
| 6) 13:45~14:20 | 疾病研究第2部                      |       |   |
|                | ・神経皮膚症候群の本態に関する研究の現状         | 有馬 正高 | 他 |
|                | ・小児知能障害の機序と予防の追求             | 田中 晴美 | 他 |
|                | —最近の論文10編の要約—                |       |   |
| 7) 14:20~14:55 | 疾病研究第3部                      |       |   |
|                | ・慢性分裂病モデルマウス作成の試み            | 小渡 敬  | 他 |
|                | ・向精神薬慢性投与後のラット脳内サブスタンスPの変化   | 三ッ汐 洋 | 他 |
|                | ・精神分裂病死後脳大脳辺縁系の生化学的分析        | 野田 恭平 | 他 |

—休 憩—

- |                |   |       |  |
|----------------|---|-------|--|
| 8) 15:10~15:45 | 疾病研究第4部   |       |  |
|                | ・遺伝性運動失調マウスの小脳蛋白分析                                  | 足立 皓岑 |  |
|                | ・各種運動失調マウスに対するTRHとアセチルコリン系薬剤の併用効果                   | 松井 京子 |  |
|                | ・6-Aminonicotinamide 投与による脊髄性麻痺ラットにおけるTRH含量とTRH投与効果 | 紀平 為子 |  |
|                | ・Vincristine neuropathy の実験的研究                      | 向山 昌邦 |  |
|                | ・筋ジストロフィー症赤血球のホスファチジン酸の温度変化                         | 吉田 瑞子 |  |
| 9) 15:45~16:20 | 疾病研究第5部   |       |  |

- ・ヒト前骨髄性白血病細胞HL-60からのレチノール酸及び $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 分化耐性株について 妹尾 春樹 他
- ・GM1-gangliosidosis 線維芽細胞における酸性 $\beta$ -galactosidaseの精製とその特性 古屋 達子 他
- ・ガラクトシアリドーシスにおける“矯正因子”効果 桜庭 均 他
- 10) 16:20~16:55 疾病研究第6部
  - ・慢性再発性アレルギー性脳脊髄炎発症機序の研究 田平 武
  - ・急性アレルギー性脳脊髄炎発症機序の研究 並河 正
  - ・ミエリン脂質蛋白複合体のEAE活性 国下 龍英
- 11) 16:55~17:15 免疫研究部
  - ・ラット,サル,ヒト骨格筋アセチルコリン受容体(AChR)を抗原とした抗AChR抗体価の比較検討 古川 昭栄 他
  - ・マウス線維芽細胞による神経成長促進因子(NGF)の産生について 古川 美子 他
- 12) 17:15~17:45 神経内科・小児神経科
  - ・ $^{11}\text{C}$  dynamic PETの意義と臨床応用について 松井 晨 他
  - ・ $^{77}\text{Br}$ -bromperidolの合成とPETによる臨床応用について 横井 風児 他
  - ・Myerson徴候—その発現機序について— 春原 経彦 他
  - ・表面筋電図と呼吸曲線による嚥下の分析 平山 義人
  - ・DMSOによる線維芽細胞のスフィンゴミエリナーゼ活性の誘導について 桜川 宜男 他

(表5) 昭和58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	所属及び役職名	金額	人員	備考
1. 筋の発生と分化に関する基礎的研究	江橋節郎	岡崎国立共同研究機構生理学研究所神経化学教授	千円 48,000	33	継続
2. 筋ジストロフィー症の発症機序に関する臨床的研究	三好和夫	虎の門病院沖中記念成人病研究所長	46,000	40	〃
3. 筋ジストロフィー症の疫学、臨床及び治療に関する研究	祖父江逸郎	名古屋大学医学部長内科学教授	46,000	53	〃
4. 筋ジストロフィー症の療護に関する総合的研究	井上満	国立療養所東埼玉病院名誉院長	48,000	34	〃
5. 出生前要因による脳障害の成因並びに治療に関する臨床的基礎的研究	福山幸夫	東京女子医科大学小児科学教授	38,000	45	〃
6. 脳障害を伴う先天代謝異常の病態に関する研究	宮尾益英	徳島大学医学部長小児科教授	12,000	13	〃
7. 精神分裂病の生物学的成因及び病態に関する研究	稲永和豊	久留米大学医学部神経精神科教授	20,000	13	〃
8. そううつ病の生物学的成因、特に代謝障害に関する研究	高橋良	東京医科歯科大学医学部神経精神医学教授	15,000	12	〃
9. 脊椎異常に伴う神経障害の発生及び予防に関する研究	井上駿一	千葉大学医学部整形外科学教授	14,000	12	〃
10. 中枢神経障害に対するサイクロトロン核医学の応用に関する研究	井槌六郎	国立療養所中野病院副院長	10,000	9	〃
11. 精神遅滞の本態および成因に関する開発的研究	塚田裕三	慶応義塾大学医学部生理学教授	19,000	15	〃
12. 低酸素症に基づく胎生期脳障害の形態学的生化学的研究	生田房弘	新潟大学脳研究所神経病理学教授	19,000	17	〃
13. 老年期脳障害の発現機序・臨床・治療に関する研究	室伏君士	国立療養所菊池病院長	15,000	20	〃
14. 筋ジストロフィー症動物の開発供給に関する研究	野村達次	実験動物中央研究所長	20,000	9	〃
15. 難治性てんかんの成因と治療に関する研究	和田豊治	国立療養所静岡東病院長	15,000	23	新規
16. 末梢神経障害の病態とその治療に関する研究	中西孝雄	筑波大学臨床医学系神経内科教授	15,000	18	〃
合計			400,000	366	

(表6)

神経疾患研究推進委員会委員名簿

委 員 名	所 属 及 び 役 職 名	任 期
江 橋 節 郎	岡崎国立共同研究機構生理学研究所教授	昭.57.11.1～昭.59.10.31
祖父江 逸 郎	名古屋大学医学部内科学教授	〃
塚 田 裕 三	慶応義塾大学医学部生理学教授	〃
椿 忠 雄	東京都立神経病院長	〃
福 山 幸 夫	東京女子医科大学小児科学教授	〃
保 崎 秀 夫	慶応義塾大学医学部病院長	〃
稲 永 和 豊	久留米大学医学部精神神経科学教授	昭.58.11.1～昭.60.10.31
亀 山 正 邦	京都大学医学部神経内科教授	〃
鴨 下 重 彦	自治医科大学小児科学教授	〃
中 西 孝 雄	筑波大学医学専門学群臨床医学系神経内科教授	〃
三吉野 産 治	国立療養所西別府病院長	〃
北 川 定 謙	厚生省大臣官房科学技術審議官	官 職 指 定
大 池 真 澄	〃 公衆衛生局長	〃
吉 原 健 二	〃 児童家庭局長	〃
島 蘭 安 雄	国立武蔵療養所長	〃
里 吉 榮二郎	〃 神経センター長	〃

(表7) 評価部会委員名簿

委 員 名	所 属 及 び 役 職 名	任 期
荒 木 淑 郎	熊本大学医学部内科学教授	昭.57.11.1~昭.59.10.31(2年)
西 谷 裕	国立療養所宇多野病院副院長	〃
保 崎 秀 夫	慶応義塾大学医学部病院長	〃
飯 塚 礼 二	順天堂大学医学部精神神経科学教授	昭.58.11.1~昭.60.10.31(2年)
藪 内 百 治	大阪大学医学部小児科学教授	〃
勝 沼 信 彦	徳島大学医学部酵素研究施設教授	〃
豊 倉 康 夫	東京大学医学部神経内科教授	〃
北 川 定 謙	厚生省大臣官房科学技術審議官	官 職 指 定
島 蘭 安 雄	国立武蔵療養所長	〃
里 吉 栄二郎	〃 神経センター長	〃



(表8) 昭和59年度 神経疾患研究委託費 研究課題一覧表

研究課題名	(委託先)	班長	金額	備考
1. 精神遅滞の本態および成因に関する開発的研究	慶応義塾大学 医学部生理学教授	塚田裕三	19,000	継続
2. 低酸素症に基づく胎生期脳障害の形態学的生化学的研究	新潟大学脳研究所 神経病理学教授	生田房弘	19,000	〃
3. 老年期脳障害の発現機序・臨床・治療に関する研究	国立療養所菊池病院長	室伏君士	15,000	〃
4. 筋ジストロフィー症動物の開発供給に関する研究	実験動物中央研究所長	野村達次	20,000	〃
5. 難治性てんかんの成因と治療に関する研究	国立療養所静岡東病院長	和田豊治	15,000	〃
6. 末梢神経障害の病態とその治療に関する研究	筑波大学 臨床医学系神経内科教授	中西孝雄	15,000	〃
7. 筋ジストロフィー症解明のための遺伝子発現の基礎的研究	東京大学医学部薬理学教授	野々村禎昭	48,000	新規
8. 筋ジストロフィー症の臨床、病態と成因に関する研究	国立武蔵療養所 神経センター部長	杉田秀夫	46,000	〃
9. 筋ジストロフィー症の疫学、病態および治療開発に関する研究	国立療養所 宇多野病院副院長	西谷裕	46,000	〃
10. 筋ジストロフィー症の療護に関する臨床および心理学的研究	国立療養所東埼玉病院院長	青柳昭雄	48,000	〃
11. 発育期脳障害による精神遅滞の本態と発生予防に関する研究	自治医科大学小児科教授	鴨下重彦	38,000	〃
12. 遺伝性代謝異常による中枢神経障害の成因と治療に関する研究	徳島大学医学部長 小児科教授	宮尾益英	12,000	〃
13. 精神分裂病の生物学的研究、特に慢性化の機構に関する研究	久留米大学医学部 神経精神科教授	稲永和豊	20,000	〃
14. そううつ病の生化学的特性による分類と発生機序に関する研究	東京医科歯科大学 医学部神経精神科教授	高橋良	15,000	〃
15. 発生異常に基づく脊髄機能障害の予防と治療に関する研究	千葉大学医学部 整形外科教授	井上駿一	14,000	〃
16. サイクロトロン核医学による中枢神経障害の発現機序に関する研究	国立療養所中野病院副院長	井槌六郎	10,000	〃
合計			400,000	

(表 9)

## 国立神経センター(仮称)設立準備委員会中間報告(昭52.1)による整備計画

	研 究 所	病 院
第 一 次 計 画 (52～53年度)	一期工事(約4,400㎡) 8研究部門発足 流動研究員, レジデント宿舎新設	神経・筋病棟新設(120床) 病理部門新設 外来部門増設 中央検査部増設
第 二 次 計 画 (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 (なるべく早 い時期)	7研究部門を増設(計18部) 大型動物室, 図書館, 研修部門の新設 当初予定の規模にするため約13,000㎡の 増築を必要とする	必要部門の拡充, 整備, 改築を 行なう

---

## II 研 究 業 績

---

## 1. センター長

## A 論文

## a. 原著

- 1) 河野義恭, 桜川宣男, 松井農, 有馬正高, 里吉栄二郎, 飯尾正明, 唐沢孝:  
中枢神経系における $^{14}\text{C}$ CO<sub>2</sub>ガスの代謝研究—ラット脳内 $^{14}\text{C}$ CO<sub>2</sub>固定の可能性—  
核医学 20 : 361—365, 1983
- 2) Watanabe K, Sakuragawa N, Arima M, Satoyoshi E:  
Partial purification and properties of acid sphingomyelinase from rat liver  
J Lipid Res 24 : 596—603, 1983
- 3) Yoshida M, Ando K, Satoyoshi E:  
Abnormalities of erythrocytes in Duchenne muscular dystrophy  
Ann Neurol 13 : 649—653, 1983
- 4) Furukawa Y, Furukawa S, Satoyoshi E, Hayashi K:  
Nerve growth factor secreted by mouse heart cells in culture  
J Biol Chem 259 : 1259—1264, 1984
- 5) Sunohara N, Mukoyama M, Mano Y, Satoyoshi E:  
Action-induced rhythmic dystonia: An autopsy case  
Neurology 34 : 321—327, 1984

## b. 著書

- 1) 里吉営二郎:  
筋疾患の研究  
小児神経学の進歩 第12集 (日本小児神経学会卒後教育委員会編),  
診断と治療社, 東京, 1983, p 155—168
- 2) 里吉営二郎:  
脳脊髄神経の病気  
最新家庭の医学百科 (主婦と生活社編),  
主婦と生活社, 東京, 1983, p 604—639
- 3) 里吉栄二郎:  
難病対策—臨床的研究を中心として—

## II 研究業績

医学研究振興財団10年のあゆみ（医学研究振興財団編）

医学研究振興財団，東京，1983，p 13—19

4) 里吉栄二郎：

重症筋無力症：病因と治療—昭和54年度国際シンポジウム—

医学研究振興財団10年のあゆみ（医学研究振興財団編）

医学研究振興財団，東京，1983，p 114—116

5) Satoyoshi E：

Intractable Disease Measures—Centered around Clinical Research—

Ten years of the Japan Medical Research Foundation (ed : Japan Medical Research Foundation)

Japan Medical Research Foundation, Tokyo, 1983, p 19—29

6) Satoyoshi E：

Myasthenia Gravis : Studies before and after the International Symposium

Ten years of the Japan Medical Research Foundation (ed : Japan Medical Research Foundation)

Japan Medical Research Foundation, Tokyo, 1983, p 87—89

7) 里吉宮二郎：

筋クランプ（筋痙攣）

今日の治療指針 1984年版（石山俊次，日野原重明，阿部正和編），

医学書院，東京，1984，p 161

### c. 総 説

1) 春原経彦，里吉宮二郎：

パーキンソン病（特集—内科診療5年間の進歩）

診断と治療 71：577—582，1983

2) 里吉宮二郎：

Satoyoshi disease

小児内科，小児症候群，15巻臨時増刊号：616—617，1983

3) 里吉宮二郎：

筋萎縮性側索硬化症—運動ニューロン疾患

現代医療 16：74—77，1984

(表 9)

国立神経センター(仮称)設立準備委員会中間報告(昭52.1)による整備計画

	研 究 所	病 院
第 一 次 計 画 (52～53年度)	一期工事(約4,400m <sup>2</sup> ) 8 研究部門発足 流動研究員, レジデント 宿舎新設	神経・筋病棟新設(120床) 病理部門新設 外来部門増設 中央検査部増設
第 二 次 計 画 (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 (なるべく早 い時期)	7 研究部門を増設(計18部) 大型動物室, 図書館, 研修部門の新設 当初予定の規模にするため約13,000m <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

## II 研究業績

- 6) 里吉栄二郎, 桜川宣男, 野口悦子, 東條恵, 松井晨, 有馬正高 :  
〔1〕 ラット脳ミクロゾームの中性スフィンゴミエリネースの精製  
〔2〕 異染性白質ジストロフィー症の治療法の検討：低ビタミン A 食, 大量白血球輸注法,  
L-dopa 療法  
厚生省新薬開発・酵素障害に基づく代謝異常治療薬の開発研究班  
昭和57年度研究報告書, 1983, p 29-39
- 7) 里吉栄二郎, 春原経彦 :  
1) Idiopathic dystonia-parkinsonism—電気生理学的検索—  
2) “Mitochondrial myopathy”における staircase phenomenon について  
東京都特殊疾病（難病）に関する研究班  
昭和57年度研究報告書, 1983, p 25-37
- f. その他
- 1) 里吉営二郎 :  
〔書評〕 Child Neurology (ed : Fukuyama Y et al)  
脳と発達 15 : 224, 1983
- 2) 里吉営二郎 :  
こむら返り (24時間の医学 No. 306)  
日医ニュース 524号, 1983
- 3) 里吉営二郎 :  
〔質疑応答〕 イートン・ランバート症候群  
ドクターサロン 27 : 673-676, 1983
- 4) 里吉営二郎 :  
神経痛  
(社)全国厚生年金受給者団体連合会パンフレット・長寿シリーズ No. 16 : 2-16, 1983
- 5) 里吉営二郎 :  
〔健康相談室〕 右手のふるえ  
すこやかファミリー 11月号 : 1983, p 28
- 6) 里吉営二郎, 豊倉康夫 :  
〔対談〕 神経内科領域の進歩  
カネボウメディック放送内容集病態シリーズ(20) 「脳と神経」1984, p 1-7

## B 学会発表

## a. 特別講演, シンポジウム

1) 里吉 営二郎 :

筋弛緩剤の臨床適応

筋弛緩剤の臨床講演会, 東京, 4.23, 1983

2) 里吉 栄二郎 :

パーキンソン・ジストニア症候群とアプラキシア・リジジティ症候群

熊本大学医学部第一内科同門会, 熊本, 6.11, 1983

3) 里吉 営二郎 :

内科医からみた筋痛と筋痙縮

骨格筋シンポジウム'83, 東京, 8.20, 大阪, 9.17, 1983

4) 里吉 営二郎 :

神経耳科医に必要な神経学および検査法

第42回日本平衡神経科学総会, 弘前, 9.22-24, 1983

## b. 国際学会

1) Satoyoshi E, Mukoyama M:

Ethambutol neuropathy and neurotoxicity of chloramphenicol

The International Symposium on Peripheral Neuropathy, Nagoya, Oct. 20-22, 1983

(Abstracts p75-77)

## c. 一般学会

1) 富英明, 春原 経彦, 里吉 栄二郎, 柴崎啓一, 橘 滋国 :

筋収縮に及ぼす各種神経及び筋疾患の影響

第24回日本神経学会総会, 京都, 5.25-27, 1983 (臨床神経23:1151)

2) 横井 風児, 中山宏, 安藤 一也, 里吉 栄二郎, 飯尾正明 :

変性性神経疾患の positron CT 像—パーキンソン病及びアルツハイマー病について—

第24回日本神経学会総会, 京都, 5.25-27, 1983 (臨床神経23:1186)

3) 春原 経彦, 河崎博, 里吉 栄二郎, 田苗綾子 :

Anosmia-ichthyosis-hypogonadism (AIH) syndrome : 新しい症候群の提唱

第24回日本神経学会総会, 京都, 5.25-27, 1983 (臨床神経23:1204)

4) 一井本, 春原 経彦, 安藤 一也, 里吉 栄二郎 :



## II 研究業績

パーキンソン症候群の立位回旋障害について

第24回日本神経学会総会, 京都, 5.25—27, 1983 (臨床神経23:1227)

- 5) 石井弘子, 埜中征哉, 里吉栄二郎, 赤堀宏:

SEM 試料から TEM 用レプリカ作成の試み

日本電子顕微鏡学会第39回学術講演会, 名古屋, 5.31—6.2, 1983

- 6) 一井本, 横井風児, 春原経彦, 里吉栄二郎, 柴崎啓一:

間歇性跛行を呈した vertebral hemangioma の1例

第85回日本神経学会関東地方会, 東京, 6.4, 1983 (臨床神経23:1028)

- 7) 横井風児, 安藤一也, 里吉栄二郎, 中山宏:

初老期痴呆の positron CT 像

第23回日本核医学会総会, 高槻, 9.23—25, 1983

- 8) 古川昭栄, 古川美子, 里吉栄二郎, 野元裕, 林恭三:

マウス L-M および 3T3 細胞が合成分泌する NGF について

第56回日本生化学会大会, 福岡, 9.29—10.2, 1983

- 9) 横井風児, 向山昌邦, 亀井敦行, 春原経彦, 里吉栄二郎:

Alveolar cell carcinoma による meningeal carcinomatosis—症例報告と文献的考案—

第86回日本神経学会関東地方会, 東京, 10.1, 1983 (臨床神経24:319)

- 10) 富英明, 春原経彦, 里吉栄二郎, 柴崎啓一, 橘滋国:

一次ニューロン, 二次ニューロン障害例における staircase phenomenon の検索

第13回日本脳波・筋電図学会学術大会, 奈良, 12.2, 1983 (脳波と筋電図12:67)

- 11) 春原経彦, 富英明, 安藤一也, 里吉栄二郎, 橘滋国:

Myerson 徴候: 真に R<sub>2</sub>-habituation 欠如によるのか?

第13回日本脳波・筋電図学会学術大会, 奈良, 12.2, 1983 (脳波と筋電図12:79)

- 12) 一井本, 富英明, 春原経彦, 杉田秀夫, 里吉栄二郎:

Chorea, 異常眼球運動, 小脳虫部萎縮を呈する小児兄弟例

第87回日本神経学会関東地方会, 東京, 12.3, 1983 (臨床神経24:430)

## C 班会議発表

- 1) 里吉栄二郎, 春原経彦, 富英明:

肢帯型筋ジストロフィーおよびミトコンドリアミオパチーにおける staircase phenomenon について

- 東京都特殊疾病（難病）に関する研究班，昭和57年度研究報告会，東京，5.28，1983
- 2) 林恭三，古川昭栄，赤沢左衛子，加茂功，里吉栄二郎，野元裕：  
ラット，サル，ヒト骨格筋の AChR を抗原とした抗 AChR 抗体価の比較検討  
厚生省特定疾患・免疫性神経疾患調査研究班 昭和58年度班会議，東京，1.20—21，1984
- 3) 里吉栄二郎，桜川宣男，吉田豊：  
i) 実験動物 Amnion の Lysosomal Enzymes と Amnion Transplantation の予備実験について  
ii) 線維芽細胞によるスフィンゴミエリネース活性モデファイアーのスクリーニング—  
Butyrophenone 誘導体と Iminodibenzyl 系化合物について  
厚生省新薬開発・酵素障害に基づく代謝異常治療薬の開発研究班 昭和58年度班会議，東京，1.24，1984
- 4) 里吉栄二郎，春原経彦，富英明：  
筋ジストロフィーを中心とする各種筋疾患に対する NK421 (Bestatin) 投与後の経過報告  
厚生省新薬開発・微生物の二次代謝産物に由来する難病治療薬（ロイペプチン）の開発研究班 昭和58年度班会議，東京，3.8，1984

#### D 研究会など

- 1) 河崎博，横井風児，一井本，安藤一也，里吉営二郎：  
Migraine 様発作のみを呈した後頭葉 A-V malformation の 1 例  
第10回三多摩神経疾患懇話会，立川，4.16，1983
- 2) 里吉営二郎，豊倉康夫：  
カネボウメディック病態シリーズ「脳と神経」：〔対談〕神経内科領域の進歩  
日本短波放送，6.29，1983
- 3) 紀平為子，向山昌邦，一井本，春原経彦，安藤一也，里吉営二郎：  
比較的急速な経過を示した Shy-Drager 症候群の 1 例  
第15回臨床神経病理研究会，東京，7.16，1983
- 4) 春原経彦，安藤一也，里吉営二郎：  
Apraxia-rigidity syndrome  
第4回三多摩パーキンソン病懇話会，立川，7.16，1983
- 5) 一井本，春原経彦，安藤一也，里吉営二郎：  
パーキンソン症候群の立位回旋障害について

## II 研究業績

第4回三多摩パーキンソン病懇話会，立川，7.16，1983

- 6) 小森哲夫，横井風児，春原経彦，安藤一也，里吉栄二郎：

高齢発症の progressive chorea の1例

第11回三多摩神経疾患懇話会，立川，9.3，1983

- 7) 里吉栄二郎：

肋間神経痛（きょうの健康）

NHKテレビ，11.2，1983

## 2. 疾病研究第1部

### 1. 研究部一年の歩み

疾病研究第一部は進行性筋ジストロフィー (DMP) を代表とする変性性筋肉疾患を主たる研究対象とする部門である。昭和58年度当部における研究活動に参加したメンバーは以下の通りである。

〔部長〕杉田秀夫, 〔室長〕高木昭夫, 〔研究員〕藤田武久, 石浦章一, 〔流動研究員〕猪飼哲夫, 宮沢寛, 荒木誠, 〔併任研究員〕石原傳幸, 山口明, 春原経彦, 〔研究生〕米本恭三, 鎌倉恵子, 中瀬浩史, 水沢英洋, 萩原弘一, 〔研究補助員〕安部和子, 小川敬子, 安楽治美, 岡本真美, 土屋輝久江, 〔部長室〕野中由美子

本年度疾病研究第一部の主要研究テーマ及び研究概要は次の様なものである。

#### (1) 筋ジストロフィー症の病態, 成因, 治療に関する研究

昨年に引き続き DMP 及び類似疾患に於ける筋蛋白の崩壊, 壊死機構を解明すべく幾つかの実験モデルを用いて検索された。

##### a) マーカインによる急性筋融解の機序, in vitro 実験

ラット長趾伸筋をマーカイン及び Ca イオン存在下で incubate し, スキンドファイバー法を用い骨格筋に及ぼす効果を検索した。著明な筋拘縮が発生し, 外液に多量のクレアチンキナーゼが漏出した。この現象は Ca 非存在下, プロカイン添加で明らかに抑制された。マーカインは筋細胞内の Ca イオン濃度の調節を阻害して急性筋融解を発生させることが想定された。

##### b) マーカインによる急性筋崩壊及び再生に対するマクロファージの役割

昨年同様マーカインをラットヒラメ筋に直接注射することにより急性筋壊死を作成した。注射48時間後に著明なマクロファージ (M $\phi$ ) の浸潤が起り筋崩壊の後期の主役は M $\phi$  であることが想定された。この際シクロヘキシミド (CHI) を用い M $\phi$  を抑制すると筋壊死及び再生に如何なる影響が出現するかを調べた。

CHI を投与すると非投与に比しカテプシン B&L を中心とするリソゾーム酵素の上昇はかなり抑制され, 又筋蛋白分解もある程度抑えられることが明らかとなった。しかし壊死に続く再生は明らかに遅延した。すなわち筋蛋白の崩壊を抑えることは逆に再生を遅延させる可能性を示唆している。

##### c) 実験的クロロキンミオパチーの研究

最近本邦で注目されている rimmed vacuole を伴う遠位型ミオパチーにおける筋蛋白崩壊機構を

## II 研究業績

解明すべくそのモデルと考えられるクロロキンミオパチーについて生化学的検索が行なわれた。

ラットに長期間クロロキンを投与するとヒラメ筋に rimmed vacuole を伴うミオパチーを作成することができる。

組織化学的には酸フォスファターゼで強陽性に染色される vacuole が出現し筋蛋白量は減少する。しかし Mφ の浸潤はみられない。この筋肉のリソゾーム酵素は増加し特にカテプシン B&L, カテプシン D, カテプシン H 活性が著明に上昇した。Mφ 由来のカテプシン群と異なり  $\alpha$ -グルコシダーゼ, 酸性フォスファターゼの上昇しているのが特徴である。従ってこの場合には筋細胞内由来のリソゾーム系が活性化され筋蛋白分解に関与していると思われる。同様な機構が rimmed vacuole を伴う遠位型ミオパチーにも想定される。

### (2) 筋ジストロフィー症の治療に関する研究

当部は厚生省新薬開発研究班に属しており (E-64: 杉田, 石浦, ロイペプチン: 高木), モデル動物及び実験動物の筋壊死に対しこれら薬剤の治療効果に関する研究を行なっている。

E-64班では E-64-d の early phase II 試験が終了し, phase II に移行する段階にある。

### (3) Ca 依存性中性プロテアーゼ (CANP) に関する研究

最近 CANP に m-及び  $\mu$ -CANP が存在することが明らかになった。我々は CANP と細胞骨格との関連を昨年同様検索した。骨格筋では CANP の一部は Z 帯及び表面膜に存在することが蛍光抗体法でわかった。末梢神経では CANP は軸索に存在することが明らかになった。軸索のうち neurofilament との結合を想定して immunoblotting 法で検索しているが未だ CANP と neurofilament との結合は直接には証明されていない。

### (4) 本年度の学会活動など

当部は本年度も国内外の学会・シンポジウムなどに積極的に参加した。主なものを挙げると 4 月日本医学会総会に杉田, 高木はシンポジストとして参加した。6 月高木はイタリアで行なわれた国際筋ジストロフィーシンポジウムに, 又, 11 月杉田は京都で行なわれた国際 Ca 調節シンポジウムに各々シンポジストとして参加した。又, 昭和 59 年 2 月より石浦はハーバード大学医学部生理学教室に留学し, 新しい研究分野を開拓してくる事を期待している。

(部長 杉田秀夫)

## 2. 研究業績

## A. 論文

## a. 原著

- 1) Sugita H, Ohashi K, Maruyama K, Nonaka I, Ishiura S:  
Staining of the Nemaline Rods by Fluorescent Antibody against Z-protein  
Proceedings of the Japan Academy 59, Ser.B : 190, 1983
- 2) Sugita H, Ishiura S, Kohama K:  
Lysosomal and Nonlysosomal Enzymes and Amino Acid Fluxes in Catabolic States  
Neuromuscular Diseases (ed. Serratrice G, et al.) Raven Press, New York : 143-147, 1984
- 3) Sugita H, Ishiura S, Kamakura K:  
Ca-activated Neutral Protease in Physiological and Pathological Conditions  
Calcium Regulation in Biological Systems (ed. Ebashi S) , in press
- 4) Tsuchiya Y, Sugita H, Kuroiwa Y:  
Myotonic Dystrophy : Fragility of Band 3 Membrane Protein upon Resealing of Erythrocyte Ghosts and the Normality of ATPase Activity, Sialic Acid Content, and Spectrin Extractability of Ghosts  
Biochem Med 30 : 271-279, 1983
- 5) Nonaka I, Tojo M, Sugita H:  
Fetal Muscle Characteristics in Nemaline Myopathy  
Neuropediatrics 14 : 47-52, 1983
- 6) Nonaka I, Nakamura Y, Tojo M, Sugita H, Ishikawa T, Awaya A, Sugiyama N :  
Congenital Myopathy without Specific Features (Minimal Change Myopathy)  
Neuropediatrics 13 : 237-241, 1983
- 7) Takagi A, Sunohara N, Ishihara T, Nonaka I, Sugita H:  
Malignant Hyperthermia and Related Neuromuscular Diseases : Caffeine Contracture of the Skinned Muscle Fibers  
Muscle Nerve 6 : 510-514, 1983
- 8) Takagi A:  
Sarcoplasmic reticulum of Duchenne muscular dystrophy : A study on skinned muscle fiber

- Neuromuscular Diseases (ed. Serratrice G, et al.) Raven Press, New York : 123-125, 1984
- 9) Ikai T, Takagi A, Sugita H:  
Acute rhabdomyolysis induced by marcaine  
Jikeikai Med J 30 (Supp 1) : 117-122, 1984
  - 10) Miyazawa H, Ishiura S, Yonemoto K, Takagi A, Sugita H:  
Effect of hind limb immobilization on the lysosomal enzyme activity in the rat skeletal muscle  
Biomed Res 4 : 597-602, 1983
  - 11) Nonaka I, Takagi A, Ishiura S, Nakase H, Sugita H:  
Pathophysiology of muscle fiber necrosis induced by bupivacaine hydrochloride (Marcaine)  
Acta Neuropathol 60 : 167-174, 1983
  - 12) Mizusawa H, Takagi A, Sugita H, Toyokura Y :  
Muscular abnormalities in experimental hypothyroidism of rats with special reference to the mounding phenomenon  
Exp Neurol 1984, in press
  - 13) 猪飼哲夫, 高木昭夫, 米本恭三 :  
筋小胞体機能に対するマーカインの影響  
臨床神経 24 : 65-71, 1984
  - 14) 水沢英洋 :  
甲状腺機能低下症における mounding phenomenon の増強に関する実験的研究  
臨床神経 24 : 264-270, 1984
  - 15) 水沢英洋 :  
ラットの実験的甲状腺機能低下症における骨格筋の組織学的および組織化学的研究  
臨床神経 24 : 271-279, 1984
  - 16) 助川真行 :  
廢用性筋萎縮の病態：単一筋線維と微細構造の変化について  
日整外学誌 57 : 23-31, 1983
  - 17) Ishiura S, Nonaka I, Fujita T, Sugita H:  
Effect of Cycloheximide Administration on Bupivacaine-induced Acute Muscle Degrada-

tion

J Biochem 94 : 1631-1636, 1983

- 18) Sunohara N, Mukoyama M, Mano Y, Satoyoshi E:  
Action-induced rhythmic dystonia. An autopsy case  
Neurology 34 : 321-327, 1984
- 19) Kamakura K, Ishiura S, Sugita H, Toyokura Y :  
Identification of Ca<sup>2+</sup>-activated Neutral Protease in the Peripheral Nerve and Its Effects  
on Neurofilament Degeneration  
J Neurochem 40 : 908-913, 1983

b. 著 書

- 1) 杉田秀夫  
進行性筋ジストロフィー症, 筋緊張(筋硬直)症候群, 糖原病, 周期性四肢麻痺  
内科学 (上田英雄ほか編) 朝倉書店, 東京, 1984, p 1367-1374
- 2) 杉田秀夫, 中瀬浩史, 埜中征哉, 石浦章一, 高木昭夫  
進行性筋ジストロフィー症—成因と治療法の開発—  
実践の医学, 第21回日本医学会総会誌, 大阪, 1983, p 2538-2540
- 3) Takagi A:  
Skinned fiber studies in malignant hyperthermia  
Transcription of the Proceedings of 3rd International Workshop on Malignant Hyperthermia (ed. Brownell AKW) Alberta, Canada, 1982, p 162-170
- 4) 高木昭夫 :  
先天性ミオパチー, 多発性筋炎, 内分泌障害に伴うミオパチー, 重症筋無力症, 筋無力症候群  
内科学 (上田英雄ほか編) 朝倉書店, 東京, 1984, p 1374-1380
- 5) 高木昭夫 :  
筋ジストロフィー  
今日の治療指針 1984 vol 26 (石山俊次, 日野原重明, 阿部正和編) 医学書院, 東京 : 1984,  
p 197-198
- 6) 高木昭夫 :  
筋ジストロフィーと筋細胞膜異常  
創造の医学, 第21回日本医学会総会誌, 大阪, 1983, p 162-164



## II 研究業績

### 7) 石原傳幸 :

筋ジストロフィーの発症機序

リハビリテーション基礎医学 (上田敏, 千野直一, 岩倉博光編) 医学書院, 東京, 1983, p  
290-299

### c. 総 説

#### 1) Sugita H:

Mechanism of Muscle Protein Degradation in Progressive Muscular Dystrophy  
Brain & Development 5 : 115, 1983

#### 2) Sugita H, Ishiura S, Nonaka I:

Ca-activated Neutral Protease (CANP) and Its Inhibitors in Pathological States  
Proteinase Inhibitors : Medical and Biological Aspects (ed. Katunuma N, et al.) Japan  
Sci Soc Press, Tokyo/Springer-Verlag, Berlin : 69-75, 1983

#### 3) 杉田秀夫, 石浦章一 :

不活性型 CK-BB (CK-Bi) の測定とその臨床的意義  
Medical Technology 11 : 779, 1983

#### 4) 杉田秀夫 :

筋ジストロフィーモデル  
神経進歩 27 : 948-954, 1983

#### 5) 溝淵真人, 井上聖啓, 高須俊明, 杉田秀夫, 鈴木義之

成人型 Metachromatic Leukodystrophy  
神経進歩 27 : 211-225, 1983

#### 6) 杉田秀夫 :

筋強直性ジストロフィーの顔  
神経内科 20 : 235-237, 1984

#### 7) Takagi A:

Studies of single muscle fibers of Duchenne muscular dystrophy  
Italian J Neurol Sci, 1984, in press

#### 8) Ishiura S, Sugita H:

Mechanism of Muscle Protein Degradation in Muscular Dystrophy  
Molecular Aspects of Neurological Disorders, Academic Press Australia : 29-38, 1983

- 9) 石原傳幸：  
Duchenne 型筋ジストロフィー症の心肺不全対策  
総合リハビリテーション 11：277-281, 1983
- 10) 春原経彦, 里吉宮二郎：  
パーキンソン病 (特集 —— 内科診療5年間の進歩)  
診断と治療 71：577-582, 1983
- d. 症例報告
- 1) Sunohara N, Mukoyama M, Satoyoshi E：  
Neoplastic angioendotheliosis of the central nervous system  
J Neurol 231：14-19, 1984
- 2) Sunohara N, Satoyoshi E：  
Triiodothyronine (T<sub>3</sub>) toxicosis with hyperkalemic periodic paralysis  
Eur Neurol 23：100-103, 1984
- 3) 一條真琴, 石原傳幸, 内田晁雄, 森皎祐：  
一過性に multicore 様の病変を認めた悪性症候群 (syndrome malin) の一例  
臨床神経 23：749-756, 1983
- e. 班会議報告書
- 1) 杉田秀夫, 貫名信行, 豊倉康夫：  
ブロッティング法により抗ニューロフィラメント抗体の存在が証明された多発性神経炎  
厚生省特定疾患・免疫性神経疾患調査研究班  
昭和57年度研究報告書, 1983, p 346-351
- 2) 杉田秀夫, 藤田武久, 石浦章一, 高木昭夫：  
糖原病ウズラの形態学的研究  
文部省科学研究費補助金総合研究 A・新しく発見された興味ある疾患モデル動物の育成と  
利用に関する総合研究 昭和57年度研究報告書, 1983
- 3) 杉田秀夫, 鎌倉恵子, 石浦章一：  
ニューロフィラメント変性と  $\mu$ -CANP  
厚生省新薬開発・微生物の二次代謝産物に由来する難病治療薬 (E-64) の開発研究班 昭和  
57年度研究報告書, 1983, p 207-215
- 4) 杉田秀夫, 埜中征哉：

- 筋ジストロフィー・ハムスターに対する E-64-d の効果 組織学および組織化学研究 骨格筋の病理  
厚生省新薬開発・微生物の二次代謝産物に由来する難病治療薬 (E-64) の開発研究班 昭和57年度研究報告書, 1983, P 261-266
- 5) 杉田秀夫 :  
筋壊死と蛋白分解酵素  
厚生省神経疾患・筋ジストロフィー症の発症機序に関する臨床的研究班 昭和58年度研究報告書, 1984, p 296-297
- 6) 塚越廣, 松本容秋, 佐野元規, 石浦章一, 杉田秀夫 :  
Distal myopathy の臨床的, 形態学的検討と lysosome 酵素活性  
同上, 1984, p 190-194
- 7) 杉田秀夫, 佐野元規, 石浦章一, 萩原弘一 :  
実験的クロロキンミオパチー—Rimmed vacuole を伴う遠位型ミオパチーとの関連—  
同上, 1984, p 195-197
- 8) 杉田秀夫, 石浦章一, 藤田武久, 埜中征哉, 高木昭夫 :  
プロピバカイン (マーカイン) による急性筋崩壊の機序  
厚生省神経疾患・筋の発生と分化に関する基礎的研究班 昭和58年度研究報告書, 1984, p 169-172
- 9) 高木昭夫, 猪飼哲夫, 米本恭三, 埜中征哉, 杉田秀夫 :  
マーカインによる急性筋融解の機序  
厚生省神経疾患・筋ジストロフィー症の発症機序に関する臨床的研究班 昭和58年度研究報告書, 1984, p 158-161
- 10) 高木昭夫, 猪飼哲夫, 春原経彦, 杉田秀夫, 石原傳幸 :  
Duchenne 型筋ジストロフィーの筋小胞体機能, とくに Ca 遊離について  
同上, 1984, p 162-165
- 11) 高木昭夫, 埜中征哉, 石浦章一, 宮沢寛, 安部和子, 小川敬子 :  
ロイペプチンによる実験的治療  
厚生省新薬開発・微生物の二次代謝産物に由来する難病治療薬 (ロイペプチン) の開発研究班 昭和57年度研究報告書, 1983, p 59-62
- 12) 埜中征哉, 石浦章一, 藤田武久, 高木昭夫 :

塩酸ピバカイン（マーカイン）処理による筋崩壊と筋再生に対するロイペプチンの影響  
同上, 1983, p 63-69

- 13) 石浦章一, 埜中征哉, 宮沢寛, 中瀬浩史, 高木昭夫, 杉田秀夫 :

急性筋崩壊における E-64-c の効果

厚生省新薬開発・微生物の二次代謝産物に由来する難病治療薬（E-64）の開発研究班 昭和57年度研究報告書, 1983, p 193-199

- 14) 里吉栄二郎, 春原経彦, 富英明 :

各種筋疾患に対するベスタチン（NK421）投与後の経過報告

厚生省新薬開発・微生物の二次代謝産物に由来する難病治療薬（ロイペプチン）の開発研究班 昭和57年度研究報告書, 1983, p 101-105

- 15) 里吉栄二郎, 春原経彦 :

1) Idiopathic dystonia-parkinsonism—電気生理学的検索—

2) “Mitochondrial myopathy”における staircase phenomenon について

東京都特殊疾病(難病)に関する研究班 昭和57年度研究報告書, 1983, p 25-37

- 16) 井上満, 石原傳幸, 吉村正也, 四倉正之, 半谷満太郎, 山本邦彦 :

Duchenne 型筋ジストロフィー症における助間筋の組織化学的検討

厚生省神経疾患・筋ジストロフィー症の疫学, 臨床および治療に関する研究班 昭和57年度研究報告書, 1983, p 366-369

- 17) 石原傳幸 :

mdy マウスの組織化学的解析

文部省科学研究費補助金総合研究 A・新たに発見された二つの神経・筋異常マウスの成因の解析と疾患モデルとしての評価 昭和55～57年度研究成果報告書, 1983, p 59-73

## B. 学会発表

### a. 特別講演, シンポジウム

- 1) 杉田秀夫, 中瀬浩史, 埜中征哉, 石浦章一, 高木昭夫 :

進行性筋ジストロフィー症—成因と治療法の開発

第21回日本医学会総会シンポジウム, 大阪, 4. 8-10, 1983

- 2) 杉田秀夫 :

筋疾患, とくに進行性筋ジストロフィー症研究の最近の進歩

第8回運動療法研究会シンポジウム, 東京, 5, 28, 1983

3) Sugita H, Ishiura S, Kamakura K:

Involvement in Cytoskeleton

The Proceedings of Takeda Science Foundation Symposium on Bioscience "Calcium Regulation in Biological Systems", Kyoto, 11.21-23, 1983

4) 高木昭夫:

筋ジストロフィーと筋細胞膜異常

第21回日本医学会総会シンポジウム「膜疾患」, 大阪, 4, 8-10, 1983 (学術講演要旨, p.43)

5) 高木昭夫:

骨格筋の生理と病態

第8回運動療法研究会シンポジウム, 東京, 5, 28, 1983

6) Takagi A:

Physiological and biochemical studies of single muscle fibers in Duchenne muscular dystrophy

Intern Symposium promoted by the "Legato Dino Ferrari", "Muscular Dystrophy—Facts and Perspectives", Modena, Italy, June 3-4, 1983

c. 一般学会

1) 高木昭夫, 宮沢寛, 杉田秀夫:

デュシェンヌ型筋ジストロフィーの筋小胞体機能: スキンドファイバー法による再検討

第24回日本神経学会総会, 京都, 5, 25-27, 1983 (臨床神経学 23: 1175-1176, 1983)

2) 岩淵潔, 柳下三郎, 今枝実, 三杉信子, 高木昭夫:

悪性症候群15例の主に筋肉系異常について

同上 (臨床神経学 23: 1152, 1983)

3) 石浦章一, 杉田秀夫:

病的状態における筋タンパク質の分解とその調節

第56回日本生化学会, 福岡, 9, 29-10, 2, 1983

4) 橋本清, 藤野修, 釜菴敏, 藤田武久, 二上哲志, 弓削邦夫, 植田稔

運動開始によって誘発される発作について, seizures induced by movement の6例

第86回日本小児科学会, 大阪, 4, 15-17, 1983

- 5) 藤田武久, 高木昭夫, 石浦章一, 埜中征哉, 杉田秀夫, 水谷誠：  
ヒトとウズラ糖原病骨格筋の組織学的検討  
第24回日本神経学会総会，京都，5. 25-27, 1983  
(臨床神経学 23：1215, 1983)
- 6) 埜中征哉, 藤田武久：  
筋線維の未熟性と分化遅延を主病変とする先天性ミオパチー  
第25回日本小児神経学会総会，栃木，7. 7-9, 1983
- 7) 藤田武久, 藤野修, 橋本清, 平山恒夫, 植田穰, 埜中征哉：  
拡張型心筋症を合併した筋糖原病と思われる1例  
同上
- 8) 藤田武久, 橋本清, 芦田光則, 松浦浩：  
半球間裂部硬膜下膿瘍の1例  
第335回日本小児科学会東京都地方会，東京，10. 8, 1983
- 9) 石原傳幸, 四倉正之, 井上満：  
福山型先天性筋ジストロフィーの子後について  
第20回リハビリ学会総会，名古屋，1983. 6
- 10) 石原傳幸, 杉田秀夫, 埜中征哉, 井上満：  
Duchenne型筋ジストロフィーにおける呼吸筋の組織化学的検討  
第24回日本神経学会総会，京都，5. 25-27, 1983
- 11) 富英明, 春原経彦, 里吉栄二郎, 柴崎啓一, 橘滋国：  
筋収縮に及ぼす各種神経及び筋疾患の影響  
同上
- 12) 春原経彦, 河崎博, 里吉栄二郎, 田苗綾子：  
Anosmia-ichthyosis-hypogonadism (AIH) syndrome：新しい症候群の提唱  
同上
- 13) 一井本, 春原経彦, 安藤一也, 里吉栄二郎：  
パーキンソン症候群の立位回旋障害について  
同上
- 14) 一井本, 横井風児, 春原経彦, 里吉栄二郎, 柴崎啓一：  
間歇性跛行を呈した Vertebral hemangioma の1例

## II 研究業績

第85回日本神経学会関東地方会，東京，6. 4，1983

- 15) 横井風児，向山昌邦，亀井敦行，春原経彦，里吉栄二郎：

Alveolar cell carcinoma による meningeal carcinomatosis—症例報告と文献的考案

第86回日本神経学会関東地方会，東京，10. 1，1983

- 16) 富英明，春原経彦，里吉栄二郎，柴崎啓一，橘滋国：

一次ニューロン，二次ニューロン障害例における staircase phenomenon の検索

第13回日本脳波・筋電図学会学術大会，奈良，12. 2，1983

- 17) 春原経彦，富英明，安藤一也，里吉栄二郎，橘滋国：

Myerson 徴候：真に R<sub>2</sub>-habituation 欠如によるのか？

同 上

- 18) 一井本，富英明，春原経彦，杉田秀夫，里吉栄二郎：

Chorea，異常眼球運動，小脳虫部萎縮を呈する小児兄弟例

第87回日本神経学会関東地方会，東京，12. 3，1983

- 19) 富英明，春原経彦，埜中征哉，高木昭夫，杉田秀夫：

成人型 acid maltase 欠損症の同胞例

第88回日本神経学会関東地方会，東京，2. 25，1984

- 20) 鎌倉恵子，石浦章一，杉田秀夫，豊倉康夫：

Waller 変性における neurofilament 変性と calcium-activated neutral protease (CANP) —

第3報 —

第24回日本神経学会総会，京都，5. 25-27，1983

- 21) 佐野元規，石浦章一，杉田秀夫：

クロロキンによる筋壊死の際のリソゾームプロテアーゼ

第56回日本生化学会，福岡，9. 29-10. 2，1983

### C. 班会議発表

- 1) 杉田秀夫，高木昭夫，猪飼哲夫：

塩酸ピバカイン（マーカイン）による急性筋融解

文部省科学研究費補助金総合研究 A・興奮収縮連関における内部膜系の活性化の生理学的

研究 昭和58年度班会議，岡崎，11. 25-27，1983

- 2) 杉田秀夫，藤田武久，高木昭夫，石浦章一：

糖原病II型ウズラの酵素学的研究

- 文部省科学研究費補助金総合研究 A・新しく発見された興味ある疾患モデル動物の育成に関する総合研究 昭和58年度疾患モデル動物の開発と利用 合同研究発表会, 大阪, 11, 29-30, 1983
- 3) 杉田秀夫, 埜中征哉, 江崎孝三郎:  
Peroneal muscular atrophy (PMA) マウスの病因に関する神経病理学的検討  
厚生省神経疾患・筋の発生と分化に関する基礎的研究班・筋ジストロフィー症動物の開発供給に関する研究班 昭和58年度合同班会議, 東京, 12, 1-2, 1983
- 4) 杉田秀夫, 石浦章一:  
マーカインによる実験的筋崩壊の機序  
同上
- 5) 杉田秀夫, 佐野元規, 石浦章一, 萩原弘一:  
実験的クロロキンミオパチー—Rimmed vacuole を伴う遠位型ミオパチーとの関連—  
厚生省神経疾患・筋ジストロフィー症の発症機序に関する臨床的研究班 昭和58年度班会議, 東京, 12, 3-4, 1983
- 6) 塚越廣, 松本容秋, 佐野元規, 石浦章一, 杉田秀夫:  
Distal myopathy の臨床的・形態学的検討とライソゾーム酵素活性  
同上
- 7) 杉田秀夫, 石浦章一:  
急性筋崩壊機構とその制御  
生体運動の合同班会議, 東京, 1, 6-8, 1984
- 8) 杉田秀夫, 貫名信行, 井原康夫, 豊倉康夫:  
アルツハイマー病老人斑の免疫組織化学的研究  
厚生省特定疾患・免疫性神経疾患調査研究班 昭和58年度総会, 東京, 1, 20-21, 1984
- 9) 杉田秀夫, 石原傳幸, 宮谷信行, 桑原武夫:  
EST の Early Phase II 試験  
厚生省新薬開発・微生物の二次代謝産物に由来する難病治療薬 (E-64) の開発研究班  
昭和58年度班会議, 東京, 2, 29-3, 1, 1984
- 10) 杉田秀夫, 埜中征哉, 大関正弘, 木村正明:  
筋ジストロフィーマウスに対する効果—病理について  
同上



## II 研究業績

- 11) 杉田秀夫, 鎌倉恵子, 石原傳幸, 高木昭夫, 埜中征哉 :  
ニューロフィラメント変性と CANP—続報—  
同 上
- 12) 高木昭夫, 猪飼哲夫, 米本恭三, 埜中征哉, 杉田秀夫 :  
マーカインによる急性筋融解の機序  
厚生省神経疾患・筋ジストロフィー症の発症機序に関する臨床的研究班 昭和58年度班会  
議, 東京, 12. 3-4, 1983
- 13) 高木昭夫, 猪飼哲夫, 春原経彦, 杉田秀夫, 石原傳幸 :  
Duchenne 型筋ジストロフィー (DMD) の筋小胞体機能, とくに Ca 遊離について  
同 上
- 14) 高木昭夫, 藤田武久, 猪飼哲夫, 杉田秀夫, 埜中征哉 :  
筋ジストロフィーハムスターに対するベスタチン投与の効果  
厚生省新薬開発・微生物の二次代謝産物に由来する難病治療薬(ロイペプチン)の開発研究班  
昭和58年度班会議, 東京, 3. 8, 1984
- 15) 石浦章一, 杉田秀夫, 藤田武久, 佐野元規 :  
マーカインによる急性筋崩壊に対する EST 投与の効果  
厚生省新薬開発・微生物の二次代謝産物に由来する難病治療薬 (E-64) の開発研究班  
昭和58年度班会議, 東京, 2. 29-3. 1, 1984
- 16) 里吉栄二郎, 春原経彦, 富英明 :  
筋ジストロフィーを中心とする各種筋疾患に対する NK421 (Bestatin) 投与後の経過報告  
厚生省新薬開発・微生物の二次代謝産物に由来する難病治療薬(ロイペプチン)の開発研究班  
昭和58年度班会議, 東京, 3. 8, 1984
- 17) 里吉栄二郎, 春原経彦, 富英明 :  
肢帯型筋ジストロフィーおよびミトコンドリアミオパチーにおける staircase phenomenon  
について  
東京都特殊疾病(難病)に関する研究班 昭和57年度研究報告会, 東京, 5. 28, 1983
- 18) 青柳昭雄, 石原傳幸, 四倉正之, 儀武三郎, 半谷満太郎 :  
  
福山型先天性筋ジストロフィーの死因について

厚生省神経疾患・筋ジストロフィー症の疫学、臨床および治療に関する研究班

昭和58年度班会議，東京，12. 1-2, 1983

- 19) 青柳昭雄，石原傳幸，四倉正之，儀武三郎：  
筋ジストロフィーにおける呼吸筋の組織化学的検討  
同上

#### D. 研究会など

- 1) 杉田秀夫：  
進行性筋ジストロフィー症  
東京大学医科学研究所 大学院講義，東京，5. 23, 1983
- 2) 杉田秀夫：  
筋収縮機構とその異常  
全国ミオナル研究会，東京，7. 22, 1983
- 3) 杉田秀夫：  
筋壊死と蛋白分解酵素  
厚生省神経疾患・筋ジストロフィー症の発症機序に関する臨床的研究班 昭和58年度ワークショップ ‘筋変性の自己崩壊機序：Rimmed vacuole をめぐって’，東京8. 3, 1983
- 4) 杉田秀夫：  
進行性筋ジストロフィー症研究の最近の進歩  
日本筋ジストロフィー協会全国役員研修会講演，青森，10. 22, 1983
- 5) 杉田秀夫：  
Duchenne 型筋ジストロフィー症の保因者検査  
厚生省神経疾患・筋ジストロフィー症の疫学、臨床および治療に関する研究班  
昭和58年度ワークショップ，東京，10. 29, 1983
- 6) 杉田秀夫：  
Cytoskeleton と protease  
順天堂大学医学部セミナー，東京，12. 23, 1983
- 7) 杉田秀夫：  
筋ジストロフィー症の成因と治療  
国立療養所下志津病院研修会講演，千葉，1. 11, 1984
- 8) 杉田秀夫：

## II 研究業績

### 筋ジストロフィーの成因と治療

国立療養所原病院研修会講演，広島，1. 26, 1984

9) 高木昭夫：

神経筋疾患

東京慈恵会医科大学講義，東京，7. 8, 1983

10) 高木昭夫：

重症筋無力症

防衛医科大学講義，埼玉，10. 6, 1983

11) 高木昭夫，猪飼哲夫，春原経彦，石原傳幸，杉田秀夫：

筋ジストロフィーと悪性高熱症

第7回悪性高熱研究会，大阪，11. 12, 1983 (抄録集 p.26)

12) 田中行夫，熊沢光生，佐藤治，高野義人，安田勝久，高木昭夫：

Skinned fiber 法によるカフェイン拘縮テストを行った MH の1症例

同上 (抄録集 p.24)

13) 猪飼哲夫，高木昭夫，杉田秀夫：

塩酸プロピバカイン (マーカイン) による急性筋融解

‘筋内部膜の活性化’研究会，岡崎，11. 25-27, 1983

14) 高木昭夫：

興奮・収縮連関の臨床的諸問題

生理学特別講義，防衛医大，埼玉，12. 16, 1983

15) 石原傳幸：

筋ジストロフィー症の心肺機能について

厚生省神経疾患・筋ジストロフィー症の療護に関する総合的研究班

昭和58年度ワークショップ‘筋ジストロフィー症の運動機能訓練のあり方とその実際’，東京，

2. 25, 1984

16) 紀平為子，向山昌邦，一井本，春原経彦，安藤一也，里吉宮二郎：

比較的急速な経過を示した Shy-Drager 症候群の1例

第15回臨床神経病理研究会，東京，7. 16, 1983

17) 小森哲夫，横井風児，春原経彦，安藤一也，里吉宮二郎：

高令発症の progressive chorea の1例

第11回三多摩神経疾患懇話会，立川，9. 3, 1983

- 18) 春原経彦，高木昭夫，埜中征哉，大谷清：

側弯症と悪性高熱との関連について

第7回悪性高熱研究会，大阪，11. 12, 1983 (抄録集 p.25)

- 19) 一井本，春原経彦，安藤一也，里吉営二郎：

パーキンソン症候群の立位回旋障害について

才4回三多摩パーキンソン病懇談会，立川，7. 16, 1983

- 20) 春原経彦，安藤一也，里吉営二郎：

Apraxia - rigidity syndrome

同 上

### 3. 主な研究報告

#### マーカインによる急性筋融解の機序

猪飼哲夫, 高木昭夫

##### ●研究方法

筋線維束およびスキンドファイバーを用いて、局所麻酔剤である塩酸ピバカイン（マーカイン）の骨格筋に及ぼす効果（in vitro）を検討した。骨格筋は、ラットの長趾伸筋およびひらめ筋を使用した。その結果にもとづいて筋壊死をおこす機序について考察した。

##### ●研究経過ならびに考察

ラットの長趾伸筋を Krebs-Ringer 液を含む小容器中に固定して張力を記録したところ、マーカインを添加した場合には、著明な筋拘縮が発生した。しかし、Ca-free の Krebs-Ringer 液ではマーカインによる筋拘縮の程度は小さく、さらに procaine を添加した場合には、明らかに減少した。筋破壊の一指標として外液中に漏出したクレアチンキナーゼ（CK）活性を30分ごとに測定した。マーカインにより筋肉内のCKが多量に漏出することが観察された。外液中のCaを除去し procaine を添加した時には、外液に漏出するCKは著明に減少した。形態学的には、マーカイン処理後には過収縮や断裂した筋線維が観察された。電顕では、形質膜の部分的欠損、筋節の

短縮、ミオフィラメント配列の変化などが観察された。

スキンドファイバーを用いた実験では、マーカインが筋小胞体に作用を及ぼすことが明らかになった。筋小胞体のみかけ上のCa摂取の抑制、Ca漏出やCa誘発性Ca遊離の促進が認められた。

上記の実験により、マーカインは、細胞内のCaイオン濃度の調節を障害して、急性筋融解を発生させるものと推定した。マーカインは2つの経路により細胞内Caイオン濃度を増加させると考えられる。第1に、マーカインは筋表面膜を障害して細胞外Caを流入させる。第2に、マーカインは筋小胞体に対しCa遊離や漏出を増加させる。前者の方が大きな役割をはたしていると考えられる。この細胞内Caイオン濃度の増加により、過収縮が生じ機械的急性筋融解を引き起こしたり、エネルギー代謝などの障害により筋融解をおこすと推定される。しかし、この作用のみかは断定できず、細胞機能を直接障害して筋壊死を生じさせることも考えられる。また、筋壊死の成因における筋小胞体からのCaイオンの役割は今後の実験の課題であろう。

## 急性筋崩壊及び再生に対するマクロファージの役割

藤田武久, 石浦章一, 杉田秀夫

骨格筋タンパク質の崩壊機構を明らかにする目的で、局所麻酔剤である塩酸ブピバカイン (BPC) をラットヒラメ筋に筋注すると、筋注48時間後には筋全体に壊死性筋崩壊の特徴であるマクロファージ (M $\phi$ ) の浸潤がみられる。今回、このM $\phi$ の関与する急性筋崩壊を抑制する目的で、蛋白合成阻害剤であるシクロヘキシミド (CHI) をラットに投与し、M $\phi$ 由来の酵素系の変動とそれに続く再生について数量的に検討した。

## 方法

250gのオスラットの右足ヒラメ筋に0.5%BPCを0.2ml筋注した群と、BPC筋注と同時に2mMCHI, 1mlを1回腹腔内に投与した群に分け、注射後48時間、4, 6, 7, 14及び28日目に筋をとり出し、生化学的及び組織学的に検索した。再生線維の同定にはATPase染色によるタイプ2C線維と中心核線維を用いた。

## 結果と考察

表1に注射48時間後の生化学的分析の結果を示す。BPC単独投与群では、筋タンパク量は対照群の40%に低下し、筋ホモジネート中のライソゾーム酵素活性は約3-10倍上昇し、筋タンパク量と反比例していた。一方、CHI投与群では、筋タンパク量の低下は約55%に抑えられ、筋内ライソゾーム酵素活性の上昇も同様に抑制された。

腹水中のM $\phi$ のカテプシンB&L活性を調べてみると、BPC単独投与群では筋注すると直ちにその活性は上昇するが、CHIを加えると、カテプシンB&L活性の上昇は少なくとも1日は抑制されていることがわかった。

組織学的には、BPC単独投与群では、48時間後M $\phi$ の浸潤と貧食反応を伴う壊死線維がみられ、4日目に再生線維が出現した。一方、CHI投与群では、貧食反応は4日目に著明で、6日目に再生線維が出現した。再生線維の線維径を経時的に調べてみると(図1)、BPC投与群に比べ、CHI投与群では筋線維径の増大は明らかに遅れていた。また、未分化なタイプ2C線維の割合は(図2)、CHI投与群で多く、タイプ1線維への分化が遅れており、この分化の遅れは再生線維の出現の遅れと平行していた。これらの事実は、M $\phi$ が骨格筋タンパク質の分解及びそれに続く再生に大きく寄与していることを示唆している。

Effect of cycloheximide (CHI)-administration on lysosomal enzyme activities in soleus 48h after injection

Enzymes	Specific Activity (U/mg)		
	Bupivacaine (B)	Control (C)	B + CHI
Cathepsins B&L	314 $\pm$ 16*	24 $\pm$ 3	72 $\pm$ 14*
Cathepsin D	0.499 $\pm$ 0.042*	0.163 $\pm$ 0.013	0.205 $\pm$ 0.018*
$\Delta$ -glucosidase	1.85 $\pm$ 0.19	2.20 $\pm$ 0.12	0.64 $\pm$ 0.05*
$\Delta$ -galactosidase	3.89 $\pm$ 0.36*	1.03 $\pm$ 0.08	1.37 $\pm$ 0.10*
Acid phosphatase	0.175 $\pm$ 0.011	0.174 $\pm$ 0.008	0.122 $\pm$ 0.009
Soluble protein	5.03 $\pm$ 0.14	5.12 $\pm$ 0.12	4.53 $\pm$ 0.13*mg/ml
Non-collagen protein	4.03 $\pm$ 0.29*	9.08 $\pm$ 0.74	6.87 $\pm$ 0.26* mg

Mean  $\pm$  SEM,  $p < 0.01$ ,  $n = 10$ .

図1

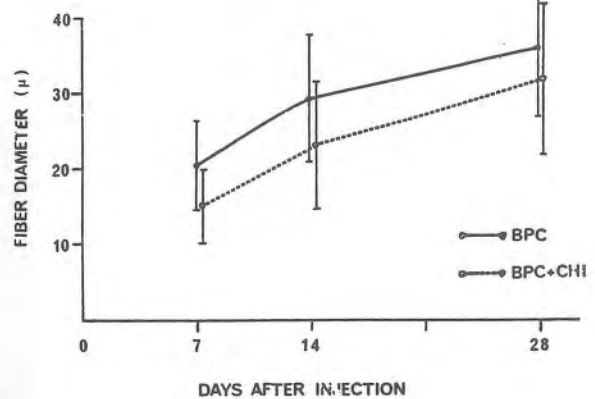
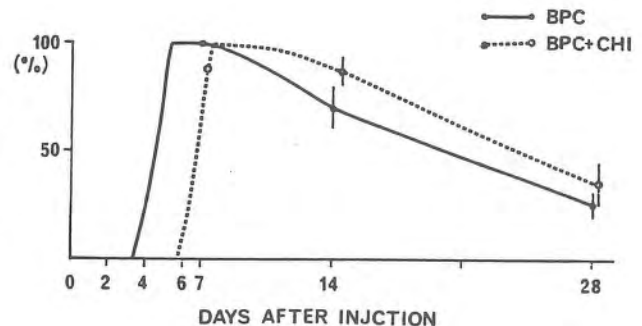


図2

PERCENTAGE OF TYPE 2C FIBERS



Neurofilament 結合性の  $\text{Ca}^{2+}$ -activated neutral protease (CANP)

鎌倉恵子, 石浦章一, 藤田武久, 杉田秀夫

我々はこれまでに、末梢神経内に CANP が存在し neurofilament (Nf) を変性させることを、incubation 実験、immunoblotting 法などで証明した。さらに 2 種類の CANP—つまり mM 単位の  $\text{Ca}^{2+}$  で活性化する m-CANP と  $\mu\text{M}$  単位の  $\text{Ca}^{2+}$  で活性化する  $\mu$ -CANP が末梢神経内に存在し、Nf の triplet (200K, 160K, 68K) のうち 160K を最も速く変性させることを証明してきた。今回は Nf 結合性の CANP について調べた。

## 方法:

Wistar 系ラット脊髄より Nf を抽出した。精製法はこれまでの低張液を用いる方法でなく、等張液、Triton X-100 を用いる方法で行なった。この Nf 自体を、 $\text{Ca}^{2+}$ -free, 0.1mM, 1 mM の  $\text{Ca}^{2+}$  存在下、1 mM の  $\text{Ca}^{2+}$  と E-64-c 存在下に incubate し、Nf の経時変化を SDS ゲルで観察した。次にこの Nf を低張液に対し透析後、上記と同様の条件下に incubate し、SDS ゲルで観察した。又、この Nf をニトロセルロース膜に転写し、抗 CANP 血清を用いて immunoblotting を行なった。さらに、ラット坐骨神経の凍結切片 ( $5\ \mu$ ) に、抗 CANP 血清、FITC ラベル抗ウサギ IgG (ヤギ) を反応させ、蛍光顕微鏡で観察した。対照としては、preimmune のウサギ血清または、CANP で吸収した抗 CANP 血清を一次抗体として用いた。

## 結果:

今回の方法で採取した Nf は、 $\text{Ca}^{2+}$  存在下に incubate すると 15 分より変性し、この変化は  $\text{Ca}^{2+}$ -free の状態、E-64-c 存在下では生じない。変性は triplet のうち 160K より生じた。 $\text{Ca}^{2+}$  濃度は 0.1mM でも変性したが、1, 5 mM の場合よりはるかにゆるやかであった。この Nf を低張液に透析後、 $\text{Ca}^{2+}$  存在下に incubate すると変性はずっとゆるやかであった (図 1)。しかし、この Nf の抗 CANP 血清による immunoblotting で band は得られなかった。末梢神経の間接蛍光抗体法では、横断面、縦断面ともに軸索に強い蛍光がみられた。対照では diffuse に排特異蛍光がみられた。(図 2)

## 考察:

今回の方法で採取した Nf には、 $\text{Ca}^{2+}$  依存性に Nf を変性し、 $\text{Ca}^{2+}$ -free, E-64-c 存在下で変性させない酵素、CANP が結合していると推測される。この的方法では CANP が主として軸索に存在することがわかった。Nf に結合しているか否かは免疫電顕によらないと不明である。

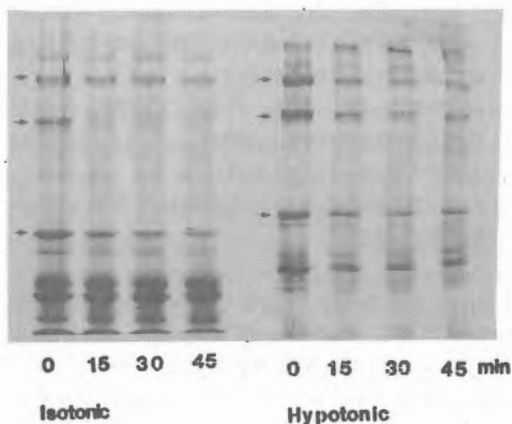
5mM $\text{Ca}^{2+}$ 

図 1. Nf を等張液、低張液おののに透析した場合の、5 mM  $\text{Ca}^{2+}$  存在下における経時変化のちがひ。

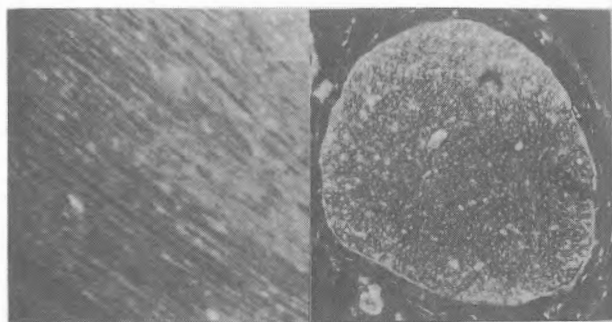


図 2. 末梢神経、横断面、縦断面の抗 CANP 血清による間接的蛍光抗体法。  
×160

Nf を低張液に透析すると、 $\text{Ca}^{2+}$  存在下でも Nf 変性は生じないため、低張液中では Nf 結合性 CANP が遊離すると考えられる。このことは、これまでの低張液を用いて採取した Nf が、 $\text{Ca}^{2+}$  存在下に長時間 incubate しても変性しなかったことの説明になると思われる。今回の Nf の抗 CANP 血清による immunoblotting で band が得られなかったことは、CANP の結合を必ずしも否定するものでなく、量が非常に少ないためと思われる。一方、免疫組織化学

## 実験的クロロキンミオパチー

佐野元規, 石浦章一, 杉田秀夫

## はじめに

クロロキンを長期投与した臨床例及び動物実験では, rimmed vacuole を伴うミオパチーが発症することが知られている。そこでクロロキンミオパチーを rimmed vacuole を伴う遠位型ミオパチーの実験モデルとして生化学的に検討を加えた。

## 方法

ウィスター系雄ラットの腹腔内にクロロキン 2 磷酸を 50mg/kg の割合で連日投与した。40 日間以上投与後, ひらめ筋をとり出し組織学的検索を行ない, 次に rimmed vacuole を伴うミオパチーが発症していることを確認した上で, 筋構造蛋白の電気泳動, リソゾーム系酵素活性の測定を行なった。

## 結果

## 1) 形態学的所見

HE 染色では筋線維内に好塩基性に染まる rimmed vacuole が見られた。マクロファージの浸潤は見られなかった。酸フォスファターゼ染色では筋線維内が強く陽性に染まっていた。電顕では rimmed vacuole を伴う遠位型ミオパチーで見られるような典型的な myelin figure が見られた。

## 2) 生化学的所見

筋構造蛋白は SDS-PAGE で検討したところ塩酸プロピバカインによる筋崩壊の場合とは異なり  $\alpha$ -アクチニンの減少は見られず, デスミンの増加が見られた(図 1)。リソゾーム酵素活性は測定した 9 種類すべてが上昇していたがとくに酸性プロテアーゼであるカテプシン B&L, カテプシン D, カテプシン H が著明に上昇していた(表 1)。塩酸プロピバカインの場合とは異なり  $\alpha$ -グルコシダーゼ, 酸性フォスファターゼも上昇しているのが特徴である。筋構造蛋白量は正常コントロール群の 56% に減少していた。

## 考察

塩酸プロピバカインによる筋の崩壊の際には浸潤マクロファージ由来のカテプシン群により筋構造蛋白が分解されることが確かめられている。クロロキンミオパチーの場合には組織学的にはマクロファージの浸潤が見られず, 電気泳動のパターンもリソゾーム系酵素活性の上昇のパターンも異なっており塩酸プロピバカインの場合とは違った筋蛋白分解の機序が考えられる。おそらくは筋リソゾーム由来のカテプシン群が筋蛋白分解に関与するのであろう。同様に rimmed vacuole を伴う遠位型ミオパチーでも筋細胞自体のリソゾームが筋萎縮に重要な役割を占めて

いることが示唆される。

図 1

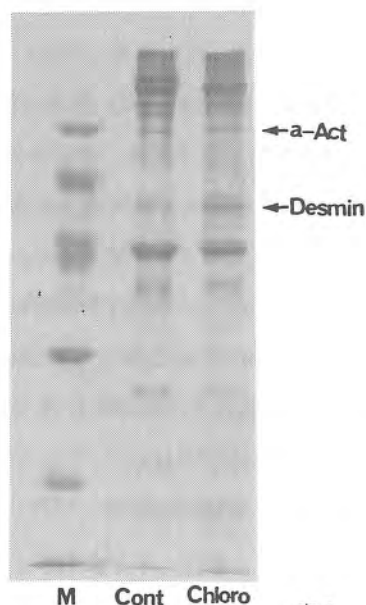


表 1

Various lysosomal enzyme activities in chloroquine myopathy

Enzyme	Enzyme activity (U/mg)		Mean $\pm$ S.D. Ch/C
	Chloroquine (n=10)	Control (n=10)	
Cathepsin B&L <sup>1</sup>	127.6 $\pm$ 27.5*	18.4 $\pm$ 6.48	6.9
Cathepsin D <sup>1</sup>	0.301 $\pm$ 0.08*	0.0373 $\pm$ 0.0112	8.1
Cathepsin H <sup>1</sup>	0.341 $\pm$ 0.038*	0.0565 $\pm$ 0.0129	6.0
$\alpha$ -Galactosidase <sup>1</sup>	4.24 $\pm$ 0.296*	0.962 $\pm$ 0.154	4.4
$\alpha$ -Glucosidase <sup>1</sup>	7.13 $\pm$ 1.73*	2.63 $\pm$ 0.19	2.7
$\beta$ -N-acetylglucosaminidase <sup>1</sup>	2.04 $\pm$ 0.39*	0.551 $\pm$ 0.025	3.7
$\beta$ -Glucuronidase <sup>1</sup>	1.12 $\pm$ 0.175*	0.345 $\pm$ 0.105	3.2
Acid phosphatase <sup>1</sup>	0.592 $\pm$ 0.107*	0.279 $\pm$ 0.074	2.1
Arylsulphatase <sup>1</sup>	0.525 $\pm$ 0.232*	0.147 $\pm$ 0.016	3.6
Non collagen protein(mg/solous)	2.50 $\pm$ 0.25*	4.44 $\pm$ 0.59	0.56

<sup>1</sup>1 unit = nmol naphthylamine/hour

<sup>1</sup>1 unit = the amount of the enzyme which catalyzed an increase of 1.0 absorbance at 280nm

<sup>1</sup>1 unit = arbitrary unit

\* P < 0.01



### 3. 疾病研究第2部

#### 1. 研究部一年の歩み

小児の発達障害の予防と治療の開発を使命としているが、特に、母体要因による脳障害、無酸素症、および神経皮膚症候群を主とする遺伝性異常の病態生理などについて基礎的、臨床的検討を続けてきた。

昭和58年度に当部の研究活動に直接、または共同で参加した者は以下の通りである。

〔室長〕田中晴美、桜川宣男（併任）、〔研究員〕許斐博史、工藤英昭、〔流動研究員〕吉田豊、岩崎説雄、佐藤充、〔賃金研究員〕中沢一治、野口悦子、竹花美博、林昭子、〔併任研究員〕林利彦、〔研究生〕伊藤秀晴、金子慶賛、中安清夫、〔研究補助〕須貝千恵子、久保田直美、藤原裕見子、〔小児神経科医師〕平山義人、松井晨、東条恵、松坂哲應、鈴木文晴、志倉圭子、須貝研司。

人事異動は、上記のうち、58年4月から林昭子（愛知県立ガンセンター生化学部門）が細胞生物学の研究に加わった。10月に許斐博史がコラーゲン分子の研究のため米国、New Jersey, Rutgers 医大生化学 Olsen 研究室に outward, その後に工藤英昭（国立小児病院）が2月から着任した。

昭和58年度に実施した主な研究の具体的な内容はそれぞれの担当者から主な研究報告として紹介するが、項目を略述しておく。

#### (1) 母体環境による胎児脳障害

母体のアルコール飲用、X線照射による小頭症の発現について生化学的ならびに形態学的に分析をすすめてきたが、本年度は、カフェインおよびその代謝産物の脳発達におよぼす影響、X線照射後の胎児脳のDNA構造の変化などについて解析を進めた。

#### (2) 三環系抗精神薬などによる酸性スフィンゴミエリナーゼの低下

培養線維芽細胞を用い、AY9944などの場合と類似の特異的な酸性スフィンゴミエリナーゼ活性低下を証明した。小児に対して投与する時の脳障害発生の危険を予見しうる所見と考えられた。また、DMSOが本酵素の誘導に働くことを見出した。中性スフィンゴミエリナーゼについてはアミノ酸組成について検討を行い、酸性のそれと類似する可能性を見出した。

#### (3) 神経皮膚症候群

DNA損傷に対する修復能の検索に重点を置いた。結節性硬化症においては、培養線維芽細胞のX線感受性は本質的に正常であり、腫瘍化した病変部由来の場合には感受性が増加しうる成績を得た。X線を照射して生じた一本鎖切断の再結合は二相性の時間経過で行われるが、結節性硬化症においては急速相における再結合が対照よりも促進していた。

神経皮膚症候群の特徴の一つに腫瘍部のコラーゲンの増加があげられるが、4型や5型コラーゲンの増加が示唆されていた。培養細胞においても型特異性間接蛍光抗体法を用い4型や5型が対照の細胞に比し多いことを認め得た。

#### (4) ウイルソン病，メンケス病に関する検討

培養線維芽細胞を用いたメタロチオニン誘導の動態，および，ペニシラミン使用不可能な患者に対するトリエチレンテトラミン・2 HClの精製法等の検討を続けてきた。現在のところ追試を終えた段階であり，今後，新たな計画に入る予定である。

#### (5) ポジトロンを用いた脳機能の検討

昨年度にひきつづき，実験動物，および臨床例について，血流，代謝の状況を知るための指標としてポジトロン断層撮影を記録してきた。

$^{14}\text{CO}_2$ と $^{15}\text{CO}_2$ によるイメージの差などが見出され，判定について基礎的知見を加えた。

#### (6) 学会活動

第4回国際発達障害シンポジウムにおいて，有馬は組織委員会委員長として疾病研第5部の鈴木部長らとともに会の運営を総括した。また，第17回国際小児科学会議における精神遅滞関係のシンポジウムにおいて，座長，および演者として発表を行った。同会議には田中も演題発表を行った。桜川は，サイクロトロンの医学的応用に関する第3回国際シンポジウムに出席し講演した。

また，吉田，野口両研究員はカナダにおける第9回国際神経化学会で発表を行った。

(部長 有馬正高)

## 2. 研究業績

### A 論文

#### a. 原著

1) Tanaka H, Nakazawa K, Arima M:

Adverse effect of maternal caffeine ingestion on fetal cerebrum in rat

Brain Dev 5 : 394-406, 1983

2) Tanaka H, Nakazawa K, Arima W, Morooka K, Suzuki F, Aoki T, Kohno Y:

Tuberous sclerosis : Proline and hydroxyproline contents in serum

Brain Dev 5 : 450-456, 1983

3) Tanaka H, Inomata K, Arima M:

Zinc supplementation in ethanol-treated pregnant rats increases the metabolic activity in

## II 研究業績

- the fetal hippocampus  
Brain Dev 5 : 549-554, 1983
- 4) Sakuraba H, Tanaka H:  
Biochemical analysis of cerebrum of fetal rat x-irradiated in utero—DNA, RNA, superoxide dismutase and lipid peroxide—  
Brain Dev 5 : 457-463, 1983
- 5) Yoshida Y, Sakimura K, Masuda T, Kushiya E, Takahashi Y :  
Changes in levels of translatable mRNA for neuron-specific enolase and non-neuronal enolase during development of rat brain and liver  
J Biochem 94 : 1443-1450, 1983
- 6) Watanabe K, Sakuragawa N, Arima M, Satoyoshi E:  
Partial purification and properties of acid sphingomyelinase from rat liver  
J Lipid Res 24 : 596-603, 1983
- 7) Konomi H, Hayashi T, Sano J, Terato K, Nagai Y, Arima M, Nakayasu K, Tanaka M, Nakajima A :  
Immunohistochemical localization of type I, III, and IV collagens in the sclera and choroid of bovine, rat, and normal and pathological human eyes  
Biomed Res 4 : 451-458, 1983
- 8) Sato M, and Takizawa Y :  
The effects of CCl<sub>4</sub> on the accumulation of mercury in rat tissues after methylmercury injection  
Toxicol. Lett., 15 : 245-249, 1983
- 9) Masuda T, Sakimura K, Yoshida Y, Kuwano R, Isobe T, Okuyama T, Takahashi Y :  
Developmental changes in the translatable mRNA for  $\beta$  subunit of S-100 protein in rat brain  
Biochim Biophys Acta 740 : 249-254, 1983
- 10) 河野義恭, 桜川宣男, 松井晨, 有馬正高, 里吉栄二郎, 飯尾正明, 唐沢孝 :  
中枢神経系における<sup>14</sup>C<sub>2</sub>ガスの代謝研究—ラット脳内<sup>14</sup>C<sub>2</sub>固定の可能性—  
核医学 20 : 361-365, 1983
- 11) 鈴木文晴, 紀平省吾, 東条恵, 松井晨, 桜川宣男, 有馬正高 :

## Adrenoleukodystrophy—交換輸血の試み—

脳と発達 15 : 446-448, 1983

- 12) 館野昭彦, 桜川宣男, 有馬正高 :

小児期疾患におけるミオクロームスについて—自験例ミオクロームステんかんにみられるミオクロームスの分析と発現機序に関する文献的考察—

小児科臨床 36 : 1415-1426, 1983

- 13) 館野昭彦, 松井晨, 桜川宣男, 有馬正高 :

変性型ミオクロームステんかんにおけるミオクロームスの薬物治療について—自験例 5 例の検討より—

神経内科 19 : 138-143, 1983

- 14) Konomi H, Hayashi T, Nakayasu K, Arima M :

Distinct localization of type V collagen from type IV collagen in human cornea, lung and skin.

Amer J Path, in press

- 15) Konomi H, Hayashi T, Takehana Y, Arima M :

Rapid and sensitive amino acids analysis of human collagens using a high - performance liquid chromatography

J Chromatogr, in press

## b. 著 書

- 1) 桜川宣男 : 乳児脊髄性筋萎縮症 (Infantile spinal muscular atrophy, Werdnig-Hoffmann 病) について

小児科, 診療 Q&A, 追録第 5 号, 12851/2-3, 1983

## c. 総 説

- 1) 有馬正高 :

Wilson 病

肝胆膵 7 : 15-18, 1983

- 2) 有馬正高 :

遺伝性疾患にみられる症状の個体差と量的評価

臨床遺伝研究 5 : 9-17, 1983

- 3) 有馬正高 :

## II 研究業績

### 神経皮膚症候群の診断

小児内科 16: 333-336, 1983

#### 4) 有馬正高 :

##### 発達薬理学と中枢神経

神経精神薬理 6: 5-10, 1984

#### 5) 有馬正高, 吉田豊, 林昭子

小児疾患における遺伝, 一奇形および腫瘍性疾患を中心として—

小児外科 15: 1527-1532, 1983

#### 6) 鈴木文晴, 有馬正高 :

##### 微細脳機能障害症候群

小児科診療 46: 1548-1549, 1983

#### 7) 田中晴美 :

##### Fetal alcohol syndrome

小児内科, 小児症候群, 15巻臨時増刊号: 247-248, 1983

### d. 症例報告

#### 1) 東条恵, 河野義恭, 高田邦安, 有本潔, 桜川宣男, 有馬正高, 宇根幸治 :

免疫異常を伴う Leukemic xanthomatosis の1例

小児科診療 46: 1390-1396, 1983

#### 2) 東条恵, 館野昭彦, 松井晨, 桜川宣男 :

乳児早期より瘵性を呈した Tay-Sachs 病の1例—典型的同病児との臨床像の違いについて—

小児科診療 47: 229-234, 1984

#### 3) 東条恵, 館野昭彦, 松井晨, 平山義人, 有馬正高, 中西亨 :

Radiation therapy 後広汎な脳内石灰化をきたした medulloblastoma の1例, および頭部照射に伴う石灰化の検討

小児科診療 47: 219-224, 1984

### e. 班会議報告書

#### 1) 有馬正高, 田中晴美, 中澤一治 :

母体の外因による脳障害: 妊娠中のカフェインが胎仔発達におよぼす影響に関する生化学的, 薬理的検討

厚生省神経疾患・出生前要因による脳障害の成因並びに治療に関する臨床的基礎的研究班

昭和57年度研究報告書, 1983, p 8-12

- 2) 有馬正高, 吉田豊, 許斐博史, 田中晴美 :

結節性硬化症培養線維芽細胞の増殖能および X 線感受性に関する研究

厚生省特定疾患・神経皮膚症候群調査研究班 昭和57年度研究報告書, 1983, p 162-168

- 3) 田中晴美, 桜庭均, 猪俣賢一郎 :

小頭症における脳障害のメカニズムに関する研究—母体のエタノールおよび X 線による小頭症の比較—

厚生省神経疾患・精神遅滞の本態および成因に関する開発的研究班 昭和57年度研究報告書, 1983, p 29-36

- 4) 桜川宣男 :

低酸素症に基づく胎生期脳障害の生化学的研究。

厚生省神経疾患・低酸素症に基づく胎生期脳障害の形態学的生化学的研究班 昭和57年度研究報告書, 1983.3, p 237-252

- 5) 桜川宣男, 松井晨, 河野義恭, 有馬正高, 里吉栄二郎 :

サイクロトン産生放射性同位元素を用いた中枢神経障害のエネルギー代謝研究

厚生省神経疾患・中枢神経障害に対するサイクロトン核医学の応用に関する研究班

昭和57年度研究報告書, 1983.3, p 32-42

#### f. その他

- 1) 有馬正高, 桜川宣男, 平山義人 :

〈特集・臨床医学の展望〉小児神経学

日本医事新報, 3122 : 52-57, 1984

- 2) 有馬正高 :

Phacomatosis

小児症候群, 小児内科15巻臨時増刊号 780-782, 1783

- 3) 竹花美博, 吉田豊 :

ポリアクリルアミドゲル中のタンパク質バンドを染色しないで決定する方法

生化学 56 : 123-125, 1984

## B 学会発表

### a. 特別講演, シンポジウム

- 1) Arima M :

Factors modifying the incidence and clinical manifestations of developmental disabilities  
4th International Symposium on Developmental Disabilities, Tokyo, Nov. 3-5, 1983  
(Abstracts p54)

2) Arima M:

Mental retardation of environmental origin, introductory remarks

Symposium on Mental Retardation of Environmental Origin, 17th International Congress of Pediatrics, Manila, Nov. 7-12, 1983

3) Arima M:

Heavy metals and neuropsychic development of the child

Symposium on Toxic and Neuropsychic Development of the Child, 17th International Congress of Pediatrics, Manila, Nov.7-12, 1983

4) Sakuragawa N:

Dynamic metabolism in  $^{14}\text{CO}_2$  and its fixation.

IIIrd Symposium on the Medical Application of Cyclotron, Turku, Finland, June 13-16, 1983

b. 国際学会

1) Tanaka H, Arima M:

Experimental microcephalus due to maternal environmental factors —Alcohol, caffeine and x-irradiation—

17th International Congress of Pediatrics, Manila, Nov. 7-12, 1983 (Abstract p267)

2) Sakuragawa N, Suehiro M, Watanabe H:

Abnormal  $^{13}\text{C}$ -palmitate breath test in children treated with valproic acid (VPA)

Ist Conference of Asian and Oceanian-Association of Child Neurology, Taipei, Taiwan, Nov. 17-18,1983

3) Yoshida Y, Sakimura K, Masuda T, Kushiya E, Takahashi Y:

Changes in levels of translatable mRNA for neuron-specific enolase and non-neuronal enolase during development of rat brain and liver

9th Meeting of the International Society for Neurochemistry, Vancouver, July 10-15, 1983 (Abstracts p12)

4) Noguchi E, Sakuragawa N, Arima M:

Partial purification and characterization of rat brain microsomal neutral sphingomyelinase

9th Meeting of the International Society for Neurochemistry, Vancouver, July 10-15, 1983 (Abstracts p14)

c. 一般学会

- 1) 田中晴美, 有馬正高, 猪俣賢一郎:

亜鉛投与によるラット胎児性アルコール症候群脳障害予防の可能性

第25回日本小児神経学会総会, 栃木県, 7.7-9, 1983

- 2) 田中晴美, 桜庭均, 有馬正高:

胎生期 X 線照射ラット大脳中の核酸, superoxide dismutase, lipid peroxide の変化

第23回日本先天異常学会学術集会, 広島, 7.11-12, 1983 (Abstract, Teratology 28:14A, 1983)

- 3) 桜川宣男, 末広牧子, 渡辺裕之:

Valproic Acid 服用児における  $^{13}\text{C}$ -パルミチン酸呼気試験の異常について

第25回日本小児神経学会総会, 栃木, 7.7-9, 1983

- 4) 桜川宣男, 松井晨, 河野義恭:

$^{14}\text{CO}_2$  吸入ラットの脳内代謝動態について

第23回日本核医学会総会, 大阪, 9.23-25, 1983

- 5) 中澤一治, 田中晴美, 有馬正高:

妊娠ラットにおけるカフェイン及びその代謝産物の薬物動態

第57回日本薬理学会総会, 京都, 3.23-26, 1984

- 6) 吉田豊, 有本潔, 桜川宣男, 有馬正高:

コレステロール代謝阻害剤 (AY-9944) による人培養線維芽細胞における酸性 sphingomyelinase の活性低下

第56回日本生化学会, 福岡, 9.29-10.2, 1983

- 7) 野口悦子, 桜川宣男, 有馬正高:

ラット脳中性スフィンゴリエリネースのアミノ酸分析

第56回日本生化学会大会, 博多, 9.29-10.2, 1983

- 8) 松井晨, 桜井宣男, 河野義恭, 井戸達夫, 石渡喜一, 川島孝一郎:

妊娠ラットおよび胎仔中のポジトロン放出性薬剤の代謝動態と低酸素に関する予備的考察



## II 研究業績

第23回日本核医学会総会，大阪，9.23-25，1983

- 9) 石渡喜一，井戸達雄，川島孝一郎，岩田錬，高橋俊博，門間稔，谷内一彦，中西博昭，山田裕，桜川宣男，松井晨：

ポジトロン標識薬剤の妊娠ラットにおける動態—胎児への薬剤の移行について

第23回日本核医学会総会，大阪，9.23-25，1983

- 10) 佐藤充，滝澤行雄：

メチル水銀の蓄積，分布に対する肝障害の影響

第53回日本衛生学会総会，大阪，4.5-7，1983，（日本衛生誌 38：483，1983）

- 11) 滝沢行雄，平沢富士子，佐々木伴子，佐藤充：

水俣病患者，疑似患者，一般住民の主要臓器中水銀量の推移（1973-1982）

第53回日本衛生学会総会，大阪，4.5-7，1983（日本衛生誌 38：487，1983）

- 12) 蜂谷紀之，佐藤充，林公栄，猪股明美，滝沢行雄：

天然食品添加物についての急性毒性試験およびマウス骨髄小核試験

第42回日本公衆衛生学会総会，横浜，11.8-10，1983，（日本公衛誌 30：315，1983）

- 13) 蜂谷紀之，佐藤充，滝澤行雄：

哺乳動物組織中のDNA損傷の検出

日本環境変異原学会第12回大会，徳島，12.7，1983

## C 班会議発表

- 1) 有馬正高，吉田豊，林昭子：

結節性硬化症培養細胞のX線感受性に関する検討

厚生省特定疾患・神経皮膚症候群調査研究班，昭和58年度第1回総会，東京，10.20，1983

- 2) 有馬正高，吉田豊，林昭子，竹花美博，田中晴美：

神経皮膚症候群培養線維芽細胞の生物学的検討

厚生省特定疾患・神経皮膚症候群調査研究班 昭和58年度第2回総会，東京，3.22，1984

- 3) 有馬正高，佐藤充，東条恵：

ウイルスン病の治療薬剤の開発に関する研究

厚生省新薬開発・制がん作用を有する金属錯体等研究班・昭和58年度班会議，東京，3-6，1984

- 4) 田中晴美，中澤一治，有馬正高：

母体の外因による脳障害—妊娠ラットおよび胎仔におけるカフェインおよび代謝産物の動態

と異常との関連性—

厚生省神経疾患・出生前要因による脳障害の成因並びに治療に関する臨床的基礎的研究班  
昭和58年度第2回総会，東京，1.20-21，1984

5) 田中晴美：

小頭症における脳障害のメカニズムに関する研究—母体複合外因による小頭症および大脳過酸化脂質，DNA の変化—

厚生省神経疾患・精神遅滞の本態および成因に関する開発的研究班 昭和58年度班会議  
東京，2.18，1984

6) 桜川宣男，松井晨，松坂哲應，有馬正高，井戸達雄，石渡喜一，川島孝一郎：

a) ポジトロン標識薬剤の妊娠ラットにおける動態—胎児への薬剤の移行について

b) 低酸素症における妊娠ラットおよび胎仔中のポジトロン放出性薬剤の代謝動態について

厚生省神経疾患・低酸素症に基づく胎生期脳障害の形態学的生化学的研究 昭和58年度研究班会議，東京，12.3，1983

7) 桜川宣男，松井晨，松坂哲應，有馬正高：

$^{11}\text{CO}_2$  dynamic PET とその定量化の試み

厚生省神経疾患・中枢神経障害に対するサイクロトン核医学の応用に関する研究

昭和58年度研究班会議，東京，11.26，1983

8) 桜川宣男，松井晨，松坂哲應，有馬正高：

$^{11}\text{CO}_2$  dynamic PET の研究—続報。

同上，東京，2.4，1984

9) 島蘭安雄，桜川宣男，松坂哲應，松井晨，末広牧子：

筋ジストロフィーと類縁疾患における脂肪酸代謝に関する研究： $^{13}\text{C}$ -脂肪酸呼気テストの応用について

厚生省神経疾患・筋ジストロフィー症の療護に関する総合的研究

昭和58年度研究班会議，東京，11.29-30，1983

10) 里吉栄二郎，桜川宣男，吉田豊：

i) 実験動物 amnion の lysosomal enzymes と amnion transplantation の予備実験について

ii) 線維芽細胞によるスフィンゴミエリネース活性モディファイアーのスクリーニング—  
Butyrophenone 誘導体と Iminodibenzyl 系化合物について

## II 研究業績

厚生省新薬開発研究・酵素障害に基づく代謝異常治療薬の開発研究班

昭和58年度総会，東京，1.24，1984

### D 研究会など

1) 有馬正高：

小児疾患における遺伝のトピック。シンポジウム 各科領域における遺伝のトピックス，  
第10回臨床遺伝研究会，東京，7.2-3，1983

2) 田中晴美：

FASの研究

国家公務員研修会，埼玉県，7.23，1983

## 3. 主な研究報告

## カフェインおよびジメチルキサンチンと胎仔大脳発達

田中晴美, 中澤一治

妊娠ラット投与カフェインの胎仔大脳発達への影響の検討の一環として、母体の異なるカフェイン摂取様式における母体、胎仔中のカフェインおよび3つのジメチルキサンチン(4物質)を測定し、大脳発育関連因子を考察した。

## 方法

モデル動物は従来通りに、交配前一妊娠中の、水道水(W)、0.04%カフェイン(C)の飲用によりW-W, W-C, C-W, C-Cの4群を作製。妊娠21日午前8時30分帝切時の4物質をW-C, C-C群において定量。さらに帝切1時間後の4群の仔に〔1-methyl-<sup>14</sup>C〕カフェインを腹腔内に注入、2時間後の大脳中の<sup>14</sup>Cを測定。同様な4群において、妊娠17日W-C, C-Cも水にかえ、妊娠18日カフェイン10mg/kg母体重を静注、母体血漿中4物質の定量により母体カフェイン動態を検討。定量はHPLCによった。

## 結果

## 1. 胎仔大脳重量

W-Wに比し、W-C, C-W, C-Cともに低い傾向をみたが有意に低下したのはW-Cのみであった。

## 2. 母体、胎仔中の4物質

## A. 自然飲用によるW-CとC-Cの比較(表)

4物質の濃度は母体肝、母体血漿、胎盤の順に低くなり、個々には3検体において、4物質ともきわめて良好な正の相関を示した。平均値では3検体、4物質ともW-CがC-Cより高濃度であった。胎盤と胎仔大脳中の濃度の比較ではW-C, C-Cともに大脳中ではカフェインが高く、代謝産物が低かった。

表

	母血漿 ( $\mu\text{g/ml}$ )	胎盤 ( $\mu\text{g/g}$ 湿重量)	胎仔大脳 ( $\mu\text{g/g}$ 湿重量)	( $\mu\text{g}$ /大脳)
カフェイン				
W-C	9.5[3]	8.1[3]	8.2(6)	1.1(6)
C-C	4.0[3]	3.2[3]	3.6(6)***	0.5(6)***
パラキサンチン				
W-C	3.6[3]	3.0[3]	2.7(6)	0.4(6)
C-C	3.0[3]	2.1[3]*	1.9(6)***	0.3(6)***
テオフィリン				
W-C	3.6[3]	2.7[3]	2.4(6)	0.3(6)
C-C	3.4[3]	2.1[3]**	1.8(6)***	0.2(6)***

平均値(母親の数), (胎仔数). \*\*\* $p < 0.01$ , \*\* $p < 0.02$ , \* $p < 0.05$ .

胎仔大脳中ではその濃度においても全含量においても、4物質ともW-Cにおける値がC-Cより有意に高値であった。

## B. 大脳アイソトープ量

4群において大脳中に検出されたアイソトープ量はW-Cで最大であった。

## 3. 妊娠18日の母体のカフェイン動態

母体血中カフェインの代謝動態において、W-CとC-Cとでことなる因子は、W-Cにおける分布容積の低下であった。

## 考察

同じように妊娠中にカフェインを飲用するW-CとC-Cにおいて、W-Cの方が胎仔大脳発達への悪影響が強い点に関係する因子として、母体カフェインの分布容積の低下があげられる。したがってW-Cにおいて母体血漿中のカフェイン濃度が高く、この血液が胎盤を通過して胎仔に移行、胎仔大脳においてカフェインおよび代謝物、とくにカフェインが高値を示し、一方W-Cにおける胎仔大脳重量は低下するという現象が推定される。胎仔大脳において代謝物に比しカフェインの存在しやすい理由としては、胎生期のカフェイン代謝の未熟性とテオフィリンからカフェインへのbiotransformationの結果が考えられるであろう。

## 文献

Tanaka H, Nakazawa K, Arima M: Adverse effect of maternal caffeine ingestion on fetal cerebrum in rat. Brain Dev 5: 397, 1983

## 母体複合外因による小頭症

田中晴美, 岩崎説雄

母体の外因による知能障害において、純粋に単一の外因と断定できるものは少ない。複数の母体外因が存在する場合の子供の脳発育に影響する因子抽出の一環として、エタノール、カフェイン、X線照射の複合の外因とラット仔の小頭形成との関連性を検討した。

## 方法

モデル作製は従来と同様に行った。エタノールは20%を、カフェインは0.04%を交配前および妊娠検討は、エタノール、カフェイン、水のそれぞれにお(X-100R)、コントロールは同じ時期、回転のみ行った。妊娠20日帝切により胎仔を得た。胎仔大脳過酸化脂質はOhkawaらの方法に準じ、チオバルビツール酸反応、蛍光測定を行った。平均値の有意差の検討は、エタノール、カフェイン、水のそれぞれにおける照射と非照射との間、および非照射あるいは照射における、エタノール、カフェイン、水の相互間で、t検定を行った。

## 結果

## 1. 胎仔体重

体重はエタノール、カフェイン、水それぞれにおいて、妊娠13日、1回のX-100Rによって有意な低下を示さなかった。非照射間の比較では、水、カフェイン、エタノールの順に低下して、それぞれ間に有意差をみた。照射間の比較では、エタノールは水、カフェインより有意に低下したが、水とカフェイン間に有意差は存在しなかった。

## 2. 胎仔大脳重量 (表)

大脳重量はエタノール、カフェイン、水それぞれにおいて、妊娠13日、1回のX-100Rにより有意に低下した。非照射間の比較では、水に比しエタノール、カフェインでは有意の低下をみたが、エタノール、カフェイン間には有意差は存在しなかった。照射間の比較では、有意差は水とエタノール間のみとなった。

## 3. 胎仔大脳中過酸化脂質形成 (表)

胎仔大脳中の過酸化脂質形成は各種条件で検討したが、表には、有意差がより著明となった、ホモジナイズ、-30°Cフリーズ後の、37°C 1時間の自動的な脂質過酸化の値を示した。この値は、水、エタノール、カフェインの各条件下で、X線照射の有無では有意差を示さなかった。しかしカフェイン投与群では、水、エタノール群に比し、この値が低下した。

## 考察

胎仔大脳発育への母体外因の影響は、X-100Rのような強い外因が存在すると、これが存在しない時には証明されやすい、エタノールやカフェイン単独の軽い外因の影響はカバーされやすい。すなわち生存するものにおいて、複合外因にはある域値が存在する可能性を示す。体重、大脳重量ともに、カフェイン群では他群より照射による影響が少ないという結果は、カフェインによる過酸化脂質形成の抑制と関連していると考えられる。ラットにおいて、肝と同様大脳ミクロソームにおいても、脂質過酸化反応と薬物の脱メチル化との競合が存在している。複合の場合、個々の外因の相互関係の生体反応への影響の検討が必要とされる。

表 エタノール、カフェイン、水とX-100Rの複合外因による妊娠20日胎仔大脳の変化

	大脳重量 (mg)	胎仔大脳過酸化脂質 (水-コントロールを100として)
1. エタノール		
コントロール	114 (29)	104 (9)
X-100R	93 (43)	102 (11)
2. カフェイン		
コントロール	109 (27)	77 (6)
X-100R	94 (31)	62 (10)
3. 水		
コントロール	122 (54)	100 (12)
X-100R	97 (37)	93 (10)

平均値(胎仔数あるいは検体数), \*\*p<0.01, \*p<0.05

## 胎内 X 線照射による胎仔及び新生仔ラット大脳 DNA の変化

岩崎説雄, 田中晴美, 中澤一治

発達脳における脳障害のメカニズムを生化学的に追求するため, X 線照射胎仔ラットの大脳 DNA を精製し, その過程における収量を比較すると共に, 胎生期に照射を受けた新生仔の大脳発達を調べた。また HPLC による DNA の塩基, ヌクレオシドの分析条件を検討した。

## 材料と方法

妊娠13日のウィスター系雌ラットに100Rの全身1回照射し, 対照は同時間回転のみ行い, 妊娠21日に帝王切開により胎仔を摘出した。新生仔は出生日を1日とし5, 10, 15日に供試した。DNAの精製は大脳より核を分離し, SDS-クロロホルム処理により除蛋白し, さらに RNase により RNA を除去した。DNA, RNA, 蛋白の定量はそれぞれジフェニールアミン, オルシノール, Lowry 法によった。DNA 塩基, ヌクレオシドの分析は市販の牛胸腺 DNA を塩酸または DNase I, Phosphodiesterase, Alkaline phosphatase によりそれぞれ分解し, 逆相 HPLC により行った。

## 結果と考察

表1に胎仔 DNA の各精製過程における DNA 量と RNA, 蛋白の混入割合を示す。X 線照射により, 湿重量あたりの大脳 DNA 量及び分離核の収量は対照に比べ有意に低いが, 除蛋白操作以後の収率では逆に高い傾向を示した。このことから照射による核膜の脆弱化が考えられる。照射による RNA/DNA に変化はみられないが, 蛋白/DNA は分離核, 除 RNA 後で高い傾向がみられた。生後の大脳発達の推移を表2に示す。X 線照射により大脳重は生後15日でも有意に低下するが, DNA 量の低下は生後5日までで10日以後回復した。このことから妊娠13日100R 1回照射ではニューロンの増殖を抑制するが, グリアの増殖には大きな影響を与えないものと考えられる。牛胸腺 DNA の塩酸分解物の HPLC によるクロマトグラフには4塩基の主ピークが, また酵素分解物では主に4つのヌクレオシドのピークがみられた。DNA の塩基, ヌクレオシドの分析条件がほぼ確立されたことから, 精製 DNA に応用し, X 線照射による構成成分の変化を検討中である。

表1. X 線照射胎仔大脳 DNA の各精製過程における DNA 量と RNA, 蛋白の割合

	ホモジネート	分離核	除蛋白後	除 RNA 後	
	mg/g 湿重量	mg/g 湿重量	μg/g 湿重量	μg/g 湿重量	
DNA	対照	4.45 (100)	1.85 (41.6)	459 (10.3)	400 (9.0)
	X-100R	3.99** (100)	1.58** (39.5)	491 (11.6)	379 (9.5)
RNA/DNA	対照	1.00	0.17	0.50	0.18
	X-100R	1.04	0.18	0.51	0.20
蛋白/DNA	対照	22.7	3.07	0.36	0.38
	X-100R	23.9	3.43*	0.39	0.45*

各群10サンプルの平均値(ホモジネートに対する割合, %)

対照との平均値の差の有意水準, \*\* $p < 0.01$ , \* $p < 0.05$

表2 胎生期 X 線照射による新生仔ラットの大脳発達

		5日	10日	15日
重量(mg)	対照	381 (12)	737 (12)	1007 (10)
	X-100R	305 (19)***	617 (14)***	813 (12)***
DNA (mg/g 湿重量)	対照	2.52 (12)	1.61 (12)	0.99 (10)
	X-100R	2.25 (19)*	1.56 (14)	1.08 (12)
RNA/DNA	対照	1.52 (12)	2.42 (12)	3.62 (10)
	X-100R	1.59 (19)	2.45 (14)	3.37 (12)
蛋白/DNA	対照	36.9 (12)	62.5 (12)	116.6 (10)
	X-100R	40.7 (19)*	64.9 (14)	104.9 (12)

平均値(新生仔数)

対照との平均値の差の有意水準, \*\*\* $p < 0.001$ , \* $p < 0.05$

## AY-9944及び三環系抗うつ剤による人培養線維芽細胞における酸性スフィンゴミエリネースの特異的活性低下

吉田豊, 桜川宣男, 里吉栄二郎

コレステロール合成阻害剤 AY-9944はラット新生仔に連日投与することにより酸性スフィンゴミエリネース (acid Sph' ase) の特異的活性低下の他, Niemann-Pick 病に酷似した病態を作成することで知られる薬剤である。昨年度の年報で我々は AY-9944及び類似の薬理作用を持つ Boxidine が人培養線維芽細胞に対しても acid Sph' ase の特異的活性低下を起こすことを報告した。本年度は AY-9944の作用に関する新しい知見と, amphiphilic, cationic という AY-9944, Boxidine と共通の構造的特徴を有する三環系抗うつ剤も AY-9944と同様な線維芽細胞の acid Sph' ase の特異的活性低下を起こすことを見出したので報告する。

confluent に達した正常 2 倍体株細胞 WI-38を, 2.5 $\mu$ M の AY-9944を含む DME 培地で 4 時間処理後, 薬剤を含まない培地と交換して時間を追って acid Sph' ase 活性を測定したところ, 72時間までは活性は低下したままであり, AY-9944の作用はほぼ不可逆であることを示唆した。無細胞系で AY-9944は直接的な活性阻害作用は示さず, また阻害物質の蓄積の可能性を調べるため, 薬剤処理細胞の homogenate を対照細胞の homogenate に添加しても阻害作用は示さなかった。更に, 薬物処理細胞における残存した acid Sph' ase の sphingomyelin に対する Km 値は対照細胞のそれとほぼ一致し, kinetic property の変化は生じていないと考えられた。以上の結果は acid Sph' ase の合成阻害が起こっていることを示唆する。しかし AY-9944処理開始後, 非常に早い時間で活性が低下するという事実は, 一般にライソゾーム酵素の half-life が 3~30 日間にあることを考慮すると単に合成阻害だけでは説明できないと考えられる。

confluent に達した WI-38を 2  $\mu$ M, 及び 20 $\mu$ M の種々の三環系抗うつ剤及びその関連物質を含む培地で 2 時間培養後に acid Sph' ase 活性を測定したところ, carbamazepin を除く全ての薬剤が AY-9944と同様に, 濃度依存的に活性低下を起こしていた。imipramine と desipramine 処理細胞について, 他

の 5 種のライソゾーム酵素活性を測定したところ, 活性低下は acid Sph' ase に特異的であった。imipramine は, 無細胞系で acid Sph' ase の直接的阻害作用は示さず, また阻害物質の蓄積も AY-9944と同様に認められなかった。以上の結果は imipramine を始めとする三環系抗うつ剤は AY-9944と同様な作用機序で acid Sph' ase の活性低下を起こしていることを強く示唆する。三環系抗うつ剤は分子内に疎水性部分 (三環) 親水性, 塩基性部分 (2 級あるいは 3 級アミノ基を末端に持つ短鎖) を持ち amphiphilic cationic という, AY-9944と同じ様な構造的特徴を有する。また従来より三環系抗うつ剤は, 動物あるいは培養細胞系で細胞内封入体の出現を特徴とする lipidosis を起こすことが知られており, ある種の amphiphilic cationic drug は, 共通の作用として acid Sph' ase 活性低下作用を持つ可能性がある。この点, 三環系抗うつ剤と同様な環構造を有しながら, 塩基性基を持たない carbamazepin が活性低下作用を示さなかったことは興味深い。

AY-9944と Boxidine は, コレステロール合成阻害という共通の薬理作用を有し, コレステロール代謝における障害が acid Sph' ase 活性低下に関与していることも示唆される。しかし我々の実験系では細胞のコレステロール合成は, LDL-pathway によりかなり低下していると考えられ, またコレステロール合成の律速酵素である HMG CoA reductase の阻害剤 compactin が, acid Sph' ase 活性に影響しなかった結果を得ており, コレステロール合成における障害が, acid Sph' ase の活性低下に関与しているとは考えにくい。更に, 三環系抗うつ剤という, AY-9944とは薬理作用の異なる薬物が, AY-9944と同様な作用機序で acid Sph' ase 活性を低下させている可能性が得られたことも, このことを支持すると考えられる。一方 acid Sph' ase 活性低下を起こす薬物が全て amphiphilic, cationic という構造的特徴を有することは重要であると考えられ, これらの薬物は, ある特定の cellular process に干渉することにより作用を表わす可能性がある。



## DMSOによる人線維芽細胞のスフィンゴミエリナーゼ活性の誘導について

桜川宣男, 吉田豊, 加茂功, 里吉栄二郎

Dimethyl sulfoxide (DMSO) は強い2極性モメントを有する溶媒剤として広く用いられており、近年関節炎やスポーツ外傷などにも繁用されてきている。著者らは培養人線維芽細胞の酸性スフィンゴミエリナーゼ活性モディファイヤーのスクリーニングを行っている過程において、DMSOが本酵素活性の誘導を行っている可能性を見出した。

## 方法

細胞培養：人皮膚由来の線維芽細胞（継代10~20代）を用いた。25cm<sup>2</sup>あるいは75cm<sup>2</sup>のプラスチックフラスコ中で、10% FCS, 100units/ml ペニシリン, 100μg/mg ストレプトマイシン含有の Dulbecco's modified Eagle 培地を用いて5% CO<sub>2</sub>下, 37°Cで培養を行った。実験は主に confluent に達した細胞を実験に供した。一方細胞増殖に与える影響については、約2×10<sup>5</sup>ヶの細胞からスタートし、4日間培地を変えないで実験を行った。各種濃度のDMSOは培地に直接溶解して用いる。

酵素活性測定：細胞はラバーポリスマンにより剥離後、氷冷下生理的食塩水で2回洗滌する。蒸留水中に懸濁し、超音波処理及び凍結融解によりホモジネート作成し酵素液とした。酸性スフィンゴミエリナーゼは、[<sup>14</sup>C]スフィンゴミエリンを基質とした Pentchev et al の方法にて測定した。他のライソゾーム酵素活性は4-MU glycosides を基質として Pentchev et al の方法により測定した。

## 結果

DMSOの濃度に対する酸性スフィンゴミエリナーゼ活性の変化は、1から3%の検索した濃度の範囲では指数関数的な活性増加を認めた (Fig 1)。次に種々のDMSO濃度に対する本酵素の活性変化を時間毎に追跡した (Fig 2)。0.5% DMSOでは4日間培養しても、本酵素活性の変動はほとんど認められない。しかし1~3%のDMSO濃度では時間経過に伴った活性増加が観察された。DMSOの細胞毒性については、形態の観察上、2~3% DMSOの細胞は容積を増し、紡錘状から楕円形に変化する傾向があった。そこで細胞増殖と本酵素活性の変化を調べた。DMSO非処理の線維芽細胞は、細胞増殖に伴う本酵素活性変動は著明でなかった。しかしDMSO (2%) 処理細胞では、細胞増殖が顕著に抑制されるが、細胞死には致らなかった。これに対して本酵素活性は、経時的な活性増加を示した。一方DMSOの本酵素活性に対する直接効果を、DMSO

非処理細胞のホモジネートを用いて調べたところ、DMSO濃度に比例して本酵素活性の増加傾向を示すが、3Mという高濃度でも増加率は軽度(対照の140%)であった。他のライソゾーム酵素活性に対するDMSOの効果については、β-galactosidaseが中等度増加を示したが、他の調べた範囲のライソゾーム酵素活性の増加は顕著ではなかった。

## 考察

DMSOの作用は多様であり、材料によって変化に富んだ生理的反応を示すといわれる。一方DMSOの最初の標的は細胞膜であり、そこで起こる物理化学的变化が細胞骨格の変化、ひいては遺伝子発現の転換を惹起するといわれている。DMSOによる細胞毒性については、Paramecium caudatumのdigestivelysosomal system に対しては2%を超える細胞毒性が見られるという。我々の実験系は主に2%以下で行っているため細胞毒性は一応否定できる。またDMSO作用による形質転換に伴う形態変化については、線維芽細胞の形態変化から判断すると、その可能性は否定できない。一方細胞増殖が抑制されているにもかかわらず、酸性スフィンゴミエリナーゼ活性の増加が認められる事は、本酵素活性の誘導が起きていると考えられる。この誘導作用は酸性スフィンゴミエリナーゼにかなり特異的に出現している可能性が示唆されている事は、Niemann-Pick病 (type C) などのスフィンゴミエリナーゼ欠損症への治療薬としてのアプローチも有意義と考える。

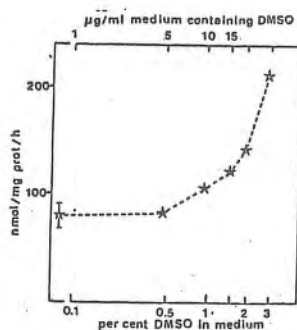


Fig 1 Dosis dependency of DMSO effects on sphingomyelinase activity of fibroblasts.

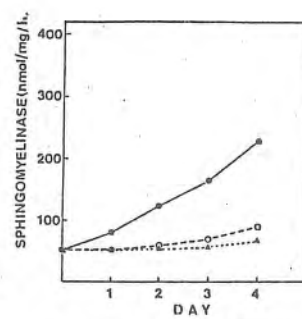


Fig 2 Time dependency of DMSO effect on sphingomyelinase activity of fibroblasts. Fibroblasts were cultivated for indicated times in the presence of 0.5% (▲), 1% (○) and 3% (■) DMSO.



## ラット脳中性スフィンゴミエリネースの精製とその性質 (その三) —N末端分析と HPLC によるアミノ酸分析—

野口悦子

脳に特に活性の高い中性スフィンゴミエリネースの活性発現の機構と脂質代謝異常における本酵素の役割を明らかにするためにラット脳各画分の本酵素の精製を進めてきた。昨年度ラット脳マイクロゾームより不安定かつ不溶性である本酵素をトリトン共存下に、電気泳動的に活性を保って単離できたことを報告した。その精製方法をラット脳 P<sub>2</sub>画分の本酵素に応用し、微量な精製酵素が得られたので、迅速かつより正確な微量方法を用いてアミノ酸組成の分析と N 末分析を試みた。

### 材料および方法

報告 (その一) と同じく遠心により、ラット脳 P<sub>2</sub>画分を得て、トリトンによる可溶性、硫酸分画、アセトンパウダー、トリトンによる抽出、Sephacose CL-4B クロマトグラフィー、クロマトホーカシングを行った。クロマトホーカシングによる非特異的吸着による精製法はより改良し、精製標品 (48,300 nmol/hr/mg 蛋白) を得た。N 末端はダンシルアミノ酸として Gray の方法によりポリアシドシート上で同定した。アミノ酸組成は精製標品を SDS 電気泳動にかけクーマシーブルーで染色後、バンドを切り取り、70%ギ酸により抽出し、塩酸加水分解をした。水解後高速液体クロマトグラフィー (島津 LC-3 A) にかけて、クエン酸緩衝液 (pH3.0, pH3.25, pH4.25, pH6.25, pH9.0) で順次溶出した。各アミノ酸は、感度の良いオルトフタルアルデヒドとの反応により検出した。

### 結果と考察

N 末分析により蛍光のスポットとして DNS-ε-

Lys が検出されたのみであった。本酵素は N 末端がブロックされていると考えられた。ゲルより抽出されたポリペプチドの各アミノ酸は表 1 のように分離溶出され、数 μg のポリペプチドで十分な分析ができた。表 1 の下の溶出パターンはブランクである。アミノ酸組成比は表 2 に示した。比率は多い順に Glu, Gly, Asp, Ala, Leu, Ser, Val, Lys, Thr, Ileu, Arg, Phe, Met, Pro, His, Tyr, Cys, であった。なお, Met, Cys, について酸化処理はしていない。これらの結果から polarity index は 49.1% と計算された。以上の結果は, Jones らの酸性スフィンゴミコリネースの報告と酷似しているものであった。

中性スフィンゴミエリネースは活性および精製過程において常にトリトンを必須とし、その強い hydrophobic な性質は精製法のみならず、電気泳動および化学的分析の検索により大きな障害を与えてきた。しかし、こうして精製法の確立にともなって諸性質が明らかにされ、分析の諸条件も確立され得るようになった。得られた結果は、中性スフィンゴミエリネースが Niemann-Pick 病の異常酵素である酸性スフィンゴミエリネースのアミノ酸組成と酷似していることを示すものである。今後精製酵素を用いて、アイソザイムの検討を行なう一方、異常の成因にかかわる生体内における本酵素の調節因子を明らかにしたい。

### 文献

- 1) Jones, C. S et al : Biochem J. 209 : 291-297, 1983.

図 1 Amino Acid Analysis of Gel Extracts

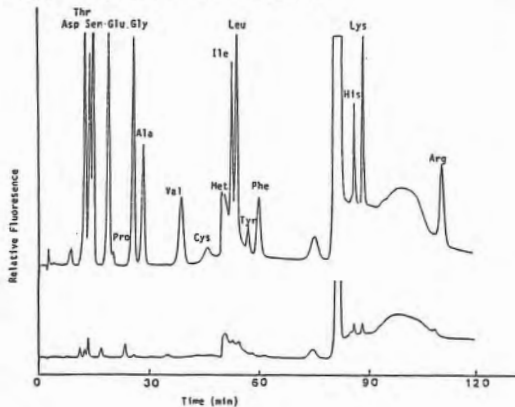


表 2

Amino Acid Composition of Neutral Sphingomyelinase

Aspartic acid	10.3 ± 0.6	Isoleucine	3.9 ± 0.4
Threonine	5.1 ± 0.2	Leucine	8.5 ± 0.6
Serine	7.4 ± 1.6	Tyrosine	2.3 ± 0.4
Glutamic acid	12.3 ± 0.3	Phenylalanine	3.5 ± 0.5
Proline	3.1	Histidine	2.5 ± 0.3
Glycine	10.5 ± 0.1	Lysine	5.8 ± 0.5
Alanine	8.7 ± 1.3	Arginine	3.7 ± 0.1
Valine	6.1 ± 0.6	Tryptophane	N. D.
Cystine	1.4		
Methionine	3.4		(n=3)

## 結節性硬化症培養線維芽細胞における X 線照射により生じた DNA 一本鎖切断の再結合速度

吉田 豊, 林 昭子

最近, 結節性硬化症 (TS) 患者から得られたリンパ球あるいは培養線維芽細胞が X 線あるいは X 線類似作用物質に対して対照より高い致死感受性を示すことが報告された。我々は X 線感受性が TS 培養細胞の特徴的な形質となり得るかどうかを検討するために, 多くの培養皮膚線維芽細胞株について X 線致死感受性を測定するとともに, X 線により生ずる主要な損傷である DNA 一本鎖切断 (DNA SSB) の修復 (再結合) についても検討してきた。ここでは主に DNA SSB の再結合速度について述べる。

### 方法

正常人線維芽細胞に対して 5—10% の生存率を与える線量である 500R を confluent に達した細胞に氷冷下で照射し, その後 37°C で 60 分まで経時的に保温し, 各時点で残存した DNA SSB 量を測定した。DNA SSB 量はアルカリ溶出法で測定したが, 定量性を高めるためにダブルラベル法を用い, 測定対象細胞 DNA は  $^{14}\text{C}$ -チミジンで標識し, 内部標準細胞は  $^3\text{H}$ -チミジンで標識し 300R の X 線を照射して用いた。

### 結果と考察

X 線の照射量を 0—750R まで変えても, 生じた DNA SSB は TS と対照の間で差はなく, TS 線維芽細胞の DNA は X 線に対して対照と同様な安定性を示した。500R 照射後, 細胞を 37°C で保温すると DNA SSB は急速に再結合され, また再結合速度は少なくとも非常に速い成分と遅い成分の 2 つに分離されることが示された。TS 細胞は X 線感受性を示す株も示さない株のいずれでも, 対照と同様な効率の良い再結合を示し X 線感受性は少なくとも DNA SSB の再結合の欠損では説明されないことを示した。ところが興味あることに, TS では非常に速い再結合を示す相において対照よりも速い再結合速度を示す傾向にあった (図)。アルカリ溶出法は比較的誤差を生じやすい方法であることと, TS と対照の間の差がわずかなものであることから, 測定点を差の

比較的大きい 5 分値に限り測定を繰り返したところ 5 種の X 線感受性を示さない, 正常皮膚由来の TS 細胞株全てについて対照との間に有意な差が認められた。一方, X 線感受性を示す細胞株については, 例数が少なく今後の検討を要するが, 対照との間に差が認められない株も存在し, またその由来は皮膚病変部からのものであった。

以上の様に, TS 細胞では X 線により生じた DNA SSB の再結合が対照よりも速いことが示された。この差は今回測定の対象とした TS 正常皮膚由来の全ての細胞において一致して認められるものであり, TS の線維芽細胞の一般的な特徴となり得る可能性を示唆し, 現在のところ本態不明な TS の病因を考える上で興味深い。

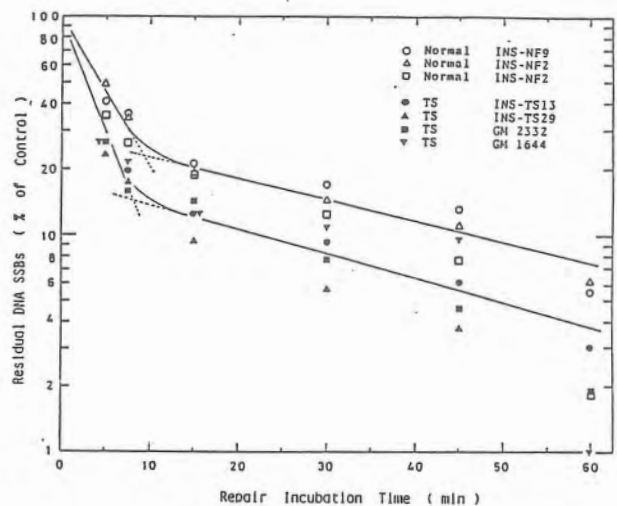


図 DNA 一本鎖切断の再結合速度

500R 照射後 incubation していない細胞の DNA SSB を 100% とした。

## 結節性硬化症培養線維芽細胞の X 線感受性

林 昭子, 吉田 豊

結節性硬化症 (TS) は神経皮膚症候群の 1 つで、知能障害と顔面の血管線維腫などの腫瘍性病変を示し常染色体優性遺伝形式をとる。我々は臨床的、病理的に用いられている手段では発見できないような本態に近い異常の究明を目的として、培養線維芽細胞を用いて研究を進めてきた。他の腫瘍性神経変性疾患である色素性乾皮症や ataxia - telangiectasia (AT) 患者由来の培養細胞が紫外線や r 線に対して高感受性を示すことから、TS 患者由来の培養細胞もこのような DNA 損傷に対し感受性が高い可能性があると考え、TS 患者由来の培養細胞の X 線に対する感受性を調べた。

## 材料と方法

正常人由来線維芽細胞 5 株と TS 患者由来の線維芽細胞 18 株を用いて実験を行なった。TS 患者由来の線維芽細胞は Mutant Cell Repository 保存細胞、鳥取大学 Dr. Ohno より送ってもらったもの、我々の研究室での保存細胞を用い正常皮膚由来のものと同様に皮膚病変部由来のものを含む。X 線感受性はコロニー形成能により調べた。定常状態にある細胞をトリプシン処理して X 線照射し、15% 牛胎児血清を含む Ham's F-12 培地中にまき 2 週間後に生じた細胞数 50 個以上のコロニーの数を数えた。

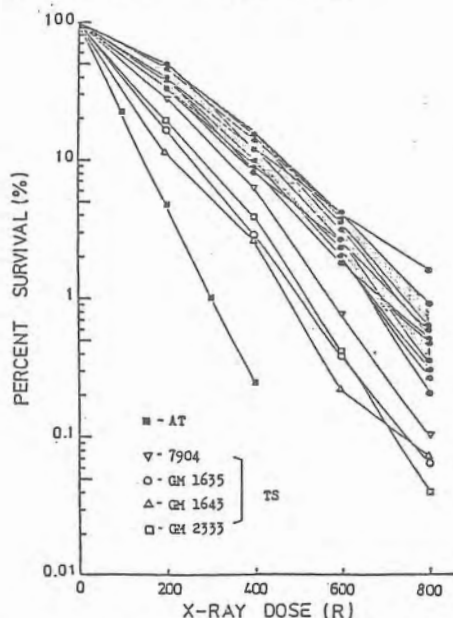


図 1. TS 培養皮膚線維芽細胞の X 線感受性曲線

## 結果と考察

図 1 に X 線感受性曲線を示した。X 線照射をしていない細胞のコロニー数を 100% とし、X 線を照射した細胞のコロニー数を相対量で表わした値 (percent survival) を対数目盛で図示した。正常人由来の線維芽細胞の範囲を斜線で示し、正常の範囲にはいる TS 細胞は黒丸で示した。18 株の TS 患者由来の線維芽細胞の中で 4 株だけ正常群より高い感受性を示し、その感受性は正常群と positive control として用いた AT 細胞との間にあった。図 2 は TS 細胞を正常皮膚部と皮膚病変部のグループに分けて、コロニー形成能が非照射時の 10% になる X 線量を表わす  $D_{10}$  値を比較したものである。各細胞株の平均値を黒丸で示し、各グループにおける平均値 ± 標準偏差をバーで示した。正常皮膚部由来の細胞は 1 例 (GM1643) を除きほぼ正常群と同じ範囲にあるが、病変部からの細胞は  $D_{10}$  値が低い傾向を示した。以上のように大部分の TS 患者由来の線維芽細胞は X 線感受性を示さず、病変部からの細胞が X 線感受性を示す傾向があることがわかった。このことは TS は外的あるいは内的要因により X 線感受性を示すような変化をおこしやすい病気であることを示唆している。

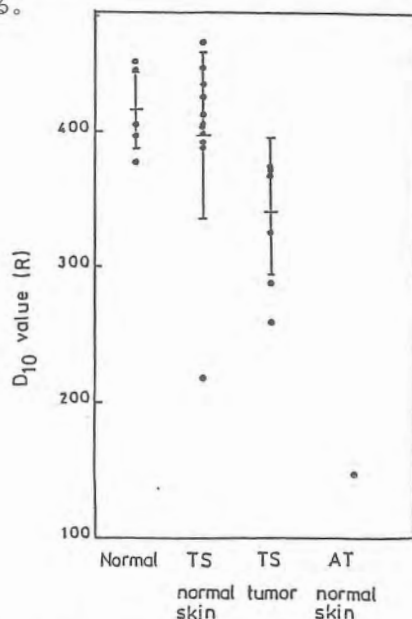


図 2. TS 正常皮膚由来線維芽細胞と皮膚病変部由来線維芽細胞の X 線感受性

## $^{11}\text{C}$ による dynamic Positron emission tomography :術式, 臨床的意義と局所脳血流量化への応用

桜川宣男, 工藤英昭, 飯尾正明\*, 築山 節\*, 熊倉ひとし\*

炭酸ガス( $\text{CO}_2$ )は糖代謝の最終産物であると同時に種々の代謝反応系に関与している。 $^{11}\text{C}$ - $\text{CO}_2$ による Positron emission tomography (PET) が脳の酸-塩基平衡の非侵襲的研究方法として活用できる可能性が示唆されていたが、現在まだ議論のあるところである。著者らは $^{11}\text{C}$ による dynamic PET を施行し、その動態イメージが時間経過に伴って変化することを見出した。そこでその術式について検討し、 $^{11}\text{C}$  dynamic PET の臨床的意義について考察する。

### $^{11}\text{C}$ dynamic PET の術式

Baby cyclotron より產生される $^{11}\text{C}$  (約20mCi) を用いて、吸入法により dynamic PET を施行した。島津ヘッドトーム II を使用して $^{11}\text{C}$ 吸入直後よりイメージングを行った。1秒カウントの10回、1リピートとして1フレーム画像を作成する。NaI デテクターの回転に要する時間を含めると、1フレーム画像に要する時間は約20秒である。連続16フレーム画像を作成して術式を終了する。 $^{11}\text{C}$ の吸入法について検討を行った。(1) $^{11}\text{C}$ を1回の深呼吸によって吸入し、4~5秒間の息ごらえ後に呼出する。(2) $^{11}\text{C}$ をゴムバルーンに封入し(空気との混合ガス)、(1)の方法後に4~5回平常呼吸をしてから、 $^{11}\text{C}$ 混合ガスの吸入を止める。(3)一定の濃度の $^{11}\text{C}$ 混合ガスを20~30秒間吸入させる。術式中、橈骨動脈カテーテルより動脈を連続採血(1滴/1秒の滴下血液を試験管に5滴ずつ採血)を行って、血中の $^{11}\text{C}$ -クリアランスを計算した。 $^{11}\text{C}$ の脳クリアランスは、各画像の総カウントより計算して求めた。

PET のイメージングに要する時間(1秒)の適正についての検討。

約20mCi の $^{11}\text{C}$ をゴムバルーンに封入し、ガントリーの中央に設置する。Data Sampling time は1秒、scan wait time は零秒、Total sampling image を32およびリピートは1回の条件で、70分間スキャンを行った。各フレームの総カウントを経時的にプロットしてその減衰曲線を求め、 $^{11}\text{C}$ の半減期(20.4分)と比較した。

### 結果

Data sampling time が1秒である場合に NaI デテクターの計測が適格であるかどうか調べた結果、1リピート(約20秒間)の総カウントが、 $7 \times 10^5$ 以下であれば、 $^{11}\text{C}$ 半減期曲線と一致した減衰曲線が

得られた。この事実により、平常のイメージングに使う $4 \sim 5 \times 10^5$ 以下では正確な放射能計測が行なわれている事が証明された。

$^{11}\text{C}$ の脳クリアランス曲線について、種々の $^{11}\text{C}$ 吸入法について検討した結果、 $^{11}\text{C}$ の連続吸入法によって steady state に近い状態が得られる可能性が示唆された。 $^{11}\text{C}$ の動脈血液クリアランス曲線においては、 $^{11}\text{C}$ 吸入後10秒以内で最大ピークに達し、以後3相性を示して減衰する。 $^{11}\text{C}$ の吸入条件(前記(1)と(2))では、動脈血液中では steady state が得られていないため、方法(3)の吸入条件で検討中である。

### $^{11}\text{C}$ dynamic PET のイメージ

初めの2フレームのイメージでは、脳灰白質に高い RI 集積を示すが、以後時間経過に伴って灰白質と白質の境界は不鮮明となり、不規則な分布を示すようになる。脳の悪性リンパ腫の症例では、初めの2フレームは、病巣部位の RI 集積は少なく、以後時間経過に伴って病巣部位における RI 集積像(pooling か)が観察された。 $\text{C}^{15}\text{O}_2$ 及び $^{15}\text{O}_2$ のイメージは $^{11}\text{C}$  dynamic PET の後半のイメージと一致しているが、初めのイメージとは全く異なっていた。

### 考察

Data sampling time の1秒に対する NaI デテクターの計数値の適正が証明された事により、1イメージが20秒で可能となった。この事は1回の脳循環に必要な時間(約17秒)に近い状態で1イメージが作成される事を意味し、その連続イメージは脳内の循環動態の把握に最も適していると考えられる。方法的にも多少工夫が必要であるが、初めの2フレーム位までは steady state が得られる可能性も示唆された。この事実により、 $\text{C}^{15}\text{O}_2$ による局所脳血流量算定式を応用できる可能性が生じている。しかし現在の問題点は、症例提示したごとく、病的状態における $^{11}\text{C}$  dynamic PET (初めの2フレーム)が、従来の局所脳血流量算定に用いられている $\text{C}^{15}\text{O}_2$ のイメージと全く異なる事である。 $^{11}\text{C}$ イメージの解釈として、初めのイメージは、 $^{11}\text{C}$ (不活性ガス)の流れを主体とした脳血流の分布を表わし、時間経過と共に、 $\text{H}^{11}\text{CO}_3^-$ イオンの分布を表出する可能性がある。局所脳血流量の算定に $\text{C}^{15}\text{O}_2$ イメージを用いる事に問題が生じてきたと考えられる。

## Menkes 病および Wilson 病患者由来の培養繊維芽細胞における銅代謝異常 —銅および銅結合蛋白質レベル—

佐藤 充

Menkes 病および Wilson 病患者からの培養皮膚繊維芽細胞では細胞内銅レベルが高く、細胞内の主要な重金属結合蛋白質、メタロチオネイン (Mr 約 7000) との関連性が示唆されている。本研究では、両疾患患者由来の培養繊維芽細胞における銅レベル、細胞内分布、および培養液中への金属添加による銅結合蛋白質レベルの変化を正常細胞と比較した。

### 方法

両疾患患者および正常人由来の皮膚繊維芽細胞は、10% 仔牛血清含有 Dulbecco's modified MEM を用い 95% air-5% CO<sub>2</sub> インキュベーター中で培養し、全て confluent な状態で実験に用いた。総細胞中の銅含有量の測定は、細胞 homogenate を凍結乾燥、HNO<sub>3</sub> 灰化後、Zr 共沈分析法-無炎原子吸光法により行った。

また、細胞を 0.05M Tris-HCl 緩衝液 (pH 8.6) 中で homogenize 後、105,000g、60分遠心の上清を可溶性画分とし、この画分中の銅濃度を測定し、Sephadex G-75ゲルクロマトグラフィー (カラム: 1.0×47cm, 溶出液: 0.05M Tris-HCl 緩衝液) を行い、各フラクション (0.56ml) 中の金属濃度を測定した。

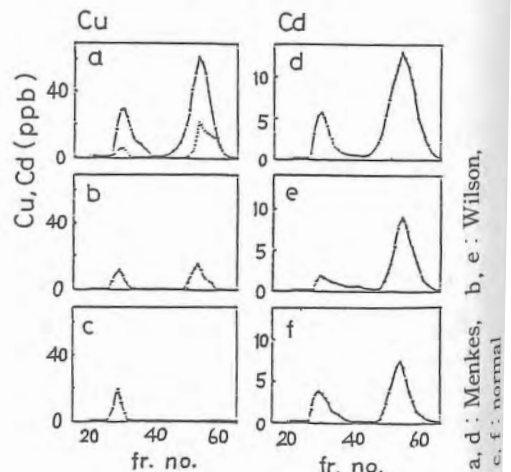
### 結果

Menkes 細胞および Wilson 細胞中の銅濃度は、それぞれ、427および240ng/mg 蛋白質であり、normal 細胞 (140ng/mg) と比較し、それぞれ約3倍および1.7倍に増加している。また、可溶性画分中の銅濃度は、Menkes 細胞では285ng/mg 蛋白質であり、normal 細胞 (48.2ng/mg) の約6倍と著しく高いが、Wilson 細胞 (63.3ng/mg) では1.3倍に過ぎない。従って、両細胞で銅濃度が増加するがその細胞内分布は異なり、Menkes 細胞では、主に、可溶性画分へ、Wilson 細胞では顆粒画分へも分布すると思われる。Sephadex G-75ゲル濾過 (図1) から、Menkes 細胞の可溶性画分中の銅のほとんどは、溶出位置 (Ve/Vo=1.8) および培養液への金属添加による誘導性からメタロチオネイン (MT) と推定されるピークとして存在する (図a点線)。この MT ピークは Wilson 細胞 (図b) および normal 細胞 (図c) にはみられない。銅 (10μg/ml) 添加培養液中で36時間培養した場合、Menkes 細胞では MT-結合 Cu 量がさらに増加し、Wilson 細胞にも MT ピークがみられるが Menkes 細胞と比較し Cu レベルは低い (図

a-c 実線)。カドミウム (0.01μgCd/ml) 添加培養液中で36時間培養した場合、いずれの細胞にも Cd-結合 MT がみられるが、Cd は異なる (図1, d-f)。Menkes 細胞では、Cd-MT 中に通常の培養液中で培養した場合と同レベルの Cu も存在するが、他の細胞では Cu は含まれない。

### 考察

Menkes 細胞および Wilson 細胞における銅レベルの増加の原因は不明であるが、そのひとつとして MT 誘導合成能の上昇が考えられる。真の MT 合成を表わすものではないが、MT-結合金属量で比較すると、Cu および Cd 両金属による MT 誘導合成能は Menkes 細胞 > Wilson 細胞 > normal 細胞の順であり、特に、Menkes 細胞における Cu による MT 量の増加は他の細胞と比較し顕著である。このことは、Menkes 細胞の高い Cu 蓄積性と一致する。しかし、Menkes 病患者およびモデル動物である mottled マウスの肝や脳組織中の Cu レベルは著しく低下しており、このような Cu の体内分布異常と MT との関連性については明らかでない。Wilson 細胞でも銅レベルが増加する傾向がみられるが、Menkes 細胞と比較するとその程度は小さく、通常の培養液中で培養した場合、可溶性画分中に Cu-MT は検出されない。Wilson 病患者からの肝組織の可溶性画分中には多量の Cu-MT が存在し、また、顆粒画分中にも Cu-MT 多量体が存在することが示唆されている。Wilson 細胞の顆粒画分においても MT が存在するかどうか確認する必要がある。





## 4. 疾病研究第3部

### 1. 研究部一年の歩み

当部は内因精神病（精神分裂病，躁うつ病）の生物学的成因を解明することを目的とし，動物実験あるいは患者死後脳を用い，主として生化学，薬理学的手法により研究を行っている。この他に精神疾患と近縁の多動児症候群のモデル動物を用いた実験も続けており，精神病のさいにほとんど必ず随伴してみられる睡眠障害の起こる生化学的機序についても研究を進めている。分裂病死後脳は当療養所の精神部門をはじめ，各地の精神病院の協力により次第にその数を増している。

58年度の人事移動としては，4月に渋谷治男が東京医科歯科大学講師として転出し，6月より野田恭平が後任の研究員となった。東京都立大学大学院博士課程を修了した小川篤子が4月より流動研究員として採用された。研究生は都立梅ヶ丘病院より市川宏伸のほか，名古屋保健衛生大学医学部臨床系大学院（精神科）より小渡敬が研究に参加した。10月には融道男に部長が発令され，成瀬浩併任部長から業務を引き継いだ。なお併任研究員には従前よりの市山新（浜松医科大学）と金野滋（東京医科歯科大学）に渋谷が加わった。

今年度の主な研究概要を次に記す。

#### (1) ドーパミン受容体に関する研究

定型的な抗精神病薬を長期間にわたりラットに与えると脳内シナプス後部ドーパミン受容体が増加することは知られているが，今までほとんど研究されていない非定型的抗精神病薬の効果について調べている。またシナプス前部ドーパミン受容体を蛋白質化学的に同定する研究を開始した。

#### (2) 分裂病に関する実験的研究

マウスにメタンフェタミンを持続的に経口投与することにより，メタンフェタミンに対する耐性をもつ動物を作ること成功した。この動物はメタンフェタミン投与中止後の行動量が少なく，慢性分裂病と類似した行動を示した。一方，分裂病が思春期以降に発病する点に着目し，性ホルモンのドーパミンニューロンに与える影響についても研究している。

#### (3) 分裂病死後脳の生化学的分析

今年度は側頭葉，海馬，扁桃体，梨状葉皮質など12部位を取り出し，グルタミン酸，GABA，コリンアセチル基転移酵素，サブスタンスP，コレシストキニン， $\alpha$ -ネオエンドルフィン，ダイノルフィンAなどを分析した。

#### (4) 多動児症候群モデルラットの研究

## II 研究業績

新生仔期に6-ヒドロキシドーパミンを与えドーパミン神経終末を破壊したラットについて、セロトニン受容体を調べ、行動変化について検討した。

### (5) 躁うつ病治療薬のペプチドへの影響

躁うつ病の再燃を予防する作用のあるカルバマゼピンを長期間経口的に摂取させたのちに、脳内3部位でサブスタンス P を測定する研究を行っている。

### (6) 睡眠発現機序の生化学的研究

断眠後のラットが急激に睡眠に入る時に脳内の多くの部位でセロトニン代謝が亢進することが明らかになったが、この時脳のニューロンがトリプトファンを取り込む機序について研究を着手した。

(部長 融 道男)

## 2. 研究業績

### A. 論文

#### a. 原著

- 1) Kariya T, Shimazono Y, Itoh H, Mori A, Murasaki M, Sugano K, Toru M, Yamashita I :  
A comparison of the clinical effects of timiperone, a new butyrophenone derivative, and haloperidol on schizophrenia using a double-blind technique  
J Int Med Res 11 : 66-77, 1983
- 2) Nishikawa T, Takashima M, Toru M:  
Increased [<sup>3</sup>H] kainic acid binding in the prefrontal cortex in schizophrenia  
Neuroscience Letters 40 : 245-250, 1983
- 3) 融道男, 渋谷治男, 野田恭平, 三ツ汐洋, 高嶋瑞夫, 俣賀宣子, 渡部修三, 西川徹, 市川宏伸 :  
精神分裂病死後脳 黒質, 赤核, 視床下核および視床の神経伝達物質の生化学的分析  
精神神経学雑誌 85 : 527-541, 1983
- 4) Watanabe S, Nishikawa T, Takashima M, Toru M:  
Increased muscarinic cholinergic receptors in prefrontal cortices of medicated schizophrenics  
Life Sciences 33 : 2187-2196, 1983
- 5) 融道男, 三ツ汐洋 :  
カルバマゼピンの作用機序に関する予備的検討  
精神医学 25 : 1301-1304, 1983
- 6) 高嶋瑞夫, 融道男 :

大量の haloperidol によるラット脳内 noradrenaline 代謝の亢進とカタレプシーの減弱

薬物・精神・行動 3 : 149-158, 1983

7) 三ツ汐洋, 高嶋瑞夫, 融道男 :

抗精神病薬の錐体外路症状惹起作用に関与する神経伝達機構の研究

精神薬療基金研究年報 15 : 192-198, 1983

8) Toru M, Mitsushio H, Mataga N, Takashima M, Arito H :

Increased brain serotonin metabolism during rebound sleep in sleep-deprived rats

Pharmacol Biochem Behav, in press

9) 坪川孝志, 山本隆充, 片山容一, 西本博, 平山晃康, 渋谷治男 :

頭痛症に対する視床中継核刺激, 臨床効果と髄液中  $\beta$ -endorphin の変動

脳神経外科 12 : 459-467, 1984

10) Tsubokawa T, Yamamoto T, Katayama Y, Hrayama T, Shibuya H :

Thalamic relay nucleus stimulation for relief of intractable pain. Clinical results and  $\beta$ -endorphin immunoreactivity in the cerebrospinal fluid

Pain 18 : 115-126, 1984

11) Semba J, Toru M, Mataga N :

Twenty-four-hour rhythms of norepinephrine and serotonin in N. suprachiasmaticus, raphe nuclei and locus coeruleus in the rat.

Sleep, in press

12) Ogawa A, Haino - Fukushima K :

Isolation and purification of vitelline - coat lysin from testis of *Turbo cornutus*(Mollusca)

Develop Growth and Differ 26 : 345-360, 1984

13) Toru M, Takashima M :

High dosage haloperidol reduces cataleptic response and increases noradrenaline metabolism in rat brain

Neuropharmacology, in press

b. 著 書

1) 融道男 :

精神分裂病の薬理, 中外医学双書, 中外医学社, 1983

2) 融道男, 渋谷治男, 三ツ汐洋, 野田恭平, 俣賀宣子, 高嶋瑞夫 :



## II 研究業績

### 生化学物質の測定法と生化学的解釈

中枢神経実験法——てんかんの実験的研究（山下格，山内俊雄編），北海道大学図書刊行会，  
1984，p 49-68

### c. 総 説

#### 1) 融道男：

ドーパミン過剰症状群としての精神分裂病  
日本臨床 41：1021-1027，1983

#### 2) 融道男：

精神分裂病における神経伝達の異常  
病態生理 2：977-983，1983

#### 3) 融道男：

精神分裂病因に関与するドーパミンおよびグルタミン酸ニューロン  
医学のあゆみ 127：466-472，1983

#### 4) 融道男，野田恭平：

神経精神疾患とレセプター  
神経精神薬理 5：921-932，1983

#### 5) 融道男：

セロトニンと睡眠  
遺伝 37 (12)：21-26，1983

#### 6) 融道男：

モノアミン性神経伝達と医薬品——神経伝達物質の臨床的意義  
medicina 21：331-341，1984

#### 7) 渋谷治男：

精神障害と神経ペプチド  
日本臨床 41：1001-1008，1983

#### 8) 渋谷治男：

エンドルフィンと精神分裂病  
臨床精神医学 12：713-724，1983

### d. 班会議報告書

#### 1) 融道男，三ツ汐洋，俣賀宣子，高嶋瑞夫，有藤平八郎：

睡眠・覚醒制御の神経生化学的研究(3)断眠後の睡眠・覚醒状態と脳内 serotonin 代謝

文部省科学研究費補助金・特定研究・脳の動的神経機構報告書(3), p.199-200, 1984

- 2) 融道男, 渋谷治男, 三ツ汐洋, 野田恭平, 高嶋瑞夫, 俣賀宣子, 小川篤子, 渡部修三, 市川宏伸 :

精神分裂病死後脳大脳辺縁系の生化学的分析

厚生省神経疾患・精神分裂病の生物学的成因及び病態に関する研究

昭和58年度報告書 1984, p 75-89

## B. 学会発表

### a, 特別講演, シンポジウム

- 1) 融道男 :

精神分裂病に対する dopamine 仮説からのアプローチ

第79回日本精神神経学会総会トピックス, 札幌, 6. 9-11, 1983

- 2) 融道男 :

意識の機構に関与する物質

文部省科学研究費補助金・特定研究・脳の動的神経機構 1983年夏のワークショップ「脳と意識」, 那須町, 7. 19-20, 1983

- 3) 融道男, 渡部修三, 野田恭平, 三ツ汐洋, 高嶋瑞夫, 俣賀宣子, 渋谷治男, 西川徹, 市川宏伸 :  
分裂病死後脳の生化学的分析

シンポジウム「精神分裂病の成因と病態」, 裾野市, 10. 8-9, 1983

- 4) 融道男 :

分裂病脳における神経伝達の異常

第12回精神研シンポジウム「精神分裂病の成因と治療——その生物学的アプローチ」, 東京, 11. 5, 1983

- 5) 融道男 :

ドーパミン受容体遮断薬と精神分裂病

長井記念シンポジウム (第2回), 徳島, 12. 1-2, 1983 (講演要旨集83-89)

- 6) 融道男 :

精神分裂病と大脳基底核の伝達物質

文部省科学研究費総合 (B), 内因性活性物質に関するシンポジウム「大脳基底核の神経伝達物質」, 東京, 12. 6, 1983

7) 融道男：

精神分裂病のドーパミン仮説と薬物療法

第12回日本精神病院協会精神医学会シンポジウム「精神分裂病の薬物療法」, 松江, 3, 20, 1984

c. 一般学会

1) 三ツ汐洋, 俣賀宣子, 高嶋瑞夫, 融道男, 有藤平八郎：

全睡眠遮断後の回復睡眠に伴うトリプトファン代謝の変化

第8回日本睡眠学会, 久留米, 5, 12-13, 1983 (抄録集 p.37)

2) 高嶋瑞夫, 融道男：

抗精神病薬によるカタレプシー惹起性と脳内ノルアドレナリン代謝

第13回精神薬理研究会年会, 東京, 10, 6-7, 1983 (口演要旨集 p.82)

3) 野田恭平, 小川篤子, 融道男：

精神分裂病の思春期発病をめぐる神経化学的研究

第10回日本内分泌学会神経内分泌分科会, 東京, 11, 3, 1983 (抄録集 p.42)

4) 小渡敬, 中沢恒幸, 融道男：

Methamphetamine に対する耐性・逆耐性マウスの行動および生化学的变化

第26回日本神経化学会, 大阪, 11, 14-16, 1983 (神経化学 22:258-260)

5) 市川宏伸, 三ツ汐洋, 渋谷治男, 西川徹, 野田恭平, 高嶋瑞夫, 融道男, 松尾寿之：

精神分裂病死後脳各部位における神経ペプチドの変化

第26回日本神経化学会, 大阪, 11, 14-16, 1983 (神経化学 22:315-317)

6) 三ツ汐洋, 高嶋瑞夫, 融道男：

抗精神病薬の錐体外路症状惹起作用に関与する神経伝達機構の研究

第15回精神神経系薬物治療研究報告会, 大阪, 12, 5, 1983 (抄録集 p.26)

7) 本橋伸高, 渡部修三, 融道男：

各種抗精神病薬慢性投与後のラット線条体 D<sub>2</sub>レセプターの変化

第7回神経科学学術集会, 千葉, 1, 24-25, 1984 (予稿集 p.71)

8) 小渡敬, 中沢恒幸, 融道男：

Methamphetamine の経口持続投与によるマウスの行動におよぼす影響

第6回日本生物学的精神医学会, 東京, 3, 23-24, 1984 (講演抄録 p.103)

9) 三ツ汐洋, 高嶋瑞夫, 融道男：

## カルバマゼピンの躁うつ病予防効果に関する神経化学的研究

第6回日本生物学的精神医学会，東京，3，23-24，1985（講演抄録 p.64）

10) 野田恭平，高嶋瑞夫，融道男：

精神分裂病の思春期発病に関する生化学的研究

第6回日本生物学的精神医学会，東京，3，23-24，1984（講演抄録 p.78）

11) 坪川孝志，山本隆充，片山谷一，西本博，平山晃雄，渋谷治男：

脳刺激による除痛法——その基礎と臨床成績

第42回日本脳神経外科学会総会，大阪，10，26-28，1983（抄録集 p.H253）

## C. 班会議発表

1) 融道男，三ツ汐洋，俣賀宣子，高嶋瑞夫，有藤平八郎：

睡眠の発現機構に関する神経化学的研究

文部省科学研究費補助金・特定研究・脳の動的神経機構班会議，東京，1，26，1984

2) 融道男，渡部修三，渋谷治男，野田恭平，三ツ汐洋，高嶋瑞夫，俣賀宣子，小川篤子，市川宏伸：

精神分裂病死後脳の生化学的分析——海馬，扁桃体，側頭葉を中心に

厚生省神経疾患・精神分裂病の生物学的成因及び病態に関する研究

昭和58年度研究報告会，東京，2，3，1984

3) 融道男，野田恭平，高嶋瑞夫：

精神分裂病の思春期発病に関する神経化学的な研究

厚生省，発達神経学的にみた自閉症の予防と治療に関する研究班会議，東京，3，18，1984

## D. 研究会など

1) 融道男：

精神疾患と神経伝達

労働省産業医学総合研究所セミナー，4，14，1983

2) 融道男：

神経伝達物質と精神機能

第3回国際シンポジウム EXPO'85 専門家会議，11，23，1983

3) 融道男：

精神分裂病における生化学的知見

浅井病院セミナー，11，26，1983

## II 研究業績

4) 融道男：

精神分裂病の生化学

横浜市立大学医学部および精神科セミナー，1，23，1984

5) 融道男：

精神分裂病の生化学

東京医科歯科大学難治疾患研究所セミナー，2，24，1984

## 3. 主な研究報告

各種抗精神病薬慢性投与後のラット線条体  $D_2$  受容体の変化

本橋伸高, 渡部修三, 融道男

抗精神病薬の慢性投与によりドーパミンニューロンのシナプス後部 ( $D_2$ ) 受容体数が増加することは定説となっているが, 非定型抗精神病薬の慢性投与後の変化についてはほとんど知られていない。この研究では, 臨床で広く用いられているスルピリド, オキシペルチンの  $D_2$  受容体に対する影響を, ハロペリドールに比較して検討した。

## 方法

成熟雄性ウィスター系ラットを, 定型的な抗精神病薬ハロペリドール, 非定型な抗精神病薬スルピリド, オキシペルチンを含んだ飼料で40日間飼育した。飼育中の薬物の摂取量は, ハロペリドール4-5 mg/kg/日, スルピリド500mg/kg/日, オキシペルチン30-40mg/kg/日であった。薬物含有飼料で40日間飼育後, 飼料は通常のものに戻し, ハロペリドール1 mg/kg, スルピリド100mg/kg, オキシペルチン20mg/kg を1日1回腹腔内に注射する処置を1週間続けたのち, 1週間の休業期間において脳内ドーパミン受容体を測定した。

## 結果

ハロペリドールを慢性投与したラットにハロペリドールを注射するとカタレプシーの持続時間は著しく短縮し, ハロペリドールによるカタレプシー反応に耐性が形成されていた。オキシペルチン投与群にオキシペルチンを再投与した場合には強いカタレプシーが惹起された。スルピリド投与群にスルピリドを脳室内に投与すると, 無処置対照群に脳室内投与した場合よりもカタレプシー持続時間は有意に減少した。

ラットの線条体を取り出し,  $D_2$  受容体を標識するために,  $^3H$ -スピペロン0.01-0.30nM を  $2 \times 10^{-6}M$  の ( $\pm$ )-スルピリドで置換して  $B_{max}$  と  $K_D$  を求めた。

対照群の  $B_{max}$  が  $423.9 \pm 49.6$  fmol/mg 蛋白であるのに対し, スルピリド投与群は  $675.3 \pm 53.9$ , ハロペリドール群は  $729.4 \pm 49.1$ , オキシペルチン群は  $747.0 \pm 33.2$  であり, 抗精神病薬投与群の  $B_{max}$  は対照群に比し有意に増加していた (図)。一方,  $K_D$  は, 対照群  $0.104 \pm 0.009$  nM, スルピリド群  $0.100 \pm 0.015$ , ハロペリドール群  $0.118 \pm 0.024$ , オキシペルチン群  $0.110 \pm 0.012$  であり, 有意な変化はみられなかった。

## 考察

ハロペリドールとスルピリドの慢性投与後にカタレプシーに耐性が生ずるのは,  $D_2$  受容体が増加するためであると思われる。オキシペルチンの慢性投与後にも  $D_2$  受容体は増加するのにカタレプシーに耐性が生じないのは, オキシペルチンのドーパミン枯渇作用に耐性が生じないためであろうと推察される。

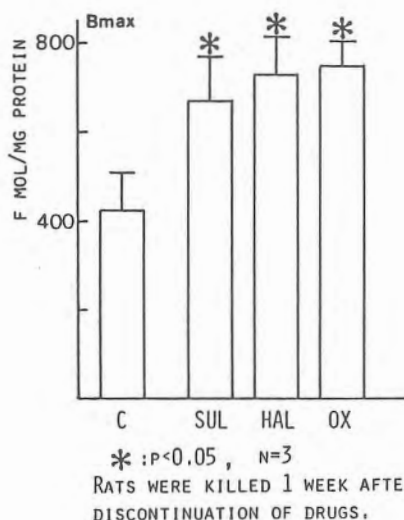


図 抗精神病薬含有飼料で40日間飼育後のラット線条体  $D_2$  受容体の増加

C: 対照, SUL: スルピリド, HAL: ハロペリドール, OX: オキシペルチン

## ドーパミン受容体の生化学的研究

小川篤子, 渡部修三, 融道男

ドーパミン (DA) 受容体は, DA アゴニスト, アンタゴニストに対する親和性の差に基いて,  $D_1 \sim D_3$  のサブタイプに分類されている。DA アゴニストに親和性が高く (nM オーダー) DA アンタゴニストに親和性の低い  $D_3$  結合部位についての蛋白質化学的知見は, まだ報告されていない。今回  $[^3H]$ -DA をリガンドとした光アフィニティ標識法を用いて  $D_3$  結合部位の識別を試みた。

## 方法

S-D 系雌性ラット線条体より De Robertis らの方法を用いて膜標品 ( $M_1$ 画分) を調製した。膜画分に終濃度 10nM の  $(7.8-^3H)$ -DA を加え,  $22^\circ C$  15分インキュベート後, 紫外線燈 (東芝 FL20SE) 照射下で  $22^\circ C$  60分間振盪後, 遠心を繰り返して膜成分から非結合 DA を除去した。膜画分にとり込まれた  $[^3H]$  カウントを測定するとともに, 一部は 2-メルカプトエタノールを含む SDS で可溶化後, SDS ゲル電気泳動 (アクリルアミドゲル濃度 5-15%) に供し, フルオログラフィを行なうか, または, ゲルをスライスして各切片に含まれる  $[^3H]$  カウントを測定した。対照実験として, 膜画分に  $[^3H]$ -DA とともに, 終濃度  $1 \mu M$  アポモルフィン (Apo),  $1 \mu M$  ADTN または  $10 \mu M$  スルピリドを加えたものを用いた。

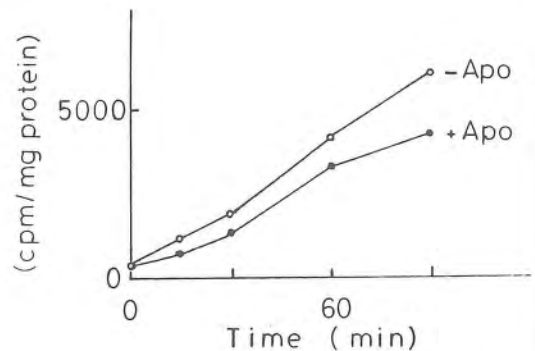
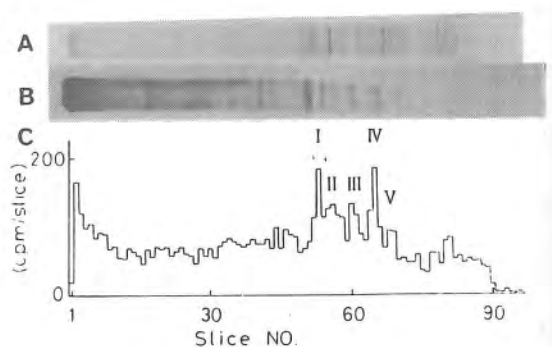
## 結果

膜画分に取り込まれた  $[^3H]$ -DA 由来のカウントは紫外線照射時間に依存して増大した。DA アゴニストの Apo が共存すると, 取込み量は非共存下よりも減少した (図 1)。紫外線 60分照射の場合,  $1 \mu M$  Apo 共存下で約 80% に, 同じくアゴニストの ADTN ( $1 \mu M$ ) 共存下で 85% に取込み量は減少したが, DA アンタゴニストのスルピリド ( $10 \mu M$ ) 共存下では取込みは阻害されなかった。

$[^3H]$  標識された膜画分の SDS ゲル電気泳動のフルオログラフィおよびゲルスライス中の  $[^3H]$  カウントのパターン (図 2) において, I ~ V の  $[^3H]$  取込みの顕著なバンドが検出された。これらの分子量は, I. 56,000, II. 49,000, III. 39,000, IV. 33,000 および 32,000, V. 28,000 であった。Apo 共存下で標識した膜画分を同様に処理し, ゲルスライス中のカウントを測定すると, 各スライスとも非共存下のものより低いカウントを示したが, I ~ V のバンドの中で, IV のものは他よりも著明にカウントが減少した。

## 考察

$[^3H]$ -DA 由来の膜画分への  $[^3H]$  取込み量は, アゴニストの共存により拮抗され, アンタゴニストでは影響を受けない点で, 受容体結合アッセイにおける  $D_3$  部位の性質に一致しており, その理由から,  $[^3H]$ -DA で標識されアゴニストで拮抗される標識蛋白質が  $D_3$  部位であることが期待された。 $[^3H]$  標識された膜蛋白を電気泳動的に解析すると, アゴニスト共存下で拮抗される標識蛋白は必ずしも特異的ではなかった。しかしながら, IV の画分については Apo 存在下で他よりも顕著に拮抗が示され, この蛋白質が  $D_3$  部位である可能性が示された。

図 1 膜画分への  $[^3H]$  取込みの経時的变化図 2  $[^3H]$  標識された膜画分の電気泳動パターン, A: 蛋白質 (クーマジーブルー) 染色, B: フルオログラフィ, C: ゲルスライス中の  $[^3H]$  カウント

## Methamphetamine 経口持続投与のマウスの行動におよぼす影響

小渡 敬, 融 道男

ヒトの amphetamine 精神病の臨床症状が精神分裂病にきわめて類似していることや amphetamine が分裂病の症状を増悪することから, amphetamine 類を動物に投与した際に出現する行動変化を指標とした研究が多く行なわれている。われわれは methamphetamine をマウスに経口的に長時間持続投与した時の行動変化について分裂病との類似性の観点から検討を試みた。

## 方法

雄性 ddY マウス (体重19–25g) を1ケージに20匹ずつ入れ, 7:00–19:00を明期とする標準明暗条件下で1週間飼育後, 持続投与群には塩酸 d-methamphetamine (MAP) 120mg を1kgの飼料 (MM 3, 三協ラボ) に混じ, 蒸留水を加え粘土状にし, これを乾固したもので70日間飼育した (平均摂取量20mg/kg/日)。対照群は固形飼料 (MM 3) で飼育した。行動量は持続投与中の60日, 70日目と休薬12, 24時間目および8日, 10日目に観察した。また休薬10日目は MAP 2 mg/kg および 3 mg/kg を腹腔内に再投与し常同行動と移所運動量を測定した。

移所運動量は MK-ANIMEX (MUROMACHI-KIKAI 社製) にプラスチックケージ (底面21cm×37cm) を置き, マウスを1匹ずつ入れ90分間5分ごとにカウントした。常同行動は急性投与実験に基づく6段階尺度で評価した。

また血漿および脳内 MAP 濃度を調べる目的で, MAP 持続投与中の70日目および休薬12, 24時間目と10日目に午前10:00–11:00の間に断頭しヘパリン添加チューブで採血後遠沈し血漿0.25ml を測定に用いた。脳は断頭後直ちに開頭し全脳を測定に供した。MAP 濃度の測定はガスクロマトグラフィー法による。

## 結果

MAP 持続投与群で60日目の行動量は15分後より90分目まで対照群に比して有意な増加を示し, 90分間の総カウント数は対照群の327%に達していた。同様の測定を夜間 (20:00–24:00) に行なっても行動量は MAP 群で15–90分間有意に増加していた。この増加は, 対照群は ANIMEX 上の新しいケージに速やかに慣れを生ずるのに対して, 持続投与群で

は著しく慣れが生じにくくなっているためとみることが出来る。次に MAP による飼育を中断後8日目の行動量をみたところ, 持続投与群で10, 15分後に対照群に比して有意な減少を認めその後も減少傾向を示し, これを総カウント数でみると55%の低下を示していた。この行動の低下は MAP 中断後12時間目より認められた。

休薬10日目にあらかじめ40分間 ANIMEX 上に放置した後に MAP 2 mg/kg あるいは 3 mg/kg の再投与で対照群では10分後より著明な行動量の増加がみられたが, 持続投与群ではいずれも有意な行動の抑制を示していた。この時両群とも常同行動の出現は認められなかった。

血漿中および脳内 MAP 濃度は MAP 持続投与中の70日目はそれぞれ  $351.0 \pm 44 \text{ ng/ml}$ ,  $2.85 \pm 0.32 \mu\text{g/g}$  (mean  $\pm$  SE) で休薬12時間後はそれぞれ  $13.2 \pm 3.0$ ,  $0.06 \pm 0.002$  であった。休薬24時間目10日目は血漿, 脳内とも MAP は検出されなかった。

## 考察

以上の結果をまとめると, MAP を経口的に持続投与することにより, 投与期間中行動量は対照群に比し有意に増加を示すが, 休薬後は12時間後より行動の抑制が認められた。この行動の変化は MAP の血漿中および脳内変化と対応していることから MAP の服用が直接関与しているものといえる。一方, 行動量は, ANIMEX 上の新しいケージに移して観察しているので, 新しい環境への慣れの程度も同時にみることが出来る。MAP 持続投与中は著しく慣れが生じにくい状態であることが示された。分裂病患者では精神生理学的指標で慣れが生じにくいことが知られているので, この所見はそれに対応した現象とみなすことができる。

また閾値以下の MAP の再投与で常同行動も移所運動量の増加もみられないことから MAP 持続投与後に, MAP に対する反応性が低下していること (耐性形成) がわかった。

MAP 持続投与後の減動状態および反応性の低下は無為, 自閉などの症状を呈する慢性分裂病の行動異常をある程度反映する動物モデルとみなすことができる。



## 精神分裂病の思春期発症に関する神経化学的研究

野田恭平, 高嶋瑞夫, 融 道男

精神分裂病の症状発現には脳内ドーパミンニューロンの過剰活動が関与していることが知られている。一方、分裂病が思春期以後に発症することから性ホルモンが何らかの機序でドーパミンの神経伝達を修飾している可能性を考えて研究を行った。

(1) PMS (pregnant mare serum) を未成熟雌ラットに与えて思春期を発生させたラットの線条体、中脳辺縁領域、前頭葉皮質におけるカテコールアミンの合成酵素チロシン水酸化酵素活性を測定したが、対照との間に差はみられなかった。しかしこの動物に通電によるストレスを与えたところ、一部の脳領域で酵素活性が有意に増加した。このようなラットにさらにドーパミンアゴニストを与えた時の行動量の変化を測定する実験を行った。

(2)  $17\beta$ -estradiol そのものはラット線条体のチロシン水酸化酵素活性に *in vitro* で影響を与えなかったが、estrogen の代謝物として脳内に生ずることが知られている 2-OH- $17\beta$ -estradiol が  $10^{-5}M$  以上の濃度で酵素活性を抑制した。

(3) ラット線条体を用い、 $0.02nM$  の  $^3H$ -spiperone で標識される結合部位に対する  $17\beta$ -estradiol, testosterone, corticosterone および 2-OH- $17\beta$ -estradiol の影響を、それぞれ  $10^{-10}$ ~ $10^{-4}M$  の範囲で調べた。2-OH- $17\beta$ -estradiol の  $10^{-5}M$  以上の濃度で  $^3H$ -spiperone 結合が著明に抑制されたが、他のステロイドホルモンでは影響がみられなかった。

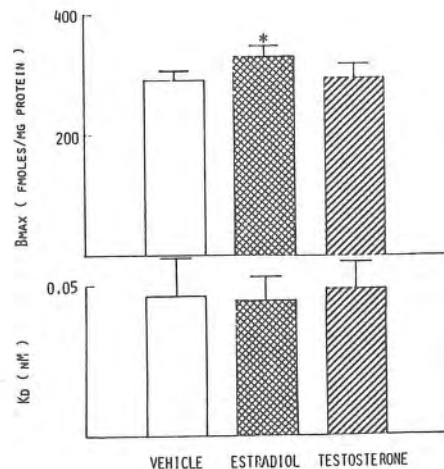
(4) *in vivo* の実験として、去勢した雄ラットに10日間  $100\mu g/日/個体$  の  $17\beta$ -estradiol および testosterone を皮下投与し、最終投与の24時間後に断頭した。前頭葉組織を用い、 $0.5mM$  の  $^3H$ -spiperone で標識され、 $10^{-5}M$  の ketanserin で置換される部位を  $S_2$  受容体とし特異結合を求めたが、性ホルモン投与の影響はみられなかった。同時に線条体の  $D_2$  受容体について、 $^3H$ -spiperone を  $0.01$ — $0.6nM$  の範囲で展開し、 $2 \times 10^{-5}M$  の sulpiride をベースラインとして Scatchard 解析したところ、estradiol 投与群で  $B_{max}$  が有意に増加していた (図)。

## 考 察

2-OH- $17\beta$ -estradiol は estrogen の代謝物として生体内に存在する。この代謝に関する酵素は肝に主に存在するが、最近、この酵素や 2-OH- $17\beta$ -estradiol 自身が脳下垂体前葉を含む中枢神経系に存在していることが証明されている。そしてこの物質は、生物活性を持つカテコールアミンとの構造類似性が

ら興味を持たれている。

今回の *in vitro* の実験では、2-OH- $17\beta$ -estradiol が、ドーパミンの合成や受容体に対し直接影響することが示された。また、*in vivo* の実験で、estradiol は生体に作用し、脳でのドーパミン合成を高め、受容体を増し、ドーパミン性神経伝達を亢進させる可能性が示された。このような性ホルモンのドーパミン性神経伝達に対する影響は、ヒトにおいても、思春期の特異な心性や、分裂病思春期発症の生物学的基底となるような事象の一つであると推測される。



EACH VALUE IS THE MEAN WITH S.E.M. OF FOUR ASSAYS.

\* $p < 0.001$  WHEN COMPARED TO CONTROL VALUES BY TWO-TAILED MATCHED PAIR T-TEST.

図 大量の  $17\beta$ -estradiol によるラット線条体の  $D_2$  受容体の増加

## 分裂病死後脳・大脳辺縁系におけるアミン、アミノ酸の変化

高嶋瑞夫, 俣賀宣子, 野田恭平, 三ツ汐洋, 融 道男

分裂病死後脳の生化学的分析の一環として、アミンおよび代謝物、 $\gamma$ -アミノ酪酸(GABA)、グルタミン酸を大脳辺縁系について測定した。

### 方法

対象は分裂病患者群は男性5例, 女性4例で, 死亡時年齢41-75歳(平均61.2歳), DSM-IIIによる病型分類では, 解体型5, 緊張型1, 妄想型1, 未分化型2例であった。

対照群は男性7例, 女性3例で, 死亡時年齢52-74歳(平均66.7歳), 神経疾患は含まれていない。

### 脳の分割

クライオカットに載せるまでの操作は前年度の年報の通りである。今回分割に用いた切片は, 前方が側頭葉先端, 後方が視床後端までの前額切片である。

側頭葉皮質は上側頭回(Brodman22, 38, 41, 42, 52), 中・下側頭回(Brodman20, 21)と外側後頭側頭回(Brodman36)の3部位を切り出した。

扁桃体は扁桃体基底外側核, 皮質内側核, 中心核の3部位に分割して切り出した。

海馬は歯状回を一塊として切り出し, 残りの部分は海馬溝の入口部から水平の断面を作り, 背側部はアンモン角(CA 1-3)として, 下方腹側部は側脳室の延長上までの皮質を海馬支脚として切り出した。脳弓後端より後方の海馬は一括して海馬後部として切り出した。

梨状葉皮質は扁桃体後端の面より前と後とで前部と後部に分割した。前部には Brodman28, 34と迂回回と海馬傍回が含まれ, 後部には Brodman28の一部と27, 35が含まれる。

島皮質は島輪状溝より上方を一括して切り出した。

皮質に関しては前頭前野の場合と同様に白質部は切り離して用いた。切り出した組織は, 低温室(4°C)内で, 3倍容の氷冷した0.32Mしょ糖溶液を加え, 氷冷下でポリトロンホモジナイザーによりホモジナイズ(17,500rpm, 約15秒間)後, 分注して, 各生化学的分析まで-80°Cに保存した。

生化学的測定法は前報のとおりである。

### 結果

#### (1) アミンおよび代謝物

扁桃体の2部位(内側・皮質核)および基底外側核において測定したノルアドレナリン, ドーパミン, ホモバニリン酸は分裂病群と対照群の間に差はみられなかった。ドーパミン, ホモバニリン酸の値は以前に測定した大脳基底核, 黒質, 赤核, 視床下核などに比しかなり低かった。

#### (2) $\gamma$ -アミノ酪酸(GABA)

海馬の4部位(歯状回, アンモン角, 海馬支脚, 海馬後部)で測定したところ, 海馬後部において分裂病群で有意に( $p < 0.05$ )低い値が得られた。扁桃体2部位では差がなかった。

#### (3) グルタミン酸

側頭葉の4部位(上側頭回, 下側頭回, 外側後頭側頭回, 島皮質)で測定したところ, 分裂病群の上側頭回において有意に( $p < 0.05$ )低い値が得られた。扁桃体2部位, 海馬4部位, 梨状葉皮質の2部位(前, 後部)では差が見られなかった。上側頭回の値は, 年齢と正の相関( $\gamma = 0.4601, p < 0.05$ ), 死後凍結までの時間と負の相関( $\gamma = -0.6329, p < 0.005$ )が認められた。

### 考察

今までの脳内12部位でGABAを測定したが, どの部位でも分裂病死後脳に有意な変化はみられていない。今回の分析において, 海馬後部で有意な値が見出されたが, この変化は海馬の一部にみられたにすぎないので, あまり強い意味づけはできないが, 今まで報告された分裂病死後脳でみられる減少と同じ方向の変化であり興味深い。

グルタミン酸も今まで測定した14部位では有意な変化を見出すことができなかったが, 今回上側頭回で有意に低い値が得られた。従来の測定値はそれ自身を分裂病群と対照群と比較すると差は見出せないが, 前頭前野の内側前頭皮質の $^3\text{H}$ -カイニン酸受容体特異結合の値との相関をみると, 視床, 尾状核, 被核, 赤核, 視床下核など脳内のかなりの部位のグルタミン酸の値との間に有意な負の相関が認められ, 分裂病脳ではおそらく神経伝達物質として働いているグルタミン酸のプールに減少があると推定している。

## 分裂病死後脳大脳辺縁系のサブスタンス P

三ツ汐洋, 高嶋瑞夫, 野田恭平, 融 道男

精神分裂病死後脳研究の一環としてこれまでに前頭葉皮質, 大脳基底核, 視床, 脳幹部のサブスタンス P (SP) 含量について報告してきたが, 今回は大脳辺縁系12部位について分析したので報告する。

対象および脳の切り出し方はアミノ酸の分析の項のとおりである。測定方法は前年度の年報に報告したとおりである。

## 結果

側頭葉皮質3部位では対照群と分裂病群の間に差はみられず, 平均値は約40fmol/mg 蛋白であり, 前頭葉皮質の値とはほぼ同じであった。外側後頭側頭回と中・下側頭回において服薬群が対照群より有意に高値であった。海馬では部位によって差がみられ, 歯状回に最も高濃度に存在し(対照群239fmol/mg 蛋白), 他の部位は約150fmol/mg 蛋白程度であった。アンモン角(CA 1-3)の部位において分裂病群が対照群よりも有意に ( $p < 0.05$ ) 高値であった(図)。また歯状回, アンモン角, 海馬支脚の3部位において服薬群が対照群に比し有意に高値であった。島皮質では差はみられなかった。扁桃体でも差はみられず, 含有量は100fmol/mg 蛋白前後であった。梨状葉皮質では, 前部において対照群 ( $82.4 \pm 5.7$  fmol/mg 蛋白) に対し分裂病群 ( $144 \pm 20$ ) が有意 ( $p < 0.005$ ) な高値を示し, 服薬群のみでも有意に高かった。後部では差はみられなかった。梨状葉前部の値と年齢との間に有意な負の相関 ( $\gamma = -0.64$ ,  $p < 0.01$ ) が認められたが, 他の部位では相関はなかった。また死後凍結までの時間との間には, 相関はなかった。

## 考察

SPはRobertsらにより分裂病死後脳10部位で最近報告され, 海馬でのみ有意に高いと報告されたが, 今回の研究では海馬や扁桃体を細分割し測定したところ, SPの値は彼らの報告した値とほぼ一致していたが, 分裂病群の変化としては, 彼らが高値を見出した海馬のうちアンモン角でのみ高値が得られた。同時に, 今まで分析されたことのない梨状葉皮質(前部)においても高い値が見出された。この両部位と, 今回分析した12部位のうち他の3部位も含め, 服薬群の値が対照群に比し有意に高かった。われわれの今までの分析でも分裂病服薬群の高値が黒質, 視床外側核前部, 中心内側核などで認められている。

精神分裂病の治療には抗ドーパミン薬が有効であることから, ドーパミン系との関連が重要である。

今回有意の高値が見出された海馬アンモン角および梨状葉皮質のSPは, 被核, 尾状核, 黒質, 視床下核のチロシン水酸化酵素活性との間に有意な正の相関があった。動物実験においては脳室内にSPを投与すると大脳辺縁系, 線条体, 大脳半球, 下位脳幹でDOPAの合成を促進し, 移所行動量を増加させることから, SPはカテコラミン系に対し促進作用を持つことが知られている。したがって, SPの増加はドーパミンの過剰活動と関連した変化と考えることができる。

服薬群におけるSPの高値に関しては, 薬物の影響を検討する目的でラットにハロペリドールとトリヘキシフェニディールを単独あるいは併用で40日間と80日間経口投与したところ, 40日ではハロペリドールは単独でも併用投与でもSPを減少させるが, 80日では対照と変わらなくなること, トリヘキシフェニディールは全く影響を与えないことが明らかとなった(本報告書の別項参照)。したがって分裂病脳におけるSPの増加を単純に薬物の影響とすることは妥当でないと考えられたが, 分裂病患者は非常に長期にわたり各種の向精神薬を服用していること, また服薬に関連した様々の要因の影響も考える必要があり, さらに検討を要するものと思われる。

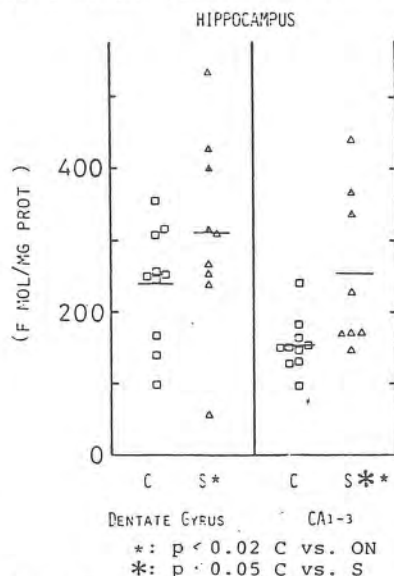


図 分裂病死後脳海馬の歯状回およびアンモン角におけるサブスタンス P 含量。(黒く塗りつぶした三角が服薬群)

## 精神分裂病死後脳大脳辺縁系のコレシストキニン免疫活性

渋谷治男, 三ツ汐洋, 野田恭平, 融 道男

コレシストキニン (CCK) は小腸粘膜より胆のうを収縮させる物質として分離されたペプチドであるが、中枢神経系内では CCK-33, CCK-12, CCK-8, CCK-4 などの形で存在する。脳の CCK の90%以上は CCK-8 であり、大脳皮質、側坐核、尾状核、視床下部に豊富に分布する。黒質緻密部と腹側被蓋野のドーパミンニューロンの一部は CCK を同時に含むことからドーパミン (DA) と CCK の密接な関係が示唆される。精神分裂病の成因として DA 過剰活動説が有力であるが、特に CCK の減少あるいは欠乏が DA 系の過剰活動を誘発しているのではないかの考えがある。臨床的にも CCK-8 類似物質の caerulein は神経遮断剤様の作用をもち、従来の抗分裂病剤で治療効果があまり期待できなかった慢性分裂病の陰性症状を改善したとの報告がある<sup>(1)</sup>。そこで慢性分裂病患者死後脳の大脳辺縁系を細かく分けて CCK-免疫活性を検索した。

### 測定方法と結果

対象は分裂病患者死後脳9例(男5, 女4例)死亡時平均年齢61.2歳, DSM-IIIによると解体型5, 緊張型1, 妄想型1, 未分化型2例である。死亡直前40日間以上にわたり抗分裂病剤を服用していない5例を非服薬群とした。対照群は10例(男7, 女3例), 死亡時平均年齢66.7歳であった。測定した脳部位は側頭葉上側頭回皮質 (Brodmann22, 38, 41, 42, 52), 中および下側頭回皮質 (Brodmann20, 21), 外側後頭側頭回皮質 (Brodmann36), 梨状葉皮質は前部 (Broadman28, 34) と後部 (Brodmann27, 35および28の一部)さらに島皮質の6部位である。脳組織は3倍容の氷冷0.32M しょ糖溶液を加えてホモジナイズした後, 100°C で15分間煮沸。さらに10倍量の水を加え超音波破碎して遠心 (16000×g, 30分)して上清を得, RIAにてCCK免疫活性を測定した。CCK抗血清はCCK-33, CCK-8 (sulfated form) に等しく感受性を示すが, CCK-8 (non-sulfated form), caerulein, CCK-4, Gastrin17-I に対する交叉感受性は0.01%以下である。<sup>125</sup>I-CCK-33はBolton-Hunter試薬を用いて作成した。CCK-RIAの最小感受性は20fmolであった。

ヒト対照脳のCCK-免疫活性は梨状葉前部で1642(fmol/mg protein), 後部で784, 島皮質972であった。側頭葉皮質では後頭-外側部, 下部-中間部, 上部でそれぞれ1977, 1946, 1386であった。分裂病脳のCCK免疫活性は対照脳と比較し有意な差は認めなかった。ただ抗精神病薬服薬群で非服薬群より高い傾向を認め, 側頭葉下部-中間部皮質においては, 分裂病服薬群のCCK免疫活性は対照群より有意に高値を示した (p<0.002)。

### 考察

側頭葉皮質, 梨状葉を細かく分けてCCK-免疫活性を調べた報告はこれが最初であるが, 今回側頭葉皮質各部位で認めたCCK-免疫活性値は既報のそれとほぼ一致する。Robertsらは慢性分裂病を陽性症状のみを持つタイプI型と陰性症状を持つタイプII型に分けてペプチド分析を行っている。それによると全慢性分裂病の側頭葉皮質のCCK免疫活性は有意に減少しており, タイプII型では海馬, 扁桃核でそれぞれ対照の65%, 66%に減少していたという。嗅内皮質のCCK含量は分裂病患者と対照者の間で差がないという。今回の検索ではRoberts等の所見と異なり, 側頭葉皮質において分裂病に特異的な変化は認めなかった。これは彼等が用いた抽出法とは異なり, CCKの水抽出を行ったために, 測定したCCK免疫活性の大部分がCCK-8であることに由来するのかもしれない。抗分裂病剤の脳内CCK免疫活性への影響については, ハロペリドールの慢性投与がラット辺縁系や線条体のCCK含量を増加するとの報告がある。今回分裂病脳について抗分裂病剤の服薬群と非服薬群を比較すると, 測定した全領域で服薬群のCCK免疫活性は高い傾向を示したが, 両群間に有意差は認めなかった。

(CCK-抗血清は大塚アッセイ研究所橋村悦朗博士から恵与されたものである。心から感謝致します。)

### 文献

- 1) Morozi, T. et al : Arch. Gen. Psychiatry 39 ; 485, 1982
- 2) Hashimura, E. et al : J. Imm. Method, 155 : 375, 1982

## 分裂病死後脳側頭葉，辺縁系の $\alpha$ -ネオエンドルフィン，PH-8P〔ダイノルフィンA（1-8）〕

市川宏伸，三ツ汐洋，高嶋瑞夫，野田恭平，融 道男，松尾寿之\*

分裂病死後脳の生化学的研究の一環として Leu-enkephalin 系の $\alpha$ -ネオエンドルフィン，( $\alpha$ -NE)，PH-8P(dynorphinA (1-8))の含有量を側頭葉，辺縁系において測定した。

### 方法

対象と組織の切り出し法については，アミノ酸の生化学的分析に用いたものと同じである。

測定はラジオイムノアッセイ法 (RIA) によった。脳のしょ糖ホジネートを100°C湯浴中に入れ，沸騰した2N酢酸を加え，10分間煮沸した後，超音波破碎し，一部蛋白測定用に取り分けた後，8800×g，15分間遠心分離し，上清を凍結乾燥して試料とした。試料に標識抗原と抗体を含んだ緩衝液，(0.05MNa<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>，0.08M NaCl，0.25%BSA，0.025MEDTA，0.05%NaN<sub>3</sub>，PH7.4)を加え，総量500 $\mu$ lとして，4°Cでインキュベートした。 $\alpha$ -NEは60時間，PH-8Pは48時間後1% $\gamma$ -globulin 100 $\mu$ lと23%polyethyleneglycol 1mlを加え，2,500×g，15分間遠心分離を行い，沈渣を $\gamma$ -カウンターで測定した。測定感度は $\alpha$ -NEが2pg/assay，50%displacement 20pg/assay，PH-8Pがそれぞれ2pg/assay，25pg/assayであった。 $\alpha$ -NEは扁桃体2部位，海馬4部位，側頭葉6部位，PH-8Pは海馬歯状回，側頭葉5部位（上側頭回，下側頭回，外側後頭側頭回，梨状葉前部，後部）について測定した。

### 結果

$\alpha$ -NEは島皮質で分裂病群(58.7 $\pm$ 4.0fmol/mg-protein MEAN $\pm$ SEM，以下同じ)が対照群(127.0 $\pm$ 29.8)に比して有意に(p<0.01)低かった。また非服薬群(54.1 $\pm$ 3.0)，服薬群(63.2 $\pm$ 7.0)で，それぞれp<0.01，p<0.05で有意の低下を示していた。海馬後部において服薬群(127.2 $\pm$ 19.0)で対照群(404.8 $\pm$ 148.9)に比し有意の低下(p<0.05)を示した。

PH-8Pは梨状葉皮質後部で分裂病群(54.5 $\pm$

4.8)，非服薬群(50.4 $\pm$ 7.7)で，対照群(84.0 $\pm$ 11.2)に比し，ともに有意の低下(p<0.05)を示していた。

### 考察

これらのペプチドはラットを用いた組織化学的な研究から，脳内ではほぼ同じように分布しており，同一神経細胞中に存在していることが明らかにされている<sup>1)</sup>。またRIAを用いたラット脳内分布の研究から，7部位すべてにおいて $\alpha$ -NE，PH-8Pが組織重量あたりのモル比でほぼ1対1であることが報告されている<sup>2)</sup>。また遺伝子レベルでの研究が進み，ブタの視床下部を用いたc-DNAの配列が決定され，これら2つのペプチドが同じpreproenkephalin-Bに属し，共通の前駆体を持っていることが示唆された<sup>3)</sup>。今回の測定値で， $\alpha$ -NE，PH-8Pの蛋白あたりのモル比を比較すると，側頭葉5部位では，対照者群で2.4~3.1:1，分裂病群では0.5~1.4:1であった。ラットでの報告との違いについては，脳内でのダイノルフィンの構造関連ペプチドの違い，preproenkephalinBの種差等推測されるが，今後の検索が必要と思われる。対照者群と分裂病群のモル比をMann-WhitneyのU検定により外側後頭側頭回において有意(p<0.02)の低下がみられた。

これらペプチドの生理的意義についてはまだ研究が端緒についた段階であり報告も少ない。 $\alpha$ -NE，PH-8Pも分裂病において，神経伝達物質ないし，修飾物質としてなんらかの抑制作用を持っている可能性がある。

### 文献

- 1) Weber, E., Roth, K.A., Barchas, J.D.: B.B.R.C., 103, 951, 1981
- 2) Weber, E., Evans, C.J., Barchas, J.D.: Nature, 299, 77, 1982
- 3) Kakidani, H., Furutani, Y. et. al.: Nature, 298, 245, 1982

\* 宮崎医大・才2生化学



## 脳内サブスタンス P 含量に及ぼすハロペリドール、トリヘキシフェニディール、カルバマゼピンの影響

三ツ汐洋, 高嶋瑞夫, 融 道男

黒質, 線条体, 縫線核の3部位について, ハロペリドール (HAL), トリヘキシフェニディール (TR), カルバマゼピン (CBZ) の急性および慢性投与後のサブスタンス P (SP) の変化について検討した。

### 方法

急性投与群には HAL, TR を 1 mg/kg, CBZ を 50mg/kg, 対照群には生理的食塩水 1 ml/kg を腹腔内投与した。慢性投与群には飼料 1 kg に対し, HAL, TR は 50mg, CBZ は 5 g を含んだものを 40 日間あるいは 80 日間経口投与した。断頭は 11 時半から 13 時の間に行い, 組織の切り出しは,  $-15^{\circ}\text{C}$  の冷凍箱内で, König and Klippel の図譜に従い, 黒質は A2790 から後方  $600\mu\text{m}$  の切片 5 枚から内側毛帯より下方で反屈束より外方をナイフで, 線条体は A9650 から後方  $600\mu\text{m}$  の切片 4 枚から 2mm のパンチで, 縫線核は A620 から後方  $450\mu\text{m}$  の切片 3 枚から中心灰白質に接する 2 mm のパンチで取り出した。凍結した組織に, 沸騰した 20mM 塩酸を含む 1 M 酢酸を注ぎ 15 分間  $100^{\circ}\text{C}$  で煮沸し, ホモジナイズ後  $11,000\times\text{g}$ , 30 分間遠沈し上清をラジオイムノアッセイに用いた。

### 結果

急性投与: 測定した 3 部位ともいずれの薬物でも SP の変化は見られなかった。

慢性投与: ドーパミン系と関連の少ない縫線核領域ではいずれの薬物でも変化はみられず, ドーパミン系と関連の深い黒質と線条体で変化が見出された。

HAL では黒質および線条体で 40 日間の慢性投与でそれぞれ 30% と 20% の減少がみられたが, 80 日間ではこの減少はみられなかった。

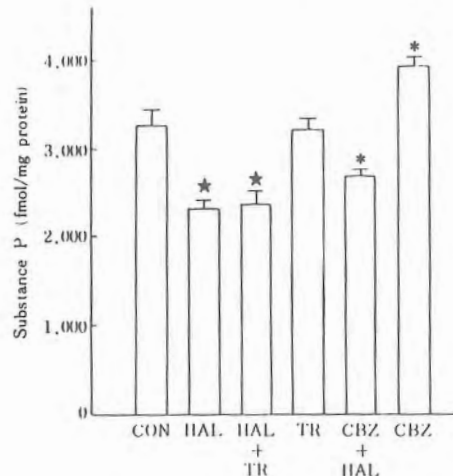
TR は単独では全く SP に影響を与えず, HAL との併用投与では HAL 単独の変化とほぼ同じであった。

CBZ では 40 日間の投与で対照群に比し, 黒質で 20%, 線条体で 13% の増加がみられ, 80 日間ではさらに増加し, それぞれ 43% と 15% の増加がみられた。HAL との併用投与では, この増加が抑えられ, HAL 単独投与とほぼ同様の動きであった。

### 考察

Hong らは HAL および pimozone の 2~3 週間投与で黒質の SP が減少するが, 抗ドーパミン作用と抗コリン作用を併せ持つ clozapine では変化しな

かったと報告し, ドーパミンの SP に対する作用は線条体の内在性コリン作動性ニューロンを介した作用であり, 抗精神病薬の錐体外路性副作用と関連があると考察した。今回のわれわれの結果では, 40 日では同様の減少がみられるが, 80 日では耐性が生じることが明らかとなり, 抗コリン剤で SP は全く影響を受けなかったことからコリン作動性ニューロンを介さないものと考えられ, 錐体外路性副作用とも関連は少ないものと思われた。一方, CBZ による SP の増加については, CBZ は臨床効果として抗てんかん作用とともに躁うつ病相の予防作用が知られており, 同様の臨床効果を持つリチウムでも投与期間に比例して SP が増加し, HAL の併用投与がこれに拮抗することを Hong らが報告している。両薬物におけるこの共通の薬理作用は, 躁うつ病相発現の機序解明へのひとつの手がかりになるものと思われる。



Substance P like immunoreactivity in substantia nigra of rats fed food containing various psychotropic drugs for 40 days.

★:  $p < 0.01$  vs. CON or TR

\*:  $p < 0.01$  vs. CON

図 ハロペリドール, トリヘキシフェニディール, カルバマゼピンの 40 日間経口投与後の黒質におけるサブスタンス P 含量の変化。

## 5. 疾病研究第4部

### 1. 研究部一年の歩み

本研究部は脊髄小脳変性症、筋萎縮性側索硬化症、パーキンソン病などの主として中枢神経系の変性性神経疾患についての病態と治療開発についての研究を行っている。

本年度の研究活動に参加したメンバーは以下の通りである。

〔部長〕安藤一也、〔室長〕向山昌邦、足立皓岑、〔研究員〕吉田瑞子、〔流動研究員〕松井京子、紀平為子、〔併任研究員〕横井風児、〔賃金研究員〕大杉圭子、〔賃金研究助手〕佐藤高志、中村昌子、和田恵子 (58.6~59.2)、保坂由美子 (59.3~)

なお、紀平為子は59.4より和歌山医大神経研究部大学院に復学のため59.3で流動研究員を退職した。

本研究部でこの一年間の主な研究は以下のようなものである。

#### 1. 運動失調モデルマウスについての生化学的・薬理学的研究

昨年度に引き続き本年度は weaver および reeler マウスの小脳、大脳のセロトニン代謝を検索し、小脳において有意にセロトニン代謝の亢進のあることを明らかにした。また、これらの動物で小脳の構造蛋白質の分析を行い細胞構築上の変化と対応させて研究を行っている (足立、大杉)。

Rolling mouse Nagoya (RMN) の運動失調に対する TRH の効果にはアセチルコリン系の薬剤の前処置が影響するが、本年度は RMN に比べ小脳の病変がより明らかな reeler, PCD, staggerer, Ara-C マウスを対象として検討し、reeler と Ara-C ではフィゾスチグミンにより有意に TRH の効果が低下し、アトロピンにより TRH の効果が増強されることをみとめた (松井)。

#### 2. 実験的脊髄性麻痺ラットの生化学的・薬理学的研究

昨年度の研究で6アミノニコチナミドをラットに投与すると7日目に後肢の痙性麻痺を生じ、これに相応した組織学的、生化学的変化の惹起されることを報告した。本年度の研究では投与2日目の弛緩性麻痺の時期には組織学的にも生化学的にも著変はなく、TRH連続投与で脊髄内 TRH 含量は増加し、麻痺に対する一過性の効果はみとめられたが、痙性麻痺の予防効果はみとめられなかった (紀平)。

#### 3. 筋萎縮性側索硬化症 (ALS) の脊髄内 Ca 濃度

高周波プラズマ発光分析法による ALS の脊髄内 Ca 含量の測定法を確立し、脊髄内に Ca が斑状に沈着している可能性があることを明らかにした（紀平）。

#### 4. 実験的薬物性末梢神経障害

軸索流を阻害するビンクリスチンによる末梢神経障害をラットに作製し、その病変の発現機序について形態学的に詳細な検討を行い、軸索流障害に対応した形態学的変化をみとめた（向山）。

#### 5. 細胞膜の生化学的研究

昨年度に引き続きツシャンヌ型筋ジストロフィー症の細胞膜異常について研究し、本年度は赤血球のポリホスホイシチッドとその代謝物であるホスファチジン酸含有量の温度依存性が健康者とは異なることを明らかにした（吉田）。

#### 6. Positron emission tomography (PET) によるドパミン受容体検索の基礎的研究

脳内ドパミン受容体の放射性リガンドである<sup>77</sup>Br-ブロムペリドールを合成し、動物に投与して脳内および体内分布について検討し、臨床応用への基礎的研究をおこなった（横井）。

#### 7. 臨床的および臨床病理学的研究

重症スモンの中で失明例の発現要因についての検討、パーキンソン病の知的機能についての研究（安藤ら）、末梢神経変性疾患の腓腹神経生検による検索、各種中枢神経変性疾患の剖検例についての神経病理と臨床との関連についての研究（向山）をおこなった。

（部長 安藤一也）

## 2. 研究業績

### A 論文

#### a. 原著

- 1) 相澤豊三, 大友英一, 安藤一也 ほか:

脳卒中後遺症に伴う中枢性疼痛および異常知覚に対する EG626 (phthalazinol) の多施設二重盲検法による臨床評価

Clin Eval 11 : 389-427, 1983

- 2) Sobue I, Takayanagi T, Ando K, et al :

Controlled trial of thyrotropine releasing hormone tartrate in ataxia of spinocerebellar



## II 研究業績

degenerations

J Neurol Sci 61 : 235-248, 1983

- 3) 若山吉弘, 大生定義, 安藤一也 :

本態性振戦およびパーキンソン病の振戦に対する primidone の効果について  
神経内科 19 : 484-487, 1983

- 4) Sunohara N, Mukoyama M, Satoyoshi E :

Neoplastic angioendotheliosis of the central nervous system  
J Neurol 231 : 14-19, 1984

- 5) Sunohara N, Mukoyama M, Mano Y, Satoyoshi E :

Action-induced rhythmic dystonia : An autopsy case  
Neurology 34 : 321-327, 1984

- 6) 白井康臣, 向山昌邦 :

Chronic relapsing polyneuropathy の経過中における血中 T cell と髄液免疫 globulin の変動  
に関する研究  
神経内科 19 : 380-385, 1983

- 7) 吉田瑞子 :

ヒト赤血球のカルシウム測定  
プラズマスペクトロスコピー 3 : 15-24, 1983

- 8) Yoshida M, Ando K, Satoyoshi E :

Abnormalities of erythrocytes in Duchenne muscular dystrophy  
Ann Neurol 13 : 649-653, 1983

### b. 著 書

- 1) 安藤一也 :

ノルマルヘキササン多発神経炎  
医科学大事典, Vol 37, 講談社, 東京, 1983, p 189

- 2) 安藤一也 :

薬物療法および心身医学的アプローチ 一柱II S-49 難治性疼痛に対する治療の進歩—  
第21回日本医学会総会誌 大阪, 1983, P 1792-1794

- 3) 安藤一也 :

L-dopa 治療

## パーキンソン病とパーキンソン症候群

内科 Mook 23 (平山恵造編), 金原出版, 東京, 1984, p 74-81

4) 安藤一也 :

口舌ジスキネジア

今日の治療指針 1984, 医学書院, 東京, 1984, p 195

5) 安藤一也 :

大脳基底核の障害, 間脳の障害, 小脳の障害, 自律神経系の障害

リハビリテーション神経学 (福井圀彦編), 医歯薬出版, 東京, 1984, p 159-169, 173-179,  
193-203, 265-274

6) 安藤一也 :

パーキンソン病, 進行性核上性麻痺, 線条体黒質変性症, 自律神経障害

内科学書 (祖父江逸郎ほか編) 上巻, 医歯薬出版, 東京, 1984, p 125~131, 168-171

7) 向山昌邦 :

末梢神経障害の臨床と病理—らしいの末梢神経障害の理解のために—

第7回らしい医学夏期大学講座教本 (大西基四夫編), 同実行委員会, 東京, 1983, p 148-151

## c. 総 説

1) 安藤一也 :

慢性神経疾患の必身医学的アプローチ

治療 65 : 803-809, 1983

2) 安藤一也 :

振戦

治療 65 : 851-855, 1983

3) 安藤一也 :

ストレスと神経系

医学のあゆみ 125 : 458-464, 1983

4) 安藤一也 :

心因性疼痛

内科 51 : 1331-1333, 1983

5) 安藤一也 :

パーキンソン病

## II 研究業績

Medical Digest 32, No 4 : 35-39, 1983

- 6) 安藤一也 :  
抑うつ性頭痛とその周辺  
臨床成人病 13 : 1079-1084, 1983
- 7) 安藤一也 :  
筋ジストロフィーのリハビリテーション  
カレントセラピー 1 : 1211-1216, 1983
- 8) 安藤一也 :  
ALS (筋萎縮性側索硬化症)  
臨床医 9 : 1485-1487, 1983
- 9) 安藤一也 :  
パーキンソン病患者の指導  
臨床のあゆみ 3, No 10 : 23-24, 1983
- 10) 安藤一也 :  
パーキンソン症候群とリハビリテーション  
臨床理学療法 10 : 80-87, 1983
- 11) 安藤一也 :  
薬物療法および心身医学的アプローチ (特集 難治性疼痛の治療)  
外科治療 49 : 533-538, 1983
- 12) 安藤一也 :  
構語障害  
臨床看護 9 : 2205-2210, 1983
- 13) 安藤一也 :  
筋トーン低下 (小脳そのしくみと病気)  
Clinical Neuroscience 2 : 37-39, 1984
- 14) 安藤一也 :  
パーキンソン病治療 (最近注目されている疾患)  
現代医療 16 : 63-68, 1984
- 15) 安藤一也 :  
鎮痛剤 (麻薬性・非麻薬性) 依存

臨床医薬情報 No 9 : 48-51, 1984

16) 吉田瑞子 :

赤血球における  $\text{Ca}^{2+}$  の局在

化学の領域 37 : 611-615, 1983

d. 症例報告

1) 須貝祐一, 向山昌邦 ほか :

異常な食行動, 拒食後に発症した小脳失調症の1症例

精神医学 25 : 1223-1225, 1983

e. 班会議報告書

1) 安藤一也, 紀平為子, 足立皓岑, 向山昌邦, 満間照典 :

6-aminonicotinamide 投与ラットにおける脊髄病変の組織学的・生化学的研究

厚生省特定疾患・神経変性疾患調査研究班 昭和57年度研究報告書, 1983, p 112-118

2) 安藤一也, 足立皓岑, 大杉圭子, 織田統一 :

遺伝性運動失調マウスの小脳におけるセロトニン代謝

厚生省特定疾患・運動失調症調査研究班 昭和57年度研究報告書, 1983, p 117-119

3) 安藤一也 :

運動失調に対する TRH の作用機序—運動失調モデル動物の脳内代謝への影響—

厚生省新薬開発・脊髄小脳変性症治療剤開発研究班 昭和57年度研究業績, 1983, p 22-28

4) 安藤一也, 松井京子 :

Rolling mouse Nagoya に対する TRH の失調改善作用に及ぼす併用薬剤 (ドーパミン系及びアセチルコリン系薬剤) の影響

厚生省新薬開発・脊髄小脳変性症治療剤開発研究班 昭和57年度研究業績, 1983, p 138-141

5) 安藤一也, 松井京子, 山本秀子 :

・Rolling mouse Nagoya の運動失調に対する TRH の慢性投与実験

厚生省新薬開発・脊髄小脳変性症治療剤研究班 昭和57年度研究業績, 1983, P 149-159

6) 祖父江逸郎, 安藤一也 ほか :

脊髄小脳変性症に対する DN-1417 の臨床的研究

厚生省新薬開発・脊髄小脳変性症治療剤開発研究班 昭和57年度研究業績, 1983, p 33-41

7) 飯田光男, 安藤一也 :

SMON 患者の異常知覚に対する semantic differential 法による分析 (第2報)

## II 研究業績

- 厚生省特定疾患・スモン調査研究班 昭和57年度研究業績, 1983, p 139-143
- 8) 塚越廣, 椿忠雄, …安藤一也 ほか:  
スモン患者の加齢の影響と合併症  
厚生省特定疾患・スモン調査研究班 昭和57年度研究業績, 1983, p 162-168
- 9) 安藤一也, 豊倉康夫 ほか:  
重症スモン—スモン死の要因について—  
厚生省特定疾患・スモン調査研究班 昭和57年度研究業績, 1983, p 174-168
- 10) 池田久男, 椿忠雄, 花籠良一, 安藤一也 ほか:  
若年発症スモン患者の実態(1)—社会活動と神経症状の現況  
厚生省特定疾患・スモン調査研究班 昭和57年度研究業績, 1983, p 186-191
- 11) 安藤一也, 西谷裕 ほか:  
スモン患者の現状調査 (昭和57年度)  
厚生省特定疾患・スモン調査研究班 昭和57年度研究業績, 1983, p 305-310
- 12) 安藤一也, 室賀辰夫, 飯田光男, 真野行生:  
スモン患者の知的機能  
厚生省特定疾患・スモン調査研究班 昭和57年度研究業績, 1983, p 317-320
- 13) 花籠良一, 安藤一也 ほか:  
各班員施設におけるスモン医療の現況  
厚生省特定疾患・スモン調査研究班 昭和57年度研究業績, 1983, p 321-326
- 14) 西谷裕, 安藤一也 ほか:  
スモン患者の長期療養について—とくに自律神経障害についての検討—  
厚生省特定疾患・スモン調査研究班 昭和57年度研究業績, 1983, p 353-358
- 15) 安藤一也:  
スモン患者の合併症についての問題点  
厚生省特定疾患・スモン調査研究班 昭和57年度研究業績, 1983, p 529-533
- 16) 安藤一也, 河崎博, 下田文幸, 三本美智子:  
パーキンソン病における知的機能  
厚生省神経疾患・老年期脳障害の臨床・発生機序・治療に関する研究 昭和57年度研究成果  
報告書, 1983, p 135-140
- 17) 安藤一也, 横井風児, 中山宏, 里吉栄二郎:

ポジトロン CT スキャンによる変性性神経疾患の研究及び変性モデル動物の脳代謝に関する研究—脳内グルコース代謝の定量化の試み—

A) パーキンソン病の positron CT 像 B) 初老期痴呆の positron CT 像

厚生省神経疾患・中枢神経障害に対するサイクロトロン核医学の応用に関する研究班 昭和57年度研究報告書, 1983, p 90-101

18) 向山昌邦 :

再生神経線維の軸索直径と髄鞘の厚さとの関連についての研究

厚生省神経疾患・末梢神経の変性と再生過程に関する研究 昭和57年度研究報告書, 1983, p 59-63

19) 向山昌邦, 百済さち, 鈴木恒安 :

保健所との連携による難病相談と療養指導

厚生省特定疾患・難病の治療看護に関する研究班 昭和57年度報告書, 1983, p 265-269

20) 向山昌邦, 桧沢一夫, 林 活次 :

筋ジストロフィ 症剖検登録票の集計

厚生省神経疾患・筋ジストロフィー症の疫学, 臨床および治療に関する研究 昭和57年度研究報告書, 1983, P61-67

21) 椿 忠雄, 向山昌邦 ほか :

Duchenne 型の疫学および遺伝学

厚生省神経疾患・筋ジストロフィーの疫学, 臨床および治療に関する研究 昭和57年度研究報告書, 1983, p 4-15

f. その他

1) 宇尾野公義, 平山恵造, 小松真, 安藤一也 :

〔座談会〕慢性神経疾患の指導・管理をめぐる——専門医と開業医の連携を中心として—  
・ 治療 65 : 915-922, 1983

2) 安藤一也 :

〔質疑応答〕抗パーキンソン剤の使いかた  
日医新報 3076 : 134, 1983

3) 安藤一也 :

老人性痴呆の薬物療法  
Medicament News 1044 : 12, 1983

4) 安藤一也 :

II 研究業績

〔対談〕筋緊張を伴う運動障害—錐体外路系疾患

臨床のあゆみ 3: No 6: 5-8, 1983

5) 安藤一也 :

内科: 神経科

国試メディカル 3: No 14: 243-251, 1983

6) 安藤一也 :

パーキンソン病とボケ

岐阜県パーキンソン病友の会 (特集) 37: 2, 1983

7) 安藤一也 :

神経症としての頭痛

毎日ライフ 14, No 13: 49-53, 1983

8) 安藤一也 :

〔質疑応答〕抗パーキンソン剤の副作用

日医新報 3106: 136, 1983

9) 安藤一也 :

〔書評〕脱髄疾患の基礎と臨床 (浜口勝彦ほか編)

日医新報 3109: 92, 1983

10) 安藤一也 :

パーキンソン病に対するシチコリンの作用と投与意義

実験治療 593: 14-15, 1984

11) 安藤一也, 日向野晃一 :

〔対談〕感覚障害の成因と病態

カネボウメディック 病態シリーズ (20) 脳と神経: 54-62, 1984

12) 向山昌邦 :

ベッドサイドでの神経学的検査—パーキンソン病の診断の実際—

小平市医師会ニュース 第115号別冊, 1983, p 1-4

13) 向山昌邦 :

医師会の先生方から紹介された症例について

小平市医師会ニュース 第117号別冊, 1983, p 1-4

14) 向山昌邦 :

## 脊髄神経炎

神経難病のケーススタディー (東村山市医師会編), 1984, p 12-21

## B 学会発表

## a. 特別講演シンポジウム

1) 安藤一也 :

薬物療法および心身医学的アプローチ (シンポジウム: 難治性疼痛に対する治療の進歩)

第21回日本医学会総会, 大阪4.9, 1983 (学術講演要旨: 265)

## b. 国際学会

1) Satoyoshi E, Mukoyama M:

Ethambutol neuropathy and neurotoxicity of chloramphenicol

The International Symposium on Peripheral Neuropathy, Nagoya, Oct. 20-22, 1983

(Abstracts p75-77)

## c. 一般学会

1) 一井本, 高木昭輝, 安藤一也 :

脊髄小脳変性症の静止位時重心動揺に対する低周波電気刺激の効果について

第20回日本リハビリテーション医学会総会, 名古屋 6.10, 1983 (リハ医学 20:303)

2) 一井本, 春原経彦, 安藤一也, 里吉栄二郎 :

パーキンソン症候群の立位回旋障害について

第24回日本神経学会総会, 京都, 5.27, 1983 (臨床神経 23:1227)

3) 大生定義, 若山吉弘, 安藤一也 :

本態性振戦に対する primidone の効果

第24回日本神経学総会, 京都, 5.27, 1983 (臨床神経 23:1227)

4) 飯田光男, 祖父江逸郎, 安藤一也, 室賀辰男 :

SMON 患者における現在の異常知覚に関する臨床的および心理的研究

第24回日本神経学総会, 京都, 5.27, 1983 (臨床神経 23:1240)

5) 向山昌邦 :

再生神経線維における軸索直径と髄鞘の厚さとの関連についての経時的研究

第24回日本神経病理学会総会, 名古屋, 5.19, 1983 (神経病理学 4:218)

6) 向山昌邦, 桧沢一夫, 林活次, 祖父江逸郎 :

Duchenne 型筋ジストロフィー症124例の病理解剖所見に関する研究



- 第24回日本神経学会総会, 京都, 5.26, 1983 (臨床神経 23:1174)
- 7) 臼井康臣, 向山昌邦 :  
Guillain-Barré syndrome (GBS)における免疫学的研究—末梢血中リンパ球 subpopulation 及び髄液免疫 globulin (CSF-Ig)の推移について—  
第24回日本神経学会総会, 京都, 5.26, 1983 (臨床神経 23:1192)
- 8) 臼井康臣, 向山昌邦 ほか :  
抗てんかん剤の長期服用により高度の末梢神経障害を呈した一症例  
第47回日本神経学会東海北陸地方会, 名古屋, 12.10, 1983 (臨床神経 24:526)
- 9) 土屋雅宏, 向山昌邦 ほか :  
起立性低血圧, 発汗減少, 足趾欠損を伴った chronic sensory neuropathy の一例  
第88回日本神経学会関東地方会, 東京, 2.25, 1984 (臨床神経 24:644)
- 10) 足立皓岑, 大杉圭子, 安藤一也, 満間照典, 織田銃一 :  
遺伝性運動失調マウスにおける小脳低形成と神経伝達物質および TRH について  
第24回日本神経学会総会, 京都, 5.25, 1983 (臨床神経 23:1154)
- 11) 松井京子, 安藤一也 :  
運動失調モデルマウス動物に対する TRH の失調改善作用に及ぼす併用薬剤の影響  
第24回日本神経学会総会, 京都, 5.25, 1983 (臨床神経 23:1155)
- 12) 松井京子, 向山昌邦, 安藤一也 :  
薬物性および遺伝性運動失調マウスの加齢による運動失調, 運動量および生化学的病理学的変化について  
第57回日本薬理学会総会, 京都, 3.23, 1984
- 13) 紀平為子, 足立皓岑, 向山昌邦, 安藤一也, 満間照典 :  
6-aminonicotinamide 投与ラットにおける脊髄病変の組織学的・生化学的研究  
第24回日本神経学会総会, 京都, 5.26, 1983 (臨床神経 23:1164)
- 14) 横井風児, 中山宏, 安藤一也, 里吉栄二郎, 飯尾正明 :  
変性性神経疾患の Positron CT 像—パーキンソン病及びアルツハイマー病について—  
第24回日本神経学会総会, 京都, 5.26, 1983 (臨床神経 23:1186)
- 15) 横井風児, 安藤一也, 里吉栄二郎, 中山宏 :  
初老期痴呆の positron CT 像  
第23回日本核医学会総会, 高槻, 9.23-25, 1983

- 16) 一井本, 横井風児, 春原経彦, 里吉栄二郎, 柴崎啓一:  
間歇性跛行を呈した vertebral hemangioma の一例  
第85回日本神経学会関東地方会, 東京, 6.4, 1983 (臨床神経 24:1028-1029)
- 17) 横井風児, 向山昌邦, 亀井敦行, 春原経彦, 里吉栄二郎:  
Alveolar cell carcinoma による meningeal carcinomatosis  
第86回日本神経学会関東地方会, 東京, 10.1, 1983 (臨床神経 24:319-320)

## C 班会議発表

- 1) 安藤一也, 紀平為子, 向山昌邦, 八瀬善郎:  
ICP 発光分析法による ALS 脊髄内 Ca 濃度の測定  
厚生省特定疾患・神経変性疾患調査研究班 昭和57年度研究報告会, 東京, 1.27, 1984
- 2) 安藤一也, 足立皓峯, 大杉圭子:  
遺伝性小脳失調マウスにおける神経伝達物質と小脳タンパク質分析  
厚生省特定疾患・運動失調症調査研究班 昭和58年度研究報告会, 東京, 2.4, 1984
- 4) 安藤一也, 横井風児:  
“<sup>77</sup>Br-Bromoperidol の臨床応用に関する基礎的研究  
厚生省神経疾患・中枢神経障害に対するサイクロトン核医学の応用に関する研究 昭和58年度研究報告会, 東京, 2.4, 1984
- 4) 安藤一也, 松井京子:  
各種運動失調マウスに対する TRH とアセチルコリン系薬剤の併用効果  
厚生省新薬開発・脊髄小脳変性症治療薬剤開発研究班 昭和58年度総会, 東京, 2.9, 1984
- 5) 安藤一也, 紀平為子, 足立皓峯, 向山昌邦, 満間照典:  
6-aminonicotinamide 投与による脊髄性麻痺ラットにおける TRH 動態  
昭和58年度文部省科学研究総合研究 A・神経ペプチドの中枢神経作用と臨床応用に関する研究班 班会議, 名古屋, 2.17, 1984
- 6) 安藤一也, 河崎博:  
パーキンソン病における知能障害  
厚生省神経疾患・老年期脳障害調査研究班 昭和58年度研究報告総会, 東京, 2.18, 1984
- 7) 塚越廣, 椿忠雄, …安藤一也 ほか:  
スモン患者の加齢の影響と合併症 (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58年度 班会議, 東京, 2.21, 1984

## II 研究業績

8) 安藤一也, 豊倉康夫 ほか:

重症スモン—失明例の要因について— (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58年度 班会議, 東京, 2.21, 1984

9) 池田久男, 椿忠雄, 安藤一也 ほか:

若年発症スモン患者の実態(II)—アンケート調査による社会活動および神経症状の現況— (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58年度 班会議, 東京, 2.21, 1984

10) 安藤一也, 西谷裕 ほか:

スモン患者の実態調査 (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58年度 班会議, 東京, 2.22, 1984

11) 花籠良一, 中里興文, …安藤一也 ほか:

58年度に実施したスモンの新しい治療と評価 (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58年度 班会議, 東京, 2.22, 1984

12) 岩下宏, 西谷裕, 安藤一也 ほか:

スモン患者, その同胞者および配偶者の合併症に関する研究 (第1報) (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58年度 班会議, 東京, 2.22, 1984

13) 西谷裕, 安藤一也 ほか:

スモン患者の療養の経年的変化について (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58年度 班会議, 東京, 2.22, 1984

14) 向山昌邦, 椿忠雄 ほか:

Duchenne 型筋ジス患者の寿命の年代別推移

厚生省神経疾患・筋ジストロフィー症の疫学, 臨床および治療に関する研究班 昭和58年度 班会議, 東京, 12.1, 1983

15) 向山昌邦:

実験的 vincristine neuropathy の病理組織学的研究

厚生省神経疾患・末梢神経障害の病態とその治療に関する研究班 昭和58年度班会議, 東京, 2.3, 1984

16) 向山昌邦, 百済さち:

保健所との連携による難病の地域ケア

厚生省特定疾患・難病治療看護調査研究班 昭和58年度班会議, 東京, 1.27, 1984

- 17) 向山昌邦, 左奈田精孝 ほか：  
BT 型らいの大耳神経の病理組織学的研究  
厚生省科学研究・末梢および中枢神経のらい病変における神経血管関門の研究班 昭和58年度班会議，東京，3.30，1984
- 18) 椿忠雄, 中里興文, 向山昌邦ほか  
Duchenne 型筋ジストロフィー症の疫学および遺伝学  
厚生省神経疾患・筋ジストロフィー症の疫学，臨床および治療に関する研究班 昭和58年度班会議，東京，12.1，1983
- 19) 満間照典, 足立皓岑, 向山昌邦, 安藤一也 ほか：  
ALS 脊髄中の TRH 濃度について  
昭和58年度文部省科学研究総合研究 A・神経ペプチドの中枢神経作用と臨床応用に関する研究班 班会議，名古屋，2.17，1984
- 20) 吉田瑞子, 安藤一也：  
Duchenne 型筋ジストロフィー症の赤血球のホスファチジン酸について  
厚生省神経疾患・筋ジストロフィー症の発症機序に関する臨床的研究班 昭和58年度班会議，東京，12.4，1983

#### D 研究会など

- 1) 安藤一也：  
慢性頭痛の診断と治療  
国分寺医師会学術講演会，国分寺，4.19，1983
- 2) 安藤一也：  
パーキンソン病の診断と治療  
国立療養所筑後病院セミナー，筑後，5.6，1983
- 3) 安藤一也：  
頭痛について  
東邦薬品職員研究会，東京，5.7，1983
- 4) 安藤一也：  
神経難病  
杉並区保健衛生部研修会，東京，5.18，1983
- 5) 安藤一也：

神経疾患最近の治療

名大医学部学友会首都圏支部総会学術講演，東京，6.25，1983

- 6) 安藤一也，日向野晃一：  
〔対談〕感覚障害の成因と病態  
日本短波放送「カネボウ メディック病態シリーズ，脳と神経」，8.17，1983
- 7) 安藤一也：  
脳動脈硬化症  
秩父医師会学術講演会，秩父，8.24，1983
- 8) 安藤一也：  
最近の慢性頭痛について  
盛岡市医師会学術講演会，盛岡，9.20，1983
- 9) 安藤一也：  
老年期痴呆の診断と治療  
小金井医師会学術講演会，小金井，10.18，1983
- 10) 安藤一也：  
心因性神経症候  
日本短波放送「日本医師会・特別医学講座」，12.25，1983
- 11) 安藤一也：  
慢性頭痛とその治療  
第10回新武会（埼玉県薬剤師会）学術講演会，所沢，3.10，1984
- 12) 春原経彦，安藤一也，里吉宮二郎：  
Apraxia-rigidity syndrome  
第4回三多摩パーキンソン病懇話会，立川，7.16，1983
- 13) 一井本，春原経彦，安藤一也，里吉宮二郎：  
パーキンソン症候群の立体回旋障害について  
第4回三多摩パーキンソン病懇話会，立川，7.16，1983
- 14) 河崎博，安藤一也：  
パーキンソン病における知的機能  
第4回三多摩パーキンソン病懇話会，立川，7.16，1983
- 15) 向山昌邦：  
神経難病の治療と看護

- 多摩全生園学術研究会, 東村山, 4.21, 1983
- 16) 向山昌邦：  
神経筋疾患  
多摩全生園学術研究会, 東村山, 6.16, 1983
- 17) 向山昌邦：  
脳卒中の原因と予防  
小平市成人病講座, 小平, 6.21, 1983
- 18) 向山昌邦：  
パーキンソン病の治療とリハビリテーション  
田無保健所難病講座, 田無, 7.6, 1983
- 19) 向山昌邦  
ベッドサイドでの神経学的検査—パーキンソン病の診断と治療—  
小平市医師会学術講演会, 小平, 7.15, 1983
- 20) 向山昌邦：  
末梢神経障害の臨床と病理  
第7回らい医学夏期大学, 東村山, 8.26, 1983
- 21) 向山昌邦：  
神経内科疾患  
小平市医師会学術講演会, 小平, 10.11, 1983
- 22) 向山昌邦：  
パーキンソン病の日常生活とリハビリテーション  
田無保健所難病講座, 田無, 2.21, 1984
- 23) 河崎博, 横井風児, 一井本, 安藤一也, 里吉當二郎：  
Migraine 様発作のみを呈した後頭葉 A-V malformation の一例  
第10回三多摩神経疾患懇話会, 立川, 4.16, 1983
- 24) 小森哲夫, 横井風児, 春原経彦, 安藤一也, 里吉當二郎：  
高齢発症の progressive chorea の一例  
第11回三多摩神経疾患懇話会, 立川, 9.3, 1983
- 25) 紀平為子, 向山昌邦, 一井本, 春原経彦, 安藤一也, 里吉當二郎：  
比較的急速な経過を示した Shy-Drager 症候群の一例  
第15回臨床神経病理研究会, 東京, 7.16, 1983

## 遺伝性運動失調マウスのセロトニン代謝および小脳タンパク質分析の試み

足立皓岑, 大杉圭子, 安藤一也

遺伝性運動失調マウス reeler マウスの中枢神経でのセロトニン代謝を検索した。更に遺伝情報の変化の解析方法の一つとしてマウス小脳における構造タンパク質の分析法の検討を行った。

reeler マウスは常染色体性劣性遺伝を示し、形態学的に小脳低形成と皮質の細胞構築の異常を伴っている。即ち小脳皮質では顆粒細胞とプルキニエ細胞の相対的位置関係が変化しており、こうした細胞の層状配列の乱れは大脳皮質などにも認められている。

従って、中枢神経でのセロトニン代謝の検討は、失調症状の発現および細胞構築上の変化との関連性から、興味ある課題と考えた。

### 対象と方法

(1)セロトニン代謝の検索は、電気化学検出法を用いた高速液体クロマトグラフィーにて行った。コントロール群としては reeler マウスと同週令の C3H 系マウスを使用した。

### (2)構造タンパク質の分析

O'Farrell の方法を基本に各種条件を検討してマウス小脳を中心とした組織での構造タンパク質の分析を行った。対象マウスは C3H 系のマウスを使用した。

### 結果

#### (1)低形成の検討

小脳および大脳の湿重量の比較より reeler マウスの小脳、大脳ともにコントロール群にくらべて有意に低重量を示し低形成が確認された。(表 1)

#### (2)セロトニン代謝

reeler マウスの小脳において有意なセロトニン代謝亢進が認められた。大脳ではセロトニン代謝亢進の傾向はみられたが、有意な差意ではなかった。(表 1)

(表 1)

#### (3)タンパク質の分析

一次元をディスク等電点電気泳動、二次元目を SDS-スラブゲルにより、推定 pH 5-7, 推定分子量 2 万-10 万の酸性タンパク質の泳動が得られた。(表 2) 下段の泳動はクーマシ・ブルー染色で、上段は同じゲルを銀染色したものである。

### 考察

reeler マウスは形態学的に低形成を示し、小脳皮質を始め大脳皮質、海馬などに細胞構築における層状配列の乱れが存在している。この層状配列の乱れは、皮質層を形成する細胞は正常であるが皮質構築が障害される事が知られており、体液性因子とガイ

ド機構との関連性が注目されている。

今回の検索によってこの reeler マウスの小脳にセロトニン代謝亢進、大脳における亢進傾向を認めた事は、運動失調の発現、細胞構築の変化への関与という観点から、今後更に検討に値する所見と考えた。

また一方、種々の予備実験の結果、マウス小脳の構造タンパク質の一部の分析が可能である事が推測された。これにより、一連の運動失調マウスの小脳での細胞構築上の変化に対応した構造タンパク質の分析が一部ではあるが可能であると考えられた。更に種々の条件の検討による酸性タンパク質以外の分析が必要と思われる。

表 1

Hypoplasia and brain 5-HT, 5-HIAA concentrations in Reeler mouse

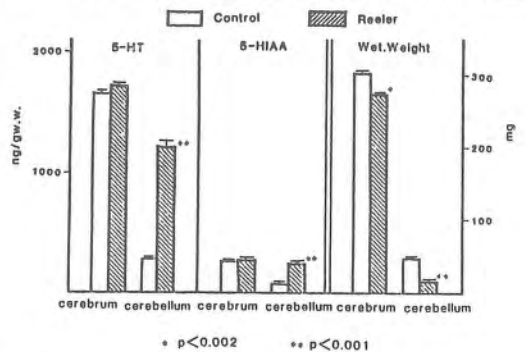
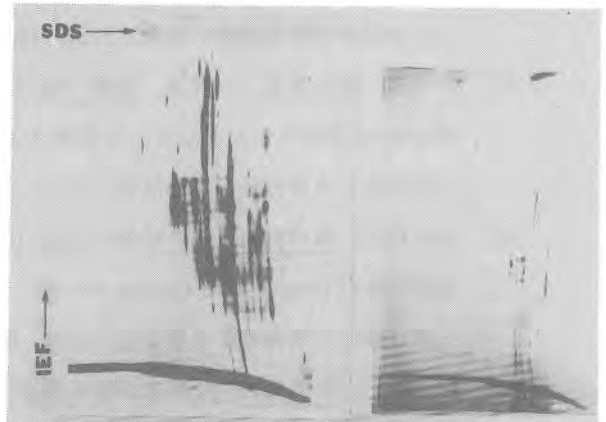


表 2



## 各種運動失調マウスに対する TRH とアセチルコリン系薬剤の併用効果

松井京子, 安藤一也

TRH は rolling mouse Nagoya (RMN) などの運動失調モデル動物の運動失調を改善し, RMN に対してはアセチルコリン系薬剤の併用により TRH の運動失調改善効果, 運動量の亢進作用に著明な影響がみられる。今年度は RMN に比べ小脳の形態学的変化の明瞭なマウスを対象とし, アセチルコリン系薬剤の前処置効果について検討した。

## 方法

動物: 遺伝性運動失調マウスの reeler, PCD staggerer。薬物性運動失調マウスの Ara-C (cytosine arabinoside を ICR 系マウスの生後 2, 3, 4 日目に 50mg/kg 皮下投与し作成した失調マウス)。

薬剤: TRH 25mg/kg (TRH-tartrate), physostigmine (Phy) 0.1mg/kg, (TRH 投与 5 分前に前処置), atropine (atr) 10mg/kg (TRH 投与 30 分前に前処置)。

open-field による運動失調状態の観察: TRH 単独または atr あるいは phy 前処置されたマウスを open-field 上で運動状態を観察した。運動失調状態の把握には転倒指数 (転倒回数/移動量) を算出した。

ANIMEX による自発運動量の計測: RMN, staggerer, 正常マウス (非発症 RMN) に atr 10mg/kg, phy 0.1mg/kg, 生理食塩水をそれぞれ単独投与後, 運動量の変化について 30 分間計測した。

## 結果

Ara-C では open-field による 30 分間の移動量の変化では TRH 単独投与群 (n=10) に比べ atr 前処置群では増加傾向, phy 前処置群 (n=10) では有意 ( $p < 0.01$ ) な低下がみられた。30 分間の転倒指数の変化では TRH 単独投与群 (n=10) に比べ, atr 前処置群 (n=10) では有意 ( $p < 0.05$ ) な低下, phy 前処置群 (n=10) では増加傾向がみられた。

reeler では open-field による 30 分間の移動量の変化では TRH 単独投与群 (n=9) に比べ, atr 前処置群 (n=9) で増加傾向, phy 前処置群 (n=9) で低下傾向がみられた。30 分間の転倒指数の変化では TRH 単独投与群 (n=9) に比べ atr 前処置群 (n=9) では有意 ( $p < 0.05$ ) な低下, phy 前処置群 (n=9) では増加傾向がみられた。

PCD では open-field による 30 分間の移動量の変化では TRH 単独投与群 (n=10) に比べ atr 前処置群 (n=10) では明らかな差はみられないが, phy 前処置群 (n=10) では有意 ( $p < 0.01$ ) な低下がみ

れた。

staggerer では atr 前処置群 (n=11), phy 前処置群 (n=11) においても TRH 単独投与群 (n=11) に比べて移動量, 転倒指数の変化において明らかな差はみられなかった。

運動量の変化を ANIMEX で 30 分間計測すると, control としての正常マウスと同様, RMN でも staggerer でも生理食塩水投与に比べ, phy 単独投与により有意に ANIMEX COUNTS の低下を示した。

## 考察

ANIMEX による結果では atr, phy の併用効果の著明な RMN と atr, phy の併用効果のみられない staggerer においても正常マウスと同様に phy により運動量の低下を示したことから, RMN, staggerer ともに Ach 系の機能に異常がないように思われる。しかし staggerer は RMN と同様に TRH 単独投与により運動失調改善効果がみられるのに RMN, Ara-C, reeler, PCD のように atr, phy による併用効果がみられなかったことから TRH と Ach ニューロン間の interaction になんらかの問題があると推察される。また staggerer の形態学的研究では苔状線維にまで変性脱落があるとされ, Ach 系線維の免疫組織学的研究では苔状線維の基部には Ach 系線維があるとされているので, このようなことが TRH と atr, phy の併用効果に影響をおよぼしている可能性も推察される。

図 1

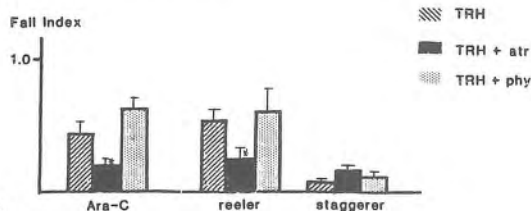
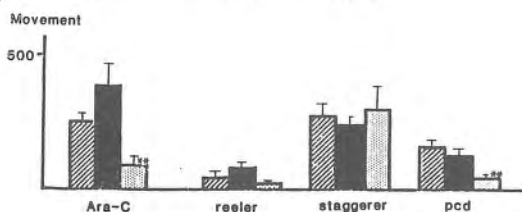


図 2



Influence of atropine and physostigmine on TRH effects.

(Mean  $\pm$  S. E) \*  $p < 0.05$  \*\*  $p < 0.01$



## 6-aminonicotinamide による脊髄性麻痺ラットにおける組織学的・生化学的検討と TRH 投与効果について

紀平為子, 足立皓岑, 向山昌邦, 安藤一也, 満間照典\*

6-aminonicotinamide (6-AN) 投与による脊髄性麻痺ラットにおける組織学的検討と、生化学的検討として神経伝達物質候補である遊離アミノ酸及び TRH の含量を測定し、両者の対比を行なった。次に TRH-tartrate (TRH-T) を連投した場合の痙性麻痺発現の抑制効果について検討した。

### 方法

Wistar 系ラット (♂250g 前後) に 6-AN を 5 mg/kg 1 回腹腔内投与し、24 時間後に組織学的検索を行なった。同時期に断頭法で頸膨大部・胸髄・腰膨大部を採取し昨年と同様の方法で遊離アミノ酸と TRH 含量の測定を行なった。次に 6-AN 投与ラットに第 2 日目 (翌日) に TRH-T 10mg/kg 1 回腹腔内投与し、行動観察を行うとともに、TRH-T 投与後 15 分での脊髄内遊離アミノ酸含量の測定を行なった。さらに、6-AN 投与ラットに第 3 日目から第 7 日目まで TRH-T (10mg/kg/day i.p) の連続投与を行ない、行動観察と最後の TRH-T 投与から 60 分後の脊髄内 TRH 含量の測定を行なった。

### 結果

1) 組織学的に脊髄では astroglia の腫大と空胞変性、小出血巣を認めたが、著明な gliosis や壊死は認めなかった。2) 遊離アミノ酸含量と TRH 含量は対照と比べて有意な変化を認めなかった。3) TRH 投与効果については、1 回投与後 5~10 分で後肢の運動が多くなり、後肢と前肢で体重を支えることができた (Fig 1, a), b)。同時期に立毛、体のふるえ、挙尾反応が出現し、このような効果は約 60 分間持続した。TRH-T 投与後 15 分での脊髄内遊離アミノ酸含量には、有意な変化を認めなかった。4) TRH-T を 5 日間連続投与した結果、1 回ごとに 3) で述べたと同様の効果を得たが、これは一過性であり、麻痺の改善効果も痙性麻痺発現の抑制効果も明らかではなかった。TRH-T を連続投与したラット頸・胸髄では、6-AN のみを投与したラットに比べて TRH 含量は有意の増加を認めた (Fig 2)。

### 考察

1) 6-AN 投与後 24 時間の脊髄では、遊離アミノ酸及び TRH 含量に有意な変化を認めなかったが、これは組織学的に astroglia の腫大が主病変で著明な壊死や gliosis を認めなかったことと対応すると考えた。2) 6-AN による麻痺ラットへの TRH 投与で脊髄内 TRH 含量が増加することが確認された。

\* 愛知医科大学才四内科

TRH-T の投与効果は一過性であったが、麻痺に対する効果について今後さらに検討することが必要と考えた。



Fig 1.

- a) 6-AN 投与後 24 時間のラット。後肢に特に著明な四肢弛緩性麻痺を認めた。  
 b) 上記ラットに TRH-T (10mg/kg) 1 回腹腔内投与し、15 分後のラット。後肢と前肢で体重を支える姿勢の改善が認められた。

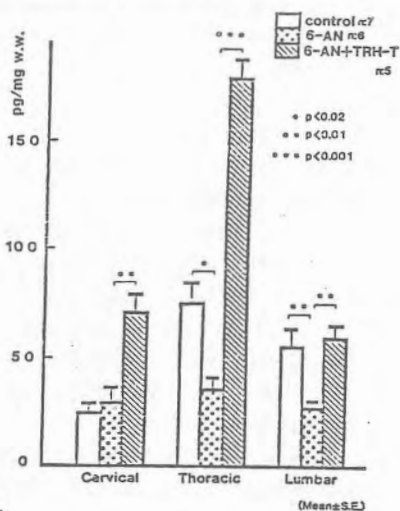


Fig 2.

TRH content in the spinal cord of 6-AN & 6-AN+TRH-T treated rats (on the 7th day)

## 高周波プラズマ (ICP) 発光分析法による ALS 脊髄内 Ca 濃度の測定

紀平為子, 向山昌邦, 安藤一也, 八瀬善郎\*

筋萎縮性側索硬化症 (ALS) の病因病態に Ca の関与が推察されている。しかし中枢神経内の Ca 含量の測定は、従来比較的困難とされてきた。私たちは、ICP 発光分析法を用い、新鮮脳組織内 Ca 含量測定のための試料処理法につき検討した。次に本法で ALS 脊髄内 Ca 含量を測定し、対照と比較して ALS と Ca の関連を検討した。

### 方法

① ICP 発光分析法での測定条件についての検討：Wistar ラットと C3H マウスの脳をホモジナイズし、30%塩酸中に浸漬し Ca の抽出を行なった。次にこれに蒸留水を加えて希釈し測定用試料とした。この試料につき以下の検討を行なった。

i) 塩酸による Ca の抽出について

ii) 物理干渉, 主成分元素による妨害, 分光干渉などのマトリックス効果について

iii) 最適の希釈率について

② ラット及びマウス脳内含量測定：Wistar ラットと C3H マウスを用いて、上記①の検討結果に基づいて測定した。

③ ALS 脊髄内 Ca 含量測定：ALS 5 例 (非多発地区での孤発例で罹病期間は短期間例)。対照 5 例 (脳血管障害 4 例, 進行性筋ジストロフィー 1 例) の脊髄は、剖検後 -70°C で凍結保存したものから、第 6 頸髄 1 か所と上部胸髄 2 か所の横断切片を採取した。後索, 後角, 側索, 前角の各部位に分け、ホモジナイズし、塩酸による抽出、蒸留水による希釈を行ない、Ca のスペクトル線 393.366nm でのスペクトル強度を測定した。

### 結果

① ICP 発光分析法での測定条件についての検討：i) 塩酸による Ca の抽出は、1 時間の浸漬で完了すると考えられた。また水に不溶性の hydroxyapatite の化学形の Ca も塩酸による抽出で正確に測定できることが確かめられた。ii) マトリックス効果については、試料の濃度の高いもの程、測定値は著しく抑制されたが、これは蒸留水による希釈のみで解決できた。iii) 蒸留水による希釈は、脳組織の湿重量の 100 倍前後が適当であった。

② ラット及びマウス脳内 Ca 含量：ラット大脳内 Ca 含量は、私たちの方法では 56.9 μg/gw.w. であった。マウス大脳は、これよりやや低く 40.9 μg/gw.w. であった。

③ ALS 脊髄内 Ca 含量：本法による Ca 測定に

要した脊髄の最小量は 0.016g であった。尚、同一操作を加えたブランク 5 本の平均 Ca 含量は 0.01 μg/ml であった。Table 1 に、ALS 及び対照の測定結果を示した。対照では、C-2 の後索を除き各部位で比較的一定の値を得た。一方 ALS では、後索と後角は対照とあまり変化を認めないが、側索と前角で症例ごと及び試料ごとのバラツキが大であった。

### 考察

① ICP 発光分析法による新鮮脳組織内 Ca 含量の測定を行なった。本法では、干渉が少なく、試料前処理法が簡便で、途中の汚染や目的元素の喪失は非常に少ないとみなされた。② 本法によるラット脳内 Ca 測定値は、従来の文献値と近似した。③ ALS 脊髄内の Ca 測定値はバラツキが大であった。私たちは、ALS 脊髄内に Ca が斑状に沈着していると考えた。

表 1

Table 1 Ca contents in spinal cords of ALS and control

subjects	posterior fasciculus	posterior horn	lateral fasciculus	anterior horn
C-1				
thoracic	52.0	53.0	58.4	87.4
C-2				
cervical	128.0	55.7	76.7	66.2
thoracic	63.5	58.9	68.9	69.7
thoracic	58.7	70.8	64.7	71.5
C-3				
cervical	62.9	56.3	98.4	59.8
thoracic	71.8	57.2	61.2	61.5
thoracic	56.1	60.3	59.0	61.0
C-4				
cervical	45.2	45.6	66.0	48.3
thoracic	71.8	57.9	92.0	56.1
thoracic	55.3	52.4	55.2	54.9
C-5				
cervical	50.5	62.2	57.0	51.2
thoracic	56.2	60.7	65.1	68.4
thoracic	55.9	64.1	82.2	73.1
Mean ±	63.7	58.1	69.8	63.8
S.D.	20.8	6.2	13.9	19.5
ALS-1				
cervical	66.5	77.0	56.5	51.7
thoracic	51.1	52.5	60.1	69.3
thoracic	63.5	61.3	190.1	62.7
ALS-2				
cervical	157.0	62.2	174.4	256.8
thoracic	59.0	56.4	74.0	55.6
thoracic	55.0	54.0	74.3	56.5
ALS-3				
cervical	69.0	65.3	65.9	60.9
thoracic	67.9	67.3	87.4	96.0
thoracic	66.8	56.8	158.1	189.1
ALS-4				
cervical	92.2	61.1	73.1	54.7
thoracic	49.2	48.3	51.4	53.3
thoracic	54.6	54.0	55.7	52.0
ALS-5				
cervical	41.3	36.7	37.2	30.5
thoracic	44.0	51.4	40.7	43.3
thoracic	45.9	44.8	40.4	42.2
Mean ±	65.5	56.6	82.6	78.9
S.D.	28.4	9.8	49.8	61.4

ug/gw.w.

\* 和歌山県立医大神経病研究部

## 実験的 vincristine neuropathy の病理学的研究

向山昌邦

vincristine は軸索流を阻害することによって末梢神経障害を発現すると考えられている。vincristine neuropathy の形態学的研究はかなり報告されているが、動物種や研究方法によってその病変の種類、程度が異なり、一定しない。

本研究では下記の方法でラットに vincristine を投与し、末梢神経病変を検索した。

### 実験材料と方法

10週齢雄ウィスターラット(体重約300g)に vincristine を腹腔内投与した。グループ1(15匹)には0.5 mg/kg, 週2回投与。グループ2(20匹)には0.9mg/kg, 週1回投与。グループ3(5匹)には生理食塩水1 cc, 週1回投与した。臨床像を観察し、一定期間ごとに麻痺下で灌流固定した各例について、後脛骨神経、坐骨神経、L5神経根(前根、後根)、L5後根神経節およびL5前角の神経細胞について病理学的に検索した。

### 結果

vincristine 投与後、いずれの例も水分・食物の摂取が減少し、さらに下痢、体重減少、鼻出血を認めた。諸症状はグループ2の例に顕著であった。

グループ1の2匹とグループ2の4匹に両後肢の弛緩性麻痺を認めた。グループ1では実験期間20日間に3匹死亡、グループ2では35日間に7匹死亡した。

形態学的研究では、電顕的に末梢神経軸索内に空胞形成、neurofilament や neurotubule の断裂、配列不整、髄鞘内層の loosening を認めた。これらの所見は、臨床的に麻痺を示した症例で強かった。病変の程度については近位側(坐骨神経)と遠位側(後脛骨神経)との間に差異を認めなかった。髄鞘の inner loop 内(Schwann 細胞の胞体内)に filament 構造の存在した例があった。

L5後根神経節やL5前角の神経細胞では、核膜や核小体の不明瞭化、神経細胞胞体内の空胞形成、rough ER の増加、neurofilament の増加などを認めた。異常に増加した filament の太さは9~11nm で

あった。神経細胞の病変の程度は、麻痺を示した例で強かった。また後根神経節細胞の病変の方が、前角神経細胞の病変よりも顕著であった。

後根神経節や前角の神経細胞胞体と末梢神経との比較では、前者に病変が強く認められた。

前根、後根では著明な異常を認めなかった。

計測学的研究を末梢神経について実施した。単位面積当りの有髄神経数は vincristine 投与例では、症例ごとのばらつきが目立った。しかし、平均値について統計学的に処理すると、麻痺発現群、非麻痺群、対照群の間に有意差を認めなかった。

ヒストグラムでは、vincristine 投与例で、大径神経線維群の減少、消失した例や、有髄線維全体の小径化を示す例を認めた。これらは臨床的に麻痺を示した例に強く認められた。

ときほぐし線維法では myelin ovoid の線状配列を示すものや、短い絞輪間距離をもつ神経線維を小数認めた。

### 考察

形態学的研究では neurofilament の変性、蓄積が最も目立った所見であった。vincristine は neurotubules の depolymerization をひき起すと云われており、その結果生じた変化と考えられた。

計測学的研究では、一部の例で異常所見を認めたが、その程度は軽微であり、薬剤投与量や投与回数との間に関連を認めなかった。

vincristine 投与実験では、末梢神経系の形態学的変化は比較的軽微なこと、臨床像と病理所見が一致しない場合のあることは、すでに報告されているが、これは vincristine の毒性の問題、実験動物の抵抗力の個体差などが関係していると考えられた。

### 文献

- 1) Uy QL et al.: Vincristine neurotoxicity in rodents. Johns Hopk Med J 121 : 349, 1967
- 2) Schlaepfer WW : Vincristine-induced axonal alterations in rat peripheral nerve. J Neuropath Exp Neurol 30 : 488, 1971

## 進行性筋ジストロフィー症赤血球のホスファチジン酸の温度変化について

吉田瑞子

私達は進行性筋ジストロフィー症の病因が、細胞の  $\text{Ca}^{2+}$  調節機構を担っているイノシトールリン脂質代謝系にあるのではないかと考えている。現在まで Duchenne 型筋ジストロフィー症患者 (DMD) の赤血球を用いて調べた結果、赤血球は  $\text{Ca}^{2+}$  存在下で膜異常が顕著に現れ、イノシトールリン脂質のひとつ triphospho inositide (TPI) 量の温度変化にも異常がある傾向を示した。TPI 代謝に異常があるならば、その代謝産物であるホスファチジン酸 (PA) 等にも異常が現れるはずである。

本年度は  $\text{Ca}^{2+}$ -channel と考えられる PA の温度変化を、DMD とその健康対照者の赤血球を用いて比較検討した。

## 対象と方法

赤血球は DMD 患者 9 名 (19~22 才) と健康男子対照者 5 名 (19~22 才) の新鮮ヘパリン血より得た。血漿分離後の赤血球をリン酸緩衝食塩水 ( $\text{Ca}^{2+}$  と glucose を含む) で 3 回洗滌し、43~45%ヘマトクリット値の浮遊液とし、PA 量及び形態検索性用試料とした。赤血球の PA 量と形態検索性は、 $0^{\circ}\text{C}$  と  $37^{\circ}\text{C}$  で 3 時間浮置したものをを行った。

リン脂質抽出法：赤血球浮遊液の  $\text{CHCl}_3$  : MeOH 溶媒で、Folch 法に従って脂質を抽出した。その脂質をケイ酸カラムを通し、リン脂質のみを得た。その一部を全リン脂質定量用として採取した。

PA の検出と定量：PA の分画、検出及び定量は、二次元展開薄層クロマトグラフ法とパートレット法を改良したリン定量法で行なった。薄層板はシリカゲル 60 (厚さ 0.5mm, メルク社) を用い、一次展開溶液は  $\text{CHCl}_3$  : MeOH : 28% Am = 65 : 35 : 5.5 で、二次展開溶液は  $\text{CHCl}_3$  : Acetone : MeOH : Ac :  $\text{H}_2\text{O}$  100 : 40 : 30 : 20 : 12 で展開した。リン脂質はヨード蒸気中で発色し、検出した。含量及び全リン脂質量の定量は、リン定量法で行なった。

形態観察：1% -glutaraldehyde-リン酸緩衝食塩水で固定し、光学顕微鏡で観察した。

## 結果と考察

$0^{\circ}\text{C}$  と  $37^{\circ}\text{C}$  で 3 時間浮置した後の患者とその対照者の赤血球形態は、biconcave の形をしていた。すなわち両者共、正常形態の赤血球より脂質を抽出し

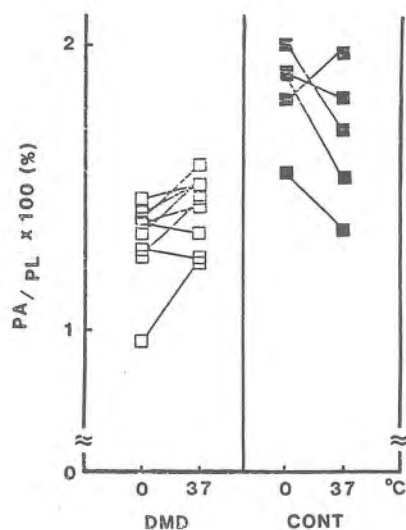
検索した。

DMD 患者とその対照者の赤血球を、 $0^{\circ}\text{C}$  と  $37^{\circ}\text{C}$  で 3 時間浮置した後の赤血球の PA 含量を図に示した。PA 量は赤血球の全リン脂質量に対する割合で示した。図から解るように、健康対照者 5 名中 4 名の PA 量は、 $0^{\circ}\text{C}$  から  $37^{\circ}\text{C}$  に浮置すると減少する傾向を示した。これに反し DMD 患者 9 名中 7 名の PA 量は増加する傾向を示した。この結果は、昨年度報告した赤血球の TPI 含量の結果に呼応する。すなわち赤血球を  $0^{\circ}\text{C}$  から  $37^{\circ}\text{C}$  に、3 時間浮置したとき、対照者の TPI 量は増加し、PA 量が減少したのに対し、DMD 患者では TPI 量が減少し、PA 量が増加する傾向を示した。

また図から解るように  $0^{\circ}\text{C}$  における DMD 患者の PA 量は、対照者のそれに比べて少い傾向を示した。

昨年度と今年度にわたり DMD 患者の赤血球の polyphosphoinositide (DPI, TPI) とその代謝産物のひとつである PA 含量の温度依存性を調べた結果、健康対照者のそれとは異なる傾向を示した。今後上に述べた結果をより確実にし、DMD 患者の細胞膜異常の原因を明らかにするために、イノシトールリン脂質代謝に関する酵素を検索する予定である。

図 DMD 患者 (9 名) とその対照者 (5 名) の  $0^{\circ}\text{C}$  と  $37^{\circ}\text{C}$  における赤血球の PA 量



<sup>77</sup>Br-bromperidol の合成とその体内及び脳内分布について

横井風児, 末広牧子\*, 野崎正\*\*

脳内の dopamine receptor assay を目的として, receptor の放射性リガンドである <sup>77</sup>Br-bromperidol の合成とラット脳を用いたオートラジオグラフィ (ARG) 及びマウス投与による体内分布を検討した。

合成法は図1に示した如くサンドマイヤー反応により, NH<sub>2</sub>基をジアゾ化して <sup>77</sup>Br に置換した後アルミナカラムにより分離精製した。得られた <sup>77</sup>Br-bromperidol を生理食塩水に溶かし, 2 N・HCl により pH 4 に調整し 8 匹のマウス尾静脈より一匹当たり 100 μl (約 1.8 × 10<sup>5</sup> cpm/ml) 静脈内投与した。 <sup>77</sup>Br-bromperidol を投与した後, 20分, 30分, 42分及び60分後に, 各々マウス 2 匹ずつ断頭し, <sup>77</sup>Br の放射活性を各臓器で検討した。さらに上記と同等量の <sup>77</sup>Br-bromperidol をマウスに静脈内投与した直後 0 μg, 175 μg/kg, 875 μg/kg, 3.5 mg/kg, 17.5 mg/kg の cold bromperidol を静脈内に追加投与した後, 2 時間後に断頭して <sup>77</sup>Br の放射活性を脳について測定した。又, ラットを用い <sup>77</sup>Br-bromperidol を静脈内投与したものと cold bromperidol を追加投与したものの各 2 種の ARG を作製した (kodack XAR-5 フィルムにより -20°C 中で 10 日間撮影, 前額断スライド)。

<sup>77</sup>Br-bromperidol 投与後のマウスの各臓器における <sup>77</sup>Br 放射活性を図2に示す。血液中の <sup>77</sup>Br の放射活性は臓器内のそれに比して低く, 脳内への取りこみは経時的に見ていくと徐々に低下していく傾向が見られるが, 脳内への移行量の RI 標識化合物に比して良好である。図3に cold bromperidol を追加投与した場合の脳内の <sup>77</sup>Br 放射活性を示したものであるが, <sup>77</sup>Br-bromperidol が cold bromperidol に置換されていくことが示されている。ARG 実験では, <sup>77</sup>Br の集積は線条体 (被殻部分) 及び大脳皮質に多く, 大脳白質では少なかった。大量の cold

bromperidol を追加投与した ARG では線条体及び大脳皮質共に <sup>77</sup>Br の集積量は低下した。

bromperidol は向精神薬の haloperidol と非常に類似した構造を有する誘導体で, dopamine receptor に強い親和性を有するリガンドであることが知られている。今回の実験で脳内への移行は良好で, ポジトロン放出核種である <sup>75</sup>Br (T<sub>1/2</sub>=98分) により標識された <sup>75</sup>Br-bromperidol を用いれば positron emission computed tomography (PET) による臨床応用は充分可能である。ただし, 今回の ARG 実験結果の問題点は線条体のみならず比較的 dopamine receptor の分布が少ないとされている大脳皮質にも <sup>77</sup>Br が集積していることである。理由の一つとして実験に用いたラットと高等霊長類による種の相違が考えられる為, 大型サルによる <sup>75</sup>Br-bromperidol 脳内取り込み実験を検討している。

\* 東京都立養育院付属病院核医学放射線部

\*\* 理化学研究所 核分析化学研究室

図2

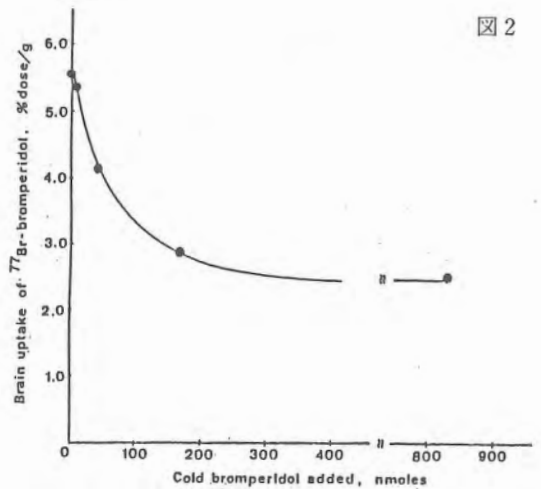


図1

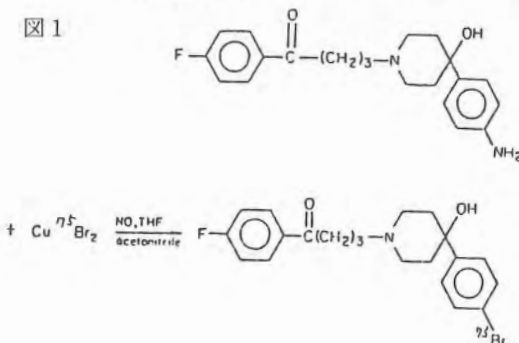


図3

Tissue Distribution of <sup>77</sup>Br Activity at Various Intervals Following an Intravenous Injection of <sup>77</sup>Br-Bromperidol in House (% Dose/g ± SD)

	20 min	30 min	42 min	60 min
blood	0.36 ± 0.028	0.31 ± 0.08	0.21 ± 0.042	0.17 ± 0.028
brain	9.7 ± 0.21	9.5 ± 0.99	7.1 ± 0.21	6.7 ± 0.14
heart	6.5 ± 0.85	6.0 ± 0.21	4.3 ± 0.28	3.7 ± 0.99
lung	37.3 ± 4.3	25.8 ± 0.99	14.4 ± 3.0	12.0 ± 0.21
liver	19.9 ± 1.1	23.0 ± 5.0	22.6 ± 4.3	20.3 ± 3.4
kidney	15.8 ± 2.2	13.8 ± 0.21	12.4 ± 3.1	8.7 ± 0.35
stomach	4.3 ± 1.1	3.9 ± 0.07	3.6 ± 1.1	3.0 ± 0.78
intestine	7.0 ± 3.3	6.6 ± 2.3	7.3 ± 0.64	6.7 ± 0.85

## 6. 疾病研究第5部

### 1. 研究部一年の歩み

本研究部は、多くの中枢神経障害の原因疾患としての先天性代謝異常を研究対象としている。中でも遺伝性リソゾーム酵素欠損症を1つのモデルとして、代謝異常によりひきおこされる細胞、組織の機能障害、病気の発生メカニズムを解明することを目標とする。

58年度の研究スタッフは以下の通りである。鈴木義之は昨年度よりひきつづき、併任部長として研究室運営にあたっている。

研究員：桜庭 均，桃井 隆。流動研究員：加藤 悟郎，飯森裕一，古屋達子，André T. Hoogeveen。併任研究員：飯田静夫。研究生：妹尾春樹，渡来 仁。賃金研究員：稲山順子，粕谷淳子。研究補助員：古里弘子。

André T. HoogeveenはErasmus大学(ロッテルダム)より、約1ヶ月間(58年10~11月)の共同研究のため滞在した。飯森裕一は、59年2月より、Washington大学(セントルイス)に転勤となった。

研究内容は患者の診断及び病態解析、リソゾーム酵素及びそのレセプターの生化学的、細胞生物学的研究である。

#### 1) リソゾーム病の診断

測定酵素数、したがって対象とする疾患の数が増し、又尿の分析も開始した。このような多項目検索をおこなうことによって、測定依頼検体数、発見されたリソゾーム病症例数も著しく増加した。その中には特殊な病像、病態を示す症例があり、疾患の発生病理、臨床像と細胞レベルの代謝障害との関係を追求する上に、重要な情報を提供しつつある。

#### 2) $\beta$ -ガラクトシダーゼ

ヒト胎盤よりの精製法の検討を開始したが、その経過中、この酵素活性にはチオール基が大きな役割をもつことが明らかにされた。この性質を利用した高純度精製法も開発され、抗体作成も可能となった。

これらの標品は、来年度以降、 $\beta$ -ガラクトシダーゼの細胞内動態を研究するのに用いられる予定である。

#### 3) $\beta$ -ガラクトシダーゼ欠損症

上記の $\beta$ -ガラクトシダーゼ精製法は、線維芽細胞にも応用され、 $G_{M1}$ -ガングリオシドーシスの分子レベルでの解析がはじめられた。この病気は $\beta$ -ガラクトシダーゼの欠損症であるが、その分子生



## II 研究業績

物学的異常の詳細は全く不明である。免疫沈降、電気泳動による分子解析により、その本態が解明されつつある。

もう1つの $\beta$ -ガラクトシダーゼ欠損症であるガラクトシアリドーシスは、我々が関与した症例だけで22例に及ぶ。これらの症例を臨床的、細胞学的に比較検討をおこない、かなり多様性の存在することが分った。本年度は Hoogeveen の参加も得て、この病気の本質的遺伝的異常を追求した。 $\beta$ -ガラクトシダーゼの細胞内安定性に関して多くの成果が得られた。

### 4) 細胞内レセプター

第一に牛肝臓よりマンノース-6-リン酸認識レセプターを抽出精製し、その特性、リソゾーム酵素との相互作用を検討した。これが唯一のリソゾーム酵素レセプターとは考えられず、この成果の上に立って、リソゾーム酵素の細胞内輸送、とりこみの機序を明らかにする予定である。

第二にラット脳に存在する PNA レセプターの分析をおこない、これがミエリン及びビミエリン形成細胞で表現される130Kの糖蛋白であることを示した。これが免疫系とどのようなかわりをもつものか、未だ明らかでないが、先天性代謝異常における脱髄という現象の研究に対して、1つの手がかりを与えるかもしれない。

(部長 鈴木義之)

## 2. 研究業績

### A. 論文

#### a. 原著

#### 1) 岡村祐子, 山中龍宏, 鈴木義之 :

尿中総シアル酸測定—小児における変動を中心に—

臨床病理 54 : 165—168, 1983

#### 2) 柯 佑民, 桜庭 均, 山中龍宏, 林 和代, 福岡和子, 鈴木義之, 小林 登 :

Fabry 病10家系の臨床的検討

日本小児科学会雑誌 87 : 951—956, 1983

#### 3) Sakuraba H, Suzuki Y, Akagi M, Sakai M, Amano N :

$\beta$ -Galactosidase-neuraminidase deficiency (galactosialidosis) : Clinical, pathological, and enzymatic studies in a postmortem case.

Ann Neurol 13 : 497-503, 1983

#### 4) Suzuki Y, Sakuraba H, Yamanaka T, Ko Y-M, Okamura Y :

Galactosialidosis ( $\beta$ -galactosidase-neuraminidase deficiency) : A new hereditary meta-

bolic disease with abnormal degradation of enzyme molecules.

Acta Paediat Jpn 25 : 31-37, 1983

- 5) Ko Y-M, Yamanaka T, Umeda M, Suzuki Y:

Effects of thiol protease inhibitors on intracellular degradation of exogenous  $\beta$ -galactosidase in cultured human skin fibroblasts.

Exp Cell Res 148 : 525-529, 1983

- 6) Sakuraba H, Suzuki Y, Kobayashi N, Yoshitake K, Kaneshi K, Takahashi K, Naito M :  
Glycogenesis II : Comparative biochemical and electron microscopic studies on infantile and late onset patients.

Acta Paediat Jpn 26 : 3-9, 1984

- 7) Furuya T, Suzuki Y:

G<sub>M1</sub>-gangliosidosis : A molecular abnormality of acid  $\beta$ -galactosidase in fibroblasts.

J Inher Metab Dis, in press, 1984

- 8) 内藤 真, 北條 洋, 高橋 潔, 滝 孝雄, 桜庭 均, 飯森裕一, 渡辺 真, 柳沢正信 :

右脛骨腫瘤を形成し, 高脂血症を伴った成人型 Gaucher 病の 1 例—組織学的, 組織化学的, 免疫学的, 生化学的, 酵素学的ならびに電顕的観察—

日本網内系学会誌 23 : 151-174, 1983

- 9) 有馬正高, 田中晴美, 桜庭 均 :

遺伝性疾患にみられる症状の固体差と量的評価

臨床遺伝研究 5 : 9-17, 1983

- 10) Sakuraba H, Tanaka H:

Biochemical analysis of cerebrum of fetal rat X-irradiated in utero—DNA, RNA, superoxide dismutase and lipid peroxide—

Brain Dev 5 : 457-463, 1983

## b. 著 書

- 1) 鈴木義之 :

先天性代謝異常—リソゾーム病の診断—

組織細胞化学1983 (日本組織細胞化学会編), 学際企画, 東京, 1983, p 175-185

- 2) 鈴木義之 :

精神薄弱, 病態生化学,



## II 研究業績

新小児医学大系13D, 小児神経学IV (小林 登, 多田啓也, 藪内百治編), 中山書店, 東京, 1983, p 165-180

3) 鈴木義之 :

リピドーシス

今日の小児治療指針, 第5版(加藤英夫, 浦田 久, 山下文雄編), 医学書院, 東京, 1983, p 249

4) Suzuki K, Suzuki Y:

Galactosylceramide lipidosis : Globoid cell leukodystrophy (Krabbe's disease).

The Metabolic Basis of Inherited Disease, 5th ed (ed by Standury J B, Wyngaarden J B, Fredrickson D S, Goldstein J L, Brown M S), McGraw Hill, New York, 1983, p 857-880

5) Suzuki Y:

Recent topics of the research in disorders of complex carbohydrates.

Ten Years of the Japan Medical Research Foundation.

Throwing Light on Intractable Diseases (Nanbyo) (ed by Japan Medical Research Foundation, Tokyo), 1983, p 177-180

6) 鈴木義之 :

Fabry(ファブリー)病, Gaucher(ゴーシェ)病, 異染性ロイコジストロフィー (metachromatic leukodystrophy, MLD), Niemann-Pick (ニーマン・ピック) 病, Wolman (ウォールマン) 病

図説臨床小児科講座5, 先天性代謝異常・染色体異常・奇形 (多田啓也編), メジカルビュー社, 東京, 1983, p 140-154

7) Suzuki Y, Sakuraba H, Yamanaka T, Ko Y-M, Iimori Y, Okamura Y, Hoogeveen A T:

Galactosialidosis. A comparative study of clinical and biochemical data on 22 patients:

The Developing Brain and Its Disorders (ed by Arima M, Suzuki Y, Yabuuchi H), Univ Tokyo press, Tokyo, 1984, p 161-175

### c. 総 説

1) 溝淵真人, 井上聖啓, 高須俊明, 杉田秀夫, 鈴木義之 :

成人型 metachromatic leukodystrophy

神経進歩 27 : 211-225, 1983

2) 鈴木義之 :

糖蛋白と細胞機能

- 小児科診療 46：240-241, 1983
- 3) 飯森裕一, 桜庭 均, 鈴木義之：  
遺伝と生化学  
周産期医学 13：821-825, 1983
- 4) 鈴木義之：  
遺伝性疾患の治療・予防とその影響  
小児科 MOOK32, 遺伝相談, 金原出版, 東京, 1984, p 78-85
- 5) 鈴木義之：  
細胞生物学からみた遺伝性酵素欠損症の病態  
日本小児科学会雑誌 88：405-408, 1984
- 6) 鈴木義之：  
解決すべき小児疾患・神経疾患  
日本医師会雑誌 91：1954-1956, 1984
- 7) 桜庭 均, 飯森裕一, 鈴木義之：  
Hartnup 病, 小児症候群  
東京医学社, 東京, 1983, p 306-308
- d. 症例報告
- 1) 高橋良明, 滝田誠司, 奥山和男, 鈴木義之, 中村了正：  
糖原病III型の1例  
臨床小児医学 31：245-252, 1983
- 2) 渡部素次, 正木洋治, 森川景子, 野手信哉, 田中順一, 鈴木義之：  
Gaucher 病の1姉妹例  
代謝 20：1255-1263, 1983
- e. 班会議報告書
- 1) 鈴木義之, 柯 佑民：  
遺伝性  $\beta$ -ガラクトシダーゼ欠損症に対する酵素補充療法の実験的研究  
文部省科学研究費補助金試験研究(1)・リピドーシスの酵素療法に関する研究班 昭和57・58  
年度研究報告書, 1983, p 53-60
- 2) 鈴木義之, 柯 佑民, 山中龍宏：  
培養細胞におけるリソゾーム酵素補充療法の実験的研究

## II 研究業績

厚生省新薬開発・酵素障害に基づく代謝異常治療の開発研究班

昭和57年度研究報告書, 1983, p 51-68

- 3) 北川照男, 有馬正高, …, 鈴木義之ほか:

代謝性畜積症の実態と予後に関する研究

厚生省心身障害・小児慢性疾患研究班 昭和57年度研究報告書, 1983, p 17-55

- 4) 森山 豊, 成瀬 浩, …, 有馬正高, …, 鈴木義之ほか:

代謝異常症などの新しいマス・スクリーニング法の開発的研究

厚生省心身障害・小児慢性疾患研究班 昭和57年度研究報告書, 1983, p 59-95

- 5) 有馬正高, 大田原俊輔, 鈴木義之ほか:

精神発達遅滞のモニタリングに関する研究小委員会のまとめ

厚生省心身障害・先天異常のモニタリングに関する研究班

昭和57年度研究報告書, 1983, p 5-10

- 6) 鈴木義之, 開原成充ほか:

コンピュータ支援医療コンサルテーションシステムの先天異常モニタリングへの応用

厚生省心身障害・先天異常のモニタリングに関する研究班

昭和57年度研究報告書, 1983, p 41-45

- 7) 大浦敏明, 中込弥男, …, 成瀬 浩, …, 鈴木義之ほか:

診断技術の向上に関する研究班昭和57年度研究業績のまとめ

厚生省心身障害・先天異常のモニタリングに関する研究班

昭和57年度研究報告書, 1983, p 217-222

- 8) 鈴木義之:

自動サイクリング装置による酵素測定法の開発

厚生省心身障害・先天異常のモニタリングに関する研究班

昭和57年度研究報告書, 1983, p 270-271

## B. 学会発表

### b. 国際学会

- 1) Suzuki Y:

An experience on the diagnosis of lysosomal diseases in Japan.

EFCNS Symposium, Noordwijkerhout, June 13-16, 1983

- 2) Momoi T, Kurata T :

Localization of PNA receptors in the developing rat brain.

VI International Symposium on Glycoconjugates, Loneby, August, 1983

- 3) Momoi T, Watarai S, Yasuda T :

Monoclonal antibody toward rat B-active glycolipid.

VI International Symposium on Glycoconjugates, Loneby, August, 1983

- 4) Iguchi S, Momoi T, Egawa K, Matsumoto J :

Isolation of sialic acid specific lectin from *Achatina fulica* Férussac.

VI International Symposium on Glycoconjugates, Loneby, August, 1983

- 5) Suzuki Y:

Clinical significance of sialic acid determination in human tissues and body fluids. Night Session : Sialic acid in cancer and inflammation.

XII World Congress of Pathology, Tokyo, October 10-14, 1983

- 6) Suzuki Y:

Galactosialidosis : Clinical and biochemical aspects of a new hereditary metabolic disease.

International Symposium on Advance in Pediatrics, Kyoto, October 31-November 2, 1983

- 7) Suzuki Y:

Chemical pathology of human neuraminidase deficiency.

Fourth International Symposium on Developmental Disabilities, Tokyo, November 3-5, 1983

- 8) Suzuki Y:

Introductory remarks : General overview of diagnostic aspects of hereditary metabolic diseases. Symposium : Inborn errors of metabolism : Enzymatic diagnosis of lysosomal diseases.

XVII International Congress of Pediatrics, Manila, November 7-12, 1983

- 9) Sakuraba H:

Biochemical approaches to the diagnosis of neuraminidase deficiency. Symposium : Inborn errors of metabolism : Enzymatic diagnosis of lysosomal diseases.

XVII International Congress of Pediatrics, Manila, November 7-12, 1983

- 10) Ko Y-M, Yamanaka T, Sakuraba H, Suzuki Y:

A clinical and biochemical survey on 372 cases for the diagnosis of lysosomal diseases.

First Conference of Asian and Oceanian Association of Child Neurology, Taipei,

November 17-18, 1983

c. 一般学会

- 1) 鈴木義之：  
リソゾーム病の酵素補充療法に関する実験的研究  
第24回日本神経学会総会，京都，5.25-27，1983
- 2) 飯森裕一，桜庭 均，岡村祐子，山中龍宏，鈴木義之：  
ガラクトシアリドーシスの臨床像ならびに生化学的診断法について  
第25回日本小児神経学会総会，栃木，7.7-9，1983
- 3) 古屋達子，桃井 隆，鈴木義之：  
高反応性 SH 基を利用したヒト胎盤酸性  $\beta$ -ガラクトシダーゼの精製  
第56回日本生化学会大会，福岡，9.29-10.2，1983
- 4) 井口早苗，桃井 隆，江川滉二郎，松本重四郎：  
アフリカマイマイ体表粘液中のシアル酸特異的レクチンの精製  
第56回日本生化学会大会，福岡，9.29-10.2，1983
- 5) 桜庭 均，飯森裕一，加藤梧郎，岡村祐子，山中龍宏，鈴木義之，横地章子，北住映二，横地健次：  
ノイラミニダーゼ部分欠損症？  
第26回小児代謝研究会，東京，10.21-22，1983
- 6) 加藤梧郎，鈴木義之：  
ホスホマンナン結合蛋白質—その精製と性質について—  
第26回小児代謝研究会，東京，10.21-22，1983
- 7) 古屋達子，鈴木義之：  
 $G_{M1}$ -gangliosidosis 線維芽細胞における酸性  $\beta$ -galactosidase の SH 特異性に関する検討  
第26回小児代謝研究会，東京，10.21-22，1983
- 8) 岡村祐子，山中龍宏，柯 佑民，鈴木義之：  
ライソゾーム酵素測定症例の臨床像分析  
第26回小児代謝研究会，東京，10.21-22，1983
- 9) 桃井 隆，山口一手島幸子，松本えみ子，吉倉 広：  
Morris 肝細胞 (5123) におけるフェノバルビタールの影響  
第42回日本癌学会，名古屋，10.25-27，1983

## C. 班会議発表

1) 鈴木義之, 桃井 隆, 古屋達子 :

SV-40 DNA (合成開始部欠損) 導入によるヒト G<sub>M1</sub>-ガングリオシドーシス線維芽細胞株の樹立

厚生省神経疾患・出生前要因による脳障害の成因並びに治療に関する臨床的基礎的研究班  
1. 20, 1984

2) 桃井 隆 :

HL-60分化過程における糖脂質の変動

文部省特定研究 がん特別研究・胚性腫瘍細胞の器官；個体構成能の分子的背景 1. 20, 1984

3) 鈴木義之, 柯 佑民 :

$\beta$ -ガラクトシダーゼ欠損症に対する酵素療法の基礎的検討

文部省試験研究・リポドーシスの酵素療法に関する研究班 1. 23, 1984

4) 鈴木義之 :

$\beta$ -ガラクトシダーゼ欠損酵素補充療法の基礎的研究

厚生省新薬開発・酵素障害に基づく代謝異常治療案の開発研究班 1. 24, 1984

5) 鈴木義之, 加藤 悟郎 :

細胞認識と複合糖質代謝異常

文部省総合研究 A・複合糖質代謝異常症の研究班 1. 27, 1984

6) 鈴木義之, 山中龍宏, 岡村祐子 :

ライソゾーム病症例の臨床像分析とその診断への応用

厚生省母子保健研究・心身障害児の早期発見・早期療育システム研究班 1. 27, 1984

7) 鈴木義之, 桜庭 均 :

遺伝性ノイラミニダーゼ欠損症

厚生省神経疾患・脳障害を伴う先天性代謝異常の病態に関する研究班 1. 29, 1984

8) 鈴木義之 :

リソゾーム病診断システムの検討

厚生省先天異常モニタリング研究・先天異常の発生・調査小委員会」 2. 6, 1984

9) 鈴木義之, 桃井 隆 :

ラット B 型活性脂質に対する単クローン性抗体

文部省総合研究 A・細胞構築と識別反応に関与する糖脂質の解析班 2. 17, 1984

II 研究業績

10) 鈴木義之：

小児期脳変性疾患の病因と病態に関する遺伝的細胞生物学的研究

文部省一般研究 B 報告

## 3. 主な研究報告

## ガラクトシアリドーシスにおける酵素異常

桜庭 均, Hoogveen AT, 鈴木義之

ガラクトシアリドーシスにおける細胞内 $\beta$ -ガラクトシダーゼ( $\beta$ -Gal)およびノイラミニダーゼ(Neur)の活性低下の原因は不明である。本研究では、培養細胞を用いて当該酵素の動態を検索した。

## 方法

F-10培地中で培養した皮膚線維芽細胞より分泌された‘矯正因子’は10mM塩低アンモニウム加培地より抽出した。‘矯正因子’または50 $\mu$ g/mlのロイペプチンを培養液に加え、4日後に酵素活性を蛍光法で測定した。抗ヒト胎盤 $\beta$ -Gal抗体による細胞内免疫沈降タンパクはd'Azzoら<sup>1)</sup>の方法に準じてSDSポリアクリルアミドゲル電気泳動法を用いて分析した。G<sub>M1</sub>ガングリオシドーシスまたはI-cell病患者由来の細胞と本症患者由来の細胞間の融合はポリエチレングリコール法による。

## 結果

本症患者細胞に対する‘矯正因子’またはロイペプチンの効果を表1に示した。‘矯正因子’による $\beta$ -Gal, Neur両酵素活性の増加が、またロイペプチンでは $\beta$ -Gal活性のみの増加が認められた。抗 $\beta$ -Gal抗体による免疫複合タンパクの分析では、患者細胞で成熟 $\beta$ -Gal分子と考えられる分子量64Kのタンパクの他、分子量が各々32K, 20Kのタンパクの欠損がみられた(図1)。また、異なる臨床型を示す本症患者由来の細胞間の融合では補償効果はみられなかった(表2)。

## 考察

ガラクトシアリドーシスでは正常細胞に存在する‘矯正因子’が欠損しており、これが両酵素のみかけの欠損に関係していると考えられる。その機序はチオール系プロテアーゼの直接阻害とは異なるらしい。分子量32Kおよび20Kのタンパクの役割について更に分析が必要である。細胞融合の結果からは、本症の臨床的多様性が非対立遺伝子異常に基づくという証拠は得られなかった。

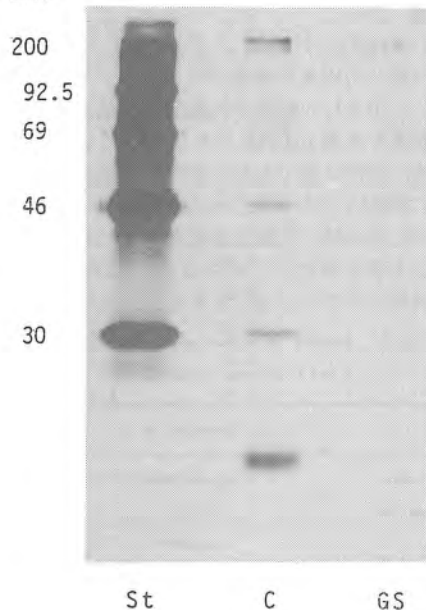
## 文献

- 1) d'Azzo A., Hoogveen A, Reuser AJJ, Robinson D, Galjaard H: Molecular defect in combined  $\beta$ -galactosidase and neuraminidase deficiency in man. Proc Natl Acad Sci USA 79: 4534-4539, 1982

表1 ガラクトシアリドーシス患者細胞中 $\beta$ -ガラクトシダーゼ・ノイラミニダーゼ活性に対する‘矯正因子’およびロイペプチンの効果

線維芽細胞株 番号	$\beta$ -ガラクトシダーゼ		ノイラミニダーゼ	
	‘矯正因子’	ロイペプチン	‘矯正因子’	ロイペプチン
2	7.2	4.2	5.5	0.4
5	5.1	4.7	20.0	0.6
7	1.3	2.6	1.6	0.7
8	9.5		4.6	
9	3.9	5.6	4.4	1.1
10	2.8		4.8	
19	3.0	6.4	3.1	
22	9.3	8.0	8.4	1.3

図1 抗 $\beta$ -ガラクトシダーゼ抗体による免疫沈降タンパクのSDSポリアクリルアミド電気泳動像



St : <sup>14</sup>Cラベル分子量マーカータンパク  
C : 対照細胞  
GS : ガラクトシアリドーシス患者由来細胞

細胞は300 $\mu$ Ci<sup>35</sup>S-Methionineで標識をおこなった。



## 人工蛍光基質を用いたヒト培養皮膚線維芽細胞中カテプシン B およびカテプシン L 活性の測定—ガラクトシアリドーシスにおけるカテプシン L 活性の増加

桜庭 均, 飯森裕一, 鈴木義之

ヒト組織中のチオール系プロテアーゼは種々の病的状態では活性変化をおこすことが知られている。最近 Barrett らにより人工蛍光基質を用いたカテプシン B およびカテプシン L の活性測定法が開発された<sup>1)</sup>。我々はこれを臨床応用することを目的に、培養皮膚線維芽細胞を試料として測定法の検討を行なった。

## 方法

カテプシン B 活性およびカテプシン B+L 活性は各々 benzoyloxycarbonyl-arginyl-arginyl-4-methyl-7-coumarylamide (Z-Arg-Arg-NMec, Universal Biologicals), benzoyloxycarbonyl-phenylalanyl-arginyl-4-methyl-7-coumarylamide (Z-Phe-Arg-NMec, ペプチド研) を基質として Barrett および Kirschke の方法<sup>1)</sup>を少しく改変して行なった<sup>2)</sup>。試料にはガラクトシアリドーシスの患者および対照の皮膚由来の培養線維芽細胞破碎液を用いた。タンパク量測定は Lowry 法によった。

## 結果

Z-Arg-Arg-NMec, Z-Phe-Arg-NMec を基質とした場合の線維芽細胞中の各々カテプシン B, カテプシン B+L の酵素学的検討の結果を表 1 に示した。両者とも至適 pH は 6.0-6.5 にあり, pH 7.5 以上では急速に活性は減少した。みかけの Km 値は, 前者では 0.85mM であった。一方, 後者では基質高濃度条件で 0.09mM, 基質低濃度条件で 0.01mM と 2 つの異なる値を得た。これらは各々 Barrett らの報告した精製カテプシン B, カテプシン L のそれに近似し

ていた。以後の実験には, できるだけカテプシン L の活性を反映させるため, 測定には低濃度 (5 $\mu$ M) の Z-Phe-Arg-NMec を基質に用いた。表 1 に示した測定条件での, ガラクトシアリドーシス患者および対照細胞内のカテプシン B およびカテプシン B+L 活性値の比較を表 2 に示した。カテプシン B 活性は両者で差がみられなかったが, Z-Phe-Arg-NMec を基質とした酵素活性はガラクトシアリドーシスで増加していた。従ってガラクトシアリドーシス細胞ではカテプシン L 活性が増加していると考えられた。ガラクトシアリドーシスでは細胞内で  $\beta$  ガラクトシダーゼ分子の分解亢進がおこっており, この分解にはチオール系プロテアーゼの関与が推定されている。細胞内カテプシン L 活性増加の意義は明らかではないが, ガラクトシアリドーシスの病態生理に何らかの役割をはたしている可能性が考えられた。

## 文献

- 1) Barrett AJ, Kirschke H. Cathepsin B, cathepsin H, and cathepsin L. In: Lorand L, eds, Methods Enzymol, Vol 80, Proteolytic Enzymes Pt C, New York: Academic Press, 1981: 535-561.
- 2) Sakuraba H, Imori Y, Suzuki Y., Fluorometric assays of cathepsin B and cathepsin L in human skin fibroblasts: Specific increase in cathepsin L activity in galactosialidosis. Submitted for publication, 1984.

Table 1. Kinetic properties and assay conditions of cathepsins B and L in human fibroblasts

	Cathepsin B	Cathepsins B and L
Substrate	Z-Arg-Arg-NMec	Z-Phe-Arg-NMec
Optimal pH	6.0-6.5	6.0-6.5
Km	0.85mM	0.01mM (0.0005-0.005mM)*  0.09mM (0.015-0.125mM) <sup>o</sup>
Substrate concentration for assay	0.25mM	0.005mM
Time course	linear up to 30min	linear up to 15min
Protein concentration in assay mixture	5-20 $\mu$ g/tube	5-15 $\mu$ g/tube

\*Substrate concentrations for determinations of Km

Table 2. Cathepsin B and L activities with two different synthetic substrates

	Cathepsin B	Cathepsin B and L
Galactosialidosis		
No. 20	4.6	-
1011	7.6	3.4
1083	16.3	7.0
1089	13.2	3.6
1101	12.0	5.2
1224	-	3.0
	10.7 $\pm$ 1.3	4.4 $\pm$ 0.7
Controls	7.7 $\pm$ 1.3 (n=9) (range: 4.2-16.3)	1.7 $\pm$ 0.1 (n=9) (range: 0.5-2.5)

Enzyme activities are expressed as nmol/mg protein/min (mean $\pm$ SE)

G<sub>M1</sub>-ガングリオシドーシス酸性β-ガラクトシダーゼの精製

古屋達子, 桃井 隆, 鈴木義之

## 概 要

我々は、G<sub>M1</sub>-ガングリオシドーシスの分子レベルにおける病因究明を目的に、ヒト胎盤酸性β-ガラクトシダーゼの精製、その抗体作製およびG<sub>M1</sub>-ガングリオシドーシス酸性β-ガラクトシダーゼ分子の精製を試み、昨年ヒト胎盤酸性β-ガラクトシダーゼのもつSH親和性を利用した精製法を確立した。今回、このSH親和性を応用して、G<sub>M1</sub>-ガングリオシドーシス線維芽細胞からの酸性β-ガラクトシダーゼ分子の精製法を検討した。

## 材料と方法

G<sub>M1</sub>-ガングリオシドーシス(乳児型3例, 成人型1例)患者および正常人由来の皮膚線維芽細胞ホモジェネートの10,000×g遠心上清に、ConA-Sepharose, p-aminophenyl-1-thio-p-D-galactopyranosido(PAT)-SepharoseおよびHg-agarose(Affigel 501) chromatographyを順次行なった。

β-ガラクトシダーゼ活性は、蛍光基質(4-メチルウンベリフェロン誘導体)を用い、蛍光的に測定した。

## 結 果

G<sub>M1</sub>-ガングリオシドーシス線維芽細胞における、SH親和性を利用したHg-agarose chromatographyにおける酵素精製比および回収率は、それぞれ、20~50倍、70~79%を示した(Table 1)。

Hg-agaroseを濃縮と透析の目的に利用し、Table 2に示される操作で、G<sub>M1</sub>-ガングリオシドーシスおよび対照皮膚線維芽細胞より、それぞれ、862倍、1292倍の精製比、22%、21%の回収率で、酸性β-ガラクトシダーゼの精製が行なわれた。

## 考 察

我々は、ヒト胎盤酸性β-ガラクトシダーゼにおいて、酵素活性に深く関係し、高反応性を示すSH基の存在を示し、このSH親和性を本酵素の精製に利用した。

この酸性β-ガラクトシダーゼのもつSH親和性は、培養皮膚線維芽細胞からの微量な酸性β-ガラクトシダーゼの精製には、さらに有効に利用され、透析や濃縮の操作を経ず、容易、迅速にmicroscaleにおける精製を可能にした。今後、G<sub>M1</sub>-ガングリオシドーシスの生化学的、免疫学的解析に応用したい。

Table 1. Affi gel 501 affinity column chromatography of β-galactosidase in normal and G<sub>M1</sub> gangliosidosis fibroblast

	Specific activity (nmol4-Mu/hr/mg pro)		Total activity (nmol4-Mu/hr)		Purification ratio (folds)	Recovery (%)
	Pre	Post	Pre	Post		
Normal	1082.1	70154.4	324.6	318.4	64.8	98.0
	30.5	1523.8	9.1	6.4	50.0	70.0
G <sub>M1</sub> gangliosidosis	54.9	2078.3	16.5	12.5	37.9	75.7
	4.8	101.3	5.2	4.4	21.2	74.8
	13.8	365.7	7.7	6.1	26.5	79.3

Table 2. Purification of acid β-galactosidase in human G<sub>M1</sub>-gangliosidosis fibroblasts

	G <sub>M1</sub> -gangliosidosis				Control			
	Specific activity (nmole4Hu/min/mg)	Total activity (nmole4Hu/min)	Purification (folds)	Yield (%)	Specific activity (nmole4Hu/min/mg)	Total activity (nmole4Hu/min)	Purification (folds)	Yield (%)
Homogenate	0.46	0.412	1	100	12.1	10.78	1	100
ConA-sepharose	9.5	0.309	21	75	363.8	5.53	30	51
PAT-sepharose-Hg-Agarose	398.1	0.090	862	22	15634.0	2.22	1292	21

## ホスホマンノシルレセプターの精製とその性質について

加藤 悟郎, 鈴木 義之

高マンノース型糖蛋白であるリソゾーム酵素が、細胞内膜系において複合型糖蛋白と選別されリソゾームへ移行する際、どのような認識機構が働いているのかよくわかっていない。そこで、これらの機能が推定されているホスホマンノシルレセプター (RMR) を牛肝臓より精製しその性質を調べた。

### 方法

①精製法。酵母 *Hansenula holstii* IAM 4981 (NRRL Y2155)の培養液上清からホスホマンナンを精製、その高分子量モノエステル型画分 (HMPF) を Affi Gel10へ結合させた (HMPF-Affi Gel 10)。牛肝臓膜アセトン粉末50gの1% Triton X-100抽出液を HMPF-Affi Gel10にかけ5 mMのマンノース-6-リン酸 (M 6 P) で溶出し PMR を得た。  
 ②活性測定法。<sup>14</sup>C-HMPF と PMR とを混合反応 (30度, 30分) させ、結合物の放射能を測定した。  
 ③牛肝臓 acid soluble enzymes (ASE) の調製。牛肝臓細片を0.25M Sucrose (pH 7) でホモジナイズし、800×g 5分遠心、その上清を105,000×g 1時間遠心して total particulate fraction (TPE) を得た。TPF を0.5%サポニン処理 (pH 7) し、遠心洗浄後更に酸処理 (pH4.0) し、105,000×g 1時間遠心後上清を ASE とした。

### 結果と考察

牛肝臓アセトン粉末50g から PMR 2~3 mg を得た。比活性は約25~30units/μg protein (1 unit = 1 pmol PO<sub>4</sub> の HMPF を結合させる量), 分子量約24万で既報の PMR<sup>1)</sup>より2万5千ほど大きかった。また結合反応は、M 6 P に特異的であり、PMR-HMPF 複合体は、アルカリ側では安定、酸性側では不安定でリソゾームの生理的 pH 値である4.5で複合体は完全に解離した (Fig. 1)。次に肝臓 ASE と PMR との結合を monospecific anti PMR-IgG 吸着剤で固定化した PMR を用いて調べた。Fig. 2 に示すように各酵素間で PMR に対する結合能力が異なり、α-マンノシダーゼは80%以上結合、β-グルコシダーゼでは全く結合しなかった。

以上より、得られた牛肝臓 PMR は、牛肝の M 6 P マーカーを有する種々の酵素と結合するが、とりわけ α-マンノシダーゼや β-グルクロニダーゼの細胞内膜輸送レセプターとして優先的に働いている可能性が高い。また、この PMR に対する結合割合の近い酵素では別の PMR あるいは M 6 P 以外の認識系がレセプターとして働いていることが示唆された。

### 文献

- 1) G. G. Sahagian *et al.* Membrane Receptor for Phosphomannosyl Residues. *Methods in Enzymol.* **83** 392(1982).

Fig.1  
Effect of pH on the Stability of the HMPF-PMBP Complex

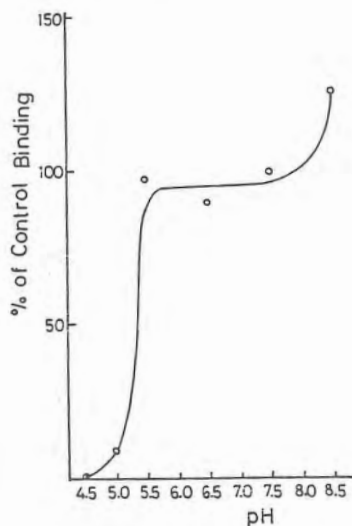
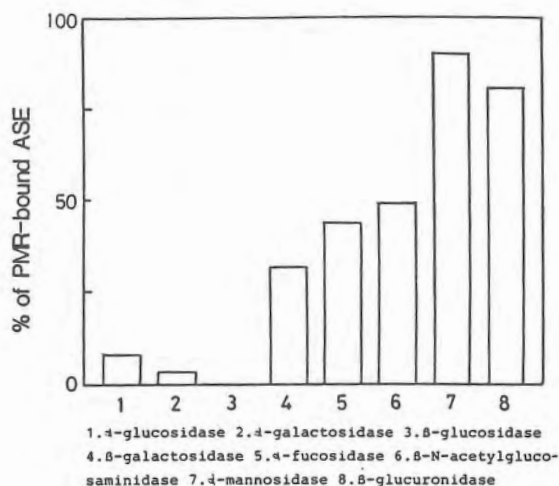


Fig.2  
Binding of ASE to PMR



## 昭和58年度リソゾーム病診断システム実績

柏谷淳子, 飯森裕一, 桜庭 均, 鈴木義之

我々はリソゾーム酵素の欠損によりひきおこされるリソゾーム病の診断の一助となるよう、血液細胞、培養線維芽細胞のリソゾーム酵素活性を測定している。

このシステムによる分析は、昨年度より開始されたが、本年度においては、詳しい記載事項を有する測定依頼用紙の作成、測定酵素数の増加など、更に充実に期した。

## 方法

依頼された血液は、通常  $\text{NH}_4\text{Cl}$  法により、白血球に分離し、又、生検皮膚は、皮膚線維芽細胞を、10%牛胎児血清添加 F-10 培地で培養した。これらを試料として、p-ニトロカテコール誘導体、又は、p-ニトロフェノール誘導体を基質とする比色法、及び、4-メチルウンベリフェロン誘導体を基質とする蛍光法により、酵素活性を測定した。

## 結果と考察

本年度、検体は、各地の大学病院などから寄せられ、徐々に増加の傾向にある。本年度の成績を表1に示した。通常、寄せられた検体は、測定依頼用紙に記入された臨床像、種々の検査結果などにより大

別し、疑われる種類の疾患の当該酵素群を中心にスクリーニングを行っている。例えば、精神発達遅延、軽度の骨症状を伴った9歳の女兒は、尿中ムコ多糖排泄量が、コントロールの100倍以上と著明な増加を示した。更に、ムコ多糖を、セルロースアセテート膜による電気泳動で分離したところ、ヘパラン硫酸の蓄積がみられたため、Sanfilippo 症候群を疑い、培養線維芽細胞を用いて、N-アセチル- $\alpha$ -D-グルコサミニダーゼ活性を測定した結果、活性が、コントロールの17%と、明らかに低下しており、Safilippo B と診断されたものである。

本年度の診断症例の中には、貴重な症例もあった。ひとつは、11才より手指の振戦で発症し、徐々に精神運動障害が、進行した13才の男児であり、白血球アシルスルファターゼ A の著明な低下が発見され、若年型脳白質ジストロフィーと診断された。他のひとつは、筋症状を示す42才の男性で、リンパ球中の酸性  $\alpha$ -グルコシダーゼ活性の低下を認め、糖原病 II b 型と診断された。

表1 リソゾーム病診断例

(昭和58年 4月 ~ 59年 3月)

	血液	線維芽細胞	羊水細胞	尿
総検体数	127	26	1	31
診断例数	9	9	0	4
Gaucher 病	3	5	0	0
異染性ロイコジストロフィー	2	1	0	0
$\text{GM}_1$ -ガングリオシドーシス	1	1	0	0
Fabry 病	1	0	0	0
ガラクトシアリドーシス	1	1	0	1
Pompe 病	1	0	0	0
Sanfilippo 症候群	0	1	0	2
型不明	0	0	0	1

## 7. 疾病研究第6部

### 1. 研究部一年の歩み

疾病研究第6部は昭和58年2月に部長が就任し実質的初年度を迎えた。本年度は研究部の建設が中心に行なわれた。その結果10月までに以下のメンバーがそろい、研究をスタートした。

〔部長〕田平武, 〔研究員〕並河正, 国下龍英, 〔流動研究員〕酒井宏一郎, 由村健夫, 〔賃金研究員〕遠藤真澄, 〔賃金研究助手〕野尻志津江, 〔研究員助手〕荒牧まゆみ, 立川由紀

更に59年3月より6週間, 米国 NIH の M. W. Kies 博士 (Chief, Section on Myelin Chemistry, Laboratory of Cerebral Metabolism, National Institute of Mental Health) が流動研究員として滞在され, 研究に参加した。

疾病研究第6部は脱髄疾患を研究するよう使命を受けているので, 脱髄疾患特に多発性硬化症とその動物モデルとされる実験的アレルギー性脳脊髄炎の研究を中心に以下の研究テーマをたてた。老年疾患の研究は準備中である。

#### (1) 多発性硬化症 (MS) の原因究明と治療法開発の研究

この目的達成の為に外来および入院患者のデータ収集を開始した。また髄液の Oligoclonal band 等の検査ができるようセットした。未だ症例数が少く研究の成果は不十分である。8月に MS 友の会の会員の見学があった。

1982年に実施した文部省科学研究費, 海外学術調査, フィリピンにおける神経病, 特に難病の疫学的調査研究 (主任研究者: 黒岩義五郎九州大学教授, 共同研究者: 田平武) のデータ整理を行なった。その結果赤道に近いフィリピンにも MS が少なくないこと, 急性 MS の臨床症候を示し病理学的に Balo 病 (同心円硬化症) が多発していることを見出し注目された。

#### (2) 実験的アレルギー性脳脊髄炎 (EAE) の研究

MS の動物モデルと考えられる EAE については, 最も重点的に取組んだ。

##### i) 急性 EAE の研究

急性 EAE はミエリン塩基性蛋白 (BP) に対する T 細胞の遅延型アレルギーであることが明らかになっている。細胞レベルでの発症機序を明らかにする為に BP に特異的に反応するラット T cell line の樹立に成功し (並河研究員), 目下詳細を検討中である。マウスについても成功した (酒井研

究員)。

ii) 慢性再発性 EAE の研究

MS に臨床的・病理学的に近似している慢性再発性 EAE について BP に対する遅延型過敏症と臨床経過との対応, BP, セレブロシド, ガングリオシドに対する抗体価と臨床経過との対応をみた。その結果再発初期にセレブロシド抗体の有意の高値を示す他は臨床経過と直接相関するものを見出さなかった。しかしこれらの反応が高い時に再発が高頻度に見られた。従って, 再発に関与するもう 1 つの因子が必要であることが明らかになった。

iii) EAE の抗原検索

急性 EAE の抗原は BP であることは間違いないが, 慢性 EAE の抗原は不明である。プロテオリピッドを分離精製し動物に感作し, 麻痺を示す動物を得た (国下, 由村研究員)。

iv) EAE を用いた治療法開発の研究

胸腺因子の ELISA による測定法を開発した (遠藤研究員)。

局所残存抗原除去が EAE の再発を抑制した。

サプレッサー T 細胞雑種細胞作製を手がけた。正常血清中に自己抗原に対する T 細胞の反応を抑制する因子を見出した (酒井研究員)。

(3) ミエリンの基礎的研究

- i) ミエリン内に微量存在するリン脂質合成酵素を証明した。
- ii) 迅速凍結置換法によりミエリンの形態の研究を開始した。
- iii) 新しい方法によるミエリンの分画を試み形態と化学の対応を開始した。
- iv) 組換え DNA を用いた研究に着手する準備を始めた。

(部長 田平 武)

## 2. 研究業績

### A. 論文

#### a. 原著

- 1) Tabira T, Itoyama Y, Kuroiwa Y, Kubo C, Nagai Y :  
Delayed type skin response to myelin basic protein in chronic relapsing experimental allergic encephalomyelitis  
J Neuroimmunol 5 : 295-304, 1983
- 2) Tabira T, Shibasaki H, Kuroiwa Y :

## II 研究業績

- Reflex sympathetic dystrophy (causalgia), Treatment with guanethidine  
Arch Neurol 40 : 430-432, 1983
- 3) Fujii N, Itoyama Y, Tabira T, Kuroiwa Y :  
Subsets of lymphoid cells in blood and thymus in myasthenia gravis-Monoclonal antibody analysis-  
J Neuroimmunol 4 : 151-159, 1983
- 4) Tabira T, Itoyama Y, Kuroiwa Y :  
The role of locally retained antigens in chronic relapsing experimental allergic encephalomyelitis in guinea pigs  
Experimental allergic encephalomyelitis : A useful model for multiple sclerosis (ed by Alvord E C Jr, Kies M W, Suckling A J), Alan R Liss, New York, p 43-48, 1984
- 5) 吉良潤一, 糸山泰人, 田平武, 柴崎浩, 黒岩義五郎  
日本人多発性硬化症患者の自然経過とステロイド治療についての臨床的研究  
臨床神経 23 : 646-654, 1983
- 6) 吉良潤一, 田平武, 大西晃生, 後藤幾生, 黒岩義五郎  
被角血管腫, 発汗低下を欠く非定型 Fabry 病の生化学的, 形態学的研究  
臨床神経 23 : 450-456, 1983
- 7) 吉良潤一, 田平武, 大西晃生, 後藤幾生, 黒岩義五郎  
Fabry 病における自律神経学的研究 : 発汗低下・被角血管腫・角膜混濁を欠く非定型 Fabry 病を中心として  
自律神経 20 : 237-244, 1983
- 8) Kunishita T, Ledeen RW  
Biosynthesis in myelin : Presence of CTP : Ethanolaminephosphate cytidyltransferase in purified myelin of rat brain  
J Neurochem 42 : 326-333, 1984
- 9) Taketomi T, Kunishita T, Hara A, Mizushima S  
Lipid compositions of the cerebral myelin of a patient with maple syrup urine disease  
Japan J Exp Med 53 : 109-116, 1983
- b. 著 書
- 1) Kuroiwa Y, Cuanang J, Tabira T :



An epidemiological study of neurological diseases, especially incurable diseases in the Philippines

Neurological Institute, Kyushu University, Fukuoka, 1984

2) 黒岩義五郎, 田平武

多発性硬化症

新しい病気のシリーズ1, 脳・神経・筋疾患 (織田敏次, 五島一郎編集), 朝倉書店, 東京, 1983, p 127-155

3) 柴崎浩, 田平武

多発性硬化症およびその他の脱髄疾患

内科学第3版 (上田英雄, 武内重五郎総編集) 朝倉書店, 東京, 1984, p 1362-1367

4) Tabira T :

Basic research on demyelinating diseases : Studies on morphology of the myelin sheath and demyelination

Ten Years of the Japan Medical Research Foundation, Japan Medical Foundation, Tokyo, 1983, p 187-190

5) 田平武

脱髄疾患の基礎的研究—とくに髄鞘の構造と脱髄に関する研究

医学研究振興財団10年のあゆみ, 難病に光をかかげて

医学研究振興財団, 東京, 1983, p 215-219

c. 総 説

1) 田平武

多発性硬化症および実験的アレルギー性脳脊髄炎とオリゴデンドログリア

神経進歩 27 : 154-162, 1983

2) 田平武

多発性硬化症と免疫異常

脳と神経 35 : 535-541, 1983

3) 田平武

多発性硬化症の治療

カレントセラピー 2 : 247-256, 1984

4) 田平武



## II 研究業績

### Gargoylism の顔

神経内科 20 : 238-241, 1984

#### d. 症例報告

- 1) Goto I, Nakai H, Tabira T, Shinno N, Tanaka Y, Shibasaki H, Kuroiwa Y :  
Juvenile neurogenic muscle atrophy with lysosomal enzyme deficiencies :  
New disease or variant of mucopolysaccharidosis ?  
J Neurol 229 45-54, 1983
- 2) 鈴木聡, 田平武, 後藤幾生, 黒岩義五郎, 安楽茂己  
成人発症家族性 sudanophilic leukodystrophy 単純型 :  
錐体路徴候, 初老期痴呆を主徴とする一家系  
臨床神経 23 : 32-37, 1983
- 3) 鈴木聡, 北口哲雄, 田平武, 後藤幾生, 黒岩義五郎  
脊髄小脳変性症の臨床症候を示した adrenoleukodystrophy の一例  
臨床神経 23 : 678-682, 1983
- 4) 福井律子, 石本進士, 田平武, 後藤幾生, 黒岩義五郎  
Rigid spine syndrome の一例  
臨床神経 23 : 531-538, 1983
- 5) 飛松省三, 福井律子, 田平武, 後藤幾生, 黒岩義五郎  
Sialidosis (dysmorphic type) の一例 : 自律神経機能および大脳電気生理学的研究  
臨床神経 23 : 757-763, 1983
- 6) 酒井宏一郎, 中村裕, 小林和夫, 斉藤博  
両側性緊張性瞳孔, 多発性神経炎患者にみられた recurrent brachial plexus neuropathy  
神経内科 19 : 392-394, 1983

## B. 学会発表

### a. 特別講演, シンポジウム

- 1) 田平武, 黒岩義五郎  
多発性硬化症 (MS)  
第 21 回日本医学会総会, シンポジウム「神経筋疾患最近の進歩」, 大阪, 4.10, 1983
- 2) Tabira T, Itoyama Y, Kuroiwa Y

Is continuous antigenic stimulation at the immunized loci necessary for chronic relapsing EAE ?

International Society of Neurochemists Satellite Conference on Experimental Allergic Encephalomyelitis and Multiple Sclerosis, Seattle, July 16-19, 1983

3) 田平武

実験的アレルギー性脳脊髄炎の発症機序

第19回脳のシンポジウム, 東京, 3.9, 1984

b. 国際学会

1) Tabira T, Itoyama Y, Kuroiwa Y

The role of myelin basic protein remained in the local tissue in chronic relapsing EAE

The 5th International Congress of Immunology, Kyoto, Aug. 21-27, 1983

2) Fujii N, Itoyama Y, Tabira T, Kuroiwa Y

Subsets of lymphoid cells in blood and thymus in myasthenia gravis : monoclonal antibody analysis

The 5th International Congress of Immunology, Kyoto, Aug. 21-27, 1983

3) Tabira T, Kuroiwa Y

Is chronic relapsing experimental allergic encephalomyelitis an animal model of multiple sclerosis ?

The 6th Asian Oceanian Congress of Neurology, Symposium on Multiple Sclerosis in Asia, Taipei, Nov. 13-17, 1983

4) Cuanang JR, Gamez GL, Perez MC, Lee LV, Ordinario AT, Bengzon A, Carandang BL, Kuroiwa Y, Toyokura Y, Narabayashi H, Igata A, Yamanouchi K, Sasazuki T and Tabira T

A Philippine-Japan joint study on epidemiology of multiple sclerosis in the Philippines

The 6th Asian Oceanian Congress of Neurology, Symposium on Multiple Sclerosis in Asia, Taipei, Nov. 13-17, 1983

5) Kunishita T, Morrow CR Jr, Ledeen RW

Detection of ethanolamine kinase and choline kinase in purified rat brain myelin

The 9th Meeting Internat. Soc. Neurochem, Vancouver, July 10-15, 1983

c. 一般学会

## II 研究業績

- 1) 田平武, 糸山泰人, 黒岩義五郎  
慢性再発性 EAE (CR-EAE) におけるミエリン塩基性蛋白 (MBP) に対する遅延型免疫反応の研究  
第24回日本神経学会総会, 京都, 5.25, 1983
- 2) 吉良潤一, 糸山泰人, 田平武, 黒岩義五郎, 柴崎浩  
日本人多発性硬化症患者の自然経過とステロイド治療についての臨床的研究  
第24回日本神経学会総会, 京都, 5.25, 1983
- 3) 藤井直樹, 糸山泰人, 田平武, 黒岩義五郎  
重症筋無力症患者の胸腺および末梢血リンパ球の分画: モノクローナル抗体による分画  
第24回日本神経学会総会, 京都, 5.27, 1983

## C. 班会議発表

- 1) 田平武, 国下龍英  
低酵素症におけるミエリンの形態的生化学的变化—基礎研究(1)—  
厚生省神経疾患研究委託, 低酸素症に基づく胎生期脳障害の形態的生化学的研究班 昭和58年度研究報告会, 東京, 12.3, 1983
- 2) 田平武, 遠藤真澄  
慢性再発性 EAE における各種免疫学的パラメーターの検討  
厚生省特定疾患免疫性神経疾患調査研究班, 昭和58年度研究報告会, 東京, 1.20-21, 1984
- 3) 田平武, 遠藤真澄, 並河正, 国下龍英  
アレルギー性神経炎の抗原検索と胸腺因子による治療の試み  
厚生省神経疾患研究委託, 末梢神経障害の病態とその治療に関する研究, 昭和58年度研究報告会, 東京, 2.3, 1984
- 4) 田平武, A. Ordinario, M. Peres, 立石潤, 黒岩義五郎  
Balo 病 (同心円硬化症) の2例  
文部省科学研究費海外学術調査「フィリピンにおける神経病特に難病の疫学的調査研究」総括班会議, 東京, 11.8, 1983

## 同心円硬化症 (Baló 病) の 2 例

田平 武, 立石 潤\*, 黒岩義五郎\*\*

1982年にフィリピンのマニラで行なった文部省科学研究費による海外学術調査：フィリピンにおける神経病・特に難病の疫学的調査研究（主任研究者：黒岩義五郎）に際し原因不明の脱髄性疾患で死亡した2症例の病理検査を依頼された。ホルマリン固定脳を持ち帰り検索した所2例とも典型的なBaló病であった。Baló病の報告例は我国には未だなく、欧米でも20例の報告があるのみであり、しかも最近15年間には全く報告が途絶えていた。ここに示す2例の他フィリピンに計8例の典型的Baló病が見出され、フィリピンに多発の可能性を示している。Baló病は急性致死性であり、その原因は不明である。ウイルス性白質脳炎である可能性、急性多発性硬化症の可能性等が考えられている。近年日本人の東南アジア旅行が盛んに行なわれており、日本に持込まれる可能性は否定できない。ここにその症例を呈示し、早急に更に詳細な調査が行なわれ、対策が講じられるよう注意を喚起する。

症例1, 28才女性, 美爪師, 頭痛で発症し記憶力障害が出現, 急に言葉を喋らなくなり寝たきりの状態となった。褥瘡がある他は全身所見は良好で, 神経学的に無言無動, 除皮質姿勢, 四肢反射亢進, 両便失禁の状態であった。髄液に異常なく, 血清GPTが軽度上昇していた。CTスキャンは両側前頭葉白質の蝶形低吸収域を示した。肺炎を併発し全経過2.8カ月で死亡した。両側前頭葉白質に局限した年輪様脱髄が認められ(図1), 組織学的に強い壊死, ミクログリア, 脂肪顆粒細胞の浸潤, アストログリア特にgemistocyteの増生, 軽度の線維性グリオシ

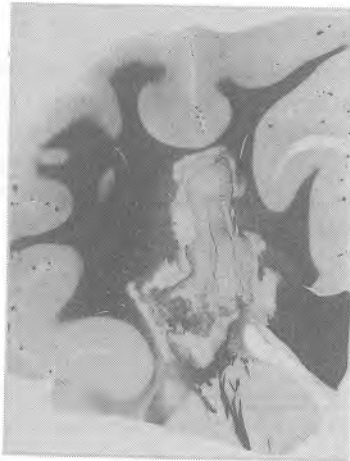


図1. 症例1前頭葉白質に年輪状脱髄を認める(KB染色, 1.3×)

ス, 血管周囲リンパ球浸潤が見られた。以上の所見から典型的Baló病と診断した。

症例2, 40才女性, 会社員, 頭痛・めまいで発症, 急に物を喋らなくなり, 歩けなくなった。軽度の貧血, 無言無動, 除皮質姿勢, 四肢反射亢進, 両便失禁を示した。検査所見は白血球増多, GPT高値を示し, CTはびまん性脳浮腫を示した。髄液正常, 全身状態の悪化, GPTの増強, 褥瘡よりの感染から全経過7カ月で死亡, 脳の外観に異常はなく, 両側大脳白質に局限した壊死性脱髄病変があり, 年輪状脱髄を示した(図2)。脳梁, 内包, 小脳, 脳幹に異常なく, U-線維は保たれ, 灰白質に異常を認めない。組織学的には壊死傾向がより強い以外は症例1と同様である。以上の所見から典型的Baló病と診断された。

はじめにも述べたようにBaló病の原因は不明であり, その疾患の位置づけも十分明らかでない。感染性は未だ明らかでないが, 急性致死性であるので, 旅行者の往来が激しい今日, 特に注意を喚起したい。更に詳細な調査が早急に行なうべく, 研究態勢を組むべきである。(追加: 近年中国から10例報告あり)

\* 九州大学医学部脳研神経病理

\*\* 同 神経内科

## REFERENCE

- 1) Balo J: Encephalitis periaxialis concentrica, Arch Neurol Psychiat, 19, 242, 1928.
- 2) Kuroiwa Y, Cuanang J, Tabira T: An epidemiological study of neurological diseases, especially incurable diseases in the Philippines, Neurological Inst., Kyushu University, Fukuoka, 1984.

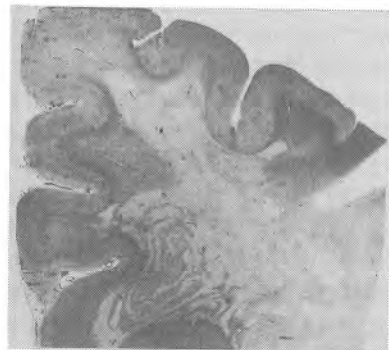


図2. 症例2, 前頭葉白質の年輪状壊死性脱髄を示す(銀染色平野変法, 1.3×)

## 慢性再発性 EAE における液性免疫反応の検討

田平 武, 遠藤真澄

## 目的

慢性再発性 EAE は多発性硬化症に類似した臨床経過と脱髓斑を示し、動物モデルとして注目されている。急性 EAE はミエリン塩基性蛋白 (BP) に対する遅延型過敏症が本態であるが、慢性再発性 EAE はその臨床経過と BP に対する皮膚遅延型反応とは相関しなかった。<sup>2)</sup>そこで、各種神経抗原に対する抗体を経時的に測定し、臨床経過と相関させることを目的として本研究を行なった。

## 方法

Strain 13 モルモットを幼若時に同種脊髄とフロインド完全アジュバンドで免疫し、感作後種々の間隔で血清を採取した。BP, セレブロシド (ウシ, Sigma type II), ガングリオシド (ウシ, Sigma type II) を抗原として ELISA 法により抗体を測定した。

## 結果 (preliminary)

BP, セレブロシドに対する抗体は第 II 期 (感作後 20~39 日) より、ガングリオシドに対する抗体は第 III 期 (感作後 40~99 日) より有意に上昇を示し、長期間高値を維持した。各ステージにおいて麻痺の有無の相関を示したのは第 III 期のセレブロシド抗体のみであった。後のステージでは抗体価と直接の相関は見られなかったが、これらに対する抗体価が高い時期に再発が頻回に認められた (Fig.)。<sup>3)</sup>

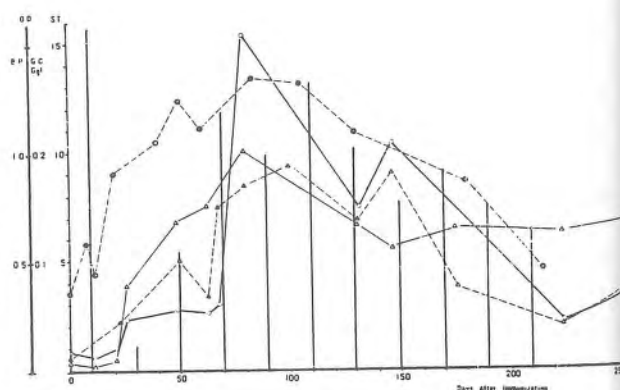
## 考察

モルモットでは BP 単独で慢性再発性 EAE を作製する事ができないので、BP+ $\alpha$  が必要である。<sup>1)</sup> $\alpha$  として脂質抗原、特に脱髓抗体を産生するガラクトセレブロシドである可能性が大である。本研究では第 III 期 (動物が最初の再発を示す時期) にセレブロシド抗体と臨床状態との間に有意の相関を認め、その仮説を支持する結果であった。しかし後のステージではセレブロシドに対する抗体価が高く、BP に対する遅延型反応も十分上昇しているにもかかわらず、直接麻痺の有無とは相関していない、このことは、再発に関係する第 III の因子が必要であることを示している。Effector 細胞の急増、サブレッサー細胞の急減、抗原提示細胞の再出現、血液脳関門の再

破壊等の可能性を考え検討中である。

## 文献

- 1) 田平武他：多発性硬化症の動物モデル—慢性再発性 EAE—, 医学のあゆみ 117 : 874, 1982.
- 2) Tabira, T. et al. : Delayed type skin response to myelin basic protein in chronic relapsing experimental allergic encephalomyelitis, J. Neuroimmunol., 5 : 295, 1983.
- 3) Tabira, T. et al. : Humoral immune response to BP, Cerebroside and Ganglioside in chronic relapsing EAE in guinea pigs, J. Neurol. Sci. 1984 (submitted).



●—● : Skin test to BP expressed by mm of erythema 24 hrs after immunization, △—△ : Antibody titers to BP, ▲—▲ : Antibody titers to cerebroside, ○—○ : Antibody titers to ganglioside, Bar graph : Disease activity (No. of relapses/animal/each 20 day period).

## ELISA による血清胸腺因子 (FTS) の測定法の開発

遠藤真澄 田平 武

血清胸腺因子 (FTS) は、サブレッサー T 細胞を誘導し、アレルギー性脳炎を抑制することが知られている。この薬理作用を詳細に検出するために、測定法の確立が必要である。現在までのところ、C57/B16マウス脾細胞とヒツジ赤血球とでロゼットを形成させ、その抑制の差で測定する生物学的測定法が主であり、これは精度、再現性とも満足のいくものではない。そこで今回我々は、FTS 抗体を作成し、これを用いて ELISA 法 (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay) による測定法の開発を試みた。

## 方法

FTS 抗体の作成は、FTS: Thyroglobulin: ECDI を 118: 1: 200 のモル比に混合し、New Zealand White Rabbit に Freund 完全アジュバンドと共に全身に皮下注射して行なった。抗体力価の測定は、マイクロプレートを用いた ELISA 法により行なった。プレート 1 well 当たり  $1 \mu\text{g}$  の FTS を coating し、 $37^\circ\text{C}$  3 時間 incubate 後、PBS-Tween で洗浄し、2% BSA で mask した。続いて抗血清を  $2^5$  倍から  $2^{17}$  倍まで段階希釈して加え、 $37^\circ\text{C}$ 、1 時間反応させた。洗浄の後、Peroxidase-Anti Rabbit IgG を加え  $37^\circ\text{C}$ 、1 時間反応後、基質溶液を加え発色させた。約 10 分後反応を止め、DYNATECH AUTO READER MR580 にて吸光度を測定した。FTS 抗体を用いての FTS の測定は、プレート 1 well 当たり  $10 \mu\text{g}$  から  $10 \text{pg}$  の FTS を加え  $37^\circ\text{C}$ 、3 時間 incu-

bate して coating し、洗浄の後、得られた抗血清を 256 倍から 10,240 倍まで希釈し、 $37^\circ\text{C}$ 、1 時間反応させた。次に Peroxidase-Anti Rabbit IgG を加え、以下は力価測定と同様の操作にて行なった。

## 結果と考察

2 羽の New Zealand White Rabbit に、FTS  $0.5 \text{ mg}$  を 10 日おきに合計 8 回接種することにより、高力価の抗体を作成することができた (Fig 1)。抗血清-1 は  $2^{17}$ 、抗血清-2 は  $2^{14}$  倍希釈まで、抗原との反応が認められた。次に、抗血清-2 (5,120 倍, 10,240 倍希釈)、と抗血清-2 (256 倍希釈) を用いての FTS の測定は、 $1 \text{ ng/well}$  を限度に可能であることが明らかとなった (Fig 2)。 $10 \mu\text{g/well}$  の濃度で O.D. 値が減少するのは、これら 3 種の濃度の抗体を用いた場合、FTS/ $\mu\text{g}$  が抗原・抗体の濃度の最適比であり、 $10 \mu\text{g}$  は抗原過剰域となるため zone phenomenon が起こるからと考えられる。また、測定感度の上昇とより特異性を増すことを目的として、抗血清に Peroxidase を標識し、これを用いてサンドイッチ法による検出を試みたが、測定は不可能であった。この理由として、FTS は分子量が 867 と小さく、そのため抗原決定基は少ないことが考えられ、少なくとも 2 つ以上の結合部位が必要であるサンドイッチ法では、測定することができなかったのではないかとと思われる。そのため、現在、抗原標識による competitive assay 法を開発中である。

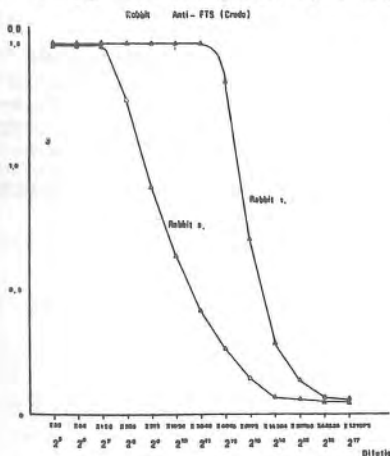


Fig 1

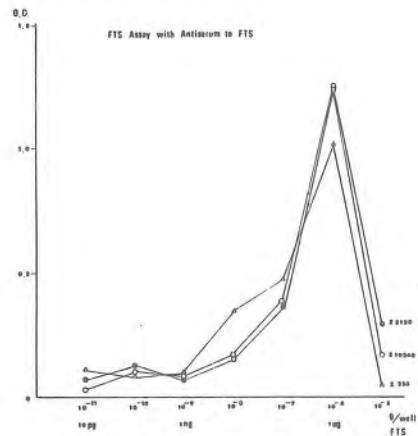


Fig 2

## BP/1 FA 感作脾細胞によるラット EAE の transfer

並河 正 M.W. Kies\* 田平 武

実験的アレルギー性脳脊髄炎 (EAE) は髄鞘塩基性蛋白 (BP) を抗原とする自己免疫性炎症性中枢神経疾患である。EAE は通常 BP/CFA (Complete Freund's adjuvant) の感作で誘導される。結核死菌を含まないアジュバンド (BP/IFA, Incomplete Freund's adjuvant) では EAE は誘導し難く、むしろ EAE に対する tolerance が誘導される。

EAE は感作リンパ球で正常動物に transfer され得るが、その際、リンパ球を *in vitro* で抗原で再刺激する事によって transfer 能は増強する。今回、BP/IFA 感作リンパ球に対して、*in vitro* での抗原での再刺激がいかなる効果を及ぼすかを検討してみた。

## 材料と方法

2-3 月齢、雌ルイス・ラットをモルモット由来の BP と IFA で 2 週間に亘り 8 回、両側腹部の皮内に免疫した。(100 $\mu$ gBP $\times$ 8)。これらのラットの一部分は、臨床症状の観察と病理学的検索に用い、他のラットは BP/IFA 感作終了 3 日目に、その脾細胞を BP, Con A, ヒストン、あるいは何も加えずに 3 日目培養して後、正常ラットに transfer した。正常脾細胞を同条件で BP と培養して transfer も行った。BP/CFA (25 $\mu$ gBP, 100 $\mu$ gH<sub>37</sub>Rv), BP/IFA 感作脾細胞を BP で 96 時間, ConA で 72 時間培養して、細胞の増殖反応を<sup>3</sup>H・サイミジンの取り込みで検した。

## 結果と考察

BP/IFA 感作では 8 匹中 1 匹が軽度の tail atony を示したのみで、病理組織学的にも 7 匹中 2 匹が軽度の炎症細胞浸潤を示したのみで一般に nonencephalitogenic であった。BP/CFA 免疫では 7 匹の全例が、重症の EAE を呈した。しかしながら、BP/IFA 感作脾細胞は、*in vitro* で BP と培養すると、EAE を transfer できるようになった (表 1)。その能力は BP/CFA 感作脾細胞と殆んど同じであった。この効果が抗原特異的で Con A, ヒストン、あるいは何も加えずに培養した脾細胞では EAE を transfer する事はできなかった。又、正常脾細胞を BP と培養しても病気を transfer できなかった事より、*in vitro* での細胞の transfer 能の増強のメカニズムとして、抗原の carry-over や、抗原を提示したマクロファージによるものとは考え難い。

BP/IFA 脾細胞は、その活性化の過程で抗原特異的な増殖反応を伴わなかった (表 2)。この点は、Con A が同脾細胞による EAE の transfer に対し無効である事とともに、BP/CFA 脾細胞と異なる点であった。

BP/IFA は tolerogen であるとともに、EAE effector 細胞の前駆細胞をも誘導する事が示された。

\* NIMH, NIH

表 1 Transfer of EAE with BP/IFA sensitized spleen cells<sup>a</sup>

Antigen or mitogen in culture <sup>b</sup>	EAE in recipients No. cells transferred ( $\times 10^5$ )				
	0.5	1	2-5	10	20-30
BP, 10 $\mu$ g/ml	2/4 <sup>c</sup> (0.25) <u>(1.2)</u>	4/4 (1.5) <u>(1.0)</u>	11/13 (2.3) <u>(1.8)</u>	9/9 (4.5) <u>(2.2)</u>	
Con A, 1 $\mu$ g/ml 10 $\mu$ g/ml				0/5 0/1	0/2 0/1
Histone, 10 $\mu$ g/ml				0/2	0/1
(-) <sup>d</sup>				1/2 (0.3) <u>(0.5)</u>	0/3 (0) <u>(0.2)</u>
(Naive spleen cells) BP, 10 $\mu$ g/ml					0/2

\* No. clinically positive/No. recipients; average clinical and histologic scores in parentheses; histologic scores underlined. Histologic and clinical scores were omitted when all animals in a group were negative. Clinical scores 0-6, Histologic scores 0-3.

表 2 Proliferative response of BP-sensitized spleen cells

Antigen or mitogen in culture	<sup>3</sup> H-TdR incorporation (cpm)	
	BP/IFA Spleen cells <sup>a</sup>	BP/CFA spleen cells <sup>b</sup>
(-)	3,329 $\pm$ 89	2,427 $\pm$ 90
BP, 10 $\mu$ g/ml	1,234 $\pm$ 89	18,250 $\pm$ 1,385
(-)	4,682 $\pm$ 45.3	1,685 $\pm$ 165
Con A, 1 $\mu$ g/ml	278,992 $\pm$ 24,827	278,312 $\pm$ 35,510



# ラット脳ミエリンの Ethanolamine Kinase と Phosphatidylethanolamine 合成酵素活性の発育に伴う変化

国下龍英 Ledeen, R.W.\*

Phosphatidylethanolamine は ethanolamine から ethanolamine phosphate, CDP-ethanolamine の順に合成される。リン酸転移酵素, シチジン転移酵素の存在はすでにミエリンで確認されている(1), (2)。今回は最初の反応を触媒するキナーゼについて検討するとともに, 上記三酵素の発育に伴う活性変化を調べた。

## 材料と方法

Sprague-Dawley ラット大脳を用いた。ミエリンは他画分の混入を最小限にとどめるため, ショ糖密度勾配による昇降法により調整した。キナーゼ活性はグリシリンバッファー中で測定した。リン酸転移酵素, シチジン転移酵素の活性は, それぞれ文献(1), (2)によった。

## 結果

キナーゼ活性の細胞内分布を表1に示した。ミエリンは17%の相対活性を持っていた。至適 pH は8.5-8.6で, 塩化カリウム存在下20%の活性増加が見られた。Triton CF-54は活性に影響を与えなかった。ethanolamine に対する Km 値はミエリン, マイクロソーム, サイトゾールではほぼ一致した ( $6.0-6.7 \times 10^{-4} M$ )。ATP に対するそれはミエリンで  $4.6 \times 10^{-4} M$  と他に比べて低かった (他画分:  $2.3-3.0 \times 10^{-3} M$ )。

図1に示すように, ミエリンの phosphatidylethanolamine 合成酵素活性は20-30日に最大を示した。サイトゾールも同時期にピークを持っていたが, 加齢によりさらに酵素活性は増加する傾向にあった。キナーゼおよびシチジン転移酵素に関してマイクロソームは20-30日と60日にそれぞれ二つの最大活性を示したが, リン酸転移酵素では日令30日に明確な最大活性が見られた。

## 考察

ミエリンに phosphatidylethanolamine 合成酵素系が存在し, それらの活性最大期がミエリン形成の最も活発な時期と一致することは, これらの酵素がオリゴ細胞の酵素群とともにミエリン形成に関与していることを強く示唆している。さらにこれらの活性の消失が日令30日以降も見られないことから, 局

部的にしろミエリンの維持に関わっている可能性が示された。

\* Albert Einstein College of Medicine, Neurology.

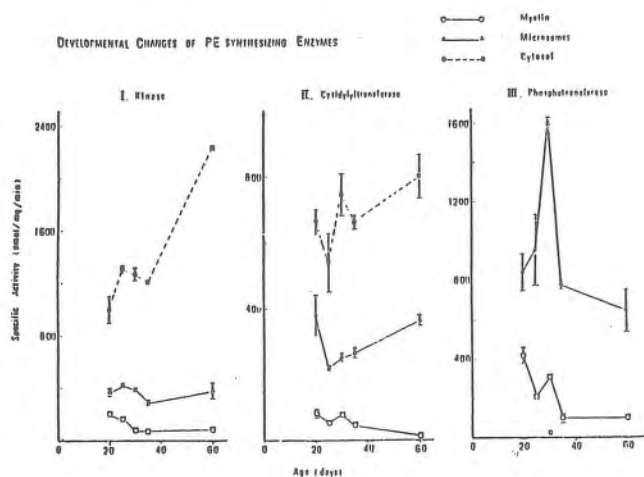
## 文献

- (1) Wu P-S. and Ledeen R.W., J. Neurochem., 35, 659-666, 1980.
- (2) Kunishita T. and Ledeen R.W., J. Neurochem., 42, 326-333, 1984.

### ETHANOLAMINE KINASE DISTRIBUTION

Fraction	Specific Activity pmol/ng/min	RSA
homogenate	492 ± 64 (3)	1.00
P <sub>1</sub>	295 ± 48 (3)	0.60
P <sub>2</sub>	380 ± 24 (3)	0.77
microsomes	382 ± 18 (13)	0.78
cytosol	1170 ± 58 (14)	2.37
myelin	87 ± 2 (9)	0.17

Subfractions prepared in presence of 2 mM DTT. Assayed with Triton CF-54. Mean ± SD.





## 8. 診断研究部

### 1. 研究部一年の歩み

昭和58年度は、研究員の等々力英美、流動研究員の鎌田智が転出し、増田郁子が新しく研究グループに参加し、概ね57年度の研究を継続し発展させた。研究の中はかなり拡大しつつあるが、概ね3分野に分けられる。以下研究の進展の状況を略述する。

#### 1) 代謝異常・内分泌異常のスクリーニングに関する研究

先天性甲状腺機能低下症に関する研究としては、5年間続けられた TSH 測定によるスクリーニングと、 $T_4$ によるものとの比較研究が58年度末で終了した。わが国で初めて発表された TSH 測定法の方が、種々の面で  $T_4$ 測定法よりも優っていることが証明された。このような規模での比較は他に全く類を見ないので、他の国にとっても重要な資料となるものと思われる。

酵素免疫測定法 (EIA) に関しては、TSH 測定試薬は明らかに RIA よりも高感度であることを証明した。 $T_4$ 測定法については、今年も種々研究を続行したが、まだ完成には至っていない。

先天性副腎過形成症のスクリーニングに関しても EIA 法によるスクリーニングの研究が続けられ、理論的にはマススクリーニングへの応用が可能と考えられる。ただ、残念ながら、新生児検体を多数入手することが出来ず、これ以上の研究の発展は困難である。

有機酸代謝異常のスクリーニングについては、疑わしい症状のある新生児・乳児の検査を行うハイリスクスクリーニングの確立が、わが国での急務とも考えられるが、このための新しい方法の開発研究が進められている。

精度管理については、厚生省および日本公衆衛生協会と協力して行っており、西ドイツ、ブルガリア、中国（上海）、台北のスクリーニングに関しても精度管理を依頼されている。

#### 2) 安定同位体を用いた生体内代謝分析に関する研究

昨年に引続き、重水素標識のフェニールアラニン、チロシン、トリプトファン、ドーパなどを用い、生体内のアミノ酸、アミンなどの代謝回転を測定する研究を行っている。微量の物質の中の重水素標識物質を正確に測定するために、負イオン化学イオン化 GC/MS を開発し、アミン関連物質、セロトニンなどの超微量定量法を確立した。

そして、これらの方法により、うつ病、小児自閉症における代謝障害を示唆する所見を得ている。前者ではチロシン代謝障害であり、58年度は主として、障害部位を分析するための研究を行った。

後者ではフェニールアラニン、トリプトファンの腸管より血中への取り込みの障害という思いがけない所見である。自閉症では血中セロトニンの高いことも知られており、またうつ病でもセロトニン異常を示唆する報告も多い。そこで本年度は、生体内でトリプトファン・セロトニン系の代謝を分析するための基礎的な方法の開発、必要な安定同位体標識物質の合成のための研究を行い、初期の目的を達成した。

### 3) 神経ペプチドの研究

神経ペプチドの種類が増加するにつれ、その役割の重要性の認識も広がりつつある。これらの物質の神経系機能に対する調節的役割の研究は、精神神経疾患の診断に関しても重要である。今年も昨年に続き、神経ペプチドの測定法の開発、脳の機能の変化と脳内ペプチドの関係の分析などを行っている。CCK (cholecystokinin octapeptide), あるいは GRP (gastrin relating peptide) について新しい分析方法を開発し、脳内分布を分析している。また、ソマトスタチンとけいれんとの関係についての研究も進展しており、さらに睡眠物質として話題になっている DSIP (delta sleep-inducing peptide) についての研究も継続して行われている。またこれらのペプチドと各種疾患との関連の分析が大切であるが、これらの特質について血中のみでなく、脊髄液中における変動を分析するための研究も進められている。

(部長 成瀬 浩)

## 2. 研究業績

### A. 論文

#### a. 原著

- 1) Arakawa H, Maeda M, Tsuji A, Naruse H, Suzuki E, Kambegawa A : Fluorescence enzyme immunoassay 17  $\alpha$ -hydroxyprogesterone blood sample on filter paper and its application to mass screening for congenital adrenal hyperplasia  
Chem Pharm Bull 31 : 2724-2731, 1983
- 2) Suwa S, Naruse H :  
Influence of pimozide on hypothalamo-pituitary function in children with behavioral disorders  
J Psychoneurological Pharm. 9 : 37~44, 1984
- 3) Hayashi T, Tsuchiya H, Naruse H :

Reversed-phase ion-pair chromatography of amino acids

—Application to the determination of amino acids in plasma and dried blood on filter papers

J Chromatogr 274 : 318-324, 1983

- 4) Todoriki H, Hayashi T, Naruse H, Hirakawa A :

Sensitive high-performance liquid chromatographic determination of catecholamines in rat brain using a laser fluorimetric detection system

J Chromatogr 276 : 45-54, 1983

- 5) Hayashi T, Tsuchiya H, Naruse H :

The stabilization of  $\alpha$ -keto acids in biological samples using hydrazide gel column treatment

Clin Chim Acta 132 : 321-325, 1983

- 6) Tsuchiya H, Hashizume I, Tokunaga T, Tatsumi M, Takagi N, Hayashi T :

High-performance liquid chromatography of  $\alpha$ -keto acids in human saliva

Archs Oral Biol 28 : 989-992, 1983

- 7) Hayashi T, Naruse H, Iida Y, Daishima S :

Effective determination of phenylalanine, tyrosine and related compounds in negative ion chemical ionization mass spectrometry

Mass Spectroscopy 31 : 205-212, 1983

- 8) 林時司, 小田島あゆみ, 土屋博紀, 成瀬浩 :

逆相イオン対クロマトグラフィーを利用するアミノ酸自動分析機の試作

分析化学 32 : 692-697, 1983

- 9) Kuzuya M, Okuda T, Hayashi T, Naruse H, Iida Y, Daishima S :

Molecular orbital studies on the relative sensitivity and the nature of the fragmentation from molecular ion of some biologically important compounds for analytical application of negative ion chemical ionization mass spectrometry

Mass Spectroscopy 31 : 265-274, 1983

- 10) Hayashi T, Naruse H, Kamada S, Iida Y, Daishima S, Kuzuya M, Okuda T :

Effective derivatization of indole compounds in negative ion chemical ionization mass spectrometry

Mass Spectroscopy 31 : 281-295, 1983

- 11) 林時司, 鎌田智, 成瀬浩, 飯田芳男 :  
負イオン化学イオン化質量分析法の医学・生化学領域への応用 (IV) トリプトファン-セロトニン代謝の安定同位体トレーサー実験に関する研究  
医用マス研究会講演集 8 : 165-168, 1983
- 12) 鎌田智, 林時司, 成瀬浩, 飯田芳男 :  
重水素アミノ酸を用いた生体内代謝変化の研究(III) チロシン, カテコールアミン代謝系の分析  
医用マス研究会講演集 8 : 169-172, 1983
- 13) Tsuchiya H, Hayashi T, Sato M, Tatsumi M, Takagi N :  
Simultaneous separation and sensitive determination of free fatty acids in blood plasma by high-performance liquid chromatography  
J Chromatogr, in press
- 14) Tsuchiya H, Tatsumi M, Ogawa T, Osasa N, Takagi N, Hayashi T :  
Stability of salivary  $\alpha$ -keto acids  
J Gifu Dent Soc, in press.
- 15) Kato N, Higuchi T, Friesen H. G, Wada J. A :  
Changes of immunoreactive somatostatin and  $\beta$ -endorphin content in rat brain after amygdaloid kindling  
Life Sci 32 : 2415-2422, 1983
- 16) Higuchi T, Sikand G. S, Kato N, Wada J. A, Friesen H. G :  
Profound suppression of kindled seizures by cysteamine : possible role of somatostatin to kindled seizures  
Brain Res 288 : 359-362, 1983
- 17) Kato N, Honda Y, Ebihara S, Naruse H, Takahashi Y :  
Development of enzyme immunoassay for delta-sleep inducing peptide (DSIP) and determination of metabolic clearance rate of DSIP administered to dogs  
Neuroendocrinology, in press

b. 著 書

- 1) 成瀬浩, 鈴木恵美子 :  
原因と診断：発生と予防

精神発達障害（上出弘之，山口薫編）

第1巻，日本文化社，東京，1983，p 199-233

2) 成瀬浩：

精神薄弱

Prescription for Brain Diseases & Mental Disorders（金子仁郎編），世界保健通信社，  
東京，1983，p 332-337

3) 成瀬浩：

小児行動異常の客観的判定のための評価尺度について

Prescription for Brain Diseases & Mental Disorders（金子仁郎編），世界保健通信社，  
東京，1983，p 400-409

4) 成瀬浩，中川四郎：

他の疾患との関連

精神薄弱II，てんかん学（秋元波留夫，山内俊雄編）岩崎学術出版社，東京，1984，  
p 399-409

5) 成瀬浩：

精神薄弱児（者）の医療・教育・福祉

R. Koch 著（桜井，伊藤，成瀬，宮本，小松訳）岩崎学術出版社，東京，1983

6) Friesen H. G, Cowden E. A, Rowe R. C, Klindt J, Kato N：

Prolactin : a new assay-a new dimension

Prolactin and Prolactinomas (eds. by G. Tolis et al.), Raven Press, New York, 1983,  
p 1-7

c. 総 説

1) 成瀬浩：

特集：児童精神医学の現状と将来

1) 精神薄弱—診断と治療をめぐって

精神医学 25：799-809，1983

2) 成瀬浩：

病態生理と薬物療法：精神薄弱

薬事 25：885-890，1983

3) 成瀬浩：

新生児スクリーニング国際会議を終えて

代謝異常スクリーニング研究会々報 7:13-33, 1983

4) 成瀬浩 :

精神遅滞児の取扱い方

小児科診療, 47:168-172, 1983

5) 成瀬浩 :

アミノ酸代謝障害の神経症状と治療

神経精神薬理, 6:115-125, 1984

6) 成瀬浩 :

精神疾患へのアプローチ: 精神遅滞

日本医事新報 No.3126, 122-125, 1984

7) 加藤進昌 :

小児期ホルモン異常の診断と予防—神経精神科領域から—

神経精神薬理 6(2):127-134, 1984

e. 班会議報告書

1) 成瀬浩, 林時司, 鎌田智, 鈴木恵美子, 高橋良, 高城昭紀, 別府千賀子 :

安定同位体を用いた, うつ病のアミノ酸アミン代謝の研究

厚生省神経疾患・そううつ病の生物学的成因, 特に代謝障害に関する研究班

昭和57年度研究報告書, 1983, p 27-34

2) 成瀬浩, 林時司, 等々力英美 :

有機酸代謝異常症の地域的スクリーニングシステムの確立について

厚生省神経疾患・精神遅滞の本態および成因に関する開発的研究班 昭和57年度研究報告

書, 1983, p 67-74

3) 成瀬浩, 加藤進昌, 鈴木恵美子, 百瀬妙, 辻章夫, 荒川秀俊, 入江実 :

酵素免疫測定法を用いた新生児スクリーニングについて

厚生省心身障害研究・小児慢性疾患(内分泌, 代謝, 血液系)に関する研究班

昭和57年度研究報告書, 1983, p 64-65

4) 成瀬浩, 百瀬妙, 熊田淳子 :

TSH および T<sub>4</sub>両方測定によるクレチン症スクリーニング結果

厚生省心身障害研究・小児慢性疾患(内分泌, 代謝, 血液)に関する研究班

## II 研究業績

昭和57年度研究報告書, 1983, p 160-161

- 5) 成瀬浩, 林時司, 等々力英美 :  
アミノ酸, 有機酸の新しい測定法の開発  
厚生省心身障害研究・先天異常のモニタリングに関する研究班 昭和57年度研究報告書,  
1983, p 239-240
  - 6) 野口拓郎, 五十嵐良雄, 湊川文子, 原律子, 庄司和春, 渡辺倫子, 永木茂, 加藤進昌 :  
ハロペドールの急性, および慢性投与による薬物脳内濃度, プロラクチン,  $\beta$ -エンドルフィン  
値の変動  
厚生省神経疾患・精神分裂病の生物学的成因及び病態に関する研究班 昭和57年度研究報告  
書, 1983, p 95-105
- f. その他
- 1) 成瀬浩 :  
小児精神薬理研究会印象記  
脳と発達 15 : 268-270, 1983

## B 学会発表

- a. 特別講演, シンポジウム
- 1) Naruse H :  
Organization of Neonatal Screening in Japan  
Symposium : Neonatal Screening of Inborn Errors of Metabolism  
XII International Congress of Pediatrics, Manila, Nov. 7-12, 1983 (Abstracts 2 : 356)
  - 2) Naruse H :  
Neonatal Screening in Japan  
Symposium on Screening for Prevention of Mental Retardation and Developmental  
Disabilities, Taipei, Mar. 30, 1984
  - 3) 林時司, 小田島あゆみ, 土屋博紀, 成瀬浩 :  
逆相イオンペアクロマトグラフィーを利用するアミノ酸分析  
第6回生体成分の分析化学シンポジウム, 札幌, 9.29-30, 1983 (講演要旨集 p9)
  - 4) 樋口輝彦, 加藤進昌, Friesen H. G, Wada J. A :  
チステアミンおよび抗ソマトスタチン抗体のラット扁桃核キンドリングに対する抑制効果

第17回日本てんかん学会シンポジウム  
 京都, 11.10-11, 1983 (要旨集 p. 15)

b. 国際学会

- 1) Naruse H, Hayashi T, Kamada S, Suzuki E, et al :  
 Metabolic study of aromatic amino acids using a stable isotope in depression  
 VII World Congress of Psychiatry, Vienna, July. 11-16, 1983 (Abstract p. 281)
- 2) Yamazaki K, Takesada M, Naruse H, Shirahashi K, Nakane Y :  
 Problems connected with evaluation of drug therapy  
 VII World Congress of Psychiatry, Vienna, July. 11-16, 1983 (Abstract p. 537)
- 3) Kato N, Nagaki S, Naruse H, Honda Y, Ebihara S, Takahashi Y :  
 Enz meimmunoassay of delta-sleep inducing peptide (DSIP) : plasma clearance of DSIP  
 administered to monkey and dogs  
 4th International Congress of Sleep Research, Bologna, Italy, July. 18-22, 1983 (Abstract  
 p. 211)
- 4) Nagaki S, Kato N, Watanabe N, Naruse H, Namura I, Saito Y, Takahashi Y :  
 Presence of DSIP-like material in rat brain at low level and in human plasma with  
 possible diurnal variation  
 4th International Congress of Sleep Research, Bologna, Italy, July. 18-22, 1983 (Abstract  
 p 210)

c. 一般学会

- 1) 成瀬浩, 林時司, 武貞昌志 :  
 小児自閉症の代謝障害の研究 (第一報)  
 \* 第6回日本生物学的精神医学会, 東京, 3.23-24, 1984 (抄録集 p. 83)
- 2) 鎌田智, 林時司, 成瀬浩, 飯田芳男 :  
 フェニールアラニン, チロシンおよび代謝産物の PFB 誘導体化による負イオン化学イオン化  
 質量分析  
 日本薬学会第103年会, 東京, 4.4-6, 1983 (講演要旨集, p. 539)
- 3) 等々力英美, 林時司, 成瀬浩, 土屋博紀 :  
 HPLC による芳香族有機酸代謝異常症の検索システム—Peroxidase を利用した検出系—  
 日本薬学会第103年会, 東京, 4.4-6, 1983 (講演要旨集 p. 565)



- 4) 土屋博紀, 高木順彦, 林時司, 成瀬浩 :  
Alcoholdehydrogenase (ADH)を用いた有機酸のケイ光検出法  
日本薬学会第103年会, 東京, 4. 4-6, 1983 (講演要旨集 p. 565)
- 5) 林時司, 鎌田智, 成瀬浩, 飯田芳男 :  
負イオン化学質量分析法の医学・生化学領域への応用 (IV) トリプトファン-セロトニン代謝  
の安定同位体トレーサー実験に関する研究  
第8回医用マス研究会, 米子, 10.13-15, 1983 (講演集 p. 165)
- 6) 鎌田智, 林時司, 成瀬浩, 飯田芳男 :  
重水素標識アミノ酸を用いた生体内代謝変化の研究 (III) チロシン, カテコールアミン代謝系  
の研究  
第8回医用マス研究会, 米子, 10. 3-5, 1983 (講演集 p. 169)
- 7) 林時司, 成瀬浩, 土屋博紀 :  
逆相イオンペアクロマトグラフィーを利用するアミノ酸アナライザー —溶媒プログラマー  
の開発とその利用—  
第23回日本臨床化学会年会, 大阪, 11. 1-2, 1983 (講演要旨集 p. 48)
- 8) 土屋博紀, 高木順彦, 林時司, 成瀬浩 :  
高速液体クロマトグラフィーによる血中脂肪酸の高感度分析  
第23回日本臨床化学会年会, 大阪, 11. 1-2, 1983 (講演要旨集 p. 89)
- 9) 林時司, 増田郁子, 成瀬浩 :  
逆相イオンペアクロマトグラフィーを利用する自動アミノ酸分析計の開発  
第11回代謝異常スクリーニング研究会, 東京, 1.20-21, 1984 (予稿集 p. 12)
- 10) 白根秀夫, 石井澄和, 鈴木恵美子, 熊田淳子, 永山素男, 成瀬浩, 他 :  
TSH-EIA (競合法) の改良についての検討  
第11回代謝異常スクリーニング研究会, 東京, 1.20-21, 1984 (予稿集 p. 18)
- 11) 手塚高, 和智周明, 林時司 :  
新しいコンティニューアスグラージェントプログラマーの開発  
第27回液体クロマトグラフ研究会, 京都, 2. 1-2, 1984 (講演要旨集 p. 63)
- 12) 和智周明, 手塚高, 林時司 :  
コンティニューアスグラージェント溶離法によるアミノ酸分析計の開発  
第27回液体クロマトグラフ研究会, 京都, 2. 1-2, 1984 (講演要旨集 p. 67)

- 13) 等々力英美, 林時司, 成瀬浩 :  
HPLC によるグリオキサール酸の高感度定量  
日本薬学会第104年会, 仙台, 3.28-30, 1984 (講演要旨集 p. 560)
- 14) 土屋博紀, 高木順彦, 林時司, 成瀬浩 :  
高速液体クロマトグラフィーによるアミノ酸分析  
日本薬学会第104年会, 仙台, 3.28-30, 1984 (講演要旨集 p. 560)
- 15) 林時司, 成瀬浩, 飯田芳男 :  
負イオン化学イオン化質量分析法によるセロトニン, トリプタミンの高感度定量法  
日本薬学会第104年会, 仙台, 3.28-30, 1984 (講演要旨集 p. 595)
- 16) 加藤進昌, 永木茂, 渡辺倫子, 成瀬浩, 高橋康郎, 苗村育郎, 斉藤陽一 :  
酵素免疫測定法による DSIP の測定とヒト末梢血中およびラット脳内 DSIP 様物質の同定  
第 8 回日本睡眠学会, 久留米, 5.12-13, 1983 (要旨集 p. 51)
- 17) 五十嵐良雄, 庄司和春, 加藤進昌, 渡辺倫子, 野口拓郎 :  
精神疾患における domperidone 負荷後の prolactin 反応性  
第56回日本内分泌学会秋季大会, 東京, 11.4-5, 1983 (要旨集 p. 1510)
- 18) 永木茂, 加藤進昌, 五十嵐良雄, 渡辺倫子, 村上昇 :  
ソマトスタチンの脳室内投与によるけいれんおよび発作性脳波異常の発現について  
第17回日本てんかん学会, 京都, 11.10-11, 1983 (要旨集 p. 66)
- 19) 加藤進昌, 樋口輝彦, 渡辺倫子, 永木茂, 五十嵐良雄 :  
Cholecystokin octapeptide (CCK-8s) の酵素免疫測定法の開発 —ラット脳内分布様式の検討—  
第 6 回日本生物学的精神医学会, 東京, 3.23-24, 1984 (要旨集 p. 110)
- 20) 渡辺倫子, 加藤進昌, 永木茂, 五十嵐良雄, 矢内原昇 :  
Gastrin-releasing peptide (GRP)様免疫活性のラット脳内分布 —ハロペリドール投与の影響について—  
第 6 回日本生物学的精神医学会, 東京, 3.23-24, 1984 (要旨集 p. 112)

## C 班会議発表

- 1) 成瀬浩 :  
新生児スクリーニングと筋ジストロフィー症

- 厚生省神経疾患・筋ジストロフィー症の疫学，臨床および治療に関する研究班 昭和58年度ワークショップ，東京，10.29，1983
- 2) 加藤進昌，樋口輝彦，永木茂，五十嵐良雄，Friesen H. G, Wada J. A :  
扁桃核キンドリングにおける脳内ソマトスタチンの関与について  
厚生省神経疾患・難治性てんかんの成因と治療に関する研究班 昭和58年度研究報告会，東京，12.19，1983
- 3) 成瀬浩，林時司，鎌田智 :  
安定同位体を用いたうつ病のアミノ酸，アミン代謝変動の研究 (II)  
厚生省神経疾患・そううつ病の生物学的成因，特に代謝障害に関する研究班 昭和58年度研究報告会，東京，2.2，1984
- 4) 野口拓郎，加藤進昌，樋口輝彦，渡辺倫子，永木茂，五十嵐良雄 :  
Cholecystokin octapeptide 定量の基礎的検討とその応用  
厚生省神経疾患・精神分裂病の生物学的成因及び病態に関する研究班 昭和58年度研究報告会，東京，2.3，1984
- 5) 成瀬浩，鈴木恵美子 :  
わが国の新生児スクリーニングシステムの体制に関する研究  
厚生省心身障害・先天代謝異常マススクリーニング研究班 昭和58年度研究報告会，名古屋，2.4，1984
- 6) 成瀬浩，鈴木恵美子，辻章夫 :  
酵素免疫測定法による先天性副腎皮質過形成症のスクリーニング  
厚生省心身障害・新しいマススクリーニングの開発に関する研究班 昭和58年度研究報告会，東京，2.9，1984
- 7) 成瀬浩，熊田淳子 :  
TSH・T<sub>4</sub>同時測定によるクレチン症のスクリーニング  
厚生省心身障害・クレチン症に関する研究班 昭和58年度研究報告会，東京，2.10，1984
- 8) 成瀬浩，鈴木恵美子 :  
EIAによるクレチン症スクリーニング  
厚生省心身障害・クレチン症に関する研究班 昭和58年度研究報告会，東京，2.10，1984
- 9) 成瀬浩 :  
有機酸代謝異常症スクリーニングの経験と新しい分析機器の開発

厚生省神経疾患・精神遅滞の本態および成因に関する開発的研究班 昭和58年度研究報告  
会, 東京, 2.18, 1984

#### D 研究会など

- 1) 加藤進昌, 渡辺倫子, 成瀬浩 :

ホバンテン酸カルシウム投与のラット脳内神経ペプチド, 特にソマトスタチンに及ぼす影響  
第2回ホバンテン酸カルシウム基礎研究会, 大阪, 9.3, 1983

- 2) 野口拓郎, 加藤進昌, 五十嵐良雄 :

分裂病と神経ペプチド

精神分裂病の成因と病態シンポジウム 静岡県裾野, 10.8-9, 1983

- 3) 成瀬浩 :

ヒト in vivo の代謝分析

第4回精神神経疾患 PET 研究会, 東京, 12.8, 1983

## 3. 主な研究報告 1

## 酵素免疫測定法による先天性副腎皮質過形成症のスクリーニング

鈴木恵美子, 成瀬 浩, 辻 章夫\*

先天性副腎皮質過形成症 (Congenital adrenal hyperplasia CAH と略) は, ステロイドの生合成に必要な酵素が先天的に欠損しているために起こる疾患である。この疾患の大半は, 21-hydroxylase の欠損によるものである。最近の分献によると新生児 1~2 万人に 1 人の発生率とも言われ, CAH の大半をしめる塩喪失型においては, 新生児・乳児期に重篤な症状になり死亡する例がある。また単純型でも女兒では外性器異常, 男児では性早熟を伴ない社会生活に支障をきたすため, 本症の早期治療の必要性が強調されている。我々は, 先に EIA 法で 17- $\alpha$ -hydroxy-progesterone (17-OHP) を測定する本疾患のスクリーニング法を報告したが, この方法は未熟児・低体重児などには実施困難ではないかという意見があり, この点の解明のため以下の研究を行った。

## 方法

昭和大学と協力して作製した peroxidase を標識酵素とし, 第 2 抗体固相化法を用いた EIA 法を採用した。対象は, 千葉県的新生児センターに入院の患者 (未熟児, 低体重児など) と一般新生児 (正常児群) とした。使用した検体は直径 3 mm の血液濾紙 1 枚であり, 検体の処理には直接法 (血液濾紙を未処理で使用) と抽出法 (エーテル抽出) を行った。

## 結果

生後 5 日付近で採血された一般新生児検体を直接法で測定すると, 3% が 17-OHP 値 50 pg/disc 以上

を示した。しかしこれらの検体もエーテル抽出法で測定すると, すべて 50 pg/disc 以下となった (図 1)。

新生児センターに入院の患児は, 生後 1~2 日目で採血し, そして哺乳良好になった時点で 2 回目の採血 (多くは生後 5 日以降) を行った。第 1 回目採血の検体を直接法で測定すると 50 pg/disc 以上が 70% であり, 同検体をエーテル抽出法で測定すると 50 pg/disc 以上は 25% となった。さらに同一人物の第 2 回目採血の検体を直接法で測定すると 50 pg/disc 以上が 50% だが, 抽出法で測定すると全て 50 pg/disc 以下となった (図 2)。

## 考察

一般新生児であれば直接法でのスクリーニングが可能で, 17-OHP 濃度が 50 pg/disc 以上の 3% を抽出法で測定すればよいが, 未熟児や低体重児の場合にはそのデータが不足していた。しかし, 今回対象とした新生児の入院患者は, 低体重児が全体の 40% であり, かなり未熟性の高い症例が多かったが, 生後 5 日以降の採血の検体であれば, 抽出法で測定すると 50 pg/disc 以下となることがわかった。実際のスクリーニングにおいては, 採血時期は生後 5 日以降なので, 抽出法を用いれば未熟児や低体重児に関しても問題はない。

一般新生児の結果とあわせて考えると, スクリーニングとしては, まず直接法で行ない, 50 pg/disc 以上についてのみ抽出法で測定することにより, 異常群を効率よく発見できると考えられる。

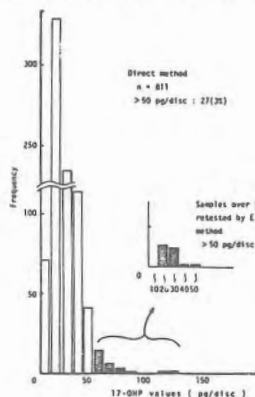


図 1 一般新生児の 17-OHP 分布

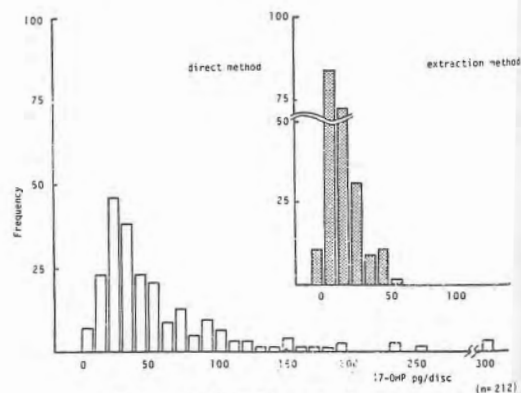


図 2 未熟児群の 17-OHP 分布

\* 昭和大学薬学部

## 先天性甲状腺機能低下症スクリーニングの研究

成瀬 浩, 熊田淳子, 鈴木恵美子, 加藤進昌  
 入江 実\*, 辻 章夫\*\*, 坂井由美\*, 中島博徳\*\*\*  
 皆川 進\*\*\*\*

先天性甲状腺機能低下症（クレチン症）スクリーニングの研究は、去年に引続き、酵素免疫測定法（EIA）の研究と、スクリーニングのための2つのパラメーターである、TSH 測定法と  $T_4$  測定法の比較の研究とに別れている。

## 1) EIA の発展

既にわれわれは、クレチン症スクリーニングのためのEIAを開発し、高感度のTSH測定用EIAを発表した。現在迄のクレチン症スクリーニングは、RIAにより、濾紙血中のTSHを測定していたが、この場合少くとも、濾紙血3mmディスク2枚（全血約6 $\mu$ lに相当）が必要であり、もっとも高感度のもので、5 $\mu$ U/mlの濃度の正確な測定は困難であった。現在われわれの発表したEIAは、3mmディスク2枚用いれば5 $\mu$ U/mlの濃度のTSH測定は可能であり、3mmディスク1枚でも、10 $\mu$ U/mlのものが、B/Boで80%以下である。現在クレチン症スクリーニングは、カットオフ値が15 $\mu$ U/ml前後なので、3mmディスク1枚でスクリーニングに使用可能なことを実証した。今迄のRIAでは、正常値の検体は、正確に測定出来なかったため、正常分布が0~10 $\mu$ U/mlの間で広く分散していたが、EIA法により、正常分布は0~5 $\mu$ U/mlの間に分布し、10以上のものは、正常検体とはかけはなれたものであり、軽度上昇のものも適確に見出しうることとなった。これはクレチン症スクリーニングの正確さを高めるために重要な点である。これらの事実に基づき、本年末には、厚生省も、クレチン症スクリーニングをEIAで行なうことを承認し、昭和59年度より、多数の地域で実用に供されることと思われる。中国、パラグアイその他RIAによるスクリーニングの困難な国で、われわれの方法によるスクリーニングが始められつつある。

$T_4$ スクリーニングに関しては、最近漸く、3mmディスク1枚での $T_4$ 測定を可能にしたが、今年、新しい $T_4$ 測定用EIAを用いて、スクリーニングを行った。今迄方法は $T_4$ -horse raddish peroxydase conjugateを用いていたが、新しい方法は $T_4$ -glucose-oxydase conjugateを用いている。この方法によ

るスクリーニングは、今迄のものよりより高感度であるので、今後、現実に応用可能となるものと思われる。

2) TSH 測定法と  $T_4$ 測定法の有効性の比較

これは、既に53年より開始した研究であるが、58年度末迄に、約285000検体についての両者の比較を行うことが出来たので、研究としては終了することとなろう。この両者の比較の必要性に関しては、昨年の報告書にもごく簡単にその意義を説明したが、わが国で提唱したTSHスクリーニングと、カナダで提唱された $T_4$ スクリーニングのいずれがすぐれているかの実証のための研究である。既に世界の大多数の国で、TSH測定法による方法を採用するという形で評価が決まりつつあるが、われわれの研究結果は、かなり明白な評価を示したものとえよう。

58年度は、千葉県内で出生した53,786名（含未熟児、低体重児）の新生児について両者測定を行った。昨年迄に232,000名の検査を終了したので、合計285,786名となった。今年度発見された患者は13名であり、この中の10名に関しては、TSHが高値で $T_4$ が低値という典型的な結果であった。しかし3名は、TSHが、18, 30, 183( $\mu$ U/ml)という高値を示したが、 $T_4$ 値は、10, 5, 7( $\mu$ g/dl)であり、カナダで示したスクリーニングのカットオフ値よりも高く正常範囲であった。殊に、10とか7という測定値の例は、異常範囲をいくら拡大解釈しても、正常範囲内に入るものであり、 $T_4$ スクリーニングでは明らかに見逃がされていたのであろう。

$T_4$ スクリーニングの優位性を主張する1つの根拠として、未熟児、低体重児あるいは生後3日以内の新生児では、脳幹一下垂体一甲状腺のネガティブフィードバック機構がまだ成立していないから、 $T_4$ が低くなってもTSHは増加しないという見解があった。このためわれわれは、千葉県の4つの未熟児センターの中の3ヶ所に依頼し、入院した全ての例について、入院当日から採血を行い、TSH、 $T_4$ を測定していた。今年度、この中から1名のクレチン症患者が発見されているが、TSHは491 $\mu$ U/mlで、 $T_4$ は3.9 $\mu$ g/dlであった。少くともこの例では、かなり早くからフィードバック機構は成立していたわけである。こうして、TSH測定法の優位性は証明したと思われるが、ただ未熟児等に関しては念のため、 $T_4$ 測定も併用の方が安全であろう。

\* 東邦大 第一内科      \*\*\* 千葉大 小児科  
 \*\* 昭和大 薬学部      \*\*\*\* 国立国府台病院

## 有機酸代謝異常症の地域スクリーニング法の確立に関する研究

等々力英美, 林 時司, 成瀬 浩

田中, Wattsらの試算では, 有機酸代謝異常児の発生頻度は新生児1~2万人に1人程度であろうと言われている。外国のスクリーニングの経験では, 患者1人につき, 疑陽性は約100人を考えておかねばならない様であり, 新生児が10万人程度の地域を考えたとすると, 1,000人程度の精査が必要と考えられる。地域的な有機酸代謝異常のハイリスクスクリーニングを実施する場合のこのような条件を考慮し, 我々は安価で操作が比較的容易な高速液体クロマトグラフィー(HPLC), あるいはガスクロマトグラフィー(GC)を用いた地域スクリーニング法の開発の研究を行ってきた。

今年度は昨年度までに当研究室で開発した $\alpha$ -ケト酸, 芳香族有機酸の一斉分析法ならびに田中らの報告しているGC法のハイリスクスクリーニング法としての適不適を, 東京周辺の小児科において, 有機酸代謝異常を疑われ, 有機酸分析を依頼された主として尿について検討した。また, 有機酸代謝異常症スクリーニングのために, GCの新しい検出器の試作についても検討を加えた。

### 結果および考察

#### 1. $\alpha$ -ケト酸, 芳香族有機酸の一斉分析

新生児スクリーニングの普及に伴い, メイプルシロップ尿症(MSUD)のバリエーションが発見される機会が増加してきている。それらの診断にも $\alpha$ -ケト酸の一斉分析が有効であることを報告した。その後, このMSUDに類似の代謝異常でも治療法を異にするE<sub>3</sub>欠損症の存在が明らかになってきている。E<sub>3</sub>

は, ピルビン酸からアセチルCoA,  $\alpha$ -ケトグルタル酸からサクシニルCoAおよび分枝鎖ケト酸から分枝鎖アシルCoAへの脱水素酵素複合体に共通の酵素蛋白であることが確認されている。表には, これまでに本研究室で測定したMSUDとそのバリエーションおよびE<sub>3</sub>欠損症の $\alpha$ -ケト酸の尿中, 血中レベルを示めた。これらの結果を見ても明らかなように, E<sub>3</sub>欠損症では, 分枝鎖ケト酸の他に,  $\alpha$ -ケトグルタル酸, ピルビン酸が異常高値を示めており, 容易に, MSUDと区別することができる。また, 尿中 $\alpha$ -ケト酸の分析中に, 偶然,  $\alpha$ -ケトグルタル酸の異常増加例を見出し, 種々検討の結果, バルプロ酸投与群の一部に $\alpha$ -ケトグルタル酸の代謝障害が存在することを発見した。

芳香族有機酸代謝異常のハイリスクスクリーニングについても実施したが, 今年度は, 一例も経験することはできなかった。

#### 2. 新しいGCの検出器の開発

脂肪族有機酸代謝異常のスクリーニング手段として, 田中らのGC法を昨年にひきつづき検討した。254例のハイリスク児の尿について実施したところ, 24例に異常があることが確認されたが, 異常排泄され概要を示したが, GCで分離された成分の複数のGC用の新しい検出器の開発を行なった。図にその概要を示めたが, GCで分離された成分の複数の波長での赤外吸収を測定し, その吸光度比を物質の同定に利用しようとするものである。

Disease	Patient	Sample	Concentration*				
			PGA	PA	ETVA	ETCA	ETVA
Classical	K.Y (2y, ♀)	plasma	15	112	143	1189	279
		plasma	101	159	356	1828	1026
MSUD	A.I (2y, ♀)	urine	6103	245	619	1561	1897
		urine	459	179	66	155	360
Intermediate	Y.O (3y, ♂)	serum	22	76	43	326	128
		urine	459	179	66	155	360
Intermittent	H.K (4y, ♂)	plasma	1610	150	147	115	237
		urine	352	211	759	513	572
MSUD	H.K (4y, ♂)	plasma	123	307	165	1016	446
		urine	8140	10300	7740	11300	8430
E <sub>3</sub> -deficiency	T.K (7m, ♂)	plasma	137	416	56	139	92
		urine	245	1423	113	175	187

\* plasma, serum: nmoles per ml  
urine: nmoles per mg of creatinine

表 MSUDおよびE<sub>3</sub>欠損症の $\alpha$ -ケト酸レベル

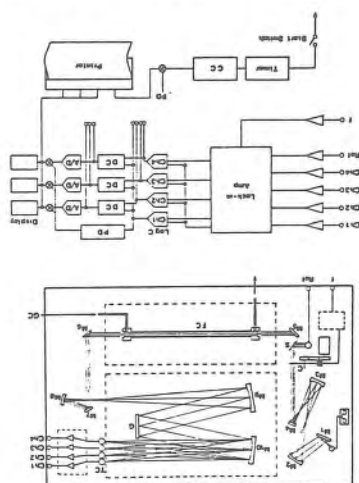


図 GC用の新しい検出器



## 精度管理に関する研究

鈴木恵美子, 花房和子, 滝川早苗, 増田郁子, 成瀬 浩

先天代謝異常マスキリーニングの精度管理を実施しているが、これは厚生省母子衛生課、日本公衆衛生協会からの委託によるもので、開始後6年を経過した。この仕事は、全国の代謝異常スクリーニングの水準を向上させるために重要であり、現在、外部標準検体による各スクリーニング施設の技術水準の評価、依頼検体の分析、スクリーニングに使用する標準物質や試薬などの品質管理を主としている。このような仕事の進行状態について簡単に報告する。

### 1) 外部標準検体による精度管理

全国のスクリーニング施設に、毎週異常検体（アミノ酸、ガラクトースを含む）を含む10枚の血液濾紙を送付し、その中の異常検体を発見してもらうという型の精度管理を行っており、現在、国内54か所の施設について実施している。全国的にみるとスクリーニング技術の水準は、ほぼ一定して来たようであるが技術者の交代に伴い、軽度の異常を有する検体が見逃される場合が少くないのである。全国の各施設からは、自己の技術水準の客観的評価となるので継続実施して欲しいという希望も多く、引き続き精度管理を行なっている。表は最近数年間の精度管理の結果を示したもので、異常検体を見逃した施設数を3か月毎にまとめたものである。

最近、この精度管理に類似のものがアメリカや西ドイツで部分的に試みられている。また、2・3年前から我々はブルガリア、中国、西ドイツの数か所の施設からの依頼で上述の精度管理検体を定期的に送っている。

厚生省と各スクリーニング施設からの希望により、昭和59年度よりクレチン症スクリーニングに関しても外部標準検体を用いる精度管理を実施する様準備中である。

### 2) 依頼検体の分析

全国のスクリーニング施設などから依頼される検体の分析を行っており、分析測定項目はアミノ酸、

ガラクトース、TSH、 $T_4$ 、17-OHPなどである。今までにもアミノ酸の自動分析法、ガラクトース定量の自動化についての研究開発を行なってきたが、今年度からは林らの開発したアミノ酸の新しい分析法を導入した。昭和59年度よりEIA法によるクレチン症スクリーニングが行なわれるため、EIA法によるTSH・ $T_4$ 測定の検討、RIA法によるTBG測定の検討が開始されている。

昭和58年度中に受けた依頼検体は、国内19施設、国外5施設あわせて1,150に達している。

### 3) 品質管理

スクリーニングで使用する試薬類は一定の基準を保持する必要があり、これらの試薬類の品質を管理することは重要である。昭和56年度から標準血液濾紙6種の品質管理を行っており、今年3月からはガラクトース定量用ペイゲンフェージ試薬について管理を開始した。またTSH、 $T_4$ などの標準物質の品質検討も依頼されている。

### 4) スクリーニング施設の技術指導

上記の1～2の事業を介し、全国の多数施設からスクリーニング技術などに関する問い合わせが多く、文書・電話による技術指導や援助を行なっている。さらに、今年度中に10施設の技術者の訪問を受け、4施設の技術者に対しては数日間にわたる研修を行なった。

スクリーニング施設	昭和56年				昭和57年				昭和58年			
	2-4	5-7	8-10	11-1	2-4	5-7	8-10	11-1	2-3	4-6	7-9	10-12
0	49	51	50	52	50	48	50	50	48	51	49	53
1	4	3	4	2	4	5	4	3	6	2	4	1
2	1					1				1	1	
3							1					
センター数	54	54	54	54	54	54	54	54	54	54	54	54

(昭和56年2月～昭和58年12月)

表 3か月ごとの異常検体見逃しの回数(\*は2か月)



## 小児自閉症の代謝障害の研究

成瀬 浩, 林 時司, 鎌田 智, 鈴木恵美子, 武貞昌志\*

## 目的

小児自閉症が脳障害にもとづく疾患であることは広く認められるようになり, その一部に (あるいは典型的なもの全てに) 代謝の異常があるという想定のもとに多くの研究が行われているが, 未だに展望が開かれていない。われわれは, 安定同位体トレーサー法により, 新しい観点から, 自閉症の代謝障害の分析を行うこととした。今迄, セロトニン, カテコールアミンなどの異常を示唆する論文が少なくないので, これらの物質の前駆アミノ酸の代謝変化を追求することから研究を開始した。

## 方法

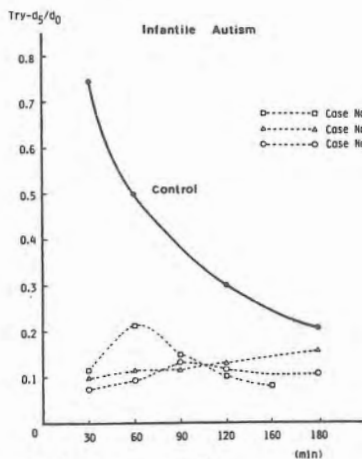
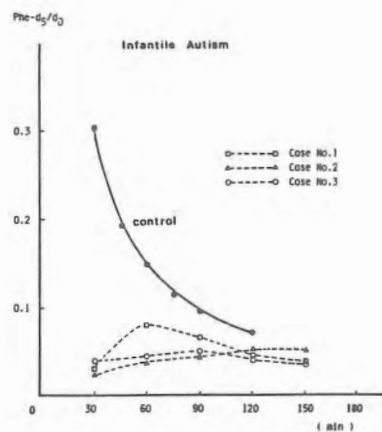
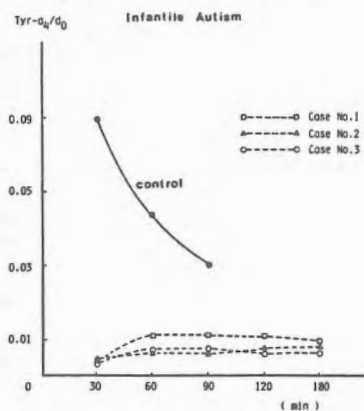
重水素標識のフェニールアラニン ( $\text{Phe-d}_5$ ), トリプトファン ( $\text{Try-d}_5$ ) を各々  $5 \text{ mg/kg}$  経口的に, 典型的自閉症患者に投与し, 血中での  $\text{Phe-d}_5$ ,  $\text{Try-d}_5$ , あるいは  $\text{Phe-d}_5$  が肝で代謝されて生ずる  $\text{Tyr-d}_4$  の推移を分析した。また, 新しく開発した負イオン化学イオン化 GC/MS 法を用い自閉症, 言語障害を伴う精神遅滞などについて, 全血あるいは血しょう中のセロトニンを, 正確に定量した。

## 結果と考察

既存の方法より, 定性的にも定量的にもより確実な方法により, 血中セロトニンを測定し, 血中殊に血しょう中で, セロトニンが著明に増加していることを確認した。しかし, セロトニンの前駆物質である  $\text{Try-d}_5$  を投与すると, 第1図に示す如く, 血中への移行が極端に障害されていることがわかった。これは今迄全く知られていなかった所見である。セロ

トニンが増加しているのに, 何故  $\text{Try-d}_5$  は血中への取り込みが障害されているのかという点について, これから新しい研究を行うつもりである。

次に  $\text{Phe-d}_5$  を与えると, 第2図の如く, やはり血中への取り込みが著明に障害されている。しかも, 肝で作られる  $\text{Tyr-d}_4$  についても, 分解速度の低下がみられている (第3図)。これらの所見を総合すると, 小児自閉症では, これらのアミン前駆物質の血中への取り込みの障害があり, そのため, 脳へのこれらのアミノ酸の供給も低下している可能性が想定される。もしこれが事実なら, 新しい治療法の開発が可能ではないかと考え, 臨床実験を行いつつある。

図1 血中  $\text{Try-d}_5$  の変化図2 血中  $\text{Phe-d}_5$  の変化図3 血中  $\text{Tyr-d}_4$  の変化

\* 大阪市小児保健センター

## 生体内トリプトファン代謝の研究 —安定同位体トレーサー実験に関する研究—

林 時司, 鎌田 智, 成瀬 浩, 飯田芳男\*

カテコールアミン関連物質の代謝とならんで、特にうつ病では、いわゆるセロトニン仮説が想定され、精神症状や行動とトリプトファン代謝産物の生体内レベルとの関連性を研究した報告が多数ある。しかし、それらの多くは物質の量的変化の程度がそれ程大きなものでないため、いまだ明確な結論が得られていない。そこで我々はトリプトファン代謝（特に代謝速度）とうつ病をはじめとする精神疾患との関係をより明らかなものとするを旨とし、安定同位体トレーサー法を用いる研究に着手した。今年度はその一環として、負イオン化学イオン化質量分析法によるセロトニン (5HT), トリプタミン (TA) の同時定量法の検討、ならびにトレーサーとして用いるトリプトファンの重水素標識体の合成を行なった。

### 結果および考察

我々は、すでに、インドール化合物の各種誘導体について、負イオン化学イオン化質量分析計での挙動を検討し、TFAあるいはPFP誘導体に導くと、正イオンモードで測定する場合と比較し100倍以上の高感度測定が可能であることを見出している。今回のセロトニンの定量には、より反応性が良好であると考えられたTFA化を採用した。5HT, TAのTFA誘導体はイオン源内で(M-HF)に帰属でき

るベースピークを与えるため、マスフラグメントメトリーを実施する際のモニタリングイオンとして、これらのイオンを利用した。なお、この際HFとして脱離する水素は側鎖の-NH-TFAの水素に由来することを確認している。図1に、今回確立した生体試料の前処理法を示した。

トリプトファンを安定同位体で標識する場合、 $^2\text{H}$  (D),  $^{13}\text{C}$ ,  $^{17}\text{O}$  あるいは $^{15}\text{N}$  で標識する方法が考えられる。しかし、追跡しようとする代謝過程での変化や、標識化合物の価格等を考慮すると、重水素化合物を利用することが最も現実的であると考えられる。重水素標識体を使用する際には、追跡途中（分析操作を含めて）D-H交換反応が起きないことが、安定同位体トレーサー法の前提となる。そこで、トリプトファンのどの位置を重水素標識するのが適しているかを検討し、側鎖のメチレンを標識するのが、最適であるという結論に達した。図2にはL-tryptophan-3, 3-d<sub>2</sub>を合成するのに採用した方法の概略を示した。

今後は、今年度、開発した5HT, TAの高感度定量法ならびに新たに合成したトリプトファンの重水素標識体を利用し、各種精神疾患における代謝面での変化を追跡していく予定である。

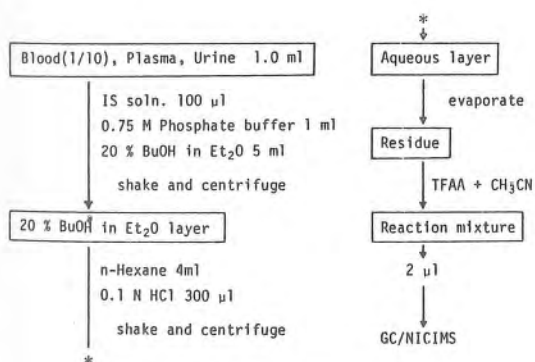


図1 前処理法

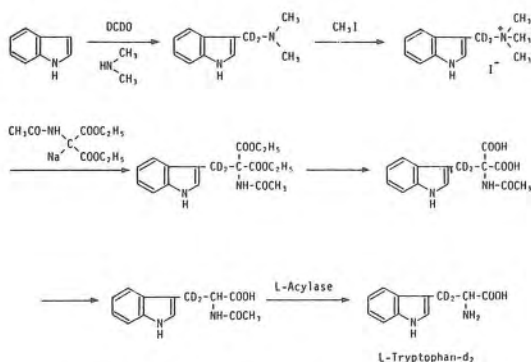


図2 L-Tryptophan-3, 3-d<sub>2</sub>の合成

\* 成蹊大学工学部工業化学科

## 安定同位体トレーサー法によるチロシン、カテコールアミンの in vivo 代謝の分析 —うつ病研究への応用—

鎌田 智, 林 時司, 成瀬 浩, 飯田芳男\*

近年、精神科領域において、脳内の代表的な神経伝達物質であるカテコールアミンの代謝についての多数の検討が進められている。我々も、安定同位体トレーサー法を利用する検討から単極性うつ病患者において、チロシンにおける代謝速度が著明に低下しているという興味ある結果を得ている。そこで、代謝変化の生化学的背景を把握する目的で、昨年開発した負イオン化学イオン化質量分析法を利用する各種フェノールカルボン酸の高感度定量法を用い、チロシン以後の生体内代謝について検討を加えた。今回測定の対象とした物質は、ドーパミン、DOPAC を経由して代謝される HVA, ノルエピネフリンを経てつくられる VMA それに、カテコールアミンとは別のルートでつくられる物質として p-ヒドロキシフェニル酢酸を選んだ。これらの物質への代謝は負イオン化学イオン化質量分析計を利用する高感度安定同位体トレーサー法を用いても追跡できなかったため、尿中に排泄されたトレーサー由来のフェノールカルボン酸を追跡した。実際には午前11時、フェニルアラニンの重水素標識体 5 mg/kg をオレンジジュースとともに経口服用し、経時的に採尿し、以上のような追跡を行なった訳である。

血中のアミノ酸を追跡した場合と比較すると、コントロールの場合でもかなりの変動が認められた(図中影をつけて示した)が、一定の傾向は把握できる。すなわち、PHPA-d<sub>4</sub>への代謝排泄が最も早く、1~2時で最大となり、その後、徐々に減少していつている。それに対し、HVA-d<sub>3</sub>, VMA-d<sub>3</sub>では2時間後、5時間後に最大排泄量が観測される。

今年度は、測定法の検討にかなり時間をさかれたため、うつ病患者について十分なデータを得る事はできなかったが、長崎大学精神科に入院した単極性うつ病患者一例の分析を行なう事ができた。この場合には、phe-d<sub>5</sub>を10mg/kg 経口投与している。結果は図中……で示したが、コントロールとの著明な差異はPHPA-d<sub>4</sub>の排泄が270分後の尿中に観察されたのみで、その量もさほど多くはないということである。これに対し、HVA-d<sub>3</sub>は排泄量はコントロール群より若干多く、VMA-d<sub>3</sub>は、若干少ないという結果であった。すなわち、少なくともこの症例においては、チロシンの代謝経路の中、PHPA への経路(ト

ランスアミネーションにより生成した p-ヒドロキシフェニルピルビン酸の脱炭酸により生成したと考えている)に障害があると考えられる。この結果については、今後さらに症例を増やし、確認したいものと考えている。

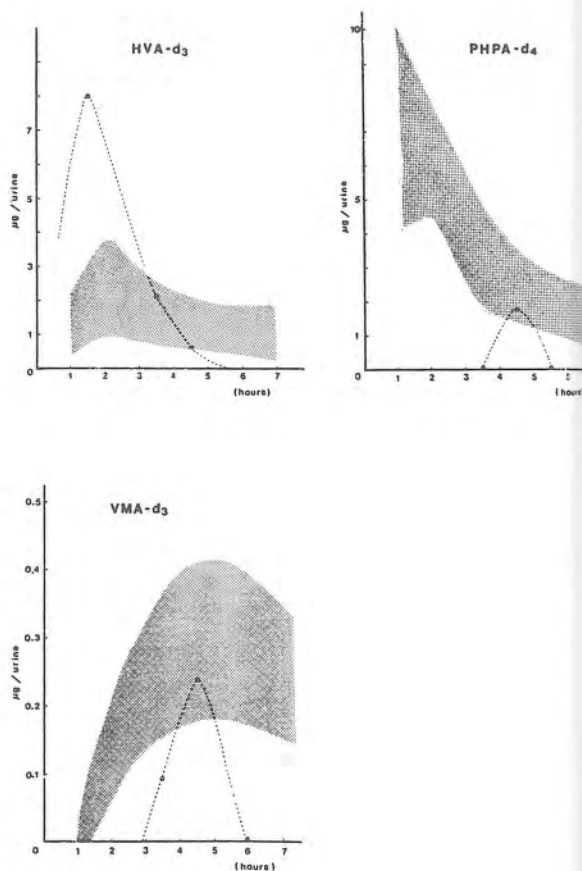


図 Phe-d<sub>5</sub>投与実験の結果

\*成蹊大学工学部工業化学科

## 逆相イオンペクロマトグラフィーを利用するアミノ酸アナライザー —溶媒プログラマーの開発とその利用—

林 時司, 増田郁子, 成瀬 浩

アミノ酸分析はアミノ酸代謝異常症の精査をはじめとし、臨床医学の領域では欠かすことのできない分析法となってきた。我々は昨年までに、ステップグラジェント溶離法による逆相イオンペクロマトグラフィーを利用する新しいアミノ酸分析法の検討を行ない、ランニングコスト、精度等の点で従来のアミノ酸アナライザーと比較し、優れている事を確認している。また高濃度の塩を含む移動相を使用しないため、送液系のトラブルの発生頻度が極めて低いことも、本分析法の特徴として挙げられる。今年度は、本分析法をより簡便なものとするため、高精度のコンティニューアスグラジェントプログラマーを開発し、二種類の移動相でアミノ酸を分析する方法について検討を加えた。

### 結果と考察

ステップグラジェント溶離法と比較して大きな利点を有しているにもかかわらず、コンティニューアスグラジェント溶離法は、分離の再現性が悪いため、ルーチン的に利用される機会は小なかった。現在市販されている溶剤プログラマーは部分的構造あるいは混合できる溶媒の差といった点に多少の違いはあるものの、大部分は電磁弁の開閉時間を

プログラムしポンプで吸引送液する溶媒量をプログラムする方法を採用している。また一部の HPLC には二組のポンプの送液量をプログラムする方法を採用しているものもある。しかし、前者ではポンプの吸引側の脈流の影響を充分克服できないことが、また後者では二組の送液ポンプの送液量を常にバランスのとれた状態に保つことの困難さのために再現性のよい分離を実施することが困難になっていると考えられる。詳細については割愛するが、今回我々が考案したプログラマーは市販のプログラマーとは原理を異にするものであり、極めて再現性の高い分離を可能とするものであった。図1には本装置を組み込んだアミノ酸アナライザーの概略図を示めたが、本装置にはシーケンスコントローラーが組み込まれており、無人運転ができるようになっている。図2には28種のアミノ酸混液の分離例を示めたが、繰り返し分析を行なった際 (n=15) の各アミノ酸の保持時間の cv (%) 値はいずれも 0.3% 以下と極めて良好であった。本装置は、現在、アミノ酸代謝異常の精査を目的とし、主として、乾燥口紙血試料、血しょう試料の分析に用いているが、極めて実用性の高いものであると考えている。

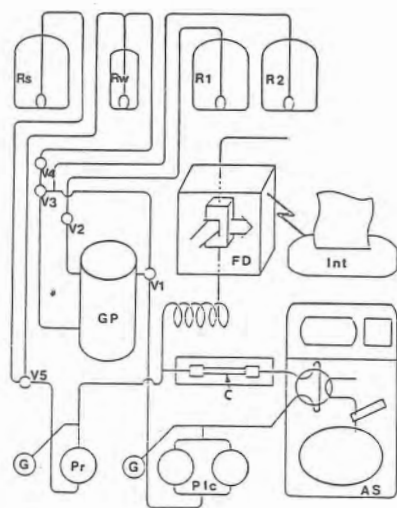


図1 新しいアミノ酸アナライザー

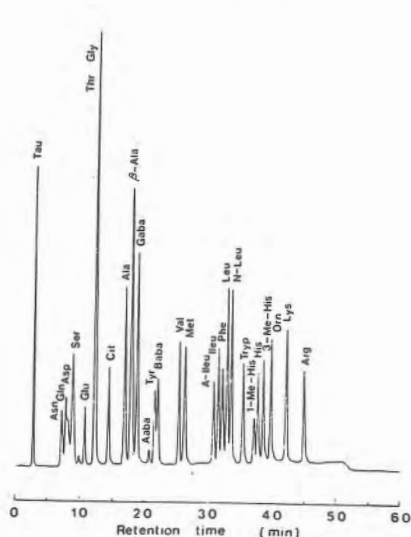


図2 標準アミノ酸混合試料の分析

## Cholecystokinin octapeptide (CCK-8) 定量の基礎的検討とその応用

加藤進昌, 渡辺倫子, 樋口輝彦\*

CCK-8はCCK-33のC端8個よりなる小ペプチドであるが、脳とくに大脳皮質に大量に含まれるとされ、また近縁物質である caerulein が分裂病の治療に有効との報告から、近年精神科領域でも注目されている。その測定には一般にラジオイムノアッセイ (RIA) が用いられるが、CCK-8では Tyr 残基がスルホン化されていること、<sup>125</sup>I 標識 CCK-8 が不安定などの問題点が指摘されている。今回、既に他のペプチドやホルモンで開発した酵素免疫測定法 (EIA) を応用してラット脳内の免疫活性 (immunoreactive) CCK-8 sulfate (IR-CCK8s) の分布と、その存在様式について検討したので報告する。

## 方法

抗体は CCK-8 nonsulfate をウシ血清アルブミンに結合したものを抗原として、ウサギに免疫して得た。EIA 法は昨年 の DSIP の EIA と基本的に同様である。IR-CCK8s の脳内分布の検討にはウイスター系雄ラット 7 匹を用いた。マイクロウェーブ照射後、脳をとり出し、13部位に分別した。秤量後 0.1N 酢酸を加えてホモジナイズし、10分間煮沸してから遠心分離した上清を測定に供した。別に抽出法の比較のために、1) 0.1N 酢酸のみによる抽出、2) 0.1N 酢酸抽出後煮沸 (前述)、3) 蒸留水抽出、4) 90% メタノール抽出、の 4 法につき、各群 5 匹を用いて検討した。また、各 4 抽出法について、Sephadex G-50 によるゲル濾過を行い、抽出される分画の特徴を検討した。

## 結果と考察

抗体の交叉反応性は <sup>125</sup>I-gastrin による RIA で、CCK-33 9%, gastrin [1-17] 100% であったが、CCK-8ns とは 565% の交叉を示した。ラット脳抽出物、ヒトとラットの末梢血の希釈曲線は、いずれも EIA の標準曲線とよい平行性を示した。測定限界は 10pg, 変動係数は測定内 2—5%, 測定間 9—19% であった。

抽出法の比較では、酢酸のみでは低値であったが、酢酸一煮沸と水一煮沸はほぼ同等の値を示した。メタノール抽出は収率が不安定で、実用上問題があるように思われた。各方法で抽出される IR-CCK8s の内容をゲル濾過で検討した結果、いずれの方法でも

CCK-8 と一致する分画に最大のピークを認めた。しかし、メタノールと水抽出法では、ほぼ CCK-8 の分画のみであったのに対し、酢酸煮沸法では CCK-33 と思われる分画と、そのやや前方の 2 分画にピークを別に認めた。

酢酸煮沸法によるラット脳内部位別 IR-CCK8s の分布を表に示す。大脳皮質は比較的高値ではあるが、扁桃核、海馬、側坐核、さらに entorhinal cortex などの辺縁系皮質で極めて高値を示すのが注目される。この結果は、表右半にあげた RIA による文献値とは、やや分布も値も異っているが、抽出法や抗体の相違など、直接の比較は困難である。しかし、これまでの免疫組織化学的検索や、autoradiograph によって CCK receptor の分布を検討した報告では、いずれも扁桃核、海馬、辺縁系皮質などを分布の濃い部位としてあげており、今回の結果と一致する点が多いように思われた。

本法は標識抗原も長期保存が可能であり、ヨード化が困難とされる CCK-8s では特に有用と考えられる。ラット脳内の IR-CCK8s は極めて多く、とくに mesolimbic cortex に大量に含まれる点は、精神疾患との関連で興味をもたれるところと思われる。

IR-CCK8s in the rat brain (ng/g wet weight)

	Present Study	Beinfeld et al.	Frey
	(boiling HAC/EIA)	(90% MeOH/RIA-CCK33)	(90% MeOH/RIA-HPLE)
	N = 7	N = 3	N = 8x3
Cerebellum	8 ± 1	1 ± 0.3	8 ± 2
Pons and Medulla	49 ± 6	[ Pons, 28 ± 3 Med., 25 ± 6	*
Striatum	72 ± 8	382 ± 73	150 ± 14
N. Septum	176 ± 29	237 ± 68	*
Amygdala	430 ± 56	164 ± 57	*
Hypothalamus	231 ± 21	[ Ant., 232 ± 58 Post., 157 ± 6	90 ± 10
Thalamus	99 ± 14	191 ± 36	*
Midbrain	53 ± 6	159 ± 21	89 ± 9
Cerebral Cortex	158 ± 13	528 ± 129	498 ± 17
Hippocampus	324 ± 33	274 ± 0.3	152 ± 17
N. Accumbens	396 ± 47	*	306 ± 18
Pyramiform Cortex	292 ± 25	01f.b., 204 ± 61	*
Entorhinal Cortex	620 ± 43	*	*

\* 埼玉医大精神科

## Gastrin-releasing peptide (GRP)様免疫活性のラット脳内分布 —ハロペリドール投与の影響について—

渡辺倫子, 加藤進昌, 矢内原昇\*

Gastrin-releasing peptide (GRP)は、ブク消化管より単離されたペプチド(アミノ酸27個)で、そのC端構造はカエル皮膚から単離されたbombesin(アミノ酸14個)と酷似している。GRPとbombesinの生物学的作用は同一とされているが、両者を識別する抗体が得難いこともあってGRP/bombesinの脳内での存在様式については、これまで報告が一致していない。今回、bombesinに特異的な抗体(Ab-B)と、両者に交叉性をもつ抗体(Ab-G)を用いてGRP様免疫活性(IR-GRP)につき検討した。また、bombesinが行動薬理学的に向精神薬類似の作用を示す、分裂病者髄液中bombesin様物質の低下があるとの報告より、haloperidol投与による脳内IR-GRP量の変化も、あわせ検討した。

### 方法と結果

Bombesin, GRPの両者とも測定はradioimmunoassayによって行い、<sup>125</sup>Iの標識はlactoperoxidase法によった。測定限界はいずれも10pgであった。はじめにAb-Bを用いてラット脳各部位でのbombesin量を検討した(表右)が、その濃度は低く、凍結乾燥後濃縮して測定しても、0.3-0.9ng/g湿重量と極めて低値であった。従って少くともラット脳では、bombesinは実質上存在しないと思われる。次に、Ab-Gを用いてラット脳13部位でのIR-GRP量について検討した結果を表(左)に示す。これまでのbombesinに関する内分泌学的作用の報告から予想されるように、視床下部に高濃度に存在するが、その分布は脳の広い範囲にわたっていた。また、ラット脳抽出液をSephadex G-50を用いてゲル濾過した結果では、GRPに相当する分画にピークを認めたと、さらに大きなピークが、bombesinよりもやや小分子と思われる分画に検出された。この後半のピークの本態は不明である。

Haloperidolの影響については、1mg/kg量をラット腹腔内に単回投与し、投与後30分、60分、120分にそれぞれ脳をとり出し、線条体、視床下部、側坐核について生食投与の対照群と比較した(各群5匹、急性投与)。また、同量のhaloperidolを1日1回連続10日間腹腔内投与し、最終投与後1時間でマイクロウェーブ処理したラット脳各部位のIR-GRPの変化についても検討した(各群8匹、慢性投

与)。急性投与では、線条体(対照 $28.4 \pm 4.7$ ng/g, haloperidol  $48.3 \pm 4.1$ ng/g)、側坐核(同じく $45 \pm 6.5$ 対 $79 \pm 7.6$ ng/g)の両部位においてIR-GRP量の有意の上昇がみられた。慢性投与群においては、線条体、前頭皮質、海馬について、やはりIR-GRP量の有意の上昇を認めた。

### 考察

GRP様物質の脳内での存在と分布、また代表的な向精神薬であるhaloperidolの投与により、脳内IR-GRPの上昇がみられることから、GRP様物質が脳内で一定の役割を果たしていることが示唆された。既に我々は脳内 $\beta$ -endorphinのhaloperidol投与による変動を報告した(1981)が、類似の所見は他の神経ペプチドにおいてもみられ、今後ペプチド相互の関連についても検討が必要と思われる。GRP様物質が、ラット脳においてはbombesinでないことは明らかとなったが、ゲル・クロマトグラフで認められた小分子型のGRP様物質の本態については、今後のより詳細な検討が必要であろう。

REGIONAL DISTRIBUTION OF IR-GRP AND IR-BOMBESIN IN THE RAT BRAIN

Region	IR-GRP	IR-BOMBESIN
	(N=10)	(N=10)
(ng/g wet weight)		
Cerebellum	3±0.3	0.56
Pons-medulla	52±3	0.23
Striatum	53±2	0.29
Nucleus septum	58±5	·
Amygdala	137±14	·
Hypothalamus	169±10	0.35
Thalamus	130±6	0.55
Midbrain	77±3	0.58
Cerebral cortex	45±2	frontal 0.29 posterior 0.90
Hippocampus	97±4	0.60
Nucleus accumbens	84±9	·
Pyramidal cortex	36±3	·
Entorhinal cortex	33±4	·

\* 10 regions from 10 rats were pooled, concentrated and subjected to RIA-bombesin.

\*静岡薬大生物薬品化学



## ソマトスタチンの脳室内投与によるけいれんおよび発作性脳波異常の発現について

永木 茂, 加藤進昌, 五十嵐良雄\*

近年, 神経伝達物質候補としての神経ペプチドとけいれんとの関係についての報告が増加している。ソマトスタチンとけいれんとの関係においては, 電氣的キンドリングラットの扁桃核, 皮質知覚運動野, 辺縁系皮質におけるソマトスタチンの有意の増加, また, 電氣的キンドリングラットに, 抗体の脳室内投与やソマトスタチンを枯渇させる作用のある cysteamine の腹腔内投与により, 後発射の抑制とけいれんの抑制がみられたとの報告がある。従って, ソマトスタチンが, 少なくとも電氣的キンドリングラットのけいれん発現に重要な役割を占めていると思われる。

今回, ラット第三脳室内へソマトスタチンを直接投与し, ソマトスタチンが行動異常やけいれんの発現に深い関連をもっていることを確認した。

## 方法

Pentobarbital 麻酔下において, ウイスター系雄ラット (250-310g) を固定し, bregma より0.8mm 尾側のところで, 第三脳室内へステンレスカニューレを植えこんだ。また電極をラット脳表において脳波記録を行った。

ラット計21匹にソマトスタチン (SRIF-14), およびそのアナログである Tyr<sup>1</sup>-SRIF-14, SRIF-28各10 $\mu$ gを生食10 $\mu$ lに溶解し, 1分間かけて, カニューレより脳室内投与した。対照群には同量の生食を投与した。

## 結果

① SRIF-14投与群 (14例) 異常回旋運動 (barrel rotation) が, 14例中7例 (50%) にみられ, 投与後2分以内にはじまり, 2-5分間持続した。無動状態は, 12例 (86%) に投与直後よりみられ, 1-10分間持続したが, 1例では1時間以上にわたって持続した。

脳波異常 (図①) は7例 (50%) にみられ, suppressionされた脳波, 高振幅徐波, 鋭波を認めた。2例 (14%) に全身性強直性けいれんがみられた。

② Tyr<sup>1</sup>-SRIF-14投与群 (5例) Tyr<sup>1</sup>-SRIF-14の投与によって, 異常回旋運動が5例中4例 (80%), 無動状態3例 (60%), けいれんは1例 (20%) にみられた。1例のみの脳波記録では投与10分後より, 発作波がみられた。

③ SRIF-28投与群 (2例) 2例とも異常回旋運動はみられなかったが, 投与直後より無動を呈した。し

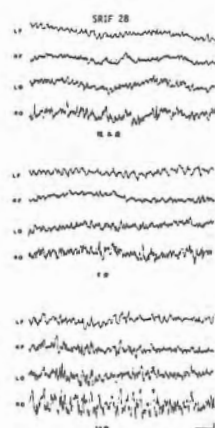
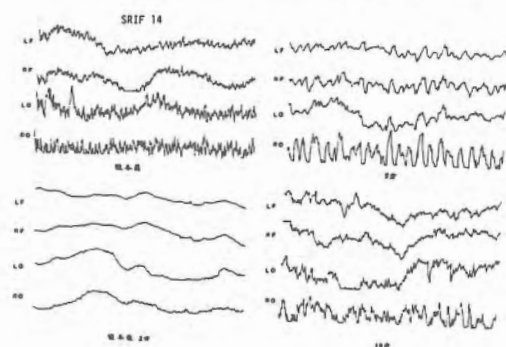
\* 埼玉医大精神科

ばしば, 身づくろい様動作がみられた。脳波異常 (図②) は, 投与後10-15分から, 高振幅徐波, 棘波がみられ, 10-20分持続した。

④ 対照群 (3例) 行動, 脳波上に異常は認められなかった。

## 考察

SRIF-14および Tyr<sup>1</sup>-SRIF-14の脳室内投与により, ほぼ同様の行動異常, けいれん, 脳波異常を認めたが, これは Havlicek らの報告にほぼ一致するものである。このことは, ソマトスタチンがけいれんに対しては促進的に働くことを示唆している。SRIF-28投与によって, 脳波異常など基本的にSRIF-14と類似した作用を認めた一方, 行動異常などではSRIF-28に特異的と思われる作用もみられたことは, 両者の作用的な異同, 生体内での相互の関係など, 今後の検討に値する所見と考えられた。



## 9. 微細構造研究部

### 1. 研究部一年の歩み

本研究部では進行性筋ジストロフィーや重症筋無力症など神経筋疾患の病因追求の研究が主に進められている。

本年度の人事移動としては相川研究員が58年3月より Albert Einstein 大学の神経病理学教室に留学中であったが、更に一年間の延長が認められたこと、4月より流動研究員として寺澤健二郎、9月より斉藤陽子が出たこと、賃金研究員の佐藤愛子が11月30日退職し、新しく藤沢加津美が59年3月1日より加わったことがあげられる。本研究部でこの一年間行った研究の主なものは以下のごとくである。

#### (1) 進行性筋ジストロフィー筋の再生能

進行性筋ジストロフィーは筋線維の壊死後再生する。活発な再生があるのに本症は名のごとく進行する。それは再生に何らかの欠陥があるためと考えられる。その事実を確かめるため筋ジストロフィー鶏、ハムスター、マウスなどにつき再生能を組織学的、組織化学的に検討してきた。過去の結果では筋ジストロフィー筋そのものは再生能が劣っている事実がないこと、結合織の増生など二次的環境因子が大きな鍵をにぎっていることなどが明らかとなった。現在は再生能が完璧で筋力低下がほとんどみられないハムスターにつき、なぜこの動物では線維化が来ず、進行しないのか検討している（埜中，寺沢，岡田）。

#### (2) 胸腺筋様細胞の生物学的意義

重症筋無力症の発症には胸腺が何らかの働きをしていることはほぼ確実である。この胸腺には骨格筋と構造をほぼ等しくする筋様細胞が存在する。加茂，多田らは胸腺を培養することにより、二種の筋様細胞が存在することを確認し、またその上清にはリンパ臓器，中枢神経系細胞をも増殖させる因子（IT 因子）の存在を確認した。これらの研究は重症筋無力症と胸腺の関係を明らかにするのに役立つものと思われる。

#### (3) 小児神経筋疾患の筋未熟性に関する組織化学的、電子顕微鏡的研究

福山型先天性筋ジストロフィーは新生児ないし乳児期より筋緊張，筋力低下をみる疾患で早期より筋に強い病理学的変化をみる。その変化は筋の発育，分化に何らかの欠陥があるためと考えられていた。寺澤は筋衛星細胞を電子顕微鏡的に検索し，その数量が少ないこと，活動化していないこ



とより筋の発生、再生に関係する本細胞の機能不全が病理発生上大きな鍵をもつことを明らかにした。同じように乳児期より筋力低下をみる神経原性筋疾患 (Werdnig-Hoffmann 病) では早期に筋が脱神経をうけるため筋の発育、分化が停止することを筋線維タイプの分析より斉藤が明らかにした。またこの事実は実験的に新生児ラットを脱神経することによっても確かめられた (岡田)。

(4) 神経筋疾患モデル動物の形態学的研究

総腓骨神経が先天性に欠如し内反足をみるマウス (pma マウス) について筋の発育、分化異常、末梢神経の分岐異常が脊髄根、末梢神経、筋の形態学的研究より明らかにされた (埜中, 多田)。また X 染色体劣性筋ジストロフィーマウス (mdx マウス) の骨格筋病変についての研究が出発した。

(5) その他

林は皮膚筋炎におけるウイルスの関与につき研究を行っている。橋本はヘルペスウイルスのモノクロナル抗体を作成し、本ウイルス感染の機序につき研究を進めている。各種神経筋疾患の病理学的診断は年々その数が増加し、日本各地の大学病院や大病院から依頼され検体数は200近くになっている。この中から数多くの珍しい疾患が見出され症例報告されている。

相川は6AN による水頭症の研究を行いその成果は論文となっている。神経病理学的研究はアメリカにて引続き行われている。

(部長 埜中征哉)

2. 研究業績

A. 論文

a. 原著

- 1) Nonaka I, Takagi A, Ishiura S, Nakase H, Sugita H :  
Pathophysiology of muscle fiber necrosis induced by bupivacaine hydrochloride (Marcaine)  
Acta Neuropathol (Berl) 60 : 167-174, 1983
- 2) Nonaka I, Nakamura Y, Tojo M, Sugita H, Ishikawa T, Awaya A, Sugiyama N :  
Congenital myopathy without specific features (minimal change myopathy)  
Neuropediat 14 : 237-241, 1983

- 3) Nonaka I, Fujita T, Sugita H :  
Regenerative capability of skeletal muscle in chicken muscular dystrophy  
Muscle Nerve, in press
- 4) Nonaka I, Okada S, Saito Y :  
Defects in muscle fiber maturation in congenital myopathies  
Neuromuscular Diseases (ed by Serratrice G), Raven Press, New York, 1983, p 207-212
- 5) Nonaka I, Sunohara N, Satoyoshi E, Terasawa K, Yonemoto K :  
Autosomal recessive distal muscular dystrophy ; A comparative study with distal myopathy with rimmed vacuole formation  
Ann Neurol, in press
- 6) Takagi A, Sunohara N, Ishihara T, Nonaka I, Sugita H :  
Malignant hyperthermia and related neuromuscular diseases :  
caffeine contracture of the skinned muscle fibers  
Muscle Nerve 6 : 510-514, 1983
- 7) Ninomiya N, Iwamasa T, Matsuda I, Nonaka I :  
Demonstration of acid maltase protein in Pompe disease by use of immunohistochemical and enzyme immunoassay methods  
J Inher Metab Dis 6 : 131-132, 1983
- 8) Ishiura S, Nonaka I, Nakase H, Tsuchiya K, Okada S, Sugita H :  
Immunohistochemical localization of cathepsin B in degenerating rat skeletal muscle induced by a local anesthetic, bupivacaine  
J Biochem. 94 : 311-314, 1983
- 9)\* Sugita H, Ohashi K, Maruyama K, Nonaka I, Ishiura S :  
Staining of the nemaline rods by fluorescent antibody against Z-protein  
Proc Jpn Acad 59B : 190-193, 1983
- 10) Ishiura S, Nonaka I, Fujita T, Sugita H :  
Effect of cycloheximide administration on bupivacaine-induced acute muscle degradation  
J Biochem 94 : 1631-1636, 1983
- 11) Matsuishi T, Yoshino M, Terasawa K, Nonaka I :  
Childhood acid maltase deficiency. A clinical, biochemical, and morphologic study of

three patients

Arch Neurol 41 : 47-52, 1984

- 12) Miike T, Ohtani Y, Tamari H, Ishitsu T, Matsuda I, Nonaka I :  
An electron microscopical study of the T-system in biopsied muscles from Fukuyama type congenital muscular dystrophy  
Muscle Nerve, in press
- 13) Miike T, Nonaka I, Ohtani Y, Tamari H, Ishitsu T, Matsuda I :  
Behavior of the transverse tubular system in experimentally induced regenerating muscle fibers  
J Neurol Sci, in press
- 14) Aikawa H, Suzuki K, Ito N, Iwasaki Y, Nonaka I :  
6-aminonicotinamide (6-AN) induced hydrocephalus in suckling mice  
J Neuropathol Exp Neurol, in press
- 15) Aikawa H, Watanabe IS, Furuse T, Iwasaki Y, Satoyoshi E, Sumi T, Morogi T :  
Low energy levels in thiamine deficient encephalopathy  
J Neuropathol Exp Neurol, in press
- 16) Matsuishi T, Hirata K, Kato H, Terasawa K, Yoshino M, Nonaka I,  
Ohta H, Ohtaki E, Hirose F, Suzuki K :  
Successful carnitine treatment in two siblings of lipid storage myopathy with hypertrophic cardiomyopathy  
Neuropediat, in press
- 17) Ishiura S, Nonaka I, Nakase H, Tada A, Sugita H :  
Two-step mechanism of myofibrillar protein degradation in acute plasmocid-induced muscle necrosis  
Biochim Biophys Acta 798 : 333-342, 1984
- 18) 赤堀宏, 肥高洋, 石井弘子, 埜中征哉 :  
高分解 SEM のためのメタルコーティング法および SEM-TEM 相補観察法  
医生物電顕 12 : 24-25, 1983
- 19) Ishii H, Nonaka I, Satoyoshi E, Akahori H :  
The large replication technique from the SEM specimen

- Electron microscopy 32 : 230-231, 1983
- 20) Terasawa K, Ichinose E, Matsuishi T, Kato H :  
Neurological complications in Kawasaki disease  
Brain Dev 5 : 371-374, 1983
- 21) Matsuishi T, Yano E, Inanaga K, Terasawa K, Ishihara O, Shiotsuki Y, Katafuchi Y, Aoki N, Yamashita F :  
A pilot study on the anticonvulsive effects of a thyrotropin-releasing hormone analog in intractable epilepsy  
Brain Dev 5 : 421-428, 1983
- 22) 伊藤直樹, 平山恵造, 馬場雅行, 山口豊, 黒田紀子 :  
重症筋無力症におけるステロイド・胸腺摘除併用療法  
臨床神経 23 : 338-346, 1983
- 23) 北耕平, 平山恵造, 伊藤直樹 :  
Acute Idiopathic Pandysautonomia——4 自験例での検討——  
自律神経 20 : 67-75, 1983
- 24) 山口豊, 馬場雅行, 小幡貞男, 川野裕, 伊藤直樹, 平山恵造 :  
重症筋無力症に対する胸腺摘除術——術前後 Prednisolone 隔日大量投与法の併用——  
臨床胸部外科 3 : 437-443, 1983
- 25) 大谷杉士, 小暮久也, 関沢剛, 宮武正, 森茂, 豊倉康夫, 岩田誠, 高須俊明, 亀井聡, 田村英二, 佐藤猛, 萬年徹, 後藤文男, 椿忠雄, 別府宏圀, 平山恵造, 伊藤直樹, 柳沢信夫, 高昌星, 祖父江逸郎, 杉村公也, 阪上賀洋, 鬼頭昭三, 黒岩義五郎, 糸山泰人, 庄司紘史, 荒木淑郎, 青山友三, 倉田毅, 本藤良, 水谷裕迪 :  
ヘルペス脳炎・髄膜炎に対する抗ウイルス剤アシクロビルの臨床試験成績  
臨床とウイルス 11 : 104-117, 1983
- 26) 平山恵造, 伊藤直樹 :  
わが国における片頭痛の実態 ——10大学病院神経内科調査から——  
神経内科 19 : 337-343, 1983
- 27) 林葉子, 肥田野信 :  
単純性疱疹  
腎と透析 15 : 582-585, 1983

## II 研究業績

- 28) Wadia NH, Katrak SM, Misra VP, Wadia PN, Miyamura K, Ogino T, Hashimoto K, Hikigi T, Kono R :

Polio-like motor paralysis associated with acute hemorrhagic conjunctivitis in an outbreak in 1981 in Bombay, India : Clinical and serologic studies

J Infect Dis 147 : 660-668, 1983

### b. 著 書

- 1) Sugita H, Ishiura S, Nonaka I :

Ca-activated neutral protease ( CANP) and its inhibitors in pathological states

Proteinase Inhibitors, Medical and Biological Aspects (ed by Katunuma N), Jpn Sci Soc Press/Springer-Verlag, 1983, p 69-75

- 2) 埜中征哉 :

筋生検・組織化学と電顕

小児神経学の進歩 第12集 (日本小児神経学会卒後教育委員会編), 診断と治療社, 東京, 1983, p 53-66

### c. 総 説

- 1) 加茂功 :

抗アセチルコリン受容体モノクローナル抗体

最新医学 39 : 255-259, 1984

- 2) 多田愛子 :

単純ヘルペスウイルス感染症の疫学

周産期医学 13 : 29-33, 1983

### d. 症例報告

- 1) Morimoto T, Nagao H, Sano N, Habara S, Takahashi M, Matsuda H, Nojima M, Nonaka I :

Impaired muscle fiber type differentiation in a case with nemaline myopathy

J Pediat 103 : 268-270, 1983

- 2) Matsuishi T, Terasawa K, Ono E, Nonaka I, Sugiyama N, Nagayama Y, Nakamura Y, Tanaka K :

Fatal lipid storage disorder-hepatitis B virus as a possible cause-

Brain Dev, in press

- 3) Takamoto K, Hirose K, Uono M, Nonaka I :  
A female case of muscular dystrophy with humeropelvic distribution, early joint contracture and permanent atrial paralysis : a genetic variant of Emery-Dreifuss disease ?  
Arch Neurol, in press
- 4) 寺澤健二郎, 山口洋一郎, 石原修, 松石豊次郎, 津末美和子, 森松稔 :  
腎血管性高血圧症を合併したウイリス動脈輪閉塞症の1例—腎動脈の線維筋性形成異常症 (fibromuscular dysplasia) について—  
脳と発達 15 : 350-355, 1983
- 5) 大迫芳郎, 松本康俊, 本田三平, 中山治美, 西野力男, 原朋邦, 林典, 石田治雄 :  
川崎病の経過中に食道拡張を来した1例  
小児臨 36 : 1263-1266, 1983
- 6) 松本康俊, 大迫芳郎, 本田三平, 中山治美, 西野力男, 原朋邦 :  
肺炎マイコプラズマの先行感染が疑われた夏型過敏性肺臓炎の1例  
小児臨 37 : 47-52, 1984
- 7) 大迫芳郎, 松本康俊, 本田三平, 中山治美, 西野力男, 原朋邦, 市川公穂, 岩田忠俊 :  
低発汗型外胚葉形成不全症  
医療 37 : 1013-1016, 1983
- e. 班会議報告書
- 1) 埜中征哉, 寺澤健二郎, 岡田理美 :  
筋ジストロフィー—ハムスター骨格筋の再生  
厚生省神経疾患・筋ジストロフィー症の発症機序に関する臨床的研究班 昭和58年度研究報告書 1984, p 35-38
- 2) 杉田秀夫, 埜中征哉, 岡田理美 :  
筋ジストロフィー—鶏骨格筋の再生能  
厚生省神経疾患・筋ジストロフィー症動物の開発・供給に関する研究班 昭和57年度研究報告書, 1983, p 23-44
- 3) 埜中征哉, 石浦章一, 藤田武久, 高木昭夫 :  
塩酸プビバカイン (マーカイン) 処理による筋崩壊と筋再生に対するロイペプチンの影響  
厚生省新薬開発・微生物の二次代謝産物に由来する難病治療薬(ロイペプチン)の開発研究班 昭和57年度研究報告書, 1983, p 63-69

## II 研究業績

### 4) 杉田秀夫, 埜中征哉 :

筋ジストロフィー・ハムスターに対する E-64-d の効果, 組織学および組織化学的研究

#### 1) 骨格筋の病理

厚生省新薬開発・微生物の二次代謝産物に由来する難病治療薬 (E-64) の開発研究班 昭和57年度研究報告書, 1983, p 261-266

### 5) 林恭三, 古川昭栄, 加茂功, 赤沢佐衛子, 古川美子, 里吉栄二郎 :

酵素標識法による抗 AChR 抗体価の測定

厚生省特定疾患・免疫性神経疾患調査研究班 昭和57年度研究報告書, 1983, p176-183

### 6) 加茂功, 古川昭栄, 多田愛子, 里吉栄二郎, 伊藤恒敏 :

胸腺筋細胞の産生するリンパ系細胞増殖因子

厚生省特定疾患・免疫性神経疾患調査研究班 昭和57年度研究報告書, 1983, p 224-228

### 7) 平山恵造, 伊藤直樹, 山田達夫, 馬場雅行, 古川昭栄, 加茂功 :

重症筋無力症 (MG) におけるステロイド・胸腺摘除併用療法 : 臨床症状と抗 AChR 抗体価の経時的変動

厚生省特定疾患・免疫性神経疾患調査研究班 昭和57年度研究報告書, 1983, p 381-387

#### f. その他

### 1) 林葉子 :

1980年英国における STD の疫学調査

VD 63 : 28-30, 1983

## B. 学会発表

### a. 特別講演, シンポジウム

#### 1) 赤堀宏, 肥高洋, 石井弘子, 埜中征哉 :

高分解能 SEM のためのメタルコーティング法および SEM-TEM 相補観察法

第12回医生物走査電顕シンポジウム, 修善寺, 11.23-25, 1983

### b. 国際学会

Kita K, Hirayama K, Itoh N :

Acute idiopathic pandysautonomia : Clinical feature, laboratory studies and criteria

The International Symposium on Peripheral Neuropathy, Nagoya, Oct. 20-22, 1983

(Abstract p 45-48)

## c. 一般学会

- 1) 埜中征哉, 杉田秀夫 :  
先天性非進行性ミオパチーにみられる筋の未熟性  
第24回日本神経学会総会, 京都, 5.25-27, 1983
- 2) 藤田武久, 石浦章一, 高木昭夫, 埜中征哉, 杉田秀夫 :  
ヒトとウズラ糖原病骨格筋の組織化学的検討  
第24回日本神経学会総会, 京都, 5.25-27, 1983
- 3) 中瀬浩史, 杉田秀夫, 石浦章一, 埜中征哉 :  
プラスモシッドミオパチーにおける筋原線維構成蛋白の崩壊過程と細胞内プロテアーゼ  
第24回日本神経学会総会, 京都, 5.25-27, 1983
- 4) 石原傳幸, 杉田秀夫, 埜中征哉, 井上満 :  
Duchenne 型筋ジストロフィーにおける呼吸筋の組織化学的検討  
第24回日本神経学会総会, 京都, 5.25-27, 1983
- 5) 三池輝久, 玉利秀夫, 大谷宜伸, 松田一郎, 三吉野産治, 埜中征哉 :  
ランタナム染色による DMD および CMD 生検筋と実験的再生筋における T 管の電顕的観察  
第24回日本神経学会総会, 京都, 5.25-27, 1983
- 6) 埜中征哉, 藤田武久 :  
筋線維の未熟性と分化遅延を主病変とする先天性ミオパチー  
第25回日本小児神経学会総会, 栃木, 7.7-9, 1983
- 7) 豊福照子, 埜中征哉 :  
遺伝性神経原性筋萎縮 (pma) マウス下部腰髄前根と坐骨神経の検討  
第25回日本小児神経学会総会, 栃木, 7.7-9, 1983
- 8) 斎藤陽子, 埜中征哉 :  
乳幼児における骨格筋の発育と分化 —筋線維タイプ分布と直径について—  
第24回日本小児神経学会総会, 京都, 7.7-9, 1983
- 9) 志倉圭子, 犬飼和久, 吉沢邦重, 埜中征哉 :  
先天性筋緊張性ジストロフィー症にみられた筋線維の発育およびタイプ分化の遅延  
第24回日本小児神経学会総会, 京都, 7.7-9, 1983
- 10) 加茂功 :



## II 研究業績

- ラット胸腺由来筋細胞の産生する血球系増殖因子  
第42回日本癌学会総会，名古屋，10.25-27，1983
- 11) 寺澤健二郎，松石豊次郎，石原修，坂口祐助，杉山成司：  
lipid storage myopathy を呈した Ataxia telangiectasia の1例  
第25回日本小児神経学会総会，栃木，7.7-9，1983
- 12) 大迫芳郎，松本康俊，本田三平，中山治美，西野力男，原朋邦，埜中征哉  
低体温，高アンモニア血症を呈した1新生児例  
第38回日本小児科学会埼玉地方会，埼玉，6.12，1983
- 13) 本田三平，大迫芳郎，中山治美，西野力男，原朋邦：  
急性骨髄炎の症例  
第38回日本小児科学会埼玉地方会，埼玉，6.12，1983
- 14) 大迫芳郎，本田三平，中山治美，西野力男，原朋邦：  
新生児一過性高アンモニア血症  
第39回日本小児科学会埼玉地方会，埼玉，11.13，1983
- 15) 原朋邦，大迫芳郎，西野力男，本田三平，中山治美：  
最近経験したエリテマトーデスの3例  
第39回日本小児科学会埼玉地方会，埼玉，11.13，1983
- 16) 石井弘子，埜中征哉，里吉栄二郎，赤堀宏：  
SEM 試料から TEM 用レプリカ作成の試み  
日本電子顕微鏡学会第39回学術講演会，名古屋，5.31-6.2，1983
- 17) 伊藤直樹，山田達夫，平山恵造，馬場雅行：  
重症筋無力症におけるステロイド・胸腺摘除併用療法  
第24回日本神経学会総会，京都5.25-27，1983
- 18) 島崎光哲，中川原譲二，武田利兵衛，藤原秀俊，福岡誠二，井出涉，宇佐美卓，中村順一，佐藤茂，安村修一，伊藤直樹：  
CT 像及び脳循環代謝を追跡しえた子癇の1例  
第33回日本神経学会北海道地方会，札幌，10.2，1983
- 19) 井出涉，橋本郁郎，和田啓二，西谷幹雄，戸島雅彦，田中千春，田中靖通，中村順一，安村修一，佐藤茂，伊藤直樹：  
Amphotericin B と 5-fluorocytosine の併用療法にて寛解をみた Cryptococcus 髄膜炎の経時

的 CT

第33回日本神経学会北海道地方会, 札幌, 10.2, 1983

- 20) 佐藤茂, 伊藤直樹, 安村修一, 鎌田一, 堀田隆史, 松下秀明, 岩淵麗子, 中村フミエ, 関啓子:  
脳梁幹後部腫瘍による disconnexion syndrome

第33回日本神経学会北海道地方会, 札幌, 10.2, 1983

- 21) 安村修一, 佐藤茂, 伊藤直樹, 井出渉:

前大脳動脈領域梗塞による言語障害

第34回日本神経学会北海道地方会, 札幌, 3.18, 1984

- 22) 嶋崎光哲, 武田利兵衛, 井出渉, 戸島雅彦, 西谷幹雄, 島田孝, 岡田好生, 下道正幸, 田中千春, 中川原譲二, 中村順一, 伊藤直樹, 末松克美, 千葉昭一:

閉塞性脳血管障害にて発症した頭蓋内石灰化結核腫

第34回日本神経学会北海道地方会, 札幌, 3.18, 1984

- 23) 得地茂, 伊藤公晴, 松本博之, 伊藤直樹, 木下博, 安斎哲郎, 足立英明, 古谷隆司, 西田陸夫, 藤沢泰憲:

乳癌に合併した亜急性性脊髄小脳変性症の1例

第34回日本神経学会北海道地方会, 札幌, 3.18, 1984

- 24) 佐藤茂, 安村修一, 伊藤直樹:

Membranous lipodystrophy (Nasu)の1例

第34回日本神経学会北海道地方会, 3.18, 1984

- 25) 伊藤公晴, 松本博之, 佐藤茂, 安村修一, 伊藤直樹:

ミオパチー症状を呈した骨軟化症の1例

第34回日本神経学会北海道地方会, 札幌, 3.18, 1984

- 26) 尾立冬樹, 金子加世子, 月本厚美, 林葉子:

獣皮様母斑の shaving 後に生じた悪性黒色腫

第7回日本小児皮膚科学会, 東京, 6.11-12, 1983

- 27) 林葉子:

T. rubrum による Tinea Barbae の1例

第605回日本皮膚科学会東京地方会, 東京, 9.17, 1983

- 28) 南光弘子, 林葉子:

環状紅斑を伴ったホジキン病の1例

鹿児島地方会記念大会，鹿児島，11.4，1983

### C. 班会議発表

- 1) 埜中征哉，寺澤健二郎，岡田理美：  
筋ジストロフィーハムスター骨格筋の再生  
厚生省神経疾患・筋ジストロフィー症の発症機序に関する臨床的研究 昭和58年度班会議 東京，12.3-4，1983
- 2) 杉田秀夫，埜中征哉，江崎孝三郎：  
遺伝性前・外側下腿筋群萎縮（pma）マウスの病因に関する神経病理学的検討  
厚生省神経疾患・筋ジストロフィー症動物の開発・供給に関する研究班 昭和58年度班会議，東京，12.2，1983
- 3) 埜中征哉，石浦章一，加茂功，寺澤健二郎，岡田理美：  
塩酸ピバカイン（マーカイン）処理による筋崩壊と筋再生に対するベスタチンの影響  
厚生省新薬開発・微生物の二次代謝産物に由来する難病治療薬（ロイペプチン）の開発研究班 昭和58年度班会議，東京，3.8，1983
- 4) 加茂功，多田愛子，埜中征哉：  
胸腺筋細胞の多様性と産生される諸因子について  
厚生省特定疾患・免疫性神経疾患調査研究班 昭和58年度班会議，東京，1.20，1984
- 5) 林恭三，古川昭栄，赤沢左衛子，加茂功，里吉栄二郎，野元裕：  
ラット，サル，ヒト骨格筋の AChR を抗原とした抗 AChR 抗体の比較検討  
厚生省特定疾患・免疫性神経疾患調査研究班 昭和58年度班会議，東京，1.20，1984
- 6) 平山恵造，小宮山純，伊藤直樹，馬場雅行，古川昭栄，加茂功：  
重症筋無力症（MG）におけるステロイド胸腺摘除併用療法；1) 胸腺腫例での治療効果，2) 経時的抗 AChR 抗体価減少率  
厚生省特定疾患・免疫性神経疾患調査研究班 昭和58年度班会議，東京，1.20，1984

### D. 研究会など

- 1) 佐藤茂，安村修一，伊藤直樹，和田啓二，鎌田一，中村順一，伊藤公晴：  
眼球ミオクロニーに対するクロナゼパムの使用経験  
第1回神経内科治療研究会，東京，8.27，1983

- 2) 佐藤茂, 安村修一, 伊藤直樹, 和田啓二, 鎌田一, 戸島雅彦, 井出渉, 小笠原俊一, 田中靖通, 中村順一, 末松克美  
高血圧性橋出血後の眼球ミオクローヌスに対する clonazepam の使用経験  
第9回北海道脳血管障害研究会, 札幌, 10.8, 1983
- 3) 伊藤直樹 :  
神経疾患最近の治療について  
第57回道東北精神医学研究会, 旭川, 3.3, 1984
- 4) 佐藤茂, 安村修一, 伊藤直樹 :  
著明な姿勢反射異常を伴った CO 中毒の一例  
第1回神経内科談話会, 札幌, 3.24, 1984
- 5) 田中仁司, 平山宗宏, 橋本和予, 松野重夫, 武田直和 :  
ラクトフェリンの抗ウイルス活性に関する研究 —第1報: HSV と HRV の細胞内増殖への影響  
第14回日本小児ウイルス病研究会, 仙台, 12.2, 1983
- 6) 橋本和予 :  
感染症サーベイランス事業—病原微生物検出情報  
第4回衛生微生物技術協議会研究会, 松江, 7.7, 1983

## 3. 主な研究報告

## 遺伝性前・外側下腿筋群萎縮 (pma) マウスの病因に関する病理学的検討

埜中征哉, 多田愛子, 岡田理美

総腓骨神経支配下の前・外側下腿筋群の選択的萎縮を認める遺伝性マウスが江崎らにより見出され, peroneal muscular atrophy (pma)マウスと命名された。このマウスでは総腓骨神経が先天的に欠如していることが確認されている。脊髄前角細胞に異常があるのか, 前根以下の異常か, 分岐点での異常かを確かめるために, 脊髄を検索し, さらに前根, 坐骨神経内の有髄神経の数量的検討を行なった。

## 対象・方法

pma マウスをもとに交配し, 左右差のある (片足が典型的 pma, 反対側が正常) のマウス 5 匹を入手した (図 1)。これらのマウスでは罹患側に総腓骨神経がなく, 支配下の筋は強く侵されていること, 健常側の筋は正常であることを組織学的に確認した。このマウスはグルタルアルデヒドにて灌流固定後, 脊髄, 末梢神経をとり出し,  $O_3O_4$ にて後固定後エポキシに包埋した。それより  $1 \mu\text{m}$  切片を作成し, トリジンブルー染色を行ない, 最終倍率, 1000 倍の写真を作成した。各個体の左右 L3, L4, L5 の脊髄前根, 坐骨神経基幹部での有髄神経総数, 直径計測を行い左, 右, すなわち罹患側と健常側で比較検討した。

## 結果

5 匹とも罹患側での総腓骨神経支配下の筋 (前脛骨筋, 長指伸筋など) は索状で, 細い  $10 \mu$  径以下の線維が結合織の中に埋もれていた。全ての筋は組織化学的には未分化で多くはタイプ 2C 反応を示した。

脊髄前根では L3, L4, L5 とも罹患側, 健常側で有髄神経総数に差はなかった。またその平均直径でも

差はなかった (表 1)。全ての症例で直径のヒストグラムを作成したが, 健常側と罹患側の間に差を認めなかった。

## 考察

pma マウスの筋萎縮内反足は生下時より認められ, それは非進行性である。総腓骨神経は完全に欠如しているために上記症状が出現すると考えられる。罹患側と健常側で脊髄前根や坐骨神経での有髄神経に差がなかったことは, 本症は少なくとも脊髄神経細胞の疾患ではないことを示している。また総腓骨神経が一度形成されて変性脱落したならば, 逆行性的変化が中枢側にみられるはずであるが, それも存在しない。すなわち pma マウスでは, 欠損した総腓骨神経は, 神経の変化によるものではなく分岐異常であるといえる。本実験動物は簡単に増殖が可能であり, 先天性多発性関節拘縮症の病因を知るうえでよいモデル動物といえる。また神経と筋の相互関係を知るうえにも重要な情報を与えてくれるであろう。

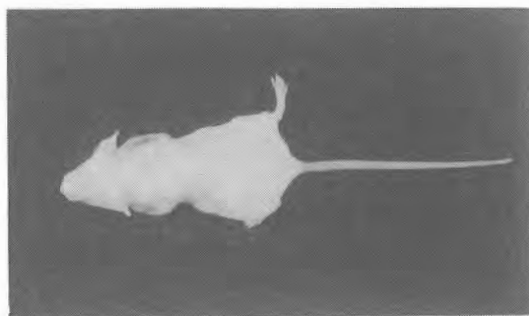


図 1

表 1 MEAN NUMBER AND DIAMETER ( $\mu$ ) OF MYELINATED FIBERS

	N*	AFFECTED		UNAFFECTED	
		NUMBER	DIAMETER	NUMBER	DIAMETER
L3	5	686±81	(6.6±0.7)	700±82	(6.8±0.6)
L4	4	721±126	(5.9±0.8)	719±138	(6.1±1.1)
L5	3	581±95	(5.0±0.9)	576±117	(5.5±0.2)
** SCN	5	4013±181	(4.8±0.4)	4101±445	(4.9±0.9)

\* NUMBER OF ANIMALS EXAMINED

\*\* SCIATIC NERVE

## ラット胸腺筋細胞の多様性

加茂 功, 埜中征哉, 古川昭栄, 里吉栄二郎

胸腺内筋様細胞は、ヒトではその AChR が重症筋無力症との関連から注目されている以外、その生物学的性状については不明な点が多い、そこで我々は、その性状を調べることを目的として、ラット胸腺より筋細胞のクローン化を行なったところ、これを数株樹立することができた。これらのクローン株は異なる形態を呈していたので、本報では、この多様性について述べる。

### 材料と方法

胸腺筋細胞の培養：8日令ラット胸腺浮遊細胞を作製し、 $10^6$ 程度を6 cm 径シュエーレに播き、筋管形成を示標に筋細胞のクローン化を行い、R615A, R613Ad, R615B2の三株を得た。培養液は RPMI 1640+10%牛胎児血清を主に用いた。

電子顕微鏡観察：筋細胞をシャーレにはやしたまま2.5%グルタルアルデヒドで固定し、さらに1%オスミウム酸で後固定後、エポン包埋し、超薄切片にして電子顕微鏡下で観察した。

蛍光抗体法：細胞表面の Thy 1 抗原の観察には sera lab の MAO27モノクローナルマウス IgG 抗体を使用し、次いで FITC 抗マウス IgG ウサギ抗体と反応させて蛍光顕微鏡下で観察した。AChR の測定：2% Triton X 100で細胞から AChR を抽出し、過剰量の $^{125}$ I BTX と反応させ con A-Sepharose 4B に、吸着した $^{125}$ I BTX-AChR をカウントした。

ミオシン ATPase 染色：成書に準じた。<sup>1)</sup>

### 結果

写真 a, b はそれぞれ R613Ad と R615B2の増殖期の形態である。a はスピンドル様の、b は扁平な形態を呈している。R613Ad, R615B2両者とも融合し、電顕的には Z や M バンドをふくむ、筋蛋白構造を呈している。細胞表面における Thy 1 抗原は、R615B2のみ (+) であり他は (-) であった。

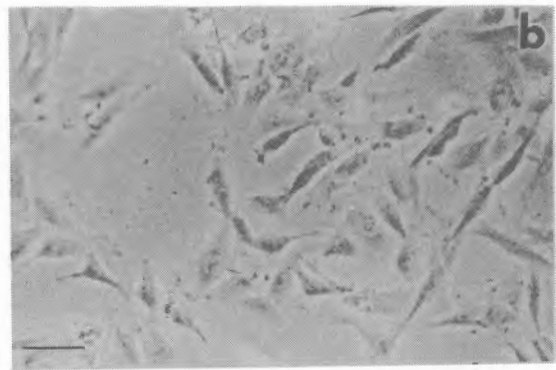
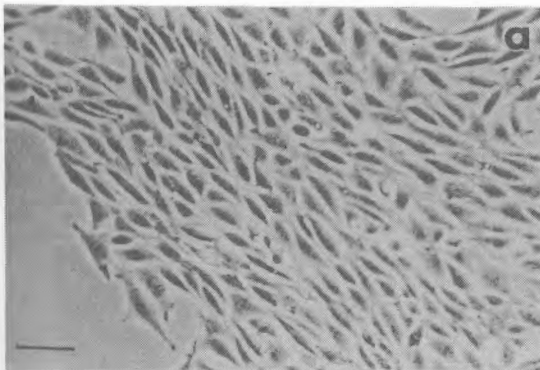
AChR は Thy 1 (+) タイプも (-) タイプにも存在し、両者の細胞とも筋蛋白、AChR の点から筋細胞と考えられる。R613Ad, R615B2をラビットに免疫し、抗血清を十分吸収した後で、胸腺内における Thy 1 (+) と (-) タイプの筋細胞の局在をみると、抗 R613Ad 抗体と R615B2抗体で染色される部位は異なっていた。ミオシン ATPase 染色は pH4.2, 4.6, 10.8の条件で筋培養細胞を前処理後、染色すると両細胞の筋管とも全領域で染色され未熟なタイプ2Cであった。

### 考察

形態学的、免疫学的に異なる筋細胞が胸腺内に存在し、これらは神経支配による相異というよりも、発生を異にする細胞と思われた。

### 文献

組織細胞化学1983, 学際企画発行  
日本組織細胞化学会編



## Cytochrome c oxidase 欠損症患児由来の筋の無血清培地における筋管形成

多田愛子, 寺沢健二郎, 埜中征哉

Cytochrome c oxidase 欠損症は、遺伝性で、出生直後から著しい筋緊張低下、高尿酸血症、Toni-Fanconi-Debre 症候群に似た機能不全や mitochondrial-lipid-glycogen (MLG) myopathy に一致する筋肉形態が観察される疾患である。私達は本症例の病態の解明を目的に生検筋組織を培養に供し、組織学的、生化学的検討を企てた。本研究は現在継続中で予備的実験の段階だが今回は未だ報告のない本症例の筋培養の方法と、その筋管形成観察と組織学的検討について報告する。

## 材料と方法

臨牀的、組織学的に本症を確認された生後3カ月の女児の筋組織を細切、酵素処理して単細胞化し、10%牛胎児血清(FCS)添加MEM培地で培養した。

## 結果

- 1) 本症例の初代培養細胞は同時に培養した別の疾患由来の対照細胞と比べて、明らかに増殖が遅く、筋管形成も劣っていた。そこで二次培養の際一方に10%FCS添加F12, 他方にF12に transferrin, hydrocortisone, insulin を加えた。後者の無血清培地では、24時間後には細胞融合が観察され、4日後には図1の様に筋管形成が観察された。これに対し血清培地中では培養2週間後も図2の様な線維芽細胞状のままであった。
- 2) 本症例と対照例の培養9日の筋細胞を電顕的に

比較した。無血清培地中でも、血清培地での培養に劣らない筋線維・Z帯の形成がみられたが、前者では筋原線維の形成が悪く分化の遅延が疑われ、細胞内小器官は正常のクリスタの配列を有する大型のミトコンドリアが目立ち、胞体内には早期より細胞変性を示す myelin body が多かった。しかし生検筋で観察された多数の空胞化したミトコンドリアはなかった。(図：省略)

## 考察

筋疾患の患者由来の筋細胞の培養は、一般に増殖が遅く、筋管形成の効率も劣ることが多い。自験例でも78歳の皮膚筋炎患者に著しく良好な筋管形成を確認したにすぎない。本症例も非常に筋管形成能が劣っていた。ところで私達はたまたま本症例の培養に先立ち、貯蔵条件が悪く培養を絶望視された剖検筋組織の培養をした。これも初めは扁平な線維芽細胞のみであったが、やがて同じ無血清培地中で筋収縮を起こすまでに分化成熟した。この事実から、一見筋芽細胞と認められない細胞の中に、いわば病的でないし *in vitro* に適応しにくい筋芽細胞があるのではないかと考えて本実験を行った。ヒト筋細胞の無血清培地での維持、筋管形成の例は未だ報告がない。本培養法は形態学的観察のみならず生化学的にも有用であると考えられる。また、電顕酵素組織化学的にも本症例の培養細胞は cytochrome c oxidase 活性が低い傾向が見られたので現在生化学的検討を行っている。

図 1

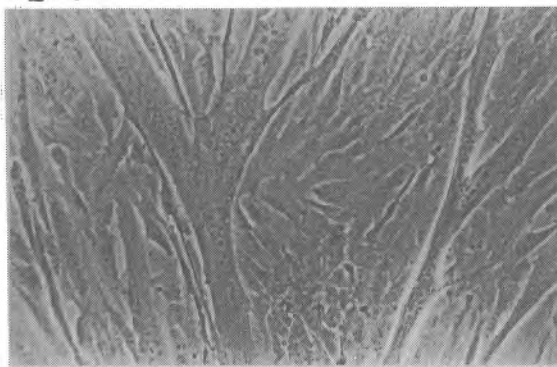
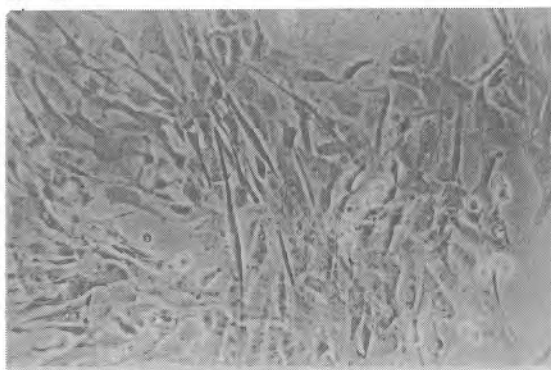


図 2





# 福山型先天性筋ジストロフィーの骨格筋再生能に関する病理学的検討——筋衛星細胞の動態について

寺澤健二郎, 斎藤陽子, 埜中征哉

## 目的:

福山型先天性筋ジストロフィー (FCMD) は、筋線維の壊死・再生を主病変とする疾患である。生検筋では、乳児期早期より小径の筋線維が目立ち大小不同も著しい。強い線維化も特徴の一つとされている。散在する小径線維が、線維化に伴う筋の成熟の遅延を示唆しているのか、あるいは、筋線維の不完全な再生能力を示しているのか不明である。そこで、その成因を明らかにするために、筋の発生・再生に重要な役割を果たしている筋衛星細胞を観察し、Duchenne 型筋ジストロフィー (DMD), 対照群と比較し検討を加えた。

## 対象と方法:

FCMD の患児10例 (5ヶ月~4才1ヶ月), DMD 患児6例 (1才6ヶ月~7才) と対照児8例 (5ヶ月~1才9ヶ月) より採取した左上腕二頭筋をグルタルアルデヒド固定した後に、ランタナム加オスミウム酸にて後固定し、エボン包埋標本を作製した。これらの標本より筋の横断超薄切片を作り、H-300型電子顕微鏡により、筋衛星細胞の形態・数などを検討した。その頻度は、下記の計算式により算出し、比較した。

$$\frac{\text{筋衛星細胞の核数}}{\text{筋核数} + \text{筋衛星細胞の核数}} \times 100 (\%)$$

## 結果

FCMD では、筋原線維の形成が悪い小径の筋線維が多く見られ、筋の成熟の遅延が考えられた。筋衛星細胞も胞体に乏しく、小器官の増加や caveolae の増加も少なかった。核は濃縮したものが多かった。一方、DMD では、未熟な筋線維も散在するが、活動化した筋衛星細胞 (胞体・小器官に富み、多数の caveolae を有し、ときには分裂像をも示す) の増加が目立った。また、対照群においては、形態学的には FCMD 群の筋衛星細胞に類似していた。

数量的検討では、FCMD 群, DMD 群, 対照群の筋衛星細胞の出現頻度は、各々、 $7.5 \pm 1.9\%$ ,  $16.2 \pm 4.0\%$ ,  $8.4 \pm 1.6\%$  であった (表1)。FCMD 群と対照群は、DMD 群と比較すると、有意に低い値を示し

た。しかし、FCMD 群と対照群の間には、有意差はなかった。

## 結論

DMD 群では、若山らの報告<sup>1)</sup>とほぼ同様の結果が、筋衛星細胞の形態・頻度において得られ、DMD における活発な筋線維の再生活動が示唆された。一方、FCMD 群では、対照群との頻度の差は認められず、活性化の所見にも乏しく、DMD ほど活発な再生はおこなわれていないことが明らかにされた。しかし、未熟な小径線維が、むしろ FCMD に多く存在する事実を考え合わせると、FCMD の筋形成あるいは再生能力は、DMD に比し劣っていることが考えられた。これらが、線維化などにより二次的に起っているか否かについては、さらに in vitro における研究が必要である。

Table 1.

Quantitative analysis of satellite cell populations in FCMD

Age	Sex	Number of MF examined	Number of MN	Number of SC	Number of SN	Incidence of SC/MN (%)	Incidence of SN/MN+SN (%)	
1.	5m	M	390	160	11	9	2.8	5.3
2.	7m	M	385	109	9	8	2.3	6.6
3.	0m	M	775	266	40	32	5.2	10.7
4.	10m	M	355	115	19	12	5.4	9.5
5.	11m	F	363	151	25	15	6.9	9.0
6.	1y2m	M	459	185	22	18	4.8	8.8
7.	1y2m	M	558	168	21	12	3.8	6.7
8.	1y5m	M	385	148	25	9	6.5	5.7
9.	2y	F	330	127	12	8	3.6	5.9
10.	4y1m	F	334	121	17	8	5.1	6.2
Mean $\pm$ SD						4.6 $\pm$ 1.5	7.5 $\pm$ 1.9	

MF: muscle fibers, MN: myonuclei, SC: satellite cells, SN: satellite cell nuclei, SD: standard deviation



## 正常乳幼児の筋の発達と分化

齋藤陽子, 埜中従哉

正常乳幼児の筋の発達については、標本を得ることが困難な為、ほとんど報告がない。今回われわれは軽度の神経学的異常及び運動発達遅滞などの為に生検をうけた例で、組織学的に異常を認めなかった例について、組織化学的に筋の分化を、電子顕微鏡的に筋衛星細胞の分布を調べた。

## 対象と方法

5カ月から2才6カ月の乳幼児13例であり、このうち9例は組織化学的に筋線維のタイプ分類を行ない、8例については電子顕微鏡的に筋衛星細胞の分布を調べた。上腕二頭筋を生検後、液体窒素で冷却したイソペンタンで凍結、連続切片を作製し、H&E, modified Gomori trichrome 染色及び一連の組織化学的染色を行なった。myosin ATPase 染色にて、筋線維をタイプ1, 2A, 2B 及び2C 線維に分類し、各々の割合及び直径を測定した。又筋の一部はグルタルアルデヒドで固定後、ランタナムを含むオスミウム酸で後固定しエポキシ包埋した。超薄切片を酢酸ウランと鉛で二重染色を行ない、電子顕微鏡で、500筋線維について筋核、筋衛星細胞及び筋衛星細胞核を数えた。

## 結果

正常乳児のタイプ1線維は、500筋線維中30-54%を示し、成人の値とほぼ同じ値を示した。これはタイプ1線維が、すでにこの時期に分化を完成していることを示している。タイプ2Aと2B線維は、年齢によって異ったタイプ分布を示した(タイプ2A線維, 19-43%; タイプ2B線維, 21-39%)。タイプ2C線維は0.2-3.4%を示し、7カ月から2才6カ月の間では年齢とともに減少する傾向は認められなかった。筋線維直径は、この年齢間では増加せず、ほぼ一定の値を示した。

筋衛星細胞の分布は筋衛星細胞核と筋核の合計で筋衛星細胞核を割った値を%であらわすと、5カ月から1才9カ月では、 $8.4 \pm 1.6\%$ を示した。この値もこの年齢では、年齢とともに減少する傾向は認められなかった。筋核も500筋線維に対して、 $126.6 \pm 15.1$ を示し、年齢とともに増加する傾向はみられなかった。

## 考察

乳幼児における筋の分化は、発達過程にあり、タイプ1線維についてはほとんど分化した状態であるが、タイプ2線維のサブタイプは分化の途中であり、未熟なタイプ2C線維は、生下時と成人の中間の値を示した。又筋衛星細胞の分布も成人の値(4%)<sup>1</sup>より大きな値を示し、減少の過程にあると思われた。

## 文献

- Schmalbruch, H. and Hellhammer, U.: The number of satellite cells in normal human muscle. *Anat. Rec.*, 185: 279-288, 1976.

Table 1

FIBER TYPE DISTRIBUTION AND FIBER DIAMETER OF EACH TYPE-FIBER ANALYSED IN 90 MUSCLE FIBERS FROM NORMAL INFANTS

		FIBER TYPE DISTRIBUTION (%)					
Age	Sex	Clinical manifestation	Muscle pathology	1	2A	2B	2C
7m	M	Delayed motor development	Mild variation in fiber size	43.4	33.9	21.1	1.6
8m	F	Floppy infant	Non-diagnostic	34.5	42.8	21.8	0.9
10m	M	Hypotonia	Non-diagnostic	43.8	19.3	33.5	3.4
10m	F	Floppy infant	Mild variation in fiber size	46.3	24.3	27.6	1.8
11m	F	Floppy infant	Non-diagnostic	46.0	27.6	26.2	0.2
11m	F	Frog leg posture	Non-diagnostic	41.9	18.3	39.2	0.6
1y9m	M	Hypotonia	Non-diagnostic	42.6	26.4	28.3	2.7
2y2m	M	Hypotonia	Non-diagnostic	44.9	36.4	15.5	3.2
2y6m	M	Hypotonia	Non-diagnostic	52.5	23.6	23.5	0.4
		FIBER DIAMETER (Mean $\pm$ S.D., $\mu$ m)					
Age	Sex	1	2A	2B	2C		
7m	M	19.4 $\pm$ 2.8	16.9 $\pm$ 2.4	17.1 $\pm$ 2.4	16.8 $\pm$ 3.0		
8m	F	23.3 $\pm$ 3.8	18.9 $\pm$ 3.2	21.1 $\pm$ 4.4	18.7 $\pm$ 2.9		
10m	M	15.4 $\pm$ 3.0	12.1 $\pm$ 1.9	14.0 $\pm$ 2.7	11.8 $\pm$ 1.7		
10m	F	19.6 $\pm$ 3.3	15.5 $\pm$ 2.3	19.1 $\pm$ 3.0	17.6 $\pm$ 2.2		
11m	F	20.7 $\pm$ 3.0	18.1 $\pm$ 2.8	20.2 $\pm$ 3.2	21.2		
11m	F	17.0 $\pm$ 2.5	14.8 $\pm$ 2.5	15.9 $\pm$ 2.5	14.2 $\pm$ 1.6		
1y9m	M	19.2 $\pm$ 2.8	17.7 $\pm$ 2.5	18.7 $\pm$ 2.8	16.7 $\pm$ 2.1		
2y2m	M	26.4 $\pm$ 4.2	23.5 $\pm$ 3.6	22.3 $\pm$ 3.0	20.0 $\pm$ 3.8		
2y6m	M	24.9 $\pm$ 3.9	21.5 $\pm$ 2.9	21.1 $\pm$ 3.5	19.7 $\pm$ 0.7		

## 10. 機能研究部

### 1. 研究部一年の歩み

昭和58年度において、本研究部で研究にたずさわったのは、小沢鎧二郎、木村一郎、斎藤公司、萩原康子、下岡正志、庄司明子であり、毛涯千夏、後藤いづみがこれを補助した。その他併任研究員として、熱海佐保子（山梨医科大学解剖学教室、教授）および若林健之（東京大学理学部物理学教室、助教授）が参加した。

下岡正志は、当部において二年間の流動研究員としての研修を終え、59年3月31日に退職した。59年4月1日より、山梨医科大学解剖学教室の熱海教授のもとに文部教官助手として着任する。この間、筋成長因子としてのトランスフェリンの網特異性について詳細な研究を行った。

庄司明子は、58年4月7日より、当部流動研究員として着任した。庄司は、東京医科歯科大学医学部卒業後、同微生物学教室にて大学院学生として中谷林太郎教授のもとにRプラスミド接合伝達における新調節機構の研究を行い、58年3月大学院を卒業し、学位を授与された。なお、後藤いづみは59年3月で退職した。

本年度の研究は、従来のトランスフェリンに関しては、下岡は網特異性的有効性についての研究を進め、細胞の種類とトランスフェリンの種類とが適合した場合のみにトランスフェリンは細胞中に取込まれること、そしてそれを決めているのはトランスフェリンと細胞表面にあるトランスフェリンレセプターとの適合性によっていることを明らかにした。木村はこのようにして細胞にとり込まれたトランスフェリンは、細胞内で鉄を離して後、蛋白質としては分解されることなく細胞外に放出されることを示唆する結果を得た。斎藤と萩原は、鉄イオンが、トランスフェリンと同様に筋の成長を促進することに着目し、その両者の何れかが存在する培養液で筋細胞を培養した場合、同じ程度の分化がみられることを示した。小沢は伊井によって開発された筋芽細胞増殖促進因子の研究を行った。

斎藤は培養筋細胞の収縮を測定する方法を開発し、初めて培養筋細胞の収縮の分析が可能な程度の記録を得、細胞膜が興奮性を獲得する前に収縮能が現われること及び収縮のCaイオンは細胞内のストアから供給されることを示した。

対外的活動としては、小沢は東京大学医学部、東京医科歯科大学医学部において、また木村は千葉大学理学部において、非常勤講師として教育に参加した。また小沢は、厚生省神経疾患委託費による筋の発生と分化に関する基礎的研究班、および筋ジストロフィー症研究連絡協議会の運営幹事

## II 研究業績

をつとめ、文部省特定研究、多細胞体制の形成機構の生体因子による制御班の班長をつとめている。また小沢はアメリカ筋ジストロフィー協会 (MDA) 主催のコロキウムに招待された。小沢は筑波大真崎教授および千葉大鳴田教授と共に、「筋発生の細胞生物学」の編集を行った。

(部長 小沢鎧二郎)

## 2. 研究業績

### A 論文

#### a. 原著

1) Kimura I, Ozawa E :

Further studies on the developmental change in myotrophic activity of chicken serum :  
Relation between activity and transferrin  
Develop Growth Differ 25 : 523-529, 1983

2) Kimura I

Developmental change in microheterogeneity of serum transferrin of chickens  
Develop Growth Differ 25 : 531-535, 1983

3) Saito K, Ozawa E :

Contraction of cultured chick myotube before acquisition of cell membrane excitability  
Proc Japan Acad 59 : 367-370, 1983

#### b. 著書

1) 小沢鎧二郎 :

初代培養と培養液

筋発生の細胞生物学 (小沢鎧二郎, 鳴田裕, 真崎知生編)、学会出版センター, 東京, 1983,  
p 47-56

2) 小沢鎧二郎 :

筋細胞融合

筋発生の細胞生物学 (小沢鎧二郎, 鳴田裕, 真崎知生編)、学会出版センター, 東京, 1983,  
p 73-88

3) 木村一郎 :

細胞骨格の蛋白質

筋発生の細胞生物学 (小沢鉄二郎, 嶋田裕, 真崎知生編), 学会出版センター, 東京, 1983,  
p 222-227

4) 木村一郎 :

動物培養細胞の成長因子検定法

生理活性物質のバイオアッセイ (池川信夫, 丸茂晋吾, 星元紀編), 講談社, 東京, 1984,  
p 243-247

c. 総 説

5) Shimada Y, Ozawa E :

Myogenesis

Recent Prog Natural Sci Japan 9 : 102-106, 1984

e. 班会議報告書

1) 小沢鉄二郎, 木村一郎, 斎藤公司 :

外来性トランスフェリンの体内代謝——ニワトリ筋のヌードマウスへの移植のための基礎的  
研究

厚生省神経疾患・筋の発由と分化に関する基礎的研究班 昭和58年度研究報告書, 1984,  
p18-34

2) 下岡正志, 庄司明子, 小沢鉄二郎 :

筋成長因子としてのトランスフェリンの網特异性

文部省科研費総合研究・興奮性細胞の分化に関する発生薬理学的研究班 昭和58年度研究報  
告書, 1984, p 17-24

3) 小沢鉄二郎 :

筋衛星細胞の培養について

厚生省新薬開発・微生物の二次代謝産物に由来する難病治療薬 (E-64) の開発研究班 昭和  
57年度研究報告書, 1983, p 689-191

B 学会発表

c. 一般学会

1) 木村一郎, 斎藤公司, 小沢鉄二郎 :

マウスに投与されたニワトリトランスフェリンの分解：シアール酸残基数と鉄結合の効果

## II 研究業績

- 第54回日本動物学会, 松山, 104-6, 1983 (動物学雑誌 92:555, 1983)
- 2) 木村一郎, 斎藤公司, 小沢鎧二郎 :  
マウスに投与されたニワトリトランスフェリンの代謝回転: シアール酸残基数と鉄結合の効果  
第57回日本薬理学会総会, 京都, 2.23-26, 1983
- 3) 斎藤公司, 小沢鎧二郎 :  
ニワトリ培養骨格筋細胞の電気刺激による収縮について  
第57回日本薬理学会総会, 京都, 3.23-26, 1984
- 4) 萩原康子, 小沢鎧二郎 :  
ニワトリ培養骨格筋細胞の分化とトランスフェリンおよび鉄イオンの効果  
第57回日本薬理学会総会, 京都, 3.23-26, 1984
- 5) 萩原康子, 小沢鎧二郎 :  
培養筋細胞におよぼす局所麻酔薬の作用  
第16回日本発生生物学会, 松山, 5.11-13, 1983  
(Develop Growth Differ 25:417, 1983)
- 6) 伊井一夫, 小沢鎧二郎 :  
ニワトリ胚抽出物中の増殖促進因子による筋細胞融合の遅延  
第16回日本発生生物学会, 松山, 5.11-13, 1983  
(Develop Growth Differ 25:416, 1983)
- 7) 下岡正志, 庄司明子, 小沢鎧二郎 :  
筋成長因子としてのトランスフェリンの綱特异性  
第57回日本薬理学会総会, 京都, 3.23-26, 1984

## C 班会議発表

- 1) 小沢鎧二郎, 木村一郎, 斎藤公司 :  
外来性トランスフェリンの体内代謝について——ニワトリ筋のヌードマウスへの移植のための基礎的研究  
厚生省神経疾患・筋の発生と分化に関する基礎的研究班  
昭和58年度班会議, 東京, 12.1, 1983

- 2) 熱海佐保子, 小沢鎧二郎 :  
 培養ジストロフィーハムスター筋への E-64 の作用に対する形態学的研究  
 厚生省新薬開発・微生物の二次代謝に由来する難病治療薬 (E-64) の開発研究班  
 昭和58年度班会議, 東京, 2.1, 1984
- 3) 小沢鎧二郎 : 筋の発生・分化とその障害  
 厚生省神経疾患・出生前要因による脳障害の成因並びに治療に関する臨床的基礎的研究班  
 ワークショップ, 熱海, 7.20, 1983
- 4) 小沢鎧二郎 :  
 筋成長因子としてのトランスフェリン  
 文部省科研費特定研究・多細胞体制の形成機構班  
 昭和58年度班会議, 東京, 9.13, 1983
- 5) 伊井一夫, 小沢鎧二郎 :  
 筋芽細胞増殖因子  
 文部省科研費特定研究・収縮構造の多様性とその発生班  
 昭和58年度班会議, 東京, 1.24, 1984
- 6) 下岡正志, 小沢鎧二郎 :  
 筋成長因子としてのトランスフェリンの網特異性  
 文部省科研費総合研究・収縮構造の多様性とその発生班  
 昭和58年度班会議, 東京, 1.6, 1984
- 7) 下岡正志, 庄司明子, 小沢鎧二郎 :  
 筋成長因子としてのトランスフェリンの網特異性  
 文部省科研費総合研究・興奮性細胞の分化に関する発生薬理学的研究班  
 昭和58年度班会議, 千葉, 12.3, 1983

#### D 研究会など

- 1) Ozawa E:  
 Transferrin and myogenesis  
 Seminar at Univ Pennsylvania Medical School, Philadelphia, 10.17, 1983
- 2) Ozawa E:

II 研究業績

Substances in embryo extract effective on muscle cell growth

Seminar at Harvard Univ Medical School, Boston, 10.19, 1983

3) Ozawa E:

MDA colloquium: Gene expression and growth factors,

Totts Gap, Pa, 10.11-14, 1983

4) 小沢鉄二郎 筋成長因子としてのトランスフェリン

東京都精神医学総会研究所セミナー, 東京, 2.21, 1983

## 3. 主な研究報告

筋成長因子としてのトランスフェリンの recycling  
と分子性状の変化

木村一郎, 小沢鉄二郎

鉄結合糖タンパクであるトランスフェリン (Tf) は、培養系において鉄供与体として細胞の成長に不可欠のものであることが知られており、ニワトリ筋原細胞もニワトリ Tf を欠く培養液中では成長できない。一方、Tf は他の多くの ligand と比べて特異な挙動をとることが最近示唆されている。holoTf は receptor-mediated endocytosis によって内部化されたあと、細胞内で結合鉄を離脱し、apoTf として再び細胞表面に戻り、intact molecule として外部化されると考えられている。しかし、この recycling 後の Tf 分子が真の意味で intact molecule であり、生物活性を保持しているという直接的な証拠は示されていない。本研究はニワトリ筋原細胞培養系を用いて、細胞内にとりこまれたニワトリ Tf が intact molecule として再び培養液中に放出されるか否かを調べるために行われた。

Tf 分子の intactness の検査は、recycling により再び培養液中に放出された Tf 分子が、鉄を再結合したときにその細胞成長促進活性を回復するか否か、また、等電点電気泳動法と抗ニワトリ Tf 血清を用いた免疫固定法、および選択的に Tf を染色した後のデンストメトリー法を利用することにより、Tf の分子性状および培養液中の濃度に変化があるか否かを調べることにより行われた。この場合、“intact Tf” とは等電点電気泳動で標準 Tf 分子と同一位置に泳動されるものを意味する。

ニワトリ胚骨格筋芽細胞をニワトリ Tf を含む基本培養液 (Eagle's MEM+馬血清) 中で培養すると、細胞は成長して筋管細胞を形成し、creatine kinase (CK) を蓄積したが、それらに並行して培養液中の holoTf の減少と apoTf の増加がみられた。しかしこの間培養液中の intact Tf の総量には変化がなかった (図)。細胞の培養に用いられその中に含まれるニワトリ Tf のほとんどが apo 型となった培養液はもはや細胞成長促進活性を發揮しないが、それに鉄溶液を加えて apoTf を holoTf にすると成長促進活性を回復した。この回復された活性は鉄溶液を加えずにそこに含まれる apoTf と同量の holo Tf を加えたもののそれとほぼ同じであった。

糖タンパクであるニワトリ Tf にはその糖鎖末端のシアル酸残基数の異なるいくつかの分子種が存在し、それぞれ固有の等電点をもっている。細胞に利用されたあと培養液中に放出された Tf の各分子種に鉄を再結合されて調べてみると等電点には変化がみられなかった。この結果は recycling の過程でシアル酸残基の離脱や付加が起らなかったことを示しており、糖鎖の部分切断がなかったことをも示している。

以上の結果は、ニワトリ筋原細胞—ニワトリ Tf の系で Tf 分子はその結合鉄を離脱するという以外に分子性状の変化なしに、生物活性を保持した intact molecule として recycle することを強く示唆している。

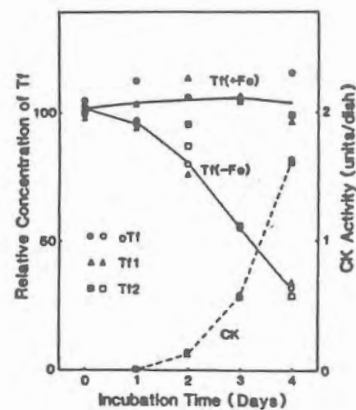


図 筋原細胞の成長と培養液中の Tf の濃度変化。

Tf(-Fe) は培養液中の Tf をそのまま、Tf(+Fe) は予め鉄飽和にしてから定量した intact holo Tf の濃度をそれぞれ示している。細胞成長は CK 活性を指標として示してある。oTf, シアル酸をもたぬ ovoTf; Tf1, Tf2, シアル酸を 1 または 2 残基もつ血清 Tf。



## 筋細胞分化における鉄イオンと鉄結合トランスフェリンの作用

萩原康子, 齋藤公司, 小沢鉄二郎

我々は筋成長に関与する因子を明らかにする目的で研究を進め, *in vitro* での第1の因子としてトランスフェリン (Tf) を報告して来た。この Tf の筋成長作用は, 鳥類の細胞には鳥類の Tf が効き, 哺乳類の細胞には哺乳類の Tf が効くという特異性があり, さらに鉄を結合した Tf (Fe-Tf) が効果があることを報告した。Fe-Tf のかわりに適当な濃度の Fe イオンだけを加えても筋細胞は成長するが, Fe を結合していない Tf や, Fe 以外の遷移金属を結合した Tf は効果がなかった。このことは, Fe が筋細胞の成長に必要であることを示しているが, 筋細胞の分化における作用についての検討はなされていなかった。今回, 形態的, 生化学的および生理学的分化のマーカについて, Fe-Tf と Fe の作用を調べた。

## 方法と結果

11日目ニワトリ胚の胸筋から得た筋芽細胞をまき ( $2 \times 10^5 / 35\text{mm dish}$ ), 細胞が dish に付着した後, Fe-Tf ( $0.2 \mu\text{M}$ ) あるいは Fe ( $100 \mu\text{M}$ ) を含む培養液中 (85% Eagle's MEM 15% 馬血清) で培養した。培養液は2~3日毎に交換して6~7日間培養した。

## I. 形態的变化

筋芽細胞は分裂を繰返した後, 融合して筋管細胞を形成した。筋管細胞は大きくなり, やがて横紋がみられるようになった。自発的収縮も観察された。

## II. 生化学的マーカー

(a) Creatine kinase (CK) の isozyme: 筋に特異的に多い酵素に CK がある。その isozyme には BB 型, MB 型および MM 型があり, 分化が進むにつれてこの順序に出現し, 後期になる程 MM 型が多くなることが知られている。培養48, 81, 106および129時間の細胞でこのことを調べ, MM 型の増加が確認された。

(b) Myofibril proteins: 培養6日目の筋細胞より myosin B を粗精製して二次元電気泳動にて展開し観察した。ミオシン軽鎖の速筋型1および2, 遅筋型2,  $\alpha$  アクチン,  $\alpha$  および  $\beta$  トロポミオシンが認められた。(図)

## III. 生理学的マーカー

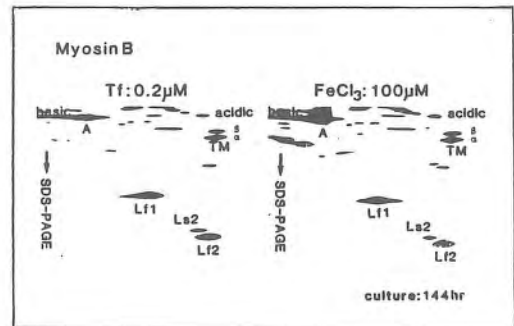
(a) 膜興奮性: 培養した筋管細胞に微小電極を二本そう入して, 一方の電極には刺激電流を流し, 他方の電極で膜の電位変化を記録した。分化が進んだ細胞では, 持続の長い脱分極性の電位変化が現れるようになり, またスパイク放電も生じるようになった。

(b) 収縮能: 培養細胞の収縮を光学的に記録する方法で測定した。持続の長い脱分極電位変化が発生すると収縮は長びいた。

以上のすべてのマーカーについて, Fe-Tf あるいは Fe を加えた培養液中で培養した筋細胞の分化の程度は, ほぼ同じであった。

## 考 察

筋細胞の分化に関しても成長においてと同様に, 細胞に必要な Fe-Tf の作用の本質的なものは Fe であり, Tf タンパク質は本質的な役割を演じているのではなく, Fe を細胞内へ効果的に運び込む作用をしているだけであろうと考えられる。



A : actin    TM : tropomyosin  
Lf1 : fast myosin light chain-1  
Lf2 : fast myosin light chain-2  
Ls2 : slow myosin light chain-2

## Tf (トランスフェリン) の筋芽細胞成長促進作用における糖鎖の役割

庄司明子, 下岡正志, 小沢鏝二郎

in vitro の系での筋芽細胞の成長に必須とされる Tf の作用においては, 培養細胞と Tf との間に網特異性の存在することが明らかになっている。今回我々はアミノ酸部分は同一であるが, 糖鎖部分を異にする Tf を用いて, それらの細胞成長促進効果を比較し, 糖鎖の役割について検討した。その結果, 糖鎖の構造の変化が網特異性の原則に例外をもたらす場合のあることを見出した。

## 材料と方法

ニワトリ ovoTf はニワトリ卵白より chick serum Tf, rat serum Tf はニワトリ血清, ラット血清よりそれぞれ精製した。さらに, chick serum Tf に Neuraminidase を 0.01u/mg protein 37°C 24 hr, 作用させた後 DE52カラムクロマトグラフィーにより酵素と Tf を分離することによって完全にシアル酸残基が除去された Tf を得た (Tf0 と略記)。シアル酸残基の数は, 等電点電気泳動法により確認した。

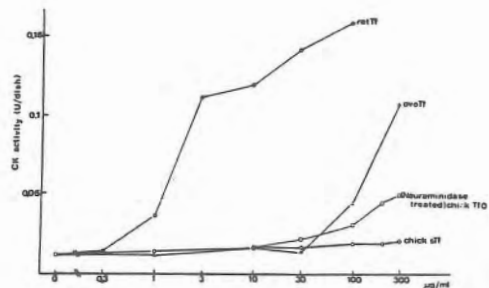
筋芽細胞は, ラット (1日令) の thigh muscle より調整し, 85%MEM-15%ニワトリ血清,  $10^{-6}$ M Insulin を基本として各 Tf を加えた条件下で, それらの成長促進作用をクレアチンキナーゼ (CK) 活性を指標として計測した。

## 結果と考察

各 Tf の rat 筋芽細胞の成長に対する作用を図に示した。ovoTf は, アミノ酸の一次構造が全く同一である chick serum Tf が成長促進作用を示さないのに対して, 本来著しい活性を有する rat serum Tf と比較して, 約 1/100 の値ではあるが, ある程度の成長促進作用を示した。この相違が, 両者で異なっている糖鎖末端のシアル酸残基の有無に由来するかどうかを調べる目的で, chick serum Tf から酵素処理によってシアル酸残基を除去した Tf0 を作製し

て活性を調べたところ, ovo Tf よりもさらに低い値ながら, 成長促進活性を示した。以上の結果により, 培養筋細胞に対する Tf の成長促進作用の発現には, 糖鎖末端のシアル酸残基の有無が関与していることが示された。また, Tf2, Tf1, Tf0 をほぼ 65:32:3 の割合で含む chick serum Tf と Tf0 単独との間に, 数10倍程度の活性の差が存在することから, Tf2 はもちろん, Tf1 にもほとんど促進活性がないことが示唆された。

Tf が細胞の成長に及ぼす効果の程度は, それらの細胞表面に存在するレセプターへの親和性の差に起因することが明らかになっているが, 今回の結果は, 糖鎖末端のシアル酸残基が細胞表面と蛋白との相互作用に関与していることを示すものと考えられる。また, ovoTf は, Tf0 と同様にシアル酸残基を欠いているが, さらにその内側の Gal をも欠いて GlcNAc を末端に有しているが, そのこともまた細胞表面との相互作用に影響を及ぼしていると考えられる。Tf0, ovoTf, chick serum Tf は, chick primary culture の効果においては, 全く差を有しないが, 以上の様に rat primary culture に対してはいくらか異なった効果を示し, Tf の作用における網特異性の原則 (鳥類の Tf は哺乳類の細胞に効果を有しない) が, 糖鎖の構造によっていくつかの例外を含む場合があることが示された。



## ニワトリ培養骨格筋細胞の通電刺激による膜電位変化と収縮との関係

斎藤公司, 小沢鉄二郎

骨格筋の膜電位変化と収縮との関係（興奮—収縮連関）については、成長した筋細胞で詳細に調べられている。しかし、興奮—収縮連関の過程が筋の成長と共にどのように発達してくるのか分っていない。膜興奮の発達は明らかにされているが、収縮能の発達については調べられていないためである。今回、成長途上の筋細胞の膜電位変化と収縮とを同時に記録することを試み、以下の成績を得た。〔方法〕ニワトリ胚胸筋の筋芽細胞を培養して得た筋管細胞を用いた。収縮を記録する方法を図1に示した。倒立位相差顕微鏡で観察しながら筋管細胞上にガラス小粒をのせると、この小粒は筋管細胞の動きに従って動く。この動きを鏡体のカメラ取付部に置いたフォトトランジスターで光量の変化としてとらえ、オシロスコープに描記させる。フォトトランジスターをガラス小粒の位置に合わせるためには、フォトトランジスターをホルダーからはずしてここから光を入れる。光はスポットとして視野内に見えてくるので、ホルダーを動かしてスポットをガラス小粒の上にもってくる。このようにして収縮記録系をセットしたのち、この筋管細胞に通電刺激用と膜電位記録用の二本の電極を刺入した。〔成績と考察〕筋管細胞を通電刺激すると、弱い刺激では受動的な膜電位変化のみが生ずる。この膜電位変化の大きさがあるレベルに達すると刺激部位に小さな収縮が生じた(図2 a 1)。刺激を強めると、受動的な膜電位変化が大きくなると共に刺激後に緩徐な脱分極相が現れ、収縮部位も広がって潜時のより短い大きな収縮が記録された(図2 a 2)。さらに刺激を強めると、スパイク状の電位変化が現れ緩徐な脱分極は大きくなって持続も長びき、収縮は立上りが速くなって経過も延長した(図2 a 3-4)。Co, Mn イオン(5 mM)が存在すると緩徐な脱分極は抑制され、収縮も消失した。この種の細胞のほかに、強い刺激を与えても受動的な膜電位変化しか生じない筋管細胞があった(図2 b)。膜興奮の不活化が働いている可能性があるため、これを取除くべく過分極させてみたが、過分極終了時にスパイク状の電位変化も脱分極も現れず(図2 c 矢印)、まだ膜興奮性を獲得するに至っていない細胞と思われる。しかしこのような細胞も受動的膜電位変化の大きさに応じて収縮した。このことは、ニワトリ培養筋管細胞は膜興奮性を獲得する以前に、収縮系を作動可能なまでに発達させていることを示し

ている。また、この収縮は筋小胞体からのCaイオンの遊離によって生ずるものと推察される。

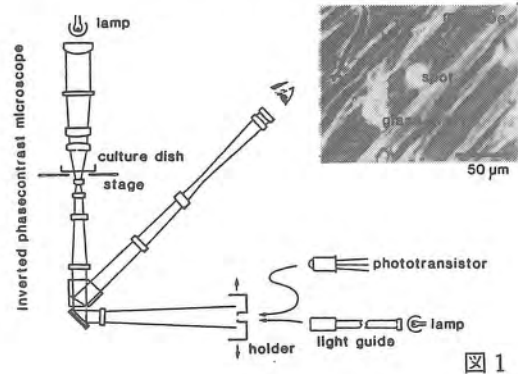


図1

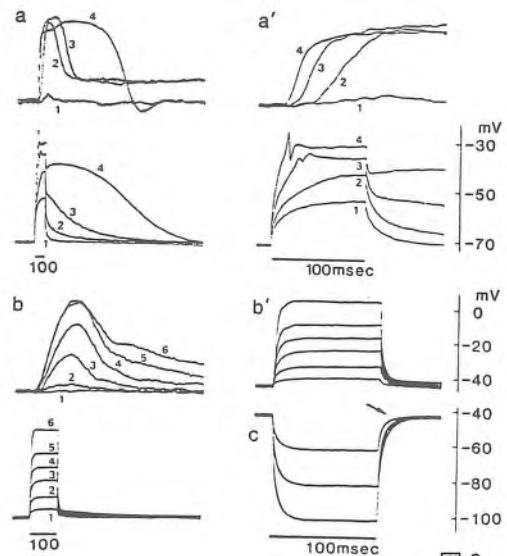


図2

図1 筋管細胞の収縮を記録する方法

図2 筋管細胞の膜電位変化と収縮

a: 培養9日目。上のトレースは収縮, 下のトレースは膜電位変化。1, 5 nA 刺激; 2, 7 nA; 3, 10 nA; 4, 15nA。a'はaを時間軸を速めて記録したもの。b; 培養4日目。1, 2 nA; 2, 5 nA; 3, 10 nA; 4, 15nA; 5, 20nA; 6, 30nA。b'はbの膜電位変化を時間軸を速めて記録したもの。cはbと同じ細胞から記録した過分極側の通電刺激による反応。矢印部でoff-responseは現れていない。

## 11. 代謝研究部

### 1. 研究部一年の歩み

中枢神経の生体膜の発達とその障害の生化学的研究を行いつつある。生体膜としてミエリンをとりあげ、その蛋白・脂質代謝と、ミエリン形成の関連性を追究しつつある。またミエリン形成に関与するとされるオリゴデンドロサイトを分離・培養してその成熟過程を検索し、分離細胞によるミエリン構成成分の生合成過程を追究中である。また脳発達障害に屢々伴うてんかんに対する薬物の作用機序を、生体膜の薬物レセプターの生化学的研究の面から追究中である。

現在の個々の研究課題としてはつぎのとおりである。

#### (1) ミエリン形成過程におけるオリゴデンドロサイト

我々がニワトリ脳のオリゴデンドロサイト分離に用いてきた hexose-Ficoll-sucrose 法を Percoll 法に変更することにより、この細胞をより純化しうる分離法とした。分離したオリゴデンドロサイトの培養系を確立し、この細胞の成熟過程およびそのミエリン構成蛋白質(MBP, CNPase など)の生合成過程を検討中である。またオリゴデンドロサイトに多く存在する微小管と MBP との関連性を追究し、これがミエリン形成に果たす役割を検討中である。この研究の一部は 3rd Internat'l Congress of Cell Biol.に報告した。

#### (2) ミエリンの塩基性蛋白 (MBP) について

ニワトリ脳ミエリンに従来から認められていた MBP (MBP<sub>1</sub>) と異なり、分子量のやや大きい MBP<sub>2</sub>を見出し、これがミエリン形成初期から存在することを認めた。既に一部の化学的性質を報告したが、今回は化学構造の検討の結果、両 MBP の一次構造の大部分は類似するが、一部に構造の差があることを認めた。さらに最近両 MBP が生体内で移行する可能性が示唆されたため、ミエリン形成に果たす両 MBP の役割を検討中である。この研究の一部は 9th Internat'l Meeting of Neurochemistry および第56回日本生化学会において報告した。

#### (3) ミエリンの脂質について

ミエリン構成成分の一つである脂質として、スフィンゴ脂質、プラズマローゲンの微量分析法を GC または GC/MS などを用いて確立してきた。今回はミエリンに微量に存在して、MBP との相互作用が想定される酸性リン脂質について、高速液体クロマトグラフィーなどを用い簡便化した微

## II 研究業績

量分析法として確立した。この方法によりホスファチジン酸が特異的にミエリンに多く、ミエリン形成に伴って増加することを認めた。この研究の一部は第26回日本神経化学会および第56回日本生化学会において報告した。

### (4) 抗てんかん薬レセプターの生化学的研究

我々は代表的抗てんかん薬の一つであるフェニトイン (PHT) の特異的結合部位をラット脳の膜分画に見出し、その結合親和性、結合選択性などを発表してきた。現在この特異的結合部位の分離、精製を試みつつあるが、まだその生化学的実体を把握するに至っていない。現段階では体内活性物質のレセプターと、体外から投与した薬物のレセプターの差異について検討すべきであると考察される。この研究の一部は 15th Epilepsy Internat'l Symp., 6th Asian and Oceanian Congress of Neurology のシンポジウム、第17回日本てんかん学会のスペシャルセッションにおいて報告した。

本年の人事の動きとしては、流動研究員として3年間貢献した西村成子が国立てんかんセンター(静岡東病院)の生化学研究室主任として転出した(昭55.8—58.9)。新しく昭58.4より流動研究員として熊谷博道(東京大、理学部、大学院より)が、準職員研究員として田口文子(昭58.3、静岡薬大卒)が研究に参加した。熊谷は微小管などの細胞骨格の生化学的研究を行ってきた。別に研究見習生として野沢貴子(明治薬大、卒論学生)が4ヶ月間在籍した(昭58.9—58.12)。

(部長 宮本侃治)

## 2. 研究業績

### A 論文

#### a. 原著

1) Miyamoto K, Imazawa M, Nakajima K, Nakajima S :

The determination and properties of plasmalogen (PLAS) and myelin basic protein (MBP) in the oligodendrocytes of the chick brain

Neurochem Res 8 : 810-811, 1983

2) Miyamoto K, Mori A :

Approaches to epilepsy via biological chemistry :Biological membranes of brain and their

relationship to epilepsy

Folia Psychiat Neurol Jpn 37 : 293-294, 1983

3) Nishimura S, Imazawa M, Miyamoto K :

Possible existence of loosely membrane-bound specific binding sites for phenytoin

Folia Psychiat Neurol Jpn 37 : 303-305, 1983

4) 西村成子, 今澤正興, 宮本侃治 :

ラット脳におけるフェニトイン特異的結合部位の結合親和性

てんかん研究 1 : 159-164, 1983

5) Kumagai H, Sakai H :

A porcine brain protein (35K protein) which bundles microtubules and its identification as glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase

J Biochem 93 : 1259-1269, 1983

6) Mori A, Miyamoto K :

Biochemical approaches to epilepsy : Epileptogenic disorders involving neurotransmitters in the brain

Folia Psychiat Neurol Jpn, in press

7) Miyamoto K, Imazawa M, Nishimura S :

Binding selectivity of the PHT binding sites in rat brain

Folia Psychiat Neurol Jpn, in press

8) Miyamoto K, Imazawa M :

The specific binding sites for antiepileptic drug (phenytoin) in rat brain

Neurosci Lett, in press

b. 著 書

1) 宮本侃治 :

てんかん治療：III血中濃度モニタリングと薬物療法の実際(1).

てんかん学 (秋元波留夫, 山内俊雄編), 岩崎学術出版社, 東京, 1984, p 287-300

c. 総 説

1) 宮本侃治, 西村成子, 今澤正興 :

## II 研究業績

抗てんかん薬の結合部位と作用機序

神経研究進歩 27: 554-565, 1983

### e. 班会議報告書

1) 宮本侃治, 熊谷博道, 今澤正興 :

オリゴデンドロサイトの塩基性蛋白 (MBP) について

厚生省神経疾患・精神遅滞の本態および成因に関する開発的研究班 昭和58年度研究報告書, 1984, p 91-96

2) 宮本侃治, 今澤正興, 大泉信行, 西村成子 :

抗てんかん薬レセプターと脳生体膜

厚生省神経疾患・難治性てんかんの成因と治療に関する研究班 昭和58年度研究報告書, 1984, p 5-9

3) 今澤正興, 宮本侃治 :

成人型 MLD のリン脂質—特に酸性リン脂質について

厚生省神経疾患・出生前要因による脳障害の成因並びに治療に関する臨床的基礎的研究班 昭和58年度研究報告書, 1984, p 93-96

### f. その他

1) 宮本侃治, 三浦寿男, 田村善藏 :

座談会・てんかん治療薬

TDM (therapeutic drug monitoring) 2 : 1-20, 1983

2) 宮本侃治 :

薬剤有効血中濃度に個体差はあるか

臨床検査 27 : 1671-1672, 1983

## B 学会発表

### a. 特別講演, シンポジウム

1) Miyamoto K, Nishimura S, Imazawa M :

Mechanism of antiepileptic drug action. In Symposium "Antiepileptic drug utilization and seizure control"

6th Asian and Oceanian Congress of Neurology, Taipei, Nov. 13-17, 1983 (abstract p40)

2) 森昭胤, 宮本侃治 :

てんかんの生物化学的接近—ニューロトランスミッターとその周辺

第17回日本てんかん学会スペシャルセッション, 京都, 11.10—11, 1983 (抄録 p 13)

3) 西村成子, 今澤正興, 宮本侃治 :

種々の抗てんかん薬の脳フェニトン specific binding site に対する結合親和性

第17回日本てんかん学会スペシャルセッション, 京都, 11.10—11, 1983 (抄録 p 15)

b. 国際学会

1) Nakajima K, Oizumi N, Imazawa M, Miyamoto K :

The presence of multiple forms of myelin basic protein in the chick brain

9th Meeting International Society for Neurochemistry, Vancouver, July 10-15, 1983

(J Neurochem 41, suppl : S46B, 1983)

2) Miyamoto K, Nishimura S, Imazawa M :

The specific binding sites for phenytoin in the rat brain

15th Epilepsy International Symposium, Washington DC, Sep.26-30, 1983 (Abstracts  
p 193)

c. 一般学会

1) 今澤正興, 宮本侃治 :

脳酸性リン脂質の分離およびその脂酸分析

第26回日本神経化学会, 大阪, 11.14-16, 1983 (神経化学 22 : 384-386)

2) 中嶋一行, 大泉信行, 今澤正興, 宮本侃治 :

多様性を認めたニワトリ脳のミエリン塩基性タンパク

第56回日本生化学会, 福岡, 9.29-10.2, 1983 (生化学 55 : 715)

3) 今澤正興, 中嶋サカエ, 宮本侃治 :

脳の酸性リン脂質の簡便分離法

第56回日本生化学会, 福岡, 9.29-10.2, 1983 (生化学 55 : 1005)

c. 班会議発表



## II 研究業績

- 1) 宮本侃治, 今澤正興, 大泉信行, 西村成子 :

抗てんかん薬レセプターと脳生体膜

厚生省神経疾患・難治性てんかんの成因と治療に関する研究班 昭和58年度班会議, 東京,  
12.9, 1983

- 2) 今澤正興, 宮本侃治 :

成人型 MLD のリン脂質—特に酸性リン脂質について

厚生省神経疾患・出生前要因による脳障害の成因並びに治療に関する臨床的基礎的研究班  
昭和58年度班会議, 東京, 1.20-21, 1984

- 3) 宮本侃治, 熊谷博道, 今澤正興 :

オリゴデンドロサイトの塩基性蛋白 (MBP) について

厚生省神経疾患・精神遅滞の本態および成因に関する開発的研究班 昭和58年度班会議, 東  
京, 2.18, 1984

- 4) 宮本侃治, 今澤正興 :

ミエリン塩基性蛋白 (MBP) とミエリン構成脂質の関連性について

文部省科研費総合(A)・ミエリン及びミエリン形成不全動物についての総合的研究班, 新潟,  
3.2, 1984

## 3. 主な研究報告

## オリゴデンドロサイトの塩基性蛋白 (MBP) について

熊谷博道, 佐藤七枝, 今澤正興, 宮本侃治

神経系に特異的な生体膜の一つであるミエリンの形成機構とその障害機構を検索することを目的として研究を行っている。中枢神経系のミエリン形成に関与するとされるオリゴデンドロサイト (OLG) を分離し、その培養系の条件を検討し、培養に伴う OLG のミエリン塩基性蛋白 (MBP) の変動を測定した。これを指標として OLG の成熟過程を追究中である。

## 材料と方法

有精卵を 38.5°C, 湿度90%で孵卵し、各時期の胚脳 (小脳, 脳幹部を除去) を用いた。

OLG の分離法は図 1 に示すように Lisak らの方法<sup>1)</sup>を改変し行った。分離した細胞を常法に従い anti-galactocerebroside を用いた間接蛍光抗体法により観察した。20%馬血清含有の Eagle's MEM 中で培養し、この際フィブロblast 増殖抑制のために 6.6 $\mu$ M cytosine arabinoside を加えた。培養 3-4 日後突起を伸ばし始め、OLG 様の形態を示した。細胞の MBP の定量は我々の報告した酵素免疫アッセイ (EIA)<sup>2)</sup>を部分的に改変して用いた。

## 結果と考察

位相差顕微鏡, 電子顕微鏡および OLG の形質膜に特異的とされる Gal-C 抗体を用いた間接蛍光抗体法による証明などにより, Percoll 法により分離された画分の90%以上が OLG であることが認められた。そこで発達各時期の胚脳 OLG の MBP 量を観察すると, 以前報告した不連続 hexose-Ficoll-sucrose 法により分離された場合と同様に孵卵16-17 日から細胞当たりの MBP 量が増加し, 孵卵直後で最大値を示し, その後徐々に減少することを認めた。

つぎに培養経過に伴う OLG の MBP 量を観察した (図 2)。ミエリン形成前の14日胚からの OLG を用いた場合は著明な MBP 増加を示さず, ミエリン形成の始まった17日胚からの OLG の場合は培養3 日後まで MBP が増加し, その後は徐々に減少することが認められた。現在 MBP 以外のミエリン構成蛋白についても解明を行うとともに, OLG の成熟およびその MBP の合成に必要な因子の検索を含め,

培養条件の改良を行いつつある。

また OLG に多く存在する微小管が MBP と相互作用することを *in vitro* に認め, 培養 OLG を用いてミエリン形成における微小管の役割について検討中である。

## 文 献

- 1) Lisak R P et al :  
Brain Res 223 : 107-122, 1983
- 2) Shinomiya Y et al :  
J Neurochem 39 : 1291-1296, 1982

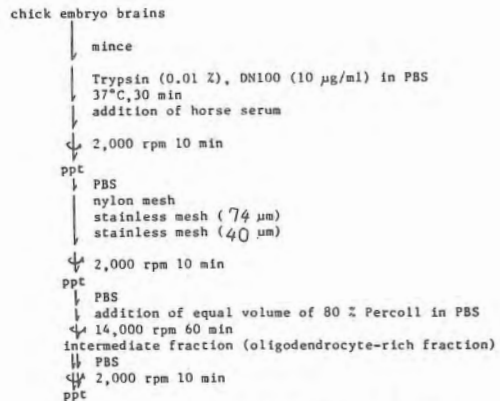


図 1 オリゴデンドロサイトの単離法

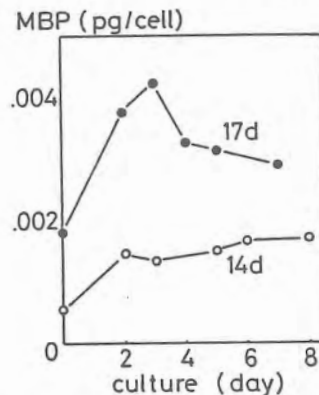


図 2 培養経過に伴う MBP 量の変動  
MBP は細胞を超音波処理 (pH2) 後, EIA により測定した。

## ニワトリ脳の多様性を示したミエリン塩基性蛋白 (MBP) の相互の関連性について

中嶋一行, 今澤正興, 宮本侃治

脳神経系に特異的な生体膜であるミエリンの塩基性蛋白 (MBP) について, 最近分子量の多様性が種々の動物で報告されている。しかしミエリンにおける多様性を示した MBP の役割や, 各々の相互の関連性についての知見は少ない。

前報<sup>1)</sup>で従来の MBP (MBP<sub>1</sub>) より分子量のやや大きい別の MBP (MBP<sub>2</sub>) をニワトリ脳に認め, その性質の差の一部を報告した。現在これら両 MBP の化学構成を検討し, さらにこれらの相互移行性を検討し, これらのミエリン形成における役割を追究しつつある。

### 材料と方法

両 MBP はニワトリ脳ミエリンから前報により分離抽出後, セファデックス G-100 および CM セルロースを用いて精製した。断片化は 0.05% と 0.5% BrCN のギ酸またはトリフルオロ酢酸 (TFA) 中で 30°C, 24 時間までの反応を行い, その生成物を SDS-PAGE により分析した。MBP のペプチドマップには, トリプシン分解後, 一次元で電気泳動, 二次元でクロマトグラフィーを行った。

### 結果と考察

種々の切断法を用い, 両 MBP のアミノ酸配列を比較した。まずメチオニル結合に特異的である BrCN 法では, MBP<sub>1</sub> は 0.05% BrCN ギ酸の条件で断片化され, 従来の報告<sup>2)</sup>どおり 2ヶ所のメチオニン (Met) の存在が示唆された (図 1)。一方 MBP<sub>2</sub> は 0.5% BrCN ギ酸の条件で初めて断片化が認められ, 断片は TFA のものと類似し, MBP<sub>1</sub> との差が示唆された (図 1)。アミノ酸分析では両 MBP とも類似したパターンを示し, Met の残基数はともに 2 個であると推定された。また BrCN 法以外にも化学的切断法 (希酸水解法, ヒドロキシルアミン法, BNPS-スカトール法), および酵素切断法 (V8 プロテアーゼ, カルボキシペプチダーゼ Y) を用い, 両 MBP から類似の断片を得た。次に両 MBP のペプチドマップ (図 2) を比較すると, 両者のパターンは類似するが一部に異なるスポットが認められた。これらの結果から両者の一次構造中のかなりの部分が共通し, 一部のみ異なることが示唆された。

以上のように MBP<sub>2</sub> は MBP<sub>1</sub> と類似のアミノ酸配列をもつが, 一部の化学構造に差を認めたこと,

またごく最近 MBP<sub>2</sub> から MBP<sub>1</sub> への移行が生体内で行われる可能性を示唆する結果が得られたことなどから, 現在ミエリンにおけるこれら両 MBP の機能を検討中である。

### 文 献

- 1) Nakajima K, Oizumi N, Imazawa M, Miyamoto K :  
J Neurochem 41, Suppl : S46B, 1983
- 2) Mendz G L, Moore W J, Carnegie P R :  
Aust J Chem 35 : 1979-2006, 1982

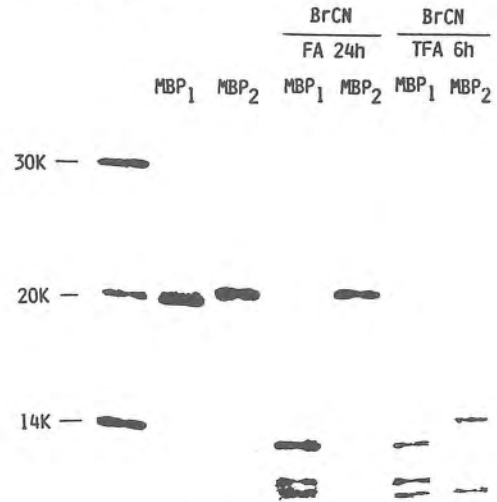


図 1 BrCN 分解

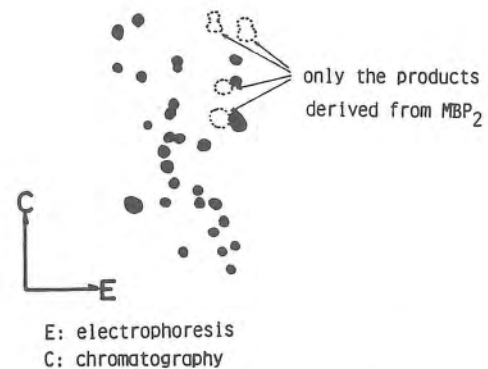


図 2 ペプチドマップ

## 脳ミエリンの酸性リン脂質について

今澤正興, 田口文子, 宮本侃治

中枢神経系の発達とその障害時における生体膜の脂質についての研究を行いつつある。ミエリンの脂質についてはプラズマローゲンの微量分析法, スフィンゴ脂質の脂酸などについてGCまたはGC/MSを用いた検索を行ってきた。今回は微量のため従来法では困難であった酸性リン脂質〔セリン-, イノシトールリン脂質(PSおよびPI), フォスファチジン酸(PA), カルジオリピン(CL)]の微量分析法を確立した。この方法により脳およびミエリンの酸性リン脂質の分離・定量および脂酸構成の検討を行い, さらにミエリン構成蛋白であるミエリン塩基性蛋白(MBP)との相互作用を検討中である。近年酸性リン脂質と酵素およびレセプターの作用機序との関連が示唆されているが, ミエリン形成における酸性リン脂質とMBPとの関連を推測することも不可能ではない。

## 材料と方法

ラット脳のホモジェネートおよび超遠心法により得た各細胞内分画より, Folch法により脂質を抽出し, CMセルロースカラムクロマトグラフィーにより脂質をグループとして分離した(表1)。得られた酸性脂質混合物のシリカ高速液体クロマトグラフィーを行い各酸性リン脂質を分離した。リン脂質の定量は脂質中のリンの分析による。

## 結果と考察

成熟ラット脳の酸性リン脂質の細胞内分布を検索し, CL, PAなど, 総リン脂質中における含有率が1%程度の酸性リン脂質を正確に定量した(表2)。特にミエリン中のPAは他の細胞内分画に比して著明に多いことが初めて明らかにされた。またラット脳のPA含量は, ミエリン形成に伴い0.3%(2週)から1.5%(10週)に増加することが認められ, PAのミエリン形成における生理的な意義が注目される。

酸性リン脂質の脂酸をGCおよびGC/MSにより分析し, 不飽和脂酸に特徴のあるパターンが認められた(表3)。PSには22:6, PIには20:4, PAには18:1が特徴的に多く, CLではこれら不飽和脂酸のいずれも多いことが認められた。

ミエリン構成蛋白であるMBPとの相互作用を検討し, 酸性リン脂質のPIがMBPと強い結合性を有することを認めた。この相互作用の意義とミエリン

形成との関連性について検討をすすめる予定である。

## 文献

- 1) 今澤正興, 宮本侃治:  
神経化学 22:384-386, 1983

Solvent composition	Lipids eluted
1) Chloroform	CH
2) 19% Methanol-chloroform	PC, PE, SPH, CMH
3) 50% Methanol-chloroform	PS, PI, PA, CL, CSE

CH: cholesterol, PC: phosphatidylcholine, PE: phosphatidylethanolamine, SPH: sphingomyelin, CMH: cerebroside, PS: phosphatidylserine, PI: phosphatidylinositol, PA: phosphatidic acid, CL: cardiolipin, CSE: phosphatidyl sulfate

表1 脂質のCMセルロースによる分離

	PS	PI	CL	PA
	(mole % of total phospholipid)			
Homogenate	11.3	3.4	1.1	1.5
Crude nuclei	11.8	2.8	0.6	1.6
Myelin	12.3	2.4	0.1	3.7
Synaptosomes	12.4	3.7	1.4	0.4
Mitochondria	8.8	4.4	4.8	0.6
Microsomes	11.2	4.1	0.4	0.4

表2 ラット脳の酸性リン脂質量

	PS	PI	PA	CL
	(area %)			
16:0	1.7	7.9	9.8	4.7
16:1	0.3	0.2	0.6	3.3
18:0	40.6	35.5	21.0	2.7
18:1	19.0	6.6	34.5	40.1
18:2	0.2	0.2	1.2	10.5
20:4	3.3	43.5	7.1	18.8
22:6	26.4	3.9	2.8	11.6
Other	8.5	2.3	23.0	8.2

表3 ラット脳酸性リン脂質の脂酸組成

## 抗てんかん薬特異的結合部位の精製の試み—アフィニティゲルの合成

大泉信行, 今澤正興, 宮本侃治

抗てんかん薬の作用機序を薬物レセプターの面から追究中であるが, 代表的抗てんかん薬の一つであるフェニトイン (PHT) の特異的結合活性をラット脳のシナプスを含む膜画分に見出し, その解離定数 (Kd) が  $1.5\mu\text{M}$  程度のものであることを報告した<sup>1)</sup>。現在この結合部位の脳画分からの可溶化, および種々のクロマトグラフィーを用いた精製を試みつつあるが, その生化学的実体を解明するには至っていない。

## 材料と方法

ラット脳の膜画分を凍結-融解, 超音波処理により可溶化し,  $^3\text{H}$ -PHT を用いて前報<sup>2)</sup>により特異的結合活性を測定した。

疎水性基および親水性基を外に向けたアフィニティカラムゲルを图示するように合成した。

## 結果と考察

膜画分からの可溶化のため種々の界面活性剤を試みたが, 特異的結合活性の測定を阻害するため, 可溶化の簡便法として凍結-融解, 超音波処理を行った。この画分の精製法として試みた種々のカラムの中で疎水性の Phenyl Sepharose カラムによる部分精製が可能であった。またこの結合部位が PHT の化学構造の中で疎水性基の diphenyl と, 親水性の 1 位, 3 位の NH 基を必要とすることを認めたため, 各々を表面に出したアフィニティゲルを合成した。

図 1 に示した diphenyl 基を外に向けたゲルは Imazawa らの方法<sup>3)</sup>に従い, agarose の OH を活性 epoxy 誘導体として PHT-Na を反応させて合成した。図 2 の親水性基を外に向けたゲルの合成はやや困難であった。まず phenyl 残基に OH をもつ HPPH (p-phenyl phenylhydantoin) を出発材料として carbamoyl methoxy 化合物の合成を試みたが, 試薬がヒダントイン環の N と反応するため用いることができなかった。そこで図 2 の p-OH-benzophenone を出発材料として, 图示した順序でヒダントイン環の閉環反応を行うことを要した。つぎに图示した順序で COOH 基を有する agarose ゲル誘導体に結合させて, 親水性部分を外に向けたゲルを合成した。

この合成した 2 種類のゲルを用いて, 凍結-融解後の可溶化画分を用いたアフィニティクロマトグラフ

ィーを検討中である。PHT 結合活性は両アフィニティカラムに結合したが, 溶出に用いる PHT が水難溶性のため, その溶出条件を現在検討中である。

## 文献

- 1) Miyamoto K, Nishimura S, Imazawa M : Adv in Epileptology, Raven Press, New York, p273-276, 1982
- 2) Nishimura S, Imazawa M, Miyamoto K : Folia Psychiat Neurol Jpn 37 : 301-303, 1983
- 3) Imazawa M, Miyamoto K : Folia Psychiat Neurol Jpn 34 : 362, 1980

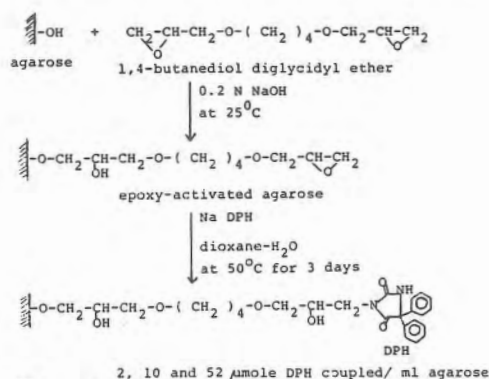


図 1 アフィニティゲルの合成 (1) 疎水性

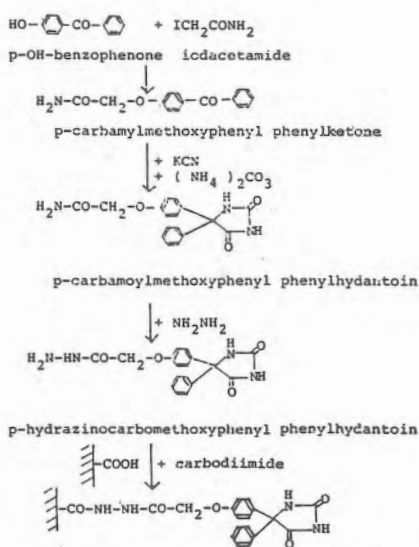


図 2 アフィニティゲルの合成 (2) 親水性

## 12. 免疫研究部

### 1. 研究部一年の歩み

本研究部では、自己免疫疾患の重症筋無力症に関する研究と、神経系の重要な因子である神経成長促進因子の研究を行っている。本研究部で研究にたずさわったのは、センター長里吉栄二郎、研究員古川昭栄、古川美子、赤沢左衛子であり、講師として林恭三(岐阜薬科大学教授)、研究生として遠藤斗志也(群馬大学工業短大部助手)が加わった。主な研究の概要は次の通りである。

#### (1) 重症筋無力症(MG)患者血清中の抗アセチルコリン受容体(AChR)抗体価の全国レベルでの測定

本研究部では、3年半にわたって、各地の大学、病院から依頼を受けた検体につき、抗AChR抗体価の測定を行ってきた。本年度は、全国約50ヶ所の機関から依頼を受け、1,277検体の測定を行った。当初に比べ、測定法の改良、測定試薬の市販化、民間機関での測定開始など状況が大きく変化してきたため、従来の形式での測定は、本年度で打ち切ることとなった。これまでに集積された約4,000件のデータと試料は、今後の重症筋無力症の病態解明に向けた研究に生かされるものと思われる。

#### (2) 抗AChR抗体価測定法の改良

MG患者血清中の抗AChR抗体価は、ラット除神経筋やヒト骨格筋から抽出したAChRを抗原として測定されている。ヒト骨格筋AChRは、ヒト血清中の抗AChR抗体との免疫学的結合性が高く、最も秀れた抗原であるが、必要量を確保するのが困難であり、ロット差が大きいという欠点を持つ。ラット除神経筋AChRは、ラットの入手が容易でしかも除神経によって通常の数十倍にAChR密度が上昇するため、必要量を容易に確保できる利点はあるが、ヒト抗AChR抗体との結合性が低い。そこで、ラット除神経筋の抗原性の低さ、ヒト骨格筋の量の不足、を同時に補うものとして、サル骨格筋AChRを用いることを試みた。ラット除神経筋AChR、ヒト骨格筋AChRを用いて測定した場合と比べると、サルのAChRは、ヒトのAChRと抗原性が類似しており、MG患者血清中の抗AChR抗体価の測定に活用できるとの結論が得られた。

#### (3) MGの未知抗原の検索

## II 研究業績

MGの重症度と、血清中の抗AChR抗体価の高低は、必ずしも一致しないことが知られている。この観点から、AChR以外に未知抗原が存在する可能性があり、生化学的手法によって検索を行っている。

### (4) 神経成長促進因子 (nerve growth factor ; NGF) の生合成

末梢臓器におけるNGFの生合成は、知覚、交感神経系の発達、神経支配確立の重要な鍵を握るものと考えられる。本研究部では、マウスNGFの高感度enzyme immunoassay (EIA)法を開発し、この方法によって、マウス心臓の線維芽細胞がNGFを合成分泌することを見出し、その分子特性を明らかにした。本年度は、NGF合成が線維芽細胞一般の特性であるかどうかを調べるために、マウスの株化線維芽細胞、L-MとBalb/3T3細胞を使って、NGFの合成分泌を調べた。その結果、心臓線維芽細胞よりレベルは低いものの、NGFが合成分泌されているのを認めた。NGFの合成制御機構を調べることが、神経支配確立機構の解明に役立つものと期待されるが、組織培養とEIAの組み合わせは、今後、秀れた実験系になるものと考えられる。現在、種々の外的変化によって、NGF合成がどのような変動を受けるか調べている。

また、NGFは、知覚、交感神経系ばかりでなく、脳の神経細胞にも作用し得ることが明らかになりつつあり、アルツハイマー病との関連性が一部の研究者により指摘されている。本研究部でも、神経疾患とNGFの関連性について検討を加え始めている。

(部長 事務取扱 里吉栄二郎)

## 2. 研究業績

### A 論文

#### a. 原著

- 1) Furukawa Y, Furukawa S, Satoyoshi E, Hayashi K :  
Nerve growth factor secreted by mouse heart cells in culture  
J Biol Chem 259 : 1259-1264, 1984
- 2) Arizono N, Yonezawa T, Yamaguchi K, Furukawa S :  
Transplacental transmission of experimental autoimmune myasthenia gravis  
Acta Pathol Jpn 33 : 507-513, 1983
- 3) Furukawa S, Akazawa S, Furukawa Y, Kamo I, Satoyoshi E, Hayashi K :  
A practical enzyme immunoassay for anti-acetylcholine receptor antibodies in myasthe-

nia gravis

J Neuroimmunol in press

- 4) Teshima K, Ikeda K, Hamaguchi K, Hayashi K :  
Bindings of cobra venom phospholipase A<sub>2</sub> to micelles of n-hexadecylphosphorylcholine  
J Biochem 94 : 223-232, 1983
- 5) Ikeda K, Hayashi K :  
pH-Dependence of the binding constant of Ca<sup>2+</sup> to  $\beta$ -bungarotoxin from *Bungarus multicinctus* venom  
J Biochem 93 : 1343-1351, 1983
- 6) Nakao K, Yoshitake T, Suda M, Sakamoto M, Ikeda Y, Hayashi K, Imura H :  
Rimorphin (dynorphin B) exists together with  $\alpha$ -neo-endorphin and dynorphin (dynorphin A) in human hypothalamus  
Biochem Biophys Res Commun 113 : 30-34, 1983
- 7) Fukui K, Shiomi H, Takagi H, Hayashi K, Kiso Y, Kitagawa K : Isolation from bovine brain of a novel analgesic pentapeptide, neo-kyotorphin, containing the tyr-arg (kyotorphin) unit  
Neuropharmacol 22 : 191-196, 1983
- 8) Kaneda N, Hayashi K :  
Separation of cardiotoxins (cytotoxins) from the venoms of *Naja naja* and *Naja naja atra* by reversed-phase high-performance liquid chromatography  
J Chromatogr 281 : 389-392, 1983
- 9) Endo T, Shimada I, Inagaki F, Miyazawa T :  
Brønsted relation for hydrogen-deuterium exchange reactions of imidazole-bearing molecules with amino groups  
Bull Chem Soc Jpn 56 : 667-670, 1983
- 10) Shimamura M, Endo T, Inoue Y, Inoue S, Kambara H :  
Fish egg polysialoglycoproteins : Structures of new sialooligosaccharide chains isolated from the eggs of *Oncorhynchus keta* (walbaum). Fucose-containing units with oligosialyl groups  
Biochemistry 23 : 317-322, 1984



## II 研究業績

- 11) Shimanura M, Endo T, Inoue Y, Inoue S :  
A novel neutral oligosaccharide chain found in polysialoglycoproteins isolated from pacific salmon eggs. Structural studies by secondary ion mass spectrometry, proton nuclear magnetic resonance spectroscopy, and chemical methods  
Biochemistry 22 : 959-963, 1983
- 12) 伊藤孝司, 古川昭榮, 古川美子, 林恭三 :  
Enzyme immunoassay 法によるマウス上皮細胞増殖因子 (epidermal growth factor) の測定  
医学のあゆみ125 : 1137-1139, 1983
- 13) 太田光熙, 太田潔江, 森史よ, 西谷裕, 林恭三 :  
ヒト fibronectin の微量定量法—ELISA と RIA 法の比較  
医学のあゆみ126 : 1043-1045, 1983

### b. 著 書

- 1) Akagi K, Fujii N, Yajima H, Hayashi K, Takagi A, Moriga M :  
Protein synthesis by solution method  
Frontiers in biochemical and biophysical studies of proteins and membranes (ed by Liu T-Y, Sakakibara S, Schechter A N, Yagi K, Yajima H, Yasunobu K T),  
Elsevier, New York, Amsterdam, Oxford, 1983

### c. 総 説

- 1) 林恭三 :  
上皮増殖因子  
医学のあゆみ127 : 574-583, 1983
- 2) 遠藤斗志也 :  
タンパク質の NMR—生化学研究における方法論  
化学の領域 増刊142 : 95-118, 1983

### d. 症例報告

- 1) 大原總一郎, 吉田雅治, 竹内真貴子, 吉野佳一, 古川昭榮 :

血中免疫複合体が高値を示した重症筋無力症の1例

神経内科20: 67-69, 1984

## B 学会発表

### a. 特別講演, シンポジウム

#### 1) 林恭三 :

アセチルコリン受容体の調製とアセチルコリン受容体抗体

日本薬学会長井記念シンポジウム, 徳島, 12.1, 1983

### c. 一般学会

#### 1) 林恭三 :

ヘビ神経毒の毒性発現とアセチルコリン受容体

第56回日本生化学会大会シンポジウム, 福岡, 9.29-10.2, 1983

#### 2) 古川昭栄, 古川美子, 里吉栄二郎, 野元裕, 林恭三 :

マウス L-M および 3T3 細胞が合成分泌する NGF について

第56回日本生化学会大会, 福岡, 9.29-10.2, 1983

#### 3) 河野通明, 伊藤孝司, 林恭三 :

上皮細胞増殖因子による細胞タンパクのチロシンリン酸化反応の促進

第56回日本生化学会大会, 福岡, 9.29-10.2, 1983

#### 4) 金田典雄, 林恭三 :

台湾コブラ毒から分離したカルジオトキシンのチロシン残基の存在状態について

第56回日本生化学会大会, 福岡, 9.29-10.2, 1983

#### 5) 手島圭三, 鮫島勇次, 河内佐十, 池田潔, 林恭三 :

$\alpha$ NH<sub>2</sub>基を修飾したコブラ毒ホスホリパーゼ A<sub>2</sub>の性質

第56回日本生化学会大会, 福岡, 9.29-10.2, 1983

#### 6) 小林祐次, 林文晶, 藤原敏道, 京極好正, 中沢隆, 河田康志, 崎山文夫, 林恭三 :

$\alpha$  プンガロトキシンの NMR による構造解析

第34回タンパク質構造討論会, 熊本, 10.4, 1983

#### 7) 金田典雄, 荻原昌子, 田中文夫, 林恭三 :

## II 研究業績

台湾コブラヘビ毒中に含まれる細胞毒タンパク (cardiotoxin) とリポソーム膜リン脂質との相互作用

日本生化学会中部支部例会, 名古屋, 3.17, 1984

- 8) 野元裕, 鳥居慎一, 林恭三, 西室悟司, 古川昭栄 :

ヒト尿中の上皮細胞増殖因子レベルについて

日本薬学会第103年会, 仙台, 3.28-30, 1984

- 9) 遠藤斗志也, 嶋田一夫, 稲垣冬彦, 宮沢辰雄 :

ヒスチジン関連化合物の重水素交換におよぼす荷電の影響

第10回生体分子の構造に関する討論会, 大阪, 7.11-12, 1983

## C 班会議発表

- 1) 林恭三 :

筋ジストロフィーマウスと神経成長促進因子

厚生省特定疾患・筋ジストロフィー症の疫学・臨床および治療に関する研究班ワークショップ, 東京, 10.29, 1983

- 2) 林恭三 :

ヘビ神経毒を用いる重症筋無力症の発症機序の解明に関する研究

文部省特定研究・生物トキシンによる生体機構の解明とその応用研究班報告会, 裾野, 11.12-13, 1983

- 3) 林恭三 :

コブラ科ヘビ心臓毒蛋白質と神経毒蛋白質の構造の比較と分子進化

文部省特定研究・分子レベルにおける進化機構研究班報告会, 東京, 12.22, 1983

- 4) 林恭三, 古川昭栄, 赤沢左衛子, 加茂功, 里吉栄二郎, 野元裕 :

ラット, サル, ヒト骨格筋のアセチルコリン受容体を抗原とした抗アセチルコリン受容体抗体価の比較検討

厚生省特定疾患・免疫性神経疾患調査研究班総会, 東京, 1.21, 1984

- 5) 西村裕, 太田光熙, 太田潔江, 森史よ, 坂手真輝恵, 林恭三 :

抗アセチルコリンレセプター抗体のアフィニティコンスタントについて

厚生省特定疾患・免疫性神経疾患調査研究班総会，東京，1.21，1984

6) 林恭三：

アセチルコリン受容体の構造と機能

文部省特定研究・代謝と応答研究班報告会，京都，1.12，1984

7) 林恭三：

重症筋無力症患者血中の抗アセチルコリン受容体抗体

文部省特定研究・生物トキシンによる生体機構の解明とその応用研究班報告会，大阪，2.4，  
1984

## 3. 主な研究報告

## ラット、サル、ヒト骨格筋のアセチルコリン受容体を抗原とした抗アセチルコリン受容体抗体価の比較検討

古川昭栄, 赤沢左衛子, 古川美子, 林恭三, 里吉栄二郎

重症筋無力症 (MG) 患者血清中に高頻度で見出される抗アセチルコリン受容体 (AChR) 抗体は、ラット除神経筋やヒト骨格筋から抽出した AChR を抗原として測定されている。ラット除神経筋は、入手が容易でロット差もあまりないが、ヒト血清中の抗 AChR 抗体との免疫学的結合性はヒト骨格筋 AChR より低い。このことから、抗 AChR 抗体の測定に用いる抗原は、ヒト骨格筋の AChR が最も適している。しかし、ロット差が大きいため、長期間の使用に足るだけの量を確保する必要があり、困難な問題となっている。そこで、ヒトに最も近縁でかつ比較的少量の試料が得られるサル骨格筋 AChR を抗原として、MG 患者50名の血清中の抗 AChR 抗体価を測定し、ラット除神経筋 AChR、ヒト骨格筋 AChR を抗原とした測定結果と比較検討した。

## 〈方法〉

1) AChR の調製：ラット除神経後肢筋、サル後肢大腿筋、ヒト肋間筋を、各々4倍重量の冷却した 0.1M phosphate buffer, pH7.0 中でホモジナイズし、 $10 \times g$  で1時間遠心した。沈殿物について同じ操作を3~4回繰り返した。最終沈殿物を1% Triton X-100 を含む同上 buffer 中に一晩懸濁して AChR を抽出した。 $10 \times g$  で1時間遠心した後の上清を AChR 画分として用いた。

2) 抗 AChR 抗体価の測定： $^{125}I$ -bungarotoxin を AChR のアフィニティ標識に用いて抗ヒト IgG 法で測定した。

3) 測定結果の評価法：正常人35名の血清をコントロールとして測定し、各々の AChR について平均値  $\pm$  SD を求めた。正常抗体価域の上限を平均値  $+2SD$  とし、この値を超える血清を陽性とした。

## 〈結果〉

抗原の動物種によらず、抗体価の分布巾は大きい。単純に平均抗体価を求めると、ラット除神経筋 AChR を用いた場合は13.43 pmol/ml、サル AChR では20.97 pmol/ml、ヒト AChR では52.77 pmol/ml であり、サルはラットの1.6倍、ヒトの1/2.5倍であった。正常人35名の平均値  $+2SD$  を正常値の上限として陽性率を求めるとラットでは74%、サルでは92%、ヒトでは100%であった。陽性率ではサルはラ

ットを用いた場合よりはるかにヒトを用いた場合の値に近い。

ラット対ヒト、ラット対サル、サル対ラットの関係で抗体価を両対数プロットし、相互の相関性を比較したのが図1である。サル：ヒトの場合に最も高い相関性が見られた。この場合、巨視的にはほぼ直線関係が成立するがラット対ヒト、ラット対サルの相関は必ずしも直線的ではなくカギ型に曲がった分布を示している。このことはヒト AChR で10-100 pmol/ml、サル AChR で5-30 pmol/ml の値を示す血清のうちラット AChR で測定すると極めて低値 (1.0 pmol/ml 前後) を示すものが存在することを示している。これらの血清中にはラット AChR からサルまたはヒト AChR への分子進化過程で抗原性に変化が起こった部位を認識する抗体が高率で存在することを反映しているかもしれない。以上の結果からサル AChR はヒト AChR と免疫学的交叉性が高いことが実証された。

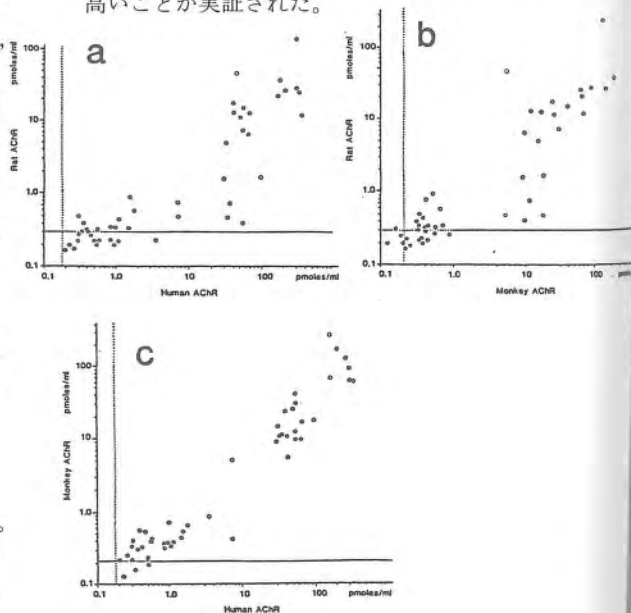


図1 抗体価の相関性

- a : ラット対ヒト  
b : ラット対サル  
c : サル対ヒト

## マウス線維芽細胞による神経成長促進因子の産生について

古川美子, 古川昭栄, 里吉栄二郎, 林恭三

神経成長促進因子 (nerve growth factor; NGF) は胎生期の知覚神経節および交感神経節の神経細胞に特異的に作用し, その分化と成長を促進する因子である。特に交感神経節は, 個体の成熟後もその機能維持に NGF を必要とすることから, 交感神経支配を受けている臓器や組織は NGF を合成し, 神経末端の NGF 受容体を介して NGF を細胞内に逆軸索輸送し, 神経支配を維持しているものと想定されている。NGF は, 成熟した雄マウス顎下腺に多量存在し, これより精製された  $\beta$ NGF は, NGF の生理生化学的役割を推定するための種々の研究に用いられているが, 顎下腺 NGF は本来の生理的役割とは無関係とされている。そこで, 我々は, 生体内で実際に生理作用を発現していると考えられる NGF を検索する目的で, マウス心臓細胞を培養し調べた所, 顎下腺  $\beta$ NGF と同一の NGF を合成分泌することを明らかにした<sup>1)</sup>。心臓は交感神経支配臓器であり, この結果は, 生体内で生理作用を発現していると思われる NGF の特性を初めて明らかにしたものであった。

マウス心臓 NGF が, 心筋細胞ではなく線維芽細胞で合成されているらしいという知見<sup>2)</sup>をもとに, 本年度は, マウス線維芽細胞の株化細胞である L-M 細胞, Balb/3T3 細胞を使って, NGF の合成分泌を確かめると共に, その性質について検討した。

L-M 細胞は 0.5% バクトペプトンを含む 199 培地で, Balb/3T3 細胞は 10% 牛血清を含む Dulbecco's MEM で培養した。実験に供する培養上清を集める際には, 各々, 0.5% 牛血清アルブミンを含む培養液におきかえ, 24 時間培養した。

まず, 細胞がほぼ confluent に達した所で, 培養上清中に分泌されてくる NGF 量を enzyme immunoassay (EIA) 法で測定したが, L-M 細胞では  $569 \pm 71 \text{ pg}/10^6 \text{ cells/day}$  ( $n=5$ ), Balb/3T3 細胞では  $345 \text{ pg}/10^6 \text{ cells/day}$  ( $n=2$ ) であった。培養液中にシクロヘキシミドを加えてタンパク合成を阻害すると, 培養上清中の NGF 量はほとんど検出できなくなり, このことから, NGF は培養中に細胞で合成されたものと考えられた。また, 細胞内 NGF 量を測定すると, L-M 細胞, Balb/3T3 細胞共に, 24 時間に培養上清中に分泌されてくる NGF 量の数%にすぎず, 合成された NGF は速やかに分泌されると考えられた。

次に, 培養上清を約 10 倍濃縮し, L-M 細胞 NGF,

Balb/3T3 細胞 NGF のいくつかの性質を顎下腺  $\beta$ NGF のものと比較した。免疫交叉性は EIA を用いて調べたが, dilution curve が完全に一致することから, L-M 細胞 NGF, Balb/3T3 細胞 NGF は EIA でみる限り顎下腺  $\beta$ NGF と同一の抗原性をもつと考えられた。生物活性 (神経線維増生活性) は 8 日ニワトリ胚の dorsal root ganglia を plasma clot 法で培養し調べたが, NGF 試料の濃度をほぼ同じにすると, 同様な神経線維増殖密度を示すことから, L-M 細胞 NGF, Balb/3T3 細胞 NGF の生物活性は顎下腺  $\beta$ NGF と同一と考えられた。分子量は Bio-Gel P-100 ゲル濾過法で求めたが, 3 種の NGF は同じ位置に溶出し, このことから L-M 細胞 NGF, Balb/3T3 細胞 NGF の分子量は顎下腺  $\beta$ NGF の分子量 26,000 と同じであると考えられた。等電点は pH 3-10 の carrier ampholytes を用い等電点電気泳動法で求めたが, 3 種の NGF はほぼ pH 9.5 の位置に泳動し, L-M 細胞 NGF, Balb/3T3 細胞 NGF の等電点は顎下腺  $\beta$ NGF の等電点と同じであると考えられた。

以上の結果, 株化線維芽細胞のマウス L-M 細胞, Balb/3T3 細胞は NGF を合成分泌すること, これらの細胞の NGF はマウス顎下腺  $\beta$ NGF と同一の分子であることを明らかにした。マウス心臓線維芽細胞が顎下腺  $\beta$ NGF と同一の NGF を合成分泌している事実と考え合せ, 交感神経支配を受けている各種臓器で NGF の合成を担っているのは線維芽細胞であり, その NGF は  $\beta$ NGF と同じ分子であると推定され, 現在研究を進めている。また, L-M 細胞は, 無血清培地で培養できるので, 今後, 交感神経支配臓器における NGF 合成機構, 制御機構の解明に, 大きく貢献するものと期待される。

## 文献

- 1) Furukawa Y, Furukawa S, Satoyoshi E, Hayashi K:  
Nerve growth factor secreted by mouse heart cells in culture.  
J. Biol. Chem. 259: 1259, 1984

## 13. 神経筋病棟報告要旨

Migraine 様発作のみを呈した後頭葉 A-V malformation の一例

河崎博 横井風児 一井本  
安藤一也 里吉栄二郎

15年以上にわたり片頭痛様頭痛のみを呈し、古典的片頭痛との鑑別が困難であった右後頭部動脈奇型の症例を報告した。症例は27才女性で、10才頃より左視野の閃輝性暗点に続く右側頭部の拍動性頭痛を反復していた。多くの病院で薬物投与うけるも効果なく、片頭痛の遺伝負因もなかった。診察上両眼部にて bruit を聴取する以外神経学的所見なく、視野も正常であった。脳 CT にて右後頭部は強く造影され、脳血管写にて AVM が確認された。AVM で片頭痛様頭痛を初発とし、クモ膜下出血、てんかんを合併しないものは文献上3%であったが、本症例の如く何らの神経学的所見を呈さなかったものは少ない。(第10回三多摩神経疾患懇話会)

筋収縮に及ぼす各種神経及び筋疾患の影響

富 英明 春原経彦 里吉栄二郎  
柴崎啓一\* 橘 滋国

一次ニューロン・二次ニューロン疾患、筋疾患、廃用性萎縮例に対し低頻度反復電気刺激を加え母指内転筋より electrical response (E.R), mechanical response (M.R) を測定した。L-G P.M.D では、E.R から M.R までの潜時の著明な延長と筋張力の低下がみられ E-C coupling での異常が考えられた。二次ニューロン障害で筋萎縮のある例では廃用性萎縮例と同様、E.R から M.R までの潜時、筋収縮時間、1/2弛緩時間の延長と筋張力の低下がみられ positive staircase を欠いていた。一方、筋萎縮のない例では、positive staircase がみられこの差異に筋萎縮の有無が関与しているものと思われた。一次ニューロン障害では、筋張力が正常であるにもかかわらず、1/2弛緩時間が漸増し、特に筋弛緩過程への関与が考えられた。(第24回日本神経学会総会)

\* 国療村山病院整形外科

Anosmia-ichthyosis-hypogonadism (AIH) syndrome: 新しい症候群の提唱

春原経彦 河崎 博 里吉栄二郎  
田苗綾子\*

anosmia, ichthyosis, 高度の hypogonadism を合併する男性例 (53歳, 47歳の兄弟とおい18歳) を報告した。ichthyosis は steroid sulfatase 欠損も認め X-linked ichthyosis に一致した。hypogonadism は血中 TSH, LH, testosterone, 尿中下垂体性 gonadotropine は低値を示し, LH-RH テストは低反応だが, LH-RH 5日間筋注後は正常反応を示し, 視床下部またはそれ以上の中樞の障害によると考えた。3症例には他に弱視, 水平性振子様眼振, 虹彩色素脱出, 斜視, 手足の鏡像運動が認められ, 47歳例, 18歳例に片腎の欠如ないし低形成を認めた。本例は Mavrer ら (1969) の報告した症例に極めて類似し, 伴性劣性遺伝を示す一症候群として把えることが可能と考えた。(第24回日本神経学会総会)

\* 国立小児病院内分泌科

パーキンソン症候群の立位回旋障害について

一井 本 春原経彦 安藤一也  
里吉栄二郎

パーキンソン症候群(P症)の立位回旋障害と、他の症状との比較検討をした。対象は41例で、キネトグラフィコードを用いて立位回旋時重心移動を測定し、年齢、罹病期間、固縮、振戦、寡動、上肢回内回外運動障害、姿勢反応障害、L-DOPA 治療効果、小刻み歩行、すくみ足現象、Yahr の重症度、Webster の重症度、髄液中の HVA, 5HIAA との関連を検討した。P 症の立位回旋では、回旋角度が狭く細く尖鋭なループが菊華状や松葉状を示すものがあり、罹病期間の長いもの、振戦、寡動、小刻み歩行が強いもの、Webster の評価点の高度なものにみられる傾向があったが、個々の症状とは必ずしも相関せず、これら症状とは発現機序が異なる可能性が示唆された。(第24回日本神経学会総会)



## 間歇性跛行を呈した vertebral hemangioma の 1例

一井 本 横井風児 春原経彦  
里吉栄二郎 柴崎啓一\*

間歇性跛行，下肢・腰痛を主訴とした胸椎血管腫の52歳男性例。下肢痠直，Romberg 徴候，Th<sub>10</sub>以下知覚低下，振動覚低下，痙性失調性歩行があり，数10mの歩行で下肢筋トーンの増強と筋力低下が生じ歩行不能となるが，数分の立位休息で再び歩行可能となった。第10胸椎体は肥厚骨梁部と萎縮骨梁部による格子状陰影を呈し，CTは不均一な斑状陰影を，肋間動脈造影は異常血管網と造影剤の貯溜を示した。椎体置換術により血管腫を確認。術後，歩行障害は著しく改善した。本症例の脊髄性間歇性跛行の発現機序として，椎体拡大による脊髄動脈及び静脈系の圧迫，血管腫を介した静脈のうっ血，脳脊髄液の流通障害などが考えられた。(第85回日本神経学会関東地方会)

\* 国療村山病院整形外科

## パーキンソン病の立位回旋障害について

一井 本 春原経彦 安藤一也  
里吉栄二郎

立位回旋障害はパーキンソン症候群の重要な症状であり，今回，移動重心計を用いて，重心移動の面から検討を行った。パーキンソン症候群の立位回旋時重心移動のパターンには，回旋角度が狭く尖鋭なループが菊華状ないし松葉状に広がる特異なものがみられたがこのパターンは，罹病期間の長いもの，寡動，小刻み歩行が高度なものなど重症例にみられる傾向があったが，個々の症状とは必ずしも相関せず，またL-DOPAの効果も少なく，on-off現象，up-down現象でもほとんど変化がないなど，パーキンソン症候群の他の症状とは発現機序が異なる可能性も考えられた。(第4回三多摩パーキンソン病懇話会)

## Apraxia-rigidity syndrome

春原経彦 安藤一也 里吉栄二郎

運動性失行症と特異な固縮を示す67才女性，66才男性例を呈示した。失行は歩行失行を主体とし，顔

面・手指の失行を伴っていた。固縮は可塑性で1)日差日内変動がある。2)反復被動屈伸で増強する。3)振動刺激(100Hz, 30sec)後に著明な増強があり約5分間持続する。4)levodopaは無効。5)睡眠・diazepam静注で消失。6)motor pointのprocaine麻酔で減少するなどの特徴を示した。Parkinson病の固縮と同様にIA fiberを介したlong-loop reflexの障害と考えられるが，特に2) 3) 4)の点で相違を示した。本症では前頭葉皮質の障害が推定され，この固縮にも上位皮質障害の関与があると推察された。こうした点から従来のParkinsonismや前頭葉症候群とは区別されるべき症候群と考えた。(第4回三多摩パーキンソン病懇話会)

## パーキンソン病における知的機能

河崎 博 安藤一也

パーキンソン病患者52例に長谷川式DRスケール，WAIS，Bender Gestaltの3種の知能検査を施行し，臨床症状，脳CTスキャン所見と比較検討した。長谷川式DRスケールの平均値 $27.2 \pm 5.2$ ，WAISのFSIQ平均値 $82.6 \pm 15.9$ ，VIQ $86.3 \pm 17.6$ ，PIQ $81.0 \pm 14.3$ で，Bender GestaltのPascualとSuttelの評価法による平均得点 $66.9 \pm 31.5$ であった。WAISのFSIQ値を4群に分け，背景要因，臨床症状，脳CTスキャン所見を比較したところ，FSIQ値の低い群ほど罹病期間が長く，重症度が高く，臨床症状のうち固縮と無動の出現頻度が高く，CTスキャンでは脳室拡大が強い傾向が認められた。この結果からパーキンソン病の知能低下が病的過程によるものが推測された。(第4回三多摩パーキンソン病懇話会)

## 高齢発症の Progressive chorea の一例

小森哲夫 横井風児 春原経彦  
安藤一也 里吉栄二郎

## 症例

72歳男性で3年前，頸部にはじまり徐々に進行する全身の舞蹈病様不随意運動を主訴として来院した。家系内に血族婚や同病は明らかでない。神経学的には軽度の痴呆，顔面のgrimace，四肢の舞蹈病様不随意運動，筋トーンの低下，深部反射の亢進を認めた。脳波は基礎律動が保たれ，ほぼ正常。CTは年



年齢相応の皮質及び尾状核頭部の萎縮を示した。治療として sodium valproate, diazepam, clonazepam を使用したが効果不十分であり, haloperidol 6 mg/day によりほぼ不随意運動が消失した。

### 考察

本例は現時点では家系内発症のないこと, 人格変化, 行動異常がないことで Huntington 舞蹈病とは区別され, いわゆる老人性舞蹈病に近縁する高齢発症の進行性舞蹈病である。(第11回三多摩神経疾患懇話会)

### 精神運動機能の退行を示す女児例

鈴木文晴 桜川宣男 有馬正高

症例: 昭和52年生, 女児, 1歳半頃より精神運動機能の退行をきたす。現在の状態は頸性両麻痺, 痴呆, てんかん (Lennox 症候群) である。体幹に強い choreiform movement も認めた。検査では各種ライソソーム酵素, 有機酸も含めて, 異常は見出せなかった。

臨床的には灰白質に強い進行性変性疾患と考えられた。(多摩小児神経集談会)

### Alveolar cell carcinoma による meningeal carcinomatosis

#### 一症例報告と文献的考察一

横井風児 向山昌邦 亀井敦行  
春原経彦 里吉栄二郎

症例は57歳女性。腰痛で発症。神経学的には軽度の意識障害, II (失明), III, IV, VI, V, VII, VIII (難聴), IX, X の脳神経障害, 四肢の筋力低下と深部反射の消失及び髄膜刺激症状 $\oplus$ 。髄液は圧の上昇 $\oplus$ , 糖低下 $\ominus$ , 蛋白上昇 $\ominus$ 。脳波は基礎徐波化と  $\delta$ burst  $\oplus$ 。頭部単純 X-P 正常。6ヵ月半の経過後急性肺水腫にて死亡。剖検では右肺上葉の小指頭大の肺胞上皮癌が見出され, 脳, 脊髄, 神経根の軟膜にび慢性の転移あり。他臓器への転移なし。更に本邦での肺癌による DMLC 例122例を集計し下記の結果を見出した。① 肺癌による DMLC は腺癌が多い。② 腺癌中肺胞上皮癌は気管支癌に比べて髄膜への親和性が相対的に高い。③ 肺胞上皮癌の髄液異常所見は気管支癌に比して少ない。(第86回日本神経学会関東地方会)

### 側彎症と悪性高熱との関連について

春原経彦 高木昭夫 桗中征哉  
大谷 清\*

従来より悪性高熱例に側彎症の合併が多いといわれており, 側彎症は悪性高熱素因者の発見に重要な所見とされている。最近経験した12-19才の高度側彎症を有する6症例につき, 臨床症状, 検査所見, 筋生検所見, 及び skinned fiber 法による caffeine 感受性を検索し, 側彎症と悪性高熱の関連につき考察した。被験例中1例を除いて臨床的に側彎症以外の異常を認めた。血清 CPK 値は1例のみ異常を示した。筋電図所見は全例ほぼ正常域であった。筋生検では1例に central core を見出した。この central core 病の1例と, 関節拘縮の併存した側彎症例の計2例に skinned fiber test に, 悪性高熱例と同様の異常を認めた。(第7回悪性高熱研究会)

\* 国療村山病院

### 筋ジストロフィーと悪性高熱症

高木昭夫 猪飼哲夫 春原経彦  
石原伝幸 杉田秀夫

Duchenne 型筋ジストロフィー (DMD) 17症例の全身麻酔時副反応に関する報告を検討した。原因薬剤にはハロセンとサクシンがあり, 各々単独あるいは併用の場合があった。症候は悪性高熱症にかなり共通していた。不整脈, 急性筋融解や酸血症はほぼ全例にあった。筋拘縮と体温上昇の頻度は低い。

われわれはスキンドファイバーを使用して, カフェイン拘縮や Ca 遊離 (Ca-induced) 機序を分析した。約70%の DMD 症例でカフェイン拘縮の亢進を認めた。悪性高熱回復者の90%で本反応は亢進していた。また Ca 遊離機序の亢進した DMD 症例が観察された。このような観察から, DMD の麻酔副反応は悪性高熱と共通する機序により発現する可能性を考察した。(第7回悪性高熱研究会)

## mitochondrial myopathy における staircase phenomenon の異常について

富 英明 春原経彦 里吉栄二郎  
橘 滋国

ragged red fiber を伴う、いわゆる mitochondrial myopathy (MM) の 2 症例、肢帯型筋ジストロフィー一例、正常人例について低頻度反復刺激による staircase phenomenon の検索を行った。

MM の 1 例では臨床的に特異な筋無力症状があったが、反復刺激で electrical response (ER) に変化はなく mechanical response (MR) のみに漸減現象を認めた。他の MM 例も ER に異常はないが positive staircase を認めなかった。MR の単収縮力、潜時、収縮時間、1/2 弛緩時間に異常なく、positive staircase の欠如は筋収縮過程の chemo mechanical process での異常によると考えられた。一方、肢帯型筋ジストロフィーでは、ER から MR までの潜時、1/2 弛緩時間の延長や著明な negative staircase が認められ筋内カルシウムイオンの放出、吸収過程での異常が示唆された。(第13回日本脳波・筋電図学会学術大会)

Myerson 徴候：真に R<sub>2</sub>-habituation 欠如によるのか？

春原経彦 富 英明 安藤一也  
里吉栄二郎 橘 滋国

従来 Myerson 徴候は glabella tap によって生じる眼輪筋反射放電の late component (R<sub>2</sub>) の habituation 欠如のためと考えられていた。しかし、眼輪筋反射放電と同時に眼瞼運動を正確に測定した報告はなく、実証されていない。また early component (R<sub>1</sub>) の役割も不明な点が多い。我々は今回、眼瞼運動を正確に測定する方法を開発し、parkinson 病、その他の神経疾患、正常人の glabella tap によって生じる眼輪筋反射放電と眼瞼運動を同時に記録した。その結果、眼瞼は R<sub>1</sub> より下降することがわかり、また筋電図上 R<sub>2</sub>-habituation があっても、あるいは R<sub>1</sub> のみしか出現しなくても、Myerson 徴候を示す症例があり、R<sub>1</sub> が重要な役割を演じていることを示した。(第13回日本脳波・筋電図学会学術大会)

## Chorea, 異常眼球運動, 小脳虫部萎縮を呈する小児兄弟例

一井 本 富 英明 春原経彦  
杉田秀夫 里吉栄二郎

既知の疾患に分類困難な早期発症 choreoathetosis, 異常眼球運動, CT 上小脳萎縮を呈した兄弟例 (13歳, 8歳) を報告した。両親血族婚である。兄は1歳半より不随意運動に気付かれ、舌、頸、肩、上肢に広がる。眼球運動は smooth pursuit は比較的良いのだが、saccadic pursuit は下方向を除き著しく“saccadic”かつ“slow”である。CT 上小脳虫部・半球萎縮が著明。眼底には点状白斑が散在。頸、腋窩中心に pseudoxanthoma elasticum がみられる。骨髓球の5%に vacuole がみられ、筋生検では NADH 染色で intramyofibrillar network の乱れた線維が散在している。弟は2年前より上肢の不随意運動に気付かれ緩徐に進行している。眼球運動障害、CT 上小脳萎縮は兄と同様の傾向がみられるが比較的軽度である。(第87回日本神経学会関東地方会)

## 成人型 acid maltase 欠損症の同胞例

富 英明 春原経彦 埜中征哉  
高木昭夫 杉田秀夫

42才と43才の兄弟例。主訴、共に下肢筋萎縮。現病歴、それぞれ36才、37才頃より臀、大腿部筋萎縮出現。症例1では、37才頃より左上腕筋萎縮も出現。その後、共に筋萎縮脱力進行。既往歴、共に20代より前頭部禿頭、尿糖あり。家族歴、両親がイトコ結婚であるが、他に同様の症状なし。臨床的には、四肢近位筋、呼吸筋、傍脊柱筋、肛門括約筋の筋萎縮脱力あり。EMG 上、傍脊柱筋を中心に fibrillation, Pseudomyotonic discharge が出現。CT で傍脊柱筋の萎縮を認める。筋生検で筋原性変化の他、PAS 陽性の空胞を主に type 2 線維に認めた。2症例の筋、尿中 acid-maltase は著明に低下。保因者と考えられた母親の尿では、明らかな活性低下は認められなかった。(第88回日本神経学会関東地方会)

### 精神運動発達遅滞及び退行, Dystonia/ Dyskinesia, 姿勢異常をきたし頭部CTスキャン 上線条体の低吸収域と皮質萎縮を呈した3歳 5ヵ月男児例

紀平省悟

胎生期, 新生児期, 乳児期発達には異常なかったが, 始歩(一), 1歳11ヵ月時両側線条体の低吸収域をCT上指摘。2歳6ヵ月時から上肢不随意運動, 左脚のジストニア, 構語障害, 徐々に精神運動退行を示した。3歳5ヵ月入所時, 髄液神経伝達物質代謝産物異常なし, 血・尿アミノグラム,  $\alpha$ -ケト酸正常。筋生検では特異所見を認めず。しかし髄液乳酸高値で, Leigh 脳症との関連が示唆された。(第3回多摩小児神経集談会)

### Valporic acid 服用児における $^{13}\text{C}$ -パルミチン酸 呼吸試験の異常について

桜川宣男 末広牧子\* 渡辺裕之\*\*

Valporic acid (VPA) による致命的肝障害が問題となっている。我々は安定同位元素ラベルの $^{13}\text{C}_{16,0}$ を用いた新しい呼吸検査法をVPA服用患者に施行し,  $\text{C}_{16,0}$ の吸収・代謝について調べた。方法: 90%濃縮した $^{13}\text{C}_{16,0}$ を5-10mg/kg投与。被検者は9-14才。VPA服用患者(5名)は検査時に肝機能正常。対照はVPA非服用群で同年令の抗痙攣剤服用児(4名)。

$^{13}\text{C}_{16,0}$ 経口投与後8時間まで1時間間隔で呼吸採取し,  $^{13}\text{CO}_2$ を同位体比分析用質量分析計で分析。被検者全例に吸収障害なし。VPA服用群(36~40mg/kg/d)の $^{13}\text{CO}_2$ 呼吸排出量が対照の35.3%と低下し, 代謝障害が疑われた。(第25回日本小児神経学会総会)

\*東京部養育院 RI部 \*\*栄研

### 東京都下における障害児の教育状況について

東條 恵 大塚 雅

精神発達遅滞児(MR)を中心とした障害児の普通学級における教育状況を療育相談の一助とすべく, 三多摩地区6市の普通小学級在籍障害児の保護者に対し, アンケート調査を行った。36人回答で, 内わけはMR22人, 脳性麻痺児6人, 他8人。MR中自

閉症児5人, ダウン症児2人で, 重度のMR児が2人であった。他児同様, 重度MRの児も入学後の状況では, クラスの仲間として, 高学年にても受け入れられていることは注目に値しよう。今後も統合教育を進めていく上で, 我々医療側も教育状況について注意を払っていく必要がある。(第25回日本小児神経学会総会)

### 先天性緊張性ジストロフィー症 (CMD) にみられた筋線維の発育およびタイプ分化の遅延

志倉圭子 埜中征哉 犬飼和久\*  
吉沢邦重\*

CMDの筋病理については筋の未熟性が指摘されている。今回CMDに罹患した2ヶ月女児の筋生検を施行し得たので報告する。

筋線維の大小不同を認め, タイプ1線維12.8 $\mu$ , 2線維16.9 $\mu$ ~18.6 $\mu$ とタイプ1線維の萎縮が目立った。タイプ分布は1線維42%, 2A13.9%, 2B11.5%, 2C線維が32.6%と著明に増加していた。

未分化なタイプ2C線維増加の事実より, CMDの筋力低下・筋緊張低下は筋線維の発育分化遅延に由来すると推察された。(第25回小児神経学会総会)

\*浜松聖隷病院

### 亜急性に経過したギラン・バレー症候群の1幼 児例

須貝研司 桜川宣男 埜中征哉  
大迫芳郎\*

2ヶ月以上にわたる亜急性進行性の筋力低下で独歩不能となった, 初発時2才9ヶ月の男児で, 深部腱反射消失ないし減弱, 下肢近位筋優位の四肢筋力低下, 軽度の眼瞼下垂を呈し, 髄液の蛋白細胞解離, MCV・SCVの低下, 筋電図で神経原性変化を認めた。本邦では亜急性多発神経炎の幼児例は報告されておらず, 2ヶ月以上も進行し続けた点も特異であったが, 診断基準を全て満たし, 他疾患を除外したことから, ギラン・バレー症候群の非定型例と診断した。ビタミンB複合体, ビタミンE, Prednisolone 経口投与により急速な改善を示したが, 報告されている亜急性多発神経炎の学童例3例は全て再発をくり返しており, 再発に注意すべき例と考えられた。(第11回三多摩神経疾患懇話会)

\*国立西埼玉中央病院小児科

### 妊娠ラットおよび胎仔中のポジトロン放出性薬剤の代謝動態と低酸素に関する予備的考察

松井 晨 桜川宣男 河野義恭  
井戸達夫 石渡喜一\* 川島孝一郎\*

妊娠末期ラットに  $^{18}\text{F}$ FDG,  $^{14}\text{C}$ -glucose/fructose,  $^{14}\text{C}$ -methionine,  $^{14}\text{C}$ -adenine を静脈内投与し、経時的分布を検討した。又低酸素下妊娠ラットにおける  $^{18}\text{F}$ FDG の動態を検討した。上記薬剤に対し、肝・腎は排泄型、脳は蓄積型パターンを示した。胎盤、胎児も蓄積型パターンを示した。胎盤への移行は、 $^{14}\text{C}$ -Methionine  $>$   $^{14}\text{C}$ -Glucose  $>$   $^{14}\text{C}$ -adenine の順に高く、胎盤から胎児へは  $^{14}\text{C}$ -methionine  $>$   $^{14}\text{C}$ -adenine  $>$   $^{18}\text{F}$ FDG  $\approx$   $^{14}\text{C}$ -glucose の順である。低酸素下では  $^{18}\text{F}$ FDG の胎盤・胎児への移行性が増加した。(第23回日本核医学会総会)

\*東北大学サイクロトロンラジオアイソトープセンター

### $^{14}\text{CO}_2$ 吸入ラットの脳内代謝動態について

桜川宣男 松井 晨 河野義恭

ポジトロン放出性薬剤の代謝産物の分析法を考案し、吸入  $^{14}\text{CO}_2$  のラット脳内の動態について検討した。ウイスターラットを  $^{14}\text{CO}_2$  に5分間曝露した直後に凍結脳を TCA で処理した。酸可溶性分画 (ASF) を連絡カラムクロマト (Dowex 1-AG と Dowex 50W  $\times$  8) にて5分画に分離し、放射能測定を行った。各分画の同定は、 $^{14}\text{C}$  標識の化合物及びグルコースと尿素量測定、さらにアミノ酸分析で行った。

$^{14}\text{CO}_2$  吸入後の脳内では約85%が酸不安定成分 ( $^{14}\text{CO}_2$ ,  $\text{H}^{14}\text{CO}_3^-$ ) が主体であり、ASF は経時的に増加した。ASF の分析結果、解糖系中間代謝産物を含有して第5分画が66.8%と主要代謝産物である事が判明した。(第23回日本核医学会総会)

### ポジトロン標識薬剤の妊娠ラットにおける動態—胎児への薬剤の移行について

石渡喜一\* 井戸達雄\* 川島孝一郎\*  
岩田鍊\* 高橋俊博\* 門間 稔\*  
中西博昭\* 山田 裕\* 桜川宣男  
松井 晨

ポジトロン標識の生体関連薬剤の胎盤透過性につ

いて検討した。使用薬剤： $^{18}\text{F}$ FDG,  $^{14}\text{C}$ -glucose/fructose,  $^{14}\text{C}$ -methionine,  $^{14}\text{C}$ -alanine,  $^{14}\text{C}$ -adenine,  $^{14}\text{C}$ -coenzyme Q。妊娠16—18日のラットに薬剤を投与し、30分までの体内分布を調べた。胎盤及び胎児への移行は、Coenzyme Q を除き、adenine アミノ酸<糖の順で経時的に増加し、胎児の糖の要求性は高い。Coenzyme Q では胎児/胎盤の比は著しく小さく胎児への移行は抑えられていた。胎盤透過性は血液—脳関門透過に似ている。(第23回日本核医学会総会)

\*東北大学サイクロトロンラジオアイソトープセンター

著明なるい瘦、筋萎縮、外眼筋麻痺、球症状、関節拘縮を呈した、小児全身型重症筋無力症の女児

東條 恵 桜川宣男

特異な13才女児の臨床症状を示した。主訴は著明なやせと持続する咳嗽。10才より発音不明瞭。12才より咳、体重減少。時に複視、眼瞼下垂あり。全身の筋萎縮がありつつも筋力は良。反復運動で筋の易疲労性なし。頸部屈筋は3-と低下。胸椎前屈制限—関節拘縮あり。眼瞼下垂なし。左右・上方への眼球運動制限、球症状がある。テンシロンテストの結果は不定。抗アセチルコリン受容体抗体価は高値。ブレドニン大量療法にて反応良。(第4回三多摩小児神経懇話会)

特異な顔貌、精神運動発達遅滞、floppy infant の兄弟例

東條 恵 桜川宣男

血族結婚なし。女は第2子。新生児期より哺乳障害、floppy infant を示し、頸定は11ヶ月で不完全、寝返りはせず、知的にも遅れあり。肢関節の内転、伸展制限あり。特異な顔貌(前頭部突出、mongolian slant 傾向、epicanthus fold, almond eye, triangular mouth)で高狭口蓋。また手足は小さかった。生後12ヶ月時肺炎にて死亡。剖検では、中枢神経には著変なく、筋ではタイプII線維萎縮、線維化(大腿四頭筋に強い)を示した。第3子(男子)も同様症状で、停留睾丸、陰囊低形成あり。高精度染色体分析にて異常ないが Prader-Willi 症候群が疑われた。(第4回三多摩小児神経懇話会)

### 脳性麻痺児の嚥下機能——表面筋電図と呼吸曲線からの分析

平山義人 高木昭輝\* 鷺田孝保

健常児（コントロール）4名と脳性麻痺児3名の坐位での水分摂取時の、側頭筋、口輪筋、咬筋、顎舌骨筋、胸鎖乳突筋、僧帽筋の表面筋電図および呼吸曲線を、16チャンネル脳波計にて記録した。脳性麻痺児では水分摂取の際の口輪筋の使い方が下手で、重症例では呼吸が非常に不規則になった。また一例では、口腔内に水分が入ることにより、咀嚼を思わせる咬合運動が認められた。

脳性麻痺児の水分摂取を上手にさせるためには、口輪筋の上手な使い方を学習させることと、呼吸パターンを規則的にできるように指導する必要がある。（第25回日本小児神経学会総会）

\* 国立療養所東京病院

### Ataxia 患者における椅坐位から立位までの表面筋電図

高木昭輝 野手とし子 平山義人  
山口 明\*

Ataxia に関係すると思われる椅坐位から立位に至る動作の困難性に注目し、表面筋電図および電気角度計を用いて分析した。

健常者5名、脊髄小脳変性症患者10名、頭部外傷による Ataxia 患者1名を対象とした。脊柱起立筋下部、大腿四頭筋、ハムストリングス、前脛骨筋、下脛三頭筋の椅坐位から立位および逆のパターンにおける電気活動をポリグラフを用い、表面筋電図とし記録し、同時に、膝関節の角度変化をみた。結果(1) ataxia 患者の全てに立位時の前脛骨筋に不要な電気活動がみられた。(2)患者の角度変化曲線上の変曲点は4ヵ所以上(コントロールは4以下)。(3)膝装具着用でハムストリングスと前脛骨筋の筋活動が低下し、左右への重心動揺が減少した。(第13回脳波筋電図学会)

\* 国立療養所東京病院

### 重度脳障害児にみられる特異な咀嚼様運動

平山義人 野手とし子 高木昭輝  
鷺田孝保\*

脳性麻痺児の摂食活動につき表面筋電図による分析を試みるうちに、特異な咀嚼様運動を認めた。本運動は、食物あるいは水分が口腔内に入ると発現し、外見的には咀嚼運動に類似している。持続時間は3～10秒で、この間呼吸は不規則となった。水分が口腔内にあるときにも発現することから咀嚼運動ともいえず、また口輪筋の活動が弱いことから吸啜反射とも異なるものと思われる。この特異運動を認められた4例は、いずれも高度の器質的脳障害を認めた。発生機序としては、口腔粘膜に対する物理的刺激が誘因となる異常反射であろうと考えた。(第13回脳波筋電図学会)

\* 国立療養所東京病院

---

III 中 央 施 設

---

## 中央施設

### 1. 実験動物舎

58年4月からの1年間の概要を述べる。

#### 1) 飼育動物の状況

動物数は毎日変るが、全体の傾向としては少しずつ増加し、安全な収容能力の上限に向っている。58年12月10日現在、ラット1250、マウス480、ウサギ、モルモット38、ニワトリ37、同じくヒナ24、ウズラ6、その他若干の小動物があった。これは比較的落ち着いた時で、一時的には1500の限界を超えた時もある。換気能力から考えてこれ以上の収容は危険と考えられる。大きな事故、流行はなかったが、マウス、ラットとも散発的に数日に1～2匹の病死がみられた時期があった。なお、昨年、屋外に建設した恒温・恒湿室の1基はSPF扱いのマウスの飼育にあて、他の1基は従来通り、感染流行時その他の緊急時のためにあてられた。

#### 2) 日常管理

全体の飼育、洗浄、消毒、清掃などについては委託業者から3人の補助者が派遣されてきた。3人中1人は有資格者として契約を結んだが、年度途中で資格をもつ責任者が退職したため有資格者が不在となった。直ちに補充できる状況ではないため、定期的な有資格者の巡回という契約で昭和59年度に送ることになった。

日常的なことでは、フィルター交換、停電中、後の処理、ファンベルトの点検など空調関係の整備が例年のごとく一番気になることであった。

飼料は、ラット、マウスには飼育用または繁殖用固型飼料（三協ラボ）、ニワトリ用固型飼料BM-2（三協ラボ）、幼すう用ニューチック（日清製粉）などが日常的に用いられてきた。また、ラット、マウスの床数には減菌ずみソフトL（静動協）、ソフトチップ（三協ラボ）が主に用いられている。

#### 3) 経 費

本年度から鶏舎の管理が追加されたため、飼育管理料が約1000万円となった。その他、飼料および床数が1カ月約25万円、実験ずみ動物の焼却費が1カ月平均8万5000円で推移してきた。その他、本年度中に補充した主な器材は、ラットケージ100、マウスケージ80、吸水ビン100などであった。



#### 4) 将来計画

2800m<sup>2</sup>の大型新実験動物研究棟の建築予算が認可になった。部長，室長，会計課長を含む新実験動物研究棟準備委員会が会合と折衝を重ねて本省設計が決まり，3年計画の第1期工事がすすめられた。完成の暁に，大動物，真のSPF動物，感染動物などを用いた実験が可能になると期待される。

(動物舎委員会委員長 有馬正高)

## 2. RI 研究施設

当センターのRI研究施設は，現在11研究部，計59名の研究者が共同使用している。RI施設使用当初から各部選任のRI委員によりRI委員会（委員長 宮本代謝研究部長）をもち，具体的な運営の問題を討議決定している。

RI研究施設の管理運営は，放射線障害防止法(昭和55.5改訂)に基づき，厚生省管内では厚生省病院-療養所放射線障害予防規定(昭和50.5改訂)，さらに国立武蔵療養所放射線予防細則(昭和57.3)に従って行われている。当初からRI施設管理のための専任職員がいなかったため，RI排水処理，RI管理区域内表面汚染検査，RI機器整備，RI監督などの業務を各部ならびにRI委員会で分担してきた。当センターのRI取扱主任者には昭57.4より今澤代謝研究部室長が併任してきたが，本年度よりRI取扱副主任者を置き，加藤診断研究部室長が廃棄物処理を，古川免疫研究部研究員が施設維持の業務を補佐することになった。しかしRI使用状況は年を追って活発になり，RI研究施設の管理業務が増大しているため，なるべく早く主任者免許を有する専任職員を確保すべきである。本年度，非常勤の技術職員として募集を行ったが適任者が得られず，或種の業務は業者代行を検討することも一案であろう。

従来から懸案事項が多々あり，その一つとしてRIAチューブなどの不燃性廃棄物処理は，年2回アイソトープ協会からの集荷が行われるか，または当方から協会へ搬入するという形で解決され，本年度より軌道に乗った。つぎにRI廃棄有機溶媒処理については，昭51年よりRI協会が集荷を中止したため，各施設が独自の処理施設をつくることが懸案になっていた。本年度予算によりやっとRI有機廃液焼却棟(32m<sup>2</sup>)とRI有機廃液燃焼装置(能力，2l/時)が整備され，科学技術庁の使用許可が下りた時点で，RI有機廃液の焼却作業が開始される予定で，RI施設管理上の大問題の一つが間もなく解決されるはずである。また当初からの懸案である廃水貯水槽のモニターおよび自動排水装置も早急に整備されることが望ましい。



なお研究補助の形で RI の帳簿管理業務を行ってきた保川淳子（昭56.4—昭59.3）が昭59.4より内田史江に交替した。

本年度 RI 共同使用のための整備された機器を表示する。

表 昭和58年度購入 RI 機器（昭和56年度，年報 p.263.表 1 参照）

〔B〕 RI 廃棄物処理機器

（2） RI 有機廃液燃焼装置（中川—OZMAC-2 型）

（RI 委員会委員長 宮本侃治）

### 3. 電子顕微鏡室

昭和57年4月より中央電子顕微鏡室として微細構造研究部より分離し，運営も軌道に乗り，利用者も増加している。

#### 1) 施設及び機器

当センター三階に位置し，30m<sup>2</sup>の三室を，透過型電子顕微鏡室，走査型電子顕微鏡室，暗室として利用している。設置されている機種は従来通り，透過型として日立 H700，日立 H600，日立 H300 であり，走査型は日立 S700，日立 S430である。又，暗室には，Durst L1200，Durst L138S が設置され，自動現像機と共に電子顕微鏡写真の引伸しに共同利用されている。

#### 2) 予 算

電子顕微鏡室の運営は中央費でまかなわれている。主たる経営費は，電子顕微鏡の保守に必要な修理費，部品費と，写真撮影に必要なフィルム，現像液などの消耗品費である。その他人件費も含め，年間約6百万円の経営費を必要としている。電子顕微鏡の使用年数の増加と利用者の増加にとむない，保守管理に要する費用も増加している。

#### 3) 利用状況

現在までの使用者は30名であり，透過型が予約制で，利用頻度も高いのに反し，走査型は，建物全体から発する振動音の影響を著しく受け，各々固有の分解能を発揮するに至らぬせいもあり，その利用頻度は低い。

#### 4) 今後の問題点

操作手順が簡単で，最も利用頻度の高い透過型 H300は，すでにメーカーの保障する耐用年数を過

ぎ、各部品の摩耗による故障も多くなり、修理回数も増加している。コスト面からも、新しいタイプの電子顕微鏡の更新が望まれる。又、走査型に対する振動音の防止策として、耐震用ゴム板を鏡体の下に敷き、大きい振動は除去できたが、細かい振動は除去できず、苦慮している。

(電顕委員会委員長 埜中征哉)

#### 4. 図 書

図書の管理は昨年と同様に大槻美知子が当たった。本年度は昨年度末(昭和58年1月)より大幅に雑誌数を増し、英文雑誌を157種とした。しかしまだ主要な雑誌で揃っていないものもあり、更に神経関係のものにしばっても、続々と新刊の雑誌ができており、なお一層の追加が望まれる。

(図書委員会委員長 小沢鉄二郎)

##### 欧文雑誌名

- |   |   |
|---|---|
| 1. Acta Histochemica et Cytochemica               | Reviews on Bioenergetics                            |
| 2. Acta Neurologica Scandinavica                  | Reviews on Cancer                                   |
| 3. Acta Neuropathologica                          | 19. Biochemical Journal                             |
| 4. Acta Physiologica Scandinavica                 | 20. Biochemical Society Transactions                |
| 5. American Journal of Anatomy                    | 21. Biochemical Pharmacology                        |
| 6. American Journal of Human Genetics             | 22. Biochemical Biophysical Research Communications |
| 7. American Journal of Medical Genetics           | 23. Biochemistry                                    |
| 8. American Journal of Pathology                  | 24. Biochemistry International                      |
| 9. American Journal of Physiology                 | 25. Biological Psychiatry                           |
| 10. Analytical Biochemistry                       | 26. Biomedical Mass Spectrometry                    |
| 11. Annals of Neurology                           | 27. Biomedical Research                             |
| 12. Annals of New York Academy of Science         | 28. Bioscience Reports                              |
| 13. Anatomical Record                             | 29. Biophysical Journal                             |
| 14. Anatomy & Embryology                          | 30. Brain   |
| 15. Archives of Biochemistry & Biophysics         | 31. British Journal of Pharmacology                 |
| 16. Archives of Neurology                         | 32. Cancer Research                                 |
| 17. Archives of Pathology and Laboratory Medicine | 33. Cell  |
| 18. Biochimica Biophysica Acta                    | 34. Cell Differentiation                            |
| Bioenergetics                                     | 35. Cell Biology : International Reports            |
| Biomembranes                                      | 36. Cellular Immunology                             |
| General Subjects                                  | 37. Cell Membranes                                  |
| Gene Structure and Expressions                    | 38. Cell Motility                                   |
| Lipids and Lipid Metabolism                       | 39. Cell & Tissue Research                          |
| Molecular Cell Research                           | 40. Cell & Tissue Kinetics                          |
| Protein Structure and Molecular Enzymology        | 41. Cellular & Molecular Neurobiology               |
| Reviews on Biomembrane                            | 42. Chemical Reviews                                |
|   | 43. Chemical Titles                                 |

44. Clinical Chemistry
45. Clinical Genetics
46. Clinical Neuropathology
47. Clinica Chimica Acta
48. Cytogenetics & Cell Genetics
49. Developmental Brain Research
50. Developmental Biology
51. Differentiation
52. Electromyography & Clinical Neurophysiology
53. The EMBO Journal
54. Endocrinology
55. European Journal of Biochemistry
56. European Journal of Cell Biology
57. European Journal of Immunology
58. European Journal of Pharmacology
59. Experientia
60. Experimental Brain Research
61. Experimental Cell Biology
62. Experimental Cell Research
63. Experimental Neurology
64. Experimental Pathology
65. FEBS Letters
66. Federation Proceedings of the Federation of American Societies of Experimental Biology
67. Histochemistry
68. Human Genetics
69. Hoppe-Seyler's Zeitschrift für Physiologische Chemie
70. Immunology
71. Immunology Today
72. Infection & Immunity
73. International Journal of Biochemistry
74. International Journal of Neuroscience
75. In Vitro
76. Journal of American Chemical Society
77. Journal of Anatomy
78. Journal of Biochemistry
79. Journal of Biological Chemistry
80. Journal of Cell Biology
81. Journal of Cell Science
82. Journal of Cellular Physiology
83. Journal of Chromatography
84. Journal of Comparative Neurology
85. Journal of Electron Microscopy
86. Journal of Experimental Medicine
87. Journal of General Physiology
88. Journal of Histochemistry & Cytochemistry
89. Journal of Immunology
90. Journal of Immunological Methods
91. Journal of Inherited Metabolic Disease
92. Journal of Research
93. Journal of Laboratory Investigation
94. Journal of Membrane Biology
95. Journal of Mental Deficiency Research
96. Journal of Molecular Biology
97. Journal of Morphology
98. Journal of Muscle Research & Cell Motility
99. Journal of Neural Transmission
100. Journal of Neurobiology
101. Journal of Neurochemistry
102. Journal of Neurocytology
103. Journal of Neurogenetics
104. Journal of Neuroimmunology
105. Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry
106. Journal of Neurological Sciences
107. Journal of Neuropathology & Experimental Neurology
108. Journal of Neurophysiology
109. Journal of Neuroscience Methods
110. Journal of Neuroscience Research
111. Journal of Pathology
112. Journal of Pediatrics
113. Journal of Pharmacology & Experimental Therapeutics
114. Journal of Physiology
115. Journal of Tissue Culture Methods
116. Journal of Ultrastructure Research
117. Journal of Virology
118. Laboratory Investigation
119. Lancet
120. Life Sciences
121. Lipids
122. Molecular & Cellular Biology
123. Molecular & Cellular Biochemistry
124. Molecular Immunology
125. Molecular Pharmacology
126. Muscle & Nerve
127. Mutation Research
128. Nature

III 中央施設

129. Neurology
130. Neurochemical Research
131. Neuropathology & Applied Neurobiology
132. Neuropediatrics
133. Neuropeptides
134. Neuroscience
135. Neuroscience Letter
136. New England Journal of Medicine
137. Nucleic Acids Research
138. Pathology
139. Pediatric Research
140. Peptides
141. Pflugers Archiv/European Journal of Physiology
142. Pharmacological Reviews
143. Pharmacology Biochemistry & Behavior
144. Physiological Reviews
145. Proceedings of Japan Academy
146. Proceedings of National Academy of Sciences
147. Proceedings of Royal Society of London Ser. B : Biological Science
148. Psychopharmacology
149. Revue Neurologique
150. Roux's Archives of Developmental Biology
151. Sciences
152. Studia Biophysica
153. Trends in Neurosciences
154. Trends in Pharmacological Sciences
155. Tissue & Cell
156. Virchows Archiv A : Pathological Anatomy & Histology
157. Virchows Archiv B : Cell Pathology

和雑誌名

1. 遺 伝
2. 科 学
3. 化 学
4. 神経研究の進歩
5. 神 経 内 科
6. 生体の科学
7. 綜 合 臨 床
8. 組 織 培 養
9. 蛋白・核酸・酵素
10. 治 療
11. 脳と発達

---

IV 診 療 概 要

---

## 診 療 概 要

### 1. 神経内科，小児神経科部門

神経内科では，春原経彦医長，横井風児医師，亀井敦行医師が病棟医として診療にたずさわり，一井本，富英明，河崎博，小森哲夫医師がレジデントとして研修した。前三者は昭和59年3月でレジデント3年間を終了した。病棟回診は里吉栄二郎センター長が行った。その他神経センターからは，安藤一也部長，杉田秀夫部長，高木昭夫室長，向山昌邦室長のほか，田平武部長，並河正医師も昭和58年5月より診療にたずさわった。

小児神経科では，7-1病棟（小児神経一般病棟）は桜川宣男医長，松井晨医師，東條恵医師が担当し，6-1および6-2病棟（重心病棟）は，平山義人医長，松坂哲應医師が担当した。レジデントとして，鈴木文晴医師，紀平省悟医師に加えて，昭和58年4月より，志倉圭子医師，須貝研司医師が，また11月より松尾多喜子医師が研修した。神経センターからは，有馬正高部長が，外来および病棟回診をおこなった。

両科とも，毎週総回診，抄読会，新患紹介，ケースカンファランス（表1）を行っており，スタッフのほか，レジデント，他大学及び他病院からの医師も参加し，熱心な研究活動を進めている。また，各種学会で研究発表をおこなった。

#### (1) 外来部門

両科とも週4回づつ外来診療をおこなった。本年度の外来患者数は表2の通りで，神経内科6,992名（前年比118%），小児神経科4,158名（前年比109%）と前年度に比べさらに増加した。新患々者の疾患別内訳は表4，表5の通りである。

#### (2) 入院部門

神経内科病棟は，7-2病棟（40床），7-3病棟（40床）を使用している。小児神経科病棟は7-1病棟（40床）および重心施設として6-1病棟（40床）と6-2病棟（40床）を使用している。両科の月別入院患者数および疾患別内訳は表3，表4，表5の通りで，前年度に比べかなり増加を示した。

#### (3) 対外活動

神経内科，神経小児科両科では，各スタッフが分担して，近隣の小平，田無，東久留米，青梅，立川などの保健所と連携して神経難病の検診，乳幼児の特殊検診にたずさわった。またこの他各市教育委員会などで，教育・療養相談業務にたずさわった。

（医長 春原経彦，医長 桜川宣男）

表1 ケースカンファレンス一覧表

## 1. 神経内科

58. 4. 6	家族性アミロイドーシスの1例	横井 風児
58. 4.13	片頭痛症状のみを呈した動静脈奇形の1例	河崎 博
58. 4.27	色素沈着, 剛毛, ニューロパチーを呈する1例	富 英明
58. 5. 4	進行性痴呆, 錐体路徴候, periventricular lucency (X-CT) を呈する中年男性例	横井 風児
58. 5.11	Parkinson 病の知的機能について	河崎 博
58. 5.18	①パーキンソン症候群の立位回施障害について ②各種神経疾患の筋収縮に与える影響 ③ Anosmia-ichthyosis-hypogonadism syndrome, 新しい症候群の提唱	一井 本 富 英明 春原 経彦
58. 6. 1	①脊髄小脳変性症の静止立位時重心動揺に対する低周波電気刺激の効果 ②間歇性跛行を呈した vertebral hemangioma の1例	一井 本 一井 本
58. 6. 8	老年発症の chronic progressive chorea の1例	小森 哲夫
58. 6.15	Intracranial tuberculoma とと思われる1例	亀井 敦行
58. 6.22	特異な歩行障害と異常眼球運動を呈する17歳女子例	富 英明
58. 6.29	てんかん発作と知能低下を主徴とする先天性大脳奇型と思われる25歳女性例	河崎 博
58. 7. 6	① Parkinsonism と自律神経症状を呈した1例 ② Diplopia を伴う SCD の1例	一井 本 一井 本
58. 7.13	① Apraxia-rigidity syndrome ②パーキンソン症候群の立位回施障害について ③パーキンソン病における知的機能 ④ 3rd symposium of medical application of cyclotrons (学会報告)	春原 経彦 一井 本 河崎 博 桜川 宣男
58. 7.20	るいそう, 失明, 聾を呈した中年女性例	横井 風児 向山 昌邦
58. 7.27	両上肢の筋萎縮・筋力低下のみを呈した変形性頸椎症の男性例	河崎 博 柴崎 啓一
58. 8. 2	NMR-CT の現状について	Alan Stein
58. 8. 3	進行性痴呆, Parkinsonism と頭部 X-CT 上びまん性の大脳白質 low density を呈した70歳女子例	富 英明 向山 昌邦
58. 8.10	IgM paraproteinemia に伴う neuropathy	高津 成美
58. 8.24	変性疾患のリハビリテーションについて	野手とし子
58. 8.31	高令発症の progressive chorea の1例	小森 哲夫
58. 9.21	F 波の臨床応用について	小森 哲夫
58. 9.28	Alveolar cell carcinoma による meningeal carcinomatosis	横井 風児
58.10.12	Chorea-acanthocytosis	小森 哲夫
58.10.26	精神異常, 行動異常で初発後多彩な神経症状を呈した脳血管障害の初老婦人例	一井 本 向山 昌邦
58.11. 9	先天性ミオパチーについて	埜中 征哉
58.12.16	多発単神経炎を呈した58歳男子例	河崎 博

59. 1.18	パーキンソニズムを主症状とした頭部 X-CT 上小脳萎縮が見られた中年女性例	一井	本
59. 1.25	SCDにおける小脳症状以外の随伴症状について	富	英明
59. 2.15	パーキンソン病における知的機能 (第2報)	河崎	博
59. 2.22	成人型 acid maltase 欠損症の同胞例	富	英明
59. 2.29	アレピアチン服薬中急性中毒症状を呈した myotonic dystrophy の1例	一井	本
59. 3.14	著明なるいそうと内分泌異常を伴う中年女性例	河崎	博
59. 3.28	副鼻腔炎と遷延性の意識障害を呈する中年男性例	一井	本

## 2. 小児神経科

58. 4. 6	退行, ミオクローヌス, 成長障害を呈した女兒例	鈴木	文晴
58. 4.13	Bilateral striatal necrosis の3歳男児例	紀平	省悟
58. 4.20	運動失調, 下腿筋萎縮, 難聴を呈した10歳女兒例	東條	恵
58. 5. 4	無 $\beta$ リポタンパク血症の本邦例の紹介 (他院症例)	須貝	研司
58. 5.25	Open mouth, 蛙肢位, 多発小奇形を呈した4ヶ月女兒例	志倉	圭子
58. 8. 3	亜急性進行性の筋力低下を呈した3歳男児例	須貝	研司
58. 8.17	全身のいそう, 筋萎縮, 球萎縮, 球麻痺, 外眼筋麻痺を呈した12歳女兒例	東條	恵
58.11. 9	乳児期発症, 非進行性の失調歩行, 協調運動障害, 知覚障害を呈した11歳女兒例	須貝	研司
58.11.16	特異なCT所見, 痙性三肢麻痺, 精神発達遅滞を呈した水頭症の2歳男児例	須貝	研司
59. 2. 1	精神運動発達遅滞, 成長障害, 喉頭不全, 易感染性, 多発小奇形を呈した1歳男児例	志倉	圭子
59. 2.15	難治性てんかん, pachygyria の10歳男児例	松尾	多喜子
59. 2.29	運動退行, choreoathetosis を呈する家族性変性疾患の4歳女兒例	志倉	圭子
59. 3. 7	退行, 視力喪失, 眼球動揺, choreoathetosis, 筋緊張低下, りいそうを呈した2歳女兒例	東條	恵
59. 3.21	反復する嘔吐に伴ない, 閉口不能, 発語不能となるエピソードをくり返す11歳女兒例	志倉	圭子
58. 4.27	小児神経概論	有馬	正高
58. 5. 4	小児神経診療法	桜川	宣男
58. 5.11	Floppy infant	平山	義人
58. 5.18	生化学的診断法	松井	晨
58. 5.25	障害児について	東條	恵
58. 6. 8	ミオパチーの顔面症状	平山	義人
58. 6.15	小児における失認・失行・失語	紀平	省悟
58. 6.22	胎児の行動—胎児けいれんと関連	東條	恵
58. 6.23	ビタミン K 欠乏による頭蓋内出血	松坂	哲應
58. 6.29	サイクロトロン国際シンポジウム報告	桜川	宣男
58. 7. 6	小児神経学会予行	桜川	宣男
58. 8.24	糖代謝異常	松井	晨



IV 診療概要

58. 9. 7	重症筋無力症の治療	平山 義人
58. 9.14	<sup>18</sup> F-FDG を用いた胎仔における低酸素の影響の研究	松井 晨
58. 9.28	X-linked MR	鈴木 文晴
58.10.12	Chorea について	紀平 省悟
58.10.19	笑いについて	東條 恵
58.10.26	ポジトロン CT の現況	桜川 宣男
58.11.16	ビタミン K 欠乏	松坂 哲應
59. 1.25	自閉症について	桜川 宣男
59. 1.28	(東北大鳴子分院)乳幼児の運動発達の見方	北原 信
58. 2.22	(神経内科)末梢神経の病理について	向山 昌邦
59. 3.14	(日大眼科)小児の神経眼科について	石川 弘
<b>3. 神経内科・小児神経科合同カンファランス</b>		
58. 4.20	運動失調, 下腿筋萎縮, 難聴を呈した10歳女児例	東條 恵
58. 9.14	全身のいそ, 筋萎縮, 球麻痺, 外眼筋麻痺を呈した12歳女児例	東條 恵
58.12. 7	非進行性の失調歩行, 協調運動障害, 知覚障害, 特異な腓腹神経生検所見を呈した11歳女児例	須貝 研司
59. 2. 8	精神運動発達遅滞と交代性片麻痺を示す4歳女児例	松尾多希子
<b>4. 所内合同症例検討会</b>		
59. 2. 7	Adrenoleukodystrophy の2例	桜川 宣男

表2 昭和58年度神経内科及び小児神経科外来患者数推移

診療月	神 経 内 科			小 児 神 経 科		
	新 来	再 来	計	新 来	再 来	計
年 月	人	人	人	人	人	人
58. 4	46	465	511	30	265	295
5	46	511	557	28	262	290
6	50	496	546	24	289	313
7	68	490	558	30	314	344
8	50	536	586	31	343	374
9	58	489	547	28	800	328
10	55	557	612	30	342	372
11	65	544	609	28	318	346
12	48	659	707	43	338	381
59. 1	43	496	539	33	297	330
2	40	570	610	26	336	362
3	52	558	610	41	381	422
計	621	6,371	6,992	372	3,785	4,157

表3 昭和58年度入院患者数月別推移

月別	神 経 内 科				小 児 神 経 科					
	7-2病棟		7-3病棟		7-1病棟		6-1病棟		6-2病棟	
	入院	退院	入院	退院	入院	退院	入院	退院	入院	退院
年 月	人	人	人	人	人	人				
58. 4	9	12	12	1	12	19				
5	10	9	2	1	11	6				
6	14	9	10	3	6	9				
7	8	11	7	8	14	7				1
8	5	8	2	3	21	24				1(+)
9	8	5	2	1	11	14				
10	8	7	6	3	16	13				
11	10	9	7	4	15	13			1	
12	8	17	3	7	11	16		1		
59. 1	10	2	2	4	13	6	2			1
2	9	9	2	3	7	4			1	
3	5	9	2	1	13	9			1	
計	104	107	57	39	150	140	2	1	3	3

1(+)<sup>印</sup>〔1名死亡退院〕

表4 神経内科外来および入院患者内訳（新患）

	外 来	入 院	
		7-2病棟	7-3病棟
筋ジストロフィー症	16	11	
その他の筋疾患	39	6	4
運動ニューロン疾患	9	6	2
脊髄小脳変性症	24	15	10
パーキンソン症候群	54	17	4
ハンチントン病・不随意運動症	37	5	3
脱髄疾患	9	3	5
末梢神経疾患	30	4	1
脳変性疾患	13	2	3
脊椎変形症・脊髄疾患	59	9	5
中毒性神経疾患	14	2	2
先天性奇型	1		
脳血管障害	82	8	6
てんかん	26	5	
脳性麻痺			
頭痛症	65	1	
頭部外傷	8	1	
脳腫瘍	1		
神経感染症・脳症	4	1	1
神経症	28	2	1
その他	103	6	10
合 計	622	104	57

表5 小児神経外来及び入院患者内訳（新 患）

	外 来	入 院		
		7-1 病棟	6-1 病棟	6-2 病棟
筋ジストロフィー症	7	8		
その他の筋疾患	6	4		
運動ニューロン疾患	2	2		
脊髄小脳変性症				
脱髄疾患	1	5		
末梢神経疾患	4	4		
脳変性疾患	6	11		
脊椎変形症・脊髄疾患		1		
先天性奇型	15	10		
精神運動発達遅滞	72	18		1
代謝異常症	1	8		
脳血管障害	3	5		
皮膚神経症候群	3	3		
染色体異常症	12	4		
てんかん・熱性けいれん	124	52		
脳性麻痺	21	6	2	2
頭痛症	6			
頭部外傷	1	2		
脳腫瘍		1		
神経感染症・脳症	9			
小児精神疾患	23	2		
その他	56	4		
合 計	372	150	2	3

## 理学診療科

昭和58年度は、新設された機能訓練棟での診療が本格的に始まり、7-3病棟の開棟と併せ、診療件数の著しい増加がみられた。

スタッフは科長・平山義人医師（小児神経内科医長）、山口明医師（リハビリテーション医師、東京病院兼任）、草野修輔医師（リハビリテーション医師）、酒井和江 OT（6-2、小児神経外来）、若井克史 PT（6-1、小児神経外来、精神科）、高木昭輝 PT（7-1、7-2、7-3精神科、小児神経外来、神経内科外来）、真鍋克博 PT（東京病院兼任、7-1、小児神経外来）、駒沢愛子 PT 助手の8名で診療を行なった。途中、スタッフの変動があった。5月、真鍋 PT 東京病院へ転出、伊神直子 PT 就職、7月草野医師国立身障センターへ転出、野手とし子医師（リハビリテーション医師）転勤（東京病院より）、8月、高木 PT 東京病院へ転出、増田国男 PT 転勤（多摩全生園より）、昭和59年3月伊神 PT 東京病院へ転出

以上のようにスタッフが変った。

診療面では、入院、外来とも診療件数が増え、診療科への延人数は前年度より約4,000名増え、理学診療科への診療依頼は一層の増加の傾向にある。リハビリテーションケースカンファレンスも9月より定期的に持たれ（7-1、7-2、7-3、医師、看護婦、ケースワーカー、PT参加）、又、理学診療科としての月2回の診療会議、症例検討会、勉強会が持たれるようになった。

対外的には、各スタッフが分担して近隣の田無、小平、青梅などの保健所と連携して神経難病の検診相談業務、乳児検診に参加した。

学会発表では、日本リハビリテーション医学会、小児神経学会、脳波・筋電図学会、日本理学療法士学会、国立病院・療養所総合医学会において研究発表を行なった。

〔理学診療科：医師 野手とし子、PT 増田国男〕

簡単………簡単な運動療法  
 複雑………複雑な運動療法

月別診療延人数 (246診療日)

	7-1		7-2		7-3		6-病棟		その他		外		来		小計		合計
	病棟		病棟		病棟		病棟		の		神経内科		小児神経		小計		
	簡単	複雑	簡単	複雑	簡単	複雑	簡単	複雑	簡単	複雑	簡単	複雑	簡単	複雑	簡単	複雑	
58. 4	11	40	6	89		53	193	92	47	7	67	15	76	232	464	696	
5	34	29	3	72		71	11	55	38	14	71	31	65	100	401	501	
6	12	49	0	64		106	24	46	38	24	74	12	128	73	505	578	
7	7	60	0	91		111	13	29	38	18	64	8	87	46	480	526	
8	8	42	16	99		130	230	73	27	21	46	42	131	317	548	865	
9	0	41	0	190		132	261	144	19		84		78	261	688	949	
10	9	24	14	142	21	98	185	82	17		60	2	56	231	479	710	
11	3	25	7	133	20	97	215	89	4	10	80		56	255	484	739	
12	9	62	8	134	22	88	133	196	4	13	77		92	185	653	838	
59. 1	7	41	0	89		94	104	79	3		66		141	111	513	624	
2	27	43	0	166		149	105	182	6		73	2	58	134	677	811	
3	3	51	27	170		169	191	93	4		76		85	221	648	869	
	130	507	81	1439	63	1298	1665	1160	8	107	838	112	1053	2166	6540	8706	

学会発表

- 1) 高木昭輝, 向山昌邦, 黒川幸雄, 山口明: SCD に対する Treadmill の利用について  
第18回日本理学療法士学会, 東京, 5.11~13, 1983
- 2) 高木昭輝, 平山義人, 向山昌邦, 加藤武治, 鷺田孝保, 黒川幸雄, 山口明:  
摂食時の表面筋電図および嚥下障害  
第18回日本理学療法士学会, 東京, 5.11~13, 1983
- 3) 真鍋克博, 増田国男, 黒川幸雄, 山口明, 高木昭輝: 痙性筋に対する持続的伸張効果の  
Cybexmachine による評価  
第18回日本理学療法士学会, 東京, 5.11~13, 1983
- 4) 草野修輔, 野手とし子, 山口明, 古賀良平: 半側空間失認を有する脳血管障害患者の経時的視  
野検査の意義  
第20回日本リハビリテーション医学会総会, 愛知, 6.10~11, 1983
- 5) 一井 本, 高木照輝, 安藤一也: 脊髄小脳変性症の静止立位時重心動揺に対する低周波電機刺  
激の効果について  
第20回日本リハビリテーション医学会総会, 愛知, 6.10~11, 1983
- 6) 平山義人, 高木照輝, 鷺田孝保: 脳性麻痺時の水分摂取: 表面筋電図と呼吸曲線からの分析  
第25回日本小児神経学会総会, 栃木, 7.7~9, 1983
- 7) 増田国男, 真鍋克博, 松本栄子, 伊神直子, 篠塚直子, 野手とし子, 山口明, 古賀良平, 芳賀  
敏彦: ALS 患者における呼吸訓練  
第38回国立病院療養所総合医学会, 名古屋, 11.9~10, 1983
- 8) 高木昭輝, 野手とし子, 山口明, 平山義人: Ataxia 患者における椅坐位から立位までの表面  
筋電図  
第13回日本脳波筋電図学会学術大会, 奈良, 12.1~3, 1983
- 9) 平山義人, 高木昭輝, 野手とし子, 鷺田孝保: 重度脳障害児にみられる特異な咀嚼様運動の表  
面筋電図  
第13回日本脳波筋電図学会学術大会, 奈良, 12.1~3, 1983

(      は理学診療科, 神経筋病棟, 神経センター職員)

## 医療社会事業

小児神経科、神経内科で扱う神経・筋疾患は疾病の原因が不明で、治療法も未確立な、いわゆる難病に属するものが多い。適切な治療法のない疾患に対する患者、家族の社会的・経済的・家庭的・心理的面で煩悶は正規に耐えられないものがある。

この中でMSWの役割は長期療養による医療費、生活費など経済的問題と身体障害者手帳の申請手続きや車椅子、下肢装具などの補装具申請、身体障害に伴う職業・住宅など社会的問題、家族関係の調整、などへの援助があげられる。

又、自宅療養者とその家族に対して少しでも負担や不安が軽減するよう保健婦の訪問援護とホームヘルパーの派遣依頼など社会資源（福祉制度）が有効にかつ速やかに適用され、キメ細かいサービスが受けられるよう援助することである。

特に患者・家族の悩み・苦しみを真に理解し、社会的にも心理的にもできる限りの援助を行ない、患者・家族を側面から支えることである。

治療を阻害する因子を適確に把握し、できる限り社会環境を整えることが重要である。

MSWは医師・看護職員・理学療法士など他のメディカル・スタッフとも連携・協力し合っている。

医師や看護職員からのケース紹介・福祉事務所などの関係機関や家族からの相談に応じて面接を行ない疾病の背景要因の把握、職業・住居・家族などの環境調査を実施し、外来・病棟での患者の

昭和58年度相談内容延件数

内 容	神 経 内 科		小児神経科	
	外 来	入 院 (7-2病棟) (7-3病棟)	外 来	入 院 (7-1病棟)
医療費、経済問題	44	36	16	34
制度利用	52	60	38	112
施設利用	8	18	32	94
入退院、転院について	110	58	28	66
家族問題	44	34	58	94
病気について	82	38		
職業、住宅について	28	22		
療育問題			222	172
情緒問題			86	40
合 計	368	266	480	612



治療プログラムを作成する参考資料にしている。

診療部門での医療社会事業は昨年につづき、神経内科を下田文幸が小児神経科を大塚雅が担当している。

外来においては、神経内科は月、水、木、金曜日小児神経科は月、火、木、金曜日とそれぞれ週4回ずつ相談に応じている。外来は医師よりのケース紹介が多い。入院と受診の相談は随時電話・面接などで受けている。

外来・入院の相談総件数は神経内科634例、小児神経科は1,092例であった。相談内容は下記の表の通りで神経内科では受診・入退院・転院についての相談、病気や制度利用が多く、小児神経科では療育問題、情緒、制度利用が多い。小児神経科、神経内科に共通する援助として患者本人、家族との面接の他に福祉事務所、保健所などの関係機関との協義、連絡も行なっている。対外的には小平保健所の難病相談に神経センター田平部長と共にMSW下田が参加した。

[小児神経科 MSW 大塚雅, 神経内科 MSW 下田文幸]

---

V 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。そのために, 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応じて, 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

### 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。なおりハビリテーション施設を新設する。

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、全国の対象疾患々者への医療サービス（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，看護師，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。

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。

第一次計画につづく第二次、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、決して十分とは言えない。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

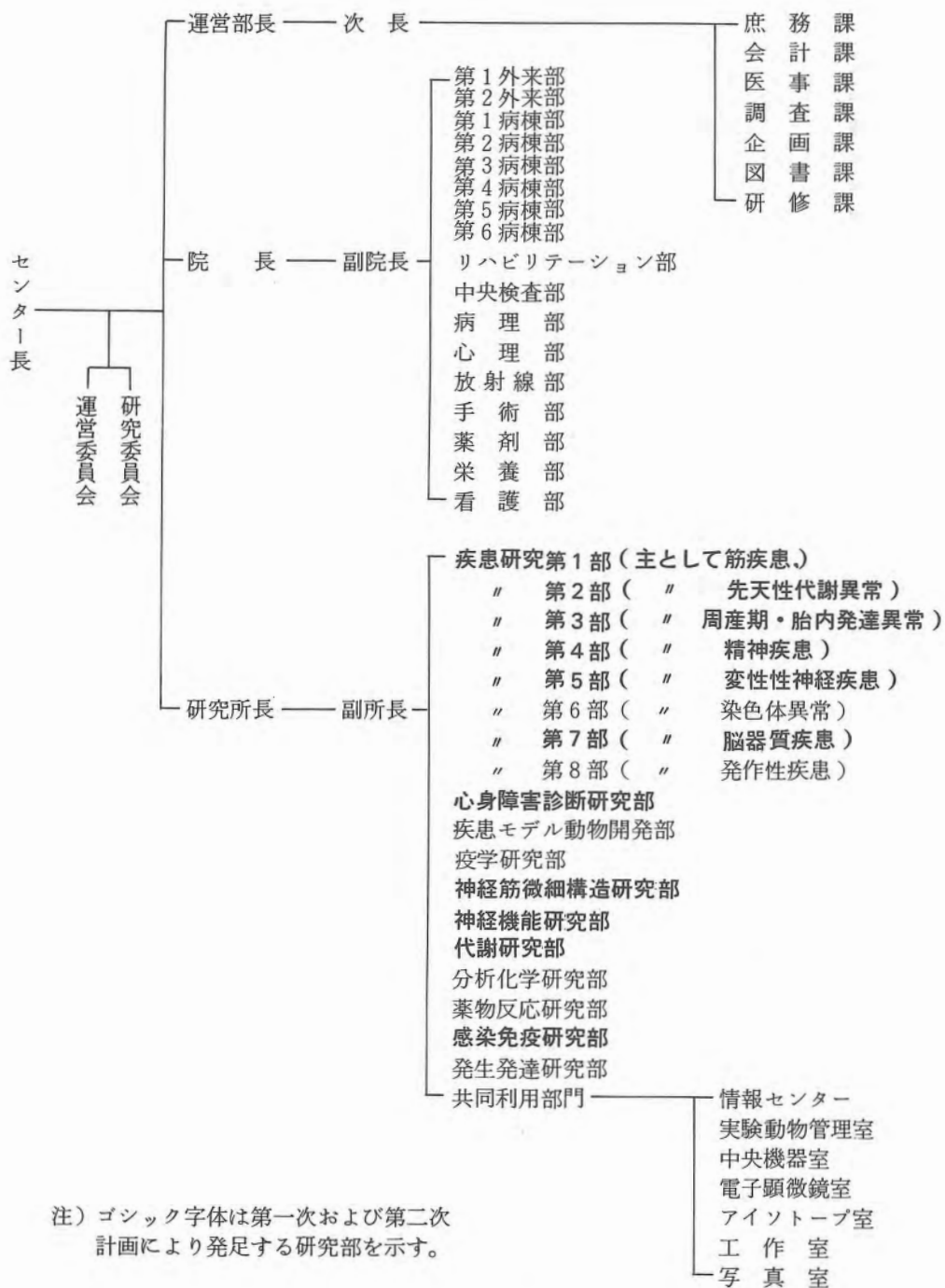
氏 名	所 属
◎ 秋 元 波留夫	国立武蔵療養所々長
○ 里 吉 栄二郎	東邦大学医学部教授(神経内科)
鳥 蘭 安 雄	東京医科歯科大学教授, 附属病院長(精神科)
椿 忠 雄	新潟大学医学部教授, 脳研究所長(神経内科)
豊 倉 康 夫	東京大学医学部教授, 附属脳研究施設長(神経内科)
祖父江 逸 郎	名古屋大学医学部教授, 附属病院長(神経内科)
成 瀬 浩	国立精神衛生研究所優生部長
森 山 豊	日本母性保護医協会会長
福 山 幸 夫	東京女子医科大学教授(小児科)
塚 田 裕 三	慶応義塾大学医学部教授(生理学)
勝 沼 信 彦	徳島大学教授, 附属酵素研究施設長(生化学)
江 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 (52～53年度)	一期工事(約4,400 m <sup>2</sup> ) 8 研究部門発足 流動研究員, レジデント 宿舎新設	神経・筋病棟新設(120床) 病理部門新設 外来部門増設 中央検査部増設
第 二 次 計 画 (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 (なるべく早い時期)	7 研究部門を増設(計18部) 大型動物室, 図書館, 研修部門の新設 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）  
センターの設置について，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、下記左欄に示したものであったが、昭和52年1月右欄に示す内示があった。

	要 求	内 示
必要機器設備費など	約1,300,000千円	624,000千円 (内宿舎整備費 100,000千円を含む)
人 員		
専 任 職 員	29人 (センター長1, 部長6, 研究員19, 事務3)	15人 (センター長1, 部長6, 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 |

## 2-A 神経センター流動研究員運営要領

(S 53. 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	2,100 円	
	月給	311,000 円	教授クラス
B級	時給	1,800 円	
	月給	259,000 円	助教授クラス
C級	時給	1,600 円	
	月給	207,000 円	講師クラス
D級	時給	1,200 円	
	月給	155,000 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。

(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-A 神経センター併任研究員運営要領

#### 1. 目 的

神経センターの次の研究体制の方針のもとに併任研究員制度を設け、公務員の研究者を受入れるものとする。

- (1) 本神経センターでは、プロジェクト研究を中心に行う。
- (2) 共通の目的をもった全国の大学、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。
- (3) 独自の研究施設、組織、研究委託費を総合的に活用し、大型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。

#### 2. 選 考

- (1) 研究委員会で選考を行い、国立武蔵療養所長(以下「所長」という。)にその結果を報告する。
- (2) 研究委員会は、神経センター流動研究員運営要領3の研究委員会を適用する。
- (3) 併任研究員を受け入れようとする部長(以下「当該部長」という。)は、神経センター併任研究員申請書(様式1)を研究委員会に提出する。

#### 3. 定数、承認および承認期間

- (1) 毎年度その定める各部の定数内において、所長が承認する。
- (2) 承認期間は1年以内とする。ただし、再選考することは妨げない。

#### 4. 責任と義務

- (1) 併任研究員の神経センター内の服務規律および特許権等並びに設備、施設の利用については、神経センター職員に準じて行うものとする。
- (2) 併任研究員が神経センターにおける研究業績を発表しようとするときは、当該部長の許可を得るものとする。

#### 附 則

この運営要領は、昭和56年4月1日から適用する。

## 3-B 神経センター研究生研究見習生内規

### 1. 目 的

神経センターの研究対象疾病に関する原因の解明，治療法の開発，予防法の確立について，研究および技術修得のための研修を希望する者を，この内規の定めるところにより研究生または研究見習生として受入れるものとする。

### 2. 資 格

研究生は，大学卒業者または国立武蔵療養所長（以下「所長」という。）が，同等以上の学力を有すると認めた者で，所属する機関長等の推薦する者。

研究見習生は，高等学校以上の学校を卒業した者または所長が同等以上の学力を有すると認めた者で，所属する機関長等の推薦する者。

### 3. 選 考

- (1) 研究委員会で選考を行い，所長にその結果を報告する。
- (2) 研究委員会は，神経センター流動研究員運営要領3の研究委員会を適用する。
- (3) 研究生または研究見習生の承認を受けようとする者は，神経センター研究生研究見習生申請書（様式1）を，指導を受けようとする部長（以下「指導部長」という。）を経て研究委員会に提出する。

### 4. 定数、承認および承認期間

- (1) 研究生および研究見習生の定数は各部若干名とし，所長が承認する。
- (2) 承認期間は1年以内とする。ただし，再選考することは妨げない。

### 5. 身 分

推薦する機関長の所属とする。

### 6. 給 与

研究生および研究見習生には，国から一切の給与を支給しない。

## 7. 責任と義務

- (1) 研究生および研究見習生の服務規律および特許権等については、神経センター職員に準ずるものとする。
- (2) 研究生および研究見習生は、指導部長の指示または許可を得て、研究・研修および研究業績の発表を行うものとする。

## 8. 辞 退

研究生および研究見習生は、研究および研修を辞退したい場合には、辞退届を指導部長を経て所長に提出するものとする。

## 9. 承認の取消

所長は、研究生および研究見習生がこの内規に違背し、または研究生および研究見習生としてふさわしくない言動があった場合においては、研究委員会の議を経て承認を取り消すことができる。

## 10. 弁 済

研究生および研究見習生は、本人の故意または重大な過失により国に損害を与えたときは、その弁済の責を負わなければならない。

## 附 則

この内規は、昭和56年4月1日から施行する。

#### 4. 神経センター勤務心得

昭和56年4月1日制定

1. 神経センターの勤務者(以下「勤務者」という。)は、研究者としての責務を自覚し、旺盛な研究心をもって対象疾病の研究に努めなければならない。
2. 勤務者はそれぞれの所属部(室)の機能に応じて業務を分担してこれを行う。
3. 勤務者は勤務時間外あるいは出張・休暇の際、自己の研究体制に落度のないよう心掛ける。
4. 勤務者の出勤および退勤は、所定位置の名札の表裏によって明瞭にしなければならない。
5. 勤務者は勤務時間中、自己の所在位置を明瞭にしなければならない。
6. 庁外に対し、個人的意見の発表は良識にしたがって、慎重を期さなければならない。
7. 神経センターの研究において得られた技術が、特許権・実用新案権または意匠権の対象となるときは、その権利を取得するための手続をとるとともに、国立武蔵療養所長に届出するものとする。
8. 官物と私物の区別は厳重にし、つねに公私の混同を戒めなければならない。

(別項5)

## 5. 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

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。

(別項6)

## 6. 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 (主として筋疾患)	1. 筋ジストロフィー 2. 筋炎および筋無力症 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 筋炎および筋無力症の病因, 病態生理, 治療法の研究 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 (主として発 生・発達障害 疾患)	1. 精神遅滞 2. 運動感覚発達障害 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 運動感覚発達障害の生化学, 形態学, 症候学的研究と対策 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 (主として精神疾患)	1. 精神分裂病 2. 躁うつ病 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 躁うつ病の成因の生化学的および薬理学的研究 非定型精神病の病態と成因に関する生理学および生化学的研究
疾病研究第4部 (主として変 性性神経疾患)	1. 脊髄小脳変性症 2. 運動ニューロン および末梢神経疾患 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 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 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 (主として先 天代謝異常症)	1. 遺伝生化学 2. 分子病 3. 治療開発	先天代謝異常症の遺伝生化学に関する研究 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 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 (主として脳 器質疾患)	1. 第1研究室 2. 第2研究室 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 (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 (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的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>



部	室 名	主として行う研究テーマ
微細構造研究部	1. 超微構造 2. 微細組織化学 3. 生 体 膜	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 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 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
機 能 研 究 部	1. 筋生理学 2. 神経生理学 3. 病態生理学	筋収縮およびそれに関連する機能の生理学的研究 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 神経系・筋疾患における機能変化の生理学的研究
代 謝 研 究 部	1. 神経化学 2. 発達生化学 3. 細胞化学	神経系の化学的構成および代謝機構の研究 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 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
免 疫 研 究 部	1. 免疫発現機構 2. 免疫化学 3. 免疫異常	免疫発現機構の細胞学的および免疫化学的研究 免疫関連因子の化学的構造と機能に関する研究 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
分析化学研究部	1. 生体物質分析 2. 物質構造解析 3. 生物有機化学	未知の生体物質の分離および化学構造の研究 生体高分子物質の構造のX線回折, 核磁気共鳴電子スピン共鳴などによる研究 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
薬物作用研究部	1. 細胞薬理 2. 発生薬理 3. 薬物代謝	細胞内における薬物の反応機構に関する研究 発生, 分化の過程における薬物作用の変動の研究 生体内における薬物代謝の機構に関する研究

部	室 名	主として行う研究テーマ
発生生物学 研 究 部	1. 細胞分化 2. 分子発生 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 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 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 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 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6号〔昭和58年度〕

発行 昭和59年3月31日  
発行者 里吉栄二郎  
編集者 安藤一也  
田平武  
印刷 有限会社 新和印刷

---

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

---