

第 2 章 材料と方法

2.1 材料

2.1.1 患者の筋生検

DM1 患者 10 名と non-DM (Control) 患者 10 名の筋生検を用いた。この筋生検は上腕二等筋、大腿四頭筋から、インフォームドコンセントを得て採取されたもので、DM1 患者はリピートの伸長が確認されており、non-DM 患者は、患者本人は何らかの病識はあるものの、DM ではないことが確認されている。すべての DM1 患者には筋力低下と筋強直が認められており、詳細な異常は表 2.1 にまとめた。他の筋ジストロフィーに比べ、筋線維の脂肪化、繊維化、壊死と再生は乏しいが、発症より時間が経つと中心核が現れるなどの幼若筋のような特徴を示す。また、ヘマトキシリン&エオシン染色された筋組織 (non-DM 患者 1 名、DM1 患者 6 名) も載せる (図 2.1)。

以上の筋生検、染色された筋組織は国立精神・神経医療研究センター神経研究所疾病研究第一部部長の西野一三博士に分譲していただいた。

2.1.2 トランスジェニックマウス (DM1 モデルマウス)

HSA^{LR} マウスは、University of Rochester の Charles A. Thornton 教授の研究室で作製されたトランスジェニックマウスであり (Mankodi *et al.* 2000)、大阪大学大学院医学系研究科の高橋正紀助教の研究室を経て、当研究室に導入された。*HSA*^{LR} マウスは、ヒト骨格筋アクチン (*HSA*) プロモーターの制御下で、3-UTR に (CTG)₂₅₀ をもつ *HSA* 遺伝子をホモ接合で持っている。交配の過程で CTG リピートが縮小する傾向があり、本研究で用いたマウスはおよそ 170 ~ 200 リピートを保持していた。野生型としては FVBn/Jcl (日本クレア株式会社) を用いた。動物実験に際しては、「東京大学動物実験実施マニュアル」を遵守した。

表 2.1. 筋生検の情報

疾患	患者 No.	年齢	性別	DMPK 3'UTR リピート伸長	発症 年齢	特徴的な症状	脂肪 化	線維化	中心 核	再生	type1 線維優 性	type 1 線維萎 縮
DM1	DM-1	7 ヶ月	女	伸長+	先天性	Type1 線維優性	-	-	-	-	-	-
	DM-2	8 ヶ月	男	1567 リピート	先天性		-	minimal	-	-	50-60%	+
	DM-3	2 歳	男	1400 リピート	先天性		mild	-	a few	-	-	+
	DM-4	4 歳	女	1900 リピート	先天性		-	minimal	some	-	-	+
	DM-5	11 歳	男	伸長+	10 歳	Type1 線維優性, 糖尿病	-	-	a few	-	-	-
	DM-6	31 歳	男	伸長+	17 歳		mild	mild	many	1~2%	80%	-
	DM-7	8 ヶ月	女	1400 リピート	先天性							
	DM-8	2 歳	男	伸長+	先天性							
	DM-9	11 ヶ月	男	伸長+	先天性							
	DM-10	8 ヶ月	男	1900 リピート	先天性							
non-DM (Control)	C-1	8 ヶ月	男	正常	-	正常	-	-	-	-	-	-
	C-2	2 歳	男			正常						
	C-3	2 ヶ月	男			若干の筋萎縮						
	C-4	4 歳	男			Type2 線維のみ萎縮						
	C-5	11.5 歳	男			正常						
	C-6	31 歳	女			若干の筋萎縮						
	C-7	8 ヶ月	女									
	C-8	1 歳	男									
	C-9	2 歳	男									
	C-10	11 ヶ月	女									

DMPK 3'UTR リピート伸長: 伸長+は CTG リピートの伸長を確認済。正常は CTG リピートの伸長が検出されなかった