A Study on the Ouabain-Sensitive ($\text{Na}^+ + \text{K}^+$)-ATPase Activities of Skeletal Muscle and Brain Membrane Fractions from Genetically Dystrophic Mice

Hikaru OZAWA, Tsutomu MIURA

Department of Pharmacology, Pharmaceutical Institute, Tohoku University, Sendai 980

Masashi SATO

Department of Biology, Miyagi College of Education, Sendai 980

(Received for publication : July 24, 1975)

The ouabain-sensitive ($\text{Na}^+ + \text{K}^+$)-ATPase activities of membrane fractions from hind-leg muscle and brain of normal and genetically dystrophic mice (C57BL/6J-dy strain) were studied, and the following results were obtained. 1) The ouabain-sensitive ($\text{Na}^+ + \text{K}^+$)-ATPase activity of frozen muscle sarcolemmal fraction from normal mice was several times higher than that of fresh one. 2) The ouabain-sensitive ($\text{Na}^+ + \text{K}^+$)-ATPase activity of frozen muscle sarcolemmal fraction from dystrophic mice was almost equal to that from normal one. But the muscle membrane yield from dystrophic mice was considerably low compared with the yield from normal one. 3) With brain membrane fractions, no differences were observed between normal and dystrophic mice in the ouabain-sensitive ($\text{Na}^+ + \text{K}^+$)-ATPase activity as well as in the yield of membrane fractions.

遺伝的筋ジストロフィーマウスにおける骨格筋 および脳の形質膜分画の ouabain 感受性 ($\text{Na}^+ + \text{K}^+$)-ATPase 活性

小 澤 光, 三 浦 力
東北大学薬学部薬品作用学教室

佐 藤 正
宮城教育大学理科教育研究施設

遺伝的筋ジストロフィーの病態像として、最近膜系の異常が示唆されて来ている。筋肉における種々の膜 [2, 3, 5, 15, 20, 23, 27], 赤血球膜 [10, 16, 19, 25], 肝 [11], 脳 [10] のミトコンドリア膜について検討されているが、いずれも正常に比べ何らかの変化が認められることが報告されている。

筋形質膜については筋ジストロフィーハムスターで Sulakhe ら [23] が、 Na^+ , K^+ の能動輸送に関与する ouabain 感受性 ($\text{Na}^+ + \text{K}^+$)-ATPase 活性が上昇していることを見出して以来、ヒト [5], マウス (129/ReJ-dy 系) [2, 3] でも同様の試みがなされた。その結果マウスでは同酵素活性が減少するとの報告 [3] と

変化がないとの報告〔2〕が見られる。

そこで本実験では遺伝的筋ジストロフィーにおける膜系の変化について何らかの知見を得る目的で、上記とは系統の異なる C57BL/6J-dy 系マウスを用い同酵素活性測定を試みるとともに、外見的に障害の認め難い筋肉以外の組織についても比較検討する目的で、特に本症への関与が示唆されている神経系〔7, 9, 12, 17〕として脳を選び、形質膜の ouabain 感受性 ($\text{Na}^+ + \text{K}^+$)-ATPase 活性について正常マウスのそれと比較検討を行った。

材料および方法

酵素標品の調製と酵素活性の測定は、筋肉においては Bray〔3〕, 脳においては Hayashi ら〔8〕の方法に基づき行った。

1. 動物

遺伝的筋ジストロフィーマウス (C57BL/6J-dy/dy) はヘテロマウス (C57BL/6J-+/dy) 間の交配によって得、ヘテロマウスは実験動物中央研究所の方式による卵巣移植法〔24〕を用いて得た。本実験には約6～9週令(生後40～62日)のマウスを用い、対照には正常雄マウス (C57BL/6J-+/+ 又は -+/dy) を用いた。なお実験に供したその他の ddI, ICR 系マウスは、すべて成熟雄マウスを用いた。

2. 酵素標品の調製

1) 筋肉

動物を放血致死させ、下肢の全筋肉を摘出したが、凍結保存筋肉の実験では予め氷冷した容器に摘出し、 -20°C に凍結保存した(2～118日間)。

筋肉を予め氷冷したA液(0.25Mショ糖, 1mMトリス-EGTA, 20mMトリス-マレイン酸緩衝液, pH7.5)に浸し、脂肪等の組織を除去後水分を濾紙でふき取り、秤量した。この筋肉を細切し、洗滌後9倍容のA液に懸濁し、ワーリングブレンダーで30秒間ホモジナイズした。次にこのホモジネートを二重のガーゼでろ過し、ろ液を $8000\times g$, 5分間遠心分離した。得られた沈渣をA液に再度懸濁し、同様に $8000\times g$, 5分間遠心分離し、この洗滌操作を5回行った後、用時調製し氷冷した1M NaI 液(pH7.0)に、使用筋肉1g当りの沈渣に6.7mlの割合で懸濁し、しゃ光して 4°C で2時間かくはんした。次に不溶分をガーゼを通して除去し、 $3000\times g$, 5分間遠心分離し、得られた沈渣を筋形質膜分画とした。この沈渣を更に洗滌のためB液(0.25Mショ糖, 1mMトリス-EGTA, 20mMトリス-塩酸緩衝液, pH7.5)

に再度懸濁し、同様に $3000\times g$, 5分間遠心分離したが、この洗滌操作を1～2回行い得た沈渣をB液に懸濁した。

Bray〔3〕が試みたように本実験でも更にこの懸濁液を2分間テフロンホモジナイザーでホモジナイズ後、 $1000\times g$, 10分間と $8000\times g$, 20分間の遠心分離を試み、 $1000\times g$ および $8000\times g$ 上清に ouabain による阻害率がほぼ100%の標本が得られたが、酵素の収量の面で沈渣に比べ著しく低かったため、本実験では活性測定に前述のように $3000\times g$ 沈渣を洗滌しB液に懸濁したものを酵素標本とした。

2) 脳

凍結保存した全脳(正常, 筋ジストロフィー両マウスともほぼ同期間凍結保存)を予め氷冷したC液(0.44M ショ糖, 0.1mM EDTA- Na_2 , 0.1M イミダゾール-塩酸緩衝液, pH7.5)に浸し、洗滌後水分を濾紙でふき取り秤量した。これに9倍容のC液を加え、テフロンホモジナイザーで約10回のストロークによりホモジネートを調整し、 $400\times g$, 10分間遠心分離を行いその上清を更に $400\times g$, 20分間遠心分離した。ここで得られた沈渣を脳形質膜分画とした。これを更にC液に懸濁し、 $400\times g$, 20分間の遠心分離で3度洗滌後、C液に懸濁し酵素標本とした。

3. ATPase 活性測定法

1) 筋肉

筋形質膜分画の ATPase 活性を測定するため、全量1mlとして次の反応系を用いた。a) Mg^{2+} -ATPase 活性測定には、3mM トリス-ATP (pH7.5), 3mM MgCl_2 , B液, 酵素(0.21～0.75mg蛋白質)。b) ($\text{Mg}^{2+} + \text{Na}^+ + \text{K}^+$)-ATPase活性測定にはa)に100mM NaCl 10mM KCl (各々終濃度)を添加したが、ouabain の影響を見る場合には、更に終濃度で1mMの ouabain を添加した。

2) 脳

脳形質膜分画の ATPase 活性測定には、全量1mlとして次の反応系を用いた。a) Mg^{2+} -ATPase 活性測定には、2mMトリス-ATP (pH7.5), 3mM MgCl_2 , 0.1Mイミダゾール-塩酸緩衝液 (pH7.5), 酵素(0.15～0.25mg蛋白質)。b) ($\text{Mg}^{2+} + \text{Na}^+ + \text{K}^+$)-ATPase 活性測定にはa)に100mM NaCl, 20mM KCl (各々終濃度)を添加したが、ouabain の影響を見る場合には、更に終濃度で1mMの ouabain を添加した。

予め 37°C , 5分間温度平衡後、ATPの添加で反応を開始した。30分間反応後、氷冷した30%トリクロル酢酸0.2mlを添加し、反応を停止させた(終濃度5%)。盲検として Mg^{2+} -ATPase 活性測定系に予めトリクロル酢

酸を加えたものを用いた。

無機リン酸の定量は Fiske & Subbarow [6] の方法に基づき、蛋白質の定量は酵素液を 0.5M NaOH (終濃度) で処理後、Lowry ら [14] の方法に従った。

成 績

1. 筋肉

1) 筋形質膜 ATPase 活性に対する凍結の影響

三系統のマウスについて新鮮筋肉および凍結保存した筋肉の筋形質膜 ATPase 活性を比較した (Table 1)。三系統の新鮮筋肉とも Mg^{2+} -ATPase 活性は 100mM

NaCl, 10mM KCl によって高められ、この ($Mg^{2+} + Na^{+} + K^{+}$)-ATPase 活性は 1 mM ouabain によって阻害されたが、ouabain 感受性 ($Na^{+} + K^{+}$)-ATPase 活性は ($Mg^{2+} + Na^{+} + K^{+}$)-ATPase 活性の 19.2~25.3 %にあたる 1.44~1.62 (μ moles Pi/mg 蛋白質/時間) に過ぎなかった。一方、凍結保存した筋肉では三系統とも Mg^{2+} -ATPase 活性が新鮮筋肉に比べ減少しており、このため ouabain 感受性 ($Na^{+} + K^{+}$)-ATPase 活性は ($Mg^{2+} + Na^{+} + K^{+}$)-ATPase 活性の 60.7~66.1 %にあたる 3.78~4.43 (μ moles Pi/mg 蛋白質/時間) と、新鮮筋肉の数倍に増加した。

Table 1. Effect of freezing on ATPase activities of skeletal muscle sarcolemmal fraction

Strain	Muscle	Case	ATPase activity (μ moles Pi/mg protein/hr)				Ouabain
			Mg^{2+}	$Mg^{2+} + Na^{+} + K^{+}$	$Mg^{2+} + Na^{+} + K^{+}$ + ouabain	Ouabain-sensitive	inhibition (%)
ddI	fresh	3	5.17 $\pm$ 0.68	6.71 $\pm$ 0.60	5.09 $\pm$ 0.67	1.62 $\pm$ 0.07	(24.6 $\pm$ 3.0)
	frozen	5	2.69 $\pm$ 0.24	6.71 $\pm$ 0.47	2.28 $\pm$ 0.50	4.43 $\pm$ 0.60	(66.1 $\pm$ 2.3)
C57BL	fresh	3	4.77 $\pm$ 0.24	5.72 $\pm$ 0.50	4.26 $\pm$ 0.29	1.47 $\pm$ 0.25	(25.3 $\pm$ 2.4)
	frozen	3	2.45 $\pm$ 0.17	6.21 $\pm$ 0.54	2.43 $\pm$ 0.26	3.78 $\pm$ 0.42	(60.7 $\pm$ 3.3)
ICR	fresh	3	6.26 $\pm$ 0.86	7.43 $\pm$ 1.13	5.98 $\pm$ 0.92	1.44 $\pm$ 0.40	(19.2 $\pm$ 4.9)
	frozen	4	3.22 $\pm$ 0.35	6.24 $\pm$ 0.75	2.24 $\pm$ 0.50	4.00 $\pm$ 0.31	(65.5 $\pm$ 4.2)

Values are means $\pm$ S.E..

2) 筋ジストロフィーマウスの筋形質膜

ATPase 活性と筋形質膜の収量

正常マウスと筋ジストロフィーマウスの凍結保存した筋肉について、筋形質膜 ATPase 活性と筋形質膜の収量を測定した (Table 2)。筋ジストロフィーマウスの ouabain 感受性 ($Na^{+} + K^{+}$)-ATPase 活性は正常マウ

スのそれと比べほとんど差が認められなかった。またその他の ATPase 活性でも両マウスで差は認め難かった。一方筋形質膜の収量は正常マウスで筋肉 1 g 当り 1.43mg 蛋白質相当量、筋ジストロフィーマウスで正常マウスの約 20% の 0.32mg 蛋白質相当量であり、筋ジストロフィーマウスで著しく減少していることがわかった。

Table 2. The yields and ATPase activities of frozen muscle sarcolemmal fraction from non-dystrophic and dystrophic mice

Mice	Yield mg/g muscle	ATPase activity (μmoles Pi/mg protein/hr)				Ouabain
		Mg ²⁺	Mg ²⁺ + Na ⁺ + K ⁺	Mg ²⁺ + Na ⁺ + K ⁺ + ouabain	Ouabain-sensitive	inhibition (%)
Non-dystrophic						
Expt. 1	1.195	2.63	6.13	2.81	3.32	(54.2)
2	—	2.11	7.18	2.56	4.62	(64.3)
3	1.667	2.61	5.32	1.93	3.39	(63.7)
Mean	1.431	2.45	6.21	2.43	3.78	(60.7)
Dystrophic						
Expt. 1	0.222	1.87	5.24	1.94	3.30	(63.0)
2*	0.409	3.59	6.34	2.76	3.58	(56.5)
Mean	0.316	2.73	5.79	2.35	3.44	(59.8)

* Female mice

なお筋ジストロフィーマウス2群について新鮮筋肉を用い同様の測定を行ったが (Table 3), これらの ouabain 感受性 ($\text{Na}^+ + \text{K}^+$)-ATPase 活性は正常マウスの

活性値より低いか同じ程度とまちまちであった。筋形質膜の収量は正常マウスの約40%であった。

Table 3. The yields and ATPase activities of fresh muscle sarcolemmal fraction isolated from non-dystrophic and dystrophic mice

Mice	Yield mg/g muscle	ATPase activity (μ moles Pi/mg protein/hr)				Ouabain
		Mg ²⁺	Mg ²⁺ + Na ⁺ + K ⁺	Mg ²⁺ + Na ⁺ + K ⁺ + ouabain	Ouabain- sensitive	inhibition (%)
Non-dystrophic						
Expt. 1	0.650	4.46	5.06	3.74	1.32	(26.1)
2	0.623	4.61	5.42	4.29	1.13	(20.8)
3	0.538	5.24	6.69	4.74	1.95	(29.1)
Mean	0.604	4.77	5.72	4.26	1.47	(25.3)
Dystrophic						
Expt. 1 *	0.222	4.76	6.16	5.57	0.59	(9.6)
2 *	0.226	5.42	6.99	5.27	1.72	(24.6)
Mean	0.224	5.09	6.58	5.42	1.16	(17.1)

* Male and female mice

2. 脳

正常マウスと筋ジストロフィーマウスの凍結保存した脳について、脳形質膜 ATPase 活性と脳形質膜の収量を測定した (Table 4)。筋ジストロフィーマウスの脳形

質膜 ATPase 活性は ouabain 感受性の活性, その他の活性ともに, 正常マウスのそれらと有意の差は認められず ($p > 0.05$), 収量においても両者に有意の差は認められなかった ($p > 0.05$)。

Table 4. The yields and ATPase activities of brain membrane fraction isolated from non-dystrophic and dystrophic mice

Mice	Yield mg/g brain	ATPase activity (μ moles Pi/mg protein/hr)				Ouabain inhibition (%)
		Mg ²⁺	Mg ²⁺ + Na ⁺ + K ⁺	Mg ²⁺ + Na ⁺ + K ⁺ + ouabain	Ouabain- sensitive	
Non-dystrophic (n= 5)						
Mean	4.1	6.57	20.67	8.31	12.36	(59.4)
S. E.	0.2	0.29	1.12	0.29	1.11	(2.2)
Dystrophic (n= 5)						
Mean	4.5	6.72	19.78	8.41	11.37	(57.3)
S. E.	0.3	0.41	0.69	0.29	0.73	(2.0)

考 察

筋肉を凍結保存することにより, 新鮮筋肉よりもより活性の高い ouabain 感受性 ($\text{Na}^+ + \text{K}^+$)-ATPase を含む筋形質膜分画を調製出来ることがわかった。これは Auditore [1] がウサギの心筋を凍結して得た結果と類似している。本実験で用いた遺伝的筋ジストロフィーマウスの骨格筋においても同様な結果が得られたが, 臓器

が異なっても, また病態にある臓器でも同様な結果が得られることは, 本酵素の特性を考える上で興味深い。

予め凍結保存した筋肉を用い筋ジストロフィーマウスの酵素活性測定の結果, ouabain 感受性 ($\text{Na}^+ + \text{K}^+$)-ATPase 活性は正常マウス, 筋ジストロフィーマウスともにほぼ同じで差がないことがわかった。この実験においてその方法を採用した Bray [3] の結果, 即ち, ouabain 感受性 ($\text{Na}^+ + \text{K}^+$)ATPase 活性が筋ジストロフィーマウスで減少しているという結果とは相異し,

他方、全く方法の異なる Boegman [2] の報告と同様な結果が得られたことになる。使用動物の週令は三者ともほぼ同程度であるが、系統に関しては Bray [3], Boegman [2] が 129/ReJ-dy 系を用いたのに対し本実験では C57BL/6J-dy 系と異なる。Loosli ら [13], Russell ら [22] の観察によると C57BL/6J-dy 系は 129/ReJ-dy 系より症状の進行が速く、従って我々の得た知見は Bray [3], Boegman [2] のそれに比べより症状の進行した筋肉における知見であるともいえるが、この点を明らかにするためには、まず同一系統マウスについて症状の初期、中期、末期における筋膜 ATPase 活性の変化を検討することが必要であろう。

また、実験法においては主として Bray [3] の方法に準じたが、ouabain 感受性 ($\text{Na}^+ + \text{K}^+$)-ATPase 活性の高い酵素標本が得られるように凍結保存した筋肉を用いた点が Bray [3] の場合と異なる。これが両者の結果の相異として大きく関与していることは、我々の新鮮筋を用いた実験で、値に幅はありながらも活性低下の傾向を認めたことから示唆される。この意味でも凍結処理による活性増大の機構を詳細に検討することは、Bray [3] および我々の結果の相異を説明するのみならず、筋ジストロフィーにおける筋膜の性状を解明する上でも重要と考えられ、今後の検討を要する。

Ouabain 感受性 ($\text{Na}^+ + \text{K}^+$)-ATPase 活性は変わらないが筋形質膜の収量が筋ジストロフィーマウスで極めて低下することがわかった。このことは正常な膜機能を営む筋肉の全体に対する割合が遺伝的筋ジストロフィーマウスで著しく減少していることを反映しているものと考えられる。事実組織学的観察で発症前に筋形質膜の消失が起きていること [21], 罹患筋中に正常筋繊維と変性筋繊維が混在し [18, 21, 26], しかも変性筋繊維は凝固壊死により筋繊維としての実体を消失していること [26], また fast muscle に比べ slow muscle が筋ジストロフィーの影響を受けにくいこと [4] などの知見がこれまで報告されている。

一方筋形質膜と違い脳形質膜では ouabain 感受性 ($\text{Na}^+ + \text{K}^+$)-ATPase 活性のみならず収量の面でも正常マウスと比べ有意の差が見られなかった。従って脳においては組織当りの同酵素活性は正常マウスと比べ変わらないものと考えられる。このため形質膜を中心に考えるならば、中枢神経系は骨格筋と異なり、マウスの遺伝的筋ジストロフィーにおいては極めて安定した組織であると考えられる。

要 約

正常マウスと遺伝的筋ジストロフィーマウス (C57BL

/6J-dy 系) の下肢筋肉および脳より調製した形質膜分画の ouabain 感受性 ($\text{Na}^+ + \text{K}^+$)-ATPase 活性について検討し、次の結果を得た。1) 正常マウス骨格筋形質膜分画の ouabain 感受性 ($\text{Na}^+ + \text{K}^+$)-ATPase 活性は筋肉を凍結処理することにより新鮮筋に比べ数倍高まった。2) 筋ジストロフィーマウスの凍結保存した筋肉から調製した筋形質膜の ouabain 感受性 ($\text{Na}^+ + \text{K}^+$)-ATPase 活性は正常マウスのそれと比べ差異は認められなかったが、筋形質膜の収量は筋ジストロフィーマウスで著明に減少した。3) 脳形質膜分画における ouabain 感受性 ($\text{Na}^+ + \text{K}^+$)-ATPase 活性および脳形質膜の収量はともに筋ジストロフィーマウスと正常マウスの間に差異は認められなかった。

謝 辞

稿を終るに臨み、卵巣移植法の御指導を賜った実験動物中央研究所の江崎孝三郎博士、塚田今紀江両先生に感謝の意を表します。

文 献

- [1] Auditore, J. V. (1962). Sodium-Potassium activated G-Strophanthin sensitive ATPase in cardiac muscle. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, **110**, 595-597.
- [2] Boegman, R. J. (1974). The isolation and partial characterization of membranes from dystrophic and normal muscle. *Comp. Biochem. Physiol.*, **48**, 237-244.
- [3] Bray, G. M. (1973). A comparison of the ouabain-sensitive ($\text{Na}^+ + \text{K}^+$)-ATPase of normal and dystrophic skeletal muscle. *Biochim. biophys. Acta*, **298**, 239-245.
- [4] Brust, M. (1966). Relative resistance to dystrophy of slow skeletal muscle of the mouse. *Am. J. Physiol.*, **210**, 445-451.
- [5] Dhalla, N. S., McNamara, D. B., Balasubramanian, V., Greenlaw, R., and Tucker, F. R. (1973). Alterations of adenosine triphosphatase activities in dystrophic muscle sarcolemma. *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.*, **6**, 643-650.
- [6] Fiske, C. H. and Subbarow, Y. (1925). The colorimetric determination of phosphorus. *J. biol. Chem.*, **66**, 375-400.
- [7] Harris, J. and Wilson, P. (1971). Denervation

- in murine dystrophy. *Nature*, **229**, 61-62.
- [8] Hayashi, M., Auditore, J. V., and Uchida, R. (1964). Location of apparently different Na^+ + K^+ -independent and -dependent Mg^{2+} -dependent adenosine triphosphatases in subcellular fractions from mouse brain. *Biochim. biophys. Acta*, **81**, 624-626.
- [9] Hironaka, T. and Miyata, Y. (1973). Muscle transplantation in the aetiological elucidation of murine muscular dystrophy. *Nature*, **244**, 221-223.
- [10] Howland, J. L. (1974). Abnormal potassium conductance associated with genetic muscular dystrophy. *Nature*, **251**, 724-725.
- [11] Howland, J. L. and Challberg, M. D. (1973). Altered respiration and proton permeability in liver mitochondria from genetically dystrophic mice. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **50**, 574-580.
- [12] Law, P. K. and Atwood, H. L. (1972). Cross-reinnervation of dystrophic mouse muscle. *Nature*, **238**, 287-288.
- [13] Loosli, R., Russell, E. S., Silvers, W. K., and Southard, J. L. (1961). Variability of incidence and clinical manifestation of mouse hereditary muscular dystrophy on heterogeneous genetic backgrounds. *Genetics*, **46**, 347-355.
- [14] Lowry, O. H., Rosenbrough, N. J., Farr, A. L., and Randall, R. J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. biol. Chem.*, **193**, 265-275.
- [15] Martonosi, A. (1968). Sarcoplasmic reticulum. VI. Microsomal Ca^{2+} transport in genetic muscular dystrophy of mice. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, **127**, 824-828.
- [16] Matheson, D. W. and Howland, J. L. (1974). Erythrocyte deformation in human muscular dystrophy. *Science*, **184**, 165-166.
- [17] McComas, A. J., Sica, R. E. P., and Currie, S. (1970). Muscular dystrophy: Evidence for a neural factor. *Nature*, **226**, 1263-1264.
- [18] Michelson, A. M., Russell, E. S., and Harman, P. J. (1955). Dystrophia muscularis: A hereditary primary myopathy in the house mouse. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **41**, 1079-1084.
- [19] Morse, P. F. and Howland, J. L. (1973). Erythrocytes from animals with genetic muscular dystrophy. *Nature*, **245**, 156-157.
- [20] Pennington, R. J. (1961). Biochemistry of dystrophic muscle: Mitochondrial succinate-tetrazolium reductase and adenosine triphosphatase. *Biochem. J.*, **80**, 649-654.
- [21] Platzer, A. C. and Chase, W. H. (1964). Histologic alterations in preclinical mouse muscular dystrophy. *Am. J. Pathol.*, **44**, 931-946.
- [22] Russell, E. S., Silvers, W. K., Loosli, R., Wolfe, H. G., and Southard, J. L. (1962). New genetically homogeneous background for dystrophic mice and their normal counterparts. *Science*, **135**, 1061-1062.
- [23] Sulakhe, P. V., Fedelesova, M., McNamara, D. B., and Dhalla, N. S. (1971). Isolation of skeletal muscle membrane fragments containing active Na^+ - K^+ stimulated ATPase: Comparison of normal and dystrophic muscle sarcolemma. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **42**, 793-800.
- [24] 谷岡功邦, 塚田今紀江, 江崎孝三郎 (1973). マウスの卵巣移植技術. *実験動物*, **22**, 15-20.
- [25] 辻繁勝, 大亦順子, 保田龍男 (1973). 遺伝性筋萎縮症マウスのクレアチン代謝異常について. *実験動物*, **22**, 194-195.
- [26] West, W. T. and Murphy, E. D. (1960). Histopathology of hereditary, progressive muscular dystrophy in inbred strain 129 mice. *Anat. Rec.*, **137**, 279-295.
- [27] Wrogemann, K., Jacobson, B. E., and Blanchaer, M. C. (1974). Sarcolemmal ATPase activities in normal and BIO 14.6 dystrophic hamster skeletal muscle. *Can. J. Biochem.*, **52**, 500-506.