

## 10. キノホルムの神経毒性に関する動物実験

大月 三郎, 渡辺 昌祐, 立石 潤, 齊藤 章, 黒田重利

(岡山大・医, 神経精神)

### 内 容 目 次

- I 雑犬, ビーグル犬, ネコ, サルに対する経口投与実験
- II 慢性中毒動物の病理学的研究
- III 慢性中毒イヌ末梢神経の電顕的研究
- IV 放射性キノホルムのMicro-autoradiography.

#### I 雑犬, ビーグル犬, ネコ, サルに対する経口投与実験

前年度報告書で雑犬に対するキノホルム経口投与実験の一部を報告した<sup>1)</sup>。その後, 罹病期間の長い慢性中毒動物で, 典型的な Myelo-optic neuropathy を認めたので, これらの動物実験をまとめた。

##### 材料および方法

動物 雑犬25頭(うち1頭はビーグル犬と同時に追試, 4頭がコントロール), 純系ビーグル犬14頭, 生後14カ月の雌(2頭は予備実験に使用, 5頭がコントロール), 猫32頭, (うち5頭がコントロール), 日本猿2頭(うち1頭がコントロール)を用い, 雑犬24頭は病院食, 1頭は固型飼料, ビーグル犬は全例固型飼料(日本クレアKK製CD-1)で飼育した。猫には煮魚およびネコ用カンズメ食, 猿には果物, 野菜, イモ類を与えた。

キノホルム製剤 実験当初は市販のEmaform(キノホルム90%+CMC10%)およびEntero-vioform(キノホルム93%+Sapamine 7%)を用いたが, 回収処置以降はSMON協議会を通じて提供された両製剤を使用した。

投与方法 雑犬21頭およびビーグル犬9頭には上記製剤を牛乳に懸濁して朝夕2回経口投与し, 猫27頭には飼料に混じり1日1回投与した。猿1頭は当初食餌または飲料水に混じり投与したが, 服用量が不正確なため1日1回鼻腔ゾンデにより懸濁水を注入した。

後述の急性中毒死を避けるため, 大多数の動物では漸増的に投与量を増し, 発症後も維持量又は更に漸増量を投与した。全身状態の悪化した場合, および一部の動物で休薬効果を見る目的以外は, 休まず投与を続行した。その詳細は表1, 2, 3に示した。

合併処置 1. キノホルムの腸管からの吸収促進を意図して, 便秘処置(Buscopan 注2A/day 10日+タンナルビン2.0, ビスマス2.0/1日の持続的内服)を投薬雑犬3頭とコントロール雑犬1頭に行った。2. キノホルム少量投与雑犬とコントロールの各1頭に肝, 腎障害作製の目的で四塩化炭素0.5CC/kgを3日間投与した。3. 猫2頭に腎障害作製の目的でViomycin 300mg/kg

を筋注した。

実験成績

1 臨床経過

表1 雑犬へのキノホルム投与実験(附, 猿)

動物 No.	性	体重 (Kg)	キノホルム投与量(太字は発症 時の1日当り投与量) (mg/Kg/day×days)	発症まで のキノホ ルム総投 与量 (mg/Kg)	発症日 (日目)	罹病期間 (日)	剖検 (日)
慢性中毒雑犬							
1	M	1.6	112×28	3136	28	1	?
2	F	1.0	72×12→117×62	8118	75	1	?
3*	M	1.4	65×1→77×10→97×2→128×9	2053	21	2	?
4	M	1.0	72×12→117×37	2502	26	24	?
5	M	5	72×8→108×9→144×75	3708	32	50	?
6*	F	1.6	56×1→68×10→84×2→112×64	1688	20	58	?
7	F	1.0	72×97→90×87	9054	120	65	18
8	F	1.2	60×55→97×124	5822	81	99	18
9	F	1.0	52×5→72×5→90×18→117×167	3176	36	159	19
10	F	9	40×44→60×119→80×106→142×22	3140	67	224	29
11	F	1.0	90×10→117×179(194日目より休薬)	16578	144	239	38
12	F	6	60×41→90×13→120×	5790	72	300以上生存中	
13	F	6	120×5→150×5→213×10→300×	4380	23	120以上生存中	
急性中毒死雑犬							
14*	M	1.1	82×1→98×1		2	1	
15	M	2.5	72×2		2	1	
16	F	1.1	33×3		3	1	
17	M	1.3	126×1.5		1.5	3.5	
18	F	1.5	24×28		1	27	2
非発症雑犬							
19	F	5	72×13→108×9→144×65				8
20	F	1.0	35×118(50日目, CCl <sub>4</sub> 負荷)				11
21	F	9	35×155				15
対照雑犬							
22*	M	1.1					1
23	M	1.4					5
24	M	1.2					5
25	F	8	CCl <sub>4</sub> 負荷				長期生存
猿	F	5	120×17→150×23→234×16→324×27	17982			8

\*:便秘処置合併

雑犬(表1)キノホルム投与21頭中、4頭が急性中毒死、1頭はキノホルム投与直後から食欲減退し、全身衰弱のため28日目に死亡、3頭が臨床的に無症状であったが、他の13頭に慢性中毒による神経症状を認めた。

表2 ビーグル犬へのキノホルム投与実験

動物 №.	性	体重 (Kg)	キノホルム投与量(太字は発症 時の1日当り投与量) (mg/Kg/day×days)	発症まで のキノホルム 総投与量 (mg/Kg)	発症日 (日目)	罹病期間 (日)	剖検日 (日目)
Emaform(90%キノホルム+10%CMC)							
1	F	8.6	47×8→103×9→154×9→199×10 <b>258</b> ×10→364×6	9443	45	7	52
2	F	8.1	49×8→110×9→161×9→211×10 268×10→350×10→427×16	17953			73
3	F	7.7	52×8→113×9→159×9→206×10 265×10→414×10→ <b>401</b> ×24→296×30	14922	64	63	127
4	F	8.6	47×8→103×9→150×9→197×10 246×10→333×10→ <b>390</b> ×24→300×	10803	57	90	以上生存中
5	F	8.5	26×3→38×3→51×3→76×3→102×3 128×3→152×8→ <b>154</b> ×25→180×8 200×3→220×5→250×1		29	7	69
Enterovioform(93%キノホルム+7%Sapamine)							
6	F	8.1	85×7→115×3→187×3→287×3 353×3→413×11→ <b>442</b> ×12→287×	14129	45	90	以上生存中
7	F	7.4	93×7→124×3→200×3→307×3 379×3→430×11→ <b>407</b> ×12→279×	15527	50	90	以上生存中
8	F	9.8	70×7→92×3→153→3→236×3→301 ×3→351×11→ <b>332</b> ×12→253×	7361	32	90	以上生存中
9	F	8.6	80×7→119×3→173×3→269×3 335×3→401×11→ <b>424</b> ×12→295×	13927	46	90	以上生存中
Control							
10	F	8.7					長期生存中
11	F	8.5					長期生存中
12	F	7.8					長期生存中
13	F	6.0					143
14	F	6.5					143

ビーグル犬(表2)雑犬にみられた如き急性中毒死は避けられたが、キノホルム剤投与ビーグル犬21頭中の1頭(№2)は食欲不振、体重減少により衰弱していたところ、73日目に鎖をからませて死亡。その他の8頭はすべて神経症状を呈したが、とくに6頭は著明であった。

表3 猫へのキノホルム投与実験

動物 No.	体重 (Kg)	キノホルム投与量(太字は発症 時の1日当り投与量) (mg/Kg/day×days)	発症まで のキノホ ルム総投 与量 (mg/Kg)	発症日 (日目)	罹病期間 (日)	剖検日 (日目)
1	0.9	E300×4				5
2	1.0	E270×7				8
3	2.8	E100×7				8
4	3.1	E58×5→87×3				9
5	4.0	E90×12				13
6	1.4	E200×13				14
7	2.3	E117×13				14
8	3.6	E-V95×13				14
9	3.6	E-V103×16				17
10	1.0	E270×12→540×9				22
11	2.7	E100×12→200×12				25
12	1.5	E180×12→360×14				27
13	3.0	E <b>90</b> ×27	1440	16	13	29
14	3.0	E90×30				31
15	1.1	E246×12→490×20				33
16	4.0	E90×12→135×22				35
17*	2.7	E100×12→200×22				35
18	2.9	E93×51				52
19	2.6	E104×12→208×42				55
20	2.4	E112×15→225×43				59
21*	2.8	E100×12→200×46				59
22	0.8	E257×26→515×14→771×21				62
23	2.2	E126×12→ <b>250</b> ×55	7012	35	33	68
24	3.2	E84×15→ <b>169</b> ×59	9034	62	13	75
25	4.0	E-V <b>93</b> ×95	5487	60	36	96
26	3.4	E106×12→ <b>159</b> ×110	10653	90	33	123
27	4.0	E45×6→68×14→ <b>90</b> ×9→113×9 135×29→180×30→225×97	2032	29	165	194
Control						
28	2.5					31
29	0.8					51
30	1.2					生存
31	3.5					〃
32	4.0					〃

E: Emaform, E-V: Enterovioform

※: Viomycin 負荷合併

猫(表3)食欲不振,下痢,全身衰弱により早期に死亡するものが多かったが,急性けいれん死は確認出来なかった。生前に6頭(NO. 13, 23, 24, 25, 26, 27)に神経症状を確認し,とくにNo.27は重篤であった。

猿(表1)実験末期に食欲減退し,とくに下肢のヤセが目立ち,坐り込むことが多く,筋脱力を疑わせたが84日目に肺炎を併発して死亡した。

## 2.急性中毒症状

キノホルム投与後,雑犬4頭が1~3日の投薬で唾液流出,不穏状態などに引きつづき痙攣重積状態となり死亡した。この際のキノホルム量は33~125 mg/Kg/dayで動物の個体差がうかがわれた。痙攣をまぬがれた雑犬も投薬初期には一般に食欲が減退し,嘔吐や吃逆もみられ,1頭はその後,全身衰弱のため死亡した。この時期をすぎると一般に食欲も回復するが,眼瞼,肛門周囲のただれや脱毛などの皮膚粘膜症状は残ることがあった。

急性中毒死した4頭の剖検では,大脳半卵円中心の新鮮軟化巣,側頭葉皮質下,脊髓灰白質などの小出血巣,海馬角,扁桃核,延髄背側核などの神経細胞の変性など非特異的变化が認められた。

猫は全身衰弱により早期に死亡するものが多かったが,急性中毒雑犬の如く数回の投薬で痙攣重積死をとげたものはいなかった。

ビーグル犬,猿には急性中毒死や痙攣発作などは観察されなかった。

## 3.慢性中毒症状

キノホルム投与動物は急性期をすぎるとやや食欲も回復し,体重減少もとまる。さらに投薬を続けるうちに雑犬13頭,ビーグル犬8頭,猫6頭に以下の神経症状が臨床的に観察された。

初期には運動負荷とくに階段の昇降により腰の横揺れと不安定性が生じ,歩行が不自然になり,足もつれがみられる。これらは休息により回復するが,病勢の進行とともに後肢の脱力と,失調性,痙攣性歩行が著明となり,休息効果もみられなくなる。後肢ではさらに筋萎縮と腱反射亢進の傾向がみられた。前肢は後肢に比し犯されにくい,末期にはともに罹患する。腰部以下の失調も増強するため絶えず左右に動揺し,とくに排尿,便の体位がとれず,坐ったまま又は壁にもたれて行なった。重篤な雑犬では屢々,足が足関節で反屈したままひきずって歩こうと努力し,そのため後肢に擦過創が絶えなかった。針による痛覚刺激も2,3の動物では後肢が前肢に比し低下している如く思われた。長期罹患雑犬,ビーグル犬,猫では壁や階段におつかることから視力低下に気付かれたが,眼底写真からは対照動物に比し有意な差はみられなかった。さらに2頭の雑犬(NO. 8, 12)では体動のたびに尿失禁が観察された。この時期にも食欲や全身状態は一般に良好で,とくに休業した雑犬(No.11)は体重が著明に増加し,活気が出て来たが,神経症状は殆んど改善されなかった。

## 4.神経症状の発症とキノホルム投与量

大多数の動物に漸増的投薬を行なったが,急速投与を行った(No.13)を除いた雑犬12頭では1日当りキノホルム量は60~144 mg/Kgで発症した。この量を開始してから発症までの日数は2

頭( №.2, 11 )の例外を除き7~28日で、一般に1日投与量の多いものは短期間に発症し、1日

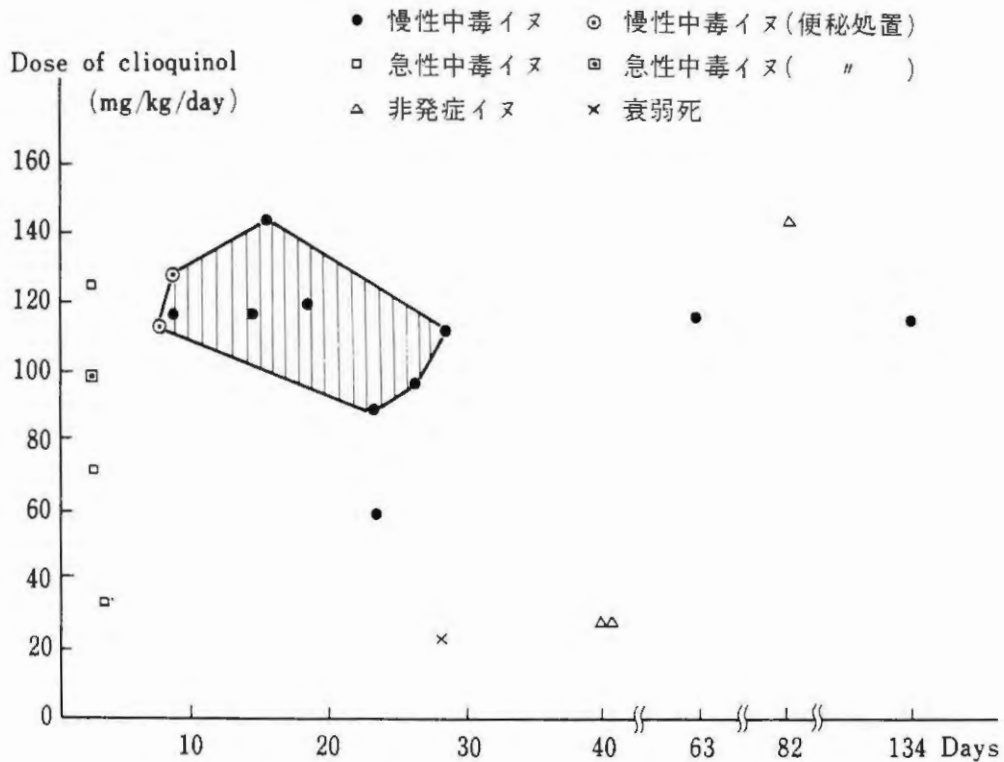


図1. キノホルム中毒量と同量開始後、発症までの日数(雑犬)

量の少ないものはやや長時間を要し、図1の如く斜線部分に9頭が入る。しかし少量で比較的短期間に発症した1例( №.10 )と大量にも係らず長期投与を要した2例( №.2, 11 )の例外がある。このうち №.2 は妊娠中でキノホルム投与にも抱らず、54日目の出産までは無症状であったが、出産後21日目に発症した。また発症までの総投与量でみると表1の如く、3頭の雑犬( №.6, 7, 11 )にかなりのバラツキがあり、犬の個体差と思われるが、残りの9頭の平均値及び標準偏差は  $4.161 \pm 1.984 \text{ g/Kg}$  であった。

本実験に使用した8頭のビーグル犬( №.1-4, 6-9 )はキノホルム1日投与量、約350~450 mg/Kgの範囲で発症したが、発症までかなり急速に増量しているため、時間をかければもう少し少量で発症したかもしれない。一応  $230 \text{ mg/Kg/day}$  以降の漸増期間につき、発症までの日数をみると19~37日と比較的に一致していた。いづれにせよ、1日投与量は雑犬の場合のほぼ2~5倍の高値であった。またビーグル犬の発症( №.2 は死亡 )までのキノホルム総投与量は Emaform 群と Entero-Vioform 群で大差がなく、各々の平均値は  $13.280$  と  $12.737 \text{ g/Kg}$  であった。また8頭全部の平均値は  $13.008 \pm 3.506 \text{ g/Kg}$  で、これも雑犬の場合の約3倍強の大量であった。さらにビーグル犬と同一条件で飼育した雑犬( №.13 )も総投与量  $4.38 \text{ g/Kg}$  で発症し、ビーグル犬との差が確認された。

猫は短期に死亡するものが多かったため、神経症状の発症に必要なキノホルム量は算定困難であっ

たが、典型的発症猫（No.27）では1日投与量90 mg/Kg，総投与量2.032 g/Kgで発症，他の5頭の臨床発症猫も90～250 mg/Kg/dayで発症しており，雑犬とほぼ同一傾向を示すものと思われる。

猿は臨床的に発症日が確認しがたいが，死亡時には1日投与量324 mg/Kg，総投与量17.982 g/Kgで，明らかに雑犬，猫に比し多量で，ビーグル犬よりも多いと思われる。

#### 5.臨床検査成績

主に雑犬，ビーグル犬につき以下の血液化学検査，血液検査を施行した。

表4 ビーグル犬，血液検査所見

動物 No.	総蛋白 (g/dl)	空腹時 血糖 (mg/dl)	GOT (u.)	GPT (u.)	血色素量 (%)	ヘマトクリット (%)	赤血球数 ( $\times 10^4$ )	白血球数	白血球分類(%)					
									ST	SG	E	B	M	LY
Emaform群														
1	6.2	100	25	31	134	51	680	13,350	5	70	1	1	2	21
2	6.0	102	33	29	98	51	668	5,650	1	56	1	2	3	37
3	6.4	126	25	31	100	51	815	12,700	1	44	0	1	5	49
4	6.4	97	25	28	99	53	796	11,350	3	62	1	0	3	31
Enterovioform群														
6	6.6	94	22	26	105	55	851	10,900	5	67	1	0	2	25
7	6.6	90	37	27	95	50	687	7,500	6	48	2	0	3	41
8	6.6	97			102	51	721	11,850	6	54	2	0	2	36
9	6.0	102	20.5	30	104	54	590	8,900	0	64	3	2	5	26
Control群														
10		97												
11	6.0	112	25	24	88	43	630	10,550	2	57	5	0	10	26
12	6.0	101	43	30	110	43	508	11,800	4	62	0	1	2	31
13	6.0	116	33	48.5	96	51	612	7,850	1	61	0	0	4	34

ビーグル犬の血液検査は投薬開始後30日目に，股動脈から採血し施行した。被検査項目では，投薬群と非投薬群に有意な差はみられなかった。

表5 雑犬, 血清中 VitaminB<sub>6</sub> 濃度 (単位: mg/ml 血清)

動物 No.	処 置	TotalB <sub>6</sub>	PAL+PAM+PIN	PAL	PAL-P
1	キノホルム	23.7	10.5	15.2	15.2
2	〃	—*	—*	15.2	14.8
3	〃	—*	—*	14.0	8.0
4	〃	12.5	43.8	58.0	62.0
5	〃	2.8	11.0	14.0	21.0
6	〃	—*	—*	40.2	8.8
7	〃	98.7	49.4	46.0	9.0
8	INH+キノホルム	8.4	55.3	70.0	5.0
9	INH	43.4	49.4	25.0	9.0
10	無処置	77.7	56.6	30.0	15.0
11	〃	65.2	21.1	32.0	17.0

定量法: (Saccharomyces Caarlis- (田村法による蛍光定量法)  
bergensisによるBioassay)

—\*: 菌の増殖を認めず。

雑犬11頭の血清中VitaminB<sub>6</sub>の定量を行なった。キノホルム単独投与7頭, INHと合併1頭, INH単独投与1頭, 無処置2頭の間には有意な差はみられなかったが, キノホルム投与の3頭ではS. Caarlisbergensisの増殖が阻害された。(本検査には中外製薬KK総合研究所の御協力を得た)。

#### 考 按

1. 急性中毒 雑犬, ネコでは早期に死亡するものが多く, とくに雑犬では急性痙攣死が屢々観察された。この痙攣閾値に関しては動物に個体差がみられ, またビーグル犬, サルは急性中毒症状が殆んどみられぬところから, 動物の種族差, 系統差も大きいと思われる。三好らはキノホルムが家兎に血糖値の変動をもたらすことを見出したが, <sup>2)</sup>あるいはこれが急性期の痙攣の原因の1つかもしれない。われわれの雑犬1頭でもキノホルム急性投与後, 血糖の変動を認めたが, 慢性投与ビーグル犬では有意な差がみられなかった。

2. 慢性中毒 両下肢の運動麻痺, 脱力, 筋萎縮, 腱反射亢進と痙性, 失調性歩行などの神経症状から成り, とくに脊髄性失調症状が中心症状であった。また長期罹患雑犬, ビーグル犬, ネコなどに視力障害がみられたが, これはわれわれの実験で初めて確認された所見である。これらの慢性中毒症状はヒトのSMONと同一であるが, 後者に特異的な下肢の異常知覚については, 動物では証明困難であ



る。またSMONの神経症状に前駆する腹部症状や自律神経症状についても、動物での再現は困難であるが、一部の雑犬、ネコの剖検で証明された腸重積症、巨大結腸症などはこれらを反映したものと思われる。上記の神経症状は罹病期間の長期化、キノホルム投与の持続につれて重篤化するが、一部の雑犬で試みた休薬によっては、神経症状は殆んど改善されない。また後述の如く、臨床的に神経症状の出現する以前に、キノホルム投与動物の病理変化はすでに出現している事実が認められた。

3.キノホルム投与量および合併処置 各種動物の神経症状の発症に要するキノホルム量には大差がみられ、またイヌでは雑犬とビーグル犬に系統差が認められた。発症時の1日投与量を動物別にみると、サル、ビーグル犬では大量を要し、雑犬、ネコでは約100~150 mg/Kgの範囲と思われる。これは多くのSMON患者の1日服用量20~40 mg/Kgと比較して、後者でも2.5~7.5倍の多量である点があげられる。しかしSMON患者と実験動物では投薬前の身体条件に差があることから、この程度の服用量の差は問題にならぬとの討論もなされた。さらに発症までに要するキノホルムの総投与量についても実験動物の種族差、系統差が明らかになった。また2、3の動物ではキノホルムに対し極端に弱い個体と強い個体があり、キノホルムの腸管からの吸収、解毒、排泄などの代謝機構に個体差があることが考えられる。さらに妊娠雑犬(No.2)が出産までは発症せず、出産後は他の雑犬と同一条件で発症した事実も興味がある。また長期投薬動物にキノホルムによると思われる腎、肝障害が高率に見出されたが、かかる内臓障害がキノホルムの解毒、排泄障害をもたらし、神経発症に拍車をかける悪循環も考えられる。以上からキノホルム以外の合併処置が、発症の速さと強さに与える影響について種々の検討がなされた。

慢性中毒雑犬のうち、便秘処置を合併した2頭(No.3, 6)はいづれも少量のキノホルムで短期間に典型的臨床一病理所見を示した。またキノホルム製剤に添加されている界面活性剤の影響につき、<sup>3)</sup>金光らは雑犬にCMC添加および無添加キノホルムを投与し、CMC添加群に高率に重篤な神経症状を認め、CMCが腸管からのキノホルムの吸収を促進すると推論した。他の添加界面活性剤であるSapamineについては実験がなされていないが、われわれのビーグル犬の成績ではCMC添加群とSapamine添加群に差がみられなかった。さらに雑犬ではマイコプラズマを併用することにより臨床症状が重篤化したとの俵らの報告がある。<sup>4)</sup>

ネコに対するViomycinによる腎障害の作製はさほどの影響を与えなかったが、ヒトの常用量に近い少量のキノホルム(35 mg/Kg/day)を50日投与し、発症しなかった雑犬(No.20)に四塩化炭素を負荷したところ、2ヶ月後の剖検で脊髄後索に病変を認めた。しかし動物のキノホルムに対する感受性には前述の如く、かなりの個体差があるところから、これらの合併処置の発症への影響を結論するには、なお慎重を要するものと思われる。いづれにせよ、これらの合併処置のみでは神経症状は発現せず、キノホルムに一次的病因があることには疑問の余地はない。

#### ま と め

キノホルムの神経毒性を調べるため雑犬21頭、純系ビーグル犬9頭、猫27頭、猿1頭にキノホ

ルム製剤を長期経口投与した。その結果、雑犬13頭、ビーグル犬8頭、猫6頭にSMONのような臨床症状がみられ、投薬を続けることにより重篤化した。この慢性中毒症状は両下肢の運動麻痺、脱力、筋萎縮、腱反射亢進と痙性、失調性歩行などの神経症状から成り、とくに脊髄性失調が中心症状であった。また長期罹患動物では視力障害もみられ、SMONと同一であった。

しかし動物のキノホルムに対する抵抗性には種族差、系統差が認められ、また個体差も大きいことが推定された。

## II 慢性中毒動物の病理学的研究

### 材料および方法

動物および実験方法はIと同一で、以下の動物番号は表1、2、3による。

**剖検** キノホルム服用動物およびコントロールの大部分はネブタール麻酔下に瀉血剖検したが、急性中毒死動物は死後なるべく早期に剖検した。慢性中毒動物のうち雑犬2頭、ビーグル犬5頭はいまだに神経症状を有したまま生存させている(47年5月現在)。剖検は全身臓器について行ない、10%中性化ホルマリソリン溶液に固定後、パラフィン包埋または凍結切片を作製し、H-E染色、髄鞘染色(Woelke 又はK-B)、軸索染色(Bodian)を全例に行ない、必要に応じてNissl, Holzer, Masson, 脂肪染色その他を行った。また末梢神経については生検材料のEpon包埋、ときほぐし線維法を合併した。

### 慢性中毒動物の病理所見

#### 内臓所見

内臓の主要な病変は腎、肝にみられた。腎では近位尿細管上皮細胞の変性が屢々みられ、核の変性、消失と胞体に豊富な脂肪顆粒の出現などが認められた(図2)。またこの部位の胞体に無染色でも、H-E染色でも同じ黄褐色の顆粒がみられた(図3)。その大きさは細胞核大のものから微細顆粒状のものまで種々で、小さいものはヘモジデリンに似るが鉄染色で染まらず、ピクリン酸飽和アルコールなどでも抽出されないところからホルマリソリン色素も鑑別される。われわれのAutoradiographyの経験からこれはキノホルム顆粒と思われるが、FeCl<sub>3</sub>溶液では染まらず、クロロホルムを長期間作用させてもとけないところから、抱合型キノホルム顆粒と思われた。その他、遠位尿細管や糸球体には著変をみなかった。

肝でも高率に肝細胞の変性、壊死と脂肪顆粒の出現(図4)、Kupffer星細胞の腫大などがみられ、また腎尿細管上皮細胞にみられたものと同じ黄褐色顆粒が肝細胞、Kupffer星細胞、細胞、細胆管などにみられた。また一部の動物の腎、肝では非特異的炎症巣が認められ、雑犬No.5ではジステンパーの病巣と思われた。

消化管では雑犬No.4、猫No.26(図5)で広汎な腸重積症を認め、また雑犬No.2では巨大結腸症もみられ(図6)後述の腹部自律神経系の変化と関係があると思われた。

その他、脾のLangerhans 島細胞の変性が疑われた以外には、内臓々器に著変を認めなかった。

#### 神経系所見

脊髓 慢性中毒動物のうち剖検をすでに行った雑犬11頭、ビーグル犬4頭、猫27頭、猿1頭の全例の頸髄Goll束に変性を認めた。このうち罹病期間の短い雑犬( №.1, 2, 3 )ネコ、ビーグル犬( №.1, 5 )および神経所見の軽微あるいは見落した猫、ビーグル犬( №.2 ), 猿などにも延髄後索核周辺部から頸髄上部後索に限局した変性がみられた。この後索の変性はGoll束の正中部から左右対称的に始まり、頭側ほど強い連続的变化で、まず軸索の膨大、空胞化と髓鞘との間の空隙形成がみられた( 図7 ) ついで喰食細胞の遊走も認められたが、この時期の髓鞘には光顕的变化はいまだ有意でなかった。一方、罹病期間の長い雑犬( №.6, 7, 8, 9, 10, 12 ), 猫( №.27 ), ビーグル犬 №.3 では頸髄後索の変性は、その拡がりに変性の強度を減しながら、連続的に腰髄上部にまで及び( 図8~11 )延髄下部および頸髄上部ではGoll束のみならずBurdach 束にも病変が波及する。延髄下部では図8の如く変性した後索線維はGoll核およびBurdach 核の背側およびGoll核の中隔にかけてW字型に分布する。頸髄上部では図9の如くGoll束を中心に、脊髓背縁ではBurdach 束にも拡がる楔形の分布が雑犬、ビーグル犬にみられたが、猫では図10の如く、この部のGoll束の分布は特異であった。これらの部位では軸索の変性は高度で、完全に消失する線維も多く、髓鞘の崩壊も著明で、中性脂肪滴を組織中又は喰食細胞中に多量に認める。喰食細胞とともに肥大した、屢々2核の星膠細胞もみられるが、線維性グリオーゼは病変の重篤さに比し弱い傾向があり、そのため組織は粗糲化する。

長期罹患動物では腰髄および胸髄下部の錐体路、とくに側索路にGoll束と同質の変性を認めたが( 図11 ), その程度は頸髄Goll束の病変に比し常に弱い。さらに頸髄側索、とくに脊髓小脳路に軽度の軸索の変性がみられた。脊髓灰白質では腰仙部前角神経細胞の中心性クロマトリーゼ、萎縮、空胞形成、まれに神経突起の類球体形成やグリア集簇などもみられた。しかし胸髄側角の自律神経細胞には著変はみられなかった。脊髓根および馬尾の変性は末梢神経に比し弱い、後根の変化は前根に比しやや強い。

脊髓後根神経節では、ほぼ全例で神経節細胞のクロマトリーゼ、空胞化、核の消失から胞体の崩壊にいたる変性が認められ、外套細胞も増加し、基底膜下に侵入し、軸索の肥大、渦巻形成などもみられた( 図12, 13 )。これらの変化は一般に腰髄神経節に強いが、下部頸髄神経節でも認められた。

末梢神経は坐骨一、腓腹一、上腕神経を全例検索した。罹病期間の短い動物では、パラフィン切片の光顕的变化はつかみ難いが、Epon包埋切片又はときほぐし線維法( 図14 )では、髓鞘に空胞、脱落、髓球の形成などが早期に認められた。しかし長期罹患動物では明らかな軸索および髓鞘の崩壊、Schwann 細胞および結合織成分の増加、節間距離の短い再生像と思われる所見などが得られた。これらの変性は一般に下肢の大径有髓線維の末端部に頻度が高いが、脊髓白質とことなり、個々の神経線維については節性に犯される、非連続的と思われる病変も混在していた。小径有髓線維および無

髄線維の変化は一般に弱かった。長期罹患動物では上腕神経にも同様の変化がみられた(図15)。

自律神経系は腹腔神経節、内臓々器内外の自律神経節および少数の動物では横隔神経につき検索した。腹腔神経節では神経細胞のクロマトリーゼが、全体に認められ(図16)、腸管筋層内、腓内神経節などで神経細胞の崩壊と Schwann 細胞の増殖がみられたが(図17)、これらは脊髄後根節の変性に比し一般に弱い。横隔神経にも、また前記の如く胸髄側角の自律神経細胞にも著変を認めなかった。

視神経系 長期罹患動物の頸髄 Goll 束と同一の重篤な変性が雑犬4頭(No.7, 8, 9, 12)(図18)、猫No.27(図19)、ビーグル犬No.3(図20)の視神経系にみられた。すなわち軸索の変性、脱落、髄鞘の崩壊と豊富な中性脂肪顆粒、喰食細胞および肥大星膠細胞の出現などがみられた(図21, 22)。また2, 3の動物では細長い核を有した結合織性細胞の増生が強かった。これらの変性は視束の遠位部に強く、視交叉を通り視神経にも連続的に及ぶが、視交叉の背側部および視神経の周辺部はやや変性が軽かった。その他の動物でも雑犬2頭(No.10, 19)ビーグル犬2頭(No.1, 5)猫2頭に軸索の変性が主として視束遠位部に認められた。しかし3頭の猫(No.7, 21, 22)では変性はむしろ球後視神経に強い傾向がみられた。

外側膝状体では神経細胞のクロマトリーゼや類球体形成などが少数の動物にみられた。(図23)一方、眼球を検索した大多数の動物で乳頭一黄斑部を中心に検鏡したが、内神経節細胞層の多極神経細胞の変性、脱落と一部でグリヤの増生を認め、コントロールとの差がみられた。

脳幹では延髄下部の後索線維の変性は前述したが、Goll核では神経細胞の変性、基質の粗糲化、稀に類球体などがみられ(図24)線維性グリオーゼの観察された例もあった。(雑犬No.6) Burdach 核の変性は一般にGoll核より弱いが、延髄上部では副楔状核にも変性が及ぶ。また下オリブ核、副オリブ核、外側網様核、三叉神経脊髄路核などにも神経細胞の変性と軽度のグリヤ反応をみるものがあった。また脊髄小脳路、下小脳脚、背外側弓状線維などにも種々の程度の変性を認めた。

橋では三叉神経運動核の神経細胞の変性(図25)上オリブ核のびまん性グリオーゼ(図26)などが認められた。中脳では黒質、赤核などに著変はないが、四丘体を中心に星膠細胞の増生のみられたものもあった。脳幹の神経根ではV, X, XII脳神経根に軽度の軸索変性があり、三叉神経の半月神経節では脊髄後根神経節と同質の、やや軽い変性がみられた。

小脳では一般に著変をみないが、ブルキンエ細胞の軽度の変性や、少数の torpedo を認めた例があった。

間脳では第3脳室周辺神経核、とくに視束上核の神経細胞の変性脱落と軽度のグリオーゼが認められた。大脳では運動領の神経細胞を含めて変化に乏しく、僅かに扁桃核、海馬回の神経細胞の変性と星膠細胞の増生をみる程度であった。

神経系の炎症性病変 雑犬(No.5)では脳室壁、大脳、小脳、脊髄などの髄液に接する外縁に炎症

性小病巣が散在し、エオジン好性核内封入体があり、腎、肝にみられた炎症性変化とともにジステンパーの合併が疑われた。また慢性中毒末期に後肢の創傷をもった雑犬1頭(No.8)で、新鮮な静脈炎が神経系を含めて全身臓器に散在性に認められた。また深部電極を前もって挿入した猫では挿入傷にそった小出血、軟化とともに少数の多核白血球の混在があり、また同処置を受けた猫(No.26)では広汎な化膿性髄膜炎の像を認めた。しかしこれらの動物の炎症像は上述の変性巣とは明らかに区別される合併所見と考えられ、その他の動物では神経系に炎症反応はまったく認められなかった。

## 考 察

### キノホルム慢性中毒動物とSMONの病理の比較的検討。

キノホルム慢性中毒動物の病変の質と局在はかなり均一性を持ち、とくにわれわれの犬、猫ではあまり例外をみなかった。すなわち病変は変性であり、局在は脊髄後索、視束、後根神経節、末梢神経に主座を持つ、従ってこの全体像はヒトのSMONの病理とほぼ同一といえるが、その個々の異同につき検討する。われわれの慢性中毒動物に共通な所見は、延髄後索核周辺から頸髄上部にかけて強いGolli束を中心とした左右対象性、連続性の変性で、下部脊髄に移るほど、その強さと範囲が狭くなり、重症例ではBurdach束にも波及する。この変性は軸索にはじまり、ついで髄鞘も犯され、発症から3~5カ月で脂肪顆粒も出現する。これらはSMONの剖検所見とも一致し、キノホルム中毒動物の基本症状と思われる。この変性の広がりや強さは臨床症状の重篤度発症から屠殺または死亡までの罹病期間に比例し、キノホルムの総投与量にもほぼ比例する。しかし投与後5日目に死亡した猫の脊髄にも、すでに軸索の微細な変性は始っており、予想以上に早く、この部の変性はおこるものと思われる。キノホルム非投与コントロール動物にはかかる変化は一切認められなかった。

脊髄錐体路の変化は、脊髄後索の変性と同様にその遠位部、即ち下部腰髄に強い連続性の変性で、主として側索にみられ、一部で前索も犯される。この病変の性質も頸髄Golli束の変性と同一であるが、その程度は常に軽い。

ヒトのSMONでも稀に腰髄錐体路の変性の方が頸髄Golli束の変性より強い例があるが、全体的には後者の病変の方がより重篤で、キノホルム投与動物の病変と矛盾しない。

脊髄灰白質、とくに腰髄前角の神経細胞の種々の程度の変性はSMONでもみられるが、一部の猿<sup>5)</sup>にみられた神経細胞の脱落にまでいたる重篤な変性はSMONにみられず、キノホルム慢性中毒動物に強い傾向と思われる。

脊髄後根神経節および一部の動物で検索された三叉神経節の変性は、加齢その他の影響を差引いてコントロール動物の所見に比し、明らかに有意の差があった。この病変の性質もSMONとほぼ同一と思われる。

末梢神経の初期病変はパラフィン包埋切片の光顕像では、人工産物と区別しにくいことがある。とくに髄鞘の蜂巢状変化や、軸索の圧挫による腫大などは厳密に除外しなければならなかった。この時期にはEpon包埋又はときほぐし線維法が有用であった。しかし長期罹患動物ではパラフィン標本で

も著変が認められ、軸索の崩壊が髄鞘の変化よりも重篤で、大径有髄線維の末端部に強い傾向は、いわゆる "dying back" neuropathy などの neuronal な変性像に近い。しかし、ときほぐし法による個々の神経線維については、髄鞘が節性に犯された部と健全に保たれた節が隣接するものもみれ、節性脱髄の混在も否定出来ない。われわれの慢性中毒犬、猫の自律神経系の変化は、SMON 重症例の病理よりもやや弱い印象をうけるが、腸重積症や巨大結腸症の存在は、腸管の自律神経障害を示唆するものといえよう。

視神経系の変性は慢性中毒犬、猫で確認されたが、他の動物では報告されていない。また Bruckner<sup>6)</sup>らは猫に 100~300 mg/Kg/day の Vioform 又は Entero-Vioform を 90 日間経口投与し、網膜および視神経に症状を認めないと報告したが、視束やその他の神経系についての記載はない。しかし、われわれはキノホルム 90 mg/Kg/day, 13 日間投与の猫 (♂5) ですでに視束遠位部の軸索の腫大を認めている。この視束の病変も脊髄長索路と同様に遠位部に強い、左右対称性、連続性の変化が主体であるが、少数の猫ではむしろ視神経の変性の方が強い例外例もみられた。病変の質も脊髄 Goll 束とほぼ同一の変性であった。一部の発症犬、猫の網膜の多極神経細胞の変性が確認され、視束病変との関連が指摘される。これらの病変は SMON 重症例と差がない。

その他の病変としては、SMON にかなり特有といわれるオリブ核の神経突起の肥大、増生による糸状体形成<sup>7)</sup>はいまだキノホルム中毒動物では認められず、またこの部位でのグリヤ細胞の増生の程度も弱い。一方、延髄後索核、網様核などの変性は、犬、猫では屢々みとめられ、SMON に比しやや強いと思われる。小脳、大脳にはキノホルムに特異的な病変は殆んど認められなかった。僅かに扁桃核、海馬回の神経細胞に変性像と星膠細胞の反応がみられたが、その他には SMON 同様に著変をみなかった。

以上の如く、キノホルム慢性中毒動物にみられた共通の病理像は特異的な myelo-optic neuropathy であり、ヒトの SMON の所見と本質的な差がみられない。したがってキノホルムが動物に、ヒトの SMON と同一の病態を起すことに関しては議論の余地はないものと思われる。

## ま と め

臨床的に SMON のような神経症状の観察された慢性キノホルム中毒雑犬、ビーグル犬、猫の剖検で典型的な myelo-optic neuropathy を認めた。

これはヒトの SMON の病変と本質的な差はなかった。さらに臨床発症の有無に拘らず、慢性キノホルム投与動物の剖検例のすべてに、頸髄 Goll 束の軸索に始まる変性があり、脊髄後根神経節、末梢神経、視束にも高率に変性を認めた。また短期投与猫にみる如く、これらの変化は、予想外に早く始まるものと思われ、臨床症状の重篤度、罹病期間、キノホルムの総投与量にほぼ比例して重篤化する。

これらの病巣の特異性とヒトの SMON の病理との異同性について考察した。

### Ⅲ 慢性中毒イヌ末梢神経の電顕的研究

ヒト S M O N の腓腹神経の電顕所見については、現在まで、大田<sup>8)</sup>、宮川<sup>9)</sup>、松山等<sup>10)</sup>により報告されている。大田は onion bulb 形成を、宮川等は髄鞘、Schwann 細胞の変化を、松山は neurofilament の増加を中心に述べている。我々はキノホルム慢性中毒犬の腓腹神経において、電顕所見の上でもヒト S M O N のそれに類似性があるか否かを検索し、ひいてはキノホルムの末梢神経に対する形態学的 pathogenesis を考察するため、本研究を行なった。

#### 検索方法

表 6 投薬開始より発症と腓腹神経生検時期

		No.	onset	biopsy			No.	onset	biopsy
投 薬 群	1	21d.	23d.		6	144d.	}	286d. (休薬後 142d.)	
	2	20d.	58d.						
	3	(-)	82d.						
	4	36d.	195d.						
	5	81d.	180d.						
非 投 薬 群	1			}	(-)				
	2								
	3								
	4								

検索対象は 6 頭の投薬群、4 頭の対照群よりなる計 10 頭の雑種の成犬である。いずれも老令化した犬は含まれていない。投薬群の 6 頭の内訳は、12 頭の慢性症状発現犬より 5 頭、投薬非発症の犬 3 頭より 1 頭をえらんだ。5 頭のうちの 1 頭には、症状発現後、休薬期間をおき、時期を異にして左右各側の腓腹神経を生検したので、検索した神経組織片は投薬群より 7 個、対照群を入れると計 11 個となる。投薬開始より症状発現までの時間は表 6 に示す通りである。発症から生検までの期間は 3 日から 239 日間となる。

試料採取部位は、腓骨外顆後上部を局所麻酔下に切開し、腓腹神経を露出し、3% グルタルアルデヒドリン酸緩衝固定液 (PH 7.4) を滴下しながら、注意深く切除した。採取した組織片は、ただちに同液中で 1 mm<sup>3</sup> 大に細切され、4℃ に保ちながら同液中に 2 時間固定され、2% osmic 酸リン酸緩衝固定液で 2 時間後固定された。上昇エタノール系列で脱水後、Luft の方法に従ってエボン包埋を行ない、ガラスナイフ、MT-1 型 Porter Blum Ultramicrotom で超薄切片を作成した。切片は支持膜なしのシートメッシュ上にとり、酢酸ウラニル、クエン酸鉛による二重染色をほどこした。カーボン蒸着を行なった後 HU-11 型電子顕微鏡を使って写真撮影を行なった。直接撮影

倍率は3000～15000倍である。

生検した組織片の一部はパラフィン包埋の後各種染色を行ない、エポン包埋ブロックより、1μ切片を作り、パラフェニレンジアミン染色を行なった。又、すべての犬について、ときほぐし線維法による検索も併用した。

### 電顕所見

光顕所見は第Ⅱ章で述べた如く、軸索変性が主体をなし、ときほぐし法ではmyelin球がみられた。詳細は省略する。

#### 1) 軸索

A：有髄線維 軸索は23日の短期投薬犬から長期投薬犬に至るまで、neurofilamentの増加が、対照群に比べて明るかに認められ(図27a, 27b)、正常又は変性mitochondriaの集積像も高頻度にみられた(図28)。時々軸索変化に伴って、髄鞘の層板離開、myelin ovoidの出現等の軽度の髄鞘変化がみられた。稀に軸索が正常で軽度の髄鞘変化を示すものがあるが、恒常的にみられたのは軸索内neurofilamentの増加である。mitochondriaの集積像は少数にみられるものでなく、短期投薬犬から休薬犬においてもみられた。これらのmitochondriaは正常な形態を示すものと共に、腫大したり、クリステが消失しているものもみられた(図28)。長期投薬犬では、これらの変化に加えて、軸索膜の変化がみられた(図30)。軸索膜は各部分より内方へ向って鬚状に陥入したり、vesicleを作ったり、時には髄鞘成分を内方へとりこんでいる事がある。休薬犬においては、neurofilamentの増加、mitochondriaの変化に加えて、時々neurotubulusも増加していたり、グリコーゲン顆粒が散在してみられたり、大小の空胞形成を示す事が多い(図29)。

B：無髄線維 無髄線維の軸索は有髄線維のそれに比べて、neurofilamentの増加もあまり著明でなく、変性mitochondriaや軽度の空胞形成が時折みられたが、比較的变化が軽い。

#### 2) 髄鞘

髄鞘の変化は軸索の変化程、恒常的にみられるものではないが、多様な変化を示した。それらは、Schwann細胞内のmyelin ovoid形成、髄鞘層板各層の変化、髄鞘の蜂巢化、薄層化ないし消失等の変化に集約できる。myelin ovoidはSchwann細胞胞体内に1～数個が完全に遊離したり(図31)、本来の髄鞘よりの突出像としてあらわれる。遊離したmyelin ovoidは変性をうけ、本来のmyelinよりも電子密度が高いのが通例である。この変性myelinの附近にグリコーゲン様顆粒が多数出現してみられる事が多い。髄鞘層板の変化は、最外層より外方に向うループ形成や、微細顆粒を併なう中間層の層板離開像がみられた。髄鞘の蜂巢化はRanvier絞輪部附近にみられる事が多く、薄層化又は消失像は、脱髄の初期像を示すものであろうが、時折みられた。

3) Schwann細胞 Schwann細胞の変化は胞体外形の変化と胞体内小器管の変化との二つに分けられる。前者にはonion bulbやBüngner bandの形成がある。onion bulbは横



断切片において1個の有髄線維を殆んど一層の Schwann 細胞突起が円弧状にとりかこんでおり(図32), 重層の形態を示さず, みられた頻度も少なかった。Bungner bandは数個以上の Schwann 細胞突起が, 一定の接触面を保持して, 皿状に多数集合し, それらが全体として1つの基底膜にかこまれるものである(図33)。Schwann 細胞胞体内の変化としては, 前述のグリコーゲン様顆粒の多数の存在の他に, 細線維の増加, 濃縮された mitochondria の集積が, 休養犬でみられた。

間質成分の変化として, 毛細管内皮細胞の pinocytosis の亢進や, fibroblast の粗面小胞体の拡大が著明な所見であった。

### 考 察

neurofilament の増加は投薬期間の長短をとわず, 一貫してみられた恒常的な変化であってキノホルムの末梢神経に対する基本的な変化であると思われる。松山は4例の SMO N 患者(うち2例はキノホルム剤の服用が明らかである)の腓腹神経生検により得られた電顕所見において, 髄鞘や mitochondria の変化もみられるが, 基本的病変は neurofilament の増量であると結論している<sup>10)</sup>。我々の検索結果と考えあわせると, キノホルムの慢性反復投薬は, 末梢神経において, ヒトでも犬でも, neurofilament の増加を惹起する事が証明された。薬物投与の動物実験において, neurofilament の増加を一次性変化として結論しているものに, Prineas の acrylamide の猫に対する中毒実験がある。彼は末梢神経のみならず, 神経筋接合部の terminal axoplasmic expansion にも, 延髄ゴル核の boutons terminaux にも, neurofilament の増加を認め, acrylamide による dying back neuropathy の pathogenesis を neurofilament の増量による axonal flow の低下と推論している。我々の検索では, 腓腹神経のみの検索であるので, 彼の推論にまで達し得ないが, 末梢神経のみについて云えば, ほぼ同質の病変と思われる。

軸索内 mitochondria の集積像については, Webster が Waller 変性の初期に paranodal に一過性に mitochondria が多数集積する事を報告しているが, キノホルム投薬実験にみられた mitochondria は必ずしも paranodal に集積するものでなく, ほぼ全投薬期間を通じて高頻度にみられた。<sup>13)</sup> 八木等はラット脳において, キノホルムが生化学的に mitochondria の酸化的磷酸化における脱共役剤として作用すると報告しており, この mitochondria の変化と何らかの相関関係が想定される可能性がある。

髄鞘の変化として頻繁にみられた myelin ovoid には多数のグリコーゲン様顆粒がみられた。この顆粒の由来については, myelin digestion のために出現したのか, 変性 myelin の崩壊産物なのか不明である。<sup>14)</sup> Nathaniel は Waller 変性実験において myelin digestion を行なうのは増加したりボゾームであるとしているが, 我々の検索では増加したりボゾームはみられなかった。その他の変化を含めて髄鞘病変は節性脱髄にみられるような高度の変化はなく軽度であった。髄鞘と同一の系に属す Schwann 細胞においても, その変化は軸索のそれに比べれば軽度であ

15) って, onion bulb 形成にしても, その頻度は少なく, その形態も原始的なものであった。Dyck は繰り返された demyelination と remyelination が, onion bulb 形成の必要条件であると述べているが, 我々の検索結果は彼の見解を裏づけるものといえる。

以上よりして, neuropathy の電顕像を従来の概念に従って, 節性脱髄, Waller 変性, dying back 又は neuronal type の三者に大別するとするならば, 犬のキノホルム neuropathy のそれは, neuronal type の範疇に属するものと云えよう。

#### ま と め

キノホルム投薬を行なった 6 頭の雑種成犬の腓腹神経を生検し, 電顕的検索を行ない次の結果を得た。

1) 軸索の変化が基本的病変であり, それは neurofilament の増加, 正常又は変性 mitochondria の集積, 軸索膜の変化としてあらわされる。

2) Schwann 細胞膜系の変化も存在するが, 軽度であり, 二次的变化と思われる。

3) 犬の実験的キノホルム neuropathy の電顕像は neuronal type の範疇に属する。

4) ヒト S M O N の腓腹神経の電顕像との類似性が犬においても認められた。

#### Ⅳ 放射性キノホルムのマイクロオートラジオグラフィ

##### 実験方法

放射性キノホルムは  $^{131}\text{I}$ -,  $^{125}\text{I}$ -, および  $^{14}\text{C}$ -キノホルムを用い, 実験動物は犬, 猫, ラット, マウスを用いた。雑犬では 1 頭には体重 Kg 当り 0.0 2 mC の  $^{131}\text{I}$ -キノホルムを静注し, 5 分後に屠殺した。3 頭は 0.1 mC の  $^{131}\text{I}$ -キノホルムを腹腔内投与し 1 時間半で屠殺した。他の 2 頭では 1.3 mC の  $^{131}\text{I}$ -キノホルムを経口投与し 3 時間後に検索した。ビーグル犬は 2 頭を用い体重 Kg 当り 0.1 mC の  $^{131}\text{I}$ -キノホルムを腹腔内投与し 1 時間半後に屠殺した。猫は 1 匹であり 0.0 6 mC の  $^{131}\text{I}$ -キノホルムを静注し 5 分後に屠殺した。ラットは合計で 1 4 匹 (うち 3 匹には四塩化炭素投与) を用い, 放射性キノホルムは  $^{131}\text{I}$ -,  $^{125}\text{I}$ -キノホルムであり, その量は 1.2 5  $\mu\text{C}$  から 1 2  $\mu\text{C}$  であり, 投与方法は静注, 腹腔内投与, 経口投与によった。検索は 5 分から 3 日の間で種々の時間でおこなった。マウスは 5 匹を用い,  $^{14}\text{C}$ -キノホルムを 0.3  $\mu\text{C}$  から 2  $\mu\text{C}$  を静注し, 5 分ないし 2 時間で屠殺した。屠殺後, いずれも 1 0 % 中性ホルマリン溶液で固定し, パラフィン切片および凍結切片を作り, 乳剤として N R - M<sub>2</sub> ( S A K U R A ) を用いてディップし, 1 ~ 4 週間露光後現象し, ケルソエヒト赤で後染色し鏡検した。

##### 成 績

まず犬および猫では  $^{131}\text{I}$ キノホルムの静注, 腹腔内投与による差異はなく, 大脳ではすべてに特異的とり込みはみられず, 軟脳膜, 血管内皮細胞などの他にはわずかに散在性に分布を認めるのみで皮質, 髄質には差がなくベツ細胞を含め神経細胞にはほとんどみられなかった。ただし腹腔内投与雑

犬の1頭には脈絡叢に著明なとり込みがみられた(図34)。小脳でも同様に著明なとり込みはみられないが、顆粒層外層に軽度の分布がみられた。間脳では全例の第三脳室底面のグリアに著明なとり込みがみられ、雑犬では視束上核の神経細胞(図35)およびビーグル犬1頭と猫では視床外側核にもとり込みがみられた。脳幹では中脳水道周囲、第IV脳室底部グリアにほぼ全例にとり込みがみられ、とくに雑犬ではオリブ核(図36)、迷走神経核、三叉神経核のグリア、ビーグル犬の1頭では迷走神経核のグリアに集まる傾向があった。さらに雑犬では動眼神経核、外転神経核、赤核、青斑核、延髄背側運動核、延髄網様体などの神経細胞、猫でも三叉神経核の神経細胞胞体に強いとり込みがみられた(図37)。しかしビーグル犬ではかかる神経細胞へのとり込みはみられなかった。脊髄では灰白質とくに前角神経細胞胞体に著明なとり込みが雑犬にみられた(図38)。神経細胞以外では脊髄軟膜、グリア、血管壁、脊髄中心管上皮細胞などに軽いとり込みをみるのみであった。この傾向は猫でもみられたが、ビーグル犬ではほとんど目立たなかった。白質には後索を含めてとくに有意なとり込みはなかった。脊髄根では雑犬で後根に分布を認めたと前根では軽度であった。脊髄後根神経節および一部で検索した半月神経節では雑犬は全例に神経細胞および外套細胞に強いとり込みがあり(図39)、ビーグル犬および猫でもこの傾向は確かめられた。末梢神経では雑犬およびビーグル犬にとり込みがみられ(図40)、Schwann細胞胞体に強く、その他は軸索、髄鞘の区別がしにくい例が多かった。筋肉への分布も雑犬でみられた。眼球ではビーグル犬の網膜に分布があった。経口投与をおこなった雑犬2頭では静注、腹腔内投与と比較して量的な差はあるものの同じ傾向の分布を示し、脊髄、後根神経節(図41)、末梢神経(図42)などの神経系に黒点が見い出された。一般臓器では腎は近位尿細管上皮細胞に著明な分布が雑犬および猫でみられ(図43)、糸球体および髄質への分布はわずかであった。肝ではビーグル犬で小葉中心性に肝細胞に強いとり込みがあったが(図44)、雑犬および猫ではびまん性に肝細胞、Kupffer星細胞、細胆管などに分布していた(図45)。脾ではLangerhans島の腺細胞に集まる傾向が全例にみられ、とくにビーグル犬で著明であった(図46)。腸管へのとり込みはあまり特異的なものはなかったが、脾およびリンパ節には全例に分布をみた。その他肺にもみられた。

正常ラットでは神経系は脳室周囲のグリアに少量の分布をみるのみで、それ以外はほとんどなく、神経細胞へのとり込みもなかった。一般臓器では肝細胞、腎の近位尿細管上皮細胞に軽度にとり込みをみた。四塩化炭素負荷群では神経系は正常群でみられた以外に、視床グリア、延髄背側運動核、小脳のPurkinje細胞に分布を認めた。脊髄では灰白質の神経細胞胞体にとり込みがあり、その他に後根、軟膜、中心管にもみられた。一般臓器では腎の近位尿細管上皮細胞に特異的とり込みがみられ、肝にもびまん性に認めた。マウスでは神経系では側脳室から第IV脳室にかけての脳室上皮細胞、小脳顆粒層に分布がみられ、脊髄では軟膜、中心管、後根に分布とみた。坐骨神経にはびまん性に認められた。が、いずれの部位でも神経細胞へのとり込みはなかった。一般臓器では肝、腎にびまん性に一部では脾のLangerhans島にとり込みをみた。

## 考察および結論

本実験では<sup>131</sup>I-キノホルムを用いているものもあり、ヨードの遊離が問題となる。われわれはあらかじめ甲状腺ブロックをしており、甲状腺へのとり込みはラジオオートグラフィーでは認められず、またハツカネズミでは<sup>131</sup>I-キノホルムと<sup>14</sup>C-キノホルムの臓器内分布に大差がないことを確かめている。ヨードの遊離に関して<sup>125</sup>I-キノホルムをヒトに投与後24時間で0.4%の<sup>125</sup>Iが遊離するとの報告があるが、今回の実験は短時間で検索しており、ヨードの分離は問題にならないと考える。したがって本実験のアイソトープの分布はキノホルムの分布とほぼ一致すると考える。上に述べた生体内分布の差異から、動物の種族差、strain差が、そして四塩化炭素負荷で示された如く、肝、腎障害などの個体差の存在があるのではと推測される。標識キノホルムの種類、その投与量では明らかな差は認め難く、投与方法では雑犬で経口投与法は静注、腹腔内投与と比較して、その量的な差はあるものの同じ傾向の分布を示した。

われわれの雑犬、ビーグル犬、猫のMicro-autoradiographyおよび放射化学的分析から、前項の慢性キノホルム中毒病変のPathogenesisを考えてみたい。キノホルムは容易に神経系にとり込まれ、とくに末梢神経、網膜などに高い放射能が証明され、脊髄後根神経節、脊髄および脳幹などでは神経細胞への分布がみられた。一方、後索を含めた脊髄白質、視束、大脳皮質などへのキノホルムの分布は少なかった。このキノホルムの分布様式から、以下の仮説が考えられる。すなわち、脊髄Goll束、視束の変性は脊髄後根神経節、網膜神経節の神経細胞の代謝障害によるもので、末梢神経の変性については知覚線維は脊髄後根神経節の、運動線維は脊髄前角細胞の障害に続くものと、さらにキノホルムが末梢神経に直接侵入し、障害する機序も仮定出来る。しかし腰髄錐体路の変性についてはオートラジオグラフィーからはいまだ説明不可能である。

## 文 献

### I

- 1) 大月三郎, 奥村二吉: キノホルム経口投与によるイヌの慢性中毒実験, スモン調査研究協議会研究報告書№2 臨床班研究報告, 29, (昭和46年3月)
- 2) 三好和夫: Chinoformによる実験的糖尿病, スモン調査研究協議会研究報告書№2, 200, (昭和46年3月)
- 3) 金光正次, 笠井美智子: キノホルムによるスモンの実験的研究—CMC配合の効果, スモン調査協議会キノホルム部会第1回研究会(昭和46年7月)
- 4) 俵寿太郎ら: スモンの犬による動物実験例, スモン調査研究協議会(昭和46年3月)

### II

- 5) 高橋理明ら: カニクイ猿に於けるキノホルム投与実験(続報), スモン調査研究協議会キノホルム部会第3回研究会(昭和47年2月)
- 6) Bruecknerら: Tierexperimentelle Untersuchungen bei langdauernder Verabreichung von hohen Dosen von Iod-chlor-8-hydroxy-Chinolin mit besonderer Beruecksichtigung moeglicher

toxischer Augenveraenderungen. *Arzneim. Forsch.*, 20:575-577, 1970.

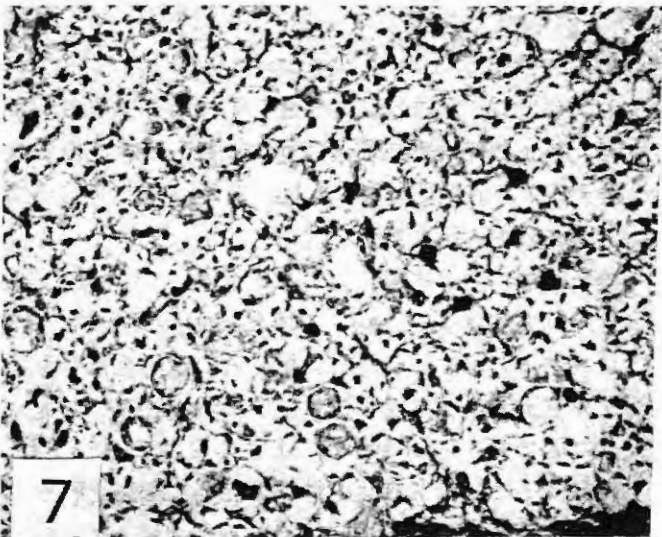
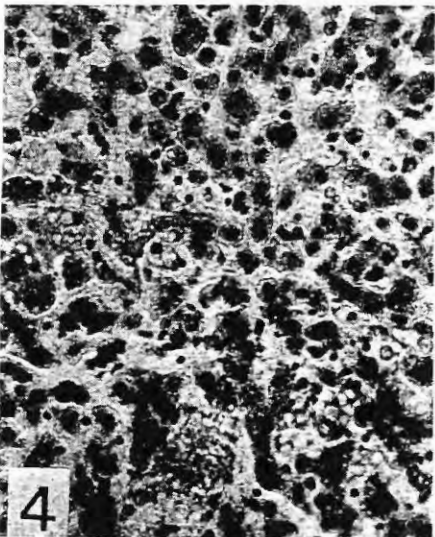
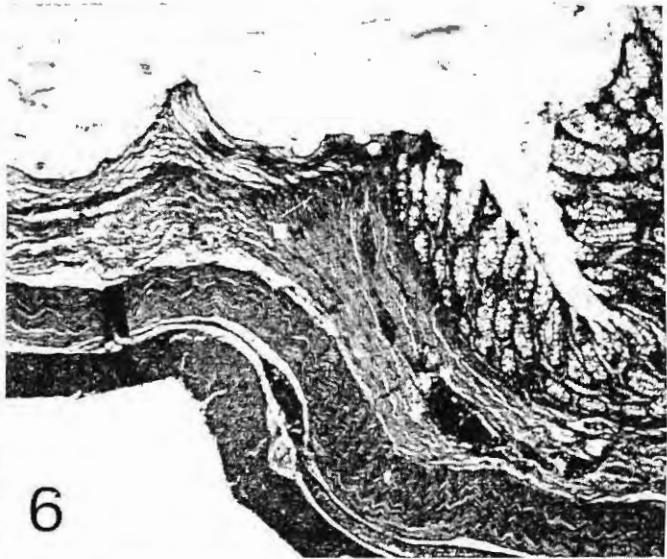
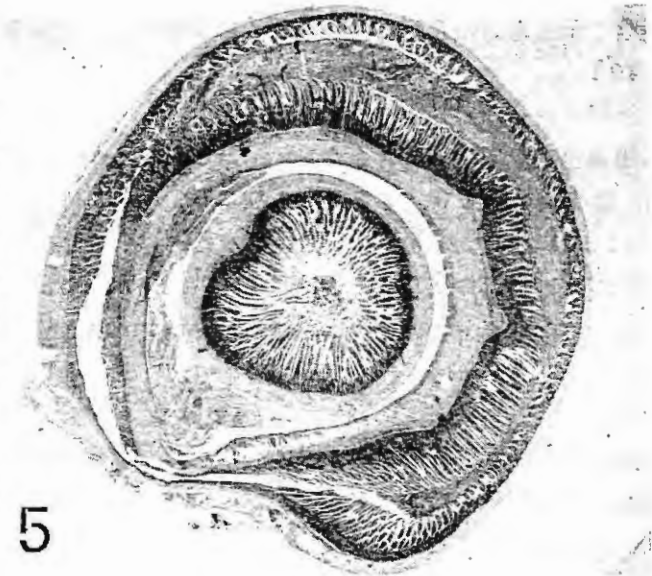
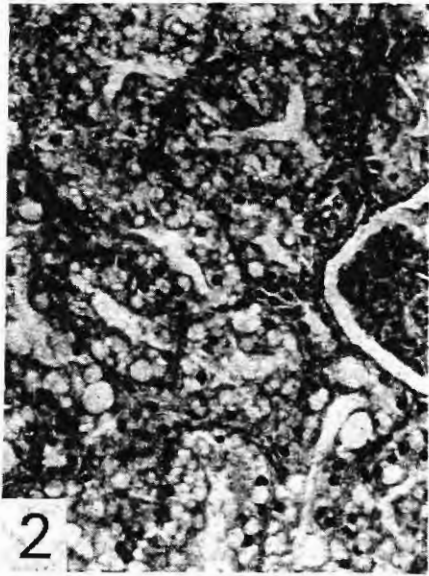
- 7) 堤啓：岡山地方の「腹部症状を伴う脳脊髄症」の剖検例について。臨床神経, 11, 229-235, 1971。

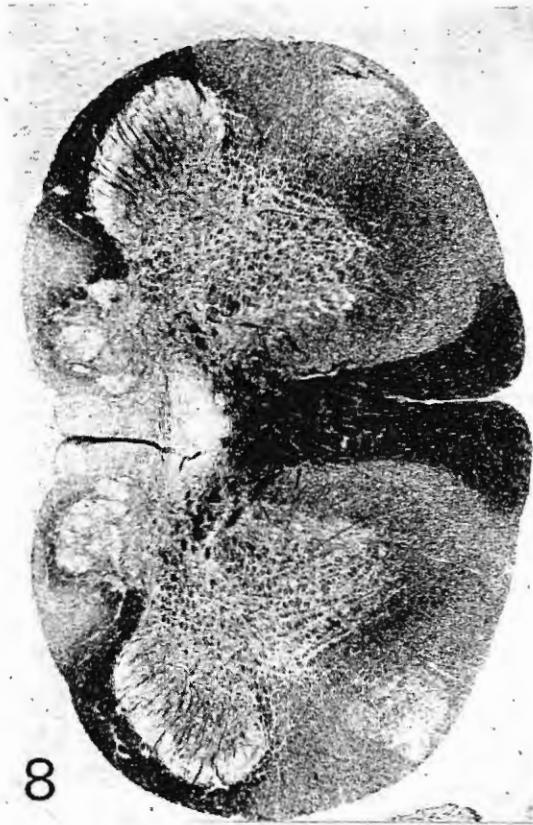
### Ⅲ

- 8) 大田典也：腹部症状に伴う Myeloneuropathy (SMON) における腓腹神経の微細構造, 臨床神経, 10, 487, 1970。
- 9) TAIHEI MIYAKAWA et al: *Acta neuropath.*, 16:17, 1970.  
TAIHEI MIYAKAWA et al: Electron Microscopical Study of a Nerve Biopsy from a case in the Chronic State of "Subacute Myelo-Optico-Neuropathy". *Acta neuropath.*, 19:323 1971.
- 10) 松山春郎, 平井修司：SMONの腓腹神経の電子顕微鏡的研究, スモン調査研究協議会研究報告書№4病理班研究報告, 103, (昭和46年3月)
- 11) Prineas J.: The Pathogenesis of Dying-back Polyneuropathies. Part 11. An Ultrastructural Study of Experimental Acrylamide Intoxication in the Cat. *J. Neuropath. & Exper. Neurol.*, 28:598 1969.
- 12) Webster, H. DE F.: Transient, Focal Accumulation of Axonal Mitochondria During the Early Stages of Wallerian Degeneration. *J. Cell Biol.*, 12:361, 1962.
- 13) 八木国夫, 勝又義直, 萩原昌子, 山中直樹：キノホルムの脳ミトコンドリアの呼吸に及ぼす影響ならびにキノホルム類似物質の肝ミトコンドリアの呼吸調節に及ぼす影響, スモン調査研究協議会キノホルム部会第2回研究会(昭和46年12月)
- 14) Nathaniel, E. J. H., & Pease, D. C.: Degenerative Changes in Rat Dorsal Roots During Wallerian Degeneration. *J. Ultrastruct. Res.*, 9:511, 1963.
- 15) Dyck, P. J.: Experimental Hypertrophic Neuropathy. *Arch. Neurol.*, 21:73, 1969.

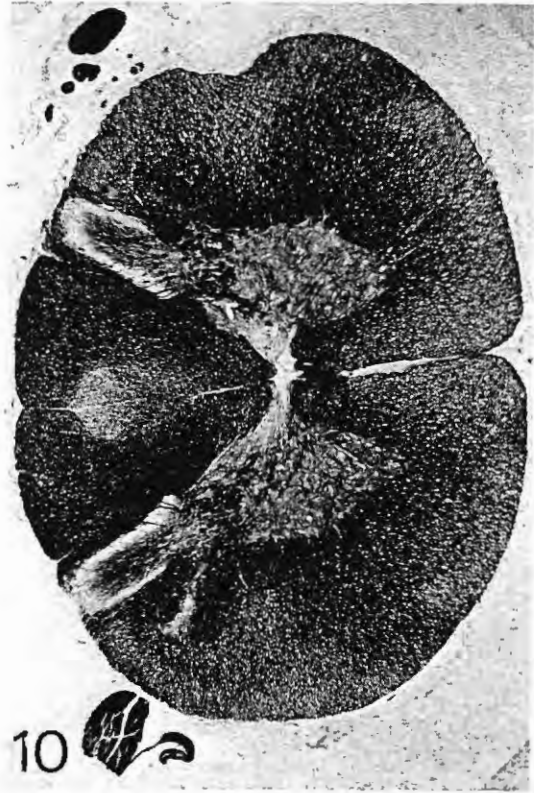
### 写真の説明

- ☒ 2 ネコ№27, 腎の近位尿細管の変性。H-E, ×200。
- ☒ 3 雑犬№9, 腎の近位尿細管上皮細胞中のキノホルム顆粒。無染色×250。
- ☒ 4 雑犬№7, 肝細胞の脂肪変性。Sudan III, ×250。
- ☒ 5 ネコ№26, 腸重積症。H-E。
- ☒ 6 雑犬№9, 巨大結腸症。H-E。
- ☒ 7 サル第2頸髄Goll束, 軸索の腫大, 空胞化, 脱落と喰食細胞の侵入。Bodian, ×400。
- ☒ 8 ビーグル犬№3, 延髄後索核附近の後索線維のW字型の変性, Woelke。
- ☒ 9 ビーグル犬№3, 第1頸髄後索の変性。Woelke。
- ☒ 10 ネコ№27, 第1頸髄Goll束の変性。Woelke。
- ☒ 11 雑犬№12, 第3腰髄錐体側索路, 前索路と一部Goll束の変性。Woelke。
- ☒ 12 ネコ№27, 仙髄後根神経節の神経細胞の空胞化, 核の消失, 外套細胞の侵入, 軸索の肥大。Bodian, ×400。

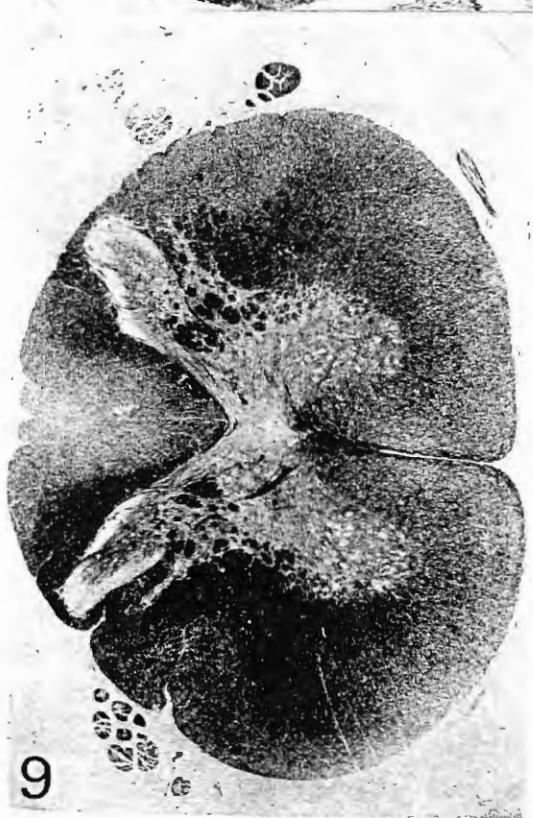




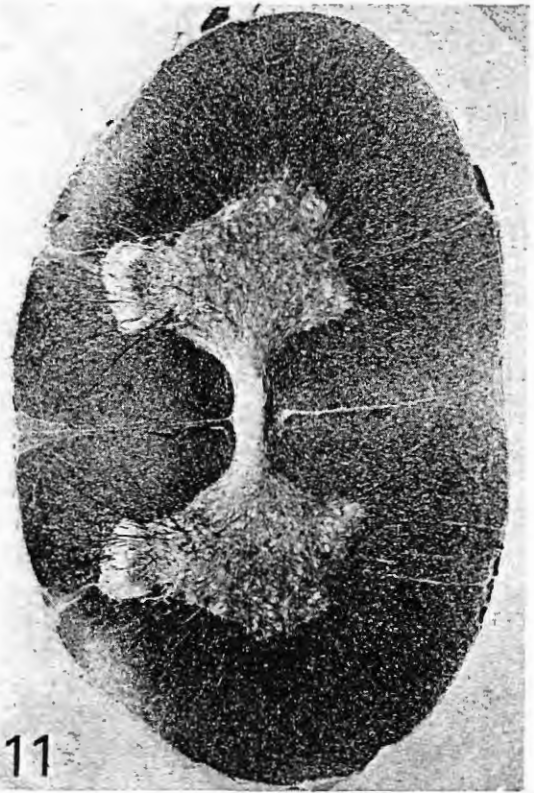
8



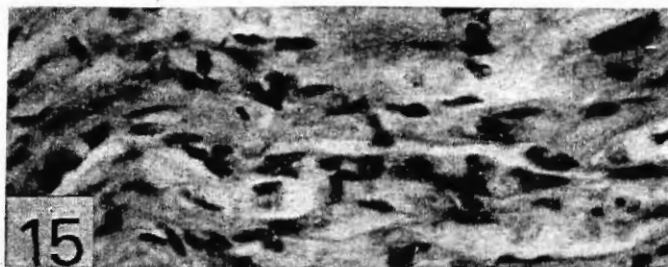
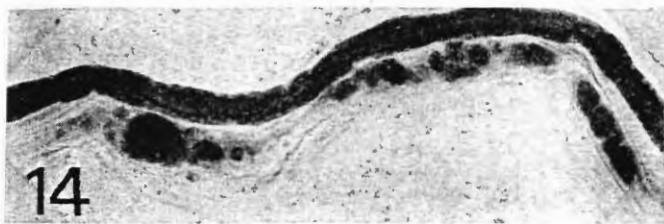
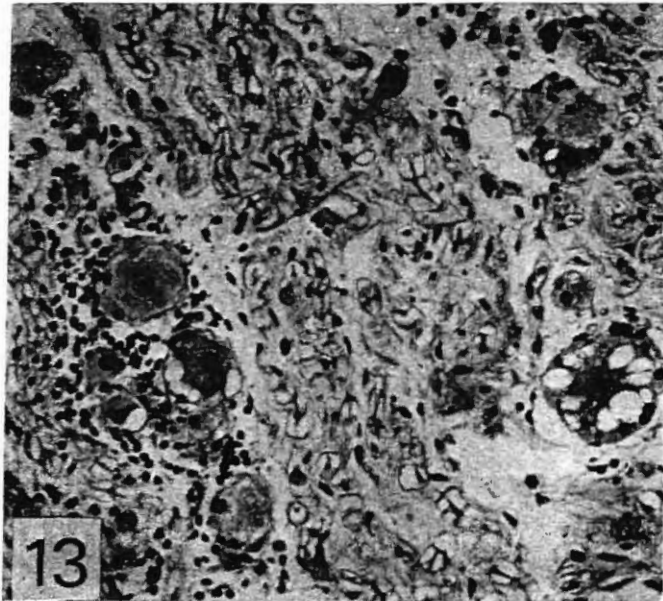
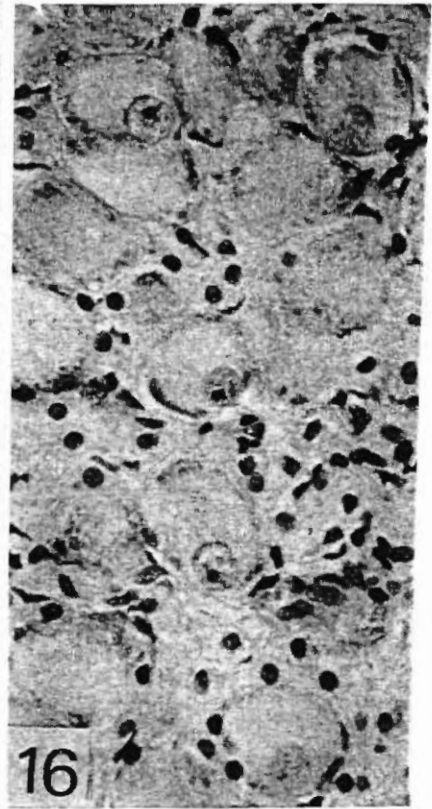
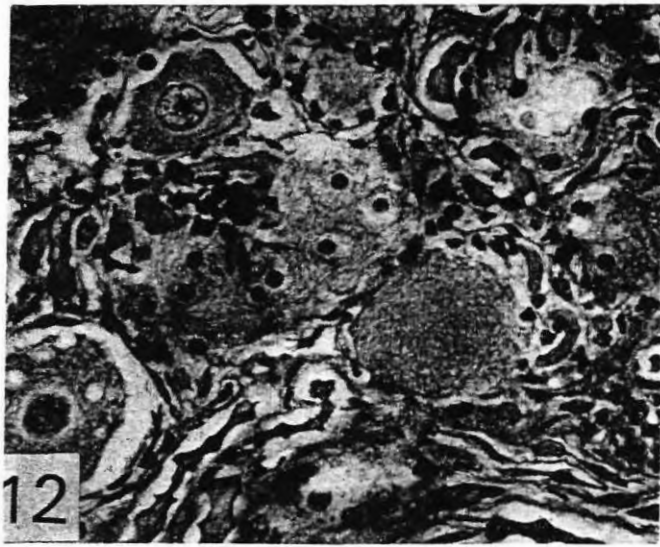
10



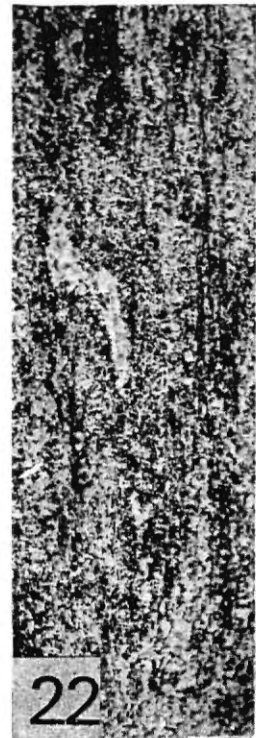
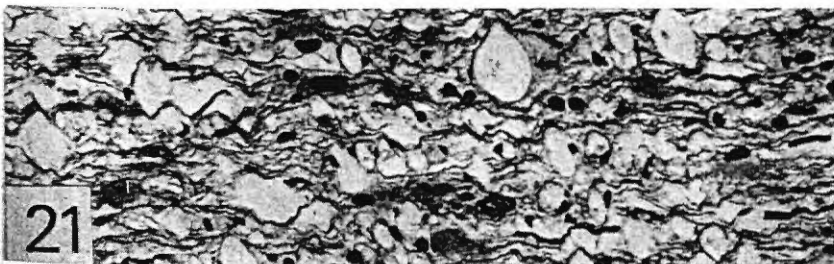
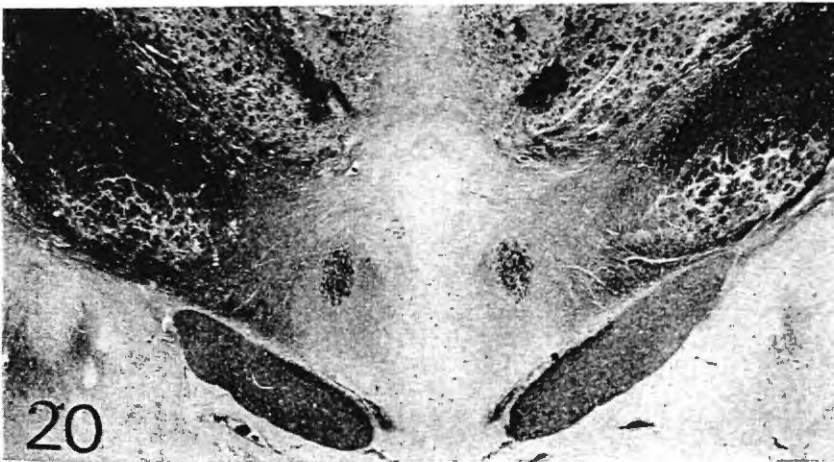
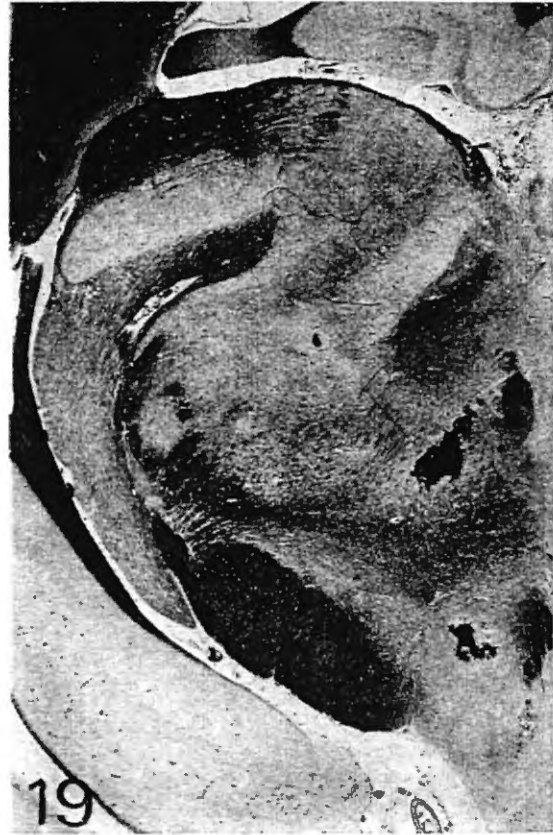
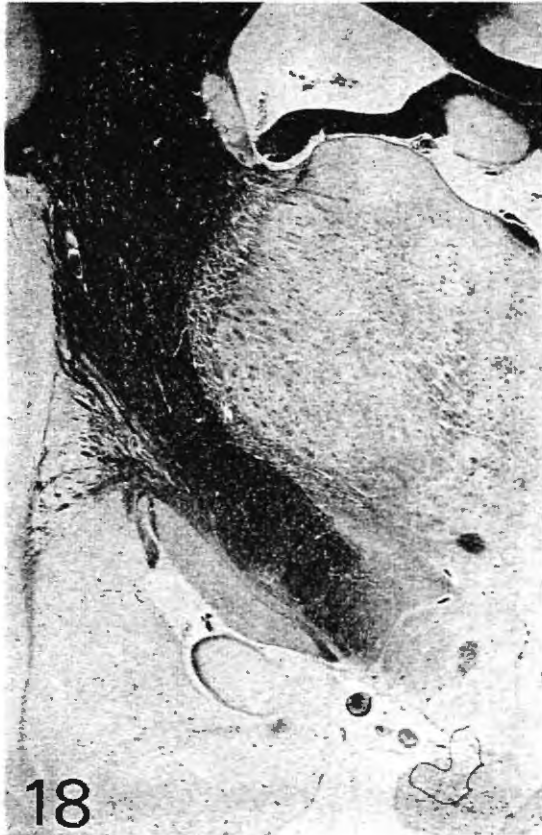
9

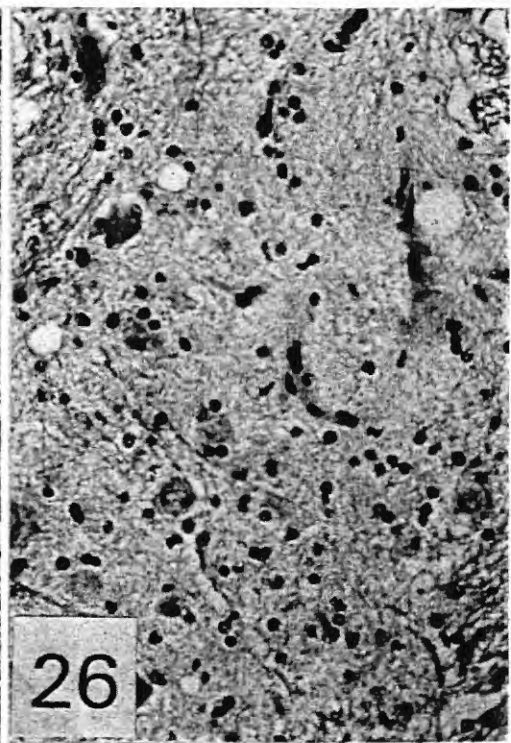
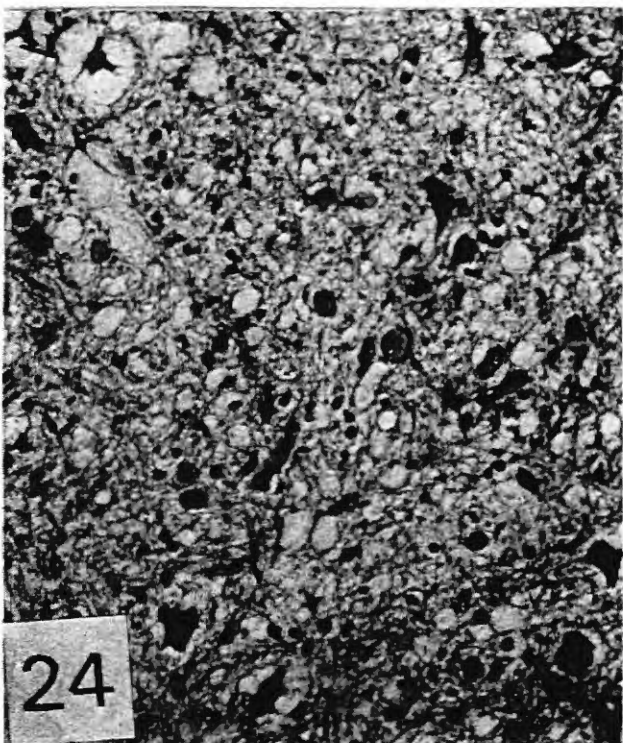
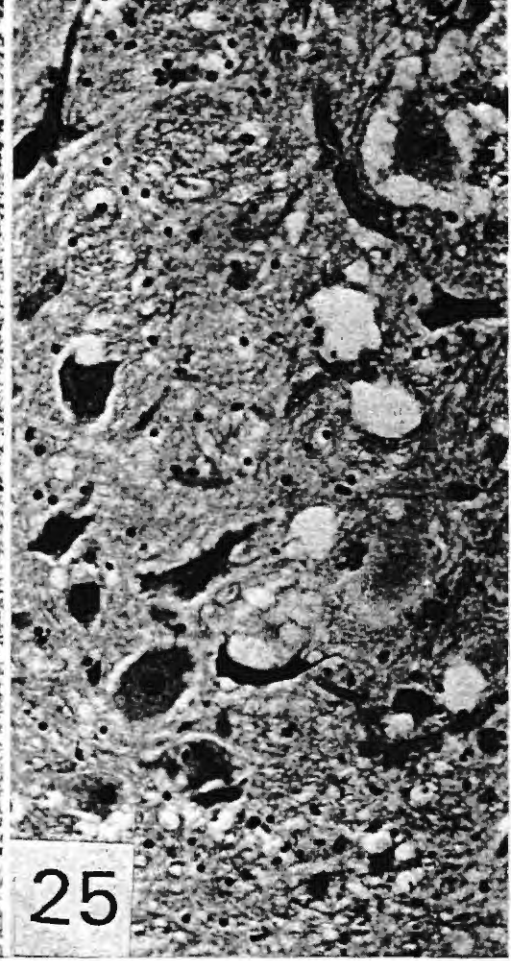
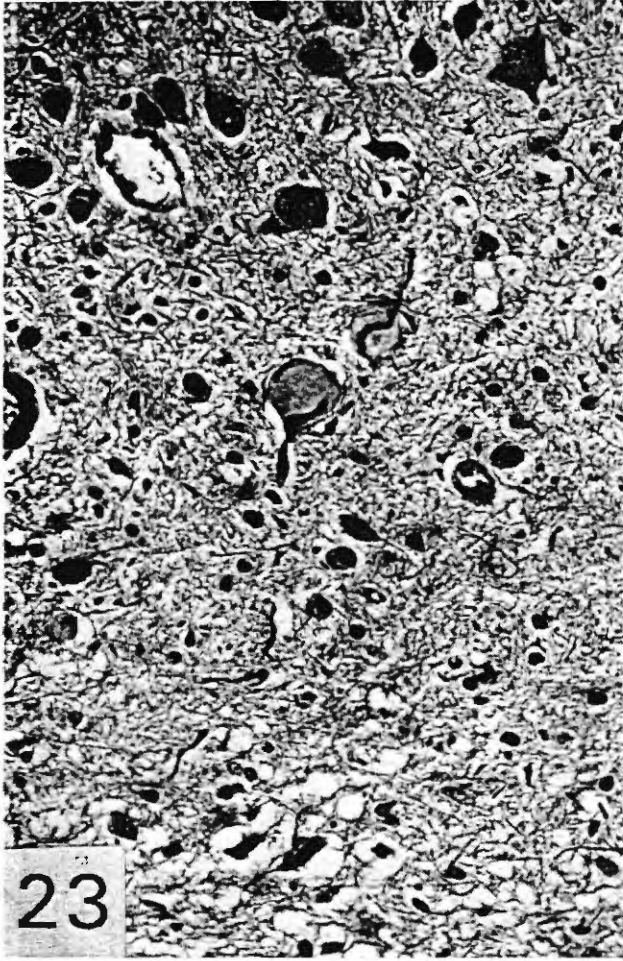


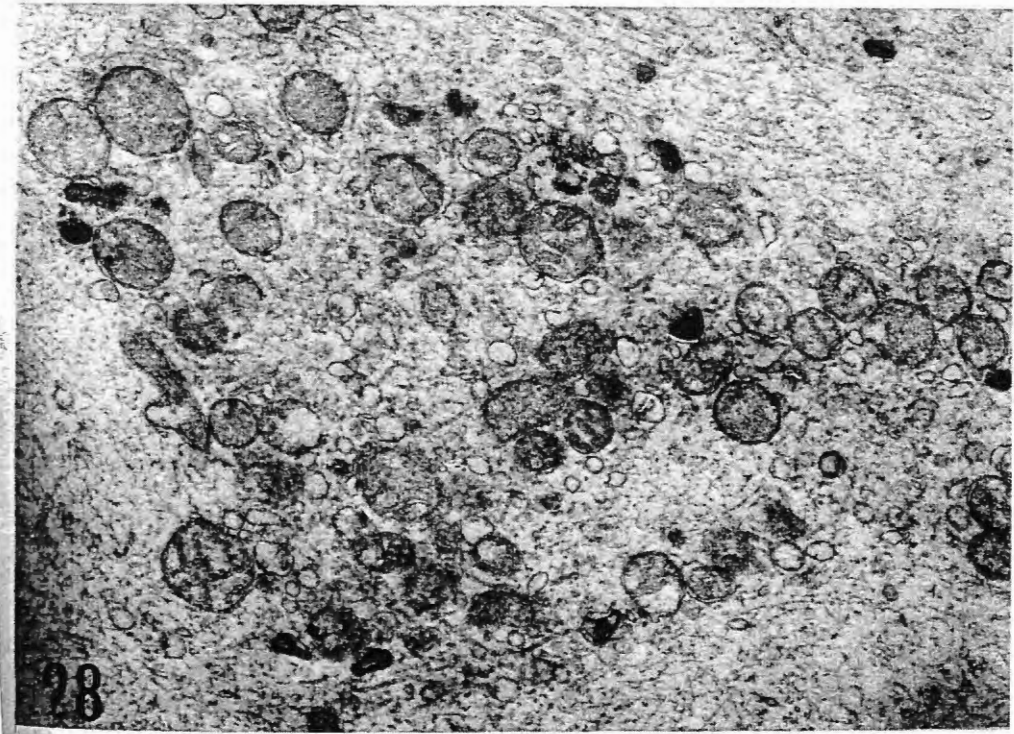
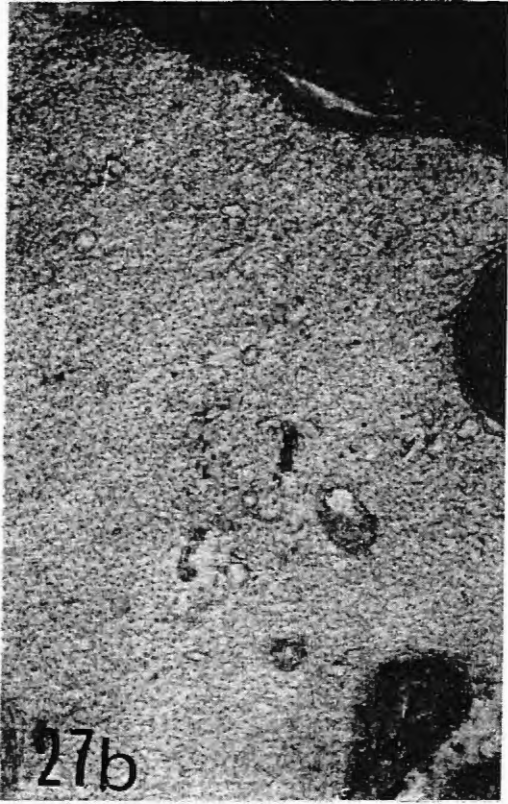
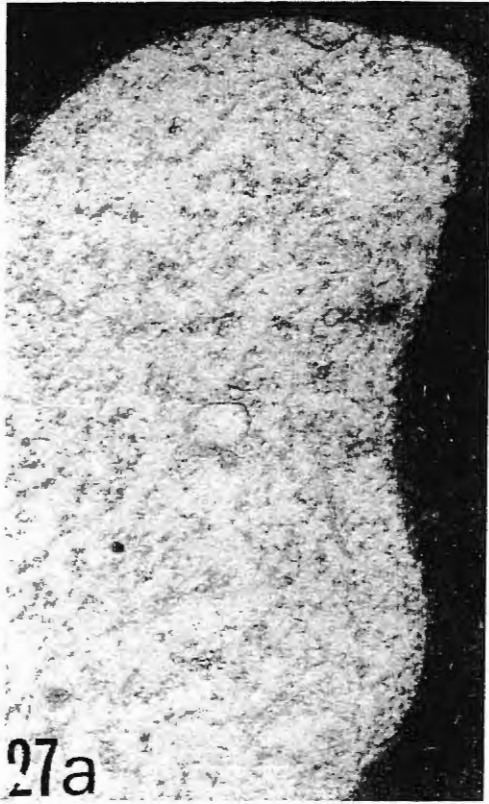
11

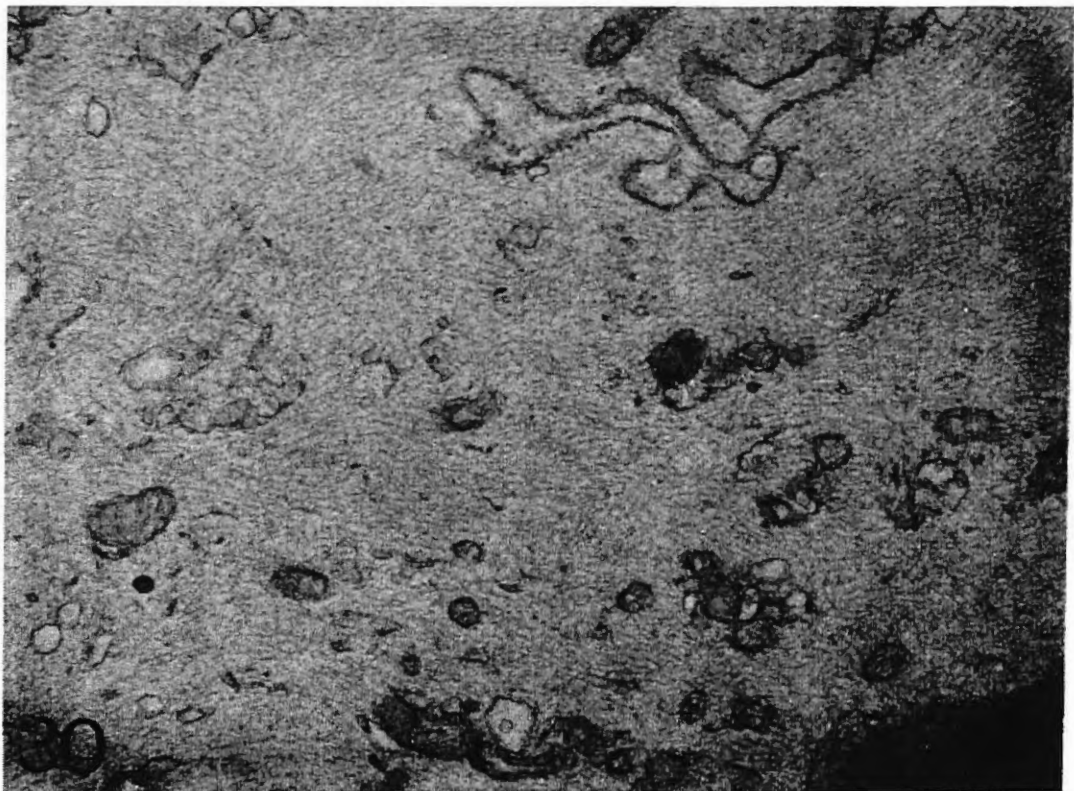
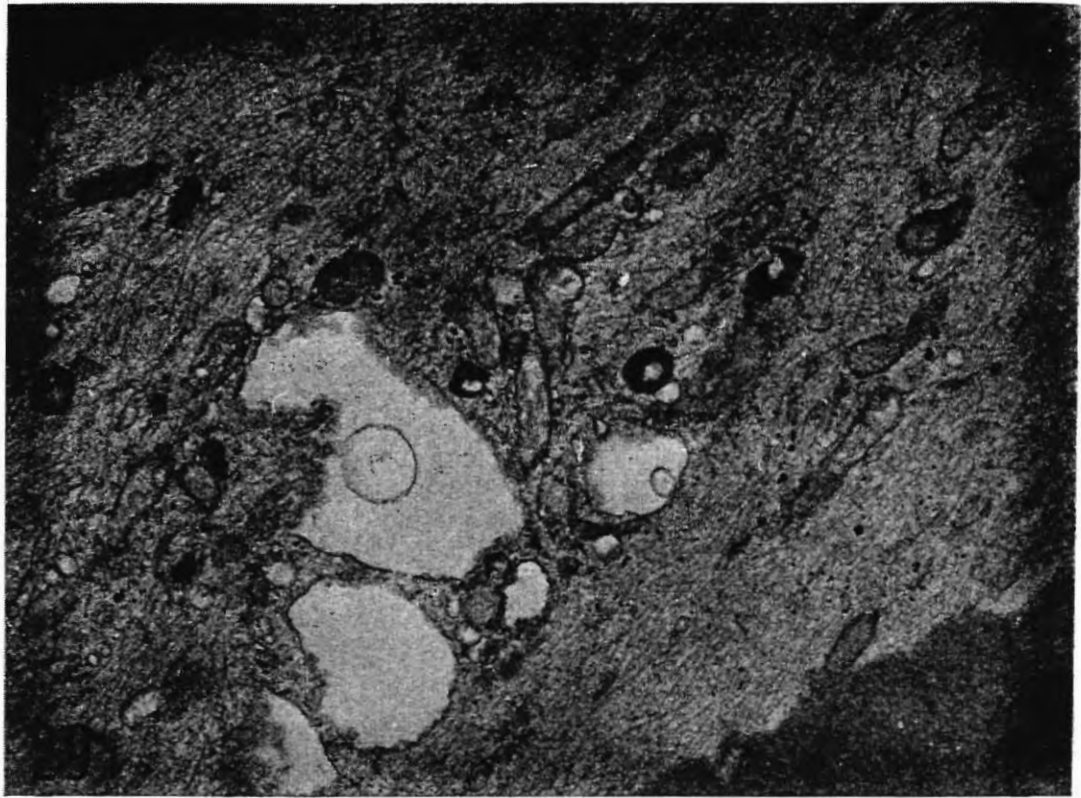


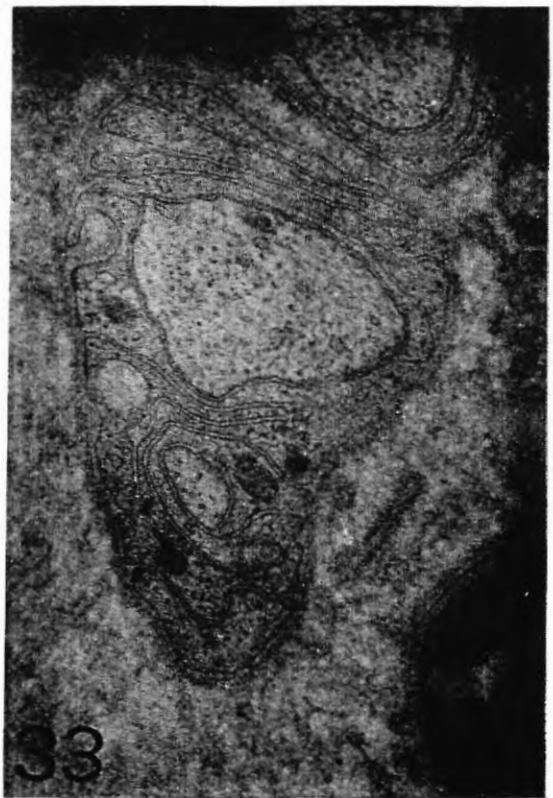


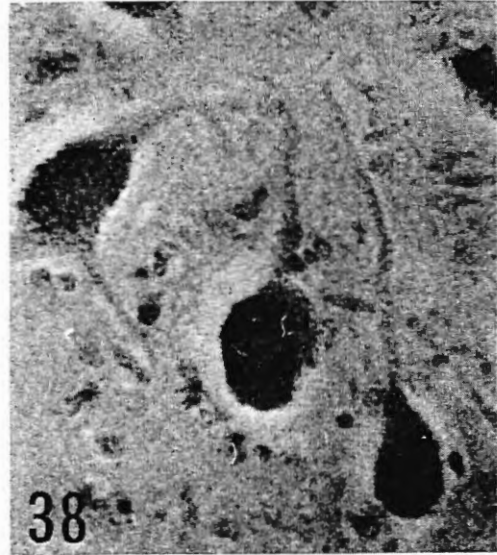
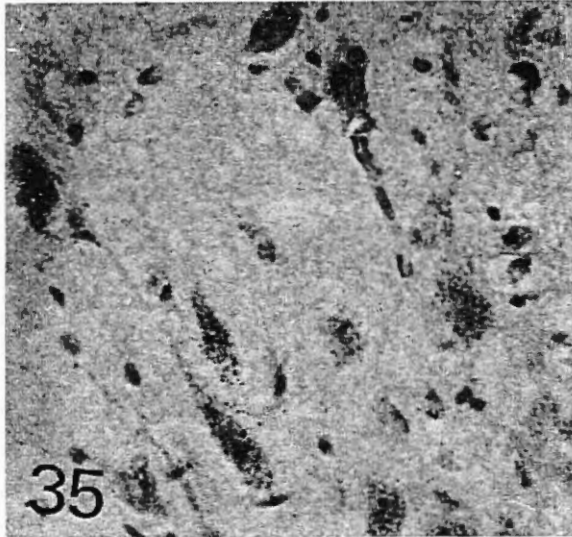
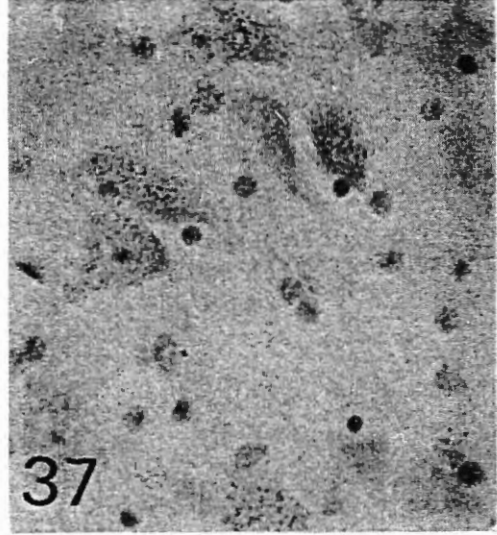
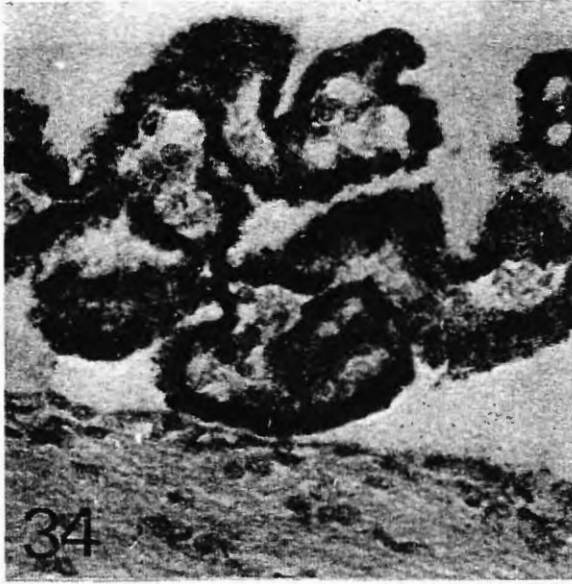


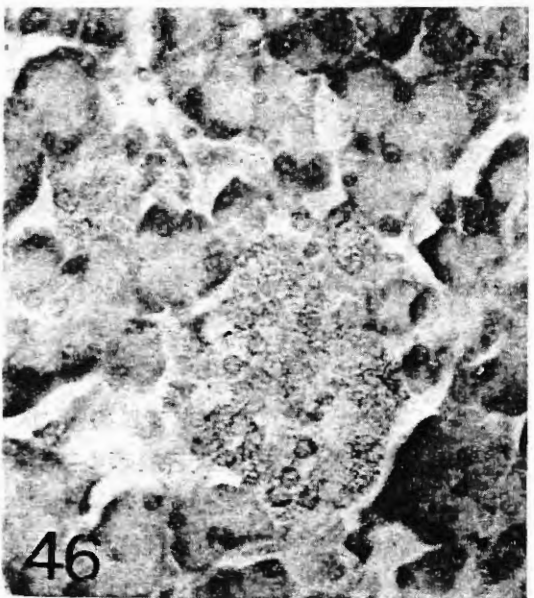
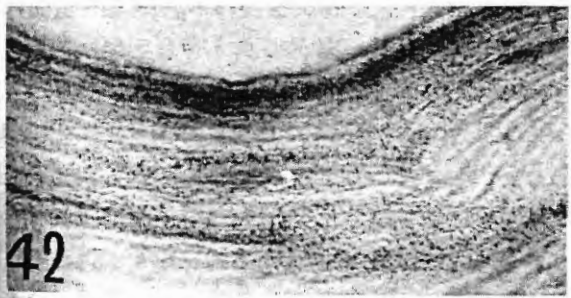
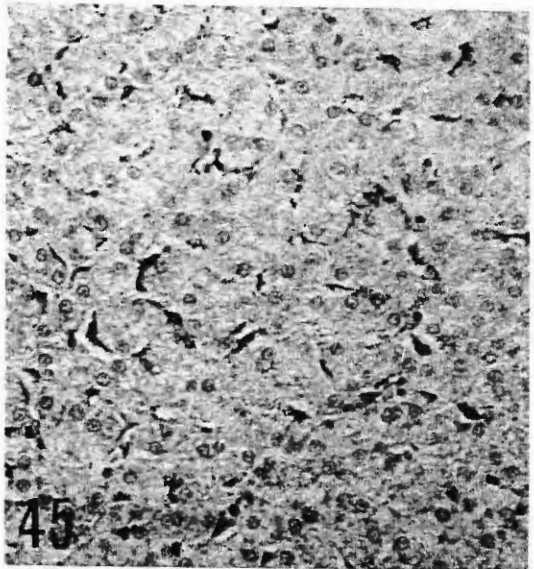
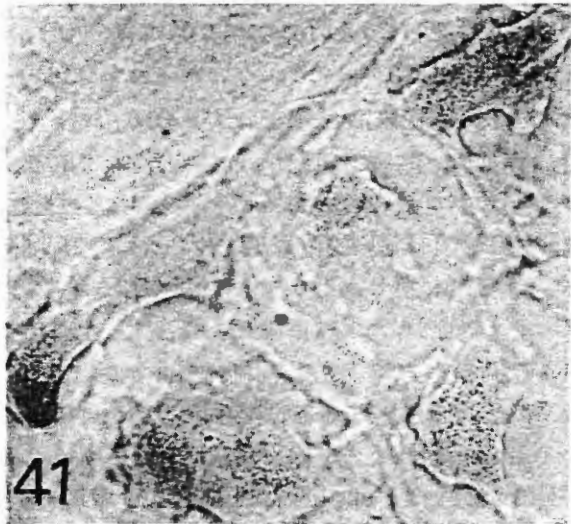
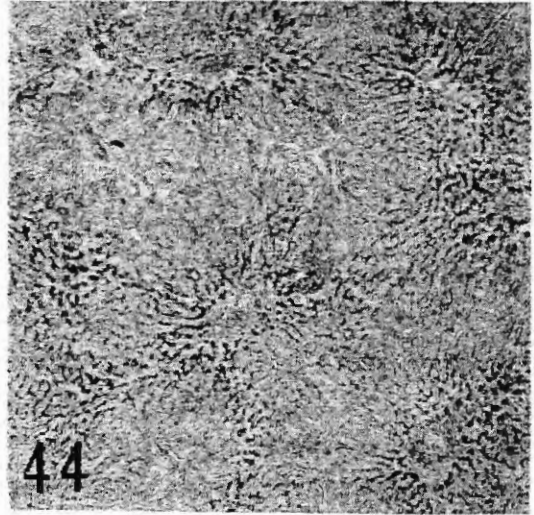
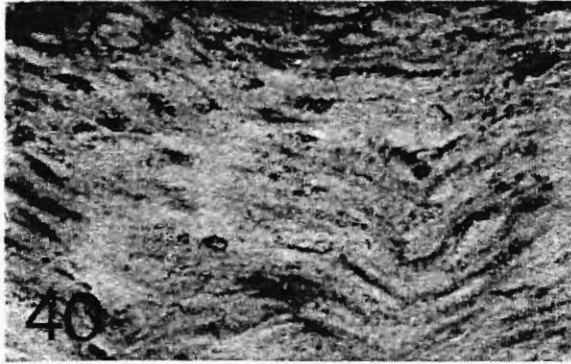












- 図13 サル仙髄後根神経節，神経細胞の変性，外套細胞および少数の円形細胞増殖。H-E, ×250。
- 図14 雑犬№.3, 腓腹神経のときほぐし法，下方の線維は殆んど崩壊，上方の線維はほぼ正常。  
×400。
- 図15 雑犬№.9, 上腕神経の高度の変性。H-E, ×400。
- 図16 ネコ№.27, 腹腔神経節の神経細胞の中心性クロマトリーゼと軽度の核の変性もみられる。  
Nissl, ×400。
- 図17 雑犬№.10, 小腸のAuerbach神経叢の神経細胞の変性とSchwann細胞の増殖。H-E,  
×400。
- 図18 雑犬№.8, 視束の撰択的変性。Woelke。
- 図19 ネコ№.27, 視束末端部の変性。Woelke。
- 図20 ビーグル犬№.3, 視束の変性。Woelke。
- 図21 ネコ№.27, 視束の強拡大，神経線維は殆んど断裂。Bodian, ×400。
- 図22 雑犬№.9, 視神経の脂肪顆粒。Sudan III, ×100。
- 図23 ネコ№.27, 外側膝状体にみられた類球体，下方は視束。Bodian, ×400。
- 図24 雑犬№.1, 延髄Goll核の神経細胞変性，類球体，基質の粗嚙化。H-E, ×250。
- 図25 雑犬№.9, 三叉神経運動核の神経細胞の変性。H-E, ×250。
- 図26 雑犬№.8, 上オリブ核のびまん性膠細胞増生。H-E, ×250。

### Ⅲ (電顕的研究) 写真説明

- 図27a 対照犬，正常腓腹神経軸索(×5000)。
- 図27b 投薬犬№.2, 軸索内のneurofilamentは対照に比べて著明に増加(×5000)。
- 図28 投薬犬№.2, 軸索内の正常又は変性mitochondriaの著明な集積(×10000)。
- 図29 投薬犬№.6, 239日間休薬。neurofilamentとneurotubulusの著明な増加がみられ，変性mitochondriaの集積，大小の空胞形成がみられる。軸索内全面にグリコーゲン粒子が散在している(×8500)。
- 図30 投薬犬№.6, 142日間休薬。neurofilamentの著明な増加があり，上方に軸索膜の内方襞状陥入像がみられる(×6000)。
- 図31 投薬犬№.1, Schwann細胞内の数個のmyelin ovoidは髄鞘本体よりも電子密度が高い。myelin ovoid附近に多数のグリコーゲン様顆粒がみられる。(×5000)
- 図32 投薬犬№.1, 有髄線維を一層のSchwann細胞突起がとりかこむonion bulb形成(×6500)。
- 図33 投薬犬№.1, Büngner band形成。いくつかのSchwann細胞突起が無髄神経と共に一つの基底膜にとりかこまれている。(×6500)

### 写真の説明 (オートラジオグラフィ)

- 図34 <sup>131</sup>I-キノホルムi.p.投与雑犬，側脳室脈絡叢への放射性の分布，×400。
- 図35 同，視束上核の神経細胞への分布，×400。
- 図36 同，オリブ核ではグリアに集中，×400。
- 図37 i.v.投与ネコ，三叉神経核の神経細胞への分布，×400。
- 図38 i.p.投与雑犬，腰髄前角神経細胞への集中，×400。
- 図39 同，頸髄後根神経節の神経細胞および外套細胞への分布，×400。
- 図40 同，坐骨神経の主にSchwann細胞への分布，×400。
- 図41 経口投与雑犬，腰髄後根神経節への同様な分布，×400。



- 図42 同, 坐骨神経へのびまん性の分布,  $\times 250$ 。  
 図43 i.p.投与雑犬, 腎の近位尿細管上皮細胞への集中,  $\times 250$ 。  
 図44 i.p.投与ビーグル犬, 肝小葉中心性分布,  $\times 100$ 。  
 図45 i.p.投与雑犬, 肝のKupffer肝細胞, 細胆管へのびまん性分布,  $\times 250$ 。  
 図46 i.p.投与ビーグル犬, 脾のLangerhans島への分布,  $\times 400$ 。

## 2. 原著, 綜説, その他の記録

- 1) SMONと同一の脊髄後索変性を示した慢性キノホルム中毒犬 医学のあゆみ, 77:205, 1971 立石潤, 池田久男, 斉藤章, 黒田重利, 早原敏之, 大月三郎。
- 2) Metabolism of  $^{14}\text{C}$ -iodochlorohydroxyquinoline(Chinoform) in mice Acta Med.Okayama, 25:199, 1971 Ogata, M., Watanabe, S., Tateishi, J., Kuroda, S., Tomokuni, K. and Otsuki, S.
- 3) 放射性キノホルムのハツカネズミ, ダイコクネズミにおける蓄積および排泄 医学と生物学, 83:9, 1971 緒方正名, 友国勝麿, 林澄子, 渡辺昌祐, 立石潤, 黒田重利, 大月三郎, 安藤醇。
- 4) 放射性キノホルムの神経組織への移行 医学と生物学, 83:15, 1971 渡辺昌祐, 立石潤, 黒田重利, 大月三郎, 緒方正名, 友国勝麿, 安藤醇。
- 5)  $^{14}\text{C}$ -キノホルムのハツカネズミ生体内分布 医学と生物学, 83:77, 1971 緒方正名, 渡辺昌祐, 立石潤, 黒田重利, 大月三郎。
- 6) 四塩化炭素中毒ダイコクネズミにおける $^{131}\text{I}$ -キノホルムの代謝 医学と生物学, 83:81, 1971 渡辺昌祐, 立石潤, 黒田重利, 大月三郎, 緒方正名, 友国勝麿
- 7) キノホルム剤使用中止約一年後のスモン患者の予後 日本医事新報, 2470:31, 1971 池田久男, 矢吹聖三, 東博文, 早原敏之, 馬場修, 高橋幸夫。
- 8)  $^{131}\text{I}$ -キノホルム投与イヌのラジオオートグラフィー 医学と生物学, 83:91, 1971 立石潤, 黒田重利, 渡辺昌祐, 斉藤章, 大月三郎, 緒方正名。
- 9)  $^{131}\text{I}$ キノホルムの静脈内注射後のダイコクネズミ臓器内蓄積量の時間経過 医学と生物学, 83:197, 1971 緒方正名, 渡辺昌祐, 立石潤, 林澄子, 黒田重利, 大月三郎。
- 10)  $^{131}\text{I}$ キノホルムのイヌにおける生体内分布 医学と生物学, 83:203, 1971 緒方正名, 渡辺昌祐, 立石潤, 黒田重利, 林澄子, 大月三郎。
- 11) キノホルム慢性経口投与ネコにみられたMyelo-Optico-Neuropathy 医学のあゆみ 79:536, 1971 立石潤, 黒田重利, 斉藤章, 大月三郎。
- 12) Myelo-optic neuropathy induced by clioquinol in animals. Lancet, 1971/II 1263 Tateishi, J., Kuroda, S., Saito, A. and Otsuki, S.
- 13) アレルギー性腎炎ダイコクネズミにおける $^{131}\text{I}$ キノホルムの代謝 医学と生物学, 83:303, 1971 渡辺昌祐, 立石潤, 黒田重利, 大月三郎, 緒方正名。
- 14) SMONと同一の病理所見を示した慢性キノホルム中毒イヌ 医学と生物学, 83:309, 1971 立石潤, 斉藤章, 黒田重利, 大月三郎。
- 15) キノホルム慢性経口投与サル病理所見 医学と生物学, 83:313, 1971 立石潤, 斉藤章, 黒田重利, 大月三郎。
- 16) 慢性キノホルム中毒犬の病理所見 神経進歩, 16:477, 1972 立石潤, 池田久男, 斉藤章, 黒田重利, 早原敏之。
- 17) 脳灌流法によるキノホルム急性投与の脳機能及び脳グルコースアミノ酸代謝に及ぼす作用 医学

と生物学, 84:153, 1972 渡辺昌祐, 中島良彦, 河野沢与, 鈴木常夫, 江原嵩, 井口欽也, 田口冠蔵, 大月三郎。

- 18) Strain-differences in dogs for neurotoxicity of clioquinol  
Lancet(1972/I 1289) Tateishi, J., Kuroda, S., Saito, A. and Otsuki, S.
- 19) Myeloneuropathy in dogs induced by iodoxyquinoline.  
Neurology.(22:702,1972) Tateishi, J., Ikeda, H., Saito, A., Kuroda, S.  
and Otsuki, S.

### 3. 学会発表

- 1) 放射性キノホルムの生体内分布ことに神経組織への侵入 第10回日本神経学会中国, 四国地方会, 昭和46年7月3日, 緒方正名, 渡辺昌祐, 立石潤, 黒田重利, 大月三郎。
- 2) 慢性キノホルム中毒犬の末梢神経の電子顕微鏡的観察 第13回日本神経病理学会学術研究会, 昭和47年3月31日, 斉藤章, 立石潤, 黒田重利。
- 3) キノホルム慢性経口投与実験(続報)ならびに放射性キノホルムの Micro-autoradiography 第13回日本神経病理学会学術研究会, 昭和47年3月31日, 立石潤, 黒田重利, 斉藤章, 渡辺昌祐, 池田久男, 大月三郎。
- 4) キノホルム慢性投与動物実験(続報) 第13回日本神経学会総会, 昭和47年5月13日, 立石潤, 斉藤章, 黒田重利, 渡辺昌祐, 池田久男, 大月三郎。
- 5)  $^{131}\text{I}$  キノホルムのイヌにおける生体内分布 第13回日本神経学会総会, 昭和47年5月13日, 緒方正名, 大月三郎, 渡辺昌祐, 立石潤, 黒田重利。
- 6)  $^{131}\text{I}$  又は  $^{14}\text{C}$  キノホルムの生体内分布の時間経過 第13回日本神経学会総会, 昭和47年5月13日, 緒方正名, 大月三郎, 渡辺昌祐, 立石潤, 黒田重利。
- 7) 各種動物における放射性キノホルムのマイクロラジオオートグラフィー 第13回日本神経学会総会, 昭和47年5月13日, 黒田重利, 斉藤章, 立石潤, 渡辺昌祐, 大月三郎。

### 4. 班会議研究発表

- 1) イヌに於けるキノホルム経口投与実験ならびに  $^{131}\text{I}$  キノホルムの Autoradiography 昭和46年7月24日, 大月三郎, 池田久男, 渡辺昌祐, 立石潤, 斉藤章, 黒田重利。
- 2) 四塩化炭素及びアレルギー性腎炎負荷ラットにおける  $^{131}\text{I}$  キノホルムの代謝, 臓器別分布 昭和46年7月24日, 大月三郎, 渡辺昌祐, 立石潤, 黒田重利, 緒方正名, 友国勝麿, 林澄子。
- 3)  $^{131}\text{I}$  -  $^{125}\text{I}$  -  $^{14}\text{C}$  キノホルム生体内分布の時間経過 昭和46年7月24日, 緒方正名, 友国勝麿, 林澄子, 大月三郎, 渡辺昌祐, 立石潤, 黒田重利。
- 4) 脳灌流法によるキノホルム急性投与の脳機能と脳グルコース代謝に及ぼす作用 昭和46年12月15日, 大月三郎, 渡辺昌祐, 中島良彦, 河野沢与, 鈴木常夫, 江原嵩, 井口欽也, 田口冠蔵。
- 5)  $^{131}\text{I}$ ,  $^{14}\text{C}$  キノホルム生体内分布の時間経過(続報) 昭和46年12月15日, 緒方正名, 林澄子, 大月三郎, 渡辺昌祐, 立石潤, 黒田重利。
- 6) 犬, 猫におけるキノホルム投与実験(続報) I. キノホルム慢性経口投与実験 II. 放射性キノホルムの Micro-autoradiography 昭和46年12月15日, 大月三郎, 池田久男, 渡辺昌祐, 立石潤, 斉藤章, 黒田重利。
- 7) 標識キノホルム生体内分布, 代謝(ネコ, ラット及び動物差について) 昭和47年2月28日 緒方正名, 大月三郎, 渡辺昌祐, 立石潤, 黒田重利。
- 8) 標識キノホルムの生体内分布, 代謝(犬による実験成績) 昭和47年2月28日, 緒方正名, 人見硬, 大月三郎, 渡辺昌祐, 立石潤, 黒田重利。

- 9) 放射性キノホルムのMicro-autoradiography (その3) 昭和47年2月28日, 大月三郎, 渡辺昌祐, 立石潤, 齊藤章, 黒田重利, 緒方正名。
- 10) イヌ, ネコに於けるキノホルム投与実験(第4報) I. 純系ビーグル犬に於けるキノホルム慢性経口投与実験(第1報) 昭和47年2月28日, 大月三郎, 立石潤, 齊藤章, 黒田重利。
- 11) イヌ, ネコに於けるキノホルム投与実験(第4報) II. キノホルム投与ネコの病理所見(続報) 昭和47年2月28日, 大月三郎, 立石潤, 齊藤章, 黒田重利。
- 12) 慢性キノホルム中毒犬の末梢神経の電顕的研究 昭和47年2月28日, 大月三郎, 齊藤章, 立石潤, 黒田重利。
- 13) 動物におけるキノホルム投与実験 昭和47年3月13日, 大月三郎。