

32. 放射性標識キノホルムのマウス，イヌの神経系への摂取，分布，および滞留

豊倉 康夫， 高須 俊明， 青木 芳朗

(東大・医・脳研・神経内科)

松岡 理， 柴栖 明

(科学技術庁放射線医学総合研究所)

内容目次

I 研究方法

- 1 標識キノホルム
- 2 動物
- 3 投与方法
- 4 放射能検出法
 - 1) 凍結マクロオートラジオグラフィー
 - 2) サンプル計測 (液体シンチレーション計測法)

II 成績

- 1 マウスによる実験成績
 - 1) ^{131}I 標識キノホルムの分布 (マクロオートラジオグラム)
 - 2) ^{14}C 標識キノホルムの分布—その1 (マクロオートラジオグラム)
 - 3) ^{14}C 標識キノホルムの分布—その2，および臓器組織別滞留 (サンプル計測)
- 2 イヌによる実験成績
 - 1) R I S A の雑犬における分布 (マクロオートラジオグラム)
 - 2) ^{131}I 標識キノホルムの雑犬における分布 (マクロオートラジオグラム)
 - 3) ^{131}I 標識キノホルムのビーグル犬における分布 (マクロオートラジオグラム)

III 考察

- 1 神経系への摂取と分布
- 2 神経系における滞留
- 3 その他

IV 総括および結論

V 発表文献

S M O N の原因がキノホルム内服にある疑いが強まり、キノホルム投与が動物の神経系障害を起すことが確認され始めた時期（昭和45年秋）に、われわれは標識キノホルムの利用によってその体内分布や挙動を明らかにすることを企て、放射線医学総合研究所の協力を得てこれに着手した。

従来の文献には、消化管からの吸収や、体外への排泄、血中濃度などに関する実験報告が散見せられるのみで、体内分布についてはほとんど信頼し得る成績がなく、とくに神経系についての知見は全くなかった。従ってこれらの解明は、S M O N の原因としてのキノホルム内服の役割を一層明確化する上に、またキノホルムによる神経系障害の機序を解明する基礎としても、きわめて重要と考えられた。

本協議会研究報告書第2臨床班研究報告（昭和46年3月）において、われわれの得た最も初期の実験成績の一部をすでに記したが、本編においてはこれまでに得た成績のうち、神経系に関する事項をまとめて報告する。一般的事項については、協同研究者松岡理部会員の報告書に譲る。

I. 研究方法

1 標識キノホルム

^{131}I 標識キノホルムは、最も初期の実験では Haskins らの方法（Amer. J. Trop. Med., 30, 599, 1950）に従って自ら合成したもの、後には第1ラジオアイソトープ研究所で合成されたものを、 ^{14}C 標識キノホルムは第1化学で合成されたものを用いた。 ^{131}I 標識キノホルムの一部と ^{14}C 標識キノホルムの全部は、本協議会で一括購入の上分与されたものである。これらの比放射能、放射化学的純度は表1に、標識部位は図1に示す。

表1 用いた標識キノホルム

核種および名称	比放射能	放射化学的純度	製造者
^{131}I 標識キノホルム	0.19 mCi/m mole	*	自製
	3.9 "	*	
	39.6 "	99%	第1ラジオアイソトープ研究所
^{14}C 標識キノホルム	1.63 mCi/m mole	99%	第1化学

* 融点 $182-3^{\circ}$ の帯黄色針状結晶として得られたことからほぼ純粋とみられる。

2 動物

用いたマウスはすべて CRF-1 (CF # 1 × RF の1代雑種) 雄成熟マウスで体重 30 g 前後のもの計 57 匹、イヌは雑種 1 頭、ビーグル犬 1 頭で、ビーグル犬は本協議会から供与された。別に雑

種犬1頭をRISA投与実験に用いた。マウスの一部は前処置として甲状腺ブロックの目的でNaI溶液を注射した。

3 投与方法

静脈内注射は0.1N NaOH 溶液として尾静脈より、腹腔内および皮下注射はオリーブ油に加熱溶解して行ない、経口投与はオリーブ油に加熱溶解するかCMCで乳化するかあるいは水懸濁した形で胃ゾンデにて行なった。今回報告する実験成績はすべて標識キノホルム1回投与によるものである。各実験における投与量、投与方法などは表2に一括して示す。

4 放射能検出法

1) 凍結マクロオートラジオグラフィ

Ullberg 原法の松岡変法(Radioisotopes, 21, 39, 1972)により行なった。すなわち標準化物質を投与した動物を、マウスの場合はクロロホルム吸入によって、 ^{131}I 標識キノホルム犬の場合は動脈血放血、RISA投与犬の場合にはKCl 静注によって殺した後、マウスの場合は全身を、イヌの場合は摘出臓器をドライアイスアセトン混液で 結し、これをマイクロトームで20~60 μ の切片とし、結状態のまま乾燥した後、工業用X線フィルムサクラタイプNまたはタイプN特型(片面塗布)にコンタクトし、露出現像した。フィルムの上では標識化物質の存在部位は黒化として示される。

2) サンプル計測(液体シンチレーション計測法)

標識化物質に含む組織サンプル(湿重量100 mg以下)に、2 mlのSoluecne TM-100 を加え、60°まで加温して溶解した後、トルエンにPOPOおよびPPOをそれぞれ0.1g, 5g/1の割合で加えて作ったシンチレーター10 mlを加え、Beckman LS-100 Liquid scintillation systemにて測定した。測定誤差は5%以下である。クエンチングによる計数効率低下の補正は、マウス組織に既知量の ^{14}C 標識トルエンを加えて作ったクエンチングスタンダードについて、外部標準線源チャンネル比と計数効率の関係を示す曲線を作り、これを用いて行なった。

II. 成績

1 マウスによる実験成績

1) ^{131}I 標識キノホルムの分布(マクロオートラジオグラム)

a 静脈内投与

1時間後：脳脊髄には背景にくらべ有意の黒化があるが、血液のそれよりは低い 坐骨神経、傍

5-Chloro-7-Iodo-8-Hydroxy-Quinoline

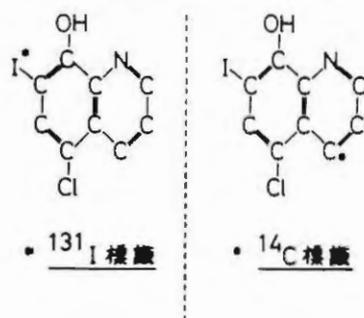


図1 標識キノホルム

表2 動物および標識キノホルムの投与方法など

動物番号	標識キノホルム		投与方法および量				投与から屠殺までの時間	実験目的	
	核種	剤形	経路	$\mu\text{Ci}/\text{animal}$	mg/animal	ml/animal			mg/kg 体重
QI-V-7 QI-V-8,9,10	^{131}I	0.1 N NaOH	i.v.	2.0	1.5	0.3	45	1 hr.	マクロオート
		加熱溶液		8.1	1.0	0.3	30	1 hr.	
QI-P-6 QI-P-9,10,11 QI-P-7 QI-P-12,13	^{131}I	オリーブ油	i.p.	2.5	2.0	0.6	60	1 hr.	マクロオート
		加熱溶液		15.6	1.9	1.0	58	1 hr.	
				25.0	2.0	0.6	60	24 hr.	
				15.6	1.9	1.0	58	24 hr.	
QC-V-1 QC-V-8 QC-V-13 QC-V-3,4 QC-V-5,6	^{14}C	0.1 N NaOH	i.v.	7.9	1.5	0.3	45	1 hr.	マクロオート
		加熱溶液		10.5	2.0	0.4	60	1 hr.	
				7.5	1.4	0.3	43	6 hr.	
				7.9	1.5	0.3	45	24 hr.	
				7.9	1.5	0.3	45	48 hr.	
QC-P-53 QC-P-51 QC-P-52	^{14}C	オリーブ油	i.p.	10.0	1.9	0.6	56	2 hr.	マクロオート
		加熱溶液		10.0	1.9	0.6	56	6 hr.	
				10.0	1.9	0.6	56	24 hr.	
QC-O-24 QC-O-17 QC-O-20 QC-O-18 QC-O-19 QC-O-22	^{14}C	CMC乳化	p.o. (胃管 挿入)	8.7	1.6	0.13	49	2 hr.	マクロオート
				20.0	3.8	0.25×2	115	2 hr.	
		オリーブ油		8.7	1.6	0.13	49	6 hr.	
		加熱溶液		25.6	4.9	0.25×4	145	24 hr.	
		CMC乳化		40.0	7.6	0.25×4	229	24 hr.	
				8.7	1.6	0.13	49	24 hr.	
QC-P-13~18 QC-P-19~24 QC-P-25~30 QC-P-31~36 QC-P-37~42	^{14}C	オリーブ油	i.p.	4.0	0.76	0.23	23	1 hr.	サンプル計測
		加熱溶液		4.0	0.76	0.23	23	6 hr.	
				4.0	0.76	0.23	23	24 hr.	
				4.0	0.76	0.23	23	48 hr.	
				4.0	0.76	0.23	23	7 days	
*QC-P-D1 **QC-P-D2	^{131}I	オリーブ油	i.p.	5,000	38.5	20	9.6	24 hr.	マクロオート
		加熱溶液		8,000	47.2	24	7.8	24 hr.	

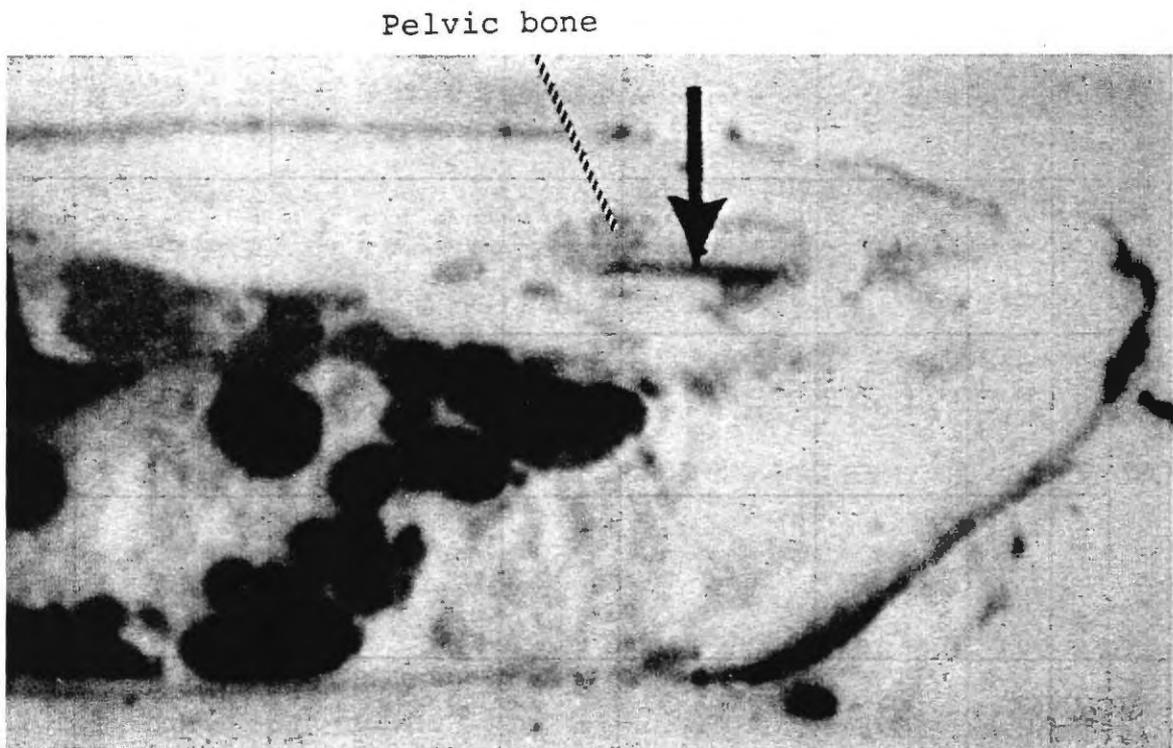
*イヌ(雑種), **イヌ(ビーグル), 他はマウス(計57匹)

脊柱部の脊髄神経（以下単に脊髄神経と呼ぶ）、三叉神経根、および骨格筋の黒化は、血液と同等かまたはこれよりやや高い。

b 腹腔内投与

1時間後：脳脊髄には背景に比べ有意の黒化があるが、骨格筋のそれよりやや低く、いずれも血液のそれよりは低い。なおこのマウスの切片単位面積あたりの放射能計測値（ウエル型シンチレーションカウンターで測定）は、脳：血液＝1：11であった。

24時間後：脊髄白質および脳には背景とくらべほとんど有意の黒化は認められない。坐骨神経、脊髄神経には明らかな黒化があり、血液のそれよりも高い（図2）。脊髄中心部（灰白質）の黒化は脊髄白質のそれよりやや高い。



矢印は坐骨神経を示す。

図2 ^{131}I 標識キノホルム投与マウスの下半身マクロオートラジオグラム
（60 mg/kg 腹腔内注射24時間後）矢状断

2) ^{14}C 標識キノホルムの分布—その1（マクロオートラジオグラム）

a 静脈内投与

1時間後：脳脊髄には背景に比べ有意の黒化がある。骨格筋の黒化はこれと同等またはやや高い程度で、三叉神経根、および坐骨神経にはこれらよりもさらに高い黒化が認められる。しかしいずれも血液のそれよりは低い。（図3）

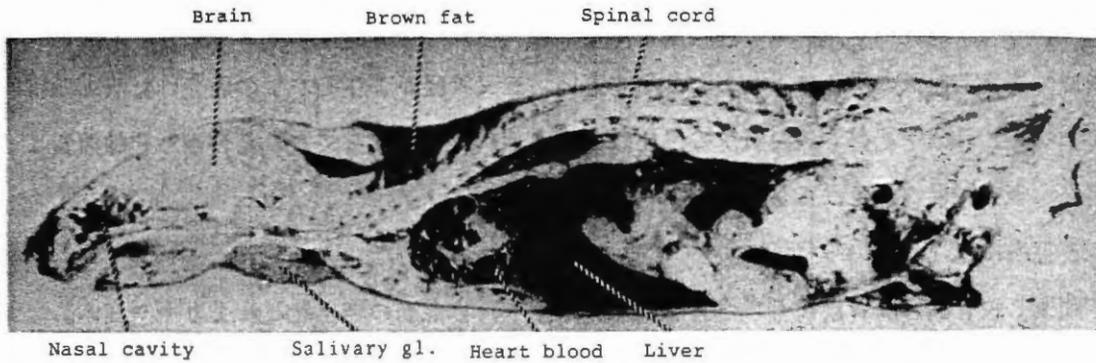
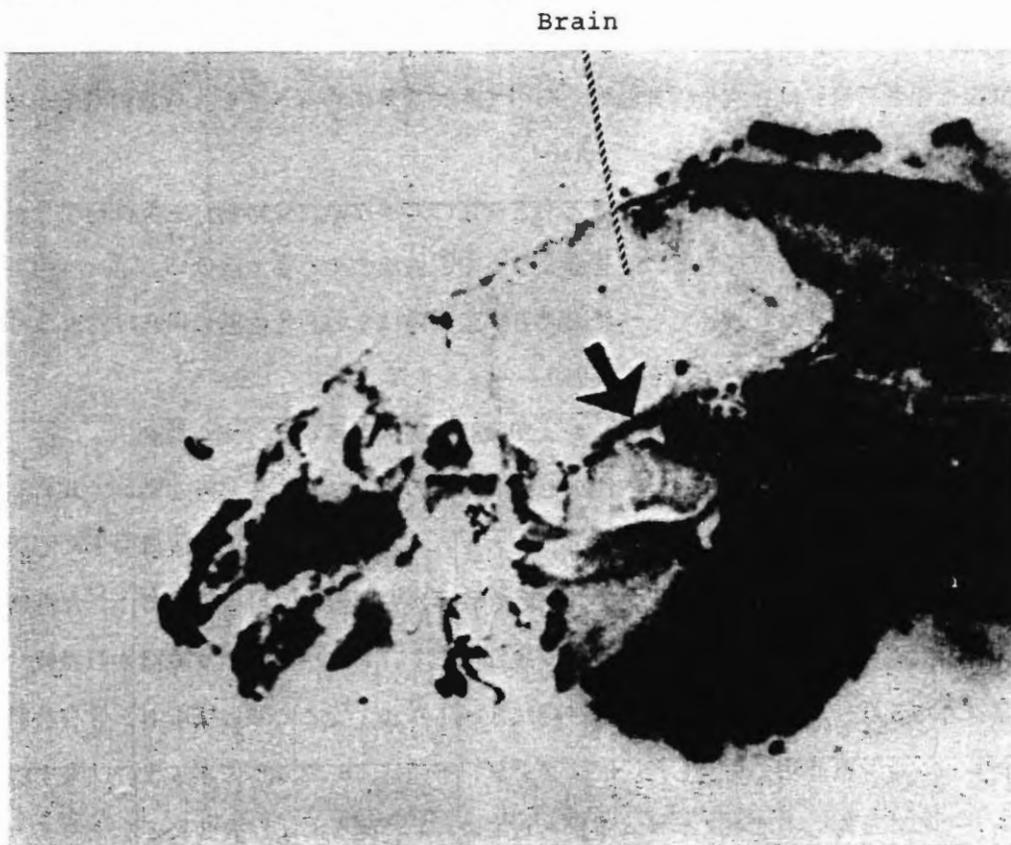


図3 ^{14}C 標識キノホルム投与マウスの全身マクロオートラジオグラム
(60 mg/kg 静注1時間後) 矢状断

6時間後：脳脊髄の黒化は背景よりやや高い程度である。三叉神経およびその根(図4)，脊髄神経，および骨格筋には脳脊髄にくらべて高い黒化があるが，いずれも血液のそれよりは低い。三叉神経およびその根の黒化は，脊髄神経や骨格筋よりもやや高い。



矢印は三叉神経(根部)を示す。

図4 ^{14}C 標識キノホルム投与マウスの頭部マクロオートラジオグラム
(43 mg/kg 静注6時間後) 矢状断

24時間後：脳脊髄の黒化は背景とほとんど同程度で，骨格筋の黒化はこれよりやや高い程度であるが，いずれも血液のそれよりは低い。坐骨神経，脊髄神経の黒化は血液のそれより高い。なおこの時点で脊髄中心部(灰白質)の黒化が脊髄白質のそれよりやや高くなっているのが認められるが，血液のそれよりは低い。

48時間後：脊髄白質および脳の黒化は背景にくらべほとんど有意の差がない。骨格筋の黒化もほぼ同様である。血液の黒化はこれらよりやや高い。三叉神経およびその根の黒化は血液とほぼ同程度であるが、脊髄中心部（灰白質）の黒化は血液のそれより（従ってこの場合当然脊髄白質よりも）高く、坐骨神経の黒化はさらに高い。

b 腹腔内投与

1時間後：脳脊髄には背景にくらべ有意の黒化があり、骨格筋の黒化はこれよりやや高い。坐骨神経、三叉神経根の黒化は骨格筋とほぼ等しい。脊髄中心部（灰白質）の黒化は脊髄白質のそれよりやや高い。これらはいずれも血液のそれよりは黒化が低い。

6時間後：脳脊髄の黒化は背景よりわずかに高い。骨格筋、および坐骨神経の黒化はこれよりやや高く、たがいにほぼ等しい。三叉神経根の黒化はこれらよりやや高い。眼球外膜（網膜、脈絡膜および鞏膜をあわせたもの）にはこれよりさらに高い黒化がある。しかしこれらはいずれも血液のそれよりは低い。

24時間後：坐骨神経には血液や脳脊髄にくらべても、背景にくらべても、有意の黒化がある。

c 経口投与

2時間後：脳脊髄の黒化は背景にくらべほとんど有意の差がない。骨格筋、三叉神経根、および坐骨神経の黒化はたがいにほぼ等しく、脳脊髄より高く、血液のそれよりは低い。

24時間後：脳脊髄の黒化は背景にくらべほとんど有意の差はない。骨格筋の黒化はこれよりやや高く、脊髄神経、坐骨神経の黒化はさらに高い。

3) ^{14}C 標識キノホルムの分布—その2, および臓器組織別滞留（サンプル計測）

^{14}C 標識キノホルムを2.3 mg/kg腹腔内注射した30匹のマウスを、投与後1時間、6時間、24時間、48時間、および7日間の5つの時点で、それぞれ6匹ずつクロロホルム麻酔下に心臓血を0.1 ml採取し、できるだけ放血した後、坐骨神経（膝窩から骨盤に入る直前まで）、骨格筋（大腿直筋）、脳（大脳半球）、および皮下脂肪（側腹部皮下）、および肝臓の6臓器から組織サンプル（湿重量にして50～100 mg、但し坐骨神経は5～10 mg）をこの順に採取し、含有放射能を液体シンチレーション計測法で測定した。バックグランド値は28.3 dpmであった。結果を組織単位湿重量あたりのdpmもしくはキノホルム重量として表わし、図5および表3に示した。

a 各時点における分布

1時間後：肝臓および皮下脂肪内濃度は血液内のそれより高く、坐骨神経は血液と有意の差はなく、骨格筋と脳は血液より低い。

6時間後：肝臓および坐骨神経内濃度は血液のそれより高く、皮下脂肪よりやや高い。骨格筋は血液とほぼ同レベルで、脳内濃度はこれらより低い。

24時間後：肝臓および坐骨神経内濃度は血液のそれより高く、皮下脂肪と骨格筋は血液よりやや低く、脳はさらに低い。

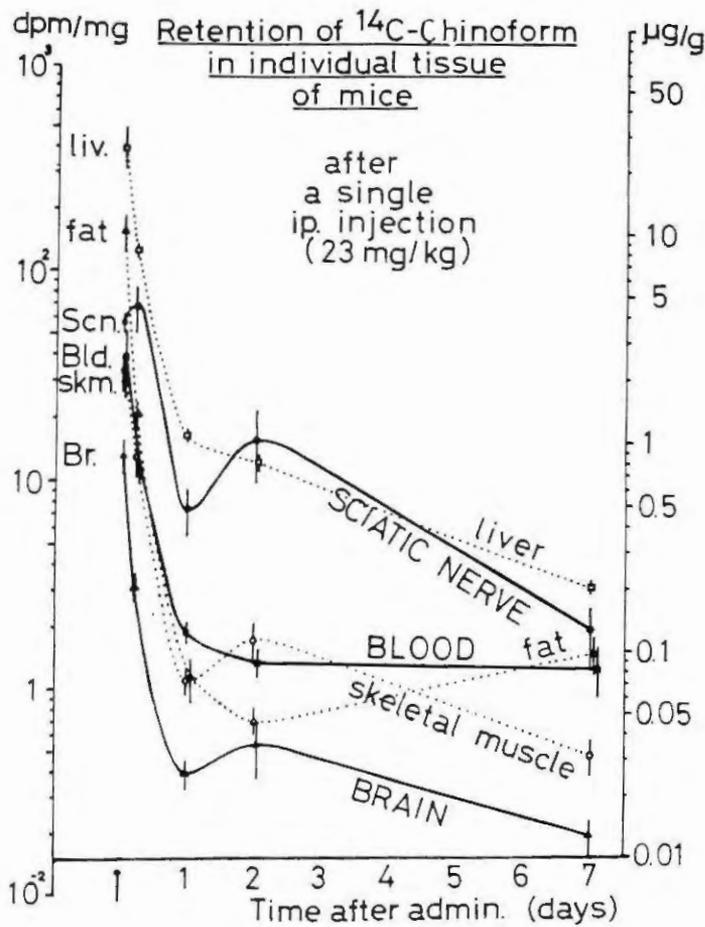


図 5

表 3 ¹⁴C 標識キノホルム投与マウスの組織内濃度

臓器 投与 後時間	血 液	坐骨神経	脳	骨 格 筋	皮下脂肪	肝 臓
1 時間	4.217 ± 0.812 (100.0)	3.461 ± 0.361 (82.1)	0.800 ± 0.143 (19.0)	2.030 ± 0.414 (48.1)	9.555 ± 1.975 (226.6)	25.910 ± 5.948 (614.4)
6 時間	0.769 ± 0.083 (18.2)	4.346 ± 1.067 (103.1)	0.195 ± 0.022 (4.6)	0.812 ± 0.158 (19.3)	1.250 ± 0.170 (29.6)	8.411 ± 0.653 (199.5)
24 時間	0.119 ± 0.013 (2.8)	0.424 ± 0.090 (10.1)	0.022 ± 0.004 (0.5)	0.062 ± 0.014 (1.5)	0.069 ± 0.017 (1.6)	1.043 ± 0.088 (24.7)
48 時間	0.075 ± 0.007 (1.8)	1.014 ± 0.367 (24.1)	0.033 ± 0.010 (0.8)	0.105 ± 0.022 (2.5)	0.082* ± 0.028 (2.0)	0.785 ± 0.063 (18.6)
7 日間	0.084 ± 0.018 (2.0)	0.163 ± 0.032 (3.9)	0.017 ± 0.004 (0.4)	0.035 ± 0.006 (0.8)	0.141 ± 0.033 (3.3)	0.218 ± 0.010 (5.2)

単位は、組織単位湿重量当りのキノホルム重量 (µg/g)。数値は平均値 (マウス 6 匹の平均値) ± 標準誤差を示す。() 内は、1 時間後の血液内濃度を 100 とした場合の相対的濃度を示す。

低く、脳はさらに低い。

48時間後：坐骨神経と肝臓内濃度は血液のそれより高く、骨格筋と皮下脂肪も血液よりやや高く、脳は血液より低い。

7日後：肝臓、坐骨神経、および皮下脂肪内濃度は血液のそれより高く、骨格筋と脳は血液より低い。

b 各臓器組織内滞留

血液内滞留：血液内濃度は初期に急激に低下した後、24時間以後は比較的一定した値を保つ。

坐骨神経内滞留：坐骨神経内濃度は1時間値と6時間値の間で著差なく、24時間で一旦下降した後48時間で増加し、後再び低下する。1時間値は血液のそれと有意の差がないが、6時間、24時間、および48時間値は血液のそれの数倍以上である。7日後には再び血液と著差がなくなる。

脳内滞留：初期に一路減少した後、48時間でやや増加の傾向を示し、後再び低下する。脳内濃度は終始血液のそれよりも低い。

その他：骨格筋内濃度は血液のそれと比較的近接した値をとりながら経過するが、坐骨神経や脳と同じように48時間でやや増加の傾向を示す。皮下脂肪内濃度は最も初期には血液の2倍以上の高値を示すが、その後急減し、24時間以後は血液と著差がない。肝臓内濃度は初期に速やかに後には緩やかに減少し、終始血液のそれより高い値を示す。

2 イヌによる実験成績

1) R I S A の雑犬における分布 (マクロオートラジオグラム)

ネンブタール麻酔下に5mCiのR I S A (^{131}I 標識血清アルブミン、比放射能0.5mCi/mg、第1ラジオアイソトープ研究所製)を静注し、10分後KC1の静注で殺した、体重3kgの雄成犬(雑種)のマクロオートラジオグラムでは、脊髓横断面で灰白質に白質より強い黒化を認め、脊髓軟膜に著明な黒化を認めた。脳では血管断面と軟膜に著明な黒化があり、脳実質ではほぼ一様な弱い黒化を示した。

これらR I S Aの分布像は血液分布を反映するものである。

2) ^{131}I 標識キノホルムの雑犬における分布 (マクロオートラジオグラム)

ネンブタール麻酔下に5mCiの ^{131}I 標識キノホルムを腹腔内注射(10mg/kg)し、24時間後ほぼ完全に動脈血放血して殺した、体重4kgの雄成犬(雑種)のマクロオートラジオグラムの所見は下記のとおりである。なお異なる臓器の黒化の比較は、それらの切片を同一フィルム上に並べて露出したものによって行なった。

a 脳脊髄

脳では、脳室脈絡叢と軟膜にやや強い黒化があるほかは、実質では全体に黒化の度が低く、内部構造の差による差異の度合はごく僅かであったが、例えば大脳皮質と皮質下の髄質とでは髄質がや

や高く，脳梁の白質の黒化は皮質下髄質よりやや低く，海馬采のそれは皮質下髄質のそれよりやや高かった。海馬は外套部皮質より黒化がやや低い。

脊髄では，軟膜にやや強い黒化がある。実質の黒化はこれよりかなり低く，頸髄，胸髄，および腰髄の3レベルのいずれにおいても横断面，縦断面上の分布はほぼ均一で，例えば頸髄Gol1束や腰仙髄錐体路に特に黒化が強いというようなことはなかった。また頸髄，胸髄，腰髄の3レベルの相互の比較では，わずかに頸髄の黒化が強いかと思われたが，著差はなかった。（図6）

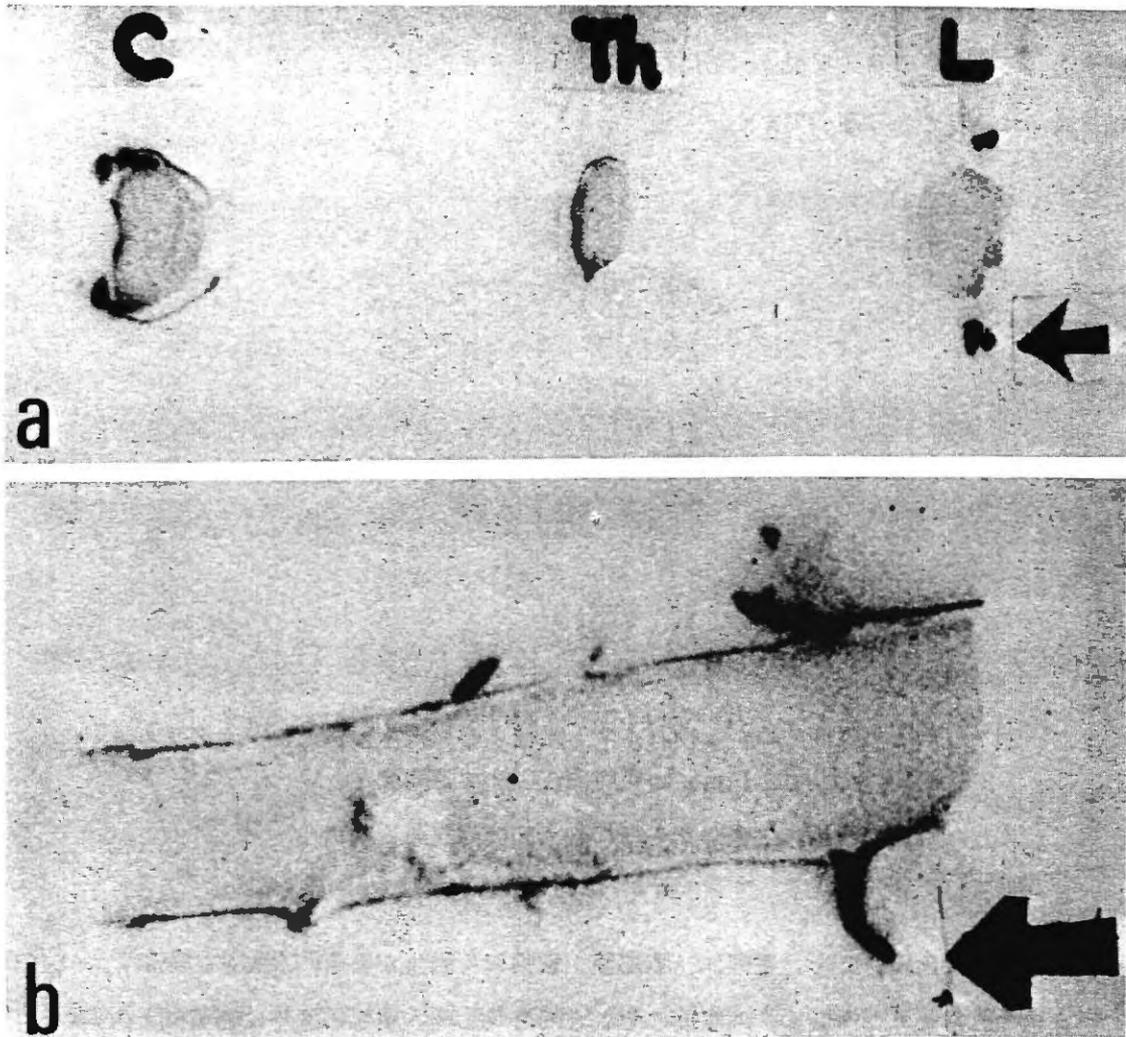


図6 ^{131}I 標識キノホルム投与犬（雑種）のマクロオートラジオグラム
（10 mg/kg 腹腔内注射24時間後）

- a 脊髄横断面 C：頸髄， Th：胸髄， L：腰髄
（C， Th は紙面に向って左が， Lは向って右が腹側） } 矢印は脊髄神経根
- b 脊髄縦断面（紙面に向って右が頭側）

b 脊髄神経根, 脊髄後根神経節, 坐骨神経

これらの黒化はたがいにほぼ等しく, 脊髄実質より一段と強く, 視神経より強く, また前根と後根の黒化に著差は認められなかった。(図6)

c 網膜, 視神経, 視索

網膜の黒化は強く, 全身で最も強い黒化を示す腎臓や肝臓の次に位する。視神経の黒化はこれよりかなり弱い。網膜の黒化は次のような所見から推定された。すなわち, たまたま3層に分離した眼球外膜において最内層は最も強い黒化を示すが(図7), この層は凍結乾燥切片との比較対照から黒色素を有する層より内側にある。有色素層は網膜の最外層であるので, この最内層は網膜に一致する。なお有色素層にも黒化が強く, このことは視束乳頭部で有色素層が途切れるのに伴ない黒化も途切れることから確かである。

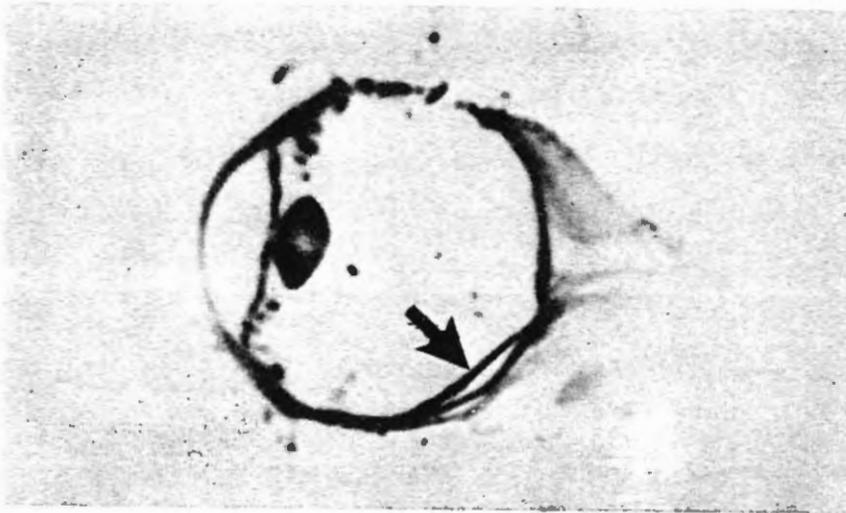


図7 ^{131}I 標識キノホルム投与イヌ(雑種)のマクロオートラジオグラム
(10 mg/kg 腹腔内注射24時間後)

眼球の水晶体辺縁部ならびに視束乳頭部を通る剖面
矢印は網膜

このほか眼では角膜, 虹彩, 毛様体, 脈絡膜, 鞏膜にも黒化がある。水晶体辺縁部, および視神経の黒化はこれらよりやや低く, 外眼筋のそれとほぼ等しい。視索の黒化は脳実質と大差なく, 視神経とほぼ等しいと推定される。

3) ^{131}I 標識キノホルムのビーグル犬における分布(マクロオートラジオグラム)

ネンブータル麻酔下に8 mCi の ^{131}I 標識キノホルムを腹腔内注射(7.9 mg/kg)し, 24時間後ほぼ完全に動脈血放血を行なって殺した, 体重6 kgの雌成犬(ビーグル)のマクロオートラジオグラムの所見は次のとおりである。

a 脊髄

脊髄実質の黒化はきわめて弱く, 背景にくらべほとんど有意の差異がない。脊髄軟膜には黒化が

ある。脳については現在実験が進行中である。

b 脊髄神経根, 脊髄後根神経節, 脊髄神経

これら3組織の黒化はたがいにほぼ等しく, かなり強い。前根と後根にはいずれにも黒化があるが, 後根の黒化が前根のそれよりやや強いところもある。(図8)

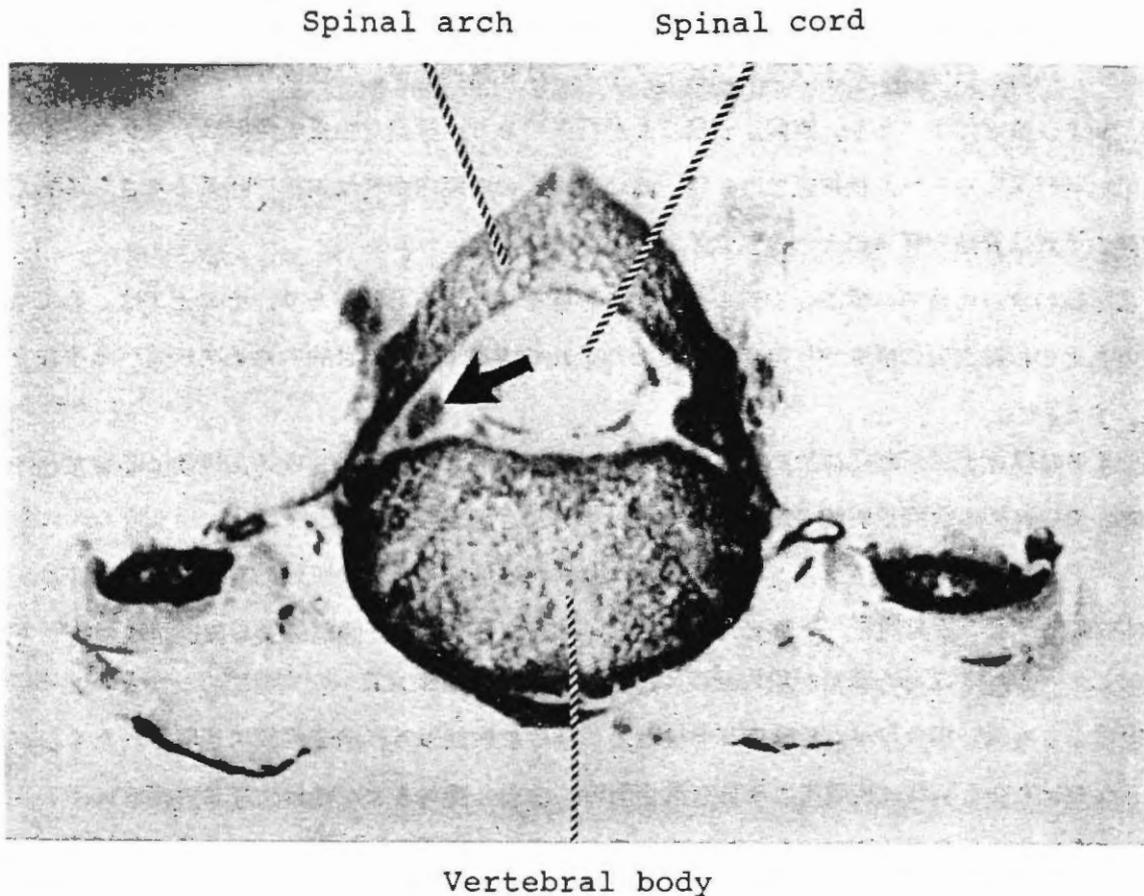


図8 ^{131}I 標識キノホルム投与イヌ(ビーグル犬)のマクロオートラジオグラム
(7.9 mg/kg腹腔内注射24時間後)

最下部胸椎の横断面。 矢印は脊髄(腰髄)後根神経節

o 視神経, 眼球外膜

眼球外膜(網膜, 脈絡膜および鞏膜をあわせたもの)には強い黒化があり, 2層に分離したいずれにも黒化があるが, 網膜の同定を可能にするような分離部位は, この実験で得たマクロオートラジオグラムにはなかった。水晶体辺縁部にも黒化がある。角膜の黒化はこれらよりやや低い。前眼房や硝子体には斑状黒化の不規則な集合をみるところもある。視神経にも黒化があるが, 角膜にくらべ一段と低い。

III 考察

1 神経系への摂取と分布

放射性標識キノホルム投与マウスおよびイヌ(雑種およびビーグル)の神経系組織には放射能が明

らかに検出された。すなわち標識化物質がそこに存在していた。これは、凍結マクロオートラジオグラムでその部に背景にくらべ明らかに強い黒化があったこと、およびサンプル計測でどのマウス群についても平均値としてはバックグラウンド値にその 3δ (δ は標準偏差値)を加えた値以上の放射能が計測されたことから確かである。この意味で標識化物質が確認されたのは、マウスでは脳、脊髄、三叉神経およびその根、脊髄神経、および坐骨神経、雑犬では脳、脊髄、脊髄神経根、脊髄後根神経節、坐骨神経、網膜、視神経、および視索、ビーグル犬では脊髄神経根、脊髄後根神経節、脊髄神経、視神経、および眼球外膜であり、実験は一部なお進行中である。標識化物質の濃度は、マウス、イヌともに中枢神経系にくらべ末梢神経では一段と高い。イヌの網膜内濃度は末梢神経系よりさらに高く、視神経のそれは脊髄神経系のそれより低く、脳よりやや高い。

次に組織の含む血液内の標識化物質の放射能の影響を除外する必要がある、その上ではじめて血液を除いたその組織実質の摂取が推定される。われわれの実験ではこの目的のため次に述べる手段をとった。すなわち、

(1) イヌはほぼ完全に動脈血放血を、サンプル計測に用いたマウスはできるだけ多く心臓放血を行なった。このため血液内放射能の影響はかなり減少したと考えられる。

(2) マクロオートラジオグラフィに用いたマウスでは心臓内や大静脈内の血液部分の黒化を、イヌでは放血動脈血の放射能を、それぞれ評価あるいは計測し、これを問題とする臓器組織のそれと比較検討した。後者すなわち臓器組織内濃度よりも高ければ、組織実質への摂取があったといえる。前者が後者よりも低い場合には、組織内に含まれる血液の放射能以外に組織実質に摂取されたものがあるかどうかを決めるには、組織内血液含有量を同時に知る必要がある、これは容易ではない。

(3) マクロオートラジオグラムを、R I S A投与で得た血液分布とくらべ、両者が一致平行していないならば血液放射能以外の因子の関与恐らくは組織実質の摂取があったと推定される。

かかる検討の結果は次のごとくである。

すなわち、投与後24時間、および48時間のマウスの脊髄神経、坐骨神経では、組織内濃度が血液内濃度より高いことが示されたので、組織実質の摂取があったといえる。これは投与法を問わない。投与後24時間の雑犬の末梢神経系と網膜、ならびにビーグル犬の末梢神経系については、動脈血放血で血液含量が減っておりしかもその血液の放射能が低いこと、および凍結オートラジオグラム上の黒化度が背景にくらべかなり強いことなどから、組織実質の摂取が推定される。これに対して脳脊髄については、マウスでもイヌでも一般に摂取レベルが低く、しかもほとんど常に血液内濃度よりマウスでは低く、むしろいわゆる血液脳関門の存在が示唆された。

ただし、48時間後のマウスでは脊髄中心部(灰白質)の黒化が白質のそれより高く、しかも血液のそれよりも明らかに高く、組織実質の摂取があったことが示された。また投与後24時間の雑犬の脊髄では、灰白質と白質がたがいに等しい均一な分布を示し、血液分布を示すR I S Aのそれと著しく異なっていた。

2 神経系における滞留

標識キノホルム投与後のマウスの組織内標識化合物濃度は、血液の場合1時間から6時間の間にほぼ1/5に低下し、他の被検臓器でもすべて低下しているのに、坐骨神経ではほぼ同じレベルに保たれている。また24時間から48時間の間に血液内濃度はゆるやかに低下するのに対し、坐骨神経、脳、骨格筋、皮下脂肪などは逆に軽度の増加を示すが、この中で坐骨神経内濃度の増加は約2.4倍でもっとも高い。このようにして坐骨神経では、初期に到達した高濃度が他の被検臓器にくらべ比較的長く(少なくとも48時間後までは)保たれる。この意味で、坐骨神経については標識キノホルム投与後の標識化合物の滞留傾向が強いといえる。

脳については濃度が低く、しかも常に血液のそれよりも低いので、組織実質内の滞留について論ずることは難しい。

3 その他

今回得られた実験成績の中には、標識キノホルムに対するいわゆる血液脳関門の存在を示唆する所見がみられた。例えば、マウスの脳内濃度は血液のそれよりも常に低く、また、イヌの脊髄神経根が髄外から髄内に入る途端に凍結マクロオートラジオグラム上の黒化が格段に低下し、中枢神経系の一部とみなされる視神経には脊髄神経根ほど強い黒化がみられなかった。

われわれの得た¹³¹I標識キノホルムのイヌの神経系における分布を模式的に表わしたのが図9 b.である。一方、慢性キノホルム中毒犬やヒトのSMONの病理組織学的変化の分布を図9 a.に示した。両者の一致不一致を仔細に比較検討すると、例えば病理学的に最も顕著な変化のみられる末梢神経には強い摂取があり、また著明な摂取を示す網膜ではその神経細胞層に著しい病理組織学的変化があることが最近指摘されている。一方中枢神経系における摂取は末梢神経系にくらべはるかに弱く、病理組織変化も特定の神経索を除けば一般には中枢神経系には乏しく、あっても通常は軽い。このように、全体としての摂取のパターンはSMONの病理に矛盾するものではないと考えられる。

頸髄のGol1束には一般に病理組織変化が強く、視索に強い変化をみる例も少なくないが、標識キノホルムの摂取はここには特に強くはなく、むしろ親細胞の存在する脊髄後根神経節や網膜に強い摂取があった。このことはSMONないしキノホルム中毒によるニューロンの変性様式について、1つの示唆を与えるもので、親細胞の代謝障害の結果ニューロンの突起の末端部から変性が始まり、次第に近位へも波及する、いわゆるDying-back neuropathyの変性機序が本症においても関与しているように見えるのであるが、確かなことは今後の慎重な検討にまたねばならない。また、腰仙髄側索については、そこにも、また親細胞部位にも標識化合物の摂取は弱く、この点別途の考慮が必要である。

いずれにしても今回の分布実験はすべて1回投与によるもので、反復投与の際これらの結果がある程度修飾される可能性もないではない。これは今後に残された重要な研究課題である。

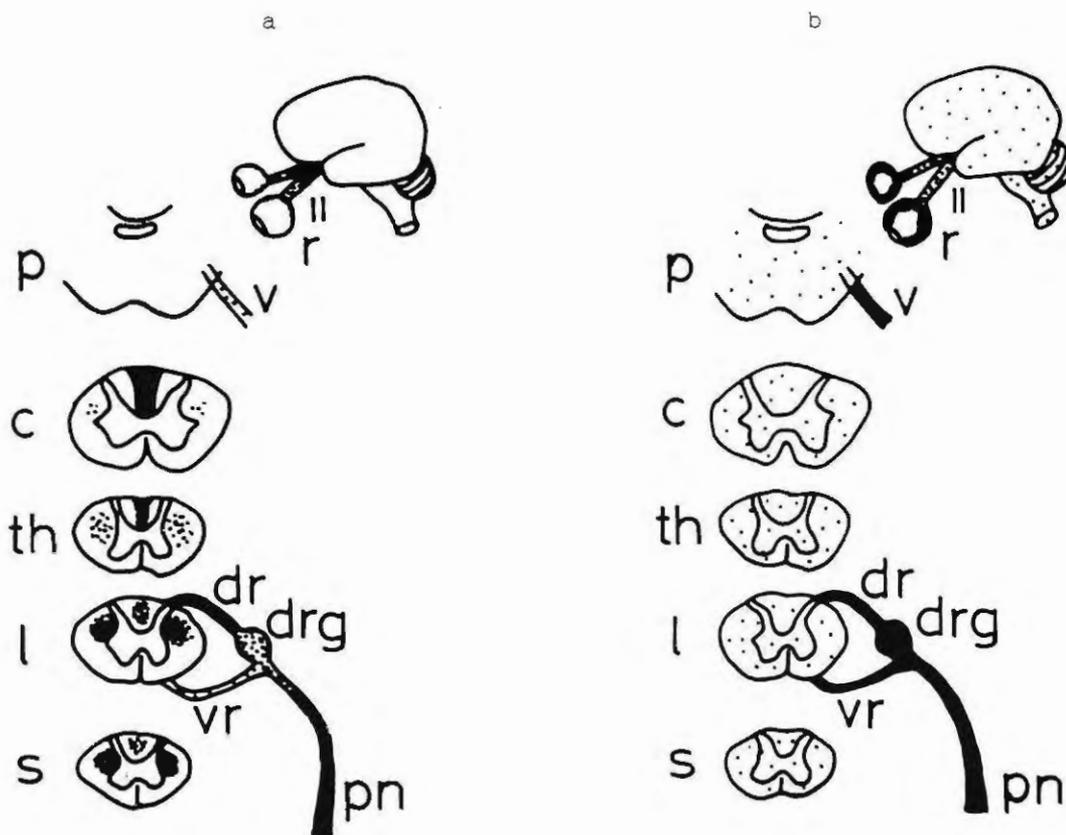


図9 標識キノホルムの分布と、病理組織学的変化の対比

- a SMONまたは慢性キノホルム中毒犬にみられる神経系の病理組織学的変化の分布
(黒い部分が病変を示す)
- b イヌにおける ^{131}I 標識キノホルムの分布 (黒い部分が標識化合物の存在部位を示す)
(ただしほぼ 10 mg/kg 腹腔内1回投与24時間後における分布像である)

II	: 視神経	l	: 腰髄
r	: 網膜	s	: 仙髄
v	: 三叉神経根	vr	: 脊髓前根
p	: 橋	dr	: 脊髓後根
c	: 頸髄	drg	: 脊髓後根神経節
th	: 胸髄	pn	: 末梢神経

またこの実験では、標識化合物がどのような化学形態をとっているかについては直接の情報はない。ただし、これまでに行なった一連の実験の中で、ヨ一素遊離に関してはこれが投与後1時間以後24時間までの間に、数%程度起きているのではないかと考えられる成績を得た(松岡理部会員の報告参照)。

IV 総括および結論

^{131}I 標識および ^{14}C 標識キノホルムを用い、マウスとイヌ(雑種およびビーグル)で、1回投与後の神経系への摂取と分布、および滞留について、凍結マクロオートラジオグラフィーおよび液体シン

チレーション計測法によるサンプル計測によって検討した。その結果

- 1 体内に入ったキノホルムは神経系にも入る,
- 2 神経系の中では,末梢神経系および網膜に強く入る,
- 3 末梢神経系に入ったキノホルムは,そこに滞留する傾向が強い,

以上の結論を得た。

V 発表文献

1 原者発表

- 1) 高須俊明, 豊倉康夫, 松岡理: 放射性標識によるキノホルムのマウス体内分布(1971), 医学のあゆみ, 79, 25.
- 2) 高須俊明, 豊倉康夫, 松岡理: イヌにおける¹³¹I標識キノホルムの分布および代謝—とくに網膜および視神経への摂取(1971), 医学のあゆみ, 79, 75.
- 3) 高須俊明, 豊倉康夫, 松岡理: キノホルム(5-Chloro-7-Iodo-8-Hydroxy-Quinoline)の神経系に対する作用機序の研究—第1報¹³¹I標識キノホルムのマウス消化管からの吸収, 全身滞留, および分布—(1972), 臨床神経学, 12, 131.
- 4) 高須俊明, 豊倉康夫, 松岡理: イヌの神経系への¹³¹I標識キノホルムの摂取(1972), 医学のあゆみ, 81, 397.

2 本協議会における発表

- 1) 高須俊明, 中西孝雄, 豊倉康夫(東大脳研神経内科); 松岡理, 栗栖明, 池上四郎(科学技術庁放医研): ¹³¹I標識キノホルムのマウス体内滞留および分布, 昭和45年度第3回総会(昭和46年3月2日)
- 2) 豊倉康夫: SMONの臨床, 神経病理ならびに病因に関する研究, スモン調査研究協議会研究報告書, №2, 臨床班研究報告(昭和46年3月)
- 3) 高須俊明, 豊倉康夫; 松岡理: ¹⁴C標識キノホルムによるキノホルムの生体内分布および代謝の研究, ならびに¹³¹I標識の場合との比較, キノホルム部会第1回研究会(昭和46年7月24日)
- 4) 高須俊明, 豊倉康夫; 上野日出男; 松岡理: イヌにおける放射性標識キノホルムの分布および代謝の研究(第1報), キノホルム部会第1回研究会(昭和46年7月24日)
- 5) 高須俊明, 豊倉康夫; 上野日出男; 松岡理: イヌにおける¹³¹I標識キノホルムの臓器分布(マクロオートラジオグラフィ), キノホルム部会第1回研究会(昭和46年7月24日)
- 6) 高須俊明, 豊倉康夫; 松岡理: 標識キノホルムによる代謝・分布の研究(第3報), 1. 消化管からの吸収, および組織内分布に関する補遺, キノホルム部会第2回研究会(昭和46年12月15日)
- 7) 高須俊明, 豊倉康夫, 松岡理: 標識キノホルムによる代謝・分布の研究(第3報), 4. イヌにおけるキノホルムの分布・代謝とくに神経系への摂取, キノホルム部会第2回研究会(昭和46年12月15日)

3 学会発表

- 1) 高須俊明, 豊倉康夫; 日本内科学会総会第68回講演会, 演題50への追加討論(昭和46年4月3日), 日内会誌, 60, 997, 1971(抄録)
- 2) 豊倉康夫: 日本神経学会第12回総会, 会長講演(昭和46年4月4日)
- 3) 高須俊明, 豊倉康夫; 松岡理: 放射性同位元素による標識キノホルムの動物体内分布および代謝の研究(第1報), 日本神経学会第37回関東地方会, 一般演題(昭和46年5月29日), 臨

床神経学, 11, 781, 1971(抄録).

- 4) 高須俊明, 豊倉康夫; 松岡理: 放射性同位元素による標識キノホルムの動物体内分布および代謝の研究(第2報), 日本神経学会第38回関東地方会, 一般演題(昭和46年9月11日), 臨床神経学, 12, 220, 1972(抄録).
- 5) 高須俊明, 豊倉康夫; 松岡理: 放射性同位元素による標識キノホルムの動物体内分布および代謝の研究(第3報), 日本神経学会第39回関東地方会, 一般演題(昭和46年11月6日), 臨床神経学, 12, 228, 1972(抄録).
- 6) 豊倉康夫, 高須俊明, 塚越広, 東儀英夫; 松岡理; 井形昭弘: 実験動物におけるキノホルム代謝SMONの病因と関連して, 日本内科学会総会第69回講演会, 一般演題(昭和47年4月6日) 日内会誌, 60, 51, 1971(抄録).
- 7) 松岡理; 高須俊明, 豊倉康夫: 標識キノホルムの体内における挙動, 第45回日本薬理学会総会, 一般演題(昭和47年4月28日).
- 8) 豊倉康夫: 動物実験による副作用の予知性—キノホルム中毒としてのSMONを例に, 第45回日本薬理学会総会, シンポジウム(昭和47年4月29日)
- 9) 高須俊明, 豊倉康夫; 松岡理: キノホルムの神経系障害機序の研究, 日本神経学会第13回総会, 一般演題(昭和47年5月13日)

¹³¹I 標識キノホルムの合成の指導を頂いた放医研薬学研究部池上四郎博士, 実験に協力を頂いた放医研研究生永沼真理子学士(現慶応大学薬化研), 放医研障害基礎研究部上島久正修士, 野田豊学士, 研究の便宜をおはかり頂いた東大医学部脳研神経内科中西孝雄講師に感謝の意を表す。

33. 培養神経組織（鶏胚脊髄後根神経節）におけるキノホルムの影響

豊倉 康夫, 別府 宏閑

(東京大・医・脳研・神経内科)

中井 準之助

(東京大・医・解剖学教室)

S M O N の病因としてキノホルムが指摘されて以後、数多くの動物実験によってキノホルムの神経毒性が証明された。しかしキノホルムが如何なる機序によりこのような神経毒性を発現するかという問題、或は発症と投与量の関係等に関しては未だ充分な解明がなされていない。我々は鶏胚脊髄後根神経節の組織培養を用いて次のような幾つかの実験を行ったが、これらの実験によって我々の企図した点は以下の諸点である。

- (1) キノホルム自体が直接に神経毒性を有するか、他の介在因子を必要とするか。
- (2) 毒性を示すとすればその最小中毒量はどれ位か。
- (3) 又、その変化は従来の *in vivo* の中毒実験或はヒトの S M O N の病理所見と如何なる点で類似を示し、如何なる点で異なるか。

I 材料と方法

培養組織としては9-11日鶏胚の脊髄後根神経節を用い、二重カバーグラス法²⁾で培養した。カバーグラスにはコラーゲンを塗布し、1枚につき2ヶの神経節を培養した。培養液は人胎盤血清25%、50%鶏胚抽出液25%、Eagle MEM 50%の組成にグルコースを600 mg%となるように加えたものを用い、3日毎に新しい液と交換した。キノホルムの添加は次のような方法によって行った。

胎盤血清にキノホルムを懸濁させ6℃に一昼夜放置后、3000 r.p.m で30分間遠沈を行い、過量のキノホルムを沈澱させたのち上清をとり、これを0.45μミリポアフィルターで³⁾ろ過してキノホルム飽和血清を作製した。この一部を濃度測定に用い(測定は東大薬学部田村研究室によって行われ、256μg/ccであった)、残りを原液として保存し、要時これを懸濁液作製に用いたものと同じロットの胎盤血清で稀釈し必要な濃度を得た。このようにして各濃度のキノホルムを含む血清を作製したのち、それぞれに鶏胚抽出液、Eagle MEM、グルコースを前記のような比率で加えて培養液を調製した。こうして得た培養液は、キノホルムの含有およびその濃度の如何に拘らずpHは7.6と一定しており、キノホルムを含むという点を除外すれば、その組成は対照の培養液と全く同一と考えられた。

実験はキノホルムの高濃度短期間の作用と低濃度長期間の作用をみるために、急性実験と慢性実験の二つの部分に分れ、更にその各々の場合について、培養初期の幼若神経組織に及ぼす影響と長期培養後の成熟神経組織に及ぼす影響とを検討した。従って、実験全体としては次の4部分から構成されることになる。

i 急性実験

- a) 幼若培養組織への影響
- b) 成熟培養組織への影響

ii 慢性実験

- a) 幼若培養組織への影響
- b) 成熟培養組織への影響

観察は通常光学顕微鏡及び位相差顕微鏡を用い、一定期間後一部はフォルマリン固定し H・E, Nissl 染色を行い、一部は F E A 固定後 Bodian 染色を行った。

i 急性実験

- a) 幼若培養組織への影響

10日鶏胚の脊髄後根神経節を用い、初めからキノホルムを加えた液で3日間培養し、神経線維、シュワン細胞、線維芽細胞等の成長を観察した。培養液中のキノホルム濃度は2, 4, 8, 16, 32 $\mu\text{g}/\text{cc}$ となるように調製し、各濃度につき4枚、計20枚の培養を行った。別に対照としてキノホルムを全く含まない液で3日間培養した一群を加え、これと比較観察した。

- b) 成熟培養組織への影響

9日鶏胚の脊髄神経節をキノホルムを含ませ通常の培養液で暫く培養した後、17 DIV (days in vitro) の時点で検鏡し、髄鞘形成が良好で神経細胞にも変性の殆ど認められない培養組織のみを12枚選び出し、これを無作為に4群に分けた。1群は対照としてキノホルムを含まない従来通りの培養液で培養し、他の3群はキノホルム32 $\mu\text{g}/\text{cc}$ を含む液でそれぞれ1, 2, 3日間培養し対照と比較した。

ii 慢性実験

- a) 幼若培養組織への影響

11日鶏胚10羽から腰部後根神経節のみを80個取り出し、これを無作為に20個ずつ4群に分け、各群をキノホルム2, 4, 8 $\mu\text{g}/\text{cc}$ を含む液、及び対照としてキノホルムを含まない液で17日間培養した。400倍で検鏡し各組について神経線維、神経細胞、シュワン細胞等の成長を比較観察するとともに、それぞれの組で20個中何個の神経節に髄鞘形成が認められるかを毎日記録し髄鞘形成曲線を作製した。この際神経節1個あたりに形成された髄鞘の多寡は問題とせず all or none で判定した。

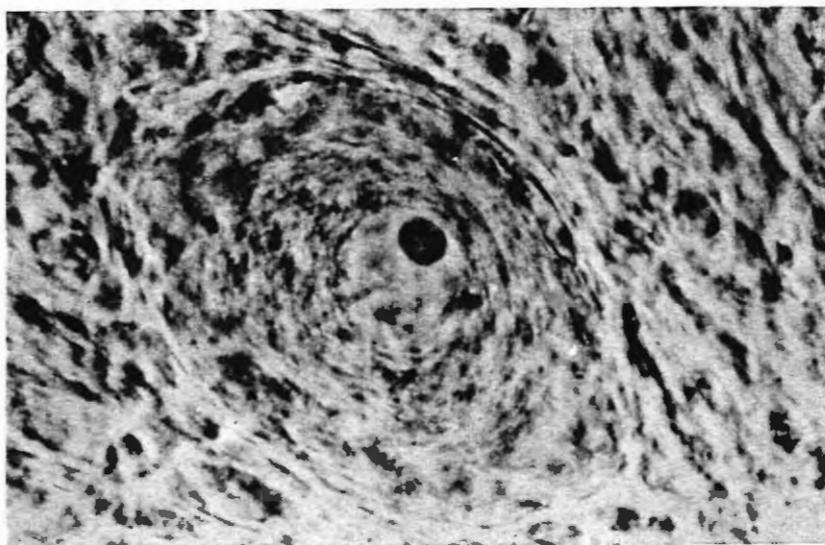
- b) 成熟培養組織への影響

11日鶏胚の脊髄神経節を4週間キノホルムを含まない通常の培養液で培養した後、髄鞘形成が良好でかつ同程度に揃った8枚を選び、これを2枚ずつ4群に無作為的に分けた。各々を4, 8, 16 $\mu\text{g}/\text{cc}$ のキノホルムを含む液及び対照として全くキノホルムを含まない液で28 DIV から45 DIV迄の17日間培養し比較した。

I 結果

正常対照培養所見：9—11日鶏胚の脊髄後根神経節を上記の方法で培養した場合の正常対照所見は以下の如くである。通常移植后12時間位で組織片の周辺から放射状に神経線維が伸び出し、同時にシュワン細胞、線維芽細胞の増殖も周辺に向って進行する。このようにして約10日間は活潑な成長と細胞分裂が続き、増殖帯は次第に周辺へと広がって行く。一方、神経節そのものは次第に平坦となり、培養初期に変性した細胞は清掃され個々の神経細胞が移植片の中に明瞭に観察し得る状態となる。

細菌によるContaminationや液もれ等の事故がない限り、すべての培養は1—2週間で極めて安定した状態になる。神経細胞は写真1に見るように数個の衛星細胞によって密に囲まれ、円形の核



(倍率. 1000×)

写真1：正常対照培養。20DIVの後根神経節細胞。神経細胞は数ケの衛星細胞によって周囲を密に囲まれ、細胞質には神経原線維及びニッスル顆粒の配列による同心状の繊細な紋理が認められる。は通常細胞の中心よりやや偏在しており、細胞質には神経原線維及びニッスル顆粒の配列による同心状の繊細な紋理が認められる。健全な神経細胞に混って稀には顆粒状変性や空腔変性に陥った神経細胞も認められるが、これらは各神経節について高々数%以下であり、実験開始に先立って十分な観察を行うならば、これらの非特異的かつ例外的な変化を有意のものと誤って解釈する危険性は皆無であると言える。髄鞘の形成は早いもので1週間目頃から神経節周囲に認められ、徐々に太さと数を増しつつ周辺部にも及んで行き、6週間でほぼ完全な成熟をとげる。髄鞘形成の程度は必ずしもすべてに於て一様でなく、各培養組織片毎に多少の差があるが、正常対照培養の場合15—20DIVの間にほぼ9割以上の神経節に於て確実に髄鞘が形成される。以上が正常な後根神経節培養の概略所見であるが、次にキノホルム投与実験群に於ける所見を述べる。

i 急性実験

a) 幼若培養組織への影響

培養初期からキノホルムを含む液で培養し3日目に固定しBodian染色を施したものが写真2である(倍率40×)。比較のため写真の拡大もすべて一定にしてある。32μg/ccでは殆ど

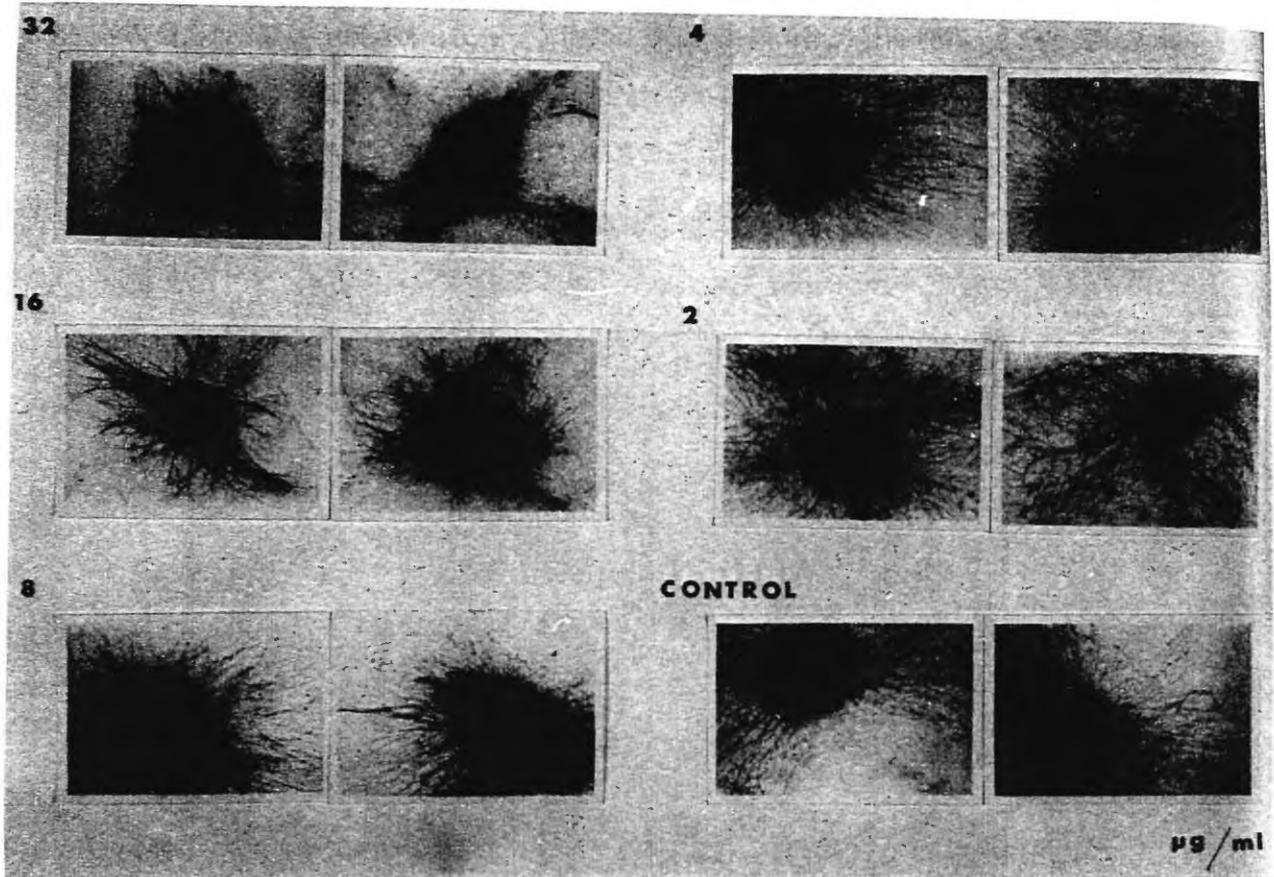


写真2：培養初期からキノホルムを加え、3DIVで固定しBodian染色した(倍率40×)。各濃度につき2枚ずつの写真が示してあるが、比較のために写真の拡大率もすべて一定にしてある。神経線維の伸び出しはなく、16μg/ccでは線維の数も長さも対照に比して明らかに劣るが、8μg/ccでは対照との差はやや疑わしくなる。更に4μg/cc、2μg/ccとなると対照群と全く変らない成長を示す。培養初期で神経細胞同志が密に重なり合っているため、個々の神経細胞についての観察は正確に行えないが、伸び出した神経線維の方を強拡大で観察してみると、写真3に見るように、高濃度のキノホルムを与えた群では線維の途中に所々紡錘状、珠数状、あるいはらせん状に膨化した部分が数多く認められた。対照群ではこのような所見は皆無であった。線維全体としても対照例に見るような繊細な網状構造が失われ、針金のような硬い走行を示している。

b) 成熟培養組織への影響

培養開始後17日目の脊髄後根神経節は既に十分な成長をとげており、神経節周辺部には太い髄鞘が多数形成されている。神経細胞にも変性像を示すものは殆ど無く、培養としては最も安定した時期といえる。これに32μg/ccのキノホルムを加えると36~48時間目頃から次のよう変化

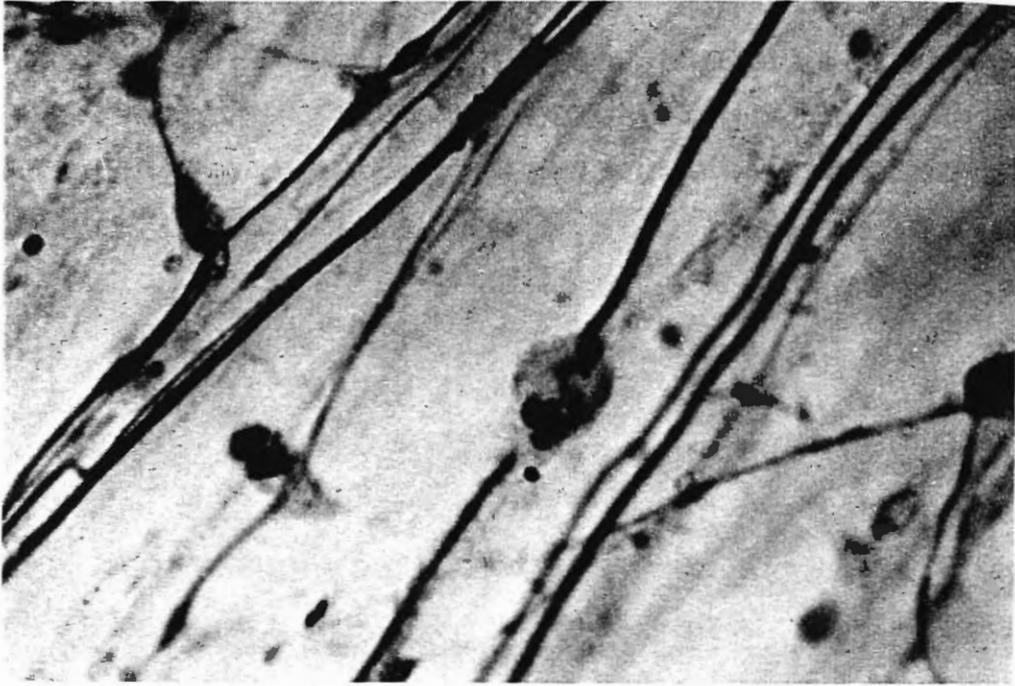


写真3：写真2に示した標本の一部。キノホルム（ $16\mu\text{g}/\text{cc}$ ）によって著明に障害された神経線維。Axoplasmが一部腫化し、中にとぐろを巻いたようにうねった線維を認める（倍率1000 \times ）

が現われて来る。即ち、先に正常培養所見で述べたような神経細胞の繊細な紋理が不明瞭となり、代って粗大、大小不同な顆粒が細胞質内に出現する。細胞体は全体に縮小し辺縁には多少の凹凸が認められ衛星細胞との境界はコントラストを増し部分的には間隙を生じたように見える。衛星細胞

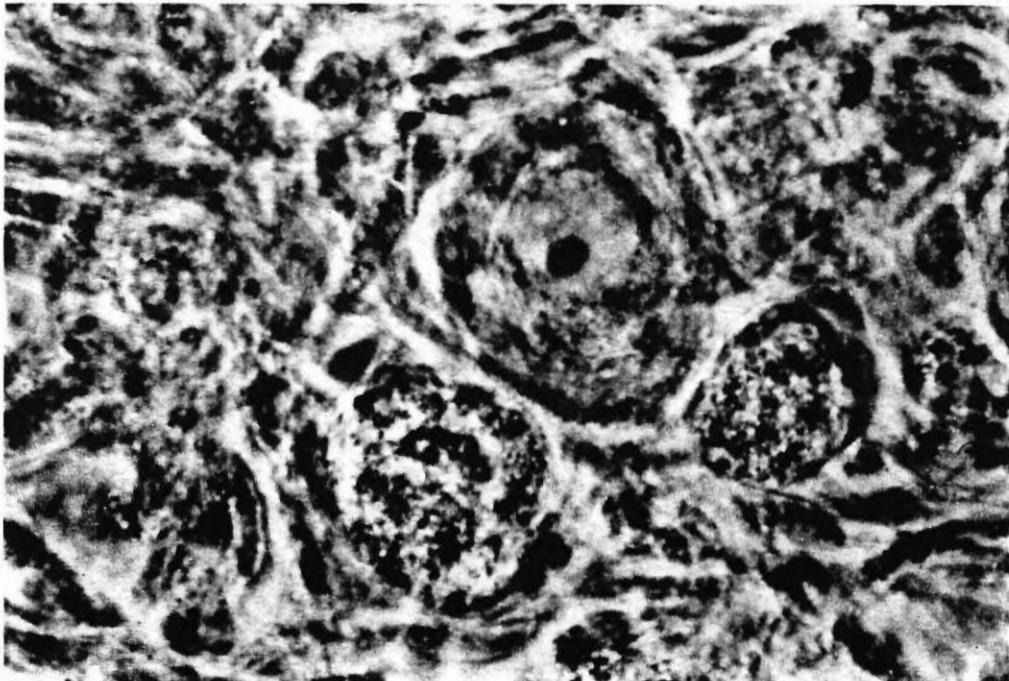


写真4：キノホルム添加（ $32\mu\text{g}/\text{cc}$ ）3日目の所見。大半の神経細胞は顆粒状変性を示し縮小している（倍率1000 \times ）。

そのものの変化は神経細胞の変化より少ないが、紡錘形から不整な球形乃至卵形に近い形となり density を増す。3日目には大半の神経細胞の細胞質は顆粒状となって縮小し、核の存在も不明瞭となる(写真4)。完全に崩壊して、幾つかの衛星細胞が環状に取囲んでいるために辛うじて神経細胞のあった跡と分る所もある。小型の神経細胞の方が大型のものよりおかされ易い傾向が認められる。髄鞘の変化は少なく、一部にripplingやmyelin dropletの出現を見るが、大半の神経細胞が変性に陥った3日目の時点でも、なおほぼ健常に近い構造を保っているものが多い。シュワン細胞や線維芽細胞の変化も軽度である。

ii 慢性実験

a) 幼若培養組織への影響(髄鞘形成率の変化)

培養初期の成長はキノホルムを含む群(8 $\mu\text{g}/\text{cc}$, 4 $\mu\text{g}/\text{cc}$, 2 $\mu\text{g}/\text{cc}$)と対照群との間に明らかな差を見出し得なかった。髄鞘形成の始まる時期も図-1に見るように7DIVで4群の間に差はない。しかし8 $\mu\text{g}/\text{cc}$ 群では9DIV頃から他の3群との間に明瞭な差が出て来る。即ち、神経細胞には前記のような顆粒変性像が次第に出現し、一旦形成された髄鞘も変性崩壊して、ついには認め難くなる。線維芽細胞、シュワン細胞の変化は少ないが、対照群に比較すると小さな空胞を含む変性細胞がやや増加している。

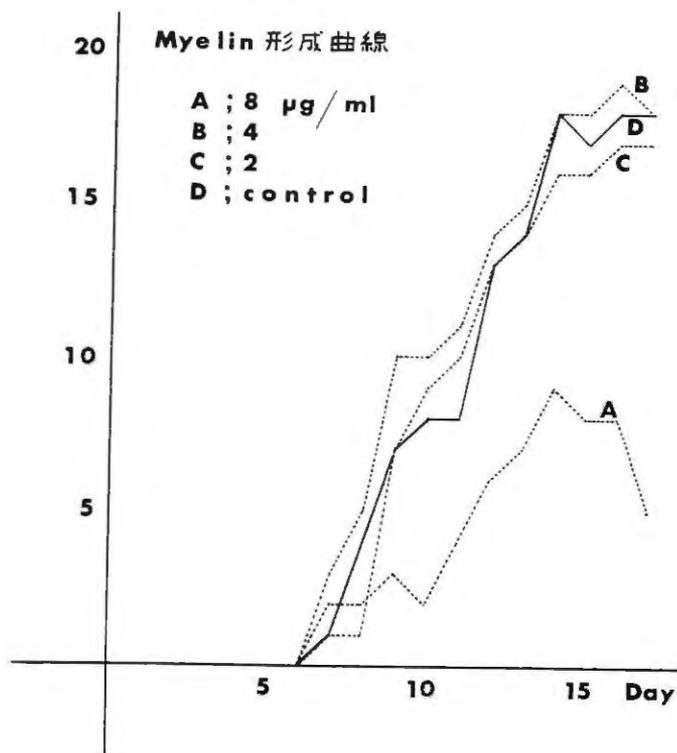


図-1：縦軸は髄鞘形成の認められた神経節の個数
横軸は培養をはじめてからの日数

b). 成熟培養組織に及ぼす影響

急性実験(32 $\mu\text{g}/\text{cc}$)の場合に比し、変化の出現する時期は遅れ、16 $\mu\text{g}/\text{cc}$ で投与后3-4日目頃から、8 $\mu\text{g}/\text{cc}$ で10日目頃から徐々に変化が出現する。(1)神経細胞の顆粒変性を認め、(2)小型の神経細胞の方がおかされ易く、(3)神経線維よりも細胞体の方の変化が目立ち、(4)髄鞘、シュワン細胞、衛星細胞、線維芽細胞等は神経細胞に比し変化が少ない等の点で基本的には急性実

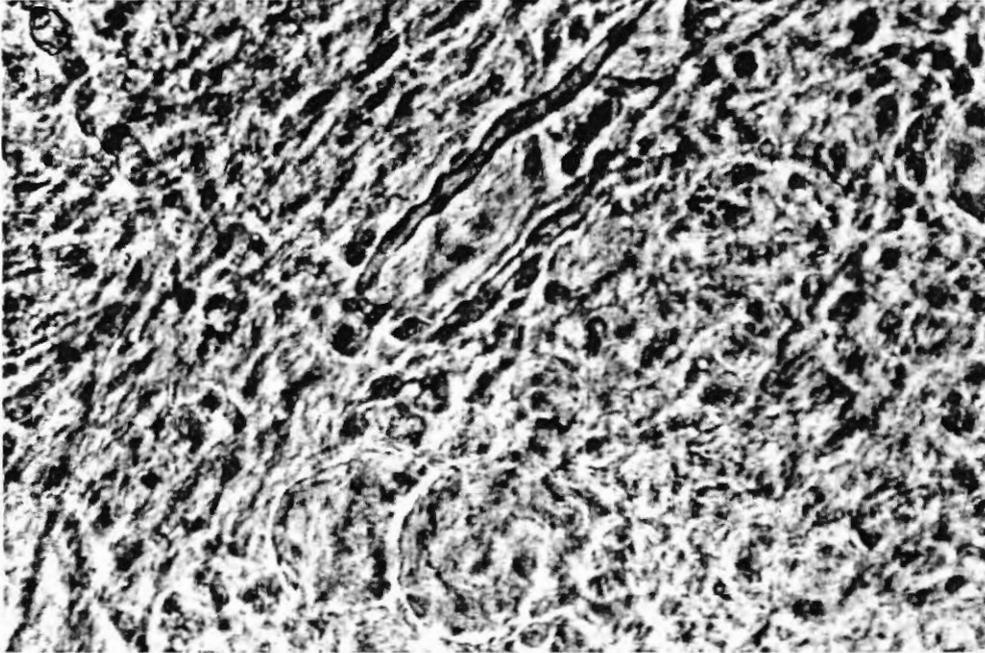


写真5：キノホルム添加(8 $\mu\text{g}/\text{cc}$)后17日目の所見。写真下方に変性した神経細胞が数ヶあり、左上方に崩壊した髄鞘が認められる(倍率400 \times)。

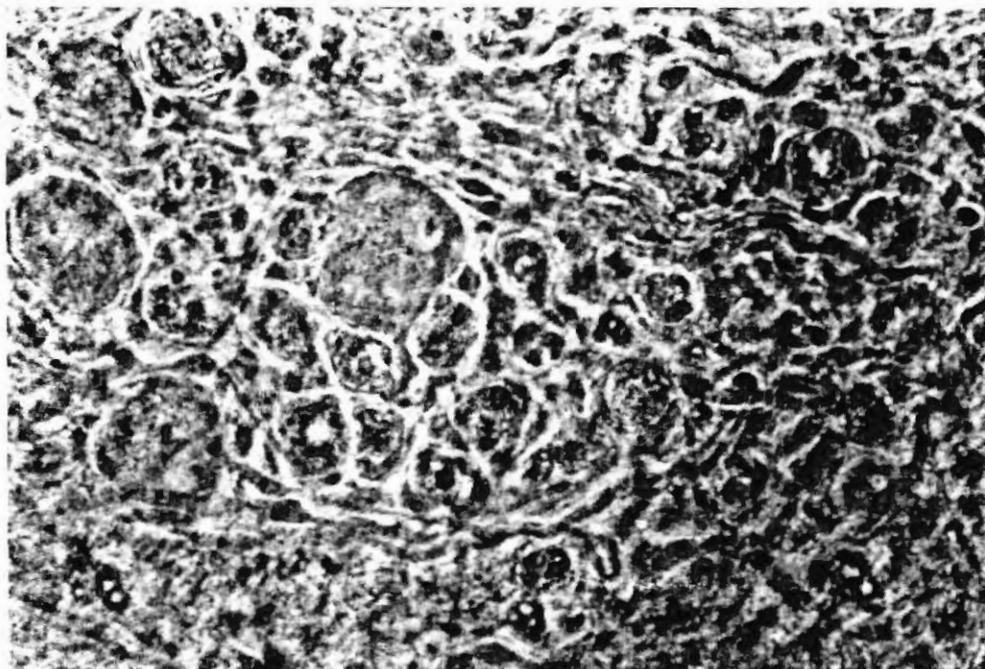


写真6：キノホルム添加(16 $\mu\text{g}/\text{cc}$)后17日目の所見。神経細胞の顆粒変性。萎縮は更に著しい(倍率400 \times)。

験の結果とよく一致している。キノホルム添加后同一時点での変化を比較するならば、濃度が高い場合程変化も著しいが、写真5, 6 (8 $\mu\text{g}/\text{cc}$, 16 $\mu\text{g}/\text{cc}$, 17日目の所見) に見るように低濃度でも長期間投与された場合には高濃度短期間投与の場合以上に著明な変化を示す。大部分の神経細胞は変性萎縮しており、髄鞘の破壊も著しい。しかしこの時点でも極めて少数ながら比較的变化の少ない神経細胞や髄鞘がなお残存している。

III 考察

実験的キノホルム中毒における末梢神経、脊髄後根神経節の病理所見を従来の報告からひろってみると次のようなものがある。井形らは家兎坐骨神経で軸索の腫脹、膨化及びこれに伴う髄鞘の崩壊を報告しており、立石らは犬で神経節細胞の変性・崩壊と衛星細胞の増加、軸索の変性等を記載している。池田らはニワトリで末梢神経の軸索変性および髄鞘脱落を報告し、高橋らはカニクイザルで後根神経節細胞と脊髄神経の変性を報告している。大西らは末梢神経の変化が著明であるにも拘らず、後根神経節には変化を認めなかった家兎の実験を報告しており、総じて *in vivo* の観察では神経線維の変化の方が神経細胞体の変化よりも著しいという印象がある。細胞体が先か軸索が先かという議論は *Neuropathy* の発現機構とも関連して興味のある問題であるが、我々の得た結果はこれら *in vivo* の報告とは逆の印象を与えるものであった。先に米沢がラット及びマウスの培養神経組織を用いて行った実験でも今回の結果と同じような傾向を報告しており、*in vitro* と *in vivo* の差が如何なる理由によるかは不明である。キノホルムの組織内への浸透度の違い、軸索の長さの違い (培養細胞の場合、神経細胞体から軸索先端迄の距離は高々10 mm前後である。キノホルム中毒が、長い神経線維の末梢ほど障害を起し易く、次第に近位部におよぶといういわゆる *dying-back neuropathy* の形をとるものとすれば、このような短い軸索では変化がとらえにくいと言う可能性がある) 等が一つの理由として考えられるかも知れない。

キノホルム中毒発症の条件として、投薬量、血中濃度、中毒量等に関する検討はまだ充分に行われていない。S MON 調査研究協議会臨床班の報告によれば一日投与量1.0~1.5 gの場合通常3~4週間でS MONの発症をみており、これに比較すると多くの動物実験では体重当りはるかに大量のキノホルム投与を行っていることになる。又同じ種の動物をとっても、系或は個体によって発症の程度が著しく異なることは度々指摘されて来たことである。体重当り等量のキノホルムを投与しても吸収、¹²⁾ 抱合能、¹³⁾ 腸肝循環、排泄等が動物間で異り、その結果血中の非抱合型キノホルム濃度に差を生じ、発症率が異なるという可能性は充分に考え得る。更に又、組織内蓄積量、血液・脳関門の違い、神経細胞自体の抵抗性の違い等も考慮せねばならない。従来の *in vivo* の実験では非抱合型キノホルムの血中濃度を長期間一定に保つことは困難であるが、培養組織を用いる場合には比較的自由にこれを調節することが可能であり、キノホルムの血中濃度と神経組織に及ぼす障害との関係を考察する上で一つの手掛りとなる可能性がある。田村らはS MON患者の血清中キノホルム濃度を測定し約10 $\mu\text{g}/\text{cc}$ という値を得ている。¹⁴⁾ 種の違い (ヒトと鶏)、或は又組織培養と言う特殊な条件に対する考慮な

しに数値のみを論ずることは危険であり、慎重であらねばならないが、田村らの値と今回我々が得た $4 \mu\text{g} / \text{cc} < \text{最小中毒濃度} < 8 \mu\text{g} / \text{cc}$ という値とがかなり近似している点は興味ある成績と思われる。

IV 結 論

1) 鶏胚脊髄後根神経節の組織培養を用いてキノホルムの神経組織に及ぼす影響を観察した。急性実験、慢性実験いずれの場合も $8 \mu\text{g} / \text{cc}$ 以上で神経細胞の変性が認められた。

2) 神経細胞は縮小し、細胞質は顆粒状の変性を示す。小型の神経細胞の方が比較のおかされ易く軸索よりは細胞体の変化の方が目立った。衛星細胞、シュワン細胞、線維芽細胞は神経細胞に比し抵抗性がつよかった。

文 献

- 1) Tsubaki, T. et al.: Neurological syndrome associated with Clioquinol, Lancet, 7701: 696—697, 1971.
- 2) 中井準之助編: 組織培養—基礎と応用—, 3版, 朝倉書店, 昭和42年
- 3) 田村善蔵: 生体試料からの非抱合型キノホルムの微量分析, スモン調査研究協議会研究報告書, №3, 176—178, 1971.
- 4) 井形昭弘, 豊倉康夫: キノホルムによる神経系障害に関する研究—キノホルム静注家兎における末梢神経障害, 医学のあゆみ, 75: 309, 1970.
- 5) 立石潤, 池田久男: キノホルム経口投与によるイヌの慢性中毒症状について, 医学のあゆみ, 76: 611—612, 1971.
- 6) 池田良雄他: キノホルムの毒性に関する研究, スモン調査研究協議会研究報告書 №3: 190—199, 1971.
- 7) 高橋理明他: カニクイザルを用いてのキノホルム長期経口投与実験, スモン調査研究協議会キノホルム部会第2回研究会, 1971年(12月)
- 8) 大西晃生他: 実験的キノホルム中毒家兎における末梢神経病変に関する研究, 医学のあゆみ, 77: 274, 1971.
- 9) Prineas, J.: The pathogenesis of dying-back polyneuropathies. J. Neuropath. Exp. Neurol., 28: 571—621, 1969.
- 10) 米沢猛: 培養神経組織でのキノホルム中毒実験, スモン調査研究協議会キノホルム部会第1回研究会, 1971年(7月)
- 11) スモン調査研究協議会研究報告書 №2, 1971.
- 12) 田村善蔵: 血清中の非抱合型キノホルムの定量, スモン調査研究協議会研究報告書 №3: 173—175, 1971.
- 13) 高須俊明, 豊倉康夫, 松岡理: キノホルムの神経系に対する作用機序の研究(第1報), 臨床神経, 12: 131—142, 1971.
- 14) 田村善蔵他: スモン患者の血清ヨウ素とキノホルムの関係, スモン調査研究協議会キノホルム部会第1回研究会, 1971年(7月)