

AMCoR

Asahikawa Medical University Repository <http://amcor.asahikawa-med.ac.jp/>

てんかんにめぐって (1991) 12巻:191~197.

ラット腹腔内Domoic Acid注入によるてんかん誘発作用について

藤田 力、田中達也、高野勝信、米増祐吉

ラット腹腔内 Domoic Acid 注入による てんかん誘発作用について

旭川医科大学 脳神経外科

藤田 力 田中 達也 高野勝信
米増 祐吉

Domoic Acid-induced Excitotoxicity in Rats.

Tsutomu Fujita, Tatsuya Tanaka, Katunobu Takano and Yukichi Yonemasu :
Department of Neurosurgery, Asahikawa Medical College

Correspondence :

Dr. Tsutomu Fujita

Department of Neurosurgery, Asahikawa Medical College, Asahikawa, 078

Telephone number : 0166 - 65 - 2111

Facsimile number : 0166 - 65 - 8560

〈はじめに〉

興奮性アミノ酸のてんかん誘発作用は多くの報告があるが、実際に臨床例を経験する事は極めて稀である。1987年カナダ東海岸で多発した貝毒中毒で、107例の患者の中、8例がてんかん発作を起こし、そのうち4例が死亡した。その原因物質がカイニン酸と類似構造をもつドーモイ酸であることが、1990年、Perlらによって報告された(5)。ドーモイ酸はTakemotoらが、海草Domoic Acidから分離精製したが(7)、その毒性に関しては、系統だった研究は少ないため、ラットの腹腔内にドーモイ酸を注入し、急性期の脳波、行動、病理所見について検討を行なった。

〈実験方法〉

体重180-250gの雄性Wistar ratを用いた。ペントバルビタール麻酔下に(50mg/kg i. p.)ラットの脳アトラスに従って、無菌的に定位脳手術をおこなった。背側海馬に双極電極を、両側感覚運動領にはビス電極を、不関電極を前頭洞内に置いた。電極は6チャンネルのソケットに接続し、デンタルセメントで固定した。手術から8日目に、安静覚醒時に、ドーモイ酸(DAと略)をphosphate buffer (0.2M pH7.4)で溶解し、1、5、10mg/kgを腹腔内注入した。各注入群の、脳波、行動の経過観察を持続的に行ない、実験終了後、ペントバルビタール深麻酔下に、生理食塩水、10%ホル

マリン液にて経心的に灌流固定し、パラフィン包埋後切片を作成しhematoxylin-eosinまたはcresyl violetにて染色し鏡検した。DA注入は各群とも、5匹づつ行なった。1mg/kg群では、24時間後に灌流固定し、5、及び10mg/kg注入群では、てんかん重積状態となり急性期に死亡するため、3から8時間で灌流固定を行なった。コントロール群は3匹行なった。

〈結 果〉

1) DA1mg/kg注入群では、注入後1時間で海馬から始まる focal seizureが出現したが、注入後からラットは動かずじっとしたままであった。2時間後には、sensori-motor cortexに波及する発作が繰り返しみとめられ、wet dog shakingを呈した (Fig. 1)。時々後脚で scapular scratchingをおこした。6時間後には、multiple spikeのみとなり wet dog shakingは認められなくなり、24時間後には、脳波も正常となった。

病理所見では海馬のCA3に軽度の pyknosisが認められたが、他の limbic structureには明らかな変性は認められなかった (Fig. 2)。

2) DA5mg/kg注入群では、注入後動作は不活発となり、注入後30分で海馬に multiple spikeが出現し、約2時間で、spikeは、sensori-motor cortexに波及し mastication, head nodding, salivation, scapular scratching, praying, rearingをおこし limbic seizure statusとなった。4時間後には更に激しくなり generalized seizure statusとなり、全身痙攣が持続し、kyphotic様のいわゆる crab-like postureとなり、6時間後には、全身の tonic seizureが持続し、8から10時間で死亡した。

右海馬のCA3では、pyknosisが認められ、これよりも軽度であるが、CA1にも pyknosisが認められた。

3) DA10mg/kg注入群では、更に痙攣は激しくなり、また痙攣の進行は早く、arrest of ongoing behavior, wet dog shakingを経て、1時間後には limbic seizure statusとなった。2時間後には generalized seizure statusとなり、3から4時間で全身の tonic seizureが持続した後に死亡した (Fig. 3)。なお、嘔吐や下痢は認められなかった。

病理所見では、5mg/kg群のときよりも更に激しいCA3、CA4、CA2の pyknosis、神経細胞壊死があり、CA1にも pyknosisが認められ、amygdalaを始め、ほかの limbic structureにも神経細胞壊死を認めた (Fig. 4)。また、frontal lobe及びsensori-motor cortexにも pyknosis, vacuolationが認められた。

以上の結果より、DAを腹腔内投与すると、痙攣が誘発され、神経細胞変性もおこり、その程度は dose dependentに増悪していくことを明らかにした。

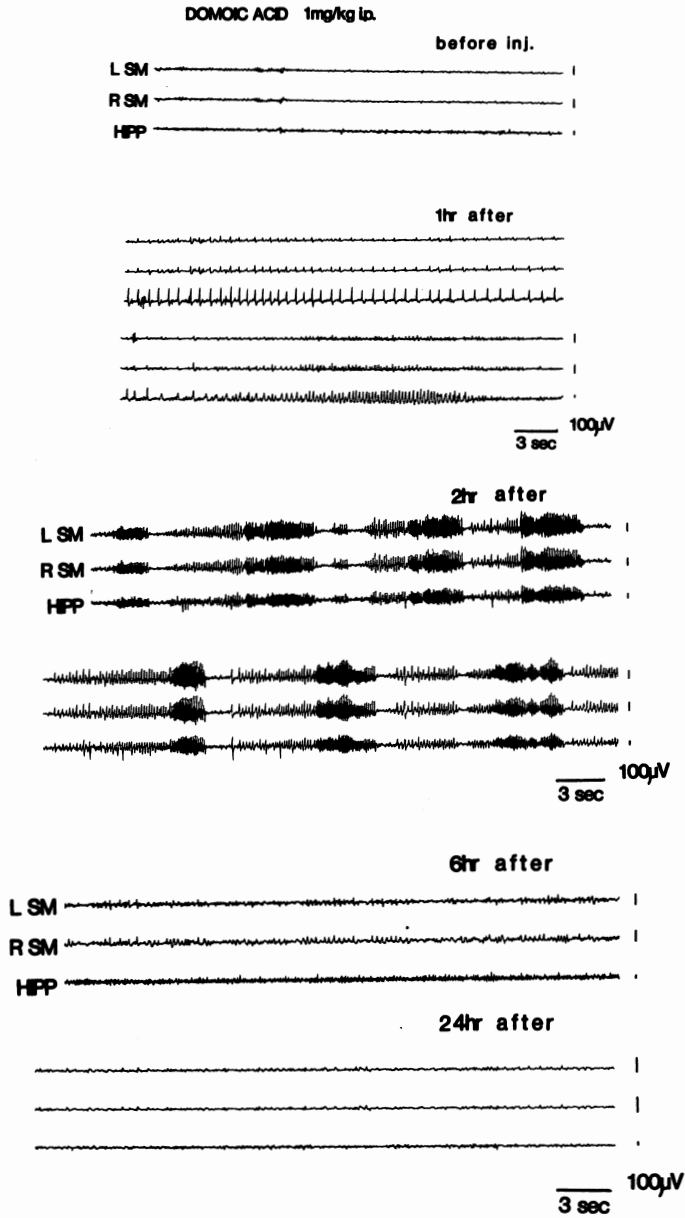


Fig. 1 Domoic acid 1mg/kg注入群の脳波の経時的変化。注入1時間後に海馬に focal seizure が出現し、sensori-motor cortex にも波及している。2時間後には、海馬 sensori-motor cortex に同期した spike と rapid rhythm 様の discharge が繰り返し出現した。6時間後には、multiple spike のみとなり、24時間後には注入前の状態になった。L SM : left sensori-motor cortex. R SM : right sensori-motor cortex. HIPP : dorsal hippocampus.

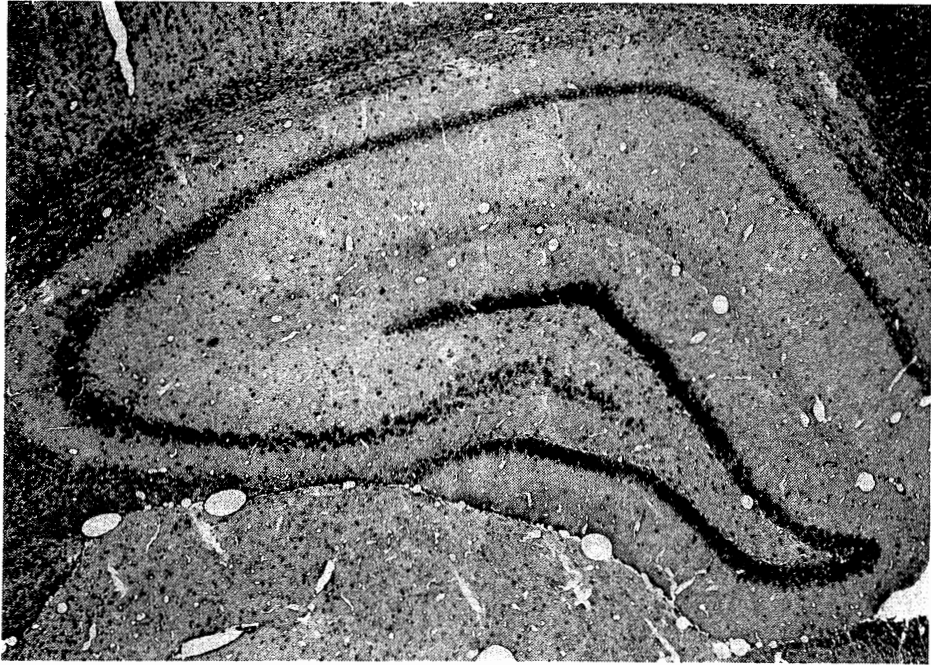


Fig. 2 Domoic acid 1mg/kg注入群の海馬病理所見。ほぼ正常所見であるが、CA3に軽度の神経細胞変性を認める。

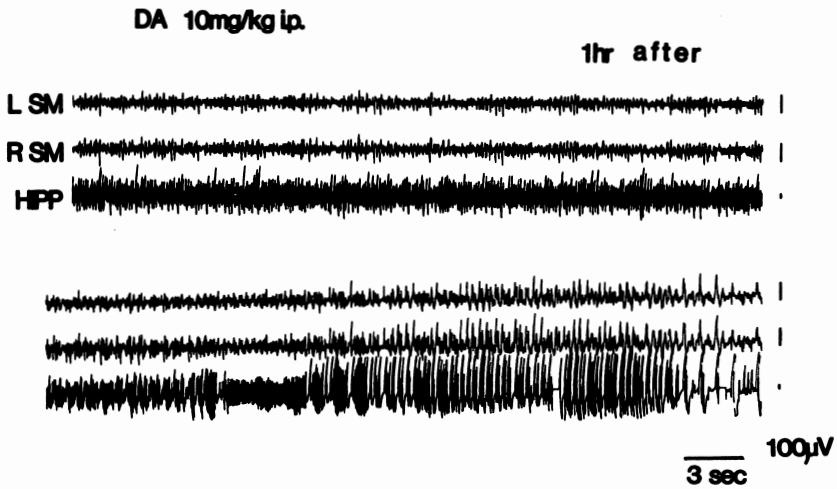


Fig. 3 Domoic acid 10mg/kg静注後、注入1時間後のlimbic seizure stageの脳波。海馬のみならず、sensori-motor cortexにmultiple spikeとseizureの波及を認める。

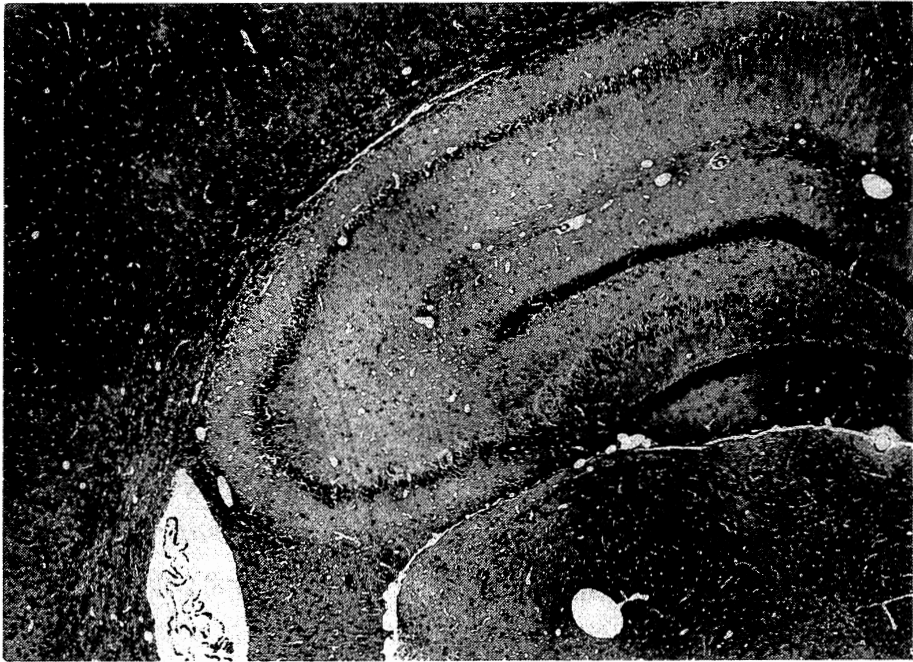


Fig. 4 domoic acid 10mg/kg注入群の海馬病理所見。海馬CA4からCA1まで、広範な神経細胞壊死、vacuolationを認める。

〈考 案〉

DAは、Takemotoらにより、海草のドウモイ（別名ハナヤナギ）より抽出単離された(7)。神経薬理的には、興奮性アミノ酸レセプターのうち特にカイニン酸レセプターとの親和性が強いことが知られている(1)。その神経興奮性作用は強力で、ザリガニの神経筋接合部ではカイニン酸よりも10倍も強い(6)。

中井らは、ラットの扁桃核に興奮性アミノ酸を注入し脳波上の変化及び、病理変化をおこす threshold doseを報告した(4)。DAのけいれん誘発作用はカイニン酸と同等かやや小さいが、海馬の pyramidal cellの変性はより強かったと報告している。ほぼ同様の結果をCoyleやEvansらも報告している(1、2)。

カナダ東海岸で起きた、ムラサキイガイによる食中毒が、DAによることが判明して以来、カイニン酸及びその類似化合物が改めて脚光を浴びることとなった。貝がDAを含む大量の海草を摂取した結果であると推定されているが、DAが貝100gあたり31から128mgの濃度で検出され、これより患者のDA摂取量は60 - 290mgと推定された。日本では古くから回虫駆除薬として用いられてきたが、服用量はせいぜい20mgどまりで、このような大量摂取は例を見ない。この食中毒の発症者は107人にのぼり、下痢性中毒症状に続いて、8人の痙攣、4人の死者が出るとともに、生存者にかなりの高率で記憶障害や痴呆症状が観察され、高齢者ほど重篤であった(5、8)。

Tryphonasらは、DA腹腔内注入時のラットの行動を詳細に検討し報告している(9)。その結果は、われわれと同様に痙攣の発達は3段階に分けられる。DA注入後不活発になり、次いでlimbic seizure statusとなり、大量注入では、generalized seizure statusとなり、死亡している。

DA注入による脳波の経時的変化の報告は、我々が初めてである。DA腹腔内投与による、脳波変化は行動の経過と同様に3段階に分けられる。まず海馬にmultiple spikeが出現し、このmultiple spikeは次いでsensori-motor cortexに波及する。5mg/kg以上のDA投与では、ひき続き海馬から始まるseizureがおこり、最後にはgeneralized seizureが観察された。この脳波上の経過は、痙攣の進行に一致しており、カイニン酸全身投与時の脳波行動の変化に類似していた(3)。

Teitelbaumらの剖検例の報告では(8)、海馬の錐体細胞の集中的に破壊されており視床や前頭部の一部も破壊されており、今回の実験で、ラットに全身投与した場合の病理像とほぼ等しいものであった。Tryphonasも同様の報告をしている(9,10)。日本では、DA中毒の報告は見られないが、今後下痢性貝毒中毒に痙攣などの神経症状が合併した場合には、DA中毒を疑う必要があり、早期集中治療を考慮すべきである。

〈結 語〉

1. ドーモイ酸の、けいれん誘発作用は、カイニン酸以上に強力である。
2. 大量注入後わずか3-4時間でCA3のみならず海馬CA4、CA1にも高度の変性を認め、また大脳皮質にも変性が及んでおり、これは、カイニン酸の神経変性作用よりはるかに強く、また広範囲に及んでいた。

〈文 献〉

- 1) Coyle, J.(1983) Neurotoxic action of kainic acid. J. Neurochem. 41. 1-11.
- 2) Evans, R. Evans, S. Pook, C. et al.(1987) A comparison of excitatory amino acid and antagonists acting at primary afferent C fibers and moto-neurons of the isolated spinal cord of the rat. Br. J. Pharmacol. 91. 531-537.
- 3) Lothman, E. Collins, R. and Ferrendelli, A.(1981) Kainic acid-induced limbic seizures: electrophysiologic studies. Neurology. 31. 806-812.
- 4) Nakai, H. Tanaka, T. Fukuda, H. et al.(1985) Neuropharmacological and histopathological changes induced by intro-amygdaloid infection of excitatory amino acids in rats. Electroenceph, Clin. Neurophysiol. 60. 7.

- 5) Perl, T. Bedard, L. Kosatsky, T. et al.(1990) An outbreak of toxic encephalopathy caused by eating mussels contained with domoic acid. N. Engl. J. Med. 322. 1775 - 1780.
- 6) 篠崎温彦.(1991) 興奮性アミノ酸レセプターと植物由来神経毒, 神経進歩. 35. 600 - 612.
- 7) Takemoto, T.(1978) Kainic acid as a tool of neurobiology. Raven Press, New York, pp1 - 16
- 8) Teitelbaum, J. Zatorre, R. Carpenter, S. to al.(1990) Neurologic sequelae of domoic acid intoxication due to the ingestion of contaminated mussels. N. Engl. J. Med. 322. 1781 - 1787.
- 9) Tryphonas, L. Truelove, J. Nera, E. et al.(1990) Acute neurotoxicity of domoic acid in the rat. Toxicologic Pathology. 18. 1 - 9.
- 10) Tryphonas, L. and Lverson, F.(1990) Neuropathology of excitatory neuro-toxins : the domoic acid model. Toxicologic pathology. 18. 165 - 169.