

4400(995)

一酸化炭素中毒における遅延性大脳基底核 神経障害の発生機序

(課題番号 09670439)

平成9年度～平成10年度 科学研究費補助金

基盤研究(C) (2)

基盤研究報告書

平成11年3月

研究代表者 上園 崇

(旭川医科大学・医学部・助手)

一酸化炭素中毒における遅延性大脳基底核 神経障害の発生機序

(課題番号 09670439)

平成9年度～平成10年度 科学研究費補助金

基盤研究(C) (2)

基盤研究報告書

平成11年3月

研究代表者 上園 崇

(旭川医科大学・医学部・助手)

目次

はしがき	1
研究組織	2
研究費	2
研究成果の概要	3～6
 【研究発表】		
学会誌等	7
口頭発表	8
原著原稿・別刷の掲載	9～38

はしがき

本研究代表者は神経変性を研究対象に選び、外的あるいは内的な刺激により中枢神経系に生ずる神経化学的変化を観察することによってにその神経変性発現機構の解明に従事してきた。一酸化炭素中毒は、不慮の事故も含め薬毒物による死亡例の中で最も多い事例となっており、法医学的にも重要な毒物の一つである。一酸化炭素中毒では昏睡状態から一度回復して2から4週間後に多彩な精神症状が出現し、死に至る間欠型の経過をたどる事例が時々見受けられる。一酸化炭素中毒においては虚血と同様に大脳皮質や海馬等の神経脱落も見られるが、一過性の虚血に比べ、淡蒼球における壊死が特徴的に観察される。この虚血との相違は明らかではなく、神経変性機構の解明は重要である。過剰の一酸化炭素が、虚血と異なる機構で神経毒として働いている可能性が示唆される。

現在までの低酸素状態における基礎的研究において、①虚血時に海馬や大脳皮質などで細胞外グルタミン酸濃度が上昇すること、②NMDA型と分類されるグルタミン酸受容体に対するアンタゴニストが神経保護に働くことが見出されている。また、薬物などによる中枢神経細胞死においても、グルタミン酸の関連が示唆されている。一酸化炭素中毒のモデル動物においても、NMDAレセプターアンタゴニストが海馬の神経脱落を抑制しすることが報告されている。

一方、一酸化炭素がヘム蛋白から作られ、一酸化窒素同様に中枢神経においてケミカルメディエーターとして働くという報告もされている。この発見は、一酸化炭素中毒時には低酸素状態とは異なる機構が働き、神経細胞死を引き起こしている可能性を示唆するものである。両者の機構の相違を明らかにするには両者でのマクロ所見の差として認められる部位である淡蒼球を対象にすることが適切であると考えた。

上述の背景のもとに、一酸化炭素中毒の器質的な遅延性神経障害を明らかにし、一酸化炭素暴露による遅延性障害の予防と治療に新たな知見を得る目的で、科学研究費補助金の交付を受けた。

【研究組織】

研究代表者：上園 崇（旭川医科大学・医学部・助手）

研究分担者：木村恒二郎（島根医科大学・医学部・教授）

松原 和夫（旭川医科大学・医学部・教授）

【研究経費】

平成 9年度 2100千円

平成10年度 1000千円

合計 3100千円

研究課題：一酸化炭素中毒における遅延性大脳基底核神経障害の 発生機序

【研究成果の概要】

一酸化炭素中毒の後遺症として、重篤で様々な精神障害が出現することがある。一酸化炭素中毒時の遅延障害の基質的な変化として大脳皮質、基底核および海馬の神経脱落が特徴的に認められる。一方、一過性の窒息などの虚血後の脳障害は、大脳皮質、海馬、小脳神経細胞の壊死が観察される。両者の中核障害はかなり似通っているが、一酸化炭素中毒の場合基底核、特に淡蒼球の両側性の神経細胞死が顕著に認められる。この相違が、一酸化炭素中毒特有の機構に基づくものか、あるいは低酸素状態に普遍的に認められる現象かは明らかでない。今回、対象を淡蒼球に絞り、ブレインマイクロダイアシス法を用い、一酸化炭素による神経化学的变化についての研究を行った。

方法と結果

Wister 系雄性ラット（8週齢）の淡蒼球にガイドカニューレを麻酔下にて植え込み、3日間以上の回復期間をおいた。透析プローブ挿入後12時間以上リンゲル液を灌流し回収液中のグルタミン酸濃度が安定してから一酸化炭素吸入実験を行った。ブレインマイクロダイアシス用のケージ（30 x 30 x 35 cm）に1%一酸化炭素を含んだ空気を3-5L/min で10分間送り込んだ。一酸化炭素吸入1時間前から3時間後まで、淡蒼球細胞外液から回収されるグルタミン酸をオルトフタルアルデヒドにより誘導化した後、HPLC/fluorescence 法により定量した。一酸化炭素吸入時にはグルタミン酸の変化は観察されなかったが3時間後には約半数のラットにおいて基礎値の2倍以上となった（平均 1.7倍、図1）。病理学的検討では一酸化炭素吸入により、大脳皮質、海馬のsommer 扇形部、淡蒼球の神経細胞は中大脳動脈閉塞術による一過性虚血モデルと同様の虚血性変化を示した。すなわちヘマトキシリン-エオジン染色では濃く青く染まり、縮小して観察さ

れた。しかし、白質の血管周囲の出血巣や脱髄は見られなかった（図2）。対照の低酸素モデルとしてケージに10%酸素、90%窒素混合ガスを30分間送り込み同様の実験を行った。グルタミン酸の若干の上昇が見られたがその上昇が2倍を超えるものはなかった（平均 1.2 倍、図1）。

考察

中大脳動脈閉塞術による一過性虚血モデルやインスリン投与による代謝障害モデルにおいて、障害後直ちにグルタミン酸が細胞外液中に放出されるのに対し、一酸化炭素による中毒モデルでは曝露とグルタミン酸細胞外濃度の上昇に時間的なずれが生じた。グルタミン酸が、神経細胞死へのカスケードの一段階の情報伝達であるのか明らかではない。しかし、酸素供給やグルコース供給の遮断によるエネルギー不足でグルタミン酸トランスポーターが逆回転するという説明は当てはまらず、単なる低酸素状態と異なる。この遅延性の細胞外グルタミン酸濃度の上昇は一酸化炭素がケミカルメディエーターとして働く可能性を支持する結果となった。

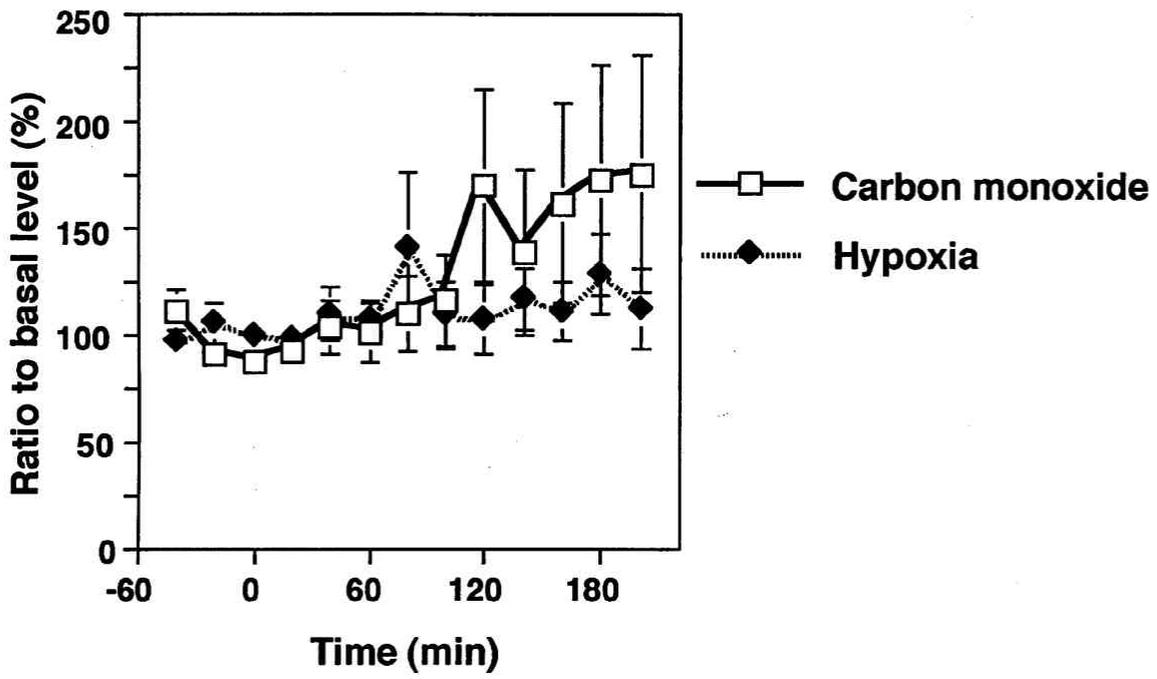


図1 淡蒼球から回収される透析液中のグルタミン酸濃度変化

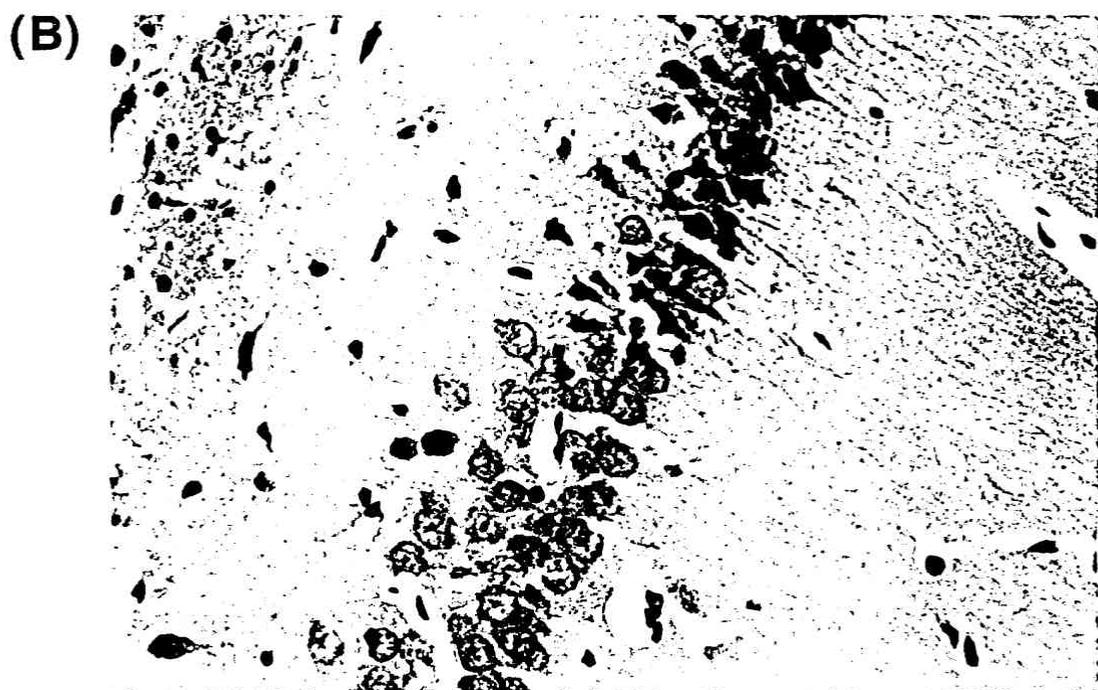
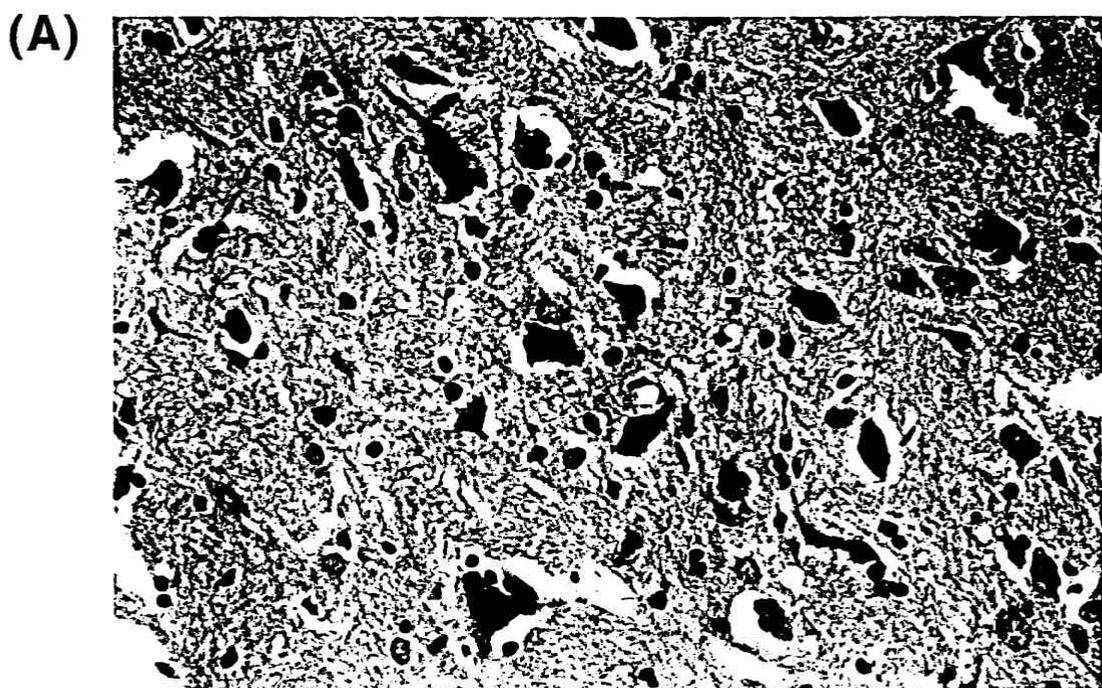


図2 一酸化炭素曝露後7日後の組織像（ヘマトキシリン・エオジン染色）A：淡蒼球、B：海馬CA1

【研究発表】

学会誌等

1) 長谷川正紀、間瀬田千香暁、福島正充、上園 崇、板垣祐一、早勢伸正、木村恒二郎、松原和夫：セレギリン服用者と覚せい剤濫用者の識別：Triage によるスクリーニング試験の有用性 法中毒、1999、16(3)、200-6

2) Shimizu K, Matsubara K, Uezono T, Kimura K, Shiono H: Reduced dorsal hippocampal glutamate release significantly correlates with the spatial memory deficits produced by benzodiazepines and ethanol. *Neuroscience* 1998;83(3):701-6.

3) Matsubara K, Senda T, Uezono T, Fukushima S, Ohta S, Igarashi K, Naoi M, Yamashita Y, Ohtaki K, Hayase N, Akutsu S, Kimura K: Structural significance of azaheterocyclic amines related to Parkinson's disease for dopamine transporter. *Eur J Pharmacol* 1998;348(1):77-84.

4) Matsubara K, Gonda T, Sawada H, Uezono T, Kobayashi Y, Kawamura T, Ohtaki K, Kimura K, Akaike A: Endogenously occurring β -carboline induces parkinsonism in nonprimate animals: a possible causative protoxin in idiopathic Parkinson's disease. *J Neurochem* 1998;70(2):727-35.

5) Arano Y, Akizawa H, Uezono T, Akaji K, Ono M, Funakoshi S, Koizumi M, Yokoyama A, Kiso Y, Saji H: Conventional and high-yield synthesis of DTPA-conjugated peptides: application of a monoreactive DTPA to DTPA-D-Phe¹-octreotide synthesis. *Bioconjugate Chem* 1997;8(3):442-6.

6) Wakisaka K, Arano Y, Uezono T, Akizawa H, Ono M, Kawai K, Ohomomo Y, Nakayama M, Saji H: A novel radioiodination reagent for protein radiopharmaceuticals with L-lysine as a plasma-stable metabolizable linkage to liberate *m*-iodohippuric acid after lysosomal proteolysis. *J Med Chem* 1997;40(16):2643-52.

口頭発表

1) 上園 崇、松原和夫、江藤秀顕、木村恒二郎、水上 創、清水恵子、塩野 寛：一酸化炭素（CO）中毒時の淡蒼球細胞外液中グルタミン酸濃度の変化、第83次日本法医学会総会、広島、1999年4月

2) 上園 崇、松原和夫、江藤秀顕、水上 創、清水恵子、木村恒二郎、塩野 寛：グルタミン酸もNMDA受容体もMPP⁺により線条体に生ずるドパミン神経細胞毒性には無関係、第72回日本薬理学会年会、札幌、1999年、3月

3) 松原和夫、上園 崇、青山晃治、清水恵子、千葉 薫、早勢伸正、小林裕太：ドパミン神経毒であるMPP⁺と β -カルボリニウムはラット線条体において細胞虚血を誘発し、これはデプレニルによって抑制される、第72回日本薬理学会年会、札幌、1999年、3月

4) Uezono T, Matsubara K, Eto H, Ono K, Chiba K, Kimura K. Glutamate and NMDA receptor do not involved in MPP⁺ induced Dopamine release in the striatum of C57BL/6 mice. 28th Annual Meeting Society for Neuroscience. Los Angels (U.S.A.), November, 1998.

5) Uezono T, Matsubara K, Kobayashi Y, Senda T, Fukushima S, Ohta S, Igarashi K, Naoi M, Yamashita Y, Ohtaki K, Hayase N, Akutsu S, Kimura K : Structural significance of azaheterocyclic amines related to Parkinson's disease for the dopamine transporter mediated influx into striatal synaptosomes. 27th Annual Meeting Society for Neuroscience. New Orleans (U.S.A.), October, 1997.