

一般演題5-3

一酸化炭素中毒によるラット海馬における myelin basic proteinの一過性的変化

渡辺 智<sup>1,2)</sup> 松尾洋孝<sup>3)</sup> 小林 靖<sup>4)</sup>  
 佐藤泰司<sup>5)</sup> 青木 久<sup>6)</sup> 藤田真敬<sup>2)</sup>  
 中山昌喜<sup>3)</sup> 四ノ宮成祥<sup>3)</sup> 鈴木信哉<sup>2)</sup>

- 1) 新潟大学医学部 第一内科
- 2) 防衛医科大学校 防衛医学研究センター 異常環境衛生研究部門
- 3) 防衛医科大学校 分子生体制御学講座
- 4) 防衛医科大学校 解剖学講座
- 5) 防衛医科大学校 麻酔学講座
- 6) 自衛隊中央病院 薬剤課

一酸化炭素(CO)は、赤血球のヘモグロビンと結合し、組織低酸素症を引き起こす<sup>1,2)</sup>。ヒトにおけるCOとヘモグロビンの結合力は、酸素の200-250倍である<sup>3)</sup>。急性CO中毒の続発症である遅発性神経障害は10-30%の割合で発症し<sup>4,5)</sup>、急性CO中毒症状が改善しても数日から4週間後より記憶力や学習障害、認知障害、抑うつ障害といった症状を呈するようになる<sup>6,7)</sup>。CO中毒の主たる原因は組織低酸素症であるが、それ以外にCOが細胞レベルで直接的に障害を引き起こしている可能性が指摘されている<sup>1)</sup>。ラットに対するCO曝露で、脳内のmyelin basic protein (MBP)が炎症性細胞の浸潤などを伴って変化を起し、これが遅発性神経障害の一因となっていると推測されている<sup>8)</sup>。しかし、MBP発現の変化を生じる部位までは報告されていない。本研究は、CO曝露によるMBPの発現を含む組織学的変化と行動学的変化について検討した。

Wistarラット(雄性, 200-250g)を小動物用高気圧酸素治療装置にてCO曝露した。曝露条件はThomらの方法<sup>8)</sup>を参考に、1,000ppm 40分および3,000ppm 20分の合計60分とした。CO曝露後、90分, 1, 7および14日後に動物を灌流固定し、脳組織のパラフィン切片を作成して、HE染色, Nissl染色, Gallyas染色(灰白質の有髄線維を評価する染色法<sup>9)</sup>)を行った。また、免疫組織化学染色法によりMBP, リン酸化ニューロフィラメントおよび非リン酸化ニューロフィラメントの評価を実施した。さらに、CO曝露1及び14日後の海馬をホモジネートし、MBPのWestern blotも行った。行動解析は、Morris水迷路試験にて実施した。プールを4つの区画に分割し、ひとつをゴール区画とした。CO曝露11-13日目にゴール区画を記憶させるacquisition testを実施し、CO曝露14日目にその記憶を確認するprobe testを行い、両群のゴール区画滞在時間を比較した。

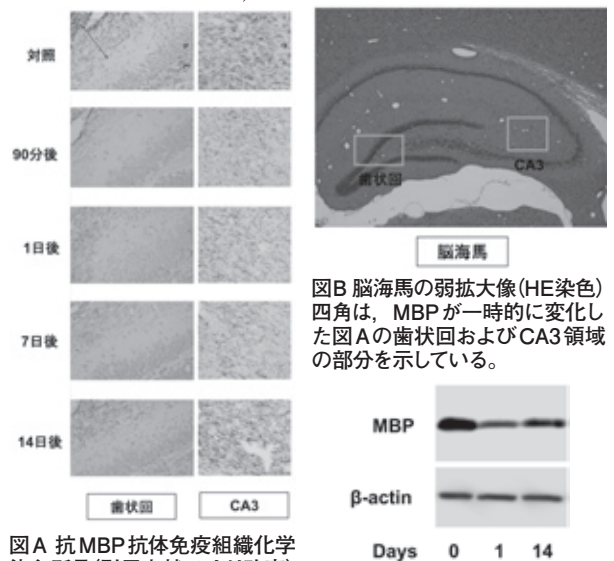
HE染色で炎症細胞の浸潤を認めず、Nissl染色で神経細胞自体の変化を認めなかった。Gallyas染色では、脱髄の所見を認めなかった。これとは対照的に、MBPの免疫組織化学染色ではCO曝露90分後に海馬の歯状回とCA3領域での染色性低下を認め、14日後には回復していた(図A, B)。また、ニューロフィラメントのリン酸化がCO曝露90分後から生じ、それに伴い非リン酸化ニューロフィラメントが一時的に減少した。免疫組織化学染色の所見と同様に、Western blotでもCO曝露1日後にMBPの量は減少し、14日後には回復していた(図C)。行動解析の結果はprobe testで両群のゴール区画滞在時間に有意差はなく、今回の曝露条件では

有意な行動異常を検出できなかった。

今回、我々はCO曝露による海馬のMBP発現の一時的変化とその局在を示し、Western blotでもMBPの一時的減少を示した。これらに脱髄の所見は認めなかったが、ニューロフィラメントの変化を伴っていた<sup>10)</sup>。今回のCO曝露条件は、脱髄までに至らない軽度の軸索障害とMBPの変化をきたし、そのまま修復過程に移行する程度のものであった。そのため、行動学的異常をきたさなかったものと考えられる。海馬は、記憶力や学習能力に関与する部位であるため、海馬におけるMBP発現の一過性変化をきたした今回の所見は、CO曝露による神経障害と関連する可能性を示すものである。

引用文献

- 1) Ernst A, Zibrak JD: Carbon monoxide poisoning. N Engl J Med 1998; 339: 1603-1608.
- 2) Raub JA, Mathieu-Nolf M, Hampson NB, et al. Carbon monoxide poisoning-a public health perspective. Toxicology 2000; 145: 1-14.
- 3) Rodkey FL, O'Neal JD, Collison HA, et al. Relative affinity of hemoglobin S and hemoglobin A for carbon monoxide and oxygen. Uddin, Clin Chem 1974; 20: 83-84.
- 4) Hart IK, Kennedy PGE, Adams JH, et al. Neurological manifestation of carbon monoxide poisoning. Postgrad Med J 1998; 64: 213-216.
- 5) Weaver LK, Hopkins RO, Chan KJ, et al. Hyperbaric oxygen for acute carbon monoxide poisoning. N Engl J Med 2002; 347: 1057-1067.
- 6) Scheinkestel CD, Bailey M, Myles PS, et al. Hyperbaric or normobaric oxygen for acute carbon monoxide poisoning: a randomized controlled clinical trial. Med J Aust 1999; 170: 203-210.
- 7) Thom SR, Bhopale VM, Han ST, et al. Intravascular neutrophil activation due to carbon monoxide poisoning. Am J Respir Crit Care Med 2006; 174: 1239-1248.
- 8) Thom SR, Bhopale VM, Fisher D, et al. Delayed neuropathology after carbon monoxide poisoning is immunemediated. Proc Natl Acad Sci 2004; 101: 13660-13665.
- 9) Gallyas F. Silver staining of myelin by means of physical development. Neurol Res 1979; 1: 203-209.
- 10) Watanabe S, Matsuo H, Kobayashi Y, et al. Transient degradation of myelin basic protein in the rat hippocampus following acute carbon monoxide poisoning. Neurosci Res 2010; 68: 232-240.



図A 抗MBP抗体免疫組織化学染色所見(引用文献10より改変) CO曝露90分後には海馬のうち歯状回およびCA3領域の染色性が低下していた。この変化は、7日後まで続き、14日後には回復した。

図B 脳海馬の弱拡大像(HE染色) 四角は、MBPが一時的に変化した図Aの歯状回およびCA3領域の部分を示している。

図C Western blotによるMBPの所見(引用文献10より引用) CO曝露によりMBPの発現が著明に低下し、14日後には回復傾向にあった。