

## ベンゾピレンの末梢神経および脊髄感覚系シナプス 伝達に及ぼす作用に関する研究

申, 敏哲  
熊本保健科学大学リハビリテーション学科

吉村, 恵  
直方中村病院

<https://doi.org/10.15017/1809686>

---

出版情報：福岡醫學雑誌. 108 (3), pp.75-82, 2017-03-25. 福岡医学会  
バージョン：  
権利関係：



## ベンゾピレンの末梢神経および脊髄感覚系シナプス伝達に 及ぼす作用に関する研究

<sup>1)</sup>熊本保健科学大学 リハビリテーション学科

<sup>2)</sup>直方中村病院

申 敏 哲<sup>1)</sup>, 吉 村 恵<sup>2)</sup>

### Effects of Benzo [a] pyrene on Conduction Velocity of the Rat Dorsal Root and Synaptic Transmission in Substantia Gelatinosa (SG) Neurons of the Rat Spinal Dorsal Horn

Min-Chul SHIN<sup>1)</sup> and Megumu YOSHIMURA<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>*Kumamoto Health Science University*

<sup>2)</sup>*Nogatanakamura Hospital*

#### Abstract

In the present study, we analyzed the effects of benzo[a]pyrene on conduction velocity (CV) of action potentials (APs) generated by electrical stimuli applied to the dorsal root in acutely isolated rat dorsal root ganglion (DRG) preparations using intracellular recordings. We also measured the effects of benzo [a] pyrene on spontaneous excitatory and inhibitory synaptic responses (sEPSC and sIPSC) and excitatory synaptic responses evoked by dorsal root stimuli in substantia gelatinosa (SG) neurons of the spinal dorsal horn, which receive inputs predominantly from A $\delta$  and C afferent fibers, using patch-clamp recordings. In the present results, benzo [a] pyrene did not affect on resting membrane potentials of A $\beta$ , A $\delta$  and C neurons. In addition, benzo [a] pyrene did not exhibit any effect on conduction velocities of A $\delta$  and C fibers, but that of A $\beta$  fiber was significantly decreased. The amplitude and frequency of both sEPSC and sIPSC in SG neurons of the spinal dorsal horn were not affected. In addition, the synaptic responses elicited by stimulation of A $\beta$ , A $\delta$  and C afferents were not changed by benzo [a] pyrene. From the present results, benzo [a] pyrene causes a change in the conduction velocity of A $\beta$  but not A $\delta$  and C afferent fibers, suggesting that this change causes paresthesia, such as numbness and loss of sensation. However, benzo [a] pyrene does not affect the synaptic transmission in SG of the spinal dorsal horn.

**Key words** : benzo [a] pyrene, nerve conduction velocity, synaptic response, dorsal root ganglion (DRG), substantia gelatinosa (SG) neuron

#### はじめに

1968年カネミ油症事件発生後40年以上経過し、初期に認められた激しい症状は消退傾向にあるが、現在でも瘡癩様皮疹などの皮膚症状、咳嗽や喀痰過多などの呼吸器症状、しびれや頭重などの神経

症状、全身倦怠感などの全身症状など多彩な症状が残存している。油症の原因となったカネミオイルには Polychlorinated biphenyls (PCB), Polychlorinated quarterphenyls (PCQ) および Polychlorinated dibenzofirans (PCDF) を含む dioxin 類が混在していたことが明らかにされている<sup>1)</sup>。

Corresponding author : Min-Chul Shin

Laboratory of Neuroscience, Kumamoto Health Science University, Izumimachi 325 Kumamoto, Japan 861-5533  
TEL : + 81-96-275-2111 FAX : + 81-96-245-2175 E-mail : karosu94@kumamoto-hsu.ac.jp

Dioxin 類化合物による複合中毒であるカネミ油症患者では、約6割に自覚的感覚障害が存在するが末梢神経伝導速度検査や神経学的診察による客観的な検査では末梢神経障害を示すものは2割程度であり、自覚的な症状と他覚的なデータには乖離が見られる<sup>2)~4)</sup>。その原因として末梢神経伝導検査やベッドサイドにおける末梢神経検査では明らかな変化として捉えることが出来ない小さな変化が自覚症状として表れている可能性が否定出来ない。多くの患者が訴える手足のしびれ感や感覚鈍麻の発生、自律神経失調症などの末梢神経障害や中枢神経障害などの発生機序については未だ明らかではないが、その原因の一つとして求心性末梢感覚神経の異常が考えられた。そこで今回の研究では、カネミ油症の発生原因の一つであるベンゾピレンを経口投与して7日後のモデルラットを用い、後根付き後根神経節標本作製し、神経節細胞から細胞内記録を行い、末梢神経の静止膜電位や伝導速度等を正常ラットのそれらと比較検討した。また、脊髄後角におけるシナプス応答の可塑的な変化について検討するため、脊髄スライスに後根を付した標本を用いて、膠様質の細胞から自発性興奮性後シナプス電流 (sEPSC)、自発性抑制性後シナプス電流 (sIPSC)、および第一次感覚神経誘起 EPSC を測定してベンゾピレンの感覚神経系に対する作用を検討した。

## 実 験 方 法

### 1) 実験動物

4~8 週齢の Sprague-Dawley (SD) 系雄性ラットを用いた。ラットは市販の飼料および水を自由に摂取させ、動物舎の照明は12時間ごとに明暗のコントロールし、室温と湿度は22.0℃と55 ± 5%の条件下で飼育した。1週間の適応期間の後、正常ラット群ではCorn oilを、ベンゾピレン群ではベンゾピレン0.3 mg/kg、30 mg/kgを1回のみ、経口投与器を用いて200 μlを胃に直接投与した。

(倫理面への配慮)

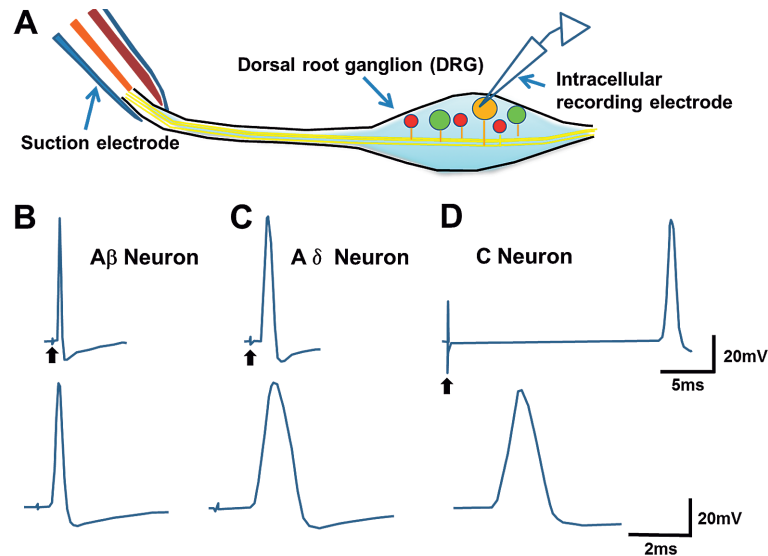
動物の飼育および実験に関しては、熊本保健科学大学動物倫理委員会の許可(登録番号 動14-016)を得て行った。全身麻酔下にラットの後根神経節を取り出し、直ちに過量のウレタンを腹腔内に追加投与した後、心臓・大血管を切開して失血死させたため痛みなどの侵襲は殆ど無い。

### 2) 後根神経節標本の作製と静止膜電位・活動電位記録

Corn oil 又はベンゾピレンをそれぞれ経口投与し、7日後にウレタン(腹腔内投与:1.2~1.5 g/kg)麻酔下でラットから後根神経節に後根神経を付した標本作製した。後根神経節を覆う結合組織を注意深く除去し、記録用チェンバーに設置したシルガードに微細なピンで固定した。後根を刺激用の吸引電極に設置した後、記録用チェンバーを加温したKrebs液(36 ± 1℃)で持続的に灌流した。微小ガラス電極を用いて神経節細胞から細胞内記録を行い、静止膜電位や後根刺激によって誘起された活動電位の振幅と伝導速度を調べ、正常ラットから得られたものと比較検討した(Fig. 1)。神経節細胞はAβ、AγおよびCニューロンを含むため、各々のニューロンから記録を行い正常ニューロンとの相違を観察した。細胞内記録用電極は外径1.5 mm、内径0.86 mmのガラス管(Model BF150-86-10; Sutter Instrument)をパッチ電極作成機(Model P-97; Sutter Instrument, Novato, California)にて作製した。使用したKrebs液の組成(mM)は、NaCl 117, KCl 3.6, CaCl<sub>2</sub> 2.5, MgCl<sub>2</sub> 1.2, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.2, glucose 11 と NaHCO<sub>3</sub> 25 からなり、95% O<sub>2</sub>-5% CO<sub>2</sub> ガスで飽和した。細胞内液は4M potassium acetate を使用した。すべての実験は36 ± 1℃で行った。活動電位(AP)は、Axoclamp2B(Axon Instruments/Molecular Devices, Sunnyvale, CA)を用いてブリッジモードで増幅した。そして、A/Dコンバータ(Digidata 1440A; Axon Instruments, Foster City, CA)によってデジタル化し、PCLAMP10ソフトウェア(Axon Instruments/Molecular Devices)により解析した。ニューロンから記録したデータの中で-50 mV未満の静止膜電位と振幅が60 mVより小さいAPは、本研究からは除外した。逆行性刺激(持続時間0.1 ms)は吸引電極を用いて行った。刺激強度は、デジタル出力アイソレータ(SS-202J, 日本光電, 東京, 日本)でモニターした。伝導速度はAPの潜時と後根の長さから算出した。

### 3) 脊髄スライス標本の作製と後根刺激誘起シナプス応答記録法

脊髄スライスの作製: 成熟SD系雄性ラット



**Fig. 1** Three types of DRG neurons classified by conduction velocity and stimulus intensity

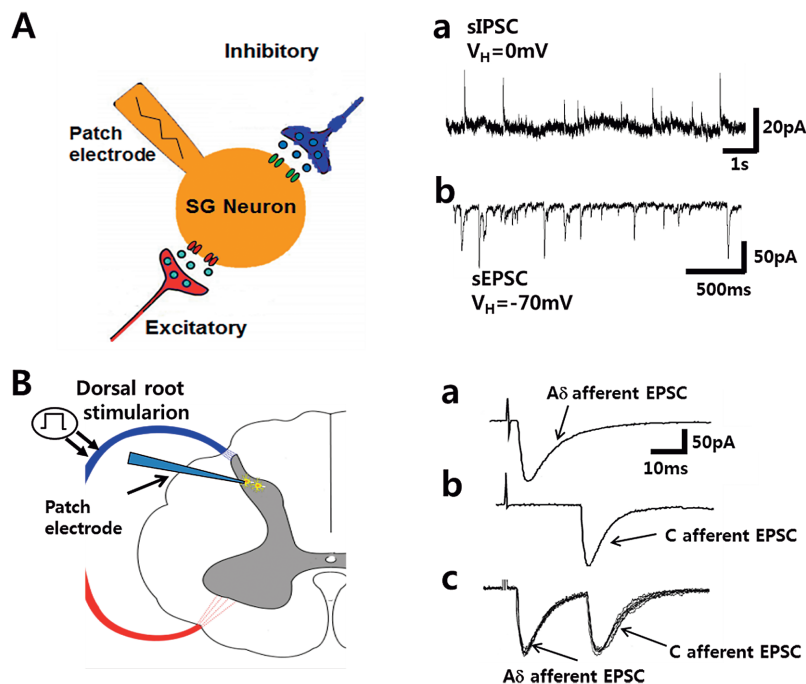
**A.** Schematic representation of the intracellular recording. **B.** Typical traces of action potentials elicited in  $A\beta$  type neurons (B). **C.** Typical traces of action potentials elicited in  $A\delta$  type neurons. **D.** Typical traces of action potentials elicited in C type neurons.

(6~8 週齢) をウレタン (腹腔内投与: 1.2~1.5 g/kg) で深麻酔後, 腰仙部の椎弓切除を行った. 約 1.5~2.0 cm の長さで脊髄を摘出し, 冷却した酸素飽和クレブス液 (1~3°C) に入れた. 手術後直ちにラットに過量のウレタンを腹腔内に追加投与し, 心臓・大血管を切開して出血死させた. 実体顕微鏡下で, 硬膜やクモ膜, 軟膜を除去した後に, 寒天ブロックに設けた溝に置き, マイクロスライサーを用いて厚さ約 600  $\mu\text{m}$  の横断スライスを作製した. 後根を付した標本を得る場合には, 一側の L5 の後根を残し, 他の前根や後根を全て切除し, また温存した後根の周囲を除きクモ膜と軟膜を除去した後に, 厚さ約 650  $\mu\text{m}$  の横断スライスを作製した. このスライス標本を防振台上に固定した記録用チャンパー内のナイロンメッシュの上に置き, EM グリッドで軽く固定した後, 約 36°C に加温して酸素負荷したクレブス液で灌流 (15~20 ml/分) した. 下から脊髄スライスに透過光を当てると, 実体顕微鏡下において脊髄後角の膠様質は半透明なバンドとして容易に視認可能であった. この膠様質ニューロンにブラインド・ホールセル・パッチクランプ法を適用して膜電流を記録した. パッチ電極内液の組成 (mM) について, 興奮性シナプス後電流 (EPSC) を記録する

際には K-gluconate 135, KCl 5,  $\text{CaCl}_2$  0.5,  $\text{MgCl}_2$  2, EGTA 5, HEPES 5, Mg-ATP 5 (pH = 7.2) を, 抑制性シナプス後電流 (IPSC) を記録する際には Cs-sulfate 110,  $\text{CaCl}_2$  0.5,  $\text{MgCl}_2$  2, EGTA 5, HEPES 5, TEA 5, Mg-ATP 5 (pH = 7.2) を用いて行った. EPSC は -70 mV ( $\text{Cl}^-$  チャネル電流の逆転電位近く) の保持膜電位で IPSC が記録されない条件下で行った. 一方, IPSC は 0 mV (EPSC の逆転電位近く) において EPSC が記録されない条件下で行った. 後根刺激誘起の EPSC を記録する際には, 吸引電極を用いてアイソレーターを介し刺激装置から持続時間 0.1 ms の矩形波の電気刺激を与えた. 局所刺激による IPSC を記録する時には, EPSC のブロッカーである CNQX (10  $\mu\text{M}$ ) 存在下に記録電極の近く (150  $\mu\text{m}$  以内) に刺激電極を留置して電気刺激を行った. これらの刺激は特別の場合を除き 0.2 Hz の頻度で行った. 刺激電極は手動式マイクロマニピレーターで目的とする位置に固定した (Fig. 2).

#### 4) 統計解析

データは, 平均  $\pm$  SEM として示した. グループ間の有意性は一元配置分散分析 (ANOVA) を



**Fig. 2** Schematic representation of the patch clamp recording in substantia gelatinosa (SG) neurons of the spinal dorsal horn

**A**, Spontaneous excitatory and inhibitory synaptic responses (sEPSC and sIPSC) in SG neurons. **Aa**, sEPSC. **Ab**, sIPSC. **B**, Excitatory synaptic responses evoked by dorsal root stimuli in SG neurons of the spinal dorsal horn. The synaptic responses elicited by stimulation of A $\delta$  (**Ba**), C (**Bb**) and A $\delta$ , C (**Bc**) afferents.

し、事後検定として turkey 検定を用いた多重比較を行った。なお有意水準は 5% ( $p < 0.05$ ) とした。

## 実験結果

### 1) ベンゾピレン投与が体重に及ぼす影響

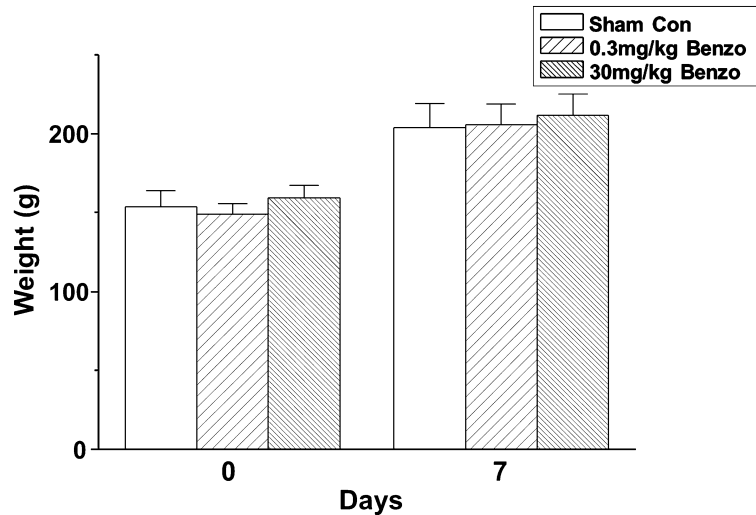
ベンゾピレン投与が体重変化に及ぼす影響を検討した。Fig. 3 は corn oil 又はベンゾピレン投与したラットの体重の推移を示す。最終測定時に、各群 50 g 程度の増加を示し、各群間で有意な変化は見られなかった。

### 2) ベンゾピレン投与が後根神経節に及ぼす影響

後根神経節細胞から細胞内記録を行い、後根神経節に存在する 3 種類の大きさの細胞から静止膜電位、自発性活動電位を記録した。いずれの線維においても自発性の活動電位は記録されなかった。次いで、後根刺激によって誘起される活動電位の刺激からの潜時と刺激部位からの長さを指標にして伝導速度を算出した。正常ラット群では、A $\beta$

線維の静止膜電位は  $-68 \pm 1.7$  mV でその伝導速度は  $20.9 \pm 0.6$  m/s であった。A $\gamma$  線維は静止膜電位が  $-68 \pm 3.0$  mV でその伝導速度は  $8.8 \pm 0.8$  m/s であった。また、C 線維の静止膜電位および伝導速度はそれぞれ  $-71 \pm 3.7$  mV,  $0.8 \pm 0.8$  m/s であった。

次いで、ベンゾピレンを経口投与したラットから摘出した後根神経節細胞を用いて同様の実験を行った。その結果、0.3 mg/kg, 30 mg/kg ベンゾピレンを投与したラット群の静止膜電位には若干の差が見られるものの有意ではなかった。次に伝導速度を計測した。A $\beta$  線維の伝導速度では 0.3 mg/kg ベンゾピレン投与群で  $15.8 \pm 1$  m/s ( $p < 0.05$ ), 30 mg/kg ベンゾピレン投与群では  $13.3 \pm 0.1$  m/s ( $p < 0.05$ ) で有意に正常ラット群より遅かった。A $\gamma$  線維の伝導速度では 0.3 mg/kg ベンゾピレン投与群で  $8.3 \pm 0.6$  m/s, 30 mg/kg ベンゾピレン投与群では  $8.4 \pm 0.4$  m/s で有意な変化は認められなかった。また、C 線維でも A $\gamma$  線維と同様に 0.3 mg/kg ベンゾピレン投与群で  $0.8 \pm 0.4$  m/s, 30 mg/kg ベンゾピレ



**Fig. 3** The effects of benzo [a] pyrene on bodyweight  
Sham Con, Sham Control ; Benzo, benzo [a] pyrene

**Table 1** Comparison of electrophysiological properties between DRG neurons obtained from Sham control and benzo [a] pyrene treated rats

		RMP (mV)	CV (m/s)
<b>Sham Control</b>			
	Aβ neuron (n = 20)	-68±1.7mV	20.9±0.6m/s
	Aδ neuron (n = 15)	-65±3.0mV	8.8±0.8m/s
	C neuron (n = 10)	-71±3.7mV	0.8±0.8m/s
<b>Benzo [a] pyrene</b>			
<b>0.3mg/kg Benzo</b>	Aβ neuron (n = 13)	-66±2.6mV	15.8±1.0m/s*
	Aδ neuron (n = 14)	-69±1.0mV	8.3±0.6m/s
	C neuron (n = 11)	-68±1.4mV	0.8±0.4m/s
<b>30mg/kg Benzo</b>	Aβ neuron (n = 15)	-67±0.6mV	13.3±0.1m/s*
	Aδ neuron (n = 16)	-71±3.7mV	8.4±0.6m/s
	C neuron (n = 9)	-69±2.2mV	0.9±0.4m/s

RMP, resting membrane potential ; CV, conduction velocity ; Mean ± S.E. ; \*,  $p < 0.05$

ン投与群では  $0.9 \pm 0.4$  m/s で有意な変化は認められなかった (Table. 1).

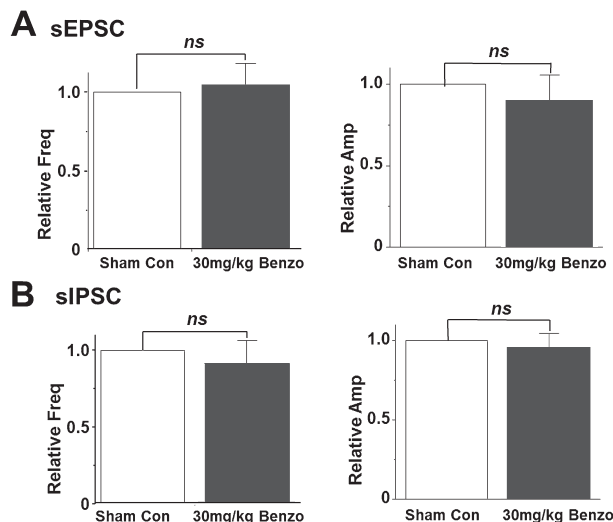
### 3) ベンゾピレン投与が膠様質細胞の自発性 EPSC (sEPSC) と IPSC (sIPSC) シナプス応答に及ぼす影響

脊髄後角において如何なる可塑的な変化が生じているかを検討した. 正常ラット膠様質細胞から記録を行い, 固定膜電位 -70 mV で sEPSC の頻度と振幅を 30 mg/kg ベンゾピレン投与ラットのそれらと比較検討したが, 有意な差は認められなかった. 次に膜電位 0 mV で sIPSC の比較を

行ったが, 振幅および頻度には有意な差は見られなかった (Fig. 4).

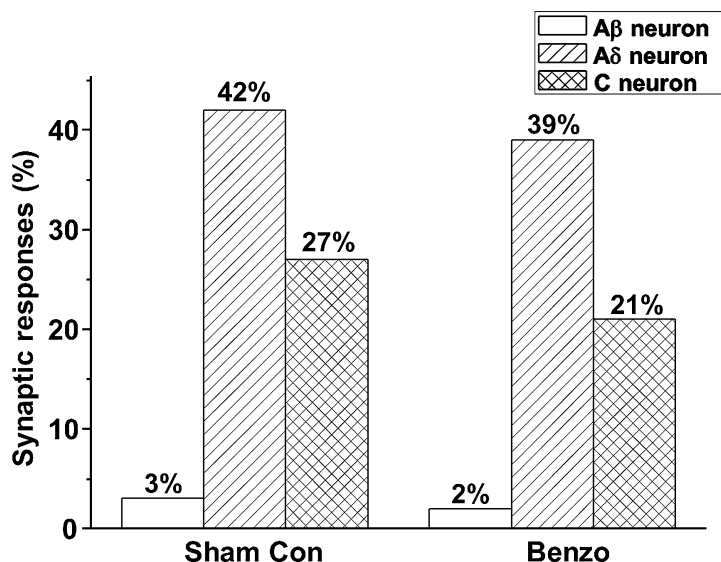
### 4) ベンゾピレン投与が後根誘起シナプス応答に及ぼす影響

自発性応答に加えて後根刺激によって誘起される興奮性応答の発現率を調べた. 3 種類の後根誘起シナプス応答の発現率では正常ラット群, ベンゾピレン投与群ともに発現率に有意な差は見られなかった (Fig. 5). また, 有髄の Aγ 線維や無髄の C 線維刺激によって誘起される EPSC を膠様質細胞から記録し, それぞれの振幅について検討



**Fig. 4** The effects of benzo [a] pyrene on sEPSC and sIPSC

Sham Con, Sham Control ; Benzo, benzo [a] pyrene ; Freq, Frequency ; Amp, Amplitude ; ns, no significance ; Mean  $\pm$  S.E.



**Fig. 5** The effects of benzo [a] pyrene on synaptic responses elicited by stimulation of A $\beta$ , A $\delta$  and C afferents

Sham Con, Sham Control ; Benzo, benzo [a] pyrene ; Mean  $\pm$  S.E.

した。A $\gamma$ 線維刺激によって潜時の短いEPSCが、C線維刺激によって線維の長いEPSCが記録された。それぞれの振幅と潜時を正常ラットのそれらと比較検討したが有意な差は認められなかった (Table. 2).

## 考 察

油症はポリ塩化ビフェニールおよびダイオキシ

ン類が混入したカネミオイルを摂取して発症した複合中毒である。患者は痤瘡様皮疹、面皰、囊腫などの皮膚症状、眼瞼浮腫や眼脂過多などの眼症状、口腔粘膜や皮膚の色素沈着、痰や咳などの呼吸器症状、しびれや頭痛などの神経症状、全身倦怠感などの全身症状など多彩な症状を示した。油症の発生から45年以上経過しているが、いまでも何人かの患者が、ダイオキシシン類特有の症状に

**Table 2** The effects of benzo [a] pyrene on EPSC amplitude elicited by stimulation of A $\beta$ , A $\delta$ , and C afferents

	Sham control	Benzo [a] pyrene
A $\beta$ neuron	53pA (n = 1)	43pA (n = 1)
A $\delta$ neuron	50 $\pm$ 46pA (n = 30)	49 $\pm$ 31pA (n = 18)
C neuron	39 $\pm$ 35pA (n = 21)	42 $\pm$ 32pA (n = 18)

悩まされている。これら患者の血液中ポリ塩化ビフェニールやダイオキシン類濃度は健康人に比べて高濃度である<sup>1)</sup>。Dioxin 類似化合物 (PCB, PCDF, dioxin 等) による神経障害は感覚神経障害が主であり、末梢神経障害によるものと考えられている。油症患者の神経検査において、末梢神経障害の客観的指標であるアキレス腱反射の低下を認める人数は発症時 34.8%、33 年後の最近では 17.4% と経時的に減少し、正常対照でのアキレス腱反射低下率は 14.6% に近づいている。一方、自覚的感覚異常は発症時には 39.1% であったものが、33 年後の最近では 59.4% と増加している。即ち、客観的に評価される末梢神経障害は改善しているのに、自覚的感覚障害は経時的に増悪するという乖離が認められる。この乖離の原因として、皮膚受容器の障害や中枢神経系レベルの変化が考えられる<sup>5)~7)</sup>。カネミ油症患者では、神経のしびれ感や感覚鈍麻の発生などの末梢神経障害および中枢神経障害が多く報告されている<sup>4)</sup>。今回の実験ではベンゾピレンを経口投与した 7 日後のラットを用い、後根付き後根神経節標本から末梢神経の静止膜電位や伝導速度等を正常ラットのそれらと比較検討した。その結果、ベンゾピレン投与ラットの後根神経節の A $\beta$  線維で伝導速度が有意に低下している結果を得たが、A $\gamma$  線維と C 線維では若干の差は見られたが有意差は無かった。しかし、静止膜電位では群間有意な差を見いだすことは出来なかった。A $\beta$  線維の伝導速度の緩徐化は、末梢のしびれ感と関係が有る可能性がある。A $\beta$  線維は A $\gamma$  や C 線維と比較して機械的な圧迫によって機能障害を容易に起こすことが知られている<sup>8)</sup>。末梢神経、特に太い感覚神経の伝導速度の低下は感覚鈍麻やしびれと密接に関連しており、正座時には太い線維から障害を受け、脚のしびれや感覚鈍麻を来す現象と類似する。これは油症患者が訴えるしびれ感や感覚鈍麻と良く一致しており、それらは主に末梢神経の機能異常によって発生している可能性が高いと考えられる。ここで問

題になるのは A $\beta$  線維にのみ有意な変化が惹起され、同じ有髄の A $\gamma$  線維には何ら有意な変化が見られなかったことである。この点についての検討は電気生理学的な手法では明らかにすることは不可能と考えられ、今後、神経化学的、分子生物学的な手法を用いた解明が必要と思われる。所で、今までの多くの基礎研究から末梢神経の異常は容易に脊髄内での可塑的な変化を引き起こすことが知られている。そのため脊髄内でも何らかの変化が惹起されているものと考えられた。従って、本研究では脊髄後角におけるシナプス応答の可塑的な変化について脊髄スライスに後根を付した標本を用いて検討した。しかし、sEPSC および sIPSC いずれも有意な変化を見いだすことは出来なかった。また、A $\gamma$  および C 線維誘起 EPSC の振幅にも有意な変化はみられなかった。感覚異常は長期に渡って持続すること、脊髄内では可塑的な変化が見られないことから、末梢神経の伝導異常には、A $\beta$  線維を包む髄鞘における異常、例えば脱髄などの関与が考えられる。もう一つの可能性は、今回記録を行った膠様質細胞は主に A $\gamma$  と C 線維の入力を受けており、A $\beta$  線維からの入力が少ない。実際に後根刺激によって誘起される興奮性応答の発現率をみると A $\beta$  線維の応答がほとんど記録できない。そのためスライス標本を用いた実験では A $\beta$  線維の伝導速度の低下による影響が少なく、膠様質における可塑的な変化を捉えることが出来なかった可能性がある。A $\beta$  線維は膠様質より III 層以下の深部に入力しているため、深層の細胞からの記録が必要と考えられる。今後、膠様質のみでなく深層の細胞からも記録を行い、脊髄内においても異常が惹起されているか否かを詳細に調べる必要がある。

## 結 論

正常ラットとベンゾピレン投与ラットの後根神経節細胞から細胞内記録を行った。その結果、A $\beta$  線維の伝導速度が有意に緩徐化していることを

見いだしたが、A $\gamma$ やC線維には影響を与えなかった。しかし、静止膜電位では全ての群で有意な差を見いだすことは出来なかった。また、正常とダイオキシン投与ラットの脊髄スライス標本を用い、脊髄膠様質細胞から記録を行い、脊髄内での可塑的な変化を検討したが、少なくとも膠様質細胞では有意な変化は見られなかった。今回の結果からベンゾピレン投与はA $\beta$ 線維の伝導速度の変化を起し、しびれなどの感覚異常を引き起こす可能性が示唆された。

### 謝 辞

本研究は、厚生労働省科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業（カネミ油症に関する研究））（課題番号：H27-食品-指定-017）の助成を受けたものである。ここに記して謝辞を表します。

### 参 考 文 献

- 1) Aoki Y : Polychlorinated biphenyls, polychlorinated dibenzo-p-dioxins, and polychlorinated dibenzofurans as endocrine disrupters—what we have learned from Yusho disease. *Environ Res.* 86 : 2-11, 2001.
- 2) 黒岩義五郎, 村井由之, 三田哲司 : 油症患者における神経学的所見. *福岡医誌* 60 : 462-463, 1969.
- 3) 岩下宏, 志田堅四郎, 増田義人 : 慢性油症患者における頭痛, 四肢異常感と血中PCB. *福岡医誌* 68 : 139-144, 1977.
- 4) 古谷博和, 大八木保政, 山田猛, 三好甫, 藤井直樹, 吉良潤一 : 36年以上経過した油症患者における神経症候. *福岡医誌* 96 : 152-156, 2005.
- 5) Chia LG and Chu FL : A clinical and electrophysiological study of patients with polychlorinated biphenyl poisoning. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry.* 48 : 894-901, 1985.
- 6) Michalek JE, Akhtar FZ, Arezzo JC, Garabrant DH and Albers JW : Serum dioxin and peripheral neuropathy in veterans of Operation Ranch Hand. *Neurotoxicology* 22 : 479-490, 2001.
- 7) Thömke F, Jung D, Besser R, Röder R, Konietzko J and Hopf HC : Cranial nerve function in workers exposed to polychlorinated dioxins and furans. *Acta Neurol. Scand.* 106 : 155-158, 2002.
- 8) 金谷邦人, 山下敏彦, 川口哲, 竹林庸雄, 片平弦一郎 : 腰椎椎間板ヘルニアにおける current perception threshold. *臨床整形外科* 38 : 301-305, 2003.

(Received for publication February 24, 2017)