

坐骨神経および脊髄神経のタンパク質発現に基づく ベンゾ[a]ピレン投与ラットに対するシナモンの効果

申, 敏哲

熊本保健科学大学保健科学部リハビリテーション学科

行平, 崇

熊本保健科学大学保健科学部リハビリテーション学科

小牧, 龍二

熊本保健科学大学保健科学部リハビリテーション学科

福永, 貴之

熊本保健科学大学保健科学部リハビリテーション学科

他

<https://doi.org/10.15017/6790830>

出版情報：福岡醫學雑誌. 114 (1), pp.22-30, 2023-03-25. 福岡医学会
バージョン：
権利関係：



原 著

坐骨神経および脊髄神経のタンパク質発現に基づく ベンゾ[a]ピレン投与ラットに対するシナモンの効果

¹⁾熊本保健科学大学 保健科学部 リハビリテーション学科

²⁾帝京大学福岡医療技術学部 理学療法学科

³⁾リハビリテーションセンター 熊本回生会病院

⁴⁾くまもと南部広域病院

⁵⁾医療法人社団温故会 直方中村病院

申 敏 哲¹⁾, 行 平 崇¹⁾²⁾, 小 牧 龍 二¹⁾³⁾, 福 永 貴 之¹⁾⁴⁾,
田 中 哲 子¹⁾, 吉 村 恵⁵⁾

Effect of Cinnamon on Benzo[a]pyrene-Treated Rats Based on Sciatic and Spinal Nerve Protein Expression

Min-Chul SHIN¹⁾, Takashi YUKIHIRA¹⁾²⁾, Ryuji KOMAKI¹⁾³⁾, Takayuki FUKUNAGA¹⁾⁴⁾,
Tetsuko TANAKA¹⁾ and Megumu YOSHIMURA⁵⁾

¹⁾*Department of Rehabilitation, Faculty of Health Sciences, Kumamoto Health Science University,
Kumamoto, Japan*

²⁾*Department of Physical Therapy, Teikyo University Faculty of Fukuoka Medical Technology,
Fukuoka, Japan*

³⁾*Rehabilitation Center Kumamoto Kaiseikai Hospital, Kumamoto, Japan*

⁴⁾*Kumamoto Southern Regional Hospital, Kumamoto, Japan*

⁵⁾*Nogata Nakamura Hospital, Fukuoka, Japan*

Abstract

This study investigated the effects of cinnamon on benzo[a]pyrene-administered rats within the peripheral and central nerves using behavioral and molecular biological methods. As a result, the benzo[a]pyrene-administered group (Ben-DW) showed a significant decrease in locomotor activity at night compared to the corn oil-administered group (Corn-DW), but this decrease was significantly suppressed in the cinnamon-administered rat groups (Ben-3 mg CNM and Ben-10 mg CNM). In the study of sensory threshold changes using 2000 Hz electrical stimulation, the Ben+DW group showed increased sensory threshold compared with that in the Corn-DW group. However, the administration of cinnamon suppressed this increase in the threshold. In addition, the Ben-DW group experienced more oxidative stress than did the Corn-DW group, and cinnamon administration improved the oxidative stress. To investigate the relationship between behavioral and oxidative stress level changes in rats induced by administering benzo[a]pyrene and cinnamon and assess changes in the peripheral and central nerves, cytochrome P450 (P450) 1A1 (CYP1A1), myelin-associated glycoprotein (MAG), and myelin basic protein (MBP) proteins were analyzed on the sciatic nerve fibers and spinal cord. Regarding the Aryl hydrocarbon receptor (AHR) target gene CYP1A1, the Ben-DW group had significantly increased CYP1A1 protein expression in both the sciatic and spinal nerves, when

Corresponding author : Min-Chul SHIN

Laboratory of Neuroscience, Kumamoto Health Science University, Izumimachi 325 kumamoto, Japan 861-5598

TEL : + 81-96-275-2111, FAX : + 81-96-245-2175

E-mail : karosu94@kumamoto-hsu.ac.jp

compared with that in the Corn-DW group. However, cinnamon administration on both nerves significantly suppressed that increase. For MAG protein, the Ben-DW group had significantly decreased protein expression, in comparison with that in the Corn-DW group, in the sciatic nerve fibers, and its suppression decreased in the cinnamon-treated group. However, there was no significant difference between the groups in the spinal cord. As for MBP protein, there was a slight change between the groups in both sciatic and spinal nerves, but there was no significant difference. According to these results, we can conclude that exposure to benzo[a]pyrene may cause paresthesia due to its toxicity to both the peripheral and central nerves. However, it is hypothesized that the peripheral nerves are more likely to be affected than the central nerves. In addition, herbs and herbal ingredients such as cinnamon, which have antioxidant and AHR activity inhibitory effects, may be effective in benzo[a]pyrene exposure. However, further studies are needed to clarify the action of dioxins, such as benzo[a]pyrene, on the central nervous system.

Key words : benzo[a]pyrene, cinnamon, sciatic nerve, spinal nerve

はじめに

ダイオキシン類化合物による複合中毒であるカネミ油症事件は、発生からおおよそ50年の年月が経過した現在においても様々な後遺症が多く報告されている¹⁾²⁾。特に、一部の患者では末梢の感覚鈍麻やしびれ感、自律神経失調症等の末梢神経障害および中枢神経障害等が報告されているが、その理由については不明な部分が多い^{2)~4)}。油症の急性期には、全身倦怠感、食欲不振、体重減少、頭重感といった全身症状が見られることが報告されている。特に全身倦怠感、頭痛、手足のしびれといった自覚症状は、未だに50%の患者さんに認められ、これらの症状はダイオキシン類が末梢神経系に限らず中枢神経系にも何らかの影響を与える可能性を示唆している⁵⁾⁶⁾。ダイオキシン類は、芳香族炭化水素受容体 (Arylhydrocarbon receptor, 以下 AHR) を介してその毒性を発揮させることと様々な植物成分や生薬が AHR の活性を抑制させることが Uchi ら⁷⁾ により報告されている。特に、生薬の一つであるケイヒは、抗酸化作用と AHR 活性化の阻害作用があり、ダイオキシン類の中毒症状を改善させる可能性が報告されている⁷⁾。近年、私たちが行ったダイオキシン類似化合物の一つであるベンゾピレンを用いた動物実験で、ベンゾピレンに曝露されたラットの末梢のしびれ感等に関係が有るとされる $\text{A}\beta$ 神経線維の伝導速度が低下していることが確認された⁵⁾⁶⁾。これらの行動学的・電気生理学的動物実験による結果は、ダイオキシン類が末梢神経系に明らかに影響を与えることを示したものの、中枢神経系に

与える影響については未だ明らかでないのが現状である。従って、本研究では、24 時間行動評価ができる自発運動量計と小動物用感覚閾値測定装置を用いた行動学的評価法と分子生物学的手法を用いた坐骨神経と脊髄神経内の変化を検討することでベンゾピレンとケイヒの投与がラットの末梢及び中枢神経に及ぼす影響を明らかにすることを目的とした。

実験方法

1. 実験動物

5 週齢の Wistar 系雄性ラット (SLC 株, 静岡) を用いて、コーンオイル 2 週間連続投与後蒸留水投与 (Corn-DW) 群、ベンゾピレン 2 週間連続投与後蒸留水投与 (Ben-DW) 群、ベンゾピレン 2 週間連続投与後ケイヒ投与 (Ben-3 mg CNM と Ben-10 mg CNM) 群に分けた。ラットは市販の飼料 (CE-2, 日本クレア) 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をし、室温 25.0℃、湿度 55 ± 5% の条件下で飼育した。

(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 18-10) を得て行った。3 種混合麻酔薬の全身深麻酔下で心臓から採血後、左右の坐骨神経と脊髄神経を採集し、その後、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. 試薬の投与

ベンゾピレン (Benzo[a]pyrene) は富士フィル

ム和光純薬(株)から購入した。ケイヒはスリランカ産のオーガニックシナモンを使用した。コーンオイル投与群にはコーンオイルを、ベンゾピレン投与群には 30 mg/kg ベンゾピレンをコーンオイルに溶かして経口投与器にてそれぞれのラットに2週間、一回 500 μ l ずつ胃に直接投与した。2週間のベンゾピレン投与後からコーンオイル投与群とベンゾピレン投与群には蒸留水、ケイヒ投与群には蒸留水に溶かした 3 mg/kg と 10 mg/kg のケイヒをそれぞれ経口投与器で 500 μ l ずつ、4週間胃に直接投与した。

3. ナノタグの装着と自発運動量の計測

ラットの自発運動量の計測のために小型運動量計であるナノタグ (キッセイコムテック株式会社, nano tag) を使用した。背中側にナノタグを装着するため、ラット等小動物実験用簡易吸入麻醉装置を用いて、3% イソフルランを使用し深麻醉下で背部を剃毛した後に、ヨード液を用いて皮膚の消毒を行った。滅菌済みの手術道具を用いて除毛部位の皮膚を一部切開し、皮膚と筋肉の間にナノタグを挿入した後、手術用の糸を用いて筋肉に固定した。切開した皮膚は手術用の糸にて縫合し、ヨード液で傷部位の消毒を行った。自発運動量の計測については、手術1週間後から毎週1回、20時から24時間計測した。

4. 感覚閾値の測定

時間的経過による感覚の変化は小動物用電気刺激装置 (STG2000 バイオリサーチセンター) を用いて電気刺激による感覚閾値を測定した。ラットを拘束装置に入れ、一定時間放置し、ラットが環境に慣れた頃合いをみて開始した。周波数は、末梢のしびれ感と関係する A β 線維の刺激が可能である 2,000 Hz の正弦波電機刺激のみを利用し覚醒下のラット右後肢足底部に与え、刺激を与えてからラットの逃避反応が観察された時点までの時間を計測し、p-clamp ソフトウェア (Axon Instrument 社製) で、刺激時間から刺激強度 (μ A) を換算した。

5. 酸化ストレス・抗酸化力測定と CYP1A1, MBP, MAG タンパク質の測定

最終日の行動実験実施後、直ちに3種混合麻酔

薬を用いてラットを麻酔し、心臓から採血後、坐骨神経と L1~L5 の脊髓標本を採集し、-80℃に凍結した。血液試料は遠心分離し、取り出した血清を用いて、採血後 72 時間以内に酸化ストレスと抗酸化力の測定を行った。測定機器はフリーラジカル解析装置 FREE CARRIO DUO (WISMERLL 社) を用いた。測定キットは、酸化ストレスの測定に d-ROMs テスト (正常範囲: 200 から 300 U.CARR) (Diacron 社製)、抗酸化力の測定に BAP テスト (最適値: 2200 μ M/L 以上) (Diacron 社製) を使用した。d-ROMs テストでは、pH4.8 の酢酸緩衝液キュベットを 37℃ まで加温し、保温したキュベットに血清 20 μ l を入れた後、呈色液クロモゲン (N, N ジエチルパラフェニレンジアミン) を 20 μ l 入れ混合し、光度計に入れて活性酸素・フリーラジカルによる代謝物であるヒドロペルオキシドの量を測定した。単位は U.CARR が用いられ、1 U.CARR = 0.08 mg/100 ml H₂O₂ になる。BAP テストは、チオシアン酸塩誘導体を含む試薬入りのキュベットを 37℃ まで加温する。次に三価鉄塩を含む試薬を 50 μ l 滴下、混合し赤く呈色させる。その後光度計で三価鉄イオン濃度を測定後、三価鉄イオンが呈色している試薬に血清を 10 μ l 入れて混合すると血清中の抗酸化物質の作用で二価鉄イオンに還元され、脱色される。その色の変化を光度計で計測し、血清の還元力を評価した。

凍結したラットの坐骨神経と脊髓神経は解凍後、T-PER Tissue Protein Extraction Reagent (Thermo Fisher Scientific) を用いてタンパク質を抽出した。得られたタンパク質抽出液は cytochrome P450 (P450) 1A1 (CYP1A1, Santa Cruz Biotechnology), myelin basic protein (MBP, Cosmo Bio), myelin-associated glycoprotein (MAG, Cosmo Bio), 2'3'-cyclic nucleotide 3'-phosphodiesterase (CNPase, GENETEX), β -Actin (Cell Signaling Technology) の抗体を用いてタンパク質自動分析装置, WES (Protein simple) により分離し分析を実施した。

6. 統計処理

自発運動量と感覚閾値の結果は、標準偏差 (S.D.) で、酸化ストレス・抗酸化力と CYP1A1, MBP, MAG タンパク質測定結果は平均 $\pm$ 標準誤

差 (S.E.) でそれぞれ算出した。各群間差は、一元配置分散分析事後検定として Scheffe 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。

結 果

1. 時間的経過による自発運動量の変化

ベンゾピレンとケイヒ投与がラットの自発運動量変化に及ぼす影響を、ナノタグを用いてベンゾピレンの投与前、投与 2 週間後、その後の蒸留水又はケイヒの連続 4 週間投与まで 1 週間毎に測定を行った。その結果、コーンオイル 2 週間投与後蒸留水投与群 (Corn-DW, 23337.1 ± 1263.3) に対し、ベンゾピレン投与後蒸留水投与群 (Ben-DW, 19205.4 ± 1140.2 , $p < 0.001$) で有意な夜の自発運動量の低下がみられた。また、ベンゾピレンを 2 週間投与後からケイヒを投与した群 (Ben-3 mg CNM (21810.1 ± 1336.4 , $p < 0.05$) と Ben-10 mg CNM (22080.6 ± 1032.8 , $p < 0.01$)) については自発運動量の低下の抑制が認められた。しかし、昼の自発運動量については各群間で有意な変化は認められなかった (Fig. 1)。

2. ベンゾピレンとケイヒの投与による感覚閾値の経時的変化

ベンゾピレンとケイヒの投与がラットの感覚閾値変化に及ぼす影響を、小動物用電気刺激装置を用いて評価で測定した。植田ら⁸⁾は、5Hz の刺激により C 線維、250Hz の刺激により A δ 線維、2,000 Hz の刺激により A β 線維を選択的に刺激することが出来ると報告している。本研究では末梢のしびれ感と関係する A β 線維の刺激が可能である 2,000 Hz の正弦波電機刺激のみを利用し覚醒下で閾値を測定した。その結果、2,000 Hz の電気刺激周波数による感覚閾値変化において、Corn + DW 群 (475.2 ± 89.2) に対し、Ben + DW 群 (587.7 ± 98.3 , $p < 0.05$) で感覚閾値の有意な上昇がみられ、ケイヒ投与群 (Ben-3 mg CNM (500.2 ± 89.1 , $p < 0.05$) と Ben-10 mg CNM (481.2 ± 96 , $p < 0.05$)) で、その感覚閾値上昇の抑制がみられた (Fig. 2)。

3. 酸化ストレス・抗酸化力に対するベンゾピレンとケイヒの影響

自発運動量の変化と酸化ストレスの関係性を明らかにするために、酸化ストレス度に対する影響を検討した。その結果、Corn-DW 群 (320 ± 21.1) に対し、Ben-DW 群 (374.1 ± 23.4 , $p < 0.05$) で酸化ストレスの有意な上昇がみられ、その上昇は Ben-3 mg CNM (350.6 ± 20.6) と Ben-10 mg CNM 群 (340.6 ± 18.6) で抑制傾向がみられたものの、有意差は認められなかった (Fig. 3A)。抗酸化力に関しては、Corn-DW 群 (3678.3 ± 203.8) に対し、Ben-DW 群 (2905.2 ± 196.6 , $p < 0.001$) で抗酸化力の有意な低下がみられたが、Ben-3 mg CNM (3231.3 ± 210.1) と Ben-10 mg CNM 群 (3401.2 ± 138.5 , $p < 0.05$) では、Ben 群に対し、抗酸化力の上昇傾向又は有意な上昇が認められた (Fig. 3B)。これらの結果から酸化ストレス度を計算した結果が Fig. 3C である。BAP/d-ROMs ≤ 12.5 の場合を酸化ストレス状態とみなす。酸化ストレス度については、Ben-DW 群 (7.8 ± 0.8 , $p < 0.001$) で Corn-DW 群 (11.5 ± 0.7) に対し、酸化ストレス状態であり、Ben-3 mg CNM (9.2 ± 0.9) と Ben-10 mg CNM (10.0 ± 0.6 , $p < 0.01$) 群では Ben-DW 群に対し、有意な酸化ストレス状態の改善が見られた。

4. ベンゾピレンとケイヒの投与による

CYP1A1, MBP, MAG タンパク質の変化

ベンゾピレンとケイヒの投与によるラットの行動変化や酸化ストレス度の変化と末梢及び中枢神経内の変化の関連性を検討するために坐骨神経と脊髄の L1~L5 を取り出し、AHR の活性を測定するために CYP1A1 タンパク質 (Fig. 4A)、中枢神経内の脱髄と自発運動量変化の関係を検討するために MAG (Fig. 4B)、MBP (Fig. 4C) タンパク質を測定した。AHR の標的遺伝子である CYP1A1 に関しては、Ben-DW 群 (坐骨神経, 5.0 ± 0.2 , $p < 0.001$ と脊髄神経, 4.6 ± 0.1 , $p < 0.001$) で Corn-DW 群 (坐骨神経, 2.9 ± 0.2 と脊髄神経, 3.2 ± 0.2) に対し坐骨神経、脊髄神経共に CYP1A1 タンパク質の有意な発現増加がみられたが、ケイヒを投与した Ben-3 mg CNM (坐骨神経, 3.9 ± 0.3 , $p < 0.001$ と脊髄神経, 3.7 ± 0.4 , $p < 0.001$) と Ben-10 mg CNM 群

(坐骨神経, 3.6 ± 0.5 と脊髄神経, 3.3 ± 0.3) では, いずれの神経においても発現増加の有意な抑制がみられた. MAG タンパク質においては, 坐骨神経で Corn-DW 群 (0.79 ± 0.02) に対し Ben-DW 群 (0.67 ± 0.03 , $p < 0.001$) で有意な発現低下がみられ, Ben-10 mg CNM 群 (0.75 ± 0.02 , $p < 0.05$) ではその発現低下の抑制がみられた. しかし, 脊髄神経では各群有意な変化はみられなかった. MBP タンパク質については, いずれの神経においても若干の発現変化がみられたものの, 有意差はなかった.

考 察

本実験では, ダイオキシン類似化合物の一つであるベンゾピレンを投与したラットに対するケイヒの効果を, 自発運動量計と小動物用感覚閾値測定装置を用いた行動学的評価法と坐骨神経と脊髄神経を用いた分子生物学的手法で比較検討し, 動物の行動変化と末梢神経, 中枢神経内の変化の関連性について検討を行った. 自発運動量計を用いた行動学的評価法では, ベンゾピレン投与 (Ben-DW) 群でコーンオイル投与 (Corn-DW) 群に対し, 夜間の自発運動量の有意な低下がみられたが, ケイヒ投与群でその低下が抑制された. 古谷ら⁹⁾によるとカネミ油症患者で感覚鈍麻や神経のしびれ感などの末梢神経障害および中枢神経障害が多いことが明らかになっている. 末梢のしびれ感, 末梢神経の中でも $A\beta$ 線維の伝導速度緩徐化が関係していると考えられており, 近年私たちのベンゾピレンを用いた研究の結果でもベンゾピレンの毒性による $A\beta$ 神経線維の伝導速度低下が確認されている⁵⁾⁶⁾. また, 本実験のベンゾピレンを投与したラットでの閾値の測定結果でも, 先行研究と同様に 2,000Hz の電気刺激で閾値の上昇がみられたことから, 夜の自発運動量低下は, ダイオキシン類の毒性が $A\beta$ 線維の神経に作用し, 神経異常を起こした結果, 感覚異常の発生に至った可能性が考えられる. しかし, 油症の急性期には, 全身倦怠感, 食欲不振, 体重減少, 頭重感といった全身症状がみられることが報告されており, 特に全身倦怠感, 頭痛, 手足のしびれといった自覚症状は, 50%の患者さんに認められている^{2)~4)}. これらの症状はダイオキシン類が末梢神経系に限らず中枢神経系にも何らかの影響を与える可能性

を示唆している. 従って, 坐骨神経と L1~L5 までの脊髄を取り出し分子生物学的手法を用いて自発運動量の変化や感覚閾値の上昇と AHR の活性化や脱ミエリンとの関係について末梢神経と中枢神経を用いて検討した. その結果, ベンゾピレン投与により末梢神経と中枢神経内の CYP1A1 タンパク質の発現増加がみられ, その増加はケイヒ投与群で抑制されたことが確認された. MAG タンパク質については, ベンゾピレン投与群の坐骨神経内のみ MAG タンパク質の発現低下がみられ, ケイヒ投与によりその発現低下が抑制されたが, 脊髄神経内の MAG タンパク質と坐骨神経や脊髄神経内の MBP タンパク質においては, タンパク質発現の若干の変化はみられたものの, 有意差がなかった. 中枢神経系の神経回路の多くは, 神経軸索の周囲が髄鞘に覆われ, 跳躍伝導を行う有髄神経回路である. また, 髄鞘は内部の軸索に対して栄養供給をする働きもあることから¹⁰⁾, 髄鞘は神経機能の恒常性維持に重要な役割を担う構造物と認識されている. 種々の中枢神経疾患で病巣周囲に髄鞘の脱落が検出され, 脱髄は症状の発症や悪化をもたらす現象と認識されている^{11)~13)}. 従って, 油症でみられる全身倦怠感, 頭痛, 手足のしびれといった自覚症状は, ベンゾピレンによって引き起こされる $A\beta$ 神経線維の脱髄と同様に, ダイオキシン類によって中枢神経の脱髄が引き起こされた影響である可能性も考えられる. 一方で末梢神経の脱髄疾患は, 神経を覆っているミエリンが脱ミエリン化し, 神経信号がうまく伝達できなくなるため, 四肢のしびれなど様々な神経症状が出る疾患とされており, いずれの脱髄疾患も原因不明の疾患である^{10)~14)}. 本研究では, ベンゾピレンの毒性作用を CYP1A1 タンパク質で測定した結果, 末梢と中枢神経の両側でその作用がみられ, 末梢神経ではその毒性によって脱髄が引き起こされたことで神経の伝導速度が低下し, 感覚閾値が上昇した可能性が考えられたが, 中枢神経の脱髄に関する検討では各群間に差がみられなかったことから中枢神経よりも末梢神経の方がベンゾピレンによる影響を受けやすいと考えられる. 今回のナノタグを用いた行動実験では, ベンゾピレンの毒性による神経作用が自発運動量低下に影響を与えた可能性が考えられるが, その作用は中枢神経よりも末梢神経の異常による感覚障害

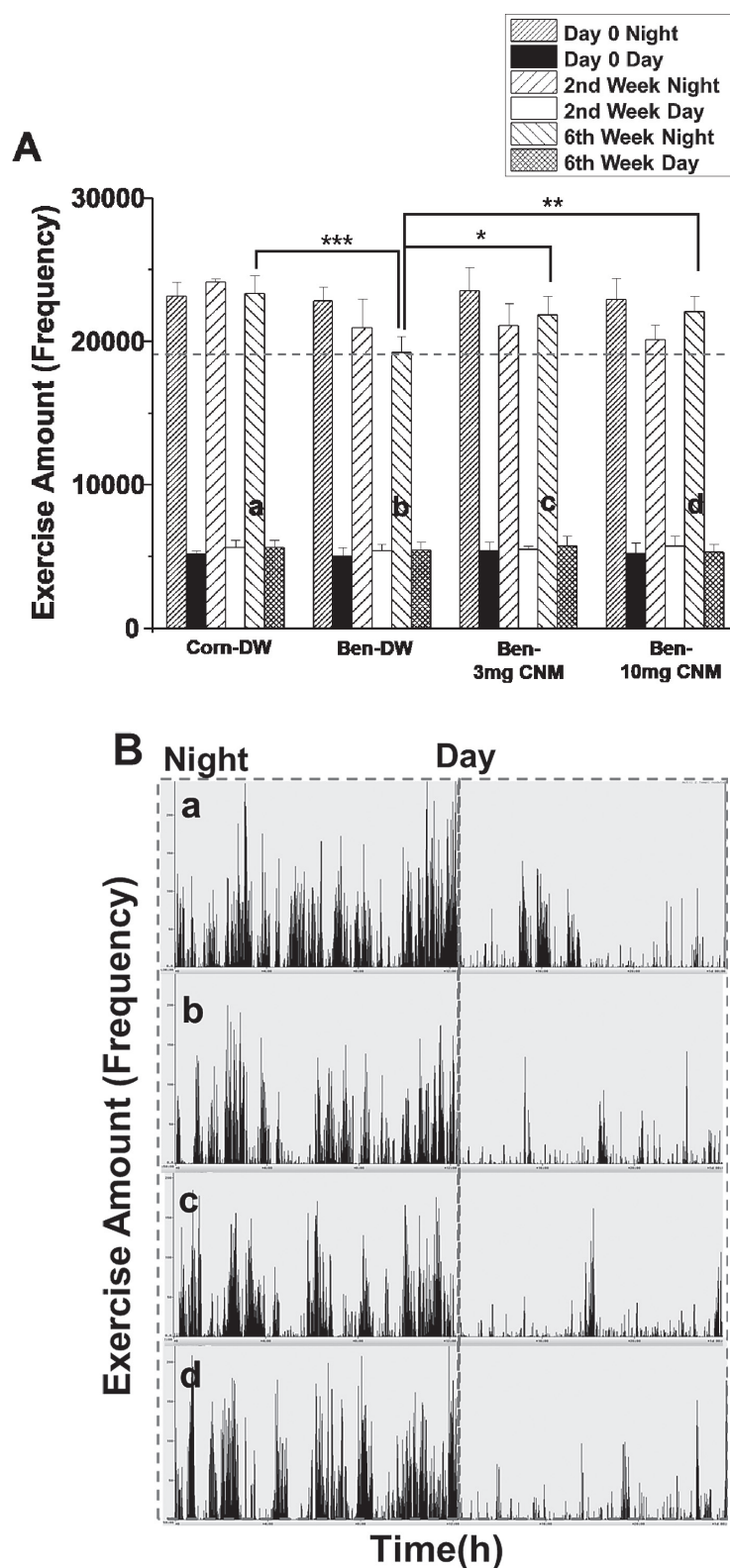


Fig. 1 Effects of benzo[a]pyrene and cinnamon administration in rat locomotor activities.

A, The changes in the locomotor activity. **B**, Typical actograms of Corn-DW, Ben-DW, and 3mg · 10mg Ben-CNM groups. a, b, c, d are the respective statistical data and typical actograms after 4 weeks of administration of distilled water or cinnamon. Corn, Corn-oil. DW, Distilled water. Ben, benzo[a]pyrene. CNM, cinnamon. *, $P < 0.05$. **, $P < 0.01$. ***, $P < 0.001$. Mean $\pm$ S.D. $n=6$.

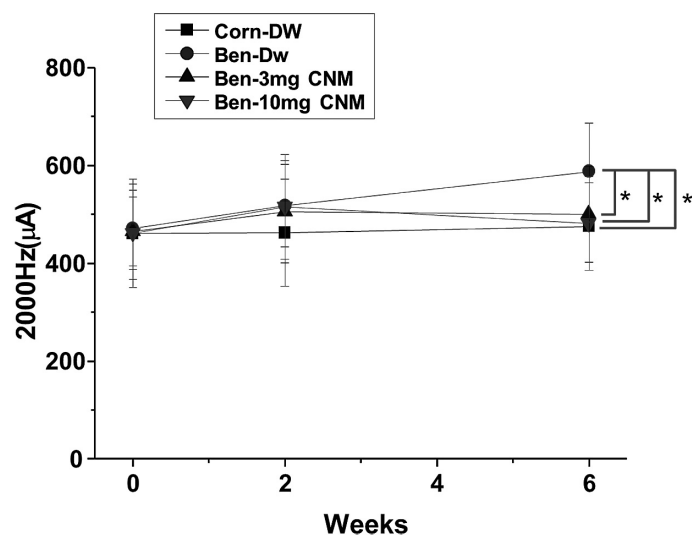


Fig. 2 Effects of benzo[a]pyrene and cinnamon administration on sensory thresholds in rats.

Corn, Corn-oil. DW, Distilled water. Ben, benzo[a]pyrene. CNM, cinnamon. *, $P < 0.05$. Mean $\pm$ S.D. $n=6$.

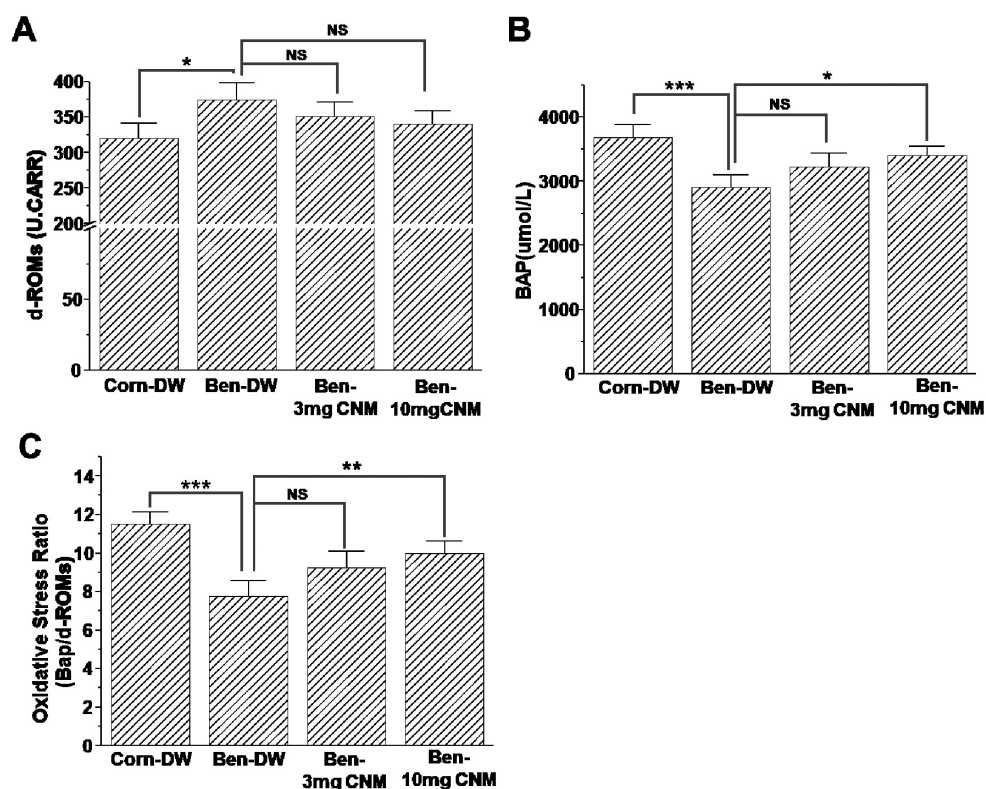


Fig. 3 Effects of benzo[a]pyrene and cinnamon administration on antioxidant and oxidative stress in rats.

The mean levels of serum d-ROMs (A), BAP (B), and Oxidant/antioxidant balance (C). Corn, Corn-oil. DW, Distilled water. Ben, benzo[a]pyrene. CNM, cinnamon. d-ROMs, Diacron reactive oxygen metabolites. BAP, Biological antioxidant potential. NS, no significant. *, $P < 0.05$. **, $P < 0.01$. ***, $P < 0.001$. Mean $\pm$ S.E. $n=6$.

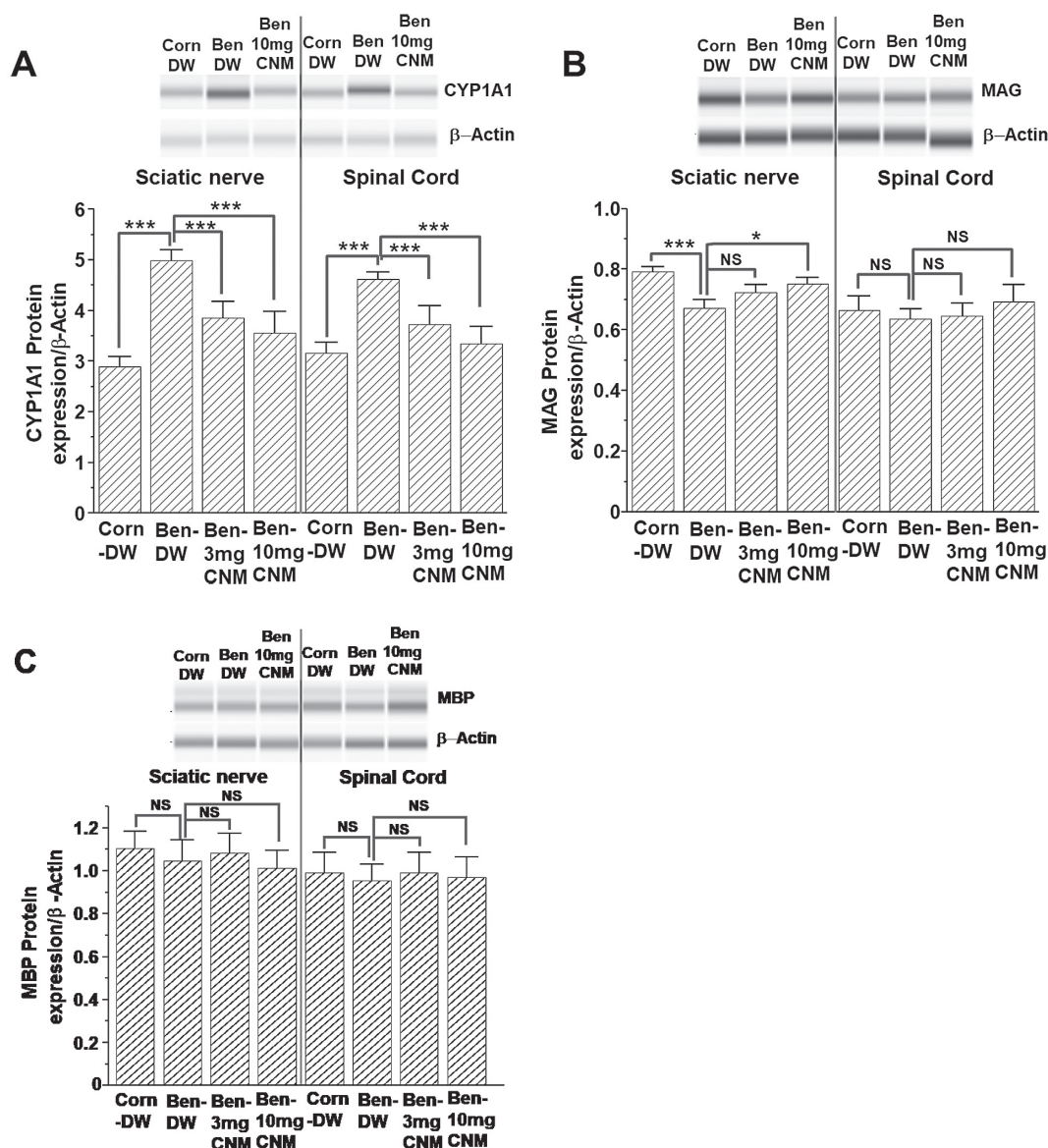


Fig. 4 Effects of benzo[a]pyrene and cinnamon administration on CYP1A1, MBP and MAG protein expression in rat sciatic and spinal nerves.

The mean levels of CYP1A1 (**A**), MAG (**B**), and MBP (**C**) protein expression. Corn, Corn-oil. DW, Distilled water. Ben, benzo[a]pyrene. CNM, cinnamon. CYP1A1, cytochrome P450 (P450) 1A1. MBP, myelin basic protein. MAG, myelin-associated glycoprotein. NS, no significant. *, $P < 0.05$. **, $P < 0.01$. ***, $P < 0.001$. Mean $\pm$ S.E. $n=6$.

が影響を与えた可能性が考えられた。また、本研究では、ベンゾピレン投与ラットに対する 3 mg・10 mg/kg ケイヒの効果を検討した。その結果、自発運動量低下改善、感覚閾値の上昇抑制、酸化ストレス度の改善、CYP1A1 の発現増加抑制、末梢神経内の MAG タンパク質の発現低下抑制傾向がみられた。ケイヒの主な成分であるシンナムアルデヒドは AHR の標的遺伝子である CYP1A1

タンパク質の発現を阻害するとともに抗酸化ストレス作用が強いことが明らかになっている⁷⁾。前回の私たちの実験の結果でも、3 mg/kg のケイヒの摂取はベンゾピレンの毒性による症状に改善効果があることが確認されたことから、AHR の活性化抑制と抗酸化ストレス作用を持つケイヒは、ベンゾピレン投与により発生する AHR の活性化や酸化ストレスを抑制させることで、ベンゾピレ

ンの毒性による脱髄を抑制させ、神経異常を改善させる可能性があると考えられる。

結 論

本研究の結果から、ベンゾピレンの曝露による中毒は、末梢及び中枢神経の双方でその毒性により感覚異常を引き起こす可能性 (CYP1A1 の検討結果) が示唆された。しかし、その影響は中枢神経よりも末梢神経が受けやすいこと (MAG タンパク質の検討結果) が考えられた。また、抗酸化作用と AHR 活性阻害作用を持つケイヒ等の植物成分や生薬はダイオキシン類の曝露に効果的である可能性が示唆された。しかし、今回の研究でも中枢神経でのベンゾピレン等のダイオキシン類の作用を明確に調べるができなかったため、今後は脳神経内での感覚と関連する部位までの分析を通して中枢神経での影響まで検討する必要があると考えられる。

謝 辞

本研究は、厚生労働省科学研究費補助金 (食品を介したダイオキシン類等の人体への影響の把握とその治療法の開発等に関する研究、課題番号：21KA2003) 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-dioxin, and polychlorinated dibenzofurans as endocrine disruptors what we have learned from Yusho disease. Environ Res. 86 : 2-11, 2001.
- 2) 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.
- 3) 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.
- 4) 古谷博和, 大八木保政, 山田猛, 他 : 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) 申敏哲, 吉村恵 : 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. 福岡医誌. 108 : 75-82, 2017.
- 6) 申敏哲, 行平崇, 小牧龍二, 他 : 感覚評価を用いたベンゾピレン投与ラットに対するケイヒの効果検討. 福岡医誌. 112 : 155-163, 2021.
- 7) Uchi H, Yasumatsu M, Morino-Koga S, et al : Inhibition of aryl hydrocarbon receptor signaling and induction of NRF2-mediated antioxidant activity by cinnamaldehyde in human keratinocytes. J Dermatol Sci, 85 : 36-43, 2017.
- 8) 植田弘師, 松本みさき : ニューロメーターを用いた新しい知覚線維選択的侵害受容評価法. 日本薬理学雑誌. 131 : 367-371, 2008.
- 9) 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.
- 10) Philips T and Rothstein JD: Oligodendroglia : metabolic supporters of neurons. J Clin Invest. 127 : 3271-3280, 2017.
- 11) 三井良之, 楠進 : 末梢神経の障害. 日本内科学会雑誌. 97 : 1771-1777, 2008.
- 12) Stadelmann C, Timmler S, Barrantes-Freer A, et al : Myelin in the Central Nervous System : Structure, Function, and Pathology. Physiol Rev. 99 : 1381-1431, 2019.
- 13) 三井良之, 楠進 : 末梢神経の障害. 日本内科学会雑誌. 97 : 1771-1777, 2008.
- 14) 荒記俊一, 村田勝敬 : 鉛による末梢神経障害の診断. 26 : 3-8, 1984.

(Received for publication March 15, 2023)