

癌病変に伴う末梢神経障害—特に血中葉酸濃度との関係について

II. ラット肝癌についての動物実験

千葉 進

札幌医科大学内科学第1講座 (主任 和田武雄教授)

Neuropathy Associated with Cancers with an Emphasis on Nerve Conduction Velocity and Serum Folate Level

II. Studies on Experimental Hepatoma of the Rats

Susumu CHIBA

Department of Internal Medicine (Section 1), Sapporo Medical College
(Chief: Prof. T. Wada)

Hepatoma was prepared by the administration of 3'-Me-DAB to the rats in order to study the pathophysiology of experimental carcinomatous neuropathy, which was quantitatively analyzed by nerve conduction velocity of dorsal nerve trunks with an assessment of histological examination of the sciatic nerve and was also simultaneously investigated in terms of folate metabolism.

1. The motor nerve conduction velocity, which was markedly delayed from the early stage of hepatoma, did not show a close correlation with the progress of hepatoma.

2. The teased fiber of the sciatic nerve demonstrated degenerative changes of myelin sheath at the paranodal area of Ranvier reflecting delayed nerve conduction velocity.

3. The hepatoma rats revealed low serum folate levels, and the folate concentration fell in accordance with hepatoma progress in the liver, spleen, kidney as well as blood.

4. The motor nerve conduction velocity and serum folate level were interrelated as a whole including normal and hepatoma rats.

5. The folate administered hepatoma rats were prevented from delaying the motor nerve conduction velocity with normal serum serine/glycine ratio.

6. From the above results, it was conjectured that folate deficiency probably play an important role in developing carcinomatous neuropathy. (Received October 30, 1979 and accepted November 26, 1979)

1 緒 言

本研究の前編においては、胃癌および原発性肝癌患者を対象としてその末梢神経伝導速度 (nerve conduction velocity, NCV) を測定し、subclinical な多発ニューロパチーが高頻度に潜在していることを報告¹⁾した。同時に血中葉酸濃度を測定した結果、癌患者においてはこれが著明に低下していることを見出し、葉酸の減少がこの carcinomatous neuropathy の発現に何らかの役割を演じている可能性を推論した。

しかし臨床的な現象は関連する要因が複雑を極めるので、今回は担癌動物モデルについての実験を意図した。すなわち、化学発癌による肝癌ラットについて運動神経伝導速度 (motor nerve conduction velocity, MCV) の測定

と同時に組織学的検索を加え、さらに血中ならびに肝、脾および腎組織内の葉酸濃度を測定した。また肝癌の進展に伴う MCV および葉酸濃度の変化の推移を観察し、これに葉酸を投与したさいの MCV にみられる影響を調べ、次いで神経組織に関与する葉酸の生化学的役割の中で、最近注目されている^{2,3)} glycine-serine の転換反応に着目して二、三の生化学的検討を加え carcinomatous neuropathy の成立機転と葉酸代謝変化との関係を明らかにすべく実験を進めた。

2 対象および方法

2-1 実験対象

体重約 200 g の Wistar 系雄ラットを 2 群に分け、1 群には Acros *et al.*⁴⁾ に従い、3'-methyl 4-dimethylamino-

azobenzene (3'-Me-DAB) を 0.06% 含有するオリエンタル固型飼料を与えて実験群とし, 3'-Me-DAB を含まない同じオリエンタル固型飼料を与えた対照群を設けた. 特に飼料中の他のビタミン類含有量については両群間が同一となるように配慮し, 全例 24 週間以上飼育して経時的に観察を行なった.

葉酸投与の影響をみるためには, 本条件下に約 18 週間飼育した後, 3'-Me-DAB 投与群をさらに 2 群に分け, 1 群には葉酸 (pteroylglutamic acid) 5 mg を週 1 回の割合で筋注法で投与し, 6 週間にわたり他の 3'-Me-DAB 継続投与群および正常対照群と共に経過をみた. 葉酸投与群が最終投与をうけた, さらにその 14 日後に一連の実験を行なった.

2.2 肝癌発生の確認

2.2.1 血中 α -Fetoprotein (α F) の測定

肝癌発生に伴う血中 α F 吟味のためには, 北大医学部第一生化学講座より提供をうけたラットの α F と抗 α F 血清を用いて Mancini 法により測定した.

2.2.2 肝の組織学的検討

3'-Me-DAB 投与後 12 週目および 24 週目のラットの肝を 10% formalin で固定した後 H-E 染色を施し, 肝癌発生の有無を検討した.

2.3 MCV の測定

ラットの MCV の測定は Miyoshi and Goto⁵⁾ の方法に従い, 37°C パラフィン浴中にラットの尾を浸して温度条件を同一にした後, 尾部の dorsal nerve trunks に近位側と遠位側の 2 点で電気刺激を加え, その神経支配筋である segmental muscle の誘発筋電図を導出して, 潜時の差と 2 点刺激点間の距離を測定して MCV を算出した.

2.4 末梢神経の組織学的検討

2.4.1 神経横断標本の検討

3'-Me-DAB 投与担肝癌ラットを 4% paraformaldehyde および 1% glutaraldehyde を含む Millonig's phosphate buffer (pH 7.35) で灌流固定し, 尾部の dorsal nerve trunks を採取して 1.5% オスミック酸で再固定を行ない, エボン包埋を施して標本を作製した. その 1 μ m 切片に 0.5% toluidine blue 染色を施して神経横断面を検討した.

2.4.2 末梢神経「ときほぐし」線維法

担肝癌ラットを上記と同一固定液を用いて灌流固定したのち坐骨神経をとり出し, 神経の収縮を防ぐためにコルク板に固定し, 松岡の方法⁶⁾ に準じて 1% オスミック酸で約 24 時間染色した. 染色後水洗し, 坐骨神経をグリセリンと水の混合液 (2:1) に移し, 3 日間放置したのち実体顕微鏡下で 23 G 注射針を用いて線維の「ときほぐし」を行なった.

2.5 血中葉酸濃度の測定

ラットを断頭して採血し, 遮光下に血清分離を行ない既報⁷⁾ の radioassay 法により血清葉酸濃度を測定した.

2.6 臓器内葉酸濃度の測定

肝, 脾および腎組織の葉酸の測定には Myra *et al.*⁸⁾ の方法に準じ, 断頭により脱血したラットの肝 (肝癌ラットでは腫瘍組織を含む), 脾および腎の湿重量 1 g に対して 1% ascorbic acid 添加 0.1 M-potassium phosphate buffer (pH 8.0) 5 ml を加え, 氷冷下でくり返し 3 回 homogenize して遮光下で 2,000 g 20 分間遠沈した. この上清の一部を被検試料として血清同様に radioassay 法で葉酸濃度を測定し, 各組織湿重量 1 g あたりの濃度を算出した.

2.7 血中 glycine および serine 濃度の測定

葉酸投与を試みたラット群の血清を用い, 高速アミノ酸分析計 (日立 835 型) で glycine および serine の濃度を測定した.

3 実験成績

3.1 対照ラットの MCV および血中葉酸濃度

これらの実験開始前にラット対照群 (平均体重 200 g) の MCV および血中葉酸濃度の測定を行なった. Fig. 1 のように MCV は 34.3 ± 1.4 m/sec, 血中葉酸濃度は 36.9 ± 4.5 ng/ml であった.

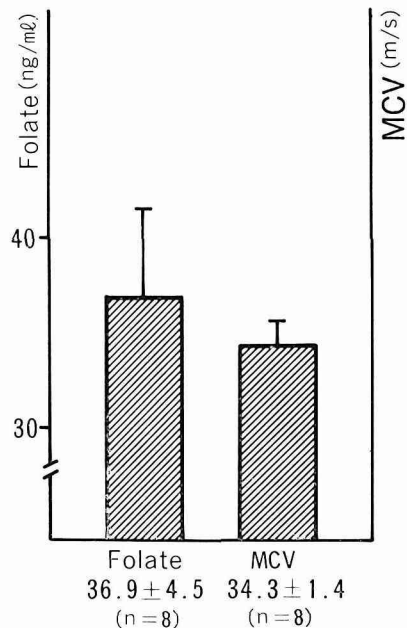


Fig. 1 Serum folate level and MCV in normal rats.

3・2 3'-Me-DAB 投与群の血中 α F 濃度および肝組織変化

念のために 3'-Me-DAB 投与後 12 週目および 24 週目の血中 α F 濃度および肝の組織学的検討を行なった。血中 α F 濃度は Table 1 のように、投与後 12 週目において著しい上昇が認められた。同時に施行した肝の組織学的検討でも、Fig. 2-a のように全例において明らかに肝癌の発生が認められた。実験開始後 24 週目においても血中 α F 濃度は高値を示したが、12 週目のそれとの間には差は認められなかった。

Table 1 Serum α -fetoprotein concentration in rats with 3'-Me-DAB treatment

	12-Week Treatment	24-Week Treatment
α -F Concentration (μ g/ml)	96.2 \pm 5.3 (n=5)	94.5 \pm 13.4 (n=11)

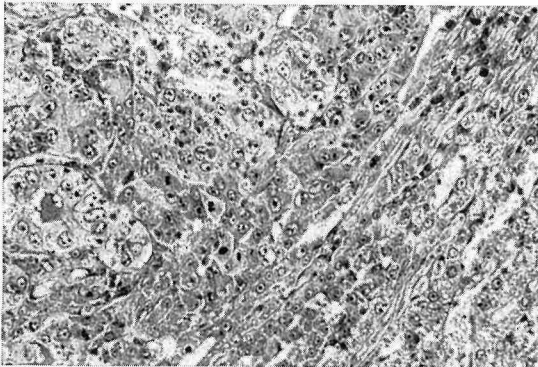


Fig. 2-a

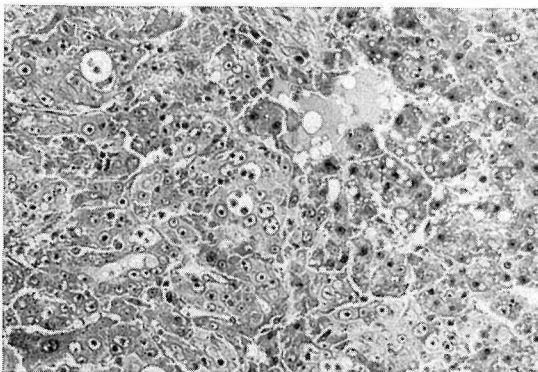


Fig. 2-b

Fig. 2 Histological views of the liver of rat with treatment of 3'-Me-DAB (a: 12-Weeks, b: 24-Weeks) demonstrating the occurrence of hepatoma. H. E. staining, $\times 135$.

一方肝組織像においても Fig. 2-b のごとく 12 週目と同様に肝癌の発生が確認された。

3・3 3'-Me-DAB 投与に伴う MCV および血中葉酸濃度

3・3・1 実験開始 12 週目について

Fig. 3 のように肝癌ラット群 (以下肝癌群) 12 週目の MCV は 29.6 \pm 2.5 m/sec であり、そのさいの対照群の 33.6 \pm 1.0 m/sec に比較して有意の遅延が認められた ($P < 0.05$)。同様に血中葉酸濃度も肝癌群では 8.5 \pm 1.5 ng/ml と、対照群の 10.3 \pm 1.6 ng/ml よりも有意の低下を示した ($P < 0.05$)。

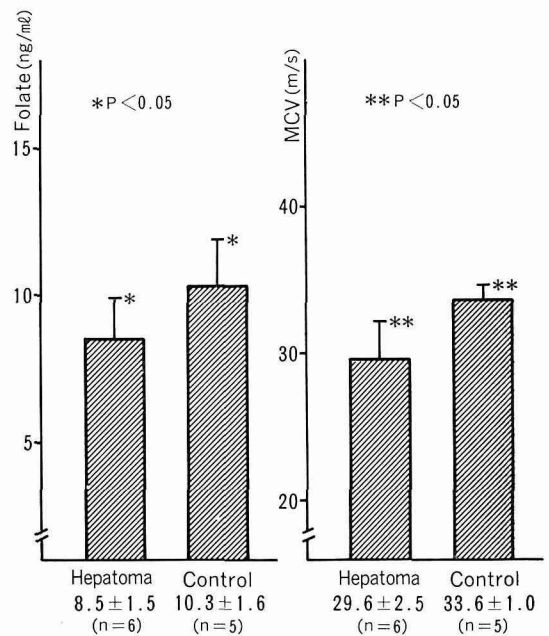


Fig. 3 Comparison of serum folate level and MCV between hepatoma and control rats.

3・3・2 実験開始 24 週目について

Fig. 4 のように 24 週目における肝癌群の MCV は 32.1 \pm 2.6 m/sec で、そのさいの対照群の 35.8 \pm 3.6 m/sec に比較して有意の遅延が認められた ($P < 0.05$)。血中葉酸濃度も肝癌群 3.0 \pm 1.4 ng/ml、対照群 12.1 \pm 4.0 ng/ml で、この間の差異は有意であった ($P < 0.005$)。

3・4 MCV および血中葉酸濃度の経時的推移

以上の実験に伴う MCV 変化の時間的推移をみると、Fig. 5 に示すように対照群では実験開始前に比較して 12 週目および 24 週目、いずれについても有意の変化はみられなかったが、肝癌群の MCV は 12 週目および 24 週目のいずれについても、実験開始前に比較して明らかに低値を

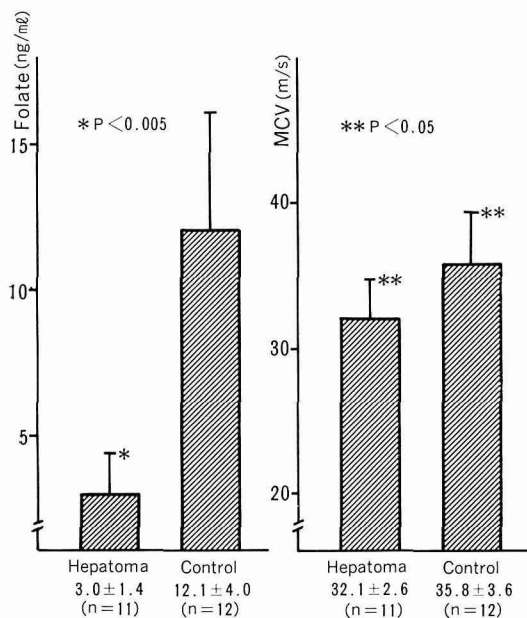


Fig. 4 Comparison of serum folate level and MCV between hepatoma and control rats.

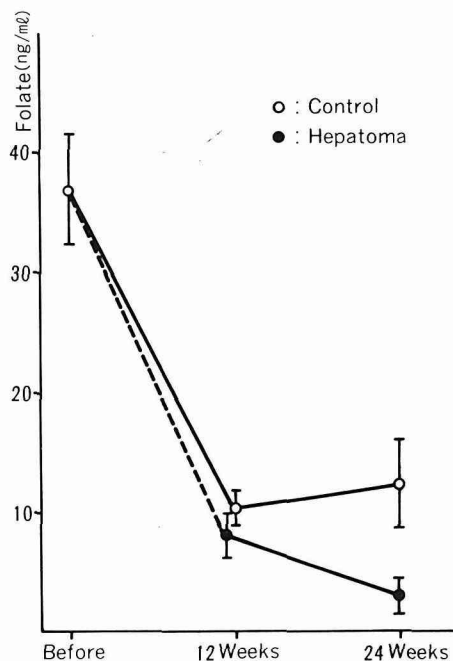


Fig. 6 Changes of serum folate concentration before and 12 and 24 weeks after administration of 3'-Me-DAB.

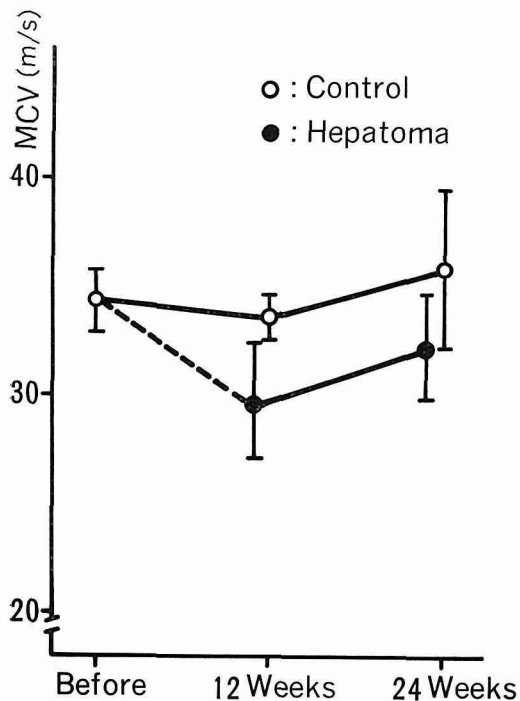


Fig. 5 Changes of MCV before and 12 and 24 weeks after administration of 3'-Me-DAB.

示した (いずれも $P < 0.05$).

一方、血中葉酸濃度変化の時間的推移は Fig. 6 に示したが、対照群では 12 週目および 24 週目においては、共に実験開始前よりも低値を示した (いずれも $P < 0.005$)。しかし肝癌群の場合にはさらにその低下が著明であった。

3.5 末梢神経の組織学的検討

3.5.1 横断面における検討

肝癌ラット尾部 dorsal nerve trunks の横断面を Fig. 7 に示した。大径線維、小径線維ともによく保たれており、一部には髄鞘の厚さにひ薄な部分も認められるが、明らかな異常所見は見出されない。

3.5.2 「ときほぐし」線維法による検討

肝癌ラットの坐骨神経の「ときほぐし」標本を Fig. 8 に示した。すなわち、明らかな軸索変性は認められず、髄鞘も比較的良好に保たれているが、Ranvier 絞輪近傍に髄鞘の染色性低下と、それに伴う絞輪の開大および Schmidt-Lanterman 切痕の開大が軽度ながら認められ、節性脱髄の初期像に類似した組織学的所見が得られた。

3.6 臓器内葉酸濃度

肝癌群ならびに対照群の肝、脾および腎組織内の葉酸濃度を Table 2 に示した。12 週目における肝癌群の腎組織内葉酸濃度は対照群よりもやや高い傾向を示したが、肝・

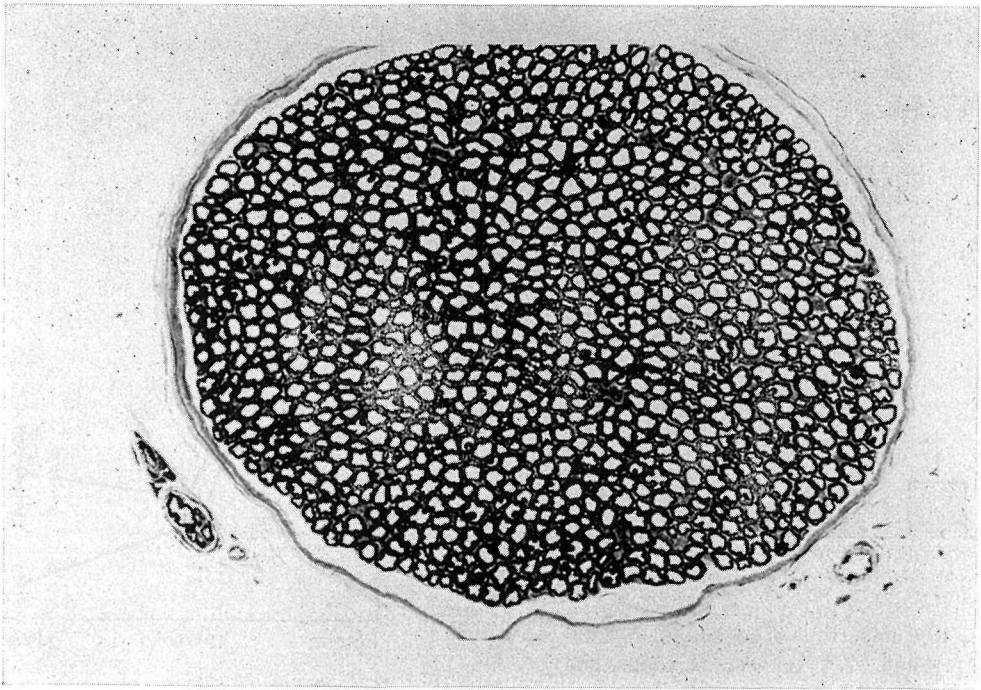


Fig. 7 Transverse section of the dorsal nerve trunks of hepatoma rat. No gross abnormality is observed. Toluidine Blue Staining, $\times 270$.

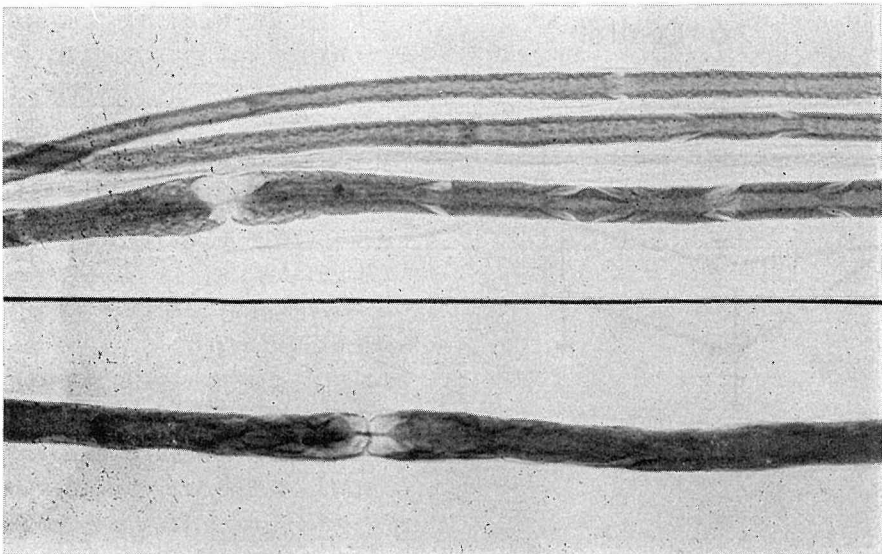


Fig. 8 Teased fiber specimen of the sciatic nerve of hepatoma rat. Retraction of the node of Ranvier and widening of the Schmidt-Lanterman incisures compatible with early segmental demyelination. 1% Osmic Acid Staining, $\times 475$.

Table 2 Folate concentration (ng/g. wet weight) of the liver, spleen and kidney in hepatoma rats and control

	Liver	Spleen	Kidney
12-Week Hepatoma	1291.7±308.6 (n= 6) ¹⁾	249.0± 90.7 (n= 6) ³⁾	920.9± 99.2 (n= 6)
Control	2627.2±253.4 (n= 5) ¹⁾	507.6±200.6 (n= 5) ³⁾	877.9± 80.4 (n= 5)
24-Week Hepatoma	1285.7±550.0 (n=11) ²⁾	308.8±105.5 (n=11) ⁴⁾	385.1± 70.6 (n=11) ⁵⁾
Control	2043.9±338.5 (n=12) ²⁾	607.9±224.9 (n=12) ⁴⁾	604.3±375.3 (n=12) ⁵⁾

1), 2): P<0.005, 3), 4): P<0.01, 5): P<0.05

脾内濃度は対照群のそれに比較して明らかに低値を示し (それぞれ P<0.005, P<0.01), 24 週目については肝癌群の肝・脾・腎いずれの組織内葉酸濃度も対照群のそれぞれに比較して著明な減少を示した (それぞれ P<0.005, P<0.01, P<0.05).

3・7 血中葉酸濃度と肝内葉酸濃度との関係

12 週目および 24 週目の肝癌群および対照群の血中ならびに肝内葉酸濃度を対応させて Fig. 9 に示した. すなわち血中葉酸濃度と肝内葉酸濃度との間には極めて著明な相関関係を認めることができた (r=0.61, P<0.05).

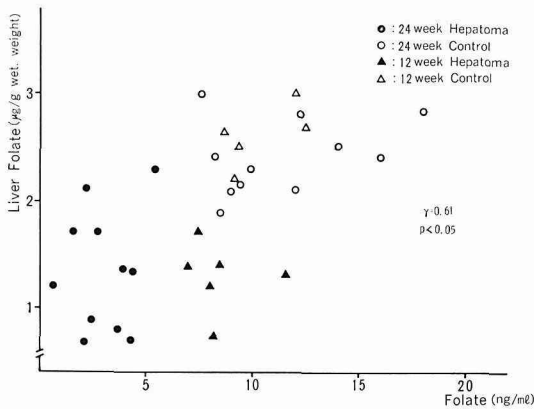


Fig. 9 Correlation of folate concentrations in the liver and serum.

3・8 血中葉酸濃度と MCV との関係

12 週目および 24 週目の肝癌群と、それぞれの時点での対照群の血中葉酸濃度および MCV について関連性を調べた. Fig. 10 のごとく推計学的には有意性を見出し得なかったが、両者の間には何らかの相関関係があるもののごとくうかがわれた (r=0.23).

3・9 肝癌群に葉酸を投与したさいの影響

3・9・1 血中葉酸濃度および MCV への影響

Fig. 11 にみるごとく、肝癌ラットに葉酸 5 mg を毎週筋注した群と、葉酸非投与群および対照群別に血中葉酸濃度

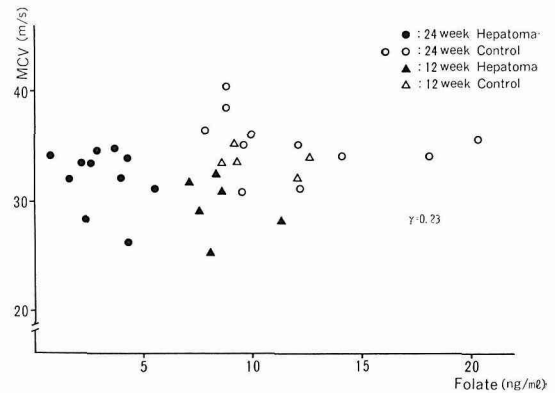


Fig. 10 Correlation of serum folate levels and MCV in hepatoma and control rats.

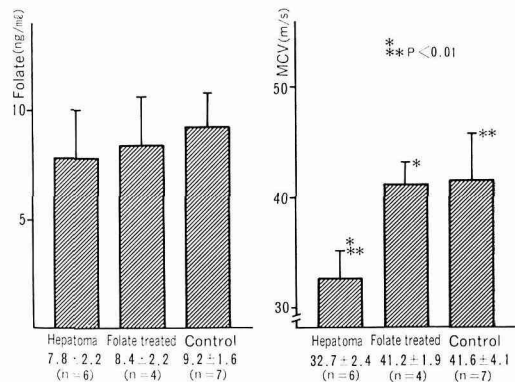


Fig. 11 Serum folate levels and MCV of hepatoma rats with and without intramuscular folate administration.

と MCV を調べると、図の左のごとく血中葉酸濃度は葉酸非投与肝癌群が最も低く、葉酸投与肝癌群、対照群の順を示したが、それらの間には有意差を認めなかった. 一方 MCV は図の右のごとく、葉酸非投与肝癌群では 32.7±2.4 m/sec と低いが、葉酸投与肝癌群では 41.2±1.9 m/sec を

示して対照群の 41.6 ± 4.1 m/sec との間に差が認められなかった。葉酸投与を施さなかった肝癌群の MCV 低下は、葉酸投与肝癌群・対照群のいずれとの間にも有意差が認められた (いずれも $P < 0.01$)。

3.9.2 血中 serine および glycine 濃度と血中葉酸濃度および MCV との関係

葉酸投与肝癌群、非投与肝癌群および対照群の血中 serine ならびに glycine 濃度および両者の濃度比 serine/glycine を、それぞれの血中葉酸濃度ならびに MCV と対応させ、一括して Table 3 に示した。これら 3 群の間の serine および glycine 濃度には有意差は検出されなかつ

たが、serine/glycine 比をみると葉酸非投与肝癌群の 1.15 ± 0.08 に比較して、葉酸投与肝癌群は 1.02 ± 0.13 、対照群は 1.04 ± 0.08 で、後 2 者はいずれも有意の低値を示した (いずれも $P < 0.05$)。さらに葉酸非投与肝癌群における serine/glycine 比と、血中葉酸濃度および MCV との関係を Fig. 12 に示した。すなわち serine/glycine 比と血中葉酸濃度は図の左に示すごとく、両者間に明らかな負の相関関係が認められた ($r = -0.87$, $P < 0.05$)、一方 serine/glycine 比と MCV は図の右に示すごとく、推計学的に有意ではなかったが、ある程度正の相関関係をうかがわせる結果を示した ($r = 0.39$)。

Table 3 Serum folate, serine, glycine levels and MCV

	Folate (ng/ml)	Serine (mg/dl)	Glycine (mg/dl)	Serine/Glycine	MCV (m/sec)
Hepatoma (n=6)	7.8 ± 2.2	2.05 ± 0.39	1.76 ± 0.24	1.15 ± 0.08	32.7 ± 2.4
Folate Treated Hepatoma (n=4)	8.4 ± 2.2	1.91 ± 0.20	1.85 ± 0.17	1.04 ± 0.08	41.6 ± 4.1
Control (n=7)	9.2 ± 1.6	1.98 ± 0.54	1.88 ± 0.31	1.02 ± 0.13	41.2 ± 1.9

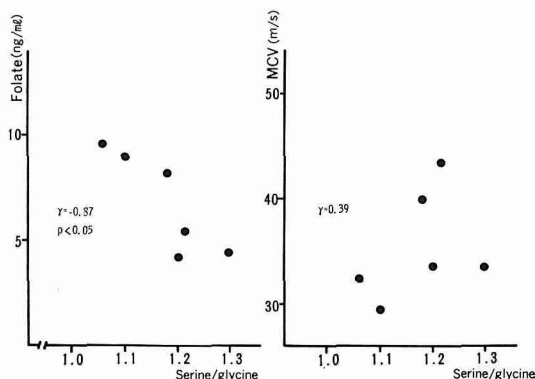


Fig. 12 Serum folate level and MCV in contrast with serum serine/glycine ratio.

4 考 按

以上述べたごとく 3'-Me-DAB 投与によりラットに肝癌を発生させ、その過程で MCV の変化を追究すると、明らかにその遅延現象が認められた。このことは、さきに臨床的に認められた胃ならびに肝癌に伴う多発ニューロパチー、すなわち carcinomatous neuropathy に相当する変化が実験的にも証明されたとみてよからう。

ラットの末梢神経障害の定量的な検出としては Birren and Wall⁹⁾ の坐骨神経についての MCV 測定法があるが、

その方法では測定時の温度条件を一定にすることが困難であり、また刺激点間距離が短いため一定の測定成績を得難い欠点がある。しかし今回用いた Miyoshi and Goto⁵⁾ の方法は、ラットの尾部を 37°C パラフィン浴に浸すから温度条件を一定にできる利点がある。また刺激点間距離も比較的長くとることが可能であるため、測定成績にもばらつきが少ない。稲垣¹⁰⁾ はこの方法を応用して糖尿病ラットの MCV について知見を報告している。

さて本実験では 3'-Me-DAB を与えたラットで MCV 変化の時間的推移をみたものであるが、実験開始 12 週目において明らかな MCV 遅延がみられた。この時点のラット肝は、血中 α F 濃度および肝の組織学的検索により全例に肝癌の発生を認めた。さらに 24 週目に至ると一見 MCV 値はやや回復を示すようにもみられたが、対照群に比較するとなお有意の遅延を示していた。一般に 3'-Me-DAB 投与による肝癌の発生はおおむね投与開始後 11 週目からとされている⁴⁾ が、今回得られた成績の上においても、発癌初期の 12 週目において著明な MCV 遅延が見出されたことは、担癌病態との関係において注目されてよからう。さきに臨床的に調べたさいにも、癌の進展度と MCV 変化との間には関連性を見出さなかったが、このことは発癌ないしは担癌の比較的初期において carcinomatous neuropathy の発現をみる可能性を教えるものであり、必ずしも進行癌がより強い変化を示すということではなく、そ

の成因を考える上において興味深い。

これを担癌ラットの末梢神経の組織学的所見の上でみると、その横断面には明らかな変化は認められなかったが、「ときほぐし」線維法でこれを見ると、節性脱髄の初期変化に相当する Ranvier 絞輪近傍の髄鞘の変性¹¹⁾や、Schmidt-Lanterman 切痕の開大が認められた。神経の impulse は Ranvier 絞輪から Ranvier 絞輪への跳躍伝導によるとされるから、この髄鞘の組織変化はさきの MCV 遅延の成因として密接な関係があるとみてよからう。

一方担癌ラットの血中葉酸濃度は対照群に比較して低値を示し、とりわけ 24 週目ではその減少が顕著であった。血中葉酸濃度の飼育時間に伴う推移をみると、対照群においても次第に低下の傾向を示したが、肝癌群では一層その減少が著明であった。Amyes *et al.*¹²⁾ はヒト以外の哺乳動物の加齢に伴う血中および肝内葉酸濃度の推移を検討して、生理的にも幼若期から成熟期一老齢期にかけて血中および肝内葉酸濃度にはかなり顕著な低下がみられると報告している。この報告ではラットについては肝内濃度の記載のみであるが、血中葉酸濃度と肝内葉酸濃度が正の相関を示した今回の成績、および Wu *et al.*¹³⁾ の報告を考慮すれば、今回観察された時間経過に伴う対照群での血中葉酸濃度の低下は、同様に生理的現象と理解されよう。

ところで、肝癌が発生したさいの血中葉酸濃度の低下機序であるが、これには葉酸摂取量の低下あるいは吸収不全、肝癌の増殖に伴う需要の亢進、さらには吸収された葉酸の肝における還元補酵素型への転換障害などがあげられる¹⁴⁾。飼育時間に伴う自然の推移よりも、はるかに著明に肝癌群では肝癌発生の初期からその後にわたり血中葉酸濃度の低下を示したが、これにはラットの摂食状態からみてその摂取減少も否定できないが、おそらくはその上に肝癌の増殖に伴う需要の亢進と、肝における還元補酵素型への転換障害などが、総合的に影響を与えるためと推測される。

組織内葉酸濃度の結果を参考にすると、肝癌群 12 週目の腎の葉酸濃度がやや対照群よりも高いようにも思われたが、肝・脾ではともに著明な低値が示され、さらに 24 週目においては肝、脾および腎のすべての葉酸濃度が低かった。つまり肝における発癌あるいは担癌した状態のラットは、血中葉酸のみならず全身性に絶対量の減少を呈していると言える。

この状態と MCV 遅延との関係を吟味すべく調べを進めると、3'-Me-DAB 投与後の時間的推移の上では必ずしも両者の変化には平行性はみられなかったが、MCV と血中葉酸濃度との間には両者の関連性が示唆された。

したがって carcinomatous neuropathy の成因としては、葉酸欠乏のみが関係を有するとはむろん結論できないし、また葉酸そのものの作用においても末梢神経の興奮伝導を直接的に変化させるものではないから、むしろその代謝を通して二次的に MCV に影響を与える可能性が推測される。

以上の事実をふまえて、念のために肝癌群の 1 群に対して葉酸を投与して、その MCV および血中葉酸濃度におよぼす影響を観察すると同時に、葉酸の関与するアミノ酸レベルの変化についても検討した。

神経系における葉酸の生化学的役割としては、近年 glycine および serine の相互転換が注目されている。これらの代謝経路は、葉酸の補酵素型の 1 つである 5,10-methylene tetrahydrofolate と glycine の反応により serine と tetrahydrofolate を生ずるものであるが、glycine についてはそれ自体脊髄における抑制的神経伝達物質として¹⁵⁾、また serine については髄鞘を構成するリン脂質の素材の 1 つとして知られている。

今回の成績では、葉酸投与肝癌群、非投与肝癌群および対照群の血中 glycine および serine 濃度には差を認めなかったが、それぞれの serine/glycine 比をみると、葉酸非投与肝癌群では対照群に比較して有意の高値を示し、葉酸非投与肝癌群では調べた限りのアミノ酸代謝の上に病的偏位がうかがわれた。この点、葉酸投与肝癌群では、担癌という条件は同一でありながら、serine/glycine 比は対照群と全く近似しており、この事実は葉酸欠乏がアミノ酸代謝のレベルにおいても二次的変化を招いていることを示すものであろう。また、葉酸非投与肝癌群における serine/glycine 比と、血中葉酸濃度および MCV とをそれぞれ対応させた成績をみても、前者には負の、後者には正の相関性が認められ、このことは血中葉酸濃度と MCV を直接的に対応させることの困難さを示すと言えよう。この間の生化学的機序の解明は今後に残された問題であり、引き続き実験を継続している。

しかし葉酸投与肝癌群では、葉酸投与によって肝癌発生時にみられた MCV の遅延が明らかに防止された。したがって MCV 遅延をもたらす上には葉酸欠乏が重要な役割を演ずるものとみざるを得ない。おそらくは一定量の葉酸を体内に保つことによって、ある程度 carcinomatous neuropathy を防止できるものと考えられる。しかし carcinomatous neuropathy はなお他のいく多の要因によってもたらされるであろうから、その面との関係はむろん今回の実験では明らかにし得ない。

5 結 論

Carcinomatous neuropathy の実験モデルを得るべく、3'-Me-DAB投与による肝癌ラットを用いて dorsal nerve trunks の運動神経伝導速度 (motor nerve conduction velocity, MCV) 測定と坐骨神経の組織学的検討を行ない、その発症の上に血中葉酸濃度の低下が関わりをもちませぬかと考えて実験を試み、以下の結論を得た。

5.1 肝癌ラットでは MCV が著明に遅延し、高頻度に carcinomatous neuropathy の発現を認めた。

5.2 MCV の遅延は肝癌発生の比較的初期より観察され、肝癌の増殖する時間的推移との関連性は乏しかった。

5.3 肝癌ラットの末梢神経「ときほぐし」標本では明らかな軸索変性は認められなかったが、Ranvier 絞輪近傍に髄鞘の変性が認められた。

5.4 肝癌ラットでは血中のみならず、肝・脾および腎組織内葉酸濃度も著明な低下を示した。

5.5 これらラットにおける MCV の変化と血中葉酸濃度の変化との間には明らかな関連性が認められ、また肝癌群に葉酸を投与すると MCV の遅延は防止された。

5.6 したがって、肝癌ラットの末梢神経障害の発現には体内の葉酸濃度の低下が密接に関連すると言える。つまり葉酸の欠乏が carcinomatous neuropathy の成因の1つとして重要な役割を果たすことを実験的に明らかにした。

稿を終えるにあたり松本博之講師のご指導と協力に謝意を表し、また研究上種々ご助言をたまわった解剖学第一講座、高橋杏三教授に深謝するものである。

なお本研究の一部は厚生省科学研究費 (松本) の補助と、北海道老年医学振興会の助成金により行なわれた。

文 献

- 千葉 進: 癌病変に伴う末梢神経障害—特に血中葉酸濃度との関係について。I. ヒト胃癌および肝癌についての臨床研究。札幌医誌 **49**, 65-71 (1980)。
- Turner, A. J.: The role of folate and pteridine derivatives in neurotransmitter metabolism. *Biochem. Pharmacol.* **26**, 1009-1014 (1977)。
- Schnell, M. and Ordonez, L. A.: Uptake and metabolism of 5-methyl-tetrahydrofolic acid by rat. *J. Neurochem.* **29**, 121-126 (1977)。
- Acros, J. C., Argus, M. F. and Wolf, G.: Chemical induction of cancer. 327-328, Academic Press, New York and London (1968)。
- Miyoshi, T. and Goto, I.: Serial *in vivo* determination of nerve conduction velocity in rat tails. physiological and pathological changes. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.* **33**, 125-131 (1973)。
- 松岡幸彦: 末梢神経のときほぐし線維法。臨床検査 **21**, 110-111 (1977)。
- 千葉 進, 菊池 進, 松本博之: ³H-folic acid assay kit の基礎的検討とその臨床応用。核医学 **16**, 591-594 (1979)。
- Myra, C. B., Berry, V., Chanarin, I. and Ardmen, S.: The assay of folic acid activity of liver. *J. Clin. Path.* **17**, 27-30 (1964)。
- Birren, J. E. and Wall, P. D.: Age changes in conduction velocity, refractory period, number of fibers, connective tissue space and blood vessels in sciatic nerve of rats. *J. Comp. Neurol.* **104**, 1-16 (1956)。
- 稲垣勝利: 実験的糖尿病ラットにおける neuropathy の定量的検討。岩手医誌 **29**, 402-412 (1977)。
- Dyck, P. J., Gutrecht, J. A., Bastron, J. A., Karnes, W. E. and Dale, A. J. D.: Histologic and teased fiber measurements of sural nerve in disorders of lower motor and primary sensory neurons. *Mayo. Clin. Proc.* **43**, 81-123 (1968)。
- Amyes, S. J. G., Robert, P. M. M. and Scott, P. P.: The effect of age on the blood and liver folate concentration of laboratory animals. *Proc. Nutr. Soc.* **34**, 9 (1974)。
- Wu, A., Chanarin, I., Salivan, G. and Levi, A. J.: Folate deficiency in the alcoholic liver disease, its relationship to clinical haematological abnormalities. *Br. J. Haematol.* **29**, 469-478 (1974)。
- 松本博之, 千葉 進, 菊池 進, 和田武雄: がん病変における葉酸欠乏の病態諸相。日本臨牀 **38**(2) (1980) 掲載予定。
- Uhr, M. L. and Johnston, G. A. R.: Research methods in neurochemistry. **3**, 139, Plenum Press. New York and London (1975)。