原 著

アクリルアミド投与による食道アカラシア様モデルにおける 食道運動機能と組織学的評価

東京慈恵会医科大学第1外科

中川 辰郎 藤崎 康人 桜井 健司

Acrylamide を成犬20頭に投与し、食道アカラシア様犬を作成し、食道運動と迷走神経の軸索変性を電気生理学および電顕的に検討した。

Acrylamide 投与7週後から、失調、後肢筋萎縮、嘔吐、下痢、体重減少を認めた。下部食道最大横径値は対照群で $16.8 \pm 1.85\text{mm}$ 、後期投与群で $28.9 \pm 2.26\text{mm}$ と有意に ($p < 0.01$) 拡張した。下部食道括約筋圧 (LESP) は投与群で $29.6 \pm 4.4\text{cmH}_2\text{O}$ と有意に ($p < 0.01$) 亢進した。頸部迷走神経の電気刺激により、投与群で%Fall 値 ((静止内圧-電気刺激後最大弛緩圧)/静止内圧 $\times 100$) は有意に低下した。心電図 R-R 間隔の変動係数は対象群で $1.49 \pm 1.09\%$ 、投与群で $0.77 \pm 0.45\%$ と有意に ($p < 0.05$) 減少した。組織学的検索では、投与群の食道の神経節細胞に変化はなかった。電子顕微鏡的検討では、迷走神経の軸索変性がみられた。

このことから、食道アカラシアの原因には迷走神経中の神経線維や軸索の変性による神経伝達輸送の障害も関与していることが示唆される。

Key words: lower esophageal sphincter pressure, esophageal achalasia, manometry, acrylamide, axonopathy

I. はじめに

食道アカラシアの成因を究明するために、本症様病態の動物を作成する試みがいろいろある。その方法には壁内神経叢破壊¹⁾、中枢核破壊²⁾³⁾、自律神経毒投与⁴⁾⁵⁾などがある。

Acrylamide は1958年 Kuperman⁶⁾の動物実験以後神経毒として注目され、現在では末梢神経障害の研究とくに dying-back neuropathy を作成し、その発生機序を追究するための薬剤として有名である。

今回著者らは acrylamide 中毒症状の1つである嘔吐、嚥下障害が食道アカラシア様所見によるものか、またどのような作用機序で起きるのかを電気生理学および電顕的検索によって検討し、古くから指摘されてきた食道 Auerbach 神経叢の変性以外にも食道アカラシア様症状をおこすことを証明しようとした。

II. 実験方法

実験動物は体重8—14kgの雌雄の雑種成犬20頭で

ある。Acrylamide ($\text{CH}_2=\text{CHCONH}_2$) monomer 結晶の純品を蒸留水に溶解し200mg/mlの水溶液を飼料に混合して(7mg/kg/day)与えた。実験群を3群に分けた。第1群($n=5$)には acrylamide のはいった飼料を約7週、第2群($n=5$)には約12週間与えた。第3群($n=10$)は対照群で飼料だけを与えた。

Acrylamide 投与による影響をイヌの臨床症状、とくに失調 (ataxia)、筋萎縮 (muscle weakness)、嘔吐 (vomiting) について観察し、体重測定も週1回行った。

Pentobarbital・Na25mg/kg を静注後、挿管し人工呼吸または自発呼吸で維持し、前桡骨静脈からポリエチレンチューブを留置、5%糖液を補液した。経鼻的に胃管を挿入しポータブル装置を用い、仰臥位で食道造影 (barium) を行い、X線上の下部食道最大横径を求めた。

食道内圧測定には先端トランスジューサー型カテーテルを用いたが、カテーテルは直径2mm、長さ1mの polyurethane 製で先端から5cm間隔にセンサーを3個付けた3点同時測定用カテーテルである (英国

Gaeltec 社製16—307type). 成犬を前日より絶飲絶食とし仰臥位でカテーテルを鼻孔より胃内まで挿入し、呼吸、脈波が安定するのを確認して測定を開始した。胃内からカテーテルを1mm/secの速さで引き抜き始め、1mm/secの速さで記録されている圧が上昇を開始した時点で、切歯の部分でカテーテルに印をつけた。さらに引き抜いてくると下部食道括約筋圧 (lower esophageal sphincter pressure 以下 LESP) が描出され、やがて食道内圧に移行していき、圧波形が完全に食道内圧になった時点で、再度カテーテルに印をつけた。2つの印の間の距離を計測し、それを下部食道括約筋長 (lower esophageal sphincter length 以下 LESL) とした。これらの操作を3回以上施行し、その平均値をもって、LESP および LESL を求めた。なお0点は胃内呼吸終圧である。

次いで頸部迷走神経を両側とも nodosa ganglion の下方で切断し、遠位側頸部迷走神経に双極の白金電極を接触させ、電気刺激による LES の内圧変化についての検討を加えた。

電気刺激による LES に対する内圧変化の指標として“%Fall” ((静止内圧—電気刺激後最大弛緩圧)/静止内圧)×100%を用いた。電気刺激の条件は、intensity 1~20volts, frequency 1~50Hz, pulse duration 0.1~6msec, train length 1~10sec の直流矩形波として (簡易型刺激装置 DPS-06 ダイヤメディカルシステム社製) 電気刺激の周波数、強度、pulse duration の影響を記録、検討を行った。

食道内圧、呼吸運動曲線、心電図は交流増幅器 (日本電気三栄1253A および1258) による交流増幅の後、多用途ポリグラフ (日本電気三栄365—12) に直記、記録し同時に多チャンネルデータレコーダー (TEAC MR-30) を用い、上記の諸電気活動を磁気テープに収録した。なお心電図は標準肢誘導によった。

III. データ解析

A. 心電図 R-R 間隔とその変動係数

磁気テープを再生し、データ用解析用コンピューター (日本電気三栄、シグナルプロセッサ7T-17) を用いて心電図の R-R 間隔とその変動係数 ((500区間の R-R 間隔の標準偏差/平均値)×100) を求めた。

B. 統計学的解析

測定値はそれぞれ、平均値および標準偏差を求め、t-検定、X²-検定を用い、 $p < 0.05$ をもって有意差とした。

IV. 病理組織学的検討

A. 食道の病理組織学的検討

Acrylamide 投与犬では臨床症状、X—線観察、内圧測定の面から食道アカラシア様動物と認めたときは屠殺し、噴門部を含めた食道各部分についてヘマトキシリンエオジン染色を行い Auerbach 神経叢の変化を検討した。対照犬5頭の摘出食道を対照とした。

B. 透過型電子顕微鏡による迷走神経、および視床下部の観察

対照犬4頭、acrylamide 投与犬7頭に対して、実験終了後、筋生検用鉗子にて食道に近い迷走神経、および視床下部の腹内側視床下核付近より、各組織を採取し、ただちに glutaraldehyde 液 (pH7.3) 内に固定したのち Millonig 緩衝液 1% オスミウム酸 (4℃, pH7.3) で約2時間固定を行い、エタノール濃度系列による脱水をして Epon812 にて包埋した。

V. 結 果

A. 行動観察および体重変化

Acrylamide 投与犬は、対照群と異なりさまざまな行動をする。Acrylamide 投与開始20日ころから摂水量、摂食量が減りはじめ、活動性も乏しくなりしばしばうずくまった状態で終日を過ごす傾向を認めた。投与後約5週頃に立ち上がる際に前方または側方にふらつきやすくなり、また歩行に際しても軀幹のふらつきを認めた (ataxia 失調)。Acrylamide 投与後約7週目頃から後肢の脱力があらわれ、後肢は開大伸展位をとり、主として前肢で努力歩行をするようになった (muscle weakness, 後肢筋萎縮)。

筋力低下発現時期よりやや遅れて嘔吐、下痢が出現した。Table 1 の A1~A5 は嘔吐出現直後実験を施行した (第1群)。Table 1 の A6~A10 は嘔吐続行中 acrylamide の追加投与を4週行い、実験を施行した (第2群) ものである。体重は全例投与後に減少した。初期群、後期群ともに減少率は10%前後でもっとも減少したのが A7 の例で15%であった (Table 1)。

B. 食道の X—線観察

Fig. 1 は A8 の食道造影で右は嘔吐出現後約4週後のもので、下部食道の拡張像がみられ、造影剤が停滞し胃内への排出時間は延長していた。下部食道最大横径は、対照群と第1群に比べて第2群では有意 ($p < 0.01$) の拡張を認めた (Fig. 2)。

C. 食道内圧測定

1. LESP および LESL

LESP は対照群に比較して acrylamide 投与群で有

Table 1 Clinical features of acrylamide neuropathy in the dog

Animal	Ataxia		Muscle Weakness		Regurgitation		Weight loss
	Day (W)	Dose (mg/kg)	Day (W)	Dose (mg/kg)	Day (W)	Dose (mg/kg)	
A ₁	5	252	8	392	8	392	10 → 9
A ₂	5.7	279	8.2	402	8.3	407	10 → 9
A ₃	5.5	270	7.9	387	8	392	14 →12
A ₄	5.2	255	8	392	8.2	402	14.5→13
A ₅	5	252	8.3	407	8.5	417	13.3→12
A ₆	5	245	6.5	319	7.8 (4)	382 (196)	13.5→12
A ₇	4.6	225	7.2	353	7.5 (4)	368 (196)	11.8→10
A ₈	5.2	255	7	343	7.2 (4.2)	353 (205.8)	14.3→13
A ₉	4.8	235	8.3	407	8.2 (4.1)	402 (200.9)	14 →13
A ₁₀	5.1	250	7.8	382	7.8 (4)	382 (196)	13.2→12
Mean	5.11	251.8	7.72	378.0	7.95 (4)	389.7 (198.9)	...
S.E.M.	0.32	15.4	0.61	29.95	0.39 (0.1)	19.13 (4.4)	...

Fig. 1 Barium swallow examination of the lower thoracic esophagus in a control (left panel) and acrylamide affected (right panel) dog (A-8). AAM total dose is 7,990mg. The uniform dilatation of the thoracic esophagus in the affected animal contrasts with the tear drop shaped bolus of the control stage. AAM ; acrylamide

Fig. 2 Maximum transverse diameters of lower esophaguses. There are no statistic differences in control and early stage of AAM affected dog. However, there are statistic differences in control or early stage and late stage of AAM affected dog. AAM ; acrylamide

意($p < 0.01$)に亢進していた(**Fig. 3**). **Fig. 5**は1mm/secの引き抜き速度のLESPの典型例を示したもので、acrylamide投与犬で亢進していた。LESLは対照群に比べてacrylamide投与群では有意($p < 0.01$)に

短縮した(**Fig. 4**).

2. 頸部迷走神経の電気刺激によるLESの内圧変化
a. 電気刺激の周波数(frequency)の影響(他のパラメータ; intensity: 10v, pulse duration: 2msec,

Fig. 3 Lower esophageal sphincter pressure. The lower esophageal sphincter pressure are significantly lower in control dogs.

Fig. 4 Lower esophageal sphincter length (LESL). The lower esophageal sphincter length are significantly smaller in acrylamide affected dogs.

train length: 4sec).

刺激の周波数を1Hzから50Hzまで上昇させると%Fall値は対照群に比較して、acrylamide投与群では各刺激で有意に ($p < 0.01$) 減少した (Fig. 6, 7A).

b. 電気刺激の強度 (intensity) の影響 (他のパラメータ; frequency: 10Hz, pulse duration: 2msec train length: 4sec).

刺激の強度を1voltsから20voltsまで上昇させると刺激後の%Fall値は、対照群に比較してacrylamide投与群では各刺激で有意に ($p < 0.01$) 減少した (Fig. 7B).

Fig. 5 Resting pressure profile of lower esophageal sphincter in control and acrylamide affected dog as detected by microtransducer. above; control below; acrylamide affected dog

c. 電気刺激の pulse duration の影響 (他のパラメータ: frequency: 10Hz, intensity: 10v, train length: 4sec).

対照群で0.1, 2, 3, 6msec刺激後の%Fall値は 81.2 ± 4.3 , 79.6 ± 2.1 , 80.2 ± 1.8 , $79.6 \pm 2.7\%$ で、acrylamide投与群ではおののおの 10.0 ± 2.5 , 11.6 ± 3.8 , 12.1 ± 4.3 , $10.5 \pm 5.1\%$ で各刺激で有意に ($p < 0.01$) に減少した (Fig. 7C).

D. 心電図のR-R間隔とその変動係数

対照群の心電図のR-R間隔は350.9msec~706.1msecの範囲で、acrylamide投与群のそれは337.1msec~815.5msecの範囲で差がなかった。しかしR-R間隔の変動係数はacrylamide投与群で有意 ($p < 0.05$) に減少していた (Table 2).

E. 病理組織学的検討

1. 光顕による病理組織学的観察

Table 2 Effect of acrylamide on ECG of dog

Animal	N	R-R interval Range (msec)	Mean (msec)	S.D.	CV _{R-R} (%)
Control	10	350.9—706.1	481.7	7.57	1.49
Acrylamide affected dog	9	337.1—815.5	490.9	4.0	0.77*

*: $p < 0.05$

N: Number of experimental animals. SD: Standard deviation. CV_{R-R}: Coefficient of variation of R-R intervals

Fig. 6 A typical response of the lower esophageal sphincter (LES) with stimulation of the peripheral end of the vagus in the control and acrylamide affected dog. The peripheral end of the left vagus is stimulated after bilateral cervical vagotomy, with stimulus of 10v, square waves of 2msec duration at 1, 5, 10Hz for 4sec. Note a fall in LES pressure a little after the onset of the stimulus. The LES relaxation lasts longer than the vagal stimulation. Also note that after the relaxation is over, the LES pressure returns to prestimulatoin base-line pressure.

Fig. 7 Effect of frequency, intensity, pulse duration of stimulation of the peripheral end of the vagus on the lower esophageal sphincter pressure. Peripheral end of one of the vagus nerves is stimulated in animals who have bilateral cervical vagotomy. (A) shows the effect of varying the frequency of stimulation from 1 ~ 50Hz with square wave pulses of 2msec duration, 10v and with a train duration of 4sec. Each point is mean $\pm$ S.D in 5 animals. Note that the degree of LES relaxation increases with increasing frequency of stimulation. Note that note of the frequencies of stimulation causes a contraction of the LES. The maximal fall in LES pressure occurs at a frequency of 10Hz. (B) shows the effect of varying the voltage of stimulation from 1 ~ 20 with square wave pulses of 2msec duration, frequency=10Hz, and train duration 4sec. (C) shows the effect of different pulse durations with square wave of frequency=10Hz, 10V, and train length 4sec.

Fig. 8 High-power view of esophagus. Auerbach cells have peripheral distribution in ganglion (above, arrow). Note no absence of Auerbach cells with mononuclear infiltrates have peripheral distribution in ganglion (below, arrow). (hematoxylin eosin stain, $\times 400$) above; control below; acrylamide affected dogs

肉眼的には、対照犬および acrylamide 中毒犬の両者で食道炎を認めなかった。H-E 染色の壁在神経叢の変化をみると、対照群では節細胞の空胞形成、核の濃縮の変性像は認めず、acrylamide 中毒犬で、1例のみに節細胞の核の膨大化を認めただけで、対照犬に比較して変化はなかった (Fig. 8)。

2. 透過型電子顕微鏡による迷走神経、および視床下部の腹内側視床下核の観察

迷走神経の軸索の電顕的变化を検索しえた第1群 (acrylamide を7週間連日投与した群) および、第2群 (acrylamide を12週間連日投与した群) の両群で対照群に比較し、迷走神経の軸索にいろいろな微細構造の変化が観察された。

すなわち、第1群の3頭中1頭および第2群の4頭中全頭に、有髄性と無髄性の両者の軸索の多くで細線維状の物質が豊富にみられ、神経細糸 (neurofilaments) の異常な増加や空胞形成を認めた。また、辺縁部軸索原形質が大小さまざまなに内腔にむ

Fig. 9 (A) Electron micrograph showing vagus-neurofilaments from non-intoxicated, control dog. $\times 10,000$. (B) Electron micrograph showing myelinated and unmyelinated axons of vagus nerve from acrylamide-intoxicated dog. All the axons observed contain increased neurofilaments in their axoplasm. Mitochondria are unchanged. $\times 15,000$

Fig. 10 Electron micrograph showing one myelinated axon distributed vagus nerve within esophagus from acrylamide-intoxicated dog. Unlike those in the previous micrograph, axon here are severely damaged to such an extent that the interiors surrounded by myelin sheaths contain only axoplasmic debris. On the contrary, myelin sheaths appear as intact. $\times 100,000$

Fig. 11 Electron micrograph showing several nerve fibers distributed vagus nerve within esophagus from acrylamide-intoxicated dog. With regard to myelin wrapping such axon, lamellar pattern still remains a normal appearance, but the itself protrude into the axonal side in several places so that, similar to axon, myelin sheaths also exhibits bizarre configuration $\times 10,000$

かって突出していた(**Fig. 9**)。さらに、第2群の4頭中3頭では一部の神経線維の軸索は強く障害され、残渣状の物質を残して軸索構成成分はすでに破壊、消失していた。また高度の軸索傷害像をもつ有髄線維のいくつかのものにおいては、髄鞘がSchwann細胞内で虚脱状態となっていた(**Fig. 10**)。

また、第2群の4頭中3頭では、髄鞘の個々の層板構造に異常を認めないが、髄鞘全体の輪郭が極めて不整となり、軸索側に向かってさまざまなくぼみを形成していた(**Fig. 11**)。

つぎに、第2群の4頭中3頭において視床下部の腹内側視床下核付近に散在している有髄性軸索の多くの軸索原形質内に、末梢神経レベルでのものと同様に神経細糸の異常な増加、微細管(microtubules)の変形を認めた。また髄鞘の層板構造、とくに周期線(major dense line)が不明瞭になった。

VI. 考 察

自律神経毒の一種であるacrylamideを投与すると食道アカラシア様変化による嘔吐、嚥下障害が発現するのではないかとする仮説をたて、実験モデルを作製した。アカラシア様動物の作製では、LESの弛緩不全、食道陽性波の同期性収縮、X線像で噴門部の通過障害を確認できたものを成功例と判定するというのが諸家の一致した意見である。従来の成功例は、12%~35%とあまり高くなく⁷⁾、嘔吐が起こればすぐ死亡する傾

向が強い。しかしこの研究では成功率が85%と高く、嘔吐が出現してもすぐに死亡することもなく、かなり長期間にわたって観察できた。

今回の実験結果を食道アカラシア研究会のX線分類⁸⁾にあてはめると、acrylamideの蓄積量が407mg/kgの初期投与例の下部食道膨大部の最大横径は、約15mmで対照群と違いはなく、拡張度はI度であるが、拡張型からみると下部食道が筆先状になっておりSp(spindle) typeと分類できる。Fig. 1の右側はacrylamide投与後(総蓄積量603mg/kg)の造影像で下部食道膨大部の横径は約30mmと拡張しているので、拡張度はII度、拡張型はF(flask) typeになる。

ヒトではX線拡張度と病恟期間は関連性があり病恟期間が1年未満では拡張度I度が半数以上で、5年以上の症例では拡張度がII度以上が80%を占めている。今回の研究ではacrylamide投与後約12週でSp type、24週でF typeを示し、病恟期間が長くなれば拡張型も進展し、ヒトのアカラシア症例に似てくる。これはacrylamideの総投与量が症状発現に関係しているためであろう。アカラシア様動物のLESPは上昇し、LESLは短縮する傾向にあるが、著者の結果もLESPは約20cmH₂O、LESLは14mmとほぼ諸家の結果と一致していた。幕内ら⁹⁾は食道アカラシアにおけるLESの上昇を迷走神経系の障害による相対的なものであると述べている。これに関しては著者らも同意見である。

電気刺激の周波数(frequency)、強度(intensity)を上げていくと、%Fall値も増加するが、おのおのfrequencyが10Hz、intensityが10vのときに内圧は定常状態となった。この変化は対照群およびacrylamide投与群の両方でみられたが、%Fall値は対照群の75%に比べてacrylamide投与群で17%と低下した。これはacrylamide投与による迷走神経のaxonopathyが、伝達障害を発現させたためであると思われる。両側迷走神経を切断して末梢端を電気刺激すると、刺激の頻度ならびに強度によってLESの弛緩反応が強化するのは、LESの弛緩が迷走神経の遠心性作用として起こるものに他ならない。Rattanらも同様に迷走神経の末梢端刺激により、正常ではLESの弛緩反応を認めたが、アカラシア群では確認できないとしている¹⁰⁾。中枢端刺激の場合はLESの収縮を起こすが、LES収縮に関係する遠心性線維は迷走神経中には存在せず、下部胸部交感神経中に遠心性線維が含まれる。食道アカラシアでは迷走神経と交感神経のアンバランスを起こ

し、交感神経中の興奮性の遠心性線維が優位になりLESの収縮を引き起こす結果LESが上昇する。

食道アカラシアの原因としてAuerbach神経叢中の神経節細胞の変性、消失があげられている¹¹⁾¹²⁾。

今回の著者らのacrylamideによる食道アカラシア様犬の組織像では、1例のみに神経節細胞の核の膨大化を認めただけで、対照群とちがいはなかった。この理由としてacrylamide neuropathyではsensory receptorの変性が神経節細胞のそれよりさきに発現したためか、慢性疾患モデルでは神経の再生が起こりはじめており神経節細胞への影響が発現するまえに、正常にもどるものとも考えられる。また、知覚末梢神経に障害をうけた動物では、消化管とくに食道がもっとも臨床症状が発現しやすいともいわれる。

つぎに、第1群および第2群の両群で対照群に比較して、迷走神経の軸索にいろいろな微細構造の変化が観察された。しかし、第1群では第2群にくらべ神経細糸の異常な増加や空胞形成などは認めたが、軸索が強く障害されたり、残渣上の物質を残して軸索構成成分が破壊、消失することはなかった。

また、第2群の4頭中3頭において視床下部の有髄性軸索の多くの軸索原形質内に、末梢神経レベルでのものと同様の神経細糸の増加を認め、中枢神経系における障害の存在も認められた。

以上の研究結果から病変の主座は神経線維遠位末端部にあること、さらに軸索変化とくに神経細糸の異常な増加と蓄積が主たる原因であることが明らかにされた。

したがって食道アカラシアではその原因を節細胞のみに求めるばかりではなく、中枢から末梢までのいずれかで神経が障害をうけたときにおこるものと考えた方がよいのではないかと思う。

今回の結果を支持する知見としてTanakaら¹³⁾の基礎的研究や白羽ら¹⁴⁾の報告がある。

白羽ら¹⁴⁾は臨床的にアカラシアと診断された患者の中にAuerbach神経叢がほぼ正常で、抗S-100蛋白による染色では、その染色性をほとんど欠く例があり、神経線維や軸索の変性による、神経伝達輸送の障害を予想している。

Acrylamideは皮膚や消化管を通して吸収され神経系領域では脳よりも末梢神経、とくにその末端に多く取り込まれ、組織中の蛋白や蛋白のスルフヒドリル基と強く結合し¹⁵⁾¹⁶⁾、蓄積性があり、その臨床像は投与総量と直接関連がある¹⁷⁾。

Acrylamideによる神経障害の発生機序についてはなお十分解明されていない。この機序に関しては、これまで多くの研究があり、①神経系呼吸代謝への作用¹⁵⁾、②神経蛋白へのアミノ酸の取り込みへの影響¹⁶⁾、③axonal flowへの影響¹⁸⁾などが検討されている。

これらの知見からその発生機序に関して次のことが推論できる。すなわち初期段階としてacrylamideは神経蛋白と結合して神経障害が発生する。これはさらにaxonal flowの障害へと進展し末梢神経の知覚系を主とする病理変化と伝達機能の低下を招き、神経症状をひき起こす。

神経系の情報伝達に重要な役割を果たしている軸索に、蛋白などの必要物質を供給する過程が軸索内輸送とよばれる現象である¹⁹⁾。この過程に異常が起これば、とうぜん、軸索の構成と機能に直接その影響が及ぶ。いくつかの神経疾患モデルのうち著者らがacrylamideに注目した理由は、それが軸索内輸送を遅延させるためである。

Acrylamideによる軸索の変化は典型的なdying back型である。Dying back型変性とは、罹患神経細胞の細胞体の障害が軽微であるにもかかわらず、その突起部とくに軸索の変化が強く、その遠位末端部にまで著明に変性が神経線維末端部から逆行性に進行するものをいう²⁰⁾。

今回、著者らはacrylamideを投与すると迷走神経線維の軸索原形質内に神経細糸が豊富に出現するのを電顕で観察した。Prineas²¹⁾は、この所見を本中毒の特徴的なものであると述べているが、その他の化学物質についての従来の電顕観察を総合すると、神経細糸の異常な増加と集積からなる軸索変化は一中毒に特異的な現象ではなく、dying back型の変化をもたらすすべての中毒に共通した現象であると理解される。

心電図のR-R間隔の変動度と自律神経障害による諸症状との間には密接な関連があり、臨床的にはR-R間隔の変動係数が2%以下のときに起立性低血圧、下痢、発汗異常などの症状を来すという²²⁾。Acrylamideを投与すると自律神経の一つである迷走神経心臓枝もaxonopathyを起こし、心電図のR-R間隔の変動度が減少するものと考えられる。Acrylamideなどの自律神経毒を利用したこれまでの実験では形態学的に末梢神経、脊髄、小脳のaxonopathyを証明したものは多く報告されているが、invivoにおける評価はほとんどなされていないのが現状であり、心電図のR-R間隔の変動係数(CVR-R)を用いた自律神経機能の定量化は

意義があると思われる。

本論文の要旨は第91回日本外科学会総会(1991, 4, 京都)にて発表した。

本研究は文部省科学研究費(昭和62年度奨励A課題番号: 62770986, 平成2年度一般研究A課題番号: 02770805)によった。

文 献

- 1) Deloyers L, Cordier R, Duprez A: A new approach to the physiology of so-called "cardiospasm": Experimental production of "cardiospasm" in cats after destruction of Auerbach's plexus. *Ann Surg* 146: 167—177, 1957
- 2) 田中 隆, 佐藤 博, 吉田幸夫ほか: 噴門痙攣症の研究(第1報)噴門痙攣症と中枢神経との関連について. *日外会誌* 63: 917—918, 1962
- 3) 佐藤 博: 特発性食道拡張症の基礎と臨床, (I)基礎編. *日消病会誌* 59: 779—787, 1962
- 4) Harris LD, Asthworth WD, Ingelfinger FJ: Esophageal aperistalsis and achalasia produced in dogs by prolonged cholinesterase inhibition. *J Clin Invest* 39: 1744—1751, 1960
- 5) 佐藤 博, 広田和俊, 平島 毅ほか: PMP長期投与による特発性食道拡張症様動物作製のころみ. *日平滑筋会誌* 3: 135—139, 1967
- 6) Kuperman AS: Effect of acrylamide on the central nervous system of the cat. *J Pharmacol Exp Therap* 123: 180—192, 1958
- 7) 平嶋 毅: 食道の良性疾患. 南江堂, 東京, 1981, p63—189
- 8) 食道疾患研究会編: 食道アカラシア取扱い規約. 金原出版, 東京, 1974, p1—4
- 9) 幕内博康, 町村貴郎, 宋 吉男ほか: 食道アカラシアにおける食道胃接合部の病態と手術. *日消外会誌* 23: 2477—2481, 1990
- 10) Rattan S, Goyal RK: Neural control of the lower esophageal shincter. Influence of the vagus nerves. *J Clin Invest* 54: 899—906, 1974
- 11) Rake GW: On the pathology of achalasia of the cardia. *Guys Hosp Report* 77: 141—150, 1927
- 12) Hurst AF, Rake GW: Achalasia of the cardia. *Quart J Med* 23: 491—500, 1930
- 13) Tanaka T, Inami O, Matsushita T et al: A clinical and experimental study on esophageal achalasia. *Nihon Univ J Med* 11: 1—13, 1969
- 14) 白羽 誠, 野口 淳, 寺田益士ほか: 食道運動機能からみた食道・胃接合部病変の病態と手術. *日消外会誌* 23: 2460—2464, 1990
- 15) Hashimoto K, Aldridge WN: Biochemical studies on acrylamide, a neurotoxic agent. *Biochem Pharmacol* 19: 2591—2604, 1971
- 16) 橋本和夫, 安藤 剛: アクリルアミド中毒—神経障害の発症機序. *医のあゆみ* 78: 686—689, 1971
- 17) McCollister DD, Oyen F, Rowe VK: Toxicology of acrylamide. *Toxicol Appl Pharmacol* 6: 172—181, 1964
- 18) Pleasure DE, Mischler KD, Engel WK: Axonal transport of proteins in experimental neuropathies. *Science* 166: 524—525, 1969
- 19) 小宮義璋: 軸索内輸送と神経疾患. *医のあゆみ* 139: 959—965, 1986
- 20) Sumner AJ, Asbury AK: Physiological studies of the dying-back phenomenon. *Brain* 98: 91—100, 1975
- 21) Prineas J: The pathogenesis of dying-back polyneuropathies. Part II. An ultrastructural study of experimental acrylamide intoxication in the cat. *J Neuropath Exp Neurol* 28: 598—621, 1969
- 22) 影山 茂, 谷口郁夫, 相原一夫: 心電図 R-R 間隔変動—その意義と臨床症状(起立性低血圧)との関連一. *最新医* 39: 466—472, 1984

Esophageal Achalasia Induced in Dogs by Prolonged Acrylamide Administration

Tatsuro Nakagawa, Yasuto Fujisaki and Kenji Sakurai

The First Department of Surgery, The Jikei University School of Medicine

Twenty dogs orally given acrylamide developed an esophageal achalasia-like lesion, and esophageal motility and axonal degeneration of the vagus nerve were investigated electrophysiologically and electron microscopically. From 7 weeks after the start of acrylamide administration, vomiting, diarrhea and weight loss were observed in addition to neurological disturbances such as ataxia and muscle weakness of the hind limbs. The largest transverse diameter of the lower esophagus was 16.8 ± 1.85 mm in the control group and was significantly ($p < 0.01$) increased to 28.9 ± 2.26 mm in the late stage of administration in the treated group. Lower esophageal sphincter pressure (LESP) was significantly ($p < 0.01$) increased to 29.6 ± 4.4 cmH₂O in the treated group. By a set of electrodes stimulating the cervical vagus nerve, the percentage of the fall values [(LESP-LESP with vagal stimulation)/LESP] $\times 100\%$ was decreased significantly in the treated group. The coefficient of variation of the R-R interval in ECGs

was $1.49 \pm 1.09\%$ in the control group and was significantly ($p < 0.05$) decreased to $0.77 \pm 0.45\%$ in the treated group. In the histologic examination, no changes in the esophageal ganglionic cells were observed in the treated group. Axonal degeneration of the vagus nerve in the treated group was revealed by electron microscopy. From these observations it seems mandatory to seek the cause of esophageal achalasia not only in the esophageal ganglionic cells but also in the central to peripheral nervous system.

Reprint requests: Tatsuro Nakagawa The First Department of Surgery, The Jikei University School of Medicine
3-25-8 Nishi-Shinbashi, Minato-ku, Tokyo, 105 JAPAN