Phenol の毒性に関する行動薬理学的研究 (II)

—Phenol ならびに l-dopa 併用による振戦に対する影響について—

鈴木 崇彦 木皿 憲佐

東北薬科大学薬理学教室*

小野 寺 憲 治 高 野 桂 悦 小 倉 保 己

東北大学歯学部薬理学教室**

[受付: 昭和56年5月14日]

Behavioral pharmacological studies in toxicities of phenol (II)

— Effect of l-dopa on phenol-induced tremor —

Takahiko Suzuki and Kensuke Kisara

Department of Pharmacology, Tohoku College of Pharmacy,

Komatsujima 4-4-1, Sendai 983

Kenji Onodera, Keietsu Takano and Yasumi Ogura

Department of Pharmacology, Tohoku University, School of Dentistry,

[Accepted for publication May 14, 1981]

Key words: tremor/phenol/l-dihydroxyphenylalanine/dopamine/behavior

Abstract: The effect of l-dihydroxyphenylalanine (l-dopa) on phenol-induced tremor was studied in detail in mice. The tremor was observed in every mouse a few minutes after subcutaneous injection of phenol. The tremor induced by phenol with a concentration of 1% was observed as slight, and continued for 35 minutes. In mice pretreated with l-dopa the phenol-induced tremor was strengthened in a dose-dependent manner. The combined effect of Ro4-4602, which is the peripheral decarboxylase inhibitor, and 50 mg/kg l-dopa was equal to the effect of 200 mg/kg l-dopa alone. Intracerebroventricular injection of dopamine also strengthened the tremor induced by phenol. But α -methyl-p-tyrosine, which is the inhibitor of dopamine synthesis, was not effective within the dose range of 50-200 mg/kg. Our findings suggest that stimulation of dopaminergic system in the central nervous system can increase the phenol-induced tremor.

緒 言

歯科領域において phenol およびその誘導体はカンファーなどとの合剤の形で根管消毒薬として利用されている¹⁾。また, phenol 単独においてはその腐蝕作用を利用して, 露髄時の止血と鎮痛処

置に応用されることがある¹⁾。

一般に phenol は無傷の皮膚および粘膜などから容易に吸収される^{1,2)}。他方, 吸収された phenol の副作用および毒作用としては腎臓の障害があり, また中枢神経系を興奮させ, 最後に呼吸麻痺により死に至る²⁾。しかし, 吸収された phenol の中枢神経系にかかわる中毒機序は不明である。従って phenol の吸収にともなって起

* 仙台市小松島 4-4-1 (〒983)

** 仙台市星陵町 4-1 (〒980)

こる中枢神経系の障害の機序を検討することは意義あることと思われるので、本実験においては動物を使用し、phenol により惹起される振戦について詳細な検討を加えた。この振戦については中枢の dopamine 作働性神経機構がどの様に関与しているか検討を加えるとともに、臨床上海パーキンソン氏症候群³⁾の治療薬である l-dihydroxyphenylalanine (l-dopa) と phenol の相互作用について併せ検討し、phenol 振戦の増強など興味ある知見が多数得られたので報告する。

実験方法

実験には体重18~25g の ddY 系雄マウスを1群10~15匹の割合で使用し、1% phenol により誘発される振戦に対する l-dopa をはじめとする各薬物の前処置による影響を検討した。振戦の程度は Table 1 のスコアの基準に従った。

Table 1 Scoring system of phenol-induced tremor

Score	Intensity of tremor
0	absent
1	slight
2	moderate
3	severe (with lack of righting reflex)
4	death of animal

使用した薬物は l-dihydroxyphenylalanine (l-dopa, 三共), dopamine hydrochloride (DA, 和光純薬), Ro 4-4602 (Roche), α -methyl-p-tyrosine (α -MT, Sigma) である。1% phenol (関東化学) は0.1ml/mouse の割合で皮下投与し、DA は Brittain ら⁴⁾の方法に従い0.02ml/mouse の割合で脳室内へ投与した。他の薬物はすべて腹腔内投与を行なった。

得られた結果は Student's t-test により群間の有意差の検定を行なった。

実験成績

1) Phenol 振戦の発現について

Phenol の濃度変化による振戦のスコアに対する影響を Fig. 1 に示した。

1% phenol 皮下投与では、投与数分後に振戦

Fig. 1 Scoring of the tremor induced by phenol.

があらわれ、その後5~15分の間ではスコアは1であったが、投与35分後にはこの振戦は消失した。2および3%と phenol の濃度をあげるに従い、振戦のスコアも上昇した。特に3% phenol ではその振戦の発現から消失までに2時間を要した。また、0.5% phenol では振戦は全く観察されなかった。

Phenol 投与後におけるマウスの症状としては、振戦の発現時において立毛および挙尾反応などが観察され、振戦は微細で全身にわたり、とりわけ四肢に著明であった。2% phenol の一部分および3% phenol の大部分において正向反射の消失ならびに自発運動の停止が観察された。以上の結果より、以下の本実験においては1% phenol を使用し、これに対する各種薬物の前処理における影響を検討した。

2) Phenol 振戦に対する l-dihydroxyphenylalanine (l-dopa) 前投与の影響

l-dopa を phenol 投与の1時間前に処理し、phenol 振戦への影響を検討し、Fig. 2 に示す結果を得た。

l-dopa 50mg/kg 投与群は、対照群とほぼ同様の変化を示したが、l-dopa 100mg/kg 投与群では30分、35分後においてスコアがそれぞれ1 ($P < 0.01$), 0.6 ($P < 0.05$) と対照群と比較して有意に高い値を示し、振戦の消失までに45分を必要とした。さらに、l-dopa 200mg/kg 投与群では、投与後10分および15分においてスコアは両者とも1.7と高く、対照群と比較して有意であった ($P <$

Fig. 2 Effect of l-dihydroxyphenylalanine (l-dopa) on 1% phenol-induced tremor. Statistical difference from control group (* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ and $P < 0.001$).

Fig. 3 Combined effect of Ro 4-4602 and l-dihydroxyphenylalanine (l-dopa) on 1% phenol-induced tremor. Statistical difference from control group (* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ and *** $P < 0.001$).

0.01)。また、振戦消失には50分を要し、l-dopa による phenol 振戦の増強が認められた。

3) Phenol 振戦に対する Ro 4-4602+l-dopa 併用投与の影響について

Ro 4-4602 50mg/kg 投与後 30 分に l-dopa 50 mg/kg を投与し、その 1 時間後に phenol 振戦に対する影響を検討し、Fig. 3 に示す結果を得た。

Ro 4-4602+l-dopa の併用投与群では、10分後に1.6 ($P < 0.01$)、15分後に1.5 ($P < 0.01$) と対照群1.0に比較し有意に高い値を示し、振戦の消失に要する時間も10分延長した。併用時におけるこのスコアの増加は l-dopa 単独投与時での 200mg/kg 投与群とほぼ同程度の値であった。

Fig. 4 Effect of intracerebroventricular injection of dopamine (DA) on 1% phenol-induced tremor. Statistical difference from control group (* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ and *** $P < 0.001$).

Fig. 5 Effect of α -methyl-p-tyrosine (α -MT) on 1% phenol-induced tremor.

4) Phenol 振戦に対する dopamine hydrochloride (DA) の脳室内投与による影響について
DA をマウスの脳室内へ投与し、その10分後に phenol 振戦に対する影響を検討し、Fig. 4 に示す結果を得た。

DA 100nmol 投与時の phenol 振戦に対する影響は phenol 投与 5 分、10 分、15 分後にそれぞれスコア 1、1.1、1 であり、振戦の消失までに 40 分を要した。他方、対照群においても同様な変化が観察され、振戦の消失するまでの時間 (25 分) 以外著明な差は観察されなかった。

つぎに用量を増加して 200nmole の DA 前処理では、投与 10 分後にスコア 1.4 と増加し振戦消失までに 40 分を要した。加えて DA 800nmole では、投与 5 分後でスコア 1.4、10 分、15 分、20 分後でそれぞれ 1.6、1.5、1.3 と対照群と比較して有意で著明なスコアの上昇が認められた。また振戦消失までに 50 分を要した。

5) Phenol 振戦に対する α -methyl-p-tyrosine (α -MT) の影響について

Phenol 投与6時間前に α -MT を処理し phenol 振戦に対する影響を検討し, Fig. 5 に示す結果を得た。

α -MT の50mg/kg 投与では, 投与5分後から20分までスコアは1であり, 振戦消失までに35分を要した。さらに用量を増加して100, 200mg/kg としても, 50mg/kg 以上のスコアの増加は観察されなかった。

考 察

今回用いた l-dopa は DA の前駆物質であるアミノ酸である。パーキンソン氏症候群の治療にあたっては, l-dopa の脳への大量移行を目的として末梢性の芳香族炭酸酵素阻害剤の併用が行なわれている^{3,4)}。本実験においても阻害剤として Ro 4-4602 を使用し⁴⁾, l-dopa との併用効果を試験したところ, Ro 4-4602+l-dopa 50mg/kg は l-dopa 200mg/kg 単独投与と同程度の作用を有し, 併用投与が有効であることが確認された。しかし, 用量を節減するという点では成功したのであるが, l-dopa 単独投与および Ro 4-4602+l-dopa のいずれにおいても phenol により誘発される振戦を増強し, この増強は中枢性の因子によってもたらされたものであるという事が, マウスの脳室内へ直接的に DA を注入した実験により確認された。

一方, パーキンソン氏症候群の動物モデルとされている harmaline 投与により誘発される振戦においては, DA の agonist である l-dopa, amphetamine などによって DA の中枢での機構を亢進させることにより harmaline 振戦を抑制するといわれ⁶⁾, また 5-hydroxytryptophan (5-HTP) 投与が振戦を増強することから⁷⁾, この振戦には中枢での 5-HT-DA のバランスが重要視され, 特に部位的には nigrostriatal dopa-

minergic system が重要な抑制経路であるとされている⁸⁾。

これら臨床上および実験上の結果に相反して, phenol 振戦に対して l-dopa は有効ではなく, むしろ増強する結果が得られた。この事実に対し l-dopa はパーキンソン氏症候群の固縮や寡動に対しより有効であり, 振戦への治療効果は弱いということ⁹⁾, l-dopa の持つ振戦抑制効果は筋強剛を軽減したことによる二次的なものであるということ¹⁰⁾, およびハンチントン舞踊病における運動過多が l-dopa によって悪化されるということ¹¹⁾が傍証にあげられる。

他方, 本実験では DA の生合成阻害剤である α -MT¹²⁾ を投与し, 生体の DA 含量を低下させた状態で振戦に対する影響を検討したが, 対照群と比較して何らの変化も認められなかった。

以上の結果から phenol 振戦について中枢の DA 作働性神経は直接的には関与していないことが示唆される。しかし, harmaline の様に¹³⁾, phenol が中枢での l-dopa から DA への生成を妨げ, 神経末端からの DA の放出を抑制する作用があるとしたならば, α -MT の前処理は phenol 振戦に対して影響を与えなかったとしても不思議ではない。加えて l-dopa, Ro 4-4602+l-dopa および DA のマウス脳室内への直接投与が phenol 振戦を増強することから, この phenol 振戦の発生機序に中枢性の DA が何らかの形で関与することは明らかであり, 今後さらに詳細な検討が必要であると思われる。

結 論

1) 1% phenol の皮下投与により振戦がマウスに惹起され, l-dihydroxyphenylalanine (l-dopa) は用量依存的にこれを増強する。

2) Phenol 振戦に対し, 中枢の dopamine 作働性機構はその機能が亢進した時に振戦が増強するという形で関与している。

抄録: 歯科で多用される phenol の中枢神経系にかかわる中毒機序について, マウスにみられる phenol 振戦をそのモデルとして取り上げ, l-dihydroxyphenylalanine (l-dopa) 投与による影響を検討し, 以下の知見を得た。1%濃度の phenol では, 皮下投与数分後で振戦があらわれ, その後5~15分の間ではスコアは1であったが, 投与35分後にはこの振戦は消失した。l-dopa 前処置においては用量依存的に phenol 振戦のス

コアが増加した。末梢性の脱炭酸酵素阻害剤である Ro 4-4602 と l-dopa を併用した場合、l-dopa 200mg/kg 単独処置とほぼ同等の作用が Ro 4-4602+l-dopa 50mg/kg で得られた。また、マウス脳室内へ直接 dopamine を注入すると、phenol 振戦の増強が観察された。以上の結果より、phenol 振戦の発生機序に中枢性の DA が何らかの形で関与することが示唆された。

文 献

- 1) 小椋秀亮, 小倉保己, 現代歯科薬理学: 157, 医歯薬出版, 東京, 1980.
- 2) GOODMAN, L. S. and GILMAN, A.: The Pharmacological Basis of Therapeutics, 4th edition: 1035, Macmillan, New York, 1970.
- 3) HORNYKIEWICZ, O.: Recent Advances in Parkinson's Disease, edited by McDWELL, F. H. and MARKHAM, C. H.: 34, Davis, Philadelphia, 1971.
- 4) BARTHOLINI, G., BURKARD, W. P. and PLETSCHER, A.: Increase of cerebral catecholamines caused by 3,4-dihydroxyphenylalanine after inhibition of peripheral decarboxylase. *Nature*, 215: 852, 1967.
- 5) BRITTAİN, R. T. and HANDLEY, S. L.: Temperature changes produced by the injection of catecholamines and 5-hydroxytryptamine into the cerebral ventricles of the conscious mouse. *J. physiol.*, 192: 805, 1967.
- 6) KELLY, D. M. and NAYLOR, R. J.: Mechanism of tremor induction by harmine. *Europ. J. Pharmacol.*, 27: 14, 1974.
- 7) KIM, J. S., HASSLER, R., KUROKAWA, M. and BAK, I. J.: Abnormal movements and rigidity induced by harmaline in relation to striatal acetylcholine, serotonin and dopamine. *Exptl. Neurol.*, 29: 189, 1970.
- 8) GOLDSTEIN, M., BATTISTA, A. F., FUGE, K., OHMOTO, T. and ANAGNOSTE, B.: The effect of 1-(2''-pyrimidyl)-4-piperonyl-piperazine (ET 495) on tremor and on involuntary movements in monkeys with nigral lesion. *psychopharmacol.*, 27: 14, 1974.
- 9) 吉田忠義: ドパストン SE—L-Dopa との比較一, ファルマシア, 16(8): 750, 1980.
- 10) 檜林博太郎: ヒトおよびサルにおける振戦の発現—サルにおける実験神経学(2)—, 神経進歩, 17: 186, 1973.
- 11) 檜林博太郎: ドーパミンとパーキンソン病. 代謝, 10: 210, 1973.
- 12) SPECTOR, S., SJOERDSMA, A. and UDEN-FRIEND, S.: Blockade of endogenous norepinephrine synthesis by α -methylparosine, an inhibitor of tyrosine hydroxylase. *J. Pharmac. exp. Ther.*, 147: 86, 1965.
- 13) POIRIER, L. J., SINGH, P. and BOUCHER, R.: Opposite effect of harmaline on serotonin and on dopamine and its metabolites, homovanillic acid and norepinephrine, in the brain of the cat. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 46: 585, 1968.