

海馬領域に対するカイニン酸の毒性作用についての 光学顕微鏡的・電子顕微鏡的研究

岡山大学医学部第一解剖学教室 (指導: 大塚長康教授)

山 崎 直

(昭和62年2月24日受稿)

Key words: カイニン酸, 海馬領域
光学顕微鏡, 電子顕微鏡

緒 言

回虫の駆虫薬として使用されていた海人草より単離抽出されたカイニン酸 (Kainic acid, KA) は, 2-カルボキシ-3-カルボキシメチル-4-イソプロピルピロリジンの化学構造式をもつ物質である。Olney¹⁵⁾らによりこのカイニン酸がとくにほ乳類の中樞神経系に毒作用を有することが初めて明らかにされた。その毒作用を利用して海馬領域^{9), 11-14)}をはじめとして視床下部弓状核を中心とする視床下部領域^{7), 15)}、網膜^{2), 16)}、線条体^{3), 4)}、小脳⁵⁾や嗅脳¹³⁾などの破壊実験が行なわれている。今回、カイニン酸の投与量や投与方法をかえ、ラット海馬領域におけるカイニン酸の影響を経時的に光学顕微鏡と電子顕微鏡で詳しく検索し、カイニン酸が、特定のノイロンを選択的に障害する機序を解明しようとした。

材料と方法

動物はウイスター系ラット (体重200-250g) 100匹を使用した。5例を対照とし、95例にカイニン酸を投与し実験例とした。光学顕微鏡用の標本はカイニン酸を腹腔内と脳室内に投与した。腹腔内へは0.5-6mgを投与量とし、生理的食塩水に溶解した。投与量により次の4グループに分けた。すなわち第1グループとしては、カイニン酸0.5mgを1日1回、5日間と10日間連続投与後のラットを使用した。第2グループとしては2mgを1回投与後、30分、1、3、5、

24時間後のラットを使用し、第3グループとしては、4mgを1回投与後、1、3、5、12、24時間後のラットを使用し、第4グループとしては、6mgを1回投与したのち1日と6日後のラットを使用した。また、対照例には、同量の生理的食塩水を投与した。

脳室内投与にはエーテル麻酔下で脳定位手術的にカイニン酸0.3 μ gを含む生理的食塩水溶液0.3 μ lを右側の側脳室にHamilton syringeを用いて投与した。また対照例には同様部位に同量の食塩水を投与した。これらの動物は、エーテル麻酔下で断頭、脳を取り出し海馬領域を含む部位を摘出し、10%ホルマリンで固定、パラフィン切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン染色、トルイジン・ブルー染色、クレシルエヒト・バイオレット染色を行った。また、苔状線維終末に分布する亜鉛の検索は硫化銀法 (Timm反応) によって観察した。電子顕微鏡用には腹腔内4mg投与のものと、脳室内0.3 μ g投与のものから標本を得た。摘出した海馬領域は、3%グルタルアルデヒド液 (Millonig緩衝液でpH7.4に調整) で固定10分後に実体顕微鏡下で海馬のCA3野を含む組織片を細切したのち、同液で2時間固定、緩衝液で十分洗浄したのち、1%四酸化オスミウム液で1時間30分固定し、アセトン系列で脱水し、Luft法に従いエポン812で包埋した。超薄切片はウラニールと鉛の二重染色法を行ない電子顕微鏡 (JEM. 100 CX) で観察した。

結 果

はじめに対照として用いた正常ラットの海馬領域の分野について解説する。海馬領域は海馬と歯状回に分けられる。このうち海馬はそこを構成する錐体細胞の種類と配列、あるいは神経線維の走行などからいくつかの分野に分けられている。われわれは、Lorente de NóのCA1野～CA4野の分類にしたがった。CA1野とCA2野の錐体細胞はCA3野やCA4野にみられる錐体細胞より小型で、細胞は比較的密に数列で配列している。さらにCA3野では比較的大型の錐体細胞がやや疎に列をなし、その細胞の数も多い。CA4野ではCA1～CA3野にみられるような錐体細胞の規則正しい配列はなく大型の細胞が歯状回の門のところに散在的に分布している。なお、歯状回にみられる顆粒細胞には分野はみとめられない。

また、電子顕微鏡で観察すると、その錐体細胞の大きさは平均値で長径が20 μ 、短径が15 μ であった。CA1野やCA2野の錐体細胞は比較的大きな、クロマチンの少ない明るい核をもっていた。また、細胞質内にはミトコンドリアの数も少なく、rERやGolgi装置の発達も弱く、その他の細胞内小器官も発達が弱かった。CA3野やCA4野の錐体細胞は平均値で、長径30 μ 、短径20 μ の大きさで核は明るく大きかった。また、細胞質には多数のミトコンドリア、よく発達したrERやGolgi装置などが観察できた。その他の細胞小器官も比較的良好に発達していた。さらに、歯状回の顆粒細胞の大きさは、直径15 μ で核は丸くて、大きく、クロマチンはよく発達していた。rERの発達は弱かったが、ミトコンドリアはかなり多くみとめられた。Golgi装置も発達していた。その他の細胞内小器官の発達はよくない。

I. 光学顕微鏡的観察

(A) 腹腔内投与例

(1) カイニン酸0.5mg投与例

ラット10例にカイニン酸0.5mgを5日間と10日間連日投与したがラットにけいれんや発作の外見変化はなかった。また、光顕的にも海馬領域にはいずれの部位にも変性像は認められな

かった。Timm法でも正常例と変わらなかった。

(2) カイニン酸2mg投与例

ラット15例にカイニン酸2mgを投与したが、その中の数例が軽いけいれんを起こす程度で死に至るものはなかった。投与後30分では海馬のどの領域にも変性所見はみられなかったが、投与後1時間たつとCA3野とCA4野に変化が現れ正常な錐体細胞の中に、H-E染色によって核の濃縮や細胞質が濃紫色に染る暗調な細胞が散在的に分布してきた。その他の分野には変性像は観察できなかった。投与後3時間目になるとCA3野とCA4野に大きな変化がみとめられた。すなわち、CA3野の錐体細胞の細胞体に空胞が出現し、明るい細胞が多数を占め、また上記のような、暗調な錐体細胞も散在性に分布していた。正常な錐体細胞もこれらの変性細胞の間に少数みられた。CA4野では暗調な錐体細胞が大部分をしめ、空胞細胞はごく少数であった。投与5時間目では、CA3野とCA4野の錐体細胞は暗調細胞が観察された。投与24時間目においても3～5時間目のものとほとんど変わらない変性状態を示した。また、これらの投与例のCA1野やCA2野の錐体細胞、歯状回の顆粒細胞には全く変化はなかった。同時にTimm法により検索したが全て正常例と変わらない反応を呈した。

(3) カイニン酸4mg投与例

ラット16例にカイニン酸4mgが投与された。その内4例が死亡した。投与後早いものは8分位から強いけいれん発作を起こし、その発作は数時間でおさまった。死亡するものはほとんどのラットが数時間以内であった。死亡したものについては今回の観察からは除外した。投与後1時間以内のものでCA3野とCA4野の錐体細胞の少数が暗調に変性した像がみられた。また、細胞体内に大きな空胞をもつ細胞が多数出現していた。投与3時間目になると暗調な変性状態を呈する錐体細胞が増えてきた。これらに混じて空胞変性した錐体細胞も散在性に観察できた。投与5時間後にはCA3野とCA4野の大部分の錐体細胞が暗調な変性細胞で占められるようになった。また、ところどころに空胞変性を起こしている錐体細胞もみとめられた。

投与後12時間から24時間すると CA 3 野や CA 4 野の錐体細胞はほとんどすべての細胞が暗調な変性像におきかわり空胞化した変性状態はほとんどみられなかった。この投与量においても、CA 1 野と CA 2 野の錐体細胞や歯状回の顆粒細胞に変性像はなかった。また、Timm 法でも変化はなかった。

(4) カイニン酸 6 mg 投与例

ラットに致死量を超える 6 mg を投与すると、投与後 6～15 分のうちに激しいけいれんを起こし、11 例中 8 例が数時間内に死亡した。その中で 1 日と 6 日間生存したものについて観察した。投与 1 日目のものは CA 3 野と CA 4 野の錐体細胞層に多く空隙がみられた。これは空胞変性した錐体細胞が自己融解により消失したものと考えられた。この空隙の中に暗調細胞が少数観察された。投与 6 日目のものは同様に CA 3 野の錐体細胞層にかなりの空隙がみられたが 1 日目のものよりその範囲は小さく、これが 6 日間の生存に耐えられたものと考えられた。その中には暗調な変性細胞がかなりの数で存在していた。

この投与量においても CA 1 野や CA 2 野の錐体細胞や歯状回の顆粒細胞には変性像はなかった。また、Timm 法によっても正常例と同様の反応をしめした。

(B) 脳室内投与例

ラット 20 例にカイニン酸 0.3 $\mu\text{g}/0.3 \mu\text{l}$ を脳定位手術により 1 回投与した。投与後早いものは 7 分位からけいれんを起こしたが、ほとんどのラットでこの発作は 2 時間以内で消失した。20 例中 2 例が死亡したがこの観察結果からは除外した。

(1) カイニン酸投与後 15 分

CA 3 野や CA 4 野の錐体細胞には、変性像はみられなかった。

(2) カイニン酸投与後 30 分

CA 3 野と CA 4 野の錐体細胞に少数の暗調細胞がみられた。

(3) カイニン酸投与後 1 時間

この時間になると CA 3 野と CA 4 野の錐体細胞に明瞭な変化が現われはじめた。すなわち、CA 3 野や CA 4 野のところどころに暗調変性

と空胞変性の錐体細胞が出現してきた。

(4) カイニン酸投与後 3 時間

投与 3 時間目には、CA 3 野や CA 4 野の錐体細胞に暗調な変性細胞が 30% を占めていた。

(5) カイニン酸投与後 6 時間

投与後 6 時間では、CA 3 野と CA 4 野の多くの錐体細胞が暗調な変性細胞に置換されてきた。その中でも CA 4 野に近いところの部位で変性像が多くみとめられた。

(6) カイニン酸投与後 24 時間

投与後 24 時間では、CA 2 野に接した部位の CA 3 野の錐体細胞の多くが空胞化した変性におちいていた。その中に暗調化した錐体細胞もみられた。さらに、CA 3 野から CA 4 野にかけて暗調化した錐体細胞が多くみとめられた。

(7) カイニン酸投与後 3 日

投与 3 日目では、CA 4 野に近い CA 3 野の部位の中に多くの暗調化された錐体細胞が観察できた。それに対して CA 2 野に近い CA 3 野の部位には暗調化された錐体細胞はほとんどみられなかった。CA 4 野にもところどころに暗調細胞がみとめられた。

(8) カイニン酸投与後 5 日

投与 5 日目のものでは、CA 3 野と CA 4 野に暗調細胞がかなり多くみとめられた。また、空胞化された細胞が CA 3 野から CA 4 野の間でみられた。

(9) カイニン酸投与後 7 日

投与 7 日目では、CA 3 野から CA 4 野にかけての部位に暗調化した錐体細胞が、かなりの数で分布していた。

脳室内投与のものではかなり早い時期から、CA 3 野、CA 4 野の錐体細胞に変性像が現われたが CA 1 野、CA 2 野や歯状回の顆粒細胞には変性は観察されなかった。また、Timm 法によっても正常と変わらない反応を示した。

II. 電子顕微鏡的観察

(A) 腹腔内投与例

カイニン酸 4 mg をラット腹腔内に投与し、30 分後より 2 時間後まで、海馬 CA 3 野を中心にして経時的に電子顕微鏡で観察した。

(1) カイニン酸投与後 30 分

投与後30分ではCA 3野やCA 4野の錐体細胞に変性がみとめられた。すなわち、核内のクロマチンは少なく、細胞内小器官が減少して細胞が非常に明るく、空胞化した錐体細胞が少数みとめられた。もう1つの変性像として、核周辺部の電子密度が増加し、細胞全体が萎縮して暗調に変性した錐体細胞がかなりの数みとめられた。これらの細胞はいずれのものも膨化したrER、暗調なミトコンドリア、polysomeが多くみられた。CA 3野とCA 4野にも、正常細胞はまだかなりみとめられた。CA 3野やCA 4野には歯状回の顆粒細胞の軸索である苔状線維が分布しているが、これらのものには、変性像はなかった。苔状線維はCA 3野とCA 4野の錐体細胞の樹状突起、特にその棘を取り囲み大きな膨らみとなって終末していた。終末部内には多数の密集したシナプス小胞(300~600 Å)と電子密度の高い小顆粒を含んだcored vesicles(700~1000 Å)が少数観察できた。

(2) カイニン酸投与後1時間

投与1時間目では、投与30分目のものと同様に錐体細胞は空胞化した明調なものと同調な細胞が観察されたが、分布密度は暗調細胞がやや多くみとめられた。

(3) カイニン酸投与後2時間

投与後2時間目には暗調な変性細胞が多くみられるようになり、空胞化した錐体細胞はあまりみつからなかった。その他、CA 3野の錐体細胞層に空隙が少しみとめられた。樹状突起には変性所見はみられなかった。また、苔状線維終末には変性状態のものはなかった。

(B) 脳室内投与

カイニン酸0.3 µg/0.3 µlを、右側脳室に脳定位手術的に投与したのち、15分より20日までの海馬CA 3野とCA 4野について経時的に電子顕微鏡により観察した。

(1) カイニン酸投与後15分

投与後15分でCA 3野の錐体細胞に核のクロマチンが少なく、細胞内小器官の減少した非常に明るい細胞と、細胞質内に大きな空胞をいくつも含んだ基質の明るい細胞がみとめられた。さらに、核周辺部の電子密度が高く、細胞全体が萎縮した暗調な変性細胞もみられた。この細胞

には膨化したrER、暗調なミトコンドリア、polysomeも多く観察できた。変性細胞の中では、明調な細胞よりも暗調な細胞の方がやや多いように思われた。暗調細胞の中には暗調度の低い正常細胞に近いものもあった。しかし、正常な錐体細胞も多数みられた。

(2) カイニン酸投与後30分

投与後30分のCA 3野とCA 4野の錐体細胞は投与15分目のものより明調な細胞がやや多いように見えたが、その中には正常な細胞から暗調細胞への移行期の状態の細胞が多くみられた。しかし、正常な錐体細胞が多くを占めていた。

(3) カイニン酸投与後1時間

投与1時間目のCA 3野とCA 4野の錐体細胞に明調と暗調な細胞が増加してきた。明調に変性する細胞は核内のクロマチンは非常に少なく細胞内小器官は減少して空胞化していた。また、暗調細胞は核内のクロマチンは凝集し、polysomeも豊富でrERも拡張していた。それらの数は暗調変性細胞の方が多くみとめられた。また、ところどころに変性し拡張した樹状突起もみられた。

(4) カイニン酸投与後3時間

投与3日目になると、CA 3野とCA 4野の錐体細胞の変性化はなお進み、暗調細胞の明瞭な増加がみられた。明調細胞は空胞化も強く一部で崩壊したのか少数であった。また、少数の正常細胞も存在していた。

(5) カイニン酸投与後2日

投与2日目のCA 3野の錐体細胞は、暗調細胞の増加とともに細胞内の変性もさらに進み、核のクロマチンは濃縮し、核周辺部の細胞質には膨化したrER、暗調なミトコンドリアやpolysomeも多く、細胞全体の電子密度は高く萎縮していた。また錐体細胞によっては暗調程度の違いも観察された。これらの細胞の中に空胞化した細胞や正常細胞も少数観察された。一部の樹状突起に膨化がみられた。

(6) カイニン酸投与後7日目

投与7日目のCA 3野の錐体細胞は投与2日目のものと類似していた。すなわち、暗調変性細胞は細胞によりいろいろな過程のものがあった。明調変性細胞も少数みられた。この時期に

おいてもまだ正常細胞をみとめることができた。また、空胞変性した樹状突起も一部でみることができた。

(7) カイニン酸投与後20日目

投与20日目でも暗調変性細胞が最も多く、明調変性細胞や正常細胞も少数ながら存在していた。

これらの脳室内投与の電顕像で、CA 3野、CA 4野に15分位から変性細胞が現われたが、CA 1野、CA 2野の錐体細胞や歯状回の顆粒細胞には変性はなかった。また、苔状線維終末にも変性はなかった。

考 察

海馬領域は海馬と歯状回により構成され、さらに海馬は4分野に分けられている。特に、海馬のCA 1野、CA 2野、CA 3野やCA 4野を構成する錐体細胞のカイニン酸に対する反応態度はそれぞれ異なっているといわれてきた。各分野の錐体細胞はそのカイニン酸の投与量によっても変性の状態は違っていた。我々の光学顕微鏡による検索結果によれば0.5mgを連日5~10日間にわたって腹腔内にカイニン酸を投与してもCA 3野とCA 4野の錐体細胞には変性像はみとめられなかった。投与量が2mgになるとCA 3野とCA 4野の錐体細胞に変化がみられた。その変性状態は空胞化した明調変性が多くみとめられ、暗調変性の錐体細胞は少なかった。そして、カイニン酸の投与量が1回4mgになると暗調細胞の数が多くなり明調な変化像は少なくなった。このことから、カイニン酸の投与量が少ないと明調な変性が早くあらわれるが、投与量が多くなると暗調な変性が多くみとめられた。次に、カイニン酸を4mg投与した海馬領域を電子顕微鏡で観察すると、投与30分目にCA 3野やCA 4野の錐体細胞に明調な変性と暗調な変性がみられた。このように電子顕微鏡でみると、かなり早期より両変性細胞がみとめられた。Obataら^{11),12)}はカイニン酸の投与後、比較的早期に明調変性がみとめられ、時間の経過とともに減少してくると報告している。我々の観察した所見からも同様の傾向がみられた。

一方、カイニン酸の微量を側脳室に投与すると海馬の一定領域を破壊することが可能といわれてきた^{8),9),11),12)}。そこで我々も0.3μg/0.3μlをラットの右側脳室に投与したものを電子顕微鏡で観察した。

細胞体の変化と同時に樹状突起の変性もみとめられてきた。その変性所見としては、樹状突起が膨化してその内部に多くの空胞を含んだ明るいものと萎縮しその内部に電子密度の高いミトコンドリア、拡張したrER、dense bodyなどを含んだ暗調なものがあるといわれているが、我々の観察によれば、全体としては明調な変性を呈する樹状突起が多く暗調な変性のみられるものは少なかった。これは、カイニン酸投与後の生存期間や、検索部位の違いによるものと思われた。

また、Obataら^{11),12)}は軸索の終末や終末前軸索にも変性がみられたと述べているが、我々の研究では軸索の終末や終末前軸索には全く変性像はみつからなかった。特に顆粒細胞の軸索である苔状線維には変性はみとめられなかった。このことはNadlerら^{8),9)}がカイニン酸の影響は錐体細胞およびその突起にみとめられ、それらの周囲に分布する神経終末には変性がみとめられないという所見とよく一致した。カイニン酸投与により海馬の錐体細胞の変性がみとめられたが、神経細胞やその突起が変性する時、その変性物の処理などに神経膠細胞が動員されるといわれ、このような神経膠細胞についてはObata^{11),12)}らはカイニン酸投与後24時間ぐらいから出現する星状膠細胞や小膠細胞が変性におちいった錐体細胞やその突起の処理にあづかるものと述べている。我々の研究からも、カイニン酸投与2日後のものにおいて、変性細胞を飽食する大食細胞や細胞質に数個の核を取り込み多くのライソゾームをもつ神経膠細胞が観察された。

Nadlerら⁹⁾はカイニン酸投与に対してCA 3野とCA 4野の錐体細胞が最も感受性が強く、CA 2野の錐体細胞は最も影響を受けにくいと報告している。また、歯状回の顆粒細胞もカイニン酸の影響を最も受けにくいといわれてきた。我々の研究ではCA 1野もCA 2野と同様に影

響を受けにくいことがわかった。顆粒細胞もカイニン酸に対する感受性が弱い細胞で、我々が実験に使ったラットでは、いずれも顆粒細胞とその軸索である苔状線維も共に変性像は全くみとめられなかった。Timm法による結果でもすべてのもので正常例とかわらなかった。カイニン酸の毒性作用の機構については、カイニン酸もグルタミン酸と同じく、神経興奮剤でありグルタミン酸レセプターをもつ神経細胞要素に働いて連続的脱分極を起し、その結果細胞内部のイオンのアンバランスが生じ細胞内小器官の崩壊が起り、神経細胞が変性におちいるという考えがある¹⁵⁾。一方、カイニン酸が直接グルタミン酸レセプターを有する神経細胞に作用するのではなくて、まずグルタミン酸を伝達物質とする神経終末に取り込まれて、その結果、その終末からグルタミン酸が放出され、また、その再取り込みが障害されるため、グルタミン酸レセプターを有する神経細胞に連続的な脱分極が起り、その結果変性におちいるという考えもある⁶⁾。これらはいずれも最終的にはカイニン酸が特異的にグルタミン酸レセプターを有する神経細胞を変性させる機構の仮説であるが、その詳細については今後、更に検討が加えられねばならないと考えられた。

結 語

カイニン酸をラットの腹腔内と脳室内に投与し、海馬領域、特にCA3野の錐体細胞の変性状態を光学顕微鏡と電子顕微鏡で観察し、次の結果を得た。

光学顕微鏡では、腹腔内投与例で、カイニン酸2mgを投与すると3時間目からCA3野や

CA4野の錐体細胞に明調変性と暗調変性がみられるようになった。その後はカイニン酸の投与が増加するにしたがい、暗調変性がよくみられるようになった。また、脳室内投与例では、0.3 μ g/0.3 μ l投与後1時間目から明調細胞がみとめられ、その後、時間がたつにしたがって暗調変性像が多く出現してきた。

一方、電子顕微鏡で観察すると、腹腔内に4mg投与すると30分で明調変性と暗調変性がみとめられ、その像は時間の経過と共に暗調変性像が多くみられるようになった。また、投与量0.3 μ g/0.3 μ lの脳室内投与例では、既に投与後15分目に明調変性と暗調変性がみられた。その後は腹腔内投与例と同じような変化が観察された。

CA1野やCA2野の錐体細胞や歯状回の顆粒細胞においては、全く変性はみとめられなかった。

また、Timm法によって苔状線維終末の亜鉛の分布を観察したが、全てに変性像はなかった。

以上の所見より、カイニン酸の投与量や生存期間と変性との関係が論じられ、また、カイニン酸の毒作用の機構について討議された。

謝 辞

稿を終わるに当たり、御懇切なる御指導御校閲を賜りました大塚長康教授に深甚なる謝意を表します。又、直接研究の御指導を戴いた荻田成人先生、御援助を戴いた佐々木順造助教授、水川公直講師、渡辺久美子女史及び第一解剖学教室の各位に深謝致します。なお本論文の要旨は、昭和59年11月24日、神経科学学会集會にて発表しました。

文 献

1. Coyle JT, Bisiere K and Schwarcz R: Neurotoxicity of excitatory amino acids in the neural retina, in Kainic Acid as a Tool in Neurobiology, McGeer, Olney and McGeer eds, Raven Press, New York (1978) pp 177-188.
2. Coyle JT, McGeer EG, McGeer PL and Schwarcz R: Neostriatal injections: A model for Huntington's chorea; in Kainic Acid as a Tool in Neurobiology, McGeer, Olney and McGeer eds, Raven Press, New York (1978) pp 139-159.
3. Coyle JT and Schwarcz R: Lesion of striatal neurons with kainic acid provides a model for

- Huntington's chorea, *Nature* (1976) **263**, 244-246.
4. Herndon R and Coyle JT: Glutaminergic innervation Kainic acid and selective vulnerability the cerebellum; in *Kainic Acid as a Tool in Neurobiology*, McGeer, Olney and McGeer eds, Raven Press, New York (1978) pp 189-200.
 5. Lorente de Nó R: Studies on the structure of the cerebral cortex, II, Continuation of the study of the ammonic system. *J Psychol Neurol* (1934) **46**, 113-177.
 6. McGeer PL, McGeer EG and Hattori T: Kainic acid as a tool in neurobiology; in *Kainic Acid as a Tool in Neurobiology*, McGeer, Olney and McGeer eds, Raven Press, New York (1978) pp123-138.
 7. Mizukawa K, Shimizu K, Matuura T, Ibata Y and Sano Y: The influence of kainic acid on the tuberoinfundibular dopaminergic tract of the rat: Fluorescence histochemistry and electron microscopic in investigation. *Acta Histochem Cytochem* (1976) **9**, 315-322.
 8. Nadler JV, Perry BW and Cotman CW: Intraventricular kainic acid preferentially destroys hippocampal pyramidal cells. *Nature* (1978 a) **271**, 676-677.
 9. Nadler JV, Perry BW and Cotman CW: Preferential vulnerability of hippocampus to intraventricular kainic acid; in *Kainic Acid as a Tool in Neurobiology*, McGeer, Olney and McGeer eds, Raven Press, New York (1978 b) pp 219-238.
 10. Nicklas WJ, Duvoisin RC and Berl S: Amino acids in rat neostriatum: Alteration by kainic acid lesion, *Brain Res* (1979) **167**, 107-117.
 11. Obata H, Kubo S, Kinoshita H, Murabe Y and Ibata Y: Influence of kainic acid injected into the lateral ventricle of the rat upon the hippocampal formation. *J Electron Microsc* (1979) **28**, 234-235.
 12. Obata H, Kubo S, Kinoshita H, Murabe Y and Ibata Y: The effect of small doses of kainic acid on the area CA3 of the rat hippocampal formation. An electron microscopic study. *Arch Histol Jpn* (1981) **44**, 135-149.
 13. Olney JW and De Gubareff T: Extreme sensitivity of olfactory cortical neurons to kainic acid toxicity; in *Kainic Acid as a Tool in Neurobiology*, McGeer, Olney and McGeer eds. Raven Press, New York (1978) pp 201-217.
 14. Olney JW, Fuller T and De Gubareff T: Acute dendrotoxic changes in the hippocampus of kainic treated rats, *Brain Res* (1979) **176**, 91-100.
 15. Olney JW, Rhee V and Ho OL: Kainic acid a powerful neurotoxic analogue of glutamate. *Brain Res* (1974) **77**, 507-512.
 16. Schwarcz R and Coyle JT: Kainic acid, Neurotoxic effects after intraocular injection. *Invest Ophthalmol Visual Sci* (1977) **16**, 141-148.

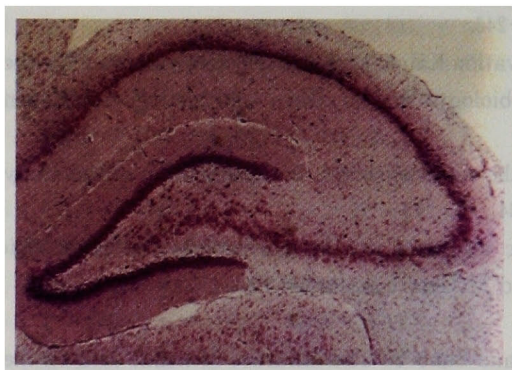


写真1 海馬領域の正常像。クレシルエヒト・バイオレット染色。×28.



写真2 腹腔内投与。カイニン酸 4 mg 投与後1時間。CA3野とCA4野の錐体細胞に変性像が現われる。クレシルエヒト・バイオレット染色。×28.



写真3 腹腔内投与。カイニン酸 4 mg 投与後3時間。CA3野とCA4野の錐体細胞の変性像。クレシルエヒト・バイオレット染色。×22.



写真4 腹腔内投与。カイニン酸 4 mg 投与後5時間。CA3野の錐体細胞の変性像。クレシルエヒト染色。×33.

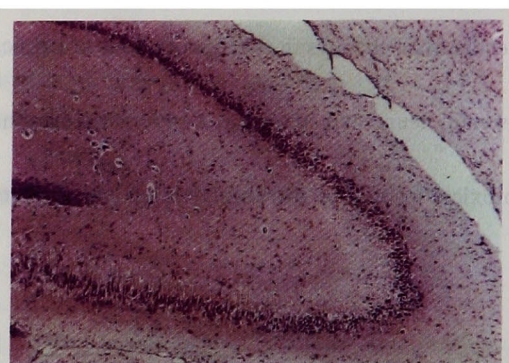


写真5 腹腔内投与。カイニン酸 4 mg 投与後12時間。CA3野の錐体細胞の変性像。クレシルエヒト・バイオレット染色。×33.

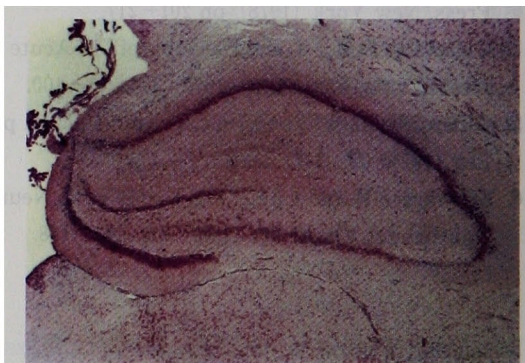


写真6 腹腔内投与。カイニン酸 4 mg 投与後24時間。CA3野とCA4野の錐体細胞。CA3野の一部で崩壊現象が観察できる。クレシルエヒト・バイオレット染色。×17.

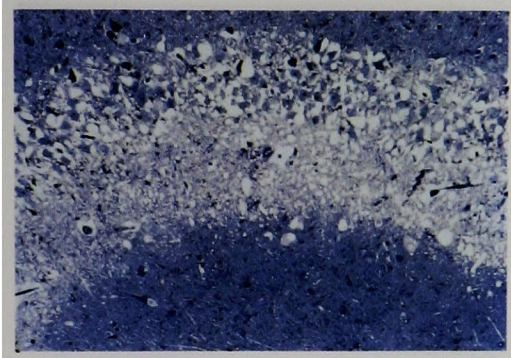


写真7 腹腔内投与、カイニン酸 6 mg 投与後 1 日。CA 3 野の錐体細胞は空胞変性し、崩壊のあとが空隙となる。その部位に少数の暗調細胞が観察できる。トルイジン・ブルー染色。×50。

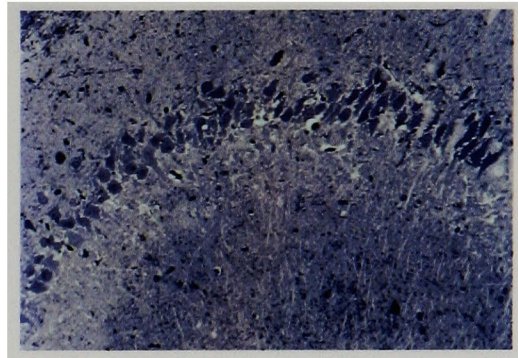


写真8 腹腔内投与、カイニン酸 6 mg 投与後 6 日。CA 3 野の錐体細胞の暗調変性と明調変性、一部で空隙がみられる。トルイジン・ブルー染色。×72。

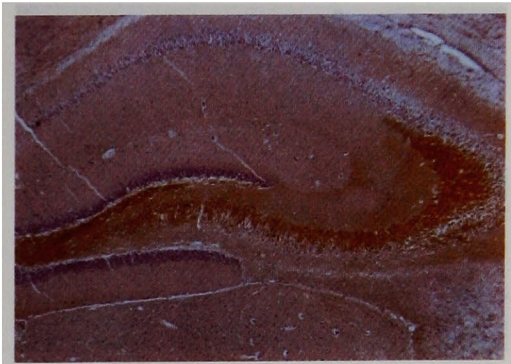


写真9 腹腔内投与、カイニン酸 4 mg 投与後 3 時間。Timm 反応。反応は正常例とかわらなかった。×25。

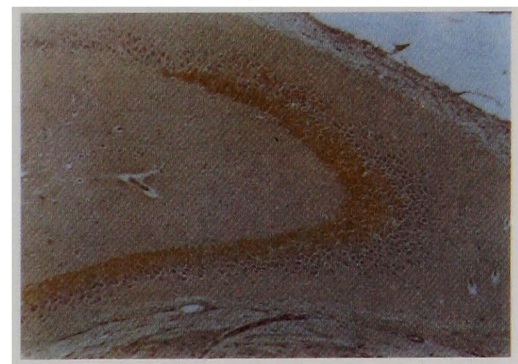


写真10 腹腔内投与、カイニン酸 4 mg 投与後 1 日。Timm 反応。反応は正常例とかわらなかった。×33。

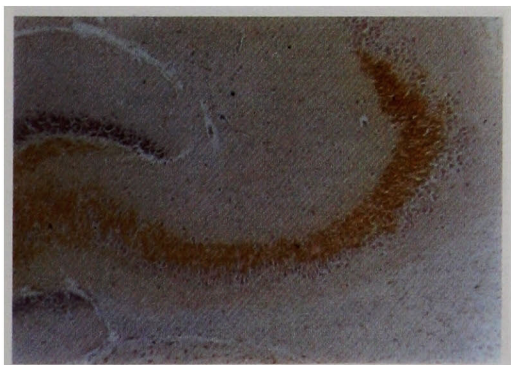


写真11 腹腔内投与、カイニン酸 4 mg 投与後 3 日。Timm 反応。反応は正常例とかわらなかった。×33。

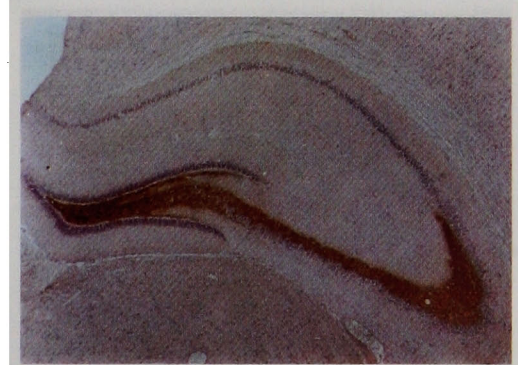


写真12 腹腔内投与、カイニン酸 4 mg 投与後 7 日。Timm 反応。反応は正常例とかわらなかった。×17。

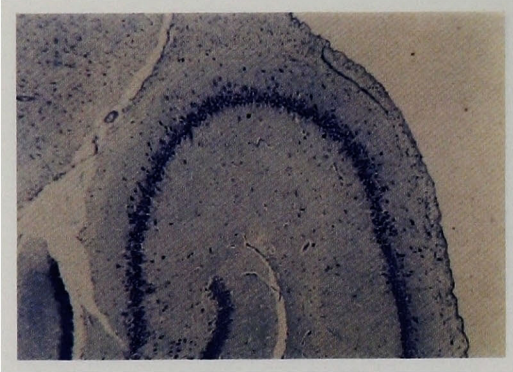


写真13 海馬領域の正常像。トルイジン・ブルー染色。×33.

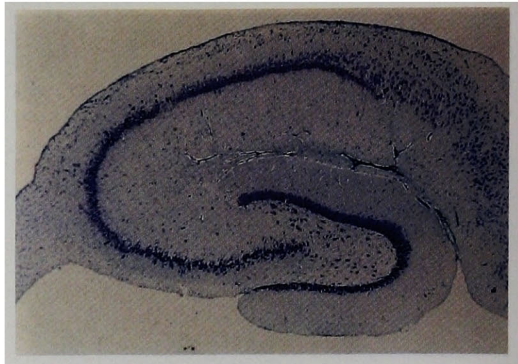


写真14 脳室内投与。カイニン酸 $0.3 \mu\text{g}/0.3 \mu\text{l}$ 投与後30分。CA3野とCA4野の錐体細胞に変性像があらわれる。トルイジン・ブルー染色。×22.

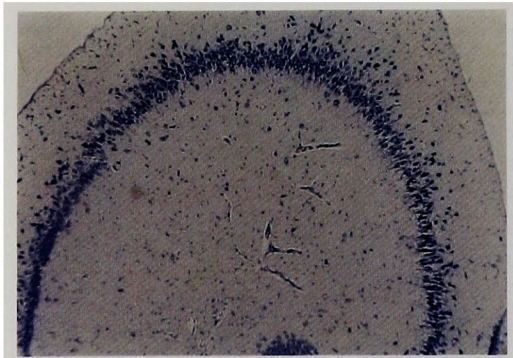


写真15 脳室内投与。カイニン酸 $0.3 \mu\text{g}/0.3 \mu\text{l}$ 投与後1時間。CA3野の錐体細胞の変性像。トルイジン・ブルー染色。×44.



写真16 脳室内投与。カイニン酸 $0.3 \mu\text{g}/0.3 \mu\text{l}$ 投与後3時間。CA3野の錐体細胞の変性像。トルイジン・ブルー染色。×32.

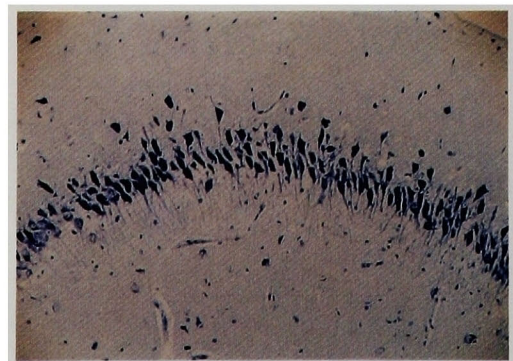


写真17 脳室内投与。カイニン酸 $0.3 \mu\text{g}/0.3 \mu\text{l}$ 投与後6時間。CA3野の錐体細胞の変性像。トルイジン・ブルー染色。×58.



写真18 脳室内投与。カイニン酸 $0.3 \mu\text{g}/0.3 \mu\text{l}$ 投与後24時間。CA3野の錐体細胞の変性像。細胞層の一部に崩壊がみられる。トルイジン・ブルー染色。×22.

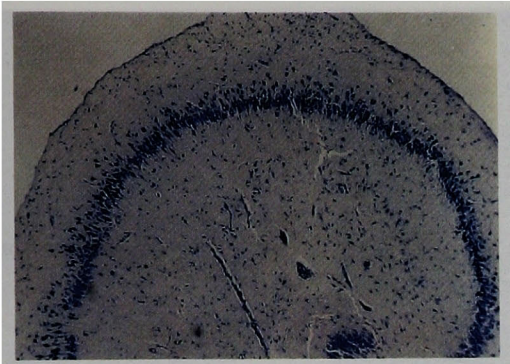


写真19 脳室内投与. カイニン酸 $0.3 \mu\text{g}/0.3 \mu\text{l}$ 投与後 3 日. CA 3 野の錐体細胞の変性像. トルイジン・ブルー染色. $\times 39$.



写真20 脳室内投与. カイニン酸 $0.3 \mu\text{g}/0.3 \mu\text{l}$ 投与後 3 日. CA 3 野の変性像. トルイジン・ブルー染色. $\times 66$.

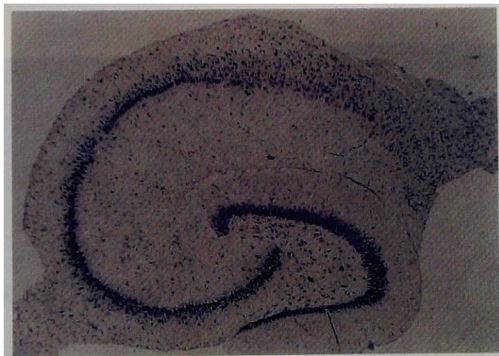


写真21 脳室内投与. カイニン酸 $0.3 \mu\text{g}/0.3 \mu\text{l}$ 投与後 5 日. CA 3 野と CA 4 野の錐体細胞の変性像. トルイジン・ブルー染色. $\times 19$.

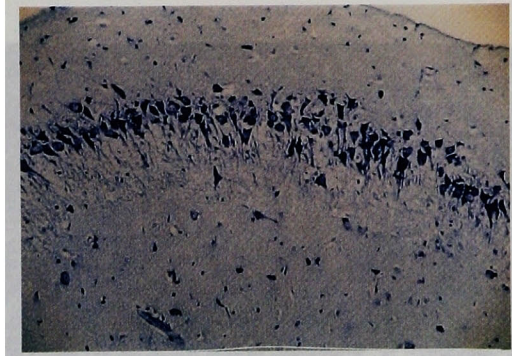


写真22 脳室内投与. カイニン酸 $0.3 \mu\text{g}/0.3 \mu\text{l}$ 投与後 5 日. CA 3 野の錐体細胞の変性像. トルイジン・ブルー染色. $\times 55$.

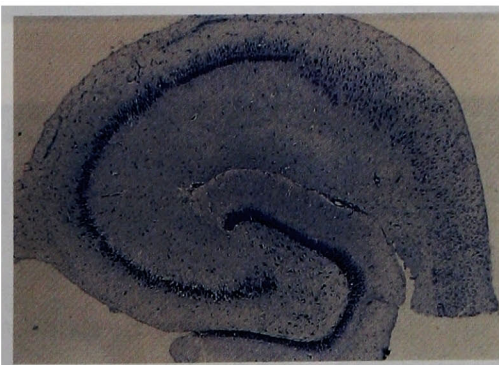


写真23 脳室内投与. カイニン酸 $0.3 \mu\text{g}/0.3 \mu\text{l}$ 投与後 7 日. CA 3 野と CA 4 野に錐体細胞の変性像. トルイジン・ブルー染色. $\times 22$.



写真24 脳室内投与. カイニン酸 $0.3 \mu\text{g}/0.3 \mu\text{l}$ 投与後 7 日. CA 3 野の錐体細胞の変性像. トルイジン・ブルー染色. $\times 66$.

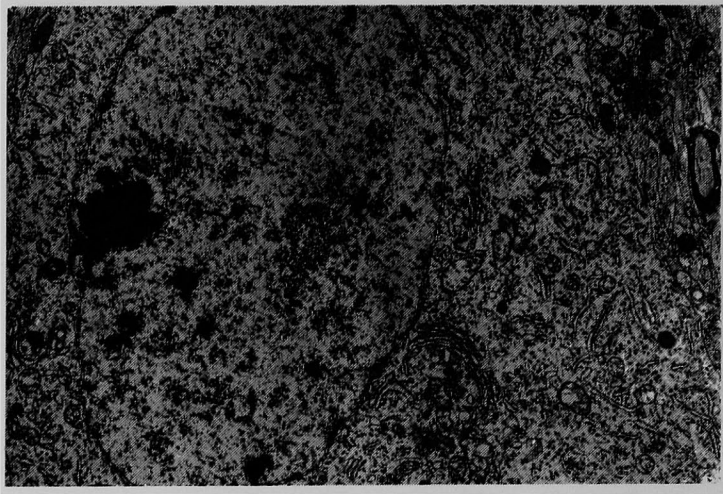


写真25
海馬 CA 3 野の錐体細胞の正常像。×6,150.

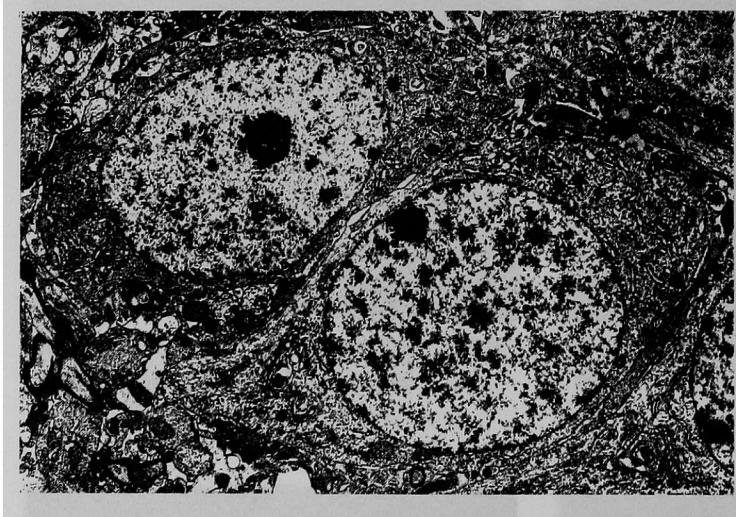


写真26
海馬歯状回の顆粒細胞の正常像。
×3700.

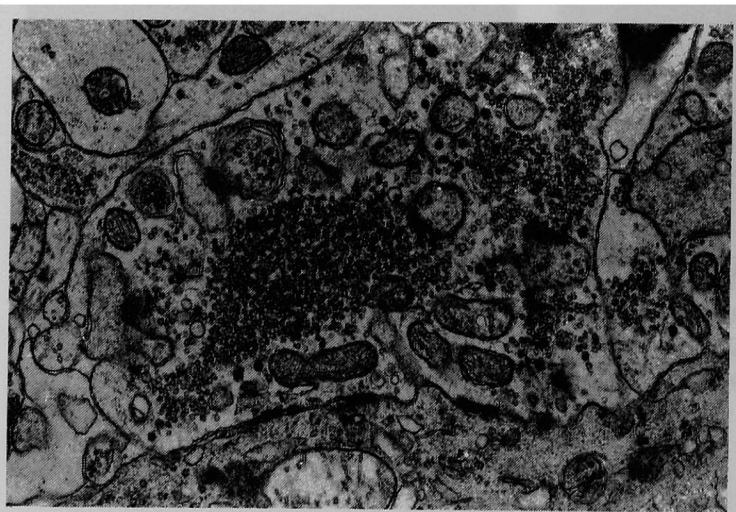


写真27
海馬 CA 3 野の苔状線維終末の
正常像。×16,000.

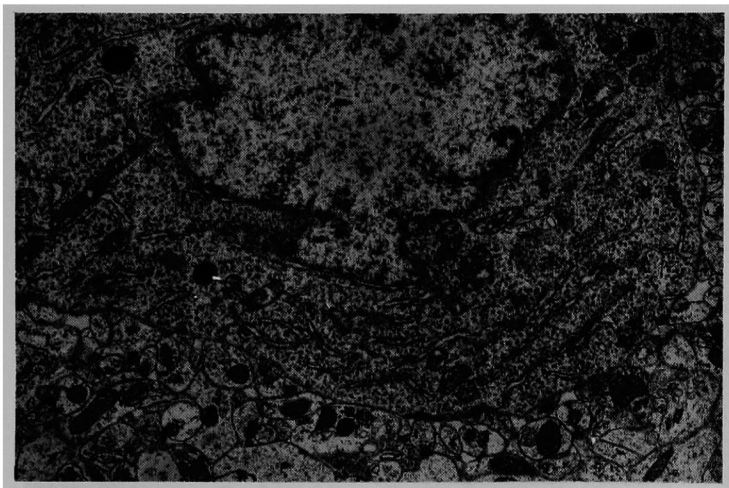


写真28
腹腔内投与. カイニン酸 4 mg
投与後30分. CA3野の錐体細胞. $\times 7,400$.

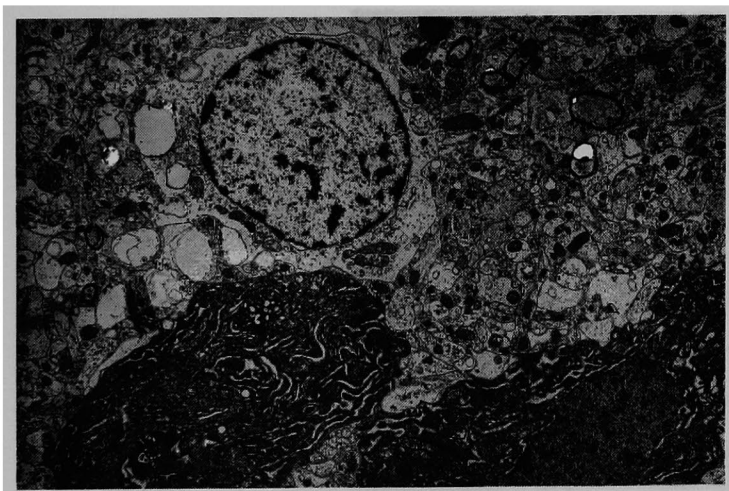


写真29
腹腔内投与. カイニン酸 4 mg
投与後30分. CA3野の暗調細胞と細胞内に空胞をもつ明調細胞. $\times 3,900$.

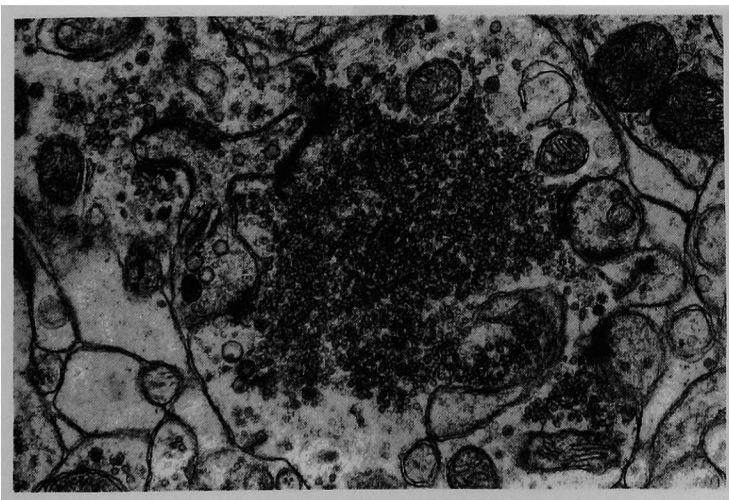


写真30
腹腔内投与. カイニン酸 4 mg
投与後30分. CA3野の苔状線維終末. $\times 21,300$.

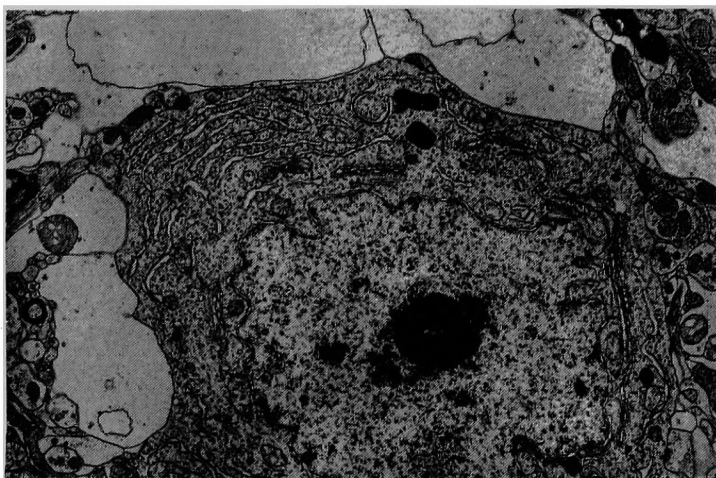


写真31
腹腔内投与. カイニン酸 4 mg
投与後 1 時間. CA 3 野の暗調
化しつつある錐体細胞.
×5,900.

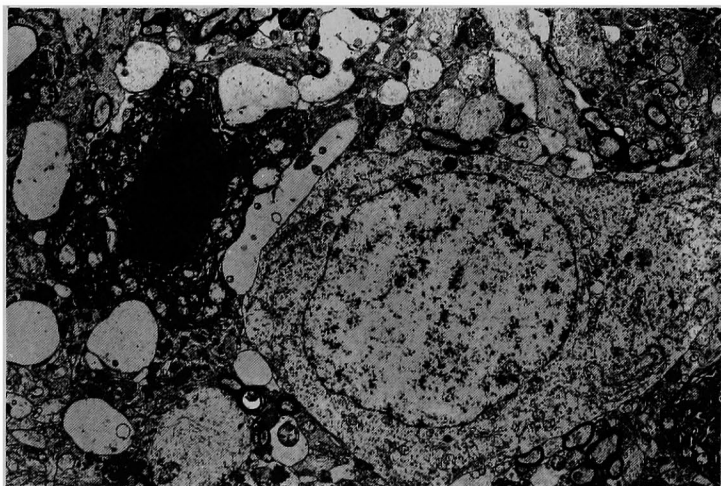


写真32
腹腔内投与. カイニン酸 4 mg
投与後 1 時間. CA 3 野の暗調
細胞と正常に近い錐体細胞.
×2,500.

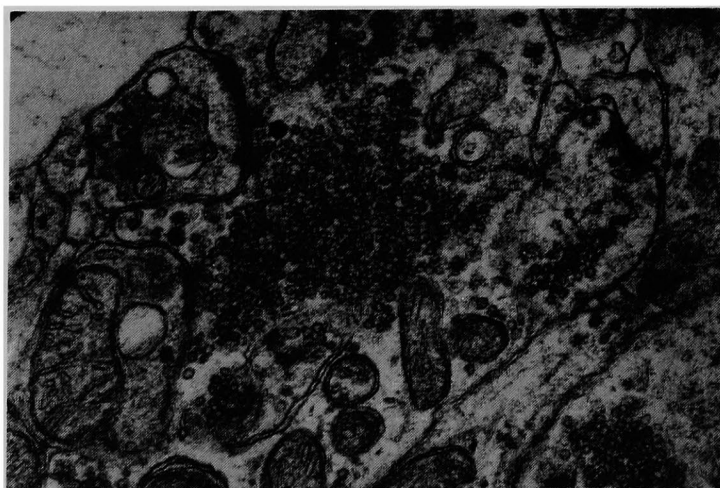


写真33
腹腔内投与. カイニン酸 4 mg
投与後 1 時間. CA 3 野の苔状
線維終末のシナプス小胞と小顆
粒を含む cored vesicles.
×29,500.

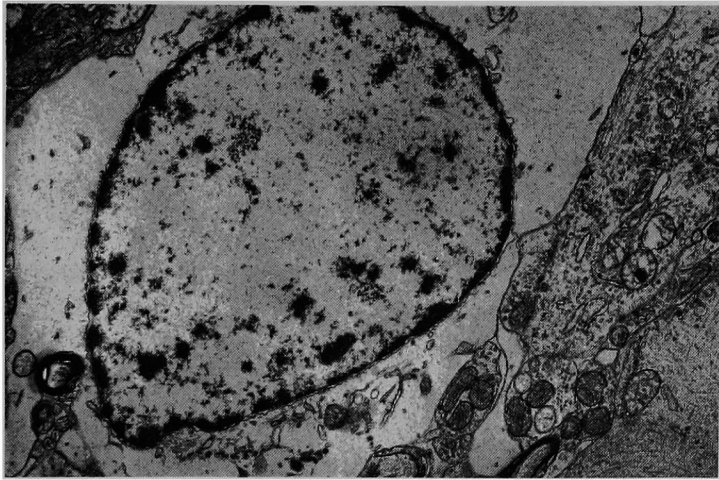


写真34
腹腔内投与. カイニン酸 4 mg
投与後 2 時間. CA 3 野の空胞
変性した錐体細胞. $\times 8,600$.

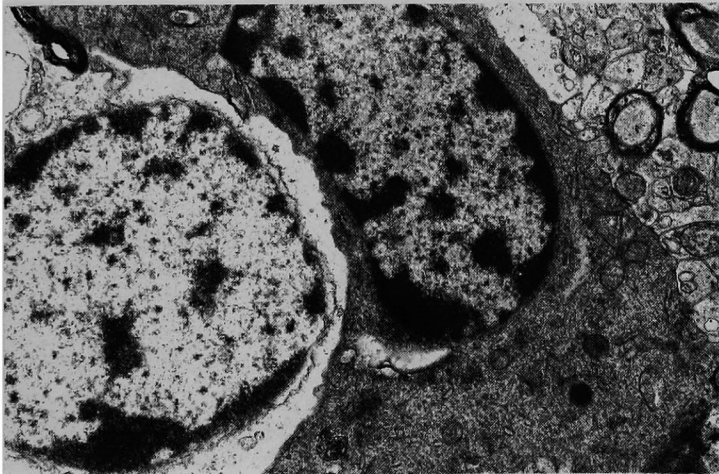


写真35
腹腔内投与. カイニン酸 4 mg
投与後 2 時間. CA 3 野の暗調
変性と空胞変性の錐体細胞.
 $\times 10,200$.

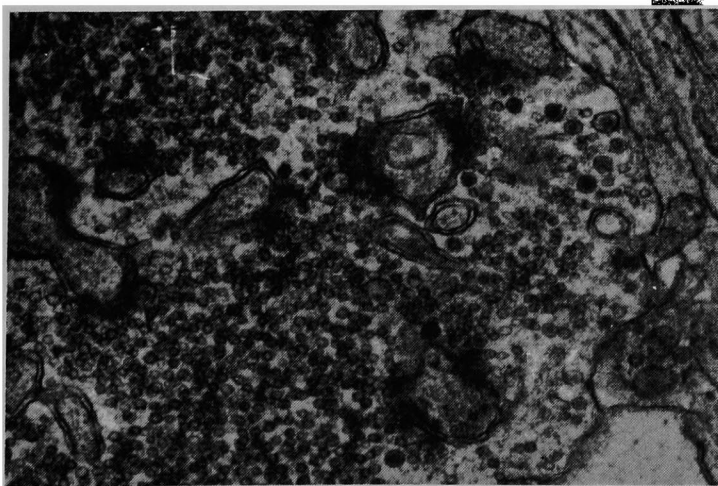


写真36
腹腔内投与. カイニン酸 4 mg
投与後 2 時間. CA 3 野の苔状
線維終末のシナプス小胞と中に
小顆粒をもつ cored vesicles が
みられる. $\times 36,900$.

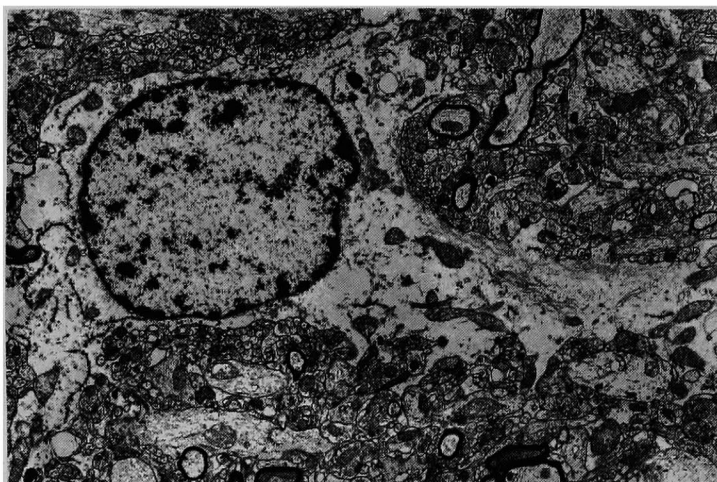


写真37

脳室内投与. カイニン酸 $0.3 \mu\text{g}/0.3 \mu\text{l}$ 投与後30分. CA 3野の錐体細胞にはすでに空胞化する変性がみられる. $\times 5,300$.

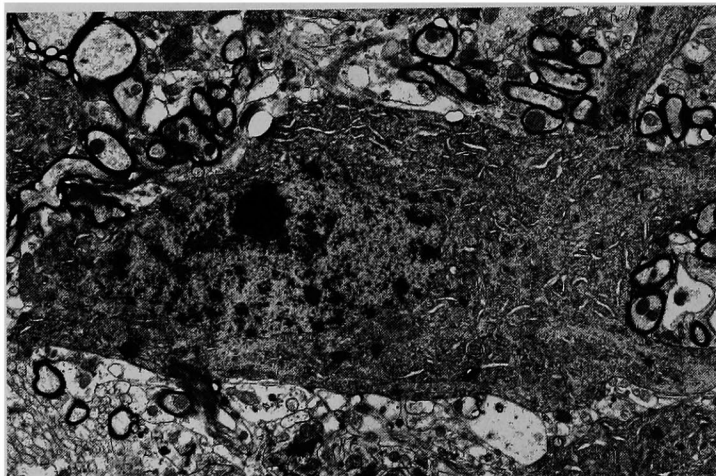


写真38

脳室内投与. カイニン酸 $0.3 \mu\text{g}/0.3 \mu\text{l}$ 投与後30分. CA 3野の暗調細胞に移行しつつある錐体細胞. $\times 3,300$.

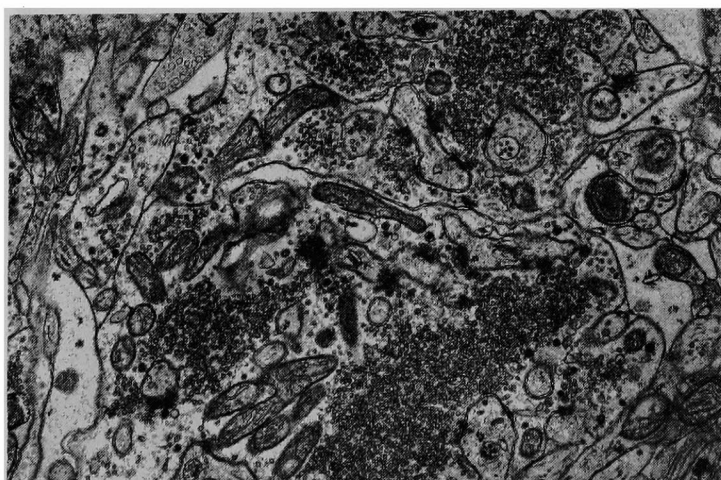


写真39

脳室内投与. カイニン酸 $0.3 \mu\text{g}/0.3 \mu\text{l}$ 投与後30分. CA 3野の苔状線維終末にシナプス胞と小顆粒をもつ cored vesicles がみられる. $\times 14,800$.

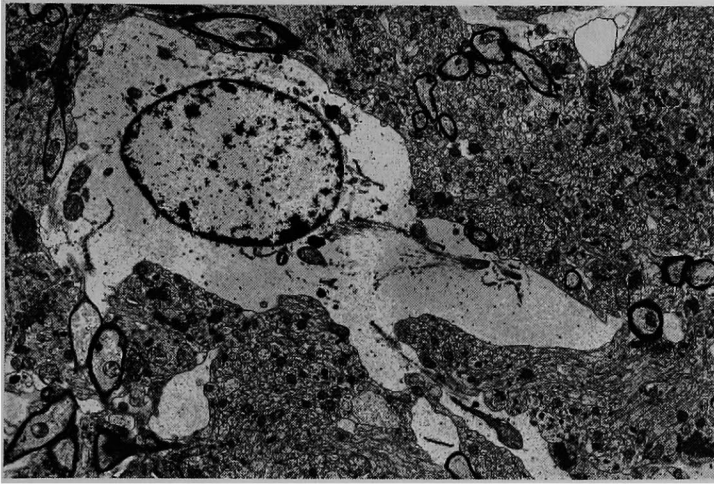


写真40
脳室内投与. カイニン酸 $0.3 \mu\text{g}/0.3 \mu\text{l}$ 投与後1時間. CA3野の空胞変性した錐体細胞.
 $\times 4,100$.

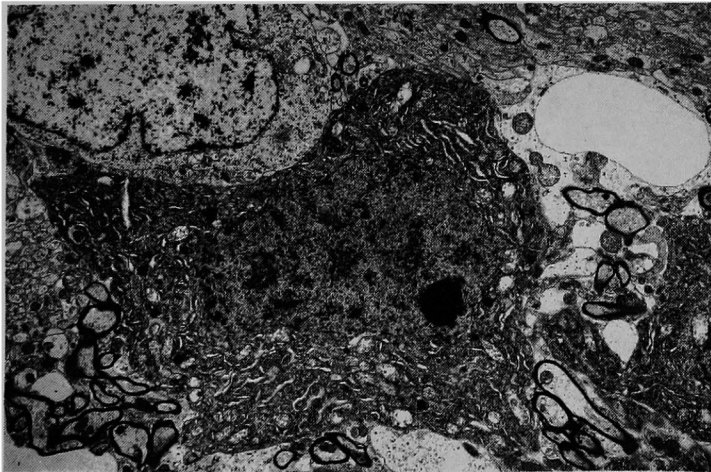


写真41
脳室内投与. カイニン酸 $0.3 \mu\text{g}/0.3 \mu\text{l}$ 投与後1時間. CA3野の暗変性した錐体細胞. 細胞周辺に空胞がみられる.
 $\times 3,000$.

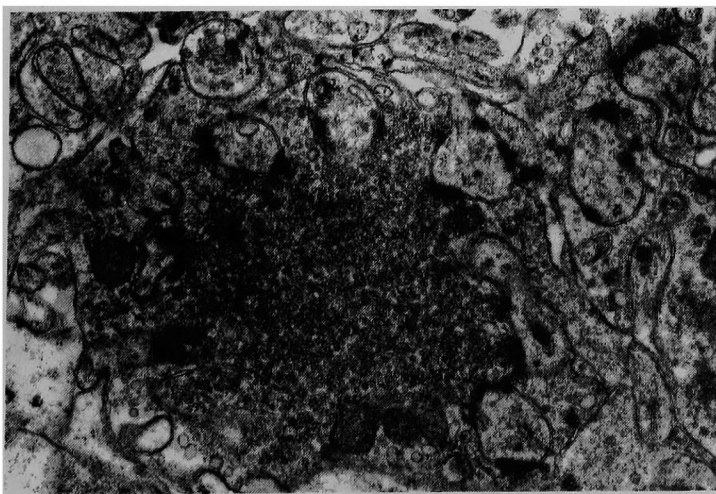


写真42
脳室内投与. カイニン酸 $0.3 \mu\text{g}/0.3 \mu\text{l}$ 投与後1時間. CA3野の苔状線維終末. 終末内にシナプス小胞と小顆粒を含む core vesicles が観察される.
 $\times 16,400$.

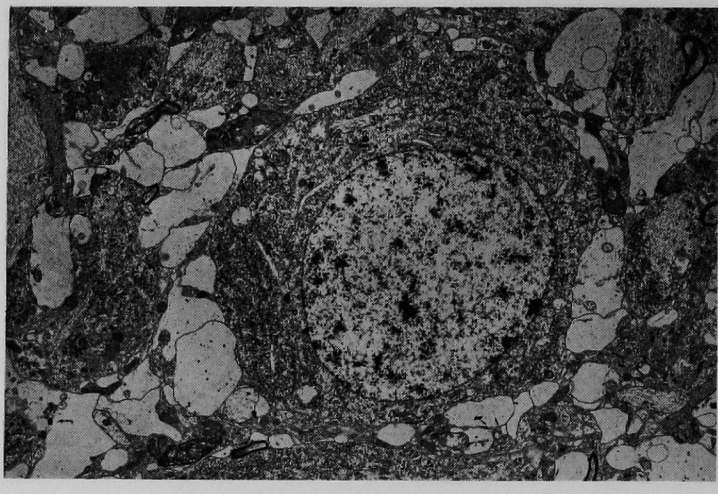


写真43

脳室内投与. カイニン酸 $0.3\mu\text{g}/0.3\mu\text{l}$ 投与後3日. CA3野の萎縮した錐体細胞. 細胞周辺に空胞がみられる. $\times 2,500$.

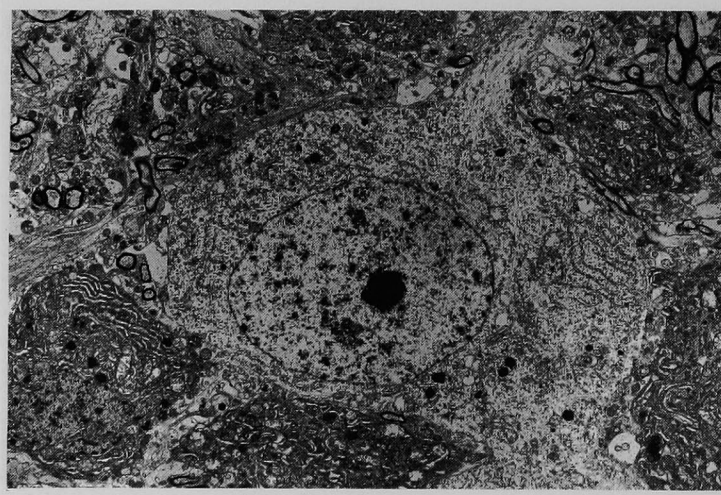


写真44

脳室内投与. カイニン酸 $0.3\mu\text{g}/0.3\mu\text{l}$ 投与後3日. CA3野の錐体細胞と周辺の暗調細胞. $\times 2,300$.

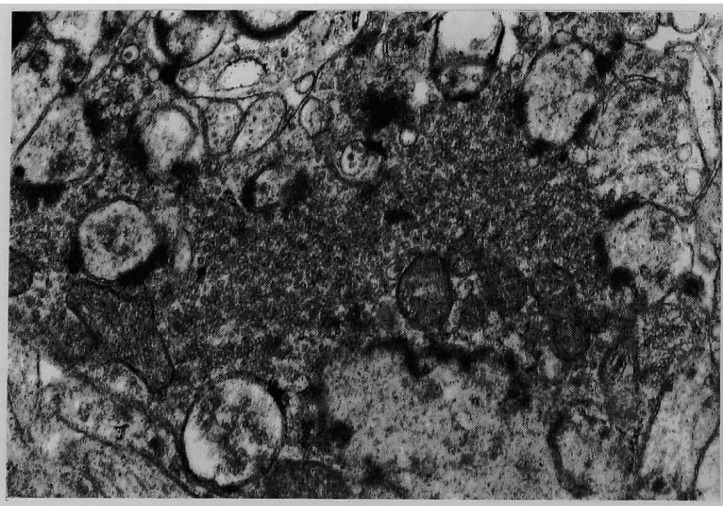


写真45

脳室内投与. カイニン酸 $0.3\mu\text{g}/0.3\mu\text{l}$ 投与後3日. CA3野の苔状線維終末にシナプス小胞と小顆粒を含む cored vesicles がみられる. $\times 17,200$.

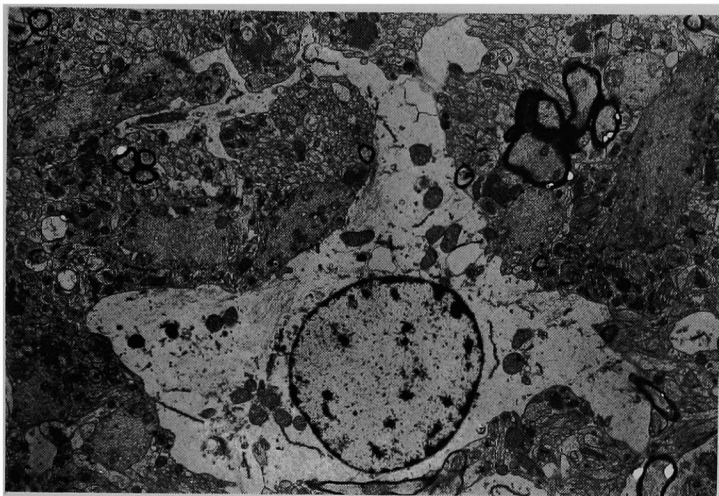


写真46
脳室内投与. カイニン酸 $0.3\mu\text{g}/0.3\mu\text{l}$ 投与後7日. CA3野の空胞変性した錐体細胞.
 $\times 3,300$.

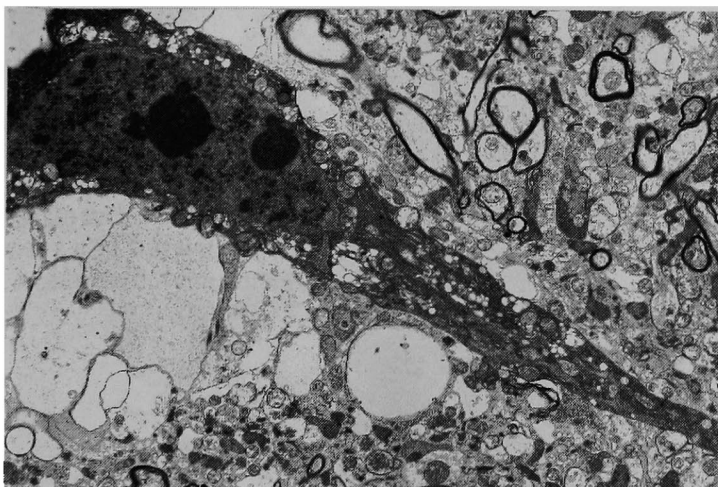


写真47
脳室内投与. カイニン酸 $0.3\mu\text{g}/0.3\mu\text{l}$ 投与後7日. CA3野の暗調変性の錐体細胞. その周辺に多数の空胞がみられる.
 $\times 4,100$.

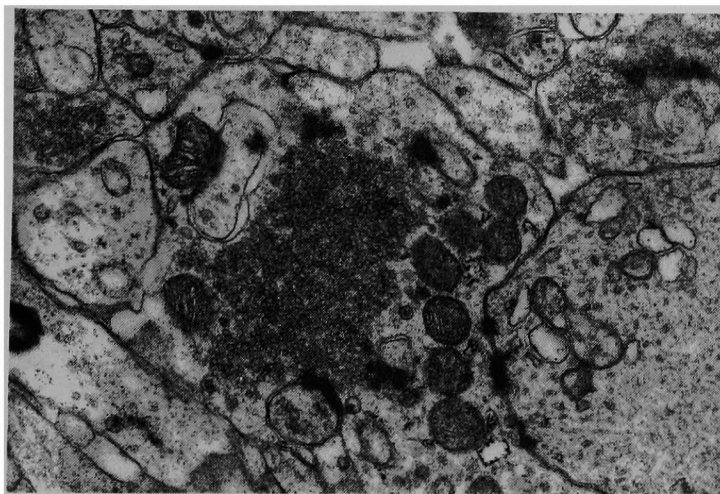


写真48
脳室内投与. カイニン酸 $0.3\mu\text{g}/0.3\mu\text{l}$ 投与後7日. CA3野の苔状線維終末, 終末内のシナプス小胞と小顆粒をもつ cored vesicles. $\times 21,500$.

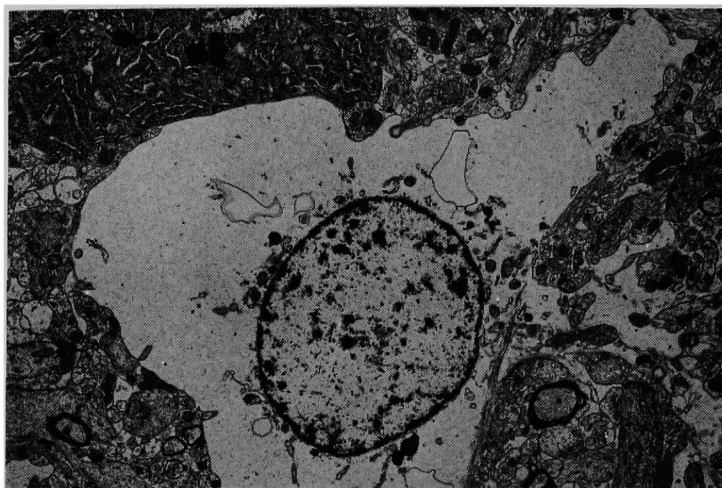


写真49
脳室内投与. カイニン酸 $0.3 \mu\text{g}/0.3 \mu\text{l}$ 投与後20日. CA3野の
空胞変性した錐体細胞.
 $\times 4,100$.

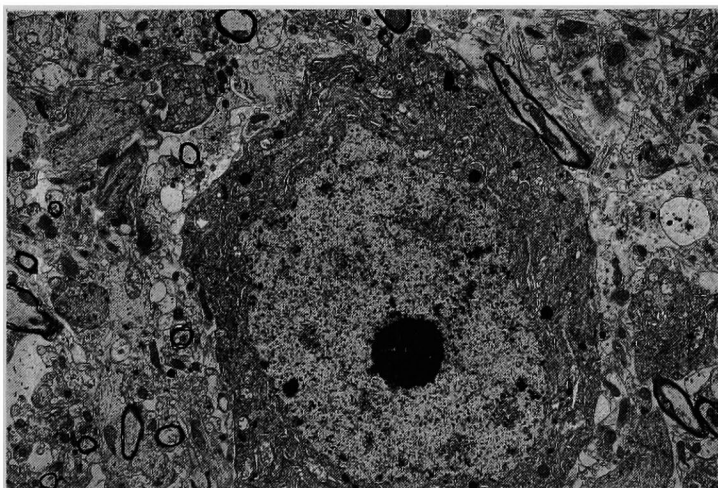


写真50
脳室内投与. カイニン酸 $0.3 \mu\text{g}/0.3 \mu\text{l}$ 投与後20日. CA3野の
暗調化しつつある錐体細胞.
 $\times 4,100$.



写真51
脳室内投与. カイニン酸 $0.3 \mu\text{g}/0.3 \mu\text{l}$ 投与後20日. CA3野の
苔状線維終末. 終末内のシナプ
ス小胞と小顆粒をもつ cored
vesicles. $\times 36,000$.

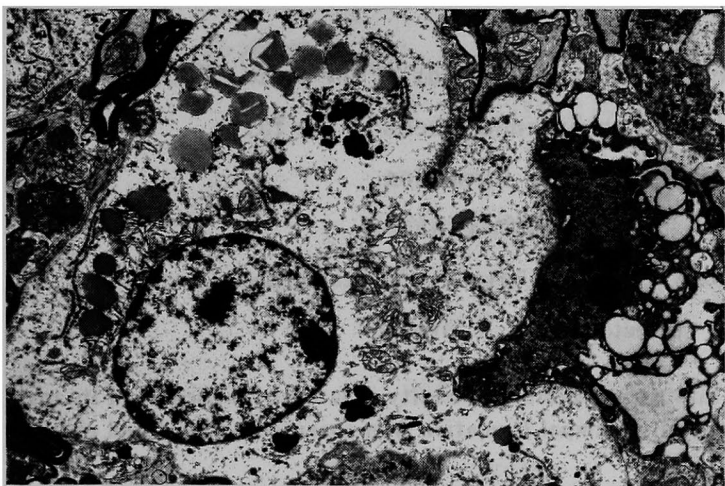


写真52
腹腔内投与、カイニン酸 5 mg
投与後 2 日。変性細胞を飽食中
の大食細胞。細胞質に脂肪滴や
ライソゾームが観察される。
×4,000.

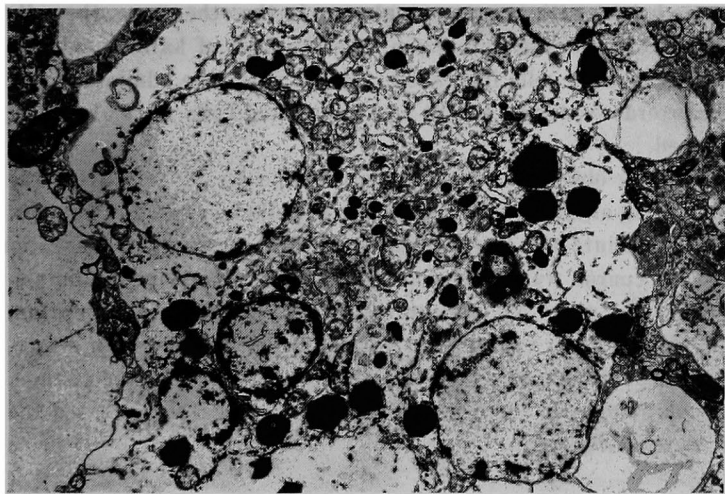


写真53
腹腔内投与、カイニン酸 4 mg
投与後 2 日。変性細胞の処理に
あたる神経膠細胞。細胞質に数
個の核の取り込みと多くのライ
ソゾームが観察される。
×4,100.

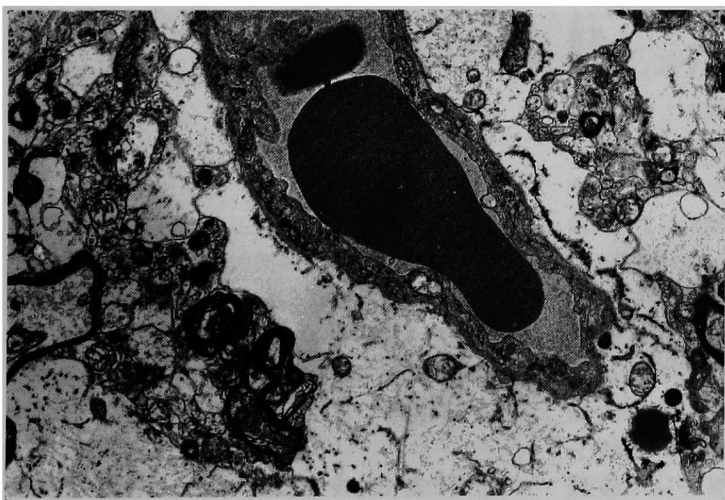


写真54
腹腔内投与、カイニン酸 5 mg
投与後 2 日。毛細血管周辺に組
織変性がみられる。×6,400.

**Light and electron microscopic study of the toxic effect
of kainic acid on pyramidal cells in the rat
hippocampal formation.**

Tadashi YAMASAKI

Department of Anatomy, Okayama University Medical School, Okayama

(Director : Prof. N. Otsuka)

Kainic acid was injected into the rat peritoneal cavity or lateral ventricle, and its toxic effect on pyramidal cells in the hippocampal formation was observed by light and electron microscopy.

Pyramidal cells in areas CA3 and CA4 showed two types of degeneration 3 hr after the intraperitoneal administration of 2 mg of kainic acid. One type was vacuolar degeneration, in which the cells became bright with scanty cytoplasm. In the other type, the cells became dark with pyknosis and electron dense cytoplasm. As the dose of kainic acid was increased, the number of dark degenerated cells increased. One hr after the administration of 0.3 μ g of kainic acid into the lateral ventricle, bright and vacuolated cells were observed, and later, dark cells also appeared.

Both types of degeneration were observed electron microscopically 30 min after the intraperitoneal administration of 4 mg of kainic acid. Later, dark cells increased in number. Fifteen min after the administration into the lateral ventricle, both types of degeneration were observed, and the subsequent course was similar as with the intraperitoneal administration. Pyramidal cells in areas CA1 and CA2, and granular cells in the gyrus dentatus, did not show any degeneration. Mossy fiber endings did not show any degeneration either, and the distribution of zinc in these fibers observed by Timm's method did not change. From these results, the relationship between the dose and the effect of kainic acid and the mechanism of its toxic action were discussed.