

東医大誌 48(1) : 81~93, 1990

先天性および後天性水頭症ラットの脳実質における 脂酸, モノアミン代謝障害について

—小児先天性水頭症例の髄液生化学的検査所見との比較から—

東京医科大学脳神経外科教室 (指導: 三輪哲郎教授)

阪 田 実 利

Metabolic Disturbance of Fatty Acid and Monoamine in the Brain of Congenital and Acquired Hydrocephalic Rats

—Comparison with the biochemical analysis in cerebrospinal fluid
of pediatric cases in congenital hydrocephalus—

Minori SAKATA

Department of Neurosurgery, Tokyo Medical College
(Director : Prof. Tetsuro MIWA)

This study was projected to analyse the effects of the ventricular dilatation and the increased intracranial pressure, in a case of hydrocephalus, by carrying out a biochemical analysis of the brain tissue. Fatty acid and monoamine of the brain tissue in the experimental hydrocephalic rats were analysed and the results were compared with the morphological findings. Biochemical analysis of CSF (cerebrospinal fluid) in pediatric cases of congenital hydrocephalus was also undertaken to compare with the above studies.

Congenital hydrocephalic rats (CHR) and acquired hydrocephalic rats (AHR) were prepared by kaolin injection into cisterna magna. Fatty acid composition in the supratentorial brain tissue was quantified by gas chromatography and the monoamine in the same tissue was determined by high performance liquid chromatography. Histochemical analysis of monoamine fluorescence was carried out using the Falck-Hillarp method. The results indicated a progressive ventricular dilatation in CHR along with a marked porosity of the stroma around the lateral ventricle. A time-related decline in the fatty acid and monoamine content in the brain tissue was also observed. In AHR, a tendency of mild ventricular dilatation was found along with a mild porosity of the pericallosal white matter. Although fatty acid in the brain tissue declined only slightly, the monoamine level declined remarkably as in the case of CHR. The histochemical analysis of monoamine fluorescence showed no decrease in the cells in the infratentorial tissue in CHR or AHR. On the contrary, the fluorescence of dopamine and noradrenaline in the supratentorial tissue in both CHR and AHR decreased slightly.

The decline in fatty acid and monoamine in the supratentorial brain tissue in CHR in this study

(1989年10月26日受付, 1989年11月14日受理)

Key words: 実験的水頭症ラット (experimental hydrocephalic rats), 脂酸 (fatty acid), モノアミン (monoamine), 代謝障害 (metabolic disturbance)

could be considered to reflect a destruction of the brain tissue and the structural disturbance in the myelin sheath due to progressive ventricular dilatation. It was further presumed that, in AHR, a small decrease in fatty acid of the brain tissue was induced probably because the destruction of the brain tissue was small as compared with that in CHR. However, decrease in the monoamine level remained high probably because the metabolic disturbance was enhanced as a result of not only the destruction of the brain tissue but also chemical meningitis caused by kaolin injection. Judging from these results, the lowered levels of fatty acid and monoamine in the brain tissue of the experimental hydrocephalic rats were considered to reflect the destruction of the brain tissue and metabolic disturbance. In pediatric cases of congenital hydrocephalus, various metabolites were found increased in the biochemical analysis of CSF during the stages of progressive ventricular dilatation and increased intracerebral pressure. This change, among others, seemed to be attributable to the partial involvement of the release of metabolites into CSF which was caused by the destruction of the brain tissue.

はじめに

小児先天性水頭症例における脳室拡大、頭蓋内圧亢進が脳組織に与える影響については髄液中の代謝産物を生化学的に測定することにより、病態を捉える試みがなされてきた。今回の研究では実験的水頭症ラットの脳実質を用いて、臨床的水頭症例における髄液中の検査結果を裏づけることを目的とした。

実験的水頭症モデルは1914年 Dandy らにより cotton 挿入による閉塞性水頭症が作製されて以来、多くの方法が試みられている。今回の実験では自然発生による先天性水頭症ラットおよびカオリン大槽内注入法による後天性水頭症ラットを作製し、経時的に断頭して、脳実質における脂酸含有量、モノアミンの定量と、モノアミン蛍光組織化学を施行し、病理学的変化とを比較した。また小児先天性水頭症例の髄液中の脂酸、モノアミン代謝産物を生化学的に検査し、実験的水頭症ラットの結果と対比し検討した。

方 法

I) 実験的水頭症ラット

A: 材料

1) 飼育及び繁殖ならびに検体作製

1983年4月久留米大学実験センター由来の Lewis 系先天性水頭症ラット (LEW-HYR) を東京医科大学動物実験センターに導入し、近親交配を重ねて、先天性水頭症ラット (congenital hydrocephalic rat 以下 CHR と略す) を作製した。頭蓋の

拡大する著明な水頭症の出現した同腹の固体は次世代の繁殖に残した。生後一週、三週にて経時的に断頭した。テント上脳組織 (約 300~500 mg) を採取して、脳実質における生化学的検査を施行した。なお脳室拡大率は前頭部前額断における脳室幅と脳実質幅の比で比較した (Bifrontal index 以下 BFI と略す)。

また正常五週齢の Lewis 系ラットにカオリン濁液 (カオリン 0.2 g/生食 1 cc) 0.1 cc を顕微鏡下に大槽内に注入して後天性水頭症ラット (acquired hydrocephalic rat 以下 AHR と略す) を作製した。カオリン注入後一週、三週で経時的に断頭し、テント上脳組織 (約 600~800 mg) を採取して、先天性水頭症ラットと同様に脳実質における生化学的検査を施行した。

B: 形態

走査電子顕微鏡

水頭症ラットの側脳室前角壁を含む約 2 mm の大きさに細切した試料を O_5O_4 で固定し、脱水、乾燥した。カーボン、白金パラジウム蒸着後、走査型電子顕微鏡 (機種: 日立 MSNM-4) により観察した。

C: 生化学的検査

1) 脳組織の量的脂酸構成

脳を摘出後テント上脳組織を採取し Folch 法にて脂質を抽出した。さらにこれを鹼化し、遊離した脂酸をメチル化してガスクロマトグラフィー (機種: 柳本 G 8 F) に供し、アラキジン酸内部標準法にて C 10~C 18: 2 までの各脂酸含有量を定量し

た²⁾。

2) 脳組織のモノアミン定量

テント上脳組織を採取してホモジェナイズし、ドーパミン、セロトニン、ノルアドレナリンを高速液体クロマトグラフィー（機種：Waters model 440）電気化学検出法（機種：Waters model 460）にて測定し、内部標準には dihydrobenzylamine を用いて定量した。

3) モノアミン蛍光組織化学

モノアミン蛍光組織化学は Falck-Hillarp 法³⁾ により処理し蛍光顕微鏡（機種：日本光学製顕微鏡 FL 型）にて撮影を行いテント下部（青班核、縫線核、黒質）、テント上部（正中隆起、尾上核部）の各部において検索した。

II) 小児先天性水頭症例

A: 対象

対象とした小児先天性水頭症例は生後四か月未満の20例で、これらの水頭症例のうち髄液圧が200 mm 水柱以上の高髄液圧群8例と、これ以下の正常髄液圧群12例に分けて髄液生化学的検査を施行した。正常対照例としては中枢神経系に障害を持たない一才未満の小児10例を用いた。また水頭症に対して脳室腹腔短絡術を施行した後に髄液採取し得た症例に対して、術前術後の髄液検査の比較を行った。

B: 生化学的検査

1) 髄液を約5 cc 採取し、脂酸を抽出して、ガスクロマトグラフィーで分析し、アラキジン酸内部標準法を用いて、C10よりC18:2までの各脂酸を定量した。

2) モノアミン代謝産物

髄液を約5 cc 採取し、高速液体クロマトグラフィー電気化学検出法を用いて、homovanillic acid (HVA)、5-hydroxyindole-acetic acid (5-HIAA)、3-methoxy-4-hydroxyphenylenglycol (MHPG) を測定した。

III) 剖検例

先天性水頭症にて死亡した患者の剖検時に脳室周囲白質を採取し得た症例で、脂酸含有量を測定した。正常対照群は中枢神経疾患以外にて死亡した新鮮剖検例の脳室周囲白質とした。

結 果

I) 実験的水頭症ラット

A) 形態学

1) 体重増加率

先天性水頭症ラット CHR は現在まで第七世代に至り、365匹出産し、このうちで頭囲拡大を認めた水頭症ラットは77匹出現し、平均21.1%であり、そのうち雄は59匹で76.6%を占めていた。これらは生後四～五日頃より肉眼的に頭囲拡大が認められた。生後一週目では体重や活動性は正常対照群とは変化は見られなかった。その後も頭囲拡大は進行性で徐々に活動性は低下し、食餌摂取率が減少して体重増加不良となり、衰弱は顕著となって平均三～四週で死亡した (Fig. 1)。

後天性水頭症ラット AHR は120匹の Lewis 系正常5週齢ラットにカオリン注入し、そのうち28匹は注入時に死亡し、残りの92匹に対して実験を施行した。カオリン注入後一週目では活動性がかなり低下し、食餌摂取率、体重減少が顕著であった。その後活動性は徐々に回復し、体重増加もみられたが、正常対照群と比較すると有意に減少していた。

2) 脳室拡大率 (BFI)

前頭部前額断にて側脳室系を観察すると正常ラットでは非常に小さいのに対して、CHR の BFI は生後一週で約59%、三週で約80%と著明な拡大傾向を示した。

一方 AHR では頭囲の拡大は肉眼的には認められなかったが、前額断ではカオリン注入後一週で BFI 約41%、三週で約43%と軽度の脳室拡大傾向を呈した。しかし固体差が著明であり、カオリン注入後一週と三週との間に有意差は認められなかった (Phot. 1, Fig. 2)。

3) 組織学的所見

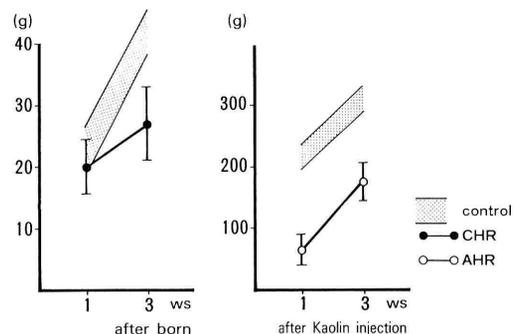
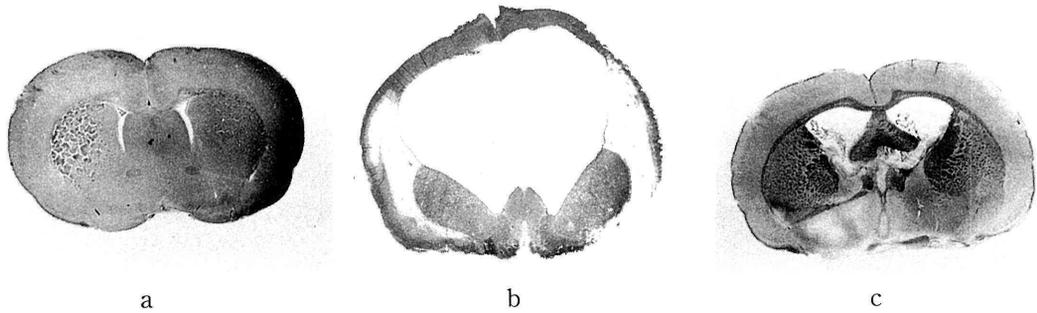


Fig. 1 Comparison of body weight between control rats and CHR (left), between control rats and AHR (right)



Phot. 1 Macroscopic findings of coronal brain cut
 a) normal rat (3-week old)
 b) CHR (3-week old)
 c) AHR (3 weeks after Kaolin injection)

正常ラットの生後一週目では脳室周囲に germinal layer が規則正しく配列されており、その後の髄鞘形成は Klübar-Barerra 染色にて確認され、生後三週では髄鞘はかなり形成されていた。

CHR の一週目では側脳室の著明な拡大とともに中隔が欠損し、脳室上衣の伸展、断裂が認められた。germinal layer の配列は疎となっており、側脳室前角壁の脳室上衣下層に基質の疎鬆化が認められ、皮質、白質の圧迫菲薄化は高度であった。三週になると脳室上衣は断裂している部分もみられ、基底核部の外側に基質の疎鬆化は著明となり、いわゆる intracerebral cavity を形成した。皮質、白質の圧迫菲薄化は進行性であり、Klübar-Barerra 染色では髄鞘形成が乏しく容積が著しく減少していた。

AHR ではカオリン注入後一週目での側脳室、中脳水道、第三脳室の拡大を認め、脳梁部の脳室上衣下層において基質の疎鬆化が強く、海綿状浮腫を呈しており、炎症反応によると思われるリンパ球の浸潤細胞が多数見られた。脳室上衣の伸展も強く、中隔が欠損しているものもみられた。三週では脳室は軽度拡大傾向がみられるも、CHR でみられた intracerebral cavity は認められなかった (Phot. 2)。

4) 側脳室前角壁の走査電顕所見

走査電顕において CHR では cilia, microvilli の脱落する部分が認められ、その部分に一致して macrophage と思われる遊走細胞が多数みられた。AHR ではカオリン注入後初期より脳室上衣細胞の cilia, microvilli の脱落は高度であった (Phot. 3)。

B) 生化学的検査結果

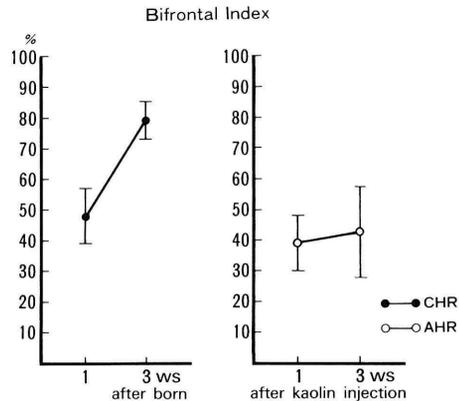
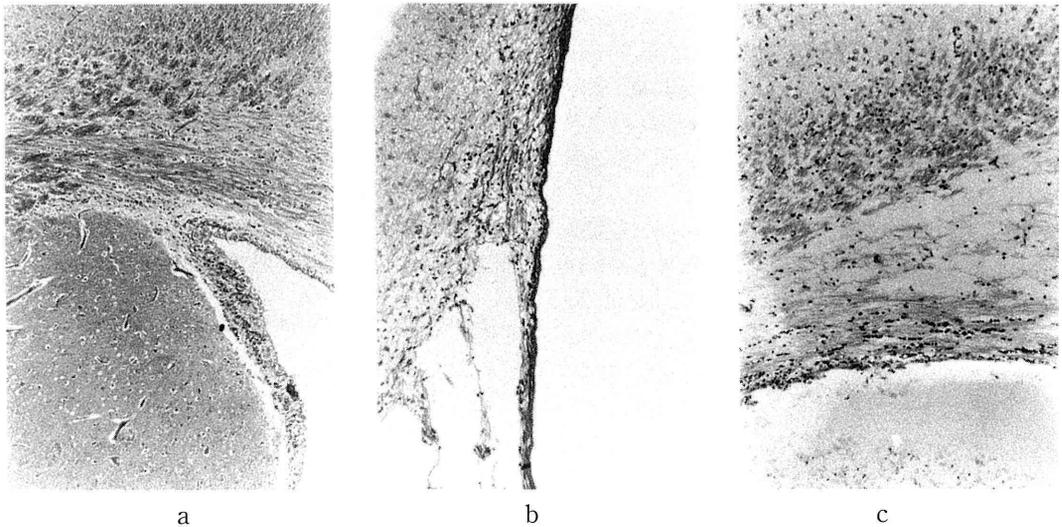


Fig. 2 Comparison of ventricular dilatation between CHR and AHR

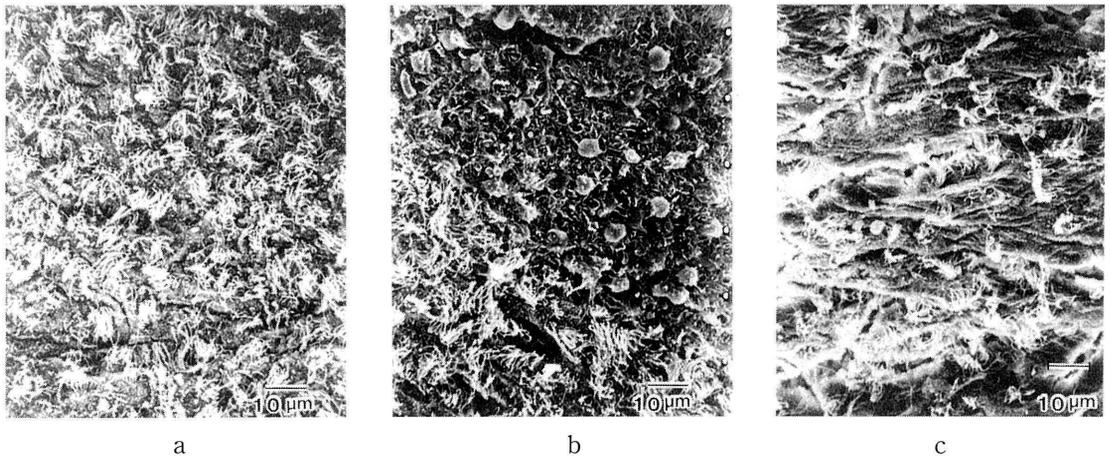
1) 脳実質の量的脂酸構成

脳実質の総脂酸含有量は正常対照ラット群において生後一週で平均 39.6 mg/g (w.w)、三週で平均 42.4 mg/g と増加傾向がみられたが、その後はほとんど増加しなかった。生後三週までの各脂酸含有量を比較すると、C 16 より短鎖の低級脂酸は増加していないが、C 16 (パルミチン酸)、C 18 (ステアリン酸)、C 18 : 1 (オレイン酸) 等は経時的に増加していた。

CHR の脳実質における総脂酸含有量では生後一週で平均 33.6 mg/g (15.2% 減少)、三週で平均 28.7 mg/g (32.3% 減少) と著明な減少傾向を示し、正常対照群と比較して有意な低下が認められた (p<0.05)。量的脂酸構成では生後一週では各脂酸とも軽度減少していたが、対照群に比し有意差はみられなかった。三週になると C 16, C 18, C 18 : 1



Phot. 2 Histological findings of lateral ventricular wall (Klübar-Barerra stain×50)
 a) normal rat (3-week old)
 b) CHR (3-week old)
 c) AHR (3 weeks after Kaolin injection)



Phot. 3 SEM findings of ependymal surface in the lateral ventricle (SEM×1000)
 a) normal rat (3-week old)
 b) CHR (3-week old)
 c) AHR (3 weeks after Kaolin injection)

の合計は約 50% 減少した ($p < 0.05$).

一方 AHR では脂酸含有量は注入後一週で平均 36.8 mg/g (13.2% 減少), 三週で平均 38.5 mg/g (9.2% 減少) と軽度低下していたが対照群と比較して有意な低下がみられず, 経時的な減少傾向も認められなかった. 各脂酸含有量を正常対照群と比較すると一週, 三週とも C 18 に有意な低下がみられ

た (Table 1, Fig. 3).

2) 脳実質のモノアミン定量

正常ラットのテント上脳組織のモノアミンは生後の経時の変化がみられず, ほぼ一定しており, セロトニンは平均 395 ng/g, ノルアドレナリンは平均 671 ng/g, ドーパミンは平均 140 ng/g であった.

CHR ではセロトニンについては正常対照群に比

較して有意差を認めなかった。ノルアドレナリンは生後一週で平均 318 ng/g (50.7% 減少, $p < 0.05$), 三週で平均 459 ng/g (28.8% 減少, $p > 0.05$) と経時的な減少傾向を認めなかった。ドーパミンは生後一週では正常範囲内であったが、徐々に低下し三週で平均 61.6 ng/g と 56.0% 減少した。

AHR のセロトニンでは正常対照群と比し有意差を認めなかった。ノルアドレナリンではカオリン注入後一週で平均 53.3 ng/g と 61.9% まで低下したが、その後漸減傾向は認められなかった。ドーパミンでは注入後一週で平均 250 ng/g (61.2% 減少, $p < 0.05$), 三週で平均 291 ng/g (54.9% 減少, $p < 0.05$) と著明に低下したが、経時変化をみなかった (Fig. 4)。

3) モノアミン蛍光組織化学

正常ラットの生後一週目ですでにテント上部 (尾状核, 正中隆起) およびテント下部 (黒質, 青班核, 縫線核) ともに成熟ラットと同程度の蛍光が認められた。

テント下部では、黒質のドーパミン、青班核のノルアドレナリン、縫線核のセロトニンなどのモノアミン産生細胞は正常対照群に比し CHR, AHR ともに蛍光の減弱を認めなかった (Phot. 4, 5, 6)。

テント上部では視床下部正中隆起の最外層部ドー

パミン、内層部のノルアドレナリンの蛍光が両者ともに低下していた (Phot. 7)。尾状核部のドーパミンは両者とも軽度低下していた (Phot. 8)。

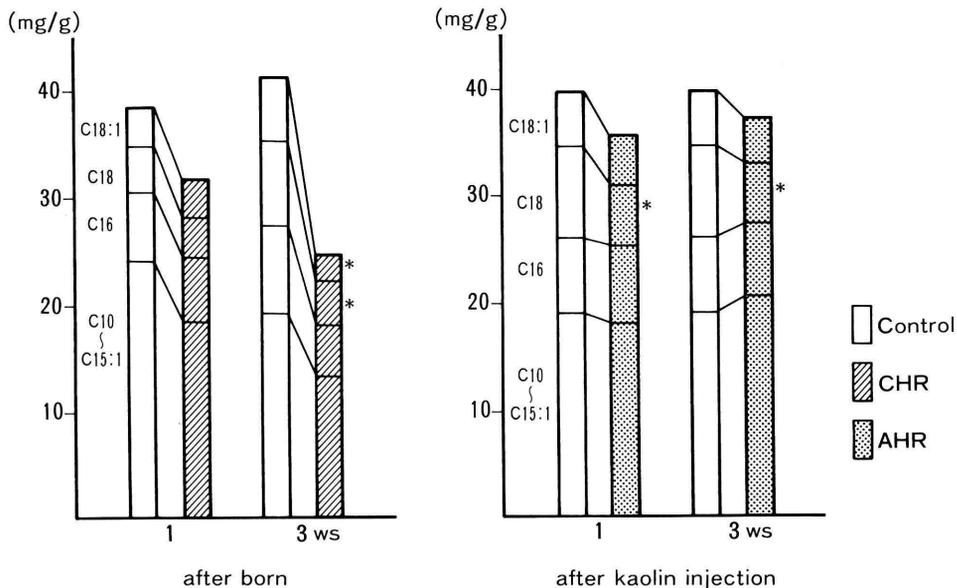
II) 小児先天性水頭症例の髄液生化学的検査

1) 髄液の脂酸含有量

髄液脂酸含有量は正常対照群では 14.3 mg/dl に対して髄液の高圧群 (200 mmH₂O 以上) では 26.8 mg/dl と約二倍に増加していたが、正常圧群

Table 1. Quantitative fatty acid composition of brain tissue in both group (mg/g)

	先天性				後天性		
	control 生後1週	CHR 生後1週	control 生後3週	CHR 生後3週	control 生後5週	AHR 注入後1週	AHR 注入後3週
C10	1.07	0.58	0.52	0.54	1.07	0.81	0.61
C11	3.54	3.19	4.44	3.23	4.29	3.84	4.09
C12	1.66	1.42	1.71	1.51	1.16	2.03	2.02
C12:1	2.26	1.77	2.36	1.55	1.50	1.92	1.76
C13	2.82	1.95	1.81	1.02	3.12	1.91	1.76
C13:1	1.92	1.31	2.27	1.86	2.70	1.05	1.36
C14	3.43	3.12	2.27	1.96	2.35	2.38	3.88
C15	6.79	5.09	3.95	3.35	3.45	3.97	5.55
C16	6.55	6.06	8.45	5.72	7.84	7.20	6.41
C16:1	0.93	0.93	0.36	0.51	0.51	0.85	0.33
C17	0.30	0.90	0.29	0.62	0.48	0.65	0.66
C18	4.36	3.75	7.77	4.10	7.87	5.56	5.70
C18:1	8.00	3.51	6.23	2.74	6.04	4.63	4.33
total	39.63	33.58	42.43	28.71	42.38	36.80	38.51



* : $P < 0.05$

Fig. 3 Quantitative fatty acid composition of brain tissue in both group

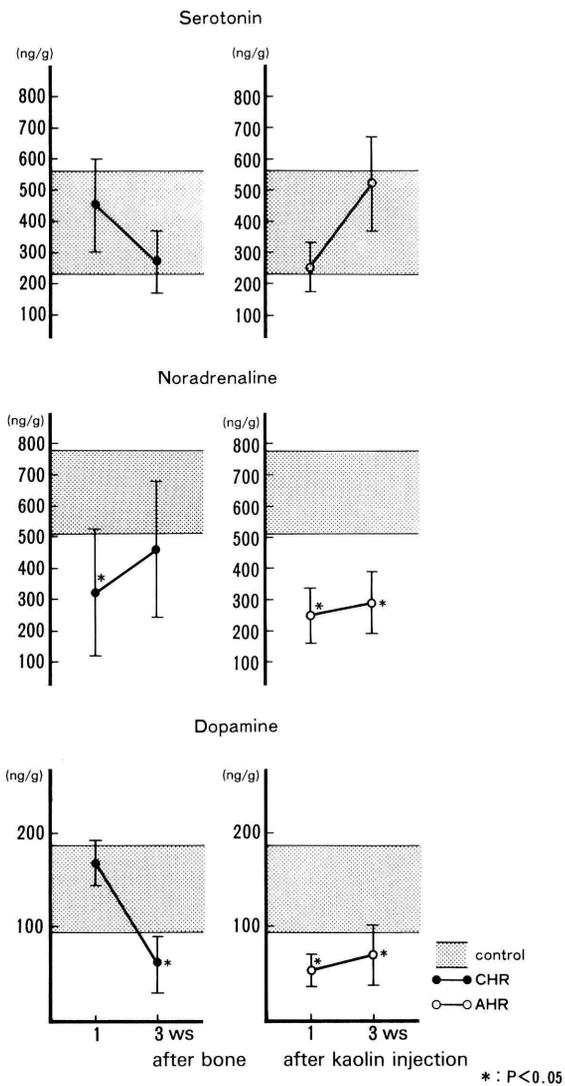


Fig. 4 Monoamine of brain tissue in both group

(200 mmH₂O 以下) では 17.8 mg/dl と軽度の増加に止どまり、対照群と比較して有意な増加を認めなかった。

2) 髄液のモノアミン代謝産物

髄液モノアミン代謝産物では HVA, 5-HIAA とともに高髄液圧群で対照群よりも有意に増加していた。正常圧群では増加傾向はみられたが、対照群に比し有意な差は認められなかった。MHPG に関しては両者とも対照群に比し有意な増減をみなかった (Fig. 5)。

3) 脳室腹腔短絡術前後の髄液生化学的検査の比較

手術前後で髄液の脂酸含有量とモノアミン代謝産物を比較してみたところ、短絡術後では予後良好な経過を示した症例で脂酸, HVA, 5-HIAA が低下して、正常域に近づく傾向を示した。これに対して予後不良例では短絡術後でも脂酸, HVA, 5-HIAA とも減少傾向を認めなかった (Fig. 6)。

III) 剖検例

ヒト小児脳組織の対照群における脳室周囲白質では脂酸含有量は 38.2 mg/g であったが、小児先天性水頭症例の脳室周囲白質では脂酸含有量は 21.0 mg/g と著明に低下しており、その中でもパルミチン酸, ステアリン酸, オレイン酸といった比較的高級脂酸の減少が顕著であり、今回施行した実験的水頭症ラットの脳組織における結果と相似していた (Table 2)。

考 按

水頭症の形態学的変化だけでは病態の把握は困難な場合が多く、また手術時期を逸する等の原因により、脳室腹腔短絡術の効果が認められないことがある。筆者らは今まで小児先天性水頭症例の髄液生化学的検査において、水頭症の進行期の変化を捉え、手術時期、適応を考察してきた²⁾。今回の研究は動物実験によって、臨床例における髄液の生化学的検査結果を裏づけることを目的とした。

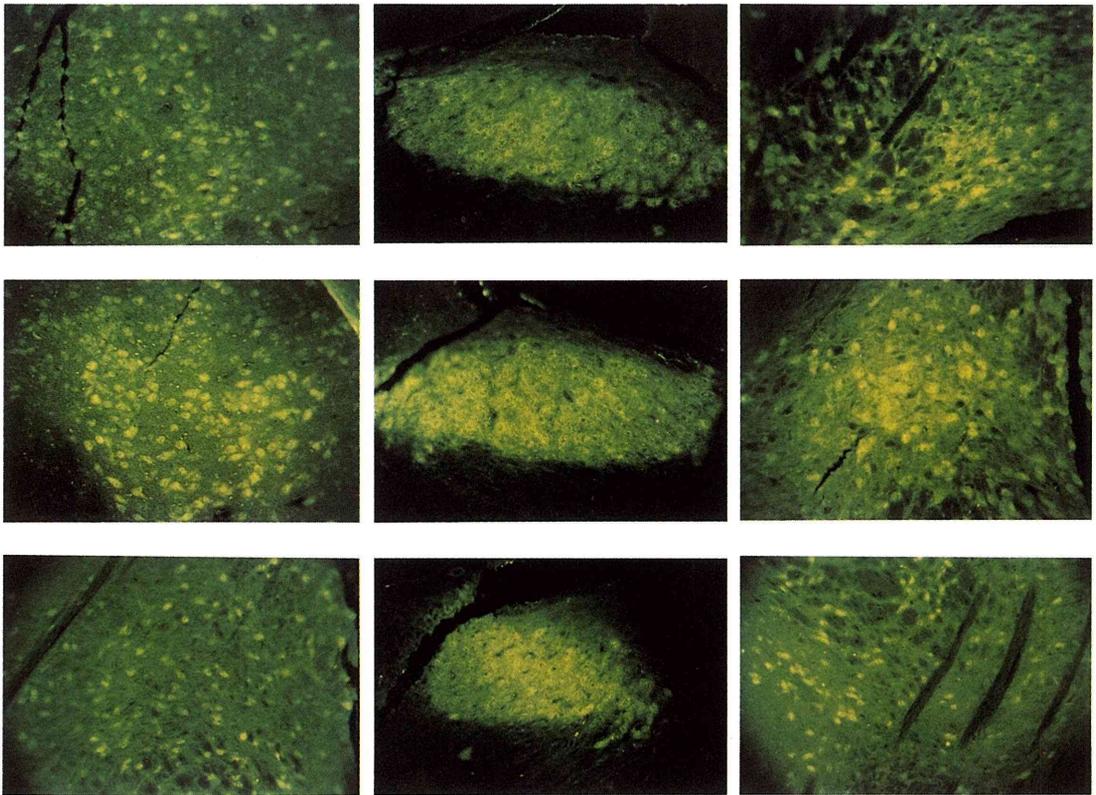
I) 実験的水頭症ラット

A) 先天性水頭症ラット

1) 形態学的検討

実験的水頭症の先天性水頭症モデルとしては 1964 年に Stempak⁴⁾ が妊娠ラットに trypanblue を注入し、中脳水道狭窄症を作製したのが最初の報告である。その他に母体への放射線照射による水頭症モデルの報告がみられるが、人工的操作を加えていないものが、臨床における先天性水頭症の理想的な実験モデルである。突然変異による水頭症動物を世代を積み重ねて維持した疾患モデルとしては、マウスでは Berry⁵⁾ らの報告があり、ラットでは Kohn⁶⁾ や、東ら⁷⁾ の水頭症モデルの報告がみられる。

東らの先天性水頭症ラット (LEW-HYR) は Lewis 系ラットの突然変異による水頭症を近親交配したもので、約 20% の発現率を有するものである。このモデルではクモ膜下腔の発生異常による髄液循環障害が病因と推定されている。このモデルを



Phot. 4 Dopamine fluorescence of substantia nigra (×100)
 a. normal rat (3-week old) ———
 b. CHR (3-week old)
 c. AHR (3 weeks after Kaolin injection)

Phot. 5 Noradrenaline fluorescence of locus coeruleus (×100)
 a. normal rat (3-week old) ———
 b. CHR (3-week old)
 c. AHR (3 weeks after Kaolin injection)

Phot. 6 Serotonin fluorescence of nucleus raphe (×100)
 a. normal rat (3-week old)
 b. CHR (3-week old)
 c. AHR (3 weeks after Kaolin injection)

1983年に東京医科大学動物実験室に導入し継代を重ね、出現した水頭症ラットを経時的に断頭し検索して、臨床例における先天性水頭症例と対比した。病理学的には先天性水頭症ラット CHR は脳室拡大に従って中隔が欠損し、側脳室壁、特に側脳室前角壁に負担がかかりやすく、脳室上衣の伸展、断裂が生じ易くなると考えられた。走査電顕では cilia, microvilli の脱落を認め、macrophage は変性した cilia, microvilli の貪食のために出現するものと推測された。また側脳室の脳室上衣下層から基質が疎鬆化をおこし、進行性脳室拡大によって細胞成分が徐々に逸脱していわゆる intracerebral cavity の形成をみた。intracerebral cavity の形成に関して奥山ら⁸⁾は、脳圧亢進による機械的圧迫や、髄液の脳

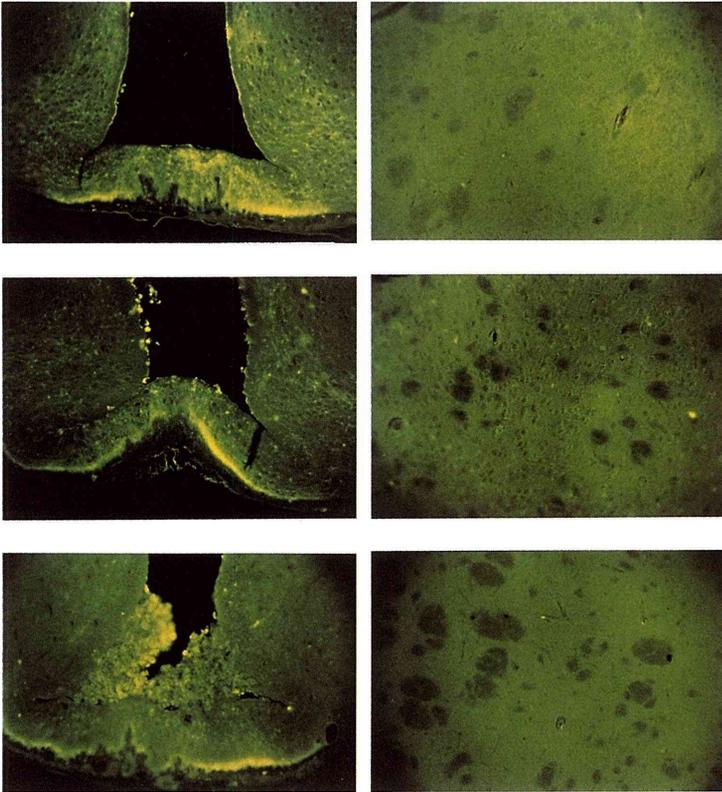
室上衣からの浸潤による脳浮腫によって側脳室壁での血管構築の変化が生じ、広範な二次的血液循環動態の低下が出現して、脳実質の脱落が発生すると報告しており、小児先天性水頭症例に特有の変化と推定された。

2) 生化学的検査

a) 脂質代謝

成熟哺乳動物の脳では乾燥重量中約 40~70% が脂質であり⁹⁾、特に白質に多い。これは疎水性の場を提供し、種々の代謝経路を保護する役割をもつためである。特に髄鞘は脂質成分が乾燥重量の約 75% を占めている。

これら髄鞘、軸索や樹状突起等は生後急速に形成され、ラットでは生後 3 週頃までが急成長期にあた



Phot. 7 Dopamine fluorescence in outer layer and Noradrenaline fluorescence in inner layer of median eminence (×100)
 a. normal rat (3-week old)
 b. CHR (3-week old)
 c. AHR (3 weeks after Kaolin injection)

Phot. 8 Dopamine fluorescence of caudate nucleus (×100)
 a. normal rat (3-week old)
 b. CHR (3-week old)
 c. AHR (3 weeks after Kaolin injection)

る¹⁰⁾。このため脳組織の脂質組成の変化に加えて脂質の主要構成成分である脂酸も変化していく。特に髄鞘形成期に伴い脂質は急激に増加するが、髄鞘形成不全、脱髄のさいには減少する。今回の実験でもラット脳において正常対照群では生後3週頃まで脂酸含有量は増加しており、これは主にパルミチン酸、ステアリン酸、オレイン酸といった比較的高級脂酸の増加によるもので、髄鞘形成を反映しているものと考えられ、その後の脳組織の量的脂酸構成の変化は認められなかった。CHRは生後3~4週で死亡する著明な進行性水頭症ラットであり、髄鞘形成期と一致した水頭症病態を呈すと考えられた。

CHRのテント上部脳組織では生後1週ですでに脂酸含有量は正常対照群に比し有意な減少を示したが、各脂酸を比較すると有意な差はなく全体的な減少であった。3週では脂酸含有量は約32%低下して経時的な減少傾向を示した。この時点で個々の脂酸を比較すると比較的高級脂酸の減少は約50%にまで達し、対照群と比し有意な減少を認め、水頭症末期の脳実質の崩壊および髄鞘の形成障害や脱落を示唆するものと推察された。

b) モノアミンの定量と蛍光組織化学

脳内のモノアミン産生細胞の固体発生は早期に出現し、ラットでは胎生12週~14週でモノアミン産

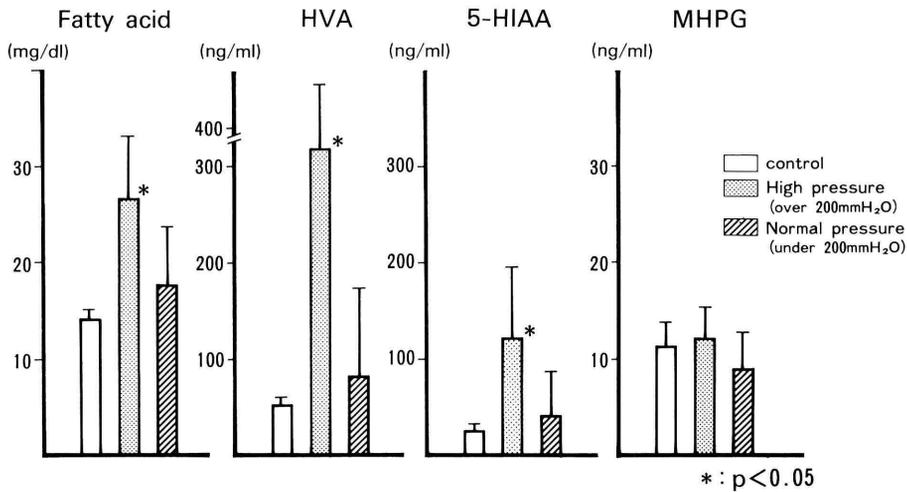


Fig. 5 Fatty acid and monoamine metabolites in CSF of congenital hydrocephalus in children
Shunt operation

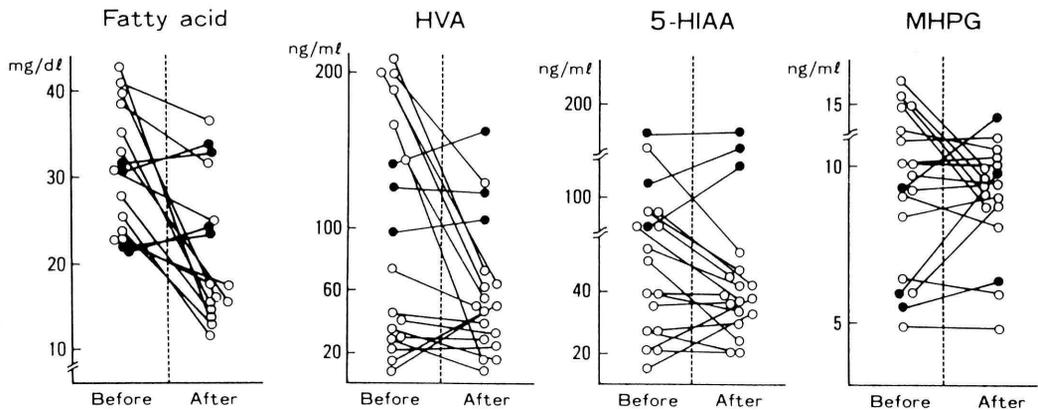


Fig. 6 Change of fatty acid and monoamine metabolites in CSF after shunt operation of ○Prognosis: Good
●Prognosis: Poor congenital hydrocephalus in children

Table 2. Quantitative fatty acid composition in human brain tissue and rat brain tissue

	ヒト脳組織 (白質ホモジェネイト)		ラット脳組織 (白質灰白質ホモジェネイト)	
	正常例*	小児先天性 水頭症例	正常例 (生後3週)	先天性水頭症 (生後3週)
C 16	11.8	3.0	8.5	5.7
C 18	6.6	2.2	7.8	4.1
C 18:1	13.6	5.4(mg/g)	6.2	2.7(mg/g)
総脂酸	38.2	21.0(mg/g)	42.4	28.7(mg/g)

* 中枢神経系疾患以外で死亡した剖検例

生細胞がすでに現れ、軸索、樹状突起の発達と共にモノアミンは神経終末に運ばれて、未熟脳においてもシナプス形成などの重要な役割を果たしていると考えられている。これらモノアミンの代謝産物は、一方では節前細胞に取り込まれ再合成に寄与するが、他方では脳室上衣細胞間隙を経て髄液中に流出される。したがって髄液のモノアミン代謝産物の定量が行われ、うつ状態等の精神疾患、トランクライザーの副作用等に応用されてきた¹¹⁾。動物実験では Chovanes ら¹²⁾ はカオリン注入による水頭症モデルを使用して、テント上部ではノルアドレナリン、ドーパミンが著明に減少していたが、脳幹部ではモノ

アミンの減少を認めなかったと報告している。今回の研究では、テント上部のモノアミンに関しては、ノルアドレナリンは初期より著明に減少し、ドーパミンは経時的に徐々に減少していた。モノアミン蛍光組織化学では脳幹部におけるモノアミン産生細胞の蛍光減弱を認めなかったが、視床下部正中隆起、尾状核部でノルアドレナリン、ドーパミンの蛍光が低下していた。このテント上部におけるモノアミンの減少には、脳室拡大による脳実質の崩壊、脳組織の代謝障害による軸索伝導障害などが一部関与していると推察された。

B) 後天性水頭症ラット

1) 形態学的検討

実験の後天性水頭症の動物モデルは1914年 Dandy の報告以降、澱粉の脳室内注入法、カオリンのクモ膜下腔注入法、Galen 静脈結紮法など種々の方法がある。現在では顕微鏡を用いてカオリン顕濁液を大槽内に注入する方法が利用され、高率に水頭症を作製でき、また死亡率を低下させることが可能となった¹³⁾。今回は正常五週齢 Lewis 系ラットに顕微鏡下でカオリンを大槽内注入し、水頭症ラットを作製して実験を行った。

病態生理として後天性水頭症ラット AHR は髄鞘形成がほぼ完成している正常五週齢ラットを使用しているため、CHR と比較してかなり異なった病態を示した。頭頂はほとんど拡大せず、脳室拡大率も軽度であった。しかし海綿状浮腫は脳梁部白質において高度であり、リンパ球の細胞浸潤が認められ、走査電顕では側脳室前角壁の脳室上衣細胞の cilia, microvilli の消失は高度で、炎症反応による chemical meningitis も加味された状態と推察された。

2) 生化学的検査

a) 量的脂酸構成

後天性水頭症ラットの脳実質における量的脂酸構成で各脂酸含有量を正常対照群と比較すると、ステアリン酸などの比較的高級脂酸が軽度減少していたが、総脂酸含有量ではカオリン注入後一週、三週共に有意な減少をみなかった。これは脳組織の崩壊が CHR と比し軽度なためと考えられた。

b) モノアミンの定量と蛍光組織化学

またモノアミン蛍光組織化学では、テント下部では先天性水頭症ラットと同様にモノアミン産生細胞の蛍光減弱を認めなかったが、カオリン注入後初期よりテント上部ではモノアミン蛍光の減弱を認め、

定量においても脳実質内モノアミンの減少が著明であった。

このようなテント上部の変化は単なる脳室拡大による脳組織の崩壊のみではなく、カオリン注入による炎症や、血流障害による hypoxia も何等かの影響を与えると推察され、カオリン注入による種々の因子が関与している可能性が示唆された。

II) 小児先天性水頭症例の髄液生化学的検査

1) 量的脂酸構成

Fishman ら¹⁴⁾ は閉塞性水頭症の動物実験にて、白質の容積減少を認め、その原因は白質の主要構成成分である脂質と蛋白質の脱落によるとしている。また Farstad¹⁵⁾ は脳の萎縮性変化のある症例において髄液脂酸含有量の増加を証明している。

筆者らも臨床における小児先天性水頭症例の脳圧亢進時、進行性脳室拡大時に脳室内髄液脂酸含有量の増加を証明しており、その中でも比較的高級脂酸の含有率が高度であった。また小児先天性水頭症の死亡例で脳室周囲白質の脂酸含有量を測定したところ、動物実験と同様に比較的高級脂酸の顕著な低下を認めた。これは脳圧亢進による進行性脳室拡大のため脳実質、特に脳室周囲白質の崩壊が生じて主要構成成分である脂酸が脳組織から逸脱して、髄液中に遊離したものと考えられた。

2) モノアミン代謝産物

またモノアミンに関しては Ashcroft ら¹⁶⁾ は乳幼児急性水頭症の髄液中モノアミン代謝産物を測定し、5-HIAA の増加を認め報告している。Gordon ら¹⁷⁾ は HVA, 5-HIAA は第四脳室脈絡叢において active transport により吸収されることを認め、この吸収障害より髄液中の HVA, 5-HIAA が水頭症時に増加すると報告している。しかしモノアミン代謝産物は進行性脳室拡大時に増加し、脳の荒廃期には減少すること¹⁸⁾、また動物実験で脳実質中のモノアミンの減少を認めることから、脳実質の崩壊によりモノアミン神経終末においてシナプスが崩壊して代謝産物が髄液中に遊離することも一因と推察された。

総 括

臨床における小児先天性水頭症例の脳室腹腔短絡術前後で髄液生化学的検査施行し得たものを比較すると、短絡術で臨床的、神経学的に改善のみられたものは脂酸含有量、モノアミン代謝産物は正常値に

向かって減少する傾向にあり、予後不良例では減少傾向がみられなかった。

これらのことより髄液における量的脂酸構成、モノアミン代謝産物の変動は、脳実質の崩壊の程度や、代謝障害の経時的変動を捉えており、水頭症の脳室拡大期における脳組織、特にテント上部の変化を捉えるのに有意義であると推察された。

実験的水頭症のうちで先天性水頭症ラット CHR と後天性水頭症ラット AHR を比較すると、CHR では脳実質の脂酸含有量の変動が高度であり、形態学的には脳室周囲白質内に intracerebral cavity が形成される。これらのことより先天性水頭症は髄鞘形成期にあたり脳実質への影響を受け易いと考えられ、早期に脳室腹腔短絡術を施行すれば、その後の髄鞘形成を促せる可能性が示唆された。

ま と め

1) 先天性水頭症ラットとカオリン大槽内注入による後天性水頭症ラットを作製して、脳実質における脂酸、モノアミンの定量とモノアミン蛍光組織化学を行い、これらを臨床的水頭症例の髄液生化学的検査結果と対比した。

2) 先天性水頭症ラットでは著明な進行性脳室拡大に伴い各種代謝産物の経時的な変動を認め、これらは進行性脳室拡大に伴う脳実質の崩壊を反映するものと推察された。

3) 後天性水頭症ラットでは軽度な脳室拡大を呈したが代謝障害は著明であり、脳室拡大による脳実質の障害を示唆するだけでなく、カオリン注入による chemical meningitis などが加味された状態と推察された。

4) 小児先天性水頭症例の髄液生化学的検査では、進行性脳室拡大期、脳圧亢進期に髄液中の各種代謝産物が増加していたが、これは脳組織の崩壊により、髄液中に代謝産物が遊離しているものと推察された。また脳室腹腔短絡術の有効なものでは術後に代謝産物の減少を認めたが、これは脳組織の崩壊の緩徐化を示唆するものと推定された。

稿を終えるにあたり、御指導、御校閲を賜りました、恩師、東京医科大学脳神経外科学教室、三輪哲郎教授、並びに、本研究に多大な御助言を頂きました、薬理学教室、渋谷 健教授、佐藤勝彦助教授に深謝致します。また、本研究に対し終始御協力を頂

きました、水戸赤十字病院脳神経外科、小野寺良久部長、東京医科大学脳神経外科学教室、伊東 洋助教授をはじめ教室員各位に御礼申し上げます。

なお、本文の主旨は、第45回脳神経外科学会総会(1986, 千葉)、第46回脳神経外科学会総会(1987, 東京)に於いて発表した。

文 献

- 1) Dandy WE and Blackfan KD: Internal hydrocephalus, An experimental, clinical and pathological study, Amer. J. Dis. Child. 8: 406~482, 1914
- 2) 小野寺良久 他: 先天性水頭症児における髄液中の量的脂酸構成. 脳と発達, 7: 23~27, 1975
- 3) Falck B and Hillarp NA: Fluorescence of catecholamines and related compounds condensed with formaldehyde. J. Histchem Cytochem., 10: 348~354, 1962
- 4) Stempak JG: Etiology of trypan blue induced antenatal hydrocephalus in the albino rat. Anat Rec 148: 561~571, 1964
- 5) Berry RJ: The inheritance and pathogenesis of hydrocephalus-3 in the mouse. J. Path. Bact 81: 157~167, 1961
- 6) Kohn DF, Chinookoswong N and Chou SM: A new model of congenital hydrocephalus in the rat. Acta Neuropathol (Berl) 54: 211~218, 1981
- 7) 東健一郎 他: 先天性水頭症ラット脳の病理学的観察. 小児の脳神経 12: 1~9, 1987
- 8) 奥山 徹 他: 先天性水頭症ラット (LEW/jms) における脳組織障害について. 脳神経 37: 1053~1057, 1985
- 9) 宮本侃治: リン脂質—組織・代謝・機能. 神経生化学, p 332~342, 共立出版, 東京, 1979
- 10) 武富 保: 脳脂質の変動. 神経生化学, p 357~363, 共立出版, 東京, 1979
- 11) 渋谷 健, 佐藤勝彦: 脳内 Monoamine の蛍光組織化学. 東京医大誌 35: 3~25, 1977
- 12) Chovanes GI et al: Monoamine alteration during experimental hydrocephalus in neonatal rats. J Neurosurg 22: 86~91, 1988
- 13) 山木垂水 他: ラット実験的脳水腫. 脳神経外科, 5: 537~540, 1977
- 14) Fishman RA and Greer M: Experimental obstructive hydrocephalus. Arch Neurol 8: 56~62,

- 1963
- 15) Farstad M: Determination of fatty acids in cerebrospinal fluid III. quantitative and qualitative studies in some neurological and psychiatric disorders. *Scandinavi. J. Clin Lab Invest.* **16**: 554~558, 1964
- 16) Ashcroft GW et al: 5-hydroxyindole compounds in the cerebrospinal fluid of patients with psychiatric or neurological disease. *Lancet* **12**: 1049~1052, 1966
- 17) Gordon E et al: Origins of catecholamine metabolites in monkey cerebrospinal fluid. *J Neurochem* **25**: 347~349, 1975
- 18) 森 和夫 他: 水頭症における髄液 amine metabolites の変動. *脳と神経* **25**: 1005~1010, 1973
- (別刷請求先: 〒160 新宿区西新宿 6-7-1
東京医科大学脳神経外科 阪田実利)
-