

実験的水頭症における中枢性ノルアドレナリンおよび ドーパミン神経系の機能変化について

京都大学脳神経外科学教室（指導：半田 肇教授）

三 輪 聰 一

〔原稿受付：昭和56年10月20日〕

The Regional Differences of Catecholaminergic Neuron Systems in Experimental Hydrocephalus of Rabbits

SOICHI MIWA

Department of Neurosurgery, Kyoto University Medical School
(Director: Prof. Dr. HAJIME HANDA)

Experimental hydrocephalus was induced in rabbits by intracisternal injection of kaolin suspension, and contents of noradrenaline (NA), dopamine (DA) and their metabolites in several brain regions were determined.

NA contents decreased in the cerebellum, hypothalamus and pons+medulla, and increased in the caudate nucleus in 2 days after kaolin injection (the stage of early intracranial hypertension). The contents of NA returned to the control levels in 1 week (the stage of progressing hydrocephalus) in all of the brain regions, and decreased again in 4 weeks (the stage of progressed hydrocephalus) in the pons+medulla. DA contents were unchanged throughout 4 weeks after kaolin injection.

The contents of 3-methoxy-4-hydroxyphenylethyleneglycol sulfate (MOPEG-SO₄), the major metabolite of NA, were elevated in all brain regions except the caudate nucleus at all stages after kaolin injection. Increase in MOPEG-SO₄ content in the caudate nucleus was also observed in 1 week after kaolin injection. The contents of homovanillic acid (HVA), the major metabolite of DA in the rabbit brain, decreased in the cerebral cortex (2 days, 1 week after kaolin injection) and the caudate nucleus (2 days, 1 week, 4 weeks), while the contents increased in the hypothalamus (2 days), cerebellum (2 days, 1 week), pons+medulla (2 days, 1 week, 4 weeks) and midbrain (4 weeks).

Key Words: Experimental hydrocephalus, Catecholamine, 3-Methoxy-4-hydroxyphenylethyleneglycol sulfate, Homovanillic acid, 3,4-Dihydroxyphenylacetic acid.

索引語：実験的水頭症，カテコールアミン，3-メトキシ-4-ヒドロキシフェニールエチレングリコール，ホモバニリン酸，3,4-ジヒドロキシフェニール酢酸。

Present address: Department of Neurosurgery, Kyoto University Medical School, Sakyo, Kyoto, 606, Japan.

These data suggest that, in the experimental hydrocephalus of the rabbit brain, NA release is increased in all brain regions examined, while DA release is decreased in the cerebral cortex and caudate nucleus, and increased in the cerebellum, hypothalamus, midbrain and pons+medulla.

はじめに

正常圧水頭症は、臨床的に痴呆、歩行障害、尿失禁を主症状とする症候群と考えられている¹⁾。一部の患者では、歩行および姿勢が、パーキンソン病においてみられる小刻み歩行および前傾前屈姿勢に酷似しており、また、一部の患者では、典型的なパーキンソン病の症状を呈する^{2,11)}。

パーキンソン病におけるこれらの症状は、黒質線状体ドーパミン神経系の変性および機能低下によると考えられている¹⁰⁾。ヒトの水頭症においても、ドーパミンの主要代謝物である homovanillic acid 濃度が脳脊髄液中で上昇していることなどが報告されており^{3,3,11)}、中枢性カテコールアミン神経系、とくに、ドーパミン神経系に異常のあることが示唆されてきた。

水頭症の病態解明のために、カオリン懸濁液の大槽内注入^{6,20)}をはじめとする実験的水頭症が作成されている。現在までに、ウサギ脳の実験的水頭症では、ノルアドレナリン (NA) およびドーパミン (DA) 含有量の低下することが報告されている¹⁶⁾が、治療的および臨床的見地からは、カテコールアミン神経系の機能は低下もしくは亢進のいずれの状態であるのか、また水頭症において、脳のどの部位が選択的に影響をうけるのか、を明らかにすることが重要であると思われる。

脳内カテコールアミン神経系の機能状態は、カテコールアミン遊離後の主要代謝物について、それらの脳内含有量を測定することにより推定することができる^{9,22)}。

我々は、水頭症における脳各部位のカテコールアミン神経系の機能状態を明らかにする目的で、ウサギにカオリン誘発実験的水頭症を作成し、脳室内圧および脳室拡大の経過を確認し、脳の7部位における NA, DA およびその代謝物として 3-methoxy-4-hydroxyphenylethyleneglycol sulfate (MOPEG-SO₄), homovanillic acid (HVA), 3,4-dihydroxyphenylacetic acid (DOPAC) 含有量を測定した。

研究材料および研究方法

実験動物としては、雄性成熟ウサギ (体重 2.0-2.5 kg) を使用した。

1) 実験的水頭症の作成

ウサギを sodium pentobarbital (30 mg/kg, i.v.) で麻酔した後、カオリン懸濁液 (0.3 g/ml) 0.5 ml を大槽内に注入することにより、実験的水頭症を作成した¹⁵⁾。麻酔から覚醒するまでの間、頭部を低く保ち、カオリンが脳底槽に流入しやすいようにした。麻酔覚醒後、動物に飼料 (CLEA) および水を自由に与えた。

2) 脳室内圧および脳室径の測定

Sodium pentobarbital (30 mg/kg, i.v.) にて麻酔後、ウサギを東大脳研型脳定位固定装置に固定し、脳室内圧を自発呼吸下で測定した。

前頭頭頂部に 3-4 cm の正中皮膚切開を加え、骨膜を剝離した後、bregma の側方 3.5 mm の位置に直径 2 mm の骨孔を作成した。生理食塩水をみたしたポリエチレンチューブに連結した 21-gauge の注射針にて側脳室を定位的に穿刺し、脳室内圧を頭蓋骨表面からの生理食塩水の高さにて測定した。

脳室内圧測定後、心臓から氷冷生理食塩水を灌流することによりウサギを屠殺し、全脳をとりだし、脳室径計測のため脳室穿刺部と視交叉を通る前額面で切断した。脳室径計測は、側脳室の dorsolateral angle と septum pellucidum の間の距離をノギスにて計測することにより行なった。

3) 一般状態 (体重, 摂食量, 飲水量, 呼吸数, 脈拍数, 直腸温) および “locomotion” の測定

コントロール群 (無処置群, 生理食塩水大槽内注入群) およびカオリン大槽内注入 2 日後, 1 週後, 4 週後の各動物について、体重, 24 時間の摂食量および飲水量, 呼吸数, 脈拍数, および直腸温を測定した。また、寡動症および歩行障害の指標として, “locomotion” を同時に測定した。“Locomotion” は、動物が 5 分間に 70 cm × 70 cm の正方形の枠をこえた回数で測定した。

4) カテコールアミンの測定

脳各部位のカテコールアミン含有量は、高速液体クロマトグラフ (HPLC) および電気化学検出器を用いて測定した¹⁷⁾。実験動物を心臓から氷冷生理食塩水を灌流して屠殺した後、全脳を迅速にとりだし、氷上にて cerebral cortex, cerebellum, caudate nucleus, thalamus, hypothalamus, midbrain, pons+medulla の7部位に分けた。脳各部位の片側を秤量し、cerebral cortex を除く脳各部位は、これらを0.1% sodium bisulfite を含む0.4N 過塩素酸 2.5 ml にてホモゲナイズし、cerebral cortex は、0.4N 過塩素酸 10 ml にてホモゲナイズした。ホモジネートを 10,000×g, 10分間遠心沈澱後、上清をガラス栓付き試験管に移し、内部標準物質として 3,4-dihydroxybenzylamine (DHBA) 200 ng (0.1 N 塩酸 20 μl に溶解) および 2% EDTA-Na₂ を含む 1M Tris-HCl buffer (pH 8.6) を 0.5 ml 加えた。この混合液の pH を 2N および 0.2N カセイソーダにて 8.5-8.6 に調整した後、活性化アルミナ 25mg を加えて、15分間振盪した。振盪後、上清を吸引除去し、アルミナを蒸留水にて3回洗滌した。0.1 N 塩酸 200 μl にてアルミナからカテコールアミンを脱着し、その上清のうち 10 μl を HPLC に適用し、カテコールアミンを分離定量した。

5) DA 代謝物の測定

DA の主要代謝物である HVA および DOPAC 含有量を Hefti の方法⁸⁾により測定した。cerebral cortex を除く脳各部位の半量を 1mM EDTA-Na₂ および 0.1% sodium metabisulfite を含む 0.1 N 過塩素酸 2.5 ml にてホモゲナイズし、cerebral cortex (片側) は 0.1 N 過塩素酸 12.5 ml にてホモゲナイズして、全量 (cerebral cortex のみ1/5量) を以下の操作に供した。ホモジネートを 5,000×g, 10分間遠心沈澱した後、上清を栓付き試験管に移し、0.1 N 過塩素酸 20 μl に溶解した vanillic acid 200 ng を内部標準物質として加えた。エーテル 3.75 ml を試験管に加え、ただちに栓をして、30秒間振盪した後 1,500×g, 1分間遠心沈澱し、内容液を2相に分離した。エーテル層 2.5 ml をとり、窒素ガスにて乾固した後、0.05 M sodium acetate buffer (pH 5.0) 200 μl に再溶解し、-80°C にて保存した。

6) 高速液体クロマトグラフィ

高速液体クロマトグラフおよび電気化学検出器は、以下の部分から構成されている：島津 Model SIL-1A サンプルインジェクター；島津 Model LC-3A solvent delivery system；C₁₈-reverse-phase column (4.6 mm×

150 mm, Cosmosil packed column; 半井, 京都), 柳本 Model VMD-101 電気化学検出器。

a) カテコールアミンの定量

移動相は、10%メタノール、20 μM EDTA-Na₂ および 0.05% sodium heptane sulfonate を含む 0.1 M potassium phosphate buffer (pH 3.1) とし、使用前に脱気した。流速は、1.0 ml/min とし、電気化学検出器は +0.8V にセットした。カテコールアミン量は、peak height から計算したが、peak height とカテコールアミン量は、各カテコールアミンの 0.25 ng から 100 ng の範囲にわたって比例関係が成立した。NA, DA および DHBA の平均回収率は、それぞれ 77%, 61% および 70% であり、これらの回収率は、各カテコールアミン 1500 ng まで一定であった。脳各部位の NA 含有量は、次式に従って計算した。

$$\text{NA } (\mu\text{g/g tissue}) = \frac{(\text{NA/DHBA}) \text{ Sample} \times (\mu\text{g NA in Standard})}{(\text{NA/DHBA}) \text{ Standard} \times (\text{g wet tissue})}$$

脳各部位の DA 含有量も同様に計算した。計算式中の (NA/DHBA) Sample および (NA/DHBA) Standard は、それぞれ脳各部位の抽出液および内部標準物質の抽出液における NA および DHBA の peak height の比を示している。

b) HVA および DOPAC の定量

移動相は、50 μM EDTA-Na₂ を含む 0.05 M sodium acetate buffer (pH 5.0) とし、使用前に脱気した。流量は、1.6 ml/min とし、電気化学検出器は、+0.7 V にセットした。HVA, DOPAC および vanillic acid (VA) の平均回収率はそれぞれ 63%, 43% および 83% であり、1 ng から 800 ng の範囲にわたって一定であった。脳各部位の HVA 含有量は、次式に従って計算した。

$$\text{HVA } (\mu\text{g/g tissue}) = \frac{(\text{HVA/VA}) \text{ Sample} \times (\mu\text{g HVA in Standard})}{(\text{HVA/VA}) \text{ Standard} \times (\text{g wet tissue})}$$

DOPAC 含有量も同様に計算した。

7) MOPEG-SO₄ の測定

NA の主要代謝物である MOPEG-SO₄ 含有量を Kohno らの方法¹³⁾により測定した。

脳各部位の重量を測定し、0.1% sodium metabisulfite を含む 10 倍量の 0.2 N 硫酸にてホモゲナイズした後、8,000×g, 5分間遠心沈澱を行なった。上清の pH を 0.3 N および 0.03 N Ba(OH)₂ で 6.0-6.5 に調整し、8,000×g, 10分間遠心沈澱した後、上清を DEAE-Sephadex A-25 カラム (0.8×6 cm) に通した。カラムを

まず 3 ml の蒸留水にて洗滌し、つづいて 0.06 N 塩酸 12 ml (4 ml ずつ 3 回) および 0.4 N 過塩素酸 1 ml で洗滌した後、MOPEG-SO₄ を 0.1% sodium metabisulfite を含む 1 N 過塩素酸 2.25 ml にてカラムより溶出した。溶出液の体積を測定した後、溶出液から 0.75 ml ずつ 2 本の試験管にとり、それぞれサンプル用およびブランク用とした。つづいて、0.2% cysteine 50 μl を加え、90-95°C で 25 分間加熱した後、サンプル用のみ 150 μl の再蒸留したエチレンジアミンを加え、再び 5 分間加熱した後、室温で冷却した。MOPEG-SO₄ からの反応生成物の蛍光は、蛍光光度計を用いて励起波長 325 nm、蛍光波長 465 nm で測定した。MOPEG-SO₄ の純品および脳組織から得られた蛍光物質の蛍光スペクトルは一致し、Meek and Neff¹⁴⁾ および Kohno ら¹³⁾ により示されたように 325 nm および 465 nm にそれぞれ励起および蛍光波長のピークを示した。蛍光強度と MOPEG-SO₄ 量とは、MOPEG-SO₄ 5 ng から 100 ng の範囲で比例関係が存在した。また、MOPEG-SO₄ 由来の蛍光強度は、組織重量 750 mg まで組織重量と比例関係が成立したので、50 mg から 500 mg までの組織重量を用いて測定した。脳各部位のホモジネートに既知量の MOPEG-SO₄ を加えて脳各部位における回収率を計算し、脳各部位について得られた MOPEG-SO₄ 含有量を補正した。回収率は 50%-60% であった。

8) 統計処理

有意差検定は、Student または Cochran の t 検定を用いた。

結 果

カオリン懸濁液は生理食塩水にて調整したので、比較のため生理食塩水 (0.5 ml) のみを大槽内に注入したところ、注入 2 日後、1 週間、4 週間いずれの時期においても、無処置群と比べて、脳室内圧、脳室径、一般状態および“locomotion”に有意な変化を認めなかった。また注入 2 日後のカテコールアミンおよびその代謝物含有量にも、無処置群と比べて有意な変化を認めなかったため、カオリン大槽内注入後の変化は、無処置群のパラメーターを対照として比較検討した。

(1) 脳室内圧および脳室径の変化

カオリン注入後の脳室内圧 (ventricular fluid pressure, VFP と略す) および脳室径 (ventricular size) の変化を Fig. 1 に示した。対照群 (無処置群) では、脳室内圧は、頭蓋骨表面を 0 mm H₂O とすると、-14

±6 mm H₂O であり、カオリン注入 2 日後に脳室内圧は 49±6 mm H₂O にまで上昇し、1 週間には、ほぼ対照値に回復したが、4 週間には、脳室内圧は 7.3±6 mm H₂O と軽度ではあるが有意に再上昇した。

脳室径は、対照群では 2.5±0.2 mm であり、カオリン注入 1 週後に 3.4±0.2 mm に拡大し、4 週間には、脳室はさらに拡大した (Fig. 2)。

(2) 一般状態および“locomotion”の変化 (Table 1)

体重は、カオリン注入 2 日後に対照群に比べ約 15% 減少し、1 週間には約 25% 減少したが、4 週間には対照値に回復した。

摂食量は、カオリン注入 2 日後、対照値の 5% 以下にまで減少し、1 週間も対照値の 40% に減少したが、4 週間には、ほぼ対照値に回復した。

飲水量は、2 日後に対照値の 5% にまで減少し、その後徐々に増加したが、4 週間においても対照値の 60% であった。

呼吸数、脈拍数および直腸温は、カオリン注入後いずれの時期においても変化なかった。

寡動症および歩行障害を計量化するため測定した“locomotion”は、カオリン注入 2 日後、1 週間、4 週間いずれの時期においても、著明に減少した。

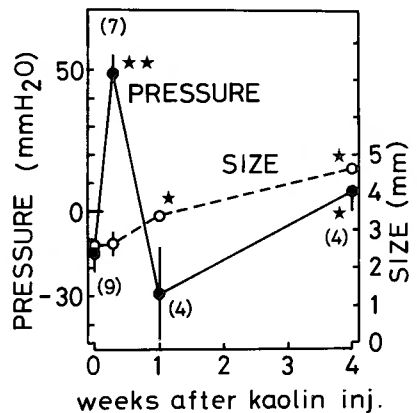


Fig. 1. Changes in ventricular fluid pressure (VFP) and ventricular size after intracisternal kaolin injection. Hydrocephalus was experimentally induced in rabbits by intracisternal injection of kaolin suspension. Before and 2 days, 1 week, 4 weeks after kaolin injection, VFP (●—●) and ventricular size (○··○) were measured.

Vertical bars represent S.E.M. Numbers of animals are given in parentheses. * P<0.05, ** P<0.01; significantly different from control value (before kaolin injection).

Table 1. Physical states of rabbits after intracisternal injection of kaolin

	Control	after Kaolin Injection		
		2 days	1 week	4 weeks
Body weight (kg)	2.26±0.07	1.97±0.06**	1.66±0.05**	2.19±0.08
Food intake (g/24 hr)	142±9	5±3**	60±17**	107±17
Water intake (ml/24 hr)	352±32	18±7**	190±56*	218±39*
Respiratory rate (/min)	67±5	54±4	59±4	61±7
Pulse rate (/min)	173±3	178±6	171±4	185±6
Rectal temperature (°C)	38.4±0.3	38.1±0.4	38.2±0.2	38.8±0.1
"Locomotion" (times/5 min)	9.3±1.3	1.2±0.6**	1.8±0.6**	2.6±0.6**

Results are given as means±SEM of nine animals except in 4 weeks (six animals).

* P<0.05, ** P<0.01; significantly different from each control value.



Fig. 2. Coronal section of rabbit brains.
Upper: Hydrocephalic brain 4 weeks after intracisternal injection of kaolin suspension
Lower: Control brain

(3) カテコールアミン含有量の変化

Fig. 3 に脳各部位における NA および DA 含有量の変化を示した。カオリン注入2日後, cerebellum, hypothalamus, pons+medulla において, NA 含有量は減少したが, caudate nucleus においては増加した。1週後には, これらの部位の NA 含有量は対照値に回復した。4週後に, pons+medulla の NA 含有量が再び減少した。

一方, 脳各部位の DA 含有量は, カオリン注入後いずれの時期においても変化を示さなかった。

(4) MOPEG-SO₄ 含有量の変化

Table 2 にカオリン注入後の脳各部位における MOPEG-SO₄ 含有量の変化を示した。カオリン注入2日後 MOPEG-SO₄ 含有量は, caudate nucleus を除くすべての部位で増加した。1週後には caudate nucleus

Table 2. Changes in 3-methoxy-4-hydroxyphenylethyleneglycol sulfate (MOPEG-SO₄) content in kaolin-induced hydrocephalus

Brain regions	Control	after Kaolin Injection		
		2 days	1 week	4 weeks
MOPEG-SO ₄ (μg/g wet tissue)				
Cerebral cortex	0.094±0.005	0.141±0.010**	0.187±0.018**	0.178±0.022**
Cerebellum	0.104±0.007	0.166±0.014**	0.272±0.036**	0.232±0.035**
Caudate nucleus	0.146±0.015	0.209±0.023	0.263±0.033*	0.201±0.022
Thalamus	0.109±0.005	0.199±0.016**	0.304±0.034**	0.256±0.048**
Hypothalamus	0.226±0.018	0.339±0.016**	0.499±0.062**	0.422±0.051**
Midbrain	0.112±0.007	0.175±0.010**	0.290±0.042**	0.245±0.036**
Pons+Medulla	0.182±0.013	0.276±0.015**	0.515±0.064**	0.410±0.049**

Results are given as means±SEM of six animals.

* P<0.05, ** P<0.01, significant increase from each control value.

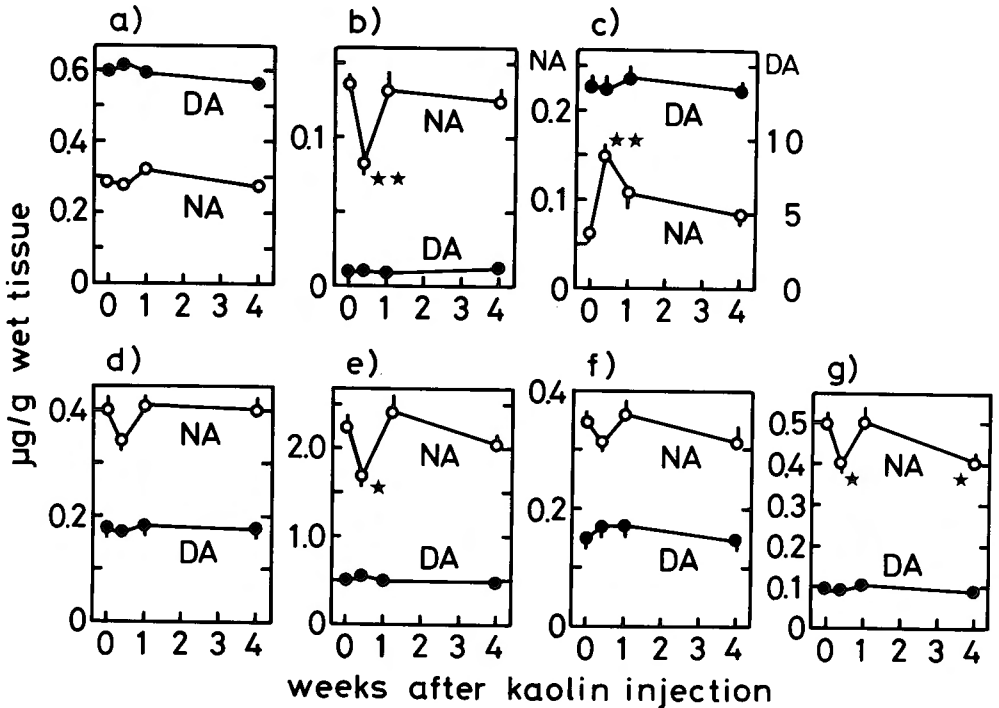


Fig. 3. Changes in noradrenaline (NA) and dopamine (DA) contents in kaolin-induced hydrocephalus

The contents of NA (○—○) and DA (●—●) were measured before and 2 days, 1 week, 4 weeks after intracisternal kaolin injection in the following brain regions: a) Cerebral cortex, b) Cerebellum, c) Caudate nucleus, d) Thalamus, e) Hypothalamus, f) Midbrain, g) Pons+Medulla. Each point represents a mean±S.E.M. of eight animals. Vertical bars represent S.E.M.

*P<0.05, **P<0.01; significantly different from each control value (before kaolin injection).

を含むすべての部位で著明に増加しており、4週後にも caudate nucleus を除くすべての部位で増加が認められた。

(5) HVA および DOPAC 含有量の変化

Table 3 にカオリン注入後の脳各部位における DA 代謝物 (HVA および DOPAC) の含有量の変化を示した。

HVA 含有量は、カオリン注入2日後、cerebral cortex および caudate nucleus では対照値の約60%にまで減少し、cerebellum, hypothalamus および pons+medulla ではむしろ増加した。1週後、同じ部位で減少は持続し、cerebellum および pons+medulla で増加がみられた。4週後には、caudate nucleus においてのみ HVA 含有量の減少がみられ、pons+medulla では持続的な増加がみられたが、この時期には mid-

brain でも HVA 含有量の有意な増加が認められた。

脳各部位の DOPAC 含有量は、HVA 含有量の10-20%程度であり、きわめて低値であった。DOPAC 含有量は、カオリン注入2日後、HVA 含有量の変化と同様に cerebral cortex で減少し、pons+medulla で増加した。pons+medulla における DOPAC 含有量の増加は、1週後も持続したが、cerebral cortex では対照値に回復した。4週後、caudate nucleus で DOPAC 含有量の増加がみられたが、HVA と DOPAC 含有量の和は対照群に比べて有意に低かった。

考 察

カオリン懸濁液の大槽内注入は、実験的水頭症を作成する方法としてよく知られている。カオリン大槽内注入により、無菌的髄膜炎および第4脳室からの髄液

Table 3. Changes in homovanillic acid (HVA) and 3,4-dihydroxyphenylacetic acid (DOPAC) contents in kaolin-induced hydrocephalus

Brain regions	Control	after Kaolin Injection		
		2 days	1 week	4 weeks
HVA ($\mu\text{g/g}$ wet tissue)				
Cerebral cortex	0.552 \pm 0.057	0.359 \pm 0.016**	0.404 \pm 0.029*	0.464 \pm 0.036
Cerebellum	0.036 \pm 0.003	0.054 \pm 0.004**	0.052 \pm 0.006+	0.044 \pm 0.004
Caudate nucleus	3.42 \pm 0.14	2.08 \pm 0.19**	1.87 \pm 0.19**	2.56 \pm 0.15*
Thalamus	0.476 \pm 0.072	0.490 \pm 0.041	0.426 \pm 0.033	0.530 \pm 0.060
Hypothalamus	0.547 \pm 0.050	0.745 \pm 0.035**	0.571 \pm 0.043	0.612 \pm 0.059
Midbrain	0.403 \pm 0.035	0.439 \pm 0.039	0.363 \pm 0.016	0.544 \pm 0.035**
Pons+Medulla	0.203 \pm 0.012	0.300 \pm 0.016**	0.270 \pm 0.021+	0.269 \pm 0.022+
DOPAC ($\mu\text{g/g}$ wet tissue)				
Cerebral cortex	0.036 \pm 0.004	0.025 \pm 0.002*	0.039 \pm 0.003	0.047 \pm 0.004
Cerebellum	0.004 \pm 0.000	0.003 \pm 0.000	0.004 \pm 0.000	0.004 \pm 0.000
Caudate nucleus	0.627 \pm 0.049	0.608 \pm 0.074	0.677 \pm 0.079	0.980 \pm 0.082+
Thalamus	0.020 \pm 0.003	0.024 \pm 0.002	0.024 \pm 0.002	0.026 \pm 0.004
Hypothalamus	0.059 \pm 0.008	0.072 \pm 0.004	0.061 \pm 0.004	0.092 \pm 0.017
Midbrain	0.035 \pm 0.003	0.034 \pm 0.004	0.028 \pm 0.002	0.041 \pm 0.004
Pons+Medulla	0.018 \pm 0.001	0.026 \pm 0.002+	0.025 \pm 0.002+	0.020 \pm 0.002

Results are given as means \pm SEM of seven or six (in 4 weeks) animals.

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, significant decrease from each control value.

+ $P < 0.05$, ++ $P < 0.01$, significant increase from each control value.

流出路の閉塞が生じ、その結果水頭症がおこると考えられている^{5, 6, 20}。

我々の研究において、脳室内圧は従来の報告^{6, 16})と同様に变化した。また、脳室は、カオリン注入後、進行性に拡大し、水頭症が生じたことを示した。

カオリン注入後の脳室内圧および脳室径の変化から実験的水頭症を3つの時期にわけることができる、すなわち、急性頭蓋内圧亢進期 (acute intracranial hypertension), 進行期 (progressing hydrocephalus) および完成期 (progressed hydrocephalus) の3時期である。

摂食量および飲水量は、水頭症形成の初期に著明に減少し、4週後には対照値に回復する傾向を示したのに比べ、寡動症および/または歩行障害による“locomotion”の減少は、水頭症形成のすべての時期において著しかった。

頭蓋内圧亢進により、特定部位のNA含有量が著しく減少することが明らかとなった。カオリン注入2日後の急性頭蓋内圧亢進時におけるNA含有量の一過性の減少は、主としてNA性神経終末を含む部位 (cerebellum, hypothalamus), および、NA性神経細胞体と

神経終末を含む部位 (pons+medulla) の両方でみられた。NA含有量の減少は、カオリン注入1週後、脳室内圧が対照値に回復するとともに対照値に回復したが、4週後、脳室内圧の軽度な上昇とともに、pons+medullaのNA含有量が再び減少した。caudate nucleusのNA含有量は少ないが、急性頭蓋内圧亢進期に増加がみられた。これは、caudate nucleusが側脳室に面しており、核内を通過するNA神経線維の軸索流が頭蓋内圧亢進により阻害され、NAが貯留したためかもしれない。NA含有量は、このように頭蓋内圧の変動とともに変化を示したが、DA含有量は、カオリン注入後4週に至るまで変化を示さなかった。

実験的水頭症におけるウサギ脳のカテコールアミン含有量の変化については、Owmanら¹⁶)の報告がある。彼らは、カオリン注入2日後に、大脳および脳幹部においてNA含有量の減少することを報告しており、この結果は我々の結果とよく一致する。しかし、彼らはDA含有量についても、カオリン注入4週後に至るまで持続的に減少することを報告しており、この結果は我々の結果と一致しない。この不一致の原因について

は不明である。

ところで、中枢神経系において、NA の主要代謝物は、3-methoxy-4-hydroxyphenylethyleneglycol (MOPEG) およびその硫酸抱合体 (MOPEG-SO₄) と考えられており^{12, 18, 19, 22)}、他方、DA の主要代謝物は、HVA および DOPAC と考えられている^{4, 8, 18)}。神経組織内のこれらのカテコールアミン代謝物を測定することは、生体内におけるカテコールアミン代謝回転、すなわち、カテコールアミン神経系の機能変化をよく反映するとされている^{9, 22)}。

我々の知るかぎりでは、我々の報告が、ウサギ脳の MOPEG-SO₄、HVA および DOPAC 含有量を定量した最初の報告である (Table 2, 3)。ラット脳では、DOPAC が主要代謝物である⁹⁾が、ウサギ脳では、HVA が主要代謝物であり、しかも、HVA 含有量が DOPAC 含有量に比し、約10倍高いことが明らかとなった。

急性頭蓋内圧亢進時 (カオリン注入2日後) には、脳各部位の MOPEG-SO₄ 含有量から推定すると、NA の神経終末からの NA の遊離は、caudate nucleus を除くすべての部位で増加していると考えられる。また、DA の遊離は、cerebral cortex および caudate nucleus において減少し、cerebellum, hypothalamus および pons+medulla で増加していると考えられる。

脳室の拡大が始まり、脳室内圧が対照値に回復する時期 (カオリン注入1週後; 進行期) には、NA 神経系の機能はすべての部位で著明に亢進していると考えられる。一方、DA 神経系は、cerebral cortex および caudate nucleus で機能低下が持続し、cerebellum および pons+medulla では、逆に機能亢進があるものと思われる。

脳室が著明に拡大し、さらに脳室内圧が再上昇する時期 (カオリン注入4週後; 完成期) にも、NA 神経系は、caudate nucleus を除くすべての部位で機能亢進が持続していると推定される。他方、DA 神経系の機能は、caudate nucleus でのみ明らかに低下しており、midbrain および pons+medulla でむしろ亢進していることが推定される。後二者 (midbrain, pons+medulla) は DA 細胞体を含有する部位であり、これらの部位における DA 代謝物含有量の増加は、DA 神経終末部の機能低下および軸索流阻害などによる細胞体からの DA 遊離の亢進を意味するものかもしれない。

本実験により、カオリン水頭症において、ウサギ脳の部位によりカテコールアミン神経系の機能が選択的

に亢進または低下していることが明らかとなった。

これらの実験結果は、今後、水頭症治療においてシャント術の他、L-DOPA 投与の効果、さらに NA 神経系機能のみを選択的に低下させる薬物、NA 受容体拮抗剤投与の効果を期待させるものであり、また、実験的水頭症において、これらの治療効果を検討または向上させるための有用な基礎データになるものと思われる。

ま と め

水頭症におけるカテコールアミン神経系の機能を明らかにする目的で、ウサギにカオリン水頭症を作成し、その経過にそって脳各部位における NA、DA およびその代謝物として MOPEG-SO₄、HVA および DOPAC 含有量を測定し (2日後, 1週後, 4週後)、次の結論を得た。

- (1) 脳室内圧は、カオリン注入2日後に急上昇し、1週後に対照値に回復し、4週後に再上昇した。脳室は、1週以後に拡大した。
- (2) NA 含有量は cerebellum (2日後)、hypothalamus (2日後)、pons+medulla (2日後, 4週後) で減少したが、DA 含有量は不変であった。
- (3) MOPEG-SO₄ 含有量は、カオリン注入4週後に至るまで、caudate nucleus を除くすべての部位で増加した。
- (4) HVA 含有量は、caudate nucleus (2日後, 1週後, 4週後) および cerebral cortex (2日後, 1週後) で減少し、hypothalamus (2日後)、cerebellum (2日後, 1週後)、pons+medulla (2日後, 1週後, 4週後) および midbrain (4週後) で増加した。

これらの結果より、カオリン水頭症においては、カテコールアミン神経系は、水頭症進行に従い、特定部位で選択的に機能亢進または低下状態になることが示唆された。

稿を終るにあたり、懇篤な御指導と御校閲を賜りました京都大学脳神経外科学教室半田 肇教授に深甚なる感謝の意を表します。また、御鞭撻を頂いた京都大学医学部薬理学教室第2講座高折修二教授、稲垣千代子講師、藤原元和助手に深く感謝の意を表します。

参 考 文 献

- 1) Adams RD, Fisher CM. et al: Symptomatic occult hydrocephalus with "normal" cerebrospinal fluid pressure. A treatable syndrome. *N Engl J Med* **273**: 117-126, 1965.

- 2) Andersson H, Roos B-E: Acidic monoamine metabolites in cerebrospinal fluid of children with hydrocephalus. *Acta Neurol Scand* 41 [Suppl] 13: 149-151, 1965.
- 3) Bareggi SR, Porta M, et al: Monoamine acid metabolites in ventricular CSF of patients with brain tumors. *Acta Neurochir* 35: 161-170, 1976.
- 4) Cross AJ, Joseph MH: The concurrent estimation of the major monoamine metabolites in human and non-human primate brain by HPLC with fluorescence and electrochemical detection. *Life Sci* 28: 499-505, 1981.
- 5) DeFeo DR, Myers P, et al: Histological examination of kaolin-induced hydrocephalus. Its implications in the therapy of animals with experimentally induced hydrocephalus. *J Neurosurg* 50: 70-74, 1979.
- 6) Edvinsson L, West KA: Relation between intracranial pressure and ventricular size at various stages of experimental hydrocephalus. *Acta Neurol Scand* 47: 451-457, 1971.
- 7) Fisher CM: The clinical picture in occult hydrocephalus. In *Clinical Neurosurgery* edited by Keener EB, Brown WE, et al. Baltimore, The Williams & Wilkins Company, 1977, vol 24, pp. 270-284.
- 8) Hefti F: A simple, sensitive method for measuring 3,4-dihydroxyphenylacetic acid and homovanillic acid in rat brain tissue using high-performance liquid chromatography with electrochemical detection. *Life Sci* 25: 775-782, 1979.
- 9) Hefti, F Melamed E, et al: Partial lesions of the dopaminergic nigrostriatal system in rat brain: Biochemical characterization. *Brain Res* 195: 123-137, 1980.
- 10) Hornykiewicz O: Brain dopamine in Parkinson's disease and other neurological disturbances. In *The Neurobiology of Dopamine* edited by Horn AS, Korf J, et al. London, Academic Press, 1979, pp. 633-654.
- 11) Inagawa T, Ishikawa S, et al: Homovanillic acid and 5-hydroxyindoleacetic acid in the ventricular CSF of comatose patients with obstructive hydrocephalus. *J Neurosurg* 52: 635-641, 1980.
- 12) Karoum F, Neff NH, et al: Distribution and turnover rate of vanillylmandelic acid and 3-methoxy-4-hydroxyphenylglycol in rat brain. *J Neurochem* 27: 33-35, 1976.
- 13) Kohno Y, Matsuo K, et al: Simultaneous determination of noradrenaline and 3-methoxy-4-hydroxyphenylethyleneglycol sulfate in discrete brain regions of the rat. *Anal Biochem* 97: 352-358, 1979.
- 14) Meek JL, Neff NH: Fluorometric estimation of 4-hydroxy-3-methoxyphenylethyleneglycol sulfate in brain. *Br J Pharmacol* 45: 435-441, 1972.
- 15) Owman C, West KA: Effect of superior cervical sympathectomy on experimentally induced intracranial hypertension. *Brain Res* 18: 469-476, 1970.
- 16) Owman C, Rosengren E, et al: Influence of various intracranial pressure levels on the concentration of certain arylethylamines in rabbit brain. *Experientia* 27: 1036-1037, 1971.
- 17) Refshauge C, Kissinger PT, et al: New high performance liquid chromatographic analysis of brain catecholamines. *Life Sci* 14: 311-322, 1974.
- 18) Rutledge CO, Jonason J: Metabolic pathways of dopamine and norepinephrine in rabbit brain in vitro. *J Pharmacol Exp Ther* 157: 493-502, 1967.
- 19) Schanberg SM, Breese GR, et al: 3-Methoxy-4-hydroxyphenylglycol sulfate in brain and cerebrospinal fluid. *Biochem Pharmacol* 17: 2006-2008, 1968.
- 20) Schurr PH, McLaurin RL, et al: Experimental studies on the circulation of the cerebrospinal fluid. *J Neurosurg* 10: 515-525, 1953.
- 21) Sybert GW, Leffman H, et al: Occult normal pressure hydrocephalus manifested by parkinsonism-dementia complex. *Neurology* 23: 234-238, 1973.
- 22) Walter DS, Eccleston D: Increase of noradrenaline metabolism following electrical stimulation of the locus coeruleus in the rat. *J Neurochem* 21: 281-289, 1973.