ラット凍結脳損傷モデルによる脳浮腫の研究

特に組織・生化学的变化について

小川 武希

Pathological and Biochemical Studies of Unilateral Cold Induced Brain Edema in the Rat

Takeki OGAWA

Department of Neurosurgery, Jikei University, Tokyo

Abstract

This study was carried out to clarify the biochemical changes in the cold injured brain and their relationship to pathological changes. The cold lesion was produced by application of a cryoprobe containing liquid nitrogen to the exposed left temporal surface for 1 minute in rats anesthetized with a halothane and oxygen gas mixture. The brain edema developed by this procedure was localized in one hemisphere. The animals were guillotined at scheduled times after the cold injury. The brains were rapidly removed and divided exactly between the two hemispheres. Changes in specific gravity of the brain tissue were measured by the dry-weight method until 4 weeks after the injury. Hematoxylin-eosin and Klüver-Barrera stains were applied to pathological specimens. Free amino acid and uric acid levels were measured chronologically by using Iriyama's method. Catecholamine levels were analyzed by using high-performance liquid chromatography with electrochemical detection. Water content in the injured hemisphere reached a peak level at 12 hours after the injury, then decreased gradually, and entered the normal range at 1 week after the injury. This results was similar to the previous report. Multiple small hemorrhagic lesions were disclosed 2 hours after the injury. This suggests that a mechanism similar to hemorrhagic infarction might play a role in the development of cold injury. Essential amino acids were increased in the injured hemisphere, while those in the contralateral side remained within normal ranges. This result suggests that, in the injured hemisphere, there was not only nonutilization of the essential amino acids but also disturbance of the blood brain barrier, and that the aerobic glycolytic pathway was maintained normally in the contralateral hemisphere. Norepinephrine and dopamine were lowered, while tyrosine was increased in the early stage of cold injury. This suggests impairment of the catecholamine synthesis followed by nonutilization of catecholamine precursors. Uric acid level was increased immediately after the injury, especially on the injured side, and lowered to near baseline level at 4 weeks after the insult. Although biosynthesis of uric acid in the brain is not fully understood, it seems to be a fine parameter of brain damage.

Key words: cold injury, amino acid, brain edema

東京慈恵会医科大学脳神経外科

Address reprint requests to: T. Ogawa, M.D., Division of Neurosurgery, St. Marianna University Yokohama City Seibu Hospital, 1,197-1 Yasashi-cho, Asahi-ku, Yokohama 241.

受稿 1985年2月22日 受理 1986年5月12日

I はじめに

脳外傷に伴う脳浮腫の組織・生化学的研究は、近年急速に進歩した領域である。そのなかで凍結脳損傷モデルは、いわゆる vasogenic edema を伴う外傷脳の実験モデルとして、Klatzo ら¹⁵⁾を中心に詳細に検討され報告されてきた。一方において、脳浮腫はたとえ原病巣が局所的なもので、広汎な影響を神経管内全体に及ぼすことが知られてきた。特に一側半球に病巣が生じた際に、遠隔の対側半球あるいは小脳半球にもその影響が及ぶことが報告されている¹⁴⁾。外傷脳においても脳循環、頭蓋内圧のみならず、損傷対側脳の組織・生化学的变化も含めて検討されるべきと思われる。脳内遊離アミノ酸は、その一部が神経伝達物質として作用し、かつ蛋白構成要素として特に注目されている。また、尿酸はヒトではプリン体の最終代謝産物であり、核酸の turn over、および細胞障害の程度を示すパラメーターと考えられる。近年、各脳疾患における脳脊髄液中の尿酸濃度の報告も散見される²⁶⁾が、その本態に関しては推測の域を出ていない。特に、これまで脳浮腫時の脳内尿酸に関する報告はみあたらない。

今回我々は、一側大脳半球に限局する凍結脳損傷モデルを作製して組織学的検討を加え、脳内遊離アミノ酸、脳内カテコラミン、脳内尿酸の経時的検索を両側大脳半球において行い、若干の知見を得たので報告する。

II 実験方法および検索対象

Sprague-Dawley 系成長雄ラット(7~9週、平均体重245g)を用いた。O₂ 4 l/min、1.5%ハロセン麻酔下、自発呼吸の状態左側頭筋を切開し、20 mlの液化窒素を内容とする直径6 mmの金属製のcryoprobeを側頭骨に1分間密着させたのち、筋膜と皮膚を縫合した。一定時間(0.5・1・2・4・6・12・24・48・72時間、1・2・4週)後に断頭

屠殺した。この間、飲水摂食は自由とした(日本クレアー社製CE 2[®]にて飼育)。断頭処置は14時から16時の間に施行し、標本摘出の平均所要時間は約2分間で、右半球、左半球の順で試料を作製した。壊死組織が硬膜に付着していた例は対象から除外した。また、生化学的事項の測定の際、脳表に付着する血液は生理的食塩水を用い可及的に洗滌した。対象とした資料項目は、次の通りである。①病理組織学的資料：生理的食塩水およびホルマリンにて灌流固定後、hematoxylin-eosin 染色、Klüver-Barrera 染色にて各時間につきおのおの3匹ずつ検討した。また一部では、Evans-blue 液の静脈内投与により病巣の拡がりを検討した。②脳内水分含量：湿乾燥重量法³⁾により、中脳より吻側の大脳を両半球に分割し、各時間につき5匹を用い、各大脳半球で計測した。③神経生化学的資料：日立製自動アミノ酸分析器を用いて、脳内遊離アミノ酸を高速液体クロマトグラフィーを用いる Iriyama らの方法^{7,9)}により、脳内カテコラミン、脳内尿酸を②と同様に各時間ごとに5匹の各大脳半球別に測定した。

III 結 果

麻酔からの覚醒には平均10分間を要した。覚醒前には、一側性の間代性痙攣、一過性の跳躍を示す例もあった。覚醒後は通常の行動を示し、摂食行為などにも変化は認められず、また頭皮を含め感染合併症はなかった。

1. 肉眼的変化 (Fig. 1)

2時間で病巣内に散在性の小出血巣を認めた。6時間で傷害側半球は最大の膨化を示し、病巣は基底核にも及んだ。1週間で病巣はいわゆる瘢痕組織となり、周囲への影響は少なくなっていた。

2. 組織学的変化 (Fig. 2)

損傷後30分では毛細血管は拡張・蛇行し、血管内には血液成分の sludging が認められ、血管内皮細胞は膨化傾向

Fig. 1 Coronal section of the rat brain. Klüver-Barrera stain, $\times 3.2$. A: Two hours after the insult. Small petechiae are seen in the injured hemisphere. B: Six hours after the insult. Injured hemisphere including the basal ganglia is prominently swollen. C: One week after the insult. The lesion where the cryoprobe was attached is shrunken and localized.

Fig 2 Microscopic findings HE stain. A: Thirty minutes after the insult A thin subdural hematoma and some enlarged vessels are observed Erythrocyte plugging and stagnation are seen in these vessels. $\times 16$ B: Two hours after the insult Multiple small petechiae are seen in the lesion cortex $\times 16$ C: Six hours after the insult The progression of brain edema is shown in the contralateral corpus callosum and an extension of axonal splitting due to bulk flow is disclosed. $\times 40$ D: Forty eight hours after the insult. Lymphocytic infiltration suggesting initial stage of gliosis is observed $\times 44$. E: One week after the insult. No evidence of brain edema is observed and the lesion is replaced by granulation tissue $\times 16$

にあった。2時間で皮質内に多発性の小出血巣が認められ、出血巣の中心に拡張した血管が確認される部位もみられた。6時間でいわゆる脳浮腫は増大し、脳梁には bulk flow による splitting が認められ、これは正中を越え対側の脳梁にも及んでいた。48時間後、脳浮腫の辺縁部にクロマチンに富み円形の核を有するリンパ球と考えられる細胞が認められ、gliosis の初期像を示していた。また、灰白質は

広汎な spongy state を示した。1週間で脳浮腫は解除の傾向を示し、gliosis は傷害部位に局限していた。全経過中、対側半球には脳梁の splitting 以外に変化を認めなかった。

3. 脳内水分含量の経時的変化

Elliot & Jaspers の方法³⁾による脳内水分含量の経時的変化を Fig. 3 に示す。傷害側半球では、4時間より著しく増加して12時間で最高値($81.0 \pm 0.2\%$ SD)を示し、72時間以

Fig. 3 Chronological changes of water content in the brain are shown. Maximum increase of water content in the injured hemisphere is disclosed at 12 hours after the insult, while minimal changes are seen in the contralateral hemisphere. Each point represents the mean value. The vertical bars indicate standard deviations.

降に減少し、1週目では左右差は認められなかった。対側半球では、24時間で漸増を示す(78.8%)が、増加量は損傷前(77.4%)の1.4%以内の変化にとどまっていた。

4. 脳内遊離アミノ酸の経時的変化

測定しえた39種のアミノ酸のうち、検討対象となったものは20種であった。基礎実験でのシャムオベレーション群(8匹16半球)のコントロール値は、概ね標準値を示していた。これらのアミノ酸を便宜的に4群に大別した。すなわち、①必須アミノ酸群：ロイシン、イソロイシン、フェニ

ルアラニン、リジン、ヴァリン、メチオニン、②TCA回路に関連するアミノ酸の中でカルボキシル基を1個有するアミノ酸群： γ -アミノ酪酸(GABA)、グリシン、タウリン、アラニン、③TCA回路に関連するアミノ酸の中でカルボキシル基を2個有するアミノ酸群：グルタミン酸、グルタミン、アスパラギン酸、④尿素回路に関連するアミノ酸群：シトルリン、アルギニン、オルニチン、と分類した。まず、①群で傷害側・対側半球を比較した場合、急性期2時間で両側ともに低下を示すもの(リジン)、急性期に両側ともに増加傾向を示すもの(メチオニン)があるが、総じて傷害側で高く、対側値に対し百分率で示すと2時間と48時間で2峰性の高値を示しており、安定化は傷害後1週以降に認められた(Fig. 4)。②群の絶対値および対側半球に対する傷害側半球の相対的变化をみると、GABAは急性期2時間値のみが一過性に両側ともに傷害前値を示すが(傷害側半球： $3,600 \pm 40$ nmol/g、対側半球： $3,540 \pm 40$ nmol/g)、その他は両側ともに低値で、回復は4週以降に認められた(Fig. 5)。また、全経過を通じて傷害側でより低値の傾向を示していた。グリシンも2時間で一時的に傷害前と同様の値を示したが、両側ともに低値でその差は少なく、4週後に回復した。タウリンは、急性期30分後に傷害側で低値を示し1週で回復したが、対側ではほとんど変化が認められなかった。アラニンは傷害側で急性期に増加傾向を示すが、72時間でほぼ左右差はなくなった。③群では、グルタミン酸およびアスパラギン酸は対側では変化が少ないが、傷害側では急性期30分後から低値を示し、回復には1週間を要した。グルタミンは、急性期30分後には両側とも低下し1週間で回復傾向を示したが、全経過を通して傷害側でより低値であった(Fig. 6)。最後に、④群はば

Fig. 4 Absolute values of essential amino acids are increased in the injured hemisphere (left), while no significant changes in essential amino acid levels are observed in the contralateral hemisphere (center). Percent ratios of essential amino acids levels between injured and contralateral hemispheres show increases at 2 and 48 hours after the insult. These are statistically significant (right). ●: lysine, △: valine, ▲: leucine, ★: isoleucine, ○: methionine. Each point represents the mean value. The vertical bars indicate standard deviations.

Fig. 5 Changes in absolute values of monocarboxylic acid group in tricarboxylic acid (TCA) cycle-related amino acids are shown. Gamma-amino butyric acid (GABA) and glycine levels are lowered after the insult except at 2 hours (*left*). No significant changes of taurine and alanine levels are revealed in the contralateral hemisphere (*center*). Changes in ratios of monocarboxylic acid group in TCA cycle related amino acids between injured and contralateral hemispheres are illustrated (*right*). Ratios of alanine and glycine levels are increased. On the contrary, ratios of GABA and taurine levels are decreased. All of them become normal 1 week after the insult. $\square$: taurine, $\bullet$: GABA, $\blacktriangle$: glycine, $\star$: alanine.

Fig. 6 Changes in absolute values of dicarboxylic acid group in TCA cycle-related amino acid are shown. All amino acids of this group are lowered in the injured hemisphere (*left*). Glutamine level of the contralateral side is decreased after the insult (*center*). The ratios of dicarboxylic group in TCA cycle-related amino acids between injured and contralateral hemispheres are all lowered but tend to recover gradually within 1 week after the insult (*right*). $\blacksquare$: glutamate, ∇ : asparagine, $\square$: glutamine.

Fig. 7 Changes in absolute values of urea cycle-related amino acids are shown in the injury (*left*) and contralateral (*center*) hemispheres, and changes in ratios of urea cycle-related amino acids between injured and contralateral hemispheres are illustrated (*right*). A tendency to gradually recover within 1 week after the insult can be seen. $\ast$: undetected, $\star$: arginine, $\circ$: citrullin, $\bullet$: ornithine.

Fig. 8 Chronological changes in catecholamines and their precursors are shown, as well as changes in absolute values of catecholamines and their precursors. Dopamine and norepinephrine levels are decreased, while tyrosine and phenylalanine levels are increased. These changes show a tendency to recover within 1 week after the insult in the injured (*left*) and contralateral (*center*) hemispheres. Changes in ratios of catecholamines and their precursors between injured and contralateral hemispheres are shown (*right*). △: norepinephrine, ▲: dopamine, ●: tyrosine, ○: phenylalanine.

Fig. 9 Chronological changes in uric acid. Changes in absolute values of uric acid (*upper*), and changes in ratios of uric acid between injured and contralateral hemispheres are shown (*lower*). Uric acid level is increased in the injured hemisphere immediately after the insult, but this is normalized by 2 weeks after the insult. Each point indicates the mean value and the vertical bars represent standard deviations.

らつきが多いが、対側半球の変化は少なく、48時間で左右差は減少した (Fig. 7).

5. カテコラミンおよびカテコラミン前駆物質の経時的変化

ノルエピネフリン、ドーパミン、チロシン、フェニルアラニンの絶対値の変化、対側半球値に対する傷害側半球値の相対的变化につき検討を行った (Fig. 8). 絶対値の変化は、4種のアミノ酸ともに両側で変化が著しかった。相対的变化では、チロシン、フェニルアラニンは傷害側でより増加しているが、ドーパミン、ノルエピネフリンは減少していた。

6. 脳内尿酸値の経時的変化

7週および31週の正常S-D系ラット (各8匹) の脳内尿酸値は、7週で 16 ± 2 nmol/g, 31週で 31 ± 5 nmol/g である。傷害後の両側半球の絶対値の経時的変化および対側半球値に対する傷害側半球値の相対的变化をみると、絶対値の変化では1時間目および48時間目に正常の5倍に増加していた。また、対側半球でも1.5~2倍に増加したが、2週目には傷害前値に回復した。相対的变化では、1時間目および72時間に150~190%に増加した (Fig. 9)。なお、損傷作製後の体重増加は、非損傷群との間に有意な変化は認められなかった。

IV 考 察

脳浮腫は種々の頭蓋内外疾患によりもたらされる病態であるが、外傷性、特に脳外傷による脳浮腫の本態に関しては未解決の事象が多い²⁵⁾。頭部外傷の実験モデルとしては、その目的に応じてこれまで多数の検討、報告がある^{25,28)}。そのうち、硬膜外腔へのバルーン挿入法は硬膜外

血腫モデル⁵⁾として、凍結損傷法は脳挫傷を伴う硬膜下血腫モデルとして、これまで広く検討されている。凍結という特殊な環境下では、必然的に限定された結論が予想されるが、再現性に関しては信頼性が高い。このため、今回我々は脳挫傷に伴う脳浮腫モデルとしてラット凍結損傷モデルを用いた。

1. 損傷の検討

Cryoprobeの容量を、本実験におけるごとく一定とした場合、脳に生じる損傷の大きさとしては1分間の接触が目的とする optimal injury にもっとも近いと考えられた。本モデル作製は、手技が容易であること、頭蓋腔を開放せず行うことができること、したがって曝気による感染や脳浮腫の発生がないこと、開頭操作による損傷がなく凍結損傷作製後の自然経過をより正確に観察できるなどの利点がある。また、損傷が一側半球に限局するため、半球間の変化の検討にも適当と考えられる。さらに、ハロセン麻酔は呼吸抑制が少なく血液ガスが一定に保たれ、覚醒も早く急性期の検討に有利である。

2. 病理

特徴的な所見は、Fig. 1, 2に示されるように30分から1時間後における血液のうっ滞像と、2時間後における多発性の小出血巣である。6時間から48時間にかけて脳浮腫は進行し、48時間後ではいわゆる phagocyte の出現をみる。神経細胞の膨化像は、不完全脳虚血時の組織像と類似している^{10,17)}。凍結によるうっ血が、続発する充血により出血をもたらしたと考えられ、虚血脳における循環の再開通に伴う出血性梗塞と同様の機序が示唆される。

3. 脳内水分含量の測定

脳浮腫の定義は、その本態が複雑なため諸家の意見があり統一されていない⁶⁾。また、Klatzoら¹⁵⁾が提唱した vasogenic edema, cytotoxic edema の分類も概念的には理解しやすいが、実際には両者は混在していると考えられる。しかし、凍結損傷モデルはこれまで vasogenic edema のモデルとして詳細に検討されているため、血管内皮細胞の障害に伴う脳浮腫モデルとして捉えることとし、脳内水分含量の増加を広く脳浮腫として考えた。血管外細胞外腔の拡大が vasogenic edema の本態と考えられるが、ラット脳では他臓器に比し脳の細胞外腔はかなり小さく約14%と考えられている²⁷⁾。また、Segawaら²³⁾によると、凍結損傷による vasogenic edema の浮腫液の主因は、血小板凝集に伴う損傷血管内の血栓化によるとされる。しかし、凍結損傷での細胞障害は血管内皮細胞のみにとどまらず、他細胞への影響も当然考えられる。したがって、凍結による血栓化が経時的な血流再開により漏出性の出血をもたらす脳浮腫がさらに進行するという過程以外にも、cytotoxic な因子

が加わっている可能性も否定できないことは前述した。

脳内水分含量の測定にはMRI法、specific gravity法、tissue weight法など^{18,21)}があるが、本実験の対象は約0.6gのラット脳半球であるため、簡潔で正確な湿乾燥重量法を用いた。一般に、脳浮腫はその原因にかかわらず白質を中心に発生するが、ラットでは白質が全体に占める比率は少なく、また灰白質部分の単位神経細胞数量もヒトに比し少ないことが特徴とされ、灰白質の浮腫としての報告もある²⁾。このため、本実験では白質と灰白質を分離せず各大脳半球を脳浮腫の対象とした。また、陳旧期のいわゆる肉芽組織を除去せず、脳内血液についても処理を加えなかった。今回の検討において、脳内水分含量は4時間後から急激に増加し、12時間後で最大となり、72時間以降に寛解傾向を示したが、この結果はこれまでの報告¹⁶⁾と同様であった。

4. 脳浮腫におけるアミノ酸代謝

脳浮腫におけるエネルギー代謝障害は、これまでミトコンドリアを中心に多くの報告がなされている^{8,13)}。脳浮腫による細胞膜の障害がミトコンドリアの機能を低下させるが、逆にその数は増加するとの報告もある¹²⁾。また、もう一方の蛋白合成の場であるマイクロソームの蛋白合成能は抑制されている。川上ら¹³⁾は、neuron と glia の蛋白合成能を比較し、通常では neuron のほうがアミノ酸の取り込みが高いため、脳浮腫時には蛋白合成が neuron においてより抑制されると述べている。また、gliosis の組織活性は正常組織と同様であるが、アミノ酸ではグリシンの増加があると報告されている²⁴⁾。脳のアミノ酸は、他組織と同様に蛋白質の前駆体、核酸およびヌクレオチドの前駆体、エネルギー代謝の基質として役立っているほかに、それ自身あるいはその代謝物質が神経伝達物質として作用すること、脳固有のアミノ酸の存在などが特徴として挙げられる¹⁰⁾。血液から脳へのアミノ酸の移行は他の臓器に比べかなり制限されているが、必須アミノ酸は血流により供給されている。一般に、必須アミノ酸はブドウ糖とほぼ同じ速さで脳内に取り込まれ、スレオニンを除く必須アミノ酸は血液脳関門の通過性が高い²²⁾ために、必須アミノ酸の動向は血液脳関門障害の良い指標となりうる。したがって、本実験で測定した必須アミノ酸のすべてが傷害側半球で増加している事実は、マイクロソームでの蛋白合成障害以外に血液脳関門の破綻を考慮する必要がある。GABA の前駆体であるグルタミン酸は傷害側でのみ低下しているが、GABA は2時間で一時増加する以外に全体で低下している。また、グルタミン酸は脳内でのアンモニア解毒の一役を担い、1分子のアンモニアを受け取りグルタミンとなる。このグルタミンも GABA 同様に両側で低下している

ことから、両者の合成酵素活性の低下が示唆される。GABA およびグルタミン酸はいわゆる抑制性神経伝達物質であるが、両者の傾向の差異は興味深い。

尿素回路に参与するアミノ酸はアルギニン、シトルリン、オルニチン、アスパラギン酸、グルタミン酸などである。尿素回路が全体として1分子の尿素形成のためには、4つのATPが利用される。しかし、脳における尿素回路の意義は少ないとされ、主に肝臓での代謝機構が問題となる²⁰⁾。本実験でも、急性期の傷害側オルニチン値の増加が確認されたことにとどまる。ピルビン酸から生成されるアラニンは、傷害側で増加するが対側では変動が少ない。アラニンから合成されるグリシンは、2時間値を除き両側で低下するが、特に傷害側でその傾向が強い。アラニンの傷害側での増加はTCA回路への利用障害を示唆し、対側で一定していることから対側半球では好氣的解糖系が比較的安定していることが推測された。また、抑制系神経伝達物質であるグリシンやタウリンの傷害側での低下は興味深い。このようなアミノ酸濃度の多様な変化に関しては、metabolic compartmentationの仮説¹⁾を応用し説明されると思われる。すなわち、代謝経路の中間に2種類以上の代謝プールがあり、ミトコンドリアではエネルギー産生に関与する系と物質の合成に関与する他の系があり、たとえばグルタミン酸では後者の系がグルタミン合成に関与していると考えられている。したがって、損傷の程度によりおのおののアミノ酸の合成過程がばらつくと考えられる¹⁴⁾。特に、神経伝達物質に関しては対側半球への影響が強く、循環障害以外のtransaxonal pathwayの障害が示唆される。

カテコラミンは変動が大きく絶対値としては評価しにくい⁶⁾が、相対的变化ではチロシンやフェニルアラニンなどのカテコラミン前駆物質は増加傾向にある。一方、ドーパミン、ノルエピネフリンは減少している。この傾向は1週間続いており、カテコラミンの合成障害が示唆される。

5. 脳内尿酸の変化

これまで、脳内尿酸に関する報告はきわめて少ない。一般に、脳には尿酸合成の最後の段階を調節するキサンチンオキシダーゼは存在せず、したがって脳内で尿酸の生合成は行われないとされている。ラットは尿素排泄型動物であり、プリン体の終末代謝産物は尿酸が酸化酵素により生じるアラントインであり、尿素とともに尿中へ排泄される²⁰⁾。しかし、ラットでも尿素排泄の主舞台は肝臓であり、脳内の尿酸形成に関しては不明な点が多い。髄液中の尿酸濃度に関しては、脳腫瘍など種々の疾患において報告されている。髄液中の尿酸の由来に関しては、血液髄液関門の崩壊、血管内皮細胞の膜透過性の亢進、神経細胞の崩壊、核酸代謝のturn overの亢進などの推論がある。また、加齢

により髄液中尿酸値や血中尿酸値の増加を示す傾向があり、本実験でも31週ラットは7週ラットの1.5倍値を示し、その傾向が窺われた。損傷側では脳内尿酸値は30分後より急激な増加を示し、その傾向は72時間以上続き、4週目に損傷前値に近づく。対側半球でも著明に増加し、尿酸が非常に敏感な脳病変のパラメーターとなりうることを示唆される。Folbergrovaら⁴⁾によると、スクレオチドの最終産物は急性脳虚血では急速に増加するが、一般的な脳血管障害では徐々に増加すると述べ、後者では進行する脳浮腫が関与するためであるとしている。本実験では脳浮腫が進行する前の段階から上昇しており、組織所見からも急性期には血栓化による脳虚血の機序が関与し¹⁴⁾、さらに随発する脳浮腫が尿酸値を増幅すると考えられる¹⁹⁾。また、必須アミノ酸群で変動の多かった2時間値は上昇しておらず、血液脳関門の崩壊が即座に高尿酸値に結びつくとは考えにくい。なお、72時間後での高値は脳浮腫の修復機序との関連が注目され、今後の検討を要する。

V ま と め

S-D系成長雄ラットを用い、一側大脳半球に局限する凍結損傷による脳浮腫モデルを作製し、組織学的・生化学的に検討した。

1. 脳浮腫は、傷害側大脳半球において12時間後に最大となり、1週間で自然寛解した。対側半球には著変を認めなかった。また、損傷後2時間で傷害側皮質内に特徴的な多発性の小出血を認めた。

2. 傷害側と非傷害側大脳半球に分割し、脳内遊離アミノ酸、カテコラミン、尿酸につき検索した。脳血流に依存する必須アミノ酸群は傷害側で増加し、対側では変化がなかった。一方、TCA回路に関連の深いアミノ酸群は両側ともに減少し、神経性伝達物質であるGABAやグルタミン酸も両側ともに減少していた。カテコラミンはばらつきが多かったが、その前駆体は増加していた。尿酸値は、急性期から両側ともに著明な増加を示した。

3. 組織学的には重大な変化を認めない対側半球においても、生化学的には著しい変動が生じていることより、臨床予後の悪い「脳挫傷」の及ぼす頭蓋内環境への甚大な影響が示唆された。

稿を終えるにあたり、御指導・御校閲を賜りました東京慈恵会医科大学脳神経外科 中村紀夫 教授に深甚の謝意を捧げます。また、組織学的所見につき御教示頂きました大森赤十字病院病理中島利子 先生に感謝致します。

本論文の要旨は、第7回日本神経外傷研究会(1984年2月、大阪)、および第43回日本脳神経外科学会総会(1984年10月、千葉)

において発表した。

文 献

- 1) Berl S, Clarke DD: Compartmentation of amino acid metabolism, in Lajtha A (ed): *Handbook of Neurochemistry, vol II*. New York, Plenum, 1969, pp 447-492
- 2) Bremer AM, West CR, Yamada K: Alterations in the distribution of water, sodium, potassium, and chloride in brain during the evolution of ischemic cerebral edema. *Neurosurgery* 3: 187-195, 1978
- 3) Elliot KAC, Jaspers H: Measurement of experimentally induced brain swelling and shrinkage. *Amer J Physiol* 157: 122-129, 1949
- 4) Folbergorova J, Ljunggren B, Norberg K, Siesjö BK: Influence of complete ischemia on glycolytic metabolites, citric acid cycle intermediates, and associated amino acid in the rat cerebral cortex. *Brain Res* 80: 265-279, 1974
- 5) Hayes RL, Kulkarni P, Galinat BJ, Becker DP: Evidence for the release of endogenous opiate substances after experimental closed head injury, in Grossman RG, Gildenberg PL (eds): *Seminars in Neurological Surgery*. New York, Raven, 1982, pp 179-188
- 6) Ignelzi RJ: Cerebral edema. *Neurosurgery* 4: 338-342, 1979
- 7) Iriyama K, Yoshiura M, Iwamoto T: Determination of catecholamines in rat tissues by high-performance liquid chromatography with electrochemical detection. *Jikeikai Med J* 30: 35-43, 1983
- 8) 石井昌一, 富沢仁昭: 脳浮腫の治療. 外科治療 20: 680-687, 1969
- 9) Iwamoto T, Yoshiura M, Iriyama K: Uric acid determination-reversed-phase liquid chromatography with electrochemical detection. *Jikeikai Med J* 30: 177-183, 1983
- 10) 柿本泰男, 三宅正治: 脳神経系の代謝と機能(Ⅳ) —神経系の蛋白 a) アミノ酸およびペプチド—. 代謝 11: 1853-1864, 1974
- 11) Kaneko D, Nakamura N, Ogawa T: Cerebral infarction in rats using homologous blood emboli: Development of a new experimental model. *Stroke* 16: 76-84, 1985
- 12) 川上千之: 脳浮腫における蛋白代謝. 脳と神 29: 443-451, 1977
- 13) 川上千之, 小林啓志, Hossman KA, Kleihues P: 脳虚血後の回復に関する研究 —時間完全虚血および再循環脳における脳内遊離アミノ酸レベル—. 脳と神 30: 189-196, 1978
- 14) Kempinsky WH, Boniface WR, Kreating JBA, Morgan PP: Serial hemodynamic study of cerebral infarction in man. *Circ Res* 9: 1051-1058, 1961
- 15) Klatzo I, Chui E, Fujiwara K, Spatz M: Resolution of vasogenic brain edema. *Adv Neurol* 28: 359-373, 1980
- 16) 上藤玄恵: 実験的脳軟化巣における脳内 macrophages の起源と gliosis の形成機序に関する電顕的および酵素組織学的研究. 東邦医会誌 22: 152-173, 1975
- 17) Lajtha AL, Maker HS, Clarke DD: Metabolism and transport of carbohydrates and amino acids, in Siegel GJ, Albers RW, Agranoff BW, Katzman R (eds): *Basic Neurochemistry, ed 3*. Boston, Little Brown, 1981, pp 344-348
- 18) Marmarou A, Poll W, Shulman K, Bhagavan H: A simple gravimetric technique for measurement of cerebral edema. *J Neurosurg* 49: 530-537, 1978
- 19) McCord JM: Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. *N Engl J Med* 312: 159-163, 1985
- 20) 永井克也, 中川八郎: 蛋白質・アミノ酸代謝研究法 —5) アンモニア代謝と尿素形成—. 代謝 14: 1135-1218, 1977
- 21) 成瀬昭二, 堀川義治, 田中忠蔵, 平川公義, 西川弘恭, 吉崎和男: 核磁気共鳴法(NMR)による脳浮腫の研究 —¹H 緩和時間の経時的変化—. 脳と神 33: 567-575, 1981
- 22) Oldendorf WH, Szabo J: Amino acid assignment to one of three blood-brain barrier amino acid carriers. *Am J Physiol* 230: 94-98, 1976
- 23) Segawa H, Patterson RH: Role of platelets in vasogenic brain edema. *Arch Neurol* 38: 265-270, 1981
- 24) 柴田家門, 鮫島寛次, 佐藤克之, 松元幹郎, 高須信美, 長沢貞継, 清水義勝, 岩崎恵美子: 外傷脳に発生するグリオース組織の神経化学的研究. 東邦医会誌 24: 150-153, 1977
- 25) 柴田尚武, 井上 優, 堤 健二, 森 和夫, Pappius HM: 外傷性脳浮腫と局所脳代謝 —ステロイドの効果について—. 神経外傷 5: 1-7, 1982
- 26) 上田 泰, 米沢 博, 内藤裕郎, 細谷龍男, 永田壮一: 髄液中の尿酸濃度に関する研究. 尿酸 2: 65-71, 1978
- 27) Woodward DL, Reed DJ, Woodbury DM: Extracellular space of rat cerebral cortex. *Am J Physiol* 212: 367-370, 1967
- 28) 山口三千夫: 各種脳浮腫実験モデルにおける脳水分量変化の検討. 第6回脳浮腫研究会報告集. 1984, pp 60-67

[別刷請求先: 〒241 横浜市旭区矢指町1, 197-1, 聖マリアンナ医科大学横浜市西部病院脳神経外科, 小川武希]