

6-Aminonicotinamide 투여 후 햄스터 척수 중심관의 형태변화

양영철 · 조병필 · 강호석 · 박인국*
연세대학교 원주의과대학 해부학교실, *동국대학교 응용생물학과

Morphological Changes in The Central Canal of the Hamster Spinal Cord after Treatment with 6-Aminonicotinamide

Yang, Young Chul, Byung Pil Cho, Ho Suck Kang and In Kook Park*
Department of Anatomy, Yonsei University Wonju College of Medicine
Department of Applied Biology, Dongkuk University
(Received April 25, 1997)

ABSTRACT

Hydrocephalus is induced experimentally in prenatal and suckling animals following an injection of 6-aminonicotinamide (6-AN). The most remarkable characteristic of these animals is aqueduct stenosis caused by swellings of the ependymal cells and subependymal cells in the periaqueductal gray matter and the central canal of the spinal cord. The present study was undertaken to investigate the morphological changes of the ependymal cells in the central canal of the spinal cord of 3.5 months old hamster after treatment with 6-AN.

Intraperitoneal administrations of 6-AN (10 mg/kg body weight) every two days gave rise to partial central canal stenosis of the spinal cord after 27-29 days (13-14th injection), but cilia and microvilli were located in the strictural area of the central canal. The vacuolations in the ependymal cells were not observed and degenerating changes of intracellular organelles of the ependymal cells did not occur, so that the ependymal cells lining the central canal of the hamster spinal cord were not affected by 6-AN. But the present study demonstrate that 6-AN causes to create numerous vacuoles in the subependymal area of the central canal. Although the vacuoles were well developed in the neuroglial cells and the neuropils of the subependymal area, the neurons were not affected by 6-AN.

These results strongly suggests that partial central canal stenosis occurred by 6-AN was due to vacuolations and swellings of the neuroglial cells and neuropils in the subependymal area.

Key words : 6-aminonicotinamide, Spinal cord, Ependymal cells, Morphological change, Vacuolization

서 론

항대사물질인 6-aminonicotinamide (6-AN)는 신경독성제로 작용한다. 중추신경계통에 대한 6-AN의 영향은 뇌와 척수의 전반적인 구역에 작용하여 공포의 생성으로 인한 스폰지화 현상을 초래하며, 세포수준에서 특히 신경아교세포에 심한 퇴행현상을 일으킨다 (Wolf and Cowen, 1959; Horita *et al.*, 1980; Aikawa and Suzuki, 1986a; Kaur *et al.*, 1993; Yang *et al.*, 1994). 신경아교세포중 별아교세포와 희돌기아교세포의 퇴행변화는 여러 연구자들의 공통된 주장이며 (Aikawa *et al.*, 1984; Politis, 1989), 특히 희돌기아교세포의 퇴행변화에 수반하여 수초의 붕괴현상이 일어나기도 한다 (Blakemore, 1978; Miyoshi *et al.*, 1978). 신경아교세포에서 발생하는 이러한 변화는 세포질내 형질내세망의 수조 및 핵주위 수조 등의 팽창과 사립체 등 다른 세포소기관의 파괴에서 연유한다 (Horita *et al.*, 1980; Aikawa and Suzuki, 1986a; Yang *et al.*, 1994). 별아교세포와 희돌기아교세포 이외에 미세아교세포는 6-AN에 의해 퇴행변화를 보인다는 보고도 있으나 (Aikawa *et al.*, 1984; Politis, 1989), 영향이 없다는 견해와 (Schaarschmidt and Lierse, 1975) 오히려 활성화된다는 견해 (Tseng *et al.*, 1984) 등 다양한 의견들이 제시되어 있다. 뇌실과 척수중심관을 감싸는 뇌실막세포에 미치는 6-AN의 영향에 대한 연구는 주로 출생전이나 직후의 실험동물을 대상으로 이루어졌다. 임신한 실험동물에 6-AN을 투여하면 태아의 중뇌수도관과 외측뇌실을 싸고 있는 뇌실막세포가 분열 증식하는 양상을 보이기도 하지만 (Aikawa and Suzuki, 1986b), 중뇌수도관의 뇌실막세포가 세포질 공포화 현상에 의해 팽창하고, 중뇌수도관주위 회색질의 공포화에 따른 부종으로 인해 중뇌수도관이 막히게 된다. 따라서 뇌척수액의 흡수장애로 인해 수두증이 발생한다 (Aikawa *et al.*, 1984; Aikawa and Suzuki, 1985; Yamada *et al.*, 1991). 이때 척수중심관도 중뇌수도관처럼 폐쇄현상을 보이고 척수의 중심관을 감싸는 뇌실막세포도 세포질 공포화를 수반하는 퇴행변화를 보인다 (Aikawa and Suzuki, 1986a; Aikawa *et al.*, 1986). 6-

AN으로 유도된 실험동물 태자의 수두증과 인간의 선천성 수두증을 비교분석하려는 경향도 있어서 Yamada 등(1991)은 6-AN으로 유도된 실험동물 태자의 수두증이 인간의 Dandy-Walker syndrom과 유사하므로 이 증후군이 특정한 대사 장애에 따른 결과일 수도 있다고 추론한 바 있으며, Aikawa와 Suzuki (1985)는 출생 후 5일된 흰쥐에서 6-AN 투여 후 발생한 수두증이 인간의 선천성 수두증과 유사하므로 이 질병이 분만 전후에 특정한 독성물질에 노출되어 뇌실막세포의 퇴행변화로 인한 결과일 수도 있음을 암시한 바 있다. 그러나 지금까지 뇌실막세포에 미치는 6-AN의 영향에 대한 연구는 주로 출생전이나 직후의 실험동물을 대상으로 이루어졌으며, 출생 후 일정기간이 경과한 동물의 뇌실막세포 변화에 대해서는 거의 연구가 이루어지지 않았다. 따라서 본 연구는 출생 후 3.5개월 정도 경과한 햄스터를 대상으로 6-AN을 투여한 후 발생하는 척수중심관 및 이를 둘러싸는 뇌실막세포의 변화를 알아보고자 시행하였다.

재료 및 방법

1. 실험재료

실험동물로는 출생 후 3.5개월 정도 경과한 체중 120~140 g 정도의 웅성 Golden hamster (*Mesocricetus auratus* Water)를 사용하였다. 햄스터를 실험군과 대조군으로 분리하고 실험군은 0.9% NaCl 용액에 용해시킨 6-aminonicotinamide (Sigma A0630, USA; 10 mg/kg body weight)를, 대조군은 실험군과 동량의 0.9% NaCl 용액을 각각 격일로 복강투여 하였으며, pellet 사료와 물은 충분히 공급하였다.

6-AN 용액과 0.9% NaCl 용액을 각각 13~14회 투여한 후 실험군과 대조군을 희생시켰는데, 이 때 체중은 30~40% 정도 감소되었다. 실험군과 대조군을 각각 ethyl ether로 마취시킨 후 흉강을 열고 좌심실을 통하여 0.9% NaCl을 포함하는 0.1 M 인산염완충액 (pH 7.4, 4°C)으로 관류방혈시킨 다음 4°C의 2% paraformaldehyde-2.5% glutaraldehyde 고정액으로 관류고정하였다. 이 후 척수를 적출하여 실험재료로 사용하였다.

2. 실험방법

관류고정한 후 적출한 척수를 광학현미경 관찰을 위하여 관류고정액과 동일한 용액에서 2일간 더 고정한 후 흐르는 물에 수세하고 alcohol 농도순으로 처리하여 탈수하였다. 탈수된 재료를 chloroform으로 치환하고 파라핀에 포매한 후 microtome을 이용하여 두께 7 μm 의 절편을 제작하였고, 유리 슬라이드에 붙여 통상적인 방법에 따라 HE 염색을 시행하였으며, 이웃한 절편은 유리 슬라이드에 붙이고 Klüver-Berrera 염색을 시행한 후 관찰하였다.

적출한 척수 조직의 일부는 전자현미경 관찰을 위하여 4°C의 2% paraformaldehyde-2.5% glutaraldehyde 용액에서 2시간 더 고정한 후 1% OsO₄ 용액에서 1시간 동안 후고정하고 통상적인 방법에 따라 epon 혼합액에 포매하였다. 이어서 1 μm 두께의 절편을 작성하고 광학현미경으로 중심관이 폐쇄된 부위를 확인한 후 초박절편을 제작하고 JEM 1200 EX II 투과전자현미경으로 관찰하였다.

결 과

광학현미경하에서 햄스터 대조군의 척수 중심관을 감싸는 뇌실막세포는 원주 혹은 입방형으로 한층을 이루고 있었으며, 핵은 타원형으로 핵소체가 뚜렷하고 핵질 주변부에 염색질 덩어리를 갖고 있었다(Figs. 1A, 2A). 척수 중심관의 내강은 좁고 앞뒤로 긴 타원형을 이루고 있었다(arrows in Figs. 1A, 2B). 6-AN을 이틀에 한 번씩 복강투여하여 27~29일이 경과한 후 희생시킨 햄스터에서는 척수중심관 주위로 많은 공포가 발생하였으며, 중심관을 감싸는 뇌실막세포는 부분적으로 핵이 관찰되지 않고 세포질만 얇게 보이는 경우도 있었으나(arrowheads in Figs. 1B, 2B), 비교적 대조군의 세포와 크게 다르지 않은 것으로 관찰되었다(Figs. 1B, 2B). 중심관은 뇌실막세포의 유착으로 폐쇄현상을 보였으나, 완전한 폐쇄가 이루어진 것은 아니어서 부분적으로 내강이 관찰되기도 하였다(arrows in Figs. 1B, 2B).

부분적으로 폐쇄된 척수중심관을 전자현미경으로 관찰한 결과 폐쇄된 중심관의 내강에는 섬모와 미세융모

가 분포하였으며, 뇌실막세포 사이에는 세포연접이 잘 발달되어 있었다(Figs. 3-7). 폐쇄된 부위의 미세융모들 사이에서 관찰되는 섬모는 9+2 계통의 미세소관으로 이루어진 전형적인 측미세관 구조를 보였으며, 세로로 절단된 섬모에서 중심 미세소관과 주변부 미세소관이 섬모의 길이를 따라 달리는 모습을 확인할 수 있었다(Figs. 6, 7). 비교적 불규칙한 모양으로 관찰되는 뇌실막세포의 세포질에는 사립체가 특히 발달되어 있었는데, 이들은 막대모양 혹은 타원이나 둥근 모양을 하고 있었다. 이외에도 세포질에는 자유리보솜, 골지체, 과립형질내세망의 수조 등이 산재해 있었고, 세포질의 내강쪽에서는 섬모의 발생에 관여하는 것으로 알려진 기저체가 뚜렷이 관찰되기도 하였다. 타원형의 핵은 한쪽이 약간 패인 모양을 하고 있었으며, 염색질 덩어리가 핵의 주변부에 분포하고 있었다(Figs. 3-8). 뇌실막세포 사이에는 부착반으로 보이는 세포사이연접이 잘 발달되어 있었다(double arrows in Figs. 3, 5, 7, 8). 뇌실막세포의 세포질에서 사립체의 일부가 파괴되어 형성된 소수의 공포를 제외하고 크게 손상되었다는 흔적은 관찰되지 않았으나(Figs. 3-8), 뇌실막세포의 아래구역에서는 큰 공포가 발생하는 등 조직이 크게 손상되었음을 알 수 있었다(Fig. 5). 그러나 뇌실막세포 아래구역에 분포하는 신경세포는 불규칙하고 뚜렷한 핵, 발달한 골지복합체, 사립체, 자유리보솜, 과립형질내세망, 리포폭신 색소과립 등이 뚜렷이 관찰되는 등 완전한 형태를 유지하여 6-AN에 의해 영향을 받지 않은 것으로 나타났다(Fig. 8). 6-AN에 의해 병변이 일어난 부위에서 일부 신경아교세포는 세포질이 거의 파괴되어 있었고, 농축된 핵 및 분해가 일어나는 것으로 추정되는 소체만이 관찰되는 등 심한 퇴행변화가 일어났음이 확인되었다(Fig. 9).

고 찰

신경독성물질인 6-AN이 중추신경계 신경아교세포의 퇴행변화를 유도한다는 사실은 여러 연구자들에 의해 밝혀졌으며, 이러한 변화는 세포질의 공포화에 의해 이루어지고, 특히 사립체의 파괴, 핵주위 수조와 형질내세망 수조의 팽창에 의한 공포의 형성으로 유도

된다는 사실은 여러 연구자들에 의해 보고되었다 (Horita *et al.*, 1980; Aikawa and Suzuki, 1986a; Yang *et al.*, 1994). 비타민 B 복합체의 일종인 nicotinic acid와 구조적으로 유사한 6-AN은 nicotinamide의 길항제로서 세포내 중요한 조효소인 NAD⁺ 또는 NADP⁺와 결합하여 6-amino-NAD (6-ANAD) 또는 6-amino-NADP (6-ANA에) 복합체를 형성하므로 (Johnson and McColl, 1955; Köhler *et al.*, 1970) 세포내 산화환원 반응에서 NAD 또는 NADP가 조효소로서 수소원자를 전이하는 것을 방해한다. 따라서 NADP와 NADP를 필요로 하는 대사반응에 6-ANAD 또는 6-ANADP가 경쟁적 억제제로 작용을 하여 대사반응이 잘 진행되지 못하도록 한다 (Dietrich *et al.*, 1958; Herken and Lange, 1969; Köhler *et al.*, 1970). 특히 NAD는 체내에서 물질의 산화시에 탈수소효소의 조효소로 작용을 하여 기질에서 수소를 이탈시키며, NADP는 기질에 수소를 첨가하는 환원제로서 물질합성에 주로 관여한다. 기질에서 이탈된 수소(NAD+H⁺)는 사립체의 전자전달계에서 산화되어 ATP를 생성하게 된다. 따라서 NAD(P)가 부족하면 물질이 합성되고 분해되는 물질대사가 원활하게 이루어지지 못하며, ATP의 부족으로 생명체는 치명적인 손상을 입게 된다.

중추신경계의 신경아교세포중 별아교세포와 희돌기아교세포 및 미세아교세포 등에 대한 6-AN의 영향은 성체 동물을 대상으로 많은 연구가 이루어졌고, 그 결과들이 보고되었으나 뇌실막세포에 대한 6-AN의 영향은 주로 출생 전후의 실험동물을 대상으로 이루어져 왔다. 임신한 실험동물 암컷에 6-AN을 투여하면 뇌실막세포 및 뇌실막아래구역 세포의 세포질내 공포가 발달하고, 세포질의 팽창을 유발하여 중뇌수도관 및 척수의 중심관이 폐쇄되므로 수두증이 유발된다고 알려져 있다 (Aikawa *et al.*, 1984; Aikawa and Suzuki, 1986b; Yamada *et al.*, 1991; Lu *et al.*, 1996). 특히 생후 5일된 흰쥐에 6-AN을 투여한 결과 뇌실막세포나 신경아교세포의 증식 없이 뇌실막세포의 세포질에 공포가 발달하고 뇌실막세포 자체의 팽창, 뇌실막아래 구역의 부종 등에 의해 중뇌수도관과 척수 중심관이 완전히 폐쇄되었다고 하였으며 (Aikawa *et al.*, 1986), 발생중인 태자에서 특히 뇌실막세포가 6-AN

에 가장 민감한 반응을 보인다는 보고가 있는 반면 (Aikawa *et al.*, 1984), 임신한 흰쥐에 6-AN을 투여한 결과 태자에서 수두증은 발생하였으나 뇌실막세포의 변화는 없었다는 보고도 있다 (Chamberlain, 1970).

본 실험의 결과 출생 후 3.5개월이 경과한 햄스터의 경우 6-AN 투여 후 수두증은 발생하지 않았으며, 척수중심관의 뇌실막세포 역시 6-AN에 의해 영향을 받지 않은 것으로 나타났으나 척수 중심관의 내강은 부분적으로 폐쇄현상을 보였다. 광학현미경하에서 내강이 폐쇄된 것으로 관찰된 구역을 전자현미경으로 확인한 결과 뇌실막세포 사이에 섬모와 미세융모가 틈이 없이 들어차 있었으며, 미세융모와 섬모의 배열방향이 매우 불규칙한 것으로 보아 내강을 중심으로 마주한 뇌실막세포들이 매우 밀접히 유착된 것으로 생각되는데, 생후 5일된 흰쥐에 6-AN을 투여한 결과 7일 후 중뇌수도관 및 척수중심관을 감싸는 뇌실막세포가 팽창하였으며, 수도관 및 중심관의 내강은 막혔으나 섬모와 미세융모는 보존되어 있었다는 보고도 있다 (Aikawa *et al.*, 1986). 본 실험의 결과 광학현미경하에서 척수중심관의 뇌실막세포 아래구역에는 공포가 발달되어 있었으며, 전자현미경으로 확인한 결과 뇌실막아래구역의 신경아교세포 및 신경그물에 발달한 공포로 인해 이 구역이 팽창현상을 보였고, 뇌실막세포는 손상을 받지 않은 것으로 나타났으므로 부분적인 중심관의 폐쇄는 뇌실막아래구역의 부종에 의한 것으로 사료된다. 뇌실막세포 사이에 발달한 세포사이연접이 6-AN에 의해 파괴되어 뇌실막아래구역의 혈관이 뇌실의 내강으로 돌출되었다는 보고 (Aikawa and Suzuki, 1986b) 및 6-AN에 의한 뇌실벽의 파괴에 따라 측뇌실에 ameboid macrophage의 유입으로 인한 대식세포계통이 증가한다는 보고 (Lu *et al.*, 1996)와는 달리 햄스터 척수 중심관의 뇌실막세포 사이의 세포사이연접은 잘 보존되어 있어서 이들의 보고와는 상이하게 6-AN에 의해 영향을 받지 않았음을 알 수 있었다. 출생 전후의 햄스터 (Turbow *et al.*, 1971), 흰쥐 (Yamada *et al.*, 1991), 생쥐 (Aikawa and Suzuki, 1985) 등의 실험동물을 대상으로 6-AN을 투여한 경우 수두증이 발생하였으나, 성체를 대상으로 하여 수두증을 보고한 예는 없으며, 본 연구에서 출생

후 일정기간이 경과한 햄스터인 경우에도 수두증은 발생하지 않았고 척수중심관 뇌실막세포의 변화도 관찰되지 않았다. 또한 중뇌수도관의 폐쇄현상이 발생하지 않았으며, 이를 둘러싸는 뇌실막세포도 변화되지 않았음을 본 저자들이 확인한 바 있다.

이와 같이 출생전후의 동물에서 뇌실막세포가 6-AN에 의해 손상을 받았다는 연구결과들과 출생 후 3.5개월이 경과한 햄스터를 대상으로 6-AN을 투여한 후에 뇌실막세포에서 변화가 없는 것으로 나타난 본 연구결과를 대조하여 볼 때, 6-AN은 뇌실막세포가 분화발달하는 시기에 특히 강한 영향을 미치며 이에 따라 출생전이나 직후의 동물에서 뇌실막세포의 팽창 및 퇴행변화를 유도하여 수두증이 발생하는 것으로 사료된다. 수두증의 발생에 관해서도 중뇌수도관을 감싸는 뇌실막세포와 뇌실막아래구역의 부종에 의한 수도관의 폐쇄로 이루어진다는 보고들이 대부분이나, Yamada 등(1991)은 임신 13일제인 흰쥐 암컷에 6-AN을 복강투여한 결과 중뇌수도관을 포함한 모든 뇌실이 팽창하였으며, 마젠디구멍(foramen of Magendie)이 열리지 않아 수두증이 발생하였다고 보고하면서 이런 결과는 출생전후의 특정시기에 따라 6-AN의 형태발생에 대한 영향이 다름을 의미한다고 추측한 바 있다. 또한 실험동물 태아에서 6-AN이 정상적인 뼈의 형성을 방해하여 소지증(micromelia)을 유발하기도 하는데(Seegmiller et al., 1972), 이는 6-AN이 뼈세포나 연골세포에 직접 영향을 주기보다는 연골세포의 분화과정중 어느 한 시기에 영향을 미쳐 연골형성을 방해한 결과로 볼 수 있으며(Caplan, 1972), 이 경우에도 6-AN이 세포의 분화발달하는 시기에 영향을 준 것으로 사료되며, 6-AN이 세포의 복제 및 분화에 관여하는 것으로 알려진 ornithine decarboxylase의 활성을 감소시킨다는 보고(Morris et al., 1985) 등이 위의 추론을 뒷받침한다.

결 론

6-AN을 출생 전이나 직후의 실험동물에 투여하면 중뇌수도관을 감싸는 뇌실막세포와 수도관주위 회색질의 공포화에 따른 팽창으로 인해 수두증이 발생하며, 이 때 척수중심관을 감싸는 뇌실막세포도 세포질 공포

화에 따른 팽창현상이 발생하고 척수중심관도 폐쇄된다고 알려져 있다. 본 연구는 생후 3.5개월이 경과한 햄스터를 대상으로 6-AN을 투여한 후 척수중심관 및 이를 둘러싸는 뇌실막세포의 형태적인 변화를 알아보고자 시행하였다.

이들에 한 번씩 6-AN (10 mg/kg body weight)을 복강투여하고 27~29일 경과한 후 희생시킨 햄스터 척수 중심관은 부분적으로 매우 좁아져 있었으며, 좁아진 부위의 뇌실막세포의 자유면에 섬모와 미세융모가 잘 보존되어 있었다. 뇌실막세포는 세포질 공포화가 이루어지지 않았으며, 세포소기관들의 변화를 관찰할 수 없어서 6-AN에 의해 영향을 받지 않은 것으로 확인되었으나, 뇌실막아래구역에 심하게 공포가 발생하였는데, 전자현미경으로 확인한 결과 뇌실막아래구역의 신경아교세포 및 신경그물에서 공포의 발생을 확인할 수 있었으나, 신경세포는 영향을 받지 않은 것으로 나타났다. 본 실험의 결과로 미루어 6-AN으로 유도된 출생 후 일정기간이 경과한 햄스터 척수 중심관의 폐쇄현상은 뇌실막세포의 변화보다는 뇌실막아래구역의 공포화에 따른 팽창에 의해 이루어진 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

- Aikawa H, Kobayashi S, Suzuki K, 1986. Aqueductal lesions in 6-AN treated suckling mice. *Acta. Neuropathol (Berl)*. 71, 243-250
- Aikawa H, Suzuki K, 1986a. Lesions in the skin, intestine and central nervous system induced by an antimetabolite of niacin. *Am. J. Pathol.* 122, 335-342
- Aikawa H, Suzuki K, 1986b. Ultrastructural evidence of mitotic ependymal cells in 6-AN treated suckling mice. *Acta. Neuropathol (Berl)*. 70, 71-74
- Aikawa H, Suzuki K, 1985. Aqueduct stenosis induced by a single injection of antivitamin. *Brain Res.* 354(2), 284-287
- Aikawa H, Suzuki K, Ito N, Iwasaki Y, Novaka I, 1984. 6-AN induced hydrocephalus in suckling mice. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 43(5),

- 511-521
- Blakemore WF, 1978. Lesions in the cat spinal cord following local injections of 6-AN. *Res. Vet. Sci.* 24(3), 390-391
- Caplan AI, 1972. The site and sequence of action of 6-AN in causing bone malformation of embryonic chick limb and its relationship to normal development. *Develop. Biol.* 28, 71-83
- Chamberlain JG, 1970. Early neurovascular abnormalities underlying 6-AN induced congenital hydrocephalus in rats. *Teratology* 3, 377-388
- Dietrich LS, Friedland IM, Kaplan LA, 1958. Pyridine nucleotide metabolism: Mechanism of action of the niacin antagonist, 6-aminonicotinamide. *J. Biol. Chem.* 233, 964
- Herken H, Lange K. 1969. Blocking of pentose phosphate pathways in the brain of rats by 6-aminonicotinamide. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 263, 496-499
- Horita N, Ishii T, Izumiyama Y, 1980. Ultrastructure of 6-AN induced lesions in the CNS of rats. II. Alterations of the nervous susceptibility with aging. *Acta. Neuropathol (Berl)*. 49, 19-27
- Kaur C, Yong ES, Ling EA. 1993. Studies of activated microglia and macrophages in lumbosacral spinal cord following an intraperitoneal injection of 6-AN into the adult rats. *Histology & Histopathology* 8(4), 600-707
- Köhler E, Barrach HJ, Neubert D, 1970. Inhibition of NADP dependent oxidoreductases by the 6-AN analogue of NADP. *FEBS Letters* 6(3), 225-228
- Johnson WT, McColl JD. 1955. 6-aminonicotinamide a potent nicotinamide antagonist. *Science* 122, 834
- Lu J, Kaur C, Ling EA, 1996. An immunohistochemical study of the intraventricular macrophages in induced hydrocephalus in prenatal rats following a maternal injection of 6-aminonicotinamide. *J. Anat.* 188, 491-495
- Miyoshi K, Takeuchi S, Hayashi S, 1978. Experimental spongy degenerations of the white matter induced by 6-AN intoxication. *Folia. Psychiatr. Neurol. Jpn.* 32(2), 251-261
- Morris G, Nadler JV, Nemeroff CB, Slotkin TA, 1985. Effects of neonatal treatment with 6-aminonicotinamide on basal and isoproterenol-stimulated ornithin decarboxylase activity in cerebellum of the developing rat. *Biochem. Pharmacol.* 34(18), 3281-3284
- Politis MJ, 1989. 6-AN selectively causes necrosis in reactive astroglia cells in vivo. Preliminary morphological observations. *J. Neurosci.* 92(1), 71-79
- Schaarschmidt W, Lierse W, 1975. Ultrastructural reaction of the multipotential glia in the cerebellum of the rat after treatment with 6-AN. *Acta. Anat (Berl)*. 93(2), 184-193
- Seegmiller RE, Overman DE, Runner MN, 1972. Histological and fine structural changes during chondrogenesis in micromelia induced by 6-AN. *Develop. Biol.* 28, 555-572
- Tseng CY, Ling EA, Wong WC, 1984. A scanning and transmission electron microscopic study of amoeboid microglial cells in the prenatal rat brain following a maternal injection of 6-aminonicotinamide. *J. Anat.* 138(4), 733-743
- Turbow MM, Clark WH, Dipaolo JA, 1971. Embryonic abnormalities in hamsters following intrauterine injection of 6-aminonicotinamide. *Teratology* 4(4), 427-431
- Wolf A, Cowen D, 1959. Pathological changes in the central nervous system produced by 6-AN. *Bull. NY. Acad. Med.* 35(12), 814-817
- Yamada H, Oi S, Tamaki N, Matsumoto S, Tamoto K, 1991. Congenital hydrocephalus mimicking Dandy-Walker syndrome induced by 6-aminonicotinamide injection in pregnant rat. *Neurol. Med. Chir (Tokyo)*. 31, 326-329
- Yang YC, Park IK, Kang HS, 1994. Morphological study on the spinal cord of the Golden Hamster after treatment with 6-aminonicotinamide. *J. Wonju College of Medicine.* 7(1), 1-10

FIGURE LEGENDS

- Figs. 1, 2.** Light microscopic photographs of the cervical (Fig. 1) and lumbar (Fig. 2) spinal cords of the hamsters. In contrast to the control groups (Figs. 1A, 2A), well developed vacuoles (V) are observed in the central region around the central canal of the 6-AN treated hamsters (Figs. 1B, 2B). The spinal central canal is narrow and slender in shape in the control groups (arrows in Figs. 1A, 2A), but the central canal is partially closed and some ependymal cells are observed in flat shapes in the 6-AN treated hamsters (arrowheads in Figs. 1B, 2B). HE stain. $\times 200$.
- Figs. 3-5.** Electronmicrographs of the central region around the closed central canal (CC) of the experimental groups. Ependymal cells (EC) do not show cytoplasmic vacuolations. Intercellular junctions between neighboring ependymal cells are well observed (double arrows). Vacuoles (V) and degenerating neuropils (asterisk) are observed in the subependymal layer. M, mitochondria. N, nucleus. Bar indicates $1\mu\text{m}$.
- Figs. 6, 7.** Electronmicrographs of closed central canals (CC). Microvilli (Mv) and cilia (Ci) are well preserved in the strictural central canal of the spinal cord. M, mitochondria. Bar indicates $1\mu\text{m}$.
- Fig. 8.** Electronmicrograph of the subependymal neurons (NC). Intercellular junctions (double arrows) are well observed between neighboring ependymal cells (EC). Nerve cells (NC) located in the subependymal area is not affected by 6-AN. G, Golgi complex. N, nucleus. Bar indicates $1\mu\text{m}$.
- Fig. 9.** Electronmicrograph of severely damaged neuroglial cells by 6-AN. Pyknotic nucleus (N) and some small bodies like lysosome are observed. Bar indicates $1\mu\text{m}$.







