

AMCoR

Asahikawa Medical College Repository <http://amcor.asahikawa-med.ac.jp/>

日本薬物脳波学会雑誌 (2004.07) 6巻1号:31～33.

1S,3R-1-aminocyclopentane-1,3-dicarboxylic acid(1S,3R-ACPD)の中脳網様体注入によって誘発されるラットのけいれん反応について

石本隆広, 高崎英気, 田端一基, 石丸雄二, 田村義之, 千葉茂

1S, 3R-1-aminocyclopentane-1, 3-dicarboxylic acid (1S, 3R-ACPD) の中脳網様体注入によって誘発されるラットのけいれん反応について

旭川医科大学医学部精神医学講座

石本隆広、高崎英気、田端一基、石丸雄二、田村義之、千葉 茂

Convulsive seizures induced by 1S, 3R-1-aminocyclopentane-1, 3-dicarboxylic acid microinjection into the mesencephalic reticular formation in rats

Department of Psychiatry and Neurology, Asahikawa Medical College

Takahiro Ishimoto, Hideki Takasaki, Kazuki Tabata, Yuji Ishimaru, Yoshiyuki Tamura, Shigeru Chiba

はじめに

これまでに、我々はラット中脳網様体 (mesencephalic reticular formation、以下 MRF) に、イオノトロピック型興奮性アミノ酸である N-methyl-D-aspartate (以下 NMDA) や α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid (以下 AMPA) をそれぞれ微量注入すると、共通する発作症状として hyperactivity、running/circling および generalized tonic clonic seizures (以下 GTCS) が誘発され、その際には脳波上では MRF から優位に発作波が出現していたことを報告してきた^{1),2)}。また、NMDA や AMPA の注入後に音刺激を与えると同様の発作が誘発され、その際の脳波所見でも MRF 優位に発作波が誘発されることも確認している^{1),2)}。

一方、両者の相違点としては GTCS の発現が NMDA 投与群のほうで高率に観察されるに對して、amygdala kindling 類似の発作症状

(amygdala kindling like seizures、以下 AMKS) は、AMPA 微量注入群にのみ出現したことがあげられ、MRF における興奮性神経伝達の増強により出現するけいれん反応に關与する神経機構は、NMDA 受容体を介する場合と AMPA 受容体を介する場合とは異なることが推測された。

さて、興奮性アミノ酸受容体には、NMDA、AMPA およびカイニン酸を介するイオノトロピック型受容体のほかに、メタボトロピック型受容体の存在が知られている。そこで我々は、MRF におけるメタボトロピック型受容体を介した興奮性神経伝達の増強がてんかん発作の発現にどのように關与するのか解明する目的で、ラット MRF にメタボトロピック型受容体の作動薬である 1S, 3R-1-aminocyclopentane-1, 3-dicarboxylic acid (以下 ACPD) を MRF に微量注入し、その後の 15 分間における行動と脳波所見を観察した。また、ACPD 微量注入後 15 分、30 分、および 45 分の時点で音刺激を与えた際の行動と脳波所見についても検討した。

対象と方法

実験には SD 系雄性ラット 20 匹を使用した。電極の装着は、ペントバルビタール麻酔下で脳定位固定装置を用いて行い、双極深部電極を Paxinos らの脳図譜に従って、左側 MRF (5.8 mm posterior, 1.7 mm lateral from bregma, and 6.6 mm ventral from the skull) に刺入した。なお、MRF の電極には 24 G のガイドカニューラを双極電極の先端より 1.0 mm 上方に貼り付けた。さらに MRF と同側の大脳皮質運動野と小脳皮質に相当する頭蓋骨にネジ電極を装

着し、後者を基準電極として用いた。

実験1では、A群10匹のラットに ACPD 10 nmol を、また対照群である B群 10匹のラットに saline を MRF に微量注入した。ACPD 微量注入は注射針の先端がガイドカニューラの先端から 1.0 mm 下方に突出するよう設計された 30 G の注入針を用いて施行した。ACPD は saline に溶解し、注入はガイドカニューラからカニューラを挿入した後、マイクロシリンジを用いて毎分 1.0 μ l の速度で注入した。なお、B群に対しては saline 1.0 μ l を ACPD と同じ方法で注入した。

実験2では、各群のラットに対して、ACPD または saline 注入終了後 15分、30分、45分の時点で 60秒間の音刺激を与えた。音刺激は観察箱の床から上方 50 cm の位置で、6本の鍵からなる鍵束を振ることによって与えた。

結果

実験終了後、深部電極の位置を組織学的に確認した。その結果、実験群の双極電極ならびにカニューラの先端はすべて目的部位に刺入されていた。

実験1

ACPD 注入後 15分間に明らかな脳波変化および発作症状は出現しなかった。ACPD 10 nmol を注入した他のラットでも、注入後 15分間では、明らかなけいれん反応は観察されなかった。

実験2

Fig.1 は、A群のラットで ACPD 微量注入後 15分の時点で行った 60秒間の音刺激を行った時の脳波である。音刺激開始直後から刺激終了までラットは hyperactive になったが、その後は明らかな行動上の変化は観察されなかった。脳波では MRF 優位に spike や 3~4 Hz の律動的な slow wave が観察された。

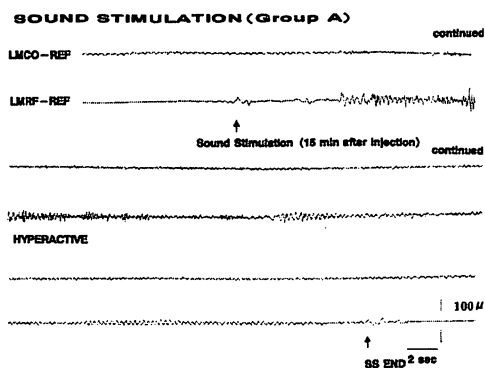
Table.1 は、ACPD 注入後 15分、30分、45分の時点で行った音刺激に対して、発作症状である hyperactivity と脳波異常を呈したラットの出現率を要約した表である。ラットに出現した発作パターンは hyperactivity のみで running/circling、GTCS および AMKS は出現しなかった。hyperactivity については、A群では 10匹中2匹に出現し、対照群と比較して有意差はなかった。また、音刺激開始後に脳波異常を呈したラットは 10匹中10匹であった。

考察

興奮性アミノ酸受容体のうち、NMDA 受容体や AMPA 受容体などイオノトロピック型受容体は細胞膜イオンチャンネルに共役しているのに対して、メタボトロピック型受容体は細胞内

の二次情報伝達系に共役した興奮性アミノ酸受容体である。動物実験においては、ラットの扁桃核や梨状葉皮質をキンドリングすると、その部位ではメタボトロピック受容体を介すると考えられるイノシトール脂質代謝回転が長期にわたって亢進していることから、メタボトロピック受容体は神経可塑性変化に関わる可能性の高い受容体と考えられてきた³⁾。一方、急性実験としてはラット海馬に ACPD を毎分 144 nmol で 150秒間微量注入すると、全身けいれん発作が誘発されることが報告されている⁴⁾。

我々が以前に検討した NMDA 10 nmol³⁾あるいは AMPA 10 nmol²⁾のラット MRF への注入では GTCS が出現した。しかし、本研究の実験1ではラットの側 MRF に 10 nmol の用量の ACPD を注入しても明らかな発作症状は出現しなかった。実験2では hyperactivity が出現する場合があったが、その出現率に有意差は認められなかった。音刺激時には、10匹中10匹のラットに MRF 優位に spike や slow wave などの脳波異常が認められた。以上の結果から、ACPD 微量注入による MRF での興奮性神経伝達の増強は、10 nmol という量では発作症状を誘発する強度はないものの、ACPD 注入後施行した音刺激によって、MRF でのけいれん準備性が亢進し、脳波異常が出現したと考えられる。本実験の結果、及びこれまでに報告した NMDA や AMPA 微量注入の結果を合わせて考察すると、イオノトロピック型興奮性アミノ酸受容体を介した興奮性神経伝達の増強の方が、メタボトロピック型興奮性アミノ酸受容体を介する場合よりも、MRF でのけいれん発作発現機序に密接に関連していることが推定される。



| | hyperactivity | running/circling | GTCS | EEG changes |
|----------------------------------|---------------|------------------|--------|-------------|
| Group A (10 nmol, n=10) | 2 / 10 | 0 / 10 | 0 / 10 | 10 / 10 |
| Group B [control] (saline, n=10) | 0 / 10 | 0 / 10 | 0 / 10 | 0 / 10 |

文献

- 1) Ishimoto T, Omori N, Mutoh F, Chiba S. Convulsive seizures induced by N-methyl-D-aspartate microinjection into the mesencephalic reticular formation in rats. *Brain Res* 27: 152-8, 2000.
- 2) 石本隆広, 尾森伸行, 武藤福保, 千葉茂. ラット中脳網様体への α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid (AMPA) 注入によって誘発されるけいれん反応について. *てんかん研究* 19: 62, 2001.
- 3) 森本清, 平尾徹, 山本良隆, ほか. 側頭葉てんかんにおける GABA トランスポーターの役割 キンドリングモデルを用いた研究. 厚生省精神・神経疾患研究9年度研究報告書 難治てんかんの難治化要因と予後と対策に関する研究: 57-64, 1998.
- 4) Klitgaard H, Laudrup P. Metabotropic excitatory amino acid receptor agonists selectively potentiate behavioral effects induced by ionotropic excitatory amino acid receptor agonists in mice. *Eur J Pharmacol* 30: 9-13, 1993.

Abstract

Effects of microinjections of a single 10 nmol dose of 1S, 3R-1-aminocyclopentane-1, 3-dicarboxylic acid (ACPD) into the unilateral mesencephalic reticular formation (MRF) on behavior and on the electroencephalogram were examined in rats (n=10) over a 15 min period (Exp. 1): Subsequently effects of sound stimulation with key jingling applied at 15, 30, and 45 min after the injection were observed (Exp. 2). In Exp. 1, the microinjections of a 10 nmol dose of ACPD did not induced any seizure patterns and any EEG changes. In Exp. 2, the microinjections of ACPD induced only hyperactivity (2 of 15 rats), and they did not induce in running/circling and generalized tonic-clonic seizures (GTCS); electroencephalographic seizure discharges were predominantly observed in the MRF during hyperactivity. The control group rats (n=10) which received a single dose of saline microinjection into the unilateral MRF showed no behavioral or electroencephalographic changes in both Exp. 1 and 2. These findings suggest that ionotropic excitatory amino acids (EAA) injection are more important than metabotropic EAA (ACPD) in the manifestation of the MRF seizures and audiogenic seizures.

Figure legends

Fig 1. EEGs in Exp.2. The rat which received sound stimulation after it was microinjected ACPD indicated only hyperactivity and EEG changes during hyperactivity. ACPD, 1S, 3R-1-aminocyclopentane-1, 3-dicarboxylic acid; LMCO, left motor cortex; LMRF, left mesencephalic reticular formation; REF, reference electrode.

Table 1. The incidence of the seizure patterns and EEG changes induced by sound stimulation in each Group (Exp. 2). GTCS, generalized tonic-clonic seizures; *P<0.01 by Fisher's exact test.