

# AMCoR

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

てんかんをめぐって (1993.02) 13巻:131~136.

ラット扁桃核キンドリングの年齢による相違について

千葉茂、宗岡幸広、鎌田隼輔、稲葉央子、佐藤譲、宮岸勉

# ラット扁桃核キンドリングの年齢による相違について

旭川医科大学医学部精神医学教室

千葉 茂 宗岡 幸広 鎌田 隼輔  
稲葉 央子 佐藤 譲 宮岸 勉

The effects of age on the amygdaloid kindling in rats

Shigeru Chiba, Yukihiko Muneoka, Shunsuke Kamata,

Hiroko Inaba, Yuzuru Sato, Tsutomu Miyagishi

Department of Psychiatry and Neurology, Asahikawa Medical College,

Nishikagura 4-5-3-11, Asahikawa 078

## I. はじめに

米国における年齢別てんかん発病率の調査<sup>9)</sup>によれば、10歳未満の小児期および60歳以上の老年期は、成人期よりも高い発病率を示す。このように、ヒトでは年齢によってけいれん準備性に違いがあると考えられる。そこで我々は、ラットのlife spanの各時期(生後20日齢、30日齢、60日齢、9-10カ月齢、および22-25カ月齢)において扁桃核キンドリングの形成過程を検討した。

## II. 方 法

実験には、正常無処置のSprague-Dawley系雄性ラット36匹を使用した。キンドリング開始時の年齢によって、I群(20日齢、n=9)、II群(30日齢、n=10)、III群(60日齢、n=7)、IV群(9-10カ月齢、n=5)、およびV群(22-25カ月齢、n=5)の5つの群に分類した。

電極の装着はpentobarbital麻酔下で脳定位固定装置を用いて行った。脳図譜<sup>10)</sup>に従って、左扁桃核に直径200 $\mu$ のstainless steel線2本をより合せた双極深部電極を刺入し、さらに、両側感覚運動野に相当する部位の頭蓋骨にネジ電極を、また、前頭洞に基準電極としてネジ電極を装着した。

キンドリング刺激は、I群とII群は術後3日目から、また、III-V群は術後7日目から開始した。刺激は、いずれの群に対しても同一の条件、すなわち、400 $\mu$ A、60Hzの2相性矩形波で1秒間行い、これを1時間の間隔で1日10回刺激した。なお、刺激は最終発作段階であるstage 5が出現するまで行った。

キンドリングの実験が終了した時点で、pentobarbital麻酔下において深部電極先端部にelectrolytic lesionを作製した。その後、10%ホルマリン液で脳を灌流固定し、電極が左扁桃核に正確に刺入されていることを組織学的に確認した。

統計学的解析には、Tukeyの多重比較法を用いた。

### III. 結 果

#### 〈発作症状〉

各年齢群の発作stageは、Moshe<sup>13)</sup> およびRacine<sup>14)</sup>を参考にしてTable 1のように分類した。幼若期（IおよびII群）のstage 2は成熟期（III群）と異なり、頭部を刺激側にrhythmicに動かしながらturnさせるという症状がみられ、また、stage 3では左右いずれか一方あるいは左右交互のforelimb clonusが出現した。老齢期（IVおよびV群）のstage 2では、幼若期のstage 2と同様の発作症状が認められた。なお、afterdischarges (AD)の波形の性状に関しては、各群の間に差異はみられなかった。

Table 1 Classification of motor seizures of amygdaloid kindling in rats at different ages

| stage | G r o u p   |  |  |
|-------|---|--|--|
|       | I and II  | III                                    | IV and V   |
| 0     | No manifestations   | No manifestations                      | No manifestations                                |
| 1     | Facial movements  | Facial movements                       | Facial movements                                 |
| 2     | Head turning to stimulated site, or head nodding                                | Head nodding                           | Head turning to stimulated site, or head nodding |
| 3     | Unilateral forelimb clonus or tonus, or alternating independent forelimb clonus | Contralateral forelimb clonus          | Contralateral forelimb clonus                    |
| 4     | Bilateral forelimb clonus with rearing  | Bilateral forelimb clonus with rearing | Bilateral forelimb clonus with rearing           |
| 5     | Loss of balance   | Loss of balance                        | Loss of balance                                  |

I, 20 days; II, 30 days; III, 60 days; IV, 9-10 months; V, 22-25 months.

#### 〈各stageの出現に要する刺激回数〉

Fig. 1に各群のstage 1-5の出現に要する平均刺激回数を示す。

stage 5の出現に要する平均刺激回数（キンドリング形成速度）を検討すると、I、II、およびIII群の間には差がなかったのに対して（I = 15.9、II = 15.0、III = 16.1回）、老齢期では成熟期（III群）と比較してこの平均刺激回数が有意に多く（IV = 36.4、V = 73.4回；III vs. IV、 $p < 0.05$ ；III vs. V、 $p < 0.01$ ）、しかも、V群ではIV群と比べて有意に多かった（IV vs. V、 $p < 0.05$ ）。なお、V群ではすべてのラットがstage 3を飛び越してstage 4-5に進展したため、Fig. 1では5群のstage 3と4の出現に要した刺激回数を同じ数値として示した。

stage 4から5に至るまでの平均刺激回数を検討すると、I群から順に5.1、1.0、1.7、2.0、および5.6回であり、I群とV群ではIII群と比べてstage 4から5に至るのに有意に多くの回数を必要

とした (いずれも  $p < 0.05$ )。

stage 4 に至る過程を検討すると、II 群と III 群はほぼ同様の発作段階の進展を示したが、I 群は III 群と比較して速やかに stage 2 に至った。一方、老齢期では III 群と比較して stage 2 が遅れて出現し (III vs. V,  $p < 0.05$ )、しかも、stage 2 以下の部分発作が長く持続した。

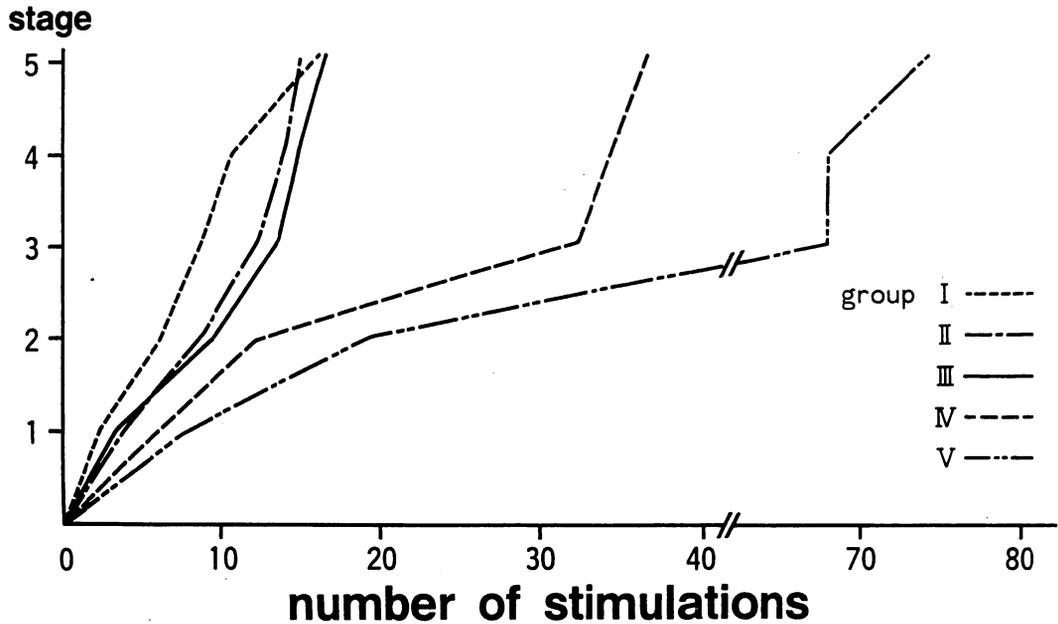


Fig. 1 Mean number of stimulations required to produce each stage of motor seizures. Group I reached stage 2 seizure more rapidly than group III. The kindling rates of groups IV and V were significantly slower than that of group III (III vs. IV,  $p < 0.05$ ; III vs. V,  $p < 0.01$ ; IV vs. V,  $p < 0.05$ ).

#### 〈ADの持続時間〉

Fig. 2 に、各 stage に至った時点での AD の持続時間 (AD duration) を示した。stage 5 の持続時間は、I 群が 5 群中最も長かったのに対して、II 群では最も短かった (I vs. II,  $p < 0.05$ )。60 日齢以後では、年齢が高くなるにつれて stage 1 - 4 の AD duration は延長する傾向を示した。

#### IV. 考 察

ラットの life span の各時期において扁桃核キンドリングの形成過程を検討した結果、幼若期 (生後 20 および 30 日齢) と成熟期 (60 日齢) におけるキンドリング形成速度には差はないが、20 日齢では、30 日齢および 60 日齢と比較して部分発作である stage 2 が速やかに出現すること、また、老齢期では成熟期と比較してキンドリング形成が有意に遅延することが明らかとなった。

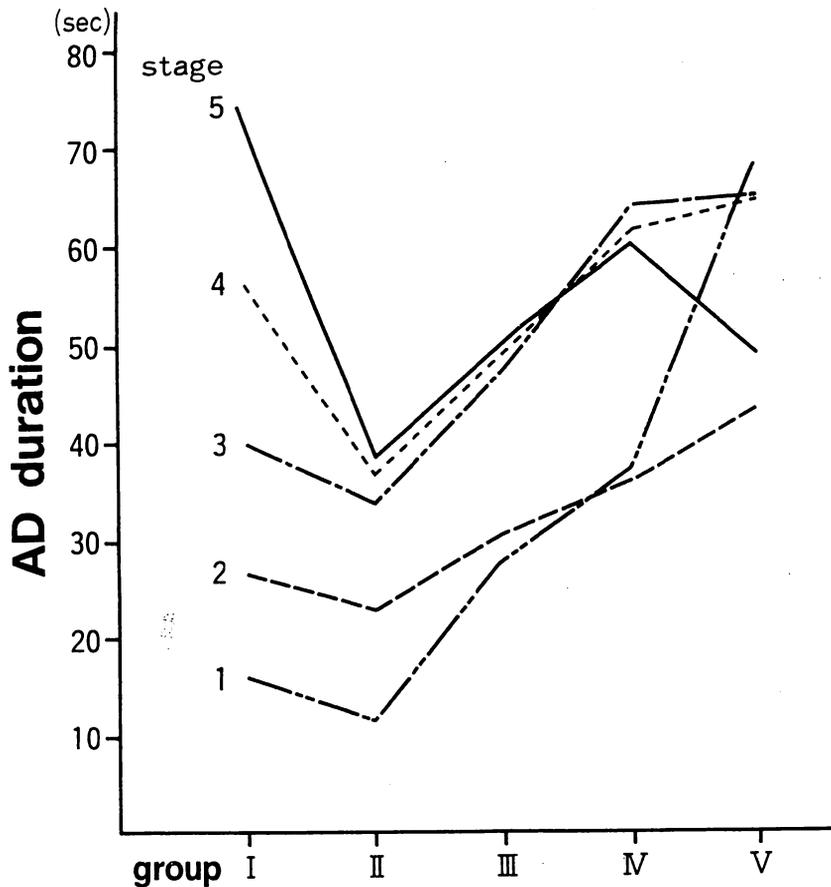


Fig. 2 Mean AD duration at each stage of motor seizures. With regard to stage 5, group I had the longest AD duration, and group II had the shortest AD duration (I vs. II,  $p < 0.05$ ). After 30 days of age, the AD duration at stages 1-4 increased as the age progressed.

Gilbertら<sup>7)</sup>は、生後21日齢のラットと成ラットの扁桃核キンドリング形成過程 (stage 1から5まで) を検討し、両者に差がないことを報告している。しかし、川原ら<sup>9)</sup>は3週齢のラットでは成ラットと比較してstage 2以下の部分発作が有意に少ない刺激回数で出現したことを報告しており、また、Moshe<sup>10)</sup>も15-18日齢のラットについて同様の所見を見いだしている。我々の結果は川原ら<sup>9)</sup>およびMoshe<sup>10)</sup>の報告と合致するものであり、この時期のラットの辺縁系では興奮系が抑制系に対して優位であることを示唆している。

一方、老齢期のラットでは成熟期と比較してキンドリング形成が有意に遅延していた。したがって、9カ月齢以上の老ラットではてんかん原性が獲得されにくいと考えられる。とくに、stage 2以下の部分発作の段階が長く持続したことから、老ラットでは発作の全般化に関与する神経機構が巻き込まれにくいと推定される。

老ラット脳では、皮質および皮質下構造におけるシナプス数の減少<sup>3, 9</sup> や、神経伝達物質（アセチルコリンおよびノルアドレナリン）の放出の低下<sup>9</sup>、シナプス膜ガングリオシドの減少<sup>9</sup> さらに最近では皮質および海馬におけるNMDA受容体数の減少<sup>10</sup> など、synaptic transmissionの加齢性変化が存在することが報告されていることから、これらの変化が老ラットにおけるキンドリング形成の遅延に関与していると推定される。

ところで、I群とV群ではstage 4から5への進展が遅延していた。このstage 4から5への進展には前頭葉皮質が関与することが示唆されている<sup>9</sup>。したがって、I群では前頭葉皮質の未熟性<sup>11</sup>がまた、V群では前頭葉皮質の加齢性変化<sup>4, 10</sup>が、このstage 4から5への進展の遅延に関連している可能性がある。

実験動物のlife spanにわたってキンドリング現象を検討したのは、本研究が初めてである。今回得られた結果は、脳の発達過程および老化過程におけるけいれん準備性を理解する上で重要な手がかりを与えるものと思われた。

## V. 結 語

ラットの幼若期（20日齢と30日齢）、成熟期（60日齢）、および老齢期（9-10カ月と22-25カ月齢）における扁桃核キンドリングの形成過程を検討した。幼若期（20日齢）では部分発作が速やかに出現すること、および、老齢期（とくに22-25カ月齢）ではキンドリング形成が著しく遅延することが明かとなった。

## 文 献

- 1) Agrawal, H. C., Davidson, A. N. (1967) Myelination and amino acid imbalance in the developing rat brain. A quantitative electromicroscope study. *Brain Res* 6, 716 - 727.
- 2) 安藤 進、田中康一 (1989) 神経系の加齢変化 — 化学面より —. 脳・神経系のエイジング (朝長正徳、佐藤昭夫編)、47 - 82、朝倉書店、東京.
- 3) Bondareff, W., Geinisman, Y. (1976) Loss of synapses in the dendrite gyrus of the senescent rat. *Am J Anat* 145, 129 - 136.
- 4) 千葉 茂、宗岡幸広、佐藤 謙、宮岸 勉 (1992) 老ラットの seizure susceptibility について — pentylenetetrazol および扁桃核キンドリングによるけいれんの検討 —. *脳神経* 44, 559 - 564.
- 5) Corcoran, M. E., Urstad, H., McCaughran, J. A. Jr., et al. (1975) *Can J Neurol Sci* 2, 501 - 508.

- 6) Feldman, M. L. (1976) Aging changes in the morphology of cortical dendrites. In : Neurobiology of aging (Terry, R. D. et al. ed. ), 211 - 228, Raven Press, New York.
- 7) Gilbert, M. E., Cain, D.(1982) A developmental study of kindling in the rat. Dev Brain Res 2, 321 - 328.
- 8) Hauser, W. A., Kurland, L. T. (1975) The epidemiology of epilepsy in Rochester, Minnesota, 1935 through 1967. Epilepsia 16, 1 - 66
- 9) 川原隆造、松田和義、石田暁宏、ら (1989) 幼若ラットの扁桃体キノドリリングと成熟後の再キノドリリングについて. 脳神経 41、135 - 141.
- 10) Moshe, S. L. (1981) The effects of age on the kindling phenomenon. Dev Psychobiol 14, 75 - 81
- 11) Moshe, S. L.(1987) Epileptogenesis and the immature brain. Epilepsia 28 (Suppl. 1), S3 - S15.
- 12) Pellegrino, L. J., Pellegrino, A. S., Curshman, A. J. (1979) A stereotaxic atlas of the rat brain, 2nd ed., Plenum Press, New York.
- 13) Peters, A., Vaughan, D. W.(1981) Central nervous system. In : Aging and cell structure (Johnson, J. E. ed.), vol. 1. 1 - 34 - Raven Press, New York.
- 14) Racine, R. J.(1972) Modification of seizure activity by electrical stimulation : II. motor seizures. Electroenceph Clin Neurophysiol 32, 281 - 294.
- 15) Tamaru, M., Yoneda, Y., Ogita, K., et al (1991) Age-related decreases of the N-methyl-D-aspartate receptor complex in the rat cerebral cortex and hippocampus. Brain Res 542, 83 - 90.