

# AMCoR

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

てんかんをめぐって (1994.02) 14巻:54～62.

幼若ラット扁桃核キンドリングにおける陽性転移現象について

千葉茂、宗岡幸広、鎌田隼輔、稲葉央子、宮岸勉

# 幼若ラット扁桃核キンドリングにおける陽性転移現象について

旭川医科大学精神医学講座

千葉 茂、宗岡 幸広、鎌田 隼輔

稲葉 央子、宮岸 勉

## 〈はじめに〉

ある脳部位、すなわち primary site (PS) にあらかじめキンドリングを形成した後に、別の脳部位、すなわち secondary site (SS) を反復刺激した場合、SSをはじめ反復電気刺激するよりも有意に少ない刺激回数でキンドリングを形成できる。SSに対するPSからのこの促進効果を陽性転移現象 (positive transfer effect、PTE) という<sup>8, 18, 21)</sup>。ラットでは、一側扁桃核から対側扁桃核<sup>8, 14, 17)</sup>、および、一側海馬から対側海馬<sup>19)</sup> へのPTEが報告されており、一側半球内における扁桃核・中核野・背側海馬・腹側海馬の各部位間においてもPTEが確認されている<sup>9)</sup>。さらに、ネコ<sup>20)</sup> や Senegalese baboon (Papio Papio)<sup>23)</sup>, rhesus monkey<sup>22)</sup> においても、一側扁桃核から対側扁桃核へのPTEがみられることが報告されている。これらの実験報告は、1つのてんかん原焦点 (てんかん発作を自生しうる脳部位) が、他の部位に二次てんかん原焦点を形成する可能性を示唆している。

PTEに関する従来の知見は主として成熟動物においては得られたものであり、幼若動物における検討はほとんど行われていない<sup>11)</sup>。そこで我々は、幼若ラットにおいてPTEが認められるかどうかについて検討した。

## 〈方 法〉

生後20日目まで正常無処置の Sprague-Dawley 系雄性ラットに対して、PS (左側扁桃核) キンドリングに続いてSS (右側扁桃核) キンドリングを施行した (実験群、N = 5)。対照群として同じ日齢の同系雄性ラット5匹を用い、この群に対してはPSキンドリングを行わずにSSキンドリング (Cキンドリング) のみを施行した。

両群のラットに対する電極の装着は、生後18日目に行った。ペントバルビタール麻酔下で脳定位固定装置を用い、両側扁桃核に直径200  $\mu$  のステンレススチール線2本をより合わせた双極深部電極を、また、両側運動野に相当する頭蓋骨にネジ電極をSherwoodら<sup>19)</sup> の脳図譜に従って装着した。

実験群のキンドリング刺激は、生後20日目から開始した。まず、PSを400  $\mu$  A、60Hzの2相性矩形波で1秒間、1時間の間隔で1日に10回、全身けいれんであるstage 4 (後述) が出現するまで行った。次に、PSキンドリングが終了した2時間後からSSキンドリングを同様の方法で開始した。一方、対照群では、PSキンドリングは行わずに、実験群でSSキンドリングを開始した日齢 (21 - 22日齢) と同一の日齢からSSキンドリングのみを行った。

キンドリングの発作段階は、千葉<sup>7)</sup>を参考にして以下のように分類した：stage 1 (facial movements)、stage 2 (head turning to stimulated site, or head nodding)、stage 3 (unilateral forelimb clonus/tonus, or alternating independent forelimb clonus)、stage 4 (bilateral forelimb clonus and rearing)。なお、stage 4では転倒を伴うこともあった。キンドリング終了後は、深部電極先端部にelectrolytic lesionを作製し、電極位置を組織学的に確認した。

## 〈 結 果 〉

両群の各stageの出現に要する刺激回数を

Fig. 1に示す。実験群のstage2-4におけるSSキンドリング形成はPSキンドリング形成と比較して有意に促進しており、stage 4に至るまでの平均刺激回数はPSでは14.2回であったのに対してSSでは5.8回であり、SSでは59%の節約が認められた。また、このSSキンドリング形成はCキンドリング形成と比較してすべてのstageで有意に促進しており、stage 4ではCキンドリング (平均15.6回)と比較して63%の節約を示した。このように、実験群のSSキンドリングでは明らかなPTEが認められた。なお、PSキンドリングとCキンドリングの形成過程を比較すると、stage 2では前者が後者よりもキンドリングの形成が有意に促進していたが、その

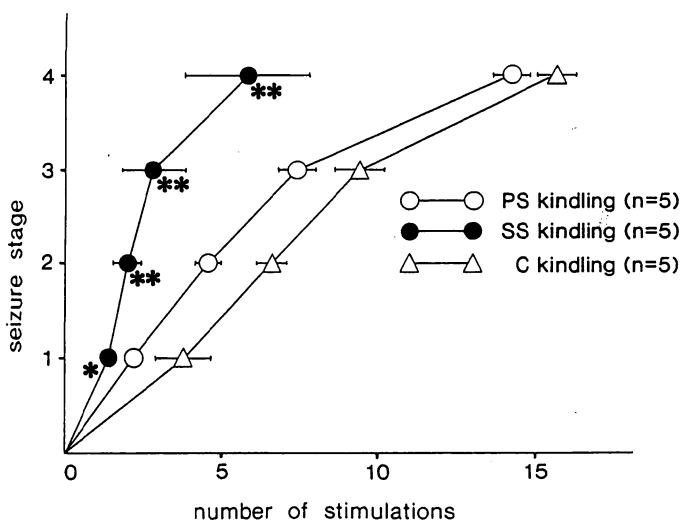


Fig. 1 Number of stimulations (mean  $\pm$  S. E.) required to produce each stage of motor seizures. PS, primary site (left amygdala); SS, secondary site (right amygdala) of the experimental group which received PS kindling followed by SS kindling. C, secondary site (right amygdala) of the control group which did not receive the preceding PS kindling. \*  $p < 0.02$ , \*\*  $p < 0.01$  by Mann-Whitney U test (as compared with C kindling). In the experimental group, the differences at stages 2-4 between PS and SS kindling development were also statistically significant (at least  $p < 0.02$  by Wilcoxon one sample test.) There were not significant differences at all stages except for stage 2 ( $p < 0.05$ ) between PS and C kindling.

他の stage については両者の間に有意な差はなかった。

各 stage に至った時点における afterdischarges (AD) の持続時間を検討した結果 (Fig. 2)、SSキンドリングではPSキンドリングおよびCキンドリングと比較していずれの stage についても AD 持続時間が延長していた (PS vs. C at stage 4,  $p < 0.05$ )。

一方、stage 4 における刺激から全身けいれ

んが現れるまでの潜時は、SSキンドリングでは  $47.8 \pm 3.7$  秒 (mean  $\pm$  S. E.) であったのに対して、PSキンドリングでは  $15.8 \pm 1.8$  秒、Cキンドリングでは  $18.2 \pm 3.7$  秒であり、SSでは後二者と比較して stage 4 の出現潜時が有意に延長していた (PS vs. SS,  $p < 0.05$  by Wilcoxon one sample test ; C vs. SS  $p < 0.05$  by Mann-Whitney U test)。

stage 4 の発作症状を検討すると、転倒を示

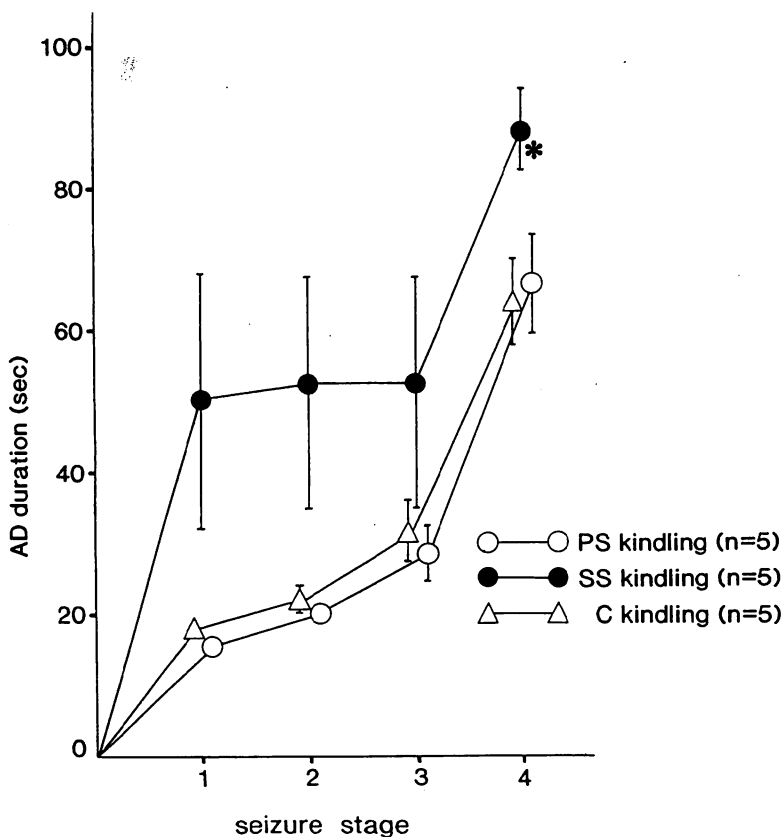


Fig. 2 Afterdischarges (AD) duration (sec, mean  $\pm$  S. E.) at each stage of motor seizures. The AD duration at each stage was always longer in SS kindling than in PS or C kindling (\*  $p < 0.05$  as compared with C kindling ; Mann-Whitney U test). Abbreviations as in Fig. 1.

したラット数は、SSでは5匹中4匹であったのに対して、PSでは5匹中1匹、Cでは5匹中0匹であり、SSではstage 4の発作症状が増強していた (SS vs. PS,  $p < 0.1$ ; SS vs. C,  $p < 0.05$  by  $\chi^2$ -test)。

実験群ラットのPSおよびSSキンドリングにおけるstage 4出現時の脳波をFig. 3に示す。

## 〈考 察〉

本研究により、生後20日目のラットにおいてPTEが認められることが明かとなった。すなわち、この時期においてPSキンドリング後にSSキンドリングを行うと、SSキンドリングの形成が有意に促進された。stage 4の出現に要する刺激回数に関しては、SSキンドリングはPSと比較して59%の節約率を、また、Cキンドリングと比較して63%の節約率を示した。

Kawawakiら<sup>12)</sup>は、生後16日目のWister系ラットを用いてPSおよびSS扁桃核キンドリングを30分間隔で5回のstage 4が出現するまで行ったところ、stage 4の出現に要する平均刺激回数はPSでは14.9回であったのに対して、SSでは1.4回と有意に少なかったことを報告している (節約率は91%)。この報告結果<sup>12)</sup>および今回我々が得た結果は、生後第3週目の幼若ラット (乳仔期の後期～離乳期に相当する) では成ラットと同様にPTEが認められることを示している。

我々は、今回用いたラットと同系の生後2-3カ月目の雄性ラットにおいてPSを1日1回の頻度で全身けいれん (stage 5<sup>17)</sup>) が6回連続して出現するまで刺激し、その24時間後からPSと

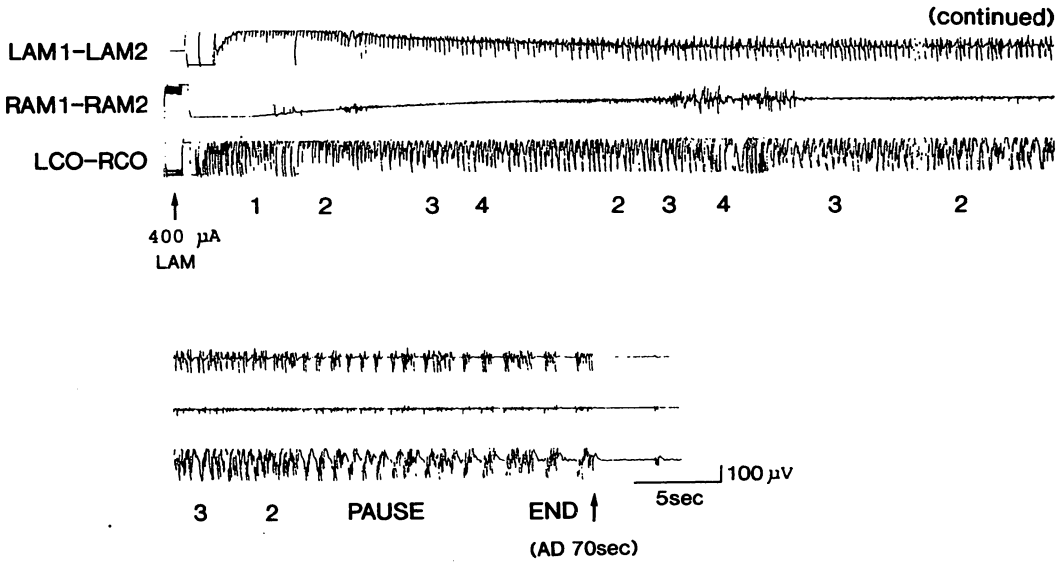
同じ方法によってSSキンドリングを行ったところ、stage 5に至るのに要する刺激回数では、SSはPSと比べて42%の節約率を示すことを観察した<sup>10)</sup>。この節約率と本実験で得られた幼若ラットの節約率とを比較すると、幼若ラットでは成ラットよりもPTEが増強して現れるように思われるが、今後は、幼若ラットと成ラットに対して同一の刺激条件を用いてPTEを検討することが必要である。

今回検討した生後20日目のラットのSSキンドリングでは、PSおよびCキンドリングと比較していずれのstageについてもAD持続時間が延長しており、また、stage 4の発作症状が増強していた。これらの所見は成ラット<sup>10)</sup>や生後16日目のラット<sup>12)</sup>では観察されていない。したがって、発作波および発作症状の観点からみると、生後20日目の時期ではその他の時期と比較してPTEが強くと現れると思われる。

一方、SSキンドリングにおけるstage 4では、キンドリング刺激からstage 4の発作症状が現れるまでの平均潜時がPSおよびCキンドリングと比較して有意に延長していた。同様の所見は、成ラットの扁桃核キンドリングにおいても観察されている<sup>10, 11, 14)</sup>。したがって、幼若ラットでは、成ラットの場合と同様に、SSに対するPSからの抑制効果 (negative transfer effect) も存在すると考えられる。なお、生後16日目のラットにおいてもこの抑制効果がみられるかどうかについては報告されていない<sup>12)</sup>。

これまでの実験報告によれば、幼若ラット (生後第3週目) ではけいれん準備性が亢進していることが示唆されている。すなわち、この時

A



B

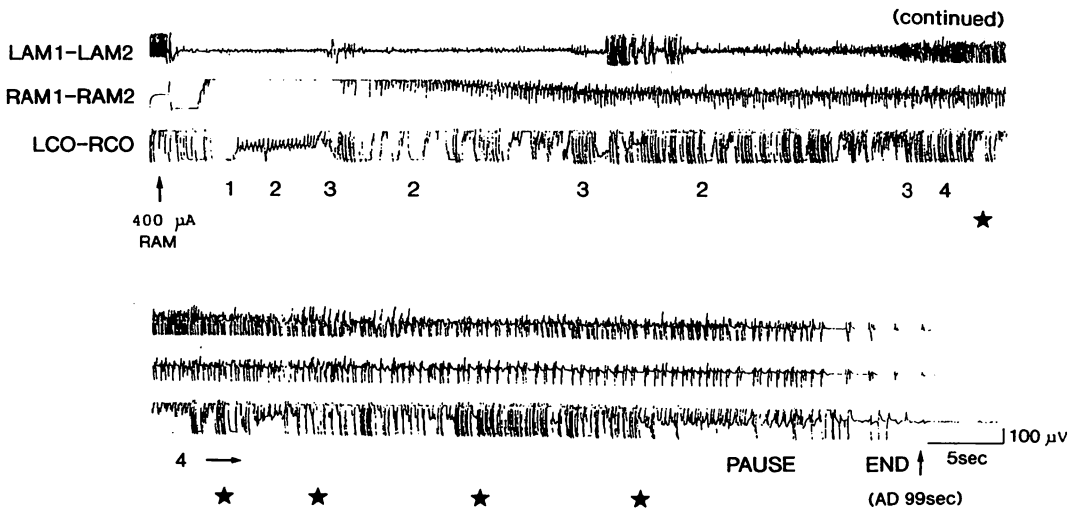


Fig. 3 EEGs of stage 4 motor seizures of PS (A; 16th stimulation) and SS (B; 4th stimulation) kindling. The latency of stage 4 after the electrical stimulation was markedly longer in SS kindling than in PS kindling (17sec and 50sec, respectively). Numbers under the EEG traces represent the scores of the motor seizure stages. Stars mean falling. LAM, left amygdala; cortex; RCO, right motor cortex.

期のラットでは、成ラットと比較してキンドリング<sup>7, 11, 15, 16)</sup> や kainic acid<sup>17)</sup>、pilocarpine<sup>18)</sup> に対するけいれん反応が増大している。また、成ラットで認められる kindling antagonism<sup>2)</sup> (半球間または半球内辺縁系の2ヵ所の部位に対して交互にキンドリング刺激を与えるとP一側または両側の焦点からの発作が抑制される現象) が幼若ラットでは認められず、むしろ幼若期ではこれら2つの部位におけるキンドリングが同時にかつ速やかに形成され、しかも、brainstem seizure<sup>4)</sup> に類似する激しい発作症状が出現することが報告されている<sup>9)</sup>。

幼若ラット脳においてけいれん準備性が亢進している理由としては、現在のところ、黒質の GABA<sub>A</sub> sensitive seizure-suppressing system が未熟であること<sup>20)</sup> や、脳内 norepinephrine レベルが成ラットと比較して低いこと<sup>9)</sup> などが推定されているが、さらに多角的な研究が必要と思われる。前述したように、幼若ラットキンドリングでは brainstem seizure<sup>4)</sup> に類似する強い発作症状が現れることから、幼若期では脳幹におけるけいれん準備性が亢進している可能性もあろう。成ラットの扁桃核キンドリングではPTEの発現に脳幹が関与していることが示唆されているが<sup>5, 14)</sup>、幼若ラットにおいても脳幹がPTEの発現に関与しているかどうかは今後の検討課題である。

Thompsonら<sup>20)</sup> は、生後27日目のラットで一側扁桃核キンドリングを形成したのちに、成熟期(生後100日目)において対側扁桃核キンドリング形成を検討した結果、対側扁桃核においてPTEが認められることを報告している。こ

の結果は、幼若期のキンドリングによってもたらされるPTEが持続性のものであることを示している。幼若ラットキンドリングのPTEに関する研究は、ヒトの発達期のみならず、成熟期における二次てんかん原焦点の形成過程を解明する上でも重要な知見を与えるものと考えられる。

## 〈文 献〉

- 1) Albala, B. J., Moshe, S. L., Okada, R. (1984) Kainic-acid-induced seizures: a developmental study. *Dev Brain Res* 37, 43-58.
- 2) Burchfiel, J. L., Serpa, K. A., Duffy, F. H. (1982) Further studies of antagonism of seizure development between concurrently developing kindled limbic foci in the rat. *Exp Neurol* 75, 476-489.
- 3) Burnham, W. M. (1975) Primary and "transfer" seizure development in the kindled rat. *Can J Neurol Sci* 2, 417-428.
- 4) Burnham, W. M., Albright, P., Schneidermann, P., et al. (1981) "Centrencephalic" mechanisms in the kindling model. In: *Kindling 2* (Wada, J. A. ed.), Raven Press, New York.
- 5) Cain, D. P. (1985) Transfer of kindling: clinical relevance and a hypothesis of its mechanism. *Prog Neuro-Psychopharmacol Biol Psychiat* 9, 467

-472.

- 6) Cavalheiro, E. A., Silva, D. F., Turski, W. A., et al. (1987) The susceptibility of rats to pilocarpine-induced seizures is age-dependent. *Dev Brain Res* 37, 43-58.
- 7) 千葉 茂: 脳の発達とキンドリング. I 年齢. てんかんの神経機構 — キンドリングによる研究 (Juhn A. Wada, 佐藤光源, 森本 清編集), 149-160, 1993.
- 8) Goddard, G. V., McIntyre, D. C., Leech, C. K. (1969) A permanent change in brain function resulting from daily electrical stimulation. *Exp Neurol* 25, 295-330.
- 9) Haas, K. Z., Sperber, E. F., Moshe, S. L. (1990) Kindling in developing animals: expression of severe seizures and enhanced development of bilateral foci. *Brain Res Dev Brain Res* 56, 275-280.
- 10) 鎌田隼輔, 松本三樹, 千葉 茂, 宮岸 勉 (1994): 老ラットの扁桃核キンドリングにおける転移現象について. てんかんをめぐって (印刷中)
- 11) 川原隆造, 松田和義, 石田暁宏ら (1989) 幼若ラットの扁桃核キンドリングと成熟後の再キンドリングについて. *脳神経*, 135-141.
- 12) Kawawaki, H., Lee, S., Nakajima, S., et al. (1987) Transfer phenomenon in amygdaloid kindling in suckling rats. *Jpn J Psychiat Neurol* 41, 537-538.
- 13) McIntyre, D. C. (1975) Split-brain: transfer and interference of kindled amygdala convulsions. *Can J Neurosci* 2, 429-437.
- 14) McIntyre, D. C., Goddard, G. V. (1973) Transfer, interference and spontaneous recovery of convulsions kindled from the rat amygdala. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 35, 533-543.
- 15) Moshe, S. L. (1981) The effects of age on the kindling phenomenon. *Dev Psychobiol* 14, 75-81.
- 16) Moshe, S. L., Albala, B. J. (1983) Maturation changes in postnatal refractoriness and seizure susceptibility in developing rats. *Ann Neurol* 13, 552-557.
- 17) Racine, R. J. (1972) Modification of seizure activity by electrical stimulation: II. motor seizures. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 32, 281-294.
- 18) 佐藤光源: 燃え上がり現象 — 概論. 燃え上がり現象 — てんかんと精神病への新しいアプローチ (Juhn A. Wada 監修, 佐藤光源編集), 1-16, 創造出版, 東京.
- 19) Sherwood, N. M., Timiras, P. S. (1970) A stereotaxic atlas of the developing rat brain, Univ California Press, Berkeley.
- 20) Thompson, J. L., Holmes, G. L.,



- Feldman, D. S., et al. (1989) Transfer following rapid kindling in the pre-pubescent rat. *Epilepsy Res* 3, 222-226.
- 21) Wada, J. A. (1982) Secondary cerebral functional alterations examined in the kindling model of epilepsy. In: *Secondary epileptogenesis* (Mayerdorff, A. and Schmidt, R. P. ed.), 45-87, Raven Press, New York.
- 22) Wada, J. A. Mizoguchi, T., Osawa, T. (1978) Secondarily generalized convulsive seizures induced by daily electric amygdaloid stimulation in rhesus monkeys. *Neurology* (Minneapolis) 28, 1026-1036.
- 23) Wada, J. A., Osawa, T. (1976) Spontaneous recurrent seizure state induced by daily electric amygdaloid stimulation in Senegalese baboons (*Papio Papio*). *Neurology* (Minneapolis) 26, 273-286.
- 24) Wake, A., Wada, J. A. (1975) Transfer and interference in amygdaloid kindling in cats. *Can J Neurol Sci* 4, 5-11.
- 25) Wurpel, J. N. D., Tempel, A., Sperber, E. F., et al. (1988) Age-related changes of muscimol binding in the substantia nigra. *Dev Brain Res* 43, 305-308.

## Summary

### Positive Transfer Effect of the Amygdala Kindling in Developing Rats

Shigeru Chiba, Yukihiro Muneoka, Shunsuke Kamata, Hiroko Inaba, Tsutomu Miyagishi

Department of Psychiatry and Neurology, Asahikawa Medical College,

Nishikagura 4-5-3-11, Asahikawa 078 JAPAN

In adult rats, the secondary site (SS) amygdala is kindled at an significantly accelerated rate if the cotralateral primary site (PS) amygdala has been kindled previously. In this paper, SS amygdala kindling after PS kindling was investigated in 20-day-old male rat (the experimental group; N = 5). Age-matched male rats which received SS kindling (C kindling; right) without the preceding PS kindling was used as the control group (N = 5). The rate of SS kindling of the experimental group was significantly faster than that of PS kindling of the experimental group or that of C kindling of the control group. The present study indicate that positive trasfer effect occur in 20-day-old rats as well as in mature rats.