

# AMCoR

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

てんかんをめぐって (1992.02) 12巻:225～232.

老ラット扁桃核キンドリングについて

千葉茂、宗岡幸広、佐藤譲、宮岸勉

# 老ラットの扁桃核キンドリングについて

旭川医科大学精神科神経科

千葉 茂 宗岡 幸広 佐藤 譲  
宮岸 勉

Amygdaloid Kindling in Aged Rats

Shigeru Chiba, Yukihiro Muneoka, Yuzuru Sato, Tsutomu Miyagishi

Department of Psychiatry and Neurology, Asahikawa Medical College, Nishikagura

4-5-3-11, Asahikawa 078

## I. はじめに

米国の Rochester における年齢別てんかん発病率の調査 (1935 - 1967年)<sup>10)</sup> によれば、小児期 (10歳未満) および老年期 (60歳以上) は成人期よりも高い発病率を示す。Lühdorfら<sup>12)</sup> も Copenhagen において60歳以上のてんかん発病率を5年間 (1979 - 1983年) にわたって調査し、10万対77と高いことを報告している。このように、老年期ではてんかんが生じ易いことが推定される。

我々は、老ラット群 (生後22 - 23ヵ月) における pentylenetetrazol (以下、PTZ) 70mg/kg皮下注に対するけいれん反応を成ラット群 (生後3 - 4ヵ月) と比較検討した結果、両群における全身けいれんの出現潜時には差がなかったものの、老ラット群では全身けいれんの出現回数が多く、また、その持続時間が有意に長かった<sup>9)</sup>。そこで、脳の老化過程におけるけいれん準備性をさらに検討する目的で、老ラットの扁桃核キンドリング形成過程を検討した。

## II. 方 法

実験には、通常的环境下で飼育された正常無処理の Sprague-Dawley 系雄性ラットを使用した。

実験1では、老ラット群 (生後21 - 24ヵ月、体重450 - 730g、n = 11) における扁桃核キンドリングの形成過程を検討した。両群のラットを pentobarbital 麻酔下で脳定位固定装置に固定し、Pellegrinoら<sup>14)</sup> の脳図譜に従って双極深部電極 (enamelで被覆された直径200  $\mu$  の stainless steel 線2本をより合わせたもので、先端部の電極間距離は0.5mm) を両側の扁桃核に刺入し、また、両側感覚運動野に相当する部位の頭蓋骨にネジ電極を装着した。キンドリング刺激は、その1週間後から開始した。刺激 (右扁桃核) は100  $\mu$ A、60Hzの2相性矩形波で、1秒間、1日1回行った。

ただし、老ラット群のなかの1匹では100  $\mu$ Aの強度ではafterdischarges（以下、AD）が出現しなかった。このラットに対しては、1時間以上の間隔をおいて刺激強度を100  $\mu$ Aずつ上げて刺激した結果、700  $\mu$ Aで初めてADが出現した。次に、電流強度を700  $\mu$ Aから25  $\mu$ Aずつ下げて刺激したところ、650  $\mu$ AでADが誘発されなかったので、その後のキンドリング刺激は675  $\mu$ Aで行った。

両群の刺激電極の位置は、electrolytic lesionにより確認した。

実験2では、老ラット脳に加齢性変化を光学顕微鏡を用いて検討した。すなわち、生後23-24ヵ月目で正常無処置のラット群の脳（ $n = 3$ ）をformalinで灌流固定後paraffinに包埋し、前額断切片（5  $\mu$ m）を作成してhematoxylin-eosin染色を行った。生後3ヵ月目の正常無処置のラット群の脳（ $n = 3$ ）に対しても同様の処置を行い、両群における大脳皮質、海馬、扁桃核、青班核、黒質、小脳皮質などの各部位について比較検討した。

### III. 結 果

#### 〈実験1〉

##### 1) 発作症状

老ラット群の発作型は、対照群と同様にRacine<sup>49</sup>に従ってmouth and facial movements (stage 1)、head nodding (stage 2)、forelimb clonus (stage 3)、rearing (stage 4)、およびrearing and falling (stage 5)の5段階に分類できることが確認された。ただし、老ラットのstage 2では刺激側（右）へのhead turningが随伴した。また、老ラットのstage 5ではfallingが多く、しばしばjumpingや全身のjerkingがみられ、対照群と比較して発作症状がよりviolentであった。対照群および老ラット群におけるstage 5の発作時脳波を示す（Fig. 1）。発作波の性状には、両群の間で明らかな差異は認められなかった。

##### 2) 各発作段階の出現に要する刺激回数

Fig. 2に、両群における各発作段階の出現に要した刺激回数を示す。対照群ではstage 5の出現に要した平均刺激回数が17.6回であったのに対して、老ラット群では39.8回であり、老ラット群は有意に多くの刺激回数を示した。また、老ラット群ではstage 2-4の出現に要する刺激回数も有意に多かった。このように、老ラット群は、対照群と比較してキンドリング形成の著しい遅延を示した。

老ラットの発作段階の発展様式では、i) stage 2以下の部分発作の段階が長く持続する、ii) すべての老ラットが、stage 3を飛び越えて、stage 2からstage 4以上の全般発作へと急速に進展するパターンを示す（このため、Fig. 2では、stage 3の出現に要した刺激回数がstage 4の場合と同じ数値として示されている）、およびiii) stage 5が出現するまでの過程における発作段階の退行回数は、対照群では $0.7 \pm 0.6$ （平均 $\pm$ SE）回であったのに対して、老ラット群では4.4

± 0.7 (平均± SE) 回であり、老ラット群では発作段階の退行（とくに stage 1 - 2 からの退行）が有意に多い ( $p < 0.01$ ) という特徴が認められた。

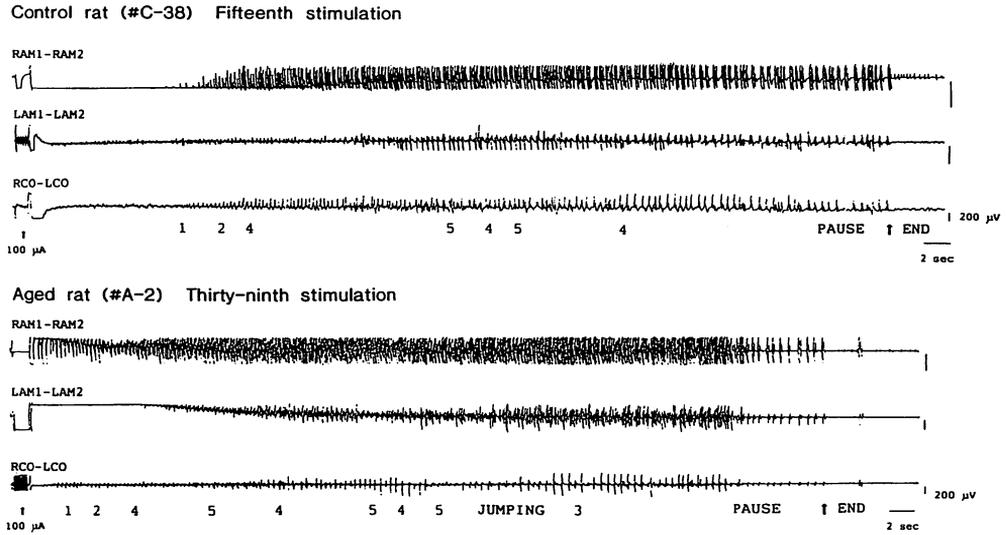


Fig. 1 EEGs in the control group (top) and the aged group (bottom). The aged group showed a more violent stage 5 seizure as compared with the control group. RAM, right amygdala; LAM, left amygdala; RCO, right sensori-motor cortex; LCO, left sensori-motor cortex. Numbers under the EEG traces represent the score of the motor seizure stages.

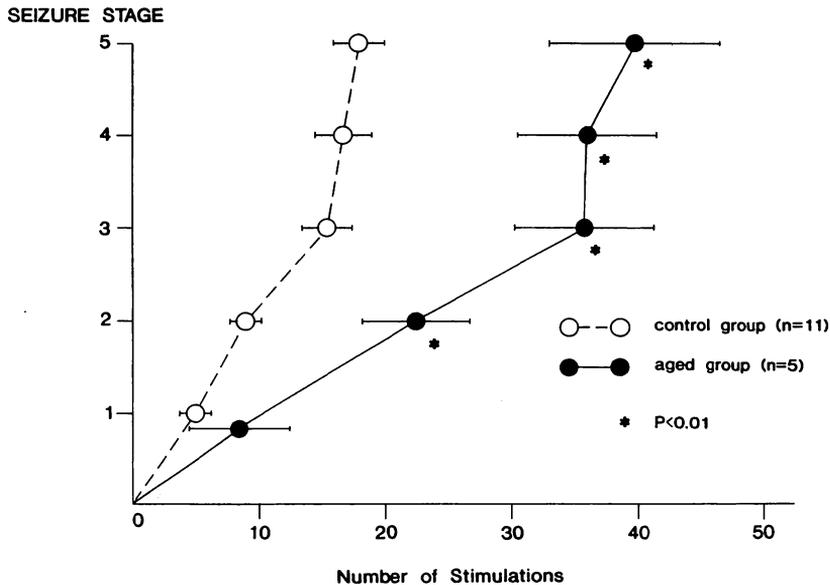


Fig. 2 Number of stimulations required to produce each stage of motor seizures in the control and aged groups. Results are means ± SE. The asterisks indicate the significant difference ( $p < 0.01$ ) between the control and the aged groups by using the Mann-Whitney U test.

### 3) AD 持続時間

両群における初回刺激時および各 stage に至った時点での平均 AD 持続時間を Fig. 3 に示す。両群とも発作段階が進行するとともに AD は延長したが、老ラットでは stage 5 に至ると AD がやや短縮した。老ラット群の平均 AD 持続時間は、初回刺激時および各 stage の出現時のいずれにおいても、対照群と比較して軽度に延長していたが、両群の間に統計学的な有意差はなかった。

AD が対側の扁桃核に波及するまでに要する刺激回数は、対照群では  $6.7 \pm 1.2$  (平均  $\pm$  SE) 回であったのに対して老ラット群では  $2.8 \pm 1.1$  (平均  $\pm$  SE) 回であり、後者で有意に少なかった ( $p < 0.05$ )。すなわち、老ラット群では刺激側の AD がより早期から対側扁桃核に波及した。

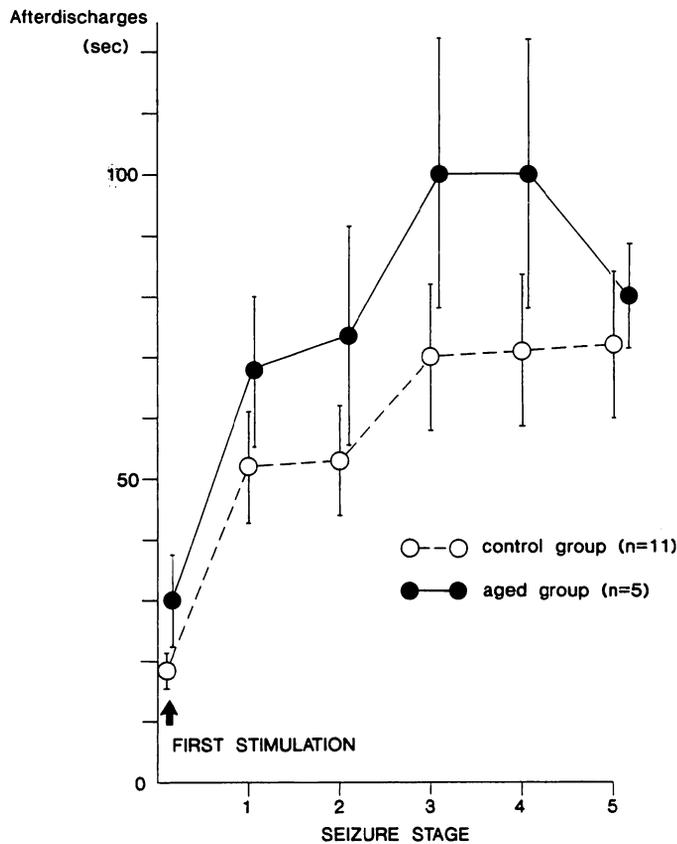


Fig. 3 Duration of afterdischarges (AD) at each stage of motor seizures in the control and aged groups. Results are means  $\pm$  SE. Although the AD durations were always longer in the aged group than the control group at any stage including first stimulation, there were no significant differences between the two groups.

〈実験2〉

老ラットの大脳皮質感覚運動野では、対照群の大脳皮質と比較して細胞構築の崩壊および神経細胞脱落が軽度に認められ、加齢性変化が生じていることが明らかであった (Fig. 4)。一方、海馬、扁桃核、青班核、黒質、小脳皮質などの皮質下構造には、両群とも変化は認められなかった。

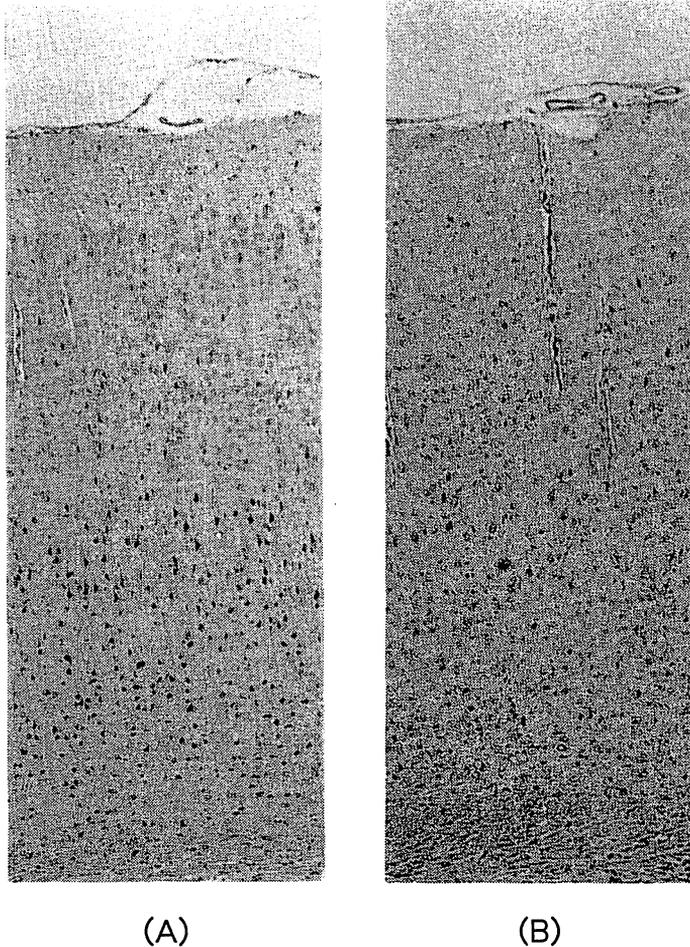


Fig. 4 Light microscopic examination of the sensori-motor cortex of the control group (A) and the aged group (B). The latter group showed mild disorganization of cell architecture and mild neuronal loss (B).

#### IV. 考 察

老ラットでは、成ラットと比較して stage 1 - 2 の部分発作の段階が長く持続し、キンドリング形成速度の著しい遅延が認められた。また、stage 5 に至るまでの過程で発作段階の退行が多く認められた。したがって、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。

一方、老ラットでは、部分発作から stage 4 以上の全般発作への進展は stage 3 を飛び越すとい

う点で急速であり、また、stage 5の発作症状は成ラットよりもviolentであった。さらに、老ラットではADが早期から対側扁桃核に波及した。これらの実験結果、ならびに、老ラットではPTZけいれん反応が増強しているという我々の既報<sup>9)</sup>から老ラットでは、けいれんが起り易いと考えられる。

以上の所見から、老ラットでは、けいれんは起り易いがてんかん原性は獲得されにくいと考えられる。これらの特徴が、脳のどのような加齢性変化と関連しているのかは不明である。しかし、老ラットでは、大脳皮質および皮質下構造におけるシナプス数の減少<sup>5)</sup>、Achの放出の低下<sup>13)</sup>、シナプス膜ガングリオシドの減少<sup>2)</sup>、さらに最近では、大脳皮質・海馬におけるNMDA受容体数の減少<sup>17)</sup>など、synaptic transmissionの加齢性変化が存在することが示唆されている。キンドリングは、ニューロンの電気賦活による経シナプス性の変化に基づく現象と考えられていることから<sup>18)</sup>、上述したような加齢性変化がキンドリング形成の遅延に関連していると考えられる。

本研究の実験2では、老ラットの大脳皮質において、軽度の細胞構築の崩壊および細胞脱落が認められた。ところで、老ラット(29ヵ月齢)の大脳皮質や海馬・扁桃核、脳幹網様体など広範な脳部位において、GABAが減少していることが報告されている<sup>3)</sup>。GABA系は、PTZやキンドリングによるけいれんを含む種々のけいれんに対する抑制系として重視されているため<sup>1)</sup>、加齢に伴うこのGABA系の機能低下が老ラットにおけるけいれんの起り易さに関連していることが推定される。しかし、けいれん発作の発現に重要な役割を果たす脳部位と考えられている黒質でのGABA含量の変化は、老ラットについては報告されていない<sup>3)</sup>。

ラットにPTZを投与した際の発作波は皮質下よりも大脳皮質優位にみられることが報告されており<sup>9)</sup>、また、上述したように老ラットの大脳皮質ではGABA含量が低下している<sup>3)</sup>。したがって、老ラットでみられたPTZけいれん反応の増強<sup>9)</sup>に関しては、とくに大脳皮質のGABA系の機能低下が関連している可能性も考えられる。いずれにせよ、脳の加齢性変化と、けいれんあるいはてんかん原性獲得に対するsusceptibilityの変化との関連性については今後さらに検討が必要である。

現在のところ、老ラットに関しては海馬(26ヵ月齢)<sup>9)</sup>および梨状葉皮質キンドリング(10-12ヵ月齢)<sup>11)</sup>が検討されており、いずれの場合にも、老ラットでは成ラットと比較してその形成速度が遅延すると報告されている。今後、さらに様々な脳部位についてキンドリング形成を検討することが、脳の老化過程におけるseizure susceptibilityを解明する上で重要と思われる。

## 結 論

老ラット扁桃核のキンドリング形成過程を検討した結果、対照群と比較して著しい遅延が認められた。したがって、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。

## 文 献

- 1) Albertson TE, Peterson SL, Stark LG : The anticonvulsant effects of diazepam and phenobarbital in prekindled and kindled seizures in rats. *Neuropharmacology* 20 ; 593 - 603, 1981.
- 2) 安藤 進、田中康一 : 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), 朝倉書店, 東京, pp. 47 - 82, 1989.
- 3) Banay-Schwartz M, Lajtha A, Palkovits M : Changes with aging in the levels of amino acids in rat CNS structural elements I. Glutamate and related amino acids. *Neurochem Res* 14 ; 555 - 562, 1989.
- 4) Ben-Ari Y, Tremblay E, Riche G, et al : Electrographic, clinical and pathophysiological alterations following systemic administration of kainic acid, bicuculline or pentetrazole : metabolic mapping using the deoxyglucose method with special reference to the pathology of epilepsy. *Neuroscience* 6 ; 1361 - 1391, 1981.
- 5) Bondareff W, Geinisman Y : Loss of synapses in the dentate gyrus of the senescent rat. *Am J Anat* 145 ; 129 - 136, 1976.
- 6) 千葉 茂、武藤福保、佐藤 謙、他 : 老ラットのけいれん準備性について—pentylene tetrazol による検討—。第22回日本てんかん学会プログラム・抄録集, 168, 1988.
- 7) De Toledo-Morrell L, Morrell F, Fleming S : Age-dependent deficits in spatial memory are related impaired hippocampal kindling. *Behav Neurosci* 98 ; 902 - 907, 1984.
- 8) Feldman ML : Aging changes in the morphology of cortical dendrites. In : Terry RD, Gershon S, eds. *Neurobiology of aging*. New York : Raven Press, 1976 : 211 - 228.
- 9) Gale K : GABA in epilepsy : the pharmacologic basis. *Epilepsia* 30 ; S1 - S11, 1989.
- 10) Hauser WA, Kurland LT : The epidemiology of epilepsy in Rochester, Minnesota, 1935 through 1967. *Epilepsia* 16 ; 1 - 66, 1975.
- 11) 稲葉央子、千葉 茂、宗岡幸広、他 : 老ラットにおける梨状葉皮質キノドリング形成過程の検討。第25回日本てんかん学会プログラム・抄録集, 217, 1991.
- 12) Lühdorf K, Jensen LK, Plesner AM : Epilepsy in the elderly : incidence, social function, and disability. *Epilepsia* 27 ; 135 - 141, 1986.
- 13) Padata F, Slavikova J, Kotas A, et al : Acetylcholine release from rat cortical slices during postnatal development and aging. *Neurobiol Aging* 4 ; 31 - 35, 1983.

- 14) Pellegrino LJ, Pellegrino AS, Cushman AJ : A stereotaxic atlas of the rat brain, 2nd ed. New York : Plenum Press, 1979.
- 15) Racine RJ : Modification of seizure activity by electrical stimulation : II. motor seizure. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 32 ; 281 - 294, 1972.
- 16) 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), 創造出版, 東京, pp. 1 - 16, 1981.
- 17) Tamaru M, Yoneda Y, Ogita K, et al : Age related decreases of the N-methyl-D-aspartate receptor complex in the rat cerebral cortex and hippocampus. *Brain Res* 542 ; 83 - 90, 1991.