

AMCoR

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

てんかんをめぐって (1994.02) 14巻:17～23.

老ラットにおける梨状葉皮質キンドリングについて

稲葉央子、千葉茂、宗岡幸広、鎌田隼輔、布村明彦、宮岸
勉

老ラットにおける梨状葉皮質キンドリングについて

旭川医科大学精神医学講座

稲葉 央子, 千葉 茂, 宗岡 幸広
鎌田 隼輔, 布村 明彦, 宮岸 勉

(〒078旭川市西神楽4線5号3番地の11)

〈はじめに〉

ヒトでは、老年期において症候性てんかんを含むてんかん(2回以上の無熱性けいれん発作)の発病率が高いと報告されている^{4,5)}。また、実験的研究でも、老ラットでは海馬^{2,3)}および扁桃核¹⁾において部分発作の二次全般化モデルであるキンドリング形成が遅延するが、pentylentetrazol(以下PTZ)や扁桃核キンドリングによる全身けいれん反応はむしろ増強していると報告されている⁶⁾。したがって、脳の老化はseizure susceptibilityに影響を及ぼしていると考えられる。

ところで、ラットの梨状葉皮質(pyriform cortex、以下PC)は辺縁系のなかでもキンドリングが速かに形成される部位であり¹⁰⁾、けいれん発作を起こし易い部位であることが知られている。また、PCは辺縁系キンドリングによる発作活動のペースメーカーとして働くという仮説も提唱されており⁷⁾、PCはけいれん発作の発現に重要な役割を果たす部位であると考えられる。そこで本研究では、脳の老化過程におけるseizure susceptibilityを検討する目的で、生後10-12カ月齢のラットを用いてPCキンドリングの形成過程を観察した。

〈方 法〉

実験には正常無処置のSprague-Dawley系雄性ラットを用いた。老齢群としては10-12カ月齢のラット10匹を、また、対照群としては2.5-3カ月齢の成ラット10匹を使用した。

電極の装着は、pentobarbital麻酔下で脳定位固定装置を用い、脳図譜¹¹⁾にしたがって行った。まず、左側梨状葉皮質に電極を刺入した(Fig. 1)。この刺激電極には、直径200 μ mのステンレススチール線2本をよりあわせて作製した双極電極を使用した。その他に、表面電極として、両側感覚運動野に相当する部位の頭蓋骨上にネジ電極を、また、基準電極として前頭洞にネジ電極を装着した。術後4-6日目に、両群の各々のラットについて、後発射(after-discharge、以下AD)が発現する閾値(AD threshold、以下ADT)を決定した。すなわち、最初に25 μ Aで刺激を行い、ADが出現しなかった場合には15分以上の間隔をおいてさらに25 μ Aずつ電流強度を上げる方法により行った。そのADTの電流強度を用いて60Hz, pulse幅1msecの二相性矩形波で1秒間、1日2回、4時間以上の間隔をおいて刺激した。キンドリング刺激は、発作症状の最終段階であるstage 5の全身けいれん発作が出現するまで行

った。その後、10%ホルマリン液を用いて脳の灌流固定を行い、電極刺入部位近傍の冠状断による組織片を切り出してパラフィン包埋したのち厚さ8 μ mの切片を作製し、Hematoxylin-Eosinで染色して光学顕微鏡により電極の先端位置を確認した。統計学的検討にはMann-Whitney U testを用いたが、発作段階の退行に関するデータの一部については χ^2 -testを用いて検討した。

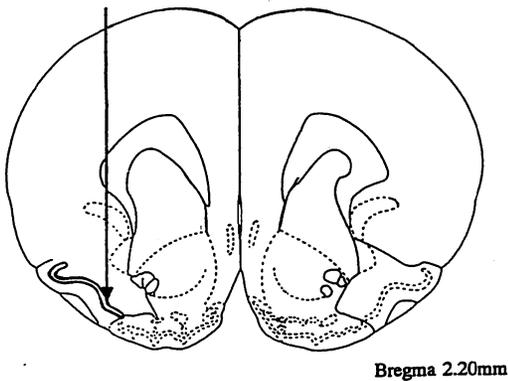


Fig. 1 Implantation of the electrode (arrow) into the PC (from the atlas of Paxinos and Watson¹¹⁾).

III. 結 果

Fig. 2は対照群のラット脳であるが、刺激電極が左側PCに正確に刺入されている。実験に用いたすべてのラットについて刺激電極の先端が左側PCに刺入されていることを確認した。

両群の発作症状は、Table 1のように5段階に分類した。

両群のstage 5における全身けいれん発作の性状を比較すると、転倒すなわちfallingの平均出現回数は、老齡群では2.1回であったのに対して対照群では1.9回であり、両群の間に有意差はなかった。また、キンドリング刺激後から転倒

が出現するまでの平均潜時も、老齡群では10.6秒であったのに対して対照群では13.1秒であり、老齡群でやや短縮してはいたが、両群の間に有意差はみられなかった。



Fig. 2 Location of the electrode tip in the left PC (arrow). Hematoxylin-eosin stain.

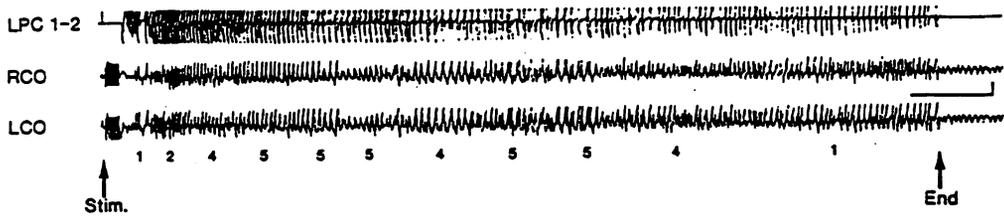
Table 1. Classification of motor seizures

| | |
|---------|------------------------------|
| Stage 1 | : Mouse and facial movements |
| Stage 2 | : Head nodding |
| Stage 3 | : Forelimb clonus |
| Stage 4 | : Rearing |
| Stage 5 | : Rearing and falling |

Fig. 3は、両群におけるstage 5の発作時脳波である。両群における発作時脳波の性状にも相違はなかった。

Fig. 4は、両群の各発作段階に至るまでに要した平均刺激回数を示したものである。stage 1および2の出現に要する刺激回数には両群の間に有意差はみられなかったが、stage 3、4および5については老齡群が有意に多い刺激回数を要した。すなわち、対照群ではstage 3が8.8回、stage 4が9.3回、およびstage 5が11.5回で

control rat (# PCC-3)



aged rat (# PCA-2)

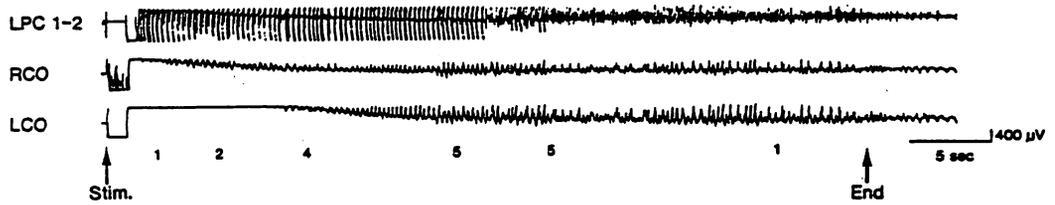


Fig. 3 EEGs of the control group (top) and the aged group (bottom). Numbers under the EEG traces represent the score of the motor seizure stages. LPC, left PC; RCO, right sensorimotor cortex; LCO, left sensorimotor cortex.

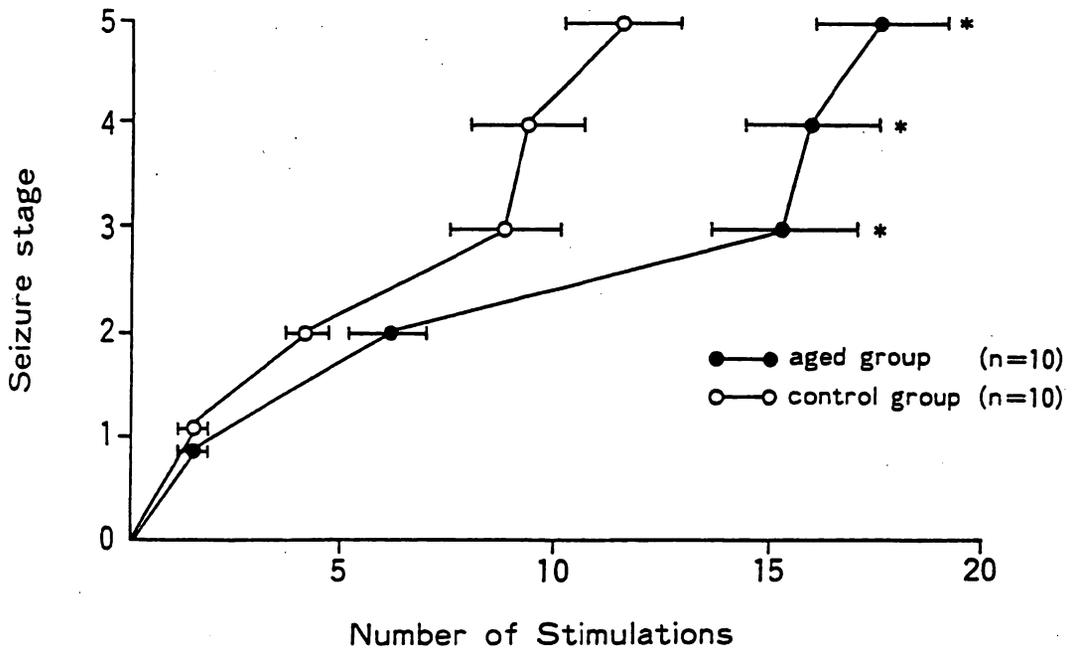


Fig. 4 Number of stimulations required to produce each stage of motor seizures in the control and the aged groups. Results are means \pm S.E. * $p < 0.01$; Mann-Whitney U test.

あったのに対して、老齢群ではそれぞれ15.3回、15.8回、および17.5回であり、いずれも統計学的に有意差が認められた。

キンドリング形成過程における発作段階の退行を両群で比較したところ、平均退行回数は対照群では0.5回、老齢群では0.7回と老齢群でやや多く、退行を示したラット数も対照群では4匹、老齢群では7匹と老齢群でより多い傾向が認められたが、いずれも有意差は認められなかった。

ADTも対照群で102.5 μA であったのに対して老齢群では182.5 μA であり、老齢群でやや高かったものの有意差は認められなかった。

Fig. 5は、初回刺激時および各発作段階に至った時点におけるADの持続時間を比較したものである。両群とも発作段階が進展するにつれて延長する傾向が認められ、いずれの発作段階においても老齢群では対照群よりもAD持続時間がやや短縮していたが、有意差は認められなかった。

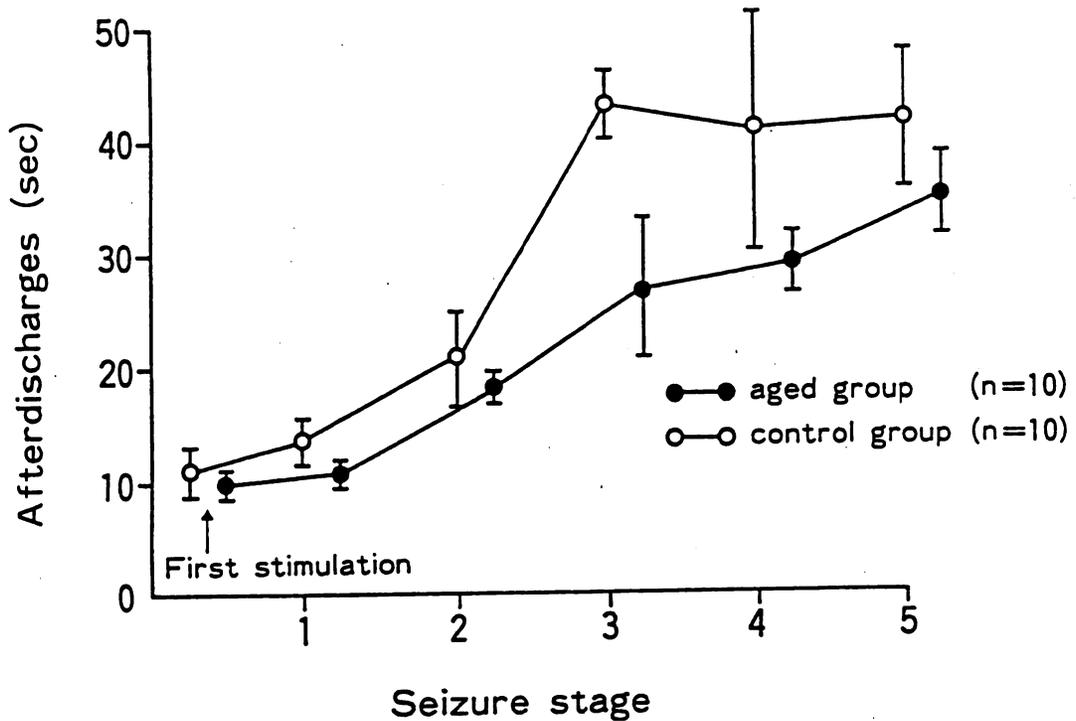


Fig. 5 Duration of afterdischarges (AD) at the first stimulation and at each stage of motor seizures in the control and the aged groups. Results are means \pm S. E. There is no significant differences in the ADs during the kindling process between the both groups.

〈考 案〉

老ラットでは成ラットと比較してstage 5の出現に要する刺激回数が有意に多く、キンドリング

形成が遅延することが明らかとなった。海馬^{2,3)}や扁桃核⁴⁾においてもキンドリング形成が遅延すると報告されており、老ラットは、成ラット

と比較しててんかん原性が獲得されにくいと考えられる。また、PCキンドリングの発展様式を検討すると、老ラットでは部分発作の段階 (stage 1-2) が長く持続し、このためにstage 5に至るまでのキンドリング形成が遅延していた。したがって、老ラットでは部分発作から全般発作への進展が起りにくいと考えられる。

PCにおけるADTが軽度上昇していた理由としては、ラットPCの神経細胞では加齢とともにリポフスチンが増加することが報告されており⁹⁾、このようなPCの加齢性変化の存在があげられる。しかし、老ラットにおけるPCキンドリングの形成遅延についてはPCのみの加齢性変化で説明することは困難であり、脳のより広範な加齢性変化も関与していると考えられる。すなわち、キンドリング現象はニューロンの電気的賦活による経シナプス性の変化に基づくという考えが重視されていることから^{8,10)}、老ラットにおけるPCキンドリング形成の遅延には、脳の広範な部位における神経細胞の加齢性変化を基盤としたシナプス伝達効率の低下が関与していると推定される¹⁾。

ところで、ヒトの老年期では、てんかん (2回以上の無熱性けいれん発作) の発病率が高いと報告されているが^{4,6)}、海馬^{2,3)} や扁桃核¹⁾ におけるこれまでのキンドリング実験の結果、及び今回の実験結果は、疫学的な調査結果^{4,5)} とは合致していない。ヒトの老年期のけいれん発作では、脳血管障害や脳腫瘍などの器質性病変に基づく症候性てんかんが大部分を占めている⁶⁾。したがってヒトの老年期におけるてんかん発作の発現には、新たにてんかん性神経回路が形成

されることよりも、けいれん発作を惹起させる焦点としての脳器質病変の存在、および、Otomo¹⁰⁾ が報告しているような老年期における seizure susceptibilityの亢進が重要な要因と考えられる。

今回の実験では転倒の出現回数、および刺激から転倒までの潜時については老齢群と対照群の間に有意差はなく、本研究で用いた月齢の老ラットでは全身けいれんに対する susceptibility に差は認められなかった。21-25カ月齢のラットでは成ラットと比較して全身けいれんに対する susceptibility が亢進していると報告されている¹⁾ ので、けいれんに対する susceptibility の亢進は、今回の実験で検討した10-12カ月齢よりも後の時期になって現れる可能性がある。今後は、13-20カ月齢のラットを用いて月齢ごとに seizure susceptibility を検討する必要がある。

〈文 献〉

- 1) 千葉 茂、宗岡幸広、佐藤 譲ら (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.
- 2) De Toledo-Morrell L, Geinisman Y, Morrell F (1988) Neural plasticity: a life-span approach, 283-328, Alan R, Liss, Inc., New York.
- 3) Fanelli RJ, McNamara JO (1986) Effect of age on kindling and kindled seizure induced increase of benzodiazepine

- receptor binding. *Brain Res* 362, 17-22.
- 4) Hauser WA, Kurland LT (1975) The epidemiology of epilepsy in Rochester, Minnesota, 1935 through 1967. *Epilepsia* 16, 1-66.
 - 5) Lühdorf K, Jensen LK, Plesner AM (1986) Epilepsy in the elderly: Incidence, social function, and disability. *Epilepsia* 27, 135-141.
 - 6) Lühdorf K, Jensen LK, Plesner AM (1986) Etiology of seizures in the elderly. *Epilepsia* 27, 458-463.
 - 7) McIntyre DC (1986) Kindling mechanisms: current progress on an experimental epilepsy model. *Prog. Neurobiol* 27, 1-12.
 - 8) 森本 清, 佐藤光源 (1991) てんかん学の進歩 No. 2, 299-320, 岩崎学術出版, 東京.
 - 9) 布村明彦 (1991) 抗酸化作用を有する 7-hydroxy-1-[4-(3-methoxyphenyl)-1-piperazinyl]-acetylamino-2, 2, 4, 6-tetramethylindan (OPC-14117) がラット大脳皮質リポフスチンに及ぼす影響. *Neuropathol* 11, 89-104.
 - 10) Otomo E (1981) Convulsion in the aged. *Folia Psychiatr Neurol Jpn* 35, 295-299.
 - 11) Paxinos G, Watson C (1986) The rat brain in stereotaxic coordinates; 2nd ed., Academic Press, New York.
 - 12) Racine RJ (1972) Modification of seizure activity by electrical stimulation: II. motor seizure. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 32, 281-294.
 - 13) 佐藤光源 (1981) 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, 1-16, 創造出版, 東京.
 - 14) Stripling JS, Petneau DK (1990) *Kindling* 4, 45-59, Plenum Press, New York.

Summary

Kindling of the Piriform Cortex in Aged Rats.

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

Department of Psychiatry and Neurology, Asahikawa Medical Collage.
Nishikagura 4-5-3-11, Asahikawa 078

The author investigated seizure susceptibility in 10-12-month-old rats (aged group) by kindling of the piriform cortex (PC). Adult male Sprague-Dawley rats (3-4 mo.) were used as the control group.

The kindling development of the aged group was significantly slower than that of the control group because stages 1 and 2, which are indicative of partial seizures, were prolonged. The incidence of regression of seizure stage during the kindling process was higher in the aged group than in the control group (70% and 40%, respectively), but not significantly. In addition, the aged group showed a shorter duration of afterdischarges (AD) through the kindling process, and afterdischarge threshold in the PC was slightly elevated in the aged group as compared with the control group but not significantly. There was no significant differences between the two groups in the incidence of falling, and in the latency for falling at the first stage 5 seizure (generalized convulsion).

The results indicate that the aged group has difficulty in acquisition of epileptogenesis, while there is no apparent change in the susceptibility to generalized convulsion as compared with the control group.