

# AMCoR

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

てんかんをめぐって (1999.02) XIX(19)巻:77～85.

ラット焦点性てんかん発作に及ぼす低体温の影響

前田高宏, 橋詰清隆, 田中達也

# ラット焦点性てんかん発作に及ぼす低体温の影響

旭川医科大学脳神経外科

前田 高宏、橋詰 清隆、田中 達也

## 1. はじめに

カイニン酸 (KA) は興奮性アミノ酸であるグルタミン酸の analog である<sup>1)</sup>。ラット一側扁桃核内に KA を微量注入することで側頭葉てんかんと似た発作を誘発でき<sup>2)</sup>、病理学的にも注入側海馬 CA3、4 の錐体細胞の脱落が見られ、側頭葉てんかんを研究するためのモデルとして使われてきた<sup>3, 4)</sup>。

一方、てんかんと体温のあいだには密接な関係がある。臨床的に、高熱により熱性痙攣を誘発することが知られている<sup>5, 6)</sup>。また高体温によって痙攣発作を起す実験モデルも報告されている<sup>7, 8, 9)</sup>。

最近、頭部外傷<sup>10, 11)</sup>、心停止後<sup>12)</sup>の脳障害の治療として、低体温療法の有用性が報告されている。

今回は、ラット一側扁桃核 KA 注入モデルを用い、痙攣重積状態に対する低体温療法の可能性について検討した。

## 2. 方 法

雄のウイスターラットを15匹用いた。ペントバルビタール腹腔内投与にて全身麻酔導入後、左扁桃核に直計0.6mmのステンレスカニューレを定位的に挿入した。さらに、左扁桃核、両側感覚運動野に脳波導出用の単極電極を置いた。なお、不関電極は、前頭洞に、body earth は後頭骨上よりとった。各電極をソケットにハ

ング付けした後、注入針、電極、ソケットを歯科用レジンセメントにて頭蓋冠に固定した。一週間後に、14匹に、ハロセン麻酔下にて大腿動脈にカニューレーションし、下半身をギブス固定し、直腸温測定用プローベを、肛門より7センチ挿入した。

ハロセンからの覚醒を最低2時間待ち、その間に7匹は、体温を $37 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ に、7匹は $30 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ に導入、維持した。ついで、リン酸緩衝液1 $\mu\text{l}$ に1 $\mu\text{g}$ 溶解したKAを1分かけて左扁桃核に注入し、その後2時間の脳波所見を観察した。KA注入から、左扁桃核のspike初発時間、発作の初発時間、発作の回数、発作の持続時間の合計に注目し、Mann-WhitneyのU検定にて、両群の比較をした。P-valueは、0.05未満の時、有意差ありとした。

脳波観察後、体温を維持したまま、<sup>14</sup>C-Deoxyglucose (<sup>14</sup>C-DG) 25 $\mu\text{Ci}$ 静注し、45分後に断頭し、Sokoloffの方法<sup>13)</sup>にしたがって、オートラジオグラムを作製し、局所脳糖代謝の定性的評価を行った。

残り1匹は、KA注入6時間後より、無麻酔、無拘束下にて、体温を $37^{\circ}\text{C}$ から $25^{\circ}\text{C}$ まで下げ、脳波所見の変化を観察した。

## 3. 結 果

1) 脳波、行動の観察

KA注入より、扁桃核でのspike初発は、37℃群で2.55分、30℃群で13.19分であり、低体温で有意に遅延した ( $p = 0.0017$ ; Fig. 1-1)。

KA注入より、発作初発までは、37℃群で23.68分、30℃群で43.85分であり、これも低体温で有意に遅延した ( $p = 0.0253$ ; Fig. 1-2)。

KA注入2時間後までの発作回数は、37℃群

で30回、30℃群で8.71回であり、低体温で有意に発作回数が抑制された ( $p = 0.0017$ ; Fig. 1-3)。

同様に発作持続時間の合計も、37℃群で23.61分、30℃群で10.30分であり、低体温により、有意に短縮した ( $p = 0.0060$ ; Fig. 1-4)。

以上、30℃の低体温により、KA注入からの、

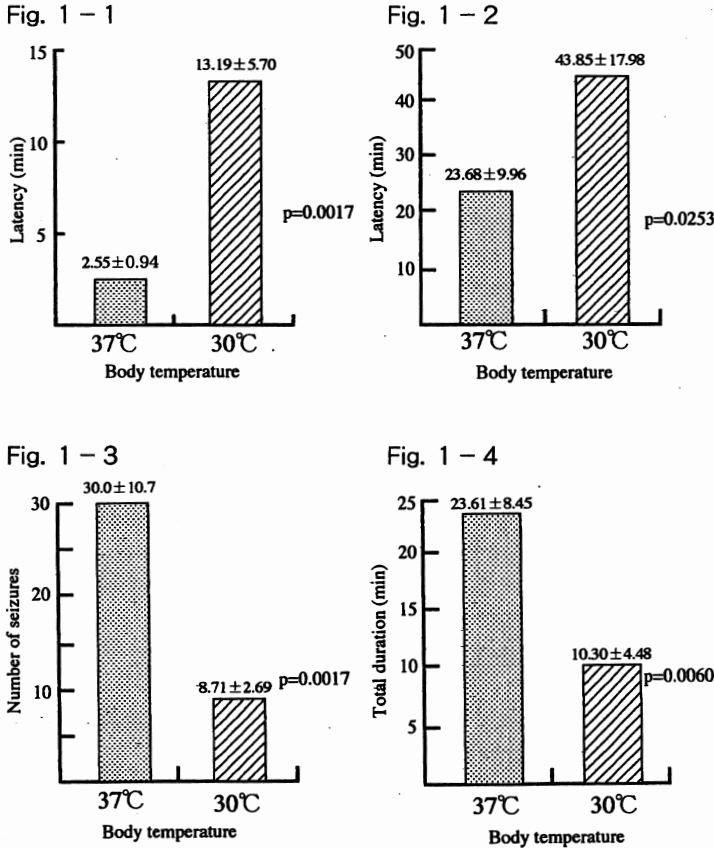


Figure 1

Fig. 1-1 Bar graph displaying the time of first amygdaloid spike from kainic acid (KA) injection into the left amygdala.

Fig. 1-2 Bar graph displaying the time of the first generalized seizure from KA injection into the left amygdala.

Fig. 1-3 Bar graph displaying the times of seizure for 2 hours from KA injection into the left amygdala.

Fig. 1-4 Bar graph displaying the total time of seizure for 2 hours from KA injection into the left amygdala.

Values are given as the mean ± standard deviation for seven normothermic and seven hypothermic rats. The p value was obtained using Mann-Whitney U-test.

注入部左扁桃核でのspike初発、発作の初発、発作の回数、持続時間のいずれもが、有意に抑制された。

37℃、および、30℃でのKA注入後の脳波所見の時間的推移をFigure 2に示す。

KA注入30分後の脳波は、正常体温に比べ、低体温で明らかに、低振幅である(Fig. 2-1)。

1時間後では、正常体温では、低振幅のspikeが発作間歇期にも見られているが、低体温では、spikeがかなりまばらにしか見られない(Fig. 2-2)。

2時間後になると、正常体温では、注入部扁桃核からの発作は両側大脳半球に波及し、全般発作が頻回に起き、重積状態となってくるが、低体温では、扁桃核のspikeが大脳皮質に波及しにくく、発作間歇期の脳波もおとなしい印象を受ける(Fig. 2-3)。

正常体温では、KA注入2時間程で、てんかん重積状態に移行し、6時間から12時間でその極期となる<sup>9)</sup>。Figure 3は、KA注入6時間から8時間にかけて、体温を37℃から25℃まで下げた時の脳波所見の変化をまとめたものである。37℃では、発作重積状態となっており、34℃では、重積は続くが、spikeの振幅が若干減少する。30℃では、発作は間歇的となる。27℃では発作は非常に稀となり、間歇期のspikeも30℃に比べ、振幅、頻度ともに減少する。25℃では、もはや発作は起らなくなり、さらにspikeの振幅、頻度ともに抑制された。

今回は1匹だけのデータであるが、てんかん発作は、体温の低下にしたがって、抑制されることが示唆された。

## 2) 局所脳糖代謝の検討 (Figure 4)

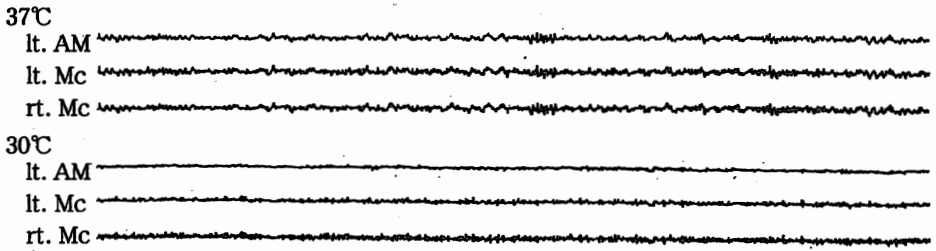
今回は、局所脳糖代謝率の定量を行っていないため確実な事は言えないが、30℃群での注入部左扁桃核の代謝亢進は見られるが、海馬、さらに大脳皮質への代謝亢進のpropagationが抑制されているようである。

以上まとめると、低体温によって、てんかん発作は抑制され、てんかん発作による、脳糖代謝の亢進も抑制された。

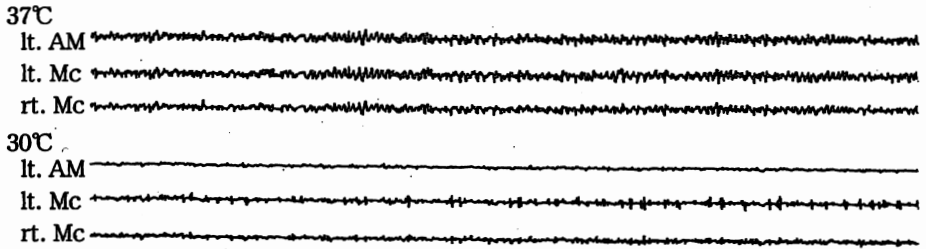
## 4. 考 察

Rosomoffは、1956年にイヌ中大脳動脈閉塞モデルで22から23℃の低体温が虚血性脳損傷を軽減することを示した<sup>10)</sup>。1987年にBustoらが前脳虚血モデルで34℃の軽度低体温でも海馬CA1錐体細胞や線状体細胞の虚血性損傷が減少すると報告した<sup>15)</sup>。これ以来、低体温の脳保護作用に対する研究が多くなされるようになり、わずか1℃の体温低下でも脳保護作用があることが明らかにされた<sup>16)</sup>。脳損傷モデルについても同様な効果が報告されている<sup>17, 18)</sup>。さらにBustoらは、脳虚血後の脳のエネルギー消費量は、常体温時と軽度低体温時にほとんど差がなく<sup>15)</sup>、一方、体温を33℃もしくは30℃にすることで虚血後に起るグルタミン酸の上昇が完全に抑制される<sup>19)</sup>と報告している。虚血後の神経障害に興奮性アミノ酸の過剰放出が関与しているといわれており<sup>20, 21)</sup>、同様のことが外傷モデルでもいわれている<sup>22)</sup>。よって、軽度低体温療法における脳保護作用の主因はエネルギー代謝の抑制ではなく、興奮性アミノ酸の放出の抑制によると考えられている。

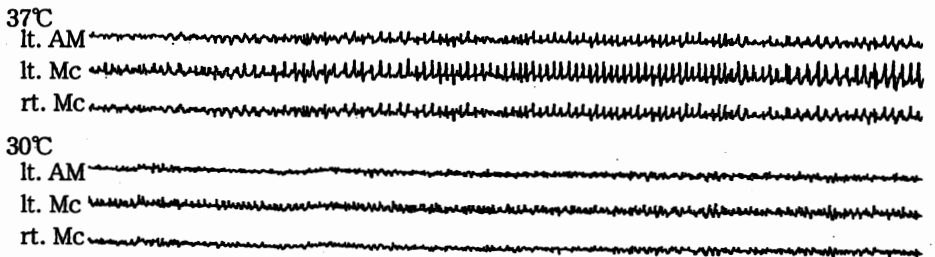
### Fig. 2-1 Thirty minutes post-injection



### Fig. 2-2 One hour post-injection



### Fig. 2-3 Two hours post-injection



400 $\mu$ V  
3 sec

Figure 2 Electroencephalographs of the Normothermic rat (upper) and hypothermic rat (lower).

Fig. 2-1 The EEG is demonstrated lower voltage in the hypothermic rat than the normothermic rat at 30 min after the KA injection.

Fig. 2-2 After one hour, low voltage spike discharges were observed during inter ictal period in the normothermic rat, but there were few spikes in the hypothermic rat.

Fig. 2-3 Two hours after KA injection, the spike discharges of the left amygdala were propagated to the bilateral cerebral cortex in the normothermic rat, and they demonstrated status epilepticus. In the hypothermic rat, the spike discharges of the left amygdala were difficult to spread to cerebral cortex.

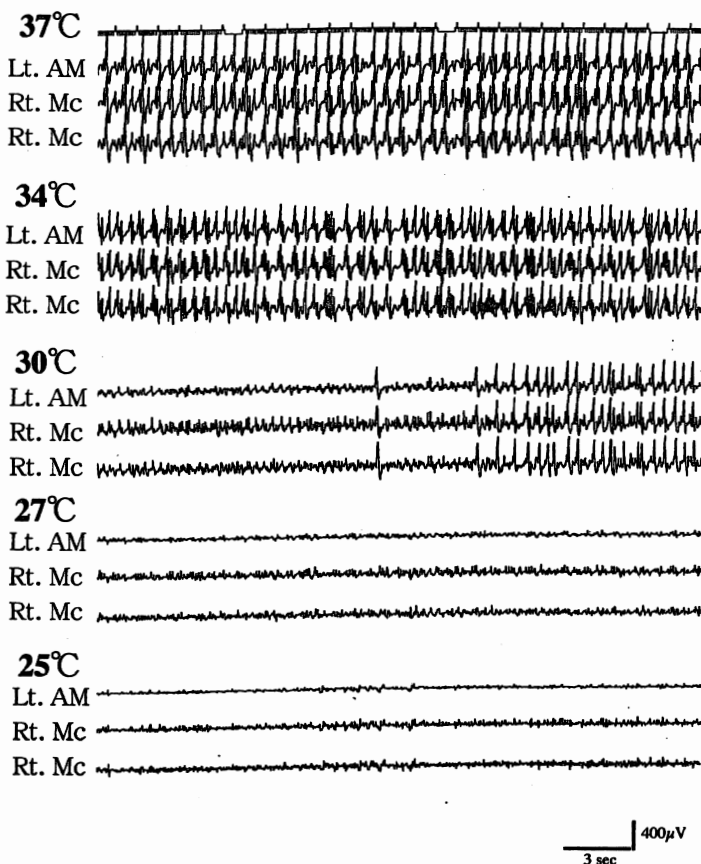


Figure 3 カイニン酸注入後、6時間から8時間の間にラットの体温を37°Cから25°Cに下げたときの脳波所見の変化。体温が低下するにしたがい、てんかん性放電の減少が見られる。



Figure 4  $^{14}\text{C}$ -deoxyglucose autoradiographies of normothermic rat and hypothermic rat during KA-induced limbic seizure.

てんかん発作の発生にも興奮性アミノ酸の過剰放出が関与している<sup>23)</sup>。扁桃核からの興奮は嗅内野を通過して海馬CA3に入るが、このときの神経伝達物質もグルタミン酸であり<sup>24)</sup>、扁桃核内KA注入モデルで見られる海馬CA3を中心とする錐体細胞の脱落が過剰な興奮性アミノ酸の放出に関係していると考えられている<sup>25)</sup>。

Liuらは、ラットにカイニン酸を12mg/kg腹腔内投与して起こるてんかん発作が直腸温が42°Cの時は増強し、すべてのラットが2時間以内に死亡し、28°Cでは発作が正常体温に比べ約50%減少し、23°Cではほぼ完全に抑制されたと報告している<sup>26)</sup>。今回の実験では体温が低下するに従い脳波上、てんかん性放電の抑制が見られ、<sup>14</sup>C-DGオートラジオグラムにて、糖代謝亢進部位の広がり30°Cの低体温で抑制された。これは、虚血、外傷モデルと同様にてんかん発作時に起る、興奮性アミノ酸の放出が低体温によって抑制されたためと考えられる。

今回の実験結果より、低体温療法は、外傷、脳虚血と同様に難治性てんかん重積状態の治療に応用できる可能性があるとして示唆された。

## References

- [1] Olney JW, Rhee V, Ho O. Kainic acid: a powerful neurotoxic analogue of glutamate. *Brain Research* 1974; 77: 507 - 512
- [2] Tanaka T, Tanaka S, Fujita T, Takano K, Fukuda H, Sako K, Yonemasu Y. Experimental complex partial seizures induced by a microinjection of kainic acid into limbic structures. *Progress in Neurobiology* 1992; 38: 317 - 334
- [3] Babb T, Brown W. Pathological findings in epilepsy. In: Engel J, ed. *Surgical treatment in epilepsy*. New York. Raven Press, 1987: 511 - 540.
- [4] Ben-Ari Y, Tremblay E, Ottersen OP. Injections of kainic acid into the amygdaloid complex of the rat: an electrographic, clinical and histological study in relation to the pathology of epilepsy. *Neuroscience* 1980; 5: 515 - 528
- [5] Nelson KB, Ellenberg JH. Prenatal and perinatal antecedents of febrile seizures. *Ann. Neurol.* 1990; 27: 127 - 131
- [6] Lennox-Buchtal MA. Febrile convulsions, In Magnus O, Lorentz de Hass AM, eds. *The epilepsies*. Amsterdam: North-Holland, 1974: 246 - 263.
- [7] Johnson DD, Wilcox R, Tucek JM, Crawford RD. Experimental febrile convulsions in epileptic chickens: the anticonvulsant effect of elevated r-Aminobutyric acid concentrations. *Epilepsia* 1985; 26: 466 - 471
- [8] Tancredi V, D' Arcangelo G, Zona C, Siniscalchi A, Avoli M. Induction of epileptiform activity by temper-

- ature elevation in hippocampal slices from young rats: an in vitro model for febrile seizures?. *Epilepsia* 1992; 33 : 228 - 234
- [ 9 ] McCaughran JA, Schechter N. Experimental febrile convulsions: long-term effects of hyperthermia-induced convulsions in the developing rat. *Epilepsia* 1982; 27 : 173 - 183
- [10] Marion DW, Penrod LE, Kelsey SF, Obrist WD, Kichanek PM, Palmer AM, Wisniewski SR, DeKosky ST. Treatment of traumatic brain injury with moderate hypothermia. *N. Engl. J. Med.* 1997; 336 : 540 - 546
- [11] Clifton GL, Allen S, Barrodale P, Plenger P, Berry J, Koch S, et al. A phase II study of moderate hypothermia in severe brain injury. *J. Neurotrauma.* 1993; 10 : 263 - 271
- [12] Bernard SA, Jones BMC, Horne MK. Clinical trial of induced hypothermia in comatose survivors of out-of-hospital cardiac arrest. *Ann. Emerg. Med.* 1997; 30 : 146 - 153
- [13] Sokoloff L, Revich M, Kennedy C, Des Rosiers MH, Patlak CS, Pettigrew KD, et al. The [<sup>14</sup>C] deoxyglucose method for the measurement of local cerebral glucose utilization: Theory, procedure, and normal values in the conscious and anesthetized albino rat. *J. Neurochem.* 1977; 28 : 897 - 916
- [14] Rosomoff LHL. Hypothermia and cerebral vascular lesions. *J. Neurosurg.* 1956; 13 : 244 - 255
- [15] Busto R, Dietrich WD, Globus MY, Valdés I, Scheinberg P, Ginsberg MD. Small differences in intrasche-mic brain temperature critically determine the extent of ischemic neuronal injury. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 1987; 7 : 729 - 738
- [16] Wass CT, Lanier WL, Hofer RE, Scheithauer BW, Andrews AG. Temperature changes of  $\geq 1^{\circ}\text{C}$  alter functional neurological outcome and histopathology in a canine model of complete cerebral ischemia. *Anesthesiology* 1995; 83 : 325 - 335
- [17] Clifton GL, Jiang JY, Lyeth BG, Jenkins LW, Hamm RJ, Hayes RL. Marked protection by moderate hypothermia after experimental traumatic brain injury. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 1991; 11 : 114 - 121
- [18] Dietrich WD, Alonso O, Busto R, Globus MY, Ginsberg MD. Post-traumatic brain hypothermia reduces histopathological damage following concussive brain injury in the rat. *Acta Neuropathol.* 1994; 87 :



- [19] Busto R, Globus MY-T, Dietrich WD, Martinez E, Valdés I, Ginsberg MD. Effect of mild hypothermia on ischemia-induced release of neurotransmitters and free fatty acid in rat brain. *Stroke* 1989 ; 20 : 904 - 910
- [20] Globus MY-T, Busto R, Dietrich WD, Martinez E, Valdés I, Ginsberg MD. Effect on ischemia on the in vivo release of striatal dopamine, glutamate, and gamma-aminobutyric acid studied by intracerebral microdialysis. *J. Neurochem.* 1988 ; 51 : 1455 - 1464
- [21] Globus MY-T, Busto R, Dietrich WD, Martinez E, Valdés I, Ginsberg MD. Intra - ischemic extracellular release of dopamine and glutamate is associated with striatal vulnerability to ischemia. *Neurosci. Lett.* 1988 ; 91 : 36 - 40
- [22] Faden AI, Demediuk P, Panter SS, Vink R. The role of excitatory amino acids and NMDA receptors in traumatic brain injury. *Science* 1989 ; 244 : 798 - 800
- [23] Morimoto T, Nagao H, Yoshimatsu M, Yoshida K, Matsuda H. Pathogenic role of glutamate in hyperthermia-induced seizures. *Epilepsia* 1993 ; 34 : 447 - 452
- [24] Krettek JE, Price JL. Projections from the amygdaloid complex and adjacent olfactory structures to the entorhinal cortex and to the subiculum in the rat and cat. *J. Comp. Neurol.* 1977 ; 172 : 723 - 752
- [25] Olney JW, Collins RC, Sloviter RS. Excitotoxic mechanisms of epileptic brain damage. *Advances in Neurology* 1986 ; 44 : 857 - 877
- [26] Liu Z, Gatt A, Mikati M, Holmes GL. Effect of temperature on kainic acid-induced seizures. *Brain Res.* 1993 ; 631 : 51 - 58

## Summary

Effect of hypothermia on kainic acid-induced limbic seizures

Takahiro Maeda, Kiyotaka Hashizume, Tatsuya Tanaka

Department of Neurosurgery, Asahikawa Medical College, Japan

4 - 5 Nishikagura, Asahikawa, Hokkaido, Japan

The effect of body temperature on kainic acid (KA) -induced limbic seizures was examined in Wistar rats. In rats undergoing limbic seizure induced by 1 microgram intra-amygdaloid injection of KA, the post-injection latency of initial ictal discharges in the left amygdala was significantly longer in rats whose body temperature was lowered to 30°C. The post-injection latency of initial ictal discharges in the left hippocampus was also significantly longer under the same conditions. The number of generalized spike discharges occurring in the first 2 hours post-injection was significantly lower in hypothermic rats, as was the total duration of limbic seizures over the same period. <sup>14</sup>C-deoxyglucose autoradiograms showed decreased radiation density not only in the left amygdala and bilateral hippocampus, but also in the cerebral cortex of hypothermic rats. The results of the present experiment suggest that the use of hypothermia, which has been shown to be effective in the treatment of acute cerebral ischemia and brain injury, may be effective in the treatment of status epileptics.