

## 学位論文題名

## 海馬および扁桃核発作に対する

## Phenobarbital の抗けいれん作用

—キンドリングモデルと慢性投与法を用いた検討—

## 学位論文内容の要旨

## I. 研究目的

脳の一定部位を一定の刺激条件で反復電気刺激すると、当初のわずかなてんかん様反応が増強し、ついには全身けいれんを呈するようになる。動物でみられるこのようなキンドリング現象は二次性全般化を示す部分てんかんのモデルと考えられ、とりわけ海馬あるいは扁桃核キンドリングモデルは、ヒト側頭葉てんかんの至適動物モデルとみなされている。さらに、他のてんかん発作モデルとの比較から、キンドリングモデルは難治てんかんのモデルとしても有用と考えられている。このモデルに対する薬物の影響はてんかん治療との関連から興味もたれ、多くの研究がなされてきたが、その大部分は扁桃核キンドリングモデルを用い、しかも薬物の急性効果を検討したものであった。しかし、ヒト側頭葉てんかんでは海馬に焦点を有することがむしろ多いことから、海馬キンドリングモデルでの検討がより重要であろうと思われる。またヒトてんかん治療との関連から、薬物の効果は慢性経口投与下で検討されるべきであると考えられる。さらに、転移側でのキンドリングけいれんに対する薬物の影響は、ほとんど検討されていない。

以上の観点から、本研究では、薬物を慢性経口投与し、血中レベルが定常状態に達した時点で、一次側および二次側の海馬ならびに扁桃核キンドリングけいれんの変化を、比較検討した。またてんかん原性獲得にかかわる個体の素因と薬物効果の関係についても検討し、それらの結果をふまえて、側頭葉てんかんの難治性と焦点部位および個体の素因との関連について考察を加えた。

## II. 対象と方法

## 実験 1

ペントバルビタール麻酔下でネコ頭部を脳固定装置に固定し、2極あるいは3極の慢性深部

電極を両側扁桃核外側核・背側海馬・視床背内側核に挿入し、刺激あるいは記録用に供した。後上シルビウス回には単極電極を装着した。刺激は定電流刺激装置を用いて1日1回、1秒間、後発射閾値（ADT）を刺激強度として行った。最終段階の全身けいれんが5回連続して出現した時点でキンドリング完成とし、次いで全身けいれん誘発閾値（GST）を定めた後、薬物投与を開始した。本実験では薬物として Phenobarbital（PB）を用いた。まず体重あたり6 mgを15日間投与した。血中レベルが15~25  $\mu\text{g}/\text{ml}$ にあるのを確認し、16日目から先に定めた GST より100  $\mu\text{A}$  高い値で1日1回刺激し、得られる発作発展段階と後発射持続時間を検討した。引き続き、体重あたり12mgのPBを投与し、血中レベルを35~50  $\mu\text{g}/\text{kg}$ として同様の実験を行った。なお、海馬刺激・扁桃核刺激ともそれぞれ9頭の成ネコで行った。

## 実験2

9頭のネコを用い、うち6頭では、一次側を背側海馬、二次側を対側扁桃核、3頭では一次側を扁桃核、二次側を対側背側海馬と定め、実験1と同様の手順で一次側キンドリングを完成させた。7日間の休止期間の後、二次側キンドリングを完成させた。PB投与16日目より一次側、二次側を交互に1日1回刺激した。其の際、まずADTを刺激強度とし、次いで100  $\mu\text{A}$  づつ強度を上げながらADTから400  $\mu\text{A}$  高い値まで刺激を加え、得られる発作発展段階と後発射持続時間を検討した。

## III. 結 果

### 実験1

ADT, GSTとも2群間に差は無かった。しかし、キンドリング完成までの刺激総数は、扁桃核キンドリング群で25.3回、背側海馬キンドリング群で39.0回であり有意の差が認められた。PB 6 mg/kg投与時、後発射持続時間は扁桃核群で対照の78%、背側海馬群では33%まで短縮した ( $p < 0.05$ )。また、発作発展段階は扁桃核群で3.3、一方、背側海馬群では1.4まで退行した ( $p < 0.05$ )。さらに扁桃核群では5回の再刺激のうち少なくとも1回、最終全般けいれんを発現したネコが9頭中6頭いたのに対し、背側海馬群では9頭中わずか1頭にすぎなかった ( $p < 0.05$ )。PB12mg/kg投与時にも、海馬群でより抑制されやすい傾向を示したものの、後発射持続時間、発作発展段階のいずれも有意の差は認められなかった。また、後発射すら出現しない完全抑制は、12mg/kg投与時でさえも扁桃核群11%、海馬群33%にすぎなかった。

また、キンドリング完成までの刺激総数が少ないネコほど、PBに抵抗性を示し、完成したキンドリングけいれんの抑制はより困難であった。このような傾向は扁桃核群、背側海馬群と

も同様であった。

## 実験 2

二次側での ADT は一次側のそれとほぼ同様であった。また、いずれの部位が二次側であっても転移現象は同様に認められた。すなわち、扁桃核が二次側の場合には平均2.5回の刺激で、背側海馬が二次側の場合には平均2.7回の刺激で、最終段階の全般けいれんが出現している。PB 投与後の変化を見ると、一次側、二次側にかかわらず、扁桃核キンドリングけいれんは背側海馬のそれよりも抑制されにくいことが示された。すなわち、二次側扁桃核キンドリングけいれんでさえも、一次側背側海馬のそれよりも PB 抵抗性であった。

## IV. 考 察

扁桃核はけいれん発現にかかわる運動系との連絡が強固であるため、発作は容易に全般化する。一方海馬では興奮系のみならず抑制機構もまたよく発達していることが知られている。扁桃核キンドリングは海馬のそれに比し容易に形成されたが、それはこのような両部位の特性を反映したものである。また完成したキンドリングけいれんは扁桃核でより PB 抵抗性を示した。このような差異を生ずる理由として、より強いてんかん原性が扁桃核キンドリング群で獲得されたこと、また PB の作用機序のひとつとして後シナプス性反応の増強があげられており、GABA 系のよく発達した海馬で、PB がより有効に働くことなどが考えられる。このように、焦点部位によって薬物の効果発現の程度が異なるという今回の所見は、ひと側頭葉てんかんでの治療抵抗性の程度が一様では無いという臨床的事実を説明するひとつのてがかりになりうるものと思われる。

また、今回の研究から、キンドリングが容易に形成されたネコのキンドリングけいれんはより強い薬物抵抗性を有することが示された。この結果は薬物への反応性に反映されるてんかん原性の程度と、てんかん準備性獲得にかかわる素因の強さが密接に関連することを示唆する所見と考えられ、側頭葉てんかん患者の難治性が患者自身の素因によって規定される可能性を示すものと思われた。

扁桃核、背側海馬いずれの部位においても、後発射の出現を抑制することは、高い血中レベルを維持してもなお難しく、特に扁桃核ではいわゆる辺縁系発作の抑制も困難であった。以上の結果から、本研究の実験条件下においても、キンドリングモデルが難治てんかんの動物モデルとして有用であることが再確認された。

## 学位論文審査の要旨

主 査 教 授 山 下 格

副 査 教 授 阿 部 弘

副 査 教 授 田 代 邦 雄

キンドリング現象は二次性全般化を示す部分てんかんのモデルと考えられ、とりわけ海馬あるいは扁桃核キンドリングモデルは、ヒト側頭葉てんかんの至適動物モデルとみなされている。このモデルに対する薬物の影響はてんかん治療との関連から興味をもたれ、多くの研究がなされたが、その大部分は扁桃核キンドリングモデルを用い、しかも薬物の急性効果を検討したものであった。しかし、ヒト側頭葉てんかんでは海馬に焦点を有することがむしろ多いことから、海馬キンドリングモデルでの検討がより重要であろうと思われる。またヒトてんかん治療は長期間の経口服薬が原則であることから、薬物効果の判定も慢性経口投与下でなされるべきであると考えられる。さらに、転移側でのキンドリングけいれんに対する薬物効果は、臨床で見られる二次性てんかん原性にたいする薬物の影響との関連で重要であるにもかかわらず、ほとんど検討されていない。申請者はこれらの点を考慮して、以下の実験を行った。

実験方法：慢性深部電極を両側扁桃核外側核・背側海馬・視床背内側核に挿入し、定電流刺激装置を用いて1日1回、1秒間、後発射閾値（ADT）を刺激強度として刺激を加えた。最終段階の全身けいれんが5回連続して生じた時点でキンドリング完成とし、次いで全身けいれん誘発閾値（GST）を定めた後、Phenobarbital（PB）を6 mg/kg、15日間投与し、血中レベルが15～25  $\mu\text{g}/\text{ml}$ にあるのを確認後、16日目からGSTより100  $\mu\text{A}$ 高い値で1日1回5日間刺激し、得られる発作発段階と後発射持続時間を測定した。引き続き、PB 12 mg/kg（血中レベル35～50  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ）で同様の実験を行った。なお、海馬刺激・扁桃核刺激とも9頭の成ネコを用いた。次の実験では、6頭で一次側を背側海馬、二次側を対側扁桃核、3頭で一次側を扁桃核、二次側を対側背側海馬と定め、一次側キンドリング完成後、二次側キンドリングを完成させ、PB 6 mg/kg投与後の変化を、一次側・二次側間で比較した。

結果と考案：キンドリング完成までの刺激回数は、扁桃核群で25.3回、海馬群で39.0回であった。PB 6 mg/kg投与時、後発射持続時間は前者で78%、後者で33%まで短縮、発作発段階も最終全般けいれんを5とすると扁桃核群で3.3、海馬群では1.4まで低下した。さらに前者では再刺激により、最終全般けいれんが9頭中6頭で生じたのに対し、後者では1頭にすぎなかった。

すなわち海馬では扁桃核に比し、キンドリングがおきにくく、またPBにより容易に発作の改善が見られた。二次側キンドリングけいれんについても、両者の間には同様の関係がみられた。薬物効果発現の程度が焦点部位によって異なるという今回の所見は側頭葉てんかんでの治療抵抗性が一様ではないという臨床的事実を説明するてがかりのひとつになりうるものと思われた。また、容易に形成されたキンドリングけいれんほど、より強い薬物抵抗性を示した。この結果は、てんかん準備性獲得にかかわる素因の強さと薬物への反応性に反映されるてんかん原性の程度が密接に関連することを示唆する所見と考えられ、てんかん患者の難治性が患者自身の素因によって規定される可能性を示すものと思われた。PB12mg/kgを与えても発作の完全抑制は扁桃核群11%、海馬群33%に過ぎず、一旦発作焦点を生じたあとの難治性がうかがわれた。

以上の発表に対し以下の質疑応答が行われた。(1)完全抑制されたものとされなかったものの差異は何か。－焦点部位と個体の素因が異なっていた。(2)血中濃度の違いが抑制の程度と関係した可能性はないか。－血中濃度は一定範囲にとどめたのでその可能性は低い。(3)ひとのてんかんでも素因の問題は存在するか。－難治性を規定する要因のひとつと考えられる(以上阿部弘教授)。(4)PBを用いた理由。－キンドリングを確実に抑制することが知られており、今回の研究目的に適った薬物と考えられたため。(5)本実験での薬物投与法を慢性投与法とよんでいいか。－注射単回投与を急性投与とし、それに対する意味での慢性投与である。(6)ひととネコでは有効血中濃度が異なるか。－ほぼ同じレベルにあった(以上田代邦雄教授)。

本研究は、扁桃核および海馬のキンドリングモデルを作成して薬物を長期投与し部分てんかんの経過・予後が焦点の部位や二次焦点の形成、個体の素因などに関連することを明らかにしたもので、臨床面においても特に難治性側頭葉てんかんの病態の理解に貢献するところが大きく、博士の学位に値するものと判定した。