

(63)

氏名(生年月日)	ナガ オ タケ キ 長 尾 建 樹
本 籍	
学位の種類	博士(医学)
学位授与の番号	乙第1688号
学位授与の日付	平成8年12月20日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当(博士の学位論文提出者)
学位論文題目	Epileptiform activity induced by pilocarpine in the rat hippocampal-entorhinal slice preparation (ラット内嗅領/海馬切片におけるピロカルピン誘発てんかん波の研究)
論文審査委員	(主査) 教授 高倉 公朋 (副査) 教授 鈴木 英弘, 村木 篁

論文内容の要旨

〔目的〕

ムスカリン受容体アゴニストであるピロカルピンは、ラットへの全身投与により、側頭葉てんかん類似の発作を発現させる。我々は、この辺縁系におけるてんかん源性を研究するため、ラットの内嗅領/海馬切片を使用して、*in vitro*でのピロカルピン誘発てんかん波の性状を検討した。

〔対象および方法〕

成獣ラット脳より、海馬および内嗅領を含むブロックを切り出し、ピプラトームを使用して、厚さ500 μ mの内嗅領/海馬切片を作製した。この切片をインターフェース型灌流槽に移し、加湿混合酸素(95%O₂, 5%CO₂)を加えながら、34.5°Cの人工髄液で約30分間灌流した後、ピロカルピン50 μ Mを加えて誘発される細胞外電位を、内嗅領皮質、海馬歯状回、CA3およびCA1の4カ所に置いたガラス微小電極より記録した(n=20)。さらに、non-NMDA受容体アンタゴニスト、6-cyano-7-nitroquinoxaline-2,3-dione (CNQX) 10 μ M (n=7) または、NMDA受容体アンタゴニスト、3-(2-carboxy-piperazine-4-yl) propyl-1-phosphonate (CPP) 10 μ M (n=7) を加え、ピロカルピンにより誘発された細胞外電位に対する影響を検討した。また、誘発された電位の発生源と伝搬様式を検討するため、貫通線維(n=5) および Schaffer collateral (n=7) をマイクロナイフで切断し、前記4カ所の電位記録を行った。

〔結果〕

ピロカルピンにより、内嗅領からは数個のスパイクからなる持続時間のやや長い頻度0.26 \pm 0.07Hzの発作間欠期放電、および高頻度スパイクが11.5 \pm 4.1秒間持続する発作波が誘発された。海馬ではこれらの波形に加えて持続時間の短い頻度1.42 \pm 0.7Hzの発作間欠期放電がみられた。

貫通線維を切断すると、海馬では発作波と持続時間のやや長い発作間欠期放電は消失し、さらに Schaffer collateral を切断すると CA1からは全ての波形が消失した。

灌流液に CNQX 10 μ M を加えると、全ての放電は消失したが、CPP 10 μ M では、発作波のみ消失し、持続時間のやや長い発作間欠期放電の持続時間減少がみられるが、海馬にのみ出現する持続時間の短い発作間欠期放電に変化はみられなかった。

〔考察および結論〕

内嗅領は発作波の発生源の一つであり、海馬と共に形成される神経回路は、広く行われている側頭葉てんかんに対する側頭葉切除術の効果からも示唆されるように、てんかんの病態に深く関与している。

興奮性アミノ酸は発作発現に重要な役割を演じており、発作による神経細胞障害も含め、NMDAによるCa²⁺の細胞内流入の深い関与が推察された。

内嗅領/海馬切片は、辺縁系におけるてんかん波出現の機序を研究する上で有用な *in vitro* モデルである。

論文審査の要旨

本研究の目的は、側頭葉てんかんの発作発現における内嗅領皮質の役割を明らかにすることにある。

内嗅領を含んだラットの拡大海馬切片に、全身投与でラットに側頭葉てんかん様発作を生じさせるピロカルピンを加えて、4カ所に設置した細胞外電極より同時に導出した発作波の検討を行い、内嗅領皮質のてんかん原性を確認した。さらに、興奮性アミノ酸のアンタゴニストに対する影響も検討し、特に NMDA のてんかん発現に関する深い関与を示唆している。

本研究は臨床的にも、側頭葉てんかんの外科手術における切除部位の検討に重要な示唆を与える有用な研究と考える。また、ここで使用した内嗅領海馬切片は、てんかんの基礎研究において応用範囲が広く今後多大な貢献が期待できる。

主論文公表誌

Epileptiform activity induced by pilocarpine in the rat hippocampal-entorhinal slice preparation (ラット内嗅領/海馬切片におけるピロカルピン誘発てんかん波の研究)

Neuroscience Vol 72 No 2, 399-408頁 (1996年5月発行) T Nagao, A Alonso, M Avoli

副論文公表誌

- 1) Acute subdural hematoma with rapid resolution in infancy (急速に消失した乳児急性硬膜下血腫の1例). Neurosurgery 19(3): 465-467 (1986) 長尾建樹, 青木信彦, 水谷 弘, 喜多村孝一
- 2) 高血圧性脳内血腫のCT誘導定位脳手術46症例の追跡調査. 脳神経外科 14(6): 751-758 (1986) 塩飽哲士, 天野恵市, 河村弘庸, 谷川達也, 川島弘子, 能谷正雄, 伊関 洋, 長尾建樹, 喜多村孝一, 他4名
- 3) Quantitative evaluation of neuronal loss in the dorsal hippocampus in rats with longterm pilocarpine seizures (ピロカルピン誘発長期てんかんラットにおける海馬背側の細胞脱落の定量的解析). Epilepsy Res 17: 237-247 (1994) Liu Z,

Nagao T, Desjardins G, Gloor P, Avoli M

- 4) Interictal discharges in the hippocampus of rats with long-term pilocarpine seizures (ピロカルピン誘発長期てんかんラットの海馬における発作間欠期の放電について). Neurosci Lett 174: 160-164 (1994) Nagao T, Avoli M, Gloor P
- 5) Control of 4-aminopyridine-induced synchronous activity by adenosine A1 and μ -opioid receptor agonists in adult rat hippocampus (成人ラット海馬におけるアデノシン A1 および μ -オピオイド受容体による4-アミノピリジン誘発同期放電の制御). Neurosci Lett 182: 208-212 (1994) Barbarosie M, Nagao T, Avoli M
- 6) Retrograde perfusion of the cerebral vein with antioxidant LY231617 reduces brain damage in the rat focal ischemia model (ラット局所脳梗塞における亢酸化剤 LY231617 の逆行性脳静脈灌流投与方法による脳損傷抑制効果). Neurol Med Chir (Tokyo) 35(12): 861-868 (1995) 長尾建樹, 山本ルーカス, 井上信博, 伊藤 靖