

### F-13 反復放り上げ刺激によるELマウス脳内発作間歇期c-Fos蛋白発現の変化

1) 鹿児島大学医学部神経精神科

2) 鹿児島大学医学部第一解剖学

○富永雅孝<sup>1)</sup>、橋口 渡<sup>1)</sup>、内田将博<sup>1)</sup>、佐藤大輔<sup>1)</sup>、土井 斉<sup>1)</sup>、赤崎安昭<sup>1)</sup>、長友医継<sup>1)</sup>、口岩 聡<sup>2)</sup>、中河志朗<sup>2)</sup>、滝川守国<sup>1)</sup>

【はじめに】c-Fos蛋白は細胞の分化・増殖に関与する最初期発現遺伝子(IEGs)の一つであるc-fosより翻訳される。c-Fos蛋白はキンドリングモデル等のてんかん発作活動の際に著明な発現が見られることから、IEGsの活性化は標的遺伝子の転写調節を通して、てんかん発作関連の可塑的神経変化に影響している可能性が指摘されている。我々は自然発症性てんかんモデルであるELマウスにおける脳内c-Fos蛋白発現を免疫組織化学的に検討した。

【対象と方法】EL(s)マウス及び対照群であるddY(s)マウスは、生後4週目より週1回の放り上げ刺激を与え、EL(ns)マウス及びddY(ns)マウスは放り上げ刺激を与えず、発作誘発を行わなかった。これらのELマウスを、4%paraformaldehyde溶液(pH7.4)で灌流固定し、脳摘出後、50 $\mu$ m連続凍結切片を正常山羊血清で1時間処理後、700倍希釈した抗c-Fos血清と4 $^{\circ}$ Cで4-8時間反応させた。更に、0.05%TritonX-100を含む0.01%PBS(PBST)で脳切片を洗浄しアビジン・ビオチン・ペルオキシダーゼ法(ABC法)に従って反応を行った後、硫酸ニッケルIIアンモニウム、0.3% $H_2O_2$ を加え、ジアミノベンチジンで発色させた。そして、海馬CA1/CA2、歯状回、線条体及び大脳皮質の4部位のc-Fos陽性細胞を検討した。

【結果と考察】CA1/CA2及び大脳皮質においてc-Fos陽性細胞数はddY(s)マウス>EL(s)マウス>ddY(ns)マウス=EL(ns)マウスの順に有意に多く見られたが、歯状回、線条体では有意な差異は認めなかった。以上の結果より週1回の定期的な放り上げ刺激はELマウス及びddYマウスともに発作間歇時のc-Fos陽性細胞数の上昇を部位特異的に引き起こすが、ELマウスの陽性細胞の増加はddYマウスと比較し抑制されていることが推察された。

### F-14 活性酸素消去剤 EPC-k1 による外傷性てんかん焦点形成予防対策に関する研究

<sup>1)</sup> 岡山大学医学部分子細胞医学研究施設神経情報学部門

<sup>2)</sup> 香川県立医療短期大学臨床検査学科

○横井 功<sup>1)</sup>、加太英明<sup>2)</sup>、山本二平<sup>1)</sup>、森 昭胤<sup>1)</sup>、小川紀雄<sup>1)</sup>

【目的】外傷性てんかんの成因は、脳内出血により遊離した鉄イオン等を介して発生する活性酸素種が細胞膜脂質を過酸化したり、タンパク質を酸化して神経細胞の機能を障害することにあると考えられている。このため本研究では、外傷性てんかんモデルラットに活性酸素種消去剤であるEPC-k1(ビタミンCとビタミンEのリン酸ジエステル)を投与し、EPC-k1が発作焦点形成を予防できるか否かを検討した。

【方法】雄Sprague-Dawleyラット(体重400~500g)のブレグマより尾側1mm、左側方1mmの大脳皮質内に100mMに溶解したFeCl<sub>3</sub>溶液を1 $\mu$ l/minの速度で5 $\mu$ l注入することにより、外傷性てんかんモデルラットを作成した。モデルラットは2群に分け、それぞれFeCl<sub>3</sub>注入群(Fe群)、FeCl<sub>3</sub>注入+EPC-k1投与群(Fe+EPC群)とした。Fe+EPC群にはFeCl<sub>3</sub>溶液注入直後にEPC-k1(10mg/kg)を腹腔内に投与し、以後はEPC-k1を0.2%含むラット飼料CE-2で飼育(EPC-k1摂取量約80mg/kg/day)した。FeCl<sub>3</sub>溶液注入の3日、7日、1月、3月、6月後に各群の脳波を観察した。

【結果】FeCl<sub>3</sub>溶液注入後3日目には、Fe群では70%のまた、Fe+EPC群では37%のラット脳波にスパイク活動などの発作脳波活動が認められた。FeCl<sub>3</sub>溶液注入1月、3月、6月後の発作脳波活動は、Fe群の方がFe+EPC群に比べて有意に多かった。

【考察と結論】以上の結果、EPC-k1を鉄イオン注入後長期間に渡り投与すると発作波の出現は抑制されることが明らかとなった。先に我々は、FeCl<sub>3</sub>溶液注入後に2-塩化アデノシンやEPC-k1などの活性酸素種消去剤を投与すると、細胞膜の脂質過酸化は防止されて早期けいれんの発症が抑制されることを報告したが、本研究の結果EPC-k1により外傷性てんかん焦点形成は予防しうることが示された。

F