

A-5 ラット pentylenetetrazol 誘発発作におよぼす免疫抑制剤 cyclosporin A 単回および慢性投与の影響 —— 分子生物学的検討 ——

岡山大学医学部分子細胞医学研究施設神経情報学部門

○浅沼幹人、近藤洋一、小川紀雄、森 昭胤

近年、てんかん患者での主要組織適合抗原異常の存在などからてんかんと免疫異常との関係が注目されている。前回我々は、免疫抑制剤 cyclosporin A (CsA) の慢性投与がラット pentylenetetrazol (PTZ) 誘発発作の重症度を有意に増悪させ、けいれん発作に細胞性免疫反応が関与している可能性を明らかにした。今回、CsA の単回および慢性投与のラット PTZ 誘発発作におよぼす影響を比較し、さらにそれぞれの分子生物学的な作用機序について検討した。

方法：7週齢SD系ラットに溶媒(V)またはCsA (5 mg/kg, s.c.) を単回投与し(V1P, Cs1P群) 2時間後に、あるいは溶媒またはCsA (5 mg/kg, s.c.) を14日間連日投与し(V14P, Cs14P群) 最終投与24時間後に、PTZ (75 mg/kg, i.p.) を投与した。発作潜時を計測し、重症度はPTZ投与後10, 50分間に評価した。PTZ投与2, 6, 24時間後の海馬、扁桃核のCsA結合蛋白 cyclophilin (CyP) および最初期遺伝子 *c-fos* mRNA は Northern blot analysis で、転写制御因子 AP-1 (Fos-Jun 蛋白複合体) の DNA 上流 TRE 結合活性は electrophoretic mobility-shift assay で測定した。

結果：クロヌスあるいは強直性けいれん出現までの潜時は、Cs1P群はV1P群に比して有意に延長したが、V14P, Cs14P群間に有意差はなかった。一方、けいれん(発作)の重症度はPTZ投与後10, 50分間共に、Cs1P群, Cs14P群はV1P群, V14P群に比してそれぞれ有意に減少、増加した。Cs1P群では、V1P群でみられた海馬、扁桃核TRE結合AP-1の著明な発現誘導がほぼ完全に抑制されたが、*c-fos* mRNA 自体の発現は影響されなかった。一方、Cs14P群では、V14P群でみられたPTZ投与24時間後の海馬CyP mRNAの増加が著しく抑制された。

考察：CsA単回投与はPTZ誘発発作潜時を延長させ、重症度を軽減し、連日投与は発作重症度を逆に増悪させ、けいれん発作への免疫反応の関与の二面性が示唆された。また、CsA単回投与による発作軽減には *c-fos* mRNA 以降のAP-1への作用が、一方CsA連日投与による発作増悪にはCyPへの作用がそれぞれ関与していると考えられた。このように、CsAの二面性効果は分子生物学的に全く異なるphaseへの作用によって発揮されていることを明らかにした。

A-6 扁桃核キンドリングけいれんの発現に及ぼす両側線条体へのNMDA注入の効果

福島県立医科大学神経精神科 雲雀ヶ丘病院*
竹田総合病院**

○小藺江美奈子 森則夫 有賀清* 星野修三**
小藺江浩一 丹羽真一

＜目的＞先に、我々は扁桃核(AM)キンドリングが完成したラットの両側線条体(CP)にNMDA受容体の競合的拮抗薬であるCPPを注入すると、CPPはAMの興奮性には影響を与えずにキンドリングけいれんの全般化を抑制することを報告した。では、CPにNMDA受容体作動薬を注入した場合はどうか? 今回はこの点について検討した。

＜方法＞Wistar系雄性ラットの左側AMでキンドリングを作製し、全身けいれん誘発閾値(GST)を決定した。キンドリング発作はRacineの5段階分類により分類した。NMDAは生理食塩水に溶解した。ラットを3群に分け、生理食塩水0.5μl(n=6)、NMDA1nmol/0.5μl(n=8)、NMDA2nmol/0.5μl(n=9)を一側当りの用量として両側CPに注入した。20分後、AMにGST刺激を加え、発作段階、後発射(AD)持続時間を観察した。

＜結果＞生理食塩水のCP注入には明らかな効果がなかった。NMDA1nmolのCP注入では、8例中1例に注入6分後から約10秒間続く棘波が出現した。GST刺激を加えると、8例全例にADが誘発され、平均発作段階は棘波出現例を除くと4.43±1.40、棘波出現例を含めると4.50±1.32で、いずれも有意の変化ではなかった。AD持続時間にも明らかな変化はなかった。NMDA2nmolを注入すると、その直後から回転運動や探索行動が出現し、9例中3例で注入約5分後から10-30秒続く棘波が出現した。GST刺激を加えると、全例でADが速やかに誘発された。棘波出現例を除いた6例の平均発作段階は2.83±2.27であり、有意の変化ではなかった。しかし、棘波が出現した3例を加えた9例全例の平均発作段階は2.78±2.10と、有意に抑制された(p<0.01)。

＜考察＞先の我々の結果は、CPのNMDA受容体遮断により、キンドリングけいれんの発現にかかわる皮質運動機構の機能変化が招来されることを示している。本研究の結果は同様の効果がCPのNMDA受容体刺激によっても、もたらされうること示している。しかし、この効果は、CPのNMDA受容体遮断の効果に匹敵するほどのものではなかった。いずれにしても、今回と先の我々の結果から、CPのNMDA受容体はAM発作の全般化に重要な役割を果たしていることが示唆される。