

1-27 カイン酸誘発発作発現初期におけるラット腹側海馬細胞間隙GABA濃度の変化について

— 脳内微小透析法 (brain microdialysis) を用いた検討 —

埼玉医科大学 精神医学教室¹⁾

(財)東京都精神医学総合研究所 神経生理²⁾

○高沢 彰¹⁾、村島 善也²⁾、湊川 文子¹⁾、山崎 治¹⁾、
山内 俊雄¹⁾

抑制性・興奮性神経活動の均衡の崩れが発作の発現に関与すると推定されている。なかでもGABA作動性抑制性神経系は発作発現機構において重要な役割を担っているとみなされている。一方、海馬特に腹側海馬は発作の発現・伝播に重要な部位であると考えられる。そこで、カイン酸の全身および局所投与によるけいれん重積モデルを用い、発作発現初期の腹側海馬GABA作動系の活動状況を細胞間隙のGABA濃度を指標として検討した。

【方法】雄性成熟Wistarラットを用い、脳内微小透析は無麻酔・無拘束条件下で行った。カイト・カニューレを実験の1週間前に脳内に留置し、実験開始20時間以上前にペントバルビタル軽麻酔下に直管型微小透析プローブを腹側海馬に刺入した。灌流にはKrebs-Ringer液(NaCl 122mM、KCl 3mM、MgSO₄ 1.2mM、KH₂PO₄ 0.4mM、NaHCO₃ 25mM、CaCl₂ 1.2mM)を用い、流速は1.5 μl/minとし20分間隔で採液した。発作は、カイン酸全身投与(5-50mg/kg、i.p.)、あるいは灌流部位へのカイン酸含有Krebs-Ringer液(100 μM)の灌流または対側扁桃核への局所投与(0.4~1.2 μg)により誘発した。実験の全期間けいれん等の行動変化を観察・記録した。灌流液内GABA濃度は凍結乾燥保存後、酵素サイクリング法(TPN cycling)を用い測定した。

【結果】カイン酸全身適用により、発作初期特にstaring発現時にGABA濃度の低下が認められた。この傾向はchewingやnodding等の辺縁系発作が認められるようになると消失し、逆にGABAは増加傾向を示した。一方、カイン酸脳内投与においても、発作の初期に同様の変化が認められた。

【考察】腹側海馬細胞間隙のGABA濃度は、カイン酸全身および局所投与のいずれでも、発作発現の初期に低下を示した。さらに、扁桃核へのカイン酸局所投与例においても同様の変化が見られたことから、GABAの低下はカイン酸の海馬への直接作用によるのではなく、発作の発現に関連した特異的な変化であると考えられた。以上の結果から腹側海馬における一時的なGABA作動系の活動低下が発作の発現に関与していることが示唆された。

1-28 外傷性てんかんモデルラット脳の細胞膜脂質過酸化と発作脳波発現に対する活性酸素種消去剤の効果

岡山大学医学部分子細胞医学研究施設神経情報学部門

○横井 功、加太英明、森 昭胤、小川紀雄

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(ROS)が細胞膜脂質を過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、鉄イオンによる神経細胞膜脂質過酸化をいろいろな ROS 消去剤が防止できるか否かを検討することにより、ROS 消去剤による外傷性てんかん焦点形成の予防策を探った。

【研究方法】

ネブタール麻酔した SD ラットの脳を左心室から入れた氷冷生理食塩水で環流した。前脳を取り出して 20 倍量の Tris-buffer (20mM, pH 7.4) を加えてホモゲナイズし、その 250 μl に ROS 消去剤 (最終濃度 1 ~ 1000 μM) を加えた後 FeCl₃ 溶液を加えて (最終濃度 50 μM) 37 °C で 20 分間インキュベイトした。反応により生成した thiobarbituric acid 反応物質(TBARS)を比色法で定量して細胞膜脂質過酸化の指標とした。また、ROS 消去剤を投与したラットの大脳皮質に鉄イオンを注入して皮質脳波を観察した。

【結果と考察】

茶葉の含むタンニンである epigallocatechin や epigallocatechin-3-O-gallate, vitamin E と vitamin C の磷酸ジエステルである EPC, 及び水溶性 vitamin E として知られる trolox は鉄イオン添加による TBARS 生成を用量依存的に抑制した。しかし、vitamin C は TBARS の生成を用量依存的に増加した。また、大脳皮質に鉄イオンを注入して誘発される発作波の出現を前者の ROS 消去剤は抑制したが、vitamin C は抑制しなかった。これらの結果は、EPC の活性部位はその vitamin E 部分にあること、また、ROS 消去剤として知られる薬剤全てが脂質過酸化を抑制するとは限らないことを示唆する。さらに、外傷性てんかんの焦点形成を予防するためには細胞膜脂質過酸化抑制活性を持つ ROS 消去剤を使用することが重要であることが強く示唆された。