

## 扁桃体キンドリングにおける 可塑性とてんかん原性

宇野正威\* 小沢信幸\*

### はじめに

「燃え上がり現象」(kindling phenomenon)は実験てんかんモデルの1つとして多方面からの研究がなされており、その神経機序にはシナプス伝達の長期増強(long-term potentiation)が関与すると考えられている。長期増強と呼ばれる現象は当初記憶や学習を研究するパラダイムとして関心をもたれ、解析されたものである<sup>1,2)</sup>。その後、ratを用いた燃え上がり現象の形成中にも、貫通線維から歯状回顆粒細胞へのシナプス伝達に類似の増強の生ずることが明らかにされた<sup>4,6)</sup>。われわれもネコの扁桃体キンドリングの形成過程において、その遠心路の1つである扁桃体から側坐核と嗅結節への直接投射、および尾状核への間接的な投射、とくに後者の多シナプス性伝達に著しい増強の生ずることを明らかにした<sup>10)</sup>。さらに前回の報告において、そのような長期増強を背景に、新線条体がなんらかのてんかん原性(epileptogenicity)を獲得し、発作発展のある段階で刺激反対側への回旋運動の生ずることを解析した<sup>11)</sup>。

「燃え上がり現象」がGoddardら<sup>5)</sup>により報告される前に、すでにDelgadoとSevillano<sup>3)</sup>はネコの海馬刺激により類似の現象を観察している。さらに彼らは発作が進展する過程で扁桃体に海馬とは独立のリズムの後発射(reactive afterdischargeあるいはself-sustained discharge)が出現すること、それに伴い咀嚼様運動などの口周の自動運動の現われることを報告した。すなわち、刺激点である海馬から離れた扁桃体が二次的なてんかん原性を獲得したことを意味する。

今回の報告は扁桃体キンドリングの発展過程におい

て、扁桃体の遠心路の1つである内嗅領を経て歯状回に至る系路がどのようなシナプス伝達の増強をきたすかを明らかにし、さらにその変化を背景に海馬体にどのような機能的な変化が生ずるかを生理学的に追究することを目的とする。

### 方法

実験には4匹のネコを用いた。ネブタール麻酔下にて、先端を除いて絶縁したタングステン刺激電極2本を扁桃体基底外側核に、タングステン記録電極1~2本ずつを同側の扁桃体外側核、側坐核、尾状核、歯状回に挿入、固定した。さらに、同側頭頂部の硬膜上に皮質電極を、前頭洞に不関電極をおいた。麻酔から回復後少なくとも1週間をおいて実験を開始した。まず、扁桃体に5~10秒に1回の頻度で単発電気刺激(7.5~12.5V)を与え、側坐核と歯状回に惹起される誘発電位を観察、記録し、キンドリング手技前のコントロールとした。側坐核に中等度の振幅(200~400 $\mu$ V)の陰性電場電位を生ずる電圧を、それ以後の刺激強度と決め、反復電気刺激(TS)にも同一の刺激強度を用いた。多くは10Vであった。キンドリング形成のために1日1回ずつ扁桃体に50~20Hz、2~5秒間(20~50ミリ秒間隔で100発刺激)のTSを与えた。TS前およびTS後数時間にわたって10~30分ごとに扁桃体に単発刺激を20回ずつ与え、側坐核と歯状回電位を誘発した。TSにより惹起されるてんかん性のさまざまな運動症状や自律神経症状、および扁桃体、歯状回、側坐核、尾状核、大脳皮質などがボリグラフ上に示す後発射を2台のビデオカメラにて撮影し、ビデオカメラワイパー(SONY)にて編集し、テープに記録した。電気現象はすべてデータレコーダー(SR50, TEAC)を用いて磁気テープ上に記録し、誘発電位はVAX 11/750にて20反応ずつを平均加算し、XYプロッター上に表わした。後発射の解析にはやはりVAX

\* 東京都立松沢病院・勸東京都精神医学総合研究所(M. Uno, Tokyo Metropolitan Matsuzawa Hospital and Psychiatric Research Institute of Tokyo)

11/750を用いて、パワースペクトラムと自己相関を検討した。また、電場電位の一部は CRT 上に再生し、フィルムに記録した。実験終了後、刺激と記録電極の位置は組織学的に確認した。

## 結果

扁桃体への刺激は、基底外側核 (basolateral nucleus, BL) あるいは BL と外側核 (lateral nucleus, L) との境界にあった。腹側海馬体の記録点はすべて歯状回分子層 (molecular layer) に存在した。

### 1) 扁桃体から海馬体へのシナプス伝達

扁桃体へ単発電気刺激を与えると、歯状回分子層に潜時10~20ミリ秒の緩やかな陰性電位が惹起される (図1 A, 第1トレース)。陰性波は2あるいは3峰性で、持続30~50ミリ秒、振幅 100~400  $\mu\text{V}$  であるが、刺激ごとに振幅は変動しやすい。扁桃体へ20~200ミリ秒の間隔の2発刺激を与えると、第2反応の陰性波の振幅は増大する。とくに、刺激間隔50~70ミリ秒で2発刺激を与えた時に振幅は著明に増大し、コントロールの400%に達した (図1 A, B)。誘発電位の振幅の大きさがこのような時間的促進 (temporal facilitation) を呈することは扁桃体から歯状回分子層へのシナプス伝達は2つ以上のシナプスを介することを示す。扁桃体の遠心路についての最近のオートラジオグラフ法を用いた解剖学的研究<sup>6)</sup>と電気生理学的研究<sup>9)</sup>の結果を合わせてみると、この陰

性電位は扁桃体に発したインパルスが内嗅領に達し、そこから出る貫通線維 (perforant path) を介して歯状回分子層に惹起された興奮性の電位を反映すると考えられる。

### 2) 扁桃体-歯状回路のシナプス伝達の増強

扁桃体に TS を与えると扁桃体自身だけでなく、側坐核、尾状核、海馬歯状回にも後発射が惹起される。毎日1回ずつ TS を与えると、後発射の持続時間の延長と振幅の増大をきたし、それに伴ってかん性症状の発現が出現する。この発現に先行して、扁桃体-側坐核・尾状核路のシナプス伝達の増強のみられることはすでに報告した<sup>10)</sup>。同じように、歯状回電位にも著しい増強がみられる。図2は、キンドリング手技開始第1日から13日目までの、TS 直前のコントロールとして記録された側坐核 (A) と歯状回 (B) の誘発電位である。すなわち、第1トレースはキンドリング開始前のコントロールであり、最後のトレースは13日目の TS 前、すなわち12日目の TS を与えた後約24時間の反応である。側坐核電位は潜時約5ミリ秒の単シナプス性の陰性波で、およそ200  $\mu\text{V}$  の低電位の反応である。10日目にその振幅は約1mVの最大値に達し、それ以後はほぼ一定の振幅を呈した。一方、歯状回電位はキンドリング開始前は2峰性の緩やかな陰性波であるが、4日目から急速に振幅が増大し、10日目以降は20~30ミリ秒に頂点をもつ高振幅の陰性波となった。振幅がほぼ最大に達す

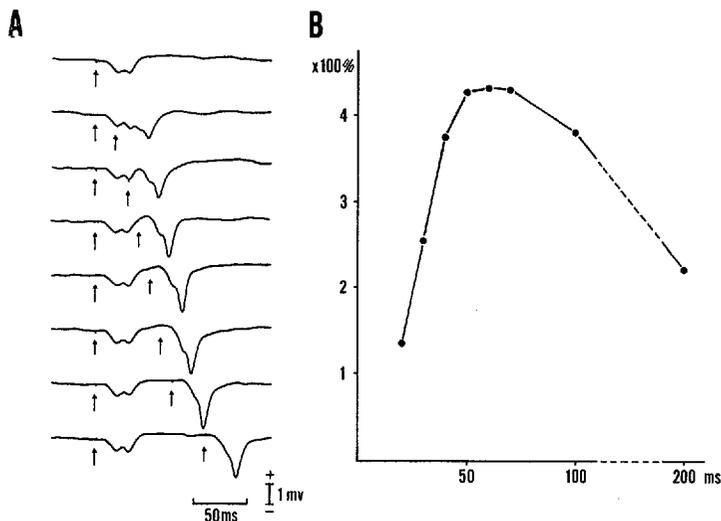


図1 扁桃体2発刺激による海馬歯状回の反応

- A: 上から control (単発刺激), 20, 30, 40, 50, 60, 70, 100ミリ秒間隔の扁桃体2発刺激により海馬歯状回に惹起された反応。  
 B: Aの2発目の刺激による反応の振幅をcontrolを100%とした相対値で示す。

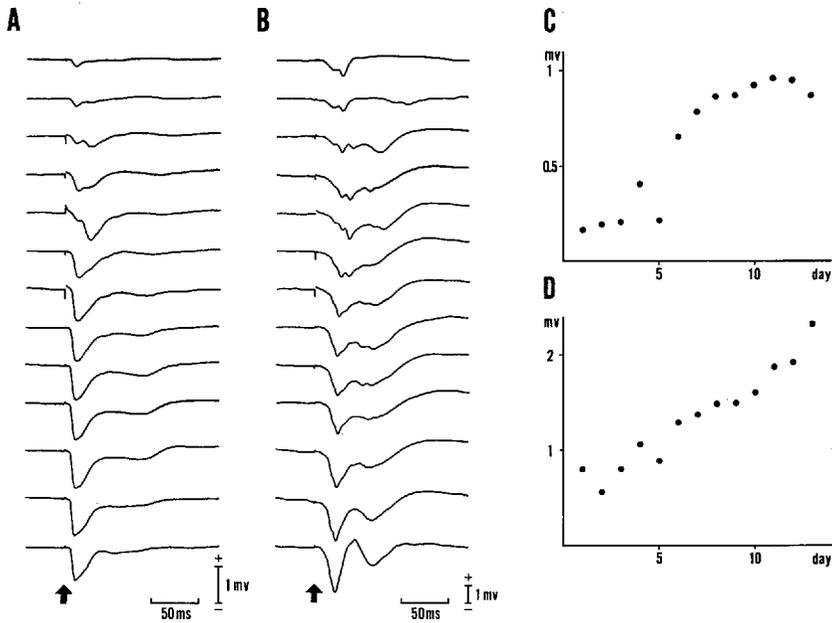


図2 齒状回電位の振幅増強

A, B: 扁桃体への単発刺激に対する側坐核 (A) と海馬齒状回 (B) の誘発電位。キンドリング手技第1日から第13日までの日毎の増強を示す。  
C, D: 側坐核 (C) と齒状回 (D) 電位の振幅の増大の経過

ると、この陰性波のあとに、頂点潜時50~60ミリ秒の第2の陰性波が生じてきた。10日目以後は陰性波の潜時は短縮して約10ミリ秒となり、しかも潜時は反応ごと変動はせず一定であった。側坐核電位が10日目には最大値に達するのに比し、齒状回電位は10日目以後も増大を続ける。30回目のTSで大発作に至った他の動物の例では、30日目まで振幅増大を続け、3.5mVの大陰性波に至った。陰性波の持続時間は40ミリ秒であり、第2の陰性波を合わせても80ミリ秒以内である。そのため、脳波計にて記録すると、この反応はあたかも陰性棘波であるかのような印象を与える。

### 3) 長期増強

以上述べたような齒状回電位の日ごとの増強は、すでに報告した側坐核と尾状核電位の場合と同じく、長期増強 (long-term potentiation) の重畳したものである。TSを与えると、齒状回電位の振幅は10分後にはTS前コントロールの120~150%の大きさまで増大する。1時間後にはほぼTS前の大きさに戻るが、その後も増強は動揺しながらも少しずつ残り、24時間後に、すなわち翌日のTS前コントロールの値は前日のそれより20%以内の増大を示す。キンドリング手技を続ける間に、TS後の後発射の振幅と持続時間が漸次著しくなる。そ

れとともに、側坐核と尾状核電位は後発射の終わった直後にはその振幅はむしろ縮小し、その後漸次回復する、というパターンをとる。そのため両核の電位は10日目以降はほぼプラトーに達した。齒状回電位もある段階からテタヌ後抑制 (post-tetanic depression) を生ずるが、側坐核電位に比べると軽く、回復も早く、さらには増強に移行する。そのため、側坐核電位がプラトーに達した後も、齒状回電位は増強を続ける傾向を示した。

### 4) 齒状回における後発射

扁桃体へのキンドリング刺激を繰り返すと、刺激点自身およびその投射領域に出現する後発射の持続時間は延長し、振幅も増大する。それに伴い、顔面搐搦、咀嚼様運動、刺激反対側への回旋運動、全汎性痙攣発作へと、発作症状の発展がみられる。図3は図1、2と同じ動物において、15回目のTSを与えた後の扁桃体、側坐核、尾状核、反対側尾状核、海馬齒状回および大脳皮質の後発射を脳波計にて記録したものである。刺激点のすぐ近傍の扁桃体外側核、および刺激点と直接あるいは間接的に線維連絡のある部位に、扁桃体の発作性律動波と同期する後発射およびそれに続いて各部位に独立の発作性律動波が出現するようになる。図の例は全汎性発作にまで至っており、全発作経過を次のように4相に分け

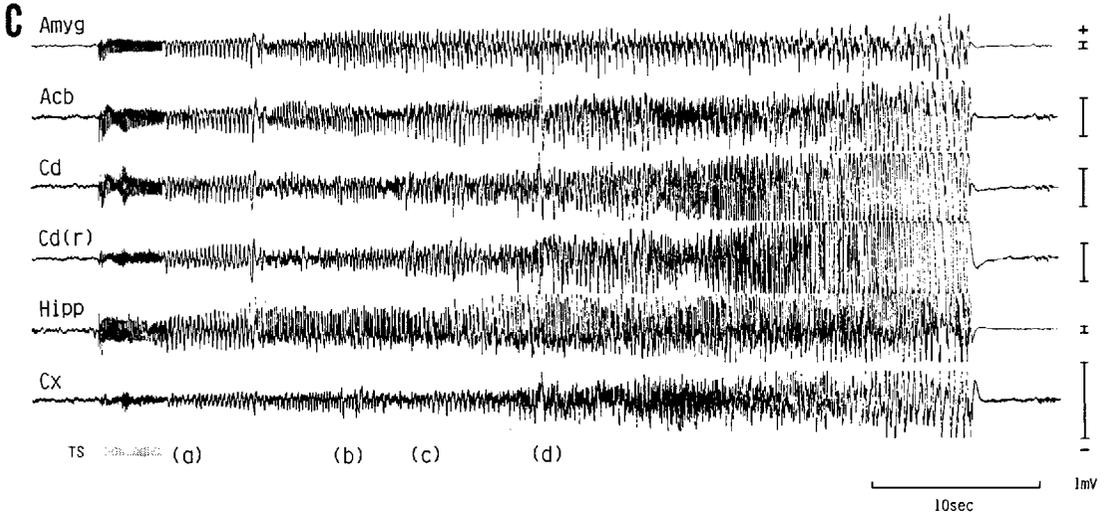


図3 全汎性発作に至る後発射。上から扁桃核，側坐核，尾状核，対側尾状核，海馬齒状回，大脳皮質の後発射の記録。最下段 TS にて，10 V 10 Hz 4 秒の刺激を与えた。(a) (b) (c) (d) はそれぞれ顔面搐搦，口周の自動運動，刺激反対側への回旋，転倒の開始時点を示す。

ることができる。第1相，顔面搐搦 (facial twitching) を主症状とする相 (a)；第2相，咀嚼様運動 (masticatory movement) など口周の自動運動を主とする相 (b)；第3相，刺激と反対側への回旋運動 (contraversive head turning and circling) を主とする相 (c)；第4相，転倒し全汎性痙攣 (generalized convulsion) に移行した相 (d)，とくにその後半で典型的な強直間代性痙攣を呈した。

側坐核，尾状核，齒状回の後発射は初めは刺激点のそれとほぼ同期した発作性律動波を呈する。これは刺激点の後発射の伝播したもの (propagated afterdischarge) と考えられる。つづいて，その部位独自の律動波 (reactive afterdischarge) を呈するようになる。図3の例について，第1，2，3，4相のおのおのから各部位ごとに4秒間ずつの発作律動波を取り出し，各パワースペクトラムを比較検討したところ次のようであった (図4)。

第1相 (a) では扁桃核を中心に，側坐核，尾状核，齒状回にも 4.75 Hz にピークをもつ発作律動波が出現した。齒状回ではこの相ですでに独立の 7.25 Hz リズムを呈することもある。

第2相 (b) では 5 Hz に始まり漸次周波数の低下する律動波がやはり扁桃核を中心に出現し，側坐核と尾状核に伝播している。齒状回では扁桃核とは独立の 7.25 Hz にピークをもつ後発射が出現してくる。

第3相 (c) に移行すると，尾状核により周波数の遅い (3.5 Hz) 高振幅の律動波が出現し，齒状回では第2相に引き続いて，12 Hz の高振幅の発射がさらに著しく

なる。

第4相 (d) においては，4.25 Hz に始まり 3.75 Hz にピークをもつ律動波がやはり尾状核を中心にさらに高振幅となり，全汎性発作への移行に向けて最大のパワーを呈した。齒状回の著しい後発射は第3相につづいて 9.0~10.5 Hz の要素が大であるが，尾状核のリズムとも同期する 4 Hz 前後の要素もみられる。すなわち，全汎性発作に至ると脳の広い領域にわたって発作律動波に同期する要素が出現する。

図5Aに，この例のパワースペクトラムにおいて最大パワーの得られた周波数の変化を，扁桃核と齒状回について示した。齒状回では 2~5 Hz の律動波に 10 Hz 前後の律動波が重畳しており，後者の存在が齒状回後発射の特徴なので，6 Hz 以上の周波数から最大の値を算出した。扁桃核では 2.75~5 Hz の間に最大パワー周波数がみられ，第2相で最高周波数 (5.0 Hz) を示している。

図5Bは，総パワー量の変化を第1相の値を 100% として相対値で示したものである。

他の被験体の例も含めて検討すると，海馬齒状回後発射の特徴は，他の領域にはみられない高頻度 (7~26 Hz) のスパイク様後発射が第2相から出現することである。この後発射は，第3，第4相では 2~5 Hz の基礎律動波に重畳して，最終相 (d) 相後半の強直間代性痙攣相一まで持続して出現する例と，第4相では消失する例があった。この高頻度発射は，キンドリング手技の初期，口周の自動運動の出現する段階からすでに海馬

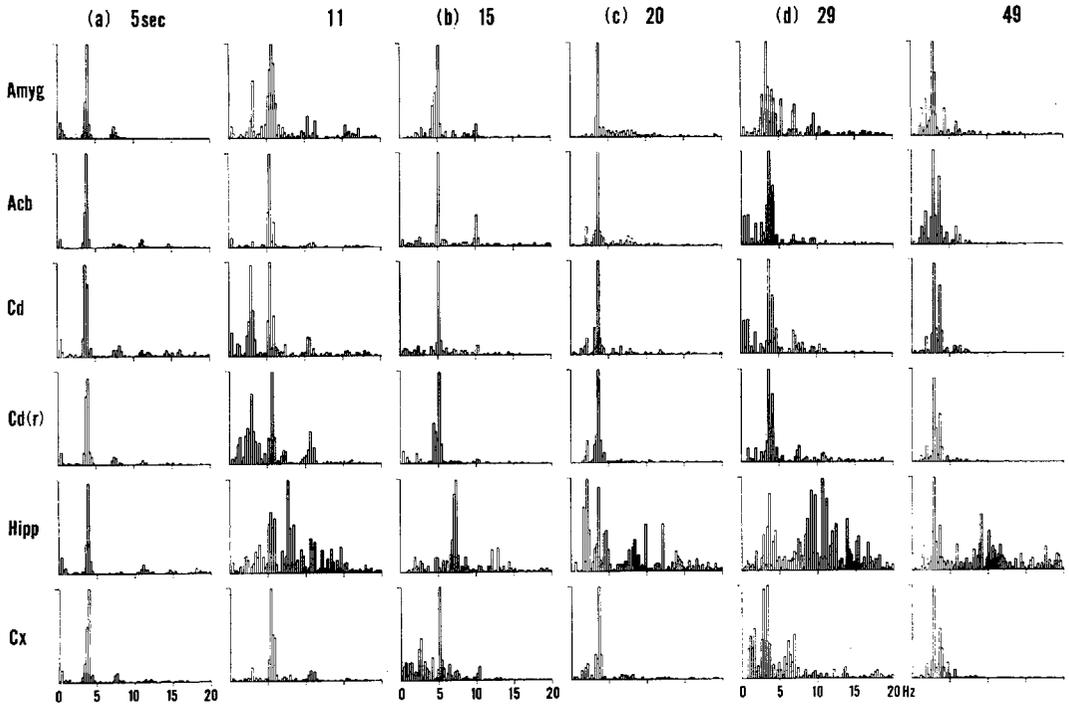


図4 後発射のパワースペクトラム

図3のそれぞれの発作症状を呈した時の後発射4秒間のパワースペクトラム。上段の数字は TS 開始からの経過時間を示す。縦軸は任意の値。

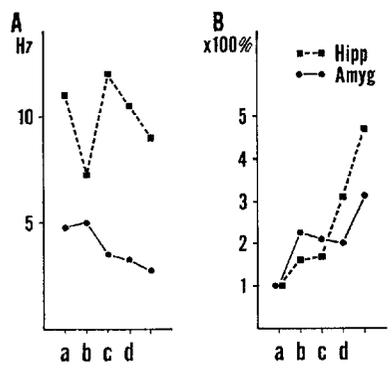


図5 後発射のピーク周波数と総パワー量の変化

A: 扁桃体 (●) と海馬歯状回 (■) のピーク周波数の変化。海馬歯状回は 6 Hz 以上のピーク周波数。

B: 同じく総パワー量の変化を (a) の総パワー量を100%とした時の相対値で示す。

歯状回後発射にみられた。

総パワー量の変化をみると、扁桃体では全例で第2相において一度増大するのに対して、海馬歯状回では第1

相から最終相に向けて漸次増大していった。

### 考察

扁桃体キンドリングの形成過程において、扁桃体から海馬体へのシナプス伝達の著しい増強が生じ、この増強を背景に、TS 後、歯状回に高振幅の著明な後発射が惹起されることを示した。

(1) 扁桃体から海馬体への線維連絡として、主に外側核から内嗅領へ投射する系路のあることがオートラジオグラフ法により明らかにされている<sup>6)</sup>。最近ラットを用いた電気生理学的研究によっても外側核から内嗅領への投射が報告されている<sup>9)</sup>。基底外側核からは主に海馬支脚に投射するが、一部は内嗅領にも至っているようである。内嗅領は前頭連合野と側頭連合野からも多くの線維が終わる部位であり、海馬の主要な入力発する部位として知られている。ここから海馬体へ向かう貫通線維は歯状回分子層に至り、顆粒細胞の樹状突起と興奮性シナプス結合を有する<sup>1)</sup>。したがって、扁桃体刺激により歯状回分子層に誘発される陰性電位の増強は扁桃体—内嗅領—歯状回の2シナプス性興奮性シナプス伝達の増強を反映していると思われる。

(2) 扁桃体に TS を与えると、扁桃体自体だけでなく、直接的あるいは間接的投射部位に後発射が惹起される。尾状核の後発射は第 2 相(口周の運動)までは扁桃体のリズムに依存し、第 3 相(回旋運動)で初めて独立の律動波を呈する。一方、歯状回では第 1 相(顔面搐搦)では扁桃体に依存するが、第 2 相ですでに独自のリズムを呈するようになる。海馬キンドリングの発作発展をみると、流涎などの自律神経症状が早い時期に出現する<sup>8)</sup>ので、第 2 相にみられる独立した高い周波数の発作律動波の出現は口周の運動に伴う流涎などの症状と関係があるかもしれない。歯状回は第 3, 4 相ではさらに高振幅の著しい発作律動波を生ずるが、これの発作症状にかかわる役割は回旋運動や全汎性痙攣に隠されてしまうようである。

以上のように扁桃体キンドリングの発展過程を誘発電位の長期増強と後発射のリズム形成から解析すると、扁桃体の遠心路のシナプス伝達の増強を背景に、新線条体や海馬体に機能的変化を生じていることがわかる。このような神経系の可塑的な変化はキンドリング形成過程で他の脳部位に生ずる二次的なてんかん原性(epileptogenicity)の生理学的メカニズムであろうと考えられる。

#### 文 献

- 1) Bliss, T.V.P. and Lomo, T.: Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *J. Physiol.*, 232: 331-356, 1973.
- 2) Bliss, T.V.P. and Gardner-Medwin, A.R.: Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the unanaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *J. Physiol.*, 232: 357-374, 1973.
- 3) Delgado, J.M.R. and Sevillano, M.: Evolution

of repeated hippocampal seizures in the cat. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.*, 13: 722-733, 1961.

- 4) Douglas, R.M. and Goddard, G.V.: Long-term potentiation of the perforant path-granule cell synapse in the rat hippocampus. *Brain Research*, 86: 205-215, 1975.
- 5) Goddard, G.V., McIntyre, D.C. and Leech, C. K.: A permanent change in brain function resulting from daily electrical stimulation. *Exp. Neurol.*, 25: 295-330, 1969.
- 6) Krettek, J.E. and Price, J.L.: Projections from the amygdaloid complex and adjacent olfactory structures to the entorhinal cortex and to the subiculum in the rat and cat. *J. Comp. Neurol.*, 172: 723-752, 1977.
- 7) Racine, R.J., Milgram, N.W. and Hafner, S.: Long-term potentiation phenomena in the rat limbic forebrain. *Brain Research*, 260: 217-231, 1983.
- 8) 佐藤光源: “燃えあがり効果”(Kindling effect)を用いたてんかんの実験的研究 I. 海馬発作の発展過程に関する行動、脳波学的研究. *精神経誌*, 77: 495-508, 1975.
- 9) Thomas, S.R., Assaf, S.Y. and Iversen, S.D.: Amygdaloid complex modulates neurotransmission from the entorhinal cortex to the dentate gyrus of the rat. *Brain Research*, 307: 363-365, 1984.
- 10) Uno, M. and Ozawa, N.: Amygdaloid kindling and augmentation of synaptic responses in the accumbens and caudate nuclei in cats. *Folia psychiat. Neurol. Jap.*, 37: 369-371, 1983.
- 11) 宇野正威, 小沢信幸: 動機づけから行動の発現へ—扁桃体キンドリングによる咀嚼様運動と回旋行動の解発—厚生省: 発達神経学的にみた自閉症の予防と治療に関する研究. 昭和58年度研究総括報告書, 77-81, 1983.

#### abstract

### Neural Plasticity in Limbic Structures by Amygdaloid Kindling

Masatake Uno and Nobuyuki Ozawa

The present study was undertaken to examine how the synaptic transmission of the amygdalo-hippocampal pathway could be modified during amygdaloid seizure development in cats. The amygdaloid nucleus was stimulated with two tungsten electrodes insulated except for the tip. To record the field potentials and the

afterdischarges, the tungsten electrodes were implanted into the dentate gyrus and the lateral amygdaloid nucleus of the ipsilateral side.

The amygdaloid stimulation produced a slight negative deflection with a latency of 15-25 msec in the dentate gyrus. The negative field fluctuated in amplitude during repeated stimu-

lation and showed temporal facilitation with double shocks at short intervals. These features may suggest that it was produced di-or trisynaptically. After single periods of tetanic stimulation by applying trains of stimuli at 50 Hz for 2 sec, there was a long-term augmentation of dentate responses in amplitude. It was increased up to 140% of the pretetanus control for one hour following the tetanic stimulation and declined gradually to the control value thereafter. But a slight increase in the response was observed even 24 hours later. Therefore, trains of stimuli presented once a day had a cumulative effect on the negative field potentials evoked in the dentate gyrus. Thus, the dentate responses showed progressive increases in their amplitude by daily electrical stimulation. They attained their maximum value, ranging from 5 to 10 times the original amplitude within 20 days after the commencement of amygdaloid stimulation.

The tetanic stimulation tended to produce epileptiform afterdischarges with a longer duration and a higher frequency in the dentate gyrus, and to induce the seizure development at the time when the dentate responses reached their maxi-

imum value. Seizure manifestations and development of afterdischarges both in the amygdala itself and the dentate gyrus were classified into the following 4 phases.

Phase 1: Unilateral facial twitching. The dentate gyrus began to display 4.0~5.5 Hz rhythmic afterdischarges which was synchronized to that of the ipsilateral amygdaloid nucleus.

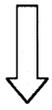
Phase 2: Repetitive masticatory movement.

Phase 3: Contraversive head turning and circling.

Phase 4: Generalized convulsive seizure.

The dentate gyrus displayed 6.0~8.0 Hz (Phase 2) and 9.0~12.0 (Phase 3, 4) rhythmic afterdischarge which was entirely independent from that of the amygdaloid nucleus.

These findings of long-lasting potentiation in the amygdalo-hippocampal synaptic transmission following the tetanic stimulation and development of afterdischarges in the dentate gyrus which was independent from the amygdaloid complex may represent an example of plastic changes in a neuronal chain underlying the kindling phenomenon.



## 検索用テキスト OCR(光学的文字認識)ソフト使用

論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります



はじめに

「燃え上がり現象」(kindling phenomenon)は実験てんかんモデルの1つとして多方面からの研究がなされており、その神経機序にはシナプス伝達の長期増強(long-term potentiation)が関与すると考えられている。長期増強と呼ばれる現象は当初記憶や学習を研究するパラダイムとして関心がもたれ、解析されたものである(1,2)。その後、ratを用いた燃え上がり現象の形成中にも、貫通線維から歯状回顆粒細胞へのシナプス伝達に類似の増強の生ずることが明らかにされた(4,6)。われわれもネコの扁桃体キンドリングの形成過程において、その遠心路の1つである扁桃体から側坐核と嗅結節への直接投射、および尾状核への間接的な投射、とくに後者の多シナプス性伝達に著しい増強の生ずることを明らかにした(10)。さらに前回の報告において、そのような長期増強を背景に、新線条体がなんらかのてんかん原性(epi-leptogenicity)を獲得し、発作発展のある段階で刺激反対側への回旋運動の生ずることを解析した(11)。

「燃え上がり現象」がGoddardら(5)により報告される前に、すでにDelgadoとSevillano(3)はネコの海馬刺激により類似の現象を観察している。さらに彼らは発作が進展する過程で扁桃体に海馬とは独立のリズムの後発射(reactive afterdischargeあるいはself-sustained discharge)が出現すること、それに伴い咀嚼様運動などの口周の自動運動の現われることを報告した。すなわち、刺激点である海馬から離れた扁桃体が二次的なてんかん原性を獲得したことを意味する。

今回の報告は扁桃体キンドリングの発展過程において、扁桃体の遠心路の1つである内嗅領を経て歯状回に至る系路がどのようなシナプス伝達の増強をきたすかを明らかにし、さらにその変化を背景に海馬体にどのような機能的な変化が生ずるかを生理学的に追究することを目的とする。