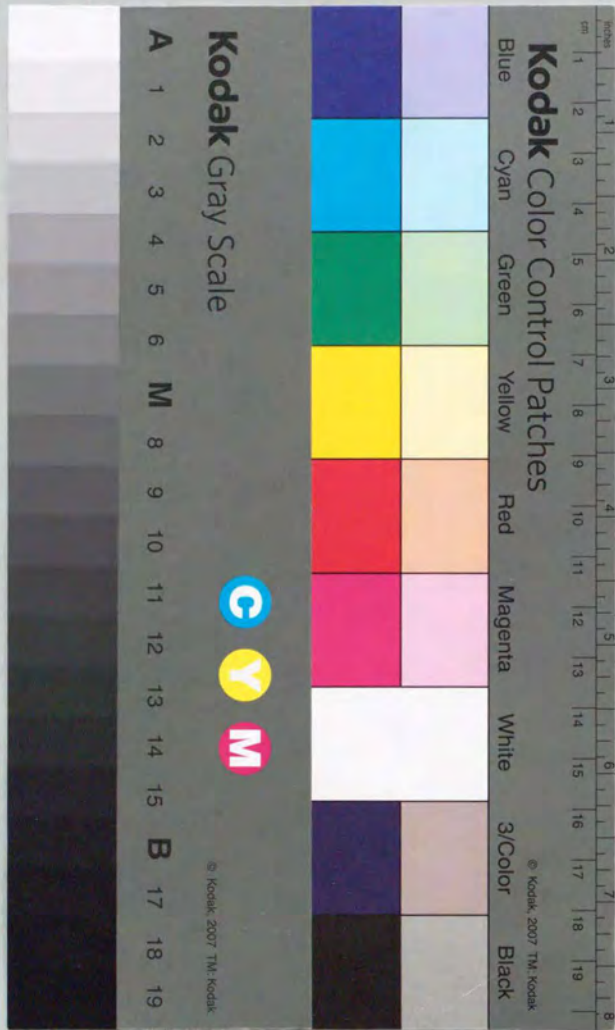


一過性全脳虚血後の痙攣に関する実験的研究

ーラット心停止蘇生後にみられる珥原性痙攣に注目してー

川合謙介



①

一過性全脳虚血後の痙攣に関する実験的研究
ーラット心停止蘇生後にみられる聴原性痙攣に注目してー

川合謙介

I. はじめに

脳梗塞や心肺蘇生後など虚血性脳障害に続発して痙攣発作やミオクローヌ発作がみられることはこれらの疾患の診療にあたる臨床家の間ではよく知られている^{19,20,21}。心肺蘇生後に痙攣発作の発生をみた症例の予後は特に不良であったとの臨床的報告もあり²⁰、脳虚血後痙攣の発生メカニズムを解明することは、いまだその治療が手探りの状態である重度虚血性脳障害の予後を少しでも改善するためのひとつのアプローチとなる可能性が考えられる。一方、げっ歯類を用いた実験的脳虚血の後に痙攣の発生をみることもよく知られていたが、脳虚血後の痙攣発生の頻度やそのメカニズムを直接対象とした研究はいまだなされていない。これは、脳虚血を対象とした実験系では痙攣による二次的脳損傷の影響を避ける為、虚血後痙攣を呈した動物を排除せざるを得なかったためと思われる^{30,39}。

さて実験的痙攣研究の分野では、DBA/2 mouse、genetically epilepsy prone rat (GEPR)、genetically epilepsy prone gerbil などある株のげっ歯類が遺伝的に痙攣を起こしやすいことが知られていた。これらの動物では種々の刺激により痙攣が誘発されうが、特に共通して聴覚刺激によって痙攣が誘発され、聴原性痙攣 audiogenic seizure と呼ばれている。このうち GEPR については多くの研究が積み重ねられてきた。その痙攣の表現型は非常に特徴的なもので数秒間の音刺激を加えると突然 wild running を始め、その後 tonic-clonic seizure に移行するというものである^{4,5,10}。まず破壊実験により下丘が聴原性痙攣の焦点として最も重要であることが推察されていた^{5,17,44,46}、その後下丘への薬剤微小注入実験などにより痙攣焦点としての下丘の重要性が再確認され、さらに GEPR では下丘における γ -aminobutyric acid (GABA) 作動性の抑制性神経伝達に障害があることが電気生理学的に確認された^{3,7,8,9}。また、GEPR の下丘では GABA 性ニューロンの数が正常ラットと比較して有意に増加していることも判明しており、これは遺伝的動物における補償的な作用の結果ではないかと考えられている^{33,34}。

ラットの一過性全脳虚血後に聴原性痙攣が認められることを最初に記載したのは Ross らである³⁵。大槽に人工髄液を注入することにより頭蓋内圧を上げ一過性全脳虚血を作成したラットは種々の刺激に対して非常に過敏になっており、特に軽度の音刺激にも反応して痙攣をおこすことに彼らは気づき、さらにその痙攣の表現型が wild running の後に tonic clonic convulsion に移行するという GEPR に認められる痙攣と全く同一のものであることを確認した。その後 Voll らは両側総頸動脈結紮に低血圧を加えて全脳虚血を達成するモデルでも 80% のラットに聴原性痙攣が認められることを報告した⁴³。また、著者らが確立したラット心停止蘇生モデルでも定常的に聴原性痙攣の発生が認められた¹⁶。

人間では聴原性の痙攣は通常認められないことからすると、ラットで全脳虚血後に認められる聴原性痙

攣と臨床例で認められる虚血後の痙攣との間にはその背景には大きな差異があるのは当然であるが、ラット虚血後に発生してくる易痙攣性のメカニズムを解明することは、虚血性脳損傷の病態を理解し臨床に応用してゆく上でもひとつのヒントになると考えられる。そこでこの研究は、心停止蘇生法¹⁶を用いてラットに一過性の全脳虚血を加え、脳内での形態学的な変化を調べると同時に、虚血後聴原性痙攣の全体像をとらえる為に、種々の虚血時間ののちに経時的に発生頻度を追跡した。次いで虚血後聴原性痙攣においても GEPR と同様下丘が焦点なのかどうかを確認するため破壊実験を行なった。痙攣焦点と予測される下丘ではグルタミン酸脱炭酸酵素 (glutamic acid decarboxylase, GAD) に対する免疫組織学的染色を行って GABA 性ニューロンの定量的検索を行なった。一方、全脳虚血後強い選択的脆弱性を示す視床網様核に対しては連続切片で変性部位の詳細な分布を検討した。これは、聴覚伝導路のうち内側膝状体のレベルで視床網様核が抑制性に働いていることが知られているが、視床網様核のうち虚血後に障害される部位が聴覚系と関係しているかどうかを調べるためである。さらに、虚血後脳における GABA を介した抑制系の機能的変化の一例として海馬で電気生理学的実験を行なった。これには穿通路 (perforant path) 入力への連発刺激によって誘発される歯状回集合スパイクの抑制を調べるパラダイムを用いた²²。

以上の実験により、虚血後の脳内では形態学的にも機能的にも GABA 系に広汎な変化が発生し、特に下丘に代表される hindbrain での変化が虚血後に認められる聴原性痙攣の発生に深く関与している可能性が示唆されたので、これを報告する。

II. 方法

心停止蘇生モデル

実験動物は Sprague-Dawley ラット (n=112) および Wistar ラット (n=5) を用いた。ラットはすべて雄性で体重は 200 - 400 g であった。心停止蘇生法は既に報告したものを用いた¹⁶。簡略に説明すると、笑気と酸素の混合ガス (2:1) および 1.5% のハロセンによる吸入麻酔下に左大腿動脈へカテーテルを挿入し動脈圧をモニターする。直径約 1 mm のステンレス鋼製フックを右第 3 肋間より縦隔に挿入しこれを慎重に回転してフック遠位部を上行大動脈下に位置する。直ちにフックを持ち上げ同時に胸郭外より指圧を加えて上行大動脈をクランプすると直ちに血圧は 0 mmHg まで低下し 10 秒以内に自発呼吸が停止する。3 分間の加圧により心停止が誘発されるので、慎重にフックを除去する。心停止後任意の時点 (< 15 分) で心肺蘇生を開始する。経鼻カニューレによる人工呼吸と指圧による胸郭外心マッサージにより通常 2 分以内に自発的心拍が出

回復するのでここで心マッサージを終了する。人工呼吸は循環再開後約15分間続ける。 ^{14}C iodoantipyrine を用いたオートラジオグラフィ法およびレーザードップラー血流計を用いた循環再開時の脳血流測定により大腿動脈圧が約 50 mmHg を超える点で脳血流の急激な回復をみているので¹⁶⁾、心停止誘発開始時点から蘇生後平均血圧が 50 mmHg まで回復する時点の時間をその動物の虚血時間として記録した。蘇生後の動物は経鼻カニューレおよび動脈カテーテルを抜去し、ケージに戻し食餌および水を自発摂取させた。この実験では体温を維持するための工夫はしなかった。

聴原性痙攣の誘発試験

聴原性痙攣の誘発に用いる音源は鍵盤を揺すって出る音を使用した。テスト音の特性は騒音計 (Integrating Sound Level Meter, NL-14, LION, 東京)、および周波数分析器 (1/3 Octave Band Real-Time Analyzer, SA-27, LION, 東京) を用いて分析した。この際、ラットに与えるのと同様の距離 (15 - 20 cm) にて、15 秒間のパワーアベレージを計測した。周波数分析器には 25.0~20000 Hz および 100.0~80000 Hz のフィルターをセットしてそれぞれ 4 回の計測を行い、全周波数領域 (all pass) および 100.0~20000 Hz では 8 回の計測平均値、25~80 Hz および 25000~80000 Hz では 4 回の計測平均値を算出した。ラットに与える場合、テスト音は wild running seizure が誘発されるまで続けるが、90 秒間刺激しても誘発されない場合は陰性とした。誘発試験は心肺蘇生後 24 時間の時点で 1 回行ない、その後は 7 日毎に 1 回行なった。易痙攣性に対する虚血時間の影響を調べるために心肺蘇生の開始時間を心停止誘発後 3 分 (A 群、n=8)、5 分 (B 群、n=20)、7 分 (C 群、n=75)、9 分 (D 群、n=9) として誘発試験を行なった。A 群より 3 匹、B 群より 8 匹、C 群より 25 匹、D 群より 8 匹のラットは、長期の易痙攣性を調べるために数ヶ月間追跡した。すべての動物は心停止を誘発する前に痙攣誘発試験を行い、陰性であることを確認した。

下丘および内側膝状体の破壊実験

心停止蘇生を与える 7 日前にペントバルビタール麻酔下にラットを定位手術フレームに固定、頭部正中に皮膚切開を加えて歯科用ドリルで穿頭した。電気破壊装置 (Grass Lesion Maker LM4) に接続したステンレス鋼電極 (先端露出 1 mm、先端直径 0.25 mm) を目的の部位に進め、30 - 60 秒間 5 mA 通電することにより下丘 (n=4) または内側膝状体 (n=4) を両側性に破壊した。電極刺入の目標点は Paxinos and Watson のアトラス²⁸⁾に従って、下丘は 9.0 - 1.5 - 4.2、内側膝状体は 5.5 - 3.4 - 6.2 (bregma) の尾側方向 - 正中から外側方向 - 頭蓋表面から腹側方向、単位 mm) とした。ただし、下丘に垂直に上方からアプローチすると静脈洞損傷により出血が著しいため、後方より 20 度または 30 度の角度をつけて刺入した。電気破壊の 7 日後、前述の方

法で心停止蘇生を加えた。蘇生開始は 7 分とした。虚血後のラットは 24 時間後と 7 日後に痙攣誘発試験を行なった後、電気破壊病変のひろがりを確認するために、ホルマリン灌流固定の後、下丘と内側膝状体から 20 μm の連続切片を凍結薄切しクレシルバイオレットで染色し、顕微鏡下および画像分析装置で調べ記録した。

免疫組織化学

GAD 免疫組織化学用にはラットを 4 群に分けた。I 群 (n=7) は虚血を加えない正常ラット、II 群 (n=8) は虚血後 7 日のラット、III 群 (n=5) と IV 群 (n=5) は虚血後長期間 (29 - 53 日) 追跡したラットである。II 群のラットはすべて屠殺時に易痙攣性を示しており、また、III 群のラットは屠殺時まで易痙攣性を示し続けたもの、IV 群のラットは虚血直後には易痙攣性を呈していたが屠殺の前までに易痙攣性を示さなくなったものである (結果参照)。

これらのラットはハロセン麻酔下に経大動脈的にまず 100 ml の生理食塩水ついで 400 ml の 4 % パラホルムアルデヒドで灌流固定した。そのまま約 1 時間の体内後固定の後に脳を取り出し 20 % (W/V) の蔗糖溶液に 4 °C で 2 日間浸漬した。凍結薄切で得られた 20 μm の冠状切片を以下の手順で浮遊法により免疫染色した。まず 1 % sodium borohydride で 30 分培養し洗浄、10 % の正常ウサギ血清で 2.5 時間培養し洗浄してから、抗 GAD 血清 (1:2000) で 2 % の正常ウサギ血清とともに 1 晩振盪培養した。羊ポリクローナル抗 GAD 抗体²⁹⁾は米国国立衛生研究所 National Institute of Neurological Disorders and Stroke の Laboratory of Clinical Science, Dr. Kopin の好意により提供された。さらに 4 °C で 1 日培養してから 1 % 正常ウサギ血清で洗浄し、45 分間 2 次抗体 (1:200 ビオチン化ウサギ抗ヒツジ IgG、Vector) で培養した。1 % 正常ウサギ血清での洗浄の後、アビジン・ビオチン化西洋ワサビペルオキシダーゼ (Vectastain Elite ABC kit、Vector) で 45 分間培養し洗浄、トリス緩衝液 (pH 7.6) で洗浄してからジアミノベンジジン (SK-4100、Vector) で発色した。上記の溶液の溶媒および洗浄液は特に記載のない限り 0.1 M リン酸緩衝液で pH は 7.4 である。また、特に記載のない場合は培養は室温で行なった。切片を洗浄し、ゼラチン被膜スライドにマウント、脱水の後、キシレン透過して光顕下に観察した。

下丘については定量的評価を行なった。すなわち、下丘の中心核 (central nucleus of inferior colliculus, CNIC) を背内側部 (DM) と腹外側部 (VL) に分け、各々の領域に 1 mm 四方の範囲を設定、200 μm 毎の連続 4 切片で両側の GAD 陽性細胞を数え、これを合計したものを 1 匹のラットの GAD 陽性細胞合計数とした (図 1)。この際、明確な細胞質境界を持ち、細胞質内に茶褐色の染色反応物質を有する細胞のみを陽性細胞として数えた³⁴⁾。ANOVA 分析の後、Fisher PLSD および Scheffe F test ($p < 0.05$) で統計学的有意差を検定

した。

視床網様核については虚血7日後のラットから100 μ m 毎の冠状連続切片を切出した。通常の染色法では核および核内病変のひろがり同定しにくいので、マーカーとしてカルシウム結合蛋白であるパラアルブミンに対する免疫組織染色を用いた。組織固定および免疫反応過程はGADとほぼ同様であるが、抗体は monoclonal anti-parvalbumin antibody (P3171, Sigma Chemical Co., St. Louis, MO.) を1:2000 で用いた。ビオチン化2次抗体は horse anti-mouse IgG (Vector) を1:400 で用いた。下丘と同様に免疫染色した後、病変のひろがりを顕微鏡下および画像分析装置で調べ記録した。

海馬電気生理実験による抑制性伝達の検討

虚血後ラットでの抑制性伝達の変化を調べるためには海馬歯状回ニューロンへの穿通路入力に対する連発刺激法を用いた。穿通路刺激と同時に海馬歯状回から細胞外記録を行なうと興奮性シナプス後電位 (excitatory post-synaptic potential, EPSP) および集合スパイクが観察されるが、連発刺激を加えるとその刺激間時間によって2回目の刺激に対する集合スパイクは1回目の刺激によるスパイクに比べて減少する^{22,38,41)}。この2回目刺激に対する反応の抑制はGABAを介した反回抑制によるものと考えられており、この現象の変化を虚血後ラットで観察した。ラットをウレタン麻酔下に定位手術装置に固定、双極ステンレス電極を穿通路に設置し(bregma 尾側 8.1 mm 外側 4.4 mm)、細胞外記録用には4 mM NaClを充填したガラス電極(1-2 M Ω)をbregma 尾側 2.5 mm 外側 3.0 mm から海馬に進め、EPSP および集合スパイクが最大になるように留置した。刺激は20 V 0.1 msec の矩形波を0.1 Hz で連発して与え、連発刺激の間隔は20、25、30、40、60、100、200、250、300、400 msec とした。誘発反応を増幅しA/D computer interface で記録した(Axolab 110, Axon Instruments)。集合スパイクの大きさはTuffらにしたがって⁴¹⁾、スパイクの開始点および終末点を結ぶ接線とスパイクの頂点との間の距離として計測し、1回目刺激によるスパイクに対する2回目刺激によるスパイクの比を集合スパイク比とした。

III. 結 果

心停止蘇生モデルによる一過性全脳虚血の作成

上述の方法により心停止蘇生を行なったラットはすべて問題なく蘇生された。各々のグループの虚血時間 は A 群 4.5 ± 0.5 、B 群 8.3 ± 0.7 、C 群 10.7 ± 0.9 、D 群 13.7 ± 1.2 (分, mean \pm SD) であった(表1)。

虚血後24時間の時点でA群、B群、C群のラットは完全に覚醒し運動障害もなく一見まったく正常であったが、D群のラットは多くが対麻痺を示していた。しかし、この麻痺も数日中には消失し7日後の時点ではほぼ正常の外見を呈していた。D群のラットのうち1匹が痙攣重症状態となって死亡した以外すべてのラットは予定した屠殺の日まで生存した。

テスト音の分析

All pass による計測では、テスト音の強度は 95.1 ± 0.8 dB であった。周波数分析を図2に示す。主成分は16000 Hzを中心とした高周波数領域の混合音であった。

虚血後の易痙攣性とその発生率

ラットの体重は200-400 g にわたったがこの範囲ではランダムに分布しており体重と易痙攣性に関連は認めなかった。

虚血侵襲の程度と易痙攣性の関連については表1にまとめた。3分で蘇生を開始したA群(虚血時間 4.5 ± 0.5 分)のラットは虚血後どの時点でもまったく易痙攣性を示さなかった。5分で蘇生を開始したB群(虚血時間 8.3 ± 0.7 分)のラットのうち65%が易痙攣性を示した。7分で蘇生を開始したC群、9分で蘇生を開始したD群のラットはすべてが易痙攣性を示した。

虚血後のラットが易痙攣性を示す場合、その経時的経過は以下のようであった。すなわち、虚血後6時間頃にはほぼ覚醒するのだが、その頃より触覚刺激や単発の音刺激に対して myoclonic jerk 様の過敏反応を示すようになる。この頃より虚血後1-2日目までラットは非常に聴原性痙攣を起こしやすくなっており、特に誘発試験を行なわなくても足音や水道の水の音でさえ時に痙攣を誘発してしまうほどであった。時に自発的に痙攣を起こしているように見えることもあったが、完全防音施設で飼育していたわけではないので、本当に自発痙攣なのかそれとも何らかの音に反応したのかは不明であった。虚血後ラットが易痙攣性を示す場合、24時間後の誘発試験では常に陽性であり、24時間後の試験で陰性でその後に陽性になるということとはなかった。数日後よりこの過敏状態は徐々に減退し、7日後には軽微な背景音で痙攣が誘発されるということとはなくなり、試験音でのみ誘発されるようになった。

痙攣の表現型としては2つのパターンが認められた。すなわち、強直間代性の痙攣を伴うものと伴わないものである。いずれの場合も、音刺激の開始とともにラットはやや不穏状態となり、通常30秒以内に突然 wild running seizure が始まる。この running は逃避などに伴うコントロールされた走行ではなく、非常に特徴的なもので、観察ケージの壁やふたに激突し時に外表損傷を伴うほどである。数10秒の wild running

の後に、体幹および四肢を伸展する tonic phase に入り、その後 clonic phase に移行する。最後にラットは側方に転倒し数秒間四肢の clonic movement を示してから静止状態となる。この時点で外部より何らかの刺激を加えてやればラットは正常体位を回復する。一方、一部のラットは tonic-clonic phase を伴わずに wild running seizure から catatonic state に入った。これら 2 種類の痙攣表現型と虚血侵襲の強さや虚血後経過時間との間には特に明確な関連は認められなかった。

虚血後の経時的痙攣発生率の変化も虚血侵襲の強さによって異なっていた。表 2 に示すように 5 分で蘇生を開始した B 群では 24 時間後には 65 % のラットが易痙攣性を示していたが、1 週間後には 50 %、2 週間後には 25 % と減少している。一方、虚血時間が長くなると易痙攣性もより長期持続するようになり、5-6 週間後にも 50 % のラットが易痙攣性を示し続けていた。7 日毎に連続的に誘発試験を繰り返した場合、一度陰性化したラットはその後の試験でも易痙攣性を示すことはなかった。

虚血侵襲を加えないラットでは痙攣が誘発されることはなかった。また、Wistar ラットも虚血を加えた(7分で蘇生開始)後にはすべて易痙攣性を示した。痙攣の経時経過や表現型は Sprague-Dawley ラットと同様であった。

さらに C 群の一部のラットでいろいろな周波数で点滅するストロボ光やリズムミカルな痛覚・触覚刺激を体表や vibrissae に加えることで聴覚刺激以外の刺激で痙攣を誘発することを試みたが、これらの刺激で痙攣が誘発されることはなかった。

下丘および内側膝状体の破壊実験

下丘を破壊した群と内側膝状体を破壊した群の間には虚血時間に有意差はなかった (11.1 ± 0.7 分、 10.8 ± 0.7 分; unpaired t-test, $p=0.58$)。図 3 に作成された下丘および内側膝状体の破壊病変のひろがり易痙攣性の有無を示した。内側膝状体を破壊したラットはすべて 24 時間後、7 日後ともに wild running から強直間代性痙攣に移行する痙攣を示した。一方、下丘破壊ラットのうち 3 匹はまったく易痙攣性を示さず 1 匹は 24 時間後 wild running のみを示し 7 日後には陰性化した。このラットでは下丘の吻側背部に小さな破壊病変しか形成されていなかった。

ニッスル染色および GAD 免疫組織化学による形態学的観察

GAD 免疫染色に用いた II 群、III 群、IV 群の虚血時間はそれぞれ 10.9 ± 0.73 分、 11.5 ± 1.1 分、 10.8 ± 0.8 分で有意差はなかった (ANOVA followed by F-test, $p=0.43$)。

下丘中心核での GAD 陽性細胞の定量の結果を図 4 に示した。虚血後の動物では約 50 % に GAD 陽性

細胞数が減少していた。この減少は背内側部よりも腹外側部で著明であった。虚血後 7 日後までに 50 % まで減少した細胞数はその後変化を示さなかった。易痙攣性を示し続けた群と易痙攣性を消失した群の間にも有意差は認められなかった。

光顕下での観察は以下のようであった。まず、正常ラットの下丘には多数の小型の細胞と少数の大型の細胞が存在しており、後者には明確な核小体や輪郭のはっきりしたニッスル小体が認められた。虚血後の下丘では明らかに GAD 陽性細胞が減少しており、この減少は特に小型細胞の方に顕著であった。そのために長期生存ラットの下丘では残存 GAD 陽性細胞のうち、大型細胞の存在が目立った(図 5)。また、長期生存ラット下丘のクレシルバイオレット染色切片では典型的な central chromatolysis を呈する神経細胞が認められた。すなわちこれらの細胞では核は辺縁に偏位し大型の核小体と均一な細胞質が特徴的であった。

視床網様核では変性部位は常に一定のパターンをとって認められた。すなわち、吻尾方向・腹背方向ともにその中心部に局限していた(図 6)。核の吻側先端より $700-800 \mu\text{m}$ で変性部位が出現し始め、 $1.3-1.6 \text{ mm}$ 尾側へと連続していた。内側膝状体および聴皮質と連絡を持ち auditory reticular nucleus と呼ばれる腹尾側部分³⁶⁾は常に保たれていた。

海馬電気生理実験による抑制性伝達の検討

正常ラットでは連発刺激の刺激間時間が 30 msec 以下になると 2 回目刺激に対する反応の抑制が認められるが、虚血後 7 日後のラットではこの抑制が消失しておりむしろ増強が認められた(図 7)。20 msec の刺激間時間では統計的に有意な集合スパイク比の増加がみられた(表 3)。また、正常ラットに 50-150 msec の刺激間時間で認められる増強効果は、虚血後ラットではさらに強くなっているようであった。ただし、これは統計学的には有意ではなかった。一方、2ヵ月後のラットではほぼ正常ラットと同様の反応しかみられず、抑制の消失は認められなくなっていた。また、長い刺激間時間で出現する抑制は 7 日後のラットでもほぼ正常に近く出現しており、虚血後 7 日後に認められる抑制回路の障害は短い刺激間時間の反回抑制に特異的なものといえた。

IV. 考 察

今回の実験で認められた一過性全脳虚血後に発生する痙攣は、聴覚刺激によって誘発され特徴的な wild running を呈するという点で、遺伝的痙攣動物で知られていた聴原性痙攣に非常に近いものであると考えら

れた^{4,31)}。Jobe らは遺伝的に易痙攣性を呈する GEPR 株を確立しその痙攣の表現型を詳細に観察分類した¹⁴⁾。この分類によればラット全脳虚血後に認められた痙攣のうち wild running から tonic-clonic convulsion に移行する型は score 3 に相当すると思われる。今回の実験では刺激音として鍵束の金属音という混合音を用いたが、通常 GEPR での研究ではスピーカーからの純音を用いて検査が行なわれることが多い。鍵束を揺するという人為的操作にはかなりのばらつきがあるのではないかと予想されたが、周波数分析では予想以上の再現性が得られた(図 2)。また、純音による聴原性痙攣誘発試験システム(自治医科大学第 1 生理学教室)で虚血後ラットを試験した結果では鍵束の音と同様に痙攣が誘発されている。したがって、今回用いた聴原性痙攣誘発法は必ずしも理想的なものではないが、結果を大きく左右するような本質的な欠陥は想定しなくともよいと思われる。さて、これまで報告されている GEPR は Sprague-Dawley または Wistar ラットから交配されている^{23,31)}。また正常な幼少 Sprague-Dawley ラットに強度聴覚刺激を加えることにより聴原性痙攣に対する易痙攣性を誘発することができるという²⁹⁾。今回の実験では Sprague-Dawley ラットも Wistar ラットも虚血前には痙攣誘発試験陰性であったが、虚血後に初めて陽性となった。易痙攣性が虚血によりまったく新しく起こされた可能性もあるが、Sprague-Dawley および Wistar ラットがもともと聴原性痙攣を起しやすい遺伝的要因を持っていて虚血侵襲がきっかけとなって易痙攣性が発生した可能性も考えられる。

げつ歯類に認められる聴原性痙攣の発生や伝播の背景をなす焦点・神経回路についてはいまだ不明の点が多いが、GEPR を中心とした過去の多くの研究でかなりのことが明らかになっている。GEPR ではすでに破壊病変作成実験、深部脳波、下丘への薬剤微小注入実験などから、下丘が聴原性痙攣の initiation site として最も重要であることが知られている。すなわち、聴覚伝導路のうち下丘までの破壊では痙攣が発生しなくなるが、内側膝状体以上の部分では痙攣発生はとまらない^{2,17,44)}。McCown らは易痙攣性のない正常ラットの下丘を電気刺激すると wild running を誘発しえた²⁴⁾と報告しており²⁴⁾、また、Millan らによれば GABA-a antagonist を正常ラットの下丘に微小注入して聴原性痙攣を誘発しえたという²⁶⁾。さらに Bagri らは GEPR の下丘に GABA-a agonist を微小注入すると聴原性痙攣が発生しなくなることを報告している⁹⁾。Faingold はその総説の中で、GEPR にみられる聴原性痙攣をになう neural network について次のようにまとめている⁹⁾。蝸牛神経核から上オリブ複合体を経て聴覚入力の下丘に至るが、正常なら過剰入力を抑制するはずの GABA を介した抑制系に異常があるために GEPR の下丘では多くのニューロンに afterdischarge や high intensity firing が発生する。異常に増強・同期化した下丘からの出力は、脳幹網様体(おそらく下丘の背側皮質や外側核を介して)に伝わり、脳幹網様体から黒質へと伝わる。さらに黒質からは上丘への出力や脳幹網様体へ戻る出力が推察されている。また、最終的に wild running、tonic-clonic convulsion といった形での運動系への出力は、脳幹網様体からの下行路を介しているものと考えられている。tonic-clonic movement が wild

running に引き続いておこるのは、脳幹網様体への seizure activity の re-entry によるのであろう。しかし、下丘から内側膝状体を介した聴皮質への上行系の関与は、GEPR での脳波研究・破壊実験からは否定的である。

今回の実験では、虚血後に認められる聴原性痙攣がその表現型からして GEPR に認められる聴原性痙攣と同一のものであったことより、GEPR と同様の痙攣発生メカニズムが背景をなしている可能性が強く示唆された。そこで、最初から痙攣の initiation site として下丘に狙いを定め、下丘と内側膝状体の破壊実験のみを行なったところ、GEPR と同様、両側下丘にある程度の大きさの病変が作成されていたラットでは虚血により易痙攣性は誘発されなかったが、内側膝状体破壊ラットでは痙攣発生がみられた(図 3)。従って、虚血後の聴原性痙攣においても、聴覚入力が脳内に seizure activity を引き起こすには、聴覚上行路のうち少なくとも下丘までは必要であるが、内側膝状体からの上行路の関与は少ないと考えられた。

さて、Ribak らは 1979 年に GABA を介した抑制系の障害が痙攣発生のひとつのメカニズムとなりうることを提唱し、これは広く受け入れられている³²⁾。一般に GABA 性ニューロンは虚血侵襲に対して脆弱であると言われている⁴⁵⁾。両側総頸動脈結紮および低血圧による全脳虚血後に易痙攣性を呈した動物では黒質および基底核での GAD 活性が低下していたという¹¹⁾。今回用いた心停止蘇生モデルの組織学的検索では、特に顕著な変性を示したのは視床網様核(図 6)と海馬 CA1 錐体細胞であったが、その他、線条体外側部の大型ニューロン、黒質網様部、扁桃体中心核などでも変化が認められており、これらの多くが GABA 性ニューロンであるのは興味深い¹⁶⁾。また、今回の海馬での電気生理学的実験の結果も虚血後にシナプス後抑制が減少傾向にあることを示している。連発刺激による集合スパイクの抑制は 30 msec 以下の短い刺激間時間と 200 msec 以上の長い刺激間時間の際に認められるが、このうち前者は GABA-a 受容体を介したものであり、後者は GABA-a 受容体とは関係ないものと報告されている⁴¹⁾。虚血後ラットで認められた短い刺激間時間での抑制の消失(図 7)は虚血後脳内での GABA を介した抑制系の機能低下を示すひとつの例と考えられる。

このように虚血後、脳内では GABA 系細胞に広範な変化を認めており、これが易痙攣性の背景となっていることが推察されるわけだが、視床網様核の変性や海馬局在ニューロンの変化による GABA 抑制の減少が聴原性痙攣の直接の原因と考えることは短絡的であろう。視床網様核の神経細胞はすべて GABA を含有し視床 relay ニューロンに抑制性の出力を送っている。一方、視床網様核は、視床 relay ニューロンおよびその reciprocal な大脳皮質ニューロンから軸索側枝を受けており、これはグルタミン酸作動性の興奮性シナプスと考えられている⁴⁰⁾。全脳虚血後、視床網様核が海馬 CA1 と並んで非常に変性に陥りやすい部位であったことから、Ross らは虚血後に視床レベルで抑制障害が発生し聴原性痙攣発生の原因になっていると推察した³⁵⁾。しかし、この視床 relay ニューロン・知覚性大脳皮質ニューロン・視床網様核ニューロンから

なるループは体性感覚・視覚・聴覚のおおのが独立した topographical organization をなしており、網様核内でもそれぞれの知覚モードと連絡するニューロンはそれぞれまとまって存在している。今回の実験では anterograde/retrograde tracing などの組織学的手法や電気生理学的な刺激実験を虚血後の動物に直接応用したわけではないので断定はできないが、図6に示したような虚血後に認められる網様核内の変性部位の分布は、過去の報告と照らし合わせると体性感覚部に局限しており、聴覚部には変性は認められなかった。したがって聴覚伝導路を上行してきた入力に対する視床レベル(広義の視床として内側膝状体を含む)での抑制の障害が聴原性痙攣の直接の原因になっている可能性は少なそうである。また、海馬に関しても痙攣の表現型 - wild running - が limbic seizure に典型的なものではないことや、長期追跡ラットでは連発刺激による抑制の消失から回復してくるにもかかわらず聴原性痙攣が認められることからすると、やはり直接の原因とは考えにくい。ただし、前述した Faingold の聴原性痙攣神経回路の仮説のように、下丘を initiation site とした seizure activity が脳幹網様体で re-entry することが事実だとすると、脳幹網様体からは脊髄への下行路を介して wild running が引き起こされると同時に、脳幹網様体から視床や大脳皮質への広範な出力を介して seizure activity が全般化してゆく可能性は充分考えられる。さらに脳幹網様体の関与については、今回の実験では直接の対象とはしなかったが startle reflex や myoclonus との関係が興味深い。脳幹網様体が sensorimotor integration において重要な役割を担っていることはよく知られているが³⁷⁾、感覚刺激によって誘発される startle reflex においても脳幹網様体の関与が報告されている^{6,15)}。また、臨床的に低酸素脳症の後遺症として認められる intention myoclonus はその最初の報告者の名を冠して Lance-Adams syndrome として知られているが、彼らはその責任病巣を視床から皮質へ投射する神経回路においた²¹⁾。しかし、myoclonus の責任病巣については確定的な結論が出ているわけではなく、皮質性、皮質下性、脳幹性、脊髄性などの複数の部位から発生しうると考えられている¹³⁾。実際、低酸素脳症でも脳幹性 myoclonus の報告がある¹²⁾。虚血後のラットでは虚血後数日以内の非常に hypersensitive な時期には、単発の聴覚刺激や触覚刺激に対して強い startle reflex を示した。組織学的には虚血後脳幹網様体そのものに於ける明確な変化は探知しえなかったが、黒質その他からの脳幹網様体への GABA 性入力の変化がその背景にあるのかも知れない。

今回示したように虚血後の動物では下丘の GAD 陽性ニューロンの数が約 50% に減少していた(図4)。この事実からはニューロンそのものが失われてしまったか、生存していても GAD 反応性を失ったか、のどちらかを示唆するにすぎないが、長期生存ラットでも陽性細胞数が回復してこないことから考えると前者の可能性が高い。なぜなら虚血後ニューロンは蛋白合成能を失うが、細胞が生存する限り比較的すみやかに合成能を回復するからである²⁵⁾。ここで面白いのは GEPR では下丘の GAD 陽性細胞数が増えていたという Roberts らの報告である³⁴⁾。彼らはこれを遺伝的ラットにおける個体発生上の代償作用ではないか、と推察

している。この GAD 陽性細胞数の増加は主に下丘中心核の腹外側で強かったが、今回の研究では虚血後動物の GAD 陽性細胞減少もやはり腹外側部で強かった。同じような聴原性痙攣を示すにもかかわらず、虚血後ラットでは GAD 陽性細胞が減少しており、GEPR では GAD 陽性細胞が増加しているのは一見矛盾しているようではあるが、Faingold らの示唆するように GABA 性局在ニューロンから relay neuron へのシナプス後性の伝達障害が背景をなしているのであれば^{7,8,9)}、うなづける事実である。実際、長期観察ラットのうち易痙攣性を示し続けたものと易痙攣性から回復したものとの間に GAD 陽性細胞数の有意差がなかったことは、虚血後の下丘では抑制性局在ニューロンも減少しているが、抑制を受ける側の relay neuron の GABA 受容体にも何らかの変化が起こっている可能性が考えられる。この場合、易痙攣性からの回復は GABA 受容体の機能的回復に伴ってもたらされると推察される。ただし、易痙攣性を示し続けるラットは、虚血侵襲そのものによる変化によるのではなく kindling 効果によって、永続的な易痙攣性を獲得している可能性も否定できない^{18,23,42)}。また、生存する GAD 陽性ニューロン数が変化しなくても、残存ニューロンの軸索発芽による抑制シナプスの再構成なども考慮せねばならないであろう。このような虚血後ラットの下丘における GABA 抑制の障害およびその回復のメカニズムをさらに深く検討するためには下丘でのシナプス抑制を直接とらえる電気生理学的実験パラダイムが必要となるが、残念ながら下丘については海馬のようにその細胞構築・神経回路・電気生理学的特性が完全には明らかにされていない。しかし、聴原性痙攣に対する易痙攣性発生および消滅の機構をトランスミッターやその受容体のレベルで明らかにするためにはこのような実験系を確立する必要がある、これに対してはスライス実験を含めた下丘での電気生理学的実験を進めているところである。

一過性全脳虚血後、ラットは聴覚刺激に反応して痙攣をおこすようになる。破壊病変作成実験では聴覚上行路のうち、下丘の関与が強く示唆された。しかし、全脳虚血後の脳内では視床網様核など GABA 系を含めて広汎な変化がおこっており、虚血後に認められる聴原性痙攣に対する易痙攣性や startle reflex に代表される hyperreactivity の背景をなしていると考えられた。

V. 結 語

ラット心停止蘇生モデルを用いて一過性全脳虚血後の易痙攣性について実験を行ない以下の結果を得た。

- 1) 一過性全脳虚血後に認められる痙攣は遺伝的痙攣ラット (GEPR) に認められる聴原性痙攣 audiogenic

- 1) 一過性全脳虚血後に認められる痙攣は遺伝的痙攣ラット (GEPR) に認められる聴原性痙攣 audiogenic seizure とほぼ同一の表現型をとった。
- 2) 3、5、7、9 分の心停止時間では易痙攣性発生率はそれぞれ 0、65、100、100 % であり、易痙攣性発生率は虚血侵襲強度に関連していた。
- 3) 易痙攣性は虚血後時間経過とともに消退するが、虚血侵襲強度が大きいほど易痙攣性が持続する傾向にあった。
- 4) 虚血前に両側内側膝状体を破壊したラットは一過性全脳虚血後易痙攣性を呈したが、両側下丘が充分破壊されたラットは易痙攣性を示さなかった。
- 5) 一過性全脳虚血後の下丘中心核では GAD 陽性神経細胞数が約 50 % に減少していた。虚血 1 ヶ月後、易痙攣性を示し続けたラットと易痙攣性から回復したラットには GAD 陽性神経細胞数に有意差はなかった。
- 6) 一過性全脳虚血後、視床網様核は選択的脆弱性を示すが、その変性は体性感覚領域に局限しており、聴覚領域には変性は認められなかった。
- 7) 一過性全脳虚血後、海馬歯状回ニューロンに対する穿通路入力の変発刺激で認められる GABA-a 受容体を介した抑制に一過性の障害が認められた。

これらの結果により、一過性全脳虚血後、脳内では GABA 作動性の抑制系に広汎な形態学および機能的变化が発生しているものと考えられた。特に虚血後のラットに認められる聴原性痙攣には下丘での変化が重要であると考えられた。

謝辞

稿を終えるにあたり、今回の研究をご指導下さった米国国立衛生研究所の Igor Klatzo 博士、帝京大学脳神経外科学教室の田村晃教授、東京大学脳神経外科学教室の桐野高明教授に深く感謝いたします。また、刺激音分析に御協力いただいたリオン株式会社の有村重人氏に感謝いたします。

参 考 文 献

- 1) Bagri A, Sandner G and Scala GD (1989) Effects of unilateral microinjection of GABAergic drugs into the inferior colliculus on auditory evoked potentials and on audiogenic seizure susceptibility. *Exp Neurol* 104: 82-87

- studies. *Life Sciences* 39: 857-867
- 3) Browning RA, Lanker ML and Faingold CL (1989) Injections of noradrenergic and GABAergic agonists into inferior colliculus: Effects on audiogenic seizures in genetically epilepsy prone rats. *Epilepsy Res* 4: 119-125
- 4) Collins RL (1972) Audiogenic seizures. in *Experimental Models of Epilepsy* pp347-372, Purpura DP, Penry JK, Tower D, Woodbury DM and Walter R (ed.), Raven Press, New York
- 5) Dailey JW, Reigel CE, Mishra PK and Jobe PC (1989) Neurobiology of seizure predisposition in the genetically epilepsy-prone rat. *Epilepsy Res* 3: 3-17
- 6) Davis M, Gendelman DS, Tischler MD, Gendelman PM (1982) A primary acoustic startle circuit: lesion and stimulation studies. *J Neurosci* 2: 791
- 7) Faingold CL, Gehlbach G and Caspary DM (1986) Decreased effectiveness of GABA-mediated inhibition in the inferior colliculus of the genetically epilepsy-prone rat. *Exp Neurol* 93: 145-159
- 8) Faingold CL and Anderson CAB (1991) Loss of intensity-induced inhibition in inferior colliculus neurons leads to audiogenic seizure susceptibility in behaving genetically epilepsy-prone rats. *Exp Neurol* 113: 354-363
- 9) Faingold CL and Naritoku DK (1992) The genetically epilepsy-prone rat: Neuronal networks and actions of amino acid neurotransmitters. in *Drugs for Control of Epilepsy: Actions on Neuronal Networks Involved in Seizure Disorders* pp277-308, Faingold CL and Fromm GH (ed.), CRC press, Boca Raton, FL.
- 10) Fisher RS (1989) Animal models of the epilepsies. *Brain Research Reviews* 14: 245-278
- 11) Folbergrova J, Smith M-L, Inamura K and Siesjö BK (1989) Decrease of glutamate decarboxylase activity in substantia nigra and caudoputamen following transient hyperglycemic ischemia in the rat. *J Cereb Blood Flow Metab* 9: 897-901
- 12) Hallet M, Chadwick D, Adam J and Marsden CD (1977) Reticular reflex myoclonus: a physiological type of human post-hypoxic myoclonus. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 40: 253-264
- 13) Hallett M (1985) Myoclonus: relation to epilepsy. *Epilepsia* 26: S67-S77
- 14) Jobe PC, Picchione AL and Chin L (1973) Role of brain norepinephrine in audiogenic seizure in the rat. *J Pharmacol Exp Ther* 184: 1-10
- 15) Jordan WP (1989) Mesencephalic reticular formation lesions made after habituation training abolish long term habituation of the acoustic startle response in rats. *Behav Neurosci* 103: 805
- 16) Kawai K, Nitecka L, Ruetzler CA, Nagashima G, Joo F, Mies G, Nowak TS Jr., Saito N, Lohr JM and Klatzo I (1992) Global cerebral ischemia associated with cardiac arrest in the rat: I. Dynamics of early neuronal changes. *J*

- (1992) Global cerebral ischemia associated with cardiac arrest in the rat: I. Dynamics of early neuronal changes. *J Cereb Blood Flow Metab* 12: 238-249
- 17) Kesner RP (1966) Subcortical mechanisms of audiogenic seizures. *Exp Neurol* 15: 192-205
 - 18) Kiesmann M, Marescaux C, Vergnes M, Micheletti G, Depaulis A and Warter JM (1988) Audiogenic seizures in Wistar rats before and after repeated auditory stimuli: clinical, pharmacological, and electroencephalographic studies. *J Neural Transm* 72: 235-244
 - 19) Kilpatrick CJ, Davis SM, Tress BM, Rossiter SC, Hopper JL and Vandendriesen ML (1990) Epileptic seizures in acute stroke. *Arch Neurol* 47: 157-160
 - 20) Krumholz A, Stern BJ and Weiss HD (1988) Outcome from coma after cardiopulmonary resuscitation: Relation to seizures and myoclonus. *Neurology* 38: 401-405
 - 21) Lance JW and Adams RD (1963) The syndrome of intention or action myoclonus as a sequel to hypoxic encephalopathy. *Brain* 86: 111-136
 - 22) Lomo T (1971) Patterns of activation in a monosynaptic cortical pathway: The perforant path input to the dentate area of the hippocampal formation. *Exp Brain Res* 12: 18-45
 - 23) Marescaux C, Vergnes M, Kiesmann M, Depaulis A, Micheletti G and Warter JM (1987) Kindling of audiogenic seizures in Wistar rats: an EEG study. *Exp Neurol* 97: 160-168
 - 24) McCown TJ, Greenwood RS, Frye GD and Breese GR (1984) Electrically elicited seizures from the inferior colliculus: a potential site for the genesis of epilepsy? *Exp Neurol* 86: 527-542
 - 25) Mies G, Kawai K, Saito N, Nagashima G, Nowak TS Jr. and Klatzo I (1993) Cardiac arrest - induced complete cerebral ischemia in the rat: Dynamics of postischemic in vivo calcium uptake and protein synthesis. *Neurol Res* 15: 253-263
 - 26) Millan MH, Meldrum BS and Faingold CL (1986) Induction of audiogenic seizure susceptibility by focal infusion of excitant amino acids or bicuculline into the inferior colliculus of normal rats. *Exp Neurol* 91: 634-639
 - 27) Oertel WH, Schmechel DE, Tappaz ML and Kopin IJ (1981) Production of a specific antiserum to rat brain glutamic acid decarboxylase by injection of an antigen-antibody complex. *Neuroscience* 6: 2589-2700
 - 28) Paxinos G and Watson C (1982) *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. Academic Press
 - 29) Pierson M and Liebmann SL (1992) Noise exposure-induced audiogenic seizure susceptibility in Sprague-Dawley rats. *Epilepsy Res* 13: 35-42
 - 30) Pulsinelli WA and Brierley JB (1979) A new model of bilateral hemispheric ischemia in the unanesthetized rat.

- 31) Reigel CE, Dailey JW and Jobe PC (1986) The genetically epilepsy-prone rat: an overview of seizure-prone characteristics and responsiveness to anticonvulsant drugs. *Life Sciences* 39: 763-774
- 32) Ribak CE, Harris AB, Vaughn JE and Roberts E (1979) Inhibitory GABAergic nerve terminals decrease at sites of focal epilepsy. *Science* 205: 211-214
- 33) Ribak CE, Byun MY, Ruiz GT and Reiffenstein RJ (1988) Increased levels of amino acid neurotransmitters in the inferior colliculus of the genetically epilepsy-prone rat. *Epilepsy Res* 2: 9-13
- 34) Roberts RC, Ribak CE, Oertel WH (1985) Increased numbers of GABAergic neurons occur in the inferior colliculus of an audiogenic model of genetic epilepsy. *Brain Res* 361:324-38
- 35) Ross DT and Duhaime AC (1989) Degeneration of neurons in the thalamic reticular nucleus following transient ischemia due to raised intracranial pressure: excitotoxic degeneration mediated via non-NMDA receptors? *Brain Res* 501: 129-143
- 36) Shosaku A, Kayama Y, Sumitomo I, Sugitani M and Iwama K (1989) Analysis of recurrent inhibitory circuit in rat thalamus: Neurophysiology of the thalamic reticular nucleus. *Progress in Neurobiology* 32: 77-102
- 37) Siegel JM (1979) Behavioral functions of the reticular formation. *Brain Res Rev* 1: 69
- 38) Sloviter RS (1991) Feedforward and feedback inhibition of hippocampal principal cell activity evoked by perforant path stimulation: GABA-mediated mechanisms that regulate excitability in vivo. *Hippocampus* 1: 31-40
- 39) Smith ML, Bendek G, Dahlgren N, Rosen I, Wieloch T and Siesjö BK (1984) Models for studying long-term recovery following forebrain ischemia in the rat. 2. A 2-vessel occlusion model. *Acta Neurol Scand* 69: 385-401
- 40) Steriade M, Jones EG and Llinás RR (1990) *Thalamic Oscillations and Signaling*. John Wiley & Sons, pp 61-67
- 41) Tuff LP, Racine RJ and Adamec R (1983) The effects of kindling on GABA-mediated inhibition in the dentate nucleus of the rat. 1. Paired pulse depression. *Brain Res* 277: 79-90
- 42) Vergnes M, Kiesmann M, Marescaux C, Depaulis A, Micheletti G and Warter JM (1987) Kindling of audiogenic seizures in the rat. *Intern J Neuroscience* 36: 167-176
- 43) Voll CL and Auer RN (1991) Postischemic seizures and necrotizing ischemic brain damage: Neuroprotective effect of postischemic diazepam and insulin. *Neurology* 41: 423-428
- 44) Wada JA, Terao A, White B and Jung E (1970) Inferior colliculus lesion and audiogenic seizure susceptibility. *Exp Neurol* 28: 326-332
- 45) Wieloch T (1985) Neurochemical correlates to selective neuronal vulnerability. in *Progress in Brain Research* 63 pp 69-85, Kogure K, Hossmann K-A and Siesjö BK (ed.), Elsevier Science Publishers B.V. (Biomedical Division)

表 1. 心停止時間と聴原性痙攣発生率との関係

群	ラット数	心停止時間 (分)	虚血時間 (分) (平均±標準偏差)	易痙攣性陽性 ラット数	易痙攣性 陽性比率 (%)
A	8	3	4.5 ± 0.5	0	0
B	20	5	8.3 ± 0.7	13	65
C	75	7	10.7 ± 0.9	75	100
D	9	9	13.7 ± 1.2	9	100

表 2. 長期追跡による聴原性痙攣発生の推移

群	1 週間後	2 週間後	3 週間後	4 週間後	5 週間後	6 週間後	7 週間後	8 週間後
B	50% (12)	75% (8)	75% (8)					
C	2% (63)	11% (27)	26% (23)	38% (21)	50% (12)	50% (10)	67% (6)	75% (4)
D	0% (8)	25% (8)	38% (8)	38% (8)	38% (8)	50% (8)	50% (8)	50% (8)

各々の虚血後時点で易痙攣性から回復したラットの割合を示す。カッコ内の数字は母集団 (検査したラットの数)。

表 3. 穿通路連発刺激による海馬歯状回の集合スパイク比

刺激間時間 (msec)	正常ラット	心停止蘇生 1 週間後	心停止蘇生 2 ヶ月後
20	0.544 ± 0.290 (n=9)	2.101 ± 2.112 (n=5)*	0.707 ± 0.074 (n=4)**
60	1.473 ± 0.639 (n=12)	2.765 ± 2.271 (n=5)**	1.520 ± 0.350 (n=4)**
300	0.689 ± 0.259 (n=10)	0.839 ± 0.085 (n=3)**	0.752 ± 0.122 (n=4)**

* $p < 0.05$ で正常ラットと有意差あり (unpaired Student's t-test)。

** 正常ラットとの間に有意差なし。

図1. ラット脳冠状断の下丘。下丘中心核 (central nucleus) のうち、腹外側部 (ventrolateral part, A) および背内側部 (dorsomedial part, B) それぞれ 1 mm 四方内で GAD 陽性細胞数を数えた。

図2. 刺激音の周波数分析。刺激音は 16000 Hz での約 90 dB を中心とした混合音で、その高周波数領域は人間の可聴域 (~20000 Hz) をこえてひろがっていた。

図3. 破壊病変のひろがりや虚血後の易痙攣性。上4匹 (ラット # 188, 189, 190, 191) は内側膝状体を、下4匹 (ラット # 158, 160, 178, 179) は下丘を電気破壊した (縦線)。破壊病変作成の7日後に心停止蘇生を加え、易痙攣性を調べた。NO SZ は易痙攣性陰性、WR は wild running seizure のみ、WRTC は wild running の後に tonic-clonic convulsion を伴う完全な聴原性痙攣を呈したことを示す。

図4. 心停止蘇生後の下丘中心核における GAD 陽性細胞数の変化 (平均±標準偏差)。Group 1 は正常対照群、Group 2 は虚血7日後群、Group 3, 4 は長期追跡 (虚血後 29-53 日) によりそれぞれ易痙攣性を示し続けた群と易痙攣性を消失した群である。虚血後のラット (Group 2-4) では、約 50 % の GAD 陽性細胞の減少が認められた。この変化は背内側部よりも腹外側部で顕著であった。一方、Group 3 と Group 4 の間には有意差は認められず、GAD 陽性細胞数の変化と易痙攣性からの回復には関連が認められなかった。

図5. 下丘中心核の GAD 免疫染色像。正常ラットでは大型と小型の GAD 陽性ニューロンが混在して認められる (左上段)。心停止蘇生後には GAD 陽性細胞の著明な減少が認められた。この減少は主に小型ニューロンに強いようであった。しかし、虚血7日後 (右上段) と虚血1ヵ月後 (下段) との間には明らかな差異は認められない。また、1ヵ月の間、易痙攣性を示し続けたラット (左下段) と1ヵ月までに易痙攣性を消失したラット (右下段) との間にも明らかな差異は認められなかった。

図6. 視床網様核の 100 μ m 毎の冠状連続切片。斜線が心停止蘇生後の変性部位を示す。Shosaku ら³⁶⁾によれば、内側膝状体や聴皮質と線維連絡を持つ auditory reticular nucleus は、視床網様核のうち最腹側部および最尾側部に限局しており、変性部位には含まれない。むしろ、変性部位は、視床腹基底核および体性感覚皮質と連絡を持つ somatosensory reticular nucleus の分布に一致していた。

図7. 穿通路入力連発刺激の刺激間時間 (interpulse interval) と海馬歯状回から記録される集合スパイク比

(population spike amplitude ratio)。集合スパイク比は1回め刺激に対する集合スパイク (P1) と2回め刺激に対する集合スパイク (P2) の大きさの比を計算した。正常ラット (○) では 30 msec 以下の短い刺激間時間と 200 msec 以上の長い刺激間時間で P2 の抑制が認められ、中間の刺激間時間では P2 の増強が認められるのが特徴である。一方、心停止蘇生7日後のラット (▽) では短い刺激間時間での P2 抑制が消失し、250 msec 以下で P2 増強が認められた。2ヵ月後 (△) にはほぼ正常ラットと同様の反応に戻っている。

图 1

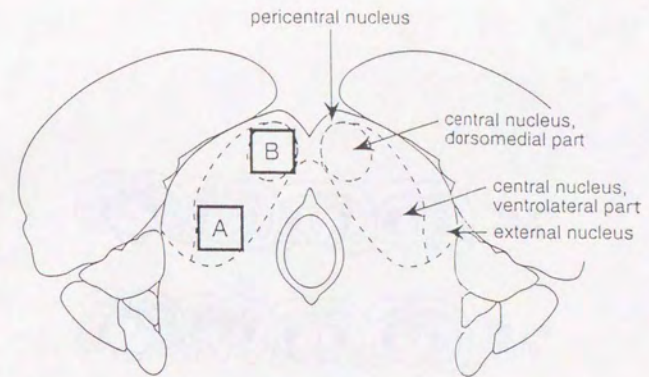


图 2

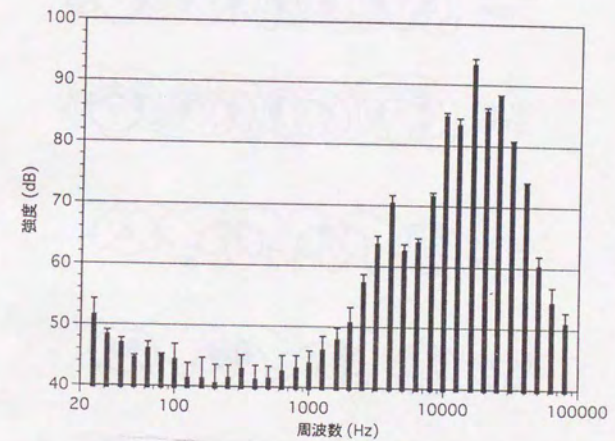
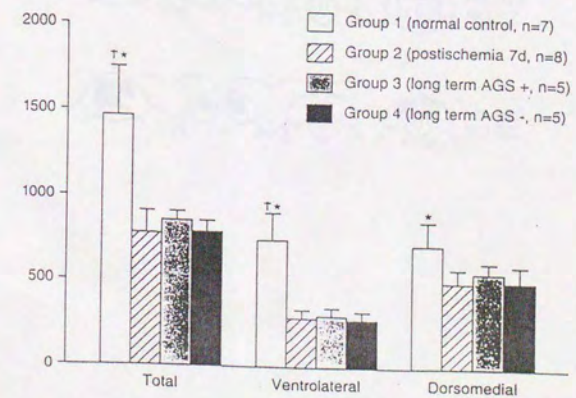


图 4



† Fisher PLSD ($p < 0.05$)
* Scheffe F ($p < 0.05$)

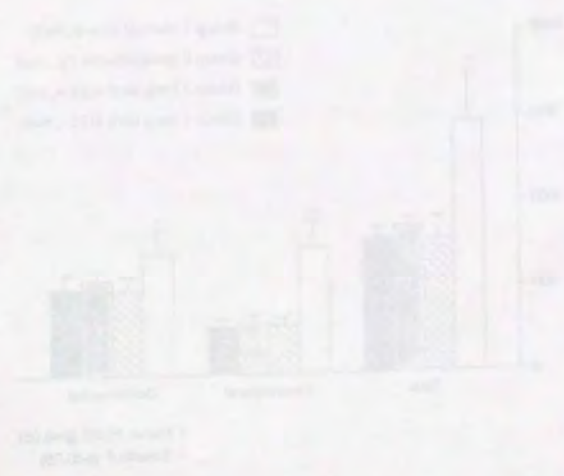
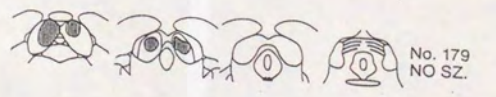
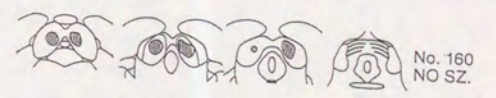
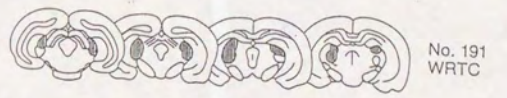
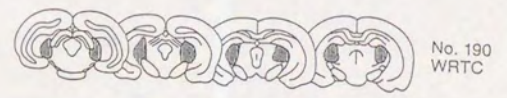
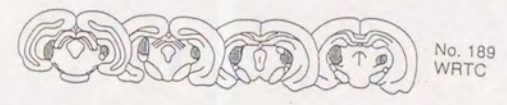
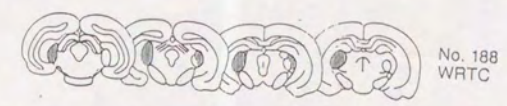


图 3



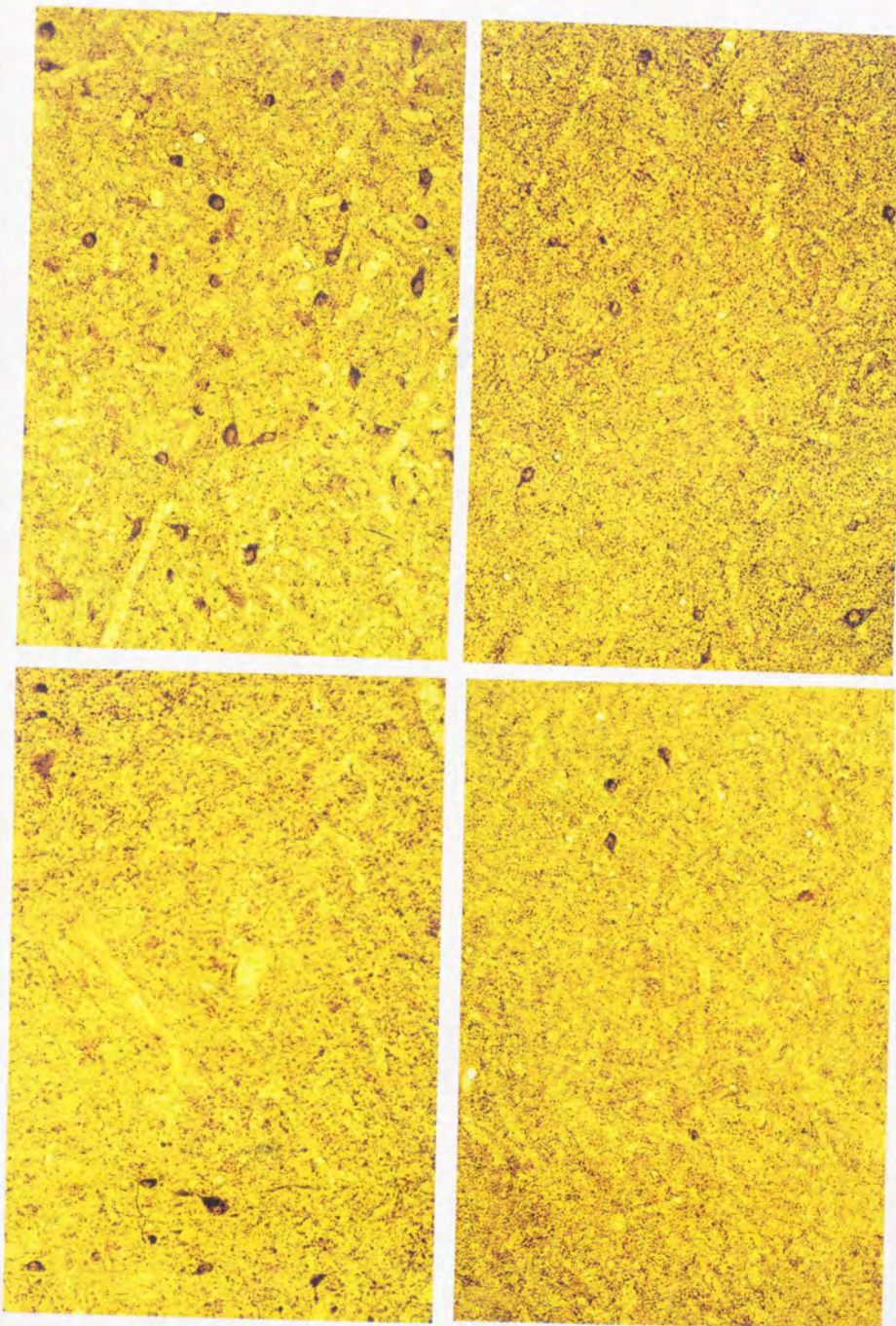


图 6

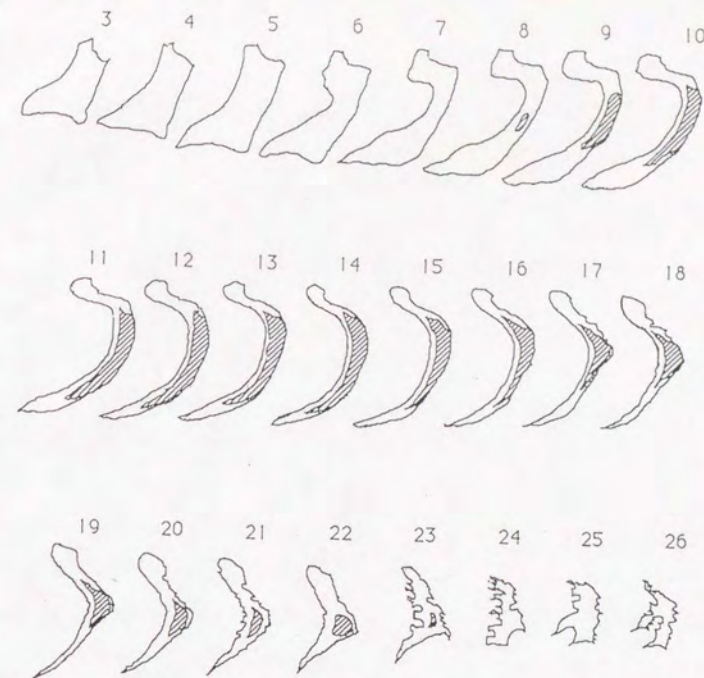


图 7

