



Title	The effect of PTZ-kindling on the extracellular glutamate and taurine levels in the frontal cortex of rats
Author(s)	李, 鐘奇
Citation	大阪大学, 2000, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/41727">https://hdl.handle.net/11094/41727</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏名	李 鐘 奇
博士の専攻分野の名称	博士 (医学)
学位記番号	第 15282 号
学位授与年月日	平成12年3月24日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科内科系専攻
学位論文名	The effect of PTZ-kindling on the extracellular glutamate and taurine levels in the frontal cortex of rats (ラット大脳皮質における細胞外グルタミン酸及びタウリンレベルに対する PTZ-Kindling の影響)
論文審査委員	(主査) 教授 岡田伸太郎  (副査) 教授 武田 雅俊 教授 三木 直正

### 論文内容の要旨

#### 【目的】

ペンチレンテトラゾール (PTZ) はけいれん誘発薬であり、けいれん閾値以下の PTZ を一定間隔で一定期間反復投与することにより、永続的なけいれん準備性が獲得される。この現象を PTZ-キンドリングといい、脳波及びけいれんの特徴により全般てんかんのモデルとされている。しかし、その発症機序はまだ完全に解明されていない。

興奮性神経伝達物質であるグルタミン酸がてんかんの発症に重要な役割を果たしており、また、NMDA 受容体の特異的遮断薬が PTZ-キンドリングの完成を阻止できることから、グルタミン酸が PTZ-キンドリングと密接な関係を持っていると考えられている。また、タウリンがてんかんおよびてんかんモデルにおいて抗けいれん作用を示したという報告がある。そこで、本研究では無麻酔非拘束下での *in vivo* マイクロダイアリス手法を用いて、ラット大脳皮質における細胞外グルタミン酸及びタウリンレベルに対する PTZ-kindling の影響を検討した。

#### 【方法ならびに成績】

SD 系雄性ラットにけいれん閾値以下の 30mg/kgPTZ を週 3 回腹腔内投与し、ステージ 5 のけいれんが 3 回連続して認めたものをキンドリング完成とした。対照群ラットには同様のスケジュールで生理食塩水を投与した。キンドリング完成 1 週間後、PTZ30mg/kg を再投与し、ステージ 4 以上のけいれんが発見することを確認した。

ペントバルビタール麻酔下で大脳皮質前頭葉にマイクロダイアリス用ガイドカニューレを刺入し、歯科用セメントで頭蓋骨に固定した。それと同時に脳波測定用電極も頭蓋骨に植入了。細胞外グルタミン酸濃度が食餌性のグルタミン酸により大きく変化するのを防ぐため、ラットには前日から絶食させた。手術 4 日後、無麻酔下でダイアリス用プローブを刺入、人工脳脊髄液を流速 1  $\mu$ L/min で灌流した。灌流開始 7 時間後から 20 分ごとにサンプリングし HPLC 蛍光法でアミノ酸を定量した。

細胞外グルタミン酸とタウリン濃度はプローブ刺入後 2 時間に急速に減少したが、その後 5 時間に渡って変動が大きく見られたため、本研究では、プローブ刺入 7 時間後からサンプリングを開始した。対照群ラットにけいれん量の 60mg/kgPTZ 投与しステージ 4 以上のけいれんを起こすと、脳波上は 5~6 Hz の spike と wave bursts が見られた。この時、グルタミン酸遊離は 2 時間後に基礎遊離の 1.8 倍に増加したが、タウリンは基礎遊離の約 60% に減少した。一方、キンドリング完成群に 30mg/kgPTZ を投与して、同じステージ 4 以上のけいれんを引き起こすと、脳波上に 5~6 Hz の spike と wave bursts が認め、グルタミン酸遊離は投与直後より急増し、その後 3 時間に渡り 3.1 倍まで

持続的に増加した。しかし、タウリンの遊離には変動が見られなかった。このように、同じステージのけいれんが誘発されてもキンドリング完成群と対照群の間にグルタミン酸とタウリン遊離の変化には大きな違いが見られた。一方、対照群ラットにけいれん閾値下量である30mg/kgPTZ投与すると、けいれんは現れないが、脳波には6～7 Hzのsharp waveが出現し、グルタミン酸遊離が基礎遊離の1.5倍まで増加した。タウリンの遊離には変化がみられなかった。なお、グルタミン酸の基礎遊離量についてはキンドリング群では $4.4 \pm 1.5 \mu\text{M}$ で、対照群の $2.4 \pm 0.4 \mu\text{M}$ より高い傾向が見られたのに対して、タウリンの基礎遊離量はキンドリング群と対照群とでは $9.1 \pm 1.5 \mu\text{M}$ と $10.3 \pm 3.0 \mu\text{M}$ で、ほぼ同じレベルであった。

#### 【総括】

- 1、PTZキンドリングはラット大脳皮質グルタミン酸の遊離を有意に増加させた。これはPTZキンドリングによりグルタミン酸神経系のシナプス伝達が増強したことを示唆している。
- 2、タウリン遊離は急性けいれんでは基礎遊離の60%まで減少したのに対して、キンドリングラットではほとんど変化しなかった。PTZキンドリング完成によりタウリン遊離に代償性の変化が生じたのではないかと考えられる。

### 論文審査の結果の要旨

けいれん誘発剤であるペンチレンテトラゾール (PTZ) のけいれん閾値下量反復投与により、一定期間後に永続的なけいれん準備性が獲得される。これをPTZキンドリングといい、脳波及びけいれんの特徴より全般てんかんのモデルとして考えられているが、その発現機序の詳細については明らかでない。本研究ではPTZキンドリングの発現機序を解明するため、無麻酔、非拘束下での *in vivo* マイクロダイアリシス法を用い、ラット大脳皮質からのグルタミン酸とタウリンの遊離動態について検討した。

キンドリングラットでは全般発作発現時にグルタミン酸の急速かつ持続的な遊離増加が見られたのに対し、対照ラットでは同程度のけいれんを起こしても、グルタミン酸遊離は軽度でかつ遅延した増加しか見られなかった。また、キンドリングラットのグルタミン酸基礎遊離量は対照ラットの約2倍であった。一方、タウリン遊離については、キンドリングラットでは変化を認めなかったが、同程度の発作を起こした対照ラットにおいては有意な減少を認めた。

これまでに、PTZキンドリングではグルタミン酸の再取込が障害され、またシナプス前グルタミン酸受容体結合部位が皮質や海馬で増加すると報告されている。本研究の結果と併せて考えるとPTZキンドリングにより再取込機構の抑制とシナプス前遊離促進系の活性化とが生じ、大脳皮質におけるグルタミン酸神経系のシナプス伝達が増強されることがけいれん準備性獲得につながり、さらにタウリン遊離における代償性の変化も重要な役割を果たしているといえる。以上のように、本研究はPTZキンドリングにおけるアミノ酸神経伝達物質の遊離動態の変化を明らかにし、今後、全般てんかんの発生機序の解明と治療法の確立に貢献するものと評価され、学位の授与に値するものと認める。