

—— 研究功労賞受賞記念報告 ——

二次性てんかん原性の解明に向けて

Secondary epileptogenesis - to elucidate its mechanism -

鶴 紀 子

要旨：てんかん焦点と対側半球の対称部位に出現する棘波焦点を鏡像焦点と呼ぶ。二次性てんかん原性にはこの鏡像焦点と皮質下など線維連絡のある所に出現する変化がある。最初にてんかん焦点の多彩な様相に言及し、二次性てんかん原性、てんかん発作の発現機構について述べた。てんかん焦点の成立メカニズムにミオクロームステんかん症例で、小脳プルキンエ細胞の脱落が顕著だったことから、ミオクロームスの発生機序に関して小脳の関与に言及した。それを確認するために、対側小脳歯状核を破壊して右扁桃核を刺激するキンドリリングを行い、自発性棘波が一次側でなく、対側のみに出現する奇異な現象を認めたことから、てんかん性放電である棘波の発現には小脳まで関わったネットワークの存在を示唆した。

コバルト焦点における二次焦点（鏡像焦点）形成が薬理学的操作で影響され、モノアミン系が発作の伝播、拡張に抑制的に作用し、アセチルコリンも発作の伝播に抑制的に作用しているものと考えた。

キンドリリングは脳の微弱な電気刺激がしだいにそのてんかん性反応を増強し、ついには全身けいれん発作に至る現象を呼ぶ。ウシガエルの海馬を刺激し、刺激の終了後に後放電が出現し、その形が時間経過と共に、一定の形態を示すことを見出した。刺激の影響が残存し、後発刺激に影響し、更に一定時間後に、恒常的な形態となる棘波を示すことから神経系可塑性モデル、ひいてはある程度安定した形で保持されるメカニズムの存在（記憶痕跡engram）を示唆した。更にそのメカニズムに蛋白合成を必要とすることを示した。そして、ネコキンドリリング現象の成立に伴い、刺激箇所にとどまらず、脳内各所での誘発電位の変化を認め、キンドリリング脳では、活動性の変動が生じており、脳機能動態は均質ではないことを示した。

ラット扁桃核キンドリリングに際して腹側海馬のグルタメート（Glu）が急峻な増大を示す動態から、両側海馬は発作発現時に同期して作用し、いわばブースターとしての役割を演じていると考えた。数分以内に回復するGluと比較し、GABAの増大する変化は24時間以上遷延した。細胞外Gluを制御するグリア性輸送体のGLAST、GLT-1のノックアウトマウスのキンドリリングの結果から二次焦点形成を予防するのにGLT-1を有すAstrogliaが特に重要な役割を担うと考えられた。焦点形成に際して、抑制系の脱落、興奮性の亢進といったneuronal networkが変化し、更に二次性てんかん原性が生じ、難治化に至る。二次性てんかん原性をいかに予防し、治すかということは、てんかん臨床の上で、重要な課題である。

てんかん治療研究振興財団 研究年報 2018；29：1-12

Key Words：二次性てんかん原性、鏡像焦点、神経可塑性、キンドリリング

てんかん焦点と対側半球の対称部位に出現する棘波焦点を鏡像焦点と呼ぶ。二次性てんかん原性にはこの鏡像焦点と皮質下など線維連絡の

ある所に出現する変化がある。最初にてんかん焦点の多彩な様相に言及し、二次性てんかん原性、てんかん発作の発現機構について述べる。

1 てんかん焦点と小脳との関わり

てんかん焦点では異常な興奮を示すニューロンの集合¹⁾、抑制系の減弱²⁾、ニューロン間の過同期性の存在がある。その後、過剰な抑制機構³⁾が過同期性をもたらすと考えられている。

最初にミオクロヌス てんかんの一例検例の症例報告⁴⁾よりミオクロヌスの発現機序について言及する。症例は7人兄弟の第7子で近親結婚を認めない。長兄と次兄は同様な経過で発症し、既に死去していた。経時的な脳波所見で23歳時のけいれん発作と小脳症状はあるが、四肢のミオクロヌスを認めない時期には α 波はかなり保たれていた。ミオクロヌス発作が頻発する時期の脳波では多棘波が左右同期して、ほぼ対称的に出現していた。この時右手のミオクロヌスを認めていた。25歳時には性格変化と知的退行が著しい時期には α 波を殆ど認めず不規則な徐波が背景脳波を形成していた。その病理学的所見では小脳の外観は肉眼では特記すべき変化を認めなかった。Purkinje細胞は脱落し数が減少しているが顆粒層に著変をみなかった (Fig. 1)。

ミオクロヌス発現機序に関して、てんかん焦点よりの神経細胞の異常発射と考えられていた。その異常発射の源として、新皮質、中脳、上位或いは下位脳幹が想定されていた。こ

こで、視床と小脳核との関連について述べると小脳歯状核細胞が視床への促通系として作用している。この歯状核細胞を小脳のプルキンエ細胞は抑制性伝達物質GABAでもって抑制している。プルキンエ細胞の活動と発作時脳波について、Jullien⁵⁾はペニシリンによる皮質の発作時にプルキンエ細胞の発射を認めないことを示している。すなわち、プルキンエ細胞の機能的脱落が、発作の時に生じている。さらに、ミオクロヌスが、miniature attackと呼ばれることを考え合わせると、プルキンエ細胞の機能と、ミオクロヌスが関連づけられてくる。本患者では上下方向の眼球間代があり、おそらく中脳網様体に初発した放電がプルキンエ細胞による時間的空間的に的確なフィードバックを欠如した歯状核細胞にて視床レベルにおいて適切な制御を受けず、そのため大脳皮質に過大な衝撃が至り、多棘波の出現となりミオクロヌスをきたしたものと推論した。

小脳歯状核破壊ラットのキンドリング

次に、てんかん焦点と小脳との関わりを更に明らかにするために、1側小脳歯状核破壊ラットのキンドリングを行った。ここで、小脳と大脳の連関について述べると、歯状核から皮質諸領野への投射は完全交叉である。新小脳（小脳外側部、半球部、後葉）への主な入力の前頭連合野（9, 10野）、運動前野（6野）と運動上肢

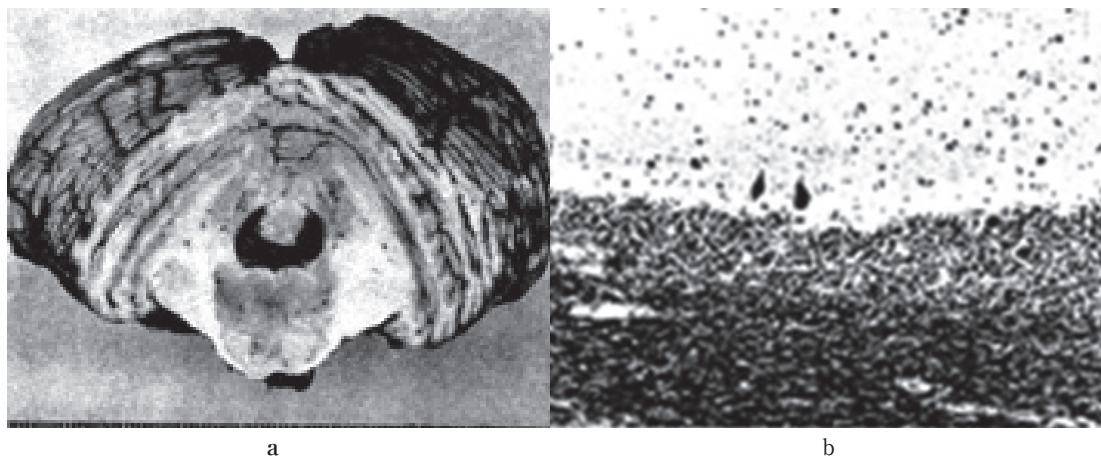


Fig. 1a 小脳の外観は肉眼では特記すべき所見を認めない
b Purkinje細胞は数が減少しているが、顆粒層には変化を認めない
(鶴 紀子 他 脳と神経 1967 医学書院より引用)

領野（4野の外側部）から橋核と下オリブ核を介するものである⁶⁾。小脳核から大脳皮質への投射はVA-VI核群を中心にして視床で中継される。そこで、対側（左）歯状核を破壊したラットで、右扁桃核刺激を行ってキンドリングを行った⁷⁾。歯状核破壊群ではキンドリング進展過程は対照群と比較して、著しく速かった。しかし、後放電の持続時間は非常に短縮していた。自発性放電数では一次側（刺激側）、二次側（対側）共に減少していた。Fig. 2は左歯状核を破壊し、右扁桃核刺激を行った第1回と第16回刺激時の後放電である。後放電の持続時間は左程延長していない。自発性棘波が刺激側でなく対側に出現している。Fig. 3は上段が対照ラット、下段が左歯状核破壊ラットの発作間欠期の自発性棘波である。上段では刺激箇所の右扁桃核、視床、皮質に多くの棘波を認め、下段の左歯状核破壊ラットでは発作間欠期棘波

は、ここでは、左扁桃核にむしろ多いのが観察される。これらのデータは左歯状核の十分な破壊が行われているラットを用いた。対側小脳歯状核を破壊して右扁桃核を刺激するキンドリングを行うと、自発性棘波が一次側でなく、対側のみに出現する奇異な現象を認めた⁷⁾。従ってこのことは小脳歯状核まで巻き込んだてんかん性変化を示唆する。すなわち、てんかん性放電である棘波の発現には小脳まで関わったネットワークの存在がある。

2 二次性てんかん原性

二次性てんかん原性には、鏡像焦点と皮質下の線維連絡のある所に波及するものがある。

家兎を用いて、コバルトパウダーを一側大脳に植え込み、一次側の焦点性棘波発現から、対側に棘波が出現するまでの日数を観察した。それを対照群として、薬理操作を行い、二次性で

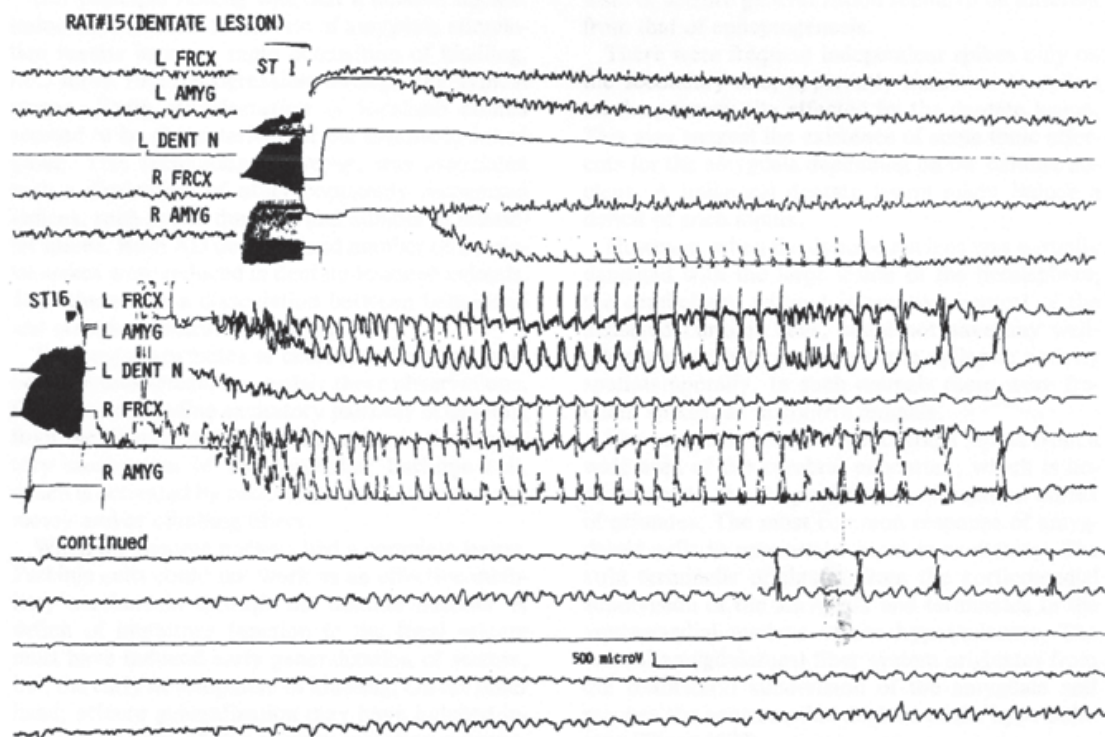


Fig. 2 左歯状核（L DENT N）破壊ラットの右扁桃核（R AMYG）刺激時の第1回刺激と第16回刺激後の後放電と自発性棘波、左右前頭皮質（L R FRCX）左右扁桃核（L R AMYG）第16回刺激後の後放電の持続時間は左程延長しない。波形はやや複雑になっている。棘波が刺激側でなく、対側扁桃核のみに発現している（Tsuru et al. Epilepsia 1992 より引用）。

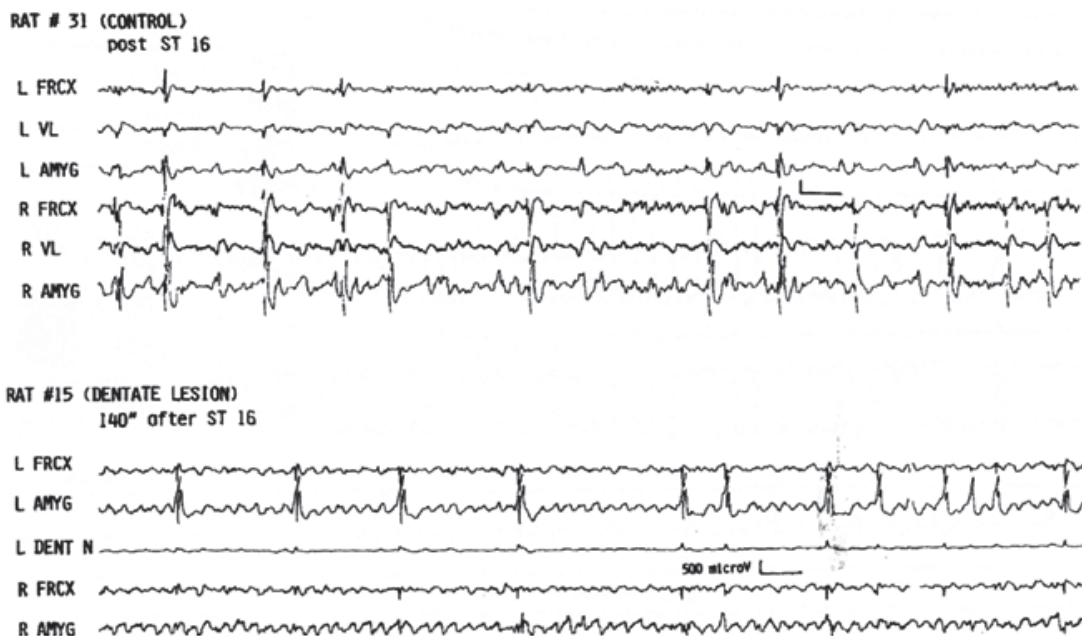


Fig. 3 上段は対照ラットの自発性棘波で刺激側扁桃核、視床、皮質に頻発している。下段の左歯状核破壊ラットの右扁桃核刺激後の自発性棘波では刺激側でなく、対側に多く発現している。(Tsuru et al. Epilepsia1992より引用)

Table 1: Number of days on average, necessary for the epileptogenic focus formation. The facilitatory effect (↑) was observed in the atropine-treated group, and the inhibitory effect (↓) was observed in the safrazine-treated group. But no significant differences (→) were observed in the eserine-treated and the chlorpromazine-treated group. *Secondary epileptogenesis indicates the time lag between the primary focus formation and the secondary mirror focus formation.

	Primary Focus Formation	Secondary Focus Formation From Cobalt Application	Secondary Epileptogenesis*	Conclusion
Control group	2.8±1.1	7.4±3.4	4.5±3.1	
Atropine-treated group	2	2.3±0.4	0.3±0.4	(↑)
Eserin-treated group	2	6.5±3.0	4.5±3.1	(→)
Chlorpromazine-treated group	2.6±1.0	7.3±3.6	4.7±3.2	(→)
Safrazine-treated group	3.1±1.7	12.5±5.5	9.4±4.9	(↓)

Mirror focus formation by cobalt powder and pharmacological manipulation

家兔の右側大脳皮質に局所的にコバルトパウダーを投与して鏡像焦点発現を指標として二次性てんかん原性を対照群と薬理操作群とで比較した。アトロピン投与群では発作波が一次側から二次側にmigrationして出現するのが観察された。一方 サフラジン (MAO阻害剤) の投与では一側半球に局限して、全般化せず、非常に長い持続時間を示す発作波が観察された。二次焦点形成はMAO阻害剤投与群では著しく遅延した。アトロピン群では促進された。(From Tsuru N & Asakura T: Folia Psychiatrica et Neurologica Japonica, 28 : 117-129, 1974)

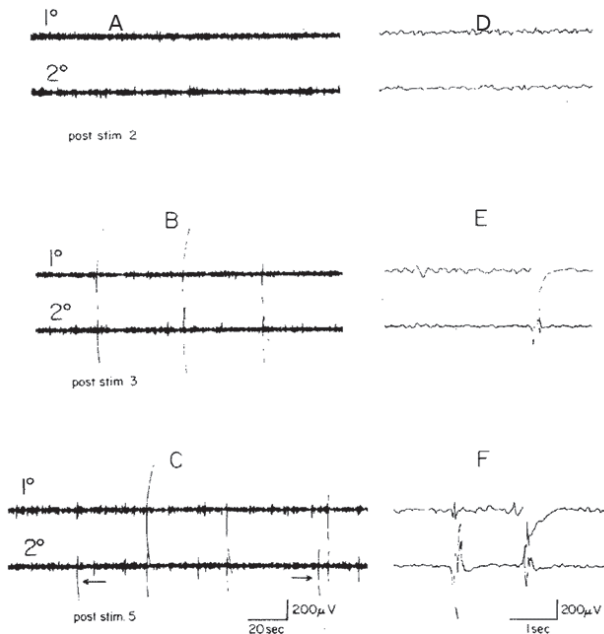


Fig. 4a

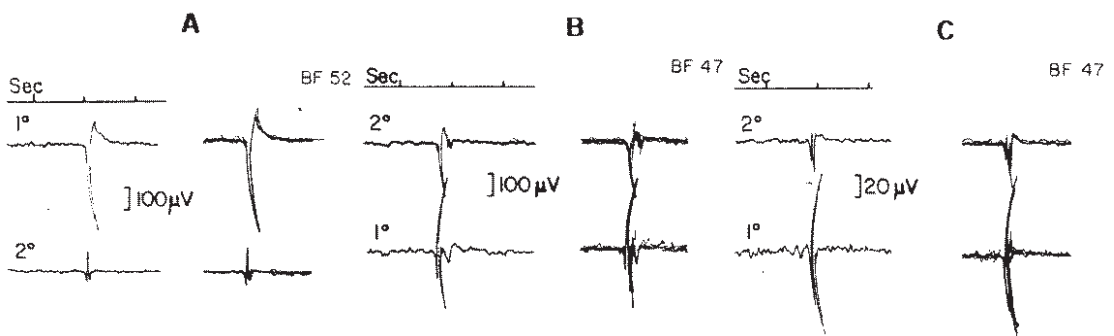


Fig. 4b

Fig. 4aではカエル海馬の刺激側1°に自発性棘波が出現し、刺激回数が増加すると対側にも自発性棘波が出現してくる。Fig. 4bではそれらの自発性棘波が、数個重ね書きしても、一定の形態であることを示している。その後、刺激が進むと、突然別の形態に変化して、一定となる (Morrell F, Tsuru N *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1976 より引用)。

んかん原性 即ち、対側二次側棘波の発現日数から、一次側棘波の発現日数をひいたものを比較した。アトロピン投与群では発作波は対側に早期に波及し、migration (迷走) する現象が認められた。モノアミン阻害剤であるサフラジンを投与すると、発作波は一側にとどまり、長期に持続することが、観察された^{8,9)} (Tab. 1)。二次性てんかん原性もモノアミンが豊富な状態では遅延し、アトロピン群では促進された。伝達物質の影響が、二次性てんかん原性に大いに関連することが示された。

様々な動物でのキンドリングに至る刺激回数を示すと、ラットより家兎、ネコとキンドリングに要する回数は増加し、monkeyではキンドリング成立に要する時間は非常に長くなる。文献的に刺激部位別の二次焦点形成に要する刺激回数を示すと、一次焦点に依存しない独立した焦点を得るのには、実験動物が高等になるとかなりの回数を要する¹⁰⁾。

海馬キンドリングと神経可塑性の発見

ウシガエルの海馬に刺激電極並びに記録電極を刺入し、1時間ごとの刺激を10回から12回

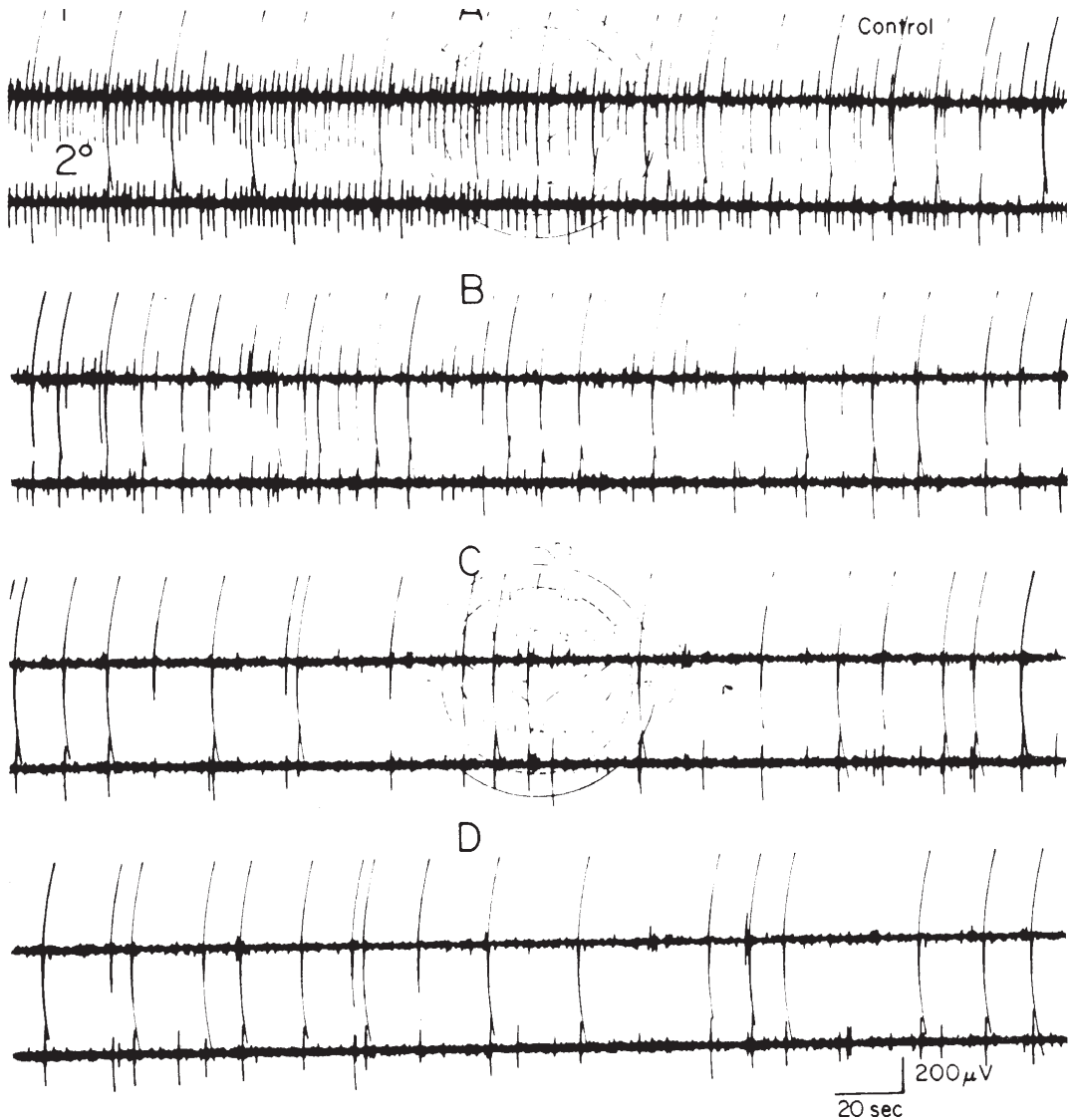


Fig. 5 Fig. 5では刺激後の脳波を20分間連続して記録している。従ってそれぞれ5分間の連続記録となる。当初振幅のバラバラだった自発性棘波が約15分後には整然とした、一定の形態を示すようになることが見てとれる。(Kindling 1976 より引用)

行った。当初発作波を認めないが、次第に刺激側に棘波が出現してくる (Fig. 4a)。右側の記録では通常の記録スピードで、左側では横軸スケールは20秒になっている。Fig. 4bはこれらの発作波を1個ならびに重ね書きしたものである¹¹⁾。数個重ね書きしても一定の形態をとることが示される。刺激を繰り返してゆくと突然別の形に変動する。その後一定の形態を示す。対側にも同期して棘波が出現し、次第にその数は多くなる。経時的に観察すると、振幅、持続の

不安定な波形が、次第に一定の振幅、形態を示すようになる^{12, 13)}。図は刺激後の20分間の経過を連続して示したものである。これらのことから刺激の影響が、一定時間を経て、安定した形、即ち、ある種の記憶痕跡 (engram) で残る neural plasticity の現象を始めて確認した。

次の段階としてその可塑性に蛋白合成を必要とするかどうかを検証した。cycloheximide で蛋白合成を88.6%以上阻害しておく（このことはC¹⁴でラベルして脳の蛋白分画と上清とで検

AEP in R Amygdaloid kindled Cat

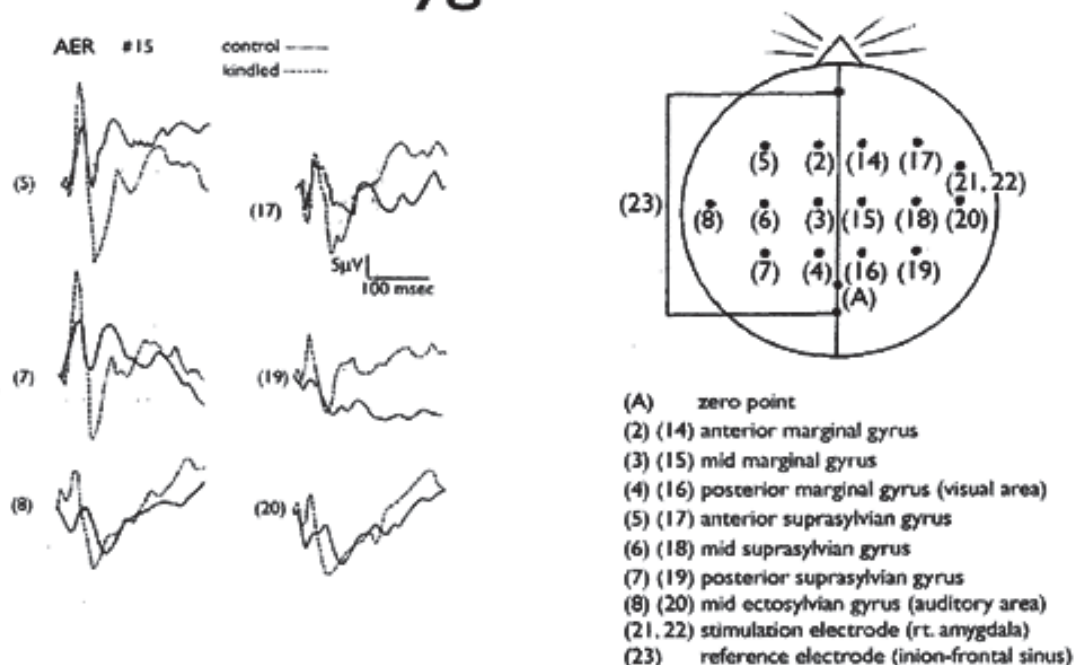


Fig. 6 キンドリング前後のネコの聴覚誘発電位 実線はキンドリング前 点線はキンドリング成立後 刺激箇所は右扁桃核 キンドリングで広範囲に聴覚誘発電位の変化が出現し、振幅の増加は対側でより顕著である。刺激箇所に近い所で、誘発電位の陰性偏倚を認めた（鶴 紀子他 脳と神経 1980より引用）。

証してある）と、自発性棘波の数が非常に減少しているのを認めた。その後Cainら¹⁴⁾は一旦確立したキンドリングで、蛋白合成を阻害しても、抗けいれん効果が認められないことを報告し、これらのことからキンドリングの進展過程と発作波の活動性に蛋白合成を必要とすることが示された。

てんかん脳の機能動態

てんかん脳の機能動態について誘発電位を記録した。兎、ネコのキンドリングを行い、視覚・聴覚誘発電位をキンドリング前後で記録した^{15, 16)}。ネコで、右扁桃核 (basolateral-amygdala) を刺激し、キンドリングが成立した前後に聴覚誘発電位を記録した。刺激した部位の近傍のみならず、広範囲に誘発電位の変化を認めた。Fig. 6では最も近い側頭部では誘発電位の増大を認めたが、前頭葉では早い成分は余り変わらず、対側の方が顕著に増大していた。対側でより増加が著しかったことは焦点近傍で

の負帰還を示唆する。焦点近傍では遅い成分の陰性方向への偏倚を認めた。陰性方向への偏倚の意義については何らかのDCへの影響を示唆する。ネコの聴覚領で聴覚誘発電位を記録し、二連刺激でその10msec, 20msecと間隔を変えて記録し、R2/R1の比を出して、Excitability Curveを記録した^{17, 18)}。右扁桃核刺激によるキンドリング成立後同様なことを行った。右側の刺激側より対側でR2/R1の比が著しく増大しているのを認めた。右側は内側膝状体の誘発電位を全ての動物で重ね書きした。5組の前後で、誘発電位の増大を示していた。従っててんかん脳の機能動態は対照脳と比較して大きく変化した。また、焦点部位では過興奮性と共に抑制機構の増大も生じた。更に焦点部位だけでなく、対側ならびに深部に脳機能変化を認めた。これらは二次性てんかん原性の影響が広範囲に生じていることを示す。

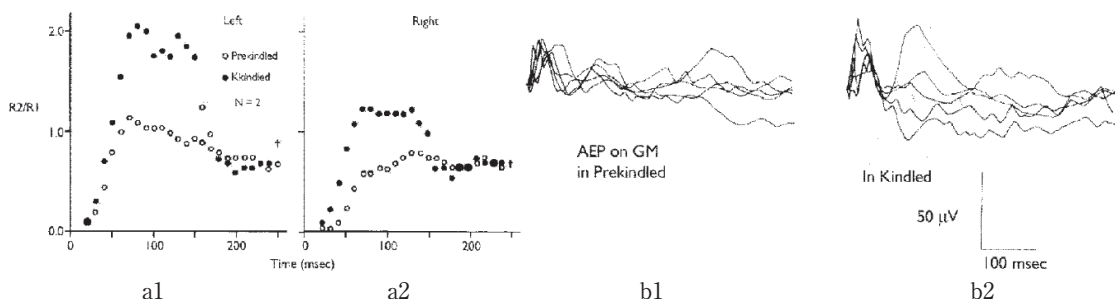


Fig. 7 aネコの聴覚領で聴覚誘発電位を記録し、二連刺激でその間隔を変えてExcitability Curveを記録し、右扁桃核刺激によるK成立後同様なことを行くと、右側の刺激側(a2)より対側(a1)でR2/R1の比が著しく増大しているのが認められた。右側は内側膝状体の聴覚誘発電位を全ての動物で重ね書きした。5組のキンドリング前(b1)後(b2)で、誘発電位の増大を示した。(鶴 紀子他 脳波と筋電図 1981より引用)

3 てんかん発作の発現機構、難治化の要因とglutamate (Glu)

てんかん脳ではてんかん焦点の存在と過同期性に反映される脳機能変化が存在する。更に脳幹網様体・海馬・無名野・中隔などが促通系として作用し、そのメカニズムに興奮性アミノ酸であるglutamate (Glu) の放出の増大、NMDA受容体の関与、抑制系のGABAの機能低下が深く関与している。キンドリングの成立・発展化過程にはGluやNMDA受容体が関与するが、一旦確立すれば神経系可塑性が生じ維持される。けいれん準備状態ではすでに述べたようにならかなり広範囲に脳機能異常が生じている。近年の諸報告による画像検査の結果から焦点近傍での活動性が低下していることは共通理解を得ている。脳の機能動態は不安定で過同期性が生じやすい。また、GABA系の抑制性の変化もありうる。均質でない脳機能の下で 何らかの外的・内的刺激により、上行性促通系の時間的・空間的制御機構の破綻により、発作への過程をたどると考えられる¹⁹⁾。

臨床的に発達途上時期に発現する全般てんかんの予後は通常よい。しかし中には難治に発展する。いわゆるBECTもしくはrolandic spikeを示し、予後良好な経過を示す例は多い。しかし当初は似たような診断を受けていたが、次第に病状は難治に推移し、睡眠時脳波で持続性棘徐波結合を認める例も時に目にする。てんかん

の難治化の要因として器質性病変、海馬硬化、炎症性変化(TNF- α などのサイトカインの影響)、個体の持つ脆弱性、二次性てんかん原性などがあげられる。

てんかん発作に際して脳の興奮性アミノ酸であるGluの役割は大きい。Gluがあり、細胞が脱分極していると、NMDA受容体はシナプス後細胞内へ Ca^{2+} を流入させる。その結果さまざまな Ca^{2+} 依存性のシグナル伝達カスケードを活性化する。このような興奮性シナプス伝達のNMDA受容体依存性の長期増強(シナプスの長期可塑性:long-term synaptic plasticity)は記憶の保存に関係する。このようなメカニズムも二次性てんかん原性に関わっている。更に異常興奮によるGluの細胞毒性の影響も大きい。

ラット扁桃核キンドリング時の腹側海馬の微量透析をしてその変化を見ると、刺激後、発作直後にGluが両側性に増大し、急激に発作前のレベルに戻る。部分発作では発作前の2.5倍、全身けいれん発作では5倍に増大していた^{20, 21)}、発作終了後急速にその濃度はベースラインに復帰する。ちなみにヒトの側頭葉てんかん発作時に、てんかん焦点側で増大する²²⁾。

Gluはシナプス後細胞のGlu受容体に結合しその効果を発揮する。一過性にAMPA受容体を最大限に活動するまでの濃度に達する。また、Gluは細胞内誘導に示される‘Paroxysmal depolarization shifts’に関わっている。NMDA受容体を通じての反応がこの遅い変化に関与

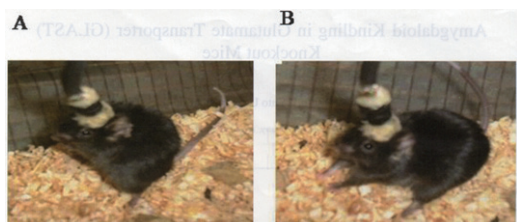


Fig. 8 マウスキンドリング時の行動変化 説明は本文中

(Tsuru et al. *Epilepsia* 2002より引用)

し、細胞が数百msecにわたって脱分極するとNMDA受容体に蓋をしていた Mg^{2+} がはずれて過大な Ca^{2+} が流入する。それはさらにシグナルカスケードにより（イノシトール3リン酸による Ca^{2+} 、 Ca^{2+} 誘発性の小胞体からの Ca^{2+} 放出など）細胞内小胞体からの Ca^{2+} 放出をもたらす。この結果長期増強または長期抑圧が生じる。一方GABAの変化は緩徐に推移し、24時間後にもその変化は残存している²¹⁾。このことは結果的にGABA系に作用し、GABAの含有量としての低下を招きかねない。

グリア性Glu輸送体の役割とノックアウトマウスのkindling

放出されたGluをastroglia由来の輸送体は直ちに取り込む働きをしている。高濃度のGluは神経細胞に有害な作用をもたらす。細胞外域でこれらの輸送体はGluの濃度を調節している。グリア性Glu輸送体にGLASTとGLT-1がある。GLASTは小脳のBergmann gliaと海馬にあり、GLT-1は大脳皮質に広く分布している^{23, 24, 25, 26)}。

GLASTノックアウト (KO) マウスのKindling

GLASTKOマウスにKindlingを行った²⁷⁾。Fig. 8の左側がstage4で両側前肢のクローヌスとrearingを示す。右側がstage5で、四肢の強直性けいれんと尻尾も強直している。キンドリングの発展過程は対照群とするとGLASTKO群では著しく遅れていた。対照群では後放電は延長するが、GLASTKO群では余り延長しなかった。一方自発性放電の数は対照群より一次側、二次側共に増大していた。予期したことと反対にキンドリング成立により多くの刺激を要したことは、植田ら²⁷⁾が明らかにしたmutant変異種では前頭部皮質で、GLT-1とEACC-1をwestern

blottingで測定すると、夫々、210%、180%と増大しており、他の輸送体による代償機能が作動していると考えられた。しかし海馬ではそのような変化を認めなかった。小脳ではそのような変化はなく、増大した登上線維からの入力がPurkinje細胞を賦活し、歯状核の顆粒細胞を抑制する結果ADが短くなり、進展も遅くなったと解釈した。行動面ではGLASTKOマウスはのんびりおっとりして動作もややのろい印象であった。

一方GLT-1KOマウス^{25, 26)}では特徴的な行動を認めた。群れることなく、床敷の中に隠れ、isolateしていた²⁹⁾。1回の扁桃核刺激で、後放電のみならず、繰り返す発作発射と自発性放電が多数出現し、その後刺激箇所の自発性脳波、棘波は消失した。対側には頻回の棘波や発作波を認め³⁰⁾、二次性てんかん原性にGLT-1が重要な役割をもつことを示した。更にGLT-1変異種ではglutamateが甚大な侵襲を与えていることを伺わせた。GLT-1変異種では自発性けいれん²⁶⁾も報告されている。また、両側海馬を破壊した時に観察される背中を丸め、両足を伸展させた特有な姿勢³⁰⁾を認めた。

Astrocyteは神経系の構造維持、神経細胞へのエネルギー供給、血液-脳関門の担い手である。近年ではtripartite synapse（三者間シナプス：シナプス前終末、シナプス後神経細胞およびastrocyte足プロセス）として神経伝達物質の取り込みと分泌、イオン環境の恒常性維持、神経栄養物質やサイトカインの分泌の働きを行っている³¹⁾。形態学的には、Glu受容体に関して、Glu終末に向かい合うシナプス後部にあるNMDA受容体とAMPA受容体はシナプス後肥厚のタンパク質ネットワークによって組織化され、PSD-95（膜貫通型AMPA受容体調節タンパク質：TARP）と共にクラスターを形成している³²⁾。臨床的には二次性てんかん原性変化が進行すると、例えば側頭葉てんかんの海馬硬化のある症例では海馬と視床とのconnectivityが増大し、それに反比例して正常な機能が損なわれる³³⁾といった、ある種のglobal network diseaseという概念がある。そのようなてんかん原性変化の進行を如何に防ぐ

かは向後の重要な課題である。二次性てんかん原性抑制にアストログリアのGLT-1は必須である。

これからの課題

焦点形成に際して、刺激に対する反応が変化して行動に影響するという神経可塑性が生じている。即ち、抑制系の脱落、興奮性の亢進といったneuronal networkの変化を伴う。Synapseの動態にアストログリアは密接に関わっている。また、遺伝子の関与、炎症性サイトカインの問題など残されている。てんかん焦点が存在することで、二次的にてんかん原性が生じて行き、難治化に至る。二次性てんかん原性をいかに予防し、治すかは、てんかん臨床の上で、重要な問題である。

文献

- 1) Ajmone-Marsan C. Electrographic aspects of "epileptic" neuronal aggregates. *Epilepsia* 1961 ; **2** : 22-38.
- 2) 沢 政一 てんかん放電・細胞内電位記録による解析-In 和田豊治編 てんかん学. 東京: 医学書院. 1964 ; pp408-425
- 3) Engel J Jr, Brown WJ, Kuhl DE, Phelps ME, Mazziotta JC, Crandall PH. Pathological findings underlying focal temporal lobe hypometabolism in partial epilepsy *Annals of Neurology* 1982 ; **12** : 518-528
- 4) 鶴 紀子, 西田保馬, 児玉祐一, 八木和一, 寺師慎一, 王 皓恵. ミオクロームスてんかん(変性型)の一剖検例—ミオクロームスの発現機序についての考察—*脳と神経* 1977 ; **29** : 755-762.
- 5) Jullien R, Halpern LM. Effects of diphenylhydantoin and other antiepileptic drugs on epileptiform activity and Purkinje cell discharge rates. *Epilepsia* 1972 ; **13** : 387-400.
- 6) 佐々木和夫. 随意運動における小脳の役割. In 伊藤正男, 祖父江逸郎, 小松崎 篤, 広瀬源二郎編, 小脳の神経学. 東京: 医学書院. 1986 ; pp85-101.
- 7) Tsuru N, Kawasaki H, Genda S, Hara K, Hashiguchi H, Ueda Y; Effect of unilateral dentate nucleus lesions on amygdaloid kindling in rats. *Epilepsia* 1992 ; **33** : 213-221.
- 8) 鶴 紀子. てんかん源性感点の形成に及ぼす促進、抑制因子に関する実験的研究—Eserin, Atropine, Safazine, Shlorpromazineの影響—. 鹿児島大学医学雑誌 1970 ; **22** : 98-129.
- 9) Tsuru N, Asakura T. Experimental studies on facilitatory and inhibitory factors for epileptogenic focus formation. *Folia Psychiat Neurol Jpn*, 1978 ; **28** : 117-129.
- 10) Tsuru N. Phylogenesis and kindling. *Folia Psychiat Neurol Jpn* 1981 ; **35** : 245-252.
- 11) Morrell F, Tsuru N: Kindling in the frog: Development of spontaneous epileptiform activity. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.* 1976 ; **40** : 1-11.
- 12) Morrell F, Tsuru N, Hoepfner TJ, Morgan D, Harrison WH, Secondary epileptogenesis in frog forebrain: Effect of inhibition of protein synthesis. *Can J Neurol Sci* 1976 ; **2** : 407-416.
- 13) Morrell F, Tsuru N, Hoepfner TJ, Morgan D, Harrison WH, Secondary epileptogenesis in frog forebrain: Effect of inhibition of protein synthesis. In Wada A (ed). *Kindling*. New York: Raven Press, 1976 ; pp41-60.
- 14) Cain DP, Corcoran ME, Staines WA. Effects of protein synthesis inhibition on kindling in the mouse. *Experimental Neurology* 1980 ; **68** : 409-419.
- 15) Tsuru N, Kuniyoshi M, Idenoue J: Frontal kindling in rabbits and its influence on visual and auditory evoked response. *Folia Psychiatrica et Neurologica Japonica* 1979 ; **33** : 563-575.
- 16) 鶴 紀子 二宮英彰 福岡 寛 池田暉親: 猫・扁桃核刺激によるkindlingの聴覚ならびに視覚誘発電位に及ぼす影響. *脳と神経* 1980 ; **32** : 191-198.
- 17) 鶴 紀子 二宮英彰 福岡 寛 中原大一郎: 猫・扁桃核刺激によるkindling phenomenon (燃え上がり現象) の聴覚誘発電位に及ぼす影響—excitability curve ならびに内側膝状体における変化について. *脳波と筋電図* 1981 ; **9** : 270-277.
- 18) Tsuru N, Shimada Y: Changes in subcortical visual and auditory evoked potential following

- amygdaloid kindling in cats. *Epilepsia* 1984 ; **25** : 288-291.
- 19) 鶴 紀子 キンドリング研究から見た発作発現機序 神経生理学的立場から In 秋元波留夫・山内俊雄 編 てんかん学の進歩No.3. 東京: 岩崎学術出版社. 1996 ; pp389-401.
- 20) 植田勇人 鶴 紀子: ラット扁桃核キンドリングの両側海馬腹側部内グルタミン酸の刺激前後における経時的变化 脳と精神の科学 1993 ; **4** : 443-446.
- 21) Ueda Y, Tsuru N; Bilateral hippocampal changes of extracellular glutamate concentration during development of amygdaloid kindling. *Epilepsy Res* 1994 ; **18** : 85-88.
- 22) During MJ, Spencer DD Extracellular hippocampal glutamate and spontaneous seizures in the conscious human brain. *Lancet* 1993 ; **341** : 1607-1610.
- 23) Shibata T, Watanabe M, Tanaka K, Wada K, Inoue Y. Dynamic changes in expression of glutamate transporter mRNAs in developing brain. *Neuroreport*. 1996 ; **7** : 705-709.
- 24) 田中光一 グルタミン酸トランスポーターの脳機能 In 鶴 紀子編 脳とこころの科学. 東京: 新興医学出版社 2006 ; pp107-113.
- 25) Tanaka K: Functions of glutamate transporter in the brain. *Neurosci Res* 2000 ; **37** : 15-19.
- 26) Tanaka K, Watase K, Manabe T et al: Epilepsy and exacerbation of brain injury in mice lacking the glutamate transporter GLT-1. *Science* 1997 ; **276** : 1699-1702.
- 27) Tsuru N, Ueda Y, Doi T Amygdaloid kindling in glutamate transporter (GLAST) knock-out mouse. *Epilepsia* 2002 ; **43** : 805-811.
- 28) Ueda Y, Doi T, Tsuru N, Tokumaru J, Mitsuyama Y. Expression of glutamate transporters and ionotropic glutamate receptors in GLAST knockout mice. *Brain Res Mol Brain Res*. 2002 ; **104** : 120-126.
- 29) 鶴 紀子, グルタメートと統合失調症-グルタミン酸による侵害の影響とその臨床的意義特に統合失調症に関連して- In 鶴 紀子編 脳とこころの科学. 東京: 新興医学出版社, 2006 ; pp99-106.
- 30) Abe H, Ishida Y, Nonaka H, Iwasaki T. Functional difference between rat perirhinal cortex and hippocampus in object and place discrimination tasks. *Behav Brain Res*. 2009, **197** : 388-397.
- 31) 大野行広 グリア細胞の機能 In 兼本浩祐, 丸 栄一, 小国 弘量, 池田昭夫, 河合謙介編 臨床てんかん学. 東京: 医学書院, 2015 ; pp77-82.
- 32) Siegelbaum SA, Kandel ER, Yuste R, Synaptic integration in the central nervous system. In: Kandel ER, Schwartz JH, Jessell TM, Siegelbaum SA, Hudspeth AJ (eds), *Principles of Neural Science* 5th ed. New York/Chicago: McGraw-Hill Co. 2013 ; pp210-235.
- 33) Dinkelacker V, Valabregue R, Thivard L, Lehericy S, Baulac M, Samson S et al. Hippocampal - thalamic wiring in medial temporal lobe epilepsy: Enhanced connectivity per hippocampal voxel. *Epilepsia* 2015, **56** : 1217-1226.

Summary

Secondary epileptogenesis- to elucidate its mechanism-

Noriko Tsuru

The secondary epileptogenesis, that primary epileptic foci can induce the development of other such foci is important for the therapy and prevention of seizures. Previously, we reported one autopsy case with myoclonus epilepsy of marked loss of Purkinje's cell. Nerve cells of dentate nucleus did not show any significant change. In this case the mechanism of the myoclonus was concluded that discharges probably from reticular formation were not properly modulated timely and spaciouly at the level of the thalamus by nerve cells of dentate nucleus which lost proper feedback system by Purkinje's cells of cerebellum. Amygdala kindling is used to investigate cerebellar dentate nucleus participation in the neuronal plasticity of the cerebrum. We found that on a right amygdala (the primary stimulation place) that had been influenced by a left dentate lesion there were few spikes, while on the left amygdala there were frequent spikes. These results suggest cerebellar dentate nucleus participation in the cortical epileptogenesis.

Secondary epileptogenesis: the time lag between the primary focus formation and the secondary mirror-focus formation on the homologous area of the contralateral hemisphere induced by the cobalt focal application was examined under the pharmacological manipulation. Comparing to the control group, a facilitatory effect was observed in the atropine-treated group, and an inhibitory effect was observed in the safrazine-treated group. These results suggested that accumulated monoamine would play an important active role in inhibiting the secondary epileptogenic process.

Secondary epileptogenesis was induced in the hippocampal cortex of paralyzed bullfrogs by kindling. Spontaneous epileptiform potentials occurred between stimuli, eventually independently on both sides. The striking constancy of wave-shapes were recognized. A little while after the stimulation, the various wave-shapes changed to a well-organized constant morphology, which implied a neural plasticity and a model of 'engram'. The duration of after-discharge and the number of spikes were suppressed markedly by cycloheximide (an inhibitor of cerebral protein synthesis).

We reported the enhancement of auditory evoked responses on auditory cortices and cortical areas following amygdaloid kindling in cats. The excitability curve of auditory cortex showed enhanced excitability on both hemispheres. The auditory evoked responses on auditory cortices, medial geniculate bodies, and cochlear nuclei exaggerated in amplitude following amygdaloid kindling phenomenon in cats. It means the existence of subcortical change of excitability in epileptic brain, as well.

We simultaneously monitored the seizure -related changes in extracellular hippocampal glutamate (Glu) and GABA in brain dialysates to clarify the role of Glu and GABA in the development of amygdaloid kindling in rats. The progressive, transient and stimulus-induced enhancement of extracellular Glu levels in bilateral ventral hippocampi may have a crucial role such as a booster to induce secondary generalization. GLAST and GLT-1 are main astroglial transporters, which have a role in controlling Glu in the extracellular space. GLAST is located at the Bergmann glia in the cerebellum and GLT-1 is distributed widely in cerebrum. Kindling developed very early in GLT-1 mutants. Frequent spikes appeared early in GLT-1 KO (knock-out) mutants. However, spontaneous spikes as well as the afterdischarge subsequently disappear at the stimulation site. On the other hand, repeated seizures were recognized at the contralateral amygdala. Therefore, the glutamate transporters, especially GLT-1, have an important role in inhibiting secondary epileptogenesis.