

—— 海外留学助成報告 ——

研究課題	てんかん病態におけるカリウムホメオスタシスの役割 Role of potassium homeostasis in epilepsy
留学先	Fondazione IRCCS Istituto Neurologico Carlo Besta
期間	2021年10月～2021年12月
研究者	金星 匡人

[はじめに]

我々の研究室は、てんかんモデル動物や培養細胞を用いた薬理学的な評価で、アストロサイトの内向き整流性カリウム（Kir4.1）チャネルがてんかん病態に深く関連していることを明らかにしてきた。具体的には、遺伝性てんかんモデル動物のてんかん原性過程において、アストロサイトのKir4.1チャネル発現低下によるカリウムホメオスタシスの障害が起こることを明らかにした。今回の留学は、てんかん病態におけるカリウムホメオスタシスの薬理学的な知見を、留学先が得意とするモルモット全脳を用いた電気生理学的手法を用いて新しい観点から検証することなどを目的とする。カリウムホメオスタシスがてんかん病態に及ぼす影響について、薬理学および電気生理学の双方のアプローチを統合的に用いて明らかにする。

[研究成果の概要]

研究計画では、抗うつ薬などのKir4.1チャネルを阻害する作用の薬剤を灌流して、モルモット全脳の電気生理学的記録を行う予定であった。しかし、新型コロナウイルスによるパンデミックの影響で1年半程度の延期となっていたことで、薬剤の調達や予備実験などの時間的猶予がなかったため、留学先で進行中の研究計画に参加してモルモット全脳の電気生理学的記録の手法を学んだ。具体的には、脱髄とカリウムホメオスタシスの関連について検証する実験計画で、piriform cortexにおける細胞外記録と同時に、髄鞘が乏しい表層と髄鞘が豊富な深層の細胞外カリウム濃度を測定して比較した。既報告（J Neurosci, 2017）のように、4-aminopyridineで誘発されたてんかん様活動電位と同時に表層

の細胞外カリウム濃度は急激に上昇することが観察されたが、深層のカリウム濃度との差が顕著でなかったために、今後、カリウム電極の深度を調整して再実験を行う方針とした。

Piriform cortexにおける髄鞘の程度を評価するために、脳組織を冠状断と矢状断の両方でBlack Gold II 試薬を用いて染色した。マウスの脳組織を用いた染色で、piriform cortexの表層は髄鞘が乏しいことが冠状断と矢状断の両方で確認できた（Fig. 1）。追加実験を行って、定量的に髄鞘の程度を評価する方針とした。

また、kainic acidを海馬に局所投与したてんかんモデルモルモットを用いて、長時間ビデオ脳波記録を行った。さらに、自発的にてんかん発作を認める慢性状態において海馬スライス標本を作成して電気生理学的記録を行った。実験条件を変更して複数回の記録を行ったが、4-aminopyridineやbicucullineなどのけいれん誘発薬で十分にてんかん様活動電位が誘発されなかった。今後、実験条件についてさらに検討する方針とした。

臨床において、留学先のてんかんカンファレンスに参加して、難治性てんかん患者の精査と治療方針について積極的に議論した。

[まとめ]

短期間であったが、今回の留学で様々な電気生理学的手法を習得することができた。さらに、てんかんモデル動物の作成方法や組織染色方法などの手技も新たに習得することができた。今後は、留学先と定期的に連絡をとって、Kir4.1チャネルの発現低下によるカリウムホメオスタシスの障害がてんかん病態に与える影響について検討する予定である。

Piriform cortex (Lateral 2.52mm)

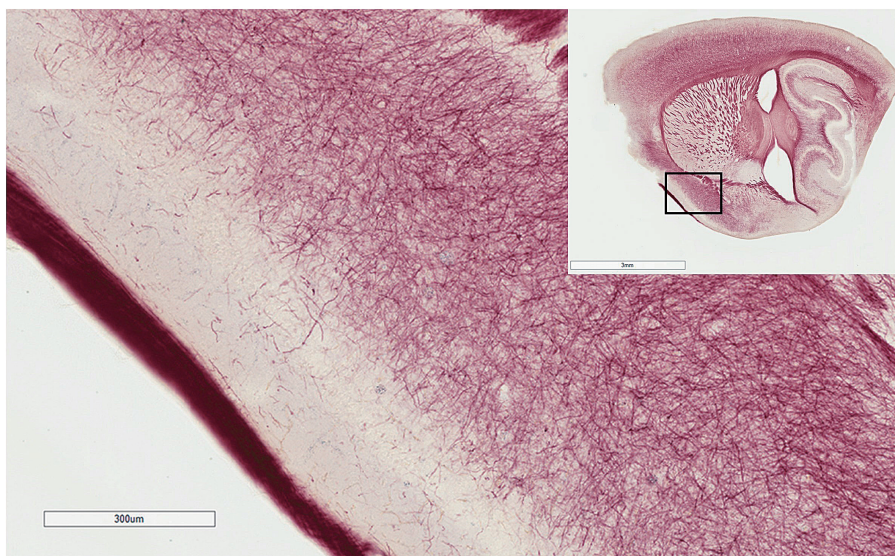


Fig. 1 矢状断のpiriform cortex

最後になりましたが、今回の留学において多大なご支援を賜りましたてんかん治療研究振興財団に深謝いたします。



留学先の実験室で、Marco de Curtis先生と。