

論文内容の要旨

論文題目 低頻度電気刺激キンドリングモデルにおける
セロトニンレセプターの役割

氏名 渡辺慶一郎

【要約】

側頭葉てんかんの複雑部分発作を想定した低頻度海馬キンドリングラットモデルに Fluoxetine, PCPA, さらにセロトニンレセプターの各サブタイプのアゴニストとアンタゴニストを投与して発作閾値と発作重症度を評価した。

SSRI である Fluoxetine を投与すると複雑部分発作は抑制され, PCPA は発作促進的に作用した。サブタイプ別に検討したところ, 5-HT_{1A} レセプターと 5-HT_{2A} レセプターが発作抑制的に作用したため, セロトニン系賦活による発作抑制は両レセプターが関与していることが考えられた。

側頭葉てんかんは精神症状合併率の高いことが知られており, 向精神薬が投与される機会が多い。近年臨床場面で多く使用されている SSRI や SDA を投与する場合, 前者は適しており, 後者は発作増悪の危険があることが示唆された。

【研究目的】

側頭葉てんかんは, 海馬周辺にてんかん原性領域をもつてんかんである。臨床的特徴は複雑部分発作の存在と, 高い頻度で躁うつ病や統合失調症類似の精神症状を呈することである。こうした精神症状を治療する際, 発作を悪化させずに適切な薬剤を選択することは, 临床上の課題である。近年の精神科臨床では, うつ病などの抑うつ状態には SSRI(Selective Serotonin Reuptake Inhibitor), 統合失調症の幻覚妄想状態には SDA(Serotonin Dopamine antagonist)が投与され, セロトニン系の調節機能を持つ向精神薬が主流となっている。このためセロトニン系が複雑部分発作発現にどのように影響するかについての知見が重要と考えられる。

側頭葉てんかんの病態研究には, これに特化した動物モデルを使用することが望ましい。Minabe らのグループは低頻度電気刺激キンドリング法を開発し, 海馬歯状回を刺激することで複雑部分発作に相当する Stage 1 のてんかん発作を安定して再現する動物モデルを作成した。低頻度電気刺激キンドリング法は, 刺激パルス間隔が長い間この間の脳波観察が可能である。そのため afterdischarge 誘発までに要する電気刺激パルス数が定量可能である。このパルス数(Pulse number threshold: PNT)は発作閾値の指標である。

また誘発された発作波の持続時間(afterdischarge duration:AD)も同時に計測可能であり、発作強度を評価することができる。

セロトニンとてんかんの関係を論じた先行論文は多い。複数のてんかんモデル動物において、セロトニン系賦活が発作抑制的に作用し、遮断あるいは抑制が発作促進的に作用することはほぼ一致して報告されている。ただし、複雑部分発作に特化したモデル動物を用いてセロトニン系の調節を行った報告は極少数であり、これにセロトニン受容体サブタイプの選択的リガンドを系統的に投与した報告はない。そこで我々は低頻度海馬歯状回電気刺激キンドリングラットを用いて、受容体サブタイプのアゴニスト/アンタゴニスト等を投与して発作への影響を調べたので報告する。

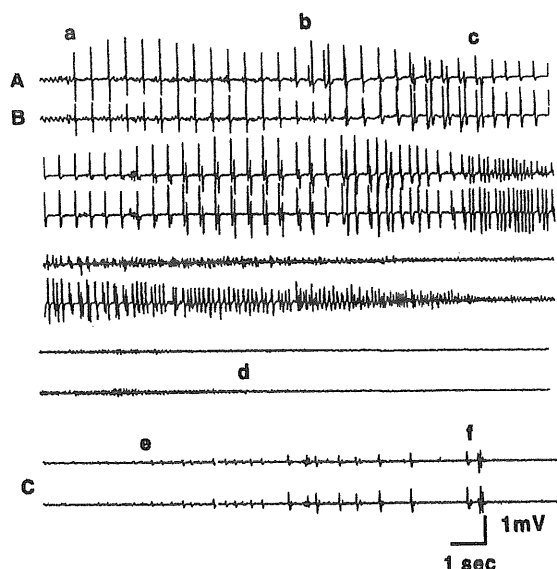
【対象と方法】

約 280g の雄 Wister ラットの左右の背側海馬歯状回に電極を 3 本ずつ刺入し、2Hz の電気刺激を 10 日間行った。刺入電極より同時に脳波を測定し、発作指標である PNT(Pulse number threshold)と AD(afterdischarge duration)を計測した。これらが安定していること、また動作停止、顔面のグルーミング、全身の身震い(wet-dog shake)、間代成分のない移動歩行といった発作 Stage 1 の特徴が出現していることを確かめて薬理学的実験に供した。投与した選択的セロトニン再取り込み阻害剤、セロトニン合成阻害剤、セロトニンレセプターのアゴニスト/アンタゴニストの種類・投与量は表 1 に示してある。薬剤は全て腹腔内投与とした。なお、苦痛を伴う処置については、麻酔薬を使用してその軽減を図るなど倫理面に配慮して実験を行った。

表 1 使用薬剤と投与量

Agonist	SSRI	(±)-Fluoxetine	2.0, 6.0, 20mg/kg
	1A	(±)-8-hydroxy-2-(di- <i>n</i> -aminopropyl)tetralin (8-OH-DPAT)	0.3, 1.0, 3.0mg/kg
2A/2C	(±)-2.5-dimethoxy-4-iodophenyl-2-aminopropane (DOI)	0.3, 1.0, 3.0mg/kg	
3	4-amino-(6-chloro-2-pyridyl)-1-piperidine (SR57227A)	0.3, 1.0, 3.0mg/kg	
Antagonist	5-HT depletion	p-chlorophenylalanine(PCPA)	400mg/kg
	1A	N-[2-[4-(2-methoxyphenyl)-1-piperazineyl]-ethyl]-N-(pyridinyl)-cyclohexanecarboximide 3HCl (WAY 100635)	0.1, 0.3, 1.0mg/kg
	2A	R-(+)- <i>a</i> -(2,3-dimethoxyphenyl)-1-[2-(4-fluorophenyl) ethyl]-4-piperidine-methanol (MDL100907)	0.3, 1.0, 3.0mg/kg
	2C	N-(1-methyl-5-indolyl)- <i>N'</i> -(3-pyridyl) urea HCl (SKB200646A)	5, 15, 50mg/kg
	3	Granisetron	0.3, 1.0, 3.0mg/kg

図 1 : 脳波記録と発作指標



(A)と(B)は海馬歯状回に刺入した電極で記録されたラット脳波である。(A)は刺激側で(B)は反対側である。(a)は低頻度(2Hz)キンドリング刺激の開始点、(b)は primary Afterdischarge(1 次性 AD:pAD)の出現点、(c)はキンドリング刺激の終了点、(d)は 1 次性 AD の終了点である。

この記録では PNT は(a)から(b)までの刺激回数なので 14、pAD は(b)から(d)までの時間である。

(C)は(A)(B)の延長である。(e)は secondary Afterdischarge(2 次性 AD:sAD)の出現点、(f)は sAD の終了点である。この記録では 2 次性 AD 潜時は(d)から(e)までの時間、sAD は(e)から(f)までの時間である。

図 1 のように AD はてんかん発作波の持続時間によって決定するが、刺激前の脳波と比較して同程度の振幅となるまでの持続時間を測定すると 1 次性の AD と 2 次性の AD が区別される。1 次性 AD が終了して 2 次性 AD が開始されるまでの時間を 2 次性 AD 潜時として、これも計測の対象とした。PNT, 1 次性 AD, 2 次性 AD, 2 次性 AD 潜時の 4 つの発作指標は全て Wilcoxon's sign-rank test を用いて統計的に検討された。ただし 2 次性 AD と 2 次性 AD 潜時の解釈には未だ定説がないため、得られた結果の考察には用いなかった。

【結果】

蒸留水あるいは溶媒投与は総ての発作指標を変化させなかった。さらに前対照実験と薬理学実験の 48 時間後に行った後対照実験を比較しても有意な差は認めなかった(いずれもデータ省略)。

1 : 5-HT

再取り込み阻害剤(Fluoxetine)の投与では、2.0mg/kg の用量で PNT が有意に延長し、1 次性 AD が有意に短縮していた。合成阻害剤(p-chlorophenylalanine: PCPA)400mg/kg 投与では、PNT と 2 次性 AD の有意な短縮が認められた(いずれも表 2)。

2 : 5-HT_{1A}

アゴニスト(8-OH-DPAT)の投与では各指標の変化は認めなかったが、アンタゴニスト(WAY100635)では 0.1mg/kg 投与により 1 次性 AD は有意に延長し、0.3mg/kg と 1.0mg/kg 投与にて 2 次性 AD 潜時の有意な短縮と 2 次性 AD の有意な延長が認められた(いずれも表 2)。

3 : 5-HT₂

5-HT_{2A/2C} アゴニスト(DOI)では、3mg/kg 投与にて 2 次性 AD 潜時が有意に短縮していた。5-HT_{2A} アンタゴニスト(MDL100907)では、1.0mg/kg 投与にて 1 次性 AD の有意な延長が認められた。5-HT_{2C} アンタゴニスト(SKB200646A)の投与では発作指標の変化は認めなかった(いずれも表 2)。

4 : 5-HT₃

アゴニスト(SR57227A)の投与では、発作指標に変化は認めなかったが、アンタゴニスト(Granisetron)では 1.0mg/kg 投与により 1 次性 AD が有意に短縮し、3.0mg/kg 投与にて 2 次性 AD 潜時の有意な短縮が認められた(いずれも表 2)。

表 2A Fluoxetine とセロトニンレセプターアゴニストの効果

薬剤	投与量	対象数	Pulse-number threshold (PNT)			Primary afterdischarge duration (1 次性 AD) (単位: 秒)			Latency of secondary afterdischarge (2 次性 AD 潜時) (単位: 秒)			Secondary afterdischarge duration (2 次性 AD) (単位: 秒)		
			前対照	薬剤投与時	後対照	前対照	薬剤投与時	後対照	前対照	薬剤投与時	後対照	前対照	薬剤投与時	後対照
			Fluoxetine	2.0mg/kg	9	12.1±0.9	13.1±0.8*	12.1±0.9	61.4±6.6	52.3±7.0*	57.7±4.7	36.0±4.3	38.9±4.8	36.8±3.9
	6.0mg/kg	9	11.1±0.6	11.1±0.5	11.9±0.7	55.6±5.6	51.7±6.5	53.0±3.9	48.1±3.5	46.4±4.4	43.6±3.6	12.4±4.2	10.6±3.8	12.9±3.8
	20mg/kg	10	11.8±0.6	11.9±0.7	12.0±0.8	52.2±3.9	65.5±9.2	56.8±6.1	40.4±4.1	35.3±5.9	35.9±3.4	15.9±3.9	14.2±3.9	15.8±3.4
8-OH-DPAT	0.3mg/kg	10	12.6±0.9	12.5±1.0	12.3±0.7	53.2±5.2	50.4±5.5	55.7±5.3	36.0±3.9	35.4±3.3	34.3±4.0	19.1±2.9	21.4±3.8	18.7±2.9
	1.0mg/kg	7	12.3±0.9	12.6±0.9	12.7±0.8	53.3±6.1	52.3±7.0	56.3±5.2	39.9±5.3	43.6±4.8	35.6±5.2	15.9±3.2	14.9±4.2	20.3±5.0
DOI	0.3mg/kg	8	11.8±0.7	12.4±0.8	11.6±0.8	43.8±5.6	49.0±7.1	49.8±6.5	43.8±5.2	37.8±6.1	42.9±5.4	17.8±5.0	16.1±4.0	16.8±4.9
	1.0mg/kg	10	12.1±0.6	12.7±0.7	12.5±0.7	55.7±5.3	50.9±4.7	59.4±5.2	34.3±4.0	30.0±5.1	42.2±4.3	18.7±2.9	18.5±10.9	13.0±2.8
	3.0mg/kg	9	11.6±0.8	11.3±0.9	10.0±1.4	49.6±3.0	52.6±3.4	50.6±3.7	37.1±4.3	15.9±2.8**	42.2±4.7	19.9±4.0	23.9±2.5	20.5±3.2
SR 57227A	0.3mg/kg	9	11.5±0.6	11.2±0.7	11.9±0.8	57.7±3.8	52.5±3.8	60.2±5.3	38.0±4.7	36.7±4.6	38.8±4.6	16.5±2.8	18.2±3.1	18.1±3.2
	1.0mg/kg	9	11.9±1.0	12.4±1.0	12.2±0.6	59.3±6.5	55.8±5.9	58.4±6.6	38.9±5.5	45.8±4.2	40.1±5.7	17.8±3.9	14.8±4.0	14.6±3.8
	3.0mg/kg	10	11.9±0.3	12.0±0.9	11.7±0.3	62.4±7.9	58.3±5.2	68.7±9.0	43.7±3.8	37.9±3.6	37.3±3.9	12.7±3.2	14.5±3.0	17.4±3.5

表 2B PCPA とセロトニンレセプターアンタゴニストの効果

薬剤	投与量	対象数	Pulse-number threshold (PNT)			Primary afterdischarge duration (1 次性 AD)			Latency of secondary afterdischarge (2 次性 AD 潜時)			Secondary afterdischarge duration (2 次性 AD)		
			(単位: 秒)			(単位: 秒)			(単位: 秒)			(単位: 秒)		
			前対照	薬剤投与時	後対照	前対照	薬剤投与時	後対照	前対照	薬剤投与時	後対照	前対照	薬剤投与時	後対照
PCPA	400mg/kg	10	12.8±0.8	10.8±0.5**	-----	64.0±7.4	74.8±14.0	-----	34.6±5.3	43.8±6.1	-----	17.4±3.6	7.3±2.9*	-----
WAY100635	0.1mg/kg	9	11.6±0.6	12.1±0.9	12.2±0.7	51.9±5.8	80.0±17.3*	48.8±5.7	34.4±4.3	36.1±5.5	30.1±3.6	16.8±3.2	13.0±3.6	17.3±2.9
	0.3mg/kg	10	12.0±0.7	13.6±1.2	12.7±0.8	49.4±6.9	55.5±7.1	54.8±6.9	40.7±3.7	28.7±4.7*	39.0±4.4	14.4±3.1	21.0±3.4**	14.4±2.5
	1.0mg/kg	8	11.8±0.8	12.1±0.8	12.2±0.7	50.0±6.8	46.2±7.0	51.2±6.9	43.2±4.0	29.9±4.5*	36.5±5.0	13.3±3.0	22.9±3.2**	15.0±3.6
MDL100907	0.3mg/kg	8	11.5±0.7	11.6±0.8	12.0±0.5	62.0±6.7	70.6±8.8	59.1±6.3	35.0±2.6	31.9±4.5	30.5±3.0	19.4±2.3	16.6±3.2	18.7±3.0
	1.0mg/kg	9	12.1±0.7	12.0±0.7	11.9±0.8	50.6±4.9	60.4±6.7*	57.0±7.0	45.2±3.0	41.1±5.4	43.4±3.8	12.1±1.8	13.6±2.7	11.8±2.9
	3.0mg/kg	8	12.4±0.7	12.4±0.8	12.3±0.7	59.2±8.5	65.9±12.4	54.8±7.4	29.5±4.1	31.5±5.0	30.6±4.5	18.0±2.9	17.0±4.0	16.1±3.5
SKB200646A	5mg/kg	9	11.9±0.8	11.9±0.7	11.7±0.6	55.2±7.0	59.0±5.8	62.3±7.2	40.0±3.6	43.2±4.4	34.1±4.3	12.7±2.9	11.9±2.6	13.8±2.9
	15mg/kg	7	12.6±0.6	13.1±1.2	12.9±0.7	49.7±4.3	55.4±4.1	53.3±8.9	50.5±3.0	53.4±3.7	51.6±5.2	16.1±3.6	16.6±3.5	12.4±3.5
	50mg/kg	8	12.0±0.4	11.4±0.4	12.0±0.5	45.0±2.8	53.3±4.5	48.0±4.3	50.3±4.8	50.1±4.8	50.1±4.9	17.8±1.3	15.3±1.8	14.9±2.0
Granisetron	0.3mg/kg	8	11.1±0.4	11.4±0.5	11.9±0.5	51.6±4.8	49.9±6.7	54.5±6.2	36.8±3.5	38.9±2.5	36.8±3.1	17.4±1.7	22.9±3.3	18.8±1.9
	1.0mg/kg	9	11.8±0.8	12.1±0.8	12.1±0.7	57.1±8.2	48.1±6.4*	53.0±5.3	36.7±3.4	37.3±4.1	38.2±3.2	16.2±1.9	18.7±2.9	13.7±2.1
	3.0mg/kg	9	12.9±0.9	11.6±0.9	11.8±0.8	56.9±8.1	52.3±7.0	57.1±8.2	36.7±3.5	33.2±3.2*	36.7±3.4	15.9±2.5	19.7±3.2	16.4±1.9

それぞれの数値は平均±標準誤差を示している。

* 前対照と比較して Wilcoxon signed-rank test にて有意差が認められたもの(p<0.05). ** 前対照と比較して Wilcoxon signed-rank test にて有意差が認められたもの(p<0.01).

5: 結果まとめ

上記の結果を表 3 にまとめた。2 次性 AD 潜時と 2 次性 AD は前述の通り、結果の解釈には用いなかった。

矢印は有意な増減を表し、青字はてんかん抑制性、赤字は促進性を示している。網掛けは当該実験がないことを示している。

表 3 結果まとめ

	Agonist	Antagonist
5-HT	PNT ↑ (L), pAD ↓ (L)	PNT ↓
5-HT _{1A}	No effect	pAD ↑ (L)
5-HT _{2A}		pAD ↑ (M)
5-HT _{2A/2C}	No effect	
5-HT _{2C}		No effect
5-HT ₃	No effect	pAD ↓ (M)

L: low dose, M: Moderate dose

【考察】

本モデルは側頭葉てんかんの複雑部分発作を想定したものである。SSRI である Fluoxetine を投与すると複雑部分発作は抑制され、PCPA は発作促進的に作用した。今回の実験では、5-HT_{1A} レセプターと 5-HT_{2A} レセプターは発作抑制的に作用していたため、セロトニン系賦活による発作抑制は両レセプターが関与していることが考えられた。一方 5-HT₃ レセプターは発作促進的に作用しており、上記のメカニズムには重要な役割を果たしてはいないと考えられた。

一方側頭葉てんかんは精神症状合併率の高いことが知られており、向精神薬が投与される機会は多い。複雑部分発作に精神症状が重畳した者に薬物療法を行う上で、本研究は臨床的意義も大きいと考えられた。即ち、抑うつ状態に対する SSRI の投与は、今回の結果から発作増悪の危険は少ないと考えられるため、従来の三環系・四環系の抗うつ薬に比して投与しやすいといえる。また幻覚・妄想などの精神病状態に対する SDA の投与は、従来の抗精神病薬よりも発作増悪の危険が高いと考えられる。Clozapine をはじめとする SDA を、複雑部分発作を持つ患者に投与する場合には慎重を要するだろう。