

—特集 [てんかん医療の現状と未来 (10)]—



てんかんは一日にして成らず

丸 栄一

元 日本医科大学学生体統御学

要 約

頭部外傷や脳梗塞、脳炎、けいれん誘発剤などの直接作用によって引き起こされた発作はてんかん発作と見なさない。これらの脳損傷の数週間から数年後に、明らかな発作誘発因のない状態で、自発的に発作が発生した場合を、脳組織にてんかん原性 (epileptogenesis) が獲得されて、てんかん発作が発生したと判断する。基礎研究とくにキンドリング (kindling) 研究によって、①てんかん原性の獲得には脳損傷は必要ないこと、②てんかん原性の獲得には発作の誘発を繰り返す必要があること、③てんかん原性の獲得には最初期遺伝子の発現と新たなタンパク合成が必須であることが明らかにされてきた。ここでは、てんかん原性のこれら3つの重要な特徴を、てんかん基礎研究の視点から検討した。

1. てんかんは徐々に形成される

「てんかんは進行性の疾患である」というと何を今更と思われるだろうが、われわれはてんかんが徐々に形成され、発症後も常に変化していることをつい忘れがちである。とくに、発作の原因が明らかと思われる場合ほど、その原因 (たとえば遺伝子突然変異など) にとらわれて患者が長時間にわたって獲得してきたてんかん神経機構を見誤ってしまう。

(1) 頭部外傷後てんかんの発症過程

そのてんかん神経機構の形成過程を最も明瞭に表しているのが頭部外傷後てんかんの発症過程であろう。受傷直後の直後発作 (immediate seizures) も、また受傷後1週間以内に発生する早期発作 (early seizures) もてんかん発作とは見なさない。受傷1週間後から数カ月あるいは数年以上の潜伏期 (latent period) を経て突然に晩期発作 (late seizures) を引き起こし、かつ発作が繰り返し発現する状態をもって頭部外傷後てんかんの発症と見なす。いいかえると、この患者の脳内にてんかん原性 (epileptogenesis) が獲得されたと推定する。一般に、てんかん原性とは、身

体的発作を誘発する明らかな刺激のない状態で、自発的に発作 (unprovoked seizures) が発生する神経組織の性質およびその発達過程と定義される。また、てんかん原性が獲得された状態で、個々の自発発作が発生する過程またはその特性を発作原性 (ictogenesis) といい、てんかん原性のない状態での誘発発作 (provoked seizures) の発生過程と区別される。

Annegersら¹は、頭蓋骨骨折や脳挫傷など重度の頭部外傷を負った患者の晩期発作出現率を解析し、受傷後1年以内での初発発作出現率が最も高いものの、受傷後5年から10年の間でも初発発作の出現率が高い状態であることを明らかにした。とくに、それまで発作の徴候が全く認められなかった患者でも、10数年後に突然発作を引き起こし得るということは注目に値する。これは受傷後10年以上経ったある日突然に脳内で何らかの異常事態が発生したのだろうか (図1, ①)、あるいは脳内では受傷直後から晩期発作の発生まで何らかの変化が10年以上続いていたのだろうか (図1, ②)。

(2) てんかん原性はどのように獲得されるか

頭部外傷後てんかんの発症経過は、頭部外傷に限らず、脳梗塞や脳炎、薬物または発熱による発作重積などさまざまな脳損傷 (brain insults) に続いて同様に観察される。では、脳損傷後からてんかん発作発現までの間に脳内では何が起きているのだろうか。この問いに対する解答の糸口は、Williamsら²によるラットの発作重積後てんかんの研究によってもたらされた。彼らは、ラット海馬に慢性脳波電極を埋め込み、体内に留置された脳波無線発信ユニットを介して、カイニン酸発作重積の直後から3カ月以上にわたり海馬脳波を無拘束状態で連続記録した。図2は、カイニン酸発作重積から回復したラット (9匹) の発作脳波発生率 (発作回数/時) を発作重積後の時間にしたがってプロットしたものである。発作重積の約1週間後から持続時間の短い局所的な発作脳波の発生率が次第に増していき (Stage 2)、平均18.3日で初発の運動発作

(1st MS) が出現した。その後も脳波のおよび身体的な発作の発生率は上昇し続け、とくに Stage 3 で示した期間ではすべてのラットで発作発生率が指数関数的に急増している。一般に、脳損傷から初発運動発作までは「潜伏期」とされているが、この William らの研究は、この潜伏期間に脳内では過剰興奮の累積的な増大が続いていたことを示している。

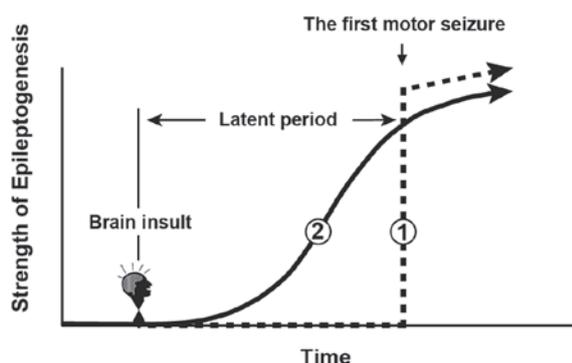


図1 てんかん原性の獲得過程
てんかん原性は脳損傷の1週間以降のある日突然に獲得されるのか (①), あるいは脳損傷の直後から初発運動発作までの間 (潜伏期: Latent period) ずっと獲得過程が進行してきたのであろうか (②).

2. キンドリング現象が教えてくれること

てんかん原性がどのような機序によって形成されるのかについては、これまで様々な仮説が提唱されてきた。とくに、1881年 London, Queen Square 病院の医師 Sir. WR Gowers によって提唱された “Seizures beget seizures” (発作は次なる発作を生む: SBS) 仮説は、この150年間、感情的ともいえる論争を引き起こした。現在でも疫学調査や臨床データから SBS 仮説に対する反論が提出されているものの、てんかん基礎研究の領域では SBS 仮説を支持する重要な事実が明らかにされた。それは、1967年当時大学院生であった Graham V. Goddard によって発見されたキンドリング現象 (kindling phenomenon) である^{3,4}。

(1) キンドリング現象は “Seizures beget seizures” を示す

毎日1~数回、脳内の一定の部位を電気刺激して発作の誘発を繰り返すと、刺激強度は一定でも、発作脳波持続時間が次第に延長し、ついには全身の間代性けいれんの誘発に至る。この発作の繰り返しによるてんかん原性の獲得はキンドリング現象と呼ばれ、そのてんかんモデルはまさに SBS 仮説を実証している。キンドリングてんかんモデルの詳細とその臨床的意義については他の総説^{5,6}を参照して頂き、ここでは扁桃核キ

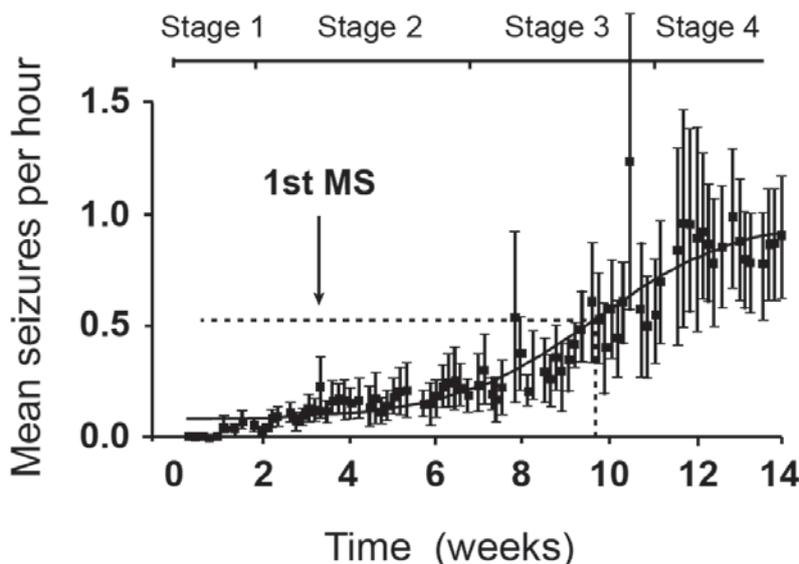
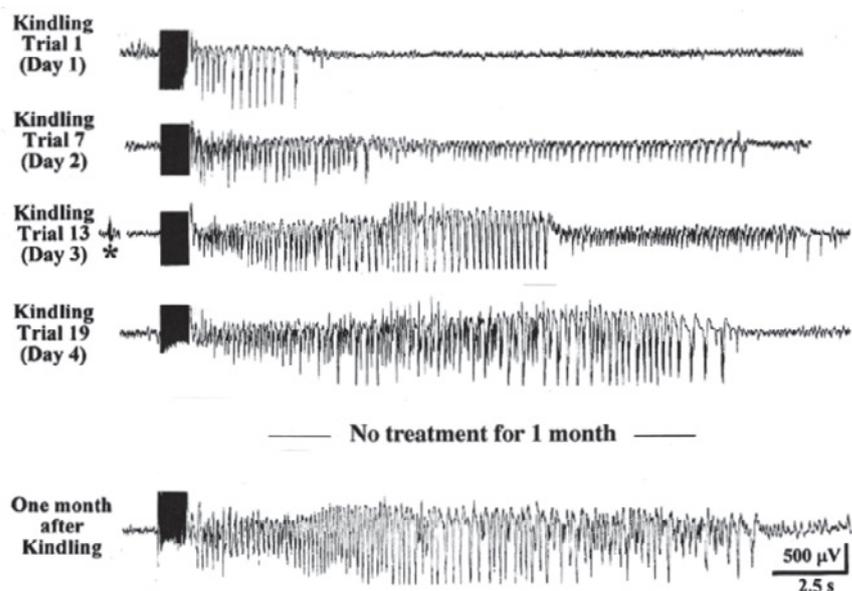


図2 カイニン酸による発作重積後のラット海馬歯状回における発作脳波出現率 (n=9, mean±SD) の変化を示す。縦軸は発作発生頻度 (回数/時間) を、また “1st ML” は初発の運動発作を示す。図中の実曲線はボルツマン・シグモイド曲線を示し、点線はその最大半値 (half-maximum point) を示す。Stage 2 は発作脳波出現率が徐々に増加する期間を、Stage 3 は発作脳波出現率が指数関数的に上昇する期間を示す。文献2 (Williams, P.A. [2009]) より引用改変。

A



B

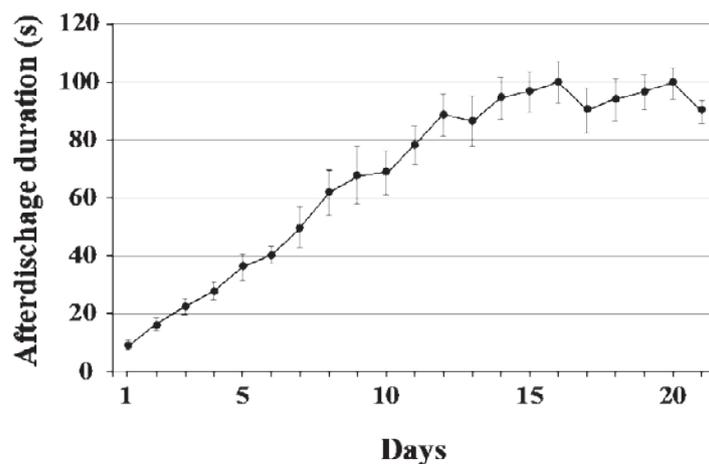


図3 キンドリングによる発作持続時間の延長

A: 1日2時間おきに6回、扁桃核に50 Hz, 1秒間の電気刺激を与えて発作脳波(後発射)を誘発した扁桃核キンドリングの一例である。この刺激手続きを数日おきに4日間(kindling Day 1~4), 計24回のキンドリング試行を行い、一旦1カ月間の休止のあと再び同一刺激強度でキンドリング刺激を与えた(最下段の脳波トレース)。詳細は本文参照。

B: 標準的なキンドリング手続きによる発作脳波持続時間の延長効果を示す。1日1回、ラット扁桃核の電気刺激(50 Hz, 2 s)により発作脳波(afterdischarge)を誘発し、この手続きを3週間続けた扁桃核キンドリングにおける発作持続時間(n=10, mean±SE)の変化である。

キンドリング現象の一例を紹介したい。

ラットを被験体に、2時間おきに1日6回扁桃核電気刺激により発作脳波を誘発し、この操作を数日隔き

に4日間(計24試行)続けた(図3A)。初回のキンドリング刺激では、持続時間4秒ほどの発作脳波が誘発され、ラットは無反応か周りをキョロキョロ見回す

ような行動を見せるだけであった。このような発作脳波の誘発を繰り返すと、発作脳波内のスパイク頻度は増加して発作持続時間も有意に延長した。これに伴い、ラットは顔面のれん縮から両側前肢の間代性けいれんを示すようになり、さらに全身の激しい両側間代性けいれんが誘発されるようになった。この段階でキンドリング手続きを終了しても、一旦獲得されたてんかん原性は消失することなく、ほぼ一生保持される。図3Aの例では、24回の発作誘発でキンドリング手続きを一旦停止し、1カ月後に再び同じ強度で扁桃核を刺激したところ、激しい発作脳波と全身けいれんが誘発され、ラットは発作重積状態に陥った。図3Bには、1日1回の発作誘発を21日間続ける標準扁桃核キンドリングの一例を示してある。このようなキンドリング現象はラットに限らず両生類からヒトにいたる様々な種で確認されており、発作の誘発方法も電気刺激だけではなく低濃度のけいれん誘発剤など発作を繰り返し誘発できる刺激ならばどのような方法によってもキンドリングてんかんモデルは成立する。

(2) キンドリングてんかんモデルで明らかになったこと

キンドリングてんかんモデルを用いた研究により、次の3つの重要な事実が明らかになった。すなわち、①てんかん原性の獲得には脳損傷は必要ない、②てんかん原性の獲得には発作の誘発を繰り返す必要がある、③てんかん原性の獲得には最初期遺伝子の発現とそれに続くタンパク合成が必須である、という3つである。これらのてんかん原性獲得の特徴について詳しく見てみたい。

1) てんかん原性の獲得には脳の損傷 (Brain insults) が必要か

Brandtら⁷は、扁桃核の延長キンドリング (extended kindling : 1日2回, 平均100日間) をおこない、22匹中11匹のラットで自発的な全般けいれん発作の発生を認めた。しかし、これらの自発発作が認められた動物の広範な脳領域 (扁桃核諸核, 海馬アンモン角と歯状回, 梨状葉皮質, 視床諸核, 黒質網様部など) に細胞脱落や神経変性などの病理学的変化は全く認められなかった。このBrandtらの結果は、てんかん原性の獲得に脳組織の損傷は必須でないことを明確に示している。

2) てんかん原性の獲得における発作の役割

キンドリング現象において発作の誘発は必須の条件なのであるか。または、発作誘発閾値以下の高頻度電気刺激を与えるといわゆる長期シナプス増強

(LTP) が誘発されるが、これを繰り返してもキンドリング現象は起こるのだろうか。Sutulaら⁸は、毎日1回、20日間にわたり、発作誘発閾値以下の高頻度電気刺激を貫通路 (perforant path fibers) に与えるだけで、キンドリング現象が起こるか否かを検討した。その結果、この高頻度電気刺激を20日間繰り返しても発作の誘発に至らず、キンドリング現象は起こらないことが明らかとなった。この結果は、てんかん原性の獲得には、脳組織に過剰興奮を繰り返し誘発するだけでは不十分で、発作の反復誘発が必要であることを示しており、“SBS” 仮説を支持するものである。

3) てんかん原性の獲得におけるタンパク合成の役割

発作の誘発を繰り返しても、発作誘発の5分後に電撃けいれん (ECS) を与えると、発作によるタンパク合成が阻害されてキンドリング現象は起こらなかった⁹。また、タンパク合成を阻害する anisomycin などの抗生物質を投与して発作の誘発を繰り返してもキンドリング現象は起こらなかったと報告されている^{10,11}。

さらに、キンドリングてんかんモデルや発作重積後てんかんモデルでは、発作発生の直後に最初期遺伝子 (immediate early genes : IEGs) の1つである *c-fos* の発現が認められる¹²⁻¹⁴。 *c-fos* ホモ変異体マウスは、野性型マウスや *c-fos* ヘテロ変異体マウスと比較して、キンドリング進展の初期過程が有意に阻害された¹⁵。これらの結果は、 *c-fos* 最初期遺伝子に続くタンパク合成系がてんかん原性の獲得に重要な役割を果たしていることを示している。

また、キンドリングてんかんモデルの海馬において、最初期遺伝子の1つである BDNF (brain derived neurotrophic factor) または NT-3 とそれらの受容体である TrkB (tropomyosin receptor kinase-B) の発現が見られることから、Heら¹⁶は BDNF 遺伝子欠損 (BDNF^{-/-}) マウスと TrkB 遺伝子欠損 (TrkB^{-/-}) マウスを用いて、てんかん原性獲得における BDNF (NT-3)-TrkB シグナル伝達系の役割を検討した。実験結果は彼らの予想に反して、BDNF^{-/-} マウス群では扁桃核キンドリングの進展がわずかに抑制されただけであった。しかし、TrkB^{-/-} マウス群では身体的発作の進展が全く見られず、発作脳波の持続時間がわずかに延長するという強いキンドリング阻害効果が認められた¹⁶。その原因の1つは GABA_A シナプス抑制に対する BDNF-TrkB シグナル伝達系の作用で、てんかん原性獲得の重要な要因であろうと考えられている。GABA_A シナプス伝達は、シナプス後細胞内の Cl⁻ 濃度が高い状態では GABA_A チャネルが開くと Cl⁻ の細胞外流出によって興奮性となり、Cl⁻ 濃度が低いときには

Cl⁻の細胞内流入によって抑制性となる。胎児のニューロンではNa-K-Cl共輸送体であるNKCC1により細胞内Cl⁻濃度が高い状態にあるためGABA_Aシナプス伝達は興奮性として働き、成体になるとNKCC1の低下と共にCl⁻を細胞外に排出するK-Cl共輸送体KCC2が増加してGABA_Aシナプス伝達は抑制性となる。キンドリング発作によりBDNF-TrkBシグナル伝達系が賦活されると、KCC2の発現が著しく抑制されることが明らかとなった¹⁷。KCC2の発現が低下してもニューロン群の興奮性が低い発作間欠期ではGABA_Aシナプス伝達は抑制性として働き、興奮性が高まってくるとGABA_Aシナプス伝達は逆転して興奮性となる。キンドリングてんかんモデルやカイニン酸発作重積後てんかんモデルの海馬歯状回では、発作間欠期において、顆粒細胞のGABA_A受容体数の増加¹⁸とmossy fiber sproutingによるGABA_A反回性シナプス回路の形成¹⁹によってGABA_Aシナプス抑制力は強く増強されている²⁰。しかし、興奮性ニューロン群の興奮性が高まって細胞内Cl⁻濃度が高くなると、減少したKCC2量ではCl⁻の細胞外排出が滞り、GABA_Aシナプス伝達は興奮性となる。このとき、GABA_A抑制増強の担い手であったGABA_A受容体数の増加とGABA_A反回性シナプス抑制は逆転し、GABA_A性興奮を促進して激しい発作活動を引き起こす。

3. てんかん原性を理解するには

このようにてんかん原性の獲得には、発作による最初期遺伝子の発現と様々なシグナル伝達系の賦活が必須であることから、かなりの数の異常神経可塑性が誘発されているものと考えられる。注目すべきは、同じ手続きで作成した扁桃核キンドリングてんかんラットでも、扁桃核キンドリングで引き起こされるとされるNa⁺チャネル発現の変化やGABA_Aシナプス伝達の変化、mossy fiber sproutingの発生、BBBの障害などがすべてのラットで認められるわけではないということである。これはてんかん患者でもいえることで、その摘除脳組織にmossy fiber sproutingが認められる者もいれば、全く異常が認められない者もいる。また、著しいGABA_A性興奮が認められる例もあればGABA_Aシナプス伝達が正常な場合も多い。てんかんモデルやてんかん症候群の種類によってその大多数に見られる異常神経可塑性の特徴はあるものの、このてんかんには必ずこの異常神経可塑性が認められて、この異常が認められればてんかん原性は必ず形成されるというような決定的なてんかん原性要因はこれまで認められていない。どのような異常神経可塑性が起こさ

れうるかは発作が発生する瞬間の脳組織の状態（初期値）に依存している。この初期値のわずかな差が多くのシグナル伝達系を経る中でてんかん原性の特性に大きな差を生む。さらに、上述したように異常神経可塑性の組み合わせが相互作用を起こして時に過剰興奮を強めたり、逆に興奮性を抑制するなど、異常神経可塑性それぞれの機能は時々刻々、状況依存的に変化する。これは研究や検査の精度の問題ではなく、てんかん原性の根本的な特性である。脳機能が典型的な複雑系であることを考えれば、当然の姿なのかもしれない。著者の恩師Goddard教授は「解はユニークである」、「単純で美しい最終解が1つあるはずだ」と常にわれわれを励ましてくれた。しかし、脳機能は決定論的な解を与えてくれる現象ではない可能性が高くなってきた。むしろ、てんかん原性の獲得過程とその動態を理解するには、新しい確率論的解釈を必要としているのかも知れない。

Conflict of Interest : 開示すべき利益相反はなし。

文 献

1. Annegers JF, Hauser WA, Coan SP, Rocca WA: A population-based study of seizures after traumatic brain injuries. *N Engl J Med* 1998; 338: 20-24.
2. Williams PA, White AM, Clark S, et al.: Development of spontaneous recurrent seizures after kainate-induced status epilepticus. *J Neurosci* 2009; 29: 2103-2112.
3. Goddard GV: Development of epileptic seizures through brain stimulation at low intensity. *Nature* 1967; 214: 1020-1021.
4. Goddard GV, McIntyre DC, Leech CK: A permanent change in brain function resulting from daily electrical stimulation. *Exp Neurol* 1969; 25: 295-330.
5. 丸 栄一: キンドリングてんかんモデルの神経機構. *日医大誌* 1991; 58: 4-10.
6. Morimoto K, Fahnestock M, Racine RJ: Kindling and status epilepticus models of epilepsy: rewiring the brain. *Prog Neurobiol* 2004; 73: 1-60.
7. Brandt C, Ebert U, Löscher W: Epilepsy induced by extended amygdala-kindling in rats: lack of clear association between development of spontaneous seizures. *Epi Res* 2004; 62: 135-156.
8. Sutula T, Steward O: Facilitation of kindling by prior induction of long-term potentiation in the perforant path. *Brain Res* 1987; 420: 109-117.
9. Tsuru N, Ninomiya H, Fukuoka H, Nakahara D: Alterations of amygdaloid kindling phenomenon following repeated electroconvulsive shocks in rats. *Folia Psychiatr Neurol* 1981; 35: 167-174.
10. Jonec V, Wasterlain CG: Effect of inhibitors of protein synthesis on the development of kindled seizures in rats. *Exp Neurol* 1979; 66: 524-532.
11. Cain DP, Corcoran ME, Staines WA: Effects of protein synthesis inhibition on kindling in the mouse. *Exp Neurol* 1980; 68: 409-419.

12. Dragunow M, Robertson HA: Kindling stimulation induced c-fos protein(s) in granule cells of the rat dentate gyrus. *Nature* 1987; 329: 441-442.
13. Shin C, McNamara JO, Morgan JL, Curran T, Cohen DR: Induction of c-fos mRNA expression by afterdischarge in the hippocampus of naive and kindled rats. *J Neurochem* 1990; 55: 1050-1055.
14. Barone P, Morell M, Cicarelli G, et al.: Expression of c-fos protein in the experimental epilepsy induced by pilocarpine. *Synapse* 1993; 14: 1-9.
15. Watanabe Y, Johnson RS, Butler LS, et al.: Null mutation of c-fos impairs structural and functional plasticities in the kindling model of epilepsy. *J Neurosci* 1996; 16: 3827-3836.
16. He XP, Kotloski R, Nef S, Luikart BW, Parada LF, McNamara JO: Conditional deletion of TrkB but not BDNF prevents epileptogenesis in the kindling model. *Neuron* 2004; 43: 31-42.
17. Rivera C, Li H, Thomas-Crusells J, et al.: BDNF-induced TrkB activation down-regulates the K⁺-Cl⁻ cotransporter KCC2 and impairs neuronal Cl⁻ extrusion. *J Cell Biol* 2002; 159: 747-752.
18. Nusse Z, HaJos N, Somogyi P, Istvan Mody: Increased number of synaptic GABA_A receptors underlies potentiation at hippocampal inhibitory synapses. *Nature* 1998; 395: 172-177.
19. Otsu Y, Maru E, Ohata H, Takashima I, Kajiwara R, Iijima T: Optical recording study of granule cell activities in the hippocampal dentate gyrus of kainate-treated rats. *J Neurophysiol* 2000; 83: 2421-2430.
20. Maru E, Goddard GV: Alteration in dentate neuronal activities associated with perforant path kindling. III. Enhancement of synaptic inhibition. *Exp Neurol* 1987; 96: 46-60.

(受付：2022年9月28日)

(受理：2022年10月11日)

日本医科大学医学会雑誌は、本論文に対して、クリエイティブ・コモンズ表示 4.0 国際 (CC BY NC ND) ライセンス (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>) を採用した。ライセンス採用後も、すべての論文の著作権については、日本医科大学医学会が保持するものとする。ライセンスが付与された論文については、非営利目的で、元の論文のクレジットを表示することを条件に、すべての者が、ダウンロード、二次使用、複製、再印刷、頒布を行うことができる。