

深部前梨状葉皮質の間欠的電気刺激による てんかん発作重積モデル

小山 文彦

香川労災病院 メンタルヘルス科,
岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 精神神経病態学
(指導: 黒田重利教授)

An animal model of status epilepticus induced by massed electrical stimulations to the deep prepiriform cortex

Fumihiko Koyama

Department of Mental Health, Kagawa Rosai Hospital, Kagawa 763-0013, Japan,
Department of Neuropsychiatry, Okayama University Graduate School of Medicine,
Dentistry and Pharmaceutical Science, Okayama 700-8558, Japan
(Director: Prof. S. Kuroda)

Hippocampal damage induced by status epilepticus (SE) has been suggested as the developmental pathway of temporal lobe epilepsy. We developed an experimental model of SE induced by massed electrical stimulations into the deep prepiriform cortex. Stimulations under aminophylline pretreatment more effectively induced SE than those in the absence of aminophylline. Most SE episodes included secondary generalized seizures. Cresyl violet staining indicated neuronal degeneration in CA1 and CA3, 1-2 weeks after the SE. Mild neuronal loss was observed 8 weeks after the SE, although there were no obvious histological changes in the hilus. Immunoreactivity for GluR1, a subunit of the AMPA receptors, was reduced in CA3 and the hilus starting 1 week after SE, indicating a discrepancy between the distributions of neuronal damage and the GluR1 decrement. The present model serves as a useful model of SE. Further improvement of this method will make it an effective tool for understanding the developmental process of temporal lobe epilepsy.

キーワード: けいれん発作重積 (status epilepticus), 深部前梨状葉皮質 (deep prepiriform cortex),
反復電気刺激 (massed electrical stimulations), AMPA 型受容体 (AMPA receptors), ラット (rat)

緒 言

側頭葉てんかんの成因機序の一つとして、熱性けいれん等の発作重積エピソードが契機となり、いわゆる“silent period”の後、海馬細胞脱落などの組織変化とともに内側側頭葉に新たな慢性てんかん原性が形成されるという仮説が有力である。これを模倣する発作重積動物モデルには、カイニン酸やピロカルピンなどの薬物や、電気刺激によるものがある¹⁻⁵⁾。このうち薬物によるモデルは、発作重積を容易に惹起できるという利点があるものの、薬物そのものの神経毒性による脳障害が起こること、重積中の個体の死

亡が多いことなどの問題がある。このため辺縁系に電気刺激を加えることによる重積モデルも近年よく用いられているが、これらは非常に長時間にわたる連続的な電気刺激を必要とする⁶⁻⁸⁾。

深部前梨状葉皮質 (deep prepiriform cortex, DPC) は辺縁系前方にある部位で、キンドリングや薬物誘発けいれんによる研究から、けいれん準備性がきわめて高く、またこの部位のてんかん性活動は容易に全般化することが知られている⁹⁾。以前我々は、この DPC に、連続電気刺激よりも侵襲の少ない間欠的電気刺激を与え、発作重積を起こすモデルを報告した¹⁰⁾。このモデルでは重積後に海馬に細胞脱落がみられることが示されたが、刺激による発作重積の発生率が低いという問題があった。

神経伝達物質としての adenosine は内因性の抗けいれん物質であるといわれ、adenosine 受容体、特にそのサブクラスである A₁ 受容体の活性化はてんかん発作の終焉機

平成18年10月2日受理
〒763-0013 香川県丸亀市城東町3-3-1
香川労災病院
電話: 0877-23-3111 FAX: 0877-24-1147
E-mail: koyamafy@kagawaH.rofuku.go.jp

序を促進する¹¹⁻¹³⁾。逆に A 1 受容体の拮抗薬は、様々な実験モデルにおいててんかん発作を延長、増悪させることが知られている^{12,14-16)}。A 1 受容体の拮抗薬である aminophylline は発作を延長させる作用を持つ^{14,15)}が、今回我々はこの aminophylline を前投与したラットに DPC への間欠的電気刺激を加え、重積発生率の低さを補うモデルの作成を試みた。本研究では、この方法による発作重積の発生の観察に加え、重積後の長期的な海馬細胞脱落について検討を行った。また発作重積後の海馬ではグルタミン酸受容体のサブユニットの量的変化が、海馬てんかん原性獲得過程に関与することが注目されており、特に最近 GluR 1 免疫反応性などが海馬で著明に低下することが報告されている¹⁷⁾。この低下の理由が細胞脱落によるものか、あるいは薬物による直接の効果なのかは明らかでないが、本研究では免疫組織染色を用いてこれらの受容体の免疫反応性の変化についても検討を加えた。

対象と方法

1. 発作重積モデルの作成

雄性 Sprague-Dawley 系ラット 31 匹 (体重 280~340 g) を用いた。ラットの扱いにおいては岡山大学動物実験倫理規定に従った。ラットは 12 時間/12 時間の明暗サイクルにおいて、設備の整った動物実験施設で飼育され、食物と水を自由に摂取できるようにした。Pentobarbital (50mg/kg, i.p.) 麻酔下に、刺激及び記録用の絶縁ニクロム電極を左側 DPC (bregma より 4.0mm 前方 3.5mm 側方、硬膜より 7.0mm の深さ)、左側腹側海馬 (bregma より 4.8mm 後方 5.2mm 側方、硬膜より 5.3mm の深さ) に脳定位的に挿入し、慢性深部電極とした。深部電極は直径 0.18mm のニクロム鋼線 3 本により作成した。また右前頭骨に不関電極を装着した。電極挿入後一週間の回復期をおいた。30mg/kg の aminophylline (Sigma-Aldrich) を腹腔内投与し、30 分後より後発射誘発閾値、20Hz、20 秒間の双極矩形波の電気刺激を 1 分間隔で加え、脳波・行動を観察した。刺激強度は実験開始前に、100 μ A から開始し、脳波上後発射が認められるまで 50 μ A ずつ段階的に強度を上げて決定した。発作段階の評価は Racine の分類¹⁸⁾に従い、[0, 反応なしまたは無動; 1, chewing, facial twitching; 2, head nodding; 3, 一側の前肢 clonus; 4, 両側前肢 clonus および rearing; 5, rearing and falling] の 5 段階で評価した。刺激は最大 100 回とし、それ以前に持続が 1 分を超える自己維持性後発射 (発作活動) が 10 回連続すれば重積完成として、刺激を中止した。また、重積後の自発発作の有無を確認するため、刺激終了の 1, 3, 6, 24 時間後にも脳波、行動を観察した。なお 7 匹については aminophylline 前投与を行わず、

間欠的電気刺激を与えて、重積の発生の有無を観察した。また非刺激対照群 4 匹は深部電極挿入を行って、一週間の回復期の後 30mg/kg の aminophylline を腹腔内投与し、電気刺激を加えずに脳波、行動を観察した。

2. 免疫組織化学

発作重積を起こしたラット (N=17) を 3 群に分け、重積後 1, 2, 8 週間後に pentobarbital 深麻酔下に 4% paraformaldehyde, 0.1% glutaraldehyde 混合溶液にて経心臓的に環流固定した。脳を取り出し、4℃においた後、ショ糖加リン酸緩衝液中に保存した。クライオスタットにて 20 μ m 厚の脳水平断凍結切片を作成した。この切片を用い cresyl violet 染色および免疫染色を行った。免疫染色は浮遊法を用いた ABC 法に準拠し、4℃の冷温室内で振盪器上にて実施した。まず 0.03% 過酸化水素を含むショ糖加リン酸緩衝液中に 30 分間浮遊させ、内因性ペルオキシダーゼを除去後、一次抗体 (抗 GluR 1 抗体, 抗 GluR 2/3 抗体; 1:100 希釈, ウサギ血清, Chemicon AB1504, 1506) を含むショ糖加リン酸緩衝液中に 7 日間保存した。その後二次抗体である biotin 化抗家兎 IgG 山羊抗体 (1:100 希釈, Chemicon) を含むショ糖加リン酸緩衝液中に 2 時間保存した。ABC キット (Vectastain; ABC Elite kit) を用い、avidin・biotin 化 HRP 複合体を作成し、ABC 溶液中に 2 時間保存した。各行程の間はショ糖加リン酸緩衝液にて切片の洗浄を実施する。最終的な発色には 3,3'-diaminobenzidine 4HCl 20mg, nickelammonium 40mg を含む 0.05M トリス緩衝液 100ml に 30% 過酸化水素水 7 μ l 加えた発色反応液内に浮遊させ発色を確認しながら反応時間を個別に決定していった。発色後再度洗浄し、スライドガラスに貼り付け、顕微鏡下で観察を行った。非刺激対照群においても、aminophylline 投与 8 週後に上記と同じ処理を行った。

結 果

1. 電極の確認

Cresyl violet 染色標本において、電極先端がいずれも DPC, 海馬の意図した範囲内にあることを確認した (図 1)。

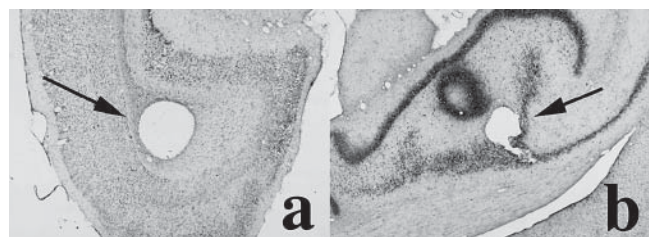


図 1 電極先端確認用 cresyl violet 染色
a. 深部前梨状葉皮質, b. 海馬 CA1. 全例において上記の位置に電極が挿入されていることを確認した。

2. 発作重積

Aminophylline を前投与した刺激群（N=20）全例において刺激中、平均35.3回の刺激で1分以上の自己維持性発作活動が出現するようになった。このうち20例中17例において1分以上の自己維持性発作活動が10回連続して出現し、重積に至った（図2）。この重積発生率（85%）は、aminophylline 非投与群での重積発生率（43%）よりも有意に高かった（ $p=0.049$, Fisher の直接法検定, 表1）。刺激の早期から刺激部位の DPC のみならず同側の海馬にも後発射が出現していた。後発射は刺激終了後にも自己維持性に持続した（図2）。刺激中、最初に現れた発作症状は wet dog shaking, 跳躍, 遁走, 易刺激性などで、その後比較的早期から facial twitching, head nodding などの部分発作重積状態を示した。最終的に20匹中19匹のラットが、Racine の分類で stage 4 以上の二次性全般化発作を示し、20例の最大発作段階の平均は4.1 [3~5] であった。一部のラットでは刺激終了24時間後に至るまで跳躍, 易刺激性などの行動異常を示し、カイニン酸などによる重積動物と同様であった。脳波上、刺激終了1時間後の時点では重積は停止していたが、6時間後に15匹で、また24時間後にも

表1 Aminophylline 前投与を行った群（投与群）と行わなかった群（非投与群）の発作重積発生個体数

重積発生	(+)	(-)	計
投与群	17	3	20
非投与群	3	4	7

$p=0.049$ (Fisher の直接法検定)

10匹で、短い発作波様の自発性てんかん性活動が観察された。脳波上の重積後てんかん性活動には海馬優位に発生しているものも認められた（図2）。一方、非刺激対照群には明らかな脳波、行動上の変化は認めなかった。

3. 海馬細胞障害

Cresyl violet 染色では非刺激群と比較して刺激1週間後より海馬 CA1, CA3 領域において錐体細胞層の核の濃染像, 2週間後より軽度細胞脱落が認められた（図3）。8週間後には CA1, CA3 領域において錐体細胞層の萎縮を認めた（図4）。海馬全体の萎縮は刺激8週間後も明らかでなかった。歯状回門部の明らかな細胞脱落は刺激後8週に至るまで認められなかった（図5）。非刺激対照群では明らかな細胞障害は認められなかった。

4. 免疫組織化学

AMPA 型受容体は、刺激1週間後から CA3 領域、歯状回門部内側で GluR1 の免疫反応性の低下を認め、2週間後以後で明確となった。この所見は全てのラットで8週間後まで継続していたが、CA1 では GluR1 の染色性に明確な変化は認められなかった（図3）。CA3 での低下は、strata radiatum（放射状層）, strata oriens（上行層）に、より明らかであった（図4）。このように、CA1, 歯状回門部の各領域で、細胞脱落と GluR1 免疫反応性低下の有無に解離がみられた（図5）。GluR2/3 については刺激2週目に歯状回門部で免疫反応性が低下した動物がみられたが、8週間後には低下したものはなかった（図5）。歯状回門部以外の領域では重積後8週に至るまで明らかな変化は認められなかった。

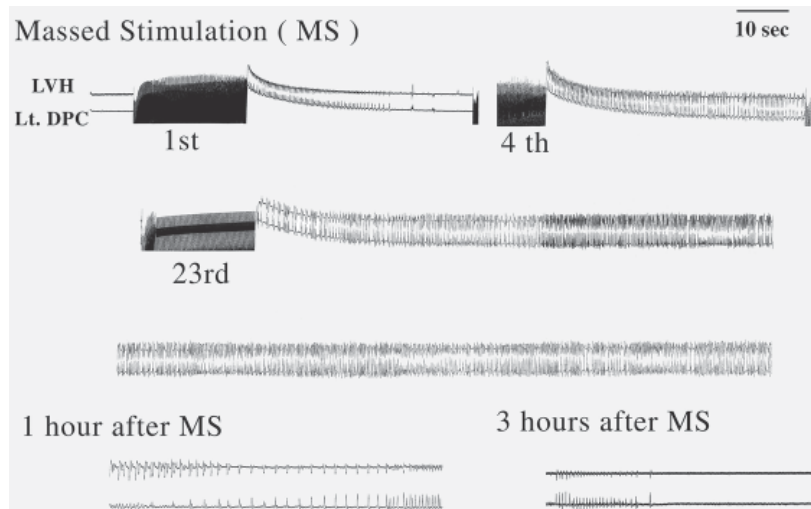


図2 重積刺激中の深部脳波の一例

各上段：左海馬, 下段, 左深部前梨状皮質 (DPC) より導出。23回目の刺激にて重積状態となり、1時間後には海馬, DPC の両方（海馬先行）に、3時間後には DPC に短い発作波様てんかん性活動の出現を認める。

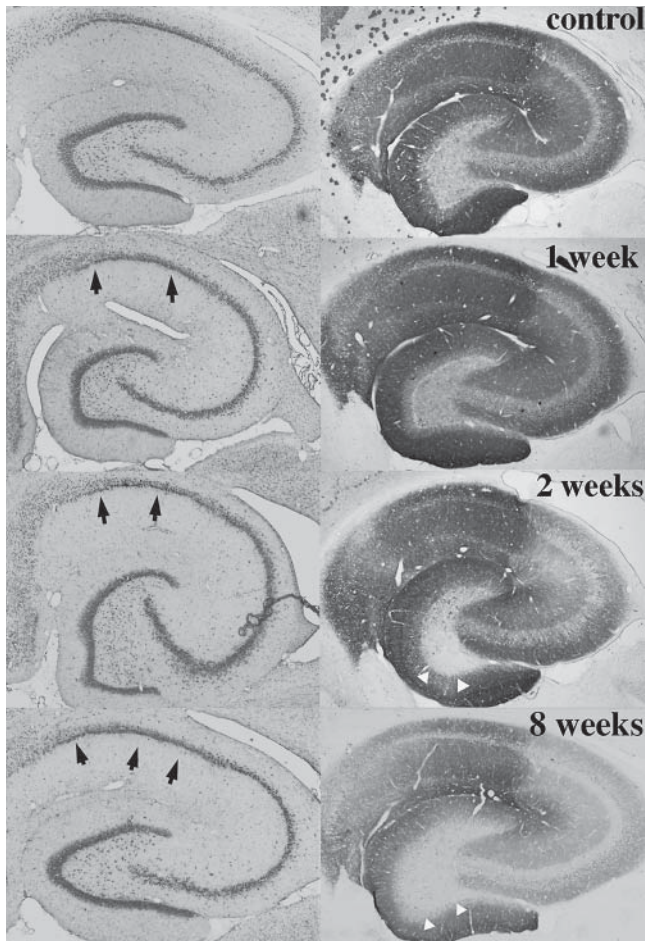


図3 右海馬弱拡大写真

左列：cresyl violet 染色，右列：GluR1 免疫染色．各列上から非刺激ラット，重積完成1週間後，重積完成2週間後，重積完成8週間後．Cresyl violet 染色では，重積完成1週間後よりすでに海馬 CA1 および CA3 領域での核の濃染像が確認され，時間経過とともに錐体細胞層の萎縮が進行した（矢印）．GluR1 免疫染色では1週間後より海馬 CA3，海馬門部内側での免疫反応性低下が認められた．この部位の変化は8週間後まで持続していた．

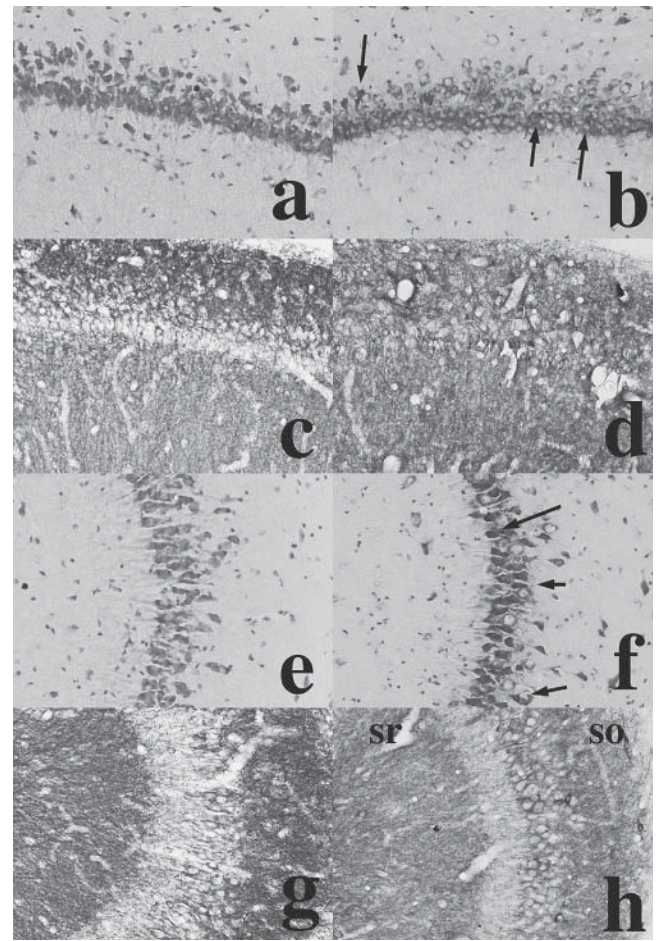


図4 右海馬錐体細胞層強拡大写真

a, b : cresyl violet 染色 CA1 領域，c, d : GluR1 免疫染色 CA1 領域，e, f : cresyl violet 染色 CA3 領域，g, h : GluR1 免疫染色 CA3 領域．左列：非刺激対照ラット，右列：重積完成8週間後．Cresyl violet 染色では CA1 領域，CA3 領域で核の濃染像および細胞脱落が認められる（矢印）．GluR1 免疫反応性は CA3 領域において，strata radiatum (sr) および strata oriens (so) を中心に低下している．

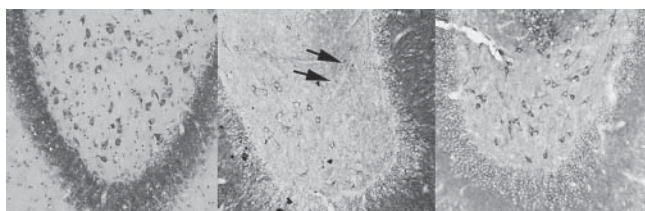


図5 右海馬門部強拡大写真重積完成8週間後

左：cresyl violet 染色，中：GluR1 免疫染色，右：GluR2/3 免疫染色．海馬門部は cresyl violet 染色では明らかな細胞脱落は認めない．GluR1 免疫染色では海馬門部内側に免疫反応性の低下を認める（矢印）が，GluR2/3 免疫染色では染色性の低下は認めない．

考 察

側頭葉てんかんの形成過程を再現するための発作重積モデルとしては，これまで各種の電気刺激や薬物によるモデルが報告されている．これらのモデルの中ではカイニン酸やピロカルピンなどの薬物によるモデルがしばしば用いられるが，これら薬物の有する毒性のため非常に広範囲な脳障害を起こすことと，発作制御が困難で発作死が多いことなどの欠点がある．一方，薬物を用いない電気刺激モデルでは，重積に至るためには高い強度で，30分から24時間におよぶ連続刺激を要するものが多く，動物に与える侵襲の

大きさや、長時間刺激による非特異的な組織障害の可能性が残る。これらの欠点を回避するためには、間欠的反復電気刺激を用いる方法がある^{20,21)}。以前当研究室では DPC⁹⁾に間欠的電気刺激を与える重積モデルを作成したが¹⁰⁾、この方法ではいわゆる adaptation²²⁾が起こりやすく、重積の発生率が低いという欠点があった。そこで本実験では、前処置として aminophylline 前投与を併用した。Aminophylline は adenosine A1 受容体の遮断により、発作の持続を遷延させる作用をもつもので^{14,15)}、adaptation を抑制し重積を起こしやすくするために適していると予想された。

実際今回の方法では、85%という高い重積発生率が示された。また1例を除いた全てのラットで二次性全般化が出現し、DPC から広汎な脳部位へてんかん性活動が伝播していたと考えられる。このように aminophylline によって、間欠的電気刺激による adaptation が抑制され、その結果効率的に全般化した発作重積が誘発されたと考えられる。また本モデルでは、より低頻度 (20Hz) の刺激を低い強度 (後発射誘発閾値) で、間欠的に (1 分間に20秒間) 用いており、他の電気刺激モデル (50~60Hz, 30分ないし24時間など)⁶⁻⁸⁾と比較して、侵襲や非特異的な影響を小さくできる可能性がある。また今回使用した用量の aminophylline は、非刺激対照群において発作誘発、組織障害のいずれも誘発せず、それ自体では有意な作用を示さなかった。このような特徴を持つ aminophylline を前投与することは、重積発生率の低い間欠的電気刺激モデルを改良する方法として好適と考えられる。

発作重積後の組織学的検討では、CA1 と CA3 領域において細胞変性や脱落が認められた。辺縁系の中では海馬から比較的遠隔の DPC を刺激したにもかかわらず、海馬に細胞障害が認められたことは側頭葉てんかんの成立機序を考える上で興味深い。DPC を刺激中、比較的早い時期から wet dog shaking のような海馬の過活動を示唆する所見がみられたこと、脳波上の後発射が早期から海馬にも出現していたこと、重積終了後に海馬優位のてんかん性活動もみられたことなどから、かなり早い時期から海馬にてんかん原性の転移が起こり、長期的に海馬細胞障害を呈するにつながったと考えられる。動物の重積モデルにおける CA1, CA3 の細胞脱落の分布は、使用するモデルや動物種によって異なることが知られている⁵⁾。本モデルでは CA1, CA3 でより障害が強く、一方で歯状回門部の細胞脱落が認められないという分布が特徴的であった。歯状回門部の細胞脱落は、ヒト側頭葉てんかんの海馬や他の重積モデルで高頻度にみられるものであり、海馬自体の萎縮も明らかでなかったことも考え併せると、本モデルの組織変化は充分では

ないかもしれない。一般に電気刺激モデルでは、強い海馬細胞脱落や遅発性の自発発作が出現するためには、少なくとも90分以上の重積発作の持続が必要という見解もある²²⁾。今回の実験では重積の総持続時間は計測していないが、この点では十分な持続時間でなかった可能性もある。今後の研究で、持続時間をより長く設定して海馬障害を観察する必要があるだろう。

興奮性アミノ酸、とくに AMPA 受容体がてんかん原性獲得過程において重要な役割をもつことを当研究室でも報告してきた²³⁻²⁵⁾。重積後の AMPA 受容体の変化についても様々な報告があるが、その結果は一定していない^{3,26,27)}。最近、Tang¹⁷⁾らによるマウスの pilocarpine モデルで重積後7~60日に至るまで、GluR1 と GluR2/3 が CA1, CA3, 歯状回門部で著しく減少することが報告され、本研究の結果の一部はこれを支持する。Tang らは GluR の減少の理由の一つとして細胞脱落の影響を挙げている。しかし本研究においては、GluR1 著減のみられた歯状回門部では細胞脱落は強くはなく、単に細胞脱落が GluR1 減少の直接の理由ではない可能性を示している。Pilocarpine モデルにおける GluR1 の著明な減少も、単に細胞脱落が理由ではなく、重積後の海馬において細胞脱落に至るプロセスの一つとして起こっているという考え方もできる。いずれにしても、GluR1 の海馬における減少は、薬物モデルと電気刺激モデルの違いにかかわらず、重積後の海馬に共通した事象であることが明らかとなった。

GluR2/3 については、重積後8週目には有意な変化がみられなかった。重積後の GluR1 と GluR2/3 の変化は併行して起こるものではなく、たとえば重積後早期では GluR1 mRNA の減少があるものの、GluR2 には変化がないという²⁶⁾。また上述の pilocarpine モデルでも、GluR2/3 は当初著減するが、60日後に再度増加に転じる¹⁷⁾など、このサブユニットの動きは複雑で、またモデルによっても結果が異なっている。本モデルと pilocarpine モデルの結果を比較すると、GluR1 と GluR2/3 両者が著明に減少することが、強い細胞脱落を起こすために必要であるという可能性もある。なお今回の免疫組織化学では視察による定性評価のみであったため、今後はより定量的な研究を行い、また他の興奮性アミノ酸サブタイプについても検討を加える必要がある。

最後に、今後は本モデルの簡便さと効率の良さという利点を生かし、さらに側頭葉てんかんをよりよく模倣するモデルにするべく改良したいと考える。そのためには発作重積をより長くすること、他の刺激部位を試みることも、また重積後さらに長期的な観察を行い、自発発作の有無を検討することなどの研究方向が考えられる。

結 論

本研究では, aminophylline を前投与したラットにおいて DPC への間欠的電気刺激を加え, 効率的に発作重積を惹起することが可能となった. 発作重積は二次性全般化発作を高率に含むものであった. 重積後 8 週までの観察で, 海馬での細胞脱落, GluR 1 免疫反応性の減少が認められたが, その分布には解離がみられた. ヒトの側頭葉てんかんを模倣するモデルとするために今後さらに改良を加える予定である.

謝 辞

稿を終えるに当たり, 御指導と御高閲を賜った岡山大学大学院医歯薬学総合研究科精神神経病態学教室の黒田重利教授, また直接の実験の御指導を頂いた山田了士講師, 北村吉宏博士に深謝いたします.

文 献

- 1) Leite JP, Garcia-Cairasco N and Cavalheiro EA : New insights from the use of pilocarpine and kainate models. *Epilepsy Res* (2002) **50**, 93-103.
- 2) Löscher W : Animal models of epilepsy for the development of antiepileptogenic and disease-modifying drugs. A comparison of the pharmacology of kindling and post-status epilepticus models of temporal lobe epilepsy. *Epilepsy Res* (2002) **50**, 105-123.
- 3) Mathern GW, Pretorius JK, Leite JP, Kornblum HI, Mendez D, Lozada A and Bertram III EH : Hippocampal AMPA and NMDA mRNA levels and subunit immunoreactivity in human temporal lobe epilepsy patients and a rodent model of chronic mesial limbic epilepsy. *Epilepsy Res* (1998) **32**, 154-171.
- 4) Morimoto K, Fahnstock M and Racine RJ : Kindling and status epilepticus models of epilepsy : rewiring the brain. *Prog Neurobiol* (2004) **73**, 1-60.
- 5) Sloviter RS : The neurobiology of temporal lobe epilepsy : too much information, not enough knowledge. *CR Biology* (2005) **328**, 143-153.
- 6) Sloviter RS : "Epileptic" brain damage in rats induced by sustained electrical stimulation of the perforant path. I. Acute electrophysiological and light microscopic studies. *Brain Res Bull* (1983) **10**, 675-697.
- 7) Nissinen J, Halonen T, Koivisto E and Pitkänen A : A new model of chronic temporal lobe epilepsy induced by electrical stimulation of the amygdala in rat. *Epilepsy Res* (2000) **38**, 177-205.
- 8) Brandt C, Glien M, Potschka H, Volk H and Löscher W : Epileptogenesis and neuropathology after different types of status epilepticus induced by prolonged electrical stimulation of the basolateral amygdala in rats. *Epilepsy Res* (2003) **55**, 83-103.
- 9) Piredda S and Gale K : A crucial epileptogenic site in the deep prepiriform cortex. *Nature* (1985) **317**, 623-625.
- 10) Inoue K, Morimoto K, Sato K, Yamada N and Otsuki S : Mechanisms in the development of limbic status epilepticus and hippocampal neuron loss : an experimental study in a model of status epilepticus induced by kindling-like electrical stimulation of the deep prepiriform cortex in rats. *Acta Medica Okayama* (1992) **46**, 129-139.
- 11) 森本 清, 山田了士 : 神経症状と神経伝達物質 2 けいれん・てんかん : 神経伝達物質 update, 中村重信編, 中外医学社, 東京 (1998) pp 202-212.
- 12) Pagonopoulou O, Efthimiadou A, Asimakopoulos B and Nikolettos NK : Modulatory role of adenosine and its receptors in epilepsy : Possible therapeutic approaches. *Neurosci Res* (2006) **56**, 14-20.
- 13) Anschel DJ, Ortega EL, Kraus AC and Fisher RS : Focally injected adenosine prevents seizures in the rat. *Exp Neurol* (2004) **190**, 544-547.
- 14) Dragunow M : Adenosine receptor antagonism accounts for the seizure-prolonging effects of aminophylline. *Pharmacol Biochem Behav* (1990) **36**, 751-755.
- 15) Czuczwar SJ, Jackel R and Loscher W : Effects of aminophylline and enprofylline on the protective activity of phenobarbital against amygdala-kindled seizures in rats. *Epilepsy Res* (1987) **1**, 234-238.
- 16) De Sarro A, Grasso S, Zappala M, Nava F and De Sarro GB : Convulsant effects of some xanthine derivatives in genetically epilepsy-prone rats. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol* (1997) **356**, 48-55.
- 17) Tang FR, Chia SC, Zhang S, Chen PM, Gao H, Liu CP, Khanna S and Lee WL : Glutamate receptor I-immunopositive neurons in the gliotic CA1 area of the mouse hippocampus after pilocarpine-induced status epilepticus. *Eur J Neurosci* (2006) **21**, 2361-2374.
- 18) Racine RJ : Modification of seizure activity by electrical stimulation. II. Motor seizure. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* (1972) **32**, 281-294.
- 19) Wasterlain CG, Shirasaka Y, Mazarati AM and Spigelman I : Chronic epilepsy with damage restricted to the hippocampus : possible mechanism. *Epilepsy Res* (1996) **26**, 255-265.
- 20) Timofeeva OA and Peterson GM : Delayed development of spontaneous seizures and prolonged convulsive state in rats after massed stimulation of the anterior piriform cortex. *Brain Res* (1997) **754**, 227-238.
- 21) Pereira de Vasconcelos A, Mazarati AM, Wasterlain CG and Nehlig A : Self-sustaining status epilepticus after a brief electrical stimulation of the perforant path : a 2-deoxyglucose study. *Brain Res* (1999) **838**, 110-118.
- 22) Goddard GV, McIntyre DC and Leech CK : A permanent change in brain function resulting from daily stimulation. *Exp Neurol* (1969) **25**, 295-330.
- 23) 森本 清, 山田了士 : 実験てんかんにおける脳内受容体異常. *神経進歩* (1994) **38**, 823-836.
- 24) Namba T, Morimoto K, Sato K, Yamada N and Kuroda S :

- Antiepileptogenic and anticonvulsant effects of NBQX, a selective AMPA receptor antagonist, in the kindling model of epilepsy. *Brain Res* (1994) **638**, 36-44.
- 25) Hara H, Yamada N, Kodama M, Matsumoto Y, Wake Y and Kuroda S : Effect of YM872, a selective and highly water-soluble AMPA receptor antagonist, in the rat kindling and rekindling model of epilepsy. *Eur J Pharmacol* (2006) **531**, 59-65.
- 26) Condorelli DF, Belluardo N, Mudo G, Dell albani P, Jiang X and Giuffrida-Stella AM : Change in gene expression of AMPA-selective glutamate receptor subunits induced by status epilepticus in rat brain. *Neurochemistry Int* (1994) **25**, 367-376.
- 27) Wong ML, Smith MA, Licinio J, Doi SQ, Weiss SR, Post RM and Gold PW : Differential effects of kindled and electrically induced seizures on a glutamate receptor (GluR1) gene expression. *Epilepsy Res* (1993) **14**, 221-227.