

鉄塩誘導焦点性てんかんの脳波学的研究

岡山大学医学部第一生理学教室（主任：堀 泰雄教授）

西 田 宜 可

（昭和60年1月25日受稿）

Key words：鉄塩誘導てんかん，ラット大脳皮質，
脳波，体性感覚誘発電位，けいれん
閾値

緒 言

Willmoreら¹⁾は、ラットやネコの大脳皮質に鉄塩溶液を注入すると、てんかん性発作波が出現することを報告した。この鉄塩誘導てんかん焦点形成のメカニズムについては、 α -トコフェロールとセレンの投与によって発作波の出現が抑制されること²⁾、鉄塩溶液注入によって脳組織の活性酸素やマロンジアルデヒドが増加すること³⁻⁵⁾等から、その初期過程に細胞膜脂質の過酸化がかかわっていることが示唆されている。また、鉄塩誘導てんかん焦点皮質において、アストログリアの増生、樹状突起の棘の減少等のヒトのてんかんと類似の病理組織学的所見も報告されている⁶⁻⁸⁾。これらの知見は、頭部外傷に伴う出血とそれにつづく溶血によって生ずる鉄イオンが、てんかん焦点形成の引き金であるという可能性を示しており、鉄塩誘導てんかん焦点は、ヒトのてんかん殊に外傷性てんかんの優れたモデルであることが示唆されてきた^{7,9)}。

鉄塩溶液投与により出現する発作波は、急性および慢性実験条件下でともに観察されるが^{1,10)}、その大きな特徴の一つは、発作波の出現が長期間に及ぶことである。例えば、コバルトにより誘導される発作波の出現は、投与の7～20日後に最高になり、その後減少する¹¹⁻¹³⁾。これに対して、鉄塩溶液による発作波出現は数か月間に及ぶことが報告されてきた^{1,5,6)}。一方、Hattoriら^{14,15)}および安原¹⁶⁾は、鉄塩溶液注入によって長期間にわたり発作波が観察されるラット大脳皮質において、サイクリックAMP系に長期持

続性の変化がみられることを見出した。これらの知見は、鉄塩誘導てんかん焦点形成において、少なくともその持続的過程にサイクリックAMP系がかかわっていることを示している。

ReidとSybert¹⁷⁾は、ネコ大脳皮質ニューロン活動の細胞外記録を行い、鉄塩誘導てんかん焦点の形成に伴って、焦点周辺のニューロン活動が変化することを報告した。このような報告はあるが、一般に鉄塩誘導てんかんについての電気生理学的研究は少なく、また脳波所見に関する系統的研究もほとんどみられない。本研究では、ラット大脳皮質の感覚運動野に鉄塩溶液を注入した後、3か月～1年間にわたり皮質脳波を記録し、発作波の出現およびその発達について検討した。また、体性感覚誘発電位およびけいれん閾値についてもあわせて検討し、興味ある知見を得たので報告する。

材料および方法

1) 塩化第一鉄溶液の注入

Wistar系雄性ラット（体重190～240g）を用いた。大脳皮質への塩化第一鉄溶液の注入は、Willmoreら¹⁾の方法に準じて行った。ラットをエーテル麻酔下で脳定位固定装置に固定し、頭皮を縦切開した後、頭蓋骨を露出させた。左感覚運動野上の頭蓋骨に歯科用ドリルを用いて、直径0.5mmの小孔を穿った。その位置は、bregmaより前方へ1.5mm左外側へ3.5mmであった。マイクロマニピュレーターに装着したマイクロシリンジの針先端部を、この小孔を通して皮質へ刺入した。注入点の深さは頭蓋骨背表面より

1.5mmであった。この一定点に、滅菌作製した5 μ lの0.1M塩化第一鉄溶液を、1分間に1 μ lの速度で注入した。対照群のラットには、塩化第一鉄溶液の代わりに、同量の生理食塩水を同じ方法で注入した。なお、一部の実験においては、滅菌作製した5 μ lの0.1M塩化第一コバルト溶液を同様の方法で注入した。注入後、皮質脳波および体性感覚誘発電位記録用の直径1.0 mmのステンレス製ねじ電極を、あらかじめ頭蓋骨に穿った小孔に植え込んだ。探査電極は6本とし、その位置は、bregmaより前方へ3 mm 外側へ3 mm, bregmaより外側へ3.5mm, およびbregmaより後方へ4 mm 外側へ4 mm のそれぞれ左右対称点であった。基準電極の位置は鼻骨正中線上であった。それぞれの電極は、小型ソケットの各端子に接続し、歯科用レジで頭蓋骨に慢性的に固定した。

2) 皮質脳波の記録

皮質脳波の記録は、手術終了直後から行った。手術終了直後から5時間以内を注入後の第0日とし、以後経目的に脳波を記録した。脳波記録は、無麻酔無拘束下で、単極導出および双極導出を併用し、1回の記録はそれぞれの個体について3時間以上連続して行った。孤立性棘の判定は、単極導出で記録した脳波上で棘の前後各1秒間の背景脳波と比較して、振幅がその1.5倍以上であることを基準とした。塩化第一鉄溶液注入点近傍の皮質部位およびその対称部位の孤立性棘出現頻度は、単極導出記録で注入点近傍の左前の2本の電極に出現する棘の1分間当たりの数の平均値および対側対称点の2本の電極におけるそれでそれぞれを表した。また、この二つの値から、注入点の近傍皮質とその対称皮質の棘出現頻度の比を決定した。左右皮質間での棘徐波複合の大きさの比較においては、単極導出記録で一側の棘成分の振幅が他側のそれの2倍以上である場合を左側あるいは右側優勢出現とし、それ以外の場合は両側性出現とした。

3) 体性感覚誘発電位の記録

体性感覚誘発電位の記録は、ラット大脳皮質への塩化第一鉄溶液あるいは生理食塩水注入の13~15日後および31~60日後に皮質脳波を記録した後、thiamylal sodium麻酔(50mg/kg, i.p.)

下で、Angelら¹⁸⁾の方法に準じて行った。被覆導線の絶縁を剥離した部分を飽和塩化ナトリウム水溶液に浸した脱脂綿で覆い、これをラットの剃毛した前肢腕関節部と第II~IV指に巻きつけ刺激した。刺激は腕関節部を負極とし、1/sec, 1 msec, 2~4 Vの矩形波で行った。対側前肢の刺激による体性感覚誘発電位をbregmaより外側へ3.5mmの点に植え込んだ慢性電極から単極導出し、50回加算平均して記録した。

4) けいれん閾値の測定

けいれん閾値の測定は、Levineら¹⁹⁾の方法に準じて行った。ラット大脳皮質への各種溶液注入の0日後(注入の5時間以内)、15日後および45日後に皮質脳波を記録した後、1%ペンチレンテトラゾール溶液の腹腔内注射(10mg/kg)を10分間隔で行い、最初の強直性けいれんが観察されるまでの注射回数をけいれん閾値とした。このけいれん閾値の測定は、同一個体についてはただ1回だけ行った。

結 果

1) 孤立性棘の出現

ラット大脳皮質の左感覚運動野に、5 μ lの0.1 M塩化第一鉄溶液を注入した後に観察された異常脳波の例をFig. 1に示す。Fig. 1 A~Cに示すような孤立性棘は、鉄塩溶液注入ラットのすべてに観察された。この孤立性棘は、それぞれの個体において、必ずしも注入側(左側)皮質にだけ出現するとは限らず、その対側(右側)皮質にも出現した。

Fig. 2は、塩化第一鉄溶液注入後の異なる時期において、注入点近傍の皮質部位とその対称部位、および注入点から遠隔の皮質部位とその対称部位に観察された孤立性棘の出現頻度を示す。孤立性棘は、これらのいずれの時期においても、注入点の近傍皮質およびその対称皮質に出現し(Fig. 2 A)、注入点から遠隔の皮質およびその対称皮質にはほとんど出現しなかった(Fig. 2 B)。また、皮質脳波の双極導出記録の場合も同様の結果であった。

2) 棘徐波複合の出現

塩化第一鉄溶液注入により、孤立性棘のほか棘徐波複合の出現も観察された(Fig. 1 D)。

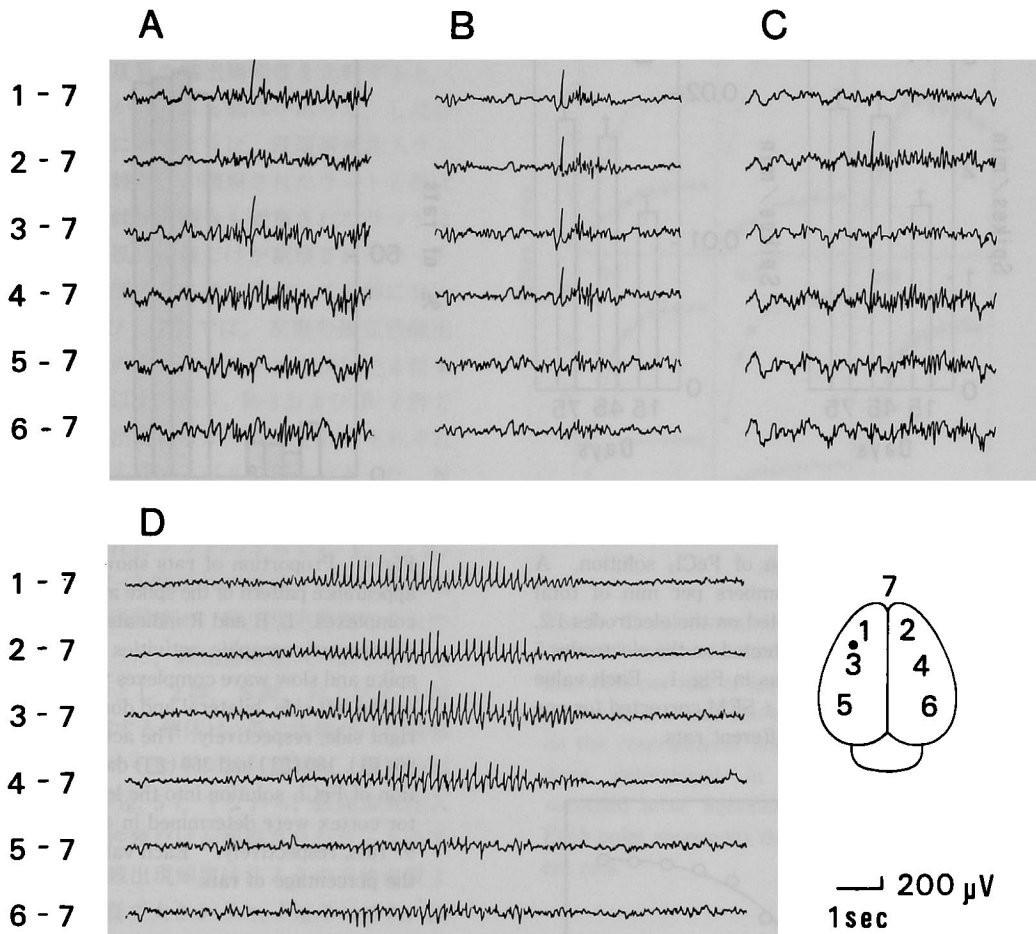


Fig. 1. Electrocorticographic tracings recorded from rats after injection of FeCl₂ solution into the left sensorimotor cortex. A, B and C show the isolated spikes recorded 8 days after injection of FeCl₂ solution. D shows the spike and slow wave complexes recorded 43 days after the injection. In schematic diagram, a dot indicates the injection site and numbers 1-7 indicate the position of the recording electrodes.

棘徐波複合は孤立性棘と異なり、鉄塩溶液注入ラットの一部分にだけ観察された。Fig. 3に示すように、棘徐波複合が観察されるラットは鉄塩溶液注入の30日後までは極めて少数であったが、その後急激に増加し、注入の90日後には全鉄塩溶液注入ラットの28%に棘徐波複合が観察された。この割合は、注入の6か月後および1年後ではそれぞれ36%および38%であった。一旦その出現がみられた棘徐波複合は、少なくとも鉄塩溶液注入の1年後まで安定に観察された。棘徐波複合がみられるこれらのラットの皮質脳波

上には、孤立性棘もまた観察された。

Fig. 4は、塩化第一鉄溶液注入後の異なる時期において、棘徐波複合がみられたラットのうちでその出現が左側優勢、両側性および右側優勢であった個体の割合を示す。いずれの時期においても、棘徐波複合はその出現がみられた個体の大部分において両側性であり、左側あるいは右側に優勢の個体はわずかであった。

生理食塩水を注入した対照群では、孤立性棘や棘徐波複合の出現は認められなかった。

3) 孤立性棘活動の左右皮質間差および発達

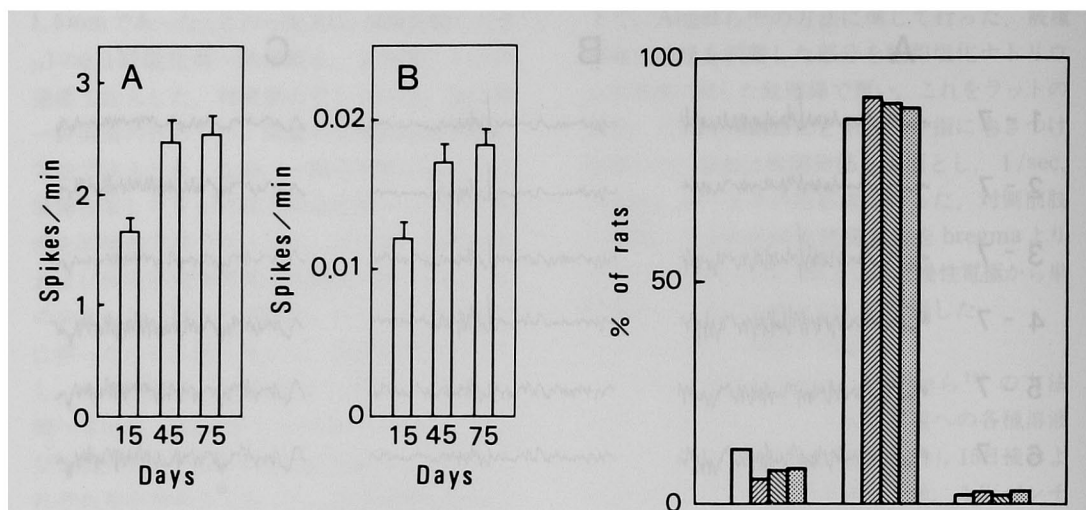


Fig. 2. Frequency of the isolated spikes in electrocorticograms recorded at different stages after injection of FeCl₂ solution. A and B show the numbers per min of total isolated spikes detected on the electrodes 1, 2, 3 and 4 and those detected on the electrodes 5 and 6, respectively, as in Fig. 1. Each value represents the mean $\pm$ SEM corrected for one electrode of 21-24 different rats.

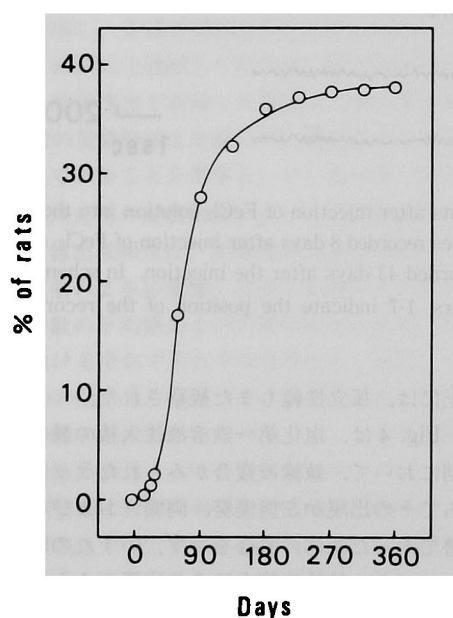


Fig. 3. Increase in proportion of rats showing the spike and slow wave complexes after injection of FeCl₂ solution. Each point represents the percentage of 256 FeCl₂ solution-injected rats.

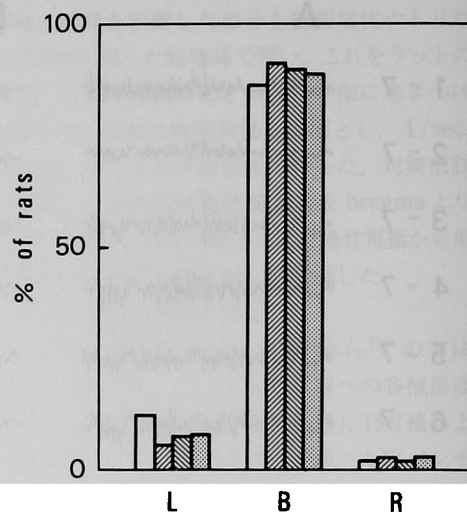


Fig. 4. Proportion of rats showing different appearance pattern of the spike and slow wave complexes. L, B and R indicate the different electrocorticographic activities in which the spike and slow wave complexes were dominant on the left side, bilateral and dominant on the right side, respectively. The activities 60 (□), 90 (▨), 180 (▩) and 360 (▧) days after injection of FeCl₂ solution into the left sensorimotor cortex were determined in 43, 71, 92 and 97 rats, respectively. Each value represents the percentage of rats.

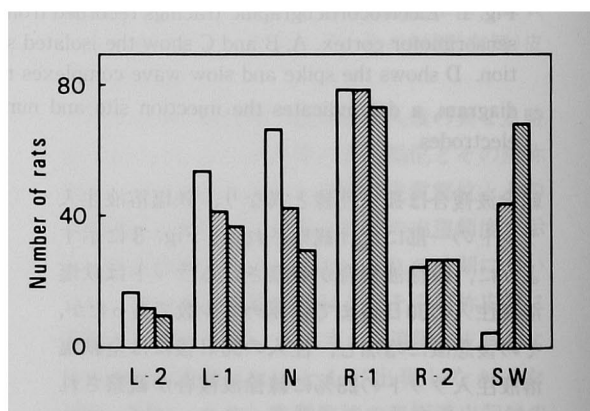


Fig. 5. Changes in number of rats in different groups. Each value represents the number of rats determined in 247 rats 30 (□), 60 (▨) and 90 (▩) days after injection of FeCl₂ solution.

塩化第一鉄溶液注入により孤立性棘だけが観察されたラットにおいて、注入点の近傍皮質およびその対称皮質の棘出現頻度を比較すると、著しい左右差がみられる個体があった。したがって、Fig. 5 に示すように、鉄塩溶液注入ラットを、孤立性棘だけが観察されたラットと孤立性棘に加えて棘徐波複合も観察されたラットに分け、さらに孤立性棘だけが観察されたラットを、棘出現頻度の左右比に基づいて5群に分けた。L-1およびL-2群では、左側の孤立性棘出現頻度が右側のそれぞれのそれぞれ2倍以上4倍未満および4倍以上であり、R-1およびR-2群では、右側の棘出現頻度が左側のそれぞれのそれぞれ2倍以上4倍未満および4倍以上であった。N群のラットは、鉄塩溶液注入によって孤立性棘だけが観察されたラットのうちでL-1、L-2、R-1およびR-2群以外の個体であり、棘出現優勢側の棘出現頻度が、棘出現劣勢側のその2倍未満であった。鉄塩溶液注入の30日後において、L-1群とL-2群、N群、およびR-1群とR-2群に属する個体は、孤立性棘だけが観察された全個体のそれぞれ29%、28%、および43%であった (Fig. 5)。すなわち、鉄塩溶液注入によって孤立性棘だけが観察されたラットの多数において、棘出現頻度は注入点の近傍皮質よりその対称皮質で大きかった。Fig. 5はまた、鉄塩溶液注入後の時間経過に伴って、L-1、L-2およびN群、特にN群の個体数が減少するとともに、孤立性棘ばかりでなく棘徐波複合も観察されるSW群の個体数が増加することを示している。さらに、各群のそれぞれの個体について個別に追跡して調べた結果、のちに棘徐波複合が観察される個体は、N群から最も多く出現し、次いでL-1、L-2群の順であり、R-1群からはわずかであり、R-2群からは全く出現しなかった。

Fig. 6は、各群における塩化第一鉄溶液注入点の近傍皮質およびその対称皮質の孤立性棘出現頻度の時間経過を示す。このうち、SW群については、鉄塩溶液注入の30日後までN群に属していた個体で、その後注入の90日後までに棘徐波複合が観察された個体における孤立性棘出現頻度を示す。これらの6群のすべてにおいて、棘出現頻度は鉄塩溶液注入直後から注入の30～

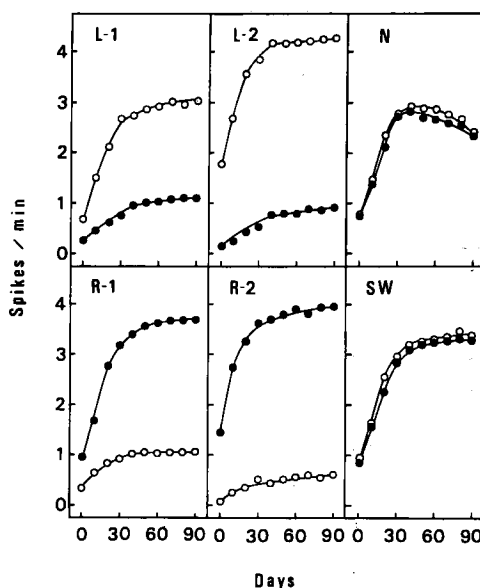


Fig. 6. Development in frequency of the isolated spikes in rats in different groups. Numbers per min of isolated spikes detected on the cortex near the injection site (○) and on the contralateral homotopic cortex (●) were determined in electrocorticograms recorded after injection of FeCl_2 solution. Each point represents the mean of 9-17 different rats.

50日後にかけて増加した。その後、注入の90日後までの経過において、L-1、L-2、R-1、R-2およびSW群では、棘出現頻度は左右両側ともほぼ一定であった。しかしN群では、一旦増加した棘出現頻度が、鉄塩溶液注入の30～50日後から注入の90日後にかけて左右両側とも次第に減少する傾向がみられた。また、鉄塩溶液注入直後から注入の90日後まで、孤立性棘だけが観察されるL-1、L-2、N、R-1およびR-2群の間では、それぞれの個体の転出や転入はほとんどみられなかった。すなわち、鉄塩溶液注入ラットのほとんどの個体は、棘徐波複合へ発達する場合を除き、少なくとも注入の90日後まで注入直後に決定された一定群に属していた。

塩化第一鉄溶液注入後に注入点近傍皮質およびその対称皮質に観察される孤立性棘は、左側あるいは右側に独立して出現する場合と、左右

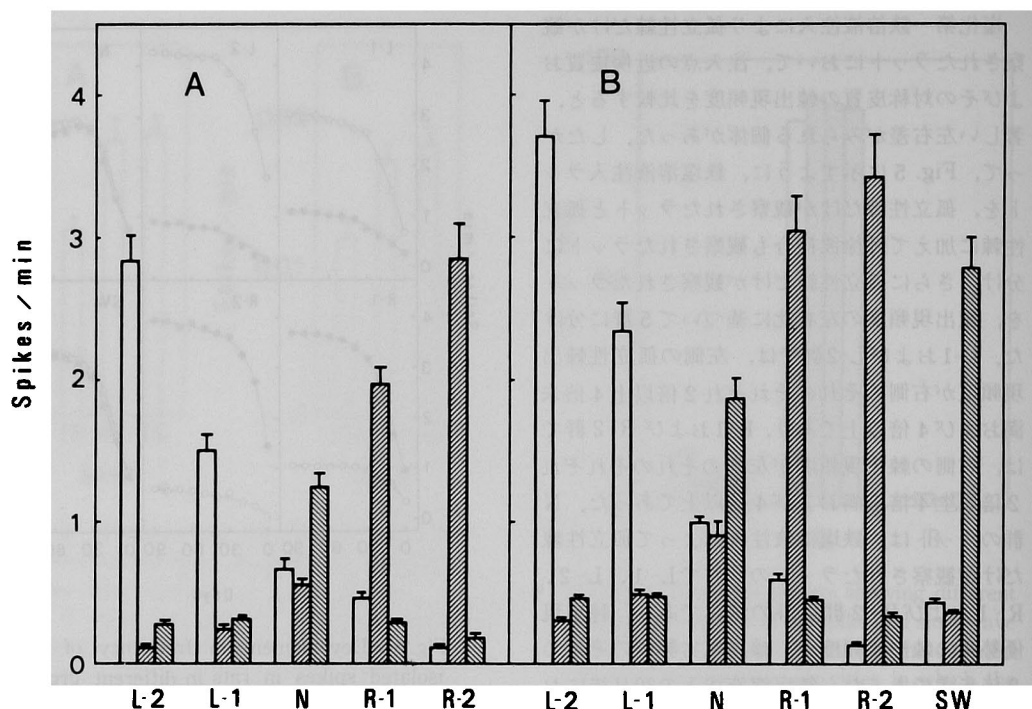


Fig. 7. Frequency of different appearance of the isolated spikes in rats in different groups. Numbers per min of isolated spikes detected unilaterally on the left side (□) or right side (▨) or almost synchronously on both sides (▩) were determined 15 (A) and 45 (B) days after injection of FeCl_2 solution into the left sensorimotor cortex of rats. Each value represents the mean $\pm$ SEM of 11-15 different rats.

両側にほとんど同期して出現する場合があった (Fig. 1A~C)。各群におけるそれらの出現頻度を Fig. 7 に示す。鉄塩溶液注入の15日後 (Fig. 7A) において、L-1、L-2、R-1 および R-2 群では、左側あるいは右側に独立して出現する孤立性棘が大部分であり、左右両側にほとんど同期して出現する棘はわずかであった。しかし N 群では、左右両側にほとんど同期して観察される棘の出現頻度が、左側あるいは右側に独立して観察される棘のそれより大きかった。この傾向は、鉄塩溶液注入の45日後 (Fig. 7B) においても同様であった。また、孤立性棘ばかりでなく棘徐波複合も観察される SW 群では、左右両側にほとんど同期して観察される孤立性棘の出現頻度が左側あるいは右側に独立して観察される棘のそれより著しく大きかった。

4) 体性感覚誘発電位

塩化第一鉄溶液注入後に、対側前肢の刺激に

より皮質慢性電極から記録された体性感覚誘発電位の例を Fig. 8 に示す。鉄塩溶液注入点の近傍皮質から記録された体性感覚誘発電位には 2 型が認められた。一つは陽性-陰性の二相性であり (Fig. 8A-a)、他の一つは初期陽性波を欠く一相性であった (Fig. 8B-a)。いずれの場合にも、鉄塩溶液注入側の対側皮質からは三相性の体性感覚誘発電位が記録された (Fig. 8A-b, 8B-b)。

Table 1 は、塩化第一鉄溶液あるいは生理食塩水注入後に、各群の個体の注入点近傍皮質から体性感覚誘発電位を記録した結果を示す。注入の13~15日後において、二相性の体性感覚誘発電位は主として L-1、L-2、N および対照群にみられ、一相性の体性感覚誘発電位は主として R-1 および R-2 群にみられた。同様の傾向は注入の31~60日後にも認められた。また、SW 群の個体の体性感覚誘発電位は二相性であった。

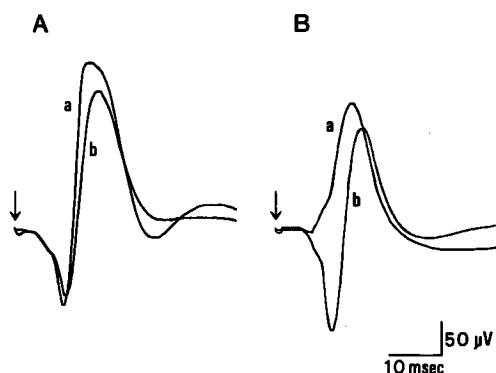


Fig. 8. Somatosensory evoked potentials (SEPs) recorded from rats after injection of FeCl_2 solution into the left sensorimotor cortex. A and B show SEPs recorded from rats in groups L-1 and R-1, respectively, 38 days after the injection. a and b indicate SEPs recorded at the left and right cortices, respectively. The arrow indicates the moment of stimulation. Positivity at the different electrode is shown as downward deflection.

5) けいれん閾値

塩化第一鉄溶液注入により棘徐波複合が観察されたラットの多数においては点頭がみられたが、孤立性棘だけが観察されたラットでは、行動上の変化はほとんど認められなかった。鉄塩溶液注入によって孤立性棘だけが観察されたラットおよび生理食塩水を注入したラットにおいて、けいれん閾値を測定した結果を、比較のためにコバルト塩溶液を注入したラットの結果とあわせて Table 2 に示す。注入の 0 日後では、鉄塩溶液注入およびコバルト塩溶液注入のいずれのラットにおいても、対照群と比較してけいれん閾値の差異は認められなかった。しかし、注入の 15 日後および 45 日後では、両群ともに対照群と比較してけいれん閾値が低下していた。

考 察

ラット大脳皮質への塩化第一鉄溶液の注入によって皮質脳波上に出現する孤立性棘は、注入点近傍の皮質部位およびその対称部位に観察され、注入点から遠隔の皮質部位およびその対称部位にはほとんど観察されなかった (Fig. 2)。

Table 1. Types of somatosensory evoked potentials (SEPs) recorded from rats in different groups: number of rats

Days after injection and type of SEP	FeCl ₂ solution-injected						Saline-injected
	L-2	L-1	N	R-1	R-2	SW	
13-15							
Biphasic	12	18	13	2	0	—	16
Monophasic	0	1	2	23	15	—	0
31-60							
Biphasic	7	14	12	0	0	11	13
Monophasic	0	0	1	19	8	0	0

Biphasic and monophasic types were determined by configuration of SEPs recorded at the cortex near the injection site of FeCl_2 solution or saline.

Table 2. Convulsion thresholds of rats at different stages after injection of FeCl_2 solution, CoCl_2 solution or saline: number of injections

Days after injection	FeCl ₂ solution-injected	CoCl ₂ solution-injected	Saline-injected
0	6.1 ± 0.4	6.8 ± 0.5	6.7 ± 0.4
15	5.6 ± 0.3^a	3.1 ± 0.2^a	7.1 ± 0.6
45	5.3 ± 0.2^b	3.8 ± 0.3^c	6.9 ± 0.5

Each value represents the mean $\pm$ SEM of 12-14 different rats. Significantly different from the value of saline-injected rats as determined by Student's *t* test: ^a $p < 0.05$; ^b $p < 0.01$; ^c $p < 0.005$.

このうち、鉄塩溶液注入点の近傍皮質に観察される棘出現は、そこでの組織過程の進行にかかわるものと考えられる。一方、鉄塩溶液注入側の対側皮質に観察される孤立性棘出現は二次焦点の形成によると考えられる。Trottierら²⁰⁾は、一側皮質に投与したコバルトが軸索内輸送によって対側皮質へ移動することを示唆している。しかしながら、鉄塩誘導てんかん焦点形成においては、このような知見は得られていない。また、コバルトにより誘導される発作波出現について Dowら²¹⁾は、ラットの前頭皮質にコバルトを投与すると、頭頂皮質に投与する場合と比較して、対側皮質の棘活動が起こりやすいことを報告している。さらに、Tadaら²²⁾は、ラット大脳皮質に塩化第一鉄溶液を注入すると、注入の 5 日後に注入側にみられる発作波出現が、注

入の10日後に対側へ伝播し、注入の20日後に両側性にみられ、注入の60日後には注入側優勢に固定することを報告している。しかし本研究においては、孤立性棘から棘徐波複合へ発達する場合以外は、鉄塩溶液注入直後に決定された左右皮質間での孤立性棘出現頻度の優劣の関係には、ほとんどすべての個体においてその後著しい変化はみられなかった。これらの知見および本実験の結果は、鉄塩溶液あるいはコバルトの投与部位の微細な解剖学的位置の相違、あるいはそれに起因する組織変化の相違等が、てんかん原性焦点形成およびその対側皮質への伝播に重要な因子である可能性を示している。

塩化第一鉄溶液注入後に注入点の近傍皮質およびその対称皮質に観察される孤立性棘の出現頻度には、著しい左右差がみられる個体があった。したがって本研究においては、鉄塩溶液注入によって孤立性棘だけが観察されたラットを、左右両側の棘出現頻度の比に基づいて5群に分けた。孤立性棘が鉄塩溶液注入側優勢に出現する2群の間、あるいは棘が注入側の対側優勢に出現する2群の間では、棘出現の偏りの程度が異なる以外には、本研究で得られた結果には著しい差異は認められなかった。しかし、棘出現が鉄塩溶液注入側に優勢のラット、その対側に優勢のラット、および両側同程度のラットの間では、棘徐波複合への発達、一側に独立して出現する棘の出現頻度と両側にほとんど同期して出現する棘のそれとの比率、および体性感覚誘発電位の形状に著しい差異がみられる場合があった。

棘徐波複合は、そのほとんどが塩化第一鉄溶液注入の1か月以後に出現し (Fig. 3)、孤立性棘が注入直後から出現するのと対照的であった。また、鉄塩溶液注入後の比較的早期から注入の2~3か月後にかけて、孤立性棘だけが観察されるラットのうち、棘出現が注入側優勢および両側同程度の個体数は減少した (Fig. 5)。この個体数の減少は、棘出現が両側同程度の群において最も顕著であった。さらに、相当する時期において、棘出現が注入側の対側に優勢の個体数はほとんど変化せず、孤立性棘ばかりでなく棘徐波複合も観察される個体が増加した (Fig.

5)。一方、孤立性棘だけが観察されるラットにおいて、ほとんどの個体は、鉄塩溶液注入直後から少なくとも注入の3か月後まで同一群に属していた。これらの結果は、棘徐波複合が観察される個体は、孤立性棘出現が鉄塩溶液注入側の対側に優勢のラットからはほとんど現れず、主として棘出現が注入側優勢および両側同程度のラット、特に両側同程度のラットから現れることを示している。また、それぞれの個体について追跡して調べた結果も、このことを支持している。全鉄塩溶液注入ラットに対する棘徐波複合が観察されるラットの割合は、鉄塩溶液注入後の一時期に著しく増加し、注入の6か月後ではほぼ定常値に達して全鉄塩溶液注入ラットの36%に棘徐波複合が観察された (Fig. 3)。この結果は、棘徐波複合が観察される個体の総数が、鉄塩溶液注入後の比較的早期に孤立性棘だけが観察されるラットのうちで、その出現が注入側優勢および両側同程度の個体の総数によって規定されることを示すものと考えられる。

棘徐波複合は、そのほとんどが両側性出現であった (Fig. 4)。また、棘徐波複合が観察される個体では、左右両側にほとんど同期して出現する孤立性棘の出現頻度が、一側に独立して出現する棘のそれより大きかった (Fig. 7)。同様の傾向は、孤立性棘だけが観察されたラットのうち、両側の棘出現が同程度の個体でもみられた。また、のちに棘徐波複合へ発達する個体が最も高率に出現するのは、孤立性棘だけが観察されるラットのうちで、その出現が両側同程度の群であったが、これらのうちで棘徐波複合へ発達しなかった個体では、鉄塩溶液注入の30~50日後から注入の90日後にかけて棘出現頻度が次第に減少する傾向がみられた (Fig. 6)。これらの結果は、棘出現が鉄塩溶液注入側優勢および両側同程度のラットにおいて、注入点近傍皮質で新たな変化が起こることを示唆しており、その変化が孤立性棘から棘徐波複合への発達にかかわっている可能性が考えられる。

孤立性棘は塩化第一鉄溶液注入直後から観察されたが、棘徐波複合はそのほとんどが注入の1か月以後に観察された。また、孤立性棘の出現頻度は、鉄塩溶液注入直後から注入の30~50

日後にかけて増加し、その後は注入の90日後まで多数の個体においてほぼ一定であった (Fig. 6)。さらに、鉄塩溶液注入により孤立性棘だけが観察されたラットのそれぞれにおいて、左右皮質間での棘出現の優劣の関係は、注入直後にすでに決定されており、その後著しい変化はみられなかった。これらの結果から、鉄塩溶液によるてんかん焦点の形成過程は、脳波学的に、(1)注入直後、(2)その後の孤立性棘出現頻度が増加する注入のほぼ1か月後まで、(3)棘徐波複合が観察される個体が増加する(2)の時期以後、の3時期に分けられる。これらのうち、(1)の時期には、すでに指摘されているような鉄イオンによる細胞膜脂質の過酸化^{3-5,23)}、およびそれに伴う脳組織過程が関与していることが考えられる。(2)および(3)の時期について安原¹⁶⁾は、大脳皮質切片のサイクリックAMP系について検討し、鉄塩溶液注入によって発作波が観察されるラット大脳皮質では、サイクリックAMP系のノルエピネフリンに対する応答が、皮質部位によりあるいは鉄塩溶液注入後の時期により異なること、またその応答は注入後の同じ時期においても棘徐波複合が出現するか否かにより変動することを明らかにした。このことは、前述の(2)および(3)の時期に対応する脳組織過程の存在に一つの根拠を与えている。

塩化第一鉄溶液注入ラットにおいて、異常行動の出現は少なく、棘徐波複合が観察されるラットの多数で点頭がみられる程度であったが、孤立性棘だけが観察されるラットのけいれん閾値は、対照群と比較して低下していた (Table 2)。同様のけいれん閾値の低下は、コバルト塩溶液を注入したラットにおいてもみられた。これまでに、コバルト誘導てんかん焦点形成におけるけいれん閾値の低下については報告^{19,24,25)}があり、本実験の結果はそれと同様であった。一方、Hartmanら²⁵⁾は、数種類の金属をラット大脳皮質に投与してけいれん閾値の変動について検討し、鉄の投与ではけいれん閾値の低下はみられないことを報告しているが、その実験では金属鉄末をゲラチン棒として投与している。したがって、この本実験結果との相違は、大脳皮質への鉄の投与方法の違いによって発作波出

現やけいれん閾値の変化等に相違がみられる可能性を示している。本実験の結果から、鉄塩溶液によるてんかん焦点の形成において、少なくとも0.1Mの濃度で5 μ lを注入する場合には、著しい行動上の変化を伴わず、けいれん閾値が低下するものと考えられる。

体性感覚誘発電位のいくつかの成分波の潜時、振幅等が、ペニシリンによるてんかん焦点の形成²⁶⁾や燃え上がり現象²⁷⁾に伴って変化することが報告され、てんかん活動の出現との関係が議論されてきた。本実験では、塩化第一鉄溶液注入点近傍の皮質から記録された体性感覚誘発電位の初期成分に、著しい形状変化が観察される場合があった。すなわち、孤立性棘出現が鉄塩溶液注入側優勢に観察されるラット、両側同程度に観察されるラット、および棘徐波複合が観察されるラットでは、対照群と同じ二相性の体性感覚誘発電位であったが、棘出現が注入側の対側優勢に観察されるラットでは、初期陽性波を欠く一相性の体性感覚誘発電位であった (Table 1)。また、この鉄塩溶液注入点の近傍皮質から一相性の体性感覚誘発電位が記録されるラット、すなわち棘出現が注入側の対側に優勢のラットからは、棘徐波複合が観察される個体はほとんど現れなかった。これらの結果は、孤立性棘出現が鉄塩溶液注入側優勢に観察されるラット、両側同程度に観察されるラット、および棘徐波複合が観察されるラットにおいて、鉄塩溶液注入点の近傍皮質での共通の可塑的組織変化過程があることを示唆している。本研究で得られたこれらの結果から、鉄塩誘導てんかん焦点形成において、孤立性棘から棘徐波複合への発達には、鉄塩溶液注入点の近傍皮質での興奮性増大の持続が重要な一因子であると考えられる。

結 語

ラット大脳皮質の一側感覚運動野に塩化第一鉄溶液を注入した後、皮質脳波および体性感覚誘発電位を記録し、またけいれん閾値を測定した。

1) 皮質脳波上に出現する孤立性棘は、鉄塩溶液注入ラットのすべての注入点近傍皮質およびその対称皮質に、注入直後から観察された。

鉄塩溶液注入によって孤立性棘の出現頻度が、注入側優勢、注入側の対側優勢、および両側同程度のラットが出現した。

2) 孤立性棘の出現頻度は、鉄塩溶液注入の30~50日後まで増加した。その後、多数例において棘出現頻度は注入の90日後まではほぼ一定であったが、棘出現が両側同程度のラットでは棘出現頻度が次第に減少する傾向がみられた。

3) 棘徐波複合のほとんどは、鉄塩溶液注入の1か月以後、孤立性棘出現が注入側優勢および両側同程度のラットに発達し、その大部分は両側性出現であった。その後、注入の3か月後にかけて棘徐波複合が観察される個体の割合は急激に増加し、注入の6か月後には全鉄塩溶液注入ラットの36%に棘徐波複合が観察された。これらのラットの皮質脳波上には、孤立性棘もまた観察された。

4) 孤立性棘出現が鉄塩溶液注入側あるいはその対側のいずれかに優勢のラットでは、一側に独立して出現する棘が大部分であり、棘出現が両側同程度のラットや棘徐波複合がみられる

ラットでは、両側にほとんど同期して観察される棘の出現頻度が一側に独立して観察される棘のそれより大きかった。

5) 鉄塩溶液注入点の近傍皮質から記録された体性感覚誘発電位は、孤立性棘出現が注入側の対側に優勢のラットでは初期陽性波を欠く一相性であり、その他のラットでは二相性であった。

6) 孤立性棘だけが観察されるラットにおいては、異常行動はほとんど認められなかったが、けいれん閾値が低下していた。棘徐波複合がみられるラットにおいては、多数例に点頭が観察された。

鉄塩溶液によるてんかん焦点誘導とその発達について考察した。

謝 辞

稿を終えるに臨み、御指導と御校閲を賜った 堀泰雄教授ならびに服部幸雄講師に深甚の謝意を表します。また、本実験の遂行にあたり、御指導と御援助をいただいた森脇見義助手に深謝します。

文 献

1. Willmore, L. J., Sybert, G. W., Munson, J. B. and Hurd, R. W.: Chronic focal epileptiform discharges induced by injection of iron into rat and cat cortex. *Science* 200, 1501-1503, 1978.
2. Rubin, J. J. and Willmore, L. J.: Prevention of iron-induced epileptiform discharges in rats by treatment with antiperoxidants. *Exp. Neurol.* 67, 472-480, 1980.
3. Willmore, L. J. and Rubin, J. J.: Formation of malonaldehyde and focal brain edema induced by subpial injection of FeCl_2 into rat isocortex. *Brain Res.* 246, 113-119, 1982.
4. Willmore, L. J., Hiramatsu, M., Kochi, H. and Mori, A.: Formation of superoxide radicals after FeCl_3 injection into rat isocortex. *Brain Res.* 277, 393-396, 1983.
5. 高知宏喜: 鉄イオンでてんかん源性焦点組織のフリーラジカル反応と発作発現機構に関する研究。岡山医学会雑誌 95, 271-282, 1983.
6. Willmore, L. J., Sybert, G. W. and Munson, J. B.: Recurrent seizures induced by cortical iron injection: a model of posttraumatic epilepsy. *Ann. Neurol.* 4, 329-336, 1978.
7. Reid, S. A., Sybert, G. W., Boggs, W. M. and Willmore, L. J.: Histopathology of the ferric-induced chronic epileptic focus in cat: a Golgi study. *Exp. Neurol.* 66, 205-219, 1979.
8. Willmore, L. J., Ballinger, W. E., Boggs, W., Sybert, G. W. and Rubin, J. J.: Dendritic alterations in rat isocortex within an iron-induced chronic epileptic focus. *Neurosurgery* 7, 142-146, 1980.
9. Rosen, A. D. and Frumin, N. V.: Focal epileptogenesis after intracortical hemoglobin injection. *Exp. Neurol.* 66, 277-284, 1979.
10. Willmore, L. J., Hurd, R. W. and Sybert, G. W.: Epileptiform activity initiated by pial iontophoresis

- of ferrous and ferric chloride on rat cerebral cortex. *Brain Res.* 152, 406–410, 1978.
11. Dow, R. S., Fernández-Guardiola, A. and Manni, E.: The production of cobalt experimental epilepsy in the rat. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.* 14, 399–407, 1962.
 12. Fischer, J., Holubář, J. and Malík, V.: A new method of producing chronic epileptogenic cortical foci in rats. *Physiol. Bohemoslov.* 16, 272–277, 1967.
 13. Emson, P. C. and Joseph, M. H.: Neurochemical and morphological changes during the development of cobalt-induced epilepsy in the rat. *Brain Res.* 93, 91–110, 1975.
 14. Hattori, Y., Inaba, K., Moriwaki, A. and Hori, Y.: Regional difference in cyclic AMP response to adenosine of rat cerebral cortex with an iron-induced epileptic focus. *Acta Med. Okayama* 36, 313–316, 1982.
 15. Hattori, Y., Inaba, K., Moriwaki, A., Nishida, N., Yasuhara, H. and Hori, Y.: Dual effects of glutamate on cyclic AMP levels in slices of rat cerebral cortex with an iron-induced epileptic focus. *Acta Med. Okayama* 37, 291–299, 1983.
 16. 安原弘通：鉄塩誘導てんかん性大脳皮質のサイクリックAMP合成系に関する研究。岡山医学会雑誌 97, 127–147, 1985.
 17. Reid, S. A. and Sybert, G. W.: Acute FeCl₃-induced epileptogenic foci in cats: electrophysiological analyses. *Brain Res.* 188, 531–542, 1980.
 18. Angel, A., Berridge, D. A. and Unwin, J.: The effect of anaesthetic agents on primary cortical evoked responses. *Br. J. Anaesth.* 45, 824–836, 1973.
 19. Levine, S., Payan, H. and Strebel, R.: Metrazol threshold in experimental allergic encephalomyelitis. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 113, 901–902, 1963.
 20. Trottier, S., Truchet, M. and Laroudie, C.: Secondary ion microanalysis in the study of cobalt-induced epilepsy in the rat. *Exp. Neurol.* 76, 231–245, 1982.
 21. Dow, R. C., McQueen, J. K. and Townsend, H. R. A.: The production and detection of epileptogenic lesions in rat cerebral cortex. *Epilepsia* 13, 459–465, 1972.
 22. Tada, T., Sakaki, T., Tanikake, T., Miyamoto, S., Utsumi, S., Yamamoto, H. and Hori, Y.: A trial to produce acute and chronic focal epileptic models with subpial injection of ferrous chloride solution. *Folia Psychiatr. Neurol. Jpn.* 34, 367–368, 1980.
 23. Triggs, W. J. and Willmore, L. J.: *In vivo* lipid peroxidation in rat brain following intracortical Fe²⁺ injection. *J. Neurochem.* 42, 976–980, 1984.
 24. Goldberg, A. M., Pollock, J. J., Hartman, E. R. and Craig, C. R.: Alterations in cholinergic enzymes during the development of cobalt-induced epilepsy in the rat. *Neuropharmacology* 11, 253–259, 1972.
 25. Hartman, E. R., Colasanti, B. K. and Craig, C. R.: Epileptogenic properties of cobalt and related metals applied directly to cerebral cortex of rat. *Epilepsia* 15, 121–129, 1974.
 26. Takahashi, H. and Straschill, M.: The effects of focal epileptic activity on the somatosensory evoked potentials in the rat. *Arch. Psychiatr. Nervenkr.* 231, 81–91, 1981.
 27. Majkowski, J. and Kwast, O.: Changes in somatosensory evoked potentials during kindling: analogy to learning modifications. *Epilepsia* 22, 267–274, 1981.

Electroencephalographic studies of iron-induced focal epilepsy

Nobuyoshi NISHIDA

Department of Physiology, Okayama University Medical School

(Director: Prof. Y. Hori)

Electrocorticograms (ECoGs) and somatosensory evoked potentials (SEPs) were recorded, and convulsion thresholds were determined in rats in which FeCl_2 solution was injected into the unilateral sensorimotor cortex. Isolated spikes appeared immediately after the injection of FeCl_2 solution in ECoGs of the cortex near the injection site and the contralateral homotopic cortex. The injection of FeCl_2 solution produced different electrocorticographic features in which the frequency of isolated spikes was dominant on the side ipsilateral or contralateral to the injection site or nearly equal on the two sides. The spike frequency increased up to 30 to 50 days after the injection, and then was almost constant in most of the rats up to 90 days after the injection. In rats showing nearly equal spike activity on the two sides, there was a tendency for the spike frequency to decrease gradually after 30 to 50 days. Most of the spike and slow wave complexes appeared bilaterally one month or more after the injection in rats in which the isolated spike activity was dominant on the side ipsilateral to the injection site or nearly equal on the two sides. The proportion of rats showing spike and slow wave complexes increased steeply until three months after the injection, and reached 36% of all the FeCl_2 solution-injected rats six months after the injection. In ECoGs of these rats, isolated spikes were also detected. In rats showing dominant spike activity on either side of the cortex, most of spikes appeared unilaterally, while in rats showing nearly equal spike activity on the two sides and those showing spike and slow wave complexes, the frequency of almost synchronous spikes on both sides was higher than that of unilateral spikes. In rats showing dominant spike activity on the side contralateral to the injection site, SEPs recorded at the cortex near the injection site were devoid of the initial positive deflection and were monophasic. They were biphasic in other FeCl_2 solution-injected rats. In rats showing only isolated spikes, abnormal behavior was seldom observed, and convulsion thresholds were lowered. In most of the rats showing spike and slow wave complexes, head nodding was observed. The induction and development of epileptic focus by FeCl_2 solution are discussed.