

## 学位論文の要約 (研究成果のまとめ)

氏 名 伊藤 正範

学位論文名 HMGB1 は幼弱ラット温熱誘発けいれん及び温熱誘発けいれん重積後の  
後天性てんかん発症を促進させる

---

### 学位論文の要約

#### 【背景】

熱性けいれんは小児期に最も多いけいれん性疾患で、特に本邦では約 1 割弱の小児が罹患する。熱性けいれんは一般的には脳障害をきたさない良性疾患とされているが、海馬硬化症を伴う内側側頭葉てんかんの患者で幼少期の遷延性熱性けいれんの既往を持つ患者が多いという後方視的研究もある。しかし熱性けいれんの発生機序や、遷延性熱性けいれんと後天性てんかんの関連性は未だ完全には解明されていない。

中枢神経系の炎症はけいれん性疾患の重要な病因のひとつであり、現在 Interleukin-1 $\beta$  などの炎症性サイトカインがけいれん性疾患の病態に関わるとの知見が報告される。しかし、発作や外傷時などに神経細胞やグリアから遊離される代表的ヌクレオカインである High mobility group box 1 (HMGB1)に関する報告は未だ少ない。そこで本研究では熱性けいれんの動物モデルである幼弱ラット温熱誘発けいれんモデルを用いて、HMGB1 が温熱誘発けいれん及び温熱誘発けいれん重積後の成熟期てんかん発症に及ぼす影響を検討した。

#### 【方法】

##### 1 : HMGB1 が温熱誘発けいれんに与える影響

日齢 12-13 の Lewis 雄性ラット 49 匹を、麻酔鎮静下に頭部を定位脳固定装置に装着し、右側海馬と後頭葉硬膜上に脳波電極を装着した。日齢 14-15 (術後 2 日) にラットを 4 群に分け (大量 HMGB1 群 : 100  $\mu$ g、中等量群 : 10  $\mu$ g、少量群 : 1  $\mu$ g、対照群 : 生理食塩水)、各群に HMGB1 を点鼻投与した。点鼻投与 1 時間後に温熱負荷装置にてけいれんを誘発し、脳波所見に基づいてけいれん閾値 (発作波出現時の直腸温) とけいれん持続時間を測定した。更に日齢 28 日に全身麻酔下にラット脳を取り出し、核染色、GFAP 及び Iba1 染色を行い、海馬領域における細胞障害やグリオシスの病理学的評価を行った。

##### 2 : HMGB1 が温熱誘発けいれん重積後の成熟期てんかん発症に与える影響

日齢 10-11 の幼弱ラットを温熱負荷装置内に 30 分間留置し、断続的かつ継続的な温熱誘発け

いれん重積 (pHS: prolonged hyperthermia-induced seizures) を発生させた。96 匹の雄性ラットを 4 群に分け (HMGB1+pHS 群、HMGB1 群、pHS 群、対照群)、HMGB1+pHS 群と pHS 群には pHS を誘発させた。また HMGB1+pHS 群と HMGB1 群にはけいれん重積誘発 24 時間後に HMGB1 (10  $\mu$ g) を、他群には生理食塩水を点鼻投与した。成熟期のてんかん発症の評価は、日齢 90 と 120 に動物用ビデオ脳波同時記録システムを用いて行った。これに先んじて、日齢 85 でローターロッド及びパッシブアボイダンス試験による知能・運動機能評価を行った。海馬の病理学的評価は、日齢 150 に全身麻酔下に脳を取り出し、海馬細胞障害やグリオーシスについての評価を行った。

## 【結果】

### 1 : HMGB1 は温熱誘発けいれんの発現を促進させた

温熱負荷後、体温が  $40.9 \pm 0.4^{\circ}\text{C}$  でラットは発作を起こし、海馬から発作波が記録された。大量 HMGB1 群 ( $p=0.002$ ) と中等量群 ( $p=0.048$ ) で有意に発作発現時の直腸温の低下が認められ、HMGB1 は容量依存的にけいれん閾値を下げる事が確認された。一方、けいれん持続時間には有意な変化は認められなかった。日齢 28 の病理学的検討では、高容量 HMGB1 群と対照群の比較で、明らかな細胞障害やグリオーシスは認められなかった。

### 2 : HMGB1 は温熱誘発けいれん重積後の成熟期てんかん発症を促進させた

てんかん発症ラットでは海馬から先進して皮質に広がる約 1 分間の部分発作が記録され、HMGB1+pHS 群では他群に比して有意に後天性てんかんの発症率が高かった ( $p<0.05$ )。一方、4 群間ではローターロッド及びパッシブアボイダンス試験の結果に有意差は認められなかった。この HMGB1+pHS 群を更に 2 群に分け、てんかん発症群と非てんかん発症群とし、2 群間で病理学的検討を行った。その結果、てんかん発症群は非てんかん発症群に比して CA1、CA3 領域や脳梁で有意なアストロサイトの増生が認められたが ( $p<0.05$ )、神経細胞やマイクログリアについては 2 群間での差は認められなかった。

## 【考察・結論】

HMGB1 は Toll 様受容体を介して NMDA 受容体経路を活性化し、けいれん原生及びてんかん原生に関与するとの報告がある。また、切除された海馬硬化症の病理組織でアストロサイトの増生が認められ、そのことがてんかん原生に関与する可能性を示唆する報告もある。今回の結果は、HMGB1 は熱性けいれんの発症に関与し、また熱性けいれん重積時の HMGB1 過剰産生が後天性てんかんの発症にも関与することを示唆すると考えられた。

なお、この学位論文の内容は、以下の原著論文に既に公表済である。

主論文 : Masanori Ito, Hisaaki Takahashi, Hajime Yano, Yusuke I Shimizu, Yoshiaki Yano, Yoshito Ishizaki, Junya Tanaka, Eiichi Ishii, and Mitsumasa Fukuda: High mobility group box 1 enhances hyperthermia-induced seizures and secondary epilepsy associated prolonged hyperthermia-induced seizures in developing rats. *Metabolic Brain Disease* Epub ahead of print DOI: 10.1007/s11011-017-0103-4

参考論文 : Mitsumasa Fukuda, Masanori Ito, Yoshiaki Yano, Hisaaki Takahashi, Ryota Motoie, Akiko Yano, Yuka Suzuki, Eiichi Ishii: Postnatal interleukin-1 $\beta$  administration after experimental prolonged febrile seizures enhances epileptogenesis in adulthood. *Metabolic Brain Disease* 30(3):813-9, 2015 DOI: 10.1007/s11011-014-9648-7