

# 1

LGI1 変異ラット音刺激誘発けいれんモデルにおける c-Fos 免疫染色による解析

○麓直浩<sup>1,2</sup>、真下知士<sup>1</sup>、増井淳<sup>3</sup>、水口祐登<sup>3</sup>、南本翔子<sup>3</sup>、石田紗恵子<sup>1</sup>、池田昭夫<sup>2</sup>、高橋良輔<sup>2</sup>、大野行弘<sup>3</sup>、芹川忠夫<sup>1</sup> (1京大院・医・動物実験施設、2同・臨床神経学、3大阪薬科大学・薬品作用解析学)

【背景・目的】ヒト常染色体優性外側側頭葉てんかん (ADLTE) は聴覚症状等から始まる部分発作を呈する遺伝性部分てんかんで、外側側頭葉に焦点が指摘される。LGI1 は ADLTE の原因遺伝子の一つで、これまで様々な挿入・欠失・置換変異が報告されている。近年、真下らは Gene-driven ENU (N-ethyl-N-nitrosourea) ミュータジェネシス法により、LGI1 遺伝子に L385R ミスセンス変異をもつラットを作製することに成功した。さらに、LGI1 変異ラットは音刺激でてんかん発作が誘発されることを発見した。本研究では、LGI1 変異ラットの音刺激発作時に脳で興奮する部位を明らかにするため、電極埋込み脳波や神経興奮のマーカー蛋白である c-Fos の免疫染色解析を施行した。また、発作のメカニズムを解明するため mRNA マイクロアレイ遺伝子発現解析を行なった。

【方法】LGI1 変異(ヘテロ)ラットと対照群の F344 ラットについて、音刺激無しの A 群(LGI1 変異 n=8、F344 n=6)、16 日齢プライム刺激(120 dB, 10kHz, 1min.)のみの B 群(各 n=7, 15)、プライム刺激及び 8 週齢音刺激(120dB, 10kHz, 5 min.) の C 群(各 n=7, 7) に分けた。A、B 群は 8 週齢時に脳を採取し、C 群は 8 週齢時の音刺激 2 時間後に脳採取した。4%パラホルムアルデヒドで固定後、脳組織切片において c-Fos 免疫染色を行い、全脳 34 部位で染色陽性細胞数を計測した。LGI1 がてんかん原性に関与するメカニズムを更に検討するため、上記部位にて mRNA 発現量のマイクロアレイ解析を施行した。

【結果・考察】プライム刺激及び 8 週齢音刺激の C 群において、LGI1 変異ラット全頭が wild running 後に強直間代発作(GTCS)を示したが、F344 ラットは wild running のみを示した。発作時脳波では、外側側頭葉と前頭葉とでてんかん性放電発生に時間差を認めなかった。c-Fos 免疫染色解析の結果、LGI1 変異ラットでは F344 ラットと比較して 8 週齢時の音刺激により、聴覚皮質、嗅周皮質、嗅内皮質、感覚皮質、無顆粒性島皮質で染色細胞数に有意な上昇を認めた。これらの結果は、ヒト ADLTE で外側側頭葉の異常発火が指摘されている事実を考慮すると、ADLTE 動物モデルとしての LGI1 変異ラットの有用性を示唆している。また、LGI1 変異ラットで音刺激誘発 GTCS 後に c-Fos 染色細胞数が増加を示した部位は、従来報告されている聴覚性ニューロンネットワークと矛盾しておらず、2 次性の GTCS 発症メカニズムとの関連性が示される。マイクロアレイ解析では、LGI1 関連遺伝子は LGI1 変異や発作の有無での変動を認めない一方で、てんかんと関連が報告された 8 つの遺伝子が LGI1 変異ラットの発作に伴い変動した。現在、これらてんかん関連遺伝子と LGI1 変異ラットにおける音刺激誘発けいれん発症メカニズムについて検討している。