

ラットにおけるカイニン酸けいれん発作重積後の MRI 所見と病理所見の関係

崎山順子, 岡本 基, 北村吉宏¹⁾, 山田了士²⁾

要 約

側頭葉てんかんでは、てんかん焦点に一致して MRI T2 高信号領域が見られ、FLAIR 法でこれがより明瞭になるが、この MRI 所見と病理組織学的変化との関係は必ずしもはっきりしていない。そこで、Sprague-Dawley ラットにカイニン酸 (KA) でけいれん発作重積状態を起こし、経時的に MRI を記録するとともに、ニッスル染色、GFAP 免疫染色での病理組織学的変化を調べて両者の関係について検討した。KA 群では、MRI で 1～8 週間後のいずれにおいても piriform cortex から entorhinal cortex にかけて不整形の T2 高信号領域がみられたが、stage 3 のけいれん発作しか出現しなかったラットでは stage 4,5 が出現したラットに比べて程度が弱かった。組織学的には、CA1, subiculum, piriform cortex, entorhinal cortex で神経細胞の消失、濃染細胞の増加と萎縮、GFAP 免疫反応の増強が見られたが、piriform cortex, entorhinal cortex での神経細胞消失の程度は T2 信号の程度と相関せず、GFAP 免疫反応が増強した領域に一致して高信号がみられた。しかし、海馬の GFAP 免疫反応増強は MRI 所見に反映されず、これは MRI の解像度の限界にもよると考えられた。

キーワード：カイニン酸, MRI, FLAIR 法, 神経細胞死, GFAP

はじめに

近年のめざましい画像工学の進歩によって、画像検査は各種神経疾患の診断に欠かせないものになった。てんかんの診断においても、脳波検査に加えて X線断層撮影 (CT)、磁気共鳴画像 (MRI)、単光子放出断層撮影 (SPECT)、ポジトロン断層撮影 (PET) 検査が日常的に行われるようになりつつある。症候性局在関連性てんかんの焦点としてもっとも多いのは側頭葉、とくに内側部にある海馬・扁桃核とその周辺皮質であり、側頭葉てんかんは成人の難治性てんかんの半数以上を占めている。抗てんかん薬治療で発作が軽減しない側頭葉てんかんでは、前部側頭葉切除や選択的海馬・扁桃核切除等の外科的治療が行われるが、そのためにはてんかん焦点(発作起始部位)の確定が前提となる。MRI は、てんかん焦点の診断率では発作時・発作間欠期 SPECT や PET に劣るが、多くの医療機関に設置されているこ

と、放射線被曝の危険がないこと、dysembryoplastic neuroepithelial tumor (DNT)、微細な皮質形成異常等他の画像検査や脳波では診断が困難か不可能な病変を検出できることから、てんかんの診断においては脳波と並んで最も日常的な検査になっている。

MRI は、生体を強い均一磁場の中に置いて励起用電磁波パルスをかけ、水素原子から出てくる電磁波 (NMR 信号) をフーリエ変換して画像化したもので、画像検査の中ではもっとも解像度が高く、1 mm 以下の病変でも描写される。基本的撮像法は、スピンエコー法と呼ばれる励起パルスをかけてから NMR 信号が出るまで(エコー時間, TE)の間に180°パルスをかけて信号を得る方法である。励起パルスをかける間隔(繰り返し時間, TR)を短く(200~600 ms)、TE を短く(10~30ms)した場合、信号の回復力(T1)が主として画像に反映され、T1 強調像と呼

岡山大学医学部保健学科検査技術科学専攻

1) 岡山療護センター

2) 岡山大学医学部医学科神経精神医学講座

ばれる。一方、TRを長く(2000~4000ms)、TEを長く(60~120ms)した場合、信号の持続能力(T2)が主として画像に反映され、T2強調像と呼ばれるが、最近では1回の励起パルス後に何度も180°パルスをかけて撮像時間を短くする高速スピニング法が用いられる。MRI検査ではT1強調像とT2強調像がルーチンに使われ、てんかん患者では脳脊髄液のT2信号を抑制して脳実質のT2信号を強調するfluid-attenuated inversion recovery (FLAIR)法が追加されることが多い。T2強調像では、古い梗塞巣やグリオシスは高信号領域として白く描出されるが、脳室に接した部位や大脳皮質表面の小さな病変は、同じようにT2高信号を示す脳脊髄液に接しているため見逃されやすい。しかし、最近ではFLAIR法で比較的小さなT2高信号領域を検出することも行われている。

MRIが医療に導入された当初から、てんかん焦点に一致してT2、T1高信号領域がみられる例のあることが報告されてきた¹⁻⁶⁾。とくに、側頭葉てんかんの33~83%でてんかん焦点に一致してT2高信号領域がみられることから、その形態的、機能的背景が注目されてきた^{1,4-6)}。しかし、T2高信号領域に一致して内側側頭葉硬化(mesial temporal sclerosis, MTS)、グリオシス、DNT等がみられることが報告されているものの^{1,6)}、T2高信号領域出現の要因ははっきりしていない。

そこで、本研究ではラットのカイニン酸モデルを用いてMRI所見と病理組織学的変化との関係を検討した。カイニン酸(kainic acid, KA)は、海草から精製された興奮性アミノ酸の一種で、脳内へ局所注入すると神経細胞が選択的に破壊され、投射神経線維や通過神経線維は損傷されないことから、神経疾患の実験的研究に広く利用されてきた。KAをラットの海馬、扁桃核、側脳室に局所注入するか、全身投与すると3~6時間続く全身けいれん発作重積状態が起これ、病理組織学的にMTSに酷似した病変が形成される⁷⁻¹²⁾。さらに、このようなラットのかかりに自発性の全身けいれん発作が出現することから^{7,8,12)}、ヒトの側頭葉てんかんの実験モデルと考えられており、これまでこのモデルを使って膨大な数の研究が行われてきたが、MRI所見と病理組織学的変化との関係を検討した報告はない。

対象と方法

実験には対照群3匹、KA群8匹の8週令Sprague-Dawley雄ラットを用い、対照群には生理

食塩水、KA群にはKA 10mg/kgを腹腔内投与した。投与後3時間以上行動観察を行った。発作症状は、次の5段階に分けて判定した。stage 1: 移動行動の停止と顔面のれん縮(facial twitching)、stage 2: 點頭(head nodding)と流涎、stage 3: 前肢の間代けいれん、stage 4: 後肢で立ち上がった状態(rearing)での前肢の間代けいれん、stage 5: stage 4に続いて後方または側方へ転倒した場合。このうちstage 1, 2がヒトの複雑部分発作に、stage 3~5が二次性全般化発作すなわち全身けいれん発作に相当すると考えられている。

その結果、本実験においてはKA群全例でstage 3以上の全身けいれん発作が出現した。

MRI撮影は、1.5T MRI (SIGNA, GE Medical Systems)を用い、ペントバルビタール麻酔下でスライス厚2mm、スライス間隔0.5mm、スキャンレンジ8cm、image mode 2Dで行った。条件はpulse sequence IR、TR 6000msec、TE 100msec、inversion time 1500msecに設定し、脳脊髄液のT2信号がnull pointになるFLAIR法で撮像した。

MRI撮影終了後、ペントバルビタール麻酔下で左心室から4%パラホルムアルデヒド(PFA)-PBSにて灌流固定を行い脳を取り出した。取り出した脳は、4% PFA-PBSに浸漬し、4℃、一晚固定した。その後通常の方法にてパラフィン包埋し、6μmの連続切片を作製し、扁桃核が出現し始める部位から腹側海馬が完全に出現するまでの部位をニッスル染色(0.1% cresyl violet)およびGFAP免疫染色を用いて神経細胞の状態とGFAP免疫反応について観察した。

GFAP免疫染色は、anti-GFAP mouse monoclonal antibody (Boehringer Mannheim)を一次抗体とし、4℃、一晚反応させた。続いてbiotinylated anti-mouse IgG (vectastain ABC kit)を室温、30分反応させた後、avidin-biotin-peroxidase complex (vectastain ABC kit)を室温、30分反応させ、3,3'-diaminobenzidine発色させた。

結 果

KAを投与したラットすべてに、扁桃核キンドリングのstage 3,4,5のけいれん発作が繰り返し惹起された(3~4時間)。これらのラットでは、1週間後から両側piriform cortex, entorhinal cortexでT2高信号領域が出現し、2, 4, 8週間後にも同様の所見がみられた。2週間目以後のT2高信号領域は不均一で、とくに4, 8週間後には不整形の低信

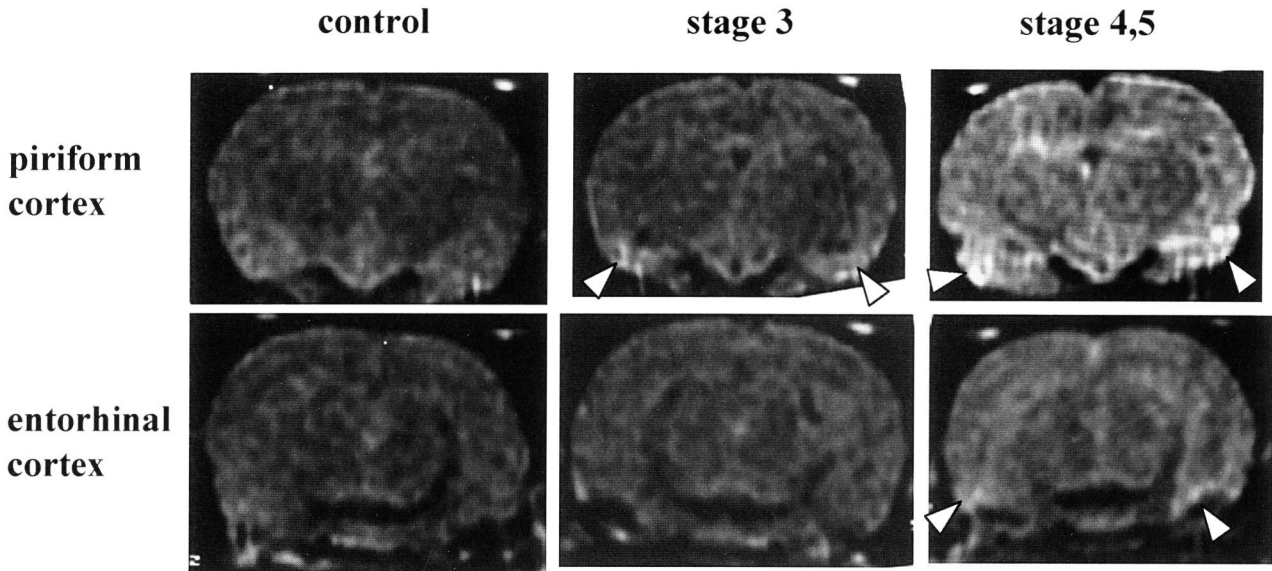


図1 KAによるけいれん発作重積4週間後のMRI所見

上段は piriform cortex と背側海馬が出現するレベル、下段は entorhinal cortex と腹側海馬が出現するレベルの冠状断。stage 4,5 が出現したラットでは両側の piriform cortex と entorhinal cortex に不整形の T2 高信号領域 (▷) がみられる。stage 3 が出現したラットでも同様の所見がみられるが、T2 高信号の範囲が小さい。

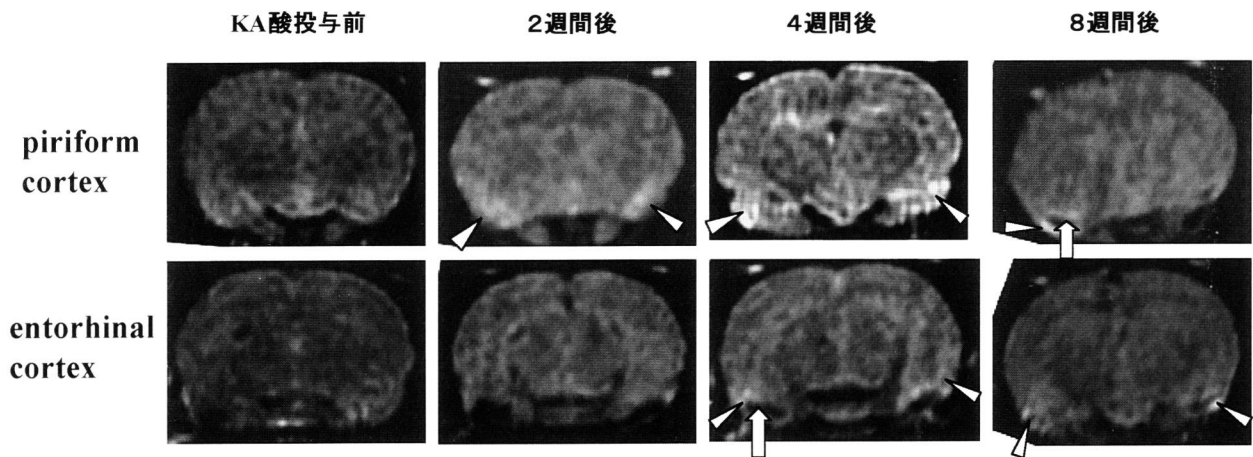


図2 Stage 4,5 が出現したラットにおける MRI 所見の経過

上段は piriform cortex と背側海馬が出現するレベル、下段は entorhinal cortex と腹側海馬が出現するレベルの冠状断。KA 投与2, 4, 8週間後のいずれの時点でも piriform cortex と entorhinal cortex に不整形の T2 高信号領域がみられるが (▷), 4, 8週間後には神経細胞消失によると考えられる低信号領域 (⇨) が混在する。

号領域が出現する場合が多く、それを取り囲むような形の高信号領域がみられた (図1, 2)。T2 高信号領域は、stage 4,5 の全身けいれん発作が惹起されたラットでは stage 3 のけいれん発作しか出現しなかったラットよりも範囲が広く、信号も強かった。また、stage 3 のけいれん発作しか出現しなかったラットでは、ほとんど T2 信号の変化がみられない例もあった。海馬については stage 4,5 が出現したラットで軽度の T2 高信号を示す傾向はあったが、明瞭な変化はみられなかった。

病理組織学的には、piriform cortex から entorhinal cortex にかけて神経細胞消失がみられ、細胞消失の強い例では組織全体の強い萎縮と側脳室の拡大がみられた。GFAP 免疫染色では、神経細胞の消失部位およびその周辺で顕著な GFAP 免疫反応の増強がみられた (図3, 4)。GFAP 免疫反応の増強部位は必ずしも神経細胞消失部位とは一致せず、むしろその周辺部で強いことが多かった。stage 3 のけいれん発作しか出現しなかったラットで、ほとんど T2 信号の変化がみられなかった例では、神経細胞

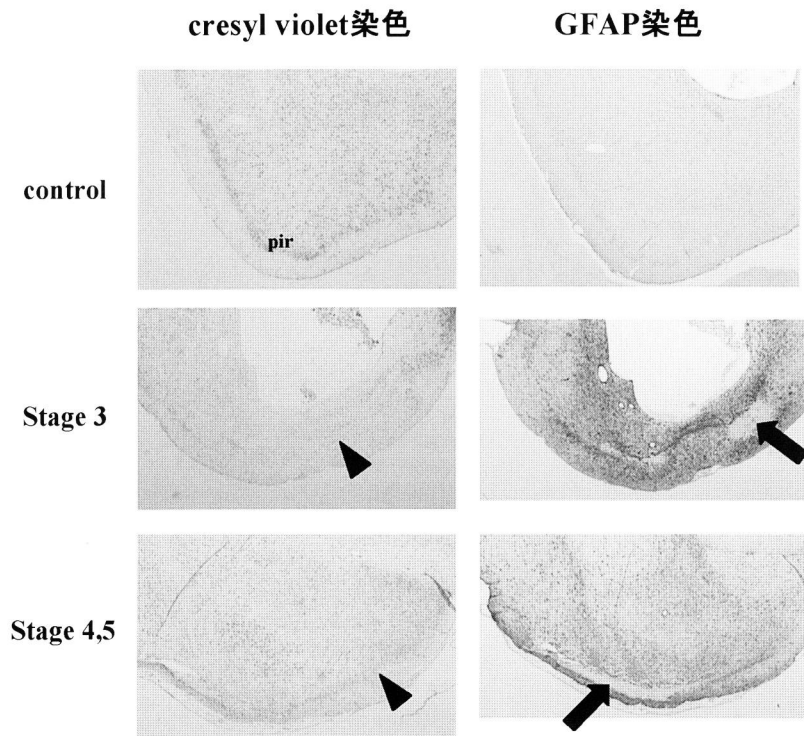


図3 Piriform cortex の組織変化 (8週間後)

左列は cresyl violet 染色, 右列は隣接切片の GFAP 染色。KA 投与ラットでは明らかな錐体細胞の消失があり (▶), 図に示した例では stage 3 が出現したラットでより顕著な錐体細胞消失と piriform cortex 全体の萎縮がみられる。GFAP 染色では, 神経細胞消失部位やその周辺にアストロサイトの増殖, 肥大と GFAP 免疫反応の増強がみられるが, 神経細胞消失部位とは必ずしも一致せず, GFAP 免疫反応の増強がみられない部分が混在する (➡)。pir: piriform cortex

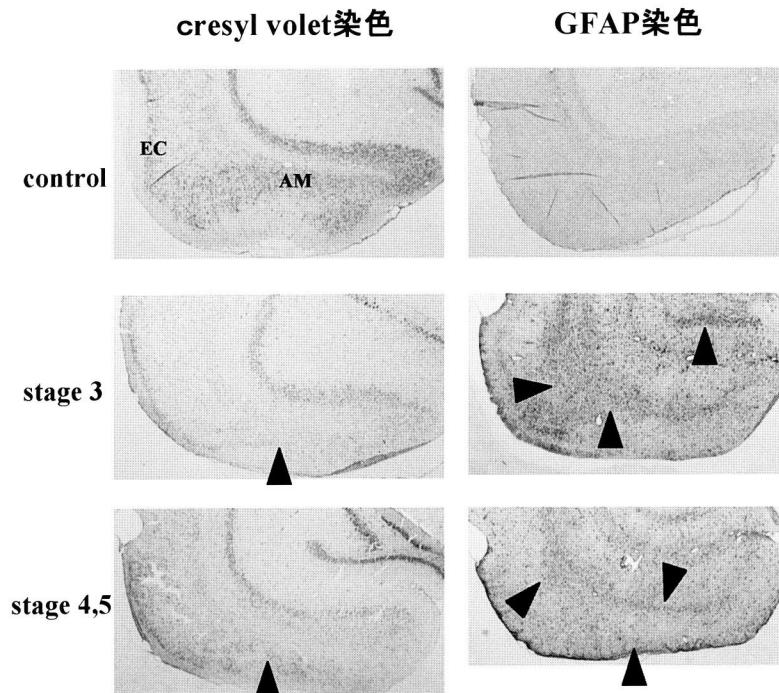


図4 Entorhinal cortex の組織変化 (8週間後)

左列は cresyl violet 染色, 右列は隣接切片の GFAP 染色。KA 投与ラットでは amygdala から entorhinal cortex にかけて神経細胞の消失がみられる (▶)。GFAP 染色では, 神経細胞消失部位とその周辺, 皮質表面, 脳室に接する脳実質でアストロサイトの増殖, 肥大と GFAP 免疫反応の増強がみられる (▶)。

AM: amygdala EC: entorhinal cortex

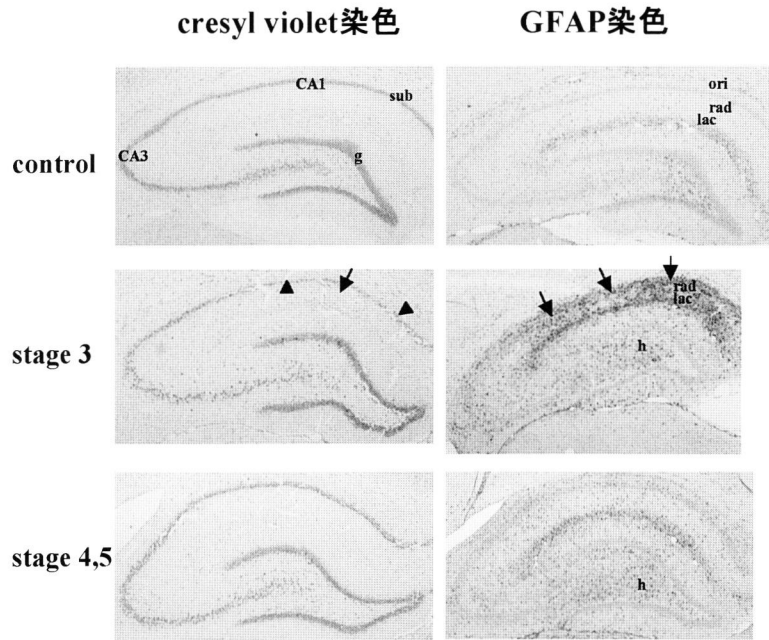


図5 背側海馬の組織変化（8週間後）

左列は cresyl violet 染色，右列は隣接切片の GFAP 染色。図に示した例では stage 3 が出現したラットで CA1, subiculum の錐体細胞消失 (▶) と stratum oriens, stratum radiatum, stratum lacunosum/moleculare の萎縮がみられる (→)。GFAP 染色では, stage 3 が出現したラットで CA1, subiculum の stratum oriens, stratum radiatum, stratum lacunosum/moleculare に著明なアストロサイトの増殖, 肥大と GFAP 免疫反応の増強がみられるが (→), stage 3 が出現したラット, stage 4,5 が出現したラットの両方で, hilus をはじめ海馬全体に GFAP 免疫反応の増強がみられる。

sub : subiculum, ori : stratum oriens, rad : stratum radiatum,
lac : stratum lacunosum/moleculare, h : hilus, g : 歯状回顆粒細胞層

核の濃染はみられたものの細胞消失はみられず, GFAP 免疫反応も弱かった。

海馬では, CA1, subiculum, CA3 の錐体細胞消失または減少と容積の減少 (萎縮), hilus, stratum oriens, stratum radiatum, stratum lacunosum/moleculare, 海馬裂閉塞部の GFAP 免疫反応増強がみられた。stratum radiatum, stratum lacunosum/moleculare における GFAP 免疫反応増強の程度は, 錐体細胞消失が強いほど顕著であった (図5)。

考 察

MRI での T2 高信号領域は, KA 誘発けいれん発作後 1 週間目から piriform cortex から entorhinal cortex にかけて出現し, 8 週間後もみられた。信号の程度と範囲は, stage 4,5 の全身けいれん発作が惹起されたラットのほうが stage 3 のけいれん発作しか出現しなかったラットよりも強く, 広がった。神経細胞消失と萎縮の程度は必ずしも T2 信号の強さや範囲の広さと相関せず, stage 3 しか出現しなかったラットでも強い神経細胞消失と萎縮がみられた例

もあった。しかし, このラットでは GFAP 免疫反応の増強はみられたが, 組織の萎縮が強かったためその範囲が狭かった。これに対し, stage 4,5 の全身けいれんが出現し, 広い T2 高信号領域がみられたラットでは, 組織の萎縮が少なく, 広い範囲で GFAP 免疫反応の増加がみられた (図1, 2, 3, 4)。stage 3 しか出現せず, T2 高信号領域がみられなかったラットでは神経細胞核の濃染はみられたものの, 神経細胞消失や GFAP 免疫反応の増強はみられなかった。したがって, 今回みられた piriform cortex や entorhinal cortex での T2 信号増強は, 神経細胞の変性や脱落よりも主に GFAP 免疫反応の増強を反映したものと考えられる。

KA によりけいれん発作重積状態を起こしたラットでは, 海馬の CA3, CA1, subiculum だけでなく, piriform cortex や entorhinal cortex でも強い神経細胞消失が起こることがよく知られている¹⁰⁻¹²⁾。神経細胞の変性は重積発作後 24 時間以内に始まり, 4 日後には変性した細胞の多くが消失する¹¹⁻¹²⁾。この神経細胞死には, 細胞の腫脹を伴う壊死と核の濃染, DNA 断片化を伴うアポトーシス様

の細胞死が混在すると考えられている¹³⁻¹⁴⁾。

一方、けいれん発作後に海馬だけでなく、piriform cortex や entorhinal cortex でもアストロサイトの GFAP 免疫反応の増強が起こることはよく知られており、KA によるけいれん発作重積後にも長期にわたる GFAP 免疫反応の増強がみられる¹⁵⁻¹⁸⁾。この免疫反応の増強は、アストロサイトの増殖だけでなく、GFAP 発現量の増加、アストロサイトの細胞体と突起の肥大によることが確認されており¹⁶⁻¹⁷⁾、神経細胞の変性や脱落がなくても発作後に GFAP 免疫反応の増強が起こることが報告されている¹⁸⁻²¹⁾。脳実質のグリオシスが T2 高信号を呈することはよく知られた事実であり、ヒトの側頭葉てんかんでみられる T2 信号増強もアストロサイトの変化を反映したものと考えられる。

側頭葉てんかんで、60% 以上で CA1, subiculum の錐体細胞消失とアストロサイトの増強(グリオシス)がみられ、古くからアンモン角硬化と呼ばれてきた。アンモン角硬化をとまなう側頭葉てんかんで PET でのグルコース低代謝領域、SPECT での低灌流領域、MRI での T2 高信号領域が出現しやすいことが報告されている^{5-6, 22-23)}。このような例では、CA1, subiculum だけでなく、海馬傍回等海馬周辺の皮質にも錐体細胞消失やグリオシスがみられることが多く、最近では MTS と呼ばれるようになった。今回の研究では、CA1, subiculum の GFAP 免疫反応増強があっても T2 高信号領域として検出されなかった。これは本研究で用いた MRI の解像力に限界があるため、海馬の変化が十分描出されなかった可能性もあるが、一方では piriform cortex や entorhinal cortex のアストロサイトの変化のほうが T2 高信号領域として検出されやすいことを示している。系統発生学的に、ラットの piriform cortex や entorhinal cortex はヒトの海馬傍回にあたり、これは海馬だけでなく海馬傍回等海馬周辺皮質の錐体細胞消失やグリオシスがみられる例で T2 高信号領域が出現しやすいことと一致している。

しかし、側頭葉前部切除を受けた側頭葉てんかん患者の切除標本では、MTS のほとんどみられない例で T2 高信号領域がみられたり、逆に MRI で異常所見のなかった例で MTS がみられることも報告されている²²⁻²⁴⁾。したがって、グリオシス以外の要因も T2 信号の増強に関与していると考えられる。すでに述べたように、てんかんモデル動物ではけいれん発作後にアストロサイトの肥大をとまなう

GFAP 免疫反応の増強が起こることが知られているが、必ずしもアストロサイトの増殖をとまなわないこと、その場合免疫反応の増強は発作後24時間から1週間まではみられるが、2ヵ月後には消失することが報告されている¹⁹⁻²¹⁾。ヒトの側頭葉てんかんで GFAP 免疫反応の変化を検討した報告はないが、発作後にアストロサイト間のギャップ結合増加等アストロサイトの形態変化が起こることを示した報告もあり²⁵⁻²⁶⁾、MTS のない側頭葉てんかんでも複雑部分発作や二次性全般化発作後にアストロサイトの GFAP 発現量増加、細胞体と突起の肥大が起こると考えられる。MRI で T2 高信号領域が出現しながら MTS がみられなかった例では、こうした発作後の一過性の変化が T2 高信号の原因ではないかと思われる。しかし、今回は spontaneous seizure の有無は観察できておらず、これが GFAP 免疫反応の増強やアストロサイトの肥大を引き起こすか、T2 高信号の原因になりうるかについては更なる研究が必要である。

文 献

- 1) Heinz, E.R., Crain, B.J., Radtke, R.A., Burger, P.C., Friedman, A.H., Djang, W. T. and Wilkinson, W. E.: MR imaging in patients with temporal lobe seizures: correlation of results with pathologic findings. *A. J. P.*, 155: 581-586, 1990.
- 2) Conlon, P., Trimble, M.R., Rogers, D. and Callicot, C.: Magnetic resonance imaging in epilepsy: a controlled study. *Epilepsy Res.*, 2: 37-43, 1988.
- 3) McLachlan, R. S., Karlik, S. J. and Myles, V.: Nuclear magnetic resonance relaxometry in a penicillin model of focal epilepsy. *Epilepsia*, 29: 396-400, 1988.
- 4) Franceschi, M., Triulzi, F., Ferini-Strambi, L., Giusti, M. C., Minicucci, F., Fazio, F., Smirne, S. and DelMaschio, A.: Focal cerebral lesions found by magnetic resonance imaging in cryptogenic nonrefractory temporal lobe epilepsy patients. *Epilepsia*, 30: 540-546, 1989.
- 5) 三浦清邦, 鬼頭正夫, 早川文雄, 前原光夫, 根来民子, 渡辺一功: 小児難治性部分てんかんの画像診断—SPECT と MRI の比較—. *てんかん研究*, 8: 159-166, 1990.
- 6) Sackellares, J. C., Siegel, G. J., Abou-Khalil, B. W., Hood, T. W., Gliman, S., Mckeever, P. E., Hichwa, R. D. and Hutchins, G. D.: Differences between lateral and mesial temporal metabolism interictally in epilepsy of mesial temporal origin. *Neurology*, 40: 1420-1426, 1990.
- 7) Stafstrom, C. E., Thompson, J. L. and Holmes, G. L.: Kainic acid seizures in the developing brain: status epilepticus and spontaneous recurrent seizures. *Develop. Brain Res.*, 65: 227-236, 1992.
- 8) Tanaka, T., Tanaka, S., Fujita, T., Takano, K.,

- Fukuda, H., Sako, K. and Yonemasu, Y.: Experimental complex partial seizures induced by a microinjection of kainic acid into limbic structures. *Prog. Neurobiol.*, 38: 317-334, 1992.
- 9) Olney, J. W., Fuller, T. and Gubareff, D. E.: Acute dendrotoxic changes in the hippocampus of kainate treated rats. *Brain Res.*, 176: 91-100, 1979.
 - 10) Lothman, E. W. and Collins, R. C.: Kainic acid induced limbic seizures: metabolic, behavioral, electroencephalographic and neuropathological correlates. *Brain Res.* 218: 299-318, 1981.
 - 11) Sperk, G., Lassmann, H., Baran, H., Kish, S. J., Setelberger, F. and Hornykiewicz, O.: Kainic acid induced seizures: neurochemical and histopathological changes. *Neuroscience*, 10: 1301-1315, 1983.
 - 12) Sperk, G.: Kainic acid seizures in the rat. *Prog. Neurobiol.*, 42: 1-32, 1994.
 - 13) Weiss, S., Cataltepe, O. and Cole, A.J.: Anatomical studies of DNA fragmentation in rat brain after systemic kainate administration. *Neuroscience*, 74: 541-551, 1996.
 - 14) Pollard, H., Charriaut-Marlangue, C., Cantagrel, S., Represa, A., Robain, O., Moreau, J. and Ben-Ari, Y.: Kainate-induced apoptotic cell death in hippocampal neurons. *Neuroscience*, 63: 7-18, 1994.
 - 15) Castiglioni, A. J., Peterson, S. L., Sanabria, E. L. and Tiffany-Castiglioni, E.: Structural changes in astrocytes induced by seizures in model of temporal lobe epilepsy. *J. Neurosci. Res.*, 26: 334-341, 1990.
 - 16) Represa, A., Niquet, J., Charriaut-Marlangue, C. and Ben-Ari, Y.: Reactive astrocytes in the kainic acid-damaged hippocampus have the phenotypic features of type-2 astrocytes. *J. Neurocytol.*, 22: 299-310, 1993.
 - 17) Niquet, J., Ben-Ari, Y. and Represa, A.: Glial reaction after seizure induced hippocampal lesion: immunohistochemical characterization of proliferating glial cells. *J. Neurocytol.*, 23: 641-656, 1994.
 - 18) Khurgel, M., Switzer, R. C., Teskey, G. C., Spiller, A. E., Racine, R. J. and Ivy, G. O.: Activation of astrocytes during epileptogenesis in the absence of neuronal degeneration. *Neurobiol. Disease*, 2: 23-35, 1995.
 - 19) Hansen, A., Jorgensen, O. S., Bolwig, T. G. and Barry, D.: Hippocampal kindling in the rat is associated with times-dependent increases in the concentration of glial fibrillary acidic protein. *J. Neurochem.*, 57: 1716-1720, 1991.
 - 20) Khurgel, M., Racine, R. J. and Ivy, G. O.: Kindling causes changes in the composition of the astrocytic cytoskeleton. *Brain Res.*, 592: 338-342, 1992.
 - 21) Khurgel, M. and Ivy, G.O.: Astrocytes in kindling: relevance to epileptogenesis. *Epilepsy Res.*, 26: 163-175, 1996.
 - 22) Shen, W., Lee, B. I., Park, H. M., Siddiqui, A. R., Wellman, H. H., Worth, R. M. and Markand, O. N.: HIPDM-SPECT brain imaging in the presurgical evaluation of patients with intractable seizures. *J. Nuclear Med.*, 31: 1280-1284, 1990.
 - 23) Theodore, W. H., Katz, D., Kufra, C., Sato, S., Patronas, N., Smothers, P. and Bromfield, E.: Pathology of temporal lobe foci: correlation with CT, MRI and PET. *Neurology*, 40: 797-803, 1990.
 - 24) 松田一己, 三原忠紘, 鳥取孝安, 渡辺裕貴, 重松秀夫, 八木和一, 静野昌一: 側頭葉てんかんにおけるMRI所見と発作焦点の相関. *精神科治療学*, 4: 1107-1115, 1989.
 - 25) Naus, C. C. G., Bechberger, J. F. and Paul, D. L.: Gap junction gene expression in human seizure disorder. *Exp. Neurol.*, 111: 198-203, 1991.
 - 26) Lee, S. H., Magge, S., Spencer, D. D., Sontheimer, H. and Cornell-Bell, A. H.: Human epileptic astrocytes exhibit increased gap junction coupling. *Glia*, 15: 195-202, 1995.

An experimental study on the relation of T2-signal high intensity in MRI to histopathological changes in the kainic acid model of temporal lobe epilepsy in rats.

Junko SAKIYAMA, Motoi OKAMOTO,
Yoshihiro KITAMURA¹⁾ and Norihito YAMADA²⁾

Abstract

The relation of T2-signal high intensity areas observed in temporal lobe epilepsy to histopathological changes in limbic structures was examined in the rat kainic acid (KA) model of epilepsy. Male 8-week-old Sprague-Dawley rats were injected with 10mg/kg(i.p.) of KA or saline (control). Repetitive generalized convulsions (stage 3, or stage 4,5 seizures of amygdala kindled seizures) lasted for 3 to 4 hrs. were induced by KA injection in all rats. MRI was recorded on the day before the KA injection and 1, 2, 4, 8 weeks after the injection by fluid-attenuated inversion recovery method under deep pentobarbital anesthesia. Following the last MRI recording, rats were perfused with 4% paraformaldehyde (PFA) from left cardiac ventricle, post-fixed overnight in 4% PFA and brains were embedded in parafin. Coronal brain sections (6 μ m) were stained with cresyl violet, or mouse anti-GFAP antibody followed by biotinylated goat anti-mouse IgG and avidin-biotin-peroxidase (vectastain ABC kit). Irregular-shaped moderate to severe high T2-signal areas were observed in bilateral piriform and entorhinal cortex in MRI. These high T2-signal areas were observed from 1 week after the KA injection to 8 weeks after the injection, and were more prominent in rats elicited stage 4 or 5 seizures than in rats elicited stage 3 seizures. Loss of pyramidal neurons and increased GFAP immunoreactivity were observed in piriform cortex, entorhinal cortex, CA1, subiculum, and hilus of dentate gyrus. The increase of GFAP immunoreactivity, but not the intensity of neuronal loss, in piriform and entorhinal cortex was almost corresponded to the size and intensity of T2-signal. However, the increase of GFAP immunoreactivity in hippocampus was not detected as the increase of T2-signal in MRI. These findings indicate that astroglial reactions in piriform and entorhinal cortex are more sensitive to T2-weighted MRI than those in hippocampus.

Key words : kainic acid, MRI, FLAIR, neuronal death, GFAP

Faculty of Health Sciences, Okayama University Medical School

1) Okayama Ryogo Center

2) Department of Neuropsychiatry, Faculty of Medicine, Okayama University Medical School