

犬猫の難治性てんかんにおける治療戦略の検討

(Treatment Strategy Studies in Canine and Feline Refractory Epilepsy)

濱 本 裕 仁

犬猫の難治性てんかんにおける治療戦略の検討
(Treatment Strategy Studies in Canine and Feline Refractory Epilepsy)

濱 本 裕 仁

日本獣医生命科学大学大学院獣医生命科学研究科

獣医学専攻博士課程平成 26 年入学

(指導教授：藤田道郎)

平成 30 年 3 月

目次

略語一覧

第1章

序論	1
----	---

第2章

本邦における犬猫のてんかんの回顧的疫学研究

2.1. 緒言	7
2.2. 材料および方法	9
2.3. 結果	13
2.4. 考察	18
2.5. 小括	25
図および表	26

第3章

Voxel-Based Morphometry を用いた家族性自然発症性てんかん猫における Structural

Abnormal Zone の検索

3.1. 緒言	39
3.2. 材料および方法	40
3.3. 結果	44
3.4. 考察	45
3.5. 小括	50
図および表	51

第4章

家族性自然発症性てんかん猫を用いた発作直後の Diffusion および Perfusion Magnetic

Resonance パラメーターの変化

4.1. 緒言	55
4.2. 材料および方法	57
4.3. 結果	60
4.4. 考察	61
4.5. 小括	65
図および表	66

第5章

家族性自然発症性てんかん猫を用いた Magnetic Resonance Spectroscopy によるてんかん原性

領域の側方性検出およびゾニサミドによる代謝変化の評価

5.1. 緒言	70
5.2. 材料および方法	72
5.3. 結果	76
5.4. 考察	78
5.5. 小括	81
図および表	82

第6章

健常犬を用いた前側頭葉切除術の術式および術後合併症の検討

6.1. 緒言	89
6.2. 材料および方法	90
6.3. 結果	93
6.4. 考察	94

6.5. 小括	99
図および表	100
第7章	
総括	104
謝辞	110
参考文献	111

略語一覧

¹H-MRS, proton magnetic resonance spectroscopy: プロトン磁気共鳴スペクトロスコピー

AC-PC, anterior commissure-posterior commissure: 前交連-後交連

ADC, apparent diffusion coefficient: 見かけの拡散係数

AED, antiepileptic drug: 抗てんかん薬

ATL, anterior temporal lobectomy: 前側頭葉切除術

CBP, carbamazepine: カルバマゼピン

CI, confidence interval: 信頼区間

CS, cluster seizure: 群発発作

CSF, cerebrospinal fluid: 脳脊髄液

CT, computed tomography: コンピューター断層撮影

Cho, choline-containing compounds: コリン含有化合物

Cr, creatine: クレアチン

DSC, dynamic susceptibility contrast

DTI, diffusion tensor imaging: 拡散テンソル画像

DWI, diffusion-weighted imaging: 拡散強調画像

DZP, diazepam: ジアゼパム

EEG, electroencephalography: 脳波

EZ, epileptogenic zone: てんかん原性領域

FA, fractional anisotropy: 異方性比率

FES, focal epileptic seizures: 焦点性てんかん発作

FEvG, focal epileptic seizures evolving into generalized epileptic seizures: 焦点性てんかん発作から全
般性てんかん発作への発展

FLAIR, fluid attenuation inversion recovery

FSE, fast spin echo

FSEC, familial spontaneous epileptic cat: 家族性自然発症性てんかん猫

FSL, FMRI Software Library

FWE, family wise error

FWHM, full width at half maximum

GBP, gabapentine: ガバペンチン

GES, generalized epileptic seizures: 全般性てんかん発作

Glx, glutamate and glutamine complex: グルタミンおよびグルタミン酸複合体

ILAE, International League Against Epilepsy: 国際抗てんかん連盟

IVETF, International Veterinary Epilepsy Task force: 国際獣医てんかん特別委員会

IdE, idiopathic epilepsy: 特発性てんかん

KBr, potassium bromide (kalium bromide): 臭化カリウム

LEV, levetiracetam: レベチラセタム

MDB, minimum data base: ミニマムデータベース

MEG, Magnetoencephalography: 脳磁図

MNI, Montreal Neurological Institute: モントリオール神経学研究所

MRI, magnetic resonance imaging: 磁気共鳴画像法

MTLE, mesial temporal lobe epilepsy: 内側側頭葉てんかん

MUO, meningoencephalomyelitis of unknown origin: 原因不明の脳炎

NA, not available: 利用不可

NAA, N-acetyl aspartate: N-アセチルアスパラギン酸

PB, phenobarbital: フェノバルビタール

PET, Positron emission tomography: 陽電子放射断層撮影

PWI, perfusion-weighted imaging: 灌流強調画像

QOL, quality of life: 生活の質

ROI, region of interest: 関心領域

SE, status epilepticus: 発作重積

SE-EPI, spin echo-echo planar imaging

SPECT, single photon emission computed tomography: 単一光子放射断層撮影

SPGR, spoiled gradient echo

SPM, Statistical Parametric Mapping

SUDEP, sudden unexpected death in epilepsy: てんかん発作による突然死

StE, structural epilepsy: 構造的てんかん

T2WI, T2-weighted imaging: T2 強調画像

TE, echo time: エコー時間

VBM, voxel-based morphometry

VOI, volume of interest: 関心体積

WHO, World Health Organization: 世界保健機構

ZNS, zonisamide: ゾニサミド

mIns, myoinositol: ミオイノシトール

rCBF, relative regional cerebral blood flow: 相対的局所脳血流量

rCBV, relative regional cerebral blood volume: 相対的局所脳血液量

rMTT, relative regional mean transit time: 相対的局所平均通過時間

第1章

1. 序論

1.1. 人医療におけるてんかん

てんかんは脳の慢性機能性の病態生理学的機構を持つ疾病であり、ヒトのみならずヒヒ、犬、猫、アシカ、馬、牛、羊、ウサギ、ラット、マウス、スナネズミ、鶏などの動物種に起こりうる [Buckmaster, 2017]. その歴史は古く、紀元前にはすでに発作の記述が存在する。

てんかんは、人医療において最も多い神経疾患の1つである [Löscher, 2015]. 世界保健機関 (World Health Organization, WHO) は、てんかんを「大脳神経の過剰な発作により反復性の発作を生じる慢性の脳疾患で、種々の原因が存在し、様々な臨床症状および検査所見を伴う」と定義し、2016年にはてんかん患者が5千万人以上存在すると推定している。定義にあるように種々の原因や様々な臨床症状および検査所見はてんかん診断を複雑にする要因であり、十分な病歴の聴取が必要となる。また、てんかんの発生は新生児から高齢者まで幅広い年齢層に分布し、患者自身の社会生活に様々な影響を引き起こす。それゆえに、てんかんか否かは最も重要な診断であり、その後の治療に大きく関係する。人医療では、てんかんに関する知見を統一させるため、1909年に国際抗てんかん連盟 International League Against Epilepsy (ILAE) が発足し、100年以上に渡りてんかん医療の指針を発信し続けている。1970年には「てんかんとてんかんの発作分類」が提唱され [Gastaut et al., 1970; Merlis et al., 1970], てんかんの発作型や原因に基づく分類が行われている。最新の報告は、2017年に報告され [Fisher et al., 2017a; Fisher et al., 2017b; Scheffer et al., 2017], てんかんの臨床的かつ実用的定義を24時間以上あけて少なくとも2回以上のてんかん発作を示すものとし、てんかんを focal onset, generalized onset, および unknown onset に分類することを提唱している。これらの提案は、医療の発展に応じて改訂が繰り返されている。

人医療におけるてんかんの治療目標はてんかん発作の消失であり、患者の生活の質 (quality of life, QOL) の改善を目指す。最も一般的なてんかんの治療は、抗てんかん薬

(antiepileptic drug, AED) による薬物療法であり、その他の内科的治療には副腎皮質刺激ホルモン療法、ケトン食療法などがある。AED を用いたてんかん発作コントロールにおいて、患者の発作型および症候群分類から適切な薬剤が選択される。現在、カルバマゼピン、バルプロ酸、エトスクシミド、ゾニサミド、クロバザム、フェニトイン、レベチラセタム、トピラマート、ラモトリギン、ガバペンチン、フェノバルビタール、クロナゼパムなど数多くの AED が一般的に用いられるが、患者の年齢や性別および妊娠の有無など様々な要因が考慮される。多くのてんかん患者は AED 治療に反応し、良好なてんかん発作コントロールを示すが [ILAE, 1997a], 約 30% の患者では治療に抵抗する [Sander, 1993; Schmidt and Gram, 1995; Brodie and Dichter, 1996]. これらの適切な抗てんかん薬に反応しないてんかんは難治性てんかんあるいは薬剤抵抗性てんかんと呼ばれている [Berg and Kelly 2006].

人医療における難治性てんかんには、てんかん外科の適応が検討される [Binnie et al., 2000]. 1886 年にイギリスの脳神経外科医である Victor Horsley が、世界で初めててんかん患者に対する外科治療を報告している [Horsley, 1886]. その後、脳波 (electroencephalography, EEG) を始め、磁気共鳴画像法 (magnetic resonance imaging, MRI), 単一光子放射断層撮影 (single photon emission computed tomography, SPECT), 陽電子放射断層撮影 (Positron emission tomography, PET) や脳磁図 (Magnetoencephalography, MEG) などの術前検査技術の向上に伴い、てんかん外科の施術件数は世界的に増加の一途をたどっている。現在のてんかん外科は切除外科、遮断外科、および緩和的外科治療に分けられ、切除外科はてんかん原性領域の切除、遮断外科はてんかん性異常伝搬の遮断を目的とする。特に、内側側頭葉てんかん (mesial temporal lobe epilepsy, MTLE) は最も一般的に切除外科が行われる難治性てんかんであり、その有効性が高いことが知られている [ILAE, 1997b]. また、開頭手術対象外の患者に対してはてんかん発作の改善を目的とする迷走神経刺激療法や深部脳波刺激療法が緩和的外科治療として行われている。

てんかん外科において、てんかん原性領域 (epileptogenic zone) が最も重要な概念と考えられている [Rosenow and Lüders, 2001; Lüders et al., 2006]. Lüders et al. (2006) により提唱されたてんかん原性領域は「てんかん発作がはじまる必要十分な領域で、切除 (あるいは完全遮断) によりてんかん発作の消失をもたらす最小の皮質部位」と定義される。この定義はてんか

ん原性領域が外科手術後の発作活動の有無により判断されることを示しているが、術前検査において5つの皮質異常域 (abnormal cortical zones) を検出することにより、てんかん原性領域を推測できると提唱している。この5つの皮質異常域は、発作症候学により検出される症状発現域 (symptomatogenic zone), 発作間欠期のビデオ EEG, MEG により検出される発作間欠期興奮域 (irritative zone), 発作時のビデオ頭蓋内 EEG, SPECT により検出される発作起始域 (seizure onset zone), MRI により検出される構造異常域 (structural abnormal zone), 発作間欠期の PET, SPECT および functional MRI により検出される機能欠落域 (functional deficit zone) に分けられる。これらの領域がてんかん原性領域と全て合致するわけではないが、重複の多い領域はてんかん原性領域の可能性がより高くなるとされる。そのため、てんかん外科の適応症例では、術前にこれらの検査が行われ、総合的に最も疑わしい領域が外科的に切除される。一方、これらの術前検査でてんかん原性領域を特定できない、あるいは特定されたものの機能的に切除不能な領域にある場合には、遮断外科あるいは迷走神経刺激療法などの緩和的外科治療が行われる。

1.2. 獣医療におけるてんかん

獣医療においてもてんかんは最も遭遇する神経疾患の1つであり [Smith Bailey and Dewey, 2009; Muñana, 2013], これまでその分類や用語は ILAE の提唱を改変したものが用いられてきた。すなわち、動物、特に犬猫における特有の統一されたてんかん医療指針は存在しなかった。その結果、研究者間あるいは獣医師間で統一した用語、診断、治療を実現することは困難であった。しかしながら、2015年に欧米の獣医神経病専門医および基礎神経科学者から構成される国際獣医てんかん特別委員会 International Veterinary Epilepsy Task force (IVETF) が設立され、犬猫のてんかんも、画一したてんかん医療が実現可能になったと言える。現在の犬猫のてんかん治療は、基本的に AED による内科的治療のみで行われている。ヒトとの薬物動態の違いから、その種類はフェノバルビタール、ゾニサミド、イメピトイン、臭化カリウム、レベチラセタム、ジアゼパムなどに限られる。しかしながら、全ての AED に十分なエビデンスが存在するわけではなく、いくつかの AED は経験に基づく選択が行われている。ヒトと同様に犬においても、これらの AED 治療に抵抗性を示す難治性てんかんが約 30%存在すると報告され

ている [Muñana, 2013; Martlé et al., 2014]. 現在の獣医臨床ではこの難治性てんかんに対する治療には AED の多剤併用が行われているが、それでも発作コントロールがつかない場合、AED の副作用とともに、QOL の著しい低下を招く。動物実験ではてんかんの犬に対する迷走神経刺激 [Zebra, 1985a; Zebra, 1985b] および脳深部刺激 [Brown et al., 1984] が報告され、2002 年には Muñana et al. (2002) が犬の難治性てんかん症例に対する迷走神経刺激療法の方法および短期的効果について報告している。しかしながら、てんかんの犬猫に対する切除あるいは遮断外科治療の基礎研究は 1 報のみであり [Bagley et al., 1995]、臨床例に対する報告は我々の知る限りない。

1.3. てんかんモデル動物

これまでのてんかんのモデル動物には、多様な動物種が用いられており [Buckmaster, 2017]、誘発性と自然発症性に大分される。誘発性モデルにはキンドリングモデル [Sutula and Kotloski, 2017]、カイニン酸 [Dudek and Staley, 2017; Henshall, 2017] やピロカルピン [Kelly and Coulter, 2017] を代表とする化学物質誘発性モデルや電気刺激誘発性モデル [Gorter and van Vliet, 2017] が報告されている。これらのモデルは、人為的なてんかん発作あるいはてんかん原性の獲得を可能とし、特定の研究目的をもって利用されている。しかしながら、これらの誘発性てんかん発作モデルは発作誘発刺激を必要とし、バイアスが発生する可能性がある。一方、自然発症性モデルには、光過敏性てんかんモデルであるギニアヒヒ (*Papio papio*) [Killam et al., 1966] や体位変換刺激によっててんかん発作が誘発される EL マウス [今泉ら, 1959] が存在し、様々なてんかん研究に用いられ、てんかんの遺伝的関与を示す研究の基盤となった。近年、伴侶動物 (犬猫) における自然発症のてんかんが、ヒトのてんかんモデルとして有力視されている [Buckmaster, 2017]。なぜなら、伴侶動物は家族の一員として迎え入れられ、生活環境がヒトに近く、飼い主からの稟告や獣医師による治療が人医療と類似するからである。さらに、犬のてんかんはヒトと同様に最も一般的な神経疾患の 1 つであることが古くから知られていることも 1 つの要因としてあげられる [Podell et al., 1996]。一方、猫は品種間、個体間で脳の形態差が少ないことから多くの脳神経研究に用いられ、発作症候がヒトと類似することが多く

[Kitz et al., 2017], てんかんモデルとして優れた動物種であることを示している。

家族性自然発症性てんかん猫 (familial spontaneous epileptic cat, FSEC) は 2009 年に発見された世界で唯一の遺伝的背景をもつ自然発症のてんかん猫家系であり [Kuwabara et al., 2010], 日本獣医生命科学大学で維持されているクローズドコロニーである。FSEC は自然発症の辺縁系発作および二次性の全般性発作, または前庭刺激に誘発される全般性強直間代性発作を示す。また, 発作間欠期におけるメドトミジン鎮静下頭皮上ビデオ EEG において, 側頭部に優位な突発性異常波が認められ, FSEC はヒト MTLE モデルと考えられた。さらに, Hasegawa et al. (2014) はビデオ頭蓋内 EEG を用いて, 海馬および扁桃体からの発作起始を報告し, FSEC が MTLE である明確なエビデンスを示した。その後の研究において, FSEC は MR volumetry における左右海馬容積の非対称性 [Mizoguchi et al., 2014] や発作間欠期における海馬や扁桃体における拡散および灌流の異常を認め [Mizoguchi et al., 2017], 多くの検査においてヒト MTLE と類似する所見が示されている。

1.3. 本研究の趣旨

本研究は犬猫を対象とする小動物臨床における難治性てんかんに対するてんかん外科の導入に向けた一連の基礎および臨床的研究である。既存でない小動物臨床におけるてんかん外科を確立するためには, 様々な基準, 診断法, 手技を決定しなければならない。本研究の第 2 章では, 日本獣医生命科学大学附属動物医療センターにおけるてんかん患者の回顧的疫学研究を行い, てんかん外科適応症例に関する基準について考察する。第 3 章から第 5 章では, てんかん原性領域の推定法について検討する: 第 3 章では, ヒト MTLE モデルとして確立された FSEC を用いて, より精密な海馬萎縮を検出するため Voxel-Based Morphometry の有用性について検証する。第 4 章では, FSEC の発作直後における局所の拡散および灌流の変化を検討し, 非侵襲的な seizure-onset zone 検索における Diffusion および Perfusion MRI の有用性を考察する。第 5 章では, てんかん治療におけるプロトン磁気共鳴スペクトロスコピーを用いた脳代謝産物測定の有用性を検討するため, FSEC を用いた発作間欠期の脳代謝産物の測定を行った。さらに, てんかんの猫に対するエビデンスベースの AED 治療の選択肢を増加させるため,

エビデンスに乏しいてんかん猫のゾニサミド治療における脳代謝産物変化について検討した。

第 6 章では、最終的な臨床でのてんかん外科へ向かうため、ヒト MTLE の術式である前側頭葉切除を行い、術式およびその合併症を検討した。猫と比較して脳サイズが大きく、広い術野確保により安全な施術ができることや、神経膠細胞種が前側頭葉領域に好発し、外科的アプローチの検討のため犬を対象とした。最後に、第 7 章では、本研究で行った各々の実験成果と将来的な小動物臨床でのてんかん外科への展望を総括する。

第2章

本邦における犬猫のてんかんの回顧的疫学研究

2.1. 緒言

獣医領域におけるてんかんの分類や用語はヒトの国際機関である International League Against Epilepsy (ILAE) のプロポーザルを反映させてきた [Podell et al., 1996; March et al., 1998; Berendt et al., 1999; Mariani et al., 2013]. しかしながら、人医療と獣医療には幾つかの診断手段の違いがあるため、獣医療特有の分類および用語が必要であった。この問題を解決するため、最近、獣医神経専門医やその他のてんかん研究者からなる International Veterinary Epilepsy Task Force (IVETF) が立ち上げられ、2015年に伴侶動物におけるてんかんのコンセンサスレポートが報告された [Berendt et al., 2015; De Risio et al., 2015; Hülsmeier et al., 2015; Bhatti et al., 2015; Potschka et al., 2015; Rusbridge et al., 2015; Matiassek et al., 2015].

IVETF のコンセンサスにより、伴侶動物のてんかんは「てんかん発作を起こす恒久的な素因によって特徴づけられる脳疾患」と定義され、特発性てんかん (idiopathic epilepsy, IdE), 構造的てんかん (structural epilepsy, StE), および原因不明 (unknown cause) に病因学的分類された [Berendt et al., 2015]. さらに, IdE は遺伝性てんかん (genetic epilepsy), おそらく遺伝性てんかん (suspected genetic epilepsy), および原因不明のてんかん (epilepsy of unknown cause) に分けることができる。遺伝性てんかんあるいはおそらく遺伝性てんかんへの分類は遺伝子検査や家族分析を必要とする。

IVETF は伴侶動物におけるてんかんの定義、分類および用語に関するコンセンサスと同時に、標準化されたてんかんの診断的アプローチを提唱した。このコンセンサスではてんかんを少なくとも 24 時間あけて 2 回以上の非誘発性てんかん発作を持つ症例とし、てんか

んの症例を IdE と StE に分類することを推奨している。IdE の診断における IVETF の基準は 3 段階システム (three tier system) からなる [De Risio et al., 2015]。信頼レベル第 I 段階 (Tier I) は、てんかんの症例において 6 ヶ月から 6 歳齢での初発てんかん発作、および発作間欠期の身体検査、神経学的検査、ミニマムデータベース (minimum data base, MDB) の血液検査、尿検査に臨床的に有意な異常が認められないことと定義された。信頼レベル第 II 段階 (Tier II) は第 I 段階に加えて、正常な食前食後の胆汁酸、磁気共鳴画像法 (magnetic resonance imaging, MRI)、および脳脊髄液 (cerebrospinal fluid, CSF) 検査に異常が認められないこと、信頼レベル第 III 段階 (Tier III) には、信頼レベル第 I および II 段階に加えて、脳波検査 (electroencephalography, EEG) を用いた発作性疾患における特徴的な発作時あるいは発作間欠期の脳波異常の同定と定義された。また、IVETF コンセンサスは、6 ヶ月齢未満あるいは 6 歳以上の初発てんかん発作、神経学的検査の異常、初発てんかん発作での群発発作 (cluster seizure, CS) あるいは発作重積 (status epilepticus, SE) 発作、および IdE の第 I 段階の基準を満たした犬が抗てんかん薬 (antiepileptic drug, AED) に反応しない場合において MRI および CSF 検査の施行を推奨している。しかしながら、これらの報告は犬に対するものであり、現在のところ猫に対するコンセンサスはない。

IVETF 分類はその発表から間もないため、この分類体系を使用した犬の病因学的あるいは生存期間に関する研究は報告されていない。てんかんの犬の生存期間に関して、過去の分類を使用した報告における中央寿命は IdE で 9.2 年、StE で 5.8 年、てんかん全体で 7.6 年であった [Fredso et al., 2014]。加えて、CS の頻度が早期の安楽死に関連し [Monteiro et al., 2012]、SE が生存期間の短縮に繋がることが報告されている [Saito et al., 2001]。しかしながら、これらの報告における犬の品種分布は日本におけるものとは大きく異なっている。

上述したように、IVETF 分類は発表から日が浅く、2015 年以前に診断された症例をその基準に合わせることは出来ない。そのため、本研究は IVETF 分類体系を改変し、2003 年から 2013 年の 10 年間に於ける日本獣医生命科学大学附属動物医療センターの犬猫のてんかんに関する回顧的研究を行った。本研究の目的は、てんかんの動物の生存に関連するリスクファクターを調査し、外科適応に関する基準を考察することである。

2.1. 材料および方法

本研究は、本学における犬猫のてんかん診断時の疫学調査、および追跡アンケート調査による生存期間及びリスクファクター調査による2部構成からなる。

2.2.1. 定義および含有基準

てんかんの定義および含有基準

IVETF コンセンサスに従い [De Risio et al., 2015], てんかんは少なくとも24時間あけて2回の非誘発性てんかん発作を持つ症例とした。代謝性あるいは中毒性疾患と診断あるいは疑われた場合には除外した。また、検査により心原性あるいは迷走神経緊張性失神、ナルコレプシー、前庭疾患のような発作性神経障害も除外した。

2.2.2. 特発性てんかんの定義および含有基準

てんかんと診断された犬のうち、IdEは6ヶ月から6歳齢までの初発てんかん発作、発作間欠期に身体検査、神経学的検査、血液検査、および尿検査に臨床的有意な異常を持たない症例とIVETFにより定義されている。しかしながら、本研究の回顧的研究という性質上、診断医の臨床的判断としてMDBの血液検査および尿検査が完全に行われなかった症例も研究に含めた。また、6ヶ月齢未満あるいは6歳齢以上の初発てんかん発作を持つ症例においてもMRIおよびCSF検査に異常が認められない場合、IdEに含めた。さらに、例外として、重篤なCSあるいはSEを持ち、発作性脳損傷において最も一般的である海馬、扁桃体あるいは帯状回の損傷のみがMRIで認められた症例は、神経学的悪化が1年以上認められない場合に限りIdEに含めた。また、猫におけるIdEの国際基準は現在のところ報告されていないため、最新のHasegawa et al. (2017) の報告に従い、IdEの猫の年齢区分を7歳齢までの初発てんかん発作の症例とし、その他の基準は犬と同様のものを用いた。

2.2.3. 構造的てんかんの定義および含有基準

てんかんと診断された犬のうち、StE は初発てんかん発作年齢にかかわらず MRI あるいは CSF の異常を認めた症例と定義した。さらに、StE はシグナルメント、臨床経過および MRI/CSF 所見から変性性、奇形性、腫瘍性、炎症性、感染性、外傷性、および血管性疾患に分類した。なお、この分類には確定診断ではなく臨床診断を用いた。分類基準を以下に示した：変性性—1 歳齢未満の発症かつ進行性の臨床徴候を持つ症例；奇形性—MRI による先天性の構造的脳異常を持つ症例；腫瘍性—MRI により頭蓋内腫瘍を認める症例；炎症性疾患—MRI/CSF 検査により内耳炎および中耳炎からの脳波及を認める症例。犬では典型的な MRI/CSF 所見を持ち原因が不明な症例 (e.g. 原因不明の脳炎 (meningoencephalomyelitis of unknown origin, MUO)), 猫では 1 歳齢以下の発症かつ進行性の臨床徴候をもつ猫伝染性腹膜炎ウイルス感染の炎症所見を示す症例を含む；外傷性—頭部外傷の既往歴を持ち、MRI により非対称性の外傷性脳損傷を認める症例；血管性病変—改善を示す臨床徴候を持ち、出血を含む局所性病変を認める症例。

2.2.4. 発作の分類および用語の定義

IVETF 分類に従い [Berendt et al., 2015], 発作型は焦点性てんかん発作 (focal epileptic seizures, FES), 全般性てんかん発作 (generalized epileptic seizures, GES), および FES から GES への発展 (focal epileptic seizures evolving into generalized epileptic seizures, FEvG) に分類した。この発作型はオーナーへのインタビュー、発作時ビデオ、あるいは EEG 所見により決定した。特殊な発作パターンとして、CS は 24 時間以内に 2 回以上の孤発性てんかん発作、SE は 1 回が 5 分以上持続する発作あるいは完全な意識の回復なしに連続する発作と定義した。なお、初発てんかん発作が CS に含まれる症例および初発てんかん発作が SE の症例において、その後 24 時間を超えててんかん発作が認められない場合、てんかん症例には組み入れなかった。

発作頻度は医療カルテから本学来院時および追跡調査アンケート時の 2 回取得した。データは 1 ヶ月における発作の回数 (発作回数/月) で算出した。

生存期間は初発てんかん発作から最終追跡調査時あるいは死亡時までの期間と定義した。寿命は誕生から最終追跡調査時あるいは死亡時の期間と定義した。

2.2.5. MRI および CSF 分析

全ての MRI は transverse 断面の T1 強調画像, T2 強調画像, fluid attenuation inversion recovery (FLAIR) 画像, および造影増強 T1 強調画像が撮影されていることを条件とした。MRI 装置には 1.5-Tesla system [Visart® 1.5 Tesla, Toshiba Medical System, 東京 (2003 年 4 月から 2009 年 10 月まで)] および 3.0-Tesla system [Signa® HDxt 3.0T, GE Healthcare, 東京 (2009 年 10 月から 2013 年 3 月まで)] が用いられていた。3.0-Tesla MRI においては 3D T1 強調画像, 造影増強 3D T1 強調画像, および 3D T2 強調画像が取得され, 多断面再構成による診断が可能であった。CSF は大槽穿刺により取得し, 細胞数, 細胞診断およびタンパク濃度測定が行われていた。例外的に, 本学以外の画像診断施設 (0.4–1.0-Tesla MRI system) で検査が行われている場合も本研究に含んだ。

2.2.6. 病因分類および統計分析

日本獣医生命科学大学付属動物医療センターに 2003 年 4 月から 2013 年 3 月に来院し, 発作を主訴とする症例を選出し, 以下のデータを取得した: (1) 品種; (2) 体重; (3) 性別および去勢避妊の有無; (4) 生年月日; (5) 初発発作の年齢; (6) 発作型; (7) 発作頻度; (8) CS あるいは SE の有無; (9) 発作間欠期の神経学的所見; (10) MRI/CSF 所見; (11) AED の数および種類; (12) その他の治療。全ての症例を調査した後, 反応性発作および運動障害 (非てんかん発作) を除外し, 上述の定義に従っててんかん, さらに IdE と StE に分類した。また, StE では変性性, 奇形性, 腫瘍性, 炎症性, 感染性, および血管性疾患への分類を行った。

犬における IdE と StE の比較において, 性別, 去勢避妊の有無, 発作型, CS の有無, SE の有無, 複数の AED の使用は, カイ二乗検定を用いて行った。猫における IdE と StE の比較は, サンプルサイズが小さいため, フィッシャーの正確検定にて行った。また,

体重および来院時の発作頻度はマンホイットニーU 検定を行った。 $P < 0.05$ をもって有意差ありとした。統計分析はEZR 1.28 (さいたま医療センター, 自治医科大学, 埼玉) [Kanda, 2013] を用いて行った。

2.2.7. 生存調査および統計分析

2014 年 4 月に生存調査アンケートを紹介元病院に送付した。アンケートには以下の内容を含んだ：治療後の発作頻度および診断時から変化がある場合は発作型、治療の種類、生存の有無、および死亡時期・原因。生存調査の研究含有基準はアンケートからの生存状態の取得とした。

Log-rank test および Kaplan-Meier 法により IdE, StE, てんかんの中央生存期間および中央寿命を算出した。動物が生存している場合は、センサーとして用いた。さらに、体重(中央値)、性別、去勢避妊の有無、追跡調査時の発作頻度、CS の有無、SE の有無、発作型、複数の AED の使用に対する IdE, StE, およびてんかん (IdE + StE) の中央生存期間を Log-rank test および Kaplan-Meier 法を用いて算出した。追跡調査時の発作頻度は 0.3 回/月 (およそ 3 ヶ月に 1 回の発作頻度に相当) を階層ポイントとした。この発作頻度は、IVETF プロポーサルにおける「許容できる発作頻度」に基づいている [Chang et al., 2006; Potschka et al., 2015]。生存期間に対するリスクファクターの検討には Cox proportional hazard model の強制投入法を使用し、多重共線性を避けるため独立した変数を使用した。初めに、全ての変数を Cox proportional model に投入し、 $P \geq 0.3$ の変数を除外した。 $P < 0.3$ を満たす変数のみで再度 Cox proportional hazard model 分析を行い、 $P < 0.05$ をもって有意な変数とした。犬の StE および猫の症例はサンプル数が少ないため、Cox proportional hazard model 分析は行わなかった。統計分析は統計ソフトウェア EZR 1.28 を用いて行った。

2.3. 結果

2.3.1. てんかんの犬における疫学調査

研究期間内に本学医療センターに初診来院した犬は 19,193 頭であった。反応性発作 ($n=5$) を含む 24 時間以上の間隔で少なくとも 2 回の反復性発作を主訴に来院した頭数は 472 頭 (2.46%) であり、てんかんと診断された犬は 358 頭 (1.87%) であった：CBC および臨床的に必要と考えられる血液生化学検査 ($n=337$)、尿検査 ($n=12$)、MRI ($n=185$)、CSF ($n=35$)、EEG ($n=7$)。てんかんに分類された犬のうち、IdE は 172 頭 (てんかんの 48.0% ; 全体の 0.90%)、StE は 76 頭 (てんかんの 21.2% ; 全体の 0.40%) であった。110 頭の犬は医療記録あるいは診断検査が不十分であり、IdE あるいは StE に分類することはできなかった。

犬の IdE の症例において、60 頭に MRI が実施され、そのうち 13 頭が CSF 検査を受けていた。また、EEG を行った犬は 4 頭であった。例外として、1 頭の犬は初発発作年齢が 6.8 歳であったが MRI および CSF に異常が認められなかったため IdE に含めた。さらに、4 頭の犬は SE による発作性脳損傷が疑われ、神経学的悪化が 1 年以上認められなかったため、IdE に含めた。てんかんの犬の臨床データおよび品種分布は Table 1 および 2 に示した。

本研究では、遺伝子検査や家系分析を行っていないため、全ての IdE 症例は epilepsy of unknown cause であった。遺伝性てんかんが確認されているラゴット・ロマーニョ (*LG12* 変異) [Seppälä et al., 2011] およびベルジアン・シェパード (*ADAM23* 変異) [Seppälä et al., 2012] は本研究には含まれていなかった。しかしながら、53 頭 (9 犬種) の犬は IVETF レポート [Hülsmeier et al., 2015] においておそらく遺伝性てんかんにリストアップされている犬種であった。

犬の StE の症例において、76 頭の犬に MRI が実施され、このうち 13 頭は CSF 分析を受けていた。頭蓋内圧上昇の疑いやキアリ様奇形により CSF 検査が行えなかった症例が存在した。StE の内訳は、炎症性疾患 (MUO) が 28 頭 (36.9%)、腫瘍性疾患が 22 頭 (28.9%)、奇形性疾患が 9 頭 (11.8%)、血管性疾患が 6 頭 (7.9%)、外傷性疾患が 1 頭 (1.3%) であった。10 頭 (13.2%) の犬は鑑別が困難であり分類不能であった。

IdE と StE の臨床症状および分布を比較した時、CS の有無 (IdE, 31% vs. StE, 55%; $P=0.0004$), FES (IdE, 30% vs. StE, 13%; $P=0.0009$), GES (IdE, 46% vs. StE, 74%; $P<0.0001$), および初診時の発作頻度 ($P<0.0001$) において有意性が認められた (Table 1). この 2 群間の比較において体重 ($P=0.36$), 性別 ($P=0.12$), 去勢避妊の有無 ($P=0.89$), SE の有無 ($P=0.08$), FEvG ($P=0.07$), および複数の AED の使用 ($P=0.69$) に関して有意差は認められなかった.

2.3.2. てんかんの猫における疫学調査

研究期間内に本学医療センターに来院した猫は 3,563 頭であった. 反応性発作 ($n=1$) を含む 24 時間以上の間隔で少なくとも 2 回の反復性発作を主訴に来院した頭数は 52 頭 (1.46%) であり, てんかんと診断された猫は 51 頭 (1.43%) であった: CBC および臨床的に必要と考えられる血液生化学検査 ($n=46$), 尿検査 ($n=3$), MRI ($n=20$), EEG ($n=1$). てんかんに分類された猫のうち, IdE は 21 頭 (てんかんの 41.2%; 全体の 0.59%), StE は 10 頭 (てんかんの 19.6%; 全体の 0.28%) であった. 20 頭の猫は医療記録または診断検査が不十分のため, IdE あるいは StE に分類することはできなかった. IdE の猫において, 2 頭の猫は MRI および CSF 検査を受けていたが, EEG を行った IdE の猫はいなかった. てんかんの猫の臨床データおよび品種分布は Table 3 および 4 に示した.

StE の猫において, 10 頭全ての猫に対して MRI 撮像が行われ, 1 頭の猫は CSF 分析を受けていた. StE グループの内訳は, 腫瘍性疾患が 4 頭 (40%), 炎症性疾患が 1 頭 (10%), 奇形性疾患が 1 頭 (10%) であった. 4 頭 (40%) の猫は鑑別が困難であり分類不能であった.

IdE と StE グループの臨床症状および分布を比較した時, 全ての変数において有意性は認められなかった: 性別 ($P=0.70$), 去勢避妊の有無 ($P=0.06$), CS の有無 ($P=0.69$), SE の有無 ($P=0.36$), FES ($P=1.00$), GES ($P=0.69$), FEvG ($P=1.00$), 複数の AED の使用 ($P=1.00$), 体重 ($P=0.54$), および初診時の発作頻度 ($P=0.37$).

2.3.3. 生存調査

2.3.3.1. てんかんの犬における生存分析

248 頭の IdE および StE の犬のうち、生存状態の有無の返答を得た 100 症例 (IdE 65 頭, StE 35 頭) に対して統計解析を行った (有効回答率 40%).

2.3.3.1.1. てんかんの犬 (特発性および構造的てんかん) における生存期間および寿命

100 頭のてんかんの犬のうち、51 頭は追跡終了時に生存し、49 頭は死亡していた。中央生寿命は 13.0 年 (156 ヶ月 ; 95%信頼区間 (CI), 131.1–181.6 ヶ月), 中央生存期間は 10.1 年 (120.9 ヶ月 ; 95% CI, 88.1–136.1 ヶ月)であった。

2.3.3.1.2. 特発性てんかんの犬における生存期間および寿命

追跡期間終了時点において、39 頭の IdE の犬が生存、26 頭が死亡していた。中央寿命は 13.5 年 (162.0 ヶ月 ; 95% CI, 138.6–182.5 ヶ月), 中央生存期間は 10.4 年 (125.4 ヶ月 ; 95% CI, 106.8–143.0 ヶ月)であった。IdE の犬における生存期間および寿命の Kaplan-Meier 曲線は Figure 1 および 2 にそれぞれ示した。

IdE の症例において安楽死が選択されたケースはなかったが、7 頭はてんかん発作が死亡に関連していた。このうち、2 頭の犬は、てんかん発作直後の死亡であったが、原因は不明であった。この 2 頭の犬種はボストン・テリアと雑種犬であり、死亡時の年齢はそれぞれ 6.1 歳および 7.3 歳であった。ボストン・テリアはゾニサミド、雑種犬ではフェノバルビタールおよび臭化カリウムがそれぞれ処方されていたが、月に 4 回以上の発作を呈していた。ボストン・テリアは単発の FEvG 後、呼吸困難を呈し死亡し、雑種犬は単発の GES 後、突然死亡した。また、12 頭は他の疾患により死亡し、残りの 7 頭の死亡原因は不明であった。

2.3.3.1.3. 構造的てんかんの犬における生存期間および寿命

追跡期間終了時点において、12 頭が生存し、23 頭が死亡していた。死亡症例のうち 7 頭 (4 頭の安楽死を含む) はコントロール不能のてんかん発作により、3 頭は他の疾患に

より死亡した。残りの 13 頭の原因は不明であった。中央寿命は 10.9 年 (130.2 ヶ月 ; 95% CI, 102.6–182.6 ヶ月), 中央生存期間は 4.5 年 (54.1 ヶ月 ; 95% CI, 20.1–121.9 ヶ月) であった。生存期間および寿命の Kaplan-Meier 曲線はそれぞれ Figure 1 および 2 に示した。

StE の分類における生存期間および寿命の詳細を Table 5 に示した。感染性髄膜炎の症例はなく、炎症性疾患はすべて MUO の症例であった。AED 治療に加えて、全ての MUO 症例にはグルココルチコイドおよびシクロスポリンによる免疫抑制療法が行われていた。腫瘍性疾患は 12 頭であり、そのうち外科手術と病理診断により髄膜腫および骨肉腫と確定された症例が、1 頭ずつ確認された。骨肉腫の症例に対しては放射線治療も行われていた。全ての腫瘍性疾患の症例は AED 治療に加えて頭蓋内圧の減圧治療 (グルココルチコイド、濃グリセリン、マンニトール) が行われていた。水頭症は奇形性疾患で最も多い疾患であった ($n=4$)。これらの犬において外科治療は行われず、AED 治療と内科的減圧治療が行われていた。その他の奇形性疾患には多小脳回 ($n=1$)、孔脳症 ($n=1$)、嗅球の形態異常 ($n=1$) が含まれた。これらの症例は AED 療法に加えて対症療法が選択された。血管性疾患の症例も同様の治療が行われた。奇形性、炎症性および腫瘍性疾患の生存期間に対する 3 群間比較において有意差が認められたが、寿命に対する有意差は認められなかった。Kaplan-Meier 曲線は Figure 3 および 4 に示した。

犬の IdE および StE の中央生存期間の比較において、IdE は StE と比べて有意に長かった ($P<0.001$) (Figure 1)。しかしながら、寿命に有意差は認められなかった (Figure 2)。

2.3.3.1.4. てんかんの犬におけるリスクファクター

生存分析における 100 頭のてんかんの犬のうち、6 頭 (IdE 1 頭 ; StE 5 頭) はリスクファクター分析のための十分な回答が得られなかったため除外した。これらの犬における医療記録およびアンケートからの臨床データを Table 6、犬種分布を Table 7 に示した。アンケートから取得した各グループの観察期間中の AED 選択を Table 8 に示した。

Log-rank test の結果を Table 9 に示した。てんかん (IdE+StE) および IdE の症例において、 <0.3 回/月と比較して ≥ 0.3 回/月の発作頻度を呈す症例は有意に生存期間が短かつ

た. Cox proportional hazard の多変量解析において, てんかん症例 (IdE + StE) は ≥ 0.3 回/月の発作頻度 ($P = 0.00005$; hazard ratio (HR) 5.26; 95% CI 2.37–11.70; 46/96 頭), IdE 症例は ≥ 0.3 回/月 ($P = 0.0005$; HR 9.80; 95% CI 2.70–35.52; 27/64 頭), FES ($P = 0.04$; HR 3.99; 95% CI 1.05–15.17; 14/64 頭) が生存期間に対するリスクファクターであった. ≥ 0.3 回/月の発作頻度を呈するてんかん (IdE + StE) および IdE 症例のうち, AED の多剤併用治療はそれぞれ 25/46 頭 (54%), 19/27 頭 (70%) に対して行われていた. しかしながら, 全ての検討において, 生存期間に対するリスクファクターとして AED の多剤併用に有意差は認められず, AED 治療の生存期間への影響は認められなかった. その他の変数においても有意差は認められなかった.

2.3.3.2. てんかんの猫における生存分析

31 頭の IdE および StE の猫においてアンケートを実施し, 追跡基準を満たす 13 頭 (IdE 8 頭 ; StE 5 頭) に関して統計解析を行った (有効回答率 42%).

2.3.3.2.1. てんかんの猫 (特発性および構造的てんかん) における生存期間および寿命

13 頭のてんかんの猫 (IdE + StE) のうち, 8 頭が追跡期間終了時時点で生存し, 5 頭は死亡していた. 中央生存期間は利用不可 (not available, NA) であったが (95%CI, 35 ヶ月–NA), 1 年生存率は 92% (12/13 頭), 5 年生存率は 67% (8/12 頭) であった. また, 中央寿命は 14.3 年 (171.9 ヶ月 ; 95% CI, 171.7 ヶ月–NA) であった.

2.3.3.2.2. 特発性てんかんの猫における生存期間および寿命

追跡期間終了時点において, 6 頭が生存し, 2 頭が死亡していた. 中央生存期間は NA であったが (95% CI, 35 ヶ月–NA), 1 年生存率は 100% (8/8 頭), 5 年生存率は 86% (6/7 頭) であった. また, 中央寿命は 14.3 年 (171.7 ヶ月 ; 95% CI, 43.6 ヶ月–NA) であった.

IdE の猫において安楽死が選択された症例はいなかった. 1 頭は乳腺癌による衰弱により死亡したが, その他の 1 頭の死因は不明であった. IdE の猫における生存期間および寿命の Kaplan-Meier 曲線は Figure 5 および 6 にそれぞれ示した.

2.3.3.2.3. 構造的てんかんの猫における生存期間および寿命

追跡期間終了時点において、2頭が生存し3頭が死亡していた。死亡原因に安楽死は含まれなかったが、脳腫瘍の再発、呼吸不全、および腎不全による死亡がそれぞれ1頭であった。中央生存期間は4.5年(54.0ヶ月; 95% CI, 2.0ヶ月-NA)であり、1年生存率は80%(4/5頭)、5年生存率は40%(2/5頭)であった。また、中央寿命は14.3年(171.9ヶ月; 95% CI, 69.3ヶ月-NA)であった。生存期間および寿命のKaplan-Meier曲線はそれぞれFigure 5および6に示した。

猫におけるStEの分類に関して、腫瘍性疾患の猫は鼻腔内腫瘍の脳浸潤および星状膠細胞腫の2頭であった。AED治療の他に鼻腔内腫瘍の猫に対しては内科的な頭蓋内圧の減圧が行われた。星状膠細胞腫の猫には死後の剖検が行われたため、病理組織診断であった。その他の3頭の猫は鑑別が困難であり分類不能の症例であった。

猫におけるIdEおよびStEの比較において、生存期間($P=0.23$)および寿命($P=0.58$)ともに有意差は認められなかった。

2.3.3.2.4. てんかんの猫におけるリスクファクター

猫の品種はStEのアビシニアン($n=1$)を除き、全て雑種($n=12$)であった。医療記録およびアンケートからの臨床データをTable 10に示した。アンケートから取得した各グループの観察期間中のAED選択をTable 11に示した。てんかんの猫のリスクファクター分析は症例数($n=13$)が少ないため統計解析を行うことができなかった。

2.4. 考察

本研究は本邦2次診療施設における伴侶動物てんかんの初の大規模回顧的疫学研究である。本学付属医療センターの総来院数に対するてんかんの犬の割合は1.9%であり、総来院数に対するIdEおよびStEの犬の割合はそれぞれ0.9%、0.4%であった。本研究は多くの

小型犬が含まれたが、これらの有病率は大型犬が多く含まれる過去の欧米からの報告（てんかん 1–2.6% ; IdE 0.5–5%）に類似する [Hülsmeier et al., 2015]. 犬におけるてんかん有病率は、犬種分布の違いによる影響は少ないと考える.

てんかんの犬における IdE (10.4 年) の中央生存期間は StE (4.5 年) と比較して有意に長く、これは過去の報告に類似する (IdE 9.2 年, StE 5.8 年 [Fredso et al., 2014]; IdE 10.5 年, StE 3.4 年 [Arrol et al., 2012]). てんかんの犬における IdE および StE の分類は、その患者の予後の推測を可能にし、治療に対する飼い主の同意を容易にすると考えられる. また、本研究の IdE の診断基準は簡便かつ比較的安価な検査のみで構成されており、全ての動物病院で実施可能である. これは、てんかん診断において画一した医療の提供を可能にすると考えられる.

中央寿命はてんかん (IdE + StE), IdE および StE の犬でそれぞれ 13.0 年, 13.5 年, 10.9 年であった. 過去の欧米における原因不明のてんかんを含むてんかんの犬の中央寿命は 7.6 年 [Fredso et al., 2014] および 7.0 年 [Berendt et al., 2007] であり、いずれにおいても本研究の分類群は寿命の延長が認められる. この寿命の延長の 1 つの要因として安楽死があげられる. 本研究のてんかんに関連した安楽死を行った犬は 4/100 頭であり、欧米の研究と比較して圧倒的に少ない (49/81 頭 [Fredso et al., 2014] ; 24/63 [Berendt et al., 2007]). さらに、本研究の安楽死を行った症例は全て StE 症例であった. 欧米における報告において、安楽死はコントロール不能なてんかん発作による生活の質 (QOL) 低下のため選択される場合が多い [Wessmann et al., 2014]. 本研究においてもてんかん発作による QOL の低下により安楽死が選択された可能性があるが、特に IdE の飼い主は安楽死を避ける傾向が認められた. これは海外と比較して本邦における飼い主の動物の安楽死に対する考え方の違いが関係していると考えられる.

さらに、Inoue et al. (2015) は日本における飼育下の犬の平均寿命は 13.7 年と報告している. 本研究の IdE の中央寿命は日本における犬の平均寿命と同等であった. 一方、デンマーク [Proschowsky et al., 2003] およびイギリス [O'Neill et al., 2013] で行われた研究における犬の中央寿命はそれぞれ 10.0 年および 12.0 年であった. これらの海外の報告における犬種

分布にはジャーマン・シェパードやラブラドル・レトリバーのような大型犬が多く含まれていた。一方、本研究における犬種分布にはチワワやトイ・プードル、ミニチュア・ダックスフンドのような小型犬が多く認められた。犬の寿命に関して、一般的に大型犬に比べて小型犬は寿命が長いことが報告されており [Greer et al., 2007], 欧米諸国と比較した本研究のてんかんの犬の寿命の延長は、犬種分布の差異に関連する可能性もある。

犬の IdE における生存期間に対するリスクファクターには ≥ 0.3 回/月の発作頻度が示された。他の疾患と比較してコントロール不能のてんかん発作を持つ犬には死亡あるいは安楽死との関連性が強いことが示唆されている [Berendt et al., 2007]。上述したように、本研究には IdE において安楽死が選択された症例はない。それゆえに、本研究結果は安楽死の有無に関わらず IdE 症例は ≥ 0.3 回/月の発作頻度により生存期間の減少につながることを示唆している。しかしながら、本研究には死亡原因がわからない症例が含まれていたため、てんかんに起因する死亡と生存期間の減少に関する因果関係を調査することは出来なかった。それゆえに、さらなる研究として死亡原因に対する生存期間の調査が必要であると考えられる。また、複数の AED の使用は生存期間に対するリスクファクターにならないことが示された。いくつかの研究においても [Fredso et al., 2014; Weissl et al., 2012], 複数の AED の使用と単剤使用の比較において生存に関する有意差はないことが報告されている。これらの結果から複数の AED の使用は生存期間に影響を与えないことが示唆されるが、本研究は服用する AED 数を調査したものであり、その血中濃度などの評価を行っていない。また、IVETF プロポーサルには薬物耐性てんかんの正確な予後は未だ不明であると記されている [Potschka et al., 2015]。現在、IdE の犬における治療の第一選択は内科的治療であり、さらなる治療が必要となる患者は必然的に AED 治療に反応しない患者となる。それゆえに、IdE の犬において、適切な AED 治療に反応しない高頻度 (≥ 0.3 回/月) のてんかん発作をもつ症例 (19/64 頭, 30%) に最も注意を払う必要があると考えられる。これは、人医療における「難治性てんかん」の割合に類似する [Sander, 1993]。

さらに、IdE の犬における生存期間に対するリスクファクターに FES が認められた。しかしながら、過去の報告において、発作型は生存期間に対するリスクファクターとし

て示されていない [Berendt et al., 2007]. 近年, Packer et al. (2015) は発作型の分類において, FES の診断に関して獣医師と神経専門医との間に差異があることを報告している. それゆえに, 飼い主や獣医師の FES の正確な判断は比較的困難であると考えられる. FES のみならずてんかん発作の正確な判断において, 未だ獣医臨床においては一般的ではないが, EEG はてんかん発作あるいは発作型を鑑別するために優れたツールであるため, その普及が望まれる. また, キンドリングあるいはカイニン酸による実験研究において, 反復性の FES はより重度の発作頻度 (キンドリング現象) や発作パターン (CS, SE あるいは二次性全般化) を引き起こし, 神経細胞の減少や鏡像焦点のような二次性のてんかん原性の獲得が認められる [Tanaka et al., 1992; Hiyoshi et al., 1993; Hasegawa et al., 2002; McIntyre et al., 2006]. そのため, FES を持つ犬において, そのてんかん発作を注意深く観察し, 発作頻度に応じた適切な治療が必要と考える. また, FES は脳の限局的な興奮により引き起こされ, 焦点性のてんかん原性領域を示す可能性が高い. それゆえに, てんかん原性領域が推定でき, その領域が切除可能な場合, てんかん外科によりてんかん発作の消失が認められる可能性がある.

人医療における難治性てんかんは, 原則として外科治療が考慮され, 日本神経病学会によるてんかん治療ガイドラインにより, 本邦におけるてんかん外科の適応基準は, 「2-3 種類の適切な AED にても無発作期間が 1 年以下で, 発作のために患者に不利益がある場合」と定義されている [てんかん治療ガイドライン, 2010]. この提唱は, 生存期間に基づくものではなく, てんかん発作による発達の遅延や社会生活に対する QOL の低下が判定基準として考慮されている. また, 難治性てんかんの定義は必ずしも統一されていないが, てんかん発作抑制の割合が追加される AED の数に応じて減少していくため [Kwan et al., 2000], 診断には非てんかん性発作が否定され, 適切な抗てんかん薬が十分量投与されていることが条件とされる [Berg and Kelly, 2006]. この難治性てんかんのうち, 外科治療が可能なたんかんに対し手術が行われ, 現在の外科治療が可能なたんかんの多くは焦点性のてんかん原性領域を持つことが知られている. 本研究が示した IdE における生存に対するリスクファクターは, 高頻度 (≥ 0.3 回/月) の発作および FES の存在であり, 獣医療における外科適応基準として考慮すべき項目であると考えられる. 本研究において, 服用する AED 数は生存に対するリスクファ

クターとして認められなかったが、複数の AEDs に抵抗を示す犬のてんかんは、継続的な AEDs 処方による経済的損害およびてんかん発作に対する不安から飼い主の QOL の低下につながる事が考えられる。それゆえに、本研究は、獣医療における IdE の犬に対するてんかん外科適応基準として「2-3 剤以上の適切な抗てんかん薬に抵抗する場合 (≥0.3 回/月のてんかん発作頻度), および/または各種検査において焦点性のてんかん原性領域と疑われる領域が検出できる場合」を提唱する。

本研究において、IdE の 2 頭の犬はてんかん発作による突然死 (sudden unexpected death in epilepsy, SUDEP) により死亡したと考えられる。獣医療において、SUDEP の報告が極少数存在するが [Scorza et al., 2010; Scorza et al., 2014], そのメカニズムはわかっていない。人医療において、全般性強直間代性発作、てんかん発作のコントロール不良、若齢および複数の AED の使用が SUDEP の発生リスクを高めるとされている [Stollberger et al., 2004; Surges et al., 2009; Scorza 2008]. SUDEP が疑われる 2 頭の IdE の犬においても、本研究における IdE の犬の中央寿命を下回る死亡年齢 (6.1 歳および 7.3 歳), ≥1 回/週のてんかん発作, 少なくとも 1 つの AED 治療に反応しない特徴があった。SUDEP の報告の数は少ないが、犬における SUDEP の発生リスクはヒトに類似している可能性がある。加えて、過去に報告された犬の SUDEP は秋田犬 [Scorza et al., 2010], ラブラドル・レトリバー [Scorza et al., 2014] で報告されている。本研究ではボストン・テリアおよび雑種犬であり、犬種に関連なく起こり得ることが示唆される。

犬の StE における分類において、奇形性、炎症性および腫瘍性疾患の 3 群間において有意な生存期間の異なりが認められた。Log-rank test および Kaplan-Meier 曲線において、奇形性疾患の >80% が初発発作後 5 年生存していた。それゆえに、適切な治療が施された場合、奇形性疾患は炎症性や腫瘍性疾患に比べ生存期間が長いことが示唆される。しかしながら、発作重症度と同様に奇形の重症度あるいはタイプに生存期間は依存する可能性がある。一方で、腫瘍性および炎症性疾患の中央生存期間はそれぞれ 13.7 ヶ月, 54.1 ヶ月であった。対症療法を受けた腫瘍性疾患の犬および免疫抑制療法を受けた炎症性疾患の犬の中央生存期間はそれぞれ 2.2-23.3 ヶ月 [Hu et al., 2015], 77.5 ヶ月 [Adamo et al., 2007] と報告されてい

る。シグナルメント、臨床経過およびMRI/CSFによるStEの分類は生存期間に直結するため、その鑑別が重要であると考えられる。StEは様々な疾患群から構成されるため、本研究ではリスクファクター解析を行うことは出来なかった。しかしながら、てんかん症例(IdE+StE)に関して ≥ 0.3 回/月の発作頻度が生存期間に関するリスクファクターとして認められるため、IdEと同様にStEにおいても発作コントロールが最も重要な観察項目であると考えられる。

犬のIdEとStEにおいて、FES、GESおよびCSの発生率に有意差が認められた。過去の報告において、IdEとStEに発作型の有意性は認められていないが、FESはStEに多い傾向があった[Pákozdy et al., 2008]。一方、本研究では、FESはStE(13%)と比較してIdE(30%)で有意に発生率が高かった。過去の報告は欧米からの報告であり[Pákozdy et al., 2008; Schwartz et al., 2013; Armaşu et al., 2014]、StEには大型犬が多い傾向にあった。大型犬を多く含む欧米の研究において、腫瘍性疾患は22–72%、炎症性疾患は7–37%であり[Podell et al., 1995; Tipold et al., 1995; Pákozdy et al., 2008; Schwartz et al., 2013]、StEには多くの腫瘍性疾患が含まれる。特に、てんかん発作を呈すボクサーは、その74.2%が非対称性の脳病変を持ち、多くの症例が頭蓋内腫瘍との関連性が認められている[Armaşu et al., 2014]。それゆえに、孤立かつ限局的な病変をもつ腫瘍性疾患はFESを呈することが比較的多いと考えられる。一方で、本研究は小型犬が多く、多くはMUOを呈していた。MUOは限局的な病変よりむしろびまん性あるいは多発性の病変を形成するため、炎症性疾患の多くがGESを示したと考えられる。さらに、本研究に含まれた腫瘍性病変との関連が強いとされるボクサーは1頭のみであった。本研究は、大型犬が多い海外の報告と異なり、その犬種分布に小型犬が多く含まれたため、GESを多く示す炎症性疾患(35.9%)がFESを多く示す腫瘍性疾患(28.2%)を上回り、StEにおけるFESの発生率の減少につながったと考える。それゆえに、研究間における犬種分布により、FESとGESの発生率は異なり、発作型による分類は、診断に大きな影響を与える可能性がある。また、CSはIdE(31%)と比較してStE(55%)で有意に多かった。これは過去の報告とも類似し(IdE 45.2% vs StE 65.6% [Pákozdy et al., 2008])、IVETFコンセンサスにおいても初発発作時のCSを持つ犬はMRIおよびCSFが推奨されている[De Risio et al., 2015]。本研究結果はこのコンセンサスを支持する結果である。

本学付属医療センターにおける IdE ($n=21$) と StE ($n=10$) の猫は 0.9% (31/3563 頭) であったが、紹介病院における IdE と StE の猫は 1.6–1.7%と報告されている [Schriefl et al., 2008; Pakozdy et al., 2010]. 本研究はこれらの報告よりも低い有病率である. 本研究における猫の IdE の基準は 7 歳齢以下での初発発作であるが [Hasegawa et al., 2017], 上述の報告では 1 歳から 12 歳齢 [Schriefl et al., 2008], 0.5 歳から 14 歳齢 [Pakozdy et al., 2010] の猫がそれぞれ含まれている. これは、猫における統一されたてんかん診断の基準がないことが関係していると考えられる. また、本研究は StE (19%) よりも IdE (41%) の猫が多かったが、Pakozdy et al. (2010) は StE (62%) は IdE (38%)よりも有病率が高いことを報告している. 本研究の猫の IdE および StE の頭数は 31 頭であり、さらなる症例の蓄積が分布評価には必要であると考ええる.

本研究にはいくつかの制限がある. IVETF コンセンサスは研究の統一化を図るために作られ、研究者や獣医師が従うべきプロポーサルであるが、報告されて間もないこのコンセンサスの完全な遂行は、発表以前の症例に対する回顧的研究では困難を極める. それゆえに、IVETF コンセンサスに従った分類を使用した場合、ほとんどの症例は完全な血液検査、尿検査、遺伝子検査および/または家族分析を行っていないため、IdE や StE に分類することができない. また、MRI 撮像においても、3D MRI 撮像を行った症例は、IVETF のてんかん特異的プロトコル[Rusbridge et al., 2015] を踏襲しているものの、全ての症例におけるてんかん特異的 MRI プロトコルによる評価を行うことはできていない. それゆえに、本研究は IVETF コンセンサスを改変した分類を用いざるを得なかった. さらなる研究においては、国際的な基準である IVETF コンセンサスを用いた診断による回顧的疫学研究が必要となると考える. さらなる制限には病理組織学的診断があげられる. 特に、本研究の StE の診断はシグナルメント、臨床経過および MRI/CSF 所見により決定されたが、一部を除き多くの症例で最終的な確定診断を行うことはできていない. さらに、症例数の少なさも結果にバイアスを生む原因になる可能性がある. そのため、StE サブ分類における生存分析が行えなかった. さらなる研究において、組織病理学的診断および症例数を増やすことでより正確な評価が行えると考ええる.

2.5. 小括

- 1) 2003 年から 2013 年の 10 年間に日本獣医生命科学大学付属動物医療センターを受診した犬猫において、てんかんの有病率は犬 1.9%および猫 1.4%であった.
- 2) てんかんの犬において、StE は IdE と比較して、生存期間が有意に短い.
- 3) IdE の犬において、高頻度 (≥ 0.3 回/月) のてんかん発作は生存期間を短縮させるリスクファクターとなる.
- 4) IdE の犬において、僅かなあるいは短い FES も適切な AED 治療を行うべきである.
- 5) IdE の犬において、複数の AED に抵抗性を示す高頻度のてんかん発作は、てんかん外科の適応となりうる.

Table 1. 2003 年から 2013 年の 10 年間に日本獣医生命科学大学附属動物医療センターを受診したてんかん犬患者の初診時における臨床データ

変数	犬		
	てんかん (<i>n</i> = 358)	IdE (<i>n</i> = 172)	StE (<i>n</i> = 76)
性別			
雄 [去勢]	193 (54%) [71 (20%)]	97 (56%) [37 (22%)]	34 (45%) [14 (18%)]
雌 [避妊]	165 (46%) [79 (22%)]	75 (44%) [41 (24%)]	42 (55%) [16 (21%)]
体重			
中央値	6.0	6.2	5.9
範囲	1.0–54.0	1.3–37.8	1.0–39.5
初発発作年齢 (年)			
中央値	3.6	2.5	5.5
範囲	0.1–14.4	0.5–6.8	0.2–13.9
神経学的検査			
正常	117 (33%)	170 (99%)	24 (33%)
異常	241 (67%)	2 (1%)	52 (67%)
発作頻度 (回/月)			
中央値	2.0	1.2*	4.0*
範囲	0.1–37.0	0.1–37.0	0.1–30.0
発作型			
FES	93 (26%)	52 (30%)*	10 (13%)*
GES	190 (53%)	78 (46%)*	56 (74%)*
FEvG	75 (21%)	42 (24%)	10 (13%)
特異的発作状況			
CS	141 (39%)	53 (31%)*	42 (55%)*
SE	71 (20%)	31 (18%)	22 (29%)
AED の数			
使用なし	180 (51%)	99 (58%)	28 (37%)
単剤	137 (38%)	55 (32%)	38 (50%)
複数	41 (11%)	18 (10%)	10 (13%)
その他の治療			
なし	281 (78%)	159 (92%)	30 (41%)
あり	77 (22%)	13 (8%)	46 (59%)

IdE, 特発性てんかん; StE, 構造的てんかん; FES, 焦点性発作; GES, 全般性発作; FEvG, 焦点性発作から続発する全般性発作; CS, 群発発作; SE, 重積発作; AED, 抗てんかん薬. *, $P < 0.05$ (カイ二乗検定).

Table 2. 2003 年から 2013 年の 10 年間に日本獣医生命科学大学附属動物医療センター
受診したてんかん犬患者の初診時における品種

てんかん (n = 358)		IdE (n = 172)		StE (n = 76)	
品種	n	品種	n	品種	n
チワワ	5	チワワ	2	チワワ	1
ミニチュア・ダックスフンド	4	ミニチュア・ダックスフンド	7		5
	3		1	雑種	7
雑種	6	ヨークシャー・テリア	8	ミニチュア・ダックスフンド	5
ヨークシャー・テリア	2	トイ・プードル	1	トイ・プードル	
トイ・プードル	8	ラブラドル・レトリバー	4	バグ	
ラブラドル・レトリバー	2	雑種	3	シーザー	
シーザー	3	ミニチュア・シュナウザー	1	ゴールデン・レトリバー	4
ボメラニアン	0	キャバリア・キング・チャールズ・スパニエル	7	パピヨン	
バグ	1	ウェルシュ・コーギー	6	ウェルシュ・コーギー	3
キャバリア・キング・チャールズ・スパニエル	3	ゴールデン・レトリバー	1	ラブラドル・レトリバー	2
ウェルシュ・コーギー	2	シェットランド・シープドッグ	2	ボメラニアン	
ゴールデン・レトリバー	1	バグ	5	ボストン・テリア	
シェットランド・シープドッグ	1	ボメラニアン	4	フレンチ・ブルドッグ	
ミニチュア・シュナウザー	0	パピヨン		柴犬	
パピヨン	9	日本スピッツ		ブチ・パセット・グリフォン・パンデーン	
柴犬	8	アメリカン・コッカー・スパニエル	3	ヨークシャー・テリア	1
フレンチ・ブルドッグ	7	フレンチ・ブルドッグ		ミニチュア・シュナウザー	
マルチーズ	6	柴犬		シェットランド・シープドッグ	
ビーグル	5	ビーグル		キャバリア・キング・チャールズ・スパニエル	
ボストン・テリア	4	ボストン・テリア	2	ビーグル	
日本スピッツ		マルチーズ		ボクサー	
アメリカン・コッカー・スパニエル	3	イタリアン・グレイハウンド		ペキニーズ	
ブルドック		ブルドック		ウエスト・ハイランド・ホワイト・テリア	
ケアン・テリア		シーザー	1	種	
イタリアン・グレイハウンド		アイリッシュ・セッター		バーニーズ・マウンテン・ドッグ	
ペキニーズ	2	シーリハム・テリア		マルチーズ	
ブチ・パセット・グリフォン・パンデーン		シベリアン・ハスキー			
シベリアン・ハスキー		ミニチュア・プードル			
アフガン・ハウンド	1	アフガン・ハウンド			
オーストラリアン・シェパード		イングリッシュ・コッカー・スパニエル			
パセット・ハウンド		ボルピノ・ナノ・ピアンコ			
バーニーズ・マウンテン・ドッグ		オーストラリアン・シェパード			
ビション・フリーゼ		ダルメシアン			
ボロニーズ		北海道犬			
ブービエ・デ・フランダース		ワイアーヘアド・フォックス・テリア			
ボクサー					
ダルメシアン					
イングリッシュ・コッカー・スパニエル					
イングリッシュ・スプリングァー・スパニエル					
北海道犬					
アイリッシュ・セッター					
種					
ミニチュア・プードル					
ミニチュア・ワイアーヘアド・ダックスフンド					
ニューファンドランド					
ポリッシュ・ローランド・シープドッグ					
サモエド					
スコティッシュ・テリア					
シーリハム・テリア					
ボルピノ・ナノ・ピアンコ					
ウエスト・ハイランド・ホワイト・テリア					
ワイアーヘアド・フォックス・テリア					

IdE, 特発性てんかん; StE, 構造的てんかん

Table 3. 2003 年から 2013 年の 10 年間に日本獣医生命科学大学附属動物医療センターに受診したてんかん猫の初診時における臨床データ

変数	猫		
	てんかん (<i>n</i> = 51)	IdE (<i>n</i> = 21)	StE (<i>n</i> = 10)
性別			
雄 [去勢]	24 (46%) [20 (38%)]	8 (42%) [6 (32%)]	5 (50%) [5 (50%)]
雌 [避妊]	27 (54%) [16 (31%)]	13 (58%) [5 (26%)]	5 (50%) [4 (40%)]
体重			
中央値	4.1	4.3	4.0
範囲	1.5–6.9	2.6–6.9	1.5–6.7
初発発作年齢 (年)			
中央値	2.5	1.4	4.6
範囲	0.1–21.3	0.2–6.8	0.1–14.8
神経学的検査			
正常	27 (53%)	21 (100%)	2 (20%)
異常	19 (37%)	0 (0%)	8 (80%)
発作頻度 (回/月)			
中央値	4.5	5.0	2.8
範囲	0.4–75.0	1.0–75.0	0.5–30.0
発作型			
FES	7 (14%)	4 (19%)	1 (10%)
GES	24 (47%)	6 (29%)	4 (40%)
FEvG	20 (39%)	11 (52%)	5 (50%)
特異的発作状況			
CS	20 (39%)	6 (29%)	4 (40%)
SE	9 (18%)	3 (14%)	3 (30%)
AED の使用数			
使用なし	13 (25%)	6 (7%)	3 (30%)
単剤	24 (47%)	8 (38%)	5 (50%)
複数の使用	10 (20%)	4 (19%)	1 (10%)
その他の治療			
あり	6 (12%)	0 (0%)	6 (60%)
なし	45 (88%)	21 (100%)	4 (40%)

IdE, 特発性てんかん; StE, 構造的てんかん; FES, 焦点性発作; GES, 全般性発作; FEvG, 焦点性発作から続発する全般性発作; CS, 群発発作; SE, 重積発作; AED, 抗てんかん薬.

Table 4. 2003 年から 2013 年の 10 年間に日本獣医生命科学大学附属動物医療センターに受診したてんかん猫の初診時における品種

てんかん ($n = 51$)		IdE ($n = 21$)		StE ($n = 10$)	
品種	n	品種	n	品種	n
雑種	35	雑種	11	雑種	9
アメリカン・ショートヘア	12	アメリカン・ショートヘア	8	アビシニアン	1
アビシニアン	1	アメリカンカール	1		
アメリカンカール		コーニッシュレックス			
コーニッシュレックス					
不明					

IdE, 特発性てんかん; StE, 構造的てんかん

Table 5. 2003 年から 2013 年の 10 年間に日本獣医生命科学大学附属動物医療センターを受診した StE の犬の各分類における生存期間および寿命

変数	n (死亡)	生存期間 (年)		寿命 (年)	
		中央値	95% CI	中央値	95% CI
腫瘍性	12 (11)	1.1	0.4–6.7	10.8	7.5–11.6
炎症性	11 (9)	1.9	0.6– ∞	7.6	2.8– ∞
奇形性	8 (1)	NA	5.6– ∞	NA	8.9– ∞
血管性	2 (1)	10.4	∞ – ∞	16.9	∞ – ∞
分類不能	2 (1)	3.3	3.3– ∞	7.6	7.6– ∞

95% CI, 95%信頼区間; NA, not available.

Table 6. 2003 年から 2013 年の 10 年間に日本獣医生命科学大学附属動物医療センターに受診したてんかんの犬の追跡調査時における臨床データ

変数	犬		
	てんかん (<i>n</i> = 94)	IdE (<i>n</i> = 64)	StE (<i>n</i> = 30)
性別			
雄 [去勢]	52 (55%) [24 (26%)]	37 (58%) [18 (28%)]	15 (50%) [6 (20%)]
雌 [避妊]	42 (45%) [17 (18%)]	27 (42%) [11 (17%)]	15 (50%) [6 (20%)]
体重			
中央値	6.6	7.0	6.1
範囲	1.3–35.0	1.3–31.0	2.0–35.0
初発発作年齢 (年)			
中央値	3.1	2.7	6.0
範囲	0.4–10.0	0.6–6.8	0.4–10.0
神経学的検査			
正常	71 (76%)	62 (97%)	9 (30%)
異常	23 (24%)	2 (3%)	21 (70%)
発作頻度 (回/月)			
中央値	3.3	2.5	4.0
範囲	0.1–20.0	0.1–20.0	0.1–10.0
発作型			
FES	20 (21%)	15 (23%)	5 (17%)
GES	51 (55%)	30 (47%)	21 (70%)
FEvG	23 (24%)	19 (30%)	4 (13%)
特異的発作状況			
CS	43 (46%)	26 (41%)	17 (57%)
SE	16 (17%)	13 (20%)	3 (10%)
AEDs の使用数			
使用なし	46 (49%)	37 (58%)	11 (37%)
単剤	35 (37%)	18 (28%)	10 (33%)
複数の使用	13 (14%)	9 (14%)	9 (30%)
その他の治療			
あり	69 (73%)	60 (94%)	9 (30%)
なし	25 (27%)	4 (6%)	21 (70%)

IdE, 特発性てんかん; StE, 構造的てんかん; FES, 焦点性発作; GES, 全般性発作; FEvG, 焦点性発作から続発する全般性発作; CS, 群発発作; SE, 重積発作; AED, 抗てんかん薬.

Table 7. 2003 年から 2013 年の 10 年間に日本獣医生命科学大学附属動物医療センターに受診したてんかん犬の追跡調査時における品種

IdE (n = 64)		StE (n = 30)	
品種	n	品種	n
チワワ	8	チワワ	5
トイ・プードル	6	ミニチュア・ダックスフンド	3
雑種	5	雑種	
ヨークシャー・テリア		ウェルシュ・コーギー	
ラブラドル・レトリバー	4	ラブラドル・レトリバー	2
ウェルシュ・コーギー		パピヨン	
ゴールデン・レトリバー	3	パグ	
ミニチュア・ダックスフンド		シーズー	
ミニチュア・シュナウザー		ボストン・テリア	1
アメリカン・コッカー・スパニエル	2	ボクサー	
ボストン・テリア		ゴールデン・レトリバー	
キャバリア・キング・チャールズ・スパニエル		フレンチ・ブルドッグ	
日本スピッツ		マルチーズ	
ポメラニアン		ミニチュア・シュナウザー	
パグ		プチ・パセット・グリフォン・バンデーン	
シェットランド・シープドッグ		ポメラニアン	
ビーグル	1		
フレンチ・ブルドッグ			
北海道犬			
アイリッシュ・セッター			
マルチーズ			
パピヨン			
シーリハム・テリア			
柴犬			
シベリアン・ハスキー			

IdE, 特発性てんかん; StE, 構造的てんかん

Table 8. 2003 年から 2013 年の 10 年間に日本獣医生命科学大学附属動物医療センターに受診したてんかん犬の追跡調査時における使用 AED

使用した AED	IdE ($n = 64$)	StE ($n = 30$)
	n	n
AED なし	19	7
PB	9	9
ZNS	8	4
KBr	1	1
DZP	0	1
PB + ZNS	2	0
PB + KBr	5	3
ZNS + KBr	10	2
ZNS + DZP	1	0
PB + KBr + ZNS	8	0
PB + KBr + GBP	0	1
PB + ZNS + CBP	1	0
PB + KBr + ZNS + GBP	0	1
PB + KBr + ZNS + LEV	0	1

AED, 抗てんかん薬; IdE, 特発性てんかん; StE, 構造的てんかん; PB, フェノバルビタール; ZNS, ゾニサミド; KBr, 臭化カリウム; DZP, ジアゼパム; GBP, ガバペンチン; CBP, カルバマゼピン; LEV, レベチラセタム.

Table 9. 2003 年から 2013 年の 10 年間に日本獣医生命科学大学付属動物医療センターに受診したてんかん犬の生存期間における Log-rank test の結果

変数	n (死亡)	てんかん (年) 中央値 (95% CI)	P 値	n (死亡)	IdE (年) 中央値 (95% CI)	P 値	n (死亡)	StE (年) 中央値 (95% CI)	P 値
性別									
雄	52 (30)	8.9 (5.6–11.8)	0.26	37 (18)	11.3 (7.3–12.6)	0.45	15 (12)	4.5 (0.4–10.4)	0.20
雌	42 (13)	10.1 (9.2–∞)		27 (7)	10.1 (9.2–∞)		15 (6)	NA (1.9–∞)	
去勢避妊									
なし	53 (26)	10.2 (8.1–11.8)	0.31	35 (15)	10.4 (8.9–14.5)	0.31	18 (11)	10.2 (1.3–∞)	0.46
あり	41 (17)	9.3 (6.3–∞)		29 (10)	9.3 (6.3–∞)		12 (7)	6.7 (0.4–∞)	
体重									
< 6.6 kg	47 (20)	10.2 (6.7–14.5)	0.26	31 (11)	11.9 (7.5–∞)	0.28	16 (9)	6.7 (3.3–∞)	0.27
≥ 6.6 kg	47 (23)	9.3 (7.1–10.4)		33 (14)	10.1 (7.3–∞)		14 (9)	4.0 (0.4–∞)	
発作頻度									
< 0.3 回/月	48 (16)	11.8 (10.4–14.5)	< 0.01*	37 (11)	11.9 (11.3–14.5)	< 0.01*	11 (5)	10.4 (0.58–∞)	0.06
≥ 0.3 回/月	46 (27)	7.3 (4.5–9.2)		27 (14)	8.9 (5.3–10.1)		19 (13)	4.5 (1.2–∞)	
発作型									
FES	20 (6)	8.9 (3.3–∞)	0.77	15 (4)	8.9 (2.9–∞)	0.20	5 (2)	NA (0.2–∞)	0.89
GES	51 (26)	10.4 (7.3–11.9)		30 (12)	11.3 (10.1–14.5)		21 (14)	5.6 (1.2–10.4)	
FEvG	23 (11)	8.1 (6.3–∞)		19 (9)	9.2 (5.3–∞)		4 (2)	6.7 (6.7–∞)	
CS									
あり	43 (22)	9.2 (4.1–11.3)	0.06	26 (11)	10.4 (4.1–∞)	0.21	17 (11)	4.5 (1.1–∞)	0.18
なし	51 (21)	10.1 (8.1–11.9)		38 (14)	10.1 (8.1–14.5)		13 (7)	6.7 (3.3–∞)	
SE									
あり	16 (9)	10.1 (4.1–11.9)	0.93	13 (7)	10.1 (4.1–∞)	0.42	3 (2)	10.4 (3.3–∞)	0.54
なし	78 (34)	10.2 (7.5–11.8)		51 (18)	10.4 (8.9–∞)		27 (16)	6.7 (1.3–∞)	
AEDs 治療									
≤ 1 剤	58 (26)	10.4 (7.1–12.6)	0.48	37 (14)	11.9 (7.5–14.5)	0.29	22 (12)	5.6 (1.3–∞)	0.50
≥ 2 剤	36 (17)	9.3 (6.7–10.4)		27 (11)	9.3 (7.3–11.3)		8 (6)	6.7 (1.1–∞)	

IdE, 特発性てんかん; StE, 構造的てんかん; 95% CI, 95% 信頼区間; NA, not available; FES, 焦点性発作; FEvG, 全般性発作; FES, 焦点性発作; GES, 全般性発作; CS, 群発発作; SE, 重積発作; AED, 抗てんかん薬. * $P < 0.05$ (Log-rank test).

Table 10. 2003 年から 2013 年の 10 年間に日本獣医生命科学大学附属動物医療センターに受診したてんかんの猫の追跡調査時における臨床データ

変数	猫		
	てんかん (<i>n</i> = 13)	IdE (<i>n</i> = 8)	StE (<i>n</i> = 5)
性別			
雄 [去勢]	3 (23%) [3 (23%)]	2 (25%) [2 (25%)]	1 (20%) [1 (20%)]
雌 [避妊]	10 (77%) [6 (46%)]	6 (75%) [2 (25%)]	4 (80%) [4 (80%)]
体重			
中央値	3.8	4.3	3.6
範囲	2.6–6.9	3.1–6.9	2.6–5.6
初発発作年齢 (年)			
中央値	1.8	1.6	4.5
範囲	0.1–14.8	0.6–6.8	0.1–14.8
神経学的検査			
正常	10 (77%)	8 (100%)	3 (60%)
異常	3 (23%)	0 (0%)	2 (40%)
発作頻度 (回/月)			
中央値	0.25	0.625	1.5
範囲	0–60.0	0–1.5	0–60.0
発作型			
FES	3 (23%)	3 (38%)	0 (0%)
GES	4 (31%)	2 (25%)	2 (40%)
FEvG	6 (46%)	3 (38%)	3 (60%)
特異的発作状況			
CS	5 (38%)	2 (25%)	3 (60%)
SE	3 (23%)	1 (13%)	2 (40%)
AEDs の使用数			
使用なし	3 (23%)	2 (25%)	1 (20%)
単剤	7 (54%)	6 (75%)	1 (20%)
複数の使用	3 (23%)	0 (0%)	3 (60%)
その他の治療			
あり	1 (8%)	0 (0%)	1 (20%)
なし	12 (92%)	8 (100%)	4 (80%)

IdE, 特発性てんかん; StE, 構造的てんかん; FES, 焦点性発作; GES, 全般性発作; FEvG, 焦点性発作から続発する全般性発作; CS, 群発発作; SE, 重積発作; AED, 抗てんかん薬.

Table 11. 2003 年から 2013 年の 10 年間に日本獣医生命科学大学附属動物医療センターに受診したてんかん猫の追跡調査時における使用 AED

使用した AED	IdE ($n = 8$)	StE ($n = 5$)
	n	n
AED なし	2	1
PB	3	1
ZNS	1	0
DZP	2	0
PB + DZP	0	1
ZNS + DZP	0	2

AED, 抗てんかん薬; IdE, 特発性てんかん; StE, 構造的てんかん; PB, フェノバルビタール; ZNS, ゾニサミド; DZP, ジアゼパム.

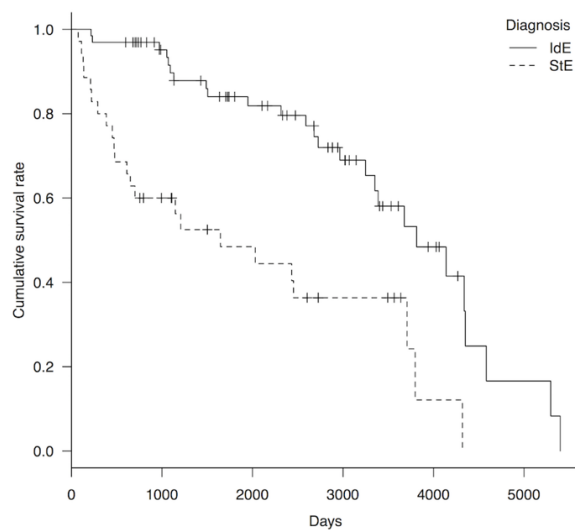


Figure 1. IdE および StE の犬の生存期間における Kaplan-Meier 曲線. IdE は StE と比較して有意に生存期間が長かった ($P = 0.00003$). ハッシュマークはセンサーデータを示している. IdE, 特発性てんかん; StE, 構造的てんかん.

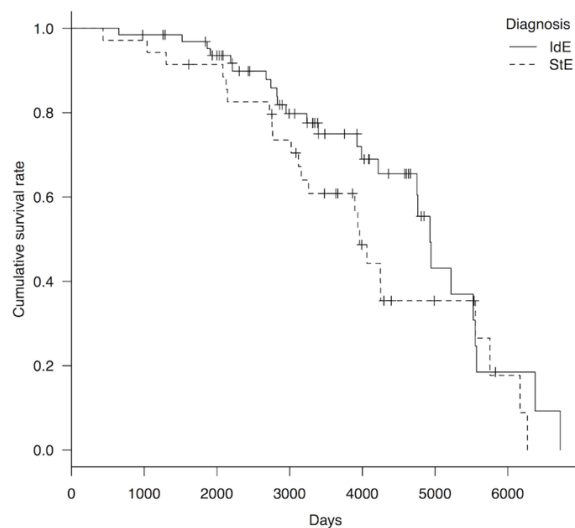


Figure 2. IdE および StE の犬の寿命における Kaplan-Meier 曲線. IdE および StE に有意な寿命の差はなかった ($P = 0.11$). ハッシュマークはセンサーデータを示している. IdE, 特発性てんかん; StE, 構造的てんかん.

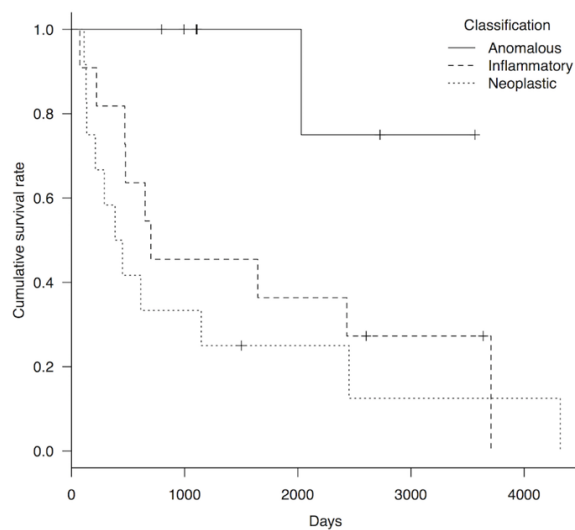


Figure 3. 奇形性，炎症性，および腫瘍性疾患の StE の犬の生存期間における Kaplan-Meier 曲線．これら 3 群間において生存期間に有意差が認められた ($P = 0.02$)．ハッシュマークはセンサーデータを示している．

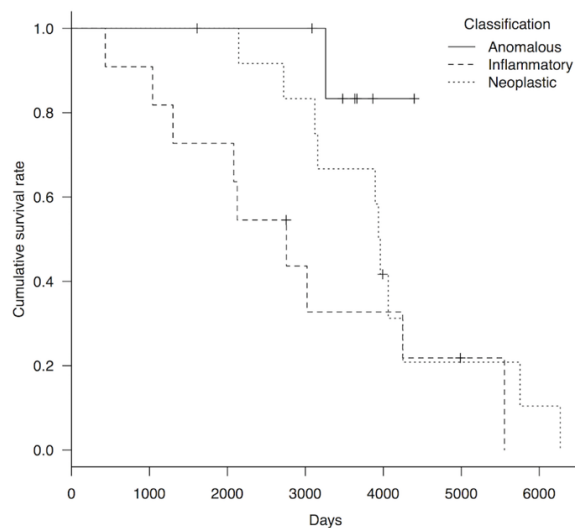


Figure 4. 奇形性，炎症性，および腫瘍性疾患の StE の犬の寿命における Kaplan-Meier 曲線．これら 3 群間において生存期間に有意差は認められなかった ($P = 0.07$)．ハッシュマークはセンサーデータを示している．

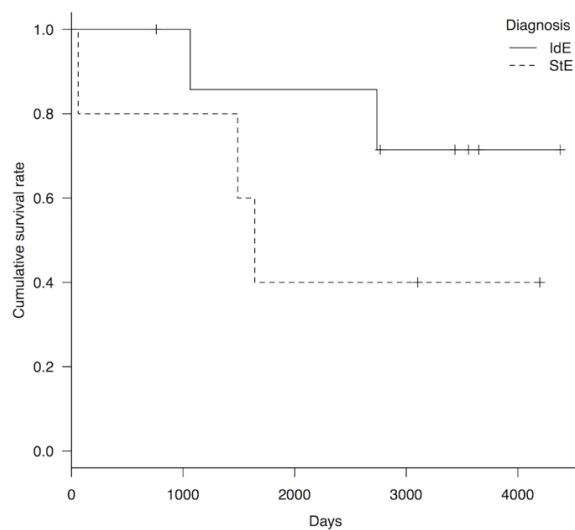


Figure 5. IdE および StE の猫の生存期間における Kaplan-Meier 曲線. IdE および StE に有意な寿命の差はなかった ($P = 0.23$). ハッシュマークはセンサーデータを示している. IdE, 特発性てんかん; StE, 構造的てんかん.

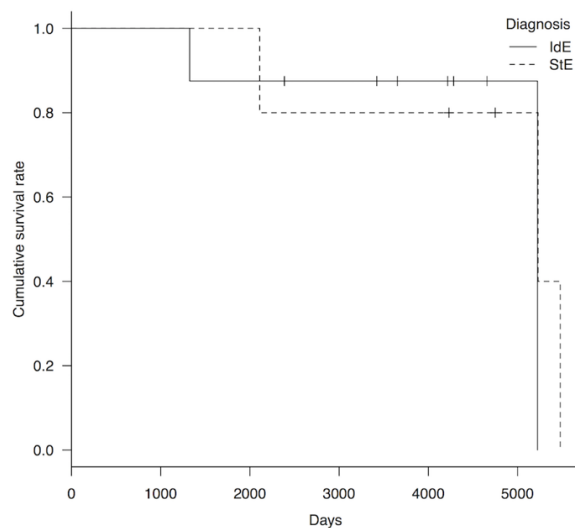


Figure 6. IdE および StE の猫の寿命における Kaplan-Meier 曲線. IdE および StE に有意な寿命の差はなかった ($P = 0.58$). ハッシュマークはセンサーデータを示している. IdE, 特発性てんかん; StE, 構造的てんかん.

第3章

Voxel-Based Morphometry を用いた家族性自然発症性てんかん猫における Structural Abnormal Zone の検索

3.1. 緒言

Voxel-Based Morphometry (VBM) は局所的な脳の構造異常を検出するために人医療で開発された統計学的画像解析法である [Ashburner and Friston, 2000]. てんかん原性領域の推定における structural abnormal zone の検出において、従来の方法には関心領域 (region of interest, ROI) を設定し、容積測定 (volumetry) や信号強度の測定を行う ROI 法が用いられてきた。しかしながら、この ROI 法は手動で行う必要があり、測定者による様々なバイアスが含まれることが報告されている [Hasboun et al., 1996]. 一方、VBM 法は自動的かつ測定者の偏見なく異常領域を検出することができ、その正確性および再現性が高い。現在、VBM 法を用いた解析にはヒトのみならず、マウス [Hikishima et al., 2017], ラット [Suzuki et al., 2015], ヒヒ [Szabó et al., 2016] やマカクザル [Tang et al., 2015] に対して用いられている。これらの研究はヒトの疾患モデル動物として報告されたものである。犬においても 2005 年に加齢性変化を示した研究が報告されている [Tapp et al., 2006]. これまでの脳研究において、猫は様々な神経科学研究に用いられ、現在の脳機能の知見において多大な影響を与えた動物である。しかしながら、猫における VBM は未だ報告されていない。

人医療における VBM 解析において、Standard VBM は最初に開発された解析法である。Standard VBM は標準脳 (standard template) に対して対象脳画像の空間的正規化を行い、各個人の脳を同一空間に変換する。Standard template と同一空間に変換した疾患群および健常群の脳画像を灰白質、白質、脳脊髄液に分割し、それらをそれぞれ比較することで構造的異常を

検出する。Standard template は異常領域の解剖学的位置を示すために用いられ、多くの健常脳画像を平均することで作成される。そのため、Standard VBM 解析には、standard template および組織分割のための灰白質、白質、脳脊髄液の組織確率マップ (tissue probability maps) が必要となる。この standard template および tissue probability maps の作成には、健常脳画像に対して、平均化、標準化、分割化、および平滑化などのいくつかの処理を用いる。

内側側頭葉てんかん (mesial temporal lobe epilepsy, MTLE) は焦点性てんかん発作を示す最も一般的なてんかんであり、ヒトにおいて内科的治療への反応が乏しい難治性てんかんの 1 つである。ヒト MTLE 患者において、海馬および扁桃体を外科的に切除することにより発作の消失あるいは減少が認められることが報告されている (第 6 章参照)。このことから、MTLE のてんかん原性領域は海馬および扁桃体であることが示されている。また、病理組織学的変化として、多くの MTLE 患者の切除された海馬には海馬硬化、すなわち錐体細胞層の神経細胞消失、グリオシス、海馬容積の減少が認められる。海馬硬化は磁気共鳴画像法 (magnetic resonance imaging, MRI) においても海馬萎縮および信号強度の変化として観察できる。しかしながら、ROI 法を用いた海馬容積の評価には多くの時間と検査者の熟練度が必要となる。

第 1 章で述べたように、家族性自然発症性てんかん猫 (familial spontaneous epileptic cat, FSEC) のてんかん原性領域には海馬および/または扁桃体が疑われている。それゆえに、standard VBM 解析においても FSEC の海馬および/または扁桃体の減少が認められると仮説がたてられる。現在まで、猫における standard VBM 解析の報告はないため、本研究の目的は、猫の standard template および tissue probability maps を作成し、これらを用いた standard VBM 解析により FSEC の structural abnormal zone を検出することである。

3.2. 材料および方法

3.2.1. 倫理

本研究は日本獣医生命科学大学の実験動物および生命倫理委員会の承認を得て行わ

れた (承認番号 : 13-24, 26K-29, 26K-27, 27K-8, 27K-10, 28K-2, 28K-4, 29K-4, 29K-5 ; 研究代表者 : 長谷川 大輔).

3.2.2. 供試動物

発達性変化および加齢性変化の影響を避けるため, 本研究は身体検査, 神経学的検査, 血液検査 (完全血球計算および生化学検査), および尿検査に明らかな異常が認められない 6 ヶ月から 10 歳齢の FSEC および健常猫を対象とした.

3.2.2.1. Feline standard template および tissue probability maps の作成

猫の standard template および tissue probability maps の作成において, 健常猫から 2013 年に 2 頭, 2014 年に 6 頭, 2015 年に 6 頭, 2016 年に 12 頭, 2017 年に 12 頭の計 38 スキャン (雄 19 頭, 雌 19 頭) を取得した. 中央年齢は 40 ヶ月齢 (16–73 ヶ月齢), 中央体重は 3.5 kg (2.4–6.0 kg) であった.

3.2.2.2. Feline standard template および tissue probability maps を用いた standard VBM 解析

Standard VBM 解析には 25 頭の FSEC (雄 14 頭, 雌 11 頭) および 12 頭の健常猫 (雄 6 頭, 雌 6 頭) を用いた. これらの猫の中央年齢は FSEC 73 ヶ月齢 (10–98 ヶ月齢), 健常猫 35 ヶ月齢 (23–51 ヶ月齢) であり, 中央体重は FSEC 3.6 kg (2.0–5.2 kg), 健常猫 3.3 kg (2.6–5.0 kg) であった.

3.2.3. 麻酔および MRI プロトコル

本研究に使用した MR 画像は全て 3.0-Tesla MR 装置 (Signa[®] HDtx 3.0T, GE Healthcare, 東京) を用いて撮像した. RF コイルには 8 ch ヒト用膝コイルを用いた. 撮像時は猫を腹臥位に保定し, RF コイル内で頭部を固定した. 全ての猫は MRI 撮影前少なくとも 12 時間の絶食絶水を行い, 撮像中は乳酸リンゲル (5 mg/kg/h) を点滴した. 麻酔は 7 mg/kg (IV) プロポフォール (プロポフォール[®], 富山製薬, 富山 ; プロポフロ[®] 28, DS ファーマアニマルへ

ルス, 大阪) で導入し, 2.0%イソフルラン (イソフル, DS ファーマアニマルヘルス, 大阪) と 100%酸素の混合気体により維持した. 麻酔時の呼吸管理には人工呼吸器を用い, 12 回/分で維持した. 撮像中は MRI 付属の光ファイバーパルス酸素濃度計 (ペリフェラルゲートプローブ, GE Healthcare, 東京) により心拍数をモニターし, 36–38°Cの体温を維持するため, 保温材を体の周囲に設置した. 撮像シーケンスは spoiled gradient echo 法を用いた 3D T1 強調画像を行った (TR/TE = 6.5/3.1 ms, FOV = 15 × 15, slice thickness = 0.6 mm, matrix = 256 × 192, NEX = 1, and in plane resolution = 0.58 × 0.78).

3.2.4. VBM 処理

本研究の standard template と tissue probability maps の作成およびこれらのテンプレートを用いた standard VBM 解析には, 特記のない限り人医療で最も一般的に用いられる数値解析ソフト Matlab 6.5 (Mathworks, Natick, Massachusetts) および画像解析ソフト Statistical Parametric Mapping (SPM12, Wellcome Department of Cognitive Neurology, London) を用いて行い, 方法はヒトで行われているものに従って行った [Ashburner and Friston, 2000]. 各種条件設定に関して, ヒトにおける標準設定を用いたが, SPM12 における標準化には x,y,z 軸に対する一般の非線形変換を用いた. 分割化における不均一補正にはいくつかの設定を行ったが, 分割エラーが最も少ない 30 mm bias full width at half maximum (FWHM) を用いた. また, 平滑化処理には犬で用いられた FWHM isotropic Gaussian kernel に従った [Tapp et al., 2006].

3.2.5. Feline standard template および tissue probability maps の作成

Feline standard template および tissue probability maps の作成フローチャートを Figure 1 に示す.

3.2.5.1. Feline standard template の作成

健常猫 38 スキャンのそれぞれに対して, 正中 sagittal 断面を用いて前交連-後交連 (anterior commissure-posterior commissure, AC-PC) を水平に位置合わせした. この時, 原点は前

交連に設定した。AC-PC 位置合わせを行った 38 スキャンを平均化した。これを initial template とした。AC-PC 位置合わせを行った 38 スキャンを initial template に対して標準化した。標準化した 38 スキャンを平均化した画像を feline standard template とした。

3.2.5.2. Feline tissue probability maps の作成

Feline standard template の作成に用いた 38 スキャンのうち、雄から 5 頭、雌から 5 頭の計 10 スキャンを無作為に選択し、画像解析ソフト MRICro software (<http://people.cas.sc.edu/rorden/mricron/index.html>) を用いて頭蓋外組織を手動にて除去した。SPM12 による組織分割は灰白質、白質、脳脊髄液の tissue probability maps を必要とするため、最初の組織分割には、脳画像解析ソフト FMRIB Software Library (FSL, FMRIB, Oxford) を用いた灰白質、白質、脳脊髄液の自動分割を行った。これらの画像をそれぞれ 2 mm FWHM isotropic Gaussian kernel にて平滑化し、平均化したものを initial tissue probability maps とした。Initial tissue probability maps を用いて AC-PC 位置合わせを行った 38 スキャンをそれぞれ分割化および 2 mm FWHM isotropic Gaussian kernel にて平滑化した。平滑化された 38 スキャンを平均化し、これを secondary tissue probability maps とした。最後に、feline standard template を secondary tissue probability maps を用いて分割した。この分割化における頭蓋外組織混入の分割エラーは MRICro software を用いて除去した。これらの分割画像を feline tissue probability maps とした。

3.2.6. Standard VBM 前処理

FSEC ($n = 25$) および健常猫 ($n = 12$) から得られた画像の AC-PC 位置合わせを行った。さらに、AC-PC 処理を行った画像を先の 38 スキャンから作成した feline standard template に基に標準化し、さらに feline tissue probability maps を用いて灰白質、白質、脳脊髄液に分割した。また、統計解析を行うため、灰白質画像を 3 mm FWHM isotropic Gaussian kernel にて平滑化した。

3.2.7. Standard VBM 解析

FSEC 群と健常猫群における灰白質の形態測定には、SPM12 内蔵の t 検定を行った (群間解析). さらに、個体ごとの形態異常を測定するため、各 FSEC 個体と健常猫群における比較を同様の t 検定で行った (個体解析). 領域の特定は猫の脳アトラス [Sinder and Niemer, 1961] を参照した. VBM 解析において、FSEC の海馬全体の萎縮を検討するため、voxel の集合量 (cluster-level) に対して解析を行った. 全ての検定において、初期 voxel 閾値は 0.001 に設定した. その後、cluster-level の多重比較補正のため、Family Wise Error (FWE) 補正を行った. 補正 cluster-level が $P_{(FWE)} < 0.05$ である場合に有意差ありとした.

3.3. 結果

3.3.1. Standard template および tissue probability map の作成

ヒトで用いられる方法に従い、feline standard template および tissue probability maps (灰白質、白質、脳脊髄液) の作成は可能であった. しかしながら、tissue probability maps 作成において、分割エラーにより灰白質である嗅球の一部が脳脊髄液に分割された. 作成した feline standard template および tissue probability maps (灰白質、白質、脳脊髄液) はそれぞれ Figure 2 および 3 に示す.

3.3.2. Standard VBM 解析

FSEC 群と健常猫群における 2 群間比較において、全ての灰白質領域に有意な減少は認められなかった. 一方、各 FSEC 個体と健常猫群の比較では、5/25 頭 (20%) において海馬およびまたは扁桃体領域に有意な減少が認められた ($P_{(FWE)} < 0.05$). この個体比較において減少が認められた 4 頭では、前頭葉 ($n=2$), 小脳 ($n=2$), 側頭葉 ($n=1$) においても減少が認められた ($P_{(FWE)} < 0.05$). これらの cluster に関する詳細 (cluster-level $P_{(FWE)}$ 値, cluster サイズ, 原点からの座標, 部位) は Table 1 に示した. 海馬およびまたは扁桃体の減少を認めた典型的な 1 頭の FSEC の結果を Figure 4 に示した.

3.4. 考察

3.4.1. Feline standard template および tissue probability maps の作成

本研究は健常猫 38 スキャンから成る feline standard template および feline tissue probability maps の作成を実現することができた。その大きな要因として、猫の脳の大きさおよび形態に個体差や品種差が比較的少ないことが考えられる。それゆえに、短頭種を除く異なる猫の品種に対しても本研究の feline standard template および feline tissue probability maps は使用できると考えられる。しかしながら、本研究の feline tissue probability maps には、嗅球領域の分割エラーが認められた。猫の嗅球は左右を凹んだ頭蓋骨に覆われているため狭く、灰白質と脳脊髄液のコントラスト低下により発生したエラーと考えられる。それゆえに、積算回数を増やし画像解像度を増加させることで解消され则认为る。また、人医療における SPM12 の標準化には、欧米人や東アジア人など人種間の差異に対して異なる標準化パラメーターが存在するが、獣医領域において、これらのパラメーターの使用は不可能である。頭部の形態が品種により大きく異なる犬においては、短頭種、中頭種、長頭種、および中頭種と長頭種の混合のテンプレートを用いた研究がすでに行われている [Milne et al., 2016]。猫においても、ペルシャ猫に代表される短頭種では頭部の形態が異なる。そのため、短頭種などの特徴的な頭部形態を持つ猫に対するより正確な解剖学的部位の特定には、品種ごとあるいは形態に合わせた standard template の作成が必要であるとする。

人医療における standard template において、SPM を用いたヒト VBM 研究では、モンリオール神経学研究所 (Montreal Neurological Institute, MNI) で作成された脳テンプレートが一般的に用いられている。最初に開発された MNI テンプレート (MNI305) は Talairach 脳 [Talairach and Tournoux, 1988] を基に、305 人の健常者の T1 強調 MR 画像を平均したものである [Collins et al., 1994]。この Talairach 脳は各脳領域における原点からの距離 (x, y, z 軸) を示したものであり、生理学的機能を司る領域との相関性が高いブロードマン領域に近似している。それゆえに、MNI 空間における異常領域に対して機能解剖的側面からの位置を推測できる。しかしながら、本研究で作成した feline standard template は Talairach 脳のような機能解剖学的座標を持つ画像に対する標準化を行っていないため、MNI テンプレートが示すような異常領域と

生理学的機能の相関性を持たせることはできなかった。神経科学研究において、猫は多くの脳研究で用いられ、その機能が明らかになっている領域が多く存在する。臨床例において、機能的障害を示す神経学的病変局在と VBM 解析における異常領域の相関性が認められた場合、診断精度および病態理解の向上に繋がることが予想される。そのため、さらなる研究において、**feline standard template** に正確な機能解剖学的情報を付加することが必要であると考えられる。また、実験動物としてよく用いられるげっ歯類と比較して、猫は脳回や比較的大きい脳容積を持つため、猫における VBM 研究の発展は、人医療に応用できる可能性がある。

3.4.2. Standard VBM 解析

本研究は、猫に対する **standard VBM** を行った初めての報告である。この結果はヒトに対して開発された **VBM ツール** が猫においても利用可能であることを示している。犬における **VBM 解析** はすでに報告されており [Tapp et al., 2006], **VBM** は伴侶動物に対して実現可能な分析ツールだと考えられる。

本研究は 5/25 頭 (20%) の **FSEC** で海馬および/または扁桃体の構造異常を示した。これらの領域はこれまでの研究で検出された **FSEC** において想定されるてんかん原生領域に一致する [Kuwabara et al., 2010; Hasegawa et al., 2014; Mizoguchi et al., 2017]。一方で、**FSEC** と健常猫における群間比較において有意差は認められなかった。これは、残りの 20/25 頭 (80%) の **FSEC** において海馬および/または扁桃体に構造異常が認められなかったことが影響していると考えられる。過去の **FSEC** の研究において、Mizoguchi et al. (2014) は、**FSEC** の海馬容積において非対称性を示したが、左側あるいは右側での群間比較に有意差は認められていない。本研究の結果も類似するため、**FSEC** は個体ごとにてんかん原性領域の側方性および海馬硬化の有無が異なることが予想される。それゆえに、**standard VBM** 分析はてんかん原生領域検出法として **ROI** 法に代わり得る測定法と考えられる。人医療において、**MTLE** の治療は外科的治療が行われることが多い。当然、てんかん原生領域の特定は患者ごとに行われる。本研究は各 **FSEC** 個体に対する **standard VBM** 解析がてんかん原生領域として疑われる海馬および/または扁桃体を同定できることを示唆する結果となった。そのため、獣医領域における器質的異常を

認めないてんかんに対する外科的治療は未だ行われていないが、本研究における feline standard template および tissue probability maps を用いた standard VBM による個体解析はてんかんの術前検査として有用なものとなるだろう。

ヒト家族性 MTLE の約 57-70%の患者は海馬萎縮を持つことが報告されている [Kobayashi et al., 2001; Kobayashi et al., 2003; Conz et al., 2011]。ヒト家族性 MTLE において、発作寛解の患者の 46%，内科治療により良好な発作コントロールの患者の 51%，難治な MTLE の患者の 100%において海馬の萎縮が認められている [Kobayashi et al., 2001]。本研究において、研究対象となった FSEC の発作頻度の観察は行っていないが、本研究における FSEC で海馬萎縮が認められた割合は 20% (5/25 頭) であり、FSEC は良性の家族性 MTLE の可能性がある。しかしながら、ヒト家族性 MTLE において発作頻度と関連のない進行性の海馬容積の減少が認められているため [Conz et al., 2011]，さらなる FSEC の研究において、経時的に VBM 分析を追跡することは、健常個体と異なる海馬容積の減少率を認める可能性がある。

海馬および/または扁桃体の減少を認めた 5 頭の FSEC のうち、その側方性は両側が 3 頭、左側が 2 頭であった。海馬萎縮の側方性はヒト家族性 MTLE においても家族内で異なる [Ikeda et al., 2000]。FSEC は同一の環境下 (同じケージスペース，食事，室温) での飼育を行っているため、海馬萎縮の側方性決定には環境因子以外の因子が関係している可能性がある。側方性決定に関与する因子の考察にはさらなる調査が必要となる。

3.4.4. 本研究における制限

本研究は standard VBM 法を用いた。人医療では、現在 optimized VBM 法 [Good et al., 2001] や diffeomorphic anatomical registration using exponentiated lie algebra based VBM 法 [Ashburner, 2007] が改良型の方法として開発されている。これらの改良型 VBM 解析は standard template に対する重ね合わせを改善する方法であり、さらなる複雑な処理が必要となる。ヒト側頭葉てんかん患者を用いてこれらの VBM の方法を比較した研究において、standard VBM 法はいくつかのアーチファクト領域を含むことが報告されている [Keller et al., 2004]。それゆえに、本研究における個体解析で認められた海馬および/または扁桃体以外の前頭葉や小脳の減

少について、その意義を言及することは困難である。また、本研究の群間解析において、アーチファクト領域は認められなかったが、**feline standard template** に対する重ね合わせのずれにより海馬のような微小構造では減少が見逃されている可能性がある。そのため、さらなる研究においては、改良型 VBM 法の実施が必要であろう。

また、本研究で用いた分割化における均一性補正には 30 mm bias FWHM を使用した。一般的に、7-Tesla MRI のような超高磁場 MR 装置を用いた画像は磁場の空間的不均一性によるムラやひずみが発生するため、強い補正 (30 mm bias FWHM) をかける必要がある。3-Tesla MR 装置に対しては 60 mm bias FWHM が用いられることが多いが、画像に応じて調整される。本研究は 60 mm bias FWHM による分割化を行った際に、片側の海馬が白質領域に分割されるエラーが認められたため、30 mm bias FWHM を用いざるを得なかった。猫の脳サイズがヒトと比べて小さいために、画像の不均一性が発生したと考えている。この補正強度の違いによる解析結果への影響はわかっていないが、一般的なヒトの 3-Tesla MRI における VBM 解析に従った設定 (60 mm bias FWHM の使用) にはより均一な画像の取得が必要である。そのため、積算回数の増加やモーションアーチファクトの軽減を行うことで、より正確な VBM 解析につながると考える。

3.4.3. VBM 解析の適応

猫の特発性てんかんの罹患率はヒトや犬と比較して低い [Smith et al., 2009; Wahle et al., 2014; Pakozdy et al., 2014]。しかしながら、猫のてんかんは側頭葉起始の発作型が多いとされる [Kitz et al., 2017]。さらに、Wagner et al. (2014)は、てんかんの猫の 3 分の 1 にヒトの海馬硬化と類似する神経病理学的変化を報告している。簡便かつ短時間での処理が可能な Standard VBM は、大規模な調査を行うことが可能であるため、大規模なてんかんの猫に対する VBM 分析は、さらなるてんかんの病態生理解明の一助となるかもしれない。

人医療において、アルツハイマー病の診断には MRI が用いられる。MRI 検査はその他の疾患を除外するために行われるが、VBM 分析はアルツハイマー病が示す白質の微小な変化を検出することができることが知られている [Matsuda, 2016]。近年、猫はヒトアルツハイ

マー病に類似する組織病理学的所見が発見され、治療反応に対するモデル動物に適していることが示唆されている [Chembers et al., 2015]. 本研究はてんかん猫を対象に行ったが、アルツハイマー病などの変性性疾患に対しても VBM 分析を行うことは有用かもしれない.

3.5. 小括

- 1) ヒト用に開発された VBM ツールを用いて猫における standard template および tissue probability maps の作成は可能である.
- 2) FSEC と健常猫の群間比較において、すべての領域で有意な減少は認められなかった.
- 3) 各 FSEC 個体と健常猫群の比較において、25 頭中 5 頭 (20%) の FSEC では海馬および/または扁桃体の減少が認められた.
- 4) Standard VBM 法における個体解析はてんかん原性領域検索に有用な解析法になり得る.

Table 1. Cluster-level を用いた個体解析の結果

個体	Cluster-level $P_{(FWE)}$ 値	Cluster サイズ (K)	座標 (x, y, z)	部位
FSEC 1	< 0.001 ^{**}	225370	-10.2, -2.5, -5.8 -16.2, -10.6, -0.1 -10.5, -24.1, -0.7	左側海馬および/または扁桃体 左側側頭葉 左側小脳
FSEC 2	< 0.001 ^{**}	8234	-9.9, -2.5, -5.8 -7.2, 5.9, 2.0	左側海馬および/または扁桃体
	< 0.001 ^{**}	4778	9.6, -1.6, -5.8 12.9, -9.4, -3.4 10.8, 2.3, 1.4	右側海馬および/または扁桃体
FSEC 3	0.047 [*] 0.001 [*]	1458 3477	1.2, 8.6, -0.1 -10.2, -1.3, -4.0 -15.9, -6.4, 2.6	右側側頭葉 左側海馬および/または扁桃体
FSEC 4	< 0.001 ^{**}	284712	-9.9, -2.5, -5.8 1.8, 5.6, -0.4 -12.3, -11.2, -1.6	左側海馬および/または扁桃体 右側側頭葉 左側側頭葉
FSEC 5	< 0.001 ^{**}	5942	6.9, -28.3, -1.9 -6.6, -27.1, 1.1 0.9, -27.4, 5.0 -8.7, -1.6, -5.8	右側小脳 左側小脳 右側小脳 左側海馬および/または扁桃体
	0.048 [*]	1449		

座標は、正中前交連からの距離を示す (単位: mm).

FWE, family wise error; FSEC, 家族性自然発症性てんかん猫. *, $P_{(FWE)} < 0.05$; **, $P_{(FWE)} < 0.001$.

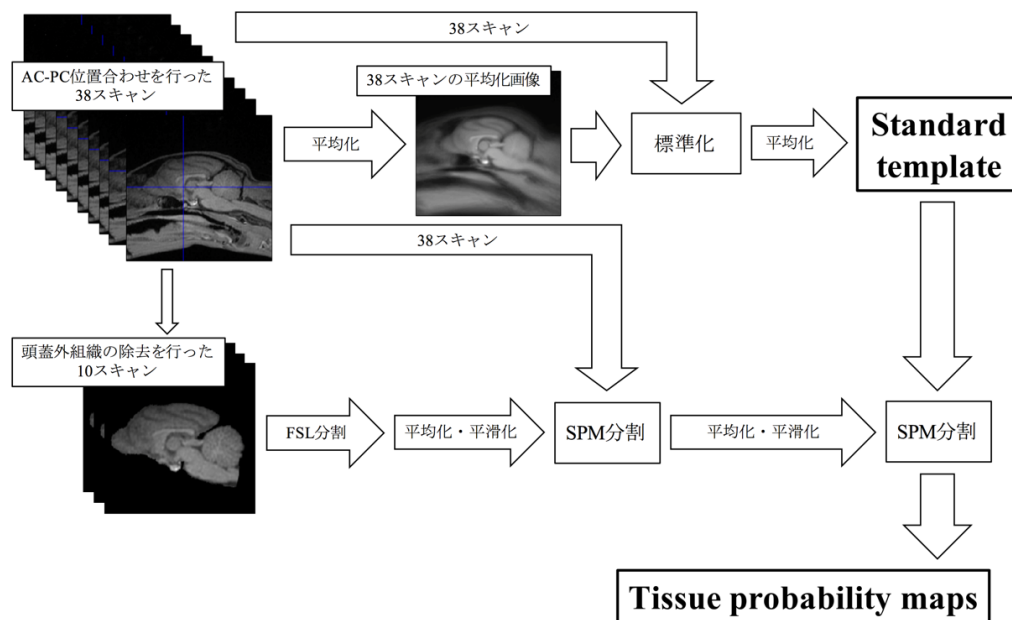


Figure 1. Feline standard template および tissue probability maps の作成フローチャート. AC-PC, 前交連-後交連; FSL, FMRIB Software Library; SPM, Statistical Parametric Mapping.

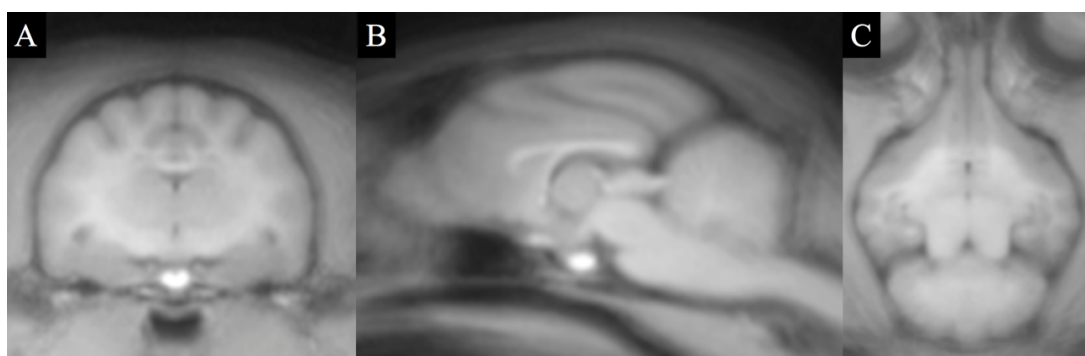


Figure 2. 38 頭の健常猫から作成した feline standard template の断面例. A, transverse 断面; B, sagittal 断面; C, dorsal 断面.

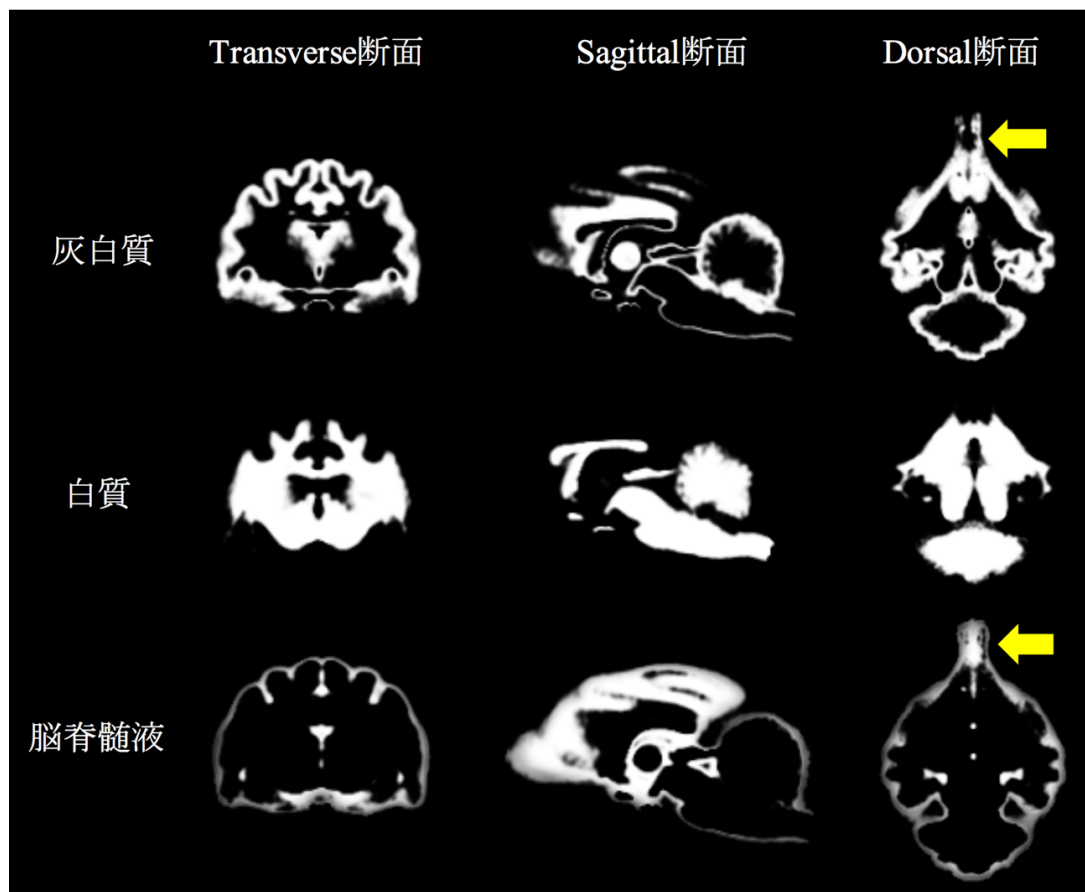


Figure 3.38 頭の健常猫から作成した灰白質，白質，脳脊髄液の feline tissue probability maps の断面例．嗅球領域において，灰白質および脳脊髄液の tissue probability maps の分割エラーが認められた (黄色矢印).

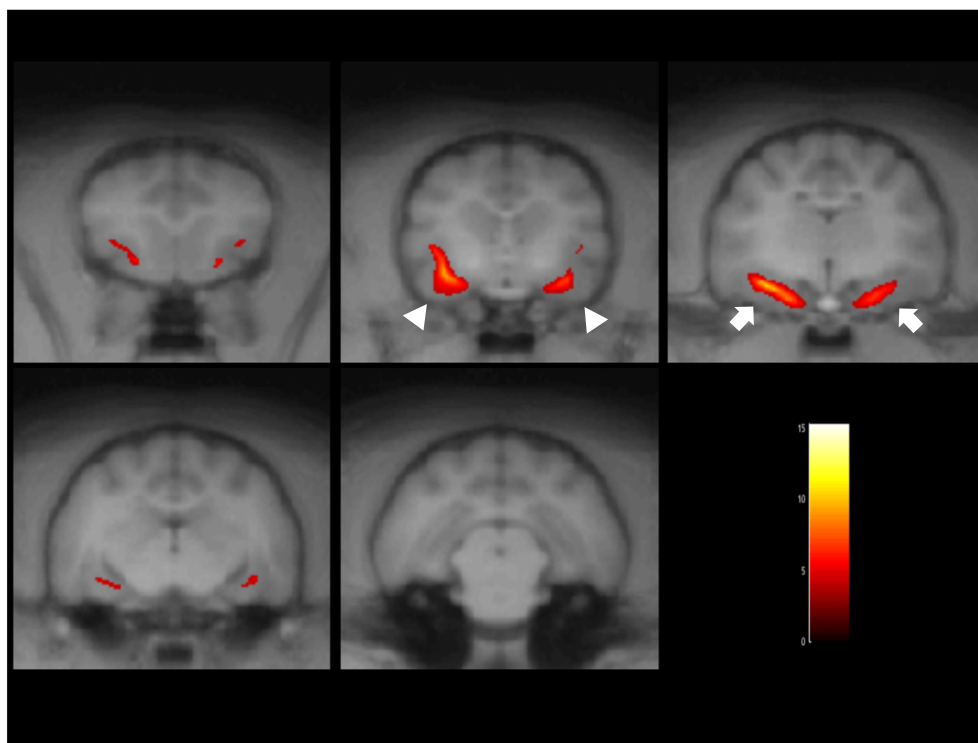


Figure 4. 海馬 (矢印) および扁桃体 (矢頭) の典型的な減少を認めた FSEC の 1 例. Transverse 断面における前頭葉から後頭葉領域を示す. カラー表示領域は有意な減少を認めた領域である ($P_{(FWE)} < 0.05$, t 検定). FSEC, 家族性自然発症性てんかん猫.

第4章

家族性自然発症性てんかん猫を用いた発作直後の Diffusion および Perfusion Magnetic Resonance パラメーターの変化

4.1. 緒言

てんかん原性領域はてんかんの脳の状態を多角的に判断するため、てんかん外科の術前検査だけでなくてんかんの病態生理の解釈において最も重要な概念と考えられている [Rosenow and Lüders, 2001; Lüders et al., 2006]. てんかん原性領域は「てんかん発作が始まる必要十分な領域で、切除（あるいは完全遮断）により、てんかん発作の消失をもたらす最小の皮質部位」と定義されている。第一章で述べたように、この概念は以下の5つの皮質異常域から構成されている：irritative zone, seizure-onset zone, symptomatogenic zone, structural abnormal zone (epileptogenic lesion), および functional deficit zone. 正確なてんかん原性領域は手術後に特定されるため、放射線同位体を用いる単一光子放射断層撮影 (single photon emission computed tomography, SPECT) や陽電子放射断層撮影 (positron emission tomography, PET), 脳内に電極を設置するビデオ深部脳波などの侵襲的な検査を含む様々な術前検査が必要となる。これらの検査に比べ、獣医療において麻酔のみを必要とする磁気共鳴画像法 (magnetic resonance imaging, MRI) は非侵襲的な検査と言える。

家族性自然発症性てんかん猫 (familial spontaneous epileptic cat, FSEC) は内側側頭葉てんかん (mesial temporal lobe epilepsy, MTLE) の自然発症性遺伝性動物モデルとして 2009 年に発見された [Kuwabara et al., 2010]. FSEC は、自然発症性辺縁系発作あるいはそれに続発する全般発作および前庭刺激誘発性全般発作の2つのてんかん発作型を持つ。これまでの FSEC の研究において、irritative zone および symptomatogenic zone に辺縁系領域 [Kuwabara et al., 2010],

structural abnormal zone に海馬 [Mizoguchi et al., 2014] および/あるいは扁桃体 (第 3 章参照), seizure-onset zone [Hasegawa et al., 2014] および functional deficit zone [Mizoguchi et al., 2017] に海馬および/あるいは扁桃体が示唆されている.

画像診断において, functional deficit zone は発作間欠期 SPECT や PET による検出が一般的であり, seizure-onset zone は発作時の SPECT やビデオ深部脳波で描出することができる [Lüders et al., 2006]. 一方, 拡散強調画像 (diffusion-weighted imaging, DWI), 拡散テンソル画像 (diffusion tensor imaging, DTI) や灌流強調画像 (perfusion-weighted imaging, PWI) のような先進的な MRI 撮像技術の開発により, functional deficit zone や微小な構造的/動力学的変化を描出することが可能になった [Hajnal et al., 1991]. SPECT および PET は脳の灌流や代謝, すなわち脳機能を正確に評価することができるが, その空間分解能が低いため, 人医療では SPECT や PET の画像を空間分解能が高い MRI 画像に重ね合わせることで正確な位置の同定が行われている. しかしながら, 獣医療において, SPECT や PET の普及は極めて限定的であるため, 一般的に普及しつつある MRI による seizure-onset zone の描出が可能であれば, 非侵襲的かつより高い空間分解能, さらに臨床的に実現可能な検査法となる. 過去に Mizoguchi et al. (2017) は, イソフルラン麻酔下における発作間欠期の FSEC に対する DWI, DTI, および PWI の有用性を調査し, functional deficit zone として海馬および/または扁桃体の高拡散および低灌流を検出し, Diffusion および Perfusion MRI の可能性を報告している.

本研究の目的は, FSEC における seizure-onset zone および functional deficit zone の検出であるが, 麻酔が必要な動物の MRI 撮像において, 発作時の MRI 撮像は困難を極める. それゆえに, 本研究は発作間欠期と単発のてんかん発作直後の脳の拡散および灌流を測定し, その変化を調査した. また, FSEC に対する DWI, DTI, および PWI の再現性および有用性についても検証した.

4.2. 材料および方法

4.2.1. 倫理

本研究は日本獣医生命科学大学の実験動物および生命倫理委員会の承認を得て行われた (承認番号: 25K-4, 26K-29, 27K-10; 研究代表者: 長谷川 大輔).

4.2.2. 供試動物

本研究はFSEC (FSEC 群: 雄 5 頭, 雌 1 頭) および健常猫 (コントロール群: 雄 3 頭, 雌 3 頭) をそれぞれ 6 頭ずつ使用した. これらの猫は身体検査, 神経学的検査, 血液検査 (完全血球計算, 生化学検査), および尿検査に明らかな異常は認められないことを確認している. FSEC 群では全例とも前庭刺激誘発性の全般発作を示す個体を用いた. FSEC 群の中央年齢は 36.5 ヶ月齢 (範囲 17–74 ヶ月), 中央体重は 4.1 kg (範囲 2.8–5.6 kg) であった. コントロール群にはFSECの家系とは無関係の個体を用い, 中央年齢および中央体重はそれぞれ 74 ヶ月齢 (範囲 41–47 ヶ月齢) および 3.3 kg (範囲 2.4–4.0 kg) であった.

4.2.3. 研究デザイン

FSEC 群では発作間欠期および発作直後に MRI 撮像を行った. 発作間欠期の撮像は少なくとも 10 週間発作がない状態で行われた. 発作後期 MRI は前庭刺激誘発性全般発作後すぐに MRI 撮像を行った. 発作誘発のための前庭刺激は横揺れ運動 (1 往復/秒, 2 分間, インターバル 30 秒, 最大 3 セット) を行い, その後, 回転運動 (1 回転/秒, 1 分間, インターバル 30 秒, 最大 5 セット) を行った. この刺激は発作が誘発された時点で終了とし, 速やかに MRI 撮像へと移行した.

コントロール群では誘発発作を行わない状態 (FSEC 群の発作間欠期に相当) と FSEC 群と同じ誘発刺激後 10 分以内 (FSEC 群の発作後期に相当) の MRI 撮像を行った. コントロール群における誘発発作は上述したフルセット (横揺れ運動 × 3 セット, 回転運動 × 5 セット) を行った.

4.2.4. MRI プロトコル

全ての MR 画像は 3.0-Tesla MRI 装置を用いて獲得し (Signa[®] HDx 3.0T, GE Healthcare Japan, 東京), RF コイルには 8 ch ヒト用膝コイルを用いた。全ての猫で MRI 撮像前 12 時間の絶食絶水を行い, 橈側皮静脈に血管確保を行った。麻酔導入にはプロポフォール (プロポフロ 28, DS ファーマアニマルヘルス, 大阪) (7 mg/kg, IV) を用い, 気管チューブを挿管後, 2–3% のセボフルラン (セボフルレン, 丸石製薬, 大阪) と酸素の混合にて麻酔維持を行った。麻酔中は人工呼吸器を用いて換気した (気道内圧 = 12–15 cmH₂O, 呼吸回数 = 12–15 回/min)。心拍数は MRI 付属の光ファイバーパルス酸素濃度計 (ペリフェラルゲートプローブ, GE Healthcare, 東京) を肢端に設置しモニタリングを行った。MRI 撮像中の体温は保温材を用いて, 36–37°C に維持・管理した。

DWI は spin echo-echo planar imaging (SE-EPI) periodically rotated overlapping parallel lines with enhanced reconstruction を用いて取得した (TR/TE = 8000/87.4 ms, FOV = 15 × 15, slice thickness = 3.0 mm, matrix = 256 × 256, NEX = 1, motion probing gradient = 3 axis, および b value = 1000 s/mm²)。

DTI は SE-EPI により取得した (TR/TE = 8000/85 ms, FOV = 15 × 15, slice thickness = 3.0 mm, matrix = 128 × 128, NEX = 2, motion probing gradient = 15 axis, および b value = 1000 s/mm²)。

Dynamic susceptibility contrast (DSC) enhanced PWI は gradient echo-echo planar imaging により獲得した (TR/TE = 2000/32 ms, FOV = 15 × 15, slice thickness = 3.0 mm, matrix = 256 × 192, NEX = 1, time-resolution 2 s/phase, number of phase 50 time points/slices = 20, slices of images = 1000, および total imaging time = 100 s)。本研究の DSC-PWI は, 造影剤にはガドシアミド (オムニスキアン[®], 第一三共, 東京) 0.2 mL/kg (0.1 mmol/kg) を用い, 自動注入器 (スペクトリス・ソラリス[®], 日本メドラッド, 大阪) による自動 IV 投与 (1 mL/s) により取得した。また, 造影剤投与直後に, 生理食塩水 12 ml を同一速度 (1 mL/s) による後追い注入 (フラッシュ) を行った。造影剤投与は, 撮像開始 4 秒後に開始した。

最後に, 解剖学画像として T2 強調画像 (T2-weighted imaging, T2WI) を獲得した。T2WI は fast spin echo により取得した (TR/TE = 7000/85 ms, FOV = 15 × 15, slice thickness = 3.0 mm,

matrix = 383 × 288, NEX = 1, motion probing gradient = 15 axis, および b value = 1000 s/mm²). 全ての撮像は transverse 断面で行われた.

4.2.5. 拡散および灌流パラメーター

拡散および灌流パラメーターは, MRI 装置内蔵ソフトウェア (Functool, GE Healthcare Japan, 東京) を用いて, DWI から見かけの拡散係数 (apparent diffusion coefficient, ADC), DTI から異方性比率 (fractional anisotropy, FA), PWI から相対的局所脳血液量 (relative regional cerebral blood volume, rCBV), 相対的局所脳血流量 (relative regional cerebral blood flow, rCBF), および相対的局所平均通過時間 (relative regional mean transit time, rMTT) を算出し, カラーマップを作成した. それぞれのパラメーターはカラーマップ上に, 関心領域 (region of interest, ROI) を以下の領域に作成し, 測定した: 両側の海馬, 扁桃体, 視床, 灰白質, および皮質下白質. これらの領域は猫の脳アトラス [Sinder and Niemer, 1961] を参照して作成された. ROI は海馬, 灰白質, 皮質下白質で 5 mm², 扁桃体および視床で 10 mm² の円形の ROI を用いた.

5.2.6. 統計学的解析

統計解析には市販のソフトウェア (Statcel3, OMS, 埼玉) を用いた. 統計解析に用いたパラメーターは全ての個体の左右それぞれから取得した. 灌流パラメーターは個体ごとのばらつきが大きかったために, 同側の皮質下白質の値に対する比率 (rCBV/白質, rCBF/白質, MTT/白質) を統計解析に用いた.

発作間欠期における FSEC 群とコントロール群の比較にはマンホイットニーU 検定, さらに, FSEC 群およびコントロール群における発作間欠期 (誘発刺激なし) と発作直後 (誘発刺激あり) の比較にはウィルコクソン符号順位検定を用い, 統計学的有意差は $P < 0.05$ と定義した.

4.3. 結果

すべての FSEC は横揺れ運動 ($n=2$, 範囲 2–3 セット) および回転運動 ($n=4$, 範囲 2–5 セット) で発作が誘発された. FSEC が示した発作型は全般性強直間代発作であり, 中央発作持続時間は 92.5 秒 (範囲 60–122 秒) であった. 発作終了から MRI 撮像開始までの中央時間は 12 分 (範囲 11–21 分) であった.

発作間欠期の比較において, FSEC 群の海馬の rCBV (中央値 1.25, 範囲 1.08–1.43) および rMTT (中央値 0.92, 範囲 0.76–1.17) はコントロール群の海馬 (rCBV: 中央値 1.60, 範囲 1.38–1.81; rMTT: 中央値 1.09, 範囲 0.93–1.33) と比較して有意な低下を認めた (rCBV: $P < 0.01$; rMTT: $P < 0.05$) (Figure 1). 発作間欠期の FSEC 群とコントロール群の比較において, その他のパラメーターに有意差は認められなかった (Figure 1).

コントロール群における前庭刺激前後の比較において, 全てのパラメーターに有意な差は認められなかった (Figure 2).

FSEC 群における発作間欠期と発作直後の比較では, FSEC の海馬の ADC は発作間欠期 (中央値 $0.95 \text{ mm}^2/\text{s}$, 範囲 0.92–0.99) と比較して発作直後 (中央値 $0.94 \text{ mm}^2/\text{s}$, 範囲 0.90–0.96) に有意な低下が認められた ($p < 0.05$) (Figure 3). 典型的な 1 頭の FSEC の発作間欠期および発作直後の ADC マップを Figure 4 にて示した. また, 発作直後の海馬における rCBV (中央値 2.16, 範囲 1.82–2.65), rCBF (中央値 1.94, 範囲 1.37–2.64), および rMTT (中央値 1.11, 範囲 0.94–1.45) において, 発作間欠期 (rCBV: 中央値 1.25, 範囲 1.08–1.43; rCBF: 中央値 1.32, 範囲 1.01–1.65; rMTT: 中央値 0.92, 範囲 0.76–1.17) と比較して有意な上昇が認められた (rCBV $P < 0.01$; rCBF $P < 0.01$; rMTT $P < 0.01$) (Figure 3). 典型的な海馬灌流の増加を認めた FSEC の 1 頭を Figure 5 にて示した. さらに, 扁桃核の rMTT において, 発作間欠期 (中央値 0.95, 範囲 0.75–1.12) と比較して, 発作直後 (中央値 1.16, 範囲 0.82–1.40) に有意な上昇が認められた ($P < 0.05$) (Figure 3). FSEC 群における発作間欠期と発作直後の比較において, その他のパラメーターに有意な差は認められなかった (Figure 3).

4.4. 考察

動物のてんかんモデルを使用した研究の最大の制限は麻酔なしの撮影が行えないことである。本来、seizure-onset zone の検出には発作時画像が望ましいが、本研究は発作直後の画像を使用せざるを得なかった。しかしながら、本研究においても発作直後の海馬の低拡散および高灌流、扁桃体の高灌流が認められた。これはヒトのてんかんにおける発作時 SPECT の結果に類似する [Duncan et al., 1990; Rowe et al., 1991a; Henry et al., 1993; Sakamoto et al., 2003; McNally et al., 2005]。また、本研究の発作直後の Diffusion および Perfusion MRI はビデオ頭蓋内脳波を用いた FSEC の seizure-onset zone と一致し [Hasegawa et al., 2014]、非侵襲的な seizure-onset zone の検出に有効である可能性を示した。ヒト MTLE において、神経細胞の脱落を示す海馬硬化は最も一般的に認められる組織病理学的所見であり、FSEC のてんかん原性領域における血液供給は、発作間欠期には神経細胞数と相関した低灌流を示し、発作直後には発作に伴う必要エネルギーの増加により高灌流を示すと考えられる。また、発作間欠期における FSEC の functional deficit zone を検討した Mizoguchi et al. (2017) の報告と同様に、本研究においても FSEC の海馬における低灌流が認められた。これは、猫に対する Perfusion MRI の再現性を示す 1 つのエビデンスになると考えられるが、Diffusion MRI において、本研究に有意差が認められなかったことを考えると、Mizoguchi et al. (2017) の報告と比較して本研究のサンプルサイズが小さいことが影響した可能性がある。したがって、再現性の有無に関するさらなる研究として、検討個体を増やした研究が必要になる。

ヒトのてんかん発作に関する Perfusion SPECT において、てんかん原性領域は発作間欠期に低灌流を示し、発作時の高灌流、その後の発作間欠期を下回る低灌流を経て再び発作間欠期の灌流に回復することが知られている [Rowe et al., 1991b; Newton et al., 1992]。それゆえに、seizure-onset zone はビデオ頭蓋内脳波のみならず発作時 SPECT を用いた高灌流の描出により検出できると考えられている [Rosenow and Lüders, 2001]。MRI は頭蓋内脳波や PET, SPECT と比較して、優れた空間分解能を持ち、脳全体を解析できる。Wirestam et al. (2000) によって SPECT と DSC-Perfusion MRI の rCBF マップは強い相関性を示すことが報告され、DSC-Perfusion MRI はてんかん患者においても利用されている [Wu et al., 1999; Placidi et al., 2002; O'Brien et al.,

2007; Xing et al., 2013]. また、てんかん発作による脳の興奮は seizure-onset zone からその周辺に伝播されるため、発作直後の異常領域は拡大した seizure-onset zone を示すものと考えられている [Sakamoto et al., 2003]. それゆえに、本研究における発作直後の DSC-PWI の高灌流領域は FSEC の拡大した seizure-onset zone を示し、これはてんかん原性領域を示す領域の 1 つであると考えられる.

発作時および発作後期の Perfusion SPECT 研究 [Newton et al., 1992] において、てんかん原性領域は焦点性発作の約 90 秒後に発作時の高灌流から低灌流へ移行することが報告されている. この発作約 90 秒後の変化は “postictal switch” と呼ばれている. しかしながら、本研究は前庭誘発性全般性発作の 90 秒以上経過した MRI 撮影 (11–21 分)であったが、FSEC 群の海馬の rCBV, rCBF, rMTT, および扁桃体の rMTT は上昇したままだった. いくつかの研究においてヒト側頭葉てんかん患者の不規則な発作後期の灌流パターンが報告され [Wichert-Ana et al., 2001; Wichert-Ana et al., 2004], 発作型, 個人, 種により postictal switch のタイミングあるいは低灌流への推移時間は異なる可能性がある. FSEC はヒト MTLE モデルであるが、ヒトとの種差や麻酔の有無, さらに、本研究の前庭刺激誘発発作が全て全般性強直間代発作だったことが, postictal switch の延長あるいは低灌流への推移時間につながったと考えられる. また、本研究において、FSEC 群の扁桃体は rMTT の上昇が認められたが、rCBF および rCBV の上昇/減少は認められなかった. ビデオ頭蓋内脳波を用いた FSEC の研究において [Hasegawa et al., 2014], FSEC の発作は扁桃体から海馬への発作興奮が認められている. それゆえに、本研究の撮影タイミングにおいて、扁桃体はすでに発作時の高灌流を過ぎていたため、rMTT のみが増加を示していたと考えられる. より正確な FSEC の発作に関する灌流変化を調査するために、発作後の画像取得タイミングを増やすことが必要である. 加えて、ヒトの研究でさえも ROI 法を用いた研究においては、ROI 内に外部領域を含んでしまう可能性があり、バイアスに繋がる. 猫の脳はヒトと比較して小さく、ROI 内に脳脊髄液や発作後期に高灌流を示す海馬傍回 [Leonhardt et al., 2005] を含んだ可能性も考えられる.

本研究では発作直後の FSEC 群の海馬において ADC の減少が認められた. てんかん発作による ADC の減少は細胞毒性浮腫を示唆するものと考えられており [Helpem and Hung,

1995; Hasegawa et al., 2003], ヒト MTLE の報告においても、てんかん原性領域である海馬では発作後期の低拡散が観察されている [Diehl et al., 2001; Oh et al., 2004]. それゆえに、前庭刺激誘発性全般性発作により FSEC のてんかん原性領域とされる海馬に細胞毒性浮腫が発生したと考えることが妥当だろう. また, Mizoguchi et al. (2017) は発作間欠期の FSEC の海馬における高 ADC を示していることから, 本研究の ADC の減少が一過性変化であると考えられる. ADC は有意な変化を示したが, 発作間欠期と発作直後の ADC の結果にはオーバーラップする部分が多い. そのため, ADC 単独で評価することは困難であり, 間違った解釈を生む可能性がある. 現時点において, 獣医領域での画像診断的焦点検索は, DWI あるいは ADC とともに, 前述した Perfusion MRI の結果と総合的に判断することが的確であろう.

FSEC 群の発作間欠期と発作直後の比較において, DTI から得られる FA に有意な変化は認められなかった. この結果はヒトで報告された結果に類似する [Diehl et al., 2005]. しかしながら, 本研究は海馬あるいは扁桃体の ADC, rCBV, rCBF, および rMTT には前庭刺激誘発性全般発作による有意な変化が認められている. それゆえに, DWI および PWI は DTI と比較し, てんかん原性領域の検出に優れる可能性がある. Thivard et al. (2006) も FA と比較して ADC は定位的脳波の異常に相関すると報告している. しかしながら, FA は conventional MRI と比較して構造異常の検出に優れ [Licu et al., 2010], 海馬硬化を示す海馬では異方性の減少を示すことが報告されている [Wiesmann et al., 1999; Liacu et al., 2010]. FSEC においても, 健常猫と比較した発作間欠期の海馬の体積減少および FA の低下を認めている [Mizoguchi et al., 2015; 2017]. それゆえに, 外科切除領域の決定においては発作間欠期の FA の取得も行う必要があるだろう.

コントロール群における前庭刺激前および刺激後の各パラメーターにおいて, 有意な変化は認められなかった. 前庭刺激は一時的に三半規管に影響を及ぼすため, 刺激後の猫は一過性の異常平衡感覚を引き起こす. 本研究は, 前庭刺激による異常平衡感覚が脳の拡散と灌流に影響を及ぼさないことを示唆している. そのため, FSEC における発作直後の海馬や扁桃体が示した ADC の低下および rCBV, rCBF, および rMTT の増加は, てんかん発作に起因するものと考えられる. 人医療において, てんかん発作と非てんかん性イベントを比較した

SPECT 研究において、非てんかん性イベントは、てんかん発作と比較して有意な変化を示さなかったと報告されている [Biraben et al., 1999]. それゆえに、発作間欠期および発作直後の MRI の比較は、てんかん発作と非てんかんイベントの鑑別に有用である可能性を持ち、脳波検査にいくつかの制限がある獣医療におけるてんかん診断の一助になり得ると考える. 本研究において、発作間欠期と発作直後の FSEC の海馬における ADC, rCBV, rCBF, および rMTT には有意な変化が認められたが、Perfusion MRI で測定される rCBV, rCBF, rMTT の結果はオーバーラップが少なく、てんかん発作を高感度に描出するツールとして期待される.

本研究は、獣医療において一般的となりつつある高磁場 MRI と機能的撮像法を用いることで、seizure-onset zone の検出を可能にした. 本研究は発作を起こした個体が 6 頭と少なく、統計学的検出力の低下から左右の比較を行わなかった. また、ヒト家族性 MTLE と同様に FSEC のてんかん原性領域の側方性は一律でないと予想されるため、単純な左右の比較では左側および右側のそれぞれの群においててんかん原性領域でない海馬を含む可能性がある. てんかんにおけるてんかん原性領域の推定は、切除領域の決定と密接な関係を持つ. ヒト MTLE は焦点性てんかんであり、片側性のてんかん原性領域を持つ症例が多く、てんかん原性領域側の海馬とその対側の海馬の比較検討が行われている. 本研究において誘発された FSEC の発作型は視察的に全般性発作であるが、焦点性発作から続発する全般性発作である可能性がある. それゆえに、全般性発作を示した FSEC においても、てんかん原性領域と推定される側とその対側の比較を行うことは、より正確なてんかん原性領域の評価につながると考えられる.

4.1 小括

- 1) FSEC の海馬および扁桃体は発作直後に高灌流を示すため、てんかん発作後の高灌流はてんかん原性領域を示唆する所見である.
- 2) FSEC において発作直後の海馬に低拡散が認められるため、てんかん発作はてんかん原性領域の細胞毒性浮腫を引き起こす.
- 3) 前庭誘発刺激は脳内の拡散および灌流に対して影響がない.
- 4) 発作直後の DWI および PWI はてんかん原性領域の推定に有用なツールになり得る.

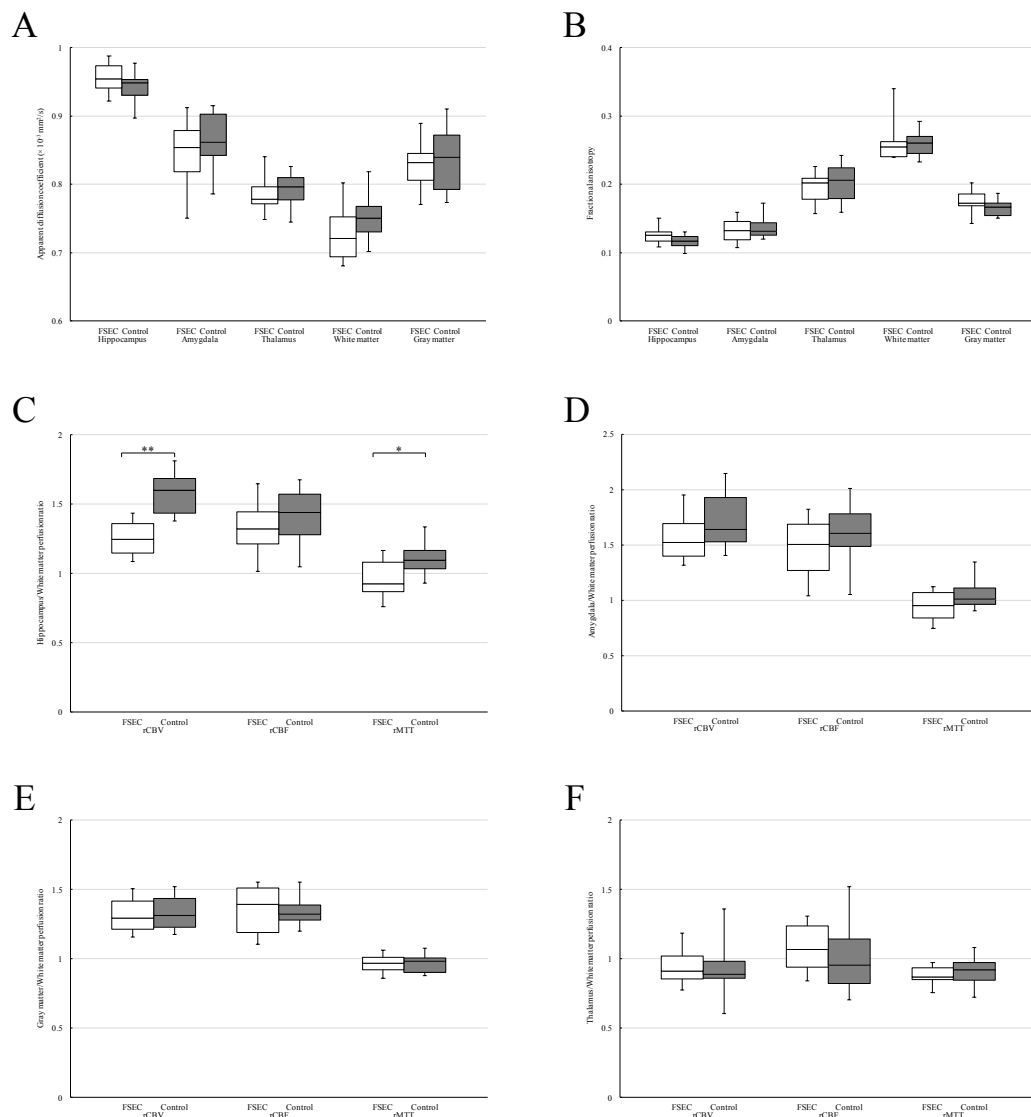


Figure 1. 発作間欠期の FSEC と健常猫の拡散および灌流パラメーターの比較. (A) 見かけの拡散係数. (B) 異方性比率. (C) 海馬における灌流パラメーター. 健常猫と比較して FSEC の海馬において rCBV および rMTT の有意な上昇が認められた. (D) 扁桃体における灌流パラメーター. (E) 皮質における灌流パラメーター. (F) 視床における灌流パラメーター. FSEC, 家族性自然発症性てんかん猫; rCBF, 相対的局所脳血流量; rCBV, 相対的局所脳血流量; rMTT, 相対的局所平均通過時間. *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$ (マンホイットニーU 検定).

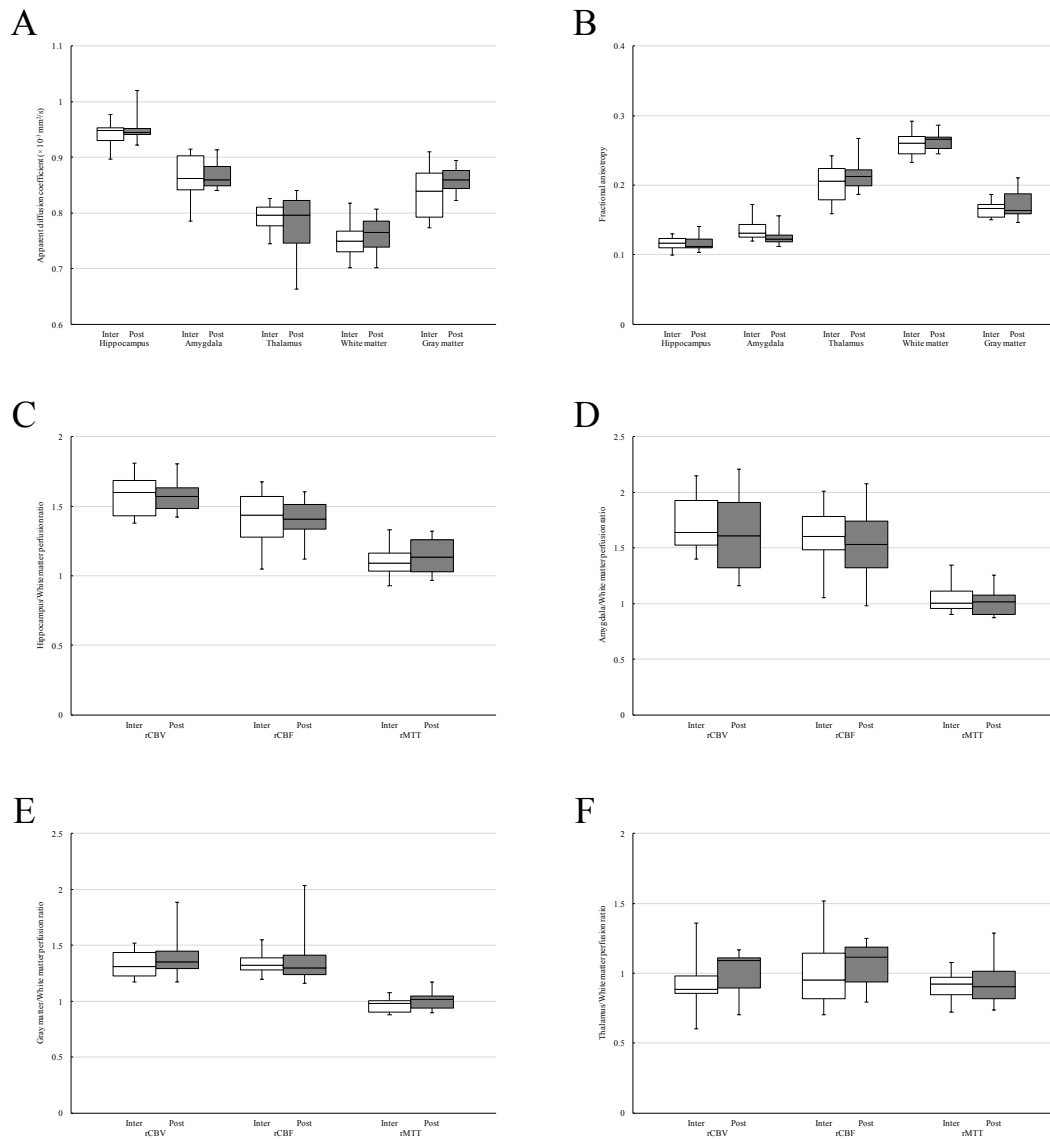


Figure 2. 健常猫における前庭刺激前後の拡散および灌流パラメーターの比較. (A) 見かけの拡散係数. (B) 異方性比率. (C) 海馬における灌流パラメーター. (D) 扁桃体における灌流パラメーター. (E) 皮質における灌流パラメーター. (F) 視床における灌流パラメーター. rCBF, 相対的局所脳血流量; rCBV, 相対的局所脳血流量; rMTT, 相対的局所平均通過時間.

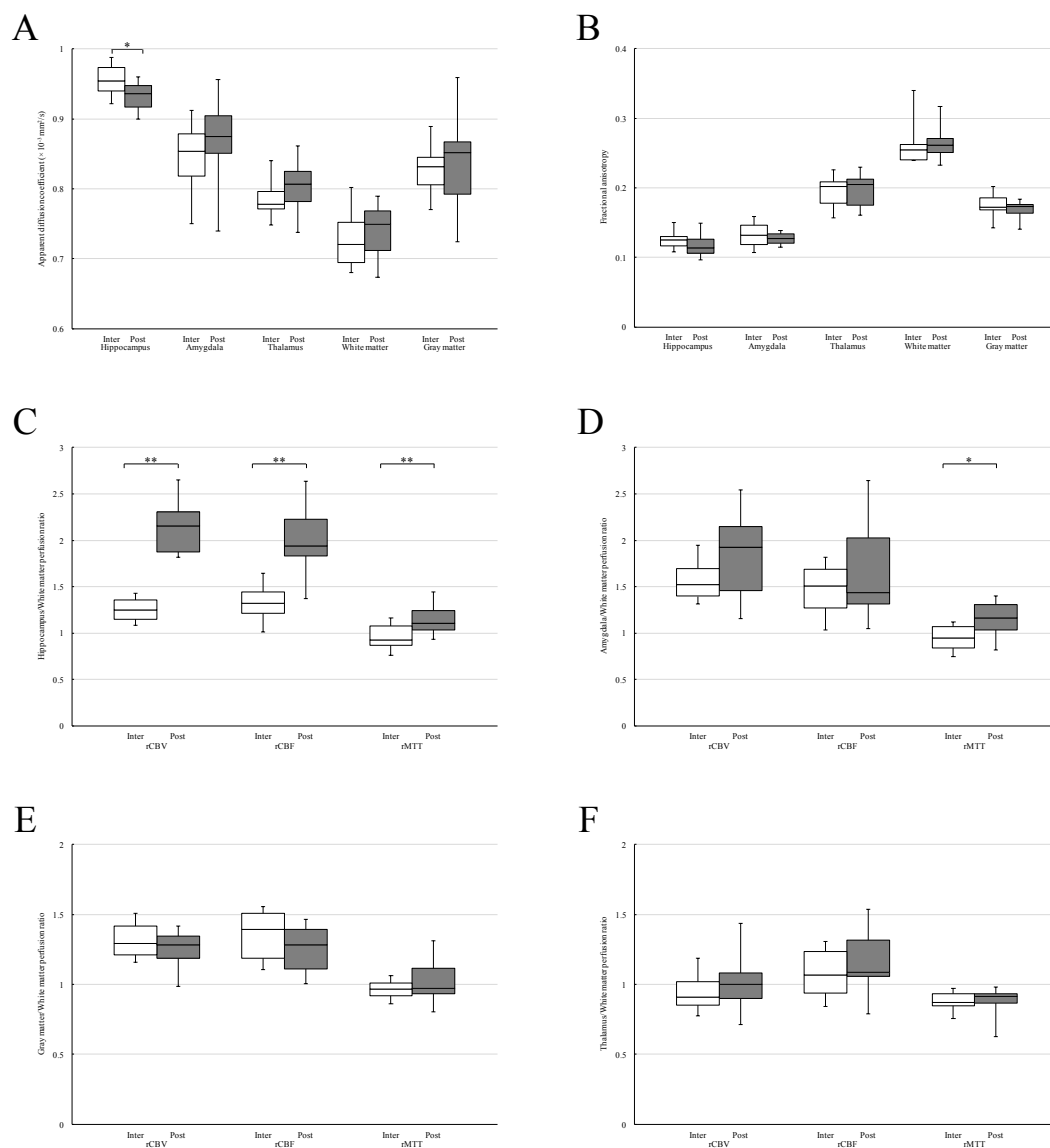


Figure 3. FSEC における発作間欠期と発作直後の拡散および灌流パラメーターの比較. (A) 見かけの拡散係数. オーバーラップが多く認められるが、発作間欠期と比較して発作直後における海馬の見かけの拡散係数に有意な低下が認められた. (B) 異方性比率. (C) 海馬における灌流パラメーター. 発作間欠期と比較して、発作直後における海馬の rCBV, rCBF, および rMTT の有意な上昇が認められた. (D) 扁桃体における灌流パラメーター. 発作間欠期と比較して、発作直後における扁桃体の rMTT の有意な上昇が認められた. (E) 皮質における灌流パラメーター. (F) 視床における灌流パラメーター. FSEC, 家族性自然発症性てんかん猫; rCBF, 相対的局所脳血流量; rCBV, 相対的局所脳血流量; rMTT, 相対的局所平均通過時間. *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$ (ウィルコクソンの符号順位検定).

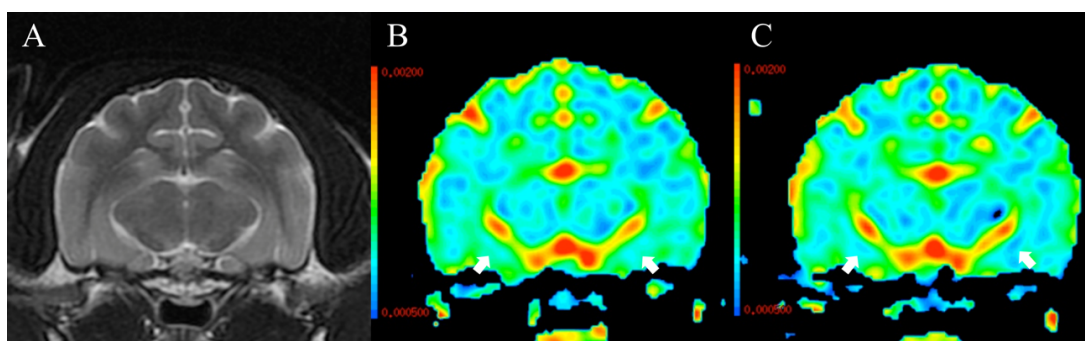


Figure 4. 典型的な海馬の ADC 変化を認めた FSEC の 1 例. 発作間欠期と比較して (B, 白矢印), 発作直後 (C, 白矢印) の海馬における ADC の低下が認められる. (A) T2 強調画像, (B) 発作間欠期における ADC マップ, (C) 発作直後における ADC マップ. ADC, 見かけの拡散係数; FSEC, 家族性自然発症性てんかん猫.

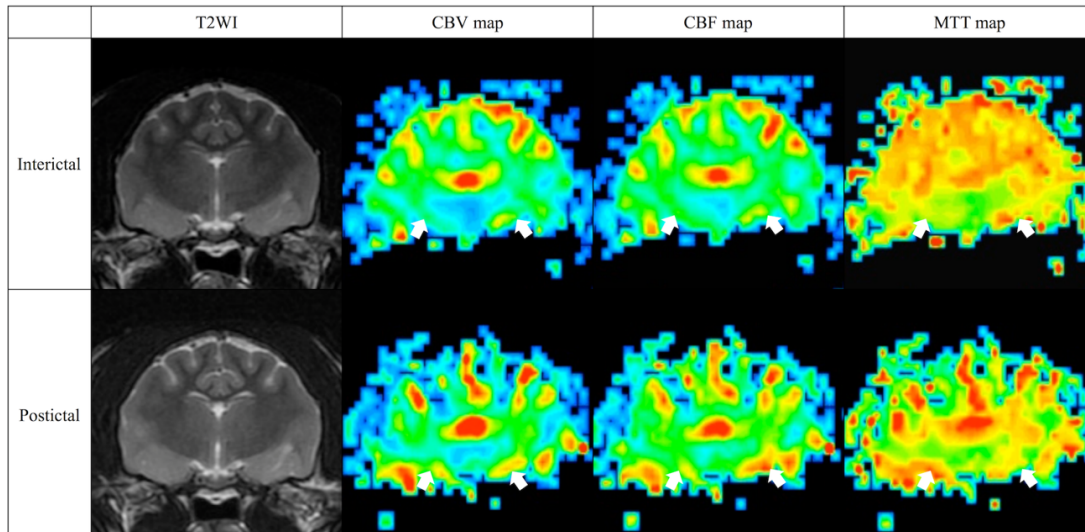


Figure 5. 典型的な海馬灌流変化を認めた FSEC の一例. 発作間欠期と比較して, 発作直後の海馬 (白矢印) における灌流の上昇が認められる. FSEC, 家族性自然発症性てんかん猫; rCBF, 相対的局所脳血流量; rCBV, 相対的局所脳血流量; rMTT, 相対的局所平均通過時間; T2WI, T2 強調画像.

第5章

家族性自然発症性てんかん猫を用いた Magnetic Resonance Spectroscopy によるてんかん原性領域の側方性検出およびゾニサミドによる代謝変化の評価

5.1. 緒言

プロトン磁気共鳴スペクトロスコピー (proton magnetic resonance spectroscopy, ^1H -MRS) は脳をはじめとする生体組織内の代謝産物を非侵襲的に測定するために開発された機能的な磁気共鳴画像 (magnetic resonance imaging, MRI) である。 ^1H -MRS は、短いエコー時間 (echo time, TE) を用いる方法 (short TE) と長い TE を用いる方法 (long TE) がある。long TE は、総 N-アセチルアスパラギン酸 (total N-acetyl aspartate, tNAA)、クレアチン (creatine, Cr)、コリン含有化合物 (choline-containing compounds, Cho) が安定して測定可能であり、short TE は安定性に欠けるものの、これらの代謝産物に加え、ミオイノシトール (myoinositol, mIns) やグルタミンおよびグルタミン酸複合体 (glutamate and glutamine complex, Glx) などの微小な代謝産物を検出することができ、関心代謝産物に対して最適な TE による ^1H -MRS 撮像が行われている。脳代謝異常は構造的な変化に先立って生じるため、従来の MRI では検出できない、あるいは早期の異常を検出でき、人医療では、てんかん、脳梗塞、脳腫瘍およびアルツハイマー病などの各種神経疾患で臨床応用されている。

人医療において、てんかん患者に対する ^1H -MRS の重要性は高く、てんかん焦点検索における ^1H -MRS の有用性が報告されている [Caruso et al., 2013]。これは、NAA が神経細胞数と相関し、神経細胞の消失が認められる海馬硬化では、それを反映した NAA の減少が認められるためである。それゆえ、海馬硬化を伴うことが多い内側側頭葉てんかんの診断において、重要な検出ツールとされている。また、器質異常を持たないヒト側頭葉てんかん患

者においても、従来の MRI と比較して $^1\text{H-MRS}$ のてんかん焦点検出率は有意に高いことが知られている [Doelken et al., 2008]. ヒトてんかん患者では NAA 以外の代謝産物においても、興奮性神経伝達物質である Glx [Helms et al., 2006; Doelken et al., 2010] やグリア細胞のマーカーである mIns [Riederer et al., 2002; Mueller et al., 2003; Wellard et al., 2003] の変動が報告されている。一方、獣医療における $^1\text{H-MRS}$ は、健常犬の各領域における脳代謝産物比が報告され、関心が高まっている [Ono et al., 2014]. しかしながら、ヒトと比較して犬猫の脳は小さく、高磁場 MRI 装置においても同一組織の撮影は困難であり、他の領域が含まれる可能性が大きい。そのため、脳腫瘍 [Carrera et al., 2016], 代謝性疾患 [Carrera et al., 2014]などに用いた報告はごく少数であり、てんかん患者における有用性を調査した報告は我々の知る限りほとんどない [Neppl et al., 2001].

第 1 章で示したように、てんかんの治療は抗てんかん薬による薬物治療が行われているが、人医療と比較して獣医療で用いられる抗てんかん薬には限りがある。ゾニサミド (zonisamide, ZNS) は、1980 年に本邦で開発されたスルフォンアミド型の抗てんかん薬である。明確な作用機序が解明されているわけではないが、T 型カルシウムチャネル阻害、GABA 放出の増強、グルタミン酸放出の抑制、および電位依存ナトリウムチャネルの抑制により抗けいれん作用を示すと考えられている [Leppik, 2000]. これまでに、犬のてんかんに対する ZNS の有効性を示す報告がいくつか存在し、現在の小動物臨床においても一般的に用いられる抗てんかん薬となっている。しかしながら、健常猫に対する ZNS については、Hasegawa et al. (2008) が薬物動態および安全性に関する薬理学的研究を報告しているが、てんかん症例に対する ZNS の有効性を示した報告はほとんどない [Dewey et al., 2006]. short TE を使用した $^1\text{H-MRS}$ 撮像は、Glx の検出が可能であり、ZNS の抗けいれん作用機序とされるグルタミン酸放出の抑制を視覚的に描出できる可能性がある。それゆえに、 $^1\text{H-MRS}$ を用いたてんかんの猫に対する ZNS の検討は、エビデンスに基づく抗てんかん薬の選択肢を増やし、これまでの抗てんかん薬に反応しない難治性てんかんに対する治療につながる可能性がある。

我々が以前報告した自然発症性家族性てんかん猫 (familial spontaneous epileptic cat, FSEC) は、その遺伝様式より常染色体劣性遺伝が示唆され、発作症候学、脳波解析、MRI 解析により、海馬を始めとする内側側頭葉がてんかん原性領域として疑われている (Kuwabara et al., 2010; Hasegawa et al., 2014; Mizoguchi et al., 2014; Mizoguchi et al., 2017). ヒト MTLE の ^1H -MRS 撮像において、てんかん原性領域である海馬の代謝産物測定が行われるが、猫の海馬はヒトと比較して小さく、測定可能な最小の関心体積 (volume of interest, VOI) サイズにおいても視床、外側側頭葉、および脳脊髄液のような他の領域を含んでしまう。そのため、本研究では、ヒト MTLE において代謝変化が認められ [Chassoux et al., 2016], 猫の脳内で同一組織として VOI 設置が可能な視床を選択した。本研究は ^1H -MRS の定量解析ソフト LCModel[®] (LCModel[®], L.A.systems, 東京) を用いたスペクトル解析により、FSEC および健常猫の視床における代謝物比を調査し、てんかん原性領域の側方性を検討した。さらに、FSEC を用いて、ZNS 投与による脳代謝産物比の変化を評価した。

5.2. 材料および方法

5.2.1. 倫理

本研究は日本獣医生命科学大学の実験動物および生命倫理委員会の承認を得て行われた (承認番号：12-34, 13-22, 26K-29, 27K-10, 27S-34, 28K-3, 28K-4；研究代表者：長谷川 大輔)

5.2.2. 研究デザイン

5.2.2.1. てんかん原性領域の側方性の検討

^1H -MRS を用いたてんかん原性領域の側方性検出の評価を行うため、未治療の FSEC および健常猫に対し、発作間欠期における視床 (左側および右側) の脳代謝産物比を測

定した．健常猫と FSEC (左側, 右側, および左側+右側) における比較および FSEC における左右の比較を行った．

5.2.2.2. ギニサミドによる代謝産物比の変化

FSEC に対して, ZNS (コンセーブ, DS ファーマアニマルヘルス, 大阪) の投薬前 (非投与群) および投与中 (投与群) に脳代謝産物比を測定し, ZNS に対する視床全域におけるその変化を評価する．研究含有基準は ZNS の血中濃度が, 非投与群 0 $\mu\text{g/ml}$ および投与群 10–40 $\mu\text{g/ml}$ とした．

最初に, ZNS 投与前における FSEC の ZNS 血中濃度を測定し, 未治療の FSEC の ZNS 血中濃度が 0 $\mu\text{g/ml}$ であることを確認した．その後, 1 度目 (非投与群) の $^1\text{H-MRS}$ 撮像を行った．次に, ZNS 5 mg/kg (bid, p.o.) にて投与し, 安定状態に至る 1 週間後にトラフ値での ZNS 血中濃度測定を行った．全ての個体で血中濃度が 10–40 $\mu\text{g/ml}$ の範囲に存在することを確認し, 2 度目 (投与群) の $^1\text{H-MRS}$ 撮像を行った．ZNS の投与は実験終了まで続けた．全ての ZNS 血中濃度測定は外注検査機関 (マルピーライフテイル, 大阪) にて行った．

5.2.3. 供試動物

5.2.3.1. てんかん原性領域の側方性の検討

本研究には, 28 頭の FSEC および 16 頭の健常猫を使用した．FSEC の中央体重は 3.4 kg (範囲 2.0–4.8 kg), 中央年齢は 45 ヶ月齢 (範囲 11–102 ヶ月齢) であり, 健常猫の中央体重は 3.5 kg (範囲 2.4–5.1 kg), 中央年齢は 24 ヶ月齢 (範囲 8–124 ヶ月齢) であった．全ての猫は一般身体検査, 尿検査, 血液検査 (完全血球計算および生化学検査), 神経学的検査において明らかな異常がないことを確認している．

5.2.3.2. ギニサミドによる代謝産物比の変化

本研究には, 上述の FSEC のうち 8 頭を使用した．中央体重は 3.9 kg (範囲 3.2–5.2 kg), 中央年齢は 93 ヶ月齢 (範囲 69–133 ヶ月齢) であった．

5.2.4. 麻酔プロトコル

本研究に用いたすべての動物に対し、MRI 撮像 12 時間前より絶食・絶水を行った。動物に十分な酸素化を行った後、プロポフォール (プロポフォール[®], 富士製薬, 富山; プロポフロ 28, DS ファーマアニマルヘルス, 大阪) の静脈内投与 (10 mg/kg) により麻酔導入した。MRI 撮像中の麻酔維持には、イソフルラン (イソフル, DS ファーマアニマルヘルス, 大阪) 2.0%および酸素の混合吸入による機械的換気を用いた。麻酔中、保温材を用い直腸温を 37–38°Cに管理・維持した。

5.2.5. MRI シーケンス

全ての MRI 撮像は超電導磁石型 3.0-Tesla MRI 撮像装置 (Signa HDxt, GE Healthcare, 東京) を用いて実施した。RF コイルには 8 ch ヒト用膝コイルを使用した。動物を腹臥位に保定し、頭部を RF コイル内に設置した。呼吸時の動きや撮影時の振動による motion artifact 軽減のため、頭部をタオルで覆い、その上から粘着テープで固定した。MRI 撮像中は本体付属の光ファイバーパルス酸素濃度計 (ペリフェラルゲートプローブ, GE Healthcare, 東京) を肢端に設置し、心拍数のモニタリングを行った。

¹H-MRS 撮像前に 3D T2 Cube (TE = 77.74 ms, TR = 3200 ms, slice thickness = 0.60 mm, FOV = 15 × 15 cm, matrix = 256 × 256, NEX = 1) を多断面再構成のために撮像した。この画像を用いて、T2 sagittal 断面および dorsal 断面をそれぞれ再構成した (slice gap = 0.5 mm, slice thickness = 2.0 mm)。その後、fast spin echo T2 transverse 断面 (TE = 99.64 ms, TR = 6000 ms, slice thickness/Sp = 3.0/0.5 mm, FOV = 15 × 15 cm, matrix = 320 × 224, NEX = 1) を撮像し、¹H-MRS 測定領域の決定に用いた。

5.2.6. ¹H-MRS シーケンス

¹H-MRS 撮影は Single-voxel 法を用いた。¹H-MRS シーケンスは 1D prove point resolved spectroscopy (PRESS) 法 (short TE として TE = 35 ms および long TE として TE = 144 ms, TR = 2000 ms, FOV = 22 × 22 cm, voxel thickness = 10 mm, chemical shift imaging slice

thickness = 10 mm, matrix = 1×1 , NEX = 8) を使用した (以下, TE = 35 ms を TE35, TE = 144 ms を TE144 とする). 本研究で用いた TE35 および TE144 の ^1H -MRS 撮像は, 人医療における ^1H -MRS 研究で一般的に用いられる値である.

5.2.6.1. てんかん原性領域の側方性の検討

ヒトてんかん患者で報告される tNAA, Glx, および mIns などの脳代謝産物比を調査するため, てんかん原性領域の側方性の検討には TE35 および TE144 を用いた. VOI の設置は左右それぞれの視床を対象に手動で設置した. サチュレーションバンドにより視床周囲の脳脊髄液および大脳領域を除去した. VOI サイズはおおよそ $10 \times 10 \times 10$ mm を基準とし, 各個体において微調整した. サチュレーションバンド設置後にプリスキャンを行い, 撮像を行った. < 16 Hz スペクトル水半値幅を持つ画像を研究対象とした.

5.2.6.2. ゾニサミドによる代謝産物比の変化

ZNS の抗けいれん作用機序に関与する Glx などの脳代謝産物比を調査するため, ZNS による代謝変化の検討には TE35 の ^1H -MRS を用いた. VOI の設置は視床全域を対象に手動で設置した. サチュレーションバンドにより視床周囲の脳脊髄液および大脳領域を除去した. VOI サイズはおおよそ $20 \times 10 \times 10$ mm を基準とし, 各個体において微調整した. サチュレーションバンド設置後にプリスキャンを行い, 撮像を行った. < 16 Hz スペクトル水半値幅を持つ画像を研究対象とした.

5.2.7. 代謝産物解析

本研究の代謝産物解析は LCModel[®] version 6.3-1A を使用した. 予測濃度値に対する標準偏差を予測濃度の百分比で表した値が 20%を下回る場合, 信頼性のある値として統計解析に用いた. 測定項目は TE35 の tNAA, Cho, mIns, Glx および TE144 の tNAA, Cho における Cr 比, Cho 比, および Cr+Cho 比を用いた. 統計解析には, 市販の統計ソフトウェア (Statcel3, オーエムエス出版, 埼玉) を用いて, $P < 0.05$ をもって有意差ありとした.

5.2.8. 統計学的解析

5.2.8.1 てんかん原性領域の側方性の検討

健常猫の左側および右側視床の各代謝産物比をウィルコクソンの符号順位検定を用いて評価した。全ての代謝産物比に有意差が認められなかったため、左側 ($n=16$) および右側 ($n=16$) を合算し ($n=32$)、FSEC との比較に用いた (結果を参照)。

FSEC の視床において、右側と左側の各代謝産物比をウィルコクソンの符号順位検定を用いて評価した。また、マンホイットニーU 検定を用いて、FSEC の右側 ($n=28$)、左側 ($n=28$)、および左右合算 ($n=56$) の視床における TE35 および TE144 の各代謝産物比を健常猫 ($n=32$) と比較した。

5.2.8.2. ゾニサミドによる代謝産物比の変化

FSEC の両側視床において、ZNS 非投与群および投与群の TE35 を使用した各代謝産物比をウィルコクソンの符号順位検定を用いて評価した。

5.3. 結果

5.3.1. てんかん原性領域の側方性の検討

全ての FSEC および健常猫の T2 強調画像において海馬硬化を示唆する高信号領域は認められなかった。健常猫の左側および右側視床の比較において、全ての代謝産物比に有意差は認められなかったため、健常猫では左側 ($n=16$) および右側 ($n=16$) 視床のサンプル数を合算し ($n=32$)、FSEC との比較に用いた。TE35 および TE144 における健常猫の各代謝産物比 (左側および右側) を Table 1 および 2 にそれぞれ示した。

TE35 を使用した FSEC における左右視床の比較において、右側と比較して左側の mIns/Cho (左側, 中央値 4.33, 範囲 2.55–7.41; 右側, 中央値 3.67, 範囲 2.73–6.16) ($P=0.03$) および mIns/Cr+Cho (左側, 中央値 0.98, 範囲 0.64–1.63; 右側, 中央値 0.91, 範囲 0.61–1.27) ($P=$

0.04) において有意な低下が認められた (Figure 1). また, TE144 を使用した FSEC における左右視床の比較において, 左側と比較して右側の tNAA/Cr (左側, 中央値 1.71, 範囲 1.36–2.23; 右側, 中央値 1.62, 範囲 1.12–1.97) ($P=0.003$) および tNAA/Cho (左側, 中央値 4.67, 範囲 3.41–5.82; 右側, 中央値 4.23, 範囲 2.99–5.37) ($P=0.002$) において有意な低下が認められた (Figure 2). FSEC における左右視床の比較において, その他の代謝産物比に有意な変化は認められなかった. TE35 および TE144 における, FSEC の各代謝産物比 (左側および右側) を Table 3 および 4 にそれぞれ示した.

TE35 における FSEC と健常猫の比較において, 健常猫と比較して FSEC の左側視床における Glx/Cho (健常猫, 中央値 6.83, 範囲 3.96–10.95; FSEC, 中央値 8.52, 範囲 6.03–11.55) ($P=0.003$) および Glx/Cr+Cho (健常猫, 中央値 1.73, 範囲 1.13–2.95; FSEC, 中央値 2.00, 範囲 1.48–2.59) ($P=0.01$) に有意な増加が認められた (Figure 3). また, TE144 における FSEC と健常猫の比較において, 健常猫と比較して FSEC の右側視床における tNAA/Cho (健常猫, 中央値 4.50, 範囲 3.67–6.14; FSEC, 中央値 4.23, 範囲 2.99–5.37) ($P=0.03$) に有意な低下が認められた (Figure 4). その他の FSEC (左側, 右側, および左側+右側) と健常猫の代謝産物比比較において, 有意差は認められなかった. TE35 および TE144 における FSEC と健常猫の左右を合算した各代謝産物比を Table 5 および 6 にそれぞれ示した.

4.3.2. ゾニサミドによる代謝産物比の変化

Glx/Cr+Cho において, ZNS 非投与群 (中央値 11.69, 範囲 9.32–15.97) と比較して投与群 (中央値 9.49, 範囲 6.12–11.66) に有意な低下が認められた ($P=0.04$) (Figure 6). その他の代謝産物において有意差は認められなかった. ZNS 非投与群および投与群における FSEC の各代謝産物比を Table 7 に示した.

5.4. 考察

5.4.1. てんかん原性領域の側方性の検討

FSEC のてんかん原性領域あるいはその側方性検索における最大の制限は VOI の設定領域である。FSEC はヒト MTLE のモデル動物であり、ヒト MTLE 研究の多くは、海馬における代謝産物変化を報告している。そのため、FSEC においても海馬における測定を行うことが望ましい。しかしながら、犬を用いた 3-Tesla および 7-Tesla MRI における single-voxel ^1H -MRS の比較において、3-Tesla MRI 装置における信頼可能な最小 VOI サイズは 10 mm^3 と報告されている [Martin-Vaquero et al., 2012]。本研究にも同様の 10 mm^3 の VOI サイズを用いたが、海馬のみの測定を行う場合、視床、外側側頭葉、および脳脊髄液のような他の領域を含んでしまう。そのため、本研究ではヒト MTLE において代謝変化が認められ [Chassoux et al., 2016]、同一組織として VOI 設置が可能な視床を選択した。さらなる研究において、3-Tesla 以上の MRI 装置あるいは RF コイルのチャンネル数の増加により、最小 voxel サイズを小さくし、FSEC の海馬における代謝産物変化を調査することが必要になるだろう。

本研究は、FSEC における TE144 の tNAA/Cr および tNAA/Cho において左側視床と比較して右側視床の有意な低下が認められた。さらに、TE144 の tNAA/Cho においては、FSEC の右側視床は健常猫との比較においても有意な低下を示した。ヒト MTLE に対する Voxel-based morphometry (VBM) 研究において、海馬硬化と同側の視床における NAA および NAA/Cr+Cho の減少と相関性を持つことが示されている [Brázdil et al., 2009]。さらに、海馬硬化を認めない側頭葉てんかんを含む研究においても、連続脳波記録によりてんかん原性領域と疑われる海馬の tNAA の低下が認められている [Doelken et al., 2008]。左右視床における非対称の tNAA/Cr および tNAA/Cho 値は、T2 強調画像および VBM 解析 (第 3 章の群間比較を参照) において明確な海馬硬化所見を持たない FSEC (non-lesional MTLE) の視床に対する神経細胞の減少を示唆するものである。また、ヒト健常被験者との比較においても、海馬硬化を有するヒト MTLE 患者では同側視床における NAA, NAA/Cr, および NAA/Cr+Cho において有意な減少が認められている [Fojtiková et al., 2007]。この結果は、コントロールとの比較において tNAA/Cho に有意な低下が認められた本研究と類似する。しかしながら、本研究の TE35

における各 tNAA 比に有意な低下は認められていない。TE35 の特徴は信号ノイズ比が高く、mIns や Glx のようなピークの小さな代謝産物について測定可能であるが、TE144 と比較してベースラインの歪みが生じやすく、正確性を欠く可能性がある。それゆえに、tNAA, Cr, Cho のような TE144 においても測定可能な代謝産物では TE144 による評価が望ましいと考えられ、てんかん原性領域の側方性検出において、TE144 を使用した ^1H -MRS 脳代謝産物測定が有用な検査ツールとなり得る可能性がある。

本研究において、TE35 における FSEC の左側視床の Glx/Cho および Glx/Cr+Cho はコントロールと比較して有意に増加していた。Glx に含まれるグルタミン酸は脳における主要な興奮性神経伝達物質であり、脳の興奮に関与する [Hajek et al., 2008]。脳の興奮と密接な関係を持つてんかんに対して、 ^1H -MRS を用いた Glx に関する報告はいくつか存在し、ヒト MTLE に対しても、海馬硬化を認める海馬の Glx 濃度が上昇することが報告されている [Aydin et al., 2012]。また、特発性全般てんかんにおいては、Glx の上昇が視床で認められている [Helms et al., 2006; Doelken et al., 2010]。これらの知見は、ヒト MTLE モデルである FSEC の左側視床における Glx の上昇を支持する可能性がある。しかしながら、上述した tNAA 比の低下 (右側) が示すてんかん原性領域の側方性と異なる。さらに、海馬硬化を認めないヒト MTLE 患者の視床における Glx の報告は、我々の知る限りない。現在、ヒト MTLE 患者の海馬における Glx の上昇においても、その上昇がてんかんに起因するか議論の余地があるとされる [Doelken et al., 2008]。そのため、FSEC の視床における Glx の上昇の解釈においては、さらなるデータの蓄積が必要である。また、犬を用いたペンチレンテトラゾール誘発発作の発作間欠期および発作後期における ^1H -MRS 研究において、発作焦点における Glx の上昇が認められている [Neppl et al., 2001]。FSEC は前庭刺激誘発性の全般性てんかん発作を示すため、さらなる研究において、FSEC に対する発作後期の Glx 測定は MTLE の病態解析の一助となる可能性がある。

本研究は、FSEC の左側および右側視床の比較において、mIns/Cho および mIns/Cr+Cho において有意な左右差を認めた。mIns は星状膠細胞内で合成され、グリア細胞密度や増殖のマーカーとして実験的に利用されている。てんかんにおける mIns の変化は、上

昇 [Wellard et al., 2003] と減少 [Riederer et al., 2002; Mueller et al., 2003] を認めた報告がそれぞれ存在し、人医療においてもてんかんによる影響かどうかはわかっていない。これらの報告は海馬あるいは内側/外側側頭葉での測定であり、視床における変化を示した報告はない。FSEC において、健常猫との比較において全ての mIns 比において有意差がないため、mIns 比の変化がてんかんによるものか生理的变化によるものか不明確である。

4.4.2. ゾニサミドによる代謝産物比の変化

ZNS 非投与と比較して、ZNS 投与後の FSEC の全域の視床において、Glx/Cr+Cho の有意な減少が認められた。前述したように、Glx はグルタミンおよびグルタミン酸から構成される。てんかん発作による興奮性刺激がグルタミン酸放出の増加および再取り込みの減少が起きるため、Glx の上昇が引き起こされると考えられている [Helms et al., 2006]。ZNS には興奮性アミノ酸輸送担体-1 におけるアップレギュレーションと GABA 輸送担体-1 のダウンレギュレーションにより、神経伝達物質の再取り込み調節や異常興奮神経におけるリアノジン受容体を間接的に抑制することで、グルタミン酸の遊離を押さえることが報告されている [Leppik, 2004]。本研究の結果は、このような ZNS の作用機序を FSEC において説明し得るものである。

本研究における制限は FSEC のてんかん発作モニタリングを行っていないことである。てんかんの猫に対する ZNS の有効性を示した報告はごくわずかではあるが [Dewey, 2006]、本邦では一般的に用いられている抗てんかん薬の 1 つである。このことから、ZNS が FSEC のてんかん発作頻度の減少を示す可能性は十分に考えられる。さらなる研究において、ZNS によるてんかん発作頻度の変化と ^1H -MRS における Glx 比の相関性を調査することで、 ^1H -MRS が有効血中濃度到達後に有効性を評価できる可能性がある。

4.5. 小括

- 1) FSEC の視床において, tNAA/Cr, tNAA/Cho の左右差, および健常猫と比較した tNAA/Cho の有意な低下が認められるため, てんかん原性領域に関連した視床における神経細胞の減少が示唆される.
- 2) ^1H -MRS において, TE144 の tNAA 比はてんかん原性領域の検索に最も有用な代謝産物比であり, 術前のてんかん原性領域の側方性検出に用いることができる可能性がある.
- 3) FSEC における mIns 比の左右差および健常猫と比較した Glx 比の上昇は, てんかんに起因する可能性がある.
- 4) ZNS の投与により FSEC における視床全域の Glx/Cr+Cho の減少が認められたため, ZNS は猫における抗けいれん作用を示す可能性がある.

Table 1. TE35 を用いた左側および右側視床における健康猫の各代謝産物比

	<i>n</i>	tNAA	Cho	mIns	Glx
Cr 比	左側	16	1.33 (1.05–1.82)	0.32 (0.23–0.42)	1.29 (0.97–2.14)
	右側	16	1.33 (1.06–1.87)	0.35 (0.27–0.40)	1.29 (1.02–1.58)
Cho 比	左側	16	4.18 (3.04–6.42)	1 (1)	4.02 (2.64–7.28)
	右側	16	4.11 (3.09–5.59)	1 (1)	3.86 (2.75–5.42)
Cr+Cho 比	左側	16	1.01 (0.78–1.42)	0.24 (0.18–0.29)	0.99 (0.72–1.66)
	右側	16	1.00 (0.79–1.40)	0.26 (0.21–0.28)	0.98 (0.76–1.17)

全てのデータは中央値 (範囲) で示した.

Cho, コリン含有化物; Cr, クレアチン; Glx, グルタミン-グルタミン酸複合体; mIns, ミオイノシトール; tNAA, 総 N-アセチルアスパラギン酸

Table 2. TE144 を用いた左側および右側視床における健康猫の各代謝産物比

	<i>n</i>	tNAA	Cho
Cr 比	左側	16	1.69 (1.38–1.92)
	右側	16	1.65 (1.27–2.04)
Cho 比	左側	16	4.88 (3.67–5.52)
	右側	16	4.33 (3.67–6.14)
Cr+Cho 比	左側	16	1.24 (1.00–1.40)
	右側	16	1.20 (0.97)

全てのデータは中央値 (範囲) で示した.

Cho, コリン含有化物; Cr, クレアチン; tNAA, 総 N-アセチルアスパラギン酸塩

Table 3. TE35 を用いた左側および右側視床における FSEC の各代謝産物比

	<i>n</i>	tNAA	Cho	mIns	Glx
Cr 比	左側	1.33 (0.80–1.78)	0.32 (0.18–0.43)	1.32 (0.86–2.19)	2.65 (1.85–3.68)
	右側	1.34 (0.98–1.73)	0.32 (0.23–0.51)	1.21 (0.75–1.61)	2.30 (1.71–3.40)
Cho 比	左側	4.12 (2.07–7.15)	1 (1)	4.33 (2.55–7.41)*	8.52 (6.03–11.55)
	右側	4.20 (2.64–6.22)	1 (1)	3.67 (2.73–6.16)*	7.31 (4.73–12.85)
Cr+Cho 比	左側	0.99 (0.58–1.32)	0.24 (0.15–0.30)	0.98 (0.64–1.63)†	2.00 (1.48–2.59)
	右側	1.00 (0.73–1.25)	0.24 (0.19–0.34)	0.91 (0.61–1.27)†	1.71 (1.31–2.48)

全てのデータは中央値 (範囲) で示した。

Cho, コリン含有化物; Cr, クレアチン; FSEC, 家族性自然発症性てんかん猫; Glx, グルタミン-グルタミン酸複合体; mIns, ミオイノシトール; tNAA, 総 N-アセチルアスパラギン酸. *, $P < 0.05$; †, $P < 0.05$ (ウィルコクソンの符号順位検定).

Table 4. TE144 を用いた左側および右側視床における FSEC の各代謝産物比

	<i>n</i>	tNAA	Cho
Cr 比	左側	1.71 (1.36–2.23)*	0.37 (0.31–0.48)
	右側	1.62 (1.12–1.97)*	0.38 (0.29–0.50)
Cho 比	左側	4.67 (3.41–5.82)†	1 (1)
	右側	4.23 (2.99–5.37)†	1 (1)
Cr+Cho 比	左側	1.25 (0.97–1.50)	0.27 (0.23–0.33)
	右側	1.16 (0.86–1.40)	0.28 (0.23–0.34)

全てのデータは中央値 (範囲) で示した。

Cho, コリン含有化物; Cr, クレアチン; FSEC, 家族性自然発症性てんかん猫 tNAA, 総 N-アセチルアスパラギン酸. *, $P < 0.05$; †, $P < 0.05$ (ウィルコクソンの符号順位検定).

Table 5. TE35 における左側および右側視床を合算した FSEC および健康猫の各代謝産物比

		<i>n</i>	tNAA	Cho	mIns	Glx
Cr 比	FSEC	56	1.32 (0.80–1.78)	0.32 (0.18–0.51)	1.24 (0.75–2.19)	2.41 (1.71–3.68)
	健康猫	32	1.33 (1.05–1.87)	0.34 (0.23–0.42)	1.29 (0.97–2.14)	2.26 (1.50–4.04)
Cho 比	FSEC	56	4.14 (2.07–7.15)	1 (1)	3.83 (2.55–7.41)	7.52 (4.69–12.85)
	健康猫	32	4.13 (3.04–6.42)	1 (1)	3.91 (2.64–7.28)	6.83 (3.96–10.95)
Cr+Cho 比	FSEC	56	0.99 (0.58–1.32)	0.24 (0.15–0.34)	0.93 (0.61–1.63)	1.84 (1.31–2.59)
	健康猫	32	1.01 (0.78–1.42)	0.25 (0.18–0.29)	0.72 (0.72–1.66)	1.73 (1.13–2.95)

全てのデータは中央値 (範囲) で示した.

Cho, コリン含有化物; Cr, クレアチン; FSEC, 家族性自然発症性てんかん猫; Glx, グルタミン-グルタミン酸複合体; mIns, ミオイノシトール;
tNAA, 総 N-アセチルアスパラギン酸.

Table 6. TE144 を用いた左側および右側視床を合算した FSEC および健康猫の各代謝産物比

		<i>n</i>	tNAA	Cho
Cr 比	FSEC	56	1.65 (1.12–2.23)	0.38 (0.29–0.50)
	健康猫	32	1.66 (1.27–2.04)	0.37 (0.28–0.47)
Cho 比	FSEC	56	4.49 (2.99–5.82)	1 (1)
	健康猫	32	4.50 (3.67–6.14)	1 (1)
Cr+Cho 比	FSEC	56	1.25 (0.97–1.50)	0.27 (0.23–0.33)
	健康猫	32	1.21 (0.97–1.47)	0.27 (0.22–0.32)

全てのデータは中央値 (範囲) で示した.

Cho, コリン含有化物; Cr, クレアチン; FSEC, 家族性自然発症性てんかん猫 tNAA, 総 N-アセチルアスパラギン酸.

Table 7. TE35 を用いた FSEC のゾニサミド非投与群および投与群における視床全域の代謝産物比

Cr 比	非投与 投与	<i>n</i>	tNAA	Cho	mIns	Glx
Cho 比	非投与	8	1.25 (0.97-1.55)	0.37 (0.30-0.54)	1.25 (0.94-1.89)	2.05 (1.57-3.63)
	投与	8	1.01 (0.90-1.53)	0.32 (0.27-0.41)	1.18 (0.75-1.55)	1.83 (1.50-2.44)
	非投与	8	2.87 (2.60-3.95)	1 (1)	3.43 (2.39-4.42)	5.50 (3.71-9.07)
	投与	8	3.58 (2.56-4.29)	1 (1)	3.24 (2.16-5.76)	5.98 (4.79-7.43)
Cr+Cho 比	非投与	8	9.48 (7.25-10.85)	7.25 (5.39-8.23)	9.75 (7.53-11.32)	11.69 (9.32-15.97)*
	投与	8	9.75 (7.42-11.49)	7.42 (4.70-8.94)	9.58 (7.09-13.72)	9.49 (6.12-11.66)*

全てのデータは中央値 (範囲) で示した。

Cho, コリン含有化物; Cr, クレアチン; FSEC, 家族性自然発症性てんかん猫; Glx, グルタミン酸複合体; mIns, ミオイノシトール; tNAA, 総 N-アセチルアスパラギン酸. *, $P < 0.05$ (ウイルクソンの符号順位検定).

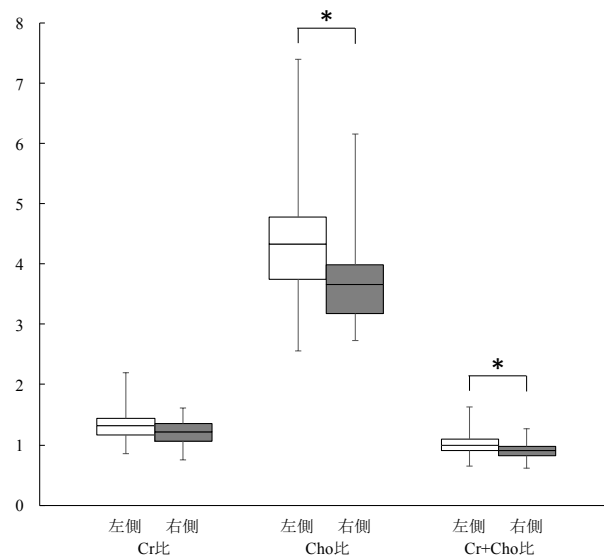


Figure 1. FSEC の左側と右側視床における mIns の比較. FSEC において, 右側と比較して左側の mIns/Cho ($P = 0.03$)および mIns/Cr+Cho ($P = 0.04$) の有意な低下が認められた. Cho, コリン含有化物; Cr, クレアチン; FSEC, 家族性自然発症性てんかん猫; mIns, ミオイノシトール. *, $P < 0.05$ (ウィルコクソンの符号順位検定).

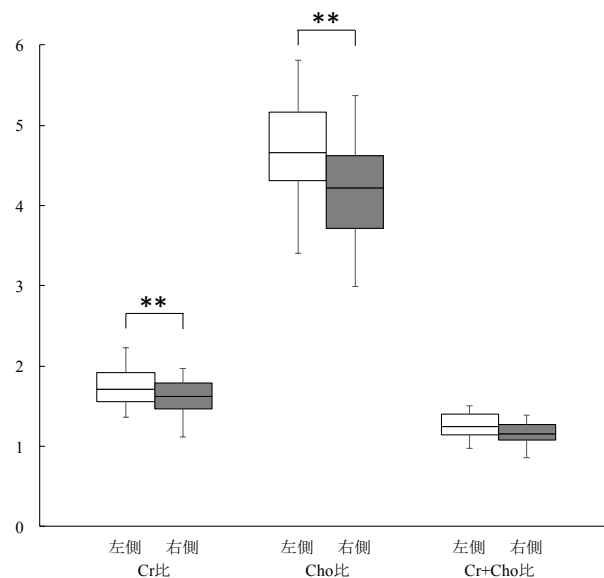


Figure 2. FSEC の左側と右側視床における tNAA の比較. FSEC において, 左側と比較して右側側の tNAA/Cr ($P = 0.003$) および tNAA/Cho ($P = 0.002$) の有意な低下が認められた. Cho, コリン含有化物; Cr, クレアチン; FSEC, 家族性自然発症性てんかん猫; tNAA, N-アセチルアスパラギン酸. **, $P < 0.01$ (ウィルコクソンの符号順位検定).

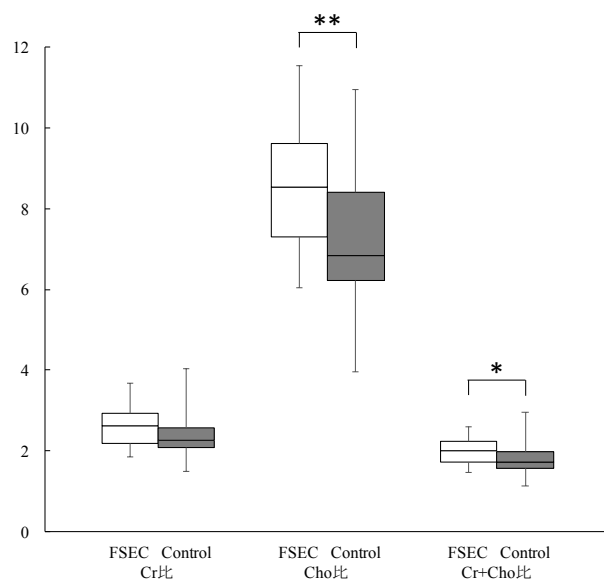


Figure 3. FSEC の左側視床と左右を合算した健常猫の視床における Glx の比較. 健常猫と比較して FSEC の Glx/Cho ($P = 0.003$) および Glx/Cr+Cho ($P = 0.01$) における有意な上昇が認められた. Cho, コリン含有化物; Cr, クレアチン; FSEC, 家族性自然発症性てんかん猫; Glx, グルタミン-グルタミン酸複合体. *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$ (マンホイットニーU 検定).

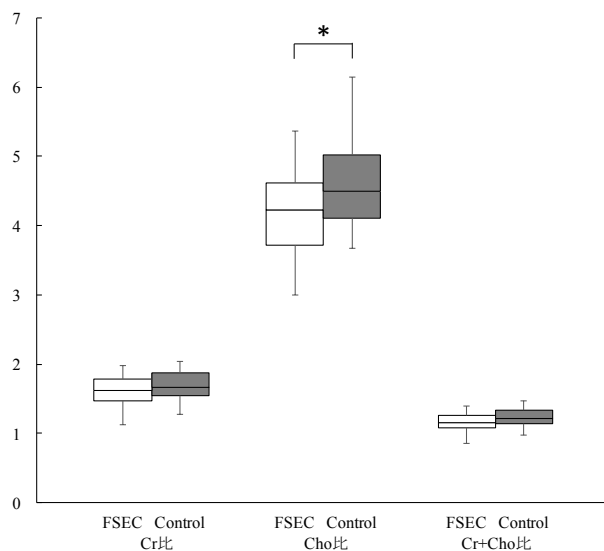


Figure 4. FSEC の右側視床と左右を合算した健常猫の視床における tNAA の比較. 健常猫と比較して, FSEC の右側視床における tNAA/Cho ($P = 0.03$) に有意な低下が認められた. Cho, コリン含有化物; Cr, クレアチン; FSEC, 家族性自然発症性てんかん猫; tNAA, N-アセチルアスパラギン酸. *, $P < 0.05$ (マンホイットニーU 検定).

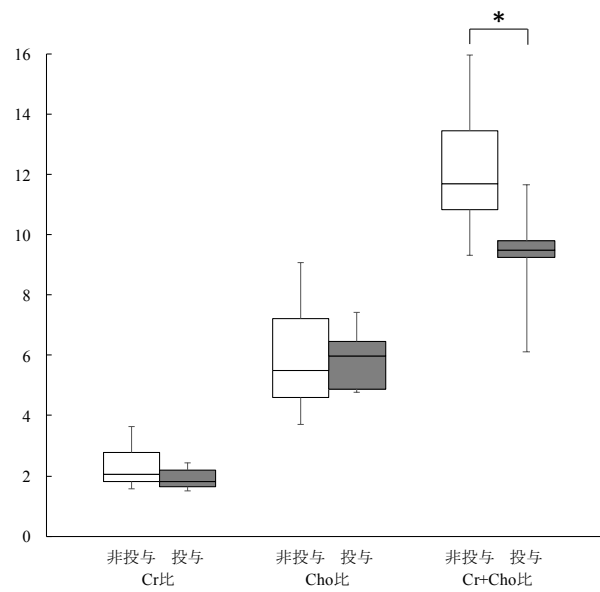


Figure 5. FSEC のゾニサミド非投与群および投与群の視床 (全域) における Glx の比較. 非投与群と比較して投与群における視床 Glx/Cr+Cho ($P = 0.04$) に有意な低下が認められた. Cho, コリン含有化物; Cr, クレアチン; FSEC, 家族性自然発症性てんかん猫; Glx, グルタミン-グルタミン酸複合体. *, $P < 0.05$ (ウィルコクソンの符号順位検定).

第6章

健常犬を用いた前側頭葉切除術の術式および術後合併症の検討

6.1. 緒言

前側頭葉切除術 (anterior temporal lobectomy, ATL) はヒトの難治性内側側頭葉てんかん (mesial temporal lobe epilepsy, MTLE) に対するてんかん外科として一般的に用いられる術式であり、一側の側頭葉前方と海馬吻側および扁桃体を切除する。ATL の歴史は古く, Falconer, Walker によって 1960 年代には現在の術式が確立されている [Falconer, 1967; Walker, 1973]。これまでの手術成績を記載したヒトのてんかん国際機関である International League Against Epilepsy (ILAE) の報告では, ATL は約 90%の患者においててんかん発作の改善が認められ, ヒト MTLE に対するもう 1 つの術式である選択的海馬扁桃体切除術とならび良好な手術成績をあげている [ILAE, 1997b]。また, この報告において, 外科的治療による死亡率は 35 施設で 0%, 5 施設で 0.3–3.6% (平均 1.6%) であった。

人医療におけるてんかん外科は様々なてんかんに対応すべく, いくつかの術式が確立されている [Spencer et al., 2008; てんかん治療ガイドライン, 2010]。一方, 獣医療におけるてんかん外科は, Bagley et al. (1995) が行った健常犬に対する脳梁離断術の術式と合併症を調査した研究論文のみである。この論文において, Bagley et al. (1995) は将来的には特発性てんかんに対する脳梁離断術の有効性を調査することが必要であると言及したが, その後の臨床例で実施した報告は現在までない。また, 脳梁離断はてんかん原性領域が特定できない全般てんかんに適応される術式であり, 焦点性発作の患者には通常用いられない。これまでの章で示してきたように, 我々は焦点性てんかんにおけるてんかん原性領域の検索を行ってきた。獣医療においても術前にてんかん原性領域を描出することが可能であり, 切除外科によりてんかん発作の

消失が期待される。しかしながら、獣医療におけるてんかん罹患動物に対するてんかん外科の報告および脳梁離断以外の術後合併症を調査した報告は我々の知る限りない。てんかん外科基礎研究として、猫と比較して脳サイズが大きく、広い術野確保により安全な施術ができることや、神経膠細胞種が前側頭葉領域に好発し、外科的アプローチの検討のため犬を対象とした。本研究の目的は、獣医療における ATL 導入に向け、健常犬に対する ATL の術式の確立および術後合併症を調査することである。

6.2. 材料および方法

6.2.1. 倫理

本研究は日本獣医生命科学大学の実験動物および生命倫理委員会の承認を得て行われた (承認番号: 26S-20, 27K-11, 28K-5, 29K-3; 研究代表者: 長谷川 大輔)。

6.2.2. 供試動物

本研究には 7 頭の健常ビーグル犬を用いた。健常犬の中央体重は 10.0 kg (範囲 8.8–12.4 kg), 中央年齢は 121.0 ヶ月齢 (範囲 103–130 ヶ月齢) であった。全ての健常犬は術前の身体検査, 血液検査 (完全血球計算および生化学検査), および神経学的検査において明らかな異常がないことを確認している。

6.2.3. 術前画像検査

術前画像には MRI (Signa[®] HDtx 3.0T, GE Healthcare, 東京), およびコンピューター断層撮影 (computed tomography, CT: Aquilion PRIME TSX-303A, 東芝メディカルシステムズ, 栃木) を撮像した。MRI 撮像時の RF コイルには 8 ch ヒト用膝コイルを用いた。MRI 撮像は fast spin echo (FSE) T2 強調画像 (T2-weighted imaging, T2WI: TR/TE = 7000/85 ms, FOV = 15 × 15, slice thickness = 3.0 mm, matrix = 383 × 288, NEX = 1), fluid-attenuated inversion recovery (FLAIR) 画

像 (TR/TE/TI = 11000/142/2400 ms, FOV = 15 × 15, slice thickness = 3.0 mm, matrix = 256 × 192, NEX = 2), FSE FALIR T1 強調画像 (T1-weighted imaging, T1WI: T1TR/TE = 2800/8.2–8.4 ms, slice thickness = 3.0 mm, matrix = 320 × 224, NEX = 2), FSE 3D T2 Cube (TE = 77.74 ms, TR = 3200 ms, slice thickness = 0.60 mm, FOV = 15 × 15 cm, matrix = 256 × 256, NEX = 1), spoiled gradient echo (SPGR) 3D T1WI (TR/TE = 6.5/3.1 ms, FOV = 15 × 15, slice thickness = 0.6 mm, matrix = 256 × 192, NEX = 1), 造影増強 FSE T1WI, および造影増強 SPGR 3D T1WI を取得した. 造影剤にはガドジアミド (オムニスキャン[®], 第一三共, 東京) 0.1 mL/kg (0.05 mmol/kg) を用いた. 2D 画像は全て transverse 断面にて撮影を行った. CT 撮像は以下の条件にて行った: slice thickness = 0.5 mm, ピッチファクタ/ヘリカルピッチ = 0.813/65, 管電圧 = 120 kVp, 管電流 = 300 mA, FOV = 18 × 18 cm.

術前画像検査時, 全ての犬は少なくとも 12 時間の絶食絶水を行い, 撮影中は乳酸リンゲル (5 mg/kg/h) を点滴した. 麻酔は 7 mg/kg (IV) プロポフォール (プロポフォール[®], 富山製薬, 富山; プロポフロ[®]28, DS ファーマアニマルヘルス, 大阪) で導入し, 2.0%イソフルラン (イソフル, DS ファーマアニマルヘルス, 大阪) および 100%酸素の混合気体により維持した. 麻酔時の呼吸管理には人工呼吸器を用い, 12 呼吸/分で維持した. 撮像中は MR 内蔵の光ファイバーパルス酸素濃度計 (ペリフェラルゲートプローブ, GE Healthcare, 東京) により心拍数をモニターし, 36–38°Cの体温を維持するため, 保温材を体の周囲に設置した.

6.2.4. 外科的処置

6.2.4.1. 麻酔プロトコル

本研究に用いたすべての犬に対し, 手術 12 時間前より絶食・絶水を行った. 犬に十分な酸素化を行った後, プロポフォールの静脈内投与 (10 mg/kg) により麻酔導入した. 手術中の麻酔維持には, 2.0%イソフルランおよび酸素の混合吸入による機械的換気を用いた. 鎮痛剤にはメロキシカム (0.2 mg/kg, s.c.) (メタカム[®]0.2%注射液, ベーリンガーインゲルハイム ベトメディカ ジャパン, 東京) およびブプレノルフィン (0.02 mg/kg, i.v.) (レペタン[®]注 0.2mg, 大塚製薬, 東京) を用いた. 手術直前から手術中の抗生剤にはセファゾリンナトリウム (20 mg/kg, i.v.) (セファゾリンナトリウム注射用 1g 「日医工」, 日医工, 富山) を 2 時間ごとに投与した.

動物を腹臥位にし、左側頭部の術野を上方にするため頭部をできるかぎり右に傾けた。手術中のモニタリングには心電図、血圧、直腸体温、吸入酸素濃度、呼気終末二酸化炭素濃度、吸気終末イソフルラン濃度の観測を行った。

6.2.4.2. 前側頭葉切除術

頭部は眼窩側面から後頭骨領域まで毛刈りを行い、クロルヘキシジン（ヘキサック[®]スクラブ、吉田製薬、東京）にて皮膚を消毒した。最終的な消毒はポビドンヨード（イソジン[®]液、明治製菓、東京）の噴霧にて行った。左側側頭部の皮膚をU字型に切開し、側頭筋を露出させた。縫合のためのわずかな側頭筋筋膜を頭頂骨付着部に残し、頭蓋骨から側頭筋を頬骨弓起始部まで剥離および下方へ牽引した。開頭には電気ドリルを用いて4点の小孔を側頭骨に空けた後、その4点を繋ぐように頭頂骨から側頭骨の切除を行い、骨窓を作成した。さらに、骨窓腹側縁を拡大させるため、ロンジュールを用いて骨窓底部の側頭骨を除去した。板間層からの出血には骨髄止血剤（ボーンワックス、瑞穂医科工業、東京）を用いて止血した。骨の除去後、手術顕微鏡下（Contraves AG Zurich、カールツァイス、東京）の操作に移行した。露出した硬膜およびくも膜を11番の尖刃を用いて切開し、脳表を露出させた。この時、中大脳動脈の走行を十分に確認した。さらに、マイクロ剪刀を用いてくも膜および軟膜を切開した。仮シルビウス裂から後シルビウス上溝を切除領域とし、手術視野確保は骨膜剥離子を脳ヘラとして用いて切除範囲外の側頭葉を上方に牽引した。吸引管とバイポーラを用いた脳組織の吸引切除は常に中大脳動脈を損傷しないように注意深く進め、脳実質からの出血は、バーポーラによる焼烙または組織接着用フィブリンおよびトロンビン製剤（ベリプラスト[®]Pコンビセット 組織接着用、CSLベーリング、東京）、コラーゲン使用吸収性局所止血材（アビテン[®]、ゼリア新薬、東京）を用いて止血した。側頭葉皮質および白質を切除すると、側脳室腹角吻側端である盲端に到達する。その頭側は扁桃体であり内尾側方が腹側海馬となる。扁桃体および梨状葉は吸引切除し、海馬は腹側海馬前端部をマイクロ剪刀およびバイポーラメスにて部分切除した。術中MRIにて側頭葉皮質、白質、腹側海馬、および扁桃体の切除が認められた時点で切除終了とした。術中MRIはFSE 3D T2 Cube および造影増強 SPGR 3D T1 を取得した。切除後、人工硬膜（ゴ

アテックス®EPTFE パッチⅡ, 日本ゴア, 東京) を組織接着用フィブリンおよびトロンビン製剤にて骨窓内を被覆するように固定した。側頭筋は 3-0 ポルプロピレン縫合糸 (サージプロ™Ⅱ, コヴィディエン, 東京) にて単純連続縫合で頭頂骨に残した筋膜と縫合し, 皮下組織は 3-0 モノフィラメント合成吸収糸 (バイオシン™, コヴィディエン, 東京) にて単純連続縫合した。皮膚は 3-0 ポリアミド糸 (針付ナイロン, 松田医科工業, 東京) を用いて単純結節縫合を行った。術後 MRI は FSE 3D T2 Cube を取得した。

6.2.5. 前側頭葉切除術後のケアおよびモニタリング

手術後の投薬にはレベチラセタム (20 mg/kg, tid, p.o.) (イーケプラ®錠 250mg, 大塚製薬, 東京) およびセファゾリンナトリウム (20 mg/kg, bid, p.o.) を 1 週間投与し, 鎮痛にはブプレノルフィン (0.02 mg/kg, bid, i.v.) を 3 日間投与した。手術から 3 ヶ月間を観察期間とし, 臨床徴候のモニタリングを行った。また, 手術後 1 週, 1 ヶ月, 2 ヶ月, および 3 ヶ月後に神経学的検査を実施した。術後 follow-up MRI 検査は, 術前 MRI 検査と同様の手順にて, 手術後 1 ヶ月および 3 ヶ月後に行った。

6.3. 結果

硬膜切開前および前側頭葉切除後の手術顕微鏡下写真を Figure 1 および 2 にそれぞれ示した。ATL を行った 7 頭のうち (施術順に犬①, 犬②, 犬③, 犬④, 犬⑤, 犬⑥, 犬⑦), 5 頭 (犬①, 犬③, 犬④, 犬⑤, 犬⑦) は前側頭葉領域の切除に成功した (71%)。しかしながら, 犬④は皮膚縫合時に突然の心拍停止を示し, 蘇生を試みるも回復がなかったため, 安楽死を実施した。安楽死後, 切除領域の確認を行ったが, 手術侵襲による出血は認められず, 心拍停止の原因は不明であった。また, 犬②および犬⑥は, 海馬切除の際に海馬内側に位置する脳底部の中大脳動脈起始部から制御不能な多量の動脈性出血が生じ, 前側頭領域切除中に安楽死を行った。そのため, 術後 3 ヶ月間のモニタリングは犬①, 犬③, 犬⑤, 犬⑦において行った。

これら4頭の中央手術時間は、600分(範囲 504–695分)であった。

ATLの合併症と考えられるてんかん発作は、犬①において手術直後に1回のみ認められたが、その後3ヶ月間にてんかん発作は認められなかった。その他の3頭の犬は観察期間を通して、てんかん発作は認められなかった。術後神経学的検査において、最も多い神経学的異常は右側威嚇瞬き反応の消失あるいは低下、および左側側頭筋の萎縮(犬①, 犬③, 犬⑤)であった。側頭筋の萎縮は手術1ヶ月後から観察期間終了時まで認められた。威嚇瞬き反応において、犬①および犬③では手術3ヶ月後の神経学的検査において改善が認められたが、犬⑤では改善が認められなかった。さらに、犬①では、左旋回、右前後肢姿勢反応の消失あるいは低下、犬⑤では、左眼の散瞳、外腹側者視、直接性および間接性対光反射の消失が永続的な合併症として認められた。観察期間を通して、犬⑦に術後合併症は認められなかった。経時的な神経学的評価をTable 1に示した。

犬①, 犬③, 犬⑤, 犬⑦の手術直後のMRIにおいて腹側海馬および扁桃体の切除が確認できた。前側頭葉切除が行われた典型的な犬のCTおよびMRI画像をFigure 3および4にそれぞれ示した。しかしながら、手術1ヶ月後follow-up MRIにおいて、犬①では視索および内包の損傷(Figure 5)、犬⑤では視索の損傷が認められた(Figure 6)。これらの損傷は手術3ヶ月後のfollow-up MRIにおいて欠損として認められた。犬③において、手術1ヶ月後のfollow-up MRIから側頭筋の萎縮が認められた。また、犬⑦では3ヶ月間の術後のMRIにおいて、切除領域外の損傷は認められなかった。

6.4. 考察

本研究はヒトMTLEで用いられるATLを犬に対して行った初めての報告である。本研究において、5/7頭(71%)の犬で前側頭葉領域の切除に成功したが、現段階では成功率の高い術式とは言えない。一方、人医療のATLおよび海馬扁桃体切除術における、手術30日後の死亡率は1.4%と報告されている[Kerezoudis et al., 2017]。ヒトと犬の脳サイズおよび頭蓋

内外の解剖学的位置は大きく異なるため、一概に比較することは困難であるが、犬における ATL は手術手技の熟練および設備の向上により改善できると考える。本研究の切除成功例は犬①、犬③、犬④、犬⑤、犬⑦であり、手術習熟度が低いため、安定した成功を収めることができなかった可能性がある。それゆえに、今後の施術により成功率のさらなる上昇を認める可能性が高いと考える。また、本研究では、人医療における脳外科手術において一般的に用いられる超音波吸引装置やナビゲーションシステムを使用していない。現在、これらの器機は獣医臨床における脳外科手術においても導入されつつあり、ATL における手術成功率の改善には必要不可欠と考える。

外科手術において、広い術野の確保はリスクマネジメントにつながる。犬はヒトに比べて側頭筋が発達しているため、側頭筋の下方牽引では必然的に術野が小さくかつ深くなる。さらに、切除領域には側頭葉全域の血液供給を担う中大脳動脈が走行する。本研究で安楽死を行った3頭のうち、2頭が脳底の中大脳動脈起始部の損傷が原因であった。操作困難な術野にくわえ、損傷が許されない動脈の存在が切除成功率の低下につながったと考える。また、本研究はビーグル犬のみを用いたが、犬の頭部は品種間で大きく形態が異なる。特に、フレンチ・ブルドッグやラブラドル・レトリバーなどの側頭筋の発達が著しい品種においては、頬骨弓の切除も考慮に入れる必要がある。それゆえに、犬の ATL のアプローチには頭部の形態に合わせた術式やナビゲーションシステムを用いることが手術成功率の向上につながるであろう。

本研究において、術後 MRI に切除領域以外の手術侵襲が認められない個体 (犬③および犬⑦) は、てんかん発作および神経学的異常を含む永続的な術後合併症を示さなかった。犬に対する ATL は、適切な手術が行えた場合には永続的な合併症を伴わないことが示唆される。この結果は、小動物臨床におけるてんかん外科の確立に大きな一助となる知見である。しかしながら、本研究は健常犬に対して施術を行ったものであり、治療効果としてのてんかん発作の抑制は証明できていない。ヒト MTLE 患者に対する ATL の術式は明確に規定され [Falconer, 1967; Walker, 1973]、現在では 80%以上の患者でてんかん発作の消失あるいは 90%以上のてんかん発作の減少が認められている [ILAE, 1997b]。一方で、獣医療ではこれまでに ATL

を行った報告がないため、その有効性はおろか切除領域の基準も確立されていない。それゆえに、実際の臨床症例に ATL を用いる場合、切除領域の決定に用いられる術前検査を慎重に評価しなければならない。伴侶動物の世界的てんかん機関である International Veterinary Epilepsy Task Force (IVETF) が推奨する頭皮上脳波やてんかん特異的 MRI [Rusbridge et al., 2015] に加え、第 3 章における Voxel-Based Morphometry, 第 4 章における発作間欠期および発作直後における Diffusion および Perfusion MRI, および第 5 章におけるプロトン磁気共鳴スペクトロスコピーのような先進的な検査法の所見を組み合わせる必要がある。さらに、てんかん原性領域の概念は、摘出によりてんかん発作の消失を認める最小の領域とされるため [Lüders et al., 2006], 最終的な切除領域の決定は術中硬膜下脳波記録あるいは深部脳波記録を用いて、個体ごとに決定することが最適であると考ええる。

本研究において、ATL における術後合併症としててんかん発作を示した犬は 1 頭のみであった (犬①)。これは、手術直後のてんかん発作であり、その後 3 ヶ月のモニタリング期間において、てんかん発作を認めなかったことから、手術侵襲自体によって引き起こされたものと考えられる。外傷や梗塞に伴う出血で示されるように [Herman, 2002], 出血によるヘモジデリン沈着はてんかん発作の発生に大きく関係するため、手術中の出血量を最小限に抑えることが重要となる。さらに、頭部外傷によるてんかん発作が受傷から数年間後にも認められることが知られているため [Lowenstein, 2009], ATL 直後にてんかん発作が認められない個体においても、6 ヶ月から 1 年間の継続した抗てんかん薬の投与が必要である。また、本研究では手術後のてんかん発作の予防およびコントロールのために、レベチラセタムの投与を行った。レベチラセタムはてんかんの犬における一般的な抗てんかん薬であるが [Bhatti et al., 2015], 門脈体循環シャントの犬においても術後の抗てんかん薬として選択されている [Fryer et al., 2011]。その即効性および少ない副作用の観点から [Bhatti et al., 2015], てんかん外科の術後管理における抗てんかん薬として最も推奨される薬剤であろう。

本研究で認められた神経学的な術後合併症は、右威嚇瞬き反応の低下および消失、すなわち視覚障害が最も多く (3/4 頭) 認められた異常であった。視覚経路は網膜から視神経を通り視交叉で交差した後、視索、外側膝状体、視放線、視覚野、運動野と続く。本研究で認め

られた威嚇瞬き反応の異常は全て右眼であり、切除領域に隣接する視索および側頭葉に存在する視覚野から運動野への連絡線維は神経学的病変局在と一致する。ヒト MTLE 患者に対する ATL および扁桃体海馬切除術の術後合併症には、記憶力障害や上 4 分の 1 の同名半盲が多いことが知られている [Blakemore et al., 1967]。犬における視交叉の交差率はヒトと比較して高く (犬 約 75%; ヒト 約 50%)、本研究の威嚇瞬き反応の消失あるいは低下はヒトの上 4 分の 1 の同名半盲に相当する合併症であると考えられる。さらに、犬の ATL における視覚障害は、側頭葉領域に加え視索の視覚経路損傷により、対側の視覚の消失につながる可能性がある。威嚇瞬き反応の低下あるいは消失が認められた 3 頭の犬のうち、切除部位以外の損傷が認められない個体 (犬⑦) には完全な改善が認められたが、視索の欠損が認められた個体 (犬①および犬⑤) は回復が認められなかった。視索への手術損傷を認めた場合、威嚇瞬き反応の消失あるいは低下が術後長期の合併症につながることを示唆される。一方で、切除部位以外の損傷が認められない威嚇瞬き反応の低下において、側頭葉における手術侵襲あるいは牽引圧迫による可逆的な炎症に起因し、その神経機能障害は一過性であることが予想される。犬の海綿状血管腫切除における ATL に類似した側頭葉アプローチにおいても、術後の威嚇瞬き反応の低下と改善が報告されている [Shihb et al., 2014]。また、威嚇瞬き反応の回復が認められない個体 (犬①) において、左旋回および右前後肢姿勢反応の消失から低下が認められた。これらの神経学的異常に関して、Gonçalves et al. (2011) は視床外腹側領域の梗塞病変において、病変と反対側の威嚇瞬きの低下、反対側の不全麻痺、反対側への転倒および寄りかかりを呈する運動失調を報告している。これは本研究の犬①における神経学的異常に一致する。そのため、犬①における神経学的合併症は、視索を含む視床外腹側領域の手術損傷に起因したものと考えられる。脳は損傷位置に関連した症状を示すため、術後の神経学的検査は MRI では検出できない機能的な脳損傷を非侵襲的に評価することができると思う。

本研究において、側頭筋の下方への牽引により 3/4 頭で側頭筋の萎縮が認められた。側頭筋の筋萎縮は上述した威嚇瞬き反応の異常と同様に最も多い合併症の 1 つであった。原因として、側頭筋を支配する三叉神経の上顎神経損傷や牽引による側頭筋の血流障害が考えられる。本研究においても側頭筋の圧迫に対して注意を払っていたが、顕微鏡下の手術において、

操作時の体位の変更あるいは牽引の解除はトラブルにつながる。側頭筋の圧迫を軽減するため、側頭筋の切開範囲あるいは切開方法を検討する必要がある。さらに、犬⑤では散瞳、外腹側斜視、直接性および間接性の対光反射の消失を示す動眼神経障害が認められた。動眼神経は眼筋群から眼窩裂を通り頭蓋内に進入する。ATL は側頭葉底部へのアプローチのため、梨状葉内側に位置する眼窩裂通過直後の動眼神経を損傷した可能性がある。本研究では肉眼的に動眼神経の損傷を確認することはできなかったが、海馬切除時に起因する損傷の可能性が高い。それゆえに、犬の ATL における合併症には三叉神経および動眼神経の障害に対して注意を払う必要があり、その走行は熟知すべき知見である。

本研究で用いた ATL は MTLE に対するてんかん外科の術式の 1 つであり、海馬および扁桃体のような内側側頭葉構造に対するアプローチである。獣医療における、この領域へのアプローチに関する報告はごく僅かであり [Shihab et al., 2014], 飼い主が外科的治療を拒否したケースも報告される [Tamura et al., 2013]. しかしながら、犬の梨状葉、海馬および扁桃体を含む内側側頭葉領域は、てんかんだけでなく神経膠腫やリンパ腫など様々な腫瘍の報告がある [Smith et al., 2001; Liu et al., 2004; Thomovsky et al., 2011; Young et al., 2011; Scott et al., 2015]. 特に、神経膠腫では、星状膠細胞腫の 50% (7/14 頭)、希突起膠細胞腫の 63% (10/16 頭) においてこの領域への関与が認められている [Thomovsky et al., 2011]. それゆえに、本研究で用いた内側側頭葉構造に対するアプローチは、てんかんのみならず、腫瘍性疾患などの脳外科治療が適応される頭蓋内疾患に対しても応用が可能であると考えている。

小括

- 1) ヒト MTLE に対する外科手術である ATL を犬猫に応用するため，健常犬に対して ATL の術式確立と合併症の検討を目的として同手術を行った．
- 2) 健常ビーグル犬に対する ATL の内側側頭葉構造の切除成功率は約 71%であり，術中安楽死の原因は脳底部の中大脳動脈の損傷であった．
- 3) 切除領域以外の損傷が認められない場合，てんかん発作を含む大きな合併症は発生しなかった．
- 4) 術側の損傷による対側の視覚障害は最も多い合併症の 1 つであるが，術後の神経学的検査あるいは MRI により改善の有無が評価できる可能性がある．

Table 1. 全側頭葉切除術を行った犬における術後神経学的検査の経時的变化

術後期間	犬①	犬③	犬⑤	犬⑦
1 週間	左旋回 右前後肢姿勢反応消失 右威嚇瞬き反応消失	右威嚇瞬き反応低下	右威嚇瞬き反応消失 散瞳 外腹側斜視 左眼対光反射消失 (直接・間接)	正常
1 ヶ月	左側頭筋の萎縮 左旋回 右前後肢姿勢反応低下 右威嚇瞬き反応消失	左側頭筋の萎縮 右威嚇瞬き反応低下	左側頭筋の萎縮 右威嚇瞬き反応消失 散瞳 左眼対光反射消失 (直接・間接)	正常
2 ヶ月	左側頭筋の萎縮 左旋回 右前後肢姿勢反応低下 右威嚇瞬き反応消失	左側頭筋の萎縮	左側頭筋の萎縮 右威嚇瞬き反応消失 散瞳 左眼対光反射消失 (直接・間接)	正常
3 ヶ月	左側頭筋の萎縮 左旋回 右前後肢姿勢反応低下 右威嚇瞬き反応消失	左側頭筋の萎縮	左側頭筋の萎縮 右威嚇瞬き反応消失 散瞳 左眼対光反射消失 (直接・間接)	正常

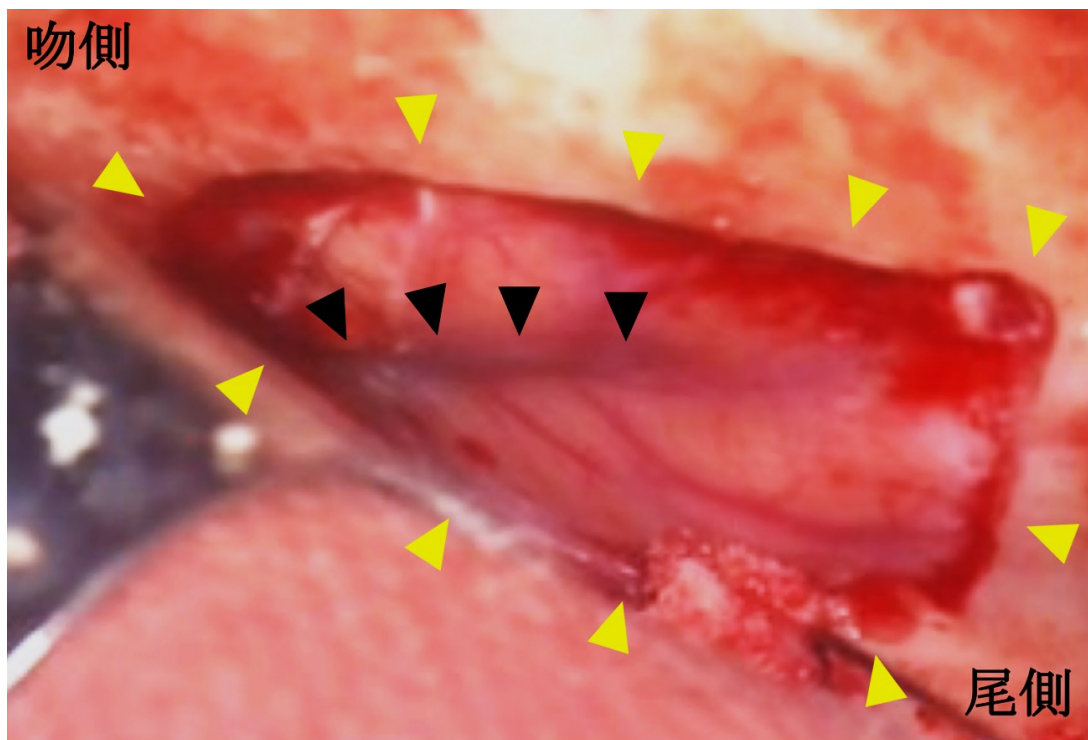


Figure 1. 典型的な前側頭切除術を行った犬⑦における頭蓋骨切除後の手術顕微鏡写真 (ビデオキャプチャー). 左側頭骨の開頭範囲を黄矢頭, 中大脳動脈の分岐血管を黒矢頭で示した.

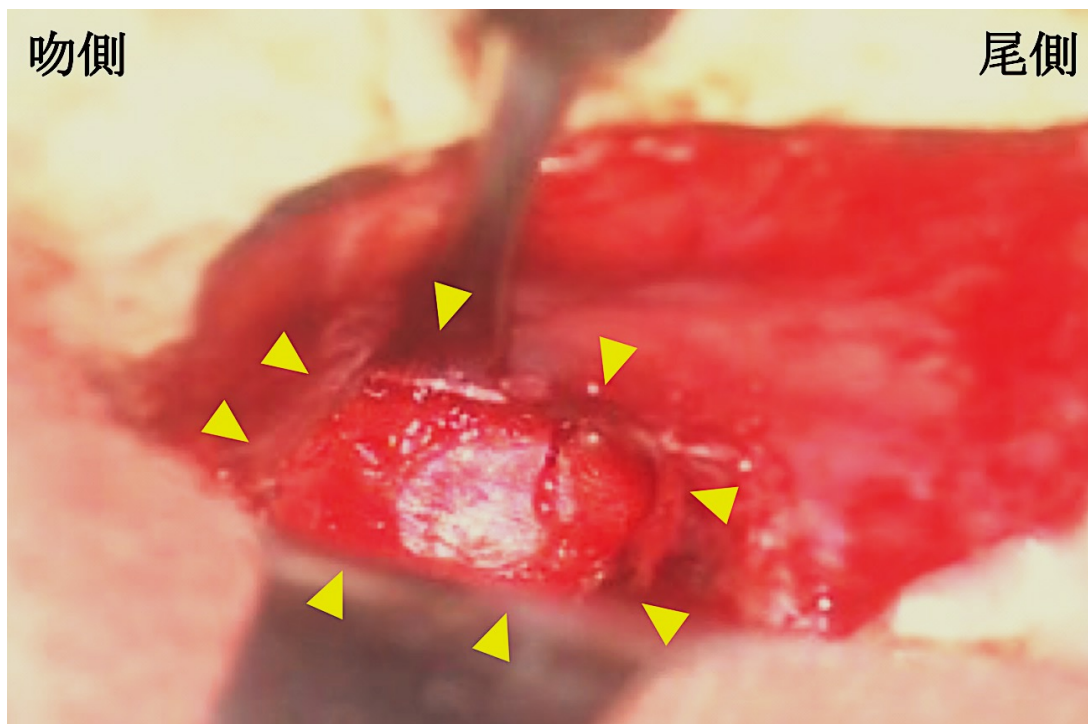


Figure 2. 典型的な前側頭切除術を行った犬⑦における前側頭葉切除後の手術顕微鏡写真 (ビデオキャプチャー). 前側頭葉の切除範囲を黄矢頭で示した.

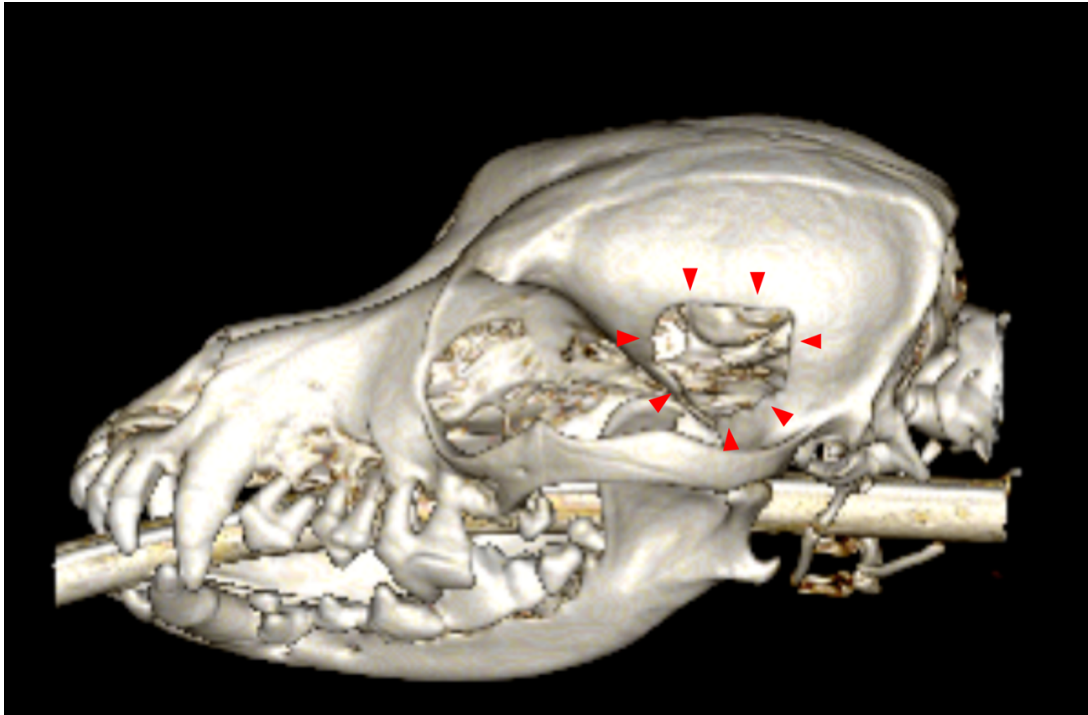


Figure 3. 典型的な前側頭切除術を行った犬⑦における術後 3D 再構成 CT 画像. 左側頭骨の開頭範囲を赤矢頭で示した. CT, コンピューター断層撮影.

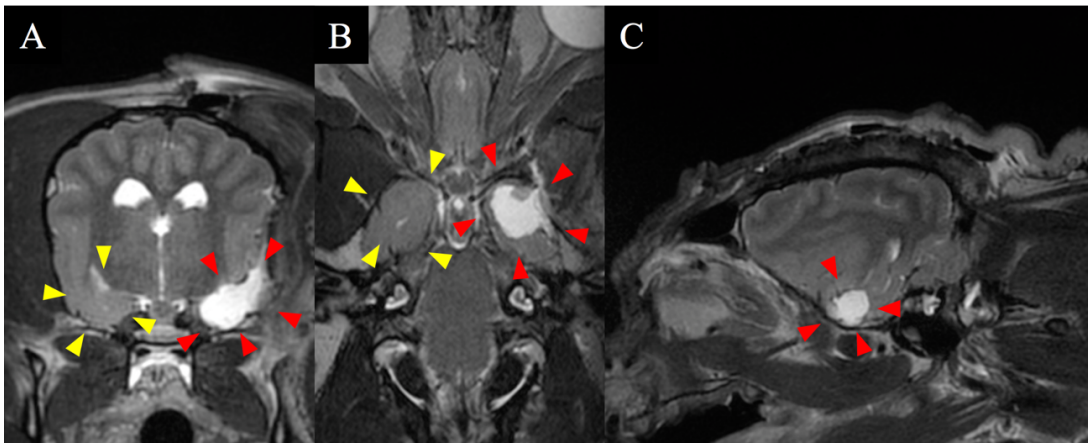


Figure 4. 前側頭葉切除術を行った典型的な犬⑦における術後 T2 強調画像. 切除領域を赤矢頭, 正常海馬および扁桃体領域を黄矢頭で示した. A, transverse 断面; B, dorsal 断面; C, sagittal 断面.

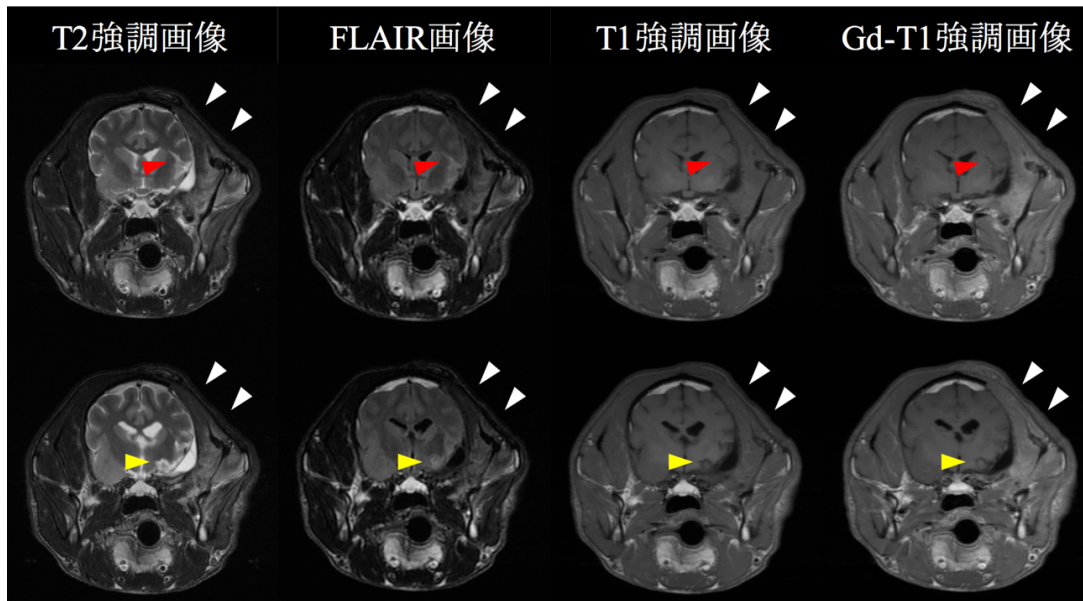


Figure 5.手術 1 ヶ月後における犬①の follow-up MRI で確認された内包および視索の損傷. 上段に尾状核領域, 下段に視床領域の MRI を示めす. T2 強調および FLAIR 画像で高信号, T1 強調画像で低信号, および造影増強を認めない損傷が左側内包 (赤矢頭) および視索 (黄矢頭) に認められる. また T2 強調および FLAIR 画像で高信号, T1 強調画像で等信号, および若干の造影増強を認める左側側頭筋 (白矢頭) を含む咬筋群の萎縮を認めた. FLAIR, fluid attenuated inversion recovery; Gd, ガドジウム; MRI, 磁気共鳴画像法.

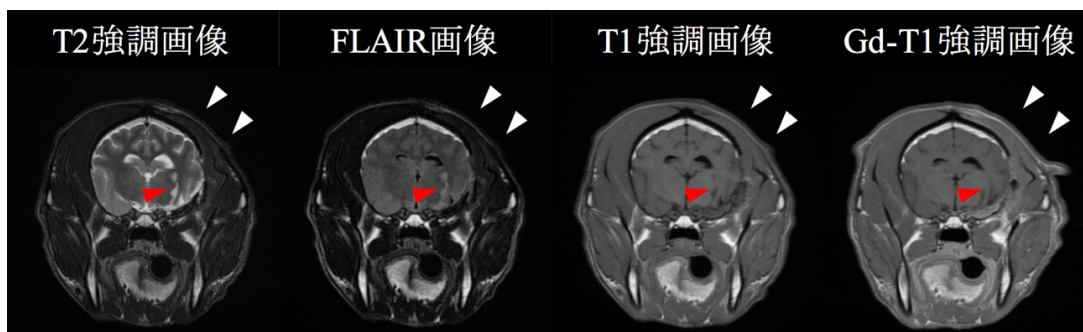


Figure 6.手術 1 ヶ月後における犬⑤の follow-up MRI で確認された内包および視索の損傷. 上段に尾状核領域, 下段に視床領域の MRI を示めす. T2 強調および FLAIR 画像で高信号, T1 強調画像で低信号, および造影増強を認めない損傷が左側視索に認められた (赤矢頭). また T2 強調および FLAIR 画像で高信号, T1 強調画像で等信号, および若干の造影増強を認める左側側頭筋の萎縮を認めた (白矢頭). FLAIR, fluid attenuated inversion recovery; Gd, ガドジウム; MRI, 磁気共鳴画像法.

第7章

総括

本研究は小動物におけるてんかん外科の導入を目的とし、第2章の外科適応基準から第3-5章のてんかん原性領域検出法、第6章のてんかん外科の術式およびその合併症に至るまで一連の研究を行った。現在、獣医療ではコンピューター断層撮影 (computed tomography, CT) や磁気共鳴画像法 (magnetic resonance imaging, MRI) が一般的に普及し、これに加え、手術顕微鏡、超音波吸引器、ナビゲーションシステムなどが導入されたことで、人医療で行われているてんかん外科に対応できる設備が整いつつある。しかしながら、器質病変を示さないてんかんにおけるてんかん外科の臨床報告は未だに行われておらず、人医療においても挑戦的課題となっている。これまでの獣医療におけるてんかん治療は、ヒトの国際機関である International league Against Epilepsy (ILAE) の提唱を参照してきたため、研究ごとに診断基準に若干のばらつきが存在した。しかしながら、2015年に、International Veterinary Epilepsy Task Force (IVETF) が設立され、伴侶動物のてんかんにおける定義、用語および分類 [Berendt et al., 2015], 診断アプローチ [De Risio et al., 2015], 遺伝的素因, 治療 [Bhatti et al., 2015], 治療予後 [Potschka et al., 2015], 特異的 MRI プロトコル [Rusbridge et al., 2015], および病理組織学的サンプリング法 [Matiassek et al., 2015] に関するコンセンサスが報告され、現在では統一したてんかん医療を行うことが可能となりつつある。

第2章では、てんかん外科の適応症例基準を考案するため、日本獣医生命科学大学動物医療センターにおけるてんかんの犬猫の回顧的疫学調査を行った。犬のてんかん有病率は1.87%であり、そのうち、特発性てんかん (idiopathic epilepsy, IdE) は48.0%、構造的てんかん

(structural epilepsy, StE) は 21.2%であった。また、猫のてんかん有病率は 1.43%であり、そのうち IdE は 41.2%, StE は 19.6%であった。小型犬が多く含まれた本研究の犬のてんかん有病率は、大型犬の多い海外からの報告と類似し [Hülsmeier et al., 2015], 犬種による有病率の差がほとんど認められないことが示唆された。一方で, IdE の犬の中央寿命は 13.5 年であり, 本邦における飼育下の犬の寿命に類似していた。しかしながら, AED の服用数に関わらず ≥ 0.3 回/月 (3 ヶ月に 1 回以上) の発作頻度および焦点性てんかん発作 (focal epileptic seizure, FES) は生存期間に対するリスクファクターとして示された。現在の獣医療における主な治療は抗てんかん薬 (antiepileptic drug, AED) を用いた内科的治療であり, てんかん発作の消失あるいは頻度の低下や患者の生活の質の改善が認められない場合は AED が処方あるいは追加される。人医療におけるてんかん外科適応は 2-3 剤の適切な AED に反応しないあるいは反応に乏しいてんかん, すなわち, 難治性てんかんが 1 つの基準となる [てんかん治療ガイドライン, 2010]。本研究が生存期間に対するリスクファクターとして示した ≥ 0.3 回/月の発作は犬のてんかん外科適応の基準として有用であると考えられる。また, 外科適応にはてんかん原性領域の推定が不可欠である。FES は脳の限局的な興奮により引き起こされるため, 焦点性てんかん原性領域である可能性が高く, てんかん外科が推奨されるてんかん発作型であると考えられる。したがって, 本研究は犬におけるてんかん外科適応基準として, 「2-3 剤以上の適切な抗てんかん薬に抵抗する場合 (≥ 0.3 回/月のてんかん発作頻度), およびまたは各種検査において焦点性てんかん原性領域と疑われる領域が検出できる場合」を提唱する。しかしながら, 本研究では猫の症例数が少なく, 外科適応基準の決定には至らなかった。さらなる症例数の蓄積が必要であると考ええる。一方, 猫のてんかんでは FES, 特に内側側頭葉てんかん (mesial temporal lobe epilepsy, MTLE) および海馬硬化を示す症例が多く報告されており [Wagner et al., 2014; Kitz et al., 2017], 難治性てんかん猫に対するてんかん外科治療は有用である可能性が大きい。

家族性自然発症性てんかん猫 (familial spontaneous epileptic cat, FSEC) は唯一の遺伝的素因が認められるヒト MTLE および特発性てんかんのモデル動物として確立されてきた [Kuwabara et al., 2000]。猫ではその頭蓋形態に個体差が少なく, 再現性の高い実験が可能である

ことから様々なてんかん研究に用いられてきた動物種である。加えて、犬よりも体格および脳のサイズが小さいため、特に画像診断技術については、猫で可能なものはおおむね犬でも利用可能であると考えられる。そのため、この FSEC を用いて獣医療におけるてんかん原性領域の検出法の検討を第 3-5 章で行った。

第 3 章では、Voxel-Based Morphometry (VBM) の猫における適応を検討した。VBM は脳全域に対する局所的な構造異常を検出するために人医療で開発された統計学的画像解析法であり [Ashburner and Friston, 2000]、これまで猫に対する報告はなかった。本研究で用いた Standard VBM 法は、現在では最も簡易的な方法であるが、健常個体の平均的な脳である標準脳 (standard template) および正確な部位判定のための灰白質、白質、脳脊髄液それぞれの組織確立マップ (tissue probability map) が必要となる。本研究は健常猫 38 頭から standard template および tissue probability maps の作成を行った。嗅球において分割エラーが認められたが、猫における VBM 解析の第一歩を成し遂げたと言える。また、FSEC と健常猫を用いた 2 群間 Standard VBM 解析では、全ての領域に有意な減少は認められなかったが、各 FSEC 個体と健常群の個体解析において、5 頭の FSEC で海馬および/または扁桃体領域の減少が認められた。これは FSEC で推測されるてんかん原性領域と一致する。てんかん外科は各患者で切除領域を決定する必要がある、Standard VBM における個体解析はてんかん外科における術前検査として有用であるだろう。

第 4 章では、Diffusion および Perfusion MRI による発作直後における FSEC の拡散および灌流の変化を検討した。発作間欠期における FSEC の海馬の低灌流および発作直後の FSEC の海馬や扁桃体における低拡散、高灌流が認められた。Seizure-onset zone は最もてんかん原性領域に近似するとされており、発作直後の拡散および灌流の変化は拡大した seizure-onset zone を示すことが知られている。本研究の結果は、Diffusion および Perfusion MRI がてんかん発作による影響を描出することが可能であることを示し、てんかん原性領域の概念における発作間欠期で示される functional deficit zone および発作直後に示される拡大した seizure-onset zone が

検出できたものと考えられる。現在、人医療における seizure-onset zone の検出には、発作時の単一光子放射断層撮影 (single photon emission computed tomography, SPECT) やビデオ頭蓋内脳波が用いられるが、獣医療において、これらの検査および機器の普及は極めて限定的である。非侵襲的に拡大した seizure-onset zone が検出可能な Diffusion および Perfusion MRI は、獣医療におけるてんかん原性領域検索に最も重要な検査であると考えられ、さらには、今後、人医療でも取り入れられるべき術前検査法の 1 つになる可能性がある。

第 5 章では、プロトン磁気共鳴スペクトロスコピー (proton magnetic resonance spectroscopy, ^1H -MRS) を用い、FSEC のてんかん原性領域の側方性について検討した。FSEC の視床において、総 N-アセチルアスパラギン酸 (total N-acetyl aspartate, tNAA) /クレアチン (creatine, Cr) および tNAA/コリン-含有化合物 (choline-containing compounds, Cho) における左右差、および健常猫と比較した右側視床における tNAA/Cho の有意な低下が認められた。tNAA は脳細胞内に最も多く存在し、神経細胞障害によりその減少が認められる。すなわち、FSEC の視床において、てんかんによる影響が認められることを示唆している。ヒトと比較して脳の小さい犬猫では、疑われるてんかん原性領域のみを限定的に関心領域に含めることは困難であるが、その側方性の検出に ^1H -MRS より視床の測定が利用できる可能性がある。また、てんかん治療の第一選択は AED による薬物治療であり、エビデンスに基づく AED 数の増加は難治性てんかんの治療にもつながる。てんかんの猫におけるゾニサミド (zonisamide, ZNS) 治療のエビデンスはほとんどないが、現在では経験的に抗てんかん薬として一般的に用いられている。それゆえに、本章では FSEC における ZNS 治療に対する脳代謝産物変化も検討した。本研究において、FSEC の脳では ZNS の投与により視床全域のグルタミンおよびグルタミン酸複合体 (glutamate and glutamine complex, Glx)/Cr+Cho の減少が認められた。本研究の結果は、ZNS の作用機序の 1 つであるグルタミン酸放出の抑制により、その複合体である Glx の減少が認められたと考えられる。さらなる研究として、てんかん発作の抑制に対する有効性を確認する必要があるものの、猫においても ZNS が抗てんかん作用を有する可能性はと考える。

現在、獣医療におけるてんかん原性領域とその検出法の内容は Hasegawa (2017) によって提唱された。この概念はその後、てんかん外科に続くものであり、獣医療においてもてんかん外科の臨床導入は近づいてきている。第 6 章では、ヒト MTLE に用いられる前側頭葉切除術を健常犬に対して施術し、その術式および合併症を調査した。外科手技において、猫と比較して脳サイズが大きく、広い術野確保により安全な施術ができることや、神経膠細胞種が前側頭葉領域に好発し、外科的アプローチの検討のため犬を対象とした。その結果、本研究での切除成功率は 71% (5/7 頭) であり、現時点において成功率の高い術式とは言いえないものであった。しかしながら、人医療で用いられる超音波吸引装置やナビゲーションシステムの使用、術者の手術熟練度の向上により、成功率の上昇が見込めるものと考えられる。また、合併症としてのてんかん発作は 1 頭で手術直後のみに認められた。これは切除領域周囲の脳における手術操作に起因するてんかん発作と考えられ、適切な手術および術前、術後の管理にて抑制し得るものと思われる。また、最も多い合併症は対側の威嚇瞬き反応の低下および同側の側頭筋の萎縮であったが、1 頭の犬は観察期間を通じて合併症が認めなかったため、適切な手術が行われた場合には永続的な合併症が認められない可能性がある。それゆえに、海馬あるいは扁桃体起始の FES を有する動物では、ヒトと同様に前側頭葉切除術によっててんかん発作の消失が期待される。

最後に、本研究は獣医療におけるてんかん外科適応基準の決定からてんかん原性領域の検索、およびヒト MTLE で最も一般的に用いられる前側頭葉切除術の犬におけるその術式および合併症を検討した。本研究が獣医療におけるてんかん外科の導入に向けた基礎的研究の基盤となることは間違いなく、てんかん外科が犬猫のてんかんにおける難治性てんかんに対する治療選択の 1 つとなる日はそう遠くないだろう。しかしながら、本研究の範囲では実際に内側側頭葉領域にてんかん原性を持つ動物に対する前側頭葉切除術の評価は行えていないため、さらなる研究が必要である。また、これまでの獣医療において、器質的異常を認めないてんかんにおける病理組織学的検査はほとんど行われていない。てんかん切除外科の実施は、切除領域における病理組織学的評価を可能にし、てんかん病態生理学的機序の解明への一助にな

るだろう。これは、獣医療のみならず様々なてんかん医療につながるものと考えている。今後、獣医療におけるてんかん外科の発展が、多くの獣医師が抱く「てんかん治療 = AED を用いた内科的治療」という概念を打破し、難治性てんかんに苦しむ罹患動物とその家族の生活の質を向上させるより良い選択肢になることが期待される。

謝辞

本論文を終えるにあたり、終始多大なるご指導ご鞭撻を賜りました、日本獣医生命科学大学臨床獣医学部門治療学分野Ⅰ（獣医放射線学教室）藤田道郎教授に甚大なる謝意を表します。本研究を作成するにあたり、研究に対する姿勢・情熱の享受、丁寧かつ熱心なご指導、ならびに精神的な励ましなど様々な面から支えてくださった日本獣医生命科学大学臨床獣医学部門治療学分野Ⅰ（獣医放射線学研究室）長谷川大輔准教授に深くお礼申し上げます。また、本論文のご校閲と多くのご指導を頂いた日本獣医生命科学大学臨床獣医学部門治療学分野Ⅰ（獣医放射線学研究室）藤原亜紀講師、本研究に際して、様々なご尽力ならびに精神的に支えてくださった同研究室 湯祥彦、溝口俊太、桑原孝幸、和田昌絵の各氏に深く感謝致します。

本論文において飼育管理および実験に多大なるご協力を頂きました、日本獣医生命科学大学臨床獣医学部門治療学分野Ⅰ（獣医放射線学研究室）浅田李佳子、石島進之助、西條大惟嘉、福田詩穂織、前原琢人、樋口恭平、石原ゆうな、植田緋奈子、滝澤遼、堂本優太、牛島大、香西泉咲、鈴木天音、関島光菜、春名麻衣、増山久実ならびに同研究室の皆様に深くお礼申し上げます。

本研究を行うに際して、犠牲となった動物達に深く感謝し、ご冥福をお祈り致します。

最後に、大学院入学から温かく見守り、どんな時も支え続けて頂きました父 濱本一、母 濱本千由、兄 濱本裕太に心から感謝致します。

参考文献

- Adamo PF, Rylander H, Adams WM. Ciclosporin use in multi-drug therapy for meningoencephalomyelitis of unknown aetiology in dogs. *J Small Anim Pract.* 2007;48:486–96.
- Armaşu M, Packer RM, Cook S, Solcan G, Volk HA. An exploratory study using a statistical approach as a platform for clinical reasoning in canine epilepsy. *Vet J.* 2014;202:292–6.
- Arrol L, Penderis J, Garosi L, Cripps P, Gutierrez-Quintana R, Gonçalves R. Aetiology and long-term outcome of juvenile epilepsy in 136 dogs. *Vet Rec.* 2012;170:335.
- Ashburner J, Friston KJ. Voxel-based morphometry—the methods. *Neuroimage.* 2000;11:805–21.
- Ashburner J. A fast diffeomorphic image registration algorithm. *Neuroimage.* 2007;38:95–113.
- Aydin H, Oktay NA, Kizilgoz V, Altin E, Tatar IG, Hekimoglu B. Value of proton-MR-spectroscopy in the diagnosis of temporal lobe epilepsy; correlation of metabolite alterations with Electroencephalography. *Iran J Radiol.* 2012;9:1–11.
- Bagley RS, Baszler TV, Harrington ML, Pluhar GE, Moore MP, Keegan RD, Greene SA. Clinical effects of longitudinal division of the corpus callosum in normal dogs. *Vet Surg.* 1995;24:122–7.
- Berendt M, Gram L. Epilepsy and seizure classification in 63 dogs: a reappraisal of veterinary epilepsy terminology. *J Vet Intern Med.* 1999;13:14–20.

Berendt M, Gredal H, Ersbøll AK, Alving J. Premature death, risk factors, and life patterns in dogs with epilepsy. *J Vet Intern Med.* 2007;21:754–9.

Berendt M, Farquhar RG, Mandigers PJ, Pakozdy A, Bhatti SF, De Risio L, Fischer A, Long S, Matiassek K, Muñana K, Patterson EE, Penderis J, Platt S, Podell M, Potschka H, Pumarola MB, Rusbridge C, Stein VM, Tipold A, Volk HA. International veterinary epilepsy task force consensus report on epilepsy definition, classification and terminology in companion animals. *BMC Vet Res.* 2015;11:182.

Berg AT, Kelly MM. Defining intractability: comparisons among published definitions. *Epilepsia.* 2006;47:431–6.

Berg AT, Berkovic SF, Brodie MJ, Buchhalter J, Cross JH, van Emde Boas W, Engel J, French J, Glauser TA, Mathern GW, Moshé SL, Nordli D, Plouin P, Scheffer IE. Revised terminology and concepts for organization of seizures and epilepsies: report of the ILAE Commission on Classification and Terminology, 2005-2009. *Epilepsia.* 2010;51:676–85.

Bhatti SF, De Risio L, Muñana K, Penderis J, Stein VM, Tipold A, Berendt M, Farquhar RG, Fischer A, Long S, Löscher W, Mandigers PJ, Matiassek K, Pakozdy A, Patterson EE, Platt S, Podell M, Potschka H, Rusbridge C, Volk HA. International Veterinary Epilepsy Task Force consensus proposal: medical treatment of canine epilepsy in Europe. *BMC Vet Res.* 2015;11:176.

Binnie CD, Polkey CE; International League Against Epilepsy. Commission on Neurosurgery of the International League Against Epilepsy (ILAE) 1993-1997: recommended standards. *Epilepsia.* 2000;41:1346–9.

Biraben A, Taussig D, Bernard AM, Vignal JP, Scarabin JM, Chauvel P, Duncan R. Video-EEG and ictal SPECT in three patients with both epileptic and non-epileptic seizures. *Epileptic Disord.* 1999;1:51–5.

Blakemore CB, Falconer MA. Long-term effects of anterior temporal lobectomy on certain cognitive functions. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 1967;30:364–7.

Brodie MJ, Dichter MA. Antiepileptic drugs. *N Engl J Med.* 1996;334:168–75.

Brown FD, Fessler RG, Rachlin JR, Mullan S. Changes in food intake with electrical stimulation of the ventromedial hypothalamus in dogs. *J Neurosurg* 1984;60:1253–1257.

Brázdil M, Marecek R, Fojtíková D, Mikl M, Kuba R, Krupa P, Rektor I. Correlation study of optimized voxel-based morphometry and (1)H MRS in patients with mesial temporal lobe epilepsy and hippocampal sclerosis. *Hum Brain Mapp.* 2009;30:1226–35.

Buckmaster PS. Comparative Biology and Species Effects on Expression of Epilepsy. In: Pitkänen A, Buckmaster PS, Galanopoulou AS, Moshé SL (Eds.). *Models of Seizures and Epilepsy*, 2nd ed. Elsevier Ac Press, San Diego. 2017. pp. 7–20.

Carrera I, Kircher PR, Meier D, Richter H, Beckman K, Dennler M. In vivo proton magnetic resonance spectroscopy for the evaluation of hepatic encephalopathy in dogs. *Am J Vet Res.* 2014;75:818–27.

Carrera I, Richter H, Beckmann K, Meier D, Dennler M, Kircher PR. Evaluation of intracranial neoplasia and noninfectious meningoencephalitis in dogs by use of short echo time, single voxel proton magnetic resonance spectroscopy at 3.0 Tesla. *Am J Vet Res.* 2016;77:452–62.

Caruso PA, Johnson J, Thibert R, Rapalino O, Rincon S, Ratai EM. The use of magnetic resonance spectroscopy in the evaluation of epilepsy. *Neuroimaging Clin N Am*. 2013;23:407–24.

Chang Y, Mellor DJ, Anderson TJ. Idiopathic epilepsy in dogs: owners' perspectives on management with phenobarbitone and/or potassium bromide. *J Small Anim Pract*. 2006;47:574–81.

Chassoux F, Artiges E, Semah F, Desarnaud S, Laurent A, Landre E, Gervais P, Devaux B, Helal OB. Determinants of brain metabolism changes in mesial temporal lobe epilepsy. *Epilepsia*. 2016;57:907–19.

Chambers JK, Tokuda T, Uchida K, Ishii R, Tatebe H, Takahashi E, Tomiyama T, Une Y, Nakayama H. The domestic cat as a natural animal model of Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol Commun*. 2015;3:78.

Collins DL, Neelin P, Peters TM, Evans AC. Automatic 3D intersubject registration of MR volumetric data in standardized Talairach space. *J Comput Assist Tomogr*. 1994;18:192–205.

Conz L, Morita ME, Coan AC, Kobayashi E, Yasuda CL, Pereira AR, Lopes-Cendes I, Cendes F. Longitudinal MRI volumetric evaluation in patients with familial mesial temporal lobe epilepsy. *Front Neurol*. 2011;2:5.

De Risio L, Bhatti S, Muñana K, Penderis J, Stein V, Tipold A, Berendt M, Farquhar R, Fischer A, Long S, Mandigers PJ, Matiassek K, Packer RM, Pakozdy A, Patterson N, Platt S, Podell M, Potschka H, Batlle MP, Rusbridge C, Volk HA. International veterinary epilepsy task force consensus proposal: diagnostic approach to epilepsy in dogs. *BMC Vet Res*. 2015;11:148.

Dewey CW. Anticonvulsant therapy in dogs and cats. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.*

2006;36:1107–27.

Diehl B, Najm I, Ruggieri P, Tkach J, Mohamed A, Morris H, Wyllie E, Fisher E, Duda J, Lieber M, Bingama W, Lüders HO. Postictal diffusion-weighted imaging for the localization of focal epileptic areas in temporal lobe epilepsy. *Epilepsia.* 2001;42:21–8.

Diehl B, Symms MR, Boulby PA, Salmenpera T, Wheeler-Kingshott CA, Barker GJ, Duncan JS.

Postictal diffusion tensor imaging. *Epilepsy Res.* 2005;65:137–46.

Doelken MT, Stefan H, Pauli E, Stadlbauer A, Struffert T, Engelhorn T, Richter G, Ganslandt O,

Doerfler A, Hammen T. (1)H-MRS profile in MRI positive- versus MRI negative patients with temporal lobe epilepsy. *Seizure.* 2008;17:490–7.

Doelken Mt, Mennecke A, Stadlbauer A, et al. Multi-voxel magnetic resonance spectroscopy at 3.0T in patients with idiopathic generalized epilepsy. *Seizure.* 2010;19:485–92.

Dudek FE and Staley KJ. Post-Status Epilepticus Models: Systemic Kainic Acid. In: Pitkänen A,

Buckmaster PS, Galanopoulou AS, Moshé SL (Eds.). *Models of Seizures and Epilepsy*, 2nd ed. Elsevier Ac Press, San Diego. 2017. pp. 599–610.

Duncan R, Patterson J, Hedley DM, Macpherson P, Brodie MJ, Bone I, McGeorge AP, Wyper DJ. CT,

MR and SPECT imaging in temporal lobe epilepsy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 1990;53:11–5.

Falconer MA. Anterior temporal lobectomy for epilepsy. In: Rob C, Smith E (Eds.). *Operative Surgery*,

Vol 12. Butterworths, London. 1979. pp. 315–27.

Fisher RS, Cross JH, D'Souza C, French JA, Haut SR, Higurashi N, Hirsch E, Jansen FE, Lagae L, Moshé SL, Peltola J, Roulet Perez E, Scheffer IE, Schulze-Bonhage A, Somerville E, Sperling M, Yacubian EM, Zuberi SM. Instruction manual for the ILAE 2017 operational classification of seizure types. *Epilepsia*. 2017a;58:531–542.

Fisher RS, Cross JH, French JA, Higurashi N, Hirsch E, Jansen FE, Lagae L, Moshé SL, Peltola J, Roulet Perez E, Scheffer IE, Zuberi SM. Operational classification of seizure types by the International League Against Epilepsy: Position Paper of the ILAE Commission for Classification and Terminology. *Epilepsia*. 2017b;58:522–530.

Fojtiková D, Brázdil M, Skoch A, Jírů F, Horký J, Marecek R, Mikl M, Krupa P. Magnetic resonance spectroscopy of the thalamus in patients with mesial temporal lobe epilepsy and hippocampal sclerosis. *Epileptic Disord*. 2007;9:S59–67.

Fredso N, Koch BC, Toft N, Berendt M. Risk factors for survival in a university hospital population of dogs with epilepsy. *J Vet Intern Med*. 2014;28:1782–8.

Fryer KJ, Levine JM, Peycke LE, Thompson JA, Cohen ND. Incidence of postoperative seizures with and without levetiracetam pretreatment in dogs undergoing portosystemic shunt attenuation. *J Vet Intern Med*. 2011;25:1379–84.

Gastaut H. Clinical and electroencephalographical classification of epileptic seizures. *Epilepsia*. 1970;11:02–13.

Gonçalves Pereira PM, Oliveira E, Rosado P. Apparent diffusion coefficient mapping of the hippocampus and the amygdala in pharmaco-resistant temporal lobe epilepsy. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2006;27:671–83.

Gonçalves R, Carrera I, Garosi L, Smith PM, Fraser McConnell J, Penderis J. Clinical and topographic magnetic resonance imaging characteristics of suspected thalamic infarcts in 16 dogs. *Vet J*. 2010;188:39–43.

Good CD, Johnsrude IS, Ashburner J, Henson RN, Friston KJ, Frackowiak RS. A voxel-based morphometric study of ageing in 465 normal adult human brains. *Neuroimage*. 2001;14:21–36.

Gorter JA and van Vliet EA. Post-Status Epilepticus Models: Electrical Stimulation. In: Pitkänen A, Buckmaster PS, Galanopoulou AS, Moshé SL (Eds.). *Models of Seizures and Epilepsy*, 2nd ed. Elsevier Ac Press, San Diego. 2017. pp. 637–50.

Greer KA, Canterbury SC, Murphy KE. Statistical analysis regarding the effects of height and weight on life span of the domestic dog. *Res Vet Sci*. 2007;82:208–14.

Hajek M, Dezortova M, Krsek P. *Eur J Radiol*. H MR spectroscopy in epilepsy. 2008;67:258–67.

Hajnal JV, Doran M, Hall AS, Collins AG, Oatridge A, Pennock JM, Young IR, Bydder GM. MR imaging of anisotropically restricted diffusion of water in the nervous system: technical, anatomic, and pathologic considerations. *J Comput Assist Tomogr*. 1991;15:1–18.

Hasboun D, Chantôme M, Zouaoui A, Sahel M, Deladoeuille M, Sourour N, Duyme M, Baulac M, Marsault C, Dormont D. MR determination of hippocampal volume: comparison of three methods. *AJNR Am J Neuroradiol.* 1996;17:1091–8.

Hasegawa D, Orima H, Fujita M, Hashizume K, Tanaka T. Complex partial status epilepticus induced by a microinjection of kainic acid into unilateral amygdala in dogs and its brain damage. *Brain Res.* 2002;955:174–82.

Hasegawa D, Orima H, Fujita M, Nakamura S, Takahashi K, Ohkubo S, Igarashi H, Hashizume K. Diffusion-weighted imaging in kainic acid-induced complex partial status epilepticus in dogs. *Brain Res.* 2003;983:115–27.

Hasegawa D, Kobayashi M, Kuwabara T, Ohmura T, Fujita M, Orima H. Pharmacokinetics and toxicity of zonisamide in cats. *J Feline Med Surg.* 2008;10:418–21.

Hasegawa D, Mizoguchi S, Kuwabara T, Hamamoto Y, Ogawa F, Matsuki N, Uchida K, Fujita M. Electroencephalographic features of familial spontaneous epileptic cats. *Epilepsy Res.* 2014;108:1018–25.

Hasegawa D. Diagnostic techniques to detect the epileptogenic zone: Pathophysiological and presurgical analysis of epilepsy in dogs and cats. *Vet J.* 2016;215:64–75.

Hasegawa D, Pakozdy A, Volk HA. Differentiating structural from idiopathic epilepsy in cats. *Vet Rec.* 2017;180:608–9.

Helms G, Ciumas C, Kyaga S, Savic I. Increased thalamus levels of glutamate and glutamine (Glx) in patients with idiopathic generalised epilepsy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2006;77:489–94.

Helpert JA, Huang N. Diffusion-weighted imaging in epilepsy. *Magn Reson Imaging*. 1995;13:1227–31.

Henry TR, Mazziotta JC, Engel J Jr. Interictal metabolic anatomy of mesial temporal lobe epilepsy. 1993;50:582–9.

Henshall DC. Poststatus Epilepticus Models: Focal Kainic Acid. In: Pitkänen A, Buckmaster PS, Galanopoulou AS, Moshé SL (Eds.). *Models of Seizures and Epilepsy*, 2nd ed. Elsevier Ac Press, San Diego. 2017. pp. 611–24.

Herman ST. Epilepsy after brain insult: targeting epileptogenesis. *Neurology*. 2002;59:S21–6.

Hikishima K, Komaki Y, Seki F, Ohnishi, Okano HJ, Okano H. In vivo microscopic voxel-based morphometry with a brain template to characterize strain-specific structures in the mouse brain. *Sci Rep*. 2017;7:85.

Hiyoshi T, Seino M, Kakegawa N, Higashi T, Yagi K, Wada JA. Evidence of secondary epileptogenesis in amygdaloid overkindled cats: electroclinical documentation of spontaneous seizures. *Epilepsia*. 1993;34:408–15.

Horsley V. Brain-Surgery. *BMJ*. 1886;1345:670–5.

Hu H, Barker A, Harcourt-Brown T, Jeffery N. Systematic Review of Brain Tumor Treatment in Dogs. *J Vet Intern Med*. 2015;29:1456–63.

Hülsmeier VI, Fischer A, Mandigers PJ, DeRisio L, Berendt M, Rusbridge C, Bhatti SF, Pakozdy A, Patterson EE, Platt S, Packer RM, Volk HA. International Veterinary Epilepsy Task Force's current understanding of idiopathic epilepsy of genetic or suspected genetic origin in purebred dogs. BMC Vet Res. 2015;11:175.

ILAE. The epidemiology of the epilepsies: future directions. Epilepsia. 1997a;38:614–8.

ILAE. A global survey on epilepsy surgery, 1980-1990: a report by the Commission on Neurosurgery of Epilepsy, the International League Against Epilepsy. Epilepsia. 1997b;38:249–55.

Ikedo A, Kunieda T, Miyamoto S, Fukuyama H, Shibasaki H. Autosomal dominant temporal lobe epilepsy in a Japanese family. J Neurol Sci. 2000;176:162–5.

今泉清, 伊藤昭吾, 沓掛源四郎, 滝沢隆安, 藤原公策, 土川清. マウスのてんかん様異常について. 実験動物. 1959;8:6–10.

Inoue M, Hasegawa A, Hosoi Y, Sugiura K. A current life table and causes of death for insured dogs in Japan. Prev Vet Med. 2015;120:210–8.

Kanda Y. Investigation of the freely available easy-to-use software 'EZR' for medical statistics. Bone Marrow Transplant. 2013;48:452–8.

Keller SS, Wilke M, Wiesmann UC, Sluming VA, Roberts N. Comparison of standard and optimized voxel-based morphometry for analysis of brain changes associated with temporal lobe epilepsy. Neuroimage. 2004;23:860–8.

Kelly ME and Coulter DA. The Pilocarpine Model of Acquired Epilepsy. In: Pitkänen A, Buckmaster PS, Galanopoulou AS, Moshé SL (Eds.). *Models of Seizures and Epilepsy*, 2nd ed. Elsevier Ac Press, San Diego. 2017. pp. 625–36.

Kerezoudis P, McCutcheon B, Murphy ME, Rajjoub KR, Ubl D, Habermann EB, Worrell G, Bydon M, Van Gompel JJ. Thirty-day postoperative morbidity and mortality after temporal lobectomy for medically refractory epilepsy. *J Neurosurg*. 2017;23:1–7.

Killam KF, Naquet R, Bert J. Paroxysmal Responses to Intermittent Light Stimulation in a Population of Baboons (*Papio papio*). *Epilepsia*. 1966;7:215–219.

Kitz S, Thalhammer JG, Glantschnigg U, Wrzosek M, Klang A, Halasz P, Shouse MN, Pakozdy A. Feline Temporal lobe epilepsy: review of the experimental literature. *J Vet Intern Med*. 2017;31:633–40.

Kobayashi E, Lopes-Cendes I, Guerreiro CA, Sousa SC, Guerreiro MM, Cendes F. Seizure outcome and hippocampal atrophy in familial mesial temporal lobe epilepsy. *Neurology*. 2001;56:166–72.

Kobayashi E, D'Agostino MD, Lopes-Cendes I, Berkovic SF, Li ML, Andermann E, Andermann F, Cendes F. Hippocampal atrophy and T2-weighted signal changes in familial mesial temporal lobe epilepsy. *Neurology*. 2003;60:405–9.

Kuwabara T, Hasegawa D, Ogawa F, Kobayashi M, Fujita M, Suzuki H, Matsuki N, Orima H. A familial spontaneous epileptic feline strain: a novel model of idiopathic/genetic epilepsy. *Epilepsy Res*. 2010;92:85–8.

Kwan P, Brodie MJ. Early identification of refractory epilepsy. *N Engl J Med*. 2000;342:314–9.

- Leonhardt G, de Greiff A, Weber J, Ludwig T, Wiedemayer H, Forsting M, Hufnagel A. Brain perfusion following single seizures. *Epilepsia*. 2005;46:1943–9.
- Leppik IE. Zonisamide: chemistry, mechanism of action, and pharmacokinetics. *Seizure*. 2004;13:S5–9.
- Liacu D, de Marco G, Ducreux D, Bouilleret V, Masnou P, Idy-Peretti I. Diffusion tensor changes in epileptogenic hippocampus of TLE patients. *Neurophysiol Clin*. 2010;40:151–7.
- Liu CH, Liu CI, Liang SL, Cheng CH, Huang SC, Lee CC, Hsu WC, Lin YC. Intracranial granular cell tumor in a dog. *J Vet Med Sci*. 2004;66:77–9.
- Lowenstein DH. Epilepsy after head injury: An overview. *Epilepsia*. 2009;50:4–9.
- Löschner W. Animal models of intractable epilepsy. *Prog Neurobiol*. 1997;53:239–58.
- Lüders HO, Najm I, Nair D, Widdess-Walsh P, Bingman W. The epileptogenic zone: general principles. *Epileptic Disord*. 2006;8:S1–9.
- March PA. Seizures: classification, etiologies, and pathophysiology. *Clin Tech Small Anim Pract*. 1998;13:119–31.
- Mariani CL. Terminology and classification of seizures and epilepsy in veterinary patients. *Top Companion Anim Med*. 2013;28:34–41.

Martin-Vaquero P, da Costa RC, Echandi RL, Sammet CL, Knopp MV, Sammet S. Magnetic resonance spectroscopy of the canine brain at 3.0 T and 7.0 T. *Res Vet Sci*. 2012;93:427–9.

Martlé V, Van Ham L, Raedt R, Vonck K, Boon P, Bhatti S. Non-pharmacological treatment options for refractory epilepsy: an overview of human treatment modalities and their potential utility in dogs. *Vet J*. 2014;199:332–9.

Matiassek K, Pumarola I, Batlle M, Rosati M, Fernández-Flores F, Fischer A, Wagner E, Berendt M, Bhatti SF, De Risio L, Farquhar RG, Long S, Muñana K, Patterson EE, Pakozdy A, Penderis J, Platt S, Podell M, Potschka H, Rusbridge C, Stein VM, Tipold A, Volk HA. International veterinary epilepsy task force recommendations for systematic sampling and processing of brains from epileptic dogs and cats. *BMC Vet Res*. 2015;11:216.

Matsuda H. MRI morphometry in Alzheimer's disease. *Ageing Res Rev*. 2016;30:17–24.

McIntyre DC. The Kindling phenomenon. In: Pitkänen A, Schwartzkroin PA, Moshé SL (Eds.). *Models of seizures and epilepsy*. Academic Press, London. 2006. pp. 351–63.

McNally KA, Paige AL, Varghese G, Zhang H, Novotny EJ Jr, Spencer SS, Zubal IG, Blumenfeld H. Localizing value of ictal-interictal SPECT analyzed by SPM (ISAS). *Epilepsia*. 2005;46:1450–64.

Merlis JK. Proposal for an international classification of the epilepsies. *Epilepsia*. 1970;11:114–9.

Milne ME, Steward C, Firestone SM, Long SN, O'Brien TJ, Moffat BA. Development of representative magnetic resonance imaging-based atlases of the canine brain and evaluation of three methods for atlas-based segmentation. *Am J Vet Res*. 2016;77:395–403.

Mizoguchi S, Hasegawa D, Kuwabara T, Hamamoto Y, Ogawa F, Fujiwara A, Matsuki N, Fujita M. Magnetic resonance volumetry of the hippocampus in familial spontaneous epileptic cats. *Epilepsy Res.* 2014;108:1940–4.

Mizoguchi S, Hasegawa D, Hamamoto Y, Yu Y, Kuwabara T, Fujiwara-Igarashi A, Fujita M. Interictal diffusion and perfusion magnetic resonance imaging features of cats with familial spontaneous epilepsy. *Am J Vet Res.* 2017;78:305–10.

Monteiro R, Adams V, Keys D, Platt SR. Canine idiopathic epilepsy: prevalence, risk factors and outcome associated with cluster seizures and status epilepticus. *J Small Anim Pract.* 2012;53:526–30.

Mueller SG, Laxer KD, Suhy J, Lopez RC, Flenniken DL, Weiner MW. Spectroscopic metabolic abnormalities in mTLE with and without MRI evidence for mesial temporal sclerosis using hippocampal short-TE MRSI. *Epilepsia.* 2003;44:977–80.

Muñana KR, Vitek SM, Tarver WB, Saito M, Skeen TM, Sharp NJ, Olby NJ, Haglund MM. Use of vagal nerve stimulation as a treatment for refractory epilepsy in dogs. *J Am Vet Med Assoc.* 2002;221:977–83.

Muñana K. Management of refractory epilepsy. *Top Companion Anim Med.* 2013;28:67–71.

Neppl R, Nguyen CM, Bowen W, Al-Saadi T, Pallagi J, Morris G, Mueller W, Johnson R, Prost R, Rand SD. In vivo detection of postictal perturbations of cerebral metabolism by use of proton MR spectroscopy: preliminary results in a canine model of prolonged generalized seizures. *AJNR Am J Neuroradiol.* 2001;22:1933–43.

Newton MR, Berkovic SF, Austin MC, Rowe CC, McKay WJ, Bladin PF. Postictal switch in blood flow distribution and temporal lobe seizures. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1992;55:891–4.

O'Brien TJ, David DP, Kilpatrick CJ, Desmond P, Tress B. Contrast-enhanced perfusion and diffusion MRI accurately lateralize temporal lobe epilepsy: a pilot study. *J Clin Neurosci*. 2007;14:841–9.

Oh JB, Lee SK, Kim KK, Song IC, Chang KH. Role of immediate postictal diffusion-weighted MRI in localizing epileptogenic foci of mesial temporal lobe epilepsy and non-lesional neocortical epilepsy. *Seizure*. 2004;13:509–16.

Ono K, Kitagawa M, Ito D, Tanaka N, Watari T. Regional variations and age-related changes detected with magnetic resonance spectroscopy in the brain of healthy dogs. *Am J Vet Res*. 2014;75:179–86.

O'Neill DG, Church DB, McGreevy PD, Thomson PC, Brodbelt DC. Longevity and mortality of owned dogs in England. *Vet J*. 2013;198:638–43.

Packer RM, Volk HA. Epilepsy beyond seizures: a review of the impact of epilepsy and its comorbidities on health-related quality of life in dogs. *Vet Rec*. 2015;177:306–15.

Packer RM, Shiahhab NK, Torres BB, Volk HA. Risk factors for cluster seizures in canine idiopathic epilepsy. *Res Vet Sci*. 2016;105:136–8.

Pákozdy A, Leschnik M, Tichy AG, Thalhammer JG. Retrospective clinical comparison of idiopathic versus symptomatic epilepsy in 240 dogs with seizures. *Acta Vet Hung*. 2008;56:471–83.

Pakozdy A, Leschnik M, Sarchahi AA, Tichy AG, Thalhammer JG. Clinical comparison of primary versus secondary epilepsy in 125 cats. *J Feline Med Surg*. 2010;12:910–6.

Pakozdy A, Halasz P, Klang A. Epilepsy in cats: theory and practice. *J Vet Intern Med*. 2014;28:255–63.

Placidi F, Floris R, Bozzao A, Romigi A, Tombini M, Beviera ME, Sperli F, Izzi F, Mattia D, Marciani MG. Dynamic susceptibility contrast (DSC) MRI and interictal epileptiform activity in cryptogenic partial epilepsy. *Epilepsia*. 2002;43:1515–21.

Podell M, Fenner WR, Powers JD. Seizure classification in dogs from a nonreferral-based population. *J Am Vet Med*. 1995;206:1721–8.

Podell M. Seizures in dogs. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*. 1996;26:779–809.

Potschka H, Fischer A, Löscher W, Patterson N, Bhatti S, Berendt M, De Risio L, Farquhar R, Long S, Mandigers P, Matiassek K, Muñana K, Pakozdy A, Penderis J, Platt S, Podell M, Rusbridge C, Stein V, Tipold A, Volk HA. International veterinary epilepsy task force consensus proposal: outcome of therapeutic interventions in canine and feline epilepsy. *BMC Vet Res*. 2015;11:177.

Proschowsky HF, Rugbjerg H, Ersbøll AK. Mortality of purebred and mixed-breed dogs in Denmark. *Prev Vet Med*. 2003;58:63–74.

Riederer F, Bittsanský M, Schmidt C, Mlynárik V, Baumgartner C, Moser E, Serles W. 1H magnetic resonance spectroscopy at 3 T in cryptogenic and mesial temporal lobe epilepsy. *NMR Biomed*. 2006;19:544–53.

Rosenow F, Lüders H. Presurgical evaluation of epilepsy. *Brain*. 2001;124:1683–700.

Rowe CC, Berkovic SF, Austin MC, Saling M, Kalnins RM, McKay WJ, Bladin PF. Visual and quantitative analysis of interictal SPECT with technetium-99m-HMPAO in temporal lobe epilepsy. *J Nucl Med*. 1991a;32:1688–94.

Rowe CC, Berkovic SF, Austin MC, McKay WJ, Bladin PF. Patterns of postictal cerebral blood flow in temporal lobe epilepsy: qualitative and quantitative analysis. *Neurology*. 1991b; 41:1096–103.

Rusbridge C, Long S, Jovanovik J, Milne M, Berendt M, Bhatti SF, De Risio L, Farquhar RG, Fischer A, Matiassek K, Muñana K, Patterson EE, Pakozdy A, Penderis J, Platt S, Podell M, Potschka H, Stein VM, Tipold A, Volk HA. International Veterinary Epilepsy Task Force recommendations for a veterinary epilepsy-specific MRI protocol. *BMC Vet Res*. 2015;11:194.

Saito M, Muñana KR, Sharp NJ, Olby NJ. Risk factors for development of status epilepticus in dogs with idiopathic epilepsy and effects of status epilepticus on outcome and survival time: 32 cases (1990-1996). *J Am Vet Med Assoc*. 2001;219:618–23.

Sakamoto S, Tsuyuguchi N, Takami T, Morino M, Goto T, Hattori H, Tsutada T, Haque M, Sunada I, Shimogawara M, Hara M. Interictal patterns of cerebral glucose metabolism, perfusion, and magnetic field in mesial temporal lobe epilepsy. *Epilepsia*. 2003;44:1196–206.

Sander JW. Some aspects of prognosis in the epilepsies: a review. *Epilepsia*. 1993;34:1007–16.

Scheffer IE, Berkovic S, Capovilla G, Connolly MB, French J, Guilhoto L, Hirsch E, Jain S, Mathern GW, Moshé SL, Nordli DR, Perucca E, Tomson T, Wiebe S, Zhang YH, Zuberi SM. ILAE classification

of the epilepsies: Position paper of the ILAE Commission for Classification and Terminology. *Epilepsia*. 2017;58:512–521.

Schmidt D, Gram. Monotherapy versus polytherapy in epilepsy: a reappraisal. *CNS Drugs*. 1995;3:194–208.

Schriebl S, Steinberg TA, Matiassek K, Ossig A, Fenske N, Fischer A. Etiologic classification of seizures, signalment, clinical signs, and outcome in cats with seizure disorders: 91 cases (2000–2004). *J Am Vet Med Assoc*. 2008;233:1591–7.

Schwartz M, Muñana KR, Nettifee-Osborne J. Assessment of the prevalence and clinical features of cryptogenic epilepsy in dogs: 45 cases (2003–2011). *J Am Vet Med Assoc*. 2013;242:651–7.

Scorza FA, Colugnati DB, Pansani AP, Sonoda EY, Arida RM, Cavalheiro EA. Preventing tomorrow's sudden cardiac death in epilepsy today: what should physicians know about this? *Clinics*. 2008;63:389–94.

Scorza CA, Arida RM, Cavalheiro EA, Scorza FA. Epilepsy research occurrences of sudden death in dogs with epilepsy may be numbered. *Epilepsy Behav*. 2010;19:541–2.

Scorza CA, Cavalheiro EA, Calderazzo L, Scorza FA. Labrador retrievers and SUDEP: a simple theory that may have important applications. *Epilepsy Behav*. 2014;32:27–8.

Scott SJ, Elliot K, Philibert H, Summers BA, Godson D, Singh B, Simko E. An unusual lipomatous brain mass in a Golden Retriever dog. *J Vet Diagn Invest*. 2015;27:772–6.

Seppälä EH, Jokinen TS, Fukata M, Fukata Y, Webster MT, Karisson EK, Kilpinen SK, Steffen F, Dietschi E, Leeb T, Eklund R, Zhao X, Rilstone JJ, Lindblad-Toh K, Minassian BA, Lohi H. LGI2 truncation causes a remitting focal epilepsy in dogs. *PLoS Genet.* 2011;7:e1002194.

Seppälä EH, Koskenen LL, Gulløv CH, Jokinen P, Karlsson-Mortensen P, Bergamasco L, Baranowska Körberg I, Cizinauskas S, Oberbauer AM, Berendt M, Fredholm M, Lohi H. Identification of a novel idiopathic epilepsy locus in Belgian Shepherd dogs. *PLoS One.* 2012;7:e33549.

Shihab N, Summers BA, Benigni L, McEvoy AW, Volk HA. Novel approach to temporal lobectomy for removal of a cavernous hemangioma in a dog. *Vet Surg.* 2014;43:877–81.

Sinder RS, Niemer WT. Stereotaxic atlas of the cat brain. The University of Chicago Press, Chicago. 1961.

Smith Bailey K, Dewey CW. The seizing cat. Diagnostic work-up and therapy. *J Feline Med Surg.* 2009;11:385–94.

Smith SH, Van Winkle T. Cerebral vascular hamartomas in five dogs. *Vet Pathol.* 2001;38:108–12.

Spencer S, Huh L. Outcomes of epilepsy surgery in adults and children. *Lancet Neuro.* 2008;7:525–37.

Stöllberger C, Finsterer J. Cardiorespiratory findings in sudden unexplained/unexpected death in epilepsy (SUDEP). *Epilepsy Res.* 2004;59:51–60.

Surges R, Thijs RD, Tan HL, Sander JW. Sudden unexpected death in epilepsy: risk factors and potential pathomechanisms. *Nat Rev Neurol.* 2009;5:492–504.

Sutula TP and Kotloski RJ. Kindling: A Model and Phenomenon of Epilepsy. In: Pitkänen A, Buckmaster PS, Galanopoulou AS, Moshé SL (Eds.). *Models of Seizures and Epilepsy*, 2nd ed. Elsevier Ac Press, San Diego. 2017. pp. 813–25.

Suzuki H, Sumiyoshi A, Matsumoto Y, Duffy BA, Yoshikawa T, Lythgoe MF, Yanai K, Taki Y, Kawashima R, Shimokawa H. Structural abnormality of the hippocampus associated with depressive symptoms in heart failure rats. *Neuroimage*. 2015;105:84–92.

Szabó CÁ, Salinas FS. Voxel-based morphometry in epileptic baboons: Parallels to human juvenile myoclonic epilepsy. *Epilepsy Res*. 2016;124:34–9.

Talairach J, Tournoux P. *Co-planar stereotaxic atlas of the human brain*. Thieme, Stuttgart. 1988.

Tamura M, Hasegawa D, Uchida K, Kuwabara T, Mizoguchi S, Ochi N, Fujita M. Feline anaplastic oligodendroglioma: long-term remission through radiation therapy and chemotherapy. *J Feline Med Surg*. 2013;15:1137–40.

Tanaka T, Tanaka S, Fujita T, Takano K, Fukuda H, Sako K, Yonemasu Y. Experimental complex partial seizures induced by a microinjection of kainic acid into limbic structures. *Prog Neurobiol*. 1992;38:317–34.

Tang Y, Yu X, Zhang X, Xia W, Wu X, Zou X, Li H, Huang X, Stefan H, Chen Q, Gong Q, Zhou D. Single-dose intravenous administration of antiepileptic drugs induces rapid and reversible remodeling in the brain: Evidence from a voxel-based morphometry evaluation of valproate and levetiracetam in rhesus monkeys. *Neuroscience*. 2015;303:595–603.

Tapp PD, Head K, Milgram NW, Muggenburg BA, Su MY. Application of an automated voxel-based morphometry technique to assess regional gray and white matter brain atrophy in a canine model of aging. *Neuroimage*. 2006;29:234–44.

「てんかん治療ガイドライン」作成委員会編著. 『てんかん治療ガイドライン 2010』日本神経病学会監修, 医学書院. 2010.

Thivard L, Lehericy S, Krainik A, Adam C, Dormont D, Chiras J, Baulac M, Dupont S. Diffusion tensor imaging in medial temporal lobe epilepsy with hippocampal sclerosis. *Neuroimage*. 2005;28:682–90.

Thivard L, Adam C, Hasboun D, Clémenceau S, Dezamis E, Lehericy S, Dormont D, Chiras J, Baulac M, Dupont S. Interictal diffusion MRI in partial epilepsies explored with intracerebral electrodes. *Brain*. 2006;126:375–85.

Thomovsky SA, Packer RA, Burcham GN, Heng HG. Imaging diagnosis-magnetic resonance imaging features of metastatic cerebral lymphoma in a dog. *Vet Radiol Ultrasound*. 2011;52:192–5.

Tipold A. Diagnosis of inflammatory and infectious diseases of the central nervous system in dogs: a retrospective study. *J Vet Intern Med*. 1995;9:304–14.

Wagner E, Rosati M, Molin J, Foitzik U, Wahle AM, Fischer A, Matiassek LA, Reese S, Flegel T, Matiassek K. Hippocampal sclerosis in feline epilepsy. *Brain Pathol*. 2014;24:607–19.

Wahle AM, Brühshwein A, Matiassek K, Putschbach K, Wagner E, Mueller RS, Fischer A. Clinical characterization of epilepsy of unknown cause in cats. *J Vet Intern Med*. 2014;28:182–8.

Walker AE. Temporal lobectomy. *J Neurosurg.* 1967;26:642–9.

Wehner T, Lapresto E, Tkach J, Liu P, Bingaman W, Prayson RA, Ruggieri P, Diehl B. The value of interictal diffusion-weighted imaging in lateralizing temporal lobe epilepsy. *Neurology.* 2007;68:122–7.

Weissl J, Hülsmeier V, Brauer C, Tipold A, Koskinen LL, Kyöstillä K, Lohi H, Sauter-Louis C, Wolf M, Fischer A. Disease progression and treatment response of idiopathic epilepsy in Australian Shepherd dogs. *J Vet Intern Med.* 2012;26:116–25.

Wellard RM, Briellmann RS, Prichard JW, Syngeniotis A, Jackson GD. Myoinositol abnormalities in temporal lobe epilepsy. *Epilepsia.* 2003;44:815–21.

Wessmann A, Volk HA, Parkin T, Ortega M, Anderson TJ. Evaluation of quality of life in dogs with idiopathic epilepsy. *J Vet Intern Med.* 2014;28:510–4.

Wichert-Ana L, Velasco TR, Terra-Bustamante VC, Araújo D Jr, Júnior VA, Kato M, Leite JP, Assirati JA, MacHado HR, Bastos AC, Sakamoto AC. Typical and atypical perfusion patterns in perictal SPECT of patients with unilateral temporal lobe epilepsy. *Epilepsia.* 2001;42:660–6.

Wichert-Ana L, Velasco TR, Terra-Bustamante VC, Alexandre V Jr, Guarnieri R, Walz R, Kato M, Araújo WM, Carlotti CG Jr, Araújo D, Carlos Dos Santos A, Sakamoto AC. Ictal chronology and interictal spikes predict perfusion patterns in temporal lobe epilepsy: a multivariate study. *Seizure.* 2004;13:346–57.

Wieshmann UC, Clark CA, Symms MR, Barker GJ, Birnie KD, Shorvon S.D. Water diffusion in the human hippocampus in epilepsy. *Magn Reson Imaging.* 1999;17:29–36.

Wirestam R, Ryding E, Lindgren A, Geijer B, Ostergaard L, Andersson L, Holtås S, Ståhlberg F. Regional cerebral blood flow distributions in normal volunteers: dynamic susceptibility contrast MRI compared with 99m Tc-HMPAO SPECT. *J Comput Assist Tomogr.* 2000;24:526–30.

Wu RH, Bruening R, Noachtar S, Arnold S, Berchtenbreiter C, Bartenstein P, Drzezga A, Tatsch K, Reiser M. MR measurement of regional relative cerebral blood volume in epilepsy. *J Magn Reson Imaging.* 1999;9:435–40.

Xing W, Wang X, Xie F, Liao W. Application of dynamic susceptibility contrast-enhanced perfusion in temporal lobe epilepsy. *Acta Radiol.* 2013;54:107–12.

Young BD, Levine JM, Porter BF, Chen-Allen AV, Rossmeisl JH, Platt SR, Kent M, Fosgate GT, Schatzberg SJ. Magnetic resonance imaging features of intracranial astrocytomas and oligodendrogliomas in dogs. *Vet Radiol Ultrasound.* 2011;52:132–41.

Zabara J. Time course of seizure control to brief, repetitive stimuli *Epilepsia.* 1985a;26, 518.

Zabara J. Peripheral control of hypersynchronous discharge in epilepsy. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology* 1985b;61:S162.

Zimmermann R, Hülsmeier V, Sauter-Louis C, Fischer A. Status epilepticus and epileptic seizures in dogs. *J Vet Intern Med.* 2009;23:970–6.