

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 溝 口 俊 太

てんかんは、人医療および獣医療において最も一般的な脳疾患の一つであるが、ネコの特発性てんかんの発生は極めてまれであり、ネコの素因性（遺伝性）てんかんに該当する報告はこれまでになかった。しかし、2009年に Kuwabara と Hasegawa らによって常染色体劣性遺伝発症が推測されている家族性自然発症性てんかんネコ（FSEC）が確認された。FSEC は、ヒトの内側側頭葉てんかん（MTLE）のモデルであるネコキンドリング／カイニン酸モデルと酷似した自発性の辺縁系発作および二次性全般化、さらには EL マウスと酷似した誘発性の全般性強直間代性発作の 2 つの発作型を有していることから、FSEC も同様にヒト MTLE モデルと考えられる。Lüders らは、てんかん原性領域を含む以下に示す 6 種類 of てんかん脳 of 異常領域 of 存在を提唱している。すなわち、①構造異常域：高磁場 MRI などの形態的な画像診断法で明らかとなる病変自身もしくは隣接した領域 of 過剰興奮により、てんかん発作 of 原因となりうる肉眼的病変、②機能欠落域：機能的 MRI（拡散強調画像、灌注強調画像）などの機能画像などの検査で明らかとなる発作間欠期において機能的に正常ではない領域、③脳波異常域：主に脳波によって評価される発作間欠期に突発性異常波が認められる領域、④発作起始域：主に脳波によって検出される発作 of 起始する領域、⑤症状発現域：発作初期 of 臨床症状または兆候から鑑別する領域、⑥てんかん原性領域：てんかん発作を惹起するのに必要で、切除すれば発作が抑制できる領域、である。しかしながら、これらの異常領域は必ずしも同一部位とは限らず、その相互関係も個々によって異なっている。申請者は、これらてんかん異常領域 of 概念をもとに、FSEC におけるてんかん原性領域 of 同定および病態解析について、電気生理学的および画像診断学的、そして病理組織学的手法を用いて検討した。本論文は、第 1 章に序論、第 2 章で慢性深部脳波解析を、そして第 3 章と第 4 章では高磁場 MRI を用いた海馬 of 3 次元容積測定と海馬および扁桃核を含む大脳における機能的画像解析を、さらに第 5 章では先

の研究からてんかん原性領域と示唆される海馬および扁桃核の病理組織学的解析を行い、最後に第 6 章を総括としてとりまとめられている。

1. FSEC における慢性深部脳波解析（第 2 章）

てんかんの病態解析の基礎として重要な脳波記録によるてんかん焦点部位（てんかん原性領域）の局在診断を目的として 5 頭の FSEC を用いて、定位的な深部電極の設置とその後の長期間ビデオ脳波モニタリングにより発作時脳波を記録した。その結果、全 54 回の subclinical および clinical な自発性の発作活動を捉え、扁桃核および海馬における症状発現域および発作起始域を同定した。しかしながら、これら subclinical および clinical な焦点性発作活動における焦点の局在と側方性は個体毎で異なる結果であった。

2. 高磁場 MRI を用いた FSEC における海馬の 3 次元容積測定：経時的な海馬容積変化（第 3 章）

MRI を用いた海馬容積測定は、ヒトの MTLE 患者における海馬萎縮やてんかん原性領域の側方性の検出に有用であり、海馬硬化の診断および非侵襲的な術前評価法として一般的に用いられている。本章では、MRI を用いた海馬容積測定によって FSEC の構造異常域を検出するとともに経年的な海馬容積の変化についても検討を行った。その結果、コントロール群との比較において FSEC 群の海馬容積の左右差は有意に大きかった。また FSEC 群の縮小側海馬容積は、コントロール群の片側海馬容積と比較して有意に低下していた。また 2 年間隔（計 3 回）の経時的な FSEC10 頭の海馬容積測定では、有意差は認められなかったものの、海馬容積の経年的な減少傾向および左右差の拡大傾向が認められた。これらの結果より、FSEC における海馬での構造異常域の存在が確認され、萎縮側海馬の特定は非侵襲的な焦点診断として有用であると考えられた。

3. 高磁場 MRI を用いた FSEC における Diffusion・Perfusion MRI を用いた機能的画像解析：発作間欠期および発作直後の変化（第 4 章）

てんかんにおける非侵襲的焦点診断法としての脳機能画像の意義は、電気生理学的評価や形態的評価とは異なる側面から、てんかんの病態および脳機能を評価し、これらの情報を補完することである。本章では、**Diffusion** および **Perfusion MRI** の手法を用いて **FSEC** における発作間欠期のパラメータの検討を行った。また誘発発作を有する一部の **FSEC** 個体において、発作直後の撮像を実施し、発作間欠期と発作直後のパラメータの変化についても比較検討を行った。その結果、**Diffusion MRI** では、発作間欠期に海馬および扁桃核における有意な拡散性の上昇と異方性の低下を認め、これらの領域における細胞外腔の拡大など微少な組織構造の変化が推察された。一方、**Perfusion MRI** では、海馬、扁桃核および大脳皮質における低灌流が認められ、これらの領域における機能欠落域の存在が示唆された。発作直後には、発作活動およびその伝播による影響を示唆する海馬および扁桃核を中心とした低拡散・高灌流が確認され、頭蓋内脳波での海馬および扁桃核における発作起始と一致し、**Diffusion** および **Perfusion MRI** は、発作間欠期には機能欠落域の存在を示し、また発作直後には発作焦点における発作活動を反映している可能性があり、非侵襲的焦点診断法としても有用であると考えられた。

4. **FSEC** における海馬および扁桃核における病理組織学的解析（第 5 章）

本章では、**FSEC** ホモ群および少数のヘテロ群（てんかん発症個体の親）の海馬において、ヒト **MTLE** における海馬硬化（**HS**）所見である海馬および扁桃核における神経細胞数とグリオシスの評価、そして海馬の顆粒細胞層の乖離現象（**GCD**）および苔状線維の発芽（**MFS**）について検討した。その結果、両群の海馬および扁桃核において、広汎な神経細胞の減少を認めたが、グリオシスを伴わず、ヒト **MTLE** で認められる典型的な **HS** 所見とは合致しなかった。また **FSEC** ホモ群では **MFS** は認めなかったが、**HS** に特徴的な海馬 **CA4** における神経細胞の脱落を伴わないグリオシスと **GCD** 様所見が認められた。**FSEC** 群におけるグリオシスを伴わない神経細胞数の減少に示される海馬異常は、ヒト家族性 **MTLE**（**FMTLE**）と同様に典型的な **HS** とは異なる海馬の形成異常の可能性が示唆された。

以上、本論文では、FSEC におけるビデオ深部脳波記録では海馬および扁桃核での発作起始域および症状発現域を明らかにし、海馬容積測定では海馬の構造異常域を、そして機能画像によって海馬・扁桃核の機能欠落域を明らかにした。そして、病理学的にも海馬および扁桃核における神経細胞数の減少を証明した。このことから FSEC のてんかん原性領域は海馬・扁桃核に存在することが示唆され、それはヒト MTLE と相同であることが証明された。今後、FSEC のてんかん原性領域を実証するには、これらの領域を外科的に切除し、発作の根治が可能であるか示す必要がある。

また、FSEC はヒト FMTLE と同様に不均一な表現型を有し、また無症候性個体においても発症個体と同様に海馬の形成異常などを有することから、特にヒト FMTLE のモデルとなりうると考える。また、ヒト FMTLE もその多様な表現型ゆえに、現在のところ原因遺伝子は特定されていない。FSEC におけるてんかん発生機序の解明は、獣医学および人医学にわたり、種を越えて共通するてんかんの病態解析の一端を担うものと考ええる。

以上のように、本論文は世界で唯一のネコ素因性てんかんのてんかん原性領域を示唆し、かつヒトの MTLE、特に稀な FMTLE のモデルとなり得る可能性があるなど学術上、応用上貢献するところが少なくない。

よって審査委員一同は、本論文が博士（獣医学）の学位論文として十分な価値を有するものと認め、合格と判定した。