

## “Kindling”

Goddard, G. V., McIntyre, D. C., and Leech, C. K. :

眼の反復電気刺激による永続的大脳機能変化の成立機序

Goddard, G. V., McIntyre, D. C., and Leech,  
C. K. : A permanent change in brain function  
resulting from daily electrical stimulation.  
Exper. Neurol., 25 : 295-330, 1969.

訳：大沢 武志（黒石市・黒石あけぼの病院）

キンドリング（燃え上がり）現象がヒトのてんかんを研究するうえに格好な実験モデルとして高い評価を受けていることは衆知のところである。この論文は、Goddard が1967年にキンドリング効果について、Nature にはじめて発表して以来の研究を綿密に整理し、キンドリング効果の特性を明確に規定できた段階で発表したものである。ここにはキンドリング現象のほとんどの基本的特性が記載されつくされているといっても過言でない。刺激条件の与える影響、刺激部位の感受性の差異、転移現象、干渉現象、自発発作の出現、種族別のキンドリング効果の相違などなどである。因に、キンドリングという用語はこの論文ではじめて使用されている。本論文が発表されてから既に10数年経ているが、キンドリング現象に関心を抱く研究者にとっては本論文はバイブルとして、なお、光を失っていない。

Goddard は、この実験の初期の頃を回想して興味あるエピソードを述べている。彼は当時、ネズミの学習実験をしており、扁桃核を微弱電流で刺激するときの学習に及ぼす影響を調べていたらしい。ネズミのなかに学習成績がなかなかあがらないのがいたので扁桃核を反復刺激してみた。そしたらけいれんが出現した。当時は学習実験に専念していたので、この実験と異質なこの微弱電流の反復刺激効果には気を止めなかった。その後、足の電撃ショックによる学習実験を行っていて、たまたま装置の故障で、足の電撃ショックのたびに同時に扁桃核を強い電流で反復刺激することになった。ここでもけいれんが生じた。ところが改めて扁桃核を強い電流で刺激しても1回ではけいれんが生じなかった。この時にはじめて刺激反復の不思議さに魅せられて、以後キンドリング研究の虜となったという。

最近のキンドリング研究は、専ら、その発現機序をめぐって諸分野から究明がなされているがこのことについて Goddard は、経シナプス性変化によるけいれん回路の成立であることをこの論文ですでに想定している。

大脳を毎日一回、短時間であるが刺激強度を一定にして電気刺激すると、初回刺激時には軽微な行動変化が見られるだけで脳波に後発射も出現しないが、刺激の反復とともに徐々に刺激効果が増強して、てんかん発作波、自動症さらには両側間代性けいれんが見られるようになる。その後は刺激のたびに全身けいれんが出現した。刺激は双極刺激である。このような刺激効果の増強は、大脳辺縁系ならびにそれと関連をもつ脳部位で見られただけで、その他の脳部位では生じなかった。刺激条件の吟味と対照例との比較検討により、このような刺激効果の変化は、あくまでも電気刺激により惹起されたものであり、脳組織破壊、刺入電極の機質による組織中

毒、脳浮腫、グリコーシスなどによるものでないことが立証された。かようにして形成された脳機能の変化は永続性であり、経シナプス性変化であることが分った。刺激休止時間を短縮した頻回刺激法を行うと、けいれんは寧ろ起り難くなり、究極のところ、刺激休止時間を24時間前後として24時間に1回、つまり1日に1回刺激する条件が最も効果的であり、けいれん発現までの所要刺激回数が少なくてすむことを認めた。一方、刺激休止時間をさらに延長しても、初回のけいれんの発現までの所要時間は24時間間隔と大差がなかった。刺激強度のパラメーターをいろいろ変えてみた結果、けいれん発作形成の機序は、単に脳のけいれん閾値の低下によるものでなく、新たに再構成された複雑な大脳機能の変化を背景にして成り立つものと考えられる。大脳辺縁系の離れた2ヵ所に電極を植え込み、第1次電極部位でけいれんを発現させたあとに第2次電極部位を刺激すると、第2次電極部位の刺激によるけいれん形成は早まることを認めた。しかし一方、第2次電極部位でけいれんを発現させたあとにふたたび第1次電極部位の刺激を再開すると、第1次電極部位の既得したけいれん特性が変化してけいれんが起り難くなる現象も認めた。

## いとぐち

頭部外傷の回復後にてんかん発作が発現することがあるが、原因となる頭部の受傷から初回のてんかん発作発現までには数ヵ月から数年におよぶ潜伏期間がある。Morrell は、この外傷てんかんの発現機序について、これは神経組織に全く異質の特異な病態が新たに生じたものではなく、中枢神経系が本来もっている生理的機能が単に異変をきたしたにすぎない現象であると述べている。かような続発するてんかんを研究することは、ひいては中枢神経系の機能を解明する糸口をみいだす一助となる。

アルミナクリームを大脳皮質に局所投与するとてんかん焦点が出来ることが報告されてから、いろいろな物質の局所投与で、潜伏期には長短があるものの、焦点性てんかん発作波が発生することが分って来た。この発作波は、他領域に伝播して時にはけいれんが生じる。このような化学物質の投与ならびに大脳皮質冷却法によるてんかん焦点の形成の機序はいまだ不明である。

従来のこれらけいれん物質局所投与方法による慢性実験てんかん研究法では、実験条件を正確に規定したり、任意に調整できない難点があった。Goddard は、電気刺激を毎日短時間反復する方法を報告したが、この方法では実験条件の設定が任意に可能である。弱い電気刺激を皮質下組織に何日間もしくは何週間のあいだ反復通電するとけいれんが生じる。Delgado や Sevil-lano らは、猫の脳を電気刺激し後発射を反復して誘発させると、後発射が脳内に伝播し拡大してゆくことをみたが、これはわれわれがネズミで得た実験結果と同様の成績である。われわれは、この他にも新たな知見を得たが、何はともあれ、電気刺激法は刺激部位を正確に同定することが可能であり、刺激条件を容易に任意に調整できる利点をもつ。

本論では、てんかん発作波が出現する場合の大脳の機能変化の機序について言及するつもりである。これまで述べてきたような電気刺激の反復により、大脳に機能変化を起す現象をキンドリング効果 (Kindling effect) と呼ぶことにする。キンドリング効果の成立にかかわる解剖学的要因ならびに実験条件の諸相を明らかにする目的で5つの実験を行ったが、その実験方法と成績を逐次述べていくことにする。

## 実験方法

対象動物はネズミ、ネコ、赤毛ザルである。Woodlyn 飼育場（オンタリオ州）から取り寄せた雄・雌あわせて約500匹の Wistar 白ネズミを鋼鉄製のケージで飼育して、手術時の体重は200～350gであった。赤毛ザル（*macaca mulata*）6匹の手術時体重は3～4kgの成猿であり、実験期間のあいだはモンキー椅子に拘束しておいた。ネコの実験は本論文の執筆中に行われたものである。

刺激電極の材質はステンレス鋼線、ニクロム、プラチナであり、これを Diamel とテフロンで絶縁した双極電極を用いた。絶縁はさらに Insl-x ないし EpoxyLite で1ないし2層上塗りして確実にした。電極植込み手術はネブタール麻酔下で行い、電極はステンレス鋼製螺子と歯科用セメントで頭蓋骨に固定した。ネズミは1週間、ネコとサルは1ヵ月、それぞれ術後の回復期間をおいて実験を開始した。

実験を終えた動物は、ネブタール麻酔下で生理食塩水と10%ホルマリンで灌流を行い、剔出した脳は3日間以上は10%ホルマリンに固定して、その後は凍結させて40 $\mu$ 凍結切片を作った。電極近辺の切片にはチオニンないし Weil 染色をほどこした。電極の短絡ないし絶縁ミスは、植込み手術前と脳剔出後に検索した。頭蓋骨に接している電極に1ないし数ヵ所の絶縁ミスが見つかったが、電極を除去するときに生じたものと確認されたため、その実験資料は採用した。

## 実験結果

**主要実験成績：**5項目の実験成績を詳述するまえに、まず、キンドリング効果の基本的な実験方法とその主要成績を述べることにする。以下に述べる範例は、成熟したネズミの扁桃核に双極電極を植込み刺激したものの成績である。

術後1週間目に刺激を開始した。刺激は毎日1回、62.5Hz、1msec のパルス巾、75 $\mu$ A の二相性刺激波を1秒間通電するもので、毎日の刺激前後に行動観察と脳波記録を施行した。初回の刺激では、なんら行動変化がみられず後発射も出現しなかった。7日目の刺激後に自発行動の停止、刺激側の眼瞼けいれん、咀嚼運動の自動症が数秒つづいて見られた。これら自動症の出現する頃に背部のゆすり動作（back shaking）が認められた。後発射と行動変化が初発するまでの所要刺激回数は必ずしも同一ではなく、後発射は通常7日目の刺激で初発した。後発射は高振幅律動波であり、数秒持続する。この持続するあいだに周波数が5Hz から1Hz と変動した。

両側間代性けいれんは2週目の終り頃に出現した。けいれんは、刺激開始15秒後からはじまり約7秒間持続した。けいれん時には、背のびするように後肢で立ちあがり、尾を下げ、時に体のバランスを失うこともあるが、顔面のけいれんと前肢のけいれんがみとめられた。前肢のけいれんははじめ対側肢に、つづいて両肢に広がったが、後肢のけいれんは稀に見られるだけであった。けいれんの終り頃になると、動物は仰向けに倒れたまま無動となった。けいれんが終熄したあとでも、棘波の孤発や短い発作波の群波が1ないし2分間限局して発現することもあった。

その後、刺激のたびにけいれんが発現したが、併せてけいれん発現するまでの潜伏時間が短

縮し、けいれん持続時間が延長するようになった。この刺激終了からけいれん発現までの潜伏期間とけいれん持続時間は、けいれん10回目を迎える頃よりほぼ一定となり、前者はおおよそ5秒、後者は20秒となった。けいれんは間代性けいれんであり、ストリキニンけいれん、メトラゾールけいれん、高電圧耳弁通電による電撃けいれんにみる強直性伸展性けいれんはみられなかった。

けいれんは刺激のたびに必発したが、刺激をせずに起る自発けいれん発作は生じなかった〔註〕。刺激強度を減じてけいれん誘発に必要な最小の刺激閾値を決定することが出来たが、なかには $5\mu\text{A}$  ないしそれ以下のごく低い閾値を示す動物もいた。

刺激電極の先端に極小の脳破壊巣をつくと、刺激してもけいれんが生じない。因みに、直径 $0.5\text{mm}$ 以下の破壊巣であってもけいれんは皆無となり、高電流を用いない限りけいれんは生じなかった。

.....  
〔訳者註〕その後の諸家の研究により、キンドリングの刺激で自発発作が発現することがネズミ、ネコ、犬、霊長類などで確認されている。  
.....

#### 実験 I. 刺激効果に及ぼす解剖学的要因

294匹のネズミに1匹に1本の双極電極を植込み、両側間代性けいれんが発現するまで毎日一回の刺激を繰り返した。刺激を200回以上つづけてもけいれんが出現しない脳部位は、刺激効果陰性部位とした。

標準刺激条件は、60 Hz 正弦波を60秒間通電するもので、刺激強度は $50\mu\text{A}$ とした。両側間代性けいれんないし強直間代性けいれんだけをけいれんの指標と定め、しばしばけいれんに先行する自動症などは発作症状の指標としなかった。ネズミでは、この発作症状の区別は常に容易に行うことが出来た。

実験成績：初回刺激で約半数の動物になんらかの行動変化がみられた。行動変化には、大方は短時間の行動停止とか行動増多もしくは一側への体の回旋といった軽微なものであった。脳幹刺激にみられる行動変化は極めて激しいもので、完全な自動運動の停止、呼吸促進、甲高い叫声、疾走などであったために、刺激強度をさげて刺激反応を弱めたものもある。赤核刺激の2匹でも激しい回旋運動がみられたために刺激強度を減じた。しかし大方の場合は、中脳と脳幹部刺激では標準刺激法を施行した。

初回のけいれんが発現するまでの所要刺激回数と刺激電極部位の関係は図(略)に示したが、キンドリング効果陰性の脳部位がかなりある。効果陽性の脳部位でも刺激反応性に差が認められる。キンドリング効果陽性の部位は、嗅球から中隔野と海馬を含めた内側嗅領の嗅脳一辺縁系である。扁桃核が刺激回数が最も少なく平均15回であり、扁桃核を構成する諸核群では差を認めなかった。

辺縁系と密接な関連をもつ錐体外路系運動路の諸核でも陽性効果が得られたが、とりわけ淡蒼球は反応性が高い部位であった。一方、尾状核一被殻では反応がまちまちであり、陽性効果が30回以内で見られるところ、更に多くの刺激回数を必要としたところ、全く陰性効果に終わったところとあった。尾状核一被殻におけるこのような刺激効果の解剖学的部位差をどのように説明してよいかは今のところ分らない。

赤核、黒質や小脳などを含めて下位錐体外路系神経核の刺激効果は陰性である。脳幹網様体、中心灰白質、被蓋腹側部 (Tsai)、中脳蓋 (tectum) も陰性である。

前頭部皮質背側部も反応性が高い部位であり、初回の刺激からけいれんが生じた。このように初回からけいれんが発現した部位は他にない。この場合のけいれんは、はじめに強直性伸展ないし強直性姿勢変化があって、次いで間代性けいれんが出現した。潜伏時間も1秒以内と短く、既述したけいれんとは相違するものであった。この反応性の高い領域を30匹のネズミについて吟味したところ、大脳皮質24、10、60領野が近接している部位で帯状束が走っている所であった。ここはまた、前帯状回野に近接し前中心回転無顆粒皮質野の後縁部に相当している。この部位は、1部を除けば辺縁系前野と呼称されているところでもある。初回刺激でけいれんが発現した2ヵ所は脳梁線維に近接した部位でもあった。

大脳皮質のその他の背側部と外側部の刺激反応は未だ詳細な検討を行っていない。陽性効果を示すところが数ヵ所あるが、多くは陰性と推測される〔註〕。錐体路の内包部と大脳脚も陰性部位であった。

視床では、汎性投射系核群ならびに中継核群が陰性であった。正中核群、髄板内核群については十分に検討していない。腹側核前部 (N. ventralis anterior) と前核 (N. antero ventralis) では陽性反応が得られたが、これらは解剖学的に辺縁系と連絡がある部位である。

〔訳者註〕 諸家の研究により、所要刺激回数に多寡の差はあるものの、大脳皮質いずれの部位でもキンドリングけいれんが発現されることが認められている。

陽性効果が得られた部位は概して神経核群であったが、唯一の例外として分界条と脳弓に電極が刺入されていた場合にも認められた。采 (fimbria)、脳梁、前交連などの神経線維でも各々1例づつけいれんが出現した。陽性効果が得られた脳部位は第1図にみるごとくであるが、

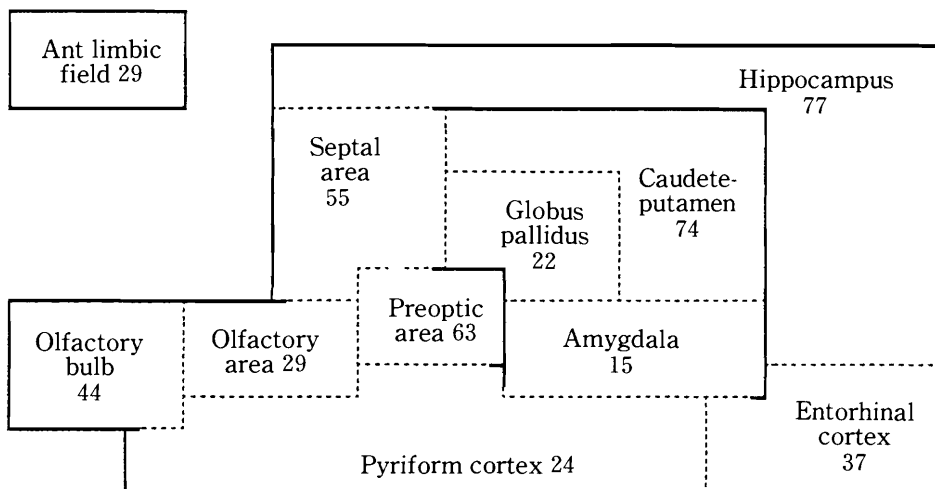


図 1. キンドリング効果の発現した主要な部位。辺縁系前野のけいれんが他領野のけいれんと異質であったことで色別けた。数字は初回けいれん発現時の平均所要刺激回数である。

それは大きく辺縁系前野と嗅脳—辺縁系部とに分けることができる。両者はけいれんの症状によって区別される。前者のけいれんは強直間代性けいれんであり、刺激後けいれんが発現するまでの潜時が短い。一方、後者のけいれんは間代性であり潜時が長い。

嗅脳—辺縁系部のなかでは、扁桃核が最も所要刺激回数が少なくてけいれんが発現する部位である。扁桃核群と連絡をもつ部位は、解剖学的な関連の深さの度合に応じて所要刺激回数が増減している。

## 実験 II. 刺激効果の永続性

キンドリング効果にみる機能変化が一過性的なものか永続的なものかという疑問がある。初期の研究で、2、3、4、6週間刺激を休止してもキンドリング効果が消失しないことを認めている。ここでは、12週間刺激を休止して再刺激を試みた成績をのべる。

刺激方法は標準法である。キンドリングけいれんが発現したあと、閾値電流を決めて12週間の休止期間を置いた。休止のあと、既定の閾値電流で15秒間、けいれんが生じない場合は刺激強度をあげて最終的には50 $\mu$ A、60秒間の標準刺激法まで強度をあげて再刺激した。通常、4日以内で再刺激によるけいれんが出現した。

実験成績：ネズミ24匹のうち23匹が両側間代性けいれんを再現した。3匹は閾値電流を用いて初回刺激で、5匹は50 $\mu$ A以下の刺激電流で、残り15匹は標準刺激法で5日以内にけいれんを起した。表1は電極部位ごとのキンドリング再刺激効果をまとめたものである。再刺激でけ

表 1. 12週間刺激休止後の既成のキンドリング  
けいれんの再現性

No.	Structure	Days to kindle	Days to rekindle
2	Olfactory bulb	49	3
1	Preoptic	24	5
3	Amygdala	16	4
1	Fimbria/stria terminalis	90	4
5 b	Hippocampus	50	7
3	Entorhinal	54	5
2	Septal	39	3
4	Caudate	28	3
2	Frontal cortex	20	1

b) 再キンドリング効果を示さない1例を含む。

いれん発現しなかった1匹の電極は、歯状回背側部の深部で殆ど視床に達するところにあった。

以上の成績から、キンドリング再刺激によってけいれんが再現することが確認された。再刺激によるけいれん発現までの所要刺激回数は4.2回であった。因に、はじめのキンドリング刺激でけいれんが発現するまでの平均所要刺激回数は39.3回であるから、再刺激では約9割減の回数となる。このことは、刺激効果が少なくとも3ヵ月間は存続していたことを示唆している。

### 実験 III. 刺激条件がキンドリング効果に与える影響

刺激条件がキンドリング効果に与える影響を3通りの方法で検討した。第1群は至適なけいれん誘発周波数 (triggering threshold) を検討するもので、頻回にキンドリングけいれんを起させたあとに、けいれん誘発閾値を決め、次いで刺激電流の周波数をいろいろと変えて至適なけいれん誘発周波数を求めた。第2群は、刺激条件(刺激強度、刺激電流の性状、刺激持続時間)とけいれんが初発するまでの所要刺激回数を、第3群では標準刺激法を用いて刺激間隔を連日刺激から数日間隔までと変えて刺激間隔の影響をみた。刺激電極部位はいずれの場合も扁桃核とした。

**刺激電流周波数の影響**：50 $\mu$ A の刺激電流を毎日1回通電し、けいれんが15回起した時点でけいれん閾値を決定した。この場合の刺激電流周波数(キンドリング周波数)は25 Hz、60 Hz、150 Hz である。さて、この閾値電流を用いて5種類の周波数ごとのけいれん発現率、次いで刺激電流を4種類に変えてみて同じく5種類の周波数ごとのけいれん発現率をみるということで、1匹のネズミについて計20種類の試験を繰り返してみた。用いた5種類の周波数は10 Hz、25 Hz、60 Hz、150 Hz、200 Hz であり、これをけいれん誘発周波数 (triggering frequency) と呼ぶことにする。

図(略)は正弦波電流で刺激した33匹の成績である。至適なけいれん誘発周波数は約60 Hz である。二相性矩形波を使用しても同様の周波数となった。周波数が高頻度になるとけいれん発現率は減少する。30 Hz は60 Hz と同調であるので60 Hz のような効果を期待したが、25 Hz と略々同一の結果となった。

至適なけいれん誘発周波数は、キンドリング周波数の25 Hz、60 Hz、150 Hz のあいだで差がなかった。つまり、至適なけいれん誘発周波数というものは、それとは周波数の異なるキンドリング周波数で長期間刺激しても影響を受けないことがわかる。

**刺激諸条件のキンドリング進展に及ぼす影響**：けいれんが初発するまでの所要刺激回数をキンドリング周波数25 Hz、60 Hz、150 Hz で比較すると、これらのあいだに統計上有意差がなかった。正弦波と1 msec 矩形波との比較、刺激持続時間60秒と1秒との間にも差はなかった。

図(略)は、扁桃核刺激によって両側間代性けいれんが初発するまでの刺激回数が、刺激電流強度を50 $\mu$ A から10 mA まで上げてても一様に10日から15日以内の値をとることを示している。また、刺激持続時間が1秒でも60秒でも同じである。ただし、刺激強度を極端に強めると即座に発作波が発現することは当然である。要するに、全身けいれんが発現するためには、発作波が脳内に全汎性に伝播する必要がある、そのためにはキンドリング刺激が必要であるということになる。

初回刺激からけいれんを呈したネズミが2匹いた。1匹は1 mA、もう1匹は5 mA の刺激電流を用いた。この時のけいれんはキンドリングけいれんと異質であり、けいれん発現までの潜時が短く、強直性けいれんであり、恰も強い耳弁間通電による電撃ショックけいれんに似たものであった。残りのネズミは、いずれも数日間の刺激を反復したあとでけいれんが発現した。

組織的検索により、強電流刺激のネズミでは電極光端部に組織破壊をみとめ、刺激持続時間が1秒より60秒と長い方が破壊巣が広範囲であった。

**閾値下刺激**：これまでの成績は閾値上刺激を用いた場合のものであるが、閾値下刺激も行った。刺激未経験のネズミ17匹に、毎日1回、まずはじめに閾値下刺激を30日間行い、その後は有効な刺激条件に切換えて刺激した。

閾値下刺激条件は、 $2\mu\text{A}\cdot 62.5\text{Hz}\cdot 1\text{msec}$  二相性パルス波を1秒間通電（7匹）と  $75\mu\text{A}\cdot 3\text{Hz}\cdot 1\text{msec}$  二相性パルス波を60秒間通電（10匹）の2種類であり、これを30日間反復した。結果はけいれんも後発射も出現しなかった。

**刺激間隔の影響：**キンドリング効果の進展は、適正な刺激条件で1日1回刺激を反復するがぎり、刺激電流の条件にあまり影響されないことが明らかとなった。しかし一方、刺激の間隔がキンドリング形成に大きな影響を与えることが分った。2ないし3日間連続して刺激する群（10匹）、5分、10分、20分間隔で60秒間刺激する群、8時間、12時間、24時間間隔で刺激する群、7日に1回で1分間刺激する群（5匹）を用意した。

連続刺激群では、50時間ないし75時間のあいだ電流を一定にして刺激しつづけた。短時間刺激群では刺激を1分間つづけ、そのあと5分ないし10分間刺激を休止するという刺激条件で700回繰り返した。

刺激間隔が10分ないしそれ以下の短時間の大量刺激法では刺激に対する順応化が生じた。連続刺激の場合は、刺激を開始してはじめての1時間以内に行動変化がみられ、間歇刺激では、はじめの30回ないし40回までに行動変化がみられたが、その後は動物は落ち着いて、眠り、食餌・飲水行動、毛づくろいなどを見せるだけで刺激反応は皆無となった。刺激初期にみられた行動変化には、動作静止、律動的な咀嚼動作、刺激側眼瞼けいれん、歯ぎしり、背部のゆすり動作（back shaking）、時に流涎などのけいれん前駆症状、時には限局した軽いミオクローニーけいれん、ごく稀には両側間代性けいれんなどがあつた。これらの発作症状は、一旦消褪すれば再現することはないが、時に刺激の後半になって軽微で短時間に終る発作症状の再現を見ることもあつた。いずれにしろ、実験の後半になると、どのネズミも行動変化を見せることがなく、かつ刺激実験を完了した段階の刺激間歇時にはなんらの行動異常を認めなかった。

図（略）は、両側間代性けいれんを1回以上起したネズミの刺激間隔とけいれん発現率とを対比したものである。けいれん発現率は刺激間隔が大きくなるにつれて増す。7日に1回刺激する場合を含め、刺激間隔が長くなればけいれんは全例に出現する。刺激間隔が極端に短ければ刺激に対する順応が起り、けいれんは生じ難い。

連続性ないし短い間隔の刺激を終えたあとで1日1秒の再刺激を行った。動物によっては、強い刺激電流を何日間も反復してはじめてけいれんが生じるものもあつたが、大方は  $75\mu\text{A}$  の刺激電流でけいれんが出現した。けいれんを数回起させたあとにけいれん誘発閾値を調べると、 $75\mu\text{A}$  より明らかに低くなつていた。

図（略）をみると、あらかじめ連続性ないし短期間隔刺激などの大量刺激法で処置されたネズミは、処置を受けない対照群より少ない刺激回数でけいれんが発現することが分る。大量刺激法では、未完成ながらもキンドリング効果をもたらすものと見做された。

次いで、すでにキンドリングけいれんが完成した6匹のネズミに連続刺激を試みたところ、けいれんが数回出現したところで刺激に全く反応しなくなった。そこで再び、1日1回の刺激を行ったところ、刺激を反復するうちにけいれんが再現するようになった。これらのことから、刺激のあとには3日から5日間持続する後続効果（after effect）があつて、これがけいれんの誘発を抑制していることがうかがわれる。連続刺激は、キンドリングけいれん形成の有無にかかわらず順応現象をもたらし、けいれんが発現しなくなることが明らかである。

図（略）では刺激間隔がキンドリング進展に影響を及ぼすことを示した。つまり20分間隔の刺激では、初回のけいれん出現までの平均刺激回数は58回であり、1日1回つまり24時間間隔



では15回となり、前者の刺激回数が多い。

図(略)はけいれん初発時の刺激回数と刺激間隔との関係を示している。

刺激間隔12時間と24時間とを比較すると、初回けいれん発現までの所要刺激回数は後者が有意に少ない(危険率0.4%)。1日に2回刺激する方が1日1回刺激する場合よりもけいれん発現させるための所要刺激回数が多くなるということである。24時間と7日間隔とでは有意差はない。1日1回として2週間でキンドリングけいれんが成立すれば、7日間に1回では6ヵ月要することになるが、この間の両者の刺激回数の総数は同じである。

#### 実験 IV. 電極先端部の組織破壊とキンドリング効果

電極先端部の組織を破壊すればキンドリング効果がどのように変化するかを2つの実験で確かめた。はじめの実験は、すでにキンドリングけいれんを数回起したネズミ20匹の電極先端部に、直流通電法により微少な組織破壊巣を作り、その後に通常キンドリング刺激を再開するもので、けいれんは生じなかった。これと関連するその他の2、3の実験成績から、キンドリング効果を成立させる主要因は、電気刺激によってもたらされる脳機能の賦活であること、これが電極先端部に組織破壊をつくることで阻害されることをみた。

次の実験は、さらに大きな組織破壊巣を電極先端部につくり、強い刺激電流で刺激することである。この実験の目的は、キンドリング効果の成立機序が、刺激部位に近接するニューロンの機能変化によるものか、それとも刺激部位から遠隔のニューロンがてんかん源性を獲得することなのかを検討するためである。

実験方法は、15匹のWistarネズミの雄の扁桃核を $50\mu\text{A}$ の刺激電流で1日1回刺激して、数回のけいれんが出現するまで反復する。その後に電極先端間に1mAの直流通電法で組織破壊巣をつくる。組織破壊のあと72時間目に $300\mu\text{A}$ から1.8mAの刺激電流で通電刺激する。

対照群の3匹のネズミでは、キンドリング刺激を行うまえに組織破壊巣をつくり、その後に1.8mA、1秒間の反復通電を行った。

実験成績：対照群以外のネズミでは、全例に組織破壊巣を作製したあと3回の刺激でけいれんが出現した。なかでも6匹は初回刺激から両側間代性けいれんを呈した。残りのネズミは初回刺激では無反応であったが、これは閾値下刺激のためとみて刺激強度を上げたところ、すべての動物はけいれんをみせた。一方、対照群では、1匹は8回目、1匹は23回目の刺激でけいれんが生じたが、もう1匹は25回の刺激反復でもけいれんは生じなかった。

破壊巣の大きさは多くの場合直径約1.75mmであった。

#### 実験 V. キンドリング効果の転移現象と干渉現象

1つの電極でキンドリングけいれんが完成したあと、他の辺縁系の部位に別に設置した電極を用いてキンドリング刺激を行えば、この第2次電極側のけいれん形成が早まるか否かを検討した。次いで、この転移現象をみたあとに再度、第1次電極側の刺激を行うとけいれんが発現するか否かを吟味した。

実験方法：17匹のネズミの脳の2ヵ所に電極を植込み、標準キンドリング法でまず扁桃核を刺激した。けいれんが数回出現してから、11匹のネズミには第2次電極で刺激を行い、残りの6匹はそのまま刺激休止期間に移行させた。第2次電極は刺激側中隔野が5匹、対側扁桃核が残りすべてをあてた。そこで第2次電極を刺激してけいれんが発現するまでの所要刺激回数を得

て、これを中隔野ならびに扁桃核の単独刺激の場合の所要回数とそれぞれ比較し、ついで第1次、第2次電極側における各々のけいれん発現所要刺激回数を比較することで転移現象の様相を明らかにした。

実験成績：第1次電極側の扁桃核キンドリングのあと第2次電極側の中隔野を刺激すると、対照群の3分の1の刺激回数でけいれんが発現したが、このような刺激回数の減少は統計上有意であり(危険率5%)、陽性の転移現象が成立したと見てよい。また一方、両側扁桃核間の刺激でも陽性転移現象が見られた(危険率2%)。

次いで、第2次電極でけいれんが成立したあとに第1次電極側の扁桃核にもどり再度刺激すると、初回はけいれんが出現しないために数回の刺激を反復する必要がある。この現象は中隔野—扁桃核より扁桃核—扁桃核でより顕著であった。

転移現象の成立にともない干渉現象が生ずることがみられる。第1次電極の再刺激によりけいれんが再現するようになると、今度は第2次電極側に干渉現象が生じる。このようなことから、第1次電極側にしろ第2次電極側にしろ、けいれんを再び発現させるためには3回の刺激反復が必要であった。

## 考 按

キンドリング効果と命名した大脳機能の変化の現象学的特徴を明らかにするために各種の実験を行った。哺乳動物の脳を非分極性電極で連日1日1回、短時間のあいだ刺激を反復すると、大脳に機能変化が生じて動物は刺激のたびにけいれんを起すようになる。この変化は永続性である。初回の刺激電流が弱いために、はじめは脳波に後発射が生じない場合にもキンドリング効果は成立する。つまり、キンドリング効果が成立するためには、初回から後発射が出現することが必要条件でない。

各種の実験成績について考察するまえに、キンドリング効果の成立機転が、電気刺激によるものかそれとも他の要因によるものかを吟味してみる必要がある。電極植込み手術は、脳浮腫、グリオーシス、脳・血液関門の破壊といった物理的变化を起す。電極の材質は組織毒となりうる。通電は、二相性でも組織内に金属イオンを遊離し組織破壊をつくる可能性がある。これらのことはいずれもてんかん発作波を発生させる原因となりえる。

電極刺入の物理的影響による脳浮腫やグリオーシス、その他の脳組織変化が生ずるためには一定の時間経過がある。そのため、これらの原因でけいれんが発現する場合は、術後の特定の時期に生じることになる。1日1回の扁桃核刺激と1週間に1回の刺激では略々同じキンドリング効果が生じることが分った。すなわち、1日1回の刺激でキンドリングけいれんが発現するまでには2週間かかるものが、1週間に1回では6ヵ月である。この間の実質的な刺激回数は同数となる。このことから、脳浮腫、血管変化、グリオーシス、その他電極刺入による物理的影響など特定の時期に生じて刺激要因となりえるような原因は、キンドリング成立機転とは無関係であると考えてよい。

電極の材質の影響も除外された。これには、4種類の絶縁体と2種類の金属を組み合わせているいろいろな電極をつくりこの問題を吟味した。絶縁材料には Diamel、Insl-X、EpoxyLite、Teflon を、電極材質にはニクロム、ステンレス鋼線、プラチナ電極をもちいた。いずれの材質でもキンドリング効果に差はなかった。Teflon 絶縁をほどこしたプラチナ電極は理論上最も有毒性が

少ない電極であるが、この電極を4本つくり1匹は中隔野、3匹は扁桃核に植込んで標準キンドリング法で刺激した。4匹いずれも他の材質の電極を使用した対照群と同様のキンドリング効果をみせた。

プラチナイオンは他の金属のようにてんかん源性とはなりえないといわれている。従って、プラチナ電極でキンドリング効果が成立した原因に電気刺激のあいだに組織に沈着した金属イオンを挙げることは出来ない。これに加えて、実験IIで得たキンドリング効果が成立しない2つの刺激条件のことがある。この刺激条件は強い電流を用いたために金属イオン沈着が標準キンドリング法より顕著である筈である。しかし、結果は大量刺激法では稀にけいれんが生じただけ、一方、3Hzパルス電流を60秒間毎日通電する方法では、30日間刺激してもキンドリングけいれんは出現しなかった。他方、62.5Hzのパルス電流1秒間通電法では15日間でけいれんが生じている。けいれんが生じない動物には、その後に標準刺激法で反復刺激したので、イオンの脳内沈着が対照動物に較べて多いはずであるが、キンドリングの形成は遅延した。はじめに大量刺激法を施された動物は、対照群と較べてキンドリングけいれんの出現が遅れる。他方、あらかじめ3Hz刺激を30回施された動物は、対照群とほぼ同じキンドリング進展速度であった。以上のことから、キンドリング効果は、金属イオンの組織内沈着や通電による組織破壊によって生ずるものでないことが明らかとなった。

直流電気破壊法により刺激電極先端部に破壊巣を造ったうえで刺激する実験で、キンドリング効果は通電によって生ずる組織破壊が原因でないことが明らかとなった。つまり、キンドリング刺激の前もしくは後に破壊巣をつくると、キンドリング効果の進展は遅延するし、キンドリングけいれんを継続して発現させるためには強い刺激電流の通電が必要であり、さらに脳破壊巣を作るまえにキンドリングけいれんを起させておく必要がある。

以上のことから、キンドリング効果の成立機転として、電気刺激によって惹起される神経興奮が第一義的要因にあげられる。このことは、ネズミの扁桃核に少量のカルバコールを反復注入し、電気刺激キンドリングと同様のけいれん発作を発現させた所謂化学キンドリングの知見によっても裏づけられる。

キンドリング効果に電気刺激が有力な要因であるとなると、脳のどの部位が変化するのか、どのような変化が生ずるのか、どのような大脳賦活が必要なのかという問題が生じてくる。

実験Iで明らかにされたことは、キンドリング効果は主として大脳辺縁系とその関連領野、並びに前頭葉の無顆粒皮質の後部を刺激する場合に生ずることである。キンドリングけいれんが形成するまでの所要刺激回数は、大脳辺縁系の部位により異なり、扁桃核が最も回数が少なく、新皮質の大半、視床、脳幹部の大半は、キンドリング効果が形成し難いということであった。

標準刺激法を用いてキンドリング効果成立の難易度を大脳の解剖学的部位別に検討してみた。刺激電流は50 $\mu$ A以下に抑えている。このため、けいれんが発現しなかった部位でも、強い電流を用いればけいれんが発現する可能性はある。このような標準刺激法を用いて検索すると、大脳各部位の刺激感受性をきまこまかく比較することが可能となった。

キンドリング効果は、けいれんなどの行動変化を評価の目安にして進展過程を判定するが、この評価にあたっては慎重を要する場合がある。つまり、刺激に対する反応が遅くて感受性が低いとみえる部位でも、実は極めてけいれん閾値が低くて、ただし発作波の全汎化が起り難いために、けいれんが生じないということがある。海馬がそれである。海馬では、扁桃核と同じ

く限局性発作波が発現しやすいが、海馬からの発作波が流出する遠心路に抑制系神経線維が豊富であるため、海馬発作は生じがたい。促進系神経線維の豊富な扁桃核と相異なる点である。従って、脳の感受性の判定は、発作波が発生し、伝播し、行動変化が現れることをもって評価することにした。

キンドリング刺激に反応する部位は辺縁系前野 (anterior limbic field) と嗅脳—辺縁系野 (olfactory limbic system) の2つに大別できる。両領野のけいれん症状は相異なる。辺縁系前野のけいれんは強直・間代性けいれんであり、刺激終了後に短い潜時で出現する。嗅脳—辺縁系野のけいれんは間代性けいれんのみであり、けいれん出現までの潜時が長く、しかもけいれんは漸増性に大きくなる。両領野は学習実験でも対照的な相違を示す部位である。因に、Kesner と Doty らは、動物の辺縁系発作では場所に対する逆行性健忘を遺すが、前頭部発作ではこれがないと報告し、McIntyre は、キンドリング法で扁桃核刺激でけいれんを起すと、条件づけ情動反応の逆行性健忘を遺すが辺縁系前野けいれんではこれを認めないと報告している。このような両者のけいれん症候学の相違は、発作現象に巻き込まれる大脳領野の異同によるとみる。

実験IIでキンドリング効果は永続性の大脳機能変化をもたらすことを明らかにした。これはネコ、サルでも同様であった。キンドリングけいれんが出現したあと、いろいろな長さに刺激を中断し再開する実験を行ったが、3ヵ月間刺激を中断した場合でも約9割にけいれんの再現をみた。1週間に1回の刺激法と1日1回の刺激法とを比較した場合に、前者の刺激回数が数回多いだけであったが、このことは刺激のたびに生ずる大脳機能変化の1部がそのまま永続性に残遺することを物語っている。

キンドリング効果がなんらかの代謝物質の量的変化によって生ずるとすれば、刺激中止により効果は早晚消失するはずである。効果が永続性であることから、機能変化はニューロン内もしくはニューロン間の組織解剖学的変化に基づくものと考えてよい。ただし、いまのところこれを立証する資料はない。

実験IIIで、キンドリングけいれんが出現したあと至適けいれん誘発周波数は60 Hzもしくは100 Hzであった。この至適けいれん誘発周波数は、キンドリング刺激に用いた周波数と無関係ではほぼ一定である。キンドリング刺激で生じる大脳機能の変化は、刺激電流の条件に即応して変動するものでなく、かつ至適けいれん誘発周波数はニューロン固有のものであるために、別の周波数で反復刺激しても影響を受けて変動する性質のものでないということが分った。

キンドリング効果が刺激条件に影響されずに形成されることが別の実験でも明らかになった。つまり、ネズミの扁桃核キンドリングで両側間代性けいれんが初発するまでの刺激回数が、刺激電流の波型、周波数、刺激持続時間、刺激電流の強さなどの条件で影響をうけないことである。閾値上刺激を1日1回反復すれば、キンドリング効果は必ず一定の速度でもって進展する。刺激がもたらす大脳機能変化は、一旦生ずると刺激電流の性状とは無関係に半ば自生的に熟成していくものとみなしてよい。キンドリング効果は悉無律に従っており、はじめから強い刺激を用いたからといってキンドリング進展が早まったり、さらに完全なものが生じるといったことはない。

刺激強度を極端に強くすると電極先端部に組織破壊を作る。この場合のキンドリングは、刺激電極先端から離れた電流の弱まる部位のニューロンの興奮によって形成されると思われる。中等度の刺激電流では組織破壊巣は小さいがキンドリング効果の進展は早まることはなかつ

た。いずれにしろ、実験に使用した範囲の刺激強度では、刺激の強さはキンドリング効果の進展に影響を与えないことが分った。

以上の所見から、次のような解釈が自ずと引き出される。そもそも実験当初の目的は、ネズミの扁桃核を電気刺激して、初回の刺激でけいれんを誘発させる刺激強度をきめることであった。刺激強度を 2mA まであげたが、初回からけいれんが発現したのはわずかに 2 匹で、けいれんは電撃けいれんに類似したものであった。残りのネズミは、けいれんが発現するまでには数回の刺激反復が必要であり、いずれも両側間代性けいれんであった。辺縁系の刺激では、はじめは発作波に対応して自動症がみられた。キンドリング効果の背景をなす大脳機能変化は、単にけいれん閾値の低下とか感受性獲得といったものでなく、新たにかつ複雑に再構成された神経回路の出現によるものと見做す。

神経興奮が必ずしもキンドリング効果をもたらす訳ではない。実験Ⅲにみたごとく、3Hz の刺激電流を 1 日 1 回、1 分間通電する場合はキンドリング効果は成立しないが、それと同一の波型、パルス巾、電流の強さでも 62.5Hz では 1 日 1 回、1 秒間通電でキンドリング効果は成立した。ネコでも同様であった。3Hz の刺激電流でもパルスごとに後発射を誘発させるし、閾値上刺激を用いた時のように刺激電流は多数のニューロンに伝播しているとみてよい。とすれば、キンドリング形成に必要な刺激条件は、単にニューロンを興奮させるだけのものではなく、ニューロン興奮の saturation と tetanization をきたすものでなければならない。

サルの実験で、双極刺激電極の先端部を 1 ミリ間隔にするとキンドリング効果は成立せず、3 ミリ間隔にしてはじめて成功した。刺激電極先端部の間隔の問題は、諸条件を一定にしておいて、先端部間隔をもっと厳密に系統だてて変えて吟味する必要があるが、ただこの成績をもってしても、キンドリング効果の成立のためには、脳の大きさに応じて必要なだけの量の脳組織が刺激され必要な量のニューロンの saturation と tetanization が一斉に惹起されることが必須要件であることが分る。

実験Ⅲでは、毎日 60 秒間刺激の通電間隔を短縮するとキンドリングけいれんが発現率が減ることをみた。連続刺激法ないし刺激間隔の短い短期間隔刺激法では、ニューロンの疲憊もしくは順応を生むためにキンドリング進展が抑制されるのであろう。標準キンドリング刺激法を施行したあとに連続刺激法に切換えると、数時間後には刺激に反応しなくなる。このような実験に供した動物の脳には時折組織破壊巣を認めるが、このような破壊巣の存在だけでは上記の刺激に対する無反応化は説明できない。連続刺激法ないし短期間隔刺激法で順応のため無反応となった動物でも、60 秒間刺激を 1 日 1 回通電法に切換えると、けいれんが再現する。これと同じようなことは、従来の刺激物質局所投与による慢性実験てんかん法でも散見されていた所見である。

Morrell も、条件が整っていると思えてもてんかん焦点が出来ない場合があることを報告している。刺激物質局所投与法にしる連続刺激法にしる、疲憊と順応が起るのであろう。なにはともあれ、Wistar ネズミにキンドリングけいれんを出現させるためには、24 時間ごとに刺激を反復することで、刺激時間も短時間にする必要がある。

一日 2 回の刺激と一日 1 回の刺激とでキンドリングけいれん初発までの刺激回数を較べると、前者の方が多い。これは、60 秒間刺激のあと脳内に 12 時間以上にわたってなんらかの変化が継続して起っていることを示唆している。長い刺激休止期間は、疲労を完全に払拭するためが必要であるが、それに加えてキンドリング効果の背景をなす永続性大脳機能変化が漸増性に

形成されていくためにも必要と思われる。ただし、この大脳機能変化の病態が如何なるものかはいまだ述べることは出来ない。

実験IVでは、刺激電極先端部に破壊巣をつくと、刺激強度をあげないとけいれんが継続しないことをみた。一方、破壊巣を作るまえにキンドリングけいれんを完成させておくと、破壊巣を作っても第1回目の刺激でけいれんが発現することをみた。キンドリング効果は、直接刺激されているニューロン群ばかりでなく、シナプス結合で連絡しているニューロン群にも機能変化が起るものらしい。かような経シナプス性変化の発生は、すでにこれまでも慢性実験でかん法で確かめられてきたものである。

実験Vの成績をどのように解釈してよいか難しい問題である。つまり、脳の2ヵ所に2本の刺激電極を離して設置して、各々の電極を用いてキンドリング刺激を行った場合にみられる転移現象と干渉現象である。とりわけ干渉現象は全く予測しない成績であった。

このような成績は、初回刺激と再刺激との時間差が長いということでは説明がつかない。因に、対照群では同様の時間差があってもけいれんが生じる。対側の電極で生じた最終けいれんによる神経細胞の疲憊とかけいれん閾値の変化といったことでも説明がつかない。

これらの結果をもとにキンドリング効果の生理学的基盤を考察してみると、この効果は神経組織がもつ特有な機能と構造を背景に成立するものであり、単に大脳機能の統合性異常 (dis-integration) とか組織変性といったものでない。けいれんが漸進性に進展することや、転移現象のような経シナプス性変化が対側電極に生ずることなどは組織変性という機序で説明できるかもしれないが、干渉現象は組織変性では全く説明がつかない。

第1次電極の刺激により脳には広範にわたって特別なけいれん回路が形成されると考える。第2次電極の刺激は、この既成のけいれん回路を利用するためにキンドリングけいれん出現が早まる。ところが、第2次電極でけいれんを反復しつづけると、既成のけいれん回路は性状を変え第2次電極刺激に相応するようになる。そこで第1次電極を再刺激すると、最早反応は起らない。再度の刺激反復により初めてけいれん再現となる。転移現象と干渉現象を以上のように考えるが、いずれにしろ、刺激を反復していくことにより両刺激部位の絆は確固なものとなり、けいれん回路は永続的に存続することになる。

キンドリング効果はそれ自体病的現象であるが、あくまでも大脳の生理的機構を基盤にしてくるもので、この機構が、本来もっている自律性を失った状態とみることが出来る。この現象の機序の全貌を解明できなかったが、本効果と学習とのあいだには数々の類似性がある。たとえば、反復学習により体験の永続性変化が生ずること、両者とも大脳辺縁系が関わりをもつこと、ともに経シナプス性変化の機序を背景にもつこと、学習でも、2種類の刺激を与えれば転移現象もあれば干渉現象もあり、新たな学習体験が古い学習体験を消去することがあるなどである。

Rutledge、Rank、Duncanらが、ネコの大脳皮質下を切離し遊離した大脳皮質切片を、電気刺激しても刺激過敏性 (Supersensitivity) が得られなかったと報告している。大脳皮質表層は、皮質下大脳諸核とは異なった刺激効果を示すようである。Morrellは、鏡像焦点の研究で、刺激部位とは別に独立した皮質焦点を作るには、第1次焦点に発生する発作波が脳梁と皮質下組織の2つの経路を介して伝播することが必要であり、この皮質下経路を鏡像焦点部位で皮質下切離術で切断すると、第2次焦点は最早形成されないことを認めた。キンドリング効果の機序は、Morrellの学説や実験行動学でいう強化工作 (reinforcement) と同一であり、神経組織の

なかに経シナプス性回路が広範囲に亙って形成されることだと考える。Rutledge らの皮質下切離した大脳皮質切片の刺激実験は、切片内のニューロンを賦活させることが出来ても、皮質下組織がないためにキンドリング効果が生じなかったとみる。