

抗てんかん剤の終板電位に及ぼす影響

松 本 義 孝
MATSUMOTO-YOSHITAKA

弘前大学医学部第二生理学教室 (主任 中村 勉 教授)
弘前大学医学部神経精神医学教室 (主任 和田豊治 教授)

(7. II. 1966 受付)

緒 言

現在のてんかんの治療は抗てんかん剤を主とした薬剤治療にかかっている。1912年 Hauptman¹⁾により phenobarbital がてんかん治療に応用されて以来、諸種抗てんかん剤が開発され、今日わが国では約30種類²⁾に及ぶ抗てんかん剤が臨床的に使用されている。これら諸種抗てんかん剤の作用機序については、薬理学、生化学、生理学的立場など各方面から追求されているが、未だ明らかにされていない現状である。この事はとりもなおさず“てんかん”そのものの本態の複雑さを示唆しているものと云える。

抗てんかん剤の効果や比較に対する研究方法としては、薬物あるいは電気刺激により惹起させた筋痙攣を目安とする方法、薬物の注入により発生させたてんかん性焦点を目標として行なう方法、更には電気刺激により生じた発作性放電を指標とする方法らが行なわれている。それはそれなりに抗てんかん剤の作用機序の解明に貢献している。このように抗てんかん剤の作用機序に関する従来の研究は主としてその中枢作用に向けられていたことは、対象がてんかんである点から当然であろう。しかし抗てんかん剤の末梢作用に基づく可能性も併せ考えてもよいと思われる。既に Toman³⁾らは、蛙坐骨神経の活動電位が aleviatin, phenobarbital で抑制されることを認め、その後、Esplin, Morrel, Blom, 最近で

はNorris⁷⁾ら (1964) は aleviatin が末梢神経あるいは神経筋接合部に対し抑制的効果を示す事を報告している。しかし、その他の抗てんかん剤の神経筋接合部に対する作用についての報告はみあたらない。

そこで著者は臨床的に広く用いられている抗てんかん剤のうち、aleviatin, phenobarbital, minoaleviatin, resochein, diamox の5種類を選び、神経筋接合部(終板電位)に対する作用を比較検討してみた。以下その実験結果を報告する。

実 験 方 法

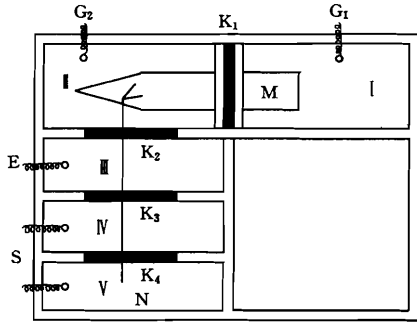
1. 実験動物

中等大の成熟ヒキガエル (*Bufo vulgaris formosus*) の坐骨神経縫工筋標本を作製し実験に用いた。

2. 活動電位及び終板電位の導出法^{8,9)}

(a) 隔絶函：先に教室の中上、長岡が小沢法¹⁰⁾にならい隔絶函を使用して、end-plate potential (以下 EPP と略す) を導出しており、私も略その方法に準じて行なった。しかしこの方法により得られる EPP は正確には EPPD (end-plate potential difference) ¹¹⁾である。竹内は縫工筋を恥骨端から約5分の1のところ固定し、これにより筋は終板のある長片と、終板のない短片に区分でき、両者の差異を比較できるとしており、私は竹内の方法もとり入れて行なった。即ち第1図に示した様に恥骨側が約3分の1、第1室に存する

FIG. 1. K_1, K_2, K_3 and K_4 : Septa, I, II: recording pools: IV, V: stimulating pools, N: sciatic nerve, M: sartorius muscle, G_1, G_2 : Ag-AgCl electrodes for leading the action potential of muscle, S: Ag-AgCl electrodes for stimulation, E: earthing electrode.

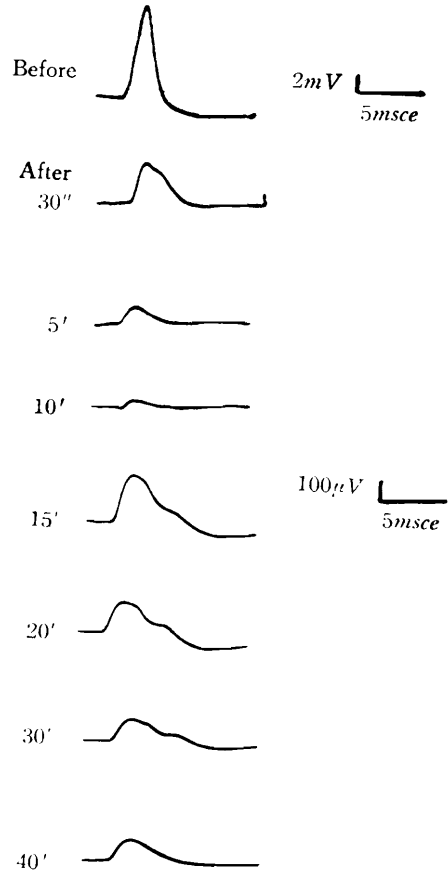


様に縫工筋Mを第I, II室に横たえ、神経Nが第II, III, IV, V室に存する様に横たえた。隔絶壁の厚さは $K_1, 2, 3, 4$ いずれも1.8 mmである。導出電極 G_1, G_2 及び刺激電極Sは銀—塩化銀電極を使用した。各隔絶壁の細隙の部分及び隔絶蓋にワセリンをぬり、神経及び筋を隔絶した。各室に充分リンガー液を満たし、刺激電極を第IV, V室に、導出電極を第I, II室におき、第I室の電極が導出電極函の G_1 と連結される様に装置した。

(b) 電位変動の記録及び刺激装置：刺激としては電子管刺激装置を使用し、刺激波としてはスパイク (0.07 msec) を用い、極大刺激を与えた。また直接刺激には白金電極を用いた。電位変動はシンクロスコープ (岩崎製機MS-5013) 又はブラウン管オシロスコープ (日本光電, VC-6) により観察し、一コマ撮影を行なった。

(c) 終板電位導出法：終板電位の導出にはクラレ筋を使用し、クラレ剤としてはアメリカゾール (d-tubocurarine chloride pentahydrate) を使用した。上述の如く、隔絶函に標本を装置して20~30分後に第II室のリンガー液を 0.5mg/dl の濃度のクラレ液と交換すると、第2図に示した様に筋の活動電位はクラレの作用で次第に減少していき、つい

FIG. 2. End-plate potential produced by progressive curarization



には増巾をあげて初めて認められるEPPが約40分後に得られる様になる。この状態で筋は間接刺激には反応しないが、直接刺激に対しては反応する。

3. 適用薬物

臨床的に広く用いられている抗てんかん剤5種類を使用した、その臨床的薬量差に拘らず、各薬物とも同一濃度で作用させた。即ち、5%溶液を原液とし、それを10×, 100×, 1000×とリンガー液で稀釈し、0.5%, 0.05%, 0.005%溶液として作用させた。使用した薬物は次の通りである。

- (1) aleviatin (diphenylhydantoin sodium),
- (2) phenobarbital (phenylethyl malonylurea),
- (3) minoaleviatin (trimethyl oxazolinedio-

ne), (4) resochin (chloroquine diphosphate), (5) diamox (acetazoleamide). 但し, aleviatin 原液を作るには附属の稀釈液を用いた. なお pH の測定にはガラス電極 pH 計 (東亜電波, HM-5A) を用いて測定した.

実験成績

1. aleviatin の作用

(a) 筋活動電位に対する作用: クラール筋を使用する前に正常の坐骨神経縫工筋標本を隔絶函に装置し, 間接刺激によって得られる筋の活動電位を記録し, それに対する aleviatin の作用をみてみた. その electrogram を示したのが第 3 図である. 図中, 各列の最上段はそれぞれ作用前の活動電位であり, 以下作用後の各時点に於ける活動電位を示したものである. また第 4 図は aleviatin 作用前の活動電位の振幅を 100 とし, 作用後のそれを各時点に於いて百分率で示したものである. 図及びグラフにみられる様に原液 (5%) では作用直後より急激な電位の低下がみられ, 3 分

FIG. 3. Effect of aleviatin on the end-plate potential of non-curarized muscle.

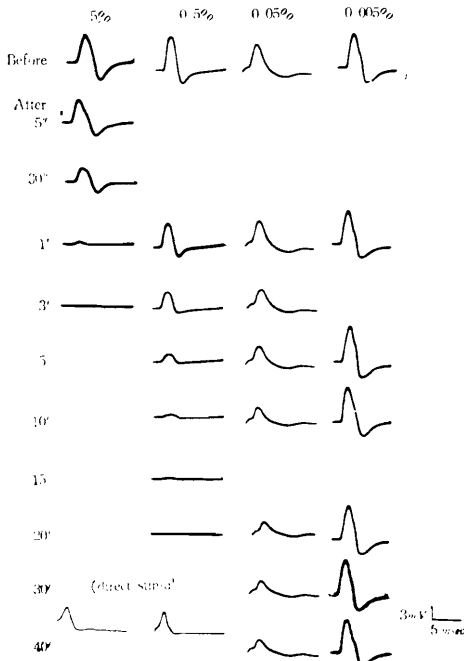
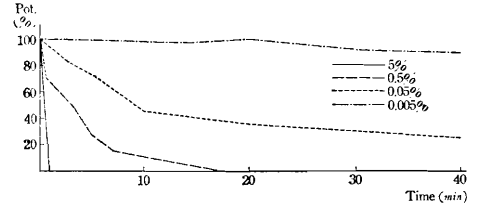


FIG. 4. Effect of aleviatin on EPP of non-curarized muscle

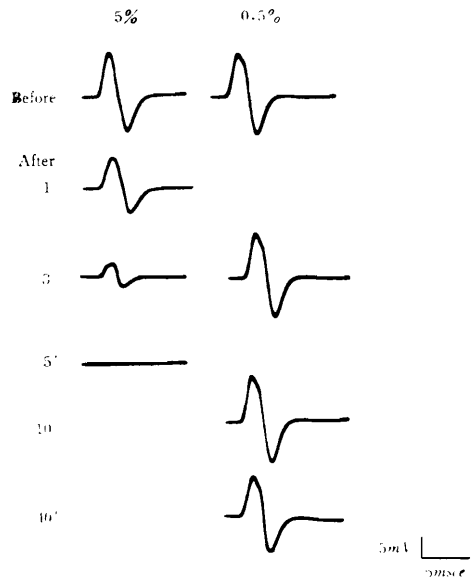


後には電位は消失した. 次いで 0.5% でも次第に電位は低下し, 10分後には約10%に低下し, 約20分で電位は消失した. 0.05%でも電位は低下し, 40分後には約30%に低下した. しかし 0.005%では殆んどその変動はみられず, 40分後に於いても作用前と変りなかった. また間接刺激による筋の活動電位の消失後直接刺激を与えると図 3 下段に示したように筋の活動電位を得た.

(b) 神経及び筋に対する作用: aleviatin を作用させた第 II 室には神経, 終板部, 筋が共存しており, 上述の変化がこれらのいずれに対して作用したものであるかを確認する必要があり, 次の実験を行なった.

第 III 室には神経のみ存在しており, 第 III 室に aleviatin を加えると, 神経のみに対する作

FIG. 5. Effect of aleviatin on the nerve.



用がわかる訳で、その結果得られた electrogram は第 5 図に示した。原液 (5%) では神経の活動電位は次第に低下して約 5 分後には消失した。0.5% では 40 分後に於いてもその影響はみられなかった。同様にして筋に対する影響をみるため、第 I 室に原液 (5%) 及び 0.5% を作用させて活動電位の変化を観察したが、原液 (5%) で軽度とその振幅を低下させるだけであった。

(c) 終板部への作用：次に aleviatin が終板部に対してはどの様に作用するかみるため、クラーレ筋に aleviatin を作用させてみた。その結果は図 6 の electrogram 及び図 7 のグラフに示した通りで、グラフは aleviatin 作用前

FIG. 6. Effect of aleviatin on the EPP of curarized muscle.

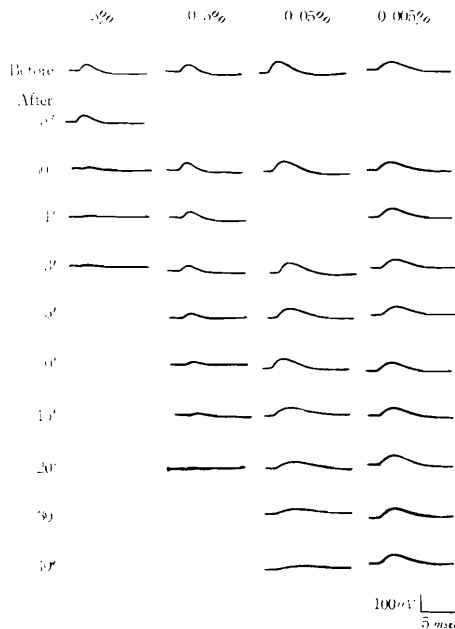
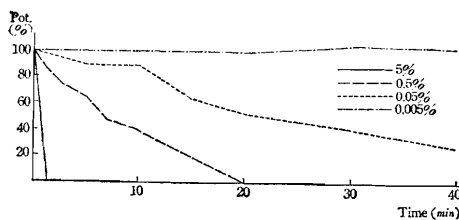


FIG. 7. Effect of aleviatin on the EPP of curarized muscle.



の EPP の大きさを 100 として作用後のそれを百分率で表わしたものである。図にみられる様に 0.005% 以外では各濃度共作用後時間の経過に伴ないほぼ直線的に EPP の低下がみられ、高濃度程その低下は大きい。即ち EPP は原液 (5%) では約 1 分後に、0.5% では 20 分後にそれぞれ消失しており、消失後リंगाー液と交換してもその回復はみられなかった。

2. phenobarbital の作用

(a) 筋活動電位に対する作用：まず前項 (a) と同じ条件下で筋の間接刺激による活動電位への影響をみた。図 8 はその結果を示す electrogram であり、図 9 はその時間的経過をグラフに示したものである。図にみられる様に aleviatin の場合と同様に 0.005% を除いた各濃度でいずれも活動電位の低下がみられ、高濃度程その度合は大きい。原液 (5%) では約 30 秒後、0.5% では 5 分後に活動電位は消失した。しかし、電位消失後に筋に直接刺激を与えると図 8 の下段に示した様に活動

FIG. 8. Effect of phenobarbital on the end-plate potential of non-curarized muscle.

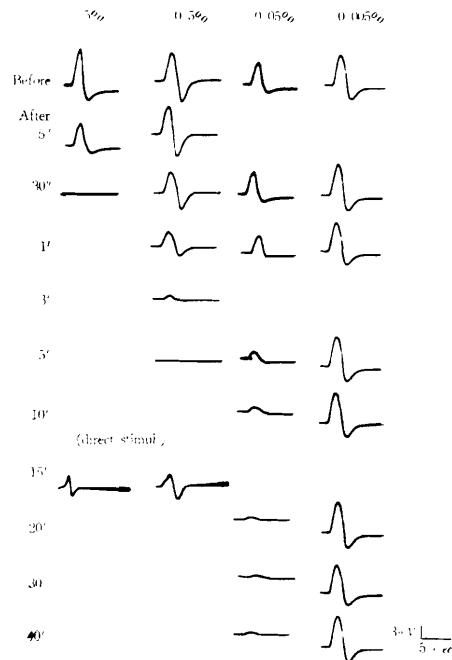


FIG. 9. Effect of phenobarbital on the EPP of non-curarized muscle.

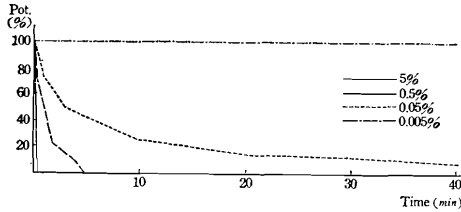
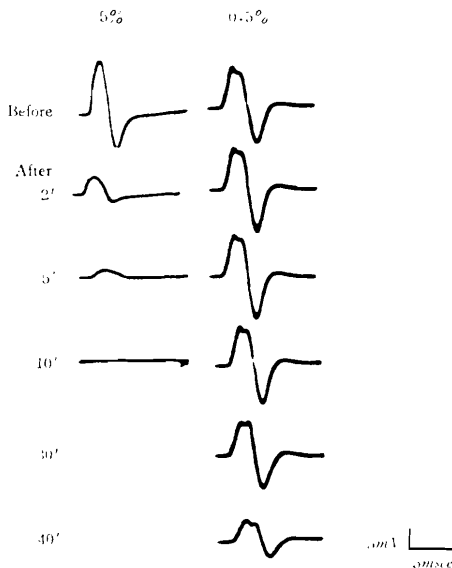


FIG. 10. Effect of phenobarbital on the nerve.



電位が得られた。

(b) 神経及び筋に対する作用：図10に示した様に神経に対しては原液（5%）ではaleviatinと同様に活動電位は低下し、約10分後には消失した。0.5%でも軽度抑制的に作用し、20分後より電位は低下して40分後には約30%に低下した。一方筋に対しては原液（5%）では軽度抑制的に作用したが、0.5%では影響はみられなかった。従って phenobarbital は原液（5%）では神経の伝導性を消失させ、筋に対しても軽度抑制的に作用するが0.5%では神経にのみ軽度抑制的に作用し、筋には作用しない。

(c) 終板部に対する作用：phenobarbital の終板部に対する作用は図11の electrogram, 図 12のグラフに示した。0.005%以外の各濃度ではいずれも EPP を低下させ、殊に原液

FIG. 11. Effect of phenobarbital on the EPP of curarized muscle.

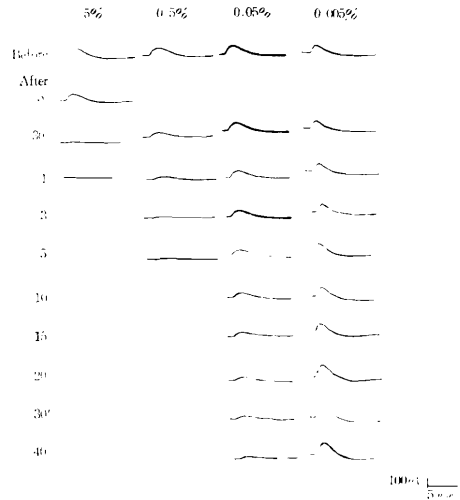
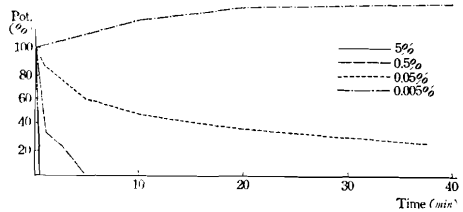


FIG. 12. Effect of phenobarbital on the EPP of curarized muscle.



（5%），0.5%ではその低下は急激な経過を示し、原液（5%）では約30秒後、0.5%では1分後に約30%と低下し5分後には消失した。0.05%では5分後に約60%に低下したが、以後は比較的ゆるやかに低下し40分後には約20%に低下した。EPP消失後リンガー液と換えても回復しなかった。0.05%までは高濃度程強く終板部に抑制的に作用したが、0.005%では逆にEPPの増大が軽度のみられ、40分後に電位は約120%に達した。

3. minoaleviatin の作用

(a) 筋活動電位に対する作用：結果は図13の electrogram 及び図14のグラフに示した。図にみられる様に原液（5%）以外の濃度ではその作用が弱いことがわかる。即ち原液（5%）では作用直後より電位は低下し、2分後約30%まで低下したが、電位消失までに

FIG. 13. Effect of minoaleviatin on the end-plate potential of non-curarized muscle.

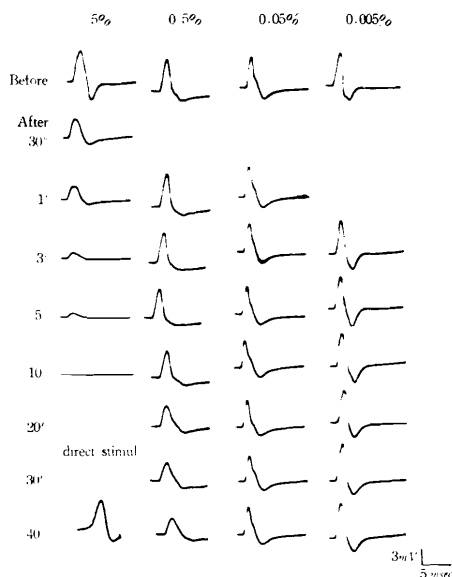
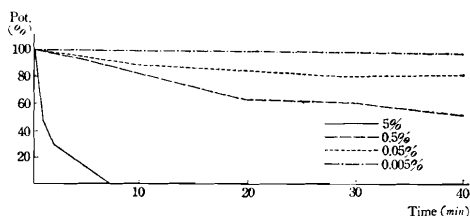


FIG. 14. Effect of minoaleviatin on the EPP of non-curarized muscle.



約7分を要した。しかも消失後リンガー液と換えると容易に電位の回復がみられた。0.5%, 0.05%では軽度抑制的に作用したが、0.005%では作用前と較べ電位の変動はほとんどみられなかった。原液(5%)で電位消失後に筋の直接刺激により活動電位が得られたがその結果は図13の下段に示した。

(b) 神経及び筋に対する作用：原液(5%), 0.5%を神経及び筋に作用させてみたが活動電位に変化はみられなかった。

(c) 終板部に対する作用：得られた結果は図15の electrogram及び図16のグラフに示した。図にみられる様に5%, 0.5%以外では抑制作用はみられなかった。原液では作用後1分で、EPPは約50%に低下し、約6分後に

FIG. 15. Effect of minoaleviatin on the EPP of curarized muscle.

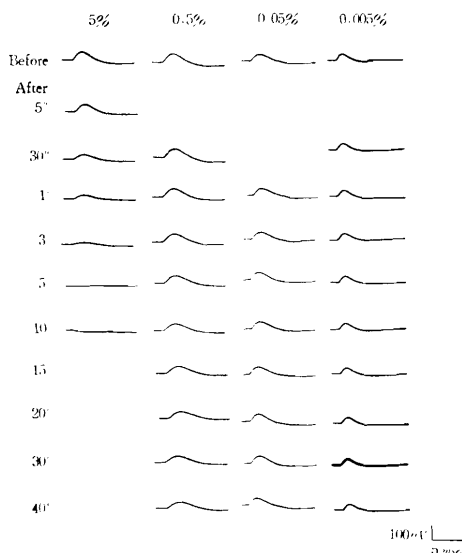
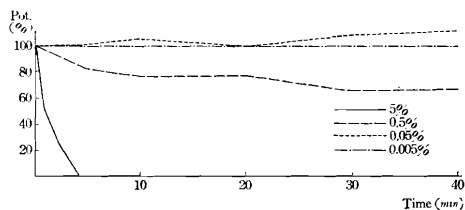


FIG. 16. Effect of minoaleviatin on the EPP of curarized muscle.



は消失したが、その後リンガー液と換えるとEPPは容易に回復し、10分後には約40%まで回復した。0.5%では40分後に約70%に低下したにすぎず、0.05%, 0.005%では変化はみられなかった。即ち minoaleviatin は低濃度では終板部に作用しなかった。

4. resochin の作用

(a) 筋活動電位に対する作用：得られた結果は図17の electrogram及び図18のグラフに示した通りである。resochin では各濃度でいずれも時間の経過に伴って電位は低下したが高濃度程、しかも作用後に於いてその低下は著しかった。原液(5%)では約5分後、0.5%では20分後にそれぞれ電位は消失し、リンガー液に変えても回復しなかった。0.05%でも次第に電位は低下し40分後約5%まで

FIG. 17. Effect of resochin on the end-plate potential of non-curarized muscle.

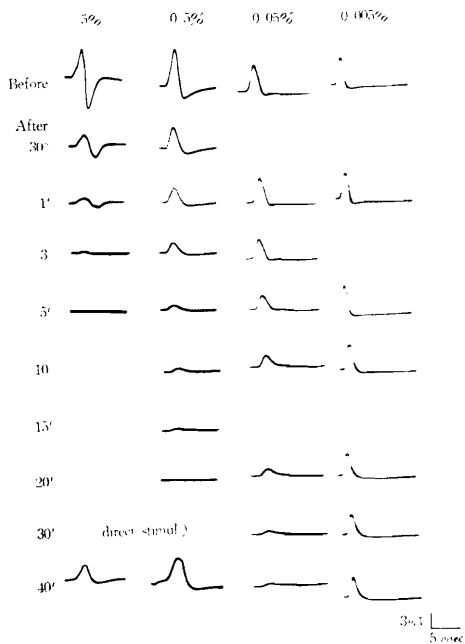
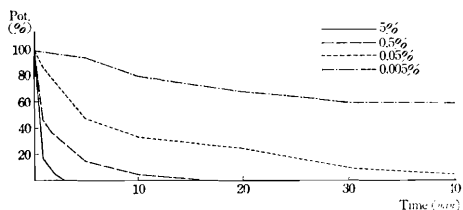


FIG. 18. Effect of resochin on the EPP of non-curarized muscle.



低下した。0.005%でもやはり低下し40分後60%に低下した。電位消失後に筋に直接刺激を与えるとやはり活動電位が得られたがその結果は図17の下段に示した。

(b) 神経及び筋に対する作用：原液(5%)及び0.5%を神経及び筋に作用させてみたが、原液(5%)が軽度、筋に抑制的に作用した他は影響はみられなかった。

(c) 終板部に対する作用：得られた結果は図19の electrogram 及び図20のグラフに示した。各濃度でEPPはいずれも低下したが、殊に高濃度でその低下は著明であった。0.005%ではその低下はゆるやかな経過をとり、40分後60%に低下したにすぎないが、他の濃度

FIG. 19. Effect of resochin on the EPP of curarized muscle.

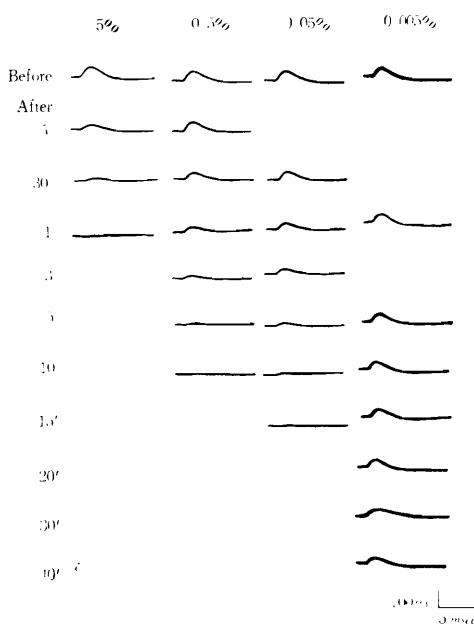
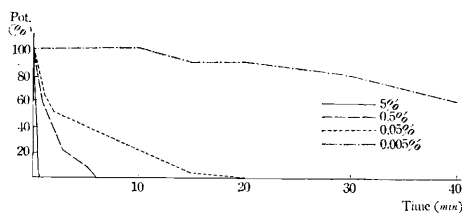


FIG. 20. Effect of resochin on the EPP of curarized muscle.



では、EPP低下の度合は大きく、いずれも電位消失をみた。しかも作用直後に抑制作用が著しかった。即ち原液(5%)では作用後急激に低下し、約1分でEPPは消失した。0.5%でも急激な経過をとり6分後に消失し、0.05%では1分後約60%に低下し20分後に消失した。

5. diamox の作用

(a) 筋活動電位に対する作用：得られた結果は図21の electrogram 及び図22のグラフに示した。図にみられる様に原液(5%)を除いた他の濃度では電位の低下はみられず、0.5%、0.05%では電位は軽度に上昇し促進的に作用したが、0.005%では電位の変動は

FIG. 21. Effect of diamox on the end-plate potential of non-curarized muscle.

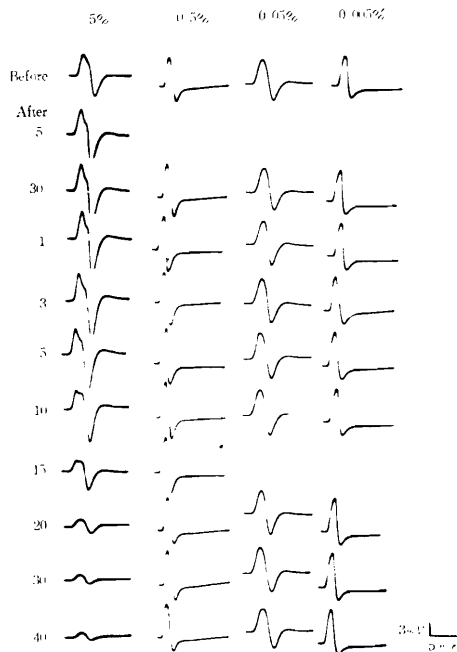
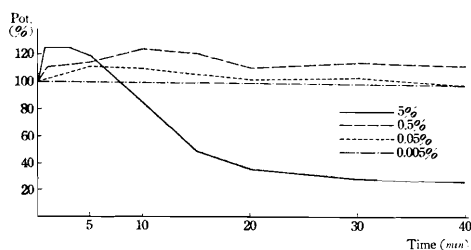


FIG. 22. Effect of diamox on the EPP of non-curarized muscle.



みられなかった。原液（5%）ではやや異った変化を示し、作用直後より筋に自発性の線維性収縮がみられ、この収縮は約15分間持続して消失した。電位は作用直後一時上昇し、30秒後約130%を示したが、約8分後には作用前の電位に戻り、10分後には約40%まで低下しその後はゆるやかな経過をとり40分後には約30%に低下した。

(b) 神経及び筋に対する作用：原液（5%）及び0.5%で神経及び筋に対する影響をみたが、作用前と較べて変化はみられなかった。

(c) 終板部に対する作用：得られた結果は

FIG. 23. Effect of diamox on the EPP of curarized muscle.

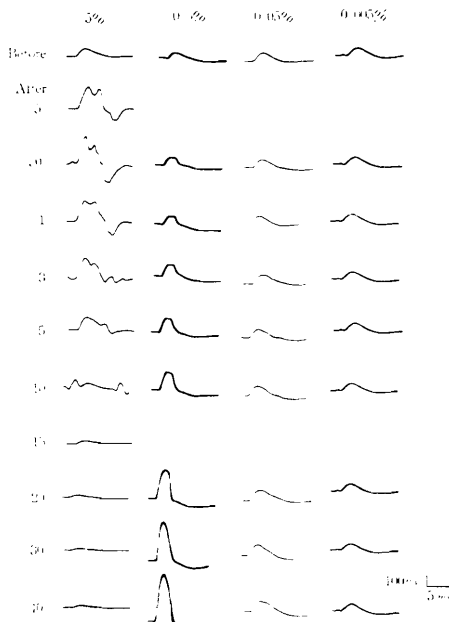


FIG. 24. Effect of diamox on the EPP of curarized muscle.

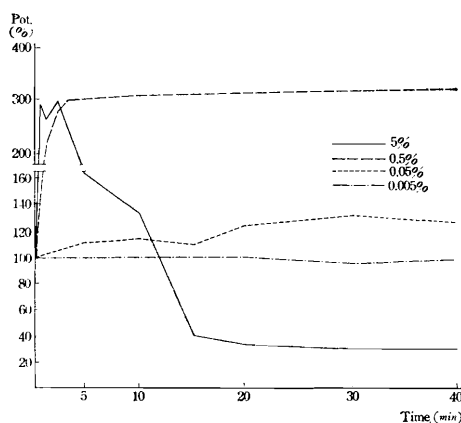


図23の electrogram及び図24のグラフに示した。これから0.005%以外の各濃度でいずれも終板部に促進的に作用している事がわかる。0.05%では40分後までに軽度EPPは上昇し、125%に達する。0.5%ではEPPは作用直後より急激に上昇し、30秒後に160%に達し、これに弱い筋の活動電位が重畳し2峯性となっているのが認められる。EPPは3分後

には約 300 % に上昇し、筋の活動電位は増大し、EPP との区別は困難となる。それで図 24 のグラフでは 3 分後は 300 % として示しておいた。5 % でも EPP は急激に上昇し、5 秒後に 250 % に、更に 30 秒後には 300 % となり、その後は漸減し、15 分後には約 40 % になり、40 分後でも 30 % を示していた。また作用後 5 秒後から 2 相性あるいは多相性の筋の活動電位が重畳するのが認められた。筋の活動電位も小さくなり、15 分後には消失し、EPP のみとなった。なお 5 秒後から 15 分近くまで筋には線維性収縮が観られた。以上の成績は 0.5 % の diamox はクラールで遮断された終板を開通させることを示すものであり、5 % でも一過性に同様の作用を示すことが分る。

考按及び総括

1. aleviatin

aleviatin は Merrit & Putnam¹²⁾ によりてんかんに応用されて以来その主剤として広く使用され、特に痙攣発作に有効とされている。作用機序は、大脳皮質の興奮を抑制するのではなく、むしろ痙攣閾値を高めるものという。末梢神経については、Toman³⁾ は、蛙坐骨神経で臨床的薬量で超最大刺激により生ずる“rebound spike”及び等張性の中性リン酸ソーダ溶液内で生ずる反復興奮の消失をみている。Esplin⁴⁾ は猫の脊髄、星状神経節で、Morrel⁵⁾ らは兎の後経骨神経で同様の抑制効果を報告している。又 Blom⁶⁾ は除脳猫で末梢への抑制作用を確認した。最近 Norris⁷⁾ らは aleviatin の大量投与患者の筋電図で振幅低下を認め、更にネズミで坐骨神経の神経筋伝達が抑制される事を認めた。又クラールによる神経筋遮断からの回復が aleviatin により遅延し、而も濃度が大なる程クラール作用を増強すると報告している。私の実験でも aleviatin は 0.005 % を除いた濃度で終板部に抑制的に作用し、しかも高濃度程、その作用は強く、5 %、0.5 % では EPP の消失をみた。これらの成績は上述の諸家の報告とも一致する。ま

た間接刺激で筋の活動電位消失後、直接刺激によって活動電位の発生がみられている。この事は aleviatin 自身にクラール様作用がある事を示すものである。神経筋伝達遮断を起こす要因として (1)終板の ACh に対する感受性低下、(2)筋線維の興奮性の低下、(3)神経終末からの ACh 遊離減少¹³⁾らがあげられている。併し今回の実験からは aleviatin の抑制作用がどの要因によるかは結論できないが、神経に対しては作用すること、筋に対しては殆んど作用しないことなどから、(3)の要因が考えられる。今後の追求が必要である。なお使用した aleviatin 原液 (5%) は強アルカリ性 (pH 11.7) であり、その影響も当然考慮しなければならない。¹⁴⁾ Gamstorp は神経筋接合部に対して metabolic alkalosis は軽度の抑制作用があるとし、若林も EPP に対して酸性では強く抑制的に作用するが、アルカリ性では僅かに低下させるにすぎないと報告している。一方、Norris⁷⁾ かも pH 12 の稀釈液と aleviatin の作用と比較し、pH 12 の稀釈液では効果なかったと報告しており、私も此を確認した。従って稀釈液の pH の影響は重要視しなくてもよいと思われる。この外に、稀釈液の成分は propylene glycol 40v/v% 及び ethanol 10.5 v/v % であるので、その影響も考えねばならない。そこで稀釈液をリンガー液で薄め、その作用を観た。その結果 aleviatin 0.5 及び 0.05 % 液で EPP が消失する時点において稀釈液では未だ EPP の消失が観られない。むしろ増大するのが観られた。結局稀釈液でも EPP は消失したが、消失する時間は aleviatin のそれに比べ 6 倍以上も長かった。従って aleviatin 原液を除けば稀釈液の影響は考えなくてもよいようである。

2. phenobarbital

phenobarbital は Hauptman¹⁾ によりてんかんに応用され、その強力な抗痙攣作用が認められ aleviatin と共に広く使用され、特に痙攣発作に有効である。その作用機序としては、大脳皮質、殊に運動領に抑圧的に作用すると

みられている。一方、末梢神経に対しては、³⁾ Toman は蛙坐骨神経の興奮を抑制すると報告し、Heinbecker らは蛙坐骨神経で閾値上昇、活動電位のスパイク振幅、後電位の縮小などを認めている。また自律神経節における伝達は低濃度で遮断されるという報告もある。¹⁶⁾ 私の実験成績をみると、高濃度では神経に抑制的に作用し、終板部に対しても強く抑制的に作用している。原液（5%）及び0.5%ではaleviatinより抑制は強く、EPP消失に要した時間もaleviatinより短かった。その作用機序はaleviatinと同じ要因も考えられるが、phenobarbitalの0.005%では軽度EPPの上昇が認められ、終板部に対する作用機序にaleviatinとは相違があるのでないかと思われる。phenobarbitalはaleviatinと異なり麻酔作用を有しておる。処で同じく麻酔作用を有するprocaineは終板部に対してACh感受性及び筋細胞膜の興奮性を低下させて、クラーレに似た伝達遮断を起す事が知られている。²⁸⁾ 私の実験でもphenobarbitalで間接刺激による筋活動電位消失後、直接刺激で筋に活動電位が発生した。即ちクラーレ様作用が認められた。更にphenobarbitalは高濃度では抑制的に、低濃度では促進的に作用し、二重作用を有する事である。¹¹⁾ 竹内はEPPに対する乳酸、AChの二重作用を“麻酔作用を有する薬物は微量では必ず促進的に作用する”、即ち二重作用を有するというSchmiedbergの説から説明している。phenobarbitalでみられた二重作用も同じ様に説明できるし、作用機序の上でprocaineと似ているものと考えられる。

3. minoaleviatin

minoaleviatinはoxazolidine誘導体であり、¹⁷⁾ Everett & Richards が動物実験によりその強力な抗痙攣作用を証明した。しかし現在では臨床的に痙攣発作には無効であり、小発作に特異的な効果があるとされている。その作用機序については解明されておらず、視床を含む脳幹網様系に働くのではないかという想定がなされているに過ぎぬ。末梢に対しては

少なくとも薬用量においては問題にならぬとされており、その報告は殆んどみあたらず。³⁾ ただTomanが末梢神経に対する作用を他の抗てんかん剤と比較して、その抑制作用は極めて弱いと云う報告をみるに過ぎぬ。今回の実験においても、minoaleviatinの末梢への抑制作用は弱く、aleviatin, phenobarbitalに比して著しく劣ることがわかった。即ちminoaleviatinは高濃度でも神経及び筋に何ら作用せず、終板部に対しても原液（5%）以外の濃度では殆んど変化がみられなかった。原液（5%）を作用させた場合はEPPは低下し、約6分後に消失をみた。同一濃度に於いて、aleviatinでは約1分後、phenobarbitalでは約30秒後にEPPは消失しており、而もminoaleviatinのみEPP消失後、リンガー液と交換するとEPPは容易に回復した。この事からもminoaleviatinは高濃度においても終板部に対する抑制作用は弱い事がわかる。原液（5%）で間接刺激による筋活動電位の消失後直接刺激で筋の活動電位を証明する事ができた。minoaleviatinにもクラーレ様作用がある事が分る。併しこのクラーレ様作用の機序は、aleviatinあるいはphenobarbitalと相違するかはどうかは今後の研究に俟たい。

4. resochin

resochinは元来抗原虫、抗膠原病剤であり、各科領域¹⁸⁾において使用されている。わが国では和田がてんかんに応用して以来、諸家によっても試みられ、最近の報告¹⁹⁾では小発作アブサンスに最も有効であるが、大発作にも有効とされている。併しresochin単独服用ではあまり効果は期待できぬとされている。一方resochinの作用機序について諸家により種々述べられているが、²⁰⁾ いまだ明確な説明はなされていない。また動物実験においても抗痙攣作用の有無は明らかでない。²¹⁾ ただSteriade & Stoicaがquinidineで電撃閾値の上昇をみているに過ぎない。末梢神経に対する作用についての報告もみあたらない。

今回の実験でresochinは各濃度において神

経及び筋に影響を与えることなく、終板部に強く抑制的に作用した。原液（5%）及び0.5%ではphenobarbitalに次ぐ抑制作用を示し、0.05, 0.005%でも抑制的に作用した。なおresochinでも間接刺激で筋の活動電位の消失後直接刺激で筋の活動電位を証明する事ができた。従ってクラール様作用を有する事が分る。即ちaleviatin, phenobarbital, minoaleviatinと同じく外見的にクラール様作用を有しているが、その機序は必ずしも皆同じであるとは云われない。resochinではaleviatin, phenobarbitalと比較して明らかに異なった経過がみられ、これらの事は終板部に対する作用機序の面で相違があると思われる。resochinが終板部に強く抑制的に作用する要因として最も考えられるのがpHの影響である。使用したresochinは酸性（原液（5%）でpH 4.5, 0.5%でpH 5.5, 0.05%でpH 6.25, 0.005%でpH 6.9）であった。神経筋接合部へのpHの影響についてGamstorp¹⁴⁾はmetabolic acidosis (pH 6.8)は軽度抑制的に作用すると報告しているが、一方若林らによると酸性はEPPに著明に影響し、pHが酸性に傾くとEPPは減少していき、強酸性（pH 5以下）ではEPPは遂に消失してしまうという。この場合のpHの作用は神経終末からのACh放出量に関与していると述べている。従って今回の実験においても酸性の影響が極めて大きいと考えられるので、私もこの点を確めるためにpH約7のresochinを作用させてみた。この場合は抑制作用は極めて弱く、ほぼminoaleviatinと同程度であった。従って、pHの影響を除いても軽度抑制的に作用していると考えられる。resochinの作用機序としては種々の要因があげられているが、そのうち一応終板部における抗アセチルコリン作用、組織酵素阻害作用などが考えられるがいずれも確かなものでない。いずれにしても今回resochinでみられた終板部への抑制作用はpH(酸性)の影響に負う所が大きいと考えられる。

5. diamox

diamoxは元来 sulfonamide誘導体に属する利尿剤であり、その作用は炭酸脱水酵素阻害作用にある。²²⁾抗てんかん剤としての応用は²³⁾Bergstromらが水分代謝調節の観点から試み有効と報告し、わが国では和田ら²⁴⁾がてんかん治療に導入し、現在では各種てんかに有効であるが特に小児てんかんに有効であり、単独投与より他剤との配合で効果があるとされている。Bergstromら以来、diamoxの抗てんかん剤としての作用機序の追求が諸家により行なわれているが、なお不明の点が多い。その機序としては、脳内での炭酸脱水酵素の抑制作用を重要視する見解が強い。末梢神経や終板部に対するdiamoxの作用については知られていない。

diamoxの終板部に対する作用を検討してみると前述のaleviatin, phenobarbital, minoaleviatin, resochinとは明らかに異なった作用を示している。即ち前述諸薬物が程度の差はあっても(phenobarbital 0.005%を除いて)終板部に対して抑制的な方向に作用したのに反して、diamoxでは明らかに終板部に促進的(興奮的)に作用した。原液(5%), 0.5%ではクラールにより遮断されていた終板部を開通させ活動電位を発生させている。しかし0.005%では変化なく、この濃度では終板部に影響しない。高濃度程その促進傾向は強かった訳だが、前述の様に原液(5%)の場合には急激に増大した電位が3分後より逆に急激に低下し、15分以後はなだらかな経過をとったが、この変化はその場合みられた自発性の線維性収縮と関連があるものと思われる。¹¹⁾竹内は連続刺激による筋の収縮高の低下は筋の直接刺激の場合はなだらかであるのに反し、間接刺激による場合は急激な低下がみられることから、この急激な低下は終板部の疲労によるものとしている。又終板部は神経線維や筋線維に較べ疲労し易い事が知られている。従ってdiamoxの原液(5%)でみられたEPP増大後の急激な低下は、自発性の

線維性収縮により終板部が疲労したためと考えられる。一方、自発性の線維性収縮の原因として神経終末の興奮性が高まるためと考えられており、²⁸⁾ diamox に於いても神経終末に作用してその興奮性を高める作用を有すると思われる。又 diamox が終板部に促進的に働く機序を考える場合、炭酸脱水酵素阻害作用を直接終板部に当てはめて考える事は現在の知見からして困難である。自発性の線維性収縮を起こす物質として知られている TEA, guanidine, phenol らが神経終末の興奮性を高め、その結果神経終末からのACh遊離を増加させて終板部に促進的に働き、EPPの増大をきたす事が知られており、²⁹⁾ diamox も同様の機序で終板部に促進的に作用すると思われる。従って diamox は広い意味で抗クラレ様作用を有するものと考えられる。

以上述べた各抗てんかん剤の終板部に対する作用をそれぞれ各濃度で比較したのが第25, 26, 27, 28図のグラフである。それぞれ順に原液(5%), 0.5%, 0.05%, 0.005%での比較を示してある。次に第25~28図の結果を模式化して示したのが第29図である。図中、下向きの矢印は抑制作用を、上向き矢印は促進作用を、水平方向の矢印は影響のない事を示した。また矢印の数はその比較的の強さを現わしたものである。

7. 抗痙攣作用との比較

てんかんの本態は依然として未解決という

FIG. 25. Comparison of effects on the EPP of curarized muscle in 5% solution.

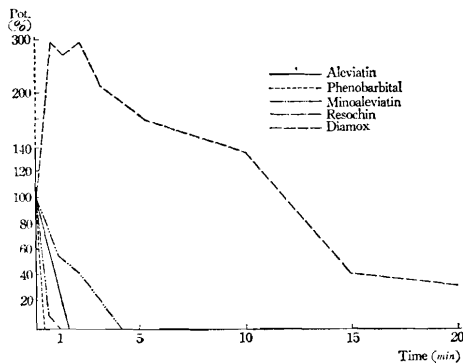


FIG. 26. Comparison of effects on the EPP of curarized muscle in 0.5% solution.

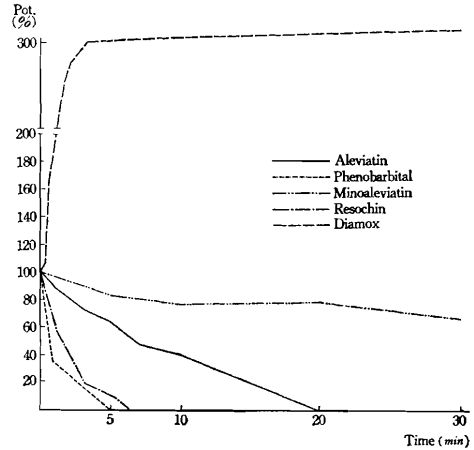


FIG. 27. Comparison of effects on the EPP of curarized muscle in 0.05% solution.

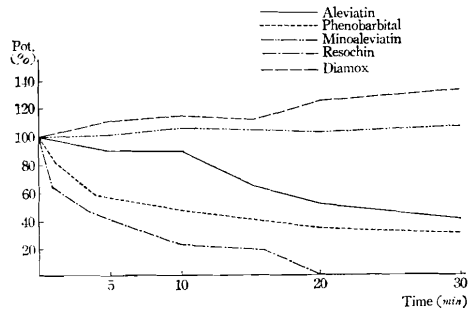
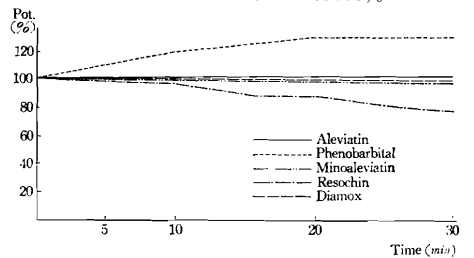


FIG. 28. Comparison of effects on the EPP of curarized muscle in 0.005% solution.



ものの、近年動物実験の発展を中心として、少しずつ解明されてきている。少なくとも全汎性発作ではいずれの型においても、視床を含む脳幹の網様系がpacemakerとなっているという考えが有力となってきておる。³⁰⁾しかし、いずれの型の発作にしても、どの様な径路を経て、どの様に異常興奮が波及して臨床

FIG. 29. Profile of effect of anti-epileptic drugs on the EPP of curarized muscle.

	Aleviatin	Phenobarb.	Minoalev.	Resochin	Diamox
5%	↓↓↓↓↓	↓↓↓↓↓	↓↓↓	↓↓↓↓↓	↑↑↑
0.5%	↓↓↓	↓↓↓	↓	↓↓↓↓↓	↑↑↑↑↑
0.05%	↓	↓↓	→	↓↓↓	↑
0.005%	→	↑	→	↓	→

症状を現わすかは不明である。従って抗てんかん剤がどの様な機序でどの部に作用し、効果を発現しているかは極めて興味深い問題である。中枢神経系のシナプス伝達機構が発作発現に關与している事は明白であるが、細胞内電極による観察が可能となった現在でも中枢でのシナプス研究は種々困難を伴うのが現状である。そういう点でも神経筋接合部は手頃なシナプスの model として古くより研究されてきた訳で、数多くの薬物の作用態度が判明し、多くの知見を与えてきている。しかし抗てんかん剤の神経筋接合部に対する作用については一部しか知られていない。もとより抗てんかん剤は、少なくとも臨床的薬量では中枢系に作用するものとされており、中枢系のシナプス構造は末梢のそれより複雑である。従って神経筋接合部で得られた知見をそのまま中枢のそれとして当てはめる訳にはいかないのは当然である。しかし、種々の薬物 (Mg, ether, phenol, guanidine, 抗 cholinesterase 剤) の接合部における作用と中枢神経系における作用とがある程度平行している事が注目されているように、今回の実験においても中枢における抗てんかん剤の作用と若干の関連性がみられた事実は非常に興味深い事である。

実験に使用した抗てんかん剤のうち aleviatin, phenobarbital については前述したように、その末梢神経及び神経筋接合部に対する作用についてはいくつかの報告があり、その抑制作用を認めており、その点では私の実験

結果とも一致する。しかしその他の抗てんかん剤については報告はみあたらない。

抗てんかん剤の抗痙攣作用の効果判定や比較の方法は緒言で述べたようにいくつかの方法が行なわれており、殊に古い歴史をもつ aleviatin, phenobarbital, minoaleviatin の効果や比較については数多くの報告がされている。Everret & Richards は電気刺激で惹起させた痙攣発作について前記三薬剤を比較しているが、使用した薬剂量が同一でないのでその量的な面も考慮に入れて、その効果をみると phenobarbital > aleviatin ≧ minoaleviatin の順となっており、一方 metrazol 痙攣に対しては aleviatin が無効で、minoaleviatin で強力な効果を認めている。また Toman, Goodman も同様、最大電気痙攣に対しては phenobarbital > aleviatin ≧ minoaleviatin の順で、minoaleviatin ではその効果は著しく弱いと報告している。最近ではこれ筋痙攣を目安とする方法から一歩進んで脳内放電を直接の指標として、抗てんかん剤の効果を比較する方法もとられてきているが、岸によると新皮質及び間脳発作に対しては phenobarbital, aleviatin 共、著しい閾値上昇をみたのに反し minoaleviatin では軽度であり、一方アンモン角発作については phenobarbital のみに閾値上昇作用をみている。

私の終板電位について行なった実験においては上記三薬剤は 0.005 % を除いた濃度においていずれも抑制的に作用し、その抑制の強さは phenobarbital > resochin (not neutrali-

zed > aleviatin ≧ minoaleviatin = resochoin (neutralized) の順であり、前述した中枢での電気刺激に対する抗痙攣作用の効果とほぼ平行した関係が認められる事は直接その関係を結びつける訳にはいかぬとしても興味深い点である。

resochoin の中枢での抗痙攣作用については不明であるが、今回の実験では resochoin は phenobarbital に次ぐ終板部への抑制作用を示したが前述したように resochoin が強酸性である点から、実験で得られた結果をそのまま resochoin の作用として受けとれぬ。pH 7.0 にして pH の影響を除外しても resochoin はある程度抑制的に作用するが、その作用は軽度である事が分った。前述のようにもし中枢での抗痙攣作用と平行するとすれば resochoin は抗痙攣作用は弱いという結論になるが、この点に関しては更に検討する余地がある。

一方 diamox は終板部に対して前述諸薬剤とは対照的な効果を示し、興奮的（促進的）に作用する。diamox の抗痙攣作用に関する実験報告は少ない。Millichap²⁵⁾ は最大電気刺激に対して抑制的効果があったと報告している。併し他の抗てんかん剤との比較がされていない。一方、高橋は最小電気刺激による痙攣では、phenobarbital, aleviatin では閾値上昇がみられたのに反して diamox では上昇を認めなかった。diamox について今回得られた結果や臨床的に単独投与では余り効果がない事などから考えて、抗痙攣剤としての効果は疑問であり、本来の抗てんかん剤とは本質的に異なるものでないかという推論も可能である。併し終板部でみられた促進的効果が中枢でも平行して観られるかは diamox の中枢での作用機序など考えても疑問であり、この点にも末梢と較べ中枢での複雑な機構がうかがえる。

今回、私の行なった諸種抗てんかん剤の終板部に対する作用の実験成績を検討した結果、前述のように抗てんかん剤の中には中枢神経系での抗痙攣作用とある程度平行関係を

有するものもあり、抗てんかん剤の作用機序の不明瞭な現在、終板部に対する抗てんかん剤の作用機序を微小電極法によって、より一層明確にする事によって、中枢神経系に対する作用機序、更にはてんかんの本態の追求に側面より示唆を与えるものと考ええる。今後微小電極の使用により、その作用機序を追求するつもりであるが、その結果については後で報告する予定である。

結 語

臨床的に広く作用されている抗てんかん剤のうち、aleviatin, phenobarbital, minoaleviatin, resochoin, diamox の5種類を選び、ヒキガエルの坐骨神経縫工筋標本を使用して、隔絶法によりクラール筋で得られたEPPに各種薬剤を種々の濃度（5, 0.5, 0.05, 0.005%）で作用させ、終板部に対する作用を観察し、合わせて抗痙攣作用と比較しながら検討を加えた。得られた主な結果を要約すれば次の通りである。

1. aleviatin は最低濃度 0.005% を除いていずれもEPPを低下させ、5, 0.5% では結局EPPを消失させた。間接刺激による筋の活動電位は5, 0.5% aleviatin で消失するが、この時筋を直接刺激すると活動電位が再び証明された。また神経の活動電位は5% aleviatin では消失するが、0.5% aleviatin では全く影響をうけなかった。これらのことは aleviatin は適当な濃度でクラール様作用を有することを示すものである。

2. phenobarbital は 0.005% を除いて、aleviatin に類似した作用を示した。0.005% phenobarbital では徐々にEPPを僅かであるが上昇させた。筋及び神経の活動電位に対する作用も aleviatin に似ていた。勿論 aleviatin とは量的な相違が認められた。

3. minoaleviatin の作用も aleviatin のそれに類似していた。勿論両者の間には量的な相違は認められた。筋及び神経の活動電位は、5, 0.5% minoaleviatin によって全く影響を

受けなかった。

4. resochinの作用は aleviatinに類似していた。併しaleviatinより強かった。EPPは全濃度で低下し、5, 0.5, 0.05%では結局消失した。併し resochin の作用はその強酸性に基づくことも考えられたので、中性にしたresochinを作用させた処、弱いけれどもEPPの低下を認めることができた。筋及び神経の活動電位は5% resochin で僅かに低下したが、0.05% resochin で影響を受けなかった。

5. aleviatin, phenobarbital, minoaleviatin 及び resochin の4種の薬物のEPPに対する抑制作用を比べると次の順序で弱くなることが認められた。phenobarbital > resochin (中性にしないもの) > aleviatin ≧ minoaleviatin = resochin (中性にしたもの)。

6. diamox の作用は、前記4種の薬物と比べると著しい相違がみられた。5%では、EPPは急激に上昇し、次いで徐々に低下し、遂に消失した。他の濃度では、最低濃度を除いていずれもEPPの上昇を来たした。最低濃度ではEPPは変化しなかった。またdiamoxによってEPPの上昇している時期には、二相性または多相性の筋の活動電位がEPPに重畳するのが認められた。このことは、クラーレによって遮断された神経筋接合部の充奮伝達がdiamoxによって開通されたことを示すものである。筋及び神経の活動電位は5, 0.5% diamoxにより影響を受けなかった。

7. これら5種の薬物の作用機序について若干の考察をし、合わせて中枢神経系での作用と比較検討し、抗痙攣作用とある程度平行関係を有する事がわかった。

文 献

- 1) HAUPTMAN, A. : Luminal bei Epilepsie. Münch. med. Wschr., 1912, **59**, 1907.
- 2) 和田豊治：本邦薬剤治療の現況，臨床と研究 1963, **40**, 914.
- 3) TOMAN, J. E. P. : The neuropharmacology of anticonvulsants. E. E. G. clin. Neurophysiol., 1949, **1**, 33.
- 4) ESPLIN, D. W. : Effect of diphenylhydantoin on synaptic transmission in cat spinal cord and stellate ganglion. J. Pharmacol. exp. Ther., 1957, **120**, 301.
- 5) MORREL, F. et al. : Effect of diphenylhydantoin on peripheral nerve. Neurology (Minneapolis) 1958, **8**, 140.
- 6) BLOM, S. : Diphenylhydantoin and Lidocaine in decerebrate cats. Arch. Neurol. (Chic.) 1963, **8**, 506.
- 7) NORRIS, F. H. et al. : Effect of diphenylhydantoin on neuromuscular synapse. Neurology (Minneapolis) 1964, **14**, 869.
- 8) 中上克彦：終板電位に及ぼす蛇毒の影響，弘前医学，1961, **13**, 284.
- 9) 中上克彦・長岡 拓：終板電位に及ぼす蜂毒の影響，弘前医学，1964, **16**, 352.
- 10) 小沢禎治：電気生理学研究，1955, **8**, 1.
- 11) 竹内虎士：端板伝達の促進，抑制についての実験，生体の科学，1961, **12**, 39.
- 12) MERRIT, H. H. & PUTNAM, T. G. : A new series of anticonvulsant drugs tested by experiments on animals. Arch. Neurol. Psychiat., 1938, **39**, 1003.
- 13) 古河太郎：微小電極法の手引，金芳堂，1957.
- 14) GAMSTORP, I. & VINNARS, E. : Studies on neuromuscular transmission. I. Influence on neuromuscular transmission of alkalosis and acidosis. Acta physiol. scand., 1961, **53**, 142.
- 15) 若林 勲・岩崎静子：終板電位，終板微小電位の変動条件，日生理誌，1959, **21**, 900.
- 16) 中修三編：神経化学，医学書院，1954.
- 17) EVERRET, G. M. & RICHARDS, R. K. : Comparative anticonvulsive action of 3, 5-5 trimetyloxazolide-2, 4-dione (Tridione), Dilantin and Phenobarbital. J. Pharmacol. exp. Ther., 1944, **81**, 402.
- 18) 和田豊治・桜田 敬：難治てんかんの“Resochin”治療，脳と神経，1961, **13**, 281.
- 19) 和田豊治・桜田 敬：てんかんに於けるChloroquine付加治療の問題，綜合臨床，1964, **14**, 944.
- 20) Resochin 文献集“1~5”バイエル社，1959-1962.
- 21) STERIADE, E. & TOICA, E. : On the anticonvulsant effect of quinidine. Epilepsia. 1959, **1**, 264.
- 22) “ダイアモックス”日本レダリー社，1962.
- 23) BERGSTROM, W. H. et al. : Observations on the metabolic and clinical effect of carbonic anhydrase inhibitors in epilepsy. Amer. J. Dis. Child., 1952, **84**, 771.
- 24) 和田豊治：抗てんかん剤としてのDiamoxの臨床，日本臨床，1961, **19**.
- 25) MILLICHAP, J. G. et al. : Mechanism of the anticonvulsant action of acetazolamide, a carbonic anhydrase inhibitor. J. Pharmacol. exp.

Ther., 1955, **115**, 251.

26) 高橋 良ら：動物脳の興奮水準に対する各種薬物の影響—痙攣閾値について—, 脳と神経, 1959, **11**, 1053.

27) 谷向 弘ら：炭酸脱水酵素阻害剤の抗てんかん作用について, 神経研究の進歩, 1963, **7**, 902.

28) 大塚正徳：神経筋接合部の生理と薬理, 生体の科学, 1961, **12**, 137.

29) 井上清恒：端板の機能, 生体の化学, 1956, **7**, 370.

30) 和田豊治編：てんかん学—臨床・基礎—, 医学書院, 1964.

31) TOMAN, J. E. P. & GOODMAN, L. S. :

Anticonvulsants. *Physiol. Rev.*, 1948, **28**, 409.

32) WHIELDON, J. A. & HARREVELD, A. V. : Drugs effect on the results of minimal cortical stimulation. *E. E. G. clin. Neurophysiol.*, 1951, **3**, 31.

33) GANGLOFF, H. & MONNIER, M. : The action of anticonvulsant drugs tested by electrical stimulation of the cortex, diencephalon and rhienencephalon in the unanesthetized rabbit. *E. E. G. clin. Neurophysiol.*, 1957, **9**, 43.

34) 岸 嘉典：抗てんかん剤の効果に関する電気生理学的研究, 精神誌, 1960, **62**, 1574.

EFFECTS OF ANTIPILEPTIC DRUGS ON END-PLATE POTENTIAL

By

YOSHITAKA MATSUMOTO

*Department of Physiology (Director : Prof. T. NAKAMURA) and
Department of Neuropsychiatry (Director : Prof. T. WADA),
Faculty of Medicine, Hirosaki University*

There have been few reports concerning the effects of antiepileptic drugs on the peripheral nerve, muscle and neuromuscular junction. This study was carried out to know the effects of antiepileptic drugs on the endplate potential (EPP) which has been remained unknown.

An isolated sciatic-sartorius preparation of toad (*Bufo vulgaris formosus*) was mounted in a Ringer bath for 30 minutes before use. EPP was extracellularly recorded by Ozawa's method after the muscle had been poisoned with d-tubocurarine chloride pentahydrate (Amelizol). EPP was recorded by synchroscope (Iwasaki, MS-5013) or dual beam oscilloscope (Nihon-Koden, VC-6) with a direct current amplifier. Nerve and muscle were stimulated by electronic stimulator. The stimulus thereby was a spike pulse of the maximum strength continuing for 0.07 msec. The drugs examined were diphenylhydantoin sodium (Aleviatin), sodium 5-ethyl-5-phenylbarbiturate (Phenobarbital), trimethyloxazolinedion (Minoaleviatin), chlorquine diphosphate (Resochin) and acetazolamide (Diamox). These drugs were dissolved in Ringer solution in concentrations of 5, 0.5, 0.05 and 0.005 % except 5 % Aleviatin which was dissolved in propylene glycol 40 v/v % and ethanol 10.5 v/v %.

The results were :

1. Aleviatin produced a fall of EPP followed by an abolition in all the concentrations but the lowest one in which EPP did not change. The abolished potential did not recover by switching the drug solution to Ringer solution. The muscle action potential by indirect stimulation was abolished by 5 and 0.05% Aleviatin solution ; by stimulating directly the muscle action potential was abolished by 5% Aleviatin solution

but was not effected by the 0.05 % solution.

These results suggest that Aleviatin acts as the curare-like drug in an appropriate concentration.

2. Phenobarbital produced a similar effect to EPP except in the lowest concentration which increased EPP very slowly. A similar effect as seen in Aleviatin on the muscle and nerve action potential was also found, though different quantitatively from Aleviatin.

3. Minoaleviatin effected similarly to Aleviatin on EPP, but quantitatively different. The abolished potentials recovered by switching the drug solution to Ringer solution. Five and 0.5 % Minoaleviatin solution was ineffective on the muscle and nerve potential.

4. The effect of Resochin also resembled to Aleviatin, but it was stronger than Aleviatin ; all the concentrations decreased EPP and 5, 0.5 and 0.05% concentrations abolished EPP. This effect of Resochin may be attributed to its high acidity solution ; pH of 5, 0.5 and 0.05 % Resochin solution were 4.5, 5.5 and 6.3 respectively. The neutralized Resochin also produced a slight decrease of EPP. The muscle and nerve action potential were slightly decreased by 5 % Resochin but were not influenced by 0.5% Resochin.

5. The inhibitory effects of the antiepileptic drugs on EPP were nearly in order of : Phenobarbital > Resochin (not neutralized) > Aleviatin > Minoaleviatin = Resochin (neutralized).

6. Conversely to the drugs mentioned above, Diamox showed the following findings : 5% Diamox produced initially a rapid increase of EPP but it was followed by a decreasing potential, finally by an abolition. Diamox showed only an increase of EPP in other concentrations except in the lowest ineffective concentration. It was also found that the diphasic or polyphasic action potential of the muscle was superimposed on EPP in the increasing period of EPP induced by Diamox application. This fact indicates that neuromuscular transmission blocked by d-tubocurarine can be restored by Diamox application. Five and 0.5% Diamox was ineffective on the muscle and nerve action potential.

(Autoabstract)