

カルジアゾール痙攣と脳内セロトニン

鈴 木 喜 八 郎

SUZUKI-KIHACHIRŌ

弘前大学医学部薬理学教室 (指導 角田幸吉 教授)

(17. 1. 1968 受付)

は じ め に

レセルピンが脳セロトニンを減少させ、かつ電撃痙攣およびカルジアゾール (PMT… pentamethylene tetrazol⁶⁾⁷⁾の略) 痙攣閾値を低下させることが Chen⁶⁾⁷⁾ らによって明らかにされた。これとは逆に Prockop¹⁹⁾²⁰⁾ らはイプロニアジッド (Iproniazid), JB-516, JB-807 等を投与すると脳セロトニンが増加し、さらに電撃痙攣・PMT 痙攣閾値が上昇するのを観察し、モノアミン酸化酵素阻害剤に抗痙攣作用があることを認めた。Bonycastle³⁾⁴⁾ ら、Anderson¹⁾ らは各種の抗痙攣剤の投与によって脳セロトニンの著明な増加を認めているし、Garattini¹¹⁾ らもほぼ同様の結果を得ている。また、脳セロトニンの生理学的意義について多くの研究がなされた結果、これがおそらく神経伝達の化学的媒体であろうと考えられるようになった。⁵⁾¹⁶⁾

以上のことがらから脳セロトニンの増減によって痙攣のおこりやすさが変化するのではなからうかと想定されるわけである。この点で興味があるのは Kobinger¹³⁾ の実験成績である。マウスについて PMT 痙攣閾値を調べると、レセルピンは痙攣閾値を低下させるが、あらかじめイプロニアジッドで前処置してからレセルピンを投与すると、痙攣閾値は上昇する。さらにセロトニンの前駆物質である5-ハイドロキシトリプトファンを投与しても痙攣閾値の上昇がみられたが、イプロニアジッドの投与後 5-ハイドロキシトリプトファン

を投与すれば PMT 痙攣閾値は著明に上昇していた。すなわち、脳セロトニンの増加が痙攣閾値の上昇をもたらすことが示唆されるわけである。しかし、脳セロトニン・レベルと痙攣閾値との関連はそれほど単純なものではなかった。即ち、Kobinger¹³⁾ の実験においてもイプロニアジッド単独投与では脳セロトニンは増加したが、PMT 痙攣閾値には変化がなかったし、Bonycastle³⁾ らもイプロニアジッド、5-ハイドロキシトリプトファンで脳セロトニンを増加させたが、PMT 痙攣閾値には何らみるべき変化がなかったと述べている。最もよく知られている抗てんかん剤である Diphenylhydantoin を投与して、脳セロトニン量の変化と同時に電撃痙攣閾値の変化も測定した Anderson¹⁾ らの成績も脳セロトニンの増加と電撃痙攣閾値の上昇とは完全には平行していないことを示している。

以上、脳セロトニンを増加或いは減少させる物質が抗痙攣作用或いは痙攣促進作用を有するかどうかをみてきた。それによれば、脳セロトニン・レベルの高低が痙攣準備性を決定するということには若干の疑問が残されているようである。しかし、このことは痙攣が発現する際にセロトニンが関与していないことの証左にはならないであろう。また現在まで痙攣発現機序に関する神経化学的研究が数多くなされたが、これを完全に解明したという段階ではなく、むしろ痙攣に関係のある全ての代謝変化を探し求めているのが現状であると言い得べく、セロトニンが痙攣に関与す

るかどうかは大きな課題であるといえよう。そこで著者は痙攣誘発法として PMT 静注法を用い、痙攣が誘発され終熄する過程において脳セロトニンがどのように変動するのかを検討し、痙攣にかかわるセロトニンの意義を明らかにしようと思い本研究を行なった。

ところで、痙攣時の脳セロトニンの動態を観察した研究報告は若干ある。しかしながら、これらの研究報告は電撃痙攣や PMT 痙攣終了後のセロトニンの変化をみたものであって、痙攣が誘発されてゆくに従ってセロトニンがどのような動態を示すかについて観察したものではなく、痙攣発現機序に対するセロトニンの意義について得るところは少ないように思われるので、著者は前報と同様、筋搐搦が誘発される以前の検索をも含めて痙攣の進行とともに脳セロトニンがどのように変化するかを脳部位別に検討することにした。

実験材料および実験方法

I. 痙攣誘発方法

Wistar系雄性ラット、体重150~200gのものをを用いた。尾静脈内に自動注入器を使用して、10mg/mlのPMT（三共製薬のものを蒸留水で希釈した）を1分間0.5mlの一定速度

で注入した。この条件下では、最初筋搐搦（twitching）がみられ、やがて間代性痙攣が出現する（PMT注入はここで中止するが、続いて強直性痙攣が認められる）。予め筋搐搦・間代性痙攣を誘発するために要する注入時間を調べておいた。それらの所要時間は表1に示してある。

A：無処置ラット脳セロトニンの動態

表1に示された所要時間を参考にして表2に示したごとく、

1) 対照群

2) PMTを29.1sec/100g・体重まで注入した群（筋搐搦をまだ誘発していないもので筋搐搦発現直前のもの）

3) 平均42.3±3.3sec/100gまで注入して筋搐搦を誘発した直後のもの

4) 平均57.9±6.0sec/100gまで注入して痙攣を誘発させ、痙攣終了後60秒を経過したもの。

以上の4群のラットの頸動脈を切断、頭蓋骨を除去して脳を取出し、氷冷ガラス板上におき附着している血液を氷冷した0.2N-過塩素酸で出来る限りとり除いた。脳表面に附着した過塩素酸は濾紙で吸い取った。脳は大腦半球^{a)}、間脳^{b)}、中脳・延髄^{c)}の3部位にわけ、そ

表 1 Cardiazol (PMT) の筋搐搦・痙攣閾値

処 置 mg/kg i.p.	例 数	P M T 注 入 時 間	sec/100g i.v.
		筋 搐 搦	痙 攣
対 照	10	39.1±5.3	59.8±6.8
PB. 100 (30分後)	10	83.6±10.1	371.0±45.8
Res. 5 (17~18時間後)	10	19.4±2.2	29.8±1.3

数量：平均値±標準誤差

PB., Res.: Phenobarbital, Reserpine

PMT注入：10mg/mlのものを0.5ml/分速度で注入

表 2 セロトニン定量に供された各群のPMT注入時間

処 置 mg/kg i.p.	例 数	P M T 注 入 時 間		sec/100g
		筋搐搦発現直前	筋搐搦発現直後	痙攣終了60秒後
無 処 置	12	29.1	42.3±3.3	57.9±6.0
PB. 100 (30分後)	10	73.6		
Res. 5 (17~18時間後)	10	14.4		

れぞれの200mg前後の脳を取りセロトニン定量に供した。

B：フェノバルビタール前処置ラット

脳セロトニンの動態

フェノバルビタール 100mg/kg を腹腔内投与後30分の PMT 痙攣閾値は表1に示してあるように、筋搐搦誘発に要する注入時間は $83.6 \pm 10.1 \text{ sec}/100\text{g}$ である。そこで $73.6 \text{ sec}/100\text{g}$ まで PMT を注入し筋搐搦発現直前の状態にある群についても脳セロトニンの変化を観察した。

C：レセルピン前処置ラット脳セロトニンの動態

レセルピン 5 mg/kg を腹腔内投与後17~18時間の PMT 痙攣閾値も表1に示した。それによれば筋搐搦誘発に要する注入時間は $19.4 \pm 2.2 \text{ sec}/100\text{g}$ であったので $14.4 \text{ sec}/100\text{g}$ まで PMT と注入したものを筋搐搦発現直前の群とし、これらについてA, Bにおける実験と同様セロトニンの定量を行なった。

D：無処置ラット脳モノアミン酸化酵素活性の動態

無処置ラット脳セロトニン量にみられた変動が何によるものかを検討するために脳のモノアミン酸化酵素活性を測定した。対照、筋搐搦発現直前、筋搐搦発現直後、痙攣終了60秒後の各群について検討を加えたが、注入した PMT 量は表6に示してある。

Ⅱ．セロトニン定量法

脳セロトニン定量法は Snyder²³⁾ の方法によったが、Venable²⁷⁾ の実験成績を参考にして一部を変更した。即ち脳組織200mg前後に氷冷過塩素酸 8 ml を加え周囲を氷で囲んだテフロンホモジナイザーでホモジネートする。この際、内筒の回転数・上下運動の速度は各サンプルについて可及的に同一にした。このようにして得たホモジネートを 900g で10分間遠沈し、その上澄のうち 4 ml を共栓遠沈管にとり、飽和苛性ソーダを加えて pH 10 に調整し、さらに 0.5M-ホウ酸緩衝液 (pH 10)、食塩を加えた。これにN-ブタノール 15

ml を入れて10分間振盪し遠沈する。水層は吸引して之をすて有機層は0.5 M-ホウ酸緩衝液 (食塩飽和) を加えて再び振盪・遠沈しN-ブタノール層を分離する。このN-ブタノール 10ml にn-ヘプタン 15ml 及び0.05M-磷酸緩衝液 (pH 7.0) 1.4ml を加えて振盪・遠沈し、有機層を吸引してすて。水層に 0.1M-ニンヒドリンを加え、Venable の実験成績を参考にして、100°C で10分間加熱し、1時間室温に放置した後、蛍光分光光度計 (Farrand) を用い 385m μ で励起し 490m μ の蛍光強度を測定しセロトニン量を算出した。なお各サンプルについて励起及び蛍光波長がそれぞれ 385 m μ , 490 m μ であることをたしかめてある。

Ⅲ．モノアミン酸化酵素活性測定法

本測定は Udenfriend²⁶⁾ の記載に準じて行なった。即ち脳組織 200mg 前後に 0.25M-ショ糖を加え 10% w/v のホモジネートを作製した。著者は Dubnoff metabolic incubator を使用することが出来なかったため、その代りにワールブルグ検圧計を用いた。主室に 0.5M-磷酸緩衝液 (pH 7.4) 0.3ml, 上記ホモジネート 1.5ml および蒸留水 0.8ml を入れ、側室には基質であるセロトニン溶液 (pH 7.4 の 0.5 M-磷酸緩衝液にセロトニンを溶解し、6 μ M/0.4ml の濃度にしたもの) 0.4ml を入れた。検圧計を空気ポンプで通気しながら 37°C で予備振盪を行ない 10 分後に側室のセロトニン溶液を主室に添加した。その後30分間振盪したのちこれより 0.5ml をとり、N-ブタノール層に、ついで 0.1 N-塩酸層にセロトニンを移し分光光電光度計 (日立 139 型) を用いて 275m μ の吸光度を測定することにより残余のセロトニン量を算出し、単位時間・単位脳重量あたりのセロトニン破壊量をもってモノアミン酸化酵素活性値とした。Enzyme blank には主室にホモジネートの代わりに 0.25M-ショ糖を入れたものをあてた。予備実験として振盪時間を 15, 30, 45 分にして比較検討したところ、全脳のモノアミン酸化酵

素活性値は各 $12.01 \pm 0.54 \mu\text{M}\cdot\text{dest}/\text{g}/\text{h}$ (5例), $11.85 \pm 0.76 \mu\text{M}\cdot\text{dest}/\text{g}/\text{h}$, $11.45 \pm 0.49 \mu\text{M}\cdot\text{dest}/\text{g}/\text{h}$ であって振盪時間の長短による差はみいだすことが出来なかった。

実験成績

無処置ラット尾静脈内に PMT を注入した際の筋搐搦、痙攣の状態については前報²⁵⁾に詳細に記載したので、ここではその概略を記載する。PMT を注入し始めると、ラットは毛をそばたて、表1に示した如く $39.1 \pm 5.3 \text{ sec}/100\text{g}$ に至ると頭部から頸部にかけて筋搐搦が現われ、そのまま注入を続け $59.8 \pm 6.8 \text{ sec}/100\text{g}$ に達すると間代性痙攣が出現する。この時点で PMT 注入は中止するが、引続いて強直性痙攣が認められる。しかし、この強直性痙攣には tonic extension の要素はみられなかった。痙攣が終了するとラットはゆっくりと頭を動かし始めるが行動量は極めて少ない。痙攣を誘発したラットの約半数は痙攣終了後100~120秒にかけて再び筋搐搦をみせるものがあるが、痙攣に至るものはなかった。

フェノバルビタール $100\text{mg}/\text{kg}$ を腹腔内に投与して30分経過すれば、ラットは外的刺激に殆んど反応せず昏睡状態といい得る状態を呈する。これに $10\text{mg}/\text{ml}$ の濃度の PMT を $0.5 \text{ ml}/\text{分}$ の速度で注入すれば、10~15秒で急に自発運動が多くなり、 $83.6 \pm 10.1 \text{ sec}/100\text{g}$ で筋搐搦が現われる。 $371.0 \pm 45.8 \text{ sec}/100\text{g}$

まで注入を続ければ、間代性痙攣が、ついで強直性痙攣が認められる。強直性痙攣には tonic extension の要素は全く認められなかった。

レセルピン $5 \text{ mg}/\text{kg}$ 腹腔内投与17~18時間後のラットは自律神経系の症状一下痢、低体温、鼻汁流出などがみられ鎮静されている。前述の PMT を注入して $19.4 \pm 2.2 \text{ sec}/100 \text{ g}$ になれば筋搐搦が出現し、 $29.8 \pm 1.3 \text{ sec}/100\text{g}$ で間代性・強直性痙攣が発現した。レセルピン前処置群では10例中 6 例に tonic extension がみられた。

A: PMT 静脈内注入による無処置

ラット脳セロトニン量の変動

PMTを筋搐搦誘発に要する $10\text{sec}/100\text{g}$ 前、即ち $29.1\text{sec}/100\text{g}$ まで注入したいわゆる筋搐搦発現直前のラットでは、大脳半球、間脳、中脳・延髄の検索した全ての部位においてセロトニン量に有意の減少を認めた。その減少率は中脳・延髄 (25.5%の減少) > 間脳 (22.2%) > 大脳半球 (14.3%) の順であった。筋搐搦発現直後には3部位とも対照群と差を認められなくなっていた。痙攣終了60秒後には3部位とも対照群よりも有意の増加を示しており、その増加率は間脳 (35.2%) > 大脳半球 (22.9%) > 中脳・延髄 (19.6%) の順であった(表3)。即ち脳部位によって増減の程度に差異は認められるが、脳セロトニンは筋搐搦発現直前に減少し、一旦、筋搐搦が誘発されると対照群値まで増加し、痙攣終了後60秒に

表 3 無処置ラット脳セロトニンの動態

処置	sec/100g	例数	セロトニン $\mu\text{g}/\text{g}$		
			大脳半球	間脳	中脳・延髄
対 照	—	12	0.35 ± 0.01	0.54 ± 0.02	0.51 ± 0.03
筋搐搦発現直前	PMT 29.1	12	$0.30 \pm 0.02^*$ —14.3#	$0.42 \pm 0.04^*$ —22.2	$0.38 \pm 0.03^{**}$ —25.5
筋搐搦発現直後	PMT 42.3 ± 3.3	12	0.33 ± 0.02 —9.2	0.60 ± 0.04 +0.5	0.53 ± 0.04 +0.6
痙攣終了60秒後	PMT 57.9 ± 6.0	12	$0.43 \pm 0.02^{**}$ +22.9	$0.73 \pm 0.05^{***}$ +35.2	$0.61 \pm 0.05^{**}$ +19.6

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$

増減率%

は筋搐搦発現直前とは逆に増加するという3部位に共通した変動のパターンが得られた。

B：PMT 静脈内注入によるフェノバルビタール前処置ラット脳セロトニン量の変動

フェノバルビタール 100mg/kg 腹腔内投与後30分には大脳半球でセロトニン量の増加を見た。即ち対照群値の1.43倍に相当する0.50 $\mu\text{g/g}$ になった。一方、間脳および中脳・延髄では有意の増減はみられなかった。

フェノバルビタール 100mg/kg を腹腔内に投与すれば前述のように、筋搐搦、痙攣を誘発するために要する PMT の量は表1に示す如くそれぞれ2.1倍、6.2倍に増加する。このようなラットに PMT を 73.6sec/100g (筋搐搦発現に要する 10sec/100g前) まで注入し筋搐搦発現直前の状態にすれば、セロトニンは大脳半球では 0.50 $\mu\text{g/g}$ から 0.36 $\mu\text{g/g}$ に 28.0% の減少がみられた。しかし、間脳および中脳・延髄の2部位ではセロトニン量には変化がみられなかった (表4)。

C：PMT 静脈内注入によるレセルピン前処置ラット脳セロトニン量の変動

レセルピン 5 mg/100g を腹腔内投与後17～18時間の脳セロトニン量は大きな変動が認められた。即ち、大脳半球では対照群値に比して33.4%、間脳では47.3%、中脳・延髄では47.1%の減少がみられた。

レセルピンで前処置されたラットの筋搐搦、痙攣閾値は著明に低下している (表1参照)。筋搐搦発現に要する PMT 注入時間 19.4sec/100g の 5 sec/100g 前まで注入して筋搐搦発現前の状態にすると、大脳半球では 0.24 $\mu\text{g/g}$ からの 0.19 $\mu\text{g/g}$ に 20.8% の減少を見た。他の2部位ではセロトニン量に変動はみられなかった (表5)。

D：PMT 静脈内注入による無処置ラット脳モノアミン酸化酵素活性の変動

無処置ラットの尾静脈内に PMT を注入すれば、脳の3部位においてセロトニンが筋搐

表 4 Phenobarbital 前処置ラット脳セロトニンの動態

	処置 mg/kg i.p.	sec/100g	例数	セロトニン $\mu\text{g/g}$		
				大脳半球	間脳	中脳・延髄
対 照	Aq. 1000 (30分後)		10	0.34 \pm 0.02	0.56 \pm 0.02	0.50 \pm 0.03
昏 睡	P.B. 100 (30分後)		10	0.50 \pm 0.03 +47.2	0.59 \pm 0.04 -0.5	0.44 \pm 0.03 -12.1
筋搐搦発現直前	P.B. 100 (30分後) + PMT 73.6		10	0.36 \pm 0.03 -28.0	0.49 \pm 0.06 -16.9	0.45 \pm 0.03 +0.2

A— : A B間の比較を示す Aq: 蒸留水

表 5 Reserpine 前処置ラット脳セロトニンの動態

	処置 mg/kg i.p.	sec/100g	例数	セロトニン $\mu\text{g/g}$		
				大脳半球	間脳	中脳・延髄
対 照	Aq. 2000 (17～18時間後)		10	0.36 \pm 0.01	0.57 \pm 0.03	0.53 \pm 0.03
鎮 静	Res. 5 (17～18時間後)		10	0.24 \pm 0.01 -33.4	0.30 \pm 0.05 -47.3	0.28 \pm 0.02 -47.1
筋搐搦発現直前	Res. 5 (17～18時間後) + PMT 14.4		10	0.19 \pm 0.02 -20.8	0.34 \pm 0.03 +13.3	0.25 \pm 0.02 -10.8

表 6 無処置ラット脳モノアミン酸化酵素活性の変動

処 置	sec/100g	例 数	モノアミン酸化酵素活性 [#]		
			大脳半球	間 脳	中脳・延髄
対 照	—	11	12.92±0.65	11.94±0.48	8.89±0.72
筋搐搦発現直前	PMT 29.1	3	15.25±0.25	15.12±0.71	13.21±1.61
筋搐搦発現直後	PMT 44.1±3.0	5	15.54±0.31	13.43±0.22	12.86±0.82
痙攣終了60秒後	PMT 59.9±5.9	5	15.03±0.92	13.82±0.69	13.64±1.65

[#] 単位：セロトニン破壊量 $\mu\text{M}\cdot\text{dest/g/h}$

痙攣発現直前に減少し、筋搐搦発現直後には対照群値まで増加し、痙攣終了60秒後には対照群値よりも増加しているという動態を観察したわけであるが、このセロトニンの変動がモノアミン酸化酵素活性の変化によるものか否かを検討するために PMT を尾静脈内に注入し、筋搐搦発現直前のもの、筋搐搦発現直後のものおよび痙攣終了60秒後のものについて本酵素活性を測定したが、3部位とも活性値には変化が認められなかった(表6)。

考 按

以上の実験成績を中心に PMT 痙攣にかかわる脳セロトニンの意義について考察してゆくことにする。

PMTを尾静脈内に注入すると筋搐搦が、ついで痙攣が誘発される。表1に示したように筋搐搦を誘発させるために要する PMT の注入時間は平均 39.1sec/100gである。そこでその 10sec/100g 前 (29.1sec/100g) まで注入した筋搐搦発現直前のラットでは、大脳半球、間脳および中脳・延髄でセロトニンは減少した。実験動物の体重は 150~200g であるので PMT 29.1sec/100g の注入時間は 43.7~58.2秒である。すなわち約50秒前後の間に脳セロトニンは部位によって差異はあるが、14.3% ~ 25.5% が急速に減少したわけである。つぎに平均 42.3sec/100g まで PMT を注入し筋搐搦を誘発した直後のラットでは、検索した脳の3部位で対照群値と同じレベルまで増加しており有意の差は認められなくなった。一方、PMT を平均 57.9sec/100g まで注入し間代性・強直性痙攣を誘発して、その痙

攣が終熄し60秒経過した際の脳セロトニンは大脳半球、間脳および中脳・延髄の3部位で有意の増加があり、その増加率はそれぞれ 22.9%, 35.2%, 19.6% であった。

以上の実験成績で示唆に富む点は、どの部位でも筋搐搦発現直前にセロトニンが減少し、痙攣終了後にはセロトニンが増加しているという対比的な成績である。PMT を尾静脈に注入すると時間の経過とともに脳の興奮性(痙攣のおこりやすさ)は増大してゆき、ついには筋搐搦・痙攣が発現する。しかし、PMT 痙攣のある時期から脳興奮性は低下しはじめる。それは、PMT 痙攣を発現させたラットの約半数は痙攣終了後100~120秒にかけて再び脳興奮性が上昇することをうかがわせる実験結果を得ているが、さきに著者²⁵⁾らは、PMT 痙攣と脳電解質との関連を検討したときに筋搐搦発現直前には Na の神経細胞内流入がみられ、痙攣終了後60秒にはこの Na 流入が停止している成績を得、この実験成績を脳興奮性と電解質の神経細胞流入・流出との関連についての生理学的知見からみて、痙攣終了後60秒は脳興奮性が低下している時期であると考えたことによる。

筋搐搦や痙攣が誘発されてゆく過程におけるセロトニンの動態を検討した報告は、著者の知る限りでは見当たらないが、Schlesinger²¹⁾らは audiogenic seizure の感受性の強い DBA/2J, B6D2F1 および C57BL/6J の各系マウスについて、生後2週から1週毎に痙攣閾値がどのように変化するか、またそれについて脳セロトニン・ノルエピネフリンがどのように変動するかを検討している。それによ

れば、最も痙攣閾値の低い DBA/2J 系が痙攣準備性が亢進している時期に、セロトニン・ノルエピネフリンが低値を示していたという。また Chen⁶⁾⁷⁾らおよび Kobinger¹³⁾がレセルピンを投与すると、PMT 痙攣閾値が低下すると述べている。周知のようにレセルピンは脳セロトニン量を低下させる代表的な薬物である。

これらの研究報告と著者の実験成績から PMT 痙攣が起りやすくなる時に脳セロトニンが減少するものと考えられる。つまり、PMT 痙攣発現にかかわる神経化学的機序にセロトニンの減少がその一因として関与するものと想定される。

つぎに、各種抗痙攣剤が脳セロトニンを増加させるということは多くの研究報告が示しているところである。さらに、Prockop¹⁹⁾²⁰⁾らはモノアミン酸化酵素阻害剤が抗痙攣作用を有していることを報告している。著者の実験成績によると、PMT 痙攣終了60秒後は前述のごとく脳興奮性が低下している時期であり、しかも脳3部位でセロトニンが増加していた。これらのことからセロトニンが増えることによって脳興奮性が低下する可能性が示唆されよう。著者のこの成績は脳セロトニン・レベルの変動と痙攣の起りやすさに関連しないとする報告とは一致していない。⁸⁾¹⁷⁾

以上、著者は PMT 痙攣発現機序の一因子として脳セロトニンの減少が関与することを述べた。しかし、中枢神経系においてもセロトニンとカテコールアミンは互に関与し合いながらその作用を発揮するものと考えられている。Schmidt²²⁾は脳内にセロトニンとノルエピネフリンを注射して PMT 痙攣閾値の変化をみている。その実験成績から Schmidt は PMT 痙攣閾値の変化は単に脳内にセロトニンやノルエピネフリンが増加することによるとすべきではなく、両者間の代謝平衡に之を求むべきであると結論しているごとく、著者の実験成績で示されたセロトニンの変動と同時にカテコールアミンの代謝変化も当然予

想されるところである。

ところで、痙攣によって脳セロトニンがどのように変動するかという問題については、Garattini^{10)~12)}ら、Bertaccini²⁾、Pfeifer¹⁸⁾ら、Gal⁹⁾らが検討している。これらのうちGarattini^{10)~12)}らは電撃痙攣および PMT 痙攣 10 分後から、Pfeifer¹⁸⁾らは電撃痙攣終了後にそれぞれ脳セロトニンの増加を認めているが、他の報告はこれを否定している。とくに Bertaccini²⁾は Garattini¹⁰⁾らのセロトニン定量法に疑問があるとして、痙攣後の脳セロトニン増加を否定している。著者の実験成績は Garattini¹⁰⁾ら、Pfeifer¹⁸⁾らの結果と一致した。

著者は今回の実験で痙攣終了後のセロトニン増加が痙攣そのものによるものか、痙攣とは直接関連がなくして増加したものかを明らかにしえなかった。Garattini¹¹⁾らは無処置動物であれば痙攣を誘発するに足る電気刺激を抗痙攣剤を投与した動物に加えてみた。その結果、痙攣は誘発されなかったが、脳セロトニンは抗痙攣剤投与群よりも増加していたことから、電撃痙攣後に見られた脳セロトニンの増加は痙攣によるものではないとしている。同じく Garattini¹¹⁾らは電気刺激の電圧をいろいろ変えて脳セロトニンの変動を検討したところ、痙攣が誘発されない電圧の電気刺激でも痙攣閾値以上の電圧の通電でも、同じく脳セロトニンの増加を認めている。この報告は電撃痙攣と PMT 痙攣の発現機序の差異を示すものか、他の原因によるものか不明である。しかし、いずれにせよ、少なくとも痙攣発現機構にはセロトニンの「増加」は関係がないことを示すものである。

上述のように、著者の実験成績によれば、PMT 注入によって脳興奮性がたかまっている筋搐搦発現直前には脳セロトニンが減少しており、脳興奮性が低下している痙攣終了後 60 秒には逆にセロトニンが増加していることが確認された。セロトニンの中枢神経系における生理学的意義について電気生理学的立場から Marrazzi¹⁴⁾¹⁵⁾はシナプス伝達はセロトニ

ン, LSD, Diphenylhydantoin, その他交感神経興奮性アミンによって遮断されることを示している。したがって, 神経刺激伝達はモノアミン誘導体によって制御されているものと考えられる。この知見を参考にすると, 著者の実験成績から PMT を静脈内に注入すると, そのメカニズムは不明であるが, 脳セロトニンが減少しはじめ, それによってシナプスの伝達が促進され脳興奮性がたかまり筋搐搦が惹起される。ついで, 筋搐搦が誘発されるとセロトニンは増加しはじめ, シナプス伝達は抑制され, やがて痙攣が終了するものと推定されよう。このセロトニンの増減は, 神経細胞内のある種の顆粒に存在して薬理的に不活性なセロトニンと, この顆粒より遊離した活性のセロトニンとの比の変動によるものであると思われるが, 之は極めて興味のある問題と考えられる。

これまではなんらの前処置を施していない正常ラット脳セロトニンの変動についてみてきた。ひるがえって, PMT 静脈内注入がフェノバルビタールやレセルピン等を投与したラット脳セロトニンに与える影響はどうか。

フェノバルビタール 100mg/kg を腹腔内投与後30分の脳セロトニンは大脳半球のみにおいて対照群値の 47.2% にあたる $0.16\mu\text{g/g}$ の増加が認められた。他の2部位では有意の増減は認められなかった(表4)。フェノバルビタール投与例の PMT 痙攣閾値(筋搐搦発現に要する注入時間)は平均 $83.6\text{sec}/100\text{g}$ で対照群の $39.1\text{sec}/100\text{g}$ に比して増大している。とくに間代性痙攣を誘発するための注入時間は著明に延長している。筋搐搦発現に要する $83.6\text{sec}/100\text{g}$ の $10\text{sec}/100\text{g}$ 前, 即ち $73.6\text{sec}/100\text{g}$ まで PMT を注入して筋搐搦発現直前の状態にすると, 大脳半球のセロトニンは $0.50\mu\text{g/g}$ から $0.36\mu\text{g/g}$ に 28.0% の減少をみた。間脳と中脳・延髄では変化がなかった。

レセルピン 5mg/kg を腹腔内に投与して17~18時間後にはセロトニンが大脳半球では

対照群値の 66.7% , 間脳では 52.6% , 中脳・延髄では 52.8% にそれぞれ減少していた。これらに筋搐搦を発現させるためには平均 $19.4\text{sec}/100\text{g}$ の PMT 注入を要するので, その $5\text{sec}/100\text{g}$ 前, すなわち $14.4\text{sec}/100\text{g}$ まで注入したものを筋搐搦発現直前の状態にあるものとみなし, PMT を静脈内に注入すると大脳半球では $0.24\mu\text{g/g}$ から $0.19\mu\text{g/g}$ にセロトニンは減少していた。他の2部位ではセロトニンの変動は認められなかった。

以上のようにフェノバルビタールおよびレセルピンで前処置されたラットでは筋搐搦発現直前の状態になると, 大脳半球でのみセロトニンは減少する。これは無処置ラットの筋搐搦発現直前におけるセロトニンの動態(大脳半球, 間脳および中脳・延髄で減少する)とは異なる実験成績である。著者がフェノバルビタールおよびレセルピンで前処置したラットについて実験を行なった目的は, 正常と異なる無処置ラットで筋搐搦発現直前にみられた脳3部位におけるセロトニンの減少が, あらゆる状態にあるラットでもみられるのかをうかがい知るためであった。即ち脳3部位に於けるセロトニンの減少が PMT による筋搐搦発現にとって必要条件であるかを検討するためである。

フェノバルビタール 100mg/kg , レセルビン 5mg/kg の投与によって脳のある部位は神経化学的な機能に損傷を受けているかもしれないことは予想されるところである。この損傷のために PMT—あるいはその代謝産物—に反応しえない部分があるかもしれない。しかし, 反応しえない部位があるにせよ必要量の PMT を投与すれば確実に筋搐搦・痙攣は誘発されるのであるから, その反応しえない部位は神経化学的立場からすれば PMT 筋搐搦・痙攣誘発に直接的には関与しないものと考えられよう。このような観点からみると, ここにのべた実験成績より PMT 筋搐搦誘発には大脳半球のセロトニンの減少は必要であっても, 他の2部位でのセロトニン減少は大脳半

球における減少よりはあまり必要ではないと想定される。この想定は PMT 筋搐搦誘発時には大脳半球で Na が細胞内に流入しているという著者らの実験成績とよく一致する。²³⁾

以上、無処置ラットに PMT を尾静脈に注入して筋搐搦・痙攣が始まりやがて終熄してゆく過程における脳セロトニンの動態とその意義について述べてきた。これらのセロトニンの動態がモノアミン酸化酵素活性の変化によるものかについて検討したところ、表 6 に示す通り、いずれの時期においても対照群の活性値とは有意の差を認めえなかった。これは Spielman²⁴⁾らが電撃痙攣後には本酵素活性には変化を認めなかったという報告に一致している。したがって、著者の実験で得られたセロトニンの変動は脳セロトニン遊離・合成能の面から検討されるべき問題であろう。

ま と め

Chen らによって、レセルピンが痙攣閾値および痙攣のパターンに変化を及ぼすことが明らかにされてから、脳セロトニン量と痙攣閾値との関連について研究がなされている。その後、聴原性痙攣の閾値が低いマウスでは脳セロトニンが少ないことが報告されたことによって、他の誘発法による痙攣でもその痙攣発現機序にセロトニンが関与している可能性が呈示されたわけである。周知のように痙攣は seizure discharge の 1 つの表現型である。したがって、ある物質が痙攣発現機序に関与するかどうかを検討するためには筋運動としての痙攣が誘発される以前の代謝変動をみる必要がある。とてくる。

著者は以上の見地から痙攣が惹起される前のセロトニン動態も含めて、痙攣と平行して脳セロトニンがどのように変動するかを観察した。痙攣誘発にはカルジアゾール (PMT) 10 mg/ml のものを 0.5 ml/分の定速度でラットの尾静脈内に注入する方法を用いた。

I. PMT を注入して 1) 筋搐搦発現直前、2) 筋搐搦発現直後、3) 間代性・強直性痙

攣を終了して 60 秒経過したものについて脳セロトニン量を調べた。それによると 1) 群では大脳半球、間脳および中脳・延髄の 3 部位でセロトニンは減少し、2) 群では 3 部位とも対照群値と同じくなり、3) 群では 3 部位とも増加していた。同時にモノアミン酸化酵素活性を測定したが、1) 2) 3) 群とも対照群と差を認め得なかった。

II. フェノバルビタール 100 mg/kg i.p. 30 分後には大脳半球でセロトニンの増加があった。これに PMT を静脈内に注入し筋搐搦発現直前の状態にした時には大脳半球のみでセロトニン量が減少していた。

III. レセルピン 5 mg/kg i.p. 17~18 時間後には大脳半球、間脳および中脳・延髄のセロトニンは著明に減少していた。この群を筋搐搦発現直前の状態で検索すると、フェノバルビタール前処置群と同様に大脳半球のセロトニンが減少した。

以上の実験成績（とくに I で述べた筋搐搦発現直前のセロトニン量と痙攣終了後のそれとは非常に対比的であること）から、PMT 痙攣発現機序には他の代謝系の変動と関連しながら、脳セロトニンの急激な減少が関与し、脳興奮性の低下している時期には脳セロトニンは増量するものと推定する。しかし、フェノバルビタールおよびレセルピン前処置群についての実験成績から PMT 筋搐搦発現には大脳半球でのセロトニンの減少は必要であっても、間脳と中脳・延髄での減少は必要としないものごとくである。

本研究の一部は文部省科学研究費によった。

文 献

- 1) ANDERSON, E. G., MARKOWITZ, S. D. and BONNYCASTLE, D. D. : J. Pharmacol. exp. Ther., 1962, **136**, 179.
- 2) BERTACCINI, G. : J. Neurochem., 1959, **4**, 217.
- 3) BONNYCASTLE, D. D., GIARMAN, N. J. and PAASONEN, M. K. : Brit. J. Pharmacol., 1957, **12**, 228.
- 4) BONNYCASTLE, D. D., BONNYCASTLE, M. F. and ANDERSON, E. G. : J. Pharmacol. exp.

Ther., 1962, **135**, 17.

5) BRODIE, B. B. and SHORE, P. A. : Ann. N. Y. Acad. Sci., 1957, **66**, 631.

6) CHEN, G., ENSOR, C. R. and BOHNER, B. : Proc. Soc. exp. Biol., 1954, **86**, 507.

7) CHEN, G. and BOHNER, B. : J. Pharmacol. exp. Ther., 1961, **131**, 179.

8) De SCHAEPPDYRER, A., PITTE, Y. and DE LAUNOIS, A. L. : Arch. int. Pharmacodyn., 1962, **140**, 358.

9) GAL, E. M. and DREWES, P. A. : Nature, 1961, **189**, 234.

10) GARATTINI, S., VALSECCHI, A. and VALZELLI, L. : Experimentia, 1957, **13**, 330.

11) GARATTINI, S., KATO, R. and VALZELLI, L. : Psychiat. Neurol. med., 1960, **140**, 190.

12) GARATTINI, S., KATO, R., LAMESTA, L. and VALZELLI, L. : Experimentia, 1960, **16**, 156.

13) KOBINGER, W. : Arch. exp. Path. Pharmacol., 1958, **233**, 559.

14) MARRAZI, A. S. : Ann. N. Y. Acad. Sci., 1957, **66**, 496.

15) MARRAZI, A. S. : Ann. N. Y. Acad. Sci., 1962, **92**, 990.

16) PAGE, I. H. : Physiol. Rev., 1958, **38**, 277.

17) P'AN, S. Y., FUNDERBURK, W. H. and FINGER, K. F. : Proc. Soc. exp. Biol., 1961, **108**, 689.

18) PFEIFER, A. K., VIZI, E. Sz., SATORY, E. and GALAMBOS, E. : Experimentia, 1963, **19**, 482.

19) PROCKOP, D. J., SHORE, P. A. and BRODIE, B. B. : Ann. N. Y. Acad. Sci., 1959, **80**, 643.

20) PROCKOP, D. J., SHORE, P. A. and BRODIE, B. B. : Experimentia, 1959, **15**, 145.

21) SCHLESINGER, K., BOGGAN, W. and FREEDMAN, D. X. : Life Sciences, 1965, **4**, 2345.

22) SCHMIDT, J. : Acta. biol. med. germ., 1964, **13**, 633.

23) SNYDER, S. H., AXELROD, J. and ZWEIG, M. : Biochem. Pharmacol., 1965, **14**, 831.

24) SPIELMAN, E. L. and BADAL, D. W. : Arch. gen. Psychiat., 1960, **2**, 545.

25) 鈴木喜八郎, 他 : 弘前医学, 1967, **19**, 475

26) UDENFRIEND, S., WEISSBACH, H. and BRODIE, B. B. : Meth. biochem. Anal., 1958, **6**, 75.

27) VANABLE, J. W. JR. : Analyt. Biochem., 1963, **6**, 393.

THE EFFECT OF CARDIAZOL INDUCED CONVULSION ON THE BRAIN SEROTONIN LEVEL AND MONOAMINE OXIDASE ACTIVITY

By

KIHACHIRŌ SUZUKI

*Department of Pharmacology (Director: Prof. K. TSUNODA)
Faculty of Medicine, Hirosaki University*

In order to investigate the neurochemical mechanism of experimental convulsion, the effect of cardiazol on the rat brain serotonin (5-HT) metabolism was studied. Cardiazol (10mg/ml) was infused intravenously at rate of 0.5ml per minute.

The following three groups of rats were prepared.

- 1) Group without any manipulation.
- 2) Group to which phenobarbital (100mg/kg) was administered intraperitoneally 30 minutes before cardiazol injection.
- 3) Group to which reserpine (5mg/kg) was intraperitoneally applied seventeen~eighteen hours prior to cardiazol injection.

Results :

1. Just before the onset of twitching brain 5-HT decreased in all parts of cerebral hemisphere, diencephalon and mesencephalon + medulla oblongata, while the level of brain 5-HT during twitching remained normal.

Sixty seconds after the convulsion, 5-HT increased in the above parts of the brain.

No change in monoamine oxidase activity was found in any stage of convulsion.

2. Thirty minutes after the administration of phenobarbital (100mg/kg) 5-HT increased in cerebral hemisphere. In other parts of the brain there was no difference.

Just before the twitching of the phenobarbitalized rats 5-HT decreased only in cerebral hemisphere.

3. 5-HT decreased in all parts of the brain seventeen~eighteen hours after the administration of reserpine (5mg/kg). Just before the twitching of reserpinized rats 5-HT decreased only in cerebral hemisphere.

From the results, it was concluded that a rapid decrease of 5-HT in the brain presumably plays a role in the cardiazol induced convulsion, and that an increase of 5-HT lowers eventually the brain excitability.

However, decrease of 5-HT in diencephalon, mesencephalon and medulla oblongata was not always necessary for the mechanism of cardiazol induced convulsion.

(Autoabstract)