

## NMDA けいれんおよび kindling モデルに 及ぼす各種薬物の影響

鳥取大学医学部薬理学教室 (主任 君島健次郎教授)

木 下 ゆか子

### Effects of anticonvulsant drugs on NMDA-induced convulsions and amygdala kindled seizures

Yukako KINOSITA

*Department of Pharmacology, Faculty of Medicine,  
Tottori University, Yonago 683, Japan*

#### ABSTRACT

The effects of antiepileptics(phenobarbital sodium, valproate sodium), GABA-mimetic(vigabatrin) and N-methyl-D-aspartic acid(NMDA) receptor antagonists(CPP, MK-801) were studied on NMDA-induced convulsions following intraperitoneal and intraventricular administration in mice and rats.

Phenobarbital sodium, valproate sodium, CPP and MK-801 prevented NMDA-induced convulsions, but these drugs showed more sensitive activities for intraventricular than intraperitoneal NMDA-induced convulsions.

Vigabatrin did not affect to NMDA-induced convulsions, moreover, didn't potentiated the anticonvulsant activities of CPP and MK-801.

The stages of kindled seizure were suppressed slightly by CPP and vigabatrin, and significantly by MK-801. The durations of afterdischarge were reduced by CPP, but were not influenced by MK-801 and vigabatrin.

The combined use of vigabatrin with CPP and MK-801 increased the effects of CPP and MK-801 on the stages of kindled seizure, but not on the durations of afterdischarge.

Based on these results obtained, the characteristics of NMDA-induced convulsions and action mechanism of anticonvulsants on NMDA-induced convulsions and amygdala kindled seizure were discussed.

(Accepted on November 5, 1991)

けいれん発作の発現機構や抗てんかん薬の作用機序に関しては古くから多くの研究がなされているが、近年アミノ酸や生体アミン、その他の化学伝達物質を含む生化学的観点から追求しようとする

多くの試みが行われており、とくに中枢神経系における興奮性伝達物質と考えられている L-グルタミン酸(L-Glutamic acid, Glu)や L-アスパラギン酸(L-aspartic acid, Asp)、抑制性伝達物

質といわれている $\gamma$ -アミノ酪酸( $\gamma$ -amino-butyric acid, GABA)などが、けいれんやてんかんの発作発現や抗てんかん薬の作用機序と密接に関係しているとして注目を集めている。

すなわち、GluやAspなどいわゆる興奮性アミノ酸の受容体は、それを活性化するagonistによりN-メチル-D-アスパラギン酸受容体(NMDA受容体)、キスカル酸受容体、カイニン酸受容体の三つのサブタイプに分類されているが(Watkins<sup>46)</sup>, 1984)この中でNMDA受容体が最近海馬のlong-term potentiation, てんかん発作や神経変性などの機序に深く関与していることが示唆されている。

これらのうち、とくにてんかん(けいれん)発作については、各種興奮性アミノ酸の脳内注入によりけいれんが誘発されることや(Meldrumら<sup>24)</sup>, 1988; Stoneら<sup>42)</sup>, 1983), 種々のてんかんモデル動物のけいれん, 例えば電撃けいれん, pentetrazolけいれん, DBA/2マウス(Croucherら<sup>4)</sup>, 1982)やEIマウスのけいれんなどを, NMDA受容体antagonistであるAP-5(D-2-amino-5-phosphonovaleric acid)やAP-7(D-2-amino-7-phosphonoheptanoic acid)が抑制すること, さらに部分発作の二次性全般化の実験モデルとされる(森本ら<sup>26)</sup>, 1987; 佐藤ら<sup>36)</sup>, 1975)kindlingラットのけいれん発現を抑制すること(Petersonら<sup>30)</sup>, 1984)が報告されている。

一方GABAについては、その減少が脳の興奮性の増大やけいれんの助長作用を示すことなど、てんかんやけいれんとGABAとの密接な関係を示唆する数多くの研究が行われ、最近、GABA関連物質が新しい抗てんかん薬として検討されつつあるが、中でもGABA transaminase(GABA-T)の阻害剤で、脳内GABA濃度を著明に増加させるvigabatrin( $\gamma$ -vinyl GABA)に多くの関心が集まっている。

以上のような観点から、GABAの抑制効果を増強することによりけいれんを抑制しようとする試みや、GluやAspによる中枢神経興奮系を抑制する薬物の開発により、それらの異常興奮を抑えようとする試みが進められつつある。

そこで今回の実験では、1)NMDAを介して生じるマウスのけいれんと、2)扁桃体kindlingに対し、代表的抗てんかん薬であるphenobarbital sodiumとvalproate sodium, GABA-T阻害薬

であるvigabatrinそして新しいNMDA受容体antagonistであるMK-801((+)-5-methyl-10, 11-dihydro-5H-dibenzo(a, d) cyclohepten-5, 10-imine maleate)とCPP(3-(( $\pm$ )-2-carboxypiperazine-4-yl)propyl-1-phosphonate), さらにvigabatrinとCPP, MK-801の併用がどのように影響するか調べ、これら各種アミノ酸および関連物質とけいれんの関係について行動薬理学的および脳波学的検討を行った。

## 実験方法

### 実験動物

ICR, ddY系雄性マウス(6-15週齢), Wistar系雄性ラット(6-26週齢)および雌雄の日本白色種成熟ウサギ(体重2.5-3.5kg)を使用した。

### 実験方法

#### 1. 一般症状の観察

1群10匹以上のマウスを用い、NMDA 100-250 mg/kgを腹腔内投与あるいは1 $\mu$ g/動物を側脳室内注入して、薬物応用後それぞれ2時間および30分後までの一般症状(主にけいれん発現状態)と、24時間後の変化を観察記録した。

#### 2. 各種けいれんの分類

NMDA投与によっておこるマウスのけいれんには主として次のようなものがある。すなわち一番軽い全身けいれんとみられる最小けいれん(minimal full seizure, MF)は、原則として側位とならず前肢をつっ張って顔面から、胸部、前肢にかけてこまかいふるえを7秒以上持続するものをいう。また間代性けいれん(clonic convulsion, CL)は側位となって四肢を左右同期して屈伸させるけいれんをいい、強直性屈曲けいれん(tonic flexor, TF)は四肢を曲げて丸くなった強直性のけいれん状態、強直性伸展けいれん(tonic extensor, TE)は四肢をそろえてピンと身体の側方にそってのばすもので、最も強いけいれんと考えられている。

なお歩行様運動(running movement, RM)とは側位となり左右交互に四肢を動かす運動であるが、このRMはけいれんとはみなさない。

マウスにNMDA 250mg/kgを腹腔内投与、および1 $\mu$ g/動物を側脳室内注入した際にみられるこれらの各種けいれんを区別して、それぞれの発現頻度、持続時間、死亡例について観察記録した。

#### 3. 扁桃体電気kindling法

表1. Racineの分類

stage 1 : mouth and facial movements
stage 2 : head nodding
stage 3 : forelimb clonus
stage 4 : rearing
stage 5 : rearing and falling

Wistar 系雄ラット(6週齢200-250g)を用い、pentobarbital 麻酔下(40mg/kg, 腹腔内投与)で König ら<sup>17)</sup>(1967)の map を基準として左右扁桃体(bregma より後方3.0mm, 左右側方4.8mm, 深さ8.8mm)に直径0.25mmの絶縁ステンレス線を2本より合わせた双極電極を植え込み、右前頭上の木ネジと共に、頭蓋骨上に歯科用セメントを用い固定した。術後1-2週間経ち全身状態の回復するのを待って、2.5-4.5V, 60Hzの矩形波で1日1回、1秒間の電気刺激を行い、発作症状(Racineの分類<sup>33)</sup>による5段階 stage, 表1)と後放電(afterdischarge)の持続を観察記録した。この分類による stage 5 が連続して5回出現したものを kindling 完成とし、実験に用いた。なお後放電の記録では、刺激は電極と同一電極を用い、刺激終了後は自動的にスイッチの切り替えにより誘導電極として使用した。また kindling 完成後のラットの電気刺激は1週間に1回とした。

#### 4. 脳波測定法

成熱ウサギを雌雄の別なく使用し、pentobarbital sodium 30mg/kg腹腔内投与による麻酔下で脳定位固定装置に固定し、直径0.25mmの絶縁ステンレス線を2本より合わせた双極電極を Gangloff and Monnier<sup>7)</sup>(皮質)および Sawyer ら<sup>38)</sup>(皮質下)の map を基準として、皮質3ヵ所(前頭部, 頭頂部, 後頭部)および皮質下4ヵ所(視床, 右背側海馬, 左背側海馬, 中脳網様体)に植え込み、手術後約1週間たち全身状態の回復するのを待って実験に供した。

脳内各部の電気活動はこれらの電極よりペン書き8誘導脳波計(日本光電製, ME95D)に導き、毎秒1.5cmの紙送り速度で記録した。

#### 5. 脳室内薬物注入法

マウスの側脳室内注入はマウスの頭を手でしっかり固定し、Haley ら<sup>10)</sup>(1957)の方法に従い、両耳の付け根を結ぶ線から前方2mm, 側方1mm, 深さ2.5-3.0mmの部位に¼皮下用注射針と0.25ml注

射筒にて注入したが、注入量は0.01mlとした。

ウサギの大槽内注入は鈴木の方法<sup>43)</sup>(1959)に従い、ウサギを固定箱に入れ後頭部の穿刺により薬物を注入した。

#### 6. 使用薬物および応用法

NMDA(Sigma Chemical Co., U.S.A.), phenobarbital sodium(三共), valproate sodium(協和発酵), vigabatrin(Merrell Dow Pharmaceuticals Inc. U.S.A.), MK-801(Research Biochemicals Inc., U.S.A.), CPP(Tocris Chemicals, U.K.)は水溶液として、腹腔内投与、皮下注射あるいは経口投与とし、NMDAの Maus 側脳室内注入の際はリン酸緩衝液に溶解して用いた。

各薬物の最大作用時は、一般症状などから phenobarbital sodium(皮下)60分, valproate sodium(経口)40分, vigabatrin(腹腔内)4時間, MK-801(腹腔内)60分, CPP(腹腔内)50分とした。

#### 7. 統計学的処理

統計学的検定は Student の t 検定と百分率の比較を用いて行った。

### 実験成績

#### 1. NMDA 投与によるけいれんの発現

##### 1) マウス腹腔内投与

NMDA 100mg/kg投与では、7-15分頃より後肢で首の付根を律動的に搔く耳搔き動作(hindlimb scratching)が現れ、時間を追って頻回に繰り返す。激しいものは前肢をひきつけたように激しくこの動作を繰り返す。やや遅れて前肢で尾をつかんで噛む動作(tail biting)が現れ、これも段々と激しくなると尾をつかもうとビーカー内を circling behaviour 様にぐるぐる回ったり、頻回の繰り返しで尾の先が赤くなり出血するものもあった。この他、身づくろい(grooming)や腹部をよじる特異な姿勢(stretching)も現れ、これらの動作を繰り返す興奮状態が半数近くに出現し30-40分頃まで続くが、その間 myoclonic jerk や MF 様状態(3-4秒)がみられるものの、けいれんの発現は10秒以上の MF が10例中1例あっただけで、CL以上のけいれんの発現はなく、死亡例もなかった。60分後には tail biting が残っているものはあるが、それ以外の興奮状態は収まった。

150mg/kgの投与では、上記の興奮状態が80%以上に出現し、加えてジャンプ、立ち上がり(rigid

rearing), 激しく走り回る(wild running)なども出現した。MF以上のけいれんは150mg/kg投与で7-50分にかけて60%に出現したがCLはなく, TFやTEも強直性が弱く, 後肢の伸展がはっきりしないなど不完全な型のもものがほとんどであったが, それらを含めTFやTEをおこしたものが50%あり, これらのマウスは全例死亡した。

250mg/kgの投与では1-3分頃より興奮状態となり80-90%のマウスは投与後1-11分間にまずMFが出現し, 引き続きTF, TEをおこすもの, どちらか一方のもの, さらに強直性けいれんの前にCLが発現するものと色々であり, さらにTFの半数, TEの約30%は不完全な型であったが, MFをおこしたものは全例CL以上のけいれんをおこし, 投与後15分以内に死亡した。

#### 2) マウス側脳室内注入

NMDAを動物当たり1 $\mu$ g(注入液量0.01ml)を側脳室内に注入すると, 注入直後より尾を挙げて無動の状態が数秒あるが, 注入後3-18秒頃より突然に, あるいは体を屈曲してひきつけたような強いhindlimb scratching動作を3-10秒間示した後, jump, wild runningなどの激しい興奮状態を示し, 続いて注入後30秒以内に90%近くのマウスがTF, TEあるいはCLのけいれんをおこした。そのうち70%近くのマウスが死亡したが(薬物投与後平均37秒), 残りはRMやけいれん終了後の昏睡状態を経て2分以内には側位から回復し, 以後hindlimb scratchingや身づくろい, もがくなどがみられたものも含め, 大部分が20分以内には鎮静状態となり, 他に特に異常のない状態にまで回復した。

#### 3) ウサギ静脈内注射

2例のウサギにNMDA 25mg/kgを静脈内投与し全身症状を観察した。

注入直後より3-5分にかけて鼻をひくひくさせる, 放尿, 脱糞, 鼻をこする, 走るなどの興奮状態がみられた。その後1例は15-30分にかけて呼吸が少し速く, 床に敷いてある紙をかむなどやや興奮気味であったが, その後2時間までとくに異常はみられなかった。他の1例は7分後頃よりケージをかんだり, 後肢でピョンピョンけったりと興奮状態となり時間経過とともに動きが活発となったが, 15分後頃より歩行失調が出始めた。20分過ぎより後肢を広げ背を丸める姿勢となり, 後肢は細かく震え, 動きは減少してきた。25分後頃よ

り下半身は側位となり上半身の筋緊張もなく前肢を広げ顔面を床につける状態となり動きはさらに減少した。27分後には眼を閉じ, 耳, 顔に細かい震え(四肢の緊張はない)を20秒間続けた後死亡した。

#### 4) ウサギ大槽内注入

NMDA 300 $\mu$ g/0.2ml/動物を大槽内に注入した1例は, 直後よりhindlimb scratchingが現れ, 続いて3秒間のCLけいれんの後TEが20秒間みられた。その後RMが40秒間あった後, 眼振がみられ, 以後側位のままでもがく状態となった。後肢のみTE様に伸ばしたりCL様に動かしたりしたが, 時間とともに動きは減少した。投与19分後にCLが2秒間出現した後, 26分後に死亡した。

#### 2. マウスのNMDAけいれん(腹腔内投与)に対する薬物の影響

##### 1) phenobarbital sodium

1群10-20匹のマウスを用い, phenobarbital sodium 20, 50, 100mg/kgを皮下注射し, 60分後にNMDA 250mg/kgを腹腔内注射した。

結果は表2に示すとおり, 20mg/kgでは抗けいれん作用はなく, 50mg/kg投与で半数に抗けいれん作用が認められたが, 100mg/kg投与でも約70%の抑制がみられたものの完全な抑制は認められなかった。また, けいれんによる死亡は50mg/kg以上の投与で減少したものの, けいれんを起こさなかったものも含め90%以上の動物が24時間内に死亡した。

##### 2) valproate sodium

1群14-15匹のマウスにvalproate sodium 500, 800mg/kgを投与すると, 10分頃よりマウスはおとなしくなり, 800mg/kg投与群では鎮静, 運動失調が著明に現れた。40分後にNMDA 250mg/kgを腹腔内投与すると, 500mg/kg投与群では抗けいれん作用は全く認められず, 800mg/kg投与群ではけいれん発現は著明に減少したが, けいれんを起こさなかったものも含め, ほとんどのマウスが1時間内に死亡した(表2)。

##### 3) vigabatrin

1群10-18匹のマウスにvigabatrin 300, 500, 1000mg/kgを腹腔内投与し, 4時間後にNMDA 250mg/kgを腹腔内投与した。結果は表2に示すとおり全群で全く抗けいれん作用は認められなかった。

##### 4) MK-801

表2. NMDA 腹腔内投与 (250mg/kg) によるけいれんに対する各種薬物の影響

薬物	用量 (mg/kg)	例数	けいれん発現例				計(%)	死亡例
			MF	CL	TF	TE		
対照		27	16	2(6)	1(9)	3(12)	22(82)	22(22)
phenobarbital Na	20	10	6	1(3)	1	1(2)	9(90)	8(9)
	50	20	6	3(2)	0(2)	1(2)	10(50)*	7(18)
	100	16	4	1	0	0(1)	5(31)**	1(15)
valproate Na	500	15	8	5(4)	0(8)	0(4)	13(87)	12(15)
	800	14	1	2(1)	0	0	3(21)**	3(11)
vigabatrin	300	10	8	1(6)	0	1(7)	10(100)	10(10)
	500	18	15	0	0(11)	2(11)	17(94)	17(17)
	1000	12	8	0(6)	0(8)	2(6)	10(83)	10(10)
MK-801	0.2	15	4	5(3)	2(4)	1(3)	12(80)	12(14)
	0.5	14	4	0(3)	0	3	7(50)*	7(12)
	1.0	14	8	0(3)	1(1)	0	9(64)	2(12)
CPP	5	20	8	5(5)	2(4)	0(9)	15(75)	14(15)
	10	20	4	2(1)	0(2)	1(2)	7(35)**	7(9)
	15	11	4	0	0	0(1)	4(36)**	1(3)
	20	11	2	0(1)	0	0	2(18)**	1(2)
vigabatrin +MK-801 +CPP	300							
	1.0	12	5	0	0	1	6(50)*	2(7)
vigabatrin +MK-801 +CPP	500							
	10	12	4	0(1)	0(2)	0	4(33)**	4(5)
vigabatrin +MK-801 +CPP	500							
	0.5	11	2	5(1)	1	0(2)	8(73)	6(8)
vigabatrin +MK-801 +CPP	500							
	10	12	4	2(3)	0(1)	0(5)	6(50)*	6(6)

\*p&lt;0.05      \*\*p&lt;0.01

けいれん発現例の ( ) は他のけいれんと重複。死亡例はけいれん中の死亡例を示すが、( ) 内は24時間後までの死亡総数。

1群14-15匹のマウスにMK-801 0.2, 0.5, 1.0 mg/kgを腹腔内投与すると, 0.5mg/kg以上の投与により20分頃より筋弛緩作用と運動量増加がみられ, マウスは tremor 様に頭を揺らしながらよろよろとよく動き回るようになった。60分後にNMDA 250mg/kgを腹腔内投与すると, 0.2mg/kgでは抗けいれん作用は全くみられなかったが, 0.5mg/kgで半数に抑制がみられた。しかし1.0mg/kg投与しても抗けいれん作用の増強はみられず,むしろ抑制例が36%と減少した。またけいれんを起こさなかったものも含め, 1.0mg/kg投与の2例(3時間後と

24時間後に死亡)を除き, 全群でほとんどのマウスが投与後30分以内に死亡した(表2)。

## 5) CPP

1群11-20匹のマウス計4群にCPP 5, 10, 15, 20mg/kgを腹腔内投与すると, 10mg/kg以上の投与で筋弛緩作用が現れた。50分後にNMDA 250mg/kgを腹腔内投与すると表2に示すとおり, 5 mg/kgではけいれん抑制作用はほとんどみられないが, 10mg/kg以上の投与で用量依存的に抗けいれん作用が認められ, 死亡例も10mg/kg投与で約半数, 15mg/kg以上の投与で30%以下と著明に

表3. NMDA 側脳室内投与 (1  $\mu$ g/動物) によるけいれんに対する各種薬物の影響

薬物	用量 (mg/kg)	例数	CL	けいれん発現例			死亡例
				TF	TE	計(%)	
対照		37	5	25(2)	2(27)	32(86)	21(21)
phenobarbital Na	10	6	2	4(1)	0(5)	6(100)	1(1)
	20	10	3	0	2	5(50)*	1(1)
	30	10	0	0	0	0(0)**	0(1)
valproate Na	100	10	4	6(4)	0(10)	10(100)	4(4)
	300	10	1	6	1(6)	8(80)	3(7)
	500	10	1	4	0(3)	5(50)*	1(2)
vigabatrin	500	11	0	10	0(10)	10(91)	5(5)
MK-801	0.1	10	1	6(1)	0(6)	7(70)	1(1)
	0.2	10	3	2(2)	1(1)	6(60)*	1(1)
	0.5	10	1	1	0(1)	2(20)**	1(2)
CPP	1	6	2	3(2)	1(3)	6(100)	4(4)
	2	10	1	7	0(7)	8(80)	4(4)
	5	10	3	2(2)	1(4)	6(60)*	1(2)
	10	10	0	2	0(2)	2(20)**	0(1)
vigabatrin +MK-801	500						
	0.1	10	2	6	0(6)	8(80)	5(6)
	0.2	10	2	4(1)	0(4)	6(60)*	3(3)
	0.5	10	1	2	0(1)	3(30)**	1(1)
+CPP	2	8	1	6(1)	0(7)	7(88)	0(0)
	5	10	0	9	0(8)	9(90)	0(0)
	10	10	1	4(1)	1(5)	6(60)*	0(0)

\*p&lt;0.05      \*\*p&lt;0.01

けいれん発現例の( )は他のけいれんと重複。死亡例はけいれん中の死亡例を示すが、( )内は24時間後までの死亡総数。

減少した。

6) vigabatrinとMK-801およびCPPとの併用 vigabatrin 300mg/kg(腹腔内投与, 4時間後)とMK-801 1.0mg/kg(腹腔内投与, 1時間後), 同じく vigabatrin 300mg/kgとCPP 10mg/kg(腹腔内投与, 50分後)の併用効果を調べたが, 両群とも抗けいれん作用の増強はほとんどみられなかった。

さらに vigabatrin 500mg/kgとの併用を行ったが, MK-801 0.5mg/kg, CPP 10mg/kgともに抗けいれん作用の増強は全くなく, とくにMK-801 0.5mg/kgは単独投与でけいれん抑制率が50%であ

ったものが, 併用により30%以下に低下してしまった。また死亡例についても, MK-801投与群でわずかに死亡例が減少したのみで, CPP投与群に対しては全く併用による影響は認められなかった(表2)。

3. マウスのNMDAけいれん(側脳室内注入)に対する薬物の影響

1) phenobarbital sodium

1群6-10匹のマウスを用い phenobarbital sodium 10, 20, 30mg/kgを皮下注射し60分後にNMDA 1 $\mu$ g/動物を側脳室内に注入した。

結果は表3に示すとおり10mg/kgの投与では抗けいれん作用は全くなく全例がけいれんを起こしたが死亡は1例のみであった。20mg/kg投与では半数に、30mg/kg投与で全例にけいれん抑制作用がみられ、死亡もそれぞれ1例のみであった。

#### 2) valproate sodium

1群10匹のマウスを用い valproate sodium 100, 300, 500mg/kg を経口投与し、40分後に NMDA 1 $\mu$ g/動物を側脳室内に注入した。

100mg/kgでは抗けいれん作用は全く認められず、300, 500mg/kg投与でそれぞれ10例中2例、10例中5例にけいれん抑制作用が認められた。また100, 500mg/kgの投与で死亡例が減少した(表3)。

#### 3) vigabatrin

11匹のマウスに vigabatrin 500mg/kgを腹腔内投与し、4時間後に NMDA 1 $\mu$ g/動物を側脳室内に注入した。

結果は11例中10例がTFからTEを起こし、その半数は死亡し全く抗けいれん作用はみとめられなかった(表3)。

#### 4) MK-801

1群10匹のマウスに MK-801 0.1, 0.2, 0.5mg/kgを腹腔内投与し、60分後に NMDA 1 $\mu$ g/動物を側脳室内に注入した。

0.1mg/kg投与で10例中3例、0.2mg/kgで10例中4例、0.5mg/kgで10例中8例にけいれん抑制作用が認められ、また全群で死亡例が著明に減少した(表3)。

#### 5) CPP

1群6-10匹のマウスに CPP 1, 2, 5および10mg/kgを腹腔内投与し、50分後に NMDA 1 $\mu$ g/動物を側脳室内に注入した。

結果は表3に示すとおり、1および2mg/kgの投与ではほとんど抗けいれん作用はみられず、5mg/kgで10例中4例、10mg/kgで10例中8例に抗けいれん作用が認められた。また5mg/kg以上の投与で死亡例が著明に減少した。

#### 6) vigabatrinとMK-801およびCPPとの併用

1群8-10匹のマウスを用い、MK-801とCPPにそれぞれ vigabatrin 500mg/kgを併用して上記と同様 NMDA 1 $\mu$ g/動物を側脳室内に注入して併用効果を調べた。

MK-801 0.1, 0.2および0.5mg/kg腹腔内投与による抗けいれん作用は、単独応用の場合それぞれ10例中3例、4例、8例に認められたが、vigabatrin

併用によってもそれぞれ10例中2例、4例、7例とほとんど変わらず、併用による影響は認められなかったが、死亡例については MK-801 0.1, 0.2mg/kg投与群でむしろ増加傾向を示した。

CPP 2, 5, 10mg/kg腹腔内投与によるけいれん抑制作用は、単独応用の場合にはそれぞれ10例中2例、4例、8例に認められたものが、vigabatrin併用により8例中1例、10例中1例、10例中4例となり、CPPの抗けいれん作用は逆に減弱した。しかしながら死亡例は併用により全群で1例もなかった(表3)。

#### 4. 扁桃体 kindling ラットに対する薬物の影響

1日1回、2.5-4.5V, 60Hzの矩形波で1秒間の電気刺激を行うと、およそ刺激回数10回前後から stage 5の発作症状が出現し始める。この stage 5が連続して5回出現したものを kindling 完成ラットとし、1群6-9匹用いてその発作症状(stage)と後放電(afterdischarge, AD)に対する薬物の影響を調べた。

なお発作症状については Racine の stage 1~5をそれぞれ1~5点として、後放電についてはその持続時間(秒)を測定し、平均値を算出した。

また、kindling 完成後は電気刺激は1週間に1回とし、薬物を投与した場合は原則として次の薬物投与までは2週間の間隔をあげ、その間に行った電気刺激の結果を次の実験(薬物投与)の際の投与前値とした。

##### 1) MK-801

1群6匹のラットに MK-801を0.5, 1.0mg/kg腹腔内投与すると、ラットは強い筋弛緩状態となり、腹ばいでよろよろと動く歩行失調を示し、強い鎮静状態となった。60分後に電気刺激を行うと、発作症状は0.5mg/kg投与で平均 stage は2.3, 1.0mg/kg投与で平均 stage は1.5と有意な抑制を示した。それに対してADの持続は0.5mg/kg投与で投与前の83.0秒が65.7秒と少し短縮したが、1.0mg/kg投与では投与前95.5秒が91.5秒とほとんど変りなく、ADの持続に対する有意な影響は認められなかった(表4)。

##### 2) CPP

1群6-7匹のラットを用い、CPP 1, 5, 10mg/kgを腹腔内投与投与し、50分後に電気刺激を行った。

結果は表4に示すとおり、発作症状に対しては1mg/kg投与では全例 stage 5と全く抑制はみら

れず、5、10mg/kg投与でもそれぞれ平均 stage は 3.2、3.4とわずかな抑制のみであった。ADの持続に対しては、1 mg/kgでは全く変化がなかったが、5 mg/kgでは投与前91.7秒が投与後57.0秒、10 mg/kg投与では投与前71.1秒が投与後47.3秒となり有意な短縮が認められた。

### 3) vigabatrin

1群6-7匹のラットを用い、vigabatrin 300、500mg/kgを腹腔内投与し4時間後に電気刺激を行った。結果は発作症状に対して300mg/kg投与で平均 stage は3.3と有意な抑制がみられたが、500mg/kgでは7例中3例は stage 1、3例は stage 5、1例は4とばらつきが大きく有意の差とはならなかった。ADにたいしては両群とも stage 4以上は延長、stage 3以下は短縮となり平均値としては投与前値と変わらないものとなった。

### 4) vigabatrinとMK-801およびCPPとの併用

1群6匹のラットを用いて、MK-801とCPPの

作用に対する vigabatrin の併用効果を調べた。

vigabatrin 300mg/kgを腹腔内投与し、3時間後にMK-801を腹腔内投与してその60分後に電気刺激を行った。結果はMK-801 0.5、1.0mg/kg投与で発作症状の平均 stage が、単独応用でそれぞれ2.3と1.5であったものが併用によりそれぞれ1.7と1.3となり、vigabatrin の併用によりMK-801の抑制効果はわずかに増強された。さらにMK-801 0.5mg/kgとvigabatrin 500mg/kgの併用では平均1.2と著明に抑制された。

ADの持続に対しては、MK-801 0.5mg/kgは単独応用では短縮傾向を示したが、vigabatrin 300 mg/kgとの併用で投与前93.2秒が投与後48.0秒と有意な短縮となったが、vigabatrin 500mg/kgとの併用では単独応用の際と同様短縮傾向を示すにとどまった。MK-801 1.0mg/kgとvigabatrin 300 mg/kgの併用でも単独応用の際とほとんど変化なく、併用による影響はみられなかった(表4)。

表4. 扁桃体kindlingラットに対する各種薬物の影響

薬物と用量 (mg/kg)	例数	後放電の持続時間(秒, 平均±S.E.)		Racineの発作段階(平均±S.E.)		
		投与前	投与後	投与前	投与後	
0.9%Nacl	9	76.1± 8.6	77.3± 9.9	5.0±0	5.0±0	
MK-801	0.5	6	83.0± 6.5	65.7± 8.2	5.0±0	2.3±0.2**
	1.0	6	99.5±11.0	91.5±10.3	5.0±0	1.5±0.2**
CPP	1	6	84.8± 7.9	87.2± 6.5	5.0±0	5.0± 0
	5	6	91.7± 7.1	57.0±12.2*	5.0±0	3.2±0.7
	10	7	71.1± 6.1	47.3± 8.9*	5.0±0	3.4±0.8
vigabatrin	300	6	102.8± 9.2	115.3±19.2	5.0±0	3.3±0.6*
	500	7	94.4± 9.7	92.3±16.7	5.0±0	3.1±0.8
vigabatrin 300 +MK-801	0.5	6	93.2±10.4	48.0±11.7*	5.0±0	1.7±0.3**
	1.0	6	115.0± 5.6	94.5±22.3	5.0±0	1.3±0.3**
+CPP	5	6	103.5± 5.4	68.5±20.8	5.0±0	1.8±0.4**
	10	6	107.3± 9.3	79.2±30.0	5.0±0	1.5±0.6**
vigabatrin 500 +MK-801	0.5	6	85.8±10.2	53.2±13.7	5.0±0	1.2±0.5**

\*p<0.05

\*\*p<0.01

vigabatrin 300mg/kgを腹腔内投与し、3時間10分後にCPPを腹腔内投与し、その50分後に刺激を行った。結果はCPP 5, 10mg/kg投与で発作症状の平均stageが、それぞれ単独応用で3.2, 3.4であったものが併用により1.8, 1.5となり、発作症状に対する抑制作用の増強が認められた。ADの持続に対しては、CPP 5, 10mg/kg投与で単独応用の際には有意な短縮がみられたが、併用後は単に短縮傾向を示すに止まった。

#### 5. ウサギ自発脳波に及ぼす影響

NMDA 10mg/kg静脈内注射した1例では20分後に至るまで全く変化が見られなかった。

25mg/kgを3例に静脈注射したが、うち1例は全身状態に変化はなく、脳波にも30分間の観察で異常が見られなかったが、残る2例はけいれんを起こし、うち1例は注射中よりけいれんを起こしそ

のまま死亡した。この際確認できたけいれんはCLだけで、脳波の記録もできなかった。残る1例も注射直後よりけいれんを起こしたが、脳波は直後より覚醒波となり25分頃まで続いた。その間18分から19分にかけて皮質3カ所にspikeが群発的に発現し、以後断続して出現したが50分頃までに次第に弱くなり、以後とくに変化は認められなかった(図1)。この間のけいれんの型は確認できなかったが、ウサギは2時間後に死亡した。

50mg/kgを静脈内注射した1例は、けいれんは出現しなかった。脳波は1分後頃より約40秒間にわたり皮質、とくに側頭部、後頭部にspikeが群発的に出現し、その後4-5分にかけて再度出現したが、今度は皮質だけでなく深部脳波にもspikeが現れた。1分後頃より脳波は低振幅となったが6分後頃には大体対照のレベルに回復し、この頃から軽度徐波傾向を示したが、それ以外はとくに変化はなかった。20分後頃よりウサギの呼吸状態が少しみだれてきたので固定箱より出し、無拘束状態で脳波を記録したが、ウサギは他動的側位となり、脳波は軽度徐波となっていた。その後脳波にとくに変化はなかったが次第に平坦となり1時間後に死亡した。

#### 考 察

##### 1. NMDAによるけいれんの特徴

薬物けいれんのモデルとしては、古くstrychnine, picrotoxinけいれんに始まりpentetazol, bemegrideさらに近年はbicuculline, benzodiazepine受容体拮抗薬( $\beta$ -carboline)などが、それぞれの作用機序の特性を生かして使用されている(君島ら<sup>16)</sup>, 1990)。

今回の実験に用いたNMDAによるけいれんの発現は、主としてマウスの腹腔内投与および側脳室内投与で検討し、一部ウサギの静脈内注射および脳室内投与でも調べたが、それらのけいれん発現状態は投与方法の違いによる作用発現の早さや持続時間などの相違はあるとしても、本質的にはほぼ同様の興奮およびけいれんパターンを示していると考えられる。

すなわち、薬物応用後の後肢による耳かき運動(hindlimb scratching)、尻尾を咬む(tail biting)、身づくろい(grooming)、腹部をよじる様な特有の姿勢(stretching)などに続いて、ジャンプ、筋緊張、立ち上がり行動(rearing)、激しく走り回る

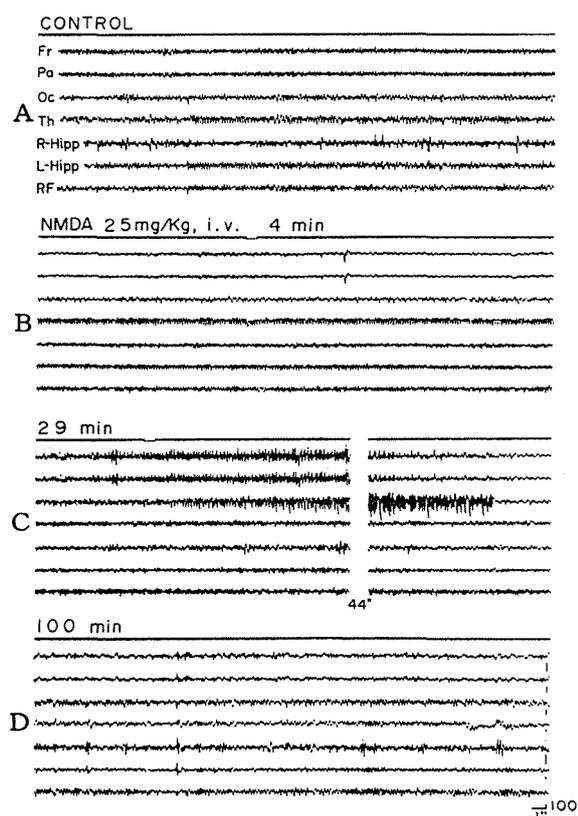


図1. NMDA静注によるウサギの脳波

A: 対照, B: NMDA 25mg/kg静注4分後,  
C: 29分後, D: 100分後.

脳波は上から皮質3カ所(前頭部, 頭頂部, 後頭部)と皮質下4カ所(視床, 右背側海馬, 左背側海馬, 中脳網様体)からの誘導。

(wild running)などの興奮状態を示し、その後MF, CL, TF, TEなど色々な型のけいれんが出現するが、本薬によるけいれんの経過、型の特徴としては、上記のhindlimb scratching, stretchingなどの刺激、痛覚発現を思わせる興奮状態が出現するほか、側脳室内投与でははっきりしたTF, TEがみられるが、腹腔内投与ではTFやTEでの後肢の屈曲および伸展のはっきりしない不完全な型のもものが30-40%出現すること、MFを起こしたものは全例CL以上のけいれんに進み死亡するが、その経過が早く15分以内に全例死亡すること(平均6.5分)などであり、これらの点はこれまでわが教室でしばしば用いられてきたpentetrazol, bemegrade, bicucullineなどのけいれん(君島ら<sup>16)</sup>, 1990)とは大きく異なる点といえよう。

なおhindlimb scratchingやstretchingなどは、NMDAの持つ強い酸性(2.5% NMDA水溶液でPH=2.0-2.2, 5% NMDAリン酸buffer溶液でPH=3.6, 脳室内投与の際の0.01% NMDAリン

酸buffer溶液でPH=6.8-7.0)による刺激が関係するのかもしれない。

## 2. NMDAけいれんにおよぼす各種薬物の影響

本実験においてはNMDAの腹腔内投与および脳室内投与により惹起されるけいれんに対して、それぞれ各薬物の抗けいれん効果を調べたが、その結果をまとめたのが表5で、これらの結果は両投与方法によるけいれんに対して、使用したすべての薬物が量的な問題は別として少なくとも同一の方向に作用していることを示唆するものといえよう。

それらの中でも目を引くのは、GABA-T阻害剤(Jungら<sup>13)</sup>, 1977)であるvigabatrinが両投与方法によるNMDAけいれんに対して全く効果を示さなかったことである。vigabatrinは臨床的に難治性てんかんにも有効であることが報告され(Rimmerら<sup>33)</sup>, 1984; Schechterら<sup>39)</sup>, 1984)動物実験でもpentetrazol kindling(君島ら<sup>15)</sup>, 1989)や $\beta$ -CCMけいれん(澤口<sup>37)</sup>, 1990)に対する強い抗け

表5. NMDAけいれんに対する各種薬物の抑制効果

薬物	抑制の強さ (用量, mg/kg)	
	腹腔内投与NMDA	側脳室内投与NMDA
phenobarbital Na	+ (50)	+ (20)
	++ (100)	++ (30)
valproate Na	- (500)	+ (500)
	++ (800)	
vigabatrin	- (500)	- (500)
MK-801	+ (0.5)	+ (0.2)
	+ (1.0)	++ (0.5)
CPP	- (5)	+ (5)
	++ (10)	++ (10)
vigabatrin 300		
+MK-801	+ (1.0)	
+CPP	++ (10)	
vigabatrin 500		
+MK-801	- (0.5)	+ (0.2)
+CPP	+ (10)	+ (10)

++ : 61%以上の抑制  
 + : 31-60%の抑制  
 - : 30%以下の抑制

いれん作用が報告されているが、今回の実験では両投与方法による NMDA けいれんに対して全く抗けいれん作用が認められず、また NMDA 受容体-antagonist である MK-801や CPP との併用実験でもそれらの作用の増強効果は見られず、むしろ MK-801や CPP の効果を減弱させる傾向がみられた。

GABA agonist である THIP, muscimol には全く抑制効果がなく (Moreau ら<sup>25)</sup>, 1989), vigabatrin と同様な作用機序を持つ  $\gamma$ -acetylenic GABA や AOAA は有効であり, progabide は作用が弱く, muscimol は抑制傾向のみで, baclofen (GABA-agonist) には全く抑制作用がないという報告 (Czuczwar ら<sup>5)</sup>, 1985) など, NMDA けいれんに対する GABA 関連物質の作用については必ずしも一致した結果が得られていない現状であり, また今回行った NMDA 受容体 antagonist と vigabatrin との併用実験はこれまで他に報告がない現状であり, 今回の結果だけでは断定的なことは云えないとしても, 少なくとも NMDA けいれんに対して, また NMDA 受容体 antagonist の抗けいれん作用に対しても vigabatrin はほとんど影響しないものと思われる。しかしながら, これらの結果は NMDA けいれんと GABA との関係を完全に否定するものではなく, GABA 関連物質が一部興奮的な作用を持っていること (君島ら<sup>15)</sup>, 1989) や, vigabatrin による GABA 濃度の上昇が脳の部位によってかなり相違があること (Gram ら<sup>9)</sup>, 1985), さらに kindling 実験での vigabatrin の発作抑制作用はその作用時間経過から GABA 系に無関係であろうとする報告 (Kalichman ら<sup>14)</sup>, 1982) などを考えると, さらに検討が必要であろう。

次に代表的な抗てんかん薬である phenobarbital sodium および valproate sodium については, NMDA 腹腔内投与によるけいれんに対して phenobarbital sodium の 100mg/kg, valproate sodium の 800mg/kg で 61% 以上の抑制が見られたが, これらの量は pentetrazol けいれん法や最大電撃けいれん法でのけいれん抑制の 50% 有効量 (ED50, それぞれ phenobarbital 23mg/kg, 27mg/kg, valproate sodium 415mg/kg, 440mg/kg (君島ら<sup>15)</sup>, 1989) と比べて極めて大量であり, また使用したマウスの大部分が死亡したことを考え合わせると, NMDA の腹腔内投与によるけいれんに対

しては選択的な抑制作用はないか, あっても極めて弱いものと考えられる。一方, NMDA 側脳室内投与によるけいれんに対して, とくに phenobarbital sodium は強い抗けいれん作用を示し, 上記の ED50 に近い 30mg/kg という量でけいれんを完全に抑制し, 死亡例も著明に減少したことは, 本薬の鋭敏な作用を示すものと考えられ, Moreau ら<sup>25)</sup> (1989) の結果と符合する。

さらに, NMDA 受容体の antagonist として近年注目されている MK-801 および CPP について検討を加えたが, MK-801 は non-competitive な antagonist であり (Wong ら<sup>47)</sup>, 1986), anti-glutamate としても知られており, とくにラットの bicuculline けいれんに対し強力な抑制作用を持ち (Clineschmidt ら<sup>3)</sup> 1982), 現在 focal origin の seizure を持つ難治性てんかんへの治療も行われている (Troupin ら<sup>44)</sup>, 1986) 薬物であるが, 今回の実験では腹腔内投与の NMDA けいれんに対しては 0.5mg/kg で半数に抑制作用を見たもののマウスのほとんどが死亡し, 1mg/kg に増量してもそれ以上の作用の増強はなく, 死亡例もほぼ同じ程度であった。これに対し側脳室内投与による NMDA けいれんに対しては 0.1-0.5mg/kg の投与で用量依存的に強い抗けいれん作用が認められ, 死亡例も 10 例中 1-2 例と著明な減少を示した。

もう一つの NMDA 受容体の competitive な antagonist である CPP (Lehmann ら<sup>20)</sup>, 1987; Turski ら<sup>45)</sup>, 1987) については, 電撃けいれん (Löscher ら<sup>21)</sup>, 1988) や DBA/2 マウスのけいれん (Lehmann ら<sup>20)</sup>, 1987) を抑制する効果のあることが報告されているが, 今回の実験では NMDA 腹腔内投与によるけいれん発現例と死亡例を減少させ, 本研究で使用した薬物の中で一番はっきりした抗けいれん作用が認められ, これまでの多くの報告 (Lehmann ら<sup>20)</sup>, 1987; Meldrum<sup>23)</sup>, 1984; Moreau ら<sup>25)</sup>, 1989; Turski ら<sup>45)</sup>, 1987) とほぼ同じ結果となった。また NMDA の側脳室内投与によるけいれんに対しても, CPP は腹腔内投与の NMDA けいれんに対するよりもより低用量から用量依存的な抑制を示し, 死亡例もより減少させる著明な抗けいれん作用がみられたが, Löscher ら<sup>21)</sup> (1988) は種々のてんかんモデルを用いた実験から CPP の抗けいれん作用は運動障害 (motor impairment) に関係したもので, 選択的な抗けいれん作用ではないと述べているが, CPP は比較的

大量投与で筋トーンスを低下させることにより (Lehmann ら<sup>20)</sup>, 1987; Turski ら<sup>45)</sup>, 1987) 筋弛緩をきたすことが知られており, 今回の実験でも 10 mg/kg 投与から筋弛緩を思わせる状態が認められたことは事実であるが, CPP には選択的な抗けいれん作用がないという考え方に関してはなお疑問が残る。

今回の両投与方法による NMDA けいれんに対する各薬物の効果は, 側脳室内投与のけいれん実験でより鋭敏に認められたが, その理由としては腹腔内投与では中枢神経系の広い部位に NMDA が到達するのに対し, 少量の側脳室内投与では注入部位からの拡散が少なく, 限局された部位内で primary epileptic activity を生じ, 薬物に対してより鋭敏に反応することが考えられ (Moreau ら<sup>25)</sup>, 1989), さらに側脳室内投与では TF, TE の型がはっきりしていること, 観察時間が短くてすむこと, そして NMDA の必要量が少なくてすむこと, などを考え合わせると, NMDA 受容体に関連する薬物の作用活性を調べるのには, 側脳室内投与の NMDA けいれんモデルがより有用であろうとする Moreau ら<sup>25)</sup> (1989) の考え方は支持できるものであろう。

なお今回実験したすべての群で, 抗けいれん作用の鋭敏度が他の報告より低く, また死亡率も高かったことについては, マウスの種差に加えて, けいれんの指標が異なること, さらに NMDA の投与量の違いなどが関係すると思われる。

### 3. 扁桃体 kindling に対する影響

Goddard<sup>8)</sup> (1967) により最初の記載がなされた kindling は, ヒトの二次性全般化を伴う複雑部分発作の最適な実験モデル (森本ら<sup>26)</sup>, 1987; 佐藤ら<sup>36)</sup>, 1975) とされ, これを利用した多くの研究が行われている。

それらのうち kindling ラットの脳あるいは髄液中のグルタミン酸やアスパラギン酸の濃度を調べた結果は, 不変 (Fabisiak ら<sup>6)</sup>, 1982), 増加 (Lothman ら<sup>22)</sup>, 1987), 減少 (Leach ら<sup>18)</sup>, 1981) と不定ながら, けいれん発作出現時にはグルタミン酸が増加すること (Fabisiak ら<sup>6)</sup>, 1982; Lothman ら<sup>22)</sup>, 1987), NMDA 受容体拮抗薬の投与により kindling の形成 (Cain<sup>1)</sup>, 1986; Holmes ら<sup>11)</sup>, 1986) や発作発現 (Peterson ら<sup>30)</sup>, 1983; Peterson ら<sup>31)</sup>, 1984) が抑制されることなど, NMDA 受容体と kindling の密接な関係を示唆す

る多くの報告がある。

今回の実験では, NMDA 受容体関連物質及び vigabatrin の影響を調べたが, その中で CPP は後放電 (AD) の持続時間に対しては抑制を示したものの, 発作発現に対しては軽度抑制傾向を示したのみであり, MK-801 は発作段階を強く抑制したもののラットの全身状態からみて, その強い筋弛緩が本薬の抑制作用にかなり関与していることが想像され, さらに AD に対しても影響がなかったことから kindling ラットへの抑制作用はそれほど強いものではないと思われる。このように MK-801 は AD に対して抑制作用を持つが, CPP にはなく (森本ら<sup>27)</sup>, 1990), さらに発作発現に対しては両薬とも抑制作用はあるものの, kindling の形成過程に対する強い抑制作用に比べると完成後の抑制は弱い (森本ら<sup>27)</sup>, 1990; Sato ら<sup>34)</sup>, 1988) とされており, 今回の結果はこれらの成績と一致するものとなった。また kindling ラットを用いた [<sup>3</sup>H]-glutamate の結合数の検討でも持続的な興奮性アミノ酸シナプス伝達を示す知見は得られていないこと (Okazaki ら<sup>29)</sup>, 1989) などからも, NMDA 受容体は kindling 完成後の発作発現に関しては決定的な役割は持っていない (森本ら<sup>27)</sup>, 1990) もと思われる。

一方, GABA 作動薬は kindling に対し, 形成過程 (Joy ら<sup>12)</sup>, 1984; Siegel ら<sup>41)</sup>, 1979), 完成後の発作発現 (Myslobodsky ら<sup>28)</sup>, 1979; Shin ら<sup>40)</sup>, 1986) の両方を抑制するという報告が多く, とくに発作発現には GABA 作動薬が抑制系としてかなり重要な関与をしている (佐藤ら<sup>35)</sup>, 1983) と云われているが, 今回の vigabatrin は発作段階には軽度の抑制があったものの強いものではなく, AD に対しては短縮例と延長例が半々近くあり, 平均としては影響なしという結果となった。

また今回の CPP および MK-801 と vigabatrin の併用実験でも, CPP と MK-801 の発作段階に対する抑制作用が増強された以外, AD に対する影響はとくに認められなかった。vigabatrin は AD に対し抑制と増強のばらつきがあり (Kalichman ら<sup>14)</sup>, 1982), 他の GABA-T 阻害剤にも同様な報告 (Le Gal La Salle<sup>19)</sup>, 1980) があること, さらに vigabatrin の発作抑制作用にはその作用時間経過から GABA 系に無関係であるとする報告 (Kalichman ら<sup>14)</sup>, 1982) もあり, これらを考え合わせると GABA-T 阻害剤である vigabatrin の

kindling ラットへの作用が、単独応用でも併用でもそれほど強くなかったことへの説明は可能であると思われる。

### 総 括

NMDA により発現するマウスのけいれんと、扁桃体 kindling ラットに対する各種薬物の影響について検討した。

1. NMDA の腹腔内投与によるけいれんに対し、NMDA 受容体 antagonist である CPP, MK-801 は抗けいれん作用を示し、代表的な抗てんかん薬である phenobarbital sodium と valproate sodium は大量投与で抗けいれん作用を示した。

2. NMDA の側脳室内投与によるけいれんに対し、CPP, MK-801, phenobarbital sodium, valproate sodium は腹腔内投与による NMDA けいれんに対するよりも鋭敏に抗けいれん作用を示した。

3. GABA-T 阻害剤である vigabatrin は、両投与方法による NMDA けいれんに対し全く抗けいれん作用を示さず、CPP や MK-801 との併用実験でもそれらの抗けいれん作用を増強する作用はみられなかった。

4. 扁桃体 kindling ラットに対し、CPP は発作段階 (stage) を軽度抑制し、AD に対しては有意な短縮を示した。また MK-801 は発作段階を強く抑制したが、AD に対しては影響がなかった。

vigabatrin は発作段階を軽度抑制したが、AD については短縮例と延長例が半々近くありばらつきを示し、さらに CPP や MK-801 との併用実験では vigabatrin は発作段階に対する CPP と MK-801 の抑制作用を増強したが、AD に対してはほとんど影響を示さなかった。

以上の結果に基づき、各種アミノ酸および関連物質とけいれんの関係について考察を加えた。

### 文 献

- 1) Cain, D. P. (1986). Amygdaloid kindling is retarded by an antagonist of excitatory amino acid receptors, DL-2-amino-5-phosphonovaleric acid. Soc Neurosci Abstr **12**, 69.
- 2) Chapman, A. G., Meldrum, B. S., Nanji, N. and Watkins, J. C. (1987). Anticonvulsant action and biochemical effects in DBA/2 mice of CPP(3-((±)-2-carboxypiperazin-4-yl)-propyl-1-phosphonate), a novel N-methyl-D-aspartate antagonist. Eur J Pharmacol **139**, 91-96.
- 3) Clineschmidt, B. V., Martin, G. E. and Bunting, P. R. (1982). Anticonvulsant activity of (+)-5-methyl-10,11-dihydro-5H-dibenzo [a,d] cyclohepten-5, 10-imine (MK-801), a substance with potent anticonvulsant, central sympathomimetic, and apparent anxiolytic properties. Drug Dev Res **2**, 123-134.
- 4) Croucher, M. J., Colling, J. F. and Meldrum, B. S. (1982). Anticonvulsant action of excitatory amino acid antagonists. Science **216**, 899-901.
- 5) Czuczwar, S. J., Frey, H.-H. and Löscher, W. (1985). Antagonism of N-methyl-D,L-aspartic acid-induced convulsions by antiepileptic drugs and other agents. Eur J Pharmacol **108**, 273-280.
- 6) Fabisiak, J. P. and Schwark, W. S. (1982). Cerebral free amino acids in the amygdaloid kindling model of epilepsy. Neuropharmacol **21**, 179-182.
- 7) Gangloff, H. and Monnier, M. (1957). The action of anticonvulsant drugs tested by electrical stimulation of the cortex, diencephalon and rhinencephalon in the unanesthetized rabbit. Electroencephalogr Clin Neurophysiol **9**, 43-58.
- 8) Goddard, G. V. (1967). Development of epileptic seizures through brain stimulation at low intensity. Nature **214**, 1020-1021.
- 9) Gram, L., Klosterskov, P. and Dam, M. (1985).  $\gamma$ -Vinyl GABA: A double-blind placebo-controlled trial in partial epilepsy. Ann Neurol **17**, 262-266.
- 10) Haley, T. J. and McCormick, W. G. (1957). Pharmacological effects produced intracerebral injection of drugs in the conscious mouse. Br J Pharmacol **12**, 12-15.
- 11) Holmes, K. H. and Goddard, G. V. (1986).

- A role for the N-methyl-D-aspartate receptor in kindling. *Proc Univ Otago Med Sch* **64**, 37-38.
- 12) Joy, R. M., Albertson, T. E. and Stark, L. G. (1984). An analysis of the actions of progabide, a specific GABA receptor agonist, on kindling and kindled seizures. *Exp Neurol* **83**, 144-154.
  - 13) Jung, M. J., Lippert, B., Metcalf, B. W., Böhlen, P. and Schechter, P. J. (1977).  $\gamma$ -Vinyl GABA(4-amino-hex-5-enoic acid), a new selective irreversible inhibitor of GABA-T: Effects on brain GABA metabolism in mice. *J Neurochem* **29**, 797-802.
  - 14) Kalichman, M. W., Burnham, W. M. and Livingston, K. E. (1982). Pharmacological investigation of gamma-aminobutylic acid(GABA) and fully-developed generalized seizures in the amygdala-kindled rat. *Neuropharmacol* **21**, 127-131.
  - 15) 君島健次郎, 田辺恭子(1989). 抗てんかん薬のいろいろ、とくに vigabatrin( $\gamma$ -vinyl-GABA)の抗けいれん作用. *精神神経薬理シンポジウム* **15**(1), 14-30.
  - 16) 君島健次郎, 田辺恭子(1990). 抗てんかん薬(抗痙攣薬). 齊藤 洋, 野村靖幸編, *医薬品の開発 第9巻, 医薬品の探索 1*, pp. 51-67. 廣川書店, 東京.
  - 17) König, J. F. R. and Klippel, R. A. (1967). *The rat brain*, Robert E. Krieger Publishing Co., Hamburg.
  - 18) Leach, M. J., Miller, A. A., O'Donnell, R. A., Webster, R. A. and Weston, S. B. (1981). Effect of electrical kindling on brain amino acid concentrations in rats. *Br J Pharmacol* **74**, 883-884.
  - 19) Le Gal La Salle, G. (1980). Inhibition of kindling-induced generalized seizures by amino-oxy-acetic acid. *Can J Physiol Pharmacol* **58**, 7-11.
  - 20) Lehmann, J., Schneider, J., McPherson, S., Murphy, D. E., Bernard, P., Tsai, C., Bennett, D. A., Pastor, G., Steel, D. J., Boehm, C., Cheney, D. L., Liebman, J. M., Williams, M. and Wood, P. L. (1987). CPP, a selective N-methyl-D-aspartate (NMDA)-type receptor antagonist: Characterization in vitro and vivo. *J Pharmacol Exp Ther* **240**, 737-746.
  - 21) Löscher, W., Nolting, B. and Honach, D. (1988). Evaluation of CPP, a selective NMDA antagonist, in various rodent models of epilepsy. Comparison with other NMDA antagonists, and with diazepam and phenobarbital. *Eur J Pharmacol* **152**, 9-17.
  - 22) Lothman, E. W., Bennett, J. P. and Perlin, J. B. (1987). Alterations in neurotransmitter amino acids in hippocampal kindled seizures. *Epilepsy Res* **1**, 313-320.
  - 23) Meldrum, B. (1984). Amino acid neurotransmitters and new approaches to anticonvulsant drug action. *Epilepsia* **25**, s140-149.
  - 24) Meldrum, B., Millan, M., Patel, S. and de Sarro, G. (1988). Anti-epileptic effects of focal micro-injection of excitatory amino acid antagonists. *J Neural Transm* **72**, 191-200.
  - 25) Moreau, J-L., Pieri, L. and Prud'hon, B. (1989). Convulsions induced by centrally administered NMDA in mice: effects of NMDA antagonists, benzodiazepines, minor tranquilizers and anticonvulsants. *Br J Pharmacol* **98**, 1050-1054.
  - 26) 森本 清, Goddard, G. V. (1987). キンドリング(Kindling): 最近の動向と展望. *神経精神薬理* **9**, 461-491.
  - 27) 森本 清, 井上光太郎, 片山かほる, 佐藤圭子, 平安良雄, 大西 勝, 大月三郎(1990). てんかん性興奮性神経回路における NMDA 受容体の役割. *精神薬療基金研究年報 第21集*, 53-59.
  - 28) Myslobodsky, M. S., Ackermann, R. F. and Engel, J. Jr. (1979). Effects of  $\gamma$ -acetylenic GABA and  $\gamma$ -vinyl GABA on metrazol-activated, and kindled seizures. *Pharmacol Biochem Behav* **11**, 265-271.
  - 29) Okazaki, M. M., McNamara, J. O. and Nadler, J. V. (1989). N-methyl-D-aspar-

- tate receptor autoradiography in rat brain after angular bundle kindling. *Brain Res* **482**, 359-364.
- 30) Peterson, D. W., Collins, J. F. and Bradford, H. F. (1983). The kindled amygdala model of epilepsy: anticonvulsant action of amino acid antagonists. *Brain Res* **275**, 169-172.
- 31) Peterson, D. W., Collins, J. F. and Bradford, H. F. (1984). Anticonvulsant action of amino acid antagonists against kindled hippocampal seizures. *Brain Res* **311**, 176-180.
- 32) Racine, R. J. (1972). Modification of seizure activity by electrical stimulation: II. Motor seizure. *Electroenceph Clin Neurophysiol* **32**, 281-297.
- 33) Rimmer, E. M. and Richens, A. (1984). Doubleblind study of  $\gamma$ -vinyl GABA in patients with refractory epilepsy. *Lancet* **1**, 189-190.
- 34) Sato, K., Morimoto, K. and Okamoto, M. (1988). Anticonvulsant action of a non-competitive antagonist of NMDA receptors(MK-801) in the kindling model of epilepsy. *Brain Res* **463**, 12-20.
- 35) 佐藤光源, 森本 清(1983). てんかんにかかわる促進系と抑制系. *神経進歩*27巻, 578-588.
- 36) 佐藤光源, Wada, J. A. (1975). 新しい実験てんかんモデルとしての"kindling"preparation: 展望. *脳と神経* **27**, 257-273.
- 37) 澤口正彦(1990). Methyl  $\beta$ -carboline-3-carboxylate ( $\beta$ -CCM) の中枢作用, とくにけいれん惹起作用と異常脳波の特性について. *米子医学雑誌* **41**, 91-116.
- 38) Sawyer, C. H., Everett, J. W. and Greem, J. D. (1954). The rabbit diencephalon in stereotaxic coordinates. *J Comp Neurol* **101**, 801-824.
- 39) Schechter, P. J., Hanke, N. F. J., Grove, J., Huebert, N. and Sjoerdsma, A. (1984). Biochemical and clinical effects of  $\gamma$ -vinyl GABA in patients with epilepsy. *Neurology* **34**, 182-186.
- 40) Shin, C., Rigsbee, L. G. and McNamara, J. O. (1986). Anti-seizure and anti-epileptogenic effect of  $\gamma$ -vinyl  $\gamma$ -aminobutylic acid in amygdaloid kindling. *Brain Res* **398**,370-374.
- 41) Siegel, J. and Murphy, G. J. (1979). Serotonergic inhibition of amygdala-kindled seizures in cats. *Brain Res* **174**, 337-340.
- 42) Stone, W. E. and Javid, M. J. (1983). Effects of anticonvulsants and other agents on seizures induced by intracerebral L-glutamate. *Brai Res* **264**, 165-167.
- 43) 鈴木繁徳(1959). 各種薬物髄液内応用の髄液カリウム量および脳液に及ぼす影響. *米子医学雑誌* **10**, 986-996.
- 44) Troupin, A. S., Mendius, J. R., Cheng, F. and Risinger, M. W. (1986). 14. MK-801 In: Current problems in epilepsy: 4 New anticonvulsant drugs, Ed. Meldrum, B. S. and Porter, R. J., pp 191-201, John Libbey, London.
- 45) Turski, L., Klockgether, T., Sontag, K.-H., Herrling, P. L. and Watkins, J. C. (1987). Muscle relaxant and anticonvulsant activity of 3-(( $\pm$ )-2-carboxypiperazin-4-yl)-propyl-1-phosphonic acid, a novel N-methyl-D-aspartate antagonist, in rodents. *Neurosci Lett* **73**, 143-148.
- 46) Watkins, J. C. (1984). Excitatory amino acids and central synaptic transmission. *Treds Pharmacol* **5**, 373-376.
- 47) Wong, E. H. F., Kemp, J. A., Priestley, T., Knight, A. R., Woodruff, G. N. and Iversen, L. L. (1986). The anticonvulsant MK-801 is a potent N-methyl-D-aspartate antagonist. *Proc Nath Acad Sci USA* **83**,7104-7108.