

ep 系マウスの病態生理に関する実験的研究

第 2 編

ep 系マウスの脳波ならびに各種抗痙攣剤の
これにおよぼす影響について

(本論文の要旨は第21回日本脳神経外科学会において発表した)

岡山大学医学部第1(陣内)外科教室(指導:陣内傳之助教授)

医学士 杉 生 了 亮

〔昭和38年2月12日受稿〕

第1章 緒 言

動物の脳より始めて活動電流を誘導記録したのは Berger¹⁾ であり、これに脳波なる語が使用されたのは1924年である。ついで Fischer, Berger および Kornmueller^{ら2)3)4)}により薬物痙攣を起したさいの動物の皮質波は、正常のものと比較して高電位であることが報告され、さらに Gibbs, Davis および Lennox^{ら5)}により臨床面に応用され、てんかん患者の痙攣発作時の脳波が異常所見を程すること、また発作間歇期においても異常脳波所見を程することが報告されて以来、脳波はてんかん患者の診断にはもちろんのこと、その治療面においてもかかせぬものとなつてきた。

さて、ep 系マウスは今泉⁶⁾によつて1954年に発見された特殊系マウスで、訓練により一定回数の生理的な体位変換刺激を加えると成熟したものでは容易にかつ100%に痙攣発作を起す純系マウスである。従つて遺伝的に痙攣準備性の異常亢進が規制されていると考えられ、とくに痙攣発作の発現に薬物その他の非生理的の刺激を必要としない点から痙攣発作の発現機序を解明するために恰好な動物として興味をもたれている。すでに、このマウスの脳代謝についての生化学的、神経化学的の検索は諸家⁷⁾⁸⁾により報告されているが、未だ電気生理学的の研究については全く報告をみない。従つて私はこの方面から特殊系マウスにどのような異常波が発現するか、また抗痙攣剤によつてこの波形がいかに影響されるかに興味をもち脳波的の検索を行つた。

記録方法に最初難点があつたが、現在用いている

方法を考案するに至り、artifact の混入も激減し十分に解読することが可能となつた。すでに安静時の脳波に、他系においては発現せぬ異常波が発現することおよびこれに γ -aminobutyric acid (以下 GABA と記す)、 γ -amino- β -hydroxybutyric acid (以下 GABOB と記す) を投与したときの影響については報告⁹⁾したが、私はさらに例数を重ね安静時脳波を詳細に検討するとともに、各種抗痙攣剤を投与してその影響を観察した。

抗痙攣剤としては、従来より広く用いられている diphenylhydantoin および phenobarbital、さらに homocarnosine (γ -aminobutyryl-L-histidine) を選んでいる。

すでに diphenylhydantoin (以下 Diph. と略記する) および phenobarbital (以下 Ph. と略記する) を ep 系マウスの腹腔内に注入した場合にはその痙攣発作に対し抑制効果があることは、矢部¹⁰⁾により報告されており、また Diph. を経口投与した場合においても同様の効果があることは教室の笠原¹¹⁾によつて報告されている。また1961年 J. J. Pisano¹²⁾らにより牛脳中より分離された homocarnosine (以下 Hc. と略記する) の抗痙攣作用についても第1編において詳述した通りである。

以上 ep 系マウスの痙攣発作を抑制する3者を用いて、Ph. と Diph. においては腹腔内注入による急性負荷実験と連日経口投与による慢性負荷実験とに分け、Hc. においては頭蓋下脳脊髄液内注入によるそれぞれの異常波へおよぼす影響を、痙攣発作抑制過程と対比しながら検索を行つた。

第2章 実験方法

第1節 実験動物

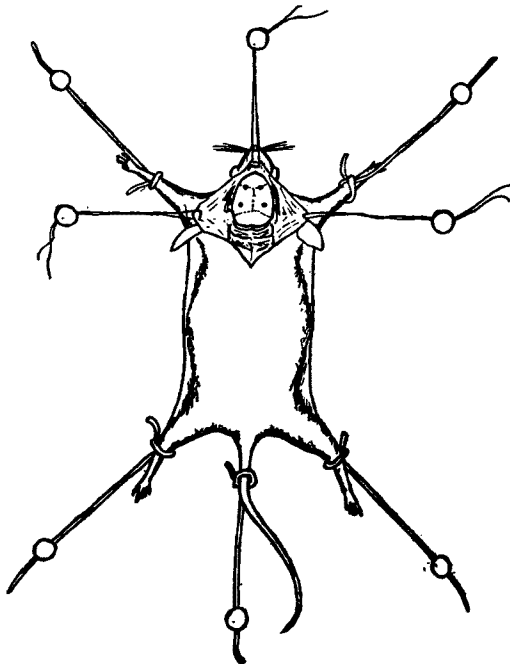
使用した ep 系マウスは第1編, 第2章, 第1節で詳述した如く体位変換刺激として平板上で宙に5~15cm 抛り上げる“抛り上げ運動”を毎分90~110回の速さで加えれば, その回数50回以内において必ず定型的な痙攣発作を連日起こすものであり, また痙攣発作を起し始めてより少くとも2週以上を経過したものを使用した。従つていずれも生後13週以上を経過している。なお, その中には第1回目の刺激では痙攣発作を起さなかつたが, 2~3分の休止期間において第2回目の刺激を加えれば, その回数50以内で痙攣発作を起したのも少数例ではあるが含れている。ep 系マウスにこのような性質があることはすでに第1編で述べた如くである。

なお, 対照としては ep 系マウスとほぼ同一生長時期でかつ同体重 (22~30g の範囲にわたつており26g 前後が多い) の CF-1 系マウスを使用した。

第2節 マウスならびに電極固定法

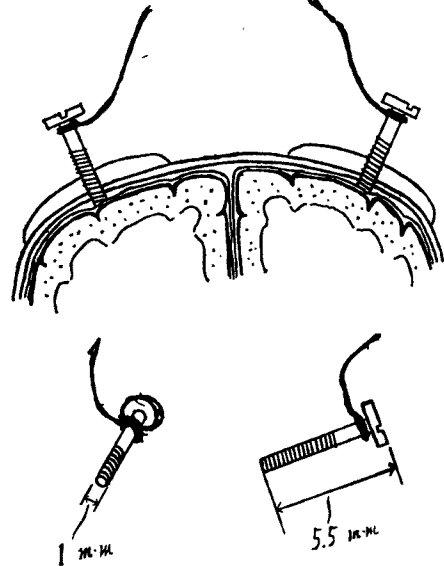
特定のマウス頭部固定装置のないことおよびマウスを可動にした場合には artifact のため脳波が得られぬことより考えて, 図1に示す如く平板上に布片を貼りつけ, この上にマウスの四肢および尾部を

図1 マウス固定法ならびに電極固定位置
頭部●印は電極固定位置を示す。



紐にて適当に牽引固定, 1%キシロカイン (0.2ml を越えない量より) を用いて局所麻酔を施行したのち, 頭皮を縦切し左右に排除し糸にて三方向に牽引固定した。この固定によつて頭部はほとんど動かなくなる。ここで附着筋肉ならびに骨膜を剝離し十分に頭蓋骨をあらわし, 歯科用ドリルを用いてその前頭部および頭頂・後頂部に左右対称に計4ヶの孔をあけ, これに特殊螺子電極を脳硬膜表面に接するまでねじ込み, 周囲を合成樹脂接着剤にて固定した (図2)。

図2 電極固定法および使用電極
使用電極は非絶縁合金性電極で 5.5×1.0mm のものを図の如く合成樹脂接着剤にて硬脳膜表面に達するように強固に固定した。



第3節 誘導方法

誘導方法は全例において図3に示す如き双極誘導とした。すなわち

- | | |
|------|-----------|
| 第1誘導 | 左前頭部→左頭頂部 |
| 第2誘導 | 右前頭部→右頭頂部 |
| 第3誘導 | 左前頭部→右前頭部 |
| 第4誘導 | 左頭頂部→右頭頂部 |

の4誘導である。

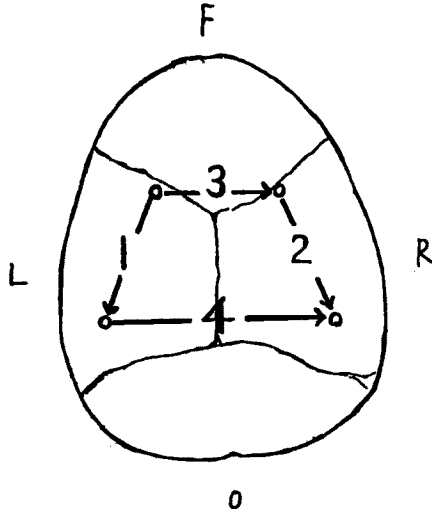
記録装置: 三栄測器製作所の日本脳波学会の規格に合致せる8素子インク書記式臨床脳波計を用いた。

電極: 図2に示す如き長さ 5.5mm, 直径 1.0mm の合金非絶縁電極を用いた。

第4節 使用薬剤

- 1) 1%キシロカイン (藤沢薬品株式会社製)
頭皮を切開剝離する際ならびに尾部固定の局所麻酔用として用いた。麻酔薬の影響を考慮して全量が0.2ml

図3 誘導方法
全例に図の如き双極4誘導法を用いた。



を越えないように注意した。なお局所麻酔を用いぬときは、当初疼痛のためかなりの筋電図が混入するようであった。

2) 合成樹脂接着剤

Sodium Alginate (片山化学工業株式会社製)

Rebae Toughron Liquid (三木化学工業株式会社製) 歯科用の接着剤であり前述の電極固定に使用した(図2)。

3) Phenobarbital

a) フェノバルビタール (藤永製薬株式会社製)。

内服用のものであり水溶性でないため 50~60mg/kg を粉末のまま与えるか、極く少量の水とともに注射器に吸い細針を用いて口中深く挿入し、連日与えた。

b) リナーセン (第一製薬株式会社製)

注射用の Ph. である。使用は腹腔内注入法により、用量は 30~40mg/kg および 70~80 mg/kg の2者に分けた。

4) Diphenylhydantoin

アレビアチン (大日本製薬株式会社製)

水に難溶であるが、アルカリ性液 (pH 11) には十分にとけるので、アルカリ性溶液として用いた。すでに矢部¹⁰⁾ によつて報告されているが ep 系マウスの痙攣発作は pH 11 位のアルカリ性液の投与では抑制されない。かえつて亢進されるものも少数ではあるが認められた。

a) 経口投与

アレビアチンの 120~130mg/kg を 0.02ml に溶

かし、Ph. と同様に注射器に吸い細針を用いて口中深く挿入し、圧入して連日与えた。Ph. と比較してアルカリ性液のため飲用時に少し刺激を与えることが観察された。

b) 腹腔内注入

前記溶液を 90~100mg/kg (約0.02ml) および 180~200 mg/kg (約 0.04 ml) の2者に分けそれぞれ腹腔内に注入した。

5) Homocarnosine (教室の森¹³⁾ の製品)

Hc. は白色の粉末で水溶性である。従来アミノ酸類は blood-brain barrier を通過し難いといわれているため、注射用蒸留水 0.01ml に 4~5mg/kg の量をとかし、細針を用いて頭皮上より前頭部の頭蓋骨を穿通し直接に脳脊髄液内に徐々に注入した。

注入後の症状は第1編、第3章、第1節に詳述した如く呼吸数・心搏数に増加がみられ、また運動も注入後20分間にわたり抑制される。なお、対照として Ringer 液および生理食塩水を同様 0.01ml 注入した。

第3章 実験成績

まず前記 Ph., Diph. および Hc. の各投与法による痙攣発作抑制効果について述べ、ついで ep 系マウスの安静時脳波、さらに Ph., Diph. および Hc. の安静時脳波におよぼす影響の順序に従つて述べていくことにする。

なお、薬剤の抗痙攣作用を検したマウスと脳波を記録したマウスとは同一マウスではない場合もある。

第1節 各種抗痙攣剤の痙攣発作抑制効果について

ep 系マウスに痙攣発作を起さすに必要な体位変換刺激の回数は、気圧・気温・湿度らの気象条件ならびに飼育条件によつて左右されることは矢部¹⁰⁾ によりすでに報告されている通りであるが、私もこの諸種因子の影響を念頭において各種抗痙攣剤の抑制効果を判定した。

抑制効果判定法

第1編、第3章、第2節において詳述したので、ここでは簡単に説明する。

全例に 90~100 times/min. の速さで抛り上げ運動を加えた場合に

1) 完全に抑制効果があるもの、これを (-) の記号で表す。

第1回目さらに2~3分間の休止期間後の第2回

目の抛り上げ運動の回数150回以内で痙攣発作を起さぬとき、すなわち、いくら刺激を与えても痙攣発作を起さぬとき、

2) 軽度の抑制効果があるもの、これを(+)の記号で表す。

a) 第1回目の抛り上げ運動の50~150回で痙攣発作を起したとき、

b) 第1回目には起さなかつたが、休止期間後第2回目の抛り上げ運動の50~150回で痙攣発作を起したとき、

3) 抑制効果が全く認められないもの、これを(++)の記号で表す。

a) 第1回目の抛り上げ運動の50回以内で定型的な痙攣発作を起したとき、

b) 第1回目では起らなかつたが、休止期間後第2回目の抛り上げ運動によりその回数50回以内で定型的な痙攣発作を起すとき、

以上の通りである。以後(++), (+)および(-)の記号をもつて全例を判定する。なお、よく訓練した ep 系マウスでは不全型発作は全くみられなかつたし、また抗痙攣剤を投与した場合もほとんど不全型発作はみられなかつた。

第1項 Phenobarbital 投与の場合

1) 腹腔内注入

リナーセンを腹腔内に注入し、判定は注入後30~40分に体位変換刺激(抛り上げ運動)を加えて行つた。

a) 30~40mg/kg 注入した場合

表1に示す如く例数5匹のうち3例が(-), 2例が(+)であつた。従つて抑制効果はあるものと

認められる。

b) 70~80mg/kg 注入した場合

表1に示す如く5例全例に(-)で完全に抑制効果がある。この量になると活潑な運動も抑制される。

2) 経口投与

第2章、第4節に述べた方法により連日50~60mg/kg を服用させた。表2に示している通り11例全例に翌日より痙攣発作は消失している。このうち8例は終始(-)に徹しているが、2例には途中1~2回(+)があり、また1例には(++)がある。しかしながら総じて抑制効果は完全であつた。

なお、投与を中止すれば痙攣発作は再び起り始める。すなわち30~40mg/kg 腹腔内注入の場合には遅くとも注入後8時間後に、70~80mg/kg 注入の場合は1日後に、また50~60mg/kg の経口投与では2週間の連日投与によつて遅くとも4日後以内には全例に痙攣発作は発現している。

第2項 Diphenylhydantoin 投与の場合

1) 腹腔内注入

アレピアチンを第2章、第4節の方法により溶かし使用した。

判定は Ph. と同様に注入後30~40分に行つた。

a) 90~100mg/kg 注入した場合

表3に示す如く5例中3例に(-), 1例に(+), 1例に(++)でかなり抑制効果を認めている。

b) 180~200mg/kg 注入した場合

表3に示す如く5例全例に(-)で、完全な抑制効果を認めた。

2) 経口投与

表 1 Phenobarbital ep 系マウス腹腔内注入時の痙攣発作および脳波への影響

注 入 量	例数	痙 攣 発 作 注入後30~40分に判定 (++)(+)(-)は抑制効果 判定法に従う	脳 波	
			基 礎 律 動	異 常 波 (棘波出現)
30~40mg/kg	1	+	不 変	+
	2	-	紡錘波 振巾低下	+
	3	+	不 変	+
	4	-	紡錘波 振巾低下	+
	5	-	不 変	+
70~80mg/kg	1	-	紡錘波 振巾低下	- (但し注入後 30分~3時間)
	2	-	"	-
	3	-	"	-
	4	-	小棘状徐波結合体	-
	5	-	"	-

表 2 Phenobarbital 50~60mg/kg 連日経口投与

投与開始 後日数	痙攣発作 (++)(+)(-)は抑制効果判定法に従う														脳 波	
	1日	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	基礎律動	異常波 (棘波) 出現
例 数																
1	-	-	-	脳波記録	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	不 変	+
2	-	-	-	脳波記録	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	"	+
3	-	-	-	脳波記録	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	"	+
1	-	-	-	-	-	-	-	脳波記録	-	-	-	-	-	-	不 変	-
2	-	+	-	-	+	-	-	脳波記録	-	-	-	-	-	-	"	+
3	-	-	-	-	-	-	-	脳波記録	-	-	-	-	-	-	"	+
1	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	脳波記録	-	-	不 変	-
2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	脳波記録	-	-	周波数減少	-
3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	脳波記録	-	-	不 変	-
4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	脳波記録	-	-	周波数減少	-
5	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	脳波記録	-	-	不 変	-

表 3 Diphenylhydantoin ep 系マウス腹腔内注入時の痙攣発作および脳波への影響

注 入 量	例数	痙 攣 発 作	脳 波	
		注入後30~40分に判定 (+)(+)(-)は抑制効果判定法に従う	基 礎 律 動	異 常 波 (棘波出現)
90~100mg/kg	1	+	不 変	+
	2	-	"	+
	3	-	振 巾 低 下	+
	4	-	振 巾 低 下	+
	5	+	振 巾 低 下	+
180~200mg/kg	1	-	振巾低下 周波数減少	+
	2	-	"	+
	3	-	"	+
	4	-	"	+
	5	-	"	+

第2章, 第4節に述べた方法により 120~130 mg/kg を連日服用させた。表4に示す如く12例に2日後より痙攣発作は消失している。そのうち1例が途中で1回(+)を示しているが、総じて抗痙攣作用は完全であった。

なお、Ph.の場合と同様に投与を中止すれば再び痙攣発作は起り始める。

第3項 Homocarnosine 投与の場合

第2章, 第4節に述べた方法に従い 4~5 mg/kg を投与した。

表5に示す如く注入後1日, 2日においては(+), (++)がみられたが, 3日後になると全例に痙攣発作は消失した。以後は2週間の観察期間中全例に1回も痙攣発作は起つていない。

なお、対照の Ringer 液および生理食塩水においては、Ringer 液ではほとんど抑制効果が認められなかつたが、生理食塩水ではかなりの抑制をみている(表5)。すなわち4例中2例に1時的ではあるが抑制効果を認めている。なお詳細は第1編を参照せられたい。

第2節 安静時脳波

基礎律動は対照の CF-1 系マウスのものと同様で、振巾 10~30 μ V・周波数 30~40 c/s (大多数が 35 c/s 前後) のかなり速い波が主体となっている。固定のよくない場合には、これに呼吸による動揺、心電図、筋電図らの artifact が入るが、脳波の記録・分析を妨げるほど酷いものはなかつた。このように基礎律動は全く対照の CF-1 系マウスと

表 4 Diphenylhydantoin 120~130mg/kg 連日経口投与

投与開始 後日数	痙攣発作 (++)(+)(-)は抑制効果判定法に従う															脳 波	
	1日	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	基礎律動	異常波 (棘波出現)
例数																	
1	-	-	-	脳記 波録	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	不 変	+
2	-	-	-	脳記 波録	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	"	+
1	-	-	-	-	-	-	-	脳波 記録	-	-	-	-	-	-	-	不 変	+
2	-	-	-	-	-	-	-	脳波 記録	-	-	-	-	-	-	-	"	+
3	-	-	-	-	-	-	-	脳波 記録	-	-	-	-	-	-	-	"	+
1	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	脳波 記録	-	-	-	不 変	+
2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	脳波 記録	-	-	-	"	-
3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	脳波 記録	-	-	-	"	-
1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	脳波 記録	不 変	-
2	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	脳波 記録	"	-
3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	脳波 記録	"	-
4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	脳波 記録	"	-

表 5 Homocarnosine 前頭部脳脊髄液内注入 4~5mg/kg/0.01ml

注入薬剤	注入後 日数	痙攣発作 (++)(+)(-)は抑制効果判定法に従う										脳 波				
		1日	2	3	4	5	6	7	8	9	10	基礎律動	異常波 (棘波出現)			
例数																
ホ モ カ ル ノ シ ン	1	++	++	脳記 波録	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	不 変	+
	2	++	++	脳記 波録	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	"	+
	3	+	-	-	-	-	脳波 記録	-	-	-	-	-	-	-	"	-
	4	-	-	-	-	-	脳波 記録	-	-	-	-	-	-	-	"	-
	5	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	"	+
	6	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	"	+
	7	-	-	-	-	-	-	脳波 記録	-	-	-	-	-	-	"	-
	8	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	"	+
	9	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	"	-
	10	++	-	-	-	-	-	-	脳波 記録	-	-	-	-	-	"	-
	11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	"	-
	12	++	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	"	-
	13	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	"	-
リ 液 ン ゲ ル	1 A	++	++	+	+	++	+	++	脳波 記録					不 変	+	
	2 A	++	++	++	++	+	++	-	脳波 記録					"	+	
	3 A	++	++	+	+	+	++	++	脳波 記録					"	+	
生 理 食 塩 水	1 B	++	++	+	-	++	+	+	脳波 記録					不 変	+	
	2 B	++	++	+	++	++	+	++	脳波 記録					"	+	
	3 B	+	+	+	-	-	-	-	脳波 記録					"	-	
	4 B	+	+	+	-	+	-	-	脳波 記録					"	-	

同様であつたが、ep 系マウスには基礎律動には何らの変化もなく、90~170 μ V の棘状波（てんかん放電の際にみられる棘波との異同について多少の議論があるが、ここではこの表現を使用する）が突然に発現する。

さて、この棘状波を主体とした異常波が ep 系マウスの何割に現れるかを調べてみると、現在まで記録した69例中66例にみられ、95.6%にのぼっている。いずれのマウスも記録は少なくとも20分間は行つてお

り、この間に異常波が1回以上発現したものを含んだものである。一方、対照の CF-1 系マウス33例においては全例に全く異常波の発現をみなかつた。図4および5は両者の安静時の脳波である。

異常波には1側性あるいは両側性に sporadic に現われる棘状波から paroxysmal に発現する多棘状波までであるが、両側性に sporadic に現れる棘状波が最も多くみられた。なかには棘状波よりも鋭波とみられるものもあつたが極く少数に限られていた。

図4 ep 系マウス安静時、その1。
両側性に Sporadic に発現した棘状波。

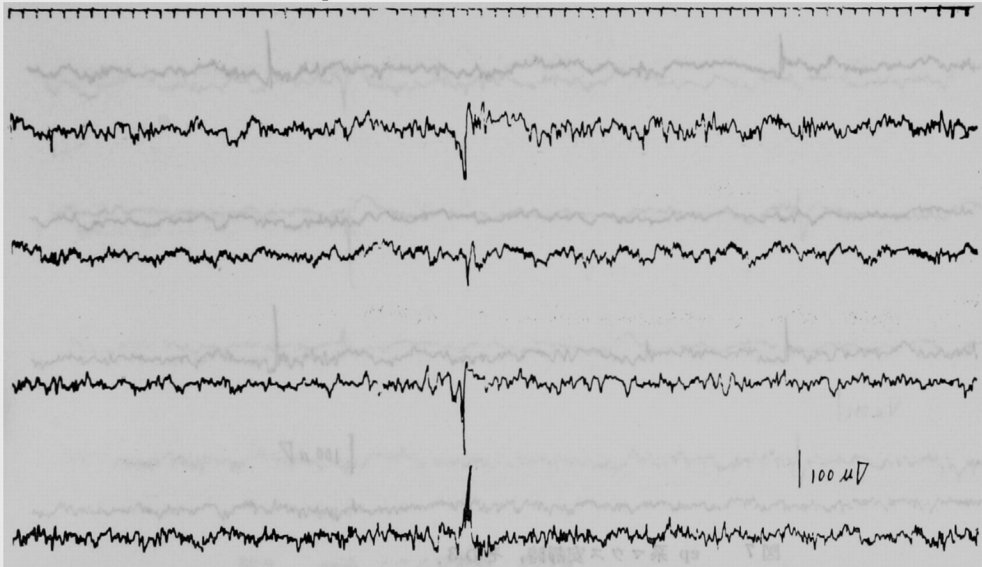
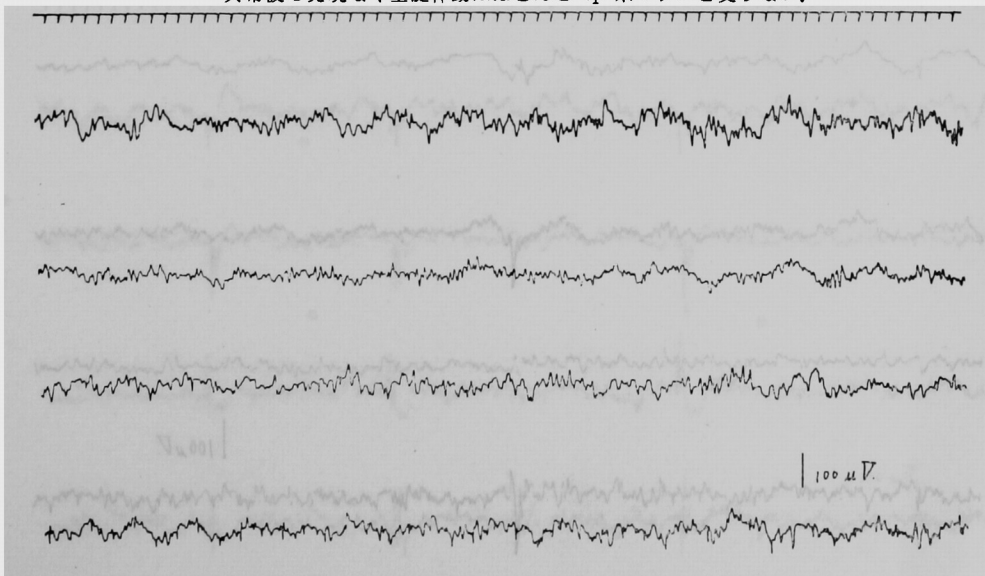


図5 CF-1 系マウス安静時。
異常波の発現なく基礎律動はほとんど ep 系マウスと変りない。



また、異常波の発現頻度は平均1分間に3~4回であつた。図6および7は1側性に発現したものであり、図4および8は両側性の発現、図9は両側性の頻発したものであり、図10および11は burst に発現したものである。

第3節 各種抗痙攣剤の安静時脳波へおよびその影響

第1項 Phenobarbital の場合

1) 腹腔内注入

a) 30~40 mg/kg 注入の場合

表1に示す如く5例について検討したが、そのうち3例には全く変化がなく、基礎律動、異常波の発現ともに安静時のものと同一であつた(図12, 13および14)。しかし残りの2例では異常波の発現およ

図6 ep系マウス安静時、その2。
一側性に左側に発現した棘状波。

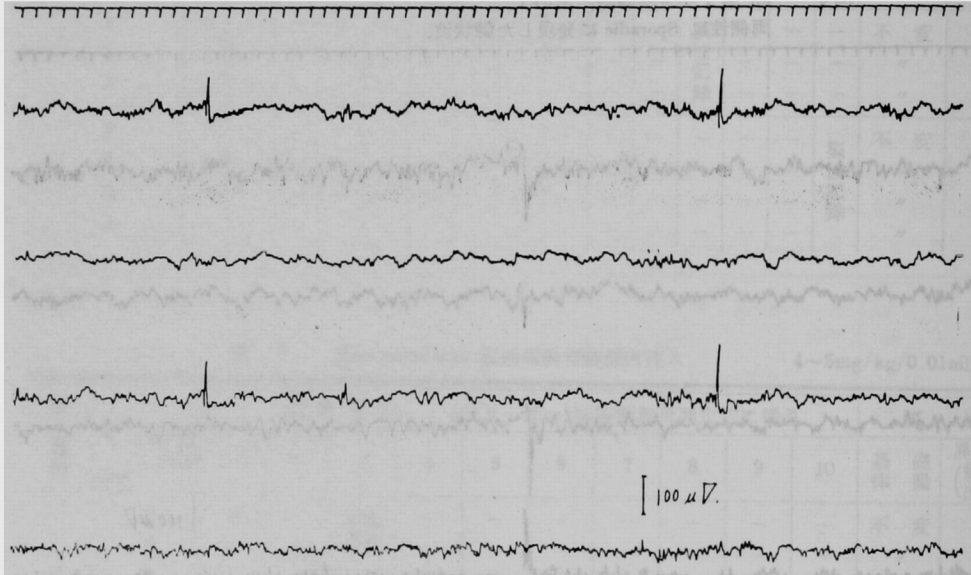
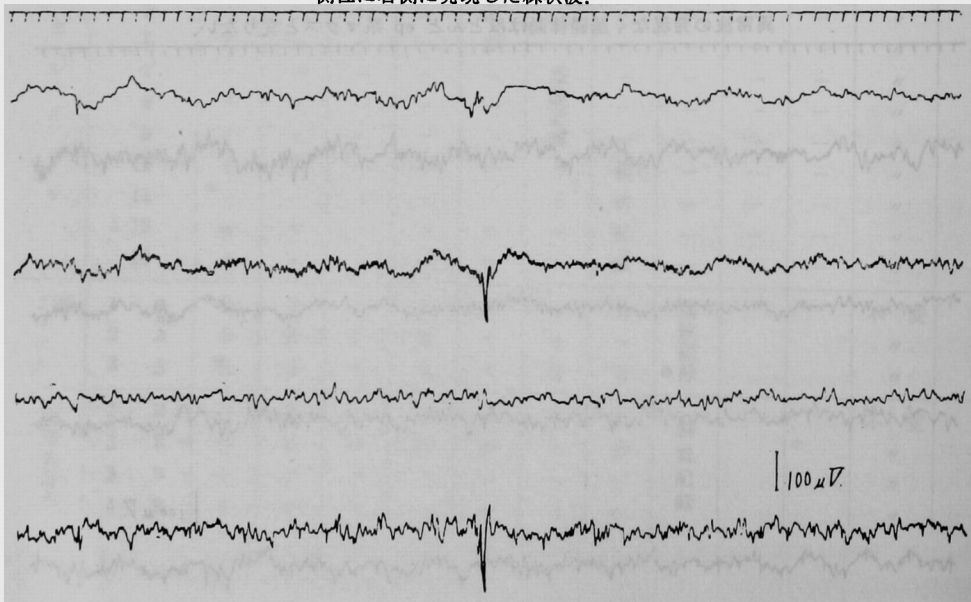


図7 ep系マウス安静時、その3。
一側性に右側に発現した棘状波。



び形態に全く影響がなかつたが、基礎律動に注入後20分位より紡錘波が出現し、また軽度の振巾低下がみられた。

従つて、30~40 mg/kg の投与量では異常波の発現を抑制しえない。

b) 70~80 mg/kg 注入の場合

5例全例に注入後15分ではなお異常波は発現して

いるが、基礎律動に紡錘波が出現し始める(図15)。30分後になると30c/s位の紡錘波が連続的に出現し、異常波は全く見えなくなる(図16)。1時間を経過すれば次第に紡錘波の出現も減少し、脳波全体が抑制され周波数の減少・振巾の低下が著明となる。以後この状態を2時間位持続し、注入後3時間を過ぎれば脳波は回復の兆をみせ始める。すなわち再び

図8 ep系 マウス安静時, その4.
両側性に sporadic に発現した棘状波。



図9 ep系 マウス安静時, その5.
両側性に頻発した棘状波。



異常波（この場合においては棘状波よりも鋭波の波形をとつている）が発現し始め、基礎律動の周波数・振幅もそれぞれ増大してくる。その後漸次脳波は回復し異常波の形態も鋭波化したものから棘状波へ移り、8時間を経過すれば全例が注入前の脳波に復元した。

従つて、70~80 mg/kg の注入では表 1 に示す如

く全例に注入後約30分から3時間にわたり異常波の発現を抑えている。

2) 50~60 mg/kg の経口投与

表 2 に示す如く投与開始後 4 日目に記録した 3 例においては基礎律動・異常波の発現ともに安静時のものと変化がない。ついで 8 日後に記録した 3 例では基礎律動は不変で 3 例中 1 例に異常波が消失して

図10 ep系マウス安静時、その6。
両側性に burst に発現した棘状波。

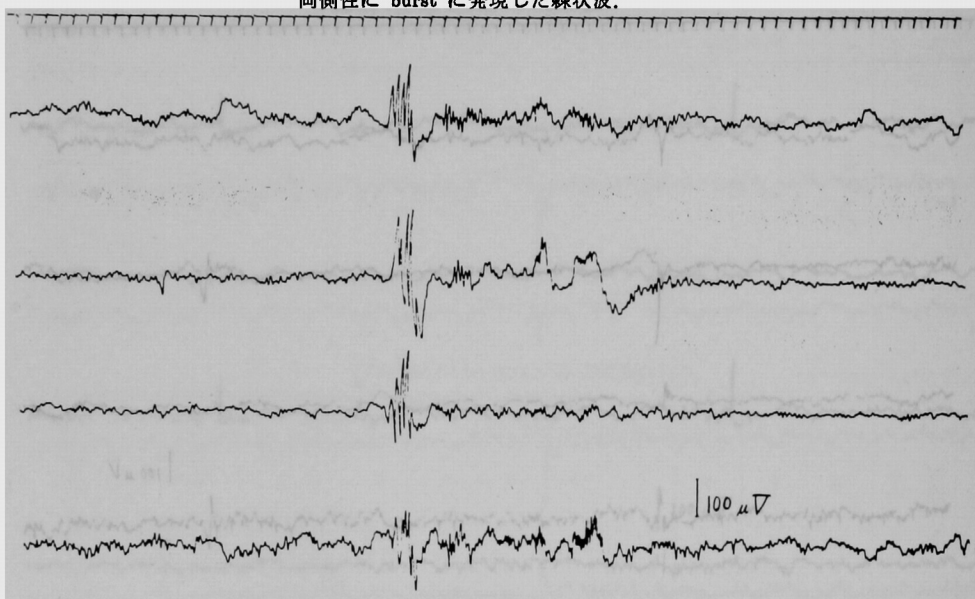
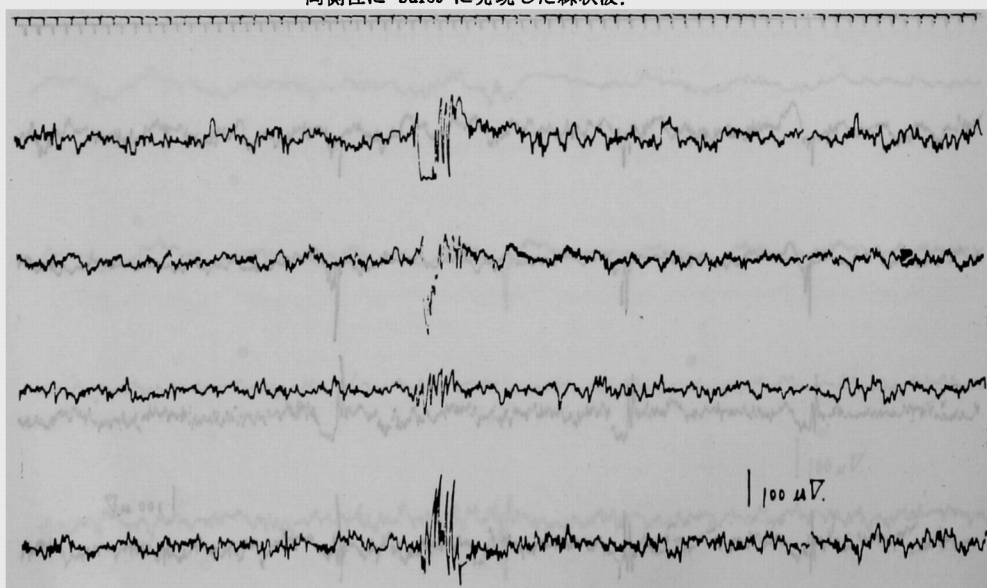


図11 ep系マウス安静時、その7。
両側性に burst に発現した棘状波。



いる。さらに12日目の5例においては全例に異常波の発現が抑えられ、基礎律動もほとんど不変であったが、やや周波数の減少したものが2例に認められた。

なお服薬を中止すれば遅くとも中止後4日目より安静時のものと同様の異常波が再び発現してくる。

〔小括〕

ep 系マウスの痙攣発作は Ph. で抑制される。すなわち、急性負荷実験（腹腔内注入）では30~40 mg/kg で十分であり、慢性負荷実験（連続経口投与）では 50~60 mg/kg で十分である。

次に脳波所見においては、30~40 mg/kg の急性負荷では安静時のものとほとんど不変であるが、70~80 mg/kg のものでは紡錘波が出現し、異常波の

図12 ep 系マウス phenobarbital 30~40mg/kg腹腔内注入。 注入前。

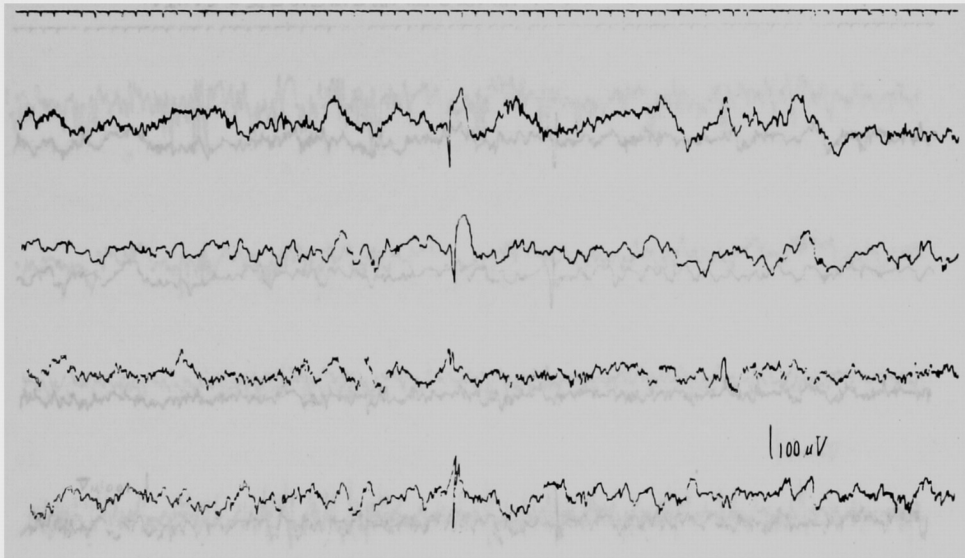
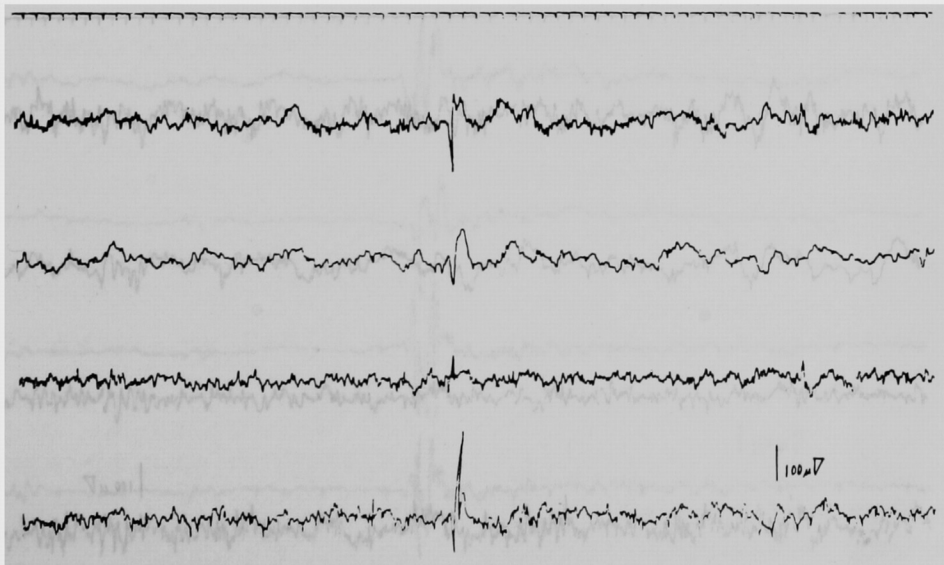


図13 ep 系マウス phenobarbital 30~40mg/kg 腹腔内注入。 注入後20分。



発現は全く抑えられた。また 50~60 mg/kg の慢性負荷では、次第に異常波の発現は抑制され、痙攣発作が抑制されてから少くとも12日を経過すれば発現は全く抑えられる。

第2項 Diphenylhydantoin の場合

1) 腹腔内注入

a) 90~100 mg/kg 注入の場合

表3に示す如く5例について検討したが、安静時のものと比較し異常波の発現・基礎律動とも変化は認められなかつた。ただ2例に基礎律動の振巾低下がみられたに過ぎなかつた。

b) 180~200 mg/kg 注入の場合

注入後いかに時間が経過しても表3に示す如く異常波の消失は全例にみられなかつた。ただ基礎律動

図14 ep系マウス phenobarbital 30~40mg/kg 腹腔内注入。
注入後1時間のものである。注入後も注入前とほとんど変つていない

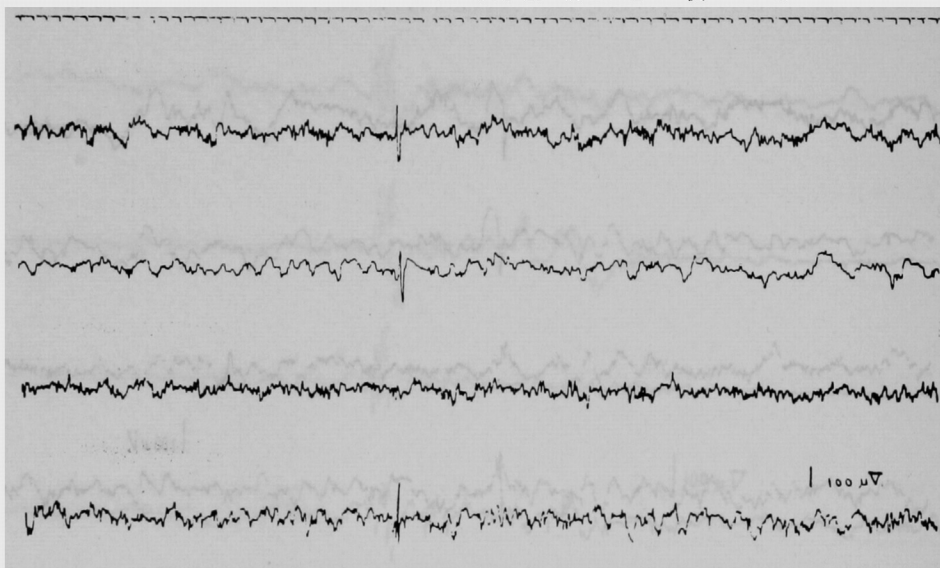
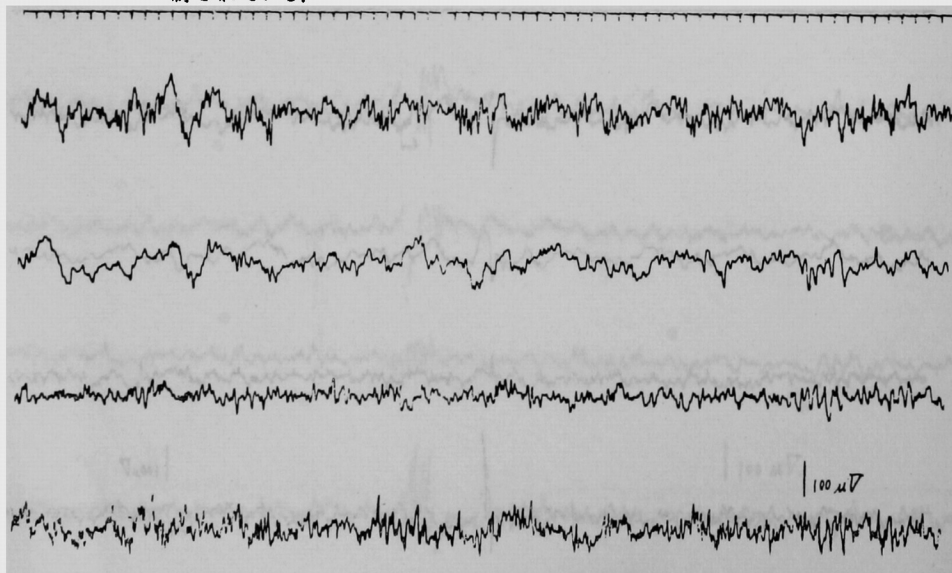


図15 ep系マウス phenobarbital 70~80mg/kg 腹腔内注入。
注入後20分のもので紡錘波が出現しており棘状波の発現はほとんど抑制されている。



においてはその振巾・周波数に著しい変化がみられた。すなわち注入後10数分を経れば振巾の低下が起り始め、40分から約2時間半にわたり著明となる。一方、周波数も同様の経過を辿つて減少し、最高時には安静時の5/7位になる(図17および18)。以後は次第に回復し注入後約10時間を経過すれば、全例に注入前の波形にかえる。

2) 120~130 mg/kg の経口投与

第2章、第4節に述べた方法により 120~130 mg/kg のアレピアチンを連日経口投与した。成績は表4に示す如く、投与開始後4日目に記録したものとおよび8日目に記録した3例においては、安静時のものと変りなく全例に異常波は発現している。

図16 ep 系マウス phenobarbital 70~80mg/kg 腹腔内注入。

注入後40分のもので、連続的に紡錘波が出現し、異常波は全く発現を抑制されている。

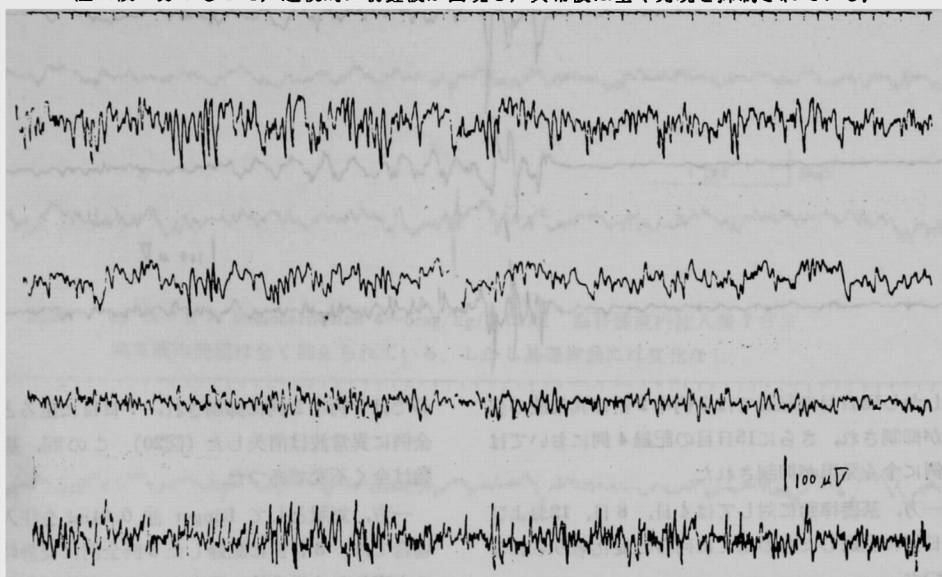


図17 ep 系マウス diphenylhydantoin 180~200mg/kg 腹腔内注入。

注入後40分のもので基礎律動の周波数・振巾が減少しているが、異常波は注入前と同様に発現している。

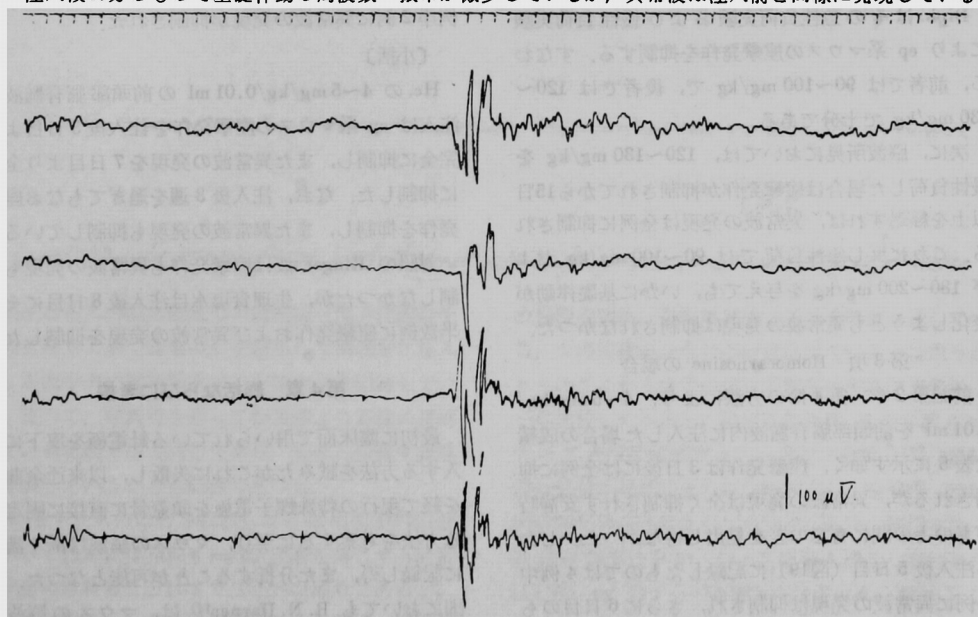
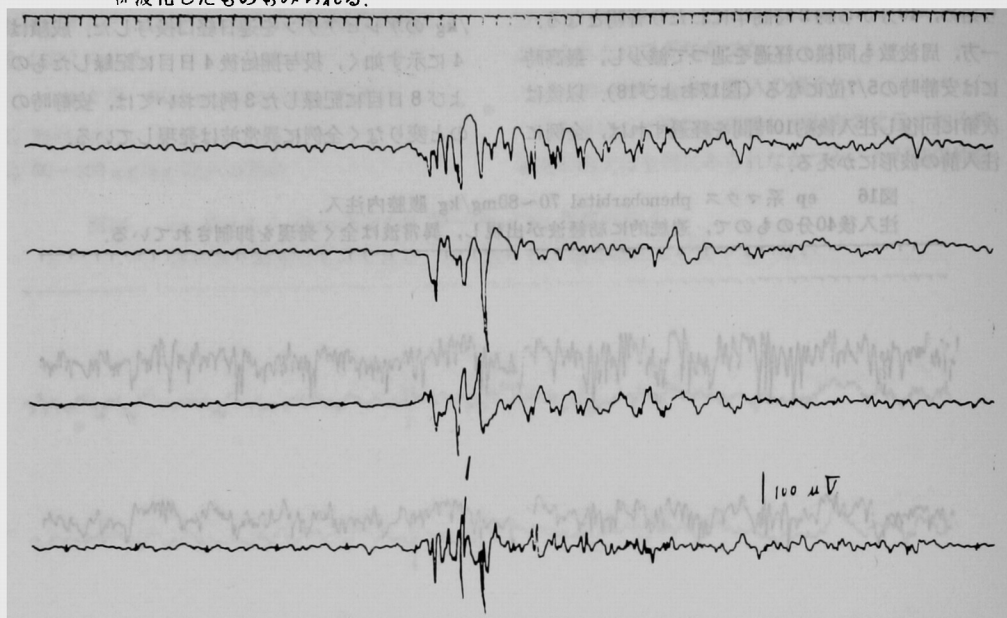


図18 ep系マウス diphenylhydantoin 180~200mg/kg 腹腔内注入。
注入後2時間30分のもので基礎律動は依然として平低下しており、また異常波は
徐液化したのみみられる。



しかし12日目の記録では3例中2例に異常波の発現が抑制され、さらに15日目の記録4例においては全例に全く発現が抑制された。

一方、基礎律動に対しては4日、8日、12および15日目に記録したものを総てに何らの変化もみられなかつた。

〔小括〕

Diph.はその急性負荷実験および慢性負荷実験により ep系マウスの痙攣発作を抑制する。すなわち、前者では90~100 mg/kgで、後者では120~130 mg/kgで十分である。

次に、脳波所見においては、120~130 mg/kgを慢性負荷した場合は痙攣発作が抑制されてから15日以上を経過すれば、異常波の発現は全例に抑制される。これに反し急性負荷では90~100 mg/kgおよび180~200 mg/kgを与えても、いかに基礎律動が変化しようとも異常波の発現は抑制されなかつた。

第3項 Homocarnosine の場合

前記第2章、第4節の方法により、4~5 mg/kg/0.01 mlを前頭部脳脊髄液内に注入した場合の成績は表5に示す如く、痙攣発作は3日後には全例に抑制されるが、異常波の発現は全く抑制されず安静時のものとの間に有意の差を見出し得なかつた。しかし注入後5日目(図19)に記録したものでは4例中2例に異常波の発現は抑制され、さらに6日目のも

のでは3例中2例に抑制され、7日目に至ると4例全例に異常波は消失した(図20)。この間、基礎律動は全く不変であつた。

一方、対照として Ringer 液 0.01 ml を注入した場合では、8日目に記録した3例全例に安静時のものと変りなく異常波の発現をみているが、生理食塩水 0.01 ml を注入した場合では、同様8日目に4例中2例に異常波の発現が抑制された。

〔小括〕

Hc.の4~5 mg/kg/0.01 mlの前頭部脳脊髄液内注入は ep系マウスの痙攣発作を注入後3日目より完全に抑制し、また異常波の発現を7日目より全例に抑制した。なお、注入後3週を過ぎてもなお痙攣発作を抑制し、また異常波の発現も抑制している。

対照の Ringer 液は痙攣発作も異常波の発現も抑制しなかつたが、生理食塩水は注入後8日目にその半数例に痙攣発作および異常波の発現を抑制した。

第4章 総括ならびに考按

最初に臨床面で用いられている針電極を皮下に刺入する方法を試みたがこれに失敗し、以来迂余曲折を経て現行の特殊螺子電極を頭蓋骨に直接に固定する方法を考案するに至り、マウスの脳波は漸く満足に記録し得、また分析することが可能となつた。外国においても R. N. Harner¹⁴⁾ は、マウスの脳波を

図19 ep 系マウス homocarnosine 4~5mg/kg/0.01ml 脳脊髄液内注入後5日目、
未だ異常波の発現がみられる。

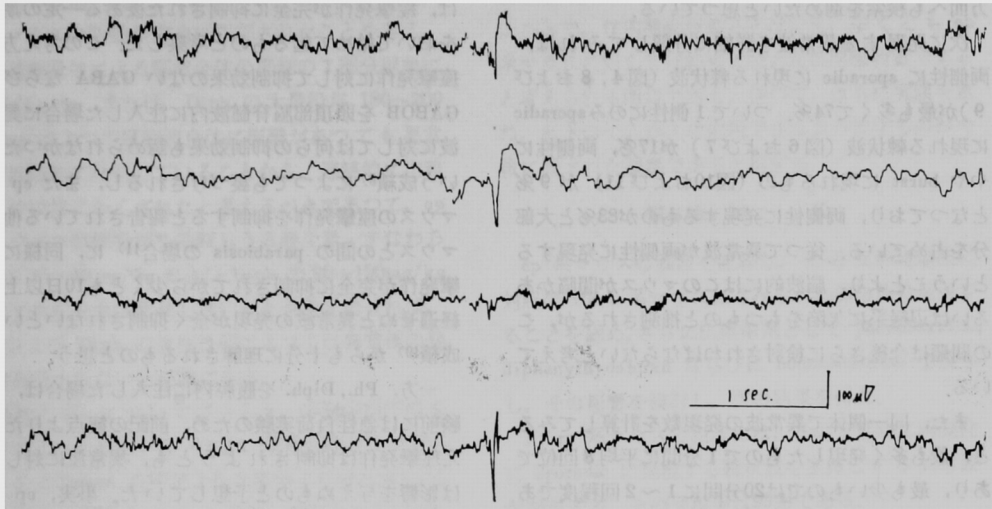
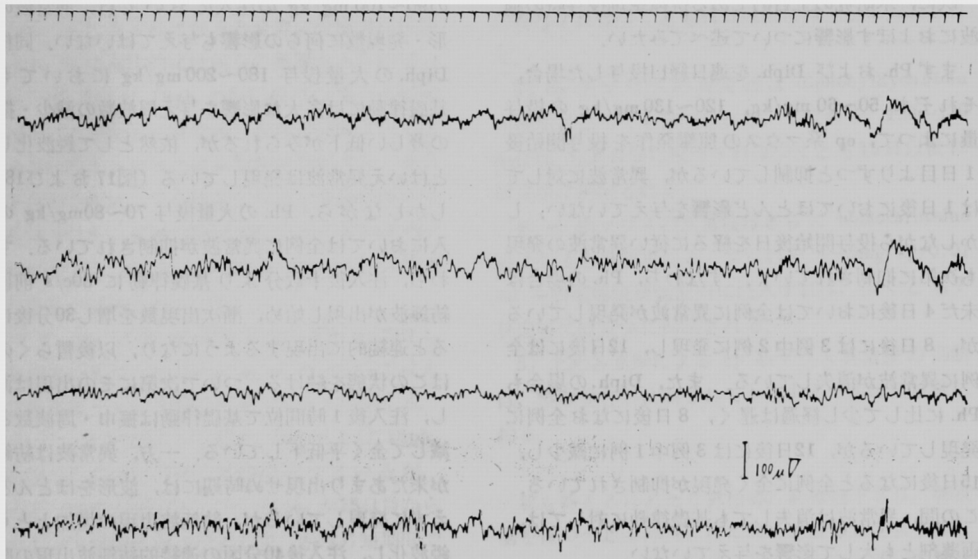


図20 ep 系マウス homocarnosine 4~5mg/kg/0.01ml 脳脊髄液内注入後7日目、
異常波の発現は全く抑えられている。しかし基礎律動には変化なし。



合成樹脂板に強固に固定した針電極（皮下注射針を適当に短かく切つたもの）を露出した頭蓋骨に圧入し、周囲を密に接着固定する方法により記録している。従つて、頭蓋骨を通して脳表面より直接に誘導している私の方法と同じであり、また、双極4誘導を採用していることも同様であつた。

ep 系マウスにはその成熟したものの安静時脳波において他系には発現せぬ棘状波を主体とする異常波が認められることはすでに述べた通りであるが、現在まで記録した全実験例69例のうち65例に異常波

の発現を認め、発現率は従つて凡そ95%に達している。この成績をかなりかけはなれているとは思ふが、ヒトのてんかん患者の発作間歇期の異常波出現率と一応比較してみると、教室の奥村¹⁵⁾は境界波らを含めて大体70%前後とし、直居・篠崎ら¹⁶⁾は166例の患者中境界波も入れて84%とし、金谷¹⁷⁾は129例中86%の出現率をだしている。近年、賦活方法・装具の進歩に伴い、年々出現率も増加しているとはいえ、ep 系マウスの発現率はなお高い値を示している。なお、幼若型については未だ脳波を記録し

ていないが、まだ痙攣発作を起し始めているこの時期に脳波を記録することは重要であり、今後この方面へも検索を進めたいと思つている。

次に発現する異常波を詳細に分類してみれば、両側性に sporadic に現れる棘状波 (図4, 8および9) が最も多くて74%。ついで1側性にのみ sporadic に現れる棘状波 (図6および7) が17%、両側性にやや burst に現れるもの (図10および11) が9%となつており、両側性に発現するものが83%と大部分を占めている。従つて異常波が両側性に発現するということより、脳液的にはこのマウスが間脳かあるいは辺縁系に欠陥をもつものと推測されるが、この問題は今後さらに検討されねばならないと考えている。

また、同一個体で異常波の発現数を計算してみると、最も多く発現したもので1分間に平均8回位であり、最も少いものでは20分間に1~2回程度であつたが、大多数は平均1分間に3~4回の発現数であつた。

次に、本研究の主目的である抗痙攣剤投与時の脳波におよぼす影響について述べてみたい。

まず Ph. および Diph. を連日経口投与した場合、それぞれ 50~60 mg/kg, 120~130 mg/kg の投与量によつて、ep 系マウスの痙攣発作を投与開始後1日目よりずつと抑制しているが、異常波に対しては1日後においてほとんど影響を与えていない。しかしながら投与開始後日を経るに従い異常波の発現も次第に抑制されていく。すなわち、Ph. の場合は未だ4日後においては全例に異常波が発現しているが、8日後には3例中2例に発現し、12日後には全例に異常波が消失している。また、Diph. の場合も Ph. に比して少し経過は遅く、8日後になお全例に発現しているが、12日後には3例中1例に減少し、15日後になると全例に全く発現が抑制されている。この間、異常波は消失しても基礎律動に対しては、両薬剤とも大して影響を与えていない。

このように Ph., Diph. ともにまず痙攣発作を抑制した後、両者に差こそあれある一定の日数の後に異常波を改善あるいは抑制している。清野¹⁰⁾はヒトのてんかん患者において、抗てんかん剤の作用は最初発作症状に影響し、ついで数週から数年後までに脳内律動異常に影響を与えると述べているが、用量がヒトの場合の20~30倍にも達しているため痙攣発作抑制後異常波が抑制されるまでの期間が非常に短くなつているとはいえ、ヒトのてんかんの場合と

相通じるものがある。従つて、ep 系マウスにおいても抗痙攣剤投与による異常波の改善あるいは消失は、痙攣発作が完全に抑制された後ある一定の期間において始めて起るものと考察した。この考え方は、痙攣発作に対して抑制効果のない GABA ならびに GABOB を頭頂部脳脊髄液内に注入した場合に異常波に対しては何らの抑制効果も認められなかつたという成績⁹⁾によつても裏づけされるし、また ep 系マウスの痙攣発作を抑制すると報告されている他系マウスとの間の parabiosis の場合¹¹⁾に、同様に痙攣発作が完全に抑制されてから少くとも10日以上を経過せぬと異常波の発現が全く抑制されないという成績¹⁰⁾からも十分に理解されるものと思う。

一方、Ph., Diph. を腹腔内に注入した場合は、実験前には急性負荷実験のため、前記の観点よりたとえ痙攣発作は抑制されようとも、異常波に対しては影響を与えぬものと予想していた。事実、ep 系マウスの痙攣発作を十分に抑制する Ph. の30~40 mg/kg の注入 (図12, 13および14) ならびに Diph. の90~100 mg/kg の注入においては、異常波の波形・発現数に何らの影響も与えてはいない。同様に Diph. の大量投与 180~200 mg/kg においても、基礎律動には多大な影響を与え周波数の減少・振巾の著しい低下がみられるが、依然として鋭波化したとはいえ異常波は発現している (図17および18)。しかしながら、Ph. の大量投与 70~80 mg/kg の注入においては全例に異常波が抑制されている。すなわち、注入後十数分より基礎律動に 30c/s 前後の紡錘波が出現し始め、漸次出現数を増し30分後になると連続的に出現するようになり、以後暫らくの間はこの状態を続ける。ついで次第にその出現は減少し、注入後1時間位で基礎律動は振巾・周波数とも減じて全く平低下している。一方、異常波は紡錘波が未だあまり出現せぬ時期には、波形をほとんど変えずに発現しているが、紡錘波出現の増加とともに鋭波化し、注入後40分頃の連続的紡錘波出現の時期になると全く棘状波の発現は抑制されている (図16)。それ以後の基礎律動の平低下の時期になると棘状波あるいは鋭波はみられず、代つて徐波が出現している。このような状態は注入後3時間まで続き、それ以後は次第に注入前の脳波へと回復して行く。すなわち、徐波化したと思われる異常波は鋭波を経て棘状波にかえり、基礎律動も周波数・振巾を増して次第に回復し、注入後8時間を経るとほとんど注入前のものに復元する。

以上の如く異常波の発現は注入後30分から3時間にわたり抑制されている。しかし、Ph.の大量の70~80 mg/kgの投与による一時的な異常波の消失は、マウスの活動が完全に抑制されたことを考え、薬剤過量投与による脳波全体の抑制の1部分現象にすぎないか、または、Diph.の大量投与180~200 mg/kgによつては脳波全体に影響があつても異常波は継続的に発現していることから、連続的に出現した紡錘波にかくされたと考えらるべきであつて、ep系マウスの痙攣発作を抑制する最少量、すなわちPh.の30~40 mg/kgおよびDiph.の90~100 mg/kgでは異常波を全然抑制しないことを考え合せれば、Ph.およびDiph.の急性負荷によつては異常波の発現は抑制されないと結論できる。

最後にHc.について述べると、中枢抑制作用を有するといわれているGABA関連物質の1つであり、J. J. Pisanoら¹²⁾により牛脳中より抽出され、正常牛脳中には0.5~1.0 mg/100g存在するといわれている。これを前頭部の脳脊髄液内に注入した場合の抗痙攣作用は第1編において詳述した如くである。すなわち、注入後3日になると全例に痙攣発作は消失するが、未だ脳波的には何らの影響もみられない。その後、Ph.およびDiph.の経口投与の場合と同様の経過をとり、次第に異常波の発現は抑制されて行く。すなわち、5日後には半数例に抑制され、6日後に3例中2例に、7日以後になると全例において全く抑制された。基礎律動に対しては、異常波が抑制されたのちもPh.およびDiph.の場合と同様ほとんど変化が認められていない。

従つて、Hc.にはep系マウスの異常波に対して抑制効果があり、4~5 mg/kg/0.01 ml投与では大体7日後を境として異常波の発現を全く抑制する。すなわち、さきに述べた如くPh.およびDiph.の経口投与の場合と同様の経過を辿つているが、Ph.が投与開始後12日目から、Diph.が15日目から全例において抑制するのに比して、かなり短期間で抑制が起つている。この抑制日数の長短によつて薬剤の効果の強弱を判定するのは早計であろうが、Ph.およびDiph.が投薬を中止すれば早晩異常波が

発現するのに反し、Hc.はただ1回の投与であるにも拘らず投与後2ヶ月になつても、未だ異常波の発現がその大多数に抑えられていることは注目に値することで、作用機転が異るとはいへ、少なくともep系マウスに対しては相当に強力な抗痙攣物質であると考えられる所以である。従つて、さらに実験を重ね、ヒトのてんかんに応用できるようにするのが今後に残された課題であると信ずる。

第5章 結 論

ep系マウスの脳波を記録し、その安静時脳波に对照のCF-1系マウスにはみられぬ異常波の発現することを認め、さらに抗痙攣剤としてphenobarbital, diphenylhydantoinならびにhomocarnosineを投与し、その影響を検討し、次の結果を得た。

1) ep系マウスの脳波には、その安静時に両側性にsporadicに発現する棘状波を主体とする異常波が発現する。その発現率は95%である。

2) ep系マウスの異常波はphenobarbitalの投与で抑制される。すなわち、50~60 mg/kgを連日経口投与すれば少なくとも12日以後には完全に抑制される。

3) ep系マウスの異常波はdiphenylhydantoinの投与によつても抑制される。すなわち、120~130 mg/kgを連日経口投与すれば少なくとも15日以後には完全に抑制される。

4) ep系マウスの異常波はさらにhomocarnosineによつても抑制される。すなわち4~5 mg/kg/0.01 mlを前頭部脳脊髄液内に注入すれば、少なくとも7日以後には完全に抑制される。

5) 上記各薬剤によるep系マウス異常波の抑制は、痙攣発作が抑制されてからある一定の日数後に起る。

稿を終えるにあたり御指導、御鞭撻下さり、御校閲を賜つた恩師陣内教授に深い感謝の意を表するとともに、実験にあたり種々御助言をいただいた教室の奥村講師ならびに森博士に深謝する。

文

- 1) Berger: Arch. f. Psychiat., 100, 301, 1938.
- 2) Fischer: Med. Klin., 29, 15, 1933.
- 3) Berger: Klin. Wschr., 14, 217, 1935.

献

- 4) Kornmueller: Fortschr. d. Neurol. Psychiat., 7, 391 und 414, 1935.
- 5) Gibbs, Davis and Lennox: Brain, 60, 377,

- 1937.
- 6) 今泉, 伊藤, 沓掛, 滝沢, 藤原, 土川: 実験動物, 8, 6, 1959.
- 7) Naruse, H., Kato, M., Kurokawa, M., Haba, R. and Yabe, T.: J. Neurochem., 5, 359, 1960.
- 8) Kurokawa, M., Kato, M. and Machiyama, Y.: Biochem. Biophys. Acta, 50, 385, 1961.
- 9) 杉生, 増川, 八木, 笠原: 総合医学臨時増刊号 (第3回 GABA 研究会記録), 24, 1962.
- 10) 矢部: 精神神経学雑誌, 61, 1683, 1959.
- 11) 笠原: 岡山医学会雑誌, 74, 567, 1962.
- 12) Pisano, J. J., Wilson, J. D., Cohen, L., Abraham, D. and Udenfriend, S.: J. Biol. Chem., 236, 499, 1961.
- 13) 森: 未発表
- 14) Harner, R. N.: Electroenceph. Clin. Neurophysiol., 13, 752, 1961.
- 15) 奥村: 脳と神経, 7, 339, 1955.
- 16) 直居, 篠崎: 順天堂医学雑誌, 2, 263, 1956.
- 17) 金谷, 三浦, 石塚: 岩手医学雑誌, 10, 638, 1959.
- 18) 清野: 新潟医学会雑誌, 74, 1358, 1960.
- 19) 増川, 八木, 杉生: 条件反射, 33集, (9, 10, 11, 12合併号), 38, 1962.

Pathophysiological Study of the ep-Mouse

Part II Electroencephalogram of the ep-Mouse and Anticonvulsive Agents

By

Ryosuke Sugi

Department of Neurological Surgery, Okayama University Medical School

(Director: Prof. D. Jinnai M. D.)

An attempt was made to find out the effect of anticonvulsive agents such as diphenylhydantoin, phenobarbital and homocarnosine (γ -aminobutyryl-L-histidine) on the abnormal resting potentials of the ep-mouse.

1. Bilateral and sporadic spikes were noted to be characteristic abnormal potentials in the resting E. E. G. of the ep-mouse comparing with the one of the control, the CF-1 group. It was observed in 95 % of the ep-mouse.

2. The spikes were found to be inhibited by the administration of phenobarbital: the absolute abolishment was obtained with 12 day successive administration of the 50~60 mg/kg/day.

3. Such inhibition was also obtained by the administration of diphenylhydantoin: the absolute abolishment was obtained with 15 day successive administration of the 120~130 mg/kg/day.

4. So was found in case of homocarnosine intracerebrospinal administration. The absolute abolishment of the spikes was found after the 7th post-administration day includingly.

5. The abolishment of the abnormal spike potential by these anticonvulsive agents was preceded by inhibition of convulsion.