

# Serotonergic Mechanisms in Epilepsy－An Experimental Study with the Feline Hippocampal Kindling Model－

|       |                                                                                             |
|-------|---------------------------------------------------------------------------------------------|
| メタデータ | 言語: jpn<br>出版者:<br>公開日: 2017-10-04<br>キーワード (Ja):<br>キーワード (En):<br>作成者:<br>メールアドレス:<br>所属: |
| URL   | <a href="http://hdl.handle.net/2297/8490">http://hdl.handle.net/2297/8490</a>               |

# てんかんの神経機構における脳内セロトニン系の関与

## —ネコの海馬キンドリングモデルを用いた実験的研究—

金沢大学医学部神経精神医学講座 (主任: 山口成良教授)

中 村 充 彦

海馬発作の神経機構におけるセロトニン系の役割を探る目的で、セロトニン1A受容体作動薬 8-ヒドロキシ-(ジ-n-プロピルアミノ)テトラリン(8-hydroxy-(di-n-propylamino)tetralin, 8-OH-DPAT), セロトニン2受容体作動薬 1-(2,5-ジメトキシ-4-イオドフェニル)-2-アミノプロパン (1-(2,5-dimethoxy-4-iodophenyl)-2-aminopropane, DOI), セロトニン2受容体拮抗薬 ケタンセリンおよびセロトニン選択的再取り込み阻害作用を有する抗うつ薬フルオキセチン, パロキセチンの全身投与実験を行い、ネコの海馬キンドリング発作に対する作用を比較検討した。併せて8-OH-DPATの作用脳部位をさらに明らかにするために、海馬焦点部分発作およびキンドリング形成後の全般発作に対する8-OH-DPAT海馬内微量注入の効果を検討した。海馬キンドリング形成後のネコに8-OH-DPAT (0.1, 1mg/kg), DOI (1mg/kg), ケタンセリン (1mg/kg), フルオキセチン (1, 10mg/kg) およびパロキセチン (1, 10mg/kg) を静脈内投与した後、全身けいれん誘発閾値で電気刺激を行った。薬物投与後に誘発された海馬発作を、対照薬とした生理食塩水の投与時と比較し、脳波と臨床症状から薬効判定を行った。また微量注入実験では、8-OH-DPAT (1, 10nmol) を刺激側海馬に注入した後、焦点発作においては後発射誘発閾値で、キンドリング発作においては全身けいれん誘発閾値で電気刺激を加えた。その結果、8-OH-DPATの全身投与では用量依存的に海馬発作が抑制され、1mg/kg投与後には行動上の発作段階が有意に減少した。一方、DOI, ケタンセリンは発作段階に対する作用を有しないものの、DOI投与後には発作全般化への潜時が有意に短縮し、逆にケタンセリン投与後には有意な延長を示した。フルオキセチンおよびパロキセチンも発作段階に対する作用を有しないものの、1mg/kg, 10mg/kg投与後にはいずれも後発射および全身けいれんの持続時間が有意に短縮した。海馬内微量注入実験では、8-OH-DPAT 10nmolの注入後に、焦点発作の後発射閾値が全例で上昇し、後発射閾値の有意な上昇および後発射持続時間の有意な短縮を認めた。またキンドリング発作についても、全身けいれん誘発閾値の有意な上昇を認めた。本研究から、海馬発作にセロトニン系が密接に関与するものの、その作用は受容体亜型によって異なり、セロトニン1A受容体は海馬発作焦点に対して抑制的に作用する一方、セロトニン2受容体は発作の二次性全般化に促進的に関与することが示唆された。さらにセロトニン再取り込み阻害薬が海馬キンドリングに対して抑制効果を有することが示された。

**Key words** epilepsy, kindling, hippocampus, serotonin receptor subtype, serotonin uptake inhibitor

脳のある部位に1日1回反復して微弱な電気刺激を加えてゆくと、初めは行動および脳波上わずかなてんかん様反応を示すに過ぎなかったものが、刺激回数の増加に伴って進行性に発作反応が増強し、ついには全身けいれんが安定して惹起されるようになる。反復電気刺激によるこうしたてんかん様反応の増強をキンドリング効果といい、1969年 Goddard ら<sup>1)</sup>によって初めて記載された。こうして一度形成されたキンドリング効果は、電気刺激を休止しても、その後1年以上の長期にわたって保持されることが知られている。キンドリングモデルでは、部分発作から二次性全般発作に至る過程を脳波および行動変化の両面から段階的にとらえることができ、キンドリング形成後も発作の全般化過程が各回の発作において再現されるため、二次性

全般化発作の神経機構を研究するうえで好適なモデルである。また電気刺激により惹起される行動および脳波上のてんかん反応の変化、キンドリング形成後の発作症状に対する抗てんかん薬の反応性などから、海馬および扁桃核を一次焦点としたキンドリング発作はヒトの側頭葉てんかんと類似点が多く、側頭葉てんかんの神経機構を探るうえでも好適なモデルとされている<sup>2)</sup>。

てんかんには現在なお難治性を示すものがあるが、とりわけ側頭葉てんかんでは予後不良となりやすい<sup>3)</sup>。国際抗てんかん連盟 (International League Against Epilepsy) による1989年のてんかん国際分類では、深部脳波記録でえられた知見を取り入れ、側頭葉てんかんを海馬扁桃核型と外側側頭葉型に分類して

平成5年11月10日受付, 平成5年12月7日受理

Abbreviations: ADD, afterdischarge duration; ADT, afterdischarge threshold; DOI, 1-(2,5-dimethoxy-4-iodophenyl)-2-aminopropane; 8-OH-DPAT, 8-hydroxy-(di-n-propylamino)tetralin; 5-HTP, L-5-hydroxytryptophan; GABA,  $\gamma$ -aminobutyric acid; GST, generalized seizure triggering threshold; GTC, generalized tonic-clonic convulsion

いるが、そのうち海馬起源のてんかん発作が最も一般的にみられることが指摘されている<sup>9)</sup>。したがって、海馬キンドリング発作の神経薬理学的研究は、ヒトの難治てんかんの治療に関して大いに示唆を与えるものと思われる。

キンドリングモデルを用いたこれまでの研究により、てんかんの発現機構に関する神経薬理学的知見が集積されているが、特に  $\gamma$ -アミノ酪酸 ( $\gamma$ -aminobutyric acid, GABA) 系、カテコラミン系が抑制作用を有することが明らかにされている<sup>9)</sup>。しかしながら、セロトニン系についてはこれまでに相反する結果が報告されており、セロトニン系はキンドリング発作の発展過程に対して抑制的に働くという成績が多い一方で<sup>8)~9)</sup>、矛盾する報告もある<sup>10)</sup>。同様にキンドリング形成後の発作発現に対するセロトニン系の役割についても一定の見解に達していないが<sup>10)~12)</sup>、その報告のほとんどは扁桃核を一次焦点とした研究である。さらに最近の受容体結合実験および分子生物学的研究より、セロトニン受容体は少なくとも 8 亜型に分けられるとされ<sup>13)</sup>、受容体亜型によって中枢神経細胞に対する作用の違いが指摘されているにもかかわらず<sup>14)</sup>、セロトニン受容体亜型の相違という観点から、てんかん発作の抑制機序を検討した研究はほとんどなされていない。

長谷川<sup>15)</sup>は海馬キンドリングネコを用いてセロトニン前駆物質 L-5-ヒドロキシトリプトファン (L-5-hydroxytryptophan, 5-HTP) の全身投与実験を行い、5-HTP が海馬キンドリング発作の行動上の発作段階および後発射持続時間 (afterdischarge duration, ADD) を用量依存的に抑制することを報告し、この効果は脳内セロトニン濃度の増加に基づく可能性を示唆した。したがって、海外では既に臨床的に抗うつ薬として使用されているフルオキセチンなどの選択的セロトニン再取り込み阻害薬は、シナプス間隙のセロトニン濃度を上昇させ、セロトニン神経伝達を促進することが知られていることから<sup>16)</sup>、これらのセロトニン再取り込み阻害薬が抗てんかん作用を有する可能性が推測される。一方で、てんかん患者における抑うつ症状は臨床上きわめて重要な問題であり、特に側頭葉てんかん患者にその発現率が高いとの報告もある<sup>17)</sup>。現在抑うつ症状を呈するてんかん患者の治療には、三環系および四環系抗うつ薬が一般に用いられているが、これらの薬物の副作用として、けいれん惹起作用が知られている<sup>18)</sup>。したがって、新しい抗うつ薬であるセロトニン再取り込み阻害薬の抗てんかん作用を検討することは、抑うつ症状を呈するてんかん患者の治療的観点からも有意義なことと思われる。

今回の研究では、セロトニン受容体亜型のうち、特に情報伝達系や生理機能が比較的明らかとなっているセロトニン 1A およびセロトニン 2 受容体の海馬キンドリング発作に対する作用の相違および作用脳部位を明らかにし、また選択的セロトニン再取り込み阻害薬の海馬キンドリング発作に対する抑制効果を検討することで、抗てんかん薬としての臨床応用への可能性を探ることを目的とし、以下の研究を行った。第 1 にセロトニン 1A 受容体作動薬である 8-ヒドロキシ-(ジ-n-プロピルアミノ)テトラリン (8-hydroxy-(di-n-propylamino)tetralin, 8-OH-DPAT) の全身投与および海馬内微量注入を行い、ネコの海馬焦点部分発作および海馬キンドリング全般発作に対する抑制効果を検討し、第 2 にセロトニン 2 受容体作動薬である 1-(2,5-ジメトキシ-4-イオドフェニル)-2-アミノプロパン (1-(2,5-dimethoxy-4-iodophenyl)-2-aminopropane, DOI) およびセロトニン 2 受容

体拮抗薬であるケタンセリンの全身投与実験を行い、海馬キンドリング発作に対する効果を比較検討し、第 3 に選択的セロトニン再取り込み阻害薬であるフルオキセチンおよびパロキセチンの全身投与実験を行い、海馬キンドリング発作に対して抗てんかん作用を有するか否かについて検討した。

## 対象および方法

### I. 動物および試薬

#### 1. 動物

体重 2.5kg 以上の成熟ネコ 20 例を用いた。うち 5 例は 8-OH-DPAT, DOI およびケタンセリンの全身投与実験に用い、他の 5 例はセロトニン再取り込み阻害薬の全身投与実験に用いた。残る 10 例は 8-OH-DPAT の海馬内微量注入実験に用い、海馬焦点部分発作および海馬キンドリング形成後の全般発作に対する薬物効果の検討のため各々 5 例ずつ用いた。

#### 2. 試薬

8-OH-DPAT (Research Biochemicals Inc., Natick, U.S.A.), DOI (Research Biochemicals Inc.), ケタンセリン (Research Biochemicals Inc.), フルオキセチン (Eli Lilly and Company, Indianapolis, U.S.A.) およびパロキセチン (Beecham Pharmaceuticals, London, U.K.) を使用した。

### II. 方法

#### 1. 電極およびカニューラ挿入手術

深部電極は直径 0.23mm のステンレス鋼線をヘマトクリット毛細管に通し、ガス・バーナーで加熱溶解して表面を被覆したものに、直径 0.05mm の絶縁ステンレス鋼線 1 本を瞬間接着剤 (アロンアルファ<sup>®</sup>, 東亜合成化学工業, 東京) で貼り合わせた双極電極を使用した。双極電極間の距離は約 0.5mm, 先端の露出部は 0.5mm とし、一方を刺激用に、他方を脳波記録用とした。また皮質電極および不関電極用には直径 2mm のステンレス鋼のネジを用いた。

微量注入実験に用いたネコについては、ステンレススチール製の外径 0.7mm, 内径 0.55mm のガイドカニューラ (エイコム, 京都) に、その先端より 2mm 長いニクロム電極を貼り合わせて深部電極を作成した。

ペントバルビタール (30mg/kg, ネプブタール<sup>®</sup>, ダイナボット, 大阪) の腹腔内投与による麻酔下で、ネコの頭部を東大脳研型脳定位固定装置 (高橋延雄商店, 東京) に固定し、Jasper らのネコ脳図譜<sup>19)</sup>に基づいて深部電極を背側海馬 CA1 領域 (後方 4.0mm, 側方 5.5mm, 下方 8.0mm) に刺入した。また皮質電極は運動領, 聴覚領および視覚領皮質の硬膜上に固定し、不関電極は前頭洞上部の頭蓋上に固定した。各電極を 24 極ソケット (第一電子工業, 東京) に接続した後、頭蓋骨上に歯科用セメント (三木化学工業, 京都) で固定した。

#### 2. 焦点発作とキンドリング発作の形成および薬物投与

1) 海馬焦点発作における 8-OH-DPAT 海馬内微量注入実験  
電極およびガイドカニューラ刺入手術後 1 週間以上の回復期間をおいた後、電気刺激を行った。電気刺激には定電流刺激装置 S-9357 (日本光電, 東京) を使用し、60Hz, 2 秒間の 2 相性正弦波の刺激電流を用いた。まず刺激強度 100 $\mu$ A で一側の背側海馬を刺激し、後発射が出現しなければ刺激強度を連日 50 $\mu$ A ずつ上昇させ、初めて後発射が出現した時の刺激強度を後発射閾値 (afterdischarge threshold, ADT) とした。その後 ADT で 1 日 1 回の反復電気刺激を行い、少なくとも 3 回の後発射が安

定して惹起された時点で薬物の投与実験を行った。8-OH-DPAT は 0.15M リン酸緩衝生理食塩水 (pH7.2) (phosphate-buffered saline), (Sigma, St Louis, U.S.A.) に溶解した。外径 0.45mm, 内径 0.22mm のステンレススチール製のインジェクションカニューラ (エイコム) をポリエチレンチューブを用いて 5 $\mu$ l のマイクロシリンジ (Hamilton Co., Nevada, U.S.A.) に接続し、マイクロインジェクションポンプ (Carnegie Medicin, Stockholm, Sweden) を用いて薬物を注入した。8-OH-DPAT の 1 または 10nmol を海馬に 2 分間かけて 0.5 $\mu$ l 注入し、対照薬として等量の溶媒のみを注入した。逆流を防ぐために薬物注入後 2 分間インジェクションカニューラを留置した後抜去した。薬物注入 10 分後に、まず ADT で背側海馬に電気刺激を加え、後発射が誘発されなかった場合には 5 分ごとに 50 $\mu$ A ずつ刺激強度を上げてゆき、薬物注入後の ADT および ADD の変動を評価した。なお非注入時には感染防止用の内針を留置した。実験中はネコを行動観察箱 (70 $\times$ 45 $\times$ 50cm) に入れ、各回の電気刺激前後に行動観察と脳波記録を行った。

## 2) 海馬キンドリング発作における 8-OH-DPAT 海馬内微量注入実験

1) と同様の方法で ADT を決定した後、ADT で 1 日 1 回の反復電気刺激を加えてゆき、少なくとも 5 回の全身強直間代けいれん (generalized tonic-clonic convulsion, GTC) が惹起された時点でキンドリング完成と規定した。キンドリング完成後、連日 50 $\mu$ A ずつ刺激強度を下げてゆき、GTC が惹起される最小の刺激強度を求め、全身けいれん誘発閾値 (generalized seizure triggering threshold, GST) を定めた。なお背側海馬キンドリング完成後は、電気刺激に GST を用いることで安定して GTC が惹起されるが、それより低い刺激強度ではてんかん反応が惹起されず、GST を境に「全か無か」の性状が認められることが報告されており<sup>19)</sup>、薬物投与後の刺激強度には GST を用いた。最終の GTC 誘発から 1 週間以上の間隔をおいた後、1) と同様の方法で薬物の注入を行い、注入 10 分後に、まず GST で背側海馬に電気刺激を加え、後発射が誘発されなかった場合には 5 分ごとに 50 $\mu$ A ずつ刺激強度を上げてゆき、

薬物注入後の GST および ADD の変動を評価した。併せて後述の第 4 段階と第 6 段階の症状発現までの潜時および GTC の持続時間についても評価した。行動上の発作段階は佐藤<sup>19)</sup>の報告に従い、第 1 段階、注意反応；第 2 段階、無動；第 3 段階、自律神経徴候；第 4 段階、顔面のちくちく・咀嚼様運動；第 5 段階、刺激反対側前肢の挙上；第 6 段階、GTC の 6 段階に区分した。

## 3) キンドリング発作における 8-OH-DPAT, DOI, ケタンセリン, フルオキセチンおよびパロキセチンの全身投与実験

2) と同様の方法で GST を決定し、最終の GTC 誘発から 1 週間以上の間隔をおいた後に薬物の投与実験を行った。薬物は 8-OH-DPAT (0.1, 1mg/kg), DOI (1mg/kg), ケタンセリン (1mg/kg) を 5 例のネコに、フルオキセチン (1, 10mg/kg) およびパロキセチン (1, 10mg/kg) を 5 例のネコに静脈内投与した。各薬物の投与間隔は少なくとも 1 週間とし、GST による刺激で GTC が安定して惹起されることを確認してから、次の薬物の投与実験を行った。上記の薬物を 0.9% 生理的食塩水に溶解し、対照薬として生理的食塩水 1ml を静脈内投与した。薬物投与後の一般行動および背景脳波の変化を観察し、薬物投与 15 分後にキンドリング部位である背側海馬に電気刺激を加えた。薬効は、電気刺激により誘発された行動上の発作段階および ADD の変動に基づき評価し、DOI, ケタンセリン, フルオキセチンおよびパロキセチンについては、第 4 段階と第 6 段階の症状発現までの潜時、GTC 持続時間についても併せて評価した。

## 3, 電極刺入部位の確認

実験を終了した動物は、ペントバルビタールによる深麻酔下で、総頸動脈から 0.9% 生理食塩水と 10% ホルマリン溶液を注入して脳の灌流固定を行った。つぎに脳を取り出し、20% 蔗糖-0.1M リン酸緩衝液 (pH7.4) に 4 $^{\circ}$ C で 72 時間浸潤後、60 $\mu$ m の連続凍結切片を作製し、Klüver-Barrera 染色を行って電極刺入部位を組織学的に確認した。

## 4. 統計解析

8-OH-DPAT の抗けいれん効果の判定には、投与量間の変動について検定した後、対照薬との間で多重比較を行った。検定

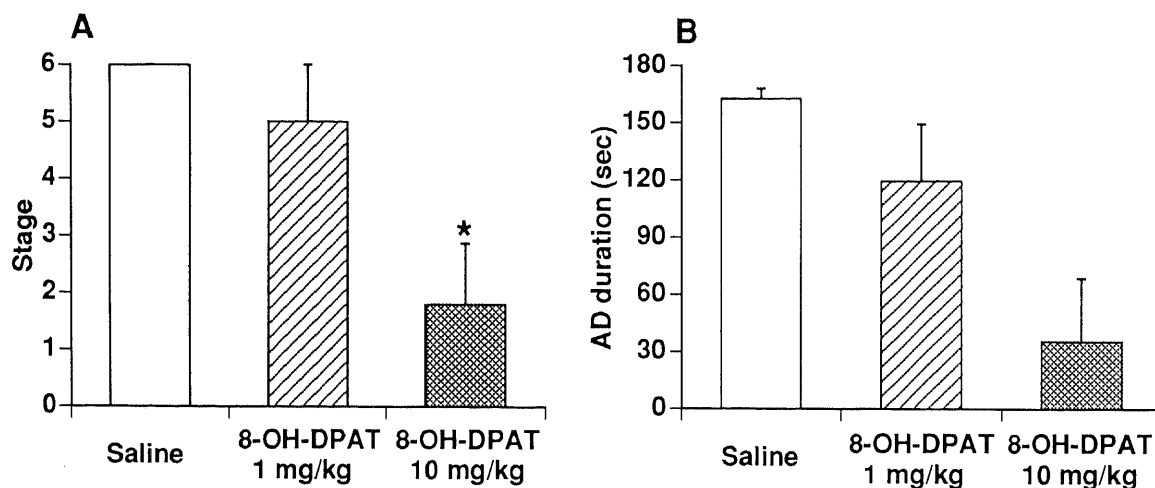


Fig. 1. Effects of systemic administration of 8-hydroxy-2-(di-n-propylamino)tetralin (8-OH-DPAT) on the seizure stage (A) and afterdischarge duration (B) of hippocampal kindled seizures. Seizure stages graded as follows<sup>19)</sup>: 1, attention response; 2, immobility; 3, autonomic manifestations; 4, facial twitching, head nodding, or mastication; 5, tonic extension of contralateral forepaw; 6, generalized convulsion. Values represent mean  $\pm$  S.E.M. (n=5). \*  $P < 0.05$  compared with saline (Friedman test with post-hoc test of Dunnett). AD, afterdischarge.

は Friedman 検定を用い、多重比較は Dunnett 法によった。DOI, ケタンセリン, フルオキセチンおよびパロキセチンの実験結果の統計学的解析には Wilcoxon の符合付順位検定を用いた。いずれも危険率 5% 未満を有意差ありとした。成績の数値は平均値±標準誤差で表示した。

## 成 績

### I. キンドリング形成

ADT の平均は  $420 \pm 100 \mu\text{A}$  であり、また初回の GTC は平均  $30.7 \pm 2.5$  回の後発射が誘発された時点で出現し、その後連日の刺激により GTC が安定して惹起された。GST は平均  $300 \pm 90 \mu\text{A}$  であり、それより低い刺激強度では行動上の発作症状、後発射ともに誘発されなかった。

### II. 海馬発作におけるセロトニン 1A 受容体の関与

#### 1. 海馬キンドリング発作に対する 8-OH-DPAT 全身投与の効果

8-OH-DPAT 投与後の電気刺激に対して誘発される行動上の発作段階、ADD の変化を図 1 に示した。8-OH-DPAT 0.1mg/kg 投与後には、発作段階が減少し、ADD が短縮する傾向を示したが、対照薬とした生理的食塩水との間に有意差はなかった。一方、1mg/kg 投与後には 5 例中 1 例において行動および脳波上でかんかん反応が完全に抑制され、また 5 例中 3 例では行動上の発作段階が第 1 段階にとどまり、生理的食塩水投与と比較して、発作段階は有意に減少した ( $P < 0.05$ )。ADD については短縮する傾向を示したものの有意差は認めなかった。

一般行動の変化として、0.1mg/kg 投与後には耳介の攣縮が 5 例中 3 例に、後肢外転が 4 例において認められ、これらは投与 2 分後より出現し約 30 分間持続した。1mg/kg 投与後には、これらの症状に加えて頭部をゆっくりと水平方向に振る運動 (head weaving) が 5 例中 2 例で投与 6 分後より出現し、約 30 分

間持続した。また前肢の足踏み様運動 (forepaw treading) が 1 例で投与 6 分後から、怒り反応が 2 例で投与 2 分後から出現したが、これらの行動変化はすべて投与 30 分後には消失した。背景脳波では、0.1mg/kg 投与後には変化はみられなかったが、1mg/kg 投与後には徐波化の傾向が認められた。

#### 2. 海馬焦点発作に対する 8-OH-DPAT 海馬微量注入の効果

海馬焦点発作における 8-OH-DPAT 海馬内注入後の ADT および ADD の変化を図 2A に示す。1nmol 注入後には、ADT、ADD ともに対照と比較して有意な変化を認めなかった。一方、10nmol 注入後には全例で ADT の上昇が認められ、溶媒注入後の平均  $310 \mu\text{A}$  から  $490 \mu\text{A}$  へと有意に上昇した ( $P < 0.05$ )。さらに ADD においても溶媒注入後の平均 19.6 秒から 9.6 秒へと有意に短縮した ( $P < 0.05$ )。なお後発射の出現に伴い、全例とも海馬キンドリング発作段階の第 1 あるいは第 2 段階に対応する発作症状を呈した。

焦点発作における 8-OH-DPAT 10nmol 注入前後の電気刺激に対する脳波の 1 例を図 3 に示す。薬物注入後には、溶媒注入時と同じ刺激強度  $150 \mu\text{A}$  では後発射が出現せず、刺激強度を  $650 \mu\text{A}$  に上げた時点で初めて、図 3 に示される後発射が出現した。

#### 3. 海馬キンドリング発作に対する 8-OH-DPAT 海馬微量注入の効果

海馬キンドリング形成後の GTC における 8-OH-DPAT 海馬内注入後の GST および ADD の変化を図 2B に示す。1nmol 注入後には対照と比較して GST および ADD に有意な変化を認めなかった。一方、10nmol 注入後には全例で GST の上昇が認められ、溶媒注入後の平均  $260 \mu\text{A}$  から  $450 \mu\text{A}$  へと有意に上昇した ( $P < 0.01$ )。しかしながら刺激強度を上げることで一旦後発射が惹起されると全例が GTC へと発展し、1nmol 注入時と同様、ADD に有意な変化は認められなかった。表 1 に薬物

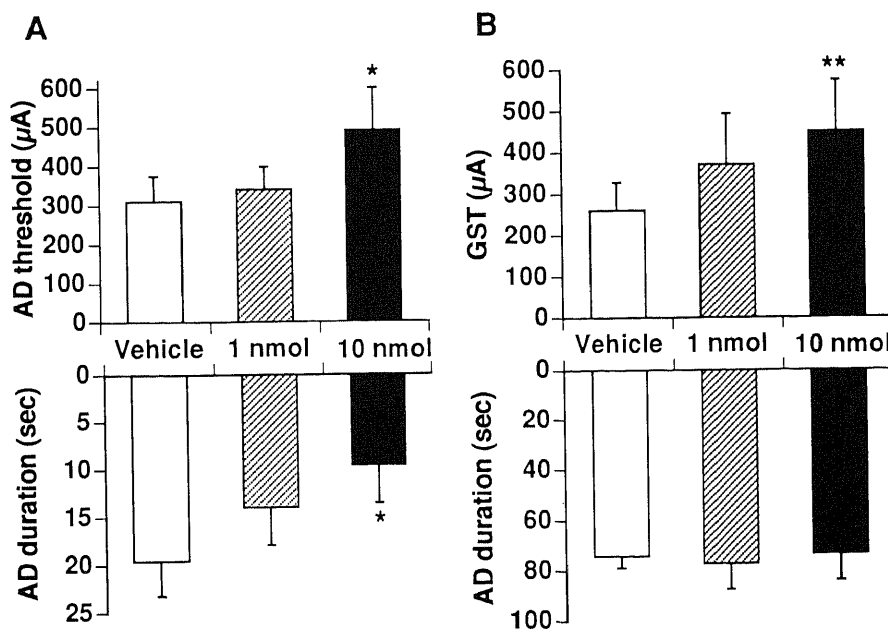


Fig. 2. Effects of intra-hippocampal microinjections of 8-OH-DPAT on partial (A) and fully kindled (B) seizures from the hippocampus. Values represent mean  $\pm$  S.E.M. ( $n=5$ ). \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$  compared with vehicle microinjections into the same region. (Friedman test with post-hoc test of Dunnett). AD, afterdischarge; GST, generalized seizure triggering threshold.

注入による第4段階および第6段階の症状発現までの潜時, GTC 持続時間の変化を示す. これらの指標においては, いずれも溶媒注入後の値と比べて有意な変化を認めなかった.

なお薬物注入後の一般行動および背景脳波には変化がみられなかった.

### Ⅲ. 海馬キンドリング発作におけるセロトニン2受容体の関与

DOI およびケタンセリンの投与後に誘発された発作の発作段階, ADD, 第4段階と第6段階の症状発現までの潜時, GTC 持続時間を図4に示す. 両薬物ともに, 生理的食塩水投与時と比較して, 発作段階に有意な変化を認めなかった. ケタンセリン投与後には, 第6段階の症状発現までの潜時が, 生理食塩水投与後の平均96.4秒から平均114.3秒へと有意に延長した ( $P<0.05$ ). 第4段階の症状発現までの潜時も延長する傾向を示したが, 有意差は認めなかった. 一方, DOI 投与後には第6段階の症状発現までの潜時および ADD が, 生理的食塩水投与後の各々平均96.4秒, 163.6秒から, 平均62.4秒, 116.8秒へと有意に短縮した ( $P<0.05$ ).

一般行動の変化として, DOI では投与後2分から4分にかけて脊柱後彎 (hunching), 前肢のタッピングが全例に出現した

が, ケタンセリン投与後には自発運動低下の他には行動上の変化はみられなかった. 背景脳波の変化としては, DOI 投与後に徐波化の傾向を示したが, ケタンセリン投与後には変化はなかった.

### Ⅳ. 海馬キンドリング発作におけるセロトニン再取り込み阻害薬の効果

フルオキセチンおよびパロキセチンの投与後に誘発された発作の発作段階, ADD, 第4段階と第6段階の症状発現までの潜時, GTC 持続時間を図5に示した. 両薬物ともに行動上の発作段階には対照と比較して有意な効果を示さなかった. ADD については, フルオキセチン1および10mg/kg 投与後に, 対照の平均114.0秒からそれぞれ平均72.8秒, 77.6秒へと有意に短縮し ( $P<0.05$ ), またパロキセチン1および10mg/kg 投与後にも対照の平均122.4秒からそれぞれ平均74.2秒, 68.4秒へと有意に短縮した ( $P<0.05$ ). 同様に GTC 持続時間についても, フルオキセチン1および10mg/kg 投与後には対照の平均53.0秒からそれぞれ平均37.5秒, 32.8秒へと, またパロキセチン1または10mg/kg 投与後には対照の平均64.8秒からそれぞれ平均34.8秒, 33.3秒へと有意に短縮した ( $P<0.05$ ). 両薬物とも第4段階と第6段階の症状発現までの潜時に有意な効果を示さな

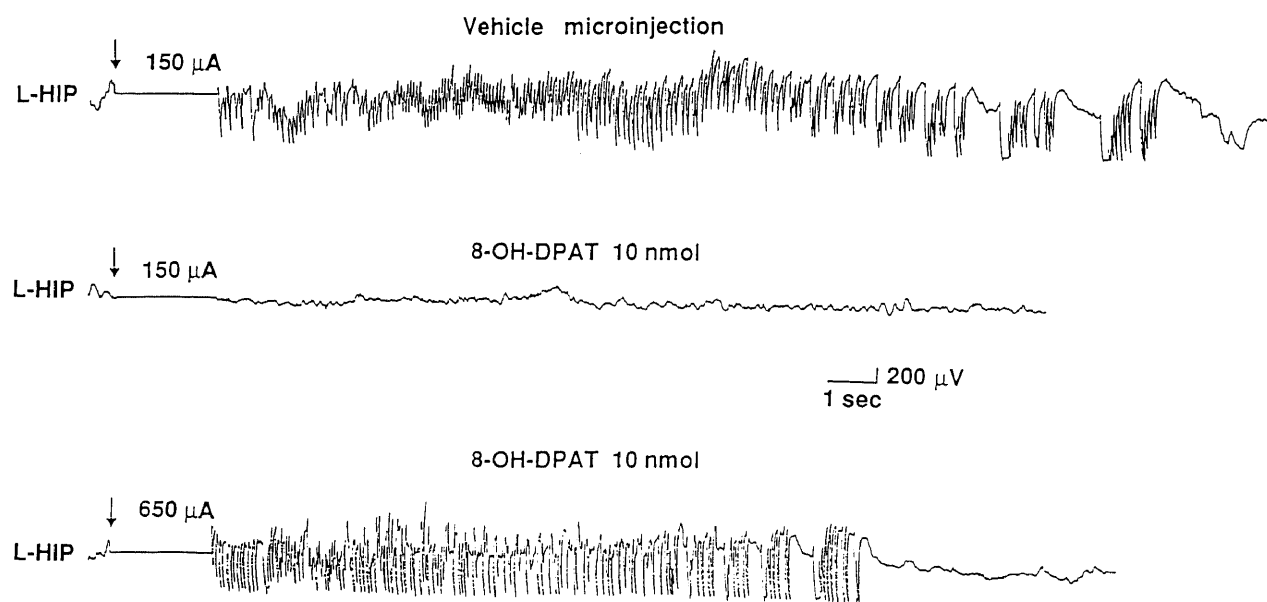


Fig. 3. Changes in afterdischarge recorded from the stimulated site in the left hippocampus following intra-hippocampal application of 10 nmol 8-OH-DPAT. Arrows indicate cessation of the stimulation train. L-HIP, left hippocampus.

Table 1. Effects of intra-hippocampal application of 8-OH-DPAT on seizure parameters of hippocampal kindled cats

| Drug                | Latency to S4 <sup>a)</sup> | Latency to GTC <sup>b)</sup> | GTC duration |
|---------------------|-----------------------------|------------------------------|--------------|
| Vehicle             | 6.6±1.0                     | 32.8±5.84                    | 41.4±7.26    |
| 8-OH-DPAT<br>1nmol  | 7.6±1.3                     | 39.2±5.83                    | 38.0±8.93    |
| 8-OH-DPAT<br>10nmol | 6.8±0.8                     | 28.8±3.47                    | 44.6±10.8    |

Values are mean±S.E.M. (sec, n=5).

<sup>a)</sup> S4, Stage 4.

<sup>b)</sup> GTC, generalized tonic-clonic convulsion.

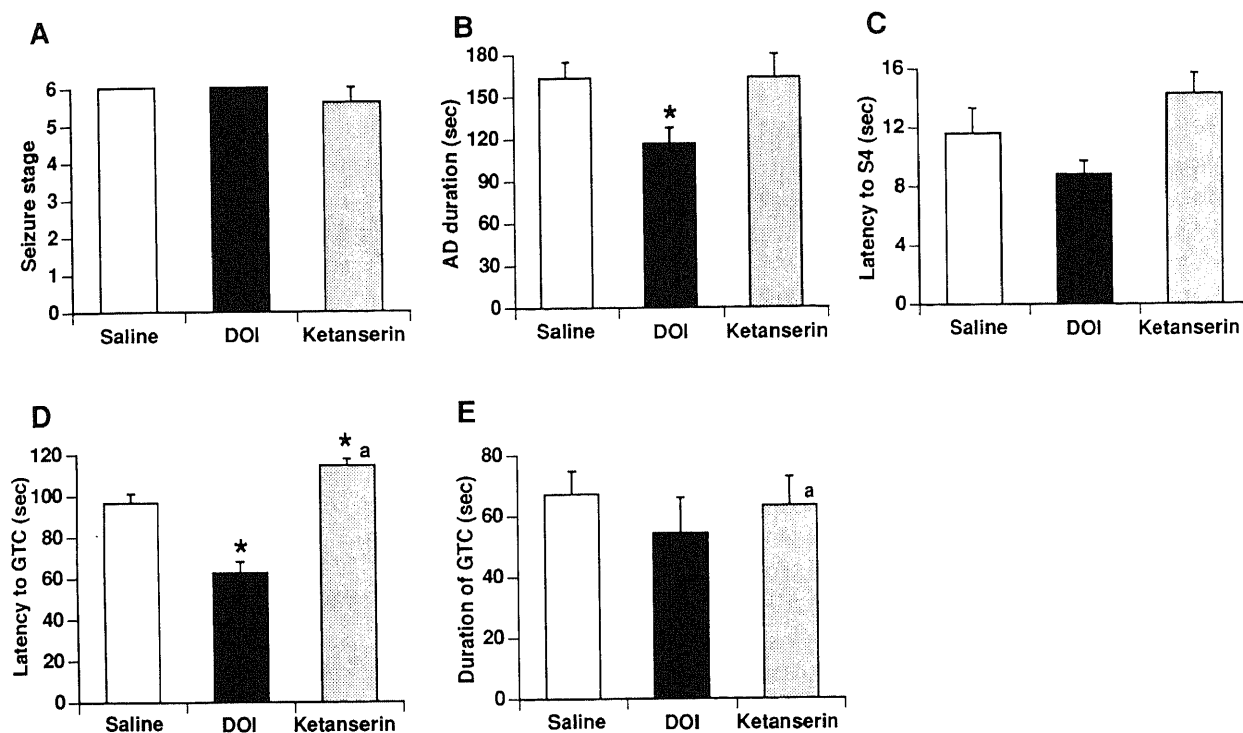


Fig. 4. Effects of 1-(2,5-dimethoxy-4-iodophenyl)-2-aminopropane (DOI) and ketanserin on the behavioral seizure stage (A), afterdischarge duration (B), latency to the onset of stages 4 (C) and 6 (D), and duration of a generalized convulsion (E) of hippocampal kindled seizures. Seizure stages graded as in Fig. 1. Values represent mean  $\pm$  S.E.M. ( $n=5$ ). \* $n=4$ . \*  $P<0.05$  compared with saline control. AD, afterdischarge; GTC, generalized tonic-clonic convulsion; S4, stage 4.

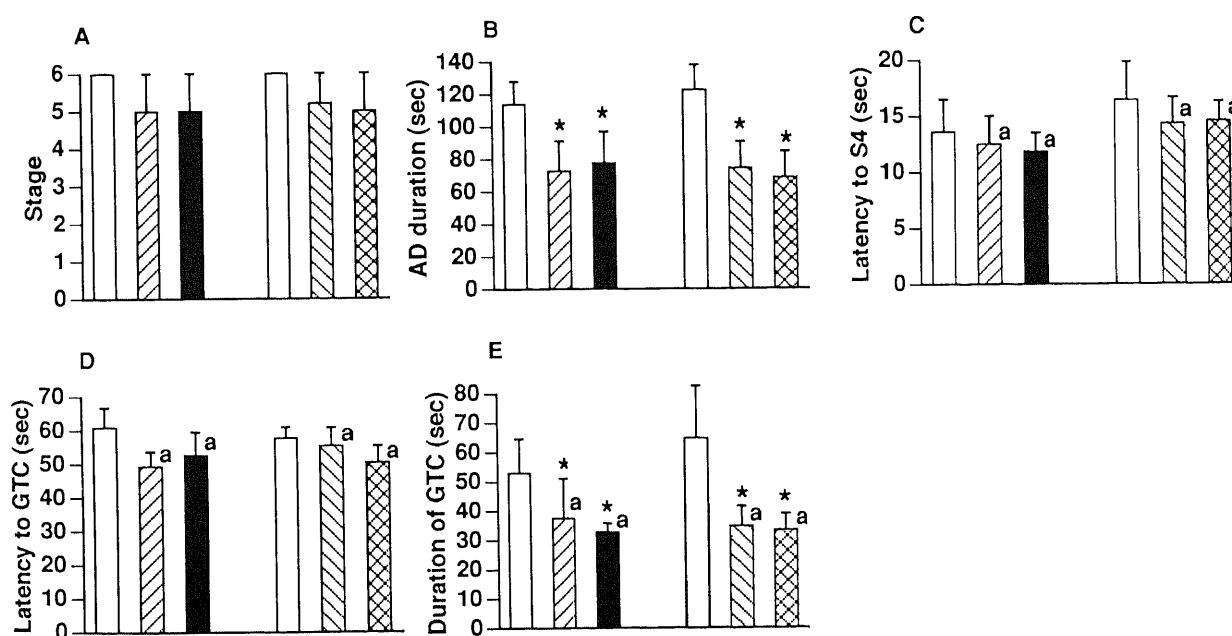


Fig. 5. Effects of fluoxetine and paroxetine on the behavioral seizure stage (A), afterdischarge duration (B), latency to the onset of stages 4 (C) and 6 (D), and duration of a generalized convulsion (E) of hippocampal kindled seizures. Seizure stages graded as in Fig. 1. Values represent mean  $\pm$  S.E.M. ( $n=5$ ). \* $n=4$ . \*  $P<0.05$  compared with saline control. AD, afterdischarge; GTC, generalized tonic-clonic convulsion; S4, stage 4. □, saline; ▨, fluoxetine 1 mg/kg; ■, fluoxetine 10 mg/kg; ▩, paroxetine 1 mg/kg; ▤, paroxetine 10 mg/kg.

かった。

パロキセチン 10mg/kg 投与後には5例中1例で流涎と自発運動低下が投与約5分後にみられた他は、明らかな行動変化は出現しなかった。また背景脳波にも著明な変化を認めなかった。

## 考 察

これまでキンドリングモデルを用いてセロトニン系の関与を検討した研究はいくつかなされているが、これらの研究は、キンドリングの発展過程に関する実験とキンドリング形成後の発作発現に関する実験とに区別される。まずキンドリングの発展過程におけるセロトニンの関与を検討した実験では、脳内セロトニン系投射の主要な起始部位である中脳縫線核の破壊実験<sup>8)</sup>、セロトニン合成阻害剤の投与実験<sup>7-9)</sup>、中脳縫線核の移植実験<sup>6)</sup>、セロトニン前駆物質 (5-HTP) の投与実験<sup>7,8)</sup> などが行われている。一方、キンドリング形成後の発作においては、中脳縫線核の電気刺激実験<sup>11)</sup>、8-OH-DPAT の全身投与実験<sup>20)</sup>、微量透析法を用いた脳内セロトニン含量の測定実験<sup>21)</sup> などが行われてきた。その結果、キンドリングの発展過程に対しては、セロトニン系が抑制的に作用することを示唆する成績が多いものの<sup>8-9)</sup>、矛盾する報告もある<sup>8b)</sup>。一方、キンドリング形成後の発作に対しては、中脳縫線核の電気刺激によりもたらされた内因性セロトニンの増加が発作抑制効果をもつという報告<sup>11)</sup> がある。一方、ラットの扁桃核キンドリングに 5-HTP および 8-OH-DPAT が影響を及ぼさないとする Löscher ら<sup>20)</sup> の報告に加え、海馬キンドリングラットの脳内セロトニン濃度に有意な変化を認めないとする Kokaia ら<sup>21)</sup> の報告、またラットやウサギの扁桃核キンドリング発作の持続時間が 5-HTP 投与後にむしろ延長するという Ashton ら<sup>10)</sup> の報告があり、キンドリング発作におけるセロトニン作用機構に関しては一定の見解に達していない。さらに近年セロトニン受容体亜型の細分化がなされ、中枢神経系に対する作用の多様性が指摘されている<sup>14)</sup> もの、受容体亜型別にキンドリングモデルでのセロトニン作動性機構を検討した研究はほとんどなされていない。本研究では、セロトニン受容体亜型の相違に対応して海馬キンドリング発作に対する効果にいかなる差異が認められるかを検討し、加えて選択的セロトニン再取り込み阻害薬の抑制効果について検討を行った。

今回の実験で、セロトニン 1A 受容体作動薬 8-OH-DPAT の全身投与が海馬キンドリング発作における行動上の発作段階を有意に抑制し、また 8-OH-DPAT の海馬内微量注入後に海馬焦点発作およびキンドリング発作の発作誘発閾値が有意に上昇したことより、セロトニン 1A 受容体が海馬発作焦点に対して強力な抑制作用を有することが明らかとなった。

近年、ラットにおけるセロトニン受容体各亜型の脳内分布の研究から、セロトニン 1A 受容体は海馬と中脳縫線核で高密度に存在し<sup>22)</sup>、縫線核においてはセロトニン神経の細胞体に存在する自己受容体としての機能をもつことが知られている<sup>23)</sup>。したがって、本研究で示された 8-OH-DPAT 全身投与による海馬キンドリング発作の抑制作用には主にセロトニン 1A 受容体が関与していると推測されるが、その神経機序として、前シナプス性の縫線核における自己受容体を介した内因性セロトニンの減少と、後シナプス性の海馬自体における受容体を介した作用が共存している可能性を考慮する必要がある。8-OH-DPAT をはじめとするセロトニン 1A 受容体作動薬を縫線核に局所注入

することで、セロトニン神経細胞の自発放電が減少することが示されており<sup>24)</sup>、また Sharp ら<sup>25)</sup> は背側縫線核に 8-OH-DPAT を局所注入した後、微量透析法を用いて海馬におけるセロトニン放出量を測定した結果、著明な減少を認めたことを報告している。海馬発作における中脳縫線核の役割を検討した報告もいくつかなされているが、Cavalheiro ら<sup>26)</sup> の行ったラット縫線核の電気破壊実験では海馬の発作活動が増強されることが示されており、内因性セロトニンの減少は発作感受性の増大をもたらすものと考えられる。

一方、海馬の神経活動に対する 8-OH-DPAT の作用については、海馬切片を用いた実験から、8-OH-DPAT が海馬 CA1 領域の錐体細胞、歯状回顆粒細胞に過分極を生じさせ、集合スパイクの振幅を減少させることが報告されている<sup>27,28)</sup>。また海馬 CA1 領域に 8-OH-DPAT をはじめとするセロトニン受容体作動薬を微量注入した結果、CA1 錐体細胞の自発放電が減少することから<sup>29)</sup>、8-OH-DPAT が海馬の神経活動に対して抑制的に働くことが示唆されている。したがって、8-OH-DPAT の全身投与では、前述のような縫線核の自己受容体刺激による発作感受性の増強と海馬受容体刺激による抑制という相反するふたつの作用が共存しているものの、8-OH-DPAT 1mg/kg の投与量においては、海馬に対する直接刺激の効果が縫線核への効果を凌駕したために抗けいれん効果が発現した可能性が考えられる。

次に 8-OH-DPAT の作用脳部位をさらに明らかにする目的で、刺激脳部位である背側海馬に 8-OH-DPAT の微量注入を行った。その結果、海馬焦点発作およびキンドリング発作の発作誘発閾値が有意に上昇したことより、本薬物が海馬発作焦点に対して強力な抑制作用を有することが示された。8-OH-DPAT の全身投与実験においては 1mg/kg 投与後に行動上の発作段階が有意に抑制されたものの、多くの例では第1段階の発作症状が出現し、行動および脳波上てんかん反応が完全に抑制されたネコは5例中1例のみであった。これに対して、局所注入実験では全例で GST の上昇が認められ、より強力な抑制効果が得られたが、その要因のひとつとして、海馬内微量注入実験においては縫線核の自己受容体刺激による効果が除外されたことがあげられる。

本研究ではネコ海馬刺激部位に 0.5 $\mu$ l の 8-OH-DPAT を注入したが、インディアンインクを用いた実験では、0.5 $\mu$ l をラット海馬内に微量注入した結果、海馬外への拡散はみられなかったことが報告されている<sup>30)</sup>。今回は薬物の拡散に関する検討は行っていないが、この知見は本研究で用いた注入量では 8-OH-DPAT の分布は刺激部位にほぼ限局していたことを示すものであり、他脳部位への拡散による直接の影響は否定できると考えられる。

キンドリングモデルでのセロトニン受容体作動薬を用いた検討は、これまでに Löscher ら<sup>20)</sup> の報告があるにすぎない。彼らは扁桃核キンドリングラットに 8-OH-DPAT を全身投与し、全身けいれん発作の ADD、発作段階、GTC 発現までの潜時、GTC 持続時間に有意な変化を認めなかったことを報告し、さらにマウスの最大電撃けいれんの誘発閾値を変化させないか、むしろ低下させることより、8-OH-DPAT が抗けいれん効果をもたないことを示唆している。彼らの報告と今回の成績の相違については、対象とした動物の種族差に加えて、前述のラットにおけるセロトニン受容体亜型の脳内分布の研究<sup>22)</sup> から、セロ



トニン 1A 受容体は扁桃核に比べて海馬により高密度に存在することが知られており、キンドリング焦点部位での受容体亜型の分布状況の差を反映している可能性が示唆される。

8-OH-DPAT はセロトニン 1A 受容体の選択的な作動薬とされているが、同時に  $\alpha_2$  アドレナリン受容体、アセチルコリン受容体、ドパミン受容体にもわずかながら親和性のあることが報告されている<sup>31)</sup>。したがって、今回の成績がセロトニン 1A 受容体を介する単独の作用に基づくものである以外に、他の神経伝達物質が関与した可能性も残されており、この点についてはセロトニンやその代謝産物である 5-ヒドロキシインドール酢酸および他のアミンの血中濃度の測定などを含め、さらに神経薬理学的に検討すべき課題であると思われる。

セロトニンは中枢神経系に対して興奮と抑制の 2 相性効果を有することが知られていたが、近年セロトニン 2 受容体が後シナプス性興奮をおこすことが報告され<sup>32)</sup>、セロトニンによる抑制作用にはセロトニン 1 受容体が、興奮作用にはセロトニン 2 受容体がそれぞれ対応していることが明らかにされている<sup>33)</sup>。今回の実験では、海馬キンドリング発作におけるセロトニン受容体亜型による作用の相違を明らかにする目的で、セロトニン 2 受容体作動薬 DOI および拮抗薬であるケタンセリンの投与実験を行った。その結果、DOI 投与により ADD および第 6 段階の GTC に至るまでの潜時が有意に短縮し、ケタンセリン投与では逆に GTC 発現までの潜時が有意に延長した。DOI 投与による ADD の有意な短縮は、他の発作の指標に有意な変化が認められないことから、第 6 段階に至るまでの潜時の短縮によると考えられる。したがって、ケタンセリン投与後に第 6 段階の症状発現までの潜時が有意に延長した結果と併せ考えれば、セロトニン 2 受容体の作用としては、セロトニン 1A 受容体のような海馬発作焦点に対する直接的な抑制作用との関連はなく、むしろ海馬キンドリング発作の二次性全般化に促進的に関与している可能性が示唆される。

本実験で用いたケタンセリンはセロトニン 1C 受容体、 $\alpha_1$  アドレナリン受容体においても中等度の親和性を持ち、またヒスタミン H1 受容体にも親和性のあることが報告されており<sup>34)</sup>、ケタンセリンの効果にはセロトニン 2 受容体のみならず、これらの受容体を介した作用も加重されている可能性を考慮する必要がある。一方で、DOI はセロトニン 1C およびセロトニン 2 受容体以外の受容体への親和性が低く、これらにはほぼ特異的に作用することが知られている<sup>35)</sup>。さらに今回の研究で、海馬発作の二次性全般化に関して、ケタンセリンと DOI の投与により抑制、促進という相反する結果が示されたことより、両薬物に共通して親和性の高いセロトニン 1C およびセロトニン 2 受容体を介した作用が主に関与していた可能性が示唆される。

セロトニン 1C 受容体は、その構造および薬理学的特徴がセロトニン 2 受容体と類似しているために、セロトニン 2 受容体と同じリガンドで標識される<sup>36)</sup>。したがってこの 2 つの受容体を介する作用を明確に区分することは困難であると思われる。一方、Pranzatelli ら<sup>37)</sup>はラットに DOI を投与し行動薬理学的検討を行った結果、背筋の収縮 (skin jerks) はセロトニン 1C 受容体を、身震い様運動 (shaking behavior) はセロトニン 2 受容体を介する作用である可能性を報告している。またそれぞれの行動変化を惹起する DOI の投与量閾値は、背筋の収縮が 2mg/kg、身震い様運動が 1mg/kg であることにより、動物の種差を考慮する必要があるものの、今回の実験に用いた DOI

1mg/kg 投与の場合には、セロトニン 2 受容体を介する効果がより強く現れている可能性がある。同様に Yap ら<sup>38)</sup>はセロトニン投与により誘発されるラットの身震い様運動が、今回の実験に用いた投与量と同じ 1mg/kg のケタンセリンで抑制されることを報告している。以上の成績から、海馬発作の二次性全般化には、セロトニン 2 受容体を介した作用が主に関与していることが強く示唆されるが、この点をさらに明らかにするためには、今後は受容体亜型に、より選択性の高い薬物を用いた研究が必要と思われる。

海馬発作の二次性全般化におけるセロトニン 2 受容体の関与については、これまでに十分な検討がなされておらず、その神経機構については明らかではない。最近のセロトニン受容体亜型の脳内分布に関する研究から、セロトニン 2 受容体はラットの前頭葉皮質、尾状核および前障において高密度に存在することが示されている<sup>37)</sup>。Corcoran ら<sup>39)</sup>は前頭部皮質を切除したラットに扁桃核キンドリングを行った結果、第 4 段階から第 5 段階への発展が遅延すること、さらに安定した全身けいれん発作の出現がみられなかったことを報告し、発作の全般化における前頭葉皮質の重要性を示唆している。一方で、黒質-線条体系<sup>39)</sup>、前障<sup>40)</sup>を介する二次性全般化の統御機構を示唆する報告もなされている。種差による受容体分布の相違を考慮する必要があるものの、以上の成績と今回の実験結果を併せ考えると、これらの脳部位におけるセロトニン 2 受容体を介した作用が海馬発作の二次性全般化に関与している可能性が考えられる。

さらに今回の実験では、セロトニン再取り込み阻害薬であるフルオキシセチンおよびパロキシセチンの全身投与によって、海馬キンドリング発作の ADD および GTC 持続時間が有意に短縮することが示された。他の発作の指標に有意な変化を認めないことから、ADD の有意な短縮は GTC 持続時間の有意な短縮に基づくものと考えられる。

フルオキシセチンの抗けいれん効果を検討した研究はこれまでにいくつか報告されている。Buterbaugh<sup>41)</sup>は最大電撃けいれんラットを用いた実験で、後肢の伸展強直がフルオキシセチンにより抑制されたことを示している。一方、Dailey ら<sup>42)</sup>は遺伝性自然発症てんかんラットにおける聴原性けいれんをフルオキシセチンが用量依存的に抑制したことを報告し、Prendiville ら<sup>43)</sup>は深部梨状葉皮質へのピククリン注入によって誘発される辺縁系運動発作をフルオキシセチンが強力に抑制したことを報告している。またラット海馬焦点発作においても、刺激側海馬へのフルオキシセチン微量注入後に ADT が有意に上昇したことが示されている<sup>44)</sup>。これらの成績はフルオキシセチンが種々の実験でてんかんモデルに対して抑制効果をもつことを示しており、フルオキシセチンの抗てんかん作用の多様性が示唆される。

脳内微量透析法を用いた研究から、フルオキシセチンはセロトニン再取り込み阻害作用によって、シナプス間隙のセロトニン濃度の上昇をもたらすことが報告されている<sup>45)</sup>が、一般にシナプス間隙のセロトニン濃度の上昇はセロトニン伝達機構を増強させることが知られている<sup>46)</sup>。本実験で示された抗けいれん効果は、このセロトニン伝達機構の増強に基づくものと推測されるが、同時にフルオキシセチンは中脳縫線核におけるセロトニン神経細胞の発火頻度およびセロトニン合成能を低下させる作用を有することも報告されている<sup>45)</sup>。このため今回検討したフルオキシセチンおよびパロキシセチンの全身投与実験においては、中脳縫線核への影響が関与した可能性もあり、今回の実験

で行動上の発作段階に有意な抑制効果を示さなかったひとつの要因と考えられる。

今回実験に用いたフルオキセチンおよびパロキセチンは1mg/kg投与においても10mg/kg投与の場合とほぼ同等の抑制効果を示し、またいずれの場合も一般行動に中毒症状がみられず、背景脳波にも変化が認められなかった。フルオキセチン、パロキセチンの1日の臨床用量はそれぞれ20-80mg、10-50mgとされ<sup>47)</sup>、今回の実験成績は非中毒量下の臨床用量でてんかん作用を発揮する可能性を示唆しており、臨床的有用性が期待される。

近年、神経科精神科領域においてセロトニン系薬物が注目されている。セロトニン1A受容体作動薬であるブスピロンは海外では抗不安薬として臨床的に使用され、またブスピロンが抗うつ作用を有する可能性も指摘されている<sup>48)</sup>。さらに同じくセロトニン1A受容体作動薬であるジェピロンの抗うつ作用および今回実験に用いた8-OH-DPATの動物実験における抗うつ作用も報告されている<sup>49)</sup>。一方、セロトニン2受容体拮抗薬についても抗うつ作用<sup>48,49)</sup>や抗不安作用<sup>50)</sup>を有するとの報告があり、抗うつおよび抗不安作用にはセロトニン1A受容体とセロトニン2受容体の重要性が示唆されている<sup>50,51)</sup>。

てんかん患者の精神症状として抑うつ症状や不安症状はしばしば出現するものであり、また側頭葉てんかん患者では特にうつ発作率や自殺の危険性が高いことが指摘されている<sup>17,52)</sup>。一方で抑うつ症状を呈するてんかん患者の治療には、副作用としてけいれん惹起作用を有する三環系および四環系抗うつ薬が使用されている現状にある<sup>17)</sup>。今回の研究から、選択的セロトニン1A受容体作動薬、セロトニン2受容体拮抗薬およびセロトニン再取り込み阻害薬はいずれも海馬発作に対して抑制的に働くことが示されたことより、これらの薬物の抑うつ症状や不安を伴うてんかん患者の治療における有用性が示唆され、今後の臨床的検討が期待される。

## 結 論

本研究では海馬発作に対するセロトニン系薬物の影響を検討した。ネコの海馬焦点発作に対するセロトニン1A受容体作動薬8-OH-DPATの海馬内微量注入の効果および海馬キンドリング発作に対する8-OH-DPAT、セロトニン2受容体作動薬(DOI)、セロトニン2受容体拮抗薬(ケタンセリン)の効果を検討し、受容体亜型による作用の相違を比較した。また選択的セロトニン再取り込み阻害作用を有する抗うつ薬フルオキセチンおよびパロキセチンの全身投与による効果を検討し、以下の結果を得た。

1. 8-OH-DPAT全身投与後には海馬キンドリング発作の行動上の発作段階が用量依存的に抑制され、1mg/kg投与後には対照と比較して有意に抑制された。

2. 8-OH-DPATの海馬内微量注入実験では、10nmol注入後には全例でADTの上昇を認め、ADDも有意に短縮した。海馬キンドリング発作においても、10nmol注入後には全例でGSTの上昇を認めた。

3. DOIおよびケタンセリンの全身投与実験では、行動上の発作段階に有意な変化を認めなかったが、DOI 1mg/kg投与後には発作全般化への潜時が有意に短縮し、逆にケタンセリン1mg/kg投与後には有意に延長した。

4. フルオキセチンおよびパロキセチンの全身投与実験で

は、行動上の発作段階に有意な変化を認めなかったが、1mg/kg、10mg/kgのいずれの投与量においても、ADDおよびGTC持続時間が有意に短縮した。

今回の成績から、海馬発作に脳内セロトニン系神経機構が密接に関与していることが明らかとなった。特に海馬キンドリング発作におけるセロトニン系の役割は受容体亜型によって異なり、セロトニン1A受容体は海馬発作焦点に対して抑制的に作用する一方、セロトニン2受容体は海馬焦点に対する抑制作用はもたないものの、発作の二次性全般化に促進的に関与している可能性が示唆された。さらに選択的セロトニン再取り込み阻害薬は海馬発作の持続時間を短縮することが示され、抑うつ、不安症状を呈するてんかん患者の治療における有用性が示唆された。

## 謝 辞

稿を終えるに臨み、御指導、御校閲を賜った金沢大学医学部神経精神医学教室の恩師山口成良教授に深く感謝致します。また直接御助言、御指導をいただいた教室の和田有司講師、本研究に御協力いただいた長谷川英裕博士、ならびに教室員各位に深謝いたします。

なお本論文の一部は第25回日本てんかん学会(静岡, 1991)、第26回日本てんかん学会(名古屋, 1992)において発表した。

## 文 献

- 1) Goddard, G. V., McIntyre, D. C. & Leech, C. K.: A permanent change in brain function resulting from daily electrical stimulation. *Exp. Neurol.*, 25, 295-330 (1969).
- 2) Sato, M., Racine, R. J. & McIntyre, D. C.: Kindling: basic mechanisms and clinical validity. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.*, 76, 459-472 (1990).
- 3) 福島 裕, 和田一丸, 斎藤文男, 橋本和明: 成人てんかんにおける発作難治化に関わる因子(第2報)―早期における予後予測の可能性の検討―厚生省精神・神経疾患研究委託費(元指-1)「難治てんかんの病態と治療に関する研究」平成2年度研究報告書, 209-215 (1991).
- 4) Commission on classification and terminology of the International League Against Epilepsy: Proposal for revised classification of epilepsies and epileptic syndromes. *Epilepsia*, 30, 389-399 (1989).
- 5) 森本 清, Goddard, G. V.: キンドリング(Kindling): 最近の動向と展望. *神経精神薬理*, 9, 461-491 (1987).
- 6) Camu, W., Marlier, L., Lerner-Natoli, M., Rondouin, G. & Privat, A.: Transplantation of serotonergic neurons into the 5, 7-DHT-lesioned rat olfactory bulb restores the parameters of kindling. *Brain Res.*, 518, 23-30 (1990).
- 7) Munkenbeck, K. E. & Schwark, W. S.: Serotonergic mechanisms in amygdaloid-kindled seizures in rat. *Exp. Neurol.*, 76, 246-253 (1982).
- 8) Racine, R. & Coscina, D. V.: Effects of midbrain raphe lesions or systemic p-chlorophenylalanine on the development of kindled seizures in rats. *Brain Res. Bull.*, 4, 1-7 (1979).
- 9) Stach, R., Lazarova, M. B. & Kacz, D.: Serotonergic mechanism in seizures kindled from the rabbit amygdala. *Nannyn Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, 316, 56-58 (1981).
- 10) Ashton, D., Leysen, J. E. & Wanquier, A.: Neurotr-

- ansmitters and receptor binding in amygdaloid kindled rats: serotonergic and noradrenergic modulatory effects. *Life Sci.*, **27**, 1547-1556 (1980).
- 11) Kovacs, D. A. & Zoll, J. G.: Seizure inhibition by median raphe nucleus stimulation in rat. *Brain Res.*, **70**, 165-169 (1974).
- 12) Siegel, J. & Murphy, G. J.: Serotonergic inhibition of amygdala-kindled seizures in cats. *Brain Res.*, **174**, 337-340 (1979).
- 13) Harrington, M. A., Zhong, P., Garlow, S. J. & Ciaranello, R. D.: Molecular biology of serotonin receptors. *J. Clin. Psychiatry*, **53** (Suppl. 10), 8-27 (1992).
- 14) Peroutka, S. J.: 5-Hydroxytryptamine receptor subtypes. *Annu. Rev. Neurosci.*, **11**, 45-60 (1988).
- 15) 長谷川英裕: 光過敏てんかんモデルおよびキンドリング発作におけるセロトニン前駆物質 5-ヒドロキシトリプトファンの抑制効果. 十全医会誌, **100**, 803-815 (1991).
- 16) Fuller, R. W.: Basic advances in serotonin pharmacology. *J. Clin. Psychiatry*, **53** (Suppl. 10), 36-45 (1992).
- 17) Robertson, M. M.: Depression in patients with epilepsy: an overview and clinical study. In M. R. Trimble (ed.), *The Psychopharmacology of Epilepsy*, 1st ed., p65-82, John Wiley & Sons, Chichester, 1985.
- 18) Jasper, H. H. & Ajmone-Marsan, C.: A Stereotaxic Atlas of the Diencephalon of the Cat, 1st ed., p1-70, Nat. Res. Council of Canada, Ottawa, 1954.
- 19) 佐藤光源: “燃えあがり効果” (Kindling effect) を用いたてんかんの実験的研究. I. 海馬発作の発展過程に関する行動ならびに脳波学的研究. 精神経誌, **77**, 495-508 (1975).
- 20) Löscher, W. & Czuczwar, S. J.: Evaluation of the 5-hydroxytryptamine receptor agonist 8-hydroxy-2-(di-n-propylamino)tetralin in different rodent models of epilepsy. *Neurosci. Lett.*, **60**, 201-206 (1985).
- 21) Kokaia, M., Kalén, P., Bengzon, J. & Lindvall, O.: Noradrenaline and 5-hydroxytryptamine release in the hippocampus during seizures induced by hippocampal kindling stimulation: an in vivo microdialysis study. *Neuroscience*, **32**, 647-656 (1989).
- 22) Pazos, A. & Palacios, J. M.: Quantitative autoradiographic mapping of serotonin receptors in rat brain. I. Serotonin-1 receptors. *Brain Res.*, **346**, 205-230 (1985).
- 23) Verge, D., Daval, G., Patey, A., Gozlan, H., El Mestikawy, S. & Hamon, M.: Presynaptic 5-HT autoreceptors on serotonergic cell bodies and/or dendrites but not terminals are of the 5-HT<sub>1A</sub> subtype. *Eur. J. Pharmacol.*, **113**, 463-464 (1985).
- 24) Sprouse, J. S. & Aghajanian, G. K.: Electrophysiological responses of serotonergic dorsal raphe neurons to 5-HT<sub>1A</sub> and 5-HT<sub>1B</sub> agonists. *Synapse*, **1**, 3-9 (1987).
- 25) Sharp, T., Bramwell, S. R., Hjorth, S. & Grahame-Smith, D. G.: Pharmacological characterization of 8-OH-DPAT-induced inhibition of rat hippocampal 5-HT release in vivo as measured by microdialysis. *Br. J. Pharmacol.*, **98**, 989-997 (1989).
- 26) Cavalheiro, E. A., Elisabetsky, E. & Campos, C. J. R.: Effect of brain serotonin level on induced hippocampal paroxysmal activity in rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, **15**, 363-366 (1981).
- 27) Klancnik, K. G., Baimbridge, K. G. & Phillips, A. G.: Increased population spike amplitude in the dentate gyrus following systemic administration of 5-hydroxytryptophan or 8-hydroxy-2-(di-n-propylamino) tetralin. *Brain Res.*, **505**, 145-148 (1989).
- 28) Wu, P. H., Gurevich, N. & Carlen, P. L.: Serotonin-1A receptor activation in hippocampal CA1 neurons by 8-hydroxy-2-(di-n-propylamino)tetralin, 5-methoxytryptamine and 5-hydroxytryptamine. *Neurosci. Lett.*, **86**, 72-76 (1988).
- 29) Sprouse, J. S. & Aghajanian, G. K.: Responses of hippocampal pyramidal cells to putative serotonin 5-HT<sub>1A</sub> and 5-HT<sub>1B</sub> agonists: a comparative study with dorsal raphe neurons. *Neuropharmacology*, **27**, 707-715 (1988).
- 30) O'Connor, J. J., Rowan, M. J. & Anwyl, R.: Actions of 5-HT<sub>1</sub> ligands on excitatory synaptic transmission in the hippocampus of alert rats. *Br. J. Pharmacol.*, **101**, 171-177 (1990).
- 31) van Wijngaarden, I., Tulp, M. Th. M. & Soudijn, W.: The concept of selectivity in 5-HT receptor research. *Eur. J. Pharmacol.*, **188**, 301-312 (1990).
- 32) Goodwin, G. M. & Green, A. R.: A behavioural and biochemical study in mice and rats of putative selective agonists and antagonists for 5-HT<sub>1</sub> and 5-HT<sub>2</sub> receptors. *Br. J. Pharmacol.*, **84**, 743-753 (1985).
- 33) Peroutka, S. J., Lebovitz, R. M. & Snyder, S. H.: Two distinct central serotonin receptors with different physiological functions. *Science*, **212**, 827-829 (1981).
- 34) Conn, P. J. & Sanders-Bush, E.: Central serotonin receptors: effector systems, physiological roles and regulation. *Psychopharmacology*, **92**, 267-277 (1987).
- 35) Pranzatelli, M. R.: Evidence for involvement of 5-HT<sub>2</sub> and 5-HT<sub>1C</sub> receptors in the behavioral effects of the 5-HT agonist 1-(2, 5-dimethoxy-4-iodophenyl) aminopropane-2 (DOI). *Neurosci. Lett.*, **115**, 74-80 (1990).
- 36) Yap, C. Y. & Taylar, D. A.: Involvement of 5-HT<sub>2</sub> receptors in the wet-dog shake behavior induced by 5-hydroxytryptophan in the rat. *Neuropharmacology*, **22**, 801-804 (1983).
- 37) Pazos, A., Cortês, R. & Palacios, J. M.: Quantitative autoradiographic mapping of serotonin receptors in the rat brain. II. Serotonin-2 receptors. *Brain Res.*, **346**, 231-249 (1985).
- 38) Corcoran, M. E., Urstad, H., McCaughran, J. A. Jr. & Wada, J. A.: Frontal lobe kindling in the rat. *Can. J. Neurol. Sci.*, **2**, 501-508 (1975).
- 39) Gale, K.: Progression and generalization of seizure discharge: anatomical and neurochemical substrates. *Epilepsia*, **29** (Suppl. 2), S15-S34 (1988).
- 40) Kudo, T. & Wada, J. A.: Claustrum and Amygdaloid Kindling. In J. A. Wada (ed), *Kindling* 4, 1st ed., p397-408,

