Comparative Study of Effects of Benzodiazepine and Non-benzodiazepine Hypnotics on the Hippocampal Rhythmic Activity and on the Sleep-wakefulness Cycle in Cats

メタデータ	言語: jpn
	出版者:
	公開日: 2017-10-04
	キーワード (Ja):
	キーワード (En):
	作成者:
	メールアドレス:
	所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/8491

金沢大学十全医学会雑誌　第102巻　第6号　847－856（1993）

ベンゾジアゼピン系と非ベンゾジアゼピン系睡眠薬のネコの海馬律動波ならびに睡眠・覚醒周期に対する影響についての比較研究

金沢大学医学部神経精神医学講座（主任：山口成良教授）
秋　山　典　子

従来から海馬は注意・記憶などの精神機能に関連することが知られている．そこで，前向健忘を惹起することが報告されているベンゾジアゼピン系睡眠薬であるトリアゾラムと，非ベンゾジアゼピン系睡眠薬であるシクロピロロン誘導体であるゾピクロンと，イミダゾピリジン誘導体であるゾルピデムの海馬脳波ならびに睡眠・覚醒周期に対する影響について無麻酔・無拘束ネコを用いて検討し，海馬機能に対する睡眠薬の影響を解明することとした．0.01－0.02mg/kg のトリアゾラムを投与すると逆説睡眠期および覚醒期の海馬律動波の徐波化が認められた．他方，ゾピクロン (0.4mg/kg) とゾルピデム (0.3mg/kg) を投与しても，海馬律動波には有意な変化は認められなかった．トリアゾラムを投与すると覚醒期が増加し，紡錘波・徐波睡眠期が減少する傾向が認められた．ゾピクロン (0.4mg/kg) では投与後4－6時間の間，覚醒期の増加と紡錘波・徐波睡眠期の減少が認められたが，ゾピクロン (0.8mg/kg) を投与した時には生理食塩水 (生食) 投与時と比較して睡眠・覚醒周期に有意な変化は認められなかった．ゾルピデム (0.3mg/kg) 投与群では2時間にわたり紡錘波・徐波睡眠期の減少が認められたが，その後は増加した．以上の結果から，ベンゾジアゼピン系睡眠薬は辺縁系に抑制的に作用して睡眠効果をもたらすものと考えられたが，非ベンゾジアゼピン系睡眠薬については辺縁系以外の部位に作用するものと考えられた．

Key words triazolam, zopiclone, zolpidem, sleep-wakefulness cycle, hippocampal rhythmic activity

1938年，Jung ら[1]により家兎に感覚刺激を与えることによりアンモン角に 5－6Hz の規則的な律動波の出現を観察した．Green ら[2]により，この現象は入力刺激がいかなる場合でも大脳新皮質の脳波に脱同期化が存在しておればこれとほぼ一致して発現し，この現象は覚醒と関連した旧皮質覚醒反応として了解しうると結論した．ついで，Jouvet ら[3]により逆説睡眠相 (phase paradoxale) と名づけられた時期，すなわち逆説睡眠期間中にネコの海馬で覚醒期と同様な律動的徐波が観察された．わが国では，同じ頃に Shimazono ら[4]は，イヌで Jouvet ら[3]が認めたと同様の律動波を観察し，海馬律動波 S と名付けている．その後，動物で覚醒期ならびに逆説睡眠期に，海馬で規則的な θ 帯域の律動波を呈するこの現象は，海馬の電気活動発生メカニズムの観点や，注意の集中や学習，記憶などとの関連より注目され，研究されてきた．

一方，ベンゾジアゼピン系薬物として，最初，クロルジアゼポキシドが発売されてきたが，これは睡眠薬というよりも，マイナートランキライザーとして，不安の解消，鎮静に現在も使用されている．その後，ニトラゼパムを始めとして，種々のベンゾジアゼピン系の薬物が睡眠薬として登場してきた．

ベンゾジアゼピン系睡眠薬の作用機序として，本剤は情動と特に関係が深いとされている大脳辺縁系 (扁桃核，海馬など) および視床下部に抑制的に作用すると同時に，この系に入る余剰刺激を遮断して生理的な睡眠に導くと考えられている[5]．1968年，竹島ら[6]はネコでニトラゼパム注射後，逆説睡眠期の背側海馬の律動波を観察すると，注射前の眼球運動のある時の6－7Hz の周波数が 3－3.5Hz と減少しており，眼球運動や，四肢筋の攣縮 (twitching) の発現頻度も対照と比べて少なく，その運動の程度も軽く，そして注射後の時間が経過するにつれて，海馬脳波の律動波の周波数も対照時の値に近づいてゆくことを発表した．さらに竹島[7]は，ニドラゼパム 1mg/kg 投与後はかなりの長時間にわたって海馬律動波が徐波化することより，ニトラゼパムの大量投与は注意の集中や学習，記憶などの機能を低下させる可能性のあることを示唆した．

この示唆に応ずるがごとく，ベンゾジアゼピン系薬物のジアゼパムの静脈内投与が健忘作用を呈することが1970年頃から報告され[8)~10)]，また，トリアゾラムの内服が前向健忘のエピソードを惹起することも1976年頃から注目されてきた[11)12)]．わが国でも，1981年に挾間に[13]によってトリアゾラムによる短期記憶の障害例が最初に報告された．

教室の吉本[14]は，すでにベンゾジアゼピン系薬物5種 (エスタゾラム，クロナゼパム，ニトラゼパム，ジアゼパム，フルラゼパム) について，ネコの海馬律動波ならびに睡眠・覚醒周期に対する影響について検討しているが，最近，非ベンゾジアゼピン系睡眠薬として，シクロピロロン系のゾピクロン[15]やイミ

平成5年11月11日受付，平成5年12月7日受理

Abbreviations: CL, nucleus centralis lateralis; DHIPP, dorsal hippocampus; MRF, midbrain reticular formation; NPT, nocturnal penile tumescence; REM, rapid eye movement; 生食，生理食塩水

ダゾピリジン系のゾルピデム[16]が登場してきたので，著者は，これらの非ベンゾジアゼピン系睡眠薬とベンゾジアゼピン系睡眠薬トリアゾラムとの，ネコの海馬律動波と睡眠・覚醒周期に対する影響について比較検討することを意図して本研究を行った．

対象および方法

Ⅰ．実験動物

脳波，頸筋の筋電図，眼球運動などを誘導する電極を慢性に植え込んだ成熟ネコ13匹，体重 2.5－3.5kg を用いた．動物は温度調節された飼育室で12時間の明暗周期で飼育され，毎朝 9 時に給餌，給水は自由摂取とした．

Ⅱ．電極の植え込み方法

電極植え込み方法は Yamaguchi ら[17]の方法にしたがい，皮質脳波記録用ネジ電極を両側大脳半球の前および後 S 状回に植え込み，同心針電極を背側海馬 (dorsal hippocampus, DHIPP)，中脳網様体 (midbrain reticular formation, MRF) ならびに視床の外側中心核 (nucleus centralis lateralis, CL) に植え込んだ．電極の挿入は Jasper ら[18]のアトラスにしたがい，東大脳研式脳定位固定装置を用いて行った．

Ⅲ．ポリグラフ記録

ポリグラフ記録は，電極の植え込み手術後 2 週間以上の期間をおいてから始めた．一方向ガラスを前面にとりつけた観察箱の中に動物を入れ観察を行った．ポリグラフ記録には14素子インク書き多用途脳波計 EEG4142 (日本光電，東京) を用いて 1.5cm/sec の紙送り速度で紙記録し，CL 刺激によって皮質，皮質下に誘発される漸増反応 (recruiting response) をブラウン管で観察するとともに，磁気記録装置に記録し，後日の検索に供した．一方，背側海馬脳波を，1－10Hz の帯域の波を，1Hz ごとに濾波する帯域スペクトル分析装置に接続して周波数分析を行い，その積分値を連続インク書き記録した．

Ⅳ．実験スケジュール

実験スケジュールは，午前 9 時頃に動物に給餌し，午前10時頃に電極を装着，午前10時30分頃に入眠するので，最初の紡錘波 (spindle) の出現からポリグラフ記録を開始し，2 時間の記録後，午後 1 時30分頃に生食を NaCl として 1mg/kg または薬物をいずれも伏在静脈内に投与した．トリアゾラムは原末をプロピレングリコールに溶解し，日常臨床に使用する量を考慮して，0.003mg/kg－0.02mg/kg を，ゾピクロンについては原末をエチルアルコール：プロピレングリコール＝1：4 の溶媒に溶解し，0.4mg/kg－0.8mg/kg を，ゾルピデムについては原末を生食に溶解して 0.3mg/kg として投与した．注射後 6 時間ポリグラムを記録した後，採血して実験を終了した．

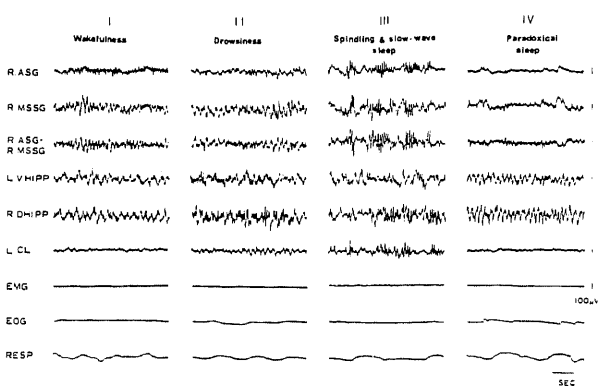

Fig. 1. Schematic representation of polygraphic pattern in wakefulness and various sleep stages. The hippocampal rhythmic activity during the paradoxical sleep stage and wakefulness in L-and R-hippocampus leads. L, left; R, right; ASG, anterior sigmoid gyrus; MSSG, middle suprasylvian gyrus; VHIPP, ventral hippocampus; DHIPP, dorsal hippocampus; CL, nucleus centralis lateralis; EMG, electromyogram; EOG, electrooculogram; RESP, respiration.

Ⅴ．ネコの睡眠・覚醒状態の分類

ネコの睡眠・覚醒周期をポリグラムのパターンから，覚醒期 (wakefulness stage)，微睡期 (drowsiness stage)，紡錘波・徐波睡眠期 (spindling and slow-wave sleep stage)，逆説睡眠期 (paradoxical sleep stage) の 4 期に大別した[19]．逆説睡眠期はヒトの速い眼球運動 (rapid eye movement, REM) の認められる REM 睡眠期に相当するものである．各期のポリグラムは図 1 に示したとおりである．各期の判定の際は，ポリグラム以外に行動面の情報も利用し，判定した．睡眠薬投与前の睡眠・覚醒周期には個体差があり，また同一個体でも実験日による差異がみられるが，通常の実験日においては紡錘波が出現しはじめてからの 2 時間中に，覚醒期から逆説睡眠期にまで至る経過を 2－4 回繰り返すのが通例である．

各期のポリグラムの特徴をあげると，覚醒期には動物は常に開眼しており，皮質脳波では低振幅速波がみられ，背側海馬脳波では 3Hz 前後の θ 律動波がほぼ連続して出現する．微睡期では常に落ちついた状態で閉眼しているが，時に一過性に開眼することもある．皮質脳波上 5－6Hz の低振幅で不規則な徐波が出現し，海馬脳波では律動性が失われ，高振幅の 3Hz 前後の徐波と速波が入りまじった脳波がみられ，紡錘波・徐波睡眠期では，動物はうずくまるか横たわる姿勢をとり閉眼している．皮質脳波では 13Hz の紡錘波と不規則な徐波がみられ，海馬脳波では不規則な高振幅徐波が出現する．逆説睡眠期には，動物はぐったりと横臥した状態にある．皮質脳波では低振幅速波化，海馬脳波では 4Hz 前後の律動性 θ 波の連続，筋電図では頸筋筋活動の消失が認められる．

Ⅵ．血中濃度

基礎資料を得るために，ネンブタール 35mg/kg 腹腔内投与で麻酔した雑種成熟ネコ12匹，体重 2.5－3.5kg を用いた．薬物は，トリアゾラム 0.02mg/kg またはゾピクロン 0.6mg/kg を大伏在静脈より20秒で静注し，外頸静脈より，注射後 2 分，3 分，5 分，7 分，15分，30分，1 時間，以後 1 時間おきに 6 時間まで採血し，薬物血中濃度の時間的推移を，高速液体クロマトグラフィー法で測定した．

Ⅶ．使用薬物

ベンゾジアゼピン系睡眠薬であるトリアゾラム (triazolam) は日本アップジョン (東京) から，非ベンゾジアゼピン系睡眠薬であるゾピクロン (zopiclone) は中外製薬 (東京) から，ゾルピデム (zolpidem) は藤沢薬品 (大阪)から，それぞれ原末の提供を受け，注射薬を調整した．対照として生食を大塚製薬 (鳴門) から購入して使用した．他の試薬はすべて特級または高速液体クロマトグラフィー用を使用した．

Ⅷ．統計処理

4 つの睡眠段階の各出現率 (百分率) および注射後の逆説睡眠の出現潜時を算出し，統計学的に検討した．出現率は，注射

前2時間に対応させて，注射後も2時間ごとに集計し，これらを時間条件として，注射前，注射後2時間，4時間および6時間と呼ぶことにした．比較は各薬物投与前後2時間ごとの各段階の百分率と，生食静注前後の各2時間ごとの対応する段階の百分率とを統計学的に検討し，有意差の検定には，出現率を角変換し，2要因分散分析と Ryan 法[20]による t 検定を用いた．出現潜時については，秒単位のデータを対数変換し，7薬物(生食 1mg/kg・トリアゾラム 0.003mg/kg, 0.01mg/kg, 0.02mg/kg・ゾピクロン 0.4mg/kg, 0.8mg/kg・ゾルピデム 0.3mg/kg) を要因とする1要因分散分析を行い，有意な場合には Ryan 法による下位検定 (修正した t 検定) を行った．

成　　績

Ⅰ．逆説睡眠期の海馬律動波に及ぼす各種睡眠薬の影響

1．トリアゾラムの影響

トリアゾラムの 0.02mg/kg 静注前後の逆説睡眠期の背側海馬ならびに水平眼球運動の変化をみてみると，図2に示したごとく，注射前の海馬律動波の周波数は 4Hz，急速眼球運動の出現時には 5Hz であるのに対して，注射後28分の逆説睡眠期では海馬活動は 3Hz に徐波化しており，注射後267分の逆説睡眠期では 4−5Hz に回復している．トリアゾラム 0.003mg/kg 静注前後の逆説睡眠期の背側海馬脳波と水平眼球運動を観察すると，6例中2例のネコで，注射後の早期 (注射後30分以内) に逆説睡眠期が出現し，その際には，図3のごとく，注射前 4Hz，急速眼球運動の出現時は 5Hz であるのに対し，注射後19分の時の逆説睡眠期では海馬活動は 3Hz，急速眼球運動の出現時は 4Hz と徐波化していた．しかし，注射後45分以降の逆説睡眠期では，注射前の周波数に回復していた．

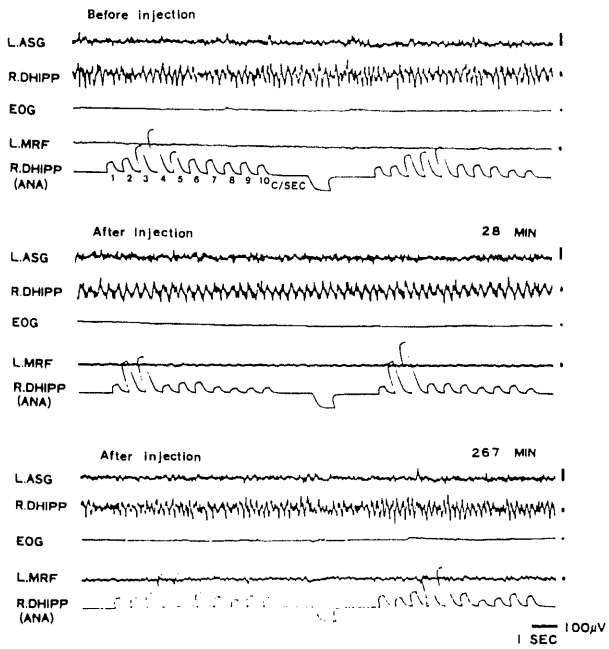

Fig. 2. The hippocampal rhythmic activity during the paradoxical sleep stage before and after the intravenous application of triazolam of 0.02 mg/kg. MRF, midbrain reticular formation; ANA, frequency analysis by an automatic frequency analyzer.

2．ゾピクロンの影響

ゾピクロン 0.4mg/kg の静注前後の逆説睡眠期の脳波をみてみると，図4に示したごとく，注射前後の逆説睡眠期にはいずれも 5Hz 前後の律動波が連続してみられ，トリアゾラム投与時にみられたような徐波化の現象は惹起されなかった．さらに，ゾピクロンの量を 0.8mg/kg に倍量して投与しても，逆説睡眠期の海馬律動波に変化はみられなかった．

3．ゾルピデムの影響

図5は，ゾルピデム 0.3mg/kg 静注後，早期に逆説睡眠期が出現している例であるが，海馬律動波の徐波化の所見は認められなかった．

Ⅱ．覚醒期の海馬律動波に及ぼす各種睡眠薬の影響

1．トリアゾラムの影響

トリアゾラム注射前の海馬脳波の周波数は図6にみられるご

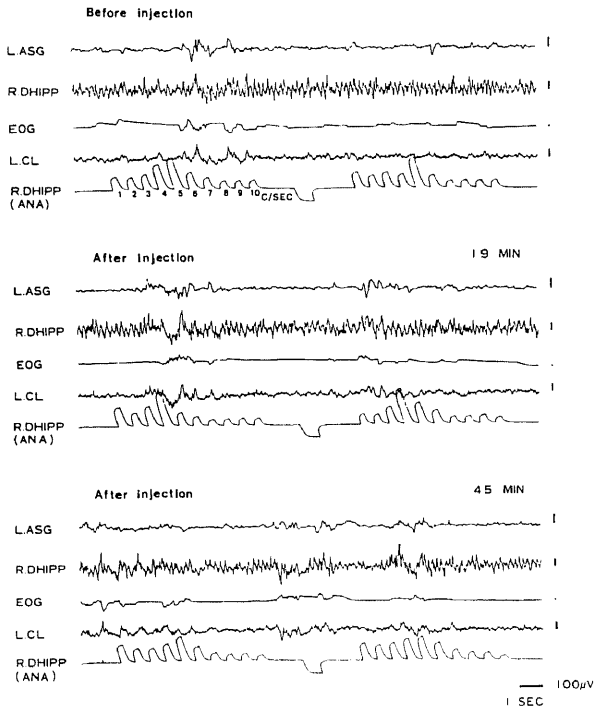

Fig. 3. The hippocampal rhythmic activity during the paraoxical sleep stage before and after the intravenous application of triazolam of 0.003 mg/kg.

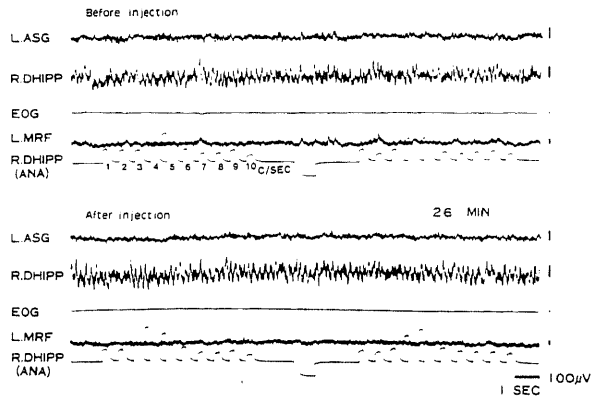

Fig. 4. The hippocampal rhythmic activity during the paradoxical sleep stage before and after the intravenous application of zopiclone of 0.4 mg/kg.

とく，3Hz 前後であるが，トリアゾラム 0.02mg/kg 静注後の覚醒期の海馬律動波は 2Hz 前後と徐波化しており，時間の経過とともに元の周波数に復帰していた．

2．ゾピクロンの影響

ゾピクロン 0.2－0.8mg/kg 静注後の覚醒期の海馬律動波を観察したが，注射後の覚醒期の海馬律動波の周波数は，注射前のそれと比較して変化はみられなかった．

3．ゾルピデムの影響

ゾルピデム 0.3mg/kg 静注後の覚醒期の海馬律動波を観察したが，注射後の覚醒期の海馬律動波の周波数は，注射前の周波数と比較して変化はみられなかった．

Ⅲ．睡眠・覚醒周期に対する睡眠薬の影響

生食および各薬物投与前 2 時間，および薬物注射（矢印）後 6 時間にわたる記録を 1 時間ごとに上から順に並べて推移をみたものを以下に示した．

1．生食の影響

図 7 は生食を NaCl として 1mg/kg 静注前後の睡眠・覚醒周期の推移であるが，注射処置の直接の影響と思われる覚醒期が数分続くが，その後は 4 時間まで，注射前とはっきりした差はなく，注射後 5 － 6 時間に至って覚醒期，微睡期の軽度増加，紡錘波・徐波睡眠期の軽度減少がみられた．

2．トリアゾラムの影響

図 8 はトリアゾラム 0.003mg/kg 静注前後の結果である．注射後わずかに紡錘波・徐波睡眠期の減少がみられた．図 9 はトリアゾラム 0.01mg/kg 静注前後の結果である．注射後，微睡期が増え，紡錘波・徐波睡眠期が減じ，注射後 5 時間目，6 時間目のところで，覚醒期が多くなっている傾向がみられた．図10はトリアゾラム 0.02mg/kg 静注前後の結果である．注射後 4 時間にわたり覚醒期の増加と，注射後 2 時間にわたり徐波睡眠期の僅かな減少がみられた．

3．ゾピクロンの影響

図11はゾピクロン 0.4mg/kg 静注前後の結果である．トリアゾラム投与の場合と比べて紡錘波・徐波睡眠期が多い傾向がみられた．なお，注射後 6 時間目では覚醒期の増加がみられた．図12はゾピクロン 0.8mg/kg 静注前後の結果である．トリアゾラム投与の場合と比べて紡錘波・徐波睡眠期の増加がみられた．

4．ゾルピデムの影響

図13はゾルピデム 0.3mg/kg 静注前後の結果である．注射後 2 時間にわたり紡錘波・徐波睡眠期の減少がみられた．

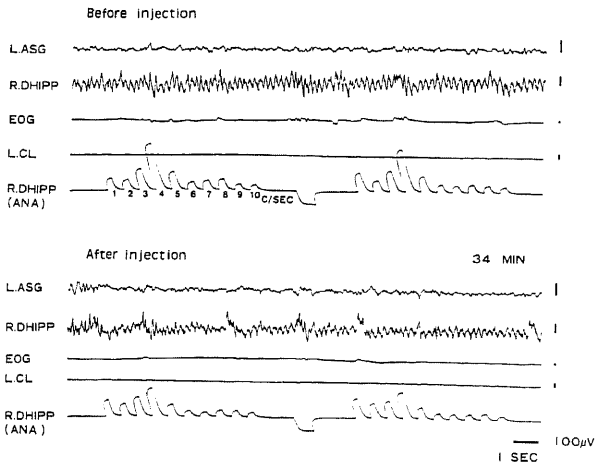

Fig. 5. The hippocampal rhythmic activity during the paradoxical sleep stage before and the intravenous application of zolpidem of 0.3 mg/kg.

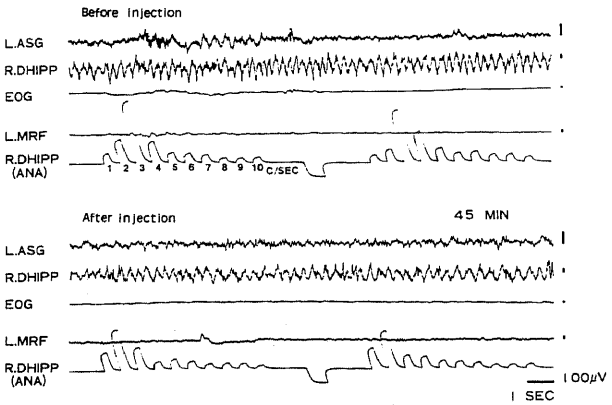

Fig. 6. The hippocampal rhythmic activity during the wakefulness stage before and after the intravenous application of triazolam of 0.02 mg/kg.

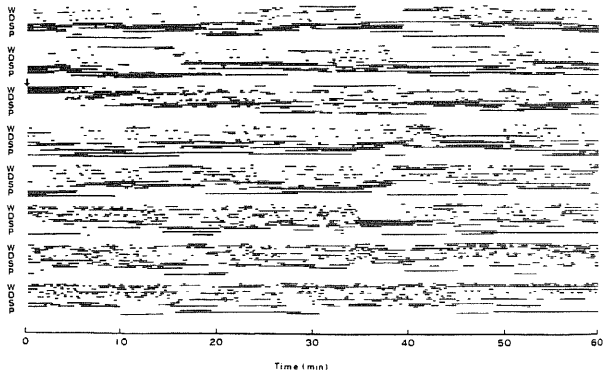

Fig. 7. Plotting of the sleep-wakefulness cycle during 2 hr before and 6 hr after the intravenous injection of saline (NaCl 1 mg/kg) in cats. In this and following illustrations, the results of 5 experiments are summarized in one diagram and the arrow (↓) indicates the injection of drug. W, wakefulness; D, drowsiness; S, spindling & slow-wave sleep; P, paradoxical sleep.

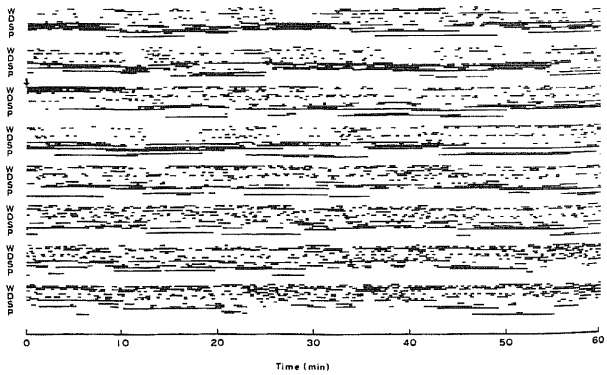

Fig. 8. Plotting of the sleep-wakefulness cycle during 2 hr before and 6 hr after the intravenous injection of triazolam (0.003 mg/kg) in cats.

Ⅳ．各睡眠段階の出現率，出現潜時からみた睡眠薬の影響

1．出現率

1）生食の場合

図14は生食 1mg/kg 静注前後の各睡眠段階の出現率の結果である．注射前では覚醒期が 15.9±6.8%，微睡期が 10.0±5.6%，紡錘波・徐波睡眠期が 51.7±8.9%，逆説睡眠期が 22.5±6.6% (いずれも平均値±標準偏差，n=32) 程度の値を示し，注射後も4時間までは，これとはっきりした差はなく，注射後6時間では覚醒期，微睡期が増加し，紡錘波・徐波睡眠期，逆説睡眠期が減少した．

2）トリアゾラムの場合

図15はトリアゾラム 0.01mg/kg 静注前後の各睡眠段階の出現率をみたものであるが，トリアゾラム 0.01mg/kg 静注後6時間にわたり覚醒期の増加と紡錘波・徐波睡眠期の減少，注射後2時間で逆説睡眠期の減少が認められた．図16はトリアゾラム 0.02mg/kg 静注前後の各睡眠段階の出現率をみたものであるが，注射後4時間にわたり覚醒期の増加と，注射後2時間で紡錘波・徐波睡眠期と逆説睡眠期の減少が認められた．図17はトリアゾラム 0.003mg/kg 静注前後の各睡眠段階の出現率をみたものであるが，注射前に有意差はなく，注射後は6時間にわたって覚醒期の軽度の増加と，紡錘波・徐波睡眠期の僅かな減少が認められた．

3）ゾピクロンの場合

図18はゾピクロン 0.4mg/kg 静注前後の各睡眠段階の出現率をみたもので，ゾピクロン 0.4mg/kg では，注射後6時間で覚醒期の増加と紡錘波・徐波睡眠期の減少が認められた．図19はゾピクロン 0.8mg/kg 静注前後の各睡眠段階の出現率をみたもので，ゾピクロン 0.8mg/kg では生食投与群と有意な差は認められなかった．

4）ゾルピデムの場合

図20はゾルピデム 0.3mg/kg 静注後の各睡眠段階の出現率をみたものである．注射前で生食投与群と比較して紡錘波・徐波

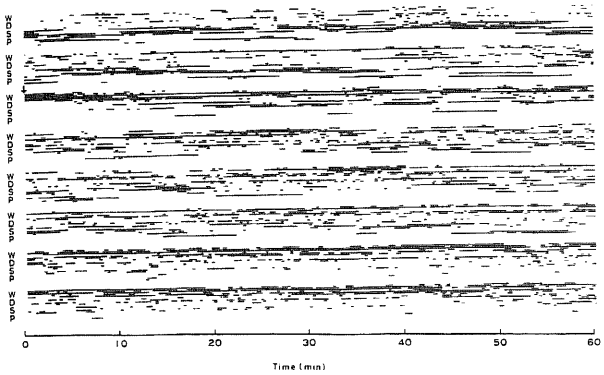

Fig. 9. Plotting of the sleep-wakefulness cycle during 2 hr before and 6 hr after the intravenous injection of triazolam (0.01 mg/kg) in cats.

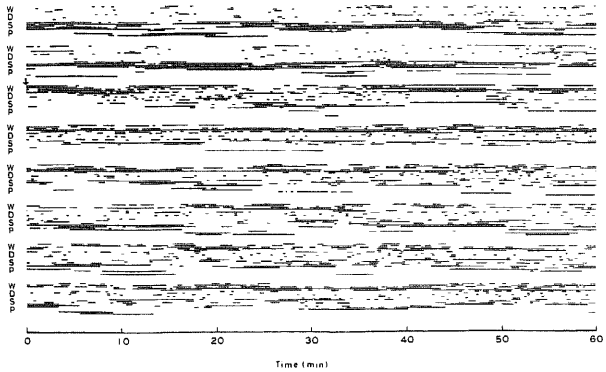

Fig. 10. Plotting of the sleep-wakefulness cycle during 2 hr before and 6 hr after the intravenous injection of triazolam (0.02 mg/kg) in cats.

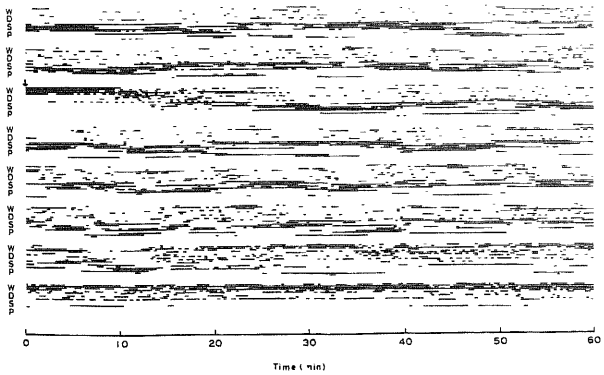

Fig. 11. Plotting of the sleep-wakefulness cycle during 2 hr before and 6 hr after intravenous injection of zopiclone (0.4 mg/kg) in cats.

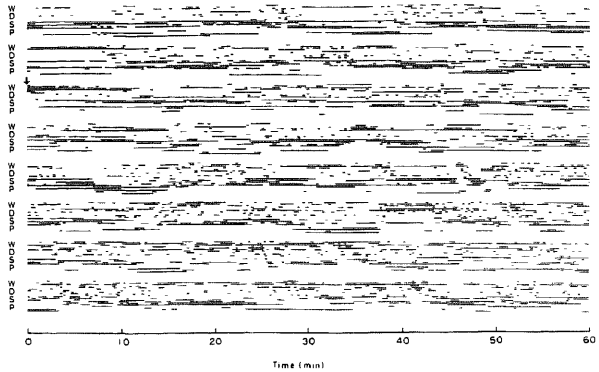

Fig. 12. Plotting of the sleep-wakefulness cycle during 2 hr before and 6 hr after the intravenous injection of zopiclone (0.8 mg/kg) in cats.

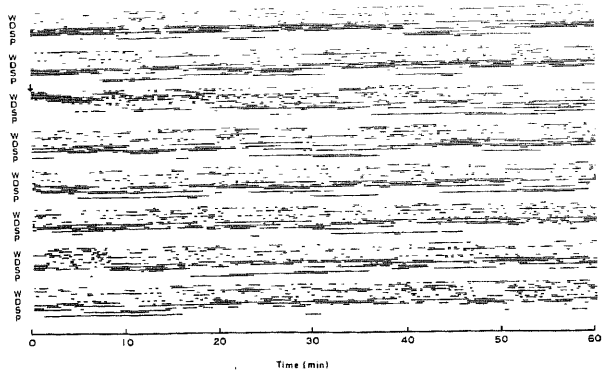

Fig. 13. Plotting of the sleep-wakefulness cycle during 2 hr before and 6 hr after the intravenous injection of zolpidem (0.3 mg/kg) in cats.

睡眠期に有意差を認めた．注射後4時間，6時間では，生食投与群と比較して紡錘波・徐波睡眠期が増加していた．

2．出現潜時

図21はトリアゾラム 0.003mg/kg, 0.01mg/kg, 0.02mg/kg とゾピクロン 0.4mg/kg, 0.8mg/kg とゾルピデム 0.3mg/kg を，それぞれ静注した後の逆説睡眠期が初めて出現するまでの潜時と，生食 (NaCl として) 1mg/kg 静注後の逆説睡眠期の出現潜時とを比較したものである．トリアゾラム投与群ではいずれの投与量でも延長の傾向，ゾルピデム投与群ではトリアゾラム投与群ほどではないが軽度の延長の傾向を示し，ゾピクロン投与群では生食投与群と同じか僅かに短縮の傾向を示した．

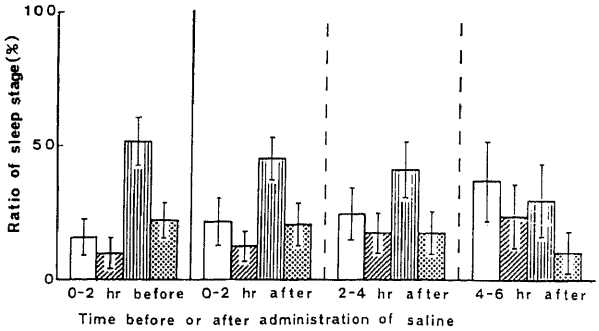

Fig. 14. Graphic representation of the mean of percentage of each stage of sleep-wakefulness cycle during 2 hr before and 6 hr after the intravenous injection of saline (NaCl 1 mg/kg) in 32 experiments. Symbols for this and following illustrations: □, wakefulness; ▨, drowsiness; ▥, spindling and slow-wave sleep; ▩, paradoxical sleep. In this and following illustrations, vertical bars indicate mean±S.D.

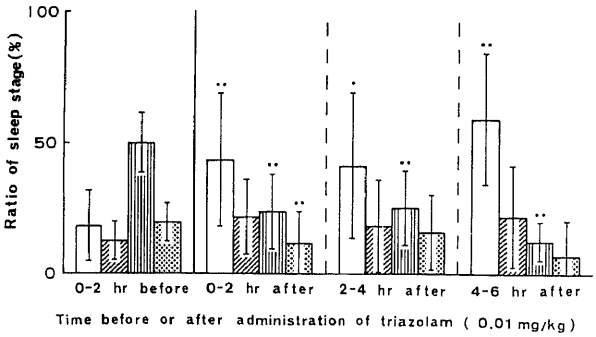

Fig. 15. Graphic representation of the mean of percentage of each stage of sleep-wakefulness cycle during 2 hr before and 6 hr after the intravenous injection of triazolam 0.01 mg/kg in each 6 experiments. *, $p<0.05$; **, $p<0.01$ vs. every 2 hr before and after the intravenous of NaCl (1 mg/kg) respectively.

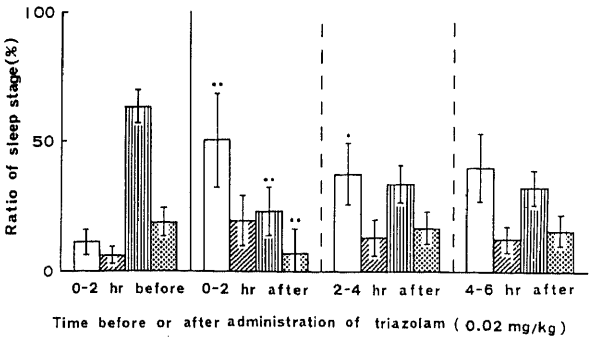

Fig. 16. Graphic representation of percentage of each stage of sleep-wakefulness cycle during 2 hr before and 6 hr after the intravenous injection of triazolam 0.02 mg/kg in each 6 experiments. *, $p<0.05$; **, $p<0.01$ vs. every 2 hr before and after the intravenous injection of NaCl (1 mg/kg) respectively.

V．各薬物の血中濃度

1．トリアゾラムの血中濃度

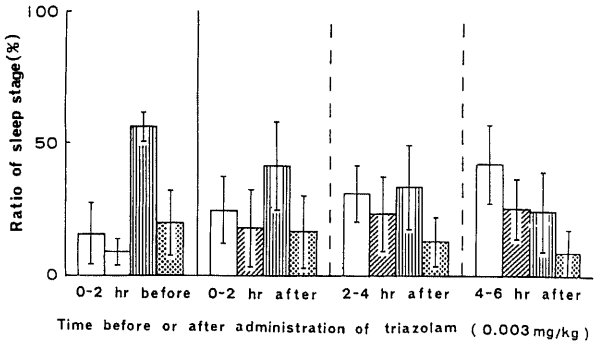

Fig. 17. Graphic representation of the mean of percentage of each stage of sleep-wakefulness cycle during 2 hr before and 6 hr after the intravenous injection of trizolam (0.003 mg/kg) in 6 experiments.

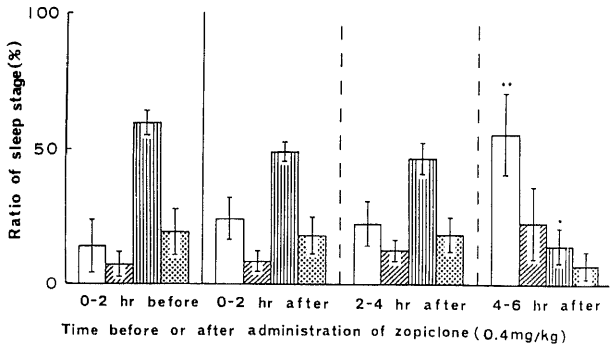

Fig. 18. Graphic representation of the mean of percentage of each stage of sleep-wakefulness cycle during 2 hr before and 6 hr after the intravenous injection of zopiclone (0.4 mg/kg) in each 6 experiments. *, $p<0.05$; **, $p<0.01$ vs. every 2 hr before and after the intravenous injection of NaCl (1 mg/kg) respectively.

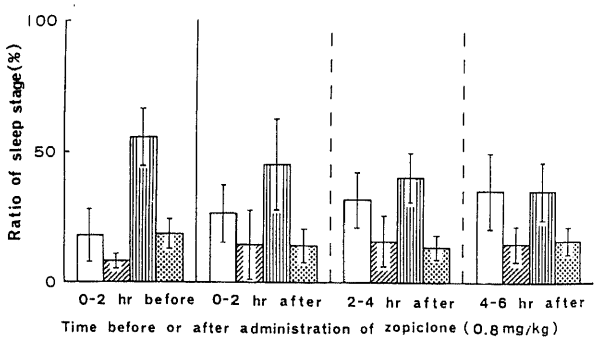

Fig. 19, Graphic representation of the mean of percentage of each stage of sleep-wakefulness cycle during 2 hr before and 6 hr after the intravenous injection of zopiclone (0.8 mg/kg) in each experiments.

図22は，トリアゾラム 0.02mg/kg を静注したあとの血中濃度の時間的推移を追ったもので，全例測定可能であったのは注射後1時間までで，30分で 10ng/ml，1時間で 6ng/ml 程度の値を示し，2相性の減少を示した．

2．ゾルピデムの血中濃度

図23は，ゾルピデム 0.6mg/kg を静注したあとの血中濃度の時間的推移を追ったもので，注射後30分で 100ng/ml，2時間で 20ng/ml 程度の値を示し，3相性の減少を示した．

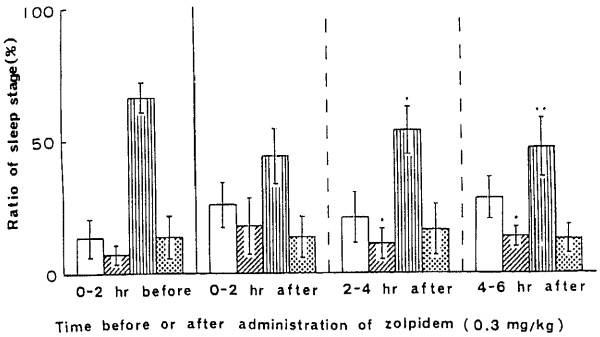

Fig. 20. Graphic representation of the mean of percentage of each stage of sleep-wakefulness cycle during 2 hr before and 6 hr after the intravenous injection of zolpidem (0.3 mg/kg) in each 6 experiments. *, $p<0.05$; **, $p<0.01$ vs. every 2 hr before and after the intravenous injection of NaCl (1 mg/kg) respectively.

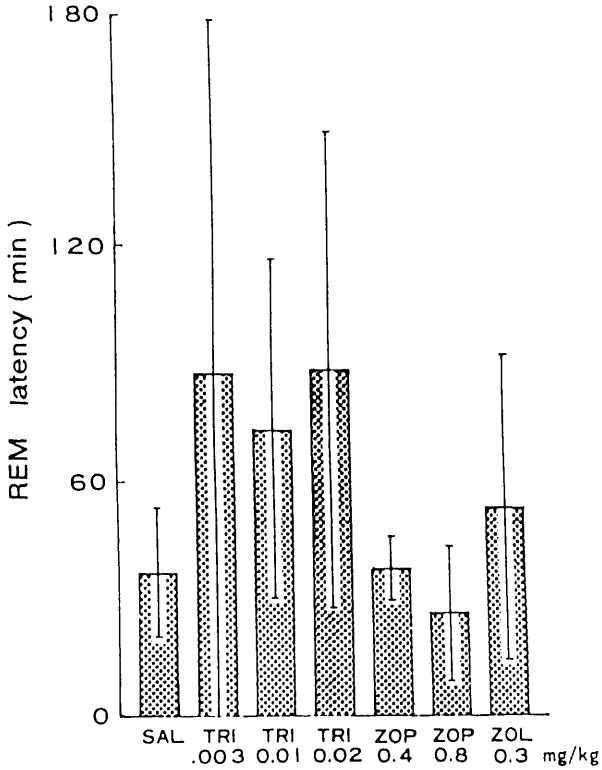

Fig. 21. Comparison of mean latency (min) of appearance of paradoxical sleep after the intravenous injection of saline (SAL), triazolam (TRI) (0.003, 0.01 and 0.02 mg/kg), zopiclone (ZOP) (0.4 and 0.8 mg/kg) and zolpidem (ZOL) (0.3 mg/kg). n=32 for SAL; n=6 for other hypnotics.

考　　察

ベンゾジアゼピン系薬物のジアゼパムの静脈内投与が健忘作用を呈することが1970年頃から報告されており[8)~10)]，また，トリアゾラムの内服が前向健忘のエピソードを惹起することも1976年頃から注目されている[11)12)]．わが国では，1981年に挟間ら[13)]によってトリアゾラムによる短期記憶の障害例が最初に報告された．

竹島ら[6)]はそれよりも先に1968年，すでにネコを使った実験で，ベンゾジアゼピン誘導体のニトラゼパムが，記憶と関係があるといわれている海馬の律動波の周波数に対して，注射前の速い眼球運動のある逆説睡眠期で 6−7Hz のものを，注射後 3−3.5Hz と減少させることを報告し，注意の集中や記憶などに対する影響が強いものと考察した[7)14)21)]．

ところで海馬脳波が，逆説睡眠期ならびに覚醒期に律動的な θ 波の連続を示し，逆説睡眠期でも眼球運動が活発にみられる時，また覚醒期でも，嗅覚や視覚などの刺激に注意をむけた時，その周波数が早くなることは従来から知られている事実である．

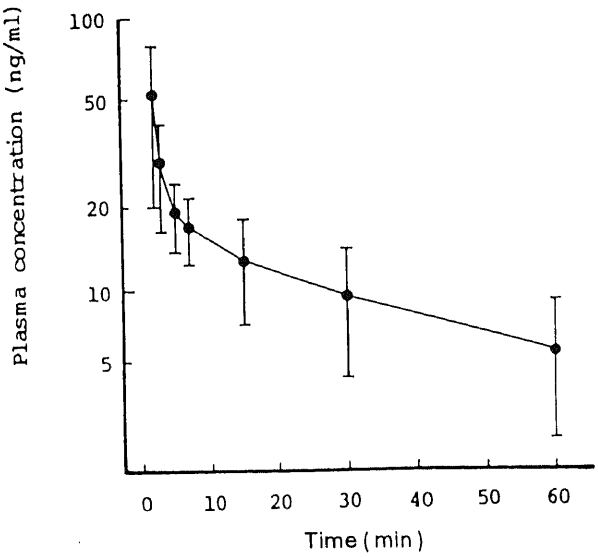

Fig. 22. Plasma concentration-time course of triazolam in cats following a 0.02 mg/kg intravenous injection in 5 experiments.

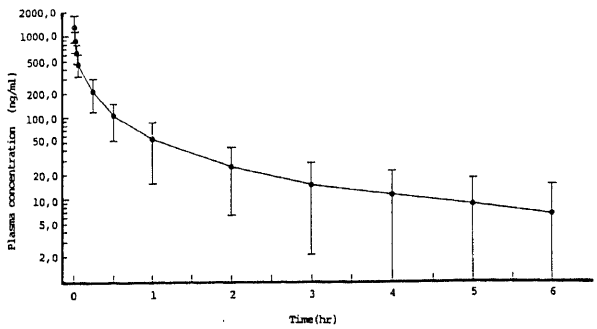

Fig. 23. Plasma concentration-time course of zolpidem in cats following a 0.6 mg/kg intravenous injection in 7 experiments.

また，ネコの条件づけの学習実験で，学習前，広く側頭領域に 3－4Hz の波がみられ，学習が完成すると背側海馬と嗅内皮質 (entorhinal cortex) に限局して，規則的な 5－6Hz の律動波がみられると Adey ら[22)23)]は報告している．

このように，海馬律動波の周波数が早くなることを，海馬の機能の賦活と考えると，逆にその周波数の遅くなることは，海馬の機能の抑制とも仮定することが出来る．Petersen[24)]はスコポラミンを用いた実験から，海馬のコリン作動性ニューロンは短期記憶を長期記憶に転送する役割を持っているのではないかと述べている．従来の実験[6)7)14)21)]と今回のトリアゾラムの実験からも明らかとなったベンゾジアゼピン系薬物による海馬律動波の徐波化が，このような記憶過程に障害を与え，前向健忘などの記憶障害を生ずるものと想定される．したがって，日常臨床ではトリアゾラムのより少量投与が望ましいと思われる．

一方，ゾピクロンはシクロピロロン誘導体であり，ベンゾジアゼピン系化合物と全く異なる構造式を有する非ベンゾジアゼピン系化合物でありながら，ベンゾジアゼピン系薬物と類似の薬理作用を示し[25)]，ヒトへの 10mg の投与で，入眠効果，熟眠効果，覚醒時の状態などに関し，ニトラゼパムとほぼ同等の評価がなされている[26)]．また，ゾピクロンの終夜睡眠脳波に及ぼす影響については，睡眠導入が早く，深睡眠を増加させる一方，REM 睡眠に対する抑制効果が少ないことが報告されている[27)28)]．金ら[29)]は，ゾピクロン 10mg の夜間睡眠と夜間陰茎勃起 (nocturnal penile tumescence, NPT) に及ぼす影響を健康青年男子を対象として研究し，中途覚醒やステージ 1 を減少させ，REM 睡眠や NPT を減少させないことを報告した．

また，ゾルピデムはイミダゾピリジン骨格を有する非ベンゾジアゼピン系睡眠薬で[30)]，放射性リガンドを用いた受容体結合研究 (receptor binding study) からベンゾジアゼピン 1 受容体に対する親和性が特異的に高いとされている[31)]．主作用である入眠作用は速やかであるが，その睡眠持続時間は短く，ラットおよびネコの睡眠・覚醒周期の検討では，生理的睡眠パターンに明らかな変化を起こさないと報告されている[32)33)]．今回の著者の実験でも，投与前の対照と比較すると紡錘波・徐波睡眠期は減少しているが，生食の実験と比較すると軽度の増加がみられ，また海馬律動波に有意な変化を生じせしめないところは，シクロピロロン誘導体のゾピクロンの実験結果[33)34)]と似ている．しかし，今後，投与量を変えての検討も必要かと思われる．

睡眠・覚醒周期に及ぼすベンゾジアゼピン系薬物の影響について吉本[14)]は，逆説睡眠期の抑制，微睡期の増加，徐波睡眠期の減少がすべての薬物でみられ，覚醒期についてはフルラゼパム・ジアゼパム群では覚醒期の増加が著明であり，エスタゾラム・クロナゼパム群でこの増加はほとんどみられず，ニトラゼパムで上記 2 群の中間の増大を認めたと報告している．今回の実験で，トリアゾラムで紡錘波・徐波睡眠期の減少が，ゾピクロンで微睡期の減少が生食と比較して認められた．また，トリアゾラムとゾピクロンとを比較すると，前者では紡錘波・徐波睡眠期の減少が目立つのに，ゾピクロンではほとんど紡錘波・徐波睡眠期に影響が認められず，かえってトリアゾラムと比較して紡錘波・徐波睡眠が多いという印象を受けた．

今回の実験でも，ベンゾジアゼピン系のトリアゾラムは海馬律動波の徐波化をもたらしたことにより，大脳辺縁系に抑制的に作用し，睡眠導入剤としての役割を果たしていると思われるが，一方ゾピクロンおよびゾルピデムは海馬律動波に何等の影響を及ぼさず，トリアゾラムと比較してかえって紡錘波・徐波睡眠期を増加させていることより，大脳辺縁系以外の部位に作用して睡眠薬としての役割を果たしていると思われるので，今後，ゾピクロンおよびゾルピデムの作用する脳部位についてのさらなる検討が必要と思われる．

結　　論

ベンゾジアゼピン系睡眠薬であるトリアゾラム，非ベンゾジアゼピン系睡眠薬であるシクロピロロン誘導体のゾピクロン，およびイミダゾピリジン誘導体のゾルピデムの，海馬律動波ならびに睡眠・覚醒周期に対する影響を，成熟ネコに慢性的に電極を植え込んで，ポリグラムの連続記録ならびに帯域スペクトル分析装置による海馬脳波の周波数分析を行い検索した．ポリグラムならびに行動観察からポリグラムパターンを睡眠・覚醒周期の各期に分類した後，各期の出現率および注射後の逆説睡眠期の出現潜時を算出し，統計学的に検討した．その結果を要約すると次のごとくである．

1．逆説睡眠期の海馬律動波は，ベンゾジアゼピン系薬物のトリアゾラムではその周波数の徐波化を認めたが，非ベンゾジアゼピン系睡眠薬である，ゾピクロンおよびゾルピデム投与では海馬律動波に変化はみとめられなかった．

2．覚醒期の海馬律動波は，ベンゾジアゼピン系薬物のトリアゾラムによってその周波数の徐波化を認めたが，その他の非ベンゾジアゼピン系薬物のゾピクロンおよびゾルピデムでは変化はみられなかった．

3．ベンゾジアゼピン系薬物と非ベンゾジアゼピン系薬物の睡眠覚醒周期に対する影響では，ベンゾジアゼピン系薬物のトリアゾラムでは，覚醒期の増加と紡錘波・徐波睡眠期の減少の傾向がみられた．非ベンゾジアゼピン系薬物のゾピクロンでは紡錘波・徐波睡眠期がトリアゾラムに比べて多い傾向がみられた．また，ゾルピデムでは注射後 2 時間にわたり紡錘波・徐波睡眠期の減少の傾向がみられた．

4．各段階の出現率，逆説睡眠期の出現潜時からみた睡眠薬の影響は，トリアゾラムでは 0.01mg/kg 静注後 6 時間にわたり覚醒期の増加と紡錘波・徐波睡眠期の減少が認められ，0.02mg/kg 静注後では，注射後 4 時間にわたり覚醒期の増加と，注射後 2 時間で紡錘波・徐波睡眠期と逆説睡眠期の減少が認められた．ゾピクロン 0.4mg/kg では，注射後 2 時間で微睡期が減少していた．また，注射後 6 時間で覚醒期の増加と紡錘波・徐波睡眠期の減少が認められ，0.8mg/kg では生食投与群と有意な差は認めなかった．ゾルピデム 0.3mg/kg 静注後 4 時間，6 時間では，紡錘波・徐波睡眠が増加していた．出現潜時では，トリアゾラム，ゾピクロン，ゾルピデムの各逆説睡眠期の出現潜時は生食の逆説睡眠期の出現潜時と比較して有意差はみられなかった．

謝　　辞

稿を終えるに臨み，終始，御懇篤なる御指導，御校閲を賜りました恩師山口成良教授に深甚の謝意を捧げます．また，統計処理について御助力を賜りました中村圭佐教授（福井大学教育学部心理学教室），吉本博昭博士（富山市民病院精神科），研究に対しての直接の御指導，御協力を賜りました伊藤達彦博士（福井県立精神病院），窪田三樹男医学士（厚生連高岡病院精神科），清田吉和医学士（石川県立高松病院），久保田陽介医学士に深謝します．さらに種々の御援助をいただいた教室員の皆様方に心から感謝致します．

文　献

1) **Jung, R. & Kornmüller, A. E.**: Eine Methodik der Ableitung lokalisierter Potentialschwankungen aus subcorticalen Hirngebieten. Arch. Psychiatr. Nervenkr., **109**, 1-30 (1939).

2) **Green, J. D. & Arduini. A.**: Hippocampal electrical activity in arousal. J. Neurophsiol., **17**, 533-557 (1954).

3) **Jouvet, M., Michel, F. & Courjon, J.**: Sur un stade d'activité électrique cérébrale rapide au cours du sommeil physiologique. C. R. Soc. Biol., **153**, 1024-1028 (1959).

4) **Shimazono, Y., Horie, T., Yanagisawa, Y., Hori, N., Chikazawa, S. & Shozuka, K.**: The correlation of the rhythmic waves of the hippocampus with the behaviors of dogs. Neurol. Med. Chir. Tokyo, **2**, 82-88 (1960).

5) **Randall, L. O., Schallek, W., Scheckel, C., Bagdon, R. E. & Rieder, J.**: Zur Pharmakologie von Mogadon, einem Schlafmittel mit neuartigem Wirkungsmechanismus. Schweiz. Med. Wsch., **95**, 334-337 (1965).

6) **竹島俊雄，山口成良，岡部雅夫，安藤次郎，武内　徹，島薗安雄**: Nitrazepam の催眠作用についての動物実験ならびに臨床経験・脳と神経，**20**, 209-216 (1968).

7) **竹島俊雄**：ネコの睡眠・覚醒機構に対する睡眠薬（主に Nitrazepam および γ-Hydroxybutyric Acid）の影響について．精神経誌，**73**, 495-532 (1971).

8) **Clarke, P. R. F., Eccersley, P. S, Frisby, J. P. & Thornton, J. A.**: The amnesic effect of diazepam (Valium). Brit. J. Anaesth., **42**, 690-697 (1970).

9) **Dundee, J. W. & Pandit, S. K.**: Anterograde amnesic effects of pethidine, hyoscine and diazepam in adults. Br. J. Pharmac., **44**, 140-144 (1972).

10) **Gregg, J. M., Ryan, D. E. & Levin, K. H.**: The amnesic actions of diazepam. J. Oral. Surg., **32**, 651-664 (1974).

11) **Kales, A., Kales, J. D., Bixler, E. O., Scharf, M. B. & Russek, E.**: Hypnotic efficacy of triazolam: sleep laboratory evaluation of intermediate-term effectiveness. J. Clin. Pharmacol., **16**, 399-406 (1976).

12) **Leibowitz, M. & Sunshine, A.**: Long-term efficacy and safety of triazolam and flurazepam. Clin. Pharmacol. Ther., **21**, 109 (1977).

13) **挟間秀夫，川原隆造**：新 benzodiazepine 製剤 (triazolam) による短期記憶の障害．精神医学，**23**, 361-365 (1981).

14) **吉本博昭**：ネコの海馬律動波ならびに睡眠・覚醒周期に対する向精神薬（主に Benzodiazepine 系薬物）の影響ついて．十全医会誌，**88**, 452-487 (1979).

15) **Billiard, M., Dreyfus, J. F. & Roth, T.**: Zopiclone and Sleep Research. Sleep, **10** (Suppl. 1), 1-87 (1987).

16) **Sauvanet, J. P., Langer, S. Z. & Morselli, P. L.**: Imidazopyridines in Sleep Disorders: A Novel Experimental and Therapeutic Approach. L. E. R. S. Monograph Series, 6, 1st ed., p1-400, Raven Press, New York, 1988.

17) **Yamaguchi, N., Ling, G. M. & Marczynski, T. J.**: Recruiting responses observed during wakefulness and sleep in unanesthetized chronic cats. Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol., **17**, 246-254 (1964).

18) **Jasper, H. H. & Ajmone-Marsan, C.**: A Stereotaxic Atlas of the Diencephalon of the Cat, 1st ed., p1-70, The National Research Council of Canada, Ottawa, 1954.

19) **山口成良，近沢茂夫，安藤次郎，竹島俊雄，武内　徹**: 睡眠と覚醒水準に対する向精神薬の影響．神経進歩，**14**, 677-685 (1971).

20) **岩原信九郎**：教育と心理のための推計学，第14版，241-243 頁，日本文化科学社，東京，1971.

21) **山口成良，牧原　衛，窪田三樹男，吉本博昭，中村圭佐**：海馬律動波に及ぼす向精神薬の影響．精神薬療基金研究年報，**8**, 108-133 (1977).

22) **Adey, W. R., Dunlop, C. W. & Hendrix, C. E.**: Hippocampal slow waves: distribution and phase relationships in the course of approach learning. A. M. A. Arch. Neurol., **3**, 74-90 (1960).

23) **Adey, W. R., Walter, D. O. & Hendrix, C. E.**: Computer techniques in correlation and spectral analyses of cerebral slow waves during discriminative behavior. Exp. Neurol., **3**, 501-524 (1961).

24) **Petersen, R. C.**: Scopolamine induced learning failures in man. Psychopharmacology, **52**, 283-289 (1977).

25) **Ueki, S.**: Behavioral pharmacology of zopiclone. Sleep, **10** (Suppl. 1), 1-6 (1987).

26) **森　温理，井上令一，金子嗣郎，風祭　元，菅野　道，小島卓也，諏訪克行，高橋三郎，鳥居方策，内藤明彦，難波益行，野口拓郎，長谷川和夫，村崎光邦，山口成良，大熊輝雄**：二重盲検法による zopiclone と nitrazepam の不眠症に対する薬効比較．精神医学，**27**, 561-572 (1985).

27) **Jovanovic, U. J. & Dreytus, J. F.**: Polygraphical sleep recordings in insomnia patients under zopiclone or nitrazepam. Pharmacology, **27** (Suppl. 2), 136-145 (1983).

28) **Kanno,O., Watanabe, H., Fuchino, K., Emura, Y. & Kazamatsuri, H.**: Effects of zopiclone and nitrazepam on sleep EEG in healthy volunteers. *In* R. Yakuhin (ed.), Symposium on Zopiclone, 1st ed., p119-128, Rhodia Yakuhin, Tokyo, 1981.

29) **金　英道，浜原昭仁，林　卓也，森川恵一，佐野　譲，古田寿一，山口成良**：ゾピクロンの夜間睡眠および陰茎勃起に及ぼす影響について．神経精神薬理，**8**, 29-36 (1986).

30) **George, P., Rossey, G., Depoortere, H., Mompon, B., Allen, J. & Wick, A.**: Zolpidem and related compounds: syntheses, physical properties and structure-activity relationships. *In* J. P. Sauvanet, S. Z. Langer & P. L. Morselli (eds.), Imidazopyridines in Sleep Disorders, 1st ed., p11-23, Raven Press, New york, 1988.

31) **Langer, S. Z., Arbilla, S., Scatton, B., Niddam, R. & Dubois, A.**: Receptors involved in the mechanism of action of zolpidem. *In* J. P. Sauvanet, S. Z. Langer & P. L. Morselli (eds.). Imidazopyridines in Sleep Disorders, 1st ed., p55-70, Raven Press, New York, 1988.

32) **Deppoortere, H., Zivkovic, B., Lloyd, K. G., Sanger, D. J., Parrault, G., Langer, S. Z. & Bartholini, G.**:

Zolpidem, a novel non-benzodiazepine hypnotic. I. Neuropharmacological and behavioral effects. J. Pharmaco. Exp. Ther., 237, 649-658 (1986).

33) 山口成良，清田吉和，久保田陽介，木戸日出喜，坂本宏，伊藤達彦，吉本博昭，中村圭佐，窪田三樹男，秋山典子：ベンゾジアゼピン系と非ベンゾジアゼピン系睡眠薬のネコ海馬律動波に及ぼす影響．精神薬療基金研究年報，21，92-99 (1990).

34) 山口成良，久保田陽介，木戸日出喜，坂元　宏，清田吉和，伊藤達彦，吉本博昭，中村圭佐，窪田三樹男，秋山典子：ベンゾジアゼピン系と非ベンゾジアゼピン系睡眠薬のネコの睡眠・覚醒周期に対する影響についての比較研究．精神薬療基金研究年報，23，20-27 (1992).

Comparative Study of Effects of Benzodiazepine and Non-benzodiazepine Hypnotics on the Hippocampal Rhythmic Activity and on the Sleep-wakefulness Cycle in Cats

Noriko Akiyama, Department of Neuropsychiatry, School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920
— J. Juzen Med Soc., **102**, 847—856 (1993)

Key words triazolam, zopiclone, zolpidem, sleep-wakefulness cycle, hippocampal rhythmic activity

Abstract

Hippocampus is known to be involved in the mental functions such as attention and memory. Therefore, the effects of benzodiazepine hypnotics (triazolam), which is reported to induce anterograde amnesia, and nonbenzodiazepine hypnotics, a cyclopyrrolone derivative (zopiclone) and an imidazopyridine derivative (zolpidem) on the hippocampal EEG and the sleep-wakefulness cycle were investigated in unanesthetized unrestrained cats, and tried to discuss the effects of hypnotics on the hippocampal functions. The frequency of the hippocampal rhythmic activity during the paradoxical sleep and wakefulness reduced after the application of triazolam (0.01-0.02 mg/kg). On the other hand, there were no changes in the frequency of hippocampal rhythmic activity after the administration of zopiclone (0.4 mg/kg) and zolpidem (0.3 mg/kg). The application of triazolam tended to increase the duration of the wakefulness stage and to decrease that of the spindling and slow-wave sleep stage. During 4-6 hr after the administration of zopiclone (0.4 mg/kg), an increase in the duration of the wakefulnness stage and a decrease in the spindling and slow-wave sleep stage were observed. However, there were no significant changes in the durations of sleep-wakefulness stages after the administration of zopiclone (0.8 mg/kg), when compared with those after saline (NaCl 1 mg/kg) administration. The administration of zolpidem (0.3 mg/kg) elicited a reduction in the duration of spindling and slow-wave sleep stages for 2 hr after the administration, but thereafter the increase in the duration of spindling and slow-wave sleep stages were observed. These results suggested that benzodiazepine hypnotics introduce the hypnotic effects by the inhibitory functionings on the limbic system. On the other hand, we should examine whether nonbenzodiazepine hypnotics take effects on the other brain structures apart from the limbic system.