

Therapeutic Trials of Thyrotropin-Releasing Hormone(TRH) and Its Analog, DN-1417 in Lennox-Gastaut Syndrome

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/2297/7926

Lennox-Gastaut 症候群への TRH および TRH アナグロ DN-1417 療法の試み

金沢大学医学部小児科学教室 (主任: 谷口 昂教授)

京 谷 征 三

(昭和62年1月16日受付)

thyrotropin-releasing hormone (L-pyroglutamyl-L-histidyl-L-prolinamide, TRH) は、その内分泌作用以外に多様な中枢神経作用を有し、かつ中枢神経系に広汎に存在することが知られている。今回 Lennox-Gastaut 症候群 (LGS) の患児 9 例に TRH およびアナログ、 γ -ブチロラクトン- γ -カルボニル-L-ヒスチジル-L-プロリナミドチトラート (γ -butyrolactone- γ -carbonyl-L-histidyl-L-prolinamide citrate, DN-1417) を投与し、てんかん発作抑制効果、脳波像に及ぼす影響、脳脊髄液 (CSF) 中のモノアミン代謝産物であるホモバニリン酸 (homovanilic acid, HVA)、3-メトキシ-4-ヒドロキシマンデル酸 (3-methoxy-4-hydroxy mandelic acid, VMA)、3-メトキシ-4-ヒドロキシフェニルグリコール (3-methoxy-4-hydroxyphenylglycol, MHPG)、5-ヒドロキシインドール酢酸 (5-hydroxyindoleacetic acid, 5HIAA) 濃度への影響、血清 thyroid-stimulating hormone (TSH)、サイロキシン (thyroxine, T_4)、トリヨードサイロニン (triiodothyronine, T_3) プロラクチン (prolactin, PRL) 値を測定し、内分泌学的影響を検索した。TRH 静注、DN-1417 筋注おのおの $40 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ を 14 日間連日投与を試みた。脳波記録、CSF、血清採取は投与前、中、後、および 4 週後日に施行した。その結果、TRH 3 例、DN-1417 8 例、全例にててんかん発作抑制効果を認め (発作頻度 50% 減少以上)、その抑制効果持続期間は治療後 10 週に及んだ。脳波像への影響は、一般に基礎波では不規則高振巾 δ 波主調から規則化、低振巾化、 θ 波主調への変化、また発作波では汎性発作波の消褪、またはその出現頻度の減少を認めた。CSF モノアミン代謝産物濃度の変化では、HVA, VMA, MHPG, 5HIAA とも発作抑制効果と関連した一定変動を示さなかった。内分泌機能への影響は TSH, T_4 , T_3 , PRL とも正常範囲内の変動にとどまった。以上より、LGS の難治性小発作群の治療に TRH, DN-1417 は極めて有効であり、その作用機序は明らかではないが、てんかん発作頻度の減少とともに ataxia の改善を認めた症例があること、脳波像に及ぼす変化よりみて、両剤が間脳、脳幹、小脳を作用点とする neuromodulator である可能性が示唆された。

Key words Lennox-Gastaut syndrome, thyrotropin-releasing hormone, TRH analog, DN-1417, CSF monoamines

Lennox-Gastaut 症候群 (LGS) は、多彩な小発作群、脳波上の slow spike-wave complex (slow sp-w)、知能障害を 3 主徴とし、種々の病因に基因する症候群であるが、その小発作群は各種抗痙攣剤に抵抗性であるとされてきた¹⁾²⁾。ことに小発作群の中でも、主要発作である tonic spasm (brief tonic seizure) と

atypical absence に関しては、今日もなお、種々の抗痙攣剤に抵抗性を示し、小児難治性てんかんの中核をなし、そのてんかん学的病態、治療の困難性は絶えず問題にされてきた。

一方、thyrotropin-releasing hormone (TRH) は視床下部ホルモンとして thyroid-stimulating

Abbreviations: CSF, cerebrospinal fluid; DHBA, dihydroxybenzylamine; DN-1417, γ -butyrolactone- γ -carbonyl-L-histidyl-L-prolinamide citrate; 5HIAA, 5-hydroxyindoleacetic acid; HPLC, high-performance liquid chromatography; HVA, homovanilic acid; LGS, Lennox-Gastaut syndrome; MHPG, 3-methoxy-4-hydroxyphenylglycol; PRL, prolactin;

hormone (TSH) およびプロラクチン (prolactin, PRL) 分泌を促することより、内分泌疾患の検査診断用に使用されてきた。しかし、近年 TRH のラジオイムノアッセイも可能となり、各脳内組織濃度が検討され、TRH が視床下部のみならず、大脳、小脳、脳幹部を含む脳内に広く分布し^{9)~9)}、その内分泌作用とは別に中枢神経作用をもつことが確認され^{9)~9)}、神経伝達物質ないしは neuromodulator⁹⁾¹⁰⁾としての生理的役割が注目を浴びている。こうした TRH の生理学的作用については、TRH の血中半減期が数分と極めて短かく¹¹⁾¹²⁾、急速に不活化されることより、既知の神経伝達物質、ノルアドレナリン^{13)~15)}、ドーパミン¹⁶⁾、セロトニン¹⁷⁾、アセチルコリン¹⁸⁾¹⁹⁾、GABA²⁰⁾、グルタミン酸²¹⁾との関係、とくに脳内モノアミンとの関連を論じたものが圧倒的に多い。また、臨床的には、うつ病²²⁾²³⁾、精神分裂病^{24)~28)}、意識障害^{27)~29)}、脊髄小脳変性症³⁰⁾³¹⁾の治療効果も報告されている。

そこで今回、TRH およびそのアナログである γ -ブチロラクトン- γ -カルボニル-L-ヒスチジル-L-プロリナムイドチトラート (γ -butyrolactone- γ -carbonyl-L-histidyl-L-prolinamide citrate, DN-1417) を LGS 患児に投与し、難治性てんかん発作抑制効果を検討した。

なお、新たに開発された DN-1417 は、TRH より TSH 放出活性が軽微であるが、より強力かつ持続的な中枢神経作用を有し⁷⁾⁸⁾、筋肉内投与でも静脈内投与とほぼ同程度の作用を発揮し、吸収も良好とされている。

その臨床応用の根拠としては、第 1 に LGS の主要発作の中に、特有の astatic seizure と呼ばれる小脳関与³²⁾の発作型が認められ、それが重視されていること³³⁾、第 2 に LGS 患児の CT 所見から小脳萎縮を認める症例³⁴⁾のあること、第 3 に動物実験で小脳電気刺激による痙攣発作抑制効果^{35)~38)}を認め、さらに実際に、1973 年、Cooper³⁹⁾がそれをてんかん患者に臨床応用を試みていること、第 4 に 1980 年 Sobue ら³⁰⁾により小脳脊髄変性症の患者に TRH を投与、失調歩行の改善と行動量の増加を認めたとの報告があること、以上 4 点である。

以上の根拠に基づき、TRH が小脳機能への neuro-modulator として作用し、ひいては抗てんかん作用の可能性を想定して、LGS 患児 9 例に TRH および TRH アナログ DN-1417 の臨床的応用を試み、その作用機序を検索した。

対象および方法

I. 症 例

国立療養所富山病院小児科および同院重症心身障害児病棟入院中の LGS 患児 9 例である。

LGS の診断基準は、①小発作群を認め、今日 LGS の第 1 選択であるベンゾジアゼピン系薬剤とバルプロン酸の併用治療に抵抗すること、②精神発達遅滞を認めること、③6 カ月以内に脳波上 slow sp-w を認めることの 3 点によった。

LGS 患児 9 例の臨床像を表 1 にまとめた。性別は男児 5 例女児 4 例であり、TRH 治療 3 例、DN-1417 治療 8 例の計 11 例である。治療開始時の年齢範囲は 2 歳 7 カ月~11 歳 6 カ月 (平均 6 歳 5 カ月) となった。臨床発作型では tonic spasms を 9 例中 8 例に、myoclonic seizure を 9 例中 2 例に認めた。精神発達遅滞以外の合併の合併症では、脳性麻痺が 9 例中 5 例に、ataxia が 9 例中 2 例に認められた。その病因については ataxia を認める 2 例 (但し 1 例は Ramsay-Hunt 症候群とした)を除き、いずれも非特異的病因による脳障害と考えられた。なお、治療研究中の抗痙攣剤の投薬変更は行われなかった。

II. 使用薬剤と投与方法

TRH は酒石酸プロチレリン (L-pyroglutamyl-L-histidyl-L-prolinamide-L-tartrate, monohydrate 武田薬品工業 (株))を用いた。TRH, DN-1417 の化学構造式を図 1 に示した。

TRH は 1 アンプル (0.5 mg) を 10 ml 生理食塩水に溶解、DN-1417 は 1 バイアル (1 mg あるいは 2 mg 含有凍結乾燥製剤) を 5% ソルビトール注射液 2 ml に溶解し、おのおの 40 μ g/kg/日 を、TRH は静注、DN-1417 は筋注にて連日 14 日間投与とした。なお、DN-1417 静注使用時はさらに生理食塩水 10 ml に溶解使用した。

III. てんかん発作、ataxia の臨床評価

てんかん発作頻度記録は、治療開始前 4 週間、治療中 2 週間、終了後 18 週間の計 24 週間の観察記録を行った。なお、myoclonic seizure の発作頻度頻回の場合は、1 シリーズ 1 回と数え、2 発作型以上を有する場合は加算した。治療効果の判定基準として、治療前 4 週の週平均 50% 以上の減少を有効とした。

ataxia の評価については、truncal ataxia を中心に 4 段階に分け、覚醒時全般にわたり摂食不能、あるいは

RMN, rolling mouse Nagoya; slow sp-w, slow spike-wave complex; T₄, thyroxine; T₃, triiodothyronine; TRH, thyrotropin-releasing hormone; TSH, thyroid stimulating hormone; VMA, 3-methoxy-4-hydroxymandelic acid.

Table 1. Clinical features of nine patients with the Lennox-Gastaut syndrome

Patient	Sex	Age of start of therapy	Therapy	Clinical seizure type	Previous medication	Cognitive deficits	Etiological factors
1	F	2 yr 7 mo 3 yr 0 mo	TRH DN-1417	myoclonic seizure tonic spasms	NZP VPA	CP MR ataxia	unknown
2	F	3 yr 0 mo	DN-1417	tonic spasms	CZP CBZ VPA PHT	mild MR	unknown
3	F	4 yr 1 mo	DN-1417	tonic spasms	CZP PHT PB VPA	CP MR	anoxic encephalopathy
4	M	5 yr 6 mo 8 yr 6 mo	TRH DN-1417	tonic spasms	NZP PB PHT VPA	CP MR	unknown
5	M	6 yr 7 mo	TRH	myoclonic seizure tonic spasms	CZP DZP Vit.B ₆	MR ataxia	Ramsay-Hunt syndrome
6	M	8 yr 4 mo	DN-1417	tonic spasms myoclonic seizure	CZP CBZ PB PHT VPA	CP MR	subdural hematoma
7	M	8 yr 7 mo	DN-1417	tonic spasms	CZP PB VPA	CP MR	intracranial hematoma
8	M	8 yr 9 mo	DN-1417	tonic spasms (head drop attack)	CZP VPA CBZ	MR	unknown
9	F	11 yr 6 mo	DN-1417	astatic seizure atypical absence	CZP PB VPA	MR	unknown

Abbreviation used: NZP, nitrazepam; VPA, sodium valproate; CZP, clonazepam; CBZ, carbamazepine; PHT, phenytoin; PB, phenobarbital; DZP diazepam, Vit.B₆; pyridoxal phosphate; CP, cerebral palsy; MR, mental retardation.

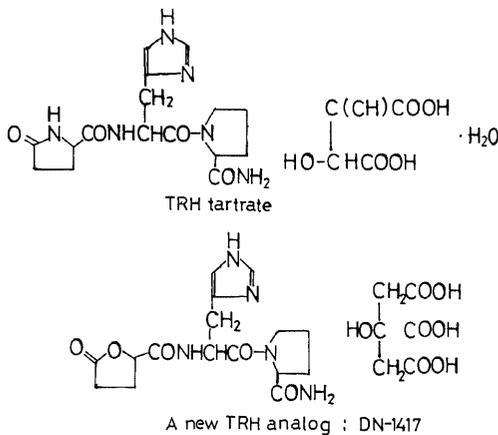


Fig. 1. The chemical structures of protirelin tartrate (TRH) and TRH analog, DN-1417.

は立位保持不能を4度, 摂食困難, 歩行困難を3度, ataxiaを認め日常基本動作に支障をきたすを2度, ataxiaを認めるが, 日常基本動作に支障がないを1度, ataxiaを認めないを0度とし評価の基準とした。

IV. 脳波記録

脳波は三栄測器製多用途脳波計1A57を用い, 電極配置は10/20法, 単極誘導にて, 全ての記録をトリクロロールシロップ (monosodium trichlorethyl phosphate 日本グラソ (株)) 1 ml/kg 負荷による賦活睡眠記録とし, Dementら⁴⁰のステージ II 状態を記録した。記録は治療開始前日, 終了後日, 4週後と各例につき3回記録した。

V. 脳脊髄液 (cerebrospinal fluid, CSF) 中のモノアミン代謝産物の測定

ホモバニリン酸 (homovanilic acid, HVA), 3-メトキシ-4-ヒドロキシマンデル酸 (3-methoxy-4-hydroxymandelic acid VMA), 3-メトキシ-4-ヒドロキシフェニルグリコール (3-methoxy-4-hydroxyphenylglycol, MHPG), 5-ヒドロキシインドール酢酸 (5-hydroxyindoleacetic acid, 5HIAA) の測定のためのCSF採取は, 腰椎穿刺により, TRH 3例, DN-1417 8例につき, 治療前日, 7日後, 終了後日, 4週後の4回施行した。採取されたCSFは穿刺初期の3 mlで, 直ちに-40°Cで凍結保存し, 2週間以内に測定した。

CSF 2.0 mlに6N HCl 2滴を添加し, 試料のpHを酸性側とし, 煮沸浴中に15~20分侵し, 加水分解する。さらに冷却後, 3M HCl-KCl系緩衝液 (pH 1.0) 1.5

ml 加え、酢酸エチル 5.0 ml で 2 回抽出する。この酢酸エチル層を減圧下で蒸発乾固し、残渣を 0.5 ml の 0.01 M リン酸緩衝液 (pH 3.6) とアセトアニルの混合液 (移動相) に溶解させ、その 50 μ l を高速液体クロマトグラフィ (high-performance liquid chromatography, HPLC) (日立 655 型) に注入、逆相カラム (SLC-53, (15 cm \times 4.6 cm) 半井化学薬品 (株)) で流速 1.0 ml/分 で分離した。

自然蛍光用検出器 (Fp-540, 日本分光工業) はカテコールアミン専用 (Ex 280 nm, Em 310 nm), セロトニン専用 (Ex 285 nm, Em 350 nm) の 2 台を連続し測定した。

本測定法の検出限界は HVA, VMA, MHPG, 5HIAA とも 1.0 ng であった。

VI. 内分泌機能検査

血清 thyroid stimulating hormon (TSH), サイロキシ (thyroxine, T_4), トリヨードサイロニン (triiodothyronine, T_3), プロラクチン (prolactin, PRL) の測定はラジオイムアッセイ法により、使用キットは TSH キット「第一」、 T_4 はスパック T_4 RIA キット, PRL はプロラクチンキット「第一」(以上第一ラジオアイソトープ研究所 (株)), T_3 は GAMMACOAT (125 I) T_3 RIA KIT Travenol Lab, Ins. 米国) で測定した。

対象は TRH 3 例, DN-1417 4 例, 採血時間は、投与前日, 7 日後投与前, 投与後日いずれも午前 10 時とした。

VII. 動物実験

TRH, DN-1417 の作用機序を明らかにする目的で、1954 年に国立予防研究所の今泉らによって発見され、命名された痙攣系の EI マウスを用い、1 放り上げ刺激回数と発作誘発に及ぼす影響、2 脳内、副腎カテコールアミンに及ぼす影響を検索した。

なお、この EI マウスは生後 8 週頃より、平衡感覚を失わせるような放り上げ刺激 (約 15~20 cm の高さに放り上げる) により、容易に全身性强直性間代性痙攣をおこすことで知られている。

1. 放り上げ刺激回数と発作誘発に及ぼす影響の検索

8 週令の EI マウス、各 6 匹に TRH, DN-1417 30 μ g (10^{-7} mole) を、対照として 5 匹に生理食塩水 0.06 ml をそれぞれ 10 日間腹腔内注を施行した。放り上げ刺激は、前日、注射後 1 時間目に 10 日間、中止後 3 日間施行し、100 回刺激にて発作誘発のないものを seizure-free として数えた。

2. 脳内、副腎カテコールアミンの測定

3. 4, 5 週令の EI マウス、それぞれ 5 匹に TRH,

DN-1417 各 30 μ g, 対照に生理食塩水 0.06 ml を 10 日間連日腹腔内注射し、13 日目にエーテル麻酔下に断頭し、全脳を摘出した。摘出脳は直ちに、大脳、中脳、小脳、脳幹部に切分し、0.1 M 過塩素酸 1 ml でホモジナイズし、4 $^{\circ}$ C, 2.500 \times g, 10 分間遠心、上清を -20 $^{\circ}$ C で凍結保存し、各部のカテコールアミン測定に使用した。副腎も同様に処理した。

カテコールアミン測定法は、先の上清抽出液 0.5 ml に 0.5 ml Tris-HCl buffer (pH 8.6) 2.0 ml, 吸着性アルミナ (和光純薬品工業 (株)) 50 mg, ジヒドロキシベンジルアミン (dihydroxybenzylamine, DHBA) 10 ng を加え、30 分間軽く振盪した。沈降後、上清を吸引、アルミナを蒸留水 2 ml で 3 回洗浄した。吸着されたカテコールアミンを 0.1 M 過塩素酸 100 μ l に溶出し、中 10~20 μ l を測定に使用した。DHBA からのカテコールアミンの回収率は 66 \pm 7% であった。

測定は電気化学検出器 (Coulochem 5100A ESA ins. 米国) による HPLC (島津 LC 5A) を用いた電気化学検出法によった。

標準として重酒石酸ノルアドレナリン、重酒石酸アドレナリン、塩酸ドーパミン、DHBA bromide (Sigma Chem. Co.) を 0.1 μ l 過塩素酸に 100 μ l 濃度で溶解し、5~10 μ l 使用した。標準試料の測定内変動係数は 5% 以内であった。

VIII. 統計学的検定法

モノアミン代謝産物の測定値はすべて平均値 \pm 標準偏差で示した。平均値の有意差検定には、Student's t-test を用いた。

成 績

I. TRH, DN-1417 の脳波像に及ぼす急速効果とその持続

症例 4 に TRH 静注、症例 2 に DN-1417 静注、症例 6 に DN-1417 筋注、各 1 回 40 μ g/kg 投与を試み、脳波像に及ぼす急速効果とその持続を比較検討するため、長時間脳波記録を施行した。基礎波およびパターン、発作波の発現頻度の変化をみた。

TRH 静注の症例 4 では、投与前、基礎波は高振幅の波主調 suppression-burst パターンとなっており、発作波では頻回に diffuse polyspike-wave の出現を認めている (図 2a)。投与後 30 秒では suppression-burst に代わり、中等度から高振幅の θ 波、 θ 波が主調をなし、diffuse polyspike-wave の出現頻度は著減 (図 2b)、さらに 7 分後では、基礎波は低振幅から中等度振幅の θ 波が主調となり、diffuse polyspike-wave は認められない (図 2c)。30 分後には再び投与前脳波像に戻っている (図 2d)。

DN-1417 静注の症例 2 では、投与前、基礎波は中等度から高振巾 θ 波に、同振巾 δ 波を混じており、それに頻回に汎性鋭波の出現を認めている (図 3a)。投与後 15 分、基礎波は高振巾化、発作波では頻回に汎性鋭波、slow sp-w の出現を認めた (図 3b)。しかし臨床発作は認めなかった。投与後 18 分より、基礎波は低振巾から中等度振巾 θ 波、 δ 波主調となり、汎性鋭波を散在性に認めるが激減 (図 3c)、投与後 90 分より漸時投与前の基礎波、発作波出現頻度に戻っている (図 3d)。

DN-1417 筋注の症例 6 では、投与後 3 時間の長時間脳波記録を施行したが、基礎波および発作波出現頻度への影響は認められなかった。

II. TRH, DN-1417 の長期的てんかん発作抑制効果

発作頻度に及ぼす影響を図 4 に示した。縦軸に 1 週間の発作頻度、横軸に各治療前 4 週から治療後 18 週までの期間をとって比較した。

症例 1, 症例 4, それぞれ TRH, DN-1417 各 1 例の 2 例においてのみ治療期間中に一過性増悪を示したが、治療以後全例において開始前 4 週に比較して発作頻度の減少を示し、その平均発作頻度数の減少は 10 週から 16 週にわたり、両剤とも臨床てんかん発作抑制効

果が認められ、その持続は 16 週、治療後 10 週に及んだ。

III. TRH, DN-1417 の脳波像への長期的影響

治療前後、4 週後の脳波所見について、基礎波とパターンおよび発作波に分けて表 2 A, B としてまとめ、さらに TRH および DN-1417 の両剤の治療を試みた症例 1 について、治療前後の脳波像を示した (図 5)。

基礎波およびそのパターンについて、基礎波は 9 例 11 治療、全ての治療前脳波記録において、中等度から高振巾 δ, θ 波主調であり、中 4 例 (症例 1, 2, 6, 9) の治療前記録では、とくにその律動不整が目立った。そのパターンにおいて suppression-burst を示したものは 3 例 (症例 4, 7, 8) であった。治療後の基礎波の変化は、律動不整の改善は 11 治療中 6 例 (suppression-burst の 2 例を含む)、高振巾から中等度振巾、中等度振巾から低振巾へと、低振巾化を認めた例は 11 治療中 7 例に認め、逆に 1 例 (症例 7) にのみ高振巾化を認めた。また、基礎波の δ 主調から θ 波主調に変化したものは、11 治療中 6 例であった。治療前記録において suppression-burst を示した 3 例につき 4 治療中 4 例において、そのパターンの消褪を認めた。さらに治療後 4 週の時点で、治療前の基礎波に戻った

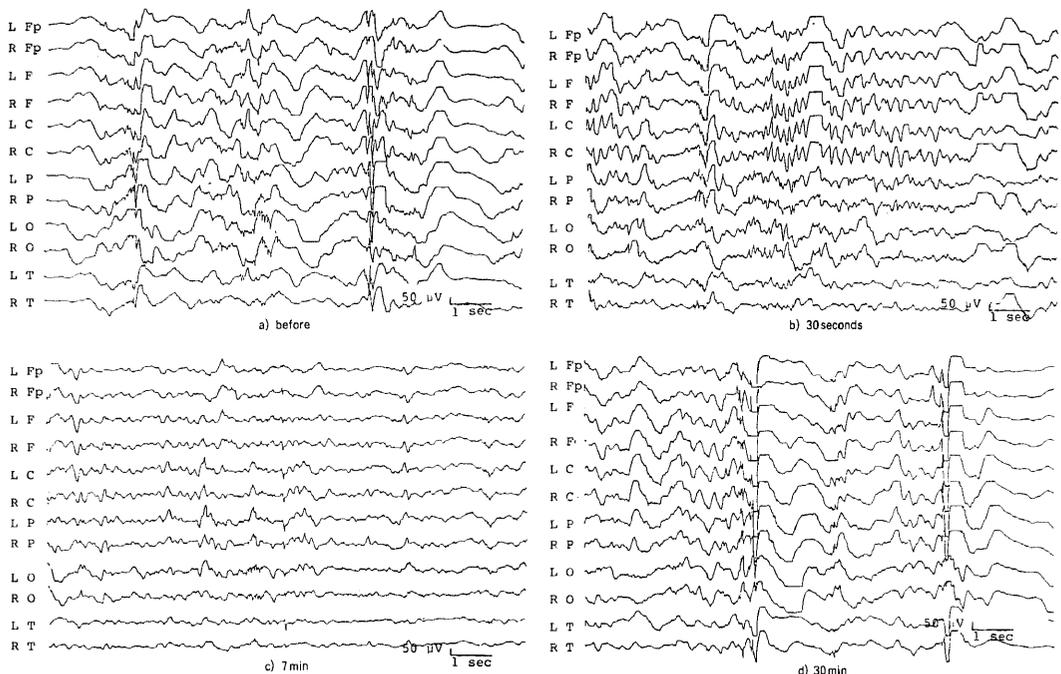


Fig. 2. Serial changes in EEG pattern after an intravenous bolus (40 $\mu\text{g}/\text{kg}$) of TRH administration (case 4). a) before TRH (suppression-burst pattern), b) 30 seconds after TRH, c) 7 min after TRH and d) 30 min after TRH (reappearance of burst).

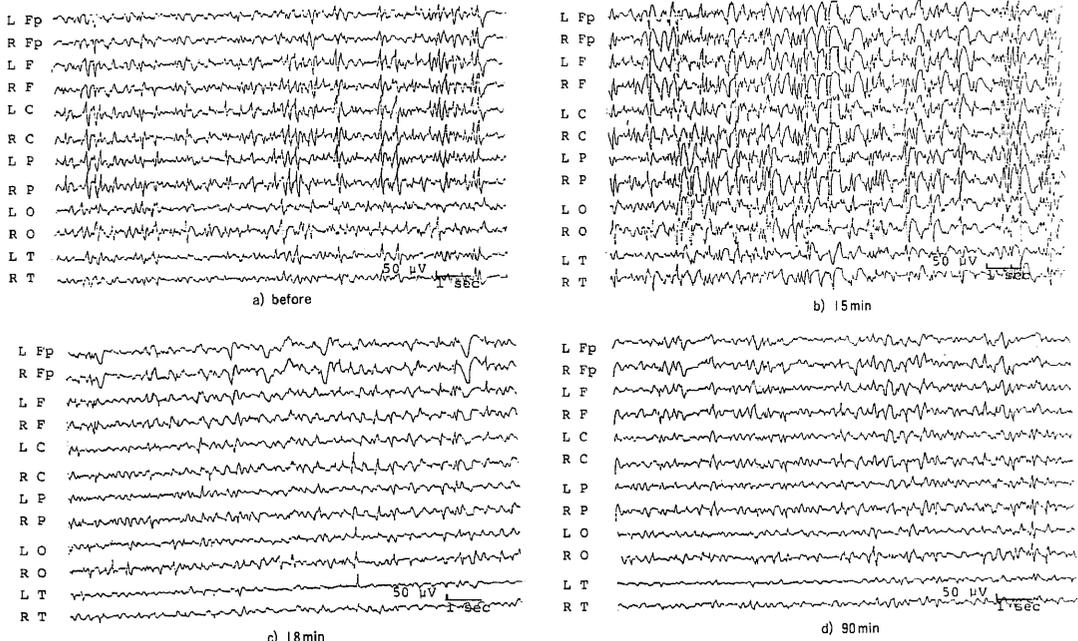


Fig. 3. Serial changes in EEG pattern after an intravenous bolus ($40 \mu\text{g}/\text{kg}$) of DN-1417 administration (case 3). a) before DN-1417 (diffuse spikes and sharp waves), b) 15 min after DN-1417, c) 18 min after DN-1417 and d) 90 min after DN-1417 administration.

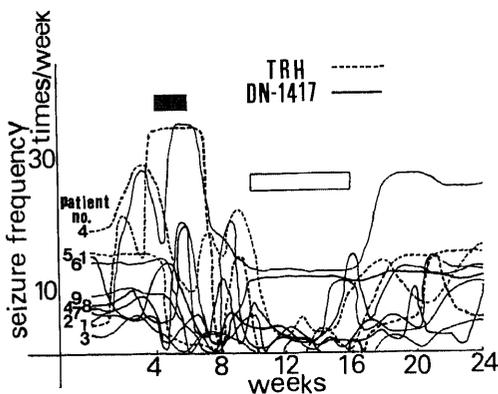


Fig. 4. Effects of the treatment by TRH or DN-1417 on seizure frequency in 9 patients with LGS. TRH (.....) or DN-1417 (—) was administered at the dosage of $40 \mu\text{g}/\text{kg}$ daily for 14 days (■). Cumulative number of seizures in a week is shown before, during and after the treatment. (□), mean 50% reduction period in seizure frequency ($n=11$).

症例は 11 治療中 2 例 (症例 1, 3) にすぎなかった (表 2A).

発作波への影響では, 治療前後の比較で, slow sp-w の完全消滅を認めた症例 3 をはじめ, 全例に汎性発

作波発現頻度の減少を認めた. また, 発作波型の変容を認めた症例は 5 治療中 4 例であり, その変容は cluster が slow sp-w に (症例 6, 7), diffuse poly-spike-wave が slow sp-w に (症例 8), そして $1.0\sim 2.5 \text{ Hz}$ slow sp-w が $1.5\sim 2 \text{ Hz}$ とその規則性を増した (症例 1, 6) であった. 治療後 4 週時点で, 治療前の発作波発現頻度に戻ったものは症例 1 の 1 例 (TRH, DN-1417 とも) のみであった (表 2B).

また, TRH と DN-1417 の両剤を投与した 2 例 (症例 1, 4) についての脳波像への影響の比較では, 両者に特徴的な差異は認められなかった.

以上より, TRH, DN-1417 治療の LGS 患児の脳波像に及ぼす影響は, その基礎律動不整の整化, 低振幅化, そして δ 波主調から θ 波主調への変化を, さらに suppression-burst パターンを消滅せしめた. また発作波では, 汎性発作波の消滅ならびにその発現頻度の減少, 発作波型の変容を生ぜしめた. その効果持続は, 治療後 4 週に及んだ.

IV. CSF 中のモノアミン代謝産物に及ぼす影響

CSF の HVA, VMA, MHPG, 5HIAA 濃度を TRH 3 例 DN-1417 8 例について測定し, その経時変化を图示した (図 6).

HVA についてその治療前値での偏差が大きく, 中, 後, 4 週後の経時変化で, 上昇傾向を示したのは TRH

Table 2. Effect of TRH and DN-1417 therapy on electroencephalographic data
A. Basic activity and pattern

Patient	Therapy	Before therapy	After therapy	4 weeks after therapy
1	TRH DN-1417	high voltage δ activity irregular high voltage δ activity	high voltage $\theta \cdot \delta$ activity regular moderate voltage δ activity	high voltage $\theta \cdot \delta$ activity irregular high voltage $\delta \cdot \theta$ activity
2	DN-1417	irregular high voltage $\delta \cdot \theta$ activity	regular moderate, high voltage θ activity	regular moderate, high voltage $\delta \cdot \theta$ activity
3	DN-1417	high, moderate voltage θ activity	low, moderate θ activity	high, moderate voltage θ activity
4	TRH DN-1417	high voltage δ activity suppression-burst high voltage $\delta \cdot \theta$ activity suppression-burst	moderate, high voltage θ activity moderate, high voltage θ activity	moderate, high voltage θ activity moderate, high voltage θ activity
5	TRH	high voltage δ activity	moderate voltage $\theta \cdot \delta$ activity	moderate voltage θ activity
6	DN-1417	irregular moderate high voltage θ activity	regular moderate voltage θ activity	regular moderate voltage θ activity
7	DN-1417	high voltage θ activity suppression-burst	regular high voltage δ activity	irregular high voltage δ activity
8	DN-1417	moderate voltage θ activity suppression-burst	regular moderate voltage δ activity	regular moderate voltage δ activity
9	DN-1417	irregular high, moderate voltage $\delta \cdot \theta$ activity	regular moderate voltage θ activity	regular moderate voltage θ activity

B. Epileptic discharge

Patient	Therapy	Before therapy	After therapy	4 weeks after therapy
1	TRH DN-1417	diffuse sharp wave slow spike-wave slow spike-wave	1.5-2 Hz rhythmic slow spike-wave sporadic 1-2 Hz rhythmic slow spike-wave sporadic	diffuse sharp wave slow spike-wave slow spike-wave
2	DN-1417	slow spike-wave	disappeared	disappeared
3	DN-1417	diffuse polyspike-wave slow spike-wave	diffuse spike diffuse sharp wave sporadic	diffuse spike diffuse sharp wave sporadic
4	TRH DN-1417	diffuse polyspike-wave	diffuse polyspike-wave sporadic diffuse polyspike-wave sporadic	diffuse polyspike-wave sporadic diffuse polyspike-wave slow spike-wave
5	TRH	diffuse polyspike-wave	diffuse sharp wave sporadic	diffuse sharp wave sporadic
6	DN-1417	slow spike-wave rapid rhythm cluster	1.5-2 Hz rhythmic slow spike-wave sporadic	slow spike-wave
7	DN-1417	cluster frequent	slow spike-wave diffuse sharp wave	slow spike-wave diffuse sharp wave
8	DN-1417	diffuse polyspike-wave	slow spike-wave	slow spike-wave
9	DN-1417	diffuse spike	diffuse spike sporadic	diffuse spike sporadic

1例, DN-1417 2例の3例のみであった. TRH 3例, DN-1417 8例の平均濃度の推移は, 前, 中, 後, 4週後, それぞれ TRH は 60.3 ± 17.1 , 65.3 ± 1.6 , 62.6 ± 4.4 , 52.6 ± 12.3 ng/ml, DN-1417 では 53.7 ± 15.6 , 59.0 ± 12.3 , 55.3 ± 11.0 , 56.3 ± 15.9 ng/ml で, いずれも有意の経時変化を示さなかった.

HVA の上昇傾向のはっきりした, 先に述べた4例

において, とくにてんかん発作抑制効果が他の症例に比して優れるということはなく, HVA の経時変化とてんかん発作抑制効果とは, とくにその関連性を見い出せなかった.

VMA については, すべての検索において 1 ng/ml 以下の濃度値で, 測定感度以下であった. MHPG では, 前, 中, 後, 4週後とも全例について有意の経時

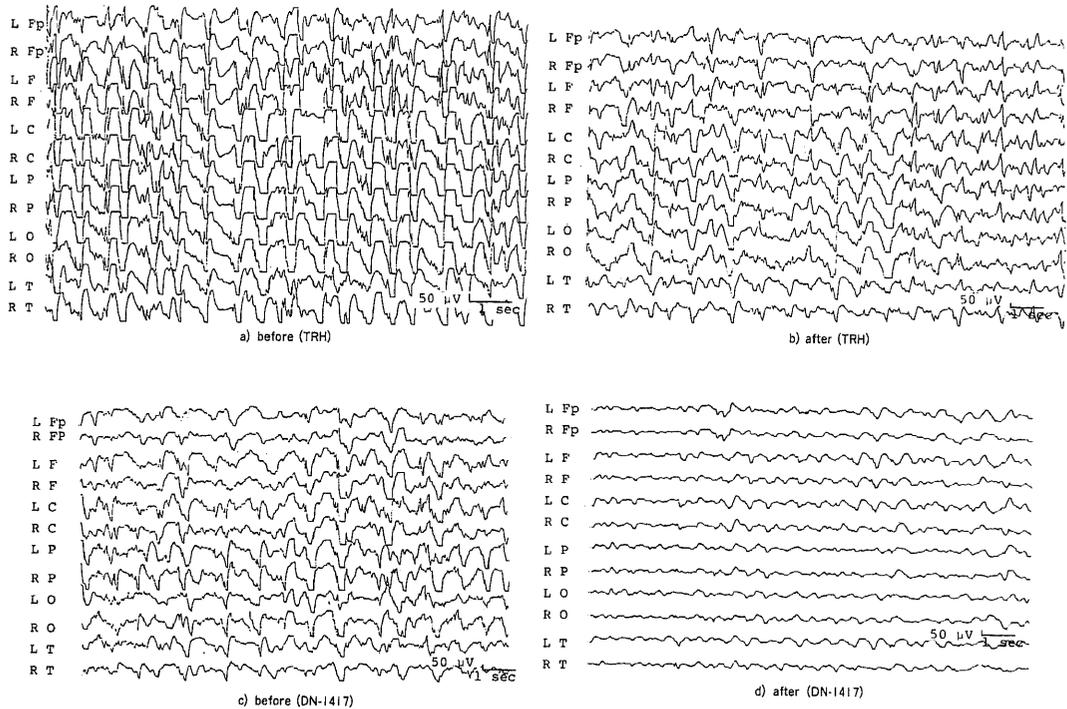


Fig. 5. Changes in EEG pattern before a) and after b) the TRH treatment for 14 days. This was followed by another 14 days' course of DN-1417 treatment (case 1): c), before and d), after DN-1417.

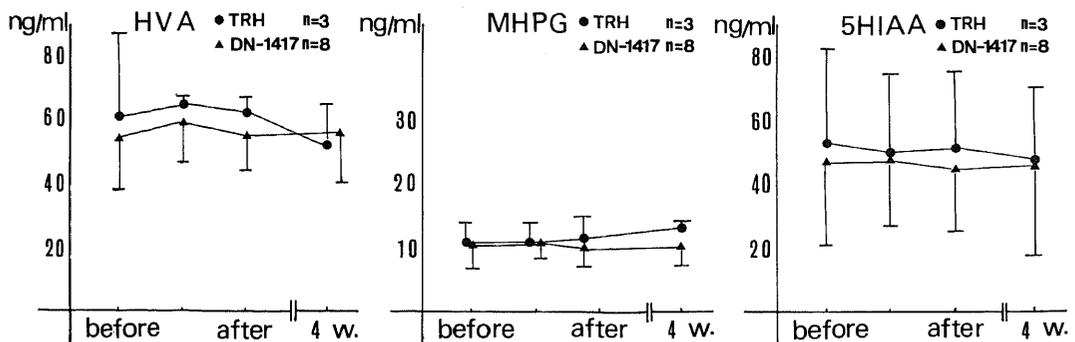


Fig. 6. Monoamine metabolite levels in CSF before and after the treatment by TRH or DN-1417. HVA, MHPG and 5HIAA were measured before, during, immediately after and 4 weeks after the treatment. VMA was not detectable in CSF. Vertical bars, mean \pm SEM.

変化を示さず、平均濃度値推移は、それぞれ、TRH は 10.6 ± 3.2 , 11.0 ± 2.8 , 11.6 ± 3.2 , 13.3 ± 1.2 ng/ml, DN-1417 は 10.3 ± 3.0 , 11.0 ± 2.3 , 10.0 ± 2.7 , 10.1 ± 3.0 ng/ml であった。

5HIAA では、その濃度の経時変化で、上昇傾向を示すものは DN-1417 の 2 例のみ、逆に下降傾向を示したものは TRH 1 例、DN-1417 3 例の 4 例であった。その平均濃度値推移は、前、中、後、4 週後、それぞれ、TRH は 53.0 ± 30.4 , 50.3 ± 24.6 , 52.3 ± 23.8 , 48.3 ± 23.3 ng/ml, DN-1417 は 47.7 ± 16.2 , 48.0 ± 20.3 , 45.3 ± 19.8 , 45.8 ± 27.1 ng/ml と有意の経時変化を示さず、HVA 同様前値の偏差も大きく、てんかん発作抑制効果とも、とくにその関連を見い出せなかった。

今回の腰椎穿刺採取による CSF モノアミン代謝産物の検索でみる限り、TRH, DN-1417 のドーパミン、ノルアドレナリン、セロトニンを介してのてんかん発作抑制効果の機序を説明しうる成績は得られなかった。

V. TRH, DN-1417 の ataxia に対する治療効果

今回対象とした LGS 9 例中 2 例の ataxia を伴った症例に対して、TRH, DN-1417 治療は著効を示し、てんかん発作抑制と同時に ataxia の改善 (図 7)、書図機能の改善 (図 8) を認めた。この点は LGS の発生

機序、TRH, DN-1417 の作用点を考える上で重要と考えた。

VI. TRH, DN-1417 の内分泌機能に及ぼす影響

TRH, DN-1417 治療における内分泌機能への影響は、その副作用の存否を確かめる意味で重要である。

症例 1 に TRH, DN-1417 静注, DN-1417 筋注それぞれ $40 \mu\text{g}/\text{kg}$, 各 1 回投与を試み、TSH 分泌に及ぼす影響を、0, 15, 30, 60, 90, 120 分に検索した (図 9)。

DN-1417 静注は、TRH 静注と同様に TSH 分泌を促し、DN-1417 筋注は 30 分値でそれらの 1/6~1/7 の影響であった。

TRH 3 例, DN-1417 4 例につき、おのおの静注, 筋注 14 日間連日投与による血清 TSH, T_4 , T_3 , PRL の変動を検索したが、いずれも正常範囲内の変動値を示し (図 10)、内分泌機能的な副作用は認められなかった。

VII. TRH, DN-1417 の EI マウスに及ぼす影響

1. 放り上げ刺激回数と発作誘発に及ぼす影響

注射前日より注射後 3 日、14 日間の放り上げ刺激 100 回までに発作誘発を認めなかった seizure-free の匹数を図 11 の上段に示し、下段に発作誘発に要した刺激回数の平均値変動を、それぞれ、TRH, DN-1417 対

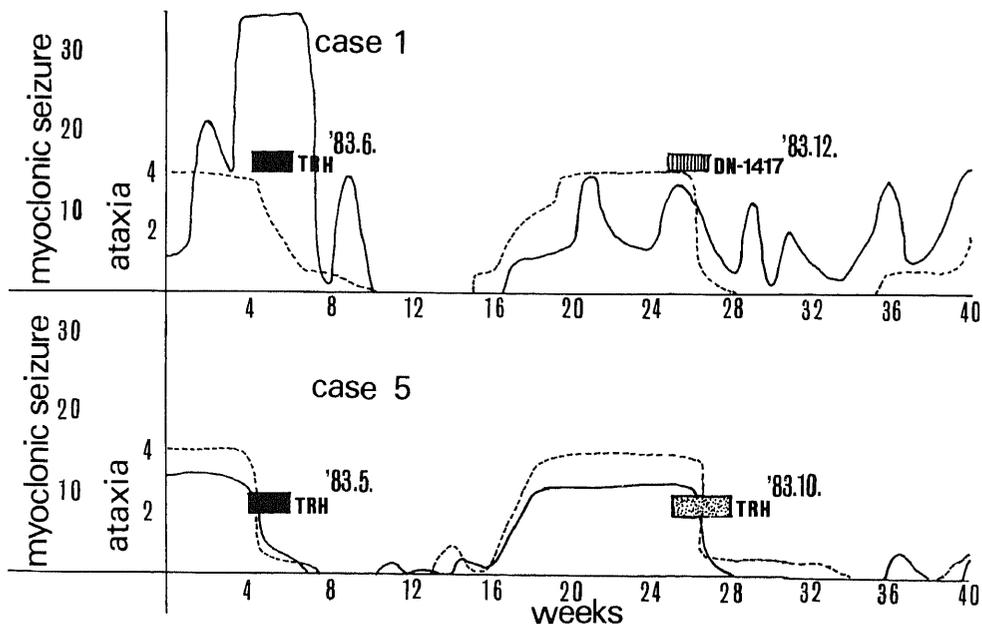


Fig. 7. effects of TRH of DN-1417 treatment on the clinical signs of myoclonic seizures (—) and ataxia (-----) in cases 1 and 5. (■), TRH, i.v., $40 \mu\text{g}/\text{kg}$, daily for 14 days. (▨), TRH, i.v., $40 \mu\text{g}/\text{kg}$, alternatively for 20 days. (▩), TRH, i.m., $40 \mu\text{g}/\text{kg}$, daily for 14 days. Frequency of seizures was showed at weekly interval and the severity of ataxia was evaluated by the disturbance of daily activity.

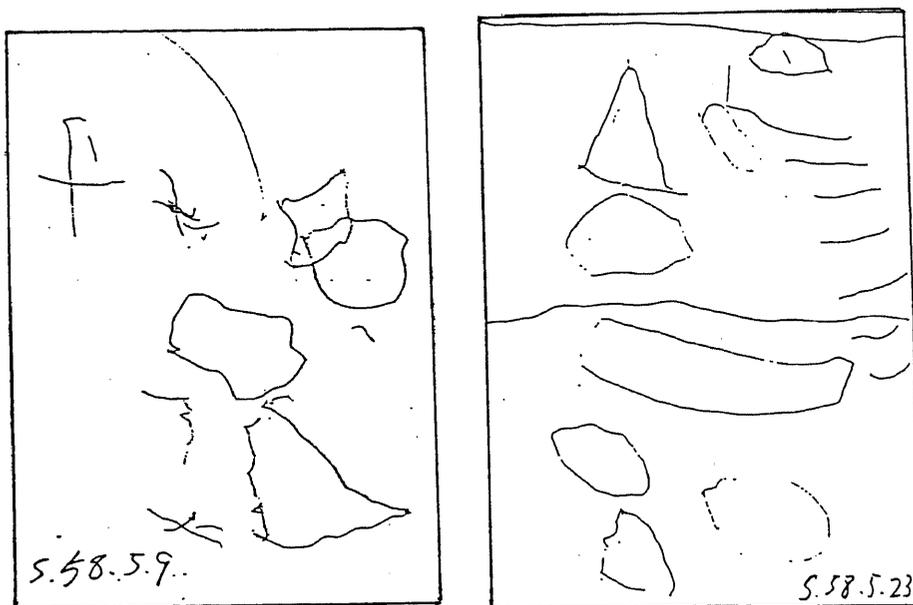


Fig. 8. Improvement of drawing after the initial TRH treatment in case 5. As for the TRH treatment, see the legend in Fig. 7.

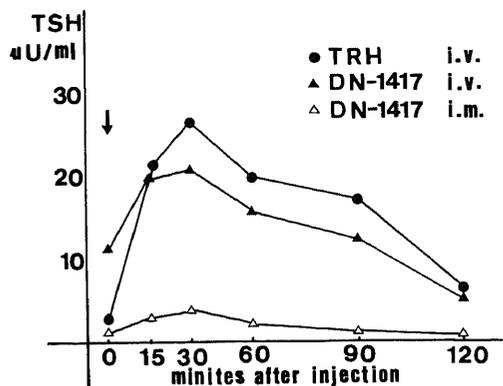


Fig. 9. Effects of a single injection of TRH or DN-1417 on serum TSH levels. (●), TRH, i.v., 40 μ g/kg, (▲), DN-1417, i.v., 40 μ g/kg, (△), DN-1417, i.m., 40 μ g/kg.

照群の3群に分けて示した。

放り上げ刺激の毎日の反覆で、閾値が上昇し、対照群でも発作は起り難くなるが、TRH群では全例 seizure-free となった。

2. 脳内、副腎カテコールアミンに及ぼす影響

TRH, DN-1417, 対照群の3群に分け、大脳、中脳、脳幹各部のノルアドレナリン、ドーパミンの含有量が比較された(表3)。

ノルアドレナリンは、対照群に比して、TRHでは大脳で 12.2 ± 4.2 ng/mg-protein と有意の高値を、中脳

では 13.4 ± 1.8 ng/mg-protein と低値 (いずれも $p < 0.01$) を示し、一方 DN-1417 では小脳において 20.9 ± 2.3 ng/mg-protein と有意の高値 ($p < 0.01$) を得た。

ドーパミンは、TRH では大脳、中脳で、それぞれ 51.8 ± 5.6 , 15.0 ± 4.4 ng/mg-protein と対照群に比して有意の低値 ($p < 0.01$) を、DN-1417 では小脳で 27.9 ± 1.6 ng/mg-protein で有意の高値 ($p < 0.01$)、脳幹では逆に、 10.7 ± 2.4 ng/mg-protein と有意の低値 ($p < 0.01$) を示した。

副腎のノルアドレナリン、アドレナリン、それらの総和量を3群に分けて示した(表4)。

DN-1417 においてノルアドレナリン、アドレナリン、それらの総和量は、それぞれ 1.45 ± 0.39 , 1.86 ± 0.39 , 3.26 ± 0.79 μ g/gland と対照群に比して有意の低値 ($p < 0.05$) を示し、TRH 群では有意差はなかった。

以上より、TRH は大脳、中脳のノルアドレナリン、ドーパミン、DN-1417 は小脳、脳幹のドーパミン、さらに副腎カテコールアミンに影響を及ぼし、それらを介して神経生理作用、ひいては抗てんかん作用の発現の可能性を示唆した。

考 察

TRH の抗痙攣作用については、1975年に Nemeroff ら⁹⁾が TRH とそのアナログ β -ala TRH のマウスの腹腔内注射によって、それらがフェノバル

ビタールの鎮静作用に抗しつつ、その抗痙攣作用を強化すると指摘したことに始まる。

その後、Morimotoら^{42)~44)}、Satoら⁴⁵⁾は、TRH、DN-1417を用い、ネコ扁桃核キンドリングモデルを対象に詳細な実験的研究を試みている。彼らの報告によると、両剤とも静注法にて、用量依存性を欠く急性抗痙攣効果が認められ、その作用時間は20分以内であること、個体差はあるが、両剤とも長期の痙攣閾値の上昇効果が認められ、TRHで4~60日以上、DN-1417で9~50日以上であるとしている。

てんかん患者へのTRHの臨床的適応については、1981年、Inanagaらはミオクロヌステんかん患者に、そのアナログDN-1417を2mg/日筋注2週間投与を試み、脳波、諸症状の改善を報告しており、またUedaら⁴⁷⁾はDN-1417のLennox症候群における治療効果として、3例にDN-1417、0.5~1.0mg/日、筋注、14日間連日投与を試み、治療後30~70日以上に及ぶてんかん発作抑制効果と脳波上の改善を報告している。

今回著者らは、難治性のtonic spasmsを中心とした小発作群を有するLGS患児9例を対象に、TRH、DN-1417、それぞれ40 μ g/kg/日静注、筋注14日間連日投与、計11治療を試みた。

治療に先立ち、急性抗痙攣効果を検索する意味も含め、3例について、それぞれTRH静注DN-1417静注、筋注各40 μ g/kg1回による脳波像に及ぼす急速効果とその持続を検索した。その効果と持続は、TRH静注投与後30秒~30分、DN-1417静注は18~90分、DN-1417筋注は脳波像への効果を認めなかった。TRH静注は、急性抗痙攣効果についてDN-1417静注よりも優れ、逆にDN-1417静注は痙攣抑制効果の持続においてTRH静注に優れる可能性を示唆した。また、DN-1417筋注は急性抗痙攣効果はないと考えられた。この差異については、Miyamotoら⁸⁾がDN-1417は脳内への取り込み、除去がTRHに比して緩徐であり、より脳親和性が高く、分解されにくい可能性を指摘しているが、筋注でも吸収性が良好であるとされていること、筋注にて臨床的に充分な効果を得たとの報告があるこ

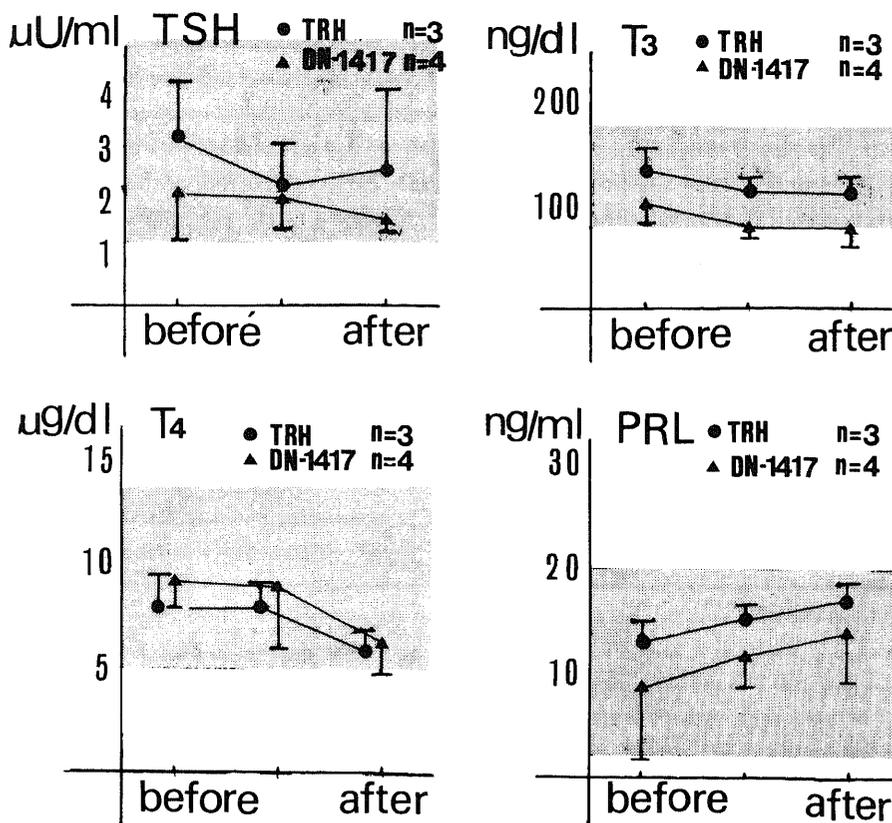


Fig. 10. Effects of TRH or DN-1417 treatment on TSH, T₄, T₃ and PRL. Screen tone, normal range; Vertical bars, mean ± SEM.

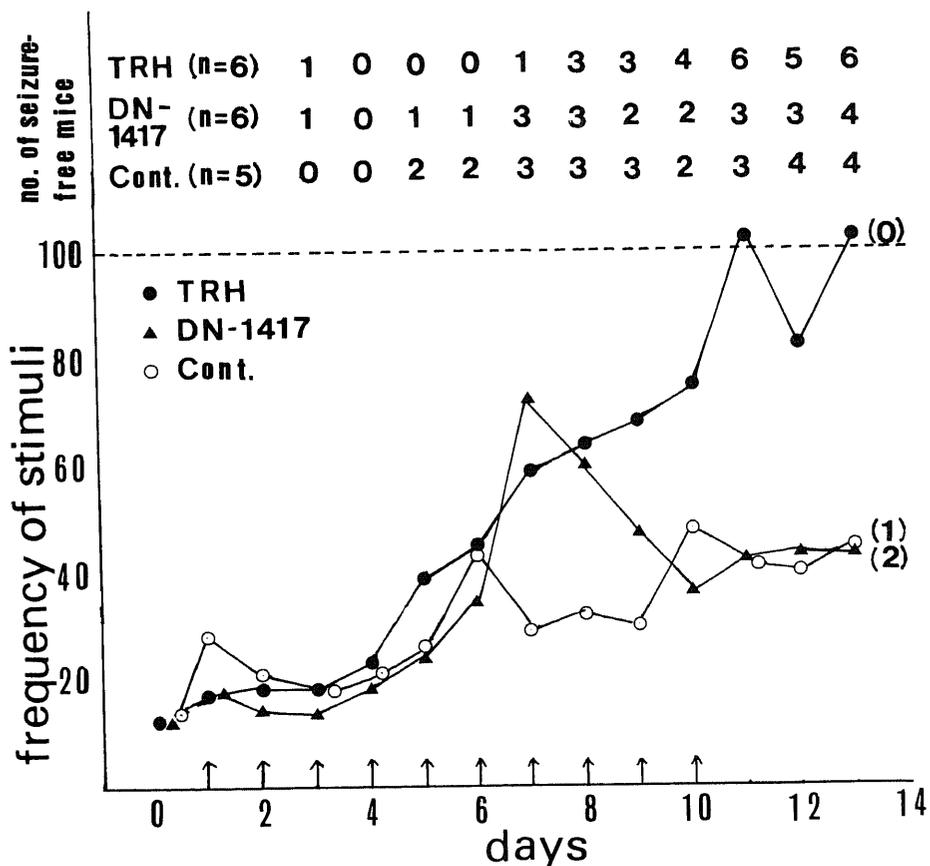


Fig. 11. Effects of TRH or DN-1417 on throwing induced seizures in EI mice. Thirty μ g of TRH or DN-1417 was daily injected for 10 days (\uparrow). The number of mice free from seizure by 100 throwing stimuli was shown in the upper panel and the mean frequency of the stimuli needed to evoke seizure was plotted in the lower panel. (\bullet), TRH; (\blacktriangle), DN-1417; (\circ), control.

Table 3. Effects of TRH or DN-1417 on the brain catecholamine contents in EI mice

	No.	Forebrain	Midbrain (ng/mg-protein)	Cellebellum	Brain stem
Noradrenaline					
TRH	5	12.2 \pm 4.2*	13.4 \pm 1.8*	15.6 \pm 1.8	16.8 \pm 2.0
DN-1417	5	8.0 \pm 1.2	15.8 \pm 1.0	20.9 \pm 2.3*	15.3 \pm 0.8
Control	5	6.9 \pm 0.8	16.8 \pm 0.8	17.0 \pm 3.1	16.5 \pm 0.9
Dopamine					
TRH	5	51.8 \pm 5.6*	15.0 \pm 4.4*	17.9 \pm 3.0	18.1 \pm 4.7
DN-1417	5	46.9 \pm 3.0	26.8 \pm 7.5	27.9 \pm 1.6*	10.7 \pm 2.4*
Control	5	43.3 \pm 5.6	26.5 \pm 10.3	18.0 \pm 4.4	16.7 \pm 2.8

30 μ g TRH or DN-1417 was intraperitoneally injected for 10 days and on the 13th day, brain catecholamines were determined. Values are mean \pm SD. * p <0.01 vs control.

と⁴⁶⁾⁴⁷⁾より、今回、DN-1417は筋注長期投与とした。

TRH, DN-1417の長期的てんかん発作抑制効果(発作頻度50%減少以上)を11治療例全例に認め、その平均での効果期間は治療終了後、4~10週に及んだ。この効果持続期間については、先のMorimotoら⁴³⁾、Satoら⁴⁵⁾のキンドリングモデルを用いての実験結果、TRH, DN-1417それぞれ1~2mg/kg静注による痙攣閾値上昇効果が4~60日、9~50日以上とした報告、ならびに臨床的にもUedaら⁴⁷⁾の30~70日とした報告と一致している。

TRHの脳波像、基礎波に及ぼす影響について、1977年にSajiら⁴⁸⁾は、その中枢賦活作用発現の機序を解明するため、クラーレ不動物ネコを用い、脳幹諸レベルの横切断、局所破壊を行い、0.1~0.5mg/kg静注により、正常脳ネコに得られる新皮質脳波は低振巾速波、海馬脳波は θ 波の増加であるとし、以下、下位離断、上位離断においても同様所見を得られるが、中脳吻側切断、視床下部後部破壊では、それぞれ徐波と紡錘波、海馬脳波では速波に θ 波の混在、 θ 波よりさらに遅い徐波に速波の混在した波型を示すことより、TRH投与時の脳波賦活化は主として視床下部後部への作用であり、一部中脳に作用することを考えた。さらに土居⁴⁹⁾らは、持続的傾眠状態にした慢性ネコを用い、広範囲視床下部破壊実験よりTRHの脳波および行動覚醒は中脳網様体に対する作用であるとしている。その作用点をめぐる論議は残るが、動物実験においてTRH投与により新皮質脳波の覚醒効果(低振巾速波化)を得るということである。一方、臨床的に西本ら²⁹⁾、石井ら²⁸⁾は遷延性意識障害患者にTRHを適応し、それぞれ19例中6例、55例中27例に改善を認めたとしている。てんかん患者に対しての、稲永ら⁵⁰⁾、Uedaら⁴⁷⁾のDN-1417を投与した報告でも、おのおの基礎波の低振巾速波化、律動不整の改善を指摘している。

今回、LGS患児9例、TRH, DN-141714日間連日投与による計11治療前後の基礎波の変化でも、律動不整の改善、規則化は11治療中6例、低振巾化は11治療中7例、 δ 波主調から θ 波主調への変化、速波化は

11治療中6例に認めら、さらに4週後も基礎波への影響を残した。この成績は、先の動物実験によるTRHの脳波上の覚醒効果の報告、他の臨床報告とも一致しており、TRH, DN-1417の脳波上の基礎波に及ぼす影響は、規則化、低振巾化、速波化の3点と考えられた。

suppression-burstパターンの消褪は、それが皮質のimmaturity, dysmaturity,あるいは広汎性皮質障害を伴うsubcortico-cortical interrelationshipの障害を基盤として、皮質下部からの放電によって生ずるものとされており⁵¹⁾、先的全視野にわたる汎性の基礎波の変化と相まって、TRH, DN-1417がsubcortico-cortical interrelationshipの障害による皮質下部放電に何らかの修復機転の役割を果すものと考えられた。

一方、発作波に及ぼす影響について、さらにMorimotoら⁴³⁾、Satoら⁴⁵⁾はTRH, DN-1417両剤とも全身痙攣発作を完全阻止し、後発射出現もなくすか、あるいは部分発作への抑制かつ後発射持続時間を短縮すること、また安静覚醒時脳波、および発作間欠期放電に対する影響を認めないとしている。またMorimotoら⁴⁴⁾はDN-1417のてんかん予防効果について、ネコ扁桃核キンドリングの発展を著明に遅延させると同時に、脳波上の特徴として後発射のfragmentation他部位への後発射の伝播抑制がみられるとしている。

今回、脳波上発作波へのTRH, DN-1417の及ぼす影響として、汎性発作波の消褪あるいはその頻度の減少、ならびに発作波型の変容を11治療例全例に認めたが、いずれも発作間欠期発作波を問題としたものである。先のMorimotoら⁴³⁾、Satoら⁴⁵⁾との差異について、おそらくはネコ扁桃核キンドリングモデルは部分てんかん、二次性全汎てんかんであるのに対して、LGSは続発全汎てんかんであることの差異によるものであろう。すなわち、LGSはcortico-reticular epilepsy⁵²⁾として脳皮質の障害とともに、とくに脳幹および間脳網様体賦活系を中心とした皮質下部が広汎に障害された病態により、汎性両側同期性発作波を有するとされており⁵³⁾、TRH, DN-1417が皮質下部、脳幹および間脳

Table 4. Effects of TRH or DN-1417 on the adrenal catecholamine contents in El mice

	No.	Noradrenaline (NA) (μ g/gland)	Adrenaline (A) (μ g/gland)	NA+A (μ g/gland)
TRH	5	2.04 \pm 0.28	2.76 \pm 0.40	4.81 \pm 0.69
DN-1417	5	1.45 \pm 0.39*	1.86 \pm 0.39*	3.26 \pm 0.79*
Control	5	1.91 \pm 0.17	2.35 \pm 0.12	4.26 \pm 0.30

The experimental protocol was the same to Table 3. Values are mean \pm SD. *p<0.05 vs control.

網様体を作用点に発作波抑制に働くと考えられ、彼らの後発射の fragmentation, 他部位の伝播抑制をも説明しようと考えられる。

さて、TRH, DN-1417 は脳波上、基礎波の規則化、低振幅化、速波化し、間脳を含めた脳幹網様体の賦活化、一方逆に汎性発作波を抑制し、同部位の neuro-modulator の役割を果す可能性が示唆されたが、その効果が投与終了後 4 週以上にわたって持続することの説明は困難であった。

こうした TRH の抗痙攣作用を含めた中枢神経系の薬理作用について、TRH が脳内カテコールアミンの神経伝達を増強、ことにドーパミン系、ノルアドレナリン系は、一般に有力な脳内抑制系であることが知られており、さらにセロトニン系を含めた脳内モノアミン代謝への影響が論じられてきた。

Keller¹³⁾, Horst¹⁴⁾および Constantinidis⁵⁴⁾は、TRH は脳内モノアミンレベルには影響しないが、脳内ノルアドレナリン遊離を増大し、二次的にノルアドレナリン代謝回転を促進するとして、ノルアドレナリン作動性作用に帰している。Miyamoto⁵⁵⁾はラットの mesolimbic system の側坐核に TRH を直接注入することによって惹起される自発運動亢進作用が、ハロペリドールおよびピモジドにより抑制させることよりドーパミン作動性作用を重視した。また Rastogi¹⁷⁾はラットの腹腔内に TRH アナログ、MK-117 を注入後、脳内ドーパミン作動性部位でのドーパミン値の不変または減少、チロジンヒドロキシラーゼ (tyrosine hydroxylase) 活性および HVA 値の上昇、中脳でのトリプトファンヒドロキシラーゼ (tryptophan hydroxylase) 活性およびトリプトファン値の上昇、他の脳数カ所でのセロトニン値および 5HIAA 値の恒常的上昇を報告し、MK-771 が脳内ドーパミンおよびセロトニンの合成、代謝回転を著しく上昇させるとした。

一方、臨床的てんかん患者の CSF 中のモノアミン代謝産物を測定し、カテコールアミン、セロトニン代謝異常を指摘した報告が多い。

Shaywitz⁵⁶⁾は、14 例の小児てんかん児について CSF 中の HVA 値、5HIAA 値を測定し、両者とも有意に減少しているとし、年令、抗痙攣剤使用、CSF 中の葉酸、蛋白濃度、細胞数とも関係ないとしている。Ito⁵⁷⁾は、infantile spasms の患児の CSF 中の HVA、5HIAA 値について、HVA は高値を示し、5HIAA は正常コントロールと変らなかったとしたが、Silverstein⁵⁸⁾は、5HIAA は高値、HVA は変らなかったとし、Ito⁵⁷⁾との差異について、年令的比較の必要性を述べている。また Kobayashi⁵⁹⁾は、27 例のてんかん患

者の CSF 中の HVA を測定し、てんかん患者の HVA 値は低いとしながらも、中 5 例の Lennox 症候群の患児にはバラツキが認められたとしている。実際、CSF 中の HVA、5HIAA の濃度は年令発達的に変化し、いずれも減少するとされている⁶⁰⁾。

今回対象の LGS 9 例 11 治療開始時の年令範囲は 2 歳 7 カ月～11 歳 6 カ月 (年令平均 6 歳 5 カ月) と低年令から高年令児にわたっており、TRH, DN-1417 投与による HVA、5HIAA の変動を期待したが、治療前値での偏差も大きく、一定変動傾向を示さなかった。

CSF 中の HVA、5HIAA とも中枢神経由来とされているが、産生場所による濃度勾配の問題があり、腰椎穿刺採取による CSF では方法に問題があるのかもしれない。

しかしながら、今回 TRH, DN-1417 投与により、てんかん発作抑制効果ならびに脳波像の改善効果を、しかも長期間にわたって示しており、CSF 中の HVA、VMA、MHPG、5HIAA、の経時変化で見ると、ドーパミン、ノルアドレナリン、セロトニンを介した TRH, DN-1417 の抗てんかん作用とその持続効果の説明は困難であった。

さて、今回対象の LGS 患児 9 例中 2 例に ataxia を伴う症例を経験した。症例 1 は 館野⁶¹⁾の poly-myoclonia, truncal ataxia にて発症した Lennox 症候群の 1 幼児例として報告された症例と類似しているが、彼らは、その責任病巣として脳幹網様体の可能性を言及している。症例 5 は、今日変性型ミオクローヌスと位置付けられているが、ミオクローヌスとてんかんと脊髄小脳疾患と関連付ける症例として Ramsay-Hunt 症候群とした。

問題は、これら 2 症例がともに TRH, DN-1417 投与により、myoclonic seizure の改善と並行して ataxia の改善を認めていることである。また、Inanaga²⁶⁾は、実際変性型ミオクローヌスとてんかんの患者に DN-1417 を投与し、ミオクローヌス、小脳症状の改善を報告している。これら 2 症例は LGS 自体の小脳機能および器質性異常の可能性と、TRH, DN-1417 の小脳機能への影響を示唆する貴重な臨床例と考えた。

TRH の小脳系への関与の可能性として、人の脊髄小脳変性症の動物モデルである遺伝失調マウス、rolling mouse Nagoya (RMN) について、Adachi⁶²⁾は、その組織化学的研究で RMN の小脳ではノルアドレナリンの過剰蓄積とプルキンエ細胞樹状突起の形態学的異常が失調発現の背景をなしているとし、さらに小長谷⁶³⁾は、RMN に TRH 投与により失調歩行の改善が認められ、30 分後に小脳、脳幹のノルアドレナリン濃度の低下がみられたとし、この失調歩行の改善

は、TRH により小脳でのノルアドレナリンターミナルよりのノルアドレナリン放出を促進し、ニューロン間の促通が改善した結果によるものとした。この間、Sobue ら³¹⁾は、臨床的に 10 例の脊髄小脳変性症患者に TRH を投与し、ataxia, 眼球異常運動の改善を報告し、これは、小脳、脳幹のノルアドレナリン代謝異常の改善によると推定した。

一方、実験的てんかんにおける小脳電気刺激の影響では、Dow ら³⁰⁾は、コバルトラットを用い、一般的に発作波抑制と大脳皮質の感覚反応を抑制し、さらにこれらのてんかんラットの脳除去によって痙攣発作、皮質脳波の発作波の増強、基礎波の過同期を認めとしている。これらの小脳刺激、除去によって得られた皮質脳波所見は、今回著者らが LGS 患児への TRH, DN-1417 投与によって得られた脳波像、基礎波および発作波への影響と類似しており、TRH, DN-1417 の小脳機能関与によるてんかん発作抑制効果の発現の可能性を強く印象づける。

最後に、EI マウスを用い、TRH, DN-1417 の作用機序解明の目的で、これらの放り上げ刺激誘発発作抑制効果と脳内カテコールアミンの変動を検索したが、TRH のみに発作抑制効果を認め、TRH は大脳、中脳ノルアドレナリン、ドーパミン、DN-1417 は小脳ノルアドレナリン、小脳、脳幹ドーパミン代謝に影響を及ぼす結果を得た。

今日、EI マウスの臨床てんかん学的モデルの位置付け、その発作発現の責任病巣は明らかではないが、TRH は大脳-中脳、DN-1417 は小脳-脳幹ノルアドレナリン系、ドーパミン系を介して発作抑制効果をもたらすのかもしれない。今後、さらなる検討が待たれる。

以上、LGS 患児 9 例に、TRH および TRH アナログ DN-1467 投与し、両剤とも難治性小発作群の発作抑制効果を示し、その作用機序は明らかではないが、脳波、基礎波および発作波に及ぼす影響、さらに ataxia の改善効果を示すことにより両剤は間脳、脳幹、小脳の neuromodulator としての役割を果たすものと考えられた。

結 論

小児難治性てんかんの中核である LGS の小発作群の治療目的で TRH および TRH アナログ DN-1417 を 9 例の患児に投与し、以下の結論を得た。

1. TRH 静注, DN-1417 静注, 筋注各 1 例, おおの 40 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 1 回投与による脳波像, 基礎波および発作波に及ぼす急速効果とその持続について, TRH 静注は 30 秒から 30 分, DN-1417 静注は 18 分から 90 分の効果持続を示し, 急速効果は TRH 静注が優れ, 持続

効果では DN-1417 静注が優れていた。なお, DN-1417 筋注は急速効果は認められなかった。

2. TRH 静注, DN-1417 筋注, おおの 3 例, 8 例, 40 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ 14 日間連日投与により, 全例にてんかん発作抑制効果 (発作頻度 50% 減少以上) を示し, その効果持続期間は投与終了後 10 週に及んだ。

3. TRH 静注, DN-1417 筋注 14 日間連日投与による脳波像に及ぼす影響については, 基礎波では, 規則化, 低振幅化, 速波化を認め, 発作波では汎性発作波の消褪, またはその出現頻度の減少を認めた。

4. 上記 TRH, DN-1417 投与による CSF 中のモノアミン代謝産物 (HVA, VMA, MHPG, 5HIAA) 濃度に及ぼす影響を検索したが, てんかん発作抑制効果と関連した一定の変動を示さなかった。

5. 2 例の ataxia を伴った症例で, TRH および DN-1417 投与により, てんかん発作の改善と同時に ataxia の改善も認められた。

6. TRH 静注, DN-1417 筋注 14 日間連日投与による内分泌機能に及ぼす影響については, TSH, T_4 , T_3 , PRL とも正常範囲内の変動であった。

7. EI マウスを用いた動物実験にて, TRH, DN-1417, 対照群の 3 群を比較検討し, TRH 群に有意の抗痙攣作用が認められ, 同脳内カテコールアミン (ノルアドレナリン, ドーパミン) の変動比較では, TRH は大脳, 中脳, DN-1417 は脳幹, 小脳において有意の変動を示した。

以上より, LGS の難治性小発作群の治療に TRH および DN-1417 は極めて有効な薬剤であり, その作用機序は明らかではないが, 今回の治療研究から, 両剤が間脳, 脳幹, 小脳に neuromodulator として作用する可能性を示唆した。

謝 辞

稿を終えるにあたり, 御指導と御校閲を賜りました谷口教授に深謝致します。また御協力下さいました佐藤 保助教授, そして小児科神経グループの諸先生に感謝の意を表し, 本研究のために貴重な薬品を提供していただきました武田薬品工業株式会社に心から御礼申し上げます。

なお, 本論文の要旨は, 第 27 回日本小児神経学会 (東京, 1985 年) に発表した。

文 献

- 1) Niedermeyer, E.: The Lennox-Gastaut syndrome a severe type of childhood epilepsy. Dtsch. Z. Nervenheilk., 195, 263-282 (1969).
- 2) Markand, O. M.: Slow spike-wave activity in EEG and associated clinical features: often called 'Lonnnox' or 'Lennox-Gastaut' syndrome. Neurolog-

y, 27, 746-757 (1977).

- 3) **Winokur, A. & Utiger, R. D.**: Thyrotropin-releasing hormone: Regional distribution in rat brain. *Science*, 185, 265-267 (1974).
- 4) **Brownstein, M. J., Palkovits, M. & Saavedra, J. M.**: Thyrotropin-releasing hormone in specific nuclei of rat brain. *Science*, 185, 267-269 (1974).
- 5) **Hökfelt, T., Fuxe, K., Johansson, O., Jeffcoate, S. & White, N.**: Distribution of thyrotropin-releasing hormone (TRH) in central nervous system as revealed with immunohistochemistry. *Eur. J. Pharmacol.*, 34, 389-392 (1975).
- 6) **Nemeroff, C. B., Prange, A. J., Bissette, G., Breese, G. R. & Lipton, M. B.**: Thyrotropin-releasing hormone (TRH) and its-alanine analogue potentiation of the anticonvulsant potency of phenobarbital in mice. *Psychopharmacol. Commun.*, 1, 305-317 (1975).
- 7) **Fukuda, N., Nishimura, O., Shikata, M., Hatanaka, C., Miyamoto, M., Saji, Y., Nakayama, R., Fujino, M. & Nagawa, Y.**: Synthesis and pharmacology of TRH analog to separate central nervous action from endocrine activity. *Chem. Pharm. Bull.*, 28, 1667-1672 (1980).
- 8) **Miyamoto, M., Fukuda, S., Narumi, Y., Nagai, Y., Saji, Y. & Nagawa, Y.**: γ -Butyrolactone- γ -carbonyl-L-histidyl-L-prolinamide citrate (DN-1417): A novel TRH analog with potent effects on the central nervous system. *Life Sci.*, 28, 861-869 (1981).
- 9) **Metcalf, G. & Dettmar, P. W.**: Is thyrotropin releasing hormone an endogenous ergotropic substance in the brain? *Lancet*, 1, 586-589 (1981).
- 10) **Brown, M. R.**: Thyrotropin releasing factor: a putative CNS regulation of the autonomic nervous system, *Life Sci.*, 28, 1789-1795 (1981).
- 11) **Reeding, T. W. & Schally, A. V.**: On the half life of thyrotropin-releasing hormone in rats. *Neuroendocrinology*, 9, 250-256 (1972).
- 12) **Bassiri, R. M. & Utiger, R. D.**: Metabolism and excretion of exogenous thyrotropin-releasing hormone in human. *J. Clin. Invest.*, 52, 1616-1619 (1973).
- 13) **Keller, H. H., Bartholini, G. & Pletscher, A.**: Enhancement of cerebral noradrenaline turnover by thyrotropin-releasing hormone. *Nature*, 248, 528-529 (1974).
- 14) **Lotti, V. J., Yarbrough, G. D. & Clineschmidt, R. B.**: Investigations on the interaction of thyrotropin releasing hormone (TRH) and MK-771 with central noradrenergic mechanisms. *Psychopharmacology*, 70, 145-148 (1980).
- 15) **Horst, D. W. & Spirt, N.**: A possible mechanism for the anti-depressant activity of thyrotropin releasing hormone. *Life Sci.*, 15, 1073-1082 (1975).
- 16) **Benett, G. W., Marsden, C. A., Metcalf, G., Sharp, T. & Tulloch, I. F.**: Analogues of thyrotropin releasing hormone (TRH) stimulate in vitro release of endogenous dopamine from rat brain regions. *Br. J. Pharmacol.*, 74, 227-228 (1981).
- 17) **Rastogi, R. B., Singhal, R. L. & Lapierre, Y. D.**: Effect of MK-771, a novel TRH analogue, on brain dopaminergic and serotonergic systems. *Eur. J. Pharmacol.*, 73, 307-321 (1981).
- 18) **Malthe-Sorensen, D., Cheney, D. L., Wood, P. L. & Costa, E.**: Modulation of turnover rat of acetylcholine in rat brain by intraventricular injections of thyrotropin-releasing hormone, somatostatin, neurotensin and angiotensin II. *J. Neurochem.*, 31, 685-691 (1978).
- 19) **Narumi, S., Nagai, Y., Miyamoto, M. & Nagawa, Y.**: Thyrotropin-releasing hormone (TRH) and its analog (DN-1417): interaction with pentobarbital in choline uptake and acetylcholine synthesis of rat brain slice, *Life Sci.*, 32, 1673-1645 (1983).
- 20) **Cott, J. & Engel, J.**: Antagonism of the analeptic activity of thyrotropin-releasing hormone (TRH) by agents which enhance GABA transmission. *Psychopharmacology*, 52, 145-149 (1977).
- 21) **Renaud, L. P., Blume, H. W., Pittman, Q. J., Lamour, Y. & Tan, A. T.**: Thyrotropin-releasing hormone selectively depress glutamate excitation of cerebral cortical neurons. *Science*, 205, 1275-1277 (1979).
- 22) **Kastin, A. J., Ehrensing, R. H., Schalch, D. S. & Anderson, M. S.**: Improvement in mental depression with decreased thyrotropin response after administration of thyrotropin-releasing hormone. *Lancet*, 2, 740-742 (1972).
- 23) **Prage, A. J. Jr., Wilson, I. C., Lala, P. P. & Alltop, L. B.**: Effect of thyrotropin-releasing

- hormone in depression. *Lancet*, **2**, 999-1002 (1972).
- 24) **Wilson, I. C. & Lala, P. P.**: Thyrotropin-releasing hormone in schizophrenia. *Lancet*, **2**, 43-44 (1973).
- 25) **Davis, K. L., Hollister, L. E. & Berger, P. A.**: Thyrotropin-releasing hormone in schizophrenia. *Am. J. Psychiat.*, **132**, 951-953 (1975).
- 26) **Inanaga, K., Nakano, T. & Nagata, T.**: Effect of thyrotropin-releasing hormone in schizophrenia. *Kurume Med. J.*, **22**, 159-168 (1975).
- 27) **Manaka, S., Fuchinoue, T., Kondo, T., Hori, T. & Sato, K.**: Effect of thyrotropin-releasing hormone tartrate on consciousness disturbance. *Brain Nerve*, **29**, 1075-1081 (1977).
- 28) 石井鎮二, 植木幸明, 村上直人, 今野公和: 合成 Thyrotropin releasing hormone の中枢賦活作用に関する臨床的研究—意識障害例における効果—. *新潟医学会誌*, **92**, 829-837 (1978).
- 29) 西本 詮, 大木堯史, 柳生康德: Thyrotropin releasing hormone (TRH) の意識障害に対する効果. *臨床と研究*, **56**, 3091-3095 (1979).
- 30) **Sobue, I.**: Hypothalamic hormone and central nervous system, special reference to interrelation between thyrotropin releasing hormone and cerebellar ataxia. *Clin. Neurol.*, **17**, 791-799 (1977).
- 31) **Sobue, I., Yamamoto, H., Konagaya, M., Iida, M. & Takayanagi, T.**: Effect of thyrotropin-releasing hormone on ataxia of spinocerebellar degeneration. *Lancet*, **1**, 418-419 (1980).
- 32) **Niedermeyer, E. & Uematsu, S.**: Electroencephalographic recordings from deep cerebellar structures in patients with uncontrolled epileptic seizures. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.*, **37**, 355-365 (1974).
- 33) **Schneider, H., Vassella, F. & Karbowski, K.**: The Lennox syndrome. *Europ. Neurol.*, **4**, 298-300 (1970).
- 34) **Zimmerman, A. W., Niedermeyer, E. & Hodes, F. J.**: Lennox-Gastaut syndrome and computerized axial tomography findings. *Epilepsia*, **28**, 463-464 (1977).
- 35) **Cooke, P. M. & Snider, R. S.**: Some cerebellar influences on electrically-induced cerebral seizures. *Epilepsia (Boston)*, **4**, 19-28 (1955).
- 36) **Dow, R. S., Fernandez, G. A. & Manni, E.**: The influence of the cerebellum on experimental epilepsy. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.*, **14**, 383-398 (1962).
- 37) **Reimer, G. R., Grimm, R. J. & Dow, R. S.**: Effects of cerebellar stimulation on cobalt-induced epilepsy in the cat. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.*, **23**, 456-462 (1967).
- 38) **Mayakowski, J., Karlinski, A. & Mlodzik, I. K.**: Effect of cerebellar stimulation on hippocampal epileptic discharges in kindling preparation. *Monogr. neural Sci.*, **5**, 40-45 (1980).
- 39) **Cooper, I. S.**: Effect of chronic stimulation of anterior cerebellum on neurological disease. *Lancet*, **1**, 206 (1973).
- 40) **Dement, W. & Kleitman**: Cyclic variations in EEG during sleep and their relation to eye movement, body motility, and dreaming. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.*, **9**, 673-690 (1957).
- 41) 宮川富三雄: 体液のカテコールアミンと代謝物の高速液体クロマトグラフィー—自然蛍光法による定量—. *蛋白核酸酵素*, **26**, 1089-1098 (1981).
- 42) **Morimoto, K., Moriwake, T., Akiyama, T., Sato, M. & Otsuki, S.**: Anticonvulsant effect of a novel TRH analog (DN-1417) on amygdaloid kindled seizure. *Brain Nerve*, **35**, 180-195 (1983).
- 43) **Morimoto, K., Moriwake, T., Sato, M. & Otsuki, S.**: Anticonvulsant effect of a novel TRH analog (DN-1417) on amygdaloid kindled seizure II.: Comparison with TRH tytrate. *Brain Nerve*, **35**, 501-504 (1983).
- 44) **Morimoto, K., Moriwake, T., Sato, M. & Otsuki, S.**: Prophylactic effects of a novel TRH analog (DN-1417) on amygdaloid kindling in cats. *Brain Nerve*, **35**, 787-793 (1983).
- 45) **Sato, M., Morimoto, K. & Wada, J. A.**: Antiepileptic effects of thyrotropin-releasing hormone and its new derivative, DN-1417, examined in feline amygdaloid kindling preparation. *Epilepsia*, **25**, 537-544 (1984).
- 46) **Inanaga, K., & Inoue, Y.**: Effect of a thyrotropin-releasing hormone analog in a patient with myoclonus epilepsy. *Kurume Med. J.*, **28**, 201-210 (1981).
- 47) **Ueda, S., Nakamura, J. & Inanaga, K.**: Clinical effects of TRH analog (DN-1417) on Lennox syndrome. *J. Jpn. Epilepsy Soc.*, **1**, 31-39 (1983).
- 48) **Saji, Y., Mikoda, T. & Nagawa, Y.**: Possible

site of EEG, sympathetic and respiratory activating actions of thyrotropin releasing hormone (TRH). *J. Takeda Res. Lab.*, **36**, 39-45 (1977).

- 49) 土居孝行, 佐治美昭, 名川雄児: 視床破壊ネコにおける thyrotropin-releasing hormone の覚醒効果. *薬理と臨床*, **6**, 3229-3237 (1978).
- 50) 稲永和豊: TRH 誘導体の抗けいれん作用と治療効果. *臨精医*, **12**, 689-695 (1983).
- 51) Ohtahara, S., Ishida, T., Oka, E., Yamatogi, Y. & Inoue, H.: On the specific age dependent epileptic syndrome: The early-infantile epileptic encephalopathy with suppression-burst. *Nō To Hattatsu*, **8**, 270-280 (1976).
- 52) Gloor, P.: Generalized cortico-reticular epilepsies. *Epilepsia*, **9**, 249-268 (1968).
- 53) Gloor, P., Kalabay, O. & Giard, N.: The EEG in diffuse encephalopathies. *Brain*, **91**, 779-802 (1968).
- 54) Constantinidis, J., Geissbühler, F., Gaillard, J. M., Hovagumian, Th. & Tissot, R.: Enhancement of cerebral noradrenaline turnover by thyrotropin-releasing hormone. *Experimentia*, **30**, 1182-1183 (1974).
- 55) Miyamoto, M. & Nagawa, Y.: Mesolimbic involvement in the locomotor stimulant action of thyrotropin-releasing hormone (TRH). *Eur. J. Pharmacol.*, **44**, 143-152 (1977).
- 56) Shaywitz, B. A., Cohen, D. J. & Bowers, M. B.: Reduced cerebrospinal fluid 5-hydroxyindoleacetic acid and homovanillic acid in children with epilepsy. *Neurology*, **25**, 72-79 (1975).
- 57) Ito, M., Okuno, T., Mikawa, H. & Osumi, Y.: Elevated homovanillic acid in cerebrospinal fluid of children with infantile spasms. *Epilepsia*, **21**, 387-392 (1980).
- 58) Silverstein F. & Johnston, M. V.: Cerebrospinal fluid monoamine metabolites in patients with infantile spasms. *Neurology (Cleaveland)*, **34**, 102-105 (1984).
- 59) Kobayashi, K., Ebara, Y., Hosokawa, K. & Oku, Y.: Homovanillic acid concentration of cerebrospinal fluid in patients with epilepsy. *Brain Nerve*, **28**, 371-377 (1976).
- 60) Itoh, S., Onishi, S., Yamamoto, T. & Nishimura, Y.: Developmental changes of 5-hydroxyindoleacetic acid and homovanillic acid in lumbal cerebrospinal fluids. *Brain & Development (Domestic Ed.)*, **13**, 526-531 (1981).
- 61) 館野昭彦, 清水教一, 加藤葉子, 長嶋順子, 青木継稔: Polymyoclonia, truncal ataxia にて発症した Lennox 症候群の 1 幼児例. *日小児会誌*, **89**, 1345-1349 (1985).
- 62) Adachi, K., Sobue, I., Tohyama, M. & Shimizu, N.: Changes in the cerebellar noradrenaline nerve terminals of the neurological murine mutant Rolling Mouse Nagoya: A histo-fluorescence analysis. *Neurobiol. Neurophysiol.*, **3**, 329-330 (1975).
- 63) 小長谷正明, 高柳哲也, 室賀辰夫, 足立皓今, 祖父江逸郎: Rolling Mouse Nagoya の脳内ノルアドレナリン代謝と thyropin releasing hormone の影響. *臨床経*, **20**, 181-187 (1980).

Therapeutic Trials of Thyrotropin-Releasing Hormone (TRH) and Its Analog, DN-1417 in Lennox-Gastaut Syndrome Seiso Kyotani, Department of Pediatrics, School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920—*J. Juzen Med. Soc.*, **96**, 153—171 (1987)

Key words: Lennox-Gastaut syndrome, thyrotropin-releasing hormone, TRH analog, DN-1417, CSF monoamines

Abstract

Anti-epileptic effects of thyrotropin-releasing hormone (TRH) and its new analog, DN-1417 (γ -butyrolactone- γ -carbonyl-L-histidyl-L-prolinamide citrate), were examined in 9 patients (5 boys and 4 girls aged 2 to 11 yrs) with Lennox-Gastaut syndrome (LGS). One patient was treated with TRH, 6 with DN-1417 and 2 with both drugs. The treatment lasted for 14 days. TRH was

administered intravenously and DN-1417 intramuscularly, both of which were given at a dose of 40 $\mu\text{g}/\text{kg}$. The therapeutic effects were evaluated by changes in seizure frequency and EEG pattern. Metabolic and endocrinological effects were also studied by measuring serum hormones and monoamine metabolites in cerebrospinal fluid (CSF): thyroid stimulating hormone (TSH), thyroxine (T_4), triiodothyronine (T_3), prolactin (PRL), homovanillic acid (HVA), 3-methoxy-4-hydroxymandelic acid (VMA), 3-methoxy-4-hydroxy-phenylglycol (MHPG) and 5-hydroxy-indoleacetic acid (5HIAA). EEG and the examination of CSF and serum were evaluated before, during, immediately after and 4 weeks after the treatment. As long as the observation period is concerned, effects of the treatment by the two drugs on this syndrome were as follows: more than 50% reduction of seizure frequency lasting for 10 weeks after cessation of the treatment, change from the irregular high voltage δ activity in basic EEG pattern to a regular moderate θ activity, marked decrease or disappearance of the diffuse inter-ictal spike and wave discharges and improvement of ataxia as well as myoclonic seizures seen in 2 patients. During this period, no alteration was noted in the CSF levels of HVA, VMA, MHPG and 5HIAA, and serum concentrations of TSH, T_4 , T_3 and PRL were within the normal range. Although the exact mechanism by which TRH and DN-1417 suppress the seizure is unknown, these results indicate that both drugs are worthy of clinical trial as a treatment of LGS since they are effective against the intractable minor seizures of LGS.