

# Effect of Carbamazepine on the Induction of Long-term Potentiation in the Perforant Path-Dentate Gyrus Pathway in the Chronically Prepared Rabbits

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	<a href="http://hdl.handle.net/2297/8517">http://hdl.handle.net/2297/8517</a>

## 慢性実験における家兎の海馬歯状回での長期増強の 発現に対するカルバマゼピンの効果に関する研究

金沢大学医学部神経精神医学講座 (主任: 山口成良教授)

福 嶋 敏 信

海馬の長期増強 (long-term potentiation, LTP) の発現に対する抗てんかん薬あるいは気分安定薬として用いられているカルバマゼピン (carbamazepine, CBZ) の効果を検討した。体重 2.5~3.5kg の雄の成熟家兎15羽を用い、急性実験下で皮質層分析によって、一側の海馬歯状回に記録電極、貫通路に刺激電極を植え込んだ慢性モデルを作製し、14日間の回復期間後に無麻酔、無拘束の慢性条件下で実験を行った。初めに対照記録として単発刺激 (0.4~0.8mA の刺激強度, 0.2~0.5msec のパルス幅の矩形波で 30sec 間隔) を行って、集合スパイクと集合興奮性シナプス後電位からなる貫通路一歯状回反応波を記録した。次に CBZ を薬物動態学的理論 (pharmacokinetics) にもとづいて、定常状態の血中濃度で 5 $\mu$ g/ml を目標とした低濃度群と 10 $\mu$ g/ml を目標とした高濃度群の 2 群に分けて静脈内持続注入し、その40分後に貫通路に弱いテタヌス刺激 (0.2~0.4mA の刺激強度, 0.2msec のパルス幅, 60Hz, 1sec) を 3 分間隔で 3 回加え、LTP が発現するか否かを観察した。結果として低濃度群では LTP は完全に抑制されるものと十分に発現するものがあり一定しなかったが、高濃度群では完全に抑制された。これらの結果は CBZ が LTP 発現に対して用量依存性に抑制作用を有することを示唆する。

**Key words** carbamazepine, long-term potentiation, NMDA receptors

連続電気刺激 (テタヌス刺激) による興奮性シナプス伝達効率の持続的な増強は長期増強 (long-term potentiation, LTP) と呼ばれており、一つの神経可塑性ないしシナプス可塑性 (neuronal or synaptic plasticity) としてよく知られている。LTP は記憶の維持や学習との関連が示唆されており<sup>1)</sup>、それらの生理学的メカニズムの一つのモデルとも考えられている<sup>2)</sup>。さらに、LTP は後発射 (afterdischarge) を誘発しない程度の弱いテタヌス刺激により誘発されるが、てんかんの実験モデルの一つであるキンドリングすなわち「後発射を誘発するテタヌス刺激の反復によって生じるてんかん性反応の進行性増強」の際に、その刺激間隔期でみられる興奮性シナプス伝達効率の増強 (キンドリング誘発性増強, kindling-induced potentiation) は、LTP と生理学的にきわめて類似している<sup>3)-5)</sup>。それで、LTP はてんかんの基礎メカニズムと関連しているとも考えられている。

LTP は海馬体で最もよくみられ、さらに LTP はグルタミン酸受容体の一つのサブタイプである N-メチル-D-アスパラギン酸 (N-methyl-D-aspartate, NMDA) 受容体の活性化により誘発されることが一般的に知られている<sup>6)</sup>。これに関連して、Jibiki らは NMDA 受容体の拮抗薬である (+)-10, 11-ジヒドロ-5-メチル-5H-ジベンゾ [a; d] シクロヘプテン-5, 10-イミンリンゴ酸 ((+)-10, 11-dihydro-5-methyl-5H-dibenzo [a; d] cycloheptene-5, 10-imine maleate) を用いて、NMDA 受容体の活性化が LTP 様のキンドリング誘発性増強にも関与することを報告している<sup>7)</sup>。

一方、種々の抗てんかん薬や抗精神病薬の LTP に及ぼす効果が最近検討されている。例えば前者に関しては抗てんかん薬の作用機序を探る目的で、海馬スライスを用いた研究で LTP の発現に対するフェニトイン (phenytoin) の効果をみた研究<sup>11)12)</sup> や、家兎の急性実験で側頭葉てんかんに対する代表的な抗てんかん薬であるカルバマゼピン (carbamazepine, CBZ) を用いて、先に確立した LTP に対する効果すなわち LTP の維持に対する効果をみた Kubota ら<sup>13)</sup> の研究がある。また後者の抗精神病薬に関しては Jibiki ら<sup>8)</sup> のハロペリドール (haloperidol) に関する研究をはじめ、トリフルオペラジン、ピモジド、スピロペリドール、スルピリドなどの LTP の発現ないし維持に対する効果をみた研究がある<sup>14)-18)</sup>。これらの研究はそれらの抗精神病薬がカルモジュリン (calmodulin) 介在性の現象に対する遮断作用を有することやドーパミン (dopamine) 受容体の強力な拮抗薬であることから、カルモジュリンやドーパミン性の調節が LTP の発現ないし維持に対してどの程度関与するかを検討するために、行われている<sup>9)</sup>。

ところでこれらの薬物の中で CBZ は上記のように代表的な抗てんかん薬である<sup>19)</sup> とともに、近年では躁うつ病<sup>20)21)</sup> や精神分裂病<sup>22)23)</sup> などの精神病患者の治療、特に躁状態<sup>24)</sup> の患者の治療に気分安定剤 (mood stabilizer) として使用され、神経科精神科領域の薬物治療における重要な薬剤の一つである。ごく最近、マウスのスライス実験において CBZ が NMDA で誘発された膜電流を遮断したり<sup>25)</sup>、さらにまたマウスのスライス実験において 1.25~10 $\mu$ M の低濃度の CBZ が NMDA で誘発された脱分

平成 5 年 12 月 2 日受付, 平成 6 年 1 月 5 日受理

Abbreviations: CBZ, carbamazepine; DMSO, dimethyl sulfoxide; EPSP, excitatory postsynaptic potential; LTP, long-term potentiation; NE, norepinephrine; NMDA, N-methyl-D-aspartate; PS, population spike

極を減弱し、一方 100~200 $\mu$ M の高濃度の CBZ は NMDA で誘発された脱分極を促進した<sup>26)</sup>との報告がある。これらの報告によると、CBZ は NMDA 受容体を介する現象としての LTP の発現に影響を及ぼすことが予想されるが、これまでに上記の Kubota ら<sup>13)</sup>の研究以外には、LTP 自体に対する CBZ の効果を検討した研究は見当たらない。そこで本研究では LTP に対する抗てんかん薬や抗精神病薬の効果に関する一連の研究として、この CBZ の LTP の発現に及ぼす効果は無麻酔、無拘束の慢性条件下の家兎を用いて検討した。

### 材料および方法

#### I. 実験動物および脳刺激部位

体重 2.5~3.5kg の雄の成熟家兎 (三共ラボ, 富山) 15羽を用いて実験を行った。ペントバルビタールナトリウム (30~40mg/kg, ネンブタール<sup>®</sup>, ダイナボット, 大阪) の腹腔内注射による麻酔後、1% の塩酸リドカインの局所麻酔下で外科手術を行った。実験中は頭部をセミクロニクホルダー (成茂, 東京) で固定し、イヤボールを用いなかった<sup>27)</sup>。Ridge<sup>28)</sup>の脳図譜に基づき、前頂 (bregma) から右側方 6mm, 尾側 4mm および右側方 1mm, 尾側 4mm の位置を中心にそれぞれ直径約 10mm の丸い穴を頭蓋骨に開け、硬膜表面を露出した。図 1 に示したように先端直径 1~2 $\mu$ m, 電気抵抗 1~5k $\Omega$  のダングステン微小記録電極と直径 0.4mm の双極性同芯刺激電極の二つを一組として各々の先端をほぼ同じ高さに揃え、両先端間距離を 0.5mm に固定して電極ホルダーに取付け、油圧式マイクロマニピュレーター (成茂) で前頂より右側方 6mm, 尾側 4mm の位置の硬膜表面の中心点より徐々に脳深部に刺入した。この刺入は皮質層分析すなわち刺激パルスの強度を 0.2~0.3mA, パルス幅を 0.2msec とした矩形波を、10秒間隔の単発刺激であたえることによって生じる外界電位 (field potential) の反応波を VC-10 メ

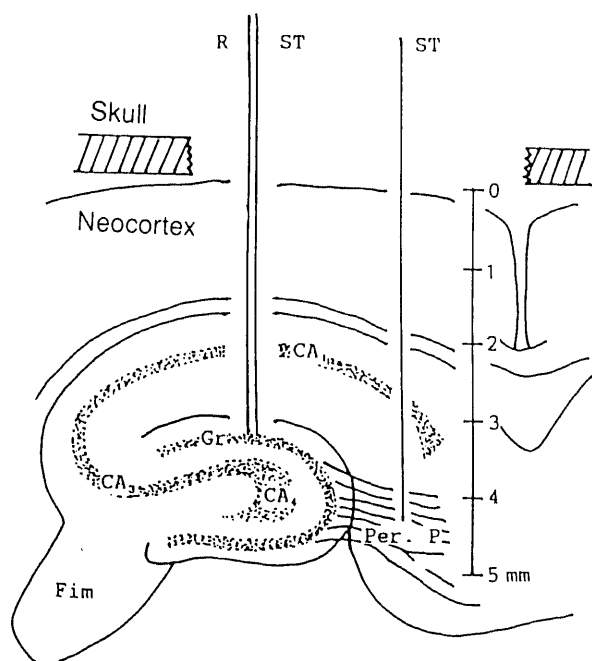


Fig. 1. Experimental schema. CA<sub>1</sub>, CA<sub>2</sub> and CA<sub>4</sub> show hippocampal regions. Fim, fimbria; Gr, granular cell layer; Per. P., perforant path; R, a tungsten recording electrode; ST, stimulating electrode.

モリーオシロスコープ (バンドパス・フィルタ, 0.08-3000Hz; 日本光電, 東京) とこれに接続した X-Y レコーダー (理科電機, 東京) で 50~100 $\mu$ m の深さ毎に観察記録しながら行い、図 2 に示すごとく特有の位相逆転 (phase reversal) のみられる部位を歯状回と同一とした<sup>29)</sup>。その部位の硬膜表面からの深さは 3800~5500 $\mu$ m (4394 $\pm$ 457 $\mu$ m, 平均値 $\pm$ 標準偏差) であった。次にもう一つの双極性同芯刺激電極を前頂より右側方 1mm, 尾側 4mm の位置の硬膜表面より刺入し、この電極でやはり一定強度の単発刺激を行い、歯状回の記録電極から得られる反応波を観察しながら、図 4 A の最上段の対照記録に示した波形で最大振幅の反応波の得られる部位を貫通路と同一とした。その部位の硬膜表面からの深さは 4100~5500 $\mu$ m (4653 $\pm$ 367 $\mu$ m, 平均値 $\pm$ 標準偏差) であった。同時に頭蓋骨前頭洞に不関電極としてスクリーネジ電極を配置した。これらの記録電極と刺激電極は互いに接触しないように歯科用セメント (ジーシー, 東京) で頭蓋骨に固定し、慢性モデルを作製した。術後 14 日間の回復期間後に、無麻酔、無拘束の慢性条件下で実験を行った。

#### II. 対照実験 (実験 I)

まず、コントロールとして、家兎 15羽のうちの 5羽を用い、CBZ を含まない溶媒のジメチルスルホキシド (dimethyl sulfoxide, DMSO) (和光純薬, 大阪) のみを静脈内持続注入し、対照実験を行った。初めに対照記録として貫通路を一定の刺激強度で単発刺激し歯状回における外界電位の反応波を記録した。その際前もって単発刺激の刺激強度を変えて反応波を観察し、図 4 A の最上段に示すごとく、0.5mV 以下の比較的小さい集合スパイク (population spike, PS) とそれに先行する陽性の集合興奮性シナプス後電位 (population excitatory postsynaptic potential, 集合 EPSP) の先行傾斜と、これらの成分に引き続いて出現する緩徐な陽性波からなる貫通路-歯状回反応波が出現するような刺激強度をこの対照記録のための一定の刺激強度とした。この刺激のパラメーターは 0.2~0.5msec の矩形波パルス、0.4~0.8mA の刺激強度、30秒間隔 (0.03Hz) であった。なお反応波は DAT1100 加算平均装置 (averager) (日本光電) を用いて 4 個を加算平均して観察記録した。対照記録は 30 分間行い、その内の最初の 20 分間は、上記の一定強度の単発刺激による反応波を記録し、残りの 10 分間は刺激強度を 4 段階に変えてその反応波の変化を観察し、いわゆる入力-出力曲線 (input/output curve) を作製するための操作を行った。

次に CBZ を含まない溶媒の DMSO のみを静脈内持続注入した。その後、40 分間にわたり再び対照記録で用いたのと同じ一定強度の単発刺激で反応波記録を行った。

次に、後発射を誘発させない刺激強度で、LTP を発現させるためにテタヌス刺激を貫通路に加えた。一回だけのテタヌス刺激では必ずしも LTP を発現できないので、この刺激は 3 分間隔で 3 回繰り返した。このテタヌス刺激のパラメーターは、0.2~0.4mA の刺激強度で、0.2msec のパルス幅の矩形波で、60Hz の周波数、1 秒の刺激時間であった。テタヌス刺激後、1 時間にわたり再び対照記録で用いたのと同じ一定強度の単発刺激を行い、その最後の 10 分間はやはり入力-出力曲線作製のための操作を行った。

#### III. LTP 発現に対する CBZ の効果に関する実験 (実験 II)

家兎 10羽を用い、海馬 LTP の発現に対する CBZ の効果に関する実験を行った。CBZ は日本チバガイギー (宝塚) より提供を受けた。実験 I と同様に、初めに対照記録を行い、次に

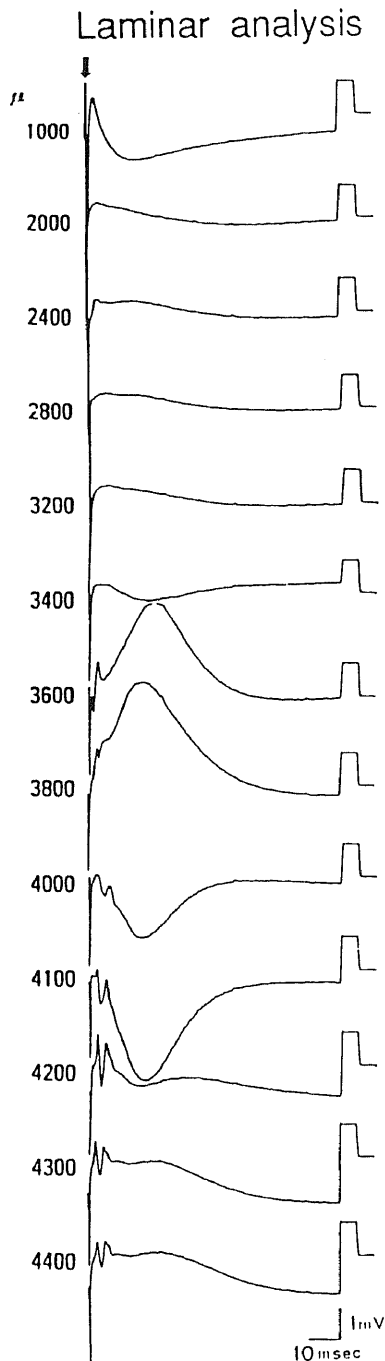


Fig. 2. Identification of the dentate gyrus in a laminar analysis. Responses in the dentate gyrus show a phase reversal observed simultaneously with insertion of electrodes into its gyrus (4000  $\mu\text{m}$  depth). When electrodes are inserted downward still more, responses reveal the second phase reversal (4200  $\mu\text{m}$  depth). The width between the first and second reversal points corresponds to the dendrite layer of the granule cells (usually 300  $\mu\text{m}$  width). In the present study, the recording electrode was always placed at the depth of 50  $\mu\text{m}$  above the second reversal point, since the depth is presumed to be situated at the basal portion of the dendrite<sup>20</sup>. Arrow marks, single shocks at a constant intensity (monopolar square pulses of 0.2 msec duration, 500  $\mu\text{A}$ , 10 sec stimulus interval); numerals, depths from the cortical surface.

CBZを投与した。CBZは溶媒のDMSOに溶解し静脈内持続注入した。定常状態 [steady state (血中への薬物の取り込みと血中からの消失速度が同一となり、血中濃度が一定となった状態)] のCBZ血中濃度レベルを得るために、先に確立されたCBZの薬物動態学的理論 (pharmacokinetics) に従って<sup>30,31)</sup>、CBZの単回投与 (single injection or loading dose) と微量注入装置による持続注入 (continuous microinfusion or infusion dose) を併用した。単回投与量と持続注入量は、一分画モデル (one compartment model) による解析で求めたCBZの消失速度定数 (rate of elimination)  $0.0073\text{min}^{-1}$  および分布容量 (distribution volume)  $1,140\text{ml/kg}$  により決定した。単回投与と持続注入は、それぞれ左右の耳静脈より行い、持続注入にはKN式微量注入器 (夏日製作所, 東京) を使用した。CBZの血中濃度レベルは、ヒトのてんかん治療におけるCBZの有効血中濃度に合わせるべく、低濃度群は  $5\mu\text{g/ml}$  ( $n=5$ ) を、高濃度群は  $10\mu\text{g/ml}$  ( $n=5$ ) を目標とした。CBZ静脈内持続注入開始後、実験Iと同様に40分間にわたり対照記録で用いたのと同じ一定強度の単発刺激で反応波記録を行った。CBZ注入開始後40分で、実験Iと同様に貫通路に弱いテタヌス刺激を加えた。このCBZ静脈内持続注入後40分という期間は、海馬を含むラット脳でのCBZのプラトー (plateau) 濃度がCBZの静脈内注入後20分以内で達成される<sup>32)</sup> ためと、その後の一定強度の単発刺激による反応波の観察期間としての20分を合計して決めた。次に、テタヌス刺激後、LTPの発現をみるために1時間以内に再び対照記録で用いたのと同じ一定強度の単発刺激で反応波記録を行い、その最後の10分間は入力-出力曲線作製のための操作を行った。実験終了後、耳静脈からヘパリン処理した注射筒で採血した。採血量は約1mlとした。血液を直ちに冷却遠心機 KUBOTA KR-20000T (久保田製作所, 東京) にて遠心分離 (3000rpm, 10min) した後、 $-20^\circ\text{C}$  で凍結保存した血漿をCBZの血中濃度用検体とした。CBZの血中濃度測定は免疫蛍光測定装置であるTDXアナライザー (ダイナボット) にて行った。

#### IV. 反応波の解析

反応波の解析にあたっては図4Aの最上段の対照記録に示すごとく4個の加算平均した波形についてその集合スパイクの振幅と集合EPSPの勾配 ( $\text{mV/msec}$ ) を測定した<sup>33)</sup>。また、対照記録とテタヌス刺激後の2つの時期ではそれぞれ入力-出力曲線作製のための操作の直前の20分間の、そして溶媒あるいはCBZの投与後の時期では40分間の記録中の後半の20分間の、

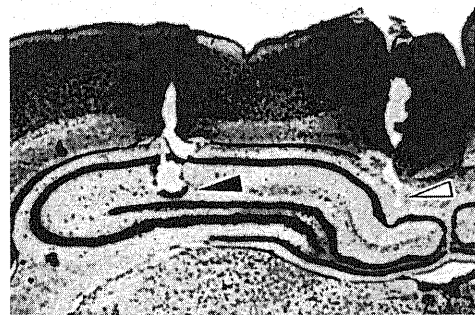


Fig. 3. Histological analysis of experimental sites. Arrow marks, the perforant path (white) and the dentate-gyrus (black).  $\times 6.0$ .

それぞれ一定強度の単発刺激による加算平均した10個の反応波(実際の反応波の数は40個)の集合スパイクの振幅と集合 EPSP の勾配の平均値を、各実験の対照記録の値を100としたパーセンテージに換算して表し、各時期における変化を測定した。

#### V. 脳組織標本の作製

実験終了後二つの刺激電極に直流通電を行ってその先端部位を電気凝固した後、脳をホルマリン固定した。その後、脳切片にし、ニッスル染色によって組織標本を作製し、図3に示すごとく貫通路と歯状回に刺激電極が刺入されていたことを確認した。タングステン記録針の位置はその刺激電極の一つと先端をそろえて刺入したことから推定できた。これらの解剖学的同定は、Ridge<sup>28)</sup>の脳図譜および Shek ら<sup>33)</sup>のアトラスを参照して行った。

#### VI. 統計解析

3群、すなわち低濃度群、高濃度群、そして溶媒のみの群の間で、集合スパイクの振幅や集合 EPSP の勾配のパーセンタ

ジの統計的有意差を検定するために、Student の t 検定により統計解析を行い、いずれも危険率 5% 以下を統計学的に有意とした。

#### 成 績

##### I. 対照実験(実験 I)

##### 1. 一定強度の単発刺激による反応波の変化

図4Aに1例の実験データから貫通路の一定強度の単発刺激による歯状回における反応波の対照記録、溶媒投与後の変化、およびテタヌス刺激後の変化を示した。反応波は対照記録および溶媒投与後では前述のごとく比較的小さい集合スパイクとこれに続く陽性緩電位からなり、これらの成分の大きさは対照記録およびテタヌス刺激前の40分間の記録中ではほとんど変化しなかった。5例全体では溶媒投与後の時期で集合スパイクの振幅および集合 EPSP の勾配は対照記録を100として、それぞれ 88~113% ( $103.2 \pm 10.4\%$ ) および 85~113% ( $98.8 \pm 12.7\%$ ) を示

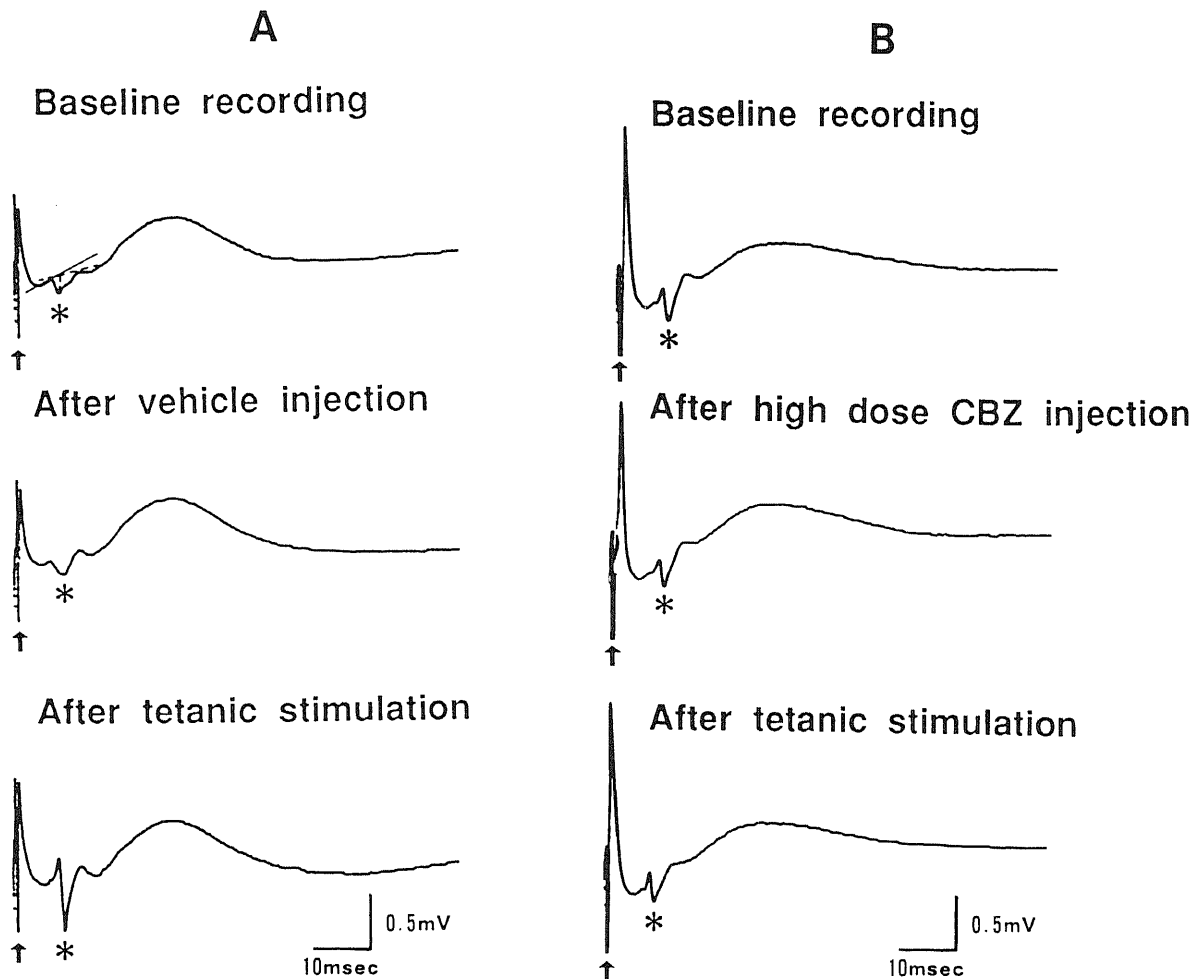


Fig. 4. Typical averaged responses evoked in the dentate gyrus by single shocks at fixed intensity to the perforant path in one rabbit each in each session in experiments I and II. A. A typical averaged responses in experiment I (vehicle solution group). Arrow marks, the single shocks (0.2 msec pulse duration, 400  $\mu$ A, 30 sec stimulus interval); \*, population spike; Dotted and solid lines in an uppermost response (Baseline recording) show how to measure the population spike amplitude from tangent across onset and offset of spike to the peak of the spike and population EPSP slope (slope of the leading edge of the first component in the response, mV/msec), respectively. The second and third traces show the responses after vehicle injection, and after tetanic stimulation, respectively. B. A typical averaged responses in the high serum level group of experiment II (CBZ serum level of 8.5  $\mu$ g/ml). The first, second and third traces show the responses during baseline recording, after high dose CBZ injection, and after tetanic stimulation, respectively.

した。テタヌス刺激後これらの成分の著しい増大がみられ LTP の発現が生じた。ただしその増大の程度は実験によりかなり変動がみられ、5例全体ではテタヌス刺激後の時期で集合スパイクの振幅および集合 EPSP の勾配は、それぞれ 119~219% (156.4±39.5%) および 125~160% (138.8±18.5%) を示した。Student の t 検定上、対照記録と溶媒投与後では集合スパイクの振幅および集合 EPSP の勾配とも有意差はなかった。溶媒投与後とテタヌス刺激後および対照記録とテタヌス刺激後では、それぞれ集合スパイクの振幅および集合 EPSP の勾配とも有意の増加がみられ ( $p < 0.05$ )、特に対照記録とテタヌス刺激後では集合 EPSP の勾配で強い有意差がみられた ( $p < 0.01$ )。図 5 A にこの対照実験の 5 例全体の上述のデータ値を棒グラフで示した。図 6 A は図 4 A と同一家兎の反応波の集合スパイクの振幅変化をグラフで経時的に示したものである。個々の刺激による反応波の集合スパイクの振幅はこのグラフでわかるように実際にはかなり変動した。

## 2. 入力-出力曲線での変化

図 7 A に別の 1 例の家兎の実験の入力-出力曲線による変化を示した。横軸に 4 段階の異なる刺激強度を、縦軸に集合スパイクの振幅を示している。対照記録におけるグラフで示すように、刺激強度を上げると集合スパイクの振幅は段階的に増大した。テタヌス刺激後では、個々の刺激強度によって集合スパイクの振幅が対照記録と比べると著しく増大してみられ、このグラフからも LTP の発現が明瞭に生じていることがわかる。

## II. LTP 発現に対する低濃度群の CBZ の効果

### 1. CBZ の血中濃度レベル

5  $\mu\text{g}/\text{ml}$  を目標にした低濃度群の CBZ の血中濃度の実測値は、5 例の実験で、2.2~3.3  $\mu\text{g}/\text{ml}$  (2.85±0.40  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) であった。

### 2. 一定強度の単発刺激による反応波の変化

5 例のすべてで、低濃度の CBZ の投与後の時期では集合スパイクの振幅および集合 EPSP の勾配は対照記録とほぼ変わらず、それぞれ 85~113% (97.8±13.0%) および 85~107% (96.2±9.8%) を示した。一方、テタヌス刺激後の時期では、5 例中 2 例でテタヌス刺激後の LTP 発現が抑制されたが、他の 3 例では抑制がみられず、対照実験と同程度の集合スパイクの振幅および集合 EPSP の勾配の増大がみられた。このテタヌス刺激後の時期の集合スパイクの振幅および集合 EPSP の勾配は、5 例全体でそれぞれ 73~219% (121.2±57.0%) および 89~150% (111.0±27.9%) を示した。Student の t 検定上、対照記録、低濃度の CBZ 投与後およびテタヌス刺激後の各時期の間で、集合スパイクの振幅および集合 EPSP の勾配の両者とも有意差はなかった。図 5 B に CBZ の低濃度群の 5 例全体の上述のデータ値を棒グラフで示した。

## III. LTP 発現に対する高濃度群の CBZ の効果

### 1. CBZ の血中濃度レベル

10  $\mu\text{g}/\text{ml}$  を目標にした高濃度群の CBZ の血中濃度の実測値は、5 例の実験で、6.5~8.6  $\mu\text{g}/\text{ml}$  (8.01±0.87  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) であった。

### 2. 一定強度の単発刺激による反応波の変化

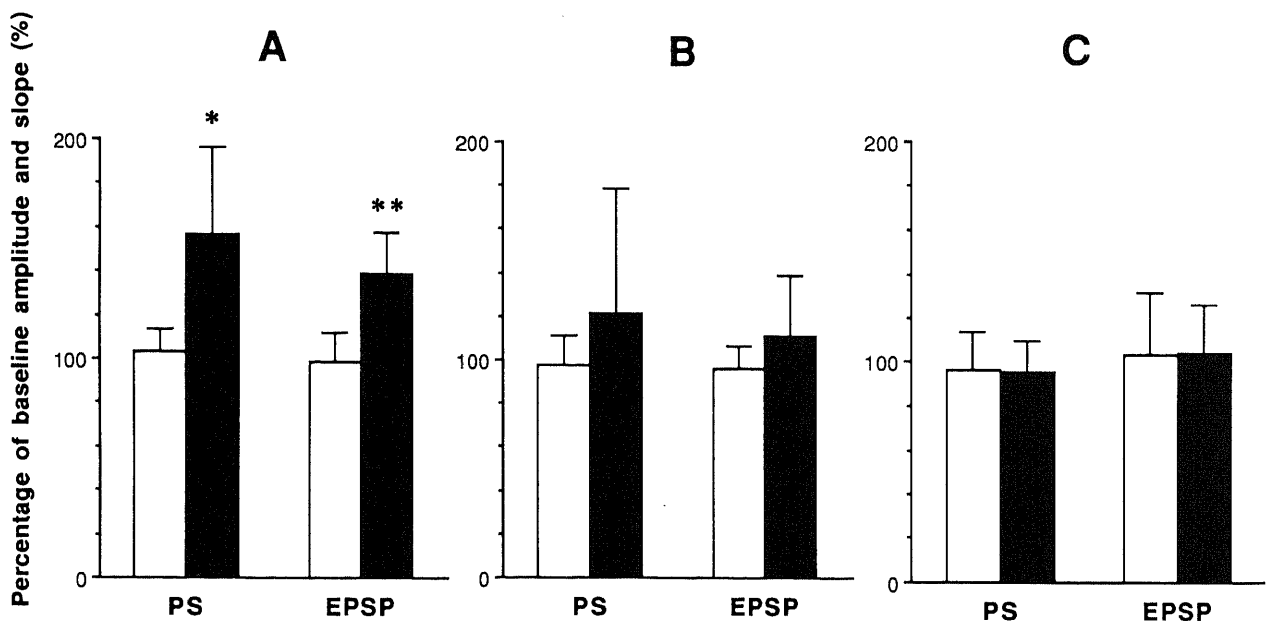


Fig. 5. Means and standard deviations of percent changes of the population spike amplitudes and EPSP slopes from baseline recording in the total of each rabbit group in experiments I and II. PS indicates population spike amplitude, and EPSP indicates population EPSP slope. □, after vehicle or CBZ injection; ■, after tetanic stimulation for inducing LTP. A. The percent changes in PS amplitude and EPSP slope in experiment I (vehicle solution group). There were no significant change between baseline and post dimethyl sulfoxide injection, however, significant increase in both PS amplitude and EPSP slope between baseline and post tetanic stimulation. Marks \* and \*\* express the presence of the significant differences on Student's t-test showing  $0.01 < p < 0.05$  and  $p < 0.01$ , respectively. B. The percent changes in PS amplitude and EPSP slope in experiment II (CBZ low serum level group, 2.85±0.40  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ). The percent changes in PS amplitude and EPSP slope after the tetanic stimulation showed variable change; LTP induction was observed in 3 of 5 rabbits, but not in the remaining 2 rabbits. C. The percent changes in PS amplitude and EPSP slope in experiment II (CBZ high serum level group, 8.01±0.87  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ). LTP was not induced in all of 5 rabbits. In neither B nor C, there were any significant differences in both PS amplitude and EPSP slope between baseline, post-CBZ injection and post tetanic stimulation:-

図4Bに1例の実験データから貫通路の一定強度の単発刺激による歯状回における反応波の対照記録, 8.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ のCBZ投与後の変化, およびテタヌス刺激後の変化を示した。反応波は対照記録およびCBZ投与後では前述のごとく比較的小さい集合スパイクとこれに続く陽性緩電位からなり, これらの成分の大きさはCBZの投与後の40分間の記録中ではほとんど変化し

なかった。この高濃度のCBZの投与後の時期の集合スパイクの振幅および集合EPSPの勾配は, 5例全体でそれぞれ85~121% (96.8 $\pm$ 16.6%) および85~146% (103.5 $\pm$ 28.5%)を示した。テタヌス刺激後も5例のすべてで, 対照実験と異なりこれらの成分はほとんど変わらず, 有意な増大がみられずLTPの発現が抑制された。このテタヌス刺激後の時期では集合スパ

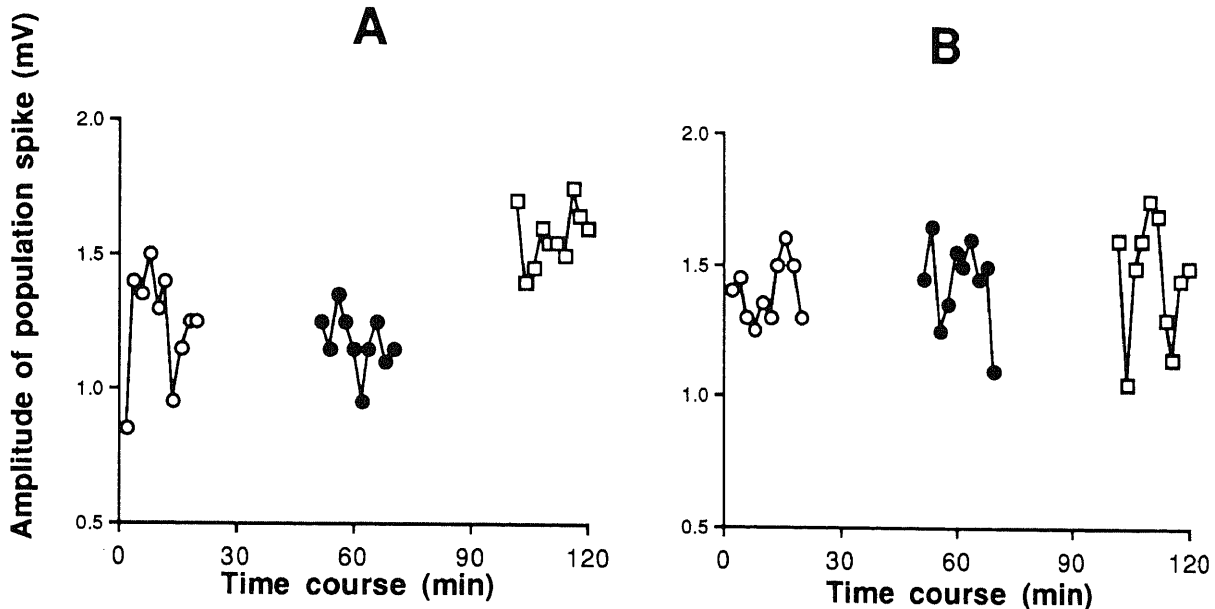


Fig. 6. Serial changes of population spike amplitudes in the 10 averaged dentate responses elicited consecutively by single shocks at a fixed intensity in each session.  $\circ$ , baseline recording;  $\bullet$ , after vehicle or high dose CBZ injection;  $\square$ , after tetanic stimulation. A. Data from the same rabbit as in Fig. 4. A. with experiment I. They show the induction of LTP after tetanic stimulation. B. Data from the same rabbit as in Fig. 4. B. with experiment II (CBZ high serum level of 8.5  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ). They show the lackness of LTP induction after tetanic stimulation.

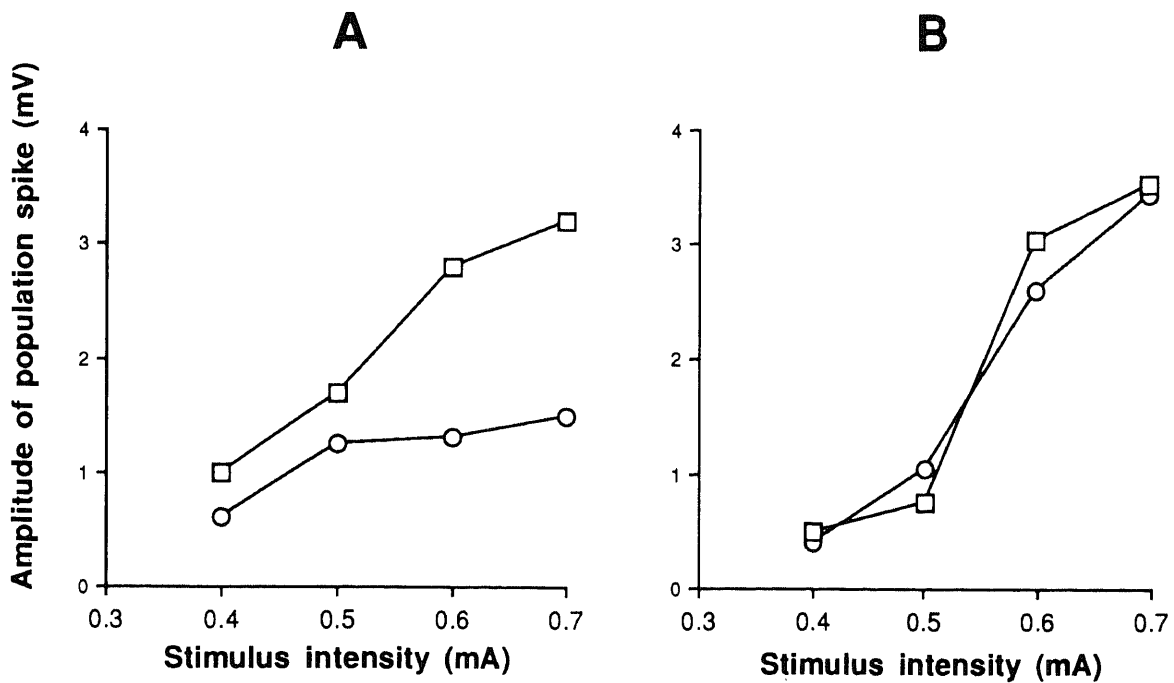


Fig. 7. Effect of vehicle or CBZ dose on LTP induction demonstrated by input/output curves. The axis of abscissas shows the stimulus intensity of a single shock.  $\circ$ , baseline recording;  $\square$ , after tetanic stimulation. A. Data from a rabbit with experiment I. They show the induction of LTP after tetanic stimulation. B. Data from a rabbit with experiment II (CBZ high serum level of 8.5  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ). They show the lackness of LTP induction after tetanic stimulation.

イクの振幅および集合 EPSP の勾配は、5 例全体でそれぞれ 76~111% (95.5±14.5%) および 89~136% (104.5±22.0%) を示した。Student の t 検定上、対照記録、高濃度の CBZ 投与後およびテタヌ刺激後の各時期の間で集合スパイクの振幅および集合 EPSP の勾配の両者とも有意差はなかった。図 5 C に CBZ の高濃度群の 5 例全体の上述のデータ値を棒グラフで示した。図 6 B は図 4 B と同一の家兔の反応波の集合スパイクの振幅の変化をグラフで経時的に示したものである。

### 3. 入力-出力曲線での変化

図 7 B に高濃度群の 1 例の実験の入力-出力曲線による変化を示した。やはり横軸に 4 段階の異なる刺激強度を、縦軸に集合スパイクの振幅を示した。テタヌ刺激後の時期で、個々の刺激強度によって増大する集合スパイクの振幅は対照記録とはほぼ同程度であり、このグラフからも LTP の発現が抑制されていることがわかる。

## 考 察

本研究では、CBZ の LTP の発現に及ぼす作用を検討した。すなわち CBZ の投与は LTP の発現に先立ち前処置の形で行われ、その前処置によって LTP の発現が起こるか否かを検討した。このような前処置による効果は LTP の発現の初めの段階における機序に影響を与えるものと考えられる。以前 Kubota ら<sup>13)</sup> は、LTP が発現した後の段階、すなわち LTP の維持に対する CBZ の効果を研究しているが、この研究では、LTP の維持は約 5 $\mu$ g/ml の比較的低濃度の CBZ で促進されることが報告されている。彼らの研究と異なり、本研究は LTP の発現機序そのものを考えるうえにおいて意義があるものと思われる。

以前の Kubota ら<sup>13)</sup> の実験は麻酔によって無動化し人工呼吸下に置いた家兔で、すなわちいわゆる急性条件下で実験を行った。しかし、本研究では、無麻酔、無拘束の家兔がケージ内を自由に行動できる状態で、すなわち慢性条件下で実験を行った。無動化し人工呼吸下に置かれた家兔は、無麻酔、無拘束でケージ内を自由に行動できる家兔に比べて何らかのストレス状況下に置かれていると考えられる。ストレス状況下における神経伝達物質の変化を検討した実験において、当初亢進していたノルエピネフリン (norepinephrine, NE) 代謝回転がストレスへ適応する過程で減弱することが報告されている<sup>34)</sup>。また、慢性的にストレスを負荷されると、NE 合成が促進されて脳内 NE 含量が増加してくることが動物実験で認められている<sup>35)</sup>。このようにストレス状況下における動物実験では、脳内 NE 神経活動に何らかの変化が起こり、それが LTP の発現にも影響がおよぶ可能性がある。実際、Stanton ら<sup>36)</sup> はラットの海馬スライスを用いた実験で、あらかじめ NE を枯渇させておくことと歯状回での LTP が減弱したとの報告をしている。また一方、CBZ は抗うつ薬のイミプラミンと類似の三環系構造 (iminostilbenes) を有していることから、脳内モノアミン系に何らかの作用を及ぼすことが推察され、実際に CBZ の臨床作用に NE 神経系が何らかの形で関与しているとの報告<sup>37)</sup> もある。この点においてストレス状況下にある急性条件下での実験よりも、自由に行動できる状態での慢性条件下での実験の方がこれらの影響が少ないと考えられる。またさらに、今回は無麻酔下にて実験を行ったが、一般に、バルビツール酸誘導体は大脳皮質および脳幹網様体の上行性賦活系に対して強く作用し、求心性衝撃による皮

質ニューロンの賦活を抑制することが認められている。この抑制作用の機序は神経細胞の膜を安定化することによってその興奮の閾値を高め、また膜が興奮から回復する時間を延長することによるといわれ、末梢のシナプスにおける興奮の伝達を抑制する作用が認められている。これらの作用はおそらく中枢神経細胞の酵素系に対する抑制に基づくものと考えられているが、未だ十分明らかでない。麻酔薬のごく最近の研究によると、全ての麻酔薬には興奮性のシナプス伝達を抑制する作用があり、とくにラットの海馬歯状回の神経細胞においてペントバルビタールナトリウムは興奮性のシナプス伝達を抑制する一方、集合スパイクの振幅を増強させると報告されている<sup>38)</sup>。この点においても今回の実験は急性条件下の実験よりもこれらの影響が少ないと考えられる。

次に本研究の主要所見すなわち 6.5~8.6 $\mu$ g/ml (8.01±0.87 $\mu$ g/ml) の比較的高濃度レベルの CBZ が LTP の発現を完全に抑制したが、この所見を引き起こすメカニズムについて考えてみる。まず最近の研究によると、マウスの培養神経細胞での細胞内記録法による実験において、治療至適濃度の CBZ はナトリウムイオンチャンネルを用量、濃度および電位依存性に遮断することが報告されている<sup>39,40)</sup>。またカリウムイオンチャンネルにも作用して細胞外へのカリウム流出を促進させることにより、神経細胞が過分極状態に傾き神経興奮性を減弱させると考えられている<sup>41)</sup>。ところでナトリウムイオンの細胞内流入やカリウムイオンの細胞外への流出は通常の神経細胞の興奮の根底に起こる現象である。本研究で観察の対象とした貫通路一歯状回の反応波における集合 EPSP や集合スパイクもそれらの電位変動の基礎にはやはりナトリウムイオンの細胞内流入やカリウムイオンの細胞外への流出が生じている。そこで CBZ の LTP の発現に対する抑制作用がこれらのイオンチャンネルに及ぼす CBZ の抑制作用から生じる可能性が考えられる。ただしこのような CBZ のイオンチャンネルに対する抑制作用を考えた場合、LTP の発現を抑えるだけでなくテタヌ刺激前の通常の反応波の集合 EPSP や集合スパイクに対しても何らかの抑制作用がみられてもよいように考えられるが、本研究ではこれが観察されなかった。それで、今回の LTP 発現に対する CBZ の抑制作用がこれらのイオンチャンネルに対する CBZ の作用によるとは考えにくいと思われる。Kubota ら<sup>13)</sup> は LTP の維持に対する CBZ の影響に関する研究で、3.23~6.49 $\mu$ g/ml の比較的低濃度の定常状態血中濃度の CBZ がテタヌ刺激前の通常の反応波に対して何ら影響を示さないのに対して、11.16~15.75 $\mu$ g/ml 前後の比較的高濃度の CBZ は、先に確立した LTP に対してその集合スパイクの振幅を抑制しただけでなく、そのテタヌ刺激前の通常の反応波に対しても、その集合スパイクの振幅や集合 EPSP の勾配を抑制したことを観察し、これらの抑制が CBZ のナトリウムイオンチャンネルに対する抑制作用にもとづくことと考察している。本研究では設定した CBZ の血中濃度が高濃度群でも Kubota らの濃度に比べて低いために、そのようなイオンチャンネルに対する影響は起こらなかった可能性が強い。

次に、LTP 発現に関与する NMDA 受容体に対する CBZ の作用をみてみると、胎児マウスの脊髄培養神経細胞の試験管内の実験において、この細胞に 100 $\mu$ M の NMDA を強制駆出注入して誘発した膜電流は 20 $\mu$ M、すなわち 4.73 $\mu$ g/ml の CBZ により有意に抑制され、この抑制は 1~50 $\mu$ M、すなわち



0.236~11.8 $\mu\text{g/ml}$ の濃度範囲で用量依存性にみられたという報告がある<sup>29</sup>。この結果から、NMDA で誘発された膜電流の抑制が CBZ の抗てんかん作用に寄与しているのではないかと考えられている。さらに、Lancaster ら<sup>26)</sup> はてんかん原性に関連した基礎メカニズムを反映させるために遺伝的にてんかん誘発性を有する DBA/2 マウスを使用して作製した皮質スライスで実験を行い、1.25~10.0 $\mu\text{M}$ 、すなわち 0.296~2.36 $\mu\text{g/ml}$ の濃度レベルの CBZ は 20 $\mu\text{M}$  の NMDA で誘発された脱分極を有意に減弱させたと報告している。これらの知見は NMDA 受容体およびこれと連結するカルシウムイオンチャンネル複合体に対する CBZ の直接の遮断作用を示唆すると思われる。ところで LTP の発現メカニズムについては、シナプス前膜からの興奮性伝達物質グルタミン酸の放出の増加によるという考えもあるが、他方ではシナプス後膜の NMDA 受容体の活性化によってカルシウムイオンが細胞内に流入し、カルシウム依存性酵素の活性化によって細胞膜タンパクの磷酸化などが生じ、興奮性神経伝達物質の受容体 (主に通常の興奮で活性化する非 NMDA 受容体) の感受性の増大や数の増加が生じることによって起こるという考えが有力であり、またこの両者の併存説も考えられている<sup>42)~47)</sup>。本研究で得られた CBZ の LTP 発現に対する抑制作用は、この NMDA 受容体およびこれと連結するカルシウムイオンチャンネル複合体に対する CBZ の直接の遮断作用によって、この複合体の不活性化によるとみるのが最も考えやすいかもしれない。本研究の高濃度群の 6.5~8.6 $\mu\text{g/ml}$ の血中濃度レベルの CBZ は、脳脊髄液中の濃度で 32~43 $\mu\text{M}$  に相当すると考えられる<sup>26)</sup>。この脳内濃度は上記のスライス実験で NMDA で誘発された膜電流を用量依存性に抑制した CBZ の濃度範囲に相当する。

次に CBZ の LTP 発現に対する抑制作用のメカニズムに関して、他の神経伝達系との関係から考えてみる。CBZ をラットの腹腔内に 12.5mg/kg および 25mg/kg 投与した場合にドーパミンおよびその代謝産物が増加し、50mg/kg 投与した場合にはそれらが減少したとの報告がある<sup>48)</sup>。すなわち CBZ のドーパミンに対する作用が投与量により異なることが報告されている。一方、ドーパミン遮断薬である抗精神病薬の LTP に対する効果に関する研究から、比較的高濃度のハロペリドールがカルモジュリンに対する抑制によって LTP の発現を抑制するのに対して<sup>9)</sup>、比較的低濃度のハロペリドールはドーパミン遮断作用によって LTP の発現を促進するか<sup>15)</sup>、または LTP の発現に影響しないことが報告されている<sup>18)</sup>。またドンペリドン、スルピリドおよびフルベンチキソールなどの抗精神病薬は LTP の発現に影響しないが、ドーパミン遮断作用によって LTP の持続を抑制することが報告されている<sup>18)</sup>。これらの知見によると、ドーパミンは LTP の発現に対して影響しないかまたは抑制的に作用し、LTP の維持に対しては促進的に作用することが考えられる。そこで上述のように CBZ がドーパミンを増加する場合にはこの効果が LTP の発現を抑制する可能性が考えられ、このドーパミンを介する作用も今回の CBZ の LTP の発現に対する抑制作用の一因として考え得る。

また、NE と CBZ との関係についてみると、CBZ は投与後、時間や日の単位の短い時間経過で起こる急性効果としては NE 神経機能を活性化し、週の単位の長い時間経過で起こる慢性効果としては NE の遊離、代謝回転を減弱させることが知られている<sup>49)</sup>。この急性効果は抗てんかん作用と関連しており、

慢性効果は抗精神病作用とくに抗躁作用と関連していると考えられている<sup>49)</sup>。一方、NE と LTP との関係では、NE は LTP に対して促進的に作用することが知られている<sup>36)50)</sup>。本研究では CBZ の急性効果を観察していることから、もし NE 機能を介して LTP に作用するとすれば LTP を促進することになり、今回の所見とは矛盾する。

さらに CBZ の他の神経伝達系との関連についてみると、近年神経伝達を抑制的に調節するとされる神経伝達修飾物質 (neuromodulator) としてのアデノシンとの関係が注目される。アデノシンはカルシウムイオンの細胞内流入を抑制して神経終末からの神経伝達物質の放出を抑制することが知られている<sup>51)</sup>。その受容体には cAMP を減少させるアデノシン A1 受容体と、増加させるアデノシン A2 受容体が確認されている<sup>51)</sup>。慢性投与された治療至適濃度の CBZ は、A1 受容体に対して拮抗薬として作用し、アデノシン作用を抑制することが知られている<sup>52)</sup>。一方、Okada ら<sup>53)54)</sup> は LTP とアデノシンとの関係について、海馬スライスの実験でアデノシンが先に確立した LTP を最初は抑制するがその後は徐々に促進することを報告している。我々の調べた限りでは LTP の発現に対するアデノシンの影響についてはまだ報告がないが、これらの知見によると、CBZ がアデノシンに対する抑制作用を介して LTP の発現や維持に関与する可能性もまったく否定は出来ない。

さて最後に本研究で得られた CBZ の LTP 発現に対する抑制効果がいかなる臨床効果とつながるかについて考えてみる。最初に述べたように、てんかんの一つの実験モデルとしてのキンドリング研究で、そのキンドリング現象を引き起こす基礎的メカニズムとしての興奮性シナプス伝達効率の増強すなわちキンドリング誘発性増強が、LTP と類似していることが知られている<sup>5)~9)</sup>。それで、本研究の主要所見である CBZ の LTP 発現に対する効果は CBZ の一つの抗てんかん作用として考えることができるかもしれない。従来、CBZ の治療常用量での抗けいれん作用あるいは抗てんかん作用についてはナトリウムやカルシウムおよびカルシウムイオンチャンネル、アデノシン受容体およびガンマアミノ酪酸 (gamma-aminobutyric acid, GABA) 受容体などとの関連で検討されている<sup>55)</sup>。このような従来の作用機序と異なり、本研究は CBZ の抗てんかん作用の作用機序として新しい知見といえるかもしれない。ちなみに他の代表的な抗てんかん薬であるフェニトインは海馬スライスでの LTP の発現を抑制しないことが示されている<sup>11)21)</sup>。一方、CBZ は感情障害を中心とした精神疾患にも気分安定剤として用いられていることは前述したとおりである<sup>20)~24)56)</sup>。このような気分安定作用の作用機序については NE、ドーパミンおよびセロトニン (5-hydroxytryptamine) などのモノアミン性神経伝達物質との関連で研究されているが、未だに統一した見解には至っていない。そこで CBZ の LTP に対する抑制効果がこのような CBZ の抗精神病効果と関係があるかどうかについて考えてみる。現在のところ LTP と精神病の相関を示す報告はない。ただし NMDA 受容体の拮抗薬とくにフェンサイクリジンが、精神分裂病様症状を惹起することから、NMDA 受容体は精神分裂病のグルタミン酸異常仮説<sup>57)~59)</sup>との関連で最近注目されている。本研究で得られた CBZ の LTP の発現に対する抑制は上述したように CBZ の NMDA 受容体に対する直接の遮断作用が最も考えやすい。もしフェンサイクリジンによる精神分裂病様症状の惹起が NMDA 受容体に対する遮断作用によるならば、

CBZ のこの同様の作用はむしろ精神病を悪化させる方向に働くと考えられる。したがって CBZ の LTP に対する抑制作用は CBZ の抗精神病作用とは結びつかないように思われる。

以上まとめると本研究の結果は CBZ が LTP の発現に対して用量依存性に抑制作用を有することを示唆する。そのメカニズムとしてはドーパミンやアデノシンを介する作用も考慮されるが、とくに NMDA 受容体に対する CBZ の直接の遮断作用が最も考えやすいと思われる。

### 結 論

無麻酔、無拘束の慢性条件下で雄の成熟家兎15羽を用い、抗てんかん薬また気分安定剤としても知られている CBZ を静脈内に単回投与と持続注入を併用して投与し、その血中濃度定常状態で海馬貫通路をテタヌス電気刺激して歯状回で LTP が誘発されるかどうかを検討し、次の結論を得た。

1. 溶媒の DMSO のみを注入した 5 例の対照実験では、抑制効果はみられず LTP が発現した。
2. 5 例の 2.2~3.3 $\mu$ g/ml の CBZ の低濃度群では、結果は一定せず、LTP の発現が抑制されるものと種々の程度で発現するものがあつた。
3. 6.5~8.6 $\mu$ g/ml の CBZ の高濃度群では、5 例のすべてで LTP の発現が抑制された。
4. 溶媒の DMSO、低濃度および高濃度の CBZ のいずれも、テタヌス刺激前の通常の反応波に対して何ら影響を示さなかった。

これらの結果は CBZ が LTP 発現に対して用量依存性に抑制作用を有することを示唆する。そのメカニズムとしては CBZ のドーパミンやアデノシンに対する作用を介する可能性も考慮されるが、とくに NMDA 受容体に対する CBZ の直接の遮断作用が最も考えやすいと思われる。

### 謝 辞

稿を終えるにあたり、本研究に終始御援助、御指導および御校閲をいただいた恩師山口成良教授に心からの謝意を表します。そして直接御助言、御指導をいただいた金沢大学医学部神経精神医学教室の地引逸亀助教授、共同研究者で御指導、御援助をいただいた窪田孝博士、脇田茂樹学士および黒川賢造学士に厚くお礼申し上げます。さらに本研究に御協力いただいた教室の坂本宏学士に深謝致します。

なお、本論文の要旨は第23回日本脳波筋電図学会(鹿児島、1993)において発表した。

### 文 献

- 1) Morris, R. G., Anderson, E., Lynch, G. S. & Baudry, M.: Selective impairment of learning and blockade of long-term potentiation by an N-methyl-D-aspartate receptor antagonist, AP5. *Nature*, 319, 774-776 (1989).
- 2) Teyler, T. J. & Discenna, P.: Long-term potentiation as a candidate mnemonic device. *Brain Res. Rev.*, 7, 15-28 (1984).
- 3) Bliss, T. V. P., Goddard, G. V. & Riives, M.: Reduction of long-term potentiation in the dentate gyrus of the rat following selective depletion of monoamines. *J. Physiol.*, 334, 475-491 (1983).
- 4) Bliss, T. V. P. & Collingridge, G. L.: A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus. *Nature*, 361, 31-39 (1993).
- 5) Douglas, R. M. & Goddard, G. V.: Long-term potentiation of the perforant path-granule cell synapse in the rat hippocampus. *Brain Res.*, 86, 205-215 (1975).
- 6) Sutula, T. & Stewart, O.: Facilitation of kindling by prior induction of long-term potentiation in the perforant path. *Brain Res.*, 420, 109-117 (1987).
- 7) Jibiki, I., Fujimoto, K., Kubota, T. & Yamaguchi, N.: MK-801 (noncompetitive NMDA receptor antagonist)-induced blockade of the "burst response" in the dentate gyrus after perforant path kindling in acutely prepared rabbits. *Neurosci. Lett.*, 116, 221-226 (1990).
- 8) Jibiki, I., Fujimoto, K., Kubota, T. & Yamaguchi, N.: Inhibitory effect of MK-801 (noncompetitive NMDA receptor antagonist) on kindling-induced synaptic potentiation in acutely prepared rabbits. *Pharmacol. Biol. Behav.*, 38, 163-168 (1991).
- 9) Jibiki, I., Wakita, S., Kubota, T., Kurokawa, K., Fukushima, T. & Yamaguchi, N.: Haloperidol-induced blockade of induction of long-term potentiation in perforant path-dentate gyrus pathway in chronically prepared rabbits. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 46, 847-852 (1993).
- 10) Kempf, J. A., Foster, A. C. & Wong, E. H. F.: Non-competitive antagonists of excitatory amino acids receptors. *Trends Neurosci.*, 10, 294-298 (1987).
- 11) Birnstiel, S. & Haas, H. L.: Anticonvulsants do not suppress long-term potentiation (LTP) in the rat. *Neurosci. Lett.*, 122, 61-63 (1991).
- 12) Stringer, J. L. & Lothman, E. W.: Phenytoin dose not block hippocampal long-term potentiation or frequency potentiation. *Ann. Neurol.*, 23, 281-286 (1988).
- 13) Kubota, T., Jibiki, I., Fujimoto, K. & Yamaguchi, N.: Facilitative effect of carbamazepine on previously induced hippocampal long-term potentiation. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 42, 843-847 (1992).
- 14) Finn, R. C., Browning, M. & Lynch, G.: Trifluoperazine inhibits hippocampal long-term potentiation and the phosphorylation of a 40,000 dalton. *Neurosci. Lett.*, 19, 103-108 (1980).
- 15) Krug, M., Chepkova, A. N., Geyer, C. & Ott, T.: Aminergic blockade modulates long-term potentiation in the dentate gyrus of freely moving rats. *Brain Res. Bull.*, 11, 1-6 (1983).
- 16) Gribkoff, V. K. & Ashe, J. H.: Modulation by dopamine of population responses and cell membrane properties of hippocampal CA1 neurons in vitro. *Brain Res.*, 292, 327-338 (1984).
- 17) Mody, I., Baimbridge, K. G. & Miller, J. J.: Blockade of tetanic- and calcium-induced long-term potentiation in the hippocampal slice preparation by neuroleptics. *Neuropharmacol.*, 23, 625-631 (1984).
- 18) Frey, U., Schroeder, H. & Matthies, H.: Dopaminergic antagonists prevent long-term maintenance of posttetanic LTP in the CA1 region of rat hippocampal slices. *Brain*

- Res., 522, 69-75 (1990).
- 19) Mattson, R. H., Cramer, J. A., Collins, J. F., Smith, D. B., Delgado-Escueta, A. V., Browne, T. R., Williamson, P. D., Treiman, D. M., McNamara, J. O., McCutchen, C. B., Homan, R. W., Crill, W. E., Lubozynski, M. F., Rosenthal, N. P. & Mayersdorf, A.: Comparison of carbamazepine, phenobarbital, phenytoin, and primidone in partial and secondarily generalized tonic-clonic seizures. *N. Engl. J. Med.*, 313, 145-151 (1985).
- 20) Post, R. M., Uhde, T. W., Ballenger, J. C. & Squillace, K. M.: Prophylactic efficacy of carbamazepine in manic-depressive illness. *Am. J. Psychiat.*, 140, 1602-1604 (1983).
- 21) Post, R. M., Uhde, T. W., Roy-Byrne, P. P. & Joffe, R. T.: Antidepressant effects of carbamazepine. *Am. J. Psychiatry*, 143, 29-34 (1986).
- 22) Hakola, H. P. A. & Laulumaa, V. A.: Carbamazepine in treatment of violent schizophrenics. *Lancet*, 12, 1358 (1982).
- 23) Dose, M., Apelt, S. & Emrich, H. M.: Carbamazepine as an adjunct of antipsychotic therapy. *Psychiatry Res.*, 22, 303-310 (1987).
- 24) Okuma, T., Inanaga, K., Otsuki, S., Sarai, K., Takahashi, R., Hazama, H., Mori, A. & Watanabe, M.: Comparison of the antimanic efficacy of carbamazepine and chlorpromazine: a double-blind controlled study. *Psychopharmacology*, 66, 211-217 (1979).
- 25) Lampe, H. & Bigalke, H.: Carbamazepine blocks NMDA-activated currents in cultured spinal cord. *Neuroreport*, 1, 26-28 (1990).
- 26) Lancaster, J. M. & Davies, J. A.: Carbamazepine inhibits NMDA-induced depolarization in cortical wedges prepared from DBA/2 mice. *Experientia*, 48, 751-753 (1992).
- 27) Jibiki, I., Avoli, M., Gloor, P., Giaretta, D. & McLachlan, R. S.: Thalamocortical and intrathalamic interactions during slow repetitive stimulation of n. centralis lateralis. *Exp. Brain Res.*, 61, 245-257 (1986).
- 28) Ridge, J. W.: The stereotactic dissection of the excised rabbit brain. *J. Neurochem.*, 11, 765-778 (1964).
- 29) 永田実男: 家兎海馬歯状回顆粒細胞層の電気生理学的性質—とくにその海馬発作における役割について—. *精神誌*, 68, 480-501 (1966).
- 30) 窪田 孝: 家兎の大脳皮質各領野での焦点発作波に対する Diphenylhydantoin の血中濃度からみた抑制効果比較—てんかん原性と発作波抑制効果との関連—. *十全医会誌*, 91, 939-951 (1982).
- 31) Kubota, T., Jibiki, I., Hirose, S. & Yamaguchi, N.: Comparative experimental study of antiepileptics—regional specificity of antiepileptic action of carbamazepine, phenobarbital and valproate sodium. *Brain. Dev.*, 12, 503-508 (1990).
- 32) Faigle, J. W. & Feldmann, K. F.: Carbamazepine. Biotransformation. *In* D. M. Woodbury, J. K. Penry & C. E. Pippenger (eds.), *Antiepileptic Drugs*, 2nd ed., p483-495, Raven Press, New York, 1982.
- 33) Shek, J. W., Wen, G. Y. & Wisniewski, H. M.: *Atlas of the Rabbit Brain and Spinal Cord*, 2nd ed., p1-139, Karger, New York, 1986.
- 34) 津田 彰, 井田能成, 辻丸秀策, 佐藤洋美, 西村 浩, 田中正敏: ストレッサーのコントロール可能性とラット脳内 noradrenaline 代謝との関連性. *薬物・精神・行動*, 7, 363-374 (1987).
- 35) Stone, E. A.: Stress and catecholamines. *In* A. J. Freidhoff (ed.), *Catecholamines and Behavior*, 1st ed., Vol. 2, p31-72, Plenum Press, New York, 1975.
- 36) Stanton, P. K. & Sarvey, J. M.: Depletion of norepinephrine, but not serotonin, reduces long-term potentiation in the dentate gyrus of rat hippocampal slices. *J. Neurosci.*, 5, 2169-2176 (1985).
- 37) Post, R. M., Rubinow, D. R., Uhde, T. W., Ballenger, J. C., Lake, C. R., Linnoila, M., Jimerson, D. C. & Reus, V.: Effects of carbamazepine on noradrenergic mechanisms in affectively ill patients. *Psychopharmacology*, 87, 59-63 (1985).
- 38) 池田みさ子, 丸 栄一, 金子敏代, 鈴木秀弘: 海馬神経細胞の同期発射性に対する麻酔薬の作用. 第23回日本脳波・筋電図学会学術大会プログラム・予稿集, p227 (1993).
- 39) McLean, M. J. & MacDonald, R. L.: Carbamazepine and 10, 11-epoxycarbamazepine produce use- and voltage-dependent limitation of rapidly firing action potentials of mouse central neurons in cell culture. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 238, 727-738 (1986).
- 40) MacDonald, R. L.: Antiepileptic drug actions. *Epilepsia*, 30 (Suppl. 1), 19-28 (1989).
- 41) Olpe, H., Kolb, A., Hausdorf, A. & Haas, H. L.: 4-Aminopyridine and barium chloride attenuate the anti-epileptic effect of carbamazepine in hippocampal slices. *Experientia*, 47, 254-257 (1991).
- 42) Collingridge, G. L.: Long-term potentiation in the hippocampus: mechanisms of initiation and modulation by neurotransmitters. *Trend. Pharmacol. Sci.*, 6, 407-411 (1985).
- 43) Harris, E. W., Ganong, A. H. & Cotman, C. W.: Long-term potentiation in the hippocampus involves activation of N-methyl-D-aspartate receptors. *Brain Res.*, 323, 132-137 (1984).
- 44) Lynch, G., Larson, J., Kelso, S., Barrionuevo, G. & Schottler, F.: Intracellular injection of EGTA block induction of hippocampal long-term potentiation. *Nature*, 305, 719-721 (1983).
- 45) Coan, E. J., Saywood, W. & Collingridge, G. L.: MK-801 blocks NMDA receptor-mediated synaptic transmission and long-term potentiation in rat hippocampal slice. *Neurosci. Lett.*, 80, 111-114 (1987).
- 46) Collingridge, G. L., Kehl, S. J. & McLennan, H.: The antagonism of amino acid-induced excitations of rat hippocampal CA1 neurons in vitro. *J. Physiol. (Lond.)*, 334, 19-34 (1983).
- 47) Katayama, K., Morimoto, K. & Otsuki, S.: Effects

of competitive and noncompetitive antagonists of N-methyl-D-aspartate receptors (CPP and MK-801) on amygdala kindling and hippocampal long-term potentiation. *Epilepsia*, **30**, 702-703 (1989).

48) Kinoshita, N., Nibuya, M., Kanba, S., Suzuki, E., Shintani, F., Yagi, G., Nakai, T. & Kato, R.: Changes of monoaminergic turnover by carbamazepine in the rat brain. *Jpn. J. Psychiatr. Neurol.*, **46**, 557 (1992).

49) Post, R. M.: Time course of clinical effects of carbamazepine: implications for mechanisms of action. *J. Clin. Psychiatry*, **49** (Suppl. 4), 35-46 (1988).

50) Cain, D. P.: Long-term potentiation and kindling: how similar are the mechanisms? *Trends Neurosci.*, **12**, 6-10 (1989).

51) Dunwiddie, T. V. & Fredholm, B. B.: Adenosine A1 receptors inhibit adenylate cyclase activity and neurotransmitter release and hyperpolarize pyramidal neurons in rat hippocampus. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **249**, 31-37 (1989).

52) Daval, J. L., Deckert, J., Weiss, S. R. B., Post, R. M. & Marangos, P. J.: Upregulation of adenosine A1 receptors and forskolin binding sites following chronic treatment with caffeine or carbamazepine: a quantitative autoradiographic study. *Epilepsia*, **30**, 26-33 (1989).

53) Okada, Y., Nishimura, S. & Miyamoto, T.: Excitatory effect of adenosine on neurotransmission in the slices of superior colliculus and hippocampus of guinea pig. *Neurosci.*

*Lett.*, **120**, 205-208 (1990).

54) Okada, Y., Sakurai, T. & Mori, M.: Excitatory effect of adenosine on neurotransmission is due to increase of transmitter release in the hippocampal slices. *Neurosci. Lett.*, **142**, 233-236 (1992).

55) Walden, J., Grunze, H., Bingmann, D., Liu, Z. & Dusing, R.: Calcium antagonistic effects of carbamazepine as a mechanism of action in neuropsychiatric disorders: studies in calcium dependent model epilepsies. *Eur. Neuropharmacol.*, **2**, 455-462 (1992).

56) Anton, R. F., Waid, L. R., Fossey, M. & Aubuchon, P.: Case report of carbamazepine treatment of organic brain syndrome with psychotic features. *J. Clin. Psychopharmacol.*, **6**, 232-234 (1986).

57) Kim, J. S., Kornhuber, H. H., Schmid-Burgk, W. & Holzmuller, B.: Low cerebrospinal fluid glutamate in schizophrenic patients and a new hypothesis on schizophrenia. *Neurosci. Lett.*, **20**, 379-382 (1980).

58) Deutsch, S. I., Mastropaolo, J., Schwartz, B. L., Rosse, R. B. & Morihisa, J. M.: A "glutamatergic hypothesis" of schizophrenia: rationale for pharmacotherapy with glycine. *Clinical Neuropharmacol.*, **12**, 1-13 (1989).

59) Johnson, K. M. & Jpnes, S. M.: Neuropharmacology of phencyclidine. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, **30**, 707-750 (1990).

**Effect of Carbamazepine on the Induction of Long-term Potentiation in the Perforant Path-Dentate Gyrus Pathway in the Chronically Prepared Rabbits** Toshinobu Fukushima, Department of Neuropsychiatry, School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920—J. Juzen Med Soc., **103**, 122—133 (1994)

**Key words** carbamazepine, long-term potentiation, NMDA receptors

#### Abstract

We investigated the effects of the representative antiepileptic and antipsychotic carbamazepine (CBZ) on the induction of long-term potentiation (LTP) in the perforant path-dentate gyrus pathway in chronically prepared rabbits. Experiments were carried out on 15 adult male rabbits weighing 2.5-3.5 kg each. After unilateral craniectomy, a recording electrode was inserted into the dentate gyrus and a stimulating electrode was inserted into the perforant path ipsilateral to the dentate gyrus guided by laminar analysis. After a 14-day postsurgical recovery period, chronic experiments were performed on the freely moving rabbits. Control recordings were initially performed for 30 min with single stimuli at a fixed intensity (monopolar square pulses of 0.2~0.5 msec duration, 0.4~0.8 mA, 30 sec stimulus interval) or at altered intensities for input/output curves. The control responses consisted of a small population spike preceded by the leading edge (population excitatory postsynaptic potential, population EPSP) of a slow positive wave, and the subsequent slow component. Next, CBZ was administered intravenously according to the pharmacokinetics of CBZ. A loading dose and infusion dose were used together to produce steady-state CBZ serum levels. CBZ serum levels were aimed at 5  $\mu$ g/ml (low serum level group) and 10  $\mu$ g/ml (high serum level group). Forty minutes after CBZ administration, the LTP-inducing tetanic stimulations were delivered to the perforant path. The tetanic stimulations were repeated three times at 3 min intervals and the stimulus parameters consisted of monopolar square pulses of 0.2 msec duration, 0.2~0.4 mA, 60 Hz and 1 sec in total duration. The single stimuli at the same fixed or altered intensities as used in the control recordings were consistently delivered during each observation period after the CBZ dosing and tetanic stimulations. Vehicle injection without CBZ was performed, too. As a result, the low dose of CBZ, which produced the steady serum levels of 2.2-3.3 (2.85 $\pm$ 0.40)  $\mu$ g/ml, variably affected the induction of LTP, blocking it in two rabbits and showing almost no effect on it in the other three rabbits. On the other hand, the high

dose of CBZ, which produced the steady serum levels of 6.5~8.6 (mean value  $\pm$  S.D.,  $8.01 \pm 0.87$ )  $\mu$  g/ml, completely blocked the induction of LTP in all of 5 rabbits. However, neither the low nor high doses of CBZ showed any effects on the baseline control responses. Further, in 5 rabbits with vehicle injection without CBZ, LTP was always induced. These findings suggest that CBZ blocks LTP induction dose-dependently.