



Title	抗痉挛剤及び痉挛のラット脳ベンゾジアゼピンレセプターに及ぼす影響に関する研究
Author(s)	三牧, 孝至
Citation	大阪大学, 1982, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/32998">https://hdl.handle.net/11094/32998</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> 大阪大学の博士論文について

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏名・(本籍)	三牧孝至
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 5551 号
学位授与の日付	昭和 57 年 3 月 3 日
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 2 項該当
学位論文題目	抗痙攣剤及び痙攣のラット脳ベンゾジアゼピンレセプターに及ぼす影響に関する研究
論文審査委員	(主査) 教授 薮内百治 (副査) 教授 吉田博 教授 和田博

### 論文内容の要旨

#### 〔目的〕

1977 年 Möhler らが、ラット脳に <sup>3</sup>H-diazepam と特異的に結合する受容体（ベンゾジアゼピンレセプター）が存在することを、明らかにした。その後の研究により、このレセプターが中枢神経系での抗不安作用や抗痙攣作用、筋弛緩作用と関係が深いと考えられている。本研究は抗痙攣剤及び痙攣による、ラット脳ベンゾジアゼピンレセプターの変化を調べ、このレセプターの薬理学的意義を検討することを、目的とする。

#### 〔方法〕

実験動物として、Sprague-Dawley 系の雄成年ラット（SD ラット）及び audiogenic seizure ラット（AGS ラット・Sprague-Dawley 系）を用いた。

フェニトインの長期投与による影響を検討するために、フェニトイン（100 mg 又は 200 mg/kg）を 10% Tween 81 に懸濁させ、14 日間ないし 28 日間、1 日 1 回腹腔内投与した。対照群には 10% Tween 81 を 1 ml/kg 投与した。投与 14 日後ないし 28 日後のラット大脳皮質、小脳のベンゾジアゼピンレセプターを測定した。

フェニトイン、フェノバルビタール、バルプロ酸、ジアゼパムの 1 回投与による影響を検討するために、フェニトイン（100 mg 又は 200 mg/kg）、フェノバルビタール（100 mg/kg）、バルプロ酸（100 mg—500 mg/kg）、ジアゼパム（50 mg/kg）を腹腔内投与し、1 時間後のラット大脳皮質のベンゾジアゼピンレセプターを測定した。これらの薬剤の in vitro でのベンゾジアゼピンレセプターへの影響も検討した。

実験的痙攣のベンゾジアゼピンセプターへの影響を調べるために、電撃刺激 (150 mA,  $2 \times 10^{-1}$  秒), ペンチレンテトラゾール (50mg/kg) の腹腔内注射を行ない、痙攣発生30分後のラット大脳皮質のベンゾジアゼピンレセプターを測定した。AGS ラットに対しては、ベル音刺激 (110 db) による痙攣誘発法も用いた。

ベンゾジアゼピンレセプターの測定には、<sup>3</sup>H-flunitrazepam をリガンドとし、drug displacer として  $2 \mu\text{M}$  の clonazepam を用いた。ラット脳ホモジネートを PBS 緩衝液で遠心操作 (46,000g, 10 分間) と再浮遊を 5 回繰り返し、最終的に 3 % ホモジネートを試料として用いた。各試験管に<sup>3</sup>H-flunitrazepam ( $0.4 \text{ nM}$ — $5 \text{ nM}$ )、試料を加え、 $0^\circ\text{C}$  で 90 分間インキュベートし、GF/B フィルターに吸着させ、トラップされた<sup>3</sup>H-flunitrazepam レセプター結合物を液体シンチレーションカウンターで測定した。結果を Scatchard の方法で分析し、レセプター密度 (B<sub>max</sub>) と親和性 (K<sub>d</sub>) を求めた。

#### 〔成 績〕

フェニトイン 100 mg/kg を 14 日間または 28 日間投与しても、B<sub>max</sub>、K<sub>d</sub> 共に変化を認めなかった。フェニトイン 200 mg/kg を 14 日間投与し、B<sub>max</sub> が大脳皮質で 17%，小脳で 25% 減少した。フェニトイン 200 mg/kg を 28 日間投与した場合は、更に B<sub>max</sub> が減少し、形態学的検索の結果、小脳プルキニエ細胞の顕著な変性を認めた。フェニトイン 200 mg/kg を 14 日間投与し、投与中止 14 日後に大脳皮質の B<sub>max</sub> は正常化したが、小脳の B<sub>max</sub> は依然低値を示した。

フェニトイン、フェノバルビタール、ジアゼパムを 1 回投与した場合は、B<sub>max</sub>、K<sub>d</sub> 共に変化を認めなかった。他方バルプロ酸投与 1 時間後にラット大脳皮質で、量依存性の B<sub>max</sub> の増加を認めた。K<sub>d</sub> は不变であった。

SD ラットで、実験的痙攣により B<sub>max</sub> の顕著な増加を認めたが、K<sub>d</sub> は不变であった。AGS ラットでは痙攣発生以前に B<sub>max</sub> が高値で、痙攣後の B<sub>max</sub> の増加は認められなかった。

*in vitro* では  $1 \mu\text{M}$  のジアゼパムにより、<sup>3</sup>H-flunitrazepam のレセプターとの結合が 95% 以上阻害され、フェニトインはベンゾジアゼピンレセプター部位で、競合的に阻害することを認めた。

#### 〔総 括〕

ベンゾジアゼピンレセプターは大脳皮質や、小脳のプルキニエ細胞層に分布すると考えられている。フェニトインはベンゾジアゼピンレセプター部位で競合的に働き、長期投与では neurotoxic な作用も有し、小脳プルキニエ細胞の変性を伴った可逆的な B<sub>max</sub> の減少をきたしたと考えられる。

SD ラットでの痙攣後の B<sub>max</sub> の増加と、バルプロ酸投与後の B<sub>max</sub> の増加から、ベンゾジアゼピンレセプターは痙攣後の生理的痙攣抑止作用や、バルプロ酸の抗痙攣作用と密接な関係があると思われる。また SD 系の子孫である AGS ラットでの、音刺激による痙攣誘発や抗痙攣剤の効果の低さと、痙攣発生前の B<sub>max</sub> の高値や、痙攣後の B<sub>max</sub> の増加がみられないことから、AGS ラットでのベンゾジアゼピンレセプターの機能異常が、推察される。

## 論文の審査結果の要旨

ベンゾジアゼピンレセプターの薬理学的意義を明きらかにするため、ラット脳組織を用いて、抗痙攣剤と実験的痙攣によるベンゾジアゼピンレセプターへの影響を調べた。その結果、フェニトインの長期大量投与により、ラット脳ベンゾジアゼピンレセプター密度が、可逆的に減少し、さらにフェニトインがベンゾジアゼピンレセプター部位で、競合的に阻害すること、実験的痙攣によりベンゾジアゼピンレセプター密度が増加することなどを見いたした。

これらの実験結果は抗痙攣剤の相互作用や、抗痙攣剤の臨床的な薬物効果と、ベンゾジアゼピンレセプターとの関連性を強く示唆するもので、臨床医学に貢献するところ大であり、本論文は医学博士の学位論文として十分価値あるものと認める。