

猫扁桃核 Kindling の発展過程と神経ペプチド -脳内および髄液内ソマトスタチン, TRH の変動からみた検討-

奈良県立医科大学第2外科学教室

中瀬 裕之

CHANGES OF NEUROPEPTIDES CONTENTS, IMMUNOREACTIVE SOMATOSTATIN AND THYROTROPIN-RELEASING HORMONE (TRH), IN CEREBROSPINAL FLUID AND BRAIN IN THE DEVELOPMENT OF CAT AMYGDALOID KINDLING

HIROYUKI NAKASE

The 2nd Department of Surgery, Nara Medical University

Received January 31, 1990

summary: Recently much attention has been paid to neuropeptides, especially somatostatin (SRIF) and TRH, as endogenous epileptic inhibitors and promoters. In order to examine the relationship between the development of epilepsy and neuropeptides, and to know if neuropeptides in cerebrospinal fluid (CSF) can be an index of its concentration in the brain, we examined the change of immunoreactive SRIF (IR-SRIF) and TRH in CSF and brain at each stage of progression in cat amygdaloid kindling model.

SRIF is thought to be an endogenous epileptic promotor, and to be involved in the development of epilepsy or the initiation of seizures. Our results suggest that the change in endogenous SRIF may be involved in the development of epilepsy, especially during later stages, in amygdaloid kindled cats. On the other hand, TRH is thought to be an endogenous epileptic inhibitor and TRH is actually used as an antiepileptic drug. Our results suggest that TRH may be involved in the initiation of seizures.

Clinically neuropeptides of various central nervous system disorders in CSF are being studied, but whether neuropeptides in CSF can be an index of its concentration in the brain is yet unknown. Our results suggest that IR-SRIF in CSF can be considered as such an index, but TRH can not in amygdaloid kindled cat.

Index Terms

amygdaloid kindling, neuropeptides, somatostatin, TRH, CSF

緒 言

てんかんとは、運動発作・自律神経発作・強直性間代性けいれんなどのいわゆるてんかん発作が反復して起こる疾患であり、それらは神経細胞の過剰興奮に由来する

とされている。最近、このてんかん病態を発作の発現機序と準備状態への進展機序とに分けて考えられるようになってきている。神経細胞の一過性過剰興奮がどのような機序でおこるのかという発作の発現機序の問題は、近年の微小電極法による単一ニューロンレベルでの研究に

より著しい進歩がみられた。一方、なぜ同様の発作が一定のパターンで反復して出現するのかというてんかん発作準備性の問題に関しては、依然として十分な説明が得られていない。

てんかん波の発生機序に関しては、てんかん原性を獲得したニューロンが発作活動の pace maker となって他のニューロンを発作のなかにまきこんでいくという説(てんかん性ニューロン説 epileptic neuron theory)¹¹⁾と神経細胞の過剰興奮は、てんかん焦点内の多数の神経細胞が同期して過度に興奮することから、シナプスへの興奮性入力が増大して生じるとする説(シナプス伝達異常説)²⁾³⁾⁴⁾などがある。後者の立場から、近年てんかんは、神経伝達系の異常とくに神経伝達物質の異常として考えられるようになってきている。なかでも神経伝達物質の一種である神経ペプチドに関しては、てんかんと関連についての研究がようやく始まったばかりである。

今日、てんかんに関与すると考えられている神経ペプチドには、けいれん発作に対して抑制的に働くと考えられている甲状腺刺激ホルモン放出ホルモン(thyrotropin-releasing hormone; TRH)や副腎皮質刺激ホルモン(adrenocorticotrophic hormone; ACTH)、けいれん発作に対して促進的に働くと考えられているソマトスタチンやオピオイド、バゾプレッシン(antidiuretic hormone; ADH)などがある。ソマトスタチンは、成長ホルモン放出抑制因子(somatotropin release-inhibiting factor; SRIF)と呼ばれ、諸家の報告では内在性てんかん増悪因子と考えられている⁵⁾⁶⁾⁷⁾⁸⁾⁹⁾。TRHは、下垂体前葉からの甲状腺刺激ホルモン(thyrotropin-stimulating hormone; TSH)の分泌調節を司るホルモンであり、諸家の報告から内在性抗てんかん因子と考えられている¹⁰⁾。

これら神経ペプチドに関しては、おのおの単独に検討した報告はみられるが、複数のペプチドを同時に検討した報告は未だ多くない。また、今までに報告された成績は、ほとんどがてんかん発作直後あるいは発作間歇期の一時期における検討結果であり、てんかん原性獲得の過程を通じてこれらの神経ペプチドがどのように関与するかについては未だ十分な検討はなされていない。一方、臨床においても、てんかんや各種中枢神経疾患患者の髄液中の神経ペプチドが測定され、検討されているが、髄液中の神経ペプチドが脳内の神経ペプチドを正確に反映しているかどうか詳細な検討はなされていない。臨床の場では、直接脳実質を採取し検討することは不可能であり、髄液を調べることにより脳の状態を推測するわけであるから、脳と髄液との関係を検討することは重要であ

る。

従来から実験てんかんの研究に用いられているてんかんモデルの作成法としては、主として電気刺激、薬物刺激および発作誘起物質の注入などの方法があり、いずれも正常な動物に人工的の操作を加えて、てんかん発作を発現させる方法である。各種実験てんかんモデルのなかで、kindling モデル¹²⁾は、脳のある部位を一定の刺激条件で反復して電気刺激していると、初めは行動と脳波上にわずかなてんかん様反応(部分発作)を示すにすぎなかったものが、次第に反応の増強をきたしやがて全身けいれん(二次性全般化発作)がみられるようになるという、つまり反復電気刺激によるてんかん反応の増強を基盤としたてんかんモデルである。そして、刺激を中止した後も長期にわたって持続するてんかん発作準備性が形成されているという特徴を有している。しかも、てんかん原性焦点にはなんら組織変化を伴わない理想的なてんかんモデルと報告されている¹²⁾。このモデルの特徴は、てんかん原性の獲得過程(てんかん発作準備性)と安定した二次性全般化発作(けいれん発作発現性)の両者を観察できる点にある。つまり、てんかん発作準備性と発作発現性というてんかんの2つの病態の本質を検討するには、きわめて有用なモデルといえる¹³⁾¹⁴⁾¹⁵⁾¹⁶⁾。

今回著者は、てんかん発作準備性および発作発現性と神経ペプチドとの関係、さらにまた髄液神経ペプチドが脳内神経ペプチドの量的指標となり得るかどうかの2つの点を検討することを目的とし、神経ペプチドのなかで、特にてんかんと関与が注目され、かつ促進性と抑制性という相反した作用が報告されているSRIFとTRHに注目し、猫扁桃核 kindling モデルを用いて、その発展過程における immunoreactive-SRIF(IR-SRIF)、TRHの脳内および髄液内変動について検討をおこなった。

実験方法

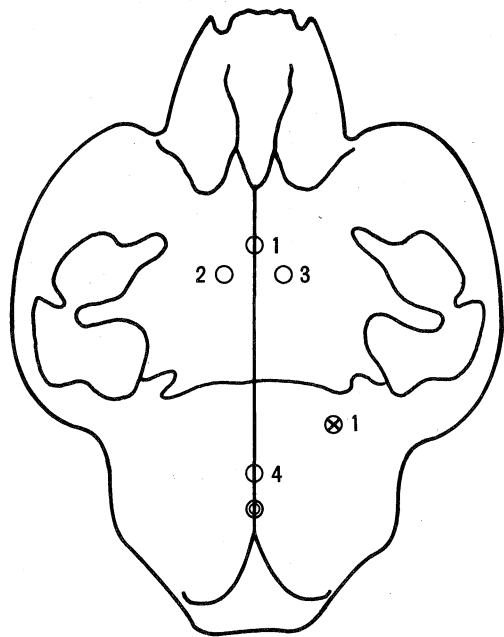
1. 実験モデル作製法

実験動物としては、3.0 kg から 4.2 kg の雑種成猫 47 匹を雌雄の別なく使用した。動物をハロセン麻酔下に猫定位脳固定装置(成茂科学製)に固定し、無菌的に正中中部で頭皮を約 4 cm 切開、骨膜を剝離し頭蓋骨を露出した。その後、Jasper & Ajmone-Marson の解剖図譜に従い、基準点より前方に 11.0 mm、右側方に 10.5 mm、深さ 6.0 mm の右扁桃核外側核を目標とし、太さ約 1 mm のステンレス製双極深部電極を micromanipulator を用いて定位的に刺入した。脳波の導出は頭蓋骨誘導とし、基準点より前方に 28 mm、側方に左右それぞれ 4 mm の部位にビスを固定し、脳波の導出電極とした。また、正

中線上で基準点の3 mm 前方に基準電極をおき、アースは前頭部においた (Fig. 1)。以上の電極からの導線をソケットに集め、そのソケットを頭蓋骨頭頂部にデンタルセメントを用いて固定した。刺激電極刺入後3日間の回復期間をおき、60 Hz, 200 μ A, 2相性矩形波、2秒間、1日1回刺激を、前述の kindling の発展過程にみられる臨床症候ならびに頭蓋および深部電極からの脳波所見を観察しながら連続しておこなった。Fig. 2に、後述する Wada and Sato ら¹³⁾の臨床段階において、第4段階に達した群の脳波所見と臨床症候を示し、Fig. 3に第6段階に達した群の脳波所見と臨床症候を示す。電気刺激は、日本光電社製電気刺激装置 SEN-7203を用いた。脳波測定は、日本光電社製 EEG-5310を使用した。

2. 対象

前述の方法により作成された実験動物のうち、発作像および脳波所見から、Table 1に示した Wada and Sato ら¹³⁾の臨床段階に一致し、かつその再現性が確認された



- 1 : Earth
- 2 : Lt. Skull Electrode
- 3 : Rt. Skull Electrode
- 4 : Reference Electrode
- ⊗ 1 : Depth Needle Electrode (Amygdala)
- ⊙ : Standard Point

Fig. 1. Location of each electrode.

ものを検討対象とした。また、感染徴候のあるものや電極刺入部位の不正確なもの、生理的指標が生理的範囲外であるものは、対象から除外した。

実験対象は、25匹で以下の5群に分けた。コントロール群[C群]、シャムオペレーション群[S群]、Wada and Sato ら¹³⁾の臨床段階においててんかん発作準備性がほぼ辺縁系に限局していると考えられている stage 4 kindling 群[S4群]、また、てんかん発作準備性が返縁系から皮質にまで及んでいる kindling 完成群は、転倒を伴う強直性間代性けいれんが5日間連続して認められたものとし、これら完成群をさらに最終刺激2日後[S6-2d群]と2週間後[S6-2w群]の2群に分けた (Table 2)。

3. 組織採取、抽出法および神経ペプチドの定量

S群は電極刺入2週間後に、S4群・S6-2w群はけいれんの影響を除外するために最終刺激より2週間後に、S6-2d群は最終刺激より2日後に Sodium Pentobarbital (Nembutal)30 mg/kgを腹腔内に投与して麻酔をおこなった。その後、猫定位脳固定装置に固定し、大腿動脈にカニューレーションをおこない動脈血を採取し、一部は血液ガスを、また一部は radioimmunoassay (RIA) 法(二抗体法)(Fig. 4)にて IR-SRIF, TRH の測定をおこなった。髄液は大槽より採取し、同時に、Glowinski & Iversen の方法¹⁷⁾に準じて脳を取り出し液体窒素で固定した。その後、基準点より前8 mm, 11 mm, 14 mm で冠状断をおこない電極刺入部位を確認した。次いで、組織採

Table 1. Development and manifestations of induced seizure by daily electrical stimulation of the amygdala in cats (Wada and Sato¹³⁾)

- Stage 1: Unilateral facial twitching ipsilateral to the stimulation
- Stage 2: Bilateral facial twitching
- Stage 3: Head-nodding
- Stage 4: Contralateral head turning with tonic extension of contralateral forepaw
- Stage 5: Generalized clonic jerking
- Stage 6: Generalized convulsive seizure

Table 2. Materials and groups

25 crossed adult cats (3.0 kg—4.2 kg)		
C group	: control	5
S group	: sham operation	5
S 4 group	: kindling stage 4	5
S 6-2d group	: kindling stage 6 (2 days after last stimulation)	5
S 6-2w group	: kindling stage 6 (2 weeks after last stimulation)	5

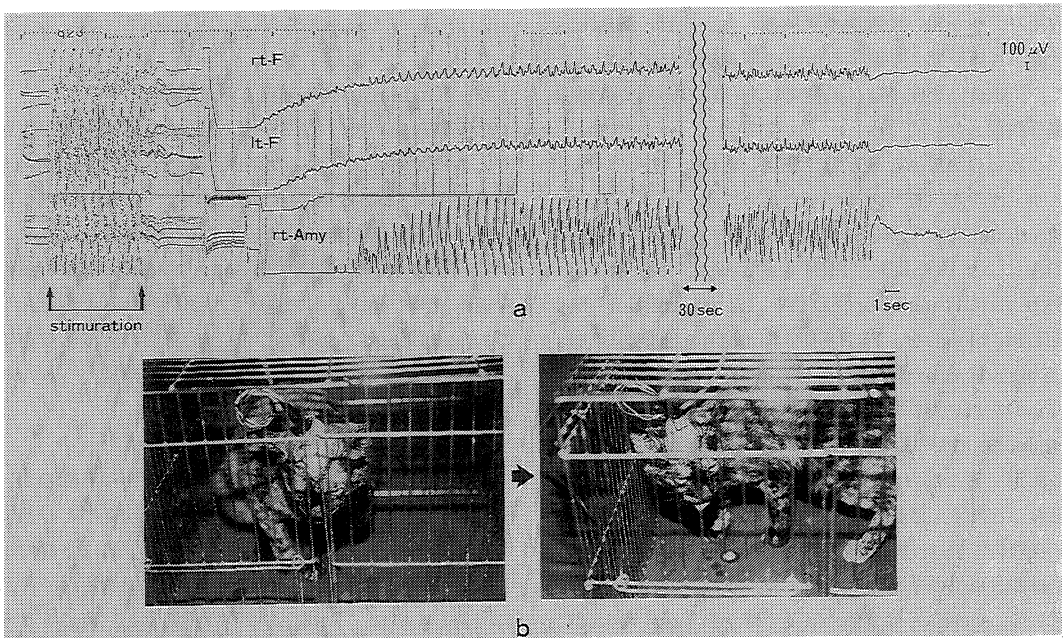


Fig. 2. Pattern of clinical and after-discharge propagation in the S4 group. Abbreviation : rt-F = right frontal, lt-F = left frontal, rt-Amy = right amygdala

a : Spike discharge was localized in right stimulated amygdala.

b : Right facial twitching was seen during stage 1. When the seizure manifestation reached stage 3, head-nodding was seen and the cat remained immobile, with prominent autonomic manifestation (i.e., salivation, pupillary dilatation) .

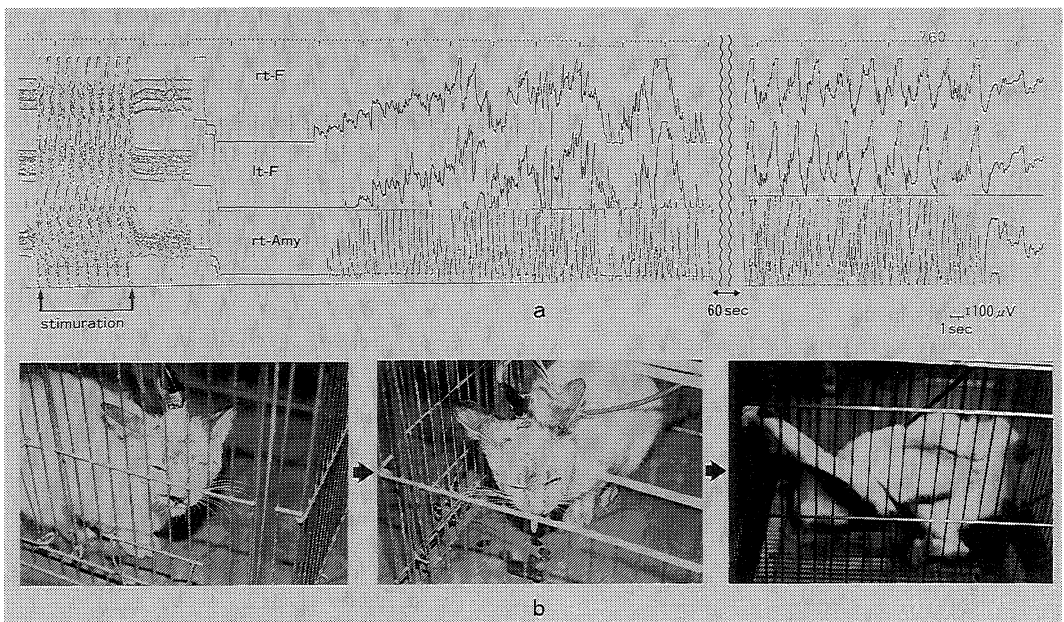


Fig. 3. Pattern of clinical and after-discharge propagation in the S6 group. Abbreviation : rt-F = right frontal, lt-F = left frontal, rt-Amy = right amygdala

a : Generalization of the after-discharge was seen.

b : Seizure generalization with the distinct and sequential march of clinical events representing stage 1 to 6 was seen.

取用パンチを用いて両側の扁桃核・大脳皮質・海馬・梨状葉・視床下部より直径5mmの組織塊を採取した。また、下垂体、小脳半球、延髄では各部位の一部より組織塊を採取した。

これらの脳組織の湿重量を測定した後、テフロンベッスル・ガラスホモゲナイザーを用いてホモゲナイズし、酸-ethanol(0.1 N HCL: ethanol = 1:1)で抽出した後、RIAにより IR-SRIF, TRH を測定した。血液は、IR-SRIF 用には inhibitor(EDTA 1.2 mg, trasyolol 500 KIU/ml blood)を、TRH 用には inhibitor(EDTA-2 Na 1.5 mg, 8-Hydroxyquinoline 0.1 mg, Tween20 0.5 mg/ml blood)を加えた採血管にて混和し、血漿を分離後、酸-ethanol 抽出後の脳組織と同様の前処理をおこない RIA の測定をおこなった。髄液は inhibitor の添加や前処理をおこなわず、直接 RIA 測定をおこなった。

実験終了後は、残存脳を10%ホルマリン液で固定後、組織採取部位の確認をおこなった。また、日内変動を考慮して、sacrifice は全例、午後1時から午後4時の間におこなった。RIA 法には、INCSTAR Inc.製 somatostatin RIA Kit および三菱油化 biochemical laboratories Inc. 製 TRH 抗体、Peptide institute Inc. 製 TRH を用いた (Table 3)。なお、統計的解析にはすべて student T 検定を用い、危険率5%以下をもって有意差があると判定した。

IR-SRIF, TRH の値の単位は、髄液では pg/ml, 脳内では ng/g(tissue wet weight)用いた。

結 果

1. Kindling の完成過程と刺激回数

本実験において、15匹が Kindling の第4段階を経過し、この段階にまで要した刺激回数は、 7.5 ± 1.6 (平均±標準偏差)回であった。また、第6段階まで達したのは10匹で、第6段階の発作がはじめて出現するまでに要した刺激回数は 13.4 ± 1.6 回であった。kindling 完成の条件を第6段階の発作が5回連続して認められることとしたので、kindling の完成には、 19.1 ± 1.7 回の刺激回数を要した。この間、行動観察上自発けいれんは認められなかった。

2. IR-SRIF について

kindling の各臨床段階において、脳内各部位の IR-SRIF の濃度変化をみると、S 群および S4 群のどの部位においても C 群とは有意差はなかったが、S6-2w 群では C 群に比べて、両側扁桃核、両側梨状葉、両側海馬で有意に上昇していた。Table 4 にその実測値を、Fig. 5 に C 群、S4 群との対比と有意差の有無を図示した。有意差を認めた部位の実測値は、右扁桃核：[C 群] 426.0 ± 178.4 ng/g tissue wet weight, [S6-2w 群] 1177.2 ± 276.3 ng/g tissue wet weight (以下単位略)で、1%以下の危険率で両者間に有意差を認めた。以下、同様に記載すると、左扁桃核：[C 群] 394.2 ± 66.3 , [S6-2w 群] 1042.2 ± 275.0 , 右梨状葉：[C 群] 342.4 ± 68.1 , [S6-2w 群] 970 ± 341.5 , 左梨状葉：[C 群] 383.2 ± 247.3 , [S6-2w 群] 863.4 ± 329.2 , 右海馬：[C 群] 308.4 ± 187.2 , [S6-2w 群] $671.8 \pm$

〈Preparation〉		〈RIA flow chart〉	
Sample	1 ml	SRIF standard or sample	200 μ l
Cold acetone	2 ml	SRIF Ab	100 μ l
vortex to mix		vortex to mix	
centrifuge 3000 rpm for 10 min at 4°C		incubate for 20 hr at 4°C	
decant the supernate			
Petroleum ether	4 ml	¹²⁵ I-SRIF	100 μ l
centrifuge 3000 rpm for 10 min at 4°C		vortex to mix	
aspirate and discard the upper ether layer		incubate for 20 hr at 4°C	
dry the lower aqueous-acetone layer at 60°C		centrifuge 3000 rpm for 10 min at 4°C	
BSA-borate buffer	500 μ l	Second Ab	100 μ l
		vortex to mix	
		incubate for 20 hr at 4°C	
		centrifuge 3000 rpm for 10 min at 4°C	
Count ppt.			

Fig. 4. Preparation and RIA flow chart of IR-SRIF.

Table 3. Cross reactivity of antibody

a: Cross reactivity of somatostatin antibody.

(INCSTAR Inc. somatostatin RIA kit)

b: Cross reactivity of TRH antibody.

(Mitsubishi-Yuka biochemical laboratories TRH antibody and Peptide Institute Inc. TRH)

Peptides	% Cross-reactivity	TRH and TRH analogues	% Cross-reactivity
Somatostatin	100	TRH (Pyro-His-Pro-NH ₂)	100
Beta endorphin	<0.002	Pyro-His-Pro-OH (free acid)	0.003
Substance P	<0.002	His-Pro diketopiperazine	0.06
Leucine enkephalin	<0.002	Glu-His-Pro-NH ₂	0.06
Methionine enkephalin	<0.002	Pyro-His	<0.001
Arginine vasopressin	<0.01	Pyro-His-Gly	<0.001
Lysine vasopressin	<0.01	Pro-NH ₂	<0.001
Oxytocin	<0.01		
Luteinizing hormone releasing factor	<0.01		b
Insulin	<0.01		
Glucose	<0.01		
Glucagon	<0.01		
Thyroid releasing hormone (TRH)	<0.01		
Vasoactive intestinal peptide (VIP)	<0.01		

a

Table 4. Somatostatin (IR-SRIF) concentrations in CSF and brain tissues in each group

IR-SRIF levels are expressed as pg/ml in CSF and ng/g tissue wet weight in brain. Values shown represent the mean±SD.

*: p<0.05, **: p<0.01 vs. controls

	Control	sham op.	S-4	S6-2d	S6-2W
CSF	20.4 ±9.9	25.2 ±7.8	33.4 ±11.9	76.4 ±37.8*	88.2 ±41.8*
rt-amygdala	426.0 ±178.4	415.2 ±252.1	601.6 ±332.5	1164.6 ±400.9**	1177.2 ±276.3**
It-amygdala	394.2 ±66.3	413.2 ±72.9	533.2 ±382.4	1030.6 ±252.6**	1042.2 ±275.0**
rt-piriform cortex	342.4 ±68.1	354.8 ±54.4	675.2 ±409.8	1047.0 ±172.3*	970.0 ±341.5*
It-piriform cortex	383.2 ±247.3	374.4 ±187.8	618.4 ±315.1	980.6 ±433.0*	863.4 ±329.2*
rt-hippocampus	308.4 ±187.2	290.0 ±151.7	520.4 ±207.4	656.6 ±183.9*	671.8 ±222.5*
It-hippocampus	293.8 ±150.5	336.4 ±138.9	460.0 ±262.1	477.8 ±231.4	720.2 ±320.4*
rt-sensorimotor cortex	266.0 ±78.1	265.6 ±88.5	351.4 ±74.2	343.2 ±196.8	304.4 ±80.5
It-sensorimotor cortex	243.0 ±85.1	251.8 ±95.3	365.6 ±135.4	304.6 ±168.9	281.8 ±69.2
rt-hypothalamus	600.6 ±190.1	563.8 ±272.3	615.6 ±284.8	951.4 ±302.8	1011.25 ±286.2
It-hypothalamus	594.8 ±203.4	567.4 ±152.7	648.0 ±157.3	1054.2 ±105.7	1013.0 ±181.1
pituitary	346.6 ±348.5	328.8 ±316.8	515.2 ±311.1	494.2 ±241.2	512.0 ±374.0
cerebellum	2.58 ±1.65	2.03 ±0.42	1.37 ±0.62	2.41 ±1.21	2.38 ±1.64
medulla oblongata	106.8 ±56.3	106.0 ±53.1	155.2 ±61.4	102.2 ±41.7	92.3 ±77.45

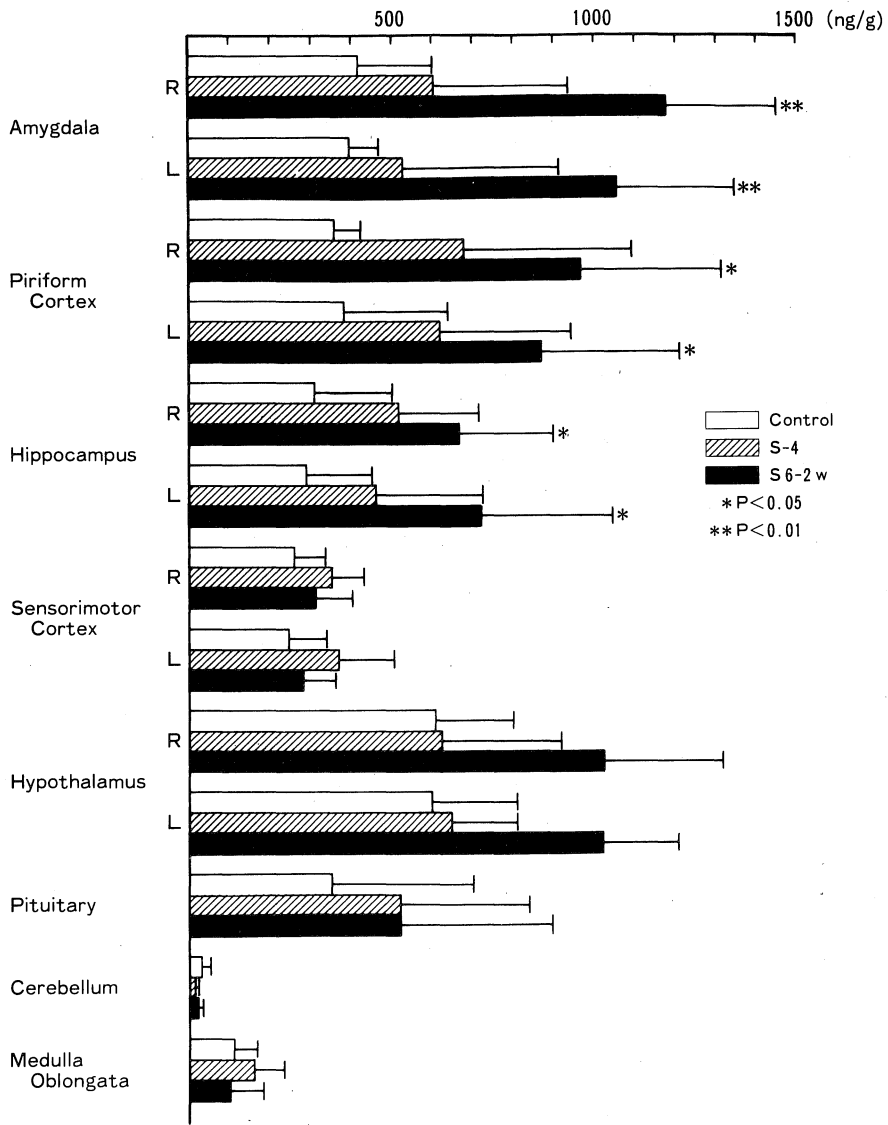


Fig. 5. Somatostatin (IR-SRIF) concentrations in brain tissues (ng/g tissue wet weight). Each bar reveals the mean \pm SD. IR-SRIF concentrations of the s6-2w group were significantly higher than those of the control in several brain regions; left and right amygdala, piriform cortex and hippocampus.

222.5, 左海馬: [C群]293.8 \pm 150.5, [S6-2w群]720.2 \pm 320.4であった。

また, S6-2d群ではC群に比べて, 両側扁桃核, 両側梨状葉, 右海馬で有意に上昇していた。Table 4にその実測値を, Fig. 6にC群, S6-2w群との対比と有意差の有無を図示した。有意差のある部位の実測値は, 右扁桃核: 1164.6 \pm 400.9, 左扁桃核: 1030.6 \pm 252.6, 右梨状葉: 1047.0 \pm 172.3, 左梨状葉: 980.6 \pm 433.0および右海馬: 656.6 \pm 183.9であった。つまり, S6-2d群でのIR-SRIF

の増加は, 2週間後のS6-2w群でも認められた。しかし, 左海馬ではS6-2d群とS6-2w群の間に差異が認められた(Fig. 6)。刺激側(右側)と非刺激側(左側)の, 各群間において有意差を認めなかった。

髄液IR-SRIFについては, その実測値は, Table 3に示すごとく, [C群]20.4 \pm 9.9 pg/ml, [S群]25.2 \pm 7.8 pg/ml, [S-4群]33.4 \pm 11.9 pg/ml, [S6-2d群]76.4 \pm 37.8 pg/ml, [S6-2w群]88.2 \pm 41.8 pg/mlであった。つまり, 脳内と同様に, C群に比べて, S群およびS4群では有意な

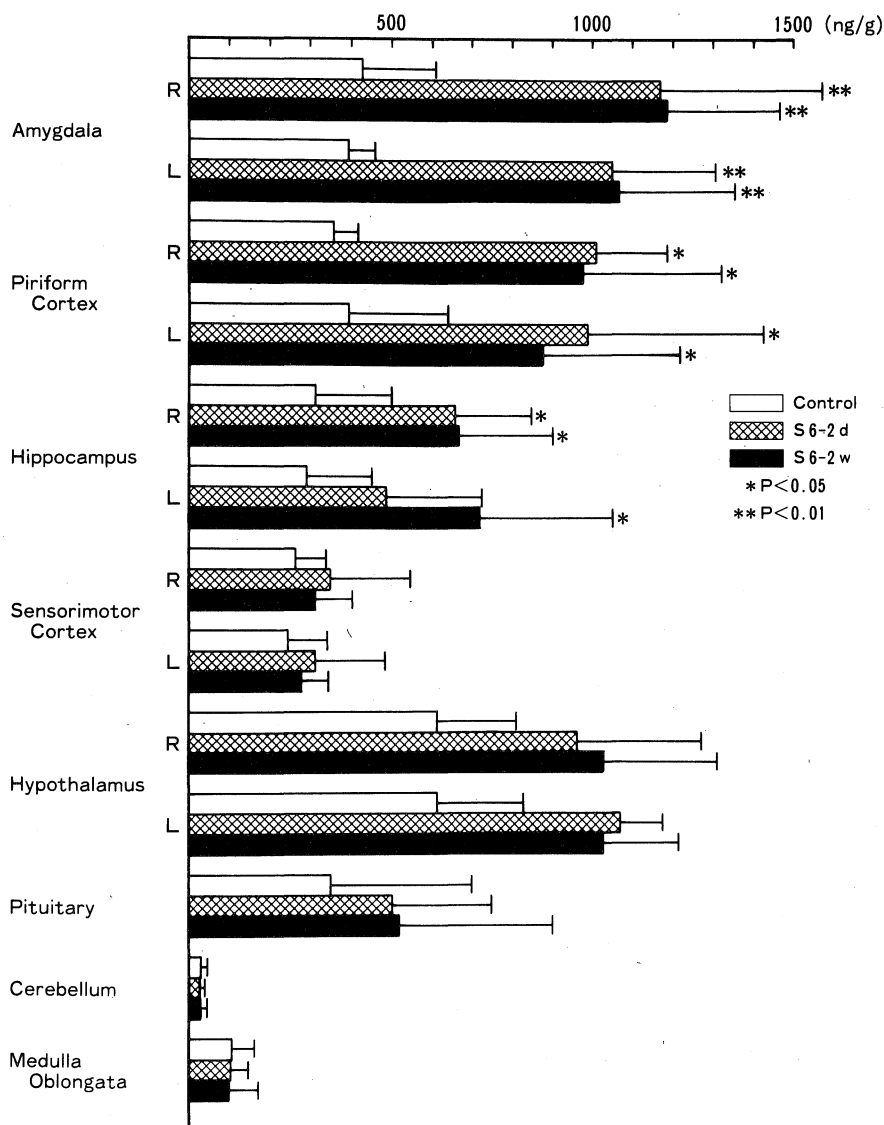


Fig. 6. Somatostatin(IR-SRIF) concentrations in brain tissues (ng/g tissue wet weight). IR-SRIF concentrations of the s6-2d group were significantly higher than those of the control in several brain regions; left and right amygdala and piriform cortex, and right hippocampus.

差を認めなかったが、S6-2d 群および S6-2w 群では有意な上昇を認めた (Fig. 7).

血液 IR-SRIF は、各群で有意差なく、 44.0 ± 5.5 pg/ml であった。髄液蛋白濃度においても、各群で有意差はなく、 8.0 ± 1.1 mg/dl であった。

3. TRH について

kindling の各臨床段階において、脳内各部位の TRH の濃度変化をみると、S 群、S4 群、S6-2w 群のどの部位においても C 群とは有意差はなかった (Fig. 8).

S6-2d 群の TRH は、両側扁桃核、両側梨状葉、右海馬において有意に上昇していた。Table 5 にその実測値を、Fig. 9 に C 群、S6-2w 群との対比と有意差の有無を图示した。有意差を認めた部位の実測値は、右扁桃核：[C 群] 2.48 ± 0.80 ng/g tissue wet weight, [S6-2w 群] 9.56 ± 1.92 ng/g tissue wet weight (以下単位略) で、1% 以下の危険率で両者間に有意差を認めた。以下、同様に記載すると、左扁桃核：[C 群] 2.76 ± 1.5 , [C 群] 3.38 ± 1.38 , [S6-2w 群] 7.27 , [S6-2w 群] 2.88 ± 2.67 であった。刺激

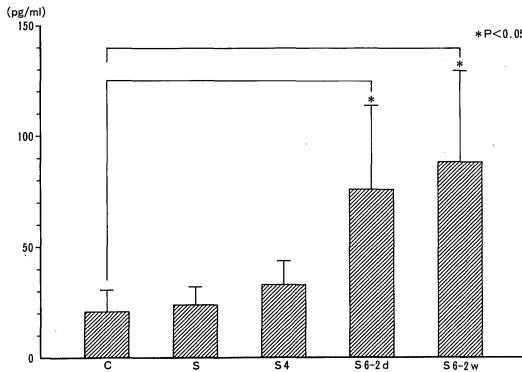


Fig. 7. Somatostatin (IR-SRIF) concentrations in CSF (pg/ml). IR-SRIF concentrations of the s6-2d and s6-2w group were significantly higher than those of the control.

側 (右側) と非刺激側 (左側) とは、各群において有意差を認めなかった。

髄液 TRH は、[C 群]1292±1235.7 pg/ml, [S 群]364.5±295.8 pg/ml, [S-4 群] 253.3±371.0 pg/ml, [S6-2d] 323.3±325.9 pg/ml, [S6-2w 群]314.9±267.0 pg/ml と変動が激しく、一定の傾向を認めるに到らなかった (Fig. 10)。

血液 TRH は、22.1±3.4 pg/ml で、各群間に有意差を認めなかった。

考 察

てんかんは一般に人口の 0.3~0.5% を占めるといわれ、頻度のきわめて高い疾患であるが、てんかんの病因は今なお不明といわざるを得ない。てんかんの病因に関しては、さまざまな学説があるが、生化学的な面から近年てんかんの発現機構に神経伝達物質の関与が注目されてきている。てんかんの治療に関しては、各種抗てんかん薬が奏功するがいわば対症的なもので、ときに発作抑

Table 5. TRH concentrations in CSF and brain tissues in each group

TRH levels are expressed as pg/ml in CSF and ng/g tissue wet weight in brain. Values shown represent the mean±SD.

*: p<0.05, **: p<0.01 vs. controls

	Control	sham op.	S-4	S6-2d	S6-2W
CSF	1292.0 ±1235.7	364.5 ±295.8	253.3 ±371.0	323.3 ±325.9	314.9 ±267.0
rt-amygdala	2.48 ±0.80	2.28 ±1.56	3.58 ±1.79	9.56 ±1.92**	3.12 ±1.67
lt-amygdala	2.76 ±1.50	2.34 ±1.39	2.96 ±1.76	8.44 ±2.98**	3.04 ±1.66
rt-piriform cortex	3.38 ±1.38	3.30 ±1.24	6.48 ±4.14	7.64 ±1.68**	4.06 ±2.67
lt-piriform cortex	4.10 ±2.04	5.64 ±1.92	4.72 ±2.86	8.62 ±2.57*	3.92 ±0.98
rt-hippocampus	2.92 ±1.27	3.00 ±1.61	4.34 ±2.36	7.88 ±2.67**	3.60 ±2.32
lt-hippocampus	3.14 ±0.88	4.04 ±2.18	4.24 ±2.45	5.08 ±2.00	3.24 ±1.14
rt-sensorimotor cortex	3.12 ±1.23	2.98 ±1.02	6.18 ±2.65	4.40 ±0.63	3.20 ±1.24
lt-sensorimotor cortex	3.66 ±1.29	2.98 ±1.02	6.28 ±3.58	4.36 ±2.12	4.14 ±2.54
rt-hypothalamus	31.04 ±19.02	29.68 ±16.37	53.20 ±17.57	83.40 ±63.40	63.40 ±25.11
lt-hypothalamus	31.88 ±8.76	36.74 ±10.50	40.40 ±11.39	79.60 ±42.90	52.40 ±19.45
pituitary	24.36 ±15.71	21.46 ±15.80	43.46 ±29.80	44.02 ±29.20	38.72 ±28.26
cerebellum	1.22 ±0.44	1.32 ±0.69	1.04 ±0.35	1.46 ±0.62	1.16 ±0.47
medulla oblongata	20.64 ±12.14	19.98 ±9.59	22.06 ±8.01	24.63 ±1.98	18.34 ±6.47

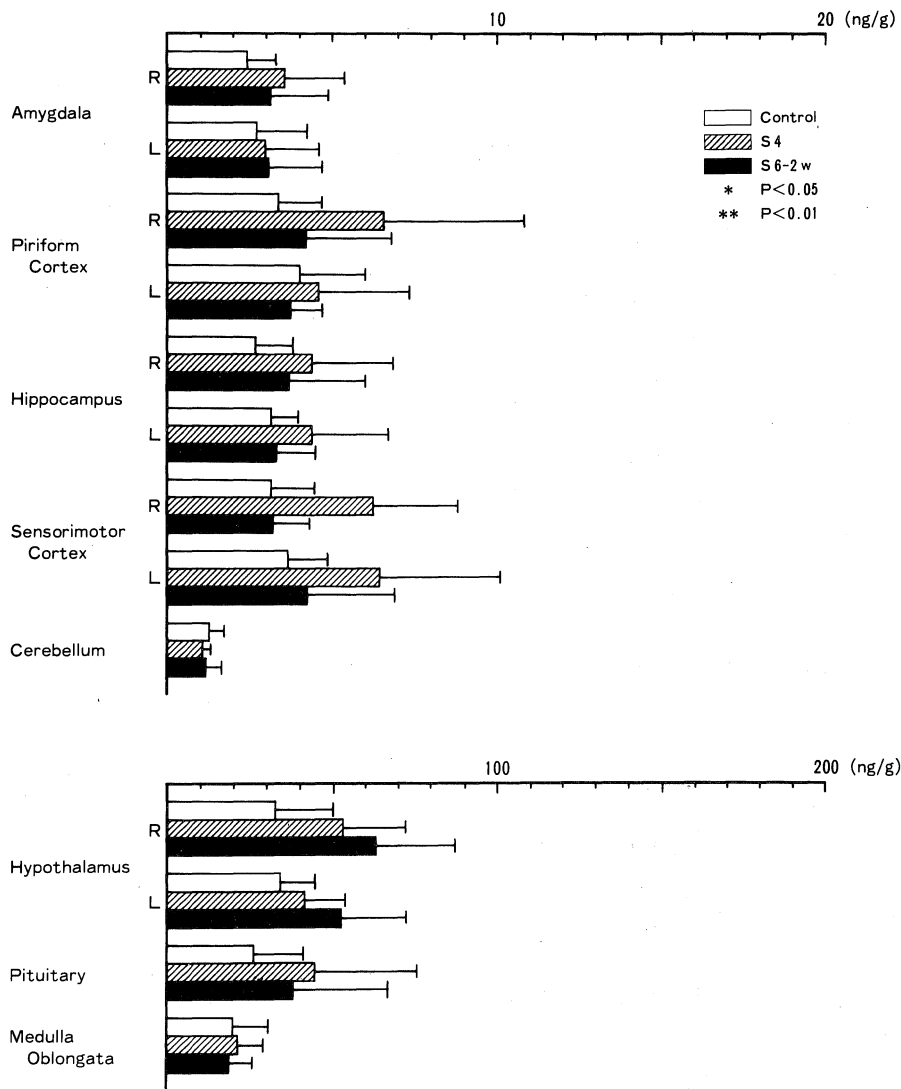


Fig. 8. TRH concentrations in brain tissues (ng/g tissue wet weight). Each bar reveals the mean±SD. No significant change was seen in TRH concentrations of the s-4 and s6-2w group vs. control.

制が困難な難治性てんかんも存在する。つまり、現在のてんかんの治療は、発作を抑制することに主眼をおいているが、てんかんの本質的治療が単に発作を抑制することではなく、繰返しけいれんをおこす脳の持続的てんかん発作準備状態の治療にあるとすれば、それに対する治療薬の開発が必要である。これらを背景として、神経伝達物質がてんかん病態の解明とともに、治療の面でも注目されつつある。今後は、てんかん発作準備性とけいれん発現性の2つの病態と神経伝達物質との関係を明らかにすることが、てんかん病態の解明と治療に対して重要

になってくると考えられる。

今日、kindlingモデルや体位変換刺激(ELマウス)、音刺激(聴原性ラット)などの刺激により発作の誘発される遺伝性けいれん動物モデルを用いて、神経伝達物質とてんかん病態に関する研究が盛んに行われている。現在のところ、てんかんに関与するとされている神経伝達物質の種類とその関与の方向性はTable 6のごとくである¹⁸⁾。

神経ペプチドにおいて、TRHやACTHは、発作に対して抑制的に働き、SRIFやバゾプレシン(ADH)、オピ

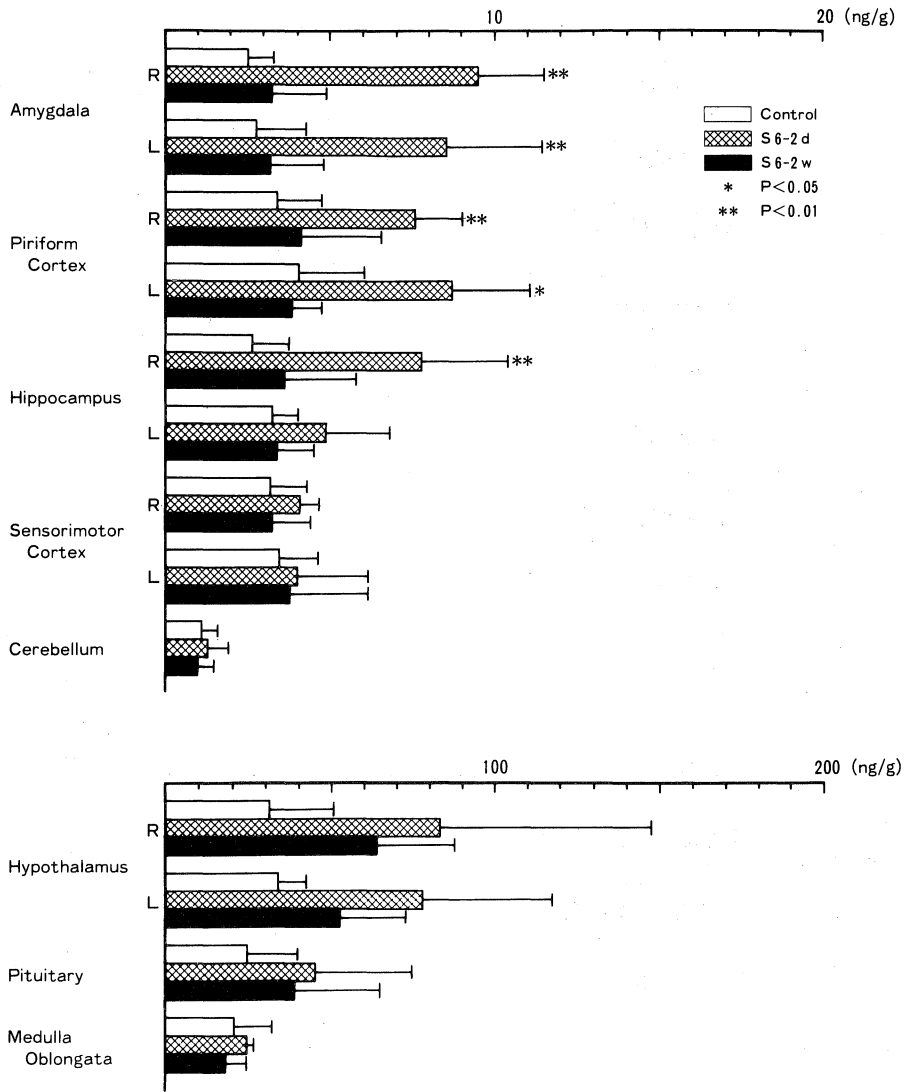


Fig. 9. TRH concentrations in brain tissues (ng/g tissue wet weight). TRH concentrations of the s6-2d group were significantly higher than those of the control in several brain regions: left and right amygdala and piriform cortex, and right hippocampus.

オイド、ACTH 放出ホルモン (corticotropin releasing hormone; CRF) は発作に対して促進的に働くと考えられている。実際に発作の抑制を目的として臨床応用されている神経ペプチドは、点頭てんかんに対する ACTH-Z や変形性ミオクロノスてんかんに対する TRH のみであったが、近年小児難治性てんかん、特に West 症候群に対して TRH 療法が有効であったと報告されており¹⁹⁾、今後も神経ペプチドは、新しい抗てんかん薬として期待されている。

1. Kindling モデルの特徴と有用性について

1969 年, Goddard¹¹⁾ らの発表以来, kindling 現象は長期にわたる脳機能の可塑性を知る好適な実験モデルとして注目をあつめ, 今日まで多数の研究が報告されている。kindling モデルはてんかん原焦点に脳損傷を伴うことなく, 正確は実験条件のもとで, 正常な脳がてんかん発作準備状態をもったてんかん脳に移り変わっていく脳内過程が観察でき, また任意な部位に焦点が作成でき, しかも各焦点における発作の発展段階が観察できるという

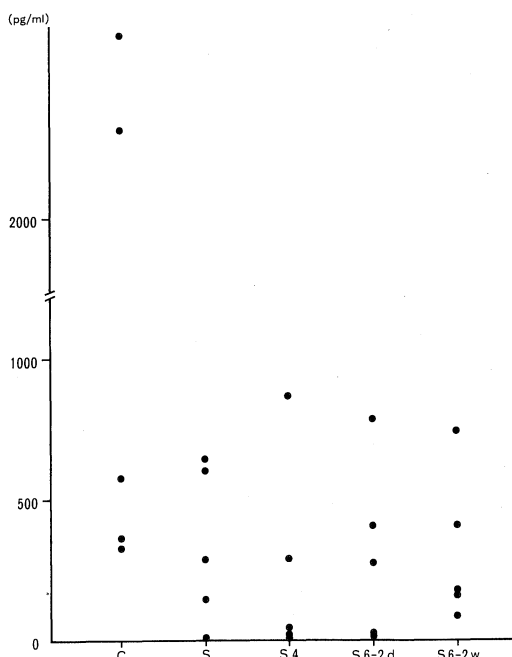


Fig. 10. TRH concentration in CSF (pg/ml). TRH concentrations varied much.

利点もっている。

その対象動物は、カエル、ラット、マウス、猫、兎、猿、ヒヒなどが報告されているが、その飼育や kindling 完成の容易さからラットが最も多く用いられている。本実験において猫を用いたのは、ラットよりも安定した kindling 現象を形成でき、全身けいれんから部分けいれんへの逆行がすくなく、行動上から明瞭に全身けいれんが観察でき、脳波上発作性放電の永続性がとらえやすいこと、また脳の大きさが処理するのに適しており、測定に必要な量の髄液の採取が可能などの理由からである。

Wada and Sato¹³⁾ は、刺激の反復によって増大していくてんかん発作症状を6臨床段階に分けている (Table 1)。第1段階は、刺激側(本実験では右側)で facial twitching が観察される。第2段階では facial twitching が両側でみられ、第3段階は點頭(head nodding)を主とする時期であり、第4段階は、四肢のけいれんが出現する。ここまでは、てんかん発作準備性が辺縁系に限局している段階と考えられている。これ以後は、てんかん発作準備性が辺縁系から皮質にまで及んでいく段階と考えられている。第5段階では間代性全身けいれんがみられるようになり、最終の第6段階では転倒を伴う強直性-間代性もしくは間代性全身けいれんを示す。最終段階の全身けいれんを示すようになって第1段階から各段階を順

Table 6. The hypothetical relationships between neurotransmitters and epilepsy (Yamamoto¹⁸⁾)

Abbreviation: Ach=acetylcholine, GABA= γ -amino butyric acid, TRH=thyrotropin-releasing hormone, ACTH=adrenocorticotrophic hormone, CRF=corticotropin releasing factor

	Inhibitory	Excitatory
Monoamine	dopamine noradrenaline serotonin	Ach
Amino acid	GABA taurine	glutamic acid aspartic acid
Neuropeptide	TRH ACTH	somatostatin vasopressin CRF opioid

次経て全身けいれんに至る二次性全般化けいれんの特徴は失われないとされている。本実験においても脳波変化と臨床発作の相関がみられ、再現性の高い完成したモデルと考えられ、またてんかん発作準備性と発作発現性というてんかんの2つの病態の本質を検討するのに適したモデルと考えられた。

2. SRIFについて

SRIF は、1973年 Brazeau ら²⁰⁾ によるヒツジ視床下部から成長ホルモン分泌抑制因子として単離されたもので、視床下部などの中枢神経のみならず末梢神経や内分泌細胞に存在することが知られ、また中枢神経系における神経伝達物質と考えられるようになった²¹⁾²²⁾²³⁾²⁴⁾²⁵⁾。1977年、Ioffe ら⁶⁾、1979年、Havlicek ら⁷⁾ は SRIF を脳室内や脳内に投与すると、脳波上棘波をともなった全身けいれんがひきおこされること、また脳および消化管内の SRIF を低下させる cysteamine や抗 SRIF 抗体を投与すると kindling けいれんが抑制されることを報告した。1982年、Kato ら⁸⁾ は聴源性ラットや kindling ラット脳で IR-SRIF が上昇していることを報告し、SRIF がけいれんの発現に関与することを示唆した。また、Higuchi ら²⁶⁾ は扁桃核 kindling ラット脳において、kindling 完成一ヶ月後および二ヶ月後に、両側 amygdala, piriform cortex, entorhinal cortex, sensorimotor cortex で IR-SRIF の増加を認めた。一方、皮質 kindling ラットを用いた場合には辺縁系に IR-SRIF の増加を認めなかった。これらのことから、IR-SRIF はけいれん発作によって増加したのではなく、扁桃核 kindling ラットにお

けるてんかん発作準備性に関係していると結論している。一方、梶田ら²⁷⁾は、ラットの kindling モデルを用いて、脳内の IR-SRIF に有意な変化はなかったと報告しており、SRIF とてんかんととの関係に否定的である。しかし、梶田らは報告の中で、結果の差異は屠殺法の違い、特に酵素蛋白質を瞬時に変性-不活化させる micro wave を用いて屠殺しなかったことによるものかもしれないと述べている。

髄液で IR-SRIF を検討する場合には、屠殺の影響もなく、神経伝達物質の release の状態を生きたまま繰り返し測定できる利点がある。最近では、臨床において、てんかんをはじめ各種神経疾患で、髄液の神経ペプチドが測定され検討されている。てんかんに関しては、てんかん患者の発作間歇期や発作直後にも髄液での値は変化しないという報告もあるが¹⁸⁾。IR-SRIF は蛋白濃度に影響されると報告されており、大槽と腰椎部での髄液中の蛋白濃度が異なることから、大槽での髄液を検討すれば、有意差がでる可能性が残されている。一方、Nagaki ら²⁹⁾は、febrile convulsion と infantile spasms 患児においては、他のてんかんや nonconvulsive disorder に比べ、髄液 IR-SRIF が有意に上昇していたと述べており、人間におけるてんかんと SRIF との関係を示唆するものとして注目される。

現在までに kindling モデルにおいて脳内と髄液内の神経ペプチドを同時に測定し検討した報告はない。Sörensen ら²⁹⁾は、髄液内の IR-SRIF は脳由来のものであり、皮質や皮質下の介在ニューロンのマーカーとなっていると述べている。本実験では、髄液 IR-SRIF は脳内の IR-SRIF の上昇を反映しており、脳内の量的指標となっていた。つまり、脳内の IR-SRIF は C 群と比較し、S4 群では有意差はなかったが、S6-2d 群および S6-2w 群では有意差がみられており、また、髄液 IR-SRIF でも同様に C 群と比較し、S4 群では有意差はなかったが、S6-2d 群および S6-2w 群では有意差をもって高値を示していた。Sörensen ら²⁹⁾の報告をもふまえて検討すると、本実験の成績は、脳内 IR-SRIF と髄液 IR-SRIF は相関性を有することを意味し、髄液を調べることにより脳内全体の IR-SRIF の変動を知ることが出来ることを示唆している。

IR-SRIF の増減が、てんかん発作準備状態によるものか、けいれん発作に関与したものかに関しては、けいれんそのものの影響が 1-2 週間は残存すると考えられており、本実験では最終刺激後 2 週間の休止期をおくことによりけいれんによる影響を最小限にとどめるように配慮した。このことにより本実験における最終刺激 2 週間後

(S6-2W 群)の IR-SRIF の増加はてんかん発作準備状態によるものと考えられた。また、最終刺激 2 日後(S6-2d 群)の IR-SRIF の増加は、その後の持続的上昇からみて、けいれんによる影響よりも、むしろてんかん発作準備性獲得後の持続的増加と考えられた。

kindling においては転移現象が知られており、刺激部位以外の部位においてもてんかん発作準備性が亢進するとされている³⁰⁾³¹⁾。転移現象は、一次脳部位の限局性変化によるものではなく、対側半球にまたがるような広範な経シナプス性変化を基盤にしていると考えられている。この現象の背景としてカテコラミンなどが注目されてきた³²⁾が、本実験で示された生化学的変化が刺激部位以外の部位や非刺激側においても認められたことは、SRIF が転移現象にも関連していることを示唆するものである。

本実験から、SRIF はてんかん発作準備性獲得の初期ではなく、後期の完成・維持に関与していることが示唆された。また、髄液 IR-SRIF 値は、脳内 IR-SRIF の変動を知る量的指標となり得ると考えられた。

3. TRH について

TRH は、中枢神経系に広く分布し、下垂体-甲状腺系を介する内分泌的効果とは無関係に、さまざまな中枢神経作用をもつとされている³³⁾³⁴⁾³⁵⁾。1984 年から 86 年にかけて、Sato らは³⁶⁾³⁷⁾³⁸⁾、TRH や TRH の誘導体の一つである DN-1417 (γ -butyrolactone- γ -carbonyl-L-histidyl-L-prolinamide citrate) を全身投与もしくは脳室内投与することにより kindling 形成が遅延したり kindling けいれんが抑制されることを報告し、外来性 TRH が抗てんかん作用をもつことを確認している。1981 年、Inanaga ら³⁹⁾は、変性型ミオクロオスステんかんに DN-1417 を投与し、ミオクロオス・小脳症状・精神症状が改善したと報告している。また、内因性 TRH が抗てんかん物質として機能している可能性も示唆されている。1983 年、Walczak⁴⁰⁾は、扁桃核 kindling ラット脳で最終けいれんの 48 時間後に梨状葉皮質で 6 倍、帯状回皮質で 2.5 倍、扁桃核・海馬で約 2 倍に TRH が増加していたと報告している。1988 年、梶田ら²⁷⁾は、扁桃核 kindling ラット脳での扁桃核+梨状葉、海馬において TRH が最終けいれんの 30 分後に変化を認めないが、24 時間後より有意に増加し、48 時間後に最大に達し、扁桃核+梨状葉では約 3 倍、海馬では約 4 倍になり、その後 3 週間後には正常値にもどっていたと報告している。この辺縁系脳部位での TRH 濃度の著明な一過性増加は諸家の報告が一致しており、本実験でも、例えば 2 日後(S6-2d 群)の右扁桃核では、C 群と比較し約 4 倍の TRH の増加

が認められたが、2週間後では正常値にもどっていた。このことは、てんかん発作準備性よりもけいれん発現性に TRH が関与し、抗けいれん因子として作用していることを示唆するものである。しかし、一方では、Kajita ら⁴¹⁾は扁桃核 kindling ラットにおいて、線状体の TRH 受容体が kindling 形成後3週間の長期にわたって増加していることを見だしており、線状体 TRH の持続的機能異常とてんかん発作準備性との関与を示唆している。いずれにしても、TRH が抗けいれん作用をもつことは明らかであり、今後さらに臨床応用されると考えられる。

さて、IR-SRIF ではその脳内濃度の変化の反映して髄液 IR-SRIF も変化していたが、TRH では髄液と脳内の測定結果に一定の傾向を示さなかった。一般に神経伝達物質の効果は速やかに現れ速やかに消失するものであるが、ペプチドの効果はゆっくり現れ持続する傾向があるといわれている。TRH においては SRIF よりも変化速度が速いと考えられ、髄液と脳との測定に時間的ずれがあることによる可能性が考えられる。いずれにして本実験においては、髄液の TRH の変動が脳 TRH の量的指標とはならなかった。

本実験から TRH は抗けいれん因子としてけいれん発現性に関与していることが示唆されたが、髄液 TRH と脳内 TRH との相関は認めなかった。

4. Kindling Stage と SRIF, TRH の関係

本実験では、Wada and Sato ら¹⁹⁾の臨床段階において、head nodding を主症状とする第3段階が完成し、第4段階に達した群 (S4 群) をてんかん発作準備性が辺縁系に局限している部分 kindling (partial kindling) とした。また、第6段階の generalized convulsive seizure が連続して5日間認められたものを完成 kindling (fully kindling) とし、両者での IR-SRIF と TRH の比較をおこなった。扁桃核 kindling によって IR-SRIF が増加するという報告⁹⁾はあるが、kindling の stage のどの段階で増加するかを、検討した報告は極めて少ない⁴²⁾。

本実験の結果では、髄液及び脳内とも C 群と比較して、S4 群では上昇を認めず、S6-2w 群では有意に上昇していたことから、IR-SRIF は kindling の初期つまり辺縁系内でのてんかん発作準備性には関与せず、後期の準備性が皮質にまで及び kindling の完成・維持に関与していると考えられた。

一方、TRH に関しては、脳内で、S4 群は S 群や S6-2w 群同様、C 群と比較して有意な変化を認めなかったが、S6-2d 群で有意な上昇をみた。これらの結果より、TRH はてんかん発作準備性よりも発作発現により関与

しているものと考えられた。

5. てんかんと神経伝達物質

神経伝達物質のうちカテコラミン・インドールアミンなどのモノアミン系・GABA などのアミノ酸系のいわゆる古典的神経伝達物質は、長い研究の歴史をもち、てんかんと関与についても膨大な知見の集積がみられる。これらの報告では、薬理学的に結果は一致しているが、生化学的にはかならずしもこれらを支持せず、また各てんかんモデルにおいても中心となる神経伝達物質が異なり、その成績も一致しないといわれている。神経ペプチドは研究の歴史も浅く報告も少ないが、個々の神経ペプチドのてんかんと関与ならびに他の神経伝達物質との関連や神経ペプチド相互での関係が注目されている。我々は、IR-SRIF と TRH に注目し、kindling 発展過程における両者の変動を検討したが、本実験からは、SRIF はてんかん発作準備性に、TRH はけいれん発現性に関与していると考えられた。

てんかんは臨床生化学的にも同一の疾患ではなく、例えば髄液中にドーパミンが減少している症例群やノルエピネフリンが著明に高値である症例群など数々のものがあり、治療の面からも、それぞれ L-DOPA 療法、 γ -アミノ- β -ヒドロキソ酪酸 (GABA アゴニスト) 療法、TRH 療法などに特異的に有効な症例群があるといわれており⁴³⁾⁴⁴⁾、将来てんかんの生化学的分類を可能にするために今後も系統的な検討の積み重ねが必要であろう。

結 語

(1) 猫扁桃核 kindling モデルを用いて、その発展過程における IR-SRIF, TRH の脳内及び髄液内変動について検討した。

(2) SRIF はてんかん発作準備性獲得後期の完成・維持に関与していることが示唆された。また、髄液 IR-SRIF 値は、脳内 IR-SRIF の変動を知る量的指標となり得ると考えられた。

(3) TRH は抗けいれん因子としてけいれん発現性に関与していることが示唆され、髄液 TRH は脳内 TRH との相関は認められなかった。

本論文の要旨は第22, 23回日本てんかん学会(昭和63年10月, 平成元年10月), 第30回日本神経学会総会(平成元年5月)ならびに第18回国際てんかん学会議(平成元年10月, ニューデリー)において発表した。

稿を終わるにあたり、終始御指導を賜った恩師内海庄三郎教授に深甚の感謝を捧げる。さらに本研究を常に御指導、御声援くださった京井喜久男助教授、神 寿右講師、多田隆興講師および教室諸兄に感謝致します。

文 献

- 1) **Delgado-Escueta, A. V., Ward, A. A., Woodbury, D. M. and Porter, R. J.:** Basic mechanisms of the epilepsies; Molecular and cellular approaches. *in* Advances in Neurology. vol. 44, Raven Press, New York, 1986.
- 2) **Ayala, G. F. and Vasconetto, C.:** Role of recurrent excitatory pathways in epileptogenesis. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.* **33**: 96-98, 1972.
- 3) **Dichter, M. and Spencer, W. A.:** Penicillin induced interictal discharges from cat hippocampus: I, Characteristics and topographical features. *J. Neurophysiol.* **32**: 649-662, 1969.
- 4) **Dichter, M. and Spencer, W. A.:** Penicillin-induced interictal discharges from cat hippocampus: II, Mechanisms underlying origin and restriction. *J. Neurophysiol.* **32**: 663-687, 1969.
- 5) **Havlicek, V. and Friesen, H. G.:** Comparison of behavioral effects of somatostatin and β -endorphin in animals. *in* Central Nervous Effects of Hypothalamic Hormones and Other Peptides. (Collu, E., Ducharme, J. R., Barbeau, A. and Rochefort, J. G., eds). Raven Press, New York, p381-402, 1979.
- 6) **Higuchi, T., Sikand, G. S., Kato, N., Wada, J. A. and Friesen, H. G.:** Profound suppression of kindled seizure by cysteamine: possible role of somatostatin to kindled seizures. *Brain Res.* **288**: 359-362, 1983.
- 7) **Ioffe, S., Havlicek, V., Friesen, H. G. and Chernik, V.:** Effect of iontophoretically applied somatostatin (SRIF) on cortical neurons in awake unanesthetized animals. *Fed. Proc. (Abstr.)* **36**: 364-501, 1977.
- 8) **Kato, N., Sundmark, V., C. Van Middlesworth, L., Havlicek, V. and Friesen, H.G.:** Immunoreactive somatostatin and β -endorphin content in the brain of mature rats after neonatal exposure to propylthiouracil. *Endocrinology* **110**: 1851-1855, 1982.
- 9) **Kato, N., Higuchi, T. and Friesen, H.G.:** Changes of immunoreactive somatostatin and β -endorphin content in rat brain after amygdaloid kindling. *Life Sci.* **32**: 2415-2422, 1983.
- 10) **佐藤光源, 岡本 基:** キンドリングとGABA, TRH, その他の神経ペプチド. *神経進歩* **29**: 1014-1022, 1985.
- 11) **Goddard, G. V., Mclntyre, D. C. and Leech, C. K.:** A permanent change in brain function resulting from daily electrical stimulation. *Exp. Neurol.* **25**: 295-330, 1969.
- 12) **Delgado, J. M. R. and Sevillano, M.:** Evolution of repeated hippocampal seizures in the cat. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.* **13**: 722-733, 1961.
- 13) **Wada, J. A. and Sato, M.:** Generalized convulsive seizures induced by daily electrical stimulation of the amygdala in cat: correlative electrographic and behavioral features. *Neurology* **24**: 565-574, 1974.
- 14) **Wada, J. A.:** Pharmacological prophylaxis in the kindling model of epilepsy. *Arch. Neurol.* **34**: 389-395, 1977.
- 15) **McNamara, J. O., Byrne, M. C., Desheiff, R. M. and Felz, J. G.:** The kindling model of epilepsy: a review. *Prog. Neurobiol.* **15**: 139-159, 1980.
- 16) **Racine, R. J.:** Kindling: the first decade. *Neurosurgery* **3**: 234-252, 1978.
- 17) **Glowinski, J. and Iversen, L. L.:** Regional studies of catecholamines in the rat brain -I. The disposition of (3 H) norepinephrine, (3 H) dopamine and (3 H) DOPA in various regions of the brain. *J. Neurochem.* **13**: 655-669, 1966.
- 18) **山本光利, 小川紀雄:** 中枢神経系の病態と神経ペプチド-けいれん. *Clin. Neurosci.* **5**: 1386-1387, 1987.
- 19) **渡辺一功, 松本昭子, 野村一史:** 小児難治てんかんに対するTRH療法. 難治性てんかんの予防と対策に関する研究-昭和62年度研究報告書. p123-127, 1988.
- 20) **Brazeau, P., Vale, W., Burgus, R., Ling, N., Butcher, M., Rivier, J. and Guillemin, R.:** Hypothalamic polypeptide that inhibits the secre-

- tion of immunoreactive pituitary growth hormone. *Science* **179**: 77-79, 1973.
- 21) **Delfs, J. R. and Dichter, M. A.**: Effects of somatostatin on mammalian cortical neurons in culture: physiological actions and unusual dose response characteristics. *J. Neurosci.* **3**: 1176-1188, 1983.
- 22) **Havlicek, V. and Friesen, H. G.**: Comparison of behavioral effects of somatostatin and β -endorphin in animals. *in* Central Nervous System Effects of Hypothalamic Hormones and Other Peptides. (Collu, E., Ducharme, J. R., Barbeau, A. and Rochefort, J. G., eds.). Raven Press, New York, p381-402, 1979.
- 23) **Iversen, L. L., Iversen, S. D. and Bloom, F.**: Calcium-dependent release of somatostatin and neurotensin from rat brain in vitro. *Nature* **273**: 161-163, 1978.
- 24) **Rezek, M., Havlicek, V., Hughes, K. R. and Friesen, H.**: Behavioral and motor excitation and inhibition induced by the administration of small and large doses of somatostatin into the amygdala. *Neuropharmacology* **16**: 157-162, 1977.
- 25) **Uhl, G. R., Tran, V., Snyder, S. H. and Martin, J. B.**: Somatostatin receptors: distribution in rat central nervous system and human frontal cortex. *J. Comp. Neurol.* **240**: 288-304, 1985.
- 26) **Higuchi, T., Kato, N., Noguchi, T., Friesen, H. G. and Wada, J. A.**: Kindling and somatostatin. *in* Kindling 3 (Wada, J. A., ed.). Raven Press, New York, p349-360, 1986.
- 27) **梶田三郎, 山下公三郎, 中島 誠, 大月三郎, 小川紀雄, 佐藤光源**: 扁桃核キンドリングラットにおける扁桃核/梨状葉皮質および海馬の thyrotropin-releasing hormone, somatostatin, cholecystokinin, substance P の変化. *脳神経* **40**: 525-530, 1988.
- 28) **Nagaki, S., Fukuyama, Y., Kato, N., Ikeda, M., Higuchi, T., Takahashi, K. and Naruse, H.**: Immunoreactive somatostatin contents in the cerebrospinal fluid of children with various types of epilepsy. *Jpn. J. Psychiatr. Neurol.* **42**: 651-652, 1988.
- 29) **Sørensen, K. V., Christensen, S. E., Hansen, A. P., Ingerslev, J., Pendersen, E. and Orskov, H.**: The origin of cerebrospinal fluid somatostatin: hypothalamic or disperse central nervous system secretion? *Neuroendocrinology* **32**: 335-338, 1981.
- 30) **Wake, A. and Wada, J. A.**: Transfer and interference in amygdaloid kindling in cats. *Can. J. Neurol. Sci.* **3**: 5-11, 1977.
- 31) **McIntyre, D. C. and Goddard, G. V.**: Transfer, interference and spontaneous recovery of convulsions kindled from the rat amygdala. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.* **35**: 533-543, 1973.
- 32) **Sato, M.**: Functional changes in the caudate and accumbens nuclei during amygdaloid and hippocampal seizure development in kindled cats. *Folia. Psychiat. Neurol. Jap.* **31**: 501-512, 1977.
- 33) **Morley, J. E.**: Extrahypothalamic thyrotropin releasing hormone (TRH)-Its distribution and its functions. *Life Sci.* **25**: 1539-1550, 1979.
- 34) **Yarbrough, G. G.**: On, the neuropharmacology of thyrotropin releasing hormone (TRH). *Progress in Neurobiol.* **12**: 291-312, 1979.
- 35) **高原二郎**: TRH の中枢作用, ホルモンの中核作用 (伊東真二編). 理工学社, 東京, p52-56, 1981.
- 36) **Sato, M., Morimoto, K. and 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.
- 37) **佐藤光源, 梶田三郎, 岡本 基, 森本 清, 小川俊彦, 大月三郎, 小川紀雄, 永井康雄, 成実重彦**: Thyrotropin-releasing hormone 誘導体 (DN-1417) の抗けいれん作用と脳内モノアミンの変化. *精神経誌*. **87**: 176-185, 1985.
- 38) **Sato, M., Kajita, S., Ogawa, N. and Okamoto, M.**: Amygdaloid kindling and thyrotropin-releasing hormone. *in* Kindling 3 (Wada, J. A., ed.). Raven Press, New York, p319-332, 1986.
- 39) **Inanaga, K. and Inoue, Y.**: Effect of thyrotropin-releasing hormone analog in a patient with myoclonus epilepsy. *Kurume Med. J.* **28**: 201-210, 1981.
- 40) **Walczak, D., Meyerhoff, J. L., Bates, V. E. and Kubek, M. J.**: Effect of partial and fully generalized kindled seizures on thyrotropin releasing

hormone of the rat brain. Soc. Neurosci. (Abstract) 9: 485, 1983.

- 41) **Kajita, S., Ogawa, N. and Sato, M.:** Longterm increase in strial thyrotropin-releasing hormone receptor binding caused by amygdaloid kindling. *Epilepsia* 28: 228-233, 1987.
- 42) 山崎 治, 樋口輝彦, 大島浩伸, 山崎 潤, 高沢 彰,

山内俊雄:扁桃核 kindling の発展過程と脳内 somatostation 含量の変化, 第 21 回てんかん学会抄録集, p96, 1987.

- 43) 森 昭胤:神経伝達物質の異常とけいれん発現機構. *神経進歩* 29: 1003-1013, 1985.
- 44) 森 昭胤:てんかんの臨床生化学-特に神経伝達物質について. *脳神経* 34: 1129-1136, 1982.