

学位論文

モノアミントランスポーター慢性的阻害による
局所麻酔薬痙攣感作に関する研究

学位申請者 新井茂昭
広島大学大学院歯学研究科
歯学基礎系（歯科薬理学）専攻

主任：土肥敏博 教授
広島大学大学院医歯薬学総合研究科
創生医学専攻病態探究医科学講座
歯科薬理学

2003 年度

本論文の一部は、以下の雑誌に掲載された。

- 1 : Chronic inhibition of the norepinephrine transporter in the brain participates in seizure sensitization to cocaine and local anesthetics.: Arai S., Morita K., Kitayama S., Kumagai K., Kumagai M., Kihira K., Dohi T.: Brain Research. : 2003, 964, 83-90.
- 2 : Inhibition of monoamine neurotransmitter transporter and central nervous system stimulation induced by synthetic local anesthetics and cocaine: a comparative review.: Dohi T., Kitayama S., Morita K., Sato T., Arai S., Kumagai K., Hashimoto W., Kihira K.: Current Medicinal Chemistry Central Nervous System Agents.: 2002, 2, 295-315.
- 3 : 局所麻酔薬のモノアミントランスポーターに対する作用とけいれん誘発：土肥敏博，北山滋雄，森田克也，佐藤友之，新井茂昭，熊谷三千男，木平健治：日本麻酔・薬理学会誌 2002 年, vol. 14, 74-79.

本論文の要旨の一部は、以下の学会で発表した。

- 1 : 局所麻酔薬連続投与による痙攣発現の感作現象 : 新井茂昭, 佐藤友之, 森田克也, 北山滋雄, 熊谷三千男, 木平健治, 土肥敏博 : 第 98 回日本薬理学会近畿部会 : 2000.10 (岐阜)
- 2 : 局所麻酔薬のモノアミントランスポーターに対する作用と痙攣誘発 : 土肥敏博, 佐藤友之, 新井茂昭, 北山滋雄, 森田克也, 熊谷三千男, 木平健治 : 日本麻酔・薬理学会第 23 回学術大会 : 2001.6 (東京)
- 3 : 局所麻酔薬連続投与による痙攣発現の感作現象とモノアミントランスポーター阻害 : 新井茂昭, 佐藤友之, 森田克也, 北山滋雄, 熊谷三千男, 木平健治, 土肥敏博 : 第 43 回歯科基礎医学会学術大会 : 2001.9 (埼玉)
- 4 : Role of monoamine transporters in sensitization of mice to local anesthetics-induced convulsions.: Dohi T., Sato T., Arai S., Kitayama S., Morita K., Kihira K.: 2001 Collegium International Neuro-Psychopharmacologicum (CINP) Regional Meeting Hiroshima, Japan 2001.10
- 5 : モノアミントランスポーター阻害の局所麻酔薬痙攣におよぼす影響 : 新井茂昭, 森田克也, 北山滋雄, 熊谷三千男, 土肥敏博 : 第 21 回日本歯科薬物療法学会 : 2002.2 (広島)
- 6 : モノアミントランスポーター阻害を有する抗うつ薬慢性投与による局所麻酔薬痙攣発現の感作現象 : 新井茂昭, 森田克也, 森岡徳光, 木平健治, 土肥敏博 : 第 36 回広島歯学会 : 2003.6 (広島)
- 7 : 局所麻酔薬痙攣の感作 - 局所麻酔薬慢性投与の影響 - : 新井茂昭, 森田克也, 森岡徳光, 北山滋雄, 木平健治, 土肥敏博 : 第 5

回応用薬理シンポジウム：2003.8（岡山）

- 8：局所麻酔薬痙攣の感作－モノアミントランスポーター阻害薬の慢性投与の影響－：新井茂昭，森田克也，森岡徳光，北山滋雄，木平健治，土肥敏博：第5回応用薬理シンポジウム：2003.8（岡山）
- 9：ノルエピネフリントランスポーター阻害薬慢性投与による局所麻酔薬痙攣の感作現象：新井茂昭，森田克也，森岡徳光，北山滋雄，木平健治，土肥敏博：第45回歯科基礎医学会：2003.9（岩手）
- 10：モノアミントランスポーター阻害を有する抗うつ薬の慢性投与による局所麻酔薬痙攣発現の感作：森田克也，新井茂昭，森岡徳光，北山滋雄，木平健治，土肥敏博：第33回日本精神神経薬理学会年会：2003.10（奈良）

目 次

第 I 章 緒言 -----	1
第 II 章 局所麻酔薬の連続投与の痙攣発現に及ぼす影響 -----	4
第 1 節 モノアミントランスポーター阻害の関与 -----	4
第 2 節 交差感作 -----	10
第 3 節 考察 -----	16
第 4 節 小括 -----	18
第 III 章 選択的モノアミン取り込み阻害薬慢性投与のリド カイン痙攣に及ぼす影響 -----	19
第 1 節 ドパミントランスポーター、ノルエピネフリン トランスポーターおよびセロトニントランスポ ーター選択的阻害薬のリドカイン痙攣発現に及 ぼす影響 -----	19
第 2 節 ノルエピネフリントランスポーター選択的阻害 薬のビククリン痙攣発現に及ぼす影響 -----	29
第 3 節 考察 -----	31
第 4 節 小括 -----	35
第 IV 章 デシプラミン慢性処置によるモノアミントランス ポーター発現に及ぼす影響 -----	36
第 1 節 ノルエピネフリントランスポーター選択的阻害 薬慢性投与のメタンフェタミンによる自発運動	

量亢進に及ぼす影響 -----	36
第 2 節 リドカイン痙攣感作における NMDA 受容体の関与 ----	39
第 3 節 考察 -----	41
第 4 節 小括 -----	44
第 V 章 総括 -----	45
謝辞 -----	48
本研究における主な使用薬物-----	49
参考文献 -----	50

第 I 章 緒言

局所麻酔薬が全身に吸収されたときに誘発される最も重篤な有害作用の一つとして痙攣があげられる^[1]。コカ葉から単離されたコカインは局所麻酔薬の原型として用いられていたが、同時に強い精神刺激作用や依存性を持つことが問題となり、1904年にEinhornによってプロカインが合成されて以来局所麻酔薬としては使われなくなった。しかし現在でもコカイン中毒者において痙攣の発現がしばしば報告されている^[1]。局所麻酔薬は基本的にはNaイオンチャネルを阻害し、神経伝導を遮断する薬物であるにもかかわらず大脳辺縁系の放電をひきおこす。この効果は扁桃核において最も顕著であり^[2-4]、その結果誘発される痙攣発現は、局所麻酔薬が γ -アミノ酪酸(GABA)など中枢の抑制性神経を抑制した結果、興奮性神経活性が高められたことによると考えられている^[5-8]。従って局所麻酔薬痙攣はGABA作動性薬物により効果的に抑制することができる。またコカインは反復投与することにより、中枢刺激効果が促進され、その結果自発運動能が亢進するという特徴を有する^[9]。さらにげっ歯類において、比較的高用量のコカインを間歇的に反復投与するとコカイン痙攣発現が感作されることが知られており、この現象はコカインキンドリリング(cocaine kindling)と呼ばれている^[9,10]。

一方、コカインには局所麻酔作用の他にもう一つ重要な薬理作用がある。即ち、コカインは神経終末から遊離されたモノアミン神経伝達物質の神経終末への再取り込みを阻害する作用を有する。モノアミントランスポーターは神経終末より遊離された神経伝達物質モノアミンを神経終末内に再取り込みすることにより神経伝達を速やかに終結さ

せる重要な機能蛋白質であるが，コカインはノルエピネフリントランスポーター，ドパミントランスポーター，セロトニントランスポーターの三種のモノアミントランスポーターをほぼ同程度に阻害する．コカインのモノアミントランスポーター阻害作用，特にカテコールアミントランスポーターに対する阻害作用は，コカイン反復投与による運動量亢進と密接な関連性があることが報告されている^[9]．しかしながら，コカインのモノアミン取り込み阻害作用が，コカイン反復投与による痙攣感作に関係するかどうかについては明らかにされていない．なぜなら，コカイン反復投与時に痙攣感作を誘導するのに必要な用量は，運動量亢進を誘導するのに必要な用量に比べ大量が必要である．また，抗痙攣薬カルバマゼピンの併用はコカイン痙攣感作の発現を抑制するが，運動量亢進には拮抗しないという報告もある^[11]．

一般に，合成局所麻酔薬はモノアミントランスポーター阻害作用を持たないとされている．しかし，当研究室および他の研究室において最近，ラット脳シナプトゾーム^[12]，モノアミントランスポーターcDNAを移入することによりモノアミントランスポーターを強制発現させたCOS細胞^[13]やSH-SY5Yヒト神経芽細胞腫細胞系^[14]を用いた研究において，ある種の合成局所麻酔薬，たとえばプロカインやメプリルカインなどがモノアミン取り込み阻害作用を有することが証明された．これに対しリドカインにはこのような取り込み阻害作用は認められていない^[13,14]．

そこで本研究は，モノアミントランスポーター阻害作用の強いコカイン，コカインほど強くはないがある程度の阻害作用のあるメプリルカイン，阻害作用の弱いプロカインおよび取り込み阻害作用のないリドカインを用いて，局所麻酔薬痙攣感作にモノアミントランスポータ

一阻害が関係するかどうかを明らかにすることを目的とした。

一方、ノルエピネフリン神経、セロトニン神経などモノアミン作動性神経活性の変化が局所麻酔薬痙攣発現に大きな影響を及ぼすことが明らかにされている。抗うつ薬の多くは長期投与によりモノアミントランスポーターを阻害してシナプス間隙のモノアミン濃度を高めることにより、シナプス部になんらかの可塑的变化を引き起こしモノアミン神経活性を高め、抗うつ効果を発現するとされている。従って、このような状況下では、局所麻酔薬痙攣発現が影響される可能性が考えられる。

以上のような観点から本研究は、モノアミントランスポーター阻害作用を有する抗うつ薬の慢性投与が局所麻酔薬痙攣に及ぼす影響とその機序について研究した。

第Ⅱ章 局所麻酔薬の連続投与の痙攣発現に及ぼす影響

コカインは局所麻酔作用の他にモノアミン取り込み阻害作用を有している。そこでまずコカインの連続投与による痙攣の感作にコカインの持つモノアミントランスポーター阻害作用が関与するかどうかについて検討した。

合成局所麻酔薬はコカイン様作用，即ちモノアミン取り込み阻害作用を持たないとされていたが，佐藤らは，メプリルカインやプロカインなど一部の合成局所麻酔薬にモノアミン取り込み阻害作用のあること，リドカインには全くそのような作用は認められないことを報告している^[13]。そこでモノアミントランスポーター阻害作用を有する局所麻酔薬並びに有しない局所麻酔薬を連続投与してそれらの痙攣発現を比較検討した。

第1節 モノアミントランスポーター阻害の関与

モノアミントランスポーター阻害作用の強いコカイン，コカインよりは弱いながら有意な阻害作用の認められているメプリルカイン，取り込み阻害作用はあっても弱いプロカインおよび阻害作用のないリドカインを用いることにより，モノアミントランスポーターの慢性的阻害が局所麻酔薬痙攣誘発にどのような影響を及ぼすかについて検討した。

(1) 実験材料ならびに方法

1. 実験動物マウス

ICR 雄性マウス，生後 6～7 週齢を用いた．動物の取り扱い
は全て日本薬理学会動物取り扱いガイドラインおよび広島大学
動物取り扱いガイドラインに従って行った．

2. 使用薬物とその処置

痙攣発現量以下のコカイン 35, 40 mg/kg およびメプリルカ
イン 80, 85 mg/kg をそれぞれマウス腹腔内に 1 日 1 回，4 日間
連続投与した．リドカインは最小痙攣発現量 45, 50 mg/kg を
同様に 4 日間投与した．薬物は全て生理的食塩水に溶解して腹
腔内に投与した．投与量は体重 10 g あたり 0.05 ml とし，対照
動物には同量の生理的食塩水を投与した．

3. 実験方法

一群 20 匹とし，腹腔内に局所麻酔薬を投与後，プラスチック
観察ケージ内で痙攣発現を観察した．間代性痙攣以上を誘発
したマウスの割合を痙攣発現率として求めた．

4. 統計処理

痙攣発現率の差の検定は One-side Fisher's exact
probability test により行った．

(2) 結果

痙攣発現量以下のコカイン 35 mg/kg を腹腔内に投与したマウスは初
日では痙攣はまったく誘発されなかったが，2 日目には 20% の痙攣が
みられ，3 日目には 70%，4 日目ではほぼ全例に痙攣が誘発された．40
mg/kg を投与したマウスでも，同様に初日では痙攣はまったく観察され
なかったが，2 日目に 80%，3 日目以降は 100% の痙攣発現が誘発され

た（図 1）。

メプリルカインを痙攣発現量以下の 80 mg/kg および 85 mg/kg を連続投与したマウスは，初日では痙攣は観察されなかったが，2 日目以降に痙攣が発現し，その後経日的に発現量は増加し，4 日目には 80 mg/kg 投与群では 50%，85 mg/kg 投与群では 70% にまで痙攣発現率が上昇した（図 2）。

一方，モノアミン取り込み効果を全く認めないリドカインは，最小痙攣発現量の 45～50 mg/kg を連続投与してさえも痙攣発現率の上昇は観察されなかった（図 3）。

モノアミン取り込み阻害を有する局所麻酔薬の連続投与は痙攣発現を増強した。また痙攣発現率上昇の大きさはモノアミン取り込み阻害の強さと比例した。以上の結果から，この感作現象にはモノアミン取り込み阻害が関係することが示唆された。

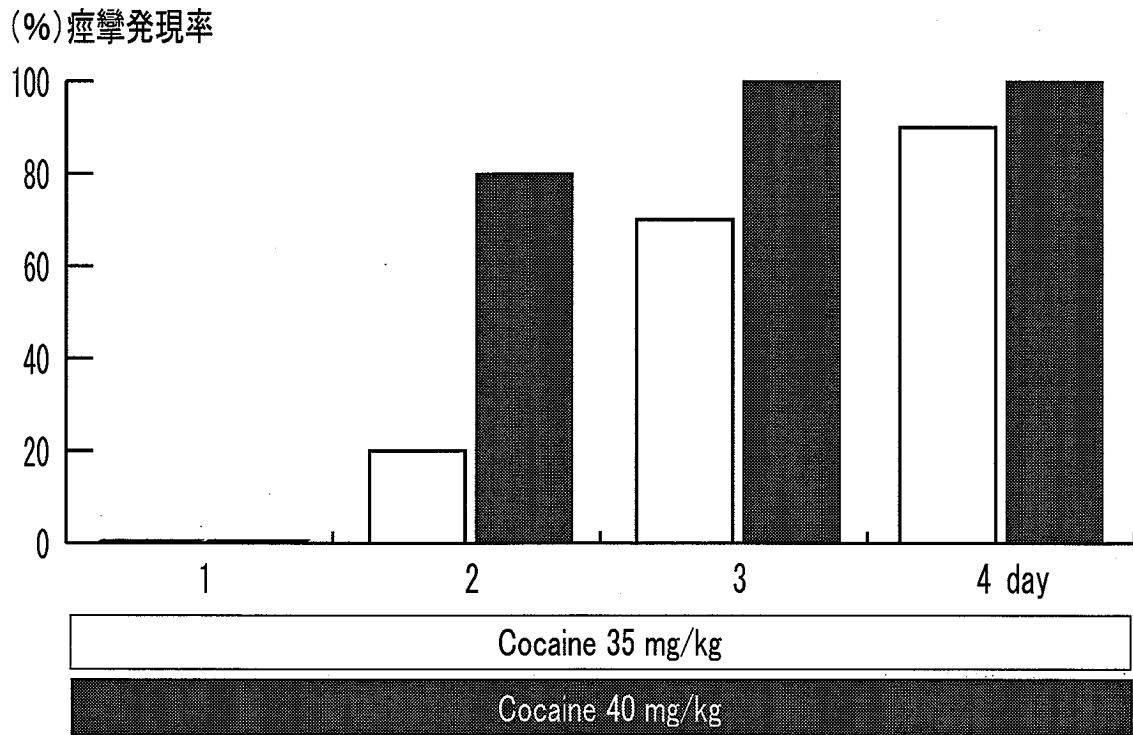


図 1. コカイン反復投与による痙攣発現の感作現象

コカイン 35 mg/kg, 40 mg/kg を 1 日 1 回, 4 日間連続して腹腔内投与したときのそれぞれの投与日における間代性痙攣以上の発現率を示す.

値は 15~20 例の平均値を示す.

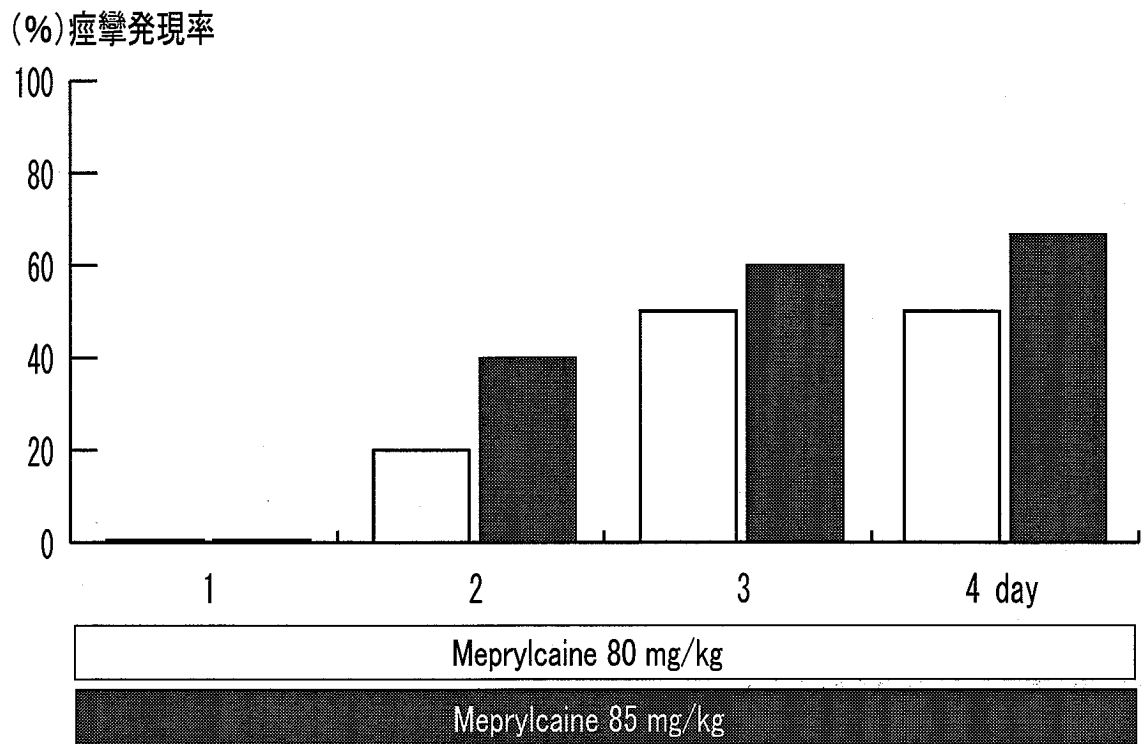


図 2. メプリルカイン反復投与による痙攣発現率の変化

メプリルカイン 80 mg/kg, 85 mg/kg を 1 日 1 回, 4 日間連続して腹腔内投与したときのそれぞれの投与日における間代性痙攣以上の発現率を示す。値は 15~20 例の平均値を示す。

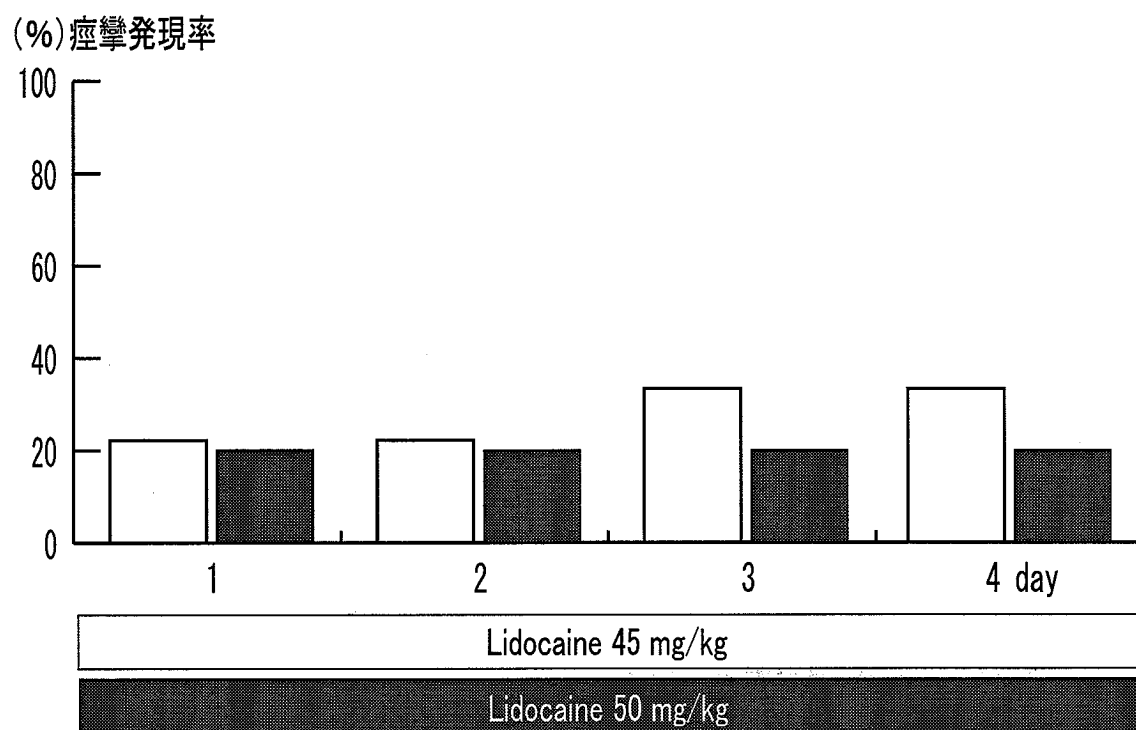


図 3. リドカイン反復投与による痙攣発現率の変化

リドカイン 45 mg/kg, 50 mg/kg を 1 日 1 回, 4 日間連続して腹腔内投与したときのそれぞれの投与日における間代性痙攣以上の発現率を示す.

値は 15~19 例の平均値を示す.

第2節 交差感作

局所麻酔薬慢性投与により痙攣の感作が確立されたときに，他の局所麻酔薬痙攣がどのような影響を受けるかを検討した．

(1) 実験材料ならびに方法

実験は痙攣発現量以下の局所麻酔薬を4日間連続投与し，5日目に同種又は異種局所麻酔薬の最小痙攣発現量を投与し，その痙攣発現率を求めた．即ち，コカイン 30 mg/kg，メプリルカイン 80 mg/kg および 85 mg/kg，プロカイン 120 mg/kg をそれぞれ1日1回，4日間連続投与し，その後24時間後に最小痙攣発現量のコカイン 40 mg/kg あるいは 44 mg/kg，プロカイン 140 mg/kg，リドカイン 55 mg/kg を投与し，痙攣発現について観察した．対照群には生理的食塩水を同様に投与した．薬物は全て腹腔内に投与した．

その他は第1節の実験方法と同様にして行った．

(2) 結果

痙攣発現量以下のコカイン 30 mg/kg を1日1回，4日間連続して腹腔内投与し，投与終了24時間後に最小痙攣発現量のコカイン 40 mg/kg を投与すると，生理的食塩水を連続投与した対照群ではコカイン痙攣発現率が20%であったのに対し65%にまで増加した．同様に，最小痙攣発現量のプロカイン 140 mg/kg を投与したマウスでは，痙攣発現率は，対照群の17%に対し42%へ増加した．リドカインは連続投与しても感作がみられなかったが，コカイン感作動物ではリドカイン痙攣も対照群の23%から55%へと感作されることが観察され，交差感作が示

された (図 4)。

同様にモノアミントランスポーター阻害作用のあるメプリルカインの慢性投与の影響を調べた。痙攣発現量以下のメプリルカイン 80 mg/kg および 85 mg/kg, 4 日間連続投与により, コカインの痙攣発現は対照群では 0%であったのに比べて 33%および 67%にそれぞれ増加した。プロカイン痙攣は対照群の 13%から 40%および 50%に増加し, リドカイン痙攣も対照群の 17%から 50%および 67%と著しく増加した (図 5)。

プロカインの連続投与は, コカイン, プロカイン, リドカイン痙攣発現をやや増加させたが有意ではなかった (図 6)。

リドカインの連続投与は, これらの痙攣発現に全く影響を及ぼさなかった (図 7)。

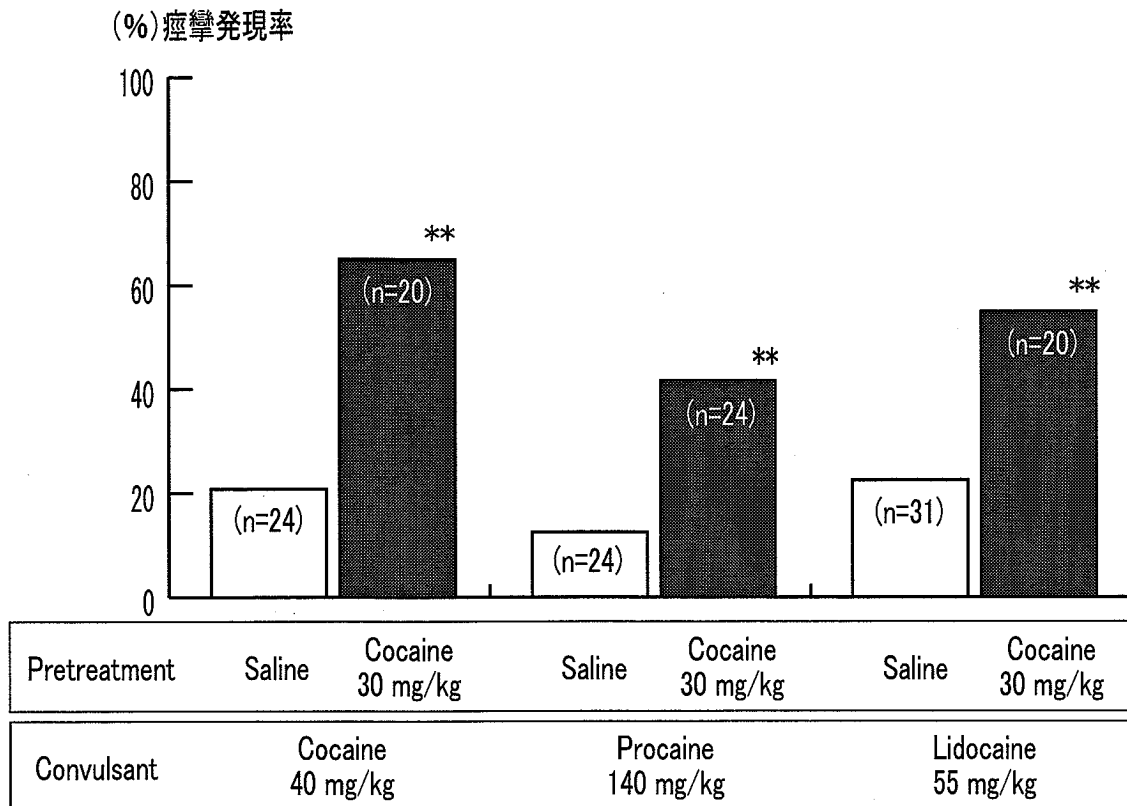


図 4. コカイン慢性投与によるコカイン, プロカインおよびリドカイン痙攣に対する感作現象

コカイン 30 mg/kg または生理的食塩水を 1 日 1 回, 4 日間連続して腹腔内投与した。薬物投与終了 24 時間後に最小痙攣量のコカイン 40 mg/kg, プロカイン 140 mg/kg, リドカイン 55 mg/kg を腹腔内投与したときの痙攣発現率を示す。値は 20~31 例の平均値を示す。

** P<0.01 生理的食塩水慢性投与群に対する有意水準, 検定はOne-side Fisher's exact probability testによった。

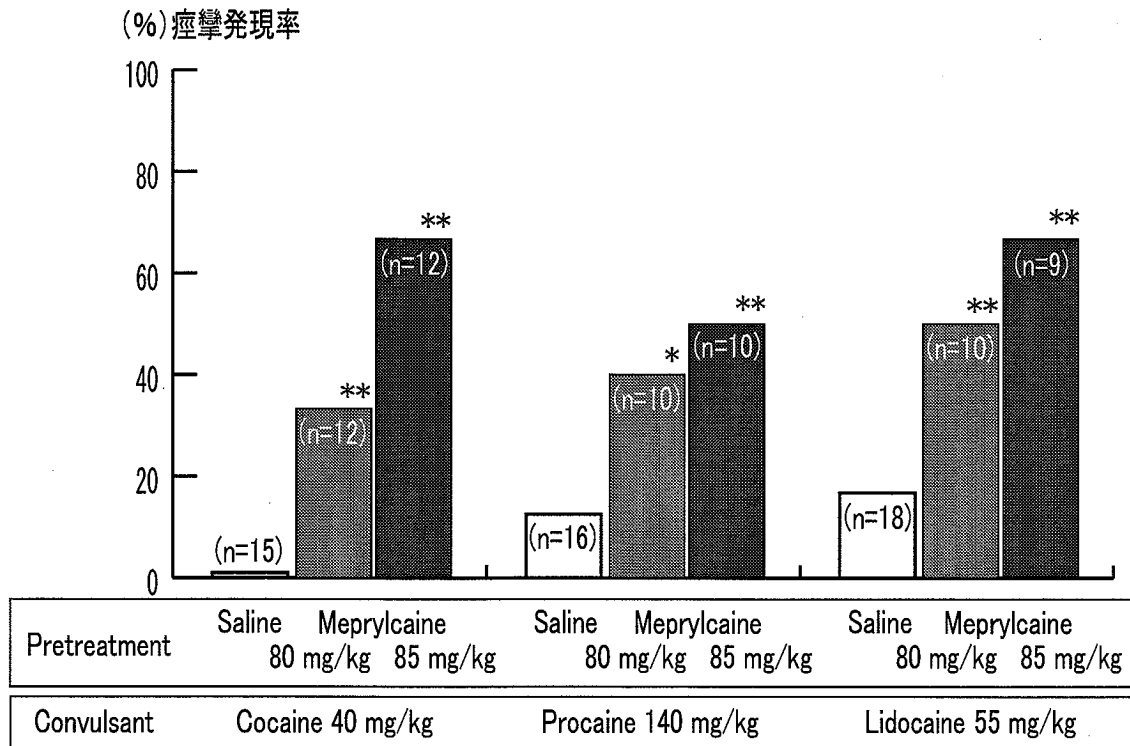


図 5. メプリルカイン慢性投与によるコカイン，プロカインおよびリドカイン痙攣に対する感作現象

メプリルカイン 80, 85 mg/kg または生理的食塩水を 1 日 1 回，4 日間連続して腹腔内投与した。薬物投与終了 24 時間後に最小痙攣量のコカイン 40 mg/kg，プロカイン 140 mg/kg，リドカイン 55 mg/kg を腹腔内投与したときの痙攣発現率を示す。値は 9～18 例の平均値を示す。

* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$ 生理的食塩水慢性投与群に対する有意水準，検定は One-side Fisher's exact probability test によった。

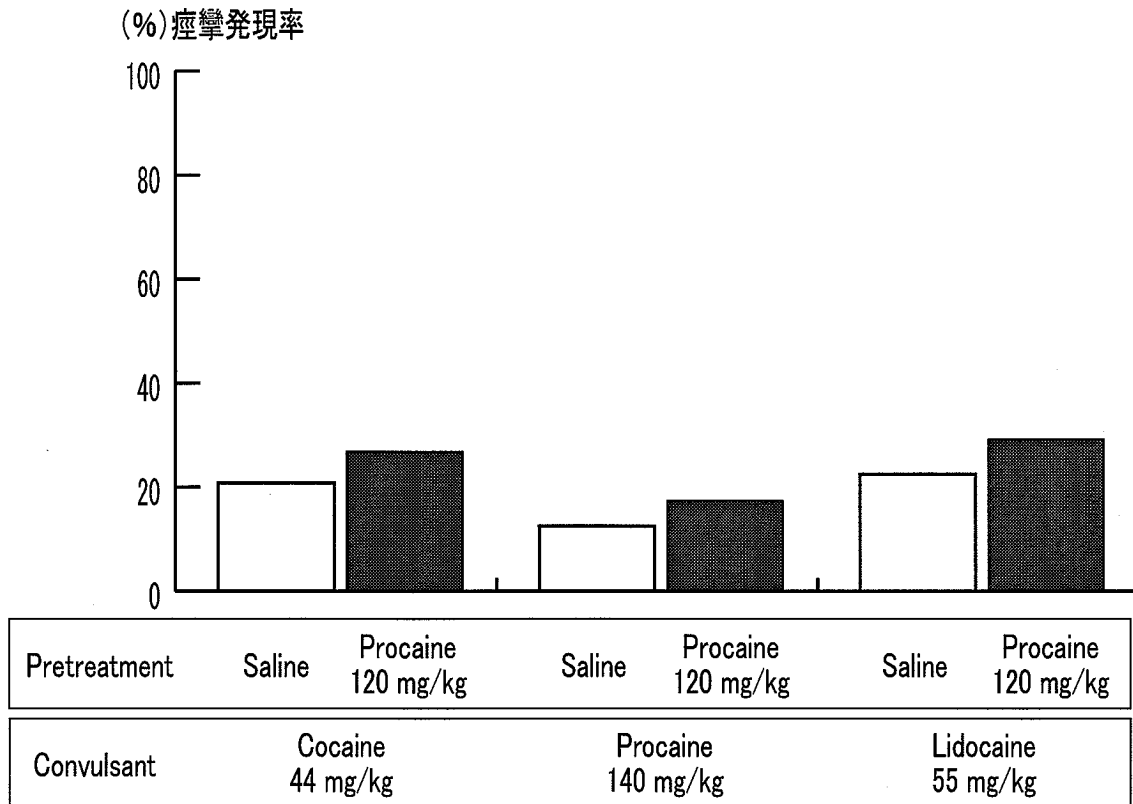


図 6. プロカイン慢性投与によるコカイン，プロカインおよびリドカイン痙攣に及ぼす影響

プロカイン 120 mg/kg または生理的食塩水を 1 日 1 回，4 日間連続して腹腔内投与した。薬物投与終了 24 時間後に最小痙攣量のコカイン 40 mg/kg，プロカイン 140 mg/kg，リドカイン 55 mg/kg を腹腔内投与したときの痙攣発現率を示す。値は 15～20 例の平均値を示す。

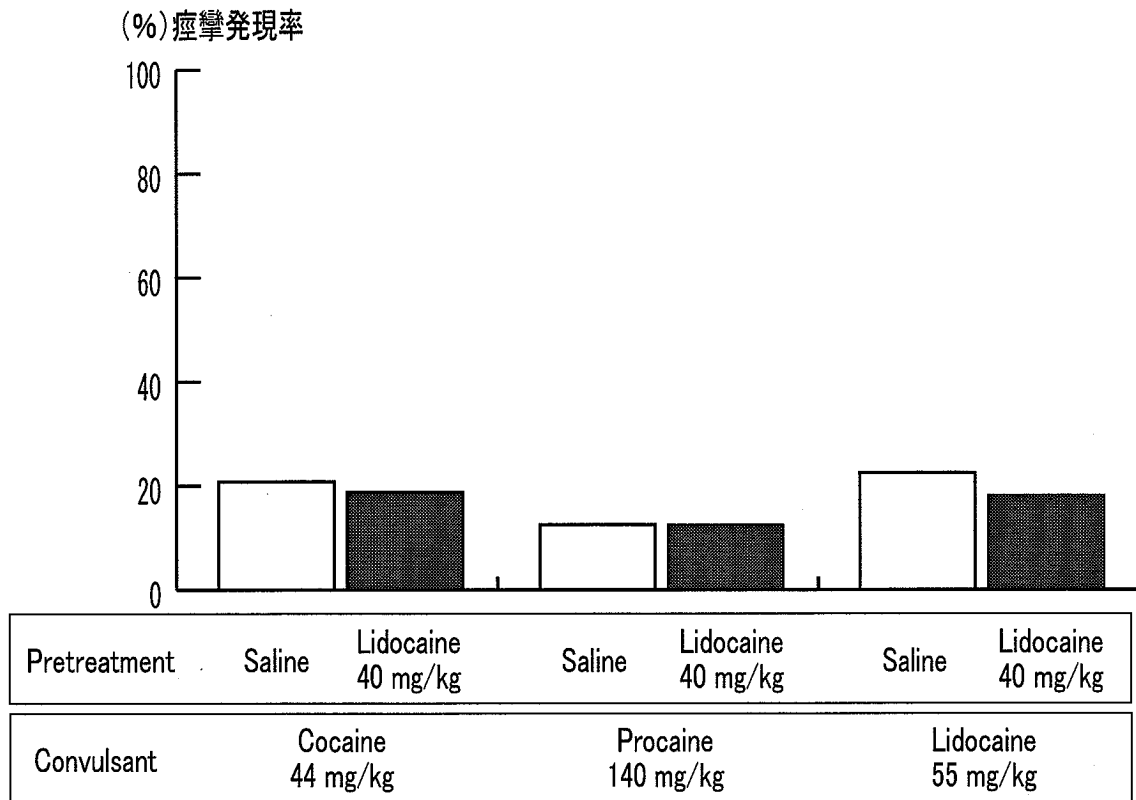


図 7. リドカイン慢性投与によるコカイン，プロカインおよびリドカイン痙攣に及ぼす影響

リドカイン 40 mg/kg または生理的食塩水を 1 日 1 回，4 日間連続して腹腔内投与した。薬物投与終了 24 時間後に最小痙攣量のコカイン 40 mg/kg，プロカイン 140 mg/kg，リドカイン 55 mg/kg を腹腔内投与したときの痙攣発現率を示す。値は 18～23 例の平均値を示す。

第3節 考察

コカインがモノアミントランスポーターを阻害することはよく知られている。そしてこの作用，特にドパミン取り込み阻害作用がコカインの精神刺激効果や強化作用をもたらすものと考えられている。一方，合成局所麻酔薬にはモノアミン取り込み阻害作用は無いとこれまで認識されてきたが，ある種のもの，例えばプロカインにはコカイン様の強化作用のあること^[15-20]，コカイン識別試験においてプロカインやジメソカインはコカインを代替すること^[21-24]が動物実験で認められ，またコカイン常用者においてコカインへの混ぜ物として使われている^[24]。これらの行動薬理的観察から，一部の局所麻酔薬がコカイン様作用有する可能性を示唆している。実際，ドパミントランスポーターを発現させたCOS細胞を用いた実験から，プロカインには弱いドパミン取り込み阻害作用があること，メプリルカインにはコカインに比べて弱いながらもかなりの阻害作用のあること，リドカインには全く取り込み阻害作用の無いことが認められている^[13]。これらの作用はシナプトゾーム^[12]やSK-SY5Y細胞^[25]を用いた実験でも認められている。これら細胞系における成績は，ジメソカインおよびプロカインをラット静脈内投与すると線条体，側坐核，前頭前野におけるドパミン含量が増加すること，リドカインにはそのような作用が無いこと^[11]や上記のジメソカインおよびプロカインによる行動変化はドパミンD₁受容体拮抗薬により拮抗される^[26]という*in vivo*での成績とよく一致する。従って，これらの局所麻酔薬を慢性投与し，局所麻酔作用の他にモノアミントランスポーター阻害との相関性を調べることにより，コカイン慢性投与による局所麻酔薬痙攣感作にモノアミントランスポーター阻害

が関与するかどうか調べる事が可能である。コカインの連続投与によるコカイン痙攣の感作は、最小痙攣発現量の投与時では4~5日目に、痙攣発現量以下の投与時では5日目に最大になり、それ以上の長期投与ではかえって耐性を生じることが報告されている^[27]。これらの結果と一致して、本実験においても痙攣発現量以下の連続投与により4日目に最大痙攣の発現が観察された。この痙攣感作は薬物の投与量と投与日数に依存していた。メプリルカインにおいても痙攣発現量以下の投与量において3~4日をピークとした痙攣発現感作が観察された。コカインおよびメプリルカインを4日間連続投与したマウスに24時間後に他の局所麻酔薬プロカインおよびリドカインを投与すると痙攣発現が著明に増加しており、このことは局所麻酔薬痙攣における交差感作現象の発現を示している。一方、モノアミン取り込み阻害は認められるもののその作用の弱いプロカインにおいては、その連続投与により、それ自身の痙攣発現率およびコカイン並びにリドカイン痙攣発現率を増強する傾向にあったが有意ではなかった。モノアミン取り込み阻害作用を全く認めないリドカインの連続投与は、それ自身およびコカイン、リドカイン痙攣発現になんら影響を及ぼさなかった。これらのことは、局所麻酔薬のモノアミン取り込み阻害作用の有無および作用強度と痙攣感作発現作用の間に優れた相関があることを示している。同時に局所麻酔作用そのものは局所麻酔薬痙攣発現の感作に関与しないか、あるいはそれだけでは不十分であることが示唆される。もっともリドカインの2週間にわたる長期投与により、リドカイン痙攣の発現率が上昇することが報告されている^[28]が、これは異なった機序によるものと思われる。

以上のことから、局所麻酔薬による慢性的なモノアミントランスポ

ーター阻害が局所麻酔薬痙攣の感作の形成に重要な関わりを持っていることが示唆された。

第4節 小括

1. モノアミントランスポーター阻害作用のあるコカインおよびメプリルカインの痙攣発現量以下の連続投与により2日以降に痙攣が発現し、以後経日的に増加した。
2. コカインおよびメプリルカインの慢性投与は局所麻酔薬痙攣において交差感作現象を引き起こした。
3. モノアミントランスポーター阻害作用の弱いプロカインあるいは阻害作用のないリドカインの慢性投与は局所麻酔薬痙攣発現に影響しなかった。

以上の結果より慢性的モノアミントランスポーターの阻害が局所麻酔薬痙攣発現を増強することが示唆された。

第Ⅲ章 選択的モノアミン取り込み阻害薬慢性投与のリドカイン痙攣に及ぼす影響

コカインおよびメプリルカインの慢性投与による痙攣発現の感作にモノアミントランスポーターの慢性的阻害が関与することが前章において示唆された。コカインおよびメプリルカインはドパミン，ノルエピネフリンおよびセロトニンの取り込みをほぼ同程度の強さで阻害する^[35]ので，ドパミントランスポーター，ノルエピネフリントランスポーターおよびセロトニントランスポーターの選択的阻害薬の慢性的処置がリドカイン痙攣発現に及ぼす影響を調べることで，どのモノアミントランスポーターの阻害が局所麻酔薬痙攣発現感作に関与するかを明らかにすることができる。

局所麻酔薬痙攣発現は一義的にはGABA神経活性の抑制に基づくことが示唆されているので，GABA神経の抑制による痙攣に対してこれらモノアミントランスポーターの阻害薬の慢性的処置がどのような影響を及ぼすかを調べることにより，その選択性を知ることができる。

第1節 ドパミントランスポーター，ノルエピネフリントランスポーターおよびセロトニントランスポーター選択的阻害薬のリドカイン痙攣発現に及ぼす影響

ドパミントランスポーター選択的阻害薬GBR 12935，ノルエピネフリントランスポーター選択的阻害薬デシプラミンおよびマプロチリン，並びにセロトニントランスポーター選択的阻害薬シタロプラムを使用

した．対照には生理的食塩水を投与した．

これらの薬物を慢性投与した後，モノアミン取り込み阻害作用を有さないリドカイン痙攣の発現の変化を評価した．

(1) 実験材料ならびに方法

1. 使用薬物とその処置

GBR 12935, デシプラミン, マプロチリンおよびシタロプラム 1 日 1 回, 5 日間連続してマウス腹腔内に投与した．薬物最終投与 48 時間後に最小痙攣発現量のリドカインを腹腔内に投与し, 痙攣発現率および痙攣強度の変化を求めた．痙攣閾値は 72 時間後にリドカイン溶液 4.0 mg/ml を 0.21 ml/min の割合でマウス尾静脈内に持続注入した時の痙攣発現までの時間から最小痙攣発現量を求めた．

2. 実験方法－痙攣の評価

一群 20 匹とし, 腹腔内に局所麻酔薬を投与後, プラスチック観察ケージ内で観察した．

痙攣発現率は第 II 章第 1 節と同様にして求めた．痙攣強度は次のようにスコア化して求めた．即ち, 1 = 間歇的間代性痙攣, 2 = 持続性間代性痙攣, 3 = 間代性痙攣・強直性痙攣とした．

3. 統計処理

痙攣発現率の検定は One-side Fisher's exact probability test により行った．痙攣強度は Student's *t*-test により, 痙攣閾値は Welch test によりそれぞれ統計処理を行った．

その他は第 II 章第 1 節と同様にして行った．

(2) 結果

選択的ドパミン取り込み阻害薬 GBR 12935, 20 mg/kg の 5 日間連続投与はリドカイン痙攣発現率を有意に増加させた。痙攣強度をやや増強したが有意ではなかった。痙攣閾値は有意に低下させた (図 8)。

選択的ノルエピネフリン取り込み阻害薬, デシプラミン 5, 10, 20 mg/kg を慢性投与したマウスにおいては, リドカイン痙攣発現率が対照群の 7% から 89% へと用量依存的に著明に増加した。マプロチリン 5, 10, 20 mg/kg 慢性投与でもリドカイン痙攣発現率が著明に増加した (図 9)。痙攣強度においても, 両薬物とも著明に増強した (図 10)。また, 痙攣閾値は, 対照群の 25 mg/kg から, デシプラミン 5, 10, 20 mg/kg において投与量に依存して低下し, デシプラミン 20 mg/kg においては痙攣閾値が 15 mg/kg にまで低下した。マプロチリン慢性投与マウスにおいても同様の投与量においてほぼ同程度に痙攣閾値が低下した (図 11)。

このように, ノルエピネフリン取り込み阻害薬の慢性投与により, リドカイン痙攣発現率が増加し, 痙攣そのものも強くなり, また低用量のリドカインで痙攣が誘発されることが示された。

選択的セロトニン取り込み阻害薬シタロプラムは痙攣発現率, 痙攣強度には影響を及ぼさなかったが, 痙攣閾値を有意に低下させた (図 12)。

デシプラミン 5 日間連続投与後の増強効果の持続について, デシプラミン投与を中止して 2 日後, 5 日後, 9 日後にリドカイン痙攣発現を調べた。2 日後, 5 日後, 9 日後の痙攣発現率は対照群の 6~8% からそれぞれ 89%, 40%, 27% と長期間にわたって増加していた。痙攣強度は 5 日後, 9 日後においても増強傾向にあった (図 13)。従って, デシ

プラミン慢性投与によりノルエピネフリンの慢性的取り込み阻害が脳神経機能の可塑的变化を惹起し，痙攣を感作するものと考えられる．

以上のように，ドパミン，ノルエピネフリン，セロトニントランスポーターの慢性的遮断はいずれもリドカイン痙攣を増強し，なかでもノルエピネフリントランスポーター遮断がリドカイン痙攣に最も大きく関与することが示された．

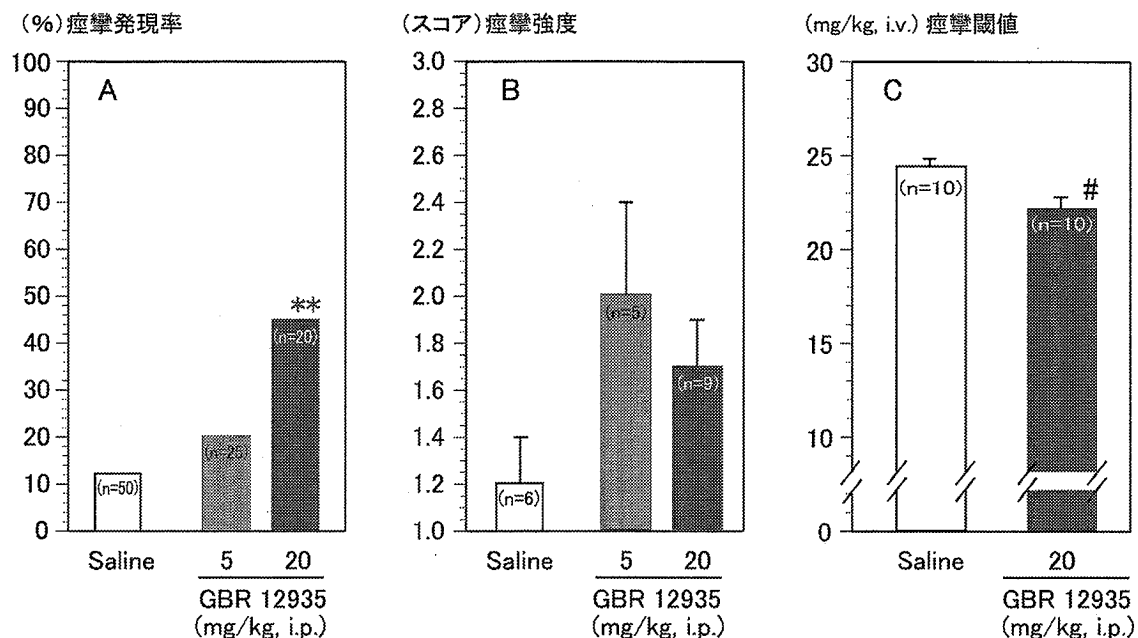


図 8. ドパミントランスポーター阻害薬 (GBR 12935) 慢性処置のリドカイン痙攣に及ぼす影響

GBR 12935, 5, 20 mg/kg を 1 日 1 回, 5 日間連続して腹腔内投与し, 最終投与 48, 72 時間後にリドカインを投与したときの痙攣発現率 (A), 痙攣強度 (B), 痙攣閾値 (C) を示す.

(A) 痙攣発現率は, GBR 12935 慢性投与終了 48 時間後に最小痙攣発現量のリドカイン 40 mg/kg を腹腔内投与し, 間代性痙攣以上の発現率を示す. 値は 20~50 例の平均値で表した.

** $P < 0.01$ 生理的食塩水慢性投与群に対する有意水準, 検定は One-side Fisher's exact probability test によった.

(B) 痙攣強度は, GBR 12935 投与終了 48 時間後にリドカイン 40 mg/kg 投与により痙攣を発現したマウスの痙攣強度をスコア化 (実験方法の項参照) して求めた. 値は 5~9 例スコアの平均値 ± 標準誤差で表した.

(C) 痙攣閾値は, GBR 12935 投与終了 72 時間後にリドカイン溶液 (40 mg/ml) を, マウス尾静脈から 0.21 ml/min の速度で持続注入した時の痙攣発現までに要した時間より最小痙攣発現量を求めた. 値は 10 例の平均値 ± 標準誤差で表した.

$P < 0.01$ 生理的食塩水慢性投与群に対する有意水準, 検定は Welch test によった.

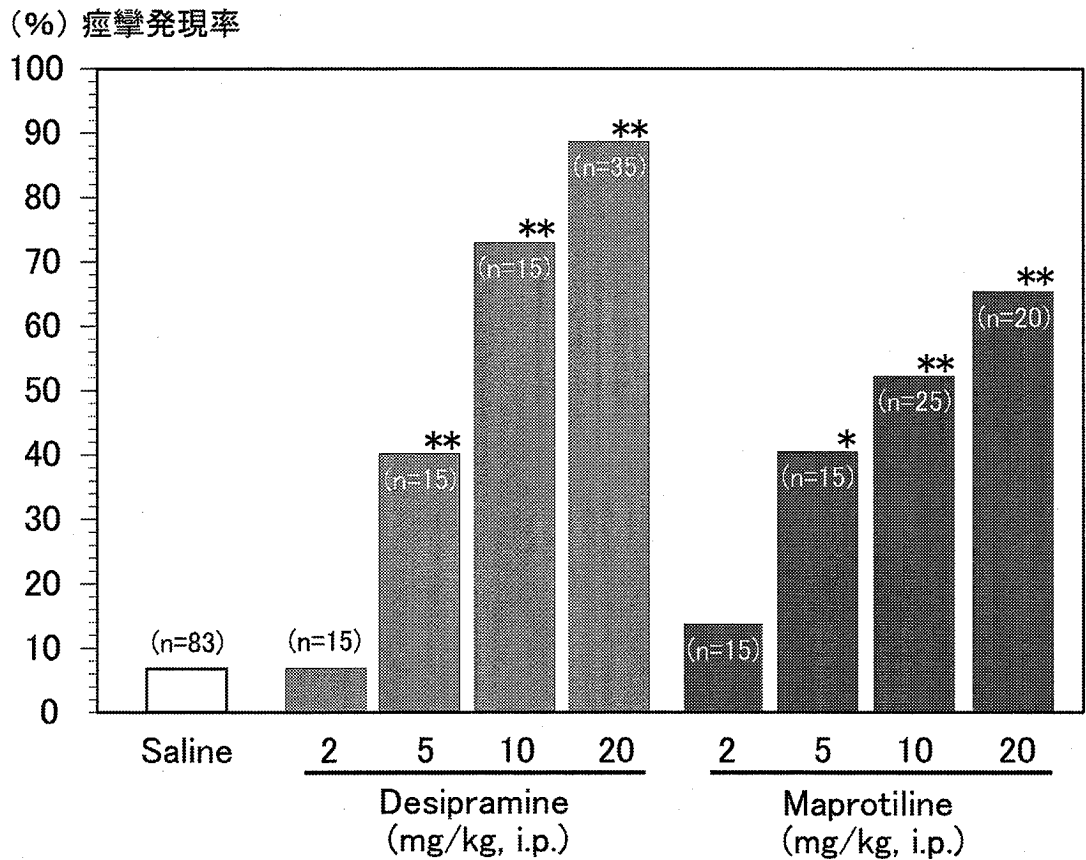


図 9. ノルエピネフリントランスポーター阻害薬(デシプラミン, マプロチリン)慢性処置のリドカイン痙攣発現率に及ぼす影響

デシプラミン 2~20 mg/kg あるいはマプロチリン 2~20 mg/kg を 1 日 1 回, 5 日間連続して腹腔内投与し, 最終投与から 48 時間後にリドカイン 40 mg/kg を腹腔内投与したときの痙攣発現率を示す. 値は 15~83 例の平均値を示す.

* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$ 生理的食塩水慢性投与群に対する有意水準, 検定は One-side Fisher's exact probability test によった.

(スコア)痙攣強度

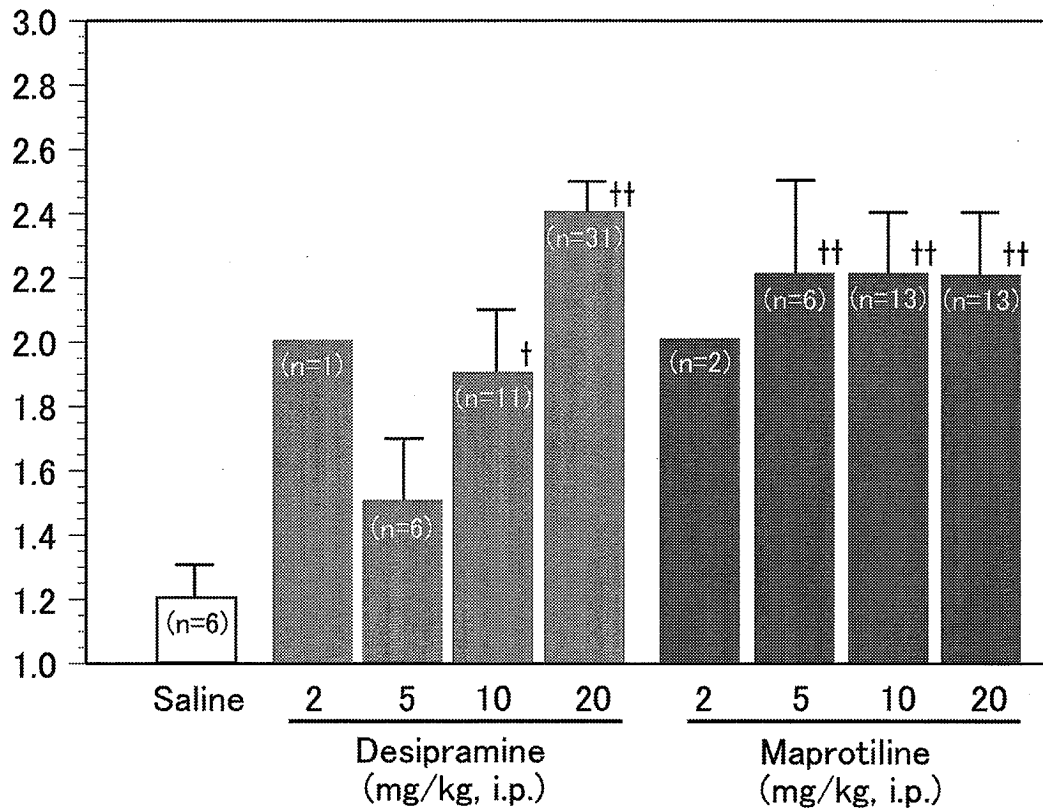


図 10. ノルエピネフリントランスポーター阻害薬(デシプラミン, マプロチリン)慢性処置のリドカイン痙攣強度に及ぼす影響

デシプラミンあるいはマプロチリンを1日1回, 5日間連続して腹腔内投与し, 最終投与から48時間後にリドカイン40 mg/kgを腹腔内投与したときの痙攣強度を示す. 痙攣強度はリドカイン投与により痙攣を発現したマウスの痙攣強度をスコア化(実験方法の項参照)した. 値はスコアの平均値±標準誤差で表した.

† $P < 0.05$; †† $P < 0.01$ 生理的食塩水慢性投与群に対する有意水準, 検定は Student's *t*-test によった.

(mg/kg, i.v.) 痙攣閾値

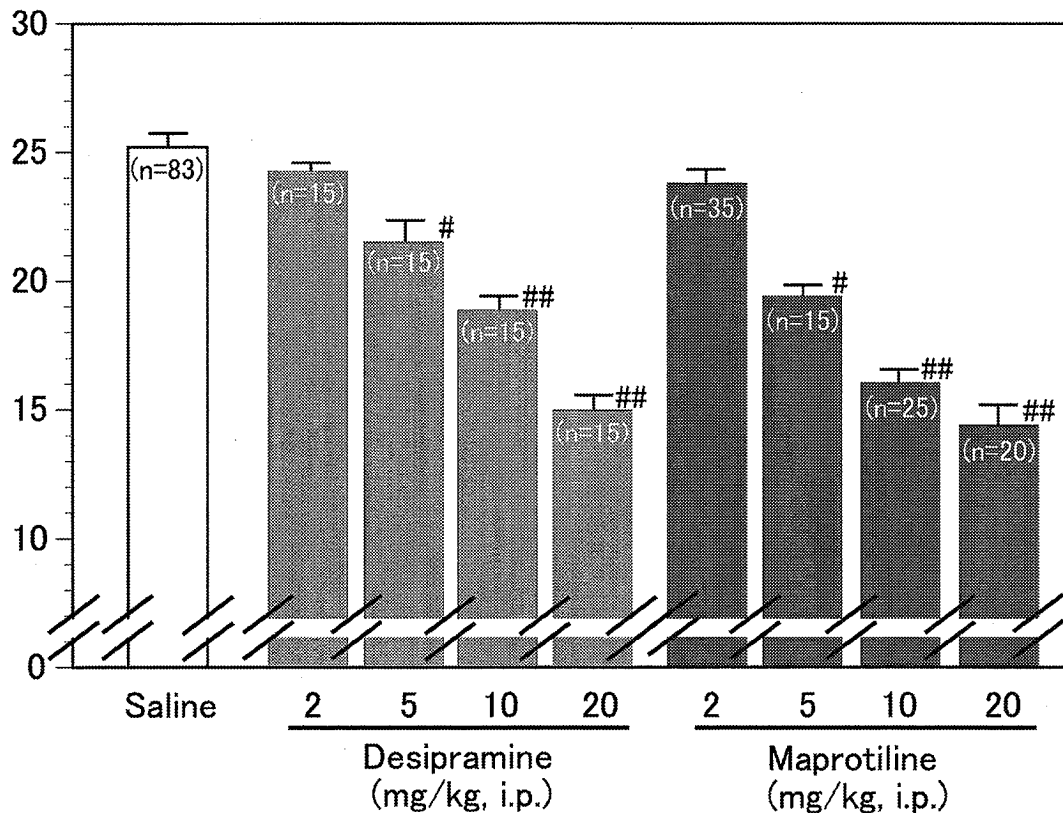


図 11. ノルエピネフリントランスポーター阻害薬(デシプラミン, マプロチリン)慢性処置のリドカイン痙攣閾値に及ぼす影響

デシプラミンあるいはマプロチリンを1日1回, 5日間連続して腹腔内投与し, 最終投与から72時間後にリドカインを投与した時の痙攣閾値を示す. 痙攣閾値は, リドカイン溶液(4.0 mg/ml)をマウス尾静脈から0.21 ml/minの速度で持続注入した時の痙攣発現までに要した時間より, 最小痙攣発現量を求めた. 値は15~83例の平均値±標準誤差で表した.

$P < 0.01$; ## $P < 0.001$ 生理的食塩水慢性投与群に対する有意水準, 検定は Welch test によった.

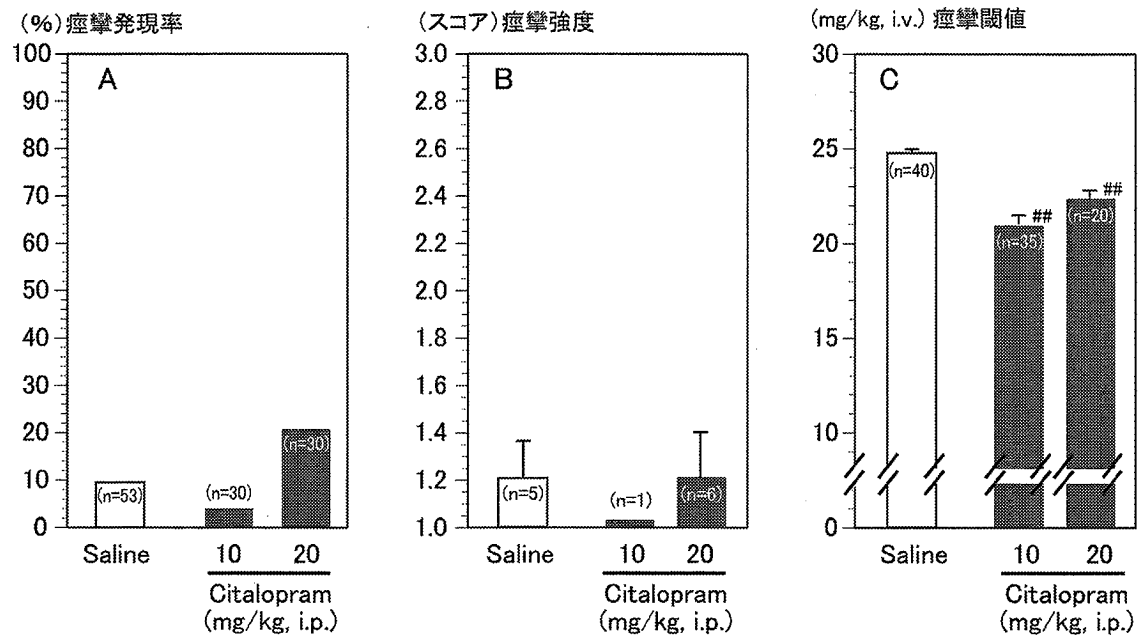


図 12. セロトニントランスポーター阻害薬(シタロプラム)慢性処置のリドカイン痙攣に及ぼす影響

シタロプラム 10, 20 mg/kg を 1 日 1 回, 5 日間連続して腹腔内投与し, 最終投与から 48 時間後にリドカイン 40 mg/kg を腹腔内投与した時の痙攣発現率 (A) および痙攣強度 (B), 痙攣閾値 (C) を示す. 実験方法は図 8 に準拠して行った. 値は図中に示した例数の平均値 ± 標準誤差で示した.

$P < 0.001$ 生理的食塩水慢性投与群に対する有意水準, 検定は Welch test によった.

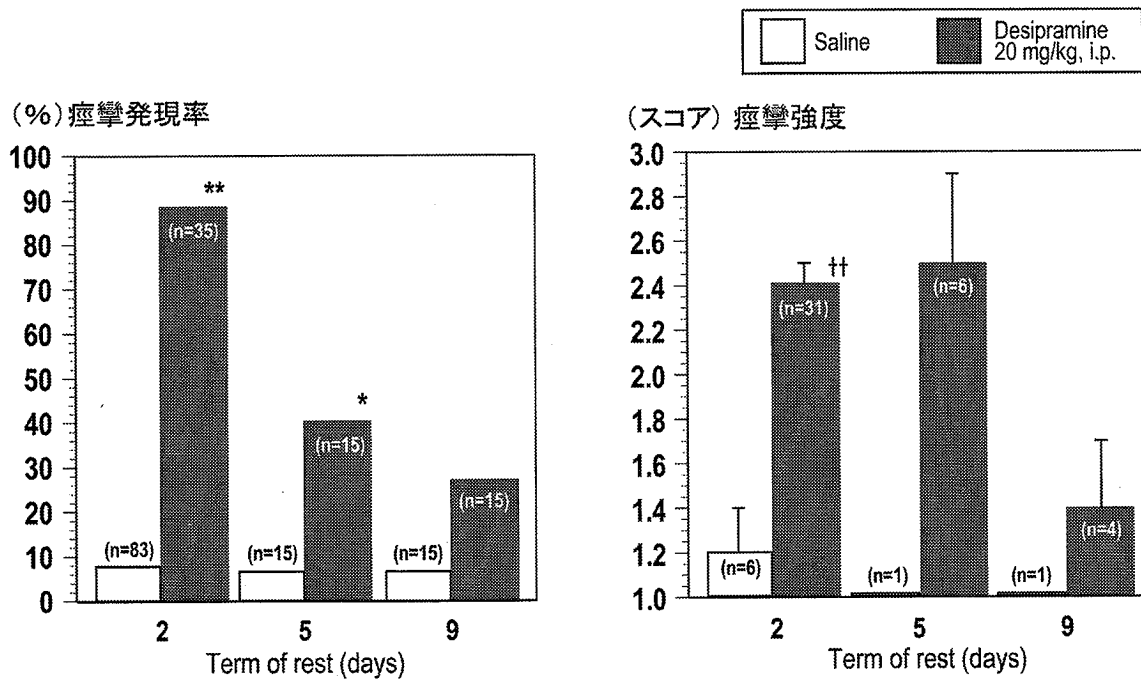


図 13. デシプラミン慢性投与によるドカイン痙攣感作現象の持続時間

デシプラミンを 1 日 1 回, 5 日間連続して腹腔内投与し, 最終投与から 2, 5, 9 日後にリドカイン 40 mg/kg を腹腔内投与したときの痙攣発現率および痙攣強度を示す. 実験方法は図 8 に準拠して行った. 値は図中に示した例数の平均値 ± 標準誤差で示した.

* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$ 生理的食塩水慢性投与群に対する有意水準, 検定は One-side Fisher's exact probability test によった.

†† $P < 0.01$ 生理的食塩水慢性投与群に対する有意水準, 検定は Student's *t*-test によった.

第2節 ノルエピネフリントランスポーター選択的阻害薬のビククリン痙攣発現に及ぼす影響

局所麻酔薬痙攣は、局所麻酔薬が Na^+ チャネルを遮断して抑制性神経伝導を選択的により強く抑制することにより誘発すると考えられている。抑制性神経として中枢 GABA 神経が考えられている。そこで、GABA 受容体遮断薬であるビククリン誘発痙攣に及ぼすノルエピネフリントランスポーター慢性遮断の影響を検討した。

(1) 実験材料ならびに方法

ノルエピネフリントランスポーター阻害薬デシプラミンおよびマプロチリン、対照には生理的食塩水を1日1回、5日間連続してマウス腹腔内に投与し、48時間後に最小痙攣発現量のビククリンを皮下投与し、ビククリン誘発痙攣の変化を評価した。致死率はビククリン投与後30分以内に痙攣を発現し死亡したマウスの割合として求めた。その他の方法は第II章第1項と同様にして行った。ビククリンは生理的食塩水(pH 3.0)に溶解後、pH 6.0~6.5に中和して用いた。

(2) 結果

デシプラミンおよびマプロチリン5日間投与により、最小痙攣誘発量のビククリンによる痙攣発現率が著明に増加した(図14)。痙攣強度の増強は弱いものであったが、これはビククリン痙攣そのものが強いためと考えられる。また、致死率も上昇したが、これは痙攣を発現した場合ほとんどが強直性痙攣に至ったためである。

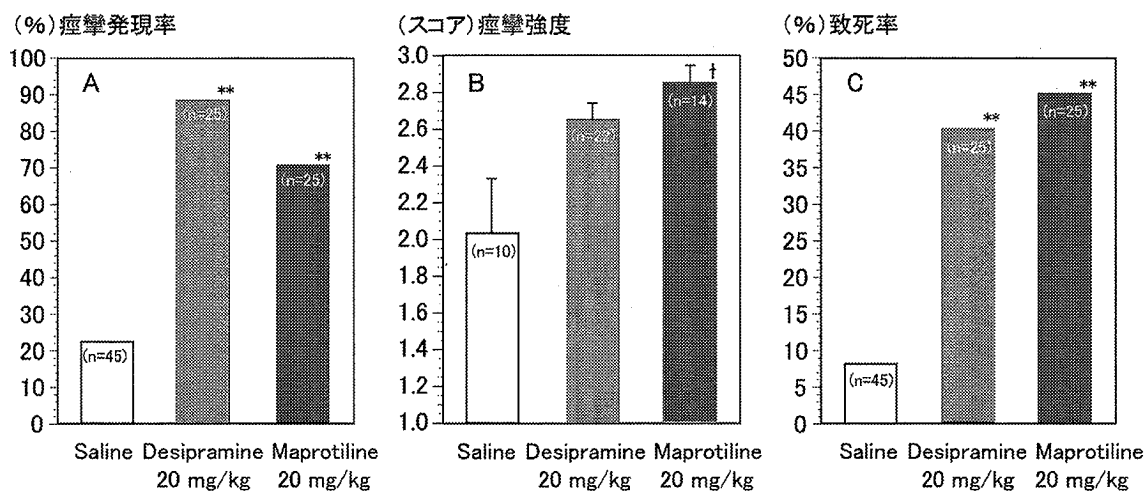


図 14. ノルエピネフリントランスポーター阻害薬(デシプラミン, マプロチリン)慢性処置のビククリン痙攣に及ぼす作用

デシプラミンあるいはマプロチリンを 1 日 1 回, 5 日間連続して腹腔内投与し, 最終投与 48 時間後に最小痙攣発現量のビククリン 1.5 mg/kg を皮下投与したときの痙攣発現率(A), 痙攣強度(B)および致死率(C)を示す. 実験方法は図 8 に準拠して行った. 致死率はビククリン投与後 30 分以内に痙攣を発現し死亡したマウスの割合として求めた. 値は図中に示した例数の平均値±標準誤差で示した.

* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$ 生理的食塩水慢性投与群に対する有意水準, 検定は One-side Fisher's exact probability test によった.

† $P < 0.05$ 生理的食塩水慢性投与群に対する有意水準, 検定は Student's *t*-test によった.

第3節 考察

モノアミン取り込み阻害作用の強いコカイン，コカインよりは弱い
が有意な阻害作用を有するメプリルカイン，取り込み阻害作用の弱い
プロカインおよび取り込み阻害作用のないリドカインを連続投与した
時の痙攣発現の増強作用は，モノアミン取り込み阻害効果と良く相関
していたことから，局所麻酔薬慢性投与による痙攣発現増強にはモノ
アミン取り込み阻害が関与することが示唆された。

コカインおよびメプリルカインはモノアミン取り込み阻害の強さは
違っても，共に，ドパミン，ノルエピネフリンおよびセロトニンの取
り込みを同程度に阻害することがCOS細胞発現系において認められて
いる^[13]。 *In vivo*においても同様にこれらのモノアミン取り込みを同
程度に抑制すると思われる。従って，この痙攣発現増強にはドパミン，
ノルエピネフリンおよびセロトニンのうちどれか特異的なモノアミン
取り込み阻害が関係するのか，あるいはいくつかのモノアミン取り込
みを同時に抑制することが必要なのかは不明である。実際，ノルエピ
ネフリンとセロトニン両方の取り込み阻害作用を有するノミフェンシ
ンの2日間投与はリドカイン痙攣を有意に増強している^[29]。そこで，
ドパミン，ノルエピネフリンおよびセロトニン取り込みの選択的阻害
薬を連続投与することによるリドカン痙攣発現に対する影響を検討し
た。予備実験として行った選択的なノルエピネフリン取り込み阻害薬
デシプラミンの2日間投与ではリドカイン痙攣が増強した。しかし，
Sacchettiら^[30]は，デシプラミン慢性投与（10 mg/kg, i.p. 1日1回，
14日間）したラット海馬における灌流液中のノルエピネフリン濃度は，
最終投与後24時間では高いこと，またこのデシプラミン慢性処置動物

において、デシプラミン投与による脳灌流液中のノルエピネフリン濃度の上昇は、最終デシプラミン投与後 24 時間ではみられなく、48 時間後に上昇がみられたことから、慢性デシプラミン処置 24 時間後には、脳内にノルエピネフリン取り込みを抑制するのに十分なデシプラミンが残存し、48 時間後には消失するものと考察している。そこで、脳内に残存する薬物の影響を避けるために本実験においても、各種取り込み阻害薬慢性処置 48 時間後あるいはそれ以後にリドカインを投与して、取り込み阻害薬慢性処置の痙攣に及ぼす影響を検討したところ、それぞれに特徴的な影響が見出された。即ち、選択的ノルエピネフリン取り込み阻害薬デシプラミンおよびマプロチリンの 5 日間連続投与では、投与量 5~20 mg/kg において用量依存的に痙攣発現率、痙攣強度を著明に増強し、痙攣閾値を顕著に低下させた。この感作現象は、取り込み阻害薬最終投与 5 日後においても有意に高く、9 日後にも高い傾向が見られた。デシプラミンは *in vivo* において 3 mg/kg という低用量から青斑核や帯状束のノルエピネフリン量を増加させることが報告されている^[31]。本実験におけるデシプラミンの投与量で十分に脳内ノルエピネフリン含量が上昇しているものと思われる。従って、デシプラミンによるノルエピネフリントランスポーターの慢性的遮断はシナプス間隙のノルエピネフリン濃度を恒常的に増加させ、その結果シナプス伝達に何らかの可塑的变化を引き起こし、長期間持続するリドカイン痙攣感作を引き起こしたものと考えられる。Jacksonらは^[31]、ノルエピネフリン取り込み阻害薬や α_2 -アドレナリン受容体拮抗薬の急性投与は、いずれもノルアドレナリンのシナプス間隙濃度を高め、その神経活性を亢進するがコカイン痙攣を増強も抑制もしないことから、ノルアドレナリン神経系はコカイン痙攣には関係しないと結論づけてい

る。しかし、コカインはそれ自身ノルアドレナリン取り込みを抑制し、ノルアドレナリン作動性神経活性を高めるので、ノルエピネフリン取り込み阻害薬や α_2 -アドレナリン受容体拮抗薬の効果が見られなかったに過ぎないと考えられる。実際、コカイン痙攣はリドカイン痙攣に比べて極めて強い痙攣である。また、ノルアドレナリン神経活性を高める、あるいは抑制するような薬理的処置はリドカイン痙攣発現をそれぞれ増強、或いは減弱させる^[33]。Russell and Stripling^[34]は、left prepyriform cortexに毎日電気刺激を加えることにより発現するキンドリングがコカインのノルアドレナリン作用により促進されることを報告している。本実験により、ノルエピネフリンの慢性的取り込み阻害は、リドカイン痙攣発現率を高めただけでなく、痙攣強度も著しく増強し、また痙攣閾値を大幅に低下させたことはノルアドレナリン神経は痙攣感作に大きな役割を果たしていることを示している。従ってコカイン慢性投与においても、コカイン自身によるノルエピネフリン取り込みの慢性的遮断がコカインキンドリング発現に関与しているものと考えられる。

ドパミン取り込み阻害薬の急性投与はリドカイン痙攣には影響しない^[29]が、脳内ノルエピネフリン含量を変化させることなくドパミン含量を低下させるとリドカインやプロカイン痙攣発現閾値は低下する^[35]。このことは、ドパミンは局所麻酔薬痙攣に対し抑制的に働いていることを示唆する。しかしながら、本実験において、ドパミンの選択的取り込み阻害薬 GBR 12935 の慢性投与は、痙攣発現率を増強し、痙攣閾値を低下させた。いずれもノルエピネフリン取り込み阻害薬の効果にくらべて弱いものであった。GBR 12935, 15 mg/kg の投与は側坐核のマイクロダイアリシス灌流液中のドパミン濃度を高めるだけでなく、

腹側被蓋野のノルエピネフリン濃度も高めることが報告されている^[36]。このことは、GBR 12935 の全身投与時にはドパミン神経とノルエピネフリン神経のクロストークがもたらされることを示唆している。従って、本実験における、GBR 12935 の比較的高用量(20 mg/kg, i.p.)投与時においてはドパミン神経の活性化か、あるいはノルエピネフリン神経の活性化をも引き起こし、このことがリドカイン痙攣の感作を惹起した可能性も考えられる。

急性処置によるセロトニン神経活性の変化はコカイン痙攣に影響を与えることが知られている。しかもこの効果はノルエピネフリンやドパミン神経活性の変化によるコカイン痙攣の修飾より大きいとされている。例えば、コカイン痙攣は選択的セロトニン取り込み阻害薬(selective serotonin reuptake inhibitor:SSRI)の急性処置により著明に増強される^[37-39]。5-HT₂受容体拮抗薬はコカイン痙攣を抑制する^[39-41]。従って、セロトニントランスポーターはコカインの急性期の痙攣発現のための主要な作用点であると言える。シタロプラムは強いSSRIの一つであるが、本薬物のラット腹腔内投与は1 mg/kgから縫線核灌流液中のセロトニン濃度を高め、10 mg/kgで顕著となると報告されている^[42]。実際、シタロプラム10 mg/kgの急性投与はリドカイン痙攣発現率を高めた^[未発表]が、10、20 mg/kgの5日間慢性投与はリドカイン痙攣閾値を軽度低下させただけで、痙攣発現率および痙攣強度には影響を及ぼさなかった。従ってセロトニントランスポーターの急性的遮断下においてはリドカイン痙攣を増強するものの、慢性的遮断による可塑的影響は少ないことが示された。

リドカインを始め局所麻酔薬痙攣の発現機序として、Na⁺チャネル遮断によるGABA神経活性の抑制による脱抑制に基づくとの考えが有力で

ある^[2-8]。そこで、GABA 受容体遮断薬ビククリンによる痙攣に対するノルエピネフリン取り込み阻害薬慢性処置の影響を検討したところ、デシプラミン、マプロチリン共に痙攣発現率を著明に高めた。痙攣強度に対する影響は少なかったが、これはビククリン痙攣そのものが既に強いものであることによる。また、致死率が上昇したのは、痙攣が発現した場合にはほとんど強直性の痙攣に至るからである。

以上により、ノルエピネフリン取り込み慢性的遮断は、GABA 神経の抑制を介する痙攣誘発機序を感作したものと考えられる。

第 4 節 小括

1. ドパミン取り込み阻害薬の 5 日間慢性投与により、48 時間後のリドカイン痙攣発現率は増加し、痙攣閾値は低下した。
2. ノルエピネフリン取り込み阻害薬はリドカイン痙攣発現率を著明に増加し、痙攣強度を著明に増強し、痙攣閾値を著明に低下させた。この効果は 5 日後においても有意であった。
3. セロトニン取り込み阻害薬はリドカイン痙攣閾値を低下させた。
4. ノルエピネフリン選択的阻害薬はビククリン痙攣発現率を著明に増加した。

第IV章 デシプラミン慢性処置によるモノアミントランスポーター発現に及ぼす影響

デシプラミン慢性投与したマウスにおけるリドカイン痙攣感作はデシプラミン退薬後も長期間持続したことからこの感作にはモノアミントランスポーター慢性遮断の結果生じる脳機能の可塑的变化が関与する可能性が示唆された。そこで痙攣感作発現の機序を伺う目的で、デシプラミン投与マウスでのノルエピネフリントランスポーターの発現について検討した。本目的にはメタンフェタミンによるトランスポーターを介したカテコールアミンの遊離に基づく強い中枢刺激作用、即ち自発運動亢進の変化を指標として検討した。さらに、NMDA受容体刺激は遺伝子発現を介し、記憶・学習およびその他脳機能の可塑的变化に関与する。そこで、NMDA受容体拮抗薬の痙攣感作に及ぼす影響についても検討した。

第1節 ノルエピネフリントランスポーター選択的阻害薬慢性投与のメタンフェタミンによる自発運動量亢進に及ぼす影響

メタンフェタミンはそれ自身がモノアミントランスポーターにより神経終末内に取り込まれ、さらにシナプス小胞にも取り込まれてそこからトランスポーターを介してカテコールアミンを置換放出し、その結果強い中枢刺激作用を現す。従ってメタンフェタミンの中枢刺激作用の変化をみることによってトランスポーターの機能を間接的に知ることができる。そこでデシプラミン慢性投与によるメタンフェタミンに

よる運動量の亢進における変化を調べた。

(1) 実験材料ならびに方法

1. 使用薬物とその処置

デシプラミンを1日1回、5日間マウス腹腔内に投与し、48時間後にメタンフェタミンを腹腔内に投与した。

2. 実験方法—自発運動量の評価

自発運動量は磁場変化量測定型自発運動量測定装置アニメックス Model MV-10MT (東洋産業株式会社) により測定した。マウスを測定装置に移すことによる探索行動が落ち着いた20分後にメタンフェタミンを投与した。

(2) 結果

メタンフェタミンを投与すると生理的食塩水を投与した対照群に比べ急激に運動量が増加し、以後60分にわたって亢進した(図15)。デシプラミン投与群では運動量の亢進は対照群に比べ低下した。特に初期において顕著に低下した。

以上の結果から、ノルエピネフリントランスポーターがdown-regulationしていることが示唆され、このことにより神経衝撃によりノルエピネフリン神経活性が助長され、局所麻酔薬痙攣発現の感作に関与するものと思われる。

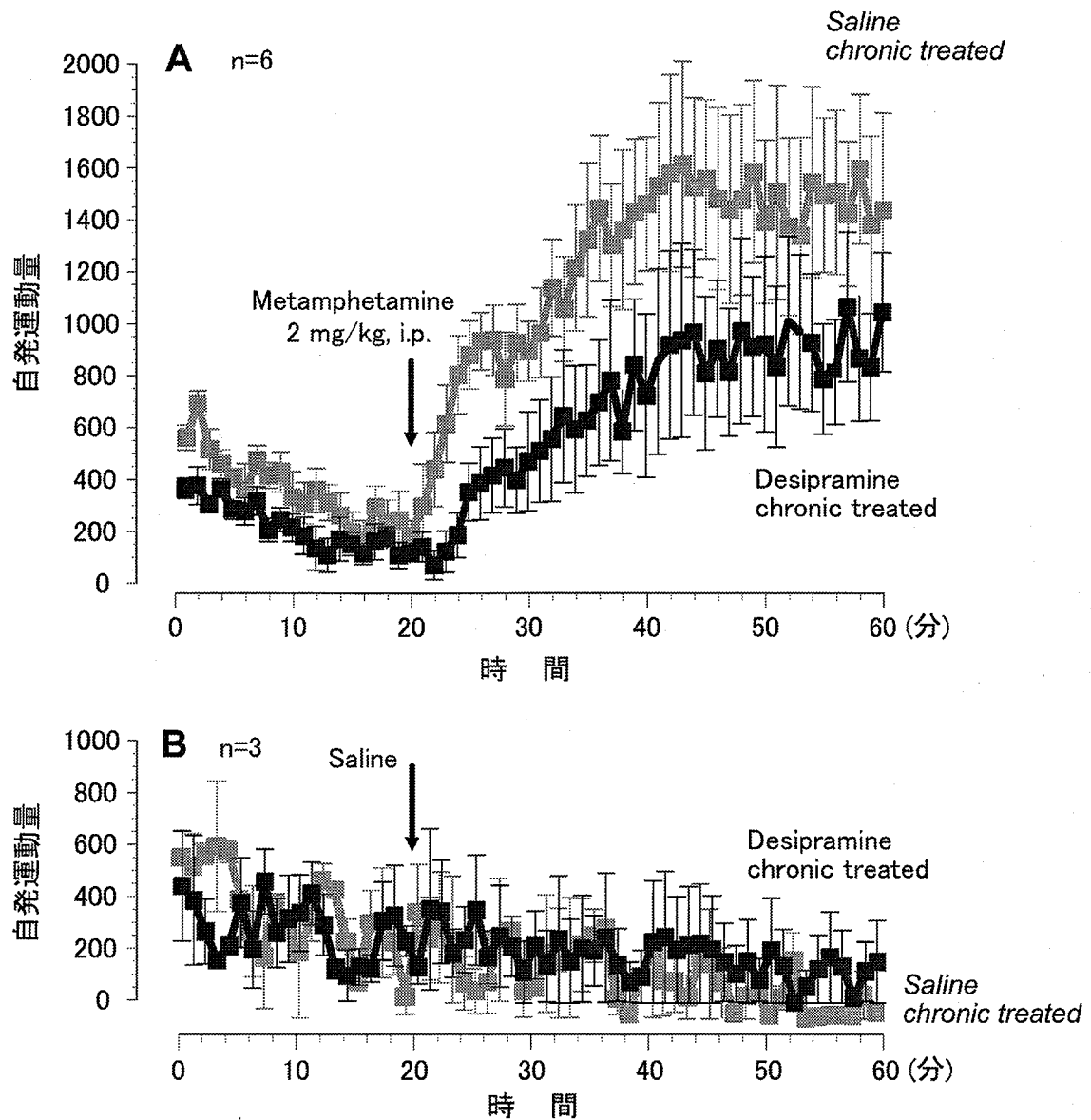


図 15. メタンフェタミンの運動量亢進作用に対するデシプラミン慢性投与の影響

デシプラミン 20 mg/kg を 1 日 1 回、5 日間連続して腹腔内投与し、48 時間後にメタンフェタミン 2 mg/kg 腹腔内投与 (A) および生理的食塩水 (B) を腹腔内投与したときの自発運動量の変化をアニメックスを用いて測定した。メタンフェタミンおよび生理的食塩水はマウスの探索行動が落ち着いた測定開始 20 分後に投与した。値は 3~6 例の平均値±標準誤差で表した。

第2節 リドカイン痙攣感作における NMDA 受容体の関与

グルタミン酸は中枢の興奮性アミノ酸であり NMDA 受容体を介して痙攣発現や遺伝子発現に深く関わっている。実際、動物痙攣モデルやヒトてんかん発現においてグルタミン酸神経系が深く関わっていることが知られている^[43]。これらのことからモノアミントランスポーターの慢性的遮断による痙攣発現の感作に NMDA 受容体を介してモノアミントランスポーターの down-regulation あるいは他の可塑的变化が関与する可能性について検討するため、NMDA 受容体遮断薬である MK 801 の影響について検討した。

(1) 実験材料ならびに方法

デシプラミン 20 mg/kg は 1 日 1 回、5 日間連続してマウス腹腔内に投与した。デシプラミン最終投与 48 時間後にリドカイン 40 mg/kg を腹腔内に投与し、痙攣発現率を求めた。痙攣閾値は 72 時間後に求めた。MK 801, 0.35 mg/kg は各日デシプラミン投与 30 分前に皮下投与した。

対照群には生理的食塩水を同様に投与した。その他は第1節の実験方法と同様にして行った。

(2) 結果

デシプラミン5日間連続投与によるリドカイン痙攣発現率の増強は、MK 801 をデシプラミン投与 30 分前に連続投与することにより抑制された。痙攣強度においても抑制された。また、痙攣閾値の低下も完全に抑制された (図 16)。

これらのことから、デシプラミンによる局所麻酔薬感作に NMDA 受容

体を介する機序が関係することが示唆された。

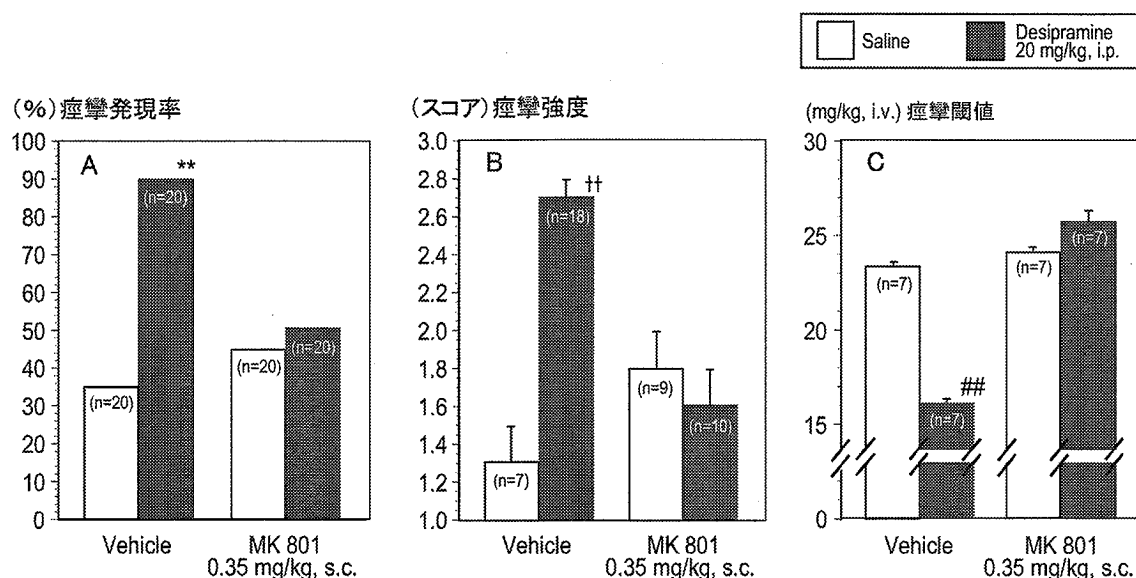


図 16. デシプラミン慢性投与によるリドカイン痙攣の感作に及ぼす NMDA 受容体阻害薬 (MK 801) の影響

デシプラミン 20 mg/kg を 1 日 1 回、5 日間連続して腹腔内投与し、最終投与 48 時間後にリドカイン 40 mg/kg 腹腔内投与による痙攣発現率(A)および痙攣強度(B)を示す。デシプラミン最終投与 72 時間後に測定したリドカイン痙攣閾値を(C)に示す。実験は図 8 に準拠して行った。MK 801, 0.35 mg/kg は 5 日間デシプラミン投与毎の 30 分前に皮下投与した。

**P<0.01 生理的食塩水慢性投与群に対する有意水準, 検定は One-side Fisher's exact probability test によった。

†† P<0.01 生理的食塩水慢性投与群に対する有意水準, 検定は Student's t-test によった。

##P<0.001 生理的食塩水慢性投与群に対する有意水準, 検定は Welch test によった。

第3節 考察

モノアミントランスポーターの阻害はシナプス間隙のモノアミンの濃度を高め、このことが節前線維および節後線維の機能に影響を及ぼすことが考えられる。例えば、デシプラミンのようなノルエピネフリン取り込み阻害作用を有する抗うつ薬の慢性処置は共通して神経終末部の α_2 -アドレナリン受容体のdown-regulationを引き起こす。この結果 α_2 -アドレナリン受容体による遊離抑制機序が減弱する結果神経伝達が促進される。このことが、抗うつ薬が長期間投与後に治療効果をもたらすことの一つの説明となっている。同様に抗うつ薬やコカインの慢性処置により神経終末部のモノアミントランスポーターの発現に影響を及ぼすことが予測されるが、この点については統一した見解は得られていない。薬物の投与量、投与期間、薬物投与後の期間、検索した脳部位など実験条件の違いにより様々の結果が報告されている^[44]。例えば、デシプラミンのラットへの慢性投与(10 mg/kg, 21日間, 2日後)により、ノルエピネフリントランスポーターの高親和性のリガンドである^[3H]ニソキセチン結合が、海馬, 扁桃核, 視床において減少している^[45]との報告があるが、同様な処置は海馬および他の脳部位において^[3H]ニソキセチン結合に変化を及ぼさない^[46],あるいは逆に青斑核において、ノルエピネフリントランスポーターmRNAのup-regulationもたらす^[47-48]などの報告がある。げっ歯類における行動実験において、抗うつ薬あるいは電気ショックを連続して与えた場合ドパミン作用薬の運動亢進作用は促進されること、このときD₂受容体の活性化を伴うことが報告されている^[49,50]。本実験においては、デシプラミン5日間慢性投与したマウスにおいてメタンフェタミンの中樞

刺激作用が減弱したことからノルエピネフリントランスポーターが down-regulation したことが示唆された。このことがシナプス間隙からのノルエピネフリン除去を遅らせ、高いノルエピネフリン神経活性を維持する結果痙攣の感作がもたらされることが考えられる。脳マイクロダイアリシスにおけるデシプラミン誘発ノルエピネフリン濃度の変化やシナプトゾームにおけるノルエピネフリン取り込みを検索する事により更なる裏付けが望まれるところである。また受容体の変化についても検索する必要がある。

いくつかの研究は、ヒトてんかんにおいて興奮性シナプス伝達の変化を明らかにしている^[43]。歯状回はてんかん衝撃が海馬に伝播するのを防ぐフィルターの役目を果たしている^[51, 52]。この機能は慢性的キン ドリングによって障害され、てんかん衝撃がより伝播されることになる^[53, 54]。その結果、mossy fiber sprouting のような長期のネットワークの変化が生じる^[55]。また、グルタミン酸系の興奮性が亢進し、entorhinal cortex から海馬へのシナプス伝達が促進されることも示されている^[56-57]。更に、電撃キン ドリングマウスやヒトてんかんの大脳皮質スライスでグルタミン酸のNMDA受容体感受性が亢進していること^[58]、NMDA 受容体拮抗薬が電撃性キン ドリングと mossy fiber sprouting を共に抑制することから、NMDA 受容体依存性遺伝子発現が海馬における神経網の構築に重要な役割を果たしていることが示唆されている。

一方、GABA神経系もキン ドリングに重要な役割を担うと提唱されている。キン ドリングラットにおいてはGABA合成酵素 glutamate decarboxylase (GAD) の活性低下^[59]や本来グルタミン酸神経中心の mossy fiberシナプスでGADの up-regulation、GABA合成・遊離が見られ

るようになり、GABA神経伝達が発現してくる^[60,61]。GABA_A受容体の刺激は扁桃核キンドリングの発現を抑制する^[62,63]。従って、これら興奮系と抑制系ネットワークの連絡系の変化した構築がキンドリングの発現の基礎的背景をなしているものと思われる。

コカインキンドリングにおいても、シナプス後膜興奮性アミノ酸受容体、NMDA受容体の up-regulation、例えば線条体、扁桃体、海馬における NMDA 受容体密度の増加、海馬における NMDA 受容体の親和性の増加などがコカインキンドリングに関係することを示している^[64,65]。さらに、コカインキンドリングは NMDA 受容体拮抗薬 MK 801 を同時投与することにより拮抗される^[65-67]。NO 合成酵素阻害薬の前処置は、コカインの急性処置による痙攣発現に影響することなく、コカイン慢性投与による NMDA 受容体の up-regulation とコカインキンドリングの形成を抑制する^[68-70]。これらのことは、コカインの連続処置により、誘導性 NO 合成酵素が誘導され、NMDA 受容体機能が亢進し、コカイン痙攣感作のカスケードを促進したことを示唆している。

Shimosato らはコカインの慢性投与による痙攣感作と関連して脳内ポリアミン含量が増加すること、スペルミジンの脳室内投与はコカイン、リドカインおよび NMDA 誘発痙攣を増強することを報告している^[71,72]。スペルミジンは NMDA 受容体機能を修飾して痙攣感作に役割を果たしているのかも知れない。

本実験において NMDA 受容体拮抗薬をデシプラミン処置毎に前処置することによりリドカイン痙攣感作が抑制されたことから、NMDA 受容体の関与が示唆される。グルタミン酸は NMDA 受容体を介して種々の遺伝子発現に関与している。従って、このような情報伝達カスケードを介してノルエピネフリントランスポーターの down-regulation がもたら

されたか，あるいはそれ以後の過程に關与しているのかは今後の課題である．

第4節 小括

- 1．デシプラミン慢性投与によりノルエピネフリントランスポーターの down-regulation が生じた．
- 2．デシプラミン慢性投与による局所麻酔薬感作に NMDA 受容体を介する機序が關係することが示唆された．

第V章 総括

コカインは局所麻酔作用とモノアミントランスポーター遮断作用という2つの特徴的な薬理作用を有する。一般に現在臨床で用いられている合成局所麻酔薬はモノアミントランスポーターには作用しないとされていたが、いくつかの合成局所麻酔薬にはモノアミントランスポーター遮断作用のあることが報告されている^[12-14]。本研究では、これらモノアミントランスポーター遮断作用を有する局所麻酔薬と有しない局所麻酔薬を使い分けることによって、また、コカインの2つの薬理作用をそれぞれ選択的な薬物、即ち純粋な局所麻酔作用を有するリドカインおよび選択的モノアミントランスポーター阻害薬を用いることによって、ドパミン、ノルエピネフリン、セロトニンなどのモノアミントランスポーターの慢性的遮断は、それらの急性遮断効果とは異なった、それぞれに特徴的な局所麻酔薬痙攣発現を感作することを明らかにした。特にノルエピネフリントランスポーターの関与が大きく、この感作にはモノアミントランスポーターの慢性的遮断の結果生じる脳神経系の可塑的变化、例えばノルエピネフリントランスポーターのdown-regulationが関係することを示唆した。

ノルエピネフリンおよびセロトニンの選択的取り込み阻害薬は抗うつ薬として広く用いられている。さらに、最近ノルエピネフリンとセロトニン両方の取り込みを同時に阻害する薬物の抗うつ薬としての有効性が強調されている。これらの抗うつ薬が治療効果を現すには2~3週間の連続した使用が必要である点が特徴である。即ち、単にモノアミントランスポーターの遮断による神経活性の一時的な促進だけでなく、その結果生じるシナプスにおける可塑的变化がそれらの治療効果に関

係していると考えられている。本研究で明らかになったように、モノアミントランスポーター遮断薬の慢性的処置はその投与期間に依存して局所麻酔薬痙攣の感作をもたらし、またその感作効果は薬物投与中止後も長期間持続する。従って、これら抗うつ薬服用者においては局所麻酔薬の中樞興奮作用が感作される可能性を示唆しており、臨床上新たな問題を提起するものと考えられる。

歯科麻酔に関連した偶発症については、意識レベルの低下、悪心・嘔吐、血圧低下が比較的多く、脈拍増加、呼吸促進・抑制、血圧上昇なども見られる。これらは精神緊張に由来する神経性ショックに関連した症状と考えられている。重篤な局所麻酔薬中毒である硬直・痙攣はまれである。確かに典型的な痙攣発現という表現型に至る例はまれであっても、その前駆的な症状が上記の神経性ショックとして表現されている症状に局所麻酔薬の直接的な中樞作用が含まれているかもしれない。中樞神経モノアミンは様々な神経ネットワークを形成して中樞神経機能発現に極めて重要な役割を果たしている。脳ノルアドレナリン神経系は青斑核－皮質系，網様体－視床下部系，脳室周囲系，延髄－脊髓系と広範に投射し，自律神経系の制御を含む生命維持活動の他に睡眠，記憶，学習，情緒にも関係している。セロトニン神経は縫線核を起始核として広く大脳皮質，辺縁系，基底核，小脳に投射しており，摂食，睡眠，性行動，痛覚，概日リズム，認知他様々な生理機能をはじめ気分障害，不安障害など精神疾患とも関係している。抗うつ薬によるこれら神経活性の変化は，局所麻酔薬による GABA 神経活性の変化とクロストークして様々な中樞症状に関連している可能性は十分に考えられる。

高齢化社会が進む現在においては抗うつ薬を始め精神神経疾患治療

薬の使用がますます増えてきている。また、これら有病者の歯科診療も同時に増えている。従ってこれらの薬物使用のバックグラウンドを詳細に把握し、局所麻酔薬の副作用との相関性を明らかにすることは、薬物の有害作用を回避する上でも望まれる課題である。

謝 辞

稿を終えるにあたり、終始御懇篤なる御指導ならびに御校閲を賜りました広島大学大学院医歯薬学総合研究科創生医学専攻病態探究医科学講座（歯科薬理学）、土肥敏博教授に心から感謝致します。また、本研究のまとめに際し御校閲を賜りました本学創生医学専攻病態探究医科学講座（口腔生理学）、柴芳樹教授ならびに本学展開医学専攻病態制御医科学講座（歯科麻酔学）、河原道夫教授に深甚なる謝意を表します。

さらに本研究に対して、直接的に御指導、御教示賜りました本学創生医学専攻病態探究医科学講座（歯科薬理学）、森田克也助教授に感謝の意を表します。

本研究に際し多大な御支援、御協力を頂きました本学創生医学専攻病態探究医科学講座（歯科薬理学）教室員の皆様に感謝致します。また、本研究の遂行にあたり多大な御支援、御協力を頂きました広島大学医学部・歯学部附属病院薬剤部、木平健治教授をはじめ薬剤部職員の皆様に感謝致します。

最後に、Citalopram hydrobromide を御供与頂いた H. Lundbeck A/S (Copenhagen, Denmark) の Dr. T. Stauning に感謝いたします。

2003年11月

広島大学大学院歯学研究科

歯学基礎系（歯科薬理学）専攻

新井茂昭

本研究における主な使用薬物

Cocaine hydrochloride (Takeda Chemical Industries, Osaka, Japan)

Lidocaine hydrochloride (Research Biochemicals Inc., Natick, MA)

Procaine hydrochloride (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO)

Meprylcaine hydrochloride (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO)

Desipramine hydrochloride (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO)

Maprotiline hydrochloride (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO)

Bicuculline (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO)

GBR 12935 dihydrochloride (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO)

(+)-MK 801 hydrogen maleate (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO)

Citalopram hydrobromide (H.Lundbeck A/S, Copenhagen, Denmark より 供与)

Metamphetamine hydrochloride (Dainippon Pharmaceutical Co., LTD. Osaka, Japan)

参考文献

- [1] De Jong, Central nervous effects; In *Local anesthetics*, 264-303, Mosby, St. Louis, 1994.
- [2] I.H. Wagman, R.H. De Jong, D.A. Prince, Effects of lidocaine on the central nervous system, *Anesthesiology* 28 (1967) 155-172.
- [3] I.H. Wagman, R.H. De Jong, D.A. Prince, Effects of lidocaine on spontaneous cortical and subcortical electrical activity. Production of seizure discharges, *Arch. Neurol.* 18 (1968) 277-290.
- [4] J.S. Stripling, Origin of cocaine- and lidocaine-induced spindle activity within the olfactory forebrain of the rat, *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.* 53 (1982) 208-219.
- [5] K. Tanaka, M. Yamasaki, Blocking of cortical inhibitory synapses by intravenous lidocaine, *Nature* 209 (1966) 207-208.
- [6] R.H. De Jong, R. Robles, R.W. Corbin, Central actions of lidocaine-synaptic transmission, *Anesthesiology* 30 (1969) 19-23.
- [7] M. Ikeda, T. Dohi, A. Tsujimoto, Protection from local anesthetic-induced convulsions by gamma-aminobutyric acid, *Anesthesiology* 56 (1982) 365-368.
- [8] M. Ikeda, T. Dohi, A. Tsujimoto, Inhibition of gamma-aminobutyric acid release from synaptosomes by local anesthetics, *Anesthesiology* 58 (1983) 495-499.
- [9] R.M. Post, S.R.B. Weiss, Psychomotor stimulant vs local anesthetic effect of cocaine: role of behavioral sensitization and kindling. In: K. Clouet, K. Ashgar, R. Brown (Eds.), *Mechanisms of Cocaine Abuse and Toxicity*, NIDA Research Monograph Series 88, US Department of Health and Human Services, Bethesda, 1987, pp. 217-239.

- [10] T. Dohi, S. Kitayama, K. Morita, T. Sato, S. Arai, K. Kumagai, W. Hashimoto, K. Kihira, Inhibition of monoamine neurotransmitter transporters and central nervous system stimulation induced by synthetic local anesthetics and cocaine: A comparative review, *Curr. Med. Chem-Central Nervous System Agents* 2 (2002) 295-315.
- [11] S.R.B. Weiss, R.M. Post, M. Costello, D.J. Nutt, S. Tandeciarz, Carbamazepine retards the development of cocaine-kindled seizures but not sensitization to cocaine-induced hyperactivity, *Neuropsychopharmacology* 3 (1990) 273-281.
- [12] W.L. Woolverton, R.L. Balster, Behavioral pharmacology of local anesthetics: reinforcing and discriminative stimulus effects, *Pharmacol. Biochem. Behav.* 16 (1982) 491-500.
- [13] T. Sato, S. Kitayama, C. Mitsuhashi, T. Ikeda, K. Morita, T. Dohi, Selective inhibition of monoamine neurotransmitter transporters by synthetic local anesthetics, *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 361 (2000) 214-220.
- [14] J.J. Woodward, D.M. Compton, R.L. Balster, B.R. Martin, *In vitro* and *in vivo* effects of cocaine and selected local anesthetics on the dopamine transporter, *Eur. J. Pharmacol.* 277 (1995) 7-13.
- [15] R.D. Ford, R.L. Balster, Reinforcing properties of intravenous procaine in rhesus monkeys, *Pharmacol. Biochem. Behav.* 6 (1977) 289-296.
- [16] W.L. Woolverton, R.L. Balster, Reinforcing properties of some local anesthetics in rhesus monkeys, *Pharmacol. Biochem. Behav.* 11 (1979) 669-672.
- [17] W.L. Woolverton, R.L. Balster, Behavioral pharmacology of local anesthetics: reinforcing and discriminative stimulus effects, *Pharmacol. Biochem. Behav.* 16 (1982) 491-500
- [18] C.E. Johanson, The reinforcing properties of procaine, chlorprocaine and roparacaine in rhesus monkeys, *Psychopharmacology* 67 (1980) 189-194.

- [19] D.M. Hammerbeck, C.L. Mitchell, The reinforcing properties of procaine and d-amphetamine compared in rhesus monkeys, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 204 (1978) 558-569.
- [20] K.M. Wilcox, J.K. Rowlett, I.A. Paul, G.A. Ordway, W.L. Woolverton, On the relationship between the dopamine transporter and the reinforcing effects of local anesthetics in rhesus monkeys: practical and theoretical concerns, *Psychopharmacology* 153 (2000) 139-147.
- [21] P.B. Silverman, N.P. Baruch, K.A. Schultz, One trial conditioning with apomorphine is blocked by cycloheximide, *Pharmacol. Biochem. Behav.* 34 (1989) 663-664.
- [22] R.D. Garza, C.E. Johanson, The discriminative stimulus properties of cocaine in the rhesus monkey, *Pharmacol. Biochem. Behav.* 19 (1983) 145-148.
- [23] J.H. 3rd. Graham, J.R. Maher, S.E. Robinson, The effect of cocaine and other local anesthetics on central dopaminergic neurotransmission, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 274 (1995) 707-717.
- [24] M.W. Fischman, C.R. Schuster, S. Rajfer, A comparison of the subjective and cardiovascular effects of cocaine and procaine in humans, *Pharmacol. Biochem. Behav.* 18 (1983) 711-716.
- [25] P.I. Joyce, R. Atcheson, R.J. Marcus, A.M. Heffernan, D.J. Rowbotham, D.G. Lambert, Interaction of local anaesthetic agents with the endogenous norepinephrine transporter in SH-SY5Y human neuroblastoma cells, *Neurosci. Lett.* 305 (2001) 161-164.
- [26] W.L. Woolverton, R.L. Balster, Reinforcing properties of some local anesthetics in rhesus monkeys, *Pharmacol. Biochem. Behav.* 11 (1979) 669- 672.
- [27] K.A. Miller, J.M. Witkin, J.T. Ungard, M. Gasior, Pharmacological and behavioral characterization of cocaine-kindled seizures in mice, *Psychopharmacology* 148 (2000)

74-82.

- [28] R.M. Post, R.T. Kopanda, A. Lee, Progressive behavioral changes during chronic lidocaine administration: Relationship to kindling, *Life Sci.* 17 (1975) 934-950.
- [29] T. Sato, S. Kitayama, C. Mitsuhashi, M. Ikeda, K. Morita, T. Dohi, Changes in seizure susceptibility to local anesthetics by repeated administration of cocaine and nomifensine but not GBR 12935: possible involvement of noradrenergic system, *Jpn. J. Pharmacol.* 83 (2000) 265-268.
- [30] G. Sacchetti, M. Bernini, M. Gobbi, S. Parini, L. Pirona, T. Mennini, R. Samanin, Chronic treatment with desipramine facilitates its effect on extracellular noradrenalin in the rat hippocampus: studies on the role of presynaptic α_2 -adrenoceptors, *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 363 (2001) 66-72.
- [31] Y. Mateo, B. Fernández-Pastor, J.J. Meana, Acute and chronic effects of desipramine and clorgyline on α_2 -adrenoceptors regulating noradrenergic transmission in the rat brain: a dual-probe microdialysis study, *Br. J. Pharmacol.* 133 (2001) 1362-1370.
- [32] H.C. Jackson, D.M. Ball, D.J. Nutt, Noradrenergic mechanisms appear not to be involved in cocaine-induced seizures and lethality, *Life Sci.* 47 (1990) 353-359.
- [33] Y. Yoshimura, T. Dohi, S. Tanaka, K. Takada, A. Tsujimoto, Changes in convulsion susceptibility of lidocaine by alteration of brain catecholaminergic functions, *Jpn. J. Pharmacol.* 56 (1991) 85-91.
- [34] R.D. Russell, J.S. Stripling, Monoaminergic and local anesthetic components of cocaine's effects on kindled seizure expression, *Pharmacol. Biochem. Behav.* 22 (1985) 427-434.
- [35] A.E. Ciarlone, Alteration of lidocaine- or procaine-induced convulsions by manipulation of brain amines, *J. Den. Res.* 60 (1981) 182-186.
- [36] M.E. Reith, M.Y. Li, Q.S. Yan, Extracellular dopamine, norepinephrine, and serotonin

- in the ventral tegmental area and nucleus accumbens of freely moving rats during intracerebral dialysis following systemic administration of cocaine and other uptake blockers, *Psychopharmacology* 134 (1997) 309-317.
- [37] L.E. O'Dell, F.R. George, M.C. Ritz, Antidepressant drugs appear to enhance cocaine-induced toxicity, *Exp. Clin. Psychopharmacol.* 8 (2000) 133-141.
- [38] M.C. Ritz, F.R. George, Cocaine-induced seizures and lethality appear to be associated with distinct central nervous system binding sites, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 264 (1993) 1333-1343.
- [39] M.C. Ritz, F.R. George, Cocaine-induced convulsions: Pharmacological antagonism at serotonergic, muscarinic and sigma receptors, *Psychopharmacology* 129 (1997) 299-310.
- [40] L.E. O'Dell, M.J. Kreifeldt, F.R. George, M.C. Ritz, The role of serotonin₂ receptors in mediating cocaine-induced convulsions, *Pharmacol. Biochem. Behav.* 65 (2000) 677-681.
- [41] M.D. Schechter, S.M. Meehan, Serotonergic mediation of cocaine seizures in mice, *Pharmacol. Biochem. Behav.* 51 (1995) 313-316.
- [42] R. Invernizzi, S. Belli, R. Samanin, Citalopram's ability to increase the extracellular concentrations of serotonin in the dorsal raphe prevents the drug's effect in the frontal cortex, *Brain Res.* 584 (1992) 322-324.
- [43] N.M. van Gelder, N.A. Janjua, K. Metrakos, B. MacGibbon, J.D. Metrakos, Plasma amino acids in 3/sec spike-wave epilepsy, *Neurochem. Res.* 5 (1980) 659-671.
- [44] N.R. Zahniser, S. Doolen, Chronic and acute regulation of Na⁺/Cl⁻-dependent neurotransmitter transporters: drugs, substrates, presynaptic receptors, and signaling systems, *Pharmacol. Ther.* 92 (2001) 21-55.
- [45] M.E. Bauer, S.M. Tejani-Butt, Effects of repeated administration of desipramine or

- electroconvulsive shock on norepinephrine uptake sites measured by [³H]nisoxetine autoradiography, *Brain Res.* 582 (1992) 208-214.
- [46] C. Hebert, A. Habimana, R. Elie, T.A. Reader, Effects of chronic antidepressant treatments on 5-HT and NA transporters in rat brain: an autoradiographic study, *Neurochem. Int.* 38 (2001) 63-74.
- [47] P. Szot, E.A. Ashliegh, R. Kohen, E. Petrie, D.M. Dorsa, R. Veith, Norepinephrine transporter mRNA is elevated in the locus coeruleus following short- and long- term desipramine treatment, *Brain Res.* 618 (1993) 308-312.
- [48] M.M. Shores, P. Szot, R.C. Veith, Desipramine-induced increase in norepinephrine transporter mRNA is not mediated via α_2 -receptors, *Mol. Brain Res.* 27 (1994) 337-341.
- [49] K. Ainsworth, S.E. Smith, T. Sharp, Repeated administration of fluoxetine, desipramine and tranylcypromine increases dopamine D₁-like and D₂-like receptor function in the rat, *J. Psychopharmacol.* 12 (1998) 252-257.
- [50] S.E. Smith, T. Sharp, Evidence that the enhancement of dopamine function by repeated electroconvulsive shock requires concomitant activation of D₂-like but not D₁-like dopamine receptors, *Psychopharmacology* 133 (1997) 77-84.
- [51] U. Heinemann, H. Beck, J.P. Dreier, E. Ficker, J. Stabel, C.L. Zhang, The dentate gyrus as a regulated gate for the propagation of epileptiform activity, *Epilepsy Res.* 7 Suppl. (1992) 273-280.
- [52] E.W. Lothman, J.L. Stringer, E.H. Bertram, The dentate gyrus as a control point for seizures in the hippocampus and beyond, *Epilepsy Res.* 7 Suppl. (1992) 301-313.
- [53] J. Behr, T. Gloveli, R. Gutierrez, U. Heinemann, Spread of low Mg²⁺ induced epileptiform activity from the rat entorhinal cortex to the hippocampus after kindling studied *in vitro*, *Neurosci. Lett.* 216 (1996) 41-44.

- [54] J. Behr, K.J. Lyson, I. Mody, Enhanced propagation of epileptiform activity through the kindled dentate gyrus, *J. Neurophysiol.* 79 (1998) 1726-1732.
- [55] J. Cronin, F.E. Dudek, Chronic seizures and collateral sprouting of dentate mossy fibers after kainic acid treatment in rats, *Brain Res.* 474 (1988) 181-184.
- [56] G. Kohr, I. Mody, Kindling increases N-methyl-D-aspartate potency at single N-methyl-D-aspartate channels in dentate gyrus granule cells, *Neuroscience* 62 (1994) 975-981.
- [57] J.O. McNamara, Cellular and molecular basis of epilepsy, *J. Neurosci.* 14 (1994) 3413-3425.
- [58] G.G. Hwa, M. Avoli, Excitatory synaptic transmission mediated by NMDA and non-NMDA receptors in the superficial/middle layers of the epileptogenic human neocortex maintained *in vitro*, *Neurosci. Lett.* 143 (1992) 83-86.
- [59] W. Loscher, W.S. Schwark, Evidence for impaired GABAergic activity in the substantia nigra of amygdaloid kindled rats, *Brain Res.* 339 (1985) 146-50.
- [60] R. Gutierrez, Seizures induce simultaneous GABAergic and glutamatergic transmission in the dentate gyrus-CA₃ system, *J. Neurophysiol.* 84 (2000) 3088-3090.
- [61] R. Gutierrez, U. Heinemann, Kindling induces transient fast inhibition in the dentate gyrus-CA₃ projection, *Eur. J. Neurosci.* 13 (2001) 1371-1379.
- [62] K. Morimoto, H. Sato, Y. Yamamoto, T. Watanabe, H. Suwaki, Antiepileptic effects of tiagabine, a selective GABA uptake inhibitor, in the rat kindling model of temporal lobe epilepsy, *Epilepsia.* 38 (1997) 966-974.
- [63] P. N'Gouemo, C.L. Faingold, The periaqueductal grey is a critical site in the neuronal network for audiogenic seizures: modulation by GABA_A, NMDA and opioid receptors, *Epilepsy Res.* 35 (1999) 39-46.
- [64] Y. Itzhak, J.L. Martin, Cocaine-induced kindling is associated with elevated NMDA

- receptor binding in discrete mouse brain regions, *Neuropharmacology* 39 (2000) 32-39.
- [65] Y. Itzhak, I. Stein, Sensitization to the toxic effects of cocaine in mice is associated with the regulation of N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptors in the cortex, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 262 (1992) 464-470.
- [66] R. Karler, L.D. Calder, I.A. Chaudhry, S.A. Turkanis, Blockade of 'reverse tolerance' to cocaine and amphetamine by MK-801, *Life Sci.* 45 (1989) 599-606.
- [67] K. Shimosato, R.J. Marley, S. Taiichi, Differential effects of NMDA receptor and dopamine receptor antagonists on cocaine toxicities, *Pharmacol. Biochem. Behav.* 51 (1995) 781-788.
- [68] Y. Itzhak, Nitric oxide (NO) synthase inhibitors abolished cocaine-induced toxicity in mice, *Neuropharmacology* 32 (1993) 1069-1070.
- [69] Y. Itzhak, Attenuation of cocaine kindling by 7-nitroindazole, an inhibitor of brain nitric oxide synthase, *Neuropharmacology* 35 (1996) 1065-1073.
- [70] K. Park, J.S. Reuben, K.F.A. Soliman, The role of inducible-nitric oxide in cocaine-induced kindling, *Exp. Biol. Med.* 226 (2001) 185-190.
- [71] K. Shimosato, S. Watanabe, M. Katsura, S. Ohkuma, Role of cerebral spermidine in the development of sensitization to convulsant activity of cocaine and lidocaine, *Brain Res.* 775 (1997) 198-202.
- [72] K. Shimosato, S. Watanabe, R.J. Marley, T. Saito, Increased polyamine levels and changes in the sensitivity to convulsions during chronic treatment with cocaine in mice, *Brain Res.* 684 (1995) 243-247.