

学 位 論 文

各種神経作動薬による行動薬理作用と

脳波・筋電位変化の関係解析

菊池 友香

広島大学大学院医歯薬保健学研究科医歯薬学専攻

(主任指導教員：入船 正浩教授)

2017 年度

| | | |
|-------|----|---|
| 第 I 章 | 緒論 | 1 |
|-------|----|---|

第 II 章 行動薬理学実験

第 1 節 各薬物による正向反射消失作用

| | | |
|-------|-----------|---|
| 第 1 項 | 緒言 | 4 |
| 第 2 項 | 実験材料および方法 | 4 |
| 第 3 項 | 結果 | 6 |
| 第 4 項 | 考察および小括 | 8 |

第 2 節 脳波・筋電位測定に使用する各薬物の用量決定

| | | |
|-------|-----------|----|
| 第 1 項 | 緒言 | 9 |
| 第 2 項 | 実験材料および方法 | 9 |
| 第 3 項 | 結果 | 9 |
| 第 4 項 | 考察および小括 | 10 |

第 III 章 脳波・筋電位測定

第 1 節 各薬物投与前後の脳波・筋電位測定

| | | |
|-------|-----------|----|
| 第 1 項 | 緒言 | 11 |
| 第 2 項 | 実験材料および方法 | 11 |
| 第 3 項 | 結果 | 14 |
| 第 4 項 | 考察および小括 | 15 |

第 2 節 各薬物投与後の睡眠時間と正向反射消失時間の比較

| | | |
|-------|-----------|----|
| 第 1 項 | 緒言 | 16 |
| 第 2 項 | 実験材料および方法 | 16 |
| 第 3 項 | 結果 | 17 |
| 第 4 項 | 考察および小括 | 18 |

第 IV 章 総括および結論 19

| | |
|----|----|
| 謝辞 | 22 |
|----|----|

| | |
|------|----|
| 引用文献 | 23 |
|------|----|

| | |
|----|----|
| 図表 | 27 |
|----|----|

第 I 章 緒 論

全身麻酔とは、全身麻酔薬が脳や脊髄に可逆的に作用することにより薬理的に生じた生理学的状態であり、健忘、意識消失、鎮痛、骨格筋弛緩、侵害刺激による体動の抑制（不動化）など様々な要素が複合した状態である【1】。各麻酔要素がどのような作用機序により引き起こされているのか今のところ明確ではない。しかし、全身麻酔作用は GABA (γ -aminobutyric acid) 神経などの抑制性神経を促進するか、グルタミン酸神経などの興奮性神経を抑制するか、あるいはその両方により生じていると考えられている。

全身麻酔薬の主な作用部位は中枢神経系における神経シナプスにあるといわれている。シナプス前・後部には様々な受容体やイオンチャネル、トランスポーター、細胞内情報伝達系が存在し、いずれも全身麻酔薬の標的になり得ると考えられている。

全身麻酔薬は、GABA に対する GABA_A 受容体の感受性を高めることで抑制性神経伝達を促進し、神経活動を抑制すると考えられている【2】。GABA は中枢神経系における主な抑制性伝達物質であり、すべてのシナプスのうち 25-45%が GABA 作動性である【3】。GABA 受容体には、リガンド依存性イオンチャネル内蔵型の GABA_A 受容体と G 蛋白に共役した代謝型の GABA_B 受容体がある。GABA_A 受容体が活性化されると Cl⁻チャネルが開口し、細胞内に Cl⁻が流入し過分極となり興奮性が抑制される。GABA_A 受容体には、pentobarbital などのバルビツレート結合部位が存在し、多くの全身麻酔薬が GABA_A 受容体を賦活化することが知られている。

また、中枢神経系においてグルタミン酸は興奮性の神経伝達物質であり、すべてのシナプスの 50%以上がグルタミン酸により興奮伝達が行われているとされている【3】。グルタミン酸は、神経終末から Ca^{2+} 依存性に開口分泌により遊離される。遊離されたグルタミン酸は受容体に結合してその作用を発現させた後、グルタミン酸トランスポーターにより神経細胞やグリア細胞に取り込まれる。グルタミン酸受容体はイオンチャネル型と代謝調節型に、大きく 2 つに分けられる。また、イオンチャネル型は、NMDA (N-methyl-D-aspartate) 受容体, AMPA (α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid) 受容体およびカイニン酸受容体の 3 つのサブタイプに分けられている。NMDA 受容体は、静脈麻酔薬である ketamine や選択的受容体チャネル遮断薬の MK-801 の主な標的部位であり、NMDA 受容体チャネルの遮断により意識消失をもたらすと考えられている。

当研究室ではこれまでに、 GABA_A 受容体に作用する静脈麻酔薬である pentobarbital, NMDA 受容体チャネルを遮断する静脈麻酔薬である ketamine, グルタミン酸遊離抑制薬である riluzole が用量依存性にマウスの正向反射を消失させること、ならびに選択的 NMDA 受容体チャネル遮断薬である MK-801 は、ドパミン D_2 受容体拮抗薬である haloperidol を低用量前投与しておくとも用量依存性に正向反射を消失させることを明らかにしてきた。また、人間に意識消失をもたらす全身麻酔薬の 50% 有効濃度 (EC_{50}) とげっ歯類に正向反射消失をもたらす麻酔薬の EC_{50} は相関するとの報告もある【4】。

しかし、これまで当研究室で意識消失の指標として用いてきた正向反射消失は筋弛緩作用でも起こり得るため、正確さに欠ける可能性がある。意識消失の指標としては他に臨床でも用い

られている脳波解析があり，覚醒時と薬物投与後の脳波・筋電位変化を比較，解析することで，脳の活動を客観的に捉えることができるといわれている【5】．

そこで，本研究では，pentobarbital, ketamine, riluzole および MK-801 について，同程度の正向反射消失時間を示す用量を投与した場合の正向反射消失時間と脳波・筋電位解析で得られた睡眠時間の関係を調べ，脳波・筋電位解析が意識消失の指標として有効であるか検討した．

第 II 章 行動薬理学実験

第 1 節 各薬物による正向反射消失作用

第 1 項 緒言

Pentobarbital, ketamine, riluzole および MK-801 を全身投与し，意識消失に及ぼす影響を当研究室における従来法である正向反射消失の有無を用いて検討した．なお，MK-801 については，単独投与だけでなく haloperidol (0.2mg/kg) を前投与する実験も行った．

第 2 項 実験材料および方法

実験材料

実験動物として ddY 系成熟雄性マウス（7 - 10 週齢，Kyudo. CO., LTD, Saga Japan）を使用した．明期／暗期 12 時間サイクル（明期；8：00 - 20：00），室温 25 ± 1℃，湿度 50% に設定し，固形飼料および飲料水は自由に摂取できる環境下で飼育した．すべての実験において，マウスは 1 回のみの使用とした．なお，本実験において，動物の飼育と実験方法は，広島大学動物実験指針および広島大学自然科学研究支援開発センター動物実験施設内規にしたがっており，実験は承認を得た後に行った（承認番号：A15-163）．

使用薬物

本実験では薬物として、Pentobarbital Sodium Salt (Tokyo chemical industry, Tokyo, Japan), Ketamine Hydrochloride (Sankyo Co.,Ltd., Tokyo, Japan), 2-Amino-6-(trifluoromethoxy)-benzothiazole (riluzole) (Tokyo chemical industry, Tokyo, Japan), (+)-MK-801 hydrogen maleate (Sigma Aldrich Inc., St.Louis, U.S.A), haloperidol (Dainippon Pharmaceutical Co.,Ltd., Osaka, Japan) を使用した。

実験方法

Pentobarbital, ketamine, MK-801 および haloperidol は 0.9% 生理食塩水に溶解した。riluzole は dimethyl sulfoxide (DMSO) に溶解し、純水を加え DMSO 濃度が 40% 以下になるよう希釈した。各薬物はマウスの体重 10 g あたり 0.1 ml となるよう調整し、マウスの腹腔内に投与した。実験室内の温度は $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$ に調節し、マウスを白熱灯使用のヘッドランプにより保温し体温が低下しないよう維持した。実験は午前 9 時から午後 6 時の間で行った。麻酔作用の評価は、意識消失の指標として正向反射消失を用いた。

薬物投与後、ただちにマウスを 1 匹ずつビーカー (直径 13.5 cm × 高さ 19 cm) に入れ、2 分毎に正向反射の変化を観察した。正向反射の評価は、Boast らの方法【6】にしたがい、記録時に手でビーカーを水平面から約 45° に傾け、この操作を 3 回繰り返し、以下の正向反射スコアにより判定した。スコア 0 はマウスを裏返そうとしてもすぐに正位に向き直る、すなわち正向反射が正常な状態、+1 は 3 回とも 2 秒以内に正向反射がある

状態（軽度正向反射障害），+2は2秒から10秒の間に少なくとも1回は正向反射がある状態（中等度 - 高度正向反射障害），+3は3回とも10秒以内には正向反射がない状態（正向反射消失）とした。

なお，MK-801を単独で高用量（50 mg/kg）投与してもマウスの正向反射は消失しなかったことや，NMDA受容体の遮断はドパミン神経を刺激し，マウスなどの小動物を興奮（覚醒）させることが報告されていることから，MK-801の投与30分前に低用量のhaloperidol（0.2 mg/kg）を腹腔内投与することにより，ドパミン神経伝達を遮断した【7, 8】。

各薬物について，マウス5-7匹を1群とし，6-8投与群に対する正向反射消失を生じた動物の各反応百分率（%）を解析ソフト（GraphPad Software, San Diego, CA, USA）にプロットさせ，ED₅₀を算出した。

第3項 結果

Pentobarbital（20, 25, 27, 28, 29, 30, 35, 40 mg/kg），ketamine（50, 60, 70, 80, 100, 150 mg/kg），riluzole（15, 20, 22.5, 25, 27.5, 30 mg/kg）およびhaloperidol（0.2 mg/kg）前投与時のMK-801（0.5, 1, 1.5, 2, 3 mg/kg）は，用量依存性に正向反射を消失させた。

Pentobarbital（20, 25, 27, 28, 29, 30, 35, 40 mg/kg）は，用量依存性に正向反射スコアを増加させ，投与量に依存して作用開始発現時間は短くなった。ピークに達した後は，経時的に正向反射スコアは減少し，1時間後にはいずれの投与量で

も投与前の状態に回復した．正向反射消失の ED_{50} は 25.2 (5.4-98.0 : 95%信頼限界) mg/kg であった【図 1, 図 2】．

Ketamine (50, 60, 70, 80, 100, 150 mg/kg) は，用量依存性に正向反射スコアを増加させ，投与量に依存して作用開始発現時間は短くなった．ピークに達した後は，経時的に正向反射スコアは減少し，56 分後にはいずれの投与量でも投与前の状態に回復した．正向反射消失の ED_{50} は 55.5(11.2-192.8) mg/kg であった【図 3, 図 4】．

Riluzole (15, 20, 22.5, 25, 27.5, 30 mg/kg) は，用量依存性に正向反射スコアを増加させ，投与量に依存して作用開始発現時間は短くなった．ピークに達した後は，経時的に正向反射スコアは減少し，2 時間後にはいずれの投与量でも投与前の状態に回復した．正向反射消失の ED_{50} は 16.1(1.1-85.7) mg/kg であった【図 5, 図 6】．

MK-801 の 3 mg/kg 単独投与では正向反射消失はみられなかったが【図 7】，haloperidol (0.2 mg/kg) を前投与しておくと MK-801 (0.5, 1, 1.5, 2, 3 mg/kg) は用量依存性に正向反射スコアを増加させた．なお，haloperidol (0.2 mg/kg) 前投与時，MK-801 を 5 mg/kg 投与した際の正向反射スコアは 3 mg/kg 投与時の正向反射スコアを下回っていた．ピーク後は，経時的に正向反射スコアは減少し，88 分後にはいずれの投与量でも投与前の状態に回復した．Haloperidol (0.2 mg/kg) を前投与した時の MK-801 の正向反射消失の ED_{50} は 1.7 (0.6-5.1) mg/kg であった【図 8, 図 9】．

第 4 項 考察および小括

Pentobarbital, ketamine および riluzole は用量依存性にマウスの正向反射を消失させた。MK-801 単独では高用量（50 mg/kg）でも正向反射を消失させないことはすでに報告されているが【7】，低用量の haloperidol（0.2 mg/kg）を前投与しておくこと、用量依存性に正向反射は消失した。MK-801 による選択的な NMDA 受容体チャネルの遮断は、直接的あるいは間接的にドーパミン神経を刺激し、マウスなど小動物の運動量を亢進させたり、常同行動を引き起こしたりする、いわゆる興奮（覚醒）作用を生じることが報告されている【9】。また、中脳辺縁系や黒質線条体系のドーパミン神経経路が睡眠－覚醒機能のうち特に覚醒機能と関係していることはよく知られている【4, 10】。したがって、MK-801 によりドーパミン神経が刺激されることで覚醒機能が賦活され、これが MK-801 の NMDA 受容体チャネル遮断作用による意識消失の誘発を上回っていたために正向反射が消失しなかったものと考えられた。事実、今回の実験でも、haloperidol（0.2 mg/kg）前投与後 MK-801 を 5 mg/kg 投与した際の正向反射スコアが 3 mg/kg 投与時の正向反射スコアを下回っていたことから、睡眠－覚醒機能と NMDA 受容体チャネル遮断－ドーパミン神経刺激の間に微妙なバランスのあることが窺われた。

本実験による正向反射消失実験結果は、当研究室によりすでに報告した以前の結果とほぼ同様であった【7, 11】。

これらの結果から、マウスの脳波・筋電位解析は、確実に正向反射消失を消失させ、かつ正向反射消失が 30 分程度持続すると推定される用量を使用することとし、正向反射消失実験の

結果と比較することを計画した。次の第 2 節では、各薬物の正向反射消失が 30 分程度持続する用量を決定することとした。

第 2 節 脳波・筋電位測定に使用する各薬物の用量決定

第 1 項 緒言

Pentobarbital, ketamine, riluzole および haloperidol (0.2 mg/kg) 前投与時の MK-801 の用量ごとの正向反射消失時間の平均を調べ、脳波・筋電位測定に使用するのに適切と想定した、正向反射消失が 30 分程度持続する用量を決定した。

第 2 項 実験材料および方法

実験動物、使用薬物、各薬物の溶解方法、投与方法、正向反射スコアの判定基準は、第 1 節に準じた。正向反射消失時間は、2 分間×正向反射スコア 3 を示した回数として算出した。

第 3 項 結果

Pentobarbital 投与時の正向反射消失時間は、30 mg/kg で 13.5 ± 3.8 (平均±標準誤差) 分、35 mg/kg で 20.9 ± 4.0 分、40 mg/kg で 26.4 ± 6.4 分であった。

Ketamine 投与時の正向反射消失時間は、80 mg/kg で 6.8 ± 2.8 分、100 mg/kg で 13.6 ± 1.2 分、150 mg/kg で 30.8 ± 3.3 分であった。

Riluzole 投与時の正向反射消失時間は，25 mg/kg で 6.0 ± 2.2 分，27.5 mg/kg で 68.3 ± 16.2 分，30 mg/kg で 69.7 ± 11.0 分であった。

Haloperidol (0.2 mg/kg) 前投与時の MK-801 投与時の正向反射消失時間は，2 mg/kg で 12.7 ± 6.2 分，3 mg/kg で 36.0 ± 6.6 分，5 mg/kg で 29.3 ± 6.3 分であった。

第 4 項 考察および小括

これらの結果から，正向反射消失が 30 分程度持続する用量を，pentobarbital が 40 mg/kg (26.4 ± 6.4 分)，ketamine が 150 mg/kg (30.8 ± 3.3 分)，riluzole が 30 mg/kg (69.7 ± 11.0 分) および haloperidol (0.2 mg/kg) 前投与時の MK-801 が 3 mg/kg (36.0 ± 6.6 分) と決定した【表 1】。これらの用量を用いて脳波・筋電位測定を行うこととした。Riluzole では，25 mg/kg と 27.5 mg/kg では正向反射消失時間にかなりの差があり，27.5 mg/kg と 30 mg/kg でほぼ同程度であったため，確実に 30 分程度の正向反射消失時間が得られると推定された 30 mg/kg の用量を用いることとした。

第Ⅲ章 脳波・筋電位測定

第 1 節 各薬物投与前後の脳波・筋電位測定

第 1 項 緒言

第Ⅱ章で検討した各薬物について，正向反射消失が 30 分程度持続する用量を投与した際の投与前後の脳波・筋電位を測定，解析し，脳波・筋電位上睡眠が生じているか，検討した．

第 2 項 実験材料および方法

実験材料

実験動物は第 1 章第 1 節で使用した実験動物に準じ，7-13 週齢のマウスを使用した．脳波・筋電位測定のための電極の埋め込み手術では，脳固定装置脳定位固定装置（KOPF model 900, David Kopf Instruments, California, U.S.A.），ミニルータードリル（BAS Japan, Tokyo, Japan），脳波・筋電位記録用電極（シングルエンド入力用電極 6ch, Muromachi Kikai Co. Ltd., Tokyo, Japan）を用いた．

使用薬物

使用薬物，各薬物の溶解方法，投与方法は，第Ⅱ章第 1 節に準じた．また，電極の埋め込み手術時の全身麻酔薬として抱水

クロラール (Nacalai Tesque Inc., Kyoto, Japan) を使用し、局所麻酔薬として 3%メピバカイン塩酸塩 (スキャンドネストカートリッジ 3%®, Nippon Shika Yakuhin Co., Ltd., Shimonoseki, Japan) を用いた。

実験方法

脳波・筋電位測定のために脳波電極・筋電位電極の埋め込み手術を施行した。マウスを抱水クロラール麻酔下 (400 mg/kg, 腹腔内投与) に脳固定装置脳定位固定装置に固定後, 3%メピバカイン塩酸塩を局所麻酔した後メスで頭皮を切開し骨膜を除去後, 生理食塩水にて洗浄した。脳波・筋電位記録用電極を設置するため, ミニルータードリルを用いて頭蓋骨に穴を開けて貫通させた後, 頭蓋皮質表面 (硬膜上) にステンレス鋼ネジ (直径 1 mm) 計 6 個の先端を接触させた。電極設定の位置は【12, 13】を参照しそれぞれ前頭部 (ブレグマより 1.5 mm 前方, 矢状縫合より左右 1.6 mm), 後頭部 (ブレグマより 3.5mm 後方, 矢状縫合より左右 1.7mm) に置いた。筋電位電極は, テフロン加工されたステンレス鋼ワイヤーを僧帽筋の左右対称な位置に設置した【図 10】。脳波電極用ネジを歯科用超速硬性常温重合レジンにより頭蓋に固定後, 絹糸にて頭皮を縫合した。

手術による侵襲・薬物からの回復期間として, 最低 1 週間の間隔をあけて測定を開始した。回復期間後に測定用ケージに暫くの間適応させた後に, 測定を開始した。外部からの電磁波の影響を遮断するために, 測定用ケージはファラデー・ケージ (電磁シールド) 内に設置した。また測定中は自由に飼料摂取, 飲水できるようにした。

7-13 週齢のマウスに、第 II 章第 2 節で決定した、正向反射消失が 30 分程度持続する用量である pentobarbital(40 mg/kg), ketamine (50 mg/kg), riluzole (30 mg/kg) および MK-801 (3 mg/kg) (投与 30 分前に haloperidol (0.2 mg/kg) の前投与あり) を投与して、投与前後の脳波・筋電位測定、解析を行った。また、第 II 章第 1 節で正向反射消失がみられなかった pentobarbital (20 mg/kg), MK-801 (3 mg/kg) 単独投与についても投与前後の脳波・筋電位測定、解析を行った。

脳波と筋電位シグナルは、デジタルフィルター（脳波：0.5-40 Hz, 筋電位：20-50 Hz）を通して sampling rate (1 秒毎の測定回数) 128 Hz でデジタル化, sensitivity (検出感度) は 200 μ V に設定して記録後、睡眠解析研究用プログラム Sleep Sign (Kissei Comtec, Nagano, Japan) を用いて解析した。

マウスの脳波は、周波数帯によって delta (δ : 0.65-4 Hz), theta (θ : 6-10 Hz), alpha (α : 10-12 Hz), beta (β : 12-20 Hz), gamma (γ : 20-40 Hz) に分類した【14, 15】。表 2 に周波数による脳波の分類を、図 11 に覚醒・睡眠時におけるマウスの脳波・筋電位波形の特徴を示した。覚醒時には beta 波（閉眼すると alpha 波）がみられるが、ノンレム睡眠に入ると delta 波、レム睡眠では theta 波が出現する【16】。

脳波は FFT (Fast Fourier Transform) 解析を行い、薬物投与前 30 分間の覚醒時 average FFT 値ならびに筋電位積分値を基準 (100%) として、投与後 10 分間毎の変化を比較した。そして delta, theta の両波の average FFT 値が増大し、筋電位積分値が低下している状態を睡眠とみなした。結果はすべて mean \pm SEM で示し、統計学的処理は重複測定一元配置分散

分析法 (repeated measures single-factor ANOVA) を用いて
行い, $P < 0.05$ を有意差ありとした.

第 3 項 結果

正向反射消失を生じない低用量の pentobarbital (20 mg/kg) 投与では, theta 波の average FFT 値の有意な増大がみられたが, delta 波の average FFT 値の増大と筋電位積分値の低下はみられず, 睡眠は認められなかった【図 12】.

Pentobarbital (40 mg/kg) 投与では, delta, theta の両波の average FFT 値の有意な増大と筋電位積分値の有意な低下がみられ, 睡眠を認めた【図 13】.

同様に, ketamine (150 mg/kg) 投与でも delta, theta の両波の average FFT 値の有意な増大と筋電位積分値の有意な低下がみられ, 睡眠を認めた【図 14】.

正向反射消失を生じない MK-801 (3 mg/kg) 単独投与では, delta 波の average FFT 値の有意な増大がみられたが, theta 波の average FFT 値の増大と筋電位積分値の低下はみられず, 睡眠は認められなかった【図 15】.

一方, 低用量の haloperidol (0.2 mg/kg) を前投与した後に MK-801 (3 mg/kg) を投与すると正向反射消失がみられるようになり, delta, theta の両波の average FFT 値の有意な増大がみられ, 脳波上では睡眠を認めた. しかし筋電位積分値の低下はみられず, 睡眠とは断定できなかつた. なお, haloperidol (0.2 mg/kg) 投与前後の各周波数帯の average FFT 値と筋電位積分値に有意差は認めなかつた【図 16】.

Riluzole (30 mg/kg) 投与では，正向反射消失がみられ，筋電位積分値の有意な低下がみられたが，脳波のすべての周波数帯で average FFT 値の低下がみられ，脳波上では睡眠と認められなかった【図 17】。

第 4 項 考察および小括

Pentobarbital (40 mg/kg) と ketamine (150 mg/kg) の投与は，脳波・筋電位上，マウスに睡眠をもたらした。Haloperidol (0.2 mg/kg) 前投与後の MK-801 (3 mg/kg) は，脳波上は睡眠をもたらしたが，筋電位積分値の低下を伴う睡眠は生じなかった。また，haloperidol (0.2 mg/kg) は投与前後で脳波・筋電位に有意な変化は認められなかった。Riluzole (30 mg/kg) 投与では，体動は完全に抑制されていたが，睡眠を示す脳波は認められなかった。平坦脳波がみられたことから，昏睡をもたらした可能性は否定できない。

バルビツレートである thiopental の用量を増加するにしたがって，大脳皮質脳波は低振幅速波，速波と高振幅徐波の混合，群発抑制，そして平坦脳波へと移行することが示されている【16】。また，全身麻酔薬がもたらす意識消失と生理的な睡眠は，どちらも視床や大脳皮質の不活性化によって引き起こされ，睡眠紡錘波や delta 波など特徴的な脳波を示すとされている【4】。これらの報告は今回の結果を支持している。

Ketamine 投与は delta 波のみならず gamma 波の増大をもたらすとの報告があり【17】，今回の結果と一致したが，gamma 波の増大は他の薬剤投与時にもみられたため ketamine 投与時に限定した結果ではなかった。

MK-801 単独投与では delta 波の増大がみられたが, theta 波の増大と筋電位の低下はみられなかった. しかし, 低用量の haloperidol を前投与した後に MK-801 を投与すると正向反射消失がみられるようになり, 筋電位の低下はなかったが delta, theta 両波の増大がみられ脳波上睡眠を認めた. 筋電位の低下が認められなかったのは, 低用量の haloperidol では中～高用量の MK-801 による運動亢進作用を抑制できなかったことに原因があるのかもしれないが, 脳波上は pentobarbital (40 mg/kg) や ketamine (150 mg/kg) と違いを認めなかった.

Riluzole の作用機序として、グルタミン酸遊離抑制以外にもグルタミン酸受容体の非競合的阻害や電位依存性 Na⁺チャネル阻害なども示唆されている【18】. そのため, NMDA 受容体チャネル遮断薬である ketamine や MK-801 と比較すると, より強いグルタミン酸神経抑制作用が生じ, きわめて深い麻酔状態(昏睡)になったのではないかと考えられる.

第 2 節 各薬物投与後の睡眠時間と正向反射消失時間の比較

第 1 項 緒言

第 II 章で意識消失の指標として使用した各薬物投与後の正向反射消失時間と第 1 節における脳波・筋電位解析による睡眠時間の比較検証を行った.

第 2 項 実験材料および方法

実験材料, 使用薬物は第 1 節に準じた.

実験方法

第 1 節において睡眠が認められた pentobarbital(40 mg/kg), ketamine (150 mg/kg) と脳波上の睡眠が認められた MK-801 (3 mg/kg) (haloperidol (0.2 mg/kg) 前投与) がもたらす睡眠時間と, 第 II 章第 2 節で求めた正向反射消失時間を比較検証した.

第 1 節に準じて, delta, theta の両波の average FFT 値が増大し, 筋電位積分値が低下している時間帯を睡眠時間とみなした. 結果はすべて mean \pm SEM で示し, 統計学的処理は Student's t-test を用いて行い, $P < 0.05$ を有意とした.

第 3 項 結果

Pentobarbital (40 mg/kg) 投与では, 睡眠時間が 24.0 ± 5.1 (平均 \pm 標準誤差) 分, 正向反射消失時間が 26.4 ± 6.4 分となった. 両者に有意差は認められなかった ($P = 0.777$).

Ketamine (150 mg/kg) 投与では, 睡眠時間が 22.5 ± 2.5 分, 正向反射消失時間が 30.8 ± 3.3 分となった. 両者に有意差は認められなかった ($P = 0.095$).

MK-801 (3 mg/kg) 投与 (haloperidol (0.2 mg/kg) 前投与) では, 脳波上での睡眠時間が 26.7 ± 3.3 分, 正向反射消失時間が 36.0 ± 6.6 分となった. 両者に有意差は認められなかった ($P = 0.348$) 【表 3】.

第 4 項 考察および小括

Pentobarbital (40 mg/kg) と ketamine (150 mg/kg) では、睡眠時間と正向反射消失時間はほぼ一致した。また、haloperidol (0.2 mg/kg) を前投与した MK-801 (3 mg/kg) では筋電位積分値が低下せず睡眠は認められなかったが、脳波上での睡眠時間と正向反射消失時間はほぼ一致した。

静脈麻酔薬である ketamine と pentobarbital について、解離性麻酔薬である ketamine は意識消失時に大脳皮質を抑制する一方で大脳辺縁系の賦活をもたらすため、pentobarbital などのバルビツレート投与時とは異なる脳波変化が見られるとされている【19】。しかし、本実験では両薬物とも同様の脳波・筋電位変化を示し、睡眠時間と正向反射消失時間も一致しており、従来の報告とは異なっていた。今回の実験では大脳辺縁系での脳波は調べていないため、今後さらなる検討が必要である。

MK-801 は haloperidol の前投与によりドパミン D₂ 受容体を遮断しておくこと、これらの静脈麻酔薬と同様の脳波変化をもたらしたが、ドパミン神経刺激による運動亢進作用が強いためか筋電位積分値は低下せず、睡眠とは認められなかった。

第IV章 総括および結論

今回、意識消失の指標として当研究室において従来行ってきた行動薬理学的手法である正向反射消失実験と、脳波・筋電位測定実験を行った。各薬物がもたらす正向反射消失時間と脳波・筋電位解析で求めた睡眠時間の関係を調べ、脳波・筋電位測定が意識消失の新しい指標となり得るか検討した。

その結果、以下のような結果および結論が得られた。

1. Pentobarbital, ketamine および riluzole は用量依存性にマウスの正向反射を消失させた。MK-801 単独では高用量でも正向反射を消失させないが、低用量の haloperidol (0.2 mg/kg) を前投与すると用量依存性に正向反射を消失させた。
2. 正向反射消失が 30 分程度持続する用量は、pentobarbital が 40 mg/kg (26.4 ± 6.4 分), ketamine が 150 mg/kg (30.8 ± 3.3 分), riluzole が 30 mg/kg (69.7 ± 11.0 分) および haloperidol (0.2 mg/kg) 前投与時の MK-801 が 3 mg/kg (36.0 ± 6.6 分) であった。
3. Pentobarbital (40 mg/kg) と ketamine (150 mg/kg) の投与では睡眠を認めた。Haloperidol (0.2 mg/kg) 前投与後の MK-801 (3 mg/kg) 投与では、筋電位積分値の低下を伴

う睡眠はもたらさなかったが、脳波上での睡眠は生じた。また、haloperidol (0.2 mg/kg) 自体は脳波・筋電位に有意な変化をもたらさなかった。Riluzole (30 mg/kg) 投与では体動は完全に抑制されていたが、睡眠を示す脳波は認めなかった。

4. 睡眠が認められた pentobarbital (40 mg/kg) 投与による脳波・筋電位解析における睡眠時間は 24.0 ± 5.1 分となり、正向反射消失時間 26.4 ± 6.4 分とほぼ一致していた。同様に、睡眠が認められた ketamine (150 mg/kg) 投与による睡眠時間は 22.5 ± 2.5 分となり、正向反射消失時間 30.8 ± 3.3 分とほぼ一致していた。また、脳波上でのみ睡眠を認めた haloperidol (0.2 mg/kg) 前投与後の MK-801 (3 mg/kg) 投与では、脳波上での睡眠時間は 26.7 ± 3.3 分となり、正向反射消失時間の 36.0 ± 6.6 分とほぼ一致していた。

以上の結果から、正向反射消失を認める場合であっても、脳波・筋電位解析上、睡眠を認めないことがあることがわかった。生理的睡眠と全身麻酔薬による意識消失を比較すると、両者において視床と大脳皮質の不活性化、覚醒機能の抑制、睡眠機能の活性化がみられるという共通点があるため【4】、各種神経作動薬のうち生理的睡眠に近い脳波を示すものが全身麻酔薬として安全性が高いと考えられた。しかしながら、ノンレム睡眠時にもみられる delta 波のみならず、全身麻酔薬の種類によって alpha 波、theta 波、gamma 波をも生じさせるなど【17】、生理的睡眠と全身麻酔薬による意識消失には相違点も多数認め

られるため，今回用いた各種神経作動薬投与時の脳波・筋電位解析上の睡眠の定義については再考の余地があると考えられた．

謝辞

本稿を終えるにあたり，本研究の遂行及び論文作成において始終ご懇切な御指導・御高閲を賜りました，広島大学大学院医歯薬保健学研究科 歯科麻酔学研究室 入舩正浩教授に心より感謝の意を表します．また，本研究の遂行および本論文の作成に際し，ご懇篤なるご教示を賜りました，細胞分子薬理学研究室 兼松隆教授，歯科矯正学研究室 谷本幸太郎教授に深甚なる感謝の意を表明します．

最後に，本研究の完遂に際して，多大なるご支援ならびにご協力を頂きました歯科麻酔学，研究室関係各位に心より奉謝いたします．

引用文献

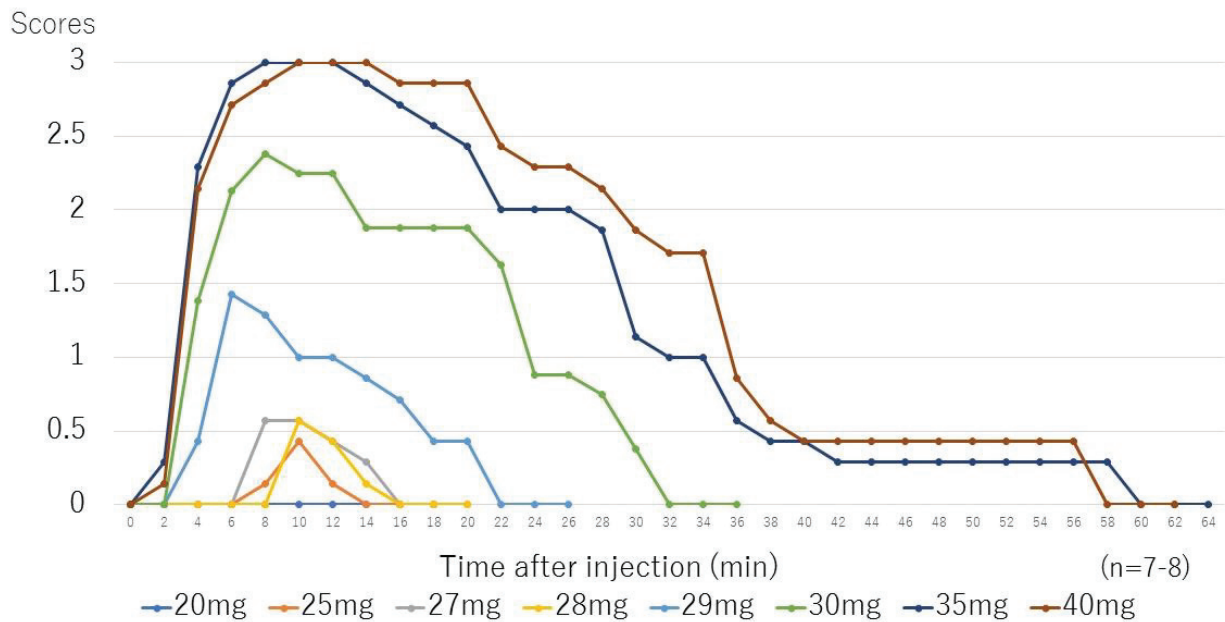
- 【 1 】 Evers AS, Crowder CM. General anesthetics. In: Hardman JG, Limbird LE, Gilman AG, eds. Goodman and Gilman's the pharmacological basis of therapeutics. 10th ed. New York: McGraw-Hill, 2001: 337-365.
- 【 2 】 Mihic SJ, Ye Q, Wick MJ, Koltchine VV, Krasowski MD, Finn SE, Mascia MP, Valenzuela CF, Hanson KK, Greenblatt EP, Harris RA, Harrison NL. Sites of alcohol and volatile anaesthetic action on GABA(A) and glycine receptors. *Nature* 1997; 389: 385-389.
- 【 3 】 Nicholls DG. Amino acids as neurotransmitters (Proteins, transmitters and synapses), Blackwell Science Oxford 1994; 155-185.
- 【 4 】 Franks NP. General anaesthesia: from molecular targets to neuronal pathways of sleep and arousal. *Nat Rev Neurosci* 2008; 9: 370-386
- 【 5 】 Dahaba AA. Different conditions that could result in the bispectral index indicating an incorrect hypnotic state. *Anesth Analg* 101 : 765 – 773, 2005.
- 【 6 】 Boast CA, Pastor G, Gerhardt SC, Hall NR, Liebman JM. Behavioral tolerance and sensitization to CGS

- 19755, a competitive N-methyl-D-aspartate receptor antagonist. *J Pharmacol Exp Ther* 1988; 247: 556-561.
- 【 7 】 Kikuchi N, Irifune M, Shimizu Y, Yoshida K, Morita K, Kanematsu T, Morioka N, Nakata Y, Sakai N. Selective blockade of N-methyl-D-aspartate channels in combination with dopamine receptor antagonism induces loss of the righting reflex in mice, but not immobility. *Psychopharmacology* 2015; 232: 39-46.
- 【 8 】 Daniell LC. The noncompetitive N-methyl-D-aspartate antagonists, MK-801, phencyclidine and ketamine, increase the potency of general anesthetics. *Pharmacol Biochem Behav* 1990; 36: 111-115
- 【 9 】 Irifune M, Shimizu T, Nomoto M, Fukuda T. Involvement of N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptors in noncompetitive NMDA receptor antagonist-induced hyperlocomotion in mice. *Pharmacol Biochem Behav.* 1995; 51: 291-296
- 【 10 】 Monti JM, Monti D. The Involvement of dopamine in the modulation of sleep and waking. *Sleep Med Rev.* 2007; 11.2: 113-133
- 【 11 】 Irifune M, Kikuchi N, Saida T, Takarada T, Shimizu Y, Endo C, Morita K, Dohi T, Sato T, Kawahara M. Riluzole, a glutamate release inhibitor, induces loss of righting reflex, antinociception, and immobility in response to noxious stimulation in mice. *Anesth Analg* 2007; 104: 1415-21

- 【 12 】 Franklin KBJ, Paxinos G. The mouse brain in stereotaxic coordinates. 3rd Edition. Vol. 18. New York: Elsevier Academic Press; 2008. p. 60
- 【 13 】 Frances YH, George MH, Wei H, Feras M, Steven AT, Abraham JW, Max BK. Hypnotic hypersensitivity to volatile anesthetics and dexmedetomidine in dopamine β -hydroxylase knockout mice. *Anesth Analg* 2007; 104: 1415-21
- 【 14 】 Xu XY, Qiu MH, Dong H, Qu WM, Urade Y, Huang ZL. GABA transporter-1 inhibitor NO-711 alters the EEG power spectra and enhances non-rapid eye movement sleep during the active phase in mice. *Eur Neuropsychopharm* 2014; 24: 585-594
- 【 15 】 Sullivan EM, Timi A, Hong LE, O'Donnell P. Reverse translation of clinical electrophysiological biomarkers in behaving rodents under acute and chronic NMDA receptor antagonism. *Neuropsychopharmacol* 2015; 40: 719-727
- 【 16 】 Brown EN, Lydic R, Schiff ND. General anesthesia, sleep, and coma. *The New England journal of medicine*. 2010; 363: 2638-2650
- 【 17 】 Akeju O, Emery NB. Neural oscillations demonstrate that general anesthesia and sedative states are neurophysiologically distinct from sleep. *Curr Opin Neurobiol* 2017; 44: 178-185

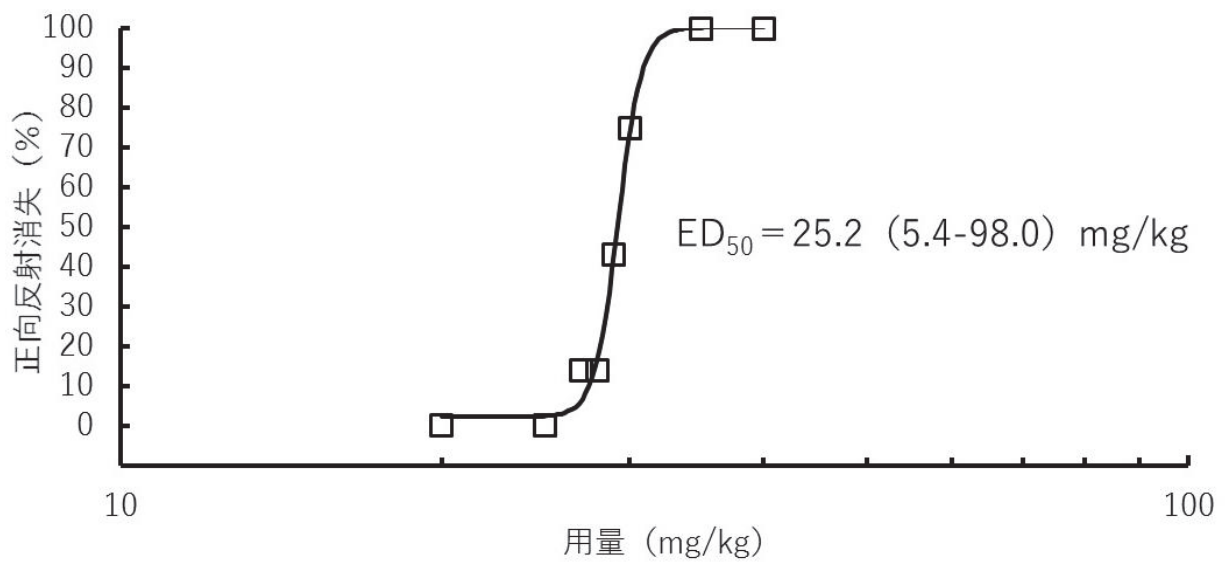
- 【18】 Double A. The pharmacology and mechanism of action of riluzole. *Neurology* 1996; 47: 233-241
- 【19】 Lu J, Nelson LE, Franks N, Maze M, Chamberlin NL, Saper CB. Role of endogenous sleep-wake and analgesic systems in anesthesia. *J comp neurol* 2008; 508: 648-662

図表



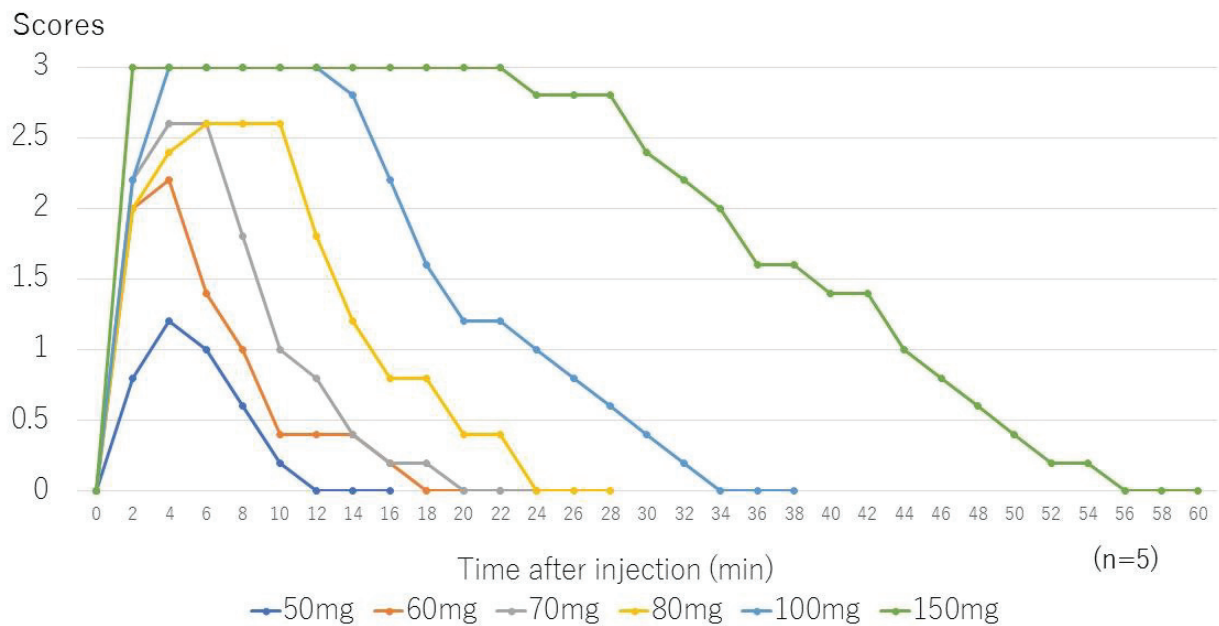
【図 1】 正向反射スコアに及ぼす pentobarbital の時間経過作用

マウスの正向反射スコアに及ぼす pentobarbital の時間経過作用を示す。マウス 7-8 匹を 1 群とし，pentobarbital (20, 25, 27, 28, 29, 30, 35, 40 mg/kg) をマウスの腹腔内に投与し，投与後 2 分毎に正向反射スコアを用いて評価した。正向反射スコア 0 は正常，1 は 3 回とも 2 秒以内に正向反射がある状態（軽度正向反射障害），2 は 2 秒から 10 秒の間に少なくとも 1 回は正向反射がある状態（中等度～高度正向反射障害），3 は 3 回とも 10 秒以内に正向反射が無い状態（正向反射消失）を示す。



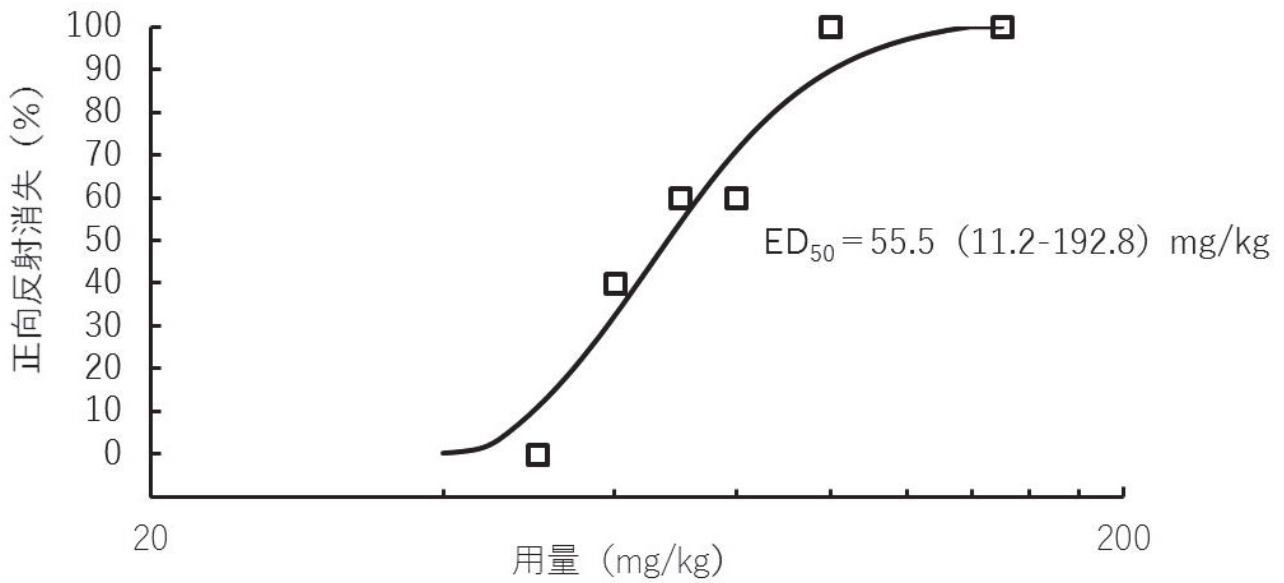
【図 2】 正向反射消失作用における pentobarbital の用量反応曲線

正向反射消失作用に及ぼす pentobarbital の影響を示す．マウス 7-8 匹を 1 群とし，pentobarbital (20, 25, 27, 28, 29, 30, 35, 40 mg/kg) をマウスの腹腔内に投与した．投与後 2 分毎に正向反射スコアを観察し，正向反射消失を生じたマウスの反応百分率 (%) を対数確率紙にプロットした．正向反射消失の ED_{50} は 25.2 (5.4-98.0 : 95%信頼限界) mg/kg であった．



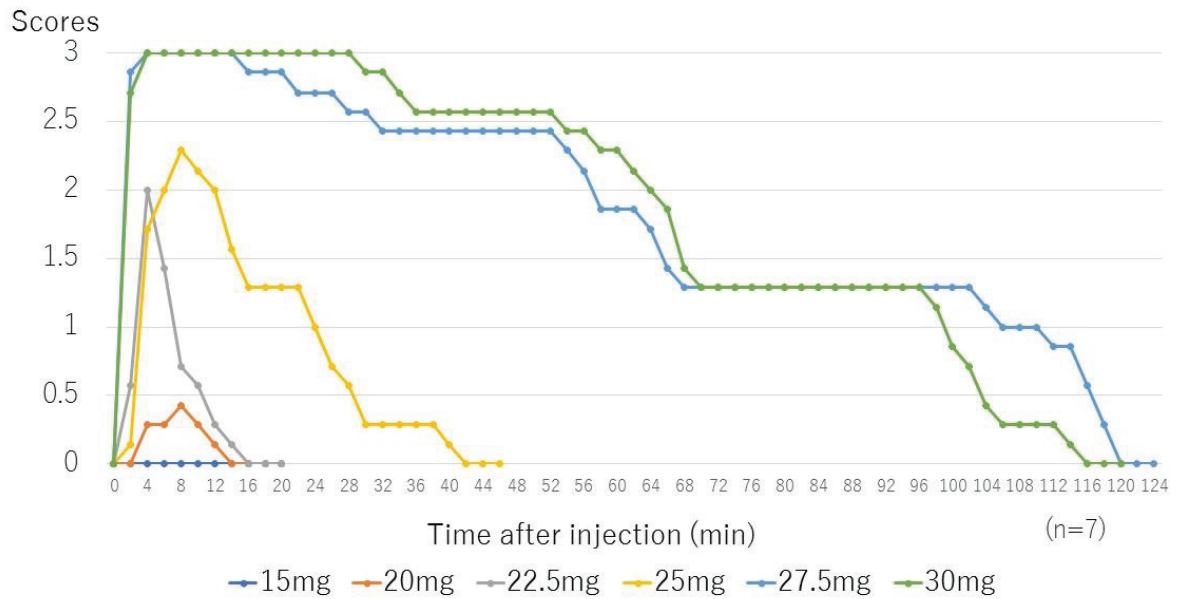
【図 3】 正向反射スコアに及ぼす ketamine の時間経過作用

マウスの正向反射スコアに及ぼす ketamine の時間経過作用を示す。マウス 5 匹を 1 群とし，ketamine (50, 60, 70, 80, 100, 150 mg/kg) をマウスの腹腔内に投与し，投与後 2 分毎に正向反射スコアを用いて評価した。正向反射スコア 0 は正常，1 は 3 回とも 2 秒以内に正向反射がある状態（軽度正向反射障害），2 は 2 秒から 10 秒の間に少なくとも 1 回は正向反射がある状態（中等度～高度正向反射障害），3 は 3 回とも 10 秒以内に正向反射が無い状態（正向反射消失）を示す。



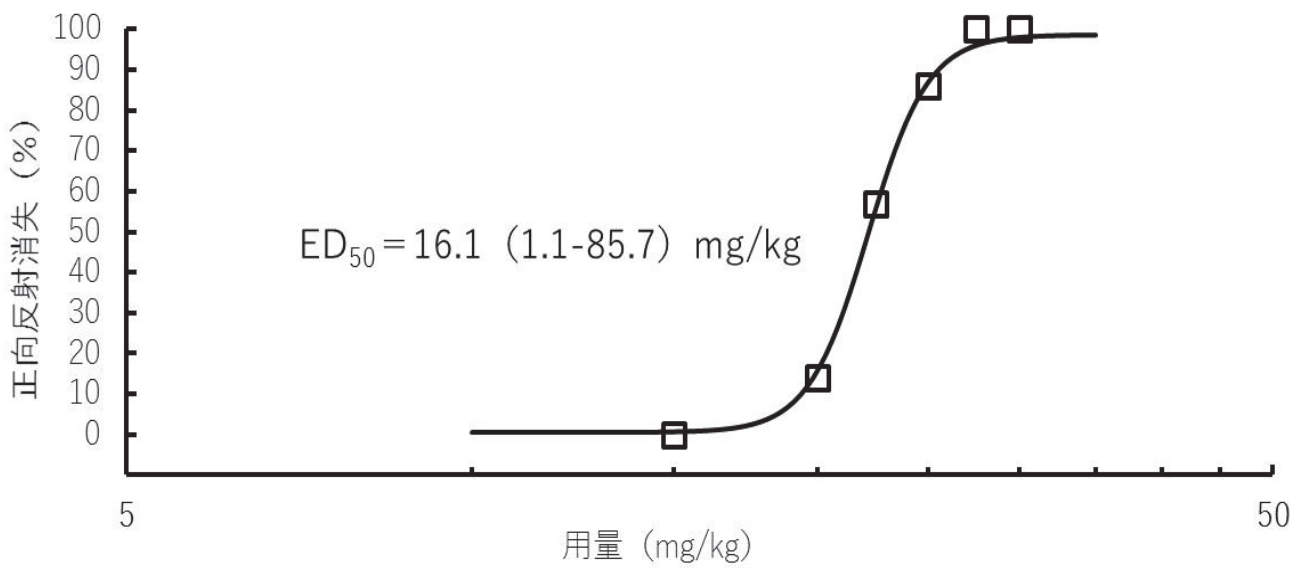
【図 4】 正向反射消失作用における ketamine の用量反応曲線

正向反射消失作用に及ぼす ketamine の影響を示す．マウス 5 匹を 1 群とし，ketamine (50, 60, 70, 80, 100, 150 mg/kg) をマウスの腹腔内に投与した．投与後 2 分毎に正向反射スコアを観察し，正向反射消失を生じたマウスの反応百分率 (%) を対数確率紙にプロットした．正向反射消失の ED_{50} は 55.5 (11.2-192.8) mg/kg であった．



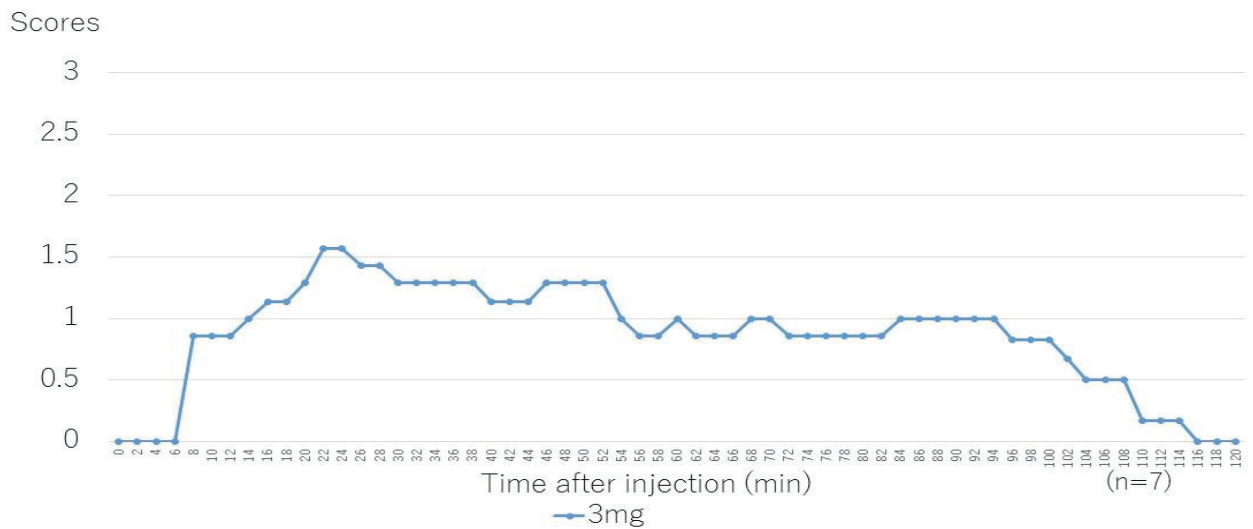
【図 5】 正向反射スコアに及ぼす riluzole の時間経過作用

マウスの正向反射スコアに及ぼす riluzole の時間経過作用を示す。マウス 7 匹を 1 群とし，riluzole (15, 20, 22.5, 25, 27.5, 30 mg/kg) をマウスの腹腔内に投与し，投与後 2 分毎に正向反射スコアを用いて評価した。正向反射スコア 0 は正常，1 は 3 回とも 2 秒以内に正向反射がある状態（軽度正向反射障害），2 は 2 秒から 10 秒の間に少なくとも 1 回は正向反射がある状態（中等度～高度正向反射障害），3 は 3 回とも 10 秒以内に正向反射が無い状態（正向反射消失）を示す。



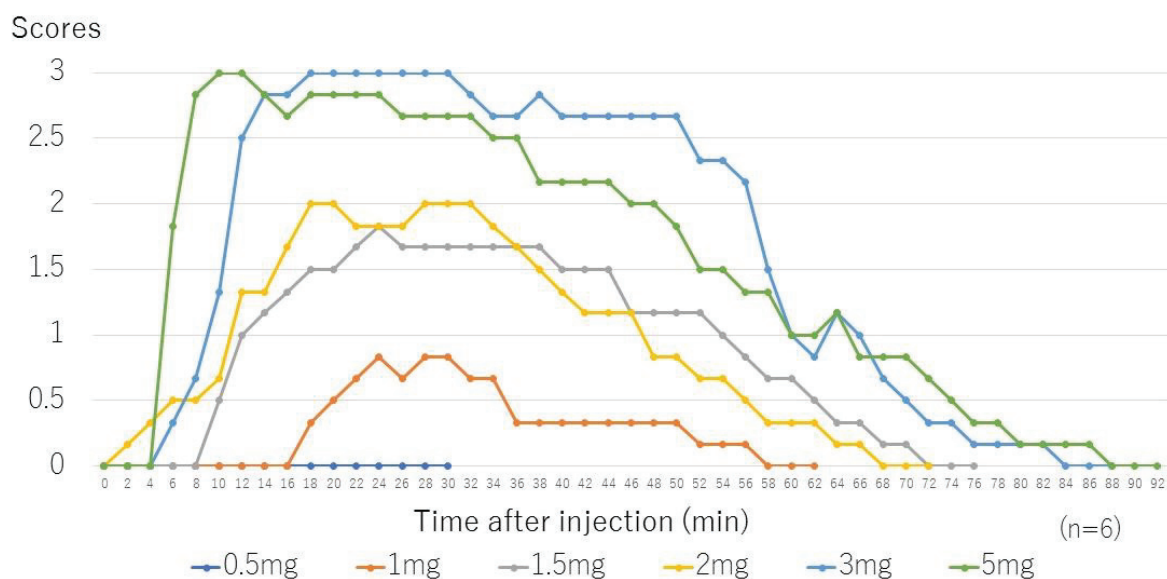
【図 6】 正向反射消失作用における riluzole の用量反応曲線

正向反射消失作用に及ぼす riluzole の影響を示す．マウス 7 匹を 1 群とし，riluzole (15, 20, 22.5, 25, 27.5, 30 mg/kg) をマウスの腹腔内に投与した．投与後 2 分毎に正向反射スコアを観察し，正向反射消失を生じたマウスの反応百分率 (%) を対数確率紙にプロットした．正向反射消失の ED₅₀ は 16.1 (1.1-85.7) mg/kg であった．



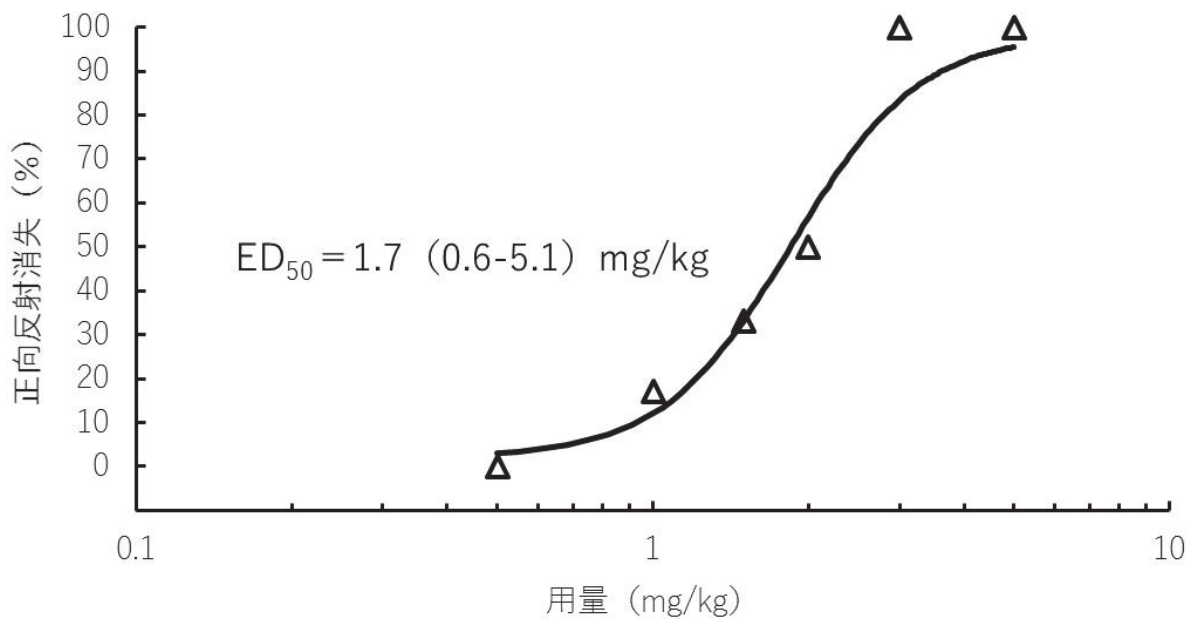
【図 7】 正向反射スコアに及ぼす MK-801 の時間経過作用

マウスの正向反射スコアに及ぼす MK-801 の時間経過作用を示す。マウス 7 匹を 1 群とし、MK-801 (3 mg/kg) をマウスの腹腔内に投与し、投与後 2 分毎に正向反射スコアを用いて評価した。正向反射スコア 0 は正常，1 は 3 回とも 2 秒以内に正向反射がある状態（軽度正向反射障害），2 は 2 秒から 10 秒の間に少なくとも 1 回は正向反射がある状態（中等度～高度正向反射障害），3 は 3 回とも 10 秒以内に正向反射が無い状態（正向反射消失）を示す。



【図 8】 MK-801 による正向反射スコアに及ぼす haloperidol (0.2 mg/kg) 前投与の時間経過作用

MK-801 によるマウスの正向反射スコアに及ぼす haloperidol (0.2 mg/kg) 前投与の時間経過作用を示す。マウス 6 匹を 1 群とし、haloperidol (0.2 mg/kg) 前投与してから 30 分後に MK-801 (0.5, 1, 1.5, 2, 3, 5 mg/kg) をマウスの腹腔内に投与し、投与後 2 分毎に正向反射スコアを用いて評価した。正向反射スコア 0 は正常，1 は 3 回とも 2 秒以内に正向反射がある状態（軽度正向反射障害），2 は 2 秒から 10 秒の間に少なくとも 1 回は正向反射がある状態（中等度～高度正向反射障害），3 は 3 回とも 10 秒以内に正向反射が無い状態（正向反射消失）を示す。



【図 9】 正向反射消失作用における haloperidol (0.2 mg/kg) を前投与した MK-801 の用量反応曲線

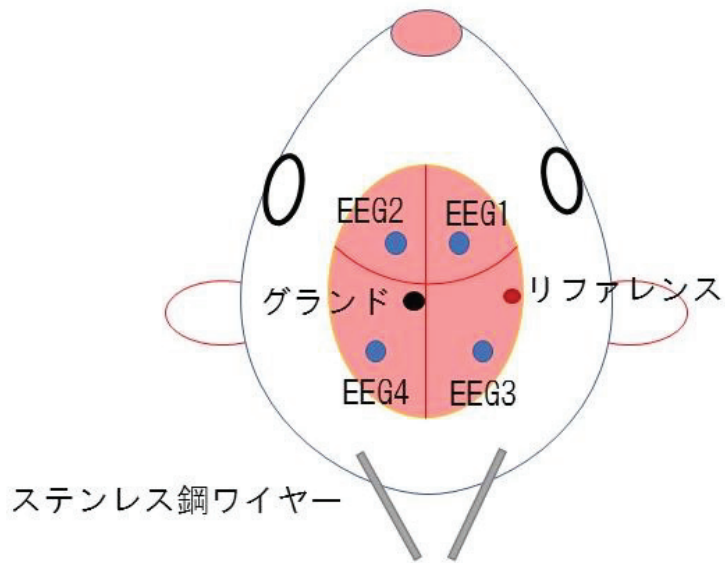
正向反射消失作用に及ぼす haloperidol (0.2 mg/kg) を前投与した MK-801 の影響を示す. マウス 6 匹を 1 群とし, haloperidol (0.2 mg/kg) を前投与後, MK-801 (0.5, 1, 1.5, 2, 3 mg/kg) をマウスの腹腔内に投与した. 投与後 2 分毎に正向反射スコアを観察し, 正向反射消失を生じたマウスの反応百分率 (%) を対数確率紙にプロットした. Haloperidol (0.2 mg/kg) 前投与時の MK-801 の正向反射消失の ED₅₀ は 1.7 (0.6-5.1) mg/kg であった.

| 薬物（用量） | 正向反射消失時間（分） |
|-------------------------|-------------|
| Pentobarbital（40 mg/kg） | 26.4 ± 6.4 |
| Ketamine（150 mg/kg） | 30.8 ± 3.3 |
| Riluzole（30 mg/kg） | 69.7 ± 11.0 |
| MK-801（3 mg/kg）# | 36.0 ± 6.6 |

（# MK-801はhaloperidol（0.2 mg/kg）前投与） mean ± SEM（n=5-8）

【表 1】 各薬物の正向反射消失時間

各薬物について正向反射消失が 30 分程度持続する用量を決定し，脳波・筋電位測定に用いた。

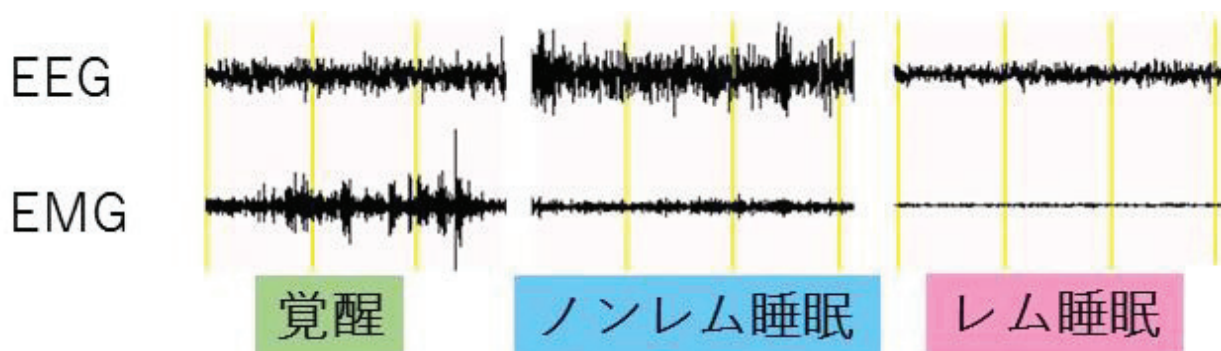


【図 10】 脳波・筋電位埋め込み位置

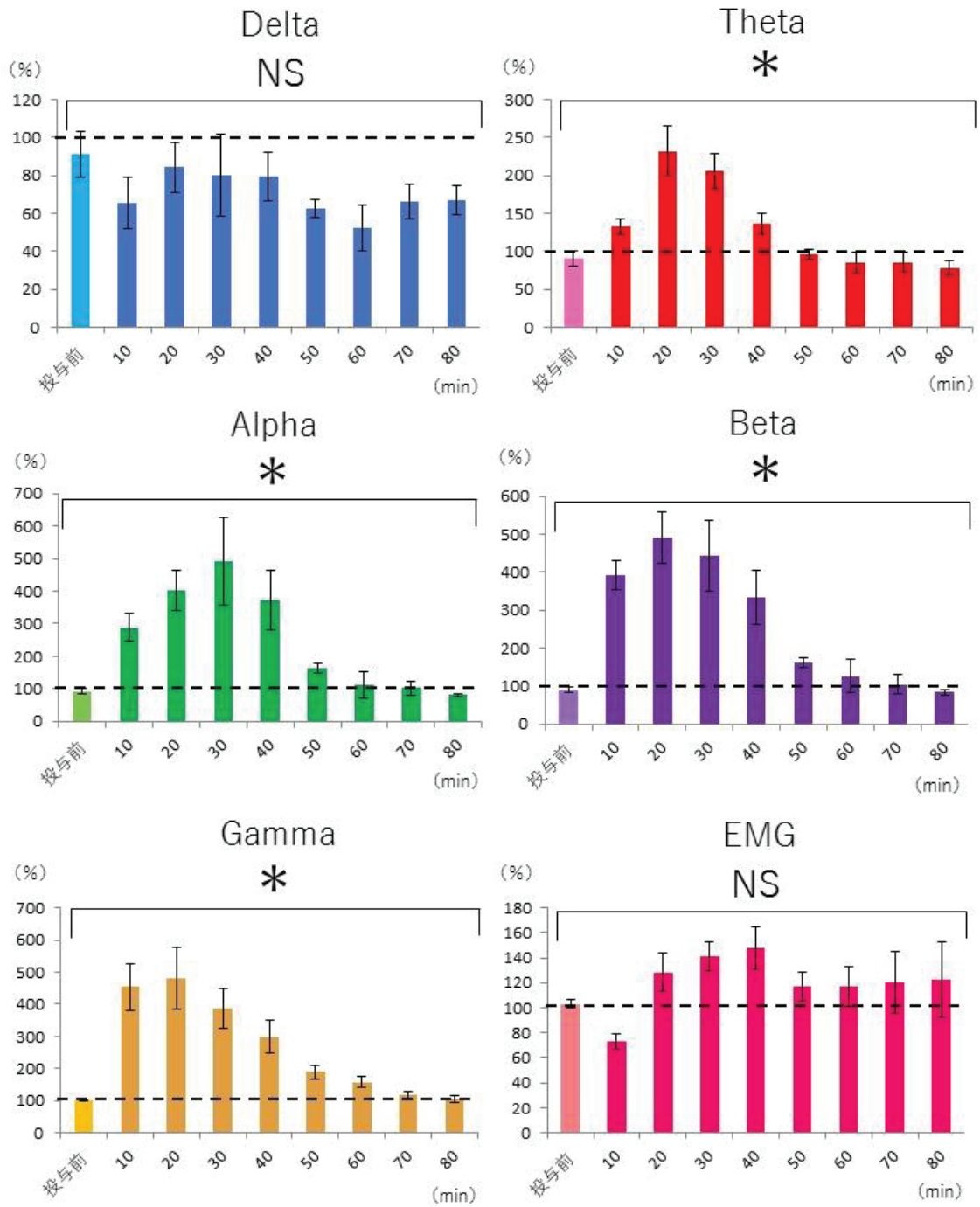
脳波・筋電極埋め込み位置を示す．脳波電極は，ブレグマより 1.5mm 前方，矢状縫合より側方 1.6mm の 2 ヶ所と、ブレグマより 3.5mm 後方，矢状縫合より側方 1.7mm の 2 カ所の計 4 ヶ所に設置した．筋電図電極は，テフロン加工されたステンレス鋼ワイヤーを僧帽筋において左右対称になるように設置した．

| | | | |
|--------------|------------------|---------|-----|
| Delta | 0.65-4 Hz | ノンレム睡眠 | 高振幅 |
| Theta | 6-10 Hz | レム睡眠 | 低振幅 |
| Alpha | 10-12 Hz | 覚醒 (閉眼) | 中振幅 |
| Beta | 12-20 Hz | 覚醒 | 低振幅 |
| Gamma | 20-40 Hz | | |

【表 2】 周波数による脳波の分類



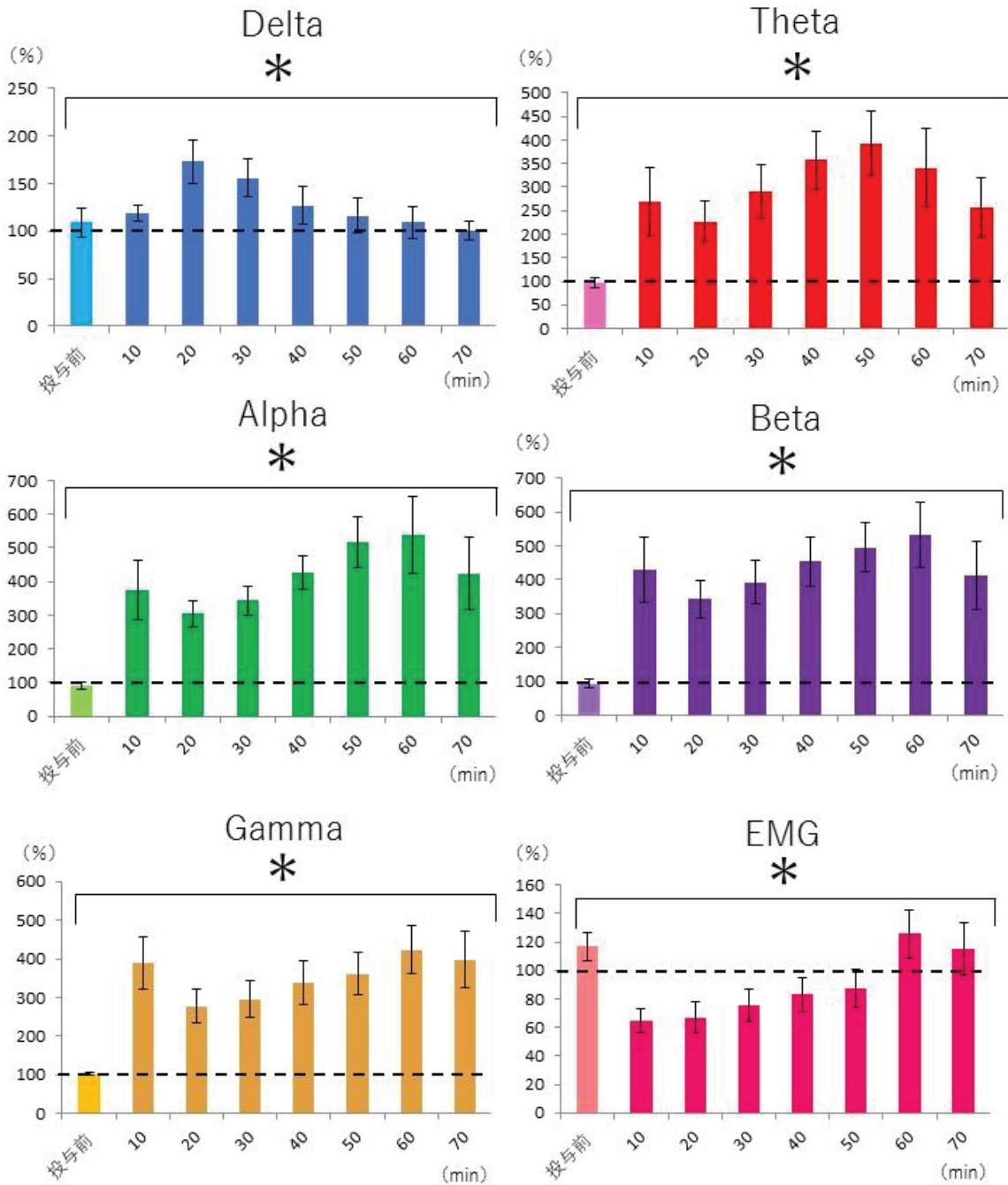
【図 11】 覚醒時，ノンレム睡眠時，レム睡眠時におけるマウスの脳波・筋電位波形の特徴



The data represents mean \pm SEM (n=4). * P < 0.05, repeated one-way ANOVA. NS: not significant

【図 12】脳波・筋電位変化に及ぼす pentobarbital (20 mg/kg) の影響

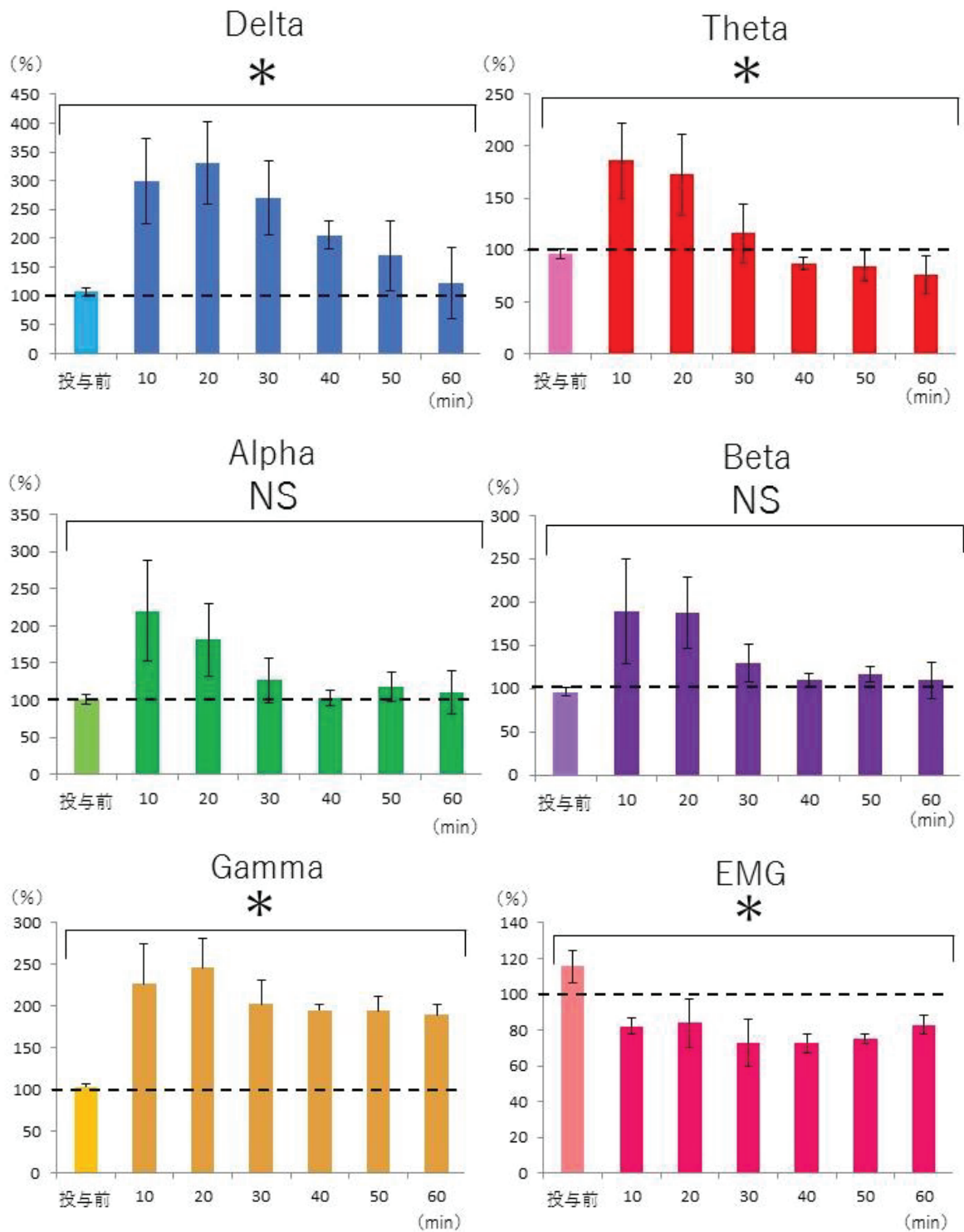
薬物投与前 30 分間の覚醒時 average FFT 値ならびに筋電位積分値を基準 (100%) として, 投与後 10 分間毎の変化を比較した. グラフの縦軸は average FFT 値または筋電位積分値の変化率 (%), 横軸は薬剤投与からの経過時間 (分) を示し, 点線は縦軸における 100% (基準値) のラインを示す. 薬剤投与からの経過時間によって, average FFT 値または筋電位積分値の変化率 (%) に有意差があったもの ($P < 0.05$) を*, 有意差がなかったものを NS として示した. 基準 (100%) となる覚醒時の average FFT 値は, delta : 91.7 ± 16.8 (平均 \pm 標準誤差) μV^2 , theta : $75.1 \pm 7.6 \mu V^2$, alpha : $21.4 \pm 2.2 \mu V^2$, beta : $10.6 \pm 1.5 \mu V^2$, gamma : $1.5 \pm 0.1 \mu V^2$ であり, 筋電位積分値は $22.1 \pm 3.3 \mu V$ であった.



The data represents mean \pm SEM (n=7). *P<0.05, repeated one-way ANOVA

【図 13】脳波・筋電位変化に及ぼす pentobarbital (40 mg/kg) の影響

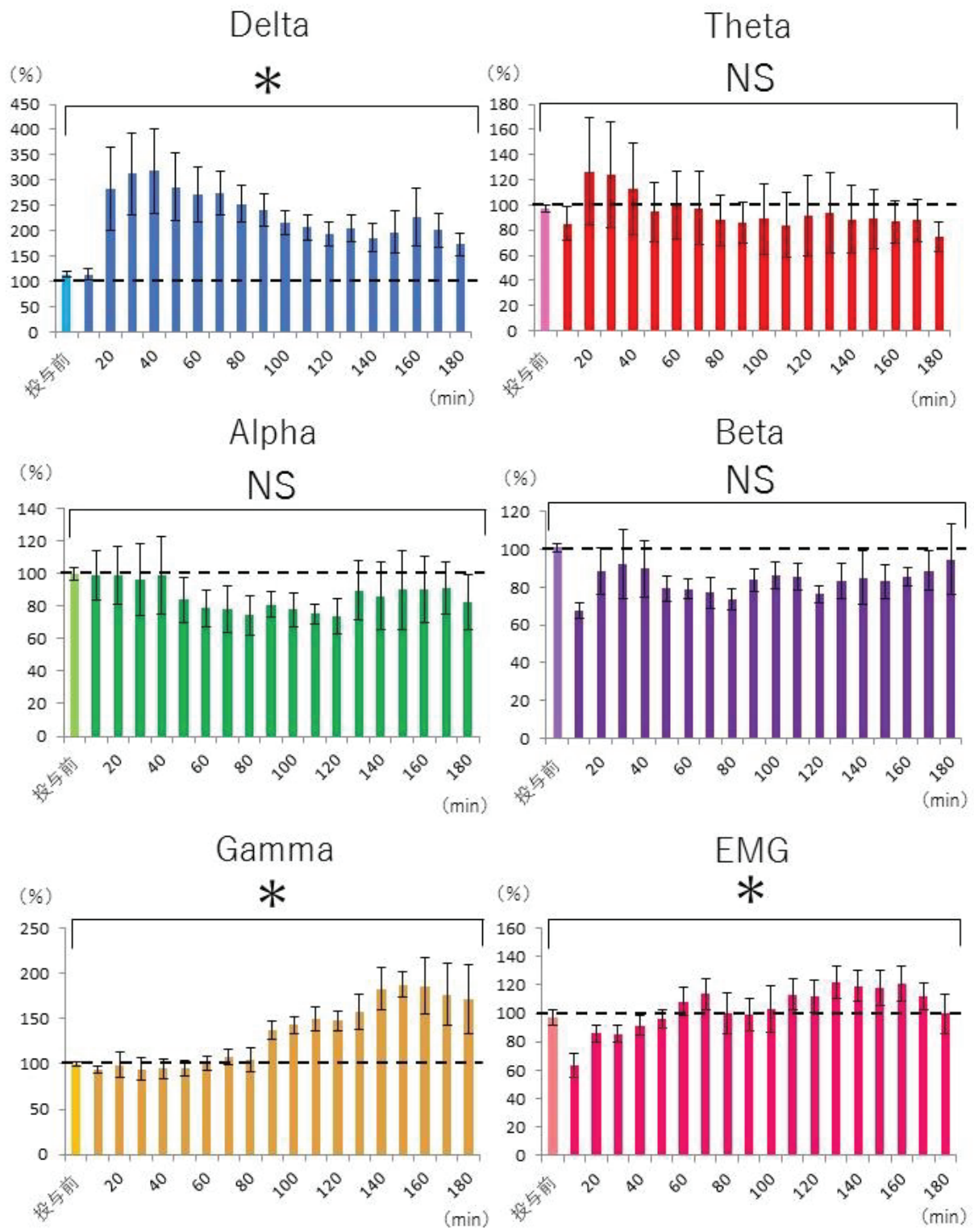
薬物投与前 30 分間の覚醒時 average FFT 値ならびに筋電位積分値を基準 (100%) として, 投与後 10 分間毎の変化を比較した. グラフの縦軸は average FFT 値または筋電位積分値の変化率 (%), 横軸は薬剤投与からの経過時間 (分) を示し, 点線は縦軸における 100% (基準値) のラインを示す. 薬剤投与からの経過時間によって, average FFT 値または筋電位積分値の変化率 (%) に有意差があったもの ($P < 0.05$) を*, 有意差がなかったものを NS として示した. 基準 (100%) となる覚醒時の average FFT 値は, $\text{delta} : 96.7 \pm 13.8 \mu \text{V}^2$, $\text{theta} : 76.3 \pm 8.6 \mu \text{V}^2$, $\text{alpha} : 22.4 \pm 2.9 \mu \text{V}^2$, $\text{beta} : 10.6 \pm 1.4 \mu \text{V}^2$, $\text{gamma} : 1.8 \pm 0.3 \mu \text{V}^2$ であり, 筋電位積分値は $40.9 \pm 4.5 \mu \text{V}$ であった.



The data represents mean \pm SEM (n=4). *P < 0.05, repeated one-way ANOVA. NS: not significant

【図 14】 脳波・筋電位変化に及ぼす ketamine (150 mg/kg) の影響

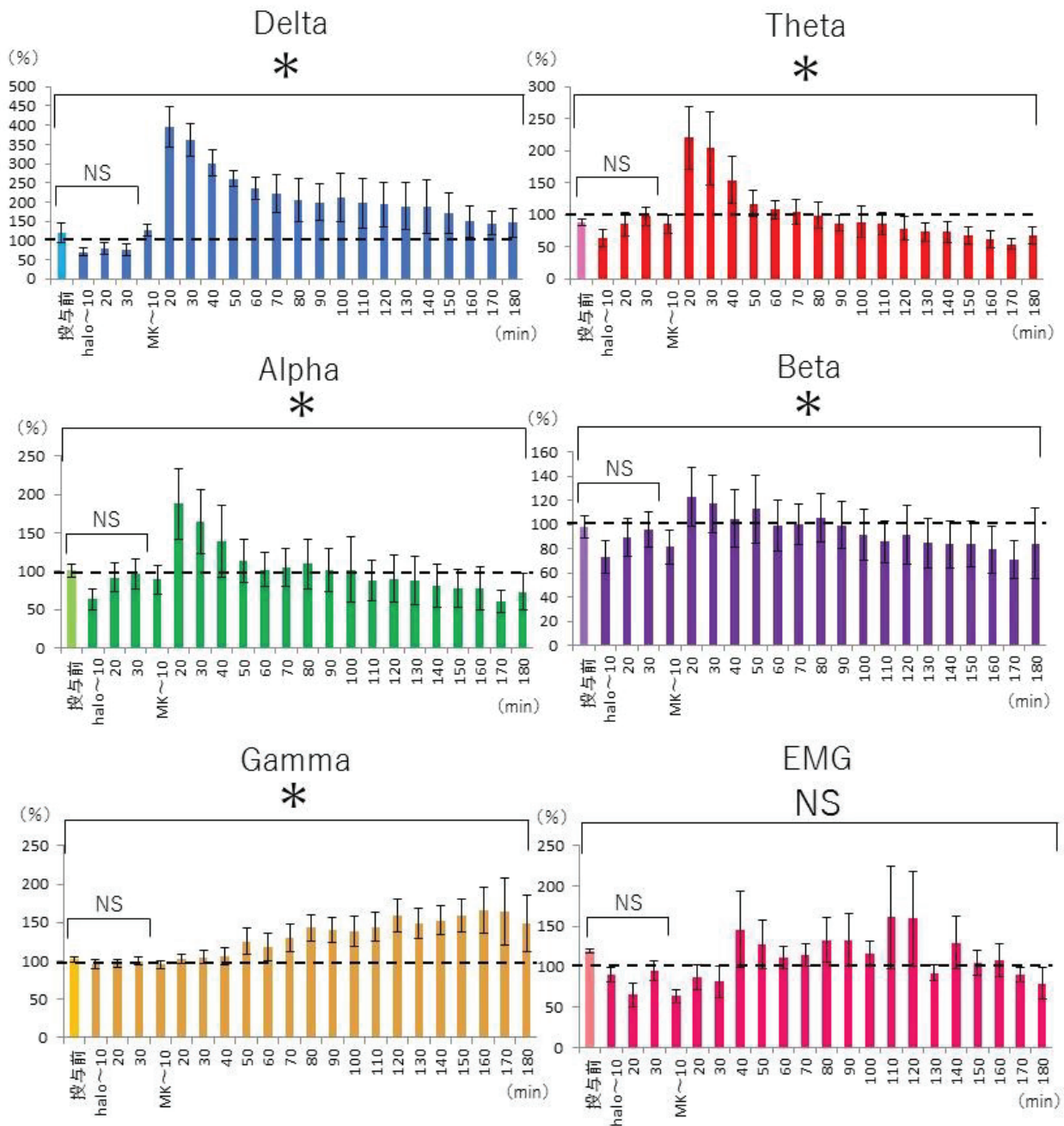
薬物投与前 30 分間の覚醒時 average FFT 値ならびに筋電位積分値を基準 (100%) として, 投与後 10 分間毎の変化を比較した. グラフの縦軸は average FFT 値または筋電位積分値の変化率 (%), 横軸は薬剤投与からの経過時間 (分) を示し, 点線は縦軸における 100% (基準値) のラインを示す. 薬剤投与からの経過時間によって, average FFT 値または筋電位積分値の変化率 (%) に有意差があったもの ($P < 0.05$) を*, 有意差がなかったものを NS として示した. 基準 (100%) となる覚醒時の average FFT 値は, $\text{delta} : 206.4 \pm 70.7 \mu \text{V}^2$, $\text{theta} : 138.8 \pm 32.5 \mu \text{V}^2$, $\text{alpha} : 35.8 \pm 7.7 \mu \text{V}^2$, $\text{beta} : 17.0 \pm 3.7 \mu \text{V}^2$, $\text{gamma} : 2.7 \pm 0.6 \mu \text{V}^2$ であり, 筋電位積分値は $33.0 \pm 1.7 \mu \text{V}$ であった.



The data represents mean ± SEM (n=4). * P < 0.05, repeated one-way ANOVA. NS: not significant

【図 15】 脳波・筋電位変化に及ぼす MK-801 (3 mg/kg) の影響

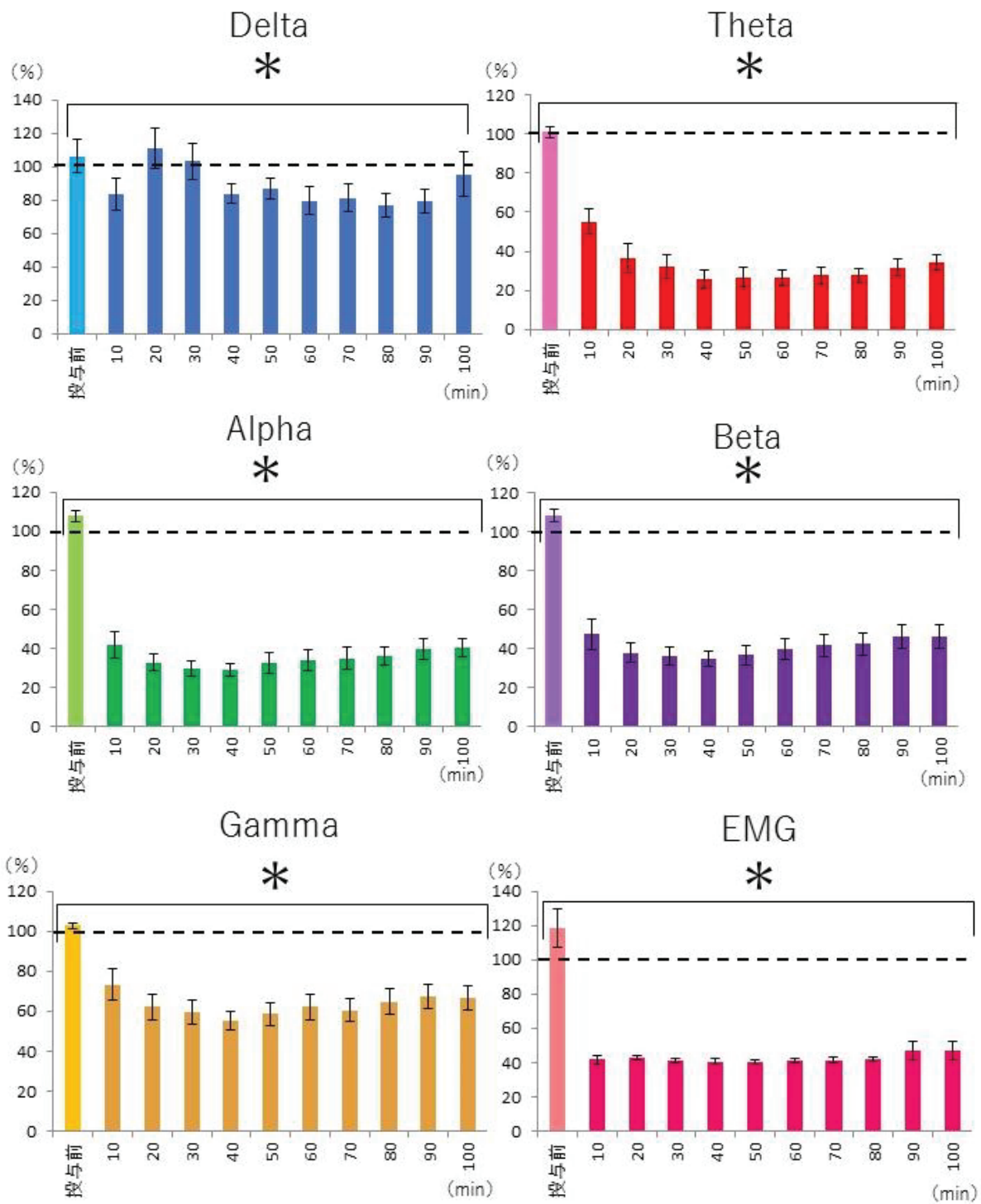
薬物投与前 30 分間の覚醒時 average FFT 値ならびに筋電位積分値を基準 (100%) として, 投与後 10 分間毎の変化を比較した. グラフの縦軸は average FFT 値または筋電位積分値の変化率 (%), 横軸は薬剤投与からの経過時間 (分) を示し, 点線は縦軸における 100% (基準値) のラインを示す. 薬剤投与からの経過時間によって, average FFT 値または筋電位積分値の変化率 (%) に有意差があったもの ($P < 0.05$) を*, 有意差がなかったものを NS として示した. 基準 (100%) となる覚醒時の average FFT 値は, $\delta : 202.4 \pm 81.4 \mu V^2$, $\theta : 165.2 \pm 47.3 \mu V^2$, $\alpha : 52.9 \pm 15.7 \mu V^2$, $\beta : 21.0 \pm 5.2 \mu V^2$, $\gamma : 3.6 \pm 0.8 \mu V^2$ であり, 筋電位積分値は $32.1 \pm 3.7 \mu V$ であった.



The data represents mean \pm SEM (n=4). * P < 0.05, repeated one-way ANOVA. NS: not significant

【図 16】 MK-801 (3 mg/kg) による脳波・筋電位変化に及ぼす haloperidol (0.2 mg/kg) 前投与の影響

薬物投与前 30 分間の覚醒時 average FFT 値ならびに筋電位積分値を基準 (100%) として, 投与後 10 分間毎の変化を比較した. グラフの縦軸は average FFT 値または筋電位積分値の変化率 (%), 横軸は薬剤投与からの経過時間 (分) を示し, 点線は縦軸における 100% (基準値) のラインを示す. 薬剤投与からの経過時間によって, average FFT 値または筋電位積分値の変化率 (%) に有意差があったもの ($P < 0.05$) を*, 有意差がなかったものを NS として示した. 基準 (100%) となる覚醒時の average FFT 値は, $\text{delta} : 173.6 \pm 66.9 \mu \text{V}^2$, $\text{theta} : 111.2 \pm 23.5 \mu \text{V}^2$, $\text{alpha} : 36.7 \pm 9.4 \mu \text{V}^2$, $\text{beta} : 16.3 \pm 3.6 \mu \text{V}^2$, $\text{gamma} : 2.9 \pm 0.5 \mu \text{V}^2$ であり, 筋電位積分値は $38.3 \pm 4.0 \mu \text{V}$ であった.



The data represents mean \pm SEM (n=7). *P<0.05, repeated one-way ANOVA

【図 17】脳波・筋電位変化に及ぼす riluzole (30 mg/kg) の影響

薬物投与前 30 分間の覚醒時 average FFT 値ならびに筋電位積分値を基準 (100%) として, 投与後 10 分間毎の変化を比較した. グラフの縦軸は average FFT 値または筋電位積分値の変化率 (%), 横軸は薬剤投与からの経過時間 (分) を示し, 点線は縦軸における 100% (基準値) のラインを示す. 薬剤投与からの経過時間によって, average FFT 値または筋電位積分値の変化率 (%) に有意差があったもの ($P < 0.05$) を*, 有意差がなかったものを NS として示した. 基準 (100%) となる覚醒時の average FFT 値は, $\text{delta} : 210.4 \pm 40.3 \mu \text{V}^2$, $\text{theta} : 172.8 \pm 48.8 \mu \text{V}^2$, $\text{alpha} : 51.9 \pm 15.0 \mu \text{V}^2$, $\text{beta} : 24.9 \pm 8.3 \mu \text{V}^2$, $\text{gamma} : 4.0 \pm 1.1 \mu \text{V}^2$ であり, 筋電位積分値は $42.5 \pm 5.0 \mu \text{V}$ であった.

| 薬物 (用量) | 睡眠時間 (分) | 正向反射 消失時間 (分) | 有意差 |
|--------------------------|-------------|---------------------|----------|
| Pentobarbital (40 mg/kg) | 24.0 ± 5.1 | 26.4 ± 6.4 | P > 0.05 |
| Ketamine (150 mg/kg) | 22.5 ± 2.5 | 30.8 ± 3.3 | P > 0.05 |
| MK-801 (3 mg/kg) # | 26.7 ± 3.3 | 36.0 ± 6.6 | P > 0.05 |

(# MK-801はhaloperidol(0.2 mg/kg)前投与)

【表 3】 各薬物投与後の睡眠時間と正向反射消失時間の比較

すべての薬剤における比較で $P > 0.05$ となり、有意差はみられず、睡眠時間と正向反射消失時間はほぼ一致するという結果になった。