薬学雑誌
YAKUGAKU ZASSHI
87 (7) 837 ~ 843 (1967)

UDC 615.785-092.259

146. 高木敬次郎, 柴田 丸, 渡辺 稔, 斉藤 晃: 小動物の行動に対する薬物作用の研究(第1報) 中枢興奮薬およびそれらの併用効果について^{*1}

Keihiro Takagi, Madoka Shibata, Minoru Watanabe, and Akira Saito:
Studies of Drug Action on the Behavior of Small Animals. I.
Central Nervous System Stimulants and
their Combined Effects.^{*1}

(Faculty of Pharmaceutical Sciences, University of Tokyo^{*2})

Two types of a behavior-recording apparatus were designed and prepared for small animals, such as the mouse. One is a triangular cage hung by spiral springs at three corners. The location of an animal at one corner is indicated by the corresponding electromagnetic lever on a kymograph paper as indicated in Fig. 1. The other one is also a triangular cage, in which a light beam is set at each corner and at the center of the cage. The interruption of a light beam is recorded on a rotating paper by the corresponding electromagnetic lever (Fig. 2).

The effects of several central stimulants were tested with these apparatus. All the drugs were administered subcutaneously. Apparent difference in the behaviors was observed between Methamphetamine and other stimulants such as methylphenidate, pipradrol, and caffeine. methamphetamine increased the rotating movement of the animal more markedly than the other stimulants. Considerable rotating movements produced by 5 mg./kg. of *d*-methamphetamine hydrochloride were disturbed by 1 mg./kg. of LSD-25.

The locomotive movement of the mouse was elevated by the administration of 50 mg./kg. of dimethylaminoethanol each day for 8 days and was further potentiated by 10 mg./kg. of caffeine. The stimulating effect of 50 mg./kg. of dimethylaminoethanol was also potentiated by 1 mg./kg. of LSD-25.

(Received November 18, 1966)

動物に対する興奮作用を、薬物の行動におよぼす影響から判断しようとするところみは、中枢興奮薬研究の第一段階として必要なことである。著者等がハツカネズミの行動記録計をつくった目的は、小動物の自発運動を簡便かつ正確にとらえることであり、また *d*-methamphetamine hydrochloride のような覚醒剤と caffeine との相違を実際に示すことにあった。

実験の部

実験方法

振動型行動記録計 著者等はハツカネズミが底面だけを歩きまわられるようにするため、側面および上面を透明なプラスチック板にし、底に金網をしいた一辺が 20 cm., 高さ 10 cm. の籠(形状は三角柱)をつくり、その三隅をスプリングでつるし、その下に白金線と水銀からなる接触部 A をもうける。ハツカネズミが一隅にきてその重みで接触すると、これに直列に挿入された電磁シグナル B が作動する。籠の三隅にそれぞれ対応する 3 個の電磁シグナルを、キモグラフの煤煙紙上にその先端を揃えて垂直にならべる。電源は 100 V.A.C を用い変圧整流器 D を通す。なおタイマー E を直列に入れ自動的に装置が連動するようにする。同時に書楨 C により籠全体の動きを記録する(Fig. 1).

Fig. 1. An Apparatus of Spring-Type Recorder

A: contact interrupter D: rectifier
B: electromagnetic signal E: timer
C: lever

^{*1} 日本薬理学会関東部会 (1959, 6, 20) および日本薬学会第 78 年年会 (1960, 4, 5) で一部発表。

^{*2} Bunkyo-ku, Tokyo.

Fig. 2. An Apparatus of Phototransistor-Type Recorder

A: plastic cage	F: relay
B: sound-proof box	G: electromagnetic signal
C: phototransistor	H: electromagnetic counter
D: miniature lamp	I: timer
E: condensing lens	

れた電磁シグナルの断続および書楕の動きで記録される。具体的な実験例を Fig. 4 に示す。すなわち籠の三隅より誘導された電磁シグナルの動きをたどっていけば、ハツカネズミの経時的な位置変化を知ることができる。

Fig. 3. Calculation of Locomotion and Rotation

Fig. 4. Tracing of Movement of Mouse treated with *d*-Methamphetamine hydrochloride 5 mg./kg. Subcutaneously (Spring-type recorder)

行動の観察 これまでに述べた装置の機械的な記録のほかに、ハツカネズミの詳細な行動を観察記録する。また必要に応じて映画に撮影しておく。

実験動物および動物数 正常なる体重 20 g. 前後の雄性ハツカネズミ (dd 系) を用いた。動物数は特にことわらない限り一群 5 匹とし、図表は 5 匹の平均値として示した。

薬液調製法ならびに投与方法 薬物は生理食塩液に溶かし検液とする。投与経路は皮下注射とし、また薬液投与量は 0.1 ml./10 g. とした。

実験結果

対照としての生理食塩液の影響 振動型およびフォトトランジスタ型行動記録計を用い、生理食塩液 0.1 ml./10 g. の投与による行動を観察記録した。Fig. 5 および Fig. 6 にみられるように、移動することは少なく投与後 1 hr. では一隅で傾眠状態を示すことが多く、これは無処置ハツカネズミの行動とほとんど変わらなかった。

覚醒剤と methylphenidate hydrochloride, caffeine の興奮作用の相違 覚醒剤として *d*-methamphetamine hydrochloride (以下 MA) をとりあげ、methylphenidate hydrochloride (以下 MP), caffeine の 3 者の興奮作用の相違を振動型行動記録計を用い検討した。薬物投与量は MA, MP, caffeine のいずれも 2.5, 5, 10 および 20 mg./kg. とした。記録は投与直後の 5 min. をとりつぎの 5 min. は除き、またつぎの 5 min. を記録するという方法で 1 hr. 観察記録した。なお実験動物はすべて薬液投与直前の 5 min. 装置の籠に入れハツカネズミの探索行動をある程度除いておいてから実験を始めた。Fig. 7 に示すように MA では 5 ないし 10 mg./kg., MP および caffeine では 10 mg./kg. でもっとも強い運動性興奮が認められた。これらの投与量における興奮作用の経時的变化を Fig. 8 に示した。すなわち MA は興奮の発現が早く、投与後約 10 min. で激しい移動がみられ約 15 min. 持続する。しかし caffeine では発現が遅く投与後約 50 min. で興奮がもっとも強くあらわれるが、1 hr. 以上になると弱まってくる。MP は Fig. 7 および Fig. 8 にみられるように MA と caffeine のほぼ中間にくらいする運動性興奮の強さ、ならびにその持続性を示した。各薬物についてみられた症状は、MA 2.5 mg./kg.

Fig. 5. Motor Activity of Mouse treated with Physiological Saline (Spring-type recorder)

Fig. 6. Motor Activity of Mouse treated with Physiological Saline (Phototransister-type recorder)

では籠の一隅でくるくる小さくまわるのが観察されたが、MA 5 mg./kg. では運動性興奮が強くなり、籠の三隅を確実にふんで同一方向にまわる (Fig. 9 (a)). MA 10 mg./kg. では運動障害や口渴状態がみられるようになる。これに対し caffeine 10 mg./kg. では落着きなく右往左往することが多く、MA にみられるような規則的運動興奮すなわち回転数の増大は認められなかった (Fig. 9 (b)). また MP 10 mg./kg. では caffeine より強い運動興奮がみられたが、MA と比較して著しく回転数が少ない (Fig. 9 (c)).

Fig. 7. Difference of Motor Activity in Mice treated with Some Central Nervous System Stimulants at Various Doses

— *d*-methamphetamine
 - - - methylphenidate
 . . . caffeine
 — control (0.9% NaCl solution)

Fig. 8. Difference of Motor Activity in Mice treated with Some Central Nervous System Stimulants at Various Times

— *d*-methamphetamine 10 mg./kg.
 - - - methylphenidate 10 mg./kg.
 . . . caffeine 10 mg./kg.
 — control (0.9% NaCl solution)

(a) *d*-Methamphetamine 5 mg./kg.

(b) Caffeine 10mg./kg.

(c) Methylphenidate 10mg./kg.

Fig. 9. Effects of *d*-Methamphetamine hydrochloride, Caffeine and Methylphenidate hydrochloride in Mice (Spring-type recorder)

独投与では約 5 min. 後に緩慢な歩行がみられ、約 30 min. 後に動きが活発になりとび上りをみせることもあったが、概して行動に著しい変化は認められなかった (Fig. 12). また LSD-25 1 mg./kg. の前投与により MA 5 mg./kg. 投与のハツカネズミに動きの乱れがおきている実験例を Fig. 13 に示した.

Caffeine と dimethylaminoethanol との併用効果 移動数を指標として、caffeine 10 mg./kg. と dimethylaminoethanol (以下 DMAE) の 50, 100 および 300 mg./kg. とを同時投与した場合、ならびに DMAE の 50, 100, および 300 mg./kg. を 7 日間連続投与し、翌日 DMAE の各投与量と caffeine 10 mg./kg. とを同時投与した場合の興奮作用を caffeine 10 mg./kg. の単独投与でみられる興奮作用と比較検討した. なお実験例数は一群 5 ないし 10 匹で行ない、振動型およびフォトリランジスタ型行動記録計を使用した. caffeine 10 mg./kg. と DMAE の 50, 100 および 300 mg./kg. とを同時投与した場合は Fig. 14 (a) に示さ

その他の中枢興奮薬の作用

振動型行動記録計を用い *l*-methamphetamine hydrochloride 10, 20, 40, 80 mg./kg., *dl*-amphetamine sulfate 2.5, 5, 10, 20, 40 mg./kg., pentetrazol 5, 10, 20, 40 mg./kg., picrotoxin 1.25, 2.5 mg./kg., strychnine nitrate 0.313, 0.625 mg./kg., pipradrol hydrochloride 2.5, 5, 10, 20, 40, 80 mg./kg. についてそれらの興奮作用を検討した. *l*-methamphetamine hydrochloride には運動性興奮はみられず、また pentetrazol, picrotoxin および strychnine nitrate には運動抑制が認められた. 覚醒剤として用いられる *dl*-amphetamine は MA と同程度の興奮状態を示し、20 mg./kg. 投与でもっとも強い運動興奮 (移動数 19.1, 回転数 13.8) がみられた. pipradrol hydrochloride は MP と同程度の興奮を示し、40 mg./kg. 投与でもっとも著明な運動興奮 (移動数 11.3, 回転数 3.4) がみられた.

N,N-Diethyllysergamide (LSD-25) と *d*-methamphetamine hydrochloride (MA) との併用効果

振動型行動記録計を用い、LSD-25 1 mg./kg. を投与後 20 min. して MA の 2 または 5 mg./kg. を投与し、1 hr. にわたって興奮状態を観察記録した. LSD-25 1 mg./kg. は MA 2 mg./kg. の運動性興奮をわずかに増強させる傾向がみられたが、MA 5 mg./kg. の興奮に対しては運動を抑制し、とくに回転数の減少が著明であった (Fig. 10, 11). LSD-25 1 mg./kg. の単

Fig. 10. Combined Effect of N,N-Diethyllysergamide (LSD-25) 1 mg./kg. and *d*-Methamphetamine hydrochloride 2 mg./kg. Subcutaneously in Mice

— *d*-methamphetamine 2 mg./kg.
 - - - LSD-25 1 mg./kg. + *d*-methamphetamine 2 mg./kg.
 . . . LSD-25 1 mg./kg.
 — control (0.9% NaCl solution)

Fig. 11. Combined Effect of N,N-Diethyllysergamide (LSD-25) 1 mg./kg. and *d*-Methamphetamine hydrochloride 5 mg./kg. subcutaneously in Mice

— *d*-methamphetamine 5 mg./kg.
 - - - LSD-25 1 mg./kg. + *d*-methamphetamine 5 mg./kg.
 . . . LSD-25 1 mg./kg.
 — control (0.9% NaCl solution)

Fig. 12. Motor Activity of the Mouse treated with N,N-Diethyllysergamide (LSD-25) 1 mg./kg. Subcutaneously (Spring-type recorder)

Fig. 13. Combined Effect of N,N-Diethyllysergamide (LSD-25) 1 mg./kg. and *d*-Methamphetamine hydrochloride 5 mg./kg. Subcutaneously in the Mouse (Spring-type recorder)

d-methamphetamine hydrochloride 5 mg./kg. was given 20 minutes after LSD-25 1 mg./kg.

れるように, caffeine 10 mg./kg. の単独投与と比較してそれらの興奮作用にほとんど相違はみられなかった. 一方 DMAE を8日間連続投与した場合は, Fig. 14 (b) にみられるように振動型行動記録計を用いて, DMAE 50 mg./kg. × 8 + caffeine 10 mg./kg. 投与例で caffeine の興奮作用を増強するのがみられた. しかしフォトランジスタ型行動記録計を用いた場合には, その興奮作用の増強はみられなかった. また DMAE 300 mg./kg. × 8 + caffeine 10 mg./kg. 投与例では後肢の運動障害があらわれ, caffeine の興奮作用は抑制された.

N,N-Diethyllysergamide (LSD-25) と dimethylaminoethanol (DMAE) との併用効果 LSD-25 1 mg./kg. を投与後 20 min. して DMAE の 25, 50 および 100 mg./kg. を投与した場合, ならびに DMAE の 25, 50 および 100 mg./kg. を7日間連続投与し, 翌日 LSD-25 1 mg./kg. を投与後 20 min. して DMAE の各投与量を与えた場合の興奮作用を移動数を指標として, DMAE の各投与量の投与でみられる興奮作用と比較検討した. 実験例数は一群5匹で行ない, 装置はフォトランジスタ型行動記録計を用いた. 記録は投与直後の 5 min. をとりつぎの 15 min. は除き, またつぎの 5 min. を記録するという方法で 105 min. 観察記録した. LSD-25 + DMAE 単独投与例では Fig. 15 (a) に示すように, LSD-25 1 mg./kg. + DMAE 50 mg./kg. 投与例で DMAE の興奮作用を増強するのがみられた. しかし LSD-25 + DMAE 連続投与例では Fig. 15 (b) に示すように, DMAE の各投与量の連続投与例と比較してそれらの興奮作用にほとんど相違はみられなかった.

考 察

小動物の自発運動に対する薬物の影響については, 古くから数多くの報告がなされている. Forst,¹⁾ Ther²⁾ さ

1) L. Ther: "Pharmakologische Methoden zur Auffindung von Arzneimitteln und Giften und Analyse ihrer Wirkungsweise" 390 (1949). Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft M. B. H. Stuttgart.

2) L. Ther: *Ibid.*, 392 (1949).

Fig. 14. Combined Effect of Caffeine and Dimethylaminoethanol (DMAE) in Mice

Fig. 15. Combined Effect of N,N-Diethyllysergamide (LSD-25) and Dimethylaminoethanol (DMAE) in Mice

らには Stewart,³⁾ Wilber,⁴⁾ Chappel,⁵⁾ Dews⁶⁾ 等によって revolving drum や photocell を用いたものから、籠の振動を tambour または spring を介して記録したり、実にさまざまな型の装置が考案された。しかしこれらはいずれも小動物の動き全体を記録したものである。著者等の試作した行動記録計は3点(振動型)、または4点(フォトトランジスタ型)で小動物の位置を記録でき簡便かつ正確に動きの性質をとらえることができる。とくにフォトトランジスタ型行動記録計では外界の光、音または籠の振動の小動物に対する影響を除くように工夫した。覚醒剤と caffeine の興奮作用の相違はフォトトランジスタ型行動記録計を用いることにより一層明確に区別できる。なお caffeine 投与量を 40 または 80 mg./kg. に増しても著明な興奮作用はみられなかった。MA の光学異性体である *l*-methamphetamine hydrochloride に興奮作用が認められなかったことは興味深い。MP および pipradrol hydrochloride は新しい化学構造をもつ中枢興奮薬として注目されたものである。Meier 等⁷⁾は MP が amphetamine に相当する運動量をもつことを報告しているが、著者等は MP および pipradrol hydrochloride が caffeine より強い運動興奮をみせること、覚醒剤である MA と比較して著しく回転数の少ないことを示した。Cerletti 等⁸⁾は先天的に回転する waltzing mouse を用い、向精神作用をもつ LSD-25 がその回転運動を攪乱することを感光紙上に示した。著者等の示した MA によるハツカズミの回転運動は、その興奮発現の著明な時期に広い場所に移すと一直線に走りさっていくが、籠内では外観上 waltzing mouse に似ているものとして LSD-25 の影響を検討した。そして LSD-25 1 mg./kg. は MA 5 mg./kg. の回転運動を全く攪乱することを認めた。Pfeiffer 等⁹⁾は DMAE をハツカネズミとシロネズミに長期間連続投与し、DMAE に中枢興奮作用のあることを報告した。著者等はハツカネズミについて、DMAE の1回投与では明らかな運動性興奮作用をみることはできなかったが、DMAE の 50 mg./kg. 7日間連続投与で軽度の興奮作用がみられ、これに caffeine 10 mg./kg. を併用すると一層興奮作用が強まる結果を得た。しかしフォトトランジスタ型行動記録計ではかかる興奮作用が認められなかったのは、使用した装置の相違によるのであろう。LSD-25 と DMAE を併用した場合をみると、LSD-25 1 mg./kg.+DMAE 50 mg./kg. 投与例に運動興奮がみられ、LSD-25 1 mg./kg.+DMAE 5 mg./kg.×8 投与例では興奮はみられなかった。このように LSD-25 と caffeine に対する DMAE の併用効果がことなる理由は明らかではない。

結 論

ハツカネズミについて振動型およびフォトトランジスタ型行動記録計を用いつぎの結果を得た。

1. methamphetamine のような覚醒剤と methylphenidate, caffeine との相違が明らかにみとめられた。
 2. pipradrol は methylphenidate に相当する興奮作用を示した。
 3. LSD-25 1 mg./kg. は *d*-methamphetamine hydrochloride 5 mg./kg. によっておこる著明な回転運動を攪乱した。
 4. caffeine 10 mg./kg. は dimethylaminoethanol 50 mg./kg. 8日間連続投与ハツカネズミの興奮作用を増強した。
 5. LSD-25 1 mg./kg. は dimethylaminoethanol 50 mg./kg. 単独投与ハツカネズミの興奮作用を増強した。
- 終わりにのぞみ、LSD-25 を恵与されたサンド社に深謝いたします。

東京大学薬学部

3) C. C. Stewart : Am. J. Physiol., **1**, 40 (1898).

4) K. M. Wilbur : Science, **84**, 274 (1936).

5) C. I. Chappel, *et al.* : J. Am. Pharm. Assoc., **46**, 497 (1957).

6) P. Dews : Brit. J. Pharmacol., **8**, 46 (1959).

7) R. Meier, *et al.* : Klin. Wschr., **32**, 445 (1954).

8) H. A. Abramson : "Neuropharmacology" 25 (1955). Josiah Macy, New York.

9) C. C. Pfeiffer, *et al.* : Science, **126**, 610 (1957).