

E1 マウス脳内遊離アミノ酸のけいれん準備性獲得 及びけいれんに伴う局所的変動に関する研究

岡山大学医学部脳代謝研究施設機能生化学部門（主任：森 昭胤教授）

鈴木 茂 生

（昭和62年 8 月 6 日受稿）

Key words : E1 マウス

けいれん準備性

脳

グルタミン酸

アミノ酸

緒 言

1959年、今泉ら¹⁾は、マウスの自然発生脳水腫の研究中、突然てんかん様けいれんを起こすマウスを発見した。その素因が優性遺伝であることが分かり、けいれん発作を有する純系マウスとして、当初 ep 系マウスと名付けられたが、その後、国際的に E1 系 F 25 代優性として登録された (1964)²⁾。E1 マウスのけいれん発作は通常体位変換刺激により誘発される。即ち、生後 4 週目より 1 週間に 2 回、板上で 80 回の放りあげ刺激を 4 週間継続することにより誘発されるようになる。以上のように、E1 マウスのけいれんは、薬物や電気などの刺激は必要とせず、しかも反復性があり、また、けいれん後も死亡しないこと、及びその素因が優性に遺伝することから、E1 マウスは実験的てんかんモデルとして最もよく使われているものの 1 つである。

生理学的には、放りあげ刺激によってけいれんが起こるようになった E1 マウス [E1(+)] の安静時において、両側性、散発性の棘状波の出現が認められ^{3,4)}、けいれん中には、高振幅の多棘波が出現することが観察されている⁴⁾。Phenobarbital⁵⁾、diphenylhydantoin^{5,6,7)}、dipropylacetate^{8,9)}、diazepam¹⁰⁾などの抗てん

かん薬で、E1 マウスのけいれんが抑制されることも知られている。また、E1 マウスのけいれん発現機構に関して、acetylcholine (Ach)^{11,12)}、catecholamine (CA)¹³⁾、5-hydroxytryptamine (5-HT)^{13,14,15)}、glutathion¹⁶⁾、RNA^{17,18)}、[¹⁴C]-2-deoxyglucose¹⁹⁾、c-AMP²⁰⁾及びカルシウム²¹⁾等が調べられている。

最近、アミノ酸系神経伝達物質のうち、抑制性神経伝達物質 [γ-aminobutyric acid (GABA)] ばかりでなく、興奮性神経伝達物質 (glutamate, aspartate) が、E1 マウスのけいれん発現機構に関与していることが示唆されている。即ち、放りあげ刺激をしていない E1 マウス [E1(-)] では、脳内の GABA 値は E1 マウスの母系であり、けいれん素因を有していない ddY マウス (ddY) に比べて高値であるが、E1 (+) のてんかん発作時には、脳内 GABA 値の変動が認められず^{22,23)}、けいれん後には増加していること²⁴⁾、ddY, E1(-) 及び安静時における E1(+)^{の脳内 GABA 値及び benzodiazepine receptor binding} には変化は認められないことが明らかにされており²⁵⁾、E1 マウスのけいれん発現機構には、GABA が直接関与していないと示唆されていた。しかし最

近, EI マウスのけいれん発作は, GABA receptor 作動薬によって抑制されることも明らかとなった²⁶⁾.

他方, EI(+)における taurine の異常が Iwata et al.²⁷⁾によって明らかにされている。即ち, 脳(大脳, 脳幹, 小脳)の taurine は, 放りあげ刺激によるけいれん開始時に有意に増加すること, 特に大脳および小脳ではけいれん発現前において著明に増加すること, また, taurine 投与により, EI(+)のけいれん閾値が上昇することが報告されている。これは EI(+)のけいれん抑制機構に taurine が関与していることを示唆するものである。また, 成瀬ら²²⁾は, 放りあげ刺激を行っていない EIマウス [EI(-)] の脳内 glutamate と glutamine は, ddY に比べて低値であると報告している。さらに, EI(+)の安静時には, aspartate および, cysteic acid 値が増加し, 発作直前期には aspartate は減少するが glutamate は発作時には変動しないこと^{23,28)}も知られている。しかし, これらはすべて全脳を一試料として測定されたものであり, 脳を部位別にして測定された報告は, まだなされていない。

従って, 本実験においては, 最初に ddY, EI(-)および安静時における EI(+)の脳内遊離アミノ酸を, 大脳皮質, 海馬, 線条体, 中脳, 橋延髄, 視床下部および小脳に部位別して測定し, 次に EI(+)について, けいれんに伴うアミノ酸の変化を上記の各組織において測定後, EI マウスのけいれん発現機構におけるアミノ酸の役割について検討をした。

実験方法

第1節 実験動物

EI(-), EI(+)および ddY(雄)を使用した。EIマウスは当教室で飼育保存しており, ddYは静岡実験動物より入手した。実験動物は12時間明暗サイクル(午前1時より午後1時までを明期)のもとで飼育した。飼料はオリエンタル酵母(MF, NMF)を使用し, 水は給水瓶で自由に摂水させた。

EI マウスにけいれんを誘発させるために, EI(-)に対して生後4週目より放りあげ刺激

(1週間に2回, 板上で約10cmの高さに80回放りあげる)を毎週連続して行った。EIマウスのけいれんの過程はすでに記載されている¹⁵⁾。実験に際しては, 同腹の EI マウスを2群に分け, その1群に放りあげ刺激を行った。なお, 放りあげ刺激群 [EI(+)] は, 毎回の放りあげ刺激により少なくとも連続して5回以上けいれんを起こすマウスを使用した。放りあげ刺激は, 朝9時から12時の間に行った。EIマウスのけいれん発作の頻度は雌雄に関係ないので, 実験には生後3~4カ月齢(体重約30g)の EI(-), EI(+)を性差なく使用し, ddY マウスも同齢のものを使用した。

ddY, EI(-), EI(+)の脳内アミノ酸の比較実験には, 各々マウス頭部をマイクロウェーブ照射(3kW, 0.2秒)で固定した。EI(+)のけいれんに伴う脳内アミノ酸の変化についての実験には, マウスを液体窒素中に投入して固定した。即ち EI(+)を, けいれん直前期(各固体のけいれんを誘発させるための放りあげ刺激回数の2/3の回数を放りあげた時), けいれん中期およびけいれん後期(けいれん後無動の状態)に固定した。ついでこれらの脳を摘出し, 氷上にて, Growinski & Iversen の方法²⁹⁾に従い, 大脳皮質, 海馬, 線条体, 中脳, 橋延髄, 視床下部及び小脳に部位別した後, 分析開始まで-30℃に保存した。

第2節 アミノ酸の測定方法

組織を秤量後, 1% picric acid を加えて homogenize した。ついで, 冷凍遠心(3,000回転, 10分)後, さらに沈査に0.01N HCl を加え, 同様に冷却遠心(3,000回転, 10分)し, 遠心後得られた上清の picric acid を, Dowex 2 X 8, 陰イオン交換樹脂カラムに流して picric acid を除き, ついで溶出液を減圧乾固した後, 希 HCl (pH 2.0) に溶解し, その溶液についてアミノ酸自動分析装置(JLC-6US, JEOL, TOKYO)を用いてアミノ酸分析を行った。

尚, 試薬は, 通常使用する市販の特級を用いた。

第3節 有意差検定

有意差検定は, Student's t-test を用いて行

った。

実験結果

第1節 ddY, EI(-), EI(+)^aの脳内遊離アミノ酸値の比較

EI(-)の aspartate は, ddY に比べて大脳皮質, 海馬, 線条体, 中脳および小脳において高値であったが, EI(+)^aの aspartate は, これらの部位において EI(-) に比べて逆に低値を示した。

EI(-)の glutamate は, 大脳皮質, 海馬, 中脳, および小脳において高値であったが, EI(+)^aの glutamate は中脳を除くこれらの部位においては EI(-) に比べて逆に低値を示した。

EI(-)の glutamine は, 大脳皮質, 海馬, 線条体, 中脳および小脳において ddY に比べて高値であったが, EI(+)^aの中脳を除くこれらの部位においては, EI(-) に比べて逆に低値を示した。

EI(-)の GABA は, ddY に比べて小脳においてのみ低値を示したが, EI(+)^aの大脳皮質, 海馬, および線条体においては EI(-) に比べて低値であった。

EI(-)の taurine は, ddY に比べて大脳皮質, 海馬, 線条体, 中脳および小脳において高値を示したが, EI(+)^aの taurine は EI(-) に比べて海馬においては低値を示したけれども, 線条

体, 中脳および小脳においては高値であった。

EI(-)の glycine は, ddY との間に有意差はなかったが, EI(+)^aの glycine は, EI(-) に比べて中脳において低く^b, 小脳において高値であった。

EI(-)の alanine は, ddY に比べて海馬と小脳において低値であったが, EI(+)^aの alanine は EI(-) に比べて海馬において低く, 小脳においては高値であった (Table 1)。

第2節 EI(+)^aのけいれんに伴う脳内アミノ酸値の変化

Aspartate は, 大脳皮質および中脳においては, けいれん直前期に減少し, けいれん中およびけいれん後も減少したままであった。橋延髄においては, けいれん直前期とけいれん後期に減少していた (Fig 1)。

Glutamate は, 大脳皮質, 海馬, 中脳および小脳においては, けいれん直前期に増加し, 海馬および中脳においては, けいれん中およびけいれん後も増加したままであった (Fig 2)。

Glutamine は, 橋延髄においては, けいれん直前期に低下し, けいれん中およびけいれん後も減少したままであった。また, けいれん中には, 大脳皮質および海馬においては減少し, けいれん後も大脳皮質においては減少していた (Fig 3)。

GABA は, けいれん直前期, けいれん中お

Table 1 Regional amino acid concentrations in mouse brain of ddY, EI(-) and EI(+)

	cortex	hippocampus	striatum	midbrain	hypothalamus	cerebellum
Aspartate	ddY	2.24±0.08(10)	1.94±0.11(9)	1.03±0.06(8)	1.46±0.11(8)	1.17±0.14(5)
	EI(-)	3.10±0.09(10) ^c	2.78±0.07(9)	1.31±0.04(8)	1.83±0.04(7) ^a	1.17±0.08(5)
	EI(+)	2.51±0.05(10) ^f	2.16±0.14(9) ^e	1.17±0.03(8) ^d	1.49±0.05(8) ^f	0.96±0.17(5)
Glutamate	ddY	9.96±0.40(10)	8.33±0.32(9)	4.40±0.15(8)	3.27±0.17(8)	3.71±0.37(4)
	EI(-)	12.43±0.20(10) ^c	12.40±0.32(10) ^c	4.80±0.17(8)	5.58±0.26(7) ^c	4.07±0.21(5)
	EI(+)	10.02±0.20(10) ^f	9.01±0.67(9) ^e	4.80±0.09(8)	5.09±0.26(8)	4.51±0.72(5)
Glutamine	ddY	4.50±0.25(10)	4.16±0.22(9)	1.90±0.18(8)	1.85±0.18(8)	2.67±0.55(5)
	EI(-)	5.98±0.20(10) ^c	6.36±0.39(9) ^c	2.39±0.11(8) ^a	2.37±0.10(7) ^a	2.22±0.27(5)
	EI(+)	4.45±0.20(9) ^f	4.18±0.37(10) ^e	1.90±0.08(8) ^e	2.00±0.13(8)	2.00±0.33(5)
GABA	ddY	2.09±0.22(10)	2.15±0.18(10)	1.48±0.20(8)	1.59±0.14(8)	3.53±0.48(4)
	EI(-)	1.61±0.05(10) ^d	1.77±0.06(10) ^d	1.33±0.06(8) ^e	1.53±0.12(8)	1.68±0.07(5)
	EI(+)	1.46±0.04(10) ^d	1.36±0.15(10) ^d	1.06±0.03(7) ^e	1.16±0.21(8)	1.44±0.27(5)
Taurine	ddY	10.25±0.39(10)	9.67±0.24(9)	5.56±0.16(8)	2.80±0.18(8)	5.34±0.99(5)
	EI(-)	13.20±0.50(10) ^c	13.00±0.65(10) ^b	5.71±0.09(8) ^a	4.06±0.36(8) ^a	3.16±0.14(5)
	EI(+)	13.90±0.23(10)	10.83±0.57(9) ^d	5.99±0.80(7) ^d	5.36±0.19(8) ^e	4.40±0.94(5)
Glycine	ddY	0.87±0.07(10)	0.93±0.07(9)	0.60±0.08(8)	0.80±0.08(8)	0.83±0.13(5)
	EI(-)	0.81±0.03(10)	0.88±0.04(9)	0.44±0.02(8)	0.90±0.03(7)	0.57±0.01(5)
	EI(+)	0.87±0.02(10)	0.80±0.07(9)	0.43±0.01(8)	0.72±0.03(7) ^e	0.63±0.09(5)
Alanine	ddY	0.73±0.09(10)	0.74±0.09(10)	0.28±0.05(8)	0.27±0.06(8)	0.28±0.06(5)
	EI(-)	0.52±0.03(10)	0.49±0.03(9) ^a	0.20±0.02(8)	0.16±0.02(8)	0.14±0.01(5)
	EI(+)	0.54±0.03(10)	0.38±0.03(10) ^d	0.19±0.02(8)	0.20±0.02(8)	0.16±0.01(5)

The values are the mean ± SEM with animal numbers in parentheses as μmol/g tissue wet weight. ^ap<0.05, ^bp<0.01, ^cp<0.001 vs ddY; ^dp<0.05, ^ep<0.01, ^fp<0.001 vs EI(-)

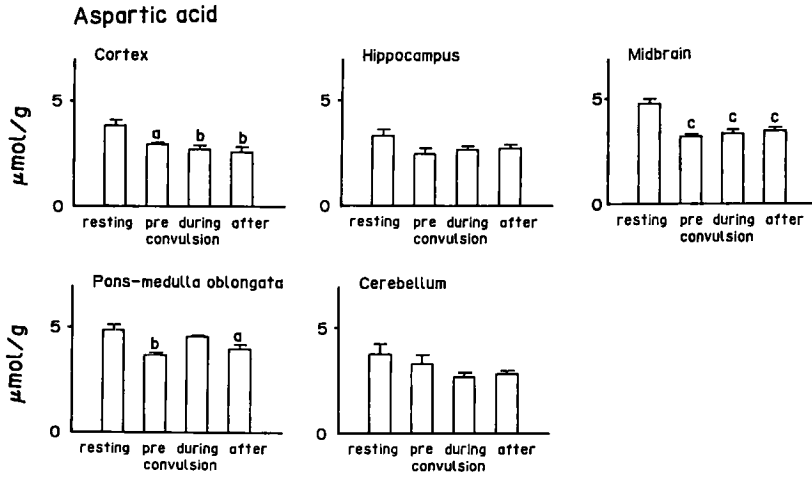


Fig. 1 Change of brain aspartate level with convulsion in E1 (+). The values are the mean \pm SEM with 6-8 animals. a $p < 0.05$, b $p < 0.01$, c $p < 0.001$ vs resting.

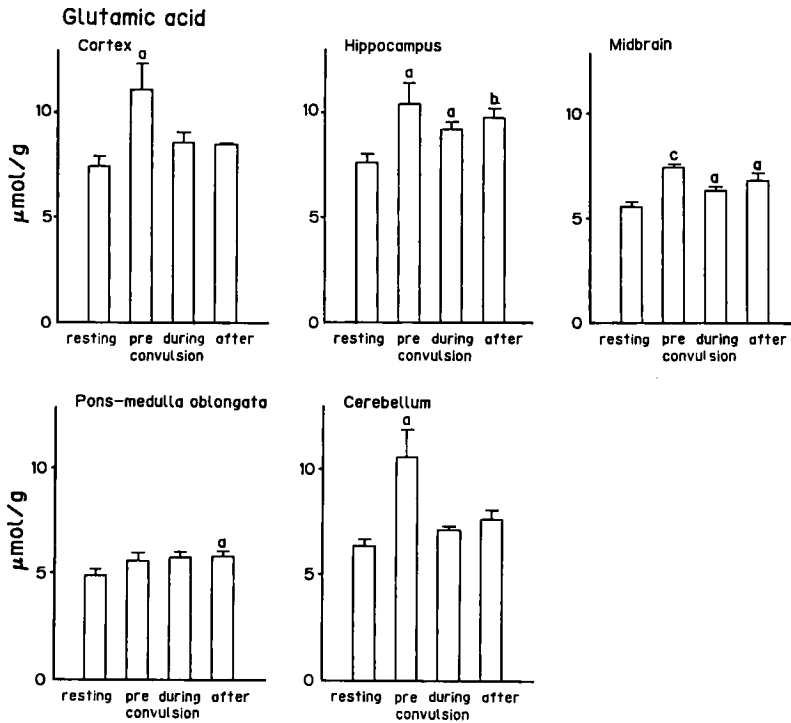


Fig. 2 Change of brain glutamate level with convulsion in E1 (+). The values are the mean \pm SEM with 6-8 animals. a $p < 0.05$, b $p < 0.01$, c $p < 0.001$ vs resting.

よびけいれん後を通じて中脳と橋延髄において減少していた。また、大脳皮質においては、けいれん直前期とけいれん後期に減少していた

(Fig 4).

Taurine は、けいれん直前期に大脳皮質と海馬において減少し、けいれん中は中脳において

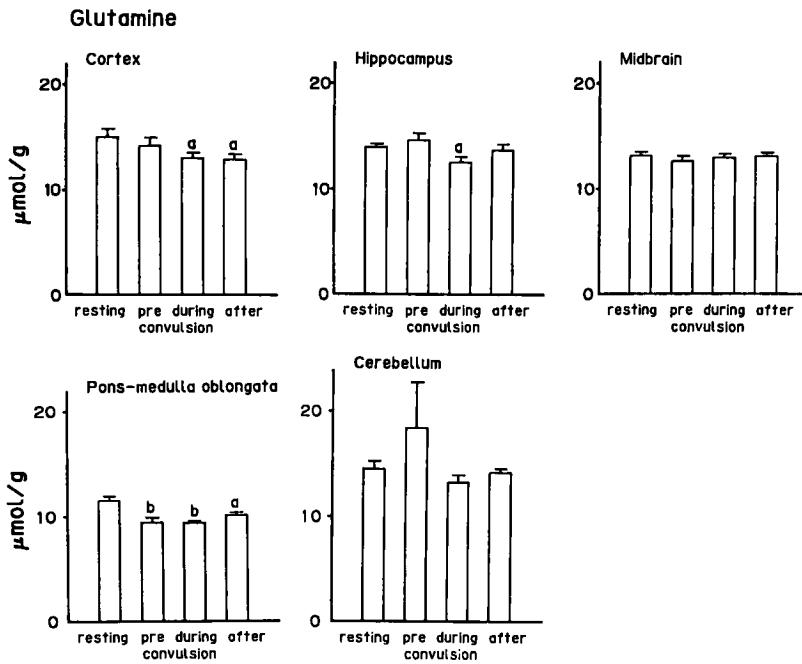


Fig. 3 Change of brain glutamine level with convulsion in E1(+). The values are the mean \pm SEM with 6-8 animals. a $p < 0.05$, b $p < 0.01$, vs resting.

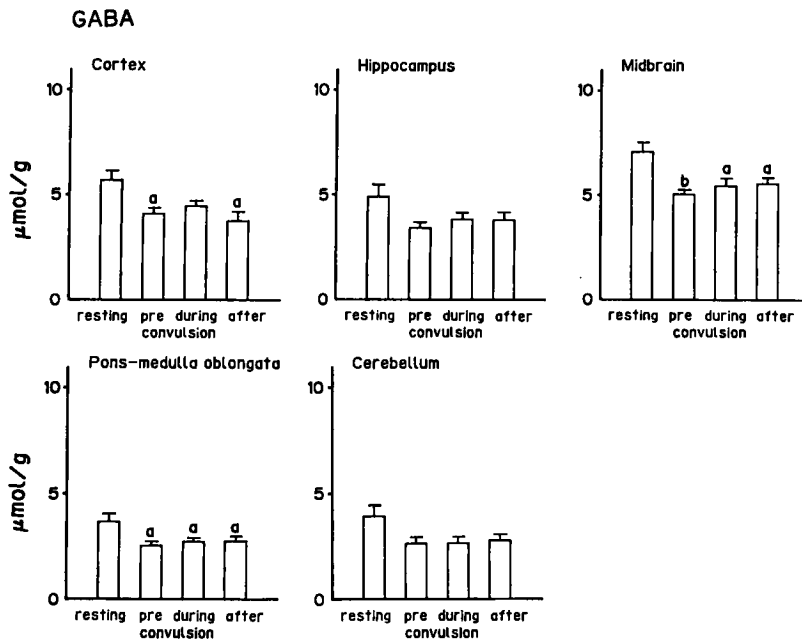


Fig. 4 Change of brain GABA level with convulsion in E1(+). The values are the mean \pm SEM with 7-8 animals. a $p < 0.05$, b $p < 0.01$, vs resting.

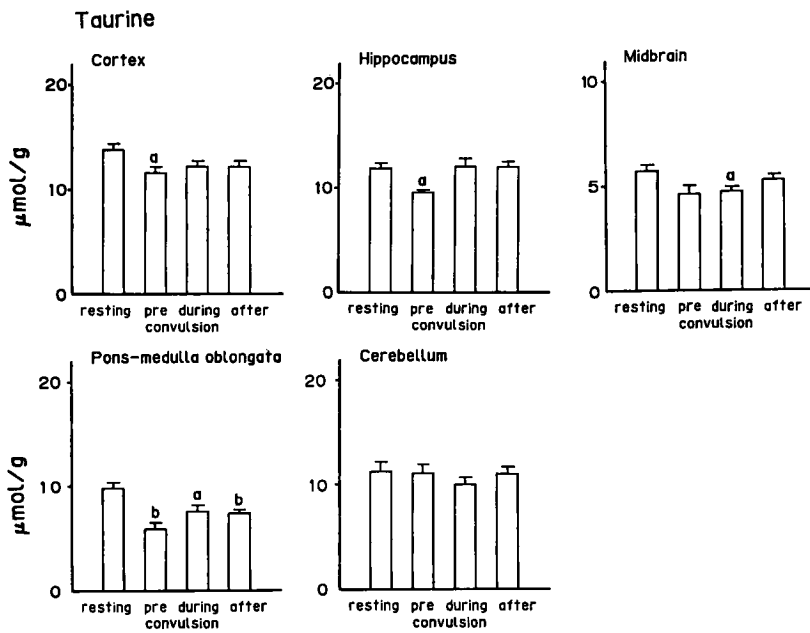


Fig. 5 Change of brain taurine level with convulsion in E1(+). The values are the mean \pm SEM with 6-8 animals. a $p < 0.05$, b $p < 0.01$, vs resting.

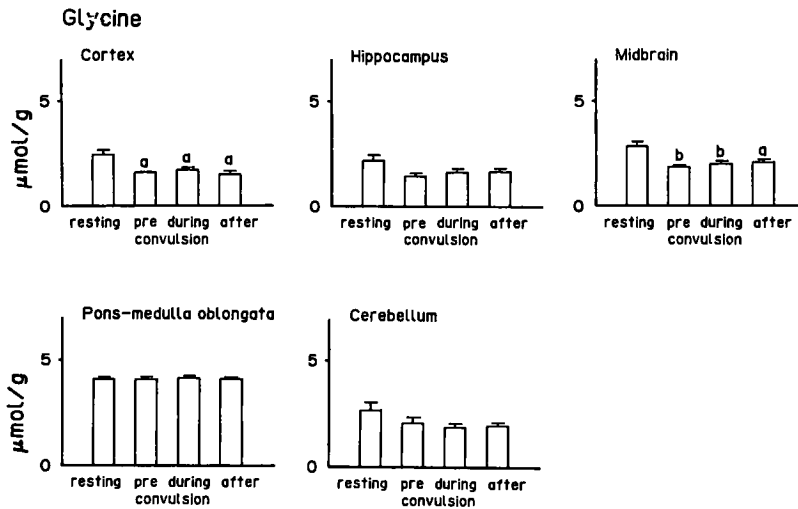


Fig. 6 Change of brain glycine level with convulsion in E1(+). The values are the mean \pm SEM with 6-8 animals. a $p < 0.05$, b $p < 0.01$, vs resting.

減少していた。また、橋延髄においてはけいれん直前期、けいれん中およびけいれん後期においても減少していた (Fig 5)。

Glycine は、大脳皮質と中脳においては、けいれん直前期、けいれん中およびけいれん後期を通じて減少していた (Fig 6)。

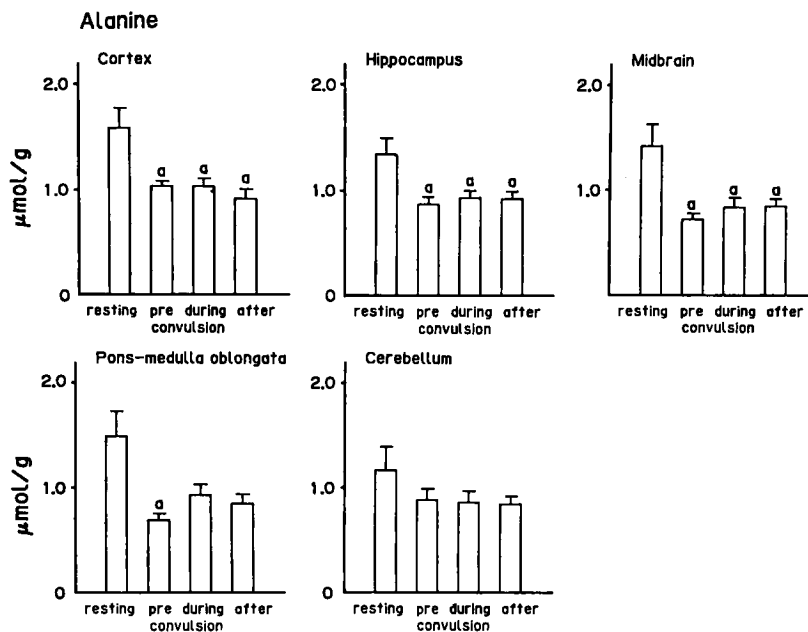


Fig. 7 Change of brain alanine level with convulsion in E1(+). The values are the mean \pm SEM with 7-8 animals. a $p < 0.05$, vs resting.

Alanine は、大脳皮質、海馬および中脳においては、けいれん直前期、けいれん中およびけいれん後期を通じて減少していた。また橋延髄においてはけいれん直前期のみ減少していた (Fig 7)。

考 察

Glutamate や aspartate を脳室内に投与したり、大脳皮質に直接投与すると、強直性間代性けいれんが誘発されることは、林の報告 (1959)³⁰⁾ 以来よく知られており、これらのアミノ酸の神経細胞に対する興奮性作用が詳細に検討されている^{31,32)}。

実験てんかんモデルについての興奮性アミノ酸神経伝達物質の異常に関しては、エチルクロライドによって形成されたネコ大脳皮質焦点組織において、glutamate, aspartate および glutathione が減少していること³³⁾ や、コバルト焦点組織において glutamate および aspartate が減少していること^{34,35)} が知られている。コバルト焦点においては glutamate の放出亢進が

認められ、この遊離した glutamate が興奮性に作用すると考えられている³⁵⁾。今回の実験成績においては、E1(-) の glutamate および aspartate は、大脳皮質、海馬、中脳および小脳において、いずれも ddY に比し、有意に高値であるが、E1(+) になると E1(-) に比し有意に減少しており、コバルト焦点におけると同様に、それらのアミノ酸の放出亢進が示唆された。

さらに、E1 マウスの脳内アミノ酸について若干の報告がなされている。すなわち、放りあげ刺激によりけいれん準備性を獲得した E1(+) の脳内 aspartate および cysteic acid 値は上昇していること²³⁾、および E1(+) の放りあげ刺激による発作直前期においては aspartate が減少していることが明らかにされている²³⁾。Cysteic acid は、glutamate や aspartate と同様に強力な興奮性アミノ酸であるが、E1(+) では安静時において増加しており、発作直前期に放出されることが想定されている。

次に、けいれんの経過に伴うアミノ酸の変化

として、glutamateは大脳皮質、海馬、中脳および小脳において、けいれん直前期に著明に増加しており、けいれん中には低下するが、なお海馬、中脳においては、安静時の値より高値を保っており、けいれん後も高値であった。

最近、興奮性アミノ酸神経伝達物質のレセプターに対するアゴニストであるN-methyl-D-aspartate (NMDA)⁴¹⁾に対して、D-(-)-2-amino-5-phosphonovalerate (AP5)と2-amino-7-phosphonoheptanoate (AP7)が強力に拮抗し、AP5の結合部位は、海馬や大脳に豊富にあり、興奮性アミノ酸神経伝達物質の中でglutamateがAP5レセプターと最も高親和性に結合することなどが明らかにされている⁴¹⁾。Mori et al.⁴³⁾はAP5をEIマウスの脳室内に投与すると、EI(+)⁴³⁾のけいれんは完全に抑制されることを観察し、AP5の投与により脳内glutamateが有意に低下することを報告している。また、Kown²⁶⁾は、GABA receptor作動薬のmusimolとdiazepamをそれぞれEI(+)⁴³⁾の腹腔内に投与すると、けいれんは完全に抑制され、その際脳内のglutamateは増加するが他のアミノ酸は変化のないことを明らかにしている。他のけいれんモデルの扁桃核キンドリングにおいては、けいれんが発現する段階にglutamateの著明な放出が認められること、およびけいれん発現はAP5およびAP7により著明に抑制されること³⁹⁾が報告されている。また、コバルト焦点形成にはglutamateの放出が関与しているという知見³⁵⁾も勘案すると、EIマウスのけいれん発現機構には、glutamatergic neuroneの過活動が関与していることが想定され、特に、glutamateの過剰放出がEIマウスの誘発けいれんのtriggerとなっていることが示唆される。

次に、GABA系神経伝達機構に関しては、すでにVan Gelder et al.³⁴⁾、やKoyama³⁵⁾がてんかん患者大脳焦点組織やコバルト焦点組織においてGABAが減少していることを見出している。Robert³⁷⁾らは、サルアルミナクリームによるてんかん焦点の形成には、GABAergic neurone終末の減少が関与していることを考えている。また、キンドリングモデル³⁸⁾お

よび聴原発作マウス (DBA/2J)³⁹⁾の脳内に、GABA系の異常があることが知られている。また、てんかん患者髄液中のGABAは、1日1回以上発作を有する発作高頻度患者についてはGABA値の低下が認められている⁴⁰⁾。今回の実験成績においては、EI(-)の小脳のGABA値はddYに比し低く、EI(+)⁴³⁾のGABA値はEI(-)に比し大脳皮質、海馬、および線条体において低値であった。これらの成績は、上述の知見と合致し、EIマウスの脳にはGABAergic neuroneの何らかの異常があることを示している。

Taurineのけいれんに伴う変化は部位的に異なるが、大脳、海馬および橋延髄で、けいれん前期より減少し、中脳、橋延髄でけいれん中に減少していることが分かったが、それらの変化の方向がいずれも、Iwataらの報告、すなわち、けいれんに伴う全脳におけるtaurineの増加とは異なっていた。これらの相違は本実験において、部位別についての分析を行ったためとするよりむしろ、けいれんの時期の選び方あるいは試料の作成の方法(断頭と液体窒素)によるものかもしれない。

Van Gelderは、てんかん患者血漿中のtaurineおよびglutamate値は低下しており、尿中のglutamate排泄も減少することを明らかにし、taurineはglutamateの調節を行っていることを示唆した³⁶⁾。今回の成績においてはEIマウスでは、taurine、aspartateおよびglutamateが各部位ともddYに比し高値であるが、EI(+)⁴³⁾ではEI(-)に比べてglutamateおよびaspartateは低値であり、GABAも低値であった。しかしtaurineは、海馬を除く5部位においては高値であった。すなわち、EI(+)⁴³⁾においては、EI(-)に比べてglutamateは低く、taurineは高かったが、このことはtaurineのglutamate調節機能と関係があるかもしれない。

結 論

EI(-)、EI(+)⁴³⁾およびddYの脳内遊離アミノ酸値ならびに、EI(+)⁴³⁾のけいれん直前期、けいれん中およびけいれん後期の脳内遊離アミ

ノ酸値を、大脳皮質、海馬、線条体、中脳、橋延髄および小脳において測定し、次のことを明らかにした。

1. E1 (-) は ddY に比べて, aspartate, glutamate, glutamine および taurine の値が高かった。
2. E1 (+) は E1 (-) に比べて aspartate, glutamate, glutamine および GABA の値が低かった。
3. 視床下部においては, ddY, E1(-) および E1(+) 間に有意差は認められなかった。
4. E1(+) のけいれん直前期に特異的に glutamate が増加していたが, 他のアミノ酸は逆に低下していた。
5. けいれんに伴うアミノ酸の変動は, 特に大

脳皮質, 海馬, および中脳において顕著であった。

以上の実験成績から, E1 マウスのけいれん発現機構には, glutamatergic neurone が大きく関与していることが示唆された。

謝 辞

稿を終るに臨み, 終始御懇篤な御指導とご校閲を賜りました森 昭胤教授, ならびに直接御指導, 御協力いただきました平松 緑博士に深く感謝の意を捧げます。また, 本研究の遂行にあたりご援助いただいた枝松 礼嬢及び教室の皆様から御礼申し上げます。

本研究の要旨は, 第20回日本てんかん学会において発表した。

参 考 文 献

1. 今泉 清, 伊藤昭吾, 杏掛源次郎, 滝沢竜安, 藤原公策, 土川 清: マウスのでんかん様異常について。実験動物 (1959) 8, 6-10.
2. Imaizumi K and Nakano T: Mutant stocks, strain: E1, Mouse Newslett (1964) 31, 57.
3. 杉生了亮: ep 系マウスの脳波ならびに各種抗痙攣剤のこれに及ぼす影響について。岡山医誌 (1963) 75, 161-178.
4. Suzuki J: The paroxysmal discharges of the EEG in E1 mouse. Experimentia (1976) 32, 336-338.
5. 矢部 徹: 痙攣の神経化学的研究-第一報: ep 系マウスの痙攣発作について。精神誌 (1959) 61, 1683-1690.
6. 笠原潤治: ep 系マウスの痙攣阻止に関する実験的研究。第1編各種抗痙攣剤の ep 系マウス痙攣発作に及ぼす影響について。岡山医誌 (1962) 74, 567-571.
7. Matsumoto Y, Hiramatsu M and Mori A: Effects of phenytoin on convulsions and brain 5-hydroxytryptamine levels in E1 mice. IRCS Med Sci (1983) 11, 837.
8. 松本幸治, 平松 緑, 森 昭胤: E1 マウス痙攣に対するフェニトイン及びバルプロ酸の抑制効果と脳内セロトニンに及ぼす影響について。脳研究会誌 (1984) 10, 60-61.
9. 村田祐一, 岡本正樹, 入道秀樹: E1 マウスのでんかんとその脳内γ-アミノ酪酸, アスパラギン酸濃度に与えるバルプロ酸と aminooxyacetic acid の作用について。神経化学 (1982) 21, 300-302.
10. Hiramatsu M, Kabuto H, Kown MJ and Mori A: Epilepsy Res (1988) in press.
11. Kurokawa M, Machiyama Y and Kato M: Distribution of acetylcholine in the brain during various states of activity. J Neurochem (1963) 10, 341-348.
12. Naruse H, Kato M, Kurokawa M, Haba R and Yabe T: Metabolic defects in a convulsive strain of mouse. J Neurochem (1960) 5, 359-369.
13. Hiramatsu M: Brain monomine levels and E1 mouse convulsions. Folia Psychiat Neurol Jpn (1981) 35, 261-266.
14. Hiramatsu M: Brain 5-hydroxytryptamine level, metabolism, and binding in E1 mice. Neurochem Res (1983) 8, 1163-1175.

15. Hiramatsu M, Ogawa K, Kabuto H and Mori A : Reduced uptake and release of 5-hydroxytryptamine and taurine in the cerebral cortex of epileptic El mice. *Epilepsy Res* (1987) 1, 40-45.
16. Hiramatsu M and Mori A : Reduced and oxidized glutathione in brain and convulsions. *Neurochem Res* (1981) 6, 301-306.
17. Onishi H, Yamagami S, Mori K and Kawakita Y : Effect of convulsions of the synthesis of heterogeneous nuclear RNA associated with polyadenylate and oligodeenylate sequences from El mouse brain as a convulsive strain. *Exp Neurol* (1984) 83, 98-107.
18. Yamagami S, Ohno K, Tsuji M, Mori K and Kawakita Y : Developmental alteration in RNA metabolism of El mouse brain. *Folia Psychiatr Neurol Jpn* (1981) 35, 253-260.
19. Suzuki J, Nakamoto Y and Shinkawa Y : Local cerebral glucose utilization in epileptic seizures of the mutant El mouse. *Brain Res* (1983) 266, 359-363.
20. Hiramatsu M, Niiya-Nishihara H and Mori A : Brain cyclic nucleotide levels and convulsions in El mice. *IRCS Med Sci* (1983) 11, 819-820.
21. Mody I, Baimbridge KG and Miller JJ : Distribution of Calbindin-D_{28K} (CaBP) in the cerebral cortex and hippocampus of the epileptic (El) mouse. *Epilepsy Res* (1987) 1, 40-45.
22. 成瀬 浩 : 痙攣の神経化学的研究—第3報 : 脳アンモニア及びアミノ酸について. *精神誌* (1959) 61, 1701-1710.
23. 竹内直司 : Elマウスの痙攣素因ならびに痙攣発作時における脳遊離アミノ酸値の変動に関する研究. *阪大医誌* (1968) 20, 387-398.
24. Hattori H, Ito M and Mikawa H : γ -Aminobutylic acid, benzodiazepine binding sites and γ -aminobutylic acid concentrations in epileptic El mouse brain. *Eur J Pharmacol* (1985) 119, 217-223.
25. 小川紀雄 : 未発表
26. Kown MJ : GABA系作動薬のElマウスけいれん及び脳内アミノ酸に及ぼす影響に関する研究. *岡山医誌* (1988) 99, 1-23.
27. Iwata H, Yamagami S, Lee E, Matsuda T and Baba A : Increase of brain taurine contents of El mice by physiological stimulation. *Jpn J Pharmacol* (1979) 29, 503-507.
28. Honda T : Amino acid metabolism in the brain with convulsive disorders. Part I : Free amino acid patterns in the brain of El mouse with convulsive seizure. *Brain Development*. (1984) 6, 18-26.
29. Glowinski J and Iversen L : Regional studies of catecholamines in the rat brain-I. *J Neurochem* (1966) 13, 655-669.
30. Hayashi T : Neurophysiology and Neurochemistry of Convulsion. *Dainihon-Tosho* (1959).
31. Curtis D R and Johnston G A R : Amino acid transmitters in the mammalian central nervous system. *Ergebn Physiol Biol Chem Exp Pharmkol* (1974) 69, 97-188.
32. Watkins J C and Evans R H : Excitatory amino acid transmitters. *Ann Rev Pharmacol Toxicol* (1981) 21, 165-204.
33. Berl S, Purpura DP, Griado M and Waelsch H : Amino acid metabolism in the epileptogenic and non-epileptogenic lesions of the neocortex (cat). *J Neurochem* (1959) 4, 311-317.
34. Van Gelder NM and Courtois A : Close relation between changing content of specific amino acids in epileptogenic cortex of cats and severity of epilepsy. *Brain Res* (1972) 43, 477-484.
35. Koyama I : Amino acids in the cobalt-induced epileptogenic and nonepileptogenic cat's cortex. *Can J Physiol Pharmacol* (1972) 50, 740-752.
36. Van Gelder NM, Sherwin AI, Sacks C and Andermann F : Biochemical observations following administration of taurine to patients with epilepsy. *Brain Res* (1975) 94, 297-306.

37. Ribak CE, Harris AB, Vaughn JE : Inhibitory, GABAergic nerve terminals decrease at sites of focal epilepsy. *Science* (1979) 205, 211-214.
38. Laid HE, Dailey JW, Jobe PC : Neurotransmitter abnormalities in genetically epileptic rodents. *Fed Proc* (1984) 43, 2505-2509.
39. McNamara JO : Role of neurotransmitters in seizure mechanisms in the kindled model of epilepsy. *Fed Proc* (1984) 43, 2516-2520.
40. 山本光利, 久郷敏明, 小川紀雄, 黒田広生, 森 昭胤, 高橋 茂, 細川 清, 大月三郎 : てんかん患者髄液中のγ-アミノ酪酸. *神経精神薬理* (1982) 4, 347-349.
41. Watkins JC : Excitatory amino acids and central synaptic transmission. *Trends Pharmacol Sci* (1984) 5, 373-376.
42. Olverman HJ, Jones AW and Watkins JC : L-Glutamate has higher affinity than other amino acid for [³H]-D-AP5 binding sites in rat brain membranes. *Nature* (1984) 307, 460-465.
43. Mori A, Yokoi I and Kabuto H : 2-Amino-5-phosphonopentanoate prevents convulsions and decreases cerebral glutamate level in E1 mice. *IRCS Med Sci* (1986) 14, 475.
44. Peterson DW, Collins JF and Brandford HF : The kindled amygdala model of epilepsy ; anticonvulsant action of amino acid antagonists. *Brain Res* (1983) 275, 169-180.

**Regional changes in amino acid levels in the brain of El mice
due to convulsive disposition and seizures**

Shigeo SUZUKI

**Department of Neurochemistry, Institute for
Neurobiology, Okayama University Medical School**

(Director : Prof. A. Mori)

Inbred mutant El mice are highly susceptible to convulsive seizures upon stimulation by "throwing". Amino acid levels were analyzed in the cortex, hippocampus, midrain, hypothalamus, pons-medulla oblongata and cerebellum of non-stimulated El mice [El (-)], of stimulated El mice [El (+)] during the interictal period and ddY mice (ddY) (controls) using an amino acid analyzer. Levels of aspartate, glutamate, glutamine and taurine were generally higher in the brains of El mice than those of ddY mice. Levels of aspartate, glutamate and GABA were lower in the brains of El (+) mice than those of El (-) mice. No significant difference was found in the hypothalamus.

In addition, changes in amino acid levels were examined during the pre-convulsive stage, during convulsions and after convulsions of El (+) mice. The glutamate level was generally increased during the pre-convulsive stage, but other amino acids such as aspartate, glutamine, GABA and taurine were decreased at that time compared to the interictal levels. These changes in amino acids were mostly found in the cortex, hippocampus and midbrain.

These results suggest that glutamate may play a role in the triggering of seizures in El mice.