

# GABA 系作動薬のE1 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)

Michael J. KWON

(昭和62年8月8日受稿)

**Key words** : GABA 系作動薬

E1 マウス

脳

アミノ酸

けいれん

## 緒 言

$\gamma$ -Aminobutyric acid (GABA) は哺乳動物の脳に高濃度に存在しており、中枢神経系の主要な抑制性神経伝達物質であることを示す多くの証拠が提示されており<sup>1)</sup>、てんかんあるいはけいれんのメカニズムにも GABA は抑制性神経伝達物質として、深く関与していることが明らかにされつつある<sup>2-6)</sup>。

GABA によるてんかんの治療は早期より Tower<sup>7,8)</sup> によって試みられていた。しかし、大量投与 (例えば 2 mmol/kg × 4 回/1 日) によって発作の消失した若干の症例は認められたけれども、一般的には必ずしも発作に対して有効ではなく、その理由として GABA は blood-brain barrier を通過し難いことが挙げられていた。

従って、GABA によるてんかんの治療は、直接 GABA それ自体を投与するのではなく、内因性の GABA の分解を抑制して、脳内 GABA 濃度を高めること、GABA-receptor に有効に作用させること、GABA の GABA-receptor に対する親和性を増加させる薬物を用いること、あるいは blood-brain barrier を通過しやすい GABA agonist を使用すること、

などにより GABA 系神経伝達機構を強化しようとする試みに変わってきた。すなわち、現在使用されている、あるいは、開発されつつある抗てんかん薬のうち、GABA 系神経伝達機構に関与して作用するとされる薬物には次のようなものがある (Fig. 1 参照)。

- 1)  $\gamma$ -Vinyl GABA<sup>9,10)</sup> は、GABA 分解酵素である GABA transaminase (GABA-T) を阻害する。
- 2) Na-dipropylacetate (Na-valproate)<sup>11)</sup> は、同様に succinic semialdehyde dehydrogenase を阻害する。
- 3) Benzodiazepines<sup>12)</sup> は、GABA receptor の構造を allosteric に変化させて、GABA の GABA-receptor への親和性を増強させる。
- 4) Progabide<sup>13)</sup> は、GABA receptor の agonist として作用する。
- 5) Baclofen<sup>14)</sup> は、GABA<sub>B</sub> receptor に特異的な agonist である。

本研究においては、上記の薬物のうち、 $\gamma$ -vinyl GABA, diazepam, progabide, 及び baclofen, 並びに、それらに加えて、毒性が強いため臨床的応用はなされていないけれども、GABA<sub>A</sub> receptor の特異的な agonist として知

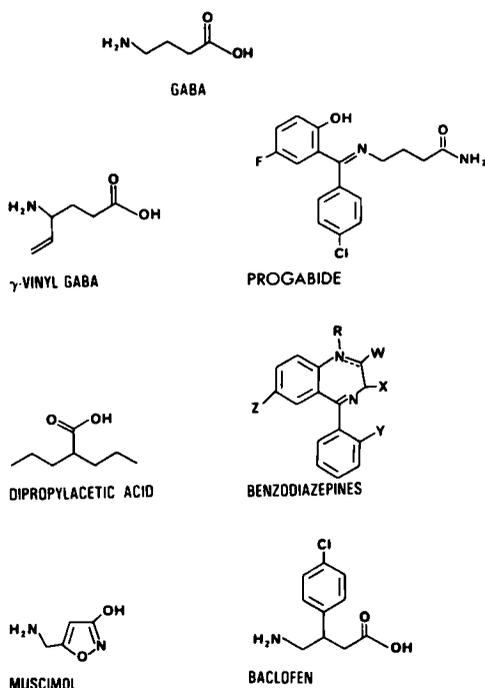


Fig. 1 Structural formulae of GABAergic agents.

られている muscimol<sup>13,16</sup>のEIマウス(自然発症てんかんモデル動物)<sup>17,18</sup>のけいれん発作に対する抑制作用を調べるとともに、EIマウス脳内アミノ酸、特に中枢神経系の興奮と抑制に関与することの知られている glutamic acid (Glu), aspartic acid (Asp), GABA, glycine (Gly), taurine (Tau) などに対する作用を検討した。なお、Na-valproateのEIマウス抑制作用については村田らによって報告<sup>19</sup>がなされている。

## 実験材料及び方法

### 1. 実験動物

EIマウスは当施設にて、室温25℃、12時間明暗サイクル(午後1時より午前1時を暗期)で飼育しているものを使用した。生後約7週齢より、EIマウスに対してけいれんを誘発させる放り上げ刺激を1週間に2回行い、連続して5回以上けいれん発作をおこしたものを実験に供した。なお、実験群及び対照群はいずれも雌雄を問わず5匹を一群とした。

## 2. 薬物及び投与方法

$\gamma$ -Vinyl GABAはImperial College of Science and Technology (London), H. F. Bradford教授より、diazepamは武田薬品工業株式会社より、progabideは藤沢薬品工業株式会社を通じてL.E.R.S., Synthelaboより、baclofenは日本チバガイギー株式会社よりそれぞれ恵与されたものを使用した。MuscimolはSigma Chemical Companyより購入して使用した。投与方法は下記のごとくである。

- $\gamma$ -Vinyl GABA : 生理食塩水に溶解して、1500mg/kgを腹腔内投与。
- Muscimol : 生理食塩水に溶解して3mg/kgを腹腔内投与。
- Progabide : 生理食塩水に suspend して、100mg/kgを腹腔内投与。
- Diazepam : Dimethyl sulfoxide (DMSO) と水に溶解 (DMSO 1に対応して水3容を加える) して32mg/kgを腹腔内投与。
- Baclofen : 生理食塩水に溶解して20mg/kgを腹腔内投与。

なお、diazepam以外の対照群にはそれぞれ生理食塩水を同量腹腔内投与した。また、diazepamの対照群にはそのvehicleを同量腹腔内投与した。

以上の投与量はそれぞれ関連した薬理学的研究報告を参照して決定した( $\gamma$ -vinyl GABA<sup>9</sup>, muscimol<sup>20</sup>, progabide<sup>13</sup>, diazepam<sup>21</sup>, baclofen<sup>22</sup>)。

### 3. けいれん抑制効果の判定

それぞれの薬物投与1時間後にけいれんを誘発させる放り上げ刺激<sup>23</sup>(約10cmの高さに空中へ80回まで放り上げる)を行い、抑制効果を判定した。

### 4. 試料の採取及びアミノ酸分析

それぞれの薬物投与1時間後に断頭し、すばやく全脳を摘出し、大脳-小脳間を垂直に切断して小脳を除いた脳試料を秤量後、直ちに1% picric acidを加えてhomogenizeし、その上清部分にDowex 2×8(Cl型)を加えて過剰な

picric acid を除いたのち, rotary evaporator を用いて濃縮・乾固し, その残査を0.01M 塩酸 (pH 2.2) に溶解して, アミノ酸分析用試料とした。アミノ酸分析は, アミノ酸自動分析装置 (医理科工業, A-5500E) を用いて行った。

### 5. 統計処理

得られた実験成績の有意差検定は Student t-test によった。

## 実験成績

### 1. $\gamma$ -Vinyl GABA

EI マウスに  $\gamma$ -vinyl GABA (1500mg/kg) を腹腔内投与すると, 注射約15分後より行動量が減少し, 一定の位置にうずくまり, 鎮静状態を示した。また, 1時間後に放り上げ刺激を行うと全例とも EI マウス固有のけいれん発作が誘発されなかった。

同様に  $\gamma$ -vinyl GABA を投与して1時間後, けいれん誘発試験を行わなかった別群の EI マウスについて, 脳内アミノ酸分析を行った結果, GABA 含有量が, 対照群の約2倍に増加していることが観察された (Fig. 2)。なお, Glu, glutamine (Gln), Asp, Gly, alanine (Ala) などのアミノ酸には全く変動が認められなかった。

### 2. Muscimol

EI マウスに muscimol (3 mg/kg) を腹腔内投与すると, EI マウスは注射約10分後よりうずくまり, 極度の無動状態となり, 外部より刺激してもほとんど反応しなくなった。また, 1時間後に放り上げ刺激を行うと, 全例ともけいれん発作が誘発されなかった。

同様に muscimol を投与して1時間後, けいれん誘発試験を行わなかった別群の EI マウスについて, 脳内アミノ酸分析を行った結果, Gln の有意な増加が認められた (Fig. 3)。Glu は減少しているけれども統計的に有意ではなかった。他のアミノ酸にはまったく変化が認められなかった。

### 3. Progabide

EI マウスに progabide 100mg/kg を腹腔内投与すると, 注射後10~15分より EI マウスは行動量が減少し, 鎮静状態を呈した。また, 1時

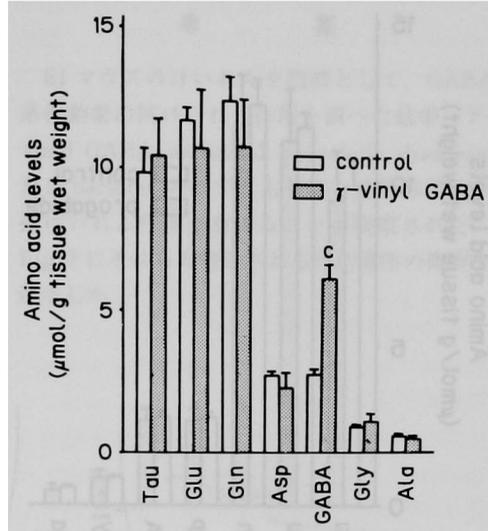


Fig. 2 The effects of  $\gamma$ -vinyl GABA on amino acid levels in EI mouse brain. The values are the means  $\pm$  SD of 5 samples. <sup>c</sup>p < 0.001, compared with control.

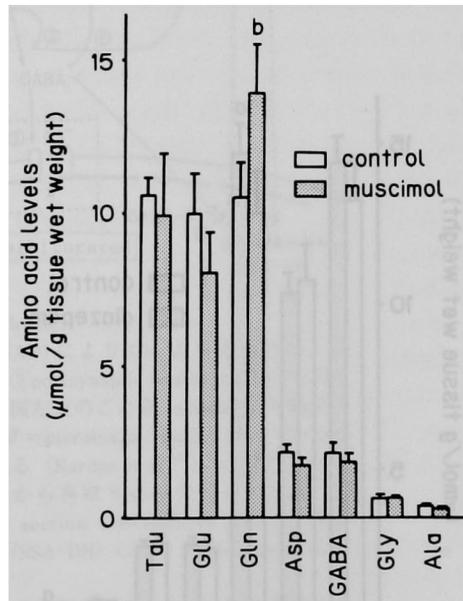


Fig. 3 The effects of muscimol on amino acid levels in EI mouse brain. The values are the means  $\pm$  SD of 5 samples. <sup>b</sup>p < 0.01, compared with control.

間後に放り上げ刺激を行うと, 全例ともけいれん発作が誘発されなかった。

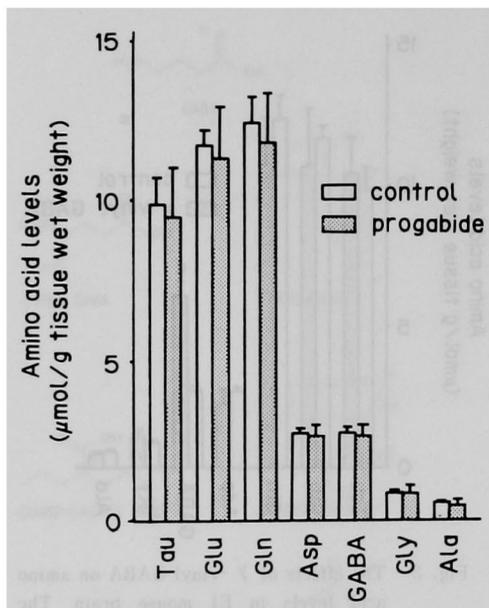


Fig. 4 The effects of progabide on amino acid levels in E1 mouse brain. The values are the means  $\pm$  SD of 5 samples.

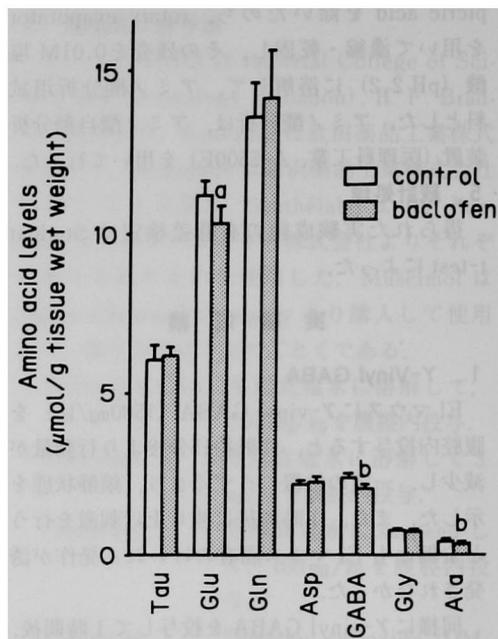


Fig. 6 The effects of baclofen on amino acid levels in E1 mouse brain. The values are the means  $\pm$  SD of 5 samples. <sup>a</sup> $p < 0.05$ , compared with control. <sup>b</sup> $p < 0.01$ , compared with control.

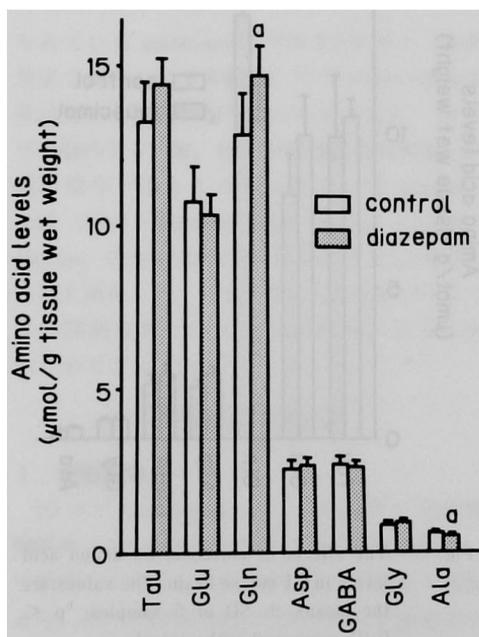


Fig. 5 The effects of diazepam on amino acid levels in E1 mouse brain. The values are the means  $\pm$  SD of 5 samples. <sup>a</sup> $p < 0.05$ , compared with control.

同様に progabide を投与して1時間後、けいれん誘発試験を行わなかった別群の E1 マウスについて、脳内アミノ酸分析を行った結果、GABAを含めて、いずれのアミノ酸にも変化が認められなかった (Fig. 4).

#### 4. Diazepam

E1 マウスに diazepam (32mg/kg) を腹腔内投与すると、約10分後より行動量が著明に減少し、鎮静状態を呈した。また、1時間後に放り上げ刺激を行うと、全例ともけいれん発作が誘発されなかった。

同様に diazepam を投与して1時間後、けいれん誘発試験を行わなかった別群の E1 マウスについて、脳内アミノ酸分析を行った結果、Gln の有意な増加が認められた (Fig. 5)。なお、そのさい Glu には変化が認められず、他のアミノ酸にも有意な変化は認められなかった。

#### 5. Baclofen

E1 マウスに balofen (20mg/kg) を腹腔内投

与すると、約10分後より行動量が著明に減少し、鎮静状態を呈した。また、1時間後に放り上げ刺激を行うと、全例ともけいれん発作が誘発されなかった。

同様に baclofen を投与して1時間後、けいれん誘発試験を行わなかった別群のE1マウスについて、脳内アミノ酸分析を行った結果、GABA、Glu 及び Ala の有意な減少が認められた (Fig. 6)。

## 考 案

E1マウスのけいれんを指標として、GABA系作動薬の抗けいれん作用を調べた結果、 $\gamma$ -vinyl GABA, muscimol, progabide, diazepam 及び baclofen のいずれも著明な鎮静作用及び抗けいれん作用を有することが観察された。Fig. 7 にそれらの想定される作用機序の概要を图示した。

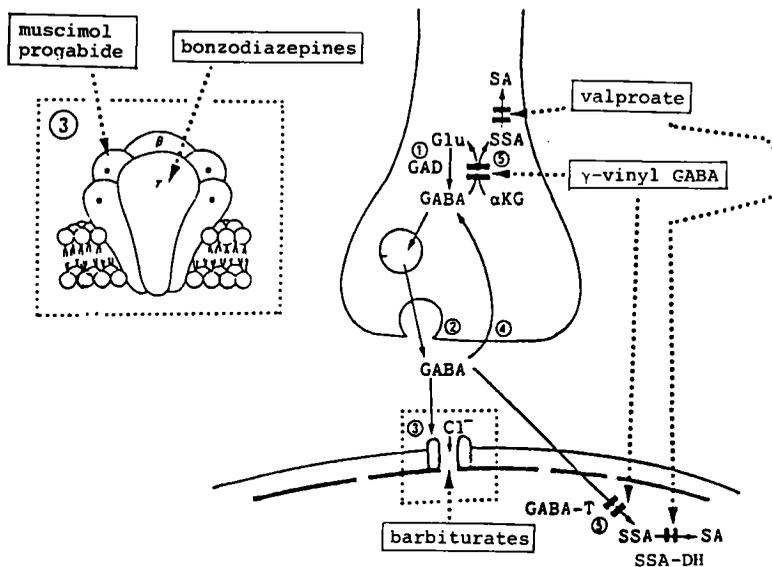


Fig. 7 GABAergic Synapse and Antiepileptics.

①GABA は glutamic decarboxylase (GAD) により Glu より生成され、② GABAergic synapse 終末から放出され、③postsynaptic membrane 上の GABA receptor に結合する。GABA receptor は図左上のごとき subunits より構成されており、 $\alpha$  = GABA recognition site;  $\beta$  = picrotoxine binding site;  $\gamma$  = benzodiazepine binding site と考えられている (Kardos et al<sup>30)</sup>)。④放出された GABA の一部は presynaptic membrane から再取り込みされる。また、⑤ GABA-transaminase (GABA-T) により succinic semialdehyde となり、次いで succinic semialdehyde dehydrogenase (SSA-DH) により succinic acid (SA) になり、TCA cycle に入り分解される。

$\gamma$ -Vinyl GABA や valproate は GABA の分解を阻害して、GABA 濃度を高め、GABA receptor への GABA の有効濃度を上昇させる。Muscimol や progabide は GABA agonist として直接 GABA receptor ( $\alpha$  subunit) に作用する。Benzodiazepines は benzodiazepine binding site ( $\gamma$ -subunit) に結合して  $\alpha$  subunit への GABA の親和性を高める。その他、barbiturates は GABA receptor 調節の Cl イオンの透過性を亢進させるごとく作用する<sup>31)</sup>。

Baclofen の作用部位は muscimol, progabide 及び benzodiazepine と異なり、GABA<sub>B</sub> receptor である。

$\gamma$ -Vinyl GABA は GABA transaminase の irreversible inhibitor である<sup>9,10)</sup> ため、脳内 GABA の分解が阻害され、ヒトに投与すると髄液中の GABA 値が数倍に上昇することが知られている<sup>24)</sup>。  $\gamma$ -Vinyl GABA はてんかん患者に対してもすでに治験が進められており、その抗てんかん作用が報告されている<sup>25,26,27)</sup> が、El マウスについての実験に示されたごとく、  $\gamma$ -vinyl GABA は特異的に脳内 GABA 濃度を高め、GABA receptor へ GABA 結合量を増加させることにより、その抑制機能を発揮するものと考えられる。

Muscimol は GABA<sub>A</sub> receptor の特異的な agonist として著名であり<sup>15,16)</sup>、isoniazide 誘発けいれんに対する抑制効果なども報告されている<sup>20)</sup>。 El マウスに対しても強い抗けいれん作用を示し、muscimol は El マウスの GABA<sub>A</sub> receptor に対して直接 agonist として作用することが理解された。なお、muscimol 投与により脳内 Gln 値が上昇したが、過剰の muscimol により GABA receptor に利用されるべき GABA 量が減少したための feed back として、Glu よりの GABA 合成系 (glutamic decarboxylase) の活性低下と、併せて Glu より Gln 合成系 (glutamine synthetase) の活性亢進が起こったのかもしれない。Progabide は muscimol と同様に GABA<sub>A</sub> receptor agonist であるが、muscimol と異なり毒性が極めて少ないため、てんかんを含めて、GABA 系神経伝達機構障害の推定される中枢疾患の治療を目的とする基礎的研究が進められており、てんかん治療についても精力的な検討が行われている<sup>13,28)</sup>。 Progabide は El マウスけいれんに対して muscimol と同様な抑制効果を示したが、鎮静作用は muscimol に比し軽度であった。なお、progabide は脳内アミノ酸にはまったく変化が認められなかったことも、抗てんかん薬のごとく長期服用の必要ある薬物として、その安全性に連なるものと言えよう。

Diazepam は benzodiazepines のうち特に抗けいれん作用の強いものとして知られており、臨床的にも利用されている薬物である。一般に、GABA receptor は Olsen<sup>29)</sup> によって提唱され

ているように、GABA receptor, benzodiazepines receptor, picrotoxin と関連けいれん剤並びに barbiturate と関連抑制剤の receptor, 及びクロライド・チャンネルの4つの複合体として理解されているが、benzodiazepines はその receptor と結合することにより GABA receptor の構造を allosteric に変化させ、GABA 分子の GABA receptor への結合をより容易にするものと考えられている。従って、diazepam の El マウスけいれんに対する抑制作用も、GABA/benzodiazepines 複合体を介しての効果と理解することができる。なお、diazepam によって脳内 GABA の変動はなかったが、Gln 値の上昇が認められた。これは diazepam の別の作用としての glutamine 合成系 (グリア細胞中で、Glu と NH<sub>4</sub><sup>+</sup> より合成) の促進を反映しているのかもしれない。

Baclofen は、以上の薬物と異なり、GABA<sub>B</sub> receptor に作用する特異的 receptor agonist である<sup>14)</sup>。 GABA<sub>B</sub> receptor は従来の Cl<sup>-</sup> イオンチャンネルと関連した GABA receptor (GABA<sub>A</sub> receptor) と異なり、bicuculline, picrotoxin を含めた GABA<sub>A</sub> receptor antagonist によっては GABA の作用が抑制されず、GABA<sub>A</sub> receptor agonist によって活性化されないものである。GABA<sub>B</sub> receptor の脳内分布は従来の GABA<sub>A</sub> receptor とは異なっており、例えば、小脳においては GABA<sub>A</sub> receptor は主に顆粒細胞層に存在し、GABA<sub>B</sub> receptor は主に分子細胞層にあることが示されている<sup>32)</sup> が、本研究の結果から、GABA<sub>A</sub> receptor のみならず GABA<sub>B</sub> receptor もけいれん抑制機構に関与することが示された。また baclofen によって脳内の Glu, GABA 及び Ala 量が減少したが、これは Gln より Glu の合成系の活性低下と、GABA receptor に利用されるべき GABA 量が減少したために Glu 及び Ala 量の減少を導いたものかもしれない。

これまでの El マウス脳の生化学的研究の結果、放り上げ刺激によりけいれんが誘発できる El マウス脳には monoamines, すなわち dopamine, norepinephrine 及び serotonin (5-HT) が減少していることが明らかにされており、特

に脳内5-HT値を上昇させる操作によってEIマウスのけいれんが阻止されることから, それらのaminesのうち, EIマウスけいれんの発現機構には5-HT neuroneの機能低下が最も重要なfactorであろうと推定されていた<sup>32,34</sup>). 他方, EIマウスの脳内アミノ酸については, taurineの異常が示唆されていた<sup>23,24</sup>) が, GABA系の異常は殆ど認められていなかった<sup>35</sup>). しかし, 最近, Hattoriら<sup>36</sup>) は, EIマウス脳においてはbenzodiazepine (flunitrazepam) binding sitesには異常は認められないが, high affinity muscimol binding sitesのmaximal number (Bmax)はddYマウス(EIマウスの母系で放り上げ刺激に対するけいれん感受性がない系統)に比し大きく, 親和性が低いことを見出し, EIマウスにおけるGABA receptorの一部の異常性を明らかにしている. GABA binding sitesのBmaxが増加していることは一般に興奮性の増大に対応する抑制機構の増大することを示唆するとともに, binding sitesの親和性の低下に対応する変化とも想定されるが, 本研究の結果はGABA<sub>A</sub> receptorのみならず, benzodiazepine receptorやGABA<sub>B</sub> receptorの作動薬によってもEIマウスのけいれんが完全に抑制されるので, EIマウス脳におけるGABAergic neuron系の異常と, GABA系作動薬のEIマウスけいれん抑制作用機構については, さらに今後詳細な解明が望まれる.

## 結 論

自然発症てんかんモデル動物であるEIマウ

スのけいれん及び脳内アミノ酸に及ぼすGABA系作動薬,  $\gamma$ -vinyl GABA, muscimol, progabide, diazepam及びbaclofenの作用を検索して次のことを明らかにした.

1.  $\gamma$ -Vinyl GABA, muscimol, progabide, diazepam及びbaclofenはGABA receptorに対する作用様式は異なるが, いずれもEIマウスに対して鎮静及び抗けいれん作用を示した.
2.  $\gamma$ -vinyl GABAは脳内GABA濃度を著明に増加させた.
3. Muscimol及びdiazepamはそれぞれ作用様式は異なるけれどもともに脳内Glnを有意に増加させた.
4. Baclofenは脳内GABA, Glu及びAlaを有意に減少させた.

以上の実験結果から $\gamma$ -vinyl GABAは脳内GABA代謝を阻害して, 脳内GABA濃度を上昇させることにより, muscimol, progabideはGABA<sub>A</sub> receptorにGABA agonistとして作用することにより, diazepamはbenzodiazepine receptorを介して, GABA receptorの結合を容易にすることにより, さらにbaclofenはGABA<sub>B</sub> receptor agonistとして作用することにより, それぞれ抗けいれん作用を呈することが示唆された.

稿を終わるに当たり, 御指導, 御校閲を承った森 昭胤教授に深甚なる謝意を表すとともに, 直接御指導いただいた横井 功, 平松 緑両博士, 及び実験に御協力いただいた加太英明技官に深謝いたします.

## 文 献

1. Oja S S, Kontro P and Lähdesmäki P: Amino Acid as Inhibitory Neurotransmitters, Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, New York (1977)
2. Ribak C E, Harris A B, Vaughn J E and Roberts E: Inhibitory, GABAergic terminals decrease at sites of focal epilepsy. *Science* (1979) 205, 211-214.
3. Löscher W: Relationship between GABA concentrations in cerebrospinal fluid and seizure excitability. *J Neurochem* (1982) 38, 293-295.
4. Wood J H, Hare T A, Glaeser B S, Ballenger J C and Post R M: Low cerebrospinal fluid  $\gamma$ -aminobutyric acid content in seizure patients. *Neurology* (1979) 29, 1203-1208.
5. Van Gelder N M, Sherwin A L and Rasmussen T: Amino acid content of epileptic human brain: Foc-

- al versus surrounding regions. *Brain Res* (1972) 40, 385–393.
6. 森 昭胤：神経伝達物質の異常とけいれん発現機構. *神経進歩* (1985) 29, 1003–1013.
  7. Tower D B: The administration of gamma-aminobutyric acid to man: Systemic effects and anticonvulsant action, in *Inhibition in the Nervous System and Gamma-Aminobutyric acid*, Roberts ed, Pergamon Press, New York (1960) pp 562–578.
  8. Tower D B: GABA and seizures: Clinical correlates in man, in *GABA in Nervous System Function*, Roberts, Chase and Tower eds, Raven Press, New York (1986) pp 461–478.
  9. Jung M J, Lippert B, Metcaef B W, Böhlen P and Schechter P J:  $\gamma$ -Vinyl GABA (4-amino-hex-5-enoic acid), a new selective inhibitor of GABA-T: effect on brain GABA metabolism in mice. *J Neurochem* (1977) 29, 797–802.
  10. Metcalf B W: Inhibitors of GABA metabolism. *Biochem Pharmacol* (1979) 28, 1705–1712.
  11. Johnston D and Slater G E: Valproate mechanisms of action, in *Antiepileptic Drugs*, Woodburg, Penry and Pippenger eds, Raven Press, New York (1982) pp 611–616.
  12. Costa E: Benzodiazepines and neurotransmitters. *Arzneimittelforsch.* (1980) 30, 858–860.
  13. Bartholini G, Scatton B, Zivkovic B, Lloyd KG, Depoortere H, Langer SZ and Morselli PL: GABA receptor agonists as a new therapeutic class, in *Epilepsy and GABA Receptor Agonists* (L. E. R. S. Vol. 3), Bartholini, Bossi, Lloyd and Morselli eds, Raven Press, New York (1985) pp 1–30.
  14. Bowery N G, Hill D R and Hudson A: Bicuculline-insensitive GABA receptors in mammalian brain: Specific binding of  $^3\text{H}$ -GABA and  $^3\text{H}$ -baclofen, in *Problems in GABA Research*, Okada and Roberts eds, Excerpta Medica, Amsterdam (1982) pp 302–310.
  15. Enna S J and Snyder S H: Gamma-aminobutyric acid (GABA) receptor binding in mammalian retina. *Brain Res* (1976) 115, 174–179.
  16. Krosgaad-Larsen P, Johnston GAR, Lodge D and Curtis DR: A new class of GABA agonist. *Nature* (1977) 268, 53–55.
  17. 今泉 清, 伊藤昭吾, 香掛源次郎, 滝沢隆安, 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.
  18. Imaizumi K and Nakano T: Mutant stock: *El. Mouse Newslett* (1964) 31, 57.
  19. 村田祐一, 岡本正樹, 入道秀樹: *El*-マウスのでんかんとその脳内 $\gamma$ -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.
  20. Guidotti A and Ferrero P: Ex vivo binding of  $^3\text{H}$ -muscimol to GABA<sub>A</sub> recognition sites: A tool to characterize GABA receptor agonists, in *Epilepsy and GABA Receptor Agonists* (L. E. R. S. Vol. 3), Bartholini, Bossi, Lloyd and Morselli eds, Raven Press, New York, (1985) pp 31–41.
  21. Pratt JA, Jenner P and Mrsden CD: Comparison of the effects of benzodiazepines and other anticonvulsant drugs on synthesis and utilizations of 5-HT in mouse brain. *Neuropharmacology* (1985) 24, 59–68.
  22. Micheletti G, Marescaux C, Vergnes M, Rumbach L, Warter JM: Effects of GABA mimetics and GABA antagonists on spontaneous nonconvulsive seizures in Wistar rats, in *Epilepsy and GABA Receptor Agonists* (L. E. R. S. Vol.3), Bartholini, Bossi, Lloyd and Morselli eds, Raven Press, New York (1985) pp 129–137.
  23. 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.
  24. Grove J, Schechter PJ, Tell G, Kuch-Weser J, Sjoerdsma A, Warter JM, Marescaux C and Rumbach L: Increased gamma-aminobutyric acid (GABA), homocarnosine and  $\beta$ -alanine in cerebropinal

- fluid of patients treated with  $\gamma$ -vinyl GABA (4-amino-hex-5-enoic acid) . *Life Sci* (1981) 28, 2431-2435.
25. Gram L, Lyon BB, Dam M : Gamma-vinyl GABA: A singleblind trial in patients with epilepsy. *Acta Neurol Scand* (1983) 68, 34-39.
  26. Rimmer EM and Richens A : Double-blind study of  $\gamma$ -vinyl GABA in patients with refractory epilepsy. *Lancet* (1984) 1, 189-190.
  27. Schechter P J, Hanke N J F, Grove J, Huebert N, Sjoerdsama A : Biochemical and clinical effect of  $\gamma$ -vinyl GABA in patients with epilepsy. *Neurology* (1984) 34, 182-186.
  28. Musch B, Fournier V, Beaussart M, Broglin D, Cambier J, Cenraud M, Chatel M, Deville M C, Dravet C, Favel P, Ferriere G, Geets W, Goas J Y, Kulakowski S, Loiseau P, Louette N, Martinez-Lage M, Orofiamma B, Revol M and Roger J: Open long-term multicenter trial with progabide in epileptic patients; in *Epilepsy and GABA Receptor Agonists (L. E. R. S. Vol.3)*, Bartholini, Bossi, Lloyx and Morsell eds, Raven Press, New York (1985) pp 421-430.
  29. Olsen RW: GABA-benzodiazepine-barbiturate receptor interactions. *J Neurochem* (1981) 37, 1-13.
  30. Kardos J, Maderspack K and Simonyi M: Towards a more physiological approach in GABA binding. *Neurochem Int* (1985) 5, 737-743.
  31. Olsen R and Leeb-Lungberg F: Convulsant and anticonvulsant drug binding site related to the GABA receptor/ionophore system, in *Neurotransmitters, Seizures and Epilepsy*, Morselli, Lloyd, Löscher, Meldrum and Reynolds eds, Raven Press, New York (1981) pp 151-163.
  32. Wilkin GP, Hudson AL, Hill DR and Bowery NG: Autoradiographic localization of GABA<sub>B</sub> receptors in rat cerebellum. *Nature* (1981) 294, 583-587.
  33. Hiramatsu M: Brain 5-hydroxytryptamine level, metabolism, and binding in E1 mice. *Neurochem Res.* (1983) 8, 1163-1175.
  34. Iwata H, Yamagami S, Lee E, Matsuda T and Baba A: Increases of brain taurine contents of E1 mice by physiological stimulation. *Jpn J Pharmacol* (1979) 29, 503-507.
  35. 竹内直司: E1 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.
  36. Hattori, H, Ito M and Mikawa H:  $\gamma$ -Aminobutyric acid, benzodiazepine binding sites and  $\gamma$ -aminobutyric acid concentrations in epileptic E1 mouse brain. *Eur J Pharmac* (1985) 119, 217-223.

**Inhibitory effects of GABA-receptor modulators on El  
mouse seizures and their biochemical background**

**Michael J. KWON**

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

**(Director : Prof. A. Mori)**

It is known that GABA is one of the important inhibitory chemical neurotransmitter substances in the central nervous system. Some neurochemical disorders, such as epileptic seizures, have been treated by reinforcement of the GABAergic transmission system.

Recently we have studied the action of various GABA receptor modulators on induced seizures in El mice. An intraperitoneal injection of  $\gamma$ -vinyl GABA (a GABA transaminase blocker), 1500 mg/kg, completely inhibited El mouse seizures with significantly increased endogenous GABA levels in the brain. Administration of 3 mg/kg of muscimol (a GABA agonist), i.p., completely inhibited the seizures with increased glutamine levels in the brain. Administration of 100 mg/kg of progabide (a GABA agonist), i.p., completely inhibited the seizures with no significant change in amino acids in the brain. An intraperitoneal injection of 32 mg/kg of diazepam completely inhibited the seizures with significantly increased glutamine levels in the brain. An intraperitoneal injection of 20 mg/kg of baclofen (an agonist for the GABA receptor) blocked the seizures with decreased levels of GABA, glutamic acid and alanine in the brain.

These results suggest that inhibition of El mouse seizures may depend on an increased GABA level in the case of  $\gamma$ -vinyl GABA, on the action of a GABA receptor agonist in the case of muscimol and progabide, on the reinforcement of GABA receptor binding through benzodiazepine receptor in the case of diazepam, and on the action of a GABA<sub>B</sub> receptor agonist in the case of baclofen.