

Guanidinoethanesulfonic acid のけいれん誘発作用 に関する生理学的研究

岡山大学医学部脳代謝研究施設機能生化学部門 (指導: 森 昭胤教授)

戸 田 洋 子

(平成2年2月22日受稿)

Key words : guanidinoethanesulfonic acid, guanidino compound, experimental seizures, GABA-receptor agonist, anticonvulsant

緒 言

グアニジノ化合物はその分子構造内にアミジン基 (-C (NH) NH₂) を持つ化合物の総称である。グアニジノ化合物の研究は、1861年に Strecker により guanidine が発見命名されたことに始まる¹⁾。それ以後現在までに約100種類のグアニジノ化合物が自然界より分離同定され、哺乳動物脳内には arginine (Arg), creatinine など15種類以上のグアニジノ化合物の存在が報告されている²⁾。

さて、guanidinoethanesulfonic acid (GES) は、taurine (Tau) のアミノ基にアミジン基の結合したグアニジノ化合物であるが(図1), 1954年 Thoai らによって海産甲殻類動物から分離同定された³⁾。その後、GES はウシ、ラット、マウスなどの哺乳動物脳内にも微量存在することが明らかとなった⁴⁾⁵⁾⁶⁾。GES はウサギ、ネコ、マウス、などの脳内に注入することによりけいれんや、脳波に発作波を誘発することも明らかにされた⁷⁾⁸⁾⁹⁾¹⁰⁾。また、てんかん患者の脳脊髄液中¹¹⁾や、pentylene tetrazol 誘発けいれん直前期に¹²⁾脳内で増加すること、けいれん素因を遺伝的に有する CBA マウスの脳内 GES 濃度は、けいれん素因を有さない系統のマウスより高値であること¹³⁾、電気刺激けいれん中には脳内 GES 量が減少すること¹²⁾などが報告されている。このため、GES はけいれん発現機構の一部に関与していると考えられている。さらに、尿毒症患者の血清中や、実験的尿毒症ウサギの血清中や脳

内でも GES の増加が報告され⁴⁾、尿毒症によるけいれんの機構にも GES の関連が指摘されている。

ネコの大槽内に GES を投与して誘発されたスパイク活動は Tau を大槽内に投与すると減少すること⁸⁾、また、GES を長期に渡りラットやマウスに投与すると脳内の Tau 量が減少すること¹⁴⁾、GES はシナプトゾーム内への Tau 取り込みを拮抗的に抑制すること¹⁵⁾、さらには、Tau は抑制系神経伝達物質あるいは神経機能調節因子と考えられている¹⁶⁾¹⁷⁾ ため、GES のけいれん誘発機序には Tau 系の神経伝達あるいは調節機構の関与が想定されている。本研究では、GES をラットの大脳皮質感覚運動野に投与し、脳波に対する影響を検討した。さらに、その脳波変化の誘発機序を解明するために、誘発された脳波変化に対する GES の構造類似物質や GABA アゴニスト、あるいは抗けいれん薬などの効果について検討した。

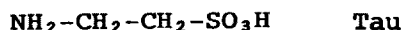
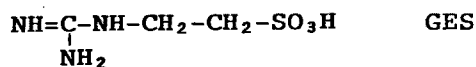


図1 Guanidinoethanesulfonic acid (GES) と taurine (Tau) の構造

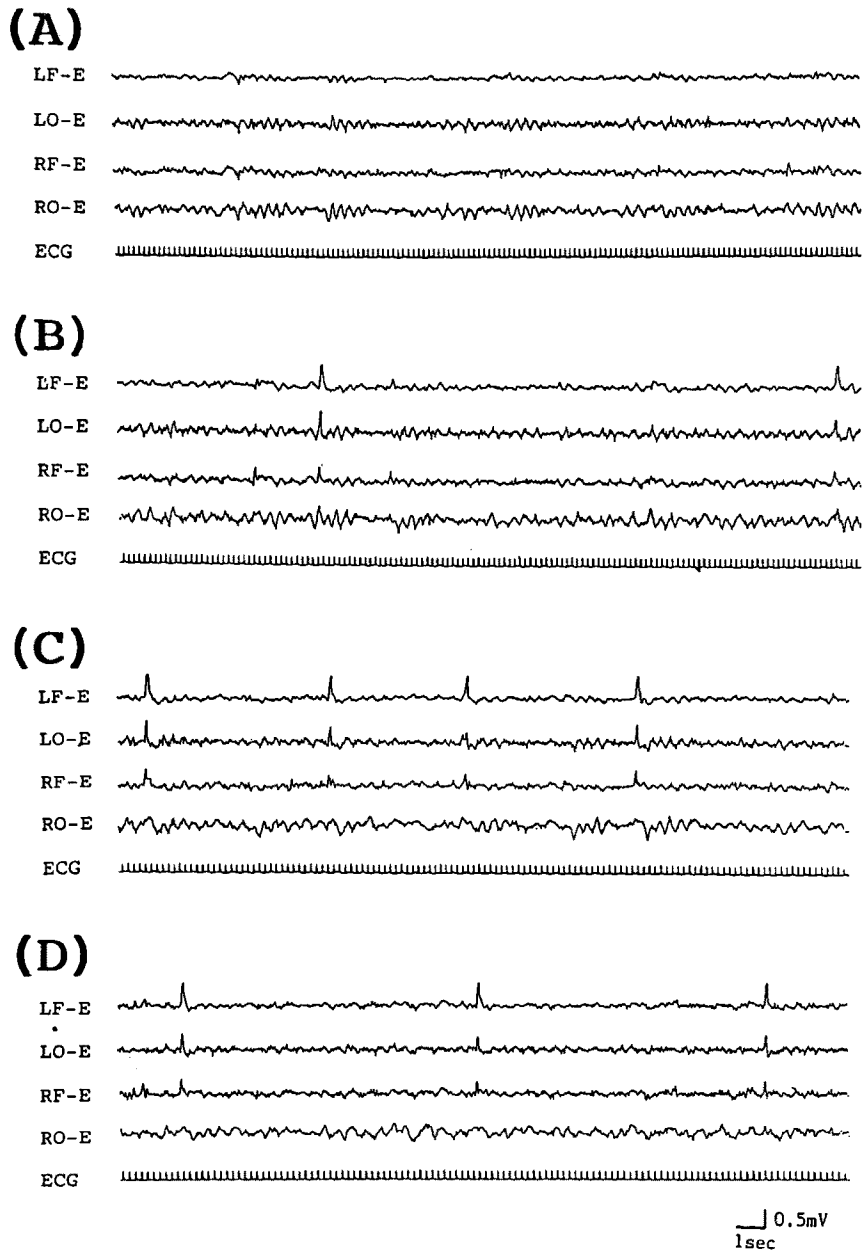


図2 ラット脳波に対する guanidinoethanesulfonic acid (GES) の効果

(A) GES 投与前の脳波

(B) GES (100mM, 10 μ l) をラット左大脳皮質感覚運動野に投与5分後の脳波。GES 投与側にスパイクが認められる。

(C) GES 投与60分後の脳波。

(D) GES 投与180分後の脳波。スパイク活動は継続している。

脳波は双極導出法及び単極導出法にて記録したが、ここには単極導出法での結果を示す。LF-E：左前頭部、LO-E：左後頭部、RF-E：右前頭部、及び、RO-E：右後頭部よりの記録。ECG：心電図。

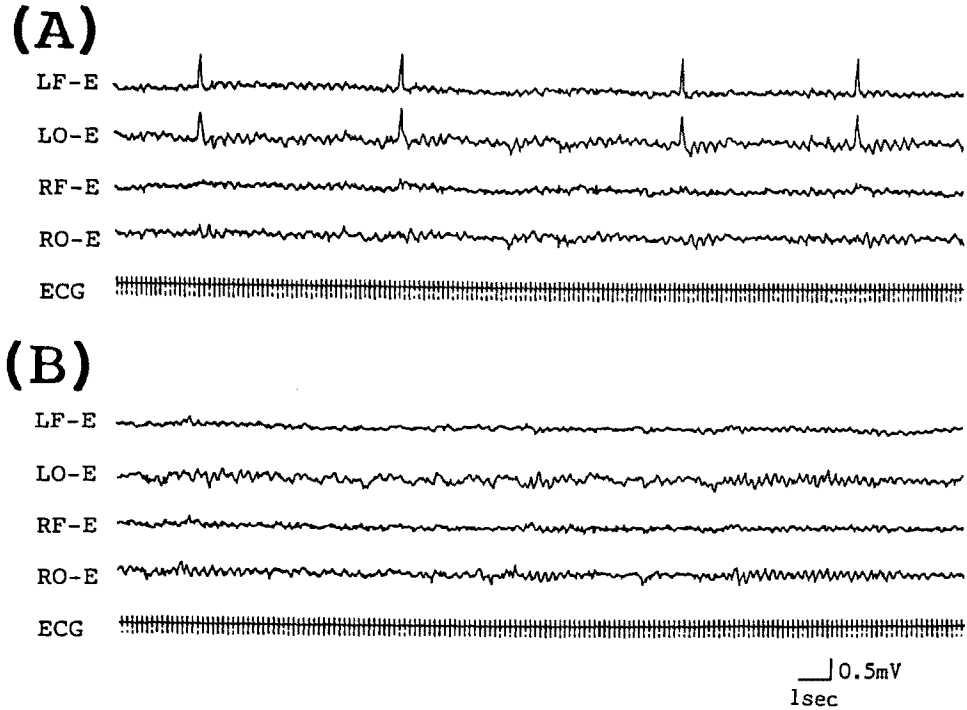


図3 Guanidinoethanesulfonic acid (GES) 誘発スパイクに対する taurine (Tau) の影響
 (A) GES (100mM, 10 μ l) を大脳皮質感覚運動野 (薬物投与野) 上に投与75分後の脳液, GES によりスパイクが誘発されている。
 (B) Tau (300mM, 10 μ l) を薬物投与野に投与65分後 (GES 投与140分後) の脳液, GES により誘発されたスパイクは消失している。
 電極の配置と記録法は図2と同じ。

実験方法

①ラットの脳液に対する GES の影響の検討

雄 Sprague Dawley ラット (250-350 g) をエーテル麻酔下で気管内挿管し, 人工呼吸下に succinylcholine chloride で非動化した。ラットは脳定位固定装置に固定し, 頭蓋骨の bregma より前方 2 mm, 左右側方 2 mm, 及び後方 4 mm, 左右側方 3 mm の 4 部位に穴を開け, 硬膜外ビス電極を植立して脳波記録用とした。また, 背側頸部正中部の筋肉内に針電極を刺入し不関電極 (E) とした。脳液は単極及び双極導出法で記録し, それぞれ, i) 左前頭部電極 (LF) - 左後頭部電極 (LO), ii) 右前頭部電極 (RF) - 右後頭部電極 (RO), iii) LF-RF, iv) LO-RO, v) LF-E, vi) LO-E, vii) RF-E, 及び viii) RO-E とした。さらに, bregma より左方 3 mm, 後方 1

mm の大脳皮質感覚運動野上の頭蓋骨に直径約 3 mm の穴を開け, 脳硬膜を剝離して, 薬物投与野とした。

麻酔などの影響を避けるため, 対照脳液を約 2 時間記録した後に実験を開始した。GES (小野薬品工業株式会社) は生理食塩水で 100mM に溶解し, その 10 μ l (1 μ mol) を直径 3 mm の濾紙にしみ込ませ, 薬物投与野に置くことにより投与した。脳液に対する GES の影響は 3-4 時間にわたり観察したが, 脳波の記録中には, ラットの左右前腕に刺入した針電極を使用して心電図も記録し, ラットの一般状態の目安とした。

②GES 誘発脳波変化に与える構造類似物質, GABA アゴニストや抗けいれん薬などの効果の検討

薬剤は下記の 9 種類を使用し, GES により誘発されるスパイク活動が完成した後 (GES 投与

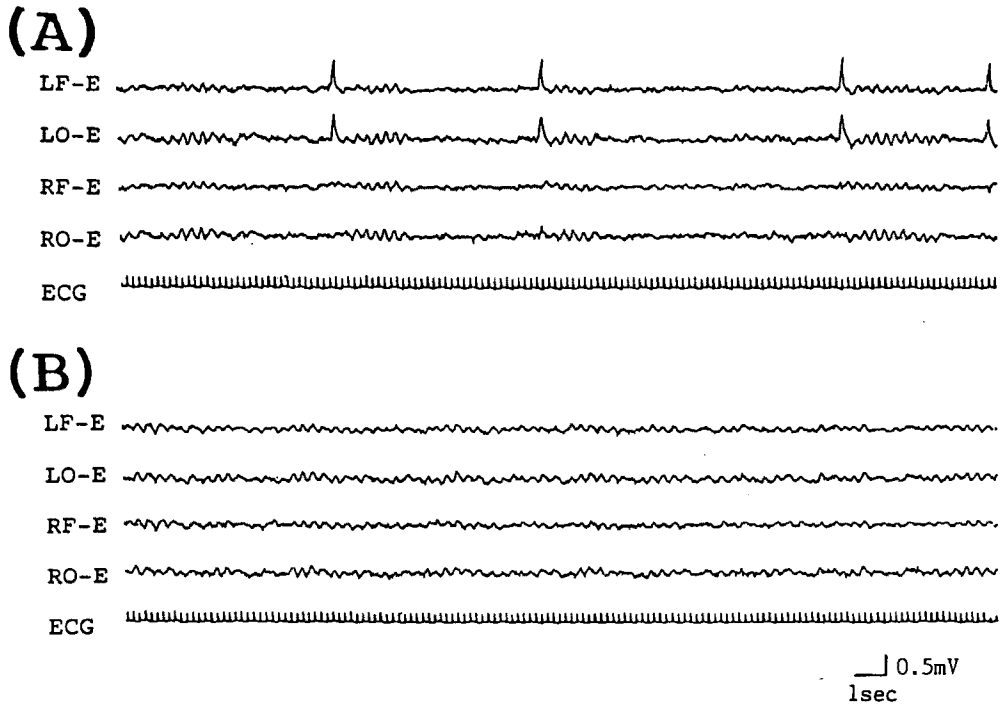


図4 Guanidinoethanesulfonic acid (GES) 誘発スパイクに対する taurine (Tau) の影響
 (A) GES (100mM, 10 μ l) を大脳皮質感覚運動野 (薬物投与野) 上に投与71分後の脳波, GES によりスパイクが誘発されている。
 (B) Tau (100mM, 10 μ l) を薬物投与野に投与45分後 (GES 投与116分後) の脳波, GES により誘発されたスパイクは消失している。
 電極の配置と記録法は図2と同じ。

後約45分以後) に投与し, GES 誘発スパイクに対する影響を検討した。また, 各薬剤の効果の検討のためには, おのおの4-6匹のラットを使用した。

Tau (片山化学工業株式会社) は100mM-300mM, muscimol (Sigma, USA) は1mM, GABA (片山化学工業株式会社) は100mM, (3R)-(-)-4-amino-3-hydroxybutanoic acid (L-GABOB) (小野薬品工業株式会社) は100mMの濃度にGES溶液 (100mM) で溶解し, その10 μ lを薬物投与野から投与した。Diazepam (DZP) (ホリゾン注射液, 山之内製薬株式会社) は10mg/kg, phenobarbital (PB) (10%フェノバルブ注射液, 三共株式会社) は20mg/kg, phenytoin (PHT) (アレビアチン-Na注射液, 大日本製薬株式会社) は25mg/kg, ethosuximide (ESM)

(エメサイドシロップ5%, 小玉株式会社) は100mg/kg, また sodium valproate (VPA) (協和発酵株式会社) は200mg/kgを2mlの生理食塩水に溶解して, 腹腔内に投与した。

結 果

①ラット脳波に対するGESの影響

GESを投与すると, 2-5分で投与側の脳波にスパイクが出現し始め, しだいにその頻度と電圧を増し, 5-10回/分となった。投与約60分後には投与反対側の脳波記録にも投与側と同期したスパイクが出現してくる例もあった。これらの脳波記録に認められたスパイクは, GES投与3時間後も継続していた (図2)。

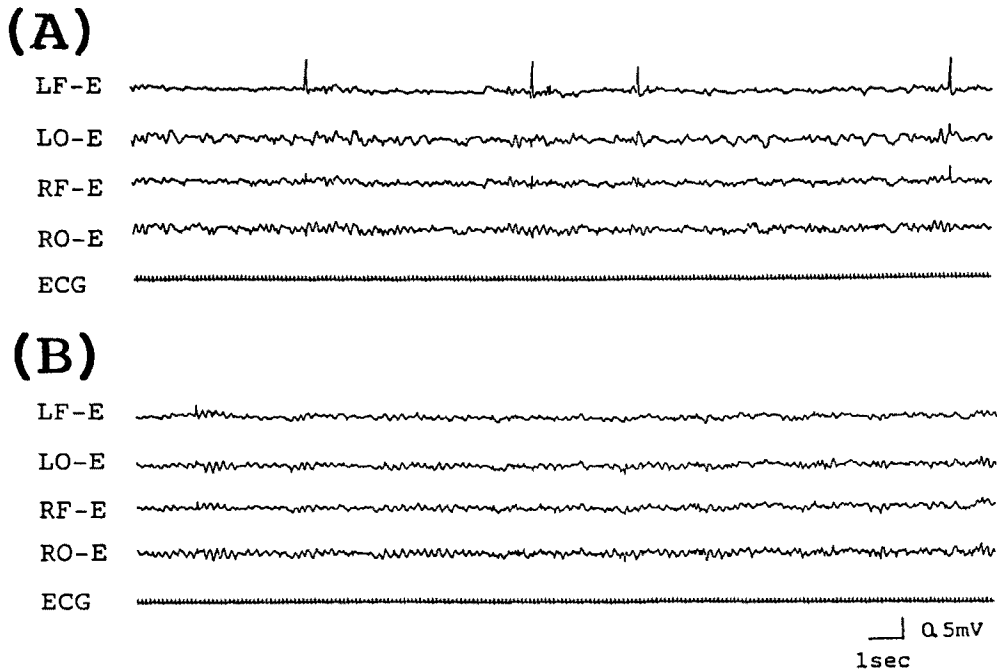


図5 Guanidinoethanesulfonic acid (GES) 誘発スパイクに対する 4-aminobutanoic acid (GABA) の影響
 (A) GES (100mM, 10 μ l) を大脳皮質感覚運動野 (薬物投与野) 上に投与45分後の脳波。GESによりスパイクが誘発されている。
 (B) GABA (100mM, 10 μ l) を薬物投与野に投与7分後 (GES 投与52分後) の脳波。GESにより誘発されたスパイクは消失している。
 電極の配置と記録法は図2と同じ。

②GES 誘発脳波変化に対する抗けいれん薬などの影響

1) GES 誘発スパイク活動に対する Tau の影響

GESにより誘発されるスパイク活動が完成した後、GESの存在下で Tau 3 μ mol を大脳皮質感覚運動野に投与すると、投与後約10—15分で、GESにより誘発されたスパイクは抑制された (図3)。

また、Tau 1 μ mol の投与では、スパイク抑制までの時間は延長し、投与後約45分でGESにより誘発されたスパイクは抑制された (図4)。

2) GES 誘発スパイク活動に対する GABA の影響

GESにより誘発されるスパイク活動が完成した後、GESの存在下で、GABA 1 μ mol を大脳皮質感覚運動野に投与すると、スパイクは投与後ただちに消失するが5—20分後には再び出

現してきた (図5)。

3) GES 誘発スパイク活動に対する L-GABOB の影響

GESにより誘発されるスパイク活動が完成した後、GESの存在下で、L-GABOBを大脳皮質感覚運動野に投与すると、スパイクはただちに抑制された (図6)。

4) GES 誘発スパイク活動に対する muscimol の影響

GESにより誘発されるスパイク活動が完成した後、GESの存在下で、muscimolを大脳皮質感覚運動野に10nmol投与すると、約15分後にはGESにより誘発されたスパイクは完全に抑制された (図7)。

5) GES 誘発スパイク活動に対する DZP の影響

GESにより誘発されるスパイク活動が完成した後、DZPを腹腔内に投与すると、DZPの影響

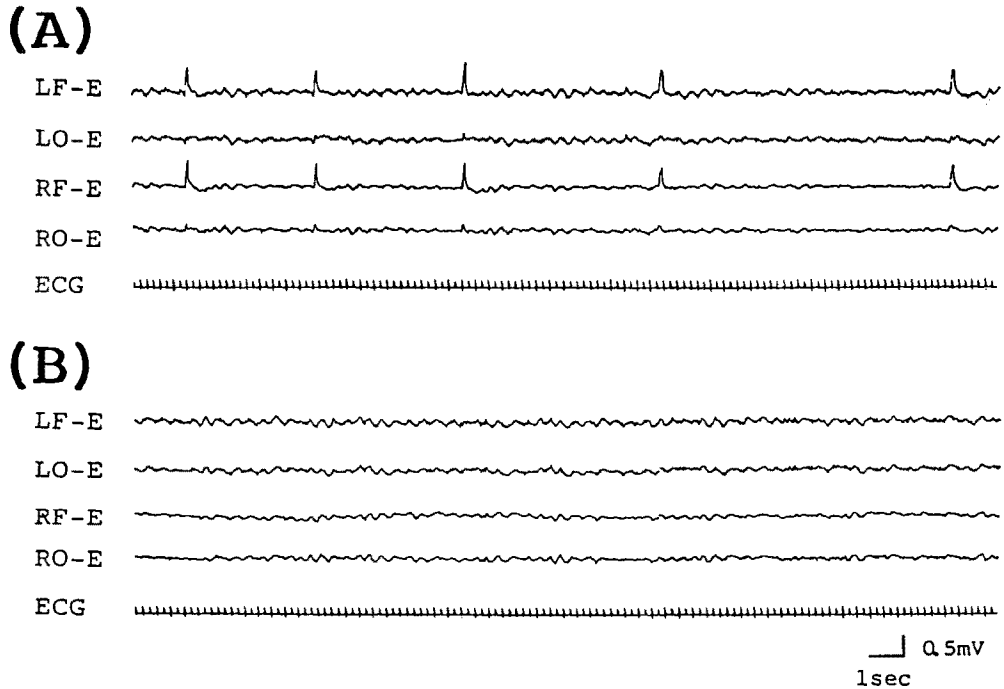


図6 Guanidinoethanesulfonic acid (GES) 誘発スパイクに対する L-GABOB の影響
 (A) GES (100mM, 10 μ l) を大脳皮質感覚運動野 (薬物投与野) 上に投与45分後の脳波, GES によりスパイクが誘発されている。
 (B) L-GABOB (100mM, 10 μ l) を薬物投与野に投与2分後 (GES 投与47分後) の脳波, GES により誘発されたスパイクは消失している。
 電極の配置と記録法は図2と同じ。

響と思われる徐波が脳波に認められ, 投与後10分程で GES により誘発されたスパイクは抑制された (図8)。

6) GES 誘発スパイク活動に対する PB の影響

GES により誘発されるスパイク活動が完成した後, PB を投与すると, 投与後約100分で, PB の影響と思われる高振幅徐波 (HVS) が認められ始め, HVS の中に GES により誘発されたスパイク, 及びそれに続いて繰り返す中振幅のポリスパイク様脳波活動が認められた。他の抗けいれん薬や GABA アゴニストとは逆に, PB にはスパイクの出現頻度, 電圧共に増強させる傾向が認められた (図9)。

7) GES 誘発スパイク活動に対する ESM の影響

GES により誘発されるスパイク活動が完成し

た後, ESM を投与すると, 投与後しだいにスパイクの電圧及び頻度が減少したが, 低電圧のスパイク活動は続いていた (図10)。

8) GES 誘発スパイク活動に対する PHT, VPA の影響

GES により誘発されるスパイク活動が完成した後, PHT, VPA を投与しても GES 誘発スパイク活動はなんの変化も受けなかった (図11, 12)。

考 察

グアニジノ化合物の中樞神経系への作用, 及びてんかんとの関係に関する研究は, 1940年に Murray と Hoffmann が essential epilepsy の患者の血液中に guanidine-like substances が存在するとして報告より始まる¹⁰⁾。森らは pentylentetrazole (PTZ) をウサギの静脈内に



図7 Guanidinoethanesulfonic acid (GES) 誘発スパイクに対する muscimol の影響
 (A) GES (100mM, 10 μ l) を大脳皮質感覚運動野(薬物投与野)上に投与45分後の脳波。GESによりスパイクが誘発されている。
 (B) Muscimol (1mM, 10 μ l) を薬物投与野に投与15分後(GES投与60分後)の脳波。GESにより誘発されたスパイクは消失している。
 電極の配置と記録法は図2と同じ。

投与することにより誘発されたけいれん中に、脳内では 4-guanidinobutanoic acid (GBA) (amidino-GABA) が増加し¹⁹⁾、さらに、ウサギ大槽内に投与した GBA がけいれんを誘発することを見だし報告した²⁰⁾。また、森らは、脳内にコバルトを入れて作成したてんかん焦点の脳組織内で、2-guanidinoglutaric acid (GGA) がけいれん発作発現中のみに増加すること²¹⁾、さらに、GGA をラット脳室内に投与するとけいれんが誘発されることも見いだした²²⁾²³⁾。この他、脳内に存在が確認され、かつ、けいれんを誘発するグアニジノ化合物には creatine²⁴⁾、creatinine²⁴⁾、homoarginine²⁵⁾²⁶⁾、methylguanidine²⁷⁾²⁸⁾、N-acetylgarginine²⁹⁾³⁰⁾、creatine-phosphate²⁴⁾、guanidinoacetic acid²⁴⁾ 及び 2-guanidinoethanol (Get) ³¹⁾³²⁾ が報告されている。さらに、脳内の存在は確認されてい

ないが、動物体内で存在が確認されているけいれん誘発性グアニジノ化合物は phascoline³³⁾、phascolosomine³³⁾、5-guanidinovaleric acid (DGVA) ³⁴⁾³⁵⁾ あるいは 2-keto-5-guanidinovaleric acid³⁶⁾ などが報告されている。このため、グアニジノ化合物は、けいれんなどの中枢神経系の異常興奮に際し、なんらかの役割を担っているのではないかと考えられている。しかし、そのけいれん誘発の機序が明らかになっているグアニジノ化合物は少ない。例えば、GBA はその GABA との構造類似性から²⁰⁾、GET³²⁾ と DGVA³⁵⁾ は誘発されたスパイクに対する薬物の効果の検討から、そのけいれん誘発機序に GABA 系神経伝達の関与が想定されている。また、GGA は投与後に大脳皮質で serotonin (5-HT) 量が一過性に増加し、次いで脳全体の 5-HT 量が減少することから²²⁾、けい

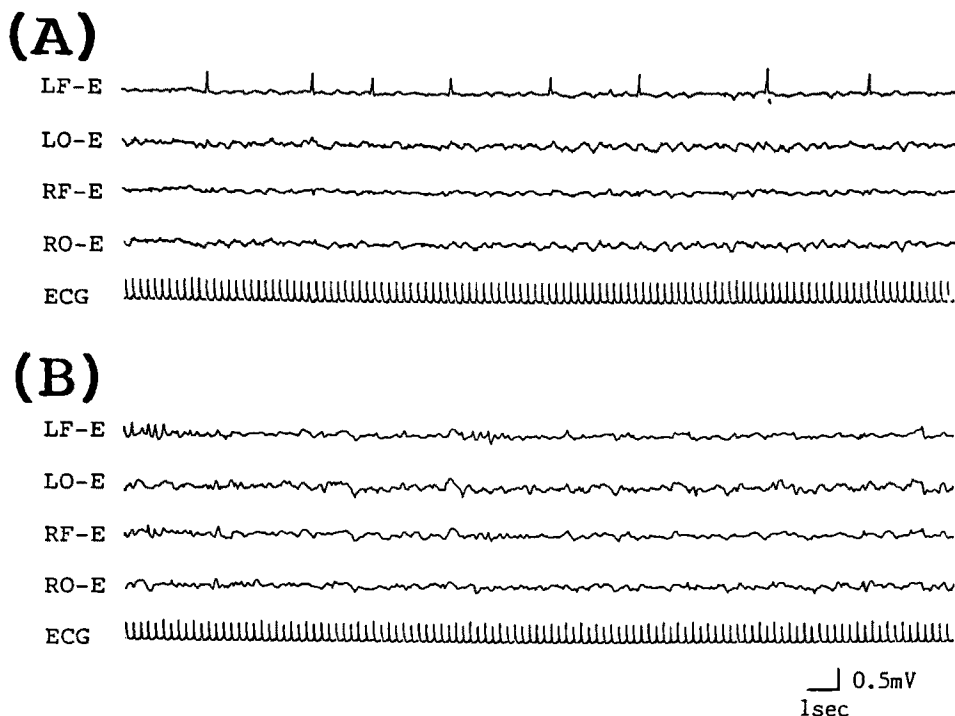


図8 Guanidinoethanesulfonic acid (GES) 誘発スパイクに対する diazepam (DZP) の影響
 (A) GES (100mM, 10 μ l) を大脳皮質感覚運動野 (薬物投与野) 上に投与85分後の脳波, GES によりスパイクが誘発されている。
 (B) DZP (10mg/kg) を腹腔内に投与10分後 (GES 投与95分後) の脳波, GES により誘発されたスパイクは消失している。
 電極の配置と記録法は図2と同じ。

れん誘発機序に 5-HT 系神経伝達の関与が示唆されている。

さて, 生体内 GES 量は, てんかん, けいれん, また尿毒症などで変化するが, GES の生合成経路はまだ明らかではない。無脊椎動物では carbamyltaurine を介しての経路³⁷⁾, 脊椎動物では arginine (Arg) のアミジン基が arginine : glycine amidinotransferase (transamidinase) により Tau のアミノ基に転移させられて合成される³⁸⁾³⁹⁾と考えられている。脳内での GES 生合成は, ¹⁴C-Tau をウサギ大槽内に投与すると, その放射能の一部は GES に移行することが報告され⁷⁾, 脳内でも GES が生合成されていると考えられている。一方, 脳に存在する transamidinase を使用した in vitro の検討では, GES は生成されないとの報告もあり⁴⁰⁾, GES の生合成に関する統一された見解は得られていない。

しかし, 何らかの脳内代謝異常あるいは脳の機能異常の際には, 脳内で transamidinase によるアミジン基転移反応が賦活, あるいは抑制されるのではないかと想定されている。

従来, GES のけいれん誘発機構に関しては多くの生化学的検討が行われてきた。神経伝達物質の代謝や神経細胞膜機能に与える影響の検討から, GES は acetylcholine (ACh) の代謝に関連する cholineacetyltransferase や cholinesterase の活性に影響を与えないこと⁴¹⁾, glutamic acid (Glu) の代謝に関連する Glu-oxaloacetate transaminase (GOT), Glu-pyruvate transaminase (GPT) 及び Glu decarboxylase (GAD) の活性に影響を与えないこと⁴²⁾, また, Na⁺, K⁺-ATPase や Mg²⁺-ATPase 活性を抑制しない⁴³⁾ことが報告されている。このため, GES のけいれん誘発機構に ACh 系や Glu 系の神経伝



図9 Guanidinoethanesulfonic acid (GES) 誘発スパイクに対する phenobarbital (PB) の影響
 (A) GES (100mM, 10 μ l) を大脳皮質感覚運動野(薬物投与野)上に投与70分後の脳波。GESによりスパイクが誘発されている。
 (B) PB (20mg/kg) を腹腔内に投与100分後(GES投与170分後)の脳波。GESにより誘発されたスパイクは増強している。
 電極の配置と記録法は図2と同じ。

達機構の異常は関与しないものと考えられている。しかし、渡辺は⁹⁾、GESをマウスの脳室内に投与すると、投与5分後に、海馬、小脳、橋延髄などで5-HTが一過性に減少し、線条体や小脳では5-HTの代謝産物である5-hydroxy-indolacetic acid(5-HIAA)が一過性に増加することを認め、GES誘発けいれん発現機序に5-HTニューロン系が一過性に何らかの関与をしていることを想定している。また、先に述べたように、①GESの誘発するスパイクはTauの投与により減少すること⁸⁾、②GESの長期経口投与により脳内のTau量が減少すること¹⁴⁾、③GESはシナプトゾーム内へのTau取り込みを拮抗的に抑制すること¹⁵⁾、④Tauは抑制系神経伝達物質あるいは神経機能調節因子と考えられていること¹⁶⁾¹⁷⁾、などからGESのけいれん誘発

機序にはTau系の神経伝達あるいは調節機構の関与も想定されている。一方、GABA_Aレセプターの活性化により神経細胞内へはCl⁻イオンが流入して神経細胞が過分極するが、このCl⁻イオンの流れをGESは抑制する⁴⁴⁾。しかし、TauはこのCl⁻イオンの流れに対してなんらの影響をも与えない⁴⁴⁾ため、GES誘発けいれんの発現機構にGABA神経伝達系の関与も想定されている。

本研究では、GESをラットの大脳皮質感覚運動野に投与し、脳波に対する影響を検討した。GES(1 μ mol)を投与すると、2-5分後より投与側からスパイクが発現し、約60分後には投与反対側の脳波記録にも投与側と同期したスパイクの出現が認められた。さらに、その脳波変化の誘発機序を解明するために、誘発された脳

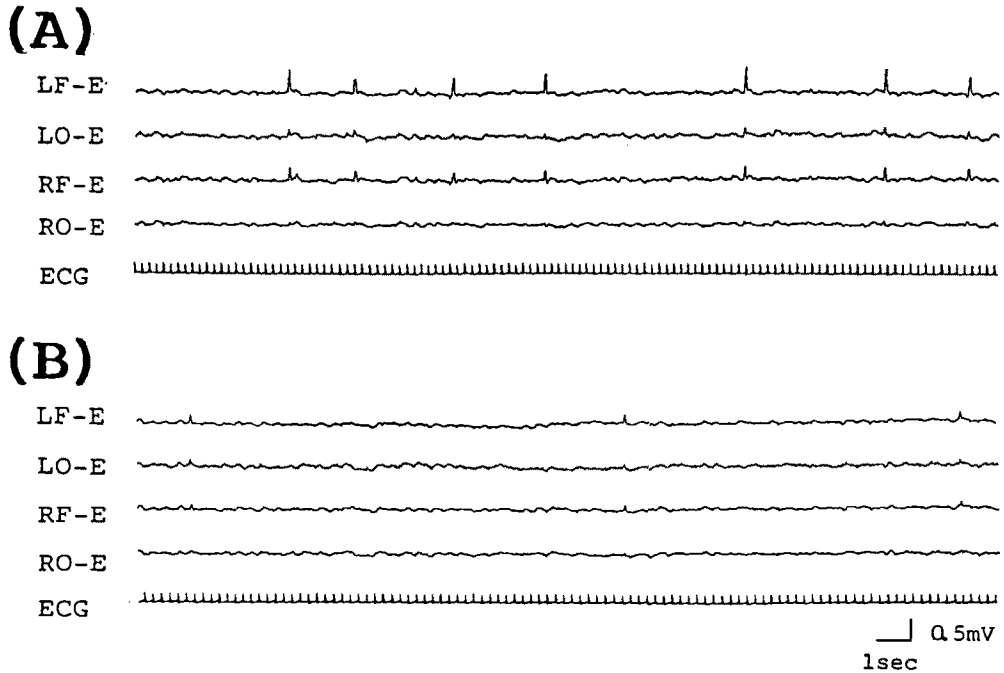


図10 Guanidinoethanesulfonic acid (GES) 誘発スパイクに対する ethosuximide (ESM) の影響
 (A) GES (100mM, 10 μ l) を大脳皮質感覚運動野 (薬物投与野) 上に投与50分後の脳波, GES によりスパイクが誘発されている。
 (B) ESM (100mg/kg) を腹腔内投与120分後 (GES 投与170分後) の脳波, GES により誘発されたスパイクの頻度と電圧は減少している。
 電極の配置と記録法は図2と同じ。

波変化に対する GES の構造類似物質や GABA アゴニスト, あるいは抗けいれん薬などの効果について検討した。GES 誘発スパイクに対し Tau, L-GABOB, muscimol, DZP は強い, GABA, ESM は弱い抑制効果を示した。しかし, PHT, VPA にはスパイク抑制効果は認められず, PB はスパイク増強効果が認められた。

GES 投与により誘発されたスパイク活動は Tau により減少するため⁸⁾, GES は Tau の拮抗物質として Tau 系の神経伝達を抑制し, けいれんを発現すると考えられていた。本研究で Tau が GES の誘発するスパイクを抑制したことは, GES が Tau の拮抗物質であるという仮説を強く支持する。

一方, GABA レセプターは, DZP レセプターや PB レセプターと共に Cl⁻チャンネルと複合体を形成していると広く考えられている⁴⁵⁾⁴⁶⁾⁴⁷⁾。

GES の誘発するスパイクを GABA は短期間抑制し, GABA 分解酵素である transaminase により分解されにくいために, 脳内でも比較的安定で長時間に渡り GABA アゴニストとして活性を保つ L-GABOB⁴⁸⁾ も GES の誘発するスパイクを抑制した。また, 脳内でほとんど代謝を受けず, [³H]-GABA のレセプター結合実験などの結果から GABA_A レセプターの強力なアゴニストと考えられている muscimol⁴⁹⁾⁵⁰⁾⁵¹⁾ も, GES の誘発するスパイクを抑制した。さらに, GABA とレセプターを異にするため, GABA 神経伝達の機能的なアゴニストと考えられている DZP も, GES の誘発するスパイクを抑制した。この結果は GES 誘発スパイクの抑制には, GABA 系の神経伝達機構が関与していることを示唆する。GABA_A レセプターの活性化により神経細胞内へは Cl⁻イオンが流入して神経細胞が過分

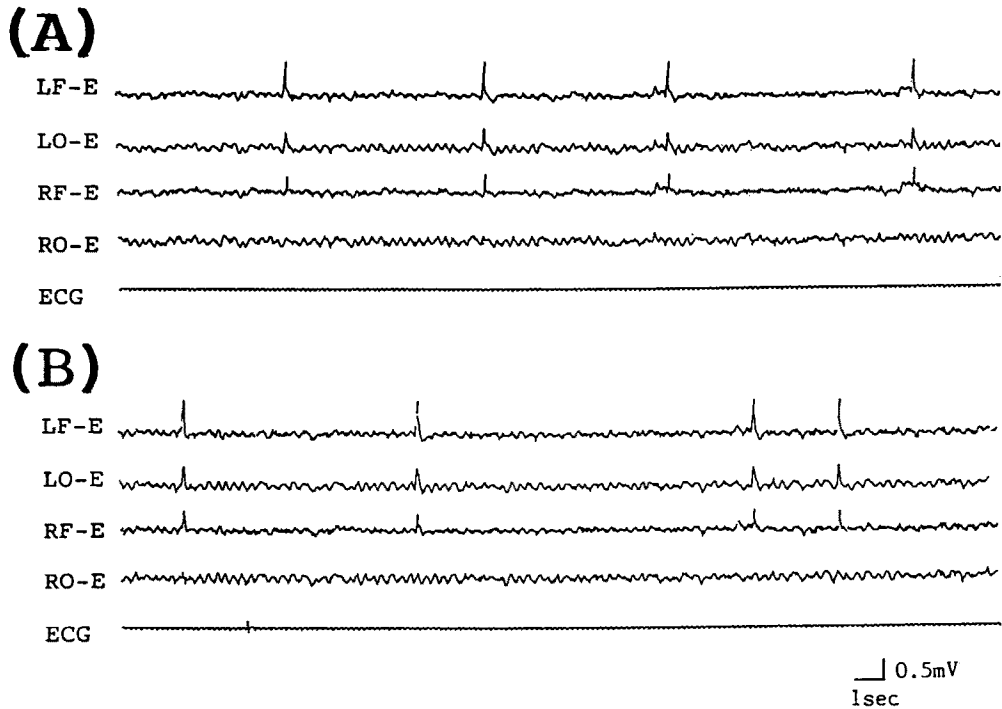


図11 Guanidinoethanesulfonic acid (GES) 誘発スパイクに対する phenytoin (PHT) の影響
 (A) GES (100mM, 10 μ l) を大脳皮質感覚運動野 (薬物投与野) 上に投与60分後の脳波。GES によりスパイクが誘発されている。
 (B) PHT (25mg/kg) を腹腔内に投与90分後 (GES 投与150分後) の脳波。GES により誘発されたスパイクに変化は認められない。
 電極の配置と記録法は図2と同じ。

極するが、この Cl⁻イオンの流れを GES は抑制する⁴⁴⁾。本研究で GABA やその受容体アゴニストである L-GABOB や muscimol, また GABA の機能的アゴニストである DZP が GES の誘発するスパイクを抑制したのは、この Cl⁻チャンネルに参与したものかもしれない。一方、GABA の機能的アゴニストであり、Cl⁻チャンネルの開き時間を延長する PB には GES 誘発スパイクの増強効果が認められたが、この理由は不明である。

抗てんかん薬の PHT はシナプトゾーム膜の Na⁺チャンネルの閉塞により抗てんかん作用を発現するが⁵²⁾⁵³⁾、シナプトゾーム内への Glu や GABA の取り込みを高める作用があることも報告されている⁵⁴⁾。また、VPA も GABA の分解酵素を阻害することによりシナプトゾーム内の

GABA 濃度を増加することにより、抗けいれん作用を現すと考えられている⁵⁵⁾⁵⁶⁾。しかし、シナプトゾーム内の GABA 量を増加する PHT や VPA には GES 誘発スパイク抑制効果は認められなかった。これは GES 誘発スパイクを抑制するためには GABA のレセプターを賦活しなければいけないことを示唆する。

PTZ や最大電撃けいれんを抑制する効果を持つ ESM⁵⁷⁾ は小発作の治療に広く用いられているが、その発作抑制機序はあまり明確ではない。しかし、脳内 GABA 代謝に係わる酵素活性や、脳内 GABA 量に影響は与えない⁵⁷⁾。このため本研究では、その発作抑制機序が GABA 神経伝達系以外にある抗けいれん薬として、その GES 誘発スパイク抑制性に付いて検討した。この結果 ESM にも GES 誘発スパイクに対する抑制

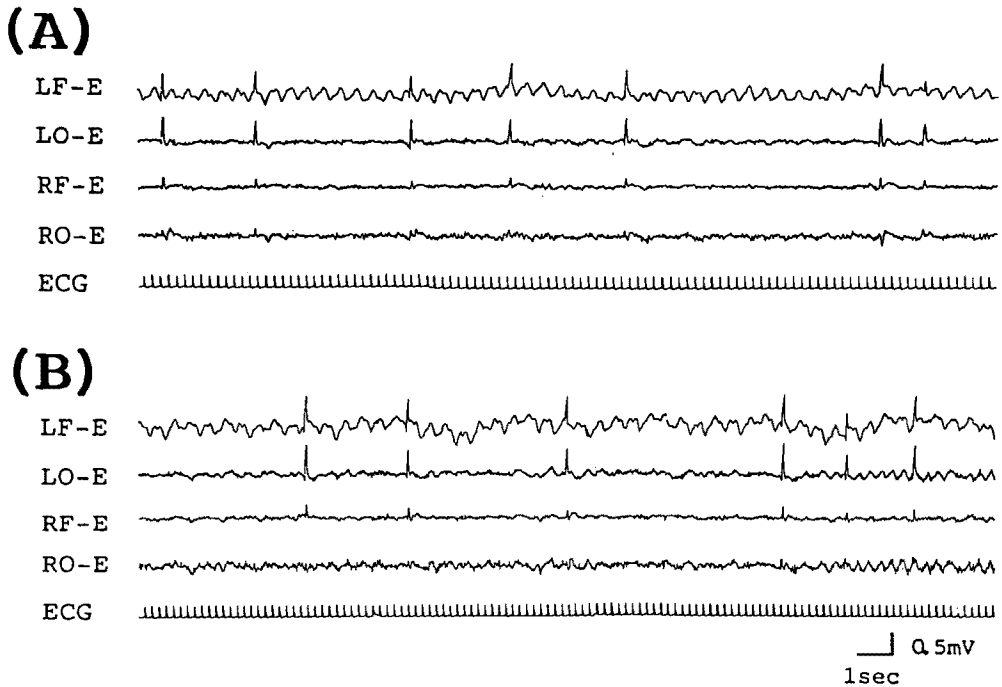


図12 Guanidinoethanesulfonic acid (GES) 誘発スパイクに対する valproate (VPA) の影響
 (A) GES (100mM, 10 μ l) を大脳皮質感覚運動野(薬物投与野)上に投与50分後の脳波。GESによりスパイクが誘発されている。
 (B) VPA (200mg/kg) を腹腔内に投与120分後(GES投与170分後)の脳波。GESにより誘発されたスパイクに変化は認められない。
 電極の配置と記録法は図2と同じ。

効果が認められた。これは GES 誘発スパイクの抑制機構には、GABA 神経伝達機構以外の系も一部関与していることを示唆する。

結 論

抑制系神経伝達物質あるいは神経機能調節因子と考えられている Tau にアミジン基の結合した GES は、Tau 系の神経伝達あるいは調節機構に影響を及ぼして発作波を誘発する。さらに、

その発作の抑制には、GABA 系の神経伝達機構が一部関与していることが示唆された。

稿を終わるにあたり、御懇篤な御指導と御校閲を賜りました森 昭胤教授、また直接御指導御協力いただきました横井 功助手、加太英明技官に深く感謝の意を捧げます。さらに、実験遂行にあたりましては終始快く御協力下さいました研究室の皆様から御礼申し上げます。

文 献

- 1) Strecker A : Untersuchungen über die chemischen Beziehungen zwischen Guanin, Xanthin, Theobromin, Caffein und Kreatin. Ann Chem Pharmac (1861) 118, 151—177.
- 2) Robin Y and Marescau B : Natural guanidino compounds : in Guanidines, Mori, Cohen and Lowenthal eds. Plenum Press, New York (1985) pp. 383—438.
- 3) Thoai NV and Robin Y : Métabolisme des dérivés guanidyles II. Isolement de la guanidotaurine

- (taurocyamine) et de l'acid guanidoacétique (glycoeyamine) des vers marins. *Biochim Biophys Acta* (1954) **13**, 533-536.
- 4) Matsumoto M, Kishikawa H and Mori A : Guanidino compounds in the sera of uremic patients and in the sera and brain of experimental uremic rabbits. *Biochem Med* (1976) **16**, 1-8.
 - 5) Mori A, Hosotani M and Tye LC : Studies on brain guanidino compounds by automatic liquid chromatography. *Biochem Med* (1974) **10**, 8-14.
 - 6) Mori A, Hiramatsu M, Takahashi K and Kohsaka M : Guanidino compounds in rat organs. *Comp Biochem Physiol* (1975) **51**, 143-144.
 - 7) 水野 晃 : Taurocyamine 痙攣に関する生理学的ならびに生化学的研究. *阪大医誌* (1971) **23**, 13-20.
 - 8) Mori A, Katayama Y, Yokoi I and Matsumoto M : Inhibition of taurocyamine (guanidinotaurine)-induced seizures by taurine ; in *The Effects of Taurine on Excitable Tissues*, Schaffer, Baskin and Kocsis eds, Spectrum Publications, New York (1981) pp. 41-48.
 - 9) 渡辺駿二 : Guanidinoethanesulfonic acid 誘発痙攣に関する研究 — 特に脳内モノアミンにおよぼす影響 —. *岡山医誌* (1989) **101**, 977-989.
 - 10) Mizuno A, Mukawa J, Kobayashi K and Mori A : Convulsive activity of taurocyamine in cats and rabbits. *IRCS Med Sci* (1975) **3**, 385.
 - 11) Mori A, Watanabe Y and Akagi M : Guanidino compound anomalies in epilepsy ; in *Advances in Epileptology*, Akimoto, Kazamatsuri, Seino and Ward eds, Raven Press, New York (1982) pp. 347-351.
 - 12) 平松千明 : マウス脳内 guanidino 化合物に関する研究. 第2編. けいれんにともなう脳内 guanidino 化合物の変動について. *岡山医誌* (1980) **92**, 427-434.
 - 13) Mori A, Katayama Y, Matsumoto M, Fujiwara M and Hiramatsu M : CBA mouse, an experimental model of epilepsy ; in *Advances in Epileptology-1977*, Meinardi and Rowan eds, Swets and Zeitlinger BV, Amsterdam (1978) pp. 450-452.
 - 14) Huxtable RJ, Bonhaus D, Nakagawa K, Laird HF and Pasantes-Morales H : Taurine and the action of guanidinoethane sulfonate ; in *Guanidines*, Mori, Cohen and Lowenthal eds. Plenum Press, New York (1985) pp. 213-225.
 - 15) Huxtable RJ, Lehmann A, Sandberg M and Shindo S : Guanidinoethane sulfonate and the investigation of taurine and other neuroactive amino acids ; in *Guanidines II*, Mori, Cohen and Koide eds. Plenum Press, New York (1989) pp. 189-197.
 - 16) Barbeau A, Inoue N, Tsukada Y and Butterworth RF : The neuropharmacology of taurine. *Life Sci* (1975) **17**, 669-678.
 - 17) Kuriyama K : Does taurine have a function ? Taurine as a neuromodulator. *Fed Proc* (1980) **39**, 2680-2684.
 - 18) Murray M and Hoffmann AB : The occurrence of guanidine-like substances in the blood in essential epilepsy. *J Lab Clin Med* (1940) **25**, 1072-1073.
 - 19) 森 昭胤 : 痙攣発現機構とアミノ酸. とくに γ -グアニジノ酪酸について. 第17回日本医学講演集 (1967) **1**, 396-400.
 - 20) Jinnai D, Sawai A and Mori A : γ -Guanidinobutyric acid as a convulsive substance. *Nature* (1966) **212**, 617.
 - 21) Mori A, Akagi M, Katayama Y and Watanabe Y : α -Guanidinoglutamic acid in cobalt-induced epileptogenic cerebral cortex of cats. *J Neurochem* (1980) **35**, 603-605.
 - 22) Mori A, Watanabe Y, Shindo S, Akagi M and Hiramatsu M : α -Guanidinoglutamic acid and

- epilepsy ; in Urea Cycle Diseases, Lowenthal, Mori and Marescau eds. Plenum Press, New York (1982) pp. 419—426.
- 23) Shiraga H and Mori A : Convulsive activity of α -guanidinoglutaric acid in rats. IRCS Med Sci (1982) **10**, 855—856.
- 24) Jinnai D, Mori A, Mukawa J, Ohkusu H, Hosotani M, Mizuno A and Tye LC : Biochemical and physiological studies on guanidino compounds induced convulsions. Jpn J Brain Physiol (1969) **160**, 3668—3673.
- 25) Mori A, Ichimura I and Matsumoto H : Gas chromatography-mass spectrometry of guanidino compounds in brain. Anal Biochem (1978) **89**, 393—399.
- 26) Yokoi I, Toma J and Mori A : The effect of homoarginine on the EEG of rats. Neurochem Pathol (1984) **2**, 295—300.
- 27) 松本路子 : 尿毒症におけるグアニジノ化合物に関する研究. 岡山医誌 (1975) **87**, 673—686.
- 28) Matsumoto M, Kobayashi K, Kishikawa H and Mori A : Convulsive activity of methylguanidine in cats and rabbits. IRCS Med Sci (1976) **4**, 65.
- 29) Ohkusu H and Mori A : Isolation of α -N-acetyl-L-arginine from cattle brain. J Neurochem (1969) **16**, 413—414.
- 30) Mori A, Ohkusu H : Isolation and identification of alpha-N-acetyl-L-arginine and its effect on convulsive seizure. Adv Neurol Sci (Tokyo) (1971) **15**, 303—306.
- 31) Watanabe Y, Shindo S and Mori A : Identification of 2-guanidinoethanol in human urine. Eur J Biochem (1985) **147**, 465—468.
- 32) 枝木 彰 : 2-Guanidinoethanol のけいれん誘発作用に関する生理学的研究. 岡山医誌 (1987) **99**, 1333—1347.
- 33) Yokoi I, Kabuto H, Kawakami Y, Mori A and Robin Y : Effects of phascoline and phascolosomine on the rat electroencephalograms. Neuroscience (1989) **15**, 351—357.
- 34) Shindo S, Tsuruta K, Yokoi I and Mori A : Synthesis of δ -guanidinovaleric acid and its effect on EEG of rats. Neurosciences (Kobe) (1984) **10**, 177—182.
- 35) Yokoi I, Tsuruta K, Shiraga H and Mori A : δ -Guanidinovaleric acid as an endogeneous and specific GABA-receptor antagonist, Electroencephalographic study. Epilepsy Res (1987) **1**, 114—120.
- 36) Marescau B, Hiramatsu M and Mori A : α -Keto- δ -guanidinovaleric acid-induced electroencephalographic epileptiform discharges in rabbits. Neurochem Pathol (1983) **1**, 203—209.
- 37) Thoai NV, Roche J and Olomucki A : Sur la présence de la taurocyamine (guanidino-taurine) dans l'urine de rat et sa signification biochimique dans l'excrétion azotée. Biochim Biophys Acta (1954) **14**, 448.
- 38) 森 昭胤, 片山泰人, 津尾道雄, 中江 勲, 沢木 惇 : タウリン大量投与ウサギにおけるグアニジノ化合物の変動に関する研究. 含硫アミノ酸 (1978) **1**, 57—62.
- 39) 片山泰人, 進藤省一郎, 沢木 惇, 渡辺洋子, 平松千秋, 森 昭胤 : Taurocyamine の生合成に関する研究. 含硫アミノ酸 (1979) **2**, 297—304.
- 40) 進藤省一郎, 沢木 惇, 片山泰人, 平松千明, 中江 勲, 津尾道雄, 森 昭胤 : 脳内タウロシアミンの生合成に関する研究. 脳研会誌 (1980) **6**, 78—79.
- 41) 松本路子, 藤原正昭, 森 昭胤 : ウサギ脳アセチルコリン系酵素に及ぼすグアニジノ化合物の影響. 脳研会誌 (1977) **3**, 128—129.
- 42) 進藤省一郎, 片山泰人, 森 昭胤 : グルタミン酸系酵素におよぼす諸種グアニジノ化合物の作用について. 脳研会誌 (1979) **5**, 96—97.

- 43) Matsumoto M and Mori A : Effects of guanidino compounds on rabbit brain microsomal Na⁺-K⁺ ATPase activity. *J Neurochem* (1976) **27**, 635—636.
- 44) Obata T, Mori A and Yamamura HI : Effect of guanidino compounds on GABA-stimulated chloride influx into membrane vesicles from rat cerebral cortex ; in Guanidines II, Mori, Cohen and Koide eds. Plenum Press, New York (1985) pp. 153—157.
- 45) Olsen RW : GABA-benzodiazepine-barbiturate receptor interaction. *J Neurochem* (1981) **37**, 1—13.
- 46) Olsen RW : The GABA postsynaptic membrane receptor-ionophore complex. *Mol Cell Biochem* (1981) **39**, 261—279.
- 47) Bowery NG, Price GW, Hudson AL, Hill DR, Wilkin GP and Turnbull MJ : GABA receptor multiplicity visualization of different receptor types in the mammalian CNS. *Neuropharmacology* (1984) **23**, 219—231.
- 48) 片山泰人 : 4-Amino-3-hydroxybutanoic acid (GABOB) の体内代謝と中枢抑制作用に関する研究 —特に光学異性体についての比較検討—. *岡山医誌* (1976) **88**, 209—221.
- 49) Wieland T : Poisonous principles of mushrooms of the genus *Amanita*. *Science* (1968) **159**, 946—952.
- 50) Snodgrass SR : Use of ³H-muscimol for GABA receptor studies. *Nature* (1978) **273**, 392—394.
- 51) Beamont K, Chilton WS, Yamamura HI and Enna SJ : Muscimol binding in rat brain : Association with synaptic GABA receptors. *Brain Res* (1978) **148**, 153—162.
- 52) Crane P and Swanson PD : Diphenylhydantoin and the cations and phosphates of electrically stimulated brain slices. *Neurology* (1970) **20**, 1119—1124.
- 53) De Weer P : Phenytoin : Blockage of resting sodium channels ; in *Antiepileptic Drugs : Mechanisms of Action*. Glaser, Penry and Woodbury eds. Raven Press, New York (1980) pp. 353—361.
- 54) Weinberger J, Nichlas WJ and Berl S : Mechanism of action of anticonvulsants. *Neurology* (Minneapolis) (1976) **26**, 162—166.
- 55) Van der Laan JW, De Boer TH and Bruinuels J : Di-n-propylacetate and GABA degradation : Preferential inhibition of succinic semialdehyde dehydrogenase and indirect inhibition of GABA-transaminase. *J Neurochem* (1979) **32**, 1769—1780.
- 56) Löscher W and Frey HH : On the mechanism of action of valproic acid. *Arzneim Forsch* (1977) **27**, 1081—1082.
- 57) Ferrendelli JA and Kupferberg HJ : Antiepileptic drugs : Succinimides ; in *Antiepileptic Drugs : Mechanisms of Action*. Glaser, Penry and Woodbury eds. Raven Press, New York (1980) pp. 587—596.

A physiological study of guanidinoethanesulfonic acid-induced seizure activity

Hiroko TODA

Department of Neurochemistry, Institute for Neurobiology,

Okayama University Medical School,

Okayama 700, Japan

(Director : Prof. A. Mori)

The effect of guanidinoethanesulfonic acid (amidino-*taurine*, GES) on electrocorticograms (ECoG) and the effects of a 4-aminobutanoic acid (GABA)-agonist and anticonvulsants on the GES-induced ECoG changes were studied. Sporadic spike discharges began 2-5 min after GES ($1\mu\text{mol}$) application to the pia mater of the sensorimotor cortex of a rat with a frequency of 5-10 spike discharges/min. Spike discharges in the ECoG of the opposite cerebral hemisphere were observed 60 min after the onset of the spike discharges. The spike discharges lasted until the end of recording after 3h.

The GES-induced spike discharges were completely suppressed with the supplementation of *taurine* ($1-3\mu\text{mol}$) on the pia mater following the completion of the spike discharges. GABA ($1\mu\text{mol}$) and its agonists, (3R)-(-)-4-amino-3-hydroxybutanoic acid and muscimol (10nmol) when applied topically, also suppressed the GES-induced spike discharges. While diazepam (DZP) (10mg/kg , i. p.), which acts as a functional GABA-agonist, showed suppressive effects on the GES-induced spike discharges following their completion, phenobarbital (PB) (20mg/kg , i. p.), which also acts as a functional GABA-agonist, increased the frequency and voltage of spike discharges. While ethosuximide (100mg/kg , i. p.) showed weak suppressive effects on spike discharges, intraperitoneal injection of either valproate (200mg/kg) or phenytoin (25mg/kg) did not affect them.

These findings suggest that neurotransmission or neuromodulatory effects of *taurine* might participate in the induction mechanism of GES-induced seizure activities, and that GABA and DZP receptors might play a role in the mechanism which suppresses GES-induced seizures.