

해마박편에서 Glutamic acid와 GABA유리의 상호관계에 관한 연구

원광대학교 치과대학 치과약리학 교실

김 형 룡

I. 서 론

중추의 여러 흥분성 시냅스에서 신경의 정보 전달에 중요한 역할을 담당한다고 알려져 있는 glutamate는 여러 뇌부위 박편, 절전 신경섬유말단, 신경세포배양, 생체 push-pull 카놀라와 미세투석관을 이용한 관류기법 실험에서 전기 자극이나 화학적 자극에 의해 glutamate성 신경말단으로부터 유리된다고 알려져있다^{1,2,3}. 포유류 전 뇌의 약 50%의 시냅스에서 신경전달물질로 작용하는 흥분성 아미노산 신경전달물질인 glutamic acid는 N-methyl-D-aspartate (NMDA), Quisqualate (QA)와 Kainate (KA) 수용체등 서로 다른 3가지 수용체에 작용하여 거의 모든 신경을 흥분시켜 여러 뇌 부위로부터 GABA, dopamine, acetylcholine, adenosine, norepinephrine 등 여러 신경전달물질을 유리시키는 것으로 알려져 있다³. 중추에서 억제성 신경전달물질로 작용하는 GABA는 중추신경계 시냅스 중 40%의 시냅스에 신경 전달을 담당하는 것으로 알려져 있으며 수종의 GABA수용체 작용 약물들은 여러 가지 실험적인 발작을 억제하거나 완화할 수 있으며⁴, bicuculline과 같은 GABA수용체 길항제는 강직성-간대

성 경련(tonic-clonic convulsion)을 야기한다고 하였다⁵. 해마에는 억제성 신경전달물질로 경련유발 약물과 항경련 약물의 표적으로 여겨져 왔으며 회귀 억제 (feedback inhibition) 와 feedforward inhibition^{6,7}에 관여하는 GABA성 개체 뉴론 (interneuron) (약 12%) 외에도 entorhinal cortex에서 기원하는 흥분성 신경전달물질인 glutamate성 신경, 청반(locus coeruleus), 배측봉선핵(dorsal raphe nucleus), 복측피개부위(ventral tegmentum area), 내중격핵(medial septal nucleus)에서 각각 기원하는 노르아드레날린성 신경, 세로토닌성 신경, 도파민성 신경, 콜린성 신경 말단과 여러 neuropeptide들이 존재하여 기억, 학습 및 정서 행동조절에 중요한 역할을 담당한다고 알려져 있다⁸.

뇌박편을 이용한 실험방법은 생체 실험방법에 비해 호흡이나 심장활동에 의한 맥동이 없기 때문에 전기생리학적 기록에 안정성이 있으며 육안으로 정확히 기록용 전극과 자극용 전극을 위치 시킬 수 있고 이온삼투법이나 관류방법으로 배양액의 조성을 손쉽게 바꿀 수 있어서 전기생리학적 및 신경 화학적 연구에 널리 이용되고 있으며 특히 해마박편은 생체내의 해마에서 볼 수 있는 내인성 (intrinsic) 및 구심성과 원심성 신경회로의 대부분을 가지고 있고⁹ 여러 세포 층으로 구성되어 있어서 생체와 유사한 생리학적 특징을 보이므로 여러 경련유발 약물에 대

* 이 논문은 1996년도 원광대학교의 교비지원에 의해서 연구됨.

한 신경 화학적 및 전기 생리학적 연구에 광범위하게 이용되고 있다¹⁰⁾.

본 연구는 glutamate성 신경과 GABA성 신경이 교차 지배하는 해마부위를 적출하여 생체와 유사한 생리학적 특징을 갖고있는 해마박편을 제작하여 glutamic acid 와 GABA유리와의 상호관련성을 관찰하고자 하였다.

II. 실험재료 및 방법

1. 실험동물

체중 200gm 내외의 Sprague-Dawley 계 흰쥐를 50마리 사용하였으며 실험 전 24시간 이상 동일한 환경에 두었으며 사료와 물 공급은 제한하지 않았다.

2. 신경화학적 연구

실험 동물을 경부염전 (cervical dislocation) 으로 희생시키고 즉시 뇌를 꺼내어 생리식염수에 적신 여과지 위에 올려놓고 양쪽해마를 적출한 후 면도칼과 recessed glass guide (약 350 μ m 두께)를 이용하여 300-400 μ m 두께의 해마 박편을 제작하였으며¹¹⁾, 박편을 제작하는 동안 계속해서 95% O₂-5% CO₂로 포화된 Krebs-bicarbonate 배양액(NaCl 118mM, KCl 4.75mM, CaCl₂ 2.52mM, KH₂PO₄ 1.19mM, NaHCO₃ 25mM, Glucose 10mM pH 7.4) 으로 적신 상태에서 시행하였다. 제작한 해마박편을 basket-shaped sieve tissue holder에 옮기고 Krebs-bicarbonate 배양액으로 37°C에서 1시간 전 배양시켰다. Glutamic acid에 의한 GABA 유리효과는 박편을 신선한 Krebs-bicarbonate 배양액이 들어있는 다른 비이커로 옮겨서 10분간 배양한 다음 박편을 glutamic acid가 첨가된 비이커로 옮겨서 10분간 배양하였다.

GABA가 포타슘(최종농도 50mM) 자극에 의한 glutamic acid 유리에 미치는 실험은 박편을 제작하

여 1시간 전배양시킨후 박편을 신선한 Krebs-bicarbonate 배양액이 들어있는 다른 비이커로 옮겨서 5분간 배양(S1)한 다음 박편을 포타슘(최종농도 50mM) 이 첨가된 비이커로 옮겨서 5분간 배양(K1)한 후 30분간 휴식상태로 둔 후 다시 신선한 배양액에서 5분간 배양(S2)하고 포타슘과 GABA가 첨가된 비이커에서 5분 더 배양(K2)하였다. 자발적인 또는 약물치리에 의한 신경 전달물질의 유리를 측정하기 위하여 배양액은 즉시 냉동 건조시켜 30mM lithium carbonate buffer (최종 pH 9.5)로 재 용해 시킨 후 Tapuhi 등¹²⁾의 방법으로 dansylation을 시행하고 high performance liquid chromatography system (HPLC, Waters Associates, Milford, U.S.A)으로 분석하였다. HPLC조건은 압력 1000 \pm 50 p.s.i., 용매유량 1.0 ml/min, 시료주입량 90 μ l이었고, 고정상은 reverse-phase steel column인 μ Bondapak-C₁₈을 이용하였다. 이동상은 30mM sodium phosphate용액 (pH 3.5, pH 7.2)을, organic modifier로 10-50%의 acetonitrile을 사용하였으며 사용직전에 수용액용 Millipore filter (0.45 μ m) 로 여과하여 격렬하게 교반하면서 진공펌프로 10분간 가스를 제거하였다.

GABA와 glutamic acid 정량은 U.V.detector (Waters Associates, Model 440) 을 이용하여 파장 254nm, operation sensitivity 0.02-0.01 a.u.f.s.에서 측정하였고 peak의 확인은 retention time과 standard coaddition방법으로 확인하였다.

단백질 정량은 소량의 0.2N NaOH로 녹여 bovine serum albumin(Sigma, fraction V)을 표준용액으로 사용하여 Lowry 등¹³⁾의 방법으로 시행하였다.

실험결과 얻은 자발적, 포타슘 및 glutamate에 의한 GABA 및 glutamic acid 유리량은 단백질 정량을 실시하여 mg protein 비율로 그 크기를 표시하였다.

III. 실험성적

해마에서의 GABA성 신경과 glutamate성 신경과의 상호관련성을 연구하고자 배양액내에 첨가된 GABA 및 glutamate가 내인성 GABA 및 glutamic-

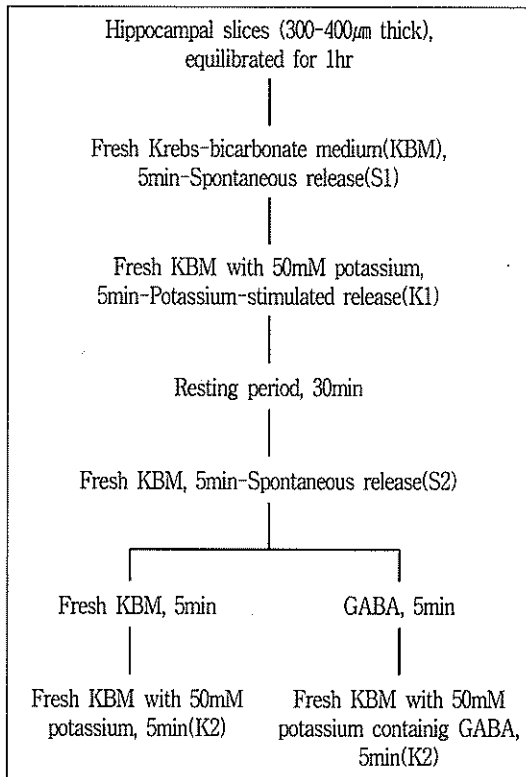


Fig. 1. Diagrammatic presentation of employed method to study the release of glutamate and GABA from hippocampal slices

Table. 1. Effect of potassium stimulation (50mM) on the release of glutamic acid from hippocampal slices.

	Glutamic acid amount (nM / 100mg protein)	
	S1 ^a	S2 ^a
Spontaneous	27.8±3.4	21.3±5.2
Potassium-stimulated	K1 ^b	K2 ^b
	143.2±15.6	115.1±9.2
Fold of increase	5.2	5.4

Values are MEAN ± S.E. of 7 samples.

a : S1 and S2 are 1st and 2nd spontaneous glutamic acid release amount

b : K1 and K2 are 1st and 2nd potassium-stimulated glutamic acid release amount

Table 2. Effect of GABA on potassium (50mM) - stimulated release of glutamic acid from hippocampal slices

Treatment	% release of GLU *
Control	82.5 ± 4.3
GABA 0.01mM	62.1 ± 2.8
GABA 0.1mM	39.3 ± 3.9
GABA 1mM	18.4 ± 3

Values are MEAN±S.E. of 4 samples.

* ; $\frac{\text{GABA plus potassium-stimulated glutamic acid release}}{\text{1st potassium-stimulated glutamic acid release}} \times 100$

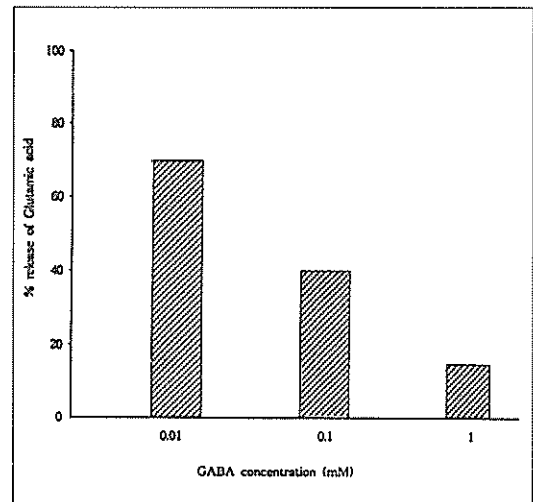


Fig. 2. Effect of GABA on the potassium- stimulated glutamic acid release from hippocampal slices.

acid유리에 미치는 영향을 관찰한 바 자발적인 glutamic acid유리는 27.8 n mol/100mg protein(S1) 과 21.3 n mol/100mg protein(S2)이었으며 포타슘 자극에 의한 glutamic acid유리는 143.2 nmol/100mg protein(K1)과 115.1 n mol/100mg protein(K2)이었다. 포타슘 자극에 의한 glutamic acid유리량은 자발적인 glutamic acid유리량에 비하여 각각 5.2배(K1 /S1) 및 5.4배(K2/S2)이었다.(Table 1)

Table 3. Effect of Glutamate (GLU) on endogenous GABA release from hippocampal slices.

Treatment	GABA amount (nM/100mg protein)
Spontaneous	33.4±2.7
GLU (0.1mM)	56.8±3.1
GLU (1mM)	93.5±3.4
GLU (10mM)	263.81±4.2

Values are MEAN ± S. E. of 4 samples.

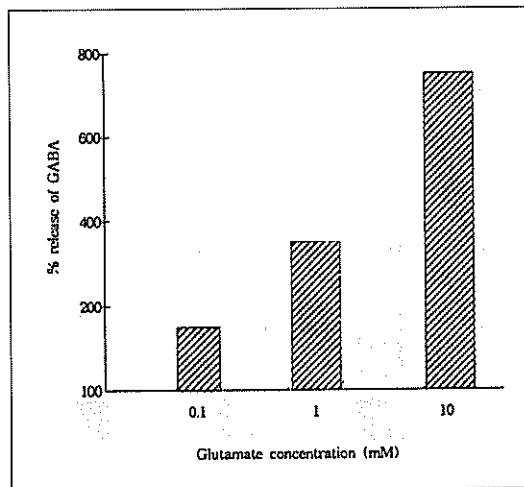


Fig. 3. Effect of Glutamate on endogenous GABA release from hippocampal slices.

GABA (0.01, 0.1, 1mM)투여가 자발적인 glutamic acid유리에는 큰 영향을 미치지 않았으며 포타슘 자극에 의한 glutamic acid유리는 GABA농도가 증가함에 따라 62.1%, 39.3%, 18.4% 억제되었다(Table 2, Fig 2). Glutamic acid (0.1, 1, 10mM)투여로 자발적인 GABA유리는 약물 용량이 증가함에 따라 70%, 280%, 790% 증가하였다(Table 3, Fig. 3).

IV. 고 찰

해마에는 부위마다 약간씩의 차이는 있지만,

GABA, glutamate, aspartate 등 아미노산 신경전달 물질과 norepinephrine, dopamine, serotonin, acetylcholine, histamine 등 여러 신경전달물질외에도 substance P, neurotensin, vasopressin, oxytocin, cholecystokinin, vasoactive intestinal peptide, somatostatin 등 여러 neuropeptide 들이 존재해서 학습, 기억 및 정서행동의 신경조절에 중요한 역할을 담당하는 것으로 알려져 있다⁸⁾.

중추에서 억제성 신경은 국소 신경회로의 흥분성을 조절하는데 중요한 역할을 하며, 특히 간질과 같은 병리적 현상은 억제성 신경의 부분적인 소실로 인해 신경에 대한 흥분성이 증가하여 야기된다고 알려져 있다^{14,15)}. 억제성 신경인 GABA성 신경은 해마에서 흥분성 시냅스를 강력하게 억제하는 것으로 알려져 있으며^{16,17)} 해마 구심성 신경섬유를 전기자극 시 CA1추체세포에 흥분성 시냅스후 전압 (EPSP)과 빠른 혹은 늦은 억제성 시냅스후 전압 (IPSP)을 야기시키며, early IPSP 에는 feedback과 feedforward 억제성 개재뉴런, GABA_A수용체의 활성화, 염소이온 통로 열림이 관여하며^{6,18,19)} late IPSP 에는 feedforward 억제성 개재뉴런, GABA_B 수용체의 활성화, 포타슘 이온 통로 열림이 관여^{6,19,20)} 하는 것으로 알려져 있다. 해마에는 비추체세포로서 여러 종류의 개재뉴런들이 존재하며 추체세포에 비해 적게 분포 (약12%)하고 있고, 추체세포와 치상회(dentate granule) 세포들이 glutamate, aspartate 등 흥분성 신경전달물질을 이용하는 반면, 대부분의 개재뉴런 (80-95%)은 GABA²¹⁾ 혹은 glutamic acid decarboxylase(GAD)^{22,23)}을 함유한 GABA성 신경으로 알려져 있다.

개재뉴런을 생리적으로 세포막 성질에 따라¹⁾ str. pyramidale의 농세포(basket cell)와 str. oriens-alveus의 vertical 세포,²⁾ str. lacunosum-moleculare의 stellate세포로 크게 분류할수 있으며, 동시적인 세포내 기록시 농세포(basket cell)와 수직세포(vertical cell)는 추체세포에 feedback과 feedforward억제에 관여하여 early(GABA_A) IPSP를 일으키는 반면 stellate세포는 추체세포에 feedforward

억제에만 관여하여 late(GABA_B) IPSP를 일으키며, 특히 대부분의 stellate 세포에는 GABA 합성효소인 glutamic acid decarboxylase(GAD) 와 여러 neuro-peptide (cholecystokinin과 vasoactive intestinal peptide)가 공존해 있는 것으로 알려져 있다.

GABA성 신경인 비추체세포가 glutamate성 신경인 추체세포보다 약 10배 정도 적게 분포하고 있지만 치밀하게 배열된 세포질 내형 망상체, 미토콘드리아 등 여러 세포내 소기관이 잘 발달되어 있어 대사적으로 매우 활발한 신경으로서 높은 긴장성 발사율(tonic discharge rate)을 보이며 광범위한 수지상 돌기를 가지고 있어서 구심성 신경섬유로부터 흥분성 입력을 직접적으로 받기 때문에 자발적인 신경흥분에 발산에 의해 추체세포를 억제하는 것으로 알려져 있다. 억제성 신경의 말단과 GABA수용체는 추체세포의 세포체와 축삭구(axon hillock)에 존재하며 추체세포에 비해 비추체세포가 낮은 역치자극강도와 빠른 전도 속도를 가지고 있기 때문에 억제성 신경정보가 직접적인 흥분성 자극으로부터의 흥분성 신경정보보다 먼저 추체세포의 세포체에 도달해서 억제하며 feedforward 억제성 신경회로는 입력되는 여러 흥분성 신경정보들을 매우 조심스럽게 선택해서 시냅스후 반응이 하나의 활동전압만 일으키도록 하여 해마로부터의 신경정보 출력을 조절하는데 매우 중요한 역할을 담당할 것으로 생각되고 있다.

포유류 전뇌의 약 50%의 시냅스에서 신경전달 물질로 작용하는 흥분성 아미노산 신경전달물질인 glutamic acid는 N-methyl-D-aspartate(NMDA), quisqualate(QA)와 kainate(KA) 수용체등 서로 다른 3가지 수용체²⁴⁾에 작용하여 거의 모든 신경을 흥분시켜²⁵⁾ 여러 뇌부위로부터 GABA, dopamine, acetylcholine, adenosine, norepinephrine 등 여러 신경전달 물질을 유리시키는 것으로 알려져 있다. 해마에는 glutamate성 신경인 추체신경과 GABA성 신경인 개재뉴런이 서로 다양한 시냅스를 형성하여 GABA성 개재뉴런이 추체신경을 강력하게 억제하며 또한 추체신경이 GABA성 개재뉴런에 흥분성 시냅스를 보내는 것으로 알려져 있다. Harris와 Miller

²⁶⁾는 해마 신경세포 배양실험에서 glutamate가 GABA 유리를 촉진한다고 보고한 바 있다.

중추 신경계 시냅스 중 40%의 시냅스에서 신경전달물질을 담당한다고 알려져 있는 억제성 신경전달물질인 GABA는 시냅스후 신경세포에 존재하는 GABA_A수용체²⁷⁾, 시냅스전 신경세포에 존재해서 GABA 유리를 조절하는 GABA_B 수용체에 작용하여²⁷⁾, acetylcholine, adenosine, cholecystokinin, glycine, dopamine, norepinephrine, opioid peptides, serotonin, somatostatin, substance P 등과 같은 여러 신경전달물질과 호르몬계와 밀접하게 연결되어 있어서 음식물 섭취, 진통작용, 심맥관계 활동조절, 정신적 우울증, 불안, 근심 등 여러 정서행동 조절에 중요한 역할을 담당하며²⁸⁾ 해마와 dentate gyrus에는 GABA_A 와 B 수용체가²⁹⁾ 비슷한 분포로 존재하지만 특히 추체신경 세포체에는 GABA_A 수용체가, 첨단과기저 수지상돌기에는 GABA_B 수용체가 많이 분포하는 것으로 알려져 있다. 개재뉴런으로부터 유리된 GABA가 GABA_A 와 B 수용체를 활성화시켜 추체신경에 feedback억제와 feedforward 억제의 기능을 수행하여 추체신경의 활성을 강력하게 조절하는 것으로 알려져 있다. Baba³⁰⁾ 등은 해마 박편에서 GABA가 외인성으로 glutamic acid 유리를 억제시켰다고 하였다.

흥분성 조직을 탈분극시키는 방법으로는 전기자극 및 화학물질등이 이용되어 왔으며 박편에서도 고농도 포타슘에 의해 신경전달물질 유리가 유발된다고 잘 알려져 있다³⁰⁻³³⁾. 고농도 포타슘은 신경세포막 내부와 외부의 포타슘 농도 경사를 감소시켜서 탈분극을 유발시켜 이로 인해 칼슘이온의 유입이 나타난다고 알려져 있다^{34,35)}.

본 실험에서는 포타슘자극에 의한 glutamic acid 유리 (143.2 ± 15.6 n mol)는 1차 자발적인 glutamic acid 유리 (27.8 ± 3.4 n mol)에 비해 5.2배 증가하였으며 2차 포타슘 자극에 의한 glutamic acid 유리 (115.1 ± 9.2 nmol)는 2차 자발적인 glutamic acid 유리 (21.3 ± 5.2 n mol)에 비해 5.4배 증가하였다. 포타슘 자극에 의한 glutamic acid 유리는 1차 포타슘자

극의 약 81%정도 유리되어 절대량의 차이는 있었으나 유리축진효과의 정도는 유사하여 반복이용이 가능하였다. Harris와 Miller는 해마 신경세포 배양실험에서 glutamate가 GABA 유리를 촉진한다고 보고한 바 있으며 Baba³⁰⁾ 등은 해마 박편에서 GABA가 외인성으로 glutamic acid 유리를 억제시켰다고 보고하였다. 해마박편을 이용한 본 실험은 배양액에 첨가된 GABA는 자발적인 glutamic acid유리에는 큰 영향이 없었으며 고농도 포타슘자극에 의한 glutamic acid유리는 GABA용량(0.01-1mM)이 증가함에 따라 62.1%, 39.3%, 18.4% 억제되었다. Glutamic acid(0.1mM-10mM)투여로 자발적인 GABA유리는 약물용량이 증가함에 따라 170%, 280%, 790% 증가하였다. 위의 실험 결과를 종합해볼때 흰쥐 해마에는 glutamate성 신경과 GABA성 신경이 서로 밀접하게 관련되어 있으며 glutamate성 신경말단에 GABA성 수용체가 존재하며 glutamate성 신경말단으로부터 비정상적으로 glutamic acid가 유리되는 것을 억제하는 것으로 생각된다.

V. 결 론

Glutamate성 신경과 GABA성 신경의 상호관련성을 관찰하기 위하여 Sprague-Dawley 계 암흰쥐를 경부염전 (cervical dislocation) 으로 희생시키고 즉시 뇌를 꺼내어 해마부위로부터 300-400 μ m 두께의 해마 박편을 제작하여 조직 고정장치에 위치시켰다. 조직 고정장치에 고정시킨 뇌박편을 신선한 Krebs-bicarbonate 배양액으로 37°C에서 1시간 전배양시킨 후 신선한 Krebs-bicarbonate 배양액과 포타슘(최종농도 50mM)이 첨가된 Krebs-bicarbonate 배양액으로 옮겨 각각 5분씩 배양하였다. 30분 후 다시 신선한 Krebs-bicarbonate 배양액에서 5분간, 포타슘(최종농도 50mM) 및 GABA가 첨가된 Krebs-bicarbonate 배양액에서 5분씩 배양하였다.

Glutamic acid에 의한 GABA 유리효과는 박편을 신선한 Krebs-bicarbonate 배양액이 들어있는 다른 비이커로 옮겨서 10분간 배양한 다음 박편을 gluta-

mic acid가 첨가된 비이커로 옮겨서 10분간 배양하였다. 배양액은 즉시 냉동건조시킨 후 dansylation을 시행하고 High Performance Liquid Chromatography-UV Detector 방법으로 분석하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

- 1차 포타슘(최종농도 50mM)자극에 의한 glutamic acid유리는 1차 자발적인 glutamic acid유리에 비해 5.2배 증가하였으며 2차 포타슘자극에 의해서는 5.4배 증가하여 1차와 2차 포타슘자극에 의한 glutamic acid유리가 유사한 반응을 보였다.
2. GABA (0.01-1mM)는 포타슘자극에 의한 glutamic acid유리를 용량 의존성으로 억제하였다.
3. Glutamic acid (0.1-10mM)는 자발적인 GABA유리를 용량 의존성으로 증가시켰다.

참고문헌

1. Fonnum, F : Glutamate : A neurotransmitter in mammalian brain. *J. Neurochem.* 42 : 1, 1984.
2. Girault, J.A., Barbeito, L., Spampinato, U., Gozlan, H., Glowinski, J. and Besson, M.J. : In vivo release of endogenous amino acids from the rat striatum : Further evidence for a role of glutamic acid and aspartic acid in corticostriatal neurotransmission. *J. Neurochem.* 47 : 98, 1986.
3. Watkins, J.C. and Evans, R.H. : Excitatory amino acid transmitters. *Ann. Rev. Pharmac. Toxicol.* 21 : 165-204, 1981.
4. Kendall, D.A., D.A. Fox and S.J. Enna : Effect of γ -vinyl GABA on Bicuculline-induced seizures. *Neuropharmacology* 20 : 351-357, 1981.
5. Iadarola, M.J. and K. Gale : Substantia nigra : Site or anticonvulsant activity mediated by γ -aminobutyric acid. *Science* 218 : 1237-1239, 1982.
6. Alger, B.E. and R.A. Nicoll : Feedforward dendritic inhibition in rat hippocampal pyramidal cells studied in vitro. *J. Physiol. (Lond)* 328 : 105-123, 1982a.
7. Ashwood, T.J., B. Lancaster. and H.V. Wheal : In vivo and in vitro studies on putative interneurons in the rat hippocampus : Possible mediators of feed-forward inhibition. *Brain Res.* 293 : 279-291, 1984.
8. Storm-Mathisen, J. : Localization of transmitter candi-

- dates in the brain : The hippocampal formation as a model. *Prog. Neurobiol.* 8 : 119-149, 1977.
9. Lynch, G. and P. Schubert : The use of in vitro brain slices for multidisciplinary studies of synaptic function. *Ann. Rev. Neurosci.* 3 : 1-15, 1980.
 10. Oliver, A.P., B.J. Hoffer and R.J. Wyatt : The hippocampal slices : A system for studying the pharmacology of seizures and for screening anticonvulsant drugs. *Epilepsia* 18 : 543-551, 1977.
 11. Kim, H.Y., G.S. Kim and D.K. Cheong : Effect of lidocaine on the gamma-aminobutyric acid release from hippocampal slices. *Kor. J. Oral Biol.* 12 : 117-128, 1988.
 12. Tapuhi, Y., D.E. Schmidt, W. Linder and B.L. Karger : Dansylation of amino acids for high-performance liquid chromatography analysis. *Analyt. Biochem.* 115 : 123-126, 1981.
 13. Lowry, O.H., N.J. Rosebrough, A.L. Farr and R.J. Randall : Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193 : 265, 1951.
 14. Dingledine, R. and L. Gjerstad : Reduced inhibition during epileptiform activity in the in vitro hippocampal slice. *J. Physiol.* 305 : 297-313, 1980.
 15. Kamphuis, W., W.J. Wadman, R.M. Buijs, F.H. Lopes and D.A. Saliva : The development of changes in hippocampal GABA immunoreactivity in the rat kindling model of epilepsy : A light microscopic study with GABA antibodies. *Neuroscience* 2 : 433-446, 1987.
 16. Schwartzkroin, P.A. and D.A. Prince : Changes in excitatory and inhibitory synaptic potentials leading to epileptogenic activity. *Brain Res.* 183 : 61-76, 1980.
 17. Traub, R.D., R. Miles and R.K.S. Wong : Models of synchronized hippocampal bursts in the presence of inhibition. I. Single population events. *J. Neurophysiol.* 58 : 739-751, 1987.
 18. Kandel, E.R., W.A. Spencer and F.J. Brinley : Electrophysiology of hippocampal neurons. I. Sequential invasion and synaptic organization. *J. Neurophysiol.* 24 : 225-241, 1961.
 19. Newberry, N.R. and R.A. Nicoll : Comparison of the action of baclofen with gamma-aminobutyric acid on rat hippocampal pyramidal cells in vitro. *J. Physiol. (Lond)* 360 : 161-185, 1985.
 20. Dutar, P. and R.A. Nicoll : A physiological role for GABAB receptors in the central nervous system. *Nature* 332 : 156-158, 1988a.
 21. Woodson, W., L. Nitecka and Y. Ben-Ari : Organization of the GABAergic system in the rat hippocampal formation : a quantitative immunocytochemical study. *J. Comp. Neurol.* 280 : 254-271, 1989.
 22. Kunkel, D.D., A.E. Hendrickson, J.Y. Wu and P.A. Schwartzkroin : Glutamic acid decarboxylase(GAD) immunocytochemistry of developing rabbit hippocampus. *J. Neurosci.* 6 : 541-552, 1986.
 23. Somogyi, P., A.D. Smith, M.G. Nunzi, A. Gorio, H. Tagaki and J.Y. Wu : Glutamate decarboxylase immunoreactivity in the hippocampus of the cat : distribution of immunoreactive synaptic terminals with special reference to the axon initial segment of pyramidal neurons. *J. Neurosci.* 3 : 1450-1468, 1983b.
 24. Watkins, J.C. and R.H. Evans : Excitatory amino acid transmitters. *Ann. Rev. Pharmac. Toxicol.* 21 : 165-204, 1981.
 25. Curtis, D.R. and G.A.R. Johnston : Amino acid transmitters in the mammalian central nervous system. *Ergeb. Physiol.* 69 : 98-108, 1974.
 26. Harris, K.M. and R.J. Miller : Excitatory amino acid-evoked release of [³H] GABA from hippocampal neurons in primary culture. *Brain Res.* 482 : 23-33, 1989.
 27. Hill, D.R. and N.G. Bowerly : [³H]-Baclofen and [³H]-GABA bind to biculline-insensitive GABAB sites in rat brain. *Nature* 290 : 149-152, 1981.
 28. Matsumoto, R.R. : GABA receptors : are cellular differences reflected in function? *Brain Res. Rev.* 14 : 203-225, 1989.
 29. Bowerly, N.G., A.L. Hudson and G.W. Price : GABAA and GABAB receptor site distribution in the rat central nervous system. *Neuroscience* 20 : 365-383, 1987.
 30. Baba, A., S. Okumura, H. Mizuo and H. Iwata : Inhibition by diazepam and γ -aminobutyric acid of depolarization-induced release of [¹⁴C] Cystein sulfinate and [³H] glutamate in rat hippocampal slices. *J. Neurochem.* 40 : 280-284, 1983.
 31. Corwder, J.M., M.J. Croucher, H.F. Bradford and J.F. Collins : Excitatory amino acid receptors and depolarization-induced Ca²⁺ influx into hippocampal slices. *J. Neurochem.* 48 : 1917, 1987.
 32. Moroni, F., C. Bianchi, S. Tanganelli, G. Moneti and L. Beani : The release of γ -aminobutyric acid, glutamate, and acetylcholine from striatal slices : A mass fragmentographic study. *J. Neurochem.* 36 : 1691, 1981.
 33. Weiter, M.H., U. Misgeld and D.K. Cheong : Presynaptic muscarinic modulation of nicotinic excitation in

the rat neostriatum. *Brain Res.* 296 : 111, 1984.

34. Blaustein, M.P. and J.M. Goldring : Membrane potentials in pinched-off presynaptic nerve terminals monitored with a fluorescent probe : Evidence that synaptosomes have potas-

sium diffusion potentials. *J. Physiol.* 247 : 589, 1975.

35. Corwder, J.M., M.J. Croucher, H.F. Bradford and J.F. Collins : Excitatory amino acid receptors and depolarization-induced Ca^{2+} influx into hippocampal slices. *J. Neurochem.* 48 : 1917, 1987.
-

-ABSTRACT-

RELEASE OF GLUTAMATE AND GABA FROM HIPPOCAMPAL SLICE

Hyung-Ryong Kim

Department of Dental Pharmacology, School of Dentistry, Wonkwang University

Present study was performed to clarify the release of glutamate and GABA employing hippocampal slices. Hippocampal slices (300-400 μ m thick) were prepared by the method of Kim et al. (1988) and pre-equilibrated in Krebs-bicarbonate medium (KBM, pH 7.4) for 1hr at 37°C. Pre-equilibrated slices were incubated in fresh KBM and then potassium (50mM)-containing KBM for 5min period.

Basal and potassium-induced release of GABA and glutamic acid were determined from recovered medium by HPLC. After 30 min resting period, slices were reincubated in GABA plus potassium-containing medium consecutively for 5min period each to investigate the effect of GABA on basal or potassium-induced glutamic acid release from hippocampal slices.

The observed results were as follows :

1. The release of glutamic acid induced by the first and second 5min-exposure of 50mM potassium was 143.2 ± 15.6 n mol and 115.1 ± 9.2 n mol, respectively. When compared with released amounts of glutamic acid during the corresponding spontaneous periods, these were 5.2 and 5.4 fold increase respectively.
2. GABA (0.01-1mM) inhibited potassium-induced glutamic acid release in dose-dependent manner.
3. Glutamic acid (0.1-10mM) enhanced spontaneous GABA release in dose-dependent manner.

* Key words : Hippocampal slices, Glutamic acid, GABA