

## 原 著

マウス視床下部モノアミン, アセチルコリンおよび  
ギャバ神経系に及ぼすフッ化ナトリウムの影響

菊 月 圭 吾

岩手医科大学歯学部歯科薬理学講座

(主任: 伊藤忠信教授)

[受付: 1991年1月31日]

[受理: 1991年11月19日]

**Abstract :** The effects of sodium fluoride (NaF) on the monoaminergic, cholinergic and gabaergic systems were studied in mouse brain. The levels of dopamine (DA), 3, 4-dihydroxyphenylacetic acid (DOPAC), homovanillic acid, norepinephrine, 3-methoxy-4-hydroxy-phenylglycol (MHPG), serotonin, 5-hydroxyindoleacetic acid (5-HIAA), acetylcholine (ACh) and gamma-aminobutyric acid (GABA) in the hypothalamus were measured by HPLC with an electrochemical detector. NaF increased the levels of MHPG, a main metabolite of NE and DOPAC, a main metabolite of DA, 2 hours after a single oral administration at a lower dose (0.25 mg/kg). A higher dose of NaF (100 mg/kg) increased not only the levels of MHPG, DA and DOPAC but also that of 5-HIAA, a main metabolite of serotonin, 2 hours after the administration. On the other hand, the same dose of NaF induced no changes in the levels of ACh and GABA. These results indicate that oral administration of NaF at a wide range of dose affects the monoaminergic metabolism in mice hypothalamus, suggesting the possibility that NaF changes the activities of the central monoaminergic system.

**key words :** sodium fluoride, oral administration, hypothalamus, central nervous system, mice

## 緒 言

フッ化物の大量吸収による急性中毒時には、消化器系(嘔吐, 下痢, 腹痛), 心血管系(心拍微弱, 血圧降下, ショック), 血液系(アシドーシス, 低Ca血症)などの代表的な臨床症状の他に, 感覚異常, 麻痺, テタニー, 中枢神経抑制, 昏睡などの神経学的症状も発現することが知られている<sup>1-2)</sup>。また, *in vitro* 実験により, NaFは神経系の機能発現および維持に重要な役割を

果たしている adenylyl cyclase<sup>3)</sup>, dopamine  $\beta$ -hydroxylase(DBH)<sup>4)</sup>, acetylcholinesterase (ChE)<sup>5)</sup>などの酵素の活性に対して影響を及ぼすことが報告されている。これらの知見は, フッ化物が神経系の機能に対してなんらかの影響を及ぼす可能性があることを示唆するものである。しかしながら, 全身性に投与されたフッ化物が, 末梢あるいは中枢神経系の活性に対してどのような影響を及ぼし得るかどうかは, まだ未解決に残されている。

Influences of sodium fluoride on brain monoaminergic, cholinergic and gabaergic systems in the hypothalamus of mice.

Keigo KIKUZUKI

(Department of Pharmacology, School of Dentistry, Iwate Medical University, Morioka 020)

岩手県盛岡市中央通1丁目3-27 (020)

*Dent. J. Iwate Med. Univ.* 16 : 57 - 64, 1991

そこで本研究では、中枢神経系に対する NaF の影響を明らかにするため、各種モノアミン神経系が比較的均等に分布するマウス視床下部を用いて、norepinephrine (NE), dopamine (DA), serotonin (5-HT) 神経伝達物質代謝に及ぼす NaF 1 回投与の効果、代表的な DBH 阻害薬である disulfiram<sup>6)</sup> を対照薬として検討を行った。また、NaF の acetylcholine (ACh) 神経および gamma-aminobutylic acid (GABA) 神経に及ぼす作用の検討として、視床下部内 ACh および GABA 含量の測定も行った。

### 実験方法および材料

#### 1. 動物

実験には、6 週齢 (体重 27 - 30 g) の ddY 系雄性マウス (静岡実験動物農協, 浜松) を 1 群 5 - 7 匹として用いた。

#### 2. 被検薬の投与量

モノアミン神経関連物質測定実験では、マウスに体重 10 g 当り 0.1 ml の割合で蒸留水に溶解した NaF (0.05, 0.25, 0.5, 1.0, 100 mg/kg) の経口投与あるいは disulfiram (Dis, 0.1, 1.0, 400 mg/kg) の腹腔内投与を行い、投与 0.5 - 6 時間後にマイクロウェーブ照射により屠殺した。ACh および GABA 測定実験の場合には、マウスに NaF 100 mg/kg を経口投与し、投与 0.5 および 2 時間後にマイクロウェーブ照射 (TMW-6402 A, 4 KW, 0.8 秒, 東芝) により屠殺した。対照群には、vehicle として、0.9% 生理的食塩水のみを等量経口投与あるいは腹腔内投与した。

#### 3. 視床下部の摘出と測定試料の作製

マイクロウェーブ照射による屠殺後、全脳を摘出した。全脳からの視床下部の摘出は、Glowinsky and Iversen 法<sup>7)</sup>により氷上で行った。

摘出された視床下部 (約 10 mg) は、0.1 mM EDTA 及び 100  $\mu$ M エチルホモコリン (EHC; ACh 測定時の内部標準物質) を含む 300  $\mu$ l の 0.1M 過塩素酸溶液中で超音波にて破碎した。

さらに、それらは遠心分離 (12,000G  $\times$  10min, 4°C) 後、0.45  $\mu$ m フィルターで濾過し、その上清を -80°C で測定時まで凍結保存した。

#### 4. モノアミンおよび関連代謝物含量の測定条件

NE, 3-methoxy-4-hydroxy-phenylglycol (MHPG), DA, 3, 4-dihydroxyphenylacetic acid (DOPAC), homovanillic acid (HVA), 5-HT, 5-hydroxyindoleacetic acid (5-HIAA) 含量の測定は、HPLC-ECD を用いる Murai らの方法<sup>8)</sup>により行った。また、ACh および choline (Ch) 含量の測定は、HPLC-ECD を用いる Murai らの方法<sup>9)</sup>により、GABA 含量の測定は、HPLC-ECD を用いる Murai らの方法<sup>10)</sup>により行った。

#### 5. 使用薬物

使用した薬物、試薬および溶媒は、すべて市販のものである。

#### 6. 統計学的処理

各測定結果は、平均値  $\pm$  標準誤差で表した。結果の統計学的有意性は、Dunnett および Student の t 検定を用いて判定した。

### 実験結果

#### 1. モノアミン神経関連物質に及ぼす NaF (0.05 - 1.0 mg/kg) および disulfiram 低用量 (0.1, 1.0 mg/kg) 投与の影響

NE 神経系; NaF は、NE 含量にまったく影響を与えなかったが、0.25 mg/kg 以上の用量では MHPG 含量を増加させた。disulfiram は、1 mg/kg の用量で MHPG 含量を増加させたが、NaF の場合と同様に NE 含量には影響を与えなかった (Table 1)。

DA 神経系; NaF は、0.25 mg/kg 以上の用量で DOPAC 含量を増加させたが、DA および HVA 含量に対してはすべての用量で影響を与えなかった。一方、disulfiram は、DA, DOPAC, HVA 含量のいずれにも影響を与えなかった (Table 2)。

5-HT 神経系; NaF は、1.0 mg/kg で 5-HIAA 含量を増加させた。しかし、5-HT 含量には影

Table 1 Effects of NaF and disulfiram on the contents of NE and MHPG in the hypothalamus of mice

Drug	Dose (mg/kg)	NE		MHPG
		(ng/ g wet tissue weight)		
NaF	0 (control)	1802 ± 50		122 ± 23
	0.05	1776 ± 57		159 ± 4
	0.25	1909 ± 49		186 ± 6 (+ 52%)**
	0.5	1759 ± 66		180 ± 3 (+ 48%)**
	1.0	1755 ± 47		187 ± 8 (+ 53%)**
Disulfiram	0 (control)	1735 ± 91		119 ± 2
	0.1	1658 ± 55		113 ± 5
	1.0	1732 ± 45		169 ± 6 (+ 42%)**

Mice were sacrificed by microwave irradiation 30 min after a single administration of NaF (p.o.) or 2 hr after a single administration of disulfiram (i.p.).

Values represent the mean ± SEM (n = 5 - 7).

The numbers in parentheses represent mean percent changes from control.

\*p <0.05, \*\*p <0.01 vs. controls (Dunnett's t test, 2 sides).

Table 2 Effects of NaF and disulfiram on the contents of DA, DOPAC and HVA in the hypothalamus of mice

Drug	Dose (mg/kg)	DA	DOPAC	HVA
		(ng/ g wet tissue weight)		
NaF	0 (control)	316 ± 22	105 ± 6	116 ± 5
	0.05	329 ± 11	117 ± 4	117 ± 8
	0.25	389 ± 24	130 ± 8 (+ 24%)*	130 ± 4
	0.5	335 ± 27	132 ± 8 (+ 26%)*	116 ± 1
	1.0	389 ± 25	146 ± 5 (+ 39%)**	131 ± 11
Disulfiram	0 (control)	328 ± 29	92 ± 4	134 ± 7
	0.1	317 ± 31	108 ± 8	145 ± 6
	1.0	369 ± 29	114 ± 8	148 ± 4

Mice were sacrificed by microwave irradiation 30 min after a single administration of NaF (p.o.) or 2 hr after a single administration of disulfiram (i.p.).

Values represent the mean ± SEM (n = 5 - 7).

The numbers in parentheses represent mean percent changes from control.

\*p <0.05, \*\*p <0.01 vs. controls (Dunnett's t test, 2 sides).

響を与えなかった。一方, disulfiram は, 5-HT および 5-HIAA 含量には影響を与えなかった (Table 3)。

2. モノアミン神経関連物質に及ぼす NaF (100 mg/kg) および disulfiram 高用量 (400 mg/kg) 投与の影響

高用量の NaF は, NE, HVA, 5-HT の各含量には影響を与えなかったが, MHPG, DA, DOPAC, 5-HIAA の含量を増加させた。とくに, MHPG 含量の増加は著しく, 対照群値の約 3 倍にも増加した。高用量の disulfiram の投

与は, NE 神経系の場合, NE 含量を減少させ, 主要代謝物である MHPG 含量を著しく増加させた。DA 神経系では, DA, DOPAC, HVA 含量のいずれについても著しく増加させた。5-HT 神経系に関しては, 5-HT 含量のみを軽度

3. モノアミン神経関連物質に及ぼす NaF (100 mg/kg) の影響の経時的変化

NE 神経系; NaF の高用量投与による MHPG 含量の増加は投与 30 分後において最大を示した。この増加はその後急激に低下し, 投

Table 3 Effects of NaF and disulfiram on the contents of 5-HT and 5-HIAA in the hypothalamus of mice

Drug	Dose (mg/kg)	5-HT		5-HIAA	
		(ng/g wet tissue weight)			
NaF	0 (control)	1006 ± 26		393 ± 18	
	0.05	929 ± 24		472 ± 29	
	0.25	1026 ± 67		517 ± 55	
	0.5	976 ± 95		521 ± 38	
	1.0	909 ± 70		615 ± 24 (+ 56%)**	
Disulfiram	0 (control)	1285 ± 46		382 ± 15	
	0.1	1198 ± 55		405 ± 23	
	1.0	1251 ± 43		451 ± 23	

Mice were sacrificed by microwave irradiation 30 min after a single administration of NaF (p.o.) or 2 hr after a single administration of disulfiram (i.p.).

Values represent the mean ± SEM (n = 5 - 7).

The numbers in parentheses represent mean percent changes from control.

\*p < 0.05, \*\*p < 0.01 vs. controls (Dunnett's t test, 2 sides).

Table 4 Effects of high doses of NaF and disulfiram on the contents of monoamines and related metabolites in the hypothalamus of mice

Compound	NaF		Disulfiram	
	control	(100 mg/kg)	control	(400 mg/kg)
noradrenergic system				
NE	1831 ± 52	1793 ± 32	1807 ± 49	802 ± 26 (- 56%)**
MHPG	94 ± 4	283 ± 22 (+ 201%)**	118 ± 2	146 ± 10 (+ 24%)**
dopaminergic system				
DA	314 ± 14	425 ± 28 (+ 34%)*	314 ± 21	653 ± 16 (+ 108%)**
DOPAC	94 ± 4	125 ± 3 (+ 33%)**	103 ± 6	283 ± 32 (+ 175%)**
HVA	118 ± 5	115 ± 6	137 ± 7	307 ± 16 (+ 124%)**
serotonergic system				
5-HT	1101 ± 46	1213 ± 100	1222 ± 27	1375 ± 36 (+ 13%)**
5-HIAA	414 ± 11	494 ± 22 (+ 19%)*	355 ± 18	431 ± 14

Mice were sacrificed by microwave irradiation 30 min after a single administration of NaF (p.o.) or 2 hr after a single administration of disulfiram (i.p.).

Values represent the mean ± SEM (n = 6-7 and compound levels are expressed in ng/g tissue weight).

\*p < 0.05, \*\*p < 0.01 vs. controls (Student's t test).

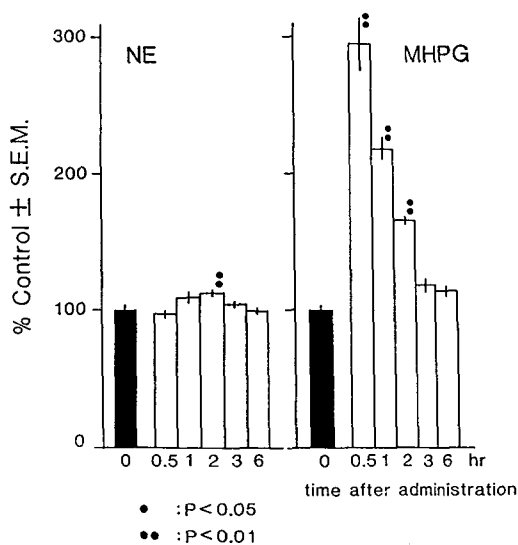
与後 3 時間以内にはほぼ完全に消失した。NE 含量増加の経時的変化は MHPG の場合とは異なり、投与後 2 時間をピークとする軽度なものであった (Fig. 1)。

DA 神経系 ; NaF による DA および DOPAC 含量の増加は投与 30 分から 2 時間後まで持続した。一方, HVA 含量の増加は DA および DOPAC の場合とは異なり, 発現が遅く, 投与後 2 時間に最大を示した (Fig. 2)。

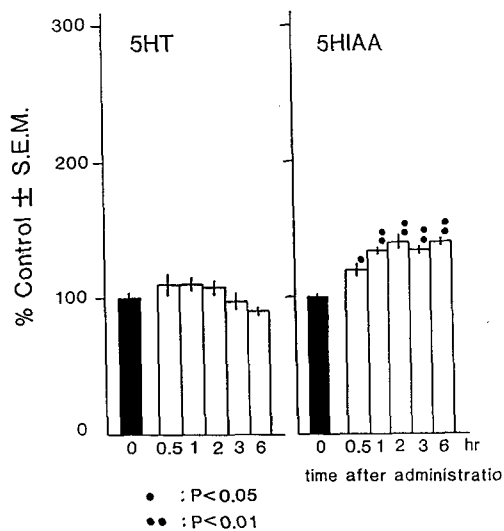
5-HT 神経系 ; NaF による 5-HIAA 含量増加は投与 30 分後から発現し, 少なくとも 6 時間以上持続した。一方, 5-HT 含量は投与後 6 時間にわたり変化を示さなかった (Fig. 3)。

4. GABA および ACh 含量に及ぼす NaF 高用量 (100 mg/kg) 投与の影響

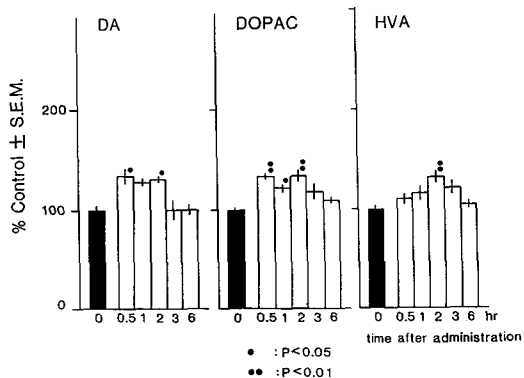
高用量の NaF は投与 30 分後と 2 時間後において, GABA 含量および ACh 含量に全く影響を及ぼさなかった (Fig. 4)。



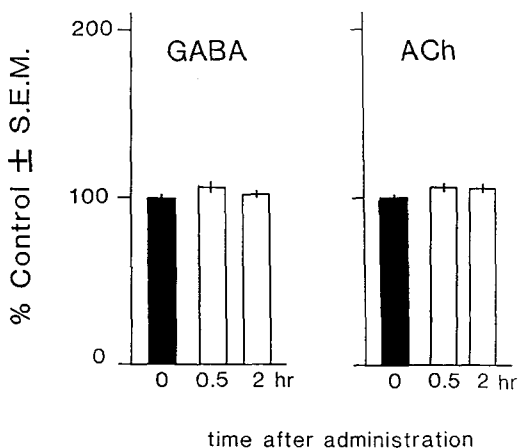
**Fig. 1** Time courses of the effect of NaF on the contents of NE and MHPG in the hypothalamus of mice. Mice were administered NaF (100 mg/kg p.o., n=6). Control values were  $1831 \pm 52$  and  $94 \pm 4$  (mean  $\pm$  S.E.M., ng/g tissue weight) for NE and MHPG, respectively. \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$  vs. controls (Dunnett's t test, 2 sides).



**Fig. 3** Time courses of the effect of NaF on the contents of 5-HT and 5-HIAA in the hypothalamus of mice. Mice were administered NaF (100 mg/kg p.o., n=6). Control values were  $1101 \pm 46$  and  $414 \pm 12$  (mean  $\pm$  S.E.M., ng/g tissue weight) for 5-HT and 5-HIAA, respectively. \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$  vs. controls (Dunnett's t test, 2 sides).



**Fig. 2** Time courses of the effect of NaF on the contents of DA, DOPAC and HVA in the hypothalamus of mice. Mice were administered NaF (100 mg/kg p.o., n=6). Control values were  $317 \pm 14$ ,  $94 \pm 4$  and  $118 \pm 54$  (mean  $\pm$  S.E.M., ng/g tissue weight) for DA, DOPAC and HVA, respectively. \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$  vs. controls (Dunnett's t test, 2 sides).



**Fig. 4** Effects of NaF on the contents of GABA and ACh in the hypothalamus of mice. Mice were sacrificed 30 min and 2 hr after administration of NaF (100 mg/kg p.o.). Control values (mean  $\pm$  S.E.M) were  $3.7 \pm 0.1$   $\mu$ mole/g for GABA and  $31.3 \pm 0.9$  nmole/g for ACh.

## 考 察

フッ化物の急性中毒時には、感覚異常、麻痺、テタニー、中枢神経抑制、昏睡など、中枢神経系の異常が示唆される神経刺激症状が出現することが知られている。しかし、フッ化物が、中枢神経系に対して直接的な作用を有するかどうかについては、現在まで報告はなく不明である。しかし、NaFが、各種の脳内神経系の活動に関与し、また脳内に豊富に存在する酵素であるadenylate cyclaseの活性を賦活し<sup>3)</sup>、DBH<sup>4)</sup>やChE活性<sup>5)</sup>を阻害するなどのin vitro実験での知見から、NaFが全身的に吸収された場合でも、中枢神経系に何らかの影響を及ぼしうる可能性が示唆される。それ故、本研究では、各種神経系が比較的均等に分布し、また血液脳関門が弱く末梢投与の薬剤の影響を受けやすい脳部位とされる視床下部を用いて、NaF全身投与後のモノアミン神経系、ACh神経、GABA神経に関与する各種生体内物質を測定した。本実験において、NaF 0.25-1.0 mg/kgの投与は、視床下部モノアミン神経伝達物質であるNE、DA、5-HTのそれぞれの主要代謝物質であるMHPG、DOPAC、5-HIAA含量を有意に増加させた (Table 1-3)。これらの結果はNaFが低用量の全身投与にもかかわらず、脳内モノアミン神経伝達物質の代謝過程に広く影響を及ぼしたことを示すものである。これらの代謝物質の増加の程度は、高用量 (100 mg/kg) のNaFの投与によりさらに強まることから、モノアミン神経系に対するこのようなNaFの作用は用量依存的である可能性が考えられる。

NaFは、in vitro実験において、DAからNEを合成する酵素であるDBHの活性を阻害することが報告されている<sup>4)</sup>。そこで本実験ではNaFに対する対照薬として、代表的なDBH阻害剤の一つであるdisulfiramを用いた。ラットやマウスに対して、disulfiramやfusaric acidなどのDBH阻害剤を全身性に投与した場合、全脳内NE含量の減少、DA含量の

増加、さらにDOPAC、HVAおよび5-HIAA含量の増加などの変化が惹起されることが報告されている<sup>5, 11-12)</sup>。本実験におけるdisulfiram投与の結果は、上記の報告とはほぼ一致するものであった (Table 4)。また、高用量のNaFもdisulfiramと同様に、DBH阻害作用によると考えられるDA、DOPAC含量の増加を惹起した。ただし、disulfiramとは異なり、NaF投与群の場合、NE含量の有意な減少は認められなかった。このような相違に対する説明は困難であるが、理由の一つは、NaFのDBH阻害作用が弱いためNE含量の低下にまでは至らなかったと考えられる。モノアミン神経系に対するNaFの作用において、最も顕著な作用は、MHPG含量を著しく増加させたことである。MHPG含量の増加は、disulfiramによっても惹起されたが、NaFの作用は極めて強力であった。このMHPG含量増加の機序としては、NaFが(1)神経終末からのNE遊離の促進、あるいは(2)MHPG以後の代謝過程に関与する酵素の阻害によるMHPG蓄積などの可能性が考えられる。澤野<sup>13)</sup>は、摘出ウシガエル交感神経節標本を用いた実験から、NaFは神経終末部の膜のadenylate cyclaseを活性化し、神経終末からの伝達物質の放出を増大させる可能性を示唆している。この示唆は、NaFがNE放出を促進した結果、MHPG含量が増加したとする(1)の可能性と矛盾しない。神経伝達物質DAの代謝物であるDOPAC含量も、MHPGと同様にDAの放出促進により増加することが知られている<sup>14)</sup>。したがって、澤野の示唆は、NaFの投与によりDOPAC含量も増加した本実験の結果に対しても、一つの説明を与えるものである。

本実験において、モノアミン神経系に対するNaFの作用持続時間には神経の種類によって明らかな違いがあった。すなわち、NaFの作用はNE、DA神経の場合、投与後2時間までしか認められず、一方、5-HT神経に対するNaFの作用は投与後6時間まで持続した。これらの結果は、NaFのNE、DA神経に対する作用機序と5-HT神経に対するそれとが異なってい

る可能性を示唆するが、このような相違に対する現時点での説明は困難である。

NaF は, *in vitro* 実験において中等度の ChE 阻害作用を示すことが報告されているが, 本実験の場合, NaF は高用量 (100 mg/kg) の投与によっても, ACh 含量には全く影響を及ぼさなかった。physostigmine のような ChE 阻害剤は, 比較的低用量の末梢投与でも脳内 ChE 活性を阻害し, ACh 含量を増加させることが知られている。

したがって, ACh 含量に変化が認められなかった本実験の結果は, NaF の ChE 阻害作用が弱いためと考えられる。また本実験では GABA 含量にも変化は認められなかった。これらの結果は, モノアミン神経系に対するのとは異なり, NaF は ACh や GABA などの合成・代謝過程には影響を及ぼさない可能性を示唆する。ただし, これらの神経伝達物質の神経終末からの遊離や受容体に対しても影響を及ぼさないかどうかについては, 本実験の結果からは不明であり, 今後の検討が必要である。

本実験の結果はマウスで得られたものであり, ヒトにおける NaF の作用として直ちに外挿することはできない。しかしながら, NaF は従来より知られている用量以下の投与量でも中枢神経系に作用を及ぼす可能性が示唆されたことから, NaF の生体への影響に関して, 今後, より詳細な検討が行われるべきであろう。

## 結 語

中枢神経系に対する NaF 全身投与時の影響を明らかにするため, マウス視床下部内 DA, NE, 5-HT 神経伝達物質代謝および ACh, GABA 含量に及ぼす NaF 1 回投与の効果を検討し, 以下の結果を得た。

(1). NaF は低用量 (0.25 mg/kg) の投与により, NE の主要代謝物質である MHPG 含量並びに DA の主要代謝物質である DOPAC 含量を有意に増加させた。なお, NaF 高用量 (100 mg/kg) 投与ではこれらの代謝物の含量はさらに増加を示し, また 5-HT の主要代謝物質であ

る 5-HIAA 含量も増加した。

(2). モノアミン神経系に対する高用量 (100 mg/kg) の NaF の作用持続時間は, DA および NE 神経系では約 2 時間であったが, 5-HT 神経系では 6 時間以上であった。

(3). ACh および GABA 含量に対して, NaF 高用量投与 (100 mg/kg) は影響を与えなかった。

以上の結果から, NaF は低用量の全身投与でもマウスの中枢神経系に明らかな影響を及ぼすと結論される。

## 謝 辞

稿を終えるにあたり, 終始ご懇切なる指導, ご校閲を賜りました本学歯学部歯科薬理学講座 伊藤忠信教授に深く感謝の意を表します。また, 終始親身なるご指導をいただきました本学歯学部歯科薬理学講座 村井繁夫助教, 斉藤弘子助手に心より感謝いたします。さらに, 本研究に対して, ご助言, ご校閲を賜りました本学歯学部歯科補綴学第一講座 田中久敏教授, 口腔生化学講座 太田 稔教授に深甚なる謝意を表します。本論文の要旨は, 第 39 回日本薬理学会北部会 (昭和 63 年 9 月, 仙台) において発表した。

## 文 献

- 1) Newbrun E. : Topical fluoride therapy: Discussion of some aspects of toxicology, safety, and efficacy. *J. Dent. Res.* 66 : 1084 - 1086, 1987.
- 2) Haynes R.C. and Murad F. : Agents affecting calcification : calcium, parathyroid hormone, calcitonin, vitamin D, and other compounds. In "The Pharmacological Basis of Therapeutics, 6th ed." (Goodman, L.S. and Gilman, A. Eds), pp. 1525 - 1550, The MacMillan Company, New York, (1980).
- 3) Whitford G.M., Allmann D.W. and Shahed R. : Topical fluorides: Effects on physiologic and biochemical processes. *J. Dent. Res.* 66 : 1072 - 1078, 1987.
- 4) 小山英子, 村井繁夫, 伊藤忠信: Sodium fluoride による dopamine- $\beta$ -hydroxylase 阻害作用, 岩医大歯誌 6 : 48 - 55, 1981.
- 5) Krupka R.M. : fluoride inhibition of acetylcholinesterase. *Mol. Pharmacol.* 2 : 558 - 569,

- 1966.
- 6) Goldstein M. and Nakajima K. : The effect of disulfiram on catecholamine levels in the brain. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 157 : 96 - 102, 1967.
  - 7) Glowinski J. and Iversen L.L. : Regional studies of catecholamines in the rat brain. *J. Neurochem.* 13 : 655 - 669, 1966.
  - 8) Murai S., Saito H., Masuda Y. and Itoh T. : Rapid determination of norepinephrine, dopamine, serotonin, their precursor amino acids, and related metabolites in discrete brain areas of mice within ten minutes by HPLC with electrochemical detection. *J. Neurochem.* 50 : 473 - 479, 1988.
  - 9) Murai S., Miyate H., Saito H., Nagahama H., Masuda Y. and Itoh T. : Simple determination of acetylcholine and choline within 4 min by HPLC-ECD and immobilized enzyme column in mice brain areas. *J. Pharmacol. Methods* 21 : 255 - 262, 1989.
  - 10) Murai S., Nagahama H., Saito H., Miyate H., Masuda Y. and Itoh T. : Very rapid assay of gamma-aminobutyric acid in mouse brain regions within 3 minutes by high-performance liquid chromatography with electrochemical detection. *J. Pharmacol. Methods.* 21 : 115 - 121, 1989.
  - 11) Diring M.N., Kramarcy N.R., Brown J.W. and Thurmond J.B. : Effect of fusaric acid on aggression, motor activity, and brain monoamines in mice. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 16 : 73 - 79, 1982.
  - 12) Johnson G.A., Kim E.G. and Boukma S.J. : 5-Hydroxyindole levels in rat brain after inhibition of dopamine  $\beta$ -hydroxylase. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 180: 539 - 546, 1972.
  - 13) 澤野ひろみ : ウシガエル交感神経節における NaF のシナプス伝達の促進, *日本生理誌* 52: 363 - 373, 1990.
  - 14) Brannan T., Kaufman H., Leung L. and Yahr M. Intracerebral dialysis monitoring of striatal dopamine release. *J. Neural Transm.* 75 : 149 - 157, 1989.