

水浸ストレス負荷のラット組織内 グアニジノ化合物に及ぼす影響

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）

杉 英 樹

（昭和63年5月19日受稿）

Key words: 水浸ストレス, ラット, グアニジノ化合物, 脳, 肝臓, 腎臓,
塩酸 imipramine

はじめに

ある種の病理的状態では、ヒトや実験動物で、グアニジノ化合物の代謝に著しい変動がもたらされることが報告されている。腎不全患者の血清や尿中で、guanidosuccinic acid (GSA)¹⁾ や methylguanidine (MG)²⁾ が著しく増加していることが観察されたのをはじめ、高アルギニン血症患者では、 α -keto- δ -guanidinovaleric acid や homoarginine (HArg) など種々グアニジノ化合物が蓄積していることが報告されている^{3),4)}。これらの知見は、グアニジノ化合物が arginine (Arg) や urea 代謝と関連して、窒素代謝と密接に関係していることを示している。

さらに、電気刺激痙攣誘発マウスでは、痙攣に伴い脳内 creatinine (CRN) および guanidinoethanesulfonic acid が大きく変動すること⁵⁾、コバルト誘導てんかん原性焦点組織で一過性に α -guanidinoglutaric acid の著しい増加が観察されること⁶⁾、鉄塩誘導てんかん原性焦点組織で guanidinoacetic acid (GAA) および MG の増加が観察される⁷⁾ など、痙攣発現時に脳内グアニジノ化合物の代謝が著しく影響されることが報告され、中枢神経機能とグアニジノ化合物の関連が示唆されている。

また、 γ -guanidinobutyric acid (GBA) をはじめ、CRN, HArg および MG など多くのグアニジノ化合物は、ウサギやラットの大脳皮質上または脳室内に投与すると、痙攣誘発作用あるいは発作放電誘発作用のあることが知られて

おり、グアニジノ化合物が、てんかん患者および尿毒症患者の痙攣発現機構に関与している可能性が示唆されている⁸⁾。

一方、種々のストレスは、中枢神経機能に著しい影響をもたらす。脳内 noradrenaline⁹⁾ や serotonin¹⁰⁾ の代謝回転の増加をもたらすことが報告されている。この中枢神経系の変化は、ホルモン分泌や自律神経系を介して、末梢臓器にも著しい影響を及ぼす。

これらのことから、ストレス負荷条件下においては、脳内グアニジノ化合物の代謝、さらには窒素代謝と関連して末梢臓器内グアニジノ化合物の代謝にも影響がもたらされることが予想される。本研究では、ラットに水浸ストレス負荷を与えた際に、脳、肝臓、腎臓、脾臓および尿中のグアニジノ化合物にどのような変化がもたらされるかを検討した。また、抗うつ剤である imipramine が、グアニジノ化合物の変動にどのように影響するかもあわせて検討した。

方 法

1. 実験動物

実験動物には、Sprague-Dawley 雄性ラット（体重160~180g）を用いた。実験動物は、室温 25±2℃で12時間の明暗サイクルとなるように、午前7時より午後7時まで明るくした飼育室で1週間飼育し、実験に用いた。飼料は、オリエンタル酵母 MF を使用し、水と共に自由に摂取させた。

2. 水浸ストレス

水浸ストレス負荷は, Porsolt ら¹¹⁾の方法に一部修正を加えて行った。すなわち直径17.5cm, 高さ27cmのガラスビーカーに水を15cmの深さに満たし, その中にラットを水浸しストレス負荷を行った。水温は25℃に維持した。水浸ストレス負荷は Fig. 1 に示した計画に従って行った。まず, 第1日目に15分間ラットを水浸した後, 32℃の温室に移して15分間放置し, その後飼育室に戻した。24時間後(第2日目)に再び水浸を5分間あるいは60分間行い, それぞれ短期水浸ストレス負荷動物(Fig. 1, group 1)あるいは長期水浸ストレス負荷動物(Fig. 1, group 2)とした。コントロール群には無処置動物を用いた。

3. Imipramine 投与

水浸ストレス負荷によりもたらされた組織内グアニジノ化合物の変動が, imipramine によりどのような影響を受けるかを検討するため, ラットに imipramine 塩酸塩を前投与し水浸ストレ

スを負荷した。すなわち, 第2日目の水浸24時間前(第1日目の水浸直後), 5時間前および1時間前に, それぞれ生理食塩水に溶解した imipramine 塩酸塩(和光純薬) 30mg/kgを腹腔内投与した(Fig. 1, group 3)。

また, imipramine 投与のみの組織内グアニジノ化合物に及ぼす影響を検討するために, imipramine 塩酸塩の投与のみを行い, 水浸ストレス負荷を行わない群を作成した(Fig. 1, group 4)。コントロール群には生理食塩水を投与した。

4. 水浸時無動時間の測定

ラットを水浸した際, 水面に顔だけを出し四肢を投げ出して静かに浮いている状態を「無動」とし, その時間を水浸後1分間毎に計測した。

5. 組織内グアニジノ化合物の測定

第2日目の水浸ストレス負荷後直ちにマイクロウェーブ照射(5kW, 1.5sec)によりラットを屠殺し, 脳, 肝臓, 腎臓および脾臓を水上に摘出した。脳は大脳皮質, 海馬, 線条体, 中脳・橋・延髄および小脳の5部位に分けた。各組織

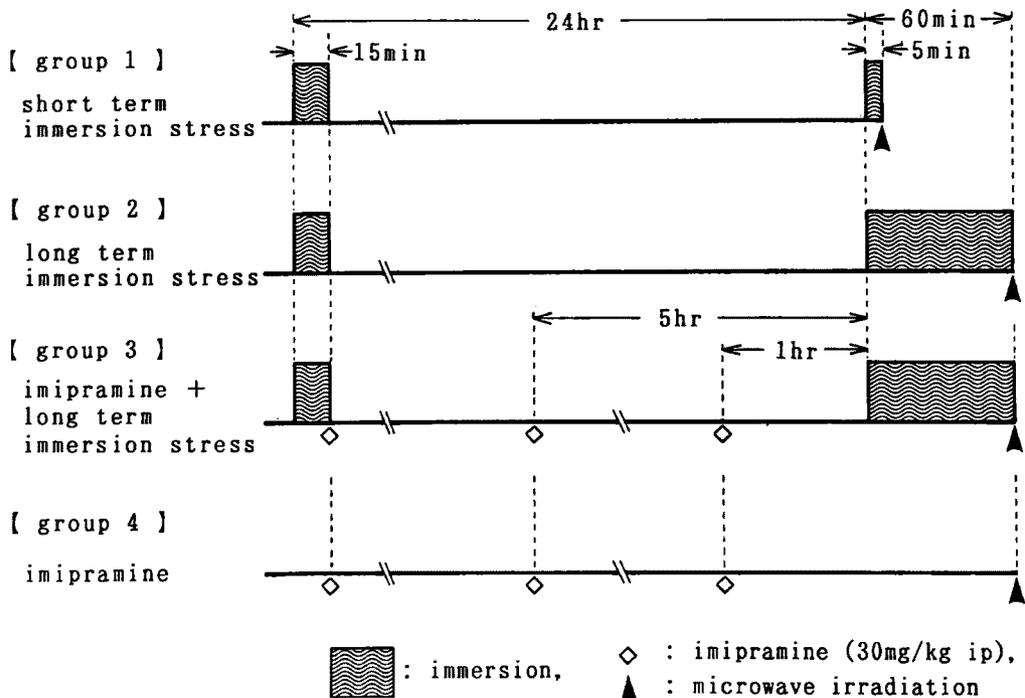


Fig. 1 Schedules of immersion and imipramine administration.

は、秤量後分析に用いるまで -80°C にて凍結保存した。

グアニジノ化合物の抽出は次のように行った。各組織を10倍量の1%ピクリン酸でホモゲナイズした後、3000rpmで20分間遠沈し除蛋白を行った。この除蛋白操作を2回繰り返した後、上清を合わせてDowex 2×8 (Cl⁻型) カラムに通し、過剰のピクリン酸を除いた。カラム流出液は減圧乾固し、残渣を希塩酸(pH2.2)に溶解し、HPLCによりグアニジノ化合物の測定を行った。

6. 尿中グアニジノ化合物の測定

ラットをメタボリックケージで飼育し、24時間尿を採取した。採尿容器にはあらかじめsodium piperacillineを加え、細菌の影響を防いだ。第1日目の水浸負荷前の24時間尿をコントロール尿とし、第2日目の水浸(60分)負荷後の24時間尿をストレス尿とした。

尿中グアニジノ化合物測定のために、尿に等倍容の20%トリクロル酢酸を加え攪拌した後、3000rpmで20分間遠沈し除蛋白操作を行った。得られた上清をHPLC分析試料とした。

7. H P L C

グアニジノ化合物の定量分析は、9, 10-phenanthrenequinone 反応に基づくHPLC法¹²⁾により行った。装置はJASCO全自動グアニジノ化合物分析装置を用いた。このHPLCシステムは溶離液用ポンプ(model TWINCLE)、オートサンプラー(model ASD-60 μ D、試料注入量200 μ l)、カラム、蛍光反応液用ポンプ(model SP-024)、反応コイル(ϕ 0.5mm×5 m, 70 $^{\circ}\text{C}$)および蛍光光度計(model FP-110)よりなっている。HPLCの条件は次の通りである。カラム、Guanidinopak-III (JASCO) ϕ 6.0×50mm; カラム温度, 70 $^{\circ}\text{C}$; 溶離液, 0.4M クエン酸ナトリウム緩衝液 (1) pH3.0, 10.2分間(カラム安定化), (2) pH3.0, 4.0分間, (3) pH5.25, 4.2分間, (4) pH10.0, 9.4分間, (5) 1M NaOH, 5.2分間; 反応試薬, 2M NaOH, および0.05% phenanthrenequinone/dimethylformamide 溶液; 反応温度, 70 $^{\circ}\text{C}$; 溶離液流量, 1.0ml/min; 反応液流量, 0.5ml/min, 蛍光検出は Ex=365nm, Em>460nmで行った。

8. 検 定

尿中グアニジノ化合物については、paired t-testにより有意差検定を行った。その他は、ANOVAにより有意差検定を行った。

実 験 成 績

1. 行 動

第1日目に水浸したラットは、激しく動き回り、ビーカーの壁を引っかいたり底に潜ったりして、逃避を試みようとする行動がみられるが、2~3分後より水面に顔だけを出し、四肢を投げ出して静かに浮いている姿勢(無動姿勢)が観察されるようになった。この無動姿勢時間は、10分後には75%に達し(Fig. 2, A)、その後15分後まで1分間のうち75%以上無動姿勢を維持する状態が続いた。しかし第2日目に水浸を行うと、逃避行動は速やかにみられなくなり、3分後には75%以上無動姿勢を保つようになった(Fig. 2, B)。この無動姿勢は、その後60分後まで続いた。

しかし、imipramineを投与したラットでは投与しなかったラットに比し、第2日目の水浸時に逃避を試みる行動が長く続き、75%以上無動姿勢を維持するようになったのは11分後であった。(Fig. 2, C)。Table 1に第2日目の水浸時の最初の5分間の無動姿勢の保持時間を示した。コントロール群では無動時間が222.8secであったのに対し、imipramine投与群では143.5secで有意に減少していた。

2. ラット組織内グアニジノ化合物に及ぼす水浸ストレスの影響

Fig. 3に短期(5分)水浸ストレスおよび長期(60分)水浸ストレスの組織内グアニジノ化合物に及ぼす影響をまとめて示した。

5分間水浸後、大脳皮質においてCRNが、小脳でHArgが有意に増加したが、その他のグアニジノ化合物には変化はみられなかった。また、海馬、線条体、中脳・橋・延髄、肝臓、腎臓および脾臓では、いずれのグアニジノ化合物にも変化はみられなかった。

60分間水浸後においては、脳内のいずれの部位においてもグアニジノ化合物に変化は認められなかった。しかし、肝臓でCRNの有意な減少、

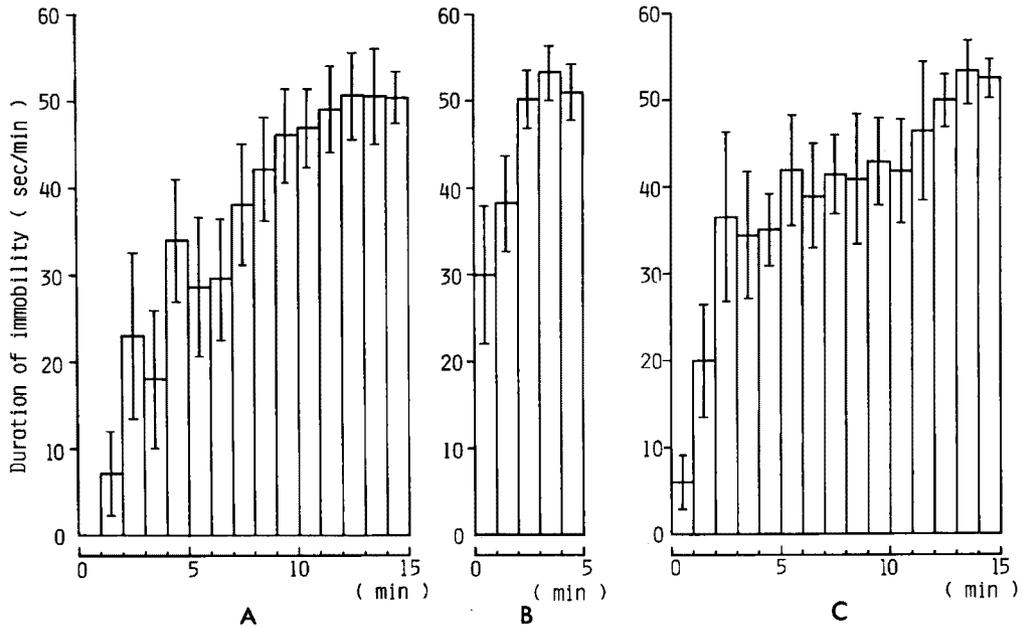


Fig. 2 Duration of immobility in sec per min (ordinate) as a function of time in water (abscissa). Values are the mean \pm SEM of 5-6 rats. A: The first trial, B: the second trial, C: the second trial of imipramine administered rats.

Table 1 Effects of imipramine on the duration of immobility during a 5min test

Treatment	Duration of immobility (sec)
Control	222.8 \pm 19.0
Imipramine	143.5 \pm 18.7*

Values are the Mean \pm SEM (n = 6).

Statistical analysis is by ANOVA. *p < 0.05.

GBA および Arg の有意な増加が認められた。肝臓内 GSA, GAA, β -guanidinopropionic acid (GPA), HArg, MG には変化は認められなかった。腎臓では Arg の有意な減少がみられた。脾臓ではいずれのグアニジノ化合物にも変化はみられなかった。

3. ラット尿中グアニジノ化合物排泄量に及ぼす水浸ストレスの影響

Table 2 に尿中グアニジノ化合物排泄量に及ぼす水浸ストレスの影響を示した。60分間の水

浸ストレス負荷後、尿中 GBA 排泄量が有意に増加していた。しかし、その他のグアニジノ化合物排泄量には変化はみられなかった。

4. Imipramine の組織内グアニジノ化合物に及ぼす影響

Fig. 4 ~ 7 に水浸ストレス負荷により変化のみられた組織内グアニジノ化合物に対し、imipramine 前投与がどのように影響するかを示した。また比較のため、水浸ストレス負荷のみを行った群についてもあわせて図示した。

肝臓中 CRN は、ストレス負荷群および imipramine 投与群で有意に減少し、imipramine + ストレス負荷群では、統計的に有意ではなかったが減少傾向を示した (Fig. 4)。肝臓中 GBA は、ストレス負荷群、imipramine 投与群および imipramine + ストレス負荷群とも、コントロール群に比べ有意な増加を示した (Fig. 5)。肝臓中 Arg は、ストレス負荷群および imipramine + ストレス負荷群で有意に増加し、imipramine 投与のみの群はコントロール群と差はなかった (Fig.

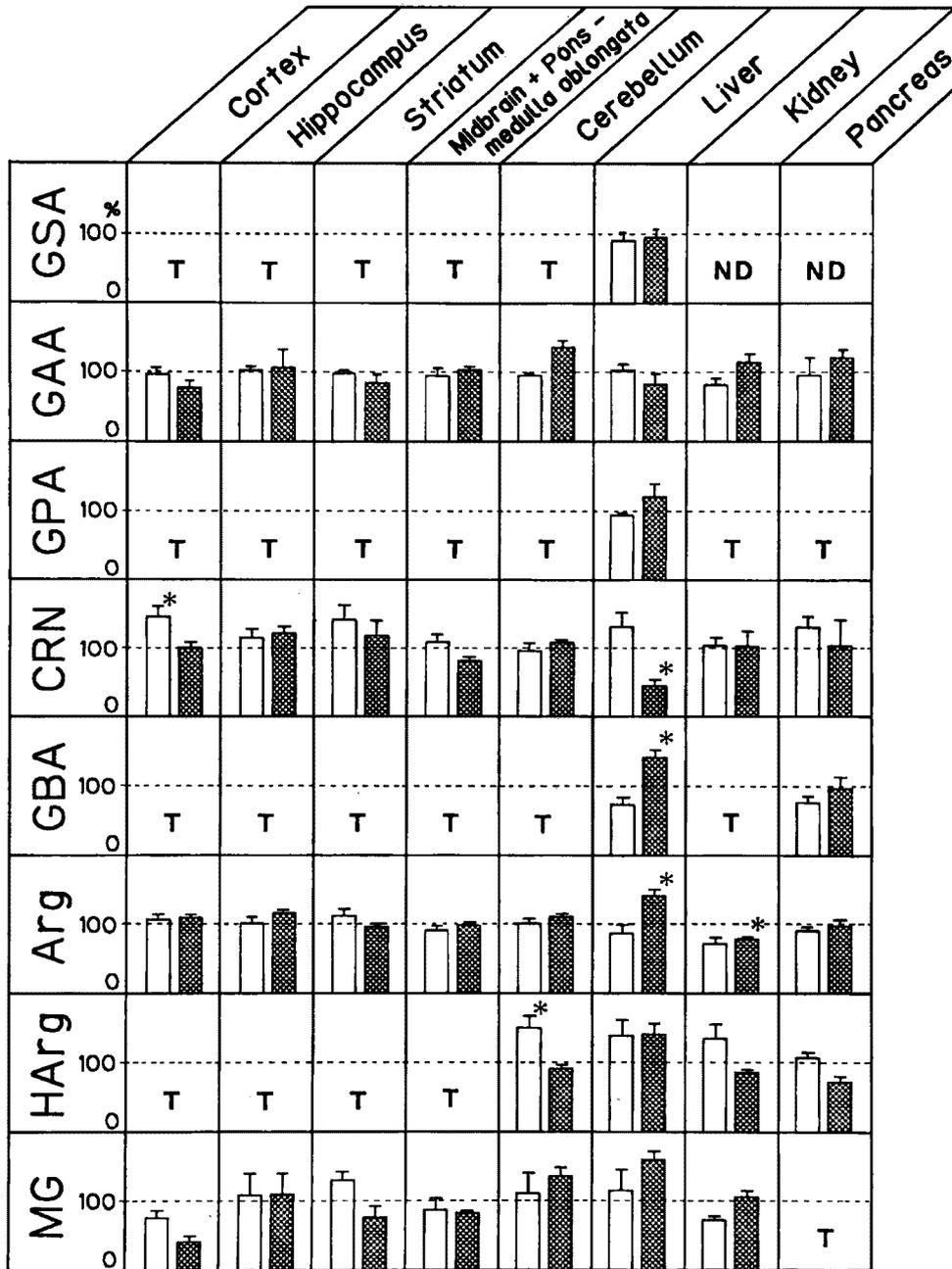


Fig. 3 Effect of immersion stress on guanidino compounds in the rat brain regions, liver, kidney and pancreas.

The data are expressed as percentage of control values (mean \pm SEM). 5min immersion (n=9), 60min immersion (n=6). ND ; not detected, T ; trace. Statistical analysis was by ANOVA using original data. *p<0.05 compared to control. The abbreviations of guanidino compounds are the same as shown in Table 2.

Table 2 Effect of immersion stress on the excretion of guanidino compounds in urine

	Control	Stress
GSA	0.655±0.136	0.667±0.103
GAA	9.300±1.000	10.542±1.480
GPA	0.022±0.007	0.017±0.004
CRN	42.953±2.560	48.562±5.500
GBA	3.413±0.244	4.798±0.297*
Arg	0.838±0.069	0.840±0.043
HArg	0.071±0.020	0.066±0.008
GEt	0.004±0.001	0.004±0.001
G	0.792±0.061	0.919±0.684
MG	0.233±0.023	0.271±0.025

Values are expressed as $\mu\text{mol}/24\text{hr}$ urine (mean \pm SEM, $n=6$), statistical analysis was by paired t-test. * $p<0.05$ compared to control. GSA : guanidinosuccinic acid, GAA : guanidinoacetic acid, GPA : β -guanidinopropionic acid, CRN : creatinine, GBA : γ -guanidinobutyric acid, Arg : arginine, HArg : homoarginine, GEt : 2-guanidinoethanol, G : guanidine, MG : methylguanidine.

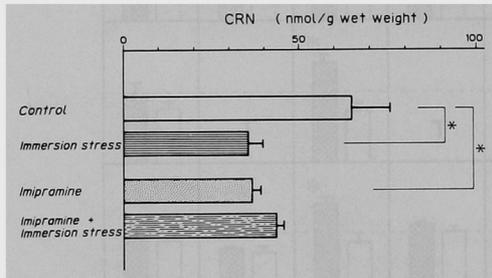


Fig. 4 Effects of immersion stress and imipramine on liver CRN.

Values are the mean \pm SEM of 5-6 rats. Statistical analysis was by ANOVA.

* $p<0.05$.

6). 腎臓中 Arg は、ストレス負荷群および imipramine+ストレス負荷群で有意に減少し、imipramine 投与のみの群はコントロール群と差がなかった (Fig. 7).

考 按

Porsolt ら¹¹⁾は、ラットを回避不可能な水浸状態におくと、最初は激しい回避行動を行うが、6~7分後には特徴的な無動姿勢を維持するようになり、この水浸を2日間続けて行くと、第

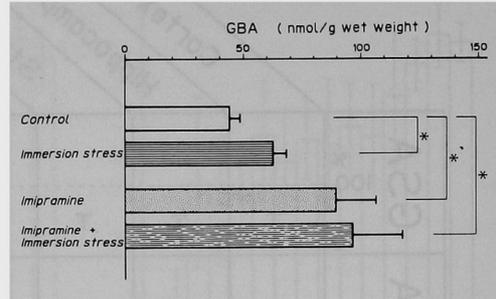


Fig. 5 Effects of immersion stress and imipramine on liver GBA.

Values are the mean \pm SEM of 5-6 rats. Statistical analysis was by ANOVA.

* $p<0.05$.

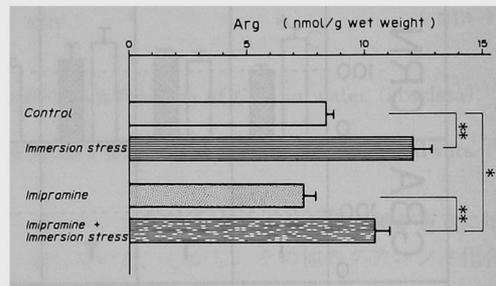


Fig. 6 Effects of immersion stress and imipramine on liver Arg.

Values are the mean \pm SEM of 5-6 rats. Statistical analysis was by ANOVA.

* $p<0.05$, ** $p<0.01$.

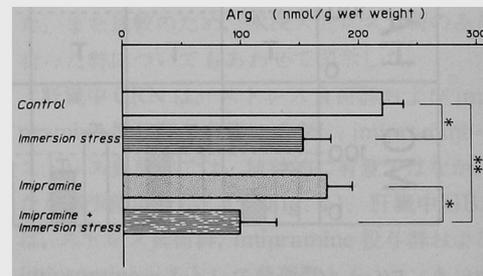


Fig. 7 Effects of immersion stress and imipramine on kidney Arg.

Values are the mean \pm SEM of 5-6 rats. Statistical analysis was by ANOVA.

* $p<0.05$, ** $p<0.01$.

2日目には2～3分のうちに、無動姿勢を維持するようになることを観察した。この無動姿勢の保持時間は、種々抗うつ剤の投与、電気刺激、REM睡眠の剥奪、あるいは環境の enrichment 化により著しく減少することから、無動姿勢がラットの抑うつ状態を反映していることを報告した^{11),13)}。著者は Porsolt らの方法に従い、ラットに水浸ストレス負荷を行って抑うつ状態に導き、脳、肝臓、腎臓および膵臓の諸臓器内グアニジノ化合物にどのような影響がもたらされるかを検討した。

まず、5分間の短期水浸ストレス負荷により、肝臓、腎臓および膵臓内グアニジノ化合物量には変化が認められないにもかかわらず、大脳皮質 CRN および小脳 HArg が増加することを観察した。しかし、この増加は一過性であり、60分間の長期水浸ストレス負荷を行った場合にはコントロール値に戻っていることを観察した。一方、長期水浸ストレス負荷条件下では、肝臓および腎臓内グアニジノ化合物に変動がもたらされており、脳内グアニジノ化合物の変動が、グアニジノ化合物の代謝を行う主要臓器である肝臓および腎臓での変動と parallel でないことを観察した。これらのことから、脳内には特異的かつ迅速なグアニジノ化合物の代謝コンパートメントが存在することが示唆される。また CRN および HArg の増加は、それぞれ大脳皮質および小脳においてのみ観察されることから、脳部位によっても特異的な代謝コンパートメントの存在することが示唆される。

大脳皮質 CRN および小脳 HArg が水浸ストレス負荷の初期段階で一過性に増加する機構として、血液-脳関門を通しての取り込み促進、あるいは脳内での生成促進が想定される。しかし、脳内グアニジノ化合物の変動が、諸臓器内グアニジノ化合物の変動を反映していないこと、また、強塩基性であるグアニジノ化合物は、血液-脳関門の通過が容易でなく、脳内への取り込みが制御されていること¹⁴⁾から、大脳皮質 CRN および小脳 HArg の増加は、脳内での生成が促進されたことによるものと考えられる。CRN は creatine phosphate より非酵素的に生成され、その際放出される energy が筋収縮や神経興奮の

ために利用されることはよく知られている。ストレス負荷初期段階に大脳皮質内 energy 代謝が活発になり、CRN 生成が促進されたことが推定される。一方、脳内には活性は低いが Arg: Gly amidinotransferase の存在が報告されている^{15),16)}。また、HArg は Arg および lysine の transamidination 反応による生成経路が報告されており¹⁷⁾、何らかの作用機序により、ストレス負荷初期段階で HArg 生成が促進されたものと考えられる。HArg の生体内での役割は明らかではないが、HArg をラット大脳皮質上に投与すると、2時間以上持続して散発性の発作放電が誘発されることが報告されている¹⁸⁾。HArg がストレス負荷初期段階において、神経機能と関連して何らかの役割を演じている可能性が考えられる。

次に、長期水浸ストレス負荷により、肝臓内 Arg の増加、腎臓内 Arg の減少が観察された。Arg の生体内での由来として、食餌由来のもの、蛋白分解産物および urea 生成の中間代謝産物があげられるが、肝臓内 arginase 活性は非常に高く、肝臓内 Arg は urea と ornithine に直ちに分解される。従って、長期水浸ストレス負荷により、肝臓内 Arg の増加が認められたことは、Arg の urea への分解を上回る蛋白分解が、活発に行われたことを示唆しているものと思われる。一方、腎臓内においては、citrulline からの Arg 合成が活発に行われている。Featherston ら¹⁹⁾は、体内で蛋白合成に用いられる Arg のほとんどが腎臓で生合成されることを報告している。また、腎臓では Arg: Gly amidinotransferase の作用により GAA の生成も活発に行われている。しかし、腎臓内 GAA に変動は認められなかったため、腎臓 Arg の減少は Arg 生合成の不活性化によるものと考えられる。さらには、他臓器での蛋白合成が抑制されていることが推定される。従って、これら肝臓 Arg の増加および腎臓 Arg の減少は、ストレス負荷によりもたらされた生体内蛋白代謝の異常を反映しているものと思われた。

また、肝臓では長期水浸ストレス負荷後 CRN の著しい減少が認められた。水浸ストレス負荷条件下では、ラットは無動の姿勢をとり、筋運動は著しく減少した状態にあり、creatine phos-

phate の分解が抑制されていると考えられる。今回筋内グアニジノ化合物を測定していないので確かなことは言えないが、肝臓での CRN の減少は、creatine phosphate の分解抑制を反映している可能性が示唆される。

さらに、長期ストレス負荷により、肝臓内 GBA および尿中 GBA の排泄量が増加していることを観察した。GBA 生成経路として、2 つの生成系が仮定されている²⁰⁾。すなわち Arg から α -keto- δ -guanidinovaleric acid を經由する非酵素的な酸化的脱炭酸化に起因するもの、また Arg と γ -aminobutyric acid からの transamidation 反応によるものである。どちらの生合成経路が肝臓での GBA の主な生成経路となっているか現在のところ明らかでない。さらに、GBA は肝臓内正常成分としてかなり存在するにもかかわらず、その生体内で役割は不明である。しかし、Arg が肝臓において増加していることが、GBA の増加に関与しているものと思われる。

また、ラットに抗うつ剤である imipramine を前投与し、ストレス負荷によりもたらされる諸臓器内グアニジノ化合物の変動が、どのように影響を受けるかを検討した。Porsolt ら¹⁴⁾は、ラットへ imipramine を投与することにより、水浸時の無動時間が減少することを報告している。著者もこのことを確認し (Table 1)、この事実から、ラットの抑うつ状態は imipramine の前処理により回避されているものと考えた。しかし、水浸ストレス負荷により増加のみられた肝臓 Arg および GBA は imipramine 投与によっても増加抑制は認められず、また、腎臓内 Arg の減少も imipramine 投与によって減少抑制は認められなかった。さらにまた、肝臓中 CRN も、コントロール群と imipramine + ストレス負荷群の間で有意差は認められなかったものの、完全な回復は得られなかった。この結果から、抑うつ状態の回避はグアニジノ化合物の変動と関連性がないものと思われる。また、膵臓内グアニジノ化合物量には変化は認められず、脳内での変化も一過性であったので、グアニジノ化合物量変化に対する imipramine の効果は検討しなかった。一方、肝臓中 CRN は imipramine 投与のみによっても減少が、また、GBA は imipramine 投与の

みによっても増加が認められ imipramine の薬理作用として興味深いものがあるものと思われた。

結 語

ラットに水浸ストレス負荷を与えた際に、脳、肝臓、腎臓、膵臓および尿中グアニジノ化合物にどのような影響がもたらされるか検討するとともに、抗うつ剤である imipramine が、ストレス負荷によるグアニジノ化合物の変動にどのように影響するかも併せて検討し、下記のごとき結果を得た。

1) 短期 (5 分間) 水浸ストレス負荷により、大脳皮質 CRN および小脳 HArg が増加した。一方、肝臓、腎臓および膵臓内グアニジノ化合物には変化はみられなかった。

2) 長期 (60 分間) 水浸ストレス負荷により、肝臓内 CRN の減少、Arg および GBA の増加、また、腎臓内 Arg の減少が認められた。脳および膵臓では変化はみられなかった。

3) 長期水浸ストレス負荷により、尿中 GBA の排泄増加が認められた。

4) imipramine 前投与により、ラットの抑うつ状態の回避がみられたが、水浸ストレス負荷によりもたらされる肝臓および腎臓内グアニジノ化合物の変動には影響は認められなかった。

以上の結果により、水浸ストレス負荷初期には、脳内グアニジノ化合物が一過性に変動し、何らかの機構により中枢神経機能に関与している可能性が示唆された。一方、長期水浸ストレス負荷条件下では、主に蛋白代謝と関連して、末梢臓器内グアニジノ化合物代謝に影響するものと考えられた。また、imipramine 前投与による抑うつ状態からの回避は、グアニジノ化合物の変動と関連性がないものと思われた。

稿を終えるにあたり、終始御懇篤なる御指導、御校閲を賜りました森 昭胤教授ならびに御指導御協力頂きました横井 功、渡辺洋子両博士に深甚なる謝意を表します。さらに、実験遂行に際し終始快く御協力下さいました研究室の皆様にご心より御礼申し上げます。

文 献

- 1) Cohen B D, Stein I M and Bonas J E : Guanidinosuccinic aciduria in uremia. A possible alternate pathway for urea synthesis. *Amer J Med* (1968) **45**, 63—68.
- 2) Giovannetti S, Balestri P L and Barsotti G : Methylguanidine in uremia. *Arch Intern Med* (1973) **131**, 709—713.
- 3) Marescau B, Qureshi I A, DeDeyn P, Letarte J, Ryba R and Lowenthal A : Guanidino compounds in plasma, urine and cerebrospinal fluid of hyperargininemic patients during therapy. *Clinica Chimica Acta* (1985) **146**, 21—27.
- 4) Mizutani N, Hayakawa C, Ohya Y, Watanabe K, Watanabe Y and Mori A : Guanidino Compounds in Hyperargininemia. *Tohoku J exp Med* (1987) **153**, 197—205.
- 5) 平松千明, 平松 緑, 渡辺洋子, 片山泰人, 森 昭胤 : ペンチレンテトラゾールおよび電気刺激痙攣時の脳内グアニジノ化合物の変動について. *脳研究会会誌* (1980) **6**, 112—113.
- 6) 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.
- 7) 福島正登 : 鉄塩誘導てんかん原性焦点組織におけるグアニジノ化合物の変動に関する研究——特にラジカル反応によるグアニジノ化合物の生成について. *岡山医誌* (1987) **99**, 787—802.
- 8) Mori A : Guanidino compounds and neurological disorders. *Neurosciences* (1983) **9**, 149—157.
- 9) Tanaka M, Kohno Y, Nakagawa R, Ida Y, Takeda S and Nagasaki N : Time-related differences in noradrenaline turnover in rat brain regions by stress. *Biochem Behav Pharmac* (1982) **16**, 315—319.
- 10) Morgan W W, Rudeen P K and Pfeil K A : Effect of immobilization stress on serotonin content and turnover in regions of the rat brain. *Life Sci* (1975) **17**, 143—150.
- 11) Porsolt R D, Anton G, Blavet N and Jalfre M : Behavioural despair in rats : A new model sensitive to antidepressant treatments. *Eur J Pharmac* (1978) **47**, 379—391.
- 12) Higashidate S, Maekubo T, Saito M, Senda M and Hoshino T : New high-speed fully automated guanidino compound analyzer. in *Guanidines*, Mori A, Cohen B D and Lowenthal A, eds, Plenum Press, New York (1985) pp 3—33.
- 13) Ogawa N, Mizuno S, Mori A, Nukina I, Ota Z and Yamamoto M : Potential anti-depressive effects of thyrotropine releasing hormone (TRH) and its analogues. *Peptides* (1984) **5**, 743—746.
- 14) 進藤省一郎 : L-[Amidino-¹⁵N]-arginine のグアニジノ化合物への代謝に関する研究. *岡山医誌* (1983) **95**, 623—635.
- 15) 喜多富太郎, 神谷大雄 : 脳トランスアミジネースについて——中枢抑制剤の薬理学的研究——Ⅳ. *日薬理誌* (1962) **58**, 411—416.
- 16) 沢井愛次郎, 森 昭胤, 陣内伝之助 : γ -グアニジノ酪酸の代謝について. *条件反射* (1970) **110**, 51—57.
- 17) Ryan W L, Johnson R J and Dimari S : Homoarginine synthesis by rat kidney. *Arch Biochem Biophys* (1969) **131**, 521—526.
- 18) Yokoi I, Toma J and Mori A : The effect of homoarginine on the EEG of rats. *Neurochem Rathol* (1984) **2**, 295—300.
- 19) Featherston W R, Rogers Q R and Freedland R A : Relative importance of kidney and liver in synthesis of arginine by the rat. *Amer J Physiol* (1973) **224**, 127—129.
- 20) Robin Y and Marescau B : Natural guanidino compounds ; in *Guanidines*, Mori A, Cohen B D and Lowenthal A, eds, Plenum Press, New York (1985) pp383—438.

Effect of immersion stress on guanidino compounds in rat organs.**Hideki SUGI****Department of Neurochemistry, Institute for Neurobiology,****Okayama University Medical School,****Okayama 700, Japan****(Director : Prof. A. Mori)**

The effect of immersion stress on guanidino compounds in rat organs was studied. Short-term (5min) immersion stress increased the creatinine level in the cerebral cortex and the homoarginine level in the cerebellum, but it did not affect guanidino compound levels in the liver, kidney and pancreas. On the other hand, long-term (60min) immersion stress decreased the creatinine level in the liver and the arginine level in the kidney, and increased the arginine and γ -guanidinobutyric acid levels in the liver. However, long-term immersion stress did not affect guanidino compound levels in the brain or pancreas. Further, long-term immersion stress increased the excretion of γ -guanidinobutyric acid in the urine. These findings suggest that the transient increases of creatinine in the cerebral cortex and homoarginine in the cerebellum might be related to a functional change in the central nervous system during the early stage of immersion stress. It is thought that the long-term immersion stress affects guanidino compound metabolism in the peripheral organs through changes in protein metabolism.

Administration of imipramine reduced the lowered mood induced in rats by immersion stress, but it did not affect the change in guanidino compound levels induced by long-term immersion stress. This result suggests that the alleviation of the lowered mood induced in rats by imipramine treatment is not related to changes in guanidino compound levels in rat organs.