

## 神経伝達物質受容体の分子薬理学 —ガンマーアミノ酪酸(GABA)受容体を中心として—

† 栗山 欣彌

明治鍼灸大学 薬理学教室

**要旨** 脳内において抑制性神経伝達物質としての機能を有するガンマー・アミノ酪酸 (GABA) の受容体は、GABA-A及びGABA-Bの二つの受容体に分類されている。GABA-A受容体は、ベンゾジアゼピン (1012-S) を不動化リガンとする benzodiazepine affinity column chromatography により精製した。その結果に依ると、GABA-A受容体は5-6個のサブユニットより構成され、ベンゾジアゼピン受容体とも結合するクロライドイオンチャンネルを形成するものであった。このGABA-A受容体複合体の分子量は約300kDaであった。GABA-A受容体アルファ・サブユニットのcDNAクローニングを行いこれらのサブユニットの一次構造について解析したところ、いずれも四個の膜貫通領域を持ち、この構造がクロライド・チャンネルの形成に重要な意義を持つ事が判明した。他方、GABA-B受容体の活性化は、これらの受容体に共役するGTP結合蛋白(Gi/Go)を介して、アデニレートサイクレス活性やホスファチジルイノシトール代謝回転を抑制した。このGABA-B受容体の精製は baclofen affinity column chromatography 及び免疫抗体を用いた affinity chromatography により行ったが、この精製受容体蛋白は分子量約80kDaであり、Gi/Go蛋白の存在下で、アデニレートサイクレス活性を著明に抑制した。これらの結果を総括すると、脳内GABA-A及びGABA-B受容体はその蛋白分子のみならず、細胞内情報伝達系の面においても、まったく異なったものであると考えられる。

GABA-A受容体は中枢神経系に作用する鎮静催眠薬の作用機序や作用強度などの解析に有用であり、一方、GABA-B受容体は前シナプス性の局在を有し、脳内において複数の神経伝達物質系の機能障害を同時に保有する患者、例えば、老年痴呆に対する治療薬の開発などに役立つ知見を与えてくれる可能性があると考えられる。神経伝達物質受容体、あるいは薬物受容体に対するこれらの研究技法及び成果は、現在我々が対象としている鍼灸医学、特にその治療効果発現機序の解析に役立つ可能性がある事を強調したい。

### I はじめに

ガンマーアミノ酪酸 (GABA) は脳内における主要な抑制性神経伝達物質であると考えられて居り、脳内、特に抑制性前シナプス部で1-グルタミン酸から1-グルタミン酸脱炭酸酵素の作用により生成され、貯蔵され、抑制性GABA作動性神経の興奮に応じてシナプス間隙に放出されて、抑制性シナプス伝達を媒介している<sup>1)</sup>。

またこれらのGABAは、高親和性取込み機構により前・後シナプス部および周辺のグリア細胞に取り込まれ、GABAトランスアミナーゼ/サクシニクセミアルデヒド脱水素酵素系の作用により分解されて、TCA回路にはいり代謝される<sup>2)</sup>。

一般的に、脳内の神経活動はこの様なGABA作動性神経系の活性化に伴い抑制される。またこれらのGABAの抑制作用は、GABA-AとGABA-Bの2種類のGABA受容体により媒介される<sup>3)</sup>。

GABA-A受容体もGABA-B受容体も、膜受容体(図1)の一種であるが、GABA-A受容体は bicuculline と呼ばれるGABA-A受容体の遮断薬により拮抗されるクロライド・イオンチャンネル内臓型の受容体であり、一方、GABA-B受容体は bicuculline 非感受性で、GABA-B受容体の遮断薬である2-hydroxy-saclofenにより拮抗され、サイクリックAMP生成系やイノシトールリン酸生成系とGi/Go蛋白を介して負の共役を示す

Key Words : GABA-A受容体 GABA-A Receptor, GABA-B受容体 GABA-B Receptor,  
分子薬理学 Molecular Pharmacology, 一次構造決定 cDNA cloning,  
精製と再構成 Purification and Reconstitution

† 連絡先：〒629-0392 京都府船井郡日吉町保野田ヒノ谷6 明治鍼灸大学 薬理学教室  
Tel.0771-72-1181 Fax.0771-72-0326 E-mail : k\_kuriyama@muom.meiji-u.ac.jp

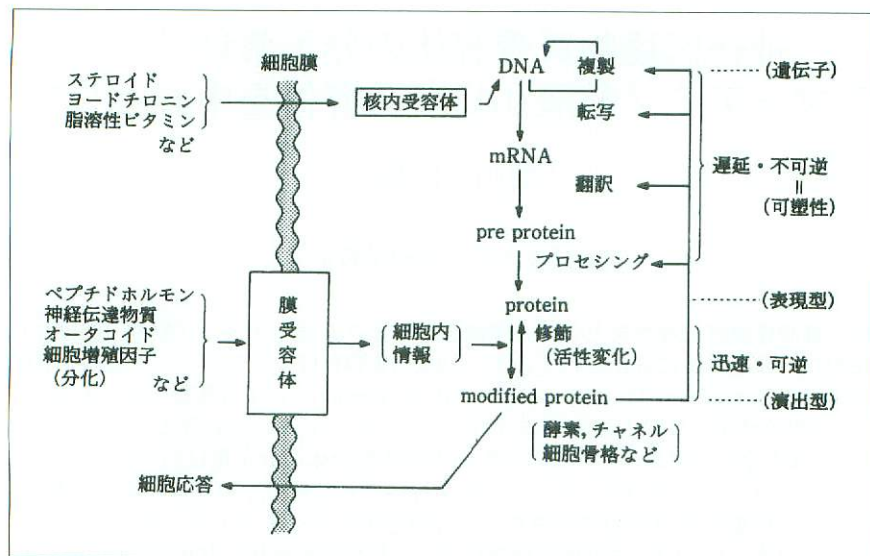


図1：細胞膜受容体と核内受容体

表1：GABA受容体のサブタイプ

受容体	GABA <sub>A</sub>	GABA <sub>B</sub>
共役機構 及び反応	ベンゾジアゼピン受容体及び Clイオノフォアと複合体形成 Clのシナプス後膜透過性亢進	アゼニレートシクラーゼ活性抑制 PI-レスポンス*抑制
存在部位	シナプス後膜 (小脳皮質, 大脳皮質, 黒質などに多い)	シナプス前膜又は後膜
作動性	ムシモール, THIP イソグバシンなど	バクロフェン
遮断薬	ピククリン ピクロトキシン**	ファクロフェン

\* …フォスファチジルイノシトールリン酸からイノシトール三リン酸とジアシルグリセリドが生成する反応

\*\*…ピクロトキシンはGABA<sub>B</sub>受容体複合体のうち、Clイオノフォアを遮断する

代謝共役型の受容体である(表1)。GABA-A受容体の活性化は電気生理学的には fast inhibitory postsynaptic potential (fast IPSP) を、またGABA-B受容体の活性化はslow IPSP を、それぞれ招来することが知られている。

神経伝達物質受容体や薬物受容体に関する最近の研究の進歩には目覚ましいものがあるが、この総説ではこれらの中でGABA-A受容体については、ベンゾジアゼピン類やバルビツール酸誘導体の様な鎮静催眠薬の作用点としての意義、GABA-B受容体については、前シナプス性受容体として各種神経伝達物質の刺激反応性放出の調節因子としての意義を説明すると共に、これらの概念や研究方法が鍼灸治療における神経系に対する作用発現機序の解明に役立たないかについても考えてみる事とする。

## II GABA-A受容体の分子薬理的観点

GABAやmuscimolなどのGABA-A受容体作動薬を適用すると、GABA-A受容体のクロライド・イオンへの透過性が上昇する。GABA-A受容体の拮抗薬のうち、bicuculline はGABAの認識部位を、picrotoxinはクロライド・イオンチャンネルを遮断し痙攣を招来する。鎮静催眠薬として知られるバルビツール酸誘導体はこのGABA-A受容体に包含されるクロライド・イオンチャンネルを活性化してGABAの抑制作用を増強する。一方、抗不安薬として知られるベンゾジアゼピン誘導体は、GABA-A受容体複合体の中にあるベンゾジアゼピン受容体に結合し、このGABA認識部位におけるGABA感受性を増強することにより抗不安作用、抗痙攣作用、更には鎮静催眠作用を招来する。この他にGABA-A受容体に作用する薬物は多数あるが、これらの中でも

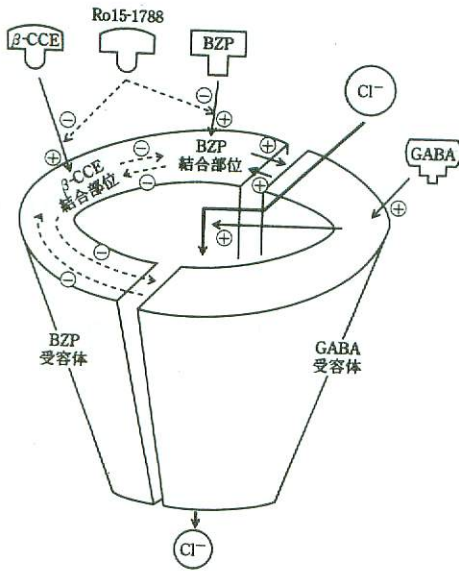


図2：GABA-Aレセプター/BZPレセプター/Clイオンチャネル複合体のモデル

3-alpha-hydroxy-5-alpha-dihydroprogesteroneの様な神経ステロイド類は、GABA-A受容体内のクロライド・イオンチャンネルに作用して、不安やストレスの調節に効果があると言われて<sup>4)</sup>。

III GABA-A受容体の精製とその蛋白化学

機能的及び構造的な共役がGABA-A受容体とベンゾジアゼピン受容体の間にあることを利用して、先ずGABA受容体複合体の精製を1012-Sというベンゾジアゼピンを用いたベンゾジアゼピン・

アフィニティゲル カラムクロマトグラフィを確立して、GABA-A受容体の精製を開始した<sup>5)</sup>。ラット脳より精製したGABA-A受容体は約300,000の分子量を持ち、alpha (M.W.:48,500) とbeta (M.W.:54,500) の2つのサブユニットを持つものであった。同じくウシ大脳皮質より得られたものは、alpha (53,000) 及びbeta (57,000) の2つのサブユニットよりなるものであった<sup>6)</sup>。これらの精製受容体はGABA受容体/ベンゾジアゼピン受容体間の機能的共役を保持し、同時にクロライド・イオンチャンネルとこれらの受容体の間にも機能的共役を持つものであった<sup>7,8)</sup>。すなわち、精製GABA受容体複合体への『3-H』-GABAや『3H』-muscimolの結合はベンゾジアゼピン類の投与により増強され、逆にベンゾジアゼピン受容体への『3H』-flunitrazepam結合は、GABAの添加により増強されたのである。更に、これらの精製GABA受容体複合体をリポソームを用いて再構成し、『36-Cl』を用いてクロライド・イオンの膜透過性を測定すると、GABA及びベンゾジアゼピン類の添加により著しく増強する事が判明したのである<sup>9)</sup>。これらの成績は図2に示すごとく、GABA-A受容体がベンゾジアゼピン受容体及びクロライド・イオンチャンネルと共に複合体を形成し、抑制性受容体としての重要な役割を演じると共に、ベンゾジアゼピン類やバルビツール酸の様な鎮静催眠薬の作用点として機能している事を示すものである。

	10	20	30	40	50	60	70	80
HUMAN	MRKSPGLSDCLWAWILL	LLSTLGRSYGQPSLQDEL	KDNTVFRILDRLLDGYDNRLR	PGLGERVTEVKTDIFVTS	FGPV			
BOVINE	MKKSPLSDYLWAWTL	FLSTLGRSYGQPSLQDEL	KDNTVFRILDRLLDGYDNRLR	PGLGERVTEVKTDIFVTS	FGPV			
	90	100	110	120	130	140	150	160
	SDHDMEYTI	IDVFFRQSWKDERL	KFKGPMTVLRLN	LNSMASHKIWTDT	TFPHNGKKSVAHN	MTMPNKLRLR	ITEDGTLTYMRL	
	SDHDMEYTI	IDVFFRQSWKDERL	KFKGPMTVLRLN	LNSMASHKIWTDT	TFPHNGKKSVAHN	MTMPNKLRLR	ITEDGTLTYMRL	
	170	180	190	200	210	220	230	240
	TVRAECPMHLEDFP	MDAHACPLKFGSYAY	TRAEVVYEW	TREPARSVVVAEDG	SRLNQYDLLG	QTVDSGIVQ	SSTGEYVVM	
	TVRAECPMHLEDFP	MDAHACPLKFGSYAY	TRAEVVYEW	TREPARSVVVAEDG	SRLNQYDLLG	QTVDSGIVQ	SSTGEYVVM	
	250	260	270	280	290	300	310	320
	TTHFHLKRKIGY	FVIQTYLPCIM	TVLSQVSWLNRES	VPARTVFGVTT	VTTLTHTLSIS	ARNSLPKVAYAT	AMDWFI	AVC
	TTHFHLKRKIGY	FVIQTYLPCIM	TVLSQVSWLNRES	VPARTVFGVTT	VTTLTHTLSIS	ARNSLPKVAYAT	AMDWFI	AVC
	330	340	350	360	370	380	390	400
	YAFVFSALIEFAT	NYFTKRGYAW	DGKSVVPEKPK	KVKDPLIKKN	NTYAPTATS	YTPNLRGDPGL	ATI	AKSATIEPK
	YAFVFSALIEFAT	NYFTKRGYAW	DGKSVVPEKPK	KVKDPLIKKN	NTYAPTATS	YTPNLRGDPGL	ATI	AKSATIEPK
	410	420	430	440	450			
	KPETKPEPKKTF	NFSVKIDRLS	RIAFPLFGIF	NLVYATYLN	REPOLKAPT	PHQ		
	KPETKPEPKKTF	NFSVKIDRLS	RIAFPLFGIF	NLVYATYLN	REPOLKAPT	PHQ		

図3：ヒト及びウシ脳のGABA-A受容体・アルファ1サブユニットにおけるアミノ酸配列の比較<sup>11)</sup>。

表2：受容体と細胞内情報伝達機構との関連

細胞内情報伝達系	関連するレセプター
イオノフォア作働系 アゼニレートシクラーゼ 作働系	ニコチン・GABA <sub>A</sub> ・グリシン
1. 活性系 (Ns系)	$\beta$ -アドレナリン( $\beta_1, \beta_2$ )・ドパミン(D <sub>1</sub> )・セロトニン(5-HT <sub>1</sub> )・ヒスタミン(H <sub>2</sub> )・アデノシン(A <sub>2</sub> )・プロスタグランジン(PGL <sub>2</sub> , E <sub>1</sub> , E <sub>2</sub> )など
2. 抑制系 (Ni系)	$\alpha_2$ -アドレナリン・ムスカリン・ドパミン(D <sub>2</sub> )・アデノシン(A <sub>1</sub> )・GABA <sub>B</sub> ・オピオイド・ソマトスタチン など
イノシトールリン脂質作働系	$\alpha_1$ -アドレナリン・ムスカリン・セロトニン(5-HT <sub>2</sub> )・ヒスタミン(H <sub>1</sub> )・ソマトスタチン など
チロシンキナーゼ作働系 クロマチン作働系 (細胞内レセプターを介するもの)	インスリン・成長因子 ステロイドホルモン・甲状腺ホルモン・ビタミンA・ビタミンD

#### IV GABA-A受容体の分子生物学的研究

GABA-A受容体の構造決定は、c-DNA クローニング法の導入により急速な進歩を遂げた。GABA-A受容体のalpha及びbetaサブユニットのc-DNAクローニングは1987年以来、多くの動物種について、多くの研究グループから発表された<sup>9-12)</sup>。私共のヒト及びウシの脳から得たalpha-1サブユニットのアミノ酸配列と膜貫通領域(クロライド・イオンチャネル形成領域)の解析結果を図3<sup>11)</sup>に示す。これらのうち、ヒト脳に関する成績は、私共のもの<sup>11)</sup>が世界で最初の報告である。

GABA-A受容体複合体に関するc-DNAクローニングの最近の結果を見ると、4-5個のサブユニットより構成されて居り、これらのサブユニットの数は現在のところ17種に及んで居る。これらの組み合わせの変化が、GABA-A受容体の機能的多様性発現の原因であると考えられて居る<sup>13)</sup>。更にc-DNAクローニングの結果は、これらのサブユニットには高い相同性があり、またこれらの相同性は動物種を超えて存在する事が証明されている(図3)。この様な特性は、多くのイオノフォア作働系受容体(表2)に共通して認められる現象であり、GABA-A受容体複合体は他のイオノフォア作働系受容体と“super-family”を形成しているとの考え方が提唱されている<sup>10)</sup>。

GABA-A受容体の機能は、多くの薬物により

変容を受ける。特に大切なのは、作動薬への持続的暴露が本受容体のmRNA発現を減少させる(down regulation)、逆に拮抗薬を用いると増加させる(up regulation)ことである。これらの結果は、受容体作用薬の連用時には受容体の機能が、その量的変動に伴い変化し、薬物の効果を変える可能性を強く示唆している<sup>12)</sup>。

#### V GABA-B受容体の分子薬理的観点

GABA-B受容体の存在は、GABA様の抑制作用を示す(-)baclofenという薬物が、GABAのみならず、多くの神経伝達物質のシナプス性放出を減少させるが、この(-)baclofenの作用は、GABA-A受容体の拮抗薬であるbicucullineで遮断されない事から、これらの受容体とは異なるGABA-B受容体の存在が提唱された事に始まる<sup>14)</sup>。その後長期間にわたり特異的なGABA-B受容体の拮抗薬及び作動薬の探索が続けられたが、拮抗薬としてphaclofenや2-hydroxy saclofen<sup>15, 16)</sup>、作動薬として3-aminopropylphosphonous acid (APPA)<sup>17)</sup>が発見されるに及んで、GABA-B受容体の存在は明確なものとなった。

GABA-B受容体はGiまたはGo型のGTP結合蛋白を介してサイクリックAMP生成系やイノシトールリン酸生成系と負の共役を示す代謝共役型の受容体であり(表1 & 2)、GABA-B受容体の活性化はサイクリックAMPやイノシトールリン酸類の生成を抑制する<sup>18)</sup>。一方、GABA-B受容体の活性化はベーター・アドレナリン受容体刺激に伴うサイクリックAMPの生成増加を促進する<sup>19)</sup>ことから、ベーター・アドレナリン受容体とGABA-B受容体の間には機能的共役があることが考えられているが、その機構の詳細については現在のところ不明である。

神経伝達物質受容体のある種のもは、フォスファチジル イノシトール (PI) の代謝回転を促進させるが、GABA-B受容体の活性化は逆にPI代謝回転を抑制する(図4, 20, 21)。この様にGABA-B受容体は、サイクリックAMP生成系とPI代謝回転系の両者を抑制するが、これらの両系に共役するGABA-B受容体と同じものかどうかについては、現時点では不明であると言わざるを得ない。

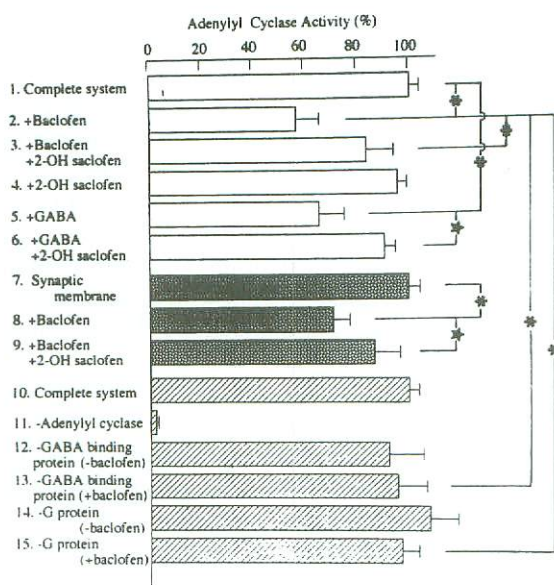


図4：精製GABA-B受容体の精製Gi/Go蛋白及びアデニレート・サイクラーゼ存在下におけるリポソーム膜上での機能再構成<sup>21)</sup>。

### VI GABA-B受容体の生化学/分子生物学的観点

GABA-B受容体のシナプス膜からの可溶性、精製、及びその生化学的性質の解析に関しては、多くの研究が行われてきた。私共の研究グループでは、表面活性剤CHAPSによる可溶性<sup>23)</sup>とbaclofen-epoxy activated Sepharose 6Bによるアフィニティカラムクロマトグラフィ<sup>21, 22)</sup>の使用により、GABA-B受容体蛋白の約11,000倍の精製効率を得る事が出来た。しかしながら、このアフィニティカラムクロマトグラフィに用いたアフィニティ・ゲルは、この受容体蛋白への親和性が弱く、この方法ではさらなる精製率の改善は期待出来ないと判断し、これらの蛋白を抗原としてGABA-B受容体へのモノクローナル抗体を作製し、これらの抗体を用いて免疫アフィニティカラムクロマトグラフィを行った<sup>21)</sup>。これらの方法により得られた免疫反応陽性の特異的蛋白は、分子量約80,000のGABA-B受容体蛋白であり、先に述べたGABA-B受容体としての分子薬理学的特性を保有するものであった。

次にこの分子量約80,000 (80 kDa)のGABA-B受容体に対して特異的結合を持つ精製蛋白が、GABA-B受容体としての機能を持つかどうかをリポソーム膜上で再構成することにより確認した。すなわち、このGABA-B受容体蛋白候補物質、精製したGTP結合蛋白 (Go/Gi) 及びアデニレート

サイクレスを用いて確認実験を行ったところ、サイクリックAMP生成はGABA及びGABA-B受容体作動薬であるbaclofenの添加により著明に抑制され、またこの抑制はGABA-B受容体拮抗薬である2-hydroxy saclofenにより特異的に拮抗された(図4<sup>21)</sup>)。これらの実験結果は、この80 kDa蛋白が、GABA-B受容体としての特異的な機能を持つ蛋白であることを示すものであると考えられる。

### VII 結論と将来への期待

GABA受容体の研究の流れとその問題点について、私共の研究結果を中心に解説を試みた。GABA受容体の研究は、GABA自体が中枢神経系に於ける主要な抑制性神経伝達物質として知られるアミノ酸であるため、活発な研究が行われて来た。しかしながら、其の研究の過程に於いて、GABA受容体はクロライド・イオンチャネル内臓型のGABA-A受容体と、サイクリックAMP及びイノシトールリン酸生成系と負の共役を示す代謝共役型のGABA-B受容体に分類され、しかも、GABA-A受容体は抗不安薬ベンゾジアゼピン類や鎮静催眠薬バルビツール酸誘導体の作用点として薬物受容体の機能を持つこと、一方、GABA-B受容体は前シナプス性の局在を示し、自己受容体 (auto-receptor: GABA作動性神経終末に存在し、GABAのシナプス性放出を調節)、あるいは異所受容体 (hetero-receptor: GABA以外の神経伝達物質作動性神経終末に存在し、GABA以外の神経伝達物質のシナプス性放出を調節) すると言う機能を持つ事が明らかとなった。これらの所見は、GABA-A受容体の場合には薬物受容体の研究モデルとして新しい向精神薬、特に抗不安薬や鎮静催眠薬の開発に貢献する可能性を強く示唆している。一方、GABA-B受容体の場合には更なる分子遺伝学的解析が必要であるが、前シナプス性の局在とこれに伴うGABA、あるいは他の神経伝達物質の放出調節機能を応用して、多種の神経伝達物質の機能を同時に調節する薬物の開発に貢献する可能性が考えられて居る。すなわち、GABA-B受容体作動薬による特定の神経伝達物質のシナプス放出の抑制、逆にGABA-B受容体拮抗薬投与による特定の神経伝達物質のシナプス放出の促進を考え、種々の薬物の開発が試

みられて居る。このようなアイデアに基づく向神経精神薬は、脳の老化に基づく中枢神経障害、例えば、老年痴呆などの様に複数の神経伝達物質の機能に障害がある場合の治療薬の開発に、大きく貢献する可能性があると考えられる。

一方鍼灸治療は、最近注目を集めている代替医療／相補医療／統合医療の担い手の一つとして重要視されている分野である。その適用範囲は多岐にわたり、その作用機序のすべてを明らかにする事は容易ではないが、少なくともその一つとして中枢神経系、自律神経系、あるいは末梢神経系のレベルにおける前シナプス性あるいは後シナプス性の受容体機構の機能変容が鍼灸治療に伴って起っている可能性を考え、詳細な研究が必要ではないかと考えている。現在よく行われている既知の受容体の作動薬や拮抗薬を投与し、其の効果からこの鍼灸治療の効果には特定の受容体が関与しているとか、関与していないとかの推論ではなく、其の受容体の特性、局在、発現、機能変容、更にはその受容体の生理的・内在性作動物質の動態などをも含めた他の研究分野の人達を納得させるような、高レベルで国際性のある、基礎の明確な研究を積み重ねる事が必要であると考え、これらのことは他の研究分野についても言える事であり、この様な観点に立脚した多くの優れた鍼灸医学に関する研究が本学から輩出する事を期待したい。

#### 参考文献

- 1) 栗山欣彌, 広内雅明: ガンマ—アミノ酪酸 (GABA) 受容体の構造と機能: 研究の現状とその問題点, 日本薬理学雑誌, 94, 7-15, 1989.
- 2) Roberts E: GABA: The road to neurotransmitter status. In Olsen, RW and Venture JC (Eds.) Benzodiazepine/GABA Receptors and Chloride: Structural and Functional Properties. Alan R. Liss, New York, NY, pp1-39, 1986.
- 3) Kuriyama K and Hirouchi M: Structure and function of gamma-aminobutyric acid (GABA) receptor: Current state and perspectives. *Folia Pharmacol, Jpn.* 94: 7-15, 1989.
- 4) Puia G, Santi M, Vicini S, Pritchett DD B, Purdy RH, Paul SM., Seeburg PH, and Costa E.: Neurosteroids act on recombinant human GABA-A receptors. *Nuron*, 4, 759-765, 1990.
- 5) Kuriyama K and Taguchi J: Purification of gamma-aminobutyric acid receptor, benzodiazepine receptor and Cl channel from bovine cerebral cortex by benzodiazepine affinity gel column chromatography. *Neurochem. Int.* 10: 253-263, 1987.
- 6) Taguchi J and Kuriyama K: Purification of gamma-aminobutyric acid (GABA) receptor from rat brain by affinity column chromatography using a new benzodiazepine, 1012-S, as an immobilized ligand. *Brain Res.*, 323, 219-226, 1984.
- 7) Taguchi J and Kuriyama K: Functional coupling of gamma-aminobutyric acid (GABA)-A and benzodiazepine type II receptors using purified GABA/benzodiazepine receptor complex from bovine cerebral cortex. *Neuropharmacology*, 26, 1745-1750, 1987.
- 8) Taguchi J, Kuriyama T, Ohmori Y and Kuriyama K: Immunohistochemical studies on distribution of GABA-A receptor complex in the rat brain using antibody against purified GABA-A receptor complex. *Brain Res.*, 483, 395-401, 1989.
- 9) Hirouchi M, Taguchi J, Ueha T and Kuriyama K: GABA-stimulated  $^{36}\text{Cl}$  influx into reconstituted vesicles with purified GABA-A/benzodiazepine receptor complex. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 146, 1471-1477, 1987.
- 10) Schofield PR, Darlison MG, Fujita N, Burt DR, Stephenson FA, Rodriguez H, Rhee LM, Ramachandran J, Reale V, Glencorse TA, Seeburg PH and Bernard EA: Sequence and functional expression of GABA-A receptor shows a ligand-gated receptor super-family. *Nature*, 328, 221-227, 1987.
- 11) Hirouchi M, Kuwano R, Katagiri T, Takahashi Y and Kuriyama K: Nucleotide and deduced amino acid sequences of the GABA-A receptor alpha-subunit from human brain. *Neurochem. Int.*, 15, 33-38, 1989.
- 12) Hirouchi M, Ohkuma S and Kuriyama K: Muscimol-induced reduction of GABA-A receptor alpha-1-subunit mRNA in primary cultured cerebral cortical neurons. *Mol. Brain Res.*, 15, 327-331, 1992.
- 13) Olsen RW, Beresu MH, Endo S and Smith G: The GABA-A receptor family in the mammalian brain. *Neurochem. Res.*, 16, 317-325, 1991.
- 14) Hill DR and Bowery NG.:  $[^3\text{H}]$ Baclofen and  $[^3\text{H}]$ GABA bind to bicuculline-insensitive GABA-B receptor sites in rat brain. *Nature* 290: 149-152, 1981.

- 15) Kerr DIB, Ong J, Prager RH, Gynther BD and Curtis DR : Phaclofen : a peripheral and central baclofen antagonist. *Brain Res.*, 405, 150-154, 1987.
- 16) Kerr DIB, Ong J, Johnston GAR, Abbenante J and Prager RH. : 2-Hydroxy-saclofen : an improved antagonist at central and peripheral GABA-B receptors. *Neurosci. Lett.*, 92, 92-96, 1988.
- 17) Ong J, Harrison NL, Hall RG, Barker, JL, Johnston GAR and Kerr DIB : 3-Aminopropanephosphonic acid is a potent agonist at peripheral and central presynaptic GABA-B receptors. *Brain Res.*, 526, 138-142, 1990.
- 18) Nishikawa M and Kuriyama K : Functional coupling of cerebral gamma-aminobutyric acid (GABA)-B receptor with adenylate cyclase : effect of phaclofen : *Neurochem. Int.*, 14 : 85-90, 1989.
- 19) Karbon EW and Enna SJ : Characterization of the relationship between gamma-aminobutyric acid B agonist and transmitter-coupled cyclic nucleotide-generating system in rat brain. *Mol. Pharmacol.*, 27 : 53-59, 1985.
- 20) Ohmori Y and Kuriyama K : Negative coupling of gamma-aminobutyric acid (GABA)-B receptor with phosphoinositol turnover in the brain. *Neurochem. Int.*, 15 : 359-363, 1989.
- 21) Nakayasu H, Nishikawa M, Mizutani H, Kimura H and Kuriyama K : Immunoaffinity purification and characterization of gamma-aminobutyric acid (GABA) B receptor from bovine cerebral cortex. *J. Biol. Chem.*, 268 : 8658-8664, 1993.
- 22) Ohmori Y and Kuriyama K : Solubilization and partial purification of GABA-B receptor from bovine brain. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 172 : 22-27, 1990.

**Molecular pharmacology of neurotransmitter receptors:  
Especially during that of gamma-aminobutyric acid (GABA) receptors**

**†KURIYAMA Kinya**

*Department of Pharmacology, Meiji University of Oriental Medicine*

**Abstract**

The receptor for gamma-aminobutyric acid (GABA), an inhibitory neurotransmitter in the brain, has been classified into GABA-A and GABA-B types. The GABA-A receptor was purified by affinity column chromatography using benzodiazepine as an immobilized ligand. The results indicated that the GABA-A receptor consisted of several subunits and formed a GABA-gated chloride ion channel, which is coupled with the benzodiazepine receptor. The molecular weight of the GABA-A receptor complex was estimated to be approximately 300 kDa. Furthermore, cDNA cloning of GABA-A receptor alpha subunits was performed and the primary structure of these subunits was deduced. The results indicated that these subunits possessed four membrane domains in their structures which are important for the formation of the chloride ion channel. On the other hand, activation of GABA-B receptor induced the inhibitions of adenylate cyclase activity and phosphatidylinositol turnover via inhibitory GTP binding proteins such as Gi and/or Go. The GABA-B receptor was purified using baclofen affinity and immunoaffinity chromatographies. It was confirmed that the purified GABA-B receptor protein is about 80 kDa in its molecular weight. This protein was capable of inducing the inhibition of adenylate cyclase when it was reconstituted with Gi/Go protein in the phospholipid vesicle system. Currently available data indicate that GABA-A and GABA-B receptors in the central nervous system are distinct not only in terms of their molecules but also their signal transduction systems. The GABA-A receptor might be a good tool for selecting centrally acting sedative hypnotic drugs and for elucidating its mode of actions, while GABA-B receptor, which has presynaptic localization, may provide clues for developing effective drugs that improve mal-functions in multi-transmitter systems in the brain, possibly useful in the treatment of severe mental and neurological disorders such as dementia. These strategies for studying transmitter receptor and/or drug receptor systems may also provide hints or suggestions for studying the mechanism involved in inducing certain effects of acupuncture treatments.

---

† To whom correspondence should be addressed.

Meiji University of Oriental Medicine, Hiyoshi-cho, Funaigun, Kyoto 629-0392, Japan