

# 흰쥐 해마박편에서 serotonin이 glutamic acid유리에 미치는 영향

서울대학교 치과대학 치과약리학교실 및 치학연구소

김 형 룡

## I. 서 론

수면, 동통, 성적행위, 정서와 정신질환, 및 여러 신체행동에 관여하는 것으로 알려져있는 serotonin 성 신경은 midbrain median raphe nucleus (B<sub>5</sub>)에서 기원하여 해마를 지배하는 것으로 알려져있으며<sup>1</sup> 해마의 부위마다 약간씩의 차이는 있지만 serotonin 결합부위가 존재한다고 알려져있다<sup>2</sup>.

중추의 여러 흥분성 시냅스에서 신경의 정보전달에 중요한 역할을 담당한다고 알려져 있는 glutamate는 여러 뇌부위 박편, 절전 신경섬유말단, 신경세포배양, 생체push-pull카블라와 미세 투석관을 이용한 관류기법실험에서 전기자극이나 화학적 자극에 의해 glutamate성 신경말단으로부터 유리된다고 알려져 있다<sup>3,4,5</sup>.

포유류 전뇌의 약 50%의 시냅스에서 신경전달물질로 작용하는 흥분성 아미노산 신경전달물질인 glutamic acid는 N-methyl-D-aspartate (NMDA), Quisqualate (QA)와 Kainate (KA) 수용체들 서로 다른 3가지 수용체에 작용하여 거의 모든신경을 흥분시켜 여러 뇌부위로부터 GABA, dopamine, acetylcholine, adenosine, norepinephrine 등 여러 신경전달물질을 유리시키는 것으로 알려져 있다<sup>5</sup>.

흰쥐 소뇌 synaptosome에서 serotonin이 glutamic acid유리를 억제시켰으며<sup>6</sup> 또한 Lee등<sup>7</sup>은 소뇌 Purkinje세포에서 serotonin이 glutamic acid에 의한 흥분을 억제시킨다고 보고한 바있다.

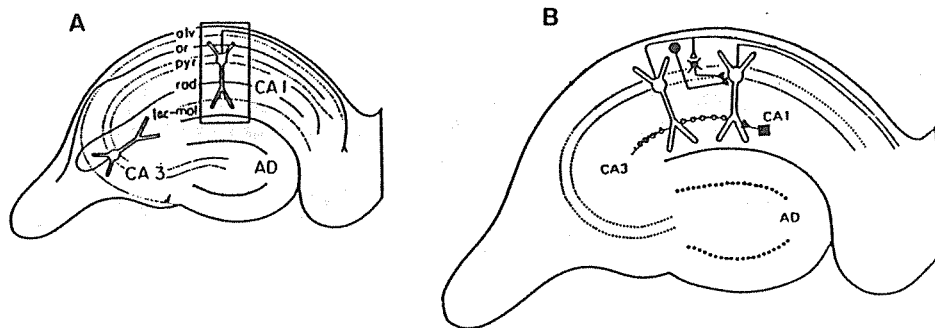
본 연구는 entorhinal cortex에서 기시되는 외인성

신경과 granule cell로 부터 투사되는 내인성 신경으로 구성되어 있는 glutamate성 신경지배를 받는다고 알려져있는 해마부위를 적출하여 생체내의 해마에서 볼수있는 내원성 (intrinsic) 및 구심성 신경회로의 대부분을 가지고 있으며<sup>8</sup> 생체와 유사한 생리학적 특징을 갖고있어 여러 약물에 대한 신경화학적 및 전기생리학적 연구에 광범위하게 이용되는 해마박편을 제작하여 해마박편에서 serotonin이 glutamic acid 유리에 미치는 영향을 관찰하고자 하였다.

## II. 실험재료 및 방법

서울대학교 동물실에서 사육한 체중 160-200gm의 Sprague-Dawley계 암흰쥐를 사용하였으며 실험 전 24시간 이상 동일한 환경에 두었으며 사료와 물은 제한하지 않았다.

실험동물을 경부염전 (cervical dislocation) 으로 희생시키고 즉시 뇌를 꺼내어 축축한 여과지 위에 올려놓고 Glowinski와 Iversen<sup>9</sup>의 방법으로 양쪽 해마를 적출한 후 면도칼과 recessed glass guide (약 0.35mm 두께)을 이용하여 300-400 $\mu$ m 두께의 해마박편을 제작하였으며<sup>10</sup> 박편을 제작하는 동안 계속해서 고산소성 Krebs-bicarbonate배양액 (oxygenated KBM ; 95% O<sub>2</sub>-5% CO<sub>2</sub> ; NaCl 118mM, KCl 4.75 mM CaCl<sub>2</sub> 2.52mM, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.18mM, MgSO<sub>4</sub> 1.19mM, NaHCO<sub>3</sub> 25mM, Glucose 10mM pH 7.4) 으로 적신상태에서 시행하였다. 제작한 해마박편을 바구니 모양의 체로 된 조직고정장치에 위치시킨 후

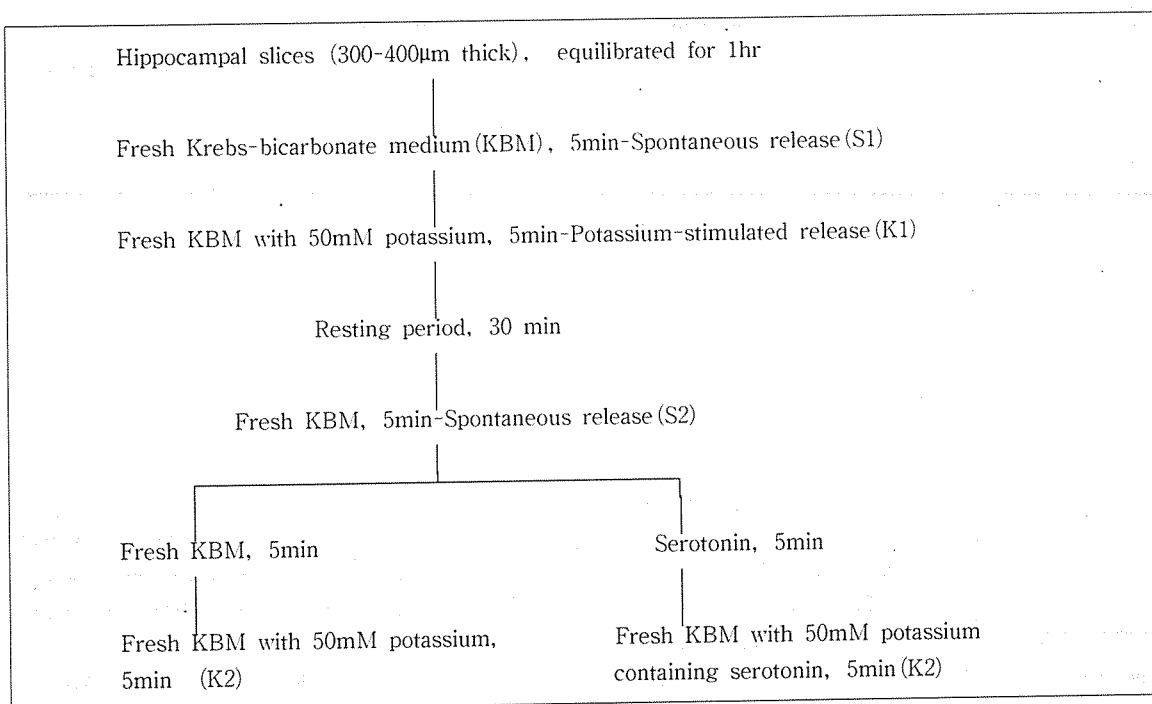


**Fig. 1.** Diagram of the transverse hippocampal slice.

A: The abbreviations mark the histological layers: alv, alveus; or, stratum oriens; pyr, stratum pyramidale; rad, stratum radiatum; lac-mol, stratum lacunosum moleculare; AD, area dentata; CA1 and CA3, nomenclature according to Lorente de No(1934).

B: The pyramidal cell body layer is represented by interrupted lines running through the CA1 and CA3 regions.

- : O/A interneuron      - ◁ : excitatory
- : Basket cell         - ◁ : inhibitory
- : L-M interneuron



**Fig.2.** Diagrammatic presentation of employed method to study the effect of serotonin on the release of glutamic acid from hippocampal slice

KBM에서 37°C, 1시간 전배양시킨후 박편을 신선한 KBM이 들어있는 다른 비이커로 옮겨서 5분간 배양 하였다(S1). 박편을 포타슘(최종 농도 50mM)이 첨가된 비이커로 옮겨서 5분간 배양(K1)한 다음 30분간 휴식상태로 둔 후 5분간 배양(S2)한 다음 serotonin이 첨가된 비이커에서 5분간 배양시킨 후 포타슘과 serotonin이 첨가된 비이커에서 5분 더 배양하였다(K2) (Fig. 2). 포타슘 자극의 경우 삼투질 농도를 일정하게 유지시키기 위해서 소다음이온의 농도를 73mM로 하였다. 자발적인 (S1, S2) 또는 약물처리에 의한 신경전달물질의 유리 (K1, K2)를 측정하기 위하여 배양액은 즉시 냉동건조시켜 30mM lithium carbonate buffer (최종 pH 9.5)로 재용해시킨 후 Tapuhi<sup>11)</sup> 등의 방법으로 dansylation을 시행한 후 Model 6000A solvent delivery system, Model U6K universal liquid chromatograph injector, M440 absorbance detector와 M730 data module로 구성된 high performance liquid chromatography system (HPLC, Waters Associates, Milford, USA)으로 분석하였다. HPLC 조건은 압력 1000±50 p. s. i., 유량 1.0ml/min, injection부피 90µl 이었고, 고정상은 reverse-phase steel column 인 µBondapak-C<sub>18</sub>Column을 사용하였으며 사용직전에 aqueous solvent filter (0.45µm, Millipore)로 여과하여 격렬하게 교반하면서 진공펌프로 10분간 가스를 제거하였다.

Glutamic acid 정량은 Model 440 U. V. detector (Waters Associates, Milford, U. S. A.)를 이용하여 파장 254nm, operation sensitivity 0.02-0.01 a. u. f. s. 에서 측정하였다. Peak의 확인은 retention time 과 standard coaddition방법으로 확인하였다.

단백질정량은 소량의 0.2N NaOH로 녹여 bovine serum albumin (Sigma, fraction V)을 표준용액으로 사용하여 Lowry 등<sup>12)</sup>의 방법으로 시행하였다.

### III. 실험 성적

해마박편에서 포타슘자극에 의한 glutamic acid유리량은 자발적인 glutamic acid유리량에 비해 1차의 경우 5.2배 증가하였으며 휴식기간후 2차 자극시에는 5.4배 증가하여 절대량의 차이는 약간 있었으나 1차와 유사한 유리증가가 관찰되었다(Table 1). Serotonin (1-100µM) 투여가 자발적인 glutamic acid 유리에는 큰 영향을 미치지 않았다(Table 2). 2차

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

	Glutamic acid amount (nmol/100mg protein)	
	S1 <sup>a</sup>	S2 <sup>a</sup>
Spontaneous	28.1±3.1	23.3±2.7
Potassium-Stimulated	K1 <sup>b</sup>	K2 <sup>b</sup>
	145.9±13.2	125.6±12.8
Fold of increase	5.2	5.4

Values are Mean±S. E. of 10 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 serotonin on the spontaneous release of glutamic acid from hippocampal slices

Treatment	% release of glutamic acid*
Control	83.0±9.4
Serotonin 1µM	90.1±8.2
Serotonin 10µM	84.4±10.5
Serotonin 100µM	89.8±10.6

Values are Mean±S. E. of 4 samples

\*:  $\frac{\text{Serotonin-induced glutamic acid release}}{\text{2nd spontaneous glutamic acid release}} \times 100$

**Table 3.** Effect of serotonin on the potassium-stimulated glutamic acid release from hippocampal slices.

Treatment	% release of glutamic acid*
Control	83.8±6.5
Serotonin 1µM	71.2±9.1
Serotonin 10µM	51.4±3.9
Serotonin 100µM	20.2±4.7

Values are Mean±S. E. of 4 samples

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

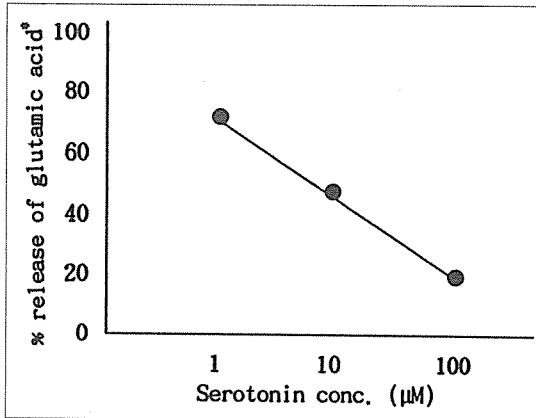


Fig. 3. Effect of serotonin on the potassium-stimulated glutamic acid release from hippocampal slices.

Values are Mean of 4 samples.

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

포타슘자극시 배양액에 첨가된 serotonin의 농도가 1µM의 경우 1차 포타슘자극시에 비해 glutamic acid 유리량을 71.2%, 10µM 첨가시 51.4%, 100µM 첨가시 20.2%로 감소시켰다. 관류액에 serotonin을 첨가하지 않은 경우 2차 포타슘 자극시 glutamic acid 유리량은 1차포타슘 자극에 비해 83.8%로 serotonin의 첨가는 해마박편에서의 glutamic acid유리량을 농도에 비례하여 감소시키는 경향을 보였다(Table 3, Fig. 3).

#### IV. 고 찰

학습, 기억과 정서행동의 신경조절에 중요한 역할을 담당하는 것으로 알려져있는 해마는 midbrain median raphe nucleus(B<sub>8</sub>)로 부터 serotonin성 신경 지배와 entorhinal cortex로 부터 기원하는 glutamate 성 신경지배를 받는다는 것은 주지의 사실이다.

중추 신경계에서 약물이 여러 신경전달물질 유리에 미치는 영향을 관찰하는 실험방법으로는 뇌 균등액, 뇌 synaptosome, 뇌 박편, 생체내 push-pull카놀라와 미세투석관을 이용한 관류기법등<sup>10, 13, 14, 15)</sup>이 많이 이용되어왔다. 생체내 push-pull카놀라와 미세투석관을 이용한 관류기법은 뇌의 국소조직에 손상을

야기시킬 우려가 많으며, 뇌신경의 절전 신경섬유말 단관을 모은 synaptosome에 비해 뇌박편은 신경세포체 및 축삭돌기를 가지고 있을뿐아니라 국소신경 회로가 존재하며 혈액-뇌장벽이 존재하지 않기 때문에 혈액-뇌 장벽을 투과하지 못하는 약물의 효과도 쉽게 관찰할수있는 장점을 가지고 있으며 또한 생체 실험방법에 비해 호흡이나 심장활동에 의한 맥동이 없기 때문에 전기생리학적 기록에 안정성이 있으며 육안으로 정확히 기록용전극과 자극용전극을 위치시킬수 있고 이온삼투법이나 관류방법으로 배양액의 조성을 손쉽게 바꿀수 있어서 전기생리학적 및 신경화학적 연구에 널리 이용되고있다.

다른 뇌 부위와의 경계가 명확하기 때문에 분리가 용이하여 중추신경계 작용약물에 대한 신경화학적 및 전기 생리학적 연구에 널리 이용되는 해마는 크게 구성신경세포의 형태에 따라 CA1-CA4로 구분할 수 있으며, CA1에는 비교적 작은 추체세포, CA2, CA3에는 비교적 큰 추체세포가 존재하며 특히, CA4를 fascia dentata라고하며, granule 세포들이 많이 분포하는 dentata area외에도 해마는 alveus, stratum oriens, stratum pyramidale, stratum radiatum, stratum lacunosum-moleculare등 여러 종류의 세포층과 Schaffer collateral섬유, Commissural섬유, Perforant path와 Mossy섬유 등 여러 신경회로들이 존재한다고 알려져 있다<sup>16)</sup>.

흥분성 조직을 탈분극시키는 방법으로는 전기자극 및 화학물질 등이 이용되어 왔으며 박편에서도 고농도 포타슘에 의해 신경전달물질유리가 유발된다고 잘 알려져 있다<sup>17, 18)</sup>. 고농도 포타슘은 신경세포막 내부와 외부의 포타슘 농도경사를 감소시켜서 탈분극을 유발시켜 이로인해 칼슘이온의 유입이 나타난다고 알려져 있다<sup>19)</sup>.

본 실험에서는 1차 포타슘자극에 의한 glutamic acid유리(145.9±13.2nmol)는 1차 자발적인 glutamic acid유리(28.1±3.1nmol)에 비해 5.2배 증가하였으며 2차 포타슘 자극에 의한 glutamic acid유리(125.6±12.8nmol)는 2차 자발적인 glutamic acid유리(23.3±2.7nmol)에 비해 5.4배 증가하였다. 2차 포타슘 자극에 의한 glutamic acid유리는 1차 포타슘 자극의 약 84%정도 유리되어 절대량의 차이는 있었으나 유리촉진효과의 정도는 유사하여 반복 이용이 가능하였다.

중추와 말초에서 흥분성 및 억제성으로 매우 다양

하게 작용하는 serotonin성 수용체는 매우 heterogeneous해서 크게 3가지 그룹: 5-HT<sub>1</sub>, 5-HT<sub>2</sub>와 5-HT<sub>3</sub>로 분류되며 5-HT<sub>1</sub>는 다시 5-HT<sub>1a</sub>, 5-HT<sub>1b</sub>, 5-HT<sub>1c</sub>, 5-HT<sub>1d</sub>로 소분류되며 serotonin유리를 조절하는 serotonin 자가 수용체 역할은 5-HT<sub>1b</sub>가 관여하는 것으로 생각된다<sup>20</sup>. 흰쥐 해마박편과 synaptosome에서 serotonin이 5-HT<sub>1b</sub>수용체를 매개로 해서 아세틸콜린유리를 억제시켰으며<sup>21, 22</sup> Gillet등<sup>23</sup>은 뇌선조체 박편에서 serotonin이 아세틸콜린유리를 억제한다고 하였으며 Maura등<sup>6, 24</sup>은 소뇌 박편과 synaptosome에서 serotonin이 5-HT<sub>1</sub>와 5-HT<sub>2</sub>수용체를 매개로 하여 포타슘 자극에 의한 glutamic acid유리를 억제시켰다고 보고하였다.

중추에서 흥분성 신경전달물질로 작용하는 glutamic acid는 N-methyl-D-aspartate (NMDA), Quisqualate (QA)와 Kainate (KA) 수용체등 서로 다른 3가지 수용체에 작용<sup>5</sup>하여 여러 생리적 기능을 수행한다고 알려져 있으며 중추에 직접적으로 glutamic acid를 주사한 경우 매우 독성이 강하여 주위 신경세포를 파괴하는 것으로 알려져 있고<sup>25, 26</sup> 손상받은 신경세포로부터 glutamic acid가 과다히 유리되어 대뇌허혈, 헌팅톤무도병, 알츠하이머 질환과 간질등이 야기된다고 보고되고 있다<sup>27</sup>. Trouillas등<sup>28</sup>은 serotonin 전구물질인 5-hydroxytryptophan투여시 인간의 소뇌 ataxia증상을 호전시킨다고 보고하여 소뇌에서 serotonin의 과다한 glutamic acid유리 조절의 중요성을 시사한바 있다.

해마 박편을 이용한 본 실험에서 포타슘자극에 의한 glutamic acid유리는 1차 처리에 비해 2차 처리시 약 84% 정도로 감소되었으나 자발적 유리량과 비교시 거의 동일한 약 5.2-5.4배의 유리촉진효과가 관찰되어 반복이용이 가능하였다. 이러한 포타슘자극에 의한 glutamic acid유리는 serotonin (1-100μM)용량이 증가함에 따라 71%, 51%, 20%로 용량에 비례하여 감소됨이 관찰되었으며 serotonin의 glutamic acid 유리억제효과가 5-HT수용체중 어느 소그룹의 수용체를 매개로 해서 나타나며 소듐이온 통로와의 관련성에 관한 연구가 더욱 필요할 것으로 사료된다.

## V. 결 론

Serotonin이 해마의 glutamic acid유리에 미치는

영향을 관찰하여 serotonin의 작용기전 일부를 밝히고자 신경화학적 연구를 시행하였다.

Sprague-Dawley계 암흰쥐를 경부염전으로 희생시켜 즉시 뇌를 꺼내어 해마부위로부터 300-400μm 두께의 해마박편을 제작하여 조직 고정장치에 위치시켰다. 조직 고정장치에 고정시킨 뇌 박편은 신선한 Krebs-bicarbonate 배양액에서 37°C, 1시간 전배양시킨 후, 신선한 Krebs-bicarbonate배양액과 포타슘(최종농도 50mM)이 첨가된 Krebs-bicarbonate배양액으로 옮겨 각각 5분씩 배양하였다. 30분 후 다시 신선한 Krebs-bicarbonate배양액에서 5분간, serotonin이 첨가된 Krebs-bicarbonate 배양액, 포타슘(최종농도 50mM)과 serotonin이 첨가된 Krebs-bicarbonate 배양액에서 각각 5분씩 배양하였다. 배양액은 즉시 냉동건조시킨 후 dansylation을 시행한 다음 High Performance Liquid Chromatography-U.V. detection방법으로 분석하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

- 1차 포타슘자극(최종농도 50mM)에 의한 glutamic acid유리는 1차 자발적인 glutamic acid유리에 비해 5.2배 증가하였으며 2차 포타슘 자극에 의해서는 5.4배 증가하여 1차와 2차 포타슘자극에 의한 glutamic acid유리가 유사한 반응을 보였다.
- Serotonin (1-100μM)은 자발적인 glutamic acid유리에는 영향을 미치지 않았다.
- 포타슘자극에 의한 glutamic acid유리촉진 효과는 serotonin (1-100μM)약물용량이 증가함에 따라 71.2%, 51.4%, 20.2%로 약물용량의존성으로 더욱 억제되었다.

## REFERENCE

1. Bobillier. P., Petitjean. F., Salvart. D., Ligier. M. and Sequin.S: Differential projections of the nucleus raphe dorsalis and nucleus raphe centralis as revealed by autoradiography. Brain Res. 85:205,1975.
2. Pazos.A and Palacios.J.M: Quantitative autoradiographic mapping of serotonin receptors in the rat brain.I. Serotonin-1 receptors.Brain Res. 346:205. 1985.
3. Fonnum,F: Glutamate: A neurotransmitter in

- mammalian brain. *J. Neurochem.* 42:1, 1984.
4. 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.
  5. Watkins, J.C. and Evans, R.H.: Excitatory amino acid transmitters. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 21:165, 1981.
  6. Maura, G., Bonanno, G., Pittaluga, A., Ulivi, M. and Raiteri, M.: Serotonin-glutamate interaction in rat cerebellum: Involvement of 5-hydroxytryptamine receptor subtypes. *Ann. Ist. Super. Sanito*: 24:389, 1988.
  7. Lee, M., Strahlendorf, J.C. and Strahlendorf, H.K.: Modulatory action of serotonin on glutamic acid-induced excitation of cerebellar purkinje cells. *Brain. Res.* 361:107, 1986.
  8. Lynch, G. and Schubert, P.: The use of in vitro brain slices for multidisciplinary studies of synaptic function. *Ann. Rev. Neurosci.* 3:1, 1980.
  9. Glowinski, J. and Iversen, L.L.: Regional studies of catecholamines in the rat brain-1, The disposition of 3H-norepinephrine, 3H-dopamine and 3H-dopa in various regions of the brain. *J. Neurochem.* 13:655, 1966.
  10. Kim, H.Y., Kim, G.S. and Cheong, D.K.: Effect of lidocaine on the gamma-aminobutyric acid release from hippocampal slices. *Kor. J. Oral Biol.* 12:117, 1988.
  11. Tapuhi, Y., Schimidt, D.E., Linder, W. and Karger, B.L.: Dansylation of amino acids for high-performance liquid chromatography analysis. *Analyt. Biochem.* 115:123, 1981.
  12. Lowry, H.H., Rosebrough, A.L., Randall, R.J.: Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193:265, 1951.
  13. Nicholls, D.G.: Release of glutamic acid, aspartate and L-aminobutyric acid from isolated nerve terminals. *J. Neurochem.* 52:331, 1989.
  14. Paulsen, R.E. and Fonnum, F.: Role of glial cells for the basal and Ca<sup>++</sup>-dependent K-evoked release of transmitter amino acids investigated by microdialysis. *J. Neurochem.* 52:1823, 1989.
  15. Van der heyden: In vivo release of endogenous L-aminobutyric acid from rat striatum: effects of muscimol, oxotremorine, and morphine. *J. Neurochem.* 34:1648, 1980.
  16. Lorente de No, R.: Studies on the structure of the cerebral cortex. II. Continuation of the study of the ammonic system. *J. Psychol. Neurol.* 46:113, 1934.
  17. Crowder, J.M., Croucher, M.J., Bradford, H.F. and Collins, J.F.: Excitatory amino acid receptors and depolarization-induced Ca<sup>++</sup>influx into hippocampal slices. *J. Neurochem.* 48:1917, 1987.
  18. Weiler, M.H., Misgeld, U. and Cheong, D.K.: Presynaptic muscarinic modulation of nicotinic excitation in the rat neostriatum. *Brain. Res.* 296:111, 1984.
  19. Nachshen, D.A. and Blaustein, M.P.: Some properties of potassium-stimulated calcium influx in presynaptic nerve endings. *J. Gen. Physiol.* 76:709, 1980.
  20. Frazer, A., Maayani, S. and Wolfe, B.B.: Subtypes of receptors for serotonin. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 30:307, 1990.
  21. Maura, G. and Raiteri, M.: Cholinergic terminals in rat hippocampus possess 5-HT<sub>1b</sub> receptors mediating inhibition of acetylcholine release. *Eur. J. Pharmacol.* 129:333, 1986.
  22. Maura, G., Fedele, E. and Raiteri, M.: Acetylcholine release from rat hippocampal slices is modulated by 5-hydroxytryptamine. *Eur. J. Pharmacol.* 165:173, 1989.
  23. Gillet, G., Ammar, S. and Fillion, G.: Serotonin inhibits acetylcholine release from rat striatum slices: Evidence for a presynaptic receptor-mediated effect. *J. Neurochem.* 45:1687, 1985.
  24. Maura, G., Cardone, R., Guido, M., Pestarino, M. and Raiteri, M.: 5-HT<sub>2</sub> presynaptic receptors mediate inhibition of glutamic acid release from cerebellar mossy fiber terminals. *Eur. J. Pharmacol.* 202:185, 1991.
  25. Olney, J.W.: Brain lesion, obesity and other

disturbances in mice treated with monosodium glutamate. *Sci.*164:719,1969.

26. Rothman. S.M.: Synaptic activity mediates death of hypoxic neurons. *Sci.*220:536,1983.

27. Schwarcz. R., Brush. G.S., Foster. A.C. and French. E.D.: Seizure activity and lesions after

intrahippocampal quinolinic acid injection. *Exp. Neurol.*84:1,1984.

28. Trouillas.P.,Brudon.F and Adeleine.P: Improvement of cerebellar ataxia with levorotatory form of 5-hydroxytryptophan. A double-blind study with quantified data. *Arch.Neurol.* 45: 1217, 1988.

-ABSTRACT-

EFFECT OF SEROTONIN ON THE GLUTAMIC ACID RELEASE  
FROM RAT HIPPOCAMPAL SLICE

Kim, Hyung-Ryong

*Department of Pharmacology and Dental Therapeutics and Dental Research Institute,  
College of Dentistry, Seoul National University.*

Present study was performed to clarify the effect of serotonin on the glutamic acid release employing rat hippocampal slices which appear to contain most of the intrinsic and afferent circuits and to maintain the physiological characteristics seen in the hippocampus *italic*.

Hippocampal slices were prepared and pre-equilibrated in Krebs-bicarbonate medium(KBM, pH7.4) for 1hr at 37°C. Pre-equilibrated slices were incubated in fresh KBM and then potassium-containing KBM for 5min period. Basal and potassium-induced glutamic acid release were determined from recovered medium by HPLC. After 30min resting period, slices were reincubated in serotonin-containing KBM and serotonin plus potassium-containing medium consecutively for 5min period each to investigate the effect of serotonin 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 5-min exposure of 50mM potassium was  $145.9 \pm 13.2$  nmol and  $125.6 \pm 12.8$  nmol, 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. Serotonin(1-100 $\mu$ M) had no significant effect on the spontaneous release of glutamic acid.
3. Serotonin(1-100 $\mu$ M) inhibited potassium-induced glutamic acid release in dose-dependent manner.