

製し、膠様質細胞からブラインド法によるホールセルパッチクランプ記録をおこなった。

【結果】シナプス後性における $\alpha_2$ 受容体に作用するノルアドレナリンの外向き電流（過分極）の大きさと比較した。記録したすべての細胞で自発性の興奮性シナプス後電流（excitatory postsynaptic current: EPSC）が観察された。デクスメドトミジン $0.1\mu\text{m}$ から $30\mu\text{m}$ の濃度範囲において濃度依存性にデクスメドトミジン誘起膜電流は増加した。ノルアドレナリン $40\mu\text{m}$ と比較したときのデクスメドトミジンの $\text{EC}_{50}$ は $0.63\mu\text{M}$ であった。デクスメドトミジン誘起膜電流は $\alpha_2$ 受容体拮抗薬ヨヒンビンで有意に抑制された。

【結語】デクスメドトミジンは濃度依存性に $\alpha_2$ 受容体に作用して、過分極を引き起こし、脊髄後角でシナプス伝達を抑制すると考えられる。

## 8 亜酸化窒素の脊髄第二層における作用

St. Georgiev・若井 綾子・河野 達郎  
山倉 智宏・馬場 洋  
新潟大学医歯学総合研究科麻酔科学分野

亜酸化窒素の鎮痛性作用はいくつかの神経伝達物質により仲介されると考えられる。本研究では亜酸化窒素の脊髄レベルでの作用を検討した。

ラットの脊髄第2層の神経細胞よりホールセルパッチクランプ法を用い、miniatureと誘起性興奮性シナプス後電流に対する影響や灌流投与NMDAとAMPAの電流に対し亜酸化窒素の影響を検討した。

NMDA投与により膜電位 $-40\text{mV}$ と $+40\text{mV}$ でそれぞれ内向きと外向き電流が発生し、亜酸化窒素の投与によりカレントが抑制し、振幅と面積が減少した。拮抗薬を投与し、NMDAとAMPA-mediated EPSCを分離して、後根刺激で誘起された電流を記録した。亜酸化窒素によりA $\delta$ とC-ファイバーを通った電流の振幅と面積が減少した。

miniature EPSCは7/9細胞で振幅配分が左に連れ、2/9胞でインターイベント合間が右連れた。

本研究の結果としてはラット脊髄後角で亜酸化

窒素によってNMDAとAMPA作用性伝達を抑制した。脊髄第二層での興奮性伝達の抑制化は亜酸化窒素の鎮痛作用の表れであると考えられる。

## 9 $\alpha_{1G}$ カルシウムチャンネル欠損マウスにおける麻酔薬の感受性について

Andrey B. Petrenko・山倉 智宏  
河野 達郎・馬場 洋・崎村 建司\*  
新潟大学医学部麻酔科学教室  
新潟大学脳研究所細胞神経生物分野\*

Voltage-gated  $\text{Ca}^{2+}$  channels mediate  $\text{Ca}^{2+}$  influx in response to membrane depolarization and regulate intracellular processes such as contraction, secretion, neurotransmission, and gene expression in many different cell types. They are heteromultimeric protein complexes composed of  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2-\delta$ ,  $\beta$ , and  $\gamma$  subunits. The  $\alpha_1$  subunit is the largest subunit, which forms the ion pore of the channel. The pharmacological and electrophysiological diversity of  $\text{Ca}^{2+}$  channels arises primarily from the existence of multiple  $\alpha_1$  subunits. Channels containing the  $\alpha_{1G}$ ,  $\alpha_{1H}$ , and  $\alpha_{1I}$  subunits mediate T-type  $\text{Ca}^{2+}$  currents. Among them, the  $\alpha_{1G}$  subunits show predominant expression in the CNS. Because barbiturates and isoflurane have been shown to inhibit recombinant T-type  $\text{Ca}^{2+}$  channels in vitro, we examined sensitivities to pentobarbital and isoflurane in mutant mice lacking  $\alpha_{1G}$   $\text{Ca}^{2+}$  channels. Duration of loss of righting reflex (LORR) for pentobarbital (40mg/kg IP) and LORR  $\text{ED}_{50}$  and MAC (50% effective concentration for the LORR and for the tail clamp nociceptive response, respectively) for isoflurane were determined. Sensitivity to pentobarbital was significantly increased in mutant mice compared to wild-type controls. Sensitivity to isoflurane was not different between groups. In conclusion, while  $\alpha_{1G}$  channels probably do not mediate anesthetic effects of isoflurane, they may be involved in the mecha-

nisms of barbiturate anesthesia.

## 10 Action of $\beta$ -alanine and taurine on the Substantia Gelatinosa Neurons of the Adult Rat Spinal Cord

呉 軍・河野 達郎・Stefen Georgiev

Andrey B. Petrenko・石井 秀明

馬場 洋

新潟大学医歯学総合研究科麻酔科学分野

Background: Some anesthetic effects on the glycine receptor are observed at pharmacologically relevant concentrations, it is possible that at least part of their acute effects are mediated by glycine receptor. In addition to glycine, at least two other endogenous amino acids activate glycine receptors,  $\beta$ -alanine and taurine which are structural analog of GABA and glycine. There is therefore the possibility that  $\beta$ -alanine and taurine acts as neurotransmitter and/or neuromodulator. However, until now, little is known of the action of  $\beta$ -alanine and taurine on the substantia gelatinosa (SG) neurons of the Spinal Cord.

To clarify whether  $\beta$ -alanine and taurine has effects in the dorsal horn and whether the GABAergic system or the Glycinergic system is its major target, we investigated the action of  $\beta$ -alanine on the inhibitory synaptic responses in SG neurons of the rats spinal cord, where the glycinergic and GABAergic system has been reported to plays a major inhibitory roles.

Methods: Thick (500 - 600  $\mu$ m) spinal cord slices were prepared from adult rats (6 - 8 weeks), Blind whole-cell patch-clamp recordings were made from lamina II neurons in voltage clamp mode. Membrane currents were amplified with an Axopatch 200B. Data were collected and analyzed using pClamp 9.0. Paired t-test was used where appropriate.

Results:  $\beta$ -alanine and taurine-induced currents revealed a reversal potential around -70mV

indicating an increase in chloride conductance. The increase in amplitude caused by  $\beta$ -alanine and taurine were concentration-dependent. The effect of  $\beta$ -alanine and taurine in SG neuron show no difference at the concentration of 0.3mM, but when the concentration increase to 3mM, the taurine-induced currents was much higher than  $\beta$ -alanine-induced currents. In SG neuron held at 0 mV, application of  $\beta$ -alanine (0.3mM) or taurine (0.3mM) induced outward currents and bath-application of bicuculline (20  $\mu$ M) did not significantly inhibit this currents while strychnine (2  $\mu$ M) inhibit it significantly.

Conclusions:  $\beta$ -alanine and taurine both increase the membrane Cl<sup>-</sup>conductance in the SG neurons. The increase of amplitude caused by  $\beta$ -alanine and taurine were concentration-dependent.  $\beta$ -alanine and taurine selectively activates postsynaptic glycine but not GABA receptors at low concentrations (0.3mM) in the SG neurons.

## 11 サイアミラルールによる中枢神経興奮抑制の画像解析

小川真有美・頼尾 憲司\*・藤原 直士\*\*

新潟大学医歯学総合研究科  
麻酔科学分野

新潟大学医歯学総合研究科  
歯科侵襲管理学分野\*

新潟大学医学部保健学科検  
査技術化学専攻\*\*

バルビタール系静脈麻酔薬のサイアミラルールは GABA<sub>A</sub> 受容体を賦活し、興奮を抑制するとされている。GABA<sub>A</sub> 受容体が豊富な大脳皮質において、サイアミラルールが神経興奮の伝搬、特に空間的な広がりをもどのように抑制するのか、高速蛍光測定により可視化し、画像解析することを試みた。雄性 C57BL/6J マウス (8 - 10 週齢) 大脳皮質体性感覚野の冠状切片を作成し、膜電位感受性蛍光色素 RH414 で染色した後、人工脳脊髄液で灌流しながら、大脳皮質 V 層に電気刺激を与え、高速カ