

## 18) NMDA 受容体チャネルにおけるケタミン作用部位の同定

—分子生物学的アプローチ—

山倉 智宏・榎木 永 (新潟大学麻酔科)  
森 寿・三品 昌美 (新潟大学脳研究所  
神経薬理学部門)

本研究では NMDA 受容体チャネルの変異体を作成し、その機能解析によりケタミンや  $\delta$  オピオイド SKF 10,047 の作用部位を固定することを目的とした。

変異受容体チャネルサブユニットの構築は、 $\epsilon 2$  及び  $\zeta 1$  サブユニットの cDNA, 合成オリゴヌクレオチドを使った PCR (Polymerase Chain Reaction) 法により行った。構築された変異型の cDNA を鋳型とし in vitro で RNA 転写を行い、合成された mRNA をアフリカツメガエル卵母細胞に注入した。発現された野生型及び変異型受容体チャネルの機能解析は膜電位を固定し、薬剤作用下でのアゴニストによる電流応答を測定することにより行った。

その結果、ケタミンや SKF 10,047 の作用部位は NMDA 受容体チャネルの作動を制御する分子機構の 1 つである  $Mg^{2+}$  による閉塞部位に重複することが示唆された。

## 19) 下行性誘発電位に及ぼす麻酔薬の影響

飛田 俊幸・富田美佐緒  
穂苅 環 (新潟大学麻酔科)

頸部又は胸部硬膜外背面に挿入したカテーテル電極で脊髄刺激を行うと、腰膨大部脊髄背面より、初期陽性スパイク、シャープな陰性電位、緩徐な陽性電位からなる、下行性脊髄誘発電位が記録できる。

今回、脊椎・脊髄外科手術の術中脊髄機能モニタリングの 1 つとして、下行性脊髄誘発電位を記録・観察し、同時に、イソフルレン、セボフルレン、サイアミラルの影響について検討した。

イソフルレン、セボフルレンは、緩徐な陽性電位の振幅を低下、持続を短縮させる傾向にあった。サイアミラルは、シャープな陰性電位、緩徐な陽性電位の振幅を増大させる傾向にあった。

20) ブタ冠動脈平滑筋培養細胞における細胞内  $Ca^{2+}$  濃度のオシレーション富士原秀善・福田 悟  
藤原 直士・佐藤由紀夫 (新潟大学麻酔科)ブタ冠動脈平滑筋培養細胞における ATP ( $10^{-5}M$ )

投与時の細胞内  $Ca^{2+}$  濃度の経時変化を蛍光  $Ca^{2+}$  指示薬 fura-2 を用いた顕微鏡画像分析により観察した。その結果、細胞外液  $[Ca^{2+}]$ ; 2.5 mM 下では、細胞内  $Ca^{2+}$  濃度が、ATP 投与により初期の一過性の上昇の後、上昇、下降の反復 (振動) を示すものがあるということを見出した。細胞外液  $[Ca^{2+}]$  除去または、細胞外液  $[Ca^{2+}]$ ; 2.5 mM 下カフェイン (20 mM) 処置により、ATP 投与による細胞内  $Ca^{2+}$  濃度の振動が抑制された。以上から、ATP によって誘発される細胞内  $Ca^{2+}$  濃度の振動における細胞外からの  $Ca^{2+}$  の流入の必要性、カフェイン感受性、細胞内  $Ca^{2+}$  貯蔵部位の関与が示唆された。

## 21) ブタ腎血管収縮に及ぼす外膜の影響

田中 剛・福田 悟 (新潟大学麻酔科)

血管の収縮弛緩に対する血管内皮の役割は知られているが、血管外膜の影響に関しては報告が見られない。今回我々は、摘出ブタ腎動脈を用い、ノルエピネフリン、ヒスタミン、セロトニンによる収縮に及ぼす外膜の影響を検討し以下の結果を得た。

1. ノルエピネフリン、およびヒスタミンによる収縮は外膜除去により増強した。2. セロトニンによる収縮は外膜除去によっても影響されなかった。3. NO 合成阻害薬 N-ニトロ-L-アルギニンおよびシクロオキシゲナーゼ阻害薬インドメタシン処置下において、外膜除去によるヒスタミン収縮の増強は影響を受けなかった。

以上の結果にり、ヒスタミン、ノルエピネフリン 感受性の、NO およびエイコサノイド以外の血管拡張物質の外膜から遊離が示唆された。

## 22) ブタ冠動脈平滑筋における張力と細胞内カルシウム濃度変化の同時測定

佐久間一弘・福田 悟 (新潟大学麻酔科)

血管平滑筋の張力変化においてカルシウムは重要なセカンドメッセンジャーである。今回張力と細胞内カルシウム濃度変化を同時に測定したので報告する。

[方法] ブタ冠動脈を摘出し、内皮及び外膜を除去した後 1mm×6mm の条片を作製した。Fura2-AM を 37°C で 3~5 時間負荷した。標本を 37°C, 95%  $O_2$  + 5%  $CO_2$  で飽和した Krebs 液中で静止時張力を 250 mg に保ち、KCl 及びニトログリセリン (NTG) を累積的に投与した。