

麻酔作用と熱分析

田坂賢二^{*}，見尾光庸^{*}

(昭和62年2月16日受理)

Anesthesia and Its Thermal Analysis

Kenji Tasaka and Mitsunobu Mio

Because of the structural diversity, it is thought that the general anesthetics act non-specifically to alter the physico-chemical properties of the cell membrane, rather than to stimulate the process taking place via specific receptors. It was indicated in Meyer-Overton theory that the relative potency of the anesthetics was closely related to the solubility of the drug in oil and that the biophysical events are fundamental to exert the anesthetic action. Subsequently, the other mechanisms of anesthesia based on the biophysical standpoint have been proposed. At the present time, it is well recognized that the interaction between anesthetics and the phospholipid bilayers of the cell membranes may cause the alteration of physical properties of the membrane which is essential to induce anesthesia. The thermal analysis, performed by means of differential scanning calorimetry (DSC), made an important contribution to elucidate the mechanism of interaction between anesthetic molecules and phospholipid bilayers. In this review, the historical background and the application of DSC for the analysis of anesthetic action are discussed.

麻酔薬は、全身麻酔薬と局所麻酔薬に分類され、全身麻酔薬は、更に吸入麻酔薬と静注麻酔薬とに分類される。これらの中で、その化学構造がもっとも多岐にわたっているのが吸入麻酔薬である。化学的に不活性で、水素結合、静電結合および共有結合の不可能な気体である Xe gas や、N₂ gas も麻酔作用を有していることが知られており、吸入麻酔薬には一定した化学構造上の共通性は無いとされている。また、種々の麻酔薬の olive oil-水間の分配係数と麻酔作用の強さがよい相関を示すことから、麻酔作用は麻酔薬の脂質に対する親和性に大きく依存する事が古くから指摘されていた。このことから、麻酔薬の作用部位が神経細胞の疎水性の領域、特に細胞膜の脂質二重層にあることが示唆されてきている。その後、モデル膜を用いた実験などから、リン脂質二重層への麻酔薬の分配係数の高さが麻酔作用の強さと相関する

ことが証明されている。この際の麻酔薬の作用様式として、membrane expansion, critical-volume theory, boundary water の構造に対する作用、膜結合性の Ca²⁺ に対する作用などが指摘されてきているが、いずれも決定的でなく仮説の域をでない。本稿では、リン脂質二重層に及ぼす麻酔薬の作用について検討し、麻酔薬の作用機序解析における熱分析の応用について略述する。

1. 麻酔の定義と麻酔薬

麻酔(anesthesia)には全身麻酔(general anesthesia)と局所麻酔(local anesthesia)とがある。全身麻酔とは、麻酔薬(anesthetics)を適用することにより中枢神経系の機能全般を抑制し、意識の喪失と全身の知覚消失をもたらす、外科手術を遂行させる目的で使用されるものである。一般に、中枢神経系に対して抑制作用を有する薬物は、その用量に応じて、鎮静作用(sedative action)、催眠作用(hypnotic action)、麻酔作用(anesthetic action)を発現する。全身麻酔を行った場合、中枢神経系の各部位が麻酔薬に対する感受性に従って、大脳皮質、大脳基底核、小脳、脊髄、延髄の順に抑制さ

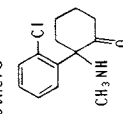
^{*}岡山大学薬学部薬物学教室：岡山市津島中1-1-1
〒700

Department of Pharmacology, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Okayama University, Okayama, Japan, 700

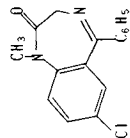
Table 1 Commonly used general anesthetics.

1. Inhalational anesthetics.			
N_2O			
nitrous oxide	cyclopropane		
	halothane		
	enflurane		
	isoflurane		
	methoxyflurane		
2. Intravenous anesthetics.			
a) barbiturates.			
	pentobarbital	C_2H_5-	H
	hexobarbital	CH_3-	CH_3-
	thiopental	C_2H_5-	H
	thiamylal	$CH_2=CHCH_2-$	H
	methohexital	$CH_2=CHCH_2-$	CH_3-
		$CH_3CH_2C(=O)CH_2-$	CH_3-

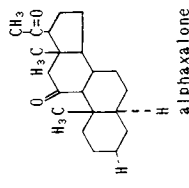
b) others



ketamine



diazepam



alphaxalone

Table 2 Commonly used local anesthetics.

1. esters			
	R_1		
	H		
	cocaine		
	procaine	NH_2-	$-(CH_2)_2-N(C_2H_5)_2$
	tetracaine	C_4H_9-NH-	$-(CH_2)_2-N(C_2H_5)_2$
	hexylcaine	H	$-(CH_2)_2-NH-C_6H_{13}$
	piperocaine	H	$-(CH_2)_3-N(C_2H_5)-C_6H_{11}$
2. amides			
	R_1		
	CH_3-	CH_3-	
	lidocaine		$-(CH_2)_2-N(C_2H_5)_2$
	mepivacaine	CH_3-	$-(CH_2)_3-CH_3$
	bupivacaine	CH_3-	$-(CH_2)_3-CH_3$
	prilocaine	H	$-(CH_2)_2-N(C_2H_5)_2$
	etidocaine	CH_3-	$-(CH_2)_2-N(C_2H_5)_2$
3. quinolines			
	dibucaine		
	dimethisoquin		

れる。その結果、まず知覚機能が抑制され、次いで運動機能が抑制される。全身麻酔薬 (general anesthetics) のうち吸入麻酔薬には、ガス及び揮発性麻酔薬が含まれており、代表的なものとして笑気 (N₂O)、cyclopropane 及び halothane などがある。静注麻酔薬には、バルビツール酸系誘導体、ベンゾジアゼピンなどがある。主な全身麻酔薬を Table 1 に示した。電気生理学的な研究より、末梢から input された知覚刺激は、中枢神経に入ると一部は脳幹網様体に伝えられ、脳幹部上行性網様体賦活系を興奮させ、更に視床の広汎性投射系を経て大脳皮質に投射する機構を作動させ、意識レベルを維持する。静注麻酔薬 (特にバルビツール酸誘導体) は、この意識レベル調節機構を特に強く抑制する。

局所麻酔とは、麻酔薬を適用した局所の神経内を伝わるインパルスの流れを遮断して、可逆的な局所の無痛 (analgesia) を生じるものである。神経線維のインパルス伝達を遮断する事に依って局所の麻酔効果を生ずる方法としては、機械的圧迫、疼痛性麻酔、寒冷麻酔などがある。比較的長時間にわたり安全でかつ reversible な局所麻酔を期待する場合には、局所麻酔薬が最も適している。局所麻酔薬は、その適用方法によって、粘膜や角膜の表面に適用して麻酔する表面麻酔 (surface anesthesia)、薬液を皮下注射し、局部に浸潤させる浸潤麻酔 (infiltration anesthesia)、神経幹や神経節の周囲に薬液を局所的に適用し、その神経支配下の比較的広い領域の麻酔をもたらす伝導麻酔 (conduction anesthesia)、脊髄の種々の高さで (通常腰椎) 脊髄の軟膜とクモ膜の間に存在する脳脊髄液中に種々な比重の局所麻酔薬を注入し、脊髄神経によって支配される広い領域の麻酔を行う脊髄麻酔 (spinal anesthesia) などに分類される。局所麻酔薬はその化学構造により、エステル型、アミド型、キノリン型などに分類されている。主な局所麻酔薬の構造を Table 2 に示した。

2. 麻酔薬の作用機序

麻酔薬の化学構造は非常に多岐にわたっており、全ての麻酔薬を包含するような構造-活性相関はまだ知られていない。むしろ、その構造の多様性から、麻酔薬は特定の受容体に対して作用するのではなく、非特異的な物理化学的作用によって効果が発現するものと考えられてきている。局所麻酔薬や、全身麻酔薬のうちでもバルビツール酸系化合物やステロイド性の化合物では、構造-活性相関が明らかにされているものが多い。

種々な化学構造を持つ全身麻酔薬も、その物理化学的性質には共通するものが多い。麻酔の機序に関する理論は主として麻酔薬の物理的性質とその作用強度との相関

を中心にして古くから展開されている。生化学的機序や特異的な受容体を想定した反応機構も示されているが、例外も多く定説になるには至っていない。

① Meyer-Overton theory とその展開

19 世紀末から 20 世紀初頭にかけて、H. H. Meyer¹⁾ と Overton²⁾ はそれぞれ独立に、麻酔薬の効果はその物質の olive oil-水間の分配係数と極めてよい相関を示すという事を見出し、麻酔作用の発現には麻酔薬の脂質に対する親和性が重要な因子である事を示唆した。Meyer は、「麻酔効果を有する物質は、おそらくはレシチンと思われる神経細胞のリポイドと作用する事により細胞を構成する他の物質とリポイドとの正常な反応に変化を生じさせ、その結果細胞における化学反応を全般的に抑制させる」と説明した。これが、麻酔の作用機序を脂質に求めた最初の報告である。それ以後、脂質と麻酔薬との interaction の解明を中心にして麻酔理論が展開される事になった。

K. H. Meyer³⁾ は Henry の気体溶解の法則から、Meyer-Overton の仮説を次のような式で表現した：

$$x_2 P_{50} = \text{constant} = X_{50} \quad (1)$$

x_2 : 作用部位における吸入麻酔薬の単位気圧あたりの溶解度のモル分率

P_{50} : 麻酔薬を作用させたグループのうち、50%の個体に対して麻酔作用を発揮する際の吸入麻酔薬のモル分圧

X_{50} : 麻酔薬作用群の 50% の個体に対して麻酔作用を発揮する際の吸入麻酔薬の溶解度のモル分率

更に 1939 年、Ferguson⁴⁾ は分配係数、溶解度、蒸気圧といったパラメーターは全て熱力学的活性 (活量) により導かれるものである事を指摘し、同じ活量を有する麻酔薬を細胞或は組織に作用させると同じ深度の麻酔効果が得られるとした。

1954 年、Mullins⁵⁾ は Meyer-Overton theory を発展させ、細胞の非水相である細胞膜の全体積のうち一定の割合を麻酔薬が占めた場合、麻酔が生じるという critical-volume theory を提唱した。Mullins は細胞膜を格子様の物と考え、格子の空間の free space に一定の体積の麻酔薬が入るものとした。その後、この free space なる考え方は支持されなくなったが、critical-volume theory は、臨界体積の麻酔薬が細胞膜に侵入したときに膜の拡張 (membrane expansion) が生じるという説へと修正された⁶⁾。この考え方によれば、細胞膜に入り込んだ臨界体積の麻酔薬によって細胞膜は拡張し、脂質の配列に乱れを生じ、その結果、脂質膜中に存在するタンパク質などが圧縮されることになり、ion channel や receptor、酵素類の立体構造が変化し、細

胞機能が低下するという説である⁷⁾。これは、次のように記述される：

$$E_a = V_2 x_2 P_a / V_m \quad (2)$$

E_a : 膜拡張の割合

V_2 : 作用部位における麻酔薬の部分モル容積

x_2 : 作用部位における麻酔薬の単位気圧あたりの溶解度のモル分率

P_a : 麻酔薬のモル分圧

V_m : 作用部位のモル容積

Mullins⁸⁾は、麻酔薬を作用させたグループの50%の個体に麻酔をおこさせる用量、即ち ED_{50} 値における膜拡張の割合 E_{50} は全ての麻酔薬について一定であると考えた。この時の麻酔薬のモル分圧を P_{50} とすると、

$$E_{50} = \text{constant} = V_2 x_2 P_{50} / V_m \quad (3)$$

と現わすことができる。この式を前述の式(1)と比較すると、Meyer-Overton theoryでは $\log P_{50}$ と $\log x_2$ が比例するとしているのに対し、critical-volume theoryでは、 $\log P_{50}$ と $\log (V_2 x_2)$ が比例すると考えている事が分かる。これらの両者の差は実際には実験誤差の範囲内程度に小さいものであるが、後述する麻酔の圧拮抗を説明する上で、critical-volume hypothesisの方がより適切である⁷⁾。

Meyer-Overton theoryにせよcritical-volume theoryにせよ、麻酔薬の化学構造は全く問題にされていない。事実、麻酔薬の立体異性体は、少なくとも吸入麻酔薬に関する限り麻酔作用には関係がない事が分かっている⁹⁾。また、一般に麻酔薬として用いられている化合物以外に種々な有機溶媒や不活性のガスでも麻酔作用を発揮するという事は、麻酔の本質ともつながる重要な知見である。直鎖脂肪族化合物の場合、炭素数が8-9個以上になると麻酔作用が消失することが知られており、breaking pointと呼ばれている。これは、脂質に対する親和性によって麻酔作用を説明しようとする立場からは問題になるが、現在では分子がある程度以上大きくなると細胞膜内に分配しにくくなるためと考えられている⁹⁾。また、麻酔効果は、最終的には中枢神経系に対する抑制効果を*in vivo*の系で判定しなければならぬが、高分子の場合には血液中への溶解度が低下する事や血液-脳関門を高分子のものが通過できず、従って大脳内への移行が制限されて、弱い麻酔作用しか示さなくなるためとも考えられている。

② 生物発光モデルと麻酔薬による抑制

luciferinとluciferaseはホタルの発光器官より抽出される発光物質とその酸化酵素である。luciferinはATPの存在下にluciferaseによって酸化されて発光するが、この反応はATPに特異的であり、発光量は添加

したATPの量に比例するので、ATPの定量に用いられている。ただし、この際の発光のエネルギーは、ATPの高エネルギーリン酸の解離によって放出されるエネルギーだけでは不十分であり、luciferinの酸化によって供給され、この反応におけるATPの役割はluciferaseを活性化するためアロステリック効果を発揮するものと考えられている^{8,10)}。この反応を臨床用量の麻酔薬が抑制する事は、古くから知られていた^{11,12)}。また、麻酔薬によって抑制された発光が、約100-200気圧(1気圧(atm)=101.325 kPa)の圧力を加えることにより可逆的に拮抗されることも報告された¹³⁾。この知見は、麻酔薬が非特異的に酵素分子の疎水性領域に入り込み、酵素分子の体積を拡張させ、立体構造に影響を及ぼして酵素活性を低下させるために生じる現象であると理解されている。同様の現象は、発光バクテリアの場合にも認められている。

麻酔薬の効果が加圧によって拮抗されるという現象は、麻酔薬の化学構造に特異性が無い事ともあいまって、麻酔の機序というものは、神経細胞を構成するある種の成分の物性を非特異的に変化させる事によって生じるものであるとする考え方に支持を与えている。

③ 麻酔の圧拮抗

麻酔薬によって抑制される生物発光が加圧により拮抗されることより、逆に麻酔作用そのものも圧力によって拮抗されるのではないかという可能性が強く指摘されるに至った。1950年、Johnson & Flagler¹⁴⁾は2-5%のethanolによって麻酔されて泳げなくなったオタマジャクシを200気圧の加圧下においたところ、再び正常に泳ぎ始め、加圧の効果が可逆であることを報告した。その後、麻酔に対する圧拮抗の現象が、ether、笑気ガス、halothane、pentobarbital、phenobarbitalで麻酔されたイモリやマウスにおいても証明されるに至り、麻酔が加圧によって拮抗されるという知見は事実として確立した^{7,15)}。また、オタマジャクシを用いた実験では、barbiturates、morphine、局所麻酔薬の作用も200気圧の加圧によって拮抗され、これらの薬物の作用機序の少なくとも一部は、全身麻酔薬の作用機序と共通している事が示唆された¹⁶⁾。

critical-volume theoryから見れば、麻酔の圧拮抗は、不活性な物質の吸収によって細胞膜の拡張した体積が加圧により元の状態に回復したものと考え事が可能である。加圧の効果を考慮に入れると、式(2)は次のように書ける。

$$E = \frac{V_2 x_2 P}{V_m} - \beta P = \left(\frac{V_2 x_2}{V_m} - \beta \right) P \quad (4)$$

β : 等温圧縮率係数

この式で、前半の項は吸入麻酔薬の溶解による膜の拡大を表しており、後半の項は加圧による圧縮を示している。

P_{60} という圧力の下に、動物を a という麻酔薬の分圧 P_a で麻酔を行うものとする。これにより生じる膜の拡張が、麻酔作用の無い不活性ガスである He を加えることで圧力を P_T まで上昇させると完全に拮抗されるとすると、

$$\left(\frac{V_2 x_2}{V_m} - \beta\right)(P_a - P_{60}) = -\left(\frac{V_{He} x_{He}}{V_m} - \beta\right)(P_T - P_a)$$

となる。(4)式において $P = P_{60}$, $E = E_{60}$ とし、両辺を割ると次のようになる。

$$\frac{\left[\left(\frac{V_2 x_2}{V_m}\right) - \beta\right](P_a - P_{60})}{\left[\left(\frac{V_2 x_2}{V_m}\right) - \beta\right] P_{60}} = -\frac{\left[\left(\frac{V_{He} x_{He}}{V_m}\right) - \beta\right](P_T - P_a)}{E_{60}}$$

これを整理すると次式が得られる。

$$\frac{P_a}{P_{60}} = \left(\frac{\beta}{E_{60}} - \frac{V_{He} x_{He}}{E_{60} V_m}\right)(P_T - P_a) + 1$$

つまり、 P_a/P_{60} は $(P_T - P_a)$ に対して直線関係にあり、その Y 切片は +1 である。この式は実験結果とよく一致する事が示されている⁷⁾。

④ 赤血球膜モデル

赤血球を低張溶液に入れると溶血を起こすが、種々の全身麻酔薬や局所麻酔薬、tranquilizers、抗ヒスタミン薬は、臨床で使用される濃度ないし用量でこの低張溶血を阻止する事が示されている。Seeman¹⁷⁾はこれを麻酔薬による膜安定化(membrane stabilization)作用と呼んだ。膜安定化という用語はもともと電気生理学の領域で使用されてきたもので、静止膜電位に影響を与えずに膜の脱分極を阻止し、結果として活動電位の発生を抑制する作用を意味する言葉である。局所麻酔薬の作用機序を説明するために、使用されてきている。Seemanはこの用語を細胞膜に対する麻酔薬の作用として、溶血阻止にまで拡大して使用したわけである。最近、「膜安定化作用」という用語は、種々な領域の人々により異なった意味で使用されており、注意を要する。

この「溶血阻止作用」に対する説明として、Seemanは麻酔薬によって赤血球膜の表面積が拡大して赤血球の容積が増加し、低張処理による膨張に抵抗できるようになるためとした(第3章8)を参照)。彼らの計算によれば、臨床で使用される濃度において全身麻酔薬の場合には赤血球の膜表面積を約0.4%、局所麻酔薬の場合には約3%増加させる事になる。この様な膜の拡大は、細胞膜に入り込んだ麻酔薬の分子が占める体積よりも10-20倍大きく、critical-volume theoryだけでは説明が困難であった。これに対する解釈として、細胞膜の脂質

二重層を構成するリン脂質は通常はgel相と液晶相の混在した相分離の状態にあり、麻酔薬はgel相の部分液晶化して細胞膜の流動性を上昇させるとともに膜の表面積を拡大するものとした。critical-volume theoryを主張しているTrudell¹⁸⁾はSeemanのdataを再検討し、麻酔薬の作用下に赤血球膜の面積は増大するが、膜の厚みは減少するために、膜そのものの体積の増大は膜に取り込まれた麻酔薬分子の体積にほぼ一致しているとして、critical-volume theoryで説明が可能であるとしている。この点についての最終的な結論はまだ確立してはいないが、麻酔薬による膜拡大の現象と神経細胞以外の細胞膜に対する作用はこの様な過程を経て確立し、細胞膜リン脂質二重層のgel-液晶の相分離に対する麻酔薬の作用の重要性が認識される事になった。

⑤ 水及びタンパク質に対する作用

1961年、Pauling¹⁹⁾とMiller²⁰⁾はそれぞれ独立に、麻酔薬と水分子との包接化合物の形成によって水の分子配列が変化する事が麻酔作用の原因ではないかと考えた。疎水性の高い麻酔薬の分子の周りに水が配列して十二面体、十四面体、十六面体などの籠状の微細な結晶(clathrate)を作り、これがシナプスに於て形成されると神経伝達が遮断されるというものである。しかし、典型的な吸入麻酔薬の中でもhalothaneやenfluraneのように0℃に於ても水との包接化合物を作らない物も知られている。また、麻酔薬が水分子とclathrateを形成する際には系のentropyは減少するべきであるが、実際には麻酔薬の作用下にentropyは上昇することが知られている。この様な理由により、麻酔の機序としてclathrate形成が関与する可能性は少ないと考えられている⁸⁾。

麻酔薬の主な作用点として、細胞膜リン脂質二重層の重要性が指摘されてはいるが、麻酔薬の神経細胞に対する作用は静止膜電位に影響する事なく活動電位を抑制することであると考えれば、最終的には麻酔薬は細胞膜のion channelなどのタンパク質の成分にまでなんらかの影響を及ぼして神経細胞に対する抑制的な作用を発揮していることは間違い無いものと考えられる。Luciferin-luciferaseの系に対する作用のように、麻酔薬はタンパク質の疎水性部位に作用して立体構造や酵素活性に影響を及ぼす可能性は否定できない。しかし、麻酔作用を持つ化合物の構造上の多様性から、特定のタンパク質を標的として想定するよりも細胞膜の脂質層に作用すると考えた方が合理的である様に思われる。

3. 麻酔薬とリン脂質二重層の相互作用

麻酔薬の主な作用点が細胞膜のリン脂質二重層にある事が示唆され、麻酔薬のリン脂質膜に対する作用の解析

が、特にモデル膜の liposome を用いて様々な方法で行われてきている。

示差走査熱量測定法(DSC)をはじめ、電子スピン共鳴(electron spin resonance, ESR)を用いたスピラベル法や³¹P-あるいは¹³C-NMRによって、リン脂質の相転移温度や脂質二重層を形成しているリン脂質分子の配列のparameterであるorder parameter,あるいはリン脂質膜の流動性、膜を構成している脂質分子間距離の測定など、リン脂質二重層の様々な物性が測定されている。また、¹⁹F-NMRによって、halothaneのようなF原子を有する吸入麻酔薬のリン脂質膜内での分子運動の情報を得ることも可能である。この様な方法によって検討された吸入麻酔薬のリン脂質二重層に対する効果をまとめると以下ようになる：

- 1) 麻酔薬は、dipalmitoylphosphatidylcholine (DPPC)のような合成リン脂質で作られた liposome のgel相におけるorder parameterを低下させる、すなわち膜流動性を上昇させる。
- 2) 膜流動性を上昇させる効果は、疎水性の高い脂肪酸側鎖の領域に対して顕著である。
- 3) 臨床用量の麻酔薬の作用下に、リン脂質二重層のgel-液晶間の相転移温度の低下、転移幅の拡大(cooperativityの低下)などが生じる。この様な麻酔薬の作用は加圧によって拮抗される。
- 4) ¹⁹F-NMRを用いた実験によれば、halothaneの水層とphosphatidylchoine(PC)で構成された脂質二重層との間の分配は極めて速やかに平衡状態に達し、水層と脂質二重層との間でhalothane分子の交換反応が行われている事が明らかとなっている²¹⁾。
- 5) リン脂質二重層をHe gasによって加圧すると、麻酔薬の有無に関わらずリン脂質の配列はより秩序度が高くなる。また、麻酔薬の添加によってリン脂質の配列は乱れるが、これはHe gas加圧によって回復することも示されている。1moleのリン脂質に対して60mmolのhalothaneによって生じる膜の乱れが、He gas 128気圧の加圧によって回復した事が報告されている²²⁾。
- 6) barbituratesやsteroidsの様な静注麻酔薬によっても、リン脂質二重層の膜流動性の上昇や相転移温度の低下、相転移におけるcooperativityの低下が起ること、及びこれらの膜構造の乱れが加圧によって回復する事が報告されている²³⁾。
- 7) 吸入麻酔薬には水素結合に参加できる部位は無く、リン脂質膜の極性基の領域には作用しないものと考えられる。また、halothaneの場合には、立体異性体の中で脂質膜に対する作用や麻酔作用のいずれにも

差が無い事が示されている⁸⁾。

8) リン脂質単分子膜を用いた実験で、PCの単分子膜に吸入麻酔薬を加えると膜の面積が約0.5%増加する事が報告されている²⁴⁾。

9) barbituratesやsteroidsでは、麻酔作用やリン脂質膜に対する作用の何れの場合にも立体異性体の間で大きく作用が異なる場合が知られている。その原因として、これらの麻酔薬の場合には水素結合を行える置換基が存在しており、リン脂質二重層の極性基の領域との相互作用を行っている事、立体異性体の中で分子の体積が異なるためにリン脂質膜の中で占める体積も異なってきている事などがあげられる⁷⁾。

この様な吸入麻酔薬の効果は、合成リン脂質で作成したモデル膜のみならず、ラットの脳より調整した神経終末分画を用いた実験に於ても認められている²⁵⁾。また、局所麻酔薬に於てもスピラベル法やNMRにより赤血球膜の流動性を上昇させる事が示されている⁷⁾。

4. 膜作用より想定される麻酔の機序

麻酔薬と呼ばれる薬物の全ての物が細胞膜のリン脂質二重層に対して何らかの影響を及ぼしている事が明らかになってきているが、それがどの様にして最終的に生体での麻酔作用という形で現われるのかについては数多くの仮説が提出されてはいるものの最終的な結論は得られていないのが現状である。

Uedaら⁸⁾は、麻酔薬によって細胞膜が構造変化を起し、それにより表面荷電が減少して疎水部分が露出されると考えている。その結果、細胞膜の脂質やタンパク質の電荷を有している部分に結晶型配列をして水素結合していた水分子(電縮水)は解放され、同時に、露出された疎水性の部分は疎水性水和を起して水よりも体積の大きいclathrateを形成し、系の体積は増大する。また、膜に存在するion channelは電縮水を失って構造変化を来し、細胞膜の興奮性が低下して麻酔が成立するものとしている。麻酔の拮抗の現象は系の容積を小さくする事より生じる逆反応であろうと説明している。

Trudell²⁶⁾は、細胞膜内のNa ion channelのタンパク質は、その開閉に伴って体積変化を生じるために周辺の脂質層(boundary lipids)は、これに伴ってgel-液晶間の相転移を行うことで体積の変化に対応するというモデルを考えている。Na channelがresting状態の場合には、細胞膜のリン脂質はboundary lipidの部分は配列の乱れた液晶相であり、channelをNa ionが通過する際にはNa channelタンパク質の体積が増大するためboundary lipidはgelに相転移を起こす。boundary

lipid 以外の部分のリン脂質は、この相転移と体積変化に対応できるように、compact で配列の整った gel 相である。従って、細胞膜には gel 相と液晶相とが混在することになり、この状態を側方相分離 (lateral phase separation) と呼んでいる。麻酔薬は gel 相のリン脂質の配列を乱して液晶相にするのみならず、液晶相にも入り込み、液晶相の gel 相への転移を起こりにくくする。その結果、Na channel の体積変化は抑制されて麻酔が成立するものと考えられている。

局所麻酔薬についてはこの様な膜作用以外の機構がより有力である。局所麻酔薬の多くは、2級あるいは3級アミンであり、その pK_a は 7.5-9.0 であって、生理的な pH では解離型と非解離型とが共存している。多くの研究結果より、非解離型の薬物が細胞膜に分配した後解離型に変わり、細胞膜の Na channel に直接結合して Na 電流を抑制するといわれている。しかし、種々な界面活性剤の共存下で、局所麻酔薬の見かけの pK_a がミセル表面の dielectric constant や electrical potential によって大きく変化し、これに伴い解離型と非解離型の存在比率も変わることが示されており、細胞膜表面の dielectric constant や electrical potential も考慮した上で、生体内により近い条件下での局所麻酔薬の作用様式についての検討が必要であると示唆する報告もある²⁷⁾。この他、局所麻酔薬には全身麻酔薬と同様に細胞膜を拡張する作用も認められている²⁸⁾。また、細胞膜に分配され陽性電荷を帯びた局所麻酔薬は、細胞膜リン脂質と Ca ion の結合を拮抗的に阻害し、細胞膜リン脂質の構造を安定にしていた Ca ion を除去するという事²⁸⁾なども言われている。

5. 麻酔薬の作用機序と熱分析

これまで述べてきたように、多くの麻酔薬の作用部位は細胞膜のリン脂質二重層にあると思われるが、直接的であれ間接的であれ、いずれにしても最終的には神経細胞の Na channel を抑制しなければ麻酔は成立しないと考えられる。しかし、Na channel の構造は現在の所不明であるし、pure な Na channel が分離されない限りは熱分析の研究対象にはなりにくい。事実、これまで麻酔薬の作用機序を検討する目的で行われてきた熱分析は、そのほとんどがリン脂質膜モデルに対する麻酔薬の作用を解析する事を目的としている。今後も、この傾向は続くものと思われる。リン脂質の相転移現象を測定する方法には、liposome 懸濁液の温度を変化させて、liposome の膜流動性や散乱光の変化を測定する方法が用いられている。この様な方法もリン脂質膜に対する麻酔薬の作用を、リン脂質の熱的な物性変化を指標として測定してい

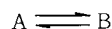
るが、ここではリン脂質を含む反応系からの吸熱、発熱を直接に測定する方法だけを熱測定として扱う事にする。

組成の均一なリン脂質を用いて liposome を作成し、この熱的な相転移 (thermal phase transition) の測定を DSC によって行って、リン脂質の相転移に対する麻酔薬の効果を検討した報告は極めて多い。この時観察される現象は、相転移温度の低下と cooperativity の低下である。cooperativity とは、リン脂質が gel 相と液晶相の二つの相の間の転移を行う際に協調して動くリン脂質分子の cluster の大きさであり、相転移 peak の幅の逆数に比例する。cooperativity が高い、つまり cluster size が大きいほど相転移 peak は sharp になり、逆に相転移の幅が広いほどその系の cooperativity は低い事になる。麻酔薬がリン脂質二重層の cooperativity を低下させるという事は、協調して動く事のできるリン脂質の cluster size を小さくする事になる。

麻酔薬のリン脂質膜に対する作用を解析する目的には、DPPC や dimyristoylphosphatidylcholine (DMPC) を用いて作成した liposome が多く用いられており、これらに適宜酸性リン脂質や cholesterol を添加したのもも使用されている。

リン脂質の相転移については既に数多くの総説 (例えば 29-31) があるので詳細はそれらを参照して頂くとして、ここでは麻酔薬のリン脂質の相転移に及ぼす影響について考察する際に必要と思われる事柄についてのみ記載する。

リン脂質が温度の上昇・下降によって A, B 二つの相の間を可逆的に転移するとすれば、



の平衡が成立し、各々の相におけるリン脂質の活量を a_A, a_B とすると、平衡定数 K は、

$$K = a_B / a_A$$

と表現できる。van't Hoff の式に従えば、

$$\left(\frac{\partial \ln K}{\partial T} \right)_P = \frac{\Delta H_{vH}}{RT^2} \quad (5)$$

ここで ΔH_{vH} はこの反応系における標準 enthalpy 変化である。リン脂質 liposome の温度を上昇させた時に観察される gel-液晶間の相転移反応は吸熱反応であり、この前後では系の熱容量に変化は見られない。この反応の典型的な DSC curve を模式的に書くと、Fig. 1 の様になる。反応の peak の温度を T_m 、半値幅を $\Delta T_{1/2}$ とする。温度 T_m での系を構成する脂質は、1/2 ずつが A 相と B 相の状態にある。カロリメトリーによって得られる enthalpy, ΔH_{cal} は次式で与えられる。

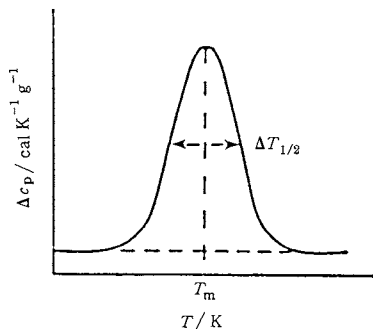


Fig. 1 Schematic representation of the phase transition curve of phosphatidylcholine obtained from differential scanning calorimetry.

T_m : transition temperature
 $\Delta T_{1/2}$: a width at half height
 Δc_p : excess specific heat capacity

$$\Delta H_{cal} = M \int_{T_1}^{T_2} c_{ex} dT \quad (6)$$

M : リン脂質の分子量 (相転移の前後で変化しない)

c_{ex} : 発生する比熱

T_1, T_2 : それぞれ相転移反応開始前及び終了後の温度

$A \rightleftharpoons B$ の反応の平衡定数 K は、相転移した脂質のモル分率 α を用いると次のように書ける。

$$K = \frac{\alpha}{1-\alpha} \quad (7)$$

これより α は、

$$\alpha = \frac{K}{1+K} \quad (8)$$

van't Hoff の式(5)を用いて α を微分すると、

$$\begin{aligned} \frac{\partial \alpha}{\partial T} &= \frac{1}{(1+K)^2} \frac{\partial K}{\partial T} \\ &= \frac{K}{(1+K)^2} \frac{\partial \ln K}{\partial T} \\ &= \alpha(1-\alpha) \frac{\Delta H_{vH}}{RT^2} \end{aligned} \quad (9)$$

温度 T における α は、(6)式を用いて表すと、

$$\alpha = \frac{M \int_{T_1}^{T_2} c_{ex} dT}{\Delta H_{cal}} \quad (10)$$

となる。簡単にするために、 $A \rightleftharpoons B$ の反応に於て c_{ex} の最大値 $(c_{ex})_{max}$ は $T = T_m$ に於て得られるとし、この時に系全体の半分の脂質が転移を終了しているとすれば $\alpha = 0.5$ であるから(9)式は、

$$\left(\frac{\partial \alpha}{\partial T}\right)_{T_m} = 0.25 \frac{\Delta H_{vH}}{RT_m^2} \quad (11)$$

となる。(10)式を用いて $\partial \alpha / \partial T$ を書き直すと、

$$\frac{\partial \alpha}{\partial T} = \frac{M}{\Delta H_{cal}} c_{ex} \quad (12)$$

$T = T_m$ では、

$$\left(\frac{\partial \alpha}{\partial T}\right)_{T_m} = \frac{M}{\Delta H_{cal}} (c_{ex})_{max} \quad (13)$$

(9)及び(11)–(13)式より、

$$\frac{c_{ex}}{(c_{ex})_{max}} = 4 \alpha(1-\alpha) \frac{T_m^2}{T^2} \quad (14)$$

が得られる。また、(9)式を次のように書き直して相転移 peak の半値幅 ($\Delta T_{1/2}$) を与える温度の区間で積分すると、以下の様になる。

$$\frac{\partial \alpha}{\alpha(1-\alpha)} = \frac{\Delta H_{vH}}{RT^2} \partial T$$

相転移が十分狭い温度幅で生じるとすれば、 $T \approx T_m$ である。また、半値幅を与える温度における α の値を α_1, α_2 とすると、

$$\int_{\alpha_1}^{\alpha_2} \left(\frac{1}{\alpha} + \frac{1}{1-\alpha}\right) d\alpha = \frac{\Delta H_{vH}}{RT_m^2} \Delta T_{1/2}$$

となり、

$$\Delta H_{vH} = \frac{RT_m^2}{\Delta T_{1/2}} \left[\ln \frac{\alpha}{1-\alpha} \right]_{\alpha_1}^{\alpha_2} \quad (15)$$

が得られる。 α_1, α_2 については、(14)式において $T_m^2/T^2 \approx 1, c_{ex}/(c_{ex})_{max} = 0.5$ とすると得られて、

$$\alpha = \frac{2 \pm \sqrt{2}}{4}$$

であるので、これを(15)式に入れると(気体定数 $R = 1.987 \text{ cal/K} \cdot \text{mol}$ ($1 \text{ cal} = 4.184 \text{ J}$)),

$$\Delta H_{vH} \approx 7.0 \frac{T_m^2}{\Delta T_{1/2}} \quad (16)$$

が得られる。 ΔH_{vH} を ΔH_{cal} で割ったものは、この相転移反応においてどれだけのリン脂質分子が協同的に転移を起こしたかという値、すなわち cooperativity を与える。

$$\text{cooperativity} = M \frac{\Delta H_{vH}}{\Delta H_{cal}}$$

DPPC などのリン脂質で作成した liposome を加熱して行くと、gel-液晶の相転移に先立って pretransition と呼ばれる小さな吸熱 peak が観察される。この peak は、gel 相 ($L_{\beta'}$ 相) ではリン脂質の脂肪酸側鎖は水層に対して斜めに傾いた状態で規則正しく配列した状態にあったものが、リン脂質の側鎖が水層に対して垂直になって脂質二重層全体が波打ち構造をとった $P_{\beta'}$ 相に転移したことによるためと説明されている。これが更に主転移 (main transition) を経て液晶相 (L_{α} 相) になる。DPPC について、この様な反応の相図と脂質二重層の模式図を Fig. 2 に示した。

Table 3 には種々なリン脂質の相転移温度 (T_m), 反応熱 (ΔH_{cal}), cooperativity を示した²⁹⁾。この様なリン脂質の熱力学的性質に及ぼす麻酔薬の影響を DSC を用いて測定した典型的な例を Fig. 3 及び Table 4 に示す³²⁾。Fig. 3 は、種々な濃度の halothane の共存下における DPPC multilamellar liposome の相転移を DSC によって分析したものである。相転移温度が halothane の用量に依存して低下しており、相転移 peak が broad になってリン脂質の cooperativity が低下している事が分かる。Table 4 は halothane と enflurane が DPPC liposome の相転移における熱力学的性質に及ぼす影響につ

Table 3 Transition properties of several phospholipids.

lipids	pretransition			main transition		
	T_m °C	ΔH kcal/mol	n	T_m °C	ΔH kcal/mol	n
DLPC	—	—	—	-1.8	1.70	980
DMPC	14.2	1.00	280	23.9	5.44	330
DPPC	35.3	1.83	290	41.4	8.74	260
DSPC	51.5	1.85	160	54.9	10.62	130
DMPE	—	—	—	49.5	5.80	140

DLPC: dilauroylphosphatidylcholine
 DMPC: dimyristoylphosphatidylcholine
 DPPC: dipalmitoylphosphatidylcholine
 DSPC: distearoylphosphatidylcholine
 DMPE: dimyristoylphosphatidylethanolamine

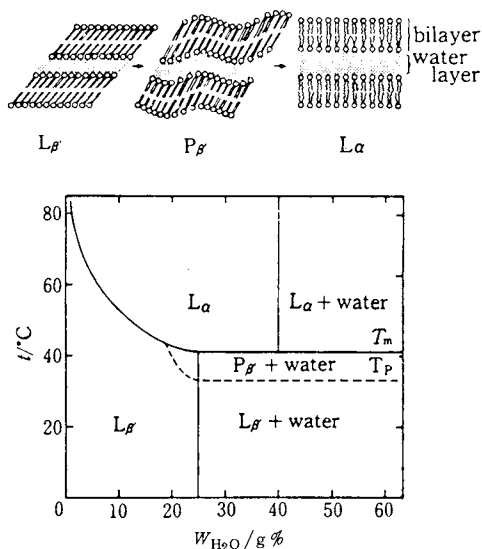


Fig. 2 Schemes for the phase transition and the phase diagram of dipalmitoylphosphatidylcholine liposome.

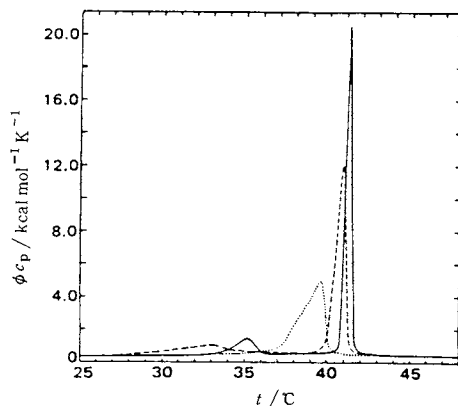


Fig. 3 Effect of halothane on the phase transition of the multilamellar liposomes made with DPPC in 0.05 M KCl under 1 atm atmosphere. Partial pressures of halothane were 0 (—), 0.014 (-----), and 0.047 (.....) atm.

Table 4 Thermodynamic properties associated with the phase transition of multilamellar DPPC liposomes in the presence of gaseous anesthetics.

P_a^* of drugs atm	pretransition			main transition			n^{**}
	T_m °C	ΔH_{cal} kcal/mol	$\Delta T_{1/2}$ °C	T_m °C	ΔH_{cal} kcal/mol	$\Delta T_{1/2}$ °C	
0.0	35.2	1.4	1.4	41.30	8.7	0.42	205
halothane							
0.003	35.1	1.3	1.6	41.25	8.5	0.44	195
0.014	33.0	1.0	3.5	40.85	8.7	0.67	116
0.023	31.3	0.7	4.0	40.45	9.1	1.05	75
0.047	—	—	—	39.55	8.2	1.6	55
0.150	—	—	—	34.90	8.7	4.2	20
enflurane							
0.013	34.0	0.9	2.0	41.1	7.8	0.49	180
0.018	33.5	0.9	2.5	41.0	9.3	0.61	122
0.031	32.5	1.1	2.4	40.8	9.7	0.71	104
0.159	—	—	—	37.8	7.8	2.1	40

* P_a : Partial pressure of anesthetics at 37°C, 1 atm.

** n : Average cooperativity (molecules).

いてまとめたものである。何れの場合にも pretransition と main transition の両方の転移に対して影響しており、相転移の peak 高と相転移温度を何れも低下させていることが分かる。pretransition の場合には、halothane では分圧が 0.047 atm, enflurane では分圧が 0.150 atm ではぼ消失してしまう。しかし、何れの麻酔薬も、相転移における吸熱量そのものには影響を及ぼしていない。相転移の半値幅は極めて大きくなっており、cooperativity は著しく低下している事が分かる。吸入麻酔薬の作用の強さは、50% の患者に麻酔を来す濃度が minimum alveolar concentration (MAC) として定義されており、臨床では個々の患者によって約 0.5 MAC - 2MAC の範囲で適当な深度の麻酔が得られるように使用する事になっている。halothane 及び enflurane の MAC はそれぞれ 0.75%, 1.68% であり、1 atm の条件下における分圧はそれぞれ 0.0075, 0.0168 atm である。従って Table 4 より、halothane, enflurane の何れの麻酔薬もほぼ 2MAC の濃度で DPPC の cooperativity を 1/2 にする事が分かる。Fig. 4 は DPPC の相転移に及ぼす加圧の効果である³²⁾。He gas で加圧することによって pretransition, main transition とともに相転移温度が上昇していることが分かる。一方、Fig. 5 は halothane の共存下に He gas で加圧した際の DPPC の相転移である³²⁾。halothane によって相転移温度が低下し、転移 peak が broad になっていたものが、He gas による加圧によって回復している事が分かる。これは、麻酔の拮抗の現象によく対応している。

この様な麻酔薬の効果は、吸入麻酔薬のみならず局所麻酔薬、麻酔作用を有する長鎖アルコール類や tranquilizers などにおいても報告されている²³⁾。一方、ステロイド性麻酔薬の場合には、main transition に対する作用は必ずしも麻酔作用と相関せず、むしろ pretransition に対する作用が麻酔作用とよい相関を示すという報告³³⁾もあるが、これは、ステロイド麻酔薬は化学構造がコレステロールに類似しているために、麻酔作用の有無に関わらずコレステロールに似た作用をリン脂質二重層中で発揮するためと考えられる(コレステロール様膜安定化効果)^{29, 33)}。

生体の細胞膜に於ける相分離の状態は、リン脂質が細胞膜中で cluster を作って存在しているという事であり、ion channel 周囲の boundary lipid もまた一つの cluster と見なすことが出来る。麻酔薬による cluster size の低下は、細胞膜における相分離の状態を壊す事であり、boundary lipid の構造にも影響を及ぼすものと考えられる。麻酔薬の作用下に、リン脂質二重層の相転移温度が低下するという事と、ESR などによって得られた膜

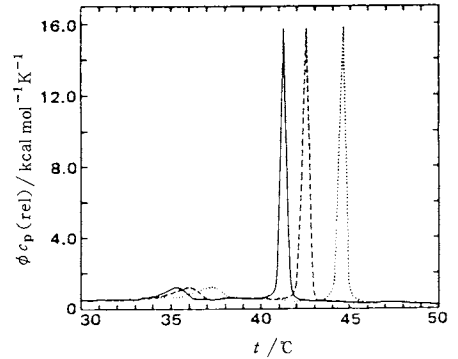


Fig. 4 Calorimetric scans of multilamellar liposomes of DPPC in 0.05 M KCl at air pressure of 1 atm (——) or helium pressures of 68 (-----) and 136 atm (.....).

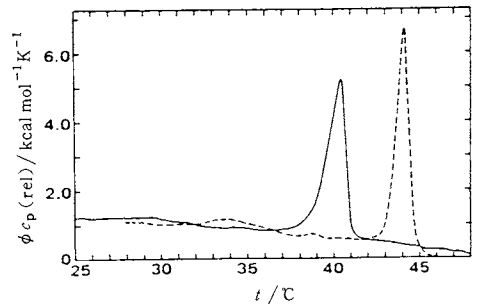


Fig. 5 Calorimetric scans of multilamellar liposomes of DPPC in 0.05 M KCl in the presence of halothane (0.023 atm) at air pressure of 1 atm (——) or helium pressure of 136 atm (-----).

流動性が上昇するという data は、細胞膜における相分離の状態を解消する方向で、しかもリン脂質二重層を液晶状態にする方向で麻酔薬が作用するという事を示している。これは cooperativity の低下によってもたらされたものと考えられる。

細胞膜に存在する酵素類の活性の調節因子として、周囲のリン脂質の組成や物性が関与する事はよく知られている³⁴⁾。phospholipase A₂ (PLA₂) はリン脂質の 2 位の脂肪酸側鎖を切断する酵素であるが、この酵素の活性は、基質となるリン脂質が gel 相と液晶相の混在した相分離の状態にあるときに最大となることが知られている。麻酔薬による PLA₂ 活性抑制作用は、麻酔薬によって基質となるリン脂質の相転移温度が低下して、相分離の状態が解消されるためと説明されている^{35, 36)}。同様な現象はリン脂質を基質としている酵素反応や、疎水環境に存在して脂質によって活性を調節されている酵素についても見られる。麻酔薬による細胞機能の低下は、リン脂質

膜に対して作用した結果、間接的に膜タンパクの酵素活性を抑制したためとも考えられる。

このように DSC によって得られる情報は、リン脂質二重層の相転移に関する熱力学的パラメーターに関する情報であり、膜の拡大や流動性などについての solid information はその他の測定法との併用により得られるものである。熱分析とそれ以外の測定法の最も大きな違いは、熱分析は測定系の発熱或は吸熱のみを測定するという非破壊的な方法であるために、測定系に何等かの probe を導入するという事は全く必要としないという事である。このために、測定系に対して不必要な perturbation を与える事は無い。DSC は麻酔薬の作用機序を知る上で重要な情報を提供するのみならず、新規な麻酔薬を開発していく上でも、有用な screening 法になりうるものと思われる。

しかし、問題は前述したように必ずしも「麻酔作用」を持たない薬物でも、リン脂質二重層の相転移に対して影響を及ぼし得るという点である。麻酔薬以外の薬物で、麻酔薬類似の中樞神経抑制作用や局所麻酔作用を副作用として有するものの中には、麻酔薬と類似した作用をリン脂質の相転移に対して発揮するものがある。この作用がこれら薬物の非特異的な膜作用の原因になる³⁷⁾。また、*in vivo* では中樞抑制作用や局所麻酔作用をほとんど示さない薬物でも、リン脂質二重層の膜モデル系に対して麻酔薬に類似する膜安定化作用を発揮する薬物がある。この様な薬物は、神経系以外の細胞に作用して、顆粒放出反応や種々の免疫反応に対して抑制的に作用することが知られている^{38~40)}。

4. おわりに

本稿では、麻酔の機序を解析する手段としての熱分析法の代表的な例として、DSC を用いてリン脂質膜に対する麻酔薬の作用機序について検討した。熱分析には数多くの方法があり、最近の測定機器の進歩により生きた細胞の発熱量を直接測定する事も可能になってきている。麻酔の機序解析の手段として、その様な方法を応用する日も近いことと思われる。現在のところ、細胞一個だけの発熱量や、一つの細胞の表面の熱分布を測定する手段は皆無に近い状態である。しかし、麻酔という面からだけでなく、生物の基本単位である細胞の energetics という面や、薬物という生体にとって異物である化合物が細胞の持つ種々な機能にどの様に影響するのかを理解する上でも、この様な超微量熱分析法が開発される事が切に望まれる。

参考文献

- 1) H. H. Meyer, *Arch. Exp. Pathol. Pharmacol.* **42**, 109 (1899).
- 2) E. Overton, "Studien uber die Narkose zugleich ein Beitrag zur allgemeinen Pharmakologie", Verlag von Gustav Fischer, Jena (1901).
- 3) K. H. Meyer, *Trans. Faraday Soc.* **33**, 1062 (1937).
- 4) J. Ferguson, *Proc. R. Soc. London, Ser. B* **127**, 387 (1939).
- 5) L. J. Mullins, *Chem. Rev.* **54**, 289 (1954).
- 6) J. Walkley, W. I. Jenkins, *Trans. Faraday Soc.* **64**, 19 (1968).
- 7) R. D. Kaufman, *Anesthesiology* **46**, 49 (1977).
- 8) I. Ueda, H. Kamaya, *Anesth. Analg.* **63**, 929 (1984).
- 9) 上田一作, 代謝 **14**, 437 (1977).
- 10) W. D. McElroy, H. H. Seliger, E. H. White, *Photochem. Photobiol.* **10**, 153 (1969).
- 11) E. N. Harvey, *Biol. Bull.* **29**, 308 (1915).
- 12) I. Ueda, *Anesthesiology* **26**, 603 (1965).
- 13) F. H. Johnson, D. E. S. Brown, D. A. Marsland, *J. Cell. Comp. Physiol.* **20**, 269 (1942).
- 14) F. H. Johnson, E. A. Flagler, *Science* **112**, 91 (1950).
- 15) K. W. Miller, W. D. M. Paton, R. A. Smith, E. B. Smith, *Mol. Pharmacol.* **9**, 131 (1973).
- 16) M. J. Halsey, B. Wardley-Smith, *Nature* **257**, 5529 (1975).
- 17) P. Seeman, *Pharmacol. Rev.* **24**, 279 (1972).
- 18) J. R. Trudell, *Biochim. Biophys. Acta* **470**, 509 (1977).
- 19) L. Pauling, *Science* **134**, 15 (1961).
- 20) S. L. Miller, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **47**, 151 (1961).
- 21) J. R. Trudell, W. L. Hubbell, *Anesthesiology* **44**, 202 (1976).
- 22) J. R. Trudell, W. L. Hubbell, E. L. Cohen, *Biochim. Biophys. Acta* **291**, 328 (1973).
- 23) M. K. Jain, N. Y.-M. Wu, L. V. Wray, *Nature* **255**, 494 (1975).
- 24) I. Ueda, D. D. Shieh, H. Eyring, *Anesthesiology* **41**, 217 (1974).
- 25) P. H. Rosenberg, H. Eibl, A. Stier, *Mol. Pharmacol.* **11**, 879 (1975).
- 26) J. R. Trudell, *Anesthesiology* **46**, 5 (1977).
- 27) J. Gracia-Soto, M. S. Fernandez, *Biochim. Biophys. Acta* **731**, 275 (1983).
- 28) D. Papahadjopoulos, K. Jacobson, G. Poste, G. Shepherd, *Biochim. Biophys. Acta* **394**, 504 (1975).
- 29) S. Mabrey-Gaud, "Liposomes: From physical structure to therapeutic applications", (C. G.

- Knight, ed.), Elsevier, Amsterdam (1981), Chap. 5.
- 30) 児玉美智子, 関集三, 熱測定の進歩 **2**, 1 (1984).
- 31) R. M. McElhane, *Biochim. Biophys. Acta* **864**, 361 (1986).
- 32) D. B. Mountcastle, R. L. Biltonen, M. J. Halsey, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **75**, 4906 (1978).
- 33) T. J. O'Leary, P. D. Ross, I. W. Levin, *Biochemistry*, **23**, 4636 (1984).
- 34) H. Sandermann, Jr., *Biochim. Biophys. Acta* **515**, 209 (1978).
- 35) J. A. F. Op den Kamp, M. Th. Kauerz, L. L. M. van Deenen, *Biochim. Biophys. Acta* **406**, 169 (1975).
- 36) C. Vigo, G. P. Lewis, P. J. Piper, *Biochem. Pharmacol.* **29**, 623 (1980).
- 37) E. K. Rooney, M. G. Gore, A. G. Lee, *Biochem. Pharmacol.* **28**, 2199 (1979).
- 38) M. Akagi, M. Mio, K. Tasaka, *Agents Actions* **13**, 149 (1983).
- 39) 赤木正明, 見尾光庸, 田坂賢二, 木庭茂治, 応用薬理 **26**, 191 (1983).
- 40) K. Tasaka, M. Mio, M. Okamoto, *Ann. Aller.* **56**, 464 (1986).

ICTA IX Second Announcement

1988年8月21日～26日に開かれる第9回熱分析国際会議のSecond Announcementが、近く完成する。会議内容、組織委員会、旅行、宿泊、エクスカージョンなどが記述されている。請求先は右記の通りである。

Prof. M. Steinberg
Chairman of Organizing Committee
Dept. Inorganic and Analytical Chemistry
The Hebrew Univ. of Jerusalem
91 904 Jerusalem, Israel

IUPAC 32nd International Symposium on Macromolecules (MACRO 88)

会期 昭和63年8月1日(月)～6日(金)
会場 国立京都国際会館(京都市左京区宝池)
研究発表申込締切 昭和62年9月15日
登録締切 昭和63年4月1日
プレプリント原稿締切 昭和63年4月15日

1st Circular 郵送を希望される方は、返信用宛名ラベルと170円切手を同封の上、下記宛て請求下さい。
連絡先 104 東京都中央区銀座5-12-8 (本州ビル)
社団法人高分子学会 MACRO 88 係
電話 03-543-3771