各種麻酔剤のラット・バソプレシン分泌に 与える影響について

名古屋大学医学部第一内科

(指導: 祖父江逸郎教授)

大 磯 ユタカ, 富 田 明 夫

The Effects of Various Anaesthetics on Rat Vasopressin Release

Yutaka OISO and Akio TOMITA

1st Department of Internal Medicine,

Nagoya University School of Medicine

Director: Prof. Itsuro Sobue

Most of the reported studies on the effects of various anaesthetics on vasopressin release have been done based on observations of indirect parameters or bioassay of the hormone, and the results have been quite controversial. The present studies were undertaken, therefore, to evaluate the effect of various anaesthetics on vasopressin release in vivo and in vitro with a radioimmunoassay which we have recently developed.

The antibody against arginine vasopressin was raised by immunizing rabbits with lysine vasopressin conjugated with bovine thyroglobulin. The antisera had more than a 90% cross reactivity to arginine vasopressin and DDAVP but virtually no cross reactivity to oxytocin, ACTH, TSH and TRH. Arginine vasopressin was radioiodinated by the chloramine-T method. The radioimmunoassay procedure was as follows: 0.1ml of standard vasopressin or sample, 0.05ml of antiserum (1:5,000), 0.1ml of 0.01M phosphate buffer (pH 7.4) and 0.05ml of ^{125}I -AVP (2,500cpm) were incubated for 72 hours at 4°C, and polyethylene glycol was used for the separation of bound and free hormone. The least detectable value in this system was 1.5pg/ml.

Ethyl carbamate (1 or 2g/kg B.W.) or pentobarbital (35 or 60mg/kg B.W.) was injected intraperitoneally into Wistar rats. Ether was administered using an anaesthetic bottle. Blood specimens were obtained from animals by decapitation 20 minutes after the administration of anaesthetics, and vasopressin was extracted from plasma with cold acetone and petroleum-ether successively. After removal of acetone and petroleum-ether under a stream of air, the samples were reconstituted with an assay buffer and served for RIA.

The plasma vasopressin level in the anaesthetized rats (except for those which received 1g/kg B.W. of ethyl carbamate) was 3~7 times higher than that in the control rats which received intraperitoneal saline. The plasma osmolality was also elevated in all experimental groups except those treated with ether and ethyl carbamate (1g/kg B.W.), although there

was no correlation between plasma vasopressin level and osmolality.

When the neural lobes were examined *in vitro* following incubation in a Krebs-Ringer bicarbonate buffer containing ethyl carbamate (1 or 2mg/ml) or pentobarbital (0.05 or 0.1mg/ml), there was no significant change in vasopressin release as compared to control tissues incubated in a plain Krebs-Ringer bicarbonate buffer, although viability of the tissues was proved by a marked increase in hormone release during the final exposure to 60mM KCl.

In summary, ether, ethyl carbamate and pentobarbital induced the increase of plasma vasopressin levels in rats *in vivo* but had no effect on vasopressin release *in vitro*. These results indicate that these anaesthetics have no direct stimulous effect on the neural lobe, and the elevation of plasma vasopressin levels during anaesthesia is caused through unknown mechanisms such as a change in plasma volume or osmolality, alternation of sensitivity of receptors to those stimuli and possibly a direct stimulation of hypothalamic nuclei. For studies of vasopressin release in rats, ethyl carbamate (1g/kg B.W.) was found to be the most suitable anaesthetic among those presently tested.

緒 言

各種麻酔剤のバソプレシン (VP) 分泌に与える影響はこれまで主として臨床例において尿量, 尿浸透圧, 尿中電解質排泄等を指標とした間接的な方法²⁾と, その少数例においての生物学的測定法により検討され, エーテル麻酔がVP分泌に促進的に働くことが報告されている¹⁾。しかし, ラットにおける各種麻酔剤のVP分泌に与える影響については詳細な検討がなされておらず, 更にエーテルによるVP分泌促進についての作用機序も明らかとされていない。そこで我々が作製した抗VP抗体を用い, VP抽出法およびVPの radioimmunoassay (RIA) 法を確立すると共に, この測定系の使用により各種麻酔剤のラットVP分泌に与える影響を,

- 1) 麻酔後の血漿VPおよび血漿浸透圧の測定 (*in vivo*),
- 2) 下垂体神経葉培養法を用いた *in vitro* におけるVP分泌実験から検討を行なった。

研 究 方 法

1) VP抽出法

血漿からのVP抽出法としては, アセトン・石油エーテル法およびベントナイト法の2法について検討した。アセトン・石油エーテル法は血漿1mlに2mlの冷却アセトンを加え十分に混和した後, 3,000 rpmで15分間遠心し上清をとり, これに3mlの石油エーテルを加え混和の後2,000 rpmで15分間遠心した。そして上層の石油エーテル層を吸引除去した後, 下層を37℃温浴中にて大気を吹きつけ蒸発乾固させ測定時まで-20℃にて保存した。ベントナイト法は, 血漿1mlに1N塩酸0.5mlを加え混和した後, 3mgのベントナイトを含む精製水1mlを加え20分間混和の後3,000 rpmで30分間遠心した。そして上清を捨て沈渣に1N塩酸と80%アセトンを含む混合物1mlを加え混和の後再度10分間3,000 rpmで遠心した後, 上清を0.2mlの精製水と1mlのエーテルにて洗い, エーテル層を吸引除去後37℃温浴中で大気を吹きつけ蒸発乾固させた。以上の2種類の抽出法の回収率の検討にはVP-free血漿1mlに各々合成アルギニンバソプレシン (AVP) を12.5, 25.0, 50.0 pg添加したものをを用いた。合成AVPはSigma社製 (Grade VI) をを用いた。

2) VP の RIA 法

① 抗VP抗体の作製: 抗VP抗体作製のため次の方法により抗原を作製したが, 3 種類の方法を用いた。リジンバソプレシン (LVP, Sigma 社製 Grade IV) と各種蛋白; ヒト血清グロブリン (HSG, Miles 社製), ウシ血清アルブミン (BSA, NBC 社製), ウシサイログロブリン (TG, Sigma 社製) を glutaraldehyde (Taab 社製) または morpho-carbodiimide (Fluka AG 社製) にて結合させた反応物を抗原として完全フロイントアジュバントと共に家兎に免疫したが, 第1群としては LVP 5 mg と 24 mg の HSG を 4 ml の 0.1 M ammonium acetate buffer (pH 7.0) 中で 2.6 ml の 0.02 M glutaraldehyde により結合させた後, 4 °C の精製水中で 48 時間透析したものを凍結乾燥し免疫に用いた。第2群は 10 mg の LVP と 20 mg の BSA を 1 ml の精製水に溶かし, これに 35 mg の morphocarbodiimide を加え 2 時間混和後 24 時間精製水中で透析したものを凍結乾燥し免疫に用いた。第3群は 10 mg の LVP と 50 mg の TG を 1.5 ml の精製水に溶かし, これに 2.3 mg の morpho-carbodiimide を加え 4 °C で 20 時間混和した後 1 M hydroxylamine 2.5 ml を加え更に 4 °C で 8 時間混和した。この反応物を 4 °C で 24 時間精製水中で透析した後凍結乾燥し免疫に用いた。家兎に対する免疫は, 家兎 1 匹あたり以上の 3 群の抗原 (LVP・蛋白結合物) 各々 1 mg を, 0.5 ml の完全フロイントアジュバントと 0.025 % 酢酸 0.5 ml と共に十分に混和後, 3 週間毎に大腿と背部の数ヶ所に筋注して行なった。

② VP の標識: VP の ^{125}I による標識は, Hunter・Greenwood⁸⁾ の方法に準じて行なった。 ^{125}I 1 mCi と AVP 12.5 μg を混和し, それに 10 μl の chloramine-T (10 mg/10 ml $\cdot$ H_2O) を加え 15 秒間反応させた後, Dowex AG 1 $\times$ 8 (100~200 mesh) 100 mg を含む精製水 1 ml 中で 15 秒間混和し 60 秒間静置した。この上清を Sephadex G-25 (10 $\times$ 300 mm) のカラムに加え, 0.5 % BSA 含有 0.01 M 酢酸にて溶出した。

③ RIA 操作の検討: i) ^{125}I -AVP の添加時期 (並行法, 非並行法), ii) インキュベーション時間, iii) インキュベーション量および hot 添加量, について検討した。並行法は試料, 抗体, ^{125}I -AVP を同時に混和し, 非並行法は試料, 抗体を混和し 24 時間 4 °C でインキュベーション後に ^{125}I -AVP を添加した。並行法, 非並行法各々についてインキュベーション時間を 48 時間と 72 時間の 2 種類の方法で行ない, またインキュベーション量の多いもの (試料 0.1 ml, 5,000 倍希釈抗体 0.1 ml, 0.01 M リン酸緩衝液 pH 7.4; 0.3 ml, ^{125}I -AVP 0.1 ml; 6,200 cpm 相当) と, 少ないもの (試料 0.1 ml, 5,000 倍希釈抗体 0.05 ml, 0.01 M リン酸緩衝液 pH 7.4; 0.1 ml, ^{125}I -AVP 0.05 ml; 2,500 cpm 相当) についても検討した。B-F の分離にはポリエチレングリコール法を用いた。25 % のポリエチレングリコール (# 6,000) を 1 ml と, VP-free 家兎血清 0.05 ml を加え 3,000 rpm で 20 分間の遠心後, 沈渣の放射活性を測定した。

3) 血漿浸透圧の測定

血漿浸透圧の測定には Osmette A 自動浸透圧測定器 (Precision System Inc.) を用い, 検体量は 2 ml とした。

4) in vivo 実験

① VP 分泌に対する麻酔剤の影響: 自由飲水下の体重 250 g 前後の雄ウィスター系ラットに体重 1 kg あたり ethyl carbamate (ウレタン) 1 g と 2 g, ペントバルビタールは 35 mg および 60 mg, の各々 2 種量を腹腔内投与した。そして投与 20 分後に断頭屠殺し, 氷水中に浸したヘパリン加試験管中に採血した。エーテル麻酔については, 同一条件下のラットを麻酔瓶中で麻酔し, 麻酔深度は原

則として第3期第2相とした。そして麻醉瓶よりとりだしてから10分後に断頭屠殺し同様の方法で採血した。採取した血漿をVPおよび浸透圧測定に供した。対照群としては生理食塩水を腹腔内投与した群を用い、採血も麻醉群と同様の方法で行なった。

② 絶水による影響：ラットの生理的なVP分泌促進状態を観察するために24時間絶水後のラットを無麻醉下にて断頭屠殺し採血した。

5) in vitro 実験

体重250 g前後の自由飲水下雄ウィスター系ラットを無麻醉下で断頭屠殺し、直ちに開頭し下垂体神経葉を分離した。1個の神経葉をKrebs-Ringer重炭酸緩衝液(pH 7.4) 1 mlの入ったdishに入れ、37℃のCO₂培養器(5% CO₂, 95% 大気)中でインキュベーションした。インキュベーション開始後10分毎にKrebs-Ringer重炭酸緩衝液を交換し、70分間まで培養液中のVPを測定し、神経葉からの放出を測定した。さらに麻醉剤の神経葉からのVP分泌に与える影響を検討するため、この系を用い30分間のプレインキュベーション後、10分間毎に、

- ① Krebs-Ringer重炭酸緩衝液(コントロール),
- ② 低濃度麻醉剤(ウレタン 1 mg/ml, ペントバルビタール 0.05 mg/ml),
- ③ 高濃度麻醉剤(ウレタン 2 mg/ml, ペントバルビタール 0.1 mg/ml),
- ④ 60 m M KCl,

を各々含む培養液中で順次インキュベーションした。一方、これら実験群との比較のため、Krebs-Ringer重炭酸緩衝液のみを10分間毎に3回交換し、続く10分間を60 m M KClでインキュベーションした群についても同時に検討した。これらの培養液はVP測定時まで-20℃で保存した。in vivo, in vitroの各実験には原則として1群5匹のラットを用いた。

成 績

1) VP抽出法

抽出の回収率は、アセトン・石油エーテル法では平均74.8%, ペントナイト法では平均43.0%であった。AVP濃度の違いによる回収率の相違は、検討した3種類の濃度においてはみられなかった。回収率の安定性については、アセトン・石油エーテル法が高く、ペントナイト法では回収率にばらつきがみられた。

2) VPのRIA法

① 抗VP抗体：抗原として使用したLVP-HSG, LVP-BSAの2群では各々6-9回の免疫を続けたが、ともに良好な抗体は得られなかった。これに対し、LVP-TGを抗原として免疫した家兎においては免疫4回後より¹²⁵I-AVPとの結合が生じはじめ、免疫7回後には5,000倍希釈(最終希釈30,000倍)で¹²⁵I-AVPと60.8%の結合率を示した。図-1にはこれら3群の抗原で免疫し得られた抗体(各600倍希釈)と¹²⁵I-AVPとの結合率の経時的な推移を示した。次に得られた抗体の特異性について検討したが、Boよりの50% inhibition値でみるとAVPおよびDDAVPとは90%以上の交叉率を示したが、オキシトシン, ACTH, TRH, TSHとはいずれも0.01%以下の交叉率であった。

② VPの標識：¹²⁵I-AVPはSephadex G-25カラムからの溶出ピークの第3峰に含まれた。Dowex処理により遊離¹²⁵Iの減少がみられ、specific activityは200-300 mCi/mgであった。なお¹²⁵I-AVPは-80℃で保存することにより再純化することなく約2ヶ月間の使用が可能であった。

Fig. 1. Productions of AVP antibodies which were raised by injection of LVP conjugated with thyroglobulin (●—●), human serum globulin (▲—▲) and bovine serum albumin (○—○).

③ RIA 操作：VP の測定感度は、i) 並行法、非並行法のいずれの方法によっても、ほとんど変化を生じなかったが、ii) インキュベーション時間は48時間より72時間とした方が標準曲線が急峻となる傾向がみられ、iii) インキュベーション量の多い場合 (0.6 ml, 添加 ^{125}I -AVP 量6,200 cpm) と少ない場合 (0.3 ml, 添加 ^{125}I -AVP 量2,500 cpm) との比較を行なうと、インキュベーション量が少なく、標識ホルモン量の少ない方が測定感度が良好であった。B-F の分離にはポリエチレングリコール法を用いたが、non specific binding は約10%前後とやや高めを示す傾向があったが、測定感度上には支障がみられなかった。以上のVP抽出法および測定法の検討の結果、VP測定は以下のような手順に従った。抽出はアセトン・石油エーテル法、測定は0.3 ml のインキュベーション量 (試料0.1 ml, 5,000倍希釈抗体0.05 ml, 0.01 M リン酸緩衝液 pH 7.4; 0.1 ml, ^{125}I -AVP 0.05 ml; 2,500 cpm 相当) で72時間インキュベーションし、B-F分離にはポリエチレングリコール法を用いた。標準曲線は図-2のごとくで、測定感度は1.5 pg/ml であった。なお本法の intraassay variability は6.3%, interassay variability は14.8%であった。

3) in vivo 実験

① VP分泌に対する麻酔剤の影響：各種麻酔剤 (ウレタン、ペントバルビタール、エーテル) 投与後の血漿VP値は対照群 (11.3 ± 2.0 pg/ml, Mean $\pm$ SEM) に比べいずれも有意に上昇したが、ウレタン 1 g/kg B.W. 投与群のみは有意の変化を生じなかった (図-3)。しかし、ウレタン投与量を 2 g/kg B.W. に増加すると 71.5 ± 17.2 pg/ml となり有意の上昇を生じた。ペントバルビタールの投与量と血漿VP値との関係を見ると、35 mg/kg B.W. 投与群では 31.5 ± 8.6 pg/ml, 同60 mg/kg B.W. 投与群では 39.0 ± 7.5 pg/ml とやはり投与量の増加と共に血漿VP値は上昇しており、エーテル麻酔群では 82.3 ± 41.0 pg/ml と著明に上昇した。

② 絶水による影響：生理的なVP分泌刺激として24時間の絶水をした群では、血漿VP値は 33.5 ± 6.5 pg/ml に上昇した (図-3)。

Fig. 2. A typical standard curve for RIA of AVP.

Fig. 3. Effects of anesthetics and water deprivation on plasma AVP levels.

C: control, ET: ether, U.L.: urethane 1g/kg B.W., U.H.: urethane 2g/kg B.W., P.L.: pentobarbital 35mg/kg B.W., P.H.: pentobarbital 60mg/kg B.W., W.D.: water deprivation.

* $p < 0.05$ vs control, ** $p < 0.01$ vs control, NS: not significant. Each value represents the mean $\pm$ SEM. ($n=5$)

③ 血漿浸透圧の変化: 血漿浸透圧は対照群 (284.4 ± 5.3 mOsm/kg) に比べ, ウレタン 2 g/kg B.W. 投与群では 307.0 ± 6.4 mOsm/kg, ペントバルビタール 35 mg/kg B.W. 投与群では 307.8 ± 2.4 mOsm/kg, 同 60 mg/kg B.W. 投与群では 306.0 ± 2.8 mOsm/kg といずれも有意に上昇したが, エーテル麻酔群では 296.0 ± 2.0 mOsm/kg, ウレタン 1 g/kg B.W. 投与群では 298.0 ± 1.0 mOsm/kg と上昇傾向はみられたが, 有意の変化は認められなかった。また, 24 時間絶水後のラット群では, 306.0 ± 2.0 mOsm/kg と有意の上昇を示した (図-4)。

Fig. 4. Changes in plasma osmolality after administration of various anesthetics and water deprivation. Abbreviations are same as Fig. 3.

* $p < 0.05$ vs control. Each value represents the mean $\pm$ SEM. ($n=5$)

Fig. 5. Time course of AVP release after initiation of the culture. There was no significant change of AVP release from 20 min. to 70 min. Each value represents the mean $\pm$ SEM. ($n=5$)

Fig. 6. Effects of anesthetics on AVP release from neural lobe in the culture.

C: Krebs-Ringer bicarbonate buffer alone,
K⁺: C + 60mM KCl.

* $p < 0.001$ vs incubation of first ten minutes.

Each value represents the mean $\pm$ SEM. (n=5)

4) in vitro 実験

神経葉培養液中のVP自然放出量を10分間毎に70分間にわたって測定した。はじめの10分間では 11.3 ± 2.1 ng/mlで、これを100%として比較すると以後10分間毎に順次 $31.7 \pm 8.0\%$, $13.9 \pm 4.7\%$, $11.2 \pm 3.6\%$, $13.3 \pm 5.5\%$, $11.1 \pm 4.5\%$, $8.9 \pm 3.9\%$ となり、培養開始30分後にはほぼ一定の放出率となった(図-5)。そこで培養開始後30分間をプレインキュベーションとし、それに引続く10分間をコントロール・インキュベーションとして用い、この間の培養液中のVP分泌量を100%として比較した。麻酔剤添加培養群では、ウレタン、ペントバルビタールともにVP分泌は低下傾向を示し、特にウレタン高濃度添加群(2 mg/ml)では $52.5 \pm 6.1\%$ と低下したが、統計学的にはコントロール・インキュベーションに対して有意差は認められなかった。これらの実験群との比較のため、Krebs-Ringer重炭酸緩衝液のみを10分間毎に3回交換した群についても同時に検討したが、同様に有意の変化はみられなかった。一方、60 mM KCl添加後は各群ともにコントロール・インキュベーションにおけるVPの基礎分泌量に対し、16~39倍と著明なVP分泌をみた(図-6)。

考 察

VPの抽出法およびRIA法については、これまでに多くの報告がみられる¹²⁾¹⁴⁾。抽出法については一部に無抽出による測定法も報告されているが⁷⁾、アセトン・石油エーテル法⁹⁾が比較的操作が

簡便で回収率も安定しているため、血漿からの抽出には一般的な方法であると考えられる。ペントナイト法は、回収率および安定性についていずれもアセトン・石油エーテル法に劣った。

抗VP抗体はLVPに対する抗体を作製しAVPを測定するという交叉反応を利用した。抗体の作製はLVPをハプテンとし、これに種々の蛋白を結合させたが、我々の検討ではHSGあるいはBSAと結合した反応物を抗原として用いた場合は抗体の産生がみられず、LVPをTGと結合させた反応物のみが抗体の産生を生じた。小分子のペプチドホルモンとTGを結合させて良好な抗体を作製できることは既に報告されている¹³⁾が、LVPにおいてもTGと結合させることにより効率的に免疫することができることは今回の我々の検討からも確認された。こうして得られた抗LVP抗体をAVPの測定に用いたが、AVPとの交叉率はきわめて高く、ヒトおよびラットのVP測定上には問題がなかった。本抗体はDDAVPとはAVPと同様に高い交叉反応を示したが、オキシトシンをはじめとしてACTH、TRH、TSHとは交叉性を示さず、特異性についても問題はなかった。

実際の測定では、インキュベーション量を少なくしインキュベーション時間を延長することにより良好な標準曲線を得ることができたが、標識ホルモンの添加時期については並行法あるいは非並行法のいずれでも大きな差はみられなかった。

次に、これらの抽出法、測定法を用いて各種麻酔剤のラットVP分泌に与える影響を検討した。エーテル麻酔がラットのVP分泌に与える影響については生物学的測定法を用いて検討され、エーテル麻酔がラットVP分泌に対し促進的に働くことが血中VPの測定¹⁾¹⁰⁾および下垂体神経葉中のVP含量の測定⁴⁾等により報告されている。一方、ペントバルビタール、ウレタンのラットVP分泌に与える影響については、ペントバルビタールがラットVP分泌に促進的に働くとするもの⁵⁾、あるいは変化がないとするもの³⁾等の報告があるが、詳細な検討はなされていない。

今回の研究においては、*in vivo*実験ではウレタン1 g/kg B.W.投与群を除き著明な血漿VP値の上昇をみた。麻酔深度はウレタン1 g/kg B.W.投与群ではやや浅かったが、エーテル群、ペントバルビタール群ではいずれもかなり深い麻酔深度であった。エーテル群では一番強いVP分泌がみられ、ウレタン、ペントバルビタール各群ともに投与量の増加でVP分泌も増加した。これら麻酔剤投与によるVP分泌は生理的なVP分泌である絶水後のVP分泌を容易に上まわり、強いVP分泌刺激であることが明らかである。一方、これら麻酔剤投与後の血漿浸透圧も上昇がみられたが、エーテル麻酔群およびウレタン1 g/kg B.W.投与群では有意の上昇がみられなかったのに対し、ウレタン2 g/kg B.W.投与群およびペントバルビタール35 mg/kg B.W.、60 mg/kg B.W.投与群のいずれもが307.0 mOsm/kg前後と有意に上昇し、これは絶水後の血漿浸透圧とはほぼ等しく、ラットの生体内での血漿浸透圧の頂値に近いと考えられる。

以上の結果からは、麻酔剤投与が何らかの機序により血漿浸透圧を上昇させ、浸透圧受容体を刺激した結果VPが分泌されたことが第一に考えられるが、血漿VP値と血漿浸透圧が必ずしも関連していない点からは、血漿浸透圧の上昇のみがVP分泌に関与したのではないと考えられる。すなわち、各種麻酔剤が直接視床下部あるいは下垂体神経葉を刺激しVP分泌を生じた可能性、あるいはこれら薬剤が直接的または間接的に圧受容体、容量受容体等を介して働きVP分泌を生じた可能性等が考えられる。

この点から、今回は神経葉培養法を用いて各種麻酔剤が直接下垂体神経葉に作用するか否かについて検討したが、ウレタン、ペントバルビタールともに統計学的に有意ではないが、むしろ神経葉からのVP分泌を抑制する傾向がみられた。なお麻酔剤添加培養後、各群ともに60 m MKClに対

して良好なVP分泌反応を生じたことは、これらの系が失活していないことを示している。

オキシトシンについては神経葉培養法を用いた各種麻酔剤の影響の検討がなされているが⁶⁾、VPについては報告がみられない。今回の我々のin vitroの実験結果からは少なくとも各種麻酔剤が直接下垂体神経葉に働きVP分泌を促進した可能性はないと考えられる。従って各種麻酔剤によるVP分泌刺激作用は一部浸透圧受容体を介することは明らかであるが、その他視床下部への直接作用またはそれ以外のVP分泌受容体への作用もあると考えられる。

以上、各種麻酔剤がラットVP分泌に与える影響について検討したが、今後ラットを用いたVP分泌実験では麻酔剤の使用に留意する必要があると考えられる。

結 語

各種麻酔剤のラットVP分泌に与える影響について、in vivoおよびin vitroの方法を用いて検討した。

1) VPの測定は我々の開発したRIA系を用いて行ない、この系の測定感度は1.5pg/mlであった。

2) ラットにおいて、ウレタン 2 g/kg B.W. およびペントバルビタール 35, 60mg/kg B.W.の投与は、血漿浸透圧を有意に上昇させ、また血漿VP値も有意に上昇させた。エーテル麻酔は血漿浸透圧には変化を与えなかったが、血漿VP値を有意に上昇させた。ウレタン 1 g/kg B.W.の投与は血漿浸透圧、血漿VP値のいずれにも有意の変化を与えなかった。

3) ラット下垂体神経葉培養法を用いた検討では、ウレタン、ペントバルビタールともにVP分泌には影響を与えなかった。

4) 各種麻酔剤によるラットにおけるVP分泌の促進は、一部血漿浸透圧の上昇によるが、これ以外に麻酔剤が直接視床下部に作用した可能性、あるいは他のVP分泌受容体を介して働いた可能性が考えられた。

5) ラットを用いたVP分泌実験には、ウレタン (1 g/kg B.W.) 麻酔の使用が最も生理的に近い条件であると考えられた。

稿を終るにあたり、御指導、御校閲を賜った名古屋大学医学部第一内科、祖父江逸郎教授に深謝いたします。またバソプレシン測定系確立に関し終始御指導頂いた愛知医科大学第四内科、満間照典助教授並びに種々の御協力を頂いた名古屋大学第一内科内分泌研究室の諸先生に感謝いたします。

本論文の一部は、第26回日本内分泌学会西部部会総会および第53回日本内分泌学会総会において発表した。

本研究の一部は厚生省特定疾患間脳下垂体機能障害調査研究班の研究費によった。

文 献

- 1) Ames, R.G. and Van-Dyke, H.B.: Antidiuretic hormone in the serum or plasma of rats. *Endocrinology*, 50: 350-360, 1952.
- 2) Aprahamian, H.A., Vanderveen, J.L., Bunker, J.P., Murphy, A.J. and Crawford, J.D.: The influence of general anesthetics on water and solute excretion in man. *Ann. Surg.*, 150: 122-130, 1959.
- 3) Aziz, L. A. and Forsling, M.L.: Anesthesia and vasopressin release in the rat. *J. Endocrinol.*, 81:

- 123P, 1979. 4) Daniel, A.R. and Lederis, K.: Effects of ether anaesthesia and haemorrhage on hormone storage and ultrastructure of the rat neurohypophysis. *J. Endocrinol.*, 34: 91–104, 1966. 5) Dogterom, J., Van-Wimersma, T.B. and Wied, D.D.: Vasopressin in cerebrospinal fluid and plasma of man, dog, and rat. *Am. J. Physiol.*, 234: E463–E467, 1978. 6) Dyball, R.E.J.: Potentiation by urethane and inhibition by pentobarbitone of oxytocin release in vitro. *J. Endocrinol.*, 67: 453–458, 1975.
- 7) Fyhrquist, F., Wallenius, M. and Hollemans, H.J.G.: Radioimmunoassay of vasopressin in unextracted plasma. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 36: 841–847, 1976.
- 8) Greenwood, F.C., Hunter, W.M. and Glover, J.S.: The preparation of ^{131}I -labelled human growth hormone of high specific radioactivity. *Biochem. J.*, 89: 114–123, 1963.
- 9) Husain, M.K., Fernando, N., Shapiro, M., Kagan, A. and Glick, S.M.: Radioimmunoassay of arginine vasopressin in human plasma. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 37: 616–625, 1973. 10) Little, J.B. and Radford, E.P.J.: Bioassay for antidiuretic activity in blood of undisturbed rats. *J. Appl. Physiol.*, 19: 179–186, 1964. 11) Oyama, T. and Kimura, K.: Plasma levels of antidiuretic hormone in man during diethyl ether anaesthesia and surgery. *Canad. Anaesth. Soc. J.*, 17: 495–503, 1970. 12) Robertson, G.L., Mahr, E.A., Athar, S. and Sinha, T.: Development and clinical application of a new method for the radioimmunoassay of arginine vasopressin in human plasma. *J. Clin. Invest.*, 52: 2340–2352, 1973. 13) Skowsky, W.R. and Fisher, D.A.: The use of thyroglobulin to induce antigenicity to small molecules. *J. Lab. Clin. Med.*, 80: 134–144, 1972.
- 14) Skowsky, W.R., Rosenbloom, A.A. and Fisher, D.A.: Radioimmunoassay measurement of arginine vasopressin in serum: Development and application. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 38: 278–287, 1974. (特別掲載) (受付日: 56. 3. 24)