

氏 名	小牧 史明
学位の種類	博士 (医学)
学位記番号	博士 甲第689号
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位授与年月日	平成25年 9月11日
学位論文題目	Effects of intravenous magnesium infusion on in vivo release of acetylcholine and catecholamine in rat adrenal medulla (ラット副腎髄質におけるアセチルコリンおよびカテコラミン分泌に対するマグネシウム静脈内投与の効果)
審査委員	主査 教授 岡村 富夫 副査 教授 松浦 博 副査 教授 浅井 徹

論文内容要旨

※整理番号	695	(ふりがな) 氏名	(こまき ふみあき) 小牧 史明
学位論文題目	Effects of intravenous magnesium infusion on <i>in vivo</i> release of acetylcholine and catecholamine in rat adrenal medulla (ラット副腎髄質におけるアセチルコリンおよびカテコラミン分泌に対するマグネシウム静脈内投与の効果)		
<p>【目的】 マグネシウム (Mg^{2+}) 静脈内投与による交感神経抑制作用は、副腎髄質と交感神経終末からのカテコラミン分泌抑制により発揮されるが、その機序は Mg^{2+} が電位依存性 Ca^{2+} channel からの Ca^{2+} 流入を抑制することでカテコラミン分泌を抑制するためと考えられている。したがって、Mg^{2+} は節前の副腎交感神経終末と節後のクロマフィン細胞の両部位において、電位依存性 Ca^{2+} channel からの Ca^{2+} 流入を抑制し、節後のカテコラミン分泌だけでなく節前のアセチルコリン (ACh) 分泌も抑制する可能性がある。しかし、Mg^{2+} 投与が副腎髄質において、節前の ACh 分泌にどのように影響を及ぼすかは、報告されていない。そこで我々は、麻酔下ラットにおいて、マイクロダイアリシス法を用い、Mg^{2+} 静脈内投与が節後のクロマフィン細胞からのカテコラミン分泌だけでなく、節前の副腎交感神経終末からの ACh 分泌も抑制しうるかを検討した。</p> <p>【方法】 麻酔、および人工呼吸下の Wistar ラットにおいて、動脈圧、心拍数をモニターし、左副腎と左副腎交感神経を露出させ、左副腎交感神経を切断した。左副腎髄質にダイアリシスプローブを植え込み、一方よりコリンエステラーゼ阻害剤であるネオスチグミン $10 \mu M$ を含んだリンゲル液を灌流し、他方より透析液を採取した。副腎髄質間質内の ACh、ノルエピネフリン (NE)、エピネフリン (Epi) は、ダイアリシスプローブの半透膜部分を介して濃度勾配に従い、灌流液中に移動し、透析液としてサンプリングされる。神経刺激前に透析液を採取した後、左副腎交感神経の遠位部を 2 分間電気刺激し、刺激中に採取した透析液中の ACh、NE、Epi 濃度を、高速液体クロマトグラフィにて測定し、それぞれの濃度の上昇を、神経刺激による分泌の指標とした。</p> <p>プロトコール 1 : $MgSO_4$ を 30 分間静脈内投与する前後で副腎交感神経の電気刺激を行い、それぞれ神経刺激前と刺激中に透析液を採取した。$MgSO_4$ 投与量は、low dose; $25 \mu mol/kg/min$、high dose; $50 \mu mol/kg/min$ とし、また、SO_4^{2-} の影響を調べるために、Na_2SO_4 静脈内投与の前後で同様の実験を行った。</p> <p>プロトコール 2 : ベースラインの神経刺激応答を調べた後、L-type Ca^{2+} channel blocker であるニフェジピン ($200 \mu M$) をダイアリシスプローブを介して局所投与した状態で神経刺激応答を調べ、さらに low dose および high dose の $MgSO_4$ 投与して神経刺激応答を調べた。</p>			

- (備考) 1. 論文内容要旨は、研究の目的・方法・結果・考察・結論の順に記載し、2千字程度でタイプ等で印字すること。
2. ※印の欄には記入しないこと。

【結果】 プロトコール1 : Low-dose $MgSO_4$ の投与により、血清 Mg^{2+} 濃度は 0.9mM から 2.5mM に上昇し、神経刺激前の心拍数、平均血圧は低下したが、神経刺激による心拍数の低下、平均血圧の上昇に変化はなかった。神経刺激による ACh 分泌応答は変化しなかったが、NE、Epi 分泌応答は 20-30%抑制された。High-dose $MgSO_4$ の投与では、血清 Mg^{2+} 濃度は 0.9mM から 3.8mM に上昇し、心拍数、平均血圧はさらに低下し、神経刺激による心拍数、平均血圧の応答も減弱した。ACh 分泌応答は 25%、NE、Epi 分泌応答は 45-60%抑制された。 Na_2SO_4 の投与では、心拍数、平均血圧ならびに、神経刺激によるそれらの応答も変化せず、ACh、NE、Epi 分泌応答も変化しなかった。

プロトコール2 : ニフェジピン局所投与により心拍数、平均血圧、ACh 分泌応答は変化しなかったが、NE、Epi 分泌応答は 30-45%抑制された。その後の low dose の $MgSO_4$ 投与により、刺激前の心拍数、平均血圧はプロトコール1と同様に低下したが、ACh 分泌応答は変化せず、NE、Epi 分泌応答にさらなる抑制は認めなかった。しかし、high-dose $MgSO_4$ 投与により ACh 分泌応答は抑制され、NE、Epi 分泌応答はさらに抑制された。

【考察】 Low-dose Mg^{2+} は、節後の副腎髄質クロマフィン細胞からのカテコラミン分泌応答を抑制したが、節前の副腎交感神経終末からの ACh 分泌応答は抑制しなかった。一方、high-dose Mg^{2+} は、カテコラミン分泌応答だけでなく、ACh 分泌応答も抑制した。これらの結果から、節前の副腎交感神経終末に比べて、節後の副腎髄質クロマフィン細胞の方が Mg^{2+} の効果を受けやすく、high-dose Mg^{2+} は、直接副腎髄質クロマフィン細胞からのカテコラミン分泌を抑制するだけでなく、節前の副腎交感神経終末からの ACh 分泌を抑制することにより、さらに副腎髄質からのカテコラミン分泌を抑制すると考えられた。我々は、先行研究にて節後のクロマフィン細胞からのカテコラミン分泌に L-type Ca^{2+} channel は関与しているが、節前の副腎交感神経終末からの ACh 分泌には、L-type Ca^{2+} channel は関与していないことをすでに報告している。そこで、プロトコール2では、節前の副腎交感神経終末に比べて、節後の副腎髄質クロマフィン細胞の方が Mg^{2+} による影響を受けやすい原因が、電位依存性 Ca^{2+} channel のタイプの違いによるものか検討した。L-type Ca^{2+} channel blocker であるニフェジピンの局所投与下で、low-dose Mg^{2+} は ACh、カテコラミン分泌応答に影響を及ぼさなかったが、high-dose Mg^{2+} は ACh 分泌応答を抑制し、NE、Epi 分泌応答をさらに抑制した。このことから、節前の副腎交感神経終末に比べて、節後の副腎髄質クロマフィン細胞の方が Mg^{2+} の影響を受けやすい原因は、 Ca^{2+} channel のタイプの違いによるものであり、L-type Ca^{2+} channel は non L-type Ca^{2+} channel より Mg^{2+} の影響を受けやすいと推察された。

【結論】 Mg^{2+} 静脈内投与は、副腎髄質において節前の副腎交感神経終末と節後の副腎髄質クロマフィン細胞の両部位に作用し、節前の ACh 分泌と節後のカテコラミン分泌の両方を抑制するが、L-type Ca^{2+} channel により制御されているカテコラミン分泌は、non L-type Ca^{2+} channel により制御されている ACh 分泌より Mg^{2+} の影響を受けやすいと考えられた。

学位論文審査の結果の要旨

整理番号	695	氏名	小牧 史明
論文審査委員			
(学位論文審査の結果の要旨)			
<p>マグネシウム (Mg) による交感神経抑制作用機序を明らかにする目的で、副腎からのカテコラミン (CA) 分泌に焦点を絞り、ラット副腎交感神経刺激で生じるアセチルコリン (ACh) および CA 分泌量をマイクロダイアリシス法で測定し、以下の結果を得た。</p> <ol style="list-style-type: none">1) 低用量 (25 $\mu\text{mol/kg/min}$) MgSO_4 の静注により心拍数及び血圧は低下した。神経刺激による心拍数低下、血圧上昇及び ACh 分泌には影響なく、CA 分泌を 20-30% 抑制した。2) 高用量 (50 $\mu\text{mol/kg/min}$) MgSO_4 の静注により心拍数及び血圧はさらに低下した。神経刺激による心拍数や血圧の変化も減弱し、ACh 分泌量を 25%、CA 分泌を 45-60% 抑制した。3) ニフェジピンの局所投与により、神経刺激による ACh 分泌には影響なく、CA 分泌が抑制された。さらに低用量 MgSO_4 を静注しても CA 分泌には変化なく、高用量 MgSO_4 では ACh 及び CA 分泌を共に抑制した。 <p>したがって、Mg は副腎からの CA 分泌と支配神経からの ACh 分泌を共に抑制するが、L 型 Ca チャネルにより制御される CA 分泌の方を、非 L 型 Ca チャネルにより制御される ACh 分泌よりも強く抑制する。</p> <p>本論文は、Mg による交感神経抑制機序について新しい知見を与えたものであり、最終試験として論文内容に関連した試問を受け合格したので、博士 (医学) の学位論文に値するものと認められた。</p>			
(総字数 600)			
(平成 25 年 9 月 4 日)			