

Title	High magnesium concentration inhibits ligand-stimulated calcium influx and hormone secretion in rat pituitary lactotropes with involvement of intracellular free magnesium.
Author(s)	笠原, 幹司
Citation	大阪大学, 1994, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/38657
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について〈/a〉をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名	笠原幹司
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 11164 号
学位授与年月日	平成6年3月15日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文名	High magnesium concentration inhibits ligand-stimulated calcium influx and hormone secretion in rat pituitary lactotropes with involvement of intracellular free magnesium. (高マグネシウム条件下における刺激下垂体細胞のカルシウムイオン動態及びホルモン分泌の抑制)
論文審査委員	(主査) 教授 谷澤 修 (副査) 教授 網野 信行 教授 福田 淳

論文内容の要旨

【目的】

細胞内 Ca^{2+} は、細胞機能の発現に際して重要な役割を果たしていることはよく知られているが、2価の陽イオンの Mg^{2+} は、細胞内の多数の酵素反応の補酵素であるにもかかわらずその動態は不明な点が多い。特に、高マグネシウム状態は、細胞機能に対して抑制的に働くことが多く、子宮筋、心筋、膵分泌細胞等において報告されている。しかしその抑制機構は完全には解明されていない。本研究では、下垂体細胞刺激下のホルモン分泌に際して細胞内 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} の動態、及びイノシトール3リン酸の産生を測定することにより高マグネシウム状態の細胞機能抑制機構の解明を目的とした。

【方法ならびに成績】

まず、細胞内 Ca^{2+} 濃度 = $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 、細胞内 Mg^{2+} 濃度 = $[\text{Mg}^{2+}]_i$ 、細胞外 Ca^{2+} 濃度 = $[\text{Ca}^{2+}]_e$ 、細胞外 Mg^{2+} 濃度 = $[\text{Mg}^{2+}]_e$ と略記することとする。

① TRH の Ca^{2+} 動態に及ぼす影響

$[\text{Ca}^{2+}]_i$ 及び $[\text{Mg}^{2+}]_i$ は、蛍光色素 fura-2, mag-fura-2 を使用し画像処理機能付蛍光顕微鏡にて測定した。 $[\text{Ca}^{2+}]_e$ 存在下、非存在下及び $[\text{Mg}^{2+}]_e$ 正常存在下、高濃度存在下に於いて TRH による $[\text{Ca}^{2+}]_i$ の変動は次の如くであった。 $[\text{Ca}^{2+}]_e$ 、 $[\text{Mg}^{2+}]_e$ 正常下では急峻な上昇を認めたが、 $[\text{Ca}^{2+}]_e$ 非存在下及び又は $[\text{Ca}^{2+}]_e$ 存在下かつ $[\text{Mg}^{2+}]_e$ 高濃度下ではそれぞれ37%、38%の上昇にとどまった。

② 高 $[\text{Mg}^{2+}]_e$ の $[\text{Ca}^{2+}]_i$ および $[\text{Mg}^{2+}]_i$ への影響

下垂体細胞から PRL 分泌細胞をセルソーターにて純化、観察細胞が PRL 分泌細胞であることを確認し、高 $[\text{Mg}^{2+}]_e$ 下での $[\text{Ca}^{2+}]_i$ および $[\text{Mg}^{2+}]_i$ を測定した。休止時、下垂体細胞の $[\text{Mg}^{2+}]_i$ は 0.7mM であり $[\text{Mg}^{2+}]_e$ を上昇させると (0.8→10mM) $[\text{Mg}^{2+}]_i$ は15分後から徐々に1.3mM まで上昇した。しかしながら $[\text{Ca}^{2+}]_i$ は、高 $[\text{Mg}^{2+}]_e$ の影響を受けなかった。また TRH 刺激時、 $[\text{Mg}^{2+}]_i$ そのものに変動は認められなかった。

③ 高 $[\text{Mg}^{2+}]_e$ の PRL 分泌に及ぼす影響

$[\text{Ca}^{2+}]_e$ 存在下、非存在下にて高 $[\text{Mg}^{2+}]_e$ の PRL 分泌に及ぼす影響を検討した。まず $[\text{Ca}^{2+}]_e$ 存在下でかつ高 $[\text{Mg}^{2+}]_e$ では、培養下垂体細胞の PRL 基礎分泌量はやや減少を示した。TRH 刺激下では分泌量は明らか

に濃度依存性に減少した。 $[Ca^{2+}]_{ex}$ 非存在下ではPRL分泌量は、休止時及びTRH刺激時共やや減少したが $[Ca^{2+}]_{ex}$ 存在下におけるほど顕著ではなかった。

④高 $[Mg^{2+}]_{ex}$ のTRH刺激によるイノシトール3リン酸(IP_3)産生に及ぼす影響

高 $[Mg^{2+}]_{ex}$ のTRHによる $[Ca^{2+}]_i$ 動員抑制の機序を明らかにするため、TRH投与時の IP_3 産生について $[Ca^{2+}]_{ex}$ 存在下、非存在下にて $[Mg^{2+}]_{ex}$ の影響を検討した。

この結果、高濃度 $[Mg^{2+}]_{ex}$ 下での IP_3 産生量は、 $[Ca^{2+}]_{ex}$ 存在下共に抑制されず、むしろ増加した。

【総括】

高濃度 $[Mg^{2+}]_{ex}$ 下ではTRH刺激下 $[Ca^{2+}]_i$ 上昇とPRL分泌は抑制される。その機序としては IP_3 産生以降のメカニズム、主に細胞外 Ca^{2+} の流入抑制が関与している可能性が示唆された。その作用発現は高 $[Mg^{2+}]_{ex}$ による $[Mg^{2+}]_i$ 上昇に対応していると考えられた。

論文審査の結果の要旨

細胞機能の発現において細胞内カルシウムイオンは、セカンドメッセンジャーとして重要な役割を果たしているが、同じ2価の陽イオンであるマグネシウムイオンは、多数の酵素反応の重要な補酵素であるにもかかわらず、その動態は未だ不明な点が多い。一般に細胞外液の高マグネシウム状態は、細胞機能発現に抑制的に働くことが多いが、細胞内マグネシウムイオンとの関係についての報告は、下垂体細胞において未だなかった。今回笠原君は細胞内マグネシウムイオン濃度を測定し細胞外マグネシウム高濃度状態が、カルシウムイオンの流入を抑制しその抑制には細胞内マグネシウムイオン濃度の上昇が関与している事を初めて明らかにした。これらの知見は細胞外液を高マグネシウム状態におく治療において重要な知見であり学位の授与に値すると考えられる。