

Title	Magnesium sulfate inhibits oxytocin-induced calcium mobilization in human puerperal myometrial cells : Possible involvement of intracellular free magnesium concentration
Author(s)	水木, 次郎
Citation	大阪大学, 1997, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/40423">https://hdl.handle.net/11094/40423</a>
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">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 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	水 木 次 郎
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 2 8 1 2 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 9 年 1 月 31 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	Magnesium sulfate inhibits oxytocin-induced calcium mobilization in human puerperal myometrial cells: Possible involvement of intracellular free magnesium concentration (硫酸マグネシウムによる子宮収縮抑制の作用機序について)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 村 田 雄 二 (副査) 教 授 岡 田 伸 太 郎    教 授 三 木 直 正

## 論 文 内 容 の 要 旨

### [目 的]

硫酸マグネシウムは切迫早産に対する治療薬として臨床応用されているが、その収縮抑制のメカニズムについては、なお不明な点が多い。子宮筋細胞の収縮において細胞内カルシウムイオン濃度の上昇が主要なメッセンジャーと考えられており、我々はヒト子宮筋培養細胞において、オキシトシンが細胞内カルシウムイオン濃度を上昇させることを報告した。今回、我々はヒト子宮筋培養細胞を用いて、オキシトシンによる細胞内カルシウムイオン濃度上昇に対するマグネシウムの影響を観察し、硫酸マグネシウムの子宮収縮抑制作用のメカニズムについて検討した。

### [方 法]

ヒト子宮筋細胞の分離、培養は以下の通り行った。予定帝王切開の患者に対してインフォームドコンセントの後、帝王切開時に子宮切開創より子宮筋小片を採取し、細切の後、16-18時間0.1%コラゲナーゼにて処理した。ナイロンメッシュを通して得られた子宮平滑筋単離細胞を24-48時間培養後、実験に供した。細胞内カルシウムイオン濃度の測定については、蛍光色素 Indo-1-AM を用いた。Indo-1-AM で37°C、60分間細胞を標識し、画像処理装置付き蛍光顕微鏡で、355 nm の励起光における405 nm と485 nm の蛍光比を測定し分析した。同様に、細胞内マグネシウムイオン濃度の測定については、蛍光色素  $Mg^{2+}$ -fura-2-AM で標識し、335 nm と370 nm の励起光における510 nm の蛍光比を測定し分析した。

### [成 績]

- ① 100 nM オキシトシンの投与によるヒト子宮筋細胞細胞内カルシウムイオン濃度の変動を測定すると、平均して約90 nM の上昇がみとめられた。この上昇は、細胞外液を10 mM 高濃度マグネシウムイオン液に置換し1分後にオキシトシン投与を行った場合には抑制されなかった。しかし、細胞外液を10 mM マグネシウムイオン液に置換し20分後にオキシトシン投与を行った場合には、26%にまで抑制された。この抑制は、ジヒドロピリジン系カルシウムイオンチャネルブロッカーであるニフェジピン $10^{-6}$  M で前処理を行った場合と同等であった。
- ② 細胞外よりのカルシウムイオン流入の影響を除くために細胞外液のカルシウムイオンを除去した場合、オキシト

シンの投与によるヒト子宮筋細胞細胞内カルシウムイオン濃度の上昇は、平均して約15 nMであった。この細胞内貯蔵カルシウムイオンの放出に起因する細胞内カルシウムイオン濃度の上昇分は、細胞外液を10 mM マグネシウムイオン液に置換し20分後にオキシトシン投与を行った場合においても抑制されなかった。

- ③ 通常の細胞外液の状態における、ヒト子宮筋細胞細胞内マグネシウムイオン濃度は、約0.7 mMであった。細胞外液を10 mM マグネシウムイオン液に置換した場合、細胞内マグネシウムイオン濃度は1分後においてはほとんど変動せず、その後徐々に上昇を示し、20分後においては約1.8 mMにまで上昇した。
- ④ ヒト子宮筋細胞細胞内マグネシウムイオン濃度はオキシトシンの投与によっては影響を受けず、変動をみとめなかった。

[総括]

10 mM 高濃度マグネシウムイオン液の条件下においては、オキシトシン刺激による細胞内貯蔵カルシウムイオンの放出は抑制を受けなかったが、細胞外からのカルシウムイオン流入が有意に抑制された。この抑制効果の発現には一定の時間が必要であり、それは、高濃度マグネシウムイオン液による細胞内マグネシウムイオン濃度の上昇に対応していた。これらのことから、硫酸マグネシウムの投与による細胞外マグネシウムイオン濃度の上昇にひきつづいておこる子宮筋細胞内マグネシウムイオン濃度の上昇が、カルシウムイオンチャネルを介した細胞外からのカルシウムイオン流入を阻害し、細胞内カルシウムイオン濃度の上昇に対して抑制効果をもつ可能性が示唆された。以上のメカニズムが、硫酸マグネシウムによる子宮収縮抑制作用に関与していると考えられた。

## 論文審査の結果の要旨

この論文は、オキシトシンによる子宮筋細胞内カルシウムイオン濃度の上昇に対するマグネシウムの影響を検討し、未だ不明な点が多い硫酸マグネシウムの子宮収縮抑制作用の機序を明らかにすることを目的としている。その結果、オキシトシンによる細胞外からのカルシウムイオン流入が高マグネシウム条件下20分で有意に抑制されることが明白に示されている。また、この抑制が子宮筋細胞内マグネシウムイオン濃度の上昇に時間的に対応していることも示されている。

ヒト妊娠子宮筋を用い、子宮筋細胞内マグネシウムイオン濃度に焦点を当て、その上昇が収縮抑制作用に重要な意味を持つ可能性を初めて提起したという点において、この論文は学位の授与に値すると考えられる。