

Ouabain 投与マウスにおけるマグネシウムの挙動

井戸達雄¹⁾, 岩田 鍊¹⁾, 川村美笑子²⁾
(東北大, ¹⁾サイクロトロン RI センター*, ²⁾農学部栄養学**)

Effect of Ouabain on the Behavior of ²⁸Mg in the Mice Myocardium

Tatsuo IDO¹⁾, Ren IWATA, and Mieko KAWAMURA²⁾

¹⁾Radiopharmaceutical Chemistry, Cyclotron and Radioisotope Center, Tohoku University,
Sendai 980-77, JAPAN

²⁾Department of Applied Biochemistry, Faculty of Agriculture, Tohoku University, Sendai 981, JAPAN

Magnesium is essential for maintaining ATPase reaction which is responsible for hydrolyzing ATP to ADP. Ouabain, a specific pump inhibitor, is known to inhibit the ATPase activity. The purpose of this study was to observe the effect of ouabain on magnesium behavior in the mouse myocardium.

Ouabain (0.147mg/mouse) was administered intraperitoneally to ddY male mice (6 weeks old, 25-30g). After the administration of ouabain at intervals of 5, 10, 30, 60, and 120 min., each experimental mouse received a venous injection of ²⁸Mg via the tail. After 10 min. the mice were sacrificed. The uptake of ²⁸Mg in the blood, heart, liver, small intestine, muscle, and bone were then measured. Autoradiography of ²⁸Mg concentrations in the heart was also performed. ²⁸Mg was injected 10 min. after the administration of ouabain. The mice were sacrificed 10 min. after the injection of ²⁸Mg and uptake levels were measured.

Results indicated that the administration of ouabain affected the uptake of ²⁸Mg in the heart and small intestine. Compared to the control, the accumulation of ²⁸Mg showed a substantial decrease within 30 min. after administration. However, after 120 min., the effect of ouabain could not be observed and the accumulation of ²⁸Mg in the heart among the experimental group showed no significant differences. Autoradiographical analysis revealed a low accumulation of ²⁸Mg in the ouabain treated mouse myocardium.

マグネシウム欠乏と心臓病に関して、ここ10年間、疫学調査を始め多くの報告がされている。臨床的には、マグネシウムイオンの投与がカルシウム阻害として働くために心臓不整脈の治療に用いられた経緯もある。細胞レベルでは、イオンポンプを形成する ATPase の活性化作用・カルシウムチャンネル

*所在地：仙台市青葉区荒巻青葉 (〒980-77)

**所在地：仙台市青葉区堤通雨宮町 (〒981)

ブロック作用・ヘキソキナーゼ活性化作用・NMDA受容体チャンネルブロック作用などが重要な役割として知られている。マグネシウムの細胞内濃度は細胞外濃度より約8倍も高く維持されており¹⁾、濃縮の機構に特別のイオンポンプの関与が予測される。一方 Ouabain (強心配糖体) は、ATPase が関与するイオンポンプを阻害する薬剤である。本研究では主に心筋においてマグネシウムの動態が Ouabain の投与によっておこる影響を放射性トレーサー (^{28}Mg) で明らかにし、マグネシウムの細胞への取り込みの機構に対し考察を加えた。

方 法

1) ^{28}Mg トレーサー解析

ddY系雄マウス(6週令25~30g)にOuabain溶液を腹腔内投与(0.1mL, 0.147mg/マウス)²⁾、一定時間経過(5, 10, 30, 120分)後に、サイクロトロンで ^{27}Al (α , dn) ^{28}Mg の核反応により製造した無担体・無塩の ^{28}Mg 生理食塩水液³⁾(0.1mL, $10^5\sim 10^6$ cpm/マウス)を尾静脈投与、10分後にすべての群を屠殺、血液・心臓・肝臓・小腸・大腿部筋肉及び骨への ^{28}Mg の集積を測定した。対象群は、 ^{28}Mg 溶液のみを尾静脈投与10分後に屠殺した。

2) オートラジオグラフィー

Ouabain投与10分後に ^{28}Mg 溶液を投与し、10分後に屠殺し心臓を取り出し、クリオスタットで切り出した $30\mu\text{m}$ のスライスをイメージプレート(Fuji film corp.)に密着させ2日間露出した。画像解析は、BAS-3000装置を使用した。

3) ^{28}Mg ・ ^{45}Ca 二重トレーサー解析

Ouabain腹腔投与10分後に ^{28}Mg ・ ^{45}Ca 混合液(それぞれ 10^5 cpm/マウス)を尾静脈に投与10分後に屠殺、血液・心臓・肝臓・小腸および大腿部筋肉への ^{28}Mg および ^{45}Ca の集積をそれぞれNaIウエル型シンチレーション測定器及び液体シンチレーション測定器で測定した。

結 果

Ouabainを投与したマウスでの心臓・小腸・筋肉・骨・肝臓・血液における ^{28}Mg の集積をコントロールとの比で現したものを表1に示した。いずれの臓器でもOuabainによって ^{28}Mg の集積が低下した。心臓・小腸ではOuabain投与10分後に影響は最大となりその後回復に移り60分後には完全に回復した。大腿筋・骨では投与直後(5分)より影響を受けゆっくり回復して120分後には正常に戻った。血液・肝臓では影響は心臓より遅れて起こり、30分後に最大となり60分で回復した。しかし肝臓では60分においてコントロールよりはるかに高い集積(1.8倍)が認められた。このオーバーシュートは120分後には正常に戻った。

Ouabain投与10分後における ^{28}Mg のAutoradiogramの解析でも心筋への ^{28}Mg の集積は対照の0.54倍という低い値を示した。

さらにOuabain投与10分後におけるMg, Ca同時動態を調べる目的で行った ^{28}Mg - ^{45}Ca 二重トレーサー実験の結果を表2に示した。OuabainによるCaチャンネルの阻害の為Caが細胞から汲み出さ

Table 1. Effect of ouabain on ²⁸Mg uptake in Mice

Organs	5min	10min	30min	60min	120min
Heart	0.69	0.50	0.59	1.02	1.07
S. Intestine	0.75	0.36	0.56	1.06	1.15
Muscle	0.61	0.70	0.91	0.88	1.29
Bone	0.54	0.70	0.79	0.87	1.24
Blood	0.91	0.73	0.47	0.98	1.17
Liver	0.95	0.66	0.69	1.76	0.80

*time(min) : after injection of ouabain

*data is shown as relative uptake ratio

*uptake ratio = DAR of treated animal/DAR of control group

$$\text{DAR} = \frac{\text{radioactivity of organ/organ weight}}{\text{radioactivity injected/body weight}}$$

Table 2. Double tracer analysis of ouabain effects on Mg-Ca uptake in organs

	Heart	S.Intestine	Muscle	Liver	Blood
²⁸ Mg	0.48	0.83	1.04	0.67	1.18
⁴⁵ Ca	1.67	1.41	1.56	2.01	1.28

*10 min after injection of ouabain

*data is shown as relative uptake ratio

*uptake ratio = DAR of treated group/DAR of control group

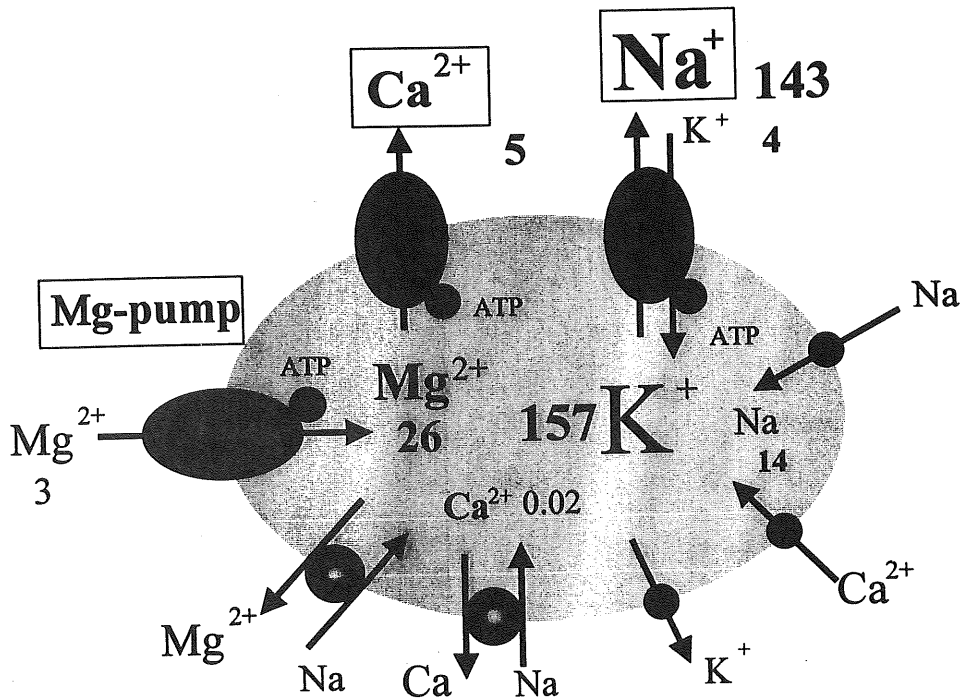


Fig. 1 Mechanism of Mg transfer into cell (numerical unit = meq/l)

れず濃度勾配によってCaが流入し、いずれの臓器においても ^{45}Ca の集積がコントロールに比べて高い値を示した。この時心筋においてはMgの取り込みが阻害され ^{28}Mg は低い集積率であった。

結 論

Mgの心筋への集積はOuabainの腹腔内投与によって阻害を受けるが、この影響は時間と共に回復する。

Ouabain投与によりCaの細胞からの流出が阻害を受ける状態で、Mgの細胞内への流入が阻害を受ける。

以上から、Mgの細胞内での高い濃度勾配は、図に示した様なMg-ポンプを介した能動輸送による可能性が強く示唆された。今後この仮説を更に明白にする為に、種々のイオンチャンネル阻害剤存在下細胞レベルにおいての検討を進めていく。

文 献

- 1) Smith E.L., Hill R.L., Lehman I.R., Lefkowitz R.J., Handler P. and White A. (1983) : Principles of Biochemistry : Mammalian Biochemistry 7th ed, McGraw-Hill, New York : pp141-207
- 2) Navaratnam S. and Khatter J.C. (1989) Arch. Int. Pharmacodyn. Ther. 301 : 151
- 3) Iwata R., Kawamura M., Ido T. and Kimura S. (1992) J. Radioanal. Chem., 159 : 233