

助成番号 0632

## マグネシウム静脈内投与の副腎交感神経節伝達に及ぼす影響

秋山 剛, 山崎 登自

国立循環器病センター研究所・心臓生理部

**概要** 【背景】  $Mg^{2+}$  は L-type  $Ca^{2+}$  channel current だけでなく N-type  $Ca^{2+}$  channel current も抑制し、交感神経終末からの norepinephrine (NE) 分泌を抑制することが示唆されている。我々は、節前の副腎交感神経神経終末において ACh 分泌に関与する  $Ca^{2+}$  channel の type は N-と P/Q-type であり、L-type は関与していないことを報告した。

【目的】  $Mg^{2+}$  は節前の副腎交感神経神経終末からの ACh 分泌を抑制することによって、副腎髄質からの catecholamine 分泌を抑制する可能性があると考え、 $Mg^{2+}$  の副腎交感神経節伝達に及ぼす影響を調べた。

【方法】 麻酔下ラットの左副腎髄質にマイクロダイアリス法を用い、節前の副腎交感神経終末からの acetylcholine (ACh) 分泌、および節後の副腎髄質クロマフィン細胞からの NE, epinephrine (Epi) 分泌をモニターし、 $MgSO_4$  静脈内投与による影響を調べた。

【結果】  $MgSO_4$  静脈内投与 (25  $\mu\text{mol/kg/min}$ , 30 min) では、血中  $Mg^{2+}$  濃度は  $0.92 \pm 0.04$  から  $2.47 \pm 0.07$  mM に上昇し、左 splanchnic nerve の電気刺激 (10 V, 4 Hz, 2 min) による NE 分泌は  $\sim 27\%$ 、Epi 分泌は  $\sim 16\%$  抑制されたが、ACh 分泌は変化しなかった。 $MgSO_4$  の静脈内投与 (50  $\mu\text{mol/kg/min}$ , 30 min) では、血中  $Mg^{2+}$  濃度は  $0.86 \pm 0.03$  から  $3.84 \pm 0.22$  mM に上昇し、神経電気刺激による ACh 分泌は  $\sim 24\%$ 、NE 分泌は  $\sim 58\%$ 、Epi 分泌は  $\sim 44\%$  抑制された。また、 $MgSO_4$  の静脈内投与 (50  $\mu\text{mol/kg/min}$ , 30 min) では、ACh (1 mM) の局所投与による NE 分泌は  $\sim 37\%$ 、Epi 分泌は  $\sim 23\%$  抑制された。 $Na_2SO_4$  静脈内投与 (50  $\mu\text{mol/kg/min}$ , 30 min) では、神経電気刺激による ACh、NE、Epi 分泌は抑制されなかった。また、 $MgSO_4$  (50  $\mu\text{mol/kg/min}$ , 30 min) と同時に  $CaCl_2$  (50  $\mu\text{mol/kg/min}$ , 30 min) を静脈内投与すると、神経電気刺激による ACh、NE、Epi 分泌は抑制されなかった。

【結論】  $Mg^{2+}$  は副腎交感神経節の節前・節後の両部位に作用して副腎髄質からのカテコラミン分泌を抑制するが、節後に比べて節前は  $Mg^{2+}$  の影響を受けにくい。また、 $Ca^{2+}$  は  $Mg^{2+}$  によるその抑制作用を減弱させる。

## 1. 研究目的

$Mg^{2+}$  に血圧降下作用があることはよく知られており、この血圧降下作用は、主として  $Mg^{2+}$  が血管平滑筋細胞に存在する L-type  $Ca^{2+}$  channel からの  $Ca^{2+}$  流入を抑制することによって血管平滑筋の収縮を抑制して血管拡張を引き起こすことによると考えられている<sup>(4, 8)</sup>。しかし、 $Mg^{2+}$  は non-specific  $Ca^{2+}$  channel antagonist であり、近年 in vitro の実験において、 $Mg^{2+}$  が交感神経終末において N-type  $Ca^{2+}$  channel からの  $Ca^{2+}$  流入を抑制し、norepinephrine (NE) 分泌を抑制することでも降圧作用を発揮することが新たに示唆されている<sup>(6)</sup>。

我々は、麻酔下ラットの副腎髄質に microdialysis 法を用い、節前の副腎交感神経終末からの acetylcholine (ACh) 分泌と節後の副腎髄質クロマフィン細胞からの catecholamine 分泌、すなわち副腎交感神経節における

input と output である神経伝達物質分泌を同時モニターすることに成功し、副腎交感神経節伝達を in vivo にて評価する方法を確立した<sup>(2)</sup>。さらに、同法を用い、節前の副腎交感神経神経終末において ACh 分泌に関与する  $Ca^{2+}$  channel の type は N-と P/Q-type であり、L-type は関与していないことを明らかにした<sup>(3)</sup>。

以上より、in vivo において  $Mg^{2+}$  は、節前の交感神経終末の  $Ca^{2+}$  channel に作用し、ACh 分泌を抑制することで交感神経節伝達を抑制する可能性があり、副腎髄質に microdialysis 法を用いることにより解明できると考えた。今回、麻酔下ラットの副腎髄質に microdialysis 法を用いることにより、 $Mg^{2+}$  の静脈内投与が節前の交感神経終末からの ACh 分泌、および節後の副腎髄質からの catecholamine 分泌に及ぼす影響を調べた。

## 2. 研究方法

### 2.1 実験準備

実験動物の取り扱いはずべて日本生理学会動物実験倫理規定にしたがい、実験は国立循環器病センター実験動物委員会の許可を得て行った。

Wister ラット(380-460 g)をネンブタール腹腔内投与(50 - 55 mg/kg)により麻酔し、気管切開後、respirator に接続し人工呼吸下においた。右外頸静脈および右内頸動脈ラインを確保し、ネンブタールを持続静注(15-25 mg/kg/hr iv)して麻酔を維持し、動脈圧をモニターした。また、心電図、食道温をモニターし、食道温は heating pad にて 37-38 °C に保った。右側臥位にて左副腎および左 splanchnic nerve を観察できるように左側腹部を開腹し、左 splanchnic nerve を切断した。

### 2.2 microdialysis technique

使用した dialysis probe は transverse type で、半透膜チューブ(0.32 mm OD, and 0.25 mm ID; PAN-DX 100,000 mol wt 100% cutoff, Asahi Chemical)の両端にポリエチレンチューブ(25-cm length, 0.5 mm OD, and 0.2 mm ID)が接着されており、半透膜部分の長さは 3 mm<sup>(2)</sup>。ガイド針を用いて左副腎髄質に dialysis probe を植え込んだ。

神経電気刺激のプロトコールでは、切断した左 splanchnic nerve の遠位部に刺激電極を装着し、stimulator (SEN-7203, Nihon Kohden)にて 2 分間電気刺激(10 V, 4 Hz, 1 msec in duration)した。dialysis probe の一方より acetylcholinesterase inhibitor, neostigmine (10 μM)を含んだ Ringer's を microinjection pump (CMA/100, Carnegie Medicin)にて 10 μl/min で灌流し、他方より神経刺激前、刺激中の副腎髄質透析液を採取した。sampling time は 2 分、sampling volume は 20 μl で、透析液 ACh 濃度測定のために 10 μl, 透析液 NE, epinephrine (Epi) 濃度測定のために 10 μl を使用した。ACh と catecholamine の測定は、それぞれ別の HPLC で行った。

ACh 投与のプロトコールでは、dialysis probe の一方より Ringer's を灌流し、他方より ACh 投与前、投与中の副腎髄質透析液を採取した。sampling time は 1 分、sampling volume は 10 μl で、透析液 NE, Epi 濃度測定のために 10 μl を使用した。ACh は、ACh(1 mM)を含有した Ringer's solution を dialysis probe を介して 1 分間灌流して局所投与した。

神経刺激前の透析液中 ACh 濃度は測定不能で、刺激中の透析液中 ACh 濃度を、神経刺激による節前の副腎

交感神経終末からの ACh 分泌の指標とした。一方、神経刺激前および ACh 投与前の透析液中 catecholamine 濃度は測定可能で、透析液中 catecholamine 濃度の上昇を節後の副腎髄質クロマフィン細胞からの神経刺激および ACh 投与による catecholamine 分泌の指標とした。

### 2.3 プロトコール

#### 2.3.1 Mg<sup>2+</sup> の神経刺激による ACh および catecholamine 分泌応答に及ぼす影響

MgSO<sub>4</sub> の静脈内投与(25 μmol/kg/min あるいは 50 μmol/kg/min, 30 分間)前後で、動脈血中 Mg<sup>2+</sup> 濃度、血圧、心拍数、神経電気刺激に対する ACh および catecholamine 分泌応答を調べた。また、SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> の影響を調べるために、Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> の静脈内投与(50 μmol/kg/min, 30 分間)前後で、同様の実験を行った。

#### 2.3.2 Mg<sup>2+</sup> の外因性 ACh による catecholamine 分泌応答に及ぼす影響

Mg<sup>2+</sup> の節後副腎髄質クロマフィン細胞に対する直接の影響を調べるために、MgSO<sub>4</sub> 静脈内投与(50 μmol/kg/min, 30 分間)前後で、動脈血中 Mg<sup>2+</sup> 濃度、血圧、心拍数、外因性 ACh に対する節後副腎髄質クロマフィン細胞からの catecholamine 分泌応答を調べた。

#### 2.3.3 Ca<sup>2+</sup> の Mg<sup>2+</sup> による ACh および catecholamine 分泌応答減弱に及ぼす影響

Mg<sup>2+</sup> による副腎交感神経節伝達抑制作用に対して、Ca<sup>2+</sup> が拮抗した作用を持つかどうかを調べるために、MgSO<sub>4</sub> の静脈内投与(50 μmol/kg/min, 30 分間)と同時に CaCl<sub>2</sub> の静脈内投与(50 μmol/kg/min, 30 分間)を行い、その前後で、動脈血中 Mg<sup>2+</sup> および Ca<sup>2+</sup> 濃度、血圧、心拍数、節前神経の電気刺激に対する ACh および catecholamine 分泌応答を調べた。

### 2.4 統計検定

成績は mean ± SE で表示し、統計学的検討には one-way ANOVA with repeated measure と Newman-Keuls test を用いた。

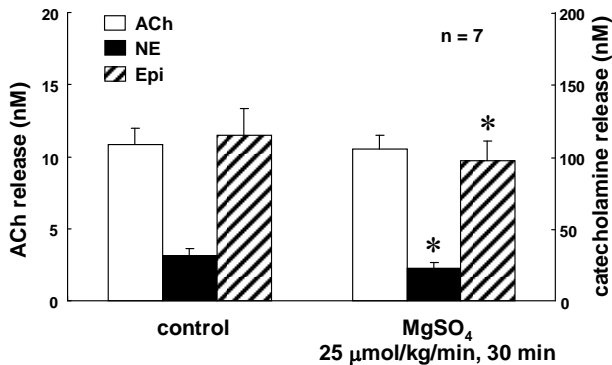
## 3. 研究結果

### 3.1 Mg<sup>2+</sup> の神経刺激による ACh および catecholamine 分泌応答に及ぼす影響

#### 3.1.1 MgSO<sub>4</sub> の静脈内投与(25 μmol/kg/min, 30 min) (n = 7)

MgSO<sub>4</sub> の静脈内投与により、動脈血 Mg<sup>2+</sup> 濃度は 0.92 ± 0.04 から 2.47 ± 0.07 mM に上昇し、心拍数は 452 ± 8 か

ら  $374 \pm 16$  beats/min へ、平均動脈血圧は  $114 \pm 5$  から  $79 \pm 5$  mmHg に低下した。MgSO<sub>4</sub> の静脈内投与により、神経電気刺激前の NE, Epi 分泌は変化しなかった。神経刺激による ACh, NE, Epi の分泌は、投与前それぞれ  $10.8 \pm 1.1$ ,  $31.2 \pm 5.3$ ,  $114.9 \pm 18.1$  nM で、投与後はそれぞれ  $10.5 \pm 1.0$ ,  $22.8 \pm 3.8$ ,  $97.5 \pm 13.6$  nM で、ACh 分泌は変化しなかったが、NE と Epi 分泌は有意に減少した (Fig. 1)。



**Figure 1** Effects of intravenous administration of MgSO<sub>4</sub> (25 μmol/kg/min, 30 min) on the nerve stimulation-induced releases of ACh, NE, and Epi. Administration of MgSO<sub>4</sub> did not change the nerve stimulation-induced ACh release but suppressed the nerve stimulation-induced release of NE and Epi. Values are means ± SE from 7 rats. \*P<0.05 vs. control value. NE, norepinephrine; Epi, epinephrine.

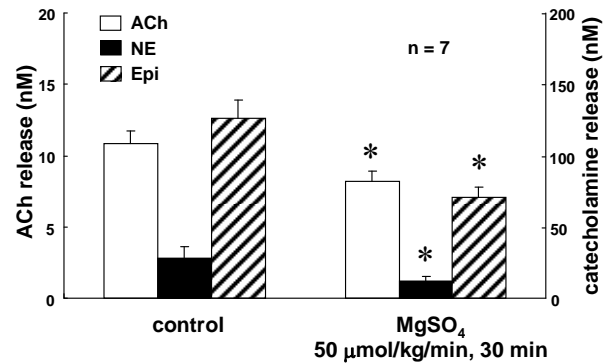
### 3. 1. 2 MgSO<sub>4</sub> の静脈内投与 (50 μmol/kg/min, 30 min) (n = 7)

MgSO<sub>4</sub> の静脈内投与により、動脈血 Mg<sup>2+</sup> 濃度は  $0.86 \pm 0.03$  から  $3.84 \pm 0.22$  mM に上昇し、心拍数は  $432 \pm 7$  から  $317 \pm 9$  beats/min へ、平均動脈血圧は  $122 \pm 3$  から  $69 \pm 4$  mmHg に低下した。MgSO<sub>4</sub> の静脈内投与により、神経電気刺激前の NE, Epi 分泌は変化しなかった。神経刺激による ACh, NE, Epi の分泌は、MgSO<sub>4</sub> の静脈内投与により、それぞれ  $10.8 \pm 0.9$  から  $8.2 \pm 0.8$  nM へ、 $28.4 \pm 7.5$  から  $12.0 \pm 3.1$  nM へ、 $125.9 \pm 13.1$  から  $70.4 \pm 7.6$  nM へ有意に減少した (Fig. 2)。

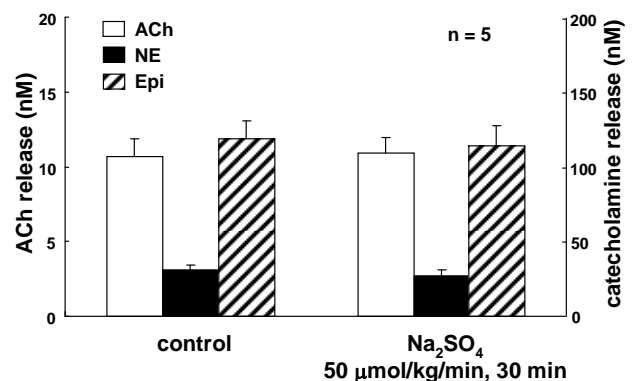
### 3. 1. 3 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> の静脈内投与 (50 μmol/kg/min, 30 min) (n = 5)

心拍数および平均動脈血圧は、Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 投与前それぞれ  $431 \pm 4$  beats/min,  $114 \pm 4$  mmHg で、Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 投与後はそれぞれ  $424 \pm 5$  beats/min,  $116 \pm 7$  mmHg で、有意な変化を認めなかった。Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> の静脈内投与により、神経電気刺激前の NE, Epi 分泌は変化しなかった。神経刺激に

よる ACh, NE, Epi の分泌は、Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 投与前それぞれ  $10.7 \pm 1.2$ ,  $30.7 \pm 3.4$ ,  $118.4 \pm 12.5$  nM で、投与後はそれぞれ  $10.9 \pm 1.0$ ,  $27.2 \pm 3.7$ ,  $113.7 \pm 13.6$  nM でいずれも有意な変化を認めなかった (Fig. 3)。



**Figure 2** Effects of intravenous administration of MgSO<sub>4</sub> (50 μmol/kg/min, 30 min) on the nerve stimulation-induced releases of ACh, NE, and Epi. Administration of MgSO<sub>4</sub> suppressed the nerve stimulation-induced releases of ACh, NE, and Epi. Values are means ± SE from 7 rats. \*P<0.05 vs. control value.

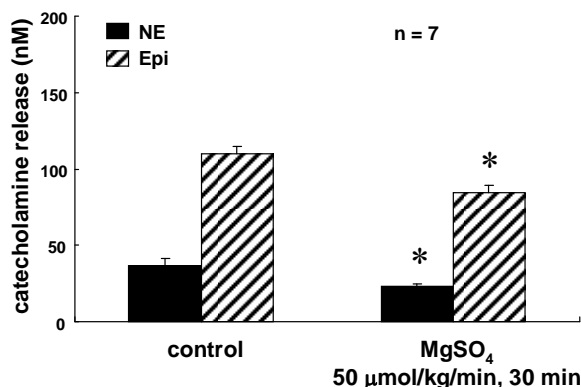


**Figure 3** Effects of intravenous administration of Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (50 μmol/kg/min, 30 min) on the nerve stimulation-induced releases of ACh, NE, and Epi. Administration of Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> did not affect on the nerve stimulation-induced release of ACh, NE, and Epi. Values are means ± SE from 5 rats.

### 3. 2 Mg<sup>2+</sup> の外因性 ACh による catecholamine 分泌応答に及ぼす影響 (n = 7)

MgSO<sub>4</sub> の静脈内投与 (50 μmol/kg/min, 30 min) により、心拍数は  $435 \pm 5$  から  $314 \pm 16$  beats/min へ、平均動脈血圧は  $115 \pm 6$  から  $70 \pm 7$  mmHg に低下した。MgSO<sub>4</sub> の静脈内投与により、神経電気刺激前の NE, Epi 分泌は変化しなかった。ACh 局所投与による NE, Epi の分泌は、それぞれ MgSO<sub>4</sub> の静脈内投与により  $36.3 \pm 5.0$  から  $22.9 \pm 2.1$  nM へ、 $109.9 \pm 5.1$  から  $84.8 \pm 4.5$  nM へ有意に減少した

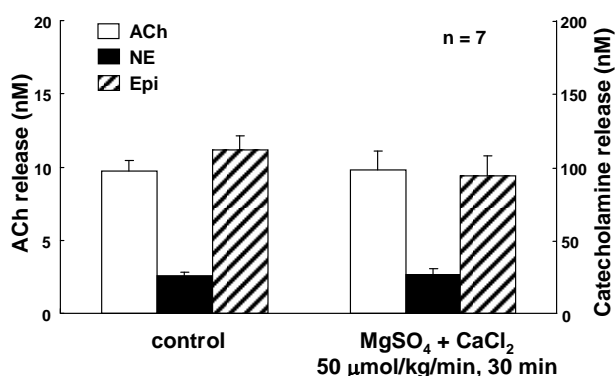
(Fig. 4)。



**Figure 4** Effects of intravenous administration of MgSO<sub>4</sub> (50 μmol/kg/min, 30 min) on the exogenous ACh-induced release of NE and Epi. Administration of MgSO<sub>4</sub> suppressed the exogenous ACh-induced release of NE and Epi. Values are means ± SE from 7 rats. \*P<0.05 vs. control value.

### 3.3 Ca<sup>2+</sup> の Mg<sup>2+</sup> による ACh および catecholamine 分泌応答抑制に及ぼす影響 (n = 7)

MgSO<sub>4</sub> (50 μmol/kg/min, 30 min) と CaCl<sub>2</sub> (50 μmol/kg/min, 30 min) の同時静脈内投与により、動脈血 Mg<sup>2+</sup>濃度は 0.90 ± 0.03 から 4.08 ± 0.24 mM に、動脈血 Ca<sup>2+</sup>濃度は 2.27 ± 0.03 から 5.47 ± 0.18 mM に上昇した。心拍数は 416 ± 5 から 355 ± 8 beats/min へ、平均動脈血圧は 108 ± 5 から 87 ± 5 mmHg に低下した。



**Figure 5** Effects of simultaneous intravenous administration of MgSO<sub>4</sub> (50 μmol/kg/min, 30 min) and CaCl<sub>2</sub> (50 μmol/kg/min, 30 min) on the nerve stimulation-induced releases of ACh, NE, and Epi. Simultaneous administration of MgSO<sub>4</sub> and CaCl<sub>2</sub> did not affect on the nerve stimulation-induced release of ACh, NE, and Epi. Values are means ± SE from 7 rats.

MgSO<sub>4</sub> と CaCl<sub>2</sub> の同時静脈内投与により、神経電気刺激前の NE、Epi 分泌は有意に減少したが、神経刺激による ACh、NE、Epi の分泌は、投与前それぞれ 9.7 ± 0.7、

25.7 ± 2.7、112.0 ± 9.5 nM、投与後はそれぞれ 97.8 ± 1.3、26.3 ± 4.3、94.2 ± 13.6nM でいずれも有意な減少を認めなかった (Fig. 5)。

## 4. 考 察

本研究では、MgSO<sub>4</sub> の静脈内投与による急性血中 Mg<sup>2+</sup>上昇の副腎交感神経節伝達への影響を、麻酔下ラットの副腎髄質に microdialysis 法を用いて検討した。

### 4.1 Mg<sup>2+</sup> の節前副腎交感神経終末からの ACh 分泌に及ぼす影響

神経電気刺激による節前副腎交感神経終末からの ACh 分泌は、MgSO<sub>4</sub> 静脈内投与 (25 μmol/kg/min, 30 min) では影響を受けなかったが、MgSO<sub>4</sub> の静脈内投与 (50 μmol/kg/min, 30 min) では抑制された。また、Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 静脈内投与 (50 μmol/kg/min, 30 min) では、神経電気刺激による ACh 分泌は影響を受けなかったことから、MgSO<sub>4</sub> 静脈内投与による ACh 分泌抑制は、血中 Mg<sup>2+</sup>濃度上昇によるものと考えた。したがって、血中 Mg<sup>2+</sup>濃度上昇は節前副腎交感神経終末からの ACh 分泌を抑制することにより、副腎交感神経節伝達を抑制し、副腎髄質からの catecholamine 分泌を抑制すると考えられた。

我々は、節前副腎交感神経終末において ACh 分泌に関与する Ca<sup>2+</sup> channel の type は N-と P/Q-type であり、L-type は関与していないことをすでに報告している<sup>(3)</sup>。このことから、ACh 分泌抑制は、L-type Ca<sup>2+</sup> channel からの Mg<sup>2+</sup>による Ca<sup>2+</sup>流入抑制作用では説明ができない。近年 in vitro の実験において、Mg<sup>2+</sup>が交感神経終末の N-type Ca<sup>2+</sup> channel からの Ca<sup>2+</sup>流入を抑制することで norepinephrine (NE)分泌を抑制することが報告されており<sup>(6)</sup>、節前副腎交感神経終末において、Mg<sup>2+</sup>は N-あるいは P/Q-type Ca channel から Ca<sup>2+</sup>流入を抑制することにより ACh 分泌を抑制している可能性が示唆された。

### 4.2 Mg<sup>2+</sup> の節後副腎髄質クロマフィン細胞からの catecholamine 分泌に及ぼす影響

神経刺激前および ACh 局所投与前の basal NE および Epi 分泌は MgSO<sub>4</sub> 静脈内投与によって変化しなかった。我々は、これらの basal NE および Epi 分泌は、non-cholinergic で N-, P/Q-, L-type のいずれの Ca<sup>2+</sup> channel antagonist にも反応しないことを報告してきた<sup>(1, 3)</sup>。したがって、これら basal NE および Epi 分泌は、voltage-dependent Ca<sup>2+</sup> channelからの Ca<sup>2+</sup> influx に依存しない catecholamine 分泌である可能性が大きく、Mg<sup>2+</sup>によ

る  $\text{Ca}^{2+}$  channel current 抑制作用の影響を受けなかったと考えられる。

神経電気刺激による節後副腎髄質クロマフィン細胞からの NE および Epi 分泌は、 $\text{MgSO}_4$  静脈内投与 (25  $\mu\text{mol/kg/min}$ , 30 min) により抑制され、 $\text{MgSO}_4$  静脈内投与 (50  $\mu\text{mol/kg/min}$ , 30 min) ではさらに強く抑制された。 $\text{Na}_2\text{SO}_4$  静脈内投与 (50  $\mu\text{mol/kg/min}$ , 30 min) では、神経電気刺激による NE および Epi 分泌は影響を受けなかったことから、 $\text{MgSO}_4$  静脈内投与による NE および Epi 分泌抑制は、血中  $\text{Mg}^{2+}$  濃度上昇によるものと考えた。 $\text{MgSO}_4$  の静脈内投与 (50  $\mu\text{mol/kg/min}$ , 30 min) では、神経刺激による ACh 分泌も抑制されており、この ACh 分泌抑制は結果的に cholinergic receptor を介した節後の NE および Epi 分泌を抑制するので、 $\text{MgSO}_4$  静脈内投与の副腎髄質クロマフィン細胞への直接作用は不明である。しかし、 $\text{MgSO}_4$  静脈内投与 (25  $\mu\text{mol/kg/min}$ , 30 min) では、ACh 分泌は影響を受けずに NE と Epi の分泌だけが抑制され、さらに、外因性の ACh 投与では、 $\text{MgSO}_4$  静脈内投与 (50  $\mu\text{mol/kg/min}$ , 30 min) によって NE および Epi 分泌が抑制された。以上より、 $\text{Mg}^{2+}$  は、節前副腎交感神経終末に作用して ACh 分泌を抑制することにより catecholamine 分泌を抑制するだけでなく、節後の副腎髄質クロマフィン細胞にも直接作用して catecholamine 分泌を抑制すると考えられた。すなわち、 $\text{Mg}^{2+}$  は、節前・節後の両部位に作用して副腎髄質からの catecholamine 分泌を抑制すると考えられた。

$\text{MgSO}_4$  静脈内投与 (25  $\mu\text{mol/kg/min}$ , 30 min) と  $\text{MgSO}_4$  静脈内投与 (50  $\mu\text{mol/kg/min}$ , 30 min) の ACh、NE、Epi 分泌抑制の結果から、節前副腎交感神経終末より節後副腎髄質クロマフィン細胞の方が血中  $\text{Mg}^{2+}$  濃度上昇の影響を受けやすいと考えられる。我々は、節前副腎交感神経終末からの ACh に L-type  $\text{Ca}^{2+}$  channel は関与していないこと、また、節後副腎髄質クロマフィン細胞からの NE、Epi 分泌には L-type が約 30% 関与していることをすでに報告している<sup>(3)</sup>。このことから、 $\text{MgSO}_4$  静脈内投与 (25  $\mu\text{mol/kg/min}$ , 30 min) での NE、Epi 分泌抑制は、節後副腎髄質クロマフィン細胞における L-type  $\text{Ca}^{2+}$  channel からの  $\text{Mg}^{2+}$  による  $\text{Ca}^{2+}$  流入抑制によると推測される。したがって、副腎髄質クロマフィン細胞の L-type  $\text{Ca}^{2+}$  channel は節前副腎交感神経終末の N-や P/Q-type  $\text{Ca}^{2+}$  channel より  $\text{Mg}^{2+}$  の影響を受けやすいのかもしれない。

#### 4.3 $\text{Ca}^{2+}$ の $\text{Mg}^{2+}$ による副腎交感神経節伝達抑制に及ぼす影響

$\text{CaCl}_2$  (50  $\mu\text{mol/kg/min}$ , 30 min) の同時静脈内投与により、神経刺激前の basal NE および Epi 分泌は有意に減少した。 $\text{MgSO}_4$  単独の静脈内投与では変化しないことから、 $\text{CaCl}_2$  単独の作用と考えられる。basal catecholamine 分泌に細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  が関与していて、 $\text{CaCl}_2$  投与により細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  環境が変化したために減少したのかもしれない。しかし、詳しいメカニズムに関しては不明であり、今後の検討を要する。

$\text{CaCl}_2$  (50  $\mu\text{mol/kg/min}$ , 30 min) の同時静脈内投与により、 $\text{Mg}^{2+}$  による節前副腎交感神経終末からの ACh 分泌抑制作用も、節後副腎髄質クロマフィン細胞からの NE、Epi 分泌抑制作用もほぼ消失した。 $\text{Mg}^{2+}$  による  $\text{Ca}^{2+}$  channel current 抑制作用は、external  $\text{Ca}^{2+}$  濃度が高いほど小さいことが報告されており<sup>(7)</sup>、血中  $\text{Ca}^{2+}$  濃度の上昇により、ACh および catecholamine 分泌抑制作用が減弱したと考えられる。single channel study において、 $\text{Mg}^{2+}$  の  $\text{Ca}^{2+}$  channel current 抑制作用の一つのメカニズムとして、 $\text{Mg}^{2+}$  が  $\text{Ca}^{2+}$  channel 内の結合部位に対して  $\text{Ca}^{2+}$  と競合するために  $\text{Ca}^{2+}$  current の抑制が起こることが提唱されている<sup>(5)</sup>。われわれの結果は、間接的にこれらの報告に合致するものであり、 $\text{Ca}^{2+}$  が  $\text{Ca}^{2+}$  channel において  $\text{Mg}^{2+}$  と拮抗的に働くことで、 $\text{Mg}^{2+}$  の  $\text{Ca}^{2+}$  channel current 抑制作用が減弱したと推察された。

#### 5. 今後の課題

今回、血中  $\text{Mg}^{2+}$  上昇の副腎交感神経節伝達への急性効果を調べたが、 $\text{Mg}$  欠乏食および  $\text{Mg}$  多含有食によって血中  $\text{Mg}^{2+}$  の低下および上昇した慢性ラットモデルを作成することにより、副腎交感神経節伝達への血中  $\text{Mg}^{2+}$  の低下および上昇の慢性効果を検討する必要があると考えている。

#### 文献

1. Akiyama T, Yamazaki T, Mori H, and Sunagawa K. Inhibition of cholinesterase elicits muscarinic receptor-mediated synaptic transmission in the rat adrenal medulla. *Auton. Neurosci.* 107: 65-73, 2003.
2. Akiyama T, Yamazaki T, Mori H, and Sunagawa K. Simultaneous monitoring acetylcholine and catecholamine release in the in vivo rat adrenal medulla.

- Neurochem. Int.* 44: 497-503, 2004.
3. Akiyama T, Yamazaki T, Mori H, and Sunagawa K. Effects of  $\text{Ca}^{2+}$  channel antagonists on acetylcholine and catecholamine releases in the in vivo rat adrenal medulla. *Am. J. Physiol.* 287: R161-166, 2004.
  4. Altura BM, Altura BT, Carella A, Gebrewold A, Murakawa T, Nishio A.  $\text{Mg}^{2+}$ - $\text{Ca}^{2+}$  interaction in contractility of vascular smooth muscle:  $\text{Mg}^{2+}$  vs. organic calcium channel blockers on myogenic tone and agonist-induced responsiveness of blood vessels. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 65: 729-745, 1987.
  5. Lansman JB, Hess P, and Tsien RW. Blockade of current through single calcium channels by  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ , and  $\text{Ca}^{2+}$ . *J. Gen. Physiol.* 88: 421-346, 1986.
  6. Shimosawa T, Takano K, Ando K, and Fujita T. Magnesium inhibits norepinephrine release by blocking N-type calcium channels at peripheral sympathetic nerve endings. *Hypertension* 44: 897-902, 2004.
  7. Wu J and Lipsius SL. Effects of extracellular  $\text{Mg}^{2+}$  on T- and L-type  $\text{Ca}^{2+}$  currents in single atrial myocytes. *Am. J. Physiol.* 259: H1842-1850, 1990.
  8. Zhang J, Berra-Romani R, Sinnegger-Brauns MJ, Striessnig J, Blaustein MP, and Matteson DR. Role of  $\text{CaV}1.2$  L-type  $\text{Ca}^{2+}$  channels in Vascular tone: effects of nifedipine and  $\text{Mg}^{2+}$ . *Am. J. Physiol.* 292: H415-425, 2007.

No. 0632

## Effects of Intravenous $Mg^{2+}$ Infusion on Adrenal Sympathetic Ganglionic Transmission

Tsuyoshi Akiyama and Toji Yamazaki

National Cardiovascular Center Research Institute  
Department of Cardiac Physiology

### Summary

**Background:** It has been suggested that  $Mg^{2+}$  suppress norepinephrine (NE) release from sympathetic nerve endings by inhibition of N-type  $Ca^{2+}$  channel current. We have reported that both N- and P/Q-type  $Ca^{2+}$  channels control acetylcholine (ACh) release on the pre-ganglionic splanchnic nerve endings while L-type  $Ca^{2+}$  channels do not.

**Purpose:**  $Mg^{2+}$  may inhibit ACh release from pre-ganglionic splanchnic nerve endings, leading to the suppression of catecholamine release from adrenal medulla. Then we examined the effects of  $Mg^{2+}$  on the adrenal ganglionic transmission.

**Methods:** We applied microdialysis technique to the left adrenal medulla of anesthetized rats and monitored ACh release from pre-ganglionic splanchnic nerves and NE and epinephrine (Epi) release from adrenal chromaffin cells. We investigated the effects of intravenous administration of  $MgSO_4$  on the release of ACh, NE, and Epi.

**Results:** Intravenous administration of  $MgSO_4$  (25  $\mu\text{mol/kg/min}$  for 30 min) increased plasma  $Mg^{2+}$  levels from  $0.92 \pm 0.04$  to  $2.47 \pm 0.07$  mM and suppressed the nerve stimulation (10 V, 4 Hz, 2 min)-induced release of NE by ~27% and Epi by ~16%, but did not change ACh release. Intravenous administration of  $MgSO_4$  (50  $\mu\text{mol/kg/min}$  for 30 min) increased plasma  $Mg^{2+}$  levels from  $0.86 \pm 0.03$  to  $3.84 \pm 0.22$  mM and suppressed the nerve stimulation-induced release of ACh by ~24%, NE by ~58%, and Epi by ~44%. Intravenous administration of  $MgSO_4$  (50  $\mu\text{mol/kg/min}$  for 30 min) also suppressed the exogenous ACh-induced release of NE by ~37% and Epi by ~23%.  $Na_2SO_4$  (50  $\mu\text{mol/kg/min}$  for 30 min) did not change the nerve stimulation-induced release of ACh, NE, Epi. Simultaneous administration of  $CaCl_2$  (50  $\mu\text{mol/kg/min}$  for 30 min) with  $MgSO_4$  (50  $\mu\text{mol/kg/min}$  for 30 min) reduced the suppression by  $MgSO_4$  of nerve stimulation-induced release of ACh, NE, and Epi.

**Conclusions:**  $Mg^{2+}$  acts on both pre- and post-ganglionic sites of adrenal sympathetic ganglion and inhibits catecholamine release from adrenal medulla, but post-ganglionic site is more sensitive to  $Mg^{2+}$  than pre-ganglionic site. Administration of  $Ca^{2+}$  reduces this inhibitory action of  $Mg^{2+}$ .