

マグネシウム欠乏ラットおよびマウスの肝 tryptophan oxygenase 活性に関する比較生化学的研究

宮尾 陟・河内泰英*・西尾 晃・石黒 茂

(家畜薬理学研究室)

昭和59年7月30日 受理

Comparative Biochemical Studies on the Liver Tryptophan Oxygenase Activity of Magnesium-Deficient Rats and Mice

Noboru MIYAO, Yasuhide KOCHI, Akira NISHIO
and Shigeru ISHIGURO

(Laboratory of Veterinary Pharmacology)

緒 言

マグネシウム (Mg) 欠乏が下垂体-副腎系に及ぼす影響については、ラットで2, 3の報告がみられ、Elin ら⁴⁾はラットの欠乏20日目に副腎重量の有意の増加があり、とくに Mg 欠乏時に ACTH を投与すると著明で、これは Mg 欠乏が内因性の ACTH の産生、遊離を増強させるためとしている。また Mg 欠乏動物では血漿、尿中の histamine が上昇する^{1,11)}が、これが下垂体からの ACTH 分泌を刺激することも考えられるとしている。一方 Hungerford and Karson⁶⁾や Solounias and Schwartz²¹⁾は、Mg 欠乏が副腎重量に変化を与えなかったと報告している。

Mg 欠乏後の血漿 corticosterone について、Elin ら⁴⁾は欠乏20日目に有意の上昇を認めているが、Richer ら¹⁷⁾は有意の低下、Solounias and Schwartz²¹⁾は有意ではないがゆるやかな低下があったとしている。

このように Mg 欠乏が下垂体-副腎系に及ぼす影響については反対の観察があり、いまだ明確にされていない。またマウスはラットに比べて一般に副腎皮質のストレスに対する反応性が鈍いことが示唆されている¹⁵⁾が、上述の影響についてはほとんど観察されていない。この点を肝 tryptophan oxygenase (EC 1, 13, 1, 12, TO) を示標として、急性 Mg 欠乏の影響を両動物について比較検討した。

材 料 と 方 法

1. 使用動物

4~6週齢の Wistar 系ラット (体重150~250g) と、ICR-JCL マウス (体重25~30g) の雄を使用し

* 大鵬薬品株式会社 Taihō Pharmaceutical Co., Ltd., Kawachi Cho, Tokushima

た。両者とも金網ケージに入れ、0.07%の Mg を含有する合成粉末飼料で3日間の予備飼育の後、対照群と欠乏群に分離した。対照群は同一飼料、欠乏群は0.001%の Mg を含む合成飼料で飼育した。これらの飼料組成は別報¹⁵⁾のとおりである。飲料水は脱イオン水を任意に与えた。

2. 方 法

ラット肝の TO 活性は homogenate (約12.5%肝) について Knox⁸⁾ に準じて測定した。一部は酸化型の Holo 酵素 (不活性) を、還元型の Holo 酵素 (活性) にして測定する方法¹⁰⁾によった。マウス肝の TO 活性は Knox ら¹⁰⁾の方法を基にして、マウス用に修正した方法¹³⁾を用いて測定した。

血漿 corticosterone (CSR) は、マウスについては Riley and Spackman¹⁸⁾ に準じ、ラットについては Zenker and Bernstein²³⁾ に準じて測定した。

副腎 ascorbic acid (AA) は Maickel¹²⁾ に準じて測定したが、trichloroacetic acid のかわりに metaphosphoric acid を用いた。

L-tryptophan (半井化学薬品, Try) は500mg/kg を、hydrocortisone acetate (和光純薬, HCS) は20mg/kg を、いずれも0.9% NaCl で懸濁液として腹腔内に投与した。

結 果

1. 肝 TO 活性に及ぼす Mg 欠乏の影響

Mg 欠乏後3, 6, 9, 12, 16日のラット肝 TO 活性を Table 1 に示した。Total I 酵素活性は hematin 添加後の活性で、Total II 酵素活性は酸化型 Holo 酵素を還元型 Holo 酵素に換えてまとめて測定したもので、先に Miyao ら¹⁴⁾が whole 酵素活性と呼んだものである。Total I, Apo 酵素が欠乏9日か

Table 1. Effect of magnesium deficiency on liver tryptophan Oxygenase activity in the rat

	Days of Deficiency	Total I enzyme	Holo enzyme	Total II enzyme	
				Apo enzyme	(kynurenine $\mu\text{M/g/h}$)
Control	0 (4)	2.57 \pm 1.09	1.42 \pm 0.74	1.14 \pm 0.47	3.65 \pm 0.25
	6 (6)	2.97 \pm 0.47	1.86 \pm 0.47	1.04 \pm 0.04	4.89 \pm 0.99
Deficiency	3 (4)	3.12 \pm 0.46	1.48 \pm 0.53	1.83 \pm 0.16	4.69 \pm 0.59
	6 (4)	3.42 \pm 0.97	1.75 \pm 0.36	1.84 \pm 0.38	6.31 \pm 1.35
	9 (4)	5.16 \pm 0.79 ^{*2}	2.43 \pm 0.65	2.62 \pm 0.50 ^{*2}	6.28 \pm 0.64
	12 (4)	5.83 \pm 0.15 ^{*2}	3.75 \pm 0.24 ^{*2}	2.08 \pm 0.39 ^{*1}	7.19 \pm 1.28
	16 (4)	7.14 \pm 1.06 ^{*2}	3.78 \pm 0.21 ^{*2}	3.36 \pm 0.86 ^{*2}	7.16 \pm 1.30

(): Number of rats.

^{*1}: Significantly different from the control. ($p < 0.05$)^{*2}: Significantly different from the control. ($p < 0.01$)

Table 2. Effect of magnesium deficiency on liver tryptophan oxygenase activity in the mouse

	Days of Deficiency	Total I enzyme	Holo enzyme	Total II enzyme	
				Apo enzyme	(kynurenine $\mu\text{M/g/h}$)
Control	0 (6)	2.75 \pm 0.56	2.25 \pm 0.56	0.49 \pm 0.19	6.00 \pm 1.17
	6 (6)	2.50 \pm 0.76	2.00 \pm 0.42	0.37 \pm 0.05	5.18 \pm 1.14
	12 (4)	2.47 \pm 0.31	2.06 \pm 0.41	0.43 \pm 0.04	5.19 \pm 0.98
Deficiency	3 (4)	3.07 \pm 0.36	2.37 \pm 0.79	0.67 \pm 0.09	4.81 \pm 0.74
	6 (6)	2.82 \pm 0.36	1.73 \pm 0.33	0.52 \pm 0.16	4.46 \pm 0.90
	9 (4)	3.78 \pm 1.42	2.50 \pm 0.87	0.77 \pm 0.56	5.38 \pm 1.51
	12 (4)	3.10 \pm 0.91	2.17 \pm 0.66	0.93 \pm 0.17 [*]	5.41 \pm 0.42
	16 (4)	3.10 \pm 0.79	1.89 \pm 0.85	1.12 \pm 0.47	4.56 \pm 0.77

(): Number of mice.

^{*}: Significantly different from the control. ($p < 0.01$)

ら, Holo 酵素が欠乏 12 日から対照群に比べて有意に増加し, 欠乏 16 日まで続いた. 増加率は 2~3 倍程度であった. 一方 Total II 酵素活性は欠乏 6 日から増加し, 欠乏 12 日には対照の 2 倍の活性値を示したが, 有意の差ではなかった.

マウスの結果は Table 2 のとおりで, 対照群の TO 活性 (0 日) は, Total I 2.75 \pm 0.56, Holo 2.25 \pm 0.56, Apo 0.49 \pm 0.19, Total II 酵素 6.00 \pm 1.17 であった. ラットに比べて Apo 酵素が少なく Total II 酵素が多いことをはっきり示しており, マウスでは酸化型の Holo 酵素 (不活性) が多いという先の見解¹³⁾ と一致している. Mg 欠乏群では欠乏 12 日に Apo 酵素が有意に増加したほか, 有意の差ではないが欠乏 9 日に Total I 酵素と Holo 酵素の若干の増加がみられた. しかしラットに比べて TO 活性に及ぼす Mg 欠乏の影響は非常にわずかであった.

2. 臓器重量

Fig. 1 にラット肝, 脾, 副腎重量の変化を示した. 腎重量は Mg 欠乏によって全く変化が認められなかったのが省略した. ACTH の分泌刺激で副腎重量の増加がみられるといわれている³⁾ が, 本研究では副腎重量の有意の増加はみられなかった. 脾重量は欠乏 9 日で有意の増加がみられ, 欠乏 6 日から 16 日まで対照の約 2 倍の重量を示した. 肝重量もほとんど変化がなかった.

マウス (Fig. 2) では, 副腎重量はラットと同様, 両群の間で有意の差はみられなかった. 肝重量は欠乏群で欠乏 12, 16 日に有意の減少が, 脾重量は欠乏 9 日に有意の増加がみられた. 腎重量は欠乏 16 日に対照群に対して有意の減少がみられた (図は省略).

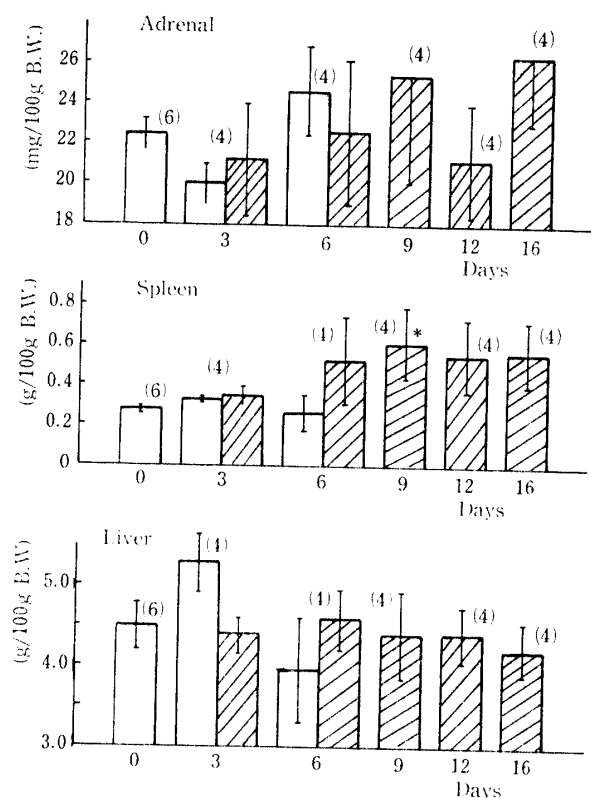


Fig. 1. Organ weights in control and magnesium deficient rats.

□ : Control Vertical bars indicate
 ▨ : Deficiency standard deviation.
 * : Difference from the control, ($p < 0.05$)
 () : Number of animals.

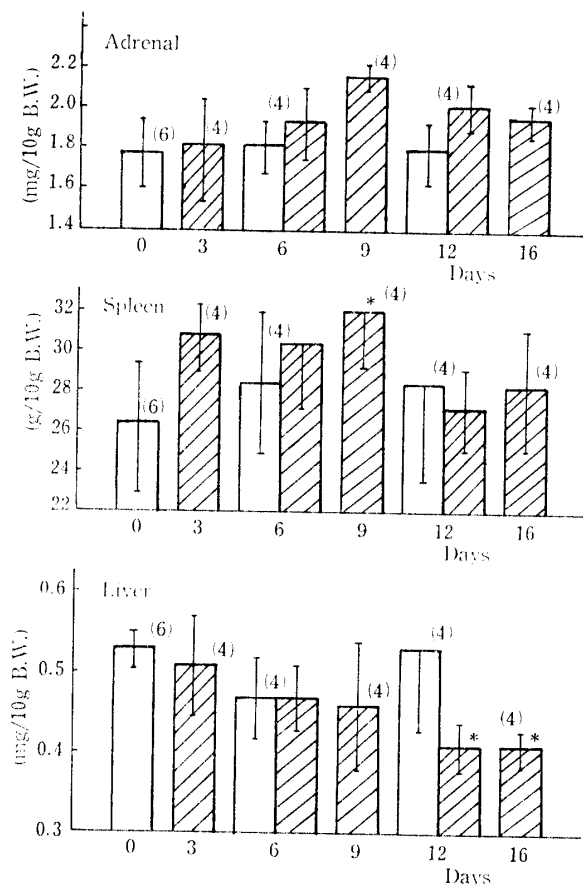


Fig. 2. Organ weights in control and magnesium deficient mice.

□ : Control Vertical bars indicate
 ▨ : Deficiency standard deviation.
 * : Difference from the control, ($p < 0.05$)
 () : Number of animals.

3. 酵素誘導 (基質およびホルモン誘導) 時の肝 TO 活性に及ぼす Mg 欠乏の影響

(1) Try による誘導

Try (500 mg/kg) をラットに腹腔内投与して5時間後の TO 活性を、欠乏食後4, 9, 12日に測定した結果は Table 3 のとおりである。参考のため無処置の値も Table 中に付記した。

対照群では Total I, Apo 酵素が Try 注射によって約3倍, Holo 酵素が約4倍の増加を示した。これに対して Mg 欠乏群では、欠乏後4および9日では各酵素とも対照の場合と同じ程度の増加であるが、12日目ではその増加率がより大きくなり、Apo 酵素が約4倍, Total I, Holo 酵素が約5倍の上昇を示した。したがって Try 処置欠乏群の各酵素活性は、Try 処置対照群に比べて欠乏後4日では有意の差を認めないが、9, 12日目では有意の差を示した。ただし9日目の Holo 酵素活性のみは、偏差が大きく有意の差ではなかった。

前報¹³⁾により正常マウスにおける Try (500 mg/kg) 腹腔内投与後の TO 活性値のタイムコースは2相性を示し、最初の30分後のピークはストレス性のものであり、ethionine で阻害をうける5時間後の活性増加が真の誘導と考えられる。そこでマウスでも Try 投与後5時間の TO 活性を比較した (Table 4)。

対照群では基質の注射によって各酵素とも1.5~2倍程度の活性の上昇がみられたが、その程度はラットに比べるとわずかであった。欠乏群における基質誘導も対照群と大体同程度であったが、欠乏が進むにつれて対照群の場合よりやや上昇が大きい傾向を示した。無処置の場合にはみられなかった Mg 欠乏の影響も、基質誘導の場合には欠乏群で活性の有意の増加が認められた。Total II 酵素以外の各酵素とも欠乏4日から同程度の活性の上昇がみられ、とくに9日目の上昇が大きく、9日目では Total II 酵素も有意の増加を示している。無処置群の場合も有意ではないが欠乏9日

Table 3. Effect of magnesium deficiency on rat liver tryptophan oxygenase activity 5 hours after the intraperitoneal injection of L-tryptophan (500mg/kg B.W.)

Treatment		Days of Deficiency	Total I enzyme	Holo enzyme (kynurenine μ M/g/h)	Apo enzyme
Control	Intact	0 (4)	2.57±1.09	1.42±0.74	1.14±0.47
	Tryptophan	4 (4)	9.74±1.76	6.20±0.66	3.40±0.90
		9 (4)	8.90±0.48	5.74±0.86	3.21±1.10
		12 (4)	9.11±0.98	6.01±0.56	3.28±0.56
Deficiency	Intact	3 (4)	3.12±0.46	1.48±0.53	1.83±0.16
		9 (4)	5.16±0.79	2.43±0.65	2.62±0.50
		12 (4)	5.83±0.15	3.75±0.24	2.08±0.39
	Tryptophan	4 (4)	10.27±1.50	6.61±0.72	3.66±1.33
		9 (4)	15.03±2.85 ^{*1}	8.78±3.18	6.24±0.77 ^{*2}
		12 (4)	25.32±2.14 ^{*2}	17.34±1.55 ^{*2}	7.98±0.81 ^{*2}

(): Number of rats.

^{*1}: Significantly different from the control values treated with L-tryptophan. (p<0.05)^{*2}: Significantly different from the control values treated with L-tryptophan. (p<0.01)

Table 4. Effect of magnesium deficiency on mouse liver tryptophan oxygenase activity 5 hours after the intraperitoneal injection of L-tryptophan (500mg/kg B.W.)

Treatment		Days of Deficiency	Total I enzyme	Holo enzyme	Apo enzyme	Total II enzyme (kynurenine μ M/g/h)
Control	Intact	0 (6)	2.75±0.56	2.25±0.56	0.49±0.19	6.00±1.17
	Tryptophan	4 (4)	4.34±0.68	3.92±0.49	0.63±0.20	10.21±2.93
		6 (4)	3.81±0.26	2.83±0.51	0.98±0.36	11.48±1.42
		9 (4)	4.47±0.36	3.67±0.38	0.84±0.06	10.12±0.70
Deficiency	Intact	4 (4)	3.07±0.36	2.37±0.79	0.57±0.09	4.81±0.74
		6 (4)	2.82±0.36	1.73±0.33	0.52±0.16	4.46±0.90
		9 (4)	3.78±1.42	2.50±0.87	0.77±0.56	5.38±1.51
	Tryptophan	4 (4)	6.76±0.19 ^{*2}	5.53±0.35 ^{*2}	1.21±0.45 ^{*1}	9.83±1.07
		6 (4)	5.53±0.22 ^{*2}	4.27±0.19 ^{*2}	1.23±0.18	9.61±0.11
		9 (4)	7.94±1.45 ^{*2}	5.96±1.85	1.98±0.57 ^{*2}	15.88±0.29 ^{*2}

(): Number of mice.

^{*1}: Significantly different from the control values treated with L-tryptophan. (p<0.05)^{*2}: Significantly different from the control values treated with L-tryptophan. (p<0.01)

で若干の活性の上昇が認められるから、無処置のマウスではごくわずかであった Mg 欠乏の影響が、基質誘導の場合にはよりはっきりすることを示している。

(2) HCS による誘導

HCS (200 mg/kg) をラットに腹腔内投与後3時間の TO 活性の結果は Table 5 のとおりである。対照群では HCS 処置により Holo 酵素活性で約3~4倍、Total I 酵素活性で3.5~4倍の増加を示した。これ

に対して欠乏群では、Holo 酵素活性は欠乏4~12日を通じて約2~3倍、Total I 酵素活性は約3倍の増加であった。したがって HCS 処置後の活性を対照群と欠乏群で比較すると、Holo 酵素活性は両群で有意の差は認められず、Total I 酵素活性は欠乏4日目には有意の差はなかったが、9、12日目には欠乏群で有意に増加した。

ラットと同様に HCS 処置したマウスにおける結果

Table 5. Effect of magnesium deficiency on rat liver tryptophan oxygenase activity 3 hours after the intraperitoneal injection of hydrocortisone (20mg/kg B.W.)

Treatment	Days of Deficiency	Total I enzyme	Holo enzyme (kynurenine μ M/g/h)		Apo enzyme
Control	Intact	0 (4)	2.57 \pm 1.09	1.42 \pm 0.74	1.14 \pm 0.47
	Hydrocortisone	4 (4)	8.91 \pm 1.36	4.12 \pm 0.95	4.18 \pm 1.04
		9 (4)	9.94 \pm 0.69	6.29 \pm 0.47	3.67 \pm 0.86
		12 (4)	10.47 \pm 0.32	6.63 \pm 0.51	3.54 \pm 0.49
Deficiency	Intact	4 (4)	3.12 \pm 0.46	1.48 \pm 0.53	1.83 \pm 0.16
		9 (4)	5.16 \pm 0.79	2.43 \pm 0.65	2.62 \pm 0.50
		12 (4)	5.83 \pm 0.15	3.75 \pm 0.24	2.08 \pm 0.39
	Hydrocortisone	4 (4)	8.85 \pm 0.32	5.06 \pm 1.26	4.61 \pm 0.66 ^{*1}
		9 (4)	14.88 \pm 2.19 ^{*2}	7.13 \pm 1.86	7.75 \pm 0.46 ^{*2}
		12 (4)	15.47 \pm 1.38 ^{*2}	6.44 \pm 0.90	9.03 \pm 0.73 ^{*2}

(): Number of rats.

^{*1}: Significantly different from the control values treated with hydrocortisone. (p<0.05)^{*2}: Significantly different from the control values treated with hydrocortisone. (p<0.01)

Table 6. Effect of magnesium deficiency on mouse liver tryptophan oxygenase activity 3 hours after the intraperitoneal injection of hydrocortisone (20mg/kg B.W.)

Treatment	Days of Deficiency	Total I enzyme	Holo enzyme	Apo enzyme (kynurenine μ M/g/h)		Total II enzyme
Control	Intact	0 (6)	2.75 \pm 0.56	2.25 \pm 0.56	0.49 \pm 0.19	6.00 \pm 1.17
	Hydrocortisone	4 (4)	5.73 \pm 0.39	4.33 \pm 0.79	1.15 \pm 0.30	12.13 \pm 1.73
		6 (4)	5.49 \pm 0.88	4.94 \pm 0.78	1.55 \pm 0.24	16.11 \pm 1.05
		9 (4)	5.04 \pm 0.78	4.00 \pm 0.55	1.07 \pm 0.10	11.11 \pm 1.38
Deficiency	Intact	4 (4)	3.07 \pm 0.36	2.37 \pm 0.79	0.54 \pm 0.09	4.81 \pm 0.74
		6 (4)	2.82 \pm 0.36	1.73 \pm 0.33	0.52 \pm 0.16	4.46 \pm 0.90
		9 (4)	3.78 \pm 1.42	2.50 \pm 0.87	0.77 \pm 0.56	5.38 \pm 1.51
	Hydrocortisone	4 (4)	5.23 \pm 0.59	4.13 \pm 0.25	1.12 \pm 0.32	17.00 \pm 1.43
		6 (4)	7.41 \pm 0.53 ^{*2}	6.07 \pm 0.88 ^{*2}	1.34 \pm 0.38	16.37 \pm 2.43
		9 (4)	8.04 \pm 1.01 ^{*2}	5.57 \pm 1.09	2.47 \pm 0.20 ^{*1}	18.62 \pm 2.85 ^{*1}

(): Number of mice.

^{*1}: Significantly different from the control values treated with hydrocortisone. (p<0.05)^{*2}: Significantly different from the control values treated with hydrocortisone. (p<0.01)

を Table 6 に示した. 対照群では HCS 処置によって各酵素とも約 2 倍の活性の上昇がみられたが, ラットの HCS 誘導の場合に比べると, 基質誘導の場合と同様上昇の程度は小さい. しかし欠乏群における HCS 処置では, 欠乏 4 日目で Total I, Holo, Apo 酵素とも 2 倍程度の上昇がみられ, さらに 6 日以後の上昇の程度はいずれもこれを上回っている. それに対して Total II 酵素活性は 4 日目から 3 倍以上の増加を示した. また基質誘導の場合と同様, 無処置ではみられな

かった TO 活性に対する Mg 欠乏の影響が, HCS 処置の場合にもみられるようになった. しかしその影響は欠乏 6 日目以降に多くみられるようであり, 欠乏 4 日目から影響のみられた Try 誘導の場合に比べて, やや遅いようである.

(3) 誘導時における臓器重量

酵素誘導時における臓器重量も測定したが, 図は省略した. ラット HCS 処置欠乏群で, 欠乏 9, 12 日に副腎重量の有意の増加がみられたが, この増加は Mg

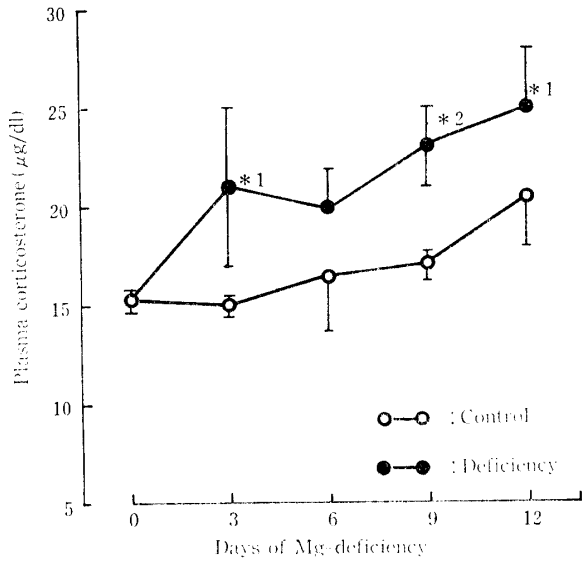


Fig. 3. Effect of magnesium deficiency on the plasma corticosterone level in the rat. Each point presents the mean of 4 animals and vertical bars do the standard deviation.

* 1 : Difference from the control. ($p < 0.05$)
 * 2 : Difference from the control. ($p < 0.01$)

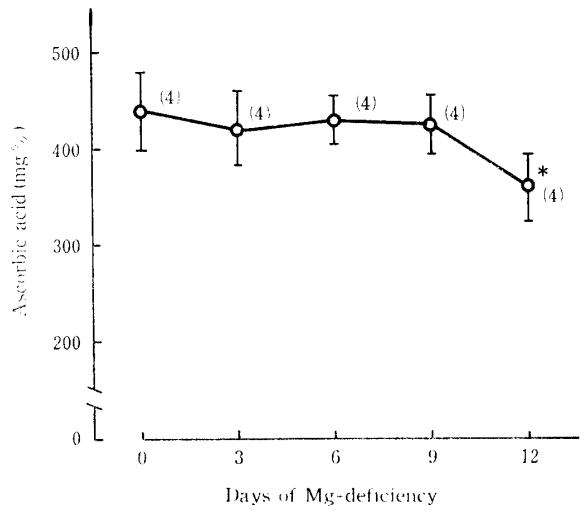


Fig. 5. Effect of magnesium deficiency on the adrenal ascorbic acid level in the rat. Vertical bars indicate standard deviation.

* : Difference from the 0 hour. ($p < 0.05$)
 () : Number of animals.

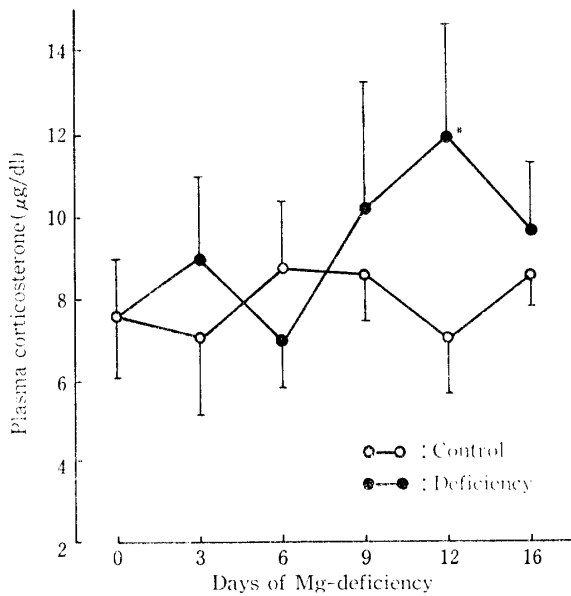


Fig. 4. Effect of magnesium deficiency on the plasma corticosterone level in the mouse. Each point presents the mean of 4 animals and vertical bars do the standard deviation.

* : Difference from the control. ($p < 0.05$)

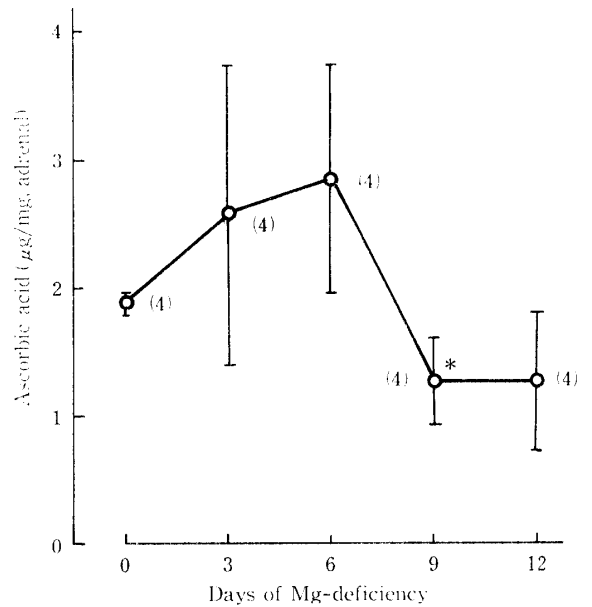


Fig. 6. Effect of magnesium deficiency on the adrenal ascorbic acid level in the mouse. Vertical bars indicate standard deviation.

* : Difference from the 0 hour. ($p < 0.05$)
 () : Number of animals.

欠乏の影響とは考えにくい。脾、肝の重量は Fig. 1 で示した無処置の Mg 欠乏時の傾向と同様であった。マウスの場合も各臓器重量とも HCS 処置対照群と欠乏群の間で有意の差はみられず、副腎についても Mg 欠乏単独の影響と同様の傾向であった。

4. Mg 欠乏時の血漿 CSR の動向

Mg 欠乏が副腎に対して直接的効果あるいは下垂体からの ACTH 分泌効果を及ぼすかを調べるために、げっ歯類の主要 glucocorticoid である CSR の血漿濃度を欠乏群と対照群で比較した結果は、Fig. 3 (ラット)、Fig. 4 (マウス) のとおりである。欠乏ラットでは欠乏 3 日目から対照群に対して血漿 CSR の有意の上昇がみられ、欠乏 6 日目を除いて 12 日目まで持続した。対照群の平均値が $16.86 \pm 2.0 \mu\text{g/dl}$ であるのに対して、欠乏群では欠乏 3 日目で $20.9 \pm 4.0 \mu\text{g/dl}$ 、最高の欠乏 12 日目では $25.0 \pm 3.0 \mu\text{g/dl}$ であった。

マウスでは欠乏 12 日目のみ、対照に対して有意の上昇がみられるのみであった。対照群の平均値は $7.83 \pm 0.71 \mu\text{g/dl}$ であるが、ラットに比べて全般的に偏差が大きく、その傾向は欠乏群で著明であった。

5. Mg 欠乏時の副腎 AA の動向

下垂体-副腎系の活動の指標¹²⁾として副腎 AA を欠乏群について測定した結果は Fig. 5 (ラット)、Fig. 6 (マウス) のとおりである。ラットでは欠乏 9 日目ではほとんど一定の値を維持し、欠乏 12 日目に有意の減少を示した。しかし減少率は 16% でそれほど著明ではなかった。

マウスでは欠乏 6 日目まではむしろ上昇する傾向であったが、9 日目以降減少した。9 日の値は有意の減少であったが、12 日の値は偏差が大きく有意差はみられなかった。しかしこの減少ないし減少傾向は、血漿 CSR 量の増加とほぼ時期を同じくした減少であると思われる。

考 察

Mg 欠乏動物とくにラットにおいて、その欠乏初期に耳介や四肢の充血をきたし、血中や尿中 histamine 量が上昇することはよく知られており^{11,16)}、一種の炎症反応を呈する。したがって Mg 欠乏が副腎に対して何らかの影響を及ぼすことが当然考えられ、Mg 欠乏ラットにおいても血漿 CSR³⁾ や aldosterone^{17,21)} の増加が観察されている。もちろん aldosterone 分泌に対しては副腎の活性化以外に多くの他の因子が関与するから、その増加は Mg 欠乏が直接副腎皮質に対

して促進的效果を及ぼすとは断定できないが、CSR 分泌に対しては逆に Mg 欠乏によって低下するという観察^{5,17)} もみられ、Mg 欠乏が副腎さらには下垂体-副腎系に及ぼす効果については、現在のところ一定した結論が得られていない。

肝に存在し Try 代謝の最初の段階に働く酵素 TO は、内分泌をはじめ生体の調節機構の影響を受けて活性が変動し、典型的な基質ないしホルモン誘導をおこす酵素としてよく知られている。またこの酵素の調節機構として、副腎直接あるいは下垂体-副腎系、視床下部-下垂体-副腎系を介する場合が知られており^{7,20)}、Mg 欠乏がこの酵素に対していかなる効果を及ぼすかを調べることは興味のあるところである。前述のようにマウスはラットに比べて副腎皮質のストレス性刺激に対する反応性が鈍いことが示唆されており¹³⁾、欠乏初期の炎症症状が両者で異なることとされている¹⁵⁾ので、Mg 欠乏が肝 TO に及ぼす効果を両者で比較したものである。

ラットでは Mg 欠乏後 Total I, Holo, Apo 酵素活性とも有意に増加する (Table 1) から、Holo 酵素の活性化あるいは合成のみならず、Apo 酵素タンパクの合成も考えられる。しかし Total II 酵素に対しては影響を与えないから、マウスに比べて量的に少ないといわれている¹³⁾酸化型 Holo 酵素 (不活性) に対しては影響を与えないものと思われる。血漿 CSR は欠乏 3 日から有意の上昇がみられる (Fig. 4) から、上記の TO 活性の増加は、Mg 欠乏によって副腎皮質から CSR の遊離があり、2 次的に TO 活性の上昇をきたしたものと思われ、Mg 欠乏が副腎皮質に対してストレス性効果を与えていることが示唆される。

上記各酵素活性の Mg 欠乏群における上昇は、Try 処置 Mg 欠乏群でもみられた (Table 3) が、HCS 処置 Mg 欠乏群では Holo 酵素のみ増加が認められなかった (Table 5)。HCS 処置欠乏ラットの Holo/Apo の比率は、Mg 4, 9, 12 日でそれぞれ 1.09, 0.92, 0.71 であった。HCS による誘導では主に Apo 酵素が、Try による誘導では Holo 酵素が増量するとされている^{9,19)} から、欠乏後のこの比率の減少すなわち Apo 酵素タンパク合成の増加は、Mg 欠乏による副腎からの内因性の CRS と、投与した HCS の協力作用とも考えられるが、現段階では詳しい機序は不明である。

Mg 欠乏ラットで、欠乏 12 日に副腎 AA の低下がみられたが、減少率は 16% 程度と小さいものであった (Fig. 5)。また Hungerford and Karson⁶⁾、Sol-

ounias and Schwartz²¹⁾と同様、副腎重量は有意の増加はみられず (Fig. 1), この点では欠乏 20 日目に ACTH 分泌を示唆する副腎重量の有意の増加があったとする Elin ら⁴⁾の結果とは異なっている。いずれにしろ副腎 AA 量の減少, 副腎重量の増加がみられないから, ラットでは Mg 欠乏は副腎皮質に対してストレス的効果を与えるが, その効果は副腎皮質に対して直接的であり, 下垂体-副腎系を介するものとは考えられない。

一方マウスでは, Mg 欠乏によって Total I, Holo, Total II 酵素とも影響がなかった (Table 2) し, 血漿 CSR 量の増加もほとんどみられなかった (Fig. 4)。しかし欠乏群で欠乏 9, 12 日頃に有意の差ではないが TO 活性の若干の上昇があり, 酵素誘導でその上昇がより著明になったこと, またこの時期に副腎 AA の消費を伴った血漿 CSR の一過性の上昇がみられる (Fig. 4, 6) ことから, 欠乏 9, 12 日頃に下垂体-副腎系を介してストレス性刺激を与えているかもしれない。しかし副腎重量の有意の増加はみられない (Fig. 2) から, 断定はできない。いずれにしろ Mg 欠乏の副腎ないし下垂体-副腎系への影響は, マウスはラットに比べて弱いことは確かであり, これは副腎摘出を行うとラットでは TO 活性の低下が認められるが, マウスでは認められず, 固定による実験でもマウスはラットほど増加が認められないこと^{2,13)}からみて, ラットに比べてマウスでは副腎皮質の反応性が鈍いことをうらづけるものといえよう。

マウスはラットに比べて酸化型 Holo 酵素 (不活性) が多いことが本研究でも確かめられたが, この型のもは Mg 欠乏によって有意の増加がみられないから, マウスにおいても欠乏の影響をうけないものと考えられる。

マウスの場合, 無処置の Mg 欠乏群でみられなかった TO 活性の有意の増加が, 基質ならびにホルモン誘導では認められるようになった。これは無処置欠乏群における TO 活性の上昇傾向 (とくに欠乏 9 日目) が, 酵素誘導によって顕著になったものと思われる。しかも Try 誘導でややその効果が強いようである。一般に Try 誘導は活性化とタンパク合成の両方, ホルモン誘導は主にタンパク合成の増加とされている¹⁹⁾から, 欠乏マウスの Try 誘導の場合, Apo 酵素より Holo 酵素の増加の方が大きいことから, 活性化に対する効果がより大きいといえる。すなわちマウスでは Mg 欠乏は活性化に対してより大きく影響し, 酵素タンパク合成増大に対して影響が少ないと考えら

れる。このことがタンパク合成増大に基づくホルモン誘導に対してもみられ, Try 誘導に対する影響に比べて小さかったものと考えられる。ただし Mg 欠乏が基質ならびにホルモン誘導に対してこのような効果を及ぼす機序は現段階では不明であり, 今後追求すべき問題であろう。

Knox⁷⁾はラットに histamine の投与で TO 活性の 2 倍の上昇を認めているが, 宮尾ら¹³⁾はマウスでは活性の増加を認めていない。histamine は ACTH の分泌を刺激するともいわれており⁴⁾, Mg 欠乏時における TO 活性と histamine との関連性も考えられなくもないが, この点は現時点では何ともいえない。

Vaishwanar and Jahagirdur²²⁾は, Mg 欠乏が肝のアミノ酸異化酵素活性に及ぼす影響で, serine, threonine dehydrase 活性の有意の低下, arginase 活性の上昇を認めたが, TO 活性には影響がなかったとしており, TO に関しては本研究と一致しない。Mg 欠乏の時期など種々の理由が考えられるが, この点も今後追求されるべき問題と思われる。

要 約

急性 Mg 欠乏が下垂体-副腎系に及ぼす影響を, 肝 TO 活性の変動を指標として, ラットとマウスについて比較検討し, 以下の結果が得られた。

Mg 欠乏飼料で飼育すると, ラットでは欠乏 9 日から TO 活性が有意に上昇し, 16 日まで持続した。マウスでは TO にほとんど影響はみられなかった。

副腎重量はラット, マウスとも欠乏群で有意の増加はみられなかった。しかしマウスで欠乏 6 日以降やや増加の傾向がみられた。

ラットでは, 欠乏 3 日から血漿 CSR の有意の上昇があり, 以後欠乏 12 日まで持続した。副腎 AA 量は欠乏 12 日に有意の低下を示したが, 減少率は低かった。マウスでは, 血漿 CSR は欠乏 12 日に一過性の有意の上昇がみられた。また副腎 AA は欠乏 9, 12 日に減少が認められた。

ラットでの酵素誘導では, 基質, ホルモン誘導のどちらにおいても, 欠乏 9, 12 日に TO の有意の活性上昇がみられた。ただし基質誘導では Total I, Holo, Apo 酵素すべてが同程度に上昇したのに対し, ホルモン誘導では Holo 酵素は変化しなかった。マウスでは基質, ホルモン誘導の両方で, 欠乏群で活性の増加がみられたが, 基質誘導に若干 Mg 欠乏の影響が強く現われた。

以上の結果から Mg 欠乏は副腎に対する直接的な

ストレス性効果を与え、その効果に対する反応性はラットでは大きく、マウスでは小さいことが示唆された。

文 献

- 1) Bois, P., Gascon, A. and Beaulness, A.: Histamine liberating effect of magnesium deficiency in the rat. *Nature*, **197**, 501-502 (1963)
- 2) Curzon, G. and Green, A. R.: Effect of immobilization on rat liver tryptophan pyrrolase and brain 5-hydroxytryptamine metabolism. *Brit. J. Pharmacol.*, **37**, 689-697 (1969)
- 3) Eisenstein, A. B.: The adrenal cortex, p. 171. Little Brown, Boston, Massachusetts (1967)
- 4) Elin, R. J., Armstrong, W. D. and Singer, L.: Adrenal gland factor in magnesium-deficient rats. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **134**, 542-547 (1970)
- 5) Ginn, H. E., Cade, R. and McCollum, T. M.: Aldosterone secretion in magnesium-deficient rats. *Endocrinol.*, **80**, 969-971 (1967)
- 6) Hungerford, G. F. and Karson, E. F.: The eosinophilia of magnesium deficiency. *Blood*, **16**, 1642-1650 (1960)
- 7) Knox, W. E.: Two mechanisms which increase in vivo the liver tryptophan peroxidase activity, specific enzyme adaptation and stimulation of the pituitary-adrenal system. *Brit. J. Exp. Pathol.*, **32**, 462-469 (1951)
- 8) Knox, W. E.: Tryptophan oxidation. in Colowic, S. P. and Kaplan, N. O. (eds.), *Methods in enzymology*, Vol. 2, p. 242-244, Academic Press, N. Y. (1955)
- 9) Knox, W. E. and Piras, M. M.: Areinterpretation of the stabilization of tryptophan pyrrolase by its substrate. *J. Biol. Chem.*, **241**, 764-767 (1966)
- 10) Knox, W. E., Piras, M. M. and Tokuyama, K.: Tryptophan pyrrolase of liver. I. Activation and assay in soluble extracts of liver. *J. Biol. Chem.*, **241**, 297-303 (1966)
- 11) Kraeuter, S. L. and Schwartz, R.: Blood and mast cell histamine levels in magnesium deficient rats. *J. Nutr.*, **110**, 851-857 (1980)
- 12) Maickel, R. P.: A rapid procedure for the determination of adrenal ascorbic acid. *Anal. Biochem.*, **1**, 498-501 (1960)
- 13) 宮尾 陟・出来俊昭・石黒 茂: マウスならびにラット肝 tryptophan oxygenase の特性上の差異について. 鹿大農学術報告, No. 29, 183-197 (1979)
- 14) Miyao, N., Hamayasu, T. and Ishiguro, S.: Effect of some prostaglandins of liver tryptophan oxygenase activity in mice. *Mem. Fac. Agr. Kagoshima Univ.*, **18**, 149-161 (1982)
- 15) Miyao, N., Ikegaki, I., Nishio, A. and Ishiguro, S.: Comparative biochemical studies in the histamine metabolism in acute magnesium-deficient mice and rats. *Mem. Fac. Agr. Kagoshima Univ.*, **20**, 111-125 (1984)
- 16) Nancy, W. A. and Maurice, E. S.: Comparison of magnesium deficiency in the rat and mouse. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **146**, 137-141 (1974)
- 17) Richer, C. L., Veilleux, R. and Bois, P.: Effect of magnesium deficiency on corticosterone in rats. *Endocrinol.*, **82**, 954-958 (1968)
- 18) Riley, V. and Spackman, D.: Modifying effects of a benign virus on the malignant process and the role of physiological stress on tumor incidence. *Fagarty International Center Proc.*, **28**, 319-336 (1974)
- 19) 山王義一: 肝臓における酵素誘導. 医学のあゆみ, **86**, 1023-1029 (1973)
- 20) 嶋津 孝: 視床下部による代謝制御. 代謝, **16**, 21-33 (1979)
- 21) Solounias, B. M. and Schwartz, R.: The effect of magnesium deficiency on serum aldosterone in rats fed two levels of sodium. *Life Science*, **17**, 1211-1218 (1976)
- 22) Vaishwanar, I. P. and Jahagirdur, L. V.: Amino acid catabolysing enzymes in rats fed magnesium deficient diet. *Indian J. Exp. Biol.*, **16**, 730-732 (1978)
- 23) Zenker, N. and Bernstein, D. E.: The estimation of small amount of corticosterone in rat plasma. *J. Biol. Chem.*, **231**, 695-701 (1958)

Summary

Making use of the examinations carried out on the changes of liver tryptophan oxygenase due to the acute magnesium deficiency, some comparisons were made in rats and mice on the effects of the deficiency on to the hypophyseal-adrenocortical axis, with the following results obtained.

In rats, owing to the deficiency, significant increasing was brought forth in the tryptophan oxygenase activities, occurring on the 9th and lasting to the 16th days; but not in mice.

In adrenal weights no significant difference was noted between the control and the deficient animals, but in case of the deficient mice, since the 6th day onwards some moderate increasing tendency was noted in the weights.

In rats, due to the deficiency, a significant increasing was noted at the plasma corticosterone level, occurring on the 3rd day, lasting to the 12th day; in the adrenal ascorbic acid concentration some significant decreasing occurred on the 12th day, though the decreasing degree was slight. In mice, due to the deficiency, a temporary increasing was noted at the plasma corticosterone on the 12th day; while, in the adrenal ascorbic acid concentration some decreasing occurred on the 9th day, lasting to the 12th day.

In the enzyme-induction in rats, both in the substrate induction and in the hormonal one, some significant increasing was noted, occurring on the 9th day, lasting to the 12th day, after depletion. Here notice should be paid on to the following that, in case of substrate induction, increasing was made similarly through total I-, holo- and apo-enzymes; while in case of hormonal induction, only in holo-enzyme, no change was noted. In mice, both in the substrate and the hormonal inductions, some increasing of the tryptophan oxygenase activities were noted in the magnesium deficient group; however, the deficiency effect on the changes of enzyme activity was noted to be rather stronger in case of the substrate induction than that of the hormonal one.

Hence it was suggested that a direct stressing effect is to be exerted on to the adrenal cortex of both the animals, while the activity to that effect was stronger in the rat rather than in the mouse.