

マグネシウム欠乏における栄養生理学的研究 —特に病理組織学的研究—

池田 尚子¹⁾, 今沢 孝喜^{1,2)}, 木村 修一¹⁾

¹⁾昭和女子大学大学院, ²⁾国立医薬品食品衛生研究所・病理部

Effect of dietary magnesium deficiency in the rat — Histological and ultrastructural examination —

Takako Ikeda¹⁾, Takayoshi Imazawa^{1,2)}, Shuichi Kimura¹⁾

¹⁾Showa Women's University, ²⁾National Institute of Health Sciences

Epidemiologically, it has been suggested that dietary magnesium/calcium imbalance is associated with the risk of heart diseases. In the present study, the effects of magnesium deficiency and/or calcium overintake were investigated in rats. Male Sprague-Dawley rats were divided into 4 groups, and respectively fed basal diet (AIN-76) alone (Group 1), calcium-doubled AIN-76 diet (Group 2), magnesium-deficient AIN-76 diet (Group 3) and magnesium-deficient/calcium-doubled AIN-76 diet (Group 4) for 19 days. Obtained results thus suggested that dietary magnesium deficiency gives rise to retrogressive changes in some organs such as heart, and concurrent calcium overintake synergistically enhances the myocardial injury due to magnesium deficiency.

緒 言

Mg²⁺が生理機能を発揮する上でナトリウム (Na⁺), カルシウム (Ca²⁺), カリウム (K⁺) 等との存在比率が重要であることが指摘されており, なかでも Na⁺-K⁺-dependent ATPaseあるいはCa²⁺-dependent ATPaseはMgと結合したATPだけを基質とするため, この酵素が関与する能動輸送などの生理機能にMgは必須である¹⁾。Mg欠乏になると能動輸送が円滑に働かなくなり, 細胞外に多いNa⁺, Ca²⁺が細胞内に流入し, 細胞内に多いK⁺, Mg²⁺は細胞外に流出しはじめる。Na⁺が細胞内に増加すると, Na⁺-Ca²⁺ exchange pumpが働き, Ca²⁺はさらに細胞内に増える²⁾。このような現象が血管壁の細胞に起こると, 血管壁が緊張して攣縮が発生するため血管は細くなり循環器疾患の要因となる³⁾。

そこで今回循環器疾患の要因であるMgとCaのバランスに着目し, ラットを用いて食餌によるMg欠乏とCa過剰の組み合わせの実験を実施し主に超微形態学的に検討した。

実験および方法

1. 実験動物ならびに飼育条件

実験動物として5週齢のSprague-Dawley系雄ラット（日本チャールス・リバー社）を3日間の馴化飼育の後、各群6匹ずつ4群に配した。動物はステンレス製個別ケージに収容し、室内の環境条件は温度 24 ± 1 ℃、湿度 55 ± 5 ％、12時間（7時～19時）照明、12時間非照明の条件下で飼育した。飲料水には蒸留水を用い、飲料水および飼料は自由摂取とした。

2. 実験飼料

実験に用いた飼料の組成はAIN-76のミネラル組成に準じ、Table 1に示した。Group 1は対照群としてMgおよびCaがAIN-76と等量の群、Group 2はMg等量、Ca 2倍量（1.04％ W/W）の群、Group 3はMg欠乏（検出限界以下）、Ca等量の群、Group 4はMg欠乏（検出限界以下）、Ca 2倍量（1.04％ W/W）の群とした。

飼料原料はオリエンタル酵母(株)より購入し、タンパク質源はカゼイン、糖質源は蔗糖、脂肪源はコーン油を用い、ビタミン混合はAIN-76の組成に従った。馴化飼育期間中はどの群もGroup 1の飼料を与えた。

3. 実験方法

実験期間は19日間とし、実験期間中、一般状態の観察を連日実施し、体重および摂餌量は1日おきに測定した。

動物は剖検日前日より一晩絶食させ、翌日エーテル麻酔下で腹部大動脈から採血後、屠殺・剖検し、臓器重量測定後に生化学的検査および超微形態学的検査に供した。

Table 1. Composition of experimental diets (%)

	Group 1	Group 2	Group 3	Group 4
α -Corn starch	55.50	54.46	55.50	54.46
Milk casein	25.00	25.00	25.00	25.00
Corn Oil	5.00	5.00	5.00	5.00
Cellulose powder	5.00	5.00	5.00	5.00
Sucrose	5.00	5.00	5.00	5.00
Mineral mixture ¹⁾	3.50	3.50	—	—
Mineral mixture ²⁾	—	—	3.50	3.50
Vitamin mixture ³⁾	1.00	1.00	1.00	1.00
CaCO ₃	—	1.04	—	1.04
Total	100	100	100	100

¹⁾AIN-76 Mineral mixture

²⁾AIN-76 Mineral mixture except Mg deficiency

³⁾AIN-76 Vitamin mixture

結 果

1. 体重および摂餌量

Group 3, 4 は Group 1 に比して, 13日目以降, 成長の遅延や体重増加の抑制がみられ, 実験終了時まで続いた (Fig. 1)。Group 3, 4 の最終体重は Group 1 に比して, 有意な減少を示した。(Table 2)。摂餌量は, Group 3, 4 では飼育直後から飼育期間を通じて, Group 1 を下回って推移した (Fig. 2)。

2. 臓器重量 (Table 2)

Group 3, 4 の最終体重と肝臓重量は Group 1 に比して, 有意な減少を示した。体重比では Group 3, 4 の左腎が対照群に比して, 有意な増加を示した。

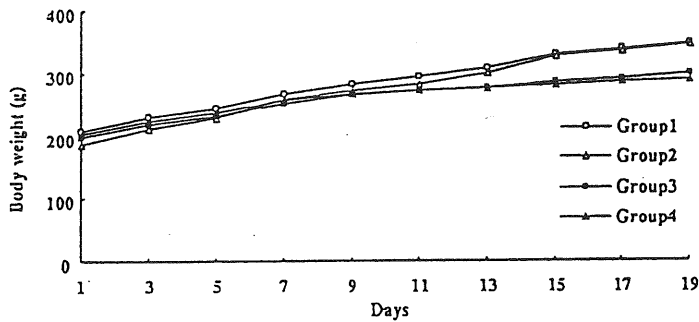


Fig. 1 Body weight curves

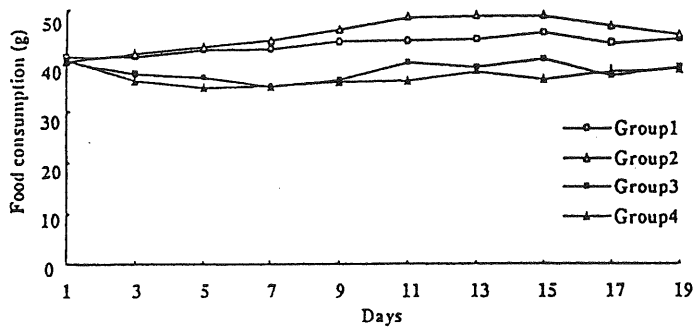


Fig. 2 Food consumption curves

Table 2. Absolute organ weights and organ/body weight ratios

Group	Body weight	Heart	Liver	Kidney (R)	Kidney (L)
1	352.5±8.93	1.26±0.16 (0.36)	10.23±0.62 (2.90)	1.26±0.07 (0.36)	1.23±0.08 (0.35)
2	348.2±9.43	1.26±0.15 (0.36)	9.87±0.62 (2.84)	1.19±0.09 (0.34)	1.18±0.05 (0.34)
3	292.6±12.8***	1.09±0.10 (0.38)	9.01±0.44** (3.08)	1.41±0.19 (0.48)	1.39±0.24 (0.47*)
4	276.5±12.3***	1.09±0.12 (0.40)	8.58±0.28*** (3.11*)	1.28±0.04 (0.46)	1.28±0.06 (0.46***)

Values represent mean ± S.D. in absolute organ weights.

Values in parentheses represent percentage of organ/body weight ratio.

*, **, *** : Significantly different from the control (group 1) values at *p<0.05, **p<0.01 and ***p<0.001, respectively.

Table 3. Concentrations of Mg, Ca and P

	Group	Bone (%)	Heart ($\mu\text{g/g}$)	Kidney ($\mu\text{g/g}$)	Liver ($\mu\text{g/g}$)	Muscle ($\mu\text{g/g}$)	Serum ($\mu\text{g/g}$)
Mg	1	0.30 \pm 0.04	200 \pm 25.6	171 \pm 25.2	182 \pm 25.2	272 \pm 14.3	13.1 \pm 2.07
	2	0.30 \pm 0.04	205 \pm 11.6	151 \pm 17.9	209 \pm 13.6*	272 \pm 10.5	12.2 \pm 1.05
	3	0.16 \pm 0.05***	207 \pm 7.51	144 \pm 32.7	224 \pm 26.9*	241 \pm 19.8*	5.27 \pm 0.92***
	4	0.14 \pm 0.04***	171 \pm 32.5	154 \pm 22.1	219 \pm 22.7*	249 \pm 13.8*	6.72 \pm 1.04***
Ca	1	14.3 \pm 1.99	80.2 \pm 19.7	122 \pm 48.2	32.8 \pm 9.57	54.8 \pm 4.68	107 \pm 26.5
	2	15.8 \pm 1.56	77.3 \pm 13.9	104 \pm 79.1	38.0 \pm 5.26	56.6 \pm 5.92	159 \pm 73.6
	3	14.9 \pm 3.07	98.1 \pm 43.9	774 \pm 419*	44.2 \pm 8.93	71.3 \pm 9.71***	139 \pm 33.2
	4	16.3 \pm 1.77	97.2 \pm 16.7	1327 \pm 910*	68.9 \pm 19.1**	77.7 \pm 20.1*	172 \pm 63.0*
P	1	7.74 \pm 1.07	2079 \pm 344	2194 \pm 460	2539 \pm 323	2235 \pm 120	96.8 \pm 11.0
	2	8.51 \pm 1.07	2111 \pm 191	1801 \pm 327	2988 \pm 266*	2284 \pm 51.1	101.0 \pm 16.0
	3	7.80 \pm 1.59	2189 \pm 97.2	2221 \pm 880	3431 \pm 451**	2056 \pm 169	88.7 \pm 8.00
	4	8.32 \pm 0.90	1606 \pm 479	2789 \pm 1098	3175 \pm 477*	2166 \pm 138	87.6 \pm 9.64

Data represent mean values \pm S.D.

*, **, *** : Significantly different from the control (group 1) values at * p <0.05, ** p <0.01 and *** p <0.001, respectively.

Table 4. Thiobarbituric acid reaction substance

Group	(nmol/g)	
	Heart	Liver
1	105 \pm 84.6	38.3 \pm 9.53
2	109 \pm 56.2	38.6 \pm 23.7
3	105 \pm 28.7	101.0 \pm 60.7
4	173 \pm 61.0	66.8 \pm 30.6

Data represent mean values \pm S.D.

3. 生化学的検査

a) Mg, Ca および P の各臓器における濃度を Table 3 に示した。Mg 濃度は Group 3, 4 の大腿骨と血清において Group 1 の値の約1/2であり, 有意に減少していた。Ca 濃度は Group 3, 4 の腎臓および大腿筋において Group 1 に比して, 有意に増加していた。

b) TBARS 値を Table 4 に示した。統計学的有意差は認められなかったが, Group 4 の心臓および Group 3, 4 の肝臓では Group 1 に比して, 高い傾向を示した。

4. 超微形態学的検査

Group 1 の心臓組織は電顕的にほぼ正常構造を示し, 動脈を構成する細胞 (Fig. 3) や心筋細胞のミトコンドリアおよび筋原線維には異常は認められなかった。Group 2, 3 および 4 の心筋層内小動脈内皮細胞には血管腔内に突出した空胞変性が認められた (Fig. 4)。Group 2 の心筋細胞のミトコンドリアに空胞変性, 腫大化, クリスタ配列の乱れおよび崩壊が認められた (Fig. 5)。特に Group 4 の心筋細胞の変性が強く, 筋原線維の断裂, 融解および配列の乱れ等が観察された (Fig. 6)。

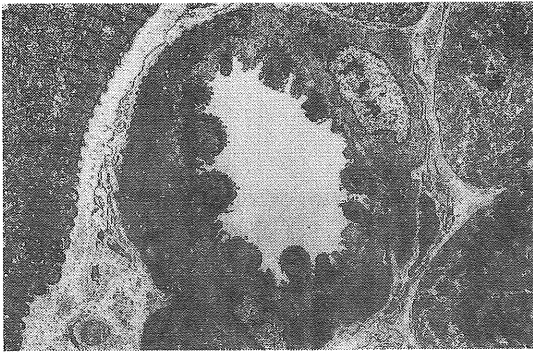


Fig. 3 Electron micrograph of normal cardiac myocytes and an arteriole in the heart $\times 2,300$

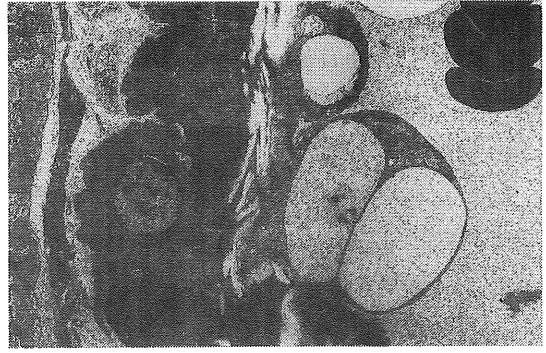


Fig. 4 Cardiac arteriolar endothelial cells showing vacuoles $\times 3,450$

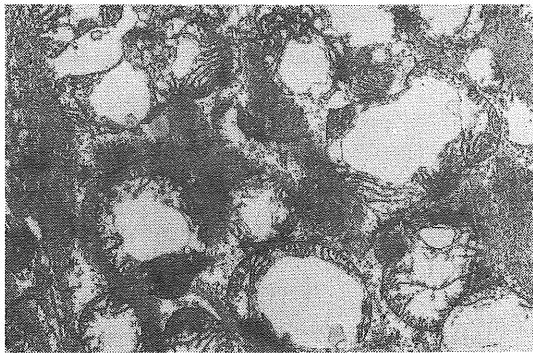


Fig. 5 Swollen mitochondria with disorientated and disintegrated cristae in a myocardial cell $\times 11,500$

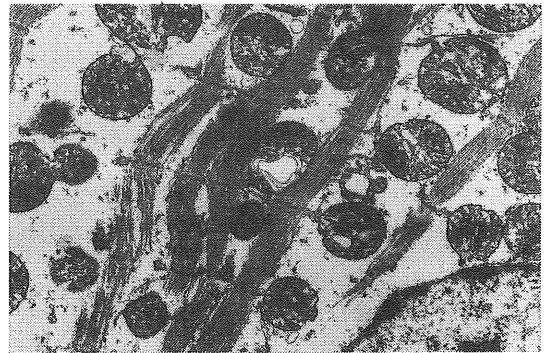


Fig. 6 Z-bands of a myocardial cell are disorganized, lysed and disarranged $\times 11,500$

考 察

ラットを用いて、食餌による Mg 欠乏の生体に及ぼす影響について、Ca の混合比率を変えた実験条件を加え、主に超微形態学的に検討した。

骨の Mg 濃度は Group 1 に比して Group 3, 4 で有意に減少していた。これは Mg 欠乏群である Group 3, 4 では第一貯蔵庫である骨に十分な Mg の蓄積がなかったこと、もしくは Group 3, 4 が必要としている Mg は骨から供給されて、骨中の Mg が減少したものと思われる。

TBARS 値は肝臓で Group 1 に比して Group 3, 4 が高い傾向を示したことから、Mg が酸化的ストレスに対して何らかの生理作用を介して抑制的に働いている可能性が考えられる。

超微形態学的に、Group 1 を除いてどの群にも心筋層内小動脈の内皮細胞に空胞変性が観察された。これは Mg 欠乏や Ca 過剰のために細胞内外の浸透圧平衡が崩れ、水や電解質等が細胞質内に蓄積して細胞が膨化⁴⁾し、形態学的に空胞変性として現れたものと思われる。特にミトコンドリアの変性が強かったのは、Group 2 および Group 4 の高 Ca 群であることから、Ca の過剰摂取はミトコンドリアの変性を招き、ひいては細胞内の活動低下の要因となる可能性がある。さらに Group 4 の筋原線維の断裂および融解が観察されたが、これらの変化は病理組織学的検索において虚血性心疾患の初期によくみられ

る病変である⁵⁾。しかしながら、これらの病変が心筋層内小動脈の内腔狭窄に伴う軽度の虚血性心筋障害であるか、細胞質レベルでの代謝異常に伴う心筋の異常、即ち代謝性心筋障害であるのかは今回の実験からだけでは断定できない。いずれにしても、Mg 欠乏における Ca の過剰（通常の2倍）は虚血性心疾患あるいは代謝性心筋障害の誘因となる可能性を示唆する。

また今回の電顕的検索で明らかにされたように、Ca 過剰が単独で細胞内の活動低下の要因になる可能性がある。以上より、今回の成績は食事中的 Mg の欠乏が心臓を含む諸臓器の退行変性を招き、それが Ca の過剰摂取により増強される可能性を示唆する。

参 考 文 献

- 1) Altire, B. M. (1991) Basic biochemistry and physiology of magnesium : A brief review. *Magnes. Trace Elem.*, **10**, 167~171
- 2) Iseri, L. T. and French, J. H. (1984) Magnesium nature's physiologic calcium blocker. *Am. Heart J.*, **108**, 188
- 3) 糸川嘉則 (1990) 栄養生理学, 裳華房, pp.67~72
- 4) 島山 茂 (1988) 病理学, 医歯薬出版, pp.20~57
- 5) 関口守衛, 阿部一彦 (1984) カテーテル心生検による心筋疾患の電顕的観察, *細胞*, **16**, 140