

## 実験的マグネシウム欠乏マウスにおける電解質の変動

石黒 茂・宮尾 陟\*

(家畜薬理学研究室)

昭和62年8月10日 受理

### Movement of Some Electrolytes in the Experimental Magnesium-Deficient Mice

Shigeru ISHIGURO and Noboru MIYAO\*

(Laboratory of Veterinary Pharmacology)

#### 緒 言

実験的マグネシウム (Mg) 欠乏症については、ラット<sup>1, 2, 4, 6-9, 11-18, 20, 21</sup>、モルモット<sup>18</sup>等の小動物、羊<sup>10</sup>、牛<sup>3</sup>等の中、大動物まで多数の動物種を対象とした研究がなされている。Mg 欠乏飼料の給与により、血漿をはじめ、赤血球、筋肉、骨等の Mg 量の減少を生ずることが示され、また、Mg 欠乏により、Mg 以外の電解質にもかなりの影響をおよぼすことが報告されている。すなわち、ラットでは高 Ca 血症<sup>2, 13, 15</sup>、筋肉および肝臓の K 量減少と Na 量の増加<sup>12</sup>、牛<sup>3</sup>、羊<sup>10</sup>、イヌ<sup>5</sup>およびニワトリのヒナ<sup>19</sup>では低 Ca 血症を生じ、ウサギ<sup>22</sup>では血漿中の総 Ca 濃度は変化しないが透析性 Ca が増加することなどが観察されている。以上のように、飼料中の Mg 欠乏により、影響を受ける電解

質の変化もさまざまであるが、中でも Ca 代謝はかなりの影響を受けるにもかかわらず種属により、かなりの差異が見られる。

本研究は、これまでほとんど実験の対象とされていないマウス<sup>1</sup>について、Mg 欠乏飼料を給与して、組織中の数種の電解質の変動を観察した。

#### 材 料 と 方 法

##### 1. 飼料と動物

用いた飼料は O'Dell ら<sup>18</sup>による組成 (Table 1) に基づき調製し、飲料水は MacIntyre and Davidsson<sup>12</sup>のビタミン含有飲料水を一部修正して調製したものを保存原液とした (Table 2)。調製した飼料およ

Table 1. Composition of experimental diets

	Control	Mg-deficient
Vitamin-free-casein	30.0 %	30.0 %
Sucrose	44.2	44.39
Cellulose	15.0	15.0
Soybean oil	4.0	4.0
Salt mixture*	6.5145	6.5145
Cholin chloride	0.1	0.1
Magnesium oxide	0.1855	0.0

Experimental diet was prepared by formula of O'DELL et. al. (18) and provided the following compounds (% of total mixture): CaCO<sub>3</sub> 2.215; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 2.06; KCl 0.44; NaCl 0.28; NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O 1.345; MnSO<sub>4</sub>·nH<sub>2</sub>O 0.076; FePO<sub>4</sub>·4H<sub>2</sub>O 0.082; CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O 0.006; NaF 0.04; ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.0025; CaCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O 0.003; Al<sub>2</sub>K<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)·2H<sub>2</sub>O 0.007.

Table 2. Vitamin mixture solution\*

I. Stock solution	250ml (-20°C)
Vitamin B <sub>1</sub>	0.03 g
Vitamin B <sub>6</sub>	0.03
Biotin	0.006
Pantothenol	0.3
p-Aminobenzoic acid	1.5
Inositol	1.5
Nicotin acid (Na)	1.5
Folic acid	0.015
Riboflavin	0.12
Vitamin B <sub>12</sub>	0.003
Vitamin K	0.0006
II. Vitamin (A, D <sub>3</sub> , E.) mixture 20ml	
Vitamin A	500,000 IU
Vitamin D <sub>3</sub>	250,000
Vitamin E	200
I. Stock solution	4.0ml
II. Vitamin (A, D <sub>3</sub> , E.) mixture	0.5ml
} 250ml H <sub>2</sub> O	

\* 前鹿児島大学教授 Former Professor, Kagoshima University.

\*: Vitamin mixture were prepared by formula of MacIntyer and Davidsson (12).

び飲料水は、 $-20^{\circ}\text{C}$  に保存して、マウスにはいずれも自由に与え、飼料は毎日、飲料水は2日毎に交換して、給与量と残量の差を摂取量とした。実験に用いたマウスは、ICR-JCL、90日齢の体重26–30gの未経産の雌を用いた。マウスは90日齢までは市販の固形飼料（日本クレア、CE-2）および水道水を自由に与えていたが、90日齢でステンレススチール製の金網ケージに個別に収容して、一週間対照飼料を給与して精製飼料に慣らした後、2群に分けて、I群にはMg欠乏飼料（Mg欠乏群）を、II群には対照飼料（対照群）を15日間給与した。また、Mg欠乏群の摂取飼料量と同量を対照群に給与する pair fed の給与試験も実施した。

## 2. 試料の採取

マウスは、0、2、6、10、13および15日後にペントバルビタールナトリウムを腹腔内へ投与して麻酔し、ヘパリン処理をした注射器で心臓より採血した。血液は、10分間、3,000 r.p.m. で遠心分離後、血漿を採取し、血球層は生理食塩水を加えて遠心分離を行い、これを3回繰り返した後、上清を捨てて、血球層より0.5mlを採取して水で全量を5mlとした。組織は、秤量の後 $105^{\circ}\text{C}$  で16時間<sup>9)</sup>乾燥した後、70%  $\text{HClO}_4$  0.5mlを加えて湿式灰化し、灰化終了後、アンモニア水で中和後、水を加えて5mlとした。

## 3. 電解質の測定

MgとCaは原子吸光分析法により、NaとKは炎光光度法により、いずれもPerkin Elmer社製、原子吸光装置403型により、試料は $\text{LaCl}_3$ 溶液で希釈して測定した。

## 結 果

### 1. 動物の一般症状

Mg欠乏飼料群では、立毛、興奮性の増加がMg欠乏3、4日目頃より見られ、Mg欠乏5日目頃より脱毛が見られた。マウスは背を湾曲して次第に動作は鈍くなり後肢は固い感じで異常歩行を示し、ケージの角にうづくまるようになった。飼料および水の交換時や、少しの音刺激により激しい痙攣を発生し、強直性伸展を生じて死亡する例が6日目より観察された。しかし、観察中に痙攣を生じ死亡したのは4例のみで、そのほかの死亡例は夜間に死亡したものを翌朝に見つけたものが多かった。実験期間中の死亡率は33%であった。

### 2. 体重の推移と飼料および水の摂取量

90日齢の雌マウスの体重はほぼ一定を示した。予備飼育3日間およびMg欠乏飼料飼育15日間のマウスの

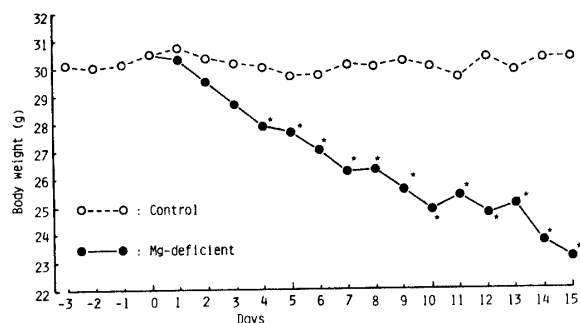


Fig. 1. Body weight of control and Mg-deficient mice ( $n=6$ ). Asterisks indicate statistically significant differences between control and Mg-deficient mice ( $p < 0.05$ ).

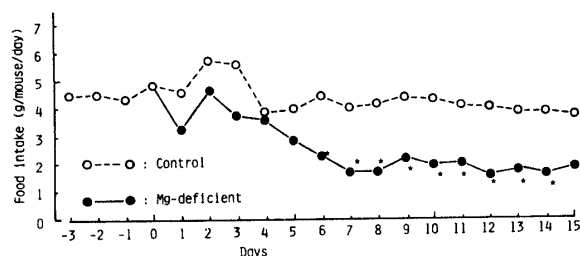


Fig. 2. Food-intake of control and Mg-deficient mice ( $n=6$ ). Asterisks indicate statistically significant differences between control and Mg-deficient mice ( $p < 0.05$ ).

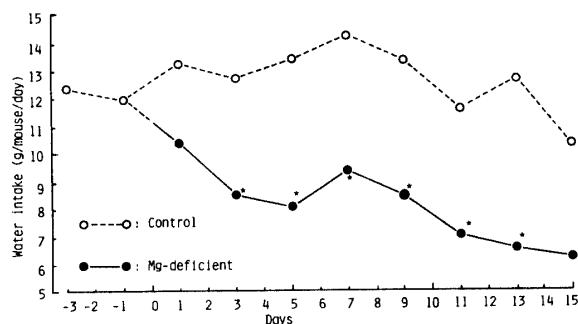


Fig. 3. Water-intake of control and Mg-deficient mice ( $n=6$ ). Asterisks indicate statistically significant differences between control and Mg-deficient mice ( $p < 0.05$ ).

平均体重の推移を Fig. 1 に示した。Mg欠乏群では2日目より体重の減少がみられ、日に経るにしたがい減少は大きくなり、15日目には初期体重の約77%に減少した。この時の飼料および水の摂取量を Fig. 2 と 3 に示した。対照群の飼料および水の摂取量には日により多少の差はみられたがほぼ一定であった。Mg欠乏群では飼料の摂取量は7日目までは漸時減少し、そ

れ以降はほぼ一定 (約 1.8g) の摂取量を示した。また、水の摂取量も Mg 欠乏群では 15 日間にわたって漸次減少がみられた。別の Mg 欠乏群と pair fed 対照飼料群の体重の推移を Fig. 4 に示したが、Mg 欠乏群では Fig. 1 とおなじ様に体重の減少が見られたが、対照飼料の給与に制限を受けた pair fed 対照飼料群

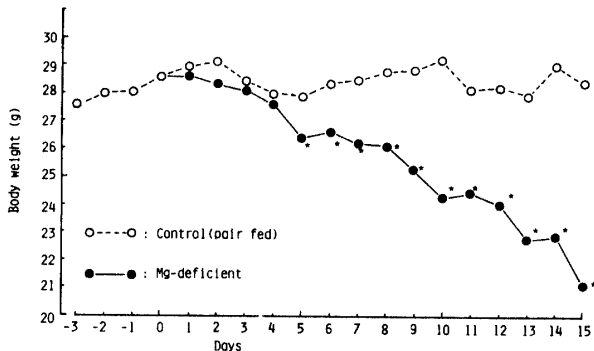


Fig. 4. Body-weight of control (pair fed) and Mg-deficient mice. Asterisks indicate statistically significant differences between control (pair fed) and Mg-deficient mice ( $p < 0.05$ ).

では日により多少の差はみられるが有意な体重の減少はみられずほとんど変化はなかった。

### 3. 組織電解質の動向

#### 1) Mg

組織 Mg 量の変動を Fig. 5 に示した。血漿の Mg 量は 2 日目には減少を認め、6 日目以降は対照値の約 20% となった。赤血球の Mg 量は、6 日目以降有意に減少し、対照値の約 30% を示した。そのほかの組織で Mg 欠乏の早期に減少を示したのは、心臓および膵臓で、これら両組織では Mg 欠乏 2 日目にはすでに対照値の約 60 と 70% に減少していた。脳および肺では 6 日目以後に有意な減少が、大腿骨、筋肉、肝臓、腎臓および膵臓でも減少が見られた。測定した 11 組織のうち、副腎を除く組織には、その減少率には差があるが Mg 量には減少がみられた。特に、肺では 10 日目以降、膵臓では 13 日目以降測定限界以下のため測定できなかった。

#### 2) Ca

組織 Ca 量の変動を Fig. 6 に示した。血漿 Ca 量には対照群と Mg 欠乏群との間には有意な差はみれ

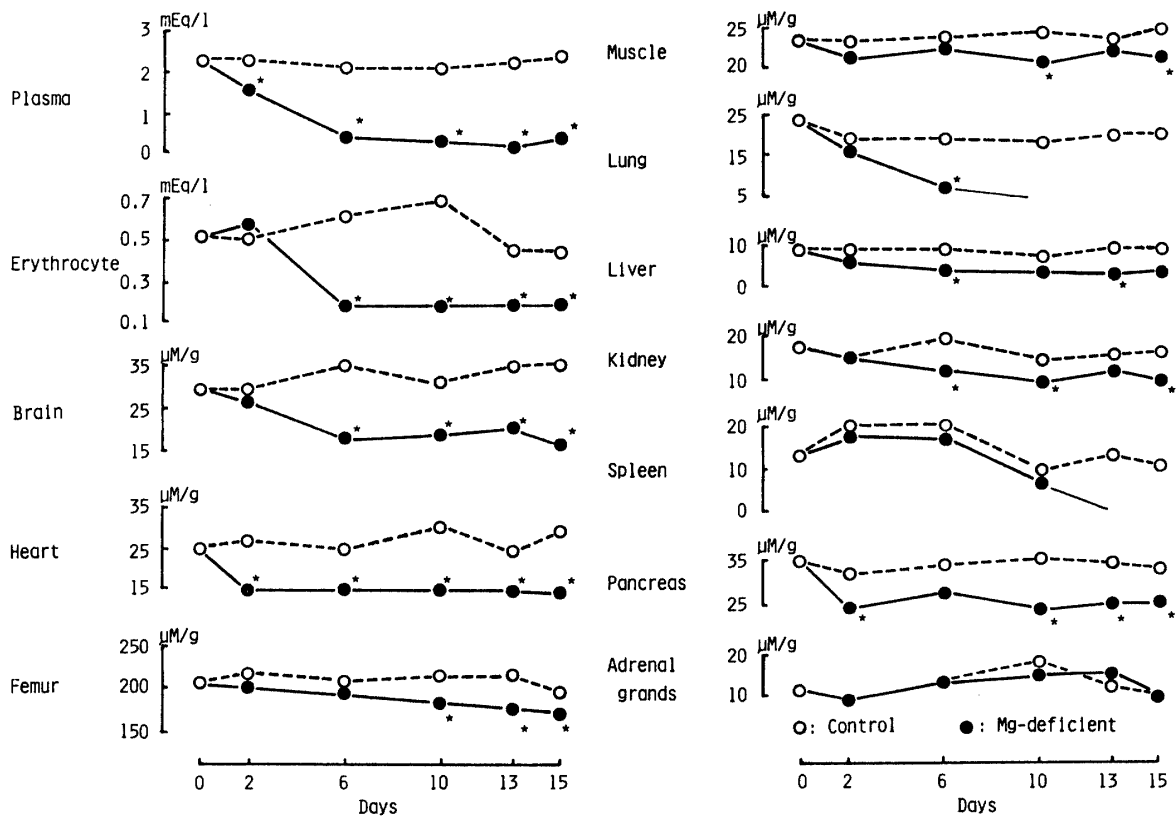


Fig. 5. Magnesium contents in various tissues of control and Mg-deficient mice ( $n=6$ ). Asterisks indicate statistically significant differences between control and Mg-deficient mice ( $p < 0.05$ ).

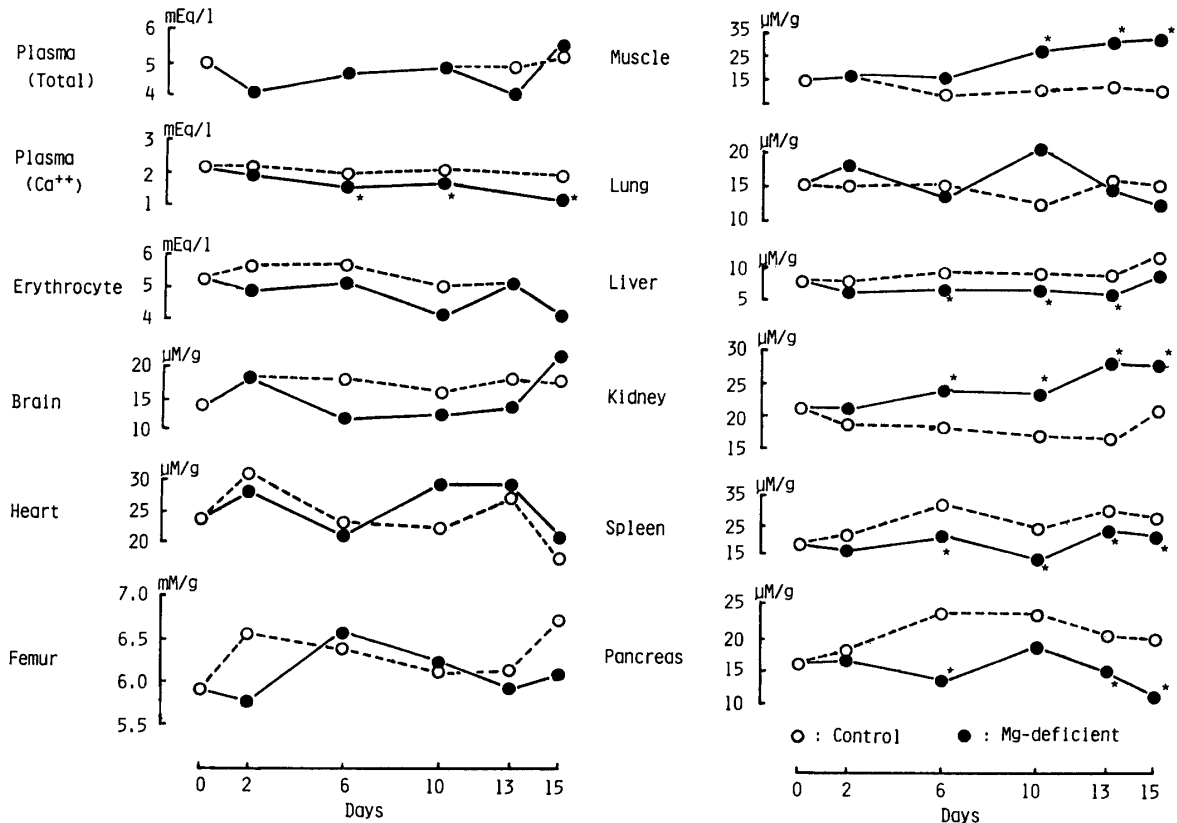


Fig. 6. Calcium contents in various tissues of control and Mg-deficient mice (n=6). Asterisks indicate statistically significant differences between control and Mg-deficient mice ( $p < 0.05$ ).

れなかった。筋肉および腎臓では日を経るにしたがい Ca 量の増加がみられた。一方、血漿中のイオン性の Ca、肺、脾臓および膵臓の Ca 量には減少が見られた。そのほかの組織では有意な変動はみられなかった。

### 3) K と Na

Fig. 7 に組織 K 量と Na 量の変動を示した。K 量は Mg 欠乏群で赤血球と筋肉では減少が、血漿では増加がみられた。Na 量は Mg 欠乏症で赤血球、脳、心臓、筋肉および腎臓では増加が、血漿では減少がみられた。

## 考 察

マウスに Mg 欠乏飼料を給与すると、体重減少が見られた (Table 1) が、pair fed 対照飼料群では、大きな体重の変動が見られなかった (Fig. 4)。このことは、Mg 欠乏群の体重減少は飼料中の Mg 不足により、飼料摂取を抑制した (Table 2) ためばかりではないことを示している。すなわち、Mg 欠乏が、食欲抑制のみならず、代謝抑制にも関与していることを示唆している。

マウスの Mg 欠乏症ではラットで見られるような発赤症状<sup>11, 17)</sup>は見られず、強直性痙攣<sup>15)</sup>を発生し死亡する例がみられた。この発症の時期は、血漿および脳の Mg 量の低下時期とほぼ一致しており、Mg イオンの痙攣抑制作用<sup>21)</sup>と一致するものと考えられる。

Mg 欠乏マウスにおいても、ラットと同様に急性の低 Mg 血症を示し<sup>1, 2, 15~17)</sup>、対照値の約 20% まで減少した (Fig. 5)。

Mg 欠乏ラットでは、赤血球<sup>6, 7)</sup>、骨<sup>9, 14)</sup>、筋肉<sup>9, 14)</sup>、脳<sup>12, 14)</sup>、肝臓<sup>12, 14)</sup>と腎臓<sup>12)</sup>で、ニワトリのヒナ<sup>19)</sup>では骨と心臓で、また、ラット尿中<sup>20)</sup>の Mg 量の減少を示すことが報告されているが、マウスでもこれらの組織をはじめ、測定したほとんどの組織で減少がみられた (Fig. 5)。骨、筋肉と脳での Mg 減少率はラットのそれよりも大きかった<sup>12, 14)</sup>、本研究では低 Ca 血症は観察されなかったが、血漿イオン性 Ca 量に減少を認めた (Fig. 6)。Mg 欠乏ラットでは Mg 欠乏 2 日目よりイオン性 Ca 量の増加あることが報告<sup>2)</sup>されていることから、マウスとラットでは Mg 欠乏による Ca 代謝に種差のあることが示唆された。ほかの組織で Ca 量

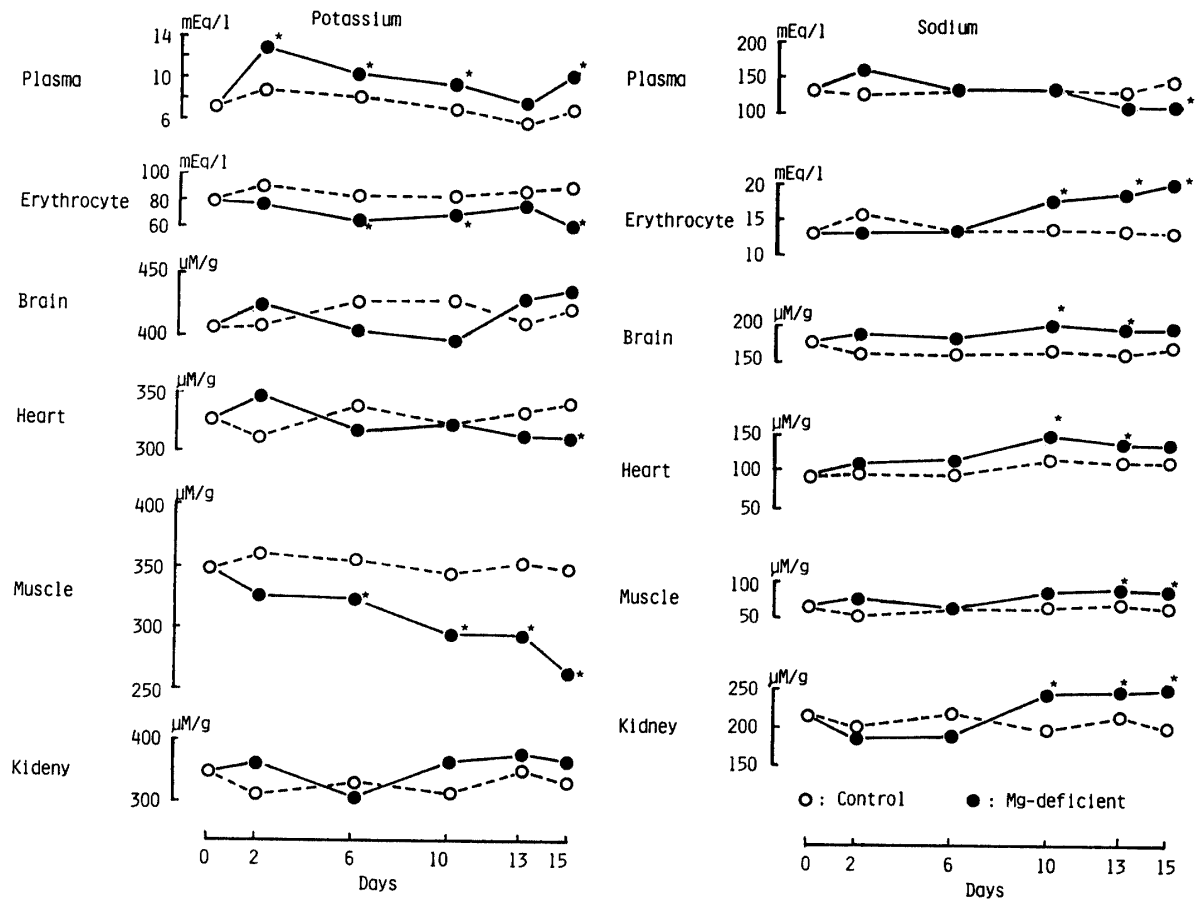


Fig. 7. Potassium and sodium contents in various tissues of control and Mg-deficient mice (n=6). Asterisks indicate statistically significant differences between control and Mg-deficient mice ( $p < 0.05$ ).

の減少を示す組織もみられたが、筋肉および腎臓ではCa量の増加が見られ、マウス腎臓での増加はラットでの成績<sup>12, 14)</sup>と比較すると小さく対照の約1.6倍であった (Fig. 6)。

Mg 欠乏マウスでは血漿K量の増加、赤血球および筋肉K量の減少が見られたことから、Mg 欠乏マウスの筋肉および赤血球などの細胞内Kが低 Mg 血漿にともない細胞外へ放出されて血漿中のK量が増加したと推察される。

また、Mg 欠乏マウスでは、血漿 Na 量の減少、赤血球、脳、心臓、筋肉および腎臓の Na 量の増加がみられた (Fig. 7)。血漿 Na 量の Mg 欠乏による変動にも、種差の存在が考えられた。すなわち、イヌの血漿 Na の増加<sup>5)</sup>が、また、ウサギ<sup>22)</sup>では著名な変動のないことが、報告されている。

Mg 欠乏マウスでは低 Mg 血漿にともない組織 Mg 量の減少が生じ、おそらく、その結果として、他の電解質の変動が生じ食欲低下や、強直性痙攣の発現など

が起こると考えられるが、その詳細については今後の検討が必要であろう。

## 要 約

成熟雌マウス (90日齢) に Mg 欠乏飼料を15日間給与して次のような成績が得られた。Mg 欠乏マウスで体重の減少がみられた。Mg 欠乏マウスで強直性痙攣の発現例が観察された。Mg 欠乏マウスでは低 Mg 血漿にともない肺と脾臓の Mg 量が著明に減少し、脳、心臓、肝臓、腎臓、脾臓、骨および筋肉でも減少した。血漿のイオン性 Ca、脾臓、脾臓および肝臓の Ca 量は減少し、腎臓、心臓および筋肉の Ca 量は増加した。血漿K量は増加し、血球および筋肉のK量は減少した。Na 量の増加が心臓、脳、筋肉および腎臓で、また血漿 Na 量の減少がみられた。

## 文 献

- 1) Alcock, N.W. and Shils, M.E.: Comparison of magnesium deficiency in the rat and mouse. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **146**, 137-141 (1974)
- 2) Anast, C. S. and Forte, L. F.: Parathyroid function and magnesium depletion in the rat. *Endocrinology*, **113**, 184-189 (1983)
- 3) Blaxter, K. L., Rook, J. A. F. and Macdonald, A. M.: Experimental magnesium deficiency in calves. I. Clinical and pathological observation. *J. Comp. Path.*, **64**, 157-175 (1954)
- 4) Chutkow, J. G. and Grabow, J. D.: Clinical and chemical correlations in magnesium-deprivation encephalopathy of young rats. *Am. J. Physiol.*, **223**, 1407-1414 (1972)
- 5) Cronin, F. E., Ferguson, E. R., Shannon, W. A. and Knochel, J.P.: Skeletal muscle injury after magnesium depletion in the dog. *Am. J. Physiol.* **243**, F113-F120 (1982)
- 6) Elin, R. J., Armstrong, W. D. and Singer, L.: Enzyme, adenosine triphosphate, and blood cellular changes in magnesium deficient and control rats. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **137**, 635-640 (1971)
- 7) Elin, R. J., Armstrong, W. D. and Singer, L.: Body fluid electrolyte composition of chronically magnesium-deficient and control rats. *Am. J. Physiol.*, **220**, 543-548 (1971)
- 8) Francisco, L. L., Sawin, L. L. and Dibona, G. F.: Mechanism of negative potassium balance in the magnesium-deficient rat. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **168**, 382-388 (1981)
- 9) George, G. A. and Heaton F. W.: Changes in cellular composition during magnesium deficiency. *Biochem. J.*, **152**, 609-615 (1975)
- 10) Inglis, J. S. S., Weipers, M. and Pearce, D. J.: Hypomagnesaemia in sheep. *Vet. Rec.*, **71**, 755-763 (1959)
- 11) Kashiwa, H. K. and Hungereford, G. F.: Blood leucocyte response in rats fed a magnesium deficient diet. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **99**, 441-443 (1958)
- 12) MacIntyre, I. and Davidsson, D.: The production of secondary depletion, sodium retention, nephrocalcinosis and hypercalcaemia by magnesium deficiency. *Biochem. J.*, **70**, 456-462 (1958)
- 13) MacManus, J. and Heaton, F. W.: Magnesium deficiency and calcium homeostasis in the rat. *Biochem. J.*, **107**, 24p-25p (1968)
- 14) Martindale, L. and Heaton, F. W.: Magnesium deficient in the adult rat. *Biochem. J.*, **92**, 119-126 (1964)
- 15) Miyao, N., Ikegaki, I., Nishio, A. and Ishiguro, S.: Comparative biochemical studies on the histamine metabolism in acute magnesium-deficient mice and rats. *Mem. Fac. Agr. Kagoshima Univ.*, **20**, 115-125 (1984)
- 16) 西尾 晃・石黒 茂・生垣一郎・宮尾 陟: ラットの実験的 Mg 欠乏症に関する毒性薬理学的研究 I. 低 Mg 血症時の組織ヒスタミン量. *日獣誌*, **44**, 653-659 (1982)
- 17) 西尾 晃・吉満文隆・石黒 茂・宮尾 陟: ラットの実験的 Mg 欠乏症に関する毒性薬理学的研究 II. Mg 欠乏ラットの充血症状に対する抗ヒスタミン薬の影響. *鹿大農学術報告*, No. **33**, 141-145 (1983)
- 18) O'Dell, B. L., Morris, E. R. and Regan, W. O.: Magnesium requirement of guinea pigs and rats. Effect of calcium and phosphorus and symptoms of magnesium deficiency. *J. Nutr.*, **70**, 103-111 (1960)
- 19) Reddy, C. R., Coburn, J. W., Hartenbower, D. L., Friedler, R. M., Brickman, A. S., Massry, S. G. and Jowsey, J.: Studies on mechanisms of hypocalcemia of magnesium depletion. *J. Clin. Invest.*, **52**, 3000-3010 (1973)
- 20) Smith, W. O., Baxter, D. J., Lindner, A. and Ginn, H. E.: Effect of magnesium depletion on renal function in the rat. *J. Lab. Clin. Med.* **59**, 211-219 (1962)
- 21) Welt, L. G. and Blythe, W.B.: Cation: calcium, magnesium, barium, lithium, and ammonium. In Goodman, L.S. and Gilman, A. (eds.), *The Pharmacological Basis of Therapeutics*. 4th. ed., p.803-818 Macmillan, New York (1970)
- 22) Woodward, D. L. and Reed, D. J.: Effect of magnesium deficiency on electrolyte distribution in the rabbit. *Am. J. Physiol.*, **217**, 1477-1481 (1969)

## Summary

Adult female mice were fed with control or magnesium-deficient diet for 15 days. A decreasing in the body-weight and a tetanic convulsion were showed by the magnesium-deficient female mice. Plasma concentration of Mg and Na as well as Ca ion were decreased, while that of K was increased. Plasma Ca level remained unchanged. Erythrocyte-Mg and K decreased; however, Na increased. In the magnesium-deficient mice decreasing of Mg-concentration in tissues was noted in the following organs: brain, heart, femur, skeletal muscle, lung, liver, kidney, spleen and pancreas. The Ca-concentration in tissues decreased in the liver spleen and pancreas, but increased in the heart, muscle and kidney. The K-concentration in the muscle decreased. The Na-concentration in tissues increased in the brain, heart, muscle and kidney.