

健康な犬および猫の血液中のイオン化マグネシウム値

石黒 茂・藤本 祐佳・中川 麻恵・川崎 安亮*

宮本 篤・西尾 晃

(家畜薬理学研究室)

平成12年8月25日 受理

Blood Ionized Magnesium in the Healthy Dogs and Cats

Shigeru ISHIGURO, Sachika FUJIMOTO, Masae NAKAGAWA, Yasuaki KAWASAKI*,

Atsushi MIYAMOTO and Akira NISHIO

(Laboratory of Veterinary Pharmacology)

緒 言

マグネシウム (Mg) は、カリウムについて動物細胞内に多く存在し、各種細胞の機能維持に重要な働きをしている。これまでの成績から、Mg の恒常性の異常は、痙攣などの神経系疾患、急性心不全などの循環器系疾患および糖尿病などの代謝性疾患の引き金になると考えられている^{1, 4, 10, 14)}。医学領域では、急性心不全などで集中治療室に運びこまれる患者には低 Mg 血症を伴っていることが多いことや、心筋梗塞、虚血性心不全や糖尿病を示す患者への各種の Mg 塩の投与が良好な治療効果を示すことが明らかにされている^{1, 2, 8, 10, 12, 14)}。

Mg は血液中では、たんぱく質等と結合した結合 Mg とフリーのイオン化 Mg として存在し、生体内で生理活性を有する Mg はイオン化 Mg で³⁾、諸種疾患とイオン化 Mg との関連が疑われ、これまでイオン化 Mg の測定が試みられたが測定操作は複雑で時間を要し実現できなかった。しかし、近年、血液イオン化 Mg 測定装置が開発⁶⁾され、採取した血液をそのまま用いてイオン化 Mg 値を迅速に測定することが可能となり、人の医学領域では処置中であっても血液を採取して、血液イオン化 Mg 値の測定⁶⁾が実施されるようになった。その結果、心房性不整脈、急性心筋梗塞、高血圧および分娩時の子宮攣縮などの疾病や症状発現時に、血漿または血清の総 Mg 値は正常値内でも血液イオン化 Mg 値の低

下していること、また、腎不全時にはイオン化 Mg 率が変動¹¹⁾していることが明らかにされている。

人の生活と深い関わりを有している伴侶動物の犬や猫は、生活環境の改善により長命となり、老齢に伴う心不全や腎不全等、循環器や泌尿器の疾病が報告¹³⁾されるようになってきている。本研究では、犬や猫の上記疾病の予測や予防に血液イオン化 Mg 値の測定は有効ではないかと考え、まず、健康な犬と猫について血液イオン化 Mg 値の測定を実施した。また、血漿イオン化 Mg 値も測定して血液イオン化 Mg 値との比較検討を行い、さらに、血漿を24時間4℃または-20℃に保存したときの測定値への影響についても併せて検討を行った。

材 料 と 方 法

供試動物：ワクチンを接種した臨床的に異常のない健康な学術研究用に飼育中の犬（雑種5頭、ポインター種2頭：狂犬病、犬ジステンパー、犬伝染性肝炎、犬伝染性喉頭気管炎、犬パルボウイルス、犬アデノ2型感染症、レプトスピラの7種のワクチンを接種）および猫（雑種8頭：猫ウイルス性鼻気管炎、猫カリシウイルス、猫汎白血球減少症の3種のワクチンを接種）を用いた。性別と年齢は Table 1 と Table 2 に示した。

血液の採取：犬では橈側皮静脈、猫では大伏在静脈より、ヘパリン(4U/ml blood⁹⁾) 処理したシリンジを用いて3mlの血液を採取し、嫌気的狀態で室温に置いた。

血漿の分離と保存：血液の一部は直ちに3,000

*家畜生理学研究室：Laboratory of Veterinary Physiology

rpmで10分間遠心分離し、血漿を分取した。分取した血漿の一部は保存条件による測定値への影響を検討するために24時間4℃と-20℃に保存し、その後室温に戻して測定した。

Mgの測定：原子吸光光度計(AAS: atomic absorption spectrometer, 日立170-50A形, 東京)を用いて、血漿および標準液を1mg/mlランタン溶液で100倍に希釈して測定した。

イオン化MgおよびpHの測定：イオン選択電極(ISE: ion selective electrode)を備えた自動電解質分析装置(ISE: AVL 988-4/Mg, Sweden)を用いて、採血直後のヘパリン加血液、分離直後の血漿、24時間4℃または-20℃に保存した血漿をいずれも希釈すること無しに直接測定した。

統計処理：測定値は平均値±標準誤差で示し、平均値の差はStudent's *t*-testを用いて検定した。p<0.05を有意とした。

結 果

標準液を用いてのイオン電極特性の検討：使用したイオン電極の特性を知るため、本装置専用の標準溶液中のMg濃度をAASとISEにより測定し、その結果をFig. 1に示した。AASとISEによる測定値の相関係数は0.997であった。次に、0.1M塩酸と

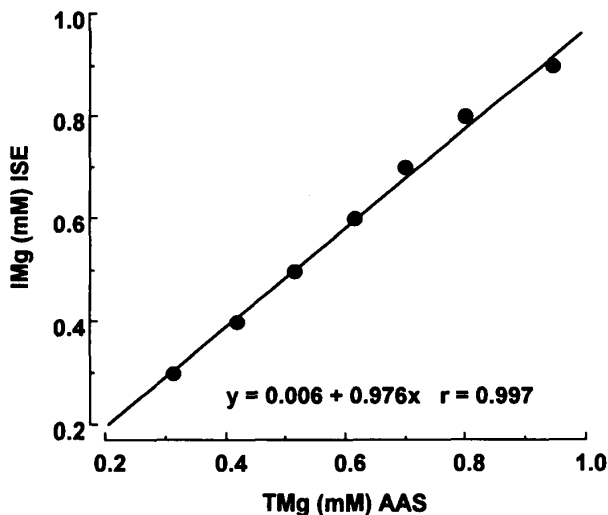


Fig. 1. Ionized and total magnesium in aqueous solution.

Correlation of ionized magnesium (IMg) values by ion selective electrode (ISE) to the total magnesium (TMg) by atomic absorption spectroscopy (AAS) in aqueous solutions.

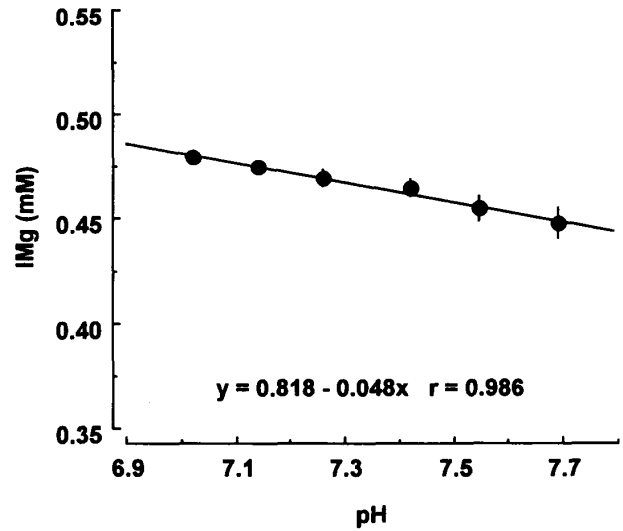


Fig. 2. Ionized magnesium and pH values in HEPES solutions.

Each point represents mean ± S.E.M. (n=3).

0.1M水酸化ナトリウム溶液でpHを調整したHEPES緩衝溶液(Na:145, K:5, Ca:1, Mg:0.5, HEPES:5mM)を作成し、溶液のイオン化Mg値に対するpHの影響を検討した。Fig. 2に示すように、溶液中のpHの上昇とイオン化Mg値の低下とは負の相関を示し、その相関係数は-0.986であった。

犬および猫の血液イオン化Mg値：今回測定した犬の血液イオン化Mg値は0.501~0.562mmol/l (n=7)を、血漿の総Mg値に対する比率(血液イオン化Mg率)は66.84±2.05%を示した(Table 1)。一方、猫の血液イオン化Mg値は0.494~0.545mmol/l

Table 1. Blood ionized Mg and plasma total Mg in the dogs

No.	Sex	Age	Blood ionized Mg (mmol/l) (I)	Plasma total Mg (mmol/l) (T)	Percent ionized Mg (I)/(T)×100(%)
1	hybrid ♀	5	0.501	0.767	65.32
2	hybrid ♀	5	0.508	0.655	77.56
3	hybrid ♀	>8	0.546	0.852	64.08
4	pointer ♀	10	0.501	0.829	60.43
5	pointer ♂	10	0.526	0.762	69.03
6	hybrid ♂	>10	0.501	0.749	66.89
7	hybrid ♂	16	0.562	0.870	64.60
mean±S.E.			0.521±0.009	0.783±0.028	66.84±2.05

Table 2. Blood ionized Mg and plasma total Mg in the cats

No.	Sex	Age	Blood ionized Mg	Plasma total Mg	Percent ionized Mg	
			(mmol/l) (I)	(mmol/l) (T)	(I)/(T)x100(%)	
1	hybrid	♀	3	0.498	0.767	64.93
2	hybrid	♀	3	0.545	0.861	63.30
3	hybrid	♂	3	0.524	0.834	62.83
4	hybrid	♂	3	0.532	0.852	62.44
5	hybrid	♀	>10	0.481	0.794	60.58
6	hybrid	♀	>10	0.530	0.798	66.42
7	hybrid	♀	>10	0.536	0.820	65.37
8	hybrid	♂	>10	0.494	0.785	62.93
mean±S.E.				0.518±0.008	0.814±0.012	63.60±0.66

Table 3. Blood and plasma ionized Mg in the dogs and cats

n	Blood ionized Mg	Plasma ionized Mg (mmol/l)		
		Fresh	4°C/24h	-20°C/24h
Dogs 7	0.521±0.009	0.503±0.009*	0.500±0.009*	0.498±0.005*
Cats 8	0.518±0.008	0.501±0.007*	0.498±0.007*	0.499±0.010*

*: Significantly different from blood ionized Mg (p<0.01).

Table 4. Blood and plasma pH in the dogs and cats

n	Blood pH	Plasma pH		
		Fresh	4°C/24h	-20°C/24h
Dogs 7	7.333±0.005	7.457±0.007*	7.504±0.012*	7.644±0.064*
Cats 8	7.332±0.021	7.439±0.023*	7.504±0.022*	7.590±0.024*

*: Significantly different from blood pH (p<0.01).

*: Significantly different from fresh plasma pH (p<0.05).

(n=8) を、血液イオン化Mg率は63.60±0.66%を示した (Table 2)。

これらの血液から血漿を分離し、血漿のイオン化Mg値を測定すると、犬および猫ともに有意に低下した値を示した (Table 3)。

血漿の4°Cと-20°C保存の影響：犬と猫の血漿を4°Cまたは-20°Cに保存し、24時間後に血漿のイオン化Mg値を室温で測定すると分離直後の測定値よりも低い値を示した (Table 3) が有意な差は観察されなかった。また、Table 4に示すように採血直後の血液のpHに比べ、血漿のpHは有意に上昇し、さらに4°Cまたは-20°Cに血漿を保存後に測定する

と有意な上昇を示した。

考 察

ISEを使って本装置の標準溶液中のイオン化Mg値を測定したところ、Fig. 1に示すようにAASで測定したMg値と極めて良い相関が得られた。

Table 1に示すように、健康な犬7頭のヘパリン加血液のイオン化Mg率は、平均66.8%で健康な人の値(66.5%)⁵⁾とほぼ同じであったが、猫の血液イオン化Mg率はやや低い値(63.5%)を示した。犬および猫のヘパリン加血液を遠心分離して得た血漿のイオン化Mg値には有意な低下が見られた。血漿を4°Cで24時間保存してもイオン化Mg値に大きな影響を与えていないが (Table 3)、-20°C保存では低下傾向がみられた。

一方、血漿のpHは血液に比べ上昇を示したが、これは恐らく遠心分離操作などにより、血漿中のCO₂が大気中へ消失したためpHが上昇 (Table 4) したものと考えられる。これまで、牛血漿の凍結融解は、その回数に応じてpHは上昇し、見かけ上のイオン化Mg値を低下させることを観察している (未発表データ)。しかし、血液中の細胞の除去なども一部関与している可能性は否定できない。

血液のイオン化Mg値およびpHに比べ、血漿のイオン化Mg値は低下を、pHは上昇を示したことは、今回使用したISE機器によるイオン化Mg測定値はpHの変化に左右されることが示唆された。溶液のMg量を一定として、pHを変化させるとFig. 2に示すようにISEによるイオン化Mg値は溶液のpHとは負の相関を示し、調整した溶液ではpHが0.1上昇するとイオン化Mg値は0.005mMづつ低く測定される可能性が示された。

以上のことより、本ISE機器を用いてイオン化Mg値を測定するためにはヘパリン加血液を採血直後に測定することが望ましく、やむを得ず血漿のイオン化Mg値を測定する時には血漿分離後短時間に行いpHの測定値よりイオン化Mg値の補正を行うことが必要と考えられる。

犬と猫の血液のイオン化Mg値は、血漿に分離すると有意に低下するものの (Table 3)、血漿を4°Cまたは-20°Cに24時間保存しても、血漿の保存前と有意な差はないことが示された (Table 3)。今後、犬や猫の各種疾病と血液イオン化Mg値の関連性についての成績の集積が必要と考えられる。

要 約

マグネシウム (Mg) イオンに選択的な電極を用いて、健康な犬と猫の血液のイオン化Mg値を測定した。血液のイオン化Mg値は犬 (0.501~0.562 mmol/l) と猫 (0.494~0.545 mmol/l) の間には有意な差はなかった。血漿のイオン化Mg値は血液に比べ有意な低下が見られた。血漿を4℃または-20℃に保存しても有意な影響を受けなかったが、-20℃保存ではpHの上昇に伴い、見かけ上のイオン化率が低下した。

謝辞 本論文の校閲をいただいた鹿児島大学農学部 岡 達三教授に御礼申し上げます。イオン電極を備えた自動電解質測定装置はAVL社(株)の好意により使用させていただいた。

文 献

- 1) Aikawa, J. K.: Magnesium. Its Biological Significance. CRC Press, Boca Ratan (1981)
- 2) Abraham, A. S., Rosenmann, D., Kramer, M., Balkin, J., Zion, M. M., Farbstien, H. and Eylath, U.: Magnesium in the prevention of lethal arrhythmias in acute myocardial infarction. *Arch. Intern. Med.*, **147**, 753-755 (1987)
- 3) Altura, B. M.: Importance of Mg in physiology and medicine and the need for ion selective electrodes. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, **54** (Suppl. 217), 5-9 (1994)
- 4) Altura, B. M. and Altura, B. T.: New perspectives on the role of magnesium in the pathophysiology of the cardiovascular system. I. Clinical aspects. *Magnesium*, **4**, 226-244 (1995)
- 5) Altura, B. T. and Altura, B. M.: A method for distinguishing ionized, complexed and protein-bound Mg in normal and diseased subjects. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, **54** (Suppl. 217), 83-87 (1994)
- 6) Altura, B. T., Bertschat, F., Jeremias, A., Ising, H. and Altura, B. M.: Comparative findings on serum IMg^{2+} of normal and diseased human subjects with the NOVA and KONE ISE's for Mg^{2+} . *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, **54** (Suppl. 217), 77-81 (1994)
- 7) Altura, B. T., Shirey, T. L., Young, C. C., Dell'Orfano, K., Hiti, J., Welsh, R., Yeh, Q., Barbour, R. L. and Altura, B. M.: Characterization of a new ion selective electrode for ionized magnesium in whole blood, plasma, serum, and aqueous sample. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, **54** (Suppl. 217), 21-36 (1994)
- 8) Balon, T. W., Gu, J. L., Tokuyama, Y., Jasman, A. P. and Nadler, J. L.: Magnesium supplementation reduced development of diabetes in a rat model of spontaneous NIDDM. *Am. J. Physiol.*, **269**, E745-E752 (1995)
- 9) 星野健司, 小川 潔, 北澤玲子, 中村嘉宏, 上野里程: イオン化マグネシウムの測定条件. *マグネシウム*, **16**, 7-16 (1997)
- 10) 糸川嘉則, 斎藤 昇: マグネシウム-成人病との関係-. 光生館, 東京 (1995)
- 11) Petrozzi, N. E., Truttman, A. C., Faraone, R., Descoedres, C. E., Wermuth, B., Luthy, C. M., Nuoffer, J. M., Frey, F. J. and Bianchetti, M. G.: Circulating ionized magnesium in end-stage kidney disease. *Nephron*, **79**, 288-292 (1998)
- 12) Shils, M. E.: Magnesium in health and disease. *Annu. Rev. Nutr.*, **8**, 429-460 (1988)
- 13) 多摩獣医臨床研究会: イヌネコの疾病統計-1998年の動向-. インターズ, 東京 (2000)
- 14) Wong, E. T., Rude, R. K., Singer, F. R. and Shaw, S. T.: A high prevalence of hypomagnesemia and hypermagnesemia in hospitalized patients. *Am. J. Clin. Pathol.*, **79**, 348-352 (1983)

Summary

The normal ranges of ionized magnesium (IMg^{2+}) concentration in the healthy dogs and cats were examined. Venous blood was obtained from 7 dogs and 8 cats. Whole blood and plasma were analyzed to determine IMg^{2+} concentration and pH. The normal ranges of IMg^{2+} concentrations of dog's and cat's bloods, were shown to be 0.501~0.562 mmol/l and 0.494~0.545 mmol/l, respectively. When the plasma was stored in 4°C or -20°C for 24h, plasma IMg^{2+} value was not changed. These results suggest that the data obtained by present study are useful for the clinical diagnosis in dogs and cats.