

マグネシウム欠乏ラットの白血球機能

細川 優¹⁾・吉原 富子²⁾・東条 仁美¹⁾・佐藤 郁雄¹⁾
新関 嗣郎¹⁾・村岡 亮¹⁾・長谷川 和夫¹⁾・山口 賢次¹⁾
(¹⁾国立栄養研究所母子栄養部*, ²⁾東京家政大学**)

Polymorphonuclear Leukocytes Function in Magnesium Deficient Rats

Yu HOSOKAWA¹⁾, Tomiko YOSHIHARA²⁾, Hitomi TOJO¹⁾, Ikuo SATO¹⁾
Shiro NIIZEKI¹⁾, Akira MURAOKA¹⁾, Kazuo HASEGAWA¹⁾ and Kenji YAMAGUCHI¹⁾
¹⁾*Division of Maternal and Child Nutrition, The National Institute of Nutrition,*
²⁾*Tokyo Kasei University*

The effect of acute magnesium deficiency on polymorphonuclear leukocytes function in rats was examined. The symptom of magnesium deficiency such as hyperemia of ears was found in magnesium deficient rats by the 4th to 5th day of the regimen. The body weight of magnesium deficient rats was significantly lower than that of control on the 10th day. The numbers of total WBC, neutrophiles and eosinophiles in magnesium deficient rats was remarkably increased on the 10th day. The released activities and total activities of both lysosomal enzymes, β -glucuronidase and myeloperoxidase, in magnesium deficient rats were significantly increased from the 7th day. The production of superoxide anion in magnesium deficient rats was also increased from the 7th day of the regimen. However, no significant difference in fMet-Leu-Phe stimulated chemotaxis of PMN was observed between deficient and control rats. These results suggest that the cytotoxicity mediated by polymorphonuclear leukocytes was significantly increased in magnesium deficient rats.

白血球機能に対する金属の関与は、鉄欠乏による貧食能、殺菌能の低下¹⁾、セレンウム欠乏による殺菌能の低下²⁾、銅欠乏による白血球数の減少³⁾や、殺菌能の低下¹⁾等が報告されている。マグネシウムに関しては、マグネシウム欠乏食でラットを飼育すると白血球数、特に好中球や好酸球などの顆粒球数が異常に増加することが認められている^{5,6)}。又、白血球の遊走活性にマグネシウムが関与する可能性も示唆されている⁷⁾。本研究では、白血球機能とマグネシウムとの関連を検討するために、マグネシウム欠

*所在地：東京都新宿区戸山1-23-1 (〒162)

**所在地：東京都板橋区加賀1-18-1 (〒173)

乏ラットの多形核白血球機能を検討した。

実 験 方 法

1) 実験動物

5週齢の雄性 Sprague-Dawley 系ラットを AIN-76組成の飼料で10日間予備飼育後、実験飼料で10日間飼育した。マグネシウム欠乏飼料では AIN-76組成の塩混合より酸化マグネシウムを除去し、サッカロースで置き換えた。なお、飼料と飲料水は自由摂取とした。

2) 多形核白血球の分離

飼育4, 7, 及び10日目に心臓穿刺により採血後、リンホプレップを用いた遠沈法、1.5%デキストラン T-500を用いた沈降法⁸⁾で分離した。

3) ライソゾーム酵素の細胞外放出, 及びライソゾーム酵素の活性測定

ライソゾーム酵素の細胞外放出は、f-Met-Leu-Phe とサイトカラシン B の混液を刺激剤とし、37℃, 10分間行った。β-グルクロニダーゼ活性は4-メチルウンベリフェリル-β-D-グルクロニドを基質とする蛍光法⁸⁾, ミエロペルオキシダーゼ活性は3, 3', 5, 5'-テトラメチルベンジジンを用いる比色法⁹⁾で放出活性と全活性を測定した。放出率は放出活性/全活性 x 100(%) で表した。

4) スーパーオキシドアニオンの測定

f-Met-Leu-Phe とサイトカラシン B の混液を刺激剤とし、フェリチンクロム C の還元を利用した比色法で測定した¹⁰⁾。

5) 遊走活性の測定

f-Met-Leu-Phe を遊走因子とし Boyden チャンバー法¹¹⁾により、37℃, 45分間遊走させた。

結 果 と 考 察

マグネシウム欠乏群では、飼育4日目ごろから体重の増加が低下し、マグネシウム欠乏で特徴的な耳の充血が見られるようになった。飼育8日目になると、対照群に比べて欠乏群では、有意に体重が低く

Table 1. Plasma magnesium concentrations and white blood cell counts

Day		4	7	10
Plasma Mg (μ g/ml)	Control	12.73 $\pm$ 0.81**	13.58 $\pm$ 3.49**	14.27 $\pm$ 1.70**
	Deficient	7.94 $\pm$ 1.79	4.88 $\pm$ 1.56	2.68 $\pm$ 0.32
Total WBC (cells/mm ³)	Control	6,420 $\pm$ 1,870	7,960 $\pm$ 1,510*	8,700 $\pm$ 1,680**
	Deficient	7,860 $\pm$ 1,590	25,230 $\pm$ 11,780	34,020 $\pm$ 16,940
Neutrophil (cells/mm ³)	Control			2,070 $\pm$ 870**
	Deficient			12,450 $\pm$ 6,570
Eosinophil (cells/mm ³)	Control			140 $\pm$ 100**
	Deficient			1,970 $\pm$ 1,430
Mononuclear (cells/mm ³)	Control			6,490 $\pm$ 910**
	Deficient			19,600 $\pm$ 6,430

Results are expressed as means $\pm$ SD. * P < 0.05; ** P < 0.01.

なった。

Table 1 は白血球数と血漿中マグネシウム濃度を示している。血漿マグネシウム量は、飼育4日目から、対照群に比べて欠乏群では、有意に低下しており、日数の経過にともなって更に低下した。総白血球数は、4日目には両群に差は認められなかったが、7日目には欠乏群では有意に上昇し、10日目では対照群の約4倍に達した。なかでも好中球は対照群の約6倍、好酸球は約14倍と、著しい上昇がみられた。

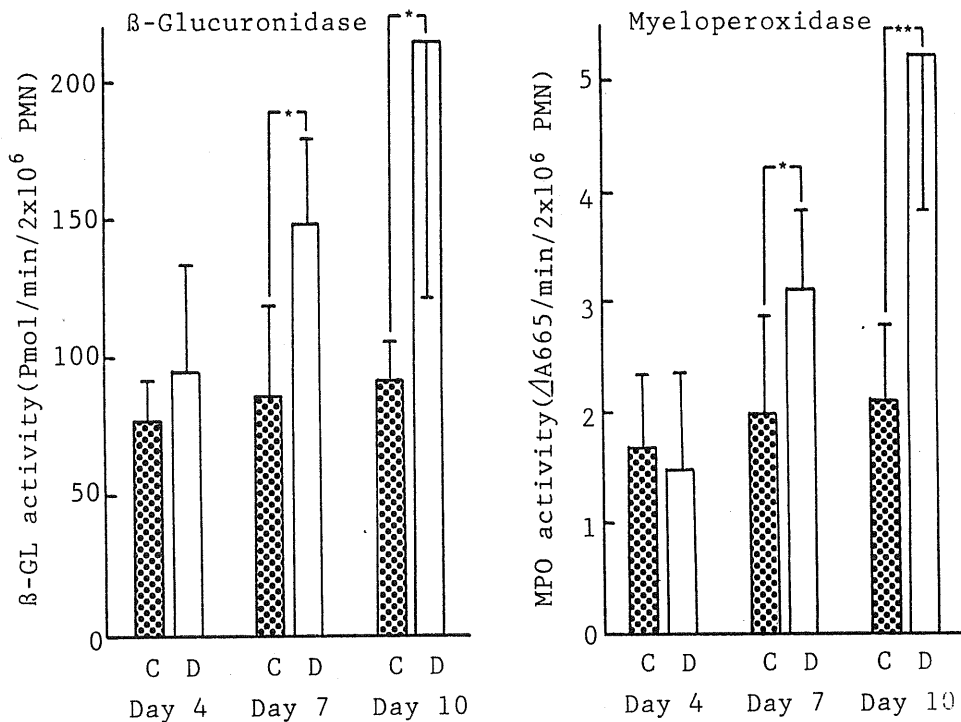


Fig.1. The effect of magnesium deficiency on released activities of lysosomal enzymes. PMNs were stimulated by f-Met-Leu-Phe (β -GL, 10^{-5} M; MPO, 10^{-6} M) and cytochalasin B ($5 \mu\text{g/ml}$). C, control; D, Mg-deficient. Results are expressed as means + SD. * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$.

次にライソゾーム酵素の活性、スーパーオキシドアニオンの生成量、及び遊走活性を検討した。Fig. 1に見られるように、 β -グルクロニダーゼの放出活性は、4日目には両群に差は見られなかったが、7日目には、対照群に比べて欠乏群では有意に上昇し、10日目には対照群の約2倍になった。ミエロペルオキシダーゼ活性も同様であった。

Fig. 2に見られるように、全活性の変化は更に著しく、 β -グルクロニダーゼ活性は、4日目には両群に差はなかったが、欠乏群は7日目より上昇し、10日目では対照群の約3倍に達した。ミエロペルオキシダーゼ活性も全く同様であった。

Fig. 3は放出率を示している。活性の変化とは異なり、 β -グルクロニダーゼの放出率は、4、7、

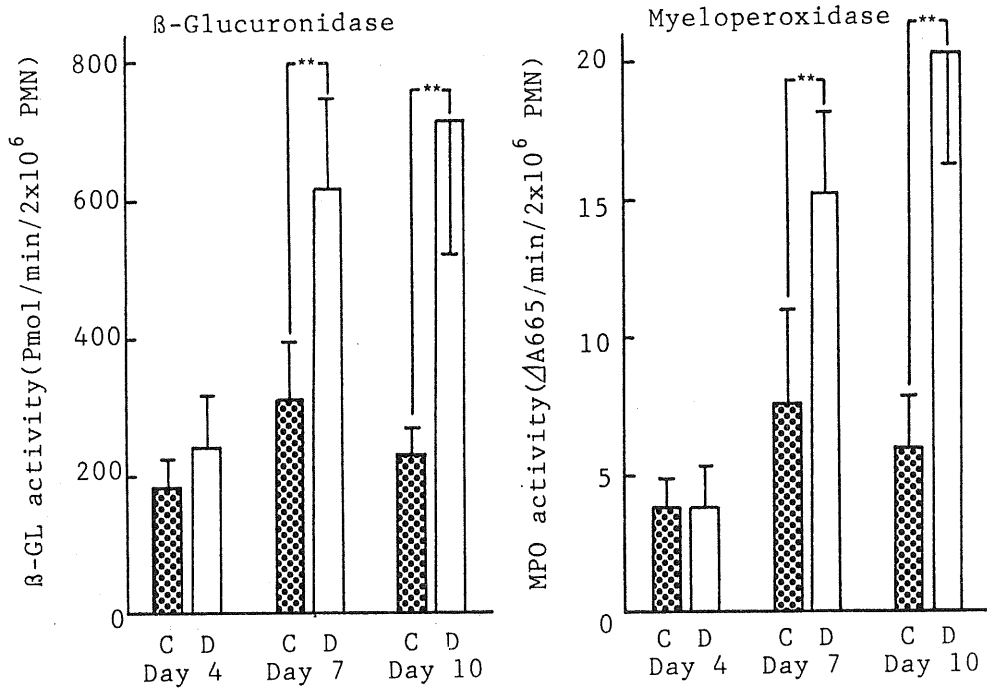


Fig.2. The effect of magnesium deficiency on total activities of lysosomal enzymes. C, control ; D, Mg-deficient. Results are expressed as means + SD. ** $P < 0.01$.

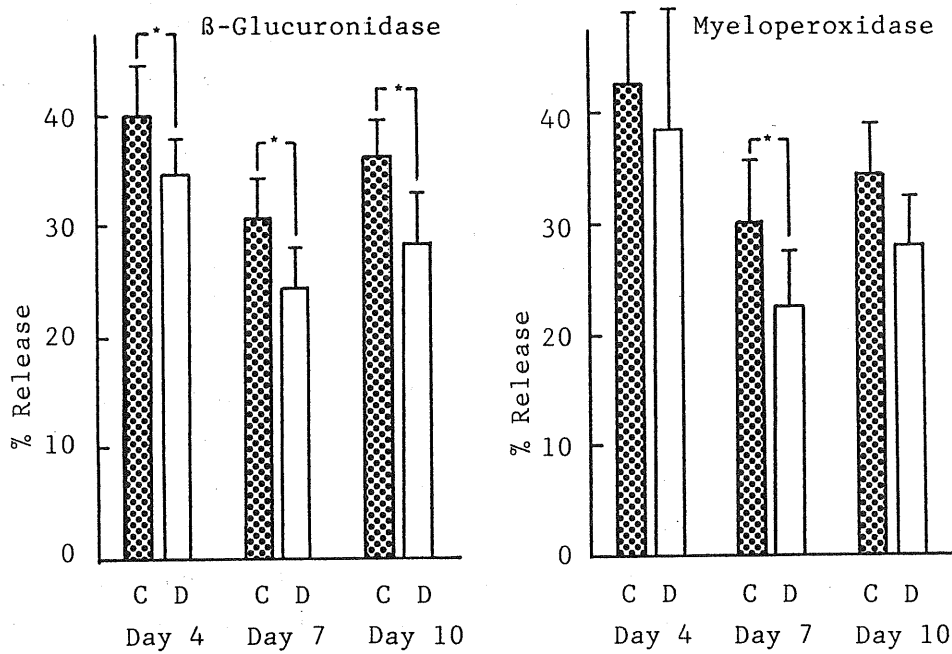


Fig.3. The effect of magnesium deficiency on percent release of lysosomal enzymes. C, control; D, Mg-deficient. Results are expressed as means + SD. * $P < 0.05$.

10日目のいずれも、対照群に比べて欠乏群では有意に低下していた。ミエロペルオキシダーゼにも同様な傾向が見られた。

Fig. 4に見られるように、スーパーオキシドアニオンの生成量も4日目には両群に差はなかったが、7日目には対照群に比べて欠乏群では約2倍に上昇していた。

一方、遊走活性は4, 7, 10日目とも両群に差は認められなかった。

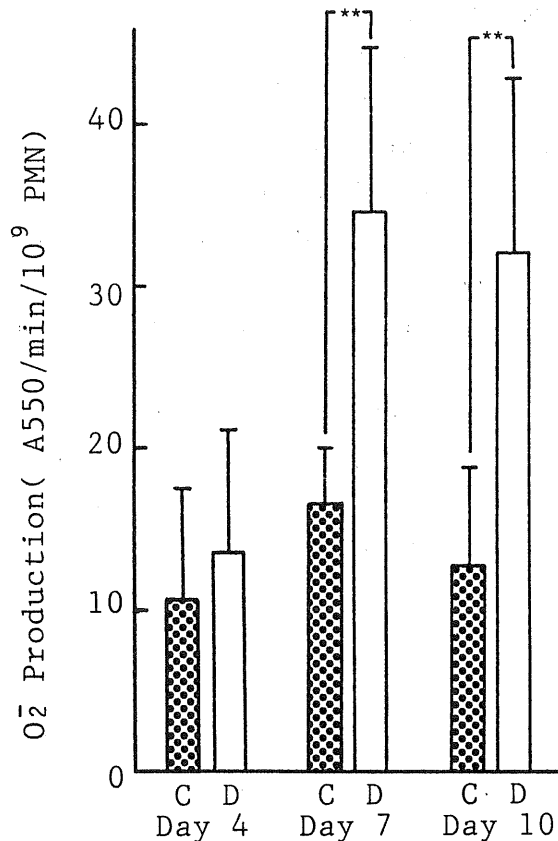


Fig.4. Superoxide anion production in magnesium deficient rats. PMNs were stimulated by f-Met-Leu-Phe (10^{-6} M) and cytochalasin B ($5 \mu\text{g/ml}$) C, control; D, Mg-deficient. Results are expressed as means + SD. ** $P < 0.01$.

マグネシウム欠乏ラットで認められた、ライソゾーム酵素活性やスーパーオキシドアニオン産生の著しい上昇は、マグネシウム欠乏により白血球の機能亢進が起きていることを示している。白血球から放出されるスーパーオキシドラジカルやライソゾーム酵素は、血管障害を引き起こし、循環器疾患の原因になることが示されている。一方、マグネシウムと循環器疾患との関連が最近注目されており、マグネシウムやカルシウムの摂取量の少ない地域では循環器疾患の発症率が高いと報告されているが¹²⁾、マグネシウム欠乏時の白血球機能、特に血管障害性の強いスーパーオキシドラジカルの産生やライソゾーム酵素活性の上昇は、循環器疾患発症との関連から興味深い。

文 献

- 1 . CHANDRA, R. K. and A. K. SARAYA (1975) J. Pediat. 86 : 899-904
- 2 . SERFASS, R. E. and H. E. GANTHER (1975) Nature 255 : 640-664
- 3 . UNDERWOOD, E. J. (1977) in Trace elements in human and animal nutrition, 4th ed., Academic Press, New York and London. : pp.196-242
- 4 . BOYNE, R. and J. R. ARTHUR (1981) J. Comp. Path. : 271-276
- 5 . KASHIWA, H. K. and G. F. HUNGERFORD (1958) Proc. Soc. Exp. Bio. Med. 99 : 441-442
- 6 . WIANCKO, K. B. (1961) Arch. Int. Pharmacodyn. 132 : 91-96
- 7 . GALLIN, J. L. and A. S. ROSENTHAL (1974) J. Cell. Biol. 63 : 594-599
- 8 . SUZUKI, K., C. SWENSON, S. SASAGAWA, T. SAKATANI, M. WATANABE, M. KOBAYASHI and T. FUJIKURA (1983) Exp. Hematol : 1005-1013
- 9 . SUZUKI, K., H. OTA, S. SASAGAWA, T. SAKATANI and T. FUJIKURA (1983) Anal. Biochem. 132 : 345-352
- 10 . KITAGAWA, S. and F. TAKAKU (1981) FEBS Lett. 128 : 5-11
- 11 . CATE, K. L., C. E. RAY and P. G. QUIE (1977) in Leukocyte Chemotaxis, Raven Press. New York : p.67
- 12 . 糸川嘉則 (1987) 循環器科 21 : 534-541