

## 9131 マグネシウム・カリウムの代謝異常と突然死に関する実験的研究

中村 元臣(中村学園大学)

## 【研究目的】

マグネシウム(Mg)とカリウム(K)は細胞内に多く含まれるミネラルとして重要であり、従来血清Kの低下に伴って不整脈の発生が増加し易いことが知られていた。近年Kを補給しても難治性不整脈が治癒せずMgの補給により治癒する症例が報告されるに至り、Mgと不整脈との関係が注目されている。

他方、わが国では急性心不全という死亡診断に代表される急死あるいは突然死が近年増加しているが、その実態と発生機序については全く手がかりが得られていない。本研究ではMg欠乏ラットを中心に実験動物に突然死を誘発し得る方法を開発し、突然死前後の不整脈を明らかにし、突然死の発生機序の一端に迫ることを研究目的とする。

## 【研究方法】

①生後3週令の幼若雄性ラットにMg欠乏食とコントロール食を与え、2週後心電図電極を植え込んだ後、実験開始15日目よりホワイトノイズを与えて、突然死を誘発することを試みた。Telemetry法により覚醒下に連続記録された心電図を解析する。更に、一部のMg欠乏ラットに脳波電極を植え込み、突然死に至る痙攣発作時の脳波異常を記録解析する。②家兎に間歇的高脂血症を起こし冠動脈硬化家兎を作る。冠動脈硬化家兎にストレス誘発性物質や血管作動物質を与えて心電図変化を解析する。

## 【研究結果】

①Mg欠乏ラットに実験開始第15日よりホワイトノイズを与えた。第15日より第19日の間Mg欠乏ラット23匹のうち、20匹(87%)に痙攣発作を誘発し得た。痙攣発作は走行期、強直・間代性痙攣期、昏迷期に分けられ、1日2回全身痙攣発作を起こす例もあった。強直・間代性痙攣期に脳波上に低電位のfast activityを記録したがspikeを認めなかった。全身痙攣期(昏迷期)にはBurst spikeを脳波上に認めた。②家兎に間歇的高脂血症を8カ月続けた結果、家兎の大動脈硬化度は同程度ながら、心内膜下層の冠細動脈硬化はWHHL(遺伝性高脂血症)に比してより高度に起こることを認めた。

## 【考察と今後の問題】

①Mg欠乏ラットに音刺激を繰り返すことにより、87%の頻度に全身痙攣や突然死を任意に誘発することが可能となった。Mg欠乏だけでは不整脈は認められなかったが、音刺激により痙攣と突然死を誘発し心電図を記録した。今後、深部脳波を含め脳波と心電図を同時記録することにより痙攣と不整脈との関係や、突然死発生機序を明らかにしてゆきたい。②家兎の冠動脈硬化度を更に強めて、GABA受容体遮断剤や血管作動物質の影響等について検討を続けたい。



## 9131 マグネシウム・カリウムの代謝異常と突然死に関する実験的研究

中村 元臣(中村学園大学)

## 【研究の必要性と社会的背景】

- ①本邦では近年”心不全”ないし”急性心不全”と俗称される急死・突然死が年間約5万人と増加している。特に壮年男子の過労による”過労死”が社会の注目を引いている。突然死の大部分は致死的不整脈死と考えられ約8割が心室細動・心室頻拍であり、残り約2割が徐脈性不整脈であると考えられている。これら突然死の発症機序の詳細は不明であり、適当な実験動物モデルも開発されていない。
- ②ストレス学者ハンス・セリエ教授(カナダ)はストレスを受けた動物の心筋ではマグネシウム(以下Mgと略す)やカリウム(以下Kと略す)の含量が低下し心筋障害を起こすこと、MgとKの前投与によりこれら心筋細胞障害を防止できると報告している。
- ③本邦の都市部では食習慣の欧米化にともなってK・Mgの摂取量が低下し虚血性心疾患の発症数の増加との間に関係があること、アルコール多飲者では血清Mgの低下があること等が報告されている。
- ④助成研究者は1987年、飲酒によっても誘発される冠動脈攣縮性狭心症では器質的冠動脈硬化度に無関係に突然死や致死的不整脈を起こし易いことを報告した。(Circulation 75, 1110-1116, 1987)。現在、突然死を起こし易いうっ血性心不全や高血圧で利尿降圧剤の投与を受けている症例でMg不足が起こっていることが注目されている。
- ⑤臨床的に低K血症ではジキタリス不整脈を起こし易いことが知られているが、Kの補充にも関わらず治癒しない難知性不整脈にMgの静注が効を奏する事が経験的に報告され始め、Mgと不整脈との関係が近年注目を引いている。しかし、低Mg血症で致死的不整脈を起こし易いか否かは明かでない。
- ⑥中枢神経系の $\gamma$ -aminobutyric acid(以下GABAと略す)の受容体機能を抑制するとストレス状態に陥り、心室性不整脈を起こすことがラットと猫で観察されている。他方、ストレスによりカテコラミンの遊出が増し心筋よりMgが喪失され易いことが実験的に報告されている。

以上のような背景から、ストレスとMg・Kの代謝異常とは相互に増幅しあって突然死や致死的不整脈を起こし易くすると考えられ本研究を計画するに至った。

### 【研究目的】

実験的中小動物に突然死や致死的不整脈を誘発する動物モデルを開発し、突然死の発症機序を研究する手がかりを得ることを本研究の目的とする。このため、①Mg欠乏ラットに音刺激をストレスとして与え、突然死を任意に誘発できる方法を開発した後、突然死前後の心電図と脳波異常を明らかにする。②進展した冠動脈硬化を有する家兎を作り、血管作動性物質やGABA受容体遮断剤を投与して誘発される心電図変化を明らかにする。

### 【研究方法】

#### ①Mg欠乏ラットを用いての実験

##### a) Mg欠乏ラットの作成

生後3週令のSprague Dawley雄性ラット（体重50g）に以下の合成飼料を作成して与えた。対照とするコントロールラットにはMgを40mg/100g飼料になるように調整して与えた。Mg欠乏食の構成は100g飼料当たり、ビタミンフリーのカゼイン（NBC）20.0g，精製ブドウ糖70.2g，コーン油5.0g，ビタミン混合物（AIN-76™）1.0g，塩化コリン0.3g，塩類混合物（AIN-76™）よりMgを除去した塩類を3.5gであり、この合成飼料を湿式灰化し原子吸光計で測定したMg含量は100g飼料当たり0.99mg以下であった。飲料水は脱イオン水を自由に与え各ラットは個別ケージで23℃、湿度50-60%で飼育された。体重を週2回測定した。

##### b) テレメトリー法による心電図記録

米国合衆国Data Science社製の心電図テレメトリー用のtransmitter(TA10EA-F2)を、Mg欠乏食あるいは対照食投与14日後にラットの腹腔内に植え込み、電極末端を第II誘導様になるように皮下に固定した。Transmitterより発信された心電図信号は同社製のReceiver(CTR 86)を介して、ポリグラフ（日本光電KK製）とデータレコーダー（TEAC）あるいはマルケット社製ホルター心電図記録計に連続記録した。但し、ホルター心電図記録計については、ラットの心拍数約500/分に適合させるため、テープ回転速度を2倍にすることにより、ヒトの場合の心拍数250/分に相当する速度で記録を行った。

##### c) 脳波の記録

Mg欠乏ラットと対照ラットの一部について、実験食開始10日目に脳硬膜に脳波電極を植え込んだ後、心電図と同様覚醒下にポリグラフとデータレコーダーに記録した。

##### d) 音刺激法

ノイズゼネレーターを用いてホワイトノイズ（1sec on, 1sec off）を作成しテープに記録した。この録音テープをテープレコーダーを介して移動可能なスピーカーを用いて音を発生させ音量を用に応じて増減した。尚、これらノイズを与

えている間、特殊に作製した密閉温度調節器付き大型飼育室内でラットは個別ケージ内に飼育された。ノイズを与えている間、ラットの行動については終始実験者が観察した。

e) 血液と組織のMg, K, Ca, Naの濃度測定

屠殺に際し、ラットをペントバルビタール麻酔下に腹部大動脈より採血し血清を分離した。心臓、腓腸筋、脛骨、腎を採取した後、湿重量を秤量後70℃で乾燥し乾燥重量を求めた。乾燥した組織を湿式灰化後、型のごとく原子吸光計（島津製作所製）を用いてMg, K, Ca, Naを測定した。血清については灰化を省き直接原子吸光計で測定した。

f) 組織の形態学的検索

心臓の一部と腎の一部を切除して、ホルマリン固定後、ヘマトキシリン・エオジン染色で形態学的変化を検索した。

【研究結果】

1. 体重増加度の比較

50gより実験食を与えて14日間の体重増加度を比較した。Mg欠乏食15匹の14日間の平均体重増加度は一日中り1.5gであるの比して対照群のそれは5.0g/日であり有意に低値であった。

2. Mg欠乏食投与群では実験食開始3-5日後、耳の充血が出現し、次第に毛並みの粗ざう化、眼球突出がみられ、音刺激に敏感に反応するようになった。2週間以内に死亡したMg欠乏ラットは以下の統計より省いた。

3. 血清と組織内ミネラルの含量について

血清Mg濃度は平均0.53mg/dlで対照ラットの2.1mg/dlに比し統計学的有意に低値であった。(p<0.01)。

実験1と2の繰り返し実験において、表1-4に示す如き組織のミネラル含量に関する成績を得た。即ち、

(a) Mg欠乏ラットにおいて心筋のMgは低下しCaとNaは増加する傾向を示した。

(b) Mg欠乏ラットでは骨のMgは有意に低下しNaが上昇した。

(c) Mg欠乏ラットでは腓腹筋のCaとNaが有意に増加した。MgとKは低下する傾向を示した。

(d) Mg欠乏ラットの腎では有意にMgが低下しNaが上昇した。Kは低下しCaは増加する傾向を示した。

4. 心筋の組織学的変化

Mg欠乏ラットでは心筋の1部に細胞浸潤を認めることがあったが著しい変化ではなかった。ノイズストレスを長時間与えたのち、アドレナリン100μg腹腔内注入し

たラットでは著名な心筋壊死を広汎に認める場合があった。

#### 5. ノイズストレスによる全身痙攣発作と突然死の誘発について

a) 痙攣発作誘発頻度：初回の音刺激ですぐにseizureになったものは23匹中1匹もなかった。しかし、初日あらかじめ弱い音刺激にさらしたのち、次にノイズの音量を強めると痙攣発作が誘発され易いように思われた。初回より発作を重ねる毎に音刺激開始より痙攣発作までの時間が短くなるように思われた。全身痙攣発作をMg欠乏ラット23匹に試み20頭に誘発し得たが対照ラット8匹では1回も誘発できなかった。

b) Mg欠乏ラットにおけるノイズストレスにより誘発されたseizure発作前後の心電図  
Mg欠乏ラットの血清Mg濃度は上述のごとく著明に低下していたが、Mg欠乏状態あるいは低Mg血症そのものでは有意な不整脈の発生を認めなかった。

ホワイトノイズ刺激により誘発された強直・間代性痙攣発作時に、図1に示す如く、短時間の徐脈性不整脈を認めた。全身痙攣発作時には、洞性徐脈、洞房ブロックや房室ブロックに伴う結節調律、または心室固有調律を示し、もっとも著しい徐脈時の心拍数は60/分であったが、自然に洞機能の回復に伴って数分で正常に回復した。しかし、Mg欠乏ラットでは、発作を繰り返すと痙攣発作に伴って意識が回復されず死亡する傾向がみられた。今回の実験では全身痙攣発作3回が最大であったが、走行・強直・間代性痙攣発作回数と死亡との関係は明らかにされなかった。

c) Mg欠乏ラットの音刺激による痙攣発作に伴う脳波変化

Mg欠乏ラットに音刺激を与えて誘発した強直・間代性痙攣に伴って脳波上低電位のfast activityを認めた。全身痙攣発作では図2に示す如くこれらの脳波変化に引き続きBurst spikeを認めた。

#### 【考察と今後の課題】

突然死の動物モデルの1つとして、Mg欠乏ラットにホワイトノイズを与えて高率に痙攣発作と突然死を誘発することが可能となった。

低Mg血症やMg欠乏それ自身では有意の不整脈は起こらなかった。痙攣発作、特にてんかん様の全身痙攣発作に伴う昏迷期には、ほとんど全ての場合徐脈性不整脈が認められたが、致死的頻脈性不整脈を認めなかった。全身痙攣発作を繰り返すと死亡する機序については、不整脈の発生機序とともに現在なお不明であり、今後の重要な検討すべき課題である。

今後、脳硬膜よりの脳波記録に加えて、海馬を中心とした辺縁系などより深部脳波を心電図と同時記録することにより、脳波異常発生部位、不整脈と脳波異常、行動異常との相互関係を検討する必要がある。

更に、てんかん発作との関係が注目されているN-methyl-D-aspartate受容体、脳局所血流量等についても検討する必要がある。

他方、高度の冠細動脈硬化家兎を作ることには成功したが、家兎に急性心筋虚血を誘発し心筋虚血とその再灌流による不整脈、ひいてはそれによる突然死の誘発を試みる必要がある。更に、GABA受容体遮断や視床下部刺激等により冠動脈硬化家兎に不整脈や突然死の誘発を試みる予定である。

表1 心筋のミネラル含量 (mg/g dry tissue, mean±S.E.)

実験 1	n	Mg	Ca	K	Na
a) 対照群	6	0.97±0.02	0.32±0.02	14.6±0.40	6.00±0.15
b) Mg 欠乏群	7	0.84±0.02	0.60±0.19	14.0±0.39	6.46±0.40
t-検定		p<0.01	N.S.	N.S.	N.S.
実験 2	n	Mg	Ca	K	Na
a) 対照群	5	1.23±0.04	0.29±0.03	19.8±0.77	7.72±0.36
b) Mg 欠乏群	10	1.03±0.07	0.90±0.26	20.5±1.36	7.06±0.48
t-検定		N.S.	p<0.05	N.S.	P<0.01

表2 骨のミネラル含量 (mg/g dry tissue, mean±S.E.)

実験 1	n	Mg	Ca	K	Na
a) 対照群	6	3.41±0.57	168±2.9	4.88±0.31	5.69±0.13
b) Mg 欠乏群	7	1.11±0.16	167±3.5	5.60±0.40	6.69±0.17
t-検定		p<0.01	N.S.	N.S.	P<0.01
実験 2	n	Mg	Ca	K	Na
a) 対照群	5	4.27±0.09	184±3.7	4.86±0.23	5.34±0.18
b) Mg 欠乏群	7	0.91±0.03	177±6.8	5.74±0.16	6.62±0.18
t-検定		P<0.01	N.S.	p<0.01	P<0.01



表3 腓腹筋のミネラル含量 (mg/g dry tissue, mean±S.E.)

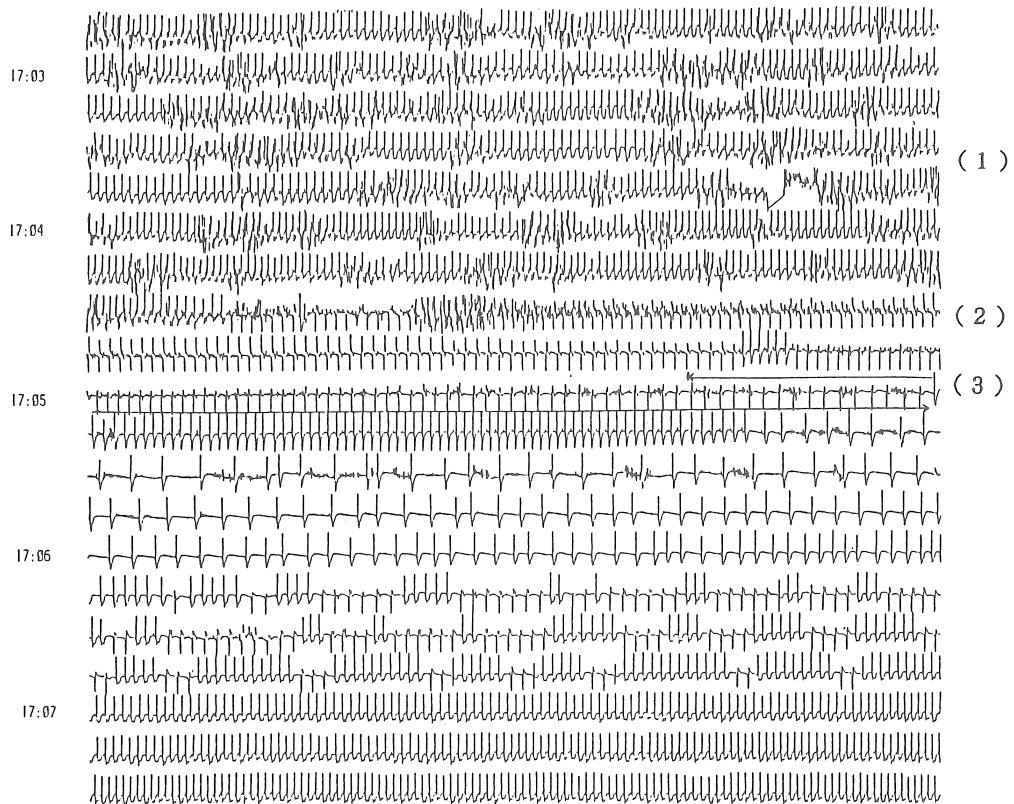
実験 1	n	Mg	Ca	K	Na
a) 対照群	6	1.20±0.01	0.28±0.01	20.1±0.19	2.39±0.08
b) Mg 欠乏群	6	1.04±0.03	0.64±0.07	18.0±0.55	5.57±0.70
t-検定		p<0.01	p<0.01	p<0.01	p<0.01
実験 2	n	Mg	Ca	K	Na
a) 対照群	5	1.24±0.03	0.27±0.01	18.3±0.79	2.45±0.10
b) Mg 欠乏群	7	1.17±0.04	0.45±0.03	19.1±1.10	4.20±0.36
t-検定		N.S.	p<0.01	N.S.	P<0.01

表4 腎のミネラル含量 (mg/g dry tissue, mean±S.E.)

実験 1	n	Mg	Ca	K	Na
a) 対照群	6	0.97±0.02	0.22±0.01	15.1±0.37	5.96±0.22
b) Mg 欠乏群	7	0.77±0.02	0.34±0.04	13.2±0.33	6.81±0.33
t-検定		p<0.01	p<0.05	p<0.01	P<0.05
実験 2	n	Mg	Ca	K	Na
a) 対照群	5	1.22±0.05	0.50±3.70	16.9±0.80	7.29±0.46
b) Mg 欠乏群	7	1.00±0.02	0.72±0.16	17.8±0.75	10.10±0.48
t-検定		P<0.01	N.S.	N.S.	P<0.01

図1 Mg欠乏ラットの音刺激による痙攣発作  
前後の連続心電図記録

06-DEC-91



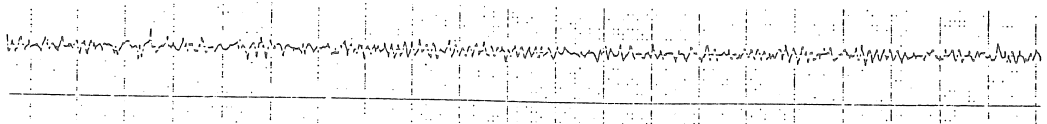
(1) 走行期

(2) 間代性強直性痙攣期

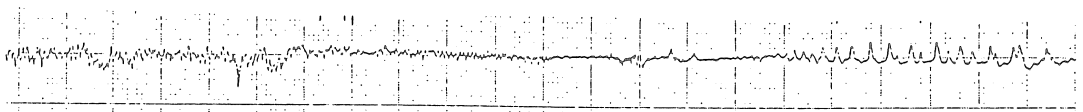
(3) 昏迷期 (矢印の間脳波に Spike を記録した)

図2 Mg欠乏ラットの音刺激による全身痙攣  
発作時の脳波変化

コントロール時の脳波



全身痙攣発作時の脳波



→ ←

1 s e c

P S : 1 0 m m / s e c

Title: Provocation of sudden death in animals related to metabolic abnormalities of magnesium and potassium

Motoomi Nakamura, Shimako Abe and Yoshinobu Goto\*

Graduate School of Health and Nutrition Sciences, NAKAMURA-GAKUEN  
and \*Institute of Neurology, Kyushu University Medical School,  
Fukuoka, Japan

### Summary

To establish an animal model for sudden death, induction of sudden death and changes in ECG and EEG were studied in rats fed a magnesium deficient diet.

Twenty three weanling rats were fed a magnesium deficient diet for 2 to 3 weeks. Seizure attack was successfully induced by application of white noise (1 sec ON and 1 sec OFF) in 20 rats out of 23 fed a magnesium deficient diet. One- or 3-days-application of noise-stress was needed for induction of seizure attack such as four limbs-tonic and clonic, and rearing fall (general seizure), sometimes sudden death. ECG (II lead like configuration) and EEG from dura were recorded during and after application of white noise as an auditory stress, on 15th to 19th day of feeding. During general seizure, various degrees of bradyarrhythmias such as sinus bradycardia, sino-atrial- or atrio-ventricular block with junctional or idioventricular escape rhythm were recorded in association with EEG abnormalities, such as low voltage fast activity and then burst spike in EEG. In 8 control rats, neither seizure and nor sudden death were induced.