
助成研究報告書

食品科学プロジェクト研究

(2006－2008年度)

「にがり」を中心としたマグネシウムの食品栄養学的研究

Nutritional Studies on Bittern, Especially for Magnesium

The Salt Science Research Foundation
Project Research Report

平成22年3月



公益財団法人
ソルト・サイエンス研究財団

プロジェクト研究報告書 目次

食品科学分野

06D - 08D 「にがり」を中心としたマグネシウムの食品栄養学的研究

1	はじめに 木村 修一 (昭和女子大学)	1
2	マグネシウム欠乏に関する栄養生理学的・病理組織学的検索 (06D1 - 08D1) 池田 尚子 (昭和女子大学)	3
3	にがり成分の生体内ダイナミクスと代謝吸収過程のイメージング (06D2 - 08D2) 榎本 秀一 (岡山大学)	13
4	マグネシウムの欠乏および対カルシウム比の生体への影響に関する DNA マイクロアレイ 解析 (06D3 - 08D3) 上原 万里子 (東京農業大学)	25
5	食塩の味覚応答に及ぼす「にがり」及び各種マグネシウム塩の影響 (06D4 - 08D4) 駒井 三千夫 (東北大学)	37
6	日本人のマグネシウム・カルシウム摂取量の実態に関する研究 (06D5 - 08D5) 渡辺 孝男 (宮城教育大学)	49
7	まとめ 木村 修一 (昭和女子大学)	63

CONTENTS

PROJECT RESEARCHES OF FOOD SCIENCE

Nutritional Studies on Bittern, Especially for Magnesium

1	Introduction Shuichi Kimura (Showa Women's University)	1
2	Histopathological and Nutritional Physiological Study on Dietary Magnesium Deficiency in Rats (06D1 - 08D1) Takako Ikeda (Showa Women's University)	3
3	Metabolic Interaction of Nigari and Various Trace Elements on Mice by Using the Multitracer Technology and the Gamma-Ray Emission Imaging System (GREI) as a New Modality of Multiple Molecular Imaging (06D2 - 08D2) Shuichi Enomoto (Okayama University)	13
4	DNA Microarray Analysis on Effects of Magnesium Deficiency and Dietary Magnesium and Calcium Ratio in Rats (06D3 - 08D3) Mariko Uehara (Tokyo University of Agriculture)	25
5	Effect of "Bittern" and Magnesium Salts on Sodium Chloride Taste Perception (06D4 - 08D4) Michio Komai (Tohoku University)	37
6	Study on Dietary Intakes of Magnesium and Calcium by the Food Duplicate Method for Japanese (06D5 - 08D5) Takao Watanabe (Miyagi University of Education)	49
7	Conclusion Shuichi Kimura (Showa Women's University)	63

はじめに

プロジェクト研究リーダー 木村 修一（昭和女子大学）

数年前“にがり”に社会的関心が集まったことがある。「にがりを摂取すると痩せる」「美肌が期待できる」「便秘を治す」「花粉症を予防する」などなどの情報がインターネットを通じて流れ、殊にダイエットを目指す若い女性にとってブームを巻き起こしたのであった。

しかし、あまり効かなかったのか、ある研究機関が否定的な情報をだしたせい、いつのまにかブームは終結した感がある。

しかし、このようなブームとは無関係に、料理の世界ではいわゆる自然塩といわれる“にがり”の入った食塩に対するこだわりが根強くあって、「おいしさ」における“にがり”の効用については依然として興味をもたれているのも事実である。

これとは無関係であるが、微量元素学会などアカデミアの領域では、にがりの主成分であるマグネシウムの生理的役割については多くの研究者が多大の関心を示している。その発端となった論文はフィンランドの Karppanen の疫学的研究報告であろう。すなわち、世界各地のマグネシウム摂取量とカルシウム摂取量を蒐集してこれを基礎値とし、それぞれの国での Ca/Mg 比率を X 軸にとり、虚血性心疾患による死亡率を Y 軸にとると、両者には正の相関がみられるというものである。

以前、われわれの研究室でも、この点に注目してカルシウムとマグネシウムの比率を考慮した Mg 欠乏実験をしたことがある。Mg 欠乏動物を飼育して放射性 Mg を用いてその生体内動態を検討した

ところ、欠乏させた動物(ラット)に突然死が続出し、放射性同位元素の Mg の分布をみると、心臓に多く集まることを見出し、心臓に焦点を合わせた実験を進めていたのである。この問題はソルトサイエンスにとって重要な問題であると考え、プロジェクト研究を提案した経緯がある。

プロジェクトのサブテーマとして、次の五つを挙げて公募した。(1)Mg 欠乏動物の栄養生理、とくに突然死が何故起こるのかを中心に検討する。(2)にがり成分元素のアイソトープを用いて Mg その他元素の生体内動態を明らかにする。(3)Ca/Mg 比率を考慮しながら、Mg 欠乏下の生体における遺伝子発現の変動を DNA マイクロアレイで解析する。(4)食塩の味覚応答に対するにがり成分の影響を神経生理学的手法で検討する。(5)日本人の Mg および Ca 摂取量を明らかにする疫学的調査研究である。幸いにそれぞれのサブテーマを研究したいと考えている研究者が選抜され、3年間研究成果が提出された。すなわち汗の結晶としてここに成果があがってきたのである。

どの論文もまことに興味をそそられる内容となっている。まだまだやらなければならない課題がたくさん出てきたが、今後のこの領域での研究の方向性が示されている感がある。今後につないでいける成果というのは研究にとって非常に価値あるものである。これら論文をまとめることができたことを嬉しく思っている。

マグネシウム欠乏に関する栄養生理学的・病理組織学的検索

池田 尚子¹, 今沢 孝喜², 中西 由季子³, 稲毛 寛子³, 鈴木 美季子³

¹昭和女子大学生活科学部健康デザイン学科,

²医薬基盤研究所基盤的研究部生物資源研究部共用機器実験室,

³昭和女子大学大学院生活機構研究科

概要 近年、マグネシウム(Mg)の慢性的摂取不足が、心臓病や脳卒中などの循環器疾患の発症に関与する可能性が指摘されている。我々は、Mg 欠乏ラットによる組織学的検討において、心筋細胞の変性が強く、病理学的に虚血性心疾患の初期によく見られる病変と類似していることを観察している。一昨年はラットを用いて、食餌による Mg 欠乏の生体に及ぼす影響、特に心筋細胞のミトコンドリアの空胞変性、腫大化、筋原繊維の断裂、融解、グリコーゲン顆粒の蓄積などを観察した。また、このとき代謝機能の測定で酸素消費量と二酸化炭素産出量が、対照群に比してどの時間帯も高い傾向が認められた。この現象は Mg 欠乏がストレスとなって、副腎髄質ホルモンであるカテコールアミン、特にアドレナリンの分泌の上昇によるものではないかと推測し、昨年は Mg 欠乏群の副腎組織を検討した。その結果、副腎皮質細胞の慢性肥大が観察された。また血清中の副腎皮質刺激ホルモン(ACTH)、コルチゾール、ノルアドレナリン、ドーパミン濃度は高い傾向も観察された。このことは Mg 欠乏自体がストレスとなったことを示唆している。その結果、Mg 投与による回復期においても血清中の副腎皮質刺激ホルモン、コルチゾール、ドーパミン濃度が、対照群と同じ程度まで回復が認められたことから、このストレスは Mg 欠乏によるものであると考えられる。

Mg 欠乏においては、血清中の ACTH が高い傾向を示すことから下垂体にも変化のある可能性が推測されたことから、本年は下垂体前葉を免疫組織学的および超微形態学的に検討した。群構成は対照群および Mg 欠乏群の計 2 群で、各群 6 匹ずつ配した。実験に用いた飼料の組成は AIN-93G の組成に準じ、対照群の食餌には酸化マグネシウムを含むミネラル混合を用い、Mg 欠乏群の食餌にはミネラル混合から酸化マグネシウムを除いたミネラル混合を用いた。実験期間は 4 週間とし、剖検後、血液は生化学的検査、下垂体および副腎は病理組織学的検査に供した。生体内 Mg 状態の指標とされている血清中の Mg 濃度は、Mg 欠乏群で対照群に比して、有意な低下を示し、明らかに Mg 欠乏状態であることが確認された。その結果、下垂体重量は、Mg 欠乏群が対照群に比して高い傾向を示した。下垂体前葉組織の ACTH 陽性細胞数の標識率は、Mg 欠乏群が対照群に比して有意な高値を示した。また、対照群の下垂体前葉組織は電顕的にほぼ正常構造を示したが、Mg 欠乏群の下垂体前葉組織には粗面小胞体の発達および拡張、ミトコンドリアの空胞変性、腫大化、ACTH 産出細胞における未成熟の分泌顆粒の出現などが認められ、Mg 欠乏では下垂体に重大な変化が生じていることを明らかにすることができた。Mg 欠乏群が下垂体前葉に著しい変化を与えることだけでなく、視床下部にも何らかの変化があることが推測される。今後はさらにこの点を明らかにする必要があると考えられる。

1. 研究目的

マグネシウム(Mg)は、人体内に 7 番目に多く存在する必須ミネラルである。Mg の生体構成成分中の含量は、体重 70 kg の成人で約 834 - 1,200 mmol (約 20 - 28 g)¹⁾で、

そのうち 60 - 65% は骨中、27% は筋肉中、6 - 7% は他の組織中、1% は細胞外液中に存在し²⁾、その役割は、タンパク質の機能維持、体温や血圧の調節、神経の興奮、筋肉の収縮など 300 種類以上の酵素反応の触媒作用に重

要な役割を果たしている³⁾。Mg が不足してもホメオスタシス作用により骨から Mg が溶出して、血液中 Mg 濃度はよほどの欠乏にならない限り低下をしない場合が多い。ラットを用いた動物実験において、Mg 欠乏により体重増加量の低下⁴⁻⁶⁾ や血清中総タンパク濃度の低下などタンパク質利用の低下が引き起こされることが報告されている⁷⁻⁸⁾。ヒトでは、近年、Mg の慢性的摂取不足と虚血性心疾患の発症との関係が認められている⁹⁻¹²⁾。Mg 欠乏に陥ると、疲労感、筋肉の痙攣、記憶障害、抑鬱症などの症状が現れると報告²⁻¹²⁾ されている。しかし、このような症状は欠乏がかなり進行してから出現するもので、このような症状になることは稀である。注意を要するのは、急性の欠乏状態というよりは、軽度の欠乏が慢性的に長期持続した場合に起こる虚血性心疾患など心臓病や脳卒中などの循環器疾患である。木村らはマウスが Mg 欠乏状態に陥ると、心臓、顎下腺、腸管、腎臓への Mg の取り込みが他の臓器に比べて多くなることを報告¹³⁾ している。また我々は、Mg 欠乏ラットによる病理組織学的検討においても心筋細胞の強い変性が見られ、虚血性心疾患の初期によく見られる病変と類似していることを報告した¹⁴⁾。平成 18 年度はラットを用いて、食餌による Mg 欠乏の生体に及ぼす影響、特に心筋細胞のミトコンドリアの空胞変性、腫大化、筋原繊維の断裂・融解、グリコーゲン顆粒の蓄積などを超微形態学的に観察した。また、このとき代謝機能の測定で酸素消費量と二酸化炭素産出量が、対照群に比してどの時間帯においても高い傾向が認められた。この現象は Mg 欠乏がストレスとなって、副腎髄質ホルモンであるカテコールアミン、特にアドレナリンの分泌の上昇によるものではないかと推測し、平成 19 年度は Mg 欠乏群の副腎組織の病理組織学的および血清中ホルモンについて検討した。その結果、副腎皮質細胞のび慢性肥大が観察された。また血清中の副腎皮質刺激ホルモン (ACTH)、コルチゾール、ノルアドレナリン、ドーパミン濃度は高い傾向が観察された。このことは Mg 欠乏自体がストレスとなったことを示唆している。また、Mg 投与による回復期においても血清中の ACTH、コルチゾール、ドーパミン濃度が、対照群と同じ程度まで回復が認められたことから、このストレスは Mg 欠乏によるものであると考えられる。

Mg 欠乏において、血清中の ACTH が高い傾向を示すことから下垂体にも変化のある可能性が推測されたので、

平成 20 年度は下垂体前葉を免疫組織学および超微形態学的に検討した。また、Control 食とにがりによる Mg 欠乏状態からの回復実験を設け、心臓組織のマグネシウムイオンおよびカルシウムイオンの動態について検討した。

2. 研究方法

2.1 実験動物ならびに飼育条件

実験動物として 4 週齢の Sprague-Dawley 系雄ラットを日本チャールス・リバー(株)より購入し、空調制御された飼育室(室温 $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$; 相対湿度 $55 \pm 5\%$; 照明サイクル 12 時間明/12 時間暗)で、ステンレス製個別ケージに収容した。1 週間の馴化期間後、異常がみられない動物を選択し、各群の初期平均体重がほぼ等しくなるように群分けを無作為に行った。各群 6 匹ずつ 2 群に配した。飲料水は蒸留水とし、飲料水は実験期間を通して自由に摂取させた。

2.2 実験飼料

実験に用いた飼料の組成は AIN-93G¹⁵⁾ の組成に準じ、Control 群の食餌には酸化マグネシウムを含むミネラル混合を用い、Mg 欠乏群の食餌には上記ミネラル混合から酸化マグネシウムを除いたミネラル混合を用いた。回復実験の Control 群は AIN-93G¹⁵⁾ の組成に準じ、にがり(ソルトサイエンス財団から支給されたもの)群は Mg 欠乏食+にがり添加とし、にがり群の添加量は、AIN-93G 配合の Mg と同量の Mg とした。

飼料原料はオリエンタル酵母(株)より購入した。

2.3 実験方法

実験期間は Mg 欠乏期を 4 週間とし、その後、回復期を 1 週間設けた。実験期間中、一般状態の観察および摂餌量の測定を連日実施し、体重は毎週 1 回測定した。群構成は、Mg 欠乏期は Control 群および Mg 欠乏群の 2 群で、各群 6 匹ずつ、回復期は Control 群およびにがり群の 2 群で、各群 6 匹ずつとした。

2.3.1 呼気分析の方法

酸素消費量、二酸化炭素産出量および呼吸商を 8 分おきに 22 時間測定した。ラットと飲料水であるトランスポートアガーをあらかじめチャンバーに入れておき、チャンバー内の呼気が安定した約 30 分後に餌を与えた。OXYMAX システム(コロンバス社)を用いて、酸素の消費量 (VO_2)、二酸化炭素の産出量 (VCO_2)、呼吸置換比

(RER)及び熱量をシステム専用ソフトで解析した。

2. 3. 2 生化学的検査

血清生化学的検査は血液を遠心分離後、得られた血清の Mg 濃度(マグネシウム B-テストワコー;和光純薬工業株式会社)および血清中総タンパク質濃度(A/G B テストワコー;和光純薬工業株式会社)の測定を実施した。血清の副腎皮質刺激ホルモン(ACTH)濃度はECLIA、コルチゾール濃度はRIA 固相法、ノルアドレナリン濃度およびドーパミン濃度はHPLCにて測定した。

2. 3. 3 病理組織学的検査

各群 6 匹の動物から下垂体、心、副腎を採取し、4% パラホルムアルデヒド溶液で固定した。組織は通常の方法によりパラフィン包埋して、4 μm で薄切片を作製し、H.E. 染色を施し、光学顕微鏡にて観察した。また、下垂体は抗 ACTH モノクローナル抗体による免疫組織化学的染色¹⁶⁾を ABC キットを用いて 100 倍希釈で行い、光学顕微鏡にて観察後、下垂体前葉細胞数 500 個あたりの ACTH 陽性細胞数を計測した。

さらに、各群 2 匹の動物から心臓(左心室心尖部)および下垂体を 2.5% グルタルアルデヒド溶液(0.1 Mリン酸緩衝溶液 pH 7.4)で固定した後、1% オスミウム酸溶液で後固定を行い、常法に従いエポック 812 樹脂包埋した。包埋した標本はオーブンで硬化させ、ウルトラカット(Reichert-Jung)で 1 μm の厚切り切片を作製し、トリイジンブルー染色後、光学顕微鏡像を参考にトリミングした。70 nm の超薄切片をダイヤモンドナイフで作製し、酢酸ウランおよびクエン酸鉛の二重電子染色を施し、透過型電子顕微鏡(日本電子:JEM-1200EX)にて超微形態学的に検査した。

2. 3. 4 統計学的解析

実験結果は平均値と標準偏差を算出し、呼吸商測定値は二元配置分析で処理し、その他は一元配置分析で処理し、 $P < 0.05$ を有意とした。

3. 結果

3. 1 死亡動物および一般状態

Mg 欠乏群は耳介部を中心とした皮膚炎の発症や鼻および口周辺の脱毛が実験開始 5 日目に観察された。実験開始 28 日目において Mg 欠乏群のうち 1 匹の死亡が確認され、Mg 欠乏群のみで突然死が認められた。

3. 2 体重推移

体重は Mg 欠乏群では Control 群に比して、1 週目以降有意に低値を示し、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。

3. 3 臓器重量

Mg 欠乏群の副腎重量は Control 群に比して有意に高値を示し、下垂体重量は Control 群に比して高値を示す傾向がみられた。Mg 欠乏群の心、肝、腎、副腎の重量は Control 群に比して有意な増加が認められた。一方、回復群の心、肝、腎、副腎の重量は Control 群と同様な程度まで重量の回復が認められた。

3. 4 呼吸分析

Mg 欠乏群の 2 週間目の 169 - 224 分間の酸素消費量は、対照群に比して有意な増加が認められた(Fig. 1)。Mg 欠乏群の 2 週間目の 160~480 分間の二酸化炭素産出量は、対照群に比してどの時間帯においても高い傾向が認められた(Fig. 1)。Mg 欠乏群の 2 週間目の 320~480 分間の呼吸商は、対照群に比して高い傾向が認められた(Fig. 2)。

Mg 欠乏群の 4 週間目の酸素消費量は、対照群に比してどの時間帯においても高い傾向が認められた(Fig. 1)。Mg 欠乏群の 4 週間目の二酸化炭素産出量は、対照群に比してどの時間帯においても高い傾向が認められた(Fig. 1)。Mg 欠乏群の 4 週間目の 337~392 分間の呼吸商は、対照群に比して増加傾向が認められた(Fig. 2)。

3. 5 血清中の生化学的検査

Mg 欠乏群の血清中の Mg 濃度は、Control 群に比して有意な低下が認められ(Fig. 3)、明らかに Mg 欠乏状態であることが確認された。血清アルブミン濃度、総タンパク質濃度、アルブミン・グロブリン比について、いずれも Mg 欠乏群と Control 群において有意な差は認められなかった。血清中の ACTH、コルチゾール、ノルアドレナリン、ドーパミン濃度は、Control 群に比して Mg 欠乏群は高い傾向を示した。また、Control 食とにがりによる回復の実験では血清 Mg 濃度は Control 群と同レベルまで回復した。

3. 6 副腎組織の光学顕微鏡による観察

Control 群の副腎組織は光顕的にほぼ正常構造を示し、副腎組織の髓質および皮質細胞には異常が認められなかった。Mg 欠乏群の副腎組織は皮質にび慢性肥大が観察された。

3.7 共焦点レーザー顕微鏡(FLUOVIEW; FV1000-D)による観察

心臓組織の Mg イオン蛍光染色による強度は Control 群に比して、Mg 欠乏群は弱い傾向が見られた。心臓組織の Ca イオン蛍光染色による強度は Control 群に比して Mg 欠乏群が強い傾向がみられた。Control 食とにがりによる回復群は Mg イオンおよび Ca イオン蛍光染色強度は、Control 群とにがり群に差異が認められない程度まで回復が認められた。しかし、組織の損傷については十分な回復は認められなかった。

3.8 心臓および下垂体の透過型電子顕微鏡による観察

Control 群の心臓組織はほぼ正常構造を示し、心筋細胞のミトコンドリアおよび筋原繊維には異常は認められなかった(Fig. 4)。Mg 欠乏群は心筋細胞のミトコンドリアでは空胞変性、腫大化、クリスタ配列の乱れ、筋原繊維では断裂、融解、配列の乱れ等が観察され(Fig. 5)、またグリコーゲン顆粒の蓄積も認められた(Fig. 6)。Control 群の下垂体前葉組織の ACTH 産生細胞、成長ホルモン産生細胞、卵巣刺激ホルモン産生細胞、乳腺刺激ホルモン産生細胞、黄体化ホルモン産生細胞、甲状腺刺激ホルモン産生細胞には異常は認められず、ほぼ正常構造を示した。Mg 欠乏群の下垂体前葉組織には粗面小胞体の発達および拡張、ミトコンドリアの空胞変性、腫大化、ACTH 産出細胞における未成熟の分泌顆粒の出現などが認められた。

3.9 下垂体の ACTH 免疫組織学的検討

下垂体前葉組織の ACTH 陽性細胞数の標識率は、Mg 欠乏群が Control 群に比して有意な高値を示した(Table 1)。

4. 考察

これまでの研究で、Mg 欠乏ラットにおいて高確率で突然死が認められることから、その原因を探るために、食餌による Mg 欠乏の生体に及ぼす影響を検討した。

Mg 欠乏群の血清中の Mg 濃度は、対照群に比して有意な低下が認められ、明らかに Mg 欠乏状態であることが確認された。また、Mg 欠乏群は対照群に比し、成長の遅延や体重増加の抑制が見られ、実験終了時まで続いたのは、Mg 欠乏からもたらされたものであり、Mg はラットの成

長の多くの代謝に関与をしていることを示すものであろう。生体内 Mg 状態の指標とされている血清中 Mg 濃度は、Mg 欠乏群で対照群に比して、有意な低下を示し、明らかに Mg 欠乏状態であることが確認された。しかし血清アルブミン濃度、総タンパク質濃度、アルブミン・グロブリン比について、いずれも Mg 欠乏群と対照群において有意な差は認められなかった。Mg 欠乏食投与により血清中総蛋白質濃度および蛋白質利用の低下が引き起こされるという報告⁷⁻⁸⁾があるが、本実験では体タンパク質の分解が亢進されるほどの蛋白質代謝の異常はみられなかった。しかし、対照群に対し Mg 欠乏群が低値を示す傾向があることから、Mg 欠乏状態の飼育期間をもう少し長く確保できていれば、タンパク質代謝の異常がみられる可能性が考えられる。

Mg 欠乏群の心臓組織は、Mg イオン蛍光染色の強度は血清中 Mg 濃度の有意な低値により、Control 群に比して弱い傾向が観察され、逆に Ca イオン蛍光染色の強度は Control 群に比して強い傾向がみられた。これは Mg 欠乏では赤血球膜の流動性が低下し¹⁷⁾、細胞内の Mg と K が減少し、細胞外の Na と Ca が増す¹⁸⁾ことを示唆するものである。Control 食とにがりによる回復の実験を行ったところ、血清 Mg 濃度は Control 群と同レベルまで回復し、Mg イオンおよび Ca イオン蛍光染色でも、差異が認められない程度まで回復が認められた。Ca が細胞内過剰に陥ると細胞機能障害を惹起すると考えられるが、この Ca の流入を Mg が防ぐので、Mg を豊富にもつにがりは Ca 過剰流入の拮抗剤¹⁹⁾であるといえよう。しかし、組織の損傷については十分な回復は認められなかったので、Mg と Ca の組織に対する相互作用やそのメカニズムの解明については今後の課題である。

心臓の超微形態学的観察では対照群に比べて Mg 欠乏群の心筋細胞のミトコンドリアの変性が顕著に観察された。Mg 欠乏により生体内のミネラルバランスが崩れることにより、心筋細胞のミトコンドリアの細胞内環境に変化が生じ、膨化、空胞変性など様々な形態学的変化が現れたものと推測しているが、これについては今後検討する必要がある。何れにしてもミトコンドリアの変性は ATP 産生を低下させ、ATP を大量に消費する心筋運動が障害されることが、突然死を説明する最大の要因と考えられる。また、筋原繊維の断裂、融解およびグリコーゲン顆粒の蓄積が観

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見られる病変である。特に、グリコーゲンの蓄積は、心筋細胞の退行変性もしくはエネルギー代謝への影響を示唆するが、この発現機序の解明は今後の課題である。これらの病変は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が、上に述べたような細胞内あるいは細胞外環境の変化によるものかいは、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。

なお、このときエネルギー代謝の状況を検討するため、呼吸分析を行った。Mg 欠乏群の 2、4 週間目の酸素消費量と二酸化炭素産出量は、対照群に比してどの時間帯においても高い傾向が認められたことは予想していなかったが、Mg 欠乏によって血液および臓器中のカテコールアミン濃度やセロトニン濃度が上昇するという報告²⁰⁾があることから、Mg 欠乏によるストレスによって、アドレナリン濃度が上昇してグリコーゲンを動員したために酸素消費量および二酸化炭素産出量の上昇がみられた可能性が考えられる。以上の結果から、Mg 欠乏によるストレス負荷状態にあることが示唆された。

これまでの研究で観察された、Mg 欠乏ラットにおける高率の突然死は、ストレスが誘因であるという可能性を考え、副腎について検討した。

ストレスと関わり深い臓器である副腎の相対重量は、Mg 欠乏群が対照群に比して有意に高値を示し、その組織は皮質にび慢性肥大が観察された。また血清中の ACTH、コルチゾール、ノルアドレナリン、ドーパミン濃度は、対照群に比して Mg 欠乏群は高い傾向を示した。ACTH- 副腎皮質系ホルモンのネガティブフィードバック機構²⁰⁾により、血中の皮質ホルモン濃度が減少し、そのことから下垂体

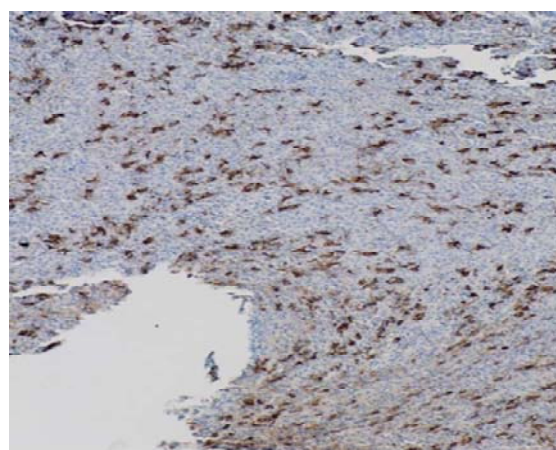
からの ACTH の分泌を促すと考えていたが、血中の皮質ホルモン濃度はストレスの急性期では高まり、抵抗期では低くなるので、この現象は、ストレスによって ACTH の血中濃度が高まり、その結果、コルチコイド分泌が促された状態にあると推察した。一方、ストレスにより副腎髄質からノルアドレナリンが血中に放出され、これが ACTH の分泌を促していると考えられる。Mg 欠乏ラットで、血漿中のコルチコステロン濃度や臓器中カテコールアミン濃度の上昇が認められたという報告²¹⁾があり、Mg 欠乏によるストレス負荷状態にあるという我々の考察を支持するものである。

これまでの研究で、Mg 欠乏ラットにおいて高確率で突然死が認められたことから、その原因を探るために、食餌による Mg 欠乏の生体に及ぼす影響を検討し、Mg 欠乏群の心筋細胞のミトコンドリアの顕著な変化による ATP の生成減が一因であることを見出している。また、Mg 欠乏群の血清中の ACTH、コルチゾール、ノルアドレナリン、ドーパミン濃度は高い傾向が見られ、副腎皮質のび慢性肥大が確認され、Mg 欠乏群ラットにストレス負荷があることが示唆されたことから、さらに下垂体・副腎系のホルモン量、光学顕微鏡および電子顕微鏡による組織学的に検討を行った。その結果、副腎とともに下垂体にも変化がみられ、下垂体前葉のミトコンドリアに顕著な変化があることを明らかにすることができた。すなわち Mg 欠乏によって起こる突然死の原因として、心筋細胞のミトコンドリアの顕著な変化とともに、ストレス負荷を与えることが大きく関与していることを明らかにした。下垂体前葉においてもミトコンドリアに変化が認められたことは注目すべき現象といえよう。なお、視床下部にも何らかの変化があることが推測されるので、今後はさらにこの点を明らかにする必要があると考えられる。

Table 1. ACTH-labelling indices in pituitary tissues



Control group



Magnesium deficiency group

	No. of animals examined	ACTH-labelling index (%)
Control group	6	4.4 ± 2.3
Magnesium deficiency group	6	16.9 ± 1.2 *

Values are means ± S.D. *: v.s. control group at $p < 0.05$

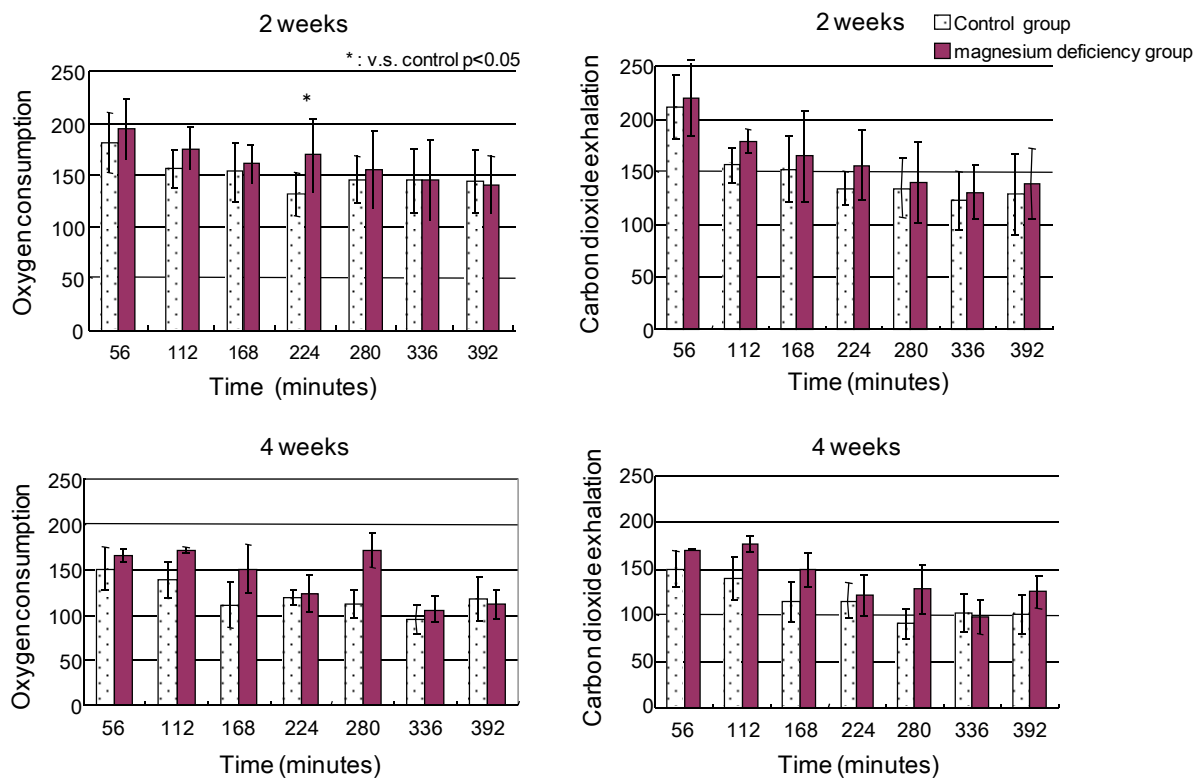


Fig. 1. Oxygen consumption and Carbon dioxide exhalation levels at 2 and 4 weeks

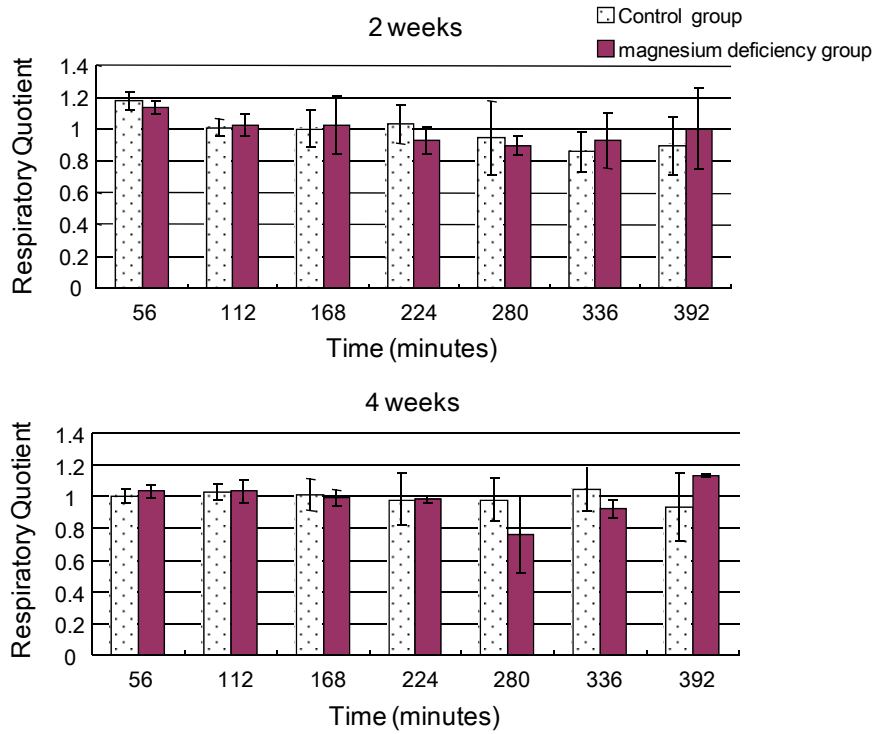


Fig. 2. Respiratory Quotient levels at 2 and 4 weeks

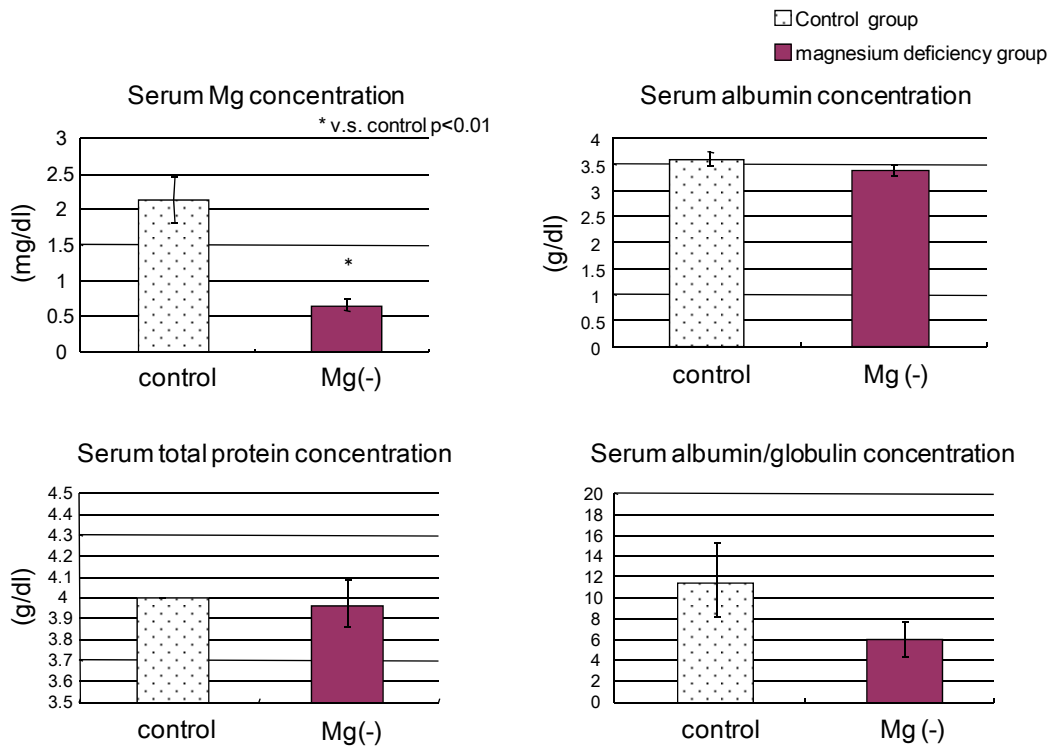


Fig. 3. Concentrations of serum magnesium, albumin, total protein and albumin/globulin levels

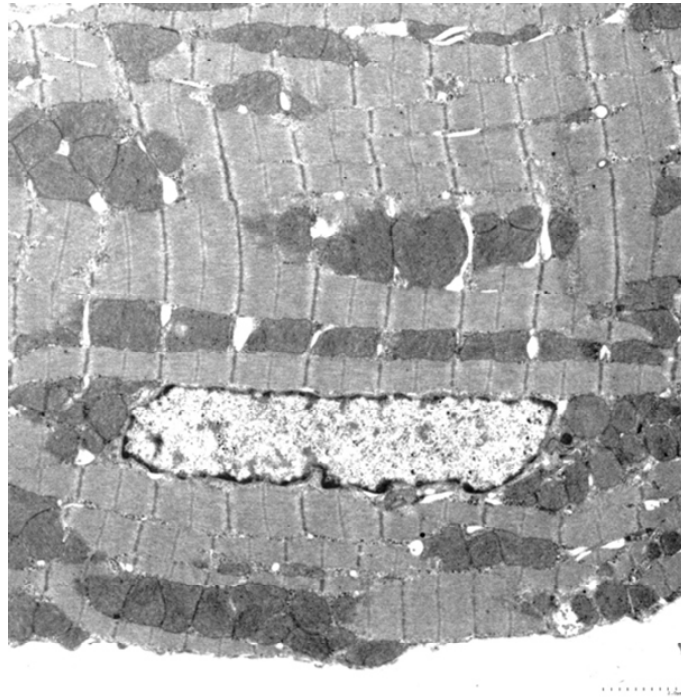


Fig. 4. Electron micrograph of normal mitochondria of cardiac myocytes and myofibril of the heart in a control group

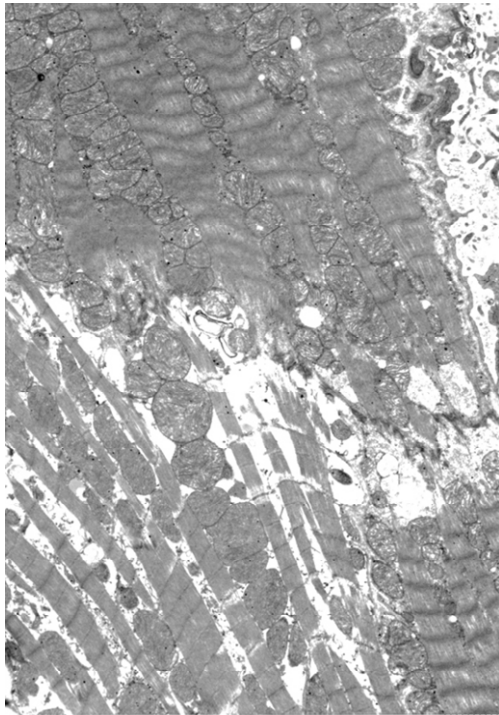


Fig. 5. Ultrastructural morphology of the myocardial cell of a magnesium deficiency group, Z-bands of myocardial cell are disorganized, lysed and disarranged

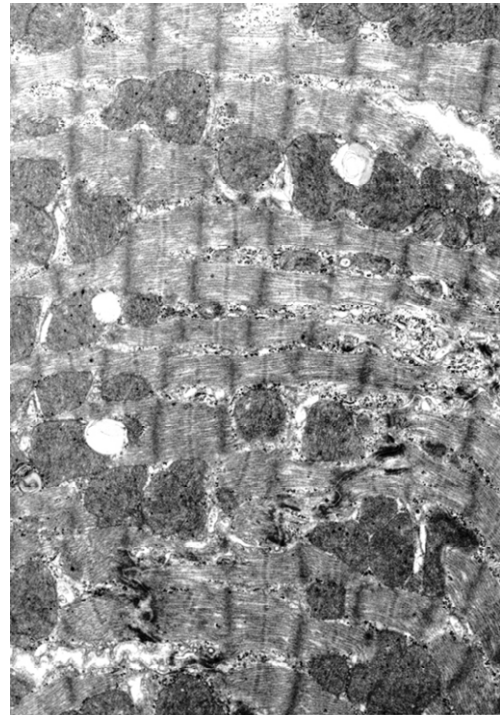


Fig. 6. Ultrastructural morphology of the myocardial cell of a magnesium deficiency group, swelling and vacuolation of mitochondria with disorientated and glycogen granules

参考文献

- 1) Elin RJ. Assessment of magnesium status. Clin Chem 33, 1965-1970 (1987)
- 2) Elin RJ. Laboratory tests for the assessment of magnesium status in humans. Magnes Trace Elem 10, 172-181 (1991)
- 3) 糸川嘉則 栄養生理学 装華房 pp103(1990)
- 4) Fischer PWF, Giroux A. Effects of magnesium deficiency on mineral excretion and concentration in rat serum, heart and kidney. Nutr Res 4, 51-57(1984)
- 5) Kimura Y, Murase M, Nagata Y. Change in glucose homeostasis in rats by long-term magnesium-deficient diet. J Nutr Sci Vitaminol 42, 407-422 (1996)
- 6) Kasaoka S, Kitano T, Hanai M, Futatsuka M, Esashi T. Effect of dietary magnesium level on nephrocalcinosis and growth in rats. J Nutr Sci Vitaminol 44, 503-514
- 7) Rico MC, Lerma A, Planells E, Aranda P, Llopis Gonzalez J. Changes in the nutritive utilization of protein induced by Mg deficiency in rats. Int J Vitam Nutr Res 65, 122-126 (1995)
- 8) Kikuchi T, Matsuzaki H, Sato S, Kajita Y, Chiba H, Tsuchiya H, Masuyama R, Uehara M, Suzuki K, Goto S. Diminished kidney function and nephrocalcinosis in rats fed a magnesium-deficient diet. J Nutr Sci Vitaminol 44, 515-523 (1998)
- 9) Karppen H. Epidemiological studies on the relationship between magnesium intake and cardiovascular diseases. Artery 9, 190-199 (1981)
- 10) Seeling MS and Heggtveit HA. Magnesium interrelationships in ischemic heart disease. Am J Clin Nutr 27, 59-79 1974
- 11) Rayssiguier Y. Magnesium and lipid interrelationships in the pathogenesis of vascular disease. Magnesium -Bulletin, la, 165-177 (1981)
- 12) Altura BM and Altura BT. Mg, Na and K interactions and coronary heart diseases. Magnesium 1: 241-265 (1982)
- 13) 木村修一, 中津川研一, 北原美智子, 堀朋子, 藤崎美由紀, 川村美笑子, 岩田錬, 舟木善仁, 井戸達雄, 微量栄養素研究 11, 171 (1994)
- 14) 池田尚子, 木村修一, 今沢孝喜, 西川秋佳, 高橋道人 マグネシウム欠乏の栄養生理学的研究 Bull Natl Inst Health Sci 115, 112-118 (1997)
- 15) Reeves PG, Nielsen FH, Fahey GC Jr. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: Final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. J Nutr 123, 1939-1951 (1993)
- 16) 関口守衛, 阿部一彦 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(1984)
- 17) Heaton FW, Tongyai S and Rayssiguier Y. Magnesium in Health and Disease, John Libbey, p.27 (1989)
- 18) Whang R. Magnesium in Health and Disease, John Libbey, p.209 (1989)
- 19) Iseri LT and French JH. Am Heart J 108, 188 (1984)
- 20) McEwen BS. Influences of adrenocortical hormones on pituitary and brain function. Monogr Endocrinol 12, 467-92 (1979)
- 21) Caddell JL, Dunn JD. Magnes Trace Elem 10, 40 (1991)

Histopathological and Nutritional Physiological Study on Dietary Magnesium Deficiency in Rats

Takako Ikeda¹, Takayoshi Imazawa², Yukiko Nakanishi³, Hiroko Inage³, Mikiko Suzuki³

¹Showa Women's University of Life Sciences, Department of Health Design.

²National Institute of Biomedical Innovation, Bioresources Research, Laboratory of Common Apparatus.

³Showa Women's University Graduate School of Human Life Sciences Yamazakipan-Endowed Chair of Nutrition Research Laboratory on Aging

Summary

Epidemiologically, it has been suggested that dietary magnesium deficiency is associated with the risk of heart diseases. In our previous histopathological study, magnesium deficient rats were observed significant changes of muscular cells in hearts, indicating the great similarity with pathological lesions which are often found in the early stage of ischemic heart diseases. At the first year in this project study, we observed negative effects of the dietary magnesium deficiency on living organisms, especially vacuolation of mitochondria, enlargement, rupture of myofibrils, myolysis, and accumulation of muscular particulate glycogens in cardiomyocytes. In addition, indirect calorimetric measurements by continuous registration of oxygen consumption and carbon dioxide exhalation to estimate metabolic function were examined. Those indicators in magnesium deficient group were always tended to be higher than those in control group. These findings suggested that magnesium deficiency is causing stress which may induce secretion of adrenomedullary hormones, catecholeamine, especially adrenaline. Hence, at the second year, we focused on the effects of magnesium deficiency on adrenal gland and found diffuse enlargement in adrenocortical cells. Serum ACTH, cortisol, noradrenaline, dopamine concentrations in magnesium deficient rats were tended to be higher than in control group. These results suggested magnesium deficiency itself is stress to individuals. The improvement of serum ACTH, cortisol, and dopamine concentration during a period of recovery by administering oral Mg were also observed, indicating this stress induced by Mg deficiency.

The effect of Mg deficiency on the anterior pituitary was investigated immunohistologically and ultrastructurally in this year. Experimental animals were divided into 2 groups of each six animals, Mg deficient group and Control group. Experimental diets were followed composition of AIN-93G. Control diets contained MgO and Mg deficient diet contained mineral mix except MgO. Rats were fed for 4 weeks, then sacrificed. Blood samples were examined biochemical measurements, and also pituitary and adrenal were provided for histopathological examination. Serum Mg considered as an indicator of body Mg status in Mg deficient group was significantly lower than it in Control group, indicating rats Mg deficient group were apparently Mg deficient. The weight of pituitary in Mg deficient group was tended to be higher compared to Control group. Labelled Ratio of ACTH positive cells in the anterior pituitary in Mg deficient group was significantly higher than it in Control group. In addition, development and dilated rough surfaced endoplasmic reticulum, vacuolation and enlargement of mitochondria, and adenocorticotrophic hormone immature secretory granules in Mg deficient rats were observed, while the anterior pituitary in Control group was ultrastructurally normal. These results showed that the severe changes in pituitary were occurred in Mg deficiency, suggesting changes in hypothalamus also. The further researches are necessary to solve this point.

にがり成分の生体内ダイナミクスと代謝吸収過程のイメージング

榎本 秀一

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科医薬品機能分析学分野

概要 【緒言】 生体内の各元素は相互作用してホメオスタシスを維持しており、にがりに含有する元素が体内の他の元素に影響を与えることは十分に考えられる。我々は疾病による代謝異常において、にがり成分が生体微量元素のダイナミクスに与える効果を多元素同時に検討することを目的として研究を進めた。すなわち、糖尿病により生じる生体内各元素の代謝異常に、にがり投与が与える影響について、1 型糖尿病モデルマウスを用いて、Mn、Zn、Se などの必須微量元素を含む多元素同時追跡により各臓器への取り込みの経時変化を測定して検討を行った。また、にがり成分であるマグネシウム、カリウムおよびナトリウムの代謝過程を複数分子同時イメージングを適用した。これによって、世界で初めてマグネシウムを含むにがり成分の生体内ダイナミクスの画像化に成功した。

【実験】 STZ 誘導 1 型糖尿病モデルマウスを作成し、これらに、にがり投与群と正常群を作成し、にがり投与の影響を、マルチトレーサー法によって、観察した。測定は、高純度 Ge 半導体検出器を用いた γ 線スペクトロメトリーにより各組織への取込率(% dose/g)を算出した。一方、複数分子同時イメージングは、 ^{28}Mg 、 ^{43}K および ^{24}Na を正常および Mg 欠乏マウスに投与し、複数分子同時イメージング装置 (GREI) を用いて、リアルタイムイメージング描出実験を行った。

【結果と考察】 糖尿病モデル実験において、マルチトレーサーにより、 ^7Be 、 ^{46}Sc 、 ^{48}V 、 ^{54}Mn 、 ^{56}Co 、 ^{65}Zn 、 ^{75}Se 、 ^{83}Rb 、 ^{85}Sr 、 ^{88}Y 、 ^{88}Zr 、 $^{95\text{m}}\text{Tc}$ 、 ^{101}Rh 、 ^{103}Ru の 14 核種の同時追跡が可能であった。血中への取込みでは、投与後 6、12 時間の時点で糖尿病の影響が強く現れて各元素の取込率が大きく減少している。特に Mn、Co、Zn、Se の必須微量元素でその傾向が大きい。にがりの投与による血中取込率への影響に関しては有意な増加は見られなかった。膵臓では 3 群ともに Mn、Co、Zn、Rb 以外の元素はほとんど取り込まれなかった。糖尿病による代謝異常の影響が最も大きいのは Mn、Co、Se、Zn などの必須微量元素であり、にがり投与による挙動の変化から、これら元素にはにがり成分の相互作用が大きいことが示唆される。一方、GREI を用いた正常および Mg 欠乏マウスにおける複数核種同時イメージング実験の結果、投与したそれぞれのトレーサーに含まれる核種に固有の γ 線を、取得したエネルギースペクトル上で明確に識別することに成功した。この γ 線のエネルギー情報を利用して、それぞれのトレーサーを識別して画像生成が可能であった。この Mg トレーサーによるリアルタイムイメージングは世界初の試みである。Mg は、Mg 欠乏および正常のマウスで、心臓およびその周辺部位付近の集積を示す画像が得られた。この集積は Mg 欠乏のほうが顕著であった。K は、 ^{43}K の画像生成の結果、いずれのマウスも心臓近傍と膀胱付近に沿った集積を示す画像が得られた。Na は Mg 欠乏マウスが、心臓と肝臓付近に集積が見られ、肝機能の低下が Na 集積を惹起している可能性を示唆した。

【まとめ】 STZ 誘発糖尿病の発症により、正常より各微量元素の取込率は減少傾向が多く見られた。またにがり投与により、投与後 3、6 h で集積が高くなる現象が Mn、Zn の肝集積や Se の腎集積などに見られた。これらの集積はにがり成分が含有する Mg などがこれら必須元素と相互作用を起こした結果と考えられる。一方、Mg 欠乏の発症は、Mg や K の心筋近傍への集積性を示し、心疾患の惹起との関連が示唆された。これらの集積は Mg 欠乏状態の病態がこれら必須元素の代謝過程と相互作用を起こした結果と考えられる。今回、にがり成分の主たる Mg の挙動をリアルタイムに世界で初めてイメージング像として追跡することができた。今後はこの研究成果の不足点を補完するとともに、さらにマグネシウム欠乏などのモデル動物などにおいても生体元素のダイナミクスににがり成分が与える影響を検討していく。

1. 研究の背景と目的

近年、生体内のさまざまな微量元素が、生命活動、恒常性の維持および遺伝情報伝達などの多くの生理機能発現に関与していることが明らかになった^{1,2)}。にがりは、マグネシウム、カルシウム、鉄、亜鉛、マンガンなどを含み、これらの元素は、われわれの生命活動ときわめて密接な関係を有している。一方、多くの組織病変、疾病の直接的な要因はフリーラジカルであると考えられているが、各種微量元素が関与したフリーラジカル産生による細胞傷害が惹起され、過剰摂取による障害も当然危惧される。にがりはバランスよくミネラル成分を摂取することが可能であるが、にがりに含まれる種々の微量元素の生体におけるダイナミクスや生理機能を包括的に研究した例は少ない。

生体内の各元素は相互作用してホメオスタシスを維持しており、にがりに含有する元素が体内の他の元素に影響を与える。我々は疾病による代謝異常において、にがり成分が生体微量元素のダイナミクスに与える効果を多元素同時に検討することを目的として研究を進めた。

初年度はその一例として糖尿病により生じる生体内各元素の代謝異常に、にがり投与が与える影響を明らかにすることを試みた。具体的には糖尿病モデル動物としてストレプトゾトシン(STZ)誘導1型糖尿病モデルマウスを作製し、理化学研究所リングサイクロトロンにより Mn、Zn、Se などの必須微量元素を含むマルチトレーサー^{3,4)}を製造し

てマウスに投与し、多元素同時追跡により各臓器への取り込みの経時変化を測定して検討を行った⁵⁾。また、平成19年度および20年度は、にがり成分であるマグネシウム、カリウムおよびナトリウムの放射性同位元素をリングサイクロトロンで用いて作成し、マグネシウム欠乏動物におけるにがり成分の代謝過程を複数分子同時イメージング^{6,7)}によって測定した。この結果、世界で始めてマグネシウムの生体内ダイナミクスのリアルタイムイメージングに成功し、かつにがり成分の同時代謝イメージングも達成できた⁸⁾。

2. 研究方法

2.1 銀ターゲット由来マルチトレーサー溶液の調製

羽場、榎本らの手法を用いて、理化学研究所リングサイクロトロンにより135 MeV/核子に加速した¹⁴NビームをAg箔ターゲット(0.125×15×15 mm, 純度99.99%)に24時間照射し、3日間の冷却後、化学分離によりAgを除去してマルチトレーサーを得た^{3,4)}。化学分離は、まずAg箔を(1:1)硝酸に完全に溶解した後、濃塩酸を少量ずつ加えることによりAgClの沈殿を生じさせ、ガラスフィルターを用いて吸引濾過し、Agを除去した。この濾液をロータリーエバポレータにより蒸発乾固し、生理食塩水溶液として調製したものをマルチトレーサー投与溶液とした。このマルチトレーサー溶液のマウス1匹当たりの投与量0.1 ml中に含有する放射能の内訳を表1に示す。使用したトレーサー

表1. マルチトレーサー溶液のマウス1匹あたりの投与量中に含有する放射性核種

Tracer	Half Life (day)	γ-Energy* (keV)	Intensity* (%)	Activity (kBq)	Chemical form**
⁷ Be	53.1	477.6	10.5	2.34 ± 0.27	Be ²⁺
⁴⁶ Sc	83.8	1120.6	100	0.22 ± 0.03	Sc ³⁺
⁴⁸ V	16.0	983.5	100	0.60 ± 0.03	VO ²⁺ , VO ₂ ²⁺
⁵⁴ Mn	312.3	834.9	100	1.39 ± 0.04	Mn ²⁺
⁵⁶ Co	77.3	1238.3	67.6	0.93 ± 0.03	Co ²⁺
⁶⁵ Zn	244.3	1115.6	50.6	1.98 ± 0.06	Zn ²⁺
⁷⁵ Se	119.8	264.7	58.9	0.84 ± 0.04	SeO ₃ ²⁻
⁸³ Rb	86.2	552.6	16	15.28 ± 0.31	Rb ⁺
⁸⁵ Sr	64.8	514	96	21.37 ± 0.15	Sr ²⁺
⁸⁸ Y	106.7	1836.1	99.2	2.34 ± 0.04	Y ³⁺
⁸⁸ Zr	83.4	392.9	100	1.71 ± 0.03	ZrO ²⁺
^{95m} Tc	61.0	204	63.2	0.39 ± 0.03	TcO ⁴⁻
¹⁰¹ Rh	3.3 (year)	127.2	73	0.20 ± 0.02	Rh ³⁺
¹⁰³ Ru	39.3	497	91	0.33 ± 0.02	Ru ³⁺ , Ru ⁴⁺

* The energy and intensity used for γ-ray spectrometry is shown.

**Amano et al. Ann Clin Lab Sci 26 (1996) 531-541; Yanagiya et al. J Pharmacol Exp Ther 292 (2000) 1080-1086.

は以下の通りである。 ^{28}Mg ($E_\gamma = 401, 1,373 \text{ keV}$, 半減期 = 21.0 時間 950 kBq)、 ^{43}K ($E_\gamma = 617, 373 \text{ keV}$, 半減期 = 22.3 時間 2 MBq)、および ^{24}Na ($E_\gamma = 1,297 \text{ keV}$, 半減期 = 14.95 時間 100 kBq) である。

2. 2 STZ 誘導 1 型糖尿病モデルマウスの作製

正常 6 週齢 ICR マウス(雄, 体重 $31 \pm 1 \text{ g}$, 日本 SLC) に対し, STZ(和光純薬)を 100 mg/kg 体重として投与して作製した。STZ はマウスに投与直前に 1 ml のクエン酸バッファで溶解し, 溶解後 2 分以内に腹腔内注射する。STZ 投与後 2 日ごとに血糖値を測定し(測定キット: グルコカード ダイアメーター α , ARKRAY)、血糖値の上昇が見られない場合は STZ の再投与を行った。最終的に血糖値 400 mg/dl 以上でプラトーに達したマウスのみを糖尿病モデルマウスとして実験に供した。

2. 3 1 型糖尿病モデル動物の代謝実験

STZ 誘導 1 型糖尿病モデルマウス 40 匹(10 週齢)を用意し, 20 匹ずつをにがり(-)群とにがり(+)群とし, また正常 10 週齢 ICR マウス 20 匹を対照群とした。にがり(+)群 20 匹に対して 100 倍希釈にがり溶液(ソルト・サイエンス研究財団より供与) 0.3 ml を 4 日間経口投与した。その 1 日後, マルチトレーサー溶液を 1 匹あたり 0.1 ml 尾静脈注射し, 各群 5 匹ずつ 3, 6, 12, 24 時間後に解剖して血液, 心筋, 腸管, 腎臓, 肝臓, 膵臓, 骨格筋(大腿部)を摘出した。試料は速やかに秤量後, 測定用プラスチック容器に封入し, 高純度 Ge 半導体検出器を用いた γ 線スペクトロメトリにより各組織への取込率(% dose/g)を算出した。

2. 4 Mg 欠乏動物の作成と GREI 複数分子同時イメージング代謝実験

動物は正常 3 週齢雄 ICR マウス(日本 SLC)を用いた。正常食としては AIN93G を使用し, 精製水を自由摂取とした。一方, Mg 欠乏マウスは, 定法に従って AIN93G の Mg 塩を完全に除去した飼料を使用し作成した。正常および Mg 欠乏マウスにマルチトレーサー溶液を尾静脈注射し, 複数分子同時ガンマ線イメージング撮像を行った。GREI 装置の概要を図 8 に示す。マウスはホットパッドを装備した撮像台上にうつ伏せに保定し, 検出器エンドキャップとプレート間の距離 30 mm で, ネンプタール持続麻酔下, 12 時間における代謝過程を測定した。

12 時間撮像後, マウスを解剖し, 各種臓器を摘出し, 放射能測定: Ge 半導体検出器(ORTEC, SEIKO EG&G)を

用いて放射能測定を行った。

3. 研究結果と考察

3. 1 1 型糖尿病モデル動物に関する研究結果と考察

本実験で製造したマルチトレーサーにより, ^7Be , ^{46}Sc , ^{48}V , ^{54}Mn , ^{56}Co , ^{65}Zn , ^{75}Se , ^{83}Rb , ^{85}Sr , ^{88}Y , ^{88}Zr , $^{95\text{m}}\text{Tc}$, ^{101}Rh , ^{103}Ru の 14 核種の同時追跡が可能であった。図 1 ~ 7 にそれぞれ血液, 心筋, 腸管, 腎臓, 肝臓, 膵臓, 骨格筋(大腿部)におけるマルチトレーサー取込率の変化を示す。

血中への取込みでは, 投与後 6, 12 時間の時点で糖尿病の影響が強く現れて各元素の取込率が大きく減少している。特に Mn, Co, Zn, Se の必須微量元素でその傾向が大きい。にがりの投与による血中取込率への影響に関しては有意な増加は見られなかった。

心筋への取込の変化も血中と同様であり, 特にマルチトレーサー投与後 6, 12 時間の時点で正常群と糖尿病群の間の差が大きい。Mn, Zn, Rb が 3 群ともに高い取込率を示しているのが特徴的である。心筋では 6 時間の時点でにがり投与の影響が顕著である。つまり, Mn, Co, Zn, Se, Rb, Ru におけるにがり投与群の取込率の増加である。Mn, Co, Zn, Se の必須元素で特ににがり投与の影響が大きいことは, にがり成分が生体内元素と相互作用していることを示していると考えられる。腸管における取込率の変化も心筋に似ているが, 3 群ともに Zn の取込率が顕著に高いのが特徴的である。腸管でも投与後 6 時間の時点で Mn, Co, Zn, Rb, Tc においてにがり投与による取込率の増加が見られた。心筋と異なり Se と Ru にはにがり投与の影響は見られなかった。

腎臓中の取込率は 3 時間の時点から 24 時間まで徐々に減少しており, 尿中への排泄を反映していると考えられる。Be, Mn, Co, Se, Y では 3 時間の時点でにがり投与により取込率が増加している。Mn では正常群よりも高い取込率が見られた。肝臓への取込率では Be, Sc, V の 3 元素について, 投与後 3 時間の時点で高い取込率が見られるのが特徴的である。しかしながらその後糖尿病群では 6 時間までに, 正常群では 12 時間までにその大部分が排泄されていることから, 肝の解毒作用により一時的な集積を示したものと思われる。Mn, Co, Zn, Rb ににがり投与による取込の増加傾向が 6 時間の時点まで見られた。

膵臓では3群ともにMn、Co、Zn、Rb以外の元素はほとんど取り込まれなかった。上述の各臓器と同様に、投与後6時間までこれら元素にはにがり投与による取込率の増加傾向が見られた。特に3時間の時点では正常群より糖尿病群の取込が僅かながら高い傾向を示している。Mn、Zn、Rbでは24時間の時点で正常群より糖尿病群の取込率が高くなっており、STZ投与による障害部位である膵臓でこれら元素挙動が大きく影響を受けていることが示唆される。骨格筋への取込ではRbの取込率が大きい他、各元素取込率が3時間から24時間にかけてあまり変化していないのが特徴的である。また、Mn、Zn、Rbでは24時間後の取込率が糖尿病にがり(-)群が最も高い値を示しており、他の臓器とは逆の傾向を示している。

この様に、糖尿病による代謝異常の影響が最も大きいのはMn、Co、Se、Znなどの必須微量元素であり、にがり投与による挙動の変化から、これら元素にはにがり成分の相互作用が大きいことが示唆される。

3.2 Mg 欠乏動物における複数分子同時イメージング研究の結果と考察

本実験で製造したマルチトレーサーにより、 ^{28}Mg ($E_\gamma = 401, 1,373 \text{ keV}$, 半減期 = 21.0 時間 950 kBq)、 ^{43}K ($E_\gamma = 617, 373 \text{ keV}$, 半減期 = 22.3 時間 2 MBq)、および ^{24}Na ($E_\gamma = 1,297 \text{ keV}$, 半減期 = 14.95 時間 100 kBq)の測定が可能になった。これらのマルチトレーサーを正常およびMg欠乏マウスに投与し、GREIを用いて、複数核種同時イメージング実験を行った(図8)。このマウスを体温維持器付き撮像台上に拘束し、ネブタール麻酔下で12時間の撮像を行った。

GREIを用いた正常およびMg欠乏マウスにおける複数核種同時イメージング実験の結果、投与したそれぞれのトレーサーに含まれる核種に固有の γ 線を、取得したエネルギースペクトル上で明確に識別することに成功した(図9~11)。この γ 線のエネルギー情報を利用して、それぞれのトレーサーを識別して画像生成のデータ処理を行うことが可能であった。Mgはマルチトレーサー中に含まれる理研のみで現在製造されている希少なRIトレーサーであり、このMgトレーサーによるリアルタイムイメージングは世界初の試みである。Mgは、Mg欠乏および正常のマウスで、心臓およびその周辺部位付近の集積を示す画像が得られた(図9)。この集積はMg欠乏のほうが顕著であった。

Kは、 ^{43}K の画像生成の結果、いずれのマウスも心臓近傍と膀胱付近に沿った集積を示す画像が得られた(図10)。NaはMg欠乏マウスが、心臓と肝臓付近に集積が見られ、肝機能の低下がNa集積を惹起している可能性を示唆した(図11)。一方、正常マウスは、肝臓付近への集積が顕著で、心筋付近にはあまり強いシグナルは現れていない。今回、マルチトレーサーには ^{47}Ca および ^{48}V が含まれていたが放射能強度が十分でなく、GREI撮像は不可能であった。

一方、GREI撮像後のGe半導体検出器による解剖後のガンマ線計測の結果を図12に示す。この結果は、Mg欠乏マウスにおいて、特に腎臓と脾臓における集積がいずれの元素も多いが、代謝の影響と ^{28}Mg の放射能強度減衰の影響がみられた。心筋における特徴的な画像はイメージングほど顕著ではなく、リアルタイムイメージングの重要性がこの結果からも明らかとなった。今後、時間依存的な代謝過程の測定の必要性も示唆された。

一方、GREI撮像で500 keV程度以下の γ 線を撮像すると、画像中に γ 線の後方散乱事象の影響によるアーチファクトが顕著に現れることが明らかになった。また、既存のGREIによる500 keV以下の核種等の撮像における問題点が明らかになった。また、今回、両面直交ストリップ電極式Ge半導体検出器における検出信号処理法の高度化による、 γ 線相互作用位置の高精度測定法の開発に成功し、信号処理回路の初期試作機で実証実験を行った結果、既に1 mm程度の分解能が得られていることを示す結果が得られた。また、 γ 線のトラッキング法の実装に成功し、実測データに適用した結果、現段階でも約3倍程度の感度の向上が実現可能であることが判明した。GREIで複数核種同時 γ 線イメージングが可能であることは既に示されていたが、生体内で異なる集積性を示すトレーサーと明確に識別された画像を得ることに成功したことから、ここに世界で初めて半導体コンプトンカメラによる複数分子同時イメージングの概念が実証されたと言う事が出来る。

4. 今後の課題

STZ誘発糖尿病の発症により、正常より各微量元素の取込率は減少傾向が多く見られた。またにがり投与により、投与後3、6 hで集積が高くなる現象がMn、Znの肝集積やSeの腎集積などに見られた。これらの集積はにがり

含有する Mg などがこれら必須元素と相互作用を起こした結果と考えられる。体内における存在量の影響も大きいと考えられ、にがりの影響を正確に捉えるには更なる検討が必要と考えられる。今回の検討では加速器運転上のトラブルのため Ti 箔ターゲットによる短寿命マルチトレーサー (Na、Mg、K、Ca の同時追跡を可能にする) を製造することができなかったため、にがり成分の主たる Mg の挙動を追跡することができなかった。今後はこの点を補完するとともに、さらにマグネシウム欠乏などのモデル動物などにおいても生体元素のダイナミクスににがり成分が与える影響を検討していく予定である。

一方、Mg 欠乏の発症は、Mg や K の心筋近傍への集積性を示し、Na のイメージングは正常と大きな差異がないことがわかった。これらの集積は Mg 欠乏状態の病態がこれら必須元素の代謝過程やと相互作用を起こした結果と考えられる。体内における存在量の影響も大きいと考えられ、にがりの影響を正確に捉えるには更なる検討が必要と考えられる。今回の検討では Ti 箔ターゲットによる短寿命マルチトレーサー (Na、Mg、K、Ca の同時追跡を可能にする) を製造することができたため、にがり成分の主たる Mg の挙動をリアルタイムに世界で初めてイメージング像として追跡することができた。今後はこの研究成果の不足点

を補完するとともに、さらにマグネシウム欠乏などのモデル動物などにおいても生体元素のダイナミクスににがり成分が与える影響を検討し、本研究成果のより詳細な研究を推進していく予定である。

謝 辞

本研究を推進するに当たり、昭和女子大学大学院特任教授木村修一博士の全面的なアドバイスと詳細な discussion とご示唆に心より感謝を申し上げたい。また、モデル動物の飼育方法などに関しては、東京農業大学教授上原万里子博士のご教授が極めて有益であった。この場をお借りして感謝申し上げたい。一方、本研究に用いた RI の製造並びに化学分離において独立行政法人理化学研究所仁科加速器研究センターの各位のご尽力に感謝するとともに、動物実験における理化学研究所神戸研究所分子イメージング科学研究センターおよび岡山大学大学院医歯薬学総合研究科の諸氏のご協力に感謝申し上げます。

末筆ながら、終始に渡り、研究のサポートをいただいたソルト・サイエンス研究財団の関係各位にも心より感謝申し上げ、今後の財団のますますのご発展をお祈り申し上げます。

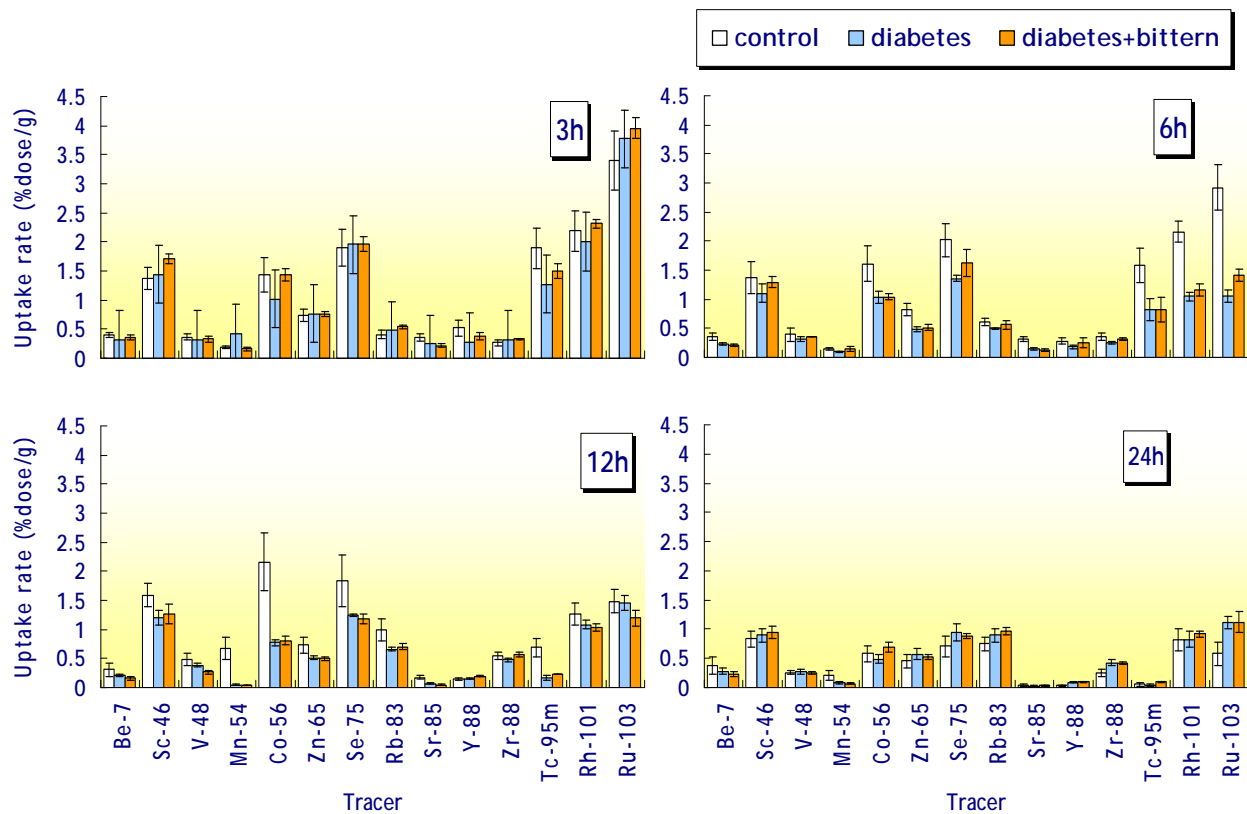


図1. 血液中のマルチトレーサー取込率

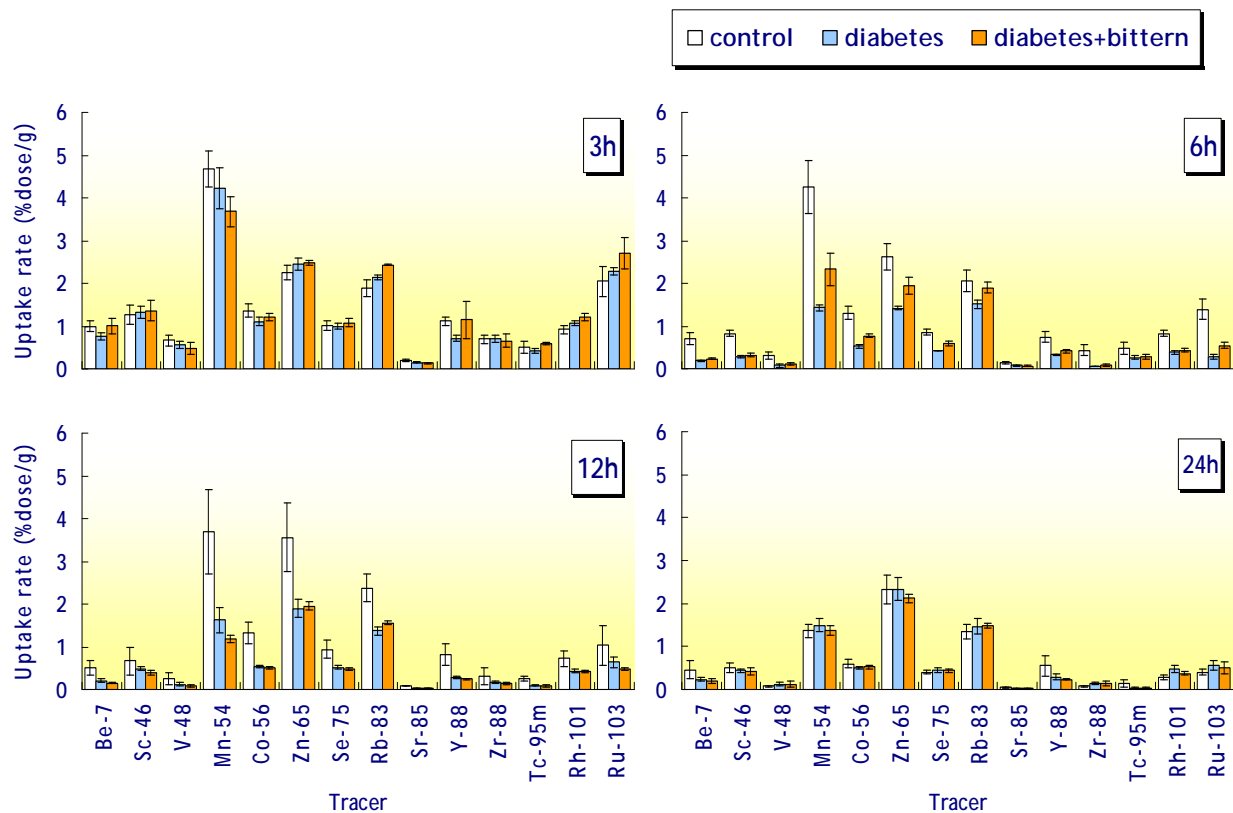


図2. 心筋中のマルチトレーサー取込率

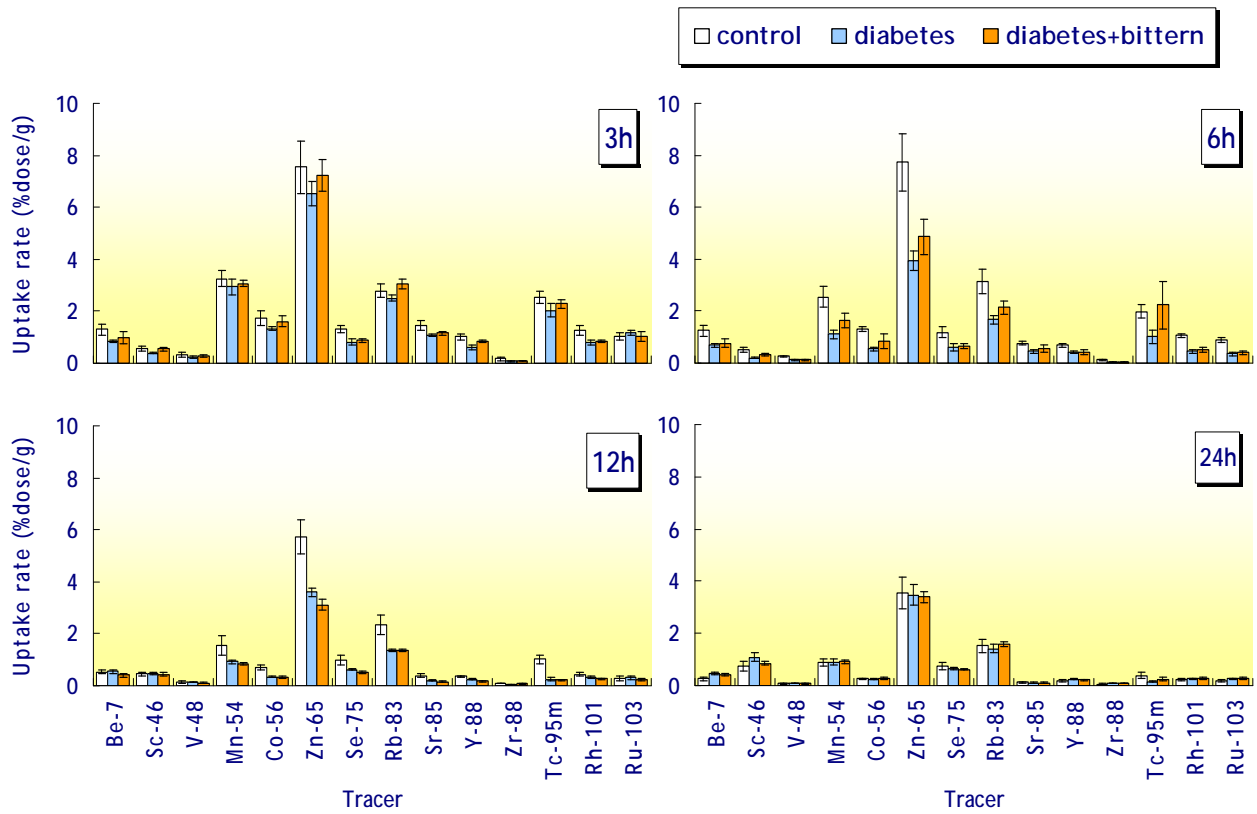


図3. 腸管中のマルチトレーサー取込率

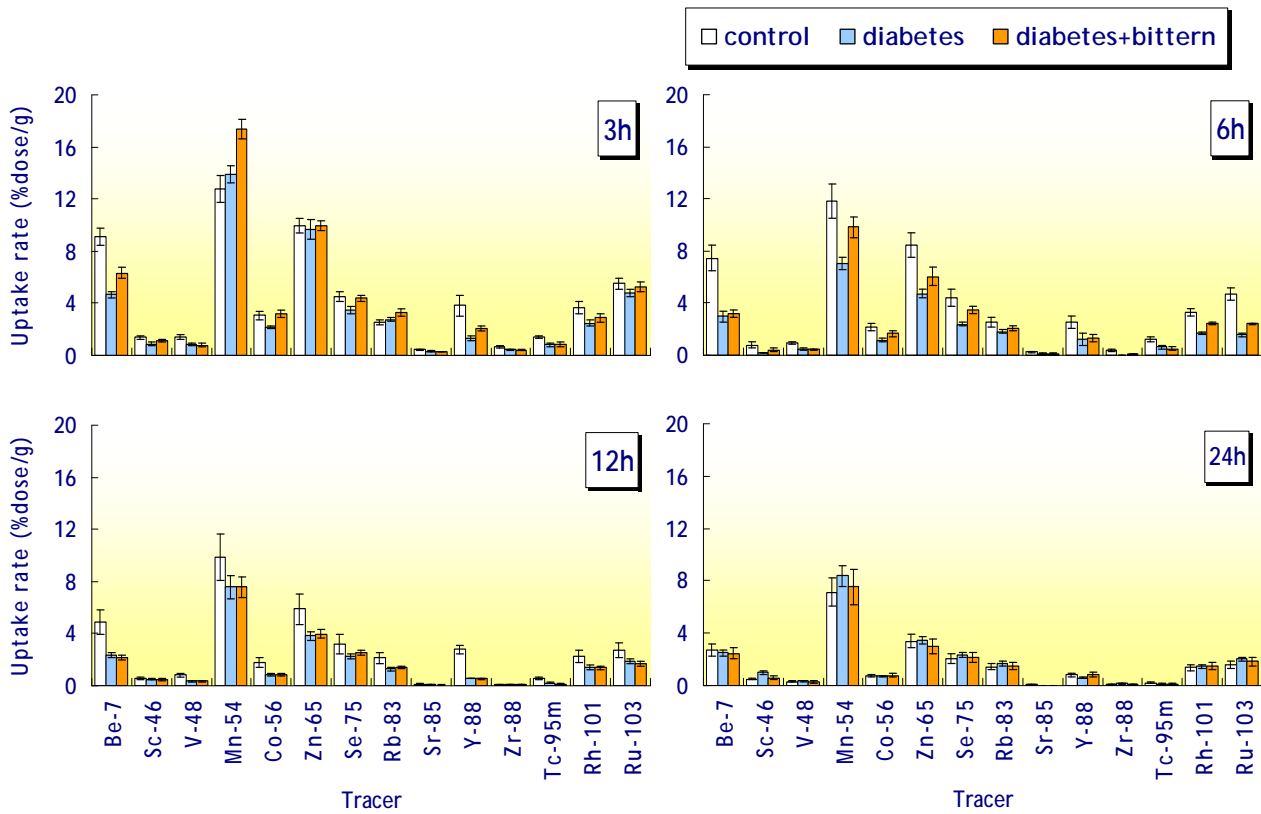


図4. 腎臓中のマルチトレーサー取込率

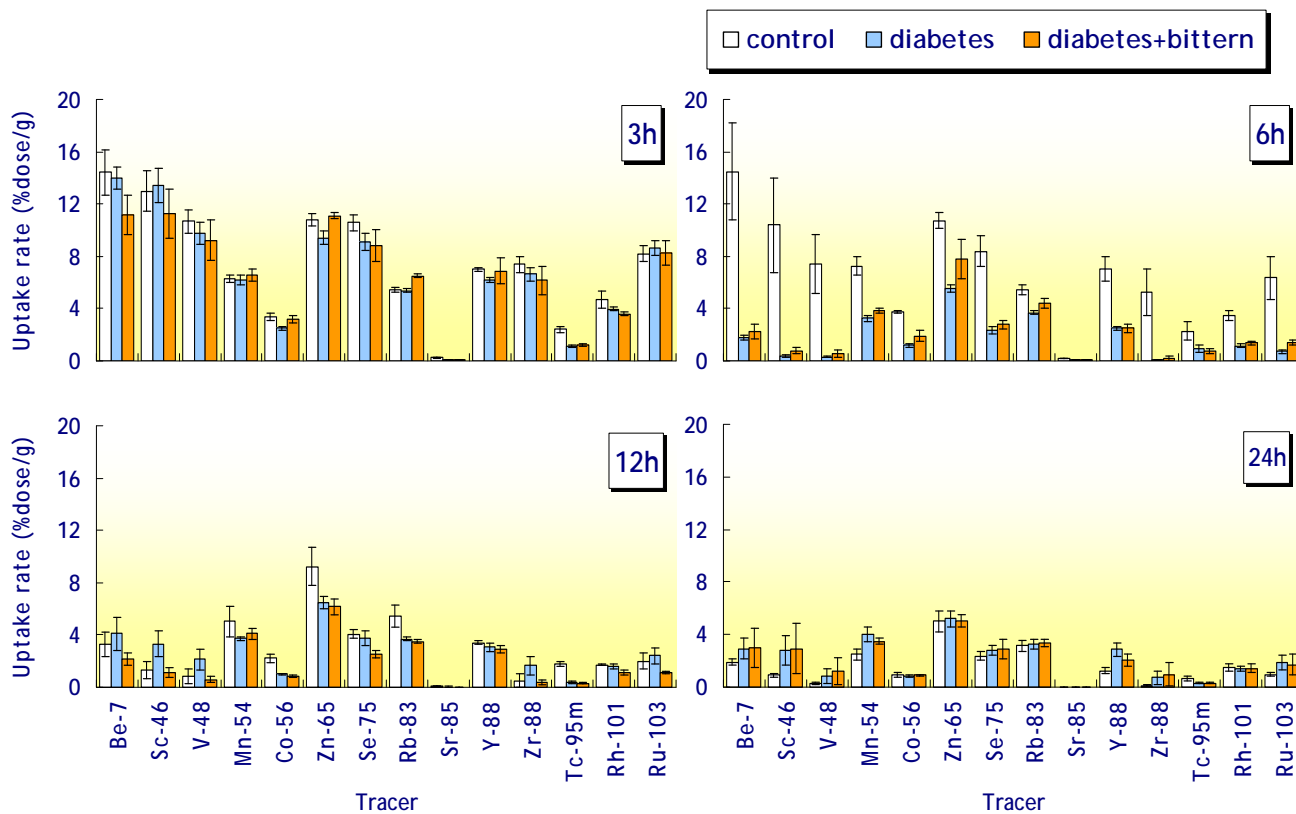


図5. 肝臓中のマルチトレーサー取込率

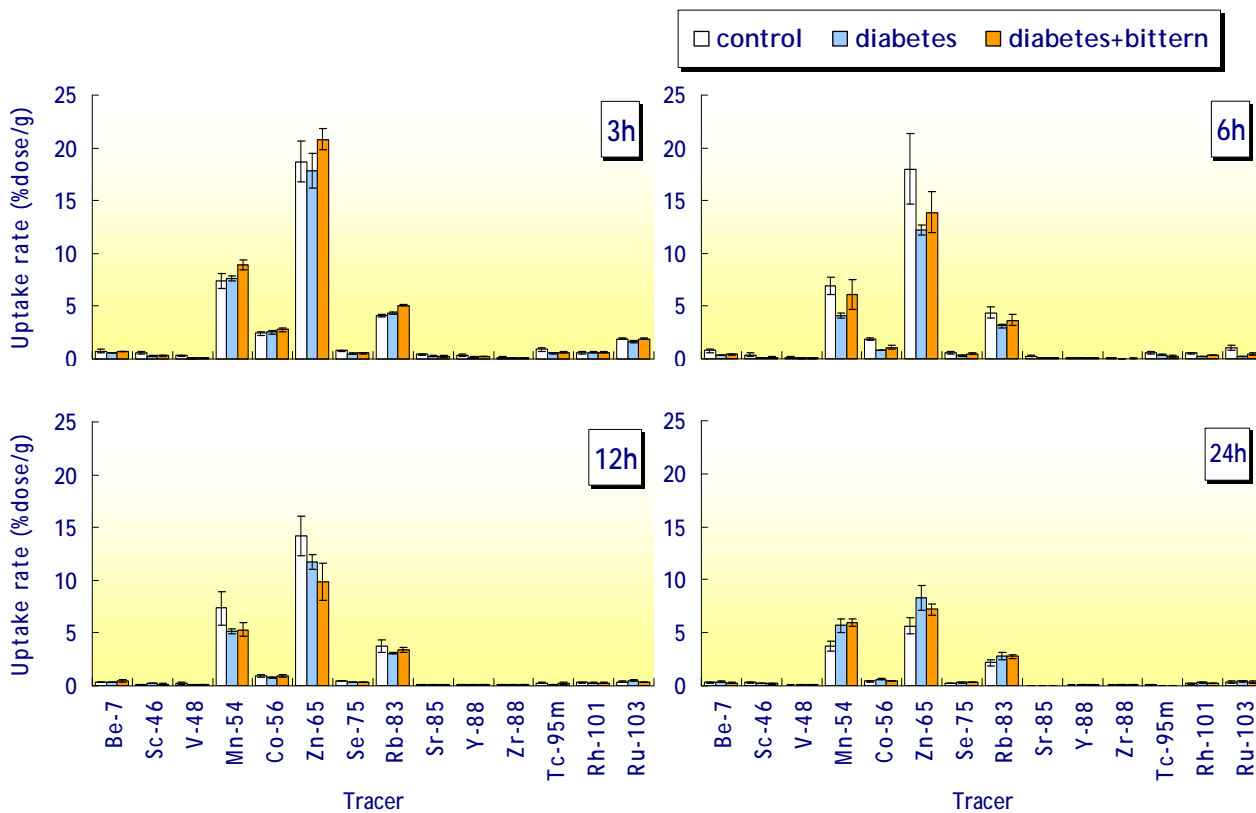


図6. 脾臓中のマルチトレーサー取込率

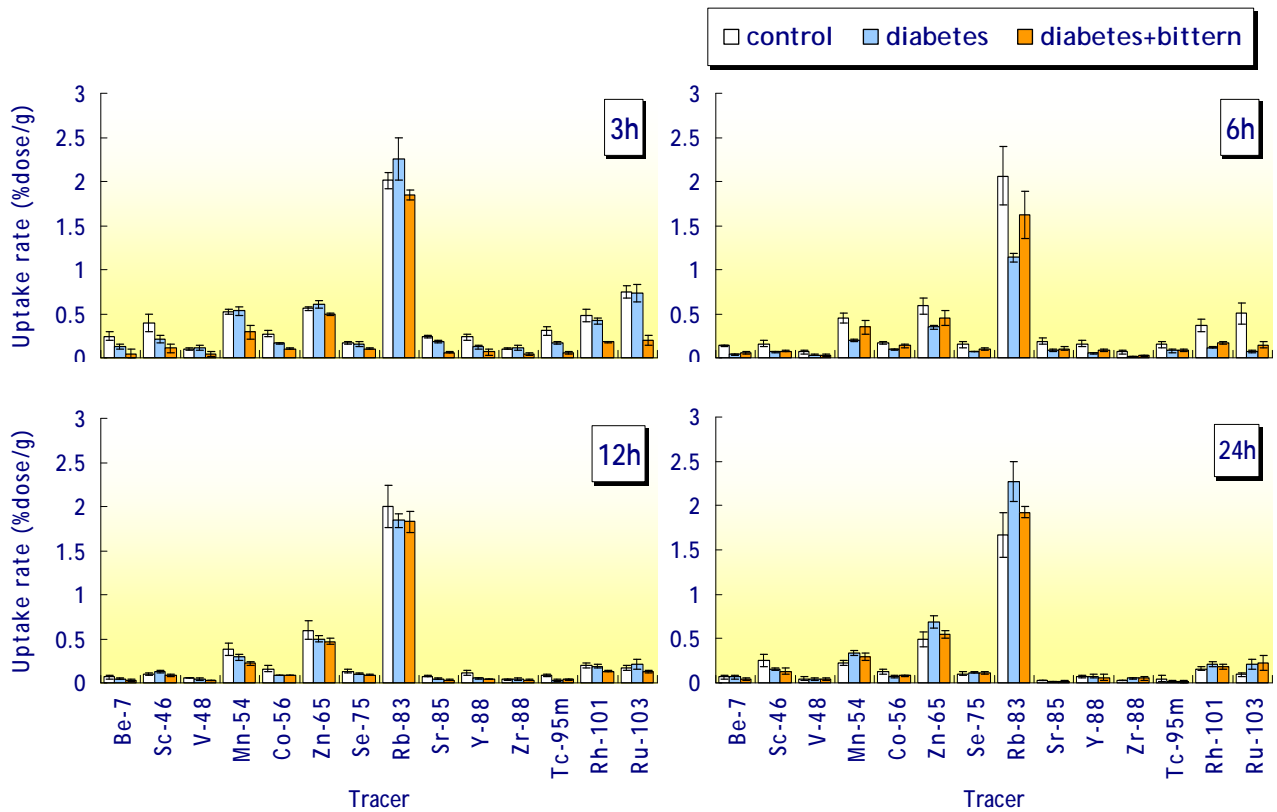


図7. 骨格筋中のマルチトレーサー取込率

GREI 装置の撮像原理

両面ストリップ電極式 Ge 検出器

$$E_\gamma = E_1 + E_2 \quad \cos \theta = 1 + m_e c^2 \left(\frac{1}{E_\gamma} - \frac{1}{E_\gamma - E_1} \right)$$

- 前段でコンプトン散乱、後段で光電吸収を利用
- γ 線エネルギー $E_\gamma = E_1 + E_2 \Rightarrow$ 核種を識別
- E_1, E_2 および相互作用点の位置
 \Rightarrow コンプトン散乱の運動学を満たす円錐が定まる
- 多数の事象から線源分布を推定
- Ge検出器による優れたエネルギー分解能

GREI 装置の試作機

- Ge 検出器寸法
Front: 39mm x 39mm x 10mm
Rear: 39mm x 39mm x 20mm
- 電極ストリップピッチ: 3 mm
(13 strips on each side)
- Ge 検出器間距離: 60 mm

図8. 複数分子同時イメージング装置 GREI の写真と原理

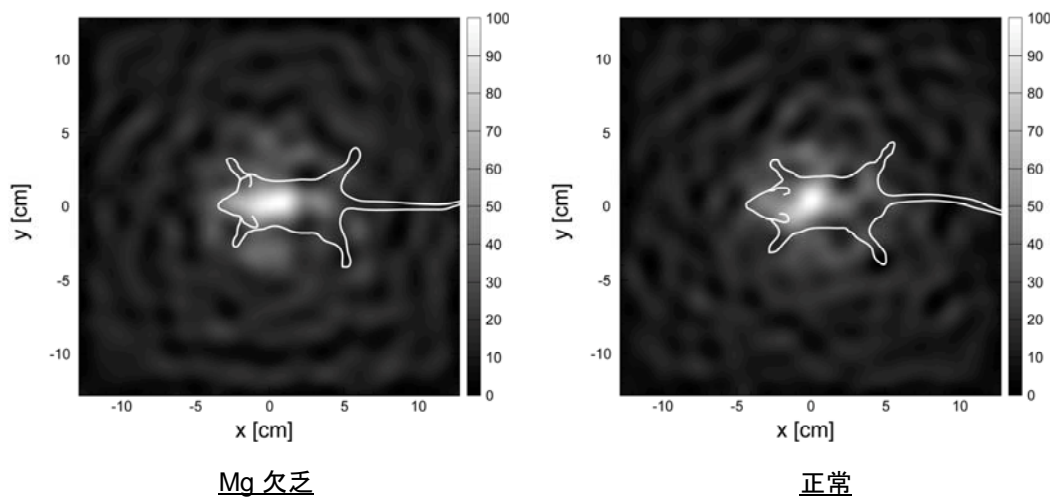


図 9. GREI による ^{28}Mg 分布 2D 再構成画像

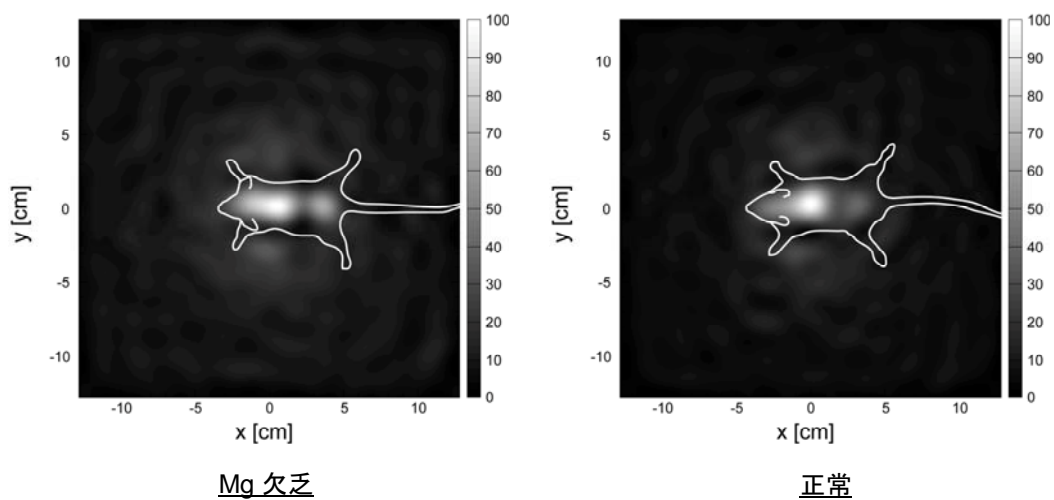


図 10. GREI による ^{43}K 分布 2D 再構成画像

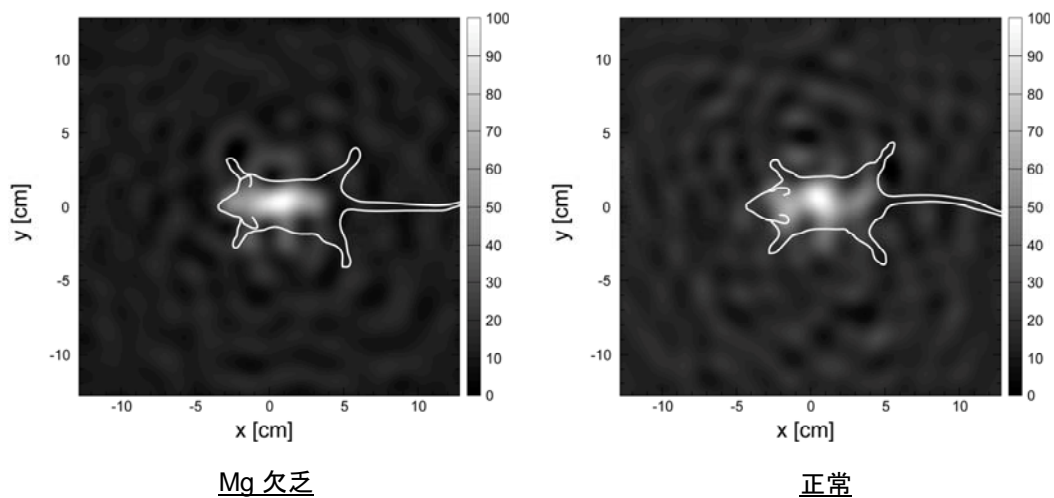


図 11. GREI による ^{24}Na 分布 2D 再構成画像

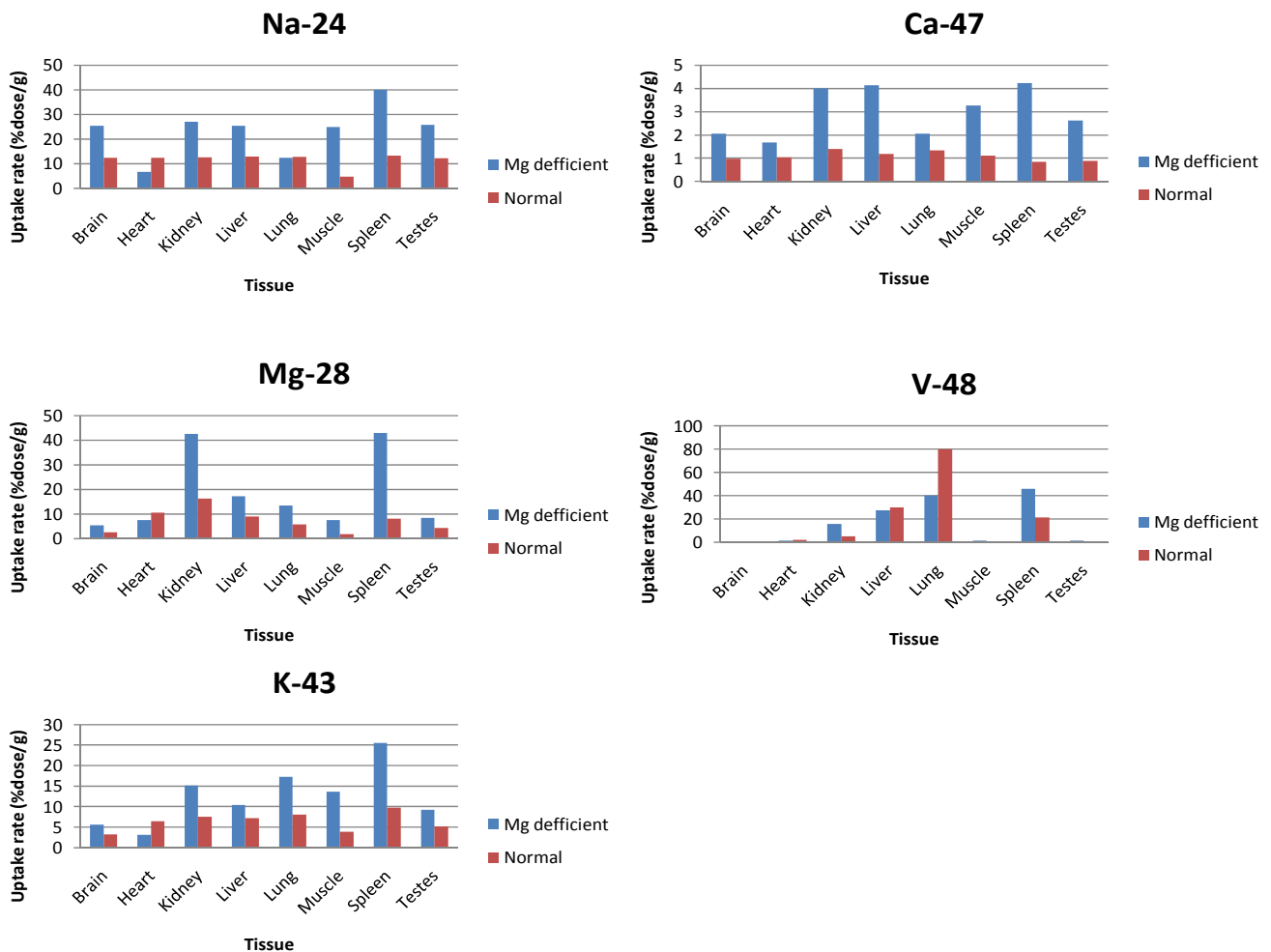


図 12. 各種元素の臓器分布の比較

文献

1. 桜井 弘編, 生命元素の事典, オーム社 (2006).
2. 桜井 弘, 吉川敏一編, サプリメントデータブック, オーム社 (2005).
3. Haba, H., Kaji, D., Kanayama, Y., Igarashi, K., Enomoto, S., Development of a gas-jet-coupled multitarget system for multitracer production, *Radiochim. Acta*, 93, 539-542, (2005).
4. Enomoto, S., Development of Multitracer Technology and Application Studies on Biotrace Element Research, *Biomed. Res. Trace Elem.*, 16, 233-240, (2005).
5. Kanayama, Y., Igarashi, K., Haba, H., Enomoto, S., Metabolic interaction of nigari and various trace elements on streptozotocin treatment mice as a model for insulin dependent diabetes mellitus by using the multitracer technology, in preparation.
6. Motomura, S., Kanayama, Y., Haba, H., Watanabe, Y., Enomoto, S., Multiple molecular simultaneous imaging in a live mouse using semiconductor Compton camera, *J. Anal. At. Spectrom.*, 23, 1089-1092 (2008).
7. Motomura, S., Enomoto, S., Haba, H., Igarashi, K., Gono, Y., Yano, Y., Gamma-ray Compton imaging of multitracer in biological samples using strip germanium telescope, *IEEE Transaction on Nuclear Science*, 54, 710-717, (2007).
8. Kanayama, Y., Igarashi, K., Hiromura, R., Motomura, S., Haba, H., Enomoto, S., Metabolic interaction of Mg, K, Na, Ca and V on Mg deficient mice by using the multitracer technology and the multiple molecular imaging technology, in preparation.

Metabolic Interaction of Nigari and Various Trace Elements on Mice by Using the Multitracer Technology and the Gamma-Ray Emission Imaging System (GREI) as a New Modality of Multiple Molecular Imaging

Shuichi Enomoto

Graduate School of Medicine, Dentistry & Pharmaceutical, Okayama University

Summary

Recently, biotrace elements (elements that are essential to our bodies in minute amounts) have caught our attention, as health has become an important issue to many peoples' lives. The metabolism and dispersion of many biotrace elements may be analyzed using the multitracer technology. The multitracer technology allows simultaneous tracing of various radioactive isotopes (RI). By administrating a multitracer solution containing various RI into a living organism, the activity of these RI can be detected using a high purity Ge detector or Gamma-ray Emission Imaging (GREI). In the first experiment, the multitracer technology was applied to insulin dependent diabetes mellitus (IDDM) model mouse. To one group of this IDDM model mouse, nigari (bittern) was fed each day from one week before the administration of the multitracer solution to investigate whether nigari has a beneficial effect in lowering body weight and blood glucose levels in IDDM model mouse. The uptake rate of various trace elements on the IDDM model mice are slightly decreased those on the normal group mice. Multitracer administration results showed that nigari had effects to accumulation of Mn, Zn in liver and Se in kidney on 3 and 6 hours after administration in IDDM model mouse. These results suggested that accumulations of these elements are closely related to homeostasis and biotrace elements interaction change by occurring high Mg treatments as a nigari administration. In the second experiment, the multitracer technology and the molecular imaging technology were applied to Mg deficient model mouse.

In these studies, we have demonstrated the multiple molecular imaging as include in bittern elements by use of semiconductor Compton cameras. The Compton camera used in this work comprises two double-sided orthogonal-strip germanium detectors, and their excellent energy resolution enables discrimination of the nuclides and accurate determination of the scattering angle especially for sub-MeV to MeV-range gamma rays. Three radioactive tracers of ^{28}Mg , ^{43}V , ^{24}Na , ^{47}Ca and ^{48}V were injected to living mice and were simultaneously measured in the live-mice metabolic dynamics. The world's first real-time metabolic images of the three tracers were successfully obtained, which showed the different behavior in the living organism. We were able to obtain quite encouraging results for multiple molecular imaging by use of semiconductor Compton cameras.

マグネシウムの欠乏および対カルシウム比の生体への影響に関する DNA マイクロアレイ解析

上原 万里子¹, 鈴木 和春¹, 松本 一朗², 岡田 晋治², 根元 智子²

¹東京農業大学応用生物科学部栄養科学科, ²東京大学大学院農学生命科学研究科

概要 マグネシウム(Mg)は細胞内金属イオンであり、生命維持に関わる酵素反応の活性化因子として関与している。本研究では、Mg 欠乏によりCa/Mg 比を増加させた状態での生体機能に関わる様々な遺伝子発現の変動を、DNA マイクロアレイを用いて網羅的に解析することにより、その代謝調節機構の全体像を把握するとともに、循環器疾患をはじめとする生活習慣病予防の一助に寄与する目的で実施した。

平成 18 年度では、被験動物として幼若雄性 Wistar 系ラットを用い、Mg 欠乏食で 28 日間の飼育観察を行った。対照として正常 Mg 投与群を設け、摂食量の低い Mg 欠乏食投与群の摂食量に合わせた制限給餌を行った。両群より体重の揃った各 3 個体の肝臓から RNA を抽出後、マイクロアレイ解析に供した。最終的に得られたデータを基に GeneSpring にて統計解析を行ったところ、Mg 欠乏ラットの肝臓では多くの遺伝子発現が変化することが示された。また倍数変化が 2 倍以上の有意な変化を示す遺伝子は 734 プローブと、Mg 欠乏食投与によって発現が大きく変化する遺伝子も多く、Mg 欠乏が肝臓の遺伝子発現に大きく影響していることが示唆された。Mg 欠乏により発現変化を示した遺伝子には、糖質代謝、脂質代謝、タンパク質/アミノ酸代謝、ビタミン代謝、核酸代謝、生体異物代謝、免疫応答、輸送、細胞増殖および転写調節因子などの様々な機能に関与するものが含まれており、特に栄養素の代謝については、生理および生化学的指標の変化と結び付けられるような遺伝子の発現変化、また生化学データでは捉えることが出来ない変化など、Mg 欠乏による栄養素代謝への影響を理解する上で重要な知見が得られた。平成 19 年度では、Mg 欠乏状態に Mg を適正量含有する正常食を投与し、Mg 欠乏からの回復過程における遺伝子発現の変化を解析したところ、Mg 欠乏食投与によって有意な変化を示す遺伝子の約 80% が正常食投与時の遺伝子発現量への回帰を示し、そのうち約 80% の遺伝子が正常食投与時と同程度に発現量を回復した。このことから、食餌性 Mg 量の変動に伴い遺伝子の発現は変化することが確認された。平成 20 年度では、Mg 欠乏による大腿骨の遺伝子発現変化を検討したところ、肝臓に比較すると、その変化は軽微であったが、骨形成および骨吸収関連遺伝子の発現変動が観察された。

1. 研究目的

マグネシウム(Mg)は、カリウム(K)に次いで多い細胞内金属イオンであり、生体内の 300 種以上の酵素反応の活性化因子として関与している。生体は ATP が ADP に代謝される過程で生じるエネルギーによって生命を維持しているが、ATP および ADP は含有しているリン酸イオンのやり取りにより相互に変換される。その相互変換の過程で Mg 複合体が形成されるため、Mg は解糖系や TCA 回路の多くのステップで必須なものとなっている。また、細胞外

では Mg の 70% が骨の成分として存在し、骨代謝にも重要な役割を果たしている。さらに、Na, K-ATPase を介したマグネシウムの血圧調節作用についても指摘されている。このように Mg の生理的重要性は明らかであるにも関わらず、その代謝調節機構についてはほとんど解明されていないのが現状である。一方、食事から摂取するカルシウム(Ca)量とMg量の比は特に循環器疾患の発生と関係が深い、即ち食事中 Ca/Mg 比が高くなるにつれ、虚血性心疾患の年間死亡率が上昇するとして Karppanen の報告¹⁾以

来、Mg の Ca に対する拮抗的な生理作用を発現させるための有効な補給・摂取方法が模索されているが、それも途上である。

そこで本研究では、Mg 欠乏により Ca/Mg 比を増加させた状態での生体機能に関わる様々な遺伝子発現の変動を、DNA マイクロアレイを用いて網羅的に解析することより、その代謝調節機構の全体像を把握するとともに、循環器疾患をはじめとする生活習慣病予防の一助に寄与する目的で実施した。平成 18 年度の助成により、幼若 Mg 欠乏ラット肝を用い、DNA マイクロアレイ解析を行い、栄養素代謝に及ぼす影響を検討した。平成 19 年度では、Mg 欠乏状態に Mg を適正量含有する正常食を投与し、Mg 欠乏からの回復過程における遺伝子発現の変化を解析することを目的とし、平成 20 年度では、Mg 欠乏に強く影響を受けると推察される骨組織(大腿骨)における遺伝子発現の変動について、DNA マイクロアレイ解析を行った。

2. 研究方法

平成 18 年度は、被験動物として 4 週齢 Wistar 系雄ラットを用い、AIN-93G 飼料組成より酸化 Mg を除いた Mg 欠乏食を投与し、28 日間の飼育観察を行った。対照として正常 Mg 投与群を設け、摂食量の低い Mg 欠乏食投与群の摂食量に合わせた制限給餌を行った。両群より体重の揃った各 3 個体の肝臓から RNA を抽出後、精製し、cDNA、cRNA を合成し、プローブ数 31,099 の GeneChip Rat Genome Array 230 2.0 にハイブリダイゼーションさせた。その後、Stain、Scan を行い、Genechip Operating Software (GCOS) を用いて単解析(蛍光シグナルの数値化)と散布図の作成および Pearson の相関係数を求め、クラスター解析を行った (Fig. 1)。平成 19 年度も同様な被験動物を用い、AIN-93G 飼料組成より酸化 Mg を除いた Mg 欠乏食を投与し、35 日間の飼育観察を行った (MD₃₅ 群)。対照として正常 Mg 投与 (C₃₅) 群を、さらに 28 日間の Mg 欠乏食投与後、7 日間の Mg 正常食投与を行った回復 (R) 群も設けた。解析は 19 年度と同様に行った。平成 19 年度も同様に幼若ラットを用い、Mg 欠乏で 6 週間飼育観察後、大腿骨を摘出、RNA 抽出後、同様に DNA マイクロアレイ解析に供した。

各群間の有意差検定には正規化した 31,042 プローブから両群において各群 3 サンプルのうち 2 サンプル以上

で発現していないとみなされた 13,729 プローブを除き、倍数変化が 2 以上である 1,144 プローブを用いた、GeneSpring GX7.3 (Agilent Technologies) を用いて、シグナルを対数変換後、Student-t test を行い、False Discovery Rate (FDR) 0.05 未満を有意とした。平成 19 年度では回復過程での変化をみるための C₃₅ 群と MD₃₅ 群および R 群間の有意差検定には 28 日間および 35 日間の Mg 欠乏食投与により共通で有意な変化を示したプローブを用いた。一元配置分散分析後、有意差のあるプローブについては各群間において Tukey の多重比較検定を行った。いずれの検定においても FDR < 0.05 を有意とした。Mg 欠乏食から正常食への飼料交換により引き起こされる各変化を示す遺伝子の機能の同定には GOstat を用いて、各変化において 28 日間および 35 日間の Mg 欠乏食投与により共通で有意な変化を示した遺伝子群に含まれる各機能の遺伝子数に対し、その変化を示した遺伝子の多く含まれる機能の検定を Fisher の正確確率検定により行い、P < 0.05 を有意とした。

3. 研究結果および考察

平成 18 年度では、最終的に GCOS で得られたデータを基に GeneSpring にて統計解析を行ったところ、Mg 欠乏ラットの肝臓では多くの遺伝子発現が変化することが示された。また倍数変化が 2 倍以上の有意な変化を示す遺伝子は 734 プローブと、Mg 欠乏食投与によって発現が大きく変化する遺伝子も多く、Mg 欠乏が肝臓の遺伝子発現に大きく影響していることが示唆された。Mg 欠乏食投与により発現変化を示した遺伝子には様々な機能に関与するものが含まれており、特に栄養素代謝においては、生理および生化学的指標の変化と結び付けられるような遺伝子の発現変化、また生化学データでは捉えることが出来ない変化など、Mg 欠乏食投与による栄養素代謝への影響を理解する上で重要な知見が得られた (Table 1)。

まず、糖質代謝においては Mg 欠乏食投与により UDP グルコースの産生に関係する UGP2 (UDP-glucose pyrophosphorylase 2)、そこから産生された UDP グルコースをグリコーゲンに取り込むグリコーゲン生合成の律速酵素 GYS2 (Glycogen Synthase 2) は発現低下を示し、グリコーゲン生合成は抑制されることが示唆された。しかし、Mg 欠乏ラットにおいては、グリコーゲン合成酵素を脱リン酸

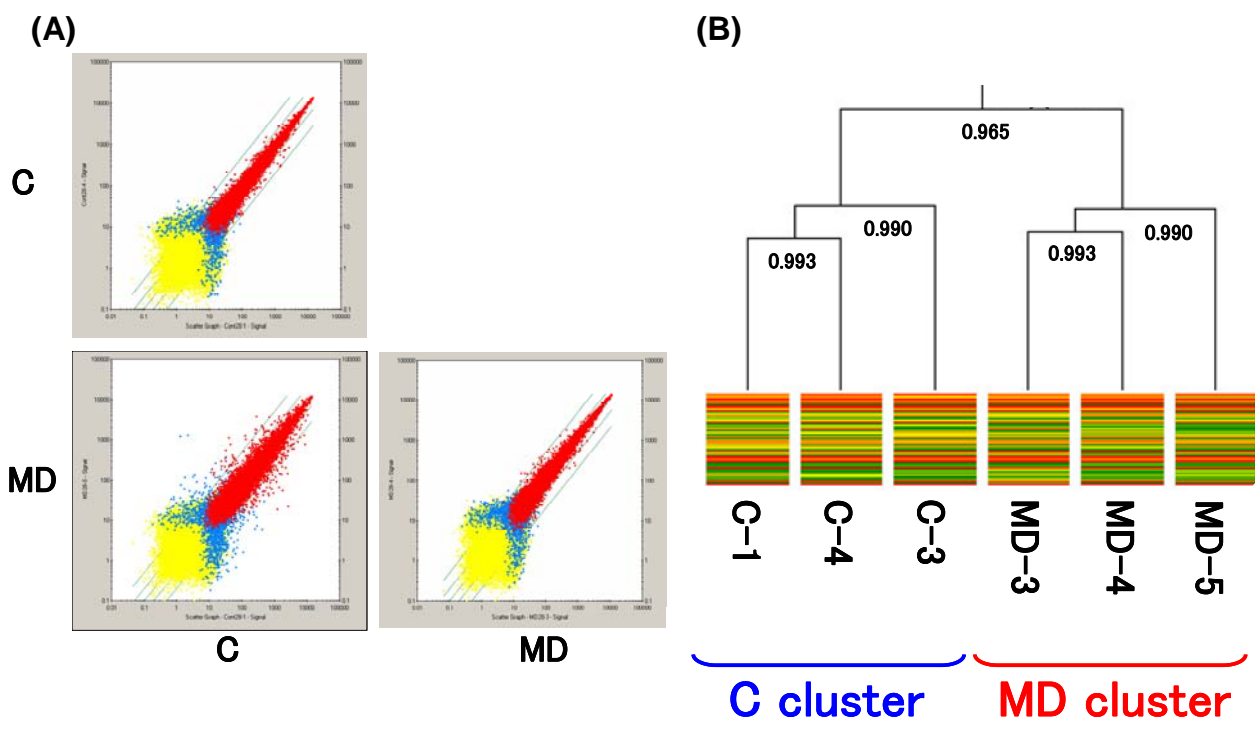


Fig. 1. Scatter Plotting (A), and Pearson's Correlation Coefficient Analysis and Cluster Analysis (B). A greater or lesser extent of gene expression differences were observed between the control (C) group and the Mg deficient (MD) group.

Table 1. Significant Classification of Up- and Down-Regulated Genes by Dietary Magnesium-Deficiency

Metabolism	Up	Down	Total	Functions	Up	Down	Total
Proteins	28	23	51	Transcription	16	27	43
Carbohydrates	5	10	15	Immune Response	18*	9	27
Lipids	19**	18	37**	Nerve system	10	11	21
Amino Acids	3	6	9	Circadian Rhythm	1	5	6
Vitamins	3	2	5	Transport	25	31	56
Cofactors	2	7	9	Cell Proliferation	11	8	19
DNA	3	3	6	Cell Death	13	5	18
Nucleotide	3	2	5	Cell Cycle	12	5	17
Active Oxygens	2	3	5	Cell Growth	5	4	9
Xenobiotic detoxication	1	4	5	Cell Division	6*	2	8
				Cell Homeostasis	4	3	7

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ in Fisher's exact test

化し活性化する Ppp1r3c (Protein phosphatase 1, regulatory (inhibitor) subunit 3C) の発現が上昇し、グリコーゲン合成酵素の活性は上昇することが考えられた。このことから、Mg 欠乏食投与によりグリコーゲン合成酵素の産生は低下するが、その活性は促進され、グリコーゲン生合成は正常

に維持されていることが推察された。肝臓中グリコーゲン量について高糖質食投与時の Mg 欠乏による変化は報告されているが²⁾、正常食投与時の解析はなされておらず、今後の検討解析が必要である。また、グリコーゲンと同様に UDP グルコースから産生されるグリコサミノグリカンの生

合成および異化は Mg 欠乏食投与により共に抑制されることが示唆された。ラットは、グリコサミノグリカンの分解によって生じるグルコン酸から L-アスコルビン酸を産生することができる。このことから、Mg 欠乏食投与によるグリコサミノグリカン代謝の抑制によりアスコルビン酸合成の抑制が引き起こされることが推察された。Mg 欠乏ラットの肝臓においては、UDP グルコースデヒドロゲナーゼを含むアスコルビン酸合成に関係する酵素の活性低下やアスコルビン酸量の低下が報告されており³⁾、生化学的解析においてアスコルビン酸合成の抑制により肝臓中アスコルビン酸量が低下することが示されていることから、遺伝子発現と生理・生化学的な現象面が一致していることが確認された。次に Mg 欠乏食投与による遺伝子の発現変化から糖新生の抑制および解糖の亢進が引き起こされ、糖質のエネルギー源としての利用は亢進していることが示唆された。また、この代謝変化から血中グルコース濃度は低下することが推察された。肝臓においては、Mg 欠乏食投与により糖新生に関係するホスホエノールピルビン酸カルボキシラーゼの活性は上昇することが報告されている⁴⁾。一方、解糖系ではヘキソキナーゼ活性が Mg 欠乏食投与により低下することが報告されている⁵⁾。これらの酵素活性の変化から、Mg 欠乏食投与により糖新生が亢進し解糖は抑制されることが推察される。このように、遺伝子発現変化と酵素活性の変化から推察される糖質代謝の変動は異なるが、Mg 欠乏ラットでは血中グルコース濃度は変化しないことが報告されており⁶⁾、遺伝子の発現や酵素活性を変化させることにより血中グルコース濃度を正常に維持していると推察される。糖質代謝においては、飼料の投与方法や解剖前の摂食条件などによりラットにおいて引き起こされる変化が大きく異なることから、本実験と同条件下およびこれらの条件を考慮した解析を行うことが、今後、不可欠であると考えられる。

脂質代謝においては、Mg 欠乏食投与により脂肪酸合成酵素 Fasn (fatty acid synthase) の発現上昇、またペントースリン酸回路の G6pdx (glucose-6-phosphate dehydrogenase X-linked) および Pgd_mapped の発現上昇により脂肪酸合成酵素の補因子である NADPH の産生は亢進していることが推察され、脂肪酸合成は促進することが示唆された。Gpam (glycerol-3-phosphate acyltransferase, mitochondrial) の発現上昇からは、中性脂肪やリン脂質の

生合成が促進することも示唆され、Mg 欠乏ラットにおいては脂質生合成全般が促進していると考えられる。Mg 欠乏食投与によって変化を示した脂質生合成に係る遺伝子には、転写調節因子である SREBP-1 (sterol regulatory element-binding protein-1) の遺伝子 Srebf1 (sterol regulatory element binding transcription factor 1) が含まれていた。SREBP-1 は脂質生合成に直接関係する遺伝子の発現のみならず、間接的に関与する解糖系やペントースリン酸回路の酵素の遺伝子発現をも調節し、脂質生合成を包括的に制御している。Mg 欠乏ラットにおいては、SREBP-1 によって転写調節される標的遺伝子のうち、脂肪酸合成酵素 Fasn、解糖系の律速酵素 Gck (glucokinase (hexokinase 4, maturity onset diabetes of the young 2))、ペントースリン酸回路の酵素 G6pdx (glucose-6-phosphate dehydrogenase X-linked) と Pgd_mapped (phosphogluconate dehydrogenase (mapped))、そして Gpam (glycerol-3-phosphate acyltransferase, mitochondrial) の5つの遺伝子が Srebf1 同様に発現上昇を示していた。Mg 欠乏ラットにおいては、SREBP-1 とその標的遺伝子との関係が報告された例は無く、本解析において初めて明らかとなった。今後 SREBP-1 が Mg 欠乏ラットにおいて示す変化を解明していくことにより、新たに多くの知見を得ることができると考えられる。

一方、脂肪酸 β 酸化に係る遺伝子が Mg 欠乏食投与により発現低下を示していることから、脂肪酸分解は抑制されることが示唆された。また脂肪酸 β 酸化によって産生されるアセチル CoA は TCA サイクルに入りエネルギー源として利用されることから、Mg 欠乏食投与による脂肪酸 β 酸化の抑制は、脂肪酸由来のエネルギー産生抑制も引き起こすと推察される。脂肪酸代謝において示唆された脂肪酸生合成の促進および脂肪酸分解の抑制により肝臓中および血中の脂肪酸量およびトリアシルグリセロール (TAG) 量は増加することが推察される。肝臓中の TAG 量については、増加または変化しないとの報告があり、また、血漿中 TAG 濃度は、上昇を示すという多くの報告がある⁷⁻⁹⁾。Mg 欠乏食投与時の血漿中 TAG 濃度は、リポタンパク質やアポタンパク質、また血漿中リポタンパク質リパーゼ (LPL) 活性の変化などによっても影響されることから、これらの変化も考慮した検討を行うことが今後必要である。さらに脂肪酸代謝においては、転写調節因子である PPAR

(peroxisome proliferative activated receptor) α の遺伝子 Ppara の発現変化が Mg 欠乏食投与ラットにおいてみられた。PPAR α は脂肪酸分解、脂肪酸燃焼など脂質代謝に関係する遺伝子のみならず、炎症応答や免疫応答、アポトーシス、細胞分化など多岐にわたる機能の遺伝子の転写調節を行っている。Mg 欠乏ラットにおいては、PPAR α により転写調節される標的遺伝子のうち、転写調節因子 Ppara、脂肪酸 β 酸化に関係する (Cpt1a carnitine palmitoyltransferase 1A) と Cpt2、コレステロール輸送に関係する Abcg5、コレステロール異化および胆汁酸生合成に関係する Cyp7a1、アシル CoA 加水分解酵素 Mte1 と Cte1、そして細胞周期やタンパク質アミノ酸リン酸化に関係する Ccnd1 と9つもの遺伝子が Ppara 同様に発現低下を示した。Mg 欠乏ラットにおいては、PPAR α の標的タンパク質である LPL や $\Delta 6$ -desaturase の活性低下が報告されている¹⁰⁾。Mg 欠乏ラットにおける PPAR α とその標的遺伝子との関係は、SREBP-1 同様に今までに報告された例は無く、本解析において初めて提示された。PPAR α はリン酸化による修飾により転写活性化能が制御されている。Mg は、生体内においてタンパク質リン酸化酵素の補因子として機能することから、Mg 欠乏食投与により PPAR α のリン酸化修飾が正常に行われず、これにより転写調節もが正常に行われなことが推測されていた。本解析の結果からは Mg 欠乏ラットにおける PPAR α 遺伝子 (Ppara) の発現低下により PPAR α の転写調節機能の低下が引き起こされることが示唆された。PPAR α は栄養素代謝をはじめ様々な遺伝子の転写調節を行っていることから、Mg 欠乏食投与時の PPAR α の変動を解析することは、SREBP-1 の場合と同様に、Mg 欠乏によって引き起こされる様々な変化を解明する大きな手がかりになると考えられる。

Mg がコレステロール生合成の律速酵素であるヒドロキシメチルグルタリル (HMG)-CoA 還元酵素の阻害剤であるスタチン様の作用を示すといわれていることから¹¹⁾、Mg 欠乏により HMG-CoA 還元酵素の遺伝子発現は上昇することが推測されたが、本解析においてそのような発現変化はみられなかった。しかし、Mg 欠乏食投与により有意な変化を示したコレステロール生合成に関係する遺伝子はすべて発現上昇を示し、コレステロール生合成は促進することが示唆された。Mg 欠乏食投与時の HMG-CoA 還元酵素活性については未だ明らかな変化が報告されていな

い。本解析においてコレステロール生合成に関係する酵素の遺伝子発現は上昇を示していることから、律速酵素である HMG-CoA 還元酵素は本解析を行う前の時点で遺伝子の発現変化が引き起こされている可能性もある。また、この酵素は日内変動があるとされていることから、サンプルを採取する解剖時間も考慮に入れる必要があるかもしれない。またコレステロール代謝においては、コレステロールを異化し、胆汁酸を生合成する過程の律速酵素 Cyp7a1 (cytochrome P450, family 7, subfamily a, polypeptide 1) の発現低下が見られコレステロール異化および胆汁酸生合成は抑制されてしていることが示唆された。Mg 欠乏ラットにおけるコレステロール生合成の促進については HMG-CoA 還元酵素と Mg との関連などから推測されていたが、コレステロール異化についての報告は今までに無い。Cyp7a1 が前述の PPAR α の標的遺伝子であることは知られているが、炎症性サイトカイン腫瘍壊死因子 (TNF)- α によっても転写が制御されていることは報告されている。Mg 欠乏ラットでは血漿中 TNF- α の上昇が報告されていることから¹²⁾、TNF- α 産生の促進により Cyp7a1 遺伝子の発現低下が引き起こされ、コレステロール異化が抑制することも考えられる。コレステロール代謝において示唆されたコレステロール生合成の促進およびコレステロール異化の抑制により肝臓中および血中コレステロール量は増加すると推察される。肝臓中コレステロール含有量については、Mg 欠乏食投与により増加または変化しないとの報告があり、また血漿中および血清中総コレステロール濃度についても上昇、低下、変化しないなど、一致した見解が得られていない^{8, 13, 14)}。飼料摂取量、Mg 欠乏のレベルなどの動物の飼育・実験条件およびその他の指標の変化を考慮した解析を行うことが、今後は必要である。

タンパク質代謝について、Mg 欠乏食投与によりタンパク質の翻訳開始調節に関係する Hspb1 (heat shock protein 1)、そして翻訳伸長に関係する Eef1a2 (eukaryotic translation elongation factor 1 alpha 2) と Eef2k (eukaryotic elongation factor-2 kinase) の発現は低下することから翻訳段階においてタンパク質生合成は抑制されていることが示唆された。肝臓でのタンパク質生合成については、¹⁴C]バリンのアルブミンへの取り込みの低下が報告されている。また Mg 欠乏ラットの脾臓から抽出した上清を用いた *in vitro* 実験においては、タンパク質への ¹⁴C]ロイシ

ンの取り込みの低下、tRNA のアシル化の抑制、さらに本解析で発現低下が示された伸長因子(eEF)-1 と eEF-2 の活性低下が報告されている。Mg 欠乏ラットの肝臓から抽出したリボソームの構造や機能に変化はみられないが、Mg 欠乏ラットの肝臓から抽出した上清でこのリボソームを培養したところ、総タンパク質やアルブミンへの [¹⁴C]バリンの取り込みは低下したと報告されている。eEF は上清中に含まれることから、肝臓においても eEF 活性の低下が引き起こされていると推察されていたが、明らかにはされておらず、本解析において初めて Mg 欠乏ラットの肝臓における eEF の変化が提示された。本解析の結果からは、Mg 欠乏食投与による eEF 遺伝子の発現低下により肝臓の eEF 活性は低下することが推察された。

Mg 欠乏ラットにおいては、血清中アルブミン濃度は低下することが報告されている¹⁵⁾。Mg 欠乏ラットの血清中アルブミン濃度の低下については、腎機能低下による尿中アルブミン排泄量の増加が一因として挙げられる¹⁶⁾。また Nassir ら¹⁷⁾ は、血漿中アルブミン低下時においてもアルブミンの遺伝子発現に変化がみられないことから、アルブミン異化の促進や血漿プールからの損失が原因であると推察している。本解析においても血清中アルブミン濃度は低下しているにもかかわらず、アルブミン遺伝子は有意な発現変化を示さなかった。しかし、Mg 欠乏食投与により翻訳段階は抑制された結果、アルブミン生合成は抑制され、血清中アルブミン濃度は低下することが推察される。Mg 欠乏ラットの肝臓において [¹⁴C]バリンのアルブミンへの取り込みが低下することからもアルブミンの合成が抑制されていることは推測できる。

タンパク分解およびユビキチン依存性のタンパク質異化は遺伝子の発現変化から亢進していることが示唆された。このことからタンパク質分解の亢進が尿中窒素(N)排泄量の増加を引き起こし、N 体内保留量は低下すると推察される。Mg 欠乏食投与により発現上昇を示したタンパク質分解に関係する遺伝子にはマスト細胞のプロテアーゼやカスパーゼといった炎症反応に関係するプロテアーゼがみられた。Mg 欠乏ラットにおいては炎症反応が引き起こされることはよく知られており、また本解析においても Mg 欠乏食投与によって発現変化を示す炎症応答や免疫応答に関係する遺伝子は多くみられた。炎症時には負の窒素出納に転じること、また炎症性サイトカイン TNF- α は

筋肉においてタンパク質分解を促進するといわれることから、Mg 欠乏時のタンパク質分解の亢進は炎症反応に関連して引き起こされるものと推察される。

アミノ酸代謝において、Mg 欠乏食投与によりグリシン異化は促進し、セリン異化は抑制することが示唆された。グリシンの異化により NADPH が産生されることから、Mg 欠乏食投与によるグリシン異化の促進が、脂肪酸生合成の促進に関与していることが推察される。一方、セリンの異化によって産生されるピルビン酸は、アセチル CoA に変換され TCA サイクルに入りエネルギー源として利用される。このことから Mg 欠乏食投与によりセリン由来のエネルギー産生は抑制されると考えられる。Mg 欠乏食投与による Cth (cystathionase (cystathionine gamma-lyase)) の発現上昇によりシステイン生合成は促進することが示唆された。また、Cth はシスチンやシステインからのピルビン酸の産生にも関与しており、シスチンやシステイン由来のエネルギー産生は促進されることが推測される。このことから、Mg 欠乏食投与によりシステイン代謝は、システイン生合成の促進とピルビン酸への異化の促進により代謝回転が亢進し、システインのエネルギー源としての利用は増加すると考えられる。また、アミノ酸代謝においては Mg 欠乏食投与によるグリシンやシスチンおよびシステイン異化の亢進により脱アミノが亢進され、これが尿中 N 排泄量の増加の一因になっていることも推察される。Mg 欠乏ラットにおいてはタンパク質生合成の抑制およびタンパク質分解およびアミノ酸(グリシン、シスチン、システイン)異化の亢進が引き起こされ、体内のタンパク質量は低下することが示唆され、この体内タンパク質量の低下が体重増加量の低下すなわち成長抑制を引き起こす一因として推測された。以上より、Mg 欠乏ラットにおける遺伝子発現の変動は栄養素代謝全般に変化をもたらし、一部の代謝に関して Mg は転写調節因子の変動にも関与することが示され、Mg 欠乏により引き起こされた既知の生理・生化学的現象の変化について説明可能ないくつかの知見が得られた。

平成 19 年度では、まず、28 日間と 35 日間の Mg 欠乏食投与による影響の比較を行った。正常食投与および Mg 欠乏食投与において示される肝臓での遺伝子発現様式に 28 日間と 35 日間の飼育期間の違いによる差はみられず、このことから Mg 欠乏食投与によって引き起こされる肝臓での遺伝子発現の変化は、28 日間や 35 日間といっ

た長期の Mg 欠乏食投与時では、ある一定の状態に保たれていることが推察された。長期間の Mg 欠乏食投与時の生体内変動が、ほぼ一定の状態に保たれていることについては、タンパク質栄養状態の生化学的解析を行った結果からも推測できる¹⁸⁾。

28 日間の Mg 欠乏食投与により2倍以上に有意な変化を示した遺伝子として 734 プローブが、35 日間の Mg 欠乏食投与により2倍以上に有意な変化を示した遺伝子として 637 プローブが抽出され、これらの関係をみたところ 28 日間および35 日間の Mg 欠乏食投与により共通で有意な発現変化を示した遺伝子は 357 プローブとそれぞれの飼育期間において有意差のあった遺伝子の約 50% となった (Fig. 2)。このうち 2 倍以上の有意な変化を示す遺伝子においては、約 700 または 600 のプローブと、ある特定の遺伝子群を対象の一つ一つの遺伝子を比較していることから、遺伝子発現様式における 28 日間および 35 日間の比較とは遺伝子の数およびその条件が異なり、経時差の有無についての結果が異なったものと思われる。

35 日間の Mg 欠乏食投与により発現が有意に変化した遺伝子を機能分類したところ、Mg 欠乏食投与によって影

響を受けている遺伝子の機能に、28 日間と 35 日間の飼育期間の違いによる差はみられないようであった。また 28 日間のみ、28 日間および 35 日間共通、35 日間のみ Mg 欠乏食投与によって有意な変化を示す遺伝子を機能分類した結果、それぞれに各機能をもつ遺伝子が含まれており、遺伝子の機能に特徴はみられなかった。しかし、28 日間および 35 日間共通、または 35 日間のみ Mg 欠乏食投与によって発現変化を示した遺伝子には脂質代謝に関係する遺伝子が多く含まれていた。28 日間または 35 日間の Mg 欠乏食投与により発現が有意に変化した遺伝子に、脂質代謝に関係する遺伝子は多く、さらに 35 日間の Mg 欠乏食投与によってのみ有意な発現変化を示す遺伝子においても脂質代謝に関係する遺伝子が多いことから、35 日間の Mg 欠乏食投与により発現変動を示した遺伝子の多さが、脂質代謝への影響の強さに反映していると推察された。

DNA マイクロアレイを用いた網羅的遺伝子発現解析により Mg 欠乏からの回復過程における遺伝子発現変化を観察したところ、28 日間の Mg 欠乏食投与後正常食を 7 日間投与したラットにおいて示される遺伝子発現様式は

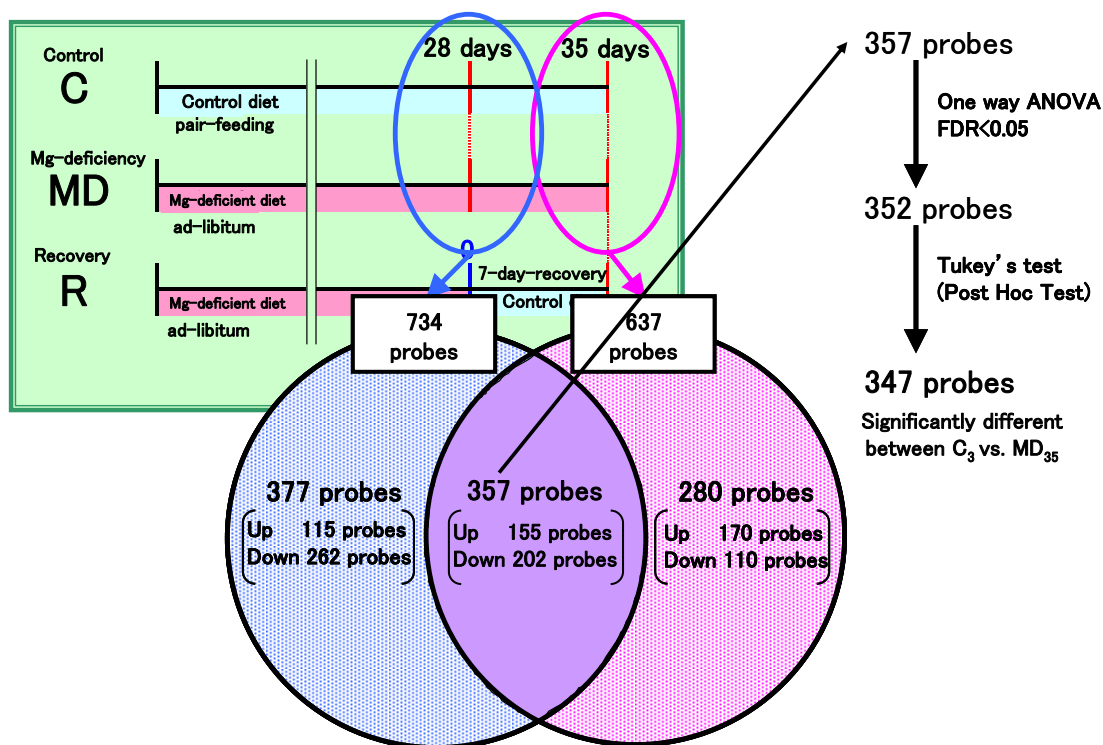


Fig. 2. Changed Gene Expressions by Mg-deficiency for 28 or 35 days

35日間のMg欠乏食投与よりも正常食投与の状態に類似していることが示され、Mg欠乏ラットにMgを適正量含有する正常食を投与し回復させることにより遺伝子発現様式は変化し、正常食投与時の発現様式に近づくことが示された。そこで28日間のMg欠乏食投与後、正常食を7日間投与したラットの肝臓において引き起こされる遺伝子の発現変化について、28日間と35日間のMg欠乏食投与により共通で有意な発現変化を示す357プローブを対象に解析を行った。28日間のMg欠乏食投与後、7日間の正常食投与を行ったラットの肝臓においては、Mg欠乏食投与によって有意な変化を示す遺伝子の約80%が正常食投与時の遺伝子発現量へ戻る変化、つまり正常食投与時の発現への回帰を示し、そのうち約80%の遺伝子が正常食投与時と同程度に発現量を回復した(Fig. 3)。このことから、食餌性Mg量の変動に伴い遺伝子の発現は変化することが確認された。生化学的解析においても、Mg欠乏からの回復過程におけるミネラル利用の変化については報告^{2,3)}されている。また、これまでMg欠乏からの回復過程におけるタンパク質栄養状態の変化についても検討を行っている。Mg欠乏ラットにおいて引き起こされるミネラル利用^{2,3)}およびたんぱく質栄養状態の低下はMgを適正量含有する正常食の投与により改善されることが明らかに

なっている。このことからMg欠乏からの回復過程の生化学的指標の解析によって示される改善効果は、遺伝子発現の変化によって引き起こされることが推察された。

Mg欠乏食から正常食へ飼料交換後、正常食投与時の発現量への回帰を示した遺伝子の中には、正常食投与と同程度まで未だ発現量が回復していないものや、正常食投与と同程度以上に発現が変化した遺伝子もみられた。またMg欠乏食から正常食へ飼料交換後発現変化を示さなかった遺伝子もみられたことから、食餌性Mg量の変動に伴う遺伝子の発現変化は、遺伝子によって異なることが示唆された。

Mg欠乏食から正常食へ飼料交換後、各変動を示す遺伝子において機能分類を行った(Fig. 4)。その結果、Mg欠乏食投与によって発現上昇を示した遺伝子で正常食への飼料交換後、発現変化を示さなかった遺伝子には免疫応答に関する遺伝子が多く含まれ、食餌性Mg量の変化に対する発現変化が遅延して引き起こされる遺伝子にも免疫応答に関する遺伝子が多いことが示唆された。また、Mg欠乏食投与によって発現上昇を示し、正常食への飼料交換後正常食投与時の遺伝子発現量への回帰を示した遺伝子で正常食投与と同程度以上に発現が変化した遺伝子には細胞分裂に関する遺伝子が多く含まれ、

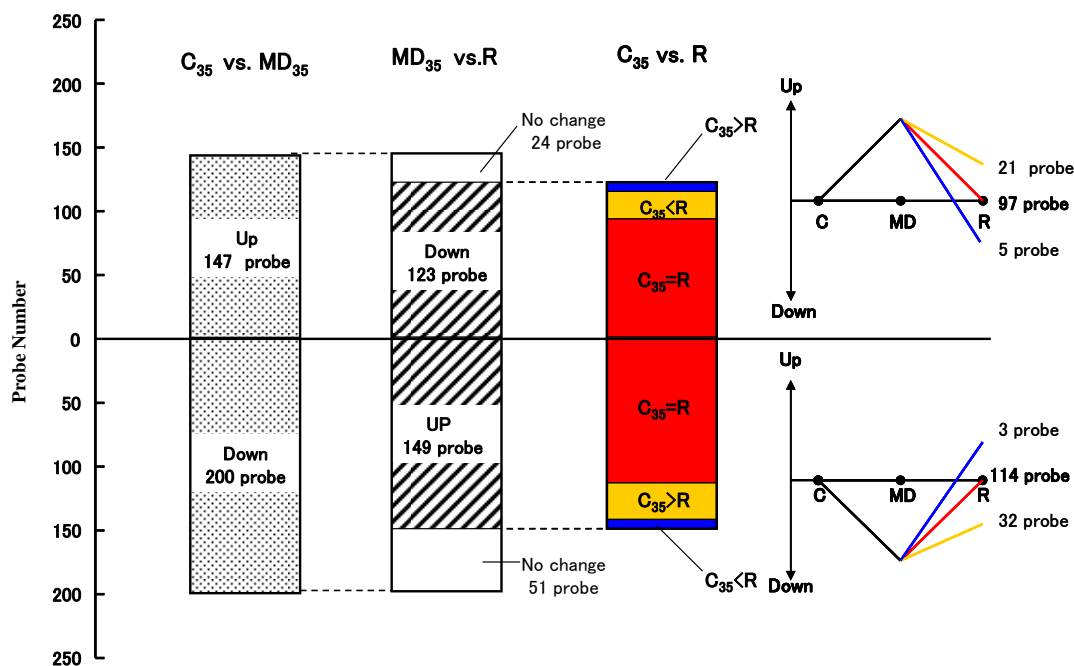


Fig. 3. Pattern of Gene Expression and Changed Probe numbers in the Recovery Group

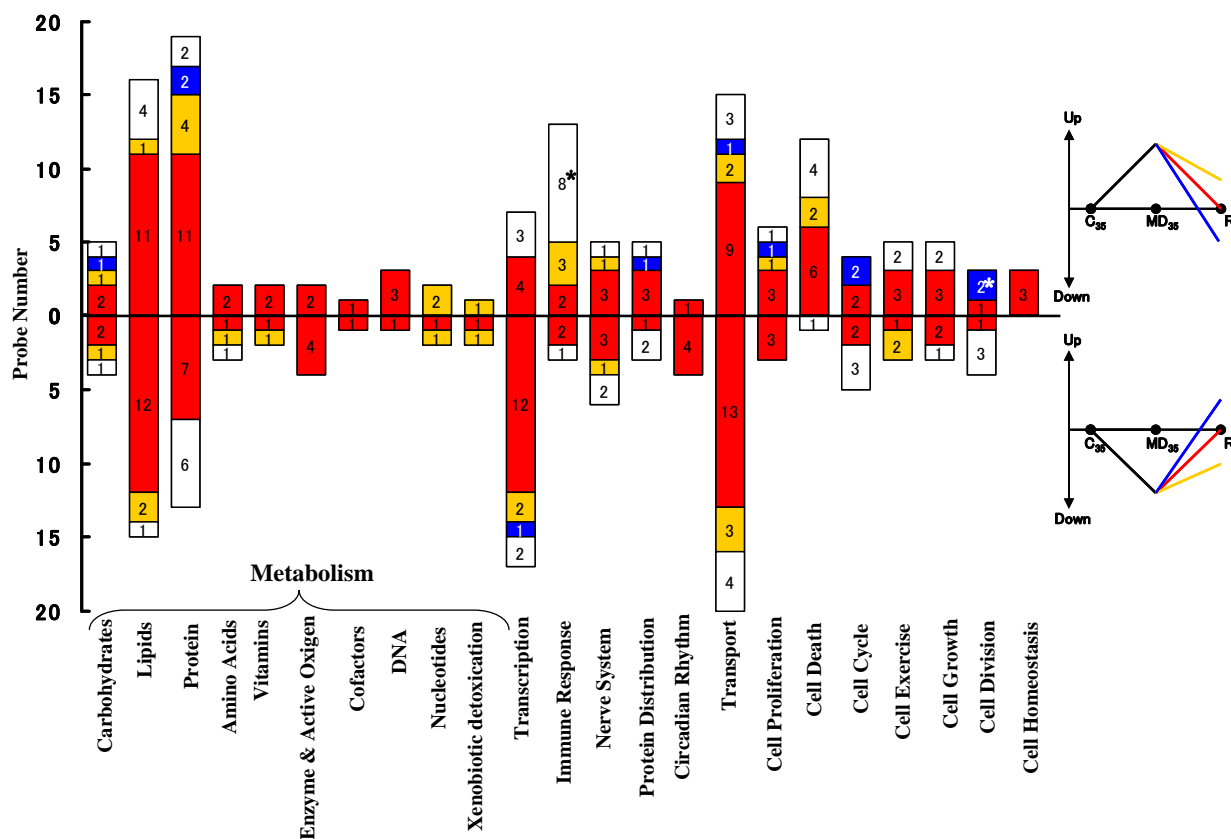


Fig. 4. Classified Gene Expression by Biological Functions in the Recovery (R) Group.

* Significant Changes from Fisher's exact test ($p < 0.05$).

食餌性 Mg 量の変化に対する応答が鋭敏であるものには細胞分裂に関係する遺伝子が多いことが示された。また、Mg 欠乏食から正常食へ飼料交換後、正常食投与時の発現量への回帰を示した遺伝子の約 80% は機能に関係なく全体的に正常食投与時と同程度に回復していることが確認された。以上より、食餌性 Mg 量の変動に伴い、肝臓で様々な栄養素代謝に関連した遺伝子発現は変化することが明らかとなった。

平成 20 年度では、Mg 欠乏ラットの大腿骨における遺伝子発現変動を検討したが、肝臓と比較すると変動した遺伝子の数が少なく、倍数変化も小さかった。1.5 倍以上で統計学的に有意な発現変動を示した遺伝子は、まず、3.7 倍の上昇を示した Ca sensing receptor (CaSR) 遺伝子である *Casr* であった。Mg は CaSR のアゴニストといわれるが、Mg 欠乏では細胞内 Ca 濃度が増加することも知られており、Mg 欠乏による *Casr* 発現の上昇により、細胞内 Ca 濃度増加を惹起している可能性がある^{19, 20}。Tnfrsf6 (Tumor necrosis factor receptor super family member 6) は

1.8 倍の発現上昇を示した。Mg 欠乏では TNF- α が上昇し、骨吸収を亢進することが知られている。TNF の受容体ファミリーである Tnfrsf6 の発現上昇は、Mg 欠乏による骨吸収促進の一因と推察される。また、BMP (Bone morphological protein) は骨芽細胞の分化と骨形成を増強する骨修飾たんぱく質であるが、Mg 欠乏により、BMP-2 inducible kinase の遺伝子である *Bmp2k* と BMP-3 family の遺伝子である *Gdf10* (Growth differentiation factor 10) 発現は約 1.5 分の 1 に低下した。しかし、Bmper-predicted (BMP-binding endothelial regulator-predicted) 発現は 4.3 倍に上昇していた。また、タンパク質リン酸化酵素 (PKC) Family の遺伝子である *pkcb* (β) は約 2 分の 1 に低下、*Cox-VIC-1* 発現は約 2 倍に上昇、Calcium/Calmodulin dependent protein kinase の遺伝子である *Camk2b* は 1.5 倍に上昇、*Camk2d* は 1.6 分の 1 に低下していた。その他、骨代謝調節に重要な RANKL、OPG、TGF、IL、IGF family などの遺伝子発現変動は認められなかった。

以上より、Mg 欠乏による大腿骨の遺伝子変動は、肝臓

に比較すると顕著ではなかったが、一部、Ca 受容体、骨形成および骨吸収に関わる遺伝子発現の変動が観察された。

文 献

- 1) Karppanen H, Pennanen R, Passinen L. Minerals, coronary heart disease and sudden coronary death. *Adv. Cardiol*, 25: 9-24, 1978.
- 2) Rayssiguier Y, Gueux E, Weiser D. Effect of magnesium deficiency on lipid metabolism in rats fed a high carbohydrate diet. *J Nutr*, 111: 1876-1883, 1981.
- 3) Hsu JM, Smith JC Jr, Yunice AA, Kepford G. Impairment of ascorbic acid synthesis in liver extracts of magnesium-deficient rats. *J Nutr*. 13:2041-2047, 1983.
- 4) McNeill DA, Herbein JH, Ritchey SJ. Hepatic gluconeogenic enzymes, plasma insulin and glucagon response to magnesium deficiency and fasting. *J Nutr*. 112: 736-743, 1982.
- 5) Jacobasch G, Gerth C, Fabricius PG. Control of glycolysis in magnesium deficiency: studies on intact red cells and hemolysates. *Acta Biol Med Ger*. 36: 587-596, 1977.
- 6) Lowney P, Hannon TS, Baron AD. Magnesium deficiency enhances basal glucose disposal in the rat. *Am J Physiol*. 268: E925-931, 1995.
- 7) Rayssiguier Y, Gueux E, Weiser D. Effect of magnesium deficiency on lipid metabolism in rats fed a high carbohydrate diet. *J Nutr*. 111: 1876-1883, 1981.
- 8) Gueux E, Azais-Braesco V, Bussiere L, Grolier P, Mazur A, Rayssiguier Y. Effect of magnesium deficiency on triacylglycerol-rich lipoprotein and tissue susceptibility to peroxidation in relation to vitamin E content. *Br J Nutr*. 74: 849-856, 1995.
- 9) Busserolles J, Gueux E, Rock E, Mazur A, Rayssiguier Y. High fructose feeding of magnesium deficient rats is associated with increased plasma triglyceride concentration and increased oxidative stress. *Magnes Res*. 16: 7-12, 2003.
- 10) Mahfouz MM, Kummerow FA. Effect of magnesium deficiency on delta 6 desaturase activity and fatty acid composition of rat liver microsomes. *Lipids*. 24: 727-32, 1989.
- 11) Rosanoff A, Seelig MS. Comparison of mechanism and functional effects of magnesium and statin pharmaceuticals. *J Am Coll Nutr*. 23: 501S-505S, 2004.
- 12) Rude RK, Gruber HE, Wei LY, Frausto A, Mills BG. Magnesium deficiency: effect on bone and mineral metabolism in the mouse. *Calcif Tissue Int*. 72: 32-41, 2003.
- 13) Hans CP, Chaudhary DP, Bansal DD. Magnesium deficiency increases oxidative stress in rats. *Indian J Exp Biol*. 40:1275-1279, 2002.
- 14) Kimura Y, Murase M, Nagata Y. Change in glucose homeostasis in rats by long-term magnesium-deficient diet. *J Nutr Sci Vitaminol*. 42: 407-422, 1996.
- 15) Nemoto T, Matsuzaki H, Uehara M, Suzuki K. Magnesium-deficient diet-induced reduction in protein utilization in rats is reversed by dietary magnesium supplementation. *Magnes Res*. 19:19-27, 2006.
- 16) Matsuzaki H, Nemoto T, Fuchigami M, Uehara M, Suzuki K, Nakamura K. Effects of gender on kidney function in magnesium-deficient rats. *Biofactors*. 22: 43-46, 2004.
- 17) Nassir F, Mazur A, Giannoni F, Gueux E, Davidson NO, Rayssiguier Y. Magnesium deficiency modulates hepatic lipogenesis and apolipoprotein gene expression in the rat. *Biochim Biophys Acta*. 1257:125-132, 1995.
- 18) 松崎広志, 根元智子, 勝間田真一, 上原万里子, 鈴木和春. マグネシウム欠乏ラットのマグネシウム、カルシウム、リン利用に及ぼす飼料中マグネシウム添加の影響. *栄養学雑誌* 63:27-31, 2005.
- 19) Brown EM, Gamba G, Riccardi D, Lombardi M, Butters R, Kifor O, Sun A, Hediger MA, Lytton J, Hebert SC. Cloning and characterization of an extracellular Ca(2+)-sensing receptor from bovine parathyroid. *Nature*. 366: 575-580, 1993.
- 20) 川田剛央, 永野伸郎. カルシウム受容体とマグネシウム代謝. *Clin Calcium* 15: 43-50, 2005.

DNA Microarray Analysis on Effects of Magnesium Deficiency and Dietary Magnesium and Calcium Ratio in Rats

Mariko Uehara¹, Kazuharu Suzuki¹,
Ichiro Matsumoto², Shinji Okada² and Tomoko Nemoto²

¹Department of Nutritional Science, Faculty of Applied Bioscience, Tokyo University of Agriculture

²Graduate School of Agricultural and Life Sciences, The University of Tokyo

Summary

Magnesium (Mg) is involved in a variety of biochemical processes in the body. A number of studies have reported the effects of Mg deficiency on carbohydrate, lipid, protein, vitamin and mineral metabolism. However, comprehensive information remains unavailable on the relationship between Mg deficiency and nutrient metabolism studied under well-controlled and reproducible experimental conditions.

We performed transcriptome analysis to comprehensively understand the effects of dietary-Mg deficiency in rat liver and femur.

In the 1st study, weanling male Wistar rats were dichotomized and fed a control diet or a Mg-deficient diet (MD) group for 4 weeks. During the feeding period, rats in both groups were pair fed to ensure that they consumed equal amounts of their respective diets. DNA microarray analysis demonstrated significant between-group differences with regard to various items. The MD diet led to the up- or down-regulation of 734 genes. All these data suggest that dietary Mg deficiency induces (1) a decrease in protein utilization; (2) changes in the overall hepatic gene expression, especially the expression of the genes involved in carbohydrate, lipid, and amino acid metabolism; and changes in even the transcription levels of these genes. In the 2nd study, gene expression showing the recovery by 7 day-feeding of a control (C) diet from Mg deficiency, that appeared by 28 day-feeding of a Mg deficient diet, was discussed. It is indicated that the hepatic gene expression pattern tends to return to the original state in association with enhancing the dietary Mg amount up to the normal level. The 80% of those gave a reverse direction of expression change when the MD diet was replaced with the C diet. In the 3rd study, femoral gene expressions related with bone formation and bone resorption were slightly changed by Mg deficiency.

食塩の味覚応答に及ぼす「にがり」及び各種マグネシウム塩の影響

駒井 三千夫, 鈴木 英明, 大角 絵美, 後藤 知子, 白川 仁

東北大学大学院農学研究科

概要 (1)「にがり」や各種マグネシウム塩が食塩またはうま味溶液の味神経応答に及ぼす影響について、ならびに(2)食塩の嗜好性に及ぼす「にがり」や各種マグネシウム塩の影響を中枢における食塩調節系因子(モノアミン類)の分泌の面から検討した。

(1) 味神経応答に及ぼすにがりまたはマグネシウム塩の影響

- ・イオン交換にがりの混和により、食塩(塩味)の味神経応答に抑制作用が観察された。
- ・塩化マグネシウム、塩化カルシウム、塩化カリウムを低濃度に混和させることにより、食塩の味神経応答が抑制された。
- ・にがり添加による食塩応答の抑制作用には、クロライドイオン(Cl⁻)が関与していることが示唆された。
- ・高濃度のにがり成分添加によって、MSG 応答の上昇作用が観察され、応答に与える影響はにがり成分毎で異なっていた。
- ・にがり成分添加による応答の上昇は、うま味物質のナトリウムイオンとにがり成分のクロライドイオンに由来することが考えられた。

(2) にがり刺激による視床下部における食塩調節系因子(モノアミン類)の変化

- ・マイクロダイアリシスによって、口腔内への「にがり」刺激による食塩調節系因子(モノアミン類)の変化をより詳細に解析した。
- ・視床下部腹内側核(VMH)において、両にがり刺激後 30 分後をピークとして、15 分後、30 分後、45 分後において水刺激群と比較して、2 種のにがり刺激群でドーパミン(DA)レベルの上昇が有意に低値を示した。また、扁桃体基底外側核(BLA)においても同様の傾向が示され、刺激後 45 分後において 2 種のにがり刺激群で DA レベルの上昇が有意に低値を示していた。
- ・以上のことから、口腔内への両「にがり」刺激による食塩嗜好の低下作用は、脳内の VMH および BLA におけるドーパミン放出系のメカニズムを介して出現しているものと推察される。

1. 研究の背景と目的

にがりは、製塩工程において採塩後に残る液体で、食品衛生法では食品添加物の『粗製海水塩化マグネシウム』とされている。塩化マグネシウムを主成分とし、他のミネラルも豊富に含むにがりは、ミネラルの供給源としても有用であることから、近年、様々な形で利用されている。しかしながら、にがり添加が基本味の味覚応答に及ぼす影響については不明である。

いわゆる「にがり」やマグネシウム塩が、とくに食塩やうま

味成分の味を変えるという経験的な通説がある。しかし、これに関する科学的な証明は十分になされてきておらず、また「にがり」やマグネシウム塩類の食塩やうま味の嗜好性(呈味性)や味神経応答への影響については、生理科学的に解明されていないのが現状である。そこで本研究では、二つの事項について検討した。すなわち、一つは(1)「にがり」や各種マグネシウム塩が食塩またはうま味溶液の味神経応答に及ぼす影響について、二つめは、(2)食塩の嗜好性に及ぼす「にがり」や各種マグネシウム塩の

影響を、味選択行動と中枢における食塩調節系因子(モノアミン類)の分泌の面から検討した。

2. 研究方法

2.1 用いた標準「にがり」と塩化マグネシウム

「にがり」としては、プロジェクトチームの標準品としての、いわゆる「イオン交換にがり」と「海水蒸発にがり」を用いた。これらは、人工的に調製された典型的モデルの「にがり」であり、塩類以外にも種々の成分が共存する天然のものとは異なる。今回は、財団法人塩事業センター海水総合研究所から送付されたこの2種類の「にがり」と市販試薬(特級)のマグネシウム塩化合物、等の特級試薬を用いて実験を行った。二つの「にがり」は組成が異なっており、イオン交換膜濃縮にがりは硫酸イオンが少なく、海水蒸発法にがりはカルシウムイオンが少ないといった特徴がある。その2種類の「標準にがり」の各種塩類の組成は以下の通りである(日本調理学会誌 Vol. 38, No.3, pp.281-285 (2005)を参照されたい)。

表 1. イオン交換にがりの組成(g/100g)

NaCl	MgCl ₂	CaCl ₂	KCl
2.29	19.58	6.76	2.66

表 2. 海水蒸発にがりの組成(g/100g)

NaCl	MgCl ₂	CaCl ₂	KCl
5.34	12.74	2.22	8.06

2.2 味神経応答に及ぼすにがりまたはマグネシウム塩の影響(ラット鼓索神経束(whole nerve)応答による検討)

2.2.1 実験動物および鼓索神経応答の記録法

実験動物には SD 系(Sprague-Dawley)ラット(SD/Slc; 日本エスエルシー株式会社)の成熟雌ラットを購入し、市販固型飼料(F-2; 船橋農場)と市水で飼育して三日ほど馴化させた後に実験に供した。この SD 系ラットに、ペントバルビタール(Sodium pentobarbital (50 mg/kg B.W.)と urethan (150 mg/kg B.W.)を腹腔内投与し、麻酔下に手術を行った。まず、気管カニューレを装着して呼吸を確保し

た後、保温プレートで体温を維持し、ラットの左側面を上にして頭部をヘッドホルダーで固定した。鼓索神経へのアクセスは lateral approach により行った。具体的には、頬骨弓まで頬を切開し、頬骨弓をロンジュールで切断・除去した。続いて下顎骨が露出するまで筋肉を切開・除去し、下顎骨の筋突起、関節突起を含む上部をロンジュールで切断・除去した。更に翼状筋肉を除去すると、一連の神経束群が見られ、鼓索神経束の単離が可能となるように、3本の三叉神経下顎枝を切断・除去した。鼓索神経のなるべく頭蓋骨側を切断後、Perfluoro-compound FC-43 (関東化学株式会社)で手術野を満たした。鼓索神経束を結合組織から離し、神経周辺の包皮(sheath)を外した。その後、鼓索神経束を白金電極に接触させ、手術野の一部の筋肉にもう一方の白金電極を接触させた。味刺激を舌に与えることにより神経細胞の興奮によって生じたインパルス放電を、増幅器により増幅させ、その積分値をアナログ式のペン式記録計にて記録した。応答の大きさは積分応答値のピーク高さとし、4°Cの冷水刺激に対する応答を基準として示した。

2.2.2 刺激溶液

本実験で用いた溶液は以下の通りである。全ての刺激溶液は脱イオン水で調製した。

- 200 mM NaCl 溶液(混和時には、相手の溶液によって2倍希釈するので終濃度は 100 mM となる)
- 希釈「海水蒸発にがり」(5倍, 25倍, 50倍, 250倍, 500倍希釈)
- 希釈「イオン交換膜濃縮にがり」(5倍, 25倍, 50倍, 250倍, 500倍希釈)
- 冷水(4°C)
- MSG 溶液(2 mM, 10 mM, 40 mM, 100 mM, 200 mM) : グルタミン酸ナトリウム (= Mono-sodium glutamate, MSG)
- 3.4 mM 塩化マグネシウム溶液(MgCl₂, 終濃度は 1.7 mM として使用)
- 0.12 mM 硫酸マグネシウム溶液(MgSO₄, 終濃度は 0.06 mM として使用)
- 1.0 mM 塩化カルシウム溶液(CaCl₂, 終濃度は 0.5 mM として使用)
- 0.6 mM 塩化カリウム溶液(KCl, 終濃度は 0.3 mM として使用)

- ・ 200 mM グルタミン酸ナトリウム溶液 (= MSG (混和時は、相手の溶液によって2倍希釈されるので、100 mMとなる))
- ・ その他の刺激溶液も適宜調整した。
- ・ 刺激の方法は、以下のようにして行った。
(鼓索神経応答・味刺激プロトコール。数字は時間(分))

1	1	2	1	1	(分)	以下続けて次の刺激を行う
味刺激	水洗		味刺激	水洗		
1			2			

2.3 にながりによる中枢の食塩調節系因子(モノアミン類)の変化

これまでの検討によって、舌への「にながり」刺激の影響によって NaCl 溶液の嗜好性が低下することが示された。とくに、MgCl₂、MgSO₄、KCl で刺激した場合に食塩の嗜好選択率が下がったことから(図 1)、これらの成分が食塩

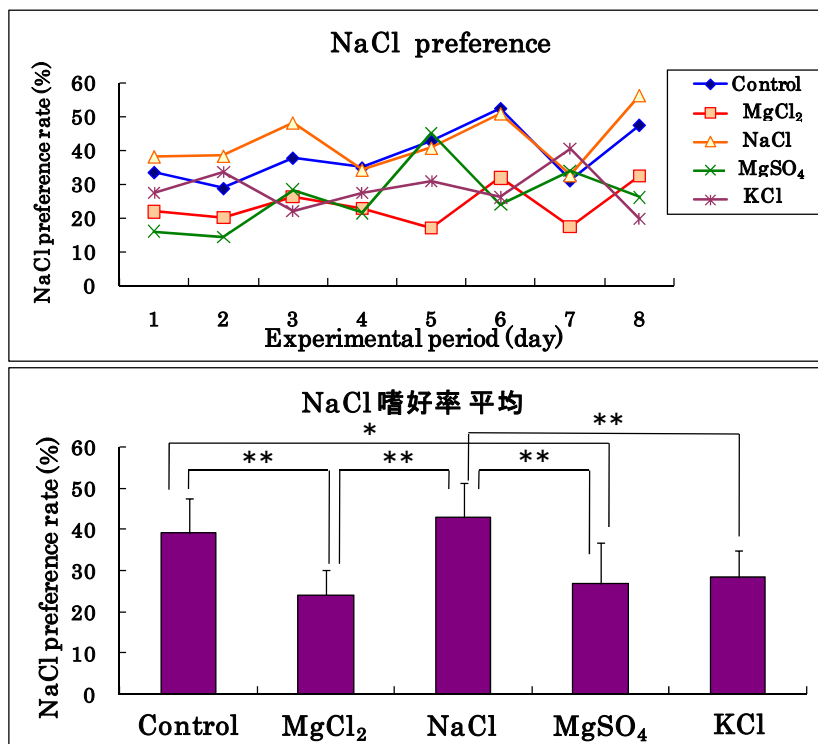
嗜好の低下に関与しているものと考えられる。実際に、これらの3種類の成分の刺激後に、視床下部のドーパミン濃度が低下していることが観察された(図 2)。これらの結果から、にながり刺激後に中枢の食塩調節系因子(モノアミン類)の濃度変化をリアルタイム的に観察すれば、にながりの影響を観察できると考え、次の検討を行った。

2.3.1 用いた希釈にながり溶液

実験動物には、SD系雌ラットの体重が250~330gのものを用いた。飼料は市販固型飼料F2(船橋農場)を与え、馴化期間を3日間とし、実験期間を8日間と設定した。また、実験群として、水を刺激させたControl群と2種のにながり溶液を刺激させた「にながり」刺激の、計3群を設けた。

2.3.2 にながり刺激方法

各群1mlの注射筒を用いて、精製水もしくは各にながり溶液0.5mlを、経口投与という方法ではなく、あくまでラットの舌に滴下させ、舐めさせるということに留意して刺激を行った。また、ラットは夜行性動物であり暗期に主として活動し、摂食・摂水行動を行う。そこで、ラットに「にながり」溶



実験方法

- ・ 「にながり」の成分溶液である MgCl₂、NaCl、MgSO₄、KCl 溶液をラットの舌に舐めさせ、刺激。(各溶液の濃度は海水蒸発にながりを10倍希釈した濃度に設定)
- ・ 各刺激溶液約 0.5 ml 量を、毎日ラットが暗期に入る直前に刺激

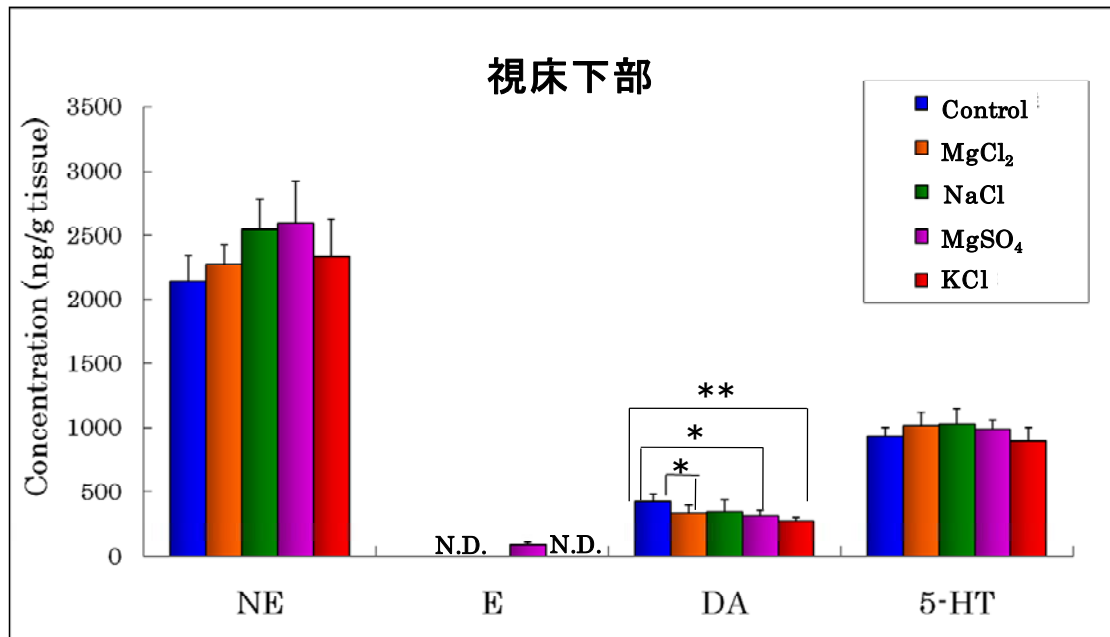
◎各溶液の濃度

溶液	濃度(M)
MgCl ₂	0.133
NaCl	0.091
MgSO ₄	0.066
KCl	0.029

Mean±S.D. n = 8
* ; p < 0.05 ** ; p < 0.01

「にながり」刺激による食塩嗜好の低下は、「にながり」成分中の MgCl₂、MgSO₄等のマグシウム塩やKClの塩成分が関与。

図 1. 「にながり」成分刺激による食塩嗜好選択実験



Mean ± S.D. n = 5 *; p < 0.05, **; p < 0.01 N.D.= Not Detectable

図 2. 視床下部におけるモノアミン濃度

液による味溶液への影響が明確に表れてくると予測される、ラットが暗期に入る直前、すなわち 19:30~20:00 の間に、各刺激溶液を刺激させた。

2. 3. 3 カニューレーション等の手術

事前にラットの狙った脳内部位にカニューレーション手術を施しておいた。手術後のラットは個別ケージにて飼育し、固型飼料と蒸留水で約 1 週間馴化させた。さらに測定する 2 日前から蒸留水で、ラットに口腔内刺激を与え、刺激に対して慣れさせておいた。その後、マイクロダイアリス分析機器を用いて脳内モノアミンレベルを測定した。

2. 3. 4 測定部位

① 視床下部外側野 (Lateral hypothalamic area: LH)

Bregma より後方 1.80 mm、横へ 2.1 mm、脳表より深さ 6.80 mm

② 視床下部腹内側核 (Ventromedial hypothalamic nucleus: VMH)

Bregma より後方 2.56 mm、横へ 0.4 mm、脳表より深さ 8.70 mm

③ 扁桃体基底外側核 (Basolateral amygdala: BLA)

Bregma より後方 2.80 mm、横へ 4.9 mm、脳表より深さ 6.80 mm

④ 扁桃体中心核 (Central amygdala: CeA)

Bregam より後方 2.12 mm、横へ 4.0 mm、脳表より深さ 6.50 mm

2. 3. 5 マイクロダイアリスによる分析

以下の装置、分析条件、実験操作によって分析を行った。(図 3)

【装置】

微量生体試料分析システム	HTEC-500
マイクロシリンジポンプ	ESP-64
オートインジェクタ	EAS-20
データ処理装置	EPC-500
マイクロダイアリスシーベルユニット	TSU-20C
架台	K-70

【分析条件】

分析システム	HTEC-500
分離カラム	EICOM CAX (2.0 mm,i,d x 200 mm)
分析温度 (カラム温度)	35°C
移動相	0.1 mol/L ammonium acetate buffer(pH 6.0)-methanol(7 : 3, v/v), containing 50 mg/L EDTA · 2Na and 0.05 mol/L sodium sulfate

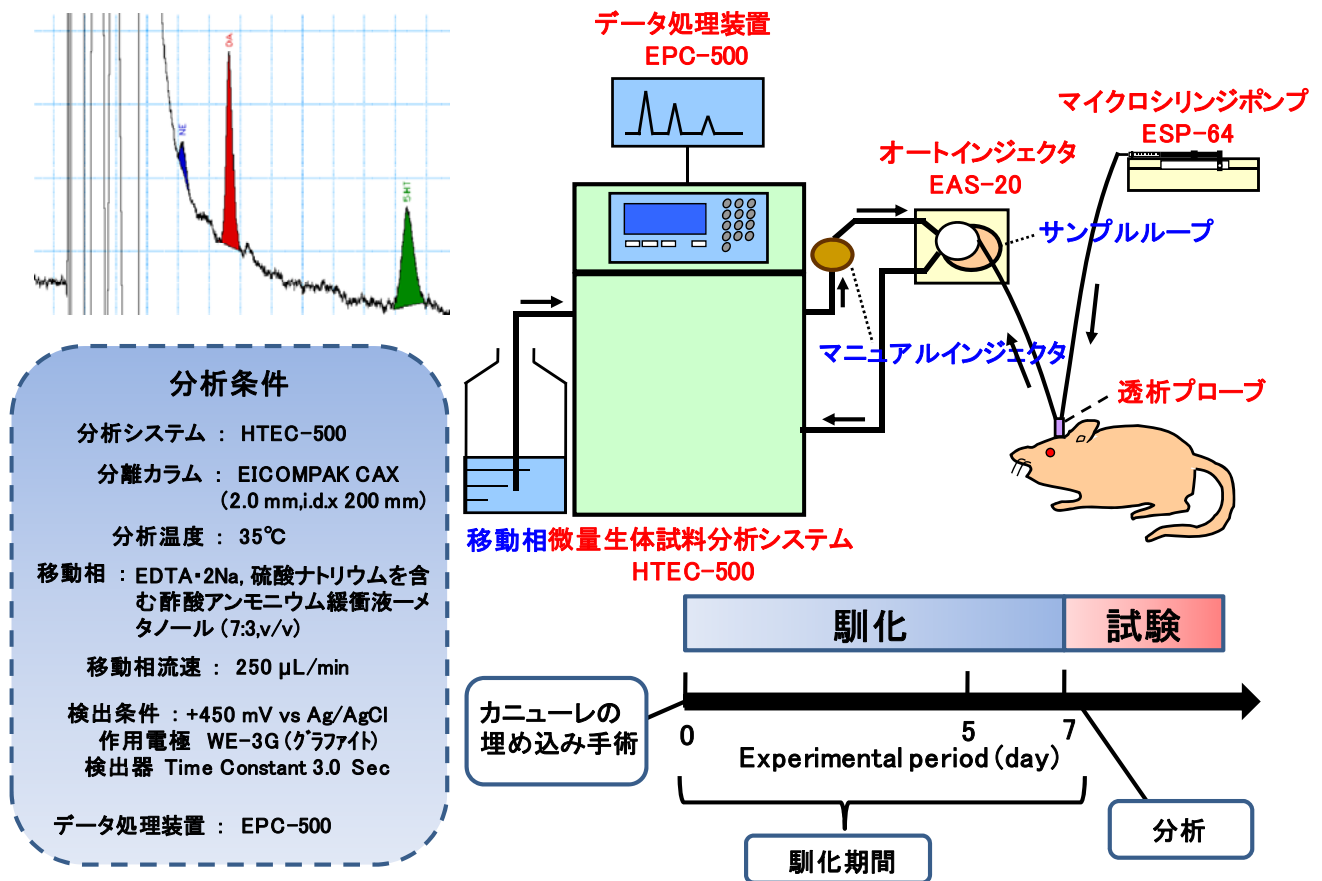


図3. マイクロダイアリシス法によるモノアミン分析

移動相流速 250 $\mu\text{L}/\text{min}$
 検出条件 +450 mV vs Ag/AgCl
 作用電極 WE-3G (グラファイト)
 ガスケット GC-25
 検出器 Time Constant 3.0 sec
 データ処理装置 EPC-500
 (サンプリングレート 4 points/sec)

3. 研究結果および考察

3. 1 味神経応答に及ぼすにがりまたはマグネシウム塩の影響(ラット鼓索神経束(whole nerve)応答による検討)

3. 1. 1 食塩応答への影響

まず、食塩溶液応答へのにがり溶液添加(混和)の影響について調べた結果を図4に示した。上段に海水蒸発ににがり添加の影響を、下段にイオン交換にがり添加の影響についてまとめた。その結果、種々の濃度で海水蒸発に

がりを添加しても食塩応答はほとんど変わらなかったが、イオン交換にがりの添加によっては 50 倍希釈から 1,000 倍希釈までの希釈にがりによって食塩応答が有意に低下した。薄いイオン交換にがり溶液の混和ほど抑制効果が大きいことが特徴的であった。

次に、低濃度のにがり塩成分の添加の影響を調べた結果を図5にまとめた。その結果、

MgSO_4 溶液では混和によって食塩応答が全く影響を受けなかったが、 MgCl_2 溶液、 CaCl_2 溶液、 KCl 溶液の混和によっては、有意に食塩応答が低下した。 CaCl_2 と MgCl_2 による抑制効果があるために、これらの含量が高いイオン交換にがりのほうで抑制が強く見られた(図4)可能性が示唆される。

3. 1. 2 グルタミン酸ナトリウム(MSG)応答への影響

次に、うま味物質である MSG 溶液(終濃度 100 mM)の応答に対するにがり混和の影響を検討した(図6)。その結果、食塩の場合とは違って、どちらのにがり溶液の場合

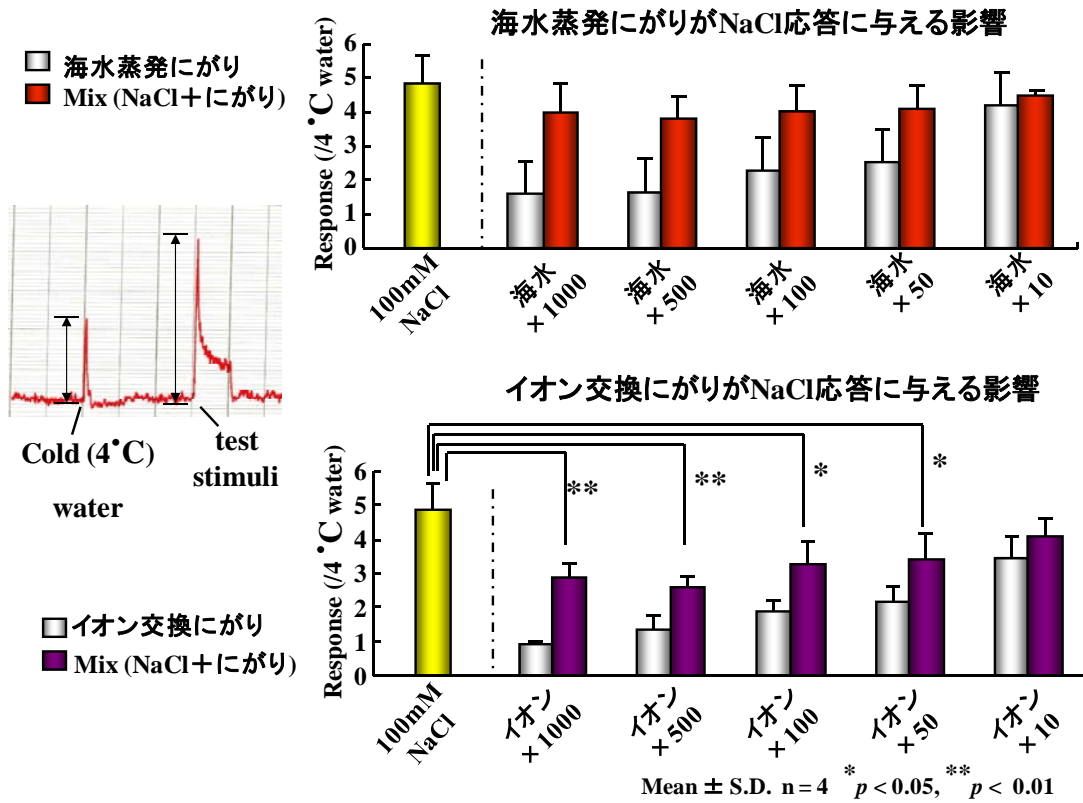


図4. NaCl 溶液(100 mM)への各種にがり(10~1,000 倍希釈)添加による応答の変化

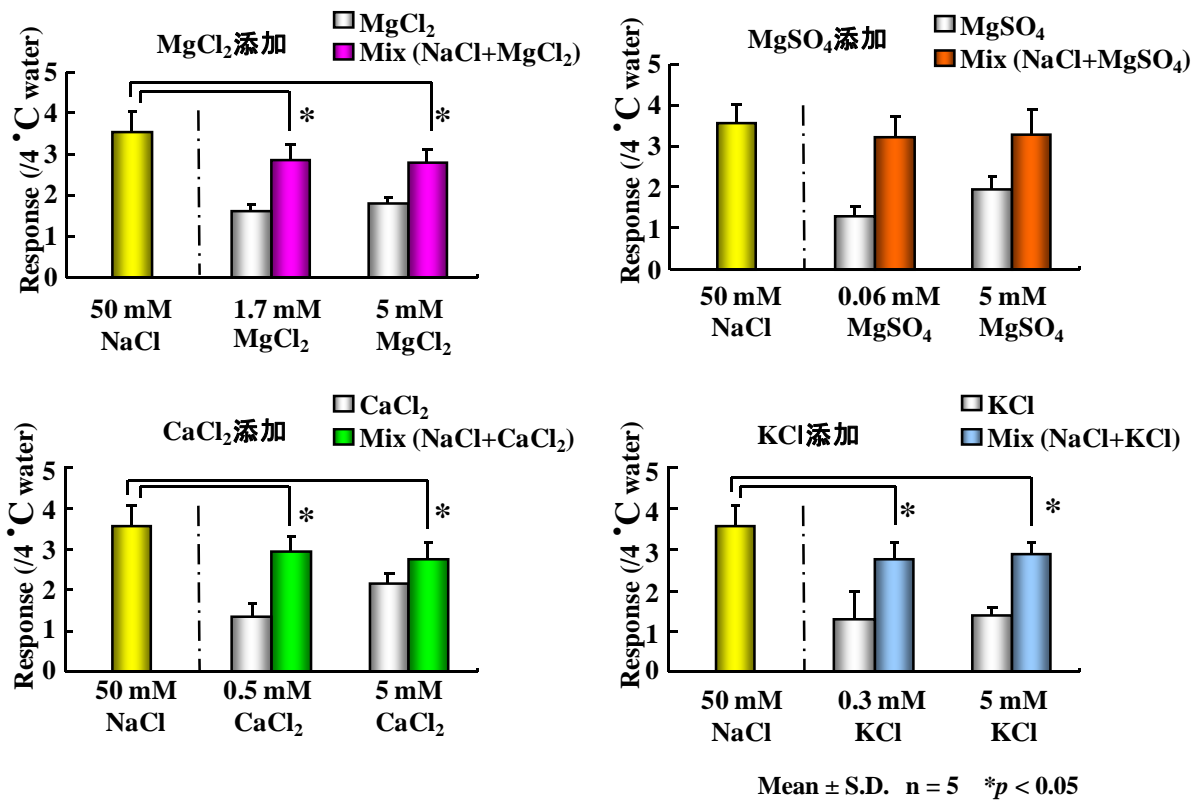


図5. 低濃度にがり成分添加によるNaCl(0 mM)の応答の変化

も、にがり共存の影響を大きく受けてはいなかった(ただし、海水蒸発にがりの場合には 50~100 倍希釈時に味神経応答が大きくなる傾向が見られたが、有意ではなかった)。しかし、1,200 倍希釈に統一して用いた両方のにがり成分の混和によっても、MSG 応答への修飾作用は観察されなかった(データ不表示)、両にがり混和によるMSG応答への大きな影響はないものと予測される。

次に、にがり添加によるMSG 応答に及ぼす影響が見られなかったため、高濃度のにがり成分毎にMSG 応答に及ぼす影響を調べた。その結果、全てのにがり成分において、添加後のMSG 応答が上昇した(図7, 図8)。さらに、種々の濃度のMgCl₂溶液の混和によって、濃度応答性の一次回帰式の傾きが、有意に大きくなった(図7 上段)。一方、MgSO₄溶液の混和によつてはMSG 濃度応答性の一次回帰式の傾きは全く変わらなかった(図7 下段)。同様の実験をCaCl₂溶液とKCl溶液で行った結果(図8)、CaCl₂溶液混和の場合には濃度応答性の傾きが上昇したが(図8 上段)統計的に有意ではなかった。なお、KCl溶液混和の場合には、この傾きは全く変わらなかった(図8 下段)。

このような結果から、とくに高濃度の塩化マグネシウムと塩化カルシウムによるMSG 応答の相乗的な増強作用が認められることが示された。以上から、応答の上昇にはとくにクロライドイオンが関与すること、またにがり成分の二価の陽イオンが一価の陽イオンより強い作用を持つものと推察される。

3.2 にがりによる視床下部における食塩調節系因子(モノアミン類)の変化

視床下部外側野(LH)と腹内側核(VMH)におけるノルエプネフリン(NE)、ドーパミン(DA)、セロトニン(5-HT)の結果を図9から図11にまとめた。いずれの結果においても、刺激15分前から0分にかけて各モノアミン類の放出は安定し、そして各溶液刺激後15分後から刺激30分後までをピークとしてその放出レベルは上昇し、その後は低下することが確認された。

LHにおける各モノアミン類の放出においては、水刺激群、海水蒸発にがり群、イオン交換にがり群の3群間において有意な差は認められなかった(図9, 図10, 図11)。LHは脳内報酬系回路において重要な部位とされている(Yamamoto T; 2005)。脳内報酬系は、VTA(腹側被蓋野

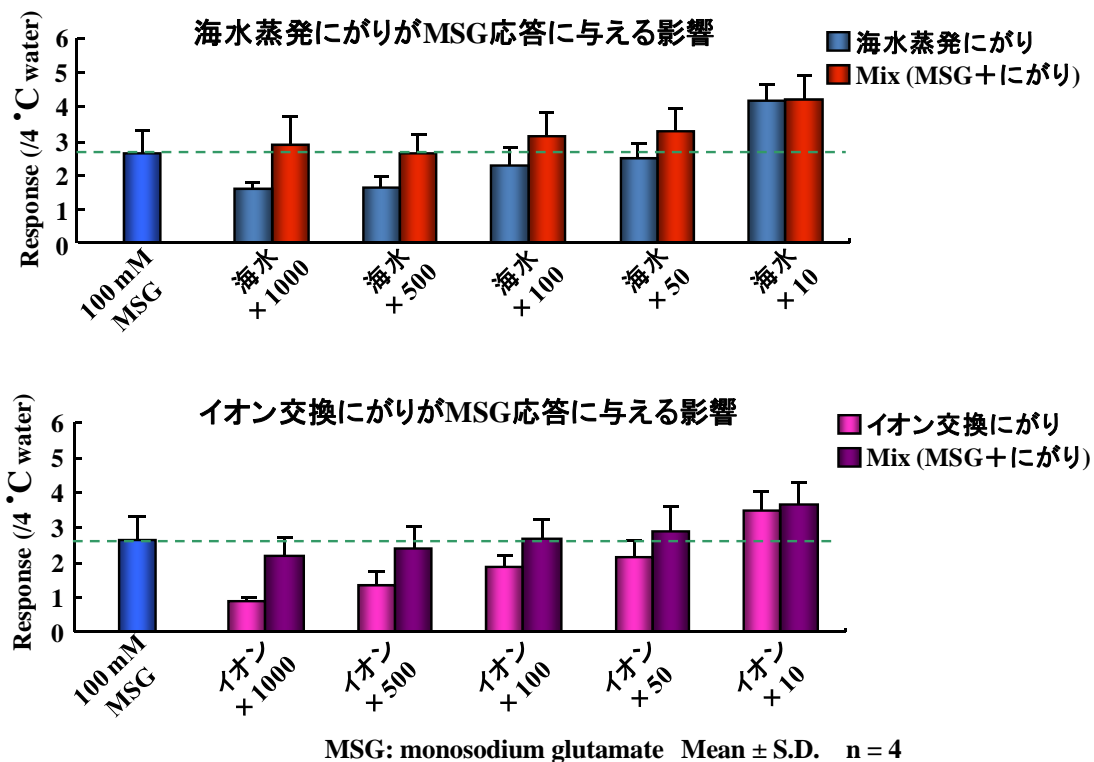


図6. MSG 溶液(100 mM)への各種にがり(10~1,000 倍希釈)添加による応答の変化

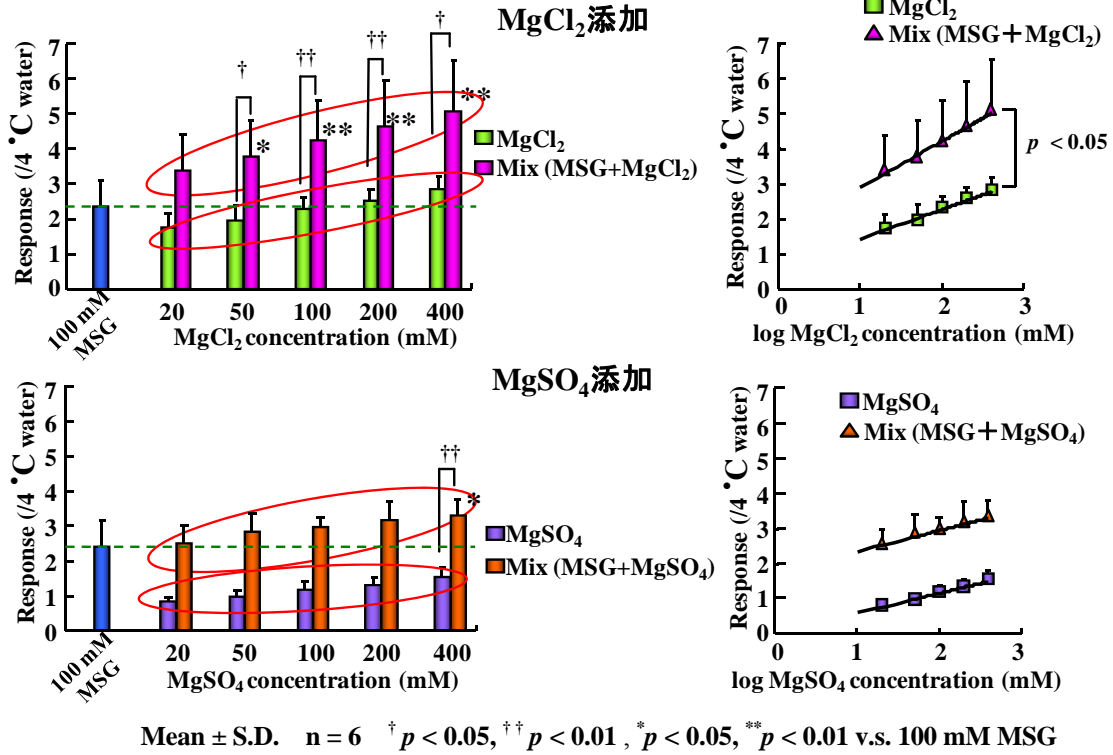


図 7. 高濃度にがり成分添加による MSG 溶液(100 mM) 応答の変化

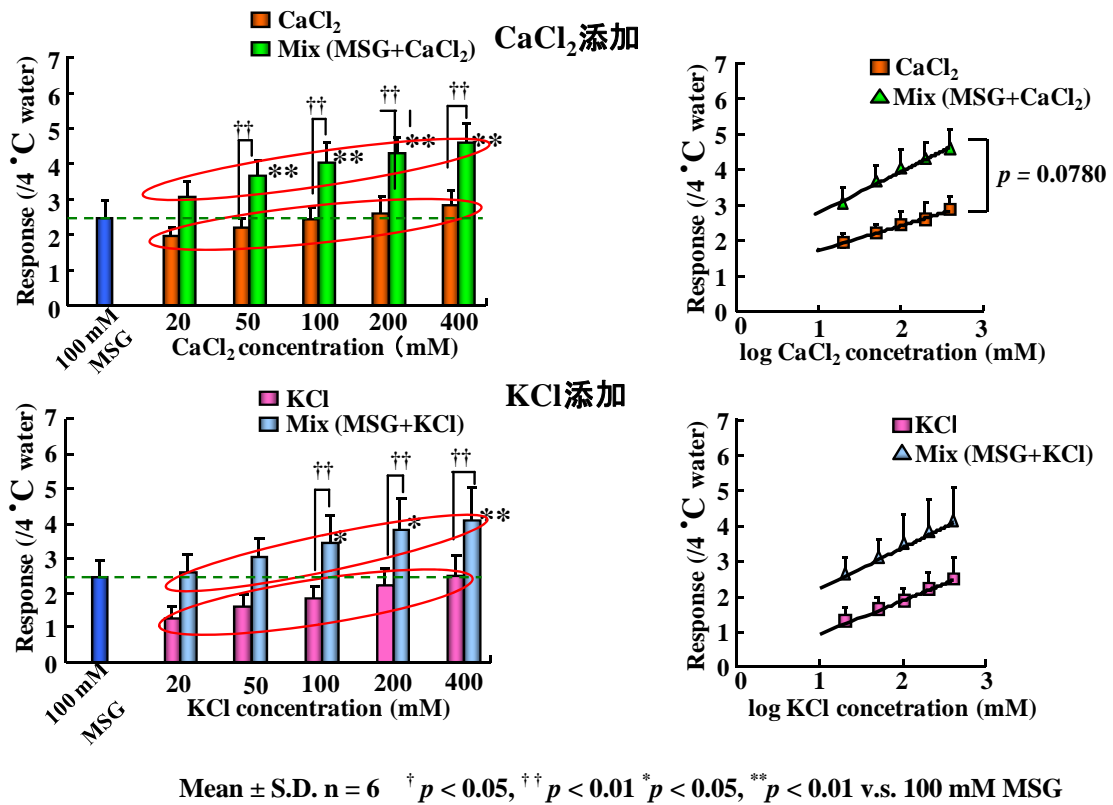
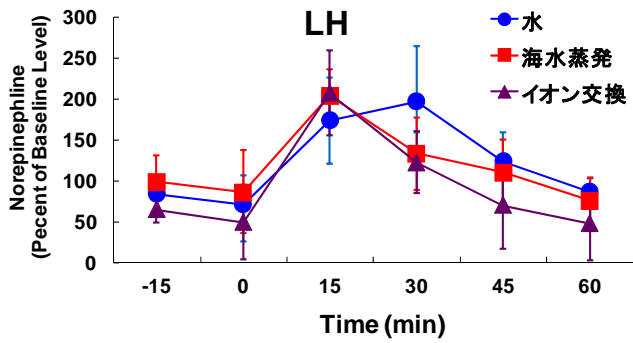
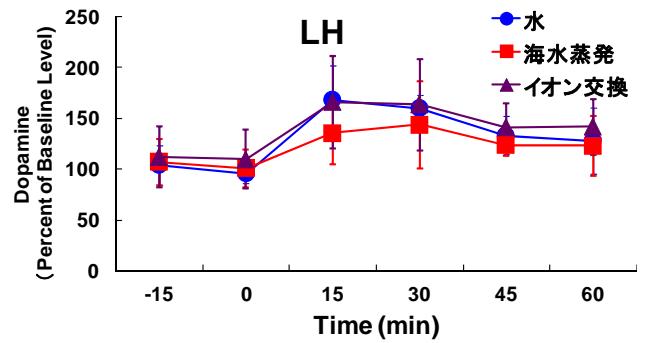


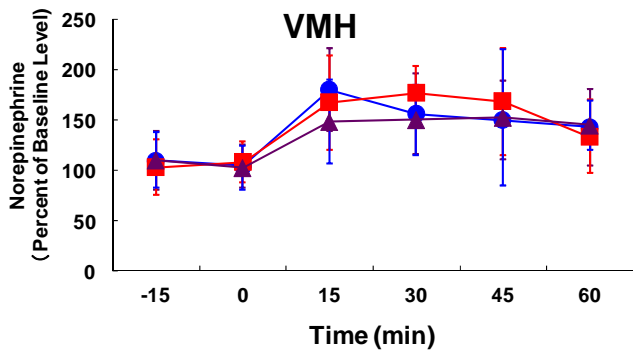
図 8. 高濃度にがり成分添加による MSG 溶液(100 mM) 応答の変化



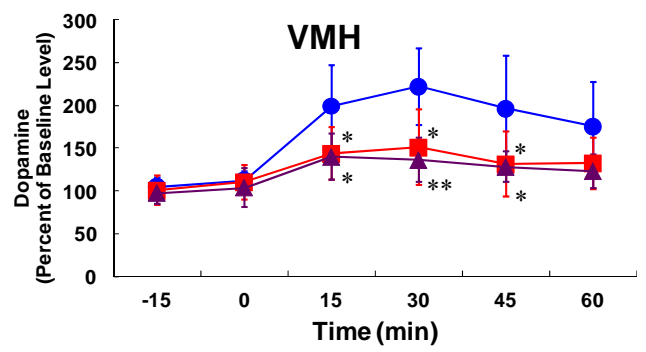
Mean ± S.D. n = 4



Mean ± S.D. n = 4



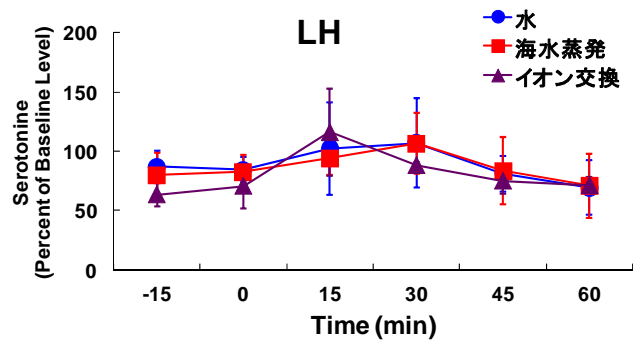
Mean ± S.D. n = 5~6



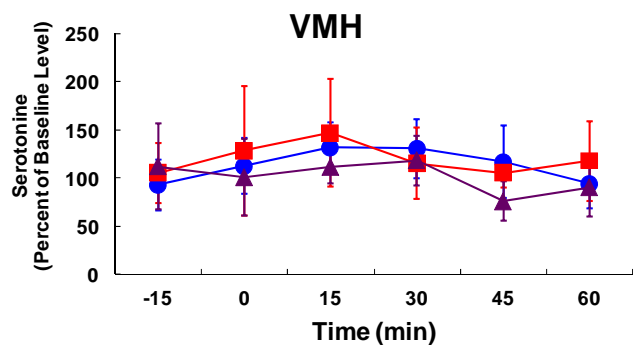
Mean ± S.D. n = 5~6 *; p < 0.05 **; p < 0.01

図 9. ノルエピネフリン NE

図 10. ドーパミン DA



Mean ± S.D. n = 4



Mean ± S.D. n = 5~6

図 11. セロトニン 5-HT

(ventral tegmental area) や LH を起点とした領域からドーパミン放出系の経路を経て側坐核 (nucleus accumbens) にシグナルが入力しているからである (Shimura T; 2002)。今回の結果から、LH のドーパミンレベルは 3 群間で差が見られなかった。このことから、「にがり」刺激による中枢への影響というのは、脳内報酬系を介したメカニズムを介していないことが考えられる。

VMH においては、水刺激群と比較して、海水蒸発群・イオン交換群の両にがり刺激群において DA レベルの上昇が刺激 15 分後、30 分後、45 分後と有意に低値を示した (図 10)。その差は刺激 30 分後において最も顕著であった (図 10)。その差は刺激 30 分後において最も顕著であった。VMH は満腹中枢として知られるほか、エネルギー代謝において脳由来の神経栄養因子が放出される中心的な部位として働いている (Wang C. et al.; 2007)。また、VMH と DA との関連性については、VMH の破壊によって引き起こされる摂食亢進が、DA ニューロンの活性化によって引き起こされる (Najma; 1988) ことや、同様に VMH の破壊によって摂食亢進したラットは、ドーパミンを介した甘味報酬系の回路が制御され、甘味溶液の摂取量が増

加する(Xenakis S.; 1982)などの報告もあり、その関連性は深いものと言える。また、ここでは図に示さないが、扁桃体基底外側核(BLA)においてもDAレベルにおいて同様な差が確認された。すなわち、刺激45分後において水刺激群と比較して両にがり刺激群でDAレベルが有意に低値を示した。扁桃体中心核(CeA)においては、NEを検出することはできなかったし、DAや5-HTレベルも3群間において有意な差が見られなかった。

今回の結果では、視床下部中のVMHと扁桃体中のBLAのDAレベルにおいて、「にがり」刺激による影響が観察された。視床下部と扁桃体との連絡経路は、主に分界条(stria terminalis)および腹側扁桃体視床下部路(ventral amygdalo-hypothalamic tract)の二系統によって連絡を行っている。このうちVMHやBLAが関与しているのは分界条における経路であり、扁桃体の基底外側群(外側核を含む)から起こり、分界条を介し、視床下部の腹内側核に達する連絡経路である。つまり、BLAとVMHは視床下部と扁桃体の連絡において、その両部位の始まりと終わりを担う架け橋となる役目を果たし、重要な部位として機能している。さらに、視床下部と扁桃体の密接な連絡による働きによって、各種の本能や情動の形成とそれによる行動発現に重要な働きを与えているとされている。

また、VMHとBLAとの関連性については、VMHの破壊によって引き起こされる摂食亢進が、BLAが破壊されている時には起こらず、BLAが無傷の場合にのみ起こる(Ganaraja B; 2000)などの報告もあり、VMHとBLAが摂食や飲水を司る本能行動において、機能的に働いていることがうかがえる。

これらのことから、「にがり」を刺激させたことによって、VMHやBLAにおけるDAレベルが低下し、更にその影響が、ラットの食塩溶液の嗜好率を低下させることにつながったのではないかと推察される。つまり、ラット口腔内への「にがり」刺激の影響によって食塩嗜好率が低下したのは、「にがり」刺激による脳内のVMHおよびBLAにおけるDA放出系のメカニズムを介して食塩嗜好を変化させたものと推察される。

4. 今後の課題

「にがり」は、Mgの補給による心疾患や心筋梗塞などの予防に有効であることが最も注目されている。今回、必要

以上の食塩摂取を軽減する効果もあるという結果が得られ、うま味を修飾する作用もあるものと考えられ、おいしく栄養バランスの良い調理への利用も有効となろう。今後、科学的研究だけではなく、実際的な応用研究がさらに付け加えられれば、食生活を豊かにする材料としての価値が高くなることであろう。こうした観点からの一層の研究が必要である。

要約

- 1) 味神経応答に及ぼすにがりまたはマグネシウム塩の影響(ラット鼓索神経束(whole nerve)応答による検討)
 - ・イオン交換にがりの混和により、食塩(塩味)の味神経応答に抑制作用が観察された。
 - ・塩化マグネシウム、塩化カルシウム、塩化カリウムを低濃度に混和させることにより、食塩の味神経応答が抑制された。
 - ・にがり添加による食塩応答の抑制作用には、クロライドイオン(Cl⁻)が関与していることが示唆された。
 - ・高濃度のにがり成分添加によって、MSG応答の上昇作用が観察され、応答に与える影響はにがり成分毎で異なっていた。
 - ・にがり成分添加による応答の上昇は、うま味物質のナトリウムイオンとにがり成分のクロライドイオンに由来することが考えられた。
- 2) にがりに刺激よる視床下部における食塩調節系因子(モノアミン類)の変化
 - ・マイクロダイアリスによって、口腔内への「にがり」刺激による食塩調節系因子(モノアミン類)の変化をより詳細に解析した。
 - ・視床下部腹内側核(VMH)において、両にがり刺激後30分後をピークとして、15分後、30分後、45分後において水刺激群と比較して、2種のにがり刺激群でドーパミン(DA)レベルの上昇が有意に低値を示した。また、扁桃体基底外側核(BLA)においても同様の傾向が示され、刺激後45分後において2種のにがり刺激群でDAレベルの上昇が有意に低値を示していた。
 - ・以上のことから、口腔内への両「にがり」刺激による食塩嗜好の低下作用は、脳内のVMHおよびBLAにおけるドーパミン放出系のメカニズムを介して出現しているものと推察される。

文献

- (1) Frank M.E., *et al.*: The distinctiveness of ionic and nonionic bitter stimuli. *Physiol. & Behav.*, 80, 421-431, 2004.
- (2) Ganaraja B, Jaganathan PS: Effect of basolateral amygdale & ventromedial hypothalamic lesions on ingestion & taste preference in rat. *Indian J Med Res.* 112, 65-70, 2000.
- (3) Goto T, Komai M, Suzuki H, and Furukawa Y: Long-term zinc deficiency decreases taste sensitivity in rats. *J. Nutr.*, 131, 305-310, 2001.
- (4) 芳賀麻衣子、ほか:「市販にかりの品質」、日本調理科学会誌、38, No.3, pp.281-285, 2005.
- (5) Kaneko Shu, *et al.*: Molecular and sensory studies on the Umami taste of Japanese green tea. *J. Agric. Food Chem.*, 54, 2688-2694, 2006.
- (6) 北田泰之、奥田・赤羽和久:「カエル舌咽神経の塩応答:Ca²⁺, Mg²⁺ および Na⁺ 応答における特異性と類似性」、日本味と匂学会誌、7, 161-174, 2000.
- (7) 北田泰之、ほか:「陽イオン応答に対する陰イオンの修飾作用」、日本味と匂学会誌、11, 5-16, 2004.
- (8) Komai M and Bryant B.P.: Acetazolamide specifically inhibits lingual trigeminal nerve responses to carbon dioxide. *Brain Res.*, 612, 122-129, 1993.
- (9) Najma Najam: Involvement of dopaminergic systems in the ventromedial hypothalamic hyperphagia. *Brain Res Bull.* 21, 571-574, 1988.
- (10) Osada K, Komai M, Bryant BP, Suzuki H, Tsunoda K, Furukawa Y. Age related decreases in neural sensitivity to NaCl in SHR-SP. *J. Vet. Med. Sci.*, 65, 313-317, 2003.
- (11) Shimura T, Kamada Y, Yamamoto T: Ventral tegmental lesions reduce overconsumption of normally preferred taste fluid in rats. *Behav Brain Res.* 134, 123-130, 2002.
- (12) Wang C, Bomberg E, Levine A, Billington C, Kotz CM: Brain-derived neurotrophic factor in the ventromedial nucleus of the hypothalamus reduces energy intake. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 293, R1037-1045, 2007.
- (13) Xenakis S, Sclafani A: The dopaminergic mediation of a sweet reward in normal and VMH hyperphagic rats. *Pharmacol Biochem Behav.* 16, 293-302, 1982.
- (14) Yamamoto T.: Salt and its Taste. *Nihonkaisuigakuzassi.* 59, 115-120, 2005.

Effect of “Bittern” and Magnesium Salts on Sodium Chloride Taste Perception

Michio Komai, Hideaki Suzuki, Emi Ohkado, Tomoko Goto, and Hitoshi Shirakawa

Graduate School of Agricultural Science, Tohoku University

Summary

1) Effect of bittern on the taste nerve responses to NaCl and MSG (mono-sodium chloride):

Effect of “bittern”, “Nigari” in Japanese, on salt or umami taste perception through the chorda tympani nerve was studied in SD rats. Two kinds of standard artificial bittern, i.e., ion-exchange type and sea-water concentrated type were used throughout the study. After the addition of various concentration of ion-exchange type of bittern solution, the taste nerve response to sodium chloride was decreased significantly. The taste nerve response data showed that this was possibly due to its $MgCl_2$, $CaCl_2$, and KCl components or chloride ion contribution. As for the addition of bittern solution to the MSG solution, the MSG response was increased by the addition, and this was probably due to its sodium- and chloride ions components, though further experiment is necessary.

2) Effect of single oral application of bittern solution on the monoamines secretion in the hypothalamus:

The real time analysis by microdialysis-HPLC system was performed to clarify the contribution of monoamines secretion on the decrease of sodium chloride preference after oral application of both types of bittern application. After the analyses, dopamine secretion in the ventro-medial hypothalamus (VMH) region was clearly decreased by an oral application of both type of bittern when compared with the control group (water application). This was significantly observed after 15, 30, and 45 minutes of the application. These data suggest that the decrease of sodium chloride preference seen soon after the oral application of both type of bittern solutions could be attributable to the decrease of dopamine secretion especially in the ventro-medial hypothalamus region.

日本人のマグネシウム・カルシウム摂取量の実態に関する研究

渡辺 孝男¹, 中塚 晴夫², 工藤 陽子³

¹宮城教育大学教育学部, ²宮城大学看護学部, ³大妻女子大学家政学部

概要 【研究目的】本研究は 1970 年代後半から始めた陰膳実測法による国内縦断的食事調査から日本人のマグネシウム、カルシウム摂取量の地域性や経年的な変動等について検証することを目的とする。

【研究方法】本年度は 1976～81 年実施の国内縦断的食事調査(1980 年代調査, 80F と略称)を対象に日本国内地域住民のマグネシウム(Mg)、カルシウム(Ca)摂取量を測定した。陰膳実測法の食事調査は既報の通りで、個人別に調査協力者の丸一日の摂取全飲食物(食事)を採取し、秤量・記録および分析用試料の調整を行った。調査対象は地域住民成人男女で一地区 20～40 名規模で実施した。調査は主に冬季に実施し、季節変動の観察のため一部地区で夏季の調査も行った。栄養摂取量は四訂版日本食品標準成分表で算出した。Mg と Ca は湿式灰化処理後に発光分光分析法(ICP 法)で測定し、摂取量を求めた。80F 調査は 24 都道府県 52 地区で行われ、冬季調査の被験者は男性 401 名、女性 694 名、夏季等調査は男性 189 名、女性 151 名である。

【研究結果】 1. Mg 摂取量の実態：(1)性、年齢層別摂取量レベル：20、30、40、50、60 歳代別の摂取量は男性が 307 ± 161、308 ± 90、324 ± 105、308 ± 105、269 ± 105 mg/day。女性が 244 ± 71、260 ± 79、272 ± 87、274 ± 91、249 ± 71 mg/day (平均値 ± 標準偏)である。男性の摂取量は女性に比し各年齢層とも高いが、加齢に伴いその差は縮小傾向を見る。男女とも 60 歳代以降で摂取量の低下傾向がある。(2)地区別摂取量レベル：男性 31 地区、女性 39 地区の平均値は 301、263 mg/day である。男性の最大と最小値が 418、226 mg/day に対し女性のそれは 407、173 mg/day であり、地区間の変動が大きい。

2. Ca 摂取量の実態：(1)性、年齢層別摂取量レベル：Mg と類似の傾向を示し、個人間変動は Mg よりも大きい。男女別全体の Mg 摂取量は 700 ± 321、612 ± 273 mg/day である。(2)地区別摂取量レベル：地区別 Ca 摂取量の男女の最大値は 1,078 と 875 mg/day で、いずれも酪農地区。また、最小値は男女別に 510 と 406 mg/day である。

3. 冬季と夏季摂取量の変動：両季節調査 15 地区での Mg、Ca 摂取量は男女とも一定の有意な季節性を認めない。男女別の摂取量平均値は冬季の 301 と 245 に対し夏季が 285 と 229 mg/day である。

4. 1990、2000 年代の Mg、Ca 摂取量レベルとの比較：1990 年代の第二次調査や 2000 年代の地域住民調査の摂取量レベルに比して小幅ではあるが大きな摂取量となっている。

1. 研究目的

本プロジェクト研究は、1970 年代後半から実施している陰膳実測法による食事調査に基づき、日本人のマグネシウム、カルシウム摂取量を横断的・縦断的に検討し、長期間での実態と問題点等について検証することを目的に、(1)日本人の地域住民のマグネシウム、カルシウム摂取量の地域横断的、時間縦断的な実態とその解析、(2)1990

年から大学生を中心とした青少年で行っている食生活環境のマグネシウム、カルシウム摂取量への影響等についての実態と解析、(3)幼稚園児の食事からの微量元素摂取量に関する日中韓国際比較調査から小児でのマグネシウム、カルシウムの摂取量の実態を明らかにすること、(4)日本人およびアジア地域住民のマグネシウム、カルシウムを含む栄養摂取量のデータ・ベースを構築することを

目的とする¹⁻²⁾。

2. 研究方法

本年度は 1976～81 年実施の国内縦断的食事調査³⁻⁷⁾ (1980年代調査, 80Fと略称)を対象に日本国内地域住民のマグネシウム(Mg)、カルシウム(Ca)摂取量を測定した。陰膳実測法の食事調査は既報⁴⁻⁵⁾の通りで、個人別に調査協力者の丸一日の摂取全飲食物(食事)を事前に説明・配布した食事容器への採取と食事内容の献立表への記録を依頼し、回収する方法で行った。食事調査の翌日の回収後に、献立表を参照しながら食事別に食品毎に仕分けをし、秤量・記録した。秤量後に一日分全量をホモミキサーを用い粉碎・混合し、その一部を分析用に分取し、分析および標本試料として凍結保存した。調査は協力依頼に同意された地域住民成人男女を対象に一地区 20～40 名規模で実施した。調査は主に冬季に実施し、季節変動の観察のため一部地区で夏季の調査も行った。栄養摂取量は献立表および秤量記録に基づき、四訂版日本食品標準成分表を用い、中塚の表計算ソフトで算出した⁸⁾。Mg と Ca は湿式灰化処理後に発光分光分析法(ICP 法)で測定し、摂取量を求めた⁹⁾。調査地区、時期、調査対象数等は表 1 に示す 24 都道府県 52 地区で実施。調査は主に 11 月から 3 月の時期に行い、当該 50 地区の調査を冬季調査とした。同地区のうち 15 地区では 6～8 月を中心に同一調査を行い、これらを夏季調査とした。両調査により季節変動を観察した。冬季調査の被験者は男性 423 名、女性 694 名、夏季等調査は男性 206 名、女性 102 名である。

表 2 は主たる調査の冬季調査の対象群別の年齢、食品成分表によるエネルギー摂取量とたんぱく質摂取量および実測値の一日の食事量とごはん摂取量を男女別に示したものである。

調査は調査主旨を理解し、参加協力をお願いできた方で実施したものであり、従って男女の割合、年齢構成および調査時期等は地区により大きな相違がある。一方、食事調査の方法については常に同じ手続き、材料を用い、方法の相違による調査への影響を避けている。

被験者の構成が地区によりかなり相違しているが、「80F 調査」の全体を男女別、年齢層別にし、検討することで 1980 年代での日本人の Mg、Ca 摂取量等について総覧

表 1. 1980 年代食事調査(80F 調査)地区、時期、被験者の概要

No	地区名	県名	冬季調査		夏季等調査			
			年・月	男	女	年・月	男	女
1	虻田	北海道	1980 Feb.	41	19	1980 Jul.	11	8
2	むつ	青森	1980 Feb.	0	14			
3	鳥海	秋田	1976 Nov	22	0	1976 Apr.	17	3
4	唐桑	宮城	1981 Jan.	0	19	1981 Sep.	0	19
5	金成	宮城	1980 Dec.	0	39			
6	東和	宮城	1977 Dec.	12	0			
7	石巻	宮城	1979 Mar.	12	5			
8	桃生	宮城	1977 Dec.	10	0	1979 Aug.	9	0
9	河南	宮城	1977 Dec.	7	8	1979 Aug.	6	8
10	松島	宮城	1979 Mar.	9	13			
11	古川	宮城	1977 Dec.	9	1	1979 Aug.	9	1
12	宮崎	宮城	1977 Dec.	9	2			
13	大衡	宮城	1977 Dec.	9	1	1979 Aug.	9	1
14	大和	宮城	1977 Dec.	0	19			
15	大郷	宮城	1980 Dec.	0	21	1980 Jun.	0	21
16	南光台	宮城	1981 Dec.	0	20			
17	仙台日辺	宮城	1981 Feb.	21	18			
18	青の木	宮城	1980 Dec.	3	17			
19	秋保	宮城	1980 Dec.	8	15			
20	村田	宮城	1977 Dec.	3	21			
21	白石	宮城	1977 Dec.	13	0			
22	岩沼	宮城	1976 Mar.	22	0	1975 Oct.	27	0
23	亘理	宮城	1981 Feb.	0	40			
24	喜多方	福島	1979 Mar.	17	5			
25	所沢	埼玉	1979 Nov.	0	28			
26	前橋	群馬	1981 Jan.	0	20			
27	太田	群馬	1980 Jan	0	22			
28	深川	東京	1981 Mar.	0	24			
29	白根	新潟	1979 Jan.	5	18			
30	富山	富山	1979 Dec.	5	16			
31	金沢	石川	1979 Jan.	0	19			
32	松任	石川	1980 Nov.	9	9			
33	松本	長野	1980 Jan	1	19			
34	津具	愛知	1979 Feb.	20	0	1979 Aug.	19	0
35	南部川	和歌山	1979 Nov.	40	0			
36	串本	和歌山	1979 Nov.	11	16			
37	千早赤阪	大阪		0	0	1975 Oct.	20	0
38	斐川	島根	1980 Feb.	0	20			
39	須金	山口	1979 Dec.	17	4			
40	徳地	山口	1979 Dec.	20	1	1979 Jul.	20	0
41	綾上	香川	1981 Feb.	0	20			
42	志度	香川	1978 Mar.	18	5			
43	芸西	高知	1981 Feb.	7	17			
44	松山	愛媛	1981 Jan.	2	20			
45	津屋崎	福岡	1979 Jan.	0	26			
46	諫早	長崎	1976 May.	0	0	1976 May	21	0
47	始良	鹿児島	1981 Feb.	1	19			
48	吹上	鹿児島	1980 Jan.	5	27			
49	奄美	鹿児島	1981 Feb.	4	20	1980 Aug.	7	18
50	美里	沖縄	1981 Feb.	10	11	1980 Aug.	12	7
51	宮古	沖縄	1981 Feb.	9	9	1981 Jul.	9	9
52	石垣	沖縄	1981 Feb.	12	7	1981 Aug.	10	7

できると考えられる。表 3 は冬季調査全体での性・年齢層別による栄養・食事摂取量の概要である。なお、70 歳代は男性が 4 名、女性が 1 名の参加しかなく地区別の Mg、Ca 摂取量等の検討では対象から除外した。

表2a. 1980年代食事調査全国地区別栄養・食事量摂取概要(男性, 冬季)

No	地区	調査対象 県	被験人数		年齢(歳)		エネルギー(kcal)		たんぱく質(g)		食事量(g)		ごはん量(g)	
			M	SD	M	SD	M	SD	M	SD	M	SD	M	SD
1	北海道	北海道	41	49.9 ± 10.3	2263 ± 555	84.8 ± 27.5	3003 ± 572	777 ± 221						
2	鳥海	秋田	20	51.0 ± 9.9	2109 ± 610	74.9 ± 28.0	2881 ± 838	895 ± 306						
3	石巻	宮城	12	58.3 ± 6.4	2098 ± 542	71.4 ± 21.4	2698 ± 556	702 ± 219						
4	東和	宮城	12	30.4 ± 9.2	3740 ± 933	110.4 ± 33.2	3759 ± 1073	1256 ± 357						
5	桃生	宮城	10	43.4 ± 11.0	2368 ± 536	74.7 ± 17.9	2472 ± 482	885 ± 375						
6	河南	宮城	7	42.1 ± 12.3	2786 ± 670	89.4 ± 21.1	3081 ± 777	977 ± 307						
7	松島	宮城	9	48.7 ± 5.5	2761 ± 530	103.4 ± 20.9	2974 ± 483	846 ± 286						
8	宮崎	宮城	9	34.8 ± 14.7	3331 ± 507	93.3 ± 25.2	3445 ± 907	996 ± 193						
9	古川	宮城	9	49.7 ± 9.0	2114 ± 784	92.4 ± 31.8	2600 ± 1050	789 ± 294						
10	大衡	宮城	9	40.0 ± 12.3	2606 ± 599	87.4 ± 21.3	3190 ± 920	1075 ± 396						
11	青の木	宮城	3	52.0 ± 13.2	2194 ± 723	79.4 ± 25.9	3133 ± 363	887 ± 307						
12	日辺	宮城	21	48.1 ± 9.0	2298 ± 562	92.1 ± 21.8	3057 ± 658	847 ± 257						
13	秋保	宮城	8	53.8 ± 7.4	2461 ± 516	87.1 ± 15.9	3207 ± 694	1137 ± 268						
14	村田	宮城	3	41.0 ± 21.5	3440 ± 301	121.7 ± 27.4	3619 ± 236	1010 ± 396						
15	岩沼	宮城	22	43.6 ± 10.3	2833 ± 619	100.2 ± 34.0	3377 ± 544	997 ± 211						
16	白石	宮城	13	50.6 ± 2.9	3046 ± 580	101.0 ± 24.0	3544 ± 572	942 ± 211						
17	喜多方	福島	17	52.8 ± 5.7	2333 ± 811	85.7 ± 26.0	2766 ± 678	796 ± 280						
18	白根	新潟	5	37.6 ± 8.4	2631 ± 327	93.0 ± 24.3	3380 ± 331	1017 ± 272						
19	富山	富山	5	46.8 ± 9.0	2845 ± 683	74.6 ± 29.4	3515 ± 861	1255 ± 157						
20	松任	石川	9	37.6 ± 6.4	2290 ± 512	84.2 ± 19.0	2847 ± 445	912 ± 295						
21	津具	愛知	20	46.8 ± 7.5	2450 ± 547	86.8 ± 19.7	2999 ± 480	888 ± 308						
22	南部川	和歌山	40	45.0 ± 8.5	2657 ± 609	90.5 ± 23.4	3208 ± 690	1217 ± 381						
23	串本	和歌山	10	54.7 ± 8.1	2319 ± 435	75.7 ± 24.4	2627 ± 469	746 ± 192						
24	須金	山口	17	44.4 ± 7.6	2514 ± 644	86.2 ± 24.7	3172 ± 679	1015 ± 292						
25	徳地	山口	20	52.4 ± 6.3	2391 ± 699	81.5 ± 25.5	3188 ± 649	1076 ± 306						
26	志度	香川	17	48.4 ± 12.4	2326 ± 614	77.8 ± 28.1	2718 ± 643	765 ± 343						
27	芸西	高知	7	42.0 ± 7.4	2479 ± 735	85.5 ± 27.7	3162 ± 934	1150 ± 342						
28	吹上	鹿児島	5	59.2 ± 5.1	2125 ± 295	95.8 ± 40.5	2930 ± 343	824 ± 149						
29	奄美	鹿児島	4	47.3 ± 3.6	2173 ± 619	71.3 ± 18.3	2512 ± 428	609 ± 254						
30	美里	沖縄	10	37.3 ± 9.4	2073 ± 672	67.4 ± 24.6	2502 ± 514	729 ± 251						
31	宮古	沖縄	9	44.8 ± 7.9	2313 ± 483	93.9 ± 21.8	2519 ± 276	623 ± 114						
32	石垣	沖縄	12	44.3 ± 13.1	2460 ± 660	78.8 ± 23.4	3056 ± 663	850 ± 260						
	全体	日本	415	46.8 ± 10.6	2497 ± 690	86.9 ± 26.4	3040 ± 704	929 ± 324						

表2b. 1980年代食事調査全国地区別栄養・食事量摂取量の概要(女性, 冬季)

No	地区	県	被験人数		年齢(歳)		エネルギー(kcal)		たんぱく質(g)		食事量(g)		ごはん量(g)	
			M	SD	M	SD	M	SD	M	SD	M	SD	M	SD
1	北海道	北海道	19	46.5 ± 8.2	2274 ± 498	88.4 ± 23.4	2629 ± 498	629 ± 211						
2	むつ	青森	14	36.6 ± 9.3	1884 ± 564	79.2 ± 33.5	2117 ± 683	532 ± 166						
3	唐桑	宮城	19	45.2 ± 7.3	2118 ± 450	92.5 ± 25.6	2941 ± 693	606 ± 187						
4	金成	宮城	39	43.9 ± 5.7	2079 ± 605	79.6 ± 30.3	2711 ± 660	642 ± 210						
5	石巻	宮城	5	51.0 ± 8.1	2227 ± 639	70.2 ± 22.2	2641 ± 508	691 ± 225						
6	河南	宮城	8	34.8 ± 3.5	1920 ± 344	65.0 ± 21.9	2626 ± 545	621 ± 164						
7	松島	宮城	13	46.2 ± 10.0	2090 ± 470	77.0 ± 19.8	2557 ± 565	583 ± 166						
8	大和	宮城	19	45.2 ± 3.9	2313 ± 438	84.2 ± 19.5	2844 ± 589	668 ± 241						
9	大郷	宮城	21	50.2 ± 5.0	1839 ± 471	67.3 ± 18.3	2316 ± 444	566 ± 248						
10	南光台	宮城	20	41.0 ± 6.8	1590 ± 256	64.9 ± 17.3	2154 ± 445	306 ± 143						
11	日辺	宮城	18	44.9 ± 8.6	2337 ± 584	89.3 ± 25.5	3042 ± 644	798 ± 203						
12	青の木	宮城	17	49.1 ± 12.6	2025 ± 412	82.1 ± 21.7	2496 ± 473	582 ± 178						
13	秋保	宮城	15	46.2 ± 6.7	1980 ± 290	74.1 ± 17.5	2683 ± 478	743 ± 176						
14	村田	宮城	21	44.8 ± 5.4	2404 ± 491	90.9 ± 22.1	2706 ± 521	719 ± 255						
15	喜多方	宮城	40	43.2 ± 9.1	1977 ± 392	79.1 ± 18.8	2469 ± 425	621 ± 212						
16	喜多川	福島	5	54.4 ± 9.8	2052 ± 512	64.8 ± 18.2	2340 ± 455	644 ± 279						
17	所沢	埼玉	27	48.7 ± 8.4	2126 ± 350	65.9 ± 11.8	2630 ± 468	625 ± 217						
18	前橋	群馬	20	46.4 ± 5.0	1903 ± 343	71.5 ± 23.1	2553 ± 429	518 ± 128						
19	太田	群馬	22	47.9 ± 6.6	2165 ± 334	82.3 ± 14.7	2786 ± 437	673 ± 147						
20	深川	東京	24	49.8 ± 10.3	1780 ± 410	77.1 ± 23.8	2413 ± 435	361 ± 175						
21	白根	新潟	18	48.9 ± 11.0	1712 ± 448	59.8 ± 18.1	2287 ± 453	585 ± 167						
22	富山	富山	16	39.2 ± 11.1	2109 ± 425	75.6 ± 20.6	2663 ± 434	764 ± 187						
23	金沢	石川	19	33.9 ± 6.3	2165 ± 551	75.2 ± 16.9	2468 ± 672	626 ± 233						
24	松任	石川	9	37.4 ± 10.4	2171 ± 467	80.5 ± 25.8	2488 ± 469	736 ± 179						
25	串本	和歌山	19	47.8 ± 9.8	1981 ± 566	77.1 ± 27.6	2324 ± 492	617 ± 177						
26	松本	和歌山	16	55.6 ± 10.2	2037 ± 467	66.3 ± 16.9	2279 ± 481	598 ± 172						
27	斐川	島根	20	49.6 ± 6.6	2326 ± 482	75.1 ± 22.7	3059 ± 595	833 ± 218						
28	須金	山口	4	42.3 ± 8.7	1873 ± 434	65.0 ± 6.7	2788 ± 449	806 ± 216						
29	吹上	香川	20	49.9 ± 8.5	2160 ± 481	82.0 ± 23.6	2694 ± 540	627 ± 226						
30	美里	香川	5	44.6 ± 6.3	2044 ± 549	60.3 ± 19.3	2488 ± 728	673 ± 313						
31	芸西	高知	17	44.4 ± 9.2	2080 ± 367	76.2 ± 14.5	2699 ± 410	773 ± 173						
32	松山	愛媛	20	40.9 ± 12.0	2039 ± 398	78.7 ± 20.8	2624 ± 436	679 ± 123						
33	津屋崎	福岡	26	47.9 ± 6.8	2137 ± 583	70.3 ± 22.1	2467 ± 456	742 ± 207						
34	始良	鹿児島	19	45.2 ± 9.7	2020 ± 349	72.4 ± 19.7	2665 ± 454	701 ± 121						
35	吹上	鹿児島	27	47.2 ± 8.4	2014 ± 468	75.3 ± 17.0	2627 ± 520	723 ± 213						
36	奄美	鹿児島	20	50.6 ± 5.9	1651 ± 398	55.5 ± 15.1	2341 ± 410	592 ± 172						
37	美里	沖縄	11	47.3 ± 11.1	1887 ± 419	64.7 ± 19.6	2213 ± 472	556 ± 156						
38	宮古	沖縄	9	47.3 ± 6.9	1581 ± 371	52.0 ± 17.8	1812 ± 323	448 ± 122						
39	石垣	沖縄	7	39.4 ± 16.2	1797 ± 412	62.4 ± 26.2	2428 ± 320	517 ± 142						
	全体	日本	688	45.7 ± 9.3	2033 ± 484	75.2 ± 22.6	2560 ± 549	631 ± 219						

表 3. 1980 年代食事調査における性・年齢層別の栄養・食事摂取量の概要

性 年齢層	N	栄養・食事摂取量									
		年齢(歳)		エネルギー(kcal/日)		たんぱく質(g/日)		食事量(g/日)		ごはん量(g/日)	
		M	SD	M	SD	M	SD	M	SD	M	SD
男性											
20-29	30	25.6 ±	2.7	2890 ±	979	91.1 ±	31.4	3013 ±	917	991 ±	317
30-39	72	34.5 ±	3.1	2557 ±	666	86.9 ±	25.2	3088 ±	689	986 ±	337
40-49	131	45.1 ±	3.0	2538 ±	660	89.6 ±	24.8	3117 ±	698	958 ±	332
50-59	143	53.8 ±	2.9	2475 ±	636	86.8 ±	24.9	3051 ±	669	924 ±	308
60-69	43	63.3 ±	2.6	2067 ±	519	79.4 ±	31.4	2688 ±	591	717 ±	240
70-	4	75.8 ±	5.1	1300 ±	295	51.5 ±	17.1	1682 ±	446	517 ±	76
全年齢	423	47.0 ±	10.9	2486 ±	695	86.9 ±	26.3	3025 ±	712	925 ±	324
女性											
20-29	37	27.1 ±	2.0	1923 ±	483	70.5 ±	23	2441 ±	513	651 ±	223
30-39	142	35.2 ±	2.9	2034 ±	445	75.8 ±	21	2532 ±	499	621 ±	207
40-49	266	45.0 ±	2.7	2080 ±	491	76.1 ±	23	2602 ±	566	660 ±	224
50-59	208	53.7 ±	2.6	2011 ±	509	75.0 ±	23	2572 ±	581	610 ±	222
60-69	41	63.1 ±	2.7	1900 ±	434	70.4 ±	25	2381 ±	534	567 ±	183
全年齢	694	45.7 ±	9.3	2032 ±	485	75.1 ±	23	2557 ±	554	631 ±	219

表 4. 1980 年代食事調査の2季節連続調査地区男女の栄養・食事摂取量の概要

調査地区 地区 県	被験者数 冬季 夏季	年齢(歳)				エネルギー(kcal/日)				たんぱく質(g/日)				食事重量(g/日)				ごはん量(g/日)			
		冬季		夏季		冬季		夏季		冬季		夏季		冬季		夏季		冬季		夏季	
		M	SD	M	SD	M	SD	M	SD	M	SD	M	SD	M	SD	M	SD	M	SD	M	SD
男性																					
虻田 北海道	41	11	49.9 ± 10.3	56.8 ± 9.1	2263 ± 555	2343 ± 842	85 ± 28	67 ± 20	3003 ± 572	2843 ± 776	777 ± 221	885 ± 401									
鳥海 秋田	20	17	51.0 ± 9.9	50.0 ± 11.1	2109 ± 610	2362 ± 413	75 ± 28	75 ± 19	2881 ± 838	2686 ± 402	895 ± 306	1057 ± 217									
桃生 宮城	10	9	43.4 ± 11.0	42.6 ± 10.7	2368 ± 536	2293 ± 493	75 ± 18	77 ± 15	2472 ± 482	2672 ± 553	885 ± 375	798 ± 235									
河南 宮城	7	6	42.1 ± 12.3	42.7 ± 13.6	2786 ± 670	2182 ± 429	89 ± 21	72 ± 25	3081 ± 777	2666 ± 604	977 ± 307	804 ± 242									
古川 宮城	9	9	49.7 ± 9.0	51.3 ± 8.8	2114 ± 784	2106 ± 419	92 ± 32	83 ± 26	2600 ± 1050	2795 ± 893	789 ± 294	822 ± 253									
大衡 宮城	9	9	40.0 ± 12.3	41.3 ± 12.3	2606 ± 599	2739 ± 454	87 ± 21	91 ± 23	3190 ± 920	3308 ± 324	1075 ± 396	1136 ± 279									
岩沼 宮城	22	27	43.6 ± 10.3	42.1 ± 10.3	2833 ± 619	2610 ± 576	100 ± 34	107 ± 30	3377 ± 544	3256 ± 839	997 ± 211	1056 ± 205									
津具 愛知	20	19	46.8 ± 7.5	48.0 ± 6.5	2450 ± 547	2590 ± 457	87 ± 20	82 ± 17	2999 ± 480	3174 ± 624	888 ± 308	1075 ± 234									
徳地 山口	20	20	52.4 ± 6.3	54.9 ± 6.7	2199 ± 913	2603 ± 530	76 ± 30	91 ± 19	2920 ± 1064	3558 ± 580	993 ± 398	1031 ± 255									
美里 沖縄	10	12	37.3 ± 9.4	40.8 ± 12.0	2073 ± 672	2253 ± 806	67 ± 25	81 ± 30	2502 ± 514	2857 ± 894	729 ± 251	761 ± 211									
宮古 沖縄	9	9	44.8 ± 7.9	45.1 ± 7.4	2313 ± 483	2032 ± 435	94 ± 22	79 ± 26	2519 ± 276	2289 ± 514	623 ± 114	603 ± 148									
石垣 沖縄	12	10	44.3 ± 13.1	44.6 ± 14.1	2460 ± 660	2260 ± 536	79 ± 23	76 ± 13	3056 ± 663	2984 ± 580	850 ± 260	762 ± 201									
全体 日本	189	158	46.8 ± 10.5	47.1 ± 11.0	2385 ± 636	2423 ± 571	85 ± 27	85 ± 25	2971 ± 681	3013 ± 731	881 ± 294	943 ± 279									
女性																					
虻田 北海道	19	8	46.5 ± 8.2	47.8 ± 9.9	2274 ± 498	2058 ± 638	88 ± 23	80 ± 46	2629 ± 498	2340 ± 651	629 ± 211	689 ± 226									
唐桑 宮城	19	19	45.2 ± 7.3	44.4 ± 7.7	2118 ± 450	2053 ± 450	92 ± 26	81 ± 17	2941 ± 693	2802 ± 507	606 ± 187	618 ± 157									
河南 宮城	8	8	34.8 ± 3.5	35.9 ± 3.8	1920 ± 344	2075 ± 344	65 ± 22	72 ± 18	2626 ± 545	2746 ± 932	621 ± 164	640 ± 275									
大郷 宮城	21	21	50.2 ± 5.0	50.2 ± 5.0	1839 ± 471	1789 ± 471	67 ± 18	72 ± 14	2316 ± 444	2357 ± 279	566 ± 248	589 ± 255									
奄美 鹿児島	20	18	50.6 ± 5.9	48.4 ± 5.0	1651 ± 398	1782 ± 507	56 ± 15	55 ± 16	2341 ± 410	2395 ± 631	592 ± 172	688 ± 233									
美里 沖縄	11	7	47.3 ± 11.1	45.6 ± 10.1	1887 ± 419	2054 ± 419	65 ± 20	64 ± 25	2213 ± 472	2307 ± 508	556 ± 156	488 ± 174									
宮古 沖縄	9	9	47.3 ± 6.9	47.4 ± 7.1	1581 ± 371	1422 ± 371	52 ± 18	51 ± 13	1812 ± 323	1743 ± 287	448 ± 122	410 ± 73									
石垣 沖縄	7	7	39.4 ± 16.2	43.3 ± 18.8	1797 ± 412	1631 ± 412	62 ± 26	51 ± 7	2428 ± 320	2333 ± 311	517 ± 142	460 ± 191									
全体 日本	114	97	46.6 ± 8.8	46.3 ± 8.8	1912 ± 481	1859 ± 464	71 ± 25	67 ± 23	2456 ± 567	2420 ± 585	578 ± 192	592 ± 223									

1980年代食事調査は冬季調査を主に実施しているが、日本人の食事を含め生活内容には季節性の存在が指摘されており、その検討のため一部の地区で夏季の食事調査も行った。

両季節とも男女各々の被験者数が5名以上の地区について季節変動の検討を行ったが、その対象群の栄養・食事摂取量等の成績を表4の通りである。

3. 研究結果

3.1 1980年代の日本国内地域住民のマグネシウム、カルシウム摂取量の実態:

(1) 性・年齢層別のMg、Ca摂取量の分布(図1~図4)

1976~81年の北海道から沖縄にいたる16都道府県53地区の地域住民成人男女の一日当たりのMg、Ca摂取量の分布を示した。なお、年齢層別の表示は被験者数が50

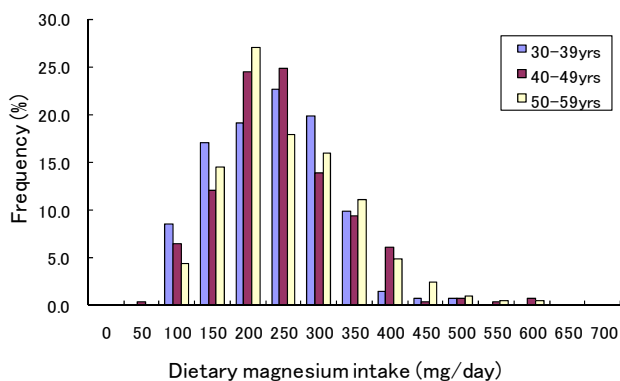


Fig. 1. Distribution of dietary magnesium intake for male by age group in the 80F survey in Japan

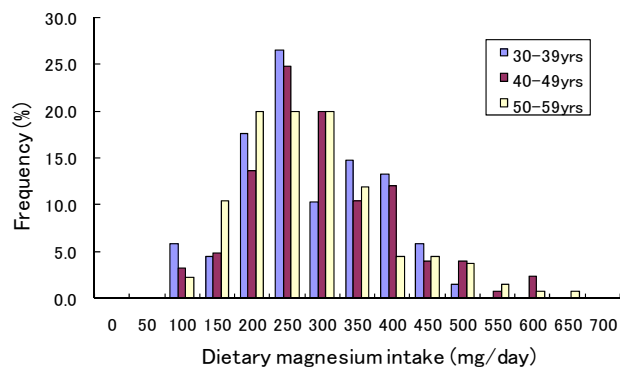


Fig. 2. Distribution of dietary magnesium intake for female by age group in the 80F survey in Japan

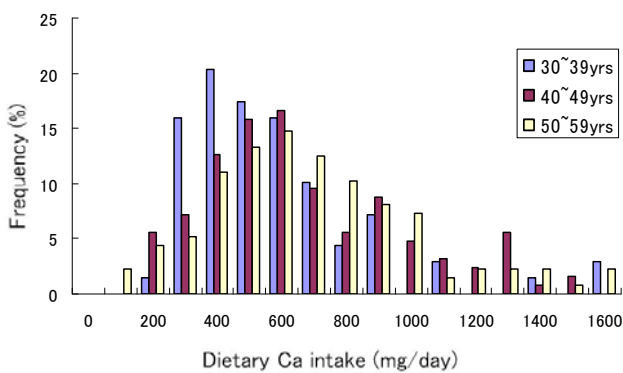


Fig. 3. Distribution of dietary Ca intake for male by age group in the 1980 survey in Japan

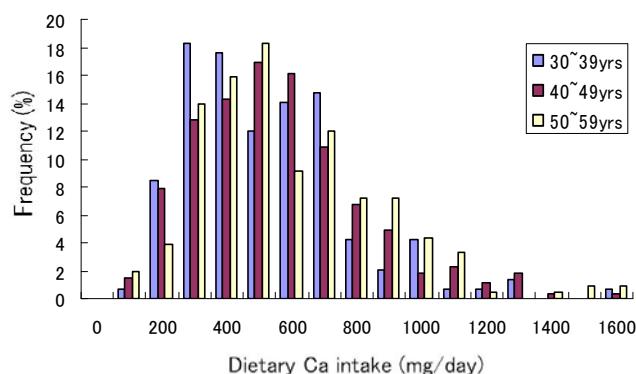


Fig. 4. Distribution of dietary Ca intake for female by age group in the 1980 survey in Japan

名を越える 30、40、50 歳代のみとした。

女性の Mg 摂取量は 3 年齢層ともほぼ 250 mg/day 前後にピークを持った正規分布を示し、加齢と共に高値側にシフトした格好になる。男性は各年齢層とも 250~300 mg/day の所にピークを持った正規分布を示すが女性とは異なり 50 歳代を中心に 30 歳代が低値側に 40 歳代が高値側に分布する傾向を見る。

Ca 摂取量の分布を Mg 同様に男女別に図 3 と 4 に示した。

男女とも 30 歳代の摂取量が 40、50 歳代に比して低値側にピークがあり、男性に比し女性の摂取量は少ないことが明らかである。Ca 摂取量の分布は Mg に比較して広範囲を示し、男女各年齢層とも高値側に長い裾を引くパターンとなっている。

(2) 年齢層別のマグネシウム、カルシウム摂取量(表 5)。

年齢層別の分布パターンで指摘したが、男女、年齢層間に見られる摂取量の相違は平均値、標準偏差の成績からより明らかに示される。Mg、Ca とも個体間変動が大きく例数の大小もあり 20 歳代から 60 歳代の 5 群間の等分散性は有意ではないが、Mg 摂取量は加齢に従い増え、40、50 歳代で最も大きくなり、男女での摂取量の最大値が 324 mg、274 mg で、その後は加齢と共に低下する傾向にある。Ca 摂取量も Mg と類似の加齢に伴う変動が認められ、最大の摂取量は男女とも 50 歳代で、742 mg と 643 mg である。

Mg と Ca の摂取量の関係を Ca/Mg 比で見ると男女、年齢層間での変動は小さく、その値は各群とも類似し、個体間の変動は大きい平均値は 2.3 前後となっている。

Mg、Ca 摂取量をエネルギー摂取量 1,000 kcal 当りで比較した結果を表 5 の右側に示した。同一のエネルギー摂

取量当りの Mg、Ca 摂取量は男女間に大きな相違を認めず、また、男性の摂取量よりも女性の摂取量が高い傾向となっている。年齢層による変動では 20、30 歳代の年齢層の摂取量が 40 歳代以上層よりも小さくなり、一方、60 歳代の摂取量は 50 歳代とほぼ同レベルとなり、絶対量で示される高齢化による摂取量の低下は見られなくなる。

3.2 全国地区別のマグネシウム、カルシウム摂取量の実態:

1976～81 年冬季の北海道から沖縄にいたる地区、男性が 32 地区、女性が 39 地区での Mg と Ca 摂取量、Ca/Mg 比およびエネルギー1,000 kcal あたりの Mg、Ca 摂取量の平均値と標準偏差値は表 6-a、b の通りである。なお、地区別の成績は男女とも被験者数が 3 名以上とした。被験者数が地区により大きく異なるのは地域住民のボランティアでの協力・参加等の調査事情による。

(1) Mg 摂取量レベル:

地区別の一日摂取量は地区間で大きな変動がある。男性の最大摂取量は日辺(宮城)の 418 mg、最小摂取量が

奄美(鹿児島)の 226 mg、女性は最大摂取量が男性と同じ日辺(宮城)地区の 400 mg で最小摂取量は宮古(沖縄)の 173 mg である。男女とも約 2 倍の違いとなっている。

Mg、Ca 摂取量とも個体間の変動が大きいことは前述しているが、地区間の摂取量にも大きな変動が認められる。男性は 200～275 mg、女性は 150～250 mg の摂取量を示す地区が過半数を占め、地区別の摂取量平均値は男性が 302 mg、女性が 263 mg である。地区別の男女間の Mg 摂取量は正相関関係が認められる(図 5)。

(2) Ca 摂取量レベル:

男性の最小摂取量は富山(富山)の 444 mg、最大摂取量が村田(宮城)の 1,078 mg、女性は最小摂取量が白根(新潟)と宮古(沖縄)地区の 435 mg で最大摂取量は男性と同じ村田(宮城)地区での 875 mg である。地区別の摂取量平均値は男性が 690 mg、女性が 597 mg となる。地区別の男女間の摂取量は高い正相関関係を持っている(図 6)。

表 5. 1980 年代全国地域住民の性・年齢層別のマグネシウム、カルシウム摂取量

性 年齢層	N	一日摂取量				Ca/Mg(比率)	エネルギー1000kcalあたり摂取量				
		マグネシウム(mg)		カルシウム(mg)			マグネシウム(mg)		カルシウム(mg)		
		M	SD	M	SD	M	SD	M	SD	M	SD
男性											
20-29	30	307 ±	161	669 ±	253	2.32 ±	0.69	105 ±	28	241 ±	92
30-39	69	308 ±	92	647 ±	329	2.17 ±	0.94	124 ±	39	261 ±	126
40-49	126	324 ±	105	724 ±	309	2.31 ±	0.89	131 ±	44	289 ±	116
50-59	136	308 ±	105	742 ±	339	2.42 ±	0.79	128 ±	48	304 ±	123
60-69	43	276 ±	99	607 ±	303	2.18 ±	0.70	137 ±	48	295 ±	124
70-	4	154 ±	66	328 ±	167	2.19 ±	0.99	115 ±	37	255 ±	137
全年齢	423	306 ±	109	689 ±	322	2.29 ±	0.84	127 ±	44	284 ±	120
女性											
20-29	37	244 ±	71	576 ±	314	2.33 ±	1.08	130 ±	32	302 ±	136
30-39	142	260 ±	79	583 ±	269	2.26 ±	0.87	129 ±	34	289 ±	128
40-49	266	272 ±	87	612 ±	264	2.28 ±	0.76	132 ±	34	299 ±	125
50-59	208	274 ±	91	643 ±	282	2.39 ±	0.88	138 ±	39	323 ±	129
60-69	40	247 ±	70	585 ±	250	2.41 ±	0.84	135 ±	46	313 ±	123
全年齢	694	267 ±	85	612 ±	273	2.32 ±	0.84	133 ±	36	305 ±	128

表6a. 1980年代の全国地区別マグネシウム、カルシウム摂取量レベル(男性, 冬季)

No	地区	調査対象	被験人数	一日当たり摂取量 (mg/日)				エネルギー-1000kcal当たり摂取量 (mg/日)					
				マグネシウム		カルシウム		Ca/Mg 比		マグネシウム		カルシウム	
				M	SD	M	SD	M	SD	M	SD	M	SD
1	北海道	虻田	41	312 ± 105	703 ± 349	2.31 ± 0.87	145 ± 64	314 ± 133	2.31 ± 0.87	145 ± 64	314 ± 133		
2	北海道	秋田	20	265 ± 103	502 ± 285	1.88 ± 0.74	234 ± 105	124 ± 25	1.88 ± 0.74	234 ± 105	124 ± 25		
3	宮城	石巻	12	266 ± 101	526 ± 168	2.07 ± 0.57	125 ± 27	257 ± 77	2.07 ± 0.57	125 ± 27	257 ± 77		
4	宮城	東和	12	381 ± 213	809 ± 316	2.28 ± 0.71	98 ± 27	218 ± 76	2.28 ± 0.71	98 ± 27	218 ± 76		
5	宮城	桃生	10	287 ± 85	610 ± 192	2.41 ± 1.37	121 ± 25	274 ± 121	2.41 ± 1.37	121 ± 25	274 ± 121		
6	宮城	河南	7	295 ± 98	779 ± 314	2.69 ± 0.81	104 ± 15	276 ± 81	2.69 ± 0.81	104 ± 15	276 ± 81		
7	宮城	松島	9	315 ± 48	733 ± 152	2.34 ± 0.43	116 ± 16	272 ± 63	2.34 ± 0.43	116 ± 16	272 ± 63		
8	宮城	宮崎	9	347 ± 147	774 ± 364	2.23 ± 0.45	104 ± 37	228 ± 90	2.23 ± 0.45	104 ± 37	228 ± 90		
9	宮城	古川	9	240 ± 83	621 ± 223	2.61 ± 0.48	118 ± 32	308 ± 103	2.61 ± 0.48	118 ± 32	308 ± 103		
10	宮城	大衡	9	302 ± 97	594 ± 211	1.97 ± 0.39	119 ± 36	234 ± 81	1.97 ± 0.39	119 ± 36	234 ± 81		
11	宮城	青の木	3	326 ± 46	714 ± 289	2.14 ± 0.61	157 ± 38	325 ± 80	2.14 ± 0.61	157 ± 38	325 ± 80		
12	宮城	日辺	21	418 ± 124	785 ± 285	1.90 ± 0.49	183 ± 37	343 ± 86	1.90 ± 0.49	183 ± 37	343 ± 86		
13	宮城	秋保	8	287 ± 49	502 ± 97	1.75 ± 0.17	119 ± 16	206 ± 21	1.75 ± 0.17	119 ± 16	206 ± 21		
14	宮城	村田	3	382 ± 62	1078 ± 222	2.88 ± 0.77	111 ± 11	317 ± 79	2.88 ± 0.77	111 ± 11	317 ± 79		
15	宮城	岩沼	22	398 ± 114	805 ± 263	2.09 ± 0.61	147 ± 52	297 ± 113	2.09 ± 0.61	147 ± 52	297 ± 113		
16	宮城	白石	13	366 ± 88	1066 ± 379	2.89 ± 0.52	120 ± 17	351 ± 97	2.89 ± 0.52	120 ± 17	351 ± 97		
17	宮城	喜多方	17	302 ± 88	614 ± 207	2.06 ± 0.59	137 ± 37	274 ± 88	2.06 ± 0.59	137 ± 37	274 ± 88		
18	宮城	白根	5	362 ± 55	655 ± 29	1.85 ± 0.33	139 ± 25	252 ± 34	1.85 ± 0.33	139 ± 25	252 ± 34		
19	宮城	富山	5	268 ± 118	444 ± 311	1.50 ± 0.49	91 ± 24	143 ± 73	1.50 ± 0.49	91 ± 24	143 ± 73		
20	宮城	松任	9	266 ± 57	695 ± 306	2.66 ± 1.02	118 ± 17	316 ± 144	2.66 ± 1.02	118 ± 17	316 ± 144		
21	宮城	津具	20	335 ± 75	746 ± 310	2.20 ± 0.67	144 ± 51	314 ± 128	2.20 ± 0.67	144 ± 51	314 ± 128		
22	宮城	南部川	40	309 ± 92	710 ± 389	2.26 ± 0.99	120 ± 40	273 ± 146	2.26 ± 0.99	120 ± 40	273 ± 146		
23	宮城	串本	10	217 ± 55	573 ± 268	2.56 ± 0.85	94 ± 19	251 ± 129	2.56 ± 0.85	94 ± 19	251 ± 129		
24	宮城	須金	17	293 ± 79	635 ± 221	2.20 ± 0.54	121 ± 38	265 ± 107	2.20 ± 0.54	121 ± 38	265 ± 107		
25	宮城	徳地	20	253 ± 91	709 ± 372	2.70 ± 0.76	107 ± 24	294 ± 124	2.70 ± 0.76	107 ± 24	294 ± 124		
26	宮城	志度	17	270 ± 87	846 ± 497	3.06 ± 1.32	118 ± 33	366 ± 186	3.06 ± 1.32	118 ± 33	366 ± 186		
27	宮城	芸西	7	288 ± 73	817 ± 232	2.86 ± 0.53	118 ± 20	337 ± 70	2.86 ± 0.53	118 ± 20	337 ± 70		
28	宮城	吹上	5	279 ± 59	728 ± 332	2.53 ± 0.85	133 ± 28	348 ± 153	2.53 ± 0.85	133 ± 28	348 ± 153		
29	宮城	鹿兒島	4	226 ± 16	705 ± 336	3.05 ± 1.37	109 ± 25	345 ± 204	3.05 ± 1.37	109 ± 25	345 ± 204		
30	宮城	美里	10	229 ± 115	552 ± 338	2.57 ± 1.12	114 ± 59	264 ± 111	2.57 ± 1.12	114 ± 59	264 ± 111		
31	宮城	宮古	9	265 ± 71	553 ± 109	2.16 ± 0.45	117 ± 37	245 ± 62	2.16 ± 0.45	117 ± 37	245 ± 62		
32	宮城	石垣	12	320 ± 112	510 ± 252	1.76 ± 1.07	145 ± 84	226 ± 138	1.76 ± 1.07	145 ± 84	226 ± 138		
		全体	415	308 ± 108	693 ± 322	2.30 ± 0.84	127 ± 44	284 ± 121	2.30 ± 0.84	127 ± 44	284 ± 121		

表6b. 1980年代の全国地区別マグネシウム、カルシウム摂取量レベル(女性, 冬季)

No	地区	被験人数	一日当たり摂取量 (mg/日)				エネルギー-1000kcal当たり摂取量 (mg/日)					
			マグネシウム		カルシウム		Ca/Mg 比		マグネシウム		カルシウム	
			M	SD	M	SD	M	SD	M	SD	M	SD
1	北海道	虻田	19	282 ± 68	684 ± 270	2.44 ± 0.96	129 ± 40	305 ± 121	2.44 ± 0.96	129 ± 40	305 ± 121	
2	宮城	青森	14	235 ± 90	458 ± 200	1.95 ± 2.23	127 ± 39	244 ± 83	1.95 ± 2.23	127 ± 39	244 ± 83	
3	宮城	金成	39	258 ± 72	645 ± 290	2.49 ± 0.76	128 ± 32	317 ± 123	2.49 ± 0.76	128 ± 32	317 ± 123	
4	宮城	唐桑	19	304 ± 65	716 ± 229	2.37 ± 0.65	146 ± 26	344 ± 110	2.37 ± 0.65	146 ± 26	344 ± 110	
5	宮城	石巻	5	287 ± 116	611 ± 337	2.12 ± 0.92	126 ± 18	272 ± 138	2.12 ± 0.92	126 ± 18	272 ± 138	
6	宮城	河南	8	257 ± 71	622 ± 343	2.40 ± 0.92	134 ± 31	330 ± 190	2.40 ± 0.92	134 ± 31	330 ± 190	
7	宮城	松島	13	278 ± 73	624 ± 225	2.20 ± 0.39	134 ± 24	297 ± 86	2.20 ± 0.39	134 ± 24	297 ± 86	
8	宮城	大和	19	297 ± 77	641 ± 179	2.18 ± 0.40	128 ± 22	278 ± 65	2.18 ± 0.40	128 ± 22	278 ± 65	
9	宮城	大郷	21	222 ± 60	519 ± 217	2.35 ± 0.84	123 ± 30	291 ± 126	2.35 ± 0.84	123 ± 30	291 ± 126	
10	宮城	青の木	17	271 ± 78	652 ± 234	2.41 ± 0.56	136 ± 34	321 ± 97	2.41 ± 0.56	136 ± 34	321 ± 97	
11	宮城	南光台	20	194 ± 61	477 ± 169	2.47 ± 0.67	121 ± 26	297 ± 92	2.47 ± 0.67	121 ± 26	297 ± 92	
12	宮城	日辺	18	400 ± 97	711 ± 216	1.79 ± 0.43	174 ± 28	312 ± 91	1.79 ± 0.43	174 ± 28	312 ± 91	
13	宮城	秋保	15	297 ± 70	643 ± 269	2.14 ± 0.65	149 ± 24	321 ± 121	2.14 ± 0.65	149 ± 24	321 ± 121	
14	宮城	村田	21	314 ± 100	875 ± 332	2.92 ± 1.18	131 ± 34	368 ± 133	2.92 ± 1.18	131 ± 34	368 ± 133	
15	宮城	亙理	40	260 ± 53	541 ± 170	2.09 ± 0.59	133 ± 21	278 ± 88	2.09 ± 0.59	133 ± 21	278 ± 88	
16	宮城	喜多方	5	232 ± 82	510 ± 298	2.19 ± 0.99	113 ± 24	236 ± 91	2.19 ± 0.99	113 ± 24	236 ± 91	
17	宮城	所沢	27	253 ± 77	510 ± 150	2.05 ± 0.45	119 ± 31	241 ± 67	2.05 ± 0.45	119 ± 31	241 ± 67	
18	宮城	前橋	20	293 ± 69	559 ± 192	1.91 ± 0.54	155 ± 32	296 ± 100	1.91 ± 0.54	155 ± 32	296 ± 100	
19	宮城	太田	22	407 ± 107	770 ± 289	1.87 ± 0.40	191 ± 55	363 ± 160	1.87 ± 0.40	191 ± 55	363 ± 160	
20	宮城	梁川	24	264 ± 51	694 ± 265	2.63 ± 0.83	151 ± 28	392 ± 117	2.63 ± 0.83	151 ± 28	392 ± 117	
21	宮城	白根	18	250 ± 55	435 ± 88	1.80 ± 0.45	153 ± 48	265 ± 65	1.80 ± 0.45	153 ± 48	265 ± 65	
22	宮城	富山	16	227 ± 59	442 ± 234	1.89 ± 0.51	110 ± 26	213 ± 97	1.89 ± 0.51	110 ± 26	213 ± 97	
23	宮城	金沢	19	279 ± 95	535 ± 253	1.92 ± 0.62	131 ± 35	254 ± 112	1.92 ± 0.62	131 ± 35	254 ± 112	
24	宮城	松任	9	224 ± 54	406 ± 166	1.78 ± 0.45	107 ± 34	198 ± 117	1.78 ± 0.45	107 ± 34	198 ± 117	
25	宮城	松本	19	214 ± 66	520 ± 257	2.38 ± 0.70	110 ± 26	256 ± 89	2.38 ± 0.70	110 ± 26	256 ± 89	
26	宮城	串本	16	207 ± 56	694 ± 317	3.43 ± 1.51	103 ± 27	338 ± 122	3.43 ± 1.51	103 ± 27	338 ± 122	
27	宮城	斐川	20	300 ± 82	666 ± 239	2.21 ± 0.50	129 ± 27	287 ± 89	2.21 ± 0.50	129 ± 27	287 ± 89	
28	宮城	須金	4	263 ± 79	523 ± 193	2.01 ± 0.62	142 ± 41	276 ± 71	2.01 ± 0.62	142 ± 41	276 ± 71	
29	宮城	綾上	20	259 ± 57	645 ± 226	2.48 ± 0.60	123 ± 31	304 ± 109	2.48 ± 0.60	123 ± 31	304 ± 109	
30	宮城	志度	5	232 ± 80	579 ± 287	2.72 ± 1.76	114 ± 21	312 ± 204	2.72 ± 1.76	114 ± 21	312 ± 204	
31	宮城	芸西	17	265 ± 64	649 ± 268	2.40 ± 0.67	128 ± 22	313 ± 121	2.40 ± 0.67	128 ± 22	313 ± 121	
32	宮城	松山	20	303 ± 74	768 ± 268	2.57 ± 0.71	150 ± 35	375 ± 103	2.57 ± 0.71	150 ± 35	375 ± 103	
33	宮城	津屋崎	26	275 ± 68	730 ± 345	2.60 ± 1.06	132 ± 32	346 ± 162	2.60 ± 1.06	132 ± 32	346 ± 162	
34	宮城	始良	19	276 ± 100	600 ± 409	2.24 ± 1.48	136 ± 36	306 ± 222	2.24 ± 1.48	136 ± 36	306 ± 222	
35	宮城	吹上	27	244 ± 76	606 ± 306	2.43 ± 0.70	124 ± 35	306 ± 133	2.43 ± 0.70	124 ± 35	306 ± 133	
36	宮城	奄美	20	242 ± 63	665 ± 342	2.69 ± 0.94	153 ± 49	419 ± 233	2.69 ± 0.94	153 ± 49	419 ± 233	
37	宮城	美里	11	189 ± 50	454 ± 150	2.41 ± 0.44	101 ± 18	244 ± 64	2.41 ± 0.44	101 ± 18	244 ± 64	
38	宮城	宮古	9	173 ± 50	435 ± 196	2.53 ± 0.99	113 ± 34	273 ± 106	2.53 ± 0.99	113 ± 34	273 ± 106	
39	宮城	石垣	7	250 ± 88	540 ± 472	2.32 ± 2.13	141 ± 47	288 ± 193	2.32 ± 2.13	141 ± 47	288 ± 193	
		全体	688	268 ± 85	613 ± 273	2.32 ± 0.84	134 ± 36	305 ± 128	2.32 ± 0.84	134 ± 36	305 ± 128	

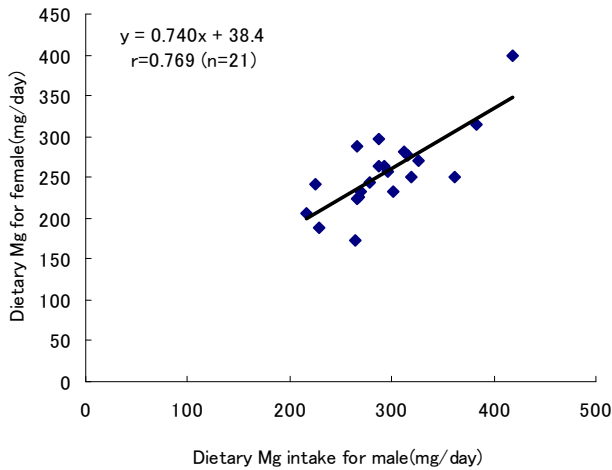


Fig. 5. Correlation of dietary Mg intake by region between male and female

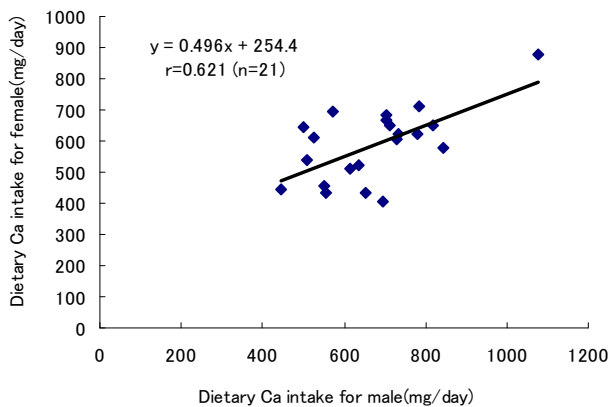


Fig. 6. Correlation of dietary Ca intake by region between male and female

3.3 地域住民のマグネシウム、カルシウム摂取量の季節変動:

冬季と夏季の両調査実施 15 地区の調査成績であり、冬季成績は前項の冬季調査と重複している。

(1) 年齢層別の Mg、Ca 摂取量レベルの季節変動:

女性の Ca 摂取量が各年齢層とも冬季よりも夏季に減少したものとなっており、全体での冬季の Ca 摂取量の平均値 601 mg は夏季の 479 mg よりも有意に低値である ($p < 0.05$)。エネルギー1,000 kcal 当りの Ca 摂取量についても冬季の 321 mg に対し夏季は 262 mg と同様の変動が観察される。Mg 摂取量については季節的に特定の変動は認められない(表 7)。

(2) 地区別 Mg、Ca 摂取量レベルの季節変動:

冬夏共に被験者数が 5 例以上での地区別摂取量を表 8 に示した。年齢別の季節変動で観察された女性の Ca 摂取量の夏季値が冬季に比して有意に小さい ($p < 0.05$) ことの内容としては、8 地区中 6 地区の摂取量が低値となっている。

Mg 摂取量については二季節間の相違は一定せず、全体として有意な季節変動は観察されない。女性の地区別 Mg 摂取量の二季節間での相関係数は 0.871 で有意である ($p < 0.01$)。また、男性の二季節間の Mg 摂取量の相関係数は 0.385 で有意ではない。女性の Ca/Mg 比は 8 地区中 7 地区で冬季値が夏季値よりも大きく、全体での冬季の 2.45 と夏季の 2.03 の相違は有意である ($p < 0.01$)。

表 7. 1980 年代冬夏連続食事調査地区住民の性・年齢別マグネシウム、カルシウム摂取量

性 年齢層 (歳)	被験者数		マグネシウム (mg/日)				カルシウム (mg/日)				Ca/Mg (比)		マグネシウム (mg/1000kcal/日)				カルシウム (mg/1000kcal/日)					
	冬季	夏季	冬季	夏季	冬季	夏季	冬季	夏季	冬季	夏季	冬季	夏季	冬季	夏季	冬季	夏季	冬季	夏季				
男性																						
20-29	12	11	249 ± 97	238 ± 53	564 ± 277	590 ± 167	2.30 ± 0.64	2.55 ± 0.85	104 ± 24	117 ± 36	239 ± 100	285 ± 79										
30-39	32	27	297 ± 97	303 ± 121	523 ± 189	565 ± 291	1.85 ± 0.60	1.92 ± 0.66	124 ± 45	124 ± 48	216 ± 76	230 ± 98										
40-49	61	49	328 ± 118	296 ± 79	716 ± 313	627 ± 243	2.29 ± 0.92	2.17 ± 0.76	137 ± 52	118 ± 34	297 ± 117	248 ± 88										
50-59	64	48	292 ± 97	291 ± 83	715 ± 327	695 ± 363	2.49 ± 0.85	2.40 ± 1.07	129 ± 51	125 ± 44	309 ± 123	296 ± 145										
60-69	20	23	287 ± 111	255 ± 111	594 ± 323	578 ± 353	2.03 ± 0.72	2.28 ± 0.93	143 ± 59	115 ± 37	286 ± 136	260 ± 148										
全年齢	189	158	301 ± 107	286 ± 93	660 ± 307	628 ± 305	2.26 ± 0.84	2.24 ± 0.89	131 ± 51	121 ± 40	282 ± 118	264 ± 120										
女性																						
30-39	25	25	240 ± 64	237 ± 97	555 ± 297	437 ± 240	2.24 ± 0.83	1.92 ± 1.07	121 ± 31	116 ± 30	277 ± 146	214 ± 96										
40-49	47	35	256 ± 76	252 ± 82	611 ± 281	512 ± 233	2.40 ± 0.78	2.03 ± 0.72	134 ± 38	137 ± 35	324 ± 172	279 ± 127										
50-59	34	30	239 ± 77	234 ± 73	605 ± 261	491 ± 168	2.58 ± 1.00	2.18 ± 0.70	137 ± 42	135 ± 51	342 ± 144	281 ± 101										
60-69	6	5	248 ± 94	250 ± 41	519 ± 214	432 ± 135	2.11 ± 0.31	1.78 ± 0.67	144 ± 41	154 ± 30	301 ± 85	280 ± 139										
全年齢	114	97	246 ± 74	242 ± 81	601 ± 286	479 ± 211	2.45 ± 0.94	2.03 ± 0.81	132 ± 38	132 ± 40	321 ± 156	262 ± 113										

表 8. 1980 年代冬夏連続食事調査における地区住民のマグネシウム、カルシウム摂取量

調査地区	被験者数	マグネシウム (mg/日)				カルシウム (mg/日)				Ca/Mg (比)				マグネシウム (mg/1000kcal/日)				カルシウム (mg/1000kcal/日)					
		冬季		夏季		冬季		夏季		冬季		夏季		冬季		夏季		冬季		夏季			
地区	県	冬季	夏季	M	SD	M	SD	M	SD	M	SD	M	SD	M	SD	M	SD	M	SD	M	SD	M	SD
男性																							
虻田	北海道	41	11	312 ± 105	226 ± 75	703 ± 349	455 ± 230	2.31 ± 0.87	2.00 ± 0.54	145 ± 64	99 ± 19	314 ± 133	199 ± 70										
鳥海	秋田	20	17	265 ± 103	257 ± 63	502 ± 285	470 ± 165	1.88 ± 0.74	1.85 ± 0.58	124 ± 25	109 ± 23	234 ± 105	200 ± 65										
桃生	宮城	10	9	287 ± 85	284 ± 72	610 ± 192	489 ± 144	2.41 ± 1.37	1.74 ± 0.37	121 ± 25	126 ± 30	274 ± 121	221 ± 74										
河南	宮城	7	6	295 ± 98	255 ± 52	779 ± 314	413 ± 162	2.69 ± 0.81	1.63 ± 0.64	104 ± 15	119 ± 21	276 ± 81	200 ± 101										
古川	宮城	9	9	240 ± 83	262 ± 74	621 ± 223	521 ± 365	2.61 ± 0.48	1.85 ± 0.85	118 ± 32	125 ± 29	308 ± 103	250 ± 184										
大衡	宮城	9	9	302 ± 97	312 ± 58	594 ± 211	595 ± 156	1.97 ± 0.39	1.91 ± 0.31	119 ± 36	117 ± 30	234 ± 81	218 ± 45										
岩沼	宮城	22	27	398 ± 114	317 ± 78	805 ± 263	768 ± 274	2.09 ± 0.61	2.50 ± 0.90	147 ± 52	125 ± 29	297 ± 113	300 ± 96										
津具	愛知	20	19	335 ± 75	284 ± 63	746 ± 310	669 ± 222	2.20 ± 0.67	2.44 ± 0.87	144 ± 51	111 ± 23	314 ± 128	265 ± 94										
徳地	山口	20	20	253 ± 91	276 ± 107	709 ± 372	779 ± 457	2.70 ± 0.76	2.81 ± 1.24	107 ± 24	105 ± 29	294 ± 124	299 ± 165										
沖繩	沖繩	10	12	229 ± 115	287 ± 130	552 ± 338	698 ± 389	2.57 ± 1.12	2.45 ± 0.68	114 ± 59	133 ± 53	264 ± 111	312 ± 125										
宮古	沖繩	9	9	265 ± 71	249 ± 81	553 ± 109	691 ± 282	2.16 ± 0.45	2.79 ± 0.80	117 ± 37	124 ± 32	245 ± 62	343 ± 131										
石垣	沖繩	12	10	320 ± 112	388 ± 156	510 ± 252	563 ± 240	1.76 ± 1.07	1.63 ± 0.84	145 ± 84	183 ± 91	226 ± 138	271 ± 151										
全体	日本	189	158	301 ± 107	286 ± 93	660 ± 307	628 ± 305	2.26 ± 0.84	2.24 ± 0.89	131 ± 51	121 ± 40	282 ± 118	264 ± 120										
女性																							
虻田	北海道	19	8	282 ± 68	264 ± 115	684 ± 270	389 ± 196	2.44 ± 0.96	1.49 ± 0.30	129 ± 40	124 ± 27	305 ± 121	183 ± 47										
唐桑	宮城	19	19	304 ± 65	272 ± 85	716 ± 229	583 ± 183	2.37 ± 0.65	2.35 ± 1.16	146 ± 26	135 ± 41	344 ± 110	298 ± 122										
河南	宮城	8	8	257 ± 71	263 ± 82	622 ± 343	429 ± 219	2.40 ± 0.92	1.62 ± 0.56	134 ± 31	131 ± 31	330 ± 190	204 ± 65										
大郷	宮城	21	21	222 ± 60	254 ± 72	519 ± 217	557 ± 235	2.35 ± 0.84	2.18 ± 0.51	123 ± 30	144 ± 45	291 ± 126	312 ± 126										
奄美	鹿児島	20	18	242 ± 63	222 ± 67	665 ± 342	417 ± 213	2.69 ± 0.94	1.82 ± 0.61	153 ± 49	127 ± 36	419 ± 233	229 ± 94										
沖繩	沖繩	11	7	189 ± 50	212 ± 51	454 ± 150	423 ± 213	2.41 ± 0.44	1.90 ± 0.57	101 ± 18	104 ± 20	244 ± 64	205 ± 90										
宮古	沖繩	9	9	173 ± 50	168 ± 62	435 ± 196	450 ± 162	2.53 ± 0.99	2.82 ± 0.92	113 ± 34	119 ± 44	273 ± 106	325 ± 124										
石垣	沖繩	7	7	250 ± 88	253 ± 87	540 ± 472	373 ± 134	2.32 ± 2.13	1.48 ± 0.32	141 ± 47	156 ± 54	288 ± 193	228 ± 79										
全体	日本	114	97	246 ± 74	242 ± 81	601 ± 286	479 ± 211	2.45 ± 0.94	2.03 ± 0.81	132 ± 38	132 ± 40	321 ± 156	262 ± 113										

4. 考察とまとめ

食物や血液等生物試料中の元素分析が汎用的に実施されるようになったのは原子吸光法の実用化が始まる1960年代の後半からであり、衛生・公衆衛生学ないし公衆栄養学分野で広く実践的に応用されるのには更に時間を必要とされた¹⁻²⁾。報告者らは1970年代後半から日本人の主要元素から微量元素および環境汚染元素から栄養元素にいたる多元素の食事からの摂取量と血液による体内濃度に関する調査・研究を始め、地理的・経年的な変動について継続的観察を行っている。継続的に陰膳実測法で収集された食事検体を利用することで過去から現在にいたる変化を同じ土俵で評価することが出来る。本研究は過去に遡っての観察になるが、1976~81年の日本人のMg、Ca摂取量(第一次全国食事調査, 80F調査)の地理的変動や季節変動の実態および本プロジェクト研究の1年、2年目の成績、そして、1990年代の第二次全国食事調査¹⁰⁻¹²⁾(90F調査)や2000年代の日本人のMg、Ca摂取量レベルと比較し、その経年的変動を明らかにすることを目的としている。

本研究では、Mg、Ca摂取量の測定は成人男性415名と成人女性688名の食事検体について湿式灰化後に保存したものを分析用検体とし、発光分光分析法(ICP法)により連続して実施し、測定条件による影響を極力避けた。既報のように¹⁻²⁾、本Mg、Ca摂取量においても個人間変動がかなり大であり、性、年齢層別摂取量および地区別摂取量の変動幅は大である。個体群としての摂取量は両元素ともほぼ正規分布している。男女別のMg、Caの一日摂取量はそれぞれ306と267mg、689と612mgであり、女性の摂取量は男性よりも10%ほど低値である。

同一エネルギー当り(1,000kcal)で見た摂取量では男性よりも女性が若干高い傾向を見る。年齢との関係では年齢層別に20歳代や70歳代の例数が少ないこともあり加齢との関係は明確ではないが若年層および60歳代後半以降での摂取量の減少があり、男女とも40歳代、50歳代での摂取量が最大となっている。地区別の摂取量には最大と最小の間にはMg、Caとも二倍ほどの相違があるが、宮城県内13~14地区での大きな変動から見て、全国規模で特定の地理的偏差はない。しかし、地区別の男女

別摂取量が有意な正相関関係があること、また、Mg 摂取量について 80F 調査と 90F 調査の同一 19 地区間で有意な正相関関係にあること(図 7)を見ると地区毎に摂取量に影響する生活環境要因のあることが示唆される。すなわち、Mg 摂取量が 400 mg と最大の宮城と群馬の二地区はいずれも都市近郊の野菜栽培地域であること、また、Ca 摂取量の大きな宮城県三地区は酪農地域であることは一つの証左と考えられる。

80F 調査年代は国内の物流が本格的に始まる時期にあたるが調査対象の農村部ではなお影響が少なかった。90 年調査の年代では物流が全国的になり農村部への影響も本格的になった。生活環境・習慣の全国画一化は年々進行し、食生活・栄養摂取量の地域性が無くなっている¹³⁻¹⁴⁾。これらの変化は Mg、Ca 等の摂取量にも影響している。

80F 調査の最後の年から 10 年後の 1991~97 年の期間で第二次全国食事調査(90F 調査)を行い、ミネラル摂取量の一部についても既に報告し、1990 年代の日本人の

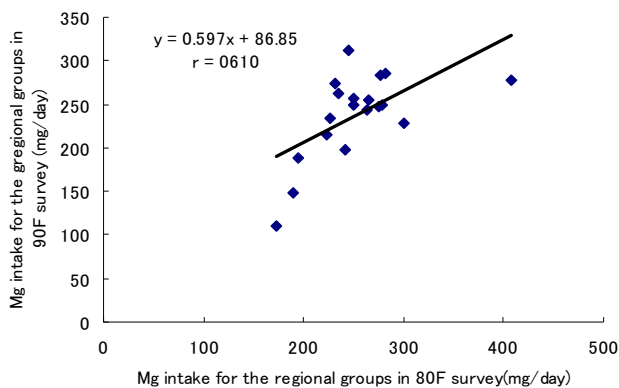


Fig. 7. Correlation of dietary Mg intake between 80F survey and 90F survey in Japan

Mg、Ca 摂取量レベルについて言及している¹¹⁻¹²⁾。本研究で改めて 90F 調査の Mg、Ca 摂取量について性・年齢層および地区別に整理した。表 9 と表 10 は摂取量平均値のみであるが、両年代での変動を比較するべく 80F と 90F の列にその成績を並べて示した。90F 調査は 80F 調査のコホート調査的な視点で計画したが前述したように既に本調査が地域住民のボランティアによるもので始めており 10 年以上経過後の調査で再度実現することは無理である。従って、第二次調査は第一次調査と同一地区とし、同じ人達を中心に女性だけで 20 から 25 人規模の調査で協力を求め実施した。

90F の全体の年齢が 80F より数歳高いのは新旧協力者の混成を示す。両年代の比較は同年代および加齢による斜め横へシフトさせた面からも見る事が出来る。年齢層別の Mg、Ca 摂取量の加齢に伴う変動は両年代とも類似した傾向にある。しかし、高年齢層の 60 歳代では 1990 年代が 1980 年代よりも高い摂取量になっているが比較可能な 30、40、50 歳の各年齢層は 1990 年代に摂取量が低下している。地区別の摂取量の変動は地区によって一様に 80F が高くなってはいないが全体として Mg が 20 mg、Ca が 10 mg 低下している。地区別の Mg 摂取量が両調査で有意な正相関関係(図 7)を示したことは地区により継続的な摂取傾向のあることが推測でき、1990 年代での Mg 摂取量の低下は確かなものと考えられる。

1980 年代から年代の進行に伴う Mg 摂取量の低下を説明する主要因の一つが Mg の供給源である植物性食品の摂取量が肉類を中心とする動物性食品への傾斜による減少、動物性食品中心の加工食品の利用の増大が考えられる。80F と 90F で観察されるご飯の摂取量減少は明らかな指標である。食事内容や献立および栄養摂取量や食

表 9. 1980 年代と 1990 年代全国年齢層別のマグネシウム、カルシウム摂取量(女性、冬季)

年齢層	被験者数		年齢(歳)		マグネシウム(mg)		カルシウム(mg)		Ca/Mg(比率)		食量(g/日)	
	80F	90F	80F	90F	80F	90F	80F	90F	80F	90F	80F	90F
	一日摂取量											
女性												
20-29	37	0	27.1	-	244	-	576	-	2.33	-	2441	-
30-39	142	54	35.2	35.9	260	215	583	533	2.26	2.46	2532	2242
40-49	266	177	45.0	44.5	272	245	612	592	2.28	2.40	2602	2402
50-59	208	224	53.7	54.1	274	250	643	605	2.39	2.55	2572	2445
60-69	41	95	63.1	63.5	247	263	585	669	2.41	2.60	2381	2408
70-79	0	18	-	72.7	-	225	-	570	-	2.74	-	2258
全年齢	694	570	45.7	51.5	267	246	612	602	2.32	2.50	2557	2398

注：80F、90F は 1980 年代調査と 1990 年代調査を示す。90F は既報(文献 11-13)。

表 10. 1980 年代と 1990 年代における全国地区別マグネシウム、カルシウム摂取量レベル(女性, 冬季)

No	地区	県	被験者数		年齢(歳)		マグネシウム(mg)		一日摂取量		Ca/Mg(比)		食事量(g)	
			80F	90F	80F	90F	80F	90F	80F	90F	80F	90F	80F	90F
1	虻田	北海道	19	34	46.5	57.3	282	285	684	593	2.44	2.08	2629	2290
2	むつ	青森	14	30	36.6	48.3	235	263	458	609	1.95	2.19	2117	2662
3	南光台	宮城	20	20	41.0	52.9	194	189	477	552	2.47	3.00	2154	2354
4	喜多方	福島	5	28	54.4	47.7	232	275	510	650	2.19	2.44	2340	2284
5	太田	群馬	22	25	47.9	44.8	407	278	770	700	1.87	2.58	2786	2255
6	深川	東京	24	24	49.8	52.4	264	244	694	579	2.63	2.26	2413	2262
7	白根	新潟	18	22	48.9	51.7	250	248	435	552	1.80	2.16	2287	2466
8	富山	富山	16	25	39.2	49.7	227	233	442	526	1.89	2.15	2663	2465
9	金沢	石川	19	24	33.9	44.3	279	250	535	707	1.92	2.79	2468	2266
10	松任	石川	9	31	37.4	45.8	224	214	406	496	1.78	2.27	2488	2380
11	斐川	島根	20	28	49.6	47.7	300	229	666	537	2.21	2.39	3059	2451
12	芸西	高知	17	17	44.4	53.1	265	255	649	666	2.40	2.68	2699	2517
13	津屋崎	福岡	26	16	47.9	60.7	275	248	730	546	2.60	2.15	2467	2568
14	始良	鹿児島	19	28	45.2	59.9	276	283	600	760	2.24	2.72	2665	2635
15	吹上	鹿児島	27	28	47.2	58.4	244	313	606	888	2.43	2.85	2627	2541
16	奄美	鹿児島	20	23	50.6	44.5	242	199	665	486	2.69	2.32	2341	2161
17	美里	沖縄	11	11	47.3	49.9	189	148	454	375	2.41	2.62	2213	2198
18	宮古	沖縄	9	22	47.3	57.1	173	111	435	567	2.53	5.21	1812	2124
19	石垣	沖縄	7	23	39.4	50.2	250	256	540	585	2.32	2.24	2428	2347
	地区別	M	16.9	24.2	45.0	51.4	253	238	566	599	2.25	2.58	2456	2380
		SD	6.3	5.6	5.5	5.3	50	49	116	113	0.30	0.69	280	158

事量の経年的な変動は青少年の若年者ほど顕著であり、Mg 摂取量には大きな影響を与えることは容易に推察できる。

日本人のマグネシウム、カルシウム摂取量について、これまでの幼稚園児、大学生および地域住民での継続的な調査をさらに継続し、これらの予測が確かなものであるのか、どのような慢性の健康の影響に結びついているのか検証されることが必要である¹⁵⁻¹⁷⁾。

引用文献

- 1) 渡辺孝男、他(2007):日本人のマグネシウム・カルシウム摂取量の実態に関する研究(06D5), ソルト・サイエンス研究財団平成 18 年度報告集、II 医学、食品科学分野、プロジェクト研究、06D、31-39
- 2) 渡辺孝男、他(2008):日本人のマグネシウム・カルシウム摂取量の実態に関する研究(07D5), ソルト・サイエンス研究財団平成 19 年度報告集、II 医学、食品科学分野、プロジェクト研究、07D、27-39
- 3) T. Watanabe, A. Koizumi, H. Fujita, M. Kumai and M.

- Ikeda (1983): Cadmium levels in the blood of inhabitants in nonpolluted areas in Japan with special references to aging and smoking, *Environmental Research* 31:472-483
- 4) K. Chiba, A. Koizumi, M. Kumai, T. Watanabe and M. Ikeda (1983): Nationwide of high-density lipoprotein cholesterol among farmers in Japan, *Preventive Medicine* 12:508-522
- 5) T. Watanabe, A. Koizumi, H. Fujita, M. Kumai and M. Ikeda (1985): Dietary cadmium intakes of farmers in nonpolluted areas in Japan, and the relation with blood cadmium levels, *Environmental Research* 37:33-43
- 6) M. Ikeda, H. Nakatsuka and T. Watanabe (1988): The absence of correlation between Na in the diet duplication and stomach cancer mortality in Japan, *Tohoku J. exp. Med.* 155: 183-195
- 7) M. Ikeda, T. Watanabe, M. Kasahara and H. Nakatsuka (1988): Nutrient intake of women in rural and urban areas in Japan, *Asia-Pacific J. Public Health*, 2(1):28-32
- 8) 中塚晴夫、他(1984): 四訂日本食品標準成分表に基

- づくデータベース STFCJ4TH の紹介 - 栄養調査への応用を中心として, SENAC. 17:47-52
- 9) K. Sakurai, T. Watanabe, N. Matsuda-Inoguchi, S. Shimbo, C. Date, C. Toji, Y. Furukawa, H. Nakatsuka and M. Ikeda (2008): Agreement of estimated values with measured values in dietary intakes of minerals: A validation study, *Journal of Food Composition and Analysis*, 21(1):26-34
- 10) S. Shimbo, *et al.* (1993): Quantitative identification of sodium chloride sources in Japanese diet by 24-hour total food duplicate analysis. *J. Epidemiology*, 3, 77-82
- 11) Z-W. Zhang, *et al.* (1999): Estimates of mineral intakes using food composition tables vs measures by inductively-coupled plasma mass spectrometry: Part 1. calcium, phosphorus and iron, *European J. Clinical Nutrition*, 53, 226-232
- 12) S. Shimbo, *et al.* (1999): Estimates of mineral intakes using food composition tables vs measures by inductively-coupled plasma mass spectrometry: Part 2. sodium, potassium, magnesium, copper and zinc. *European J. Clinical Nutrition*, 53, 233-238
- 13) Y. Yamada, H. Hirata, K. Fujimura, K. Ohtsuji, Y. Tani, S. Shinbo, Y. Imai, T. Watanabe, C-H. Moon and M. Ikeda (1996): Disappearance of differences in nutrient intake across two local cultures in Japan: a comparison between Tokyo and Kyoto, *Tohoku J. exp. Med.* 179: 235-245
- 14) N. Matsuda-Inoguchi, C. Date, K. Sakurai, M. Kuwazoe, T. Watanabe, C. Toji, Y. Furukawa, S. Shimbo, H. Nakatsuka and M. Ikeda (2006): Limited acceptance of globalization in food habits among middle-aged women in Osaka, Japan, *Int. J. Food Sci. Nutrition* 57(7/8):419-433
- 15) National Research Council (1993): *Diet and Health*, Washington, DC: National Academy Press, pp. 41-84, 347-366
- 16) Institute of Medicine (1997): *Dietary Reference Intakes for calcium, phosphorus, magnesium, vitamin D and fluoride*, Washington, DC: National Academy Press. pp. 190-249
- 17) 厚生労働省策定(2005): 日本人の食事摂取基準 2005年版. 第一出版編集部 編、第一出版

Study on Dietary Intakes of Magnesium and Calcium by the Food Duplicate Method for Japanese

Takao Watanabe ¹, Haruo Nakatsuka ², Yoko Kudo ³

¹ Miyagi University of Education, ² School of Nursing, Miyagi University

³ Faculty of Home Economics, Ootsuma Women's University

Summary

In the third year of the study on dietary intakes of magnesium (Mg) and calcium (Ca) for adult Japanese, the intakes at nationwide in 1980's were investigated in comparison of those in 1990's. The measurement of Mg and Ca of the individual food duplicate samples by ICP-AES as already mentioned were carried out 401 of males and 694 of females in 49 regions in winter, and 189 of males and 151 of females in summer. (1) Mg intake by sex and age: Mg intake by the age group of 20, 30, 40, 50 and 60 yrs. were respectively, 307 ± 161 , 308 ± 90 , 324 ± 105 , 308 ± 105 and 269 ± 105 (M \pm SD, mg/day) for males, and 244 ± 71 , 260 ± 79 , 272 ± 87 , 274 ± 91 and 249 ± 71 for females. Mg intake for males was apparently more than it for females over all age groups, although its difference became less with aging. The decrease of Mg intake by aging appeared in 60 yrs and over for both of sexes. (2) Mg intake by region: Mg intake on average for males in 31 regions was 301 mg/day (a max. of 418 and a minimum of 226) and it for females in 39 regions was 263 mg/day (a max. of 407 and a minimum of 173). There were the large regional variations of Mg intake in both of sexes. (3) Ca intake by sex and age: The situation of Ca intake by sex and age was similar to the Mg. The individual difference of Ca intake was more than it of Mg. The average intake of Ca in total was 700 ± 321 in males and 612 ± 273 mg/day in females. (4) Ca intake by region: The max. Ca intake by region was 1,078 for males and 875 mg/day for females, in both of a dairy farming site, and the minimum was 510 and 406 mg/day in males and females respectively. (5) Seasonal fluctuation of Mg and Ca intake in 15 regions was not significant. (6) Secular change of Mg and Ca intake between 1980's, 1990's and 2000's: The Mg intake in 1980's is more about 15 - 20 mg/day than that in 1990's and 2000's, but not on the Ca intake. It is worthy of the significant positive correlation of the Mg intake for females in 15 regions between 1980's and 1990's ($p < 0.05$).

まとめ

プロジェクト研究リーダー 木村 修一（昭和女子大学）

“にがり” 特にマグネシウムに関する栄養生理学的研究は、現代におけるタイミングのよいプロジェクトテーマであると考えている。担当していただいた 5 名の研究者から、それぞれ実りある報告書を提出していただいた。3 年の間熱心に研究に打ち込み、それぞれの報告が内容のある報告書になっている。どの報告書も特徴的な切り口と手法を用いて研究を遂行したことが分る。意図したプロジェクトに確実にこたえた内容といえよう。

(1) 池田尚子先生の報告「Mg に関する栄養生理学的・病理組織学的検索」では Mg 欠乏ラットの突然死が何故起こるかを中心課題として、電子顕微鏡を駆使して、特に心臓の運動をつかさどる心筋細胞のミトコンドリアの変性を捉え、さらには突然死の原因としてストレス状態にあることを示唆する結果を提案している。また Mg 欠乏動物では、心臓組織中 Mg 含量が低いだけでなく、Ca 含量が高いことを示す興味ある結果を出し、Ca/Mg の意義についても示唆するものである。

(2) 榎本秀一先生の報告「にがり成分の生体内ダイナミクスと代謝吸収過程のイメージング」では、糖尿病モデルマウスを使い、マルチトレーサー法を駆使して、Mg、Zn、Se などの必須微量元素を含む複数の元素の取り込みが糖尿病では低下することを見出し、一方、にがりを与えた場合にそれらの取り込みが上がるなど、にがりの新しい機能を示唆している。また Ge 検出器による複数元素の同時イメージング法の開発なども進め今後の新しい研究法を提案している。

(3) 上原万里子先生の報告「Mg の欠乏および

対 Ca 比の生体への影響に関する DNA マイクロアレイ解析」では、Mg 欠乏が生体機能にかかわる種々の遺伝子発現の変動を DNA マイクロアレイを用いて網羅的に解析することに取り組み、栄養素代謝に及ぼす影響だけでなく代謝調節機構の全体を把握する壮大な取り組みを実施し、大きな成果をあげたといえよう。文字どおり網羅的な解析ができ、健康に対する栄養の関与のしかたの道標となるものといえよう。

(4) 駒井三千夫先生の報告「食塩の味覚応答におよぼす“にがり” および各種 Mg 塩の影響」では“にがり” や Mg 塩で食塩やうま味成分の味を変えろという経験的な通説を鼓索神経などによる神経応答から検討し、これらが食塩の味神経応答を抑制することやうま味成分応答を上昇させる可能性を示すと同時に、マイクロダイアリシス法により、脳内の神経伝達物質の挙動を追及するなど新しい方向性を示した。

(5) 渡辺孝男先生の報告「日本人の Mg・Ca 摂取量の実態に関する研究」では、Mg・Ca 摂取量の地域横断的、時間縦断的な実態と解析、食生活環境の影響、日中韓の幼稚園児についての国際比較などについての調査研究を推し進め、日本・アジアにおける地域住民のデータ・ベースの構築を目指すものとなっている。

以上に紹介したように、それぞれのサブテーマに即した、独自の研究成果を上げたことに対して敬意を表したい。まとめ役としても“にがり” に関して新たな知見を積み重ねることができたことを幸せに思っていることを付け加えたい。

プロジェクト助成研究報告書（食品科学）

Project Research Report (Food Science)

平成22年3月

March, 2010

公益財団法人ソルト・サイエンス研究財団

The Salt Science Research Foundation

〒106-0032 東京都港区六本木7-15-14 塩業ビル

Engyo Bldg. 7-15-14 Roppongi, Minatoku, Tokyo 106-0032, Japan

Tel. 03-3497-5711 Fax. 03-3497-5712

URL <http://www.saltscience.or.jp>

I S B N 9 7 8 - 4 - 9 0 2 1 9 2 - 2 4 - 7