

## マグネシウムとカルシウムの摂取バランスに関するフローサイトメリー による表面解析

池田 尚子<sup>1</sup>, 中西 由季子<sup>2</sup>, 中村 寛子<sup>3</sup>, 黒瀬 美季子<sup>3</sup>

<sup>1</sup>昭和女子大学生生活科学部健康デザイン学科, <sup>2</sup>甲子園大学栄養学部フードデザイン学科,  
<sup>3</sup>株式会社加齢・栄養研究所

**概要** 2010年アメリカ合衆国では、成人の約60%がマグネシウム(Mg)摂取不足であるとの報告があり、これが肥満、動脈硬化、高血圧、骨粗鬆症、糖尿病、癌などの疾病の発生にかなり関連していると報告がある。特にMgとの慢性摂取不足と心臓病や脳卒中などの循環器疾患との発症と関係があり、Mg欠乏にはカルシウム(Ca)とのバランスが指摘されている。そこで、本研究は、MgとCaの摂取バランスが免疫能に及ぼす影響について糖尿病モデルマウスを作成し、このマウスを用いて食餌によるMg欠乏群および高Ca群を設けて、各群の免疫担当細胞をフローサイトメリーにて表面解析を行った。

4週齢雄のICR系マウスを用いて、ストレプトゾトシンを腹腔内に2回投与(100 mg/kg 体重)して、1型糖尿病を誘発させた。群構成は糖尿病モデルではないコントロール群、Mg欠乏群、高Ca群(通常の2倍)、Mg欠乏群+高Ca群および糖尿病モデル(Diabetes Mellitus: DM)DM群、DM+Mg欠乏群、およびDM+高Ca群、DM+Mg欠乏+高Ca群の計8群で、各群6匹ずつとした。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。実験期間は3週間とし、摂餌量、体重は毎日測定し、剖検後、血液を採取、胸腺、脾臓の重量を測定した。血液はMg濃度およびグルコース濃度を測定した。また、血液、脾臓、胸腺については、フローサイトメリーにて表面解析を行った。

体内のMg状態の指標とされている血清中のMg濃度は、Mg欠乏群、Mg欠乏+高Ca群およびDM+Mg欠乏群、DM+Mg欠乏+高Ca群はコントロール群に比して、有意な低値を示し、明らかにMg欠乏状態であると確認された。また、血清中グルコース濃度測定によりDM群、DM+Mg欠乏群、DM+高Ca群、DM+Mg欠乏+高Ca群はコントロール群に比して、高値を示し、糖尿病モデルマウスであることが確認された。胸腺および脾臓の体重100gあたりの重量は、コントロール群に比してMg欠乏群は高値を示した。Mg欠乏+高Ca群の脾臓のNK細胞は、Mg欠乏に比して有意な高値を示した。また、DM+Mg欠乏群およびDM+Mg欠乏+高Ca群の脾臓のNK細胞は、DM群に比して有意な高値を示した。血液のT細胞ではコントロール群に比して、Mg欠乏群およびMg欠乏+高Ca群で高い傾向を示し、特に、Mg欠乏+高Ca群では有意な増加が認められた。B細胞は、コントロール群と比してMg欠乏、Mg欠乏+高Ca群で低値を示した。また、血液のT細胞およびヘルパーT細胞は、コントロール群に比して高Ca群は低値を示した。B細胞においてはコントロール群、Mg欠乏群、DM+高Ca群それぞれと比較して、高Ca群は高い傾向を示した。

これらの結果から、糖尿病あるいはMg欠乏状態は、感染に対する抵抗性が低下するため、リンパ組織やリンパ球が増加すると報告があることから、生体防御のためにリンパ球であるNK細胞が増加したと考えられた。また、糖尿病あるいはMg欠乏状態であると、B細胞よりもT細胞を割合的に増加させる一方、高Ca状態であると、T細胞よりもB細胞を割合的に増加させることにより、限られた免疫担当細胞による生体防御体制を形成していることが推察された。

## 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。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 350 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<sup>1)</sup>。Mgが不足してもホメオスタシス作用により骨から溶出して、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<sup>2-4)</sup>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<sup>5-6)</sup>。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<sup>7-10)</sup>。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<sup>2-10)</sup>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、急性な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<sup>11)</sup>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査において、心筋細胞の変性が強く、特に、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<sup>12)</sup>している。特に Mg との慢性摂取不足と心臓病や脳卒中などの循環器疾患との発症と関係があり、Mg 欠乏にはカルシウム(Ca)とのバランスが指摘されている。

日本人の食事摂取基準(2010 年版)<sup>13)</sup>によれば、Mg の推奨量は、成人男性 340 mg に対して摂取量は 241 mg、成人女性 290 mg に対して 204 mg の摂取量であるため、Mg 摂取量は、かなり不足しており、日本人は慢性的な Mg 摂取不足の状態であることが推察される。また、2010 年アメリカ合衆国では、成人の約 60%が Mg 摂取不足の報告<sup>14)</sup>があり、この低い Mg 状態が、アテローム性動脈硬化<sup>15-16)</sup>、高血圧<sup>15,17)</sup>、骨粗鬆症<sup>18)</sup>、糖尿病<sup>19)</sup>、ある種のがん<sup>20-21)</sup>を含む多数の病理学的状況と関連しているとされる。Mg 欠乏はインスリン抵抗性を引き起こし、インスリンの分泌を阻害することはすでに報告がある<sup>22)</sup>。2型糖尿病の成人患者にマグネシウム剤を給与したところ、耐糖能およびインスリン応答性が改善したとの報告がある<sup>23-24)</sup>。

そこで、本研究では、Mg 欠乏下での Ca の影響および免疫能に着目し、糖尿病モデルマウスを作成し、このマウスを用いて食餌による Mg 欠乏群、高 Ca 群、Mg 欠乏+高 Ca 群を設けて、免疫担当細胞をフローサイトメトリーにて表面解析を行うことを目的とした。

## 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 ICR 系雄マウスを日本チャールス・リバー(株)より購入し、空調制御された飼育室(室温 22±2°C; 相対湿度 55±5%; 照明サイクル 12 時間明/12 時間暗)で、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行った。各群 6 匹ずつ 8 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

群構成は 4 週齢雄の ICR 系マウスを用いて、ストレプトゾトシンを腹腔内に 2 回投与(100 mg/kg 体重)して、1型糖尿病を誘発させた。群構成は糖尿病モデルではないコントロール群、Mg 欠乏群、高 Ca 群(通常の 2 倍)、Mg 欠乏群+高 Ca 群および糖尿病モデル(Diabetes Mellitus: DM)DM 群、DM+Mg 欠乏群、および DM+高 Ca 群、DM+Mg 欠乏+高 Ca 群の計 8 群で、各群 6 匹ずつとした。実験に用いた飼料の組成は AIN-93G<sup>25)</sup>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。

飼料原料はオリエンタル酵母(株)より購入した。

## 3. 実験方法

実験期間は 3 週間とし、実験期間中、一般状態の観察、体重および摂餌量の測定を連日実施した。剖検後、血液を採取し、胸腺、脾臓の重量を測定した。血液は Mg 濃度およびグルコース濃度を測定した。また、血液、脾臓、胸腺については、フローサイトメトリーにて表面解析を行った。

### 3.1 生化学的検査

血液は遠心分離し、血清を得た。血清の Mg 濃度の測定にはマグネシウム B-テストワコー(和光純薬工業株式会

社)、グルコース濃度の測定にはグルコース CII テストワコー(和光純薬工業株式会社)を用いた。

### 3.2 フローサイトメリーによる表面解析

摘出した脾臓および胸腺をピンセットで細かくし、RPMI-1640 倍地に浮遊させ、遠心により細胞を集めた。胸腺は培地に再浮遊し、細胞数を計測した。脾臓は上記の処理の後、溶血剤を加え溶血させた後、再度洗浄し培地に再浮遊させ、細胞数を計測した。モノクローナル抗体 FITC 標識抗マウス CD3 抗体、PE 標識抗マウス CD19 抗体、PE 標識抗マウス CD8a(Ly-2)抗体、PE 標識抗マウス CD4 抗体(L3T4)は、Phar·Mingen 社のものを使用した。モノクローナル抗体による染色と測定をおこなった。胸腺および脾臓は  $5 \times 10^5$  個のリンパ球と、至適濃度に希釈した各抗体 10  $\mu$ L を、4°C で 30 分間反応させた。血液は、下記のモノクローナル抗体で染色し、溶血を行い測定に用いた。血液および脾臓は ① FITC 標識抗マウス CD3 抗体と PE 標識抗マウス抗体 CD19、② FITC 標識抗マウス CD3 抗体と PE 標識抗マウス抗体 CD4、③ FITC 標識抗マウス CD3 抗体と PE 標識抗マウス抗体 CD8 の 3 種類の組み合わせで二重染色を、胸腺は、① FITC 標識抗マウス CD8 抗体と PE 標識抗 CD4 マウス抗体の組み合わせで、二重染色を行い、PBS で 2 回洗浄した。

### 3.3 統計学的解析

実験結果は、平均値  $\pm$  標準誤差により示した。有意差の検定は、一元配置分散分析を用いて統計学的に解析し、危険率 5% 未満を有意差ありとした。

## 4. 結果

### 4.1 死亡動物および一般状態

実験開始から終了時まで死亡動物は認められなかった。

### 4.2 体重変化

成長曲線は、コントロール群および高 Ca 群は、Mg 欠乏群および Mg 欠乏+高 Ca 群と比して、5 日以降に成長の遅延や体重増加の抑制がみられ、2 週目以降から実験終了時まで有意に低値で推移した。また、糖尿病モデルマウスでは、DM 群および DM+高 Ca 群は、DM+Mg 欠乏群および DM+Mg 欠乏群+高 Ca 群と比して、2 週目以降に成長の遅延や体重増加の抑制がみられ、実験終了時まで低値傾向で推移した。

### 4.3 臓器重量

体重 100 g 当たりの脾臓の重量は、コントロール群に比べて Mg 欠乏群は有意な高値を示した。体重 100 g 当たりの胸腺の重量は、コントロール群に比べて Mg 欠乏群は高値を示す傾向だった。一方、糖尿病モデルマウスでは、DM+高 Ca 群、DM+Mg 欠乏群および DM+Mg 欠乏群+高 Ca 群の体重 100 g 当たりの脾臓の重量は、DM 群に比べて高値を示した。DM+高 Ca 群、DM+Mg 欠乏群および DM+Mg 欠乏群+高 Ca 群の体重 100 g 当たりの胸腺の重量は、DM 群に比べて低値を示した。

### 4.4 血清生化学的検査

血清中の Mg の濃度は、Mg 欠乏群および Mg 欠乏+高 Ca 群は、コントロール群に比して、有意に低値を示し、明らかに Mg 欠乏状態であると確認された (Fig. 1)。また、

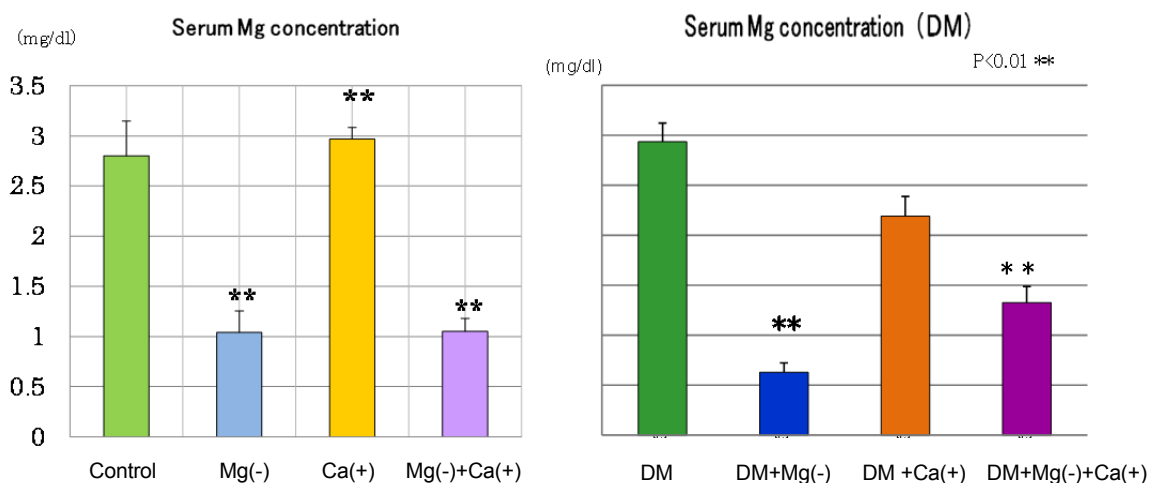


Fig. 1. Concentration of serum magnesium

DM+Mg 欠乏群およびDM+Mg 欠乏+高 Ca 群は、DM 群と比して有意に低値を示し、明らかに Mg 欠乏状態であると確認された (Fig. 1)。一方、血清中グルコース濃度は、DM 群、DM+Mg 欠乏群、DM+高 Ca 群および DM+Mg 欠乏+高 Ca 群はコントロール群に比して、有意に高値を示し、糖尿病モデルマウスであると確認された。

#### 4.5 フローサイトメリーによる表面解析

血液の T 細胞および血液のヘルパー T 細胞では、コントロール群に対して、Mg 欠乏群および Mg 欠乏+高 Ca 群で有意に高値を示した (Fig. 2)。また、コントロール群に対して高 Ca 群は、低値の傾向を示した (Fig. 2)。血液のキラー T 細胞は、コントロール群に比べて Mg 欠乏群および Mg 欠乏+高 Ca 群で高値を示し、中でも、Mg 欠乏+高 Ca 群は有意に増加した。これに対して、高 Ca 群はコントロール群と比べて低値の傾向を示した。血液の B 細胞は、コントロール群に対し Mg 欠乏群および Mg 欠乏+高 Ca 群で低値を示した (Fig. 2)。また、コントロール群に対し高 Ca 群で高値の傾向を示した (Fig. 2)。血液の NK 細胞では、Mg 欠乏群および Mg 欠乏+高 Ca 群は、コントロールと比べて高値傾向を示した。また、脾臓の NK 細胞は、コントロール群および Mg 欠乏群に比べて、Mg 欠乏+高 Ca

群は有意な高値をした。

一方、糖尿病モデルマウスでは、血液の T 細胞では、DM に比べて、DM+Mg 欠乏群および DM+Mg 欠乏+高 Ca 群で有意な高値を示した (Fig. 2)。一方、DM+高 Ca 群は DM 群と比べて低値の傾向を示した (Fig. 2)。血液の B 細胞は、DM 群に対し DM+Mg 欠乏群および DM 群+Mg 欠乏+高 Ca 群で有意な低値を示した (Fig. 2)。一方、DM 群に比べて、DM+高 Ca 群は有意な高値を示した (Fig. 2)。血液のヘルパー T 細胞では、DM 群に比べて、DM+Mg 欠乏+高 Ca 群で有意に高値を示した。一方、DM 群に比べて DM+高 Ca 群は低値の傾向を示した。また、血液のキラー T 細胞は、DM 群に比べて DM+Mg 欠乏群および DM+Mg 欠乏+高 Ca 群で有意に高値を示した。一方、DM+高 Ca 群は DM 群と比べて低値の傾向を示した。血液の NK 細胞では、DM+Mg 欠乏群および DM+Mg 欠乏+高 Ca 群は、DM 群と比べて高値傾向を示した。特に、DM+Mg 欠乏+高 Ca 群は、DM 群と比べて、有意に高値を示した。また、脾臓の NK 細胞は、DM 群に比べて、DM+Mg 欠乏群および DM+Mg 欠乏+高 Ca 群は有意な高値を示した。

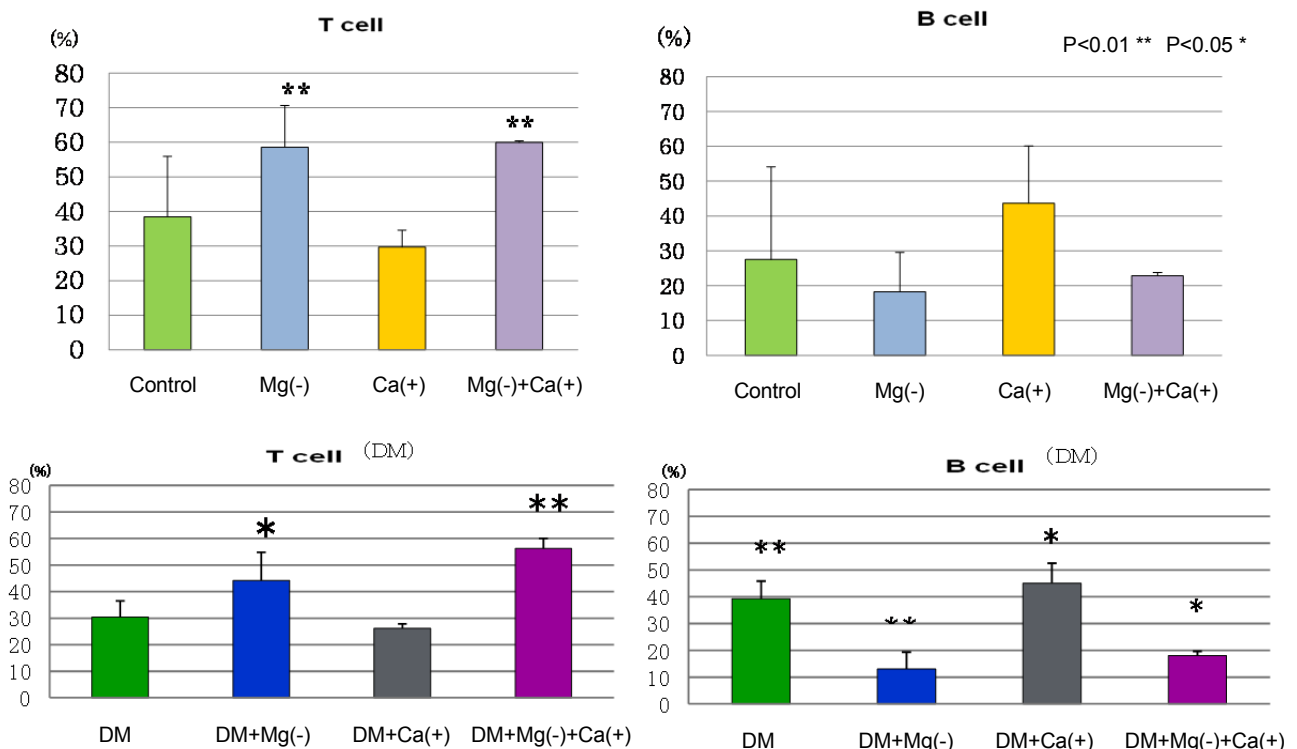


Fig. 2. Lymphocytes subsets from blood of mice

## 5. 考 察

本研究では、Mg と Ca の摂取バランスの影響および免疫能に着目し、糖尿病モデルマウスを作成し、このマウスを用いて食餌による Mg 欠乏群、高 Ca 群、Mg 欠乏+高 Ca 群を設けて、免疫担当細胞をフローサイトメトリーにて表面解析を行うことを目的とした。

体内の Mg 状態の指標とされている血清中の Mg 濃度は、Mg 欠乏群、Mg 欠乏+高 Ca 群および DM+Mg 欠乏群、DM+Mg 欠乏+高 Ca 群はコントロール群に比して、有意な低値を示し、明らかに、Mg 欠乏状態であることは確認された。また、血清中グルコース濃度測定により DM 群、DM+Mg 欠乏群、DM+高 Ca 群、DM+Mg 欠乏+高 Ca 群はコントロール群に比して、高値を示し、糖尿病モデルマウスであることは確認された。

胸腺および脾臓の体重 100 g あたりの重量は、コントロール群に比して Mg 欠乏群は高値を示した。このことは、通常 Mg 欠乏になった時に観察される脾臓や胸腺の肥大の報告<sup>26)</sup>と同様なことが得られた。

免疫能を検討した結果、Mg 欠乏+高 Ca 群の脾臓の NK 細胞は、Mg 欠乏に比して有意な高値を示した。また、DM+Mg 欠乏群および DM+Mg 欠乏+高 Ca 群の脾臓の NK 細胞は、DM 群に比して有意な高値を示した。血液の T 細胞ではコントロール群に比して、Mg 欠乏群および Mg 欠乏+高 Ca 群で高い傾向を示し、特に、Mg 欠乏+高 Ca 群では有意な増加が認められた。B 細胞は、コントロール群と比して Mg 欠乏、Mg 欠乏+高 Ca 群で低値を示した。また、血液の T 細胞およびヘルパー T 細胞は、コントロール群に比して高 Ca 群は低値を示した。B 細胞においてはコントロール群、Mg 欠乏群、DM+高 Ca 群それぞれと比較して、高 Ca 群は高い傾向を示した。Mg はリンパ球のアポトーシスを抑制する<sup>27)</sup>作用も持つことから、Mg 欠乏は T 細胞の増殖や分化を抑制すると考えられた。

糖尿病あるいは Mg 欠乏状態は、感染に対する抵抗性が低下するため、リンパ組織やリンパ球が増加するとの報告<sup>28)</sup>から、生体防御のためにリンパ球である NK 細胞が増加したと考えられた。また、糖尿病あるいは Mg 欠乏状態であると、B 細胞よりも T 細胞を割合的に増加させる。一方では、高 Ca 状態であると、T 細胞よりも B 細胞を割合的に増加させることにより、限られた免疫担当細胞による生体防御の体制を形成していることが示唆された。

## 参考文献

- 1) 糸川嘉則 栄養生理学 裳華房 p103 (1990)
- 2) 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)
- 3) 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)
- 4) 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
- 5) 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)
- 6) 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)
- 7) Karppen, H.: Epidemiological studies on the relationship between magnesium intake and cardiovascular diseases. Artery 9 190-199 (1981)
- 8) Seeling, M.S. and Heggtveit H.A.: Magnesium interrelationships in ischemic heart disease. Am J Clin Nutr 27 59-79 1974
- 9) Rayssiguier, Y. Magnesium and lipid interrelationships in the pathogenesis of vascular disease. Magnesium -Bulletin, 1a, 165-177 (1981)
- 10) Altura, B.M. and Altura, B.T.: Mg, Na and K interactions and coronary heart diseases. Magnesium 1: 241-265 (1982)
- 11) 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 (1944)
- 12) 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)
- 13) 日本人の食事摂取基準(2010年版)第一出版
- 14) Moshfegh A, Goldman J, Ahuja J, Rodes D, LaComb R.

- What We Eat in America, NHANES 2005-2006: Usual Nutrient Intakes from Food and Water Compared to 1997 Dietary Reference Intakes for Vitamin D, Calcium, Phosphorus, and Magnesium. US Department of Agriculture, Agricultural Research Service (2009)
- 15) Meyer KA, Kushi LH, Jacobs DR Jr, Slavin J, Sellers TA, Folsom AR. Carbohydrates, dietary fiber, and incident type 2 diabetes in older women. *Am J Clin Nutr.* 71: 921-930 (2000)
  - 16) Van Dam RM, Willett WC, Rimm EB, Stampfer MJ, Hu FB. Dietary fat and meat intake in relation to risk of type 2 diabetes in men. *Diabetes Care.* 25: 417-424 (2002)
  - 17) Schulze MB, Liu S, Rimm EB, Manson JE, Willett WC, Hu FB. Glycemic index, glycemic load, and dietary fiber intake and incidence of type 2 diabetes in younger and middle-aged women. *Am J Clin Nutr.* 80: 348-356 (2004)
  - 18) Liu S, Serdula M, Janket S-J, *et al.* A prospective study of fruit and vegetable intake and the risk of type 2 diabetes in women. *Diabetes Care.* 27: 2993-2996 (2004)
  - 19) Tinker LF, Bonds DE, Margolis KL, Manson JE, Howard BV, *et al.* Low-fat dietary pattern and risk of treated diabetes mellitus in postmenopausal women. The Women's Health Initiative Randomized Controlled Dietary Modification Trial. *Arch Intern Med.* 168: 1500-1511 (2008)
  - 20) Tuomilehto J, Lindstrom J, Eriksson JG, *et al.* Prevention of type 2 diabetes mellitus by changes in lifestyle among subjects with impaired glucose tolerance. *N Engl J Med.* 344: 1343-1350 (2001)
  - 21) Knowler WC, Barrett-Connor E, Fowler SE, *et al.* for the Diabetes Prevention Program Research Group. Reduction in the incidence of type 2 diabetes with lifestyle intervention or metformin. *N Engl J Med.* 346: 393-403 (2002)
  - 22) Food and Nutrition Board, Institute of Medicine. Dietary Reference Intakes for Calcium, Phosphorus, Magnesium, Vitamin D, and Fluoride. Washington, DC: National Academies Press; 1977
  - 23) Paolisso G, Sgambato S, Gambardella A, *et al.* Daily magnesium supplements improve glucose handling in elderly subjects. *Am J Clin Nutr.* 55: 1161-1167 (1992)
  - 24) Paolisso G, Passariello N, Pizza G, *et al.* Dietary magnesium supplements improve B-cell response to glucose and arginine in elderly non-insulin-dependent diabetic subjects. *Acad Endocrinol Copenh.* 121: 16-20 (1989)
  - 25) 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)
  - 26) Barbagallo M, Dominguez LJ, Galioto A, *et al.* Role of magnesium in insulin action, diabetes and cardiometabolic syndrome X. *Mol Aspects Med.* 24: 39-52 (2003)
  - 27) Malpuech-Brugère C, Nowacki W, Gueux E, Kuryszko J, Rock E, Rayssiguier Y, Mazur A. Accelerated thymus involution in magnesium-deficient rats is related to enhanced apoptosis and sensitivity to oxidative stress. *Br J Nutr.* 1999 May; 81(5): 405-11. (1999)
  - 28) Maier J.A.M.; Malpuech-Brugere C.; Rock E.; Rayssiguier Y.; Mazur A. Serum From Magnesium-Deficient Rats Affects Vascular Endothelial Cells in Culture: Role of Hyperlipemia and Inflammation - Low concentration of plasminogen activator or increased concentration of plasminogen activator inhibitor *Journal of Nutritional Biochemistry,* 9, 1, 17-22(6) (1998)

## The Surface Analysis by Flow Cytometry on the Balance of Calcium and Magnesium Intakes

Takako Ikeda<sup>1</sup>, Yukiko Nakanishi<sup>2</sup>, Hiroko Nakamura<sup>3</sup>, Mikiko Kurose<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Department of Live Sciences, Showa Women's University, Assistant Professor, <sup>2</sup> College of Nutrition, Koshien University, Associate Professor, <sup>3</sup> Research Institute for Nutrition and Aging, Researcher

### Summary

In the United States in 2010, it has been also reported that inadequate intake of magnesium is approximately 60% among adult population, associating with increasing of obesity, arteriosclerosis, hypertension, osteoporosis, diabetes, and cancer. Chronic inadequate intake of micronutrients as Mg was also suggested one of the risk factors for the cardiovascular diseases such as heart disease and stroke. In the present study, the effects of balance of calcium (Ca) and Mg intakes on the immune function among Diabetes modeled mice were tested by the surface analysis of immunocompetent cells using flow cytometry.

Four-week-old male ICR mice, intraperitoneally administered two times (weight 100 mg/kg) of streptozotocin, were induced type 1- diabetes. Mice were divided into 8 groups (Control group, Mg deficient group (MgD), high Ca group (HCa), MgD+HCa group (MgD+HCa), Diabetes Mellitus (DM) group, DM+MgD group (DM+MgD), DM+HCa group (DM+HCa), DM+MgD+HCa group (DM+MgD+HCa) with 6 animals in each group fed the basal diet (AIN-93G, using a mixture of minerals, including magnesium oxide), or the Mg deficient diet or the high Ca diet including twice Ca compared to AIN-93G for 3 weeks. Food intake and body weight were measured daily and after the autopsy, blood, thymus and spleen were collected and weighed. Blood glucose and Mg concentrations were measured. In addition, the blood, spleen and thymus were applied to a surface analysis by flow cytometry.

Serum Mg concentration which is an indicator of Mg status of the body, showed significantly lower and was apparently confirmed to be Mg deficient state among MgD, MgD+HCa, DM+MgD, and DM+MgD+HCa groups compared to the control group. We also confirmed mice were suffered from diabetes based on the blood glucose which was significantly higher among DM, DM+MgD, DM+MgD+HCa groups than the control group. The thymus and spleen weight in MgD group were significantly higher than in control group. NK cells in thymus of MgD+HCa mice showed significantly higher than in MgD mice. NK cells in thymus of DM+MgD and DM+MgD+HCa mice showed significantly higher than in DM mice. T cells in serum of MgD+HCa mice were significantly higher than control. B cells in serum of MgD and MgD+HCa mice were significantly lower than control. Also, T cells and helper-T cells in serum of HCa mice were significantly lower than control. B cells in serum of HCa mice was tend to be higher than control, MgD, DM+HCa groups, respectively.

It was reported that the Mg deficiency or diabetes lowered the resistance to infection increasing lymphocytes and lymphoid tissues. There is no contradiction among our results showed that NK cells, which are lymphocytes for biological defense has increased by Mg deficiency or diabetes. Also, when is Mg deficiency or diabetes, by increasing the percentage basis T cells than B cells, and is a high Ca state, by increasing the percentage basis B cells than T cells, that forms the body's defense system by limited immunocompetent cells was suggested.