

マグネシウム欠乏の栄養生理学的研究
-特に超微形態学的検討-

池田 尚子[#]・木村 修一^{*}・今沢 孝喜・西川 秋佳・高橋 道人

Effects of Dietary Magnesium Deficiency in the Rat: with Special
Reference to Ultrastructural Examination

Takako Ikeda[#], Shuichi Kimura^{*}, Takayoshi Imazawa,
Akiyoshi Nishikawa and Michihito Takahashi

Epidemiologically, it has been suggested that dietary magnesium/calcium imbalance is associated with the risk of heart diseases. In the present study, the effects of magnesium deficiency and/or calcium over intake were investigated in rats. Male Sprague-Dawley rats were divided into 4 groups, and respectively fed basal diet (AIN-76) alone (Group 1), calcium-doubled AIN-76 diet (Group 2), magnesium-deficient AIN-76 diet (Group 3) and magnesium-deficient / calcium-doubled AIN-76 diet (Group 4) for 19 days. A biochemical assay using inductively coupled plasma showed that the magnesium concentrations of the femoral bone and serum were significantly ($p < 0.001$) lower in Groups 3 and 4 than in Group 1. The lipid peroxides of the heart in Group 4 and of the liver in Groups 3 and 4 were increased as compared to the Group 1 values although there was no statistical significance. Ultrastructurally, degenerative changes of organelles including mitochondria were observed in myocardial, liver and renal tubule cells of Groups 2-4. Severe degeneration such as disorganization, lysis and disarrangement of myofibrils was most evident in myocardial cells of Group 4. Our results thus suggest that dietary magnesium deficiency gives rise to retrogressive changes in some organs including the heart, and concurrent calcium overintake synergistically enhances the myocardial injury due to magnesium deficiency.

Keywords : magnesium, calcium, heart, ultrastructure, rat
(Received May 30, 1997)

緒 言

人体内に七番目に多く存在する必須ミネラルであるマグネシウム (Mg^{2+}) の生体構成成分は、体重70kgの成人で約834~1,200mmol (約20~28g)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する²⁾。Mgは情報を司る核酸、タンパク質の機能維持、体温調節、神経の興奮、筋肉の収縮、ホルモンの分泌などに関与している³⁾。

Mg^{2+} が生理機能を発揮する上でナトリウム (Na^+)、カルシウム (Ca^{2+})、カリウム (K^+) 等との存在比率が重要であることが指摘されており、なかでも Na^+ - K^+ -dependent ATPase あるいは Ca^{2+} -dependent ATPase は Mg と結合した ATP だけを基質とするため、この酵素が関与する能動輸送などの生理機能に Mg は必須である⁴⁾。Mg 欠乏になると

能動輸送が円滑に働かなくなり、細胞外に多い Na^+ , Ca^{2+} が細胞内に流入し、細胞内に多い K^+ , Mg^{2+} は細胞外に流出しはじめる。 Na^+ が細胞内に増加すると、 Na^+ - Ca^{2+} exchange pump が働き、 Ca^{2+} はさらに細胞内に増える⁵⁾。このような現象が血管壁の細胞に起こると、血管壁が緊張して攣縮が発生するため血管は細くなり循環器疾患の要因となる⁶⁾。

1978年、Karppanenらは食品からの Mg や Ca 摂取量と循環器疾患の関連を検討した⁷⁾。その結果、アメリカ、オランダ、フィンランドのように Ca/Mg 比の高い食事を摂っている国は虚血性心疾患の死亡率が高く、その比が低い食事を摂っている日本、ギリシア、ユーゴスラビアでは虚血性心疾患による死亡率が比較的低いことが報告されている。このことから Ca 摂取量を控えて Mg 摂取量を多く摂ることが、虚血性心疾患を予防する一因であり、特に循環器疾患の予防に対する Mg 摂取量の重要性を強調されている^{8,9)}。

生体が 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が報告されている¹⁰⁾。そこで今回、循環器疾患の要因である Mg と Ca のバランスに着目し、ラットを用いて食餌によ

* 昭和女子大学

To whom correspondence should be addressed: Takako Ikeda; 1-18-1 Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo 158, Japan; Tel: 03-3700-1141 ext. 427; Fax: 03-3700-2348; E-mail: taiked@nihs.go.jp

る Mg 欠乏と Ca 過剰の組み合わせの実験を実施し、主に超微形態学的に検討した。

実験および方法

1. 実験動物ならびに飼育条件

実験動物として5週齢の Sprague-Dawley 系雄ラット(日本チャールス・リバー社)を3日間の馴化飼育の後、各群6匹ずつ4群に配した。動物はステンレス製個別ケージに収容し、室内の環境条件は温度 $24 \pm 1^\circ\text{C}$ 、湿度 $55 \pm 5\%$ 、12時間(7時~19時)照明、12時間非照明の条件下で飼育した。飲料水には蒸留水を用い、飲料水および飼料は自由摂取とした。

2. 実験飼料

実験に用いた飼料の組成は AIN-76¹⁾ のミネラル組成に準じ、Table 1 に示した。Group 1 は対照群として Mg および Ca が AIN-76 と等倍量の群、Group 2 は Mg 等倍量、Ca 2 倍量 (1.04%W/W) の群、Group 3 は Mg 欠乏 (検出限界以下)、Ca 等倍量の群、Group 4 は Mg 欠乏 (検出限界以下)、Ca 2 倍量 (1.04%W/W) の群とした。

飼料原料はオリエンタル酵母(株)より購入し、タンパク質源はカゼイン、糖質源は蔗糖、脂肪源はコーン油を用い、ビタミン混合は AIN-76 の組成に従った。馴化飼育期間中はどの群も Group 1 の飼料を与えた。

3. 実験方法

実験期間は19日間とし、実験期間中、一般状態の観察を連日実施し、体重および摂餌量は1日おきに測定した。

動物は剖検日前日より一晩絶食させ、翌日エーテル麻酔

下で腹部大動脈から採血後、屠殺・剖検し、臓器重量測定後に以下の生化学的検査および超微形態学的検査に供した。

A) 生化学的検査

a. ICP (Inductively Coupled Plasma) 発光分析法

1. 測定対象臓器および元素

対象は心臓、肝臓、腎臓、大腿筋、大腿骨の5臓器および血清とし、測定元素は Mg, Ca およびリン (P) の3元素とした。

2. 試薬および標準溶液

Mg および Ca の標準溶液は原子吸光分析用1,000ppm 標準溶液(和光純薬製)を希釈混合して使用した。P 標準溶液は光電用 P 標準溶液 1 mg/kg (和光純薬製)を希釈して使用した。

3. 装置および測定条件

ICP 発光分光分析装置は真空多元素同時分析型 Thermo-Jarrell Ash 社製 ICAP-61、電子レンジ用試料分解容器は三愛科学製、電子レンジは日立製作所製 MR-M26を用いた。

4. 実験溶液の調製および分析法

心臓、肝臓、腎臓、大腿筋および血清は湿重量で約50mg および大腿骨は湿重量で約5mgを精秤し、テフロン製の小容器に取り、濃硝酸3mlと過塩素酸1mlを加え、電子レンジで試料を湿式分解した¹²⁾。放冷後開栓し、分解液をホットプレート上で殆ど蒸発乾固するまで加熱し、放冷後、0.1M 硝酸で一定重量として測定用検体とした。単位は大腿骨以外は湿重量当たりの $\mu\text{g/g}$ で表し、大腿骨は湿重量当たりの%で表した。

Table 1. Composition of experimental diets (%)

	Group 1	Group 2	Group 3	Group 4
α -Corn starch	55.50	54.46	55.50	54.46
Milk casein	25.00	25.00	25.00	25.00
Corn oil	5.00	5.00	5.00	5.00
Cellulose powder	5.00	5.00	5.00	5.00
Sucrose	5.00	5.00	5.00	5.00
Mineral mixture ¹⁾	3.50	3.50	—	—
Mineral mixture ²⁾	—	—	3.50	3.50
Vitamin mixture ³⁾	1.00	1.00	1.00	1.00
CaCO ₃	—	1.04	—	1.04
Total	100	100	100	100

1) AIN-76 Mineral mixture

2) AIN-76 Mineral mixture except Mg deficiency

3) AIN-76 Vitamin mixture

b. 過酸化脂質測定 (八木法¹³⁾)

1. 測定対象臓器

心臓および肝臓の2臓器を測定に供した。

2. 試薬および標準溶液

ドデシル硫酸ナトリウム(SDS), 2-チオバルピツール酸(TBA), n-ブタノール:ピリジン (15:1) 10 nmol/ml テトラメトキシプロパンを標準溶液として使用した。試薬はすべて特級を使用した。

3. 装置および測定条件

分光蛍光光度計は日立製作所製650-60形(励起波長515 nm, 蛍光波長553nm), 遠心分離器は日立製作所製 SCT 5 BA (3000rpm, 10min) を用いた。

4. 実験溶液の調製および測定法

各組織をホモジナイズし, 1.15%塩化カリウムを加え, 遠心分離し, 上清に8.1%SDSを加えた。この溶液に0.4% 2-TBA (10%酢酸溶液:pH3.5), 蒸留水およびn-ブタノール:ピリジン (15:1) を加え50回激しく振盪後, 遠心分離し, 上層を測定用検体とした。TBA 反応産物(TBARS) 値は $1 \text{ (nmol)} \times 20 \times 10 \times f/F \text{ (nmol/g 湿重量)}$ で求めた。(F:標準試料の蛍光強度, f:検体の蛍光強度)

5. 統計処理¹⁴⁾

体重, 臓器重量, 臓器中の元素濃度および臓器中のTBARS 値は, Student の t 検定を用いて統計学的に解析し

た。

B) 超微形態学的検査

各群2匹の動物から心臓(左心室心尖部), 肝臓(尾状葉)および腎臓(皮質)を採取し, 2.5%グルタルアルデヒド溶液(0.1Mリン酸緩衝溶液:pH7.4)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プンで硬化させ, ウルトラカット(Reichert-Jung型)で厚切り切片および超薄切片を作製し, 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-100CXS)にて超微形態学的に検索した。

結 果

1. 死亡動物および一般状態

実験期間を通じて, 死亡動物は認められなかった。

Group 3,4に関しては, 耳介部を中心とした皮膚炎の発症が実験開始5日目に観察された。Group 1の便の色は白色だったのに対し, Group 3,4では黄褐色のものが実験開始14日目に観察された。

2. 体重および摂餌量

Group 3,4はGroup 1に比して, 13日目以降, 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(Fig. 1)。Group 3,4の最終体重はGroup 1に比して, 有意

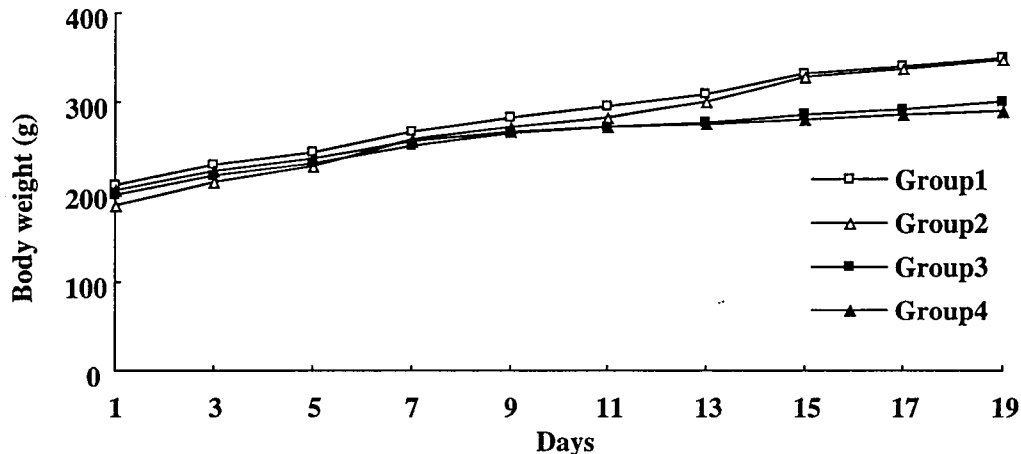


Fig. 1. Body weight curves

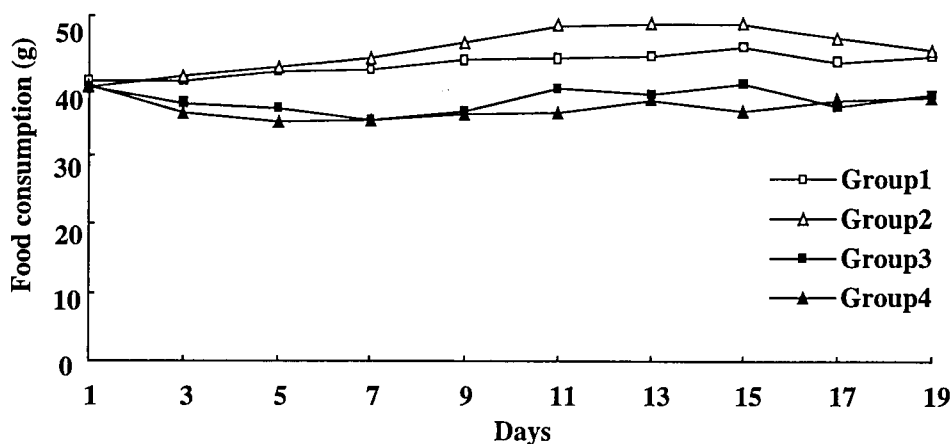


Fig. 2. Food consumption curves

Table 2. Absolute organ weights and organ/body weight ratios

Group	Body weight	Heart	Liver	Kidney(R)	Kidney(L)
1	352.5 ± 8.93	1.26 ± 0.16(0.36)	10.23 ± 0.62(2.90)	1.26 ± 0.07(0.36)	1.23 ± 0.08(0.35)
2	348.2 ± 9.43	1.26 ± 0.15(0.36)	9.87 ± 0.62(2.84)	1.19 ± 0.09(0.34)	1.18 ± 0.05(0.34)
3	292.6 ± 12.8***	1.09 ± 0.10(0.38)	9.01 ± 0.44**(3.08)	1.41 ± 0.19(0.48)	1.39 ± 0.24(0.47*)
4	276.5 ± 12.3***	1.09 ± 0.12(0.40)	8.58 ± 0.28*** (3.11*)	1.28 ± 0.04(0.46)	1.28 ± 0.06(0.46***)

Values represent mean ± S.D. in absolute organ weights.

Values in parentheses represent percentage of organ/body weight ratio.

*,**,***: Significantly different from the control (group 1) values at *p<0.05, **p<0.01 and ***p<0.001, respectively.

Table 3. Concentrations of Mg, Ca and P

	Group	Bone (%)	Heart (μ g/g)	Kidney (μ g/g)	Liver (μ g/g)	Muscle (μ g/g)	Serum (μ g/g)
Mg	1	0.30 ± 0.04	200 ± 25.6	171 ± 25.2	182 ± 25.2	272 ± 14.3	13.1 ± 2.07
	2	0.30 ± 0.04	205 ± 11.6	151 ± 17.9	209 ± 13.6*	272 ± 10.5	12.2 ± 1.05
	3	0.16 ± 0.05***	207 ± 7.51	144 ± 32.7	224 ± 26.9*	241 ± 19.8*	5.27 ± 0.92***
	4	0.14 ± 0.04***	171 ± 32.5	154 ± 22.1	219 ± 22.7*	249 ± 13.8*	6.72 ± 1.04***
Ca	1	14.3 ± 1.99	80.2 ± 19.7	122 ± 48.2	32.8 ± 9.57	54.8 ± 4.68	107 ± 26.5
	2	15.8 ± 1.56	77.3 ± 13.9	104 ± 79.1	38.0 ± 5.26	56.6 ± 5.92	159 ± 73.6
	3	14.9 ± 3.07	98.1 ± 43.9	774 ± 419*	44.2 ± 8.93	71.3 ± 9.71***	139 ± 33.2
	4	16.3 ± 1.77	97.2 ± 16.7	1327 ± 910*	68.9 ± 19.1**	77.7 ± 20.1*	172 ± 63.0*
P	1	7.74 ± 1.07	2079 ± 344	2194 ± 460	2539 ± 323	2235 ± 120	96.8 ± 11.0
	2	8.51 ± 1.07	2111 ± 191	1801 ± 327	2988 ± 266*	2284 ± 51.1	101.0 ± 16.0
	3	7.80 ± 1.59	2189 ± 97.2	2221 ± 880	3431 ± 451**	2056 ± 169	88.7 ± 8.00
	4	8.32 ± 0.90	1606 ± 479	2789 ± 1098	3175 ± 477*	2166 ± 138	87.6 ± 9.64

Data represent mean values ± S.D.

*,**,***: Significantly different from the control (group 1) values at *p<0.05, **p<0.01 and ***p<0.001, respectively.

な減少を示した (Table 2)。摂餌量は、Group 3,4では飼育直後から飼育期間を通じて、Group 1を下回って推移した (Fig.2)。

3. 臓器重量 (Table 2)

Group 3,4の最終体重と肝臓重量は Group 1 に比して、有意な減少を示した。体重比では Group 3,4の左腎が対照群に比して、有意な増加を示した。

4. 生化学的検査

a) Mg, Ca および P の各臓器における濃度を Table 3 に示した。Mg 濃度は Group 3,4の大腿骨と血清において Group 1 の値の約 1/2 であり、有意に減少していた。Ca 濃度は Group 3,4の腎臓および大腿筋において Group 1 に比して、有意に増加していた。

b) TBARS 値を Table 4 に示した。統計学的有意差はなかったが、Group 4 の心臓および Group 3,4の肝臓では Group 1 に比して、高い傾向を示した。

Table 4. Thiobarbituric acid reaction substance (n/mol/g)

Group	Heart	Liver
1	105 ± 84.6	38.3 ± 9.53
2	109 ± 56.2	38.6 ± 23.7
3	105 ± 28.7	101.0 ± 60.7
4	173 ± 61.0	66.8 ± 30.6

Data represent mean values ± S.D.

5. 超微形態学的検査

Group 1 の心臓組織は電顕的にはほぼ正常構造を示し、動脈を構成する細胞 (Fig.3) や心筋細胞のミトコンドリアおよび筋原線維 (Fig.4) には異常は認められなかった。Group 2,3および4 の心筋層内小動脈内皮細胞には血管腔内に突出した空胞変性が認められ (Fig.5), さらに心筋細胞のミトコンドリアの空胞変性, 腫大化, クリスタ配列の乱れおよび崩壊が認められた (Fig.6)。特に Group 4 の心筋細胞の変性が強く, 筋原線維の断裂, 融解および配列の乱れ等が観察され (Fig.7), またミトコンドリアの変性も他の Group よりも強く, ミトコンドリア周囲にグリコーゲン顆粒の蓄積も認められた (Fig.8)。ミトコンドリアの変性は, Group 4 以外では Group 2 で強くみられた。

Group 1 の肝細胞は電顕的にはほぼ正常構造を示し, 核, ミトコンドリア, 粗面小胞体, ペルオキシソームなどには異常は認められなかった (Fig.9)。Group 2 および3 の肝細胞内には脂肪滴やミエリン様物質の出現が認められ, Group 4 ではさらに小管状物質の増生が観察された (Fig.10)。

Group 1 の腎尿細管上皮細胞は電顕的にはほぼ正常構造を示し, 糸球体および尿細管の上皮細胞に異常は認められなかった (Fig.11)。Group 2,3および4 の近位尿細管上皮細胞にはミトコンドリアの空胞変性, ライソゾームの増加 (Fig.12), 小胞体腔の拡張やミトコンドリアの変性等が観察された。

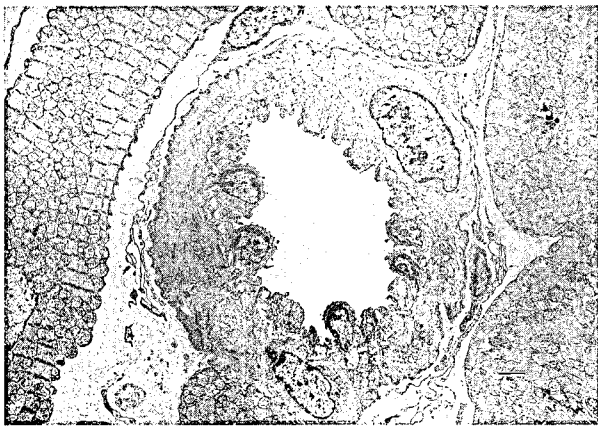


Fig. 3. Electron micrograph of normal cardiac myocytes and an arteriole in the heart
×3,400
Bar = 2 μ m (group 1)



Fig. 4. Electron micrograph of normal mitochondria of cardiac myocytes, and myofibril in the heart
×17,000
Bar = 1 μ m (group 1)



Fig. 5. Cardiac arteriolar endothelial cells showing vacuoles
×2,000
Bar = 5 μ m (group 2)

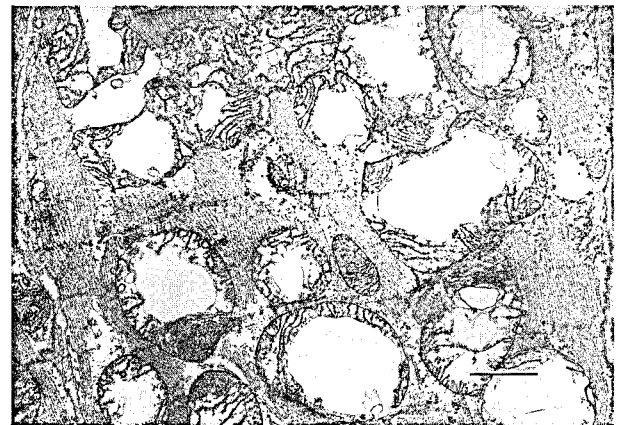


Fig. 6. Swollen mitochondria with disorientated and disintegrated cristae in a myocardial cell
×17,000
Bar = 1 μ m (group 2)

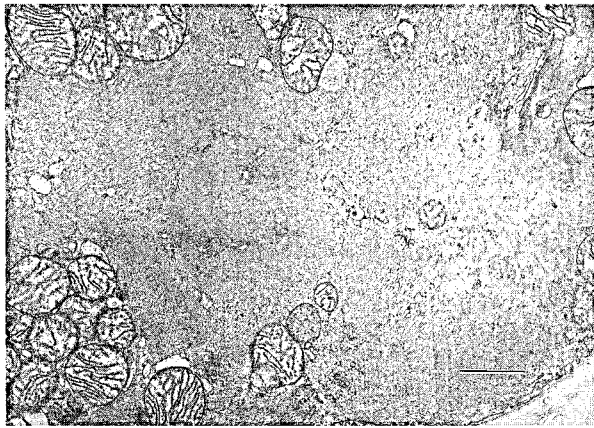


Fig. 7. Z-bands of a myocardial cell are disorganized, lysed and disarranged
 ×17,000
 Bar = 1 μm (group 4)

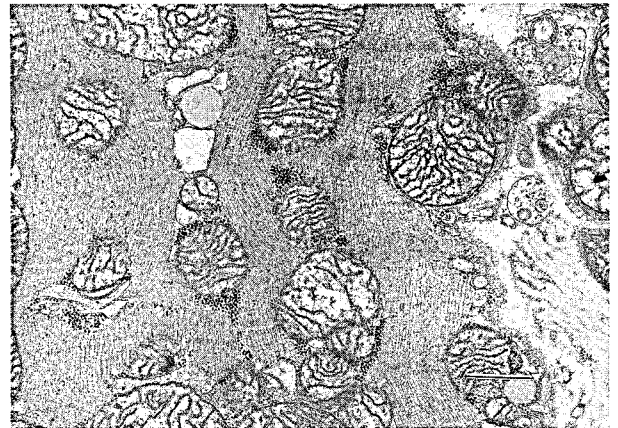


Fig. 8. Slightly altered and disintegrated mitochondrial cristae, and accumulation of glycogen granules in a myocardial cell
 ×17,000
 Bar = 1 μm (group 4)

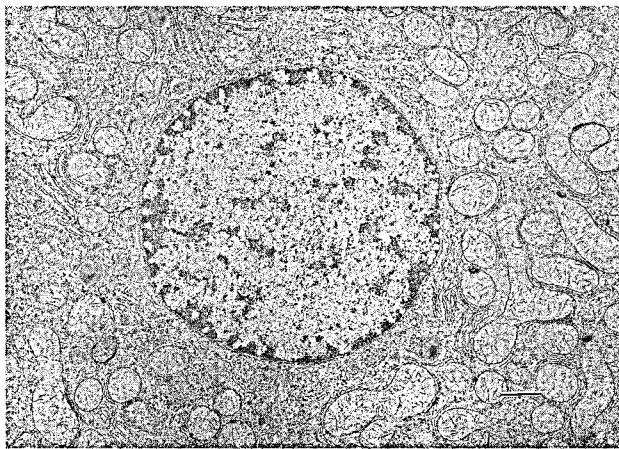


Fig. 9. Electron micrograph showing normal mitochondria, endoplasmic reticulum and peroxisome in a hepatocyte
 ×10,200
 Bar = 1 μm (group 1)

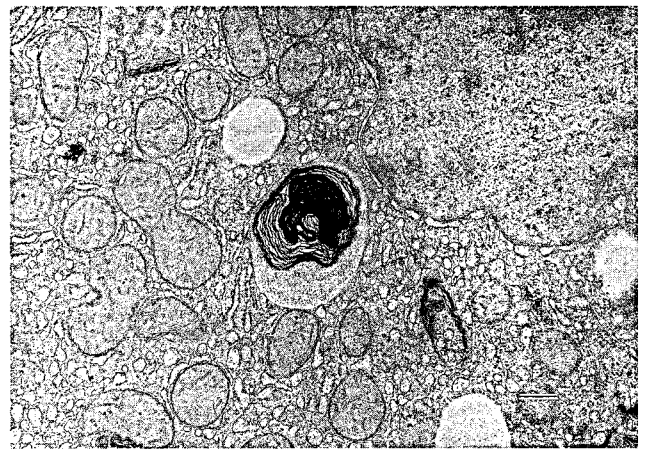


Fig. 10. Hepatocyte showing increase of vesicular endoplasmic reticulum and myelin-like materials in the cytoplasm
 ×20,400
 Bar = 0.5 μm (group 4)

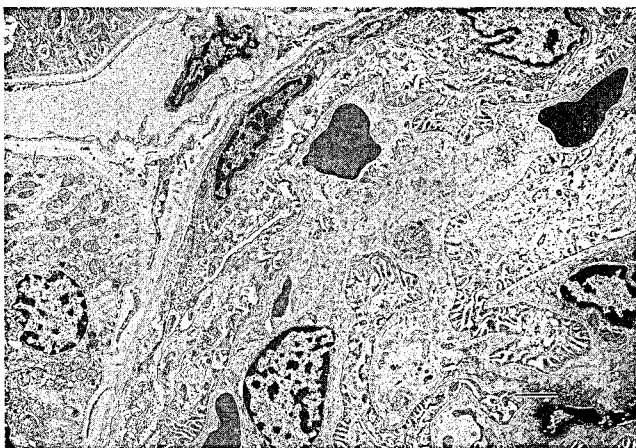


Fig. 11. Electron micrograph showing a normal glomerulus and renal tubule epithelial cells
 ×5,100
 Bar = 2 μm (group 1)

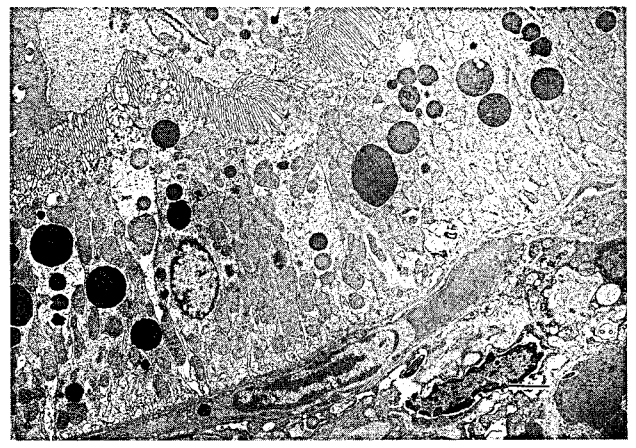


Fig. 12. Marked increase of lysosomes in proximal renal tubule epithelial cells
 ×5,100
 Bar = 2 μm (group 3)

考 察

ラットを用いて、食餌による Mg 欠乏の生体に及ぼす影響について、Ca の混合比率を変えた実験条件を加え、主に超微形態学的に検討した。

骨の Mg 濃度は Group 1 に比して Group 3,4 で有意に減少していた。これは Mg 欠乏群である Group 3,4 では第一貯蔵庫である骨に十分な Mg の蓄積がなかったこと、もしくは Group 3,4 が必要としている Mg は骨から供給されて、骨中の Mg が減少したものと思われる。

TBARS 値は肝臓で Group 1 に比して Group 3,4 が高い傾向を示したことから、Mg が酸化ストレスに対して何らかの生理作用を介して抑制的に働いている可能性が考えられる。

超微形態学的に、Group 1 を除いてどの群にも心筋層内小動脈の内皮細胞に空胞変性が観察された。これは Mg 欠乏や Ca 過剰のために細胞内外の浸透圧平衡が崩れ、水や電解質等が細胞質内に蓄積して細胞が膨化し¹⁵⁾、形態学的に空胞変性として現れたものと思われる。同様に、Group 1 を除いた群の心筋細胞にミトコンドリアの変性が観察されたのは、Mg や Ca により生体内のミネラルバランスが崩れたため、心筋細胞のミトコンドリアに膨化、空胞変性、クリスタの消失等の様々な形態学的変化が現れたものと思われる。特にミトコンドリアの変性が強かったのは、Group 2 および Group 4 の高 Ca 群であることから、Ca の過剰摂取はミトコンドリアの変性を招き、ひいては細胞内の活動低下の要因となる可能性がある。Group 4 の心筋細胞のミトコンドリア周囲にグリコーゲン顆粒の蓄積が観察されたのは、Group 4 は Mg 欠乏で高 Ca 群であるので、Mg と Ca の不均衡が影響したものと推察される。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、その発現機序の解明については今後の課題である。さらに筋原線維の断裂および融解が観察されたが、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みられる病変である¹⁶⁾。しかしながら、これらの病変が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、細胞質レベルでの代謝異常に伴う心筋の異常、即ち代謝性心筋障害であるのか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 欠乏における Ca の過剰 (通常の 2 倍) 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。

肝臓では Group 1 を除いて、どの群も肝細胞に脂質の蓄積がみられたが、ミネラル (特に Mg, Ca) の微妙なバランスの変化により肝細胞の脂質代謝障害として発現したほか、心機能低下によるうっ血肝に伴う二次的な変化としてみられた可能性があるが、相対肝重量には大きな変動はないことから、後者の影響は少ないものと思われる。

腎臓中の Ca 濃度は Group 3,4 が Group 1 に比して有意に増加したことから、超微形態学的に観察された Group 3,4 における腎尿管上皮細胞の変化は、Ca の異常な蓄積に関連するものと思われる。

Ca 摂取量が多いと Mg の必要量が増加することが報告されており^{17,18)}、Ca の過剰摂取は相対的に Mg 欠乏を助長する可能性がある。また今回の電顕的検索で明らかにされたように、Ca 過剰が単独で細胞内の活動低下の要因になる可能性がある。以上より、今回の成績は食事中的 Mg の欠乏が心臓を含む諸臓器の退行変性を招き、それが Ca の過剰摂取により増強される可能性を示唆する。

文 献

- 1) Elin, R. J.: Assessment of magnesium status. *Clin. Chem.*, **33**, 1965~1970 (1987)
- 2) Elin, R. J.: Laboratory tests for the assessment of magnesium status in humans. *Magnes. Trace Elem.*, **10**, 172~181 (1991)
- 3) 糸川嘉則: 栄養の生理学. 裳華房, pp. 103 (1990)
- 4) Altur, B. M.: Basic biochemistry and physiology of magnesium: A brief review. *Magnes. Trace Elem.*, **10**, 167~171 (1991)
- 5) Iseri, L. T. and French, J. H.: Magnesium nature's physiologic calcium blocker. *Am. Heart J.*, **108**, 188 (1984)
- 6) 糸川嘉則: 栄養生理学. 裳華房, pp. 67~72 (1990)
- 7) Karppanen, H., Pennanen, R. and Passinen, L.: Mineral-coronary heart disease and sudden coronary death. *Adv. Cardiol.*, **25**, 9~24 (1978)
- 8) 糸川嘉則: マグネシウム. 光生館, pp. 3~13 (1995)
- 9) Galland, L.: Magnesium stress and neuropsychiatric disorders. *Magnes. Trace Elem.*, **10**, 287~301 (1991)
- 10) 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)
- 11) Report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Committee on Standards for Nutritional Studies. *J. Nutr.*, **103**, 1340~1348 (1977)
- 12) Kojima, I., Uchida, T. and Iida, C.: Pressurized microwave digestion of biological samples for metal determination. *Analytical Sciences*, **4**, 211~214 (1988)
- 13) Ohkawa, H., Ohishi, N. and Yagi, K.: Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.*, **95**, 351~358 (1979)
- 14) 山崎実, 野口雄次, 丹田勝, 新谷茂: ラット一般毒性試験における統計的手法の検討. 武田研究, **40** (3/4), 163~187 (1981)
- 15) 畠山茂: 病理学. 医歯薬出版, pp. 20~57 (1988)
- 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, F. W., Hodgkinson, A. and Rose, G. A.: Observations on the relation between calcium and magnesium metabolism in man. *Clin. Sci.*, **27**, 31~40 (1964)
- 18) Labeeuw, M., Pozet, N., Zech, P. and Traeger, J.: Urinary magnesium in response to an oral calcium load. *Nephron*, **43**, 158~159 (1986)