—Note—

Comparison of Glutathione Peroxidase Activity in Erythrocytes and Certain Tissues between Voles and Mice

Toshiro ARAI, Toshihiko WATANABE, Shigeru HAMADA, and Moriyuki SUGAWARA

*Division of Veterinary Biochemistry, Nippon Veterinary and Animal Science University,
1-7-1 Kyonan-cho, Musashino-shi, Tokyo 180, Japan*

(Received 22 July 1992/Accepted 29 January 1993)

Glutathione peroxidase (GSH-Px) activities in erythrocytes and certain tissues were investigated in herbivorous voles and C57BL/6J mice. In both voles and mice, GSH-Px activities in liver, kidney and erythrocyte were higher than those of the other tissues, such as adipose tissue, pancreas and skeletal muscle. Voles showed lower GSH-Px activities in liver, kidney, erythrocyte and brain compared with mice. —KEY WORDS : glutathione peroxidase, mouse, vole

ハタネズミとマウスの赤血球および組織における グルタチオンペルオキシターゼ活性の比較

新井 敏郎・渡辺 利彦・浜田 茂・菅原 盛幸

日本獣医畜産大学獣医生理化学教室

グルタチオンペルオキシターゼ(GSH-Px, EC 1.11.1.9)は過酸化水素によるヘモグロビンの酸化を防ぐ酵素として、ウシ赤血球より精製されて以来多くの研究がなされてきた[10]。本酵素は分子内にセレンを含む同一のサブユニット4個から成る4量体で、セレン欠乏飼料で動物を飼育するとその活性が低下する[6]。また、動物種間で本酵素活性は著しい差のあることが知られている[5, 11, 16]。

今回、草食性家畜のモデル動物として飼育、繁殖されているハタネズミならびにC57BL/6Jマウスの赤血球および諸組織のGSH-Px活性について測定し、検討した。

当研究室で飼育繁殖している7～8ヵ月齢のハンガリー産ハタネズミ *Microtus arvalis* Pallas (雌4, 雄

4, 計8頭)と、対照としてC57BL/6Jマウス(雌3, 雄3, 計6頭)を実験に用いた。ハタネズミは草食性動物用ペレットZC(オリエンタル酵母社)とヘイキューブを、C57BL/6Jマウスは固型飼料CMF(オリエンタル酵母社)を自由摂食させ、水は自由飲水とした。動物は室温22～26℃、湿度40～60%、14時間照明(7:00-21:00)の条件下で飼育した。動物は10:00-12:00の間に頸部切断法によりと殺、頸静脈から採血した。全血0.5mlに1mlの滅菌生理食塩水を加え100g、5分間遠心分離する操作を2回繰り返し赤血球を洗浄した。その後9mlの10mM Tris-HCl緩衝液(pH7.4)を加え、溶血させ4℃、6,000g、20分間遠心分離して得た上清を赤血球酵素抽出液とした[1]。一方、肝臓、心臓、腎臓については、と殺後、

Table 1. Glutathione peroxidase (GSH-Px) activity in erythrocytes and tissues of voles or mice

	Specific activity (nmol/min/mg protein)	
	Voies (8)	Mice (6)
Erythrocyte	31.2±3.5 ^a	58.6±7.4
Liver	169.0±30.2 ^a	435.0±40.4
Kidney	97.8±13.7 ^a	288.4±32.0
Brain	44.8±6.8 ^a	60.3±9.2
Heart	52.1±8.8	60.3±8.6
Pancreas	32.3±7.3	33.6±5.0
Skeletal muscle	30.5±5.6	38.0±6.5
Adipose tissue	142.0±18.3	172.6±24.6

Values are presented as mean±S.D. The numbers in parentheses indicate the number of animals studied.
a : significantly different ($P<0.01$) from the value of mice

直ちに開腹し、1mM EDTA、5mM 2-メルカプトエタノールを含む50mM Tris-HCl 緩衝液、pH7.5[9]で灌流した後、摘出した。骨格筋（腓腹筋）、膵臓、脳、脂肪組織は摘出後、上記緩衝液中で洗浄した。各組織の重量を測定し、その4倍量の上記緩衝液を加え、ガラスホモゲナイザーによりホモゲナイズした。4℃、15,000g、30分間遠心分離後、上清を取りさらに4℃、100,000g、30分間遠心分離して得た上清を組織酵素抽出液として測定に用いた。

GSH-Px 活性は、リン酸緩衝液に GSH と酵素抽出液を加え、グルタチオンレダクターゼ-NADPH 系を共役させ、340nm の吸光度の減少で測定した。すなわち、反応混液 {全量2.5ml ; 50mM リン酸緩衝液、pH7.0、0.16mM NADPH、1mM アジ化ナトリウム、0.4mM EDTA、1mM GSH、2μg/ml グルタチオンレダクターゼ（酵母製、オリエンタル酵母社）} に、酵素抽出液0.02ml を加え、さらに最終濃度が2ml になるように H₂O₂ 溶液を加え、反応させた[12]。酵素活性は、1分間に1mg の蛋白質が酸化した NADPH のモル数で表した。酵素抽出液中の蛋白量は Bradford の方法[2]により測定した。

ハタネズミと C57BL 系マウスの赤血球および組織中の GSH-Px 活性を Table 1 に示した。各 GSH-Px 活性について、ハタネズミ、マウスともに雌雄差は認められなかった。各々の組織間で GSH-Px 活性を比較してみると、ハタネズミ、マウスともに肝臓、腎臓、脂肪組織が高い値を示した。またハタネズミの GSH-Px 活性は肝臓、腎臓、赤血球および脳で、マウスのそれに比較して有意に低い値を示した。

ハタネズミ、マウスで認められた組織間での GSH-Px 活性の違いは他の動物でも認められる[13,14,16]。骨格筋や膵臓では特にセレン欠乏時に白筋症、ジストロフィーあるいは膵臓線維症といった過酸化脂質の蓄積が原因と考えられる障害の発生が報告されている[3,8,14]。また、最近ストレプトゾシンやアロキサン投与による糖尿病の誘発因子のひとつに過酸化水素の生成増加が推測されている[15]。骨格筋や膵臓の GSH-Px 活性は他の臓器に比較して低い傾向にあり、これらの障害の発生機構と関連する可能性がある。

一方、ハタネズミはマウスに比べて各組織において GSH-Px 活性が低い傾向が認められた。ウシ、ヒツジ、ウマなど草食動物やニワトリでは、一般に肝や腎での GSH-Px 活性がマウス、ラット等に比べ著しく低いことが知られている[7,16]。さらに GSH-Px 活性は組織中のセレン濃度と関連することが明らかになっており、ラットではセレン濃度の高い肝や腎は高い GSH-Px 活性を示す[4]。また、飼料に含まれるセレン化合物の種類によって利用率が異なることが知られている[3]。

近年、ウシやヒツジにおいて、白筋症などセレン欠乏症の発生が問題となっているが、これらの発生には単にセレン含量の量的な不足だけでなく、セレン化合物の種類、ビタミン E との相互作用など種々の要因が関連している[3,13,14]。動物においてセレン欠乏症の発生機構を調べるためには、飼料中のセレン含量を変えたり、含まれるセレン化合物の種類を変えて、その利用率を比較することが必要であるが、ウシやヒツジのような大動物を使つての実験は経済的に極めて困難である。ハタネズミはウシやヒツジと同様 GSH-Px 活性がマウス等に比べ低い傾向を有しており、小型で取扱いやすいことからウシやヒツジにおけるセレン欠乏症の発生機序について詳細な検討を行うための有用なモデル動物となると考えられる。

要 約

草食性ハタネズミと C57BL/6J マウスの赤血球および諸組織におけるグルタチオンペルオキシダーゼ (GSH-Px) 活性を比較検討した。ハタネズミ、マウスともに、肝臓、腎臓、赤血球の GSH-Px 活性が、脂肪組織、膵臓、骨格筋に比較して高かった。また、ハタネズミの GSH-Px 活性は、肝臓、腎臓、赤

血球および脳で、マウスに比べ低い値を示した。

文 献

- [1] Beutler, E. (1969). *J. Clin. Invest.*, **48**, 1957-1966.
- [2] Bradford, M. M. (1976). *Anal. Biochem.*, **72**, 248-254.
- [3] Cantor, A. H., Langevin, M. L., Noguchi, T., and Scott, M. L. (1975). *J. Nutr.* **105**, 106-111.
- [4] Chow, C. K. and Jeng, J. (1981) *In* Selenium in Biology and Medicine. pp. 477-482, Spallholz, J. E., Martin, J. L. and Ganther, H. E. (eds.), Avi Publishing Company, Westpoint.
- [5] Duan, Y.-J., Kumura, S., Fiszer-Szafarz, B., Szafarz, D., and Yagi, K. (1988). *J. Biol. Chem.*, **263**, 19003-19008.
- [6] Hafeman, D. G., Sunde, R. A., and Hoekstra, W. G. (1974). *J. Nutr.*, **104**, 580-587.
- [7] Harvey, J. W. and Kaneko, J. J. (1975). *Comp. Biochem. Physiol.*, **52B**, 507-510.
- [8] Jacobsson, S. O., Lidman, S., and Linderg, P. (1970). *Acta Vet. Scand.*, **11**, 324-326.
- [9] Liu, M. S. and Sharma, C. (198). *Am. J. Physiol.*, **240**, R10-R15.
- [10] Mills, G. C. (1959). *J. Biol. Chem.*, **234**, 502-506.
- [11] 宮崎 茂・元井霞子(1992). 家畜生化研報, **28**, 11-20.
- [12] Nakamura, W., Hosoda, S., and Hayashi, K. (1974). *Biochim. Biophys. Acta.*, **358**, 251-261.
- [13] Noguchi, T., Cantor, A. H., and Scott, M. L. (1973). *J. Nutr.*, **103**, 1502-1511.
- [14] Paynter, D. I., Anderson, J. W., and MacDonald, J. W. (1979). *Aust. J. Agric. Res.*, **30**, 703-709.
- [15] Takasu, N., Komiya, I., Asawa, T., Nagasawa, Y., and Yamada, T. (1991). *Diabetes.*, **40**, 1141-1145.
- [16] Tappel, M. E., Chaudiere, J., and Tappel, A. L. (1982). *Comp. Biochem. Physiol.*, **73B**, 945-949.