〔衛 生 化 学〕
EISEI KAGAKU
30 (4) 229-232 (1984)

無機水銀と内因性セレンのラット組織内相互作用の可能性について

最上麻紀子, 永沼 章, 井村伸正

北里大学薬学部公衆衛生学教室

Studies on Possibility of Interaction between Endogenous Selenium and Inorganic Mercury in Rat

MAKIKO MOGAMI, AKIRA NAGANUMA and NOBUMASA IMURA

Department of Public Health, School of Pharmaceutical Sciences,

Kitasato University, Minato-ku, Tokyo 108, Japan

(Received March 10, 1984)

Effect of inorganic mercury administration on gel filtration (Sephadex G-200) patterns of endogenous selenium, most of which is supposedly incorporated into structural or functional proteins, in the rat plasma and soluble fractions of the liver and kidneys was investigated. High molecular weight complexes containing equimolar amount of ^{203}Hg and ^{75}Se were observed in the plasma and soluble fraction of the liver, but not in the kidney, at 24 h after simultaneous administration of $^{203}\text{HgCl}_2$ and $\text{Na}_2^{75}\text{SeO}_3$ as in the cases of other animal species reported so far. However, an increase in the amount of endogenous selenium associated with these high molecular weight complexes in the plasma and liver was hardly observed at 24 h after HgCl_2 administration. These results suggest that inorganic mercury selectively interacts with co-administered selenium to form high-molecular weight complex, but not with the endogenous selenium.

Keywords — mercury; selenium; endogenous selenium; interaction; rat; plasma; liver; kidney

緒 言

水銀、カドミウム等、これまでにそれらによる環境汚染が大きな社会問題となった重金属化合物類については既に数多くの毒性学的研究が行われている。その過程において、これら環境汚染性重金属の毒性が、同時に投与されたセレン化合物によって軽減されるという現象が Kar¹⁾ や Pařízek と Ošádalová²⁾ らによって発見され、この事実は多くの研究者によって追試確認されている。重金属に対するセレン化合物のこのような毒性軽減作用の機構は未だ完全に明らかとはなっていないが、着実にそれについての知見が蓄積しつつある。これまでに報告された研究結果³⁻⁸⁾ からは、重金属の毒性の修飾には外から投与されたセレン化合物中のセレンが利用されているものと考えられている。

しかしながら、良く知られているようにセレンはグルタチオンペルオキシダーゼの構成成分⁹⁾ 等として動物にとって必須微量元素¹⁰⁾ であり、食餌として摂取され体内に蓄積しているいわゆる内因性セレンの量や濃度は、場

合によってはこれら有用性重金属と共に投与され、毒性修飾に使用されているセレンの体内分布量に匹敵すると考えられているが、この内因性セレンの生体内での重金属に対する反応性については現在のところ全く不明である。

本研究では内因性セレンによる無機水銀化合物の毒性の修飾作用の可能性を検討した。

実 験 方 法

ウィスター系雄性ラット（体重約 200 g）に $^{203}\text{HgCl}_2$ (300 $\mu\text{Ci}/25 \mu\text{mol/kg}$) と $\text{Na}_2^{75}\text{SeO}_3$ (150 $\mu\text{Ci}/25 \mu\text{mol/kg}$) を同時に皮下投与して、24 時間後にヘパリンナトリウム注射液 50 μl を含む試験管中に頸動脈より血液を 5 ml 採取し、直ちに 800 $\times g$, 4°C で 5 分間遠心して血漿を分取した。また、肝臓と腎臓は門脈より 9.5 mm リン酸緩衝液-生理食塩水 (PBS, pH 7.4) で灌流除血後、摘出し、臓器 1 g 当たり 3 ml の PBS を加えてホモジナイズ後 105000 $\times g$, 4°C で 1 時間遠心して上清（可溶性画分）を分取した。ここで得られた血漿 (1.5 ml) および肝

臓と腎臓の可溶性画分(5.0 ml)をセファデックス G-200 のカラム (26.4×920 mm) にのせ, PBS を用いて溶出させた. 溶出液は 5 ml ずつ分取して, 各画分中の ^{203}Hg と ^{75}Se の放射活性を測定した.

また, 無処理ラットおよび $^{203}\text{HgCl}_2$ (300 $\mu\text{Ci}/25 \mu\text{mol}/\text{kg}$) のみを皮下投与して24時間後のラット血漿, および肝臓と腎臓の可溶性画分を上記と同様にセファデックス G-200 でゲルろ過し, 溶出液中の ^{203}Hg 量と共に, 総セレン量を Watkinson の方法¹¹⁾ に従って蛍光光度法で定量した.

さらに, 血漿中でのセレンと無機水銀の相互作用について *in vitro* で検討した. 亜セレン酸中のセレンは, そのままでは血漿タンパクに結合せず, 赤血球中に一度取り込まれて還元されることが必要であるため, $\text{Na}_2^{75}\text{SeO}_3$ を $7 \times 10^{-7} \text{M}$ (Na_2SeO_3 をラットに $25 \mu\text{mol}/\text{kg}$ 皮下投与した場合の1時間後の血中 Se 濃度と等しい値) になるようにラットの血液に添加し, 37°C で30分間反応させた後に血漿を分離し, この血漿中の ^{75}Se 濃度 ($1.4 \times 10^{-6} \text{M}$) と等しい濃度の $^{203}\text{HgCl}_2$ を添加して, さらに30分間反応させた後に, その 1.5 ml をセファデックス G-200 のカラムでゲルろ過した. また $\text{Na}_2^{75}\text{SeO}_3$ をラットに $150 \mu\text{Ci}/25 \mu\text{mol}/\text{kg}$ 皮下投与して, 1時間後に採取した血漿に, $^{203}\text{HgCl}_2$ を $1.4 \times 10^{-6} \text{M}$ になるように添加して 37°C で30分反応させた後に, その1.5 ml を同様にゲルろ過して ^{203}Hg と ^{75}Se の存在状態の変化を観察した.

なお, ゲルろ過はそれぞれ一匹のラットの組織について行ったが, 同じ実験を少なくとも3回以上繰り返し, 再現性のあることを確かめた.

結 果

亜セレン酸と無機水銀をラットに同時に投与すると血漿中でのセレンと水銀の存在状態が大きく変化し, 両者が高分子量画分中に 1:1 のモル比で取り込まれるようになることが報告されている.^{3,4)} また, 同様の現象が肝臓の可溶性画分中でも認められ, 腎臓では認められないことが家兎で報告されている.⁷⁾ 今回, ラットに $^{203}\text{HgCl}_2$ と $\text{Na}_2^{75}\text{SeO}_3$ を同時投与して検討した結果, ラットにおいても, 血漿中だけでなく肝臓の可溶性画分中の ^{203}Hg と ^{75}Se も家兎の場合と同様に 1:1 のモル比で高分子量画分中に存在するようになっていたことが明らかとなった (Fig. 1). この高分子量画分中の ^{203}Hg と ^{75}Se は 1:1 のモル比で complex を形成しているものと考えられる.³⁻⁸⁾

一方, 元来ラットの体内に存在している内因性セレンの存在状態を総セレン量を測定して検討したところ, 血

Fig. 1. Sephadex G-200 Chromatograms of Plasma, and Soluble Fractions of Liver and Kidney of Rats 24 h after sc Administration of $^{203}\text{HgCl}_2$ (25 $\mu\text{mol}/\text{kg}$) and $\text{Na}_2^{75}\text{SeO}_3$ (25 $\mu\text{mol}/\text{kg}$)

Fig. 2. Sephadex G-200 Chromatograms of Plasma, and Soluble Fractions of Liver and Kidney of Control Rats

Fig. 3. Sephadex G-200 Chromatograms of Plasma, and Soluble Fractions of Liver and Kidney of Rats 24 h after Administration of $^{203}\text{HgCl}_2$ (25 $\mu\text{mol/kg}$)

漿および肝臓と腎臓の可溶性画分中の内因性セレンのセファデックス G-200 カラムからの溶出パターンは $^{203}\text{HgCl}_2$ 投与による低分子量画分 (tube No. 70—110) 中でのセレン量の減少が認められた以外には、無処理のラット (Fig. 2) と $^{203}\text{HgCl}_2$ を投与したラット (Fig. 3) との間に明らかに高分子量複合体の生成を示唆するような顕著な相違は認められなかった。また $^{203}\text{HgCl}_2$ 単独投与した場合、 $^{203}\text{HgCl}_2$ と $\text{Na}_2^{75}\text{SeO}_3$ 同時投与時に血漿および肝臓の可溶性画分中で ^{203}Hg と ^{75}Se が共存した高分子量画分中 (Fig. 1) に ^{203}Hg はほとんど存在していなかった (Fig. 3)。低分子量画分中のセレン量の減少が水銀との相互作用の結果である可能性も否定できないが、少なくとも内因性のセレンは、亜セレン酸として投与されたセレンに比べて無機水銀との反応性に乏しく、高分子量複合体形成を伴う相互作用を示すことはないものと考えられる。

次に、*in vitro* における無機水銀と亜セレン酸の反応について検討した結果、 $\text{Na}_2^{75}\text{SeO}_3$ を添加した血液から分取した血漿中の ^{75}Se のゲルろ過パターンが、この血漿中に $^{203}\text{HgCl}_2$ を添加することにより変化し、 ^{75}Se は高分子量画分中に多く存在するようになった (Fig. 4)。

Fig. 4. Sephadex G-200 Chromatograms of Rat Plasma

- (A) Plasma was incubated with $^{203}\text{HgCl}_2$ ($1.4 \times 10^{-6} \text{ M}$),
 (B) Plasma was separated from blood incubated with $\text{Na}_2^{75}\text{SeO}_3$ ($7 \times 10^{-7} \text{ M}$).
 (C) $^{203}\text{HgCl}_2$ ($1.4 \times 10^{-6} \text{ M}$) was incubated with plasma obtained in (B).

Fig. 5. Sephadex G-200 Chromatograms of Plasma Incubated with (B) or without (A) $^{203}\text{HgCl}_2$ ($1.4 \times 10^{-6} \text{ M}$)

Plasma was obtained from rats 1 h after administration of $\text{Na}_2^{75}\text{SeO}_3$ (25 $\mu\text{mol/kg}$).

しかし、 $\text{Na}_2^{75}\text{SeO}_3$ を皮下投与して1時間後に採取したラット血漿中の ^{75}Se のゲルろ過パターンは、*in vitro*でこの血漿中に $^{203}\text{HgCl}_2$ を添加して反応させてもほとんど変化しなかった (Fig. 5). この結果から、生体内に吸収されたセレン化合物は比較的速やかに無機水銀との反応性の低い化学形に変換されるものと考えられる。

考 察

無機水銀と亜セレン酸を同時に動物に投与すると水銀とセレンが高分子量画分中に1:1のモル比で取り込まれるようになり、この現象がセレンによる無機水銀毒性軽減現象において重要な役割を果していると考えられている。³⁻⁸⁾ 今回の研究結果から、亜セレン酸として投与されたセレンは無機水銀と上記のような相互作用を示すが (Fig. 1), 体内に取り込まれたセレンは比較的短時

間内 (少なくとも1時間以内) に無機水銀との反応性の低い化学形に変換されて (Fig. 5) 組織中に蓄積される (Fig. 3) という可能性が示された。しかし、動物は食餌中から必須元素であるセレンを常に摂取しており、この食餌中に含まれるセレンが無機水銀と生体内で相互に作用を及ぼし合っていることを示唆する事実¹²⁾も報告されていることから、食餌中のセレンが消化管から吸収された直後には無機水銀と相互に反応し得る化学形で体内に分布し、存在する可能性がある。また、セレン欠乏食を摂取した動物では無機水銀¹³⁾やカドミウム¹⁴⁾の毒性が発現し易いという報告もあり、安定な複合体形成を介する毒性軽減機構とは異なった機序で、内因性セレンが重金属の毒性を修飾する可能性も考えられる。

引 用 文 献

- 1) A.B. Kar, R.P. Das, B. Mukerji, *Proc. Nat. Inst. Sci. India*, Part B, **26**, 40 (1960).
- 2) I. Pařízek, I. Ošádalová, *Experientia*, **23**, 142 (1967).
- 3) R.F. Burk, K.A. Foster, P.M. Greenfield, K.W. Kiker, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **145**, 782 (1974).
- 4) T. Gasiewicz, J.C. Smith, *Chem. -Biol. Interact.*, **21**, 299 (1978).
- 5) N. Imura, A. Naganuma, *J. Pharm. Dyn.*, **1**, 67 (1978).
- 6) A. Naganuma, N. Imura, *Pharmacol. Biochem. Behav.*, **13**, 537 (1980).
- 7) A. Naganuma, N. Imura, *Pharmacol. Biochem. Behav.*, **15**, 449 (1981).
- 8) A. Naganuma, N. Imura, *Chem. -Biol. Interact.*, **43**, 271 (1983).
- 9) J.T. Rotruck, A.L. Pope, H.E. Ganther, A.B. Swanson, D.G. Hafeman, W.G. Hoekstra, *Science*, **179**, 588 (1973).
- 10) K. Schwartz, C.N. Foltz, *J. Am. Chem. Soc.*, **79**, 3292 (1957).
- 11) J.H. Watkinson, *Anal. Chem.*, **38**, 92 (1966).
- 12) L. Kosta, A.B. Byrne, V. Zelenko, *Nature (London)*, **254**, 238 (1975).
- 13) R.F. Burk, H.E. Jordan, Jr., K.W. Kiker, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **40**, 71 (1977).
- 14) S.T. Omaye, K.A. Reddy, C.E. Cross, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **43**, 237 (1978).