ノート

〔衛 生 化 学〕
EISEI KAGAKU
42 (4) 340-347 (1996)

—Notes—

亜セレン酸ナトリウムの経口曝露レベルとラット尿及び
呼気中メチル化代謝物の関係

中室克彦, 丈達泰史, 奥野智史,
長谷川達也, 佐谷戸安好
摂南大学薬学部

Behavior of Methylated Metabolites of Selenium in Rats Orally Administered with
Various Dose Levels of Sodium Selenite

KATSUHIKO NAKAMURO, YASUSHI JYOTATSU, TOMOFUMI OKUNO,
TATSUYA HASEGAWA and YASUYOSHI SAYATO

Faculty of Pharmaceutical Sciences, Setsunan University, 45-1, Nagaotoge-cho,
Hirakata, Osaka 573-01, Japan

(Received January 24, 1996)

The behavior of methylated selenium metabolites in the urine and in the expiration of rats which administered orally at various dosages (0, 0.31, 1.25 and 5.00 mg Se/kg diet) of selenite, was investigated. The contents of selenium in organs depended on the dose levels. Using Sephadex gel chromatograms of rat liver cytosols it was shown that at the toxic levels the amount of selenium more than that physiologically required for the active site of GSH-Px may bind to the other site. Excretions of trimethylselenonium ion (TMSe) in the urine and dimethyl selenide (DMSe) in exhaust gas increased with increasing accumulative levels of selenium. The excretion behaviors of TMSe and DMSe for 30 d after administration showed the same content level only at toxic dosage (average selenium intake level: 95 μ g Se/d). The present study suggested that as exposed by deficient to nutrient levels, selenium levels and GSH-Px activity in organs may be used to evaluate selenium level in the body, and the amount of TMSe in the urine and DMSe in exhaust gas may be utilized as indicators to predict the toxic selenium exposure level.

Key words—methylation; sodium selenite; rat; glutathione peroxidase; dimethyl selenide; trimethylselenonium ion

緒 言

セレンは自然界に広く分布し、動植物中にはセレン含有アミノ酸をはじめとするセレン化合物として存在することが知られている。^{1,2)}

セレンは動物にとって必須微量元素であることが報告³⁾されて以来、その生理活性に関する研究が多く行われるようになった。生体内においてセレンはセレノシステインの化学形で、グルタチオンペルオキシダーゼ (GSH-Px) あるいはヨードチロニンデ

ヨーディナーゼの活性中心に存在することが明らかにされている。^{4,5)}

この生体にとって必須なセレンが欠乏しても、過剰に摂取しても病態生理的に欠乏症⁶⁻⁸⁾あるいは中毒症⁹⁻¹¹⁾を生ずることが知られている。また、セレンの過剰摂取時には、解毒機構の1つとしてメチル化代謝が促進され、呼気中にジメチルセレンド (DMSe: (CH₃)₂Se) が、尿中にトリメチルセレンオニウムイオン (TMSe: (CH₃)₃Se⁺) の排泄されることが知られている。また、セレンはメチル化代謝の

解毒機構があるにもかかわらず、欠乏あるいは中毒レベルとの間に約10倍の差しか有しないことから安全域の狭いことが特徴的であると言われている。¹²⁻¹⁵⁾

現在までのところセレンの摂取が欠乏から栄養レベル、あるいは栄養から中毒レベルの幅広い用量範囲におけるセレンを長期にわたって経口投与したときの呼気中DMSeや尿中TMSeの排泄挙動を詳細に検討した報告は認められない。すなわち、Zeiselら¹⁶⁾は⁷⁵Se-亜セレン酸1.5—3000 $\mu\text{g/kg}$ をラットに1回経口投与した時の、尿中へのTMSe排泄挙動について検討した。Fosterら¹⁷⁾は⁷⁵Se含有各種セレン化合物0.064 mg/kgと2 mg/kgの2つの用量を腹腔内投与した時の呼気中DMSeと尿中TMSeの排泄並びにセレンの組織内分布を観察した。また、Whangerら¹⁸⁾は、亜セレン酸を0.2, 1.0, 2.0, 4.0 mg/kg diet含有飼料を摂取させたラット組織中セレンとグルタチオンペルオキシダーゼの挙動を報告しているが、メチル化代謝物の挙動については言及していない。このように、セレンの欠乏レベル、栄養生理レベルから中毒レベルに至る用量を連続経口投与した時のセレンの解毒産物であるメチル化代謝物としてのDMSeやTMSeの排泄挙動と組織内セレン分布などを詳細に検討した報告は認められない。

そのため、病態生理と栄養生理の境界領域におけるセレンのメチル化代謝物の生成挙動を明らかにする目的で、セレンを欠乏から栄養及び中毒レベル含有飼料を30日間経口摂取させたときのメチル化代謝物などのセレンの挙動とグルタチオンペルオキシダーゼ活性との関連性について検討を行った。

実験方法

1. 動物 Sprague-Dawley系SPF雄性ラット(4週齢)(日本エスエルシー社)は、マウス・ラット用固形飼料NMF(オリエンタル酵母工業製)と水道水を自由に摂取させ1週間飼育したのち実験に供した。

2. 飼料及び試薬 1) セレン欠乏飼料——セレン欠乏食(オリエンタル酵母工業製)は、トウモロコシ30.0%, スクロース55.7%, ラード5.0%, 肝油3.0%, ミネラル混合物5.0%, ビタミン混合物1.0%, D,L-メチオニン0.3%を構成成分としている。本飼料のセレン含有量は測定の結果、0.019 mg Se/kg dietであった。

2) 試薬——亜セレン酸ナトリウム(Na_2SeO_3)

は関東化学(株)製を用いた。DMSeは東京化成工業(株)、TMSe(TMSeIとして)はトリケミカル研究所から入手した。試薬はいずれも分析用のものを用いた。

3. 欠乏、栄養及び中毒レベルにおける Na_2SeO_3 の連続経口投与実験 木村らの著書¹⁾及びWhangerら¹⁸⁾の報告に準拠して、ラット3匹を1群として、 Na_2SeO_3 0 mg Se/kg dietのセレン欠乏食にそれぞれ0.31 mg Se/kg diet, 1.25 mg Se/kg diet及び5.00 mg Se/kg dietになるように Na_2SeO_3 を添加した4投与群を設定し、これらの投与群をそれぞれ欠乏レベル投与群、栄養レベル投与群、準中毒レベル投与群、中毒レベル投与群と称する。これらのラットをラット用密閉デシケーター型代謝ケージ(杉山元医理器製)に1匹ずつ入れ、各投与群の Na_2SeO_3 含有飼料と水道水を自由に摂取させ30日間飼育した。

実験期間中、毎日糞と尿を採取するとともに2—3日ごとに呼気中セレン化合物を粒状活性炭(カルゴン社製)2gを充填したカラムに捕集した。また、摂餌量と摂水量は毎日、体重は2—3日ごとに測定した。

4. 組織及び排泄物中セレン並びにセレン代謝物の定量 1) 2,3-Diaminonaphtaleneを用いた蛍光光度法による総セレンの定量¹⁹⁾——糞、尿及び採取した組織など約0.1gあるいは0.1mlに蒸留水1ml及びライネッケ塩約10mgを加え、よく振とうしたのち1時間放置した。ついで、 HNO_3 - HClO_4 (2+1) 2mlを加え30分間振とうしたのち、赤色結晶が析出するまで湿式分解を行い、冷後、2N HCl 0.5mlを加え100°Cで60分間加熱しセレン定量用試験溶液とした。このセレン定量用試験溶液について、2,3-diaminonaphtaleneを用いた蛍光光度法によるセレンの定量を行った。

2) 尿中トリメチルセレンオニウムイオン(TMSe)の定量——尿中TMSeは、小山田ら^{20,21)}の方法に準じて測定した。すなわち、尿10mlを0.1N HClでpH1に調整したものをDowex 50 W-X8カラム(15mm i.d.×150mm)に吸着させた後、1N NH_4OH , H_2O , 0.1N HCl及び4N HCl各50mlで順次溶出させ、4N HClの溶出画分を分取した。この画分を前述の4.1)に従って操作し、セレン量を測定することによってTMSe量を算出した。

3) 呼気中ジメチルセレニド(DMSe)の定量——呼気中DMSeは、Lewisら²²⁾及び小山田ら²³⁾の方法に準じて測定した。すなわち、ラット呼気中

TABLE I. Effects of Various Levels of Dietary Selenium on Tissue Selenium Content in Rats 30 d after Oral Administration of Sodium Selenite

Tissue	Level of dietary Se (mg Se/kg diet)			
	0	0.31	1.25	5.00
Liver	0.08±0.02**	0.73±0.08	0.89±0.22	2.14±0.21**
Kidney	0.49±0.07**	1.58±0.26	2.37±0.26	6.40±0.89**
Heart	0.17±0.02**	0.28±0.02	0.31±0.06	0.48±0.07 *
Lung	0.13±0.01**	0.26±0.02	0.36±0.06	0.66±0.10 *
Spleen	0.23±0.01**	0.37±0.02	0.47±0.03	1.30±0.20 *
Whole blood	0.28±0.04**	0.51±0.03	0.58±0.07	1.79±0.38 *
Plasma	0.10±0.04**	0.47±0.02	0.51±0.01	0.74±0.01**
Erythrocytes	0.32±0.03**	0.49±0.01	0.66±0.04 *	3.38±1.24**

Values are means ($\mu\text{g Se/g tissue}$) $\pm$ S.D. of three rats. * Significant difference from 0.31 mg Se/kg diet: $p < 0.05$.

** Significant difference from 0.31 mg Se/kg diet: $p < 0.01$.

DMS_eを捕集するため、粒状活性炭2gを充填したカラム(7.5 mm i.d.×100 mm)に密閉型代謝ケージ内空気を1.5 l/minの流速で通気する。一定時間通気後、活性炭を二硫化炭素5 mlで2回抽出する。この抽出液を蒸発乾固後、4.1)に従って操作し、セレン量を測定することによってDMS_e量を算出した。

5. 肝 Cytosol を用いたゲルクロマトグラフィー 各投与群の肝臓の一定量に Tris-HCl 緩衝液 (pH 7.4) を加えて超音波細胞破砕器 (ヒスコトン ホモジナイザー: 日音医理科製) を用いて 20% ホモジネートを調製し、これを 105000×g (4°C) で 1 時間、遠心分離し cytosol を分取した。この cytosol 5 ml を Sephadex G-150 カラム (35 mm i.d.×850 mm) にのせ、Tris-HCl 緩衝液を流速 20 ml/h で流下させ、200 画分 (4.7 ml/フラクション) を分取した。これら分取した画分について、セレン量を測定した。また同時に、各画分について 280 nm における吸光度を測定した。

6. グルタチオンペルオキシダーゼ (GSH-Px) 活性の測定 GSH-Px 活性は Lawrence ら²⁴⁾の方法に準じ、過酸化水素を基質として測定した。なお、確認のため、cumene hydroperoxide を基質にしても測定した。また、タンパク質量はマイクロビュレット法²⁵⁾に準じて測定した。

結果並びに考察

1. 摂餌量、摂水量及び体重増加曲線

セレンの欠乏、栄養、準中毒及び中毒レベルの各投与群において、30 日間にわたる経口的なラットの摂餌量、摂水量及び体重増加の変化について検討を行ったところ、中毒レベル投与群において摂餌量、摂水量及び体重増加率がいずれも減少傾向を示した

が、栄養レベル投与群との間に有意な差は認められなかった。

2. 生体内セレンの動態

1) セレンの経口的摂取量 各投与群における 1 日あたりのセレン摂取量を摂餌量から算出し、30 日間の経口的なセレン摂取量について検討を行った結果を Fig. 1 に示す。欠乏、栄養、準中毒及び中毒レベルの各投与群における 1 日あたりの平均的なセレン摂取量はそれぞれ 0.42, 6.3, 26 及び 95 $\mu\text{g Se/rat/d}$ を示し、これらの値はいずれの投与群においても投与飼料中セレンレベルに依存しており、30 日間毎日ほぼ一定量のセレンを Na₂SeO₃ の形で摂取していることが認められた。Whanger ら¹⁸⁾や Janghorbani ら²⁶⁾の亜セレン酸含有飼料をラットに長期摂取させた実験においては、経口的なセレン摂取量は求められていない。しかし、著者らの今回の 30 日間経口的に摂取させたいずれの投与群においても、ほぼ、30 日間一定レベルの Na₂SeO₃ を摂取していることが明らかになった。

2) 生体内セレンの分布 (1) 組織中セレンの分布——投与セレンレベルの相違によるセレン摂取レベルは、生体内のセレン分布量に影響を及ぼすことが考えられるため、投与 30 日後における各種組織中のセレン量を測定した。Table I に各投与群における各種組織中セレン量の測定結果を示す。各種組織中セレン量について栄養レベル投与群を中心に比較した場合、いずれの組織においても欠乏レベル投与群においてはセレン量は有意に低く、これに対して中毒レベル投与群では有意に高いセレン量の存在が認められた。しかし、栄養レベルと準中毒レベル投与群間のセレン量の差は少なく、この傾向は特に肝臓や心臓において顕著であることを示してい

る。欠乏レベルと中毒レベルの組織中セレン量の比較検討は認められない。^{17,18)} そのため、中毒レベル投与群のセレン量を欠乏レベル投与群と比較してみると、セレンの標的臓器¹¹⁾として考えられている肝臓では約 27 倍、セレンの排泄に重要な働きをする腎臓においては約 13 倍と高いセレン量を示した。これに対して心臓においては約 2.8 倍とその差は少なく、組織間において明確なセレン蓄積の相違が認められた。

以上の結果、組織中セレン蓄積量は投与セレンレベルに依存していることから、生体内セレンレベルを推定するうえで、欠乏レベルと中毒レベルの分布量に最も大きな差を有し、しかもセレンの標的臓器と考えられる肝臓におけるセレン蓄積量は重要な指標となりうることが考えられた。

(2) 肝 Cytosol 中セレンの存在形態——欠乏レベルから中毒レベルに至る用量を段階的に 30 日間経口摂取させた実験において、肝 cytosol 中の存在状態を検討した報告は少ない。そのため、中毒レベル投与群において特異的に蓄積し、しかもメチル化代謝能を有する肝臓におけるセレンの存在形態を把握するために、各投与群の肝 cytosol について Sephadex G-150 を用いたゲルろ過パターン¹⁹⁾の検討を行った。その結果を Fig. 2 に示す。すなわち、280 nm における吸光度のゲルろ過パターンは void volume に現れる高分子画分 (分子量約 100000 以上) のピーク及び低分子画分に 3—5 個のピークが認められた。ゲルろ過によって分離されたセレン酵素である GSH-Px の画分 (No. 65—100 の画分) の活性を比較すると、栄養レベル投与群 > 準中毒レベル投与群 > 中毒レベル投与群 > 欠乏レベル投与群の順に高い活性を示した。また、セレンのゲルろ過パターンは、欠乏レベル投与群において GSH-Px 画分である No. 65—100 の画分 (分子量約 80000 前後)、これより低分子側のタンパク質画分である No. 110—130 の画分 (分子量約 50000 前後) 及び No. 150—170 の画分 (分子量約 10000 以下) のいずれの画分中のセレン量も著しく減少し、さらに、GSH-Px 画分中セレン量の減少とともに GSH-Px 活性の低下が認められた。一方、本実験のように段階的に投与セレンレベルが増加するにしたがって、これら 3 つのタンパク質画分中セレン量が増加する傾向を示した。特に中毒レベル投与群においてこれらの画分中セレン量の著しい増加が認められることから、肝臓に分布するセレンの増加に伴い過剰のセレンが GSH-Px に結合してこの酵素活性を阻害する可能性が示唆さ

Fig. 1. Daily Selenium Intake of Rats Orally Administered Sodium Selenite for 30 d

△, 0 mg Se/kg diet; ▲, 0.31 mg Se/kg diet; ○, 1.25 mg Se/kg diet; ●, 5.00 mg Se/kg diet.

れた。そのため、肝臓中 GSH-Px 活性と蓄積セレンレベルとの関連性をさらに追求するため、これらのゲルろ過のデータに基づき GSH-Px 画分における GSH-Px 活性とセレン量及びタンパク質量との関連性を検討した結果を Table II に示す。すなわち、準中毒レベルから中毒レベル投与群においてセレン量当たり及びタンパク質量当たりの GSH-Px 活性が投与セレンレベルの増加に従い減少していることから、この原因の 1 つとして GSH-Px 活性発現に必要なセレン量を越えた過剰量のセレンが GSH-Px 中 -SH 基や -SeH 基に結合する可能性²⁷⁾が考えられるため、この過剰のセレンが GSH-Px 活性を抑制することが示唆された。

3) 呼吸及び尿中メチル化代謝物の挙動

Na_2SeO_3 のラットに対する連続経口摂取時のセレン摂取量を算出し、しかもこれと呼吸中 DMSe や尿中 TMS₂Se 排泄量との関連を研究した報告はほとんど認められない。そのため、糞、尿及び呼吸中へのセレン排泄量の 30 日間にわたる経日的変動について検討を行い、その結果を Fig. 3 及び Fig. 4 に示す。すなわち、糞及び尿中への総セレンの経日的な排泄 (Fig. 3) は、栄養 (平均セレン摂取量: $6.3 \mu\text{g Se/rat/d}$)、準中毒 (平均セレン摂取量: $26 \mu\text{g Se/}$

Fig. 2. Sephadex G-150 chromatograms of Liver Cytosol from Rats 30 d after Oral Administration of Sodium Selenite

TABLE II. Effects of Various Levels of Dietary Selenium on GSH-Px Activity in GSH-Px Fractions by Sephadex G-150 Gel Filtration of Rat Liver Cytosol 30 d after Oral Administration of Sodium Selenite

	Level of dietary Se (mg Se/kg diet)			
	0	0.31	1.25	5.00
GSH-Px activity/Se content ^{a)}	—	61.8	29.2	9.7
GSH-Px activity/protein ^{b)}	—	340	163	107

a) nmol/min/ng Se. b) nmol/min/mg protein.

rat/d) 及び中毒レベル (平均セレン摂取量: $95 \mu\text{g Se/rat/d}$) のいずれの投与群においても, セレン摂取量に依存してほぼ一定のセレン排泄パターンを示した。しかし, 欠乏レベル投与群 (平均セレン摂取量: $0.42 \mu\text{g Se/rat/d}$) における尿中への総セレンの排泄は Fig. 3 (B) のごとく, 経日的に減少する傾向が認められた。

セレンの解毒代謝物として考えられている TMSe^{28,29)} の尿中への排泄パターン (Fig. 4 (A)) は, セレン摂取量がそれぞれ $0.42, 6.3 \mu\text{g Se/rat/d}$ である欠乏及び栄養レベル投与群では 10 日以後において排泄が認められなくなった (検出限界; $0.01 \mu\text{g Se/d}$)。また, セレン摂取量が $26 \mu\text{g Se/rat/d}$ である準中毒レベル投与群における尿中 TMSe 排泄は, 投与開始 2 日後は約 $0.4 \mu\text{g Se/d}$ であったものが 30 日後には約 $0.1 \mu\text{g Se/d}$ となり次第に減少する傾向を示す興味ある結果が得られた。このような

TMSe の尿中排泄挙動を示した原因については, セレンのメチル化代謝が生体内セレンの蓄積レベルに依存する可能性が考えられるが, 今後のさらなる検討が必要であると考え。これに対してセレン摂取量が $95 \mu\text{g Se/rat/d}$ である中毒レベル投与群における TMSe 排泄は, 栄養レベル投与群と比較して投与開始後急激な上昇を示し, 4 日後に一定状態となり, 約 $10 \mu\text{g Se/d}$ の高い TMSe の尿中排泄が維持されることが認められた。さらに, TMSe と同様に解毒代謝物として考えられている DMSe³⁰⁻³²⁾ の呼気中への排泄パターン (Fig. 4 (B)) は, セレン摂取量が $6.3 \mu\text{g Se/rat/d}$ 以下の欠乏及び栄養レベル投与群では投与期間中を通じセレンの排泄が認められない (検出限界; $0.01 \mu\text{g Se/d}$) のに対し, 準中毒レベル投与群においては, 投与開始 16 日後までは約 $0.06 \mu\text{g Se/d}$ の一定レベルの DMSe が排泄されることを示し, その後次第に減少し投与 30 日後には約 $0.01 \mu\text{g Se/d}$ の排泄量を示した。この準中毒レベルにおける呼気中 DMSe 排泄量の減少傾向は, 尿中 TMSe 排泄量の減少と同様の傾向を示すことは注目すべきである。一方, これに対してセレン摂取量が $95 \mu\text{g Se/rat/d}$ である中毒レベル投与群における DMSe の排泄は, 投与開始後急激な上昇を示し, 投与開始 6 日目以降に一定状態となり, 持続して約 $7 \mu\text{g Se/d}$ の高い DMSe の排泄が認められた。

これらの結果から, 尿中 TMSe に対する呼気中 DMSe の排泄量の比は中毒レベル投与群においてはほぼ同量の 1:1, 準中毒レベル投与群においては

10:1の比率を示した。また、連続経口摂取におけるセレン摂取量の相違による呼気中DMSeや尿中TMSeの排泄挙動の検討結果から、セレン摂取量が $26\text{ }\mu\text{g Se/rat/d}$ 以上では尿中TMSe及び呼気中DMSe排泄が認められた。しかし、セレン摂取量が $26\text{ }\mu\text{g Se/rat/d}$ である準中毒レベル投与群では尿及び呼気中へのこれらメチル化代謝物が経日的に漸

減傾向を示すのに対して、セレン摂取量が $95\text{ }\mu\text{g Se/rat/d}$ である中毒レベル投与群では、尿中TMSe及び呼気中DMSe排泄量が約 $10\text{ }\mu\text{g Se/d}$ のほぼ同量の一定レベルの排泄を示す新たな知見が得られた。

4) 摂取セレン累積量及び排泄セレン累積量について セレン摂取量と呼気中DMSeや尿中

Fig. 3. Daily Excretion of Total Se in Feces (A) and in Urine (B) from Rats Orally Administered Sodium Selenite for 30 d

△, 0 mg Se/kg diet; ▲, 0.31 mg Se/kg diet; ○, 1.25 mg Se/kg diet; ●, 5.00 mg Se/kg diet.

Fig. 4. Daily Excretion of Trimethylselenonium Ion in Urine (A) and Dimethyl Selenide in Expiration (B) from Rats Orally Administered Sodium Selenite for 30 d

△, 0 mg Se/kg diet; ▲, 0.31 mg Se/kg diet; ○, 1.25 mg Se/kg diet; ●, 5.00 mg Se/kg diet.

TABLE III. Effects of Vartius Levels of Dietary Selenium as Sodium Selenite on Cumulative Selenium Excretion in Rats for 30 d

Tissue	Level of dietary Se (mg Se/kg diet)			
	0	0.31	1.25	5.00
Total Se intake	12.7±1.3	190±17	772±39	2860±191
Total Se in feces	12.7±0.3 (100.0)	62.9±2.4 (33.1)	281±37 (36.4)	1134±32 (39.7)
Total Se in urine	6.41±0.52 (50.5)	74.0±9.2 (38.9)	273±24 (35.4)	949±195 (33.2)
TMSe in urine	0.05±0.08 (0.4)	0.26±0.06 (0.1)	8.62±2.98 (1.1)	298±50 (10.4)
DMSe in expiration	N.D.	N.D.	1.47±0.75 (0.2)	221±160 (7.7)

Values are means ($\mu\text{g Se}/30\text{ d}$)±S.D. of three rats. Parentheses represent the percentage of total Se intake for 30 d. N.D., not detected.

TMSe の排泄量との関連性を更に解析するため、 Na_2SeO_3 を 30 日間投与したときの経口的な摂取セレン累積量及び排泄セレン累積量について算出した結果を Table III に示す。すなわち、中毒レベル投与群において尿中 TMSe 及び呼気中 DMSe の摂取セレン累積量に対する割合は、それぞれ 10.4%、7.7% となり、栄養レベル投与群における尿中 TMSe 及び呼気中 DMSe の占める割合 (0.1% 及び N.D.) と比較してメチル化代謝物は、はるかに高い割合で排泄されていることが認められた。さらにセレンの栄養及び欠乏レベル投与群では DMSe はいずれも不検出 (検出限界; $0.01\text{ }\mu\text{g Se}/\text{d}$) であった。

以上のことから、栄養レベルから中毒レベルまでの投与によって生体内のセレン分布レベルがセレン摂取レベルに依存して増大し、さらに生体内セレン分布レベルに依存してメチル化代謝物である尿中 TMSe 及び呼気中 DMSe の排泄量が増加する。しかも、これらメチル化代謝物の排泄量はセレンの投与レベルの相違により有意な差として認められた。また、連続経口投与 30 日間に、一定量の尿中 TMSe 及び呼気中 DMSe 排泄を示す 30 日間の摂取セレン累積量は、いずれも $2860\text{ }\mu\text{g Se}/\text{rat}/30\text{ d}$ 以上 (中毒レベル投与群) の摂取であることが認められた。

結 論

必須微量元素であるセレンは栄養生理レベルと考えられる安全域が狭いことが特徴であり、セレンの欠乏あるいは中毒時に生じる病態生理と栄養生理の境界領域におけるセレンのメチル化代謝物の生成挙

動を明らかにする目的で、 Na_2SeO_3 の欠乏から中毒レベル含有飼料の 30 日間経口摂取実験を行った結果、以下のことが明らかとなった。

1) 欠乏 (0 mg Se/kg diet)、栄養 (0.31 mg Se/kg diet)、準中毒 (1.25 mg Se/kg diet) 及び中毒レベル (5.00 mg Se/kg diet) 投与群における 1 日平均セレン摂取量はそれぞれ 0.42, 6.3, 26 及び 95 $\mu\text{g Se}/\text{rat}/\text{d}$ であることが明らかとなった。また、組織中のセレン分布量はこれら各投与群の 1 日平均セレン摂取量に依存していることが認められた。

2) 肝 cytosol のゲルろ過の結果は、摂取セレンレベルが増加し、中毒レベルになると GSH-Px の活性中心以外に過剰のセレンが結合し、しかも GSH-Px 活性を失活させる可能性を示唆した。

3) 栄養レベルから中毒レベルにおけるセレン投与によって、生体内セレンレベルに依存してメチル化代謝物である尿中 TMSe 及び呼気中 DMSe の排泄量が増加することが認められた。また、セレン摂取量が 95 $\mu\text{g Se}/\text{rat}/\text{d}$ である中毒レベル投与群において TMSe 及び DMSe は、いずれもほぼ同量 (約 10 $\mu\text{g Se}/\text{d}$) の一定レベルの排泄挙動を示した。

4) セレンの欠乏から栄養生理の曝露レベルにおける生体内のセレンレベルを評価するためには、組織中セレン量及び GSH-Px 活性を把握することが有効である。また、メチル化代謝物である尿中 TMSe 及び呼気中 DMSe の排泄挙動を把握することによって中毒レベルのセレンの曝露量及び生体内累積量を予測する有効な測定指標となり得ることが考えられた。

引用文献

- 1) 木村修一, 左右田健次編, “微量元素と生体,” 秀潤社, 東京, 1987, pp.38, 74, 110.
- 2) H.E. Ganther, *J. Am. Coll. Toxicol.*, **5**, 1 (1986).
- 3) K. Schwartz, C.M. Foltz, *J. Am. Chem. Soc.*, **79**, 3292 (1957).
- 4) C. Little, P.J. O'Brein, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **31**, 145 (1968).
- 5) M.J. Berry, L. Banu, P.R. Larsen, *Nature* (London), **349**, 438 (1991).
- 6) H.D. Hurt, E.E. Cary, W.J. Visek, *J. Nutr.*, **101**, 761 (1971).
- 7) Keshan Disease Research Group, *Chin. Med. J.*, **92**, 471 (1979).
- 8) 根津理一郎, 高木洋治, 岡田 正, 最新医学, **45**, 706 (1990).
- 9) W.O. Robinson, *J. Ass. Off. Agr. Chemist.*, **16**, 423 (1934).
- 10) O.A. Beath, H.F. Eppson, C.S. Gilbert, *Wyo. Agr. Exp. Sta. Bull.*, **206**, 55 (1935).
- 11) 中室克彦, 佐谷戸安好, 外村正治, 小瀬洋喜, 衛生化学, **20**, 75 (1974).
- 12) 和田 攻, 北川泰久, 柳沢祐之, トキシコロジーフォーラム, **8**, 518 (1985).
- 13) National Research Council, “Nutritional Requirement of Domestic Animal, Beef Cattle”, National Academy Press, Washington, D. C., 1984, p.65.
- 14) J.McC. Howell, *Occ. Publ. Br. Soc. Anim. Prod.*, **7**, 107 (1983).
- 15) National Research Council, “Mineral Tolerance of Domestic Animals”, National Academy Press, Washington, D. C., 1980, p.178.
- 16) S.H. Zeisel, A.L. Ellis, X.F. Sun, E.A. Pomfret, B.T.G. Ting, M. Janghorbani, *J. Nutr.*, **117**, 1609 (1987).
- 17) S.J. Foster, R.J. Kraus, H.E. Ganther, *Arch. Biochem. Biophys.*, **15**, 77 (1986).
- 18) P.D. Whanger, J.A. Butler, *J. Nutr.*, **118**, 846 (1988).
- 19) J.H. Watkinson, *Anal. Chem.*, **38**, 92 (1966).
- 20) N. Oyamada, M. Ishizaki, *Bunseki Kagaku*, **31**, 17 (1982).
- 21) N. Oyamada, M. Ishizaki, *Anal. Sci.*, **2**, 365 (1986).
- 22) B.G. Lewis, C.M. Johnson, C.C. Delwiche, *J. Agric. Food Chem.*, **14**, 638 (1966).
- 23) N. Oyamada, M. Kikuchi, M. Ishizaki, *Anal. Sci.*, **3**, 373 (1987).
- 24) R.A. Lawrence, R.F. Burk, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **71**, 952 (1976).
- 25) R.F. Itzhaki, D.M. Gill, *Anal. Biochem.*, **9**, 401 (1964).
- 26) M. Janghorbani, N.E. Lynch, C.S. Mooers, B.T.G. Ting, *J. Nutr.*, **120**, 190 (1990).
- 27) H.E. Ganther, *Biochemistry*, **7**, 2898 (1968).
- 28) I.S. Palmer, D.D. Fisher, A.W. Halverson, O.E. Olson, *Biochim. Biophys. Acta*, **177**, 336 (1969).
- 29) B.D. Obermeyer, I.S. Palmer, O.E. Olson, A.W. Halverson, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **20**, 135 (1971).
- 30) K.P. McConnell, O.W. Portman, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **79**, 230 (1952).
- 31) H.E. Ganther, *Biochemistry*, **5**, 1089 (1966).
- 32) K. Nakamuro, Y. Sayato, Y. Ose, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **39**, 521 (1977).