

シリーズ リフレッシュが必要な微量元素に関する常識

セレン補充によるがん予防と糖尿病発症リスク —SELECT 研究とその後—

小山 洋^{*1}, MUTAKIN^{*2}, Rizky ABDULAH^{*2}, 山崎 千穂^{*1}, 亀尾 聡美^{*1}

^{*1} 群馬大学大学院医学系研究科公衆衛生学分野

^{*2} パジャジャラン大学薬学部

Selenium Supplementation Trials for Cancer Prevention and the Subsequent Risk of Type 2 Diabetes Mellitus: Selenium and Vitamin E Cancer Prevention Trial and After

Hiroshi KOYAMA^{*1}, MUTAKIN^{*2}, Rizky ABDULAH^{*2}, Chiho YAMAZAKI^{*1} and Satomi KAMEO^{*1}

^{*1} Gunma University Graduate School of Medicine, Department of Public Health

^{*2} Padjadjaran University Faculty of Pharmacy

Abstract The essential trace element selenium has long been considered to exhibit cancer-preventive, antidiabetic and insulin-mimetic properties. However, recent epidemiological studies have indicated that supranutritional selenium intake and high plasma selenium levels are not necessarily preventive against cancer, and are possible risk factors for developing type 2 diabetes mellitus. The results of the SELECT, Selenium and Vitamin E Cancer Prevention Trial, in which it is hypothesized that the supplementations with selenium and/or vitamin E decrease the prostate cancer incidence among healthy men in the U.S., showed that the supplementation did not prevent the development of prostate cancer and that the incidence of newly diagnosed type 2 diabetes mellitus increased among the selenium-supplemented participants.

The Nutritional Prevention of Cancer (NPC) trial showed a decreased risk of prostate cancer among participants taking 200 µg of selenium daily for 7.7 years. However, the results of the NPC trial also showed an increased risk of type 2 diabetes mellitus in the participants with plasma selenium levels in the top tertile at the start of the study.

Recently, the association of serum selenium with adipocytokines, such as TNF-α, VCAM-1, leptin, FABP-4, and MCP-1, has been observed. Selenoprotein P has been reported to associated with adiponectin, which suggests new roles of selenoprotein P in cellular energy metabolism, possibly leading to the increased risk of type 2 diabetes mellitus and also the development of cancer. Further studies are required to elucidate the relationship between selenium and adipocytokines and the role of selenoprotein P in the development of type 2 diabetes mellitus and cancer at high levels of selenium.

Key words: selenium (セレン), SELECT (SELECT研究), cancer chemoprevention (がん化学予防), type 2 diabetes mellitus (2型糖尿病), selenoprotein P (セレンプロテインP), adipocytokines (アディポサイトカイン)

1. はじめに

受付 2012 年 11 月 25 日, 受理 2012 年 12 月 13 日
Reprint requests to: Hiroshi KOYAMA
Gunma University Graduate School of Medicine, Department of
Public Health, 3-39-22, Showa, Maebashi, Gunma 371-8511, Japan
TEL: +81(27)220-8016
E-mail: hkoyama@health.gunma-u.ac.jp

必須微量元素セレンはこれまでがん化学予防の有力な候補とされ, また, インスリン様作用を示すことから, がんだけでなく 2 型糖尿病の予防における有用性も期待されてきた。しかしながら, 米国において前立腺がん予

防を目的にセレンとビタミン E を用いて開始された SELECT (Selenium and Vitamin E Cancer Prevention Trial) 研究 (1) では、途中経過においてセレン補充が前立腺がん発症リスクの低減につながらず、また、有意ではないがセレン補充が糖尿病のリスクを高めている結果 (2) が得られ中断された。もう一つの代表的なセレン補充研究である NPC (National Prevention of Cancer) 研究 (3) においてもセレンが 2 型糖尿病発症のリスクを有意に高めることが明らかにされている。

セレン補充は前立腺がんを予防しないのか、そして、糖尿病のリスクを高めるのか、本稿ではこれまでに実施された前立腺がんと糖尿病に関するセレン疫学研究を概観し、そのメカニズムに関するいくつかの仮説について考察を試みた。

2. セレン研究のこれまでの概要

セレンは 1817 年に発見された元素で、その名称は月の女神に由来する。硫黄やテルルとともに酸素族に属し、性質も類似している。セレンには、亜セレン酸などの無機セレンとセレノシステインやセレノメチオニンなどの有機セレン化合物がある。生体内に取り込まれたセレンは分解・還元され、そしてリン酸化されたのちにセレノシステインとしてタンパク質の中に組み込まれる。セレノシステインは、終止コドンとして機能している UGA によってコードされている。UGA によってセレノシステインを配列中に含むタンパク質をセレノプロテインと定義している。ゲノム解析により、ヒトにおいて 25 種類のセレノプロテイン遺伝子の存在が確認されている。その代表的なものをいくつか紹介すると、活性酸素種や過酸化物を還元する抗酸化的酵素であるグルタチオンペルオキシダーゼ (GPx)、肝で合成され血漿中に分泌され脳を含む各組織へのセレン輸送や血管内で活性酸素を除去しているセレノプロテイン P、甲状腺ホルモンを脱ヨード化し活性化・不活化を調節している甲状腺ホルモン脱ヨード化酵素、細胞質内で酸化還元活性を担っているチオレドキシンを還元するチオレドキシ還元酵素などがあり、その他のセレノプロテインもセレノシステインを有することからいずれも抗酸化的防御や細胞内酸化還元反応の調整を行っていると考えられている。

セレンの生体作用には上記のセレノプロテインを介してのものだけでなく、様々なセレン化合物による直接的な作用も挙げられ、多彩な生体作用について明らかにされている。がん細胞に対してもセレンはアポトーシスを誘導するなどの作用が示され、ヒトにおいてもがんの化学予防の有力な候補として注目されてきた。糖代謝との関連では、亜セレン酸のインスリン様作用について、インスリン受容体の活性化やグルコーストランスポータータンパク質の膜への移動などインスリンが行う作用のほとんどを亜セレン酸が代行できることが示されている。しかしながら、ヒトにおけるセレンと糖代謝、ある

いは糖尿病との関連についての疫学研究は十分にはなされてこなかった。

3. 前立腺がん予防のための介入疫学研究

これまでに実施された代表的な前立腺がん予防のための介入疫学研究を表 1 に示す。先駆的介入研究である NPC 研究と ATBC 研究の成果から、少なくとも前立腺がんに関してはセレンやビタミン E による化学予防を試みる価値がある可能性が示され、さらに後述する *in vitro* 研究の成果もあり、SELECT 研究へとつながった。

1) NPC 研究

NPC 研究 (4) は SELECT 研究の計画の基盤となった疫学研究である。米国東部の医療施設で治療を受けた 1,312 名の皮膚の基底細胞がんおよび有棘細胞がんの既往者を対象にしたもので、セレン補充によるこれらの皮膚がんの再発防止を目指し 1983 年に開始された。無作為割り付けによって対象者はセレン補充群とプラセボ群に分けられ、1 日 200 μg のセレンがセレン強化酵母の形で与えられた。1993 年までの 4 年半 (中央値) の観察で本来の目的である皮膚がんの再発率を下げることはできなかった。しかし、セレン補充群ではプラセボ群に比べ前立腺がん発症の 63% 減少、肺がんの 46% 減少、大腸直腸がんの 58% 減少が示され、全がんではセレン補充群で 37% の減少が認められた。

NPC 研究では、さらに介入を 1996 年まで継続し、Duffield-Lillico ら (5) は 7.4 年間 (中央値) の経過観察を行い、セレン補充群ではプラセボ群と比べてやはり皮膚がんの再発率は低下しなかったものの、前立腺がん発症の 52% の減少が見られ、全がんでは発症率が 25% の減少を示した。

NPC 研究では、介入研究開始時点におけるベースラインでの血漿中セレン濃度によって対象者を 3 分位、すなわち ≤ 105.2 , $105.3-121.6$, $>121.7 \mu\text{g/L}$ の 3 群に分けての解析も行われている。下位 2/3 にあたる $121.6 \mu\text{g/L}$ 以下群では、補充による全がん発症リスクの有意な減少が見られたが、 $121.7 \mu\text{g/L}$ 以上の群では、むしろ、有意ではないが逆に発症リスクの増加が見られた。前立腺がんのマーカーである PSA 値も含めて解析を行ったところ、セレン補充の効果はベースラインでの PSA 値が 4 ng/ml 以下の低値である群に限られていた (6)。

2) ATBC 研究

SELECT 研究ではセレンの他にビタミン E の補充も行われているが、その根拠となったのが ATBC (Alpha-Tocopherol, Beta-Carotene Cancer Prevention) 研究 (7) である。ATBC 研究は 1985 年に開始された米国とフィンランドの共同研究で、29,133 名の男性喫煙者における肺がんのリスク低下を目的とし、対象者は 1) ビタミン E 補充群、2) β -カロテン補充群、3) ビタミン E + β カロテン補

表 1 セレンおよびビタミン E によるがん化学予防大規模介入研究

研究名 (開始年)	調査地 対象者 目 的	サ プ リ メ ン ト 内 容	群 分 け	終 了 年 / 観 察 期 間	結 果	文 献
NPC (1983 年)	米国東部 皮膚がん既往者 1,312 人 皮膚がん既往者の再発防止	セレン酵母 (Se として 200 µg)	1. セレン補充 2. プラセボ	1993 年まで 4 年半	皮膚がん再発予防効果なし セレン補充群における前立腺がん 発症率の 63% 減少	(4)
				1996 年終了 7.4 年	皮膚がん再発予防効果なし 前立腺がんリスクの 52% 減少	(5)
				開始時 PSA 低値群では： セレン補充により前立腺がん発症 65% 減少 開始時血清セレン低値群では： セレン補充により前立腺癌発症の有意な減少 開始時血清セレン高値群における セレン補充で糖尿病発症リスク 2.7 倍		(6)
ATBC (1985 年)	米国およびフィンランド 50-69 才男性喫煙者 29,133 人 喫煙者における肺がん予防	ビタミン E (α トコフェ ロールとして 50 mg) β カロテン 20 mg	1. ビタミン E 補充 2. β カロチン補充 3. ビタミン E + β カロチン補充 4. プラセボ	1993 年まで介入 5-8 年間	肺がんに関しては効果なし ビタミン E 補充群で前立腺がん発症 32% 減少	(7)
				介入終了後 2001 年まで観察	ビタミン E 補充群で前立腺がん発症 12% 減少	(8)
SELECT (2001 年)	米国, プエルトリコ, カナダ 男性 ≥55 才 (アフリカ系男性 ≥50 才) 直腸診正常 + PSA ≤4 ng/ml 35,533 人 中高年男性における前立腺がん予防	セレンメチオニン (Se として 200 µg) ビタミン E 400 mg	1. セレン補充 2. ビタミン E 補充 3. セレン + ビタミン E 補充 4. プラセボ	2008 年まで 5.46 年	セレン補充群で前立腺がん発症リスク = 1.04 セレン補充群で糖尿病発症リスク = 1.07 ともに, 有意ではないがやや上昇	(2)
				2008 年介入終了 2011 年まで 7-12 年観察	セレン補充群で前立腺がん発症リスク = 1.09 セレン補充群で糖尿病発症リスク = 1.04 ともに, 有意ではないがやや上昇	(23)

NPC: National Prevention of Cancer
ATBC: Alpha-Tocopherol, Beta-Carotene Cancer Prevention
SELECT: The Selenium and Vitamin E Cancer Prevention Trial

表 2 前立腺がん由来培養細胞に対するセレン化合物の作用

セレン化合物	Cell types	主な結果	文献
メチルセレン酸	LNCaP	5–10 μ M メチルセレン酸は PSA 分泌を抑制	(10)
メチルセレン酸	LNCaP	3–5 μ M メチルセレン酸でアンドロゲン受容体 mRNA の減少 PSA 分解の亢進	(11)
メチルセレン酸	LNCaP	5 μ M メチルセレン酸は mRNA レベルでアンドロゲン受容体の発現抑制	(12)
亜セレン酸	DU145	亜セレン酸は LNCaP において p53 リン酸化を介してアポトーシス	(13)
メチルセレン酸	LNCaP	メチルセレン酸は p53 を介さず DU145 でも LNCaP でも Akt が重要	(14)
メチルセレン酸	PC3	10 μ M メチルセレン酸は Akt のリン酸化を抑制	(14)
亜セレン酸	LNCaP	亜セレン酸による酸化的ストレスによるミトコンドリア傷害を介してアポ トーシス	(15)
亜セレン酸	LNCaP	3 μ M 亜セレン酸は p53 のリン酸化を介してアポトーシス	(16)
メチルセレン酸		メチルセレン酸では 10 μ M でも起らない	
亜セレン酸	LNCaP	3 μ M 亜セレン酸は活性酸素を発生し p53 をリン酸化しアポトーシス アポトーシス誘導 TRAIL と亜セレン酸では相乗作用	(17)
亜セレン酸	PC3	2.5 μ M 亜セレン酸 PC3 細胞に p53 を強制発現するとアポトーシス	(18)
セレノメチオニン	LNCaP	セレノメチオニンは 100 μ M でも LNCaP 細胞からの PSA 分泌抑制作用なし	(19)
セレノメチオニン +メチオニナーゼ	LNCaP PC3	セレノメチオニン+メチオニナーゼで LNCaP において p53 を介してアポ トーシス	(20)
セレノメチオニン メチルセレン酸	LNCaP	10 μ M セレノメチオニンで 2,336 遺伝子の発現亢進。メチルセレン酸に対 する応答とは異なる。	(21)
セレノメチルセレノシステイン	LNCaP	カスパーゼの誘導を介してアポトーシス。Akt のリン酸化	(22)

充群, 4) プラセボ群の 4 群に割り振られた。肺がんについてはビタミン E 補充群では有意な結果は得られず, β -カロテン補充群ではかえってリスクが高まった。前立腺がんについてはビタミン E 補充群で非補充群との比較において発症率が 32%, 死亡率が 41% 減少した。介入後, さらに経過観察を行った結果では, がん予防効果は薄れたが前立腺がんについてはビタミン E 補充群で 12% の減少がみられた (8)。

4. 前立腺がんとセレンの in vitro 研究

がん細胞に対するセレンの作用については表 2 に示すように様々な報告がなされている。セレンの化学形および前立腺がん細胞の細胞株ごとに様々な影響の違いがあり, 特に, 有効な化学形としてメチルセレノールを中心に研究が進められてきた (9)。メチルセレノールが不安定であるため, 実験系ではその前駆体であるメチルセレン酸, セレノメチオニンおよびセレノメチルセレノシステインが用いられる。このうちメチルセレン酸は酵素なしでメチルセレノールへ変換されるため in vitro 研究に適しており, アンドロゲン依存性の前立腺がん由来細胞である LNCaP 細胞においてアンドロゲン受容体の発現を抑制することによって PSA 分泌を抑制する作用が示されている (10)。さらにメチルセレン酸添加によりアンドロゲン受容体の mRNA の減少, PSA の分解亢進 (11), mRNA の不安定化 (12) など, メチルセレン酸はアンドロゲンの作用発現に多段階にわたって作用していることが示されている。

また, メチルセレン酸は Akt のリン酸化を阻害する (14) などの作用を有することが明らかにされている。セ

リン/スレオニンキナーゼである Akt はリン酸化によって活性化され, アポトーシス回避や細胞増殖に働いている。

LNCaP 細胞では wild-type の p53 を発現しており, メチルセレン酸添加では p53 のリン酸化はおこらないが, 亜セレン酸添加によって p53 がリン酸化される (13)。亜セレン酸は, LNCaP 細胞においてミトコンドリア傷害 (15) や p53 のリン酸化を介してアポトーシスを誘発する (16)。また, さらにアポトーシス誘発 TRAIL (TNF-related apoptosis-inducing ligand) との間に相乗作用が報告されている (17)。p53 が発現していない PC3 細胞では亜セレン酸による作用は弱く, PC3 細胞に p53 を強制発現させると亜セレン酸によるアポトーシス (18) が誘発されることが示されている。

一方, セレノメチオニンは単独では 100 μ M でも LNCaP 細胞からの PSA 分泌を抑制する効果はなく (19), メチオニナーゼの存在下であればメチルセレノールに変換され LNCaP 細胞においてアポトーシスを誘導する (20)。しかし, セレノメチオニン単独であっても様々な遺伝子発現の亢進が起きていることも明らかにされつつある (21)。

セレノメチルセレノシステインについては, LNCaP 細胞においてカスパーゼを介した 2 つのアポトーシス誘導経路の亢進と Akt のリン酸化阻害による細胞増殖抑制の 3 つの経路を介して抗がん作用を示すことが明らかにされている (22)。

5. SELECT 研究

SELECT 研究は, 開始以前に行われたこうした疫学研究や in vitro 研究の成果を受けて計画された (1)。対象者

は、55 歳以上の米国人男性（アフリカ系米国人男性は 50 歳以上）で、1) セレン補充群、2) ビタミン E 補充群、3) セレン+ビタミン E 補充群、4) プラセボ群の 4 群に割り振られた。投与されたセレンの化学形はセレンメチオニンである。また、対象者は血清 PSA 値が 4 ng/ml 未満で直腸診にて前立腺がんの疑いや前立腺がんの既往がなく、さらに正常血圧（<160/90 mmHg）で抗凝固剤の服用のないことを条件に選ばれた。一部プエルトリコおよびカナダを含む全米 428 地点から総数 35,533 人が対象者としてリクルートされた。

4 群のベースラインでの血清中セレン濃度の平均値は、約 135 µg/L であった。2008 年までの中央値 5.46 年間の追跡結果 (2) では、ビタミン E 補充群での前立腺がん発症の相対リスクは 1.13、セレン補充群で 1.04、セレン+ビタミン E 補充群で 1.05 であり、どの群も有意ではないが補充がかえってリスクを高める結果となった。この時点で補充は中断され、さらに 2011 年まで経過観察が行われた (23)。その結果、ビタミン E 補充群での前立腺がん発症のハザード比は 1.17 であり有意な上昇がみられ、セレン補充群ではハザード比 1.09、セレン+ビタミン E 補充群ではハザード比 1.05 で有意ではないが 1 より大であった。このように SELECT 研究ではセレン補充によって前立腺がんの発症リスクを下げるという結果は得られなかった。

6. セレンの栄養状態と前立腺がん発症リスクに関する観察疫学調査

1966 年から 2005 年までに公表された 16 のセレン補充を伴わない観察研究について Etminan ら (24) がメタアナリシスを行い、セレン栄養状態がもっとも低い群に比べてより高い群では前立腺がん発症の相対リスクが低いことが示された。Brinkman ら (25) は、20 の研究論文を対象にメタアナリシスを行い、血清中セレン濃度が高いほど前立腺がんのリスクが低くなることを見いだしている。

これらのレビュー以降に、さらに以下の 3 つの観察研究が報告されている。米国ハワイとカリフォルニアで行われた MEC (Multiethnic Cohort) 研究では、前立腺がん症例群で 130 µg/L、対照群で 140 µg/L であり、アフリカ系米国人において血清中セレン濃度が高いほど前立腺がんのリスクが低くなることを見いだしている (26)。ヨーロッパにおける EPIC (European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition) 研究 (27) ではコホート内症例対照研究が行われた。959 人の前立腺がん発症者とその対照者 1,059 人の比較で、ベースラインにおける血清中セレン濃度は前立腺がんの発症と特に有意な関連は見られなかった。さらに、EPIC-Heidelberg 研究 (28) においても、血清中セレン濃度は症例群で 86.2 µg/L、対照群で 87.7 µg/L であり、前立腺がんの症例群で血清中セレン濃度が低かったがその差はわずかであった。

7. SELECT 以外の前立腺がんに対するセレン補充介入研究

セレン補充を行う介入研究については、Bjelakovic ら (29) が、セレンも含めてベータカロチン、ビタミン A、ビタミン C およびビタミン E の補充を行った研究の 68 論文についてメタアナリシスを行っている。ベータカロチンやビタミン A およびビタミン E の補充では前立腺がんの死亡率が高まる可能性が示唆され、ビタミン C とセレンでのみ前立腺がんの死亡率を低下させる傾向が示された。

前立腺上皮内高度異形成患者を対象として、セレン補充による前立腺がんへの進展を予防する試みが行われている (30)。前立腺上皮内高度異形成と診断された患者 423 人が無作為に 200 µg のセレンメチオニン補充群とプラセボ群に分けられた。セレン補充群をベースラインにおける血清中セレン濃度の 4 分位で分けたところ、もっとも低い 106 µg/L 未満の群でのその後の前立腺がんへの進展の相対リスクが 0.82 となり、有意ではなかったが、セレン栄養状態が低い群ではセレン補充を考えてもいいのではないかとしている。

8. セレン栄養状態とセレン補充による前立腺がん予防効果

Rayman (31) は、これらの疫学研究も含めてレビューを行い、セレン補充を行わない前向き観察研究では EPIC 研究を除いてセレンの栄養状態が高いほど前立腺がんの発症リスクが低くなることが示されている、と結論づけている。EPIC 研究が行われたヨーロッパはセレン準欠乏地帯であり、EPIC 研究 (26) ではベースラインでの血清中セレン濃度ごとに 5 分位で分けての分析が行われているが、それらの血清中セレン濃度の区間は、<62.0、62.0–68.5、68.6–75.0、75.1–84.0、84.1 < µg/L であり (26)、どの群も米国東部で行われた NPC 研究における対象者の血清中セレン濃度の第一 3 分位である 105.2 µg/L に比べはるかに低値で分類が行われている。米国は土壤中セレンが高濃度であることが知られ、米国北部の穀倉地帯では家畜のセレン中毒症が報告されている。一方、ヨーロッパは土壤中セレン濃度が低く、農産物中のセレン濃度も低い。これらの違いがベースラインでのセレン栄養状態に大きく影響している。ヨーロッパで実施された EPIC 研究 (26, 28) では、全対象者が準セレン欠乏状態であるために、どの群においても前立腺がんの発症リスクに有意差が見られなかったものと考えられる。

また、Rayman (31) はセレン補充を行った NPC 研究と SELECT 研究の 2 つの研究結果からセレン補充を行うことによってセレン栄養状態が適正になる場合には前立腺がんに対しセレンは予防的に働くのではないかとしている。NPC 研究では、ベースラインで血漿中セレン濃度が 121.6 µg/L 未満の下位 2/3 群でのみセレン補充による全が

ん発症リスクの有意な減少が見られ、上位群では有意ではないが逆に発症リスクの増加が見られている。また、SELECT 研究ではベースラインにおける群ごとの血清中セレン濃度はすべてこの 121.6 $\mu\text{g/L}$ を上回っており、既に十分なセレン栄養状態である対象者にさらに 200 μg のセレン補充が行われたと考えられる。

9. 疫学研究におけるセレンと 2 型糖尿病との関連

NPC 研究で、2007 年にセレン補充によって 2 型糖尿病の発症リスクが高まるという結果 (3) が公表された。研究開始時に糖尿病を発症していた対象者を除外した 1,202 人 (セレン補充群 600 人, 対照群 602 人) の 7.7 年間の観察期間で新たに 97 名が 2 型糖尿病を発症した。内訳はセレン補充群から 58 人, 対照群からは 39 人であった。セレン補充群のハザード比は 1.55 で 2 型糖尿病の有意な増加が認められた。開始時における血漿中セレン濃度レベルの 3 分位, すなわち ≤ 105.2 , $105.3-121.6$, > 121.7 $\mu\text{g/L}$ の 3 群に分けた場合, もっとも高い群のハザード比は 2.70 であった。

SELECT 研究においても、2008 年までの 2 型糖尿病発症の相対リスクはビタミン E 補充群で 1.04, セレン補充群において 1.07, セレン+ビタミン E 補充群で 0.97 であり、有意ではないがセレン補充と糖尿病との関連が懸念される結果であった (2)。補充打ち切り後, さらに 2011 年まで経過観察を行った結果 (23), 2 型糖尿病発症の相対リスクは, ビタミン E 補充群で 1.05, セレン補充群で 1.04, セレン+ビタミン E 補充群で 0.99 であった。やはりセレン補充群において有意ではないが糖尿病リスクの上昇が見られた。

NPC 研究および SELECT 研究以外のセレンと糖代謝との関連に関する疫学研究はがん予防に関する研究に比べそれほど多くない。ベースラインでの血清中セレン濃度の比較を行った 2 つの症例対照研究 (32, 33) では症例群のほうが低セレンであること, また前向き疫学調査である EVA (Prospective Epidemiology of Vascular Ageing Study) 研究 (34) においても血清セレン濃度が高い群で糖尿病発症のリスクが低いことが示された。イタリアにおける横断研究 (35) では糖尿病患者の血清中セレン濃度は 78 $\mu\text{g/L}$ で健常者 85 $\mu\text{g/L}$ に比べて低く, 血清中の GPx 含有セレン量とアルブミン含有セレン量は空腹時血糖値や HbA1c と負の相関関係が見られた。血清中セレン濃度が低くセレンタンパク質が少ない群で糖尿病発症リスクが高いという結果であった。

一方, フランスで実施された SIVUMAX (Supplementation with Antioxidant Vitamins and Minerals) 研究 (36) ではベースラインでの血清中セレン濃度と血糖値との間に関連はなく, その後 7.5 年間のセレンを含めたサプリメントの補充も影響がなかった。

米国における大規模な横断調査である NHANES III (37) の分析結果では, メタボリックシンドローム群と非

シンドローム群において腹部肥満度や血清中性脂肪値で有意な差がみられたものの, 血清中セレン濃度の有意差は見られなかった。その後行われた糖尿病発症者と非発症者での比較 (38) では, 糖尿病発症群で血清中セレン濃度が有意に高いという結果が報告され, 糖尿病予防を目的としたセレン補充はすべきでないとしている。

Rayman (31) はセレンの栄養状態と糖代謝との関連に関する疫学研究をレビューし, セレンと前立腺がん発症との関連と同様, ベースラインにおいてセレンの栄養状態がほぼ充足されている米国での観察研究では, セレン栄養状態と糖代謝との間に有意な関連は見出されていないとしている。また, セレン補充についてもセレンが充足されている群に補充を行った場合に糖尿病発症のリスク上昇が観察されていることから, 糖尿病予防に関しても適正なセレン摂取レベルがあり, それ以上でも以下でもリスクを高めてしまうのではないかとしている。

10. セレノメチオニンの特徴と糖代謝

NPC 研究で用いられたセレン強化酵母中のセレンの大部分はセレノメチオニンとして存在していると考えられ, SELECT 研究ではセレノメチオニンが用いられた。SELECT 研究開始当初に Schrauzer (39) によるセレノメチオニンに関する詳細なレビューが行われている。セレノメチオニンはメチオニンのセレンアナログで, 自然界に存在するアミノ酸であり, 急性毒性が低くセレン化合物の中でも安全性が高いものと考えられてきたが, 慢性毒性については充分解明されているとは言えない。セレノメチオニンは, メチオニンの代謝経路であるシスタチオニン経路によりセレノシステインに代謝される。さらに無機セレンにまで代謝された後にセレノプロテイン合成に用いられる。

セレノメチオニンの補充によって糖尿病が発症することについて, いくつかの可能性が考えられる。一つは, 動物の生体内でセレノメチオニンはメチオニンと区別されず, このため, タンパク質のアミノ酸配列中のメチオニンの位置にセレノメチオニンが入りこむという点 (39) である。組み込まれる時点では区別されないが, 硫黄の代わりにセレンを含むのでタンパク質の大きさが異なり, タンパク質全体のコンフォメーションに影響を与える。配列中にメチオニンを含む酵素中にセレノメチオニンを置換させた場合の酵素活性の低下についていくつかの報告がある (39)。すなわち糖代謝に関与する酵素でセレノメチオンへの置換が起った場合, 糖代謝の効率が下がる可能性が有ると考えられる。

また, セレノメチオニン自体の生理活性は弱いとされている。例えば, セレノメチオニンは単独では前立腺がん細胞株である LNCaP 細胞に対する生理活性は低い (19)。しかしながら, *in vitro* 研究では表 2 に示すようにメチオニナーゼ存在下であればアポトーシスを誘導する (20) ことが示されている。すなわち, 生理活性が低いと

いわれるセレノメチオニンでもメチオニナーゼが発現している組織や細胞においては様々な生体影響を及ぼす可能性が考えられる。

セレノメチオニンの代謝経路であるシスタチオニン経路は、メチオニンの最終代謝産物であるシステインによるネガティブフィードバックを受ける。よって食事や服薬等でシステインが多く摂られている場合、シスタチオニン経路にブレーキがかかりセレノメチオニンが滞る可能性がある (40)。また、セレノメチオニンはタンパク質のターンオーバーが活発な器官に集積しやすいことが明らかにされており (39)、そうした器官の一つであり、また、インスリン産生臓器でもある膵におけるセレノメチオニンの慢性毒性について検討する必要がある。

11. セレノプロテイン P の新たな役割

血漿中のセレンの約 60% を占めているセレノプロテイン P (41) に関しては、血清中セレノプロテイン P セレン量が高いほど脳血管疾患に対して予防的に働く (42) など、血流中で抗酸化的な役割を果たし、また、各組織へのセレン輸送タンパクとして機能していることが示されている。セレンがセレノプロテイン中に組み込まれたためには mRNA 上におけるセレノシステイン導入シークエンス (SECIS) の存在とそこに結合するアダプター分子である SECIS 結合タンパク質 2 (SBP2) が必要であるが、その SBP2 遺伝子のヘテロ異常を有する家系において、セレノプロテイン P レベルが低値で、しかもインスリン感受性が高まっていることが見出され、糖代謝においてセレノプロテイン P レベルが低いほうがいいのではないかという仮説が出されている (43)。

セレノプロテイン P が糖代謝を悪化させるというこの仮説を裏付ける結果が報告されつつある。Misu らは、ヒトの肝におけるセレノプロテイン P の mRNA レベルとインスリン抵抗性との間に有意な相関が見られること、*in vitro* で培養肝細胞および筋細胞において精製セレノプロテイン P の添加がインスリンによるシグナル伝達と糖代謝を障害すること、セレノプロテイン P をノックダウンしたマウスではインスリン感受性と耐糖能の改善が見られたことを報告している (44)。そのメカニズムとして、セレノプロテイン P が AMP 活性化プロテインキナーゼ (AMPK) の活性化を阻害することによって耐糖能障害を引き起こしているのではないかとしている。AMPK は、膵 β 細胞においてインスリン分泌調節の中心的な酵素である (45) だけでなく、エネルギー代謝全般に関わる重要なキーエンザイムで発がんに対しても予防的に関与しており (46)、セレン補充による糖尿病とがん発症リスクの両方を一元的に説明できる可能性がある。

12. セレンとアディポサイトカイン

Misu ら (47) は、36 人の糖尿病患者において、血清中セ

レノプロテイン P は血糖値と正の相関を示し、アディポネクチンとは負の相関を示すこと、セレノプロテイン P ノックアウトマウスでは、アディポネクチンが食餌内容によって上昇することなどセレノプロテイン P とアディポネクチンとの関連性について様々な知見を報告している。アディポネクチンは糖の取り込みや脂肪酸の燃焼を促進し、インスリン感受性の亢進に関与している重要なサイトカインであり、また、細胞増殖抑制やアポトーシス調節にも関与しているため、発がんに対しても予防的に働いていることが示唆されており (48)、セレノプロテイン P とアディポネクチンとの関連については、糖代謝のみならず、発がんリスクについてもセレノプロテイン P によって調節されている可能性が考えられる。

しかしながら、疫学研究ではセレンとアディポネクチンとの間には明確な関連は示されていない。イギリスで行われた介入研究である UK PRECISE (Prevention of Cancer by Intervention with Selenium) 研究 (49) では、501 人を対象に 6 ヶ月間の無作為化比較対照試験が行われた。補充したセレンはセレン酵母で 100, 200, 300 $\mu\text{g Se/day}$ であった。セレン補充前のベースラインにおいて血清中セレン濃度とアディポネクチンとの間に関連はなく、セレン補充によって開始前の血清セレンの平均濃度 88.5 ng/g からセレンの補充量ごとにプラセボ群で 90.2 ng/g, 100 $\mu\text{g/day}$ 補充群で 143.9 ng/g, 200 $\mu\text{g/day}$ 補充群で 188.1 ng/g, 300 $\mu\text{g/day}$ 補充群で 225.9 ng/g へと増加が見られたが、アディポネクチンの値には各群とも変化は見られなかった。

アディポネクチン以外の種々のアディポサイトカインも脂質代謝だけでなく糖代謝や炎症反応にも関与しており、セレンとの関連について様々な報告がある。腫瘍壊死因子 TNF- α は炎症性サイトカインであり、腫瘍を壊死させる因子として同定されたが、肥満に伴うメタボリックシンドロームの進展においても重要な役割を果たしている。TNF- α は血管内皮細胞に炎症性変化を惹起し、動脈硬化に対する促進作用が示されている。そのメカニズムとして TNF- α が炎症性細胞に対する接着分子を誘導することが明らかにされたが、セレンはその作用を抑制することが示されている (50)。

また、セレンと炎症反応持続のメカニズムについて、VCAM-1 (vascular cell adhesion molecule-1) とセレンとの関連が注目されている。VCAM-1 は、リンパ球・単球・好酸球の血管内皮への接着に関与し炎症反応過程に重要な役割を果たしていると考えられる。VCAM-1 は接着分子で、TNF- α による刺激によって誘導合成され血管内皮細胞上に発現する。Zheng ら (51) の *in vitro* 研究では、セレンは VCAM-1 の誘導合成を抑制し、炎症反応の広がりを抑える作用を有していることが示されている。

レプチンは脂肪細胞から分泌され、大脳視床下部のレプチンレセプターに結合し、食欲中枢に働いてエネルギーの取り込みと消費の制御に重要な役割を果たすペプチドホルモンで、食欲と代謝の調節を行っている。さら

に妊娠高血圧腎症の患者では、レプチンの増加と血清セレン低下が報告され (52)、セレン低値が妊娠高血圧腎症のリスクである可能性が示されている。

疫学研究では血清中セレン濃度が 100 µg/L 前後のインドネシア人肥満者において血清セレン濃度が脂質代謝に関わるアディポサイトカインである FABP-4 と正の相関を有し、メタボリックシンドローム群において炎症性のサイトカインである MCP-1 と負の相関にあること (53) が報告されている。

このようにセレンとアディポサイトカインとの関連については、*in vitro* 研究だけでなく、ヒトにおける臨床研究や疫学研究においても様々な関連性が示されてきており、セレンと糖代謝との関連もセレンの生体内における作用の全体像の中で明らかにされようとしている。

13. おわりに：セレン補充研究の今後

SELECT 研究では、前立腺がんの予防においてセレン補充による有用性は明らかにされなかった。一方、NPC 研究では、低セレン群において有意な発症リスクの低下が見られており、セレン栄養状態の低い人たちにおいてはセレン補充によるがん予防の可能性については検討を続ける意義が残されているといえよう。

NPC 研究では当初の目的である皮膚がん再発防止効果は見られず、PSA 値ごとの分析では前立腺がんに対するセレン補充の効果も PSA 値が低値である群に限られていたこと、さらには、イギリスにおける介入研究では前立腺上皮内異形成患者へのセレン補充は効果がなかったことなどから、既にかん化のステップが進行している場合にはセレン補充は無効で、それ以前の段階におけるがんの予防に限って有効性を発揮するのかもしれない。また、これまでの介入研究では主としてセレノメチオニンが用いられてきたが、*in vitro* 研究で示されているようにセレンは化学形により様々な作用を有することから、今後、低セレン状態の人へのセレン補充を行う際には化学形ごとの効果について再度の検討が必要であろう。

糖尿病との関連については、セレンが充足されている群に対してはセレン補充を行うべきではない。また、新たに見出されたセレノプロテイン P と AMPK やアディポネクチンとの関連やセレンと FABP-4 や MCP-1 などのアディポサイトカインとの関連についてさらなる研究が必要である。

文 献

- (1) Klein EA, Thompson IM, Lippman SM, Goodman PJ, Albanes D, Taylor PR, Coltman C. SELECT: the Selenium and Vitamin E Cancer Prevention Trial: rationale and design. *Prostate Cancer Prostatic Dis* 2000;3:145–151.
- (2) Lippman SM, Klein EA, Goodman PJ, et al. Effect of selenium and vitamin E on risk of prostate cancer and other cancers: the Selenium and Vitamin E Cancer Prevention Trial (SELECT). *JAMA* 2009;301:39–51.
- (3) Stranges S, Marshall JR, Natarajan R, Donahue RP, Trevisan M, Combs GF, Cappuccio FP, Ceriello A, Reid ME. Effects of long-term selenium supplementation on the incidence of type 2 diabetes: a randomized trial. *Ann Intern Med* 2007;147:217–223.
- (4) Clark LC, Combs GF Jr, Turnbull BW, Slate EH, Chalker DK, Chow J, Davis LS, Glover RA, Graham GF, Gross EG, Krongrad A, Leshner JL Jr, Park HK, Sanders BB Jr, Smith CL, Taylor JR. Effects of selenium supplementation for cancer prevention in patients with carcinoma of the skin. A randomized controlled trial. Nutritional Prevention of Cancer Study Group. *JAMA* 1996;276:1957–1963.
- (5) Duffield-Lillico AJ, Reid ME, Turnbull BW, Combs GF Jr, Slate EH, Fischbach LA, Marshall JR, Clark LC. Baseline characteristics and the effect of selenium supplementation on cancer incidence in a randomized clinical trial: a summary report of the Nutritional Prevention of Cancer Trial. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2002;11:630–639.
- (6) Duffield-Lillico AJ, Dalkin BL, Reid ME, Turnbull BW, Slate EH, Jacobs ET, Marshall JR, Clark LC; Nutritional Prevention of Cancer Study Group. Selenium supplementation, baseline plasma selenium status and incidence of prostate cancer: an analysis of the complete treatment period of the Nutritional Prevention of Cancer Trial. *BJU Int* 2003;91:608–612.
- (7) Heinonen OP, Albanes D, Virtamo J, Taylor PR, Huttunen JK, Hartman AM, Haapakoski J, Malila N, Rautalahti M, Ripatti S, Mäenpää H, Teerenhovi L, Koss L, Virolainen M, Edwards BK. Prostate cancer and supplementation with alpha-tocopherol and beta-carotene: incidence and mortality in a controlled trial. *J Natl Cancer Inst* 1998;90:440–446.
- (8) Virtamo J, Pietinen P, Huttunen JK, Korhonen P, Malila N, Virtanen MJ, Albanes D, Taylor PR, Albert P; ATBC Study Group. Incidence of cancer and mortality following alpha-tocopherol and beta-carotene supplementation: a postintervention follow-up. *JAMA* 2003;290:476–485.
- (9) Abdulah R, Miyazaki K, Nakazawa M, Koyama H. Chemical forms of selenium for cancer prevention. *J Trace Elem Med Biol* 2005;19:141–150.
- (10) Dong Y, Lee SO, Zhang H, Marshall J, Gao AC, Ip C. Prostate specific antigen expression is down-regulated by selenium through disruption of androgen receptor signaling. *Cancer Res* 2004;64:19–22.
- (11) Cho SD, Jiang C, Malewicz B, Dong Y, Young CY, Kang KS, Lee YS, Ip C, Lü J. Methyl selenium metabolites decrease prostate-specific antigen expression by inducing protein degradation and suppressing androgen-stimulated transcription. *Mol Cancer Ther* 2004;3:605–611.
- (12) Chun JY, Nadiminty N, Lee SO, Onate SA, Lou W, Gao AC. Mechanisms of selenium down-regulation of androgen receptor signaling in prostate cancer. *Mol Cancer Ther* 2006;5:913–918.
- (13) Hu H, Jiang C, Ip C, Rustum YM, Lu J. Methylseleninic acid potentiates apoptosis induced by chemotherapeutic drugs in androgen-independent prostate cancer cells. *Clin Cancer Res* 2005;11:2379–2388.

- (14) Wu Y, Zu K, Warren MA, Wallace PK, Ip C. Delineating the mechanism by which selenium deactivates Akt in prostate cancer cells. *Mol Cancer Ther* 2006;5:246–252.
- (15) Zhong W, Oberley TD. Redox-mediated effects of selenium on apoptosis and cell cycle in the LNCaP human prostate cancer cell line. *Cancer Res* 2001;61:7071–7078.
- (16) Jiang C, Hu H, Malewicz B, Wang Z, Lu J. Selenite-induced p53 Ser-15 phosphorylation and caspase-mediated apoptosis in LNCaP human prostate cancer cells. *Mol Cancer Ther* 2004;3:877–884.
- (17) Hu H, Jiang C, Schuster T, Li GX, Daniel PT, Lu J. Inorganic selenium sensitizes prostate cancer cells to TRAIL-induced apoptosis through superoxide/p53/Bax-mediated activation of mitochondrial pathway. *Mol Cancer Ther* 2006;5:1873–1882.
- (18) Zhao R, Xiang N, Domann FE, Zhong W. Expression of p53 enhances selenite-induced superoxide production and apoptosis in human prostate cancer cells. *Cancer Res* 2006;66:2296–2304.
- (19) Bhamre S, Whitin JC, Cohen HJ. Selenomethionine does not affect PSA secretion independent of its effect on LNCaP cell growth. *Prostate* 2003;54:315–321.
- (20) Zhao R, Domann FE, Zhong W. Apoptosis induced by selenomethionine and methioninase is superoxide mediated and p53 dependent in human prostate cancer cells. *Mol Cancer Ther* 2006;5:3275–3284.
- (21) Zhao H, Brooks JD. Selenomethionine induced transcriptional programs in human prostate cancer cells. *J Urol* 2007;177:743–750.
- (22) Abdulah R, Faried A, Kobayashi K, Yamazaki C, Suradji EW, Ito K, Suzuki K, Murakami M, Kuwano H, Koyama H. Selenium enrichment of broccoli sprout extract increases chemosensitivity and apoptosis of LNCaP prostate cancer cells. *BMC Cancer* 2009;9:414.
- (23) Klein EA, Thompson IM Jr, Tangen CM, Crowley JJ, Lucia MS, Goodman PJ, Minasian LM, Ford LG, Parnes HL, Gaziano JM, Karp DD, Lieber MM, Walther PJ, Klotz L, Parsons JK, Chin JL, Darke AK, Lippman SM, Goodman GE, Meyskens FL Jr, Baker LH. Vitamin E and the risk of prostate cancer: the Selenium and Vitamin E Cancer Prevention Trial (SELECT). *JAMA* 2011;306:1549–1556.
- (24) Etminan M, Fitzgerald JM, Gleave M, Chambers K. Intake of selenium in the prevention of prostate cancer: a systematic review and meta-analysis. *Cancer Causes Control* 2005;16:1125–1131.
- (25) Brinkman M, Reulen RC, Kellen E, Buntinx F, Zeegers MP. Are men with low selenium levels at increased risk of prostate cancer? *Eur J Cancer* 2006;42:2463–2471.
- (26) Gill JK, Franke AA, Steven Morris J, Cooney RV, Wilkens LR, Le Marchand L, Goodman MT, Henderson BE, Kolonel LN. Association of selenium, tocopherols, carotenoids, retinol, and 15-isoprostane F(2t) in serum or urine with prostate cancer risk: the multiethnic cohort. *Cancer Causes Control* 2009;20:1161–1171.
- (27) Allen NE, Appleby PN, Roddam AW, et al. Plasma selenium concentration and prostate cancer risk: results from the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC). *Am J Clin Nutr* 2008;88:1567–1575.
- (28) Steinbrecher A, Meplan C, Hesketh J, Schomburg L, Endermann T, Jansen E, Akesson B, Rohrmann S, Linseisen J. Effects of selenium status and polymorphisms in selenoprotein genes on prostate cancer risk in a prospective study of European men. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2010;19:2958–2968.
- (29) Bjelakovic G, Nikolova D, Gluud LL, Simonetti RG, Gluud C. Mortality in randomized trials of antioxidant supplements for primary and secondary prevention: systematic review and meta-analysis. *JAMA* 2007;297:842–857.
- (30) Marshall JR, Tangen CM, Sakr WA, Wood DP Jr, Berry DL, Klein EA, Lippman SM, Parnes HL, Alberts DS, Jarrard DF, Lee WR, Gaziano JM, Crawford ED, Ely B, Ray M, Davis W, Minasian LM, Thompson IM Jr. Phase III trial of selenium to prevent prostate cancer in men with high-grade prostatic intraepithelial neoplasia: SWOG S9917. *Cancer Prev Res (Phila)* 2011;4:1761–1769.
- (31) Rayman MP. Selenium and human health. *Lancet* 2012;379:1256–1268.
- (32) Navarro-Alarcon M, Lopez GdlSH, Perez-Valero V, Lopez-Martinez C. Serum and urine selenium concentrations as indicators of body status in patients with diabetes mellitus. *Sci Total Environ* 1999;228:79–85.
- (33) Kljai K, Runje R. Selenium and glycogen levels in diabetic patients. *Biol Trace Elem Res* 2001;83:223–229.
- (34) Akbaraly TN, Arnaud J, Rayman MP, Hininger-Favier I, Roussel AM, Berr C, Fontbonne A. Plasma selenium and risk of dysglycemia in an elderly French population: results from the prospective Epidemiology of Vascular Ageing Study. *Nutr Metab (Lond)* 2010;7:21.
- (35) Roman M, Lapolla A, Jitaru P, Sechi A, Cosma C, Cozzi G, Cescon P, Barbante C. Plasma selenoproteins concentrations in type 2 diabetes mellitus—a pilot study. *Transl Res* 2010;156:242–250.
- (36) Czernichow S, Couthouis A, Bertrais S, Vergnaud AC, Dauchet L, Galan P, Hercberg S. Antioxidant supplementation does not affect fasting plasma glucose in the Supplementation with Antioxidant Vitamins and Minerals (SU.VI.MAX) study in France: association with dietary intake and plasma concentrations. *Am J Clin Nutr* 2006;84:395–399.
- (37) Ford ES, Mokdad AH, Giles WH, Brown DW. The metabolic syndrome and antioxidant concentrations: findings from the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Diabetes* 2003;52:2346–2352.
- (38) Bleys J, Navas-Acien A, Guallar E. Serum selenium and diabetes in U.S. adults. *Diabetes Care* 2007;30:829–834.
- (39) Schrauzer GN. The nutritional significance, metabolism and toxicology of selenomethionine. *Adv Food Nutr Res* 2003;47:73–112.
- (40) Koyama H, Terada A, Yoshida M, Nakada K, Abdulah R, Satoh H. Cysteine supplementation reduces the bioavailability of selenomethionine in mice. *Euro e-J Clin Nutr Metab* 2007;2:38–43.
- (41) Koyama H, Omura K, Ejima A, Kasanuma Y, Watanabe C, Satoh H. Separation of selenium-containing proteins in

- human and mouse plasma using tandem high-performance liquid chromatography columns coupled with inductively coupled plasma-mass spectrometry. *Anal Biochem* 1999; 267:84–91.
- (42) Koyama H, Abdulah R, Ohkubo T, Imai Y, Satoh H, Nagai K. Depressed serum selenoprotein P: possible new predictor of increased risk for cerebrovascular events. *Nutr Res* 2009;29:94–99.
- (43) Schoenmakers E, Agostini M, Mitchell C, et al. Mutations in the selenocysteine insertion sequence-binding protein 2 gene lead to a multisystem selenoprotein deficiency disorder in humans. *J Clin Invest* 2010;120:4220–4235.
- (44) Misu H, Ishikura K, Kurita S, Takeshita Y, Ota T, Saito Y, Takahashi K, Kaneko S, Takamura T. Inverse correlation between serum levels of selenoprotein P and adiponectin in patients with type 2 diabetes. *PLoS One* 2010;7:e34952.
- (45) Fu A, Eberhard CE, Srean RA. Role of AMPK in pancreatic beta cell function. *Mol Cell Endocrinol* 2012.
- (46) Carling D, Thornton C, Woods A, Sanders MJ. AMP-activated protein kinase: new regulation, new roles? *Biochem J* 2012;445:11–27.
- (47) Misu H, Takamura T, Takayama H, et al. A liver-derived secretory protein, selenoprotein P, causes insulin resistance. *Cell Metab* 2012;12:483–495.
- (48) Turer AT, Scherer PE. Adiponectin: mechanistic insights and clinical implications. *Diabetologia* 2012;55:2319–2326.
- (49) Rayman MP, Blundell-Pound G, Pastor-Barriuso R, Guallar E, Steinbrenner H, Stranges S. A randomized trial of selenium supplementation and risk of type-2 diabetes, as assessed by plasma adiponectin. *PLoS One* 2012;7:e45269.
- (50) Witkowska AM, Borawska MH, Gacko M. Relationship among TNF-alpha, sICAM-1, and selenium in presurgical patients with abdominal aortic aneurysms. *Biol Trace Elem Res* 2006;114:31–40.
- (51) Zheng HT, Zhou LN, Huang CJ, Hua X, Jian R, Su BH, Fang F. Selenium inhibits high glucose- and high insulin-induced adhesion molecule expression in vascular endothelial cells. *Arch Med Res* 2008;39:373–379.
- (52) Atamer Y, Kocyigit Y, Yokus B, Atamer A, Erden AC. Lipid peroxidation, antioxidant defense, status of trace metals and leptin levels in preeclampsia. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2005;119:60–66.
- (53) Mutakin, Meiliana A, Wijaya A, Kobayashi K, Yamazaki C, Kameo S, Nakazawa M, Koyama H. Association between selenium nutritional status and adipocytokines in Indonesian men with visceral obesity and metabolic syndrome. *J Trace Elem Med Biol* 2012 (<http://dx.doi.org/10.1016/j.jtemb.2012.09.006>).