短 報

無機水銀とセレンの培養ラット大脳組織
における相互作用Interactions between Mercuric Chloride
and Sodium Selenite on Cultured
Cerebrum Tissues of Rat

水銀とセレンの相互作用に関しては、Ganter らの報告¹⁾を初めとして多くの知見が報告されている²⁻⁴⁾。著者らは以前に、セレンが有機水銀の毒性を緩和することを培養小脳を用いて明らかにした⁵⁾が、今回は無機水銀とセレンの相互作用をラットの培養大脳組織を用いて検索したので報告する。

実験方法

生後6日目の幼若ラットの大脳を約1mm³の細片にし、コラーゲンで被覆したプラスチックシャーレ（組織培養用、35×10mm）上で、塩化第二水銀（MC）と亜セレン酸ナトリウム（以下亜セレン酸塩）をそれぞれ単独で、または同時に含む培養液中で培養した。培養液は仔牛血清とEagle MEMの等量混合液である（glucose, 550mg%）。36.5°Cで4日間CO₂培養器（5%CO₂）で培養後、位相差顕微鏡によって大脳細片からの神経線維・グリア細胞と線維芽細胞の発育程度を観察して効果を判定した。判定は、培養大脳細片から伸長・遊出した神経線維・2種類のグリア細胞と線維芽細胞の発育度をTable 1に示したように3段階評価し、これら評価点を合計して、各切片における発育度とした。

結果と考察

MCと亜セレン酸塩が存在していない対照の培養では、神経線維はよく伸長し互いに網目状を形成した。グリア細胞もよく遊出し、線維芽細胞は紡錘形をなし互いに密接しあってシート状に発育した。

亜セレン酸塩の神経毒性は、Table 1に示すように0.2×10⁻⁵Mでは毒性は明らかではなかったが、0.4×10⁻⁵Mの濃度から、神経線維その他の細胞の発育抑制がみられ始め、1×10⁻⁵Mでは神経線維の伸長は著しく抑制され、伸長がみられても断裂や顆粒形成などの変性が著明であった。グリア細胞は遊出したが数は少なく、細胞質内の変性も著しかった。線維芽細胞は遊出したがシート形成はみられなかった。2×10⁻⁵Mになると毒性は著しく強くなり、神経線維の発育は完全に抑制され、1～2の移植片に僅かのグリア細胞あるいは線維芽細胞を認めたにすぎなかった。4×10⁻⁵Mさらに10×10⁻⁵M

Table 1. Effects of sodium selenite on rat cerebrum in cultures.

Concentration of sodium selenite (× 10 ⁻⁵ M)	Degree of outgrowth of nerve fibers and cells from cultured cerebrum tissues of rat ^a								
	0	1	2	3	4	5	6	7	8
0 (control)									10 ^b
0.2									5
0.4									2
1.0		3	1	4	1	3		1	
2.0	6	1							
4.0	9								
10	9								

- ^a The degree of outgrowth of nerve fibers, fibroblasts and two types of glia cells were expressed by scores as follows; 0: no outgrowth, 1: depressed outgrowth, 2: normal outgrowth. For instance, in the control culture, nerve fibers, fibroblasts and two types glia cells developed well, so sum of scores of these explants were 8.
- ^b Numerals in the table show the number of explants of cerebrum.

Table 2. Effects of sodium selenite on the toxicity of HgCl₂ in rat cerebrum cultures.

1 × 10 ⁻⁴ M HgCl ₂ and sodium selenite (× 10 ⁻⁵ M)	Degree of outgrowth of nerve fibers and cells from cultured cerebrum tissues of rat									U value	Critical value of U ^a
	0	1	2	3	4	5	6	7	8		
0	3	2	2	1	4					15.5 ^b	17
0.2	1	3	1	2	3					5.5 ^b	8
0.4				2	3					1.0 ^b	15
1.0			1	2	6					5.5 ^b	13
2.0	1		3	4						18	11
4.0	2		2	1	2					17.5	17
10.0	9		1								

Judgements of significances of differences were made by the analysis of distribution and the application of the Mann-Whitney U test (Siegel, 1956).

- ^a Critical value of U for a one-tailed test at $\alpha=0.05$.
- ^b Significantly different from the culture added HgCl₂ only.

では、移植片から何らの発育も認められなかった。セレンは通常生体内においては trace element ではある⁶⁾が、また量によっては毒性の非常に強い元素として知られている⁷⁾。その急性中毒の場合は中枢神経系が冒されるが⁸⁾、培養大脳に対しても上に示したような毒性を示した。

次に、MCが単独で1×10⁻⁴M存在する条件下では、Table 2に示すように多くの移植片において神経線維の発育が認められず、発育が認められた神経線維についても発育抑制が著明であった。またグリア細胞の遊出も少なく、遊出したグリア細胞の細胞質には空胞形成がみられた。線維芽細胞も細胞質の変性が認められ、シート状の発育は示さなかった。

さて、1×10⁻⁴MのMCと各種濃度の亜セレン酸塩が共存する条件下での神経線維やその他細胞の発育状態

の評価もまた Table 2 に示した。MC と 0.2, 0.4, 1.0, 2.0, 4.0×10^{-5} M の亜セレン酸塩との共存下では、MC のみ添加された培養と比較し発育はよく、亜セレン酸塩の MC 毒性抑制効果がみられた。とくに亜セレン酸塩が 0.4, 1.0, 2.0×10^{-5} M の条件下では、多くの移植片において神経線維の伸長は改善され、またグリア細胞も遊出し、変性もまれであった。線維芽細胞もまた遊出し、シート形成がみられた。しかし MC と 10×10^{-5} M の亜セレン酸塩とでは、僅かに 1 個の移植片から 1 ~ 2 の線維芽細胞が遊出したのみで、他の移植片からは何らの発育も認められなかった。以上の結果より MC の毒性が最も抑制された培養の MC とセレンのモル比は 10 : 1 であった。MC が 1×10^{-4} M の条件で、セレンとの比が 1 : 1 の培養では上に述べたように何らの発育も認められず、MC のみの培養よりも悪かった。

ところで MC と亜セレン酸塩 1.0, 2.0, 4.0×10^{-5} M とが共存した培養と亜セレン酸塩 1.0, 2.0, 4.0×10^{-5} M 単独の培養とを比較してみると、MC の存在しているほうが発育がよかった。このことは、セレンの毒性もまた MC によって抑制されたことを示している。

なお、結果は示していないが、 1×10^{-4} M の MC と 0.4, 1.0, 2.0×10^{-5} M の亜セレン酸塩の培養液中への添加順位の相違による発育への影響をみた。それでは、MC と亜セレン酸塩を同時に添加した培養が、亜セレン酸塩を先に、あるいは MC を先に加えて培養し、4 時間後に MC あるいは亜セレン酸塩を加えたものに比較し、もっとも発育がよかったことを確認している。

以上、セレンが無機水銀の毒性を抑制した^{2,9)}、あるいはセレンの毒性を水銀が抑制した¹⁰⁾という *in vivo* の報告があるが、*in vitro* においてもセレンと無機水銀が共存するとき、ある濃度の範囲において互いの毒性を抑制しあうことを大脳の神経培養を用いて明らかにした。なお最近 Potter と Matrone もまた、ヒト肝細胞 (Chang's liver cell) の培養を用いて同様の結果を報告している¹¹⁾。

文 献

- 1) Ganther, H. E., Goudie, C., Sunde, M. L., Kopecky, M. J., Wagner, P., Oh, Sang-Hwan and

Hoekstra, W. G. : Selenium : Relation to decreased toxicity of methyl mercury added to diets containing tuna, *Science*, 175 : 1122—1124, 1972.

- 2) Potter, S. and Matrone, G. : Effect of selenite on the toxicity of dietary methyl mercury and mercuric chloride in the rat, *J. Nutr.*, 104 : 638—647, 1974.
- 3) Groth, D. H. and Mackay, G. : Effect and Dose-Response Relationships of Toxic Metals, 527—543, Elsevier, Amsterdam, 1976.
- 4) Chang, L. W., Dudley, A. W., Jr., Ganther, H. E., and Sunde, M. L. : Neurotoxicology, 275—282, Raver Press, New York, 1977.
- 5) Kasuya, M. : Effect of selenium on the toxicity of methylmercury on nervous tissue in culture, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 35 : 11—20, 1976.
- 6) Schwartz, K. and Foltz, C. M. : Selenium as an integral part of factor 3 against dietary necrotic liver degeneration, *J. Am. Chem. Soc.*, 79 : 3292—3293, 1957.
- 7) Moxon, A. L. and Rhian, M. : Selenium poisoning, *Physiol. Rev.*, 23 : 305—337, 1943.
- 8) Schwartz, K. : Essentiality and Metabolic Functions of Selenium, *Med. Clin. Nor. Am.*, 60 : 745—758, 1976.
- 9) Parizek, J. and Ostadalova, I. : The protective effect of small amounts of selenite in sublimate intoxication, *Experientia*, 23 : 142—143, 1967.
- 10) Hill, C. H. : Reversal of selenium toxicity in chicks by mercury, copper, and cadmium, *J. Nutr.*, 104 : 593—598, 1974.
- 11) Potter, S. D. and Matrone, G. : A tissue culture model for mercury-selenium interaction, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 40 : 201—215, 1977.

青島恵子^{1)*}, 加須屋実²⁾, 三宅浩次¹⁾

¹⁾ 札幌医科大学公衆衛生学教室

²⁾ 富山医科薬科大学医学部公衆衛生学教室

* (現在)富山医科薬科大学医学部公衆衛生学教室

Keiko AOSHIMA^{1)†}, Minoru KASUYA²⁾ and Hirotsugu MIYAKE¹⁾

¹⁾ Department of Public Health, Sapporo Medical College

²⁾ Department of Public Health, Toyama Medical and Pharmaceutical University, Faculty of Medicine, Sugitani, Toyama, 930-01 Japan

† Present address: Department of Public Health, Toyama Medical and Pharmaceutical University, Faculty of Medicine

昭和54年1月13日受付

通信先: 青島あて, Reprint requests to K. Aoshima