

^{82}Se を濃縮した亜セレン酸またはセレノメチオニンを経脈注射した後のマウス筋肉中セレン化合物の研究

Studies on selenium compounds in mouse muscle after intravenous injection of ^{82}Se -enriched selenite or selenomethionine

応用化学専攻 齊藤 慧

SAITO Kei

1. 緒言

セレン (Se) は、ヒトを含む哺乳動物にとって必須の微量元素である。Se は酸化ストレスに対する保護に関与しており¹、抗酸化作用を持つグルタチオンペルオキシダーゼ (cGPx) や、Selenoprotein W (Sel-W) の活性中心として機能している。Se 欠乏症は家畜の白筋症、ヒトの克山病²などの心臓及び骨格筋疾患を引き起こす³。一方、Se を過剰に摂取すると過剰症が誘発される⁴。Se の至適濃度範囲は非常に狭く、体内の Se 濃度は適切な濃度に保たなければならない。しかしながら、今日まで筋肉組織における Se の吸収、蓄積及び代謝に関する研究はほとんど報告されていない。そこで本研究では、液体クロマトグラフィー誘導結合プラズマ質量分析法 (ICP-MS) により ^{82}Se を濃縮した亜セレン酸 (Se(IV)) またはセレノメチオニン (SeMet) を静脈注射した後のマウスの筋肉中の Se の化学形態別分析を行うことで、筋肉組織における Se の栄養状態・投与形態の違いが Se の蓄積や代謝に与える影響を調査することを目的とした。

2. 実験方法

2-1. サンプル調製

生後 4 週齢のマウスを購入し、1 週間馴致期間として通常飼料 (2.25 μg Se/day) を与えた。その後、通常飼料を 4 週間与えた通常群マウスと、Se 欠乏飼料 (<0.2 μg Se/day) を 4 週間与えた Se 欠乏群マウスに、生理食塩水及び ^{82}Se を濃縮した Se(IV) または SeMet (2.25 μg Se) をそれぞれ静脈注射した。6 時間後に解剖し、筋肉を含む各臓器を摘出した。

2-2. 全量分析

各処理区におけるマウス筋肉をとり、液体窒

素で冷却しながら乳鉢・乳棒を用いて粉碎した。試料を Tris HNO_3 溶液 (pH 7.4) に溶かし、超遠心分離機で分離後、上澄みを分取した。分取した上澄みをマイクロ波分解装置により、酸分解を行った。そして、Flow injection-ICPMS により ^{78}Se , ^{82}Se を測定した。なお、元々体内に存在していた ^{82}Se を内因性 (Endogenous) ^{82}Se とし、静脈注射した $^{82}\text{SeMet}$ および $^{82}\text{Se(IV)}$ 由来の ^{82}Se を外因性 (Exogenous) ^{82}Se とした。

2-3. Size exclusion chromatography (SEC) を用いた化学形態別分析

全量分析の際に分取した上澄みの残りを口径 0.45 μm フィルターでろ過し、SEC-ICPMS を用いて ^{78}Se , ^{82}Se について測定を行い、得られた Se の各ピークにおける内因性 ^{82}Se 、外因性 ^{82}Se 濃度を算出した。この際、各ピークの同定には市販のウシ赤血球由来 cGPx、ウマ心臓由来ミオグロビン、SeMet を用いた。

3. 結果及び考察

3-1. 全量分析の結果

図 1 に、測定した各試料中の内因性 ^{82}Se 、外因性 ^{82}Se の濃度を示す。

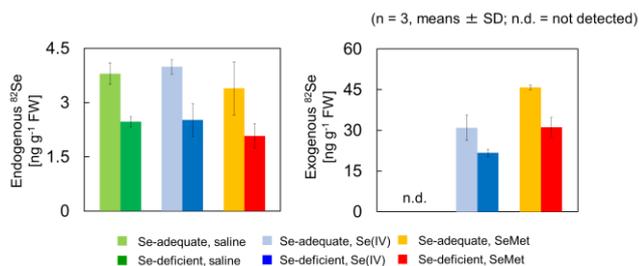


図 1 内因性 ^{82}Se 、外因性 ^{82}Se 濃度 (全量分析結果)

内因性 ^{82}Se 濃度は、Se の投与形態に依らず、Se 欠乏群の方が通常群よりも低かった。外因性

^{82}Se 濃度は、Se の投与形態に関わらず通常群よりも Se 欠乏群の方が低く、Se 欠乏下で Se の吸収量が低下することがわかった。また、SeMet 投与の方が Se(IV) 投与よりも濃度が高かったことから、Se(IV) よりも SeMet の方が筋肉に蓄積されやすいことが明らかとなった。

3-2. 化学形態別分析の結果

図 2 に、マウス筋肉可溶性画分における Se ($m/z = 82$) の化学形態別分析の結果を示す。

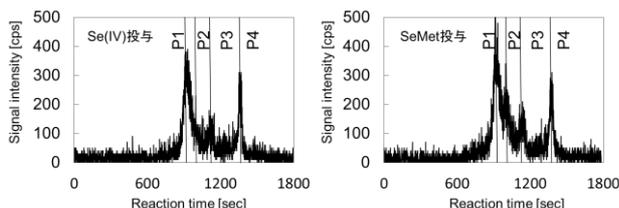


図 2 SEC-ICPMS のクロマトグラム ($m/z = 82$)

図 2 より、Se のピークが 4 つ (P1, P2, P3, P4) 得られた。ウシ赤血球由来 cGPx、ウマ心臓由来ミオグロビン、SeMet との保持時間を比較した結果、P1 は cGPx、P3 は Sel-W、P4 は SeMet などの低分子化合物であることがわかった。

次に、図 3 に ^{78}Se 、内因性 ^{82}Se 、外因性 ^{82}Se 濃度及び $m/z = 78, 82$ のクロマトグラムの結果から算出した各試料のそれぞれのピークにおける外因性 ^{82}Se 濃度を示す。

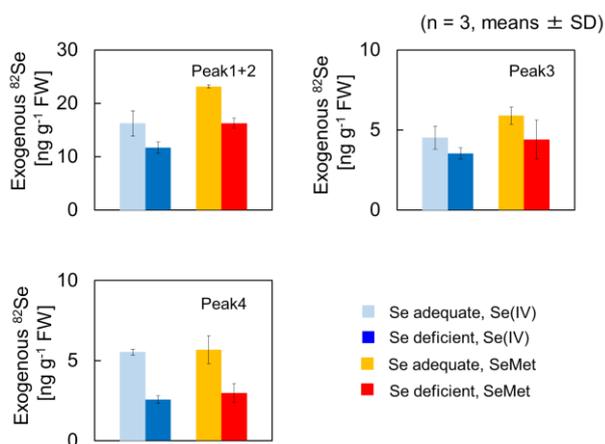


図 3 各ピークの外因性 ^{82}Se 濃度 (化学形態別分析結果)

図 3 より、cGPx を含むフラクション (P1+2) 及び Sel-W を含むフラクション (P3) における外因性 ^{82}Se 濃度は、Se の栄養状態に関わらず SeMet 投与の方が Se(IV) 投与よりも濃度が高くなった。低分子化合物を含むフラクション (P4) では、投与形態の違いによる差は殆どなかった。このことから、SeMet の方が Se(IV) よりも cGPx、Sel-W として取り込まれやすいことが

示唆された。

また、どの画分においても通常群よりも Se 欠乏群の方が、外因性 ^{82}Se 濃度が低く、Se 欠乏下で Se の吸収量が低下することがわかった。所属研究室ではこれまでに、Se 欠乏によって脳及び肝臓において、静脈注射後 6 時間で外因性 ^{82}Se の濃度や Se タンパク質への同化量が有意に増加することを見出している。すなわち、本実験結果は、Se 欠乏時における外因性 ^{82}Se の濃度や Se タンパク質への同化量は、筋肉と脳・肝臓では逆の傾向にあることを示している。これは、Se 欠乏下の筋肉においては Se 吸収が抑制され、Se が脳及び肝臓などの臓器に優先的に供給されることを示唆している。

4. 結論

外因性 ^{82}Se 濃度は、Se の栄養状態に関わらず SeMet 投与の方が Se(IV) 投与よりも濃度が高くなったが、低分子化合物には殆ど影響していなかった。このことから、SeMet の方が Se(IV) よりも、cGPx、Sel-W として取り込まれやすいことが示唆された。

また、通常群よりも Se 欠乏群の方が、外因性 ^{82}Se 濃度が低く、Se 欠乏下で Se の吸収量が低下することがわかった。このことから、Se 欠乏下の筋肉において Se 吸収が抑制され、Se が脳及び肝臓などの臓器に優先的に供給されることが示唆された。

引用文献

- (1) Tapiero, H. et al. *Biomed. Pharmacother.* **2003**, *57*, 134–144.
- (2) Bellinger, P. F. et al. *Biochem. J.* **2009**, *422*, 11–22.
- (3) Castets, P. et al. *J. Mol. Med.* **2012**, *90*, 1095–1107.
- (4) Goldhaber, B. S. et al. *Regul. Toxicol. Pharm.* **2003**, *38*, 232–242.

対外発表

- 1) 齊藤慧, 西田翔, 古田直紀: 日本分析化学会第 65 年会, 2016, 札幌, 口頭発表
- 2) 齊藤慧, 西田翔, 古田直紀: プラズマ分光分析研究会 2016 筑波セミナー, 2016, 幕張, ポスター発表
- 3) Kei Saito, Sho Nishida, Naoki Furuta: 7th Asia-Pacific Winter Conference on Plasma Spectrochemistry, 2017, Matsue, Japan, Poster.