

マルチトレーサー法を用いたセレン過剰ラットにおける各種微量元素の取り込み

蛭 沼 利江子, 榎 本 秀 一

(理化学研究所*)

Behavior of various trace elements in Se-excessive rats

Rieko HIRUNUMA and Shuichi ENOMOTO

RIKEN (The Institute of Physical and Chemical Research)

A number of studies on the role of Se in biochemistry are found in literature. Selenium is one of the essential trace elements. Thirteen Se-containing proteins have been found in organs of rat. It is also reported that Se is in a competitive or synergetic relationship with many metals such as Ag, Pd, Zn, Co, Cd, Bi, Sn, Mn, Te, Pd, W, Mo, Tl, Cr, Ni, Fe, Au, As, Pt and Cu. In the present study, the uptake and the distribution of trace elements in Se-excessive, Se+As-excessive, and As-excessive rats examined by the multitracer technique, which can be used to evaluate the behavior of many elements under the same experimental condition. We describes the interaction between Se and some elements containing multitracer.

セレンは、最適濃度範囲の狭い生体微量元素である。生体内におけるセレンの作用の一つに、カドミウムや水銀などの重金属による中毒症状を軽減する働きがある^{1,2)}。その際、セレンは、血液中でこれらの重金属と高分子量の複合体を形成し、その複合体が赤血球中に長時間滞留することにより、これらの重金属の標的臓器である腎臓への蓄積量を減少させることが報告されている¹⁻⁴⁾。また、この高分子量複合体は、各臓器へ取り込まれた際にも、臓器中の不溶性画分に沈着するために各々の金属の毒性を発現させないことが知られている⁵⁾。逆に、セレンが不足した状態では、これらの重金属の毒性は増強されることになる。カドミウムや水銀と同様に、セレン不足によりその中毒症状が増強される元素として、銀、銅、ヒ素などがあげられる^{6,7)}。我々は、これまでに、多種類の元素の挙動を同時に追跡できるマルチトレーサー法を利用して、セレン欠乏ラットにおける各種元素の体内挙動について研究してきた。その結果、胎仔期からセレン欠乏状態で飼育したセレン欠乏ラットにおいて、鉄およびヒ素の取り込みが増加することが明らかとなった。そこで、本報では、セレン過剰ラットにおける各種元素の取り込みについてマルチトレーサー法を用いて検討し、セレンと各種元素の相互作用について評価する。また、セレンとヒ素の相互関係を把握するために、ヒ素過剰ラットおよびセレン+ヒ素過剰ラットにおける各種元素の取り込みについてもあわせて検討した。

実験方法

1. マルチトレーサーの製造および分離

理研リングサイクロトロンを用いて、135 MeV/nucleon まで加速したN-14ビームを銀ターゲットへ照射した。生成した多種類の放射性同位体から無担体、無塩のマルチトレーサーを得るために、ターゲット物質である銀は、硝酸に溶解した後、塩酸を加えて塩化銀として沈殿させて除去した。得られた上澄液がマルチトレーサー溶液であり、その溶液を蒸発乾固後、生理食塩水に溶解して投与用マルチトレーサー溶液とした。

*所在地：埼玉県和光市広沢2-1 (〒351-0198)

2. ラット作成

セレン過剰ラット：4週齢の雄のウィスター系ラットに、セレン酸ナトリウム (Na_2SeO_4) を含むセレン水 (5mg Se/L) を飲水として7日間与え、5週齢となったラットをセレン過剰ラットとして実験に供した。

セレン+ヒ素過剰ラット：セレン酸ナトリウム (Na_2SeO_4) およびヒ酸水素ナトリウム (Na_2HAsO_4) を含むセレン+ヒ素水 (5mg Se + 5mg As/L) を飲水として、4週齢の雄のウィスター系ラットに7日間与えた。

ヒ素過剰ラット：ヒ酸水素ナトリウム (Na_2HAsO_4) を含むヒ素水 (5mg As/L) を飲水として、4週齢の雄のウィスター系ラットに、7日間与えた。

3. マルチトレーサー投与および γ 線測定

セレン過剰ラット、セレン+ヒ素過剰ラット、ヒ素過剰ラットおよび正常ラットに、投与用マルチトレーサー溶液を経口投与した。投与から3時間、6時間、12時間および24時間後に解剖し、高純度ゲルマニウム半導体検出器で肝臓、腎臓、脾臓、精巣および血液中の γ 線を測定し、各種元素の取り込みを調べた。

4. 機器中性子放射化分析法によるセレンとヒ素の濃度測定

飲水として、セレン水、セレン+ヒ素水、ヒ素水の摂取を開始させてから、4日後、7日後、14日後における各ラット群の肝臓および脾臓中のセレンおよびヒ素濃度を調べた。

照射試料は、セレン過剰、セレン+ヒ素過剰、ヒ素過剰、および正常ラットの肝臓および脾臓を、凍結乾燥した後に細粉し、各々約100 mgずつポリエチレン袋に二重封入し作成した。標準試料は、bovine liver (NBS SRM 1577) を用いた。中性子照射は、日本原子力研究所のJRR-3原子炉を使用した。照射した試料は5日間冷却した後に、高純度ゲルマニウム半導体検出器で測定し、得られた γ 線スペクトルからセレンとヒ素の定量を行った。

結果および考察

Fig. 1 に、マルチトレーサーを投与した各ラット群の肝臓、腎臓、脾臓、精巣、および血液におけるセレンの経時的な取り込みを示す。セレン過剰ラットにおける肝臓および腎臓のセレンの取り込みは、投与後、どの時間においても正常ラット群のセレン量と同程度の取り込み量を示した。また、セレン+ヒ素過剰およびヒ素過剰ラットの肝臓、腎臓においても同程度の取り込み量を示した。全てのラット群において、肝臓中のセレンは、投与後3時間において最も高い取り込みを示したことから、セレンは投与3時間以内に肝臓へ速やかに取り込まれることが示唆された。その後、時間

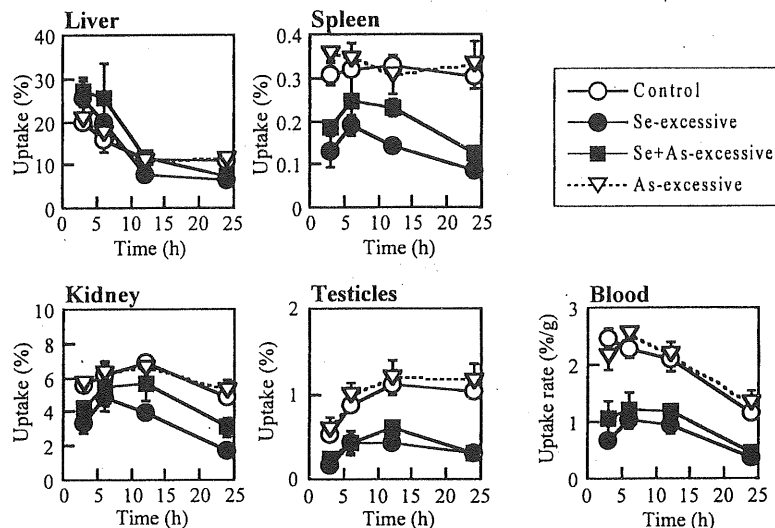


Fig. 1 Time-dependent uptake (%) of Se in the liver, spleen, kidney, testicles, blood of control, Se-excessive, Se+As-excessive, and As-excessive rats

経過にしたがって減衰し、12時間以降の取り込み量は一定となった。腎臓では、投与12時間後において最も高い取り込みを示し、その後、減少した。

脾臓、精巣および血液中のセレンは、正常ラットと比較して、セレン過剰およびセレン+ヒ素過剰ラットにおいて、取り込みの低下が認められた。しかし、ヒ素過剰ラットでは、正常ラットとの差が認められなかった。そこで、飲水であるヒ素水中のヒ素濃度を、5 mg As/Lから50 mg As/Lまで増加したが、ヒ素過剰ラットと正常ラットのセレンの取り込みに差は認められなかった。すなわち、ヒ素濃度が5～50mg As/Lの飲水を摂取しても、セレンの体内挙動に影響を与えないことが示唆された。

Fig. 2 に、各ラット群の肝臓、腎臓、脾臓、精巣、および血液におけるヒ素の経時的な取り込みを示す。各ラット群の肝臓、脾臓、精巣および血液におけるヒ素の取り込みは、投与12時間以降、時間経過にしたがって減少した。各ラット群の腎臓におけるヒ素の取り込みは、投与後3時間が最も高く、その後、時間経過にしたがって減少した。ヒ素はセレンの排泄を促進し、また、セレンはヒ素の排泄を促進すると報告されている⁷⁾。しかし、各ラット群ともヒ素の取り込みはほぼ一致した挙動を示し、差が認められなかった。

セレンおよびヒ素以外の元素の取り込みや体内挙動に関しては、各ラット群とも一致した値を示しており、変化が認められなかった。セレン過剰ラットおよびヒ素過剰ラットは、セレンおよびヒ素以外の元素の挙動に影響を及ぼす程の

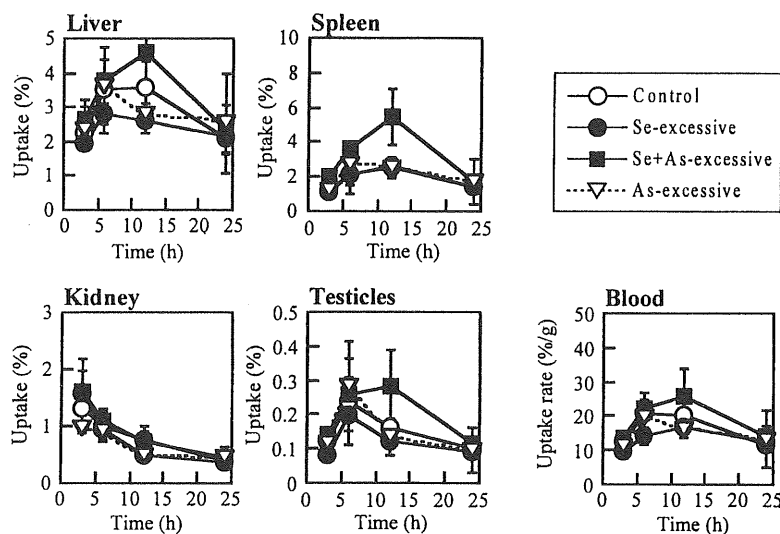


Fig. 2 Time-dependent uptake (%) of As in the liver, spleen, kidney, testicles, blood of control, Se-excessive, Se+As-excessive, and As-excessive rats

過剰状態ではないことが明らかとなった。

機器中性子放射化分析法により定量した、肝臓および脾臓におけるセレンとヒ素の濃度を、Table 1 に示す。セレン投与から7日目における、セレン過剰ラットの肝臓中セレン濃度は、正常ラットのセレン濃度の3.5倍であった。また、脾臓中のセレン濃度は、2.3倍であった。セレン+ヒ素過剰ラットの肝臓および脾臓におけるセレン濃度は、各々セレン過剰ラットとほぼ同じ濃度であった。肝臓中のセレン濃度は、正常ラットの3.8倍であり、脾臓中のセレン濃度は2.3倍であった。ヒ素過剰ラットの肝臓および脾臓におけるセレン濃度は各々正常ラットのセレン濃度とほぼ同じであった。すなわち、肝臓および脾臓中のセレン濃度に、ヒ素投与の影響は認められなかった。

一方、肝臓および脾臓中のヒ素濃度は、セレンの同時投与による影響が認められた。セレン過剰ラットの肝臓および脾臓におけるヒ素濃度は各々正常ラットのヒ素濃度とほぼ同じ値を示した。ヒ素過剰ラットにおける肝臓中のヒ素濃度は、正常ラットの約7倍であった。また、脾臓中のヒ素濃度は、ヒ素水7日間投与後では正常ラットの22倍、ヒ素水14日間投与後では正常ラットの34倍であった。しかし、セレン+ヒ素過剰ラットの肝臓中のヒ素濃度は、正常ラット

Table 1. Content (ppm) of Se and As in the liver and spleen of control, Se-excessive, Se+As-excessive, and As-excessive rats by instrumental neutron activation analysis

Se	Liver				Spleen			
		4 days	7 days	14 days		4 days	7 days	14 days
Control			4.51	3.48	Control		2.64	2.61
Se-excessive	14.57		15.82	12.37	Se-excessive	3.76	5.96	6.37
Se +As-excessive	16.53		17.36	11.23	Se +As-excessive	4.92	6.11	6.40
As-excessive	4.25		4.61	3.47	As-excessive	2.85	3.39	2.71

As	Liver				Spleen			
		4 days	7 days	14 days		4 days	7days	14days
Control			0.72	0.66	Control		3.21	3.12
Se-excessive	0.49		0.46	0.62	Se-excessive	2.19	3.37	3.90
Se +As-excessive	0.85		1.81	1.44	Se +As-excessive	13.94	30.82	39.09
As-excessive	1.95		5.55	4.21	As-excessive	37.23	70.05	105.95

の約2倍であった。また、脾臓中のヒ素濃度は、ヒ素水7日間投与後では正常ラットの約10倍、ヒ素水14日間投与後では正常ラットの12.5倍であった。セレン+ヒ素同時投与による肝臓および脾臓中のヒ素濃度は、正常ラットのヒ素濃度と比較して高濃度であったが、ヒ素単独投与による肝臓および脾臓中のヒ素濃度と比較して低濃度であった。ヒ素はセレン中毒を緩和する作用をもち、セレンもヒ素中毒を緩和する作用がある⁸⁾。また、ヒ素はセレンの胆汁排泄を促進し、セレンはヒ素の胆汁排泄を促進すると報告されている⁷⁾。さらに、肝臓中においてヒ素はセレンと結合して生体にとって無毒化の化学形をとり、胆汁中に排泄されると報告されている⁷⁾。以上を鑑みると、セレン+ヒ素同時投与による肝臓中のヒ素濃度の低下は、セレン同時投与により、ヒ素のメチル化が増加した、あるいは、胆汁からのヒ素排泄が増加したことに起因していると考えられる。

ま と め

セレン過剰ラットおよびセレン+ヒ素過剰ラットのセレンの取り込みは、腎臓、脾臓、精巣および血液において、正常ラットと比較して低下した。セレンの取り込みに対して、セレン過剰による影響は認められたが、ヒ素とセレン同時投与による影響は認められなかった。また、ヒ素の取り込みは、全てのラット群において、挙動の一致が認められた。ヒ素の取り込みに対して、ヒ素単独投与あるいはセレン+ヒ素同時投与による影響が認められなかった。

一方、機器中性子放射化分析法による結果から、肝臓および脾臓中のヒ素含有量において、セレンとヒ素同時投与による影響が認められた。セレン+ヒ素同時投与によるヒ素の蓄積量は、正常ラットのヒ素蓄積量と比較して高濃度であったが、ヒ素単独投与のヒ素蓄積量と比較して低濃度であった。肝臓および脾臓において、セレンとヒ素の拮抗作用が示された。

参考文献

- 1) T. A. Gasiewicz and J. C. Smith (1978) Chem. Biol. Interact. 23 : 171.
- 2) D. J. Thomas and J. C. Smith (1984) Environ. Res. 34 : 287.
- 3) T. Urano, N. Imura, and A. Naganuma (1997) Biochem. Biophys. Res. Commun. 239 : 862.
- 4) J. Gambhir and R. Nath (1992) Indian J. Exp. Biol. 30 : 597.
- 5) 千葉百子, 鈴木和夫 (1996) 健康と元素, 南山堂, 東京 : pp.72.
- 6) J. P. Berry, L. Zhang, and P. Galle (1995) J. Submicrosc. Cytol. Pathol. 27 : 21.
- 7) O. A. Levander (1977) Environ. Health Perspect. 19 : 159.
- 8) A. L. Moxon and K. P. DuBois (1939) J. Nutr. 18 : 447.