

放射化分析法によるセレン欠乏ラット及びビタミンE欠乏ラット臓器中元素含量の測定

松本謙一郎,^{*,a} 山崎 慈,^a 佐藤和恵,^b 牛尾房雄,^c 遠藤和豊^aMeasurement of Contents in Organs of Selenium- or Vitamin E-Deficient Rat
Using Instrumental Neutron Activation AnalysisKen-ichiro MATSUMOTO,^{*,a} Megumi YAMAZAKI,^a Kazue SATOH,^b
Fusao USHIO,^c and Kazutoyo ENDO^a*Department of Physical Chemistry, Showa Pharmaceutical University,^a 3-3165 Higashi-Tamagawagakuen,
Machida, Tokyo 194-8543, Japan, Analysis Center, School of Pharmaceutical Sciences,
Showa University,^b 1-5-8 Hatanodai, Shinagawa-ku, Tokyo 142-8555, Japan,
and Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health,^c
3-24-1 Hyakunincho, Shinjuku-ku, Tokyo 169-0073, Japan*

(Received November 26, 2001; Accepted January 23, 2002)

The contents of iron (Fe), cobalt (Co), zinc (Zn), and selenium (Se) in the organs (liver, kidney, spleen, heart, lung, and brain) and the liver cell fractions (nuclear, mitochondrial, microsomal, and cytosolic fractions) of Se- or vitamin E (VE)-deficient rats were measured using instrumental neutron activation analysis (INAA). The contents of Fe in the liver of Se-deficient rats, and in the liver and the spleen of VE-deficient rats were increased compared with those in normal rats. Fe contents increased mainly in the microsomal fraction. Contents of Co in the organs and liver cell fractions of Se- and VE-deficient rats were markedly low, reflecting the Co contents in both diets. Contents of Zn in the organs and liver cell fractions of Se- and VE-deficient rats decreased to 60–80% of the contents in normal rats. The Se contents in Se-deficient rat organs except for the kidney, spleen, and brain were below the detectable level under the present conditions. Se contents in VE-deficient rat decreased to 50–80% of those in normal rats in all organs and fractions. It is suggested that oxidative stress due to Se- or VE-deficiency affects the dynamics of Fe and Zn.

Key words—oxidative stress; biotrace elements; redox regulation system; iron; cobalt; zinc

緒 言

セレン (Se) は原子番号 34, 原子量 78.96, 周期表 16 族に属する元素で金属, 非金属の両方の性質を有している。生体内ではグルタチオンペルオキシダーゼ (GSH-Px) の活性中心であり, 過酸化水素 (H₂O₂) の消去に深く関与している。GSH-Px は主に肝臓に多く存在しており, この酵素の活性が低下した状態では, 肝臓は H₂O₂ を介した酸化的ストレスに曝されると考えられる。¹⁾ 細胞レベルでの H₂O₂ の増加は Haber-Weiss 反応や Fenton 反応を介するヒドロキシラジカル (・OH) の生成を増加させると予想される。活性酸素種の中でも・OH は特に反応性が高く, 脂質, 蛋白質, 核酸に酸化的損傷を与

え, 最終的には心血管障害,²⁾ 脳神経障害,³⁾ 癌^{4,5)} などの疾患の発生に至ったり, あるいは老化⁶⁾ を促進させたりすると考えられている。GSH-Px にはいくつものアイソザイムが知られており, そのうち膜結合型の GSH-Px は脂質ヒドロペルオキシドをアルコールに還元する働きを持っている。そのため Se の抗酸化的な働きは生体膜脂質の保護に特に関わりが深いと考えられる。Se は GSH-Px 活性に基づく抗酸化的な働きの他にも, 免疫機能, 男性生殖機能, 人間の感情等とも深い関わりを持っている。⁷⁾

ビタミン E (VE) は, 脂質ラジカルに水素を与えて安定化させ, 脂質過酸化の連鎖反応を遮断することにより過酸化脂質の生成を防いでいる。VE も Se と同様に生体膜の保護に関わりが深い。また, 心血管障害や癌の発生予防, 正常な免疫機能の維持にも深く関わっている。⁸⁾ その他にも, 免疫系との

^{a)} 昭和薬科大学薬学部物理化学研究室, ^{b)} 昭和薬科大学薬学部分析センター, ^{c)} 東京都立衛生研究所
e-mail: knmatsu@ac.shoyaku.ac.jp

関わり、また生殖機能との関わり等、VEとSeには多くの面で共通した働きがあると言える。生体内には複雑な酸化還元系が存在し、様々な抗酸化酵素やビタミンがその中で相互に働きあっている。SeとVEもその一員であり、食餌中のSeやVEが欠乏すると、生体の抗酸化機能が低下し、生体は酸化ストレスに曝露される。そのような状態においては、生体膜をはじめとして、蛋白質や糖質、さらには核酸等が酸化的に損傷され、その機能に様々な影響が生じることになる。

生体内酸化還元系で働くいくつかの酵素やビタミンには、その活性中心に金属を含むものが多くある。Seはすでに述べたようにGSH-Pxの活性中心である。Feはキサンチンオキシダーゼ、シトクロムP-450、カタラーゼ等の活性中心であり様々な酸化還元反応に関与している。CoはビタミンB₁₂(VB₁₂)の成分で、欠乏症に悪性貧血が知られている。Znはスーパーオキシドジスムターゼ(SOD)の構成成分である他、様々なZn含有酵素が知られておりその働きは多岐にわたる。酸化ストレスの負荷により生体内の酸化還元反応のバランスが崩れると、これらの酵素やビタミンの活性変化や、またそれに伴うそれらの元素の動態変化が予想される。⁹⁾

そこで本研究では、Se欠乏あるいはVE欠乏により与えられる酸化ストレスと生体内必須微量元素動態との関係を調べるため、正常ラット、Se欠乏ラット、VE欠乏ラットの各臓器に含まれる元素の量を中性子放射化分析法により測定し比較した。

実験の部

1. 実験動物 ㈱日本医科学動物資材研究所(東京)から購入した妊娠確定15日目のWistar系ラットに、Se欠乏餌(オリエンタル酵母株式会社、東京)をあるいはVE欠乏餌(オリエンタル酵母株式会社)をそれぞれ与えた。飲料水として両ラットともに超純水を与えた。生まれた仔ラットの離乳(4週齢)までは、親ラットに同様の餌と水を与えて飼育を続けた。離乳後は、仔ラットの雌雄を分けて別のケージへ移し、各餌と超純水を与え12週齢に至るまで飼育を行った。これらをSe欠乏ラット及びVE欠乏ラットとして実験に用いた。実験には雄のラットを用いた。㈱日本医科学動物資材研究所から12週齢のWistar系雄ラットを購入し、これを

正常ラットとして実験に使用した。

2. 照射試料の作成 正常ラット(392.0±6.9g, 6匹)、VE欠乏ラット(350.8±8.0g, 6匹)、及びSe欠乏ラットを(188.0±31.2g, 8匹)をペントバルビタール(0.05mg/g b.w., i.p.)で麻酔し、下大動脈からの脱血により屠殺した。全身を氷冷した生理食塩水(0.9% NaCl)で十分に灌流した後、肝臓、腎臓、心臓、脾臓、肺、脳を単離した。各臓器から1gずつ切り取り各群毎に合わせ凍結乾燥した。その他の臓器は全量を各群毎に合わせて凍結乾燥した。残りの肝臓を各群毎に合わせ、生理食塩水を加えてホモジナイズした。遠心分離により核(NU)、ミトコンドリア(MT)、ミクロソーム(MC)、可溶性画分(CS)を調製し、各画分を凍結乾燥した。乾燥した各試料をメノウ乳鉢でよく磨り潰して粉末化した。またSe欠乏餌、VE欠乏餌についても一度凍結乾燥して粉末化した。粉末化した試料の約100—150mgを石英管に減圧封入した。同様にStandard Reference Material 1577b bovine liver (National Bureau of Standards) 約100mgを精秤して石英管に減圧封入し標準試料とした。

3. 中性子照射及びγ線の測定 ラット飼育飼料、正常ラット及びSe欠乏ラット由来の試料は日本原子力研究所JRR-4原子炉Dパイプ($f=4.3 \times 10^{13}$ n/cm² s)で1時間、VE欠乏ラット由来の試料は同所JRR-3M原子炉HR-2照射孔($f=1.0 \times 10^{14}$ n/cm² s)で30分間中性子照射を行った。マルチチャンネルアナライザーに接続した高純度Ge半導体検出器(セイコー・イージーアンドジー㈱、松戸)で放射化した試料を測定し、γ線スペクトルを得た。

4. VE濃度の測定 2,2,5,7,8-ペンタメチル-6-ヒドロキシメチルクロマンを内標準物質として用いた植田ら¹⁰⁾の方法に準拠して行った。すなわち肝臓ではホモジネート400μl、飼料は400mgを用い、2,2,5,7,8-ペンタメチル-6-ヒドロキシメチルクロマン0.5μg、6%(W/V)ピロガロール・エタノール溶液及び60%(W/V)水酸化カリウム溶液を加えケン化した。0.9%(W/V)塩化ナトリウム溶液を加えた後、酢酸エチル・*n*-ヘキサン(1:9V/V)混液により抽出し、その溶媒層を留去、残渣を*n*-ヘキサンに再溶解し、HPLC分析に供した。HPLCは、検出器に蛍光検出器(Ex 298 nm, Em 325 nm)、カラムにNH₂基結合型、移動相に3%(V/V)イソ

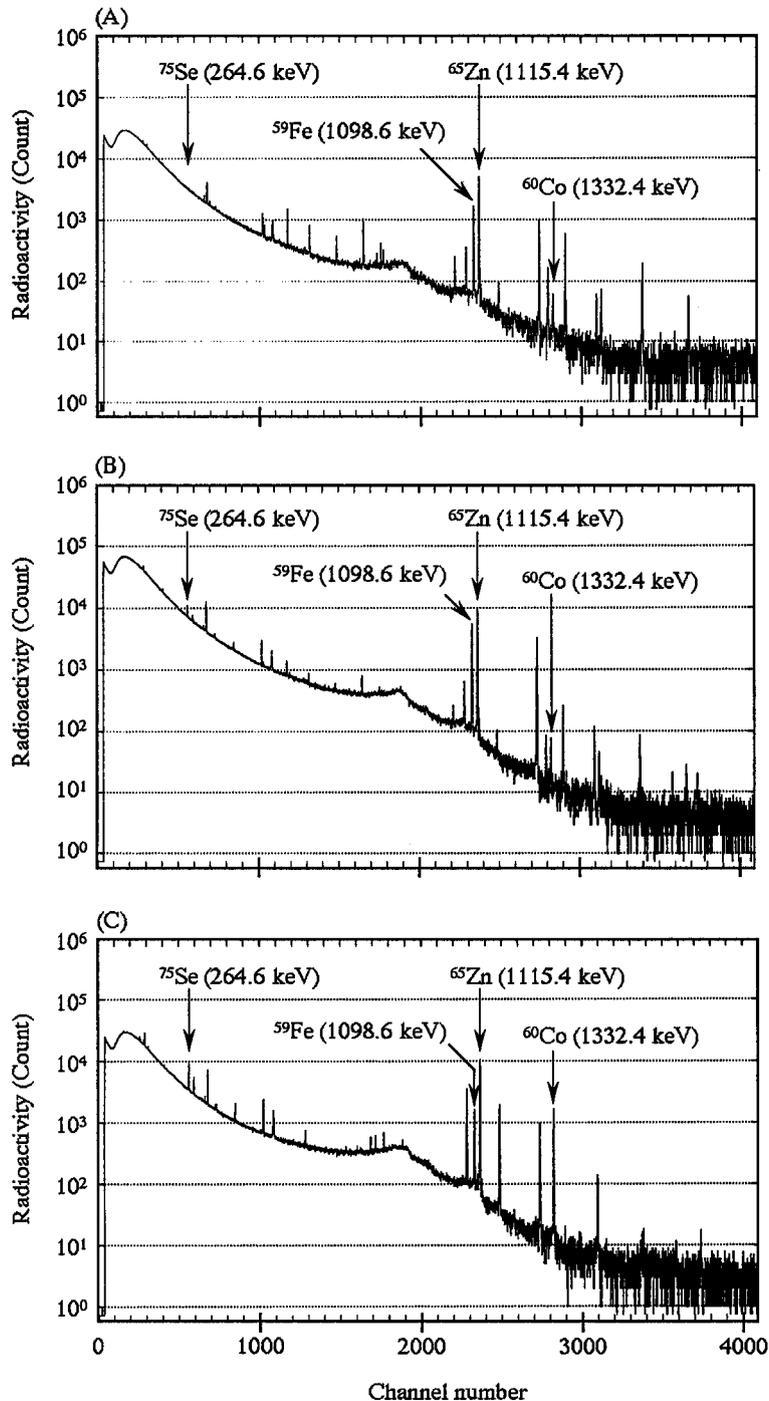


Fig. 1. γ -Ray Spectra of Liver Samples Irradiated by Thermal Neutrons
 (A) Se-deficient rat, (B) VE-deficient rat, (C) Normal rat.

プロピールアルコール・*n*-ヘキサンを用いた順相系により測定した。

結果及び考察

1. γ 線スペクトルの解析 Figure 1A は Se 欠乏ラット, B は VE 欠乏ラット, C は正常ラット肝

臓の γ 線スペクトルで, A と B は中性子照射の 13 日後に, C は 29 日後に測定された。横軸のチャンネルは γ 線エネルギーに対応しており, ^{152}Eu 標準線源で補正を行った際, 122 keV が 258 ch, 1408 keV が 2985 ch に対応していた。縦軸は各チャンネルにおける計数値を対数表示している。測定時間は,

Table 1. Contents of Fe, Co, Zn, Se, and VE in Diets

	Se-deficient diet	VE-deficient diet	Normal diet ^{*, **}
Fe	591±64.6	515±56.3	482±5.6
Co	0.029±0.002	0.032±0.002	0.9±0.02
Zn	64.5±3.87	61.0±3.66	62±1.8
Se	0.017±0.002	0.13±0.015	0.86±0.03
VE	101.9±3.31	0.25±0.50	39.2±5.05

Values were obtained as mg/kg in dried powder sample and shown as means±SD. * CE-2 (CLEA Japan, Inc., Tokyo). ** For contents of elements in the normal diet, values are referred to our previous paper.⁹⁾

A が約半日, B と C は約 1 日である。各試料の γ 線スペクトルを見比べると, ピークの数や強度に違いが見られた。今回は ^{75}Se の 264.6 keV, ^{59}Fe の 1098.6 keV, ^{60}Co の 1332.4 keV, ^{65}Zn の 1115.4 keV について解析を行った。これらを比較すると, 正常ラットでは ^{75}Se の 264.6 keV のピークがはっきり見えているのに比べ, VE 欠乏ラットではピーク強度が小さくなり, Se 欠乏ラットではほとんど見えなかった。 ^{60}Co の 1332.4 keV のピーク強度にも明らかな違いが見えており, Se 欠乏ラットと VE 欠乏ラットでは正常ラットよりもピーク強度が大幅に小さくなった。また ^{59}Fe の 1098.6 keV のピーク強度も, Se 欠乏ラット及び VE 欠乏ラットでは正常ラットに比べてやや大きくなっているのが判る。 ^{65}Zn の 1115.4 keV のピークに関しては見た目だけではあまりはっきりした差は判らなかつた。正確な比較を行うため, それぞれのピークの計数率を標準試料 (SRM1577b) と比較して, 各試料中に含まれる元素の濃度を求めた。

2. 餌中の元素含量及び VE 含量 Table 1 に正常餌, VE 欠乏餌, Se 欠乏餌の元素含量及び VE 含量を示す。我々と同様のトルラ酵母ベースの Se 欠乏餌中の Se 濃度は 0.008 ppm という報告¹¹⁾があるが, 我々の用いた Se 欠乏餌中の Se 濃度はその約 2 倍であった。しかしそれでも正常餌の約 50 分の 1 であり, 十分に低い値と言える。VE 欠乏餌の Se 濃度も正常餌の約 7 分の 1 で, 低セレン濃度であることが判かった。Fe の濃度は Se 欠乏餌でやや多いが有意差は見られなかつた。VE 欠乏餌, Se 欠乏餌の Co の濃度は正常餌よりも有意に低く, VE 欠乏餌, Se 欠乏餌ともに正常餌の 30 分の 1 程度であった。NRC'78 によればラットのビタミン B₁₂ の推奨値は 0.05 mg/kg で, これは Co 濃度に換算すると

Table 2. Contents of VE in Rat Liver

	Se-deficient rat	VE-deficient rat	Normal rat
VE	7.93±2.26	0.896±0.284	11.80±1.24

Values were obtained as mg/kg liver and shown as means±SD.

0.0022 mg/kg となる。Se 欠乏餌及び VE 欠乏餌中のビタミン B₁₂ の添加量 (カタログ記載値) はそれぞれ 0.017 mg/kg 及び 0.01 mg/kg, 正常餌の分析値 (カタログ記載値) は 0.034 mg/kg であり, いずれの餌もビタミン B₁₂ の濃度としては推奨値よりは若干低くなっている。これは餌原料に由来するビタミン B₁₂ の自然の混入を期待しているためと思われる。今回得られた Co 含量は, Se 欠乏餌, VE 欠乏餌及び正常餌でそれぞれ 0.029 mg/kg, 0.032 mg/kg 及び 0.9 mg/kg であり, これらはビタミン B₁₂ に由来する Co 濃度を大きく上回っている。このことから, 正常餌中には何らかの餌原料に由来する無機 Co の混入が大量にあるのではないかと考えられる。各餌中の Zn の濃度は同程度であった。餌中の VE 濃度は, Se 欠乏餌で最も多く, 正常餌の約 2.5 倍高かった。VE 欠乏餌中の VE は正常餌の約 150 分の 1, Se 欠乏餌の 400 分の 1 であった。各餌のカタログ記載の VE 添加量から計算した VE 含量は, 正常餌で 70 mg/kg, Se 欠乏餌では 102 mg/kg であるが, 正常餌の測定値はこれよりも大幅に低い値を示した。Se 欠乏餌は, 購入後 4℃の低温室に保管され, 随時必要量のみを取り出してラットに給餌した。しかし正常餌は, 常時少量が飼育室の餌箱に室温で蓄えられており, これをラットに与えた。そのため正常餌中の VE は, 室温での保存期間中に抗酸化剤として自然消費されたものと思われる。

3. ラット肝臓中 VE 含量 Table 2 は各ラット肝臓中の VE 濃度を示す。VE 欠乏ラット肝臓の VE 濃度は, 他のラットよりも有意に低く, Se 欠乏ラットの約 100 分の 1, 正常ラットの約 150 分の 1 であった。Se 欠乏ラット肝臓の VE 濃度は, 正常ラット肝臓中の VE 濃度に比べて低くなっている。Se 欠乏餌中の VE 濃度は正常餌より大幅に高いにもかかわらず, Se 欠乏ラット肝臓の VE 濃度が正常ラットよりも低いのは, Se 欠乏により生じた酸化ストレスの結果, より多くの VE が消費されるためと思われる。しかし同様に考えた場合に, VE

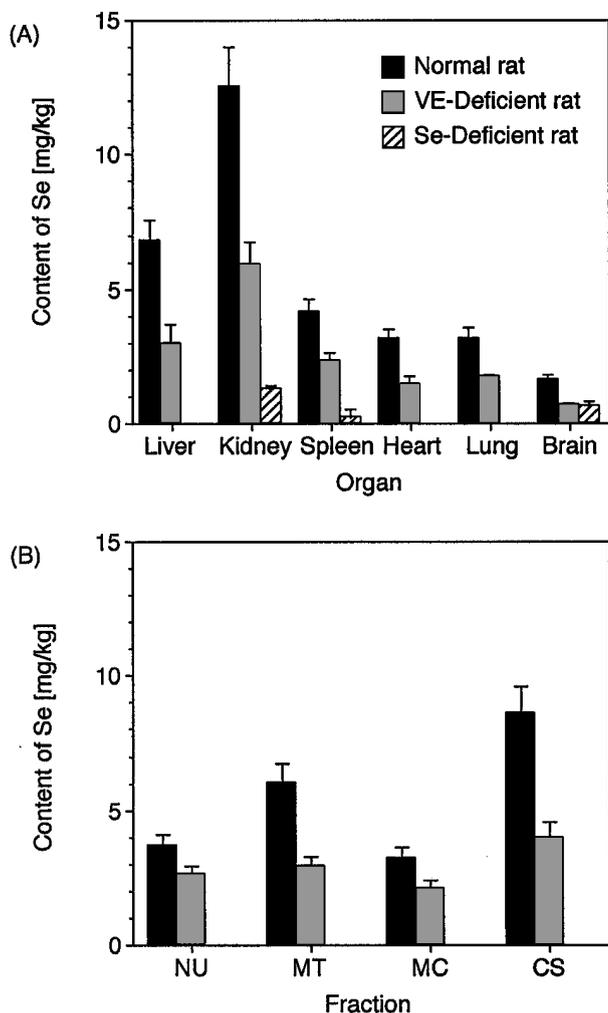


Fig. 2. Contents of Se in the Normal, Se-Deficient, and VE-Deficient Rats

(A) Contents of Se in the various organs, (B) Contents of Se in the liver cell fractions.

欠乏ラット肝臓中の VE 濃度は VE 欠乏餌中の VE 濃度に比べると比較的高い濃度が維持されているように思われる。VE の働きはビタミン C によって維持されることが知られている。Se 欠乏餌及び VE 欠乏餌中のビタミン C の添加量 (カタログ記載値) はそれぞれ 50 mg/kg 及び 600 mg/kg, 正常餌の分析値 (カタログ記載値) は 190 mg/kg であり, 摂取するビタミン C 濃度も体内の VE 濃度の維持に若干の関与を示すと考えられる。

4. ラットの各臓器及び肝細胞画分中の元素含量

Figure 2 に各ラット臓器及び肝細胞画分中の Se 濃度を示す。正常ラット臓器中の Se の濃度は肝臓, 腎臓で高く, 次に脾臓, 心臓, 肺が高く一番低いのは脳であった。肝臓の画分では CS での濃度が高く

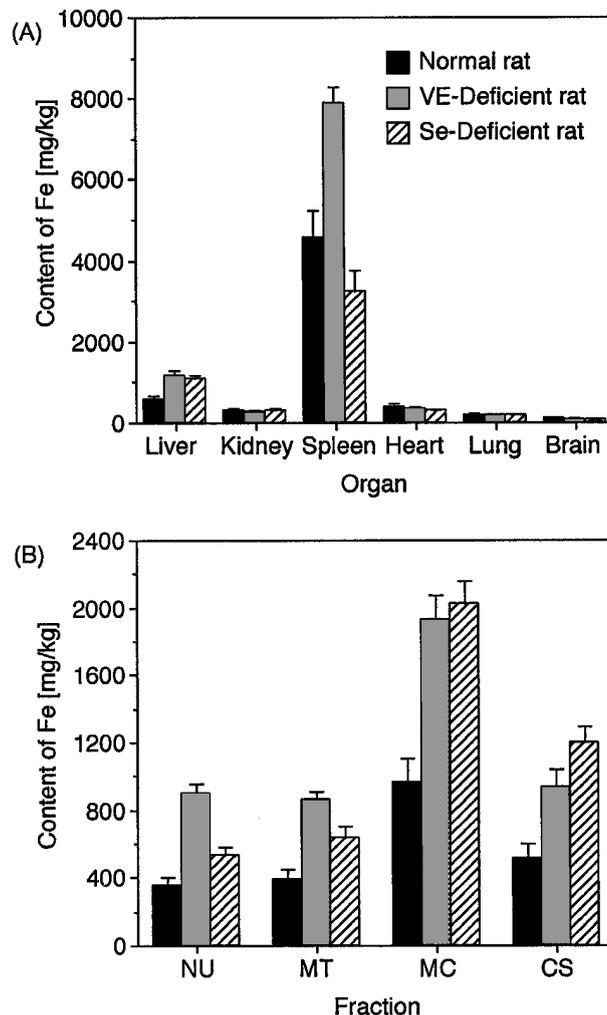


Fig. 3. Contents of Fe in the Normal, Se-Deficient, and VE-Deficient Rats

(A) Contents of Fe in the various organs, (B) Contents of Fe in the liver cell fractions.

MT, NU, MC の順に低くなった。VE 欠乏ラットではすべての臓器及び肝細胞画分で, 正常ラットよりも低い値を示した。VE 欠乏餌中で Se の濃度は正常餌の約 1/7 程度であるが, 臓器中では正常ラットの約 1/2 程度であり, Se の濃度を維持しようとしていることが伺える。Se 欠乏ラットでは腎臓, 脾臓及び脳で少量の Se が検出された。Se 欠乏ラット腎臓及び脾臓の Se 濃度は正常ラット及び VE 欠乏ラットに比べて有意に低かった。脳では正常ラットよりも有意に低い VE 欠乏ラットとは同程度であった。Se 欠乏ラットのその他の臓器及び肝細胞画分では Se は検出されなかった。

Figure 3 は各ラット臓器及び肝細胞画分中の Fe 濃度を示す。Fe は, どの群においても脾臓に最も

高濃度に存在した。VE 欠乏ラット臓器中の Fe の濃度は、脾臓及び肝臓で正常ラットより高く、その他の臓器では同程度であった。また VE 欠乏ラットでは、肝細胞画分においても正常ラットより Fe 濃度が高かった。Se 欠乏ラットでも肝臓で Fe の増加が確認されたが、脾臓では正常ラットよりも低い濃度であった。Se 欠乏ラットのその他の臓器では、Fe 濃度は正常ラットと同程度であった。また Se 欠乏ラットでも肝細胞画分において、Fe の増加が見られた。MC, CS, においては VE 欠乏ラットと同程度の増加を示したが、NU, MT においては VE 欠乏ラットよりも低い値を示した。正常餌, Se 欠乏餌, VE 欠乏餌中の Fe 濃度は同程度であるにもかかわらず、VE 欠乏ラットの脾臓及び肝臓、また Se 欠乏ラットの肝臓において正常ラットよりも Fe 濃度が高いのは、VE 欠乏あるいは Se 欠乏による酸化ストレスに何らかの関係があるものと思われる。今回の VE 欠乏ラットでは Se 欠乏までとはいかないが、正常ラットに比べ低 Se 状態にある。そのため VE 欠乏ラットの肝臓への Fe 蓄積が VE 欠乏によるものか SE 欠乏によるものか区別することは難しい。しかし、脾臓への Fe 蓄積は VE 欠乏ラットのみに見られ、VE 欠乏が影響している可能性もある。Fe はヘモグロビンとして最も多く存在しており、残りは貯蔵鉄として肝臓、脾臓にフェリチン及びヘモシデリンとして存在する。脾臓は造血臓器であり、VE 欠乏ラット脾臓での Fe の増加から、VE 欠乏ラット脾臓では赤血球の新生が盛んであることが予想される。VE 欠乏は赤血球膜の安定性を低下させ、赤血球の寿命を短縮させる。そのために新たに赤血球を作る必要性があり脾臓での Fe 含量が増加するものと思われる。Se 欠乏によっても同様の状況が予想されるが、Se 欠乏状態での肝臓及び脾臓への Fe の蓄積については、マウスを用いた研究で、比較的若い動物では蓄積を示すものの、週齢が高くなると蓄積性が見られなくなることが報告されている。¹²⁾ Se 欠乏ラットにおいても肝臓及び脾臓への Fe 蓄積が報告¹³⁾されているが、今回 Se 欠乏ラットの脾臓への Fe 蓄積は見られておらず、これは飼育開始時期あるいは週齢により影響されるものと思われる。

Figure 4 は各ラット臓器及び肝細胞画分中の Co 濃度を示す。正常ラットの Co 濃度は腎臓及び肝臓

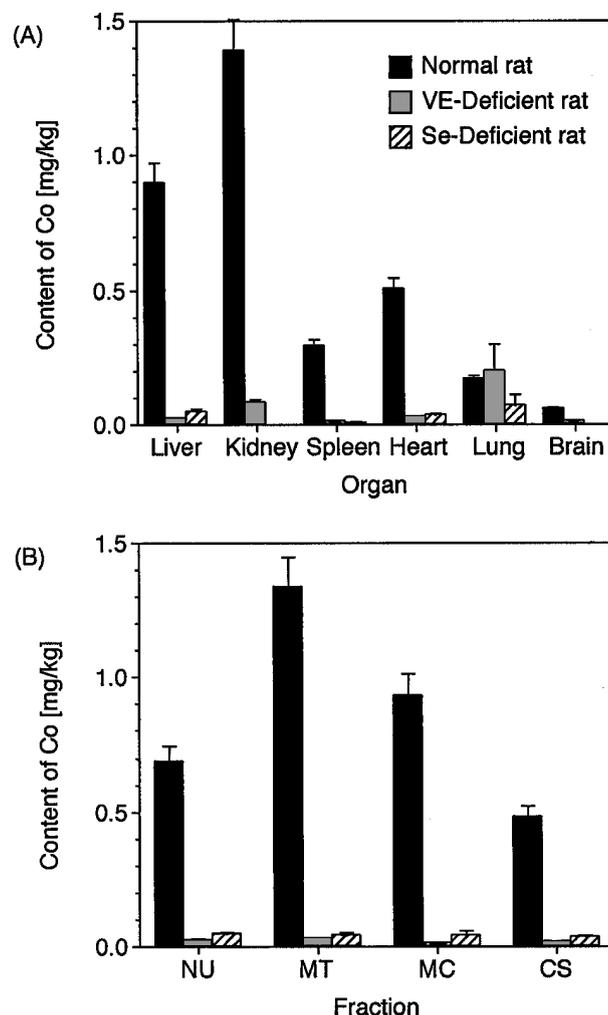


Fig. 4. Contents of Co in the Normal, Se-Deficient, and VE-Deficient Rats

(A) Contents of Co in the various organs, (B) Contents of Co in the liver cell fractions.

に高く、次に心臓及び脾臓、肺及び脳では比較的低かった。VE 欠乏ラットの Co 濃度は肺を除いて正常ラットよりも著しく低かった。肺では正常ラットと同程度の Co 濃度を示した。Se 欠乏ラットでは、心臓、肝臓で VE 欠乏ラットと同程度、肺で VE 欠乏ラットの 1/3 程度で、その他の臓器ではほとんど検出されなかった。正常ラット肝細胞画分では MT に多く、続いて MC, NU, CS の順であったが、画分による著しい差はなかった。VE 欠乏ラットではどの画分においても正常ラットより著しく低濃度であった。Se 欠乏ラットの肝細胞画分中の Co 濃度も正常ラットに比べて著しく低い値を示したが、VE 欠乏ラットよりやや多かった。VE 欠乏餌及び Se 欠乏餌中の Co 濃度は正常餌の約 30 分の 1 で、

臓器中でも餌中の Co 量が反映されているものと思われる。Se 欠乏ラットも VE 欠乏ラットも比較的 low Co 状態ではあるが、今のところ生体内における Co の働きは VB₁₂ に基づくもの以外にあまり知られておらず、また VE 欠乏餌及び Se 欠乏餌には必要最小限の VB₁₂ が添加されていることから、Co 欠乏と言える状態までは至っていないと考える。加えて、VE 欠乏では体重は低下しておらず、少なくとも Se 欠乏ラットでの体重減少に関して low Co 状態による影響は排除されると考える。正常ラットとの Co 濃度の差が生体にどのような影響を及ぼし得るかについては不明であるが、我々はこれまでにマルチトレーサーを用いた研究で、マルチトレーサー投与 48 時間後の Se 欠乏ラット肝臓において Co の取り込み量が正常ラットよりも有意に高いことを報告しており、生体内において無機 Co が何らかの役割を示す可能性を示唆している。⁹⁾

Figure 5 は各ラット臓器及び肝細胞画分中の Zn 濃度を示す。Zn の濃度は正常ラットの肝臓、腎臓で高く次に脾臓、肺、心臓が高く一番低いのは脳であった。VE 欠乏ラットでは臓器中及び肝細胞画分中の Zn 濃度は正常ラットの 60—80% であった。Se 欠乏ラットでは、腎臓では正常ラットと同程度、肝臓では正常ラットよりもやや低く、その他は VE 欠乏ラットと同程度かやや高濃度であった。肝細胞画分では CS で VE 欠乏ラットより高濃度であったが、その他の画分では VE 欠乏ラットと同程度の低下を示した。Zn はどのラットにおいても可溶性画分に多く、これは可溶性画分に Zn 含有蛋白が多いからだと思われる。正常餌、VE 欠乏餌、Se 欠乏餌中の濃度は同程度であるにもかかわらず、VE 欠乏ラット、Se 欠乏ラットの臓器中 Zn 濃度は正常ラットよりも低いことが判かった。しかし、このことについての具体的な理由は今のところ明らかでない。

生体内の酸化還元系の中で働く元素には、本研究で検討した Fe, Co, Zn, Se の他にも、いくつか重要な元素がある。特にマンガン (Mn) や銅 (Cu) は、スーパーオキシドジスムターゼ (SOD) 活性との関係を考える上で重要である。Mn は Mn-SOD の活性中心であり、Mn-SOD はミトコンドリアに主に存在する。一方、Cu は Zn と共に Cu/Zn-SOD の活性中心であり、Cu/Zn-SOD は細胞質に主に存在する。しかしながら、中性子照射によって得られ

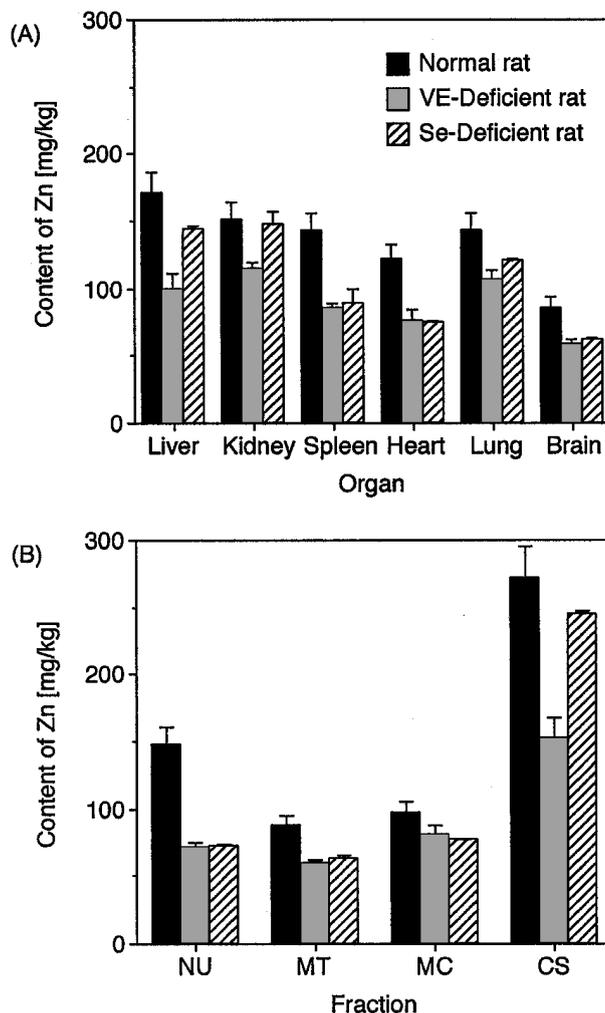


Fig. 5. Contents of Zn in the Normal, Se-Deficient, and VE-Deficient Rats

(A) Contents of Zn in the various organs, (B) Contents of Zn in the liver cell fractions.

るこれらの元素の放射性アイソトープは、いずれもその半減期が短く、中性子照射直後の測定を必要とするため、原子炉施設において別途測定する必要がある。今回の実験では比較的半減期の長い核種のみを測定対象としており、これらの元素については元素含量を得ることができなかった。Mn あるいは Cu の含量の測定には、放射化分析よりもむしろ、原子吸光法や ICP-MASS による分析が適当と思われる。

Se 欠乏ラットの体重はその他のラットに比べて有意に減少していた。Se 欠乏餌にセレン酸 (Se として 0.1 mg/kg) を添加した餌を与えて Se 欠乏ラットと同様に飼育をした場合には 12 週齢以降から欠乏群よりもわずかに体重の増加が見られるもの

の、正常群と比べると有意に体重が減少する。よってこの体重の減少が Se 欠乏だけの影響と言いつけることはできない。Se 欠乏餌は他の餌に比べて Se 以外の栄養価も比較的低い値となっており、乳幼児期の低栄養状態が体重の減少に大きく関係しているものと思われる。例えば、4 週齢（離乳後 1 週間）から Se 欠乏餌で飼育したラットは 8 週齢の時点の体重 (203.4 ± 9.5 g, $n=4$) は正常ラット (218.8 ± 7.5 g, $n=4$) とそれほど変わらないが、3 週齢（離乳直後）から Se 欠乏餌で飼育したラットは 8 週齢での体重 (159.0 ± 22.1 g, $n=4$) が有意に低下した。各餌の組成は、Se 濃度と VE 濃度以外にも異なる点がある。厳密に比較を行うためには Se 欠乏餌に Se を添加した餌、あるいは VE 欠乏餌に VE を添加した餌で飼育したラットを対照群として用いるべきであるが、今回の実験においては Se 欠乏と VE 欠乏ラットにいくつかの共通した結果が得られており、これらに対する酸化ストレスの関与を示すことができた。

最近、生体内必須微量元素（いわゆるミネラル）と健康あるいは長寿との関係が注目を集めているが、両者を結びつけるためのはっきりとした証拠は得られていない。一方、生体内で発生する活性酸素種による酸化ストレスと様々な疾病あるいは、老化との関係が古くから取りざたされている。それらのミネラルの中でも Mn, Fe, Co, Zn, Se, Cu 等は生体内の酸化還元反応、活性酸素の消去系あるいは発生系と深い関わりを持っており、老化やそれに伴う疾病を予防する上で重要な役割をしていると考えられる。今回、Se 欠乏あるいは VE 欠乏による酸化ストレス下での Fe と Zn の動態変化が観察された。詳しいメカニズムの解明については今後の更なる研究が必要とされるが、ミネラルバランスと健康あるいは長寿を結びつける上で、生体内酸化還元系における元素の働きがそこに密接に関与している可能性が示唆された。

謝辞 本研究を遂行するにあたり、有益な御助言とご協力をいただきました東京大学原子力研究総合センター東海分室（大学開放研究室）の川手稔氏に深く感謝の意を表します。本研究の一部は日本学術振興会科学研究費補助金奨励研究（A）及び昭和薬科大学共同研究助成金により行われました。

REFERENCES

- 1) Ueda Y., Matsumoto K., Endo K., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **271**, 699–702 (2000).
- 2) Duffy S. J., Biegelsen E. S., Holbrook M., Russell J. D., Gokce N., Keaney J. F. Jr., Vita J. A., *Circulation*, **103**, 2799–2804 (2001).
- 3) Chakraborty H., Ray S. N., Chakrabarti S., *Neurochem. Int.*, **39**, 311–317 (2001).
- 4) Halliwell B., *Free Rad. Res.*, **29**, 469–486 (1998).
- 5) Poulsen H. E., Prieme H., Loft S., *Erp. J. Cancer Prevent.*, **7**, 9–16 (1998).
- 6) Fulumoto K., Inoue E., Nagao N., Hiyama E., Miwa N., *Life. Sci.*, **63**, 935–948 (1998).
- 7) Rayman M. P., *Lancet*, **356**, 233–241 (2000).
- 8) Meydani M., *Lancet*, **345**, 170–175 (1995).
- 9) Matsumoto K., Inagaki T., Hirunuma R., Enomoto S., Endo K., *Anal. Sci.*, **17**, 587–591 (2001).
- 10) Ueta T., Ichikawa H., Igarashi O. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **39**, 207–219 (1993).
- 11) Hafeman D. G., Sunde R. A., Hoekstra W. G., *J. Nutr.*, **104**, 580–587 (1974).
- 12) South P. K., Morris U. C., Smith A. D., Leuander O. A., *Nutr. Res.*, **20**, 1027–1040 (2000).
- 13) Chareonpong-Kawamoto N., Yasumoto K., *Biosci. Biotech. Biochem.*, **59**, 302–306 (1995).