

微量元素(5)

マンガン摂取 —過不足と茶の影響—

関西大学 化学生命工学部 食品工学研究室 吉田宗弘 *Yoshida, Munehiro*

マンガン (Mn) はピルビン酸カルボキシラーゼとスーパーオキシドジスムターゼの構成因子であり、ヒトを含む高等動物において必須の微量ミネラルと位置付けられている。Mnの1日摂取量はmgオーダーであり、銅と鉄・亜鉛の中間に位置する。しかしMnの体内存在量(約10mg)はこれらの元素よりも2桁少なく、推奨量が数10 μ g/日であるセレンやモリブデンと同程度である。これはMnの吸収率がきわめて低い(数%またはそれ以下)ためである。

本稿では、Mn摂取の過不足の可能性とMn摂取に及ぼす茶の影響を解説する。

Mnの摂取不足は起こりうるか

ヒトでのMn欠乏の報告はきわめて少ない。実験的に調製した特殊なMn欠乏食(Mn摂取量0.11mg/日)を39日間投与された若い男性では、血清コレステロール濃度のわずかな低下と皮膚症状が観察されている¹⁾。この皮膚症状はMn投与で消失することから、Mn欠乏の一症状とみなせる。この実験では、Mnの最小必要量を、平均的には0.74mg/日、吸収率などが低いヒトでは2.11mg/日と推定している。別の実験において、8週間にわたる0.8mg/日の低Mn摂取がいかなる健康障害も起こしていないことから²⁾、この推定は妥当なものと考えられる。一方、わが国の食事摂取基準におけるMn摂取の目安量は、男性4mg/日、女性3.5mg/日であり³⁾、上記の数値よりも相当高い。これは、わが国の目安量が日本人のMn摂取量の推定値(平均3.7mg/日)をもとに設定されているためである。

図は、日本人の食事由来のMn摂取量を食品群

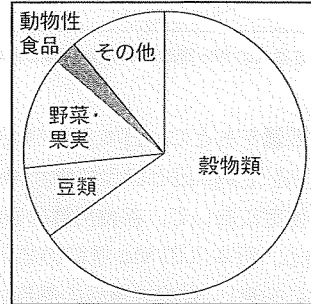


図 日本人のマンガン摂取に及ぼす各食品群の寄与 (文献4をもとに作成)

別に示したものである⁴⁾。Mn供給源の大半は穀物などの植物性食品である。Mn摂取量の計算には後述の茶由来のMn摂取量が反映されていないため、日本人の平均的なMn摂取量は5mg/日を上回っている可能性が高い。したがって、一般的な食生活においてMn摂取不足を懸念する必要はないといえる。

Mnの過剰摂取

Mnの過剰摂取はさまざまな神経障害を引き起こすことが知られている。しかし最初に述べたように、Mnの消化管吸収率はきわめて低いため、食事由来のMnによる過剰障害はほとんど知られていない。たとえば、実験的に食事摂取基準の上限値(11mg/日)の2倍近くに相当する20mg/日のMnを8週間投与されたヒトにおいても、問題となるような障害は観察されていない⁵⁾。

近年、カルシウムなどのミネラルの消化管吸収を促進する食品素材が開発されており、いわゆる機能性食品として市販されている。このようなミネラル吸収促進成分はMnの吸収も促進する可能性があるため、実質的にMn過剰摂取を引き起

こす危険性がある。しかし鉄強化剤として用いられた EDTA 鉄は Mn の消化管吸収と尿中排泄に影響を与えていない⁵⁾。筆者らも、動物実験において、カルシウム吸収を促進するオリゴ糖の一種が Mn 吸収には影響を与えないことを確認している。

Mn 過剰摂取が生ずる危険性があるのは、高カロリー輸液が用いられる場合である。かつて、この輸液には亜鉛などの微量元素が添加されておらず、種々の微量元素欠乏が発生した。このため、現在では微量元素を添加した輸液が用いられている。Mn は必須ミネラルであるため、欠乏症発生を予防するために、一定量(約 1 mg/日)が輸液に添加されていた。しかし、Mn を添加した輸液を用いた場合に、頭痛や脳 MRI 像の異常を認める症例が相ついでおり、輸液への Mn 添加は慎重に進める必要があるとされている^{6,7)}。現在、輸液への Mn 添加は、低用量(約 0.05 mg/日)で行うか、または全血 Mn 濃度が基準値(0.5~2.5 $\mu\text{g}/\text{dl}$)を下回った場合にのみ実施されることが多い。

Mn 摂取と茶

上述のごとく食事由来の Mn は吸収率が低い。そのため、Mn 過剰障害の原因となる可能性は低い。しかし最近、英国において茶の大量消費が Mn 過剰障害を促進する可能性が指摘されている⁹⁾。つぎに Mn 摂取に及ぼす茶の影響について述べる。

産地や製法の異なるさまざまな茶葉を収集して Mn 濃度を測定すると、20~150 mg/100 g の範囲にあり、食品成分表に記載された数値(煎茶 55 mg/100 g, 紅茶 21 mg/100 g)にほぼ一致する⁹⁾。また実験的に調製した浸出液の Mn 濃度も食品成分表に記載された数値(煎茶 3.1 mg/kg, 紅茶 2.2 mg/kg, ウーロン茶 2.4 mg/kg)にほぼ一致する⁹⁾。しかし、家庭で実際に調製・飲用されている茶浸出液と市販の缶およびペットボトル入り茶系飲料の Mn 濃度は 0.5~2.5 mg/l の範囲にあり、食品成分表記載のものよりも明らかに低値で

ある^{9,10)}。したがって、食品成分表に記載されている茶浸出液の Mn 濃度の数値は、一般に飲用されているものに適用するには少し高過ぎるといえる。茶以外の植物の浸出液が混入しているハーブ茶の Mn 濃度は、茶とほかの植物の量比のばらつきを反映してさまざまな値となる。たとえば、茶をまったく使用していない麦茶の Mn 濃度はきわめて低い。

茶系飲料の 1 日消費量は 0.5~1.0 l の範囲にある人が多いので、茶からの Mn 摂取は平均的には 0.5~2 mg/日程度と思われる¹⁰⁾。したがって、茶由来の摂取量を加えたとしても Mn 摂取量が上限値の 11 mg/日を超える可能性は低い。しかし、茶の Mn 濃度が産地ごとに変動するため、浸出液中 Mn 濃度が 5 mg/kg に近いケースも考えられる。このような茶を大量(2 l 以上)に飲用すれば、無視できない量の Mn 摂取を引き起こすことになる。最近では茶の健康効果が強調される傾向にあるが、茶の大量消費はフッ素の過剰障害を起こすことが報告されている¹¹⁾。茶を大量に飲用する人については、Mn に関しても注意を払う必要があるだろう。

文 献

- 1) Friedman BJ, Freeland-Graves JN, Bales CW, et al. J Nutr 1987; 117: 133-43.
- 2) Finley JW, Penland JG, Pettit RE, Davis CD. J Nutr 2003; 133: 2849-56.
- 3) 厚生労働省策定. 日本人の食事摂取基準 [2005 年版]: 第一出版; 2005. p 156-60.
- 4) 鈴木泰夫. ミネラル・微量元素の栄養学 (鈴木継美, 和田 攻 編): 第一出版; 1994. p 469-81.
- 5) Davidsson L, Almgren A, Hurrell RF. J Nutr 1998; 128: 1139-43.
- 6) Nagamoto S, Umehara F, Hanada K, et al. J Neurol 1999; 162: 102-5.
- 7) Masumoto K, Suita S, Taguchi T, et al. JPN J Parenter Enteral Nutr 2001; 25: 95-9.
- 8) Ross C, O'Reilly DS, McKee R. Ann Clin Biochem 2006; 43: 226-8.
- 9) 林希未子, 大西美加, 堀越亮介, ほか. 微量栄養素研究 2004; 21: 115-20.
- 10) 林希未子, 福永健治, 吉田宗弘. 日本健康医学雑誌 2005; 14: 19-23.
- 11) Cao J, Bai X, Zhao Y, et al. Environ Health Perspect 1996; 104: 1340-3.

誘導体化とガスクロマトグラフィー—質量分析によるセレン強化食品中の含セレンアミノ酸の同一-

塩川 真人, 水谷 泰輔, 吉田 宗弘
(関西大学化学生命工学部生命・生物工学科食品工学研究室*)

Identification of Selenoamino Acids in Selenium-enriched Foods by Derivatization and Gas Chromatography-Mass Spectrometry

Makoto SHIOKAWA, Taisuke MIZUTANI and Munehiro YOSHIDA

Laboratory of Food and Nutritional Sciences, Department of Life Science and Biotechnology, Faculty of Chemistry, Materials and Bioengineering, Kansai University, Yamate 3-3-35, Suita, Osaka, 564-8680, Japan

Summary

Selenoamino acids in selenium (Se)-enriched foods were identified by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) after derivatization using a commercial amino acid analysis kit (EZ : faast™). After the derivatization, a compound eluted at the same retention time as derivatized Se-methylselenocysteine (MeSec) in GC was detected in Se-enriched *Kaiware* radish sprouts and Se-enriched garlic bulb. Mass spectrum of this derivatized compound was coincident with that of derivatized MeSec; MeSec was identified in these Se-enriched foods. Similarly, selenomethionine was identified in Se-enriched yeast using EZ : faast™ and GC-MS. Analysis by high performance liquid chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry showed a presence of selenohomolanthionine (SeHL) in Se-enriched mung bean sprouts. However, SeHL could not be analyzed by GC-MS after the derivatization by EZ : faast™.

疫学調査や動物実験によって、必須微量元素のセレンには抗腫瘍作用のあることが明らかにされている¹⁾。しかし、セレン化合物は毒性も強いので、ヒトへの応用は進んでいない。セレンはイオウの同族元素であり、自然界には含硫アミノ酸のセレンアナログである含セレンアミノ酸が存在している。とくに、セレンを蓄積した植物には、Se-メチルセレンシステイン (MeSec) をはじめとする多様な含セレンアミノ酸が存在する^{2,3)}。われわれは、MeSecを豊富に含有するセレン強化カイワレダイコンスプラウトが亜セレン酸に比較してセレンとしての栄養有効性は低い、抗腫瘍活性は高いことを示した^{4,5)}。このようにセレン強化植物には、機能性の高い含セレンアミノ酸が存在しており、高セレン環境下で野菜類を栽培する試みが世界各地で行われている⁶⁾。

セレン化合物の同一には、誘導結合プラズマ質量分析 (ICPMS) を検出に用いた高速液体クロマトグラフィー (HPLC) や液体クロマトグラフィー—質量分析 (LC-MS) が頻用されている。前者ではセレン化合物を特異的に検出でき、後者では未知化合物の構造を推定できる。しかし、HPLC-ICPMS が有機溶媒、LC-MS が不揮発性の溶媒をそれぞれ嫌うことから、両者を共通のカラム—溶媒系で実施することは困難である。したがって、セレン化合物の同一

において HPLC-ICPMS と LC-MS は独立して用いられており、食品や生体中のセレン化合物の同一を効率よく進めることは現在でも難しい。

一方、ガスクロマトグラフィー—質量分析 (GC-MS) は、未知化合物の同一技術として古くから確立している。含セレンアミノ酸のような非揮発性化合物の場合、GC-MS で分析するには誘導体化処理を行うことが必要である。近年、生体や食品中の遊離アミノ酸を固相抽出後、誘導体化処理するキット (アミノ酸誘導体化キット) が開発されており、アミノ酸類の GC-MS 分析を簡便かつ短時間で実施することが可能となっている。今回、セレン強化食品中の含セレンアミノ酸をこのようなアミノ酸誘導体化キットと GC-MS を用いて同一することに成功したので報告する。

実験方法

1. 試料など

セレン強化カイワレダイコンスプラウトとセレン強化リョクトウスプラウトは、既報²⁾に記載した方法に従って栽培したものを用いた。セレン強化ニンニク鱗茎は植物セレンウム研究所 (熊本、阿蘇町) から購入した。セレン強化酵母乾燥粉末は Biospringer 社 (フランス) が生産した

*所在地 : 吹田市山手町 3-3-35 (〒564-8680)

ものを光洋商会（東京）から購入した。セレン強化酵母以外の試料は、凍結乾燥後、ミルで粉末とした。各試料のセレン含量 ($\mu\text{g/g dry weight}$) は以下のとおりである。セレン強化カイワレダイコン, 82.3; セレン強化リョクトウスプラウト, 16.7; セレン強化ニンニク, 226; セレン強化酵母, 1154。

実験に使用した試薬中、セレノホモランチオニン (SeHL) は千葉大学薬学部衛生化学教室から供与されたものを使用した。その他の試薬は市販のものを用いた。また、アミノ酸誘導体化を行うためのアミノ酸分析キット EZ:faast™ (Phenomenex 社, 米国) は島津 GLC (京都) より購入した。

2. 含セレンアミノ酸の抽出

セレン強化酵母以外の試料については、乾燥粉末 100 mg に 50% エタノール 5 mL を加え、十分に攪拌した後、遠心分離して抽出液を調製し、分析用の試料とした。抽出液へのセレンの抽出率 (%) は以下のとおりであった。セレン強化ニンニク, 85.2; セレン強化カイワレダイコンスプラウト, 80.9; セレン強化リョクトウスプラウト, 61.0。

セレン強化酵母は既報²⁾に従って、乾燥酵母 100 mg を 5 mL の蒸留水中で 10 mg のプロテアーゼ XIV® (Sigma-Aldrich 社, 米国) を用いて室温 (約 25°C) で 24 時間加水分解処理を行い、遠心分離して得られた抽出液を分析用の試料とした。抽出液へのセレンの抽出率は 85.4% だった。

3. キットによる含セレンアミノ酸の誘導体化と GC-MS による分析

各抽出液 100 μL にアミノ酸分析キットである EZ:faast™

を用いて誘導体化処理を行い、GC-MS用の試料を調製した。GC-MSの分析条件は以下のとおりである。機器, Parvum 2 (島津, 京都); カラム, Zebron ZB-AAA (Phenomenex 社, 米国); キャリアガス, ヘリウム; 流量, 1.1 mL/min; 気化温度, 250°C; カラム温度, 110~320°C (30°C/min 昇温); 分析時間, 7分; 試料注入量, 2 μL ; イオン源温度, 240°C; スキャン範囲, 45~450 m/z ; サンプルング速度, 3.5 scan/s。

4. HPLC-ICPMS による分析

リョクトウスプラウト抽出液を HPLC-ICPMS で分析し、含有されるセレン化合物の分子種を推定した。分析条件は以下のとおりである。カラム, Develosil RP-Aqueous (野村化学); 移動相, 0.1% トリフルオロ酢酸; 試料注入量, 20 μL ; 流速, 0.5 mL/min; 検出器, 島津 ICPM-8500; 検出質量数, 77, 78, 82。

結果と考察

1. セレン強化カイワレダイコンとセレン強化ニンニク

すでに、HPLC-ICPMS を用いた分析においては、セレン強化カイワレダイコンとセレン強化ニンニク中のセレンの主要な分子種が MeSec であることが示されている^{2,3)}。そこで本実験では、セレン強化カイワレダイコンとセレン強化ニンニク中に存在すると考えられる MeSec を誘導体化後、GC-MS を用いて同定することを試みた。

Fig. 1 は、EZ:faast™ を用いて誘導体化した MeSec, 誘導体化処理したセレン強化カイワレダイコンスプラウト抽出液、および誘導体化処理したセレン強化ニンニク抽出液

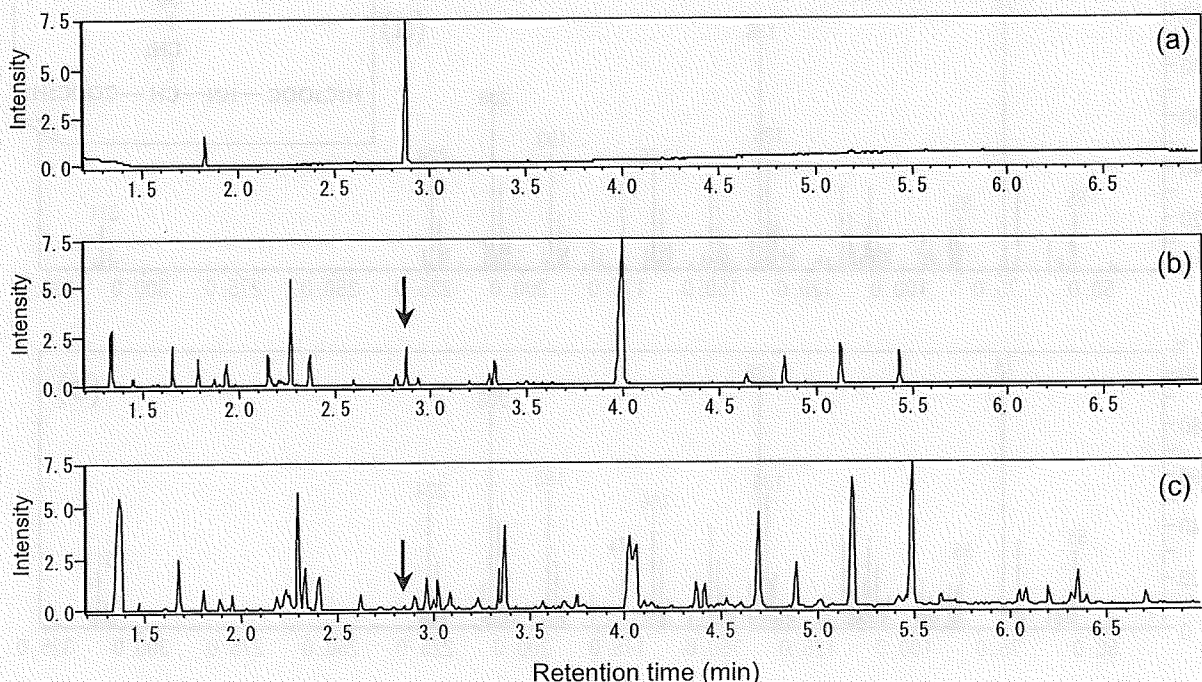


Fig. 1 Gas chromatograms of derivatized Se-methylselenocysteine (a), extract from selenium-enriched *Kaiware* radish sprouts (b) and extract from selenium-enriched garlic bulb (c).

のガスクロマトグラムを示したものである。Fig. 1(a)に示すように、標準 MeSec の誘導体に由来するピークは保持時間 2.87 分付近に認められた。これに対して、誘導体化処理したセレン強化カイワレダイコンスプラウト抽出液とセレン強化ニンニク抽出液のクロマトグラムにも、Fig. 1 (b) および (c) のように、標準 MeSec の誘導体と同じ保持時間を示す化合物の存在が認められた。

Fig. 2 は、Fig. 1 (b) において保持時間 2.87 分を示した化合物のマススペクトルを標準 MeSec の誘導体のマススペクトルと比較したものである。両者のマススペクトルはほぼ一致していた。また、Fig. 1 (c) において保持時間 2.87 分を示した化合物もほぼ同様のマススペクトルを示した(データ略)。

天然には⁸⁰Seをはじめとする様々なセレンの安定同位体が存在する。この中で⁷⁸Se, ⁸⁰Se, ⁸²Se の3つに着目すると、それらの天然における存在比 (⁷⁸Se: ⁸⁰Se: ⁸²Se) は 2:4:1 に近似している。このことは、マススペクトルにおいて m-2, m, m+2 m/z の比が 2:4:1 を示す分子イオンピークやフラグメントイオンピークが存在すれば、その化合物がセレンを含有する可能性が高いことを意味する。本実験で用いたアミノ酸分析キットを用いると、Fig. 2 に記した構造式のように、アミノ酸のアミノ基がカルボキシプロピル化、カルボキシル基がプロピル化されるので、誘導体の分子量はもとのアミノ酸よりも 128 増加する。Fig. 2(a) および (b) には、誘導体化 MeSec (C₁₁H₂₁O₄NSe) の分子イオンに由来する 309, 311, 313 m/z, および誘導体からカルボ

キシプロピル基 (C₃H₇COO-) が1つとれたフラグメントイオンに由来する 222, 224, 226 m/z がいずれも約 2:4:1 の比で認められる。また、他にも m-2, m, m+2 m/z の比が 2:4:1 となっているイオンピークがいくつか存在しており、これらは誘導体化 MeSec のマススペクトルの大きな特徴といえる。以上のことから、Fig. 1 (b) および (c) で認められた保持時間 2.87 分を示す化合物は誘導体化 MeSec であり、セレン強化カイワレダイコンスプラウトとセレン強化ニンニク中に MeSec の存在することを GC-MS を用いて証明できたと考える。

2. セレン強化酵母

多くの研究によって、セレン強化酵母中のセレンの分子種のほとんどはセレノメチオニン (SeM) であることが明らかにされている⁷⁾。そこで本実験では、セレン酵母中に存在すると考えられる SeM を誘導体化後、GC-MS を用いて同定することを試みた。

Fig. 3 は、EZ: faastTM を用いて誘導体化した SeM, および誘導体化処理したセレン強化酵母抽出液のガスクロマトグラムを示したものである。Fig. 3 (a) に示すように、標準 SeM の誘導体に由来するピークは保持時間 3.23 分付近に認められた。これに対して、セレン強化酵母抽出液のクロマトグラムにも、Fig. 3 (b) のように、標準 MeSec の誘導体と同じ保持時間を示す化合物が認められた。

Fig. 4 は、Fig. 3 (b) で認められた保持時間 3.23 分を示す化合物のマススペクトルを標準 SeM の誘導体と比較し

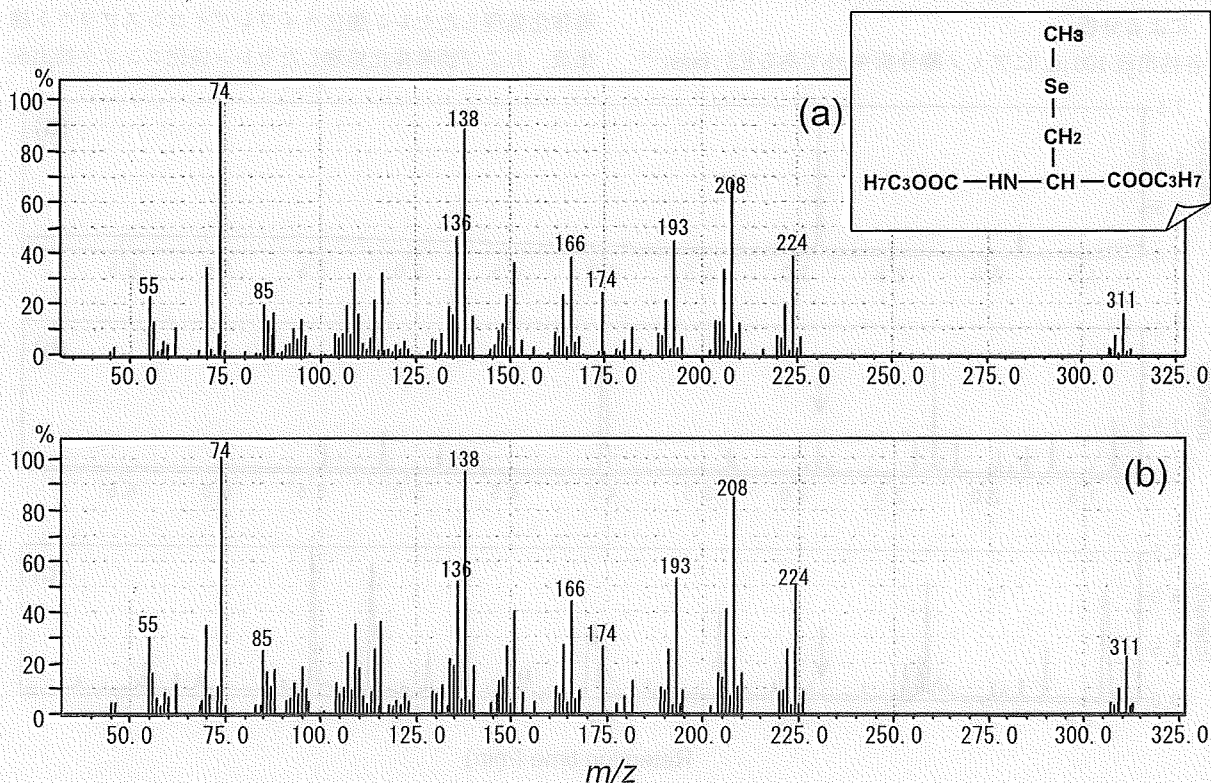


Fig. 2 Mass spectra of derivatized Se-methylselenocysteine (a) and unknown compound contained in extract from selenium-enriched *Kaiware* radish sprouts (b).

たものである。両者のマススペクトルはほぼ一致していた。とくに、誘導体化 MeSec ($C_{12}H_{23}O_4NSe$) の分子イオンに由来する 323, 325, 327 m/z 、フラグメント CH_3SeCH_2 に由来する 107, 109, 111 m/z 、フラグメント $CH_3SeCH_2CH_2$ に由来する 121, 123, 125 m/z などのセレン化合物の特徴を示すイオンピークが共通して認められた。したがって、Fig. 3 (b) で認められた保持時間 3.23 分の化合物は誘導体化 SeM であり、セレン強化酵母中に MeSec の存在することも GC-MS を用いて証明できたといえる。

3. セレン強化リョクトウスプラウト

セレン強化リョクトウスプラウト中のセレンの分子種に

ついては報告例が存在しない。そこでまず、HPLC-ICPMS を用いて、セレン強化リョクトウスプラウト中のセレンの分子種を推定した。セレン強化リョクトウスプラウト抽出液を HPLC-ICPMS で分析したところ、ほとんどのセレンは SeHL と同じ保持時間 (5.1 分) に溶出され、セレン強化リョクトウスプラウトに SeHL の存在することが推察された (データ略)。次に、他の試料と同様に、標準 SeHL を誘導体化処理し、GC-MS で分析した。しかし、標準 SeHL の誘導体を検出することはできなかった。今回用いたアミノ酸分析用キット (EZ:faastTM) は一般的なアミノ酸の中でアルギニンの分析ができない。これは本キットで誘導体化したアルギニンの沸点が高いためである。おそ

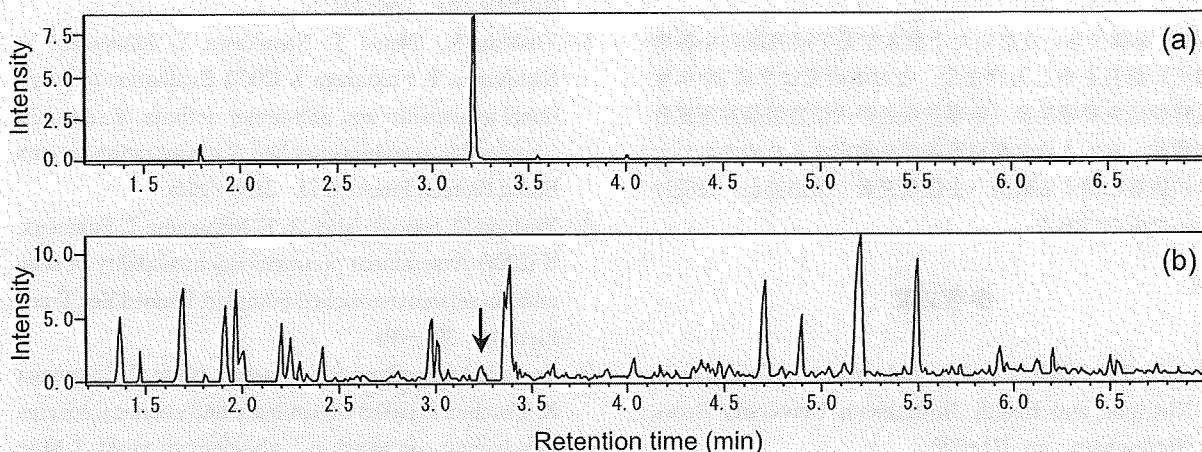


Fig. 3 Gas chromatograms of derivatized selenomethionine (a) and extract from selenium-enriched yeast (b).

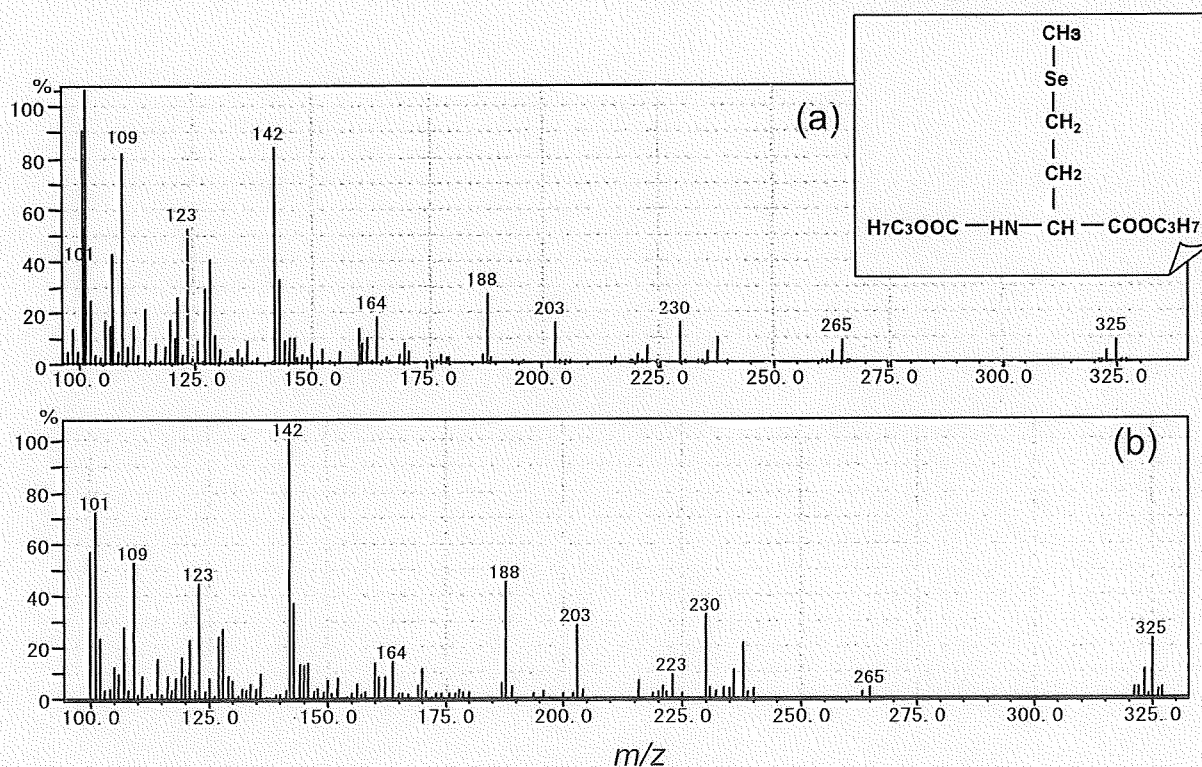


Fig. 4 Mass spectrums of derivatized selenomethionine (a) and unknown compound contained in extract from selenium-enriched yeast (b).

らく SeHL の誘導体もアルギニンの誘導体と同様に高沸点であるため、分析ができなかったと考えられる。

今回、GC-MS 分析に用いたアミノ酸分析用キット (EZ: faast™) は、種々のアミノ酸を、誘導体化を含めて 30 分以内で定量分析できるようにしたものである。ただし、分析感度はあまり高くなく、含セレンアミノ酸を同定・定量するには、試料中セレン濃度が数 ppm 以上必要であった。したがって、一般の食品の含セレンアミノ酸の分析に用いる場合には、含セレンアミノ酸画分の濃縮操作が必要であり、さらに検討が必要と判断された。

謝 辞

SeHL を御供与いただいた千葉大学薬学研究院の小椋康光博士に御礼を申し上げます。なお本研究は平成 20 年度厚生科学研究費補助金 (循環器疾患等生活習慣病対策総合研究事業・日本人の食事摂取基準を推定するためのエビデンスの構築に関する研究 (主任研究者: 柴田克己)) を受けて行ったものである。

参考文献

- 1) Surai PF (2006) Selenium and cancer. in Selenium in Nutrition and Health, Nottingham University Press, Nottingham: pp. 671-720.
- 2) Sugihara S, Kondo M, Chihara Y, Yuji M, Hattori H, Yoshida M (2004) Preparation of selenium-enriched sprouts and identification of their selenium species by high-performance liquid chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry. Biosci Biotech Biochem 68: 193-199.
- 3) Yoshida M, Sugihara S, Inoue Y, Chihara Y, Kondô M, Miyamoto S, Sukcharoen B (2005) Composition of chemical species of selenium contained in selenium-enriched shiitake mushroom and vegetables determined by high-performance liquid chromatography with inductively coupled plasma mass spectrometry. J Nutr Sci Vitaminol 51: 194-199.
- 4) Finley JW (2005) Selenium accumulation in plant foods. Nutr Rev 63: 196-202.
- 5) Yoshida M, Okada T, Namikawa Y, Matsuzaki Y, Nishiyama T, Fukunaga K (2007) Evaluation of nutritional availability and anti-tumor activity of selenium contained in selenium-enriched *Kaiware* radish sprouts. Biosci Biotech Biochem 71: 2198-2305.
- 6) Yoshida M, Sano K, Ishiyuki E, Nishiyama T, Fukunaga K (2007) Assessment of nutritional availability of selenium in selenium-enriched pumpkin. Biomed Res Trace Elem 18: 391-394.
- 7) Yoshida M, Sugihara S, Suenaga S, Naito C, Fukunaga K, Tsuchita H (2002) Digestibility and chemical species of selenium contained in high-selenium yeast. J Nutr Sci Vitaminol 48: 401-404.

食品中のセレンの分布と栄養有効性

吉田 宗弘

関西大学化学生命工学部食品工学研究室

Distribution and Nutritional Availability of Selenium Contained in Foods

Munehiro Yoshida

Laboratory of Food and Nutritional Sciences, Faculty of Chemistry,
Materials and Bioengineering, Kansai University, Suita 564-8680, Japan.

Abstract

Selenium (Se) is an essential trace element in human nutrition. In this review, contents, chemical species and nutritional availability of Se in foods and Se intake in Japanese are discussed. Most fish meats showed high Se values ($> 0.3 \mu\text{g/g}$). Se contents in cereal and beans are varied dependently to soil Se contents ; high Se contents are observed in wheat and soybeans grown on a central area of North American Continent. Since Japan imports a large amount of wheat and soybean, most of bread, pasta and natto sold in Japan show high Se contents ($> 0.1 \mu\text{g/g}$). In addition, north American cereals and beans are used as materials for feed of livestock, meats and eggs also show high Se ($> 0.1 \mu\text{g/g}$) in Japan. Se intake of Japanese is estimated to be about $100 \mu\text{g/d}$ which is comparatively high among the world. Se species in cereals and beans with a normal range of Se ($< 0.5 \mu\text{g/g}$) and that in Se-enriched yeast are protein-bound selenomethionine, while a part of Se species in fish meat is believed to be selenocysteine. Most Se-enriched vegetables contains Se-methylselenocysteine as a major Se species and a part of Se-enriched vegetables contain selenohomolanthionine and γ -glutamyl-Se-methylselenocysteine. Nutritional availability of Se in foods is able to be estimated by a slope ratio analysis. The availability of Se in Se-enriched yeast is high, but those in Se-enriched radish sprouts and in processed skipjack meats are low.

Keywords : nutritional availability of selenium, selenium-enriched foods, selenium intake, selenium species

連絡先：吉田 宗弘
〒564-8680
吹田市山手町 3-3-35
関西大学化学生命工学部生命・生物工学科食品
工学研究室
TEL : 06-6368-0970
FAX : 06-6388-8609
E-mail : hanmyou4@ipc.ku.kansai-u.ac.jp

受付日：平成 20 年 9 月 30 日
受理日：平成 20 年 10 月 10 日

はじめに

ヒトを含む高等動物は食事から様々な化学形態のセレンを摂取し、グルタチオンペオキシダーゼ(GPX)をはじめとする含セレンタンパク質の合成を維持している。セレンの摂取量と含セレンタンパク質の合成量の間には明らかな相関性が存在しており、セレンの1日必要量も血漿GPX活性を適切な範囲に維持するのに必要な摂取量にもとづき設定されている。すなわち、米国食事摂取基準では、血漿GPX活性を飽和させるのに必要なセレンの最小摂取量(体重76kgの成人男性で $45 \mu\text{g/日}$)をセレンの推奨平均必要量(EAR)として、成人男性(体重76kg)の推奨摂取量(RDA)を $55 \mu\text{g/日}$ としている[1]。これに対して、日本の食事摂取基準2005では、セレン欠乏症の予防には血漿GPX活性は飽和値の3分の2の値で十

分とする WHO の考えにもとづき[2]、セレンの必要量を体重 60 kg の成人男性で 24.3 $\mu\text{g}/\text{日}$ と算定し、EAR (成人男性で 25~30 $\mu\text{g}/\text{日}$) と RDA (成人男性で 30~35 $\mu\text{g}/\text{日}$) を設定している[3]。

一方、セレンの摂取上限量(UL)はヒトのセレン中毒に関する情報をもとに設定されている。たとえば、米国食事摂取基準は、セレンの有害作用非発現量(NOEL)を 800 $\mu\text{g}/\text{日}$ と見積もる中国のセレン汚染地域における研究[4]を採用し、これを不確定係数(UF)2 で除した 400 $\mu\text{g}/\text{日}$ を男女共通の成人のセレン摂取上限量(UL)としている[1]。これに対して、日本の食事摂取基準 2005 は、セレンの UL 策定において、上記 NOEL を体重補正した後に UF2 で除しているため、男女で異なる値(成人男性 450 $\mu\text{g}/\text{日}$ 、成人女性 350 $\mu\text{g}/\text{日}$)を設定している[3]。

以上のことは、セレンの適切な1日摂取量が、概ね 50~350 $\mu\text{g}/\text{日}$ の範囲と考えられていることを示している。本稿ではこの数値を念頭におきつつ、食品中のセレン含有量、日本人のセレン摂取量、食品中のセレンの化学形態、および食品中セレンの栄養有効性について述べる。

1. 食品中のセレン含有量

現在、日本で公刊されている五訂食品成分表にはセレンの項目が存在しない。近年中に公刊される六訂にはセレンの項目が採用されると聞いているが、現状では、せつかく食事摂取基準においてセレンの RDA や UL を策定しても、栄養管理の現場において適切量のセレンを含有する献立を調製することは困難といわざるを得ない。このため、食事調査などにおいては、日本の食品のセレン含有量に関するいくつかの報告をもとに、おおよそのセレン摂取量を推定することが行われている[5]。

食品群別に見た場合、確実に 0.1 $\mu\text{g}/\text{g}$ を超える高セレン含量が期待できるのは魚介類である。試料によっては 0.5 $\mu\text{g}/\text{g}$ を超えるセレン含量を示すものもあるが、同一魚種でも部位、季節、捕獲地、加齢などによる変動が認められる。一方、土壌のセレン濃度に地球的規模ではばらつきが存在するため、植物性食品、とくに穀物や豆類のセレン含量には産地による違いが著しい。なかでも北米の中央大平原には Fig.1 に示すように世界有数の高セレン土壌地域が存在するため[6]、北米産の小麦や大豆の中には 0.5 $\mu\text{g}/\text{g}$ 以上の高セレン含量を示すものが少なくない[7, 8]。北米産穀・豆類は世界中に輸出されており、その輸入量が一国のセレン栄養状態を左右することすら生じている[9]。北米産穀・豆類は家畜飼料にも転用されていることから、これを摂取した家畜に由来する肉類や卵類のセレン含量も 0.1~0.5 $\mu\text{g}/\text{g}$ の高値となる。

日本の土壌セレン含量は低値であり、国産穀・豆類のセレン含量も大半が 0.05 $\mu\text{g}/\text{g}$ 未満である[7, 8, 10]。しかし、日本は大量の北米産穀・豆類を輸入しているため、これを使用した食品、すなわちパン、国産パスタ、

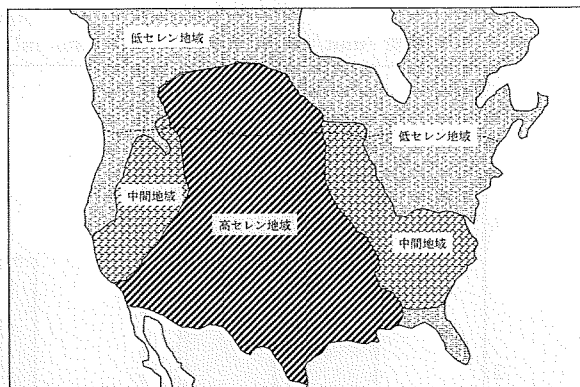


Fig.1 北米の高セレン地域と低セレン地域

および納豆の大半は 0.3 $\mu\text{g}/\text{g}$ 前後の高セレン含量を示す。また、畜産物も飼料の面での米国依存度が高いため、豪州産牛肉やニュージーランド産ヒツジ肉を除いた肉類と卵類のセレン含量も高い。以上をまとめると、日本において、セレン含量が高く、セレン供給源となっている食品は、魚介類、肉類、卵類、そしてパンと国産パスタとなる。

2. 日本人のセレン摂取量

上述のごとく、魚介類と北米産穀・豆類のセレン含量が高値であるため、国ごとのセレン摂取量は魚介類摂取量と飼料も含めた北米産穀・豆類の使用量に依存して変動することになる。日本人は魚介類摂取量が多く、かつ北米産穀・豆類への依存度も大きいため、世界の中でもセレン摂取量の多い国民といえる。日本人を対象とした研究結果は、国民栄養調査などの食事調査と計算、モデル献立の分析、トータルダイエットの分析など方法は様々であるが、いずれも概ね 50~150 $\mu\text{g}/\text{g}$ 、平均で約 100 $\mu\text{g}/\text{g}$ という数値が日本人のセレン摂取量であることを示している[11]。セレンの分布が特定の食品群に偏っているため、献立の内容によるセレン摂取のばらつきは大きい。菜食主義者のような極端な偏食を継続しない限り、週単位で見ればほとんどの日本人のセレン摂取はきわめて適正な範囲にあると考えてよいだろう。なお、筆者らは、Fig.2 に示すように、週単位のセレン摂取が適正であれば、セレン栄養状態が維持できることを動物実験で確認している[12]。

3. 食品中のセレンの化学形態

分析技術の進歩により天然に存在する様々なセレンの分子種の同定が進んでいる。後述のセレンの栄養有効性がセレンの分子種ごとに異なることから、食品中セレンの分子種を把握することはきわめて重要である。しかし、意図的にセレンを強化した食品を除く、セレン濃度が 0.5 $\mu\text{g}/\text{g}$ 未満の一般の食品中のセレンの分子種を同定した事例はきわめて少ない。

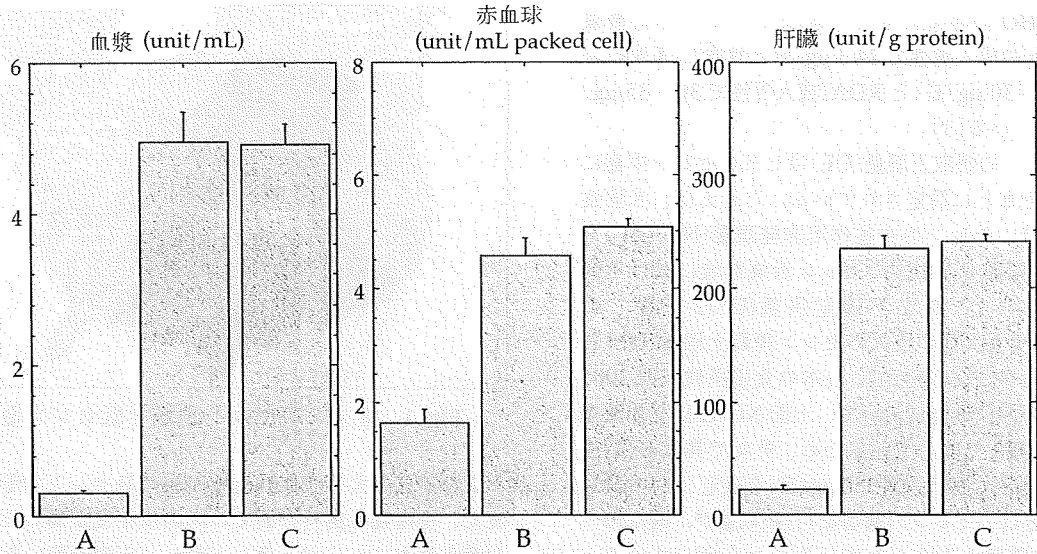


Fig. 2 適量の7倍量のセレンを週1回投与したラットのGPX活性
4週齢のWistar系雄ラットを3群に分け、A群にはセレン欠乏飼料(セレン濃度、 $< 0.01 \mu\text{g/g}$)、B群には適量のセレンを含む飼料(セレン濃度、 $0.17 \mu\text{g/g}$)、C群にはセレン欠乏飼料を週6日、適量の7倍量のセレンを含む飼料(セレン濃度、 $1.19 \mu\text{g/g}$)を与え、4週間飼育後にGPX活性を測定した。

動物の組織中でセレンの大半は含セレンタンパク質のセレノシステイン残基として存在している。魚肉や獣肉も動物組織であることから、動物性食品中のセレンの分子種は含セレンタンパク質中のセレノシステイン残基、もしくはその変性物と推定されるが、これらを直接同定した例はない。セレノシステイン残基は不安定であることから、加工・調理を経た後もセレノシステイン残基の状態が維持されているかを確認する必要がある。

高濃度にセレンを含む魚種、とくにマグロ類などの場合、すべてのセレンを含セレンタンパク質で説明することには無理がある。マグロ類の場合、メチル水銀を高濃度に含有することから、セレンとメチル水銀の複合体が存在する可能性が示されたこともあったが、現在では否定的な意見の方が多い。近年では、マグロ類の魚肉や内臓には構造未知の低分子セレン化合物の存在することが示されている[13]。著者らも Fig.3 に示すように、マグロ血合肉抽出物中に未知のセレン化合物の存在することを認めているが、同定には至っていない[14]。このような魚肉中の未知セレン化合物は後述の魚肉中セレンの低栄養有効性と関わりがあるかもしれない。

植物性食品、とくに通常レベルのセレンを含有する穀物や豆類に含有されるセレンは、タンパク質のペプチド鎖に取り込まれたセレノメチオニンであることが示されている[15]。このセレノメチオニン残基は比較的安定なので、加工・調理を経た後もそのままの形態で存在していると考えられる。

意図的にセレンを強化した酵母、キノコ、野菜類のセレンの分子種の同定は、高速液体クロマトグラフィーと

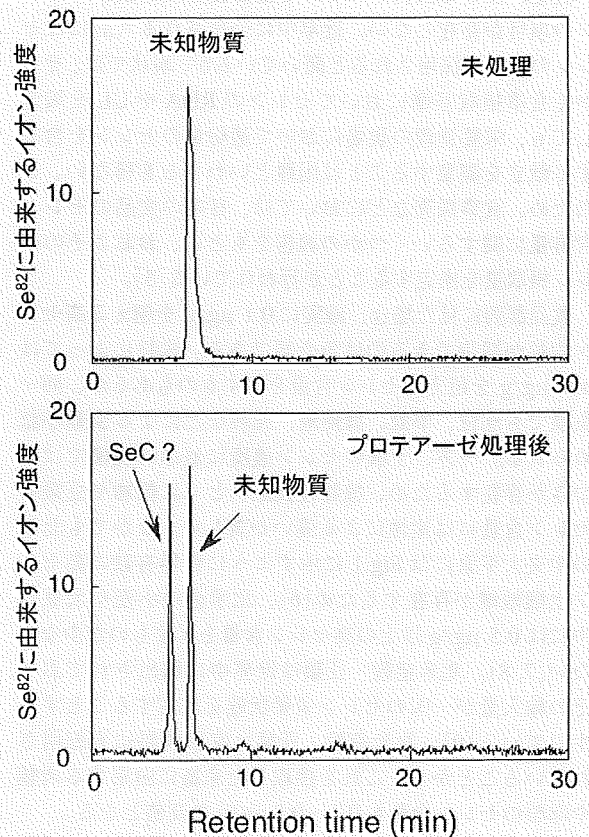


Fig. 3 マグロ血合肉 0.1M 塩酸抽出液中のセレンの形態

誘導結合プラズマ質量分析を連動させた分析系(HPLC-ICPMS)などの普及に伴い、近年飛躍的に進歩している。タンパク質に結合したセレンメチオニン(酵母、キノコ類)[16-19]、Se-メチルセレンシステイン(多くのセレン強化野菜類)[19, 20]、 γ -グルタミル-Se-メチルセレンシステイン(ニンニク、ニラなどの γ -グルタミルペプチドを合成できる植物)[19, 21]、セレンホモランチオニン(一部のセレン強化野菜類)[22, 23]などが同定されている。セレン化合物には抗腫瘍活性のあることが認められているが、セレン自身のもつ高毒性ゆえに、その医薬品への応用は進んでいない。植物が生産するこれらのセレン化合物中、Se-メチルセレンシステインと γ -グルタミル-Se-メチルセレンシステインは亜セレン酸よりも低毒性(これは後述の低栄養有効性と同義である)で、かつ抗腫瘍活性の高いセレン化合物として期待されており、これらを含むセレン強化野菜の開発・利用に関心が集まっている[24, 25]。

4. 食品中セレンの栄養有効性

食品中のセレンは多くの共存成分とともに摂取され、消化を受けた後、多くは消化管から吸収される。そして、Fig.4のような代謝過程を経て、含セレンタンパク質のセレンシステイン残基に取り込まれる。これらのプロセスにおいては様々な損失が生じるため、食品中セレンの含セレンタンパク質への転換利用率は100%とはならない。

食品中セレンの栄養有効性とは、食品に含有されるセレンのうち、生体内において真に機能を発現するものの割合(すなわち含セレンタンパク質に取り込まれるものの割合)をさしており、消化吸収率と体内利用率をあわせた概念といえる。なお生物学的有効性、生理有効性、利用効率、栄養効率などの表現は栄養有効性と同義と考えてよい。また栄養有効性を意味する英語表現は bioavailability がもっとも一般的であるが、薬理効果を含まないことを強調する場合には nutritional availability や nutritional efficiency などの表現を用いる。

食品中セレンの栄養有効性に影響を及ぼす要因としては、食事中共存物と食品中セレンの化学形態が大きい。亜鉛などの微量元素では、摂取するヒト側の微量元素の栄養状態が腸管吸収率に影響を及ぼすことが知られているが、セレンの場合は、もともとの吸収率がきわめて高いため、セレン栄養状態と吸収率の間に関連は認められていない。

食品中セレンの栄養有効性は定量的な概念であるから数値化することが望ましい。セレンの場合は slope ratio 法を用いて栄養有効性を数値化することが提唱されている[26]。Slope ratio 法とは、Fig.5 に示すように、食品由来セレンを段階的に投与し、投与セレン量とセレン栄養状態の指標(組織中の GPX 活性あるいはセレン濃度)との間の回帰式の傾きを標準セレン化合物(多くは亜セレン酸ナトリウム)と比較し、その比をとるという方法である。

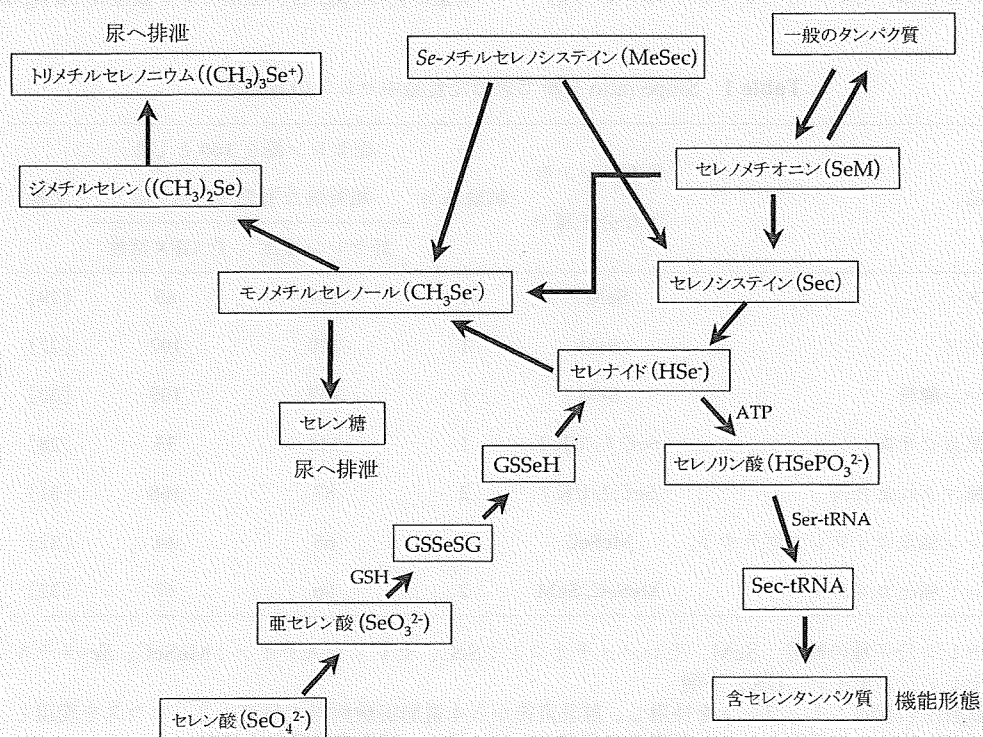


Fig. 4 動物におけるセレン代謝

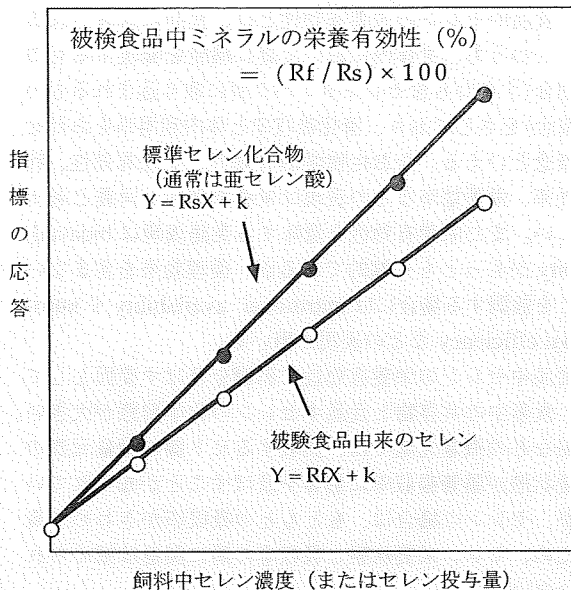


Fig. 5 食品中セレンの有効性評価の方法 (Slope ratio analysis)

著者らは slope ratio 法を用いていくつかの食品中のセレンの栄養有効性を評価してきた。Table 1 はその結果をまとめたものである [27-32]。亜セレン酸を基準にした場合、高い栄養有効性を示したのは、セレン酵母、脱脂脱水処理したマグロ血合肉であり、逆に低い有効性であったのは加熱カツオ肉、セレン強化カイワレダイコンであった。このことは、セレンをセレノメチオニンの形

態で含有する食品のセレンの栄養有効性が高く、セレンを Se-メチルセレノシステインの形態で含有するセレン強化野菜類のセレンの栄養有効性が低いこと、そして魚肉のセレンは有効性が低い場合のあることを示している。

なお、分子種という視点から見た場合、セレンの栄養有効性を決めるのは Fig.4 から明らかなようにセレナイドへの変換効率である。セレナイドは生理的にきわめて活性が高く、毒性も強い。したがってセレンの栄養有効性と毒性は比例していると考えるのが妥当である。Se-メチルセレノシステインはセレナイドへの変換効率が低いゆえに栄養有効性と毒性の双方が低い。この化合物が亜セレン酸を上回る抗腫瘍活性を持つという事実は、セレン化合物の持つ抗腫瘍作用がセレン化合物の毒性発現作用とは異なることを意味しているといえるだろう。

食品中セレンの栄養有効性はセレンの必要量を判断する場合の要因のひとつとして第六次改定栄養所要量では考慮されていたが [33]、現在の食事摂取基準 2005 では考慮の対象になってはいない。その背景には、食品中セレンの栄養有効性が現実の食生活において実質的にどの程度影響しているか判断できないことがある。したがって、今後、ヒト(とくに日本人)を対象にして、食品中セレンの栄養有効性を判定する研究が実施されることが望まれる。

おわりに

多くの疫学研究において、低セレン栄養状態(セレン摂取量が約 30 μg/日、血清セレン濃度が 50 ng/ml 未満)は

Table 1 Slope ratio 分析で求めた食品中セレンの有効性

食品	含有セレンの 主な分子種 ¹⁾	試験法 ²⁾	亜セレン酸を 100 とした		文献
			相対的な有効性 (%) ³⁾		
			肝セレン濃度	肝 GPX 活性	
コメ	SeM ?	1	107	65	[29]
ダイズ	SeM	1	120	107	[27]
セレン酵母	SeM	1	157	108	[30]
加熱カツオ肉	SeC ?, UK ?	1	148	33	[28]
脱脂マグロ血合肉	SeC ?, UK ?	2	87	168	[31]
セレン強化カイワレスプラウト	MeSeC	2	65	44	[32]
セレン強化カボチャ	MeSeC, SeM	2	96	47	[32]

1) セレン分子種の略号: SeM、セレノメチオニン; SeC、セレノシステイン; MeSeC、Se-メチルセレノシステイン; UK、不明
 2) 試験法の意味: 1、ラットを使用し、離乳直後から 4 週間実験飼料で飼育; 2、マウスを使用し、離乳直後から 3 週間セレン欠乏飼料で飼育し、その後、1 週間実験飼料を投与。
 3) セレン栄養状態の指標別に表示した。

がん発生の危険因子と同定されており、日常的なセレン摂取を増やすためのところが各国で行われている。しかし、日本人は平均セレン摂取量が約 100 µg/日、血清セレン濃度が 110~130 µg/ml であり[34]、セレン摂取を増やすこと的前提条件は成立していない。近年、米国において、皮膚がん既往者に 200 µg/日のセレン(セレン酵母)を 4.5 年間投与したところ、全がんの発生率と死亡率が 50% 近く低下したという研究が報告された[35]。この研究は、RDA を大幅にこえるセレンの摂取ががん予防に繋がることを暗示するとして、セレンの積極摂取を勧める根拠にされている。しかし、この研究の最終報告では、セレン投与効果が明らかだったのは、研究開始時に低血清セレン濃度の集団であり、日本人並みの血清セレン濃度の集団ではセレン投与は無効だったことが示されている[36]。さらに最近では、この 200 µg/日のセレン投与が糖尿病発生率を上昇させたという報告も提出されている[37]。したがって、日本人のように食事から RDA をこえるセレン摂取が容易に達成できている集団の場合は、セレン酵母を原料としたサプリメントを利用することは控えるのが賢明だと思われる。セレン化合物の持つ抗腫瘍効果は魅力的であるが、それを実際のがん予防に応用するには、セレンの抗腫瘍作用メカニズムの解明と Se-メチルセレノシステインを上回る低毒性かつ高抗腫瘍活性のセレン化合物の探索を待つ必要がある。

文 献

- 1) Institute of Medicine: Selenium: Dietary Reference Intakes for Vitamin C, Vitamin E, Selenium and Carotenoids. National Academy Press, Washington DC, 2000, pp. 284-324.
- 2) WHO/FAO/IAEA: Selenium: Trace Elements in Human Nutrition and Health. WHO, Geneva, 1996, pp. 105-122.
- 3) 厚生労働省策定: 日本人の食事摂取基準 [2005 年版]. 第一出版, 東京, 2005, pp. 184-188.
- 4) Yang G, Zhou R: Further observations on the human maximum safe dietary selenium intake in a seleniferous area of China. *J Trace Elem Electrolytes Health Dis* 8: 159-165, 1994.
- 5) Miyazaki Y, Koyama H, Sasada Y, Satoh H, Nojiri M, Suzuki S: Dietary habits and selenium intake of residents in mountain and coastal communities in Japan. *J Nutr Sci Vitaminol* 50: 309-319, 2004.
- 6) Kubota J, Allaway WH, Carter DL, Cary EE, Lazar VA: Selenium in crops in the United States in relation to selenium-responsive diseases of animals. *J Agric Food Chem* 15: 448-453, 1967.
- 7) Yoshida M, Yasumoto K: Selenium contents of rice grown at various sites in Japan. *J Food Com Anal* 1: 71-75, 1987.
- 8) 吉田宗弘, 安本教博: 日本人の消費するコムギ, およびダイズ製品のセレン含量. *栄食誌* 41: 320-323, 1988.
- 9) Alfthan G: Longitudinal study on the selenium status of healthy adults in Finland during 1975-1984. *Nutr Res* 8: 467-476, 1988.
- 10) 吉田宗弘, 安藤達彦, 舘 博: 輸入米および輸入大豆のセレン含量. *栄食誌* 48: 152-155, 1995.
- 11) 吉田宗弘: 日本人のセレン摂取と血中セレン濃度. *栄食誌* 45: 485-494, 1992.
- 12) Sugihara S, Fukunaga K, Nishiyama T, Yoshida M: Effect of intermittent supplementation with selenate on selenium status of rats fed selenium-deficient diet. *J Nutr Sci Vitaminol* 51: 478-481, 2005.
- 13) Quijano MA, Moreno P, Gutiérrez AM, Perez-Conde M, Cámara C: Selenium speciation in animal tissues after enzymatic digestion by high-performance liquid chromatography coupled to inductively coupled plasma mass spectrometry. *J Mass Spectrom* 35: 878-884, 2000.
- 14) 吉田宗弘, 杉原 悟, 千原優子, 近藤真理子: マグロ血合肉に含有されるセレンの化学種の同定. *微量栄養素研究* 20: 117-120, 2003.
- 15) Yasumoto K, Suzuki T, Yoshida M: Identification of selenomethionine in soybean protein. *J Agric Food Chem* 36: 463-467, 1988.
- 16) Méndez SP, González EB, Sanz-Medel A: Hybridation of different chiral separation techniques with ICP-MS detection for the separation and determination of selenomethionine enantiomers: chiral speciation of selenized yeast. *Biomed Chromatogr* 15: 181-188, 2001.
- 17) Yoshida M, Sugihara S, Suenaga T, Naito C, Fukunaga K, Tsuchita H: Digestibility and chemical species of selenium contained in high-selenium yeast. *J Nutr Sci Vitaminol* 48: 401-404, 2002.
- 18) Ogra Y, Ishiwata K, Ruiz Encinar J, Lobinski R, Suzuki KT: Speciation of selenium in selenium-enriched shiitake mushroom, *Lentinula edodes*. *Anal Bioanal Chem* 379: 861-866, 2004.
- 19) Yoshida M, Sugihara S, Inoue Y, Chihara Y, Kondo M, Miyamoto S, Sukcharoen B: Composition of chemical species of selenium contained in selenium-enriched shiitake mushroom and vegetables determined by high performance liquid chromatography with inductively coupled plasma mass spectrometry. *J Nutr Sci Vitaminol* 51: 194-199, 2005.
- 20) Sugihara S, Kondo M, Chihara Y, Yûji M, Hattori

- H, Yoshida M : Preparation of selenium-enriched sprouts and identification of their selenium species by high-performance liquid chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry. *Biosci Biotechnol Biochem* 68 : 193-199, 2004.
- 21) Dong Y, Lisk D, Block E, Ip C : Characterization of the biological activity of gamma-glutamyl-Semethylselenocysteine : a novel, naturally occurring anticancer agent from garlic. *Cancer Res* 61 : 2923-2928, 2001.
- 22) Ogra Y, Kitaguchi T, Ishiwata K, Suzuki N, Iwashita Y, Suzuki KT : Identification of selenohomolanthionine in selenium-enriched Japanese pungent radish. *J Anal At Spectrom* 22 : 1390-1396, 2007.
- 23) 塩川真人, 水谷泰輔, 吉田宗弘 : アミノ酸誘導体化キットとガスクロマトグラフィー質量分析を用いたセレン強化食品中の含セレンアミノ酸の同定. *微量栄養素研究* 25 : 147-151, 2008.
- 24) Finley JW : Selenium accumulation in plant foods. *Nutr Rev* 63 : 196-202, 2005.
- 25) 吉田宗弘 : 植物に存在する含セレンアミノ酸の同定と生理機能. *化学と生物* 46 : 564-570, 2008.
- 26) Combs GF Jr and Combs SB : *The Role of Selenium in Nutrition*. Academic Press, Orland, 1986, pp. 127-177.
- 27) 吉田宗弘, 岩見公和, 安本教博, 岩井和夫 : ミルクカゼイン, 大豆タンパク質およびカツオ節に含まれるセレンの有効性. *農化* 55 : 689-693, 1981.
- 28) Yoshida M, Iwami K, Yasumoto K : Determination of nutritional efficiency of selenium contained in processed skipjack meat by comparison with selenite. *J Nutr Sci Vitaminol* 30 : 395-400, 1984.
- 29) 吉田宗弘 : コメに含まれるセレンの栄養有効性. *日衛誌* 42 : 989-993, 1987.
- 30) Yoshida M, Fukunaga K, Tsuchita H, Yasumoto K : An evaluation of the bioavailability of selenium in high-selenium yeast. *J Nutr Sci Vitaminol* 45 : 119-128, 1999.
- 31) Yoshida M, Abe M, Fukunaga K, Kikuchi K : Bioavailability of selenium in the defatted dark muscle of tuna. *Food Addit Contam* 19 : 990-995, 2002.
- 32) Yoshida M, Sano K, Ishiyuki E, Nishiyama T, Fukunaga K : Assessment of nutritional availability of selenium in selenium-enriched pumpkin. *Biomed Res Trace Elem* 18 : 391-394, 2007.
- 33) 健康・情報研究会編 : 第六次改定日本人の栄養所要量. 第一出版, 東京, 1999, pp. 160-163.
- 34) 姫野誠一郎 : セレン. *日本臨牀*, 62(増刊号 12) : 315-318, 2004.
- 35) 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* 276 : 1957-1963, 1996.
- 36) 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* 11 : 630-609, 2002.
- 37) 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. *Ann Intern Med* 147 : 217-223, 2007.

追記

本原稿の校正中に、200 µg/d のセレン付加的投与の前立腺がん予防効果を検討する米国の The Selenium and Vitamin E Prevention Trial (SELECT) から中間報告が発表された (Effect of selenium and vitamin E on risk of prostate cancer and other cancers, *JAMA*, online December 9, 2008)。研究対象者の血清セレン濃度は 122~152 ng/ml であり、セレンのがん予防効果はまったく認められないという結果が示されている。

飼料中モリブデン濃度がラット臓器および血清モリブデン濃度に及ぼす影響

吉原花織, 福永健治, 吉田宗弘

(関西大学化学生命工学部食品工学研究室*)

Effect of Dietary Molybdenum Level on Tissue and Serum Molybdenum Concentrations in Rats

Kaori YOSHIHARA, Kenji FUKUNAGA and Munehiro YOSHIDA

*Laboratory of Food and Nutritional Sciences, Faculty of Chemistry, Materials and Bioengineering,
Kansai University, Yamate 3-3-35, Suita, Osaka 564-8680, Japan*

Summary

Molybdenum status was examined in rats fed experimental diets containing graded level of molybdenum. Male 5-week Wistar rats were divided into three groups. One group was fed a basal AIN93G diet without ammonium molybdate (molybdenum content, 0.08 $\mu\text{g/g}$) and other groups were fed the basal diet supplemented with 0.1 or 0.5 $\mu\text{g/g}$ of molybdenum as ammonium molybdate for 4 weeks. Molybdenum concentrations in liver and kidney of the rats were not varied with dietary molybdenum intake level but the serum molybdenum concentration was gradually increased with an increase of dietary molybdenum level. Dietary molybdenum level did not effect on copper concentrations in the liver, kidney and serum as well as xanthine oxidase activity in the liver and the serum uric acid level. These results indicate that variation of dietary molybdenum level in the present study (0.08 to 0.58 $\mu\text{g/g}$) did not effect on molybdenum status other than serum molybdenum concentration.

モリブデンはキサンチンオキシダーゼなどの補酵素として機能し、必須微量元素と位置づけられている¹⁾。しかしヒトのモリブデン欠乏は、モリブデンをほとんど含まない高カロリー輸液の長期投与に伴って発生した一例のみであり²⁾、食事性欠乏は知られていない。これは、モリブデンが穀物や豆類に豊富に含まれるため、1日摂取量が所要量(25~30 $\mu\text{g/日}$)³⁾をはるかに超える150 μg 以上であることに起因している⁴⁾。ヒトを対象にした出納試験では、モリブデン摂取量の広範囲にわたって平衡状態が維持されることが示されている^{5, 6)}。このことは、モリブデン摂取量が変動しても組織中モリブデン濃度に変化がなく、体内のモリブデン状態が一定に維持されることを意味する。一方、日本人の血清や母乳のモリブデン濃度は欧米人よりもやや高い^{7, 8)}。これは日本人のモリブデン摂取が欧米人よりも多いためと思われる。しかし、ヒトや実験動物を対象にして、モリブデン摂取量と組織および血清モリブデン濃度との関係を検討した報告は少ない⁹⁻¹¹⁾。本報告は、モリブデン濃度を段階的に変化させた飼料でラットを飼育し、組織および血清のモリブデン濃度を測定した結果を述べるものである。

*所在地：吹田市山手町3-3-35 (〒564-8680)

実験方法

1. 実験動物と飼料

5週齢のWistar系雄ラット24匹を6匹ずつ3群に分け、1群にはAIN93G飼料からモリブデン酸アンモニウムを除いた低モリブデン飼料、他の2群にはこの低モリブデン飼料に0.1または0.5 µg/gのモリブデンをモリブデン酸アンモニウムの形態で添加した飼料を投与し、4週間飼育した。なお低モリブデン飼料のモリブデン含量の実測値は0.08 µg/gであった。

飼育期間終了後、すべてのラットをエーテル麻酔下で解剖し、肝臓、腎臓および血清を得た。

2. 分析

(1) モリブデンの定量

約0.5 gの肝臓または腎臓に5 mLの濃硝酸を加え、100°Cで不溶物がなくなるまで加熱した。分解液を蒸留水を用いて50 mLにメスアップ後、含有されるモリブデンを誘導結合プラズマ質量分析(ICPMS)により定量した⁴⁾。

血清2 mLをろつばに入れ、80°Cで乾燥させた後、電気炉中550°Cで16時間灰化した。灰化した血清を5 mLの2%硝酸に溶解後、含有されるモリブデンをICPMSにより定量した⁷⁾。

(2) 銅の定量

上記の調製試料を蒸留水で8~20倍に希釈後、ICPMSを用いて銅を定量した。

(3) 肝臓キサンチンオキシダーゼ活性の測定

肝臓約1 gに9倍量の生理食塩水を加えてホモジナイズし、10%ホモジネートを調製した。得られたホモジネートを8,000 x gで15分間遠心した。遠心後の上清0.2 mLに、0.3 mMキサンチン溶液0.6 mL、0.136 Mトリス塩酸緩衝液(pH 7.4) 2.2 mLを混合し、37°Cで10分間反応させた。反応終了後、20%過塩素酸1 mLを加えて遠心し、上清を得た。上清中に存在する尿酸を高速液体クロマトグラフィー(HPLC)で定量することにより、肝臓中のキサンチンオキシダーゼ活性を求めた。HPLCの条件は以下のとおりである。カラム、CAPCELL PAK C18 (4.6 mm φ x 150 mm, 資生堂)；移動相、25 mM NaH₂PO₄ (pH 3.0)/アセトニトリル=1/99 (v/v)；流速、1.0 mL/min；検出、UV 292 nm。

(4) 血清尿酸の定量

血清尿酸濃度はキット(尿酸C-テストワコー, 和光純薬)を用いて測定した。

結 果

Table 1に肝臓、腎臓および血清のモリブデン濃度をまとめた。肝臓と腎臓のモリブデン濃度は、飼料からのモリブデン摂取量の増減の影響をまったく受けず、一定範囲に維持された。これに対して血清モリブデン濃度はモリブデン摂取量の増減に対応して変動し、基本食群に比較してモリブデン添加食投与群において有意に高い値を示した。

Table 2に臓器と血清の銅濃度、Table 3に肝臓のキサンチンオキシダーゼ活性と血清尿酸濃度をまとめた。いずれの測定項目も、飼料からのモリブデン摂取量の増減の影響をまったく受けず、各群間に有意な差は認められなかった。

Table 1 Tissue and serum molybdenum levels in rats fed experimental diets

Level of Mo added to diet (µg/g)	Molybdenum level		
	Liver (ng/g)	Kidney (ng/g)	Serum (ng/mL)
0	839 ± 24 ^a	478 ± 9 ^a	5.7 ± 0.8 ^a
0.1	949 ± 32 ^a	508 ± 24 ^a	6.5 ± 1.1 ^{ab}
0.5	893 ± 44 ^a	496 ± 17 ^a	12.4 ± 2.1 ^b

Values are means ± SEM (n = 6).

Means in the same column not sharing a common superscript differ significantly ($p < 0.05$).

Table 2 Tissue and serum copper levels in rats fed experimental diets

Level of Mo added to diet ($\mu\text{g/g}$)	Copper level		
	Liver ($\mu\text{g/g}$)	Kidney ($\mu\text{g/g}$)	Serum ($\mu\text{g/mL}$)
0	3.41 \pm 0.26	7.46 \pm 0.98	0.13 \pm 0.03
0.1	4.00 \pm 0.87	9.23 \pm 0.86	0.14 \pm 0.02
0.5	3.69 \pm 0.18	9.45 \pm 0.87	0.17 \pm 0.02

Values are means \pm SEM (n = 6).

Table 3 Liver xanthine oxidase activity and serum uric acid level in rats fed experimental diets

Level of Mo added to diet ($\mu\text{g/g}$)	Liver xanthine oxidase (unit/g protein)	Serum uric acid ($\mu\text{g/mL}$)
0	0.16 \pm 0.01	12.8 \pm 1.7
0.1	0.13 \pm 0.02	12.2 \pm 0.8
0.5	0.12 \pm 0.02	13.3 \pm 0.8

Values are means \pm SEM (n = 6). A unit of xanthine oxidase activity is expressed as μmol uric acid formed per minute.

考 察

モリブデンの過剰摂取は、血清尿酸濃度の上昇や銅欠乏を招くことが知られているが^{12, 13)}、今回の実験では、血清尿酸や組織中銅濃度の数値に各群間に差がなかった。モリブデン中毒を起こした家畜が摂取していた飼料のモリブデン濃度は20~100 $\mu\text{g/g}$ であったと報告されていることから¹⁴⁾、今回のモリブデン投与量の範囲は過剰域にはるかに及ばなかったといえる。今後、より高濃度のモリブデンを含有した飼料を用いて、モリブデン投与の影響を検討する必要があると思われる。

Table 1に示したように、今回のモリブデンの投与範囲においては、血清モリブデン濃度は摂取量に応じて変動したのに対して、肝臓と腎臓のモリブデン濃度は一定範囲に維持されていた。またモリブデン含有酵素であるキサンチンオキシダーゼ活性にも各群間に差はなかった。Wangらも飼料中モリブデン濃度0.1~0.8 $\mu\text{g/g}$ の範囲では、臓器中のモリブデン濃度とモリブデン酵素の活性はほぼ一定値に維持されることを観察している(ただし、この研究では飼料のモリブデン濃度は実測されていない)⁹⁾。このことから、今回のモリブデン摂取の範囲(0.08~0.58 $\mu\text{g/g}$)であれば、血清のモリブデン濃度は変動するが組織中のモリブデン濃度は一定範囲に維持されており、モリブデンを必要とする生理機能も維持されることを意味している。

今回の実験において、低モリブデン飼料として用いたAIN93Gをベースとした低モリブデン飼料には0.08 $\mu\text{g/g}$ のモリブデンが含まれていた。これはAIN93Gを構成するミルクカゼインとコーンスターチにモリブデンが混入していたためである。ヒトの食事摂取量(乾燥重量)を約500 g/日と仮定して、飼料中濃度0.08 $\mu\text{g/g}$ をヒトの摂取量に換算すると40 $\mu\text{g/日}$ になる。日本人を対象にした食事摂取基準では、モリブデンの摂取推奨量(RDA)を20~25 $\mu\text{g/日}$ としていることから³⁾、今回の実験では基本食を投与したラットにおいてもモリブデンが充足していた可能性は高い。一方、モリブデン添加食のモリブデン含有量(0.18, および0.58 $\mu\text{g/g}$)を同様にヒトの摂取量に換算すると、それぞれ90, および290 $\mu\text{g/日}$ となる。食事摂取基準におけるモリブデンの摂取上限値(UL)が230~320 $\mu\text{g/日}$ であることから³⁾、0.5 $\mu\text{g/g}$ のモリブデンを添加した群は食事摂取基準のUL相当量のモリブデンを摂取したとみなせる。以上のこと、および日本人のモリブデン摂取量は150~320 $\mu\text{g/日}$ の範囲にあると推定されていることをあわせると⁴⁾、今回のモリブデンの投与量はRDAをやや上回る摂取量から日本人のモリブデン摂取量の上限をカバーしているといえるだろう。

以上のことから、今回の実験結果は、モリブデン摂取が食事摂取基準のRDA~ULの範囲、あるいは現在の日本人の範囲であれば、血清のモリブデン濃度は変動するが、モリブデンの恒常性は維持されることを示すといえるだろう。

このことは、日本人を対象にした調査研究において、血清モリブデン濃度に個人差が大きいこと⁷⁾、モリブデン出納値がほぼゼロに維持されていること⁶⁾、とよく一致している。

今回の実験では低モリブデン飼料自体に相当量のモリブデンが混入していたために、モリブデン不足の状態を引き起こすことが不可能であった。今後、モリブデンの生理機能を検討し、モリブデンの必要量を推定するには、モリブデン混入の確率が低い素材によって調製された、カゼインやコーンスターチを使用しない飼料を用いることが必要といえる。

参考文献

- 1) Rajagopalan KV (1987) Molybdenum-An essential trace element. *Nutr Rev* 45: 321 - 328.
- 2) Abumrad NN, Schneider AJ, Steel D, Rogers LS (1981) Amino acid intolerance during prolonged total parenteral nutrition reversed by molybdate therapy. *Am J Clin Nutr* 34: 2551 - 2559.
- 3) 厚生労働省策定 (2005) 日本人の食事摂取基準 [2005年版], 第一出版, 東京: pp. 152 - 155.
- 4) Hattori H, Ashida A, Itô C, Yoshida M (2004) Determination of molybdenum on foods and human milk, and an estimate of average molybdenum intake in the Japanese Population. *J Nutr Sci Vitaminol* 50: 404 - 409.
- 5) Turnland JR, Keyes WR, Peiffer GL (1995) Molybdenum absorption, excretion and retention studied with stable isotopes in young men at five intakes of dietary molybdenum. *Am J Clin Nutr* 62: 790 - 796.
- 6) Yoshida M, Hattori H, Ôta S, Yoshihara K, Kodama N, Yoshitake Y, Nishimuta M (2006) Molybdenum balance in healthy young Japanese women. *J Trace Elem med Biol* 20: 245 - 252.
- 7) Yoshida M, Ôta S, Fukunaga K, Nishiyama T (2006) Serum molybdenum concentration in healthy Japanese adults determined by inductively coupled plasma-mass spectrometry. *J Trace Elem Med Biol* 20: 19 - 23.
- 8) 吉田宗弘, 伊藤智恵, 服部浩之, 土田 博, 米久保明得, 西牟田 守 (2004) 日本における母乳および調製粉乳中のモリブデン濃度と乳児のモリブデン摂取量. *微量栄養素研究* 21: 59 - 64.
- 9) Wang X, Oberleas D, Yang MT, Yang SP (1992) Molybdenum requirement of female rats. *J Nutr* 122: 1036 - 1041.
- 10) Pandey R, Kumar R, Singh SP, Srivastava SP (2002) Molybdenum in rat tissue. *Human Exp Toxicol* 21: 33 - 35.
- 11) Turnlund JR, Keyes WR (2004) Plasma molybdenum reflects dietary molybdenum intake. *J Nutr Biochem* 15: 90 - 95.
- 12) Walravens PA, Moure-Eraso R, Solomons CC, Chappell WR, Bentley G (1979) Biochemical abnormalities in workers exposed to molybdenum dust. *Arch Environ Health* 34: 302 - 308.
- 13) Vyskocil A, Viau C (1999) Assessment of molybdenum toxicity in humans. *J Appl Toxicol* 19: 185 - 192.
- 14) Mills CF, Davis GK (1987) Molybdenum, In: *Trace Elements in Human and Animal Nutrition*, 5th ed. (ed by Mertz W), Academic Press, New York, pp. 429 - 463.

食品および飲料水中のバナジウム含量と日本人のバナジウム摂取量 (予報)

吉田 宗 弘, 生 田 剛
(関西大学化学生命工学部食品工学研究室*)

Vanadium Contents in Foods and Drinking Water, and Estimation of Vanadium Intake in Japanese. A Preliminary Report

Munehiro YOSHIDA and Tsuyoshi IKUTA
*Laboratory of Food and Nutritional Sciences, Faculty of Chemistry,
Materials and Bioengineering, Kansai University.
Yamate 3-3-35, Suita, Osaka 564-8680, Japan*

Summary

To estimate the vanadium intake in the Japanese population, the vanadium content in various food and drinking water samples (3 Japanese tap water samples, 19 Japanese mineral water samples, 21 European mineral water samples and 6 North American mineral water samples) was determined using inductively coupled plasma mass spectrometry. All the tap water samples showed values of less than 5 ng/mL as vanadium concentration. Among 46 mineral water samples, 31 samples (67.4 %) showed less than 5 ng/mL and only 3 samples showed more than 50 ng/mL. Among the food samples analyzed, the highest vanadium content (> 1000 ng/g dry weight basis) was observed in several algae and shellfish samples. The moderate vanadium content (100-1000 ng/g dry weight basis) was observed in leaf vegetables, dairy products and white table bread while the low vanadium content (< 50 ng/g) was observed in cereals, soybean, potatoes, fruits, meats, eggs and fishes. Based on the present quantification of vanadium in foods and drinking water and the recent National Nutrition Survey in Japan, the average vanadium intake of Japanese population was preliminarily estimated as about 30 µg/d/capita. The principal vanadium source in the Japanese diet was thought to be wheat products, vegetables and dairy products.

バナジウムは古くから動物栄養上必須の元素ではないかといわれてきた。とくに1970年代には、バナジウム欠乏食(バナジウム濃度0.1 µg/g未満)を投与したラットやヒナは、バナジウム添加食(バナジウム濃度0.25~0.5 µg/g)を投与したものに比較して、成長遅延、羽毛形成不全、骨の形態異常、繁殖力の低下、ヘマトクリット値の低下、血清コレステロール濃度の低下などを生じることが相次いで報告された。しかし、これらの実験は再現性が乏しく、現在でもバナジウムの必須性は確定されていない¹⁾。超微量元素栄養学の権威であるNielsenは、バナジウムが、リン酸転移酵素やリン酸エステル分解酵素の制御に関わっており、動物栄養上必須である可能性があるため、今後、必須性確定のための研究が必要であると述べている²⁾。しかし、最近20年間、非反芻動物でバナジウムの必須性を検討した報告は認められない。

一方、1980年代後半以降、バナジウム化合物にインスリン様作用のあることが認められたことから³⁾、米国などでは、メタバナジン酸塩(VO³⁻, 5価バナジウム)、またはバナジル硫酸(VOSO₄)などのバナジル化合物(4価バナジウム)を

*所在地：吹田市山手町3-3-35 (〒564-8680)

含有するバナジウムサプリメントが開発され、糖尿病患者への投与が行われるようになった⁴⁾。しかし、この場合の投与量は、100 mg/日をこえる薬理レベルであり、米国の食事摂取基準が定める上限値 (1.8 mg/日) を大幅にこえるものであった。

このようにバナジウムは生体内において一定の生理機能を持つことは明らかであるが、日常の食生活におけるバナジウム摂取についての情報はきわめて少ない。わが国の食品に関して公刊されている「食品の微量元素含量表」においては、バナジウムは対象元素になっているが、ほとんどの食品が0 (1 µg/100 g = 10 ng/g未満) と記載されている⁵⁾。食品のバナジウム濃度を測定し、バナジウム摂取量を推定することは、バナジウムの必須性を検討する実験におけるバナジウム欠乏食を作成するために必須の情報と思われる。そこで本研究では、代表的な食品、および飲料水のバナジウム濃度を測定し、日本人のバナジウム摂取量の推定を試みた。

実験方法

1. バナジウム測定用の試料

1) 飲料水の収集

2006年8月に大阪、和歌山、および沖縄県下において、水道水をポリエチレン製の広口びんに採取し、バナジウム測定用試料とした。一方、2006年8～11月にかけて、採水地が明らかな国産ミネラルウォーター19試料および外国産ミネラルウォーター27試料を大阪市内の複数の小売店、または複数の通信販売から購入し、測定用試料とした。収集した飲料水試料は、測定までの間、4℃で保存した。

2) 食品試料の収集

2006年8～11月にかけて、大阪市内の複数の小売店から、種々の生鮮および加工食品を購入し、測定用試料とした。また、2004年に東京農業大学短期大学の館 博教授から供与を受けた玄麦も測定用試料とした。収集した食品試料は、すみやかにそのバナジウム含量を測定した。

2. バナジウムの分析

飲料水は、内部標準として最終濃度50 ng/mLのスカンジウム (Sc) を添加後、直接、誘導結合プラズマ質量分析器 (ICPMS) に噴霧し、質量数51の強度を測定することによって、バナジウムを定量した。

各食品1～9 gを精秤し、電気炉中550℃で16時間灰化した。灰化試料は1 Mの硝酸に溶解後、飲料水と同様に、Scを内部標準として、ICPMSでバナジウムを定量した。

結 果

1. 分析精度の確認

NIST標準試料のrice flour (SRM 1568a, バナジウム濃度7 ng/g), wheat flour (SRM 1567a, 同11 ng/g), apple leaves (SRM 1515, 同 0.26 ± 0.03 µg/g), whole egg powder (RM 8415, 同 0.459 ± 0.081 µg/g) をそれぞれ0.9～1.1 gを精秤して、550℃で灰化後、1 M硝酸に溶解し、ICPMSでバナジウム濃度を測定した結果 (平均±SD, n = 4, ng/g) は、以下のとおりであった。Rice flour, 9 ± 2 ; wheat flour, 14 ± 4 ; apple leaves, 204 ± 45 ; whole egg powder, 441 ± 65 。

一方、大阪府下の水道水 (バナジウム濃度の実測値, 3 ± 1 ng/mL) に1 ng/mLの標準バナジウムを添加した試料のバナジウム濃度の実測値は 4 ± 1 ng/mL (平均±SD, n = 4) であった。

2. 飲料水中のバナジウム濃度

Table 1に飲料水のバナジウム濃度の測定結果をまとめた。水道水3試料はいずれも5 ng/mL未満のバナジウム濃度であった。ミネラルウォーターの場合も、国産と外国産をあわせた46試料中31試料 (67.4%) は5 ng/mL未満の低バナジウム濃度であった。これに対して、10 ng/mL以上のバナジウム濃度を示したのは、国産ミネラルウォーター19試料中6試料、欧州産ミネラルウォーター21試料中1試料、北米産ミネラルウォーター6試料中1試料に過ぎなかった。また、