

経管栄養食品等に含まれるセレン化合物 の化学形態に着目したリスク評価及び バイオアベイラビリティに関する研究

千葉大学大学院薬学研究院
小椋康光



現状

セレンの少ない特殊ミルク、経管栄養剤や経静脈栄養剤を長期に使用すると、セレン欠乏症を来す。

「静脈経腸栄養ガイドライン第3版(2013年)」では、「特に、セレンについては、本邦の微量元素製剤には含まれていないため、3か月を超える静脈栄養を行う場合には、院内製剤(亜セレン酸)で対処し3～5 μ g/kg/日を投与する必要がある」と記載

○院内製剤の調製: 亜セレン酸ナトリウムを使用 ← 2017年死亡事故事例発生

○セレン含有栄養補助剤の使用: セレノメチオニンを含む ← 2型糖尿病のリスク増大

○セレン含有経腸栄養剤の使用: セレン酸ナトリウムを添加

何が問題なのか

—セレンは化学形態により、物理化学的性質が著しく異なる—
→栄養的価値及び毒性も異なる。

「亜セレン酸塩、セレン酸塩、セレノメチオニンは、添加するのに適切な化学形態であろうか？」

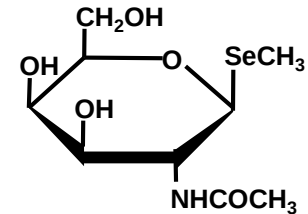
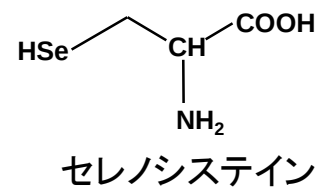
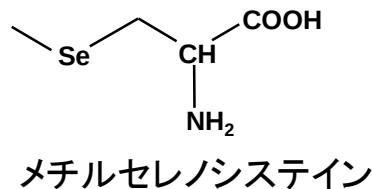
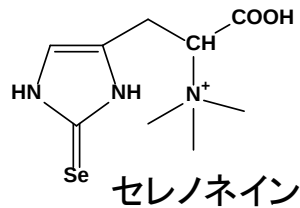
解決の手立てとして

動植物体内におけるセレン代謝物解析の知見に基づいたセレン化合物の栄養学的及び毒性学的評価が必要

それを踏まえて、添加すべきセレン化合物を決めるべきである。

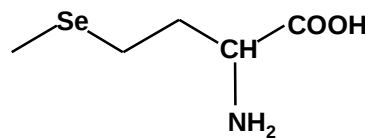
表. 日本食品標準成分表2015年版に基づくセレン含量の多い食品とその主たるSe化合物

食品	Se含量(μg/100 g)	含まれる主たるSe化合物
かつお節	320	セレノネイン
からし	290	メチルセレノシステイン
ブタホルモン (腎臓)	240	セレノシステイン(タンパク質中) セレン糖



①栄養機能食品に添加されるもの

②海外輸入品 (200 μg) ③健康食品 (100 μg)



セレノメチオニン

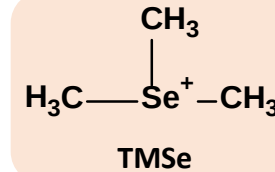
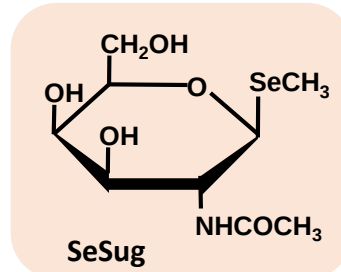
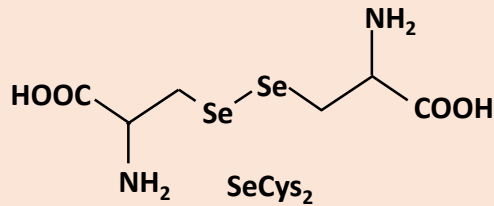
SeO_3^{2-}
亜セレン酸塩

SeO_4^{2-}
セレン酸塩

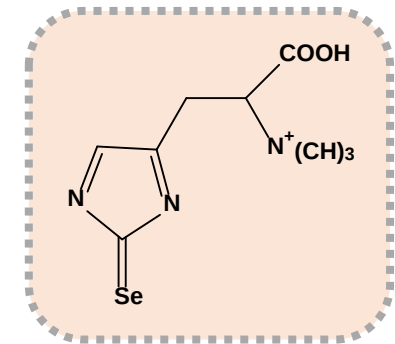
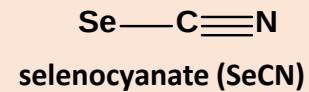
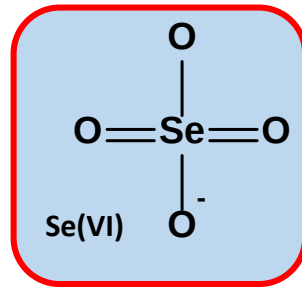
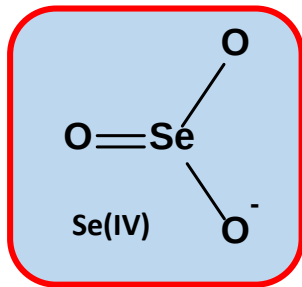
健康食品や添加剤に用いられるSe化合物

本研究で評価した9つのセレン化合物とその由来

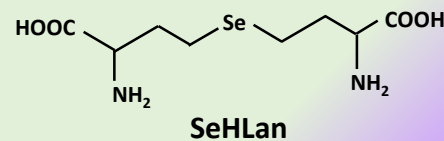
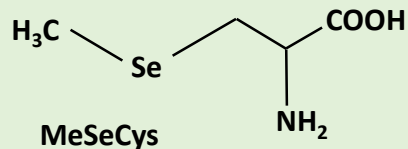
動物由来



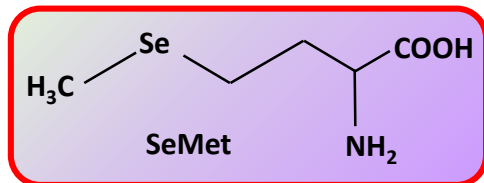
環境由来



植物由来

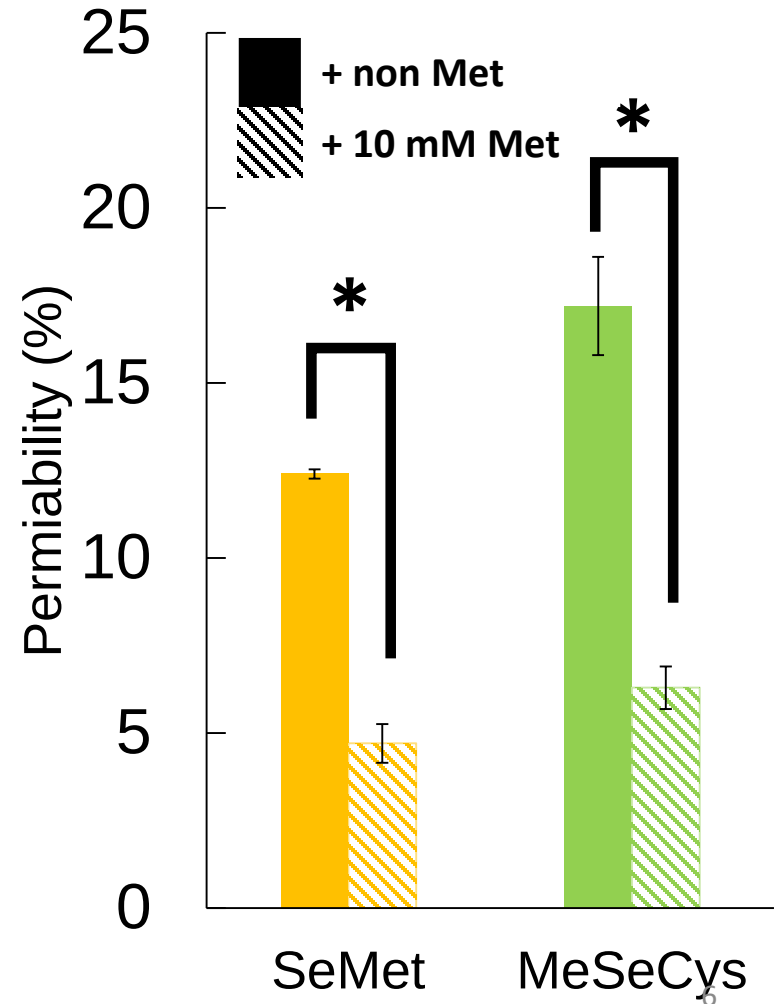
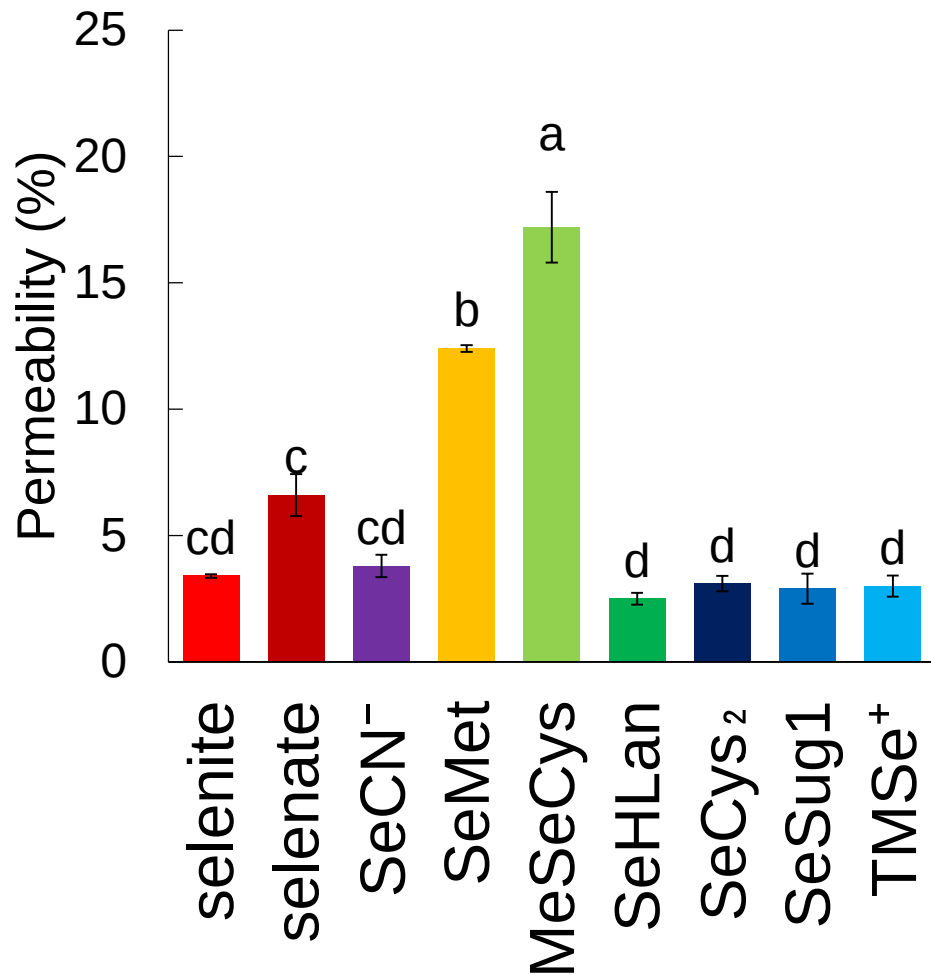
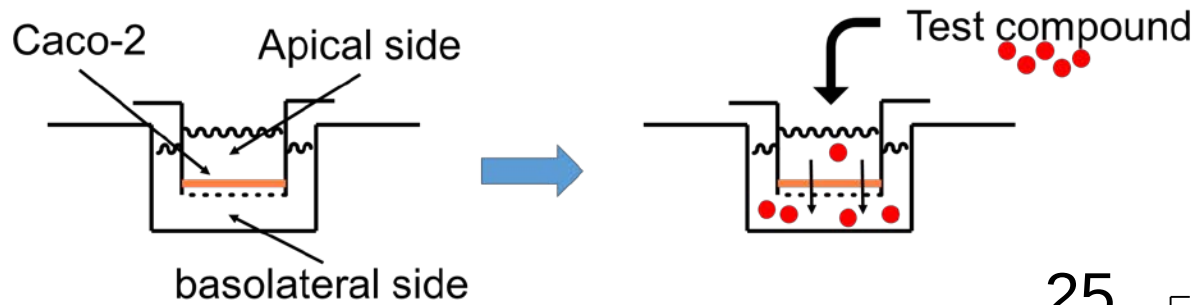


真菌由来



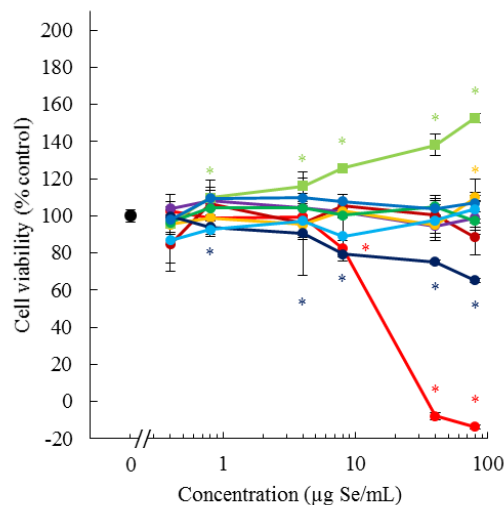
1. Caco-2を用いたカッパ培養法による消化管透過性の評価
2. *in vitro*細胞毒性試験
3. Ames試験による遺伝毒性試験
4. *in vivo*におけるアベイラビリティの評価
5. 腸内細菌叢の影響評価

1. Caco-2を用いたカップ培養法による消化管透過性の評価

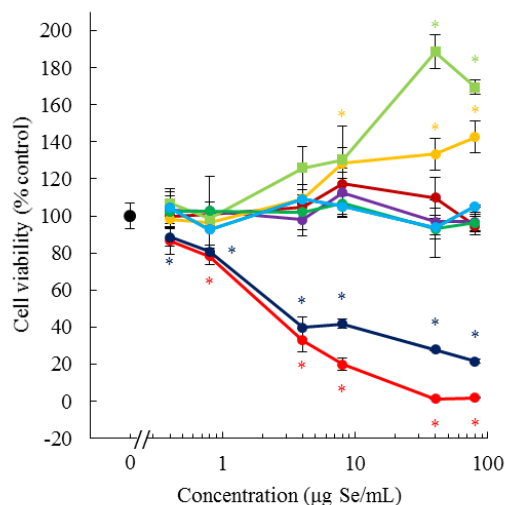


2. Caco-2及びHepG2細胞を用いた*in vitro*細胞毒性試験

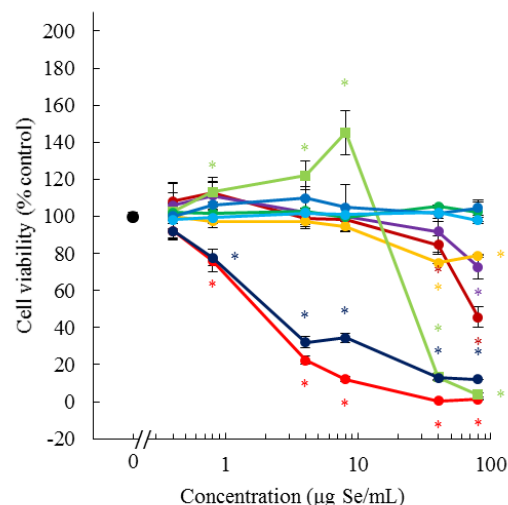
(a) Caco-2, 6 h



(b) HepG2, 24 h



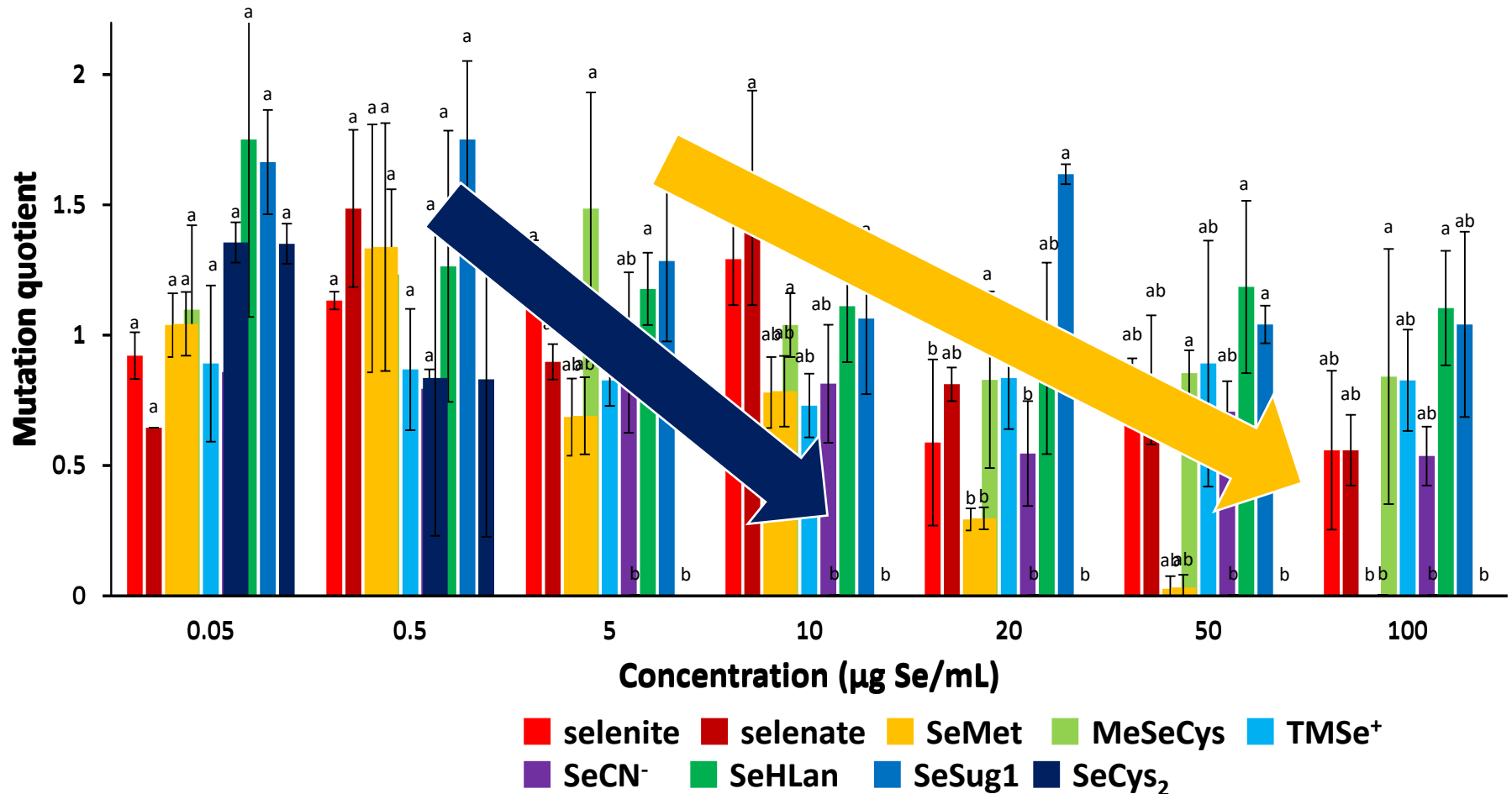
(c) HepG2, 48 h



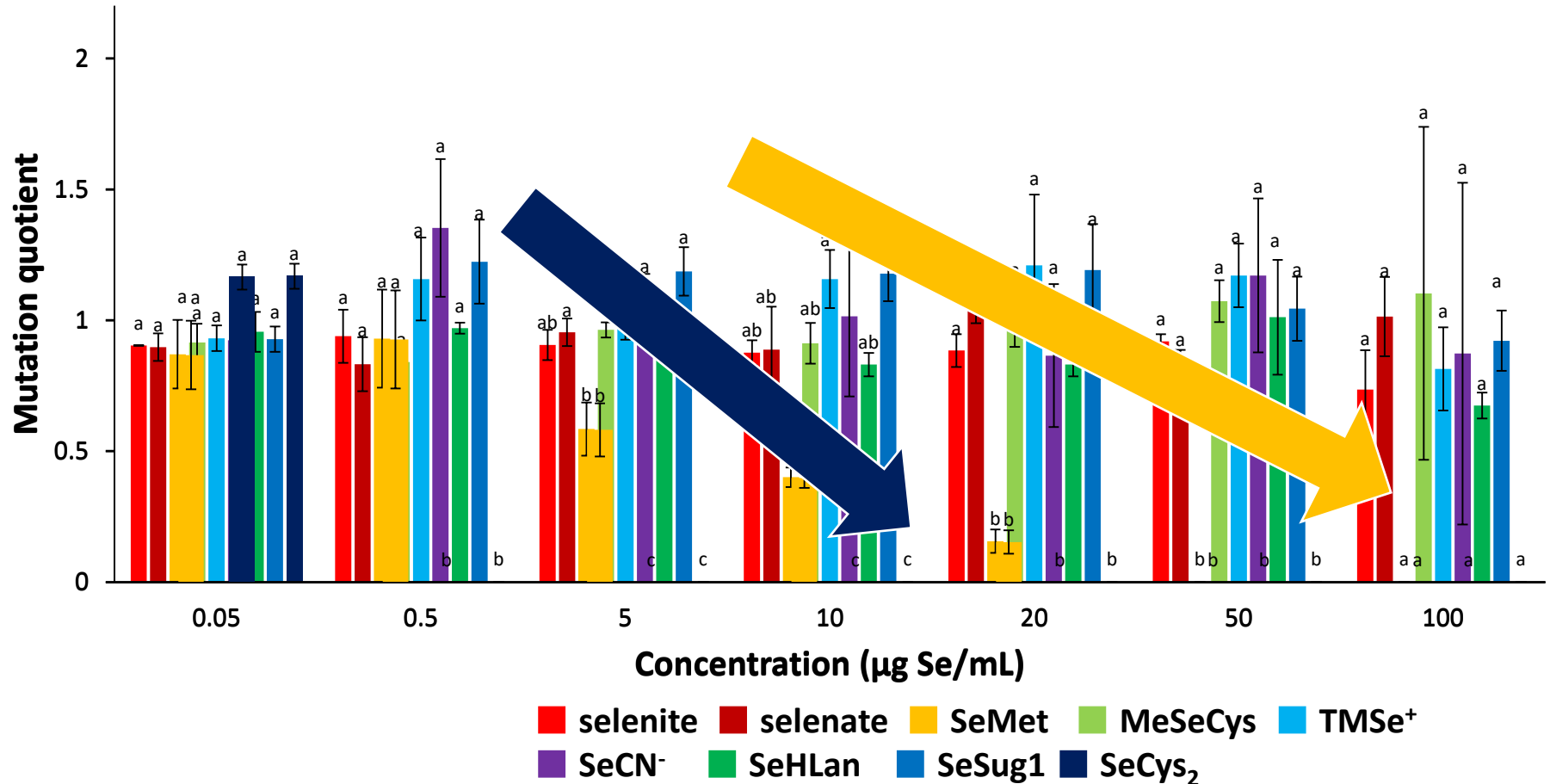
Effect of bioselenocompounds on Caco-2 and HepG2 cell viability. Caco-2 cells were exposed to **selenite**, **selenate**, **SeCN⁻**, **SeMet**, **MeSeCys**, **SeHLan**, **SeCys₂**, **SeSug1** or **TMSe⁺** for 6 h (a). HepG2 cells were exposed to each bioselenocompound for 24 h (b) and 48 h (c).

○**selenite**や**SeCys₂**は、細胞毒性が高い。

○**MeSeCys**や**SeMet**は、細胞増殖刺激作用を有する。



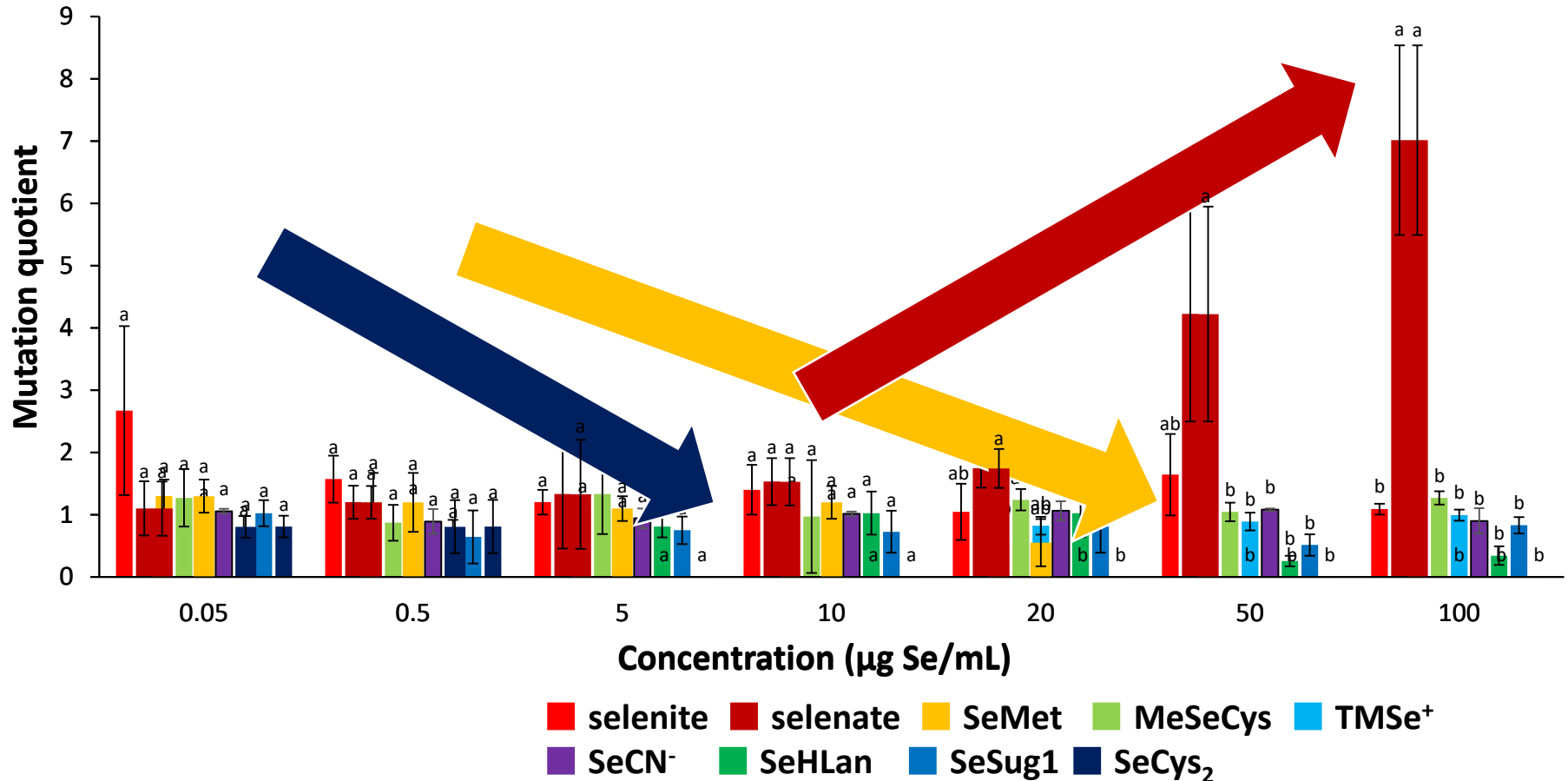
SeMet、SeCys₂ においてコロニー数が減少
→細胞毒性が出現



SeMet、SeCys₂ → 細胞毒性が出現

3. Ames試験による遺伝毒性試験

TA1535 / S9mix (-)



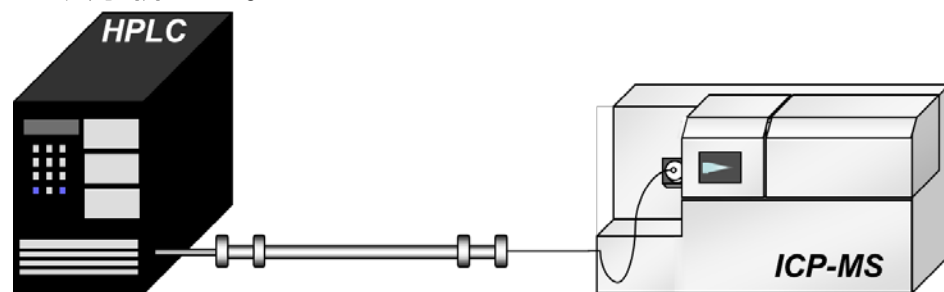
SeMet、SeCys₂ → 細胞毒性が出現

selenate においてコロニー数が増加した → (弱い) 変異原性

4. *in vivo*におけるアベイラビリティの評価

【Protocol】

・1群3匹としたWistar系雄性ラットに3週間セレン欠乏餌を摂餌させた後に、各セレン化合物を10 μg Se/ratの用量で2日間連続経口投与し、投与終了24時間後に採血し、血清中のセレンタンパク質をLC-ICP-MSにより分析した。

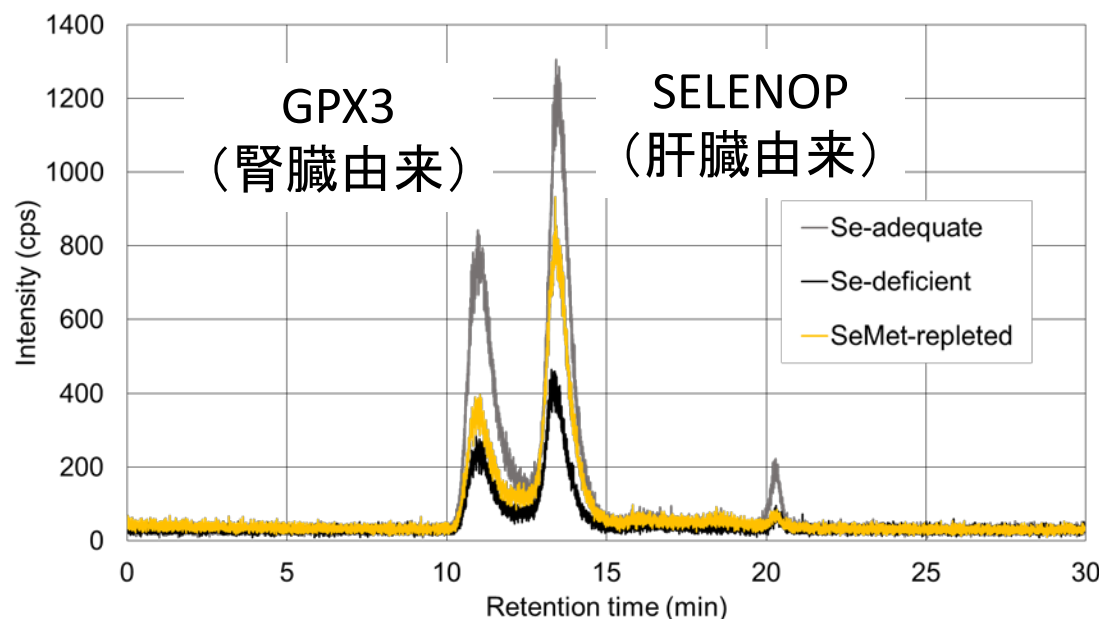


セレンタンパク質の
回復量測定

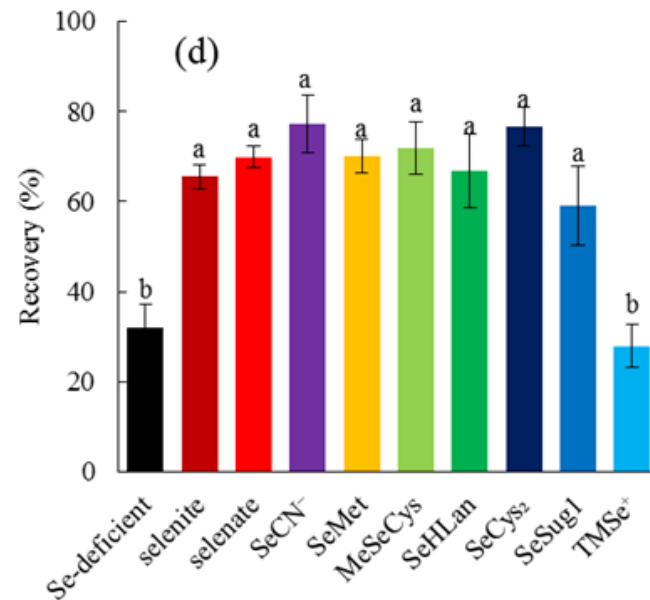
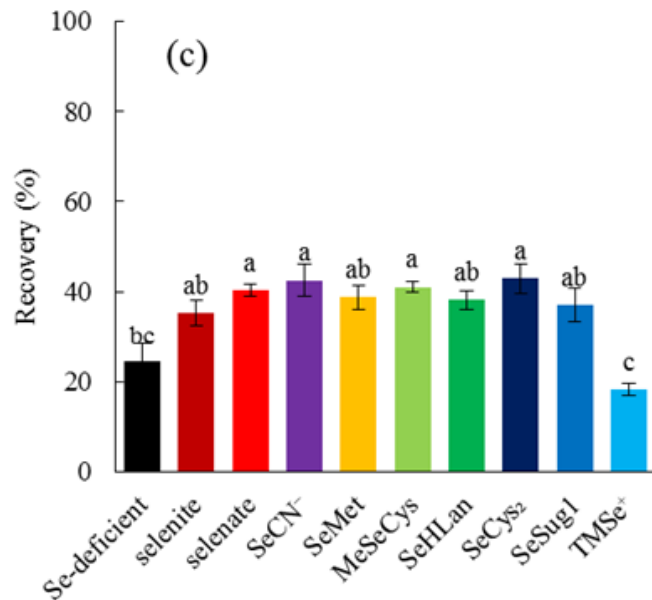
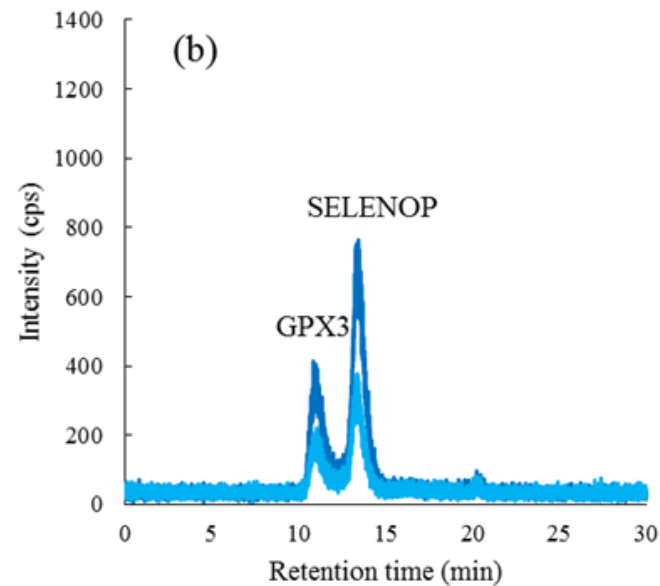
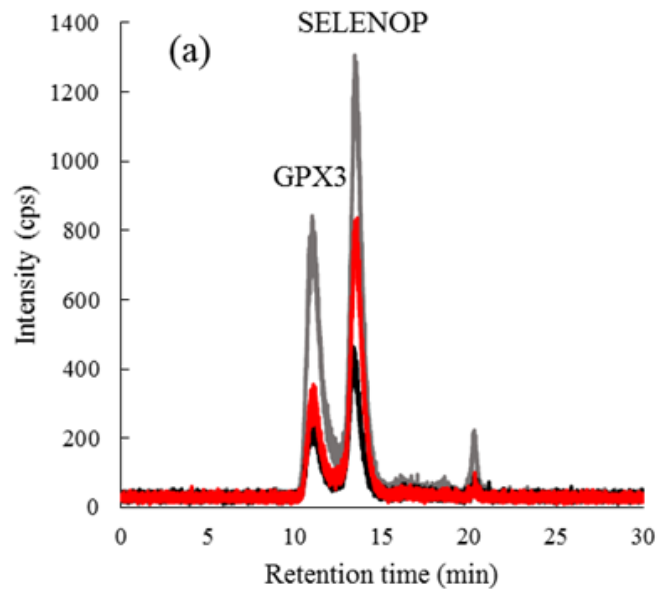


複数のセレンタンパク質の
生合成を指標にセレンの
利用効率を定量的に評価

*in vivo*での評価法の確立



4. *in vivo*におけるアベイラビリティの評価

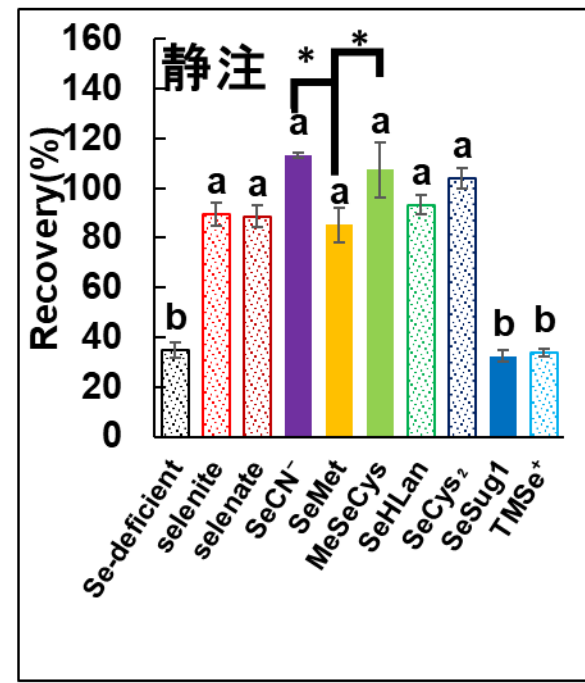
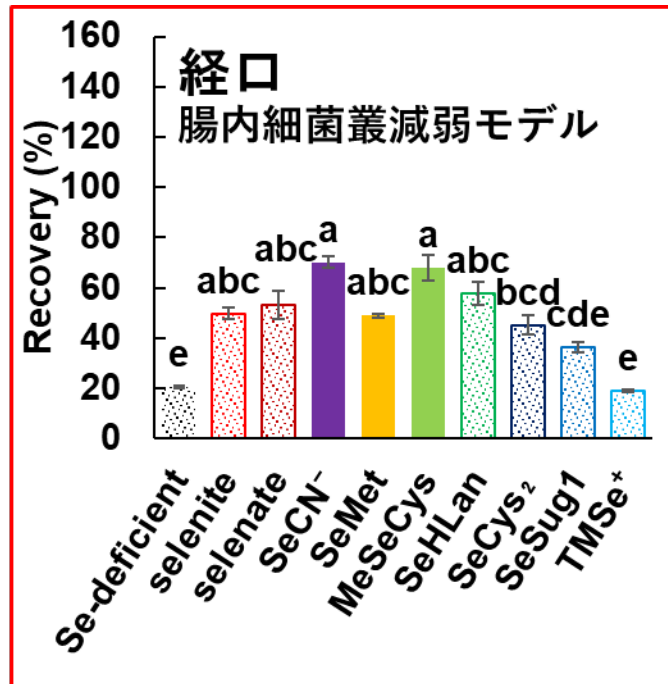
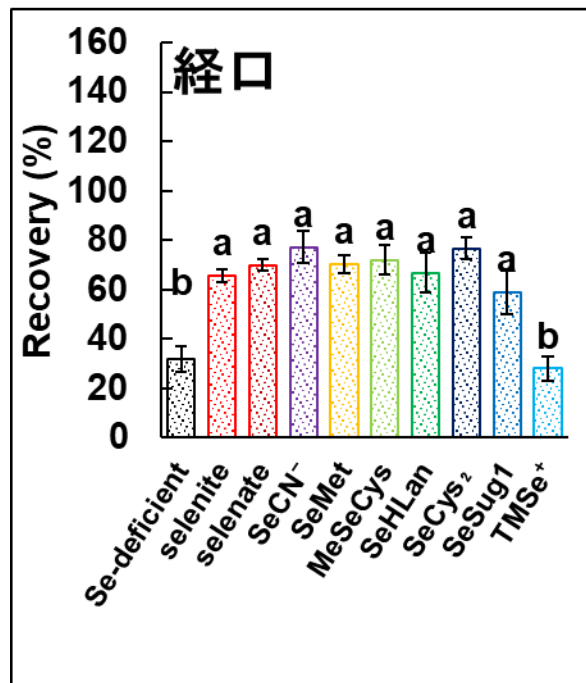


Bioavailability of nine bioselenocompounds in the Se-deficient rats.

4. *in vivo*におけるアベイラビリティの評価

腸内細菌叢減弱モデルでのアベイラビリティの変化

Nutritional availability of nine selenocompounds based on the recovery of selenoprotein P



アベイラビリティ

経口投与時

≠

腸内細菌減弱モデル
経口投与時

≡

静脈内投与時

セレン化合物のアベイラビリティにおける投与経路の差は
腸内細菌叢の影響が原因の1つ

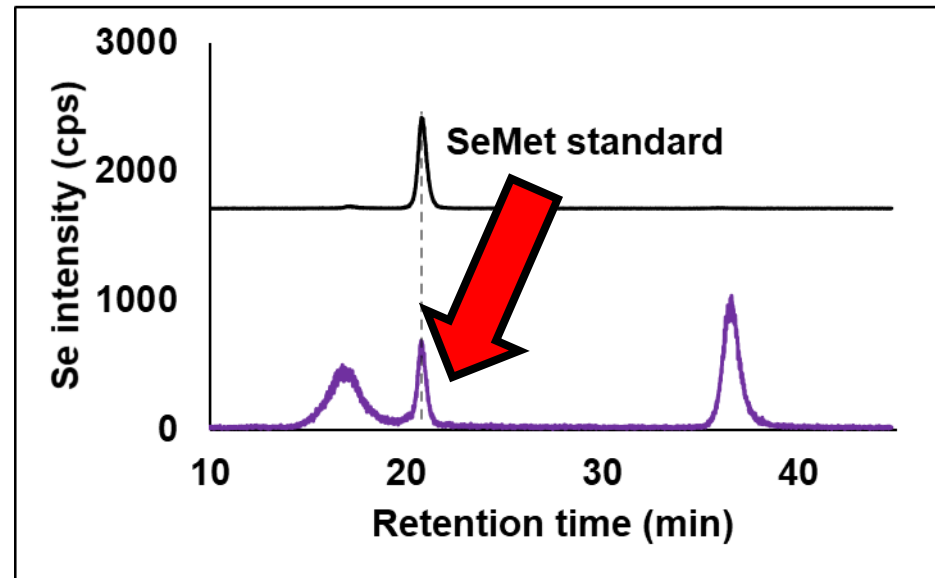
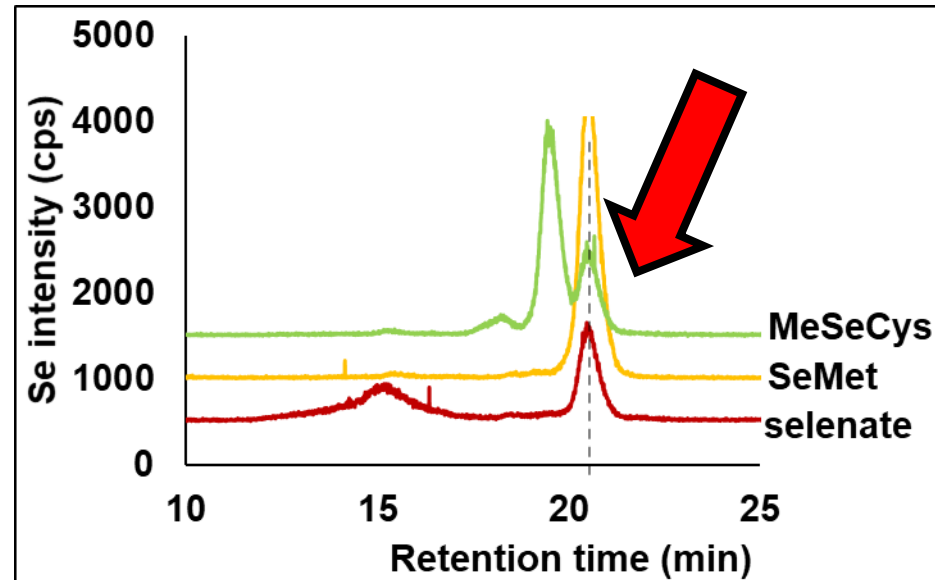
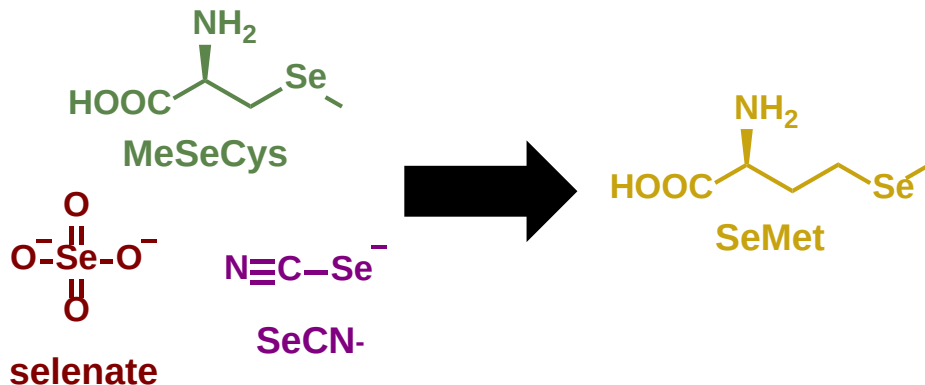
4. *in vivo*におけるアベイラビリティの評価

分離培養腸内細菌培養液中のセレン代謝物分析

selenate、MeSeCys、SeCN⁻曝露培養
培地中でSeMetが検出



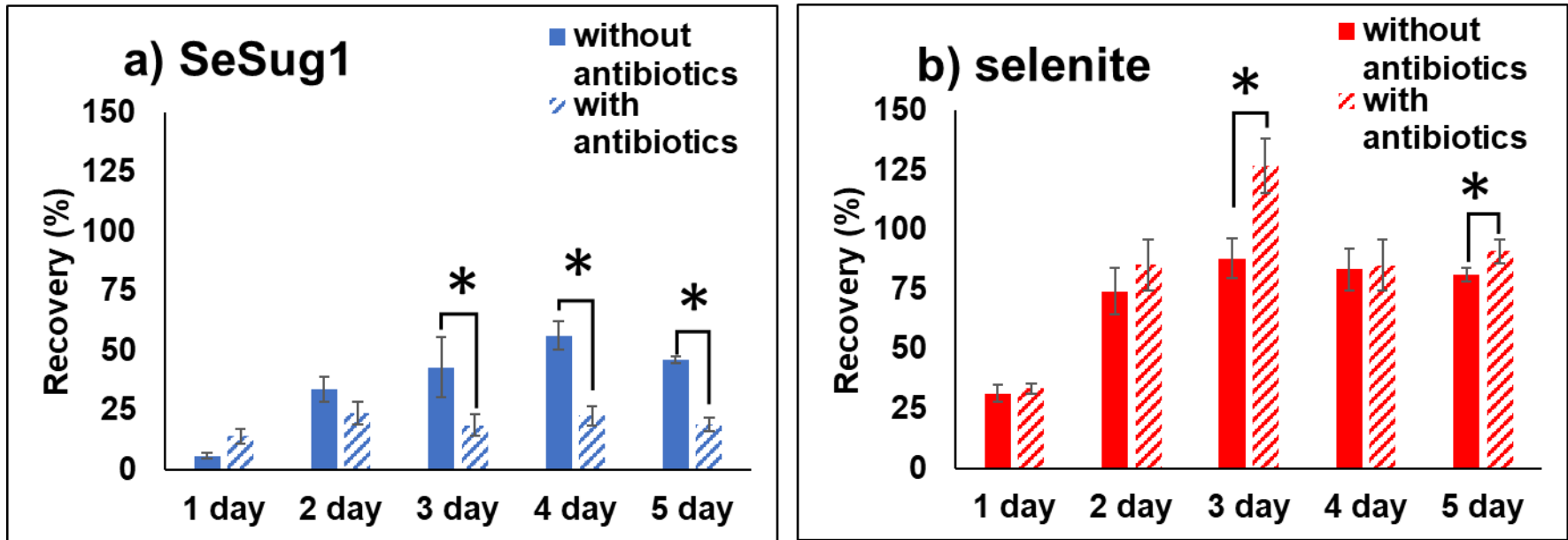
分離培養腸内細菌により
selenate、MeSeCys、
SeCN⁻がSeMetへと変換



Elution profiles of Se in the culture medium.

4. *in vivo*におけるアベイラビリティの評価

SeSug1は腸内細菌叢の低減により、利用効率が有意に低下したが、**selenite**では、腸内細菌叢の低減により、利用効率が低下することはなかった。



selemoproteine P の回復に基づく **SeSug1**と **selenite**の栄養学的利用能に与える腸内細菌叢の影響

抗生物質の有無により
SeSug1のセレン源としての
機能に大きく変化



宿主が利用できない**SeSug1**を
腸内細菌叢が利用可能な化学形態へと
変換

まとめ

*in vitro*の試験では、セレンアミノ酸の栄養学的な優位性を認めることができたが、*in vivo*ではTMSeを除く8つの化学形態間でバイオアベイラビリティに差は認められなかった。

→腸内細菌叢が動物のセレン代謝の一端を担っている。

→様々な食事から、様々な化学形態のSeを摂取しても均一に利用できる機構として腸内細菌が機能している。

経口投与であれば、8つの化学形態に栄養学的なアベイラビリティに差はない。

→それらの中で、毒性の低い化学形態が好ましい。

静脈内投与の場合は、適切な化学形態を考慮する必要がある。

まとめ ー各化合物の特徴の比較ー

	Se(IV)	Se(VI)	SeCN	SeMet	MeSeCys	SeHLan	SeCys	SeSug1	TMSe
<i>in vitro</i> 透過性	低	中	低	高	高	低	低	低	低
<i>in vitro</i> の細胞保持	低	—	—	高	低	—	—	—	—
<i>in vitro</i> 毒性	高	低	低	*	*, 中	低	高	低	低
遺伝毒性	無	弱	無	無	無	無	無	無	無
抗菌作用	弱	低	低	高	高	低	低	低	低
アベイラビリティ	高	高	高	高	高	高	高	高	低
価格(1 gあたり¥)	126	196	420	22,000	69,800	—	—	—	安

食品添加物としてのセレンは、ハザードニリスクとなるため、栄養学的価値が同じなら、ハザードの小さいものを選ぶべき。

植物から抽出
↓
酵母から抽出

↓
動物から抽出可能

Se(IV)は、配合変化を起こしやすい！

今後の課題

→ヒトの腸内細菌叢におけるセレン化合物の代謝挙動の解析

→亜セレン酸ナトリウムの配合変化が、アベイラビリティに与える影響の評価と評価法(分析法)の構築

輸液の色調変化の状態:検証時写真



セレン
×100
(5000 $\mu\text{g/mL}$)

セレン
×1000
(50mg/mL)

2017/5/18調製分

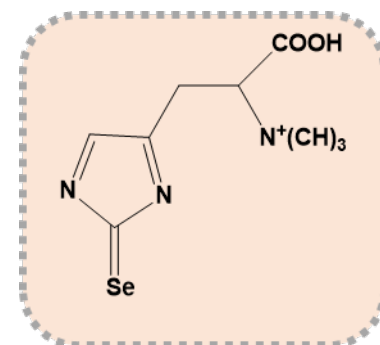
左:検証用に作成した100倍濃度のセレン注射薬を混合

中:検証用に作成した1000倍濃度のセレン注射薬を混合

右:事故品と同じロットのセレン注射薬を混合

京都大学医学部附属病院における院内製剤事故に係る調査結果について(概要)
—高濃度のセレン注射薬(院内製剤)が患者に投与された事例— より

→セレノネイン合成とアベイラビリティの評価



Publications (original papers & book chapters)

1. K. Takahashi, N. Suzuki and Y. Ogra: Bioavailability comparison of nine bioselenocompounds *in vitro* and *in vivo*. *Int. J. Mol. Sci.* (2017) **18(3)**, 506
10.3390/ijms18030506
2. Y. Ogra: Speciation and identification of chalcogen-containing metabolites. *In: Metallomics - Recent Analytical Techniques and Applications -*, Y. Ogra and T. Hirata (eds.), Springer, Tokyo, pp. 43-61 (2017)
3. K. Takahashi, N. Suzuki and Y. Ogra: Effect of administration route and dose on metabolism of nine bioselenocompounds. *J. Trace Elem. Med. Biol.* (2018) **49**, 113-118,
10.1016/j.jtemb.2018.05.007
4. H. Kobayashi, N. Suzuki and Y. Ogra: Mutagenicity comparison of nine bioselenocompounds in three *Salmonella typhimurium* strains. *Toxicol. Rep.* (2018) **5**, 220-223, 10.1016/j.toxrep.2018.01.005
5. Y. Ogra, Y. Anan and N. Suzuki: Bioanalytical chemistry of selenium. *In: Selenium The Springer Toxicology Series*, B. Michalke (ed.), Springer Nature, in press
6. K. Takahashi, N. Suzuki and Y. Ogra: Effect of intestinal microflora on the nutritional availability of selenium compounds. *Food Chem.* submitted