

バナジウムの体内分布と酸化状態

桜井 弘¹⁾・土屋 浩一郎¹⁾・西田 幹夫²⁾

高田 実弥³⁾・小山 睦夫³⁾

(徳島大学薬学部*, ¹⁾薬品分析学, ²⁾生化学教室, ³⁾京都大学原子炉実験所**)

Organ Distributions and Oxidation States of Vanadium Compounds

Hiromu SAKURAI¹⁾, Koichiro TSUCHIYA¹⁾, Mikio NISHIDA²⁾

Jitsuya TAKADA³⁾ and Mutsuo KOYAMA³⁾

¹⁾Department of Analytical Chemistry and ²⁾Department of Biochemistry,

Faculty of Pharmaceutical Sciences, University of Tokushima

³⁾Reserch Reactor Institute, Kyoto University

For understanding the physiological roles and the redox pathway of vanadium compounds, through which the metal ions are transferred to appropriate locations, the distribution of vanadyl (+4) species, estimated by ESR, and total vanadium, determined by neutron activation analysis, were examined in organs and subcellular fractions of the liver of rats treated with vanadyl (+4) sulfate or sodium vanadate (+5). Both vanadium compounds distributed in a similar manner in the following orders; kidney > serum > liver \approx blood > pancreas > testis > lung \approx spleen. The ratio of vanadyl ion to total vanadium in a whole homogenate was almost the same after the both treatments, but the ratios in subcellular fractions varied depending on the vanadium compound and the fraction. Approximately 30-70% of the vanadate was reduced to vanadyl form in the subcellular fractions of the liver.

バナジウム (V) は、人体中には約15mg 存在すると言われ¹⁾、1971年には、哺乳動物において必須微量元素の一つであることが明らかにされた²⁾。V 欠乏や過剰は種々の生理的異常を与えることが知られている¹⁾。1977年に Cantley らにより五価形 V (Vanadate) が Na⁺, K⁺-ATPase の強い阻害剤であることが見い出されて以来³⁾、V と高血圧症、糖尿病あるいは悪性腫瘍との関連性が示唆され、V に強い関心が集められるようになった。われわれは、V の生理作用をその化学形や酸化状態から理解するために、Vanadate ion (VO₃⁻) を動物に投与したところ、還元形の Vanadyl ion (VO²⁺, V⁴⁺) として肝細胞

*所在地：徳島市庄町1-78 (〒770)

**所在地：大阪府泉南郡熊取町野田 (〒590-04)

のミトコンドリアとマイクロソーム上清画分に取り込まれることをESR（電子スピン共鳴）法により見出した⁴⁾。そのESRパラメーターを種々のVanadyl錯体と比較し、Vは、タンパク質と結合し、その金属結合部位はオキシアミノ酸残基の酸素を平面配位子としたsquare pyramidal構造をしていることを明らかにした。その後、肝細胞下画分中の総V量を中性子放射化学分析法により測定し、V⁴⁺と総V量の割合を求めることができたので、ここに報告する。

実験方法

Wistar系ラットに、Vとして0.625mg/kg体重、つまりNaVO₃ 15.6mg/kg及びVOSO₄·6H₂O 3.29mg/kgを3日間連続で腹腔内注射した。各臓器より、0.25Mショ糖を用いてホモジネートを作成した。肝臓については、常法にしたがって細胞下画分を調製した。臓器ホモジネート及び各画分の一定量を取り、凍結乾燥し、京都大学原子炉実験所において中性子を30秒間照射し、⁵¹V(n, γ)⁵²V反応にもとづく1434.4keVのγピーク（半減期3.75分）を用いて、総V量を求めた。試料の一部は、77KにてESRスペクトロメーター（JES-FEIXG）により4価V（V⁴⁺）量を求めた。タンパク質の定量はLowry法によった。

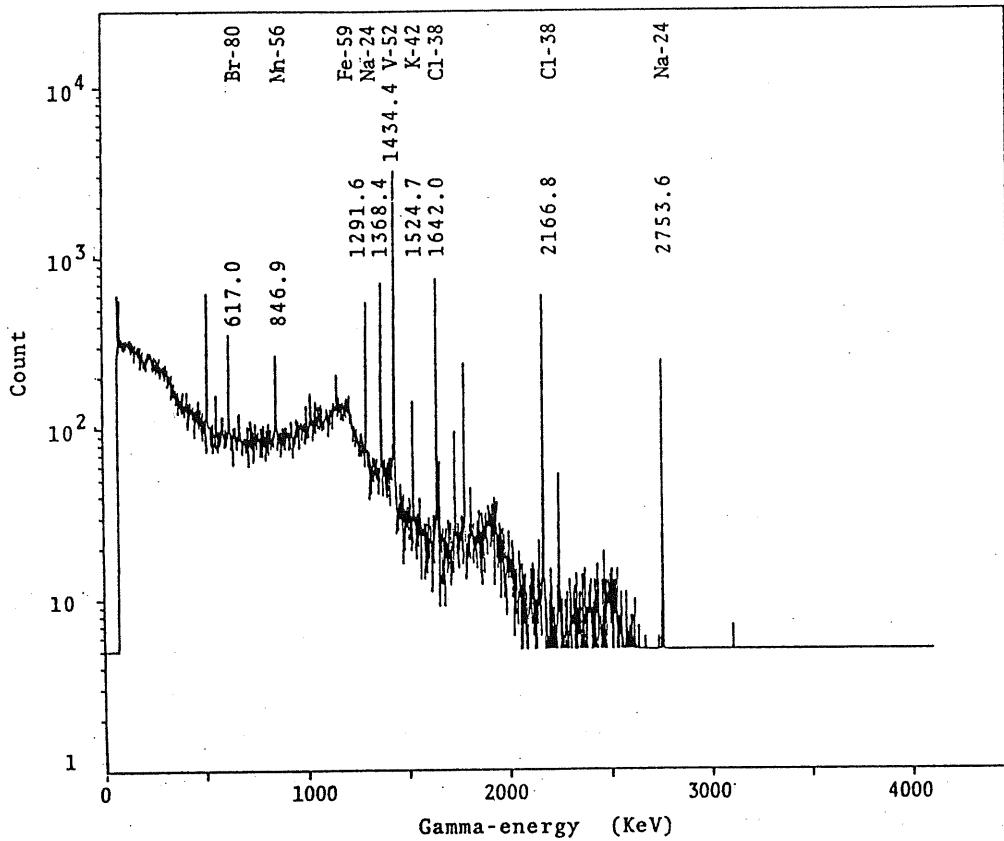


Fig.1. Gamma-ray spectrogram of liver homogenates of rats treated with NaVO₃.

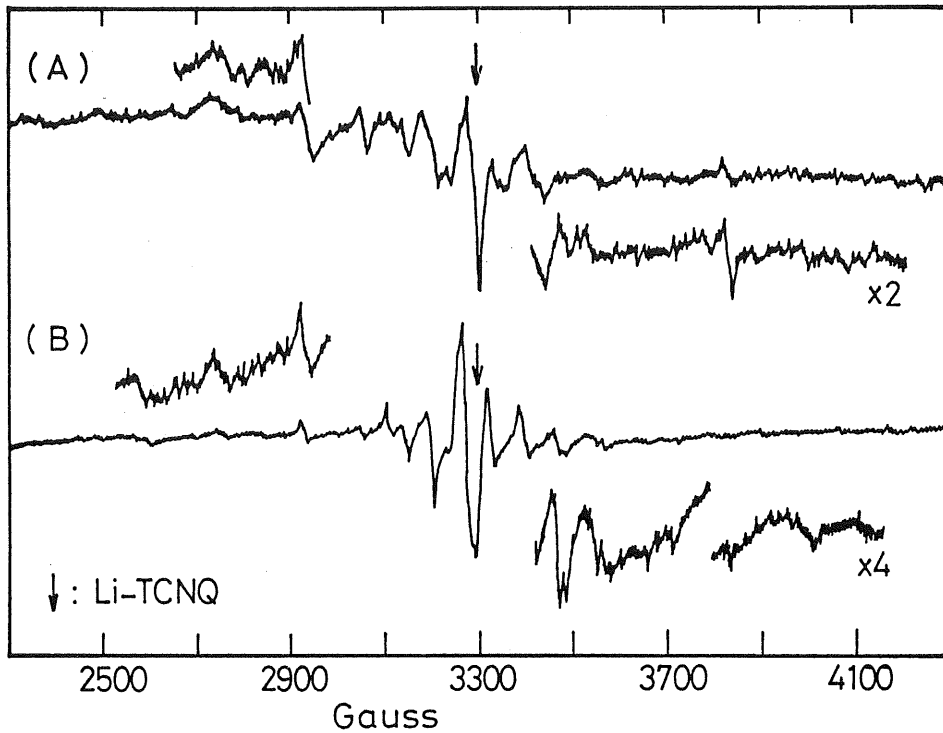


Fig.2. ESR spectra of liver (A) and Kidney (B) homogenates of rats treated with NaVO_3 .

Table 1. Distribution of total vanadium content in rat organs*

| | NaVO_3 -treated | VOSO_4 -treated |
|---------|--------------------------|--------------------------|
| Brain | n. d. | n. d. |
| Thymus | 0.53 | 0.66 |
| Heart | 0.74 | 0.81 |
| Lung | 1.27 | 1.21 |
| Liver | 3.95 | 2.56 |
| Spleen | 1.12 | 1.39 |
| Kidney | 17.70 | 17.23 |
| Panceas | 1.25 | 2.36 |
| Testis | 1.25 | 1.58 |
| Serum | 14.57 | 9.52 |
| Blood | 3.40 | 2.85 |

* $\mu\text{gV}/\text{gr}$ freezed dry weight

結果と考察

NaVO₃を投与したラット肝ホモジネートのγ線スペクトログラムをFig. 1に示す。明らかにV-52にもとづく1434.4keVのピークが観察された。一方,77KでESRスペクトルを測定したところ, Fig. 2(A)及び(B)(腎ホモジネート)に示すようにVanadylに特有な8本線からなるシグナルを見出した。したがって,中性子放射化分析法により総V量を, ESR法によりV⁴⁺量を求めた。

V化合物を投与したラットにおけるVの体内分布をTable 1に示す。Vの体内分布は,投与したVの化学形に依存しないことが明らかである。臓器への総Vの分布量は,腎>血清>血液 ≈ 肝>脾臓>睾丸>肺 ≈ 脾臓の順に低下した。

次に, V化合物を投与したラットの肝細胞下画分について, 総V及びV⁴⁺量, 及びV⁴⁺/総V比(%)をTable 2とFig. 3にまとめた。NaVO₃及びVOSO₄投与ラット肝については, ホモジネート中の総V及びV⁴⁺含量には, ほとんど差は見い出せなかったが, 細胞下画分について, 両化合物による差が見い出された。例えば, 核及びミトコンドリア画分中の総V量は, VOSO₄投与群の方が高くなった。この結果は, VOSO₄がNaVO₃よりも高い抗ガン活性を示すという観察⁵⁾を支持している。また両化合物投与群ともに, 上清画分に総Vがよく取り込まれている。V⁴⁺量の細胞下画分への分布も, 両化合物投与群ともに上清画分に多く取り込まれることも特徴である。このように, V化合物を投与すると, Vが上清画分に分布する現象は, 腎臓についても観察された⁶⁾。したがって, これらの結果は, V化合物に

Table 2. Concentrations and ratios of total vanadium and vanadyl species in subcellular fractions of the liver of rats treated with vanadium compounds

| Treatment Fraction | | Total vanadium ($\mu\text{g V/gr Prot.}$) | Vanadyl species ($\mu\text{g V}^{4+}/\text{gr Prot.}$) | Ratio (%) of ($\text{V}^{4+}/\text{total V}$) |
|--------------------|------------------|--|---|--|
| None | whole homogenate | n.d. | n.d. | — |
| | nuclei | n.d. | n.d. | — |
| | mitochondria | 1.09 | n.d. | — |
| | microsomes | 1.02 | n.d. | — |
| | supernatant | 0.57 | n.d. | — |
| VOSO ₄ | whole homogenate | 43.87 | 28.99 | 66.1 |
| | nuclei | 49.90 | 8.13 | 16.3 |
| | mitochondria | 69.90 | 13.24 | 18.9 |
| | microsomes | 21.76 | 9.22 | 42.4 |
| | supernatant | 57.29 | 27.35 | 47.7 |
| NaVO ₃ | whole homogenate | 41.14 | 27.88 | 67.8 |
| | nuclei | 26.08 | 14.28 | 54.8 |
| | mitochondria | 42.23 | 11.56 | 27.4 |
| | microsomes | 21.26 | 7.11 | 33.4 |
| | supernatant | 64.56 | 49.66 | 76.9 |

n. d.: not detected.

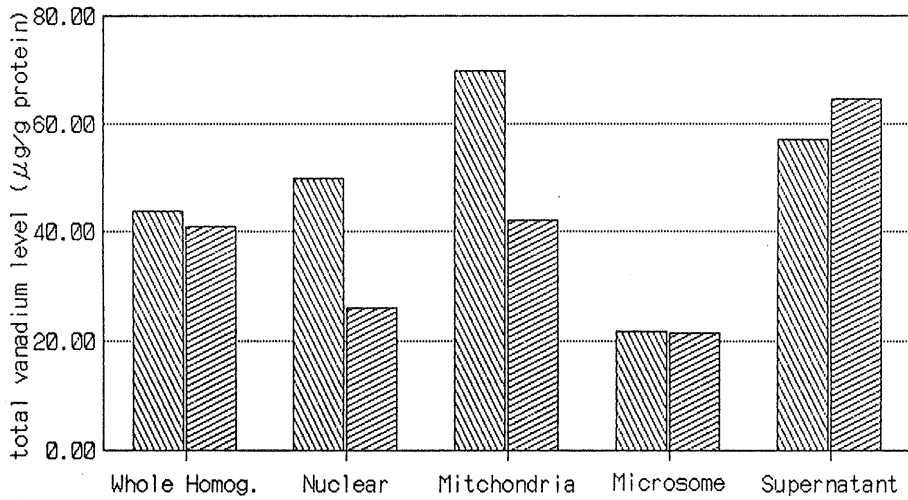




Fig.3. Total vanadium levels in liver of rats treated with vanadium compounds.

 vanadyl sulfate-treated rats
 sodium vanadate-treated rats

よるメタロチオネインの誘導現象が推定されるが、これについては検討している。

謝 辞

本研究は、京都大学原子炉実験所の共同利用研究により行われた。

文 献

1. 田中 久, 桜井 弘編著 (1987) 生物無機化学, 廣川書店
2. HOPKINS, L. L. Jr. and H. E. MOHR (1971) Newer Trace Elements in Nutrition, ed. by W. Mertz and W. E. Cornatzen, Marcel Dekker, N. Y. : pp.195-213
3. CANTLEY, L. C. Jr., L. JOSEPHSON, R. WARNER, M. YANAGISAWA, C. LECHENE and G. GUIDOTTI (1977) J. Biol. Chem. 252 : 7421
4. SAKURAI, H., S. SHIMOMURA, K. FUKUZAWA and K. ISHIZU (1980) Biochem. Biophys. Res Commun. 96 : 293
5. THOMPSON, H. J., N. D. CHASTEEN and L. D. MEEKER (1984) Carcinogenesis 5 : 849
6. 桜井 弘, 西田幹夫, 土屋浩一郎, 準備中