

^{45}Ti -Ascorbate の生体内挙動

斎藤和子¹⁾・木村修一¹⁾・井上勝訓¹⁾

井戸達雄²⁾・長瀬すみ³⁾

(東北大学, ¹⁾農学部栄養化学*, ²⁾サイクロトロンRIセンター**, ³⁾佐々木研究所***)

Studies on ^{45}Ti -Ascorbate

Biodistribution and Its Metabolism

Kazuko SAITOH¹⁾, Shuichi KIMURA¹⁾, Katsunori INOUE¹⁾

Tatsuo IDO²⁾ and Sumi NAGASE³⁾

¹⁾Department of Food Chemistry, and ²⁾Cyclotron Radioisotope Center, Tohoku University

³⁾Department of Chemistry, Sasaki Institute

Titanium (Ti) is a common element widely spread in the earth's crust, but it is not known whether Ti is an essential element or not. Pais et al. found out that titanium-ascorbate (Ti-AsA) promoted growth in some plants. We are now investigating the essentiality of Ti in animals. For this purpose, we prepared $^{45}\text{TiCl}_4$ and $^{45}\text{Ti-AsA}$, and investigated their biochemical behaviors.

Guinea pigs fed experimental diets (low AsA: 28mg AsA/100g diet, high AsA: 4000mg AsA/100g diet) for two weeks, were administered with $^{45}\text{TiCl}_4$ and $^{45}\text{Ti-AsA}$. The tissue uptake of $^{45}\text{TiCl}_4$ was accompanied by a parallel rise of AsA level in the diet. On the other hand, the uptake of $^{45}\text{Ti-AsA}$ was not enhanced by AsA level in the diet, although tissue uptake was high even in case of low AsA level in diet.

Whole-body autoradiograms were performed with $^{45}\text{TiCl}_4$ or $^{45}\text{Ti-AsA}$ in Wistar rat. $^{45}\text{Ti-AsA}$ was well distributed rather than $^{45}\text{TiCl}_4$. These data indicate that AsA promotes the transport of Ti.

Metabolites of $^{45}\text{Ti-}[^{14}\text{C}]\text{-AsA}$ in the plasma of rats were analyzed by HPLC using gel filtration or ion-exchange technique. Ti-AsA mainly exists as Ti-AsA-transferrin complex *in vitro*.

近年、分析技術の発展とともに微量元素についての研究が進み、今まで有害金属とだけ思われてきた

*所在地：仙台市堤通雨宮町1-1 (〒981)

**所在地：仙台市荒巻字青葉 (〒980)

***所在地：東京都千代田区神田駿河台2-2 (〒101)

もののなかにも、例えば砒素、リチウム、ケイ素などのように、動物にとって必須成分であることが分かってきたものがある。さらに微量元素の化学形態や動物側の条件によっても、その生理作用の発現のしかたが異なることなどについても明らかになってきているものが多い。

さて、チタン (Ti) は、地殻中には広く分布する金属であるが、海水中の濃度は非常に低い。Ti は炭素やケイ素の同族体でもあり、その生化学に興味もたれるが、生物にとって必須か否かについては今だに不明である。

最近 Pais¹⁾ が、チタニウムキレート²⁾の生理活性に関する研究を行い、Ti とアスコルビン酸のキレート化合物、チタンアスコベイト (Ti-AsA) が植物で光合成能の活性化により成長を促進するという³⁾ことを報告しており、植物において何らかの生理的役割を果たしている可能性もある。しかし、動物における生理的意義の研究は殆ど見当たらない。我々は Ti の動物における必須性を検討しているが、その一環として比較的短寿命の放射性核物質である⁴⁵Ti (半減期: 3.09時間) を用いて、生体内での動態、特に Ti の体内動態に対するアスコルビン酸の影響と血中における Ti-AsA の存在形態について検討し、若干の知見を得たので報告する。

方 法

⁴⁵Ti は東北大学サイクロترونラジオアイソトープセンターで製造されたもので、Sc のプロトン放射により製造され、Nelson 法により分取した²⁾。この⁴⁵Ti から化学形態の異なる Ti 化合物を合成した。本実験にはそのうち⁴⁵TiCl₄及び⁴⁵Ti-AsA を用いた。

アスコルビン酸合成能を欠く Hartley 系雄モルモットを用いて、アスコルビン酸欠乏群 (low AsA: 28mg AsA/100g diet) とアスコルビン酸投与群 (high AsA: 4000mg AsA/100g diet) を設け 2 週間飼育後、各々の群について⁴⁵TiCl₄又は⁴⁵Ti-AsA を腹腔内投与し、3 時間後に屠殺し、各臓器の一部あるいは全量を切り出してその放射活性により生体内分布を比較検討した。

次に Wistar 系雄ラットに⁴⁵TiCl₄又は⁴⁵Ti-AsA を尾静脈投与し、30分後の全身分布について定量的オートラジオグラフィ (ARG) 法で比較検討を行った。

さらにいうまでもなくラットはアスコルビン酸を体内で合成するためビタミン C 欠乏にはならないが、アスコルビン酸合成酵素を欠いているためビタミン C 欠乏症を起こすことが知られている ODS (Osteogenic Disorder-Shionogi) ラットを用い、⁴⁵Ti 及び [¹⁴C]-AsA を結合させたダブルラベルの⁴⁵Ti-¹⁴C-AsA を尾静脈投与し 30分後の全身分布を⁴⁵Ti 及び [¹⁴C]-AsA 各々について先程と同じ ARG 法により観察した。

又、生体内を移動する時の Ti-AsA の存在形態を明らかにする目的で、in vitro での Ti-AsA と血漿蛋白質との結合について HPLC (High Performance Liquid Chromatography) を用いて分析した。すなわちラットの血漿に⁴⁵Ti-¹⁴C-AsA を加え、37°C で 10 分間インキュベーションした後 HPLC にかけて分析を行った。

結果と考案

モルモットにおける⁴⁵TiCl₄及び⁴⁵Ti-AsAの生体内分析をFig. 1に示す。⁴⁵TiCl₄の各臓器への取り込みはアスコルビン酸欠乏群よりも投与群で高かった。しかし⁴⁵Ti-AsAは、アスコルビン酸欠乏群と投与群でその生体内分布に違いは見られなかった。これらの結果はTiの生体内分布にアスコルビン酸が関与していることを示している。

Fig. 2の上がWistar系ラットにおける⁴⁵TiCl₄、下が⁴⁵Ti-AsAの全身分布を示している。⁴⁵Ti-AsAは⁴⁵TiCl₄と比較して、体内の隅々までよく分布するということが明らかである。ここでは詳しく述べないが、Wistar系ラットに⁴⁵TiCl₄又は⁴⁵Ti-AsAを尾静脈投与し、経時的に各臓器中の⁴⁵Ti濃度の測定を行い、⁴⁵TiCl₄では時間とともに⁴⁵Tiの放射活性もすみやかに消失していったが、これに対して⁴⁵Ti-AsAでは⁴⁵Ti濃度は長時間保持された、という結果³⁾も得ており、これらのことからTiの生体内移行にアスコルビン酸が深く関与していることが示唆される。一般にアスコルビン酸は微量元素の腸管吸収を促進することが知られているが本実験のように腸管を経ない静脈内投与においても臓器中への取り込みや分布に深く関与していることを示唆したことになる。

ODSラットはモルモットと同様に、アスコルビン酸生合成の最終段階酵素であるL-gulono-lactone- γ -oxidaseを遺伝的に欠損しているラット⁴⁾であるが、このODSラットにおける⁴⁵Ti及び[¹⁴C]-AsAの全身分布をFig. 3に示した。⁴⁵Tiと[¹⁴C]-AsAの分布はほぼ同じであったが、腎臓では⁴⁵Tiは髄質、[¹⁴C]-AsAは皮質に分布するというように異なる挙動を示していた。このことは腎臓における⁴⁵Tiの排泄のされ方を示しており、現在⁴⁵Tiの腎臓内分布についてさらに検討中である⁵⁾。

Fig. 4はWistar系ラットの血漿に⁴⁵Ti-[¹⁴C]-AsAを加えてインキュベーションしたもののG3000SW

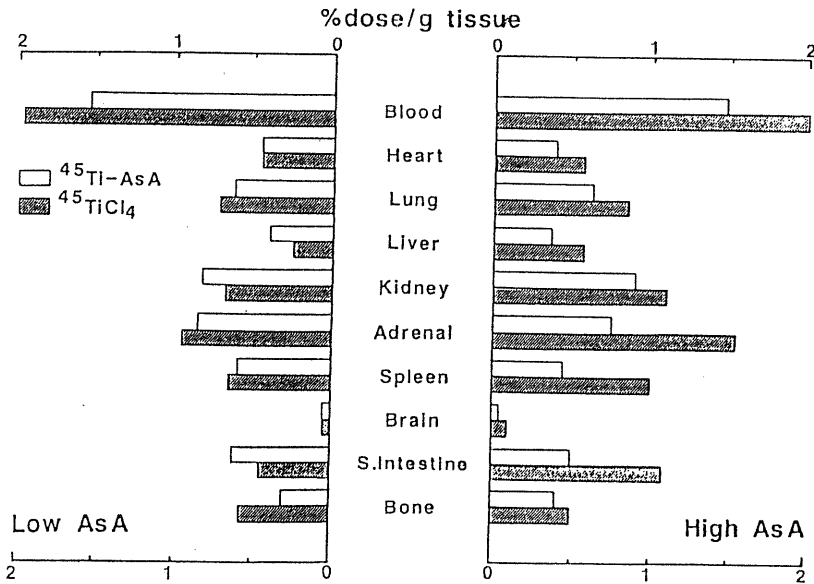


Fig. 1. Tissue distribution of ⁴⁵TiCl₄ and ⁴⁵Ti-AsA in guinea pigs with low or high AsA intake.

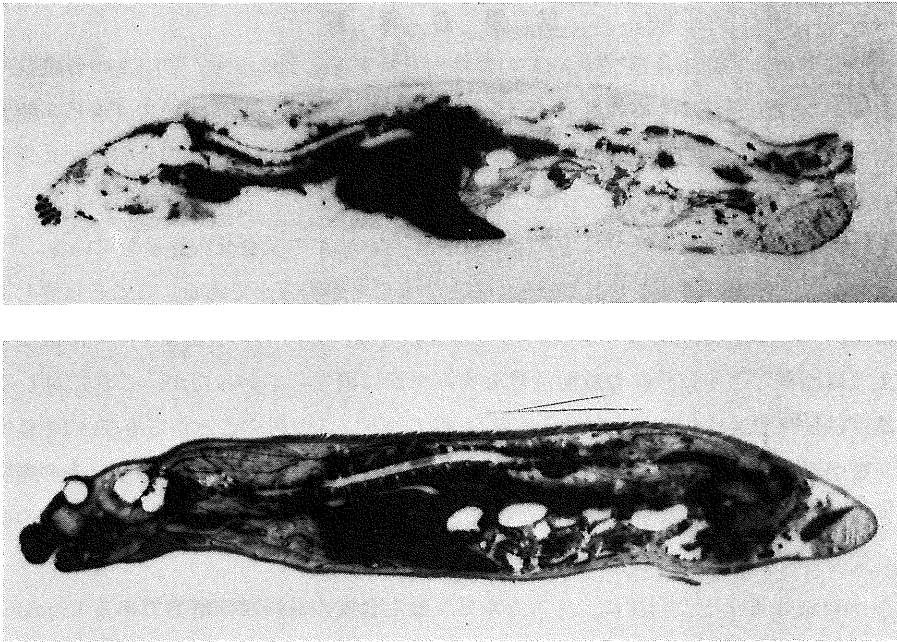


Fig.2. Whole-body autoradiograms of $^{45}\text{TiCl}_4$ and $^{45}\text{Ti-AsA}$ in Wistar rats.
Upper; $^{45}\text{TiCl}_4$
Below; $^{45}\text{Ti-AsA}$

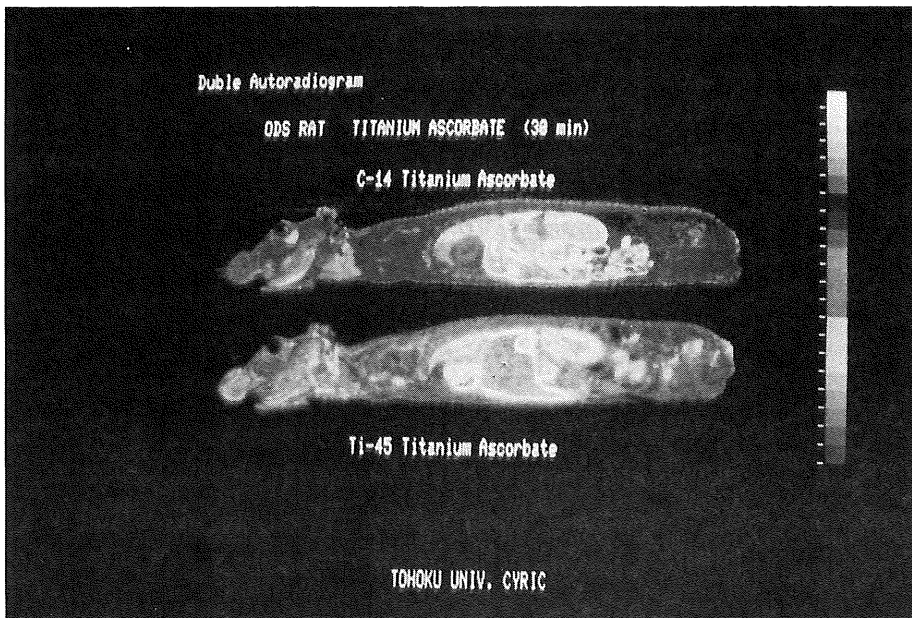


Fig.3. Whole-body autoradiograms of ODS rat 30 minutes after the injection of $^{45}\text{Ti-}^{14}\text{C-AsA}$.
Upper; $^{14}\text{C-AsA}$
Below; ^{45}Ti

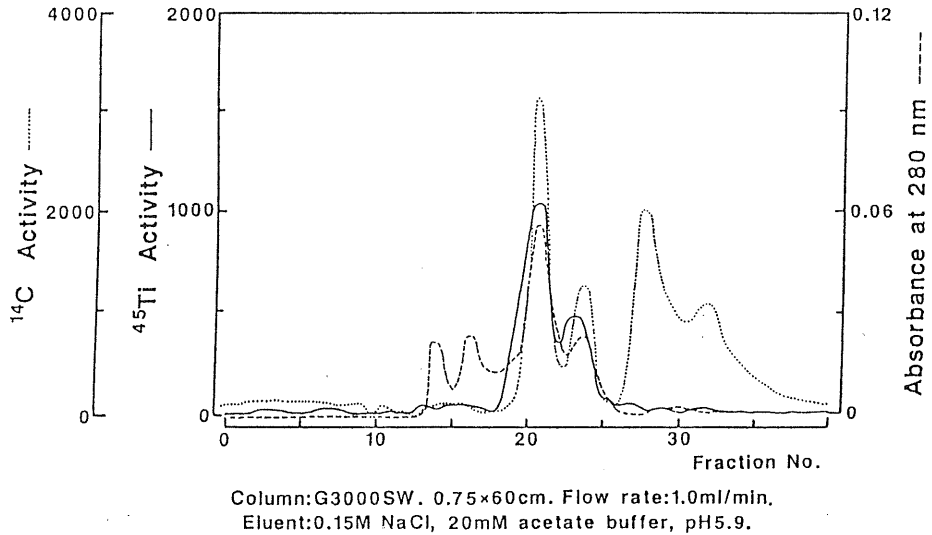


Fig.4. HPLC of Wistar rat plasma after 10 minutes incubation with ^{45}Ti - ^{14}C -AsA *in vitro*.

ゲル濾過クロマトグラフィーの溶出パターンである。Ti-AsA は主に、Fr.No.21のアルブミン画分の蛋白質と結合していることが示唆され、血中に入ったTi-AsA は [Ti-AsA-アルブミン] の形になるものと推測された。

そこでこの蛋白質が果たしてアルブミンであるかどうかを、無アルブミンラット (Nagase Analbuminemia Rat; NAR) の血漿を用いることや、イオン交換カラムを用いてアルブミン画分の蛋白質を分離することなどにより検討した結果、現在ではアルブミンではなく、血中に入ったTi-AsA は [Ti-AsA-トランスフェリン] の形で生体内を移行していることを推測している。

文 献

1. PAIS, I. et al. (1983) J. Plant Nutr. 6(1) : 3
2. NELSON, F. et al. (1964) J. Chromatog. 13 : 150
3. KAWAMURA, M. et al. (1985) CYRIC Ann. Report : 150
4. MIZUSHIMA, Y. et al. (1984) Experimentia 40 : 359
5. SAITOH, K. et al. (1987) CYRIC Ann. Report. in press