

## Na<sub>2</sub>SeO<sub>4</sub>, Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub>, selenomethionine, selenocystine 食ラットの組織 Se 濃度及び glutathione peroxidase 活性に及ぼすビタミン B<sub>6</sub> の影響

荫 士 安<sup>1)</sup>・佐藤 郁雄<sup>2)</sup>・新関 嗣郎<sup>2)</sup>・細川 優<sup>2)</sup>・山口 賢次<sup>3)</sup>

(<sup>1)</sup>中国栄養・食品衛生研究所\*, (<sup>2)</sup>国立健康・栄養研究所\*\*, (<sup>3)</sup>東京家政大学\*\*\*)

### Effect of Dietary Vitamin B<sub>6</sub> on Levels of Selenium and Glutathione Peroxidase in Tissues of Rats Fed Various Forms of Selenium

Shi-an YIN<sup>1)</sup>, Ikuo SATO<sup>2)</sup>, Shiro NIIZEKI<sup>2)</sup>, Yu HOSOKAWA<sup>2)</sup>, Kenji YAMAGUCHI<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup>*Institute of Nutrition and Food Hygiene, Chinese Academy of Preventive Medicine,*

<sup>2)</sup>*National Institute of Health and Nutrition,* <sup>3)</sup>*Tokyo Kasei University*

The effect of dietary vitamin B<sub>6</sub> on selenium(Se) concentrations and glutathione peroxidase(GSH-Px) in tissues of rats fed various forms of Se was studied. Male 4-week-old Wistar rats were fed a vitamin B<sub>6</sub>-Se-deficient basal diet for 3 weeks, and then the rats were divided into 10 groups. One group was fed the basal diet, the others were fed the diet supplemented with 250 μg vitamin B<sub>6</sub>/100g as pyridoxine · HCl, or 0.25mg Se/kg as Na<sub>2</sub>SeO<sub>4</sub>, Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub>, DL-selenomethionine, or DL-selenocystine, or Se plus vitamin B<sub>6</sub> for 4 weeks. Rats fed vitamin B<sub>6</sub>-deficient diets had significantly lower body, heart, and liver weight than rats fed vitamin B<sub>6</sub>-supplemented diets. The levels of Se and GSH-Px in RBCs, muscle, and heart were significantly lower in vitamin B<sub>6</sub>-deficient groups than in vitamin B<sub>6</sub>-supplemented groups regardless of the chemical forms of Se. Rats fed vitamin B<sub>6</sub>-supplemented diets had significantly higher Se contents in RBCs, muscle, and heart than rats fed vitamin B<sub>6</sub>-deficient diets; however, a lesser extent in plasma, testes, and liver was observed. These results suggest that vitamin B<sub>6</sub> is involved in the transport of Se and incorporation of Se into GSH-Px in tissues, and that vitamin B<sub>6</sub> status has different effects on Se levels in various tissues.

グルタチオンペルオキシダーゼ (GSH-Px) はセレン (Se) 酵素であることが証明されている<sup>1)</sup>。

\*所在地：北京市宣武区南緯路29号 (100050)

\*\*所在地：東京都新宿区戸山1-23-1 (〒162)

\*\*\*所在地：東京都板橋区1-18-1 (〒173)

GSH-Px は過酸化物を処理し、酸化障害から生体膜を守る役割がある<sup>2)</sup>。この酵素中の Se 形態はセレノシステインであり<sup>3)</sup>、セレノメチオニンからのセレノシステインがビタミン B<sub>6</sub> 依存の系によって生成することが報告されている<sup>4)</sup>。

このように Se の代謝及び機能の研究の際には、ビタミン B<sub>6</sub> の栄養状態を考慮に入れなければならない。アメリカでの調査では、ビタミン B<sub>6</sub> は栄養所要量に対して充足していない人が多く<sup>5-8)</sup>、ビタミン B<sub>6</sub> の潜在性欠乏の危険があると言われている。そこで、Na<sub>2</sub>SeO<sub>4</sub>、Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub>、selenomethionine、selenocystine 食ラットの組織 Se 濃度及び GSH-Px 活性に及ぼすビタミン B<sub>6</sub> の影響について検討したので報告する。

## 実験方法

4 週齢 Wistar 系雄ラットを用い、ビタミン B<sub>6</sub> 及びセレンを欠乏にした基本飼料で 3 週間飼育し、基本群、セレン酸群、亜セレン酸群、セレノメチオニン群、セレノシスチン群に分け、さらに各群をビタミン B<sub>6</sub> 充足群と欠乏群に、合計 10 群にわけた。基本群は基本飼料、セレン酸群、亜セレン酸群、セレノメチオニン群、セレノシスチン群は基本飼料にセレン源として Na<sub>2</sub>SeO<sub>4</sub>、Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub>、DL-selenomethionine または DL-selenocystine を各々 1 キロあたり 0.25mg 混合した飼料、ビタミン B<sub>6</sub> 充足群は基本飼料 100g あたり 250 μg 塩酸ピリドキシンを混合した飼料を用い、4 週間飼育した。

基本飼料は、ビタミンフリーカゼイン 20%、シュクロース 50%、コーン油 5%、セルロース・パウダー 5%、 $\alpha$ -コーンスターチ 15.3%、ビタミン B<sub>6</sub> を除いた重酒石酸コリン 0.2% 添加のビタミン混合 AIN-76 1.2%、セレンを除いたミネラル混合 ATN-76 3.5% を混合した。飼料及び組織中の Se 含量は蛍光法により測定した<sup>9)</sup>。GSH-Px 活性は、Wendel の方法に準じて<sup>10)</sup>、過酸化水素を基質とし、GSH の酸化反応をカップルさせて測定した<sup>2)</sup>。得られた数値は平均値±標準誤差で示した。

## 実験結果及び考察

体重、心臓及び肝臓重量に及ぼすビタミン B<sub>6</sub> の影響は表 1 に示したように、最終体重、心臓及び肝臓重量は、Se 濃度及び Se の化学形態に関係がなく、ビタミン B<sub>6</sub> 欠乏各群に比し充足各群の方が有意に高値を示した。またビタミン B<sub>6</sub> 充足各群あるいは欠乏各群の間に有意差は認められなかった。

表 2 は血漿及び赤血球中 Se 濃度を示している。ビタミン B<sub>6</sub> の栄養状態は血漿 Se 濃度に影響を及ぼさなかった。赤血球中 Se 濃度は、セレン酸群、亜セレン酸群、セレノシスチン群よりセレノメチオニン群の方が高く、ビタミン B<sub>6</sub> 欠乏各群よりビタミン B<sub>6</sub> 充足各群の方が有意に高い値を示した。また Beilstein & Whanger<sup>11)</sup> の研究では、ビタミン B<sub>6</sub> 欠乏群はビタミン B<sub>6</sub> 充足群に比べ、血漿中 <sup>75</sup>Se の蓄積が有意に高い値を示したと述べている。このことから血漿 Se 濃度は赤血球の Se 濃度に関係がないと思われる。

表 3 は筋肉、心臓、睪丸及び肝臓中 Se 濃度を示している。セレン酸、亜セレン酸、セレノシスチンに比べセレノメチオニンの方が有意に高い値を示した。このことから、組織への Se の利用性はセレノメチオニンの方がセレン酸、亜セレン酸、セレノシスチンよりもよいことを示した。筋肉及び心臓中

**Table 1** Effect of dietary vitamin B<sub>6</sub> on final body, liver, heart, testis weight of rats<sup>1</sup>

Group	Final weight		Heart		Liver	
	- B <sub>6</sub>	+ B <sub>6</sub>	- B <sub>6</sub>	+ B <sub>6</sub>	- B <sub>6</sub>	+ B <sub>6</sub>
Basal	224 ± 9 <sup>ax</sup>	348 ± 10 <sup>ay</sup>	0.8 ± 0.0 <sup>ax</sup>	1.1 ± 0.0 <sup>ay</sup>	6.2 ± 0.3 <sup>ax</sup>	10.3 ± 0.3 <sup>ay</sup>
Selenate	232 ± 14 <sup>ax</sup>	356 ± 16 <sup>ay</sup>	0.8 ± 0.1 <sup>ax</sup>	1.2 ± 0.0 <sup>ay</sup>	6.8 ± 0.8 <sup>ax</sup>	10.7 ± 0.5 <sup>ay</sup>
Selenite	229 ± 15 <sup>ax</sup>	338 ± 15 <sup>ay</sup>	0.7 ± 0.0 <sup>ax</sup>	1.1 ± 0.0 <sup>ay</sup>	6.6 ± 0.4 <sup>ax</sup>	9.8 ± 0.4 <sup>ay</sup>
Se-Met	231 ± 8 <sup>ax</sup>	347 ± 10 <sup>ay</sup>	0.8 ± 0.0 <sup>ax</sup>	1.1 ± 0.1 <sup>ay</sup>	6.6 ± 0.4 <sup>ax</sup>	10.0 ± 0.5 <sup>ay</sup>
Se-Cys	231 ± 11 <sup>ax</sup>	327 ± 11 <sup>ay</sup>	0.8 ± 0.0 <sup>ax</sup>	1.1 ± 0.1 <sup>ay</sup>	7.4 ± 0.4 <sup>ax</sup>	9.2 ± 0.2 <sup>ay</sup>

<sup>1</sup>Means in the same column with different superscripts a-e are significantly different as a result of chemical forms and dietary levels of Se at the p < 0.05 level. Means within a horizontal row with different superscripts x, y are significantly different as a result of vitamin B<sub>6</sub> status at the p < 0.05 level. Results were expressed as means ± SE for five rats of each group.

**Table 2** Effect of dietary vitamin B<sub>6</sub> on selenium content in plasma and erythrocytes of rats<sup>1</sup>

Group	Plasma		Erythrocytes	
	- B <sub>6</sub>	+ B <sub>6</sub>	- B <sub>6</sub>	+ B <sub>6</sub>
Basal	4.1 ± 0.1 <sup>ax</sup>	3.4 ± 0.1 <sup>ay</sup>	0.7 ± 0.1 <sup>ax</sup>	0.9 ± 0.1 <sup>ay</sup>
Selenate	7.8 ± 0.3 <sup>bx</sup>	8.0 ± 0.3 <sup>bdx</sup>	1.0 ± 0.1 <sup>bx</sup>	2.3 ± 0.2 <sup>by</sup>
Selenite	7.9 ± 0.2 <sup>bx</sup>	7.6 ± 0.1 <sup>cbx</sup>	1.0 ± 0.1 <sup>bx</sup>	2.4 ± 0.3 <sup>bcy</sup>
Se-Met	9.2 ± 0.5 <sup>cx</sup>	8.4 ± 0.2 <sup>dx</sup>	1.7 ± 0.1 <sup>cx</sup>	2.8 ± 0.1 <sup>cy</sup>
Se-Cys	8.8 ± 0.4 <sup>cx</sup>	8.6 ± 0.2 <sup>dx</sup>	0.8 ± 0.1 <sup>ax</sup>	2.3 ± 0.2 <sup>by</sup>

<sup>1</sup>Means in the same column with different superscripts a-e are significantly different as a result of chemical forms and dietary levels of Se at the p < 0.05 level. Means within a horizontal row with different superscripts x, y are significantly different as a result of vitamin B<sub>6</sub> status at the p < 0.05 level. Values were expressed as %g Se/mg protein in plasma or hemoglobin in erythrocytes. The results are means ± SE of 5 rats per group.

**Table 3** Effect of dietary vitamin B<sub>6</sub> on selenium content in muscle, heart, testes, and liver of rats<sup>1</sup>

Group	Muscle		Heart		Testes		Liver	
	- B <sub>6</sub>	+ B <sub>6</sub>	- B <sub>6</sub>	+ B <sub>6</sub>	- B <sub>6</sub>	+ B <sub>6</sub>	- B <sub>6</sub>	+ B <sub>6</sub>
Basal	42 ± 2 <sup>ax</sup>	52 ± 1 <sup>ay</sup>	116 ± 4 <sup>ax</sup>	135 ± 3 <sup>ay</sup>	1043 ± 27 <sup>abx</sup>	980 ± 10 <sup>ay</sup>	269 ± 9 <sup>ax</sup>	199 ± 7 <sup>ay</sup>
Selenate	54 ± 2 <sup>bx</sup>	109 ± 2 <sup>by</sup>	238 ± 8 <sup>bx</sup>	312 ± 8 <sup>by</sup>	1079 ± 34 <sup>bcdx</sup>	1028 ± 22 <sup>bx</sup>	937 ± 55 <sup>bx</sup>	900 ± 61 <sup>bx</sup>
Selenite	58 ± 1 <sup>bx</sup>	110 ± 3 <sup>by</sup>	248 ± 8 <sup>bx</sup>	313 ± 6 <sup>by</sup>	1103 ± 47 <sup>bcdx</sup>	1030 ± 26 <sup>bcdx</sup>	996 ± 43 <sup>bx</sup>	957 ± 39 <sup>bx</sup>
Se-Met	198 ± 13 <sup>cx</sup>	223 ± 2 <sup>cy</sup>	386 ± 16 <sup>cx</sup>	399 ± 12 <sup>cy</sup>	1169 ± 37 <sup>cx</sup>	1109 ± 31 <sup>cx</sup>	1244 ± 28 <sup>cx</sup>	1068 ± 31 <sup>cy</sup>
Se-Cys	58 ± 3 <sup>bx</sup>	113 ± 2 <sup>by</sup>	254 ± 9 <sup>bx</sup>	322 ± 4 <sup>by</sup>	1104 ± 23 <sup>bcdx</sup>	1061 ± 37 <sup>bcdx</sup>	949 ± 19 <sup>bx</sup>	983 ± 23 <sup>bx</sup>

<sup>1</sup>Means in the same column with different superscripts a-e are significantly different as a result of chemical forms and dietary levels of Se at the p < 0.05 level. Means within a horizontal row with different superscripts x, y are significantly different as a result of vitamin B<sub>6</sub> status at the p < 0.05 level. The results are means ± SE of 5 rats per group. The values were expressed as ng Se/g tissue (wet weight).

Se 濃度は赤血球と同様にビタミン B<sub>6</sub> 充足ラットの方がビタミン B<sub>6</sub> 欠乏ラットよりも有意に高い値を示した。

睾丸及び肝臓 Se 濃度に関しては、セレン酸、亜セレン酸、セレノシスチン投与ラットではビタミン B<sub>6</sub> の影響が少なかったが、セレノメチオニンを与えたビタミン B<sub>6</sub> 欠乏ラットの方がビタミン B<sub>6</sub> 充足ラットより有意に高い値を示した。ビタミン B<sub>6</sub> の栄養状態による影響は、睾丸及び肝臓セレン濃度と血漿 Se 濃度は似た傾向を示した。このことからビタミン B<sub>6</sub> の栄養状態は種々の組織 Se 濃度に異なった影響を与えるものと考えられる。

さらに、血漿 Se 濃度はビタミン B<sub>6</sub> の栄養状態に影響を受けなかったが、赤血球、筋肉及び心臓ではビタミン B<sub>6</sub> 充足の各群の方がビタミン B<sub>6</sub> 欠乏各群よりも有意に高い Se 濃度を示した。このことはビタミン B<sub>6</sub> は血漿から組織への Se 輸送や利用に関係があると考えられる。すなわちビタミン B<sub>6</sub> の栄養状態が悪い時には Se 利用率が低下し、特に、Se 摂取量の少ない場合にはさらに Se の栄養状態は悪くなるのが考えられる。

血漿及び赤血球中 GSH-Px 活性は表 4 に示したように、基本飼料群に比し、Se 添加の各群では血漿、赤血球ともに有意な増加が認められた。血漿中の酵素活性は、ビタミン B<sub>6</sub> 充足群に比べ、ビタミン B<sub>6</sub> 欠乏群がやや高い傾向を示したが、有意差は認められなかった。これに対し赤血球中の酵素活性はビタミン B<sub>6</sub> 充足群の方がビタミン B<sub>6</sub> 欠乏群よりも有意に高値を示した。これは前に述べた血漿、赤血球中 Se 濃度に及ぼすビタミン B<sub>6</sub> の影響と一致した。

筋肉、心臓、睾丸及び肝臓中 GSH-Px 活性に及ぼすビタミン B<sub>6</sub> の影響を表 5 に示した。ビタミン B<sub>6</sub> 欠乏のセレン酸及び亜セレン酸を添加した各群の筋肉、心臓及び睾丸中の酵素活性は、基本飼料群とそれほど大きな差は認められなかった。ビタミン B<sub>6</sub> 充足の各群では、Se の添加によって、筋肉、心

**Table 4** Effect of dietary vitamin B<sub>6</sub> on activity of glutathione peroxidase in plasma and erythrocytes of rats<sup>1</sup>

Group	Plasma		Erythrocytes	
	- B <sub>6</sub>	+ B <sub>6</sub>	- B <sub>6</sub>	+ B <sub>6</sub>
Basal	36 ± 2 <sup>ax</sup>	32 ± 2 <sup>ax</sup>	108 ± 8 <sup>acx</sup>	172 ± 23 <sup>ay</sup>
Selenate	65 ± 3 <sup>bdx</sup>	62 ± 8 <sup>bx</sup>	145 ± 28 <sup>abx</sup>	417 ± 23 <sup>by</sup>
Selenite	60 ± 6 <sup>bex</sup>	66 ± 5 <sup>bx</sup>	148 ± 14 <sup>bx</sup>	441 ± 38 <sup>by</sup>
Se-Met	68 ± 5 <sup>bdx</sup>	59 ± 4 <sup>bx</sup>	151 ± 18 <sup>bx</sup>	463 ± 10 <sup>by</sup>
Se-Cys	77 ± 7 <sup>dx</sup>	68 ± 4 <sup>bx</sup>	119 ± 9 <sup>bex</sup>	469 ± 54 <sup>by</sup>

<sup>1</sup>Means in the same column with different superscripts a-e are significantly different as a result of chemical forms and dietary levels of Se at the p < 0.05 level. Means within a horizontal row with different superscripts x, y are significantly different as a result of vitamin B<sub>6</sub> status at the p < 0.05 level. Activity was expressed as nmol NADPH oxidized/min per mg protein in plasma or hemoglobin in erythrocytes with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> as substrate. The results are means ± SE of 5 rats per group.

**Table 5** Effect of dietary vitamin B<sub>6</sub> on activity of glutathione peroxidase in muscle, heart, testes, and liver of rats <sup>1</sup>

Group	Muscle		Heart		Testes		Liver	
	- B <sub>6</sub>	+ B <sub>6</sub>	- B <sub>6</sub>	+ B <sub>6</sub>	- B <sub>6</sub>	+ B <sub>6</sub>	- B <sub>6</sub>	+ B <sub>6</sub>
Basal	5±1 <sup>ax</sup>	8±1 <sup>ay</sup>	70±4 <sup>ax</sup>	137±7 <sup>ay</sup>	28±1 <sup>ax</sup>	32±2 <sup>ax</sup>	142±19 <sup>ax</sup>	92±13 <sup>ay</sup>
Selenate	9±2 <sup>abx</sup>	35±7 <sup>by</sup>	170±12 <sup>bx</sup>	457±45 <sup>by</sup>	31±1 <sup>abx</sup>	49±2 <sup>by</sup>	862±41 <sup>bx</sup>	831±71 <sup>bx</sup>
Selenite	10±2 <sup>abx</sup>	44±11 <sup>by</sup>	182±17 <sup>bx</sup>	447±38 <sup>by</sup>	33±1 <sup>bcx</sup>	50±0 <sup>by</sup>	870±43 <sup>bx</sup>	905±41 <sup>bx</sup>
Se-Met	10±2 <sup>bx</sup>	37±5 <sup>by</sup>	187±21 <sup>bx</sup>	430±53 <sup>by</sup>	33±2 <sup>bcx</sup>	51±3 <sup>by</sup>	824±27 <sup>bx</sup>	882±43 <sup>bx</sup>
Se-Cys	11±2 <sup>bx</sup>	47±3 <sup>by</sup>	191±20 <sup>bx</sup>	498±37 <sup>by</sup>	34±1 <sup>cx</sup>	51±1 <sup>by</sup>	901±57 <sup>bx</sup>	847±42 <sup>bx</sup>

<sup>1</sup>Means in the same column with different superscripts a-e are significantly different as a result of chemical forms and dietary levels of Se at the p < 0.05 level.

Means within a horizontal row with different superscripts x, y are significantly different as a result of vitamin B<sub>6</sub> status at the p < 0.05 level. Activity was expressed as nmol NADPH oxidized/min per mg protein with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> as substrate.

The results are means ± SE of 5 rats per group.

臓及び睪丸中の酵素活性が顕著な高い値を示した。また、筋肉、心臓及び睪丸中の酵素活性はビタミン B<sub>6</sub> 充足群に比べてビタミン B<sub>6</sub> 欠乏の各群が有意に低値を示した。

肝臓中の酵素活性は、Se を与えたビタミン B<sub>6</sub> 欠乏及び充足の群間に有意差はなく、肝臓中の Se 濃度と一致した。しかし、以前の研究<sup>12)</sup>では、セレノメチオニンを与えたビタミン B<sub>6</sub> 充足ラットはビタミン B<sub>6</sub> を欠乏ラットに比べて有意に高い酵素活性を示した。

## 文 献

1. ROTRUCK, J.T., A.L. POPE, H.E. GANTHER, A.B. SWANSON, D.G. HAFEMAN and W.G. HOEKSTRA (1973) *Science* 179 : 588-590
2. LAWRENCE, R.A., R.F. BURK (1976) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 71 : 952-958
3. FORSTROM, J.W., J.J. ZAKOWSKI and A.L. TAPPEL (1987) *Biochem.* 17 : 2639-2644
4. YASUMOTO, K., K. IWAMI and M. YOSHIDA (1979) *J. Nutr.* 109 : 760-766
5. HEGSTED, M. (1977) *J. Am. Diet. Assoc.* 71 : 9-13
6. GUTHRIE, H.A. and J.C. SCHEER (1981) *J. Nutr. Educ.* 13 : 46-49
7. JENKINS, R.M. and H.A. GUTHRIE (1984) *J. Nutr. Educ.* 16 : 15-18
8. KANT, A.K. and G. BLOCK (1990) *Am. J. Clin. Nutr.* 52 : 707-716
9. WATKINSON, J.H. (1966) *Anal. Chem.* 38 : 92-96
10. WENDEL, A. (1981) *Methods in Enzymology* 77 : 325-333
11. BEILSTEIN, M.A. and P.D. WANGER (1989) *J. Nutr.* 119 : 1962-1972
12. Yin, S., I. Sato, Y. Hosokawa, S. Niizeki, H. Tojo and K. Yamaguchi (1990) *Trace Nutrients Research.* 7 : 103-108

