

令和 5 年 6 月 20 日現在

機関番号：84407
研究種目：研究活動スタート支援
研究期間：2018～2022
課題番号：18H06359・19K21442
研究課題名（和文）生活習慣病との関連性が指摘されているセレン摂取量の推定

研究課題名（英文）Estimation of Selenium Intake in Japan

研究代表者

村野 晃一（Murano, Koichi）

地方独立行政法人 大阪健康安全基盤研究所・衛生化学部・研究員

研究者番号：50827277

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,300,000円

研究成果の概要（和文）：我が国におけるセレン摂取量を推定するために、トータルダイエツ法を用いて調製した試料についてICP-MSにてセレン量を測定した。調製された複数年度の試料を分析した結果から、セレン摂取量は106～148 $\mu\text{g/day}$ と推定され、従来から考察されていた摂取量（約100 $\mu\text{g/day}$ ）との間に大きな乖離はないと推察された。

また、HPLC-ICP-MSを用いて食品中セレン化合物の分析を試みたところ、セレノ-L-メチオニンが確認され、それに加えてタンパク質を構成しているセレノ-L-システインを含んだ消化ペプチドが検出されている可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

欧州や米国において、セレン摂取量と生活習慣病との関連性に関する疫学研究や臨床研究が行われている一方で、国内ではそのような研究報告が少ない。本研究は近年における国内のセレン摂取量を推定し、数値として示すことで、各種生活習慣病との関連性を検討するための足掛かりとなる有用な知見となることが考えられる。

また本研究のセレン摂取量の推定結果から、ほとんどの日本人は推奨量以上のセレンを摂取していることが推察され、サプリメント等によるセレンの過剰摂取に注意を促すエビデンスとなることが考えられる。

研究成果の概要（英文）：To estimate selenium intake in Japan, each group of samples prepared using the total diet method was microwave resolved and then measured for selenium content by inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS). The samples prepared from 2018 to 2008 were Based on the results of the analysis, selenium intake was estimated to be between 106 and 148 $\mu\text{g/day}$, and it was inferred that there was no significant deviation from the previously considered intake (approximately 100 $\mu\text{g/day}$).

Liquid chromatography-ICP-MS was used to determine the speciation of selenium compounds. Seleno-L-methionine was identified by protease digestion alone. Multiple peaks were detected when further digestion with reducing and alkylating agents, suggesting that the digested peptides may contain seleno-L-cysteine, which is a protein moiety.

研究分野：金属分析

キーワード：セレン ICP-MS トータルダイエツ

1. 研究開始当初の背景

セレンは生体内で酸化ストレス防御系を担う必須微量元素であり、欠乏すると心筋障害を引き起こす克山病や変形性骨軟骨関節症を引き起こすカシンベック病を生じる。実際に、セレンはセレノ L システイン (Sec) の形でセレンタンパク質に組み込まれ、活性中心として機能している。現在、セレンタンパク質はヒトにおいて 25 種類が確認されており、その代表的なものとしてグルタチオンペルオキシダーゼ (GPx) 1 および 4、チオレドキシソレダクターゼ (TR) やセレノプロテイン P (SelP) などが挙げられる。GPx1 はほとんどの細胞質中に存在し、還元型グルタチオン (GSH) と共役して、過酸化水素を水に還元することで抗酸化能を示す。GPx4 も同様に、ほとんどの細胞に存在し、脂質ヒドロペルオキシドの産生抑制の役割を担っている。このようにセレンは、酸化ストレス防御系を賦活化することで、生体を酸化ストレスから保護していることから、癌や糖尿病といった生活習慣病の予防に役立つのではないかと考えられ、英国および米国などの諸外国で疫学研究や臨床試験が行われてきた。その結果、血漿中セレン濃度の低い集団 (105.2 ng Se/mL 以下) において、セレンサプリメントの補充が皮膚癌の発症リスクを低下させたが、上記以上のセレン濃度集団に対するセレンの補充は癌の発症に影響を及ぼさなかった。さらに、糖尿病に関してはセレンサプリメントを補充することにより、むしろ発症オッズ比が増大するという結果も報告されている。これらのことは、セレンがヒトにおいて微量元素でありながら、様々な疾患と関連性があることを懸念させる。

我が国のセレン摂取量は約 100 µg/day と過去に推定されているが、実際に摂取する食品に依存して変動することが考えられる。穀物や大豆といった植物性食品に多く含まれるセレンとして、セレノ-L-メチオニン (SeMet) が示されている。一方、魚介類や肉類は、Sec の形でセレンを多く含んでいることが推定されているが、加工・調理後も Sec 残基の状態が維持されているのかについては不明である。これらのセレノアミノ酸は、アミノ酸トランスポーターで効率的に生体内に取り込まれる。また、マグロ等のセレン含量が多い魚介類において、エルゴチオネインのセレンアナログであるセレノネインが同定されており、抗酸化活性が非常に高いことで注目されつつある。このように、食品中に含まれるセレン化合物の化学形の種類は豊富であり、それら食品を摂取した際、セレンの化学形の違いによってそれぞれが異なる機構で吸収され、セレンとしてのバイオアベイラビリティが異なることが推察される。

以上のことから、ヒトが食事から摂取する総セレン量を明らかにするとともに、セレン化合物の形態を調査することは、摂取したセレンの利用能を推定するための重要な知見となることが考えられたため、本研究に着手した。

2. 研究の目的

本研究の目的は、近年の食生活に即した広範囲の食品を調理・加工等の影響も加味し、日常摂取する形態に近いトータルダイエット法を用いて、食事からのセレン摂取量を明らかにすることである。それに加えて、食事サンプル中に含まれる複数のセレン化合物の定量法を確立することで、糖尿病など生活習慣病をはじめとした様々な疾患と総セレン摂取量および個別のセレン化合物摂取量との関連性を検討するための基礎的な知見を収集することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) セレン摂取量の推定

食品中の総セレン量は、試料をマイクロウェーブ (MW) 分解した後、誘導結合プラズマ - 質量分析計 (ICP-MS) にて測定した。また、MW 分解および ICP-MS を利用した分析法の妥当性を確認するために、認証標準物質を用いて真度並びに精度を算出した。その値を用いて、平成 20 年 9 月 26 日付け食安発第 0926001 号で厚生労働省が策定した「食品中の金属に関する試験法の妥当性評価ガイドライン」を参考に分析法を評価した。分析法の妥当性が確認された後、トータルダイエット試料の各群についてセレン量を測定した。測定されたセレン量に食品群別の平均的な消費量を乗じて、食品群毎の平均的な摂取量を推定した。最後に、これらの結果を合計することにより、総セレン摂取量を推定した。

(2) セレン化合物の形態別分析

セレン化合物の形態別分析法は、試料を非特異的プロテアーゼにより消化したものを高速液

体クロマトグラフ (HPLC) にて化合物を分離し、その溶出液を ICP-MS のネブライザーに直接導入 (HPLC-ICP-MS) して分析を行った。

4. 研究成果

(1) セレン摂取量の推定

まず初めに、セレン含有量が値付けされた魚肉粉末の認証標準物質を用いて、MW 分解 ICP-MS 法が問題なく使用できるか否かについて、分析者 1 名が 1 日 2 併行、5 日間繰り返す枝分かれ実験を行い、真度および精度を評価した。真度は 88.4%、併行精度は 2.5% となり良好な結果を示したため、試料を効率よく分解・分析可能な手法を構築できた。本手法を利用して、2018 年、2013 年および 2008 年に作成されたトータルダイエツト試料中のセレン濃度を分析し (図 1)、摂取量を推定した (図 2)。図 2 に示すように、一日摂取量は 2018 年から順に 120 $\mu\text{g/day}$ 、108 $\mu\text{g/day}$ 、148 $\mu\text{g/day}$ と推定された。また、食品群別の摂取量に着目すると、魚介類群 (10 群) や肉・卵類群 (11 群) でセレン摂取量の 50% を占め、続いて米以外の穀類・芋類・種実類群 (2 群) からの摂取が多いと推定された。

以上より、従来から推定されていた 100 $\mu\text{g/day}$ に対し、108~148 $\mu\text{g/day}$ と若干高いものの、大きく異なることが明らかとなった。

表 1. 調製試料の食品群

群	食品	群	食品
1	米類	8	その他の野菜、きのこ類、海藻類
2	穀類(米類以外)、種実類、芋類	9	調味し好品
3	砂糖、菓子類	10	魚介類
4	油脂類	11	肉類、卵類
5	豆類	12	乳・乳製品
6	果実類	13	その他の食品(調味料や香辛料等)
7	緑黄色野菜		

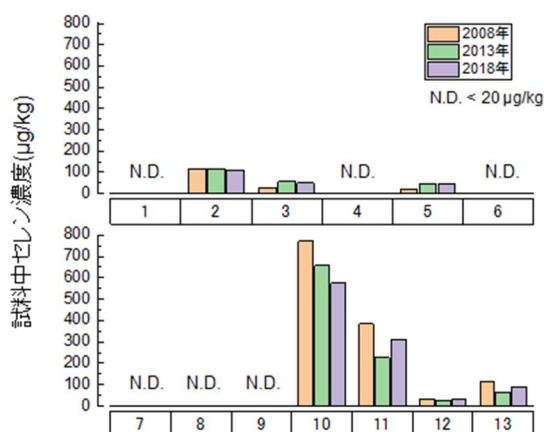


図1. 食品群別セレン濃度

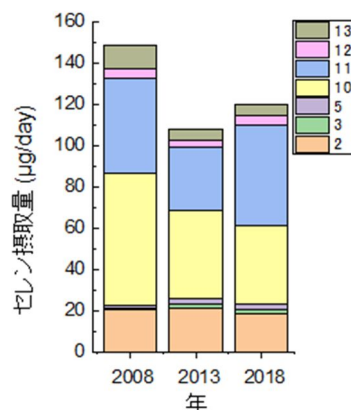


図2. セレン摂取量と各群の摂取割合

(2) セレン化合物の形態別分析

(1) の項目にて最もセレン含有量が多いと考えられた 10 群について、セレン化合物の形態別分析法を検討した。最初に、超純水とセラミックホモジナイザで粉碎抽出したものを分析に供したところ、セレン化合物は検出されなかったことから、加工・調理されることによるタンパク質の凝固などにより抽出できなかったことが考えられた。それゆえ、タンパク質をプロテアーゼ消化することにより、セレン化合物の抽出効率が向上するか否か検討した結果を図 3. に示す。図 3. (A) および (B) より、SeMet の標準品と保持時間が一致するピークが HPLC-ICP-MS にて確認されたため、SeMet が含まれていることが示唆された。しかし、SeMet は主に植物性食品に含まれることが考えられるため、本条件は動物性たんぱく質の分解に不十分な条件である事が推察

された。それゆえ、消化を促進するためにカオトロピック剤と還元剤を追加し、上記と同様のプロテアーゼで消化を行った。図 3. (C) に示すように、HPLC-ICP-MS にて分析し得られたクロマトグラムは、プロテアーゼのみの分析結果と異なるピークが複数確認され、消化が促進していると考えられた。またピークの 1 つはセレノ-L-シスチンと保持時間が一致したため、同化合物である事が示唆された。一方、他の未知ピークは今回分析した標準品以外のセレン化合物か、アミノ酸単位まで消化されていない、セレン含有ジペプチドやトリペプチドなどのペプチドとして、検出されていることが推察された。

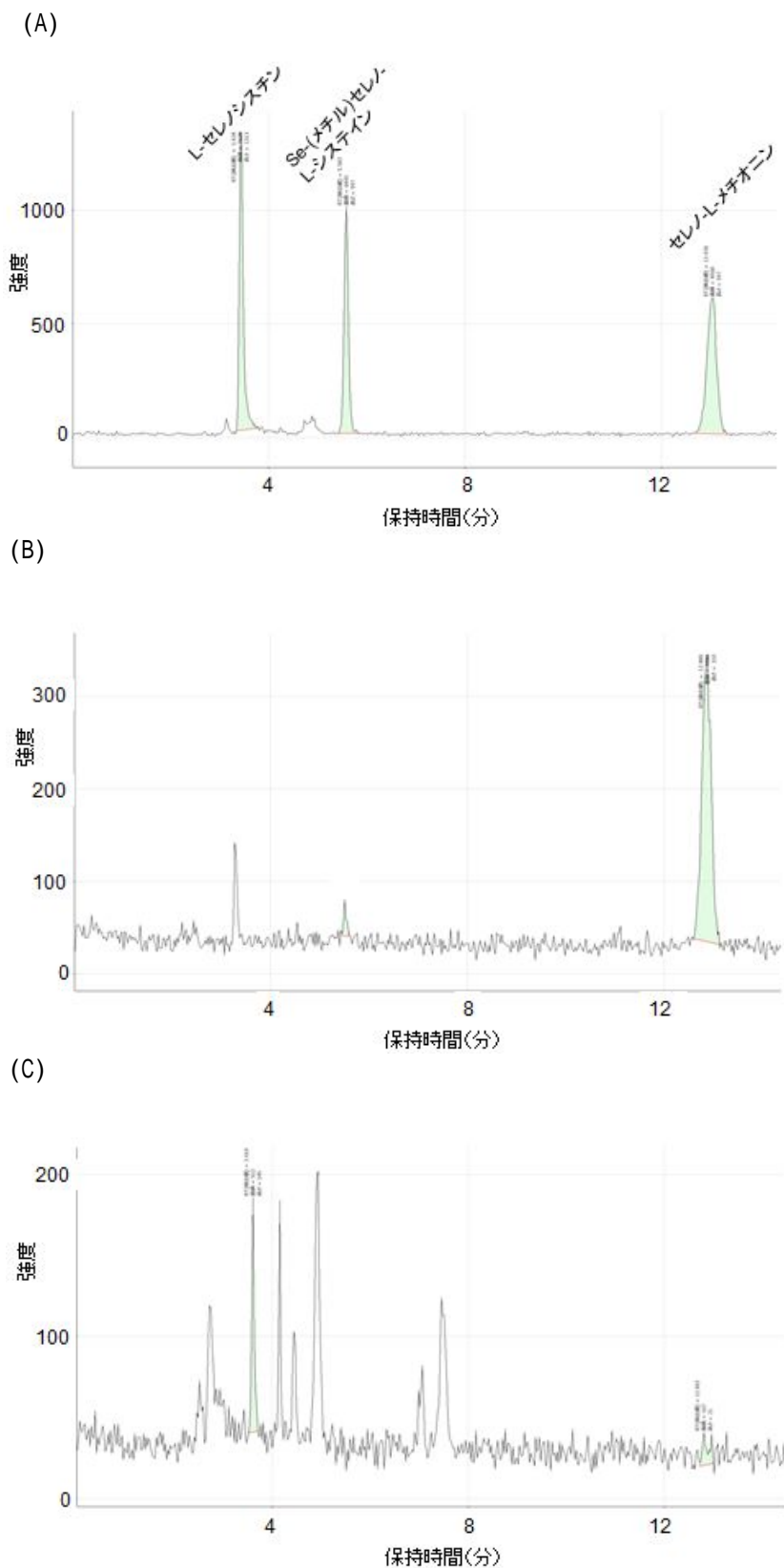


図 3. HPLC-ICP-MS におけるクロマトグラム.

(A)標準品 5 ppb、(B)プロテアーゼ処理のみ、(C) カオトロピック剤 + 還元剤 + プロテアーゼ

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 村野晃一、工藤鮎子、油谷藍子、村上太郎、高取聡
2. 発表標題 大阪府における食品中セレンの一日摂取量調査
3. 学会等名 日本食品衛生学会第116回学術講演会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 ○村野 晃一、油谷 藍子、岸 映里、村上 太郎、工藤 鮎子、山口 之彦、角谷 直哉、山野 哲夫
2. 発表標題 トータルダイエット試料を用いた大阪府におけるセレン摂取量の推定
3. 学会等名 フォーラム2019 衛生薬学・環境トキシコロジー
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------