

平成 22 年 5 月 13 日現在

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2007～2009

課題番号：19390033

研究課題名（和文） 生物圏におけるセレンの循環機構の解明

研究課題名（英文） Mechanisms underlying circulation of selenium in Biosphere

研究代表者

小椋 康光 (OGRA YASUMITSU)

昭和薬科大学・薬学部・教授

研究者番号：40292677

研究成果の概要（和文）：

セレンは植物にとって非必須であるが、動物にとって必須元素であり、陸域の生物圏では、棲息する生物に毒性を発揮することなく、循環が起こっていると考えられる。そこで動物の排泄形であるセレノ糖が植物に対してどのような影響を与えるのか明らかにすることを目的とし、検討を行った。さらにセレンの代謝過程を明瞭にするため、同属のテルルの代謝との比較を行い以下の成果を得た。

研究成果の概要（英文）：

Selenium (Se) shows ambivalent characteristics in animals and plants. It is an essential element in animals but becomes severely toxic when the amount ingested exceeds the required level. Meanwhile, Se is not essential in plants although some plants are Se hyperaccumulators. Thus, Se may be circulated in biosphere. In the study, we obtained the results for the mechanisms underlying the Se metabolism in animals and plants, the distinguish between Se and tellurium in animals and plants, the novel approach for metal/metalloid metabolism by the combination techniques of molecular biology, speciation and elemental imaging as shown below.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	5,100,000	1,530,000	6,630,000
2008年度	4,000,000	1,200,000	5,200,000
2009年度	4,000,000	1,200,000	5,200,000
年度			
年度			
総計	13,100,000	3,930,000	17,030,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：薬学・環境系薬学

キーワード：セレン、メタロミクス、スペシエーション、カラシナ、セレノ糖、ICP-MS、生物循環、メタロイド

1. 研究開始当初の背景

本研究を着想した過程には、代表者が本研究と非常に関連性の高い3分野の研究を実施し

てきた経緯がある。すなわち 1) 哺乳類の尿中セレン代謝物の同定、2) セレン蓄積性植物におけ

るセレンの蓄積機構と化学形態の解明、および3) 生体微量元素の新規分析手法の構築、である。

セレンは動物にとって必須元素であり、陸域の生物圏では、棲息する生物に毒性を発揮することなく、循環が起きていると考えられる。セレンの化学的特徴として、セレンは類金属であるため、生体内においては共有結合性の化合物を形成し、セレン自体の化学形を変化させて代謝されていく。これは金属イオンがリガンドとして蛋白質に結合して生体内に存在するのは異なる。さらに生体に対するセレンの生理作用あるいは毒性作用も化学形によって大きく異なる。従って生体におけるセレンの代謝機構の解明には、類金属化合物としてセレン含有代謝物を定性的かつ定量的に把握する技術が必要となる。

これまで動物、植物あるいは単細胞生物といった個々の生物におけるセレンの代謝研究が実施されてきたが、生物圏におけるセレンの循環という観点から実施されている研究はない。しかし生物圏全体におけるセレンの循環を把握することによって、生物圏の循環量のキャパシティを上げたり、効率よく生物圏から余剰なセレンを除いたりなどのリメディエーションに応用可能であり、また薬理効果の高いセレン含有化合物の創薬に繋げるような応用も可能であると考えられる。従って、これまでの代謝研究に加えて、動物→植物あるいは植物→動物のセレンの循環とその制御機構を解明することは意義深いものと言える。本研究では、生命とセレンの関連を解く鍵として、上述の「研究の概要」で掲げた課題を設定した。これに対する解答を得るためには、個々の生物における代謝過程を把握するだけでなく、生物圏全体を俯瞰したセレンの循環機構を知る必要があり、本研究の着想に至った。特に植物→動物のセレンの移行はセレノアミノ酸という双方に有益な化学形で行われていると理解できるが、動物→植物の移行形態であるセレノ糖は双方に有益な、つまり動物だけでなく植物にとっても有益な化学形であるといえるのか？ 言い換えるならば、動物が進化の結果選んだ排泄形であるセレノ糖は、植物が利用しやすい化学形であるのではないのか？ という疑問に答える形で後述の研究計画を立案した。

2. 研究の目的

3年間の研究期間内に以下のような研究項目を設定し、各到達目標をあわせて示した。

(1) 植物によるセレノ糖の吸収と代謝機構の解明: 本項目では、植物に対して動物からの直接

的な暴露形態となるセレノ糖がセレン蓄積性およびセレン非蓄積性植物で他のセレン化合物(例えば無機のセレン化合物やセレノアミノ酸)と比べて、吸収や代謝に特徴を有するのかを明らかにすることとした。

(2) 動植物における16 属元素の識別機構: 植物や動物はセレノメチオニンとメチオニンを区別することなく蛋白質の合成に使用していると考えられている。しかし、区別できていないということは生物にとってどのような意義があるのか明確にはされていない。そこで、セレノメチオニンが区別されないという分子機構と区別されなかったことが結果としてどのような効果を生むのかを明らかにする。硫黄、セレンさらにテルルといった16 属元素の識別機構を検討することとした。

(3) 生物循環を利用したセレン及びテルルのリメディエーション: セレン蓄積性植物を利用したフイトリメディエーションのみではなく、セレン蓄積性植物に加え、ある種の動物を組み入れた閉鎖的な生物圏を形成させた場合の土壌からのセレン及びテルルの除去効果を数値化して評価することとした。

(4) RNAi を用いたセレノ糖生合成機構: セレノ糖の合成には、糖転移反応およびメチル化反応が主たる反応であると考えられる。そこで両反応を修飾する遺伝子改変を加えた細胞内のセレンの代謝物分析を実施し、詳細な生合成機構を明らかにする。メタボリックチャートの完成を目指す。本実験では、分子生物学的手法と金属を直接分析するスペシエーションや元素イメージを組み合わせた新たな分析手法の確立も目的に含めており、セレンに先立って、分子制御の機構がより詳細に判明している銅を用いた検討も行うこととした。

3. 研究の方法

(1) 植物によるセレノ糖の吸収と代謝機構の解明: モデル植物として西洋カラシナを用いて、無機のセレン塩、セレノアミノ酸およびセレノ糖の吸収と代謝について比較を行った。一方で、西洋カラシナと同じアブラナ科の植物であるが、西洋カラシナとは異なる硫黄代謝能を有していると考えられた辛味大根について、セレン代謝物の分析を行った。

(2) 動植物における16 属元素の識別機構: 吸収から排泄に至るまでの過程でセレンとテルルがどのように識別されているか、動物ではラットを、植物では西洋カラシナをモデルにして検討を行った。さらに、識別の分子機構を解明するため、in vitro の翻訳系を用いた解析も行った。

(3)生物循環を利用したセレン及びテルルのリメディエーション: 上述(1)及び(2)の成果を実用化研究に向けるため、工業的に有用ではあるものの環境汚染物質としても認識されているセレンとテルルを植物を用いて、土壤中から回収する研究の基礎となる研究を着手した。テルルを選択的に蓄積する植物を独自のスクリーニング法により解析した。

(4)RNAi を用いたセレン糖生合成機構: セレンでの研究に先立ち、研究手法を確立するため、銅を用いた実験を先行させた。分子生物学的手法、化学形態別分析および元素イメージングを組み合わせた手法の有用性について評価を行った。

4. 研究成果

(末尾の番号は、「5. 主な発表論文等」に記載した該当する学術論文を、項目毎に示した。)

(1)植物によるセレン糖の吸収と代謝機構の解明: 無機のセレン化合物と比較して有機のセレン化合物は、化学形態に依存した植物への取り込みを示した。特に有機のセレン化合物を取り込んだときのみ出現する代謝物を確認しており、今後この代謝物を同定することにより、より詳細なセレンの代謝機構を明らかにできることが期待された。【3, 16-18, 20, 23, 25】

(2)動植物における16 属元素の識別機構: 動物及び植物ともに代謝の最終過程までにはセレンとテルルを見分けることができるものの、中間の過程では必ずしも識別できていないということが明らかとなった。このことが、テルルの毒性に繋がっているのではないかと想定された。さらに15 族元素であるアンチモンにも同様の機構が想定され、必須元素と非必須元素の識別機構に迫る成果が得られた。【1, 5-10, 12, 14, 15, 21】

(3)生物循環を利用したセレン及びテルルのリメディエーション: 独自のスクリーニング手法により、テルルを蓄積する植物を特定し、それを用いた環境浄化法に関する特許出願を行った。併せて、テルル蓄積に関する機構を解明した成果も報告した。【4】

(4)RNAi を用いたセレン糖生合成機構: 銅をモデルとした手法の開発に成功し、その有用性を示した。今後はそれらの手法を駆使して、セレンについても同様に研究を展開していく。【2, 3, 11, 19, 22, 24, 26】

自己点検・評価

上述の4 項目にわたり、当初の目標に沿った成果を挙げる事ができた。生物における

生体微量元素の代謝という研究領域に、新たな知見を提供し、一定の波及効果を与えたものと自己評価している。3 年間の研究期間において、新たに検討すべきいくつかの課題が生まれ、それらを解決することによりさらなる研究の進展が期待できる。しかし残念ながら、本成果を受けて平成22 年度の科学研究費補助金基盤研究(B)に引き続き応募したものの採択には至らなかった。翌年度の採択に向けて、研究規模を縮小しつつも、研究を進展させていく。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計24 件) 以下の論文は全て査読あり。

1. Y. Tsuji, T. Mikami, Y. Anan and Y. Ogra*: Comparison of selenohomolanthionine and selenomethionine in terms of selenium distribution and toxicity in rats by bolus administration. *Metallomics* (2010) in press
2. T. Miyayama, D. Hiraoka, F. Kawaji, E. Nakamura, N. Suzuki, Y. Ogra*: Roles of COMMD1 in stability and recruitment of the copper-transporting ATPase in mouse hepatoma cell line. *Biochem. J.* (2010) **429** 53-61
3. Y. Ogra*, T. Miyayama and Y. Anan: Effect of glutathione depletion on removal of copper from LEC rat livers by tetrathiomolybdate. *J. Inorg. Biochem.* (2010) in press
4. Y. Ogra*, E. Okubo and M. Takahira: Distinct uptake of tellurate from selenate in a selenium accumulator, Indian mustard (*Brassica juncea*). *Metallomics* (2010) **2**, 328-333
5. H. Naranmandura*, K. Iwata, K.T. Suzuki and Y. Ogra: Distribution and metabolism of four different dimethylated arsenicals in hamsters. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* (2010) **245**, 67-75
6. H. Naranmandura, Y. Ogra, K. Iwata, J. Lee, K.T. Suzuki, M. Weinfeld and X.C. Le*: Evidence for toxicity differences between inorganic arsenite and thioarsenicals in human bladder cancer cells. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* (2009) **238**, 133-140
7. A. Kobayashi and Y. Ogra*: Metabolism of tellurium, antimony, and germanium simultaneously administered to rats. *J. Toxicol. Sci.* (2009) **34**, 295-303
8. Y. Anan, Y. Ogra*, L. Somekawa, and K.T. Suzuki: Effects of chemical species of selenium on maternal transfer during pregnancy and lactation. *Life Sci.* (2009) **84**,

- 888-893
9. H. Naranmandura*, N. Suzuki, J. Takano, MW. Tony, Y. Ogra, K.T. Suzuki and X.C. Le: Systemic distribution and speciation of diphenylarsinic acid fed to rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* (2009) **237**, 214-220
 10. T. Miyayama, K.T. Suzuki and Y. Ogra*: Copper accumulation and compartmentalization in mouse fibroblast lacking metallothionein and copper chaperone, Atox1. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* (2009) **237**, 205-213
 11. Y. Tsuji, N. Suzuki, K.T. Suzuki and Y. Ogra*: Selenium metabolism in rats with long-term ingestion of Se-methylselenocysteine using enriched stable isotopes. *J. Toxicol. Sci.* (2009) **34**, 191-200
 12. Y. Ogra*, T. Kitaguchi, K. Ishiwata, N. Suzuki, T. Toida and K.T. Suzuki: Speciation of selenomethionine metabolites in wheat germ extract. *Metallomics* (2009) **1**, 78-86
 13. Y. Ogra*: Toxicometallomics for research on toxicology of exotic metalloids based on speciation studies. *Anal. Sci.* (2009) **25**, 1189-1195
 14. Y. Ogra* and Y. Anan: Selenometabolomics: Identification of selenometabolites and specification of their biological significance by complementary use of elemental and molecular mass spectrometry. *J. Anal. At. Spectrom.* (2009) **24**, 1477 - 1488
 15. 小椋康光*: 植物におけるセレン及びその同族元素の代謝機構. *Biomed. Res. Trace Elements* (2009) **20**, 240-246
 16. Y. Ogra*: Integrated strategies for identification of selenometabolites in animal and plant samples. *Anal. Bioanal. Chem.* (2008) **390**, 1685-1689
 17. Y. Ogra*: Development of miniaturized HPLC-ICP-MS for speciation of bio-trace elements. *Biomed. Res. Trace Elements.* (2008) **19**, 34-42
 18. T. Kitaguchi, Y. Ogra*, Y. Iwashita and K.T. Suzuki: Speciation of selenium in selenium-enriched seeds, buckwheat (*Fagopyrum esculentum Moench*) and quinoa (*Chenopodium quinoa Willdenow*). *Eur. Food Res. Technol.* (2008) **277**, 1455-1460
 19. Y. Ogra*, R. Kobayashi, K. Ishiwata and K.T. Suzuki: Comparison of distribution and metabolism between tellurium and selenium in rats. *J. Inorg. Biochem.* (2008) **102**, 1507-1513
 20. T. Miyayama, Y. Ogra*, Y. Osima and K.T. Suzuki: Narrow bore HPLC-ICP-MS for speciation of copper in mutant mouse neonates bearing a defect in Cu metabolism. *Anal. Bioanal. Chem.* (2008) **390**, 1799-1804
 21. Y. Ogra*, T. Kitaguchi, N. Suzuki and K.T. Suzuki; In vitro translation with [³⁴S]-labeled methionine, selenomethionine and telluromethionine. *Anal. Bioanal. Chem.* (2008) **390**, 45-51
 22. Y. Ogra*, S. Onishi, A. Kajiwara, A. Hara and K.T. Suzuki: Enhancement of nuclear localization of metallothionein by nitric oxide. *J. Health Sci.* (2008) **54**, 339-342
 23. Y. Ogra*, T. Kitaguchi, K. Ishiwata, N. Suzuki, Y. Iwashita and K.T. Suzuki: Identification of selenohomolanthionine in selenium-enriched Japanese pungent radish. *J. Anal. At. Spectrom.* (2007) **22**, 1390-1396
 24. 小椋康光*: メタロキスにおけるスペシエーション *ぶんせき* (2007) 391-397
- [学会発表] (計 34 件)
1. Y. Ogra (invited keynote lecture): Distinction of metalloids in metabolic pathway of animals and plants. 2nd International Symposium on Metallomics. Jun. 7-10, 2009, Cincinnati, USA.
 2. Y. Ogra (invited): Current status of metallomics research in Japan. XI Reunión del Grupo Regional Andaluz de la Sociedad Española de Química Analítica (XIth Conference of Analytical Chemical Society of Southern Spain), Jun. 12-13, 2008, Huelva, Spain.
 3. Y. Ogra, R. Kobayashi, K. Ishiwata and K.T. Suzuki: Distribution and metabolism of tellurium in rats ingested with sodium tellurite. VIIIth Conference of The International Society for Trace Element Research in Human, Oct. 21-26, 2007, Crete, Greece.
 4. Y. Ogra, T. Kitaguchi, K. Ishiwata, N. Suzuki, Y. Iwashita and K.T. Suzuki: Speciation of selenium and identification of selenolanthionine in selenium-enriched Japanese pungent radish. Colloquium Spectroscopicum Internationale XXXV, Sep. 23-27, 2007, Xiamen, China.
 5. 小椋康光 (招待・依頼講演): 銅代謝における銅制御因子のクロストークとメタロチオネインの役割 第 15 回東海メタロチオネイン研究会、岐阜、平成 22 年 3 月 13 日
 6. 小椋康光 (招待・依頼講演): 細胞内銅制御因子 COMMD1 の機能解析 第 82 回日本生化学会大会、神戸、平成 21 年 10 月 21-24 日
 7. 小椋康光 (招待・依頼講演): 銅代謝におけるメタロチオネインの役割 メタロチオネ

インおよびメタルバイオサイエンス研究会
2009、東京、平成 21 年 10 月 16-17 日

8. 小椋康光(招待・依頼講演):生体内金属の動きと形を捉える:ハイフナーテッドテクニクとスペシエーション 第 20 回日本微量元素学会、東京、平成 21 年 7 月 2-3 日
9. 小椋康光(招待・依頼講演):微小化スペシエーションによる金属結合タンパク質の分析:第一回メタロミクス研究フォーラム、東京、平成 20 年 11 月 28-29 日.
10. 小椋康光(招待・依頼講演):セレンメタボロミクスにおけるICP-MSとESI-MS/MS プラズマ分光分析研究会第 74 回講演会、東京、平成 20 年 7 月 11 日
11. 小椋康光(招待・依頼講演):植物におけるセレンの代謝機構 第 19 回日本微量元素学会、東京、平成 20 年 7 月 3-4 日
12. 小椋康光(招待・依頼講演):メタロミクスにおけるナノスペシエーション 日本薬学会第 128 年会、横浜、平成 20 年 3 月 26-28 日、*要旨集* 1, 170 (2008)
13. 小椋康光(招待・依頼講演):生体微量元素の微小化スペシエーション法の開発 第 18 回日本微量元素学会、福井、平成 19 年 7 月 5-6 日、*Biomed. Res. Trace Elements* 18, 151 (2007)

[図書] (計 2 件)

1. 小椋康光(分担執筆):セレンおよびテルル、レアメタル便覧、足立吟也ら編、丸善、東京(2010)印刷中
2. 小椋康光(分担執筆、編集幹事):ICP/質量分析法、衛生試験法・注解 2010、日本薬学会編、金原出版、東京(2010)

[産業財産権]

○出願状況 (計 2 件)

名称:テルルを含む土壌等からテルルを回収する方法

発明者:小椋康光、寺田麻里

権利者:国立大学法人千葉大学

種類:

番号:特願 2009-005528 号

出願年月日:平成 21 年 1 月 14 日

国内外の別:国内

名称:セレン含有化合物並びにこれを含む植物及び栄養剤

発明者:Y. Ogra, Y. Iwashita, T. Kitaguchi, N. Suzuki and K.T. Suzuki

権利者:国立大学法人千葉大学

種類:

番号:PCT/JP2008/056675

出願年月日:平成 20 年 4 月 3 日

国内外の別:PCT

[その他]

ホームページ等

<http://www.shoyaku.ac.jp/laboratory/eisei.html>

6. 研究組織

(1)研究代表者

小椋 康光 (OGRA YASUMITSU)

昭和薬科大学・薬学部・教授

研究者番号:40292677

(2)研究分担者

八幡 紋子 (YAWATA AYAKO)

昭和薬科大学・薬学部・助教 (2009)

研究者番号:00384636

鈴木 紀行 (SUZUKI NORIYUKI)

千葉大学・大学院薬学研究院・准教授

(2007-2008)

研究者番号:10376379

(3)連携研究者

なし

(4)海外研究協力者

Jorge Ruiz Encinar

University of Oviedo (Spain)・Lecturer