

セレン強化リョクトウスプラウトに含有されるセレンの栄養有効性

王 婷婷, 西村 聡史, 細見 亮太, 福永 健治, 吉田 宗弘[†]

(関西大学化学生命工学部食品栄養化学研究室)

(受付 2023年8月26日, 受理 2023年9月28日)

Nutritional availability of selenium contained in selenium-enriched mung bean sprouts

Tingting WANG, Satoshi NISHIMURA, Ryota HOSOMI, Kenji FUKUNAGA, Munehiro YOSHIDA
*Laboratory of Food and Nutritional Sciences, Faculty of Chemistry, Materials and Bioengineering,
Kansai University**

Summary

Mung beans were cultivated hydroponically in a sodium selenite solution with a selenium concentration of 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ to obtain selenium-enriched mung bean sprouts (SeMBS). The majority of selenium molecular species in the SeMBS were identified as selenohomolanthionine (SeHL) by HPLC-ICPMS. Twenty-four male 4-week-old ICR mice were fed a selenium-deficient diet; after 3 weeks of feeding, one group (control group) continued to receive the basal selenium-deficient diet, and the other two groups (selenite and SeMBS groups) received the basic diet supplemented with 0.2 $\mu\text{g}/\text{g}$ selenium as sodium selenite or SeMBS dry powder, respectively, for an additional 1 week. Selenium concentration and glutathione peroxidase (GPx) activity were markedly increased in the two selenium-supplemented groups compared to the selenium-deficient control group. When comparing the selenite and SeMBS groups, which differ in selenium source, no difference was observed in GPx activity in the liver, kidney, or serum, but in selenium concentration, the SeMBS group showed slightly lower values than the selenite group in serum and kidney. These results indicate that SeHL, the major molecular species of selenium in SeMBS, can be effectively used as a selenium source.

セレンを必須としない植物は、セレン曝露環境下において、セレンの毒性を軽減するために特殊な含セレンアミノ酸を生成する¹⁾。われわれは、植物の種子を亜セレン酸溶液で水耕した場合、得られるスプラウト中のセレンの分子種はメチルセレンシステイン (MeSeC) であることが多いが、イネ科やマメ科の植物では、MeSeC 以外にセレンメチオニンやセレンホモランチオニン (SeHL) を有するスプラウトが得られることを示した²⁾。さらに、アズキ *Vigna angularis* やリョクトウ (ヤエナリ *Vigna radiata* の種子) においては、水耕時のセレン曝露量が多くなると、スプラウト中のセレンのほとんどが SeHL になることを示した³⁾。

SeHL は、セレンホモシステインがジセレンド (-Se-Se-) であるセレンホモシスチンではなく、モノセレンド (-Se-) として重合した構造を有している。SeHL は、反応性の高いセレンール (-SeH) をメチル化する能力が低

い植物において生成するセレン化合物であると推定できるが、これを動物が摂取した場合の代謝や、セレン源としての栄養有効性は知られていない。

本研究では、最初に、リョクトウの種子を亜セレン酸曝露環境下で水耕して、含有セレンの大半が SeHL になると予想されるセレン強化リョクトウスプラウト (selenium-enriched mung bean sprouts: SeMBS) を調製した。次いで、これをセレン欠乏マウスに投与した場合の、血清と臓器中のセレン濃度とグルタチオンペルオキシダーゼ (GPx) 活性の回復の程度を亜セレン酸投与の場合と比較することで、SeMBS 中のセレン、とくに SeHL のセレン源としての栄養有効性を検討した。

[†]連絡先 (Corresponding author). Tel: +81-90-9990-1853 E-mail: gshpx44@xb3.so-net.ne.jp

*所在地: 大阪府吹田市山手町3-3-35 (〒564-8680)

材料と方法

1. セレン強化リョクトウスプラウトの調製

リョクトウ種子は、株式会社中原採種場（福岡市）が販売しているグリーンマッペ（緑豆）を用いた。この種子を、室温下 24 時間超純水に浸した後、脱脂綿を敷き詰めた非晶性ポリエチレンテレフタレート製クリーンカップ（φ101 × 80 mm）の底に置き、セレン濃度 10 µg/mL の亜セレン酸ナトリウム水溶液を脱脂綿全体が湿る程度に注いだ。乾燥を防止するために、クリーンカップに蓋をし、発芽が生じるまで 25℃ の暗所に置いた。発芽を確認後は、25℃ の明所に置いた。栽培期間は明暗を合わせて 12 日間とした。栽培終了後のスプラウトは凍結乾燥し、ミルを用いて細粉とした。

2. 動物実験

4 週齢の ICR 系雄マウス（日本エスエルシー株式会社、浜松）24 匹に、Table 1 に示したトルラ酵母をタンパク質源とするセレン欠乏基本飼料を投与した。トルラ酵母は、興人ライフサイエンス株式会社（東京）が製造しているもの（商品名、KR 酵母）を三菱商事ライフサイエンス株式会社（東京）から供与いただいた。投与開始 3 週間後に、24 匹を 8 匹ずつ 3 群に分け、1 群（対照群）には引き続き基本飼料、残り 2 群（亜セレン酸群と SeMBS 群）には基本飼料に 0.2 µg/g のセレンを亜セレン酸ナトリウム、または SeMBS 乾燥粉末としてそれぞれ添加した飼料を投与し、さらに 1 週間飼育した。飼育期間終了後、イソフルラン麻酔下で腹部大静脈より採血するとともに、肝臓と腎臓を摘出した。採取した血液は、遠心分離し、血清を得た。血清、肝臓、腎臓は液体窒素を用いて凍結し、分析まで -30℃ で保存した。

以上の動物実験は、関西大学動物実験委員会の承認（承認番号：2203）を得た上で実施した。

3. 測定

調製した SeMBS 乾燥粉末に 10 倍量の 0.1M 塩酸を加え、ガラス棒で十分攪拌後、遠心した。上清を 0.45 µm のフィルターで濾過し、濾液を誘導結合質量分析計

(ICPMS-2030, 島津, 京都) を検出器とした高速液体クロマトグラフィー (HPLC-ICPMS) で分析して、含有されるセレンの分子種を確認した。HPLC の条件は以下の通りである²⁾：機器, LC29Ai (島津)；カラム, Develosil RP-AQUEOUS (野村化学, 瀬戸)；移動相, マロン酸 (4 mM), 1-ブタンスルホン酸 (15.9 mM), テトラメチルアンモニウムヒドロキシド (2.5 mM) を含む 0.05% メタノール (pH 2.3)；流速, 0.5 mL/min；温度, 30℃；検出, ICPMS (質量数 82)。HPLC-ICPMS において、検出されるセレン分子種の同定に用いる標準化合物の中で SeHL については、千葉大学の小椋康光教授から供与していただいた。

スプラウト粉末、血清、肝臓、腎臓は、その一部を硝酸と過塩素酸を用いて灰化し、含有されるセレンを ICPMS を用いて定量した。ICPMS における測定質量数は 82 とし、内部標準にはテルル (質量数 128) を用いた。

肝臓と腎臓の一部に 10 倍量の生理食塩水を加えてホモジナイズした。得られたホモジネート、および血清中のグルタチオンペルオキシダーゼ (GPx) 活性は、基質として tert-ブチルヒドロペルオキシドを用い、これによって酸化されたグルタチオンがグルタチオンレダクターゼによって還元されるさいに消費される NADPH 量を 340 nm の吸光度低下で追跡することで測定した⁴⁾。

4. 統計解析

動物実験で得られた各群の測定値については、平均値と標準誤差を算出し、一元配置分散分析と Tukey の多重比較を用いて測定項目ごとに群間の差を比較した。有意水準は 5% とした。

結果と考察

亜セレン酸曝露環境下で水耕することによって得られた SeMBS の乾燥粉末中セレン濃度は 7.85 µg/g であった。Fig. 1 は、この乾燥粉末から調製した 0.1M 塩酸抽出液を HPLC-ICPMS で分析して得られたクロマトグラムである。2 つのピークが認められ、標準物質の保持時間と比較することにより、前のピークは SeHL、後ろのピークは MeSeC であると同定した。また、両者のピーク面積にもとづくと、両者の存在比 (SeHL : MeSeC) はほぼ 8 : 1 であった。これらのことは、調製した SeMBS では、含有されるセレンの 85% 以上が SeHL であることを示している。

1 週間のセレン添加飼料投与後の各群マウスの体重および臓器重量に差は認められなかった。Table 2 は、セレン補給後の各群マウスの血清、肝臓、腎臓のセレン濃度と GPx 活性をまとめたものである。セレン欠乏飼料を投与し続けた対照群と比較すると、セレンを補給した 2 群では、セレン濃度と GPx 活性が著しく上昇していた ($p < 0.001$)。セレン源が異なる亜セレン酸群と SeMBS 群を比較した場合、GPx 活性については、肝臓、腎臓、血清のいずれに

Table 1 Composition of basal selenium-deficient diet

Ingredients	g/kg
<i>Torula</i> yeast*	330
Sucrose	540
Soybean oil	80
Selenium-free AIN93G mineral mixture	35
AIN93G vitamin mixture	10
Choline bitartrate	2
DL-Methionine	3

* Kindly supplied by Mitsubishi Corporation Life Science Ltd.

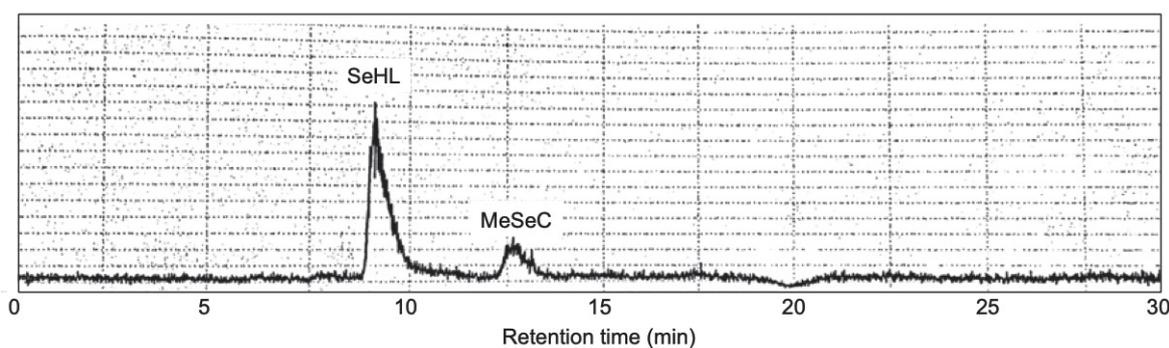


Fig. 1 Chromatogram of 0.1 M extract of SeMBS analyzed by HPLC-ICPMS

Table 2 Selenium content and GPx activity in serum, kidney and liver of rats after 1 week-selenium supplementation

	Control group	Selenite group	SeMBS group
Selenium content			
Serum (ng/mL)	65 ± 3 ^a	287 ± 11 ^c	223 ± 5 ^b
Liver (ng/g)	30 ± 9 ^a	728 ± 17 ^b	715 ± 27 ^b
Kidney (ng/g)	81 ± 7 ^a	614 ± 26 ^c	528 ± 27 ^b
GPx activity			
Serum (unit/mL)	0.25 ± 0.05 ^a	0.48 ± 0.04 ^b	0.54 ± 0.07 ^b
Liver (unit/g protein)	32 ± 5 ^a	277 ± 23 ^b	303 ± 30 ^b
Kidney (unit/g protein)	88 ± 8 ^a	339 ± 19 ^b	337 ± 15 ^b

Values are means ± SEM (n=8). Mean in the same row not sharing a common superscript differ significantly ($p < 0.05$).

においても差を認めなかったが、セレン濃度については、血清と腎臓においてSeMBS群が亜セレン酸群より有意に低い値を示した。

腎臓と血清セレン濃度について、SeMBS群が亜セレン酸群よりも有意に低い値を示したことは、SeMBS中のセレンが亜セレン酸に比較して若干吸収されにくい可能性を示している。一方、セレン濃度に有意差が存在した血清と腎臓においても、GPx活性にはこの両群間に差が生じなかったのは、0.2 µg/gというセレンの飼料添加量が多く、SeMBS群においてもGPx活性が飽和していたためと思われる。以上より、SeMBSに含まれるセレンは亜セレン酸に比較して、若干劣るものの、セレン源として有効に利用されると判断する。われわれは、含有セレンのほとんどすべてがMeSeCであるセレン強化カイワレズプラウト中のセレンの有効性が亜セレン酸に比較して劣ることを認めていることから⁵⁾、SeMBS中のセレンのやや低い有効性は混在するMeSeCに起因するものであり、SeMBS中セレンの大半を占めるSeHLの有効性は亜セレン酸に匹敵するものと考えられる。

高等動物において、摂取されたSeHLの吸収や体内での代謝についてはまったく知られていない。SeHLのイオウアナログであるホモランチオニンに関して、PubMedにおいて、検索語homolanthionineでは文献がまったくヒットしないことから、高等動物における吸収や代謝は

まったく知られていないと判断する。今回の研究において、SeHLがセレン欠乏マウスのGPx活性を顕著に上昇させたという事実は、SeHLが代謝され、含有されているセレンがセレノプロテイン合成に利用されたことを意味している。ホモランチオニンと同様にモノスルフィド(-S-)結合を有するランチオニンに関して、含硫アミノ酸欠乏のラットにおいてシステインとして十分に利用されるという報告⁶⁾があることを考慮すると、SeHLからセレノホモシステインが生成し、これがセレノシステインに変換され、セレノシステインリアーゼの作用でセレン化物イオンが生じて、セレノプロテイン合成に利用されたと考えるのが妥当であろう。

謝 辞

SeHLを供与いただいた千葉大学薬学研究院の小椋康光教授、トルラ酵母(商品名、KR酵母)を供与いただいた三菱商事ライフサイエンス株式会社に深謝いたします。

文 献

- 1) 吉田宗弘(2008)植物に存在する含セレンアミノ酸の同定と生理機能, 化学と生物 46: 564-570.
- 2) Sugihara S, Kondô M, Chihara Y, Yûji M, Hattori

- H, Yoshida M (2004) Preparation of selenium-enriched sprouts and identification of their selenium species by high performance liquid chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry, *Biosci Biotech Biochem* 68: 193-199.
- 3) 西村聡史, 山城 大, 吉田宗弘 (2021) 亜セレン酸に曝露されたインゲン, リョクトウ, およびアズキのスプラウトにおけるセレノホモランチオニンの蓄積, *微量栄養素研究* 38 : 24-27.
- 4) Yoshida M, Yasumoto K, Iwami K, Tashiro H (1981) Distribution of selenium in bovine milk and selenium deficiency in rats fed casein-based diets, monitored by lipid peroxide level and glutathione peroxidase activity, *Agric Biol Chem* 45: 1681-1688.
- 5) Yoshida M, Okada T, Namikawa Y, Matsuzaki Y, Nishiyama T, Fukunaga K (2007) Evaluation of nutritional availability and anti-tumor activity of selenium contained in selenium-enriched Kaiware radish sprouts, *Biosci Biotech Biochem* 71: 2198-2205.
- 6) Jones DB, Caldwell A, Horn MJ (1948) The availability of dl-lanthionine for the promotion of growth in young rats when added to a cystine- and methionine-deficient diet, *J Biol Chem* 176: 65-69.