

セレン欠乏がもたらすラット肝薬物代謝酵素系への影響

藤井 景子, 齋藤 美香, 加藤 弘太郎, 飯塚 幸澄, 伊藤 邦郎, 田中 頼久*

Effect of selenium deficiency on rat liver drug-metabolizing enzymes

Keiko FUJII, Mika SAITO, Koutaro KATO, Yukisumi IIZUKA, Kunio ITOH, and Yori-hisa TANAKA*

(Received November 21, 2006)

Selenium (Se) is an essential trace element and plays many important biological roles in the body. Selenium deficiency is associated with Keshan disease in clinical cases. However, little has been reported on the relationship between selenium deficiency and drug-metabolizing enzyme activities other than reduced glutathione peroxidase (GPX) activity resulting in increased oxidative stress. In this study, we examined the effects of selenium deficiency on several drug-metabolizing enzymes in male Wistar rats. The contents of mRNA and protein of CYP2C11, which is a male specific P450 isoform, were significantly reduced in selenium deficiency. 17β -Hydroxysteroid dehydrogenase (17β -HSD), which has a stronger activity in male rather than female rats, showed also significantly decreased enzyme activity with lowering tendency toward a reduced mRNA level. Aldehyde oxidase (AO) activity was almost completely disappeared in selenium deficiency without an accompanying by the decrease of the mRNA level. Other enzymes such as CYP3A, CYP2A, CYP2B, carbonyl reductase, 3α -HSD, flavin-containing monooxygenase and 15-ketoprostaglandin Δ 13-reductase were not affected in selenium deficiency. These results suggested that selenium deficiency might decrease the activity and mRNA level of CYP2C11 and 17β -HSD by impairing the testosterone-hypothalamus-pituitary axis, whereas AO was influenced by a different mechanism.

Key words — selenium deficiency, P450, drug-metabolizing enzyme

緒 言

生体に必須な微量元素の一つにセレン (Se) がある。1957年にSchwarzとFoltzがビタミンEの欠乏症の治療にSeが有効であることを明らかにし、哺乳動物に対するSeの必須性を初めて指摘した¹⁾。ヒトにおけるSe欠乏症では1935年に中国黒龍江省の克山地域で発生した克山病 (ケシャン病:Keshan disease) が有名であるが、これはカシン・ベック病ともいわれており、シベリアや朝鮮地方にも見られるSe欠乏によって生じる風土病である²⁾。これまでに数千人がこの病気で死亡しているが、克山病発生地域の住民に亜セレン酸ナ

トリウム (Na_2SeO_3) を経口投与 (0.5~1 mg/week) することによりこの疾患の発生率・死亡率を激減することができ、この経験より生体におけるSeの必須性がいっそう注目されるようになった³⁾。

また、Seは生体内に取り込まれたAs, Hg, Cd, Pbなどの有毒金属と反応して金属イオン相互間の毒性を軽減する拮抗作用を有するとともに、抗炎症作用、免疫増強作用、制癌作用があることも最近の研究により判明している⁴⁾。生体内にはSe含有酵素が存在し、その約半分がグルタチオンペルオキシターゼ (GPX) である。GPXは赤血球や各種臓器に多く含まれており、グルタチオン (GSH) を還元剤として生体内で発生した過酸化水素や過

酸化物を水やアルコールに還元し, ビタミンE, カタラーゼ, スーパーオキシドジスムターゼ (SOD) などと共同して細胞を酸化障害から防御する役割を果たしている. このようにSeは生体内で様々な機能に関わっているにもかかわらず, Seと薬物代謝酵素との関係についてはいまだに報告が少ない.

Seと同じ必須微量元素であるZnについて, Wistar系ラットにおけるZn欠乏の薬物代謝酵素系への関与については, 20 β -ヒドロキシステロイド脱水素酵素活性の消失, 雌ラットにおける7-エトキシマリノール-O-脱メチル化酵素活性の増大が明らかとなっている⁵⁾.

本研究ではSe欠乏飼料に亜セレン酸ナトリウムを添加したものを摂取したラットをコントロールとし, Se欠乏がシトクロムP450を含めた各種薬物代謝酵素に及ぼす影響について検討を加えた.

実験材料および方法

試薬類

β -NADP⁺およびNADPHはオリエンタル酵母工業株式会社(東京)から, グルコース6-リン酸(G-6-P), グルコース6-リン酸デヒドロゲナーゼ(G-6-PDH), アミノピリン, *d*-クロルフェニラミンおよびK₃F₆(CN)₆は和光純薬株式会社(大阪)から, *p*-ニトロアニソール, アニリンはナカライテスク株式会社(京都)から購入した. テストステロンは東京化成工業株式会社(東京)から, 2 α -ヒドロキシテストステロン, 6 β -ヒドロキシテストステロン, 7 α -ヒドロキシテストステロン, 16 α -ヒドロキシテストステロン, 16 β -ヒドロキシテストステロンあるいはアンドロステンジオンはステラロイド社(Newport, RI)から, ベタメタゾン Sigma(St.Louis, MO)から購入した. (S)-RS-8359とCS-670は三共株式会社より供与されたものを使用した. アガロース, エチジウムブロマイド, Distilled Water(DNase/RNase free)あるいはRT-PCR用SuperScript First-Strand SystemはInvitrogen(Carlsbad, CA)から, Loading bufferは和光純薬株式会社(大阪)から, SV Total RNA

Isolution SystemはPromega(Madison, WI)から, Power SYBR Green PCR Master MixとAmpli Taq GoldはApplied Biosystems(Warrington, UK)から, RNAlaterはAmbion(Woodward Austin, TX)から購入した. PCR反応に必要なプライマーは, SIGMA GENOSIS(北海道, 石狩)に委託合成したものを使用した. その他の試薬は市販特級品を用いた.

Se欠乏ラットの作製

4週齢Wistar系雄性ラット(日本SLC, 浜松)に粉末のSe欠乏飼料(Se含量0.01 mg/kg未満, オリエンタル酵母工業株式会社, 東京)およびSe欠乏飼料に亜セレン酸ナトリウム(Na₂SeO₃)として0.4 mg/kg添加して作製した粉末のSe添加飼料(オリエンタル酵母工業株式会社)を与えて5週目に実験に使用した.

実験に供するまで飼料および水道水を自由摂取させ, 室温23 \pm 1 $^{\circ}$ C, 湿度55 \pm 5%, 明暗サイクル12時間(明期; 9:00-21:00, 暗期; 21:00-9:00)の一定環境下で飼育した. 実験動物は全て東北薬科大学動物実験ガイドラインに従って飼育した.

肝サイトソル及びミクロソーム画分の調製

ラットを16~18時間絶食させたのち無麻酔下で断頭し, 直ちに開腹して氷冷した1.15%KCl溶液で肝臓を瀉血し, 摘出した. 肝臓の重量を測定した後, それを細切して3倍量の0.25 Mスクロース/10 mM Tris-HCl緩衝液(pH7.4)を加え, ポッター型テフロンホモジナイザーでホモジナイズした. 得られたホモジネートを9,000 \times g, 4 $^{\circ}$ Cで20分間遠心分離し, さらにその上清を105,000 \times g, 4 $^{\circ}$ Cで60分間遠心分離して得られた上清をサイトソル画分とした. その沈渣を0.25 Mスクロース/10 mM Tris-HCl緩衝液(pH7.4)で再懸濁し, 105,000 \times g, 4 $^{\circ}$ Cで20分間遠心分離し, 得られた沈渣を1 mM EDTA含有10 mM Tris-HCl/グリセロール(8:2)に懸濁したものをミクロソーム画分とした. 各画分におけるタンパク質濃度はProtein Quantification Kit-Rapid(株式会社同仁化学研究所)を用い測定した.

グルタチオンペルオキシダーゼ(GPX)活性の測定⁶⁾

75 mM リン酸カリウム緩衝液 (pH7.0), 1.12 mM グルタチオン, 0.025U グルタチオンレダクターゼ, 0.56 mM EDTA, 0.11 mM NADPH, 0.15% トリトン X-100, 0.28 mM 過酸化水素からなる反応液にマイクロソームを加え, 全量を 1340 μ l になるように調製した. 反応は 0.28 mM 過酸化水素を加えることにより開始し, 基質を加えた後直ちに 340 nm における吸光度を 3 分間測定した.

アミノピリン *N*-脱メチル化酵素 (APD) 活性, アニリン *p*-水酸化酵素 (ANH) 活性および *p*-ニトロアニソール *O*-脱メチル化酵素 (NAD) 活性の測定

ADP, ANH および NAD 活性は庭田らの方法に従った⁶⁾.

テストステロン水酸化酵素活性の測定

0.1 M リン酸カリウム緩衝液 (pH7.4)-0.1 mM EDTA, 50 μ M テストステロン, NADPH 生成系からなる反応液にマイクロソームを加え全量を 920 μ l になるように調製した. 反応はテストステロンを加えて開始し, 好氣的条件下にて 37°C, 4 分インキュベートした後, 1N HCl を 270 μ l 加えることによって反応を停止した. その後内標準物質として 0.1 mM ベタメタゾン/MeOH 溶液を 270 μ l, ジクロロメタンを 3 ml 加え, 10 分間振とうし 3,000 rpm, 5 分間遠心した. 上層をアスピレーションした後ジクロロメタン層を 2 ml 分取し, それを窒素気流下 20 分間蒸発乾固して 80% MeOH 80 μ l に溶解したものを HPLC により定量した.

テストステロン代謝物の HPLC 分析では, ポンプは LC-6A (島津製作所) および検出器 SPD-10AVP (島津製作所), データ解析処理装置は C-R4A (島津製作所) を接続した高速液体クロマトグラフ装置を用いた. カラムは CAPCELL PAK C18 UG120 (250 \times 3.0 mm, I.D., 5 μ m, 資生堂) を用い, 移動相として水, アセトニトリル, メタノールをそれぞれ 35 : 32.5 : 32.5 の割合で混合した溶液を A 液, 80% メタノールを B 液とし, 45 分かけ B 液を 0 から 60% までグラジエントになるように設定し, 0.4 ml/min の流速で流した. 検出は 254 nm の紫外吸収で行った. なお, カラム温度を 37°C に設定し, 上記試料を 20 μ l 注入した. 代謝物はクロマ

トグラム上の得られたピーク面積より算出し, 定量した.

アルデヒドオキシダーゼ (AO) 活性の測定

アルデヒドオキシダーゼにより酸化される (S)-RS-8359 を用い測定した⁷⁾.

カルボニル還元酵素の活性の測定

100 mM リン酸カリウム緩衝液 (pH6.2), 1 mM NADPH, 0.8 mM CS-670 飽和ケトン体からなる反応液にサイトソルを加え, 全量を 250 μ l になるように調製した. 反応液は CS-670 飽和ケトン体を加えることにより開始し, 好氣的条件下にて 37°C, 20 分間インキュベートした. 内標準物質としてフェノプロフェン 6 μ M を含むアセトニトリル溶液 500 μ l を加えることで反応を停止し, 10,000 rpm で 5 分間遠心分離し, 除タンパク後, 上清を HPLC 分析試料とした.

CS-670 飽和ケトン体代謝物の HPLC 分析では, 移動相としてアセトニトリル/0.25% リン酸 (45:55) を流速 1.0 ml/min で流し, 検出は 220 nm の紫外吸収で行った他は AO 活性の測定法に従った.

15-ケトプロスタグランジン- Δ -13-還元酵素 (PGR) 活性の測定⁸⁾

100 mM リン酸カリウム緩衝液 (pH7.4), 200 mM NaCl, 1 mM NADPH および 0.8 mM CS-670 からなる反応液にサイトソルを加え全量を 250 μ l とするよう調製した. 好氣的条件下にて 37°C, 5 分間インキュベートした後, 内標準物質としてフェノプロフェン 6 μ M を含むアセトニトリル溶液 500 μ l を加えることで反応を停止し, 5,000 \times g で 5 分間遠心分離し, 除タンパク後, 上清を HPLC 分析試料とした.

CS-670 代謝物の HPLC 分析では, 移動相としてアセトニトリル/0.25% リン酸 (45:55) を流速 1.0 ml/min で流し, 検出は 220 nm の紫外吸収で行った. 他は AO 活性の測定法に従った.

3 α -ヒドロキシステロイド脱水素酵素 (3 α -HSD) 活性の測定

RS-8359 7-ケト体の還元は 3 α -ヒドロキシステロ

イド脱水素酵素により触媒されることが報告されている⁹⁾. この方法に従い, 本酵素活性を測定した.

フラビン含有モノオキシゲナーゼ (FMO) 活性の測定

既存の方法¹⁰⁾に従って本酵素活性を測定した.

total RNAの抽出

ラットを断頭後, 直ちに肝臓を摘出し約0.5 gをRNAlaterに浸漬した. この試料からSV Total RNA Isolation Systemのプロトコルに従い, total RNAの抽出を行った. 得られたtotal RNAの純度の確認はOD₂₆₀/OD₂₈₀比を自記分光光度計を用いて測定し, 比が1.7~1.8の試料を実験に用いた.

cDNAの合成

RT-PCR用Super Script First-Strand Synthesis Systemを用いInvitrogenのプロトコルに従い行った. Oligo(dT)₁₂₋₁₈を使用しcDNAの合成を行った.

プライマーの設計

プライマー配列はPrimer Expression Software (PE Applied Biosystems, Warrington, UK)を用いてデザインした. (Table 1)

Real-time PCR法による mRNA量の測定

PCR反応は全量20 μ l中にtemplate 4 μ l, 0.2 μ M forward primer, 0.2 μ M reverse primer, 2 \times power SYBR Green Master Mixとなるように反応液を調製し, 以下の条件で行った. 50 $^{\circ}$ Cで2分, 95 $^{\circ}$ Cで10分処理後, 1) 95 $^{\circ}$ C, 10秒, 2) 60 $^{\circ}$ C, 1分のサイクルを35回行った. 得られた増幅曲線は各サイクル毎の伸長反応中に蛍光シグナル (Δ Rn)を検出し, linear plotにより示した. Threshold cycle (Ct) は, ベースラインより上の一定の指数関数的増幅が認められる部分で測定し, 得られたCt値に対してそのtemplate濃度のlog値を取り, その負の直線を検量線とした. これらの増幅と測定はABI PRISM 7700 Sequence Detection System (Applied Biosystems)で行った.

PCR産物はアガロースゲル電気泳動により単一バンドになることを確認した. なお, Real-time PCRの結果の解析は, Standard Curve法と同等の精度で相対定量が行える $\Delta\Delta$ Ct法を用いた. 内在性コントロール遺伝子にはGAPDHを使用し, ターゲット遺伝子と内在性コントロール遺伝子のPCR効率がほぼ等しいことを確認した. キャリブレーションはSe添加ラットとした. Δ Ctと $\Delta\Delta$ Ctは次の式から求めた.

Table 1. Sequence of primers

Primer name	Sequence	Accession No
CYP2A1-F	5'-aaagacttcgacccccagaac-3'	NM_012692
CYP2A1-R	5'-tggagaaaggaggaaagca-3'	
CYP3A2-F	5'-ataaaaaggagttggcaaggctgt-3'	NM_153312
CYP3A2-R	5'-acaaatagaattaccacaatagttcacctttac-3'	
CYP2C11-F	5'-gcacaatccgcagctctgagtt-3'	NM_019184
CYP2C11-R	5'-agctgtgacatccacgtgttcc-3'	
HSD17B2-F	5'-cctgtgctcgggacatc-3'	NM_024391
HSD17B2-R	5'-ctccctgagcaataaaaggaagag-3'	
AO-F	5'-agacttggagcctctgatcctaact-3'	NM_019363
AO-R	5'-gatcagcaattttaacgcttcac-3'	
GPX1-F	5'-ggctcaccgctctttacctt-3'	NM_030826
GPX1-R	5'-atgagcgcagtgatcggt-3'	
GAPDH-F	5'-cgacccttcattgacctca-3'	X02231
GAPDH-R	5'-ttgactgtccgttgaacttg-3'	

ΔCt = ターゲット遺伝子Ct - 内在性コントロールCt

$\Delta\Delta Ct$ = 各サンプル ΔCt - キャリブレーションサンプル ΔCt

定量結果 = $2^{-\Delta\Delta Ct}$

結 果

Se欠乏ラットの作製

Se欠乏ラットは市販のオリエンタル酵母社製のSe欠乏飼料を摂取させた。また、Schaferら¹¹⁾およびVenardosら¹²⁾の報告を参考にSe欠乏食に亜セレン酸ナトリウム (Na_2SeO_3) として0.4 mg/kg添加したSe添加食を作製し、これを飼料として摂取させたラットをコントロールとした。さらにVenardosらの報告によれば、Se含有酵素であるグルタチオンペルオキシダーゼ (GPX) の活性値は飼料中のSe含量に比例することから、体内Se濃度にも比例すると考え、Se欠乏状態の指標としてGPX活性を測定した。

Se欠乏ラットではSe添加食を飼料としたコントロールラットと比較してSe欠乏による摂餌量の減少は起きず、体重にもほとんど変化は見られなかった (data not shown)。なお、9週目の体重は16時間絶食後、断頭直前に測定した。

Se欠乏飼料で飼育したラットにおいてGPXの活性が50%以下まで低下していたことから、作製したSe欠乏ラットではSeレベルが有意な欠乏状態にあることが示された (Fig.1)。

シトクロムP450活性

対照群およびSe欠乏ラット群肝ミクロソーム中の主なシトクロムP450分子種の活性を、典型的な基質としてアミノピリン、アニリン、*p*-ニトロアニソールを用い測定した。その結果、Se欠乏による活性の変動は認められなかった (data not shown)。

そこで、一つの基質で種々のCYP分子種の特異的活性の測定が可能なテストステロンを用いて詳細な活性測定を行った。テストステロンの水酸化部位と関与するCYP分子種をFig.2に示す。また、テストステロンはミクロソームに存在する 17β -ヒドロキシステロイド脱水素酵素 (17β -HSD) によって酸化されて、アンドロステンジオンを生成することから、併せて 17β -HSDの活性も測定した。

コントロールおよびSe欠乏ラット肝ミクロソームを用いて測定した結果をFig.3に示す。Se欠乏の影響が有意に見られたのは雄ラットに特異的に発現していると報告されているCYP2C11による 2α -および 16α -水酸化酵素活性で、ともに約40%

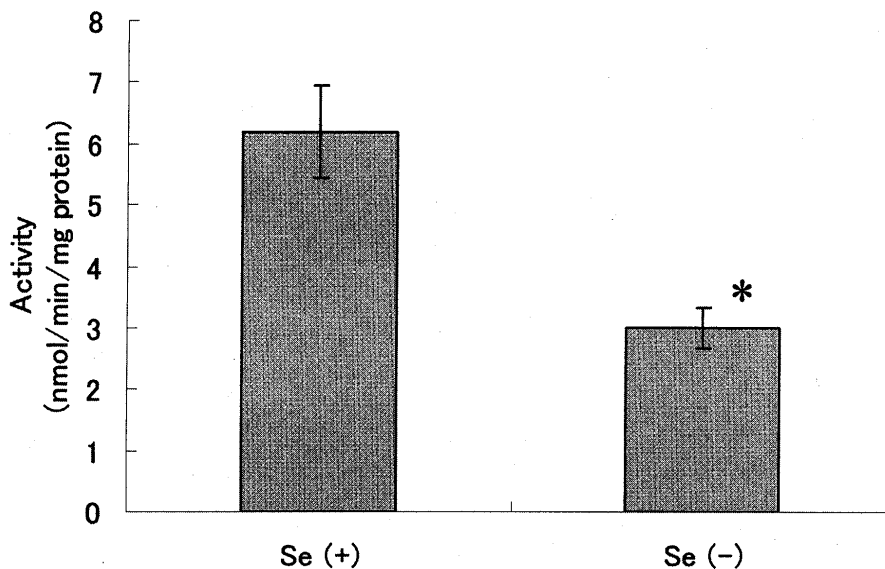
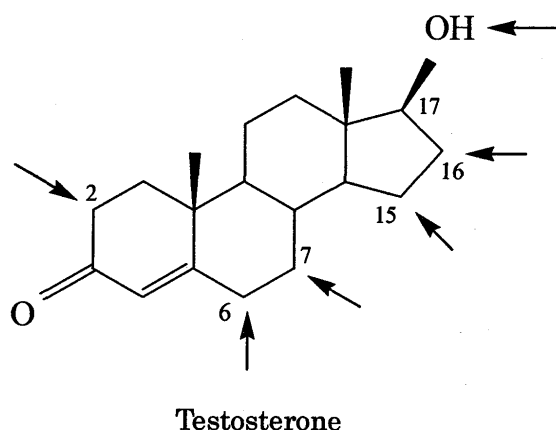


Fig. 1. Effect of selenium deficiency on the GPX activities in rat liver microsomal fraction. Results are the mean \pm S.E. for six rats in each group. * $P < 0.01$ compared with the control group.



Metabolites	Responsible enzymes
2 α -Hydroxytestosterone	CYP2C11
6 β -Hydroxytestosterone	CYP3A
7 α -Hydroxytestosterone	CYP2A1
15 β -Hydroxytestosterone	CYP2C12
16 α -Hydroxytestosterone	CYP2C11
16 β -Hydroxytestosterone	CYP2B
Androstenedione	17 β -Hydroxysteroid dehydrogenase (17 β -HSD)

Fig. 2. Chemical structures of testosterone and its main metabolites

低下した。また雌に比べ雄ラットでは活性が高いことが知られているCYP2Bによる16 β -水酸化酵素活性では低下の傾向が認められた。雄性ラットの活性が雌性より高い17 β -ヒドロキシステロイド脱水素酵素活性では有意に低下した。一方、CYP3Aが関与する6 β -水酸化酵素活性、雌より活性が低いと言われているCYP2A1による7 α -水酸化酵素活性および雌特異的なCYP2C12による15 β -水酸化酵素活性については有意な差は確認されなかった。

その他の各種薬物代謝酵素活性への影響

その他の薬物代謝酵素としてカルボニル還元酵素、15-ケトプロスタグランジン- Δ 13-還元酵素(PGR)、3 α -ヒドロキシステロイド脱水素酵素(3 α -HSD)、アルデヒドオキシダーゼ(AO)、フラビン含有モノオキシゲナーゼ(FMO)を選び、それらに及ぼすSe欠乏の影響を検討した。その結果、

カルボニル還元酵素、PGR、3 α -HSD、FMOの活性はSe欠乏による影響をほとんど受けなかったが、AO活性は著しく低下した(Fig.4)。

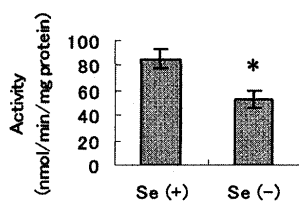
Real-time PCRによるmRNAの定量

酵素活性がSe欠乏の影響をあまり受けないものも含めCYP2C11、CYP3A2、CYP2A1、17 β -HSD、AO、GPXの6種類の酵素についてReal-time PCRを用いmRNA発現量の測定を行った。

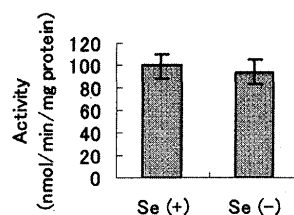
プライマー設計の際、17 β -HSDには1~4、10、12のサブタイプが存在するが、アンドロゲンの活性を調節しテストステロンからアンドロステンジオンへの酸化反応を行う17 β -HSD type2を使用した^{13,14)}。GPXについてもサブタイプが存在するが、ラット肝で発現が認められておりSe欠乏の影響で発現量が低下すると報告のあるGPX1を使用した¹⁵⁾。

Δ Ct法で測定したmRNAの相対的発現量お

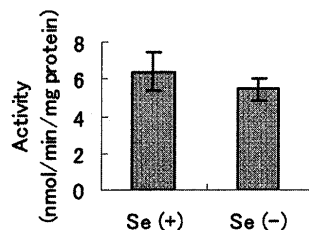
a) 2 α -Hydroxylase (CYP2C11)



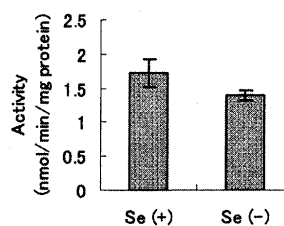
b) 6 β -Hydroxylase (CYP3A)



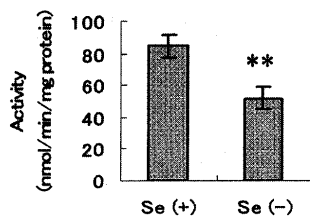
c) 7 α -Hydroxylase (CYP2A)



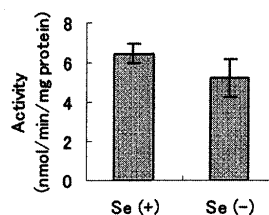
d) 15 β -Hydroxylase (CYP2C12)



e) 16 α -Hydroxylase (CYP2C11)



f) 16 β -Hydroxylase (CYP2B)



g) 17 β -Hydroxysteroid dehydrogenase

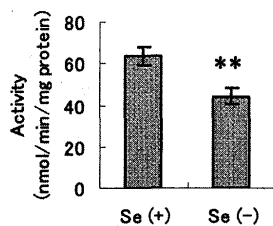


Fig. 3. Effect of selenium deficiency on activities of testosterone hydroxylase in rat liver microsomal fraction
Results are the mean \pm S.E. for six rats in each group. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ compared with the control group.

よびSe欠乏の活性値をコントロールの活性値で割った相対活性値をFig.5に示す。活性値、発現量に差のないものを1として示した。

いずれのCYPの相対mRNA発現量もSe欠乏により低下しており、特にCYP2C11においては顕

著であった。また、17 β -HSDの相対mRNA量も低下の傾向を示したが、AOにおいては逆にやや増加の傾向が認められた。

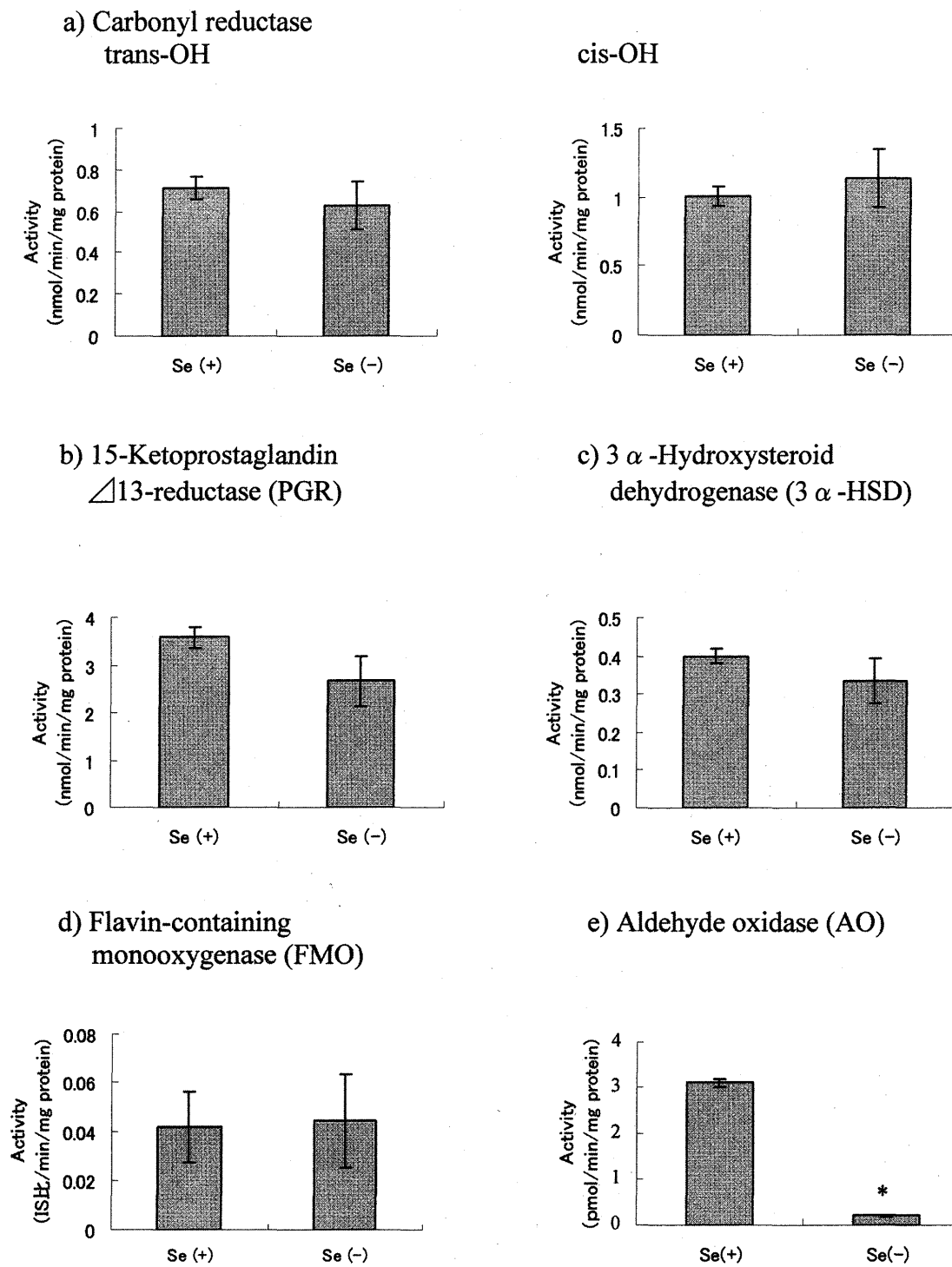


Fig. 4. Effect of selenium deficiency on activities of several drug metabolizing enzyme in rat liver microsomal and cytosolic fractions

Results are the mean \pm S.E. for six rats in each group. *P<0.001 compared with the control group.

考 察

Seは必須微量元素の一つであり、生体内で様々な生理作用に重要な役割を担っている。しかしSeと薬物代謝酵素系との関係が十分に明らかにされている訳ではない。そこでSe欠乏が薬物代謝酵素に及ぼす影響を解明するために検討を行った。

市販のSe欠乏食に亜セレン酸を0.4 mg/kg添加したセレン添加食を作製し、これをコントロール飼料として摂取させたラット肝を用い、ANH, APD, NADについてSe欠乏の影響を検討したところ、活性値に変化は見られなかった。これらの代謝活性には複数のCYPが関与するため現象が明確に見えないのではないかと考え、代謝部位に特異的なCYP分子種の関与がわかっているテストステロンを用い、検討を加えた。その結果、雄特異的なCYP2C11が触媒する 2α -水酸化、 16α -水酸化の活性が有意に低下した。また、Real-time PCRにより測定したCYP2C11の相対的mRNA発現量は

約50%に低下していた。

CYP2C11は成熟雄性ラットでのみ観察されること、精巣を切除すると活性発現が顕著に低下すること等から、アンドロゲン依存性の酵素であることが報告されている¹⁶⁻¹⁸⁾。Seは精巣細胞に多く含まれる必須微量元素であり、欠乏すると精巣機能障害を起こす。その結果、精巣で産生、分泌されるテストステロンが低下し、テストステロン-視床下部-脳下垂体axis系が機能しなくなり、CYP2C11のmRNA量が減少し、活性が低下した可能性が推察される。

一方、雌に比べ雄ラットで活性が高いといわれているCYP3A (6β -水酸化)では活性の低下は軽微であったものの、CYP3A2の相対的mRNA発現量には30~40%の低下が認められた。このことは、CYP3Aによるテストステロン 6β -水酸化反応において、CYP3A2タンパク量は減少するが、他のCYP3A分子種などが補う形で増加している可能性を示唆するが、そのためにはWestern blotting解

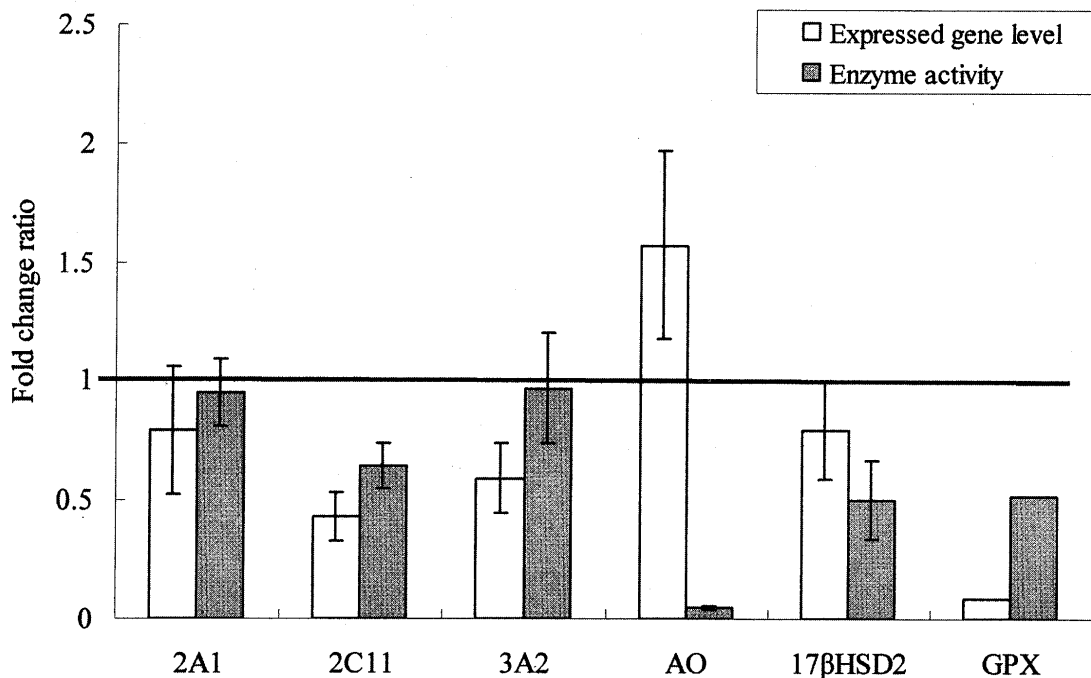


Fig. 5. Relative quantitation of gene expressions and enzyme activities using the comparative Ct method

Results are the mean \pm S.E. for six rats in each group. Fold changes of gene expressions and enzyme activities were estimated by comparative Ct method and dividing enzyme activity of selenium-deficiency rat with that of the control rat, respectively.

析が必要であり, 今後検討する予定である. 17 β -HSD活性はSe欠乏で有意に低下し相対的mRNA発現量も低下の傾向を示した. 本酵素活性には雌に比べて雄で高いという性差が知られており, Se欠乏によるその変動にCYP2C11と同じ機序が一部関与していることが示唆される.

その他の薬物代謝酵素として検討したカルボニル還元酵素, PGR, 3 α -HSD, AO, FMOの中でAOの活性が著しく低下したが, 相対mRNA発現量はむしろやや増加した. AOはマウスにおいては雄で活性が高く, 性ホルモンとの関係が示唆されている酵素である^{19,20)}. そのことはテストステロンを処理した雌性マウスは活性が2~3倍に上昇し, エストロゲンを処理した雄性マウスではAO活性の低下が確認されている. しかしラットでそのような報告はない. ラットAOの場合, Se欠乏によりmRNA量がやや増加傾向にあることから, Se欠乏によりテストステロン分泌が低下してもmRNA発現量の低下は引き起こさないと考えられる. しかしながらSe欠乏によりその活性が著しく低下していることから, AOタンパク質自身に安定性を含め何らかの影響を及ぼしたのではないかと推察される. この点に関しては種々の検討が必要である.

REFERENCES

- Schwarz K., Foltz C., *J. Biol. Chem.*, **233**, 245-251 (1987).
- Liu Y., Chiba M., Inaba Y., Kondo M., *Nippon Eiseigaku Zasshi*, **56**(4), 641-648 (2002).
- ジェームズ・スカラ, 新・実用ビタミン栄養学, 小学館.
- 桜井 弘, 田中英彦, “生体微量元素”, 廣川書店 (1994).
- Niwata H., Maruyama K., Takada F., Iizuka Y., Itoh K., Tanaka Y., *J. Tohoku Pharm. Univ.*, **52**, 85-97 (2005).
- Unluceric Y., Bekpinar S., Hocak H., *Arch. Biochem. Biophys.*, **379**, 217-220 (2000).
- Itoh K., Yamamura M., Muramatsu S., Hoshino K., Masubuchi A., Sasaki T., Tanaka Y., *Xenobiotica*, **35**, 561-573 (2005)
- Kitamura S., Katsura H., Tatsumi K., *Biochem. Mol. Biol. Int.*, **30**, 839-847 (1993)
- Itoh K., Hoshino K., Endo A., Asakawa T., Adachi M., Yamamoto K., Noji C., Kosaka T., Tanaka Y., *Chirality*, **18**, 698-706 (2006).
- Cashman J. R., Celestial J. R., Leach A. R., *Xenobiotica*, **22**, 459-469 (1992)
- Schäfer K., Kyriakopoulos A., Gessner H., Grune T., Behne D., *J. Trace Elem. Med. Biol.*, **18**, 89-97 (2004).
- Venardos K., Harrison G., Headrick J., Perkins A., *J. Trace Elem. Med. Biol.*, **18**, 81-88 (2004).
- Akinola L. A., Poutanen M., Vihko R., *Endocrinology*, **137**, 1572-1579 (1996).
- Tsai-Morris C.H., Khanum A., Tang P.Z., Dufan M.L., *Endocrinology*, **140**, 3534-3542 (1999).
- Hadley K.B., Sunde R.A., *J. Nutr. Biochem.*, **12**, 693-702 (2001).
- 日本比較内分泌学会, “ステロイドホルモンの生物化学”, 148-154 (1984)
- 加藤隆一, 山添康, 薬物・ステロイドホルモン代謝の性差発現機序-成長ホルモンによる調節, 医学のあゆみ, **141**, 904-906 (1986).
- Bandiera B., Dworschak C., *Arch. Biochem. Biophys.*, **296**, 286-295 (1992).
- Yoshihara S., Tatsumi K., *Arch. Biochem. Biophys.*, **338**, 29-34 (1997).
- Yoshihara Y., Tatsumi K., *Biochem. Pharm.*, **53**, 1099-1105 (1997).