

魚介類の新規成分 セレノネインの抗酸化能

やました みち あきⁱ⁾、やました ゆ み こⁱⁱ⁾、まつ もと さとしⁱⁱⁱ⁾
山下 倫明ⁱ⁾、山下 由美子ⁱⁱ⁾、松本 聡ⁱⁱⁱ⁾

魚介類の新規成分 セレノネインの抗酸化能

やました みちあき 山下 倫明ⁱ⁾、やました ゆみこ 山下 由美子ⁱⁱ⁾、まつもと さとし 松本 聡ⁱⁱⁱ⁾

はじめに

日本人のセレン摂取量は1日当たり約100 µgであり、魚類からのセレンの摂取は、もっとも多い^{1,2)}。肉類、乳類、卵類などもセレン含量が比較的高く、野菜類や果実は少ない^{1,2)}。海外では、主食の小麦のセレン含量が低い地域では亜セレン酸やセレン酵母を用いるサプリメント剤が普及している²⁾。

食品に含まれるセレン含量とセレノネインの分布を調査した結果、マグロ類の組織はセレンをセレノネインとして高濃度に含んでいた³⁻⁵⁾。他の魚介類にも可食部には0.12 ppm以上のセレンが含まれていた⁴⁾。同様に、鯨肉にも高濃度のセレンが分布していた⁴⁾。魚食頻度の高い鹿児島県離島住民の血液からも高濃度のセレノネインが検出された⁶⁾。これらのことから、食事から摂取したセレノネインが生体内で濃縮され、赤血球から検出されることが明らかとなった。また、さまざまな生物の細胞内でセレノネインは生合成されている。セレンを強化して培養した分裂酵母からセレノネインが検出されている⁷⁾。エルゴチオネインの生合成経路によってセレノネインが合成されている可能性が示された。ゼブラフィッシュ胚に放射性セレンを取り込ませた結果、セレノネインの合

SUMMARY

セレノネイン(selenoneine)はクロマグロの血液から発見されたセレン含有抗酸化物質である。ヒスチジンのアミノ基がトリメチル化され、イミダゾール環に互変異性のセレノキソーセレンル基が付いたユニークな化学構造を有している(2-selenyl-N α , N α , N α -trimethyl-L-histidine)。すでに抗酸化食品に利用されているエルゴチオネインのイオウ原子がセレンに置換された化合物であることから、セレノネインと命名された。強力なラジカル消去活性を有することから、セレンが細胞内で抗酸化能を発現するために必要な機能的な化学形態であると考えられる。

クロマグロ赤血球のセレノネイン含量がもっとも高く、セレンとして約50mg/kgの濃度が検出されたが、まぐろ肉や他の回遊魚にも多く含まれている。魚食に関する疫学調査によって離島住民の血液の分析がおこなわれ、魚食頻度に応じて、赤血球にセレノネインが検出された。魚食によるセレノネインの摂取は、人体での生体抗酸化作用の向上に寄与していることが考えられた。そこで、サバ類やマグロ類など魚類からセレノネインの濃縮物を製造し、過去に例を見ない新規のセレン含有抗酸化サプリメントの開発が進んでいる。

成が確認された⁸⁾。このような放射性セレノネインはセレンタンパク質に取り込まれたことから、セレノネインはセレン代謝の一員として重要な役割を果たすと考えられる。微量ながら牛や豚などの陸上動物の内臓からもセレノネイン検出された⁴⁾。これらのことから、食事から摂取したセレノネインは、生体に取り込まれセレン代謝に利用されるとともに、他のセレン源からも生合成されることが考えられた。

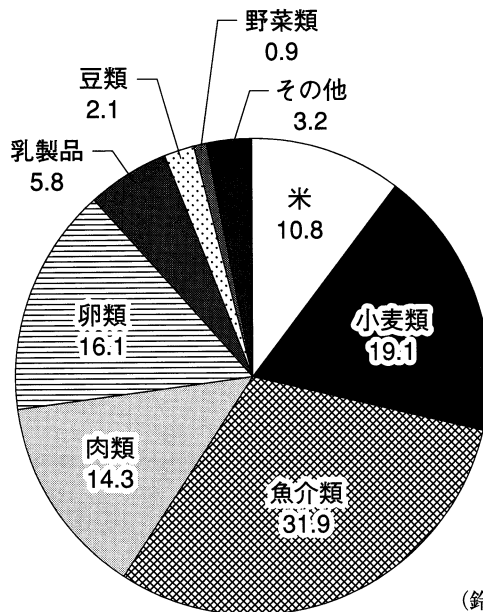
1. セレノネインの性質

セレノネインは、GPCカラムを連結した誘導結合プラズマ(ICP)質量分析計を用いて分析する^{3,4)}。魚介類の筋肉や臓器の水抽出物を試料として、グルタチオンペルオキシダーゼなどのセレンタンパク質や無機態の亜セレン酸、アミノ酸のセレノメチオニンなどをGPCカラムで分離して化学形態別に分析する方法が用いられている。分析の結果、セレノネ

i) 国立研究開発法人水産研究・教育機構水産大学校

ii) 国立研究開発法人水産研究・教育機構中央水産研究所

iii) 株式会社 エル・エスコレーション



(鈴木ら 1988)

図1 日本人のセレン摂取量 (μg/日)

インは、マグロ類以外にもサバ類、ブリ類等の回遊性魚に広く分布していた³⁻⁵⁾。マグロ類、カジキ類、サバ類等の回遊魚の血合筋や血液、脾臓には、高レベル(5 mg Se/kg以上)のセレンネインが検出された³⁻⁵⁾。

セレンネインは、セレンキソ構造を有する抗酸化物質である。イオウアナログであるエルゴチオネインと比べて、さらに強いラジカル消去活性を有していた。ラジカル試薬 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) に対するラジカル消去活性(RS50値)は1.9 μMと、水溶性ビタミンE誘導体 Trolox[®] (RS50 = 880) およびエルゴチオネイン (RS50 = 1700) と比べて著しく高かった^{3, 4)}。また、セレンネイン酸化二量体の還元型グルタチオンによる単量体への解離に関わる酸化還元電位を測定した結果、セレンネイン単量体の酸化還元電位は-100 mVであり、従来食品で知られている抗酸化物質(アスコルビン酸+340 mV、ポリフェノール類+300 mV、ユビキノン+100 mV)よりもかなり低いことがわかった⁹⁾。セレンネインは水産物由来の強力な抗酸化物質であるといえる。

2. セレンネインの生理活性

セレンネインは、生体内において抗酸化能を示した。臍帯血管内皮由来細胞 (HUVEC) の培地にセレンネインを添加すると細胞内に取り込まれ、細胞増殖を促進した¹⁰⁾。セレンネインをブリ活魚の静脈血中に投与すると、速やかに細胞内に取り込まれ、活性酸素種の生成を抑制し、ヘムのメト化と魚肉の褐変を抑制する作用を示した¹¹⁾。餌料から摂取した場合でも肝臓や血液に取り込まれ、過酸化物質を抑制した。等量のセレンメチオニンではこのような生体抗酸化作用は見られなかった。セレンネインは赤血球、脾臓、血合筋、心筋などでは、ヘムタンパク質に結合しており、ヘモグロビンおよびミオグロビンに対するメト化を抑制したことから、ヘム鉄の自動酸化抑制に関与すると考えられる。

ヒトメラノーマ細胞へのセレンネイン投与では、セレンネインはチロシナーゼに結合し、活性を阻害して、メラニン生成を抑制した¹²⁾。このことから、セレンネインは皮膚などのメラニン生成による黒化を阻害することが推定された。血圧の調節に関

わるアンジオテンシン変換酵素の阻害作用もセレンネインは示した。酵素の活性中心にある亜鉛イオンに配位して阻害するメカニズムが推定された。このようにセレンネインは金属イオンに結合し、金属酵素の活性を阻害することによって生体調節を行う可能性が考えられた。このような金属酵素阻害は、セレンによる新しい生体抗酸化作用であると言える。

セレンネインは、メチル水銀の解毒排出に関与している¹³⁾。マグロ類やカジキ類、キンメダイなどの肉食性の魚類や歯クジラ類の筋肉には1 ppm程度のメチル水銀が含まれており、魚食によるメチル水銀曝露は食品衛生上の課題である。ハクジラ類の肝臓には、数百ppmもの高濃度の無機水銀が検出されるが、このような水銀は、水銀とセレンのモル比が1の無毒で安定なセレン化水銀の金属粒子として存在することからセレンによる解毒作用が推定されている。缶詰類由来のマグロ肉のセレンによるメチル水銀毒性軽減効果は、1972年にGantherらによって報告されたが、当時、メチル水銀解毒に関わるセレン化合物は不明であった¹⁴⁾。メチル水銀の解毒作用をゼブ

ることが報告されている²³⁾。魚食によるセレノネイン摂取が酸化ストレスを軽減して、糖尿病リスクを低下させるどうか、動物実験や疫学調査によって検証する必要がある。

セレンはガンに対する予防効果あることが疫学調査で明らかにされている²⁴⁾。動物実験では、スーパーサプリメントメンテーションと呼ばれ、欠乏症が生じない、セレンが充足された摂取条件下で、ガン予防効果が生じることから、セレン代謝物の中に、発ガン抑制作用がある抗酸化成分の存在が示唆されていた²⁾。セレノネインは、その重要な候補分子である。

ヒトOCTN1トランスポーターの遺伝子多型は、リウマチ、慢性大腸炎、クローン病の発症との関連が見いだされている²⁵⁾。クローン病や慢性大腸炎の原因の一つとしてセレン欠乏との関連性も指摘されている²⁶⁻²⁸⁾。OCTN1遺伝子の変異や欠損とともに、魚食によるセレノネインの摂取不足は、生体抗酸化作用の低下をもたらし、これらの疾病のリスクが増大する可能性が考えられる。

おわりに

セレノネインは、生鮮魚だけでなく、高度に加工した缶詰やレトルト、しめさばなどの加工品にも検出された。このことから、セレノネイン含量の高い水産物は、重要なセレノネインの供給源であり、セレノネインを強化して抗酸化能を高めた食品の品質設計や開発が可能になると考えられる。魚食の健康機能性成分として高度不飽和脂肪酸(PUFA)が知られているが、PUFAの多い魚介類にはセレンも多く含まれるので、食事のアンケートに基づく疫学調査ではPUFAの生活習慣病予防効果が過大に評価されている可能性も考えられる。

今後、動物試験や疫学研究によって、魚食由来のセレンやPUFAなどの食品成分と生活習慣病予防効果

との関連性を明らかにする必要がある。

更に今回、国産で水揚げされた生サバを酵素分解して得られた原料「サバペプチド」も上知されており、セレノネイン含量の規格化も行い、今後新たな機能性が明らかになるかと思っている。

【参考文献】

- 1) 吉田宗弘：日本人のセレン摂取と血中セレン濃度. 日本栄養・食糧学会誌 **45** : 485-494, (1992).
- 2) 姫野誠一郎：セレン, 鈴木継美, 和田攻編：ミネラル/微量元素の栄養学, 第一出版, 東京, 423-445 (1994).
- 3) Yamashita Y, Amlund H, Suzuki T, Hara T, Hossain MA, Yabu T, Touhata K, Yamashita M : Selenoneine, total selenium, and total mercury content in the muscle of fishes. *Fish Sci* **77** : 679-686, (2011).
- 4) 山下倫明, 鈴木敏之, 横山芳博「水産学シリーズ 179巻, 魚食と健康—メチル水銀の生物影響」恒星社厚生閣, 1-152 (2014).
- 5) Yamashita Y, Yamashita M : Identification of a novel selenium-containing compound, selenoneine, as the predominant chemical form of organic selenium in the blood of bluefin tuna. *J Biol Chem* **285** : 18134-18138, (2010).
- 6) Yamashita M, Yamashita Y, Ando T, Wakamiya J, Akiba S. Identification and determination of selenoneine, 2-selenyl-*N*_a, *N*_a, *N*_a-trimethyl-L-histidine, as the major organic selenium in blood cells in a fish-eating population on remote Japanese islands. *Biol Trace Elem Res* **156** : 36-44, (2013).
- 7) Pluskal T, Ueno M, Yanagida M. Genetic and metabolomic dissection of the ergothioneine and selenoneine biosynthetic pathway

in the fission yeast, *S. pombe*, and construction of an overproduction system. *PLoS One*. **9**(5) : e97774 (2014).

- 8) 山下倫明, 今村伸太郎, 藪健史, 石原賢司, 山下由美子：ゼブラフィッシュ胚におけるセレノネインの生合成, 平成25年度日本水産学会秋季大会(2013).
- 9) Yamashita M, Yamashita Y. : Selenoneine in Marine Organisms. Springer Handbook of Marine Biotechnology (ed. by S.-K. Kim). Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, pp.1059-1069 (2015).
- 10) 山下由美子, 山下倫明, 藪健史 : 新規セレン含有化合物. 特開2011-121914, (2011).
- 11) 山下由美子, 鈴木珠水, 原竜朗, 今村伸太郎, モハメド A. ホセイン, 藪健史, 東畑顕, 山下倫明. セレン含有抗酸化物質セレノネインの静脈投与によるブリ血合筋のメト化抑制. 日水誌 **79** : 863-868, (2013).
- 12) 世古卓也, 石原賢司, 今村伸太郎, 山下由美子, 山下倫明：マグロ類由来セレン化合物セレノネインの色素沈着抑制効果. 平成29年度マリンバイオテクノロジー学会(2016).
- 13) 山下倫明, 今村伸太郎, 山下由美子：水産物のメチル水銀とセレン. 化学と生物 **50** : 807-817, (2012).
- 14) Ganther HE, Goudie C, Sunde M, Kopeckey M, Wagner S, Hoekstra W : Selenium : relation to decreased toxicity of methylmercury added to diets containing tuna. *Science* **175** : 1122-1124, 1972.
- 15) Yamashita M, Yamashita Y, Suzuki T, Kani Y, Mizusawa N, Imamura S, Takemoto K, Hara T, Hossain MA, Yabu T, Touhata K : Selenoneine, A novel selenium-containing compound, mediates detoxification mechanisms against methylmercury accumulation and toxicity in zebrafish embryo. *Marine Biotech*

ラフィッシュ胚やヒト細胞を用いて調べた結果、セレノネインやエルゴチオネインに特異的なトランスポーターOCTN1によって、メチル水銀が細胞外へ排出する経路が見出された。エキソソームと呼ばれる分泌顆粒を介してセレノネインとメチル水銀の複合体が排出される分子メカニズムが推定されている¹⁵⁾。

セレノネインの生物活性として、①ラジカル生成の防止、②捕捉したラジカルのエクソソームを介する分泌排出、③ヘム鉄の自動酸化防止、

④チオール基の化学修飾、⑤セレノタンパク質遺伝子の転写・翻訳調節、⑥レドックス状態のシグナル、⑦DNA損傷修復、⑧金属酵素阻害、などが推定された。このようなセレンによる生体抗酸化作用は、さまざまな細胞組織に寄与していることが考えられる¹⁶⁾。

3. 生活習慣病の予防効果

米国のSELECT研究では、前立腺がんの発症に対するセレンとビタミンEの効果が調査されたが、セレンサ

プリメントの摂取によるがんの予防効果は見られず、糖尿病リスクが増大することが示された¹⁷⁻¹⁹⁾。セレンの摂取によるグルタチオンペルオキシダーゼ1の活性化は、インスリンシグナルを低下させ、インスリン抵抗性を増大させると推定される¹⁹⁻²¹⁾。また、インスリンシグナルを低下させるヘパトカインとしてセレノプロテインPが産生されることが報告された²²⁾。

一方、わが国での糖尿病に関する大規模調査では、小型魚の摂取は、中年男性の糖尿病リスクを低下させ

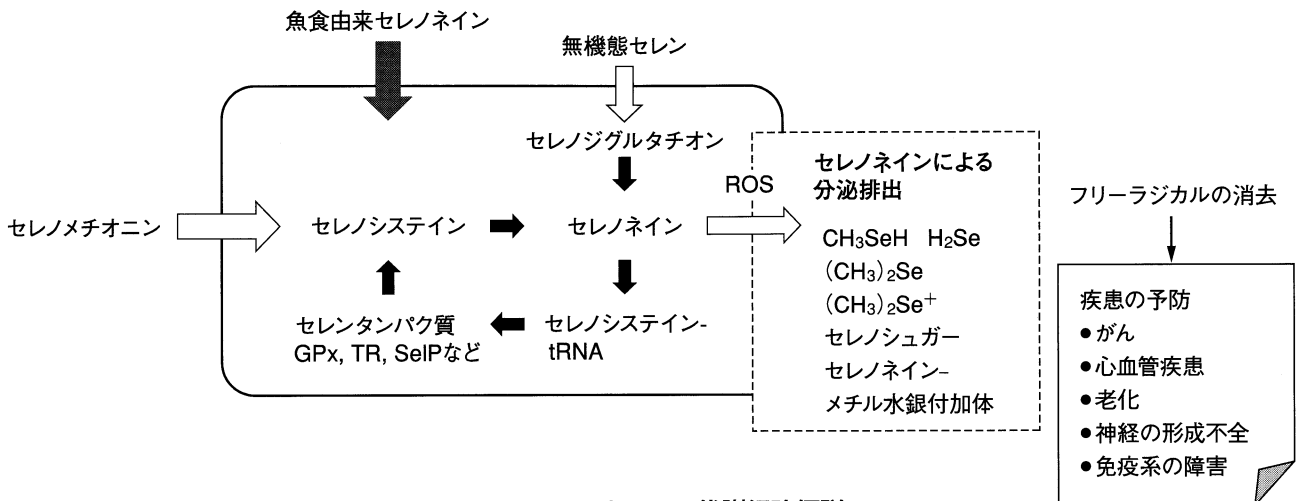


図2 セレノネインの代謝経路仮説

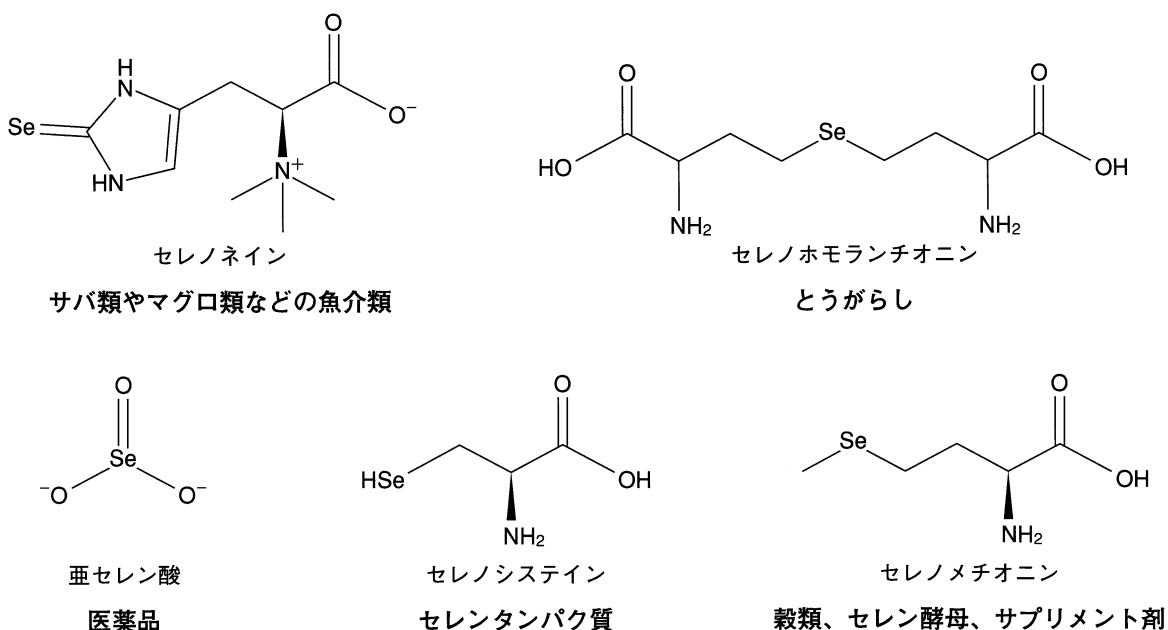


図3 主なセレン化合物の化学構造

- 15 : 559-570, (2013).
- 16) 山下倫明, 今村伸太朗, 藪健史, 石原賢司, 山下由美子: 水産物由来のセレン: セレノネインの栄養生理機能. *Biomed. Res. Trace Elements* **24** : 176-184, (2013).
- 17) Steinbrenner H, Speckmann B, Pinto A, Sies H : High selenium intake and increased diabetes risk : experimental evidence for interplay between selenium and carbohydrate metabolism. *J Clin Biochem Nutr* **48** : 40-45, (2011).
- 18) Stranges S, Marshall JR, Natarajan R, Donahue RP, Trevisan M, Combs GF, Cappuccio FP, Ceriello A, Reid ME : Effects of long-term selenium supplementation on the incidence of type 2 diabetes : a randomized trial. *Ann Intern Med* **147** : 217-223, (2007).
- 19) Rayman MP, Stranges S : Epidemiology of selenium and type2 diabetes : Can we make sense of it? *Free Radic Biol Med* **65** : 1557-1564 (2013).
- 20) Ezaki O : The insulin-like effects of selenite in rat adipocytes. *J Biol Chem* **265** : 1124-1128 (1990).
- 21) Chung SS, Kim M, Youn BS, Lee NS, Park JW, Lee IK, Lee YS, Kim JB, Cho YM, Lee HK, Park KS : Glutathione peroxidase 3 mediates the antioxidant effect of peroxisome proliferator-activated receptor gamma in human skeletal muscle cells. *Mol Cell Biol* **29** : 20-30, (2009).
- 22) Misu H, Takamura T, Takayama H, Hayashi H, Matsuzawa-Nagata N, Kurita S, Ishikura K, Ando H, Takeshita Y, Ota T, Sakurai M, Yamashita T, Mizukoshi E, Yamashita T, Honda M, Miyamoto K, Kubota T, Kubota N, Kadowaki T, Kim HJ, Lee IK, Minokoshi Y, Saito Y, Takahashi K, Yamada Y, Takakura N, Kaneko S. A : Liver-derived secretory protein, selenoprotein P, causes insulin resistance. *Cell Metab.* **12** : 483-495, (2010).
- 23) Nanri A, Mizoue T, Noda M, Takahashi Y, Matsushita Y, Poudel-Tandukar K, Kato M, Oba S, Inoue M, Tsugane S : Japan Public Health Center-based Prospective Study Group. Fish intake and type 2 diabetes in Japanese men and women : the Japan Public Health Center-based Prospective Study. *Am J Clin Nutr* **94** : 884-891, (2011).
- 24) Jackson M, Combs GF : Selenium and anticarcinogenesis : underlying mechanisms. *Curr Opin Clin Nutr Met Care* **11** : 718-726, (2008).
- 25) Kato Y, Kubo Y, Iwata D, Kato S, Sudo T, Sugiura T, Kagaya T, Wakayama T, Hirayama A, Sugimoto M, Sugihara K, Kaneko S, Soga T, Asano M, Tomita M, Matsui T, Wada M, Tsuji A : Gene knockout and metabolome analysis of carnitine/organic cation transporter OCTN1. *Pharm Res* **27** : 832-840, (2010).
- 26) Taubert D, Grimberg G, Jung N, Rubbert A, Schömig E : Functional role of the 503F variant of the organic cation transporter OCTN1 in Crohn's disease. *Gut* **54** : 1505-1506, (2005).
- 27) Rannem T, Ladefoged K, Hylander E, Hegnhj J, Jarnum S : Selenium status in patients with Crohn's disease. *Am J Clin Nutr* **56** : 933-937, (1992).
- 28) Xuan C, Zhang BB, Yang T, Deng KF, Li M, Tian RJ : Association between OCTN1/2 gene polymorphisms (1672C-T, 207G-C) and susceptibility of Crohn's disease : a meta-analysis. *Int J Colorectal Dis* **27** : 11-19, (2012).

● 筆者略歴 ●

やました みちあき
山下 倫明
Michiaki Yamashita

国立研究開発法人水産研究・教育機構水産大学校

1985年 京都大学農学部卒業。水産庁水産研究所を経て、2016年から水産大学校教授。

【博士(農学)研究テーマ】

セレンによる抗酸化の分子メカニズム、本能行動を司る分子。

【趣味】 釣り、野菜作り

やました ゆみこ
山下 由美子
Yumiko Yamashita

国立研究開発法人水産研究・教育機構中央水産研究所

中央水産研究所水産物応用開発研究センター安全性評価グループ長

1986年 埼玉大学大学院修了

2012年 東京大学博士(農学)

まつもと さとし
松本 聡
Satoshi Matsumoto

(株)エル・エスコレーション

開発部 部長

品質保証責任者

化粧品総括製造販売責任者