

生体内における Gold (Au) の分布

—高ペクチン食による影響—

片山(須川)洋子・小島明子・泉田明子¹⁾・平井宏子²⁾

Distribution of Gold (Au) in some organs of rats —Effect of high pectin diet—

YOHKO SUGAWA-KATAYAMA, AKIKO KOJIMA, AKIKO IZUTA¹⁾ and HIROKO HIRAI²⁾

Gold (Au) は本来、生体内には存在しない元素であるが、その有機態化合物である gold thioglucose (GTG) や goldthiomalate は、古くからリューマチ様関節炎の治療薬として使用されている^{1) 2)}。GTG をサル、ラット、マウス、モルモットなどの実験動物の腹腔内に投与した場合、Au は肝臓、腎臓、脾臓、副腎のような細網内皮系 (reticuloendothelial system) の組織に多く分布することが報告されている^{3) -5)}。

しかし、Au の生体内における代謝および詳細な作用機序については、未だよくわかっていない。

我々は、さきに Au の肝臓における挙動を観察して報告してきた。すなわち、GTG をマウスに投与すると、肝臓において lysosome のマーカーである β -galactosidase 活性が著しく増加してくること⁶⁾、肝類洞内の Kupffer 細胞ならびに内皮細胞の lysosome 内に Au が沈着してくることを電子顕微鏡によって観察した⁷⁾。また、投与された Au が肝実質細胞画分と肝類洞内細胞画分とに分布する割合、および GTG の投与後の経時的变化を放射化分析法によって調べた⁸⁾。

近年、栄養学分野では食物繊維の生理的役割が注目されている。

食物繊維は、大腸癌の発生を予防したり、血中コレステロール値を低下させたり、いろいろな有益な生理作用を持っていることが明らかにされつつある⁹⁾。さらに食物繊維には、生体外異物に対して吸収を阻害するという作用を有する。

本研究は、GTG を生体外異物のモデルとして使用し、生体外異物の体内分布におよぼす食物繊維の影響を知ることが目的とした。GTG を経口的に投与したラットにおいて、飼料中の食物繊維の種類ならびに量を変えた場合に、Au の生体内における挙動がどの様に影響されるかを調べた。

実験方法

I. 動物の飼育法

5週齢の Sprague Dawley 系雄ラットを1匹ずつケージに入れ、水と固形飼料(日本クレア株式会社製 CE-2)を自由に与えて1週間予備飼育した。

ラットを (1)5%セルロース食群(コントロール群)、(2)5%ペクチン食群、(3)10%ペクチン食群に分け、4週間飼育した。ペクチンはレモンから精製されたもの(和光純薬工業株式会社製、メトキシル基7%)を使用した。

また、ラットの飼育室の条件は、午前8時から午後8時まで蛍光灯で照明し、室温は23±1℃に調節した。

II. 飼料組成

各群の飼料組成は、Table 1 に示すとおりである。ビタミン混合、ミネラル混合はオリエンタル酵母株式会社製のものを使用した。

III. 放射化分析のための試料作製法

1. GTG (gold thioglucose) の経口投与

ラットを24時間絶食させ、5%セルロース食群、5%ペクチン食群および10%ペクチン食群のラットに GTG (0.4mg/g 体重) を含む飼料を摂食させた後、30分および3時間後にネブタール (0.2mg/100g 体重) によって麻酔した状態で解剖した。

2. 生体試料の採取

1) 新姓: 奥田 明子、現在 大阪市立大学医学部微細形態学教室

2) 新姓: 小川宏子、現在 奈良県立桜井保健所

Table 1 Composition of diets (%)

	5% Cellulose	5% Pectin	10% Pectin
Soy bean oil	5.0	5.0	5.0
Corn starch	63.0	63.0	58.0
Casein	20.0	20.0	20.0
Mineral mixture ^{A)}	5.0	5.0	5.0
Vitamin mixture ^{B)}	2.0	2.0	2.0
Cellulose	5.0	—	—
Pectin	—	5.0	10.0

A) Mineral mixture (100 g) contained $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 14.56 g; NaCl , 4.66 g; KH_2PO_4 , 25.72 g; NaH_2PO_4 , 9.35 g; Ca-lactate , 35.09 g; Fe-citrate , 3.18 g; MgSO_4 , 7.17 g; ZnCO_3 , 0.11 g; $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{-}5\text{H}_2\text{O}$, 0.12 g; $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 0.03 g; and KI , 0.01 g.

B) Vitamin mixture (100 g) contained Vitamin A-acetate (50,000 IU), 100 mg; Vitamin D₃ (10,000 IU), 0.25 mg; Vitamin E-acetate, 500 mg; Vitamin K₃, 520 mg; Vitamin B₁-hydrochloride, 120 mg; Vitamin B₂, 400 mg; Vitamin B₆-hydrochloride, 80 mg; Vitamin B₁₂, 0.05 mg; Vitamin C, 3,000 mg; D-Biothine, 2 mg; Folic acid, 20 mg; Pantothenic acid calcium salt, 500 mg; Nicotinic acid, 600 mg; Choline chloride, 20,000 mg; ρ -Aminobenzoic acid, 500 mg; Inositol, 600 mg; and Cellulose, 73,057.7 mg.

腹部大動脈より採血した後、すばやく肝臓、胃、小腸、大腸を採取した。

血液は注射針から血液を出し入れすることにより血球を壊して全血とした。胃は大弯部を切り開いて再蒸留水中でよく振り洗いし、胃壁をよく洗い、この洗浄液を胃内容物とした。

小腸は全長を測定した後、二分して小腸上部、下部とした。それぞれの小腸部位を縦軸に沿って切り開き、胃の場合と同様に再蒸留水中でよく振り洗いし、その洗浄液を小腸上部および下部の内容物とした。また、小腸粘膜をスライドガラスによって擦過し、小腸上部および下部粘膜を採取した。

大腸からも、胃や小腸と同様の操作をして大腸内容物を得た。

3. 放射化分析用試料の作製

肝臓、胃、小腸、大腸の消化管および小腸粘膜は、ハサミで細かく切り刻み、湿重量の9倍容の再蒸留水を加えてホモジェネートを作製した。

胃、小腸および大腸内容物は、そのままホモジェネイズした後、減圧下で約1/4の容積になるまで濃縮した。

このようにして得られた肝臓、血液、消化管、小腸粘膜、消化管内容物および尿は、 2×3 cmの濾紙（東洋濾紙No.50）に一定量をスポットし、ヘアードライヤーで乾燥させた。この濾紙を放射化分析用試料とした。

IV. 放射化分析法

1. 試料の封入

放射化分析用試料をポリエチレン袋に封入し、照射用カプセル（ニューマー）に入れて厳重に封をした。

一方、 $1 \mu\text{g}$ のAu量を濾紙にスポットしてポリエチレン袋に封入したものを、照射用カプセルにAuの標準として挿入した。

2. 試料の照射および測定

試料を封入したニューマーは、京都大学原子炉実験所（KUR）で5分間、熱中性子束（thermal neutron flux; $1.93 \times 10^{18} \text{cm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ）の条件下で照射した。

24時間冷却してから、ニューマーより各試料を取り出し、1つずつサンプルホルダーに詰め替えた後、試料中の ^{198}Au (n, γ)をGe (Li) 半導体検出器を装置した4000チャンネルの波高分析器を用いて、0.41 MeVのphoto peakを測定した。

3. データー処理計算^{10) 11)}

Covell法¹²⁾により、試料中の ^{198}Au (n, γ)に相当する計数値と、標準としたAuの計数値を比較して試料中のAu量を算出した。

実験結果

I. 各臓器へのAu分布

5%セルロース食群、5%ペクチン食群および10%ペクチン食群のラットにGTGを経口投与し、30分後および3時間後に解剖した。肝臓、血液、消化管、小腸粘膜、消化管内容物および尿を採取し、それらに含有されるAu量を放射化分析法によって測定した。

投与したGTG量を100%として、その何%が各臓器や消化管内容物中に分布したかをFig 1~3に示した。

1. 消化管内容物中のAu量 (Fig 1)

GTGの投与30分後におけるAu量は3群ともに近似の値を示した。

GTGの投与3時間後では、小腸および大腸内容物中のAu量は3群の間にほとんど差がなかったが、10%ペクチン食群の胃内容物中のAu量は、他の2群に比べて約1/2であった。

2. 肝臓および消化管中のAu量 (Fig 2)

GTGの投与30分後に肝臓、胃および大腸に分布する

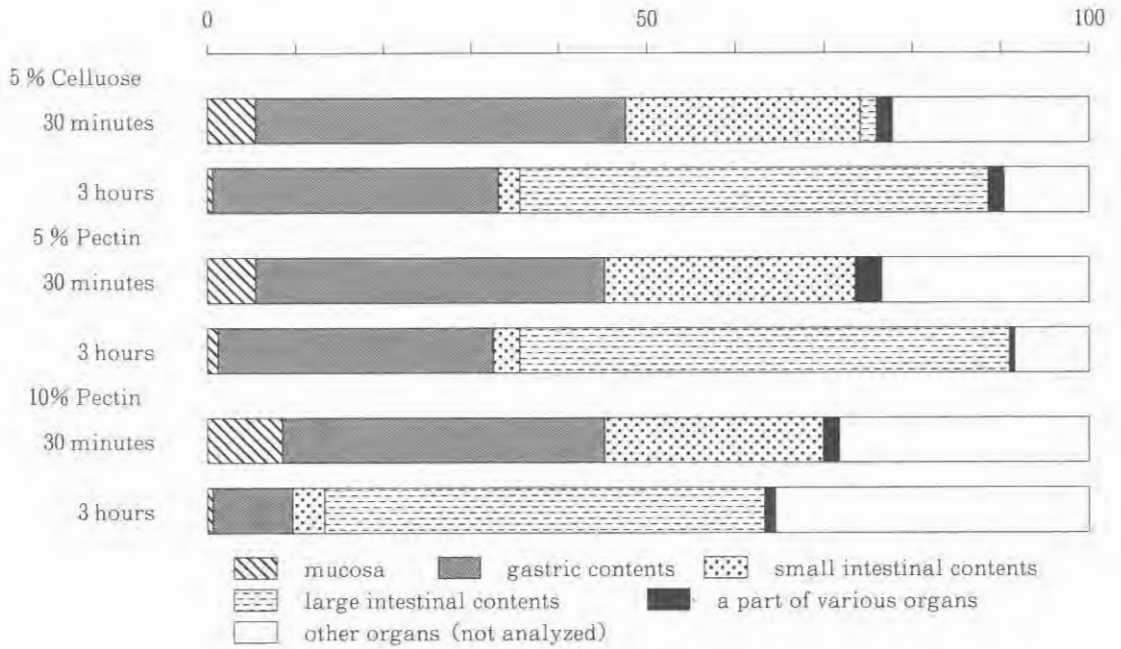


Fig 1 Au Distribution (%)

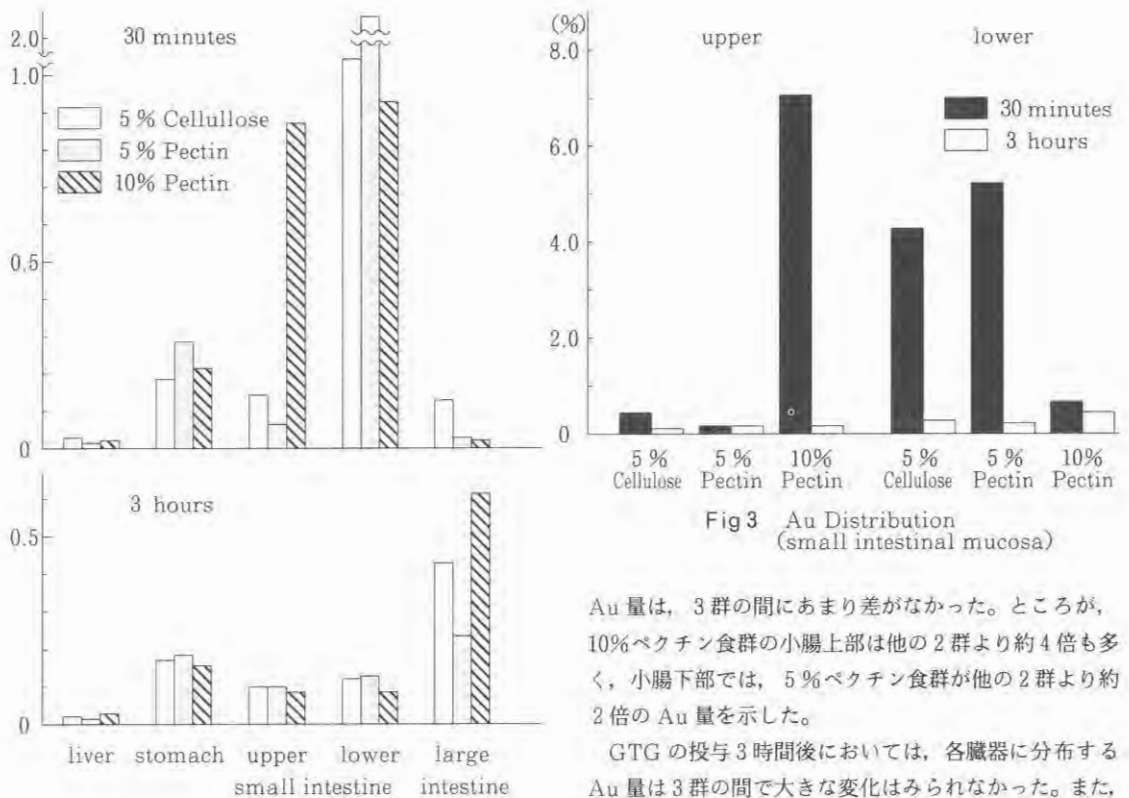


Fig 2 Au Distribution (%)

Fig 3 Au Distribution (small intestinal mucosa)

Au量は、3群の間にあまり差がなかった。ところが、10%ペクチン食群の小腸上部は他の2群より約4倍も多く、小腸下部では、5%ペクチン食群が他の2群より約2倍のAu量を示した。

GTGの投与3時間後においては、各臓器に分布するAu量は3群の間で大きな変化はみられなかった。また、各臓器ともAu総量は、投与30分後の約1/2を示した。

3. 小腸粘膜のAu量 (Fig 3)

GTGの投与30分後において、10%ペクチン食群のAu量が小腸上部に多く分布したのに対し、5%セルロース食群および5%ペクチン食群は、小腸下部に多く分布していた。一方、GTGの投与3時間後では、小腸粘膜上部、下部のAu量は3群の間に差はなかった。また、投与3時間後に小腸粘膜へ分布するAu総量は、投与30分後の1/5~1/8であった。

II. GTGの見かけの吸収率 (Table 2)

Table 2 Apparent absorption (%)^{*}
(n = 4)

	30 minutes	3 hours
5% Cellulose	22.8 ± 8.5	9.2 ± 3.8 ^a
5% Pectin	23.5 ± 10.9	7.2 ± 2.1 ^b
10% Pectin	27.9 ± 6.0	33.5 ± 15.2 [*]

* administered gold thioglucose (GTG) = 100%
Values are means ± SEM

★ Significant difference from 5% cellulose diet (3 hours), $p < 0.05$

☆ Significant difference from the 5% cellulose diet (30 minutes), $p < 0.05$

胃、小腸および大腸内容物中のAu量を吸収されなかったAu量とみなし、これらの和を100から差し引いた値を見かけの吸収率(%)として算出した。

GTGの投与30分後の見かけの吸収率は10%ペクチン食群がやや高い値を示し、他の2群はほぼ同じ値となった。GTGの投与3時間後の見かけの吸収率は、10%ペクチン食群が有意に高い値を示した。5%セルロース食群および5%ペクチン食群の見かけの吸収率は、ほとんど差がなく、投与30分後の値よりも有意に低い値を示した。

考 察

GTGの投与30分後における5%セルロース食群、5%ペクチン食群および10%ペクチン食群の見かけの吸収率は近似な値を示した。投与3時間後における5%セルロース食群および5%ペクチン食群の見かけの吸収率が、投与30分後に対して有意に減少したことは、小腸より吸収されたGTGが腸肝循環によって排泄されたものと思われる。これはGTGの投与3時間後の大腸内容物中のAu量が投与30分後の値よりも有意に多いこと (Fig 2) から推察される。

ところが、投与3時間後における10%ペクチン食群で見かけの吸収率は、他の2群に比べて有意に高く、さ

らに投与30分後の見かけの吸収率よりも高いという特異な傾向がみられた。これは10%ペクチン食で4週間飼育したラットの胃、小腸表層の走査型電子顕微鏡像に異常が観察された¹⁾ことも考えあわせて、高ペクチン食によって消化管の微細構造が乱れ、吸収機能にも異常を生じたものと推察される。

以上のことにより、飼料中の食物繊維の含有量が適量以上になると、消化管の微細構造に異常が現れ、それにもなって吸収機能にも異常を生じ、したがって生体外異物、GTGの吸収に対しての阻害作用も低下したものとと思われる。

要 約

ラットを (1)5%セルロース食群、(2)5%ペクチン食群、(3)10%ペクチン食群の3群に分け、4週間飼育した。24時間絶食後、GTGを経口的に投与し、30分および3時間後に解剖した。

肝臓、血液、消化管、小腸粘膜、消化管内容物および尿を採取し、放射化分析法によってAu量を測定した。

1. 5%セルロース食群および5%ペクチン食群の臓器へのAu分布は、よく似た傾向を示した。
2. 5%セルロース食群および5%ペクチン食群の見かけの吸収率は、GTGの投与30分後に比べて3時間後は有意に減少した。これは吸収されたGTGが腸肝循環によって排泄されたことを示唆している。
3. GTGの投与3時間後における10%ペクチン食群のAuの見かけの吸収率は最も高かった。この結果から生体外異物に対する吸収阻害能力の低下したことが示唆される。

本研究の放射化分析は京都大学原子炉実験所 (KUR) の共同利用によって行った。

文 献

- 1) K. Lande: Muench. Med. Wochenschr. 74, 1132, (1927)
- 2) J. Forestier: Bull. Mem. Soc. Med. Hop., 53, 323, (1929)
- 3) R. P. Sharma and E. G. McQueen: Clin. Exp. Pharmacol., 6, 561, (1979)
- 4) R. mason and M. kingsford: Biochem. Pharmacol. 28, 3637, (1979)
- 5) Y. Sugawa-Katayama, H. Koishi, and H. Danbara: J. Nutr., 105, 957, (1975)
- 6) 片山 (須川) 洋子, 山下和子, 壇原 宏: 日本栄養・

- 食糧学会誌, 34, 29, (1981)
- 7) Y. Sugawa-Katayama, E. Wisse, H. Van der Meulen and W. De Bruijn: *Biomed. Res.*, 3, 606, (1982)
- 8) 片山 (須川) 洋子, 小松啓子: *細胞*, 22, 18, (1990)
- 9) 印南 敏, 桐山修八編: *食物繊維*, 第一出版, (1982)
- 10) 橋本芳一編: *放射化分析の実際*, 講談社サイエンティフィック, (1978)
- 11) 日本生化学会編: *生化学実験講座6 トレーサー実験法* 下, 東京化学同人, (1977)
- 12) D. F. Covell: *Anal. Chem.*, 31, 1785, (1959)
- 13) 泉田明子: 大阪市立大学大学院 生活科学研究科修士論文, (1985)
- (平成3年10月11日受理)

Summary

We studied gold distribution in rats administered gold thioglucose, in order to know effect of dietary fiber on absorption of xenobiotics.

Sprague Dawley strain rats were divided into three groups; 5% cellulose diet (control), 5% pectin diet and 10% pectin diet. Each group was fed with respective diet for four weeks. Gold thioglucose (0.4 mg/g body weight) was given orally to the fasted rats. After 30 or 180 minutes, rats were anatomized.

Gold distribution in various organs was determined by neutron activation analysis.

Between 5% cellulose diet and 5% pectin diet there were similar distributions of gold in liver, stomach, large intestine, and gastrointestinal contents.

In above both groups, the decrease of gold absorption was observed after 180 minutes. This suggests that liver-intestine cycle may work normally.

In 10% pectin diet, however, apparent absorption of gold was significantly increased, especially after 180 minutes.

These results suggested that the high pectin diet lose the ability to protect for absorption of xenobiotics such as gold.