

馬に対するセレンウムとトコフェロール大量投与後の血液と 臓器中濃度

誌名	日本獣医師会雑誌 = Journal of the Japan Veterinary Medical Association
ISSN	04466454
著者	一条, 茂 納, 敏 竹田, 孝夫
巻/号	45巻1号
掲載ページ	p. 8-12
発行年月	1992年1月

馬に対するセレンウムとトコフェロール大量投与後の血液と臓器中濃度

一条 茂 納 敏 竹田孝夫 更科孝夫

帯広畜産大学畜産学部（帯広市稲田町，〒080）

（平成2年11月15日受付・平成3年8月1日受理）

Concentrations of Selenium and Tocopherol in the Blood and Organs of Horses
Administered with Large DosisSHIGERU ICHIJO, SATOSHI OSAME, TAKAO TAKEDA and TAKAO SARASHINA (Obihiro University
of Agriculture and Veterinary Medicine, Obihiro, Hokkaido 080)

SUMMARY

A high dosis of E・SE (contains 2.5 mg of selenium and 50 mg of d- α -tocopherol in 1 ml) was injected intramuscularly into three horses and the changes of their concentrations in the blood and organs after administration were determined.

In a horse injected once with E・SE at 8.3 ml/100 kg, increases of from 149.8 to 225.3 ppb in serum selenium and from 676.8 to 1369.6 μ g/100 ml in serum tocopherol were observed during a 6-day examination period, while no increase in activity was seen as regards blood glutathioneperoxidase.

In a horse injected twice at a 7-day interval with 8.6 ml/100 kg of E・SE increases of from 146.0 to 369.9 ppb in serum selenium and from 544.6 to 1443.6 μ g/100 ml in serum tocopherol were observed during a 2-week examination period, but no increase in the blood glutathioneperoxidase activity was seen.

In a horse received six injections at a 10 day interval with 5.72 ml/100 kg of S・SE, increases of from 72.6 to 119.2 ppb in serum selenium and from 386.5 to 448.3 μ g/100 ml in serum tocopherol were observed during the 60-day examination period. A slight increase in the blood glutathioneperoxidase activity was also observed after 40 days of administration. Selenium and α -tocopherol concentrations in the organs were determined 6 to 10 days after the termination of the experiment. The selenium concentrations in the liver, spleen and kidneys were higher than those of the control horses. The α -tocopherol concentrations in the liver, adrenal glands, spleen, skeletal muscle and kidneys were higher than those of the control horses.

No clinical symptoms were observed in any of the horses examined.

—Key Words : horses, selenium, tocopherol, large dosis.

-----J. Jpn. Med. Vet. Assoc., 45, 8~12 (1992)

要 約

3頭の馬に対しE・SE剤（1ml中にSe 2.5 mg, d- α -tocopherol acetate 50 mgを含有）の大量筋肉内投与（1回量：5.72～8.6 ml/100 kg）を行い、投与後の臨床所見、血中濃度、臓器含量について検討した。

E・SE剤8.3 ml/100 kgの1回注射例では6日間の観察期間中、血清Se値が149.8～225.3 ppb、血清トコフェロール値(Toc)が676.8～1369.6 mg/100 mlの範囲の高値を示したが、血液GSH-Px活性値は増加しなかった。

E・SE剤8.6 ml/100 kgの7日間隔、2回注射例では2週間の観察期間中、血清Se値は146.0～369.9 ppb、血清Toc値は544.6～1443.6 μ g/100 mlの高値を示したが、血液GSH-Px活性値は増加しなかった。

E・SE 5.72 ml/100 kgの10日間隔、6回注射例では60日間の観察期間中、血清Se値は72.6～119.7 ppb、血清Toc値は386.5～448.3 μ g/100 mlの高値となったが、血清GSH-Px活性値は40日以降に軽度増加したのみであった。

試験終了時の供試馬の各臓器のSe含量では肝臓、脾臓、腎臓が対照馬に比べ高値を示した。臓器の α -Toc含量では肝臓、副腎、脾臓、骨格筋、心筋、腎臓が対照馬に比べ高値であった。供試馬はいずれも臨床所見の異常がみられなかった。—キーワード：馬、セレンウム、トコフェロール、大量投与。

-----日獣会誌 45 8～12 (1992)

表1 E・SE剤の筋肉内投与試験の供試馬

No.	種類	年齢	性別	投与量 (mg/100kg)		投与回数	投与間隔 (日)	総投与量 (mg)		観察日数
				セレンウム	トコフェロール			セレンウム	トコフェロール	
1	重種	6	雌	20.7	416	1		100	2000	6
2	重種	15	雌	21.5	430	2	6	200	4000	13
3	重種	3	雄	14.3	286	6	10	300	6000	60

*E・SE剤：1 ml中にSe（亜セレン酸ナトリウムとして）2.5mg, Toc（d- α -tocopherol acetateとして）50mgを含有

最近、セレンウム (Se) とトコフェロール (Toc) の摂取不足と関連の深い馬の諸疾患の発生が報告されている^{10,22)}。わが国の場合にも土壌と粗飼料はSeが欠乏状態であることと、Tocは飼料の貯蔵期間中に酸化的破壊を受けて含量の低下をみる事が明かにされており、両成分の欠乏による疾病発生の危険が指摘されている^{10,11)}。

このため、馬の生産地では子馬の白筋症（栄養性ミオパシー）等の予防目的で妊娠馬に対するSe, Tocの投与が行われているが⁹⁾、その投与量や投与方法についてはまだ検討が不十分である。

われわれは先報¹²⁾において、馬に対するSe, Toc剤の経口および筋肉内投与試験を行った結果、投与後の血清SeとToc値の上昇を期待する場合は筋肉内投与が経口投与よりすぐれていることを報告した。また、筋肉内投与量としては一般投与量の1回量Se 5 mg/100 kg, Toc 100 mg/100 kg (E・SE剤として2.0 ml/100 kg)で2～3週間程度の血中濃度の上昇が認められたが、投与効果をあげるためのSe, Toc濃度の持続および血液グルタチオンペルオキシダーゼ (GSH-Px) 活性値の上昇を期待するためにはこの投与量ではやや不十分であると考えられた。いっぽう、野外では情報不足等もあって、より確実な効果を期待して上記の量を上回るE・SE剤の投与が行われている。そこで馬に対して大量筋肉内投与したSe, Tocが効果的に利用されるか否かの参考所見を得る目的で、投与後の血中濃度、臓器含量等の検討を行った。

材料および方法

供試馬には3～15歳の正常馬（体重350～483 kg）3頭（No.1～3）を使用し、先報¹²⁾で血中濃度の上昇が期待できるとした一般投与量（1回投与量でSe 5 mg/100 kg, Toc 100 mg/100 kg）の2.8～4.3倍量のE・SE剤（米国, BURNS社）の筋肉内投与を行った（表1）。すなわち、1回投与量はSe 14.3～21.5 mg/100 kg, Toc 286～430 mg/100 kgとし、投与回数ではNo.1が1回投与（総量：Se 100 mg, Toc 2000 mg）、No.2が6日間隔で2回投与（総量：Se 200 mg, Toc 4000 mg）、No.3は10日間隔で6回投与（総量：Se 300 mg, Toc 6000 mg）を行った。

表2 成馬 (No.1) に対するE・SE剤1回筋肉内投与後の血清セレンウム値、血液グルタチオンペルオキシダーゼ活性および血清トコフェロール値の変化

日数	1	2	3	4	5	6
E・SE注射	* *					
血清セレンウム (ppb)	23.4	225.3	166.7	150.8	148.1	149.8
血液グルタチオンペルオキシダーゼ活性 (e. u)	12.5	12.4	13.3	11.7	13.3	13.9
血清トコフェロール (μ g/100ml)	232.7	1258.5	1369.6	1176.5	806.4	676.8

*E・SE剤注射量：体重100kg当たりSe 20.7mg, Toc 414mg

供試馬はE・SE剤投与後の臨床所見、血液の形態学および生化学的所見、血清のSeとToc値、血液グルタチオンペルオキシダーゼ (GSH-Px) 活性値について測定した。また、E・SE剤投与終了日の6日後 (No.1と2) および10日後 (No.3) にそれぞれ放血殺を行って諸臓器のSeと α -Toc含量の測定ならびに病理学的検査を実施した。

血清Toc値は蛍光法¹⁾、臓器の α -Toc値は高速液体クロマトグラフ法^{2,3)}、血清と臓器のSe値は蛍光法^{19,20)}、血液GSH-Px活性値はPaglia-Valentine法²¹⁾により測定した。なお、臓器のSe, α -Toc含量の対照として、血清Se値が76.9および76.7 ppb、血清Toc値が373.2および842.0 μ g/100 mlと正常値を示した2頭の成馬（雌, 8歳, サラブレッド種）を使用した。

成績

臨床所見

供試した3頭には試験期間中の異常症状は認められなかった。

血液のSe, Toc値およびGSH-Px活性値

1回投与例 (No.1) (表2) :

血清Se値; 投与前は23.4 ppbであったが、投与1日後には225.3 ppbと著増し、以後漸減したものの6日後でも149.8 ppbと高値を示した。

血液GSH-Px活性値; 投与前は12.5 e.uで、投与後に増加の傾向がみられず6日間の試験期間中は11.7～13.9 e.uの範囲で推移した。

血清Toc値; 投与前は232.7 μ g/100 mlであったが、

表3 成馬 (No. 2) に対する E・SE 剤 1 回筋肉内投与後の血清セレンウム値, 血液グルタチオンペルオキシダーゼ活性および血清トコフェロール値の変化

日 数	0	1	2	3	5	7	8	9	10	11	13
E・SE注射	・*					・					
血清セレンウム (ppb)	46.6	227.3	175.5	125.0	141.2	146.0	369.9	231.7	201.0	169.9	172.9
血液グルタチオンペルオキシダーゼ活性 (e. u)	14.8	13.0	15.1	13.3	16.1	15.0	15.4	15.5	16.7	16.4	17.8
血清トコフェロール ($\mu\text{g}/100\text{ml}$)	174.5	1443.6	1110.5	912.2	687.4	544.6	1224.1	1099.9	780.0	552.6	547.3

*E・SE 剤注射量: 体重 100kg 当たり Se 21.5mg, Toc 430mg

表4 成馬 (No. 3) に対する E・SE 剤 6 回筋肉内投与後の血清セレンウム値, 血液グルタチオンペルオキシダーゼ活性および血清トコフェロール値の変化

日 数	0	10	20	30	40	50	60
E・SE注射	・*	・	・	・	・	・	・
血清セレンウム (ppb)	28.0	72.6	110.3	111.3	119.7	105.6	113.0
血液グルタチオンペルオキシダーゼ活性 (e. u)	14.4	14.9	11.1	11.5	17.4	16.4	19.1
血清トコフェロール ($\mu\text{g}/100\text{ml}$)	231.0	256.2	386.5	448.3	418.5	409.4	414.0

*E・SE 剤注射量: 体重 100kg 当たり Se 14.3mg, Toc 286mg

投与 1 日後から急増して 2 日後には最高値 ($1369.6 \mu\text{g}/100 \text{ml}$) を示し, 以後漸減したものの 6 日後でも $676.8 \mu\text{g}/100 \text{ml}$ と高値であった。

2 回投与例 (No. 2) (表 3):

血清 Se 値; 投与前は 46.6 ppb であったが, 投与 1 日後に急増して 227.3 ppb となり, 以後は漸減したものの 7 日後でも高値 (146.0 ppb) を示した。

血液 GSH-Px 活性値; 投与前は 14.8 e.u であったが, 1 回目および 2 回目投与後も活性の増加がみられず, 試験期間中は 13.0 ~ 17.8 e.u の低活性の範囲で推移した。

血清 Toc 値; 投与前は $174.5 \mu\text{g}/100 \text{ml}$ で, 投与 1 日後に著増 ($1443.6 \mu\text{g}/100 \text{ml}$) し 7 日後でも $544.6 \mu\text{g}/100 \text{ml}$ と高値を示した。また, 2 回目投与の 1 日後 (投与開始 8 日目) に再度著明な増加 ($1224.1 \mu\text{g}/100 \text{ml}$) を示し, 6 日後 (投与開始 13 日目) でも $547.3 \mu\text{g}/100 \text{ml}$ の高値であった。

6 回投与例 (No. 3) (表 4):

血清 Se 値; 投与前は 28.0 ppb で, 10 日後は 72.6 ppb, 20 日後は 110.3 ppb と増加し, その後 60 日後までの 10 日間隔での測定値は 105.6 ~ 119.7 ppb の範囲の高値が続いた。

血液 GSH-Px 活性値; 投与前は 14.4 e.u で, 投与開始 30 日後までは活性の増加がみられず, 40 日後 (17.4 e.u) および 60 日後 (19.1 e.u) に軽度に増加した。

血清 Toc 値; 投与前は $231.0 \mu\text{g}/100 \text{ml}$ で, 20 日後から増加 ($386.5 \mu\text{g}/100 \text{ml}$) がみられ, 30 日後以降は $409.4 \sim 448.3 \mu\text{g}/100 \text{ml}$ の範囲で投与前値を上回る値

が続いた。

血液の形態学的ならびに生化学的検査所見

形態学的検査: 供試期間中の赤血球数, 白血球数, PCV および白血球百分比はいずれの供試馬においても著変がみられなかった。

生化学的検査: 供試期間中の血清の総蛋白量, 蛋白分画, BUN, 総ビリルビン, 酵素活性 (GOT, GPT, ALP, CPK, LDH) には著変が認められなかった。

臓器の Se と α -Toc 含量

Se 含量 (表 5): 対照馬と比べて供試馬 3 頭の脾臓, 肝臓の Se 含量は高値であり, 特に肝臓では対照馬が平均 307.4 ppb であったのに対し, No. 1 は 537.8 ppb, No. 2 は 594.5 ppb, No. 3 は 426.4 ppb といずれも Se 含量の増加が明瞭であった。腎臓は 2 頭 (No. 1: 1687.6 ppb, No. 3: 1211.7 ppb) が対照 (平均 987.2 ppb) より高含量を示したが, 骨格筋, 肺, 心筋, 副腎では対照馬と差異がみられなかった。また, 臓器の Se 含量と Se の総投与量との間には量的な相関性がみられなかった。

α -Toc 含量 (表 6): 対照馬と比べ供試馬 3 頭の骨格筋, 心筋, 副腎, 脾臓, 肝臓の α -Toc 含量が高く, 特に副腎では対照馬が平均 $5.85 \mu\text{g}/\text{g}$ であったのに対して, 供試馬ではいずれも 2 倍以上 (No. 1: $12.83 \mu\text{g}/\text{g}$, No. 2: $20.37 \mu\text{g}/\text{g}$, No. 3: $17.36 \mu\text{g}/\text{g}$) の高含量であり, その他心筋, 肝臓でも Toc の投与量とほぼ並行して α -Toc 含量が増加する傾向がみられた。

病 理 学 的 所 見

供試馬 3 頭の諸臓器の肉眼的ならびに病理組織学的検査ではいずれの例にも異常所見がみられなかった。

考 察

先報¹²⁾でわれわれは Se と Toc の経口投与剤と筋肉内投与剤の馬への投与後の血中濃度変化について検討した。その結果, 一般投与量では経口剤に比べて筋肉内投与 (E・SE 剤) での 1 回量 $2 \text{ml}/100 \text{kg}$ (Se で $5 \text{mg}/100 \text{kg}$, Toc で $100 \text{mg}/100 \text{kg}$) 投与により, 低 Se および低 Toc 血症馬の血液両成分値を投与後 2 ~ 3 週間にわたり正常値 (血清 Se 値で 65 ppb 以上¹⁰⁾, 血清 Toc 値で $200 \mu\text{g}/100 \text{ml}$ 以上¹⁰⁾) に増加させることができ

表5 E・SE 剤筋肉内投与後の供試馬の臓器のセレンウム含量

供試馬	セレンウムの総投与量 (mg)	臓器のセレンウム含量 (ppb)						
		骨格筋	肺	心筋	副腎	脾臓	肝臓	腎皮質
1	100	73.9	166.0	123.8	422.1	294.9	537.8	1687.6
2	200	72.6	135.7	161.8	213.2	361.2	594.5	897.2
3	300	39.2	184.4	136.0	240.0	322.4	426.4	1211.7
対照馬 (2頭の平均)		88.3	148.0	172.1	317.6	221.6	307.4	987.2

表6 E・SE 剤の筋肉内投与後の供試馬の臓器 α -トコフェロール含量

供試馬	トコフェロールの 総投与量 (mg)	臓器の α -トコフェロール含量 (μ g/g)						
		骨格筋	肺	心筋	副腎	脾臓	肝臓	腎皮質
1	2000	7.87	5.47	10.75	12.83	16.11	17.09	4.22
2	4000	5.30	9.77	13.69	20.37	17.71	28.37	7.21
3	6000	7.24	6.80	22.83	17.36	16.02	38.96	7.20
対照馬 (2頭の平均)		3.05	6.61	7.76	5.85	6.56	11.70	4.38

ることを認めた。したがって、子馬白筋症の予防にはこの一般投与量を妊娠馬に1カ月以内の間隔で投与することが望ましいことが示唆された。

いっぽう、これまで馬に対するE・SE剤投与後の血中濃度の検討がほとんど行われていないという実情もあって、実際の野外応用では上記一般投与量を上回る大量投与も行われている。今回、われわれは一般投与量の2.8～4.3倍量(1回投与量)のE・SE剤について3頭の成馬を1回投与例、2回投与例(6日間隔)、6回投与例(10日間隔)に分けて投与し、それぞれ投与後の血中濃度の変化を中心に検討した。その結果、血清Se値では投与前の供試馬3頭がすべて低Se血症(23.4～46.6ppb)であったが、投与1日後では20ppb以上に増加し、かつ1週間後でも140ppb以上の高値を示した。さらに、6回投与例(No.3)では20日以降の血清Se値が105.6～119.7ppbの範囲内ではほぼプラトー状態を示した。

MAYLINら¹⁶⁾もE・SE剤10ml当て1週間間隔での投与を続けると血液Se値は170～190ppbの範囲内でプラトーに達したと報告しており、これを血清Se値に換算するとわれわれの成績から得られた血清プラトー値にはほぼ一致する。このように亜セレン酸ナトリウムの大量投与後の血清Se値が一定の範囲内でプラトーとなるのは、強制的に負荷したSeが諸臓器に取込まれる一方、Seの体外排泄作用^{7,13)}も加わって体内での大量蓄積を抑制している現われと推測された。今回の供試馬の2頭では腎臓のSe含量(No.1:1687.6ppb, No.3:1211.7ppb)が対照馬(平均987.2ppb)より高値を示したことは、大量投与されたSeが吸収後、その一部が腎より尿中に排泄される過程で一部が腎組織に残留したことを伺わせた。また、試験期間において供試馬の臨床所見、血液の形態学および一般の生化学的所見に異常変化が

みられなかったが、今回の投与は1回量が一般投与量の5倍以下の大量負荷であったため、血清Se濃度も中毒量といわれる3ppm⁴⁾と比べても最高値で0.369ppm(2回投与例)に止まったこと、さらに羊での中毒量^{5,6)}(1回でSe0.455mg/kg筋注)と比べても最高量で0.215mg/kgと少なかったためと考えられた。

次に、今回測定した供試馬の投与後の臓器内Se含量では、特に馬におけるSeの主要貯蔵臓器¹⁰⁾と考えられる肝臓(426.4～594.5ppb)と脾臓(294.9～361.2ppb)では対照馬(肝臓:平均307.4ppb, 脾臓:平均221.6ppb)を上回る高含量であった。したがって今後馬でのSe毒性試験を実施の場合、両臓器が腎臓とあわせて生体内Seの蓄積の指標となりうるものと推量された。しかし、今回の臓器Se含量を羊のSe中毒例で報告¹⁴⁾された肝Se含量(20000～30000ppb)と比べると非常に低含量であって、今回のような総Se投与量300mgを越えない大量負荷の範囲では中毒症状を起すような血中および臓器Se濃度にまで達しなかった結果と判断された。

また、今回のE・SE剤大量投与でも血液GSH-Px活性値の増加は不明瞭で、投与40～60日以後に遅延してやや増加の傾向を示したが、この所見は先報¹²⁾でのE・SEの一般投与量の場合と差のない成績であった。この理由から、Seが生体内で有効利用されるためには投与後血清中に増加したSeが速かに赤血球内GSH-Pxに取込まれる必要があるが¹⁷⁾、今回投与した亜セレン酸ナトリウムのような無機Seは有機Se(セレノメチオン、セレノシステイン等)に比べGSH-Pxへの取込み率が $\frac{1}{6}$ ～ $\frac{1}{10}$ と非常に低いためと考えられ¹⁵⁾、同様の成績を最近われわれは羊への無機Seと有機Seの投与試験から得ている¹⁸⁾。したがって、今回行った無機Se大量投与でも先報の一般投与量と比べてGSH-Px活性値の増加

の面で有効であるとの根拠が得られなかったのはその利用性が低いためとも推測されるが、これについては今後の検討が必要であろう。

Toc の 1 回量 286 ~ 430 mg/100 kg の投与により血清 Toc 値は 1 日後から著明に増加して 6 ~ 7 日後でも投与前値をはるかに上回る値を示した他、同量を 10 日間隔で反復投与することにより高い血清 Toc 値が維持できた。また、投与後の骨格筋、心筋、副腎、脾臓、肝臓のいずれにおいても α -Toc 含量は対照馬と比べても明瞭な高値を示していた。すなわち、投与後血中で増加した Toc はあらゆる臓器に取込まれ、とりわけ副腎と肝臓での含量増加がラット実験例⁹⁾と同様著明になることが知られたことになり、この点で大量投与の効果は一応あったと推測された。

なお、今回の試験成績からみて、投与効果をよりあげるうえで今後 E・SE 剤における Toc と Se の配合割合を見直すことも検討課題であると考えられた。

引用文献

- 1) 阿部浩一, 勝井五一郎: 栄養と食糧, 28, 277~280 (1975).
- 2) 阿部浩一, 勝井五一郎: ビタミン, 49, 259~263 (1975).
- 3) 阿部浩一, 大前雅彦, 勝井五一郎: ビタミン, 50, 453~457 (1976).
- 4) BLOOD D. C., RADOSTITS D. M., HENDERSON J. A., et al.: *Veterinary Medicine*. 6th ed. 1103, Bailliere Tindall (1983).
- 5) CARAVAGGI C., CLARK F. L.: *Aust. Vet. J.*, 45, 383 (1969).
- 6) CARAVAGGI C., CLARK F. L. and JACKSON A. R. B.: *Res. Vet. Sci.*, 2, 146~149 (1970).
- 7) CONRAD H. R. and MOXON A. L.: *J. Dairy Sci.*, 62, 404~411 (1979).
- 8) FAUD J. and McNALLY W. P.: *Arch. Int. Pharmacodyn.*, 250, 4~17 (1981).
- 9) 長谷川光弘, 松本知之, 一条 茂, ほか: 日獣会誌, 38, 525~530 (1985).
- 10) HIGUCHI T., ICHIJO S., OSAME S., et al.: *Jpn. J. Vet. Sci.*, 51, 52~59 (1989).
- 11) 一条 茂, 納 敏, 竹田孝夫: 日獣会誌, 41, 565~570 (1988).
- 12) 一条 茂, 納 敏, 竹田孝夫, ほか: 日獣会誌, 44, 700~706 (1991).
- 13) JACOBSSON S. O., OKSANEN H. E. and HANSSON E.: *Acta. Vet. Scand.*, 6, 299~312 (1965).
- 14) KUTTLER K. L., MARBLE D. W. and BLINCO C.: *Amer. J. Vet. Res.*, 22, 422~428 (1961).
- 15) LYONS D. E., HAWKES C. W. and FORSTROM J. W.: *Federation Proceeding*, 37, 1335 (1978).
- 16) MAYLIN G. A., RUBIN D. S. and LEIN D. H.: *Cornell Vet.*, 70, 272~289 (1980).
- 17) McMURRAY C. H.: *Proceeding of the Rochee Symposium*, London, Oct. 23 (1980).
- 18) 大島茂幸, 納 敏, 一条 茂: 日獣会誌, 43, 784~788 (1990).
- 19) OLSON O. E.: *J. AOAC*, 52, 627~634 (1969).
- 20) OLSON O. E., PALMER I. S. and CARY E. E.: *J. AOAC*, 58, 115~121 (1975).
- 21) PAGLIA O. E. and VALENTINE W. N.: *J. Lab. Clin. Med.*, 70, 158~169 (1967).
- 22) SI-KWANG L., DOLENSEK E. P., ADAMS C. R.: *J. Amer. Vet. Med. Assoc.*, 183, 1266~1268 (1983).