2.6　非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.1　諸言

2.6.1　緒言

2.6.1.1　薬理的特性及び化学構造

亜セレン酸ナトリウム（Na）注射剤は、イギリス、ドイツ、フランス、韓国などでセレン（Se）欠乏症における Se 補充を目的に医薬品として承認されており、アメリカ静脈経腸栄養学会（ASPEN）[1)]及び欧州静脈経腸栄養学会（ESPEN）[2)]のガイドラインでは、静脈栄養時における Se の 1 日推奨量が明記されている。一方、本邦では類薬は承認されていないため、一部の病院では院内 Se 製剤を Se 欠乏症患者に投与している現状である。

必須微量元素のひとつである Se は、セレノシステインの構成成分であり、セレノシステインを含有する機能性タンパク質はセレノプロテインと称される。セレノプロテインは、抗酸化作用、甲状腺ホルモン代謝、精子の成熟など、様々な生理的役割を担っている。Se は食物中に含有されていることから、消化管での吸収障害や食物からの Se 摂取が困難である場合などを除き、健康人が Se 欠乏症になることはほとんどないが、中心静脈栄養などの栄養管理療法施行患者においては、栄養管理療法に使用される製剤中の Se 含有量が不十分なことに起因し、Se 欠乏症が生じることが報告されている。Se 欠乏症状である爪の白色化や変形、筋肉痛、筋力低下などは、Se 製剤の投与により改善が見込める症状であるが、心筋症は重篤化すると不可逆的な心不全へと進行することが報告されている [3)]。したがって、長期に亘る栄養管理療法施行時など Se 欠乏症に至るリスクが想定される場合には、血清 Se 濃度のモニタリングの必要性、並びに Se 補充の必要性を考慮すべきである。

低 Se 血症の患者への亜セレン酸 Na の点滴静脈内注射及び静脈内注射による Se 補充は、Se 欠乏により低下した一部のセレノプロテイン発現量及び生理活性を正常化することができるため、Se 欠乏症状を呈する患者及び臨床症状発現前の血清 Se 濃度低値の患者に対して有効であると考えられる。

亜セレン酸 Na の名称及び構造式は以下のとおりである：

化学名

日本名：亜セレン酸ナトリウム

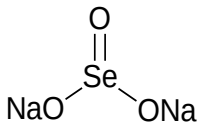
英名：Sodium Selenite

一般名

日本名：亜セレン酸ナトリウム

英名：Sodium Selenite

構造式：



分子式：Na_2SeO_3

分子量：172.94

2.6.1.2　申請した効能・効果及び用法・用量（案）

1）効能・効果

低セレン血症

2）用法・用量

通常、成人及び 12 歳以上の小児にはセレンとして 1 日 100 μg を開始用量とし、高カロリー輸液等に添加し、中心静脈内に点滴静注する。以後は、患者の状態により 1 日 50～200 μg の間で適宜用量を調整するが、効果不十分な場合には 1 日 300 μg まで中心静脈内に点滴静注することができる。

通常、12 歳未満の小児にはセレンとして 1 日 2 μg/kg（体重 50 kg 以上の場合は 100 μg）を開始用量とし、高カロリー輸液等に添加し、中心静脈内に点滴静注する。以後は、患者の状態により 1 日 1～4 μg/kg（体重 50 kg 以上の場合は 50～200 μg）の間で適宜用量を調整し中心静脈内に点滴静注する。

なお、本剤の 1 日投与量を 1 日 1 回末梢静脈内に点滴静注又は緩徐に静脈内注射することもできる。

2.6.1.3　参考文献

1) Mirtallo J, Canada T, Johnson D, Kumpf V, Petersen C, Sacks G, et al. Safe practices for parenteral nutrition. J Parenter Enteral Nutr. 2004;28(6):S39-70.
2) Staun M, Pironi L, Bozzetti F, Baxter J, Forbes A, Joly F, et al. ESPEN Guidelines on Parenteral Nutrition: home parenteral nutrition (HPN) in adult patients. Clin Nutr. 2009;28(4):467-79.
3) 増本　幸二. セレン（Se；Selenium）. 外科と代謝・栄養. 2016;50(6):377-80.

2.6.2　薬理試験の概要文

目次

2.6.2　薬理試験の概要文 ……5
2.6.2.1　まとめ ……5
2.6.2.1.1　薬理試験のまとめ……5
2.6.2.1.1.1　効力を裏付ける試験 ……5
2.6.2.1.1.2　副次的薬理試験……5
2.6.2.1.1.3　安全性薬理試験……6
2.6.2.1.1.4　薬力学的薬物相互作用 ……6
2.6.2.2　効力を裏付ける試験 ……8
2.6.2.2.1　Se 欠乏食給餌による生体内 Se 含有量の低下、セレノプロテイン発現量又は生理活性の低下に対する Se 補充効果……8
2.6.2.2.2　Se 欠乏に関連する症状に対する Se 補充による改善及び予防効果 …… 13
2.6.2.3　副次的薬理試験 …… 27
2.6.2.3.1　免疫調節作用 …… 27
2.6.2.3.2　炎症性サイトカイン産生抑制作用 …… 32
2.6.2.4　安全性薬理試験 …… 34
2.6.2.5　薬力学的薬物相互作用 …… 36
2.6.2.6　考察及び結論 …… 37
2.6.2.7　図表 …… 42
2.6.2.8　引用文献 …… 43

略語及び専門用語一覧

略語・専門用語一覧表

略語/専門用語	定義
ANOVA	Analysis of variance（分散分析）
BNP	Brain natriuretic peptide（脳性ナトリウム利尿ペプチド）
CD3	Cluster of differentiation 3 : T 細胞レセプターと結合して複合体を構成するタンパク質
CD4	Cluster of differentiation 4 : ヘルパーT 細胞の細胞膜上に発現する糖タンパク質
CD25	Cluster of differentiation 25 : 活性化 T 細胞などに高発現する IL-2 受容体（IL-2 受容体 α 鎖）
CD28	Cluster of differentiation 28：T 細胞活性化に関与する細胞表面タンパク質
Cre	Cre recombinase（Cre リコンビナーゼ）：バクテリオファージ P1 由来の Type I トポイソメラーゼ
CVB	Coxsackievirus B（コクサッキーウイルス B）
dF/dt	最大張力発生速度
ECG	Electrocardiogram（心電図）
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay（酵素免疫測定法）
ERK	Extracellular signal-regulated kinase（細胞外シグナル制御キナーゼ）
fl	Floxed：LoxP 配列が導入された
GLP	Good Laboratory Practice（優良試験所規範）
GSH-Px	Glutathione peroxidase（グルタチオンペルオキシダーゼ）
HE	Hematoxylin and eosin（ヘマトキシリン・エオジン）
hERG	Human ether-a-go-go-related gene（ヒト遅延整流性カリウムイオンチャネル遺伝子）
IFN-γ	Interferon-γ（インターフェロン-γ）
IL	Interleukin（インターロイキン）
LPS	Lipopolysaccharide（リポ多糖）
MCP-1	Monocyte chemoattractant protein-1（単球走化性タンパク質-1）
mRNA	Messenger ribonucleic acid（伝令リボ核酸）
Na	Natrium（ナトリウム）
PCR	Polymerase chain reaction：ポリメラーゼ連鎖反応
QT 間隔	心電図における Q 波の開始から T 波の終了までの時間
REM	Rapid eye movement（急速眼球運動）
S.D.	Standard deviation（標準偏差）

Se	Selenium（セレン）
S.E.M.	Standard error of mean（標準誤差）
SeP	Selenoprotein P（セレノプロテイン P）
Sepp	Selenoprotein P gene（セレノプロテイン P 遺伝子）
SEPP1	Selenoprotein P gene in human（ヒトセレノプロテイン P 遺伝子）
SHR	Spontaneously hypertensive rat（自然発症高血圧ラット）
$TCID_{50}$	50% tissue culture infectious dose（50%組織培養感染量）
TCR	T cell receptor（T 細胞受容体）
Th	T helper (cells)（ヘルパーT（細胞））
TR	Thioredoxin reductase（チオレドキシンレダクターゼ）
TNF-α	Tumor necrosis factor-α（腫瘍壊死因子-α）
tRNA	Transfer ribonucleic acid（転移リボ核酸）
Trsp	Selenocysteine-tRNA 遺伝子
TUNEL	Terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP nick-end labeling：アポトーシス細胞検出法
VAE	Ventricular arrhythmic event（心室性不整脈イベント）
WKY	Wistar-Kyoto：正常血圧ラット

亜セレン酸ナトリウム（Na）の濃度換算式
1 μmol/L（μM）= 0.173 μg/mL
1 μg/mL = 5.78 μmol/L（μM）

亜セレン酸 Na のセレン（Se）相当換算式
1 mg Na_2SeO_3/kg = 0.457 mg Se/kg
1 mg Se/kg = 2.190 mg Na_2SeO_3/kg
（参照…亜セレン酸 Na 分子量：172.94、Se 原子量：78.96）

2.6.2　薬理試験の概要文

2.6.2.1　まとめ

2.6.2.1.1　薬理試験のまとめ

効力を裏付ける試験及び副次的薬理試験には、Se 欠乏食給餌動物への亜セレン酸 Na 投与による効果、Se 補充量の違いが生体機能に及ぼす影響、及び Se 欠乏症状を呈する組織におけるセレノプロテインの生理的機能を調査した公表論文を評価対象とした。また、安全性薬理試験については、亜セレン酸 Na の安全性薬理試験及び一般薬理試験として実施された試験結果の公表論文がないことから、一般薬理試験項目に相当する薬理試験が実施された公表論文を評価対象とした。Good Laboratory Practice（GLP）不適用の試験が大部分であり、論文選定にあたっては、試験方法（用量、投与経路、測定法など）及び試験結果（数値データの収載の有無、用量反応性など）を考慮して採択した。なお、ヒトでの安全性情報を類推させる作用が記載されている論文は、試験方法や試験結果に不備があっても代替論文がない場合、安全性に関する情報の提示を優先して採択した。

2.6.2.1.1.1　効力を裏付ける試験

Se 欠乏食給餌動物への亜セレン酸 Na 投与（単回[1)]及び反復腹腔内投与[2,3)]、混餌投与[4)]）又はその他の Se 化合物投与（飲水[5)]又は混餌投与[6)]）による Se 補充は、生体内 Se 含有量の低下、セレノプロテインの発現量又は生理活性の低下を軽減させ、その Se 補充効果は用量依存的かつ経時的であった。

Se 欠乏関連症状に対する Se 補充による改善効果に関して、Se 欠乏食給餌マウスの摘出心房では β-アゴニストによる陽性変力作用が低下していたが、その機能低下は亜セレン酸 Na での Se 補充により回復した[7)]。また、Se 欠乏食給餌ラットへの亜セレン酸 Na の反復腹腔内投与では、Se 欠乏による心機能障害が軽減された[3)]。加えて、Se 補充食給餌は、Se 欠乏食給餌自然発症高血圧ラット（SHR）における高血圧誘発性心不全の進行による生存率の低下[8)]、Se 欠乏食給餌マウスでの体毛や皮膚組織の形成異常[9)]など、Se 欠乏に関連する症状に対して予防効果を示した。また、セレノプロテイン欠損により Se 欠乏症状に類似した表現型が認められた[10,11)]ことから、Se 欠乏症状の発現には、セレノプロテイン発現量及び生理活性の低下の関与が示唆された。これらの結果から、Se 欠乏症における亜セレン酸 Na 投与による Se 補充は、Se 欠乏により低下した一部のセレノプロテイン発現量及び生理活性を回復させることで、Se 欠乏症状の改善及び Se 欠乏症状の発現に対する予防効果を発揮すると考えられる。

2.6.2.1.1.2　副次的薬理試験

異なる Se 含有量の補充食を給餌したマウスの cluster of differentiation 4（CD4）陽性 T 細胞を用いた実験において、高 Se 補充食給餌マウスでは、T 細胞受容体（TCR）刺激後のインターロイキン（IL）-2 mRNA 及び細胞表面の cluster of differentiation 25（CD25, IL-2 受容体 α 鎖）発現量の増加、細胞増殖能の上昇が認められた[12)]ことから、高 Se 補充は T 細胞活性化作用を有すると考えられる。この T 細胞活性化作用は、T 細胞特異的セレノプロテイン欠損マウスでは減弱していたことから[13)]、Se 補充による T 細胞活性化作用はセレノプロテインを介して発現することが示唆された。さらに、高 Se 補充食給餌マウスの CD4

陽性 T 細胞では、Se 欠乏食給餌群と比較して、TCR 刺激によるインターフェロン-γ（IFN-γ）mRNA 発現の上昇が亢進し、IL-4 mRNA 発現の上昇が軽減していたことから [12]、Se 補充が type 1 T helper（Th1）エフェクター細胞への分化を促進させることが示唆された。

また、Se 欠乏食を給餌した雄性マウスで認められるリポ多糖（LPS）誘発血清中炎症性サイトカイン [IL-6、単球走化性タンパク質-1（MCP-1）及び腫瘍壊死因子-α（TNF-α）] 量の増加は、Se 補充により抑制される傾向を示した。この Se 補充による炎症性サイトカイン産生抑制には性差が認められた [14]。

2.6.2.1.1.3　安全性薬理試験

マウス及びラットへの亜セレン酸 Na の投与（静脈内、腹腔内及び皮下投与）は、自発運動量の増加 [15]、徐波及び急速眼球運動（REM）睡眠期の減少と覚醒期の増加 [16]、ペントバルビタール誘発催眠時間の延長作用（雄性のみ）[17]、ペンチレンテトラゾール誘発けいれんに対する抗けいれん作用 [18,19]、一過性の体温低下作用 [20]といった中枢神経系への刺激及び抑制作用を誘発した。

麻酔下のイヌへの亜セレン酸 Na 静脈内投与により、心拍数及び血圧の変化 [21,22]、及び T 波異常や QT 間隔延長などの心電図（ECG）変化が認められた [21]。また、モルモット及びウサギ摘出心臓では陰性変力作用 [23,24]が、イヌ心室では陽性変力作用 [25]が誘発された。また、麻酔下のイヌへの亜セレン酸 Na 静脈内投与では、呼吸数及び分時換気量の増加、一回換気量の減少、一過性の酸素消費量の増加とその後の減少が認められた [26]。

その他、マウス、ラット及びイヌへの亜セレン酸 Na 投与（静脈内、腹腔内、皮下及び経口投与）により、不安行動、嘔吐、下痢、感覚麻痺、ニンニク臭などの一般症状 [27-33]が観察されており、これらは海外の添付文書に記載されている副作用情報及び急性過量投与による症状の一部と類似していた。

2.6.2.1.1.4　薬力学的薬物相互作用

ラットへの亜セレン酸 Na の 3 日間腹腔内投与により、ペントバルビタール誘発催眠時間の延長が認められた（雄性のみ）[17]。

以上より、低 Se 血症の患者への亜セレン酸 Na の点滴静脈内注射及び静脈内注射による Se 補充は、Se 欠乏により低下した一部のセレノプロテインの発現量及び生理活性を正常化することができるため、Se 欠乏症状を呈する患者及び臨床症状発現前の血清 Se 濃度低値の患者に対する有効性が期待される。さらに、亜セレン酸 Na の副次的薬理作用として、低 Se 血症の患者における免疫調節作用や、炎症性サイトカイン産生抑制作用が期待される。

安全性薬理試験から、亜セレン酸 Na は、心血管系、中枢神経系、呼吸器系に影響を及ぼすと考えられる。また、ペントバルビタール誘発催眠時間の延長作用が認められた。亜セレン酸 Na 注射剤は、Se 欠乏症における Se 補充を目的として使用され、また使用経験が蓄積されている諸外国の添付文書には、副作用情報がほとんど記載されていない。しかしながら、正常動物（非 Se 欠乏）由来の摘出心臓での亜セレン酸 Na の影響濃度、及び海外添付文書において過量投与による循環器系を含む症状が記載されていることから、低 Se

血症患者への亜セレン酸 Na の使用にあたっては、用法・用量を遵守し、血清 Se 濃度が基準値内にコントロールされるよう、定期的なモニタリングの実施が望ましいと考えられる。

2.6.2.2　効力を裏付ける試験

2.6.2.2.1　Se 欠乏食給餌による生体内 Se 含有量の低下、セレノプロテイン発現量又は生理活性の低下に対する Se 補充効果

1）亜セレン酸 Na 混餌投与による Se 補充効果 [4)]

Nakayama らは、Se 欠乏食給餌マウスにおける組織 Se 含有量、血漿中セレノプロテイン P（SeP）量及びグルタチオンペルオキシダーゼ（GSH-Px）活性の低下に対する、亜セレン酸 Na 混餌投与による Se 補充効果の用量依存性について検討した。

[方法]

離乳後の C57BL/6 系雄性マウスに Se 欠乏食（torula yeast-based diet）を 18 週間給餌後、更に Se 欠乏食又は Se 補充食（Se 欠乏食に 0.025, 0.05, 0.075, 0.10, 0.25 mg Se/kg 餌重量の亜セレン酸 Na を添加）を 8 週間給餌したときの、脳、精巣、肝臓、腎臓及び筋肉における Se 含有量（蛍光法）、並びに血漿中 SeP 量（放射免疫測定法）、GSH-Px 活性（酵素共役法）を測定した。

[結果]

Se 欠乏食給餌により低下したマウスの脳、精巣、肝臓、腎臓及び筋肉における Se 含有量は、Se 補充食中の Se 含有量依存的にそれぞれ上昇した。脳及び精巣では、他の組織と比較して、より低用量の亜セレン酸 Na 混餌投与によって組織 Se 含有量が保持された（図 2.6.2.2-1A）。

Se 欠乏食給餌により低下した血漿中 SeP 量及び GSH-Px 活性も、Se 補充食中の Se 含有量依存的にそれぞれ上昇した（図 2.6.2.2-1B）。

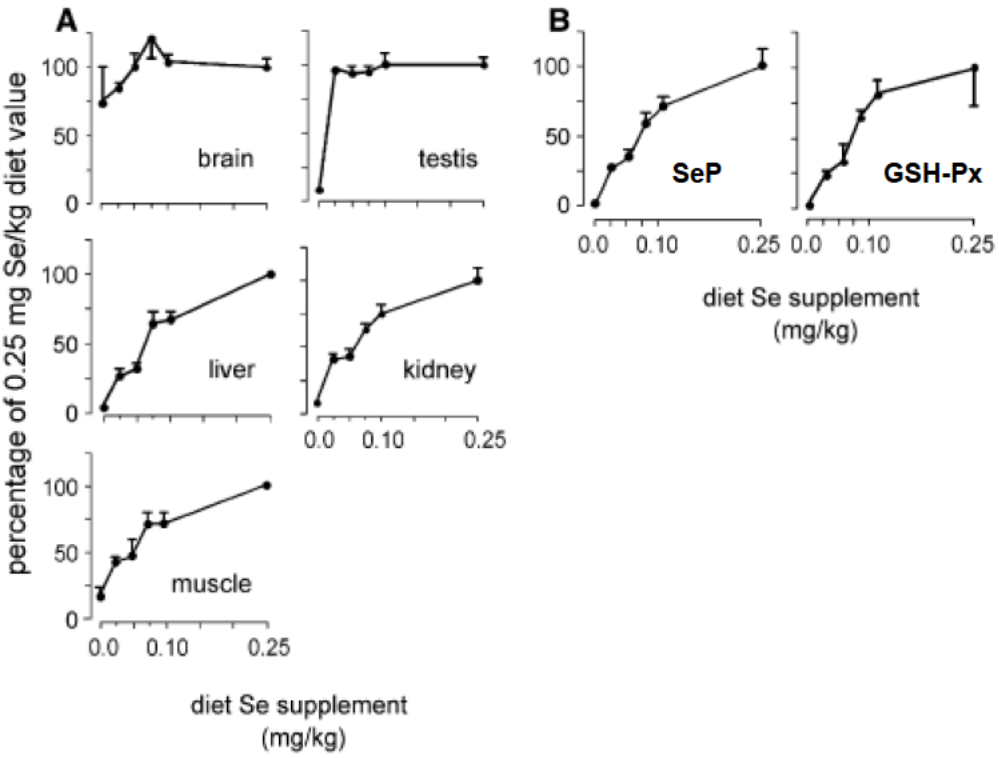


図 2.6.2.2-1　Se 欠乏食給餌マウスにおける組織 Se 含有量（A）、血漿中 SeP 量又は GSH-Px 活性（B）の低下に対する、亜セレン酸 Na 混餌投与による Se 補充効果
値は平均 ± 標準偏差（S.D.）で示す（各群 3 匹）。（引用文献 4、参考資料 4.2.1.1.1-1、Fig. 2 改編）

2）亜セレン酸 Na の単回腹腔内投与による Se 補充効果 [1)]

Agay らは、Se 欠乏食給餌ラットにおける血漿及び組織 Se 含有量の低下に対する、亜セレン酸 Na 単回腹腔内投与による Se 補充効果について検討した。

[方法]

Wistar 系雄性ラット（125 ± 10 g）に通常食（0.19 mg Se/kg 餌重量）又は Se 欠乏食（0.039 mg Se/kg 餌重量）を 5 週間給餌した。Se 補充群では、5 週間の Se 欠乏食給餌後のラットに 0.2 mg Se/kg 亜セレン酸 Na を腹腔内投与し、投与 24 時間後の血液及び組織（肝臓、腎臓、脳及び筋肉）を採取した。各ラットの血漿及び組織 Se 含有量をガスクロマトグラフィー質量分析法により測定した。

[結果]

Se 欠乏食給餌ラットにおける血漿、肝臓及び筋肉における Se 含有量は、通常食給餌ラットと比較して有意に減少していたが（血漿及び肝臓 $P < 0.01$、筋肉 $P < 0.05$）、腎臓及び脳 Se 含有量には変化が認められなかった。

Se 欠乏食給餌ラットへの 0.2 mg Se/kg 亜セレン酸 Na の単回腹腔内投与は、血漿及び組織 Se 含有量をそれぞれ上昇させ、肝臓、腎臓及び脳 Se 含有量は通常食給餌ラットと比較して有意に上昇した（肝臓及び腎臓 $P < 0.01$、脳 $P < 0.05$、図 2.6.2.2-2）。

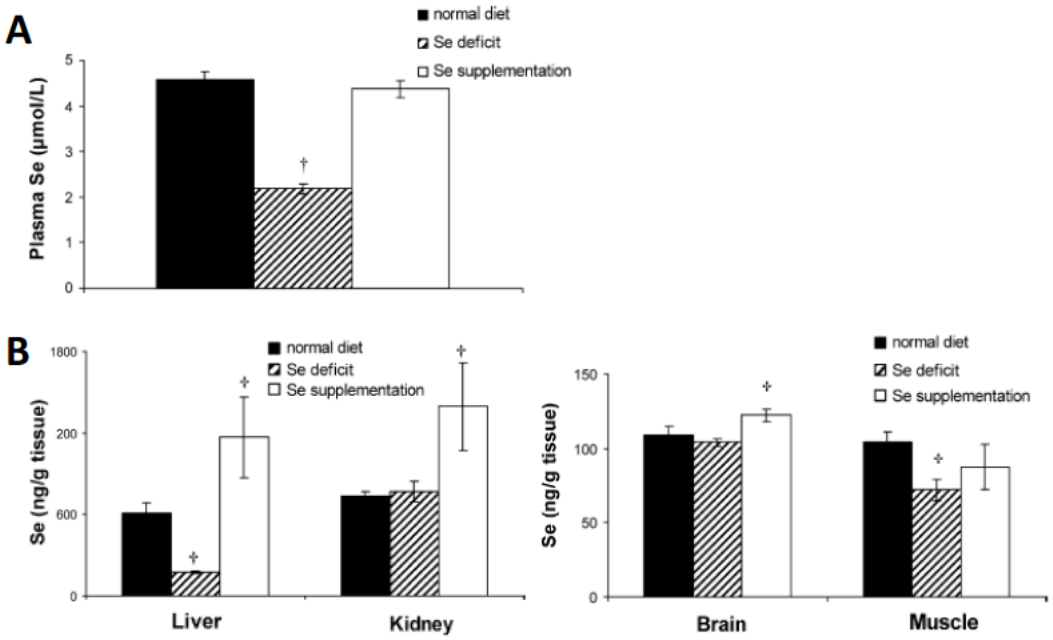


図 2.6.2.2-2　Se 欠乏食給餌ラットにおける血漿（A）及び組織 Se 含有量（B）の低下に対する、亜セレン酸 Na 単回腹腔内投与による Se 補充効果

■ ： 通常食群、◪ : Se 欠乏食群、□ : Se 補充群

ノンパラメトリック Mann-Whitney 順位和検定 : $^{*}P < 0.05$; $^{\dagger}P < 0.01$ vs 通常食群

値は平均 ± S.D.で示す（各群 5 匹）。（引用文献 1、参考資料 4.2.1.1.1-2、Fig. 1～3 改編）

3）亜セレン酸 Na の反復腹腔内投与による Se 補充効果 [2)]

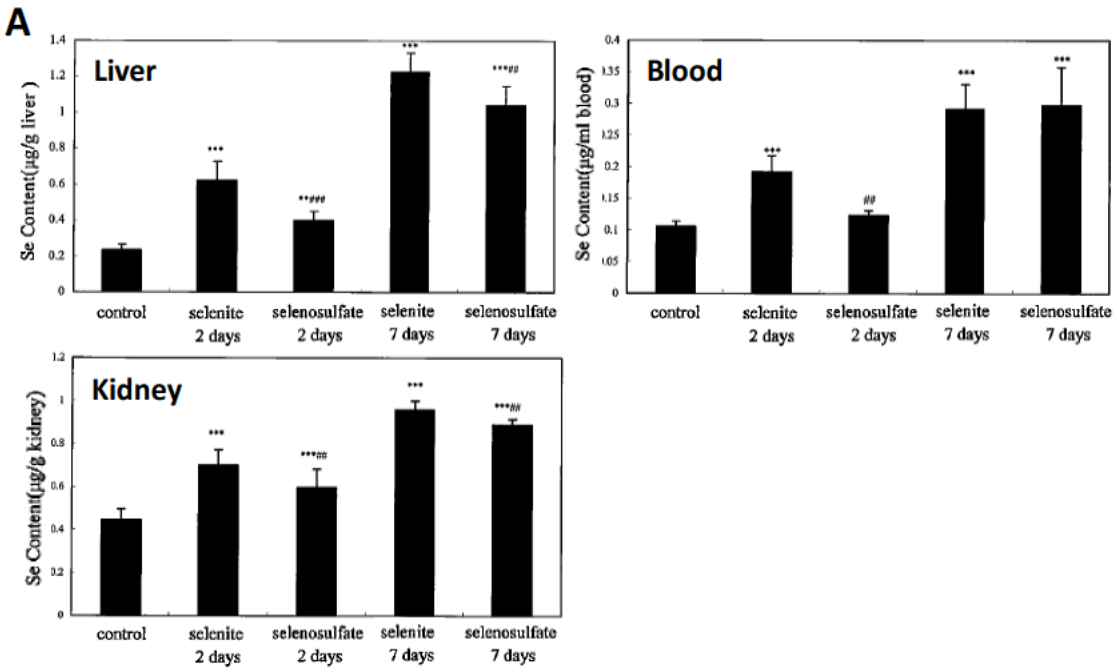
Peng らは、Se 欠乏マウスにおける組織及び血液中 Se 含有量と組織 GSH-Px 活性の低下に対する、亜セレン酸 Na の反復腹腔内投与による Se 補充効果について検討した。

[方法]

Se 欠乏雄性 Kunming マウス（18～22 g）に、亜セレン酸 Na 又はセレノ硫酸 Na（0.1 mg Se/kg/day）を 2 日間又は 7 日間反復腹腔内投与し、一晩絶食後、各マウスの肝臓、腎臓及び血液中 Se 含有量（蛍光法）、肝臓及び腎臓 GSH-Px 活性（Rotruck らの方法）を測定した。

[結果]

Se 欠乏マウスへの、0.1 mg Se/kg/day 亜セレン酸 Na の 2 日間又は 7 日間の反復腹腔内投与では、肝臓、腎臓及び血液中 Se 含有量並びに肝臓及び腎臓 GSH-Px 活性が、Se 欠乏マウスと比較してそれぞれ有意に上昇した（$P < 0.001$）。また、0.1 mg Se/kg/day セレノ硫酸 Na の 2 日間又は 7 日間の反復腹腔内投与では、2 日間の反復投与後の血液中 Se 含有量には有意な差異は認められなかったが、肝臓、腎臓及び血液中 Se 含有量又は肝臓及び腎臓 GSH-Px 活性は、Se 欠乏マウスと比較してそれぞれ有意に上昇した（$P < 0.001$～0.05）（図 2.6.2.2-3）。



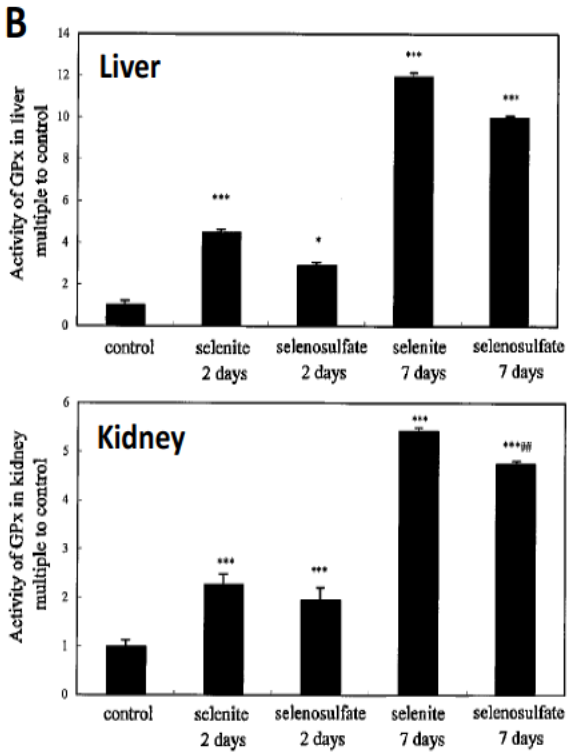


図 2.6.2.2-3　Se 欠乏マウスにおける組織及び血液中 Se 含有量（A）と組織 GSH-Px 活性（B）の低下に対する、亜セレン酸 Na の反復腹腔内投与による Se 補充効果

GPx: GSH-Px

Analysis of variance (ANOVA): $^{*}P < 0.05$; $^{**}P < 0.01$; $^{***}P < 0.001$ vs control、$^{\#\#}P < 0.01$; $^{\#\#\#}P < 0.001$ vs 同じ反復投与日数の亜セレン酸 Na 投与群

値は平均 ± S.D.で示す（各群 8 匹）。（引用文献 2、参考資料 4.2.1.1.1-3、Fig. 3, 4 改編）

2.6.2.2.2　Se 欠乏に関連する症状に対する Se 補充による改善及び予防効果

1）心循環器系障害に対する Se 補充による効果

（1）Se 欠乏食給餌ラットにおける心循環器系組織 GSH-Px 活性の低下に対する Se 補充効果 [5)]

Wu らは、Se 欠乏食給餌ラットにおける心循環器系を含む組織の GSH-Px 活性の低下に対する Se 補充効果について検討した。

[方法]

離乳後の Wistar 系雄性ラットに、Se 欠乏食（0.017 ± 0.002 mg Se/kg 餌重量）又は通常食（0.32 ± 0.045 mg Se/kg 餌重量）を 12 ヵ月間給餌し、それぞれ Se 欠乏食群及び通常食群とした。Se 補充群としては、Se 欠乏食給餌 12 ヵ月後のラットに Se 補充水（1 mg Se/L 水溶液; 使用 Se 含有化合物不明）を 1 ヵ月間自由飲水させた。各ラットの肝臓、心臓、脳、腎臓及び大動脈における GSH-Px 活性（比色法）を測定した。

[結果]

Se 欠乏食群のラットの肝臓、心臓、腎臓及び大動脈の GSH-Px 活性は、通常食群と比較してそれぞれ有意に低下していた（肝臓、心臓及び腎臓 $P < 0.01$、大動脈 $P < 0.05$）。一方、Se 補充群では、Se 欠乏食給餌により低下した肝臓、心臓、腎臓及び大動脈 GSH-Px 活性が通常食群と同レベルにまで回復していた。なお、脳の GSH-Px 活性は、全ての群で変化が認められなかった（図 2.6.2.2-4）。

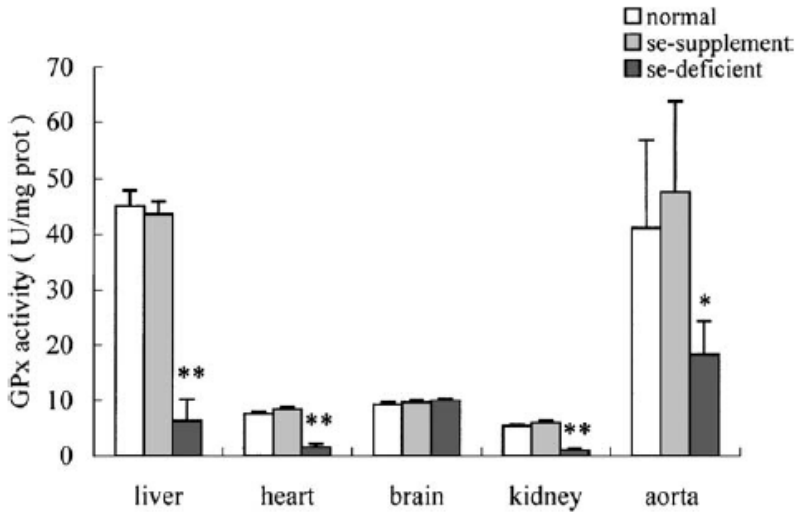


図 2.6.2.2-4　12 ヵ月間の Se 欠乏食給餌によるラット組織の GSH-Px 活性の低下及びそれに対する Se 補充効果

□ : 通常食群、 ■ : Se 補充群、 ▩ : Se 欠乏食群、GPx: GSH-Px

Student's *t*-test : $^{*}P < 0.05$; $^{**}P < 0.01$ vs 通常食群

値は平均 ± S.D.で示す（各群 5 匹）。（引用文献 5、参考資料 4.2.1.1.2-1、Fig. 2）

（2）Se 欠乏食給餌による心収縮機能の低下と Se 補充による効果 [7)]

Gomez らは、Se 欠乏食給餌による心収縮機能への影響及びそれに対する亜セレン酸 Na 混餌投与による効果について検討した。

[方法]

3 週齢の非近交系 F1 マウス（雌雄）に、Se 欠乏食（torula yeast-based diet）又は Se 補充食（Se 欠乏食に 0.2 mg Se/kg 餌重量の亜セレン酸 Na を添加）を 4 週間給餌し、それぞれ Se 欠乏食給餌群及び Se 補充食給餌群とした。また、Se 補充群では、3 週間の Se 欠乏食給餌後に Se 補充食を 1 週間摂取させた。各群のマウス摘出心房における変力作用を、電気刺激（固定頻度 300 beats/min）時の最大張力発生速度（dF/dt）により評価した。

[結果]

Se 補充食給餌群及び Se 欠乏食給餌群のマウス摘出心房における薬物未処置時の dF/dt は、それぞれ 4.3 ± 1.2 及び 4.0 ± 1.1 g/sec であった。

Se 補充食給餌群及び Se 欠乏食給餌群の摘出心房では、β-アゴニストのイソプロテレノール（10^{-9}～10^{-6} M）及びノルエピネフリン（10^{-9}～10^{-6} M）濃度依存的な dF/dt 上昇が認められたが、Se 欠乏食給餌群の摘出心房では、Se 補充食給餌群と比較して、β-アゴニストによる陽性変力作用の低下が認められた（$P < 0.05$）。Se 補充群の摘出心房における β-アゴニストの濃度反応性は Se 補充食給餌群と同様の結果であった（図 2.6.2.2-5）。

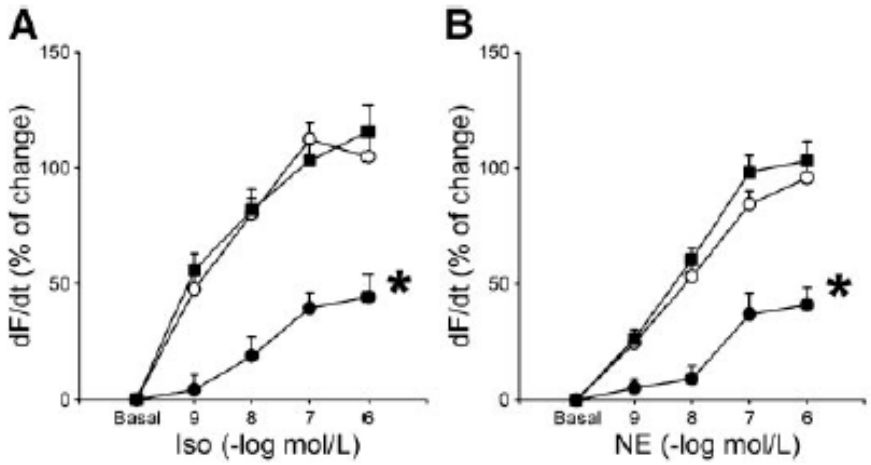


図 2.6.2.2-5　Se 欠乏食給餌マウスの摘出心房におけるイソプロテレノール（A）及びノルエピネフリン（B）の陽性変力作用の低下と、それに対する亜セレン酸 Na 混餌投与による改善作用

■: Se 補充食給餌群、●: Se 欠乏食給餌群、○: Se 補充群、Iso: イソプロテレノール、NE: ノルエピネフリン

Nonlinear mixed ANOVA logistic regression model : $^{*}P < 0.05$ vs Se 補充食給餌群又は Se 補充群

値は平均 ± 標準誤差（S.E.M.）で示す（各群 6 匹）。（引用文献 7、参考資料 4.2.1.1.2-2、Fig. 1）

（3）Se 欠乏食給餌ラットにおける心機能障害に対する Se 補充による効果 [3)]

Xing らは、Se 欠乏食給餌ラットにおける心機能障害に対する、亜セレン酸 Na 反復腹腔内投与による効果について検討した。

[方法]

3 週齢の Sprague-Dawley 系雄性ラットに、通常食（0.2 mg Se/kg 餌重量）又は Se 欠乏食（< 0.02 mg Se/kg 餌重量）を 14 週間給餌した。Se 欠乏食群及び Se 補充群としては、Se 欠乏食給餌ラットにそれぞれ生理食塩液又は 0.05 mg/kg/day（0.02 mg Se/kg/day）亜セレン酸 Na を 3 週間腹腔内投与した。血中 Se 濃度（フレームレス原子吸光光度法）、摘出心臓における GSH-Px 活性（酵素共役法）、血漿脳性ナトリウム利尿ペプチド（BNP）濃度（蛍光免疫測定法）、抱水クロラール麻酔下のラットにおける心機能（超音波心臓検査及び ECG 測定）を評価した。

[結果]

Se 欠乏食群のラット血中 Se 濃度及び心臓 GSH-Px 活性は通常食群と比較して有意に低下していたのに対し、0.05 mg/kg/day（0.02 mg Se/kg/day）亜セレン酸 Na を 3 週間腹腔内投与した Se 補充群のラットでは有意に改善していた（$P < 0.05$、図 2.6.2.2-6A, B）。

Se 欠乏食群のラットでは通常食群と比較して、血漿 BNP 濃度が有意に高く、心室性不整脈イベント（VAE）数の有意な増加、左室拡張末期径（LVEDD）及び左室収縮末期径（LVESD）の有意な拡張、左室駆出率（LVEF）及び左室内径短縮率（LVFS）の有意な低下が認められた。これらの Se 欠乏食群ラットにおける血漿 BNP 濃度の上昇及び心機能障害は、0.05 mg/kg/day（0.02 mg Se/kg/day）亜セレン酸 Na の 3 週間腹腔内投与により有意に改善した（BNP $P < 0.05$、図 2.6.2.2-6C；VAE $P < 0.001$、図 2.6.2.2-6D；超音波心臓検査パラメータ $P < 0.01$～0.05、表 2.6.2.2-1）。

表 2.6.2.2-1　Se 欠乏食給餌ラットにおける超音波心臓検査のパラメータ変化に対する亜セレン酸 Na 腹腔内投与による効果

Group	No.	LVEDD, mm	LVESD, mm	LVEF, %	LVFS, %
Control	10	4.14±0.38	1.13±0.77	85.60±11.02	75.64±8.30
LS	10	5.29±0.26^{a*}	2.77±0.35^{a,c}	68.93±10.92^{a,c}	50.44±5.73^{a,d}
SS	10	4.92±0.79^{b*}	2.05±0.23^{b,c}	79.20±9.41^{b,c}	97.73±6.28^{b,d}

LVEDD: 左室拡張末期径、LVESD: 左室収縮末期径、LVEF: 左室駆出率、LVFS: 左室内径短縮率

Control: 通常食群、LS: Se 欠乏食群、SS: Se 補充群

One-way ANOVA for multiple comparisons : $^{a,*}P < 0.05$; $^{a,c}P < 0.05$; $^{a,d}P < 0.01$ vs 通常食、$^{b,*}P < 0.05$; $^{b,c}P < 0.05$; $^{b,d}P < 0.01$ vs Se 欠乏食

値は平均 ± S.D.で示す（各群 10 匹）。（引用文献 3、参考資料 4.2.1.1.2-3、Table 2）

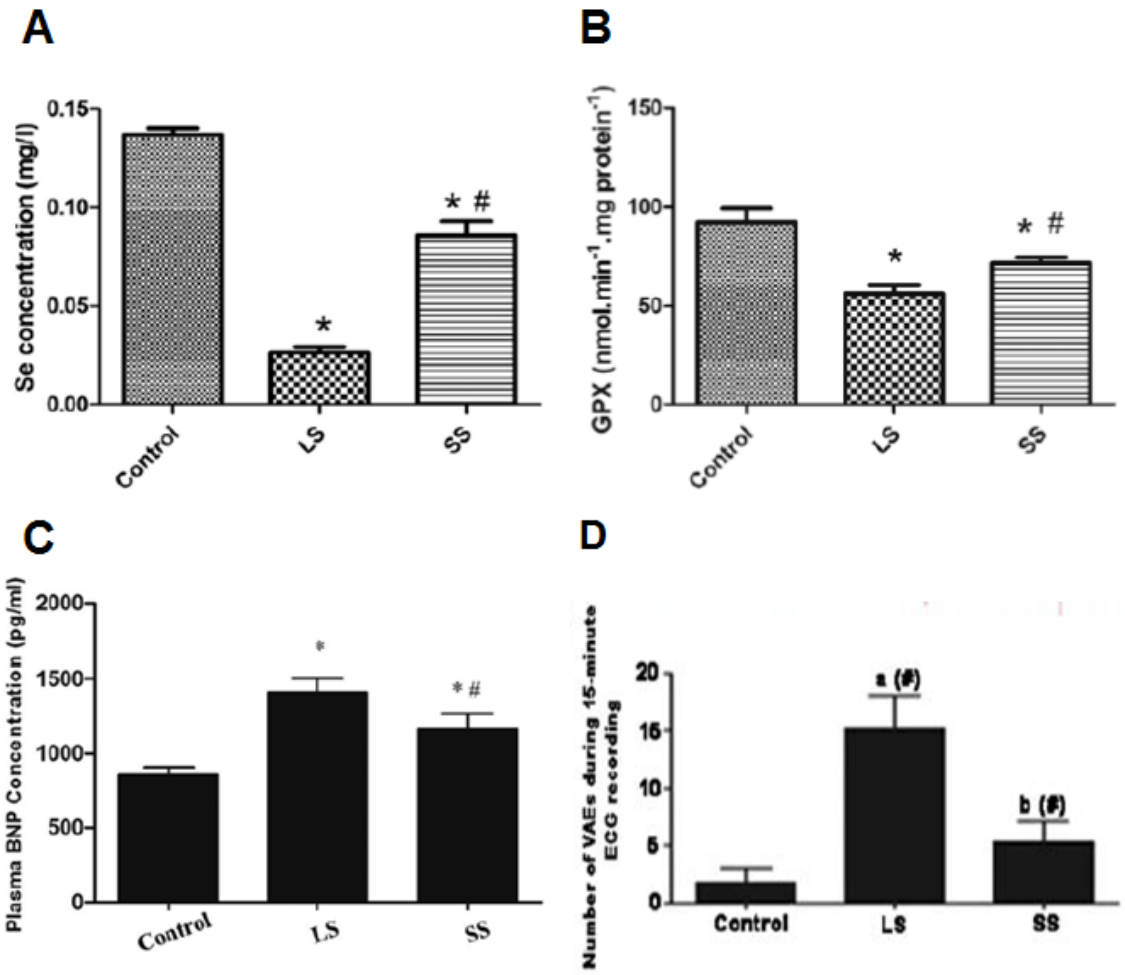


図 2.6.2.2-6　Se 欠乏食給餌ラットにおける血中 Se 濃度の低下（A）、心臓 GSH-Px 活性の低下（B）、血漿 BNP 濃度の上昇（C）、VAE 数の増加（D）に対する、亜セレン酸 Na 腹腔内投与による効果

Control: 通常食群、LS: Se 欠乏食群、SS: Se 補充群、GPX: GSH-Px

One-way ANOVA for multiple comparisons:（A, B, C）$^{*}P < 0.05$ vs 通常食群、$^{\#}P < 0.05$ vs Se 欠乏食群、（D）$^{a\,(\#)}P < 0.001$ vs 通常食群、$^{b\,(\#)}P < 0.001$ vs Se 欠乏食群

値は平均 ± S.D.で示す（例数不明）。（引用文献 3、参考資料 4.2.1.1.2-3、Fig. 1～4 改編）

（4）自然発症高血圧ラットにおける高血圧誘発性心不全の進行に対する Se 補充による予防効果 [8)]

Lymbury らは、SHR 及び Wistar-Kyoto（WKY）ラット（正常血圧コントロール）の生存率及び心臓における抗酸化酵素活性に対する Se 補充による効果について検討した。

[方法]

65 週齢の雄性 SHR 及び WKY ラットに、Se 欠乏食（torula yeast-based diet）、Se 補充食（Se 欠乏食に 0.05 mg Se/kg 餌重量になるように添加; 使用 Se 化合物不明）又は Se 過剰食（Se 欠乏食に 1 mg Se/kg 餌重量になるように添加; 使用 Se 化合物不明）を 7 ヵ月間給餌し、生存率、摘出心臓における GSH-Px 活性（酵素共役法）及びチオレドキシンレダクターゼ（TR）活性（比色法）を評価した。

[結果]

7 ヵ月間の Se 欠乏食、Se 補充食又は Se 過剰食給餌による WKY ラットの生存率は、それぞれ 67%（4/6 匹）、83%（5/6 匹）又は 100%（6/6 匹）であった。なお、Se 欠乏食給餌 WKY ラット 2 匹の死因は、麻酔後の呼吸器系合併症と安楽死（原因不明の体重減少、嗜眠、鼻血のため）によるものであり、Se 補充食給餌 WKY ラット 1 匹の死因は、麻酔後の呼吸器系合併症によるものであった。一方、SHR での Se 欠乏食給餌による生存率（30%、3/10 匹）は、Se 補充食（78%、7/9 匹）又は Se 過剰食（100%、9/9 匹）給餌時と比較して有意に低かった（$P < 0.01$～0.05、図 2.6.2.2-7-I）。なお、Se 欠乏食給餌 SHR の死因は、主として高血圧誘発性心不全の進行によるものであった（自然死 3 匹、安楽死 4 匹）。

Se 補充食又は Se 過剰食で給餌した SHR 及び WKY ラットの心臓 GSH-Px 活性は、Se 欠乏食給餌ラットと比較して、食餌中の Se 含有量依存的に有意に上昇した（$P < 0.05$）。Se 補充食又は Se 過剰食を給餌した SHR の心臓 TR 活性は、心臓 GSH-Px と同様に、食餌中の Se 含有量依存的に有意に上昇した（$P < 0.05$）。Se 過剰食給餌 SHR の心臓 GSH-Px 及び TR 活性は、Se 過剰食給餌 WKY ラットのそれらと比較し有意に高かった（$P < 0.05$、図 2.6.2.2-7-II）。

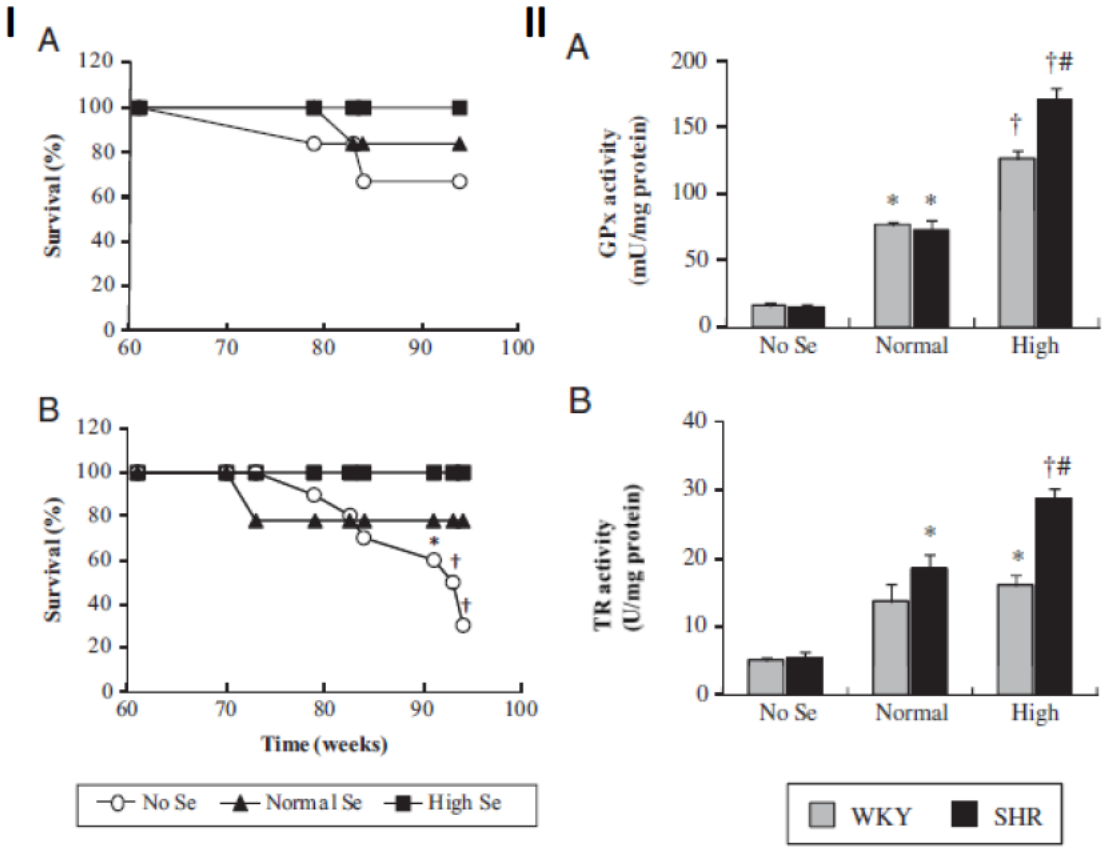


図 2.6.2.2-7　SHR 及び WKY ラットの生存率 (I) 及び心臓における抗酸化酵素活性 (II) に対する Se 補充による効果

（I）A : WKY ラット、B : SHR

○: Se 欠乏食群（No Se）、▲: Se 補充食群（Normal Se）、■: Se 過剰食群（High Se）

One-way ANOVA followed by Newman-Kuels and Bonferroni post hoc tests : $^{*}P < 0.05$; $^{\dagger}P < 0.01$ vs Se 補充食群及び Se 過剰食群

（WKY ラットは各群 6 匹、SHR は各群 9～10 匹）

（II）A : GSH-Px 活性、B : TR 活性

□: WKY ラット、■: SHR、GPx: GSH-Px

One-way ANOVA followed by Newman-Kuels and Bonferroni post hoc tests : $^{*}P < 0.05$ vs 同一系統の Se 欠乏食群、$^{\dagger}P < 0.05$ vs 同一系統の Se 補充食群、$^{\#}P < 0.05$ vs 同じ Se 含有食を給餌した WKY ラット

値は平均 ± S.E.M.で示す（WKY ラットは各群 6 匹、SHR は各群 9～10 匹）。（引用文献 8、参考資料 4.2.1.1.2-4、Fig. 4, 5 改編）

（5）Se 欠乏食給餌による非病原性コクサッキーウイルス B3 の病原性獲得と Se 補充による予防効果 [34)]

Beck らは、Se 欠乏食及び Se 補充食給餌マウスを用いて、宿主の Se 栄養状態が非病原性コクサッキーウイルス B3（CVB3/0）の病原性獲得に与える影響について検討した。

[方法]

3 週齢の C3H/HeJ 系雄性マウスに、Se 欠乏食（torula yeast-based diet）又は Se 補充食（Se 欠乏食に 0.2 mg Se/kg 餌重量の亜セレン酸 Na を添加）を 4 週間給餌し、50%組織培養感染量（$TCID_{50}$）の 10^5 倍量の非病原性 CVB3/0 を腹腔内に接種した。接種 10 日後、Se 欠乏食又は Se 補充食給餌マウスの心臓から抽出した CVB3（それぞれ CVB3/0Se－又は CVB3/0Se＋と表す）を、更に Se 補充食給餌マウスの腹腔内に 1×10^5 $TCID_{50}$ で接種した。接種 10 日後の摘出心臓をヘマトキシリン・エオジン（HE）にて染色後、病理学的に評価しスコア化（0～4）した。

[結果]

非病原性 CVB3/0 接種 10 日後の Se 補充食給餌マウス心臓から単離された CVB3/0Se＋は、Se 補充食給餌マウスの心筋に障害を誘発しなかった。一方、非病原性 CVB3/0 接種 10 日後の Se 欠乏食給餌マウス心臓から単離された CVB3/0Se－は、Se 補充食給餌マウスにおいて心筋障害を誘発させた（図 2.6.2.2-8）。

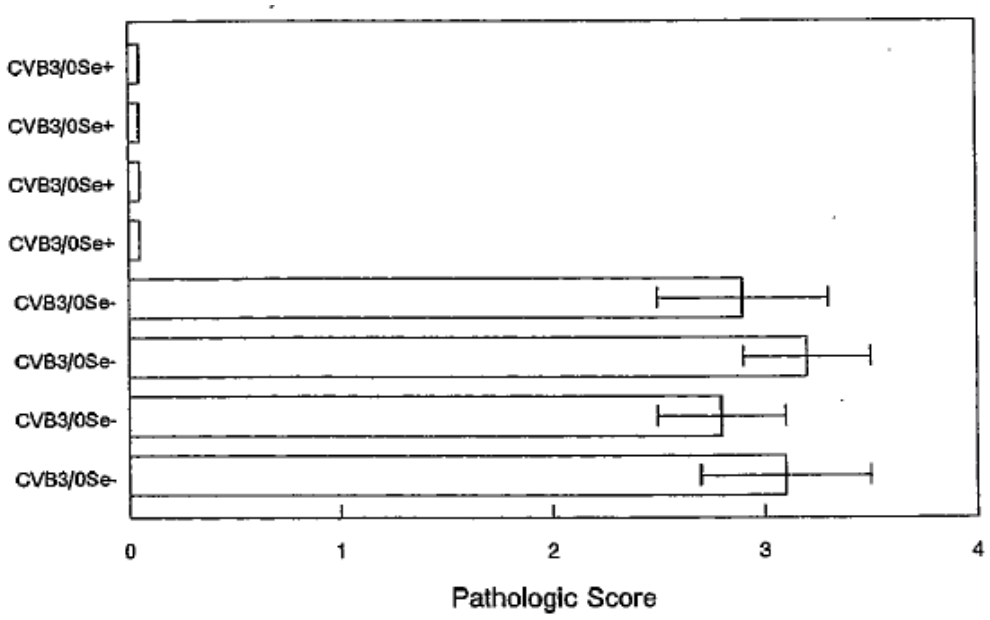


図 2.6.2.2-8　宿主の Se 栄養状態が非病原性 CVB3/0 の病原性獲得に与える影響
値は平均 ± S.D.で示す（各群 10 匹）。（引用文献 34、参考資料 4.2.1.1.2-5、Fig. 1）

2）皮膚及び体毛形成異常に対する Se 補充による効果

（1）Se 欠乏食給餌による体毛 Se 含有量の低下に対する Se 補充効果 [6)]

Shiobara らは、Se 欠乏食給餌ラットにおける血清及び体毛 Se 含有量の低下に対する、亜セレン酸混餌投与による Se 補充効果について検討した。

[方法]

5 週齢の Wistar 系雄性ラットに Se 欠乏食（torula yeast-based diet : < 0.03 mg Se/kg 餌重量）を 3 週間給餌した後、Se 欠乏食、Se 補充食（Se 欠乏食に 0.2 mg Se/kg 餌重量の亜セレン酸を添加）又は Se 過剰食（Se 欠乏食に 2.0 mg Se/kg 餌重量の亜セレン酸を添加）を 12 週間給餌し、血清及び体毛の Se 含有量を誘導結合プラズマ質量分析法にて測定した。

[結果]

Se 欠乏食給餌により血清中 Se 含有量は経時的に減少した。一方、Se 欠乏食から Se 補充食又は Se 過剰食に食餌変更したラットの血清中 Se 濃度は、食餌変更 2 週目以降で Se 欠乏食群と比較して有意に上昇していた（$P < 0.05$、図 2.6.2.2-9A）。Se 補充食への食餌変更後 12 週間の血清中 Se 濃度推移は、Se 過剰食への食餌変更後のそれとほぼ同様であった。

体毛 Se 含有量は、3 週間の Se 欠乏食給餌により通常食給餌時の 1/2 以下に減少した。Se 欠乏食から Se 補充食に食餌変更したラット体毛 Se 含有量は、食餌変更 6 週目以降で Se 欠乏食群と比較して有意に増加した。また、Se 欠乏食から Se 過剰食に食餌変更したラット体毛 Se 含有量は、変更 2 週目以降で Se 欠乏食群と比較して有意に増加し、Se 補充食に食餌変更したラットのそれよりも高値を示した（$P < 0.05$、図 2.6.2.2-9B）。

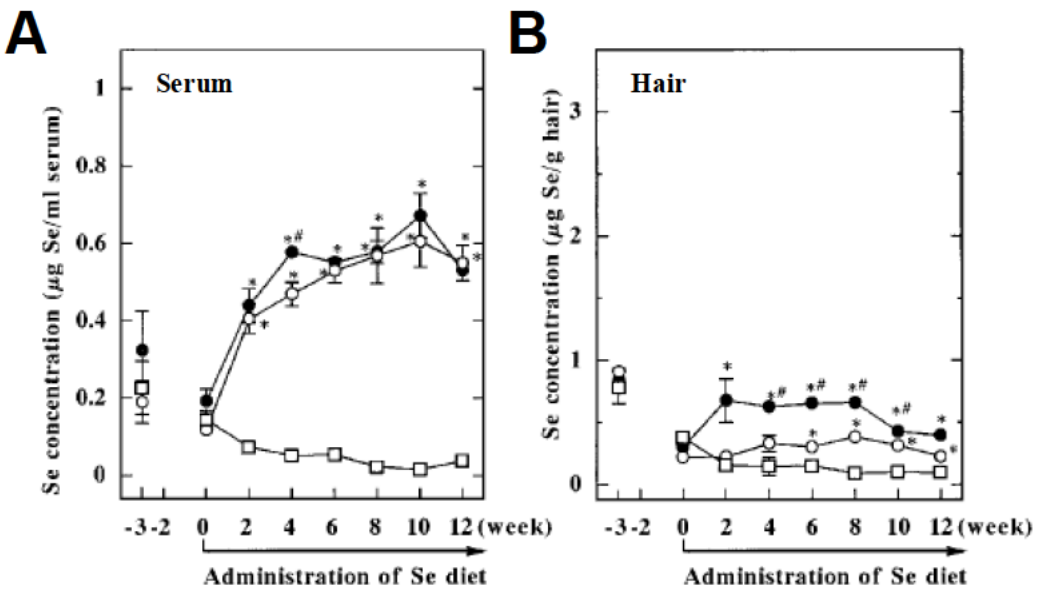


図 2.6.2.2-9　Se 欠乏食給餌ラットにおける血清（A）及び体毛 Se 含有量（B）の低下に対する、亜セレン酸混餌投与による Se 補充効果

□ : Se 欠乏食群; ○ : Se 補充食群; ● : Se 過剰食群

One-way ANOVA followed by Student's *t*-test (two-tailed tests) : $^{*}P < 0.05$ vs Se 欠乏食群、$^{\#}P < 0.05$ vs Se 補充食群

値は平均 ± S.E.M.で示す（各群 3 匹）。（引用文献 6、参考資料 4.2.1.1.2-6、Fig. 1, 2 改編）

（2）Se 欠乏食給餌マウスにおける体毛形成異常に対する Se 補充による予防効果並びに Se 過剰摂取による影響 [9)]

Hwang らは、Se 欠乏食給餌マウスにおける体毛形成異常に対する Se 補充食及び Se 過剰食給餌による影響について検討した。

[方法]

4 週齢の C57BL/6 系雌性マウスに、Se 欠乏食（torula yeast : < 0.03 mg Se/kg 餌重量）を 3 週間給餌した後、Se 欠乏食、Se 補充食（Se 欠乏食に 0.2 mg Se/kg 餌重量のセレノ-L-メチオニンを添加）又は Se 過剰食（Se 欠乏食に 2.0 mg Se/kg 餌重量のセレノ-L-メチオニンを添加）を更に 24 週間給餌し、それぞれ Se 欠乏食群、Se 補充食群、Se 過剰食群とした。各マウスの皮膚及び脱毛サイズの変化を評価した。また、生検した皮膚切片は、HE 及び terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP nick-end labeling（TUNEL）染色により病理学的に評価した。

[結果]

Se 欠乏食群のマウスでは、5 匹中 3 匹に脱毛が認められた（脱毛面積 0.87 ± 0.32 cm^2）。Se 補充食群のマウスでは体毛の異常は認められなかったが、Se 過剰食群では全てのマウスで脱毛が認められた（脱毛面積 1.76 ± 0.64 cm^2）（図 2.6.2.2-10A）。

Se 欠乏食群及び Se 過剰食群のマウスにおける脱毛部分の皮膚組織では、毛包の減少及び形態異常、表皮萎縮が認められ、また、多くの TUNEL 陽性ケラチノサイトが毛球に検出された（図 2.6.2.2-10B）。

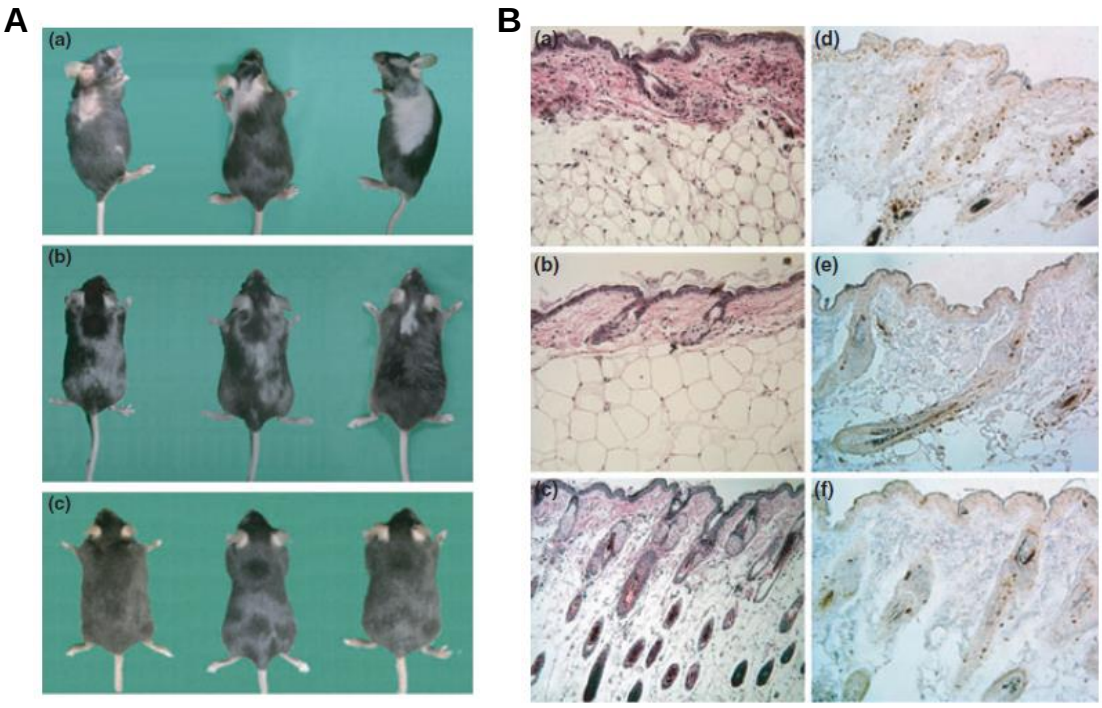


図 2.6.2.2-10　Se 欠乏食給餌による体毛形成異常に対する Se 補充による予防効果並びに Se 過剰摂取による影響
A : Se 過剰食群（a）、Se 欠乏食群（b）、Se 補充食群（c）
B : Se 過剰食群（a, d）、Se 欠乏食群（b, e）、Se 補充食群（c, f）
HE 染色（a, b, c; 100 倍）及び TUNEL 染色（d, e, f; 200 倍）
（引用文献 9、参考資料 4.2.1.1.2-7、Fig. 1, 2 改編）

（3）ケラチノサイト特異的 *Trsp* 遺伝子欠損（セレノプロテイン欠損）による皮膚及び口腔内組織の形態異常 [10)]

Sengupta らは、ケラチノサイト特異的 *Trsp* 遺伝子欠損（セレノプロテイン欠損）マウスを用いて、皮膚及び口腔内組織におけるセレノプロテインの役割について検討した。

[方法]

ケラチノサイト特異的セレノプロテイン欠損（K14-*cre*; *Trsp*$^{fl/fl}$）マウス及び対照（K14-*cre*; *Trsp*$^{fl/+}$）マウス（性別不明、FVB と C57BL/6 との混合遺伝的背景）の体毛及び皮膚状態の観察、並びに、皮膚及び口腔内組織の HE 染色による病理学的評価を行った。

[結果]

ケラチノサイト特異的セレノプロテイン欠損マウスの皮膚は、対照マウスと比較して剥離しやすく、しわが多かった。また、その体毛はまばらであり、感覚毛は短く変形していた（図 2.6.2.2-11A）。さらに、皮膚組織では、表皮の過形成、毛包の異常、皮下脂肪細胞の減少、真皮への顕著な細胞浸潤が認められた。口腔粘膜上皮では壊死を伴った形成異常が、また、舌上皮では角質増殖と局所的な壊死が観察された（図 2.6.2.2-11B）。

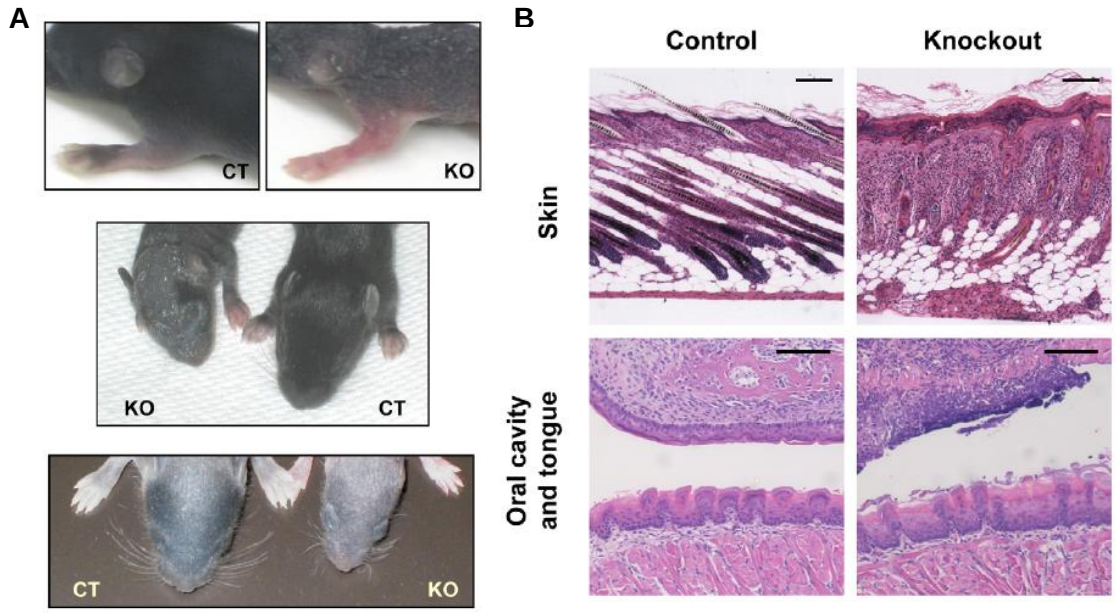


図 2.6.2.2-11　ケラチノサイト特異的セレノプロテイン欠損マウスの体毛及び皮膚における状態変化（A）並びに皮膚及び口腔内組織の病理学的変化（B）
CT : 対照マウス、KO : ケラチノサイト特異的セレノプロテイン欠損マウス
（各群　例数不明）（引用文献 10、参考資料 4.2.1.1.2-8、Fig. 1, 2 改編）

3）中枢神経系障害に対する Se 補充による予防効果

（1）Se 欠乏食給餌によるカイニン酸惹起けいれん発作の感受性亢進 [35)]

Savaskan らは、Se 欠乏食又は Se 補充食給餌ラットにおけるカイニン酸惹起けいれん発作の重症度について検討した。

[方法]

Wistar 系ラット（性別不明）に Se 欠乏食（最大 0.002～0.005 mg Se/kg 餌重量）又は Se 補充食（Se 欠乏食に 0.3 mg Se/kg 餌重量の亜セレン酸 Na を添加）を給餌（12～16 世代）後、肝臓及び脳 Se 含有量を中性子放射化分析法にて測定した。また、Se 欠乏食又は Se 補充食給餌ラットに生理食塩液もしくはカイニン酸（10 mg/kg）を腹腔内投与し、投与後 4 時間におけるけいれん発作の重症度を Zhang らの分類に基づいてスコア化した。

[結果]

Se 欠乏食給餌ラットの肝臓 Se 含有量は、Se 補充食給餌ラットと比較して顕著に減少していた。Se 欠乏食給餌ラットの脳 Se 含有量は、有意ではあるものの 10%程度の減少であった（肝臓 $P < 0.001$、脳 $P < 0.01$、図 2.6.2.2-12A）。

Se 欠乏食給餌ラットにおけるカイニン酸惹起けいれん発作の重症度は、Se 補充食給餌ラットと比較して有意に高かった（$P < 0.01$、図 2.6.2.2-12B）。

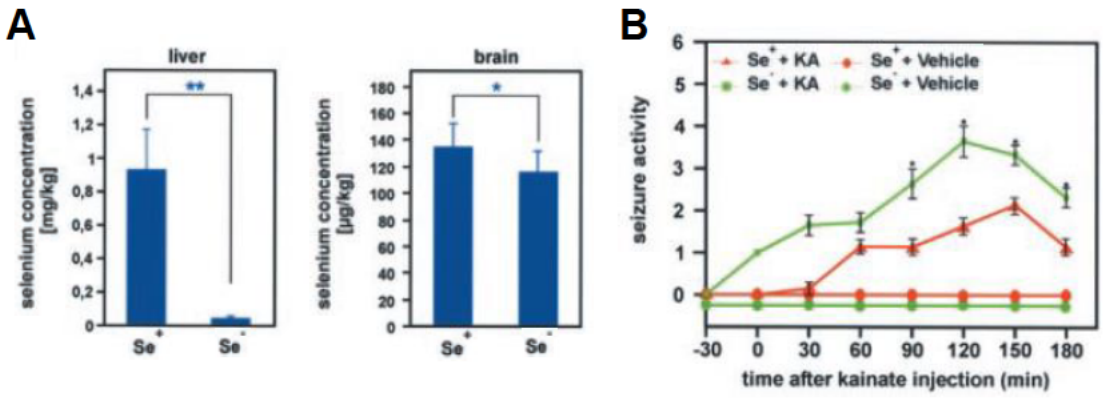


図 2.6.2.2-12　Se 欠乏食給餌ラットにおける肝臓及び脳 Se 含有量の低下（A）と、カイニン酸惹起けいれん発作の感受性の亢進（B）

Se^+ : Se 補充食群、Se^- : Se 欠乏食群、KA : カイニン酸

Two-tailed *t*-test with Bonferroni correction for multiple comparisons : $^{*}P < 0.01$, $^{**}P < 0.001$

値は平均 ± S.D.で示す（A : 各群　例数不明; B : Se^+ + KA 群 7 匹、Se^- + KA 群 6 匹、Se^+ + Vehicle 群 7 匹、Se^- + Vehicle 群 5 匹）。（引用文献 35、参考資料 4.2.1.1.2-9、Fig. 6 改編）

（2）セレノプロテイン P 欠損マウスにおける神経学的障害に対する肝特異的ヒトセレノプロテイン P 強制発現及び Se 補充による改善効果 [11)]

Renko らは、SeP 欠損（*Sepp*$^{-/-}$）マウスにおける神経学的障害に対する肝特異的ヒト SeP（*SEPP1*）強制発現及び亜セレン酸 Na 混餌投与による作用について検討した。

[方法]

離乳後の野生型（*Sepp*$^{+/+}$）マウス、*Sepp*$^{-/-}$マウス及び肝特異的に *SEPP1* を強制発現させた *Sepp*$^{-/-}$（*Sepp*$^{-/-;SEPP1}$）マウス（性別不明、C57BL/6 系）に、Se 欠乏食（torula yeast-based diet : 0.06 mg Se/kg 餌重量）又は Se 補充食（Se 欠乏食に 0.16～0.2 mg Se/kg 餌重量の亜セレン酸 Na を添加）を 12 週間給餌した。給餌期間中に重度の神経学的障害（失調歩行、けいれん発作）を示した個体は安楽死させ、その生存率（Kaplan-Meier plot）を評価した。

[結果]

Se 補充食給餌 *Sepp*$^{-/-}$マウスでは 2 週間でほとんどの個体に、また、Se 欠乏食給餌 *Sepp*$^{-/-}$マウスではより短期間で全個体に重度の神経学的障害が認められた。*Sepp*$^{-/-;SEPP1}$ マウスにおいても Se 欠乏食給餌により神経学的障害が誘発されたが、*Sepp*$^{-/-}$マウスと比較して神経学的障害の発現時期は遅延した。また、Se 補充食給餌された *Sepp*$^{-/-;SEPP1}$ マウスでは、明らかな神経学的障害が出現しなかった（図 2.6.2.2-13）。

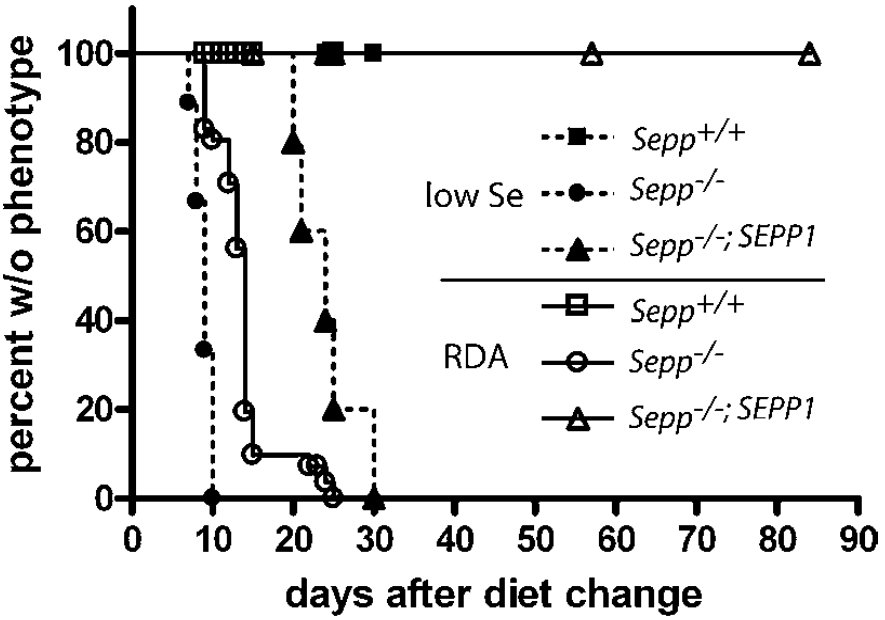


図 2.6.2.2-13　SeP 欠損マウスにおける神経学的障害に対する肝特異的 *SEPP1* 強制発現及び亜セレン酸 Na 混餌投与による改善効果

low Se : Se 欠乏食給餌、RDA : Se 補充食給餌

（low Se : *Sepp*$^{+/+}$ 群 14 匹、*Sepp*$^{-/-}$ 群 9 匹、*Sepp*$^{-/-;SEPP1}$ 群 5 匹、RDA : *Sepp*$^{+/+}$ 群 32 匹、*Sepp*$^{-/-}$ 群 14 匹、*Sepp*$^{-/-;SEPP1}$ 群 13 匹）（引用文献 11、参考資料 4.2.1.1.2-10、Fig. 8）

2.6.2.3　副次的薬理試験

2.6.2.3.1　免疫調節作用

1）T 細胞活性化作用 [12)]

Hoffmann らは、低、中又は高 Se 補充食給餌マウスの脾臓由来 CD4 陽性 T 細胞を用いて、CD4 陽性 T 細胞の活性化に対する Se 補充の効果について検討した。

[方法]

3～4 週齢の C57BL/6 系雄性マウスに、低、中、高 Se 補充食（それぞれ 0.08, 0.25, 1.0 mg Se/kg 餌重量の亜セレン酸 Na を含有）を 8 週間給餌し、それぞれを低、中、高 Se 補充食群とした。各マウス脾臓より単離した CD4 陽性 T 細胞をハムスター抗 cluster of differentiation 3（CD3）抗体とマウス抗ハムスター抗体で TCR 刺激を行った。刺激 3、8、12 時間後の IL-2 mRNA 及び 12 時間後の CD25（IL-2Rα）mRNA 発現はリアルタイムポリメラーゼ連鎖反応（PCR）により、また、細胞膜表面の CD25 タンパク発現はフローサイトメーターを用いて解析した。T 細胞増殖は、[^{3}H]チミジン取り込み量を液体シンチレーションカウンターにより測定し評価した。

[結果]

中及び高 Se 補充食群の CD4 陽性 T 細胞における TCR 刺激 3 時間及び 8 時間後の IL-2 mRNA 発現は、低 Se 補充食群に比べて高かった。高 Se 補充食群の CD4 陽性 T 細胞では、TCR 刺激 12 時間後においても、低及び中 Se 補充食群に比べて IL-2 mRNA 発現が高かった（$P < 0.05$、図 2.6.2.3-1A）。また、高 Se 補充食群の CD4 陽性 T 細胞では、TCR 刺激による CD25 mRNA 及び細胞膜表面の CD25 タンパク発現が、低及び中 Se 補充食群に比べて高かった（$P < 0.05$、図 2.6.2.3-1B, C）。TCR 刺激による CD4 陽性 T 細胞の増殖は、食餌中 Se 含有量依存的に上昇した（$P < 0.05$、図 2.6.2.3-1D）。

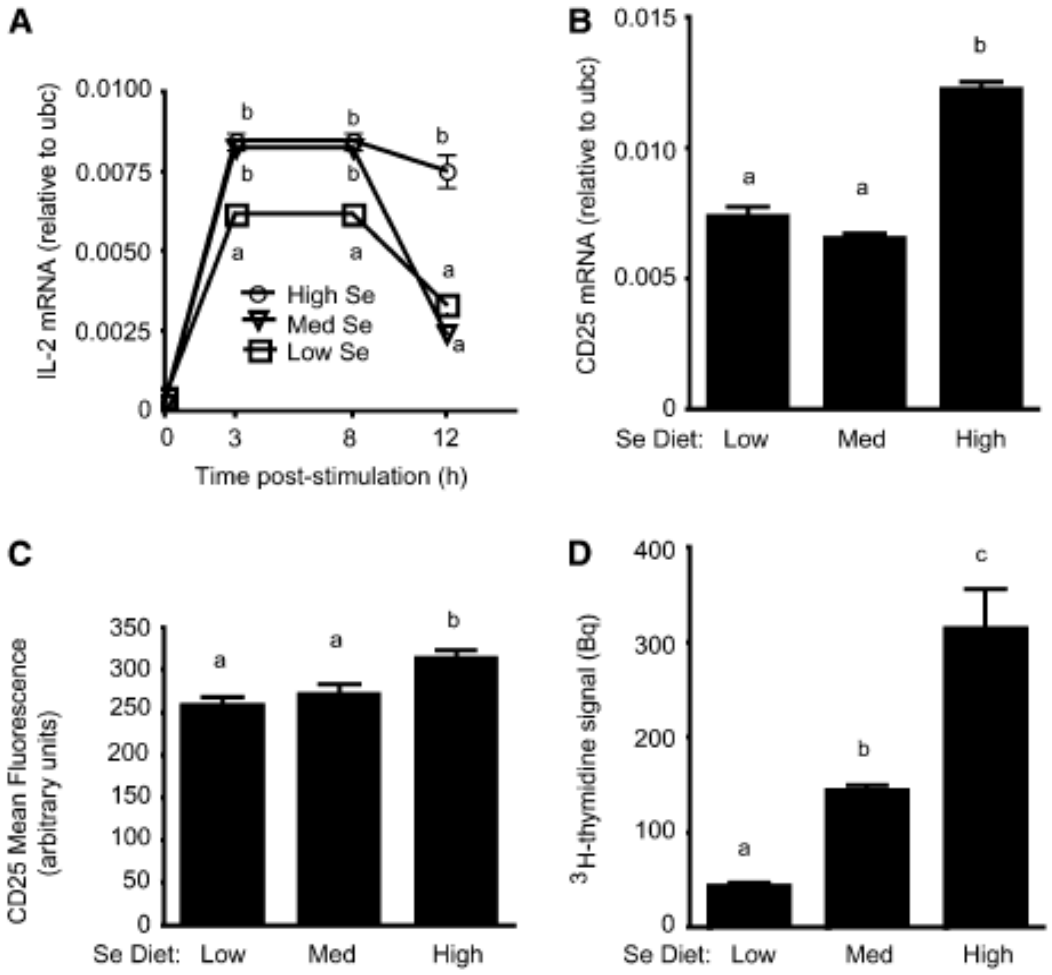


図 2.6.2.3-1　脾臓由来 CD4 陽性 T 細胞における TCR 刺激後の IL-2（A）及び CD25（B）mRNA 発現、細胞膜表面 CD25 タンパク発現（C）、細胞増殖（D）に対する Se 補充の効果

Low Se : 低 Se 補充食群、Med Se : 中 Se 補充食群、High Se : 高 Se 補充食群、ubc : ubiquitin C

One-way ANOVA followed by Tukey post test : 異なるアルファベット文字（a, b, c）間は有意差あり（$P < 0.05$）。

値は平均 ± S.E.M.で示す（A, B, D : 各群 3 匹、C : 各群 5 匹）。（引用文献 12、参考資料 4.2.1.2.1-1、Fig. 3）

2）Th1 エフェクター細胞への分化促進作用 [12)]

Hoffmann らは、低、中又は高 Se 補充食給餌マウスの脾臓由来 CD4 陽性 T 細胞を用いて、TCR 刺激後の CD4 陽性 T 細胞の分化に対する Se 補充の効果について検討した。

[方法]

3～4 週齢の C57BL/6 系雄性マウスに、低、中、高 Se 補充食（それぞれ 0.08, 0.25, 1.0 mg Se/kg 餌重量の亜セレン酸 Na を含有）を 8 週間給餌し、それぞれを低、中、高 Se 補充食群とした。各マウス脾臓より単離した CD4 陽性 T 細胞をハムスター抗 CD3 抗体とマウス抗ハムスター抗体で TCR 刺激を行った。刺激 3、8、12 時間後の IFN-γ 及び IL-4 mRNA 発現をリアルタイム PCR により解析した。

[結果]

TCR 刺激 12 時間後における IFN-γ mRNA 発現は、食餌中の Se 含有量依存的に上昇した。一方、TCR 刺激 3 時間及び 8 時間後における IL-4 mRNA 発現は、中及び高 Se 補充食群に比べて低 Se 補充食群で有意に高かった（$P < 0.05$、図 2.6.2.3-2）。

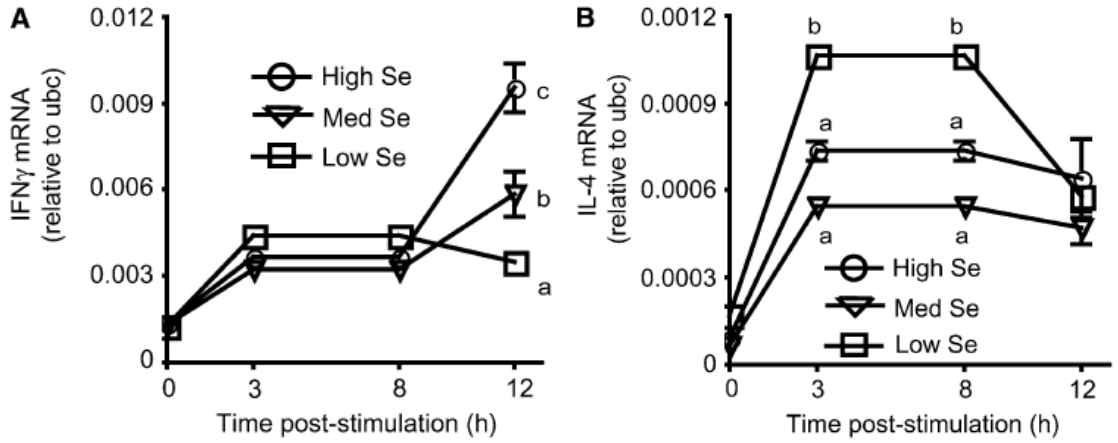


図 2.6.2.3-2　脾臓由来 CD4 陽性 T 細胞における TCR 刺激後の IFN-γ（A）及び IL-4（B）mRNA 発現に対する Se 補充の効果

Low Se : 低 Se 補充食群、Med Se : 中 Se 補充食群、High Se : 高 Se 補充食群、ubc : ubiquitin C

One-way ANOVA followed by Tukey post test : 異なるアルファベット文字（a, b, c）間は有意差あり（$P < 0.05$）。

値は平均 ± S.E.M.を示す（各群 3 匹）。（引用文献 12、参考資料 4.2.1.2.1-1、Fig. 4 改編）

3）セレノプロテイン欠損 T 細胞における TCR 活性化の欠如 [13)]

Shrimali らは、T 細胞特異的 *Trsp* 遺伝子欠損（セレノプロテイン欠損）及び対照（$Trsp^{fl/fl}$）マウスのリンパ節由来 CD3 陽性 T 細胞を用いて、TCR 刺激反応におけるセレノプロテインの関与について検討した。

[方法]

対照マウス及び T 細胞特異的セレノプロテイン欠損マウス（性別不明、C57BL/6 系）のリンパ節より回収した CD3 陽性 T 細胞を、抗 CD3 抗体単独又は抗 CD3/cluster of differentiation 28（CD28）抗体で刺激し、60 時間後に[^{3}H]チミジンの取り込み量を液体シンチレーションカウンターで測定することにより細胞増殖能を評価した。抗 CD3/CD28 抗体刺激後の培養上清中の IL-2 量は酵素免疫測定法（ELISA）により、また、抗 CD3/CD28 抗体刺激 0、24、48 時間後の細胞膜表面の IL-2Rα 発現はフローサイトメーターにて測定した。さらに、抗 CD3/CD28 抗体刺激 0、5、10、20 分後の extracellular signal-regulated kinase（ERK）並びにリン酸化 ERK 発現はイムノブロットにより解析した。

[結果]

抗 CD3 抗体単独又は抗 CD3/CD28 抗体での TCR 刺激により、対照マウスの CD3 陽性 T 細胞では明らかな細胞増殖能の上昇を示したが、T 細胞特異的セレノプロテイン欠損マウスの CD3 陽性 T 細胞では細胞増殖能が顕著に低下していた（図 2.6.2.3-3A）。TCR 刺激による T 細胞からの IL-2 産生量は両マウスとも同程度であった（図 2.6.2.3-3B）。また、TCR 刺激後の T 細胞における細胞膜表面の IL-2Rα 発現は、対照マウスに比べて、T 細胞特異的セレノプロテイン欠損マウスでは低かった（図 2.6.2.3-3C）。対照マウスの T 細胞では TCR 刺激後に速やかな ERK の活性化（リン酸化 ERK）が検出されたが、T 細胞特異的セレノプロテイン欠損マウスの T 細胞ではそのような反応は認められなかった（図 2.6.2.3-3D）。

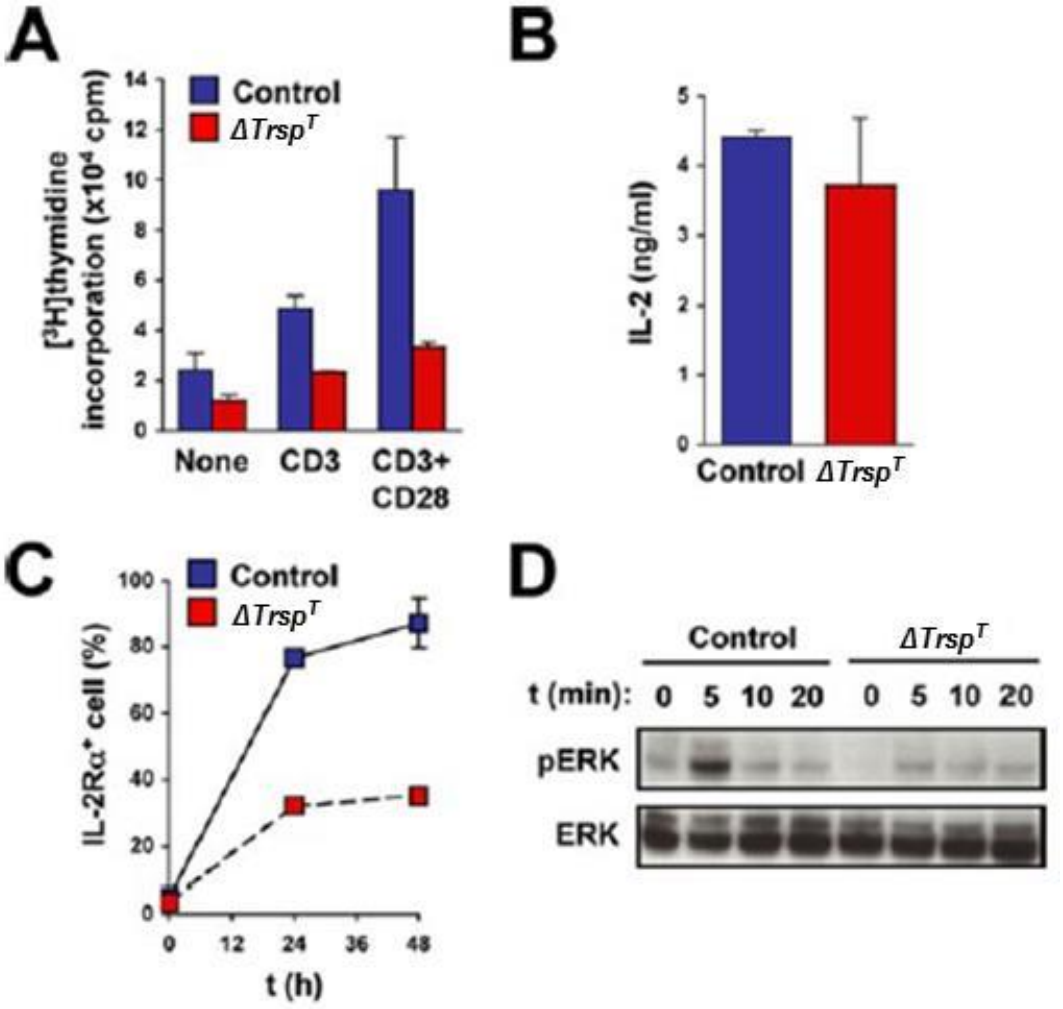


図 2.6.2.3-3　リンパ節由来 CD3 陽性 T 細胞における TCR 刺激後の細胞増殖能（A）、IL-2 産生（B）、細胞膜表面の IL-2Rα 発現（C）、ERK の活性化（D）に対する T 細胞特異的セレノプロテイン欠損による影響

ΔTrsp^{T} : T 細胞特異的セレノプロテイン欠損マウス

値は平均（誤差範囲に関する記載なし）で示す（A : 各群 6 匹、B～D : 例数不明）。（引用文献 13、参考資料 4.2.1.2.1-2、Fig.3 改編）

2.6.2.3.2　炎症性サイトカイン産生抑制作用 [14)]

Stoedter らは、Se 欠乏食給餌マウスへの LPS 投与後の血清中サイトカイン量の増加に対する Se 補充による影響について検討した。

[方法]

45 日齢の C57BL/6 系マウス（雌雄）に Se 欠乏食（0.1 ppm Se）を 3 週間給餌した後、飲水として亜セレン酸 Na 水溶液（100 μM）又は水を 3 日間摂取させた。亜セレン酸 Na 水溶液の摂取開始 2 日後、LPS（100 μg/個体）又は生理食塩液を腹腔内投与し、24 時間後の血清中 IL-6、MCP-1 及び TNF-α 量をマルチプレックス分析システム（Luminex 社）により測定した。

[結果]

亜セレン酸 Na 水溶液摂取群及び水摂取群では、LPS 投与により血清中 IL-6、MCP-1 及び TNF-α 濃度が増加した。しかしながら、亜セレン酸 Na 水溶液摂取群の雄性マウスでは、LPS 投与後の血清中 IL-6 及び MCP-1 濃度の上昇は水摂取群の 50%程度であり（IL-6 $P < 0.05$、MCP-1 $P < 0.01$）、LPS による TNF-α 濃度の上昇についても水摂取群に比べて抑制傾向が認められた。一方、雌性マウスでは、亜セレン酸 Na 水溶液摂取群と水摂取群との間で、LPS による血清中サイトカイン濃度の上昇の程度に有意な差異は認められなかった（図 2.6.2.3-4）。

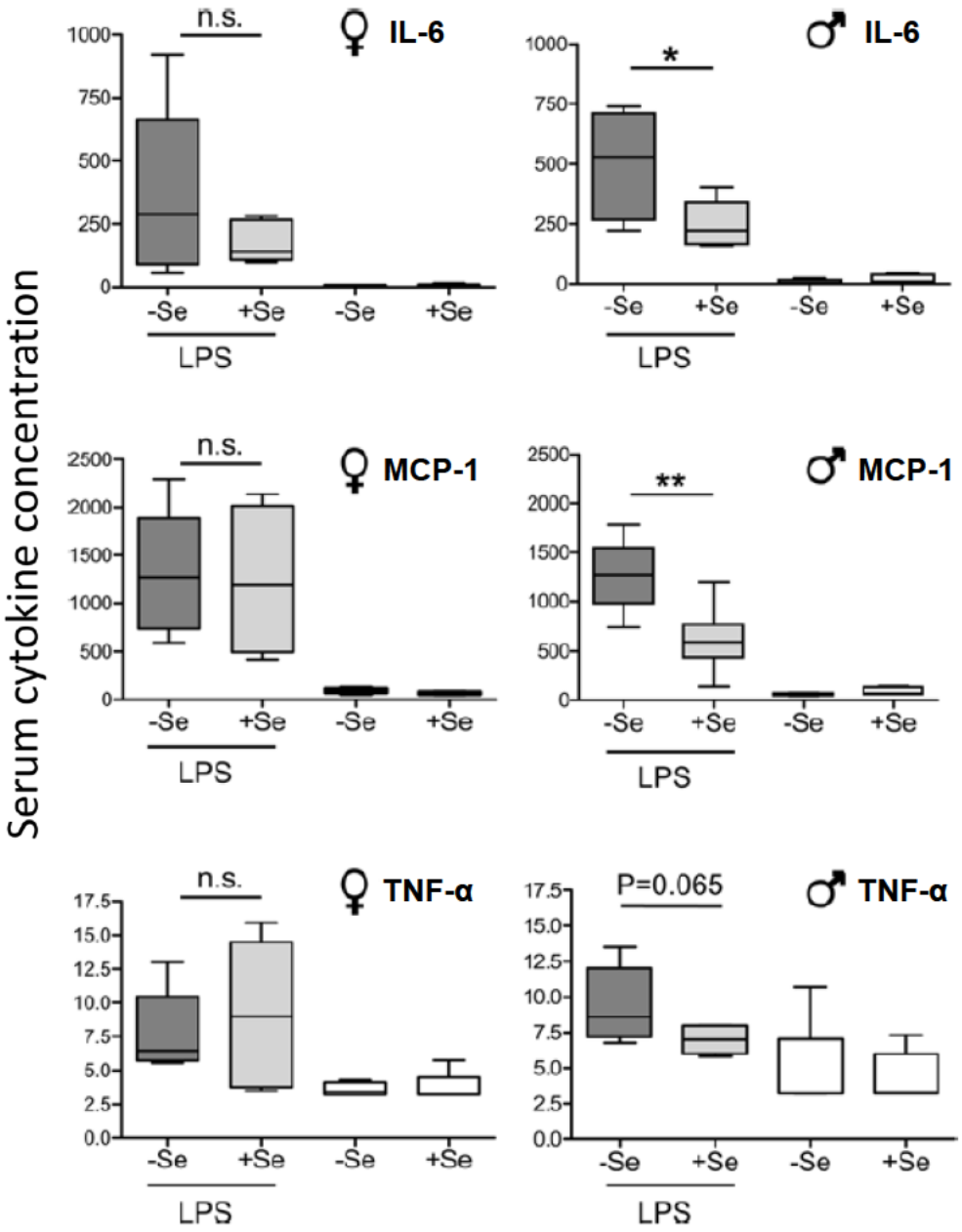


図 2.6.2.3-4　LPS 誘発炎症性サイトカイン濃度の上昇に対する Se 補充による影響
-Se : 水摂取群、+Se : 亜セレン酸 Na 水溶液摂取群
n.s. : not significant
Student's *t*-test : $^{*}P < 0.05$, $^{**}P < 0.01$
値は平均 ± S.E.M.で示す（各群 6 匹）。(引用文献 14、参考資料 4.2.1.2.2-1、Fig. 3 改編)
［注：縦軸の血清サイトカイン濃度の単位は記載されていない。検量線が 0～10,000 pg/mL で作成されており（血清の希釈倍率は未掲載)、また本論文の著者らによる同測定系を用いた先行論文（Endocrinology. 2006;147(12):5883-92）での記載から、pg/mL と推察される。］

2.6.2.4　安全性薬理試験

1）一般症状及び行動に及ぼす影響

マウスにおいて、亜セレン酸 Na（1, 3, 5, 10, 15, 20 mg/kg : 0.5, 1.4, 2.3, 4.6, 6.9, 9.1 mg Se/kg）の静脈内投与により、筋麻痺、心・呼吸停止が観察された（雌雄、各性 n = 4/群）[31]。亜セレン酸 Na（5.2 mg/kg : 2.4 mg Se/kg）の皮下投与では、20 分後から一過性の摂食行動の増加が認められ、亜セレン酸 Na（0.5, 1.7, 3.5, 5.2 mg/kg : 0.2, 0.8, 1.6, 2.4 mg Se/kg）の皮下投与では、3.5 mg/kg 以上で 3 時間後の胃内容物重量が有意に増加していた（雄性、n = 3～5/群）[30]。一方、亜セレン酸 Na（4.4, 8.8, 13.1 mg/kg : 2, 4, 6 mg Se/kg）の 12～15 日間の経口投与では体重増加抑制が認められ、4.4 又は 8.8 mg/kg ではそれぞれ投与 7 又は 4 日目から、13.1 mg/kg では試験期間を通して体重増加が抑制された（雄性、n = 8～10/群）[27]。

ラットへの亜セレン酸 Na（5.5～87.6 mg/kg : 2.5～40.0 mg Se/kg）の腹腔内投与により、横腹のけいれん性収縮が認められ、高用量では呼吸困難、チアノーゼが認められた。死亡直前には感覚麻痺、けいれんが観察される個体もあった（性別不明、総数 155 匹）[32]。亜セレン酸 Na（7.0 mg/kg : 3.2 mg Se/kg）の反復経口投与では、投与翌日から体重が減少し、3 日目以降で有意な体重増加抑制が認められた（雄性、n = 5～8/群）[28]。より高用量（21.9, 27.4, 32.9 mg/kg : 10, 12.5, 15.0 mg Se/kg）の単回経口投与では、ニンニク臭、体重減少、下痢、鼻からの出血、肛門周囲の汚れ、流涙、極度の嗜眠が観察された（雌雄、各性 n = 5～19/群）[29]。

イヌへの亜セレン酸 Na（0.2, 0.5, 1.1, 2.2, 4.4 mg/kg : 0.10, 0.25, 0.50, 1.0, 2.0 mg Se/kg、漸増）の静脈内投与では、嘔吐、下痢、不安行動、ラッセル音を伴う呼吸刺激、不整脈のような心血管系の変化、死亡が認められた（性別不明、総数 11 匹）[33]。

2）中枢神経系に及ぼす影響

ラットへの亜セレン酸 Na（0.05, 0.1, 0.2 mg/kg : 0.02, 0.05, 0.09 mg Se/kg）の 7 日間腹腔内投与では、3 日目以降から用量依存的に、かつ 0.1 mg/kg 以上で有意な自発運動量の増加が認められた（雄性、n = 8/群）[15]。

亜セレン酸 Na（5.3 mg/kg : 2.4 mg Se/kg）を 3 日間腹腔内投与された雄性ラットでは、ペントバルビタール（40 mg/kg、腹腔内投与）により誘発される催眠時間が延長したが、雌性ラットでは影響しなかった（雌雄、各性 n = 6/群）[17]。

亜セレン酸 Na（1, 3, 10 mg/kg : 0.5, 1.4, 4.6 mg Se/kg）を腹腔内投与（前処置）したマウスでは、ペンチレンテトラゾール（80 mg/kg、腹腔内投与）誘発けいれんが抑制された（雄性、n = 8～10/群）[18]。また、亜セレン酸 Na（0.7 mg/kg : 0.3 mg Se/kg）を 6 日間腹腔内投与（前処置）したラットでは、ペンチレンテトラゾール（60 mg/kg、経口投与）誘発てんかん様放電数及びスパイク数の増加が軽減され、最初のスパイク出現までの潜時が延長した（雄性、n = 8/群）[19]。

亜セレン酸 Na（1.7, 3.5, 5.2, 7.8, 10.4 mg/kg : 0.8, 1.6, 2.4, 3.6, 4.7 mg Se/kg）の皮下投与では、3.5 mg/kg 以上で用量依存的にマウスの直腸温を一過性に低下させた（環境温度 : 20 及び 30°C）（雄性、n = 5/群）[20]。

脳波の睡眠・覚醒パターンに関して、ラットへの亜セレン酸 Na 投与（10 nmol/μL/min で 6 時間の静脈内注入）は、覚醒期の延長、徐波睡眠期及び REM 睡眠期の短縮を示した

（雄性、総数 5 匹）[16]。

3）自律神経系及び平滑筋に及ぼす影響

ラット摘出回腸試験において、亜セレン酸 Na（10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}, 10^{-3} M）は、10^{-5} 及び 10^{-4} M 処置後 10 分間は自発性収縮のピーク張力を増加させたが、それ以降はコントロールレベルへ減弱した［注：本文とグラフで作用濃度が不一致。本文の記載を採用した］。また、10^{-3} M 処置時には、自発性収縮張力の低下、自発性収縮数の増加及び拘縮が認められた。アセチルコリン（2.7×10^{-7} M）前処置は、亜セレン酸 Na 処置によるピーク張力の増加率及び拘縮に影響しなかった（性別及び例数不明）[36]。

4）体性神経系に及ぼす影響

マウス横隔膜神経標本において、亜セレン酸 Na（10^{-5}, 3×10^{-5}, 10^{-4}, 3×10^{-4}, 10^{-3}, 3×10^{-3}, 10^{-2}, 3×10^{-2} M）は、電気刺激による単収縮幅を抑制し、その後、拘縮を誘発した。拘縮のピーク張力又はピーク張力までの時間は、濃度依存的にそれぞれ増加又は短縮した。脱神経は、亜セレン酸 Na による拘縮を阻害しなかった（雌雄、n = 4/群）[37]。

5）呼吸器系及び心血管系に及ぼす影響

麻酔イヌにおいて、亜セレン酸 Na（0.02, 0.1, 0.2, 0.5, 1.1, 2.2, 3.3, 4.4, 11.0, 21.9 mg/kg : 0.01, 0.05, 0.10, 0.25, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 5.0, 10.0 mg Se/kg）の静脈内投与により、0.2～1.1 mg/kg では緩やかで持続的な血圧（大腿動脈圧）の上昇、また無呼吸に至る 5 分前からの血圧降下が認められた。3.3 mg/kg では一過性の血圧降下、その後の血圧上昇、更に投与 20 分後から無呼吸になるまでの間は血圧が降下した。4.4 mg/kg では血圧の降下が認められた（性別不明、n = 2～25/群）[21]。亜セレン酸 Na（0.1, 0.5, 1.0, 2.0 mg/kg : 0.05, 0.2, 0.5, 0.9 mg Se/kg）の静脈内投与により、0.5 mg/kg 以上で投与 20 分後に平均動脈血圧が降下した（雌雄、n = 4～10/群）[22]との報告がある一方で、亜セレン酸 Na（0.04, 0.2, 4.0, 20 mg/kg : 0.02, 0.09, 1.8, 9.1 mg Se/kg）の静脈内投与は血圧に影響しなかった（性別不明、n = 3/群）との報告もある[25]。

麻酔イヌへの亜セレン酸 Na（0.1, 0.5, 1.0, 2.0 mg/kg : 0.05, 0.2, 0.5, 0.9 mg Se/kg）の静脈内投与では、2.0 mg/kg の用量で 20 分後に心拍数の減少が観察された（雌雄、n = 4～10/群）[22]。また、麻酔イヌへの亜セレン酸 Na（0.02, 0.1, 0.2, 0.5, 1.1, 2.2, 3.3, 4.4, 11.0, 21.9 mg/kg : 0.01, 0.05, 0.10, 0.25, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 5.0, 10.0 mg Se/kg）の静脈内投与では、4.4 mg/kg 投与 90 秒以内に一過性に心拍数が増加し、その後減少した。その後投与 23 分後までは心拍数が安定したが、心拍数の微増を示した後に不整脈性徐脈となり、無呼吸時には毎分約 30 回まで心拍数が減少した。その後しばしば頻脈を呈し、細動へと悪化するか、又は不整脈性徐脈に戻るかのいずれかであった。3.3 mg/kg では一過性に心拍数が増加したが、より低用量では死亡前（末期）の徐脈出現までは心拍数への影響はなかった（性別不明、n = 2～25/群）[21]。

ECG への影響に関して、麻酔イヌへの亜セレン酸 Na（0.02, 0.1, 0.2, 0.5, 1.1, 2.2, 3.3, 4.4, 11.0, 21.9 mg/kg : 0.01, 0.05, 0.10, 0.25, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 5.0, 10.0 mg Se/kg）の静脈内投与により、4.4 mg/kg では T 波異常（陰性）が検出され、QT 間隔の延長が認められた。末期の変

化としてはR波の抑制、S波の強調、P波のノッチング、ST-T波の不明瞭化、A-Vブロックが認められた。2.2及び3.3 mg/kg投与時にも顕著ではないが末期の徐脈の出現前に4.4 mg/kg投与時と同様のECG変化が認められ、より低用量では陰性T波以外のECG変化は認められなかった（性別不明、n = 2～25/群）[21]。

麻酔イヌへの亜セレン酸Na（0.02, 0.1, 0.2, 0.5, 1.1, 2.2, 3.3, 4.4, 11.0, 21.9 mg/kg : 0.01, 0.05, 0.10, 0.25, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 5.0, 10.0 mg Se/kg）の静脈内投与により、4.4 mg/kgでは45秒後から呼吸数の増加が認められ、その後頻呼吸、更には呼吸停止に至った。0.2, 0.5, 2.2, 3.3 mg/kg投与後の呼吸刺激の発生時間はそれぞれ21, 14, 4, 2分後であった。0.5 mg/kgより高用量では頻呼吸に付随し一回換気量の減少が認められ、分時換気量は0.2 mg/kg以上で2～3倍に増加した。また、4.4 mg/kgでは、酸素消費が一過性に増加し、その後呼吸停止までの間は減少した（性別不明、n = 2～15/群）[26]。

モルモット摘出心臓において、亜セレン酸Na（10^{-10}, 10^{-9}, 10^{-8}, 10^{-7}, 10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4} M）は濃度依存的に陰性変力作用を示し、その作用はwashoutにより回復しなかった。また、心拍数には影響しなかった（雄性、n = 4～11/群）[23]。ウサギ摘出心臓では、亜セレン酸Na（2.3, 3.3, 6.5 μg/mL : 1.1, 1.5, 3.0 μg Se/mL）は3.3 μg/mL以上で陰性変力作用を示し、6.5 μg/mLでは心拍数の明らかな減少が認められた（雌雄、n = 10/群）[24]。イヌ心室標本では、亜セレン酸Na（0.01, 0.1, 1 mg : 0.005, 0.05, 0.5 mg Se、冠状動脈から注入）は陽性変力作用を示した（性別不明、n = 3～7/群）[25]。

ラット胸大動脈由来血管への亜セレン酸Na（1.2, 6.3 μM）処置は、アセチルコリン（10^{-6}～10^{-5} M）誘発血管弛緩反応に影響しなかった（雄性、n = 10～14/群）[38]。亜セレン酸Na（0.7 mg/kg : 0.3 mg Se/kg）を3日間腹腔内投与したラットから摘出した胸大動脈由来血管では、アセチルコリン（10^{-6}～10^{-4} M）誘発血管弛緩反応の増強が認められた（雄性、n = 5/群）[38]。ウサギ胸大動脈由来血管への亜セレン酸Na（10^{-5}, 10^{-4}, 10^{-3} M）処置により、10^{-3} Mではフェニレフリン（10^{-8}～10^{-5} M）誘発血管収縮反応が右側（高濃度側）にシフトし、最大反応も抑制された（雌雄、n = 8/群）。また、アセチルコリン（10^{-9}～10^{-5} M）誘発血管弛緩反応は10^{-3} M 亜セレン酸Na処置により阻害された（雌雄、n = 12/群）。一方、亜セレン酸Naは、塩化カリウム（10～60 mM）誘発血管収縮反応に影響しなかった（雌雄、n = 14/群）[36]。

6）水及び電解質に及ぼす影響

ラットへの亜セレン酸Na（0.18, 0.28, 0.4, 0.9, 1.8 mg/kg : 0.08, 0.13, 0.2, 0.4, 0.8 mg Se/kg、補充水）の13週間の経口投与では、1.8 mg/kg投与14日目において尿pHの上昇を示したが、42日目以降では差異が認められなかった。また、尿量は用量依存的に減少し、42日目以降では全投与用量において有意な減少が認められた（雄性、n = 9～10/群）[39]。

2.6.2.5　薬力学的薬物相互作用

亜セレン酸Na（5.3 mg/kg : 2.4 mg Se/kg）を3日間腹腔内投与された雄性ラットでは、ペントバルビタール（40 mg/kg, 腹腔内投与）により誘発される催眠時間が延長したが、雌性ラットでは影響しなかった（雌雄、各性n = 6/群）[17]。

2.6.2.6　考察及び結論

効力を裏付ける薬理試験

1）Se 欠乏食給餌による生体内 Se 含有量の低下、セレノプロテイン発現量又は生理活性の低下に対する Se 補充効果

Se 欠乏食給餌動物への亜セレン酸 Na 投与（単回 [1)]及び反復腹腔内投与 [2,3)]、混餌投与 [4)]）又はその他の Se 化合物投与（飲水 [5)]または混餌投与 [6)]）による Se 補充は、組織、体毛及び血中の Se 含有量の低下、セレノプロテイン発現量又は生理活性の低下を軽減させ、その Se 補充効果は用量依存的かつ経時的であった。亜セレン酸はセレン化水素へと還元され、セレノシステインを経てセレノプロテインに取り込まれることから [40,41)]、Se 欠乏症への亜セレン酸 Na 投与は、生体内 Se 含有量の低下を回復させ、Se 欠乏により低下した一部のセレノプロテイン発現量及び生理活性の正常化に寄与すると考えられる。また、Se 欠乏時の脳及び精巣 Se 含有量は、他の組織（肝臓、腎臓、筋肉）よりも比較的保持されていることから [1,4,35)]、Se 保持能は組織により異なることが示唆された。

2）Se 欠乏に関連する症状に対する Se 補充による改善及び予防効果

Se 欠乏に伴う臨床症状には、毛髪の成長への影響、爪の白色化や変形、筋肉痛、筋力低下、不整脈や頻脈、心筋症、神経障害などが報告されている [42-46)]。Se 欠乏食給餌動物では、上記の Se 欠乏症状に関連する組織において、Se 含有量、セレノプロテイン発現量又は生理活性が低下しており、これらの低下に対して、亜セレン酸 Na を含む Se 化合物投与による Se 補充効果が認められた [1,3-6)]。

Se 欠乏に伴う筋肉痛、筋力低下などの筋症状は可逆的であるのに対し、心筋症は重篤化すると不可逆的で死に至ることが報告されている [47-50)]。Se 欠乏食給餌マウスの摘出心房では β-アゴニストによる陽性変力作用が低下していたが、その機能低下は Se 補充により回復した [7)]。さらに、Se 欠乏食給餌ラットへの亜セレン酸 Na の反復腹腔内投与では、Se 欠乏により惹起された心機能障害及び GSH-Px 活性の低下が軽減された [3)]。これらの結果から、Se 欠乏による心機能障害が重篤化し不可逆的になる前段階での亜セレン酸 Na 投与は、Se 補充による GSH-Px などのセレノプロテイン活性の回復を介して、心機能障害を軽減させる可能性が示唆される。

Se 欠乏食を給餌した SHR では、Se 補充食及び Se 過剰食給餌時と比較して、高血圧誘発性心不全の進行による生存率の低下が認められた [8)]。この Se 補充による予防効果は、循環不全症候などの臨床症状を呈する克山病（Se 欠乏症の一つ）に対する亜セレン酸 Na による予防効果を示した臨床結果 [51)]と類似した結果であると考えられる。また、克山病では Se 欠乏以外の要因としてウイルス感染の関与が示唆されており [52)]、Se 欠乏食給餌マウスでは、コクサッキーウイルスによる心障害に対する感受性の亢進 [53)]が報告されている。Se 欠乏食給餌マウス [34)]及び GSH-Px-1 欠損マウス [54)]では非病原性 CVB3/0 の病原性獲得が認められることから、Se 欠乏時の非病原性コクサッキーウイルスの病原性獲得には、GSH-Px-1 の発現又は生理活性の低下の関与が示唆される。

Se 欠乏症で認められる毛髪の成長への影響などの臨床症状と類似して、Se 欠乏食給餌ラット及びマウスにおいても体毛 Se 含有量の低下 [6)]並びに体毛変化や皮膚組織の形成異常 [9)]が認められ、Se 補充はこれらに対する改善又は予防効果を示した。これらの結果はこれまでの症例報告の結果 [43,46)]と一致していた。また、Se 欠乏食給餌マウスで認められた体毛

及び皮膚組織の変化は、ケラチノサイト特異的 *Trsp* 遺伝子欠損（セレノプロテイン欠損）マウスにおいても観察されたことから[10]、セレノプロテインがケラチノサイトの増殖や生存に重要な役割を担っていること、また、毛髪変化などの Se 欠乏症の発症機序にはケラチノサイトにおけるセレノプロテイン発現又は活性低下の関与が示唆された。

Se 欠乏に関連した神経学的障害に関する臨床報告は、毛髪の成長への影響、爪の白色化や変形、筋肉痛、筋力低下などと比較して少ないが、長期の中心静脈・経腸栄養施行症例における血中 Se 濃度の低下と構音障害並びに感覚障害などの神経学的障害[44,46,55]について、また、血中 Se 濃度とてんかん又はけいれんとの関連性について[56,57]の報告がなされている。Se 欠乏食給餌ラットでは、カイニン酸惹起けいれん発作の感受性が亢進すること[35]、さらに、神経細胞特異的 *Trsp* 遺伝子欠損（セレノプロテイン欠損）マウスの海馬スライスにおいても自発性てんかん様活性が認められること[58]から、Se 欠乏時のけいれん発作の惹起及び重症化には神経細胞におけるセレノプロテインの生理機能低下の関与が示唆される。また、Se の運搬及び貯蔵に関わる SeP の欠損マウスでは、Se 欠乏食給餌群においてより短期間でけいれん発作及び失調歩行のような重度の神経学的障害が認められ、また、その神経学的障害の発現は、肝臓特異的 *SEPP1* 強制発現及び Se 補充により抑制された[11]。この結果は、肝臓で生合成された SeP が脳への Se 運搬に重要な役割を担っていることを示すと共に、Se 欠乏に伴う神経学的障害に対する Se 補充による予防の可能性を示唆している。

また、Se 欠乏症状の発現機序は充分には解明されていないが、Se 欠乏食給餌動物[3,9]と同様に、セレノプロテイン欠損マウスにおいても Se 欠乏時の臨床症状に類似した表現型が認められる[10,11]ことから、セレノプロテイン発現量及び生理活性の低下の関与が示唆される。

以上の結果から、低 Se 血症患者への亜セレン酸 Na の点滴静脈内注射及び静脈内注射による Se 補充は、Se 欠乏により低下した一部のセレノプロテインの発現量及び生理活性を正常化することができるため、Se 欠乏症状を呈する患者及び臨床症状発現前の血清 Se 濃度低値の患者に対する有効性が期待される。また、Se 欠乏症の一部の症状は不可逆的であることから[47-50]、長期にわたる栄養管理療法施行時など Se 欠乏症に至るリスクが想定される場合には、血清 Se 濃度のモニタリングの必要性、並びに亜セレン酸 Na の点滴静脈内注射及び静脈内注射による Se 補充の必要性を考慮すべきである。

副次的薬理作用

1）免疫調節作用

高 Se 補充食給餌マウスの CD4 陽性 T 細胞では、Se 欠乏食給餌マウスと比べて、TCR 刺激後の IL-2 mRNA 及び細胞表面の CD25（IL-2Rα）発現の上昇、T 細胞の増殖促進が認められた[12]。一方、T 細胞特異的 *Trsp* 遺伝子欠損（セレノプロテイン欠損）マウスの T 細胞では、対照マウスと比べ TCR 刺激後の細胞膜表面の IL-2Rα 発現及び T 細胞の増殖能が低下していた[13]。さらに、T 細胞特異的 *Trsp* 遺伝子欠損（セレノプロテイン欠損）マウスの T 細胞では、TCR 刺激後に ERK が活性化されなかったことから、Se 補充による T 細胞活性化作用には、セレノプロテイン及び ERK シグナル系の関与が示唆される。また、CD4 陽性 T 細胞における TCR 刺激による IFN-γ mRNA 発現は、食餌中の Se 含有量依存的に上昇したのに対し、IL-4 mRNA 発現は Se 補充食群よりも Se 欠乏食給餌群で上昇していた[12]。

このことから、Se 補充は Th1 エフェクター細胞への分化促進作用を誘導する可能性が示唆される。

2）炎症性サイトカイン産生抑制作用

Se 欠乏食を給餌した雄性マウスにおいて、LPS により誘導される血清中炎症性サイトカイン（IL-6、MCP-1 及び TNF-α）量の増加は、Se 補充により抑制される傾向を示した。この炎症性サイトカイン産生抑制作用には性差が認められた[14]。性差を示唆する報告として、セレノプロテイン発現[59]、ペントバルビタール誘発催眠に対する影響[17]、敗血症における Se 補充による反応性（罹病率又は死亡率）などにおける性差がある[60]が、海外の静脈経腸栄養学会のガイドラインにおける Se の 1 日推奨量には性別による区別はなされていない[61,62]。

Se 栄養状態が免疫系に及ぼす影響については、Se 欠乏食給餌マウスでの非病原性 CVB3/0 の病原性獲得[34]、コクサッキーウイルス又はインフルエンザウイルスなどのウイルス感染に対する感受性の亢進[53,63]などの非臨床試験の報告に加え、敗血症など全身性炎症反応症候群における血中 Se 含有量の低下と Se 補充の有用性が報告されている[64]。Se 栄養状態と免疫系病態との関連性、また、亜セレン酸 Na の有効性に関するエビデンスは十分であるとは言えないが、これらの知見から、Se 栄養状態が免疫系に影響を及ぼすことが推察される。

以上の結果から、食餌性及び敗血症などの疾患による低 Se 栄養状態への亜セレン酸 Na 投与では、免疫調節作用[12,13]や炎症性サイトカイン産生抑制作用[14]を示す可能性が期待される。

治療域に関しては、以下のように考えられる。Nakayama らの報告によると、18 週間の Se 欠乏食給餌マウスに 0.025～0.25 mg Se/kg 餌重量（マウスの体重を 25 g、1 日摂餌量を 5 g として換算すると、5～50 μg Se/kg と推定）の Se 補充食を 8 週間摂取させたところ、用量依存的な組織 Se 補充効果が認められており、0.1 mg Se/kg 餌重量（推定 20 μg Se/kg）では 0.25 mg Se/kg 餌重量（通常食での Se 含有量）の Se 補充食摂取時の組織 Se 含有量の約 75%まで改善している[4]。18 週間の Se 欠乏食給餌マウスでは、比較的 Se 保持能の高い組織である脳及び精巣においても Se 含有量が低下しており、重度の Se 欠乏状態であったと考えられ、ヒトでの一日推奨摂取量（1～2 μg Se/kg）や海外添付文書に記載の承認用量（体重 60 kg として換算すると、約 2～8 μg Se/kg と推定）と比較すると、より高用量で長期間の Se 補充食摂取が必要であったと推察される。さらに、ヒトでの一日推奨摂取量が 1～2 μg Se/kg であるのに対して、げっ歯類の通常食には 0.2～0.3 mg Se/kg 餌重量（ラット体重 500 g、1 日摂餌量 20 g として換算すると、8～12 μg Se/kg と推定）[1,3,5]、Se 欠乏食には ≤0.039 mg Se/kg 餌重量（同様の換算で ≤1.56 μg Se/kg と推定）[1,3,5,6,35]の Se が含まれていること、また、日本人の血清 Se 濃度の平均値は 13.9 μg/dL[65]であるのに対し、通常食摂取ラットの血清 Se 濃度の平均値は約 20 μg/dL[6]であることなどから、ヒトと実験動物では Se 要求量が異なる可能性が推察される。このことは、非臨床薬理試験に用いられている亜セレン酸 Na 投与量がヒトでの一日推奨摂取量及び海外での承認用量と比較して高い理由の一つである可能性が考えられる。以上のことから、げっ歯類での Se 欠乏症に対する推定有効用量は、Nakayama らの報告における組織 Se 補充効果の飽和付近の用量 0.05～0.10 mg Se/kg 餌

重量（推定 10～20 μg Se/kg）及びげっ歯類の一日 Se 摂取量（推定 8～12 μg Se/kg）と同程度の用量範囲の 8～20 μg Se/kg と考えられ、海外での承認用量（約 2～8 μg Se/kg）及びヒトでの一日推奨摂取量（1～2 μg Se/kg）と比較すると、若干高用量であった。

安全性薬理試験

マウス及びラットへの亜セレン酸 Na の投与（静脈内、腹腔内及び皮下投与）は、自発運動量の増加[15)]、徐波及び REM 睡眠期の短縮と覚醒期の延長[16)]、ペントバルビタール誘発催眠時間の延長作用（雄性のみ）[17)]、ペンチレンテトラゾール誘発けいれんに対する抗けいれん作用[18,19)]、一過性の体温低下作用[20)]といった中枢神経系において刺激及び抑制作用を示した。その他の一般症状及び行動として、マウス、ラット及びイヌへの亜セレン酸 Na の投与（静脈内、腹腔内、皮下及び経口投与）により、不安行動、体重増加抑制、一過性の摂食行動増加、嘔吐、下痢、感覚麻痺、けいれん、横隔膜のけいれん性収縮、筋麻痺、呼吸困難、チアノーゼ、流涙、ニンニク臭、死亡が観察された[27-33)]。海外の添付文書には、副作用情報として皮膚炎、汗／呼気臭、脱毛、せっかち、嘔吐、局所痛が記載されており、また、急性過量投与による症状として呼気のニンニク臭、疲労、悪心、下痢、腹痛、爪や毛髪の成長への影響、末梢性の多発ニューロパチー、胃腸障害、散発的な神経障害、心血管不全、肝壊死が記載されている。これらに類似した症状の一部は、マウス、ラット及びイヌへの投与によっても観察された。睡眠に及ぼす影響に関しては、雄性ラットへの高用量投与時にバルビタール誘発催眠時間の延長作用[17)]や極度の嗜眠[29)]を認めた一方で、10 nmol/μL/min で静脈内に 6 時間持続注入した場合には、徐波及び REM 睡眠期の短縮[16)]が示された。これらの試験では用量反応性の評価が不十分で最小影響量が不明であるため、治療用量との比較ができないが、海外の添付文書において睡眠に関連する副作用の記載がないこと、また、「運転及び機器操作への影響」は該当データなしと記載されていることから、治療の用法・用量範囲では、急性副作用としての睡眠への影響の可能性は低いと推察される。

また、ラット摘出回腸への亜セレン酸 Na 処置は、自発性収縮のピーク張力の一過性の上昇（10^{-5} 及び 10^{-4} M）、自発性収縮張力の低下、自発性収縮数の増加及び拘縮（10^{-3} M）を示した[36)]。マウス横隔膜神経標本では、電気刺激による単収縮幅の抑制と拘縮を誘発した[37)]。この拘縮は脱神経により阻害されなかったことから、亜セレン酸 Na の筋膜又は筋への直接作用が推察される。しかしながら、拘縮を誘発した亜セレン酸 Na 濃度は 10^{-4}～10^{-3} M であり、健康な日本人の血清中 Se 含有量の基準値の上限値（17.3 μg/dL: 1 μM）[65)]を超える濃度であることから、用法・用量に従って使用する場合は、筋拘縮などのリスクの可能性は低いと考えられる。

心血管系への影響として、麻酔イヌへの静脈内投与では、心拍数の変化（投与直後の一過性の増加[21)]及び減少[21,22)]）、血圧の変化（上昇[21)]、低下[21,22)]、無影響[25)]）及び T 波異常や QT 間隔延長（2.2 mg/kg 以上：1.0 mg Se/kg 以上）などの ECG 変化が認められた[21)]。また、モルモット摘出心臓（推定最小影響濃度：10^{-7} M、論文に統計結果が未記載のため、平均値、標準誤差及び例数を基に、*t*-test を行い、有意な変化が認められた濃度）[23)]及びウサギ摘出心臓（最小影響濃度：1.9×10^{-5} M）[24)]では陰性変力作用を、また、イヌ心室では陽性変力作用[25)]を示した。ウサギ摘出血管を用いた実験では、高濃度処置時（10^{-3} M）

にフェニレフリン誘発収縮反応及びアセチルコリン誘発弛緩反応に対する抑制作用が認められた[36]。0.7 mg/kg（0.3 mg Se/kg）の用量で 3 日間腹腔内投与後のラット摘出血管では、アセチルコリン誘発弛緩反応の増強が認められた[38]。心血管系に及ぼす影響に関する試験では、詳細な ECG 解析、human ether-a-go-go-related gene（*hERG*）発現系及び摘出心臓による詳細な電気生理学的評価が実施されていないことから、亜セレン酸 Na の QT 間隔延長のリスクに関する評価が十分ではないが、海外の添付文書では循環器系及び ECG 変化に関する副作用の記載はない。また、亜セレン酸 Na の海外添付文書では、過量投与による急性症状として、ECG 変化に関する情報の記載はないが、亜セレン酸 Na の過剰摂取（1.7 又は 10 g）による T 波変化や QT 間隔延長などの ECG 変化を示した症例報告がある[66,67]。亜セレン酸 Na が摘出心臓に影響を及ぼす濃度又は用量を考慮すると[23-25]、血清 Se 濃度のモニタリング実施が望ましいと考えられる。

呼吸運動に及ぼす影響に関して、麻酔イヌへの亜セレン酸 Na 投与により呼吸数及び分時換気量の増加、一回換気量の減少、一過性の酸素消費量の増加とその後の減少が認められた[26]。また、一般症状観察においても、ラットでは呼吸困難及びチアノーゼ[32]、また、イヌではラッセル音を伴う呼吸刺激[33]が認められているが、いずれも高用量投与時である。海外の添付文書には呼吸器系に関する副作用及び過量投与による情報の記載はない。したがって、用法・用量に従って使用する場合は、本剤が急性副作用として呼吸運動へ重篤な影響を及ぼす可能性は低いと考えられる。

ラットへの亜セレン酸 Na の 13 週間経口投与では、一過性の尿 pH の上昇、用量依存的な尿量及び摂水量の減少が認められ、尿量の減少に関しては摂水量の減少に起因することが推察された。また、1.8 mg/kg（0.8 mg Se/kg）投与群では、投与 70 日目までの血清尿素窒素量は増加していたが、投与 13 週目では差異は認められておらず、全用量群で投与期間を通じて血清クレアチニン量の上昇も認められなかった。一方で、1.8 mg/kg（0.8 mg Se/kg）投与群の 13 週間後では、右腎相対重量の増加や腎乳頭変性が認められた[39]。海外の添付文書には、副作用として腎機能への影響に関する記載はないが、亜セレン酸 Na を含有する培養液を過量摂取した症例において急性腎不全が報告されている[68]。これらのことから、高用量の亜セレン酸 Na 投与により腎機能に影響を及ぼす可能性が推察されるが、用法・用量に従って使用する場合は、急性の副作用として腎機能に重篤な影響を及ぼす可能性は低いと推察される。

以上の結果から、亜セレン酸 Na は、心血管系、中枢神経系、呼吸器系に影響を及ぼすと考えられる。また、単回投与毒性試験においては、マウス、ラット及びイヌへの静脈内投与での LD_{50} 又は使用動物半数死亡誘導量は、それぞれ 2.3 mg Se/kg[31], 3 mg Se/kg[69], 0.875～1 mg Se/kg[33]であったが、ラットの反復経口投与毒性試験において、心血管系に影響を及ぼした用量は 0.025 mg Se/kg/day 以上、また、最も低い無毒性量は 0.002 mg Se/kg/day であった（2.6.6　毒性試験の概要文を参照）。したがって、非臨床試験成績から、亜セレン酸 Na の点滴静脈内注射及び静脈内注射時の安全域を見出すことができなかった。しかしながら、本剤は Se 欠乏症における Se 補充を目的として使用され、また、使用経験が蓄積されている諸外国の添付文書には、副作用情報がほとんど記載されていない。また、ヒトでの無毒性量（800 µg Se/日）[70]及び過剰用量による重篤な副作用の発現が既に明らかになっている。これら非臨床安全性試験成績及び既に蓄積されたヒトにおける安全性情報を総合的

に考えると、低 Se 血症患者への亜セレン酸 Na の使用にあたっては、用法・用量を遵守し、血清 Se 濃度が基準値内にコントロールされるように、定期的なモニタリングの実施が望ましいと考えられる。

2.6.2.7　図表

本文中に記載した。

2.6.2.8　引用文献

1) Agay D, Sandre C, Ducros V, Faure H, Cruz C, Alonso A, et al. Optimization of selenium status by a single intraperitoneal injection of Se in Se-deficient rat: possible application to burned patient treatment. Free Radic Biol Med. 2005;39(6):762-8.（参考資料 4.2.1.1.1-2）
2) Peng D, Zhang J, Liu Q. Effect of sodium selenosulfate on restoring activities of selenium-dependent enzymes and selenium retention compared with sodium selenite in vitro and in vivo. Biol Trace Elem Res. 2007;117(1-3):77-88.（参考資料 4.2.1.1.1-3）
3) Xing Y, Liu Z, Yang G, Gao D, Niu X. MicroRNA expression profiles in rats with selenium deficiency and the possible role of the Wnt/β-catenin signaling pathway in cardiac dysfunction. Int J Mol Med. 2015;35(1):143-52. （参考資料 4.2.1.1.2-3）
4) Nakayama A, Hill KE, Austin LM, Motley AK, Burk RF. All regions of mouse brain are dependent on selenoprotein P for maintenance of selenium. J Nutr. 2007;137(3):690-3.（参考資料 4.2.1.1.1-1）
5) Wu Q, Huang K. Effect of long-term Se deficiency on the antioxidant capacities of rat vascular tissue. Biol Trace Elem Res. 2004;98(1):73-84.（参考資料 4.2.1.1.2-1）
6) Shiobara Y, Yoshida T, Suzuki KT. Effects of dietary selenium species on Se concentrations in hair, blood, and urine. Toxicol Appl Pharmacol. 1998;152(2):309-14.（参考資料 4.2.1.1.2-6）
7) Gomez RM, Levander OA, Sterin-Borda L. Reduced inotropic heart response in selenium-deficient mice relates with inducible nitric oxide synthase. Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2003;284(2):H442-8.（参考資料 4.2.1.1.2-2）
8) Lymbury RS, Marino MJ, Perkins AV. Effect of dietary selenium on the progression of heart failure in the ageing spontaneously hypertensive rat. Mol Nutr Food Res. 2010;54(10):1436-44.（参考資料 4.2.1.1.2-4）
9) Hwang SW, Lee HJ, Suh KS, Kim ST, Park SW, Hur DY, et al. Changes in murine hair with dietary selenium excess or deficiency. Exp Dermatol. 2011;20(4):367-9.（参考資料 4.2.1.1.2-7）
10) Sengupta A, Lichti UF, Carlson BA, Ryscavage AO, Gladyshev VN, Yuspa SH, et al. Selenoproteins are essential for proper keratinocyte function and skin development. PLoS One. 2010;5(8):e12249.（参考資料 4.2.1.1.2-8）
11) Renko K, Werner M, Renner-Müller I, Cooper TG, Yeung CH, Hollenbach B, et al. Hepatic selenoprotein P (SePP) expression restores selenium transport and prevents infertility and motor-incoordination in Sepp-knockout mice. Biochem J. 2008;409(3):741-9.（参考資料 4.2.1.1.2-10）
12) Hoffmann FW, Hashimoto AC, Shafer LA, Dow S, Berry MJ, Hoffmann PR. Dietary selenium modulates activation and differentiation of $CD4^+$ T cells in mice through a mechanism involving cellular free thiols. J Nutr. 2010;140(6):1155-61.（参考資料 4.2.1.2.1-1）
13) Shrimali RK, Irons RD, Carlson BA, Sano Y, Gladyshev VN, Park JM, et al. Selenoproteins mediate T cell immunity through an antioxidant mechanism. J Biol Chem. 2008;283(29):20181-5.（参考資料 4.2.1.2.1-2）
14) Stoedter M, Renko K, Hög A, Schomburg L. Selenium controls the sex-specific immune response and selenoprotein expression during the acute-phase response in mice. Biochem J.

2010;429(1):43-51.（参考資料 4.2.1.2.2-1）

15) Ahmad AS, Zia S, Sayeed I, Ansari MA, Ahmad M, Salim S, et al. Sodium selenite stimulates neurobehavior and neurochemical activities in rats. Biol Trace Elem Res. 2005;103(1):59-68.（参考資料 4.2.1.3.1-8）
16) Takahata R, Matsumura H, Kantha SS, Kubo E, Kawase K, Sakai T, et al. Intravenous administration of inorganic selenium compounds, inhibitors of prostaglandin D synthase, inhibits sleep in freely moving rats. Brain Res. 1993;623(1):65-71.（参考資料 4.2.1.3.1-13）
17) Schnell RC, Early JL. Sex-related differences in selenium-induced alterations in drug action in the rat. Res Commun Chem Pathol Pharmacol. 1981;32(3):561-4.（参考資料 4.2.1.3.1-9; 4.2.1.4.1-1）
18) Rehni AK, Singh TG. Selenium induced anticonvulsant effect: a potential role of prostaglandin E(1) receptor activation linked mechanism. J Trace Elem Med Biol. 2013;27(1):31-9.（参考資料 4.2.1.3.1-10）
19) Naziroğlu M, Kutluhan S, Yilmaz M. Selenium and topiramate modulates brain microsomal oxidative stress values, Ca^{2+}-ATPase activity, and EEG records in pentylentetrazol-induced seizures in rats. J Membr Biol. 2008;225(1-3):39-49.（参考資料 4.2.1.3.1-11）
20) Watanabe C, Suzuki T. Sodium selenite-induced hypothermia in mice: indirect evidence for a neural effect. Toxicol Appl Pharmacol. 1986;86(3):372-9.（参考資料 4.2.1.3.1-12）
21) Heinrich MA Jr, MacCanon DM. Some effects of sodium selenite on the cardiovascular system. Toxicol Appl Pharmacol. 1960;2:33-43.（参考資料 4.2.1.3.1-16）
22) Guo JA, Li GM, Zhao WG, Tang FZ, Zhang X, Zhang CY. [Cardiovascular effects of sodium selenite (author's transl)]. Zhongguo Yao Li Xue Bao. 1981;2(2):93-7.（参考資料 4.2.1.3.1-18）
23) Franconi F, Manghi N, Giotti A, Martini F, Dini G. Effect of selenium on the contractile force of isolated and perfused guinea-pig heart. Acta Pharmacol Toxicol (Copenh). 1980;46(2):98-104.（参考資料 4.2.1.3.1-20）
24) Guo JA, Tang FZ, Li GM, Zhao WG. [Influence of sodium selenite on cardiac myodynamic effects (author's transl)]. Zhongguo Yao Li Xue Bao. 1982;3(1):25-9.（参考資料 4.2.1.3.1-21）
25) Aviado DM, Drimal J, Watanabe T, Lish PM. Cardiac effects of sodium selenite. Cardiology. 1975;60(2):113-20.（参考資料 4.2.1.3.1-17）
26) Heinrich MA Jr, MacCanon DM. Respiratory responses to sodium selenite. Toxicol Appl Pharmacol. 1961;3:174-81.（参考資料 4.2.1.3.1-19）
27) Zhang J, Wang H, Yan X, Zhang L. Comparison of short-term toxicity between Nano-Se and selenite in mice. Life Sci. 2005;76(10):1099-109.（参考資料 4.2.1.3.1-3）
28) 清水 美帆, 立屋敷 哲, 川村 堅, 増田 佳史, 藤田 剛. 有機セレンと無機セレンのラットに対する過剰投与毒性と酸化ストレス度. Biomed Res Trace Elements. 2009;20(1):69-73.（参考資料 4.2.1.3.1-6）
29) Morss SG, Olcott HS. Absence of effect of tocopherol on acute oral toxicity of sodium selenite in the rat. Proc Soc Exp Biol Med. 1967;124(2):483-5.（参考資料 4.2.1.3.1-5）
30) Ohba T, Suzuki T, Watanabe C, Himeno S. Transient hyperphagia after sodium selenite injection in mice. Toxicol Lett. 1987;39(2-3):275-81.（参考資料 4.2.1.3.1-2）

31) Ammar EM, Couri D. Acute toxicity of sodium selenite and selenomethionine in mice after ICV or IV administration. Neurotoxicology. 1981;2(2):383-6.（参考資料 4.2.1.3.1-1）
32) Franke KW, Moxon AL. A Comparison of the minimum fatal doses of selenium, tellurium, arsenic and vanadium. J Pharmacol Exp Ther. 1936;58(4):454-9.（参考資料 4.2.1.3.1-4）
33) Heinrich M, MacCanon DM. Some observations on the toxicity of intravenous sodium selenite in dogs. Proc S D Acad Sci. 1957;36:173-7.（参考資料 4.2.1.3.1-7）
34) Beck MA, Shi Q, Morris VC, Levander OA. Rapid genomic evolution of a non-virulent coxsackievirus B3 in selenium-deficient mice results in selection of identical virulent isolates. Nat Med. 1995;1(5):433-6.（参考資料 4.2.1.1.2-5）
35) Savaskan NE, Bräuer AU, Kühbacher M, Eyüpoglu IY, Kyriakopoulos A, Ninnemann O, et al. Selenium deficiency increases susceptibility to glutamate-induced excitotoxicity. FASEB J. 2003;17(1):112-4.（参考資料 4.2.1.1.2-9）
36) Turan B, Koç E, Hotomaroglu O, Kiziltan E, Yildirim S, Demirel E. Tissue and concentration-dependent effects of sodium selenite on muscle contraction. Biol Trace Elem Res. 1998;62(3):265-80.（参考資料 4.2.1.3.1-14）
37) Lin-Shiau SY, Liu SH, Fu WM. Studies on the contracture of the mouse diaphragm induced by sodium selenite. Eur J Pharmacol. 1989;167(1):137-46.（参考資料 4.2.1.3.1-15）
38) Lu X, Liu SY, Man RY. Enhancement of endothelium dependent relaxation in the rat aortic ring by selenium supplement. Cardiovasc Res. 1994;28(3):345-8.（参考資料 4.2.1.3.1-22）
39) NTP toxicity studies of sodium selenate and sodium selenite (CAS Nos. 13410-01-0 and 10102-18-8) administered in drinking water to F344/N rats and B6C3F1 mice. Toxic Rep Ser. 1994;38:1-E5.（参考資料 4.2.1.3.1-23）
40) Lu J, Berndt C, Holmgren A. Metabolism of selenium compounds catalyzed by the mammalian selenoprotein thioredoxin reductase. Biochim Biophys Acta. 2009;1790(11):1513-9.
41) Fairweather-Tait SJ, Bao Y, Broadley MR, Collings R, Ford D, Hesketh JE, et al. Selenium in human health and disease. Antioxid Redox Signal. 2011;14(7):1337-83.
42) van Rij AM, Thomson CD, McKenzie JM, Robinson MF. Selenium deficiency in total parenteral nutrition. Am J Clin Nutr. 1979;32(10):2076-85.
43) 姫野 誠一郎. セレン. In: 広範囲 血液・尿化学検査 免疫学的検査, －その数値をどう読むか－［第 7 版］. 大阪: 日本臨牀社; 2010. 日本臨牀. 68 増刊号, p. 329-32.
44) 伊東 正道, 武山 直治, 山田 勝己, 毛利 喜洋, 大沼 俊和. セレン欠乏症の 1 例. 岐阜県厚生連医学雑誌. 1997;18:10-5.
45) 高木 洋治. 微量元素. In: 岩佐 正人, 竹山 廣光, 田中 芳明, 編集者. 静脈経腸栄養ハンドブック. 東京: 南江堂, 2011. p.62-9.
46) 伊藤 明美, 水落 雄一朗, 嘉村 由美子, 太田 美穂, 竹山 廣光, 祖父江 和哉. 在宅中心静脈栄養導入 3 年でセレン欠乏により多様な臨床症状を呈した 1 例. 静脈経腸栄養. 2011;26(3):991-5.
47) Saito Y, Hashimoto T, Sasaki M, Hanaoka S, Sugai K. Effect of selenium deficiency on cardiac function of individuals with severe disabilities under long-term tube feeding. Dev Med

Child Neurol. 1998;40(11):743-8.
48) Johnson RA, Baker SS, Fallon JT, Maynard EP 3rd, Ruskin JN, Wen Z, et al. An occidental case of cardiomyopathy and selenium deficiency. N Engl J Med. 1981;304(20):1210-2.
49) Quercia RA, Korn S, O'Neill D, Dougherty JE, Ludwig M, Schweizer R, et al. Selenium deficiency and fatal cardiomyopathy in a patient receiving long-term home parenteral nutrition. Clin Pharm. 1984;3(5):531-5.
50) 北野 良博, 横森 欣司, 大倉 充久. 長期静脈栄養に伴うセレン欠乏症との関連が疑われる拡張型心筋症の 1 例. 小児外科. 1992;24(7):827-31.
51) Keshan Disease Research Group. Observations on effect of sodium selenite in prevention of Keshan disease. Chin Med J (Engl). 1979;92(7):471-6.
52) Peng T, Li Y, Yang Y, Niu C, Morgan-Capner P, Archard LC, et al. Characterization of enterovirus isolates from patients with heart muscle disease in a selenium-deficient area of China. J Clin Microbiol. 2000;38(10):3538-43.
53) Beck MA, Levander OA. Dietary oxidative stress and the potentiation of viral infection. Annu Rev Nutr. 1998;18:93-116.
54) Beck MA, Esworthy RS, Ho YS, Chu FF. Glutathione peroxidase protects mice from viral-induced myocarditis. FASEB J. 1998;12(12):1143-9.
55) Kawakubo K, Iida M, Matsumoto T, Mochizuki Y, Doi K, Aoyagi K, et al. Progressive encephalopathy in a Crohn's disease patient on long-term total parenteral nutrition: possible relationship to selenium deficiency. Postgrad Med J. 1994;70(821):215-9.
56) Mahyar A, Ayazi P, Fallahi M, Javadi A. Correlation between serum selenium level and febrile seizures. Pediatr Neurol. 2010;43(5):331-4.
57) Ashrafi MR, Shams S, Nouri M, Mohseni M, Shabanian R, Yekaninejad MS, et al. A probable causative factor for an old problem: selenium and glutathione peroxidase appear to play important roles in epilepsy pathogenesis. Epilepsia. 2007;48(9):1750-5.
58) Wirth EK, Conrad M, Winterer J, Wozny C, Carlson BA, Roth S, et al. Neuronal selenoprotein expression is required for interneuron development and prevents seizures and neurodegeneration. FASEB J. 2010;24(3):844-52.
59) Riese C, Michaelis M, Mentrup B, Götz F, Köhrle J, Schweizer U, et al. Selenium-dependent pre- and posttranscriptional mechanisms are responsible for sexual dimorphic expression of selenoproteins in murine tissues. Endocrinology. 2006;147(12):5883-92.
60) Schomburg L, Schweizer U. Hierarchical regulation of selenoprotein expression and sex-specific effects of selenium. Biochim Biophys Acta. 2009;1790(11):1453-62.
61) Mirtallo J, Canada T, Johnson D, Kumpf V, Petersen C, Sacks G, et al. Safe practices for parenteral nutrition. J Parenter Enteral Nutr. 2004;28(6):S39-70.
62) Staun M, Pironi L, Bozzetti F, Baxter J, Forbes A, Joly F, et al. ESPEN Guidelines on Parenteral Nutrition: home parenteral nutrition (HPN) in adult patients. Clin Nutr. 2009;28(4):467-79.
63) Beck MA, Nelson HK, Shi Q, Van Dael P, Schiffrin EJ, Blum S, et al. Selenium deficiency increases the pathology of an influenza virus infection. FASEB J. 2001;15(8):1481-3.

64) Huang Z, Rose AH, Hoffmann PR. The role of selenium in inflammation and immunity: from molecular mechanisms to therapeutic opportunities. Antioxid Redox Signal. 2012;16(7):705-43.
65) 高橋　章, 杉浦　正彦. 血清中セレンの測定法. Biomed Res Trace Elements. 1991;2(2):267-8.
66) Gasmi A, Garnier R, Galliot-Guilley M, Gaudillat C, Quartenoud B, Buisine A, et al. Acute selenium poisoning. Vet Hum Toxicol. 1997;39(5):304-8.
67) See KA, Lavercombe PS, Dillon J, Ginsberg R. Accidental death from acute selenium poisoning. Med J Aust. 2006;185(7):388-9.
68) Kamble P, Mohsin N, Jha A, Date A, Upadhaya A, Mohammad E, et al. Selenium intoxication with selenite broth resulting in acute renal failure and severe gastritis. Saudi J Kidney Dis Transplant. 2009;20(1):106-11.
69) Smith MI, Stohlman EF, Lillie RD. The toxicity and pathology of selenium. J Pharmacol Exp Ther. 1937;60(4):449-71.
70) 厚生労働省. 「日本人の食事摂取基準（2015 年版）」策定検討会報告書. 2014. p.311-4. Available from: http://www.mhlw.go.jp/file/05-Shingikai-10901000-Kenkoukyoku-Soumuka/0000114399.pdf

2.6.3　薬理試験の概要表

目次

2.6.3　薬理試験の概要表 ……2
2.6.3.1　薬理試験 ……2
2.6.3.1.1　効力を裏付ける試験：一覧表……2
2.6.3.1.2　副次的薬理試験：一覧表……3
2.6.3.1.3　安全性薬理試験：一覧表……4
2.6.3.1.4　薬力学的薬物相互作用：一覧表……5
2.6.3.2　効力を裏付ける試験 ……6
2.6.3.2.1　Se 欠乏食給餌による生体内 Se 含有量の低下、セレノプロテイン発現量又は生理活性の低下に対する Se 補充効果 ……6
2.6.3.2.2　Se 欠乏に関連する症状に対する Se 補充による改善及び予防効果 ……9
2.6.3.3　副次的薬理試験 ……19
2.6.3.3.1　免疫調節作用 ……19
2.6.3.3.2　炎症性サイトカイン産生抑制作用 ……22
2.6.3.4　安全性薬理試験 ……23
2.6.3.5　薬力学的薬物相互作用 ……30

2.6.3　薬理試験の概要表

2.6.3.1　薬理試験

2.6.3.1.1　効力を裏付ける試験：一覧表

被験物質：亜セレン酸 Na 及びセレン化合物

試験の種類			試験系	投与方法	報告年	参考資料
効力を裏付ける試験	Se 欠乏食給餌による生体内 Se 含有量の低下、セレノプロテイン発現量又は生理活性の低下に対する Se 補充効果		マウス	経口（混餌）	2007	4.2.1.1.1-1
			ラット	腹腔内	2005	4.2.1.1.1-2
			マウス	腹腔内	2007	4.2.1.1.1-3
	Se 欠乏に関連する症状に対する Se 補充による改善及び予防効果	心循環器系障害に対する Se 補充による効果	ラット	経口（飲水）	2004	4.2.1.1.2-1
			マウス	経口（混餌）	2003	4.2.1.1.2-2
			ラット	腹腔内	2015	4.2.1.1.2-3
			ラット	経口（混餌）	2010	4.2.1.1.2-4
			マウス	経口（混餌）	1995	4.2.1.1.2-5
		皮膚及び体毛形成異常に対する Se 補充による効果	ラット	経口（混餌）	1998	4.2.1.1.2-6
			マウス	経口（混餌）	2011	4.2.1.1.2-7
			遺伝子組換えマウス	—	2010	4.2.1.1.2-8
		中枢神経系障害に対する Se 補充による予防効果	ラット	経口（混餌）	2003	4.2.1.1.2-9
			遺伝子組換えマウス	経口（混餌）	2008	4.2.1.1.2-10

2.6.3.1.2　副次的薬理試験：一覧表

被験物質：亜セレン酸 Na

試験の種類			試験系	投与方法	報告年	参考資料
副次的薬理試験	免疫調節作用	T 細胞活性化作用	マウス	経口（混餌）	2010	4.2.1.2.1-1
		Th1 エフェクター細胞への分化促進作用	マウス	経口（混餌）	2010	4.2.1.2.1-1
		セレノプロテイン欠損 T 細胞における TCR 活性化の欠如	遺伝子組換えマウス	―	2008	4.2.1.2.1-2
	炎症性サイトカイン産生抑制作用		マウス	経口（飲水）	2010	4.2.1.2.2-1

2.6.3.1.3　安全性薬理試験：一覧表

被験物質：亜セレン酸 Na

試験の種類		試験系	投与方法	報告年	参考資料
安全性薬理試験	一般症状及び行動	マウス	静脈内	1981	4.2.1.3.1-1
			皮下	1987	4.2.1.3.1-2
			経口	2005	4.2.1.3.1-3
		ラット	腹腔内	1936	4.2.1.3.1-4
			経口	1967 2009	4.2.1.3.1-5 4.2.1.3.1-6
		イヌ	静脈内 (漸増)	1957	4.2.1.3.1-7
	自発運動	ラット	腹腔内	2005	4.2.1.3.1-8
	麻酔作用	ラット	腹腔内	1981	4.2.1.3.1-9
	抗けいれん作用	マウス	腹腔内	2013	4.2.1.3.1-10
		ラット	腹腔内	2008	4.2.1.3.1-11
	体温	マウス	皮下	1986	4.2.1.3.1-12
	睡眠・覚醒パターン	ラット	静脈内	1993	4.2.1.3.1-13
	自律神経系及び平滑筋	ラット	*In vitro*	1998	4.2.1.3.1-14
	体性神経系	マウス	*In vitro*	1989	4.2.1.3.1-15

試験の種類		試験系	投与方法	報告年	参考資料
安全性薬理試験	血圧	麻酔イヌ	静脈内	1960 1975 1981	4.2.1.3.1-16 4.2.1.3.1-17 4.2.1.3.1-18
	心拍数	麻酔イヌ	静脈内	1960 1981	4.2.1.3.1-16 4.2.1.3.1-18
	心電図	麻酔イヌ	静脈内	1960	4.2.1.3.1-16
	呼吸運動	麻酔イヌ	静脈内	1961	4.2.1.3.1-19
	摘出心臓	モルモット	*In vitro*	1980	4.2.1.3.1-20
		ウサギ	*In vitro*	1982	4.2.1.3.1-21
		イヌ	*In vitro*	1975	4.2.1.3.1-17
	摘出血管	ラット	*In vitro*	1994	4.2.1.3.1-22
			腹腔内	1994	4.2.1.3.1-22
		ウサギ	*In vitro*	1998	4.2.1.3.1-14
	水及び電解質代謝	ラット	経口 （補充水）	1994	4.2.1.3.1-23

2.6.3.1.4　薬力学的薬物相互作用：一覧表

被験物質：亜セレン酸 Na

試験の種類	試験系	投与方法	報告年	参考資料
ペントバルビタール（麻酔作用）	ラット	腹腔内	1981	4.2.1.4.1-1

2.6.3.2　効力を裏付ける試験

2.6.3.2.1　Se 欠乏食給餌による生体内 Se 含有量の低下、セレノプロテイン発現量又は生理活性の低下に対する Se 補充効果

1）亜セレン酸 Na 混餌投与による Se 補充効果

参考資料	4.2.1.1.1-1
報告年	2007
試験の概要	Se 欠乏食給餌マウスにおける組織 Se 含有量、血漿中 SeP 量及び GSH-Px 活性の低下に対する、亜セレン酸 Na 混餌投与による Se 補充効果の用量依存性についての検討
使用動物	C57BL/6 系雄性マウス（Jackson Laboratory, USA）
試験方法の概要	離乳後のマウスに Se 欠乏食（torula yeast-based diet）を 18 週間給餌後、更に Se 欠乏食又は Se 補充食（0.025, 0.05, 0.075, 0.10, 0.25 mg Se/kg 餌重量）を 8 週間給餌したときの、脳、精巣、肝臓、腎臓及び筋肉における Se 含有量（蛍光法）、並びに血漿中 SeP 量（放射免疫測定法）、GSH-Px 活性（酵素共役法）を測定した。
被験物質の用量	Se 欠乏食に 0.025, 0.05, 0.075, 0.10, 0.25 mg Se/kg 餌重量の亜セレン酸 Na を添加し、マウスに混餌投与
結果	Se 欠乏食給餌により低下したマウスの脳、精巣、肝臓、腎臓及び筋肉における Se 含有量は、Se 補充食中の Se 含有量依存的にそれぞれ上昇した。脳及び精巣では、他の組織と比較して、より低用量の亜セレン酸 Na 混餌投与によって組織 Se 含有量が保持された。 Se 欠乏食給餌により低下した血漿中 SeP 量及び GSH-Px 活性も、Se 補充食中の Se 含有量依存的にそれぞれ上昇した。

2）亜セレン酸 Na の単回腹腔内投与による Se 補充効果

参考資料	4.2.1.1.1-2
報告年	2005
試験の概要	Se 欠乏食給餌ラットにおける血漿及び組織 Se 含有量の低下に対する、亜セレン酸 Na 単回腹腔内投与による Se 補充効果についての検討
使用動物	Wistar 系雄性ラット（Charles River Laboratories, フランス）
試験方法の概要	ラット（125 ± 10 g）に通常食（0.19 mg Se/kg 餌重量）又は Se 欠乏食（0.039 mg Se/kg 餌重量）を 5 週間給餌した。Se 補充群では、5 週間の Se 欠乏食給餌後のラットに 0.2 mg Se/kg 亜セレン酸 Na を腹腔内投与し、投与 24 時間後の血液及び組織（肝臓、腎臓、脳及び筋肉）を採取した。各ラットの血漿及び組織 Se 含有量をガスクロマトグラフィー質量分析法にて測定した。
被験物質の用量	0.2 mg Se/kg 亜セレン酸 Na を単回腹腔内投与
結果	Se 欠乏食給餌ラットにおける血漿、肝臓及び筋肉における Se 含有量は、通常食給餌ラットと比較して有意に減少していたが、腎臓及び脳 Se 含有量には変化が認められなかった。 Se 欠乏食給餌ラットへの 0.2 mg Se/kg 亜セレン酸 Na の単回腹腔内投与は、血漿及び組織 Se 含有量をそれぞれ上昇させ、肝臓、腎臓及び脳 Se 含有量は通常食給餌ラットと比較して有意に上昇した。

3）亜セレン酸 Na の反復腹腔内投与による Se 補充効果

参考資料	4.2.1.1.1-3
報告年	2007
試験の概要	Se 欠乏マウスにおける組織及び血液中 Se 含有量と組織 GSH-Px 活性の低下に対する、亜セレン酸 Na の反復腹腔内投与による Se 補充効果についての検討
使用動物	雄性 Kunming マウス（Anhui Medical University, 中国）
試験方法の概要	Se 欠乏マウス（18～22 g）に、亜セレン酸 Na 又はセレノ硫酸 Na（0.1 mg Se/kg/day）を 2 日間又は 7 日間反復腹腔内投与し、一晩絶食後、各マウスの肝臓、腎臓及び血液中 Se 含有量（蛍光法）、肝臓及び腎臓 GSH-Px 活性（Rotruck らの方法）を測定した。
被験物質の用量	亜セレン酸 Na 又はセレノ硫酸 Na（0.1 mg Se/kg/day）を 2 日間又は 7 日間反復腹腔内投与
結果	Se 欠乏マウスへの、0.1 mg Se/kg/day 亜セレン酸 Na の 2 日間又は 7 日間の反復腹腔内投与では、肝臓、腎臓及び血液中 Se 含有量並びに肝臓及び腎臓 GSH-Px 活性が、Se 欠乏マウスと比較してそれぞれ有意に上昇した。また、0.1 mg Se/kg/day セレノ硫酸 Na の 2 日間又は 7 日間の反復腹腔内投与では、2 日間の反復投与後の血液中 Se 含有量には有意な差異は認められなかったが、肝臓、腎臓及び血液中 Se 含有量又は肝臓及び腎臓 GSH-Px 活性は、Se 欠乏マウスと比較してそれぞれ有意に上昇した。

2.6.3.2.2　Se 欠乏に関連する症状に対する Se 補充による改善及び予防効果

1）心循環器系障害に対する Se 補充による効果

参考資料	4.2.1.1.2-1
報告年	2004
試験の概要	Se 欠乏食給餌ラットにおける心循環器系を含む組織の GSH-Px 活性の低下に対する Se 補充効果についての検討
使用動物	Wistar 系雄性ラット（入手先記載なし）
試験方法の概要	離乳後のラットに、Se 欠乏食（0.017 ± 0.002 mg Se/kg 餌重量）又は通常食（0.32 ± 0.045 mg Se/kg 餌重量）を 12 ヵ月間給餌し、それぞれ Se 欠乏食群及び通常食群とした。Se 補充群としては、Se 欠乏食給餌 12 ヵ月後のラットに Se 補充水（1 mg Se/L 水溶液）を 1 ヵ月間自由飲水させた。各ラットの肝臓、心臓、脳、腎臓及び大動脈における GSH-Px 活性（比色法）を測定した。
被験物質の用量	1 mg Se/L 水溶液を調製し、ラットに飲水投与（使用 Se 含有化合物不明）
結果	Se 欠乏食群のラットの肝臓、心臓、腎臓及び大動脈の GSH-Px 活性は、通常食群と比較してそれぞれ有意に低下していた。一方、Se 補充群では、Se 欠乏食給餌により低下した肝臓、心臓、腎臓及び大動脈 GSH-Px 活性が通常食群と同レベルにまで回復していた。なお、脳の GSH-Px 活性は、全ての群で変化が認められなかった。

参考資料	4.2.1.1.2-2
報告年	2003
試験の概要	Se 欠乏食給餌による心収縮機能への影響及びそれに対する亜セレン酸 Na 混餌投与による効果についての検討
使用動物	非近交系 F1 マウス（雌雄）（入手先記載なし）
試験方法の概要	3 週齢のマウスに、Se 欠乏食（torula yeast-based diet）又は Se 補充食（0.2 mg Se/kg 餌重量）を 4 週間給餌し、それぞれ Se 欠乏食給餌群及び Se 補充食給餌群とした。また、Se 補充群では、3 週間の Se 欠乏食給餌後に Se 補充食を 1 週間摂取させた。各群のマウス摘出心房における変力作用を、電気刺激（固定頻度 300 beats/min）時の最大張力発生速度（dF/dt）により評価した。
被験物質の用量	Se 欠乏食に 0.2 mg Se/kg 餌重量の亜セレン酸 Na を添加し、マウスに混餌投与
結果	Se 補充食給餌群及び Se 欠乏食給餌群のマウス摘出心房における薬物未処置時の dF/dt は、それぞれ 4.3 ± 1.2 及び 4.0 ± 1.1 g/sec であった。Se 補充食給餌群及び Se 欠乏食給餌群の摘出心房では、β-アゴニストのイソプロテレノール（10^{-9}～10^{-6} M）及びノルエピネフリン（10^{-9}～10^{-6} M）濃度依存的な dF/dt 上昇が認められたが、Se 欠乏食給餌群の摘出心房では、Se 補充食給餌群と比較して、β-アゴニストによる陽性変力作用の低下が認められた。Se 補充群の摘出心房における β-アゴニストの濃度反応性は Se 補充食給餌群と同様の結果であった。

参考資料	4.2.1.1.2-3
報告年	2015
試験の概要	Se 欠乏食給餌ラットにおける心機能障害に対する、亜セレン酸 Na 反復腹腔内投与による効果についての検討
使用動物	Sprague-Dawley 系雄性ラット（入手先記載なし）
試験方法の概要	3 週齢のラットに、通常食（0.2 mg Se/kg 餌重量）又は Se 欠乏食（< 0.02 mg Se/kg 餌重量）を 14 週間給餌した。Se 欠乏食群及び Se 補充群としては、Se 欠乏食給餌ラットにそれぞれ生理食塩液又は 0.05 mg/kg/day（0.02 mg Se/kg/day）亜セレン酸 Na を 3 週間腹腔内投与した。血中 Se 濃度（フレームレス原子吸光光度法）、摘出心臓における GSH-Px 活性（酵素共役法）、血漿 BNP 濃度（蛍光免疫測定法）、抱水クロラール麻酔下のラットにおける心機能（超音波心臓検査及び ECG 測定）を評価した。
被験物質の用量	0.05 mg/kg/day（0.02 mg Se/kg/day）亜セレン酸 Na を 3 週間腹腔内投与
結果	Se 欠乏食群のラット血中 Se 濃度及び心臓 GSH-Px 活性は通常食群と比較して有意に低下していたのに対し、0.05 mg/kg/day（0.02 mg Se/kg/day）亜セレン酸 Na を 3 週間腹腔内投与した Se 補充群のラットでは有意に改善していた。 Se 欠乏食群のラットでは通常食群と比較して、血漿 BNP 濃度が有意に高く、心室性不整脈イベント数の有意な増加、左室拡張末期径及び左室収縮末期径の有意な拡張、左室駆出率及び左室内径短縮率の有意な低下が認められた。これらの Se 欠乏食群ラットにおける血漿 BNP 濃度の上昇及び心機能障害は、0.05 mg/kg/day（0.02 mg Se/kg/day）亜セレン酸 Na の 3 週間腹腔内投与により有意に改善した。

参考資料	4.2.1.1.2-4
報告年	2010
試験の概要	SHR 及び WKY ラット（正常血圧コントロール）の生存率及び心臓における抗酸化酵素活性に対する Se 補充による効果についての検討
使用動物	雄性 SHR 及び WKY ラット（Animal Resources Centre, オーストラリア）
試験方法の概要	65 週齢の SHR 及び WKY ラットに、Se 欠乏食（torula yeast-based diet）、Se 補充食（0.05 mg Se/kg 餌重量）又は Se 過剰食（1 mg Se/kg 餌重量）を 7 ヵ月間給餌し、生存率、摘出心臓における GSH-Px 活性（酵素共役法）及び TR 活性（比色法）を評価した。
被験物質の用量	Se 欠乏食に 0.05 又は 1 mg Se/kg 餌重量になるように Se（使用 Se 含有化合物不明）を添加し、ラットに混餌投与
結果	7 ヵ月間の Se 欠乏食、Se 補充食又は Se 過剰食給餌による WKY ラットの生存率は、それぞれ 67%（4/6 匹）、83%（5/6 匹）又は 100%（6/6 匹）であった。なお、Se 欠乏食給餌 WKY ラット 2 匹の死因は、麻酔後の呼吸器系合併症と安楽死（原因不明の体重減少、嗜眠、鼻血のため）によるものであり、Se 補充食給餌 WKY ラット 1 匹の死因は、麻酔後の呼吸器系合併症によるものであった。一方、SHR での Se 欠乏食給餌による生存率（30%、3/10 匹）は、Se 補充食（78%、7/9 匹）又は Se 過剰食（100%、9/9 匹）給餌時と比較して有意に低かった。なお、Se 欠乏食給餌 SHR の死因は、主として高血圧誘発性心不全の進行によるものであった（自然死 3 匹、安楽死 4 匹）。 Se 補充食又は Se 過剰食で給餌した SHR 及び WKY ラットの心臓 GSH-Px 活性は、Se 欠乏食給餌と比較して、食餌中の Se 含有量依存的に有意に上昇した。Se 補充食又は Se 過剰食を給餌した SHR の心臓 TR 活性は、心臓 GSH-Px と同様に、食餌中の Se 含有量依存的に有意に上昇した。Se 過剰食給餌 SHR の心臓 GSH-Px 及び TR 活性は、Se 過剰食給餌 WKY ラットのそれらと比較し有意に高かった。

参考資料	4.2.1.1.2-5
報告年	1995
試験の概要	Se 欠乏食及び Se 補充食給餌マウスを用いて、宿主の Se 栄養状態が非病原性コクサッキーウイルス B3（CVB3/0）の病原性獲得に与える影響についての検討
使用動物	C3H/HeJ 系雄性マウス（Jackson Laboratory, USA）
試験方法の概要	3 週齢のマウスに、Se 欠乏食（torula yeast-based diet）又は Se 補充食（0.2 mg Se/kg 餌重量）を 4 週間給餌し、$TCID_{50}$ の 10^5 倍量の非病原性 CVB3/0 を腹腔内に接種した。接種 10 日後、Se 欠乏食又は Se 補充食給餌マウスの心臓から抽出した CVB3（それぞれ CVB3/0Se－又は CVB3/0Se＋と表す）を、更に Se 補充食給餌マウスの腹腔内に 1×10^5 $TCID_{50}$ で接種した。接種 10 日後の摘出心臓を HE にて染色後、病理学的に評価しスコア化（0～4）した。
被験物質の用量	Se 欠乏食に 0.2 mg Se/kg 餌重量の亜セレン酸 Na を添加し、マウスに混餌投与
結果	非病原性 CVB3/0 接種 10 日後の Se 補充食給餌マウス心臓から単離された CVB3/0Se＋は、Se 補充食給餌マウスの心筋に障害を誘発しなかった。一方、非病原性 CVB3/0 接種 10 日後の Se 欠乏食給餌マウス心臓から単離された CVB3/0Se－は、Se 補充食給餌マウスにおいて心筋障害を誘発させた。

2）皮膚及び体毛形成異常に対する Se 補充による効果

参考資料	4.2.1.1.2-6
報告年	1998
試験の概要	Se 欠乏食給餌ラットにおける血清及び体毛 Se 含有量の低下に対する、亜セレン酸混餌投与による Se 補充効果についての検討
使用動物	Wistar 系雄性ラット（日本クレア）
試験方法の概要	5 週齢のラットに、Se 欠乏食（torula yeast-based diet : < 0.03 mg Se/kg 餌重量）を 3 週間給餌した後、Se 欠乏食、Se 補充食（0.2 mg Se/kg 餌重量）又は Se 過剰食（2.0 mg Se/kg 餌重量）を 12 週間給餌し、血清及び体毛の Se 含有量を誘導結合プラズマ質量分析法にて測定した。
被験物質の用量	亜セレン酸水溶液（1.49 mM）を用い、Se 欠乏食に 0.2 又は 2.0 mg Se/kg 餌重量の用量になるよう添加し、ラットに混餌投与
結果	Se 欠乏食給餌により血清中 Se 含有量は経時的に減少した。一方、Se 欠乏食から Se 補充食又は Se 過剰食に食餌変更したラットの血清中 Se 濃度は、食餌変更 2 週目以降で Se 欠乏食群と比較して有意に上昇していた。Se 補充食への食餌変更後 12 週間の血清中 Se 濃度推移は、Se 過剰食への食餌変更後のそれとほぼ同様であった。 体毛 Se 含有量は、3 週間の Se 欠乏食給餌により通常食給餌時の 1/2 以下に減少した。Se 欠乏食から Se 補充食に食餌変更したラット体毛 Se 含有量は、食餌変更 6 週目以降で Se 欠乏食群と比較して有意に増加した。また、Se 欠乏食から Se 過剰食に食餌変更したラット体毛 Se 含有量は、変更 2 週目以降で Se 欠乏食群と比較して有意に増加し、Se 補充食に食餌変更したラットのそれよりも高値を示した。

参考資料	4.2.1.1.2-7
報告年	2011
試験の概要	Se 欠乏食給餌マウスにおける体毛形成異常に対する Se 補充食及び Se 過剰食給餌による影響についての検討
使用動物	C57BL/6 系雌性マウス（OrientBio, 韓国）
試験方法の概要	4 週齢のマウスに、Se 欠乏食（torula yeast : < 0.03 mg Se/kg 餌重量）を 3 週間給餌した後、Se 欠乏食、Se 補充食（0.2 mg Se/kg 餌重量）又は Se 過剰食（2.0 mg Se/kg 餌重量）を更に 24 週間給餌し、それぞれ Se 欠乏食群、Se 補充食群、Se 過剰食群とした。各マウスの皮膚及び脱毛サイズの変化を評価した。また、生検した皮膚切片は、HE 及び TUNEL 染色により病理学的に評価した。
被験物質の用量	Se 欠乏食に 0.2 又は 2.0 mg Se/kg 餌重量のセレノ-L-メチオニンを添加し、マウスに混餌投与
結果	Se 欠乏食群のマウスでは、5 匹中 3 匹に脱毛が認められた（脱毛面積 0.87 ± 0.32 cm^2）。Se 補充食群のマウスでは体毛の異常は認められなかったが、Se 過剰食群では全てのマウスで脱毛が認められた（脱毛面積 1.76 ± 0.64 cm^2）。Se 欠乏食群及び Se 過剰食群のマウスにおける脱毛部分の皮膚組織では、毛包の減少及び形態異常、表皮萎縮が認められ、また、多くの TUNEL 陽性ケラチノサイトが毛球に検出された。

参考資料	4.2.1.1.2-8
報告年	2010
試験の概要	ケラチノサイト特異的 *Trsp* 遺伝子欠損（セレノプロテイン欠損）マウスを用いて、皮膚及び口腔内組織におけるセレノプロテインの役割についての検討
使用動物	ケラチノサイト特異的 *Trsp* 遺伝子欠損（K14-*cre*; *Trsp*$^{fl/fl}$）マウス及び対照（K14-*cre*; *Trsp*$^{fl/+}$）マウス（試験施設で作製）（性別不明、FVB と C57BL/6 との混合遺伝的背景）
試験方法の概要	ケラチノサイト特異的セレノプロテイン欠損マウス及び対照マウスの体毛及び皮膚状態の観察、並びに、皮膚及び口腔内組織の HE 染色による病理学的評価を行った。
被験物質の用量	―
結果	ケラチノサイト特異的セレノプロテイン欠損マウスの皮膚は、対照マウスと比較して剥離しやすく、しわが多かった。また、その体毛はまばらであり、感覚毛は短く変形していた。さらに、皮膚組織では、表皮の過形成、毛包の異常、皮下脂肪細胞の減少、真皮への顕著な細胞浸潤が認められた。口腔粘膜上皮では壊死を伴った形成異常が、また、舌上皮では角質増殖と局所的な壊死が観察された。

3）中枢神経系障害に対する Se 補充による予防効果

参考資料	4.2.1.1.2-9
報告年	2003
試験の概要	Se 欠乏食又は Se 補充食給餌ラットにおけるカイニン酸惹起けいれん発作の重症度についての検討
使用動物	Wistar 系ラット（Charles River, ドイツ）（性別不明）
試験方法の概要	Wistar 系ラットに、Se 欠乏食（最大 0.002～0.005 mg Se/kg 餌重量）又は Se 補充食（0.3 mg Se/kg 餌重量）を給餌（12～16 世代）後、肝臓及び脳 Se 含有量を中性子放射化分析法にて測定した。また、Se 欠乏食又は Se 補充食給餌ラットに生理食塩液もしくはカイニン酸（10 mg/kg）を腹腔内投与し、投与後 4 時間におけるけいれん発作の重症度を Zhang らの分類に基づいてスコア化した。
被験物質の用量	Se 欠乏食に 0.3 mg Se/kg 餌重量の亜セレン酸 Na を添加し、ラットに混餌投与
結果	Se 欠乏食給餌ラットの肝臓 Se 含有量は、Se 補充食給餌ラットと比較して顕著に減少していた。Se 欠乏食給餌ラットの脳 Se 含有量は、有意ではあるものの 10%程度の減少であった。 Se 欠乏食給餌ラットにおけるカイニン酸惹起けいれん発作の重症度は、Se 補充食給餌ラットと比較して有意に高かった。

参考資料	4.2.1.1.2-10
報告年	2008
試験の概要	SeP 欠損（*Sepp*$^{-/-}$）マウスにおける神経学的障害に対する肝特異的ヒト SeP（*SEPP1*）強制発現及び亜セレン酸 Na 混餌投与による作用についての検討
使用動物	野生型（*Sepp*$^{+/+}$）マウス、*Sepp*$^{-/-}$マウス及び肝特異的ヒト *SEPP1* 発現 *Sepp*$^{-/-}$（*Sepp*$^{-/-;SEPP1}$）マウス（試験施設で作製）（性別不明、C57BL/6 系）
試験方法の概要	離乳後の *Sepp*$^{+/+}$マウス、*Sepp*$^{-/-}$マウス及び *Sepp*$^{-/-;SEPP1}$ マウスに、Se 欠乏食（torula yeast-based diet : 0.06 mg Se/kg 餌重量）又は Se 補充食（0.16～0.2 mg Se/kg 餌重量）を 12 週間給餌した。給餌期間中に重度の神経学的障害（失調歩行、けいれん発作）を示した個体は安楽死させ、その生存率（Kaplan-Meier plot）を評価した。
被験物質の用量	Se 欠乏食に 0.16～0.2 mg Se/kg 餌重量の亜セレン酸 Na を添加し、マウスに混餌投与
結果	Se 補充食給餌 *Sepp*$^{-/-}$マウスでは 2 週間でほとんどの個体に、また、Se 欠乏食給餌 *Sepp*$^{-/-}$マウスではより短期間で全個体に重度の神経学的障害が認められた。*Sepp*$^{-/-;SEPP1}$ マウスにおいても Se 欠乏食給餌により神経学的障害が誘発されたが、*Sepp*$^{-/-}$マウスと比較して神経学的障害の発現時期は遅延した。また、Se 補充食給餌された *Sepp*$^{-/-;SEPP1}$ マウスでは、明らかな神経学的障害が出現しなかった。

2.6.3.3　副次的薬理試験

2.6.3.3.1　免疫調節作用

1）T 細胞活性化作用

参考資料	4.2.1.2.1-1
報告年	2010
試験の概要	低、中又は高 Se 補充食給餌マウスの脾臓由来 CD4 陽性 T 細胞を用いて、CD4 陽性 T 細胞の活性化に対する Se 補充の効果についての検討
使用動物	C57BL/6 系雄性マウス（Jackson Laboratory, USA）
試験方法の概要	3～4 週齢のマウスに、低、中、高 Se 補充食（それぞれ 0.08, 0.25, 1.0 mg Se/kg 餌重量）を 8 週間給餌し、それぞれを低、中、高 Se 補充食群とした。各マウス脾臓より単離した CD4 陽性 T 細胞をハムスター抗 CD3 抗体とマウス抗ハムスター抗体で TCR 刺激を行った。刺激 3, 8, 12 時間後の IL-2 mRNA 及び 12 時間後の CD25（IL-2Rα）mRNA 発現はリアルタイム PCR により、また、細胞膜表面の CD25 タンパク発現はフローサイトメーターを用いて解析した。T 細胞増殖は、[^{3}H]チミジン取り込み量を液体シンチレーションカウンターにて測定し評価した。
被験物質の用量	0.08, 0.25, 1.0 mg Se/kg 餌重量の亜セレン酸 Na を含有した補充食を、マウスに給餌
結果	中及び高 Se 補充食群の CD4 陽性 T 細胞における TCR 刺激 3 時間及び 8 時間後の IL-2 mRNA 発現は、低 Se 補充食群に比べて高かった。高 Se 補充食群の CD4 陽性 T 細胞では、TCR 刺激 12 時間後においても、低及び中 Se 補充食群に比べて IL-2 mRNA 発現が高かった。また、高 Se 補充食群の CD4 陽性 T 細胞では、TCR 刺激による CD25 mRNA 及び細胞膜表面の CD25 タンパク発現が、低及び中 Se 補充食群に比べて高かった。TCR 刺激による CD4 陽性 T 細胞の増殖は、食餌中 Se 含有量依存的に上昇した。

2）Th1 エフェクター細胞への分化促進作用

参考資料	4.2.1.2.1-1
報告年	2010
試験の概要	低、中又は高 Se 補充食給餌マウスの脾臓由来 CD4 陽性 T 細胞を用いて、TCR 刺激後の CD4 陽性 T 細胞の分化に対する Se 補充の効果についての検討
使用動物	C57BL/6 系雄性マウス（Jackson Laboratory, USA）
試験方法の概要	3～4 週齢のマウスに、低、中、高 Se 補充食（それぞれ 0.08, 0.25, 1.0 mg Se/kg 餌重量）を 8 週間給餌し、それぞれを低、中、高 Se 補充食群とした。各マウス脾臓より単離した CD4 陽性 T 細胞をハムスター抗 CD3 抗体とマウス抗ハムスター抗体で TCR 刺激を行った。刺激 3, 8, 12 時間後の IFN-γ 及び IL-4 mRNA 発現をリアルタイム PCR により解析した。
被験物質の用量	0.08, 0.25, 1.0 mg Se/kg 餌重量の亜セレン酸 Na を含有した補充食を、マウスに給餌
結果	TCR 刺激 12 時間後における IFN-γ mRNA 発現は、食餌中の Se 含有量依存的に上昇した。一方、TCR 刺激 3 時間及び 8 時間後における IL-4 mRNA 発現は、中及び高 Se 補充食群に比べて低 Se 補充食群で有意に高かった。

3）セレノプロテイン欠損 T 細胞における TCR 活性化の欠如

参考資料	4.2.1.2.1-2
報告年	2008
試験の概要	T 細胞特異的 *Trsp* 遺伝子欠損（セレノプロテイン欠損）及び対照（$Trsp^{fl/fl}$）マウスのリンパ節由来 CD3 陽性 T 細胞を用いて、TCR 刺激反応におけるセレノプロテインの関与についての検討
使用動物	T 細胞特異的セレノプロテイン欠損マウス及び対照マウス（試験施設で作製）（性別不明、C57BL/6 系）
試験方法の概要	対照マウス及び T 細胞特異的セレノプロテイン欠損マウスのリンパ節より回収した CD3 陽性 T 細胞を、抗 CD3 抗体単独又は抗 CD3/CD28 抗体で刺激し、60 時間後に[^{3}H]チミジンの取り込み量を液体シンチレーションカウンターで測定することにより細胞増殖能を評価した。抗 CD3/CD28 抗体刺激後の培養上清中の IL-2 量は ELISA により、また、抗 CD3/CD28 抗体刺激 0, 24, 48 時間後の細胞膜表面の IL-2Rα 発現はフローサイトメーターにて測定した。さらに、抗 CD3/CD28 抗体刺激 0, 5, 10, 20 分後の ERK 並びにリン酸化 ERK 発現はイムノブロットにより解析した。
被験物質の用量	―
結果	抗 CD3 抗体単独又は抗 CD3/CD28 抗体での TCR 刺激により、対照マウスの CD3 陽性 T 細胞では明らかな細胞増殖能の上昇を示したが、T 細胞特異的セレノプロテイン欠損マウスの CD3 陽性 T 細胞では細胞増殖能が顕著に低下していた。TCR 刺激による T 細胞からの IL-2 産生量は両マウスとも同程度であった。また、TCR 刺激後の T 細胞における細胞膜表面の IL-2Rα 発現は、対照マウスに比べて、T 細胞特異的セレノプロテイン欠損マウスでは低かった。対照マウスの T 細胞では TCR 刺激後に速やかな ERK の活性化（リン酸化 ERK）が検出されたが、T 細胞特異的セレノプロテイン欠損マウスの T 細胞ではそのような反応は認められなかった。

2.6.3.3.2　炎症性サイトカイン産生抑制作用

参考資料	4.2.1.2.2-1
報告年	2010
試験の概要	Se 欠乏食給餌マウスへの LPS 投与後の血清中サイトカイン量の増加に対する Se 補充による影響についての検討
使用動物	C57BL/6 系雌雄マウス（Charles River, ドイツ）
試験方法の概要	45 日齢のマウスに、Se 欠乏食（0.1 ppm Se）を 3 週間給餌した後、飲水として亜セレン酸 Na 水溶液（100 μM）又は水を 3 日間摂取させた。亜セレン酸 Na 水溶液の摂取開始 2 日後、LPS（100 μg/個体）又は生理食塩液を腹腔内投与し、24 時間後の血清中 IL-6、MCP-1 及び TNF-α 量をマルチプレックス分析システム（Luminex 社）により測定した。
被験物質の用量	亜セレン酸 Na 水溶液は 100 μM になるように水で調製し、マウスに飲水投与
結果	亜セレン酸 Na 水溶液摂取群及び水摂取群では､LPS 投与により血清中 IL-6、MCP-1 及び TNF-α 濃度が増加した。しかしながら、亜セレン酸 Na 水溶液摂取群の雄性マウスでは、LPS 投与後の血清中 IL-6 及び MCP-1 濃度の上昇は水摂取群の 50%程度であり、LPS による TNF-α 濃度の上昇についても水摂取群に比べて抑制傾向が認められた。一方、雌性マウスでは、亜セレン酸 Na 水溶液摂取群と水摂取群との間で、LPS による血清中サイトカイン濃度の上昇の程度に有意な差異は認められなかった。

2.6.3.4 安全性薬理試験

被験物質：亜セレン酸 Na

評価項目	動物種/系統	投与経路	投与量（mg/kg）	投与量（mg Se/kg）	性別 動物数/群	特記すべき所見	GLP適用	参考資料
1. 一般症状及び行動に及ぼす影響								
	マウス /Swiss	静脈内	1, 3, 5, 10, 15, 20	0.5, 1.4, 2.3, 4.6, 6.9, 9.1	雌雄 各性 n = 4/群	筋麻痺、心・呼吸停止が観察された。	不適	4.2.1.3.1-1 (1981)
	マウス /ICR	皮下	0.5, 1.7, 3.5, 5.2	0.2, 0.8, 1.6, 2.4	雄性 n = 3～5/群	5.2 mg/kg 投与 20 分後から一過性の摂食行動の増加が認められた。3.5 mg/kg 以上で投与 3 時間後の胃内容物重量が有意に増加していた。	不適	4.2.1.3.1-2 (1987)
	マウス /Kunming	経口（12～15 日間）	4.4, 8.8, 13.1	2, 4, 6	雄性 n = 8～10/群	4.4 又は 8.8 mg/kg の用量ではそれぞれ投与 7 又は 4 日目から、13.1 mg/kg では試験期間を通して体重増加が抑制された。	不適	4.2.1.3.1-3 (2005)
	ラット /Wistar	腹腔内	5.5～87.6	2.5～40.0	性別不明 総数 155	横腹のけいれん性収縮が認められ、高用量では呼吸困難、チアノーゼが認められた。死亡直前には感覚麻痺、けいれんが観察される個体もあった。	不適	4.2.1.3.1-4 (1936)
	ラット /Long-Evans	経口	21.9, 27.4, 32.9	10, 12.5, 15.0	雌雄 各性 n = 5～19/群	ニンニク臭、体重減少、下痢、鼻からの出血、肛門周囲の汚れ、流涙、極度の嗜眠が観察された。	不適	4.2.1.3.1-5 (1967)
	ラット /SD	経口（38 日間）	7.0	3.2	雄性 n = 5～8/群	投与翌日から体重が減少し、3 日目以降で有意な体重増加抑制が認められた。	不適	4.2.1.3.1-6 (2009)

評価項目	動物種/系統	投与経路	投与量（mg/kg）	投与量（mg Se/kg）	性別 動物数/群	特記すべき所見	GLP適用	参考資料
	無麻酔 イヌ/雑種	静脈内（漸増）	0.2, 0.5, 1.1, 2.2, 4.4	0.10, 0.25, 0.5, 1.0, 2.0	性別不明 総数 11	嘔吐、下痢、不安行動、ラッセル音を伴う呼吸刺激、不整脈のような心血管系の変化、死亡が認められた。	不適	4.2.1.3.1-7 (1957)
2. 中枢神経系に及ぼす影響								
1）自発運動量に及ぼす影響								
	ラット /Wistar	腹腔内（7日間）	0.05, 0.1, 0.2	0.02, 0.05, 0.09	雄性 n = 8/群	3日目以降から用量依存的に、かつ0.1 mg/kg以上で有意な自発運動量の増加が認められた。	不適	4.2.1.3.1-8 (2005)
2）麻酔作用 バルビタール睡眠								
	ラット /SD	腹腔内（3日間）	5.3	2.4	雌雄各性 n = 6/群	雄性ラットではペントバルビタール（40 mg/kg, 腹腔内投与）により誘発される催眠時間が延長したが、雌性ラットでは影響しなかった。	不適	4.2.1.3.1-9 (1981)
3）抗けいれん作用								
	マウス /Swiss	腹腔内	1, 3, 10	0.5, 1.4, 4.6	雄性 n = 8～10/群	ペンチレンテトラゾール（80 mg/kg, 腹腔内投与）誘発けいれんが抑制された。	不適	4.2.1.3.1-10 (2013)
	ラット /Wistar	腹腔内（6日間）	0.7	0.3	雄性 n = 8/群	6日間の前処置は、ペンチレンテトラゾール（60 mg/kg, 経口投与）誘発てんかん様放電数及びスパイク数の増加が軽減され、最初のスパイク出現潜時が延長した。	不適	4.2.1.3.1-11 (2008)

評価項目	動物種/系統	投与経路	投与量（mg/kg）	投与量（mg Se/kg）	性別 動物数/群	特記すべき所見	GLP適用	参考資料
4）体温に及ぼす影響 正常体温に対する影響	マウス/ICR	皮下	1.7, 3.5, 5.2, 7.8, 10.4	0.8, 1.6, 2.4, 3.6, 4.7	雄性 n = 5/群	3.5 mg/kg 以上で用量依存的にマウスの直腸温を一過性に低下させた（環境温度：20 及び 30°C）。	不適	4.2.1.3.1-12 (1986)
5）睡眠・覚醒パターンに及ぼす影響	ラット/SD	静脈内（6 時間）	10 nmol/μL /min	10 nmol/μL /min	雄性 総数 5	覚醒期の延長、徐波睡眠期及び REM 睡眠期の短縮を示した。	不適	4.2.1.3.1-13 (1993)
3. 自律神経系及び平滑筋に及ぼす影響 摘出回腸	ラット/不明	*In vitro*	10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}, 10^{-3} M	10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}, 10^{-3} M	性別及び例数不明	10^{-5} 及び 10^{-4} M 処置後 10 分間は自発性収縮のピーク張力を増加させたが、それ以後はコントロールレベルへ減弱した。また、10^{-3} M 処置時には、自発性収縮張力の低下、自発性収縮数の増加及び拘縮が認められた。アセチルコリン（2.7×10^{-7} M）前処置は、亜セレン酸 Na 処置によるピーク張力の増加率及び拘縮に影響しなかった。	不適	4.2.1.3.1-14 (1998)

評価項目	動物種/系統	投与経路	投与量（mg/kg）	投与量（mg Se/kg）	性別 動物数/群	特記すべき所見	GLP適用	参考資料
4. 体性神経系に及ぼす影響 神経筋標本								
	マウス /ICR	*In vitro*	10^{-5}, 3×10^{-5}, 10^{-4}, 3×10^{-4}, 10^{-3}, 3×10^{-3}, 10^{-2}, 3×10^{-2} M	10^{-5}, 3×10^{-5}, 10^{-4}, 3×10^{-4}, 10^{-3}, 3×10^{-3}, 10^{-2}, 3×10^{-2} M	雌雄 n = 4/群	横隔膜神経標本において、電気刺激による単収縮幅を抑制し、その後、拘縮を誘発した。拘縮のピーク張力又はピーク張力までの時間は、濃度依存的にそれぞれ増加又は短縮した。脱神経は、亜セレン酸 Na による拘縮を阻害しなかった。	不適	4.2.1.3.1-15 (1989)
5. 呼吸器系及び心血管系に及ぼす影響 1）血圧に及ぼす影響								
	ペントバルビター ル麻酔 イヌ/雑種	静脈内	0.02, 0.1, 0.2, 0.5, 1.1, 2.2, 3.3, 4.4, 11.0, 21.9	0.01, 0.05, 0.10, 0.25, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 5.0, 10.0	性別不明 n = 2～25/群	0.2～1.1 mg/kg では緩やかで持続的な血圧（大腿動脈圧）の上昇、また無呼吸に至る 5 分前からの血圧降下が認められた。3.3 mg/kg では一過性の血圧降下、その後の血圧上昇、さらに投与 20 分後から無呼吸までの間は血圧が降下した。4.4 mg/kg では血圧の降下が認められた。	不適	4.2.1.3.1-16 (1960)
	ペントバルビター ル麻酔 イヌ/雑種	静脈内	0.04, 0.2, 4.0, 20	0.02, 0.09, 1.8, 9.1	性別不明 n = 3/群	血圧に影響しなかった。	不適	4.2.1.3.1-17 (1975)

評価項目	動物種/系統	投与経路	投与量（mg/kg）	投与量（mg Se/kg）	性別 動物数/群	特記すべき所見	GLP適用	参考資料
	ペントバルビター ル麻酔 イヌ/不明	静脈内	0.1, 0.5, 1.0, 2.0	0.05, 0.2, 0.5, 0.9	雌雄 n = 4～10/群	0.5 mg/kg 以上で投与 20 分後に平均動脈血圧が降下した。	不適	4.2.1.3.1-18 (1981)
2）心拍数に及ぼす影響								
	ペントバルビター ル麻酔 イヌ/雑種	静脈内	0.02, 0.1, 0.2, 0.5, 1.1, 2.2, 3.3, 4.4, 11.0, 21.9	0.01, 0.05, 0.10, 0.25, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 5.0, 10.0	性別不明 n = 2～25/群	4.4 mg/kg 投与 90 秒以内に一過性に心拍数が増加し、その後減少した。その後投与 23 分後までは心拍数が安定したが、心拍数の微増を示した後に不整脈性徐脈となり、無呼吸時には毎分約 30 回まで心拍数が減少した。その後しばしば頻脈を呈し、細動へと悪化するか、又は不整脈性徐脈に戻るかのいずれかであった。3.3 mg/kg では一過性に心拍数が増加したが、より低用量では死亡前（末期）の徐脈出現までは心拍数への影響はなかった。	不適	4.2.1.3.1-16 (1960)
	ペントバルビター ル麻酔 イヌ/不明	静脈内	0.1, 0.5, 1.0, 2.0	0.05, 0.2, 0.5, 0.9	雌雄 n = 4～10/群	2.0 mg/kg の用量で 20 分後に心拍数の減少が観察された。	不適	4.2.1.3.1-18 (1981)

評価項目	動物種/系統	投与経路	投与量（mg/kg）	投与量（mg Se/kg）	性別 動物数/群	特記すべき所見	GLP適用	参考資料
3）心電図に及ぼす影響								
	ペントバルビター ル麻酔 イヌ/雑種	静脈内	0.02, 0.1, 0.2, 0.5, 1.1, 2.2, 3.3, 4.4, 11.0, 21.9	0.01, 0.05, 0.10, 0.25, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 5.0, 10.0	性別不明 n = 2～15/群	4.4 mg/kg では T 波異常（陰性）が検出され、QT 間隔の延長が認められた。末期の変化としては R 波の抑制、S 波の強調、P 波のノッチング、ST-T 波の不明瞭化、A-V ブロックが認められた。2.2 及び 3.3 mg/kg 投与時にも顕著ではないが末期の徐脈の出現前に 4.4 mg/kg 投与時と同様の ECG 変化が認められ、より低用量では陰性 T 波以外の ECG 変化は認められなかった。	不適	4.2.1.3.1-16 (1960)
4）呼吸運動に及ぼす影響								
	ペントバルビター ル麻酔 イヌ/雑種	静脈内	0.02, 0.1, 0.2, 0.5, 1.1, 2.2, 3.3, 4.4, 11.0, 21.9	0.01, 0.05, 0.10, 0.25, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 5.0, 10.0	性別不明 n = 2～15/群	4.4 mg/kg では 45 秒後から呼吸数の増加が認められ、その後頻呼吸、更には呼吸停止に至った。0.2, 0.5, 2.2, 3.3 mg/kg 投与後の呼吸刺激の発生時間はそれぞれ 21, 14, 4, 2 分後であった。0.5 mg/kg より高用量では頻呼吸に付随し一回換気量の減少が認められ、分時換気量は 0.2 mg/kg 以上で 2～3 倍に増加した。また、4.4 mg/kg では、酸素消費が一過性に増加し、その後呼吸停止までの間は減少した。	不適	4.2.1.3.1-19 (1961)

評価項目	動物種/系統	投与経路	投与量（mg/kg）	投与量（mg Se/kg）	性別 動物数/群	特記すべき所見	GLP適用	参考資料
5）摘出心臓に及ぼす影響								
	モルモット心臓/不明	*In vitro*	10^{-10}, 10^{-9}, 10^{-8}, 10^{-7}, 10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4} M	10^{-10}, 10^{-9}, 10^{-8}, 10^{-7}, 10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4} M	雄性 n = 4～11/群	濃度依存的に陰性変力作用を示し、その作用は washout により回復しなかった。また、心拍数には影響しなかった。	不適	4.2.1.3.1-20 (1980)
	ウサギ心臓/不明	*In vitro*	2.3, 3.3, 6.5 μg/mL	1.1, 1.5, 3.0 μg Se/mL	雌雄 n = 10/群	3.3 μg/mL 以上で陰性変力作用を示し、6.5 μg/mL では心拍数の明らかな減少が認められた。	不適	4.2.1.3.1-21 (1982)
	イヌ心室/雑種	*In vitro*（冠状動脈経由）	0.01, 0.1, 1 mg	0.005, 0.05, 0.5 mg Se	性別不明 n = 3～7/群	陽性変力作用を示した。	不適	4.2.1.3.1-17 (1975)
6）摘出血管に及ぼす影響								
	ラット胸部大動脈/SD	*In vitro*	1.2×10^{-6}, 6.3×10^{-6} M	1.2×10^{-6}, 6.3×10^{-6} M	雄性 n = 10～14/群	アセチルコリン（10^{-6}～10^{-5} M）誘発弛緩反応に影響しなかった。	不適	4.2.1.3.1-22 (1994)
		腹腔内（3 日間）	0.7	0.3	雄性 n = 5/群	3 日間投与後の摘出血管ではアセチルコリン（10^{-6}～10^{-4} M）誘発弛緩反応の増強が認められた。	不適	4.2.1.3.1-22 (1994)
	ウサギ胸部大動脈/不明	*In vitro*	10^{-5}, 10^{-4}, 10^{-3} M	10^{-5}, 10^{-4}, 10^{-3} M	雌雄 n = 8～14/群	10^{-3} M ではフェニレフリン（10^{-8}～10^{-5} M）誘発血管収縮反応が右側（高濃度側）にシフトし、最大反応も抑制された。アセチルコリン（10^{-9}～10^{-5} M）誘発血管弛緩反応は 10^{-3} M 処置により阻害された。一方、塩化カリウム（10～60 mM）誘発血管収縮反応には影響しなかった。	不適	4.2.1.3.1-14 (1998)

評価項目	動物種/系統	投与経路	投与量（mg/kg）	投与量（mg Se/kg）	性別 動物数/群	特記すべき所見	GLP適用	参考資料
6. 水及び電解質代謝に及ぼす影響								
	ラット /F344/N	経口（13週間、補充水）	0.18, 0.28, 0.4, 0.9, 1.8	0.08, 0.13, 0.2, 0.4, 0.8	雄性 n = 9～10/群	1.8 mg/kg 投与 14 日目において尿 pH の上昇を示したが、42 日目以降では差異が認められなかった。また、尿量は用量依存的に減少し、42 日目以降では全投与用量において有意な減少が認められた。	適	4.2.1.3.1-23 (1994)

2.6.3.5 薬力学的薬物相互作用

被験物質：亜セレン酸 Na

薬物	動物種/系統	投与経路	投与量（mg/kg）	投与量（mg Se/kg）	性別 動物数/群	薬理作用	GLP適用	参考資料
バルビツール剤（ペントバルビタール）								
	ラット /SD	腹腔内（3日間）	5.3	2.4	雌雄 各性 n = 6/群	雄性ラットではペントバルビタール（40 mg/kg, 腹腔内投与）により誘発される催眠時間が延長したが、雌性ラットでは影響しなかった。	不適	4.2.1.4.1-1 (1981)