

## 《原 著》

# 放射性セレノメチオニンのマウス脾細胞の酸可溶性分画 ならびにタンパク質分画へのとりこみについて

五島 廉輔\* 手塚 雅勝\* 石上 和子\* 為政 健\*

## 1. はじめに

脾スキャンニング剤として、<sup>75</sup>Se-セレノメチオニン (<sup>75</sup>Se-Met) が現在もっとも広く用いられている<sup>1), 2), 3)</sup>。本物質は脾スキャンニング剤として応用する目的で、Blau<sup>4)</sup>によって1961年はじめて酵母を用いて生合成され、その翌年臨床実験に関する報告がなされた<sup>5)</sup>。本物質の臓器内分布については、まず、Blau, Manske<sup>6)</sup>によって検討され、脾スキャンニング実施上防害臓器となる肝臓と比較して、単位重量当たりでは脾臓によりよくとりこまれることが判明した。その後、Hanssonら<sup>7)</sup>はオートラジオグラフィーを用いる臓器中へのとりこみの比較ならびに脾臓以外の臓器中のタンパク質およびトリクロル酢酸可溶性分画（酸可溶性分画）へのとりこみについて報告した。さらに水上<sup>3)</sup>は臨床学的目的を背景にして、主として本物質の動物およびヒトでの血中および臓器内分布の経時的变化を検討した。

著者らは新しい脾スキャンニング剤の開発に関連して、過去に検討されたいくつかの放射性アミノ酸<sup>3)~15)</sup>について考察した結果、非天然アミノ酸<sup>10)</sup>でも脾細胞によくとりこまれる事実より、このような非天然アミノ酸は脾細胞内のタンパク質合成に利用されているのではなく、細胞内アミノ酸プールへとりこまれることが意義をもつであろうと推察した。そこでわれわれはこの問題を解明

するために、<sup>75</sup>Se-Met を用いて、肝細胞との比較のうえ、*in vitro* および *in vivo* における脾細胞の酸可溶性分画とタンパク質分画へのとりこみならびに細胞内アミノ酸量との関係について検討を加えたので報告する。

## 2. 実験材料および実験方法

### 実験材料

<sup>75</sup>Se-セレノメチオニン（比放射能：80～100 Ci/mg）はダイナボット社の製品を用い、使用前にその放射化学的純度について確認をおこなった。比放射能の調整のために使用した非放射性 DL-セレノメチオニンは Sigma 社のものを使用した。その他の試薬はいずれも市販品を使用した。マウスは dd/Y 系の体重約20g のものを用いた。

### 実験方法

1) <sup>75</sup>Se-Met の酸可溶性分画 および タンパク質分画へのとりこみ実験

#### a) *in vitro* の場合

1回の実験に必要な脾臓および肝臓〔肝臓は Ca-free Krebs-Ringer Phosphate buffer, pH7.2 (KRP-Ca) で灌流を行った〕をスライサーを用いて約0.2～0.5mm の厚さのスライスとし、その一定量（約200mg湿重量）を短試験管にとり、KRP-Ca 中で、<sup>75</sup>Se-Met およびその他必要な物質とともに37°で一定時間インキュベイトした。インキュベーション終了後の試験管を直ちに永冷後、インキュベーションメディウムを遠心分離によって除き、スライスを冷 KRP-Ca 2 ml で3回洗浄した。洗浄したスライスに5% TCA

\* 静岡薬科大学放射薬品学教室

受付：48年11月2日

別刷請求先：静岡市小鹿2-2-1 (〒422)

静岡薬科大学放射薬品学教室

五島 廉輔

2 ml を加え、ガラス棒でよく細胞を破壊し、遠心分離により上清と沈澱物にわけた。沈澱物はさらに一度同量の5%TCAで抽出し、この抽出液を第一回抽出分と合わせて酸可溶性分画とした（酸可溶性分画は2回の5%TCAでほぼ完全に抽出されることをあらかじめ確かめておいた）。さらに残査はエタノール：エーテル（3：1）混液2 mlで3回、アセトン2 mlで1回洗浄し、ここに得られた沈澱物をタンパク質分画とした。このインキュベーション実験はそれぞれ2試験管について行い、とりこみ値の平均を算出した。

### b) *in vivo* の場合

$^{75}\text{Se}$ -Met 1  $\mu\text{Ci}$ （濃度：5  $\mu\text{Ci}/\text{ml}$ ）をマウスに尾静脈より注射後、マウスを15分、30分および60分（この3時点の選定は予備実験の結果にもとづいて行った）後に、エーテルガスを吸入させて殺したのち、脾臓および肝臓を摘出した。脾臓は全量を用い、肝臓はホモジナイズ後の約200mgを用いてこれに5%TCA 2 mlを加え、以下 a)の場合と同様に処理し、酸可溶性分画とタンパク質分画とにわけた。この *in vivo* 実験は1群3匹のマウスを用い、とりこみの平均値を算出した。

### 2) 放射活性の測定

上記の酸可溶性分画およびタンパク質分画中の放射活性は井戸型シンチレーション・カウンター〔日本無線（株）、Aloka TDC-5〕を用いて測定した。計数効率の測定は標準品の  $^{75}\text{Se}$ -Met を用いた。

### 3) アミノ酸分析

正常マウスより摘出した脾臓および肝臓から、1)の方法にしたがって、まず酸可溶性分画とタンパク質分画とを得た。そして酸可溶性分画については、エーテルでTCAを抽出除去した後、凍結乾燥後の残査に、またタンパク質分画についてはそのまま凍結乾燥後、それぞれ約2 mgに6 N HCl 2 mlを加え、105°、24時間加水分解を行い、加水分解液からHClを完全に除去した後、自動アミノ酸分析装置（Hitachi KLA-3B）で分析した。

## 3. 結 果

### *in vitro* における $^{75}\text{Se}$ -Met のとりこみ

#### 1) とりこみのタイムコース

正常マウスの脾および肝細胞の酸可溶性分画およびタンパク質分画への  $^{75}\text{Se}$ -Met ( $1 \times 10^{-5}\text{M}$ ) のとりこみは Fig.1 に示した。両分画ではインキュベーション開始後0.5時間までゆるやかな上昇を示した。両細胞へのとりこみを比較すると、両分画ともに脾細胞の方が肝細胞より高く、また両分画へのとりこみを比較すると、脾細胞では約50分以内では酸可溶性分画に多く、その後徐々にタンパク質分画の方に多くとりこまれた。これに反し肝細胞ではこのようなとりこみの交差が実験範囲の時間ではみられなかつたが、これはおそらく

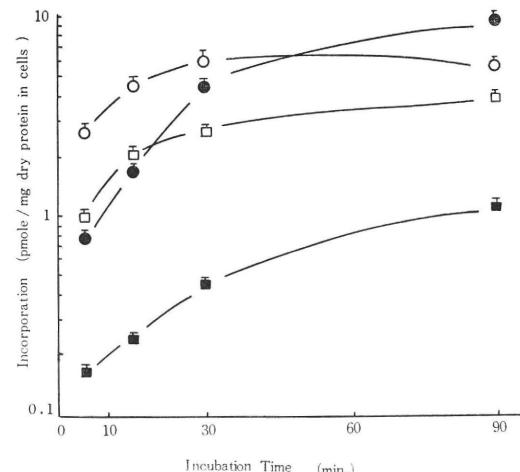


Fig.1 Incorporation of  $^{75}\text{Se}$ -Selenomethionine into Normal Mouse Pancreatic and Liver Cells *in vitro*.

Sliced tissue was incubated with 0.5 ml of  $10^{-5}\text{M}$   $^{75}\text{Se}$ -Met (0.5  $\mu\text{Ci}/\text{ml}$ ) in KRP-Ca buffer at 37° for a given period and then treated by a procedure described in the text.

○—○ and ●—●: acid-soluble fraction and protein fraction of pancreatic cells, respectively; □—□ and ■—■: acid-soluble fraction and protein fraction of liver cells, respectively.

く肝細胞におけるタンパク質合成の速度が遅いためで、当然、長時間後には肺細胞におけるようなタンパク質分画への放射能の蓄積がみられるはずである。

### 2) $^{75}\text{Se}$ -Met の濃度の関係

$^{75}\text{Se}$ -Met の濃度を変えた場合、両分画へのとりこみは、 $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-4}$  Mにおいてそれぞれほぼ10倍ずつ大きくなつた (Table 1)。

Table 1 Incorporation as a Function of Concentration of  $^{75}\text{Se}$ -Selenomethionine into Normal Mouse Pancreatic and Liver Cells *in vitro*

		Pancreatic cells			Liver cells		
		$10^{-4}$	$10^{-5}$	$10^{-6}$	$10^{-4}$	$10^{-5}$	$10^{-6}$
Protein Fraction	Conc. (M)						
	5	6.0 $\pm 0.40$	0.76 $\pm 0.18$	0.1 $\pm 0.01$	1.0 $\pm 0.20$	0.16 $\pm 0.04$	0.016 $\pm 0.004$
	15	13.8 $\pm 1.80$	1.64 $\pm 0.00$	0.45 $\pm 0.05$	3.4 $\pm 0.20$	0.24 $\pm 0.04$	0.03 $\pm 0.00$
	30	22.8 $\pm 4.80$	4.28 $\pm 0.40$	0.62 $\pm 0.06$	4.4 $\pm 0.80$	0.44 $\pm 0.16$	0.05 $\pm 0.00$
	90	61.6 $\pm 9.20$	8.80 $\pm 0.24$	1.25 $\pm 0.05$	8.4 $\pm 0.80$	1.04 $\pm 0.10$	0.12 $\pm 0.04$
Acid-Soluble Fraction	5	31.8 $\pm 1.00$	2.56 $\pm 0.18$	0.39 $\pm 0.08$	5.8 $\pm 0.60$	1.0 $\pm 0.08$	0.08 $\pm 0.005$
	15	48.6 $\pm 3.40$	4.32 $\pm 0.64$	0.65 $\pm 0.015$	16.4 $\pm 2.40$	2.0 $\pm 0.02$	0.24 $\pm 0.045$
	30	67.6 $\pm 3.20$	5.88 $\pm 1.88$	0.75 $\pm 0.03$	18.2 $\pm 3.00$	2.6 $\pm 0.48$	0.21 $\pm 0.05$
	90	66.0 $\pm 7.60$	5.08 $\pm 0.04$	0.59 $\pm 0.03$	35.8 $\pm 0.20$	3.72 $\pm 0.40$	0.32 $\pm 0.04$

Sliced tissue was incubated with 0.5ml of  $10^{-4}$ M,  $10^{-5}$ M or  $10^{-6}$ M  $^{75}\text{Se}$ -Met ( $0.5 \mu\text{Ci}/\text{ml}$ ) in KRP-Ca buffer at  $37^\circ$  for a given period and then treated by a procedure described in the text.

The figures in the Table indicate the incorporation of selenomethionine expressed in pmole per mg dry protein in cells.

### 3) 絶食の影響

24時間絶食後の $^{75}\text{Se}$ -Met ( $1 \times 10^{-5}$ M) のとりこみを検討した結果は、正常マウスの場合とほぼ同様で、絶食の本質的影響はみられなかった (Fig.2)。

### 4) エネルギー供給物質または補助因子の影響

アミノ酸の細胞内へのとりこみは能動輸送<sup>16)</sup>によることを考慮して、能動輸送に影響を与えると考えられる数種のエネルギー源もしくはアミノ酸

輸送に関与する補助因子（グルコース、乳酸、コハク酸、ピリドキサルリン酸、ATP、ATP-クレアチニナーゼ-クレアチニンfosfエート系）のアミノ酸のとりこみにたいする作用を検討した。Fig. 3 から明らかのように乳酸は肺および肝細胞の酸可溶性分画およびタンパク質分画への $^{75}\text{Se}$ -Met のとりこみを阻害したが、他の物質はほとんど影響を示さなかった。

### 5) アミノ酸の影響

腸管からのアミノ酸吸収のさい、相互に構造上

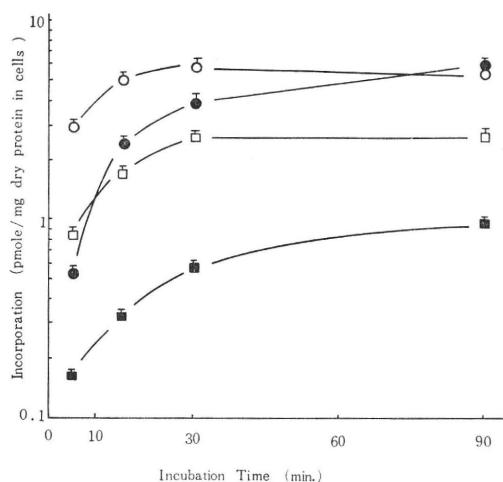


Fig. 2 Incorporation of <sup>75</sup>Se-Selenomethionine into Fasted Mouse Pancreatic and Liver Cells *in vitro*.

Sliced tissue was incubated with 0.5ml of  $10^{-5}$ M <sup>75</sup>Se-Met ( $0.5\mu\text{Ci}/\text{ml}$ ) in KRP-Ca buffer at 37° for a given period and then treated by a procedure described in the text.

○—○ and ●—●: acid-soluble fraction and protein fraction of pancreatic cells, respectively; □—□ and ■—■: acid-soluble fraction and protein fraction of liver cells, respectively.

関係の深い、L-ロイシン、L-イソロイシンおよびL-バリンの3つのアミノ酸の間には、相互に著明な干渉作用が認められ、一方が他方の1.5倍の濃度で存在すると、その吸収が約50%も阻害されること<sup>17)</sup>、また構造類似性のない、L-メチオニンとL-ヒスチジンの間には、L-メチオニンの存在がL-ヒスチジンの吸収を阻害するが、この逆はおこらない<sup>18)</sup>という報告がある。他方セレノメチオニンの細胞内へのとりこみはメチオニンのとりこみと拮抗的に作用する<sup>19)</sup>。このような観点からセレノメチオニンのとりこみにたいする他の数種のアミノ酸の作用を検討した。Fig. 4に示すごとく、脾細胞ではアミノ酸混液（メチオニンを除いた他の20種のアミノ酸）および構造上関係の浅いグルタミン酸、グリシンおよびアスパラギン

酸がいずれも酸可溶性分画ならびにタンパク質分画へのとりこみをかなり著しく阻害したが、肝細胞ではほとんど影響を与えたなかった。

#### 6) 酵素阻害剤の影響

<sup>75</sup>Se-Met の脾および肝細胞へのとりこみにたいするウバイン、2,4-ジニトロフェノール、ヨード酢酸および $\beta$ -クロロマークリベンゾエイトなどの酵素阻害剤および窒素気中でのインキュベーションの影響を検討した。これらの阻害剤のうち  $10^{-3}$ M の2,4-ジニトロフェノールおよび  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ M の $\beta$ -クロロマークリベンゾエイトは脾細胞のタンパク質分画へのとりこみを約50%阻害したが、すでにエネルギー代謝に影響を与える2,4-ジニトロフェノールはある種の細胞のK<sup>+</sup>濃度を減少させ<sup>20)</sup>またアミノ酸の腸管吸収を阻害する<sup>21), 22), 23)</sup>ことが報告されている。しかし、赤血球内へのK<sup>+</sup>の透過を阻害するウバイン、SH酵素またはタンパク質に作用するヨード酢酸、またはアミノ酸の腸管吸収に阻害的に作用する嫌気的条件<sup>23)</sup>（窒素気中インキュベーション）などはほとんど影響を及ぼさなかった（Fig. 5）。

#### in vivoにおける<sup>75</sup>Se-Metのとりこみ

Fig. 6に示すごとく、<sup>75</sup>Se-Met の尾静脈注射後、タンパク質分画では脾臓、肝臓ともに30分で大体最大値に達し、また脾臓へのとりこみ量はこの時点において、肝臓の約3倍であった。酸可溶性分画では15分後に最大値に達し、その後徐々に減少した。また酸可溶性分画については脾臓へのとりこみが肝臓よりわずかに多かった。タンパク質分画と酸可溶性分画との比較では、*in vitro*の場合とは異なり、逆にタンパク質分画に多くとりこまれることが明らかとなった。また脾臓の酸可溶性分画とタンパク質分画へのとりこみの総和を肝臓のそれと比較すると前者は後者の約3倍であった。

#### アミノ酸分析

*in vitro* 実験において短時間内の<sup>75</sup>Se-Met のとりこみは酸可溶性分画に多いことが判明したが、このこととメチオニンないしは他のアミノ酸のペルサイズ間の相関関係を明らかにする目的

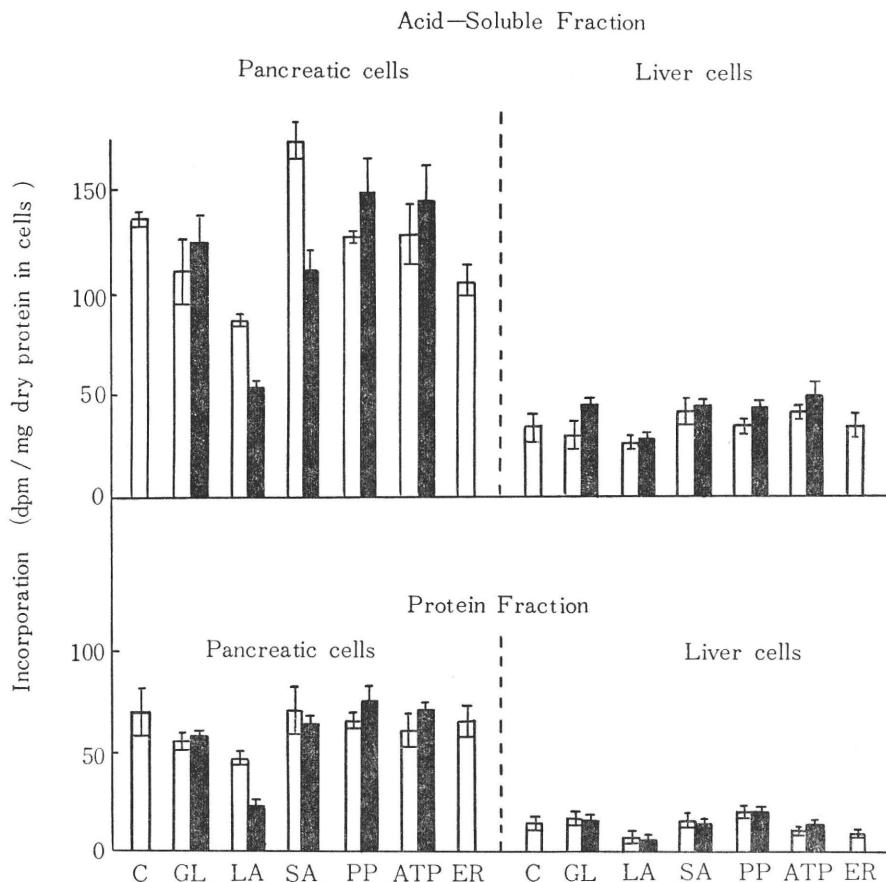


Fig.3 Effect of Several Energy Sources or Additions upon the Incorporation of  $^{75}\text{Se}$ -Selenomethionine into Normal Mouse Pancreatic and Liver Cells *in vitro*. Sliced tissue was incubated with a mixture of 0.5 ml of  $2 \times 10^{-4} M$   $^{75}\text{Se}$ -Met ( $0.5 \mu\text{Ci}/\text{ml}$ ) in KRP-Ca buffer and 0.5 ml of  $2 \times 10^{-3} M$  or  $2 \times 10^{-4} M$  additions in same buffer at  $37^\circ$  for 30 min. and treated by a procedure described in the text.

□ :  $1 \times 10^{-4} M$ ; ■ :  $1 \times 10^{-3} M$

C : control, GL : glucose, LA : lactic acid, SA : succinic acid, PP : pyridoxal phosphate, ATP : adenosine triphosphate, ER : ATP+creatine phosphate+creatine kinase ( $10 \mu\text{g}/\text{tube}$ ).

で、膵臓および肝臓の酸可溶性分画とタンパク質分画とのアミノ酸分析を行った。

Table 2 の値はメチオニンとその他のアミノ酸の存在比をモル比で示した。Table 2 より膵臓の酸可溶性分画ではメチオニンより小さいプールサイズをもつアミノ酸としてはアルギニン、イソロイシン、ロイシン、フェニールアラニンなどがあ

り、大きいものとしてはグルタミン酸、グリシン、アラニンなどが確認されたが、他方タンパク質分画中ではすべてメチオニン以外のアミノ酸はメチオニンより存在比が大きかった。

酸可溶性分画におけるセレノメチオニンの母体物質であるメチオニン自身のプールサイズは、他のアミノ酸のそれと比較するとかなり小さいにも

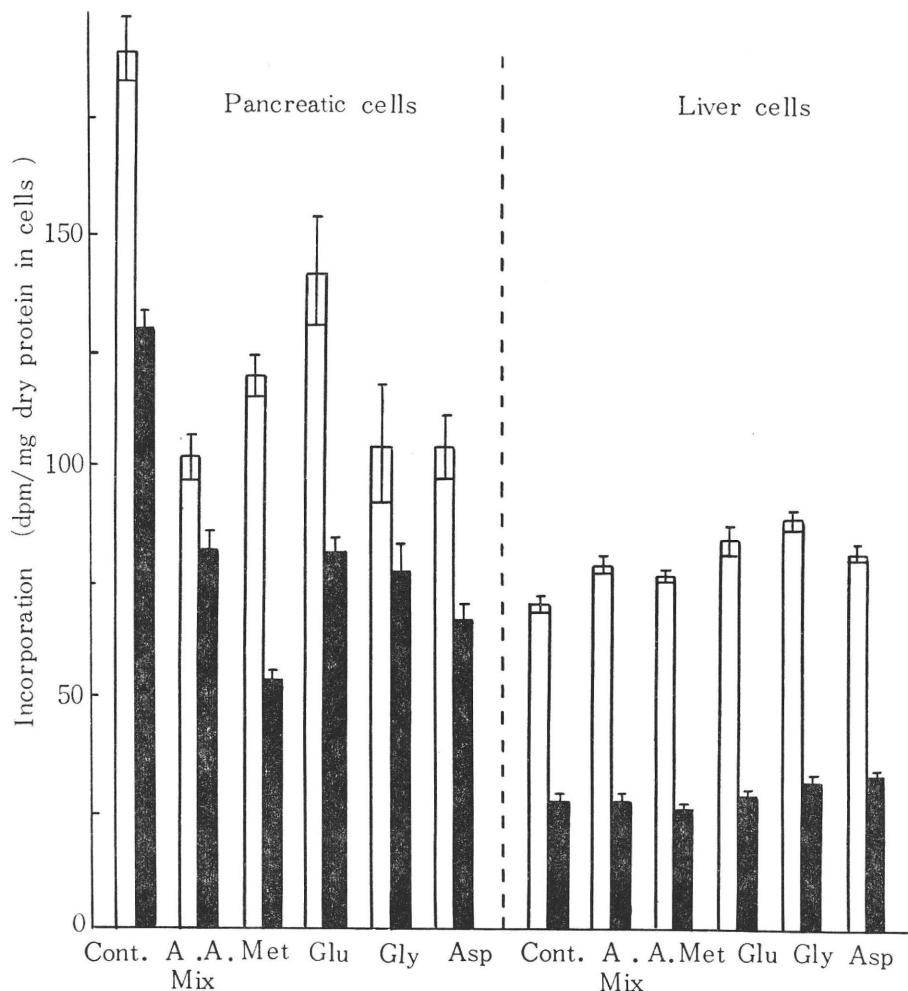


Fig.4 Effect of Amino Acids upon the Incorporation of  $^{75}\text{Se}$ -Selenomethionine into Normal Mouse Pancreatic and Liver Cells *in vitro*.

Sliced tissue was incubated with a mixture of 0.5 ml of  $2 \times 10^{-4}\text{M}$   $^{75}\text{Se}$ -Met ( $0.5 \mu\text{Ci}/\text{ml}$ ) in KRP-Ca buffer and 0.5 ml of  $2 \times 10^{-4}\text{M}$  amino acids in same buffer at  $37^\circ$  for 30 min. and then treated by a procedure described in the text.

□ : acid-soluble fraction, ■ : protein fraction, Cont. : control, AA Mix : amino acids mixture, Met : methionine, Glu : glutamic acid, Gly : glycine, Asp : aspartic acid.

かかわらず, *in vitro*でのセレノメチオニンのとりこみは酸可溶性分画に多かった。また肺集積性の高いことから肺スキャニング剤として検討されたフェニールアラニン誘導体<sup>15)</sup>もその母体物質のフェニールアラニンは酸可溶性分画におけるプ

ールサイズはメチオニンと同様に小さかった。

#### 4. 考 察

$^{75}\text{Se}$ -Met を肺スキャニング剤としてヒトに適用する場合、スキャニングを行う時期は、静

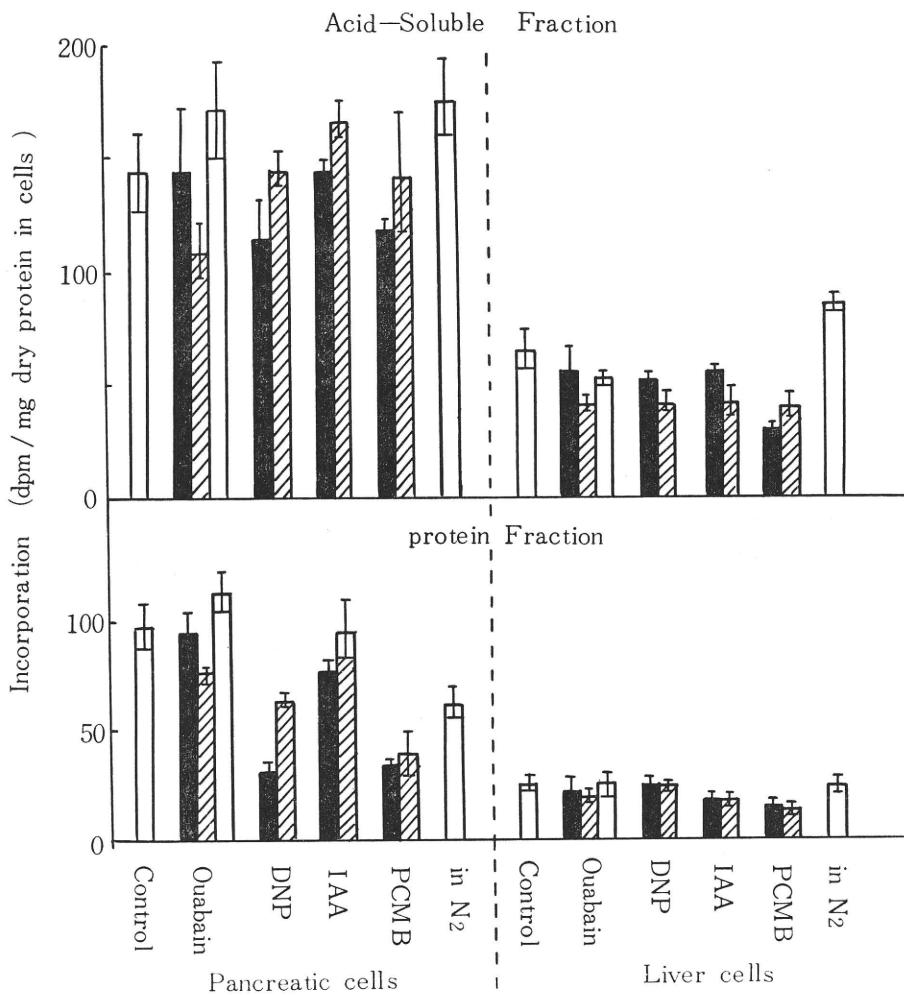


Fig.5 Effect of Inhibitors upon the Incorporation of  $^{75}\text{Se}$ -Selenomethionine with Normal Mouse Pancreatic and Liver Cells *in vitro*.

Sliced tissue was incubated with a mixture of 0.5 ml of  $2 \times 10^{-4}\text{M}$   $^{75}\text{Se}$ -Met ( $0.5\mu\text{Ci}/\text{ml}$ ) in KRP-Ca buffer and 0.5 ml of  $2 \times 10^{-3}\text{M}$ ,  $2 \times 10^{-4}\text{M}$  or  $2 \times 10^{-5}\text{M}$  inhibitors in same buffer at  $37^\circ$  for 30 min. and then treated by a procedure described in the text.

□ :  $1 \times 10^{-3}\text{M}$ , ▨ :  $1 \times 10^{-4}\text{M}$ , ■ :  $1 \times 10^{-5}\text{M}$ .

DNP : 2,4-dinitrophenol, IAA : iodoacetic acid, PCMB : *p*-chloromercuribenzoate.

注後数分から40～50分以内に行われている<sup>3)</sup>。しかし数分内での脾細胞へのとりこみは、細胞内タンパク質分画よりはむしろアミノ酸プール（酸可溶性分画）へのとりこみに意義があるかも知れないという考えのもとに本実験が計画された。その

結果、事実脾細胞で *in vitro* での  $^{75}\text{Se}$ -Met の酸可溶性分画へのとりこみは30分以内においては、タンパク質分画より約1.5～2.5倍多く、その後時間経過とともに90分まであまり差は認められなかった。肝細胞でもタンパク質分画より酸可溶

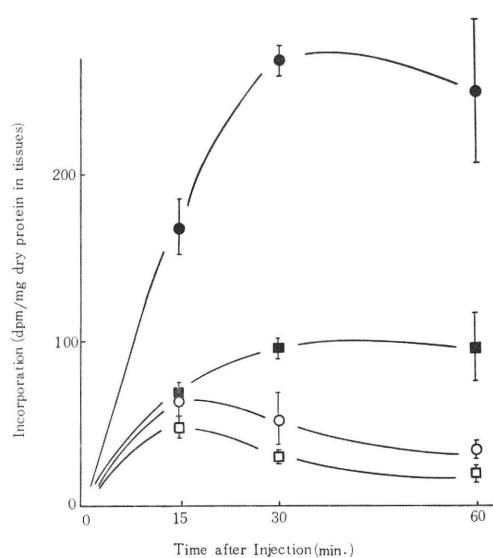


Fig. 6 Incorporation of  $^{75}\text{Se}$ -Selenomethionine into Normal Mouse Pancreas and Liver *in vivo*.

The animals were killed at 15 min., 30 min. and 60 min. after the intravenous injection of 0.2 ml of  $^{75}\text{Se}$ -Met (5  $\mu\text{Ci}/\text{ml}$ ) into male mice weighting about 20g. Pancreas and liver excised from the mice were treated by a procedure described in the text.

○—○ and ●—● : acid-soluble fraction and protein fraction of pancreas, respectively; □—□ and ■—■ : acid-soluble fraction and protein fraction of liver.

性分画の方に約2～9倍多くとりこまれた。また膵細胞と肝細胞へのとりこみを酸可溶性分画とタンパク質分画との総和で比較すると、膵細胞が約3倍大きかった。この関係はマウスの絶食によって影響を受けなかった。これらの結果は $^{75}\text{Se}$ -Metが*in vitro*で膵細胞の酸可溶性分画に多くとりこまれることを示した。これに反し、*in vivo*では $^{75}\text{Se}$ -Metはすでに数分以内から酸可溶性分画よりもむしろタンパク質分画の方に多くとりこまれることが判明した。この*in vivo*での結果はわれわれのはじめの推定とは異なったものであった。

しかしながら、Berlinguet ら<sup>10)</sup>によると非天

然アミノ酸である1-アミノシクロペニタンカルボン酸は*in vivo*において、膵細胞内で遊離の状態で存在しているにもかかわらず、他の臓器に比べて膵細胞への高い集積性を示した。またChristensen ら<sup>24)</sup>による同じく非天然アミノ酸である $\alpha$ -アミノイソ酪酸が細胞内へ能動的にとりこまれると報告している。これらのことは新しい膵スキャニング剤の開発のために、酸可溶性分画に多くとりこまれる物質を探索することの意義を示唆している。この様な線にそってアミノ酸のプールサイズと細胞内へのとりこみ量との相関関係について考察する目的で、膵細胞内アミノ酸プールおよびタンパク質のアミノ酸分析を行った。その結果、セレノメチオニンの母体物質であるメチオニンのプールサイズは他のアミノ酸に比べて比較的小さい値を示した。またすでに膵集積性の高いことから膵スキャニング剤としての可能性について検討されたフェニールアラニン誘導体の母体物質であるフェニールアラニンのプールサイズもまた小さい値を示した。これらのことから酸可溶性分画におけるアミノ酸のプールサイズの小さいものの方が*in vitro*において酸可溶性分画に多くとりこまれることが示唆されたが、その後の研究<sup>25)</sup>によりこの問題に関して完全なる相関関係は認められなかったが、数種のアミノ酸についてはこの相関関係が認められた。なおタンパク質分画のアミノ酸含量とメチオニン、フェニールアラニンのとりこみとの相関関係は認められなかった。

また、 $^{75}\text{Se}$ -Metの*in vitro*における細胞内へのとりこみに影響を与えると考えられる、エネルギー供給物質、アミノ酸、酵素阻害剤などについて検討した結果では、乳酸がかなり阻害作用を示した。またアミノ酸については20種のアミノ酸混合物および数種の単独のアミノ酸がいずれも $^{75}\text{Se}$ -Metのとりこみに阻害的に働いたがその阻害機作については不明である。さらに2,4-ジニトロフェノールとカ-クロロマーキュリベンゾエイトが膵細胞のタンパク質分画への $^{75}\text{Se}$ -Metのとりこみをかなり阻害した。これらの結果から、*in vitro*において $^{75}\text{Se}$ -Metの膵細胞へのとりこみ

Table 2 Amino Acid Contents of the Acid-Soluble Fraction and Protein Fraction of Pancreatic and Liver Cells

Amino Acid	Acid-Soluble Fraction		Protein Fraction	
	Pancreatic Cells	Liver Cells	Pancreatic Cells	Liver Cells
Lys	3.63	1.73	16.35	33.50
His	*	*	4.70	9.83
Arg	0.55	0.13	11.25	25.50
Asp	*	20.06	23.20	44.33
Thr	*	*	11.65	24.33
Ser	*	*	10.95	23.66
Glu	14.96	1.53	23.95	50.50
Pro	*	*	7.05	16.67
Gly	15.51	5.14	17.65	40.17
Ala	9.74	9.29	19.95	42.67
Val	2.01	0.80	18.15	41.67
Met	1.00	1.00	1.00	1.00
Ile	0.25	0.23	13.10	29.83
Leu	0.83	0.23	23.45	54.33
Tyr	1.27	0.13	2.55	10.00
Phe	0.51	0.13	10.36	24.17
Try	*	*	*	*

Amino acid analysis was performed according to a conventional method described in the text. The figures indicate the molar ratio of each amino acid in comparison with methionine.

\* : Not determined.

を増大するような物質は見出されなかった。

セレノメチオニンが酸可溶性分画にそのままの状態で存在しているかどうかラジオペーパークロマトスキャッナーで検討した結果、<sup>75</sup>Se-Metと異なるRf値をもつ物質が検出された<sup>26)</sup>がこの点についてはさらに検討する予定である。

第12回日本核医学会総会で発表、京都、10月（1972）。

## 文 献

- 1) 笠 弘毅, 館野之男: 脇スキャンニングについて. 日本臨床, 23: 787, 1965.
- 2) 笠 弘毅, 館野之男: アイソトープスキャッニングによる脇疾患の診断. 臨床放射線, 12: 371, 1967.
- 3) 水上忠久: <sup>75</sup>Se-selenomethionineによる脇シンチグラムに関する研究. 日本医学放射線学会雑誌, 26: 1299, 1967.
- 4) M. Blau: Biosynthesis of (<sup>75</sup>Se) selenomethionine and (<sup>75</sup>Se) selenocystine. Biochim. Biophys. Acta, 49: 389, 1961.

- 5) M. Blau and M.A. Bender :  $^{75}\text{Se}$ -selenomethionine for visualization of the pancreas by isotope scanning. *Radiology*, **78** : 974, 1962.
- 6) M. Blau and R.F. Manske : The Pancreas specificity of  $^{75}\text{Se}$ -selenomethionine. *J. Nucl. Med.*, **2** : 102, 1961.
- 7) E. Hansson and S. Jacobson : Uptake of ( $^{75}\text{Se}$ ) selenomethionine in the tissues of the mouse studied by whole-body autoradiography. *Biochim. Biophys. Acta*, **115** : 285, 1966.
- 8) R.E. Counsell, T.D. Smith, W. Digilio and W.H. Beierwaltes : Tumor localizing agents VII Radioiodinated phenylalanine analogs. *J. Pharma. Science*, **57** : 1958, 1960.
- 9) E. Hansson and T. Garzo : Amino acid-analog incorporation into pancreatic juice proteins *in vivo*. *Biochim. Biophys. Acta*, **61** : 121, 1962.
- 10) L. Berlinguet, N. Bégin and L.M. Babinean : Autoradiographic studies of the distribution of 1-aminocyclopentane carboxylic acid in normal and cancerous mice. *Can. J. Biochem. Biophys.*, **40** : 1111, 1962.
- 11) S. Rosell, G. Sedvall and S. Ullberg : Distribution and fate of dihydroxyphenylalanine- $2\text{-}^{14}\text{C}$  (DOPA) in mice. *Biochemical Pharmacology*, **12** : 265, 1963.
- 12) N. Bégin and P.G. Scholefield : The uptake of amino acids by mouse pancreas *in vitro*. I General characteristics. *Biochim. Biophys. Acta*, **90** : 82, 1964.
- 13) T. Garzo, E. Hansson and S. Ullberg : Uptake of  $^{14}\text{C}$ -p-fluorophenylalanine in the tissues of mice. *Experientia*, **18** : 43, 1968.
- 14) V.B. Schatz, B.C. O'Brien and W.R. Sandusky : Iodinated phenylalanines. Tests for selective localization in pancreas and preparation of 3,4,5-triiodophenylalanine. *J. Med. Chem.*, **11** : 140, 1968.
- 15) S. Kato, K. Kurata, Y. Sugisawa and T. Wakebayashi : Studies on radioiodinated amino acids as pancreas scanning agents. *Yaku-gaku Zasshi*, **90** : 1499, 1970.
- 16) H.N. Christensen : Active transport with special reference to the amino acids. *Perspectives in Biology and Medicine*, **2** : 228, 1959.
- 17) H. Hagihiira, M. Ogata, N. Takedatsu and M. Suda : Intestinal absorption of amino acids III Interference between amino acids during intestinal absorption. *J. Biochem.*, **47** : 139, 1960.
- 18) G. Wiseman : Absorption of amino acids using an *in vitro* technique. *J. Physiol.*, **120** : 63, 1953.
- 19) E. Hansson and M. Blau : Incorporation of  $^{75}\text{Se}$ -selenomethionine into pancreatic juice proteins *in vivo*. *Biochim. Biophys. Res. Commun.*, **13** : 71, 1963.
- 20) H.J. Breuer and R. Whittam : Ion movements in seminal vesicle mucosa. *J. Physiol.*, **135** : 213, 1957.
- 21) W.T. Agar, G.S. Sidhu and F.J.R. Hird : Absorption, transfer, and uptake of amino acids by intestinal tissue. *Biochim. Biophys. Acta*, **22** : 21, 1956.
- 22) L. Fridhandler and J.H. Quastel : Absorption of amino acids from isolated surviving intestine. *Arch. Biochem. Biophys.*, **56** : 424, 1955.
- 23) I. Sano, Y. Kakimoto, K. Taniguchi and M. Takesada : Active transport of aromatic monoamines. *Klinische Wochenschrift*, **38** : 41, 1960.
- 24) H.N. Christensen, A.T. Aspen and E.G. Rice : Metabolism in the rat of three amino acids lacking  $\alpha$ -hydrogen. *J. Biol. Chem.*, **220** : 287, 1956.
- 25) 未発表
- 26) 未発表

## Summary

### On the Incorporation of $^{75}\text{Se}$ -Selenomethionine into the Acid-Soluble and Protein Fractions of Mouse Pancreatic Cells

Rensuke GOTO, Masakatsu TEZUKA, Kazuko ISHIGAMI and Osamu TAMEMASA

*Shizuoka College of Pharmacy*

In general,  $^{75}\text{Se}$ -selenomethionine ( $^{75}\text{Se}$ -Met) is understood to be highly incorporated into enzyme proteins produced in the pancreas. However, because in some clinical applications the scanning is carried out within very short time (5-10 min.) after injection, it was anticipated that such  $^{75}\text{Se}$ -Met incorporation into the pancreas within short time might be owing to the incorporation into acid-soluble fraction more than into protein fraction. From such a consideration, we worked out for a comparative study of  $^{75}\text{Se}$ -Met incorporation into acid-soluble and protein fractions of mouse pancreatic and liver cells, *in vitro* and *in vivo*.

*In vitro*, the radioactivity of  $^{75}\text{Se}$ -Met incorporated into the acid-soluble fraction of normal mouse pancreatic cells was 1.5-2.5 times higher than that of protein fraction within 30 min., and the ratio of the liver cells was 2-9 within 90 min. The total incorporation (acid-soluble fraction+protein fraction) into pancreatic cells was about 3 times higher, through the incubation period within 90 min., than into liver cells. Fasting of mice had no effect on the incorporation. On the other hand, *in vivo*, the radioactivity of  $^{75}\text{Se}$ -Met in the acid-soluble fraction of normal mouse pancreatic cells was about one third of that in the protein fraction through the period after injection. However, it seems neces-

sary in search for more useful pancreas-scanning agents to appreciate the significance of incorporation of natural and unnatural amino acids into acid-soluble fraction of pancreatic cells, because some unnatural amino acids were highly incorporated into the acid-soluble fraction. From this point of view, first, in order to find correlations among amino acids pool size in the acid-soluble fraction, their contents in the protein fraction and their incorporation into the both fractions, amino acid analysis of the both fractions of pancreatic and liver cells was carried out by a amino acid analyser. Consequently, the pool size of methionine, a mother substance of selenomethionine, was considerably small compared to that of other amino acids. Phenylalanine, a mother compound of iodo-phenylalanines investigated as a pancreas-scanning agent, also had a small pool size. These results suggested that there might be a correlation between amino acids pool size and their incorporation into acid-soluble fraction of pancreatic cells.

Furthermore, the effects of several energy sources, enzyme inhibitors and some natural amino acids on the *in vitro* incorporation of  $^{75}\text{Se}$ -Met were investigated. Among these substances, lactic acid, certain amino acids, 2,4-dinitrophenol and *p*-chloromercuribenzoate were more or less inhibitory on the incorporation.