

# ビリルビン性脳障害の成立機構とその予防に関する 神経化学的研究 (Gunn ratにおける小脳発育障害) 小脳障害と glutathione S-transferase 活性の上昇

愛知県心身障害者コロニー, 発達障害研究所, 周生期学部

柏 俣 重 夫, 佐 藤 浩

京都大学霊長類研究所生化学部門

浅 岡 一 雄

## 研究目的

臨床的あるいは病理学的に核黄疸をとめない、死をまぬがれた場合でも重度な脳性麻痺、精神遅滞を後遺症として残す先天性ビリルビン(BR)代謝異常症、Crigler-Najjar 症候群 I 型の本態は BR:UDP-グルクロン酸転移酵素の遺伝的欠損であるが(Arias, 1979), 持続的高BR血症、核黄疸(BR脳症)、黄疸の遺伝形式(常染色体性劣性)、酵素欠損等が同じである Gunn ラット(Kashiwamata & Semba, 1979)は本症候群の好個な疾患モデル動物と考えられている。しかしながら、げっ歯類の特徴としてその小脳は生後にいちじるしく発達するため、生後早期に中枢神経系に侵入した非抱合型BRはGunn ラットにおいて小脳発育障害(小脳低形成)をひきおこす(Kashiwamata et al., 1984)。脳の特殊性とその脆弱性はよく知られているところであり、BRによる神経細胞毒性がラット小脳において特徴的に発揮されるということは脳障害の基本的理解に多く貢献する情報をもたらしてくれるものと期待される。

ラット肝において glutathione S-transferase (GST)は生体に侵入する各種異物質あるいは生体内で生じる類緑物質と還元型グルタチオンとの抱合を触媒する解毒酵素として知られている(Takahashi & Asaoka, 1980)。肝細胞質でBRと結合するリガントンはGSTのアイソザイムの一つである(Litwack et al., 1971; Habig et al., 1974; Hayes et al., 1979)。最近、GSTが肝のみでなく脳にも存在することが明かに

なってきた(Asaoka et al., 1977; Das et al., 1981; Asaoka & Takahashi, 1983a; Theodore et al., 1985)。リガントンはin vitroでBR毒性を予防する効果があると報告されている(Kamisaka et al., 1975)。脳でのGSTの役割はほとんど説明されておらず、本研究はGunn ラットでみられるBR性小脳障害と中枢神経系でのこの酵素の役割との関連を明かにする目的でおこなった。

## 研究材料と方法

われわれの研究室で黄疸遺伝子(j)をSprague-Dowley 系ラットに導入されたSD-Gunnラットのホモ接合体(jj)をもちいた。対照としては小脳発育も含め正常に発育するヘテロ接合体(j+)をもちいた。ラットをクロロホルムで麻酔し、0.25 M蔗糖で還流後、小脳を取り出した。9倍量の0.25 M蔗糖を加えPotter Elvehjem 型ホモゲナイザーを用いて酵素標品を調整した。酵素活性はAsaoka(1977)およびAsaoka and Takahashi(1983b)の方法によって測定した。タンパク量はウシ血清アルブミンを標準にしてLowryら(1951)の方法によって測定した。

## 研究結果と考察

表1は肝、大脳、小脳のホモジェネートを105,000×g, 90min で遠心してえられた上清のGST活性を1-chloro-2, 4-dinitrobenzeneを基質として測った値である。肝の活性に比べて小脳、大脳のタンパク量あたり活性は1/2から

1/4の値であった。jjとj+で肝、大脳においては活性の差は認められなかったが、小脳ではjjの活性がj+の約2倍であった。Table 2に3つの異なる基質に対するGST活性をjjとj+でくらべてある。jjはいずれの基質にたいしてもj+より1.5から2倍高い活性をしめした。それぞれの基質にたいするミハエリス定数にはjjとj+の間で違いはなかった(図示せず)。これらの結果から特定のGSTアイソザイムがjj小脳で増加したのではなくすべてのアイソザイムが一様に増したと考えられた。

肝GSTは種々の薬物によって酵素誘導を受けることが知られている(Reyes et al., 1971)。さらに赤血球のGSTは黄疸によりその活性が増加することも報告されており(Carmagnol et al., 1981), 低形成小脳でこのようにGST活性が増加したのは小脳組織のBR毒性にたいする防御作用かもしれない。BR性脳障害の予防を考えるにあたってこの酵素の低形成小脳での活性上昇のしくみとさらには中枢神経系でのこの酵素の役割を明かにすることは重要とおもわれる。

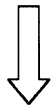
Table 1 Glutathione S-transferase Activities in the Cytosols of Brain and Liver from Homozygous (jj) and Heterozygous (j+) Gunn rats\*

Tissue	Genotype	Number of animals	Specific activity (nmol/min/mg. protein)	jj/j+ (%)
Cerebellum	j+	3	21.6 ± 2.0	
	jj	3	42.2 ± 5.1	195
Cerebrum	j+	5	29.3 ± 2.0	
	jj	5	27.4 ± 0.7	94
Liver	j+	5	79.4 ± 12.6	
	jj	6	77.5 ± 15.0	95

\*The assay was performed at 25°C in 0.1 M sodium phosphate buffer, pH 6.3, containing 1 mM glutathione, 0.75 mM 1-chloro-2,4-dinitrobenzene and the cytosol fraction (for details, see Asaoka et al. (1977))

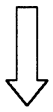
Table 2 Substrate Specificity of Glutathione S-Transferase in the Cerebellar Homogenates from Homozygous (jj) and Heterozygous (j+) Gunn rats

Substrate	jj		j+	
	nmol/min/mg protein	nmol/min/g wet tissue	nmol/min/mg protein	nmol/min/g wet tissue
1-Chloro-2,4-dinitrobenzene	62.7	3,770	31.3	2,540
o-Dinitrobenzene	6.06	364	3.09	251
1,2-Dichloro-4-nitrobenzene	5.88	353	2.86	232



## 検索用テキスト OCR(光学的文字認識)ソフト使用

論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります



### 研究目的

臨床的あるいは病理学的に核黄疸をとめない、死をまぬがれた場合でも重度な脳性麻ひ、精神遅滞を後遺症として残す先天性ビリルビン(BR)代謝異常症、Crigler-Najjar 症候群型の本態は BR:UDP - グルクロン酸転移酵素の遺伝的欠損であるが(Arias,1979),持続的高BR血症,核黄疸(BR脳症),黄疸の遺伝形式(常染色体性劣性),酵素欠損等が同じである Gunn ラット(Kashiwamata & Semba, 1979)は本症候群の好個な疾患モデル動物と考えられている。しかしながら、げっ歯類の特徴としてその小脳は生後にいちじるしく発達するため、生後早期に中枢神経系に侵入した非抱合型 BR は Gunn ラットにおいて小脳発育障害(小脳低形成)をひきおこす(Kashiwamata et al.,1984)。脳の特殊性とその脆弱性はよく知られているところであり、BR による神経細胞毒性がラット小脳において特徴的に発揮されるということは脳障害の基本的理解に多く貢献する情報をもたらしてくれるものと期待される。

ラット肝において glutathione S-transferase. (GST)は生体に侵入する各種異物質あるいは生体内で生じる類緑物質と還元型グルタチオンとの抱合を触媒する解毒酵素として知られている(Takahashi & Asaoka,1980)。肝細胞質で BR と結合するリガンティンは GST のアイソザイムの一つである(Litwack et al.,1971;Habiget al.,1974;Hayes et al.,1979)。最近,GST が肝のみでなく脳にも存在することが明らかになってきた(Asaoka et al.,1977;Das et al.,1981;Asaoka & Takahashi,1983a;Theodor-c et al,1985)。リガンティンは *in vitro* で BR 毒性を予防する効果があると報告されている(Kamisaka et al.,1975)。脳での GST の役割はほとんど解明されておらず,本研究はGunn ラットでみられる BR 性小脳障害と中枢神経系でのこの酵素の役割との関連を明かにする目的でおこなった。