

東北大学医学部小児科

多田 啓也

高田 五郎

先天性ライソゾーム病に対する従来の血漿輸液療法は期待する成果を挙げ得なかった。それに代って最近, specific activity の高い酵素を liposome に埋包して投与する方法が考案された<sup>1)</sup>。しかし, この方法に対する検討は未だ不十分で, その臨床応用の可否も明らかでない。我々は liposome を担体として用いた酵素補充療法を開発すべく以下の研究を行なった。

#### 研究目的

liposome 埋包 <sup>131</sup>I 標識酵素をラットに静注し, ①その血中半減期, ②各臓器への分布, ③特に肝・脳への取込み並びに④それらの細胞内分布の経時的変化を調べ, <sup>131</sup>I 標識酵素をそのまま用いて同様の実験をした場合の成績と比較する。⑤ liposome 埋包精製酵素 (蛋白量 3 mg・活性として 300 単位) を one shot で静注し, 1 時間後の各臓器に於ける当該酵素活性を測定し, 生食水或は bovine serum albumin (BSA) 埋包 liposome を投与した対照群のそれと比較する。

#### 実験対象および方法

補充酵素には  $\beta$ -galactosidase (Galantase : 東京田辺製薬) を用い, chloramine T 法により <sup>131</sup>I を標識した。<sup>131</sup>I 標識酵素は Sephadex G75 により free の <sup>131</sup>I から精製し, phosphatidylcholine : cholesterol dicetylphosphate (モル比 7 : 2 : 1) から成る liposome に埋包し, 180 Watt・20~30 秒の sonication 後 Sepharose 6B にて liposome 埋包 <sup>131</sup>I 標識酵素 (liposome-entrapped enzyme : LE と略) と非埋包 <sup>131</sup>I 標識酵素 (unentrapped enzyme : UE と略) とを分離した。以下の実験にはここで得られた LE と UE とを用いた。

実験動物にはSD系ラット同腹(8-12匹)を用い、これらを2群に分け、一方にはLEを他方にはUEを静注し、以後の処理は両群共全く同様に行なった。細胞分画は、700g・10分及び1400g・30分の遠心により、cell debris-nuclear (C-N)分画・mitochondria-lysosome (M-L)分画・microsomal-soluble (M-S)分画とに分けた。

## 研 究 成 績

①  $^{131}\text{I}$  標識酵素の血中半減期：UEでは3分であるのに対し、LEでは25分と約8倍の延長が認められた。静注後4時間目の血中放射能活性は各々 0 time の10%および20%であった。

②  $^{131}\text{I}$  標識酵素の臓器分布：静注30分では、臓器湿重量当りでみるとLEでは脾に最も多く取り込まれ次いで肝、心、肺、腎への取り込みが認められ、脳にもごく僅かの取り込みが見出された。UEでは肝、腎、脾の順に取り込まれた(図1)。臓器当りの取り込み総量でみると、肝が圧倒的に多く、LEでは投与量の50%、UEでは80%であった、肝、腎を除く各臓器においては、LEの方がUEを上廻る取り込みを示した。

③ 肝・脳への取り込みの経時的变化：静注後、5、10、20、30分目における臓器当りの取り込み量は肝ではLEで35%から50%へ、UEで40%から80%へと増加し、脳ではLEで0.35%から0.2%へ、UEで0.12%から0.04%へと低下した。240分目では、LE・UE共肝では15%前後、脳では0.01%前後0.01%前後であり、共に細胞内半減期の短いことが認められた。

④ 肝・脳における細胞内分布：M-L分画への取り込みは肝ではLEで50~55%、UEで65~75%、脳ではLEで35~45%、UEで25~40%であった。

⑤ 精製 $\beta$ -galactosidase埋包liposome投与：生食水又はBSA埋包liposomeを投与した群では、調べたすべての臓器で $\beta$ -galactosidase活性に差がなかったのに対し、精製 $\beta$ -galactosidase埋包liposome投与ラットでは対照群に比し全ての臓器で2.5~1.5倍の酵素活性の増加が認められた。その臓器分布は $^{131}\text{I}$ 標識酵素を用いた場合の成績と全く同じ傾向を

示した(図2)。

### 考 按

以上の成績は, liposome を担体として十分量の精製酵素を投与すれば, 肝, 脾, 腎, 心, 肺, さらに僅かではあるが脳にも取り込まれることを示した。しかも細胞内分画では特に mitochondria-lysosome 分画に intact のまゝ取り込まれることを示し, 先天性ライソゾーム病に対する liposome を用いた酵素補充療法の可能性を示唆するものと考えられる。

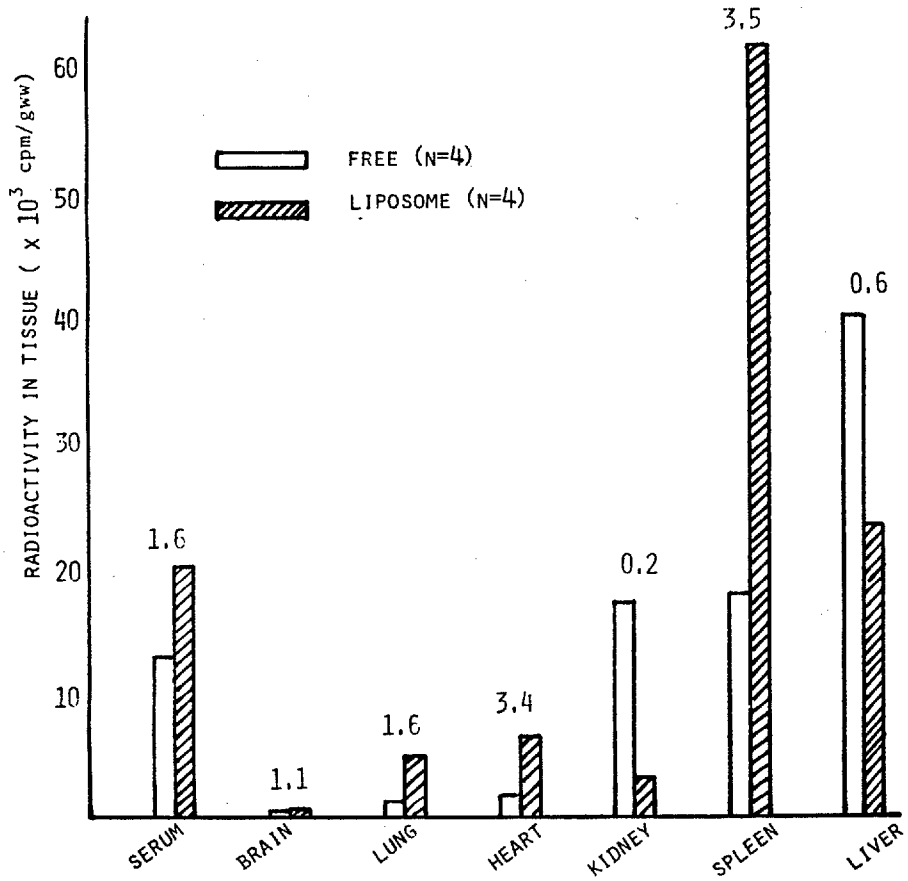
### 要 約

1.  $^{131}\text{I}$  標識酵素を liposome に埋包してラットに静注すると, 肝, 脾, 腎, 心, 肺, さらに僅かながら脳にも取り込まれ, 特に細胞内の mitochondria-lysosome 分画に取り込まれることが見出された。酵素をそのまま投与した場合と比較すると, 血中半減期はより延長し, 肝・腎への取り込みよりも他の臓器への取り込みが増加する。
2. liposome 埋包精製  $\beta$ -galactosidase 投与後, 脳を含むラット各臓器における当該酵素活性の増加が認められ, 補充酵素は細胞内に intact なまゝ取り込まれることが示された。

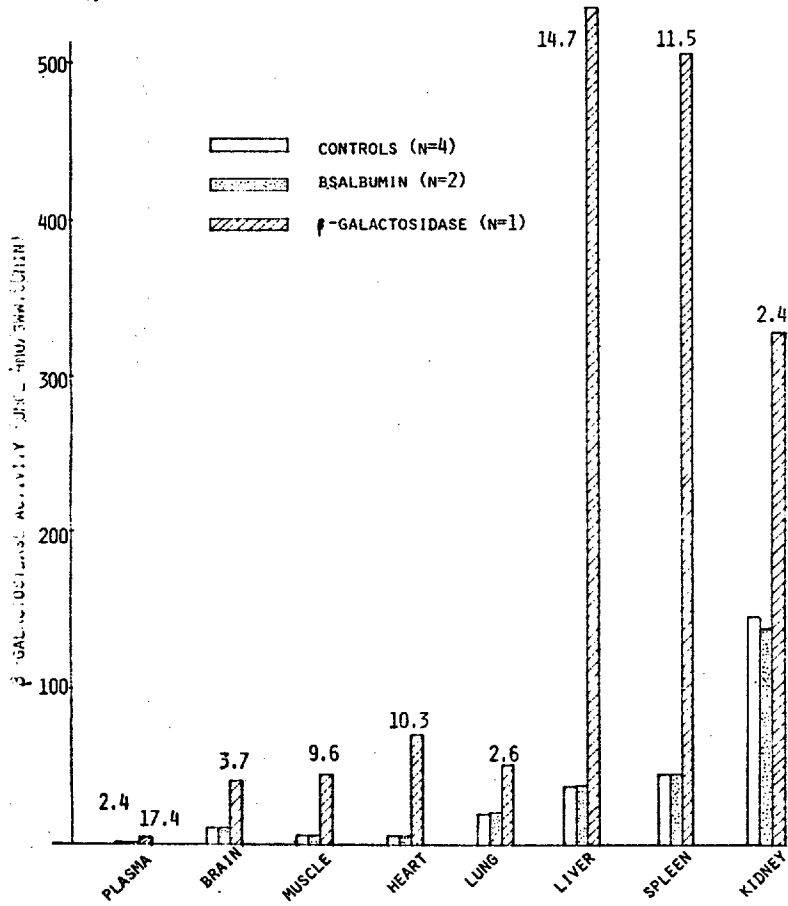
### 文 献

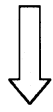
1. Desnick, R.J., Thorpe, S.R. and Fiddler, M.B. : Toward Enzyme Therapy for Lysosomal Storage Diseases, Physiol. Rev., 56 : 57 - 99, 1976.

1. TISSUE DISTRIBUTION OF RADIOACTIVITY IN RATS AT 30 MIN. AFTER INJECTION OF FREE OR LIPOSOME-ENTRAPPED  $^{131}\text{I}$ -LABELLED GALANTASE

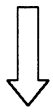


2  $\beta$ -GALACTOSIDASE ACTIVITY IN THE ORGANS OF RATS AT ONE HOUR AFTER THE INJECTION OF LIPOSOMES CONTAINING PURIFIED  $\beta$ -GALACTOSIDASE OR BSALBUMIN





**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



#### 要約

1.131 標識酵素を liposome に埋包してラットに静注すると,肝,脾,腎,心,肺,さらに僅かながら脳にも取り込まれ,特に細胞内の mitochondria-lysosome 分画に取り込まれることが見出された。酵素をそのまま投与した場合と比較すると,血中半減期はより延長し,肝・腎への取り込みよりも他の臓器への取り込みが増加する。

2. liposome 埋包精製 — galactosidase 投与後,脳を含むラット各臓器における当該酵素活性の増加が認められ,補充酵素は細胞内に intact なまま取り込まれることが示された。