

# ビリルビンの脳内移行について

(財) 佐々木研究所・化学部

長瀬 すみ, 高橋 正一

昨年度は、無アルブミン-高ビリルビン血症ラット (AJR, 1) と無アルブミンラット (NAR, 2) をもちいて、ビリルビンの脳内移行の機構を検索し、血中にアルブミンが存在しない場合、血中ビリルビンはリポ蛋白に結合している事を証明した。また、リポ蛋白結合ビリルビンは、脳血管関門を容易に通過してしまう事が判明した(3)。

本年度は、リポ蛋白結合ビリルビンに着目し、ビリルビンの脳内移行の機構を検索した。

## 実験材料と方法

動物は、NAR及びSDラットをもちいた。人新生児血清は、浜田病院の国分先生より分与された。血清総ビリルビン及びフリービリルビンの測定は、アローズ社製UB-アナライザーによった。また、リポ蛋白結合ビリルビン量の測定は、従来の方法(3)によった。 $^3\text{H}$ ラベルビリルビン (150mCi/mmol) は、Commissariat a L'Energie Atomique社より購入した。ビリルビン溶液をラットに注入する実験は、昨年報告した方法に準じた。

## 結果及び考察

図1に、正常SDラット血清にビリルビンを100  $\mu\text{g}/\text{ml}$ になる様に加えた時の、フリー及びリポ蛋白結合ビリルビン量の日令変化を調べた結果を示す。リポ蛋白結合ビリルビン量は、生後8日令で最高値を示すピークが認められ、以後日令とともに低下した。フリービリルビン量は、生後0日が最も高く以後日令と共に減少し、フリービリルビンとリポ蛋白結合ビリルビンの日令による変動は、ほぼ同じ様な挙動を示す事が判明した。また、アルブミンの存在する血清であっても、ビリルビンの一部はリポ蛋白に結合しており、その量は、フリービリルビン量の約300倍であった。

20日令SDラット血清に、100  $\mu\text{g}/\text{ml}$ になる様にビリルビンを加え、さらに種々濃度のサルチル酸を加えると、フリービリルビン及びリポ蛋白結

合ビリルビンの値は、サルチル酸濃度に比例して上昇した(図2)。この結果、アルブミンに結合しているビリルビンの一部がサルチル酸によつてはずれ、そのほとんどがリポ蛋白に結合する事が判明した。以上の結果、脳へのビリルビンの移行には、リポ蛋白結合ビリルビンが強く関与している事が示唆された。人でも、このような事実が認められるかどうか調べた結果、リポ蛋白結合ビリルビン量は、総ビリルビン量の7~8%存在する事が判明した(表1)。しかし、年齢による変動はあまり大きくなく、血中から脳内へのビリルビンの移行に関する機構の問題は、血液成分の質の変動のみでは説明出来ない事が示唆された。

次に、週令による脳の中ビリルビンに対する挙動の変化の有無を調べる目的で、リポ蛋白結合 [ $^3\text{H}$ ]ビリルビン溶液及びアルブミン結合 [ $^3\text{H}$ ]ビリルビン溶液を1週令より6週令までのNARに注入し (10mg/kg/30min, ビリルビン), ビリルビンの脳内移行について検討した結果を図3に示す。脳全体へのビリルビンの移行は、アルブミン結合ビリルビン溶液注入群よりリポ蛋白結合ビリルビン溶液注入群の方が1~3週令までは約60%高値を示した。しかし、4週以降は両群であまり差は認められなかった。また、ビリルビンの移行を大脳と小脳に分けて測定した結果、大脳へは両群とも殆ど移行せず、週令による変動も無かった。小脳へのビリルビンの移行は、リポ蛋白結合ビリルビン注入群の方が、アルブミン結合ビリルビン注入群に比し1~3週令で約3倍高値を示した。しかし、4週令以降では両群での差はあまり認められず、4週令を過ぎると脳内へのビリルビンの移行が小さくなる事が示唆された。今回の実験の結果、大脳には殆どビリルビンが移行せず小脳に集中している事が判明した。この原因として、ラット脳は大脳に比し小脳が未熟な状態で生まれてくる結果、脳形成が未発達な小脳へビリルビンの移行が集中している事が考えられる。事実、高

ビリルビン血症を呈するガンラットは、小脳が集中的にビリルビン毒性におかされる事が知られており、我々の結果と良く一致した。さらに、週令による小脳へのビリルビン移行の変化を脳側から見ると、3週令までが危険週令であると考えられる。また、血液側からビリルビンの移行を考えると、1週令の血清が一番リポ蛋白のビリルビンに対する結合保持容量が大きく、以後急速に減少する事実、無アルブミン-高ビリルビン血症ラット(AJR)は、全て3週令までに死亡してしまうが、1週令より3週令までアルブミン投与及び光照射を併用する事によって、死亡をまのがれる事実を考えあわせると、血中から脳へのビリルビン移行に関する危険日令のピークは、生後8日前後であ

る事が示唆された。

さらに、リポ蛋白に結合したビリルビンがどのように脳へ移行するかを、免疫組織化学的に検討中である。

#### 文 献

- 1) Shumiya, S & Nagase S. (1981) *Exp. Anim.* 30, 291-297.
- 2) Nagase, S., Shimamune, K., & Shumiya, S. (1979) *Science* 205, 590-591.
- 3) Masakazu, M., Sugiyama, K., Shumiya, S., & Nagase, S. (1984) *J. Biochem.* 96, 1705-1712.

表 1

Serum bilirubin concentrations in human

Age	Bilirubin concentration		
	Total ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	Free ( $\text{ng}/\text{ml}$ )	Lipoprotein bound ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )
Newborn (umbilical cord serum)	(3) 27.3 $\pm$ 3.3	0.87 $\pm$ 0.46	2.1 $\pm$ 0.2
5~6 Day	(4) 161.8 $\pm$ 30.2	3.65 $\pm$ 1.53	13.4 $\pm$ 2.7
1 M	(1) 34.0	0.3	2.7
Adult	(2) 209.0 27.1	18.2 0.5	40.0 2.0

Concentrations of free and lipoprotein bound bilirubin in SD rat serum

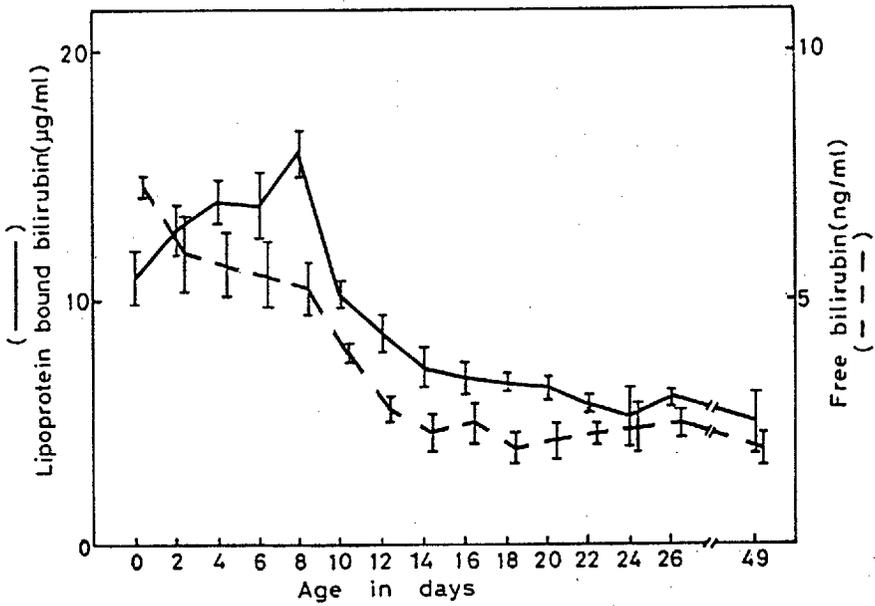


Fig.1

Effect of sodium salicylate on the concentrations of serum free and lipoprotein bound bilirubin

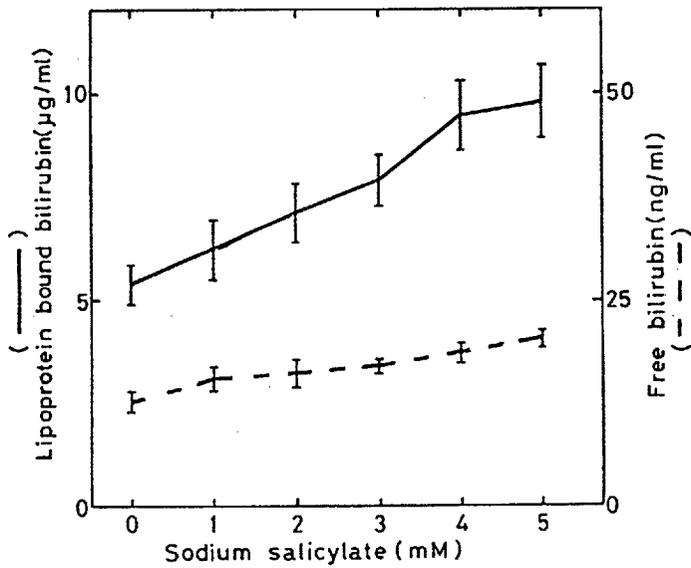


Fig.2

Brain bilirubin concentrations in NAR infused with albumin and lipoprotein bound  $^3\text{H}$ -bilirubin

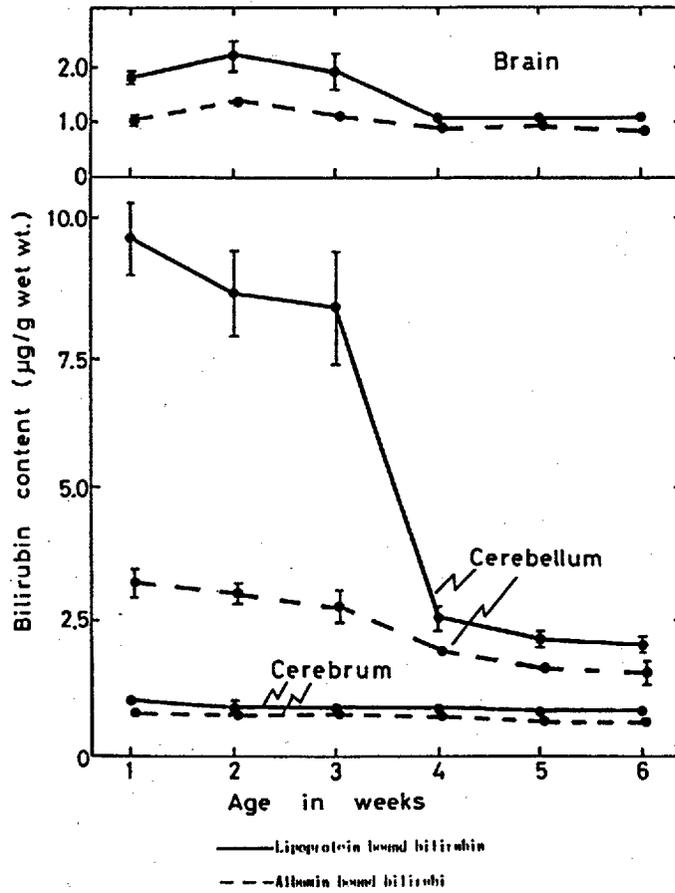
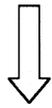


Fig.3



## 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



昨年度は,無アルブミン - 高ビリルビン血症ラット(AJR,1)と無アルブミンラット(NAR,2)をもちいて,ビリルビンの脳内移行の機構を検索し,血中にアルブミンが存在しない場合,血中ビリルビンはリポ蛋白に結合している事を証明した。また,リポ蛋白結合ビリルビンは,脳血液関門を容易に通過してしまう事が判明した。

本年度は,リポ蛋白結合ビリルビンに着目し,ビリルビンの脳内移行の機構を検索した。