

ビリルビンとヒト血清アルブミンとの種々のモル比 の複合体溶液におけるビリルビンの光異性化反応

— その first ないし second class の結合部位と
立体ないし構造異性化反応との関係 —

(分担研究： 核黄疸の予防に関する研究)

大 西 鐘 壽,* 伊 藤 進, 磯 部 健 一

要 約

光平衡時の (ZE)-bilirubin の (ZZ)-bilirubin に占める比率について検討した。ビリルビンとアルブミンとのモル比が1以下で専ら first class の結合部位に結合している状態ではその比率は約40%と一定であり、ビリルビンとヒト血清アルブミンとのモル比が1以上で second class の結合部位に結合したビリルビンが増加するにつれて、その比率は減少した。一方同じ実験条件下での cyclobilirubin の形成について検討した。ビリルビンと血清アルブミンとのモル比が2迄は、換言すれば second class に結合したビリルビンが増加するにつれて cyclobilirubin の形成は増加した。ビリルビンと血清アルブミンとのモル比が2以上では second class に結合したビリルビンが少なくなるにつれて逆に cyclobilirubin の生成量は減少する極めて特徴的なパターンが得られた。

見出し語： 核黄疸, ヒト血清アルブミン, (ZE)-bilirubin, cyclobilirubin

研 究 目 的

新生児黄疸の最も重要な合併症は核黄疸である。その主要な予防法である光療法は現在新生児医療において最も広く用いられている。それに関する臨床的並びに基礎的研究を行い発表して来た^{1,2)}。その一環として、今回、ビリルビンとアルブミンとのモル比を変化せしめることにより或は SDS を加えることによりヒト血清アルブミンの first class ないし second class の結合部位に結合したビリルビンの光化学反応について検討し極めて興味ある知見が得られたので報告する。

研究方法と結果

① ビリルビンの光化学反応に及ぼすアルブミン結合部位の影響；ビリルビン濃度を 10mg/dl と一定にし、ヒト血清アルブミン濃度を変化せしめることにより、ビリルビンとアルブミンとの種々のモル比 (0.25, 0.5, 0.75, 1, 1.5, 2, 4, 8) の溶液を作成し、これらに blue-white lamp で、一定時間光照射して高速液体クロマトグラフィーによりビリルビンの光異性体を分析した。まず光平衡時の (ZE)-bilirubin の (ZZ)-bilirubin に占める比率について検討した。ビリルビンとアルブミンとのモル比が1以下で専ら first class の結合部位に結合している状態ではその比率は約40%

* 香川医科大学小児科

と一定であり、ビリルビンとヒト血清アルブミンとのモル比が1以上でsecond classの結合部位に結合したビリルビンが増加するにつれて、その比率は減少した(図1の黒丸)。一方同じ実験条件下でのcyclobilirubinの形成について検討した。ビリルビンと血清アルブミンとのモル比が2迄は、換言すればsecond classに結合したビリルビンが増加するにつれてcyclobilirubinの形成は増加した。ビリルビンと血清アルブミンとのモル比が2以上ではsecond classに結合したビリルビンが少なくなるにつれて逆にcyclobilirubinの生成量は減少する極めて特徴的なパターンが得られた(図1の白丸)。特に1より小さい生理的な範囲内のモル比では構造異性化反応であるcyclizationが少なく立体異性化が主であった。

②ビリルビンの光化学反応に及ぼすSDSの影響;アルブミンのfirst classとsecond classの結合部位によるビリルビンの光異性化反応の差異をより明確にする為にビリルビンとヒト血清アルブミンとの複合体溶液(モル比0.5)にfirst classの結合部位からビリルビンをsecond classの結合部位へdisplaceさせる作用を有するSDSをモル比が0, 1, 2, 3, 5, 7.5になる様に加え、blue-white lampで1, 3, 5分間の光照射を行ない、ビリルビンの光異性体の分析をおこなった。(ZE)-bilirubinの(ZZ)-bilirubinに占める比率はSDSのアルブミンに対するモル比が5迄はSDSのモル比が増加するにつれて510 nmの吸収度が直線的に増加し、SDSのモル比が5以上では変化しないかむしろ減少した。この510nmの吸光度の増加に比例してcyclobilirubinの生成が直線的に増加する極めて特徴的な規則性が存在することが見出された(図2)。

考 察

ヒト血清アルブミンには、ビリルビンと $10^7 M^{-1}$ オーダーの結合定数を持つfirst classの結合部位と $10^5 M^{-1}$ オーダーのsecond classの結合部位が存在すると考えられている。そして、first

classに結合したビリルビンは、蛍光や円偏光二色性(CD)で検出できる。我々の検討でもSDSで、その蛍光の減少及びCD帯の減少が認められ、first classの結合部位に結合したビリルビンの減少が確認された。従ってsecond classのbinding siteに移行したビリルビンは増加していると考えられる。我々の成績から立体異性化反応である(ZE)-bilirubinの生成はfirst classに結合しているビリルビンが多い程反応が速やかで、しかも光平衡における(ZE)-bilirubinの比率が大である。一方、構造異性化反応であるcyclobilirubinの生成にはsecond classの結合部位が主として関与していると結論され、要するに黄疸の程度が軽くビリルビンが専らfirst classの結合部位に結合している場合は、光エネルギーを吸収して立体異性化反応により(ZE)-bilirubinに変化し、仮に肝臓により胆汁中へ排泄されても速やかに(ZZ)-bilirubinへ復帰し、再び生体膜を通る様になり腸で吸収され腸肝循環し体内へもどる。見方を変えれば生体はヒト血清アルブミンによりビリルビンを光から保護しているかの様である。一方黄疸が強くなり血液中のアルブミンのsecond classの結合部位にビリルビンが結合する様になるか或は遊離脂肪酸その他によりdisplaceされsecond classへ移ると、俄然ビリルビンは元の(ZZ)-bilirubinへ容易に復帰出来ないcyclobilirubinへの構造異性化反応が起こりやすくなる。これは極性が大である為胆汁中へ(ZE)-bilirubinより非常に速やかに排泄され、しかも再び生体膜を通して腸から吸収されることは無く重合して体外へ排泄されることになる。即ちヒト血清アルブミンのsecond classの結合部位に結合し核黄疸を起こす危険な状態になったビリルビンは光エネルギーにより体外へ排泄しやすくしている様に見えるのである。

文 献

1. Onishi S, Isobe K, Itoh S, Manabe M, Sasaki K, Fukuzaki R and Yamakawa T: Metabolism of bilirubin and

its photoisomers in newborn infants during phototherapy. *J. Biochem.* **100** : 789-795, 1986.

2. Onishi S, Itoh S, Isobe K: Wavelength dependence of the relative rate constants for the main geometric and structural photoisomerization of bilirubin IX α bound to human serum albumin. *Biochem. J.* **236** : 23-29, 1986.

3. Jacobsen J and Brodersen R: Albumin-bilirubin binding mechanism. *J. Biol. Chem.* **258** : 6319-6326, 1983.

3. Jacobsen J and Brodersen R: Albumin-bilirubin binding mechanism. *J. Biol. Chem.* **258** : 6319-6326, 1983.

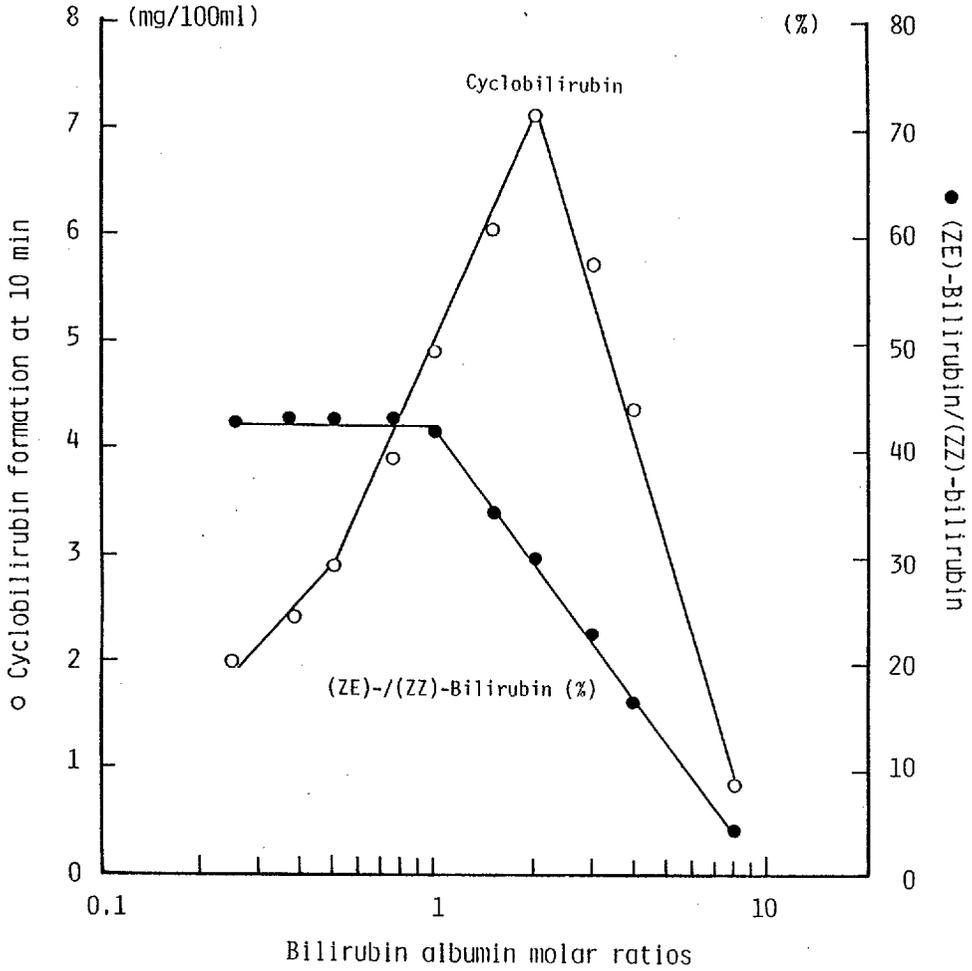


图1.

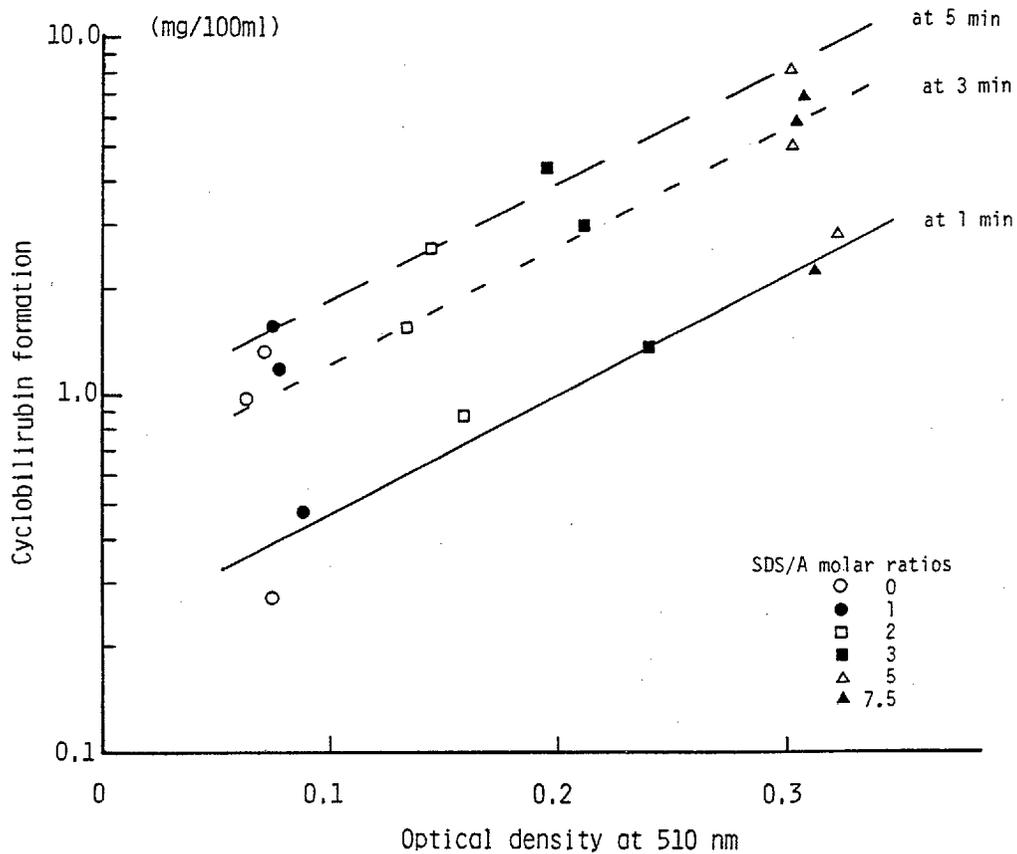
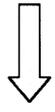
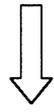


图 2.



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

光平衡時の(ZE)-bilirubinの(ZZ)-bilirubinに占める比率について検討した。ビリルビンとアルブミンとのモル比が1以下で専ら first class の結合部位に結合している状態ではその比率は約40%と一定であり、ビリルビンとヒト血清アルブミンとのモル比が1以上で second class の結合部位に結合したビリルビンが増加するにつれて、その比率は減少した。一方同じ実験条件下での cyclobilirubin の形成について検討した。ビリルビンと血清アルブミンとのモル比が2 迄は、換言すれば second class に結合したビリルビンが増加するにつれて cyclobilirubin の形成は増加した。ビリルビンと血清アルブミンとのモル比が2 以上では second class に結合したビリルビンが少なくなるにつれて逆に cyclobilirubin の生成量は減少する極めて特徴的なパターンが得られた。