

核黄疸に関する基礎的研究

(分担研究： 核黄疸の予防に関する研究)

長瀬 すみ,* 高橋 正一

要 約

先に核黄疸の発症には、リポ蛋白結合ビリルビンの関与が大きいと思われる実験結果を報告した¹⁾。今回リポ蛋白結合ビリルビンが其のままの形で脳血清関門を通過するのか、結合が外れてフリービリルビンの形で移行するのかを明らかにするため、重水素ラベルリポ蛋白及びローダミンBラベルリポ蛋白を用い検討した。その結果、コレステロールエステルへの移行を調べたところ、重水素ラベルリポ蛋白結合ビリルビン注入群小脳で重水素ラベルリポ蛋白注入群に比し有意な上昇が認められた。大脳に関しては、両群間で差は無かった。ローダミンBラベルリポ蛋白を用い、生後1週令と7週令のNARで脂質の脳への移行を検討した結果、小脳では7週令に比し1週令のラットの方が大であったが大脳に関してはあまり差が無かった。

見出し語： ビリルビン、核黄疸、リポ蛋白結合ビリルビン、コレステロールエステル

研 究 方 法

(1) 重水素ラベルリポ蛋白

重水の濃度を20%に調製した飲料水を、12週令NAR雌に3.5週間連続投与し、投与終了後直ちに腹部大動脈より採血して血清を得た。得られた血清は、比重1.466g/mlのNaBr溶液にて比重1.21g/mlに調製して、超遠心にて重水素ラベルリポ蛋白を精製した。得られた重水素ラベルリポ蛋白をPBSにて透析した後、5mg/ml濃度のビリルビン溶液を加え25°C 2時間インキュベートした。インキュベート終了後セファデックスG-25カラムクロマトグラフィーによりフリービリルビンを分離し重水素ラベルリポ蛋白結合ビリルビンを得た。得られた試料は、リポ蛋白濃度：9.9mg/ml、ビリルビン濃度：1mg/mlであった。此の試料を、

1週令NAR雌ラットに体重当たり1mlの量を30分かけて静注し、注入終了1時間後に腹部大動脈より採血、脳を得た。脳は、大脳及び小脳に分け、フォルチの溶媒(クロロフォルム：エタノール=2：1)にて脂質を抽出し、TLCにて各脂質を分離、コレステロールエステルをTLCより抽出精製した後、ガスマスクロマトグラフィーにて重水素ラベルコレステロールエステルの量を定量した。

(2) ローダミンBラベルリポ蛋白

1mg/ml濃度の精製リポ蛋白10mlに対し、0.5M炭酸水素ナトリウムバッファー(pH 9.3) 10ml及び、ジメチルスルフォキシドに溶解した10mg/ml濃度のローダミンBを1ml加え、4°Cにて一夜放置後、セファデックスG-25カラムクロマトグラフィーにより遊離のローダミンBを分離し、ロ

* 佐々木研, 化学
(Dep. of Chem. Sasaki Ins.)

ーダミンBラベルリポ蛋白試料を得た。此の試料を用いて、重水素ラベルリポ蛋白結合ビリルビン注入実験と同様な注入実験を1週令及び7週令NAR雌ラットを用いて行った。脳は大脳と小脳に分け、フォルチの溶媒にてローダミンBを脂質と共に抽出し、蛍光光度計にて(EX: 553 nm, EM: 578 nm)ローダミンBの蛍光を測定して脳へ移行した脂質の量を定量した。

結 果

重水素ラベルリポ蛋白にビリルビンを結合させた試料と重水素ラベルリポ蛋白のみの試料を1週令NARに注入した結果、図1のごとく、小脳へのコレステロールエステルの移行は、リポ蛋白結合ビリルビン注入群で対照群に比し約4倍の高値を示した。しかし、大脳では両群間で差は認められなかった。

ローダミンBラベルリポ蛋白試料を1週令及び7週令NARに注入した結果、小脳への脂質の移行は、7週令注入群に比し1週令注入群の方が大であった(図2)。一方、大脳に関しては差はなかった。

考 察

リポ蛋白結合ビリルビンは、アルブミン結合ビリルビンに比し、小脳へのビリルビンの移行はフリービリルビンと同様に容易に移行すること、またビリルビンはリポ蛋白の脂質部分と結合している事実を報告した¹⁾。今回、リポ蛋白結合ビリルビンが小脳へ移行する際、ビリルビンが脂質と結

合したまま移行するかどうかを検討した。重水素ラベルコレステロールエステルの小脳への移行は、リポ蛋白のみを注入した群よりリポ蛋白結合ビリルビン注入群の方が大である結果が得られ、リポ蛋白に結合したビリルビンは脳血液関門を通過する際、少なくともリポ蛋白の脂質と結合したまま移行する事が示唆された。正常ラット脳中には、一般にコレステロールエステルは存在しないと言われているが、柏俣等は、核黄疸を呈するガンラット小脳中でコレステロールエステルが上昇している事実を報告している²⁾。このコレステロールエステルの蓄積の事実は、今回我々が行った結果と良く一致すると思われた。また、小脳への脂質の移行を調べた結果、1週令ラットの方が7週令ラットよりもビリルビンと同様脳への移行が大である事が示唆された。

文 献

- 1) Takahashi, M., Sugiyama, K., Shumiyama, S. and Nagase, S: Penetration of bilirubin into the brain in albumindeficient and jaundiced rats (AJR) and Nagase analbuminemic rats (NAR): J. Biochem. 96, 1705, 1984
- 2) Kashiwamata, S., Keino, H., Katoh-Semba, R. and Semba, R.: Accumulation of cholesteryl esters associated with cerebellar hypoplasia in jaundiced Gunn rats: Experientia, 39, 1107, 1983

Effect of bilirubin on d_4 -esterified cholesterol-transport into the brain and liver of NAR infused with d_4 -lipoprotein

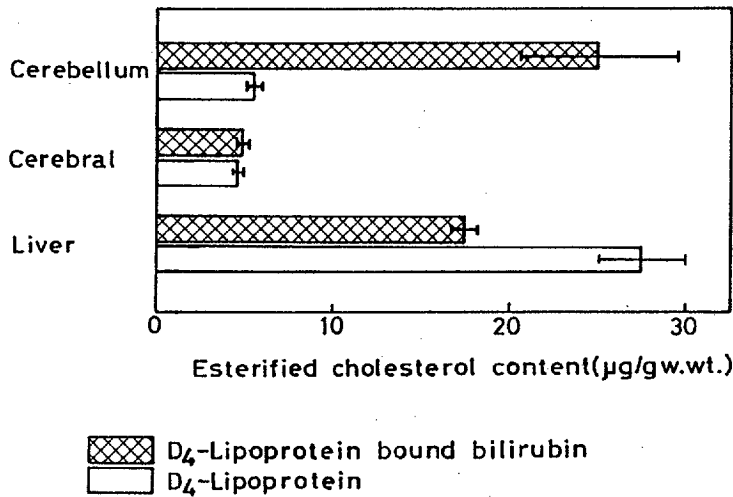


Fig. 1.

Lipid-transport into the brain of NAR infused with rhodamine B labeled lipoprotein

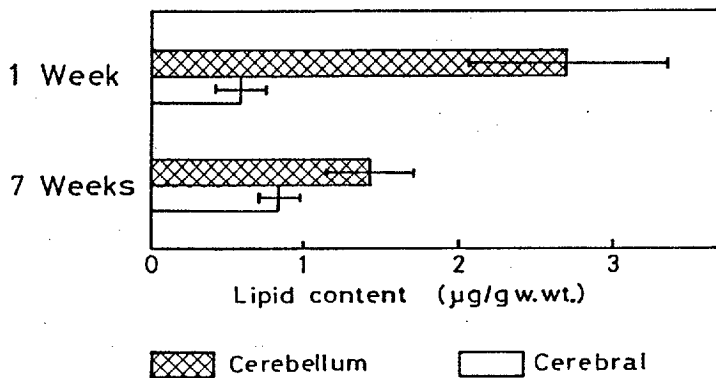


Fig. 2.



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

先に核黄疸の発症には、リポ蛋白結合ビリルビンの関与が大きいと思われる実験結果を報告した 1)。今回リポ蛋白結合ビリルビンが其のままの形で脳血清関門を通過するのか、結合が外れてフリービリルビンの形で移行するのかを明らかにするため、重水素ラベルリポ蛋白及びローダミン B ラベルリポ蛋白を用い検討した。その結果、コレステロールエステルの脳への移行を調べたところ、重水素ラベルリポ蛋白結合ビリルビン注入群小脳で重水素ラベルリポ蛋白注入群に比し有意な上昇が認められた。大脳に関しては両群間で差は無かった。ローダミン B ラベルリポ蛋白を用い、生後 1 週令と 7 週令の NAR で脂質の脳への移行を検討した結果、小脳では 7 週令に比し 1 週令のラットの方が大であったが大脳に関してはあまり差が無かった。