

## Gunnラット小脳ガングリオシドの生化学的研究

(分担研究： 核黄疸の予防に関する研究)

長瀬 すみ,\* 臼杵 靖剛

### 要 約

核黄疸のモデル動物であるGunnラットとSDラットの脳ガングリオシド組成について2週令と8週令で比較検討した。SDラットではGM<sub>3</sub>量は僅少であったが、Gunnラットでは、総ガングリオシドの14.4%であった。一方、2週令では両系統のラットでGM<sub>3</sub>量は約8%であり、GunnラットのGM<sub>1</sub>量は対照のSDラットの半分以下であった。

見出し語： Gunnラット, 小脳, Ganglioside

我々は核黄疸の発症機構の解明を目ざし、種々の検討を重ねて来たが、<sup>1), 2), 3)</sup>従来の研究結果から、核黄疸の発症には血液側の問題の他に脳側の因子も大きいことが示唆された。新生児期に脳に侵入したビリルビンは小脳に特異的に蓄積する事実はよく知られているが、其の実態については不明の点が多い。ビリルビンの特異的沈着成分としてある種の細胞膜成分、特に脂質との相互作用等が考えられているが、結論はえられていない。我々は其の方面の検討の第一段階として、他の組織に比し脳に多い微量成分であり、最近、細胞の癌化、分化、増殖等の生理機能が注目されているガングリオシドについて検討した。

### 研究 方 法

Gunnラット(♂, 2週令, 8週令; 静岡実験動物), SDラット(♂, 2週令, 8週令; 日本クレア)より小脳を摘出した。湿組織重量1gに113mlのクロロホルム-メタノール-水(2:1:0.1, v/v/v)を加えホモジナイズし、45°C

で30分加熱後、同量のメタノールと30分の1倍量の水を加え、さらに45°Cで30分加熱した。抽出混合液をグラスフィルターで濾過した後、5mlの濾液を用い脂質結合性総リンをBartlett法により定量した。残った濾液をDEAE-Sephadex A-25カラム(酢酸型, 5ml)にかけ50mlのクロロホルム-メタノール-水(30:60:8, v/v/v)と10mlのメタノールで中性脂質を溶出し、つぎに100mlのクロロホルム-メタノール-0.8M酢酸ナトリウム(30:60:8, v/v/v)で全酸性脂質を溶出した。酸性脂質画分に混在するエステル脂質を分解するために、溶出液にNaOHを加え0.5Mとし、45°Cで2時間加熱した。反応液を1M酢酸で中和し、エバポレータで溶媒を留去した後10mlの水に溶かし2日間透析した。凍結乾燥10mlのクロロホルム-メタノール(2:1, v/v)に溶かしSep-pak C<sub>18</sub>カラムにかけ溶出液を窒素気流中で乾固し総ガングリオシドとした。総ガングリオシドを適量のクロロホルム-メタノール(2:1,

\* 佐々木研究所化学部

v/v) に溶かし、其の一部を用いてレゾルシノール法により総ガングリオシド量を求めた。個々のガングリオシド定量にはシリカゲル薄層プレート (Silicagel 60; Merck) にスポットした後クロロホルム-メタノール-0.5% CaCl<sub>2</sub> (55:45:10, v/v/v) で展開しレゾルシノール-塩酸試薬で発色後、二波長クロマトスキャナー (CS-910, 島津) により測定波長 (580 nm), 対照波長 (710 nm) で定量した。

### 結 果

Gunn ラットの平均小脳重量をSD ラットと比較すると2週令ではSDラットの54%と有意な低形成状態がみとめられたが、8週令では差はみとめられなかった。また、脂質結合性総リン、総ガングリオシド量には著しい差はみとめられなかった。ガングリオシド組成は表に示すように主成分としてGM<sub>3</sub>, GM<sub>1</sub>, GD<sub>1a</sub>, GD<sub>1b</sub>, GQ<sub>1b</sub>であった。8週令のSDラットではGM<sub>3</sub>は全体の1%以下であったが、Gunnラットでは14.4%でGM<sub>3</sub>の多いのが特徴であった。一方、2週令では両系統のラットとも約8%のGM<sub>3</sub>を含みGunnラットのGM<sub>1</sub>量はSDラットに比べ66%低かった。

### 考 察

Gunn ラットではビリルビンが原因で小脳低形成が誘発され、小脳ではコレステリルエステル等の脂質の異常蓄積が起こることが知られている<sup>4), 5)</sup>。これ迄に、リン脂質、セレブロシド等の脂質も調べられたが対照ラットと有意な差はみとめられていない。今回の検討範囲では、Gunn ラットの小脳の総ガングリオシド量、脂質結合性総リン量には対照のSDラットと有意な差はみとめられなかった。しかしながら、ガングリオシド成分の組成で比較すると8週令のGunn ラットの小脳にはこれ迄、脳では微量成分と考えられてきたGM<sub>3</sub>が相当量含まれていることが明らかになった。また、2週令の小脳ではSDラットにもGunnラットと同量のGM<sub>3</sub>がみとめられ、GunnラットのGM<sub>1</sub>はSDラットより大幅に低かった。以上の結果を

即、代謝論的に説明できないが、小脳発育の成熟にともなってガングリオシド組成も変化していると考えられる。核黄疸の発症とガングリオシド組成の関連については現段階では明らかではないが、現在、出生直後から経時的に詳細な検討を継続中である。

### 文 献

- 1) 長瀬すみ, 高橋正一: 厚生省; 新生児管理における諸問題の総合的研究, 昭和59年度研究成果報告書, 424-427.
- 2) 長瀬すみ, 高橋正一: 厚生省; 新生児管理における諸問題の総合的研究, 昭和60年度研究成果報告書, 401-404.
- 3) 長瀬すみ, 高橋正一, 朱宮正剛: 厚生省; 新生児管理における諸問題の総合的研究, 昭和61年度研究成果報告書, 115-117.
- 4) Kashiwamata, S., Keino, H., Katoh-Senba, R., and Senba, R.: *Experientia*, 39, 1107-1108, 1983.
- 5) Keino, H., Katoh-Senba, R., Aoki, E., and Kashiwamata, S.: *Biol Neonate*, 46, 296-303, 1984.

### Abstract

The cerebellar ganglioside compositions of Gunn rats and SD rats at 2 and 8 weeks of age were examined. The total ganglioside content was similar in both strains at each age, while their individual ganglioside compositions were different. The content of GM<sub>3</sub> in Gunn rats at 8 weeks of age was particularly high, being more than 15 times that of SD rats. For the rats at 2 weeks of age, GM<sub>3</sub> content in Gunn rats was similar to the SD rats, while GM<sub>1</sub> content of the former was less than half of the latter.

The Ganglioside Composition of the Cerebellum in Gunn Rat and SD Rat

	SD rat		Gunn rat	
	2	8	2	8
Age in weeks				
Cerebellum(g wet wt)	0.14 ± 0.01*	0.27 ± 0.02	0.07 ± 0.01	0.25 ± 0.04
Lipid-bound phosphorus (mg/g wet wt)	1.92 ± 0.16	2.05 ± 0.18	1.84 ± 0.06	2.04 ± 0.24
Lipid-bound sialic acid (umol/g wet wt)	2.11 ± 0.08	2.27 ± 0.18	2.05 ± 0.12	2.13 ± 0.25
Gangliosides (umol/g wet wt)				
GM <sub>3</sub>	0.17	0.02	0.18	0.30
GM <sub>1</sub>	0.38	0.56	0.17	0.45
GD <sub>1a</sub>	0.28	0.23	0.26	0.25
GD <sub>1b</sub>	0.09	0.13	0.08	0.09
GT <sub>1b</sub>	0.06	0.11	0.10	0.06
GQ <sub>1b</sub>	0.16	0.16	0.18	0.13

\* Values represent the mean ± SD



## 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

核黄疸のモデル動物である Gunn ラットと SD ラットの小脳ガンダリオシド組成について 2 週令と 8 週令で比較検討した。SD ラットでは GM3 量は僅少であったが, Gunn ラットでは, 総ガンダリオシドの 14.4%であった。一方, 2 週令では両系統のラットで GM3 量は約 8%であり, Gunn ラットの GM1 量は対照の SD ラットの半分以下であった。