

## シアロ糖脂質アナログの体内動態および脳への移行

川村美笑子<sup>1)</sup>\*, 井戸達雄<sup>2)</sup>, 松原範宣<sup>3)</sup>, 池内義弘<sup>3)</sup>, 柳平修<sup>—3)</sup>

<sup>1)</sup>東北大・農, <sup>2)</sup>東北大サイクロ, <sup>3)</sup>雪印乳業技研

### Biodistribution of sialoglycoconjugates and their transference into the brain

Mieko Kawamura<sup>1)</sup>, Tatsuo Ido<sup>2)</sup>, Noritaka Matubara<sup>3)</sup>,

Yoshihiro Ikeuchi<sup>3)</sup> and Shuichi Yanahira<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup> Faculty of Agriculture, Tohoku University, <sup>2)</sup> Cyclotron and Radioisotope Center,

Tohoku University, <sup>3)</sup> Snow Brand Milk Products Co., Ltd.

The biodistribution of the labelled sialoglycoconjugates, <sup>14</sup>C-sialic acid, <sup>14</sup>C-sialyllactose and <sup>14</sup>C-ganglioside(GM3) and their transference into the brain of rats were studied. The intravenously administrated <sup>14</sup>C-sialic acid and <sup>14</sup>C-sialyllactose were excreted immediately from the kidney whereas <sup>14</sup>C-ganglioside(GM3) was accumulated in the liver. By oral administration, <sup>14</sup>C-sialyllactose and <sup>14</sup>C-ganglioside(GM3) were accumulated in the salivary gland, spleen and brain. The oral administered <sup>14</sup>C-sialyllactose was shown higher transference in to the brain than the case of intravenous administration. In the case of <sup>14</sup>C-ganglioside(GM3), some was gradually metabolized to GM2, GD3 and GD2 the remained in brain.

It was clear that the orally administered ganglioside(GM3) was transferred into the brain, and was accumulated itself there and some metabolized.

### はじめに

シアリルラクトースやガングリオシドは、人乳に多く含まれ、新生児の脳や神経系の発達、免疫増強活性及び感染防御機能等の生理機能に関与していると言われている<sup>1-2)</sup>。本研究では、食事性因子として摂取されたシアロ糖関連化合物が生理機能に及ぼす影響を解明する事を目的とし、<sup>14</sup>C標識したシアリル酸・シアリルラクトースおよびGM3について、体内動態や脳への移行及び脳内ガングリオシドに及ぼす影響について検討した。

---

\*現所属：高女大・生活科学

## 実験方法

### 1. $^{14}\text{C}$ 標識 GM3, SL の合成

GM3 分子内のシアル酸残基から一旦アセチル基を除去したのち、 $^{14}\text{C}$  標識無水酢酸によって再アセチル化を行って、 $^{14}\text{C}$  標識 GM3 を調製した。この  $^{14}\text{C}$  標識 GM3 からエンドグリコセラミダーゼ (EGCase) によって糖鎖部分を遊離させ、分離精製を経て  $^{14}\text{C}$  標識シアリルラクトースを得た (Fig. 1)。

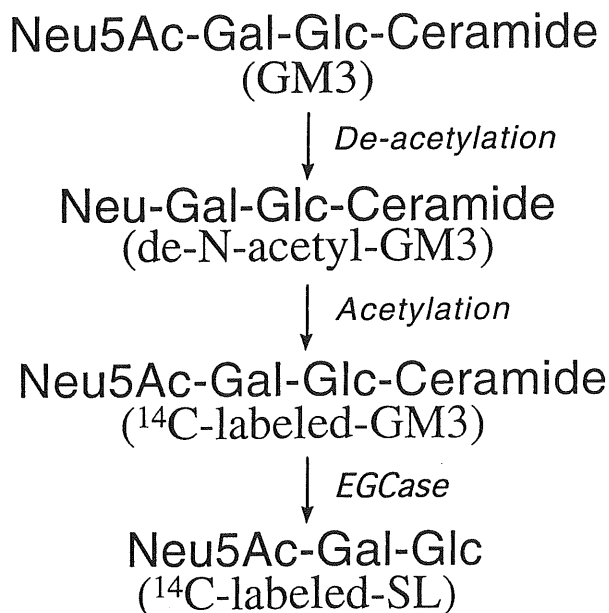


Fig. 1. Preparation of  $^{14}\text{C}$ -labeled sialyl compounds

### 2. 動物実験

体内分布をみる目的で、6週令の ddY 系雄マウスに  $^{14}\text{C}$  標識シアル酸、そして今回新たに合成した  $^{14}\text{C}$  標識シアリルラクトースおよびガングリオシド、それぞれの投与液を尾静脈投与あるいは経口投与し、経時的に屠殺、血液及び脳、その他主たる臓器を採取し、放射能を測定した。

### 3. 脳ガングリオシドの分析

$^{14}\text{C}$  標識シアリルラクトース並びに  $^{14}\text{C}$  標識 GM3 を経口投与したのち、経時的に採取したマウス脳のガングリオシドを Fig. 2 に示す方法で抽出し、TLC 法で分離・解析した。

## 結果並びに考察

### 1. 体内分布

静脈投与された  $^{14}\text{C}$  標識シアル酸は、投与後15分目では、腎臓への集積が最も高く、ついで血液で、時間の経過とともに腎臓から速やかに排泄された。脳への集積は、最も低い値を示した。

静脈投与された  $^{14}\text{C}$  標識シアリルラクトースは、投与後1時間目では、血液及び腎臓への集積が高い

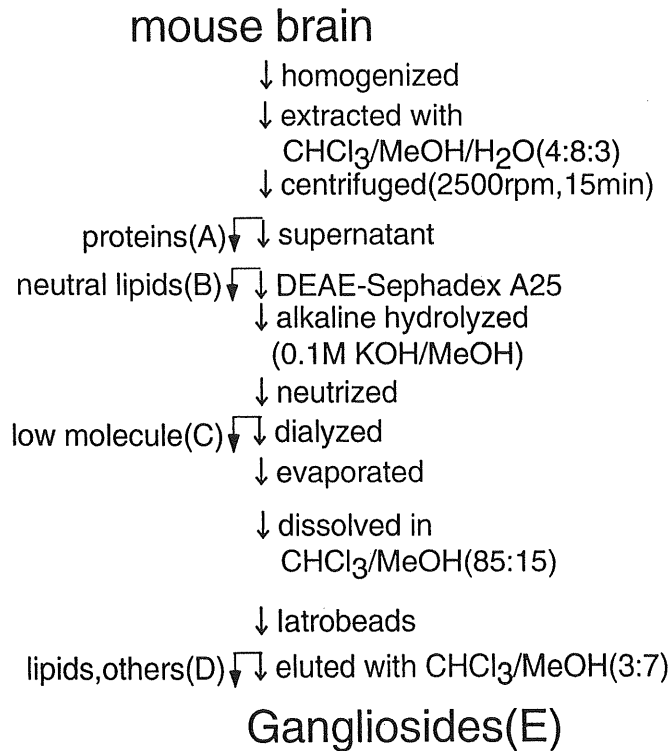


Fig. 2. Purification of gangliosides in mouse brain

値を示した。しかし、その他の臓器への取り込みは全体的に低く、脳には極少量しか取り込まれなかった。時間の経過とともに腎臓から速やかに排泄された。

静脈投与された<sup>14</sup>C標識GM3は、投与後1時間目では、血液への取り込みが顕著に高く、ついで肝臓、脾臓の順であった。シアリルラクトースに比較して唾液腺、脳などその他の臓器へも取り込まれた。

経口投与された<sup>14</sup>C標識シアリルラクトースは、投与4時間目に全ての臓器で最も高い取り込みを示した。投与後4時間目では、唾液腺への取り込みが最も高く、ついで血液、肝臓、脾臓、腎臓への取り込みが高くほぼ同じ値を示した。脳にも多く取り込まれた。投与後8時間目で、血液への集積は最高値を示した。

経口投与された<sup>14</sup>C標識GM3は、投与後8時間目に血液並びに全ての臓器において最も高い取り込みを示した。投与後8時間目では、唾液腺並びに脾臓への取り込みが高く、ついで肝臓で、脳にも高く取り込まれた。

## 2. シアロ糖関連化合物の脳への移行

遊離型の<sup>14</sup>C標識シアル酸に比較して、シアロ糖鎖をもつ<sup>14</sup>C標識シアリルラクトースや<sup>14</sup>C標識GM3は、臓器への移行性が高く、特に脳にも高い取り込みが認められた。また、<sup>14</sup>C標識GM3では、静脈投与より経口投与の方がより高い取り込みを示した (Fig. 3)。

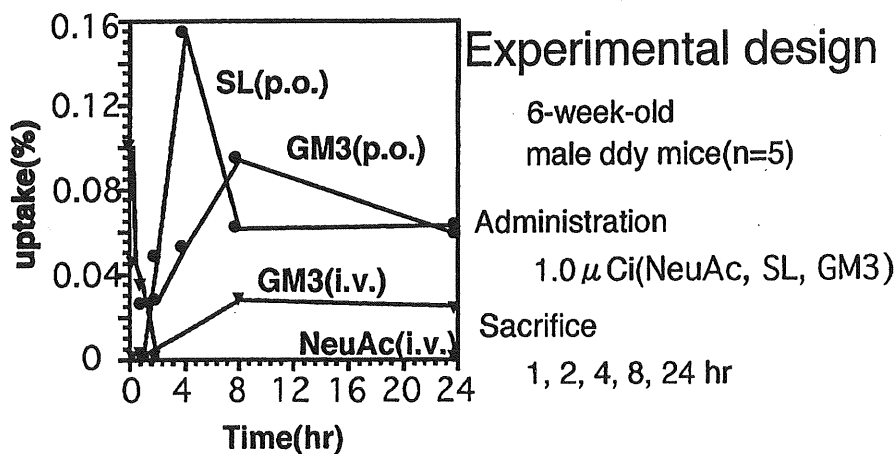


Fig. 3. Uptake of  $^{14}$ C-labeled sialyl compounds in mouse brain

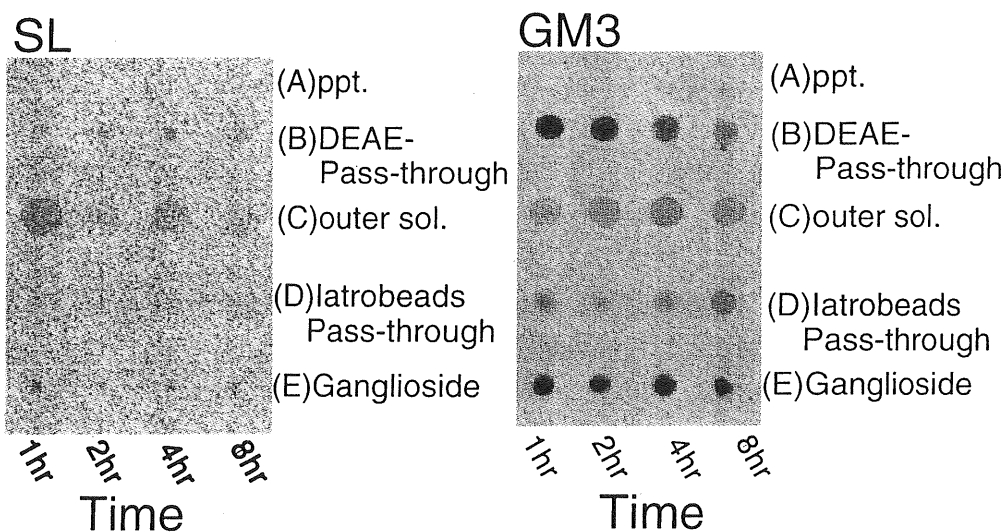


Fig. 4. TLC of gangliosides fraction for mouse brain

### 3. 脳ガングリオシドの分析

$^{14}$ C 標識 GM3 を経口投与して採取した脳の TLC では、シアリルラクトースと比較して、ほぼ全ての画分に放射能が検出された。さらに、このガングリオシド画分について TLC を行った。 $^{14}$ C 標識シアリルラクトースを経口投与して採取した脳のガングリオシド画分では、いかなるガングリオシドにおいても放射能が検出されなかった (Fig. 4)。

$^{14}$ C 標識 GM3 の場合は、GM3 並びに GM2・GD3・GD2 等、他のガングリオシドも放射能が観察された。TLC を定量的に解析した結果、80%前後が GM3 として存在し、残り 20%位が GM2・GD3・GD2 等、他のガングリオシドであることが明らかになった (Fig. 5)。

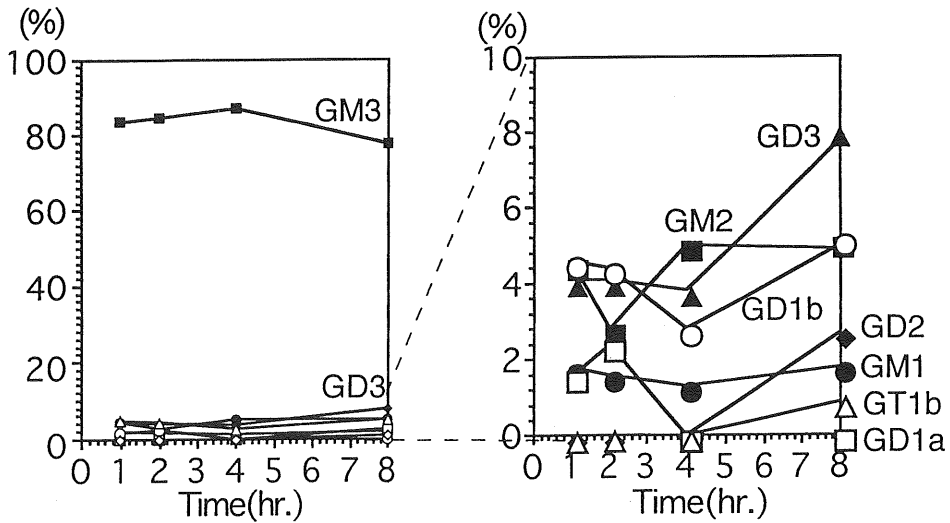


Fig. 5. Uptake and metabolite of  $^{14}\text{C}$ -labeled gangliosides in mouse brain

本実験から以下のような結論を得た。

- ① 静脈投与された Neu5A や SL は腎臓から比較的速やかに排泄されるが、GM3 は肝臓に蓄積する。
- ② 経口投与された SL や GM3 は、唾液腺、脾臓および脳に高く集積される。
- ③ 標識 SL を経口投与すると放射能は静脈投与より多く脳に移行するが、脳内では SL や GM3 の化学形はとらない。
- ④ 標識 GM3 を経口投与すると GM3 は、静脈投与より多く脳に移行し、ガングリオシドの化学形で存在した。
- ⑤ 脳に移行した GM3 は、時間の経過とともに他のガングリオシド (GM2・GD3・GD2) にも代謝された。

#### 文 献

- 1) S. Ando : Gangliosides in the nervous system. *Neurochem. Int.*, 5, 507-537 (1983)
- 2) L. Svennerholm, A.K. Asbury, R.A. Reisfeld, K. Sandhoff, K. Suzuki, G. Tettamanti, G. Toffano (eds.) : Section V Gangliosides and peripheral neuropathies, Section VI Gangliosides and functional recovery of injured nervous system. *In Biological function of gangliosides*, pp.279-404, Progress in Brain Research, Vol.101, Elsevier (1994)