

ラットにおけるプルランの受容体介在型肝取込み

金尾義治、田中哲郎、中野貴透、山口泰典

Journal of Controlled Release, 70 (3), 365-373 (2001)

Evidence for Receptor-mediated Hepatic Uptake of Pullulan in Rat

Yoshiharu Kaneo, Tetsuro Tanaka,
Takayuki Nakano and Yasunori Yamaguchi

ABSTRACT: Fluorescein-labeled pullulan (FP-60; MW 58,200) was prepared by reaction with FITC according to the method of deBelder and Granath. The hepatic distribution of FP-60 was examined using a specific high-performance size-exclusion chromatography. Intravenously administered FP-60 was rapidly eliminated from the blood circulation followed by an appreciable distribution to the liver. A marked dose-dependency was seen in the hepatic uptake of FP-60 which was markedly reduced by the coadministration of both asialofetuin and arabinogalactan. Measurement of the hepatocellular localization demonstrated the overwhelming distribution of FP-60 in the parenchymal liver cell fraction. Furthermore, microscopic examination revealed that FP-60 was effectively endocytosed by the parenchymal liver cells. Radiolabeled pullulan ($[^{125}\text{I}]$ P-60) was prepared by ^{125}I -labeling the tyramine derivative of pullulan which was synthesized by the cyano-transfer method. $[^{125}\text{I}]$ P-60 was predominantly accumulated in sliced rat liver tissue at 37°C , which was drastically inhibited by the addition of both asialofetuin and arabinogalactan. The kinetic parameters of the specific binding of $[^{125}\text{I}]$ P-60 to monolayered hepatocytes at 0°C were almost identical to those for asialofetuin. The binding of $[^{125}\text{I}]$ P-60 to isolated parenchymal cells was significantly inhibited by arabinogalactan and asialofetuin, however dextran, the same glucan as pullulan, did not affect the binding of $[^{125}\text{I}]$ P-60. It was found that pullulan, which is bound to the asialoglycoprotein receptor with high affinity, is subsequently internalized to the hepatocyte via receptor-mediated endocytosis.

抄録 deBelder と Granath の方法でフルオレセイン標識化プルラン (FP-60) を合成した。FP-60の肝分布を高速排除クロマトグラフィーにより評価した。静注したFP-60は血液循環系から速やかに消失し、顕著に肝へ分布した。FP-60の肝取込みには著しい投与量依存性が認められ、肝取込みはアシアロフェツイン並びにアラビノガラクトランの同時投与により顕著に抑制された。肝細胞での局在を測定したところ、FP-60は肝実質細胞に

圧倒的に分布していることが示唆された。さらに、顕微鏡観察により、FP-60は肝実質細胞によってエンドサイトーシスされていることが明らかとなった。シアノトランファー法で合成したプルランのチラミン誘導体を¹²⁵Iで放射標識した([¹²⁵I] P-60)。 [¹²⁵I] P-60は、37°Cにおいてラット肝スライス中に集積した。この集積はアシアロフェツインやアラビノガラクトランの添加により顕著に阻害された。0°Cにおける単層培養肝細胞への [¹²⁵I] P-60の特異的な結合の速度論的パラメーターは、ほとんどアシアロフェツインと同様であった。 [¹²⁵I] P-60の単離実質細胞への結合はアラビノガラクトランやアシアロフェツインで著しく阻害されたが、プルランと同様のグルカンであるデキストランは [¹²⁵I] P-60の結合に影響を及ぼさなかった。以上、高い親和性でアシアロ糖蛋白質受容体に結合したプルランは受容体介在型のエンドサイトーシスを介して肝細胞内へ内在化されることが明らかとなった。