

GS02-3 次世代型網羅的定量プロテオミクスと内因性タンパク質動態解析への応用：血液脳関門透過型肝可溶性タンパク質の探索

○佐藤 和貴¹, 立川 正憲¹, 渡部 通寿¹, 内田 康雄¹, 寺崎 哲也¹

¹東北大院薬

血液脳関門(BBB)は受容体介在型 transcytosis(RMT)を介し、血液中から脳内へと、insulin や transferrin などのタンパク質を選択的に輸送することが知られている。既知の BBB 透過タンパク質の中には、脳内で生理機能を示す分子が含まれていることから、末梢と中枢の情報伝達因子としての働きが考えられるが、本機構で輸送されるタンパク質は僅かしか解明されていない。そこで本研究では、網羅性・定量性に優れたプロテオミクスを、タンパク質の体内動態解析に用いることで、新たな BBB 透過タンパク質の同定を目的とした。大脳及び肝臓細胞質由来タンパク質を biotin 修飾し、マウスへと静脈内投与した後、脳内へと移行した biotin 修飾タンパク質を精製し、網羅的プロテオミクス(SWATH 法)を用いて同定解析した。その結果、大脳及び肝臓細胞質由来タンパク質の投与群で、それぞれ 4 及び 9 種類の BBB 透過タンパク質が同定された。そこで、両群で共通して同定された creatine kinase に着目し、ウサギ筋肉由来 creatine kinase (RCKM)をマウス静脈内へ投与し、定量的標的プロテオミクスを用いて解析したところ、大脳細胞質において RCKM 特異的ペプチドが検出され、脳内への移行が示された。さらに、RCKM は transwell 上に構築したヒト脳毛細血管内皮細胞株(hCMEC/D3) の細胞単層膜を apical-to-basolateral 方向に透過し、細胞内への内在化量は 4°C で 1.8%未満に低下したことから、BBB における creatine kinase の輸送機構の存在が示唆された。以上の結果から、新たな BBB 透過タンパク質が複数同定された。