

21PO-pm305S

単離脳毛細血管を用いた血液脳関門におけるアニオン輸送機構変動解析

○吉田 有紀子¹, 赤沼 伸乙¹, 久保 義行¹, 細谷 健一¹ (富山大学院)

【目的】脳毛細血管を実体とする血液脳関門 (BBB) に発現する輸送担体 Oat3 や Mrp4 は脳内で産生されるアニオン性化合物の排出を担うことが示唆されている。我々は N-methyl-D-aspartate (NMDA) 受容体のリガンド, L-グルタミン酸をラット大脳皮質に処理することで, 炎症性アニオン化合物 prostaglandin (PG) E₂ の BBB 介在排出輸送能が低下することを見出している。BBB における排出輸送担体の機能評価法として, 単離脳毛細血管を用いた輸送担体の蛍光基質輸送解析が知られている。本研究では, Mrp4 の蛍光基質 fluo-cAMP が Oat3 基質となるかを明らかにし, 本化合物を用いて BBB におけるアニオン排出輸送機構の変動を解析した。

【方法】 Oat3 発現アフリカツメガエル卵母細胞 (oocytes) を調製し, fluo-cAMP 輸送活性を評価した。ラット脳毛細血管を単離し, fluo-cAMP 処理後の毛細血管管腔への fluo-cAMP 蓄積量を測定し, 脳から循環血液への排出輸送の指標とした。

【結果・考察】 Oat3 発現 oocytes において fluo-cAMP の取り込みは有意に増加し, fluo-cAMP が Oat3 の基質であることが示唆された。ラット単離脳毛細血管管腔における fluo-cAMP 蓄積量は, Oat3 及び Mrp4 阻害剤である probenecid や dipyrindamole の共存によって 32%以上低下し, 血管管腔内の fluo-cAMP 蓄積量が BBB における Oat3 及び Mrp4 の輸送機能を反映していることが示唆された。L-グルタミン酸処理による血管管腔内の fluo-cAMP 蓄積量は control と比較して 15%以上低下した。さらに, この fluo-cAMP 蓄積量の低下は, 細胞内 Ca²⁺キレート剤である BAPTA-AM 及び NMDA 受容体アンタゴニストである MK-801 の共存によって回復した。以上から, BBB における Oat3 及び Mrp4 介在 fluo-cAMP 輸送機能は NMDA 受容体活性化によって減弱することが示唆された。