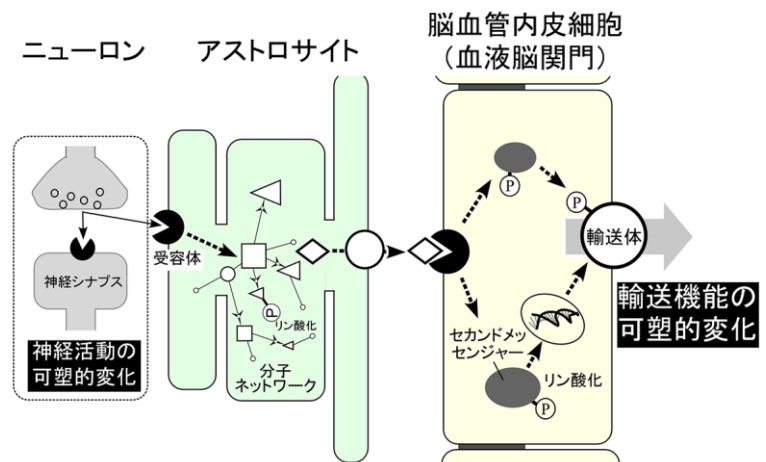


要 旨

てんかんや悪性脳腫瘍、及び神経変性疾患など、難治性の神経疾患の機序解明や薬物治療法開発において、血液脳関門(Blood-brain barrier, BBB)を理解することは重要な課題である。近年の研究から、てんかんや悪性脳腫瘍における薬物治療抵抗性の要因の少なくとも一部は、BBBにおける薬物排出ポンプP-glycoproteinの機能的変化であるとの説や、アルツハイマー病における β -アミロイドの脳内蓄積とBBBにおける排出輸送系の機能低下との関連説が提唱されている。これらの知見からは、神経-グリア-脳血管の機能的連携”Neuro-glio-vascular unit”の破綻に伴って、BBB輸送機能が可塑的に変化するという構図が見えてくる(図)。しかし、ヒトを含めた中枢疾患のNeuro-glio-vascular unitについては、解析手法の限界がボトルネックとなり研究が停滞している。



血液脳関門機能の可塑的变化における
Neuro-glio-vascular couplingの概念

私達は、これまで新規 *in vivo* 排出輸送実験系を用いた輸送解析、特異抗体を用いたトランスポーター局在性の解明、網羅的基質の探索といった functional genomics を基盤として、「神経活動の支援防御のための BBB 輸送系」の分子機構を解明してきた¹。さらに、*in silico* 定量標的ペプチド設計法に基づくタンパク質絶対定量法を確立し²、ヒト病態時の小腸³や病態マウスモデルの肝臓⁴におけるトランスポーターや代謝酵素の絶対発現量アトラスの作成、及びラット、マーモセット⁵及びヒトの BBB⁶に発現するトランスポーターやチャネルの絶対発現量アトラスを決定した。特に、第2世代型の絶対定量法として、50-100種類のタンパク質を一斉定量するための内部標準タンパク質を開発し、原理的にあらゆるタンパク質の絶対定量を可能とした。この手法は、定性的解析に留まっていた従来のBBB研究にブレークスルーをもたらした。現在、探索・同定・定量解析の高い精度を確保するため、Aebersoldらが開発した網羅的定量プロテオミクス(SWATH)のさまざまな病態モデル解析への応用に取り組んでいる。最終的には、細胞内情報伝達系やトランスポーター及び関連分子のリン酸化修飾体を含めたタンパク質の定量的発現プロファイル⁷に基づいて、Neuro-glio-vascular unitの可塑的变化の分子機構を解明し、停滞する中枢疾患治療に突破口を開くことを目指している。

本講演では、私達の一連の定量プロテオミクスと機能解析から見てきた、病態における脳血管輸送機能の可塑的变化と新たな Neuro-glio-vascular coupling の分子機序について最新

の知見を紹介する。

参考文献

1. Tachikawa M, Uchida Y, Ohtsuki S, Terasaki T. Recent progress in the blood-brain barrier and the blood-CSF barrier transport research: Pharmaceutical relevance of drug delivery to the brain. *Drug Delivery to the Brain – Physiological Concepts, Methodologies and Approaches*, Hammarlund-Udenaes M, de Lange E, and Thorne R (Ed), Springer, New York, pp23-62. (2014)
2. Uchida Y, Tachikawa M, Obuchi W, et al. A study protocol for quantitative targeted absolute proteomics (QTAP) by LC-MS/MS: application for inter-strain differences in protein expression levels of transporters, receptors, claudin-5, and marker proteins at the blood-brain barrier in ddY, FVB, and C57BL/6J mice. *Fluids Barriers CNS* 10:21 (2013).
3. Miyauchi E, Tachikawa M, Declèves X, et al. Quantitative atlas of cytochrome P450, UDP-glucuronosyltransferase, and transporter proteins in jejunum of morbidly obese subjects. *Mol Pharm* 13:2631-40 (2016).
4. Miura T, Tachikawa M, Ohtsuka H, et al. Application of quantitative targeted absolute proteomics to profile protein expression changes of hepatic transporters and metabolizing enzymes during cholic acid-promoted liver regeneration. *J Pharm Sci* pii: S0022-3549(17)30127-2 (2017).
5. Hoshi Y, Uchida Y, Tachikawa M, et al. Quantitative atlas of blood-brain barrier transporters, receptors and tight junction proteins in rats and common marmoset. *J Pharm Sci* 102:3343-55 (2013).
6. Kaneko Y, Tachikawa M, Akaogi R et al. Contribution of pannexin 1 and connexin 43 hemichannels to extracellular calcium-dependent transport dynamics in human blood-brain barrier endothelial cells. *J Pharmacol Exp Ther* 353:192-200 (2015).
7. Hoshi Y, Uchida Y, Tachikawa M, et al. Actin filament-associated protein 1 (AFAP-1) is a key mediator in inflammatory signaling-induced rapid attenuation of intrinsic P-gp function in human brain capillary endothelial cells. *J Neurochem* 141(2):247-262 (2017).