

学位論文の内容の要旨

専攻	医学	部門 (平成27年度以前入学者のみ記入)	
学籍番号	17D720	氏名	村上龍太
論文題目	Immunoreactivity of receptor and transporters for lactate located in astrocytes and epithelial cells of choroid plexus of human brain		
<p>(論文要旨)</p> <p>背景:モノカルボン酸トランスポーター (MCT) 1から4は、臓器形質膜を通過する乳酸、ピルビン酸などのプロトン輸送に関わることが知られている。MCT1およびMCT4はどちらも解糖系にエネルギーを依存するアストロサイトにおいて、乳酸の輸送に関与するとされる。MCT4はアストロサイトから他の脳細胞へ乳酸を運ぶとされる。</p> <p>脈絡叢上皮細胞について、実験動物でMCT1、MCT3について低レベルの発現が報告されているが、ヒトでは92歳の認知症脳でのプロテオミクスで、MCT1とMCT4の少量の蛋白発現が報告されているのみである。細胞での乳酸受容体であるヒドロキシカルボン酸1受容体 (HCA-1受容体) は脳内での発現はいくつか報告されているが、脈絡叢上皮細胞についての報告はない。</p> <p>この研究では、脈絡叢での乳酸の輸送及び取り込みについて調べるため、MCTおよびHCA-1受容体についてヒト剖検脳を用い脈絡叢上皮細胞およびアストロサイトでの検討を行った。</p> <p>方法:香川大学附属病院でのヒト剖検脳6例について検討を行った。各症例は神経学的異常の有無を問わずサンプルを採取した。脳組織は10%ホルマリンで固定後、パラフィン包埋し4μmで薄切、免疫組織化学染色にて検討を行った。</p> <p>免疫組織化学染色でMCT1、MCT4、HCA-1受容体、LDH-Bについて検討し、それぞれ脈絡叢上皮細胞に発現を確認した。形態計測分析として発現している上皮細胞の平均数を6症例に対し10視野検討した。</p> <p>アストロサイトでの発現を確認するため、GFAP抗体を用い蛍光免疫染色にて切片を上記のMCT1、MCT4、HCA-1、LDH-Bそれぞれと蛍光二重染色を行った。さらに初期エンドソームに局在しエンドソーム輸送に関わるEEA1に対する抗体とも蛍光二重染色を行った。MCT1とMCT4の細胞内局在を比較するため、この両者についても蛍光二重染色を行った。</p>			

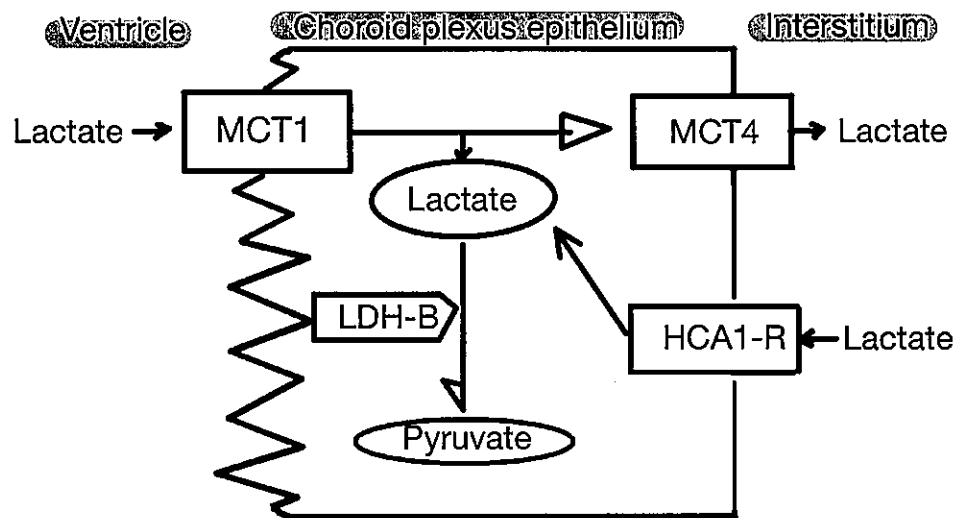
抗体の特異性を確認するため、吸収試験として使用した抗体の抗原であるタンパクと抗体を混和し、抗体-タンパク質混和液で免疫組織化学染色を行った。またMCT1およびMCT4についてはヒト癌細胞株を用いてウェスタンブロット分析も実施した。

結果： MCT1、MCT4、HCA-1およびLDH-Bに対する抗体は吸収試験により、脈絡叢上皮細胞への免疫反応性が失われた。ウェスタンブロットでも特異性について確認できた。

それぞれ抗体での免疫組織化学染色では、MCT1がアストロサイトの細胞質及び脈絡叢上皮細胞の脳室側に、MCT4が脈絡叢上皮細胞の基底膜側に、HCA-1が脈絡叢上皮細胞の基底膜側に、LDH-Bが脈絡叢上皮細胞の細胞質と細胞膜にそれぞれ発現を認めた。MCT1は70%程度、MCT4は15%程度、HCA-1およびLDH-Bは98%程度の脈絡叢上皮細胞で免疫反応性を認めた。

蛍光二重染色ではMCT1、MCT4、HCA-1、LDH-BとGFAPの免疫反応性の共局在を認めた。またMCT1およびMCT4の粒状免疫反応は、EEA1と部分的に共局在を認めた。アストロサイトではMCT1の顆粒免疫反応はMCT4のそれと共局在し、脈絡叢上皮細胞では対極側の細胞膜に別々に局在した。

結語： 脈絡叢上皮細胞において、乳酸を輸送・利用するのに必要な輸送体および受容体、酵素を確認した。乳酸依存状態での脳を用いたさらなる実験により、脈絡叢上皮でのMCTの重要性が明らかになると考える。脈絡叢には数多くの輸送体が存在し、この障害は脈絡叢近くの海馬等の脳実質へ影響をおよぼし、認知機能障害への影響に繋がる可能性が考えられる。



掲載誌名	Neuroscience Letters		
(公表予定) 掲載年月	令和2年 10月	出版社(等)名	Elsevier
Peer Review	(有)		無

(備考) 論文要旨は、日本語で1, 500字以内にまとめてください。