

# Functional and molecular characterization of adenosine transport at the rat inner blood-retinal barrier

著者	長瀬 克彦
著者別名	Nagase, Katsuhiko ナガセ, カツヒコ
雑誌名	博士学位論文要旨 論文内容の要旨および論文審査結果の要旨 / 金沢大学大学院医学研究科
巻	平成19年7月
ページ	49
発行年	2007-07-01
URL	<a href="http://hdl.handle.net/2297/19194">http://hdl.handle.net/2297/19194</a>

学位授与番号	甲第 1839 号
学位授与年月日	平成 19 年 3 月 22 日
氏 名	長瀬 克彦
学位論文題目	Functional and molecular characterization of adenosine transport at the rat inner blood-retinal barrier (ラット内側血液網膜関門におけるアデノシン輸送体の機能及び分子構造解析)
論文審査委員	主 査 教 授 宮本 謙一 副 査 教 授 杉山 和久 濱田潤一郎

### 内容の要旨及び審査の結果の要旨

アデノシンは、網膜においては神経伝達、血流、血管の発達、および虚血 への反応など、多くの役割を果たしている。一方、網膜の血管は神経節細胞層、内、外網状層および内顆粒層に分布し、血液と網膜組織液間の物質輸送を厳格に制限する内側血網膜関門 (inner BRB) を形成している。そこで、網膜神経層でのアデノシン濃度の調節を理解するためには、inner BRB での輸送メカニズムの情報を得ることは非常に有益である。本研究では inner BRB におけるアデノシン輸送機構を解析することを目的とした。

アデノシン輸送の特性と機能解析は、inner BRB の *in vitro* モデルである条件的不死化網膜毛細血管内皮株 (TR-iBRB2) を用いた。また、*in vivo* における循環血からの BRB を透過した網膜へのアデノシンの血液から網膜への輸送は、ラットを用いた [<sup>3</sup>H] アデノシンの静脈内投与と RUI 法の後にインテグレーションプロット分析を行うことにより評価し、以下の成果を得た。

TR-iBRB2 細胞における RT-PCR 解析では平衡型ヌクレオシド輸送体 1 (ENT1)、ENT2、濃度依存型ヌクレオシド輸送体 2 (CNT2)、および CNT3 mRNAs を発現していた。さらに、定量的リアルタイム PCR において、ENT2 mRNA の発現は ENT1 mRNA の 5.5 倍であった。そして、TR-iBRB2 細胞における [<sup>3</sup>H] アデノシン取り込みは ENT が主に関与していることが示唆された。ENT は、Na<sup>+</sup>非依存性ヌクレオシド輸送機構で nitrobenzylmercaptapurine ribosid (NBMPR) とジピリダモールに対する感受性により ENT1 と ENT2 に分類できるが、TR-iBRB2 細胞におけるアデノシンの輸送は NBMPR およびジピリダモール非感受性であったことなどから、ENT2 がアデノシン取り込みに関与していることが示唆された。

一方、*in vivo* 実験において [<sup>3</sup>H] アデノシンは、 $11.1 \pm 4.1 \mu\text{L}/(\text{min g retina})$  の見かけの流入クリアランスで循環血から BRB を透過し輸送された。この値は、細胞間非透過性マーカーの [<sup>14</sup>C] サッカロース [ $0.26/(\text{min g retina})$ ] および [<sup>3</sup>H] D-マンニトール [ $0.75/(\text{min g retina})$ ] の流入クリアランスより著しく大きかった。また、[<sup>3</sup>H] アデノシンの網膜への分布指標である retina uptake index(RUI)値は、[<sup>3</sup>H] D-マンニトールの RUI 値より大きかったことから、アデノシンは受動的な拡散というよりも輸送担体を介して輸送されることが示唆された。さらに、網膜への [<sup>3</sup>H] アデノシン取り込みは、TR-iBRB2 細胞と同様、アデノシンとチミジンにより阻害されたが、シチジンには影響をうけなかった。このことより、[<sup>3</sup>H] アデノシンは血液から網膜に輸送されて、アデノシンとチミジンにより大きく阻害されることが示唆された。

以上、本研究は、網膜 inner BRB においてもつばら ENT2 がアデノシンを輸送しており、網膜におけるアデノシン濃度の調節に重要な役割を果たしていることを示したものであり、今後の眼薬理学の発展に寄与するものであると評価された。