

細胞間接着部位に局在する尿酸トランスポーター MCT9 の役割の解明

田 中 弦

杏林大学医学部薬理学教室

尿酸はヒトにおけるプリン体の最終代謝産物であり、腸管及び腎臓における排泄・再吸収によってその血中濃度は一定の範囲に調節されている。この調節機構に異常が生じ、血中濃度が7 mg/dlを越えると高尿酸血症と診断され、痛風や尿路結石だけでなく、心血管疾患や腎疾患など様々な疾患を誘発する。尿酸の血中濃度の調節には多数の遺伝的因子が関与しており、これまで多くの研究者らによって血清尿酸値関連因子の探索とその生理的役割の解析が行われてきたが、未だその全体像は明らかとなっていない。

モノカルボン酸トランスポーター9 (MCT9) は、ゲノムワイド関連解析によって近年見出された高尿酸血症に関連する因子である。しかしその輸送基質並びに生体内での役割は未だ明らかではない。本研究課題では、MCT9の尿酸輸送能を評価し、MCT9が血清尿酸値を制御する機序を明らかにすることを目指した。

はじめにヒト腎臓におけるMCT9の局在を明らかにするため、杏林大学医学部泌尿器科の協力のもとヒト腎臓標本の4%PFA固定パラフィン包埋切片を用いて免疫組織化学を試みた。抗体濃度及び抗原賦活化処理法を検討したが鮮明なMCT9の染色画像は得られなかった。そこで未固定のヒト腎臓包埋試料から凍結切片を作成し、冷メタノールで固定してMCT9の免疫組織化学を行なった。その結果、腎集合管の上皮細胞間接着部位にMCT9が局在する様子が観察された。興味深いことに、これはTight junctionの構成タンパク質であるoccludinと共局在していた。ヒト小腸標本でも同様にMCT9が上皮細胞間接着部位でoccludinと共局在していた (Fig. 1)。これらのことからMCT9が細胞間隙を介したparacellular輸送の制御に関与していることが示唆される。

続いてヒト結腸癌由来細胞株caco-2を用いて、doxycyclineによりshRNAが誘導されMCT9がノックダウンされる細胞株caco-2-shMCT9を構築した。doxycycline

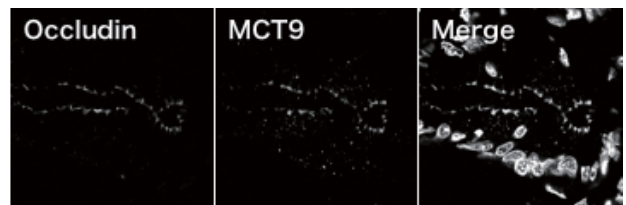


Fig. 1 ヒト小腸におけるMCT9の局在を免疫組織化学により検討

によるMCT9のノックダウンはWestern Blottingにより確認した。構築したcaco-2-shMCT9を用い、MCT9が細胞間隙を制御しているか経上皮電気抵抗 (TER) を測定し評価した。caco-2-shMCT9株をtranswell上で培養し、TERが上昇したのを確認した後、doxycyclineを投与しTERの変化を観察した。しかしながらdoxycyclineの有無でTERに変化は見られなかった。続いてtranswell上で培養したcaco-2-shMCT9株を用いてMCT9のノックダウンで放射性同位体標識した尿酸の細胞間隙を介した移行量に変化するか測定した。しかしながらMCT9のノックダウンによる移行量の変化は見られなかった。

また、xenopus oocyte発現系によりMCT9が直接尿酸を輸送するか放射性同位体で標識された尿酸を用いて検討を行った。その結果、MCT9を発現させたoocyteは尿酸を時間依存的、濃度依存的に輸送することが明らかとなった (Fig. 2)。

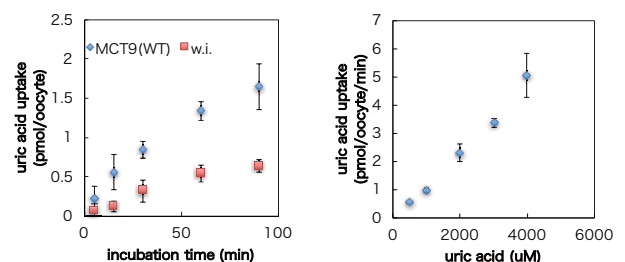


Fig. 2 xenopus oocyte発現系によるMCT9の尿酸輸送能の検討

しかし既知の尿酸トランスポーターであるGLUT9と比べ輸送量は1/80程度であった(測定条件: 300 μ M尿酸, 30 min)。またMCT9が尿酸を種々のイオンと交換輸送もしくは共輸送している可能性を考え, Cl⁻, K⁺, Na⁺, H⁺の濃度を変えたバッファーを用いて尿酸の輸送実験を行った。しかしいずれもコントロールと比較し尿酸の輸送量に

大きな変化は見られなかった。これらのことからMCT9が尿酸を直接輸送することで血清尿酸値の制御を行なっているとは考えにくい。今後は尿酸の代謝等, MCT9が他の機序により血清尿酸値の制御を行なっているか検討していきたい。