



■キーワード

脳 血管透過性 血液脳関門 脳疾病 低分子トレーサー

低分子蛍光物質による血管透過性の評価
脳疾病による血液脳関門の異常を高感度で検出する

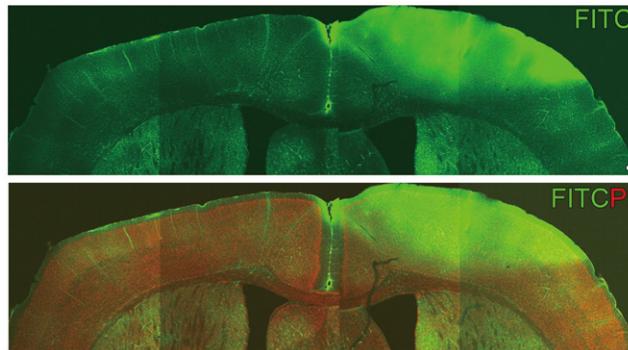
■研究の概要

血液の分子が脳に侵入すると神経細胞に多大なる悪影響を与えます。例えば、食物に含まれているグルタミン酸は、脳神経には強い興奮作用があり細胞死をおこします。ゆえに、脳の血管系は血液脳関門により自由な分子移動を制限しています。多くの脳疾病において、血液脳関門の破綻とそれによる血管透過性亢進、神経細胞死を引き起こすことが知られています。よって、血管透過性を調べることは脳疾病の研究において重要であります。一般に、低分子トレーサーとしてFluoresceinやEvans Blueなどの蛍光物質が血管透過性評価に良く用いられています。しかし、蛋白質などの高分子トレーサーは、アルデヒドなどで固定可能であるのに対し、これらの低分子トレーサーは固定不可能で、サンプル作製過程で移動・拡散が生じます。そこで、アミノ基に結合能を持つFluorescein誘導体Fluorescein isothiocyanate (FITC)を用い、組織への固定が可能な低分子トレーサーの血管透過性評価方法を開発しました。

■研究・技術のプロセス／研究事例

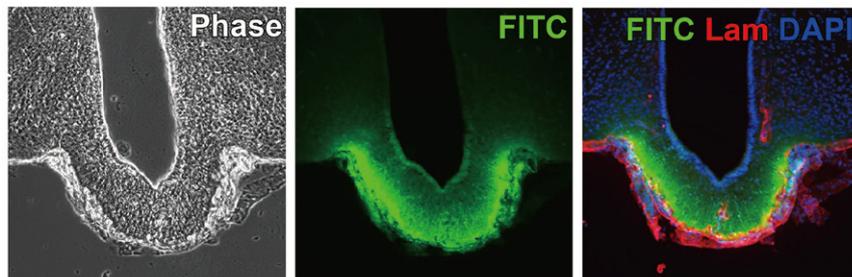
(1)脳損傷による血液脳関門崩壊と血管透過性亢進

マウス脳の右側のみ脳損傷を与え血液脳関門を破壊しました。FITCを含む生理食塩水を心臓からかん流し、ホルマリンで固定後、脳の切片を作製しました。その結果、損傷のある右側の脳で著しいFITCの蛍光が観察されましたが、損傷を受けていない左側の脳には血管のFITC漏出が認められませんでした。このように、FITCは低分子の血管透過性トレーサーとして有効であることが分かります。



(2)免疫組織化学と組み合わせた細胞レベルの解析

血液脳関門を欠く正中隆起での血管透過性を調べました。左が、位相差顕微鏡画像、中央がFITCかん流直後のFITC蛍光、右がlaminin抗体を用いた免疫組織化学の画像を示しています。このように、血管を透過したFITCは組織のアミノ基と結合し固定化されているので免疫組織化学の操作を行っても、移動や拡散が生じないことが分かります。



■セールスポイント

FITCを用いた血管透過性の評価方法は、ランニングコストも安価で、サンプル作製過程における分子の移動・拡散が生じないために、組織化学と組み合わせることで細胞レベルでの血管透過性を解析できます。