

31E20-am05S

ロテノンによるグルタミン酸トランスポーター EAAT3 の分解抑制

○山本 智美¹, 古武 弥一郎¹, 河野 幸太¹, 太田 茂¹(¹広島大院医歯薬)

【目的】中枢神経細胞における主要な神経伝達物質であるグルタミン酸は細胞間隙に過剰に放出されると、神経毒性を引き起こすことが知られている。脳におけるグルタミン酸濃度の調節には、主としてグルタミン酸トランスポーター (excitatory amino acid transporter:EAAT)が関与している。EAAT は5つのサブタイプを有し、そのうち神経細胞に分布しているのは主に EAAT3 である。主として EAAT3 を発現している rat C6 glioma 細胞に、農薬として使用され、パーキンソン病関連神経毒として知られるロテノンを曝露し、EAAT3 発現変動メカニズムの解明と細胞外グルタミン酸濃度に与える影響を検討した。

【方法】Rat C6 glioma 細胞にロテノンをそれぞれの実験条件に合わせて各濃度、各時間曝露した。EAAT3 タンパク質の変動は western blotting と ImageJ により定量し、mRNA の変動は real-time RT-PCR により定量した。タンパク質合成阻害剤として 100 µg/mL cycloheximide を用い、30 min 前処置を行った。細胞外グルタミン酸濃度の測定には Amplex[®] red glutamic acid/glutamate oxidase kit を用いた。

【結果および考察】ロテノン 50 nM 曝露で EAAT3 タンパク質発現の明確な上昇がみとめられた。しかし、EAAT3 mRNA 発現は上昇していなかった。これらの結果から、cycloheximide で前処置をし、EAAT3 タンパク質発現の検討を行ったところ、EAAT3 タンパク質の発現上昇はタンパク質分解系の抑制によるものであることが示唆された。一方、細胞外グルタミン酸濃度はロテノン曝露により有意に増加していた。以上の結果より、ロテノン曝露による EAAT3 タンパク質の発現上昇は細胞外グルタミン酸の濃度上昇による興奮神経毒性に対する生体防御反応の一つと考えられる。