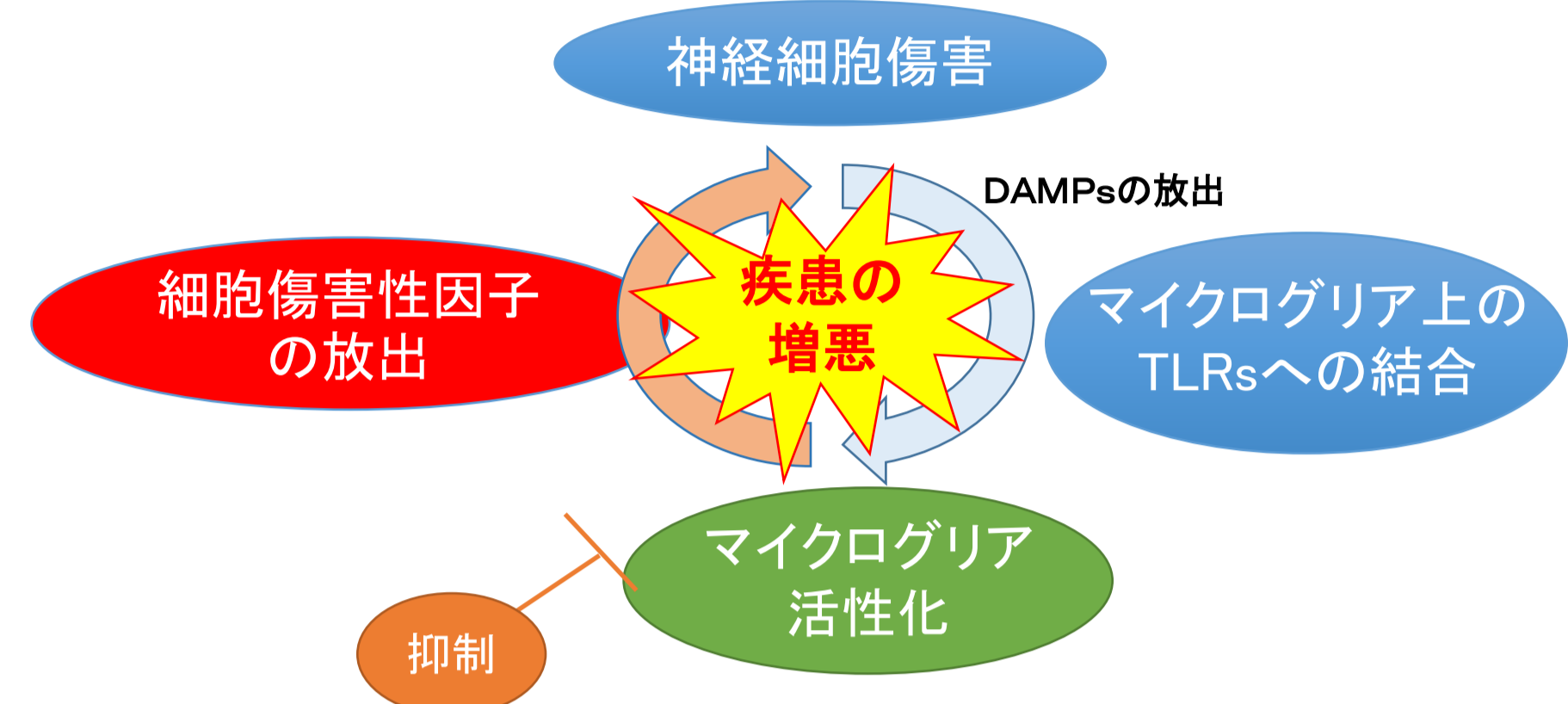


マイクログリア起炎症反応におけるグルタミン代謝の影響の検討

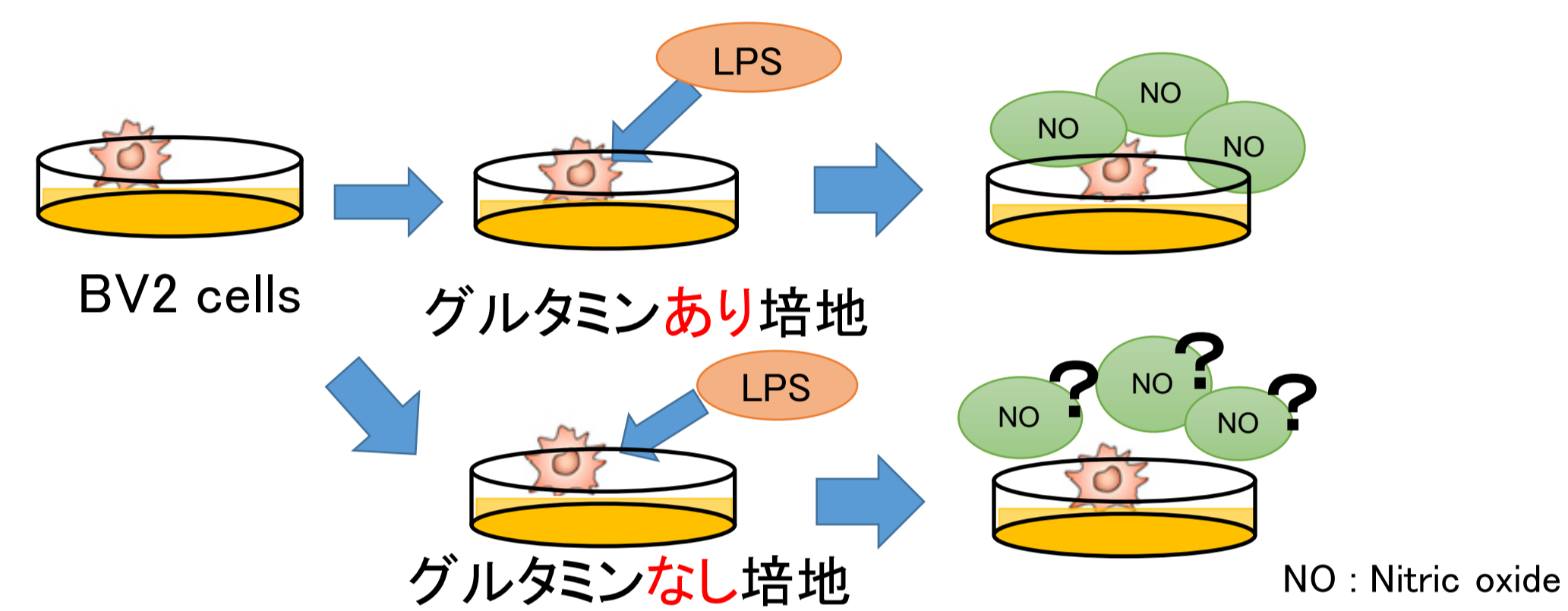
愛媛大学医学部医学科5回生 山口輝昌

背景

マイクログリアの過剰な炎症反応はパーキンソン病などを始めとする神経変性疾患の増悪に関与していることが明らかになってきた。しかし、過剰な炎症反応を抑制するためのメカニズムは明らかではない。今回、マイクログリアの起炎症反応においてグルタミン代謝が重要である可能性を見出した。そこで、細胞内でグルタミンがどのように利用されているのか解析を行った。

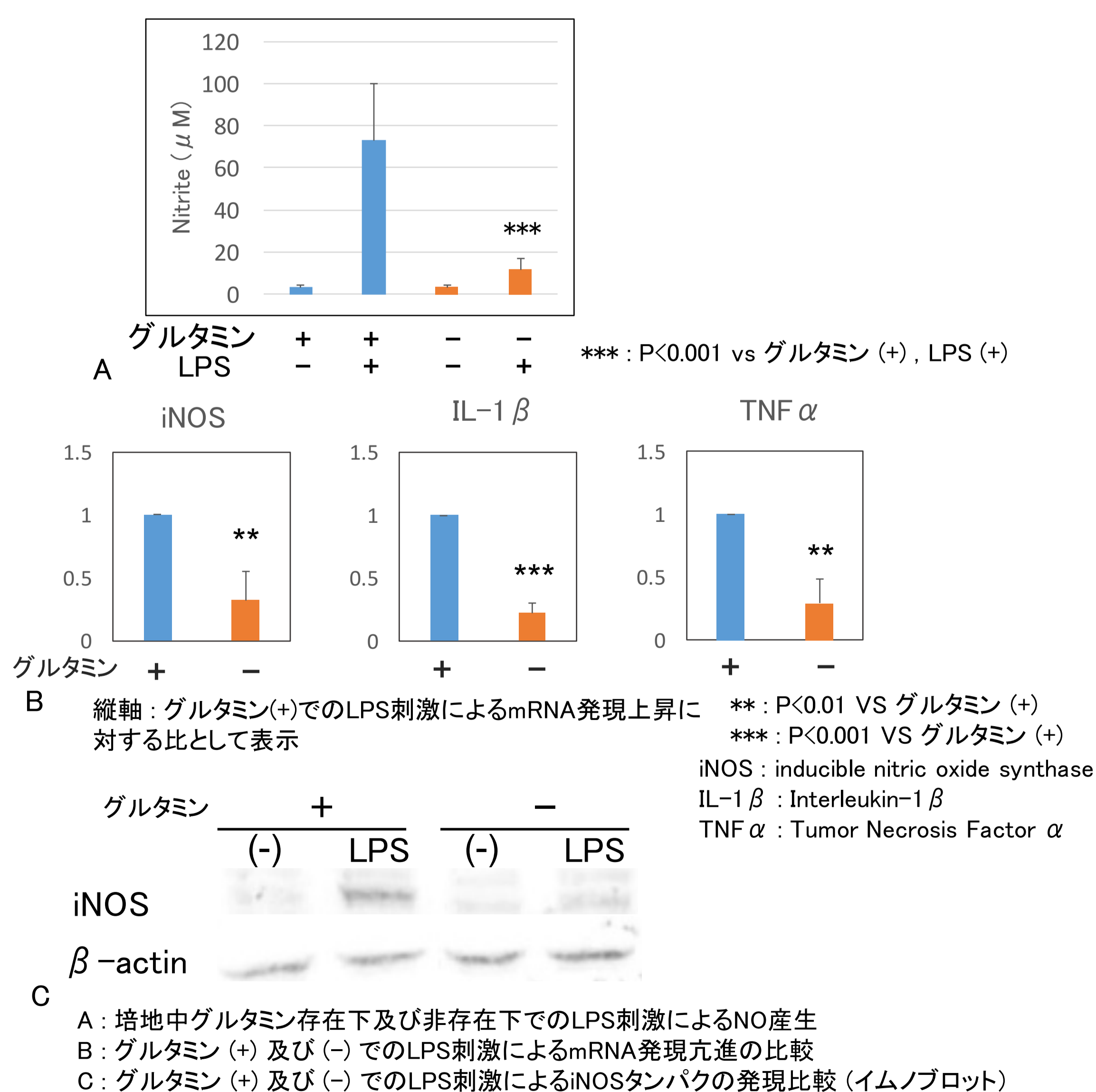


実験方法



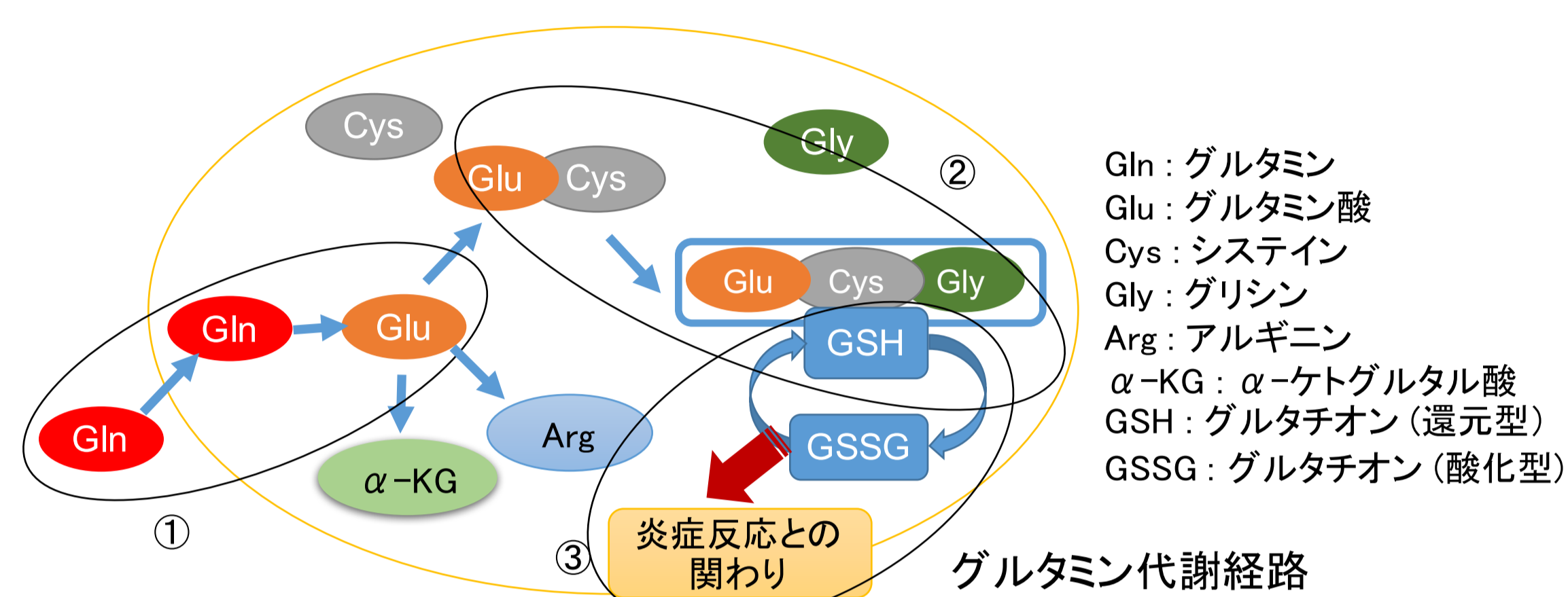
マウスマイクログリア細胞株のBV2を用いて実験を行った。BV2を培養したのち、グルタミンを含む培地 (グルタミン (+)) とグルタミン不含培地 (グルタミン (-)) に分けてLipopolysaccharide (LPS) にて刺激を行い、それぞれの反応について解析した。

培地中グルタミンの存在が起炎症反応に関与する



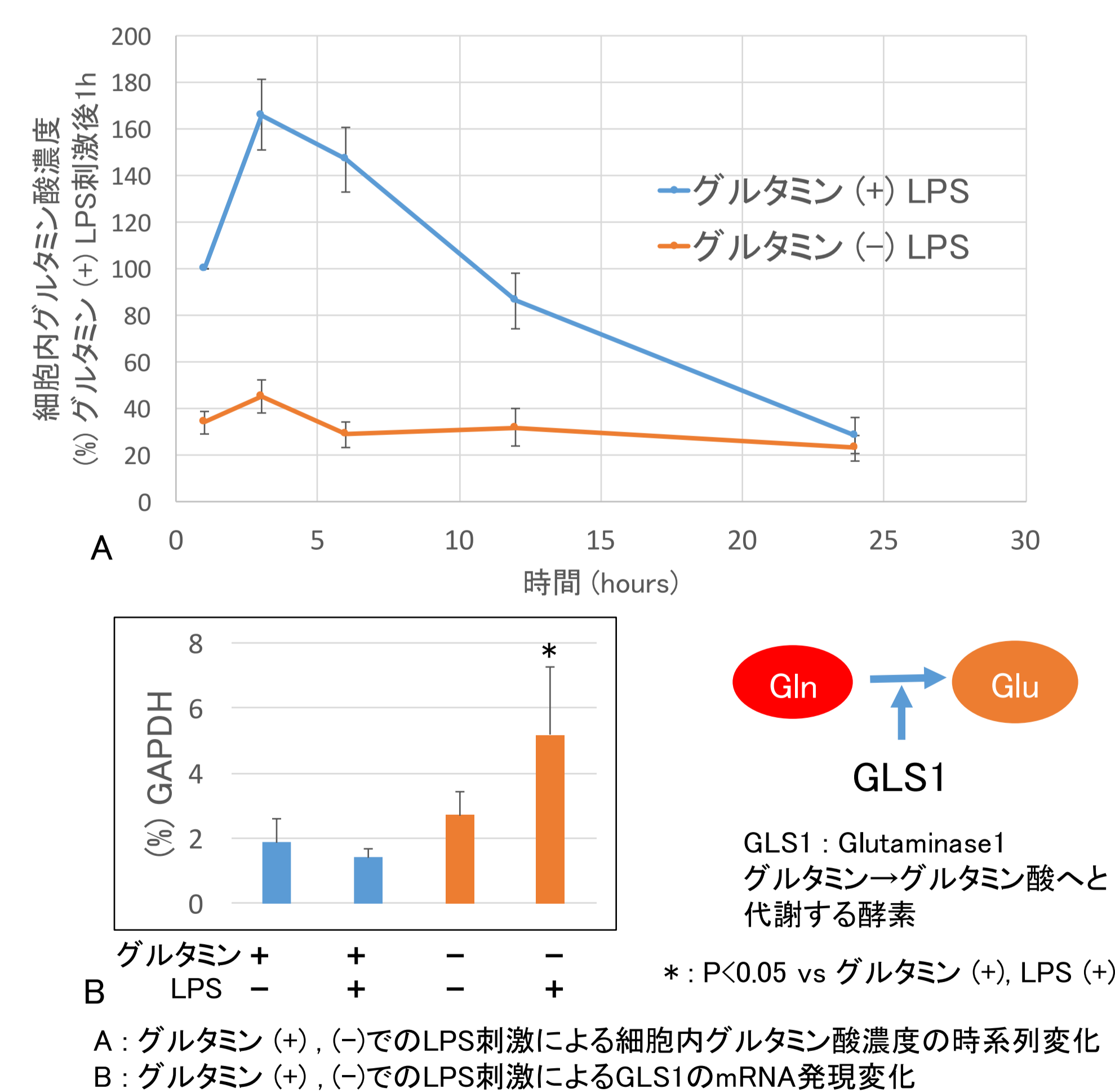
培地中のグルタミンの存在はLPS刺激によるNO産生 (A)、起炎症性サイトカインのmRNA発現 (B)、iNOSタンパクの発現 (C) などの起炎症反応において重要な役割を担っていることが強く示唆された。そこで、そのメカニズムについて検討を行った。

本研究の仮説

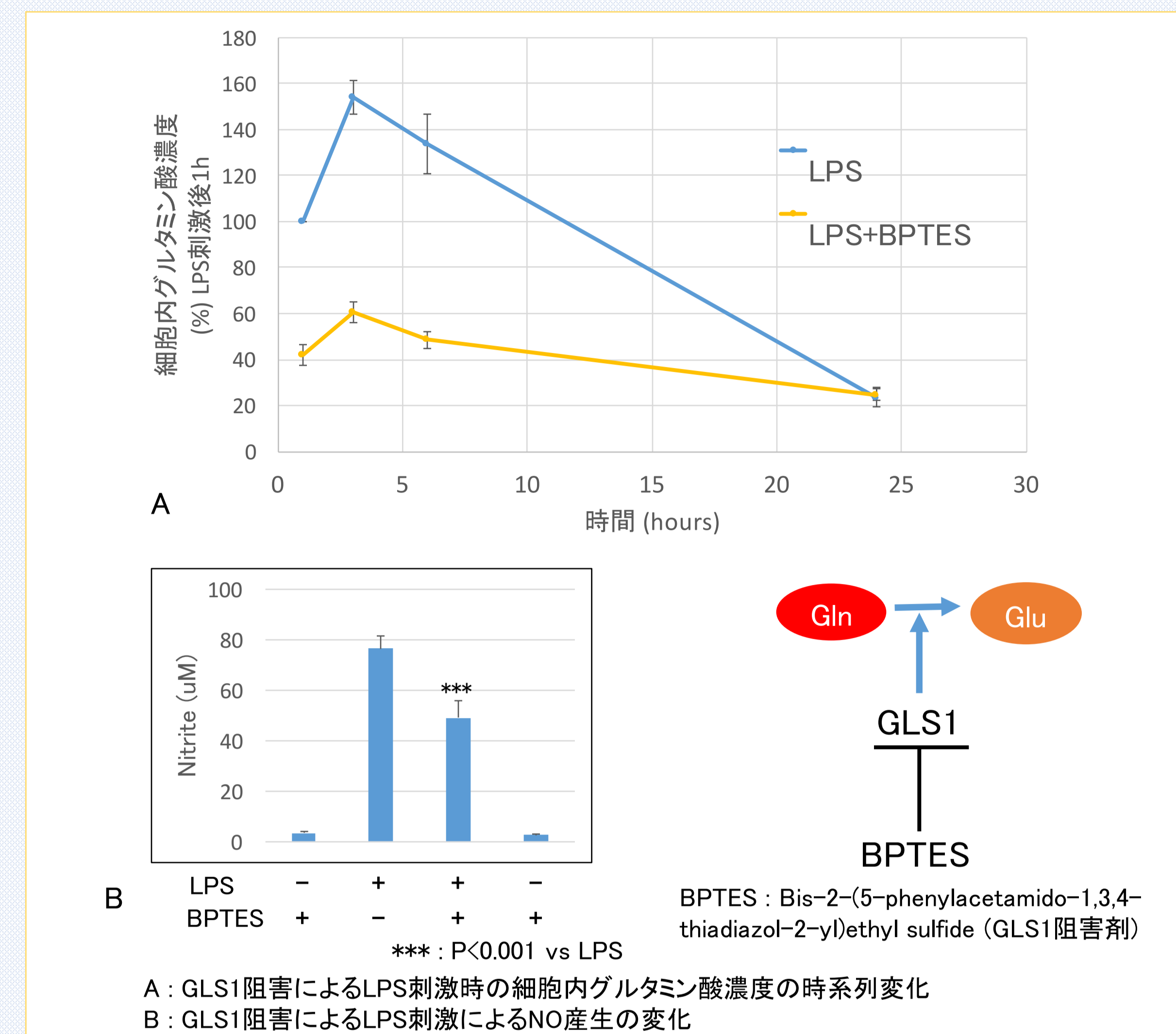


前述のように培地中のグルタミンがBV2における起炎症反応に大きな役割を担っていることが示唆された。そこで起炎症反応とグルタミンとの関与について細胞内のグルタミン代謝について着目し、以下のことについて検討した。

① LPS刺激時に細胞内でグルタミンは代謝されているのか

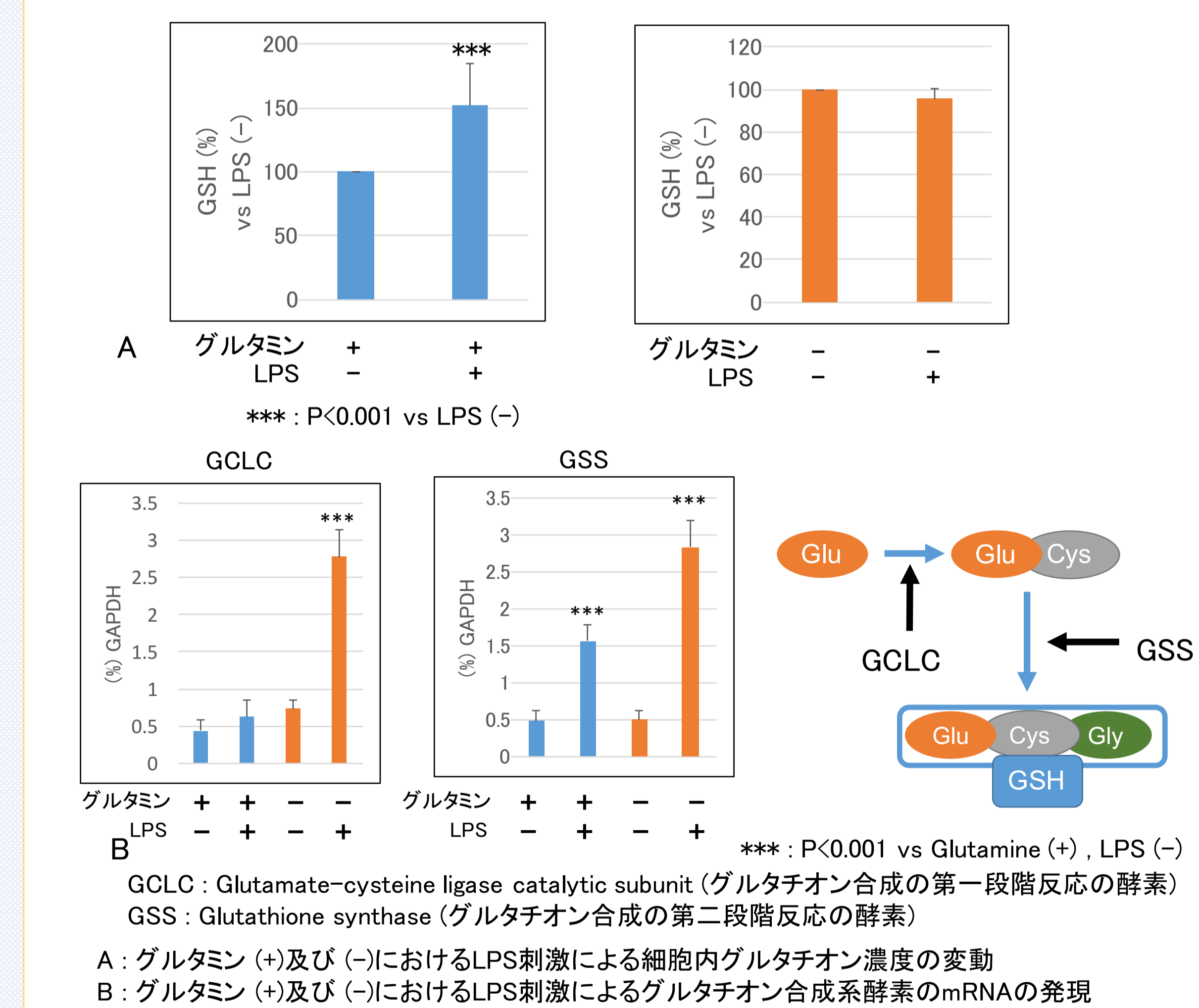


培地中グルタミン (+) ではLPS刺激によって細胞内グルタミン酸濃度は一過性に上昇したのち、急激に低下する。一方で培地中グルタミン (-) では細胞内グルタミン酸濃度が低く、LPS刺激による変動も認められない (A)。また、培地中グルタミン (-) ではLPS刺激によりGLS1の発現が上昇する (B)。以上のことからLPS刺激によってグルタミン代謝経路は動員される可能性が示唆された。さらにグルタミン代謝と起炎症反応との関与について、GLS1を阻害することにより検討を行った。



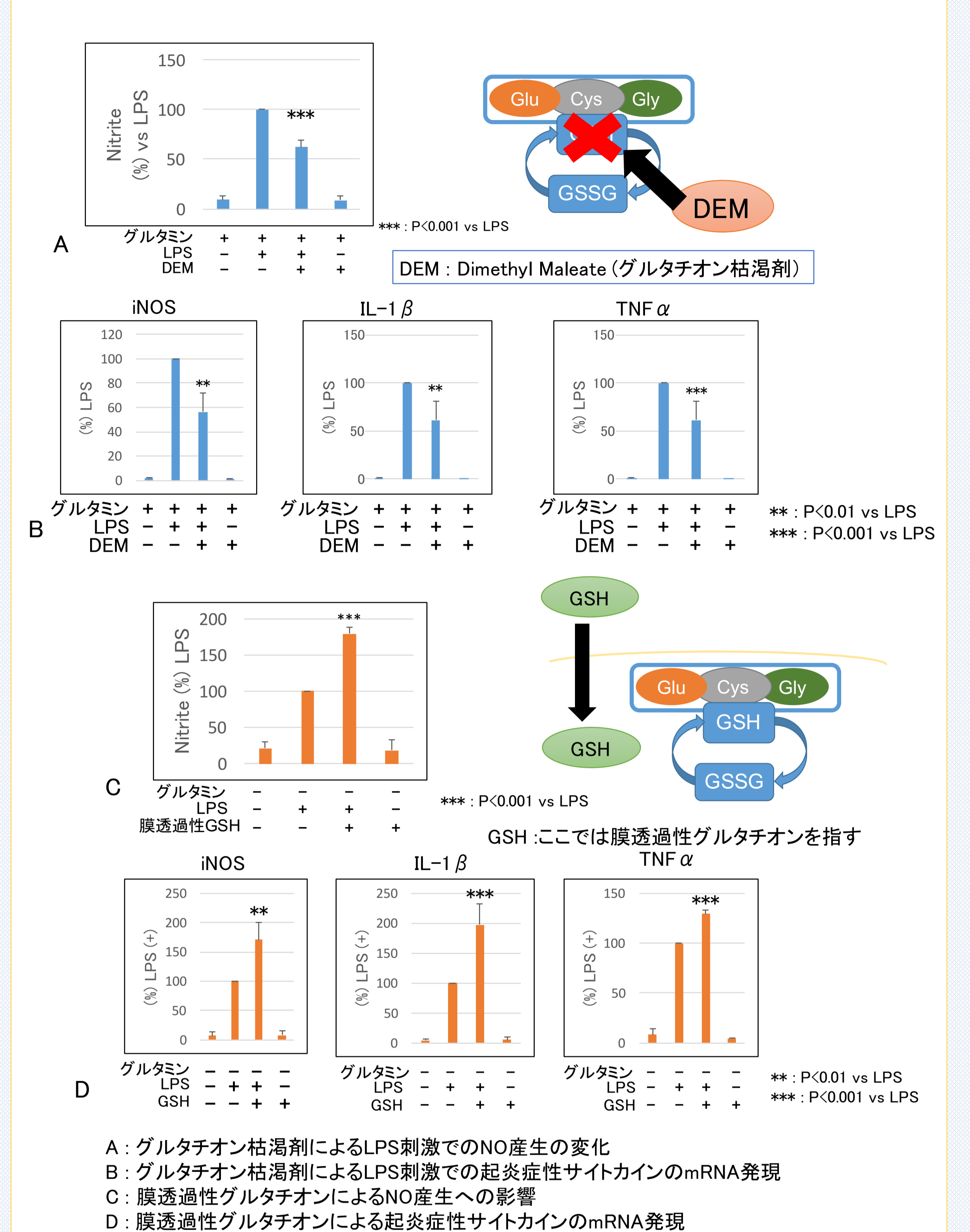
GLS1阻害によりLPS刺激による細胞内のグルタミン酸濃度は低下し、LPS刺激による変動も減弱する (A)。また、LPS刺激によるNO産生についてもGLS1阻害剤により抑制される (B)。これらのことから細胞内でのグルタミン代謝は起炎症反応と関わりうるという可能性が示唆された。前述の結果を踏まえ、起炎症反応においては細胞外からのグルタミンを取り込み、GLS1によりグルタミン酸へと代謝することが重要であると推察された。

② 培地中グルタミンは細胞内グルタチオン (GSH) に影響しているのか



培地中グルタミン (+) ではLPS刺激によって細胞内グルタチオン濃度は上昇する。一方で培地中グルタミン (-) ではLPS刺激によるグルタチオン濃度の上昇が観察されない (A)。また、LPS刺激によってGCLC, GSSなどのグルタチオン合成系の酵素の発現が上昇する (B)。これらのことからBV2における起炎症反応では細胞内でのグルタチオン需要が増大しており、細胞内グルタチオン濃度の上昇が重要である可能性が示唆された。そこで、次なる課題として細胞内のグルタチオンとBV2の起炎症反応との関与について検討を行った。

③ グルタチオンは起炎症反応に関与しているのか



グルタチオン枯渇剤 (DEM) により起炎症反応は抑制される (A,B)。一方で膜透過性のグルタチオンにより起炎症反応は増強される (C,D)。このことからグルタチオンはBV2におけるLPS誘導性の起炎症反応に関与していることが示唆された。これまでの結果を合わせるとBV2における起炎症反応では細胞外からのグルタミンの取り込み→グルタミン酸への変換→グルタチオン合成という経路が重要であると考えられる。

まとめ

- BV2の起炎症反応には細胞外のグルタミンの存在及び細胞内でのグルタミン代謝が重要である。
- 起炎症反応を生じる際に、細胞外からグルタミンが取り込まれ、細胞内でグルタミン酸→グルタチオンへと代謝されていることが示唆された。
- グルタチオンは起炎症反応に関与している可能性がある。

今後の展望

- ★ BV2における起炎症反応とグルタミン代謝との関与についてグルタチオン以外の他の代謝産物の関与について検討を進める。
- ★ 培地中グルタミン(-)という条件が細胞に与える影響についてさらなる解析を行う。
- ★ マイクログリアの起炎症反応を抑制することが知られている薬剤がグルタミン代謝に影響を与えているか検討する。