

# アストロサイトによる神経機能修飾とパーキンソン病での神経保護

浅沼幹人

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 神経ゲノム学

キーワード：アストロサイト, 抗酸化防御機構, パーキンソン病, メタロチオネイン, Nrf2

## Modulation of neuronal function and neuroprotection by astrocytes

Masato Asanuma

Department of Neurogenomics, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences

### はじめに

神経疾患とくに神経変性疾患の病態を解析する場合、あるいはその治療方策を開発する場合には、神経細胞の細胞死の機序を探求し、神経細胞を標的とした細胞死を阻止あるいはその機能を補正する治療の開発研究が行われてきた。しかし、神経細胞の機能および生死を規定するのは、神経細胞だけではない。近年、神経細胞を取り巻くグリア細胞を含む脳内環境の変化が神経機能・生存維持に関与していることを示す知見が報告されるようになり、神経細胞以外の周辺環境が神経変性疾患の治療標的として捉えられるようになってきている。グリア細胞であるアストロサイトは、神経細胞へのエネルギー供給、脳内への電解質、水の輸送および血液脳関門の形成といった機能を有する脳内の支持・栄養細胞と捉えられているが、ミクログリアと同様に炎症性サイトカイン類を分泌しうることから神経病態形成においてはむしろ障害因子として扱われてきた。しかし、最近ではアストロサイトの興奮性アミノ

酸の取り込み能や抗酸化防御機構により積極的に神経機能修飾と神経保護にはたらいっていること、またその機能障害が筋萎縮性側索硬化症や脳虚血などいくつかの神経疾患の病態形成にも関与していることも明らかになっている。実際に、筋萎縮性側索硬化症モデルでは、アストロサイトのグルタミン酸トランスポーター (glutamate transporter : GLT1) や抗酸化因子の誘導<sup>1,2)</sup>、アストロサイトの移植<sup>3)</sup>により、脊髄運動神経障害が抑制され生存期間を延長できる。また、アストロサイトの GLT1 発現を増加させることで脳虚血後の遅発性神経細胞死が抑制できる<sup>4)</sup>。さらに、興奮性アミノ酸をはじめとする各種神経伝達物質の情報伝達において、アストロサイトはシナプス前神経終末、シナプス後神経とともに“tripartite synapse” (三者間シナプス) を形成し神経伝達に関わるという役割、またその抗酸化防御機構により神経保護にはたらくという神経-アストロサイト連関の概念も注目されている<sup>5,6)</sup>。筋萎縮性側索硬化症と同様に、進行性の神経細胞変性を遅延・阻止させうる神経保護薬が求められているパーキンソン病 (Parkinson's disease : PD) においても、アストロサイトの機能障害が積極的にドパミン (dopamine : DA) 神経細胞の変性機転や病態形成に関与し、アストロサイトの機能賦活化が神経機能改

平成26年9月受理

〒700-8558 岡山市北区鹿田町2-5-1

電話：086-235-7096 FAX：086-235-7103

E-mail : asachan@cc.okayama-u.ac.jp

### ◆プロフィール◆



1988年 岡山大学医学部医学科卒業  
 1992年 岡山大学大学院医学研究科修了 医学博士  
 1994年 財長寿科学振興財団 リサーチレジデント  
 1995年 岡山大学医学部 助手  
 1996~1998年 米国国立保健研究所 (NIH), NIDA, 分子神経精神学部門に留学  
 2000年 岡山大学医学部分子細胞医学研究施設 神経情報学 助教授  
 2001年 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 神経情報学 准教授  
 2007年~ 国立精神・神経医療研究センター 客員研究員  
 2014年~ 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 神経ゲノム学 教授

善・神経保護に働く可能性を示唆する報告が<sup>6</sup>、我々の報告も含め数多くなされている<sup>7</sup>。複数の家族性 PD モデル動物でのアストロサイトの抗酸化防御機構の異常とそれによる神経障害も報告されている<sup>8,9</sup>。また、我々はアストロサイトの増殖誘導およびグルタチオン (glutathione : GSH), メタロチオネイン (metallothionein : MT) などのアストロサイトの抗酸化防御機構の賦活が、神経-アストロサイト連関の修飾を介して神経保護の標的となりうることを示してきた<sup>10-12</sup>。本稿では、PD 病態におけるアストロサイトによる神経機能修飾とそれによる神経保護の可能性について、自検例を交え概説したい。また、PD 病態下での治療薬 L-DOPA のアストロサイトへの取り込みに関する最近の知見も紹介する。

### アストロサイトの抗酸化防御機構による神経機能修飾

PD を含め多くの神経疾患の病態形成過程に酸化ストレスが関与していることはよく知られており、活性酸素・窒素種を消去、無毒化する抗酸化因子は神経変性過程を抑制する神経保護因子として重要である。ところが、神経細胞は単独では抗酸化能に乏しく、神経系での主要な抗酸化因子の生成あるいは様々な活性分子の還元活性化という抗酸化防御機構を担っているのはアストロサイトである。脳内のアスコルビン酸を還元し神経細胞に供給するというアスコルビン酸リサイクルを担っているのはアストロサイトである。また、GSH および金属結合蛋白 MT は脳内における最も強力な内在性抗酸化防御因子であり、自らのシステイン残基により一般的なフリーラジカルだけでなく DA 神経特異的酸化ストレスである DA キノン (dopamine quinone : DAQ) に対する強力な消去能を発揮する。元来、神経細胞は GSH の合成基質システインの前駆体シスチンの取り込み機構に乏しく、神経細胞における GSH 合成はアストロサイトでのシスチントランスポーター cystine-glutamate exchange transporter (xCT) を介したシスチン取り込みとそれに続く GSH 生成に依存している<sup>13,14</sup>。GSH, MT はともに PD 脳で減少しているという報告と代償性に増加しているという報告もあり<sup>15,16</sup>、酸化ストレス刺激に反応して主にアストロサイトにおいて発現が増加する<sup>11,17</sup>。

さらに、PD の病態形成におけるアストロサイトの機能障害の関与を示唆する数多くの報告がなされている。GSH 合成酵素の発現抑制によりミトコンドリア電

子伝達系の障害および加齢に伴う DA 神経障害が惹起される<sup>18</sup>。家族性 PD モデルの parkin 欠損マウスでは、加齢によるアストロサイトの機能障害と酸化ストレスに対する神経脆弱性がみられ、GSH 補完により神経保護がみられる<sup>8</sup>。また、家族性 PD でみられる A53T 変異  $\alpha$ -synuclein をアストロサイトに特異的に過剰発現させたマウスでは、徐々に進行する PD 様の DA 神経変性ならびに運動症状が発現する<sup>19</sup>。主要な抗酸化分子である GSH, スーパーオキシドジスムターゼ, カタラーゼ, チオレドキシシン, MT, GSH 合成酵素などの転写を調節する抗酸化分子マスター転写因子 NF-E2-related factor2 (Nrf2) は、脳内では主にアストロサイトに発現している<sup>20</sup>。そして、Nrf2 は同じくアストロサイトに強く発現している家族性 PD 原因遺伝子産物 DJ-1 により安定化されている<sup>21</sup>。また、DJ-1 ノックダウンにおいてミトコンドリア機能障害がみられ、complex I 阻害剤ロテノンや 6-hydroxydopamine (6-OHDA) による DA 神経毒性の増悪とそれらに対するアストロサイトの保護効果の減弱が報告されている<sup>9,22</sup>。Nrf2 により転写調節されるキノン還元酵素 NQO-1 および MT の発現が PD 患者の黒質アストロサイトにおいて増加している<sup>16,23</sup>。さらに、Nrf2 ノックアウトマウスでのレビー小体の主成分  $\alpha$ -synuclein の過剰発現により凝集体形成や DA 神経細胞障害が惹起される<sup>24</sup>。このような知見はアストロサイトの抗酸化防御機構による神経機能修飾を示しており、アストロサイトの抗酸化防御機構の異常が PD 病態形成に関与し、その機能を補完することにより神経変性を抑制しうる可能性も考えられる。

### アストロサイトの機能修飾による DA 神経保護

アストロサイトの機能修飾による DA 神経保護効果を目指して、我々はとくにアストロサイトの抗酸化防御因子群を標的とした神経保護薬の探索研究を行ってきた。そして、抗 PD 薬であるゾニサミドが線条体アストロサイトからの S100 $\beta$  蛋白の産生・放出およびシスチントランスポーター xCT の発現誘導を介して、アストロサイトの増殖および GSH 量の著増を惹起することを初代培養アストロサイトおよびマウスを用いて明らかにした<sup>10</sup>。また、6-OHDA 注入 PD モデルマウスにおいて緩徐に進行する黒質線条体 DA 神経の脱落が注入 3 週間からのゾニサミドの連日投与により抑制され、L-DOPA 連投により惹起される線条体キノ

ン体生成もほぼ完全に抑制するという神経保護効果を明らかにした<sup>10</sup>。この報告は、神経以外の細胞を標的として神経保護をみた最初の報告となった。DA 神経毒である1-methyl-4-phenyl-1, 2, 3, 6-tetrahydropyridine (MPTP) による PD モデルにおいても同様のゾニサミドによるアストロサイト増殖作用と神経保護効果が他のグループにより確認されている<sup>25</sup>。また我々は、PD モデルマウスへの L-DOPA 連日投与によりアストロサイトにおいて特異的に MT の発現が著しく亢進すること、酸化ストレスを負荷した初代培養線条体アストロサイトにおいても Nrf2 の発現誘導と MT の誘導・合成が認められ、さらに中脳初代培養 DA 神経細胞の酸化ストレス障害に対するアストロサイト培養液が示す神経保護効果が MT 除去により消失することを明らかにした<sup>11</sup>。最近我々は、S100 $\beta$  のアストロサイト増殖誘導作用に着目してアストロサイトから S100 $\beta$  の分泌を促す薬剤の検索を行ったところ、その候補としてセロトニン5-HT1A レセプターアゴニストを見出した。そして、5-HT1A レセプターに対するフルアゴニストである8-hydroxy-2-(di-*n*-propylamino) tetralin (8-OH-DPAT) が線条体アストロサイト上にも存在する5-HT1A レセプターへの作用を介して、S100 $\beta$  の分泌ならびにアストロサイト増殖誘導にはたらくこと、またアストロサイトにおける Nrf2 の発現誘導とそれに続く MT 合成および放出により DA 神経

障害に対して保護的に作用することを中脳 DA 神経線条体アストロサイト共培養系を用いて見出した<sup>12</sup>。さらに、6-OHDA 注入 PD モデルマウスにおける黒質線条体 DA 神経変性に対しても8-OH-DPAT が保護効果を発揮することを見出した<sup>12</sup>。これらの結果は、線条体アストロサイトでの MT 発現および放出が酸化ストレスによる DA 神経障害に対する防御機構として重要な役割を果たしていることを示している (図 1 右)。

我々の他にも、アストロサイトの機能賦活化により神経保護効果が認められるという知見が近年相次いでなされている。MPTP による DA 神経毒性はアストロサイト特異的な Nrf2 過剰発現によりほぼ完全に抑制される<sup>26</sup>。また、A53T 変異  $\alpha$ -synuclein 過剰発現 PD モデルマウスにおいてアストロサイト特異的に Nrf2 を過剰発現させると運動機能が改善され、 $\alpha$ -synuclein 凝集が抑制される<sup>27</sup>。また、家族性 PD 原因遺伝子 Parkin のノックアウトハエにおいて、MT の転写を誘導する転写因子 metal regulatory transcription factor-1 (MTF-1) を発現誘導させると運動障害は抑制される<sup>28</sup>。このような知見を考え合わせると、アストロサイトを標的として神経・アストロサイト連関を賦活する、あるいは Nrf2, GSH, MT などのアストロサイトの内在性抗酸化防御因子の機能を修飾する薬剤が、神経保護薬の候補となりうると考えられる (図 1 右)。

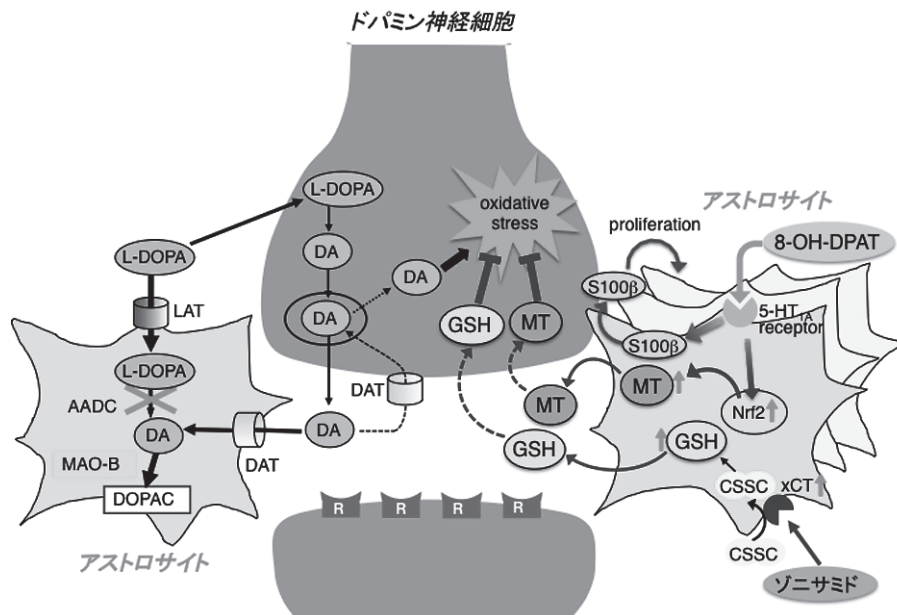


図1 ドパミン神経保護の標的としてのアストロサイトの抗酸化防御機構 (右) と L-DOPA のリザーバーとしてのアストロサイト (左)

## PD 治療薬 L-DOPA のリザーバーとしてのアストロサイト

DA 神経が著しく変性した PD 病態において投与された PD 治療薬 L-DOPA がどこに取り込まれ、どこで DA へと変換され治療効果が発揮されるのか明らかではなかった。以前から、L-DOPA は線条体に投射しているセロトニン神経終末や残存する DA 神経に取り込まれ、それが持っている芳香族アミノ酸脱炭酸酵素 (aromatic L-amino acid decarboxylase : AADC) により DA に変換される可能性が考えられてきた<sup>29-32)</sup>。また一方で、残存する DA 神経終末の周囲に多く存在するアストロサイトに取り込まれる可能性も想定されていた。最近我々は、アストロサイトが DA 神経終末およびシナプス後神経に近接して取り囲むように存在していること、アストロサイト自体が L-DOPA 取り込みにはたらく大型中性アミノ酸トランスポーター (large neutral amino acid transporter : LAT) や DA トランスポーター (dopamine transporter : DAT) を発現している<sup>33-37)</sup> ことに着目し、L-DOPA がアストロサイトに取り込まれ代謝されている可能性を想定し、初代培養線条体アストロサイトおよび PD モデルを用いてアストロサイトにおける L-DOPA および DA の動態について検討した。L-DOPA, DA ともに線条体アストロサイトに取り込まれるものの、アストロサイトに取り込まれた L-DOPA は AADC を発現しているにもかかわらずほとんど DA に変換されておらず、細胞外の L-DOPA 濃度に従い放出されること、さらにアストロサイトに取り込まれた DA は速やかに代謝されることを明らかにした<sup>38)</sup>。この結果は、DA 神経終末も障害されている PD 病態では、線条体のアストロサイトは L-DOPA を取り込み保持することができるが、DA には変換されにくく L-DOPA のままで神経外の L-DOPA 濃度に従い放出されていること、さらにシナプス間隙に放出された DA はアストロサイトに取り込まれ速やかに代謝されることを示唆しており、アストロサイトが L-DOPA のリザーバーとしてはたらくが、L-DOPA の DA 源としての利用効率は低く不安定であると考えられる (図 1 左)。この利用効率の低下が L-DOPA 長期投与により出現する薬効の減弱 wearing-off 現象につながっている可能性も考えられる。

## おわりに

アストロサイトの増殖誘導および抗酸化防御機構の賦活を介した神経-アストロサイト連関の修飾が PD における DA 神経保護の標的となりうると考えられる。また、神経保護にはたらくいくつかのアストロサイト標的分子を見出すことができた。しかし、刺激に対するアストロサイトの反応性と抗酸化因子の発現は脳部位により異なる。酸化ストレスに対する線条体アストロサイトでの MT 発現は、大脳皮質ではみられない<sup>11)</sup>。また、DA 神経障害時に線条体アストロサイトでみられる DAT を介した DA 取り込みは、中脳アストロサイトではみられない。さらに、中脳および線条体アストロサイトに酸化ストレスを負荷し発現が変化する分子を網羅的に検索したところ、中脳および線条体アストロサイトで同じ挙動を示す因子は少なく、ほとんどの因子が部位により発現に差異があった。特に、中脳アストロサイトで変化がなく線条体アストロサイトで発現が増加した因子には、Nrf2 による発現調節を受けている GSH 関連酵素、キノン還元酵素、ヘムオキシゲナーゼなどのいわゆる phase II 解毒酵素群、抗酸化因子群が多かった。これは、線条体アストロサイトが酸化ストレスに対して抗酸化因子を発現させることにより強い抗酸化能を発揮することを示している。こうしたアストロサイトの部位特異的プロファイルを修飾することにより、神経変性を遅延・抑制することも可能であると考えられる。現行の PD に対する治療は、DA 神経系に関連する錐体外路系の神経伝達物質の異常を補正するという対症療法であり、今後進行性の神経変性を遅延・阻止する神経保護療法が求められる。本稿で述べたようなアストロサイトの抗酸化防御機構および部位特異的プロファイルを修飾するような薬剤の開発が PD の新たな治療方策として期待される。

## 文 献

- 1) Guo H, Lai L, Butchbach ME, Stockinger MP, Shan X, Bishop GA, Lin CL : Increased expression of the glial glutamate transporter EAAT2 modulates excitotoxicity and delays the onset but not the outcome of ALS in mice. *Hum Mol Genet* (2003) 12, 2519-2532.
- 2) Vargas MR, Johnson DA, Sirkis DW, Messing A, Johnson JA : Nrf2 activation in astrocytes protects against neurodegeneration in mouse models of familial amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurosci* (2008) 28, 13574-13581.
- 3) Lepore AC, Rauck B, Dejea C, Pardo AC, Rao MS,

- Rothstein JD, Maragakis NJ : Focal transplantation-based astrocyte replacement is neuroprotective in a model of motor neuron disease. *Nat Neurosci* (2008) 11, 1294-1301.
- 4) Ouyang YB, Voloboueva LA, Xu LJ, Giffard RG : Selective dysfunction of hippocampal CA1 astrocytes contributes to delayed neuronal damage after transient forebrain ischemia. *J Neurosci* (2007) 27, 4253-4260.
  - 5) Allaman I, Belanger M, Magistretti PJ : Astrocyte-neuron metabolic relationships : for better and for worse. *Trends Neurosci* (2010) 34, 76-87.
  - 6) Perea G, Navarrete M, Araque A : Tripartite synapses : astrocytes process and control synaptic information. *Trends Neurosci* (2009) 32, 421-431.
  - 7) 浅沼幹人, 宮崎育子 : アストロサイトと Parkinson 病治療. *神経内科* (2013) 79, 257-261.
  - 8) Solano RM, Casarejos MJ, Menendez-Cuervo J, Rodriguez-Navarro JA, Garcia de Yébenes J, Mena MA : Glial dysfunction in parkin null mice : effects of aging. *J Neurosci* (2008) 28, 598-611.
  - 9) Larsen NJ, Ambrosi G, Mullett SJ, Berman SB, Hinkle DA : DJ-1 knock-down impairs astrocyte mitochondrial function. *Neuroscience* (2011) 196, 251-264.
  - 10) Asanuma M, Miyazaki I, Diaz-Corrales FJ, Kimoto N, Kikkawa Y, Takeshima M, Miyoshi K, Murata M : Neuroprotective effects of zonisamide target astrocyte. *Ann Neurol* (2010) 67, 239-249.
  - 11) Miyazaki I, Asanuma M, Kikkawa Y, Takeshima M, Murakami S, Miyoshi K, Sogawa N, Kita T : Astrocyte-derived metallothionein protects dopaminergic neurons from dopamine quinone toxicity. *Glia* (2011) 59, 435-451.
  - 12) Miyazaki I, Asanuma M, Murakami S, Takeshima M, Torigoe N, Kitamura Y, Miyoshi K : Targeting 5-HT<sub>1A</sub> receptors in astrocytes to protect dopaminergic neurons in parkinsonian models. *Neurobiol Dis* (2013) 59, 244-256.
  - 13) Shih AY, Erb H, Sun X, Toda S, Kalivas PW, Murphy TH : Cystine/glutamate exchange modulates glutathione supply for neuroprotection from oxidative stress and cell proliferation. *J Neurosci* (2006) 26, 10514-10523.
  - 14) Wang XF, Cynader MS : Astrocytes provide cysteine to neurons by releasing glutathione. *J Neurochem* (2000) 74, 1434-1442.
  - 15) Mythri RB, Venkateshappa C, Harish G, Mahadevan A, Muthane UB, Yasha TC, Srinivas Bharath MM, Shankar SK : Evaluation of markers of oxidative stress, antioxidant function and astrocytic proliferation in the striatum and frontal cortex of Parkinson's disease brains. *Neurochem Res* (2011) 36, 1452-1463.
  - 16) Michael GJ, Esmailzadeh S, Moran LB, Christian L, Pearce RK, Graeber MB : Up-regulation of metallothionein gene expression in parkinsonian astrocytes. *Neurogenetics* (2011) 12, 295-305.
  - 17) Iwata-Ichikawa E, Kondo Y, Miyazaki I, Asanuma M, Ogawa N : Glial cells protect neurons against oxidative stress via transcriptional up-regulation of the glutathione synthesis. *J Neurochem* (1999) 72, 2334-2344.
  - 18) Chinta SJ, Kumar MJ, Hsu M, Rajagopalan S, Kaur D, Rane A, Nicholls DG, Choi J, Andersen JK : Inducible alterations of glutathione levels in adult dopaminergic midbrain neurons result in nigrostriatal degeneration. *J Neurosci* (2007) 27, 13997-14006.
  - 19) Gu XL, Long CX, Sun L, Xie C, Lin X, Cai H : Astrocytic expression of Parkinson's disease-related A53T alpha-synuclein causes neurodegeneration in mice. *Mol Brain* (2010) 3, 12.
  - 20) Lee JM, Calkins MJ, Chan K, Kan YW, Johnson JA : Identification of the NF-E2-related factor-2-dependent genes conferring protection against oxidative stress in primary cortical astrocytes using oligonucleotide microarray analysis. *J Biol Chem* (2003) 278, 12029-12038.
  - 21) Clements CM, McNally RS, Conti BJ, Mak TW, Ting JP : DJ-1, a cancer- and Parkinson's disease-associated protein, stabilizes the antioxidant transcriptional master regulator Nrf2. *Proc Natl Acad Sci U S A* (2006) 103, 15091-15096.
  - 22) Lev N, Barhum Y, Ben-Zur T, Melamed E, Steiner I, Offen D : Knocking Out DJ-1 Attenuates Astrocytes Neuroprotection Against 6-Hydroxydopamine Toxicity. *J Mol Neurosci* (2013) 50, 542-550.
  - 23) van Muiswinkel FL, de Vos RA, Bol JG, Andringa G, Jansen Steur EN, Ross D, Siegel D, Drukarch B : Expression of NAD(P)H : quinone oxidoreductase in the normal and Parkinsonian substantia nigra. *Neurobiol Aging* (2004) 25, 1253-1262.
  - 24) Lastres-Becker I, Ulusoy A, Innamorato NG, Sahin G, Rabano A, Kirik D, Cuadrado A : alpha-Synuclein expression and Nrf2 deficiency cooperate to aggravate protein aggregation, neuronal death and inflammation in early-stage Parkinson's disease. *Hum Mol Genet* (2012) 21, 3173-3192.
  - 25) Choudhury ME, Moritoyo T, Kubo M, Kyaw WT, Yabe H, Nishikawa N, Nagai M, Matsuda S, Nomoto M : Zonisamide-induced long-lasting recovery of dopaminergic neurons from MPTP-toxicity. *Brain Res* (2011) 1384, 170-178.
  - 26) Chen PC, Vargas MR, Pani AK, Smeyne RJ, Johnson DA, Kan YW, Johnson JA : Nrf2-mediated neuroprotection in the MPTP mouse model of Parkinson's disease : Critical role for the astrocyte. *Proc Natl Acad Sci U S A* (2009) 106, 2933-2938.
  - 27) Gan L, Vargas MR, Johnson DA, Johnson JA : Astrocyte-specific overexpression of Nrf2 delays motor pathology and synuclein aggregation throughout the CNS in the alpha-synuclein mutant (A53T) mouse model. *J Neurosci* (2012) 32, 17775-17787.

- 28) Saini N, Georgiev O, Schaffner W : The parkin mutant phenotype in the fly is largely rescued by metal-responsive transcription factor (MTF-1). *Mol Cell Biol* (2011) 31, 2151–2161.
- 29) Carta M, Carlsson T, Kirik D, Bjorklund A : Dopamine released from 5-HT terminals is the cause of L-DOPA-induced dyskinesia in parkinsonian rats. *Brain* (2007) 130, 1819–1833.
- 30) Lee J, Zhu WM, Stanic D, Finkelstein DI, Horne MH, Henderson J, Lawrence AJ, O'Connor L, Tomas D, Drago J, Horne MK : Sprouting of dopamine terminals and altered dopamine release and uptake in Parkinsonian dyskinesia. *Brain* (2008) 131, 1574–1587.
- 31) Rylander D, Parent M, O'Sullivan SS, Dovero S, Lees AJ, Bezard E, Descarries L, Cenci MA : Maladaptive plasticity of serotonin axon terminals in levodopa-induced dyskinesia. *Ann Neurol* (2010) 68, 619–628.
- 32) Tanaka H, Kannari K, Maeda T, Tomiyama M, Suda T, Matsunaga M : Role of serotonergic neurons in L-DOPA-derived extracellular dopamine in the striatum of 6-OHDA-lesioned rats. *Neuroreport* (1999) 10, 631–634.
- 33) Inazu M, Kubota N, Takeda H, Zhang J, Kiuchi Y, Oguchi K, Matsumiya T : Pharmacological characterization of dopamine transport in cultured rat astrocytes. *Life Sci* (1999) 64, 2239–2245.
- 34) Inazu M, Takeda H, Ikoshi H, Uchida Y, Kubota N, Kiuchi Y, Oguchi K, Matsumiya T : Regulation of dopamine uptake by basic fibroblast growth factor and epidermal growth factor in cultured rat astrocytes. *Neurosci Res* (1999) 34, 235–244.
- 35) Inyushin MY, Huertas A, Kucheryavykh YV, Kucheryavykh LY, Tsydzik V, Sanabria P, Eaton MJ, Skatchkov SN, Rojas LV, Wessinger WD : L-DOPA uptake in astrocytic endfeet enwrapping blood vessels in rat brain. *Parkinsons Dis* (2012) 2012, 321406.
- 36) Kim DK, Kim IJ, Hwang S, Kook JH, Lee MC, Shin BA, Bae CS, Yoon JH, Ahn SG, Kim SA, Kanai Y, Endou H, et al. : System L-amino acid transporters are differently expressed in rat astrocyte and C6 glioma cells. *Neurosci Res* (2004) 50, 437–446.
- 37) Tsai MJ, Lee EH : Characterization of L-DOPA transport in cultured rat and mouse astrocytes. *J Neurosci Res* (1996) 43, 490–495.
- 38) Asanuma M, Miyazaki I, Murakami S, Diaz-Corrales FJ, Ogawa N : Striatal astrocytes act as a reservoir for L-DOPA. *PLoS ONE* (2014) 9, e106362.