

30-0744 W92-4

培養腎上皮細胞の低酸素-再酸素化による ATP 含量の変動と活性酸素との関係
○中川 麗子¹, 豊島 恭子¹, 矢野 陽子¹, 幸田 祐佳¹, 河合 悦子¹, 玄番 宗一¹ (¹大阪薬大・薬理)

[目的] 腎虚血-再灌流による急性腎不全に、ATP 含量の低下や活性酸素(ROS)が関与していると考えられている。しかし ATP 含量の低下と ROS との関係については明らかではない。そこで培養腎上皮細胞株 LLC-PK₁ を用いて、虚血再灌流のインビトロモデルを作成し検討を行った。[方法] コンフルエントに達した LLC-PK₁ を 1%O₂-5%CO₂ 内で一定時間培養し低酸素状態とし、air-5%CO₂ インキュベーター内で培養することで再酸素化とした。低酸素および再酸素化でのグルコースの有無およびアデノシンとスーパーオキシドジスムターゼ (SOD) による影響を検討した。細胞内 ATP 含量を測定し、細胞障害の指標として細胞から培地への LDH 遊離率を調べた。ROS 生成は CM-H₂DCFDA の蛍光を共焦点レーザー顕微鏡で観察した。[結果] LLC-PK₁ 細胞内 ATP 含量は、グルコース非存在下では低酸素でコントロールの約 25%に、グルコース存在下では約 80%に低下した。再酸素化によりグルコース存在下では ATP 含量は約 60%まで回復したが、グルコース非存在下では回復せず、細胞からの LDH 遊離率は ATP 含量低下の程度に応じて増大した。細胞内 ROS 生成は低酸素時および再酸素化後に増大し、その増大は ATP 含量の低下が顕著なグルコース非存在下で認められた。アデノシンは再酸素化後の ATP 含量をコントロールレベルまで回復させ、細胞からの LDH 遊離率増大を抑制した。SOD は再酸素化後の LDH 遊離率の増大は抑制したが、ATP 含量の低下には影響しなかった。[考察] LLC-PK₁ 細胞において、低酸素および再酸素化による細胞内 ATP 含量の低下が ROS の生成を増大させ、その結果、細胞障害が起こることが考えられる。低酸素時に生成された ROS がその後の再酸素化障害に重要な役割を果たしている可能性が示唆される。