

## 30-0322 W102-9

培養小脳顆粒細胞における 4-hydroxynonenal 誘発細胞死発現機構の検討

○荒川 基記<sup>1</sup>, 牛丸 伸幸<sup>1</sup>, 長田 暢弘<sup>1</sup>, 小田 哲朗<sup>1</sup>, 石毛 久美子<sup>1</sup>, 伊藤 芳久<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>日本大薬)

**【目的】**4-Hydroxynonenal (HNE)は細胞膜に存在する不飽和脂肪酸が脂質過酸化をうけて生成されるアルデヒドで、ラット培養小脳顆粒細胞においては caspase-3 に依存した細胞死を誘導することが明らかとなっている(Y. Ito et al., 1999)。また、HNE は他の培養神経細胞系ではイオンのホメオスタシスに障害をもたらすこと、および glutamic acid (Glu)によりその細胞毒性が増強されることが報告されている。そこで本研究では HNE の細胞死誘発機構をより明らかにするために、HNE 誘発小脳顆粒細胞死に及ぼす Glu リガンドを含めた種々の薬物の影響を検討した。

**【方法】**ラット培養小脳顆粒細胞は既報の方法により調製し、7~8 日間培養した。細胞の生死は、Hoechst 33258 と propidium iodide による二重染色および MTT 法で判定した。

**【結果および考察】**細胞を HNE に 24 時間暴露したところ、濃度依存的に細胞死が誘発された。脂溶性抗酸化物質である  $\alpha$ -tocopherol 100  $\mu$ M または voltage-dependent calcium channels (VDCC) 阻害薬である nifedipine 1  $\mu$ M の同時添加は、HNE 30  $\mu$ M による MTT 値の低下を部分的に抑制した。一方、イオンチャンネル型 Glu 受容体のアゴニストである N-methyl-D-aspartate (NMDA)、kainic acid (KA) は、単独で作用を示さない濃度範囲において、HNE による MTT 値の低下に対し増強効果を示さなかった。また、NMDA 受容体アンタゴニストの MK-801 と KA 受容体アンタゴニストの CNQX もほとんど影響を及ぼさなかった。以上の結果より、HNE 誘発細胞死は、脂溶性抗酸化物質の影響を受けにくいこと、また、VDCC を介した  $Ca^{2+}$  の流入が一部関与していることが示された。また、他の細胞系とは異なり、培養小脳顆粒細胞においては、HNE 誘発細胞死にイオンチャンネル型 Glu 受容体の関与はほとんどないことも示された。以前の報告と考え合わせると、HNE による細胞死発現には様々な経路が同時に関与していることが考えられる。