

30V-am04

ラット脳グリア細胞を用いた脳卒中発症因子の探索 — 活性酸素発生・除去機構の関与 —

○十万 佐知子¹, 奈良 安雄¹, 安井 菜穂美¹, 植田 愛¹, 奥田 浩人¹, 池田 克巳¹, 三木 知博¹(¹武庫川女大薬)

[目的]脳卒中は近年直接の死因としては減少している。しかし依然寝たきりになる原因としては第1位であり、予防や後遺症を残さない治療法などが望まれる。脳卒中の原因は、高血圧や動脈硬化などといわれるが、それらの基礎疾患があっても脳卒中を必ず起こすわけではなく、元々遺伝的な要因があり、それに高血圧などが加わることにより発症するのではないかと考え、本研究を行っている。正常血圧ラット(WKY)、高血圧自然発症ラット(SHR)と高血圧自然発症脳卒中易発症ラット(SP)の胎児脳由来グリア細胞を用いて低酸素条件下での活性酸素種の発生や、それを消去する機構の相違を調べ、遺伝的な脳卒中発症要因を検討した。

[方法]WKY、SHR、SP胎児脳由来グリア細胞を20%O₂+5%CO₂+75%N₂と1%または0.1%O₂+5%CO₂+94%または94.9%N₂の条件下でそれぞれ培養した。16時間後にTotal RNAを抽出し、24時間後に細胞溶解液を得た。RNAは逆転写を行い、PCRにて活性酸素を発生、消去することに関わる遺伝子の発現を検討した。また低酸素48時間後の細胞を用いてグルタチオン(GSH)の定量を行った。細胞溶解液はSDS-PAGEを行った後ウェスタンブロッティングを行い、活性酸素発生や消去に関わるタンパク質の発現を解析した。

[結果・考察]代謝の際に活性酸素を発生するプロリンに関する酵素の遺伝子発現は、プロリンの代謝がWKYとSHR、SPでは異なっている可能性が示された。またプロリダーゼの酵素活性がSHR>SPであり、G6PDHの酵素活性も同様の結果であった。2種の酵素活性は低酸素条件によつての変化は見られず、SPは元々これらの活性が低いものと考えられた。現在GSH量の差や低酸素誘導因子、p-AKT、AMPK α などのタンパク質発現を解析中である。