

## 27V-am01

ラット脳アストログリア細胞を用いた脳卒中発症因子の探索—硫化水素の関与—  
○十萬 佐知子<sup>1</sup>, 奈良 安雄<sup>1</sup>, 安井 菜穂美<sup>1</sup>, 高道 二千香<sup>1</sup>, 奥田 浩人<sup>1</sup>, 三木 知博<sup>1</sup> (武庫川女大薬)

〔目的〕硫化水素( $H_2S$ )は近年、新しい神経伝達物質として、また強力な還元性物質であるとして注目されており、血管拡張作用も持つことも明らかになってきている。このことが脳卒中発症に関連する因子として働く可能性があると考え、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(SHRSP)の胎児脳由来アストログリア細胞を用いて、低酸素条件下または過酸化水素( $H_2O_2$ )を添加し、細胞内還元状態をグルタチオンやタンパク質のSH基の染色、 $H_2S$ の定量、またその産生酵素遺伝子、タンパク質発現の相違について調べた。

〔方法〕SHR、SHRSP胎児脳由来アストログリア細胞を播種し、 $H_2O_2$ 100 $\mu$ Mを添加し、20% $O_2$ と0.1% $O_2$ 条件下でそれぞれ培養した。24時間後にグルタチオンとタンパク質SH基検出蛍光物質(ThiolTracker™Violet)を結合させて染色し、プレートリーダーにて蛍光強度の測定を行った。また $H_2S$ 検出蛍光物質(SF4)にて染色し、蛍光顕微鏡下(キーエンス社)にて撮影した画像より定量を行った。さらに培養後得られたtotalRNAと細胞溶解液を用いてPCRおよびWestern blottingを行い、 $H_2S$ 産生酵素であるCystathionine  $\beta$ -synthaseやCystathionine  $\gamma$ -lyaseの発現を解析した。

〔結果・考察〕SHRに比較し、SHRSPの脳アストログリア細胞では $H_2S$ の有意な低下が見られた。またグルタチオンとタンパク質SH基についてもSHRSPで有意に低かった。各細胞の蛍光強度は $H_2O_2$ 添加により有意に減少したが、SHRSPはSHRよりも減少が有意に大きく、このことは $H_2O_2$ に対してSHRSPの細胞がSHRよりも脆弱であることの理由となる可能性がある。さらに $H_2S$ 産生酵素の遺伝子発現およびタンパク質発現についても合わせて発表する。