

44. 高血糖暴露は代償的ミトコンドリア機能増加を誘導し、細胞耐性に寄与する

内科学（内分泌代謝）

柳一徳, 鈴木國弘, 相良匡昭, 友常孝則,
城島輝雄, 飯嶋寿江, 麻生好正

【目的】種々の状況に依存するが、酸化ストレスは細胞障害を誘導するか、前段階型の過程を経て代償的で保護的なフェノタイプを作り出すことができる。糖尿病合併症の誘因として高血糖性の内皮細胞障害によるエフェクター機構としての PARP-1 の活性化の存在が指摘されてきたが、今回細胞レベルで糖濃度の差異が酸化ストレスと PARP-1 活性化、ミトコンドリア機能に与える影響を各種検査で評価した。

【方法】ヒト内皮細胞の EA.hy926 細胞を用いて、3種の異なる糖濃度溶液（5 mM, 25 mM, 40 mM）で10日間培養。培養細胞と細胞由来のタンパク抽出物や DNA 由来 PCR 産物を用いて、酸化ストレスを MTT・LDH・ATP アッセイ、PARP-1 活性はタンパク抽出物より Western blotting 法で検出、MitoSOX にて ROS 産生と PARP-1 発現を確認した。ミトコンドリア DNA は、semi-quantitative, long-amplicon PCR で増幅し傷害の程度を比較。バイオジェネチックパラメーターを Extracellular Flux Analysis で測定した。コントロールは 5 mM ブドウ糖溶液下培養細胞を用いた。

【結果】培養液の糖濃度増加は、濃度依存的に培養細胞に酸化ストレス傷害を与えたが、一方で代償的なストレス耐性を誘導した。40 mM の高濃度糖溶液は、種々のバイオパラメーターの向上に寄与し、PARP-1 の発現を減少、ミトコンドリア DNA の傷害を 25 mM ブドウ糖溶液より減少させた。

【結論】極度の高血糖環境下で培養されたヒト内皮細胞では、PARP-1 の発現は減少していた。それは、保護的なミトコンドリア機能の増加に貢献する可能性があり、酸化ストレス耐性の細胞質内フェノタイプを産生し得る。

45. ラットおよびマウスにおける麻酔・安楽死方法の相違による血液パラメーターに与える影響

獨協医科大学実験動物センター

寺田 節, 今 弘枝, 篠田元扶

【目的】動物実験に際し、血液学的検査を行う機会は多い。特に全血球計算および血液生化学的検査は最も汎用される検査法である。ラットおよびマウスの血液学的検査において、多量の血液を必要とする場合、麻酔下または安楽死後において後大静脈等から採血を実施することが一般的である。しかしながら、これら麻酔および安楽死方法の相違が血液検査結果に与える影響について詳細に解析した報告がないため、麻酔および安楽死方法の選択を検証する必要がある。このため、我々は麻酔方法3種類と安楽死方法2種類を用いて、方法の相違が血液パラメーターに与える影響を検討した。

【方法】ラット (Wistar) およびマウス (BALB/c) の雄 10 週齢を用いた。麻酔・安楽死方法として、①ペントバルビタール Na+ブトルファノール (PB 群)、②イソフルラン吸入麻酔 5% 導入 3% 維持 (ISO^{3%}群)、③塩酸メデトミジン+ミダゾラム+ブトルファノール (MMB 群)、④炭酸ガスによる安楽死 (CO₂ 群)、⑤イソフルラン吸入麻酔薬過剰吸入による安楽死 (ISO^{over} 群) 以上の 5 種類の方法後、採血を行い、WBC, RBC, HGB, Ht 値, PLT, ALB, ALP, ALT, AMY, TBIL, BUN, Ca, P, CRE, GLU, Na, K, TP, GLOB, CHOL および TRIG の計 21 項目を測定した。

【結果および考察】CO₂ 群および ISO^{over} 群の安楽死を行った群において、WBC, ALT, ALP および GLU などで有意に変動しており、麻酔・安楽死方法の相違によって各血液パラメーターに影響を与えることが明らかとなった。また、これら方法が異なる実験および論文を比較検討するうえで重要な指標となると考えられ、原因の追究が今後の課題と考えられた。