一般 15

ヒト臍帯静脈内皮細胞を用いた低酸素血管内皮障害に対する尿酸の影響

大谷 直由¹⁾ 大内 基司¹⁾ 相馬 良一²⁾
井上 晃男³⁾ 安西 尚彦¹⁾

ヒトなどの高等哺乳類では尿酸をアラントインに変換する酵素であるウリカーゼが欠損しているため、血中の尿酸が高濃度で存在する。一方、その他の多くの哺乳類では血中の尿酸は低濃度でしか存在しないが、ビタミンCを合成することができる。よってヒトでは生体内の抗酸化物質として尿酸を用い、その他多くの哺乳類ではビタミンCを用いる傾向にあると言われている。

低酸素症で、血漿中の尿酸濃度が増大する報告がある。被験者を高地に移動させ順応を見た臨床の実験では、高地に移動すると直後は血漿中の酸化ストレスのマーカーが増大した。しかし、日を追うごとに、血漿中の尿酸濃度が増大し、酸化ストレスマーカーは減少した。すなわち、低酸素に暴露された生体が尿酸を産生し、抗酸化に作用したと考えられる。

このように、尿酸自体が抗酸化作用を有していることは良く知られている。一方で、尿酸は血管内皮細胞に作用して炎症や酸化ストレスを惹起することも報告されている。尿酸は、抗酸化作用として働く血管保護に重要な役割を果たす善玉因子と血管の炎症を引き起こす悪玉因子との両面があると考えられる。

そこで、尿酸がヒト臍帯静脈内皮細胞保護作用を示すか、細胞障害をきたすかを検討することを目的とし、血流、神経、ホルモンなどの影響が除外され、薬剤の細胞に対する直接的影響の研究に適したin vitro培養系で行った。

ヒト臍帯静脈内皮細胞 (HUVEC) を用いて低

酸素条件下での血管内皮障害に対する尿酸の影響について検討した。HUVECは96well plateに10 μ l, 1.0 $\times$ 10⁴ 個の濃度でそれぞれ播種し通常の好気性培養条件下 (37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂, 95% air) で静置培養し、培養翌日に尿酸、ビタミンC、アデノシンをそれぞれ加えた。低酸素血管内皮障害はウォータージャケット型パーソナルCO₂/マルチガスインキュベーター APM-30DR (ASTEC社) を用い培養条件を37 $^{\circ}$ C低酸素条件 (1%O₂) にして24時間培養することで惹起させ細胞の生存率 (MTT assay) を評価した。

初めにMTT assayで細胞生存率の時間経過を確認した。好气的条件では細胞増殖が起きるのに対し、低酸素条件では細胞増殖が抑えられた。24時間時点での培養条件を好气的条件から低酸素条件に置換すると、細胞生存率は、好気性条件下での細胞生存率を100%とした時、81.9%と有意に低下し、低酸素による細胞障害を惹起させた。一方、好気性条件では尿酸の影響に差は認めなかった。

尿酸存在下での細胞生存率は、好気性条件下での細胞生存率を100%とした時、0.6mMの尿酸を加えると70.9%、1mM尿酸を加えると64%と有意に低下した。一方、ビタミンC投与下では、好气的条件下での細胞生存率を100%とすると、ビタミンC200nMを加えると96.7%、300nMのビタミンCを加えると102%と細胞生存率は改善し、低酸素による細胞保護効果を認めた。

アデノシンはプリン体であり、プリン体代謝の上流にあり尿酸と構造的に似ている。そのアデノシン

1) 獨協医科大学 薬理学講座
2) 獨協医科大学 研究支援センター
3) 獨協医科大学 心臓・血管内科

Naoyuki Otani, Motoshi Ouchi, Naohiko Anzai,
Ryoichi Soma
Teruo Inoue

を用い比較したが、細胞生存率には、なんら作用を示さなかった。以上より、尿酸が特異的に細胞障害を起こしていると考えられる。

次に活性酸素の一つである、*speroxide dismutase* (SOD)を用い、低酸素条件下における尿酸の作用

を検討した。今回の実験では、SODの産生は少なく有意な差は認めなかった。

今後、尿酸は細胞内に取り込まれて働くかどうか検討するため、プロベネシドやベンズプロマロンによる阻害実験を行う予定である。