

論 文 要 旨

The antioxidant *N*-acetyl cysteine suppresses lidocaine-induced intracellular reactive oxygen species production and cell death in neuronal SH-SY5Y cells

(抗酸化物質のN-アセチルシステインは神経系のSH-SY5Y細胞におけるリドカインが誘導する細胞内の活性酸素種産生や細胞死を抑制する)

関西医科大学麻酔科学講座
(指導：上林 卓彦 教授)

岡本 明久

【背景及び研究目的】

局所麻酔薬であるリドカインがネクローシスやアポトーシスを誘導し、脊椎麻酔後の馬尾症候群のような一過性あるいは永続的な神経障害をきたすことが示されている。アポトーシスを誘導する経路では細胞表面のdeath receptorsやミトコンドリアが関与しており、また活性酸素種(ROS)がアポトーシスにおいて重要な役割を果たしていると言われている。リドカインが誘導する細胞死がミトコンドリアを介すると報告されているが、ROSがこの過程で関与しているかどうかはわかっていない。今回の研究でリドカインによる細胞死がミトコンドリア由来のROSに依存し、また抗酸化剤によって防止できるかを検討した。

【研究方法】

局所麻酔薬や抗酸化物質の効果をヒト神経芽細胞腫細胞株のSH-SY5Y細胞、ヒト子宮頸癌由来細胞株のHeLa細胞、ミトコンドリアDNAが欠損しているHeLa細胞(EB8細胞)、野生株のHeLa細胞のミトコンドリアDNAをEB8細胞と融合させて得られた細胞質雑種(HeEB1細胞)を使用して検討した。抗酸化剤はN-アセチルシステイン(NAC)、Troloxと細胞内での酸化還元を調節しているthioredoxin(TRX)を誘導するgeranylgeranylacetone(GGA)とrecombinant human TRX(rhTRX)を使用した。cell viabilityはMTS/PES assay、cell apoptosisとnecrosisはflow cytometry、caspase3/7、9活性とLDH放出濃度を測定した。ミトコンドリア膜電位はflow cytometryで測定した。

【結果】

局所麻酔薬は時間容量依存性に細胞生存率の低下、ミトコンドリア呼吸鎖の抑制を示す酸素消費量の低下、ミトコンドリア膜電位の低下、ROS産生増加、caspase3/7、9の活性増加を示し、アポトーシスやネクローシスを誘導した。10mMのリドカインはLDH放出濃度の増加が認められ、高濃度になるとアポトーシスに加え直接的な細胞障害を引き起こすと考えられる。ミトコンドリアDNA欠損細胞を使用するとcaspase3/7活性と細胞死が野生株よりも抑制された。またミトコンドリア呼吸鎖の抑制剤とリドカインを併用すると細胞生存率の低下、caspase3/7活性とROS産生の増加が認められたことより、リドカインが誘導するアポトーシスにミトコンドリアが関与していることが示唆された。NACの使用によりミトコンドリアで発生するROSを減少させ、局所麻酔薬が誘導する細胞死を抑制することがわかった。Trolox、GGA使用でも同様の効果が認められた。

【考察】

培養細胞を用いた実験にて、局所麻酔薬は時間容量依存性にアポトーシス、ネクローシスをきたすことがわかった。ミトコンドリアDNA欠損細胞やミトコンドリア呼吸鎖の阻害剤を使用することによって局所麻酔薬によるアポトーシス

はミトコンドリアを介することがわかった。また抗酸化剤の使用によってアポトーシスを軽減できたことから、ROSの産生を減らすことで局所麻酔薬による細胞障害を抑制できる可能性が示唆された。