

論 文 要 旨

Propofol induces a metabolic switch to glycolysis and cell death in a mitochondrial
electron transport chain-dependent manner
(プロポフォールはミトコンドリアの電子伝達系を介して代謝を解糖系に
シフトさせて細胞死を誘導する)

関西医科大学麻酔科学講座
(指導：上林 卓彦 教授)

角 千里

【はじめに】

プロポフォールは麻酔・集中治療領域で広く用いられている鎮静剤であるが、propofol infusion syndrome (PRIS)という稀ながらも致死的な合併症を生じる可能性があり、その機序の解明が求められている。PRIS は代謝性アシドーシス・横紋筋融解・腎不全等全身の様々な臓器に障害を齎すことから、我々は神経・腎・筋系など多様な出自の細胞、そして PRIS の発症機序として細胞のミトコンドリア機能の障害が示唆されることからミトコンドリア DNA 異常をもつ細胞やミトコンドリア機能を抑制する薬剤を用いて、プロポフォールが細胞にもたらす影響を明らかにした。

【研究方法】

まず神経芽細胞腫由来 SH-SY5Y 細胞にプロポフォール(2,6-diisopropylphenol)を 12.5~150 μ M で 3~12 時間投与し、PI-anexin 染色を用いたフローサイトメトリー(FCM)やカスパーゼ活性測定を行い、プロポフォールへの暴露濃度・時間に対する細胞死への影響を検討した。筋原細胞 C2C12 細胞、子宮頸癌細胞 HeLa 細胞、肺癌細胞 P29 細胞といった様々な細胞でも同様に検討を行った。続いて 12.5~100 μ M のプロポフォールに 6 時間暴露し、フラックスアナライザーを用いた細胞内代謝の変化(OCR・ECAR)を評価し、又ミトコンドリア代謝過程におけるプロポフォールの作用部位を同定した。そしてプロポフォールによる細胞死にミトコンドリアでの活性酸素(ROS)の産生が関与していることを示す為、25~100 μ M のプロポフォールに 3~6 時間暴露させて ROS 産生を定量し、続いてプロポフォール 50~100 μ M に抗酸化剤である N-アセチルシステイン(NAC)10mM を併用し細胞死への影響を検討した。

さらに、ミトコンドリア DNA の部分変異を持ち基礎状態で complex 活性の部分低下を持つ P29mtA11 細胞やミトコンドリア DNA を持たない p0 細胞に対し、12.5~100 μ M のプロポフォールを投与し前述の細胞死や代謝をカスパーゼ活性やフラックスアナライザーを用いて評価した。最後にミトコンドリア機能を薬剤的に抑制した場合のプロポフォールによる細胞障害への影響を検討するために、ビグアナイド系糖尿病薬の metformin 2.5~20 μ M・phenformin 5~15 μ M をプロポフォール 12.5~100 μ M と併用し、同様の細胞死・代謝の評価を行った。

【結果】

SH-SY5Y 細胞ではプロポフォール 50 μ M 以上を 6 時間投与した場合に細胞死が惹起され、25 μ M ではより長時間の 12 時間暴露すると細胞死が引き起こされた。これは C2C12 細胞、HeLa 細胞、P29 細胞でも同様であった。また細胞死を引き起こしたプロポフォール暴露条件において、ミトコンドリアの complex I・II・III を抑制することで好気性代謝が抑制され嫌気性代謝へのシフトが生じ、ROS 産生の増加が生じた。そしてこの作用は NAC で ROS を消去することにより打ち消された。

又ミトコンドリア機能低下を基礎に持つ P29mtA11 細胞では、12.5~25 μ M の

低濃度のプロポフォルであつても細胞死が誘導され、metformin・phenforminでミトコンドリア機能を抑制した場合にも同様のプロポフォルへの脆弱性が示された。逆に p0 細胞では 50 μ M6 時間のプロポフォル暴露による細胞死に抵抗性になった。

【考察】

プロポフォルはミトコンドリアの complex I・II・IIIを抑制することで細胞の代謝変化を惹起し ROS を産生して細胞死を誘導する。この作用は遺伝的・薬剤的なミトコンドリア機能抑制状態においてより増強され、臨床使用濃度・時間にあつても細胞に影響を及ぼすと考えられる。