

局所麻酔剤が細胞膜に形成される特異的膜領域「脂質ラフト」に及ぼす影響

(九大院理¹⁾ ○田中 康裕¹・木下 祥尚¹・松森 信明¹

Effects of local anesthetics on lipid rafts formed in live cell-membranes (¹Graduate School of Science, Kyushu University) ○Yasuhiro Tanaka,¹ Masanao Kinoshita,¹ Nobuaki Matsumori¹

Ordered membrane domains, called "lipid rafts", recruits anesthetically relevant sodium-channels and, thus, lipid rafts are assumed to play important roles in anesthetics action. Previously we reported that a representative local anesthetic dibucaine (Dib) inhibits raft formation using artificial membranes¹⁾. However, influence of Dib on lipid rafts in live cell membranes remains unknown. In the present study, we investigated the impact of LA on the lipid rafts formed in neuroblastoma cell line (Neuro-2a).

We first labeled lipid rafts by two different fluorescent SM analogs (488 neg-SM and 594neg-SM; inclusively termed neg-SMs), which forms excellent FRET pair. Then, Dib solution was exogenously added to the Neuro-2a cells. As a result, Dib enhances fluorescence resonance energy transfer (FRET) between neg-SMs. This result indicates that, in contrast to the model membrane study, Dib promotes assembly of SMs, which suggests the formation of lipid rafts. In the presentation, we will also report the results of observations using polarity-sensitive dyes, and discuss the mechanism for anesthetically induced lipid-raft formation.

Keywords : Local Anesthetic; Lipid Raft; sphingomyelin; neuroblastoma cell

局所麻酔薬の標的となるいくつかのナトリウムチャネルは細胞膜に存在する秩序的膜領域「脂質ラフト」に集積して機能する。以前当研究室では、人工モデル膜を用いた研究で代表的局所麻酔薬であるジブカイン(Dib)がラフト様秩序相の形成を阻害することを明らかにした¹⁾。しかし、Dib が実際の細胞膜に存在する脂質ラフトに及ぼす影響については未解明なままである。a) 本研究では Dib が神経細胞膜に形成される脂質ラフトに及ぼす影響を調査した。

まず、マウス神経芽腫細胞(Neuro-2a)膜に二色の蛍光 SM 類似体(neg-SMs)を導入することで、脂質ラフトを標識した。次に neg-SMs 間に生じる FRET 効率を比較したところ、Dib 添加により FRET 効率が増加した (Fig. 1)。このことは、Dib が neg-SM の凝集(つまり、脂質ラフトの形成)を促進することを示唆している。発表では、極性感受性色素を用いた観察結果もあわせて報告し、神経細胞膜で人工膜とは異なる結果が得られた理由や、麻酔作用発現の機序について考察する。

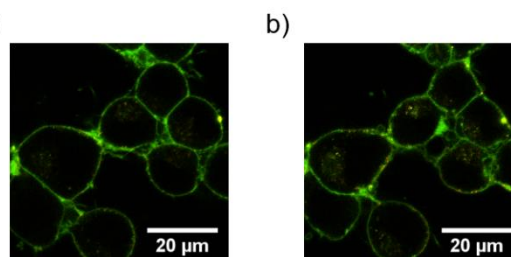


Fig.1 蛍光 SM 標識した Neuro-2a の Dib 添加前(a)と後(b)の蛍光顕微鏡画像 (ドナー蛍光を緑、FRET により生じたアクセプター蛍光を赤色で表示)

1) Kinoshita *et al.* 2019. *Biochim. Biophys. Acta. -Gen. Subj.* **1863**, 1381-1389