

PROPOFOL 保護腦血管內皮細胞免於氧化壓力傷害之分子機制研究

究

MOLECULAR MECHANISMS OF PROPOFOL-CAUSED PROTECTION AGAINST OXIDATIVE STRESS-INDUCED INSULTS TO CEREBRAL ENDOTHELIAL CELLS

中文摘要

缺血性中風為國人常見的疾病，在腦部缺血後再灌流時會產生大量的氧化壓力如一氧化氮(nitric oxide; NO)或者是過氧化氫(hydrogen peroxide; H₂O₂)等自由基，進而造成組織以及細胞的傷害。腦血管內皮細胞(cerebral endothelial cells)為血腦障壁(blood-brain barrier)的組成之一，能抵抗血管中的有害物質進入腦部造成損傷。Propofol 為臨床上常用的靜脈注射麻醉藥物，研究證實臨床濃度的 propofol 具有抗氧化的特性並可以保護巨噬細胞、骨母細胞免於氧化壓力的傷害，但是對於腦血管內皮細胞是否具有保護作用仍不清楚。因此本研究中將以小鼠腦血管內皮細胞探討 propofol 是否能夠保護腦血管內皮細胞免於氧化壓力的傷害，並以大鼠中腦動脈栓塞模式探討 propofol 是否能夠保護血腦障壁免於缺血後再灌流所導致的損傷。

在本研究中以 sodium nitroprusside (SNP)做為 NO 的提供者，利用 NO 以及 H₂O₂ 做為氧化壓力的來源，以 MTT 色度分析法，偵測不同濃度的 NO 以及 H₂O₂ 處理腦血管內皮細胞 24 小時後，細胞粒線體中琥珀去氫酶的活性。在 0.5 mM 的 SNP 處理下，腦血管內皮細胞的存活率減少了 46%，而以 1 mM H₂O₂ 處理後，則減少了 90%。在型態上也可以發現到原本呈現類纖維母細胞型態的腦血管內皮細胞出現 shrinkage 的現象，進一步利用流式細胞儀也可以發現 NO 以及 H₂O₂ 會透過細胞凋亡機制而導致腦血管內皮細胞死亡。而在與 propofol 共同處理時，則能夠回復因 NO 及 H₂O₂ 而降低的細胞存活率，減少細胞型態的改變，並能夠透過抗細胞凋亡機制而達到保護作用。此外，腦血管內皮細胞在 NO 的處理之下，會增加壓力蛋白如 HO-1、Cox-2 以及 SATB-2 的增加，而加入 propofol 之後，則能夠降低壓力蛋白的表現。利用流式細胞儀以及色度分析法分別偵測細胞內 H₂O₂ 以及 NO 的改變，顯示 propofol 並不能減少培養液中 NO 的生成，但可以降低細胞內 H₂O₂ 的含量。而腦血管內皮細胞在經由 NO 處理之後，會增加細胞內 caspase-8 以及 caspase-9 的活性，而與 propofol 處理之後，可以抑制 caspase-9 的活化，但是對於 caspase-8 則沒有影響。而細胞之中的 Bak 與 Bax 生成量會因細胞暴露在 NO 之下而上升並轉位至粒線體上，並進一步增加細胞中 cytochrome c 的蛋白表現，最後活化 caspase 相關路徑而導致細胞 DNA 斷裂(DNA fragmentation)。而腦血管內皮細胞處理 propofol 之後，能夠抑制腦血管內皮細胞之中因 NO 所誘導的 Bak、Bax 的轉位作用以及生合成，進而降低細胞中

cytochrome c 的蛋白表現，減少 DNA 斷裂現象。

最後使用大鼠中腦動脈栓塞做為動物模式，利用 Evans blue dye 能夠觀察血腦障壁的通透性。在腦部缺血後再灌流時 24 小時後，能夠增加腦部組織中 Evans blue dye 的殘留量，而利用 propofol 能夠減少其殘留量。

綜合以上結果可以知道，臨床濃度的 propofol 透過抗細胞凋亡機制以保護腦血管內皮細胞免於 NO 以及 H₂O₂ 的傷害。而 propofol 能夠直接清除 H₂O₂ 所產生的氧化壓力，但不能影響 NO 的含量。腦血管內皮細胞在 propofol 的處理之下能夠降低因為 NO 所誘導的壓力蛋白，並能透過抑制粒線體相關凋亡路徑機轉以達到保護作用。而在動物模式之中，propofol 也能降低因缺血後再灌流所導致血腦障壁的通透性增加，保持血腦障壁的完整性。

英文摘要