

Lidocaine과 Propofol이 마우스에서 림프구세포증식에 미치는 효과

정수룡¹, 김종성¹, 김광혁

고신대학교 의과대학 미생물학교실¹, 동의대학교 동의의료원 내과

Effects of Lidocaine and Propofol on Lymphocyte Proliferation in Mice

Su Ryoung Chung¹, Jong Seong Kim¹, Kwang Hyuk Kim

Department of Microbiology, Kosin University College of Medicine, Busan, Korea

¹Department of Internal Medicine, Dong Eui Medical Center, Dong Eui University, Busan, Korea

Abstract

Background: The possibility that anesthesia may alter the course of an infection has been under consideration for more a century. Alterations have been found in every component of the immune response during anesthesia and surgery. In this work we have investigated the effect of lidocaine and propofol on the stimulatory proliferative effects of these agents on splenocytes of mice. **Methods:** Mice splenocytes were incubated with anesthetic agents and concanavalin A (Con A) to observe the effects on cell proliferation. **Results:** We detected a little anesthesia-associated changes in splenocytes proliferation. In vitro lymphoproliferation in the splenocytes exposed with lidocaine was decreased in comparison with the control, but on the other hand it exposed with propofol was increased. Also, when the cells were preincubated with lidocaine or propofol before addition of Con A, the effect of lymphoproliferation inhibition was detected. **Conclusion:** These findings suggest that lidocaine and propofol interfere with lymphoproliferation. This may explain the clinically well-recognized disturbance of human immunity after surgery and anesthesia.

Key words: Lidocaine, Propofol, Lymphoproliferation

서 론

마취가 일반적으로 면역계에 미치는 영향은 면역 방어차원에서 보았을 때 악영향을 나타내는 것으로 알려지고 있다. 마취가 감염형태를 바꿀 가능성이 상당히 오랜 기간 거론되고 있으며 이러한 감염형태 변화들은 마취와 수술하는 과정 중 모든 면역학적 반응에서 나타나고 있다.^{1,2)} 마취제를 처리한 지 수일이 지나도록 면역학적 변화가 나타나고 있음은 사람이나 실험동물에서 증명되고 있으나 수술 기중에

숙주 면역 능에 미치는 인자들이란 매우 다양하기 때문에 여러 가지 면역반응에 미치는 마취제의 직접적인 효과를 세밀히 관찰할 필요가 있다.³⁻⁵⁾

Lidocaine hydrochloride는 actanilid의 유도체이며 amide형 국소마취제로서 비교적 빈번하게 임상에 적용되고 있다. Lidocaine은 마취 발현시간이 빠르고, 국소자극증상이 거의 없다. Lidocaine 정맥주사는 항 부정맥, 항 경련, 진통효과를 나타낸다. Propofol은 정맥마취제로서 thiopental과 유사한 작용을 가진 진정 최면제이고 alkyl phenol유도체로서 물에 잘 용해되지 않는다. Propofol은 최면효과 이외에도 진정효과 등을 나타낼 수 있으며 뇌압, 뇌 대사율을 감소시키는 것으로 알려져 있다. Propofol의 장점으로

교신저자 : 김 광 혁
주소 : 602-702, 부산광역시 서구 압남동 34번지
고신대학교 의과대학 미생물학교실
TEL : 051-990-6422, FAX : 051-990-3081
E-mail : ghkim@ns.kosinmed.or.kr

는 오심, 구토의 빈도가 낮고 회복 시 숙취현상을 나타내지 않는다.⁶⁾

Howard 등⁷⁾은 실험동물인 마우스를 안락사 시킬 때 마취제의 종류에 따라 마우스 림프구증식이나 세포독성 T림프구(cytotoxic T lymphocyte, CTL)유도에 상당한 차이가 나타나는 것을 실험을 통하여 증명하였다. 즉, 마이트젠에 의한 림프구증식이 methoxyflurane이나 pentobarbital을 사용하였을 때는 증가하였지만 CTL의 유도가 pentobarbital이나 탄산가스 과노출 혹은 할로탄 과노출에 의해서 감소되는 것을 관찰하여 마취제의 종류에 따라 면역학적 반응에 영향을 줄 수 있음을 지적한 바 있다.

본 실험에서는 마우스 비장세포에 국소마취제인 lidocaine이나 정맥마취제인 propofol을 노출시켰을 때 이들 마취제가 비장세포증식에 미치는 효과를 관찰함으로써 마취제 노출에 따른 마우스의 세포성 면역반응의 일부를 이해해 보고자 하였다.

재료 및 방법

1. 연구재료

1) 실험동물

암컷 Balb/C 마우스로서 생후 8주 내외, 체중 25 g 내외 것을 한국 효창 사이언스(대구, 경북)로부터 구입하여 실험에 사용하였다.

2) 시 약

Lidocaine은 제일제약(서초, 서울)의 염산 lidocaine 주사액을 사용하였고, propofol은 동국제약(진천, 충북)의 propofol주사액을 사용하였다. Concanavalin A (Con A)는 Sigma Co. (USA) 제품을 사용하였다.

2. 연구방법

1) 림프구 세포증식효과

마우스 비장세포 분리는 다음과 같이 시행하였다. 경부를 탈구하여 희생시킨 마우스로부터 비장을 무

균적으로 적출하여 4℃의 Hank's balanced salt solution (HBSS, Gibco, Grand Island, NY, USA)으로 2회 세척하였다. 이를 직경 60 mm 조직배양용 접시 (Costar, Cambridge, MA, USA)에 옮기고 다시 신선한 HBSS를 가한 후 핀셋으로 가볍게 문질러 비장세포를 유리시켰다. 이 세포 부유 액을 15 ml 원심 관 (Falcon, Oxnard, U.S.A.)에 옮긴 후 2~3 분 동안 실온에 방치한 다음 세포 부유 액의 상층 액을 새로운 15 ml 원심 관에 옮겼다. 이 세포를 200 g 에서 5~10분 원심한 후 HBSS로 1회 원심 세척한 다음 증류수와 10배 농축 phosphate buffered saline (PBS)를 이용하여 혼합된 적혈구를 용해시킨 후 HBSS로 2회 원심 세척하여 사용하였다. 림프구에 대한 세포증식 효과는 상기와 같이 준비된 비장세포(2×10^6 cells/ml)를 96 wells microplate에 100 μ l 씩 분주하고 lidocaine 액은 배양액 ml당 10, 100, 200 μ g 씩 되게 적하하였고, propofol 액은 배양액 ml당 2.5, 25, 50 μ g 씩 되게 적하하였다. Con A 농도는 ml당 2 μ g이 되게 사용하였다. Con A와 복합으로 lidocaine이나 propofol을 작용시킬 때는 Con A와 동시, Con A작용 2시간 전, Con A 작용 2시간 후와 같은 3군으로 나누어 시행하였다. 분주가 완료된 plate는 5% CO₂, 37℃ 그리고 충분한 습도가 유지되고 있는 배양기에 3일 동안 배양하였다. 3일 배양 후에 plate의 각 well에 MTT (PBS 1ml 당 5 mg의 3-(4,5-dimethyl-thiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-tetrazolium bromide)액 10 μ l 씩을 적하하고 4.5시간 추가 배양하였다. 시간이 경과된 후 10% SDS-0.02M HCl액 25 μ l 씩을 well에 적하하여 실온과 암실조건에서 하룻밤 방치하였다. Optical density (OD)는 microplate reader (Model 550 microplate reader, Bio-Rad, Richmond, USA)를 이용하여 540 nm 에서 측정하였다.

2) 통계학적 분석

실험성적은 평균 또는 평균±표준편차로 나타냈으며 각 군 간 통계학적 검정에는 Student's t-test를 사용하고 P값이 0.05 미만일 때 유의 있는 차로 간주하였다.

결 과

림프구 세포 증식 효과

정상마우스의 비장세포에 lidocaine을 노출시킨 후 나타나는 림프구 증식은 PBS노출군인 대조군에 비하여 10, 100 μ g의 lidocaine 작용군에서 약간의 감소가 나타났지만 의미 있는 감소는 보이지 않았으며 200 μ g의 lidocaine 작용군에서는 유의하게 감소하였다(Fig. 1). Propofol을 노출시킨 군에서는 25, 50 μ g 작용군들에서 오히려 증가를 나타냈고 50 μ g 작용군에서는 의미 있는 증가를 보였다(Fig. 2). 세포자극 물질인 Con A 2 μ g과 lidocaine 10 μ g을 작용시켰을 때 Con A와 lidocaine의 작용순서에는 크게 영향을 받지 않았지만 Con A단독 자극에 의한 세포증식을 저해하였다. Con A 2 μ g과 lidocaine 100 μ g을 작용시켰을 때에도 Con A 단독 자극에 의한 세포증식을 저해하였으며 저해효과는 lidocaine을 작용시킨 지 2시간 후에 Con A를 작용시킨 군에서 가장 크게 나

타났다. Con A 2 μ g과 lidocaine 200 μ g을 작용시켰을 때에는 Con A단독 자극에 의한 세포증식을 크게 저해하였으며 저해효과는 lidocaine을 작용시킨 지 2시간 후에 Con A를 작용시킨 군에서 가장 크게 나타나 Con A를 작용시키지 않은 대조군보다 세포농도가 유의하게 낮았다(Table 1). Con A 2 μ g과 propofol 2.5 μ g을 작용시켰을 때 Con A와 lidocaine의 작용순서에 영향을 받지 않았지만 Con A단독 자극군보다 세포농도가 높았다. Con A 2 μ g과 propofol 25 μ g을 작용시켰을 때에는 Con A와 propofol을 동시에 작용시키거나 Con A를 먼저 작용시킨 군들에서는 Con A단독 자극군에 비하여 세포농도가 높았지만 propofol을 먼저 작용시킨 군에서는 Con A 단독군보다 낮게 나타났다. Con A 2 μ g과 propofol 50 μ g을 작용시켰을 때에는 Con A와 propofol을 동시에 작용시키거나 propofol을 먼저 작용시킨 군들에서는 Con A단독 자극군에 비하여 세포농도가 낮았지만 Con A를 먼저 작용시킨 군에서는 Con A 단독군보다 높게 나타났다(Table 2).

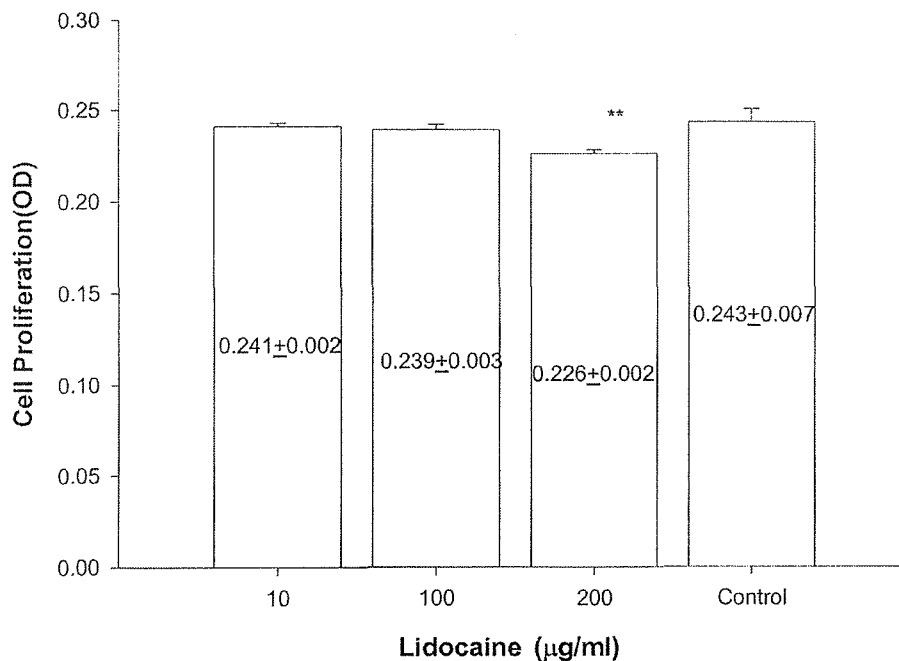


Fig. 1 Effect of lidocaine on the proliferation of mouse spleen cells in culture. Proliferation was determined as described in materials and methods. Values are given as the mean OD $\pm$ SD of triplicate cultures of one representative experiment. ** P<0.01 compared to corresponding control (PBS alone).

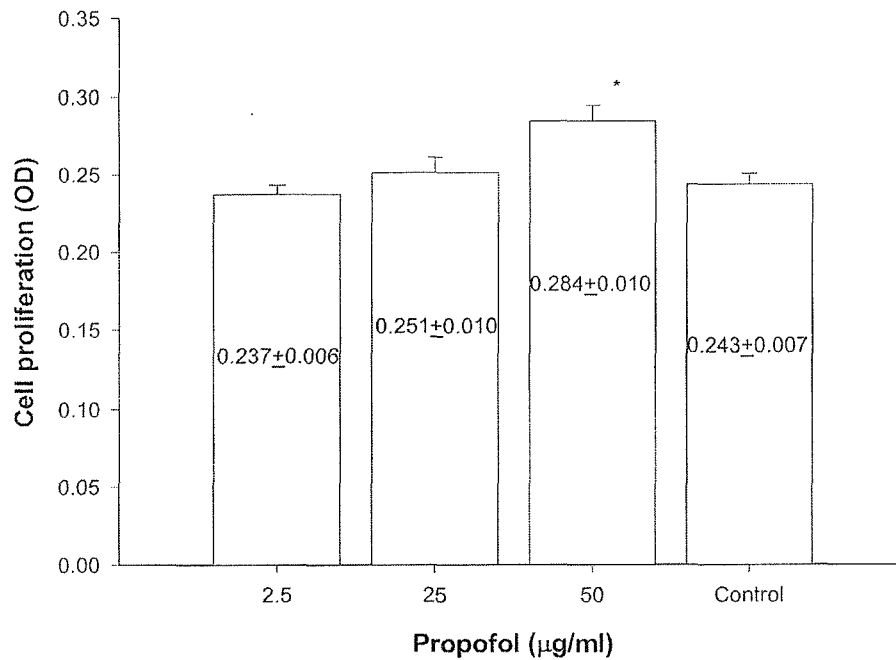


Fig. 2 Effect of propofol on the proliferation of mouse spleen cells in culture. Proliferation was determined as described in mater and methods. Values are given as the mean OD±SD of triplicate cultures of one representative experiment. * P<C compared to corresponding control (PBS alone).

Table 1. Effect of lidocaine and Con A on proliferation of mouse splenocytes

Agents	Optical density (540 nm)		
	A	B	C
Con A+lidocaine, 10μg	0.356±0.012**	0.348±0.015*	0.349±0.009**
Con A+lidocaine, 100μg	0.320±0.005**	0.283±0.003**	0.318±0.008**
Con A+lidocaine, 200μg	0.249±0.007**	0.198±0.007**	0.263±0.018**
Con A	0.418±0.008		
Control	0.243±0.007		

Mouse splenocytes were exposed with Concanavalin A (Con A, 2μg), Con A (2μg) + lidocaine, and PBS (control) each for 72 hr. ; Cells were incubated with lidocaine and Con A at same time. B : Cells were preincubated with lidocaine for 2 hrs at 37°C before addition of Con A. C : Cells were preincubated with Con A for 2 hrs at 37°C before addition of lidocaine. Data are mean±SD. **P<0.01 and *P<0.05 compared to Con A group.

Table 2. Effect of propofol and Con A on proliferation of mouse splenocytes

Agents	Optical density (540 nm)		
	A	B	C
Con A + propofol, 2.5μg	0.439±0.020	0.435±0.034	0.452±0.023
Con A + propofol, 25μg	0.449±0.024	0.399±0.024	0.438±0.027
Con A + propofol, 50μg	0.395±0.014	0.404±0.010	0.438±0.026
Con A	0.418±0.008		
Control	0.243±0.007		

Mouse splenocytes were exposed with Concanavalin A (Con A, 2μg), Con A (2μg) + propofol, and PBS (control) each for 72 hr. ; Cells were incubated with propofol and Con A at same time. B ; Cells were preincubated with propofol for 2 hrs at 37°C before addition of Con A. C ; Cells were preincubated with Con A for 2 hrs at 37°C before addition of propofol. Data are mean±SD.

고 찰

Lockwood 등⁸⁾은 쥐에 몇 종류의 마취제를 각각 처리했을 때의 일정항원에 대한 항체생성에 미치는 영향을 관찰하였는데 pentobarbital, chloral hydrate 처리 군에서는 항체 생성이 감소하였으나 halothane, methoxyflurane, ketamine/ xylazine 처리 군에서는 이러한 감소를 보이지 않음으로서 일부 마취제가 수술 후 감염에 영향을 미칠 수 있음을 제의한 바 있다. Elena 등⁹⁾은 흡입마취제인 halothane을 반복적으로 쥐에 처리하였을 시 면양 적혈구에 대한 항체를 생성하는 B세포수가 증가하지만 같은 항원에 대한 지연 형 과민반응에는 영향을 주지 않음으로서 halothane 반복노출이 면역반응을 바꿀 가능성을 지적하였다. Correa-Sales 등¹⁰⁾은 thiopental을 사용한 환자 혈액을 이용한 실험을 통하여 말초 림프구의 항원 특이적인 림프구의 증식을 보고하였다. Brand 등¹¹⁾은 마취제가 사람 면역 방어기구에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 마취제 fentanyl, thiopental, isoflurane으로 처리된 사람의 혈액에서 natural killer(NK)세포, B세포, T세포 수의 변화를 조사하였다. 여기에서 NK세포의 유의한 감소, B세포와 CD8+T세포의 유의한 증가를 보임으로서 이러한 마취제들이 면역 세포 수 그리고 면역세포반응에 간접 현상을 나타낼 것임으로 마취제노출후의 면역의 교란상태를 이것으로 설명할 수 있다고 하였다.

본 실험에서는 마취제인 lidocaine이나 propofol이 림프구 세포증식에 미치는 효과를 보기로 하였다. lidocaine의 경우 마우스 비장세포에 lidocaine만을 작용시켰을 때 세포 증식을 약간 저해하는 효과를 발휘했으며 고농도(200 μ g/ml)에서는 유의한 저해효과를 보였다. 따라서 임상에서의 lidocaine 사용량은 주의할 요한다 하겠다. 세포증식의 자극물로서 작용하는 Con A와 함께 lidocaine을 작용시킬 경우 작용시키는 물질의 작용순서에 따라서도 세포증식에 상당한 차이를 보였다. 즉, lidocaine이 먼저 작용되고 2시간

후에 Con A가 작용되었을 때에 세포증식의 저해효과가 가장 크게 나타남으로서 lidocaine에 의해서 영향을 받은 세포는 Con A의 작용을 받더라도 원활하게 세포증식이 일어날 수 없음을 의미한다. Propofol의 경우 마우스 비장세포에 propofol만을 작용시켰을 때 세포 증식이 농도가 증가되면서 증가하는 효과를 발휘함으로서 일정농도까지는 세포증식이 증가할 것으로 예상되어 lidocaine과는 다른 양상을 보였다. 따라서 일정농도까지는 세포증식의 자극물로서 작용할 것으로 생각된다. Propofol과 Con A를 함께 작용시켰을 경우 propofol 저농도(2.5 μ g/ml)에서는 Con A 단독 처리 때보다 세포수가 증가함으로서 propofol 단독 처리 때와 같은 양상을 보였다고 할 수 있겠으나 일정농도이상(25 μ g/ml 이상)에서는 propofol을 작용시키고 2시간 후에 Con A를 작용시키면 Con A 단독처리 때보다 감소함으로서 일정농도이상에서는 세포증식에 저해적으로 작용될 수 있음을 보여준 결과이다.

결 론

마우스의 비장세포에 국소마취제인 lidocaine이나 정맥마취제인 propofol의 노출에 따른 림프구 증식 실험을 통하여 마우스의 세포성 면역반응을 이해하고자 하였다.

마우스 비장세포 증식에 있어서 lidocaine에 의해서 감소를, propofol에 있어서는 증가를 보임으로서 마취제 종류에 따라 세포증식에 차이가 나타날 수 있음을 알 수 있었다. 따라서 마취제가 생체세포의 증식에 관여될 가능성에 의하여 생체 면역계에 미치는 영향을 고려할 때, 부득이 사용할 수밖에 없다할 지라도 최소 유효량만을 사용하는 것이 필요하다 하겠다. 또한 근원적으로는 생체 면역계에 대한 영향이 최소화될 수 있는 마취제의 개발도 필요할 것으로 생각된다.

참고문헌

1. Salo M : Effects of anaesthesia and surgery on the immune response. *Acta Anaesthesiol Scand* 36 : 201-220, 1992
2. Mc Bride WT, Armstrong MA, Mc Bride SJ : Immunomodulation : an important concept in modern anaesthesia. *Anaesthesia* 51 : 465-473, 1996
3. Desborough JP : The stress response to trauma and surgery. *Br J Anaesth* 85 : 109-117, 2000
4. Piersma FE, Daemen MA, vd Bogaard AE, Buurman WA : Interference of pain control employing opioids in in vivo immunological experiments. *Lab Anim* 33 : 328-333, 1999
5. Moudgil GC, Singal DP : Halothane and isoflurane enhance melanoma tumor metastasis in mice. *Can J Anaesth* 44 : 90-94, 1997
6. PDR : Physicians' Desk Reference, 54th ed, Des Moines, Medical Economics Company, 2000, 543-549, 636-639
7. Howard HL, McLaughlin-Taylor E, Hill RL : The effect of mouse euthanasia technique on subsequent lymphocyte proliferation and cell mediated lympholysis assays. *Lab Animal Sci* 40 : 510-514, 1990
8. Lockwood LL, Silbert LH, Laudensiager ML, Watkins LR, Maier SF : Anesthesia- induced modulation of in vivo antibody levels : a study of pentobarbital, chloral- hydrate, methoxyflurane, halothane, and ketamine/ xylazine. *Anesthesia Analgesia* 77 : 769-774, 1993
9. Elena G, Puig NR, Bay ML, Urizar L, Jorgebarragan, Comba J, Amerio N : Inhalatory anesthetic(Halothane) associated changes in the immune response in mice. *Int J Immunopharm* 19 : 699-707, 1998
10. Correa-Sales C, Tosta CE, Rizzo LV : The effects of anesthesia with thiopental on T lymphocyte responses to antigen and mitogens *in vivo* and *in vitro*. *Int J Immunopharm* 19 : 117-128, 1997
11. Brand JM, Kirchner H, Poppe C, Schmucker P : The effects of general anesthesia on human peripheral immune cell distribution and cytokine production. *Clin Immunol Immunopathol* 83 : 190-194, 1997