

平成 21 年 5 月 31 日現在

研究種目：基盤研究 (C)
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19591819
 研究課題名 (和文) 全身性麻酔薬プロポフォール注入症候群を誘発する薬物代謝酵素障害性因子の探索
 研究課題名 (英文) Polymorphic drug-metabolizing enzymes of anesthetics agent propofol related to its infusion syndrome.
 研究代表者
 村山 典恵 (MURAYAMA NORIE)
 昭和薬科大学・薬学部・助教
 研究者番号：90219949

研究成果の概要：

ヒト肝ミクロゾームでのプロポフォール水酸化酵素活性に個人差が認められ、さらにその要因として各個体の P450 分子種含量の違いが考えられたことから、4-水酸化および ω -水酸化酵素活性と CYP2B6 および CYP3A4 含量との相関性について検討を行なった。その結果プロポフォール 4-水酸化活性と、CYP2B6 含量に最も高い相関性が認められ ($r=0.84$) ついで CYP3A4 含量との間に相関性が認められた。一方、プロポフォール ω -水酸化活性と CYP2B6 含量との間に高い相関性認められた。個体間での含量の変動には遺伝的多型の影響が考えられたことから、これまで報告されている CYP2B6 に関する遺伝子多型のうちで、活性低下を伴う CYP2B6*6 と CYP2B6*9 に関して検討を行なったところ、CYP2B6*6 をホモ変異で有している場合、通常のおよそ 1/2 の活性低値を示し、明らかに多型との関連性が示唆された。一方、CYP2B6*9 ホモ変異で有する場合でも酵素活性の著しい低下は認められなかった。このことから、CYP2B6 の 516 変異がプロポフォールの代謝を考える上で重要な因子であると考えられた。アジア系人種ではこの変異の発現頻度は比較的高いことから、臨床でのプロポフォール処置時の覚醒遅延の危険性を評価するうえで、本成果は有効な情報であると示唆された。そこで、実際にプロポフォール麻酔施行患者の血中プロポフォール濃度推移を測定するための条件および迅速な測定系を確立した。これまで行なわれていた煩雑な抽出法を改良した蛍光検出器を用いた測定系は臨床現場での実施に充分適応できると考えられた。

交付額

(金額単位：円)

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|---------|-----------|---------|-----------|
| 2007 年度 | 2,200,000 | 660,000 | 2,860,000 |
| 2008 年度 | 1,300,000 | 390,000 | 1,690,000 |

| | | | |
|----|-----------|-----------|-----------|
| 年度 | | | |
| 年度 | | | |
| 年度 | | | |
| 総計 | 3,500,000 | 1,050,000 | 4,550,000 |

研究分野：薬物動態・薬物代謝

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・麻酔・蘇生学

キーワード：麻酔学、プロポフォール、CYP2B6, 遺伝子多型、覚醒遅延、

1. 研究開始当初の背景

ラットにおいて、プロポフォール投与により著しい雄性ラット特有の CYP2C11 の減少が認められ、薬物代謝酵素活性に変動が認められることを研究代表者研究室では、明らかにした。当時臨床では、術後の覚醒が遅い症例が報告されその麻酔に使用されているのがプロポフォールであったことから、これまでの結果を生かし、その原因について特に肝臓の薬物代謝酵素の個人差との関連性について検討することとなった。

2. 研究の目的

全身麻酔の維持導入に欠かせないプロポフォールに認められるサイドエフェクトの覚醒遅延には個人差が認められる。この原因として、薬物代謝酵素活性の個人差に着目した。個人差を生み出す要因に関しては、プロポフォール代謝を触媒するチトクロム P450 (P450 または CYP) 2B6 の遺伝的多型の影響が強く示唆されたことから、プロポフォールの消失に関連する P450 分子種を明らかにする。さらに、関連酵素の日本人での遺伝子多型の発現頻度について検討を行なう。

3. 研究の方法

In vitro で発現系およびヒト肝ミクロゾームを用いて、プロポフォール水酸化活性と肝チトクロム P450 分子種との相関性について検討を行い、最も寄与率の高い分子種を特定

する。P450 分子種には活性変動をともなった遺伝子多型の存在が明らかになっていることから、プロポフォール代謝に関与している P450 分子種に関する多型解析を既存のヒト肝バンクの genomic DNA を用いて検討を行ない、活性変動と遺伝子多型との関連性について検討を行なった。

4. 研究成果

プロポフォール 4 位水酸化には、主に CYP2B6, CYP3A4 および CYP1A2 が、また ω-1 水酸化には、CYP2B6 の関与が明らかになった。さらに、これらの分子種にはこれまでに活性の変動を伴った遺伝子多型の存在が報告されていることから、活性測定に用いたサンプルのゲノム DNA に関して、PCR-RFLP 法を用いて多型解析を行った。

活性の低下が知られている CYP2B6*6 の遺伝子多型を有するサンプルでは野性型のサンプルと比較して、明らかにプロポフォール水酸化活性に低下が認められた。以上の結果をふまえて、プロポフォール投与時に認められる覚醒遅延の要因の 1 つとして遺伝的多型によって生じる薬物代謝酵素活性の個人差が強く示唆された。今後臨床系との協力を得て、実際にプロポフォールを処置を行って採取した血漿サンプルを対象に麻酔覚醒時間との相関性に関してしてさらに詳細に検討を行なえることを計画している。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 5 件)

1) Chie Emoto, Norie Murayama Rostami-Hodjegan, A. and Hiroshi Yamazaki, Utilization of estimated physicochemical properties as an integrated part of predicting hepatic clearance in the early drug discovery stage: The impact of plasma and microsomal binding. *Xenobiotica* **39**: 227–235, (2009)

査読有り

2) Chie Emoto, Norie Murayama, and Hiroshi Yamazaki, Effects of enzyme sources on midazolam 1'-hydroxylation activity catalyzed by recombinant cytochrome P450 3A4 in combination with NADPH- cyto- chrome P450 reductase. *Drug Metab.Lett.*, **2**, 190-192, (2008)

査読有り

3) Niwa, T., Murayama, N., Emoto, C., and Yamazaki, H. Comparison of kinetic parameters for drug oxidation rates and substrate inhibition potential mediated by cytochrome P450 3A4 and 3A5, *Current Drug Metabolism*, **9**, 20-33, 2008 査読有り

4) Niwa, T., Murayama, N., and Yamazaki, H. Heterotropic cooperativity in oxidation mediated by cytochrome P450. *Curr.Drug Metab.*, **9**, 453-462, 2008 査読有り

5) Murayama, N., Minoshima, M., Shimizu, M., Guengerich, F.P., and Yamazaki, H. Involvement of human cytochrome P450 2B6 in the omega- and 4-hydroxylation of the anesthetic agent propofol. *Xenobiotica* **37**: 717-724, 2007 査読有り

[学会発表] (計 7 件)

- 1) 村山典恵、中本実那子、岡田雄介、清水万紀子、山崎浩史：アゾール系抗真菌薬の阻害効果とCYP3A5 遺伝子多型との関連性 日本薬学会第 129 回年会 2009, 3 月、京都
- 2) 中本実那子、村山典恵、清水万紀子、山崎浩史：アゾール系抗真菌薬の薬物酸化的代謝に及ぼす影響 第 56 回聖マリアンナ医学会学術集会 2008, 12 月、川崎
- 3) 中本実那子、村山典恵、神作文康、柏田雅也、篠島正樹、清水万紀子、山崎浩史：全身性麻酔薬プロポフォールの酸化的代謝における個人差 第 29 回日本臨床薬理学会年会 2008, 12 月、東京
- 4) Norie Murayama, Naoki Kaneko, Kana Horiuchi, Makiko Shimizu, Katzuhiko Ito, and Hiroshi Yamazaki: "Micromini" Pigs as a Possible New Animal Model For Humans in Non-Clinical Study 23rd JSSX Annual Meeting ,2008,10 月、熊本
- 5) 中本実那子、村山典恵、篠島正樹、清水万紀子、山崎浩史：ヒト肝チトクロムP450 による全身麻酔薬プロポフォールの代謝について 医療薬学フォーラム 2008 第 16 回クリニカルファーマシーシンポジウム 2008, 7 月、船橋
- 6) Norie Murayama , Masaki Minoshima, Makiko Shimizu, F.Peter Guengerich, and Hiroshi Yamazaki : Omega- and 4-Hydroxylation of the Anesthetic Agent Propofol Catalyzed by Human

Liver Microsomal Cytochrome P450 2B6
22nd JSSX/ 8th ISSX meeting 2007, 10 月
仙台

- 7) 村山典恵、簗島正樹、今井直子、清水万紀子、山崎浩史：全身性プロポフォルの覚醒遅延に関するヒト肝薬物代謝酵素の検討、第 127 会日本薬学会年會 2007, 3 月
富山

[その他]

ホームページ等

<http://www.shoyaku.ac.jp/labosite/doutai/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

村山典恵 (MURAYAMA NORIE)

昭和薬科大・薬学部・助教

研究者番号：90219949

(2) 研究分担者

山崎 浩史 (YAMAZAKI HIROSHI)

昭和薬科大・薬学部・教授

研究者番号：30191274

清水万紀子 (SHIMIZU MAKIKO)

昭和薬科大・薬学部・助教

研究者番号：90307075