

機関番号：24701

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2007～2010

課題番号：19791085

研究課題名 (和文) プロポフォールの代謝における遺伝子多型の影響

研究課題名 (英文) The effect of genetic polymorphism on propofol metabolism

研究代表者 時永 泰行 (TOKINAGA YASUYUKI)

和歌山県立医科大学 医学部 助教

研究者番号：60438281

研究成果の概要 (和文)：

プロポフォールは現在頻用されている静脈麻酔薬である。プロポフォールの代謝は、おもに UDP-Glucuronosyltransferase 1A9 (UGT1A9) が関与している。UGT1A9 遺伝子の発現調節領域には、*in vitro* の実験系で UGT1A9 の発現量と関連するいくつかの一塩基多型が示されている。本研究では、日本人において UGT1A9 の一塩基多型とプロポフォールの代謝速度との関連性を *in vivo* で明らかにすることを目的とした。一塩基多型を 50 名の試料から調べた結果、すべてが野生型であった。

研究成果の概要 (英文)：

Propofol is widely using anesthetic drug. Propofol is mainly catalyzed by UDP-Glucuronosyltransferase 1A9 (UGT1A9). It has been shown that several single nucleotide polymorphisms (SNPs) in regulatory region of UGT1A9 gene are associated with the expression level of UGT1A9 protein. The purpose of this study is to elucidate the relationship between these SNPs and the rate of propofol metabolism *in vivo* in Japanese population. The blood samples were collected from 50 persons who were living in Wakayama, Japan. Genomic DNA was prepared from each sample. Genotypes of these allele were all wild type.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,900,000	0	1,900,000
2008年度	500,000	150,000	650,000
2009年度	500,000	150,000	650,000
2010年度	500,000	150,000	650,000
年度			
総計	3,400,000	450,000	3,850,000

研究分野：医歯薬学

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：遺伝子多型、プロポフォール、遺伝子発現、SNP、薬物代謝

1. 研究開始当初の背景

国際ヒトゲノムプロジェクトが完了し、近年ではその応用として、SNPs (Single Nucleotide polymorphisms、一塩基多型；集団の中に1%以上存在するゲノム配列内の一塩基の変異)のデータが蓄積されてきてい

る。SNPsには野生型と比べて、遺伝子の発現、機能に影響のあるもの、影響を与えないものが存在する。SNPの解析は、SNPの配列を決定するSNPマッピングと、既知のSNPのいずれにあてはまるかを決定するSNPタイピングに分けられる。それらのゲノム情報をもとに、

薬物動態、薬効、創薬を検討する Pharmacogenetics の概念も急速に浸透してきている (1)。SNP 解析の方法は近年、簡便化、高精度化がはかられていて、一度に多量のサンプルの解析が可能となっている (3)。Pharmacogenetics の応用例として、抗がん剤である塩酸イリノテカンの代謝における、SNP の影響が明らかにされている (2)。

一方、Propofol は現在、頻用されている静脈麻酔薬であり、その context half time が短いという特性から、3 コンパートメントモデルを用いて血中濃度を予測し、持続投与を行っている薬剤である。Propofol は主にグルクロン酸抱合により代謝され、その代謝には UDP-Glucuronosyltransferase 1A9 (UGT1A9) が関与している (4、5)。In vitro において、ヒト肝ミクロソーム分画から得た UGT1A9 の発現量、および、UGT1A9 による Propofol を基質とした代謝活性が、UGT1A9 遺伝子の転写調節領域のいくつかの SNPs に応じて、野生型と比べて増加することが示されている (6)。

Pharmacogenetics は麻酔科学分野においても研究に取り上げられてきており、最近では、opioid 受容体の遺伝学的多型がモルヒネの必要量に影響するという報告がなされている (7)。しかし、鎮静薬として頻用されている propofol の代謝に関して、in vivo で遺伝学的多型との関連性に関する研究は、いまだ行われていない。Propofol の投与方法に関して、現在は、年齢、体重といったパラメーターが、投与量の決定に用いられている。この投与方法では、Propofol の予測血中濃度の個体差を生じ、ひいては麻酔からの覚醒時間の個人差を引き起こしている (8)。in vitro の研究結果と同様であれば、本研究の対象とした SNPs にあてはまる遺伝学的背景の患者に対して、Propofol の麻酔維持量としての血中濃度を保つためには、より多くの Propofol の投与が必要となることが予想される。個人の遺伝的背景をパラメーターとして Propofol の投与方法に取り入れること、すなわち、Propofol 代謝に対する SNPs の影響を明らかにし、麻酔におけるオーダーメイド医療を可能とすることが本研究の特色である。本研究をもとに、従来の個人差として考慮されていた Propofol の薬物動態を、術前の少量の血液試料から個々に評価し、投与を行うこととなる。今後は、Propofol のみならず、その他の静脈麻酔薬、麻薬の代謝に関わる酵素、あるいは、受容体の SNPs の情報の蓄積がさらに増加することが予想される。それらの SNPs の情報をもとに、術前に少量の血液を採血することで、周術期使用薬剤の効果、適正使用量を簡便、迅速に予測し、投与を行うオーダーメイド医療を確立することが、本研究

の臨床的意義である。

引用文献

(1) 菅野純夫編、ここまで進んだゲノム医学と疾患研究. 実験医学 (2005) 23(4) 増刊

(2) Paoluzzi L, Singh AS, Price DK, et al. Influence of Genetic Variants in UGT1A1 and UGT1A9 In Vivo Glucuronidation of SN-38. J Clin Pharmacol (2004) 44:854-860

(3) 辻本豪三、田中利男編、ゲノム研究実験ハンドブック. 実験医学別冊 (2004)

(4) King CD, Rios GR, Green MD, et al. UDP-Glucuronosyltransferases. Curr Drug Metab (2000) 1:143-61

(5) Kiang TK, Ensom MH, Chang TK, UDP-glucuronosyltransferases and clinical drug-drug interactions. Pharmacol Ther (2005) 106:97-132

(6) Girard H, Court MH, Bernard O, et al. Identification of common polymorphisms in the promoter of the UGT1A9 gene: evidence that UGT1A9 protein and activity levels are strongly genetically controlled in the liver. Pharmacogenetics (2004) 14:501-515

(7) Chou WY, Wang CH, Liu PH, et al. Human Opioid Receptor A118G Polymorphism Affects Intravenous Patient-controlled Analgesia Morphine Consumption after Total Abdominal Hysterectomy

(8) 風間富栄、池田和之、沼田克雄他. 1% ディプリバン (ICI 35,868) ディプリブザー TCI の使用経験. 麻酔と蘇生 (1998) 34:121-139

2. 研究の目的

今回、我々は、UGT1A9 遺伝子の SNPs が、in vivo においても、Propofol の代謝に影響をおよぼし、ヒト血中 Propofol 濃度の予測因子となるという仮説をたてた。本研究により、UGT1A9 遺伝子の SNPs と、血中 Propofol 濃度との関連性を明らかにすることを目的とした。

厚生労働省による「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」に従い、和歌山県立医科大学倫理委員会の承認を得る。現在 in vitro の実験系で UGT1A9 の発現量、Propofol 代謝活性との検討が報告されている、10ヶ

所の SNPs を今回の研究の対象とする。ヒト血液を検体として、SNP タイピングを行い、血中 Propofol 濃度との関連を明らかにすることとした。

3. 研究の方法

本研究を行うための準備

(1) 厚生労働省による「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」に基づき、和歌山県立医科大学倫理委員会の承認を得る。倫理委員会への請求の準備はすでに整っている。

(2) 研究の準備として、PCR、SNP タイピングに必要なプライマーの作成。

(3) アリル頻度の確認。

研究の開始

(1) 研究の説明をし、同意を得た患者に対して、鎮静薬として Propofol を用いた麻酔を行い、Propofol 投与中止直前、Propofol の血中濃度が定常状態となっている時点で 1 度目の採血を行う (5 ml)。

(2) Propofol 投与中止から 5 分後に 2 度目の採血を行う (3 ml)。

(3) 血液試料をもとに SNP タイピングを行い、野生型、SNP に分類する [2]。

(4) Plummer らの方法に基づき、それぞれの血液試料において、Propofol を HPLC で分離し、蛍光光度法で Propofol 濃度を測定する。

4. 研究成果

50 名の和歌山在住のボランティアから血液を採取し、ゲノム DNA を調製した。melting curve analysis により、UGT1A9 遺伝子の調節領域 4 カ所の SNPs の遺伝子型を決定した。それぞれの SNPs の遺伝子型はすべて野生型であった (Figure)。この頻度は欧米人と日本で異なるものであった。

本研究では、in vitro の代謝量と SNPs との関連性があるとの報告に基づき UGT1A9 遺伝子の調節領域の 4 カ所の SNPs を取り上げて遺伝子型を検討したが、今後は構造遺伝子内での報告されている SNPs とプロポフォール代謝との関連性について検討する必要があると考えられた。

本研究では、50 名の遺伝子型の結果がすべて野生型であったというこの結果から、人種によりアリル頻度に偏りがあることが明らかとなり、このことは人種による薬物代謝の違いが SNPs の観点から説明できることが示唆された。

また、SNPs の研究を行う時、欧米でのアリル頻度と本邦での頻度が一致するか保証されていないことに留意し、臨床での検討に際して予めアリル頻度を確認した上で臨床研究を開始することが望ましいことが考えられた。

	-2152	-1887	-665	-275
Wild type sequence	C	T	C	T
Caucasian population ^a	0.94	0.83	0.90	0.94
Japanese population	1.00	1.00	1.00	1.00
Variant sequence	T	G	T	A
Caucasian population ^a	0.06	0.17	0.10	0.06
Japanese population	0.00	0.00	0.00	0.00

Figure The allelic frequencies for each promotor SNP of UGT1A9 gene.
a: Girard H. et al. Pharmacogenetics (2004) 14:501-515

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)

[学会発表] (計 2 件)

(1)

The Allelic Frequencies of Propofol-Metabolize Enzyme Gene in Japanese Population
Yasuyuki Tokinaga, M.D., Yoshiki Kimoto, M.D., Kazuhisa Sugimoto, M.D., Koji Ogawa, M.D., Yoshio Hatano, M.D.
American Society of Anesthesiologists Annual Meeting 2010
San Diego, California USA
2010. 10. 18.

(2)

プロポフォール代謝酵素遺伝子における 1 塩基多型の検討
時永 泰行、木本 吉紀、小川 幸志、谷奥 匡、江尻 加名子、畑埜 義雄
社団法人日本麻酔科学会第 57 回学術集会

福岡 日本
2010. 6. 4

6. 研究組織

(1)研究代表者 時永 泰行
和歌山県立医科大学 医学部 助教
(TOKINAGA YASUYUKI)

研究者番号：60438281

(2)研究分担者
()

研究者番号：

(3)連携研究者
()

研究者番号：