

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 6月 5日現在

機関番号：15101  
研究種目：若手研究（B）  
研究期間：2009～2011  
課題番号：21791449  
研究課題名（和文）イオンチャネルの遺伝子多型とゲノム刷り込み現象が全身麻酔薬の効果に及ぼす影響  
研究課題名（英文）Influence of polymorphisms and genomic imprinting in ion channel genes for systemic anesthesia  
研究代表者  
大槻 明広（OTSUKI AKIHIRO）  
鳥取大学・医学部附属病院・助教  
研究者番号：00379637

研究成果の概要（和文）：意識消失と、麻酔導入に必要な脳内プロポフォール濃度は性別間で有意な差を示さなかった。また年齢、BMI、麻酔開始前のBIS値、循環動態、術前の血漿総タンパク、アルブミン値やヘマトクリット値と有意な相関関係を示さなかった。しかしながら、GABA受容体 $\alpha 1$ サブユニットの一塩基多型(Rs2279020)でTAG/TAGのホモ接合型を持つ患者は、TGG/TGGのホモ接合型、またはTAG/TGGのヘテロ接合型を持つ患者にくらべて、麻酔導入に必要な脳内プロポフォール濃度が低い傾向があった。統計的な意義を確認するためにはさらに検体数を増やして検討する必要がある。

研究成果の概要（英文）：The propofol levels in the brain to achieve an atypical absence or anesthesia induction did not show significant difference between sex. In addition, they did not show significant correlations with age, BMI, the BIS level before the anesthesia, a circulation change, preoperative plasma total protein, albumin level and hematocrit level. However, the patients with homogeneous TAG/TAG in single nucleotide polymorphism (Rs2279020) of  $\alpha 1$  subunit of GABA A receptor, they tended that the propofol level in the brain to achieve anesthesia induction was lower than patients with homogenous TGG/TGG or heterogeneous TAG/TGG in Rs2279020. It is necessary to increase the number of the patients to obtain statistical significances.

交付決定額

（金額単位：円）

|        | 直接経費      | 間接経費    | 合 計       |
|--------|-----------|---------|-----------|
| 2009年度 | 1,600,000 | 480,000 | 2,080,000 |
| 2010年度 | 700,000   | 210,000 | 910,000   |
| 2011年度 | 900,000   | 270,000 | 1,170,000 |
| 年度     |           |         |           |
| 年度     |           |         |           |
| 総 計    | 3,200,000 | 960,000 | 4,160,000 |

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：麻酔学

1. 研究開始当初の背景

(1) 全身麻酔は催眠・除痛・筋弛緩の3要素で構成される。そのなかで催眠は、中枢神経系の代表的な抑制系神経伝達物質である

GABA (gamma-aminobutyric acid)とGABA A受容体が重要な役割を担っていると考えられている。GABAおよびGABA A受容体は大脳皮質や脳幹網様体に広く分布し、意識レ

ベルの調節や認識に深く関与している。GABA A 受容体は2つの $\alpha$ サブユニット、2つの $\beta$ サブユニット、1つの $\gamma$ サブユニットの5量体で構成され、GABAの結合部位は $\alpha 1$ と $\beta 2$ サブユニットにまたがって存在することが知られている。現在全身麻酔時に使用される代表的な静脈麻酔薬であるプロポフォールはGABA A 受容体に作用してイオンチャネルを開口、 $\text{Cl}^-$ 流入を促進して抑制性後シナプス電位 (IPSP) を生じさせることで催眠を誘導し、意識消失を得ると考えられている。

(2) プロポフォールは、迅速な効果発現消失の特徴をもち、現在周術期において最も一般的にもちいられる静脈麻酔薬である。臨床使用においては、専用の器材とソフトウェアを用いて、血中および脳内濃度を推定することが可能であり、実際の鎮静レベルは、Bispectral index (BIS) を用いて監視することが可能である。臨床的にプロポフォールを使用する場合、就眠および覚醒時の脳内濃度や麻酔上適正な麻酔深度を維持するためのプロポフォール投与量には大きな個体差がある。

(3) 近年、麻酔薬に対する個体差は、遺伝的な差異が重要であることが指摘されている。GABA受容体についても、各サブユニットに遺伝子多型や mRNA のスプライシングバリエーションやゲノム刷り込み現象などのエピジェネティックな発現調節が見られることが報告されている。たとえばGABA受容体 $\beta 2$ サブユニットには、遺伝子多型とスプライシングバリエーションがあることが知られており、個体間における違いが統合失調症の発症と関連していることが報告されている。このように、人体における高次脳機能においてGABA受容体が重要な役割をしていることが考えられる。これまでにも、プロポフォールに対する感受性の個体差がGABA受容体やチトクロームP450タンパク質の遺伝子多型に依存する可能性について検討されているが、GABA受容体のサブユニットにもアイソフォームが多数あり、また、遺伝子多型だけでは説明のつかない表現型があると考えられ、今後の検討が期待される場所である。

## 2. 研究の目的

麻酔薬に対する個体間での感受性の差が遺伝的な差異とどのような関係があるかを検討した。特にプロポフォールが、GABAA受容体の遺伝子多型に影響を受けるかどうかを検討した。

## 3. 研究の方法

(1) 研究の対象は、鳥取大学医学部倫理委員会の認可を得た後、術前に研究の趣旨と方法を説明して、書面にて同意を得られた、定期手術で完全静脈麻酔を予定されたアメリカ麻酔科学会における全身状態分類 (ASA-P) I また II 患者を対象とした。プロポフォールの催眠作用のみを評価するために、症例のうち、向精神薬、睡眠補助薬を常用している患者は除外した。硬膜外麻酔、脊椎麻酔、局所ブロックを併用する場合、手術に必要な麻酔深度を得るためのプロポフォールの脳内濃度が低下することが予想されるため、ブロック併用症例は除外した。

(2) 手術前日および当日の麻酔前投薬は行わずに手術室へ入室とした。手術室入室後に、手背静脈に20ゲージ静脈留置針を挿入し、乳酸化リンゲル液を500ml/hの速度で投与を開始した。心電図、観血的動脈圧、パルスオキシメーター、カプノグラム、深部体温計およびBispectral index (BIS) をモニターしながら、1%プロポフォールをTCI機能つきシリンジポンプを用いて3.5 ug/ml の設定で静脈内投与して麻酔導入した。多薬剤の影響を極力避けるために、麻酔導入時にはほかの鎮静作用を有する薬剤の使用を避けた。意識消失およびBIS<70となるプロポフォールの脳内濃度のシュミレーション値を記録した。意識消失は、言葉による応答がない時点とした。また、麻酔覚醒時のデータは鎮痛薬や手術の状況に影響を受けるために検討しなかった。

(3) 麻酔導入30分後、プロポフォール投与速度が一定となった時点で、採血を行い、そのときのBIS値とプロポフォールの脳内濃度を記録した。検体はFicoll-Paque法をもちいて血液中の白血球分画を分離したのち、QIAamp DNA Blood Kit を用いてGenomic DNAを抽出した。

(4) GABAA受容体遺伝子多型の解析のために、GABAA受容体の $\alpha 1$ 、 $\alpha 6$ 、 $\beta 2$ 、 $\gamma 2$ サブユニットの単塩基多型 (Single Nucleotide Polymorphisms, SNPs) を検討した。これまでに報告された薬物依存症、アルコール依存症、統合失調症、自殺などとの関連の可能性が検討された既知のSNPsのうち、11か所を検討した。各SNPsをNCBIの最新のゲノムデータベースと照合し、目的のSNPが確認されたものの塩基配列を修正したのち、PCRのためのプライマーを作成した。このプライマーを用いてPCRを行った後に、同じプライマーを用いて、遺伝子配列を解析した。

(5)意識消失あるいは麻酔導入に必要なプロポフォール濃度が性別によって差がないかについて、Student t 検定を用いて検討した。また、意識消失あるいは麻酔導入に必要なプロポフォールの脳内濃度が、ほかの要素(年齢、BMI、麻酔開始前のBIS値、意識消失時のBIS値、覚醒時HR、覚醒時血圧、術前のヘマトクリット、総タンパク、アルブミン値)と関連しているかどうかを、ピアソンの相関係数の検定を用いて解析した。最後にGABAA遺伝子 $\alpha 1$ サブユニットの遺伝子型の違いで意識消失あるいは麻酔導入に必要なプロポフォールの脳内濃度に違いがあるかについて、一元配置分散分析をおこなった。

#### 4. 研究成果

(1) 麻酔開始前のBIS値は、 $96.7 \pm 1.7$ であった。意識消失に必要な脳内プロポフォール濃度は平均  $1.08 \pm 0.40 \mu\text{g/ml}$  であった。意識消失時のBIS値は、 $82.3 \pm 7.4$ であった。また、麻酔導入に必要な脳内プロポフォール濃度は  $1.60 \pm 0.61 \mu\text{g/ml}$  であった。(各値は、平均 $\pm$ 標準偏差で示した。)

(2)意識消失に必要な脳内プロポフォール濃度と麻酔導入に必要な脳内プロポフォール濃度との間には、有意な相関関係が見られた(重相関係数  $0.619$ 、 $P = 0.00163$ )。しかし、意識消失に必要な脳内プロポフォール濃度と意識消失時のBIS値には有意な相関関係は認められなかった(重相関係数  $0.0383$ 、 $P = 0.862$ )。同様に麻酔導入に必要な脳内プロポフォール濃度と意識消失時のBIS値には有意な相関関係は認められなかった(重相関係数  $0.133$ 、 $P = 0.545$ )。

(3) 意識消失に必要な脳内プロポフォール濃度、麻酔導入に必要な脳内プロポフォール濃度、麻酔開始前のBIS値、意識消失時のBIS値は性別間で有意な差を示さなかった(それぞれ  $P = 0.924$ 、 $P = 0.933$ 、 $P = 0.715$ 、 $P = 0.605$ 、Student t 検定)。

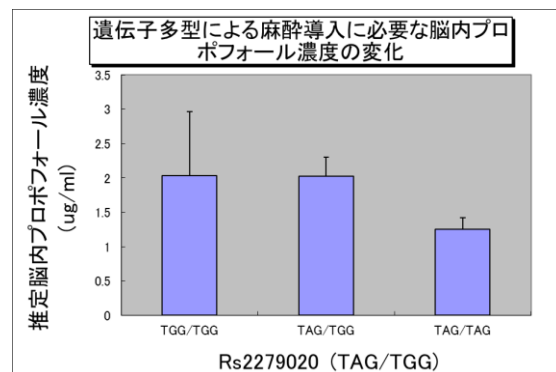
(4) 患者の年齢( $59.2 \pm 17.9$  歳)、BMI( $22.2 \pm 2.2$ )、麻酔開始前のBIS値( $96.7 \pm 1.7$ )、循環動態、術前の血漿総タンパク( $7.2 \pm 0.4 \text{ g/dl}$ )、アルブミン値( $4.5 \pm 0.3 \text{ g/dl}$ )やヘマトクリット値( $40.0 \pm 4.2\%$ )は、意識消失に必要な脳内プロポフォール濃度や麻酔導入に必要な脳内プロポフォール濃度と有意な相関関係を示さなかった。(各値は、平均 $\pm$ 標準偏差で示した。)

(5) 遺伝子解析はGABAA受容体の $\alpha 1$ 、 $\alpha$

6、 $\beta 2$ 、 $\gamma 2$ サブユニットのうち1か所を検討した。参考とした文献からSNPsの検討を試みたが、そのうち2つはゲノム情報の修正でSNPsが特定できなかった。文献上のSNPs情報とNCBI上のSNPs情報が合致しないものが3つあった。さらに、プライマーと目的のSNPが合致しないものが2つあった。このため、実際にプライマー作成ができたのは、 $\alpha 1$ で1か所(Rs2279020)、 $\alpha 6$ で1か所(Unregistered)、 $\beta 2$ で2か所(Rs1052804、Rs2229944)であった。

(6) 実際に遺伝配列を解析したところ、GABAA受容体の遺伝子多型が観察されたのは $\alpha 1$ のSNP(Rs2279020、TAG/TGG)のみだった。 $\alpha 6$ (Unregistered)と $\beta 2$ (Rs1052804、Rs2229944)の遺伝子配列に関しては、シーケンス解析したすべての検体で同じ配列となっており、遺伝子多型が検出されなかった。

(7) GABAA受容体 $\alpha 1$ のSNP(Rs2279020、TAG/TGG)では、TAG/TAGのホモ接合型が36%、TGG/TGGのホモ接合型が27%、またTAG/TGGのヘテロ接合型が36%であった。意識消失に必要な脳内プロポフォール濃度は、各接合型を持つ患者間で有意な差は認められなかった( $P = 0.645$ )。しかし、TAG/TAGのホモ接合型を持つ患者は、TGG/TGGのホモ接合型またはTAG/TGGのヘテロ接合型を持つ患者にくらべて、麻酔導入に必要な脳内プロポフォール濃度が低い傾向があったが、統計的な有意差は認めなかった( $P = 0.105$ )。



(8) これらの結果から、性差や年齢、術前検査の結果など、薬物動態に関与すると思われる因子が、麻酔効果に影響しないにもかかわらず、GABAA受容体 $\alpha 1$ サブユニットの遺伝子型の違いがプロポフォールの麻酔効果に影響している可能性が否定できないと考えられた。しかしながら統計的に有意な結果ではなく、今回検討したSNPs以外のSNPsも含めて今後、さらに検体数を増やして検討する必要がある。

(9) 今回解析した、GABAA 受容体  $\alpha 1$  サブユニットの SNPs はイントロン上にあるが、一塩基の違いが mRNA スプライシングを変化させ、mRNA やタンパク質量を増減させたり、スプライシングバリエントを形成していたりする可能性もある。一塩基の違いが、どのような機序でプロポフォールの麻酔効果に影響を与えるかについて、検討するため mRNA やタンパク質の定量が必要と考える。

## 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 0 件)

〔学会発表〕(計 1 件)

① 大槻 明広、Influence of Anesthetic Management on the Length of Hospitalization after Lung Resection for Primary Lung Cancer、The 27th Congress of Pan-Pacific Surgical Association Japan Chapter、2010 年 11 月 20 日、Tokai University Pacific Center (Honolulu)

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

大槻 明広 (AKIHIRO OTSUKI)

鳥取大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：00379637