

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 30 日現在

機関番号：20101

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23592301

研究課題名(和文) TACR1 遺伝子エピジェネティック修飾解析を用いた麻薬による嘔吐発症機序の解明

研究課題名(英文) Association of epigenetic modulation in the TACR1 gene with opioid-induced nausea and vomiting

研究代表者

杉野 繁一 (Sugino, Shigekazu)

札幌医科大学・医学部・助教

研究者番号：00423765

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円、(間接経費) 1,200,000円

研究成果の概要(和文)：ニューロキニン1(NK1)受容体をコードする遺伝子であるTACR1遺伝子の発現調節が術後悪心嘔吐の強度に関与するという仮説を構築した。ヒトとマウスで血液由来、あるいは脳の嘔吐中枢由来のゲノムDNAを用いて、エピジェネティック修飾の一つであるTACR1遺伝子のプロモーター領域のメチル化を調べた。TACR1遺伝子のプロモーター領域のメチル化率が高いほど術後悪心嘔吐が弱いことが明らかになった。この研究結果は手術前のTACR1遺伝子のメチル化率を測定することにより、一般的に個人差の大きい術後の悪心嘔吐の重症度を術前に予測できる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：We hypothesized that regulation of the TACR1 gene is involved in the individual differences in severity of postoperative nausea and vomiting (PONV). We examined CpG methylation of the promoter region of the TACR1 gene, which modulates NK1 receptor expression in both human blood and mouse the brain. The results of the current study showed that the level of methylation was inversely correlated with the intensity of PONV. This new finding may contribute to preoperative prediction of the severity of PONV in surgical patients.

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：エピジェネティクス 悪心嘔吐 遺伝子 麻酔

1. 研究開始当初の背景

術後悪心嘔吐は手術患者の 20-30%に発症し、全身麻酔後に頻度の高い合併症として知られている。術後悪心嘔吐は患者満足度を大きく低下させるため、麻酔科医は可能な限りこうした副作用を低減させなければならない。特にオピオイドの使用は術後悪心嘔吐の発生頻度を増大させるが、オピオイドに対する感受性は個人差が大きく、術後悪心嘔吐の予測は難しい。近年、神経ペプチドであるサブスタンス P は悪心嘔吐を誘発し、サブスタンス P の受容体であるニューロキニン 1(NK1)受容体の拮抗薬は化学療法に伴う悪心嘔吐の予防・治療薬として高い効果が認められている。われわれはこの NK1 受容体をコードする遺伝子である TACR1 遺伝子の脳内での発現が術後悪心嘔吐の発症の機序の一部と考え、その発現を調節するプロモーター領域の DNA メチル化率が、術後悪心嘔吐の重症度の個人差に関与していると仮説を立てた。一般的に DNA メチル化はエピジェネティック修飾の 1 つであり、遺伝子発現調節に大きく関与しているため、仮説は妥当なものであると考えた。

2. 研究の目的

NK1 受容体をコードする遺伝子である TACR1 遺伝子のプロモーター領域のメチル化率を手術患者の血液を用いて測定し、術後悪心嘔吐の新たな診断マーカーとなりうるかを検討した。次にマウスの血液と脳の嘔吐関連神経核での TACR1 遺伝子プロモーター領域のメチル化率を測定して比較し、両者の関連を検討した。

3. 研究の方法

20-85 歳で ASA-PS 分類が 1-2 である予定手術患者で、婦人科下腹部開腹手術を受ける患者様を対象とした。術前診察時に研究について文書および口頭による十分な説明を行い、患者様の自由意思による同意を得た。研究に組み入れた患者様は麻酔導入前に全血 2mL を採血し、同日中にゲノム DNA を抽出した。

抽出したゲノム DNA はバイサルファイト処置後にメチル化感受性高解像能融解曲線分析(MS-HRM)法により TACR1 遺伝子の転写開始点の上流 100 塩基から下流 6 塩基までのメチル化率を測定した。

患者様の臨床での検討項目は術後 24 時間後の悪心嘔吐の強度を 0 - 100 mm のビジュアルアナログスケール(Nausea VAS)による評価を行った。

またマウスにおいて、血液および嘔吐に関連する神経核と考えられる最後野、孤束核、被殻における TACR1 遺伝子プロモーター領域におけるメチル化率を同様に MS-HRM 法により測定した。ヒトおよびマウスの MS-HRM 法に用いたプライマーの配列を表 1 に、反応条件を表 2 に示す。

表 1 MS-HRM 法で使用したプライマー

プライマー	塩基配列
Forward (ヒト)	CGTTTTTGTAGGGGTTATAAAAGTT
Reverse (ヒト)	CCAACTAAAAATTTTCCTCTCTT
Forward (マウス)	ACGAGTAGTAGAAGCGGTGGT
Reverse (マウス)	CTAAACTATCTACTCGCTAATCCC

表 2 MS-HRM 法における反応条件

ステップ	条件
酵素活性化	95 °C 10 分
アンプリコン増幅	95 °C 15 秒
	58.5 °C 1 分
	(マウスは 60 °C) 以上を 40 サイクル
融解分析	95 °C 10 秒
	60 °C 1 分
	95 °C 15 秒

4. 研究成果

ヒトにおける TACR1 遺伝子のプロモーター領域と術後悪心嘔吐の強さについての関係を図 1 に示す。ヒト女性における TACR1 遺伝子のプロモーター領域のメチル化率は術後 24 時間を経過した時点での悪心嘔吐と負の相関を示すことが認められた。

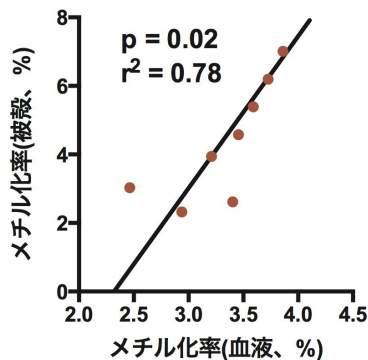


図 1 術後 24 時間時点の悪心嘔吐の強さと TACR1 遺伝子のメチル化率との関連

マウスにおける血液と被殻における TACR1 遺伝子のプロモーター領域におけるメチル化率を図 2 に示す。血液と最後野・孤束核において TACR1 遺伝子のプロモーター領域のメチル化率の相関は認められなかったが、血液と被殻においては正の相関が認められた。

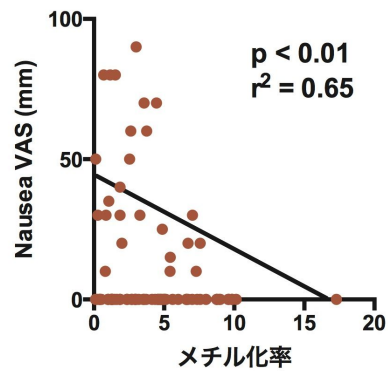


図 2 マウス被殻とマウス血液での TACR1 遺伝子のメチル化率の比較

よって我々の研究成果をまとめると

- (1) ヒトにおいて血液由来のゲノム DNA における TACR1 遺伝子のプロモーター領域のメチル化率は術後悪心嘔吐の強度と関連する可能性がある。
- (2) マウスにおいて TACR1 遺伝子のプロモーター領域のメチル化率は血液と被殻において相関しているため、嘔吐中枢における TACR1 遺伝子の発現とは術後悪心嘔吐の機序の 1 つだと推測される。
- (3) 手術患者の血液から TACR1 遺伝子のプロモーター領域のメチル化率を測定することで、悪心嘔吐の強度を予測できる可能性がある。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 3 件)

1. Hayase T, Sugino S, Yamakage M. Genetic variation and epigenetic modification of TAcR1 gene are associated with postoperative nausea and vomiting in surgical patients. The Annual Meeting of American Society of Human Genetics 2012 年 11 月 6 日～10 日、米国 San Francisco

2. Hayase T, Sugino S, Tachibana S-S, Kumeta Y, Yamakage M. Haplotypes in human TACR1 gene are associated with postoperative nausea and vomiting. The Annual Meeting of American Society of Anesthesiologists 2012 年 10 月 13 日～17 日、米国 Washington D.C.

3. Hayase T, Sugino S, Tachibana S-S, Satoh M, Yamakage M. Genetic variation in human TACR1 gene is associated with postoperative nausea and vomiting. The Annual Meeting of American Society of Anesthesiologists 2011 年 10 月 15 日～19 日、米国 Chicago

6. 研究組織

(1)研究代表者

杉野 繁一 (SUGINO, Shigekazu)

札幌医科大学・医学部・助教

研究者番号：00423765

(2) 連携研究者

山蔭 道明(YAMAKAGE, Michiaki)

札幌医科大学・医学部・教授

研究者番号：70285005

(3)研究協力者

早瀬 知 (HAYASE, Tomo)

札幌医科大学・医学部・助教

研究者番号：20579007

立花 俊佑 (TACHIBANA, Shun-suke)

札幌医科大学・医学部・大学院生

名和 由布子 (NAWA, Yuko)

札幌医科大学・医学部・助教

研究者番号：90586794

守屋 寛之 (MORIYA, Hiroyuki)

北海道薬科大学・薬学部・助教

研究者番号：00337049