

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 3 日現在

機関番号：20101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23791719

研究課題名(和文) GABA受容体 3遺伝子多型解析によるプロポフォールの作用機序の解明

研究課題名(英文) Association of genetic polymorphisms of the GABRB3 gene with the concentration of propofol at loss of consciousness

研究代表者

名和 由布子(Nawa, Yuko)

札幌医科大学・医学部・助教

研究者番号：90586794

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円、(間接経費) 960,000円

研究成果の概要(和文)：プロポフォールによる入眠濃度の個人差にはGABRB3遺伝子の遺伝子多型が関与すると仮説を立てた。GABRB3遺伝子のコード領域におけるミスセンス変異となる一塩基多型(SNP)の遺伝子型を決定したが、入眠濃度との関連は認められなかった。入眠濃度の予測因子の候補となりうるいくつかのSNPsの存在を指摘できたが、研究手法の再考が必要だと思われた。

研究成果の概要(英文)：We hypothesized that the genetic polymorphisms in the GABRB3 gene are associated with the individual differences in concentration of propofol at loss of consciousness. We examined the genotypes of single nucleotide polymorphisms (SNPs) in the coding sequence of the GABRB3 gene. However, none of the genotyped SNPs were associated with the concentration at loss of consciousness. These results raised the possibility that we need to change the experimental design or to increase the size of the cohort.

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 静脈麻酔薬 GABA受容体 遺伝子多型 入眠

1. 研究開始当初の背景

全身麻酔の導入薬として頻用されるプロポフォールは、患者の体重に応じて投与量を調節して投与されるが、入眠に必要な投与量は個人差が大きい。プロポフォールによる入眠の機序は、脳内の GABA_A 受容体に結合し、受容体による抑制機能を増強することが明らかになっている。興味深いことに近年の研究では、GABA_A 受容体の α_3 サブユニットの一塩基多型(SNP)である N265M が GABA_A 受容体のイオンチャンネル電流を減少させ、また N265M ノックインマウスにおいてプロポフォールの入眠を遅延させることが報告されている (Zecharia Y, et al. J Neurosci 2009)。しかし実際に N265M を含む GABA_A 受容体 α_3 サブユニットをコードする遺伝子の SNPs が実際に手術患者の入眠に影響があるのかは不明である。

2. 研究の目的

GABA_A 受容体遺伝子 α_3 サブユニットをコードする遺伝子である GABRB3 遺伝子の SNPs を手術患者の血液を用いて解析し、麻酔導入時のプロポフォールの入眠濃度と比較検討した。

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 42 名で、全身麻酔下に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 を採血してゲノム DNA を抽出した。麻酔導入は TCI ポンプを用いて緩徐にプロポフォールを投与し、呼名に反応しなくなった時点の脳内予測濃度を入眠濃度とした。データベース (dbSNP) で疾患との関連が報告されているミスセンス変異 8 ヶ所に対してサンガーシーケンシング法により遺伝子型を決定した (表 1)。

表 1. 報告されている GABRB3 遺伝子の SNPs

Chr.	位置	rs #	変異	変化
15	26793093	rs76962261	C > G	H423Q
15	26793140	rs77416943	C > T	P408S
15	26793154	rs34489220	- / G	K404E
15	26806131	rs75397216	C > G	A343G
15	26812780	rs76812964	G > C	S261S
15	26812814	rs41307112	C > T	T250I
15	26825545	rs75965657	C > A	T201T
15	26828556	rs78196007	C > T	T156I

次にわれわれはミスセンス変異が GABA_A 受容体 α_3 サブユニットの機能にどの程度影響するのかを予測するソフトウェア (dbNSFP, ver. 2.4, Univ. of Texas Health Science Center) を用いて、SNP を選択することにした。dbNSFP 内の 6 種の予測ソフト (SHIFT、Polyphen II、Mutation Taster、FATHMM、RadialSVM、LRT) を同時に動かし、GABRB3 遺伝子のコード領域のすべての塩基配列について検討した。結果を dbSNP (Build 138) の SNPs のデータとマッチさせ、41 カ所の SNPs との一致を確認した。

4. 研究の成果

8ヶ所のすべてのSNPsはデータベースではcommon SNPであった。しかし本研究ではすべてのSNPsにおいて変異が確認されなかった。

予測された有害性の強さについて上位20カ所について表2に示す。

表2. GABRB3 遺伝子変異による機能変化予測

Chr.	位置	rs #	変異	変化
15	26793020	rs377215030	T > C	I448V
15	26793024	rs370026053	A > G	N446N
15	26793030	rs148101383	A > G	D444D
15	26793154	rs34489220	- / G	K404E
15	26793203	rs373823173	C > T	D387D
15	26806188	rs149963014	T > C	Y324C
15	26806190	rs77608123	C > T	E323E
15	26812814	rs41307112	C > T	T250I
15	26812851	rs144496462	G > A	R238W
15	26825486	rs148418004	G > A	R221K
15	26825510	rs111596597	C > T	I213T
15	26825550	rs372359936	C > T	V200I
15	26825559	rs375461837	C > T	D197N
15	26825581	rs199627412	A > T	I189I
15	26828505	rs17850679	T > A	Q173L
15	26828510	rs200507900	G > A	D171D
15	26828556	rs78196007	G > A	T156I
15	27017551	rs72708067	T > C	M80V
15	27017558	rs151221282	T > C	E77E
15	27017906	rs71651682	C > T	G32R

rs111596597を除いた19カ所のSNPsは日本人において全てマイナーアリル頻度が1%以下であるrare SNPsであった。

よってわれわれの研究結果をまとめると、

(1) 手術患者におけるプロポフォールの入眠濃度と GABRB3 遺伝子のミスセンス変異となる SNPs との関連について検討を行ったが、有意な SNPs を認めなかった。

(2) 患者コホートは小さく、とくに insilico 解析で予測した SNPs はほとんどが希少な遺伝子変異であったため、本研究デザインは感度が低いと思われた。

(3) 科学研究費を用いた本研究出の研究結果は仮説を支持することなく終了したが、今後はさらに患者検体を増やし、GABRB3 遺伝子以外にもプロポフォールの入眠に影響を与えらると思われる受容体の遺伝子多型を、とくに希少な遺伝子多型に注目して網羅的に探索していく予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 3 件)

(1) Yoshikawa Y, Nawa Y, Hirata N, Yamakage M. mpact of Anesthetic Dosage on the Duration of Postoperative Mechanical Ventilation After Pediatric Congenital Heart Disease Surgery. The Annual Meeting of American Society of Anesthesiologists 2013年10月12~16日、米国 San Francisco 市

(2) Sugino S, Hayase T, Higuchi M, Nawa Y, Yamakage Y. Oprm1 Gene Polymorphism Reduces DNA Methylation at the Upstream

CpG Island in Male Patients. The Annual Meeting of American Society of Anesthesiologists 2013年10月12~16日、米国 San Francisco 市

(3) Hayashi H, Sugino S, Hayase T, Nawa Y, Yamakage M. Involvement of HTR3C Gene Polymorphisms in Postoperative Pain in Lower Abdominal Surgery. The Annual Meeting of American Society of Anesthesiologists 2012年10月13日~17日、米国 Washington D.C.

6 . 研究組織

(1)研究代表者

名和 由布子 (NAWA, Yuko)
札幌医科大学・医学部・助教
研究者番号 : 90586794

(2)研究協力者

杉野 繁一 (SUGINO, Shigekazu)
札幌医科大学・医学部・助教
研究者番号 : 00423765

早瀬 知 (HAYASE, Tomo)
札幌医科大学・医学部・助教
研究者番号 : 20579007

佐藤 通子 (SATO, Michiko)
札幌医科大学・医学部・研究生

立花 俊佑 (TACHIBANA, Shun-suke)
札幌医科大学・医学部・大学院生

守屋 寛之 (MORIYA, Hiroyuki)
北海道薬科大学・薬学部・助教
研究者番号 : 00337049

山蔭 道明 (YAMAKAGE, Michiaki)
札幌医科大学・医学部・教授
研究者番号 : 70285005