

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 27 日現在

機関番号：24701

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2016

課題番号：25861395

研究課題名(和文) 遺伝子一塩基多型解析から考証する妊娠期薬剤性冠動脈攣縮作用の解明

研究課題名(英文) Elucidation of drug-induced coronary artery spasm during pregnancy examined from gene single nucleotide polymorphism analysis

研究代表者

谷奥 匡 (TADASHI, TANIOKU)

和歌山県立医科大学・医学部・学内助教

研究者番号：50554656

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：帝王切開術中に頻用されるメチルエルゴメトリンマレイン酸塩を投与する際には冠動脈攣縮の発症に注意する必要がある。しかしながら、個々の妊産婦についてメチルエルゴメトリンマレイン酸塩による副作用発現の有無を薬剤投与前に予測することは不可能である。メチルエルゴメトリンマレイン酸塩の効果発現に関わると予想される遺伝子の遺伝子一塩基多型に着目し、当薬剤による副作用発現の個体差を解明しようと試みた。選択帝王切開を予定する患者の遺伝子一塩基多型を調べ、心電図ST変化との関係について解析を行った。しかし遺伝子一塩基多型と心電図ST変化との関係について明らかにならなかった。

研究成果の概要(英文)：When administering methyl ergometrine maleate which is frequently used during caesarean section operation, attention must be paid to the onset of coronary spasm. However, it is impossible for individual pregnant women to predict the presence or absence of side effects by methyl ergometrine maleate before drug administration. We attempted to elucidate individual differences in expression of side effects by the drug, paying attention to gene single nucleotide polymorphisms of genes expected to be involved in expression of methyl ergometrin maleate effect. We examined the gene single nucleotide polymorphism of patients scheduled for selective caesarean section and analyzed the relation with electrocardiogram ST change. However, the relationship between gene single nucleotide polymorphism and electrocardiogram ST change was not clarified.

研究分野：麻酔科学

キーワード：遺伝子一塩基多型 メチルエルゴメトリンマレイン酸塩

1. 研究開始当初の背景

患者個体によって薬剤の効果や副作用の発現に差があることは、日常よく経験することである。周術期に使用する麻酔関連薬剤について、その作用及び副作用発現の「個体差」を予め科学的に予測し、患者個々に応じた薬剤の選択や投与量の調整を薬剤投与前に行うことができれば、安全性と満足度の高い周術期麻酔管理の実現に大きく貢献すると期待される。国際ヒトゲノムプロジェクト完了により、数多くの遺伝子の多様性が報告され、遺伝子研究は飛躍的に発展した。特に、ゲノム配列上の一塩基のみが変異した遺伝子多型が注目されており、遺伝子一塩基多型に着目することで「個体差」を科学的に分析することが可能になりつつある。麻酔科学領域においては、これまでオピオイド受容体を介する麻酔感受性について遺伝子レベルで解析した結果が散見されるが、多くは単一種の遺伝子多型とオピオイド作用との関連を示しただけに過ぎず、未だこれを臨床応用するには至っていない。これに対し、冠動脈攣縮発症に関係する遺伝子一塩基多型 (single nucleotide polymorphism : SNPs) についてはこれまで複数の遺伝子の関与が指摘されている。とくにアジア系人種に冠動脈攣縮の発症率が比較的高く、その発症に SNPs との強い関連性が疑われている点は注目すべきである。

産後の出血は産婦の合併症発生や死亡の主な要因である。メチルエルゴメトリンマレイン酸塩は、子宮平滑筋の収縮作用を有するため、産褥出血を抑制する目的で経膈分娩後および帝王切開術中に頻用される麦角アルカロイド製剤である。本薬剤は、胎盤剥離面および子宮筋切開部位からの出血を抑えるため、児娩出後に静脈内に投与される。同薬剤は血管に対しても平滑筋収縮作用を持つため冠動脈攣縮性狭心症の誘発および診断に頻用される。帝王切開術中にメチルエルゴメトリンマレイン酸塩を使用した場合、薬剤投与直後に胸痛の出現や心電図 ST 変化を認めることがあり、同薬剤による冠動脈攣縮性狭心症の発症を強く疑う場合がある。産褥期に投与された麦角アルカロイド製剤が急性心筋梗塞を引き起こした例も報告されていることから、児娩出後の子宮弛緩に対しメチルエルゴメトリンマレイン酸塩を投与する際、とりわけ迅速な止血効果を期待し同薬剤を静脈内に投与した場合には冠動脈攣縮の発症に十分注意する必要がある。しかしながら、個々の妊産婦についてメチルエルゴメトリンマレイン酸塩による副作用発現には「個人差」があり、薬剤投与前に副作用の発現を予測することは未だ不可能である。したがって、これらの副作用に対する有効な予防法や治療法は未だ確立されていないのが現状である。

非薬剤性の冠動脈攣縮性狭心症の発生頻度には人種差が存在する事が指摘されてい

る。この冠動脈攣縮頻度の人種差の一因として、遺伝子一塩基多型 (single nucleotide polymorphism : SNPs) の関与が示唆されている。尿素回路上のオルニチントランスカルバミラーゼ (ornithine transcarbamylase : OTC) 遺伝子に存在する SNPs の 1 つ、rs5963409 がメチルエルゴメトリンマレイン酸塩に起因する薬剤誘発性冠動脈攣縮性狭心症の発症に有意に影響を及ぼすことが報告された (Dumont J e al., Am J Hypertens 2009; 22: 993-1000.)。また、アンジオテンシン受容体 Type1 や内皮型一酸化窒素合成酵素遺伝子についても、冠動脈攣縮に関与する SNPs の存在が指摘されている。しかしながら、これらの遺伝子多型と副作用発現について帝王切開症例で検討した報告はこれまでに見当たらない。

2. 研究の目的

メチルエルゴメトリンマレイン酸塩の効果発現に関わると予想される遺伝子の SNPs に着目し、当薬剤による副作用発現の個体差を解明することを目的とする。本研究では、まず以下の仮説を立て、これを実証することを目的とする。

「これまで冠動脈攣縮との関連が指摘されている SNPs (rs59634409, rs5186, rs1799983, rs2070744) の変異型を持つ患者は、帝王切開術中に使用したメチルエルゴメトリンマレイン酸塩に対する冠動脈攣縮発現率が野生型あるいはヘテロ型遺伝子を持つ患者に比べ有意に高い。

さらに、SNPs の差異に基づきその薬剤選択の基準を決定し、帝王切開術患者における心筋虚血発症との関係を検証する。

3. 研究の方法

和歌山県立医科大学付属病院遺伝子解析研究倫理委員会において承認を取得した。文書による同意を得た患者のみを対象とした。対象症例は ASA physical status 1 または 2 の選択帝王切開を予定されている 18 ~ 40 歳の健康な妊婦とした。緊急手術、心血管合併症、妊娠高血圧症、麦角アルカロイドに対するアレルギーの既往および全身麻酔を施行した症例は除外した。

全ての患者において術直前に晶質輸液 500 ml 投与した。手術室入室後、パルスオキシメトリー、6 極心電図、非観血の血圧測定装置を装着し酸素飽和度、心拍数、心電図波形、非観血の動脈について生態情報モニター (BSM-901、日本光電、東京) を用いて記録した。脊髄くも膜下硬膜外併用麻酔を全例に施行した。側臥位にて硬膜外腔ヘカテーテルを留置した後に、0.5% 高比重マーカインをくも膜下腔へ投与した。仰臥位となった後に仰臥位低血圧症候群を予防するために手術台を 15° 患者左側へ回旋させた。6% v/w ヒドロキシエチルスターチ 500ml を 10 分間かけ

て急速投与した。麻酔導入前と比較しての平均血圧が10%以内となるよう、適宜フェニレフリンまたはエフェドリンの静脈内投与を行なった。第4胸髄レベルまで冷覚消失したことを確認し手術開始とした。児娩出後にメチルエルゴメトリンマレイン酸塩 200 µg(パルタンM注)と0.9%生理食塩水100 mlの混合液を10分間で上肢静脈点滴ラインから持続投与した。オキシトシン(アトニン0注)10単位の子宮筋層内注射を胎盤娩出直後に全例で行った。産科医がオキシトシンの追加投与が必要であると判断した場合は、5単位のオキシトシンを晶質輸液に添加し30分以上かけて投与した。帝王切開術中の心電図四肢第誘導および胸部V5誘導を麻酔導入開始から麻酔終了まで記録した。心電図STはメチルエルゴメトリンマレイン酸塩投与の前後それぞれ20分間を統計学的に比較し、有意差を認めた症例を心電図ST変化ありとした。

手術までに全患者より血液サンプル7 ml採取した。DNA精製キット(Roche Applied Science, Indianapolis, USA)を用いてゲノムDNAを抽出した。

リアルタイムPCRシステム(LightCycler480system, Roche)を使用し、患者血液検体から抽出したDNAをMelting point法を用いてrs5963409の遺伝子型(野生型G/G、ヘテロ型G/A、変異型A/A)、rs2070744の遺伝子型(野生型T/T、ヘテロ型T/C)、rs5186の遺伝子型(野生型A/A、ヘテロ型A/C)、rs1799983の遺伝子型(野生型G/G、ヘテロ型G/T、変異型T/T)を同定した。得られたSNPsとST変化の有無との関連を統計学的に検討した。統計はOne-way ANOVAを使用し、P<0.05を有意とした。

表1 SNPs解析のためのプライマーとプローブ

Gene symbol	eNOS	eNOS
dbSNP ID	rs2070744	rs1799983
Forward Primer 5'-3'	TACCCACCTGCATTCTG	GGAAACGGTCGCTTCGAC
Reverse Primer 5'-3'	GCAGAGAGACTAGGGCTG	CTTTGGTCTCACGTGGG
Probe1 5'-3' Fluorescein	CCCCATGCTCCCACCAGGG CATCAAGCTC	GCTCGGGGGGCGAGAAGGAA GAGTTCTG
Probe2 5'-LCread640-3' phosphorylation	TCCCTGGCCGGCTGA	GGGCTCATCTGGGGC
Gene symbol	AT1R	OTC
dbSNP ID	rs5186	rs5963409
Forward Primer 5'-3'	GAAAGAAGGAGCAAGAGAA	CTGAATAGGCTGCTAGGG
Reverse Primer 5'-3'	TTCAGAGCTTTAGAAAAGT C	CAGAGAGACACTGTCTC AAA
Probe1 5'-3' Fluorescein	AGCCTTAGCTACTTTTCAG A	TACTGACTGTGGGT
Probe2 5'-LCread640-3' phosphorylation	TTGAAGGAGAAAATGCATT ATGTGGACTGAA	CTGTAGAATCAATAGGCAA CTATTTCTTTCTTTTCTT

eNOS= endothelial nitric oxide synthase
AT1R= angiotensin II type 1 receptor
OTC= ornithine transcarbamylase

4. 研究成果

(1)H25年8月~H26年8月に本研究への参加に同意が得られた選択的帝王切開術を予定している患者から血液を採取し、各種遺伝子一塩基多型について塩基配列の解析を行ない患者個々の遺伝子型を決定した。同意の得られた患者が少なく、当初予定した期間を延長して対象患者を増やしデータ収集を行った。また、帝王切開手術中にメチルエルゴメトリンマレイン酸塩を投与前後の心電図ST変化についてもデータを収集した。それらのデータを元に42名の患者を対象としてデータ解析を行なった。統計解析の結果有意差は出なかったが、rs5963409の遺伝子一塩基多型と心電図ST変化の関係が示唆された。

表2 rs5963409遺伝子一塩基多型と心電図変化

	野生型	ヘテロ型	変異型
rs5963409遺伝子型	G/G (n=24)	G/A (n=15)	A/A (n=3)
ST変化有り(人)	8	1	0

(2)2016年度までの解析結果を基に前向き試験を実施した。rs5963409の遺伝子一塩基多型を術前に決定し、メチルエルゴメトリンマレイン酸塩またはオキシトシンを投与し

実際に観察される心電図 ST 変化と遺伝子一塩基多型との関係について解析を行なおうと試みた。同意の得られた 30 名の患者を対象としてデータ収集を行なったが、心電図 ST 変化を確認できた症例が両群とも 0 であったため前向き試験続行中止と判断した。

(3) 遺伝子一塩基多型と心電図 ST 変化の関係を明らかにすることを目的として対象患者を増やし前向き観察研究を続行した。最終的に 74 名の患者の 4 種の遺伝子について遺伝子一塩基多型を決定し、メチルエルゴメトリンマレイン酸塩投与前後に観察される心電図 ST 変化の関係について解析を行った。

表3 rs5963409遺伝子一塩基多型と心電図変化

遺伝子型	rs2070744			rs179983			
	T/T (n=61)	T/C (n=13)	<i>p</i>	G/G (n=60)	G/T (n=13)	T/T (n=1)	<i>p</i>
ST上昇 (n)	13	1	0.26	13	1	0	0.45
ST低下 (n)	11	1	0.36	22	4	0	0.70

遺伝子型	rs5186			rs5963409			
	A/A (n=63)	A/C (n=12)	<i>p</i>	G/G (n=41)	G/A (n=28)	A/A (n=6)	<i>p</i>
ST上昇 (n)	16	2	0.41	7	9	2	0.30
ST低下 (n)	22	5	0.45	17	8	2	0.54

いずれの遺伝子についても遺伝子一塩基多型と心電図 ST 変化との関係は明らかにならなかった。

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)

該当なし

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 0 件)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕
出願状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

該当なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

谷奥 匡 (TANIOKU, Tadashi)
和歌山県立医科大学麻酔科・助教
研究者番号：50554656

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：

(4) 研究協力者

中畑 克俊 (NAKAHATA, Katsutoshi)
研究者番号：70332971