

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 28 年 6 月 16 日現在

機関番号：12102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25462422

研究課題名(和文) 麻薬受容体の遺伝子多型とシグナル伝達系に関する革新的臨床および基礎研究

研究課題名(英文) Innovative clinical and basic research for opioid receptor polymorphism and signal transduction

研究代表者

猪股 伸一 (Inomata, Shinichi)

筑波大学・医学医療系・准教授

研究者番号：10282352

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：麻薬性鎮痛薬は周術期に重要な役割を担っているが、必要量と副作用発現量に大きな個人差がある。μ受容体遺伝多型などがその一因とされるが、海外では変異型が少なく正確な検討がなされていない。また各大陸人種別の遺伝多型頻度の差異に関する報告もない。そこで、安全性向上を目的に、変異型の多い本邦でこれらを研究し、適切な麻薬性鎮痛薬投与量を検討、またμ受容体からのシグナル伝達系などについても調べた。アフリカや欧米諸国と比較して多型頻度の逆転現象を発見、人種差が大きいことを見いだした。また麻薬性鎮痛薬の必要量は、多型タイプに依存し、遺伝子変異が無い場合には、半量以下に減量する必要がある。

研究成果の概要(英文)：The opioids are very useful drug for the purpose of perioperative analgesia, but there are highly individual differences in their effects. One of the reasons why such individual differences appears is the polymorphism of μ-opioid receptor. Prior findings concerning the effects of genetic polymorphism on μ-opioid receptor agonist requirements have not been in accord. In our study, the frequencies of the polymorphism vary considerably by race; the frequencies were higher among Asian populations compared to Caucasians. There was a significant difference in the amount of opioid needed for post-operative analgesia in based on the type of gene mutation. Additionally, we investigated polymorphism and signal transduction.

研究分野：麻酔科学

キーワード：麻薬性鎮痛薬 個人差 麻薬受容体 μ受容体 シグナル伝達 遺伝多型

### 1. 研究開始当初の背景

麻薬性鎮痛薬は周術期に重要な役割を担っているが、必要量と副作用発現量に大きな個人差があり、呼吸抑制などは生命に直結するため重要な問題と考える。μ受容体遺伝多型がその一因と推測されるが、海外で行われた麻薬性鎮痛薬に関する研究結果は、homo 変異型を独立群とした3群による研究は皆無に等しく、正確な結果が得られていない。海外で変異型が少ないことが原因であると考えた。麻薬性鎮痛薬の効果とμ受容体の変異頻度に関し、また各大陸人種別の遺伝多型頻度の差異に関する報告はない。また、人種差が存在するならば、海外の至適量や副作用に関するデータは、日本人に当てはまらない危険性が危惧されるため、これらは重要な研究課題と考えられる。本研究の成果は、革新的な麻酔管理法の開発と人類遺伝学的な麻薬受容体の遺伝多型変遷およびシグナル伝達系の解明につながる可能性がある。

### 2. 研究の目的

本研究では、これらの解明と臨床における必要量などを詳細に比較検討することにより以下を解明する。

(1) 麻酔中の投与薬および術後鎮痛投与薬について総合的に検討し、μ受容体の遺伝多型に基づいた「テーラーメイド医療」実現のため、麻薬性鎮痛薬の適切な投与方法を提案、安全性向上を目的とする。

(2) 麻薬性鎮痛薬の効果とμ受容体の変異頻度に関し、各大陸人種別の遺伝多型頻度の差異を解明する。

(3) μ受容体からのシグナル伝達系について、臨床・基礎両面から発展的研究を展開する。

### 3. 研究の方法

麻薬受容体周辺遺伝子の調査研究は、ゲノム倫理委員会および附属病院の医の倫理委員会でも承認された。遺伝子研究従事者にも登録した。

(1) 麻酔中の投与薬および術後鎮痛薬についての検討。

日本人(永年茨城県在住)63人を対象に末梢静脈血または唾液を試料として、代表的なμ受容体の遺伝多型の一つ6q24-q25, A118G変異やIVS2+G691V, IVS2+G31Aなど多方面から調査する。DNA sequencerでSSCP法(Single Strand Conformational Polymorphism)を用いてsequence。Acrylamide(99.9%)とN, N'-methylene-bis-acrylamide、触媒加硫酸アンモニウムを加えTBE(tris, boric acid, EDTE 2Na)でメスアップしフィルターにかけガス抜き。Bind Silan、10%酢酸でガラスを処理。Repel Silanで石英を処理。

Blue dextrane と formamide (DNA の一本鎖への解離を維持)、1 μl の PCR 産物を加え、denature 97 5分。レーザー値 > 600、400 V、50 mA、180 分で detect。DNA sequencer

は現有設備を使用する。A118G 変異の場合、Primer 設定は OPRM1-F1, 22 mer, 67.4 ; OPRM1-R1, 20 mer, 71.8 など適宜変更加える。PCR は Taq 0.1 μL, DNA 2.0mL などに加え、97 10 min, (97 30 sec, 58 30 sec, 72 30 sec) × 35 サイクル、72 10 min。その外の変異型解析も変更を加えた同様の手法を応用する。サーマルサイクラーは現有設備を使用する。

1 麻酔中の投与薬について

μ受容体作動薬レミフェンタニルを用い、適切な鎮痛が得られる必要量とμ受容体の遺伝多型の関連について、乳がん手術患者で検討する。

2 術後の鎮痛薬について

μ受容体作動薬フェンタニルの必要量とμ受容体の遺伝多型の関連について、婦人科の開腹手術で検討する。コンピューター制御ポンプ(現有:CADD-Legacy PCA, model 6300 Deltec, Smiths 社)を使用。一定濃度に希釈した麻薬性鎮痛薬(フェンタニル)300mLを患者が自分で疼痛に応じてボタンを押して注入(投与量に上限設定、投与間隔と投与量も設定)術後鎮痛に必要なフェンタニルの必要量との関連性を検討する。

いずれも homo 変異型を独立群とし、検討を加える。

(2) 各大陸人種別の遺伝多型頻度の差異についての検討。

日本人(n=63)

中国人;上海(n=67)

ミャンマー(n=60)

米国白人(n=60)

フランス(n=48)

南米;コロンビア(n=61)

コートジボアール;アイポリーコースト(n=57)

上記の人種を対象に、遺伝多型頻度について比較・検討する。

(3) μ受容体からのシグナル伝達系についての検討。

KCNJ6 などシグナル伝達系の遺伝多型の影響について検討する。

### 4. 研究成果

唾液という患者に侵襲の無いサンプルで、かつ少量で遺伝子を解析する方法を確立した。この方法は、応用範囲が広く、今後の遺伝子解析に大きく貢献できると考えられる。

(1) 日本人において homo 変異型を独立群とした正確な比較が可能となった。Power analysis にて十分なことを確認した。

1 麻酔中の投与薬について

6q24-q25, A118G 変異に関する 63 人の内訳は、AA=19, AG=36, GG=8 であった。AA 群は、GG

群と比較して半量以下の投与量で適正な鎮痛が得られた。A118G 変異が必要量には大きく影響し、IVS2+G691V, IVS2+G31Aなどは影響しなかった。

#### 2 術後の鎮痛薬について

上記の結果を踏まえて、A118G 変異などとの関連について解析した。解析の内訳は、AA 群=13, AG 群=19, GG 群=13であった。術後2~3日目においてAA 群とGG 群間に術後鎮痛に必要なフェンタニルの量に有意差を認め、GG 群で2倍の高用量を必要とした( $p < 0.05$ )。患者が自分自身で疼痛に応じてボタンを押し、投与量に上限を設定、投与間隔と投与量も設定した。有害事象に差を認めず、これは、副作用があれば注入ボタンを押さなかったためと考えられた。

以上より、 $\mu$ 受容体作動薬の麻薬性鎮痛薬を患者に投与する場合には、AA 群では効果が得られやすいため、半量に減量することが勧められる。麻薬性鎮痛薬を使用する際には、唾液を用いた簡便な検査で感受性を推測できるため、臨床に応用可能で、患者の安全上、重要な情報であると考えられた。今回は、患者の安全性を考慮し、患者が自分自身で疼痛に応じてボタンを押し、副作用があれば注入ボタンを押さなくなる自己注入システムを採用したが、時間あたり一定量の注入する持続注入ポンプを使用する場合には、この結果は当てはまらず、呼吸抑制などの副作用の発現に注意が必要であろう。

#### (2) 各大陸人種別の遺伝多型頻度の差異について

同様の解析手法を用いて、研究対象を幅広い人種に広げた。

その結果、コートジボアール;アイポリーコーストと南米;コロンビアで、 $\mu$ 受容体の遺伝多型 A118G 変異の頻度は最少となった。次にフランスと米国白人のコーカソイド人種で変異頻度が低く、例を挙げると米国白人における $\mu$ 受容体の遺伝多型 A118G 変異の頻度が50人中14名(28%)であったのに対し、日本人においては50名中39名(78%)に変異が観察され、米国白人と日本人では $\mu$ 受容体遺伝多型頻度の逆転(二乗検定,  $P < 0.001$ )が確認できた。中国人;上海( $n=67$ )とミャンマーでは、これらの人種よりも変異頻度は高かった。以上より、変異頻度は、古い人種のアフリカや中央アメリカで最も低く、ヨーロッパからアジアに、東に移動すると新しい人種の日本人で最も多くなり、日本人の特異性をはじめて見いだすことができた。この受容体に変異が多いということは、内因性の麻薬様物質オピオイドペプチドの効果小さいことが推測される。薬剤による痛みの治療方法が確立していない太古の時代に、日本人は痛みを軽減する体内のシステムの効果が小さいが為に、結果として我慢強い民族になったと推察される。人類学的にも貴重な結果が得られた。

$\mu$ 受容体の A118G 変異頻度に関し、homo 変

異型を独立群とした国内外からの詳細な報告は極めて少なく、正確な研究結果は得られていない。海外の研究結果は、日本人に当てはまらないことが強く予想され、とても懸念される。また、国内からの報告も散見されるが、その大半は、顔面領域、つまり脳神経である三叉神経領域の研究であり、手術の大多数を占める体性神経領域の研究ではない。我々の研究は、女性の悪性腫瘍で最多を占める乳がんの手術患者と婦人科の開腹手術を対象とした。これは、麻薬性鎮痛薬の効果に性差があるために女性にしばって検討したものであり、女性の疾患として、最も代表的な疾患群で研究結果が得られたことは、意義のあることと考えている。

#### (3) $\mu$ 受容体からのシグナル伝達系について

KCNJ6 の遺伝多型の影響も観察できた。その他の多型の影響については、現在も解析中である。

#### 結語:

本研究の成果は、革新的な麻酔管理法の開発と人類遺伝学的な麻薬受容体の遺伝多型変遷を明らかにした。また、影響するシグナル伝達系の解明につながる可能性も示唆された。

#### 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)

[雑誌論文](計 0件)

[学会発表](計 2件)

Inomata S, Tanaka M. Comparison of allele frequencies in opioid receptor gene OPRM1 (6q24-25, A118G) among different racial population groups, and the effects of the genetic polymorphism on  $\mu$ -opioid receptor agonist requirements.

Annual meeting, European Society of Anaesthesiology; June 03, 2014 (Stockholm: Sweeden).

猪股伸一: 唾液を用いた遺伝子変異解析法の確立と日本人1,300人を対象としたオピオイド受容体変異率の都道府県比較. 日本麻酔科学会第61回学術集会: 5月17日, 2014(パシフィコ横浜: 横浜市).

[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

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

猪股 伸一 (Shinichi INOMATA)

筑波大学 医学医療系

准教授

研究者番号：10282352

##### (2) 研究分担者

( )

研究者番号：

##### (3) 連携研究者

( )

研究者番号：