

論文内容要旨

The effects of dantrolene in the presence or absence of ryanodine receptor type 1 variants in individuals predisposed to malignant hyperthermia

(悪性高熱症素因者における1型リアノジン受容体変異の有無によるダントロレンの効果の相違)

Anaesthesia and Intensive Care, 2021 in press

主指導教員：堤 保夫教授

(医系科学研究科 麻酔蘇生学)

副指導教員：吉栖 正生教授

(医系科学研究科 心臓血管生理医学)

副指導教員：佐伯 昇教授

(医系科学研究科 麻酔蘇生学)

野田 祐子

(医歯薬保健学研究科 医歯薬学専攻)

【背景】

悪性高熱症(以下MH)は重篤な麻酔合併症の一つで1型リアノジン受容体(RYR1)の遺伝子変異が主な原因であると言われている。ダントロレンは、MHの治療薬として臨床的に利用可能な薬剤で、筋小胞体(SR)からのカルシウム(Ca^{2+})放出を直接的に抑制する筋弛緩薬である。ダントロレンはSR上に存在するRYR1に主に作用していると考えられている。ダントロレンの効果が主にRYR1に対する作用に起因するのであれば、RYR1遺伝子変異の有無によりその効果が異なる可能性があるが、過去にヒト筋細胞を用いてRYR1遺伝子変異の有無によるダントロレンの効果の違いを検討した報告はない。

【目的】

RYR1遺伝子変異の有無によってダントロレンの効果が異なるかどうかを、MH素因者の筋細胞を用いて検討した。

【方法】

Ca^{2+} -induced Ca^{2+} release(CICR)検査によりMH素因があると判断された者を対象とした。対象者に遺伝子検査を行い、RYR1に遺伝子変異がある群(RYR1+群)とない群(RYR1-群)の2群に分けた。対象者の骨格筋から筋管細胞を作成し、カフェイン(Caf)に対するhalf maximal effective concentration(EC_{50})および安静時細胞内 Ca^{2+} 濃度($[\text{Ca}^{2+}]_i$)を測定し、ダントロレン5 μM または15 μM 負荷前後での EC_{50} の変化およびダントロレン50 μM 負荷前後の安静時 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 変化に関して2群間に差異が存在するかどうかを調査した。

EC_{50} および $[\text{Ca}^{2+}]_i$ は、中央値を用いて外れ値を排除した。統計分析は、2群間におけるダントロレン負荷前後による EC_{50} および $[\text{Ca}^{2+}]_i$ の変化に関しては二元配置反復測定分散分析(two-way repeated-measures analysis of variance : two-way repeated measures ANOVA)を用い、 EC_{50} に対するダントロレンの効果はTukeyの多重比較検定を用いた。それぞれ $p < 0.05$ で有意差ありとした。

【結果】

CICR検査によりMH素因を認めた対象者は11人であった。そのうち、RYR1遺伝子変異を認めたのは6人(RYR1+群)、認めなかったのは5人(RYR1-群)であった。Cafに対する EC_{50} は、ダントロレン投与により有意な上昇を認めた($P < 0.0001$)。両群における EC_{50} の中央値の平均±標準偏差(mean ± S.D.)は、それぞれ2.37 ± 0.32 mM(RYR1+群)と2.73 ± 0.32 mM(RYR1-群)であった。ダントロレン5 μM および15 μM 負荷により、RYR1+群では3.24 ± 0.56 mM、および3.99 ± 0.64 mM、RYR1-群では3.82 ± 0.52 mM および4.70 ± 0.52 mMに変化した。両群において、ダントロレン負荷前後でのCafに対する EC_{50} の変化に差はなかった($P = 0.59$)。

安静時 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ のmean ± S.D.は、それぞれ104.08 ± 16.50 nM(RYR1+群)、81.76 ± 26.82

nM(*RYR1*-群)であり、両群間で有意な差は認めず ($P = 0.15$)、ダントロレンの負荷により安静時 $[Ca^{2+}]_i$ は有意に低下した ($P < 0.0001$)。ダントロレン 50 μ M 負荷により、それぞれ 74.05 ± 14.00 nM(*RYR1*+群)、 60.53 ± 19.49 nM(*RYR1*-群)に減少した。両群間においてダントロレン投与による安静時 $[Ca^{2+}]_i$ の低下に有意差はなかった ($P = 0.21$)。

【考察】

MH 素因者の筋細胞を用いた研究において、*RYR1*+群と *RYR1*-群の 2 群間でダントロレンの効果に差はなかった。よって、ダントロレンは *RYR1* 遺伝子変異の有無に関わらず、MH 患者に有効な治療法であるといえる。

安静時 $[Ca^{2+}]_i$ は細胞質、SR、細胞外基質間の Ca^{2+} の移動により規定される。*RYR1* 遺伝子変異をもつ MH 素因者では変異型 RYR1 を介して SR から細胞質に Ca^{2+} が漏出することで安静時 $[Ca^{2+}]_i$ は変化する。本研究では、両群の安静時の $[Ca^{2+}]_i$ がダントロレン負荷により減少したことから、ダントロレンは RYR1 以外にも作用して $[Ca^{2+}]_i$ の上昇を抑制していると考えられる。この結果は、過去の動物モデルを用いた研究で RYR1 以外の Ca^{2+} 調節機構に関わるチャンネルにもダントロレンが作用していたという報告と一致している。

また、SR から細胞質への Ca^{2+} 放出には、RYR1 だけではなく、ジヒドロピリジン受容体 (DHPR) も関与しており、DHPR をコードしている電位依存性 L 型 $\alpha 1S$ サブユニット (*CACNA1S*) の遺伝子異常も MH に関与している。実際、骨格筋における Ca^{2+} の恒常性の異常を生じうる遺伝子変異は RYR1 以外にも存在するため、それらの遺伝子変異とダントロレンの効果の関連性も今後調査する必要がある。

【結語】

Caf に対する EC_{50} および安静時 $[Ca^{2+}]_i$ のいずれにおいても、ダントロレン負荷による変化と *RYR1* 遺伝子変異の有無との間に有意な相互作用は認めず、MH 素因者に対して、*RYR1* 遺伝子変異の有無に関わらずダントロレンの効果に差異を認めない。