

論文内容要旨

Effects of Remimazolam and Propofol on Ca^{2+} Regulation
by Ryanodine Receptor 1 with Malignant Hyperthermia
Mutation

(悪性高熱症を引き起こす変異をもつ 1 型リアノジン受容
体の Ca^{2+} 代謝に対するレミマゾラムとプロポフォールの影
響)

BioMed Research International, Article ID 8845129, 11,
2021.

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：酒井 規雄教授
(医系科学研究科 神経薬理学)
副指導教員：佐伯 昇准教授
(医系科学研究科 麻酔蘇生学)

渡辺 知幸

(医系科学研究科 医歯薬学専攻)

背景：悪性高熱症（Malignant hyperthermia：MH）は、MH 感受性を持つ患者への揮発性吸入麻酔薬への暴露を契機として発症する周術期合併症の一つである。病因は骨格筋の細胞内カルシウム（calcium：Ca）代謝異常であり、骨格筋細胞に存在する 1 型リアノジン受容体（Ryanodine receptor 1：RYR1）遺伝子の変異が原因の一つとされている。MH に感受性のある患者では、RYR1 の機能不全があるため、誘発薬への暴露を契機として筋小胞体から細胞質への Ca^{2+} 放出が劇的に増加し、細胞質 Ca^{2+} 濃度が増加する。MH に感受性のある患者の麻酔管理では、MH を誘発する麻酔薬を避ける必要がある。新規の静脈麻酔薬であるレミゾラムは日本では全身麻酔薬としても使用されており、MH の誘発薬となるかどうかは分かっていない。またプロポフォールは臨床的に MH 患者において安全に使用できることが知られているが細胞実験では明らかではない。我々はレミゾラムおよびプロポフォールが MH のメカニズムに関与するかどうかを明らかにする必要があると考えた。細胞内 Ca^{2+} に対するレミゾラムおよびプロポフォールの調節効果を解明するために、これらの薬剤への暴露が、様々な RYR1 を発現したヒト胎児腎細胞 293（Human Embryonic Kidney cells 293：HEK-293）の反応性を促進するかどうかを調べた。また、レミゾラムとプロポフォールの 50%効果濃度（Half maximal effective concentration：EC50）を算出し、HEK-293 細胞における RYR1 の有無でどのような影響があるかを比較した。

対象・方法：HEK-293 細胞を対象に、野生型 RYR1 を発現した細胞と MH 変異を組み込んだ変異体 RYR1 を発現した細胞を作成した。組み込んだ MH 変異は、p.Thr84Met、p.Ser2345Arg、および p.Ala4894Thr の 3 つを使用した。蛍光指示薬 fura-2/AM を用い、波長比（340/380nm）を計測・解析することで細胞内 Ca 動態を評価した。両群の細胞に段階的に濃度を増加させたカフェインを負荷し、波長比の変化からカフェインの EC50 を算出した。同様に、灌流液に臨床濃度の 100 倍のレミゾラムやプロポフォールを還流させた時の両群のカフェインの EC50 を算出し、両群における灌流液のレミゾラムやプロポフォールの有無での EC50 を比較した。さらに、レミゾラムまたはプロポフォールによる細胞内 Ca^{2+} の上昇が RYR1 の有無によって促進されるかを、野生型 RYR1 遺伝子を導入した細胞と導入していない細胞を用いて検証した。統計学的検定には対応のない t 検定を使用し、 $p < 0.05$ を有意とした。

結果：野生型 RYR1 では、レミゾラムの灌流時と非灌流時のカフェインの EC50 は両者で差がなかった（環流 vs 非環流、2.86 mM vs 2.75 mM、 $P=0.76$ ）。同様に、野生型 RYR1 におけるプロポフォールの灌流時と非灌流時のカフェインの EC50 は両者で差がなかった（環流 vs 非環流、2.76 mM vs 2.75 mM、 $P=0.83$ ）。変異体-RYR1（p.Thr84Met、p.Ser2345Ar、p.Ala4894Thr）では、レミゾラムの灌流時と非灌流時のカフェインの EC50 はいずれの変異体 RYR1 においても差がなかった（環流 vs 非環流、p.Thr84Met：1.58 mM vs 1.71 mM、 $P=0.63$ 、p.Ser2345Ar：1.75 mM vs 1.82 mM、 $P=0.47$ 、p.Ala4894Thr：1.22 mM vs 1.39 mM、 $P=0.59$ ）。同様に、変異体 RYR1 におけるプロポフォールの灌流時と非灌流時のカフェインの EC50 は両者で差がなかった（環流 vs 非環流、p.Thr84Met：1.65 mM vs 1.71 mM、 $P=0.73$ 、p.Ser2345Ar：1.48 mM vs 1.82 mM、 $P=0.21$ 、p.Ala4894Thr：1.13 mM vs 1.39 mM、 $P=0.92$ ）。レミゾラムの EC50

は RYR1 の発現の有無で差がなく (RYR1 発現あり vs RYR1 発現なし、1.00 mM vs 0.92 mM、 $P=0.91$)、プロポフォールの EC50 も RYR1 の発現の有無で差がなかった (RYR1 発現あり vs RYR1 発現なし、1.09 mM vs 1.05 mM、 $P=0.84$)。

考察：本研究では、レミゾラムまたはプロポフォールへの暴露が、野生型または変異体 RYR1 を発現する HEK-293 細胞において細胞内 Ca^{2+} 濃度のカフェインによる上昇を増強するかどうかを検証した。野生型または変異体 RYR1 を発現する HEK-293 細胞においてレミゾラムまたはプロポフォールのいずれによってもカフェインに対する応答が増強されないことを示した。さらに、レミゾラムおよびプロポフォールによる細胞内 Ca^{2+} の上昇が RYR1 の有無によって促進されたかどうかを評価した。結果は、レミゾラムおよびプロポフォールは高濃度暴露によって細胞内 Ca^{2+} の上昇を起こすが、その上昇は RYR1 の発現の有無によって増強されないことを示した。これらの研究結果に基づいて、我々は、レミゾラムとプロポフォールが RYR1 を媒介して MH を引き起こす可能性は低いと結論付けた。

結論として、レミゾラムおよびプロポフォールは、MH 感受性患者において MH を引き起こす誘因となる可能性は低く、MH が発生したときに代替の麻酔薬として安全に使用することができる。