

博士論文

GABA transaminase 遺伝子多型は
がん性疼痛に対するオピオイド鎮痛薬感受性を規定する

横島 弥栄子

GABA transaminase 遺伝子多型は
がん性疼痛に対するオピオイド鎮痛薬感受性を規定する

所属：東京大学大学院医学系研究科外科学専攻生体管理医学講座麻酔学

指導教員： 山田 芳嗣 教授

申請者： 横島 弥栄子

目次

1. 要旨	5
2. 序文	6
2.1. 背景	6
2.2. 鎮痛薬感受性には遺伝的個人差がある	8
2.3. 一塩基多型 SNP: singlenucleotide polymorphism とは	13
3. 目的	14
4. 方法	15
4.1. 対象	15
4.2. 評価方法	17
4.3. ゲノムワイド関連解析：遺伝子解析	21
4.4. ゲノムワイド関連解析：遺伝子型データの統計解析	22
4.5. 3群の遺伝子型の統計解析	24
5. 結果	25
5.1. 対象者の特徴とオピオイド鎮痛薬による治療の結果	25

5.2.	ゲノムワイド関連解析(オピオイド鎮痛薬増量後の疼痛減少率を規定する SNP の同定)	30
5.3.	オピオイド鎮痛薬増量後の疼痛減少率と遺伝子型による 3 群間の解析	38
6.	考察	47
6.1.	本研究で発見された事実、それにより導かれる結論、今後の発展の可能性	47
6.2.	rs12494691 に関して	50
6.3.	rs1641025 が GABA transaminase に与える機能に関して	51
6.4.	合併症に関して	60
6.5.	線形回帰モデルに関して	62
6.6.	ABAT と他の遺伝子との関連に関して	64
7.	限界	70
8.	謝辞	72
9.	引用文献	73

1. 要旨

本研究は、がん性疼痛におけるオピオイド鎮痛薬に対する感受性の個人差に関与する遺伝子多型を解明するために、新規の遺伝子多型の探索と同定を試みた。

71 人のがん性疼痛患者に線形回帰モデルを導入し、11 段階 NRS で表現した疼痛強度と一塩基多型 (SNP) のゲノムワイド関連解析を行った。rs1641025 (第 16 染色体上の ABAT (GABA transaminase) 遺伝子に存在) と rs12494691 (第 3 染色体上) の 2 つの SNP が検出された。

オピオイド鎮痛薬感受性には GABA transaminase 遺伝子多型が関連し、がん性疼痛に対する創薬標的の探索と開発に役立つと考えられる。両 SNP は疼痛緩和に必要なオピオイド鎮痛薬の量を予測したり、鎮痛必要量まで滴定する時間を最小化したりする個別化医療に寄与する可能性がある。

2. 序文

2.1 背景

疼痛は終末期がん患者に最もよく起こる症状の一つである。がん性疼痛患者が経験する疼痛に関連した苦痛は不安、抑うつ、社会的機能の変化をもたらす。

実際、がん性疼痛の患者では身体的機能だけでなく社会的機能と役割が一般集団より低いことがわかっており、その結果、全体的な健康状態と生活の質 (quality of life : QOL) が大きく損なわれている [1]。

抗がん治療（化学療法、放射線療法、手術）が積極的に行われるにつれ、進行がんの状態で過ごす時間は長期化し、それに伴いがん性疼痛の罹患期間も長期化している。がん性疼痛の罹患率が 64% にのぼる末期がんに加えて、根治治療直後でも 33%、抗がん治療中でも 59% の患者ががん性疼痛に罹患すると報告されている [2]。

しかし、末期のがん患者を除いて、抗がん治療中または治療直後のがん患者の半数以上は十分な鎮痛薬が供給されていない [3]。十分ながん性疼痛管理を妨げ

ている障壁についてのシステマティックレビューでは、医療従事者の疼痛管理の知識が不十分であるだけでなく、疼痛や疼痛管理の評価が不十分であることが明らかになった[4]。特に、オピオイド鎮痛薬の知識（有効量、上限、中毒や耐性の可能性）が不十分であることが多くの医師や看護師により報告されている。オピオイド鎮痛薬の使用後に観察される様々な生体反応（鎮痛効果と副作用発現）は患者毎に大きく異なることについての理解が不十分であることが、十分な疼痛管理が行われていない要因となっていると考えられる。

2.2. 鎮痛薬感受性には遺伝的個人差がある

組織傷害に伴って知覚される疼痛強度には個人差があり、また、各種鎮痛薬の効果にも個人差がある。このような疼痛に関連した個人差の原因として、神経伝達関連分子や薬物代謝関連分子などの遺伝子多型（一塩基多型SNP: single nucleotide polymorphism）がその基盤となっていることが多数報告されている（表1）。

	遺伝子	侵害刺激	疼痛に対する反応	遺伝子型		
				wild	hetero	homo
Opioid 受容体	OPRM1	圧痛・熱刺激	↓	1	0.5~0.8	-
	OPRD1	熱刺激	↓	1	0.75	1
Catechol-O-methyl transferase (モノアミン系神経伝達物質の代謝酵素)	COMT	圧痛・ 熱刺激など	↓(一部↑)	1	0.83~ 1.38	1.99
TRP 受容体 family	TRPV1	冷刺激	↓	1	1	0.63
	TRPA1	冷刺激	↑	1	1.23	1.75
Fatty acid amino hydrolase (内因性カンナビノイドの代謝酵素)	FAAH	冷刺激	↑	1	1.12~ 1.52	1.27~ 1.44
GTP cyclohydrolase 1 (ドーパミン、セロトニン生成の律速段階となる酵素)	GCH1	圧刺激・ 熱刺激・ 慢性腰痛症	↓	1	1.14~ 1.28	1.18~ 1.34
Interleukin-1	IL1RN	慢性腰痛症	↑	-	-	-
	IL1A		↑	-	-	-
	IL1B		↑	-	-	-

表 1 痛覚知覚に関する遺伝子多型

オピオイド鎮痛薬に対する反応は患者毎に異なる。この個人差は疼痛の認識、処理、鎮痛薬に対する反応性に影響を及ぼす遺伝的素因によって説明できる[5]。海外からは、実験的誘発痛、術後痛、がん性疼痛、非がん慢性疼痛に対して、以下の遺伝子多型とオピオイド鎮痛薬反応性の関係を調べた数多くの研究が報告され、遺伝子型によってオピオイド鎮痛薬の必要量が異なることも示されている[8]。

- ・薬物トランスポーター遺伝子（ABCB1）
- ・薬物代謝酵素遺伝子（CYP2D6、SYP3A4）
- ・ μ オピオイド受容体遺伝子（OPRM1、OPRK1）
- ・Catechol-O-Methyltransferase 遺伝子（COMT）

他にもオピオイド鎮痛薬感受性に関する遺伝子多型についての報告が多数ある（表2）。

例えば、疼痛の認識と処理の変化に関連する遺伝子多型のうち、 μ オピオイド受容体の一塩基多型 SNP [OPRM1 118A>G (re1799971)] は、遺伝子保有者間で圧痛強度が 0.8 倍であることに関連している、と報告されている[6]。OPRM1 118A>G についての過去の研究では、遺伝子型とオピオイド鎮痛薬の関連性を

示しており、マイナーアレルホモ接合体を持つ患者はモルヒネ必要量が高い（2倍以上）ことがわかっている[7]。

	遺伝子	発生頻度 (%)	影響を受ける薬剤	SNP が存在する場合に必要な薬物量
Opioid 受容体	OPRM1	17.2	モルヒネ・M6G Alfentanyl Levomethadone	2
Catechol-O-methyl transferase	COMT		モルヒネ	
Melanocortin-1 受容体	MC1R		モルヒネ・M6G ペンタゾシン	
サイトクローム P450	CYP2D6	46.2	コデイン・トラマドール	0.67
P-Glycoprotein	ABCB1	2~4.5	モルヒネ	0.67
UDP-グルクロン酸転移酵素	UGT	0.1~20.7	各種オピオイド	1.3~∞
G 蛋白質活性型 + 内向き整流 K チャネル	GIRK	47.6	モルヒネ	-

表 2 オピオイド鎮痛薬感受性に関する遺伝子多型

2.3. 一塩基多型SNP: singlenucleotide polymorphismとは

ヒトではゲノムにおける塩基配列の99.9%は同じであり、個人差は残りの0.1%の塩基配列の違いに基づく。この0.1%の違いには、遺伝子のある塩基が置き換わっていたり、別の遺伝子配列が挿入されていたりする。このような遺伝子の違いを、遺伝子多型と呼ぶ。

遺伝子多型のうち最も多いのが、一塩基多型 SNP (single nucleotide polymorphism) である。SNP は、遺伝子中の一つの塩基だけが置き換わったものを指す (A→G など)。個人によって SNP は 300 万~600 万塩基対の違いがあると言われている。

3. 目的

以上のように、オピオイド鎮痛薬に対する感受性には遺伝子多型が関与することがわかっている。しかし、これまでゲノムワイド関連解析で網羅的に研究されているものはない。また、過去の研究のほとんどは対象を白色人種群としている。

本研究は、がん性疼痛患者における、オピオイド鎮痛薬に対する感受性の個人差を規定する新規の遺伝子多型を探求し同定することを目的とした。対象を日本人とし、方法にゲノムワイド関連解析を用いることとした。

がん性疼痛患者一人一人の遺伝的特徴に合わせることでできる個別化医療は将来有望な分野である。

本研究の結果は、疼痛緩和に必要なオピオイド鎮痛薬の量を予測したり、鎮痛必要量まで滴定する時間を最小化したりすることに寄与する可能性がある。また、全てのがん性疼痛患者に対する創薬標的の探索と開発に役立つと考えられる。

4. 方法

4.1. 対象

厚労働省ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針に則り、各研究施設での倫理委員会の承認を得た。東京大学大学院医学系研究科ヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理委員会の承認を得て本研究を開始した(G2804-3)。

全ての対象者から文書による説明と同意を取得した。

組み入れ基準は以下の通りであった。

- (a) がん性疼痛の診断がついている患者（悪性病変の臓器や病理は問わない）
- (b) 疼痛持続期間>1週間を超える患者
- (c) 年齢>20歳を超える患者

オピオイド・ナイーブ（オピオイド鎮痛薬使用経験のない）の患者と、既にオ

ピオイド鎮痛薬を使用していた患者（オピオイド鎮痛薬の処方期間、屯用で使用する場合の一回量と時間は問わない）の両方を組み入れた。

除外基準は以下の通りであった。

- (a) 軽度またはより重篤な認知機能障害のある患者
- (b) 臨床的に脳転移と関連のある患者
- (c) がん以外による臓器の疼痛の疑いがある患者

4.2. 評価方法

第1回目の調査は患者への初回介入時に行った。オピオイド・ナイーブの患者

(オピオイド・ナイーブ群) に対してはオピオイド鎮痛薬初回投与前に、既にオピオイド鎮痛薬を使用していた患者(非オピオイド・ナイーブ群) に対してはオピオイド増量前に、疼痛の強さと合併症を評価した。合併症は、オピオイド鎮痛薬による副作用として頻度の高い嘔気、嘔吐、便秘、眠気を評価した。

疼痛の強さの測定は、11段階数値評価スケール (numerical rating scale : NRS)

(0=no pain、10=worst possible pain) を用いて評価した。

合併症(嘔気、嘔吐、便秘、眠気)の強さの測定は、5段階 Likert scale (0=absence of symptoms、1=mild、2=moderate、3=severe、4=very severe) を用いて評価した。

オピオイドの初回投与量または増加量をどのように決定するかはプロトコールを使用せず、がん性疼痛管理に精通した担当医師の裁量で、各々の患者に対して行った。

第2回目の調査は、第1回目の調査の後にオピオイドを初回投与(オピオイド・ナイーブ群に対して) または増量(非オピオイド・ナイーブ群に対して) した

翌日に行った。

第1回目の調査から翌日の第2回目の調査までの、疼痛減少率とそれぞれの合併症変化率の定義は次の通りである。簡便にするために、オピオイド・ナーヴ群に対して行った初回投与も、非オピオイド・ナーヴ群に対して行った増量も、同じく「増量」と定義した。

オピオイド鎮痛薬増量後の疼痛減少率 (%)

$$= (\text{NRS (増量前)} - \text{NRS (増量後)}) / \text{NRS (増量前)}$$

オピオイド増量後の合併症変化率

$$= (\text{合併症 (増量前)} - \text{合併症 (増量後)}) / \text{合併症 (増量前)}$$

オピオイド鎮痛薬感受性＝オピオイド鎮痛薬増量後の疼痛減少率、と定義した。

オピオイド鎮痛薬の量は、疼痛評価時の体重に基づきフェンタニル静脈投与等量 (mcg/kg/day) に変換し、記録した。

分析は、オピオイド・ナーヴ群と非オピオイド・ナーヴ群の区別はせずに

行った。

第1回目の調査では90人の患者が登録された。年齢 58.4 ± 13.4 歳 (mean \pm SD)、男性40人、女性50人、疼痛罹患期間 11.2 ± 18.8 ヶ月であった。そのうち翌日に行った第2回目の調査では71人の患者でオピオイド鎮痛薬増量後の疼痛減少率が評価され、登録された。従って、本研究ではこれら71人の患者を分析した。

71人の患者の背景をオピオイド・ナイーブ群と非オピオイド・ナイーブ群に分類し示す (表3)。

	オピオイド・ナイーブ	非オピオイド・ナイーブ		
患者数	22	49		
年齢	59.1±14.1	57.6±13.5	p=0.709	
性別	男 13 女 9	男 19 女 30		
疼痛罹患期間	3.5±3.6	15.4±23.8	p=0.059	
オピオイド鎮痛薬増量前の使用量(mcg/kg/day)	—	2.9±5.9		
増量前に使用していたオピオイドの種類	—	トラマドール	8	
		オキシコドン	25	
		フェンタニル	15	
		モルヒネ	2	
		ブプレノルフィン	1	
		ペンタゾシン	3	
		重複	5	
疼痛の強さ（オピオイド鎮痛薬増量前）(NRS)	5.6±2.0	6.1±1.8	p=0.180	
副作用（オピオイド鎮痛薬増量前）(Likert scale)	嘔気	0.3±0.5 (n=4、18.2%)	0.3±0.5 (n=12、24.5%)	p=0.691
	嘔吐	0.0±0.0 (n=0、0%)	0.1±0.4 (n=2、4.1%)	p=0.566
	便秘	0.8±1.0 (n=10、45.4%)	1.0±0.9 (n=34、69.4%)	p=0.219
	眠気	0.2±0.4 (n=4、18.2%)	0.6±0.7 (n=23、46.9%)	p=0.019*

表3 解析対象となった71人のがん性疼痛患者背景

Mean±SD

*p<0.05 Mann Whitney test

(オピオイド・ナイーブ vs 非オピオイド・ナイーブ)

4.3. ゲノムワイド関連解析：遺伝子型解析

全ての対象者から末梢血を採取した。塩析法を用い、末梢血リンパ細胞からゲノム DNA を抽出した。DNA は全ゲノムにわたり増幅、断片化され、1,140,419 の SNP マーカーを持つ Omni 1-Quad BeadChip (Illumina, San Diego, CA, USA) を使用し、71 人の患者全てに遺伝子型解析が行われた。各サンプルにもたらされた標準化された bead-intensity data は GenomeStudio software (Genotyping module ver. 1.8.4; Illumina) に読み込まれ、蛍光強度を SNP genotype に変換した。

SNP データの品質管理 (quality control) として、SNP call rate (SNP マーカーごとの非欠損率) < 95%、Hardy-Weinberg equilibrium (ハーディー・ワインベルグ平衡 HWE : 遺伝子と表現型の関係性を表す基本則) からの偏りを検定する HWE 検定で有意水準 $p < 0.001$ 、MAF (minor allele frequency) < 0.001、を満たす SNP を除外した結果 771,433 の SNP マーカーが残った。

4.4. ゲノムワイド関連解析：遺伝子型データの統計解析

各々の遺伝子型データの統計解析は、plink version 1.07 [9]、R package version 2.12.1 (<http://www.r-project.org>; R Development Core Team 2011)、EIGENSOFT package version 3.1 [10]、Haploview version 4.2 [11] を使用した。

各 SNP に対して観察された遺伝子型の頻度が、Hardy-Weinberg equilibrium に基づいて予測された遺伝子型の頻度からどの程度逸脱しているかを Fisher's exact test で評価した。Hardy-Weinberg equilibrium からの逸脱 ($p < 0.001$) を示した SNP は統計解析から除外した。

各 SNP とオピオイド鎮痛薬増量後の疼痛減少率の関連性は、(a) 優性様式、(b) 劣性様式、(c) 遺伝型様式、(d) 傾向性様式の4つの遺伝様式毎に線形回帰モデルで推定された。

線形回帰モデルにおいて、オピオイド鎮痛薬増量後の疼痛減少率を従属変数とし、年齢、性、フェンタニル静脈投与等量、SNP を共変数とした ($y = \beta_0 + \beta_1 \times \text{Age} + \beta_2 \times \text{Sex} + \beta_3 \times \text{Adding fentanyl dose} + \beta_4 \times \text{SNP} + \varepsilon$)。偽陽性の多重性を考

慮し、有意水準 genome-wide significance を $p < 5 \times 10^{-8}$ と設定した。

ゲノムワイド関連解析 (genome-wide association study : GWAS) を通して、オピオイド鎮痛薬増量後の疼痛減少率の個人差を規定する SNP を同定した。

更に、関連のある SNP の連鎖不平衡地図 (linkage disequilibrium patterns) を Haploview [11] を用いてプロットした。関連のある SNP 付近の遺伝子の拡大図を LocusZoom version 1.1 [12] により表示した。

4.5. 3群の遺伝子型の統計解析

次に、3つの遺伝子型（メジャーアレルホモ接合体、ヘテロ接合体、マイナーアレルホモ接合体）に対して、疼痛の強さの減少率、オピオイド鎮痛薬増量前の疼痛の強さ、オピオイド鎮痛薬増量前の使用量、オピオイド鎮痛薬増加量、合併症変化率を Kruskal-Wallis test で解析した。Post hoc analysis として Bonferroni test を行った。有意水準を $p < 0.05$ に設定した。

5. 結果

5.1. 対象者の特徴とオピオイド鎮痛薬による治療の結果

組み入れ基準を満たした 90 人の患者が登録された。オピオイド・ナイーブの患者に対してはオピオイド鎮痛薬初回投与を、非オピオイド・ナイーブの患者に対してはオピオイド増量を行った。オピオイド初回投与または増量を行わなかった患者 17 人、NRS による疼痛の評価を行うことができなかった患者 1 人、遺伝子多型解析から外れた患者 1 人の計 19 人が除外され、71 人に対して解析が行われた。

まずは、解析対象者の特徴とオピオイド鎮痛薬による治療を、SNP 毎にまとめた結果を示す（表 4-1、4-2、表 5-1、5-2）。

一塩基多型	rs1641025			
遺伝子	ABAT			
遺伝子座	8777531 第16染色体			
アレル メジャー/マイナー	C/T			
マイナーアレルの頻度	0.27			
ゲノムワイド関連解析 p 値	2.04×10 ⁻⁸			
ゲノムワイド関連解析 effect size	0.36			
遺伝子型	メジャー アレルホモ	ヘテロ	マイナー アレルホモ	
患者数 (ナীব : 非ナীব) (男 : 女)	42 (15 : 27) (21 : 21)	23 (6 : 17) (10 : 13)	6 (1 : 5) (1 : 5)	
年齢	59.3±12.5	56.1±15.2	57.5±16.2	
疼痛持続期間 (月)	16.0±24.7	5.2±9.5	6.7±12.4	
増量前に使用していた オピオイドの種類と患者数	トラマドール	3	5	0
	オキシコドン	15	8	2
	フェンタニル	9	2	4
	モルヒネ	1	1	0
	ブプレノルフィン	1	0	0
	ペンタゾシン	0	3	0
	重複	2	2	1
増量時に使用した オピオイドの種類と患者数	トラマドール	11	5	0
	オキシコドン	22	13	2
	フェンタニル	7	3	3
	モルヒネ	4	2	1
	ブプレノルフィン	0	0	0
	ペンタゾシン	0	0	0
	重複	2	0	0

表 4-1 オピオイド鎮痛薬による治療の結果 (rs1641025) Mean±SD

オピオイド鎮痛薬増量前の使用量 (mcg/kg/day)			1.9±2.3	2.9±7.9	8.0±9.5
オピオイド鎮痛薬の増加量 (mcg/kg/day)			1.1±1.5	4.3±16.4	55.2±100.0
がん性疼痛強度 (オピオイド鎮痛薬増量前)			6.0±2.0	5.9±1.7	5.7±1.4
がん性疼痛強度 (オピオイド鎮痛薬増量後)			4.9±1.9	2.6±1.7	3.2±1.9
オピオイド鎮痛薬増量後の疼痛減少率 (%)			14.7±28.9	56.7±24.6	44.3±29.7
合併症の患者数	嘔気	増量前	10 (23.8%)	4 (17.4%)	2 (33.3%)
		増量後	10 (23.8%)	3 (13.0%)	2 (33.3%)
	嘔吐	増量前	1 (2.4%)	1 (4.3%)	0 (0%)
		増量後	0 (0%)	1 (4.3%)	0 (0%)
	便秘	増量前	28 (66.7%)	11 (47.8%)	5 (83.3%)
		増量後	22 (52.4%)	12 (52.2%)	4 (66.7%)
	眠気	増量前	15 (35.7%)	8 (34.8%)	4 (66.7%)
		増量後	15 (35.7%)	12 (52.2%)	4 (66.7%)

表 4-2 オピオイド鎮痛薬による治療の結果 (rs1641025) Mean±SD

一塩基多型	rs12494691			
遺伝子	(no gene)			
遺伝子座	16658827 第3染色体			
アレル メジャー/マイナー	G/A			
マイナーアレルの頻度	0.2			
ゲノムワイド関連解析 p 値	3.92×10 ⁻⁸			
ゲノムワイド関連解析 effect size	0.01			
遺伝子型	メジャー アレルホモ	ヘテロ	マイナー アレルホモ	
患者数 (ナীব : 非ナীব) (男 : 女)	45 (18 : 27) (9 : 26)	22 (4 : 18) (11 : 11)	4 (0 : 4) (2 : 2)	
年齢	59.6±13.4	53.5±13.8	65.8±9.5	
疼痛持続期間 (月)	8.9±19.5	16.8±20.7	16.3±30.5	
増量前に使用していた オピオイドの種類と患者数	トラマドール	4	4	0
	オキシコドン	14	7	4
	フェンタニル	8	7	0
	モルヒネ	2	0	0
	ブプレノルフィン	1	0	0
	ペンタゾシン	1	1	1
	重複	3	1	1
増量時に使用した オピオイドの種類と患者数	トラマドール	8	7	1
	オキシコドン	22	12	3
	フェンタニル	8	5	0
	モルヒネ	7	0	0
	ブプレノルフィン	0	0	0
	ペンタゾシン	0	0	0
	重複	0	2	0

表 5-1 オピオイド鎮痛薬による治療の結果 (rs12494691) Mean±SD

オピオイド鎮痛薬増量前の使用量 (mcg/kg/day)			3.4±7.5	2.6±3.3	0.5±0.6
オピオイド鎮痛薬の増加量 (mcg/kg/day)			4.3±16.0	12.5±53.1	0.9±1.4
がん性疼痛強度 (オピオイド鎮痛薬増量前)			6.3±1.7	5.5±2.0	4.3±1.3
がん性疼痛強度 (オピオイド鎮痛薬増量後)			3.5±2.0	4.9±2.2	4.3±1.0
オピオイド鎮痛薬増量後の疼痛減少率 (%)			44.5±28.6	9.1±28.6	-4.2±29.3
合併症の患者数	嘔気	増量前	7 (15.6%)	9 (40.9%)	0 (0%)
		増量後	10 (22.2%)	5 (22.7%)	0 (0%)
	嘔吐	増量前	1 (2.2%)	1 (4.5%)	0 (0%)
		増量後	1 (2.2%)	0 (0%)	0 (0%)
	便秘	増量前	25 (55.6%)	17 (77.3%)	2 (50.0%)
		増量後	24 (53.3%)	12 (54.5%)	2 (50.0%)
	眠気	増量前	18 (40.0%)	8 (36.4%)	1 (25.0%)
		増量後	22 (48.9%)	8 (36.4%)	1 (25.0%)

表 5-2 オピオイド鎮痛薬による治療の結果 (rs12494691) Mean±SD

5.2. ゲノムワイド関連解析(オピオイド鎮痛薬増量後の疼痛減少率を規定する SNP の同定)

ゲノムワイド関連解析 (genome-wide association study : GWAS)を行い、SNP とオピオイド鎮痛薬増量後の疼痛減少率の関係性を評価した。全染色体における各 SNP の p 値を Manhattan plot で示した (図 1)。4 つの遺伝様式のうち(c) 遺伝型様式において 2 つの SNP が有意水準 genome-wide significance ($p < 5 \times 10^{-8}$) を満たしたが、(a) 優性様式、(b) 劣性様式、(d) 傾向性様式においては有意水準を満たさなかった (図 1)。

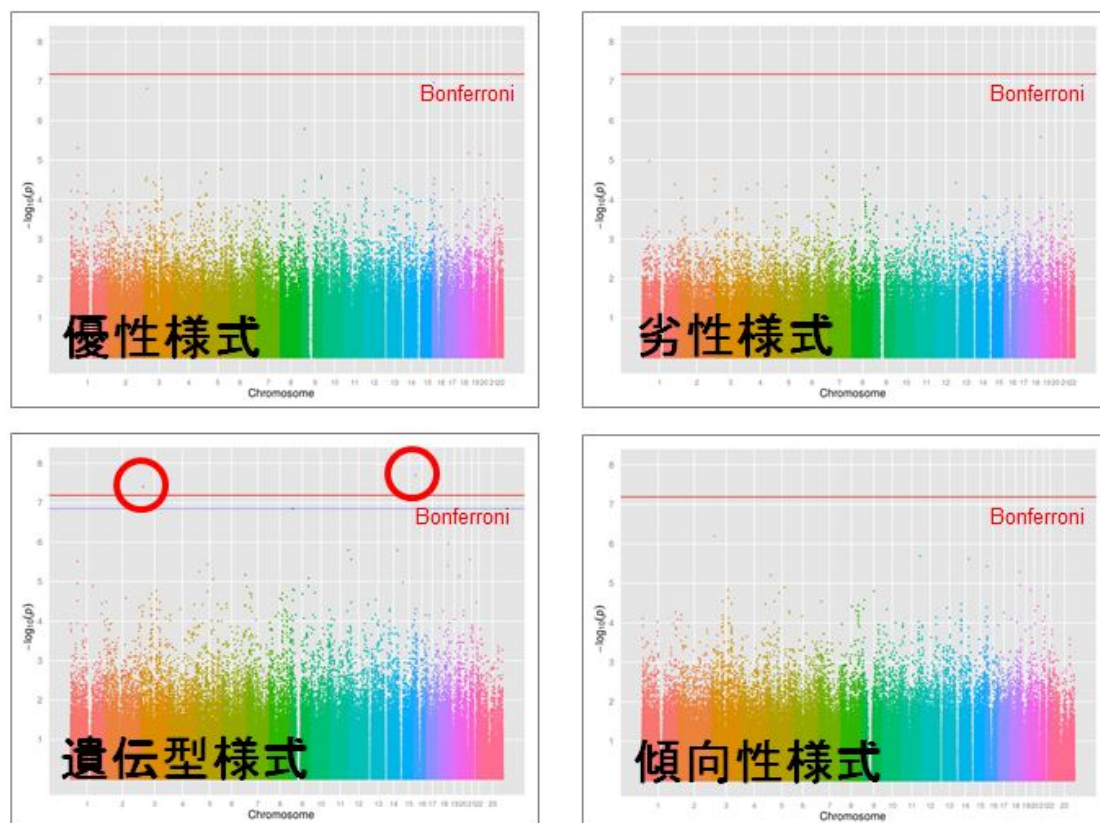


図1 がん性疼痛に対するオピオイド鎮痛薬増量後の疼痛減少率に関するゲノムワイド関連解析の結果 (Manhattan plot)。
 横軸に1から22の染色体を、縦軸にp値を対数で示した。縦軸の上ほどp値は小さい。
 4つの遺伝様式のうち、遺伝型様式において、第16染色体と第3染色体に存在する2箇所のSNPが検出された。
 有意水準 genome-wide significance ($p < 5 \times 10^{-8}$) を赤線で示した。

ゲノムワイド関連解析 (genome-wide association study : GWAS)によって検出された 2 つの SNP の近傍の領域を拡大した (図 2、図 4)。

1 つの SNP (rs1641025 , $p < 2.04 \times 10^{-8}$) は第 16 染色体上の ABAT [4-aminobutyrate aminotransaminase (GABA transaminase)] (抑制性神経伝達物質である GABA の分解酵素) の遺伝子領域内に存在していた (図 2、C)。近傍の SNP については rs1641025 と同様に低い p 値を示した SNP は存在せず、rs1641025 との関連を示唆する SNP はなかった。 (図 2、B)。近傍の SNP と rs1641025 の発現の関連性はなかった (図 2、A)。従って、GABA transaminase 遺伝子への影響は rs1641025 単独であるということが考えられた。遺伝子座データベースによる SNP の正確な位置を調べると、rs1641025 の遺伝子座は 8777531 であり、ABAT のイントロンに位置していることがわかった (図 3)。

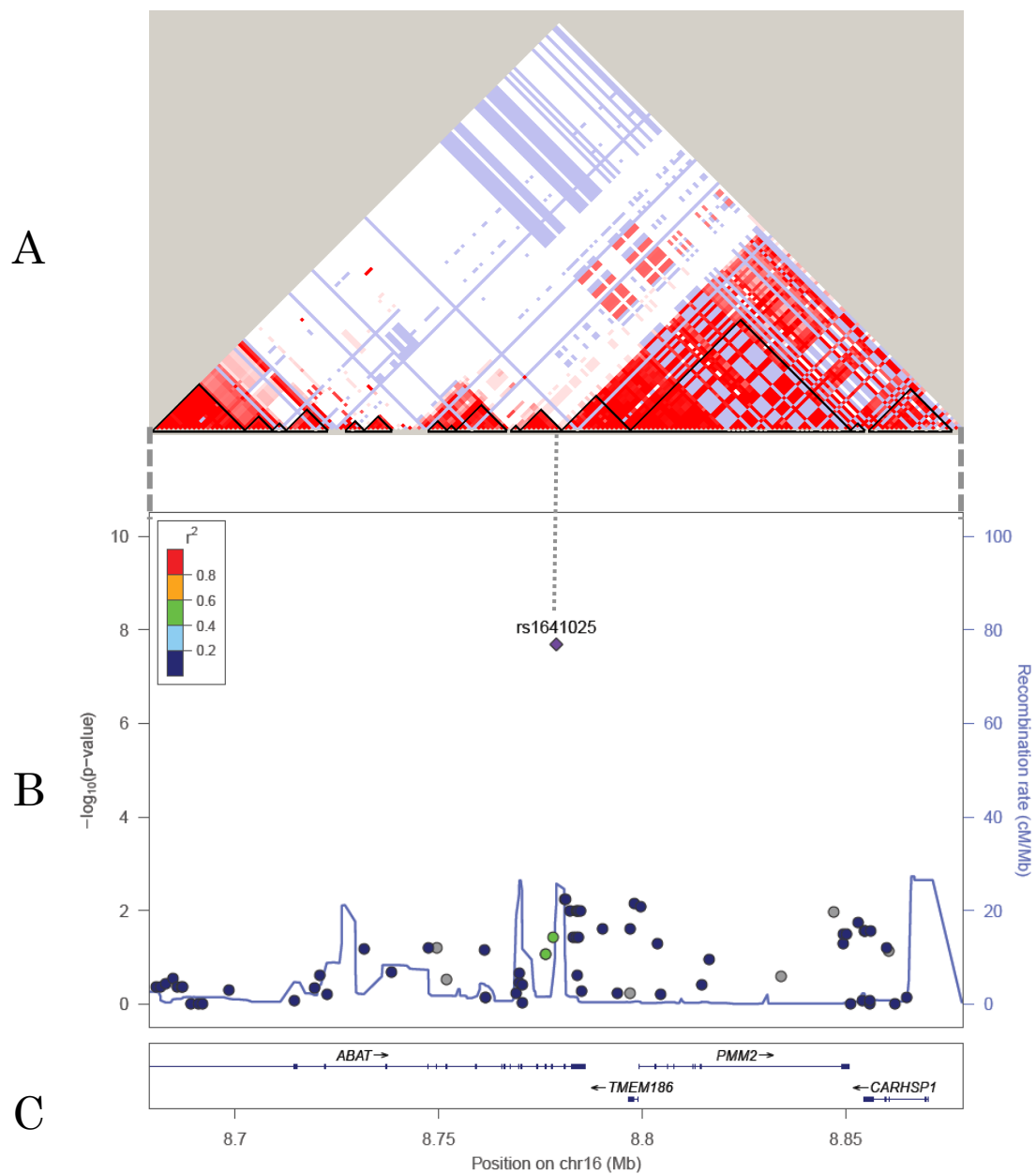


図2 ゲノム上の位置とその周辺の SNPs の相関 (rs1641025)

A 連鎖不均衡地図 linkage disequilibrium pattern (Haploview)

発現において関連する確率が高い SNP 同士を赤で示す。rs1641025 と関連する SNP はほとんどない。

B rs1641025 の近傍の SNP の拡大図 (LocusZoom)

縦軸は p 値の対数表示。 $p=2.04 \times 10^{-8}$ 。rs1641025 の近傍には同様に低い p 値をとる SNP は存在しない。

C rs1641025 の近傍の遺伝子との関連

rs1641025 は第 16 染色体上の ABAT の遺伝子領域内に位置していた。

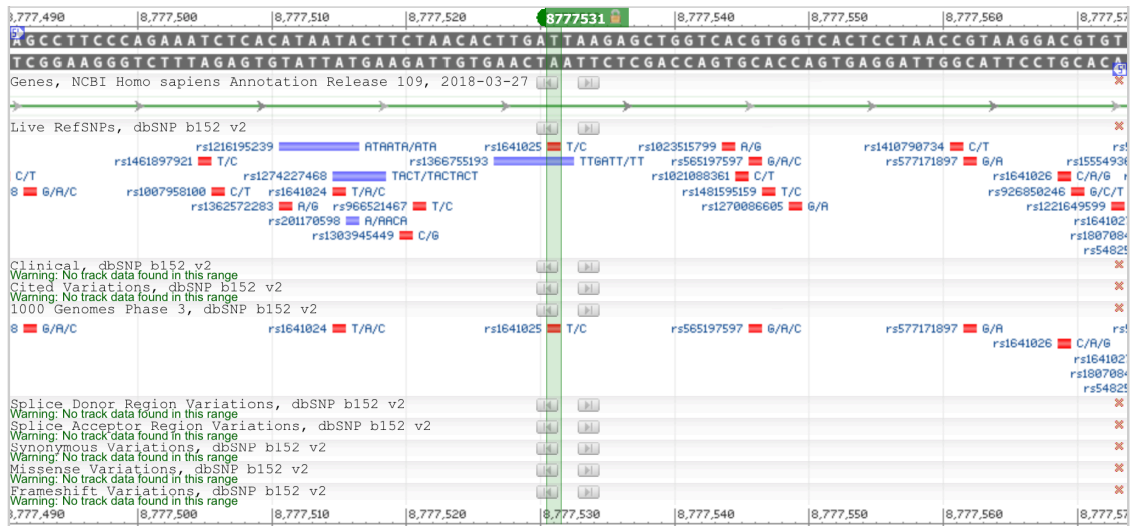


図3 遺伝子座データベース (rs1641025)

rs1641025 の遺伝子座は 8777531 であり、ABAT のイントロンに位置している。

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/18>

もう1つのSNP (rs12494691, $p < 3.92 \times 10^{-8}$) は第3染色体に位置していたが、既知の遺伝子が存在しない領域に存在していた (図4、C)。近傍のSNPについてもrs12494691と同様に低いp値を示したSNPは存在しなかった (図4、B)。同じく近傍のSNPとの発現の関連性についても有意なものはなく、近隣のSNPとの関連は弱いと考えられた (図4、A)。遺伝子座データベースによるSNPの正確な位置を調べると、rs12494691の遺伝子座は16658827であることがわかった (図5)。

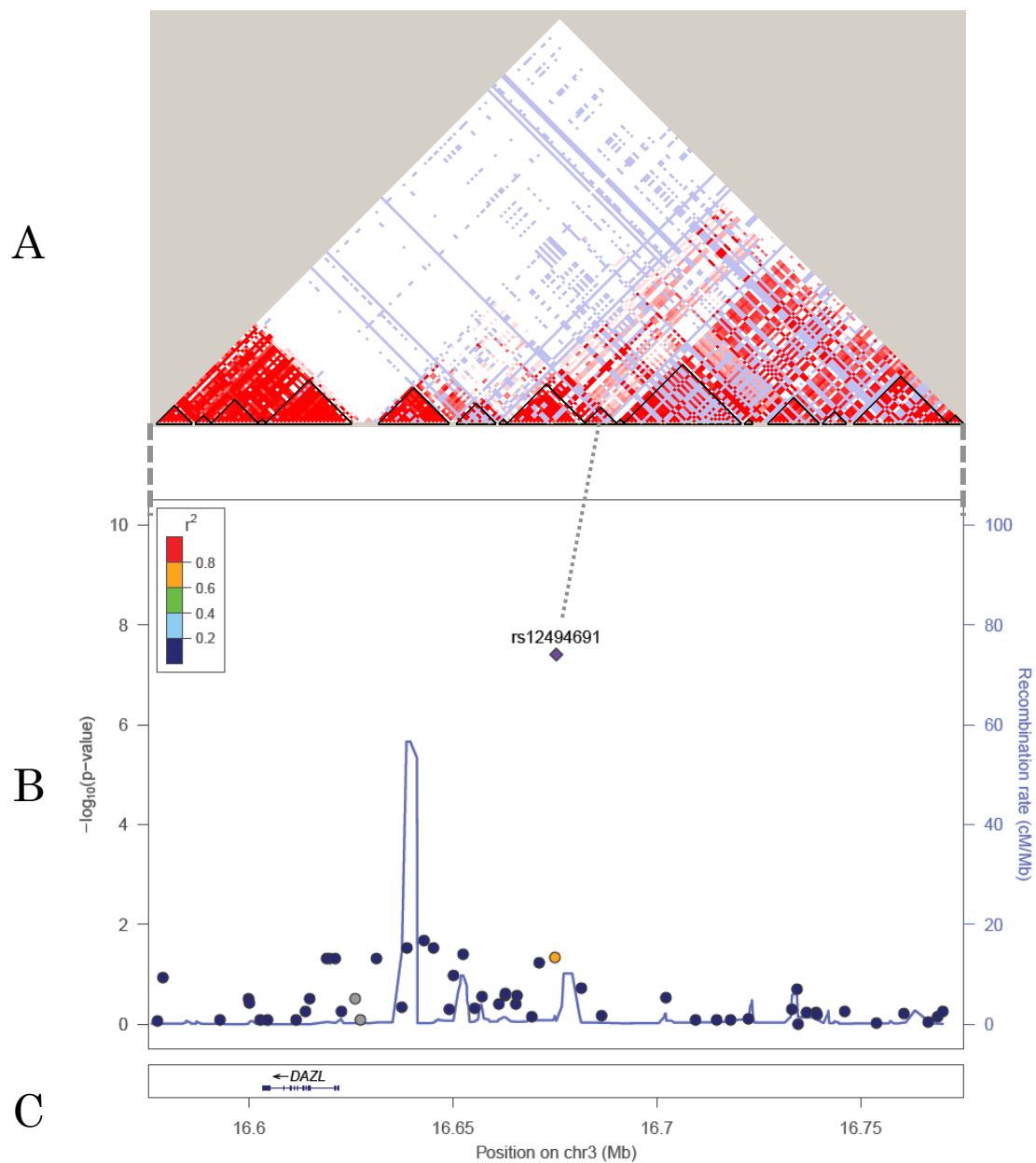


図4 ゲノム上の位置とその周辺の SNPs の相関 (rs12494691)

A 連鎖不均衡地図 linkage disequilibrium pattern (Haploview)

発現において関連する確率が高い SNP 同士を赤で示す。rs12494691 と関連する SNP はほとんどない。

B rs12494691 の近傍の SNP の拡大図 (LocusZoom)

縦軸は p 値の対数表示。 $p = 3.92 \times 10^{-8}$ 。rs12494691 の近傍には同様に低い p 値をとる SNP は存在しない。

C rs12494691 の近傍の遺伝子との関連

rs12494691 は第 3 染色体上の既知の遺伝子が存在しない領域に存在していた。

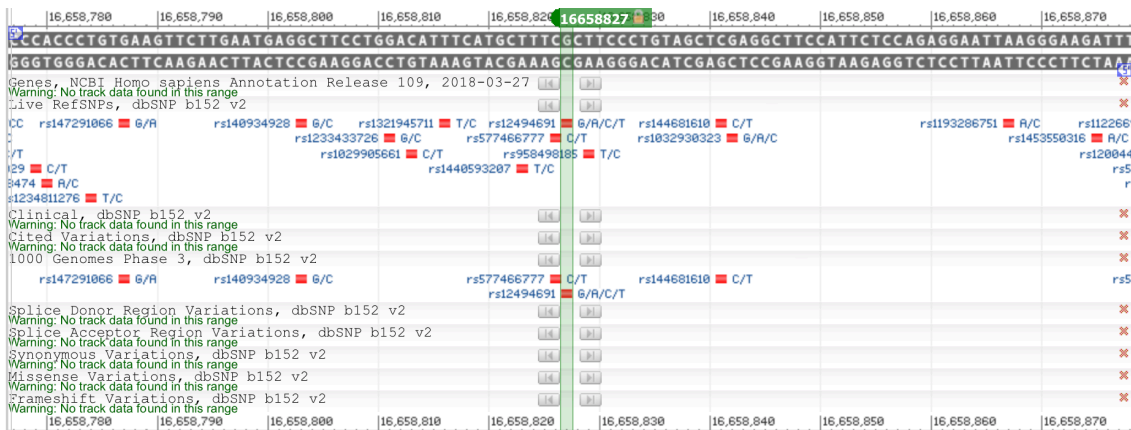


図5 遺伝子座データベース (rs12494691)

rs12494691 の遺伝子座は 16658827 である。

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs12494691>

5.3. オピオイド鎮痛薬増量後の疼痛減少率と遺伝子型による3群間の解析

ABAT 遺伝子領域内の rs1641025 に関しては、遺伝子型による3群（メジャーアレルホモ接合体、ヘテロ接合体、マイナーアレルホモ接合体）の間で、疼痛の減少率に有意差が認められ（Kruskal-Wallis test , $p < 0.0001$ ）、それに続く Bonferroni post hoc test の結果、 遺伝子型による3群間でオピオイド鎮痛薬増量後の疼痛減少率に有意差を認めた。メジャーアレルホモ接合体群では20%弱の疼痛減少率であったのに対して、ヘテロ接合体群とマイナーアレルホモ接合体群では約60%の疼痛減少率であった（図6a）。

一方、rs12494691 に関しても、遺伝子型による3群（メジャーアレルホモ接合体、ヘテロ接合体、マイナーアレルホモ接合体）の間で、疼痛の減少率に有意差が認められ（Kruskal-Wallis test , $p < 0.0001$ ）、それに続く Bonferroni post hoc test の結果、 遺伝子型による3群間でオピオイド鎮痛薬増量後の疼痛減少率に有意差を認めた。メジャーアレルホモ接合体群では50%弱の疼痛減少率であったのに対して、ヘテロ接合体群とマイナーアレルホモ接合体群ではほとんど疼痛が改善しないことがわかった（図6b）。

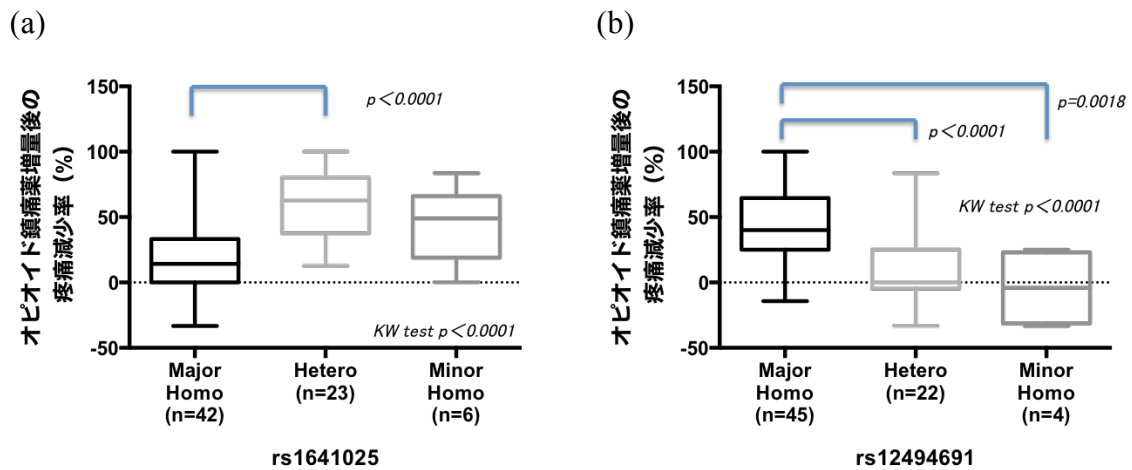


図6 オピオイド鎮痛薬増量後の疼痛減少率と3群の遺伝子型との関連

(a) rs1641025 SNP (b) rs12494691 SNP

縦軸にオピオイド鎮痛薬増量後の疼痛減少率、横軸に3群の遺伝子型を示す。

箱の下端を第1四分位数、上端を第3四分位数、水平線を中央値とした。

Kruskal-Wallis testの結果、3つの遺伝子型(メジャーアレルホモ接合体、ヘテロ接合体、マイナーアレルホモ接合体)の間に有意差を認めた。

それに続くBonferroni post hoc testの結果、各遺伝子型間の関連をp値で示した。

rs1641025 に関しては、遺伝子型による 3 群間で、オピオイド鎮痛薬増量前の疼痛の強さ (Kruskal-Wallis test , $p=0.93$)、オピオイド鎮痛薬増量前の使用量 (Kruskal-Wallis test , $p=0.11$)、オピオイド鎮痛薬増加量 (Kruskal-Wallis test , $p=0.11$) に有意差はなかった (図 7)。

副作用に関しては、3 群間でオピオイド鎮痛薬増量と合併症変化率の間に関連はなかった (Kruskal-Wallis test: 嘔気, $p=0.79$; 嘔吐, $p=0.83$; 便秘, $p=0.54$; 眠気, $p=0.12$) (図 8)。

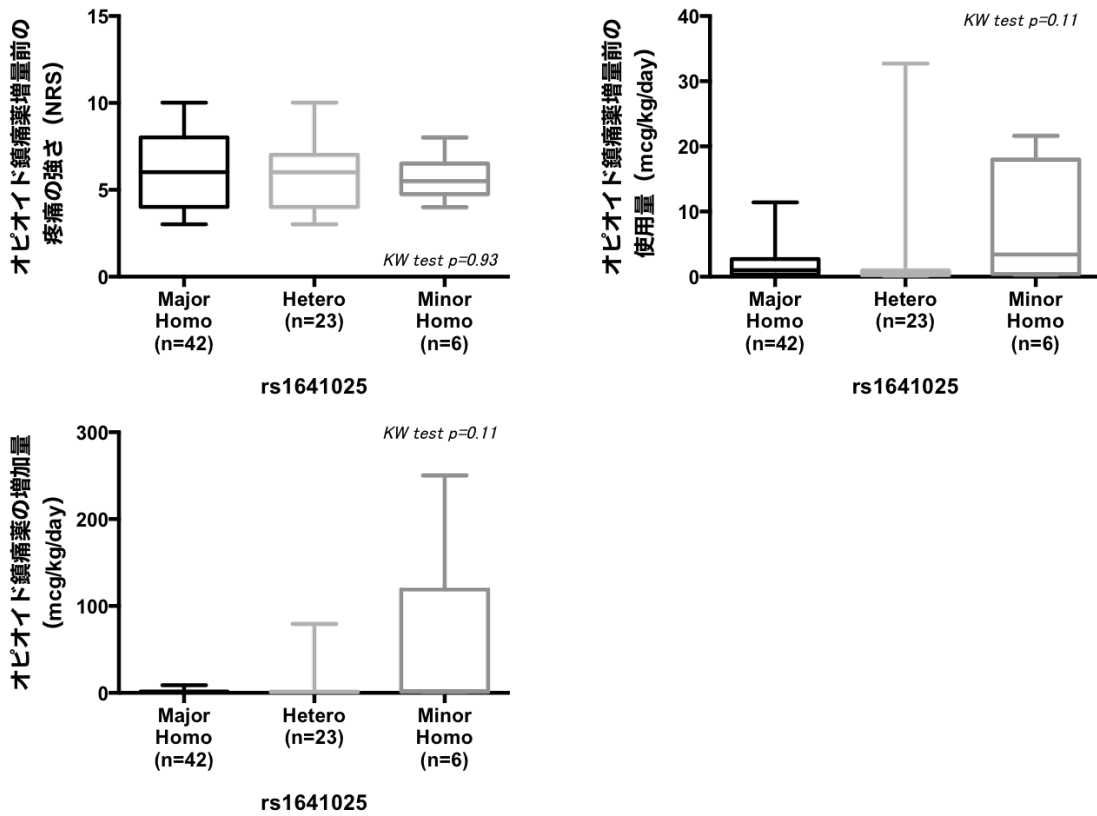


図7 オピオイド鎮痛薬増量前の疼痛の強さ、オピオイド鎮痛薬増量前の使用量、オピオイド鎮痛薬増加量と3群の遺伝子型との関連 (rs1641025)
 3群間でオピオイド鎮痛薬増量前の疼痛の強さ、オピオイド鎮痛薬増量前の使用量、オピオイド鎮痛薬増加量に有意差はなかった。

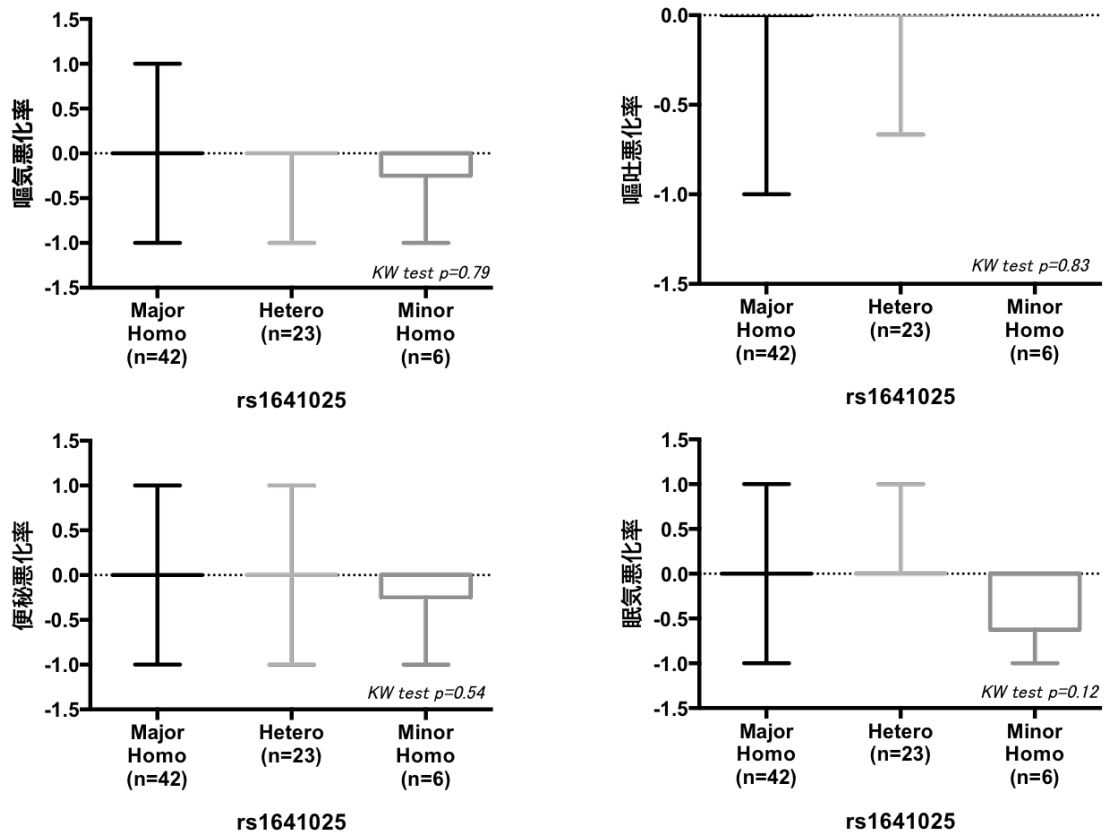


図8 オピオイド鎮痛薬増量後の合併症変化率と3群の遺伝子型との関連 (rs1641025)

3群間でオピオイド鎮痛薬増量と合併症変化率の間に有意差はなかった。

rs12494691 に関しては、遺伝子型による 3 群間で、オピオイド鎮痛薬増量前の疼痛の強さ (Kruskal-Wallis test , $p=0.03$)、オピオイド鎮痛薬増量前の使用量 (Kruskal-Wallis test , $p=0.03$)、オピオイド鎮痛薬増加量 (Kruskal-Wallis test , $p=0.39$) に有意差はなかった (図 9)。

副作用に関しては、3 群間でオピオイド鎮痛薬増量と合併症変化率の間に関連はなかった (Kruskal-Wallis test: 嘔気, $p=0.05$; 嘔吐, $p=0.81$; 便秘, $p=0.77$; 眠気, $p=0.85$) (図 10)。

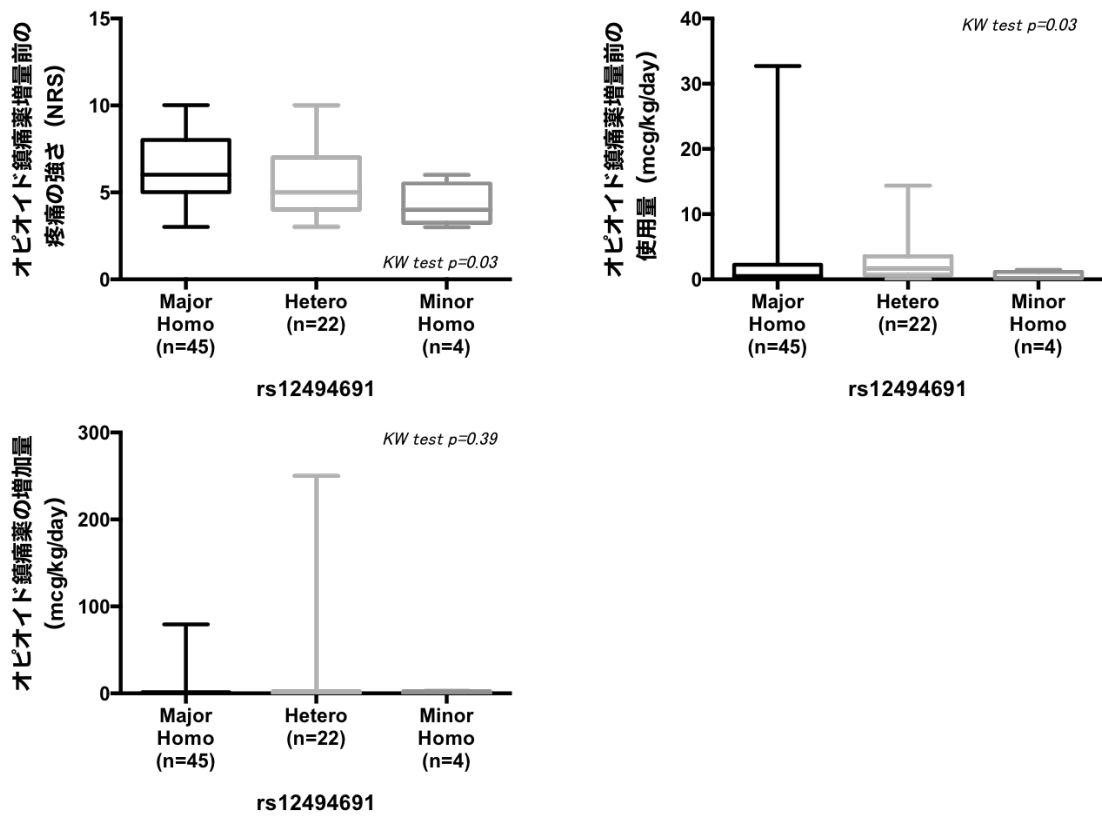


図9 オピオイド鎮痛薬増量前の疼痛の強さ、オピオイド鎮痛薬増量前の使用量、オピオイド鎮痛薬増加量と3群の遺伝子型との関連 (rs12494691)
 3群間でオピオイド鎮痛薬増量前の疼痛の強さ、オピオイド鎮痛薬増量前の使用量、オピオイド鎮痛薬増加量に有意差はなかった。

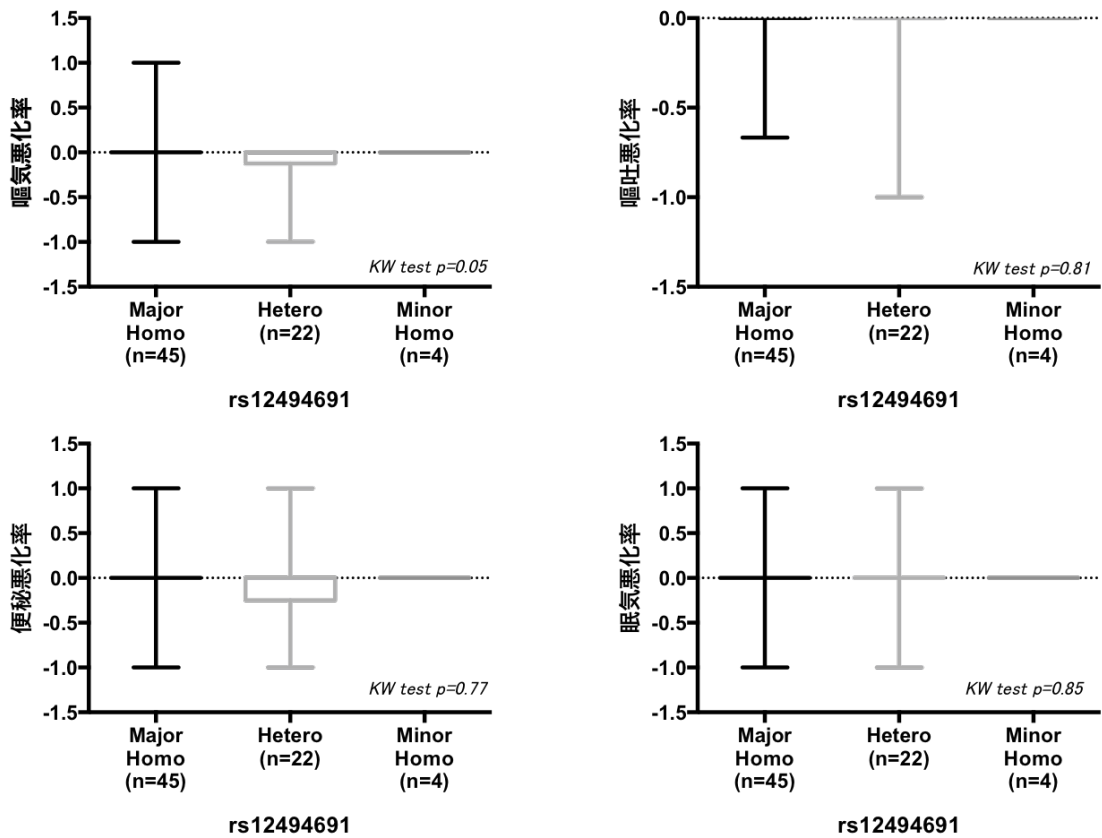


図 10 オピオイド鎮痛薬増量後の合併症変化率と 3 群の遺伝子型との関連 (rs12494691)

3 群間でオピオイド鎮痛薬増量と合併症変化率の間に有意差はなかった。

各 SNP において、オピオイド鎮痛薬増量前の疼痛の強さは同じで、なおかつオピオイド使用量も同じであり、さらにオピオイド鎮痛薬増加量も同じであったことが言える。従って、一定用量のオピオイド鎮痛薬投与に対する疼痛減弱効果が示されたと言え、同じ量のオピオイドを使用しても疼痛の改善効果には遺伝子型による個人差があることが示されたと考えられる。

6. 考察

6.1. 本研究で発見された事実、それにより導かれる結論、今後の発展の可能性

我々の知る限りでは、本研究は、SNP とがん性疼痛に対するオピオイド鎮痛薬感受性の関連について日本人を対象として研究した初めてのゲノムワイド関連解析 (genome-wide association study : GWAS) である。急性術後痛に対する日本人を対象としたオピオイド鎮痛薬感受性についての GWAS では、第 2 染色体に位置する METTL21A 遺伝子と CREB1 遺伝子に関連する SNP が同定されている [14]。その結果は今回我々が同定した 2 つの SNP とは大きく異なっていた。その理由としては、急性術後痛と慢性がん性疼痛の病因の違いに原因があるのではないかと考える。

今回の研究は、rs1641025 SNP (GABA transaminase をコードしている ABAT 遺伝子イントロンに存在する) と rs12494691 SNP (既知の遺伝子との関連はなかった) について、その関連を明らかにした。

また、各 SNP において、遺伝子型による 3 群間でオピオイド鎮痛薬増量後の疼痛減少率に有意差を認めた。3 群の遺伝子型の間でオピオイド鎮痛薬増量前の疼痛の強さは同じで、なおかつオピオイド使用量も同じであり、さらにオピオイド鎮痛薬増加量も同じであった結果、一定用量のオピオイド鎮痛薬投与に対する疼痛減弱効果には遺伝子型による個人差があることが示された。

今回の結果から、rs1641025 SNP と rs12494691 SNP はオピオイド鎮痛薬感受性に関連する遺伝子多型の有力な候補と考えられ、GABA transaminase はオピオイド鎮痛薬と共に使用する鎮痛補助薬の開発の有力な標的となる可能性が示唆される。

古典的な鎮痛補助薬には抗うつ薬、抗痙攣薬、中枢性筋弛緩薬、コルチコステロイドがある。鎮痛補助薬にはがん性疼痛緩和に必要なオピオイド量を抑える効果があるため、その関心が高まりつつある。がん性疼痛に対する鎮痛薬使用の基本原則は、World Health Organization (WHO) の 3 段階除痛ラダーであり、鎮痛補助薬を併用することを推奨しており、どの段階で使用しても麻薬性鎮痛薬を補足し、使用量を減らすことができるとしている[13]。

WHO の 3 段階除痛ラダーでは、強オピオイド鎮痛薬は中等度から高度の強さ

の痛みに対する最も効能のある鎮痛薬として推奨されている[13]。しかし、臨床診療では、疼痛レベルに対してオピオイド鎮痛薬を十分量まで滴定することが難しいことがある [4]。この臨床的問題を扱うために、遺伝子の多様性のオピオイド鎮痛薬感受性への寄与が研究されてきた。 μ オピオイド受容体 (OPRM1)、catechol-O-methyltransferase (COMT)、その他候補となる遺伝子上にある周知の遺伝子多型のように、遺伝子の多様性の重要性が様々な研究から明らかになってきた[8]。従って、がん性疼痛患者一人一人の遺伝的特徴に合わせることでできる個別化医療は将来有望な分野である。

今回の我々のゲノムワイド関連解析 (genome-wide association study : GWAS) により、rs1641025 SNP と rs12494691 SNP を同定したことは、疼痛緩和に必要なオピオイド鎮痛薬の量を予測したり、鎮痛必要量まで滴定する時間を最小化したりすることに寄与する可能性が示唆される。

6.2. rs12494691 に関して

第3染色体上の rs12494691 SNP は既知の遺伝子との関連はなく、機能的役割を示した報告もない。この SNP に最も隣接した遺伝子は無精子症で欠損のある遺伝子 *deleted in azoospermia-like (DAZL) gene* であり (図4)、不妊症に関連があることが知られている[15]。従って、rs12494691 SNP はがん性疼痛に対して既存の鎮痛補助薬と関係があるようには現時点では考えにくい。

6.3. rs1641025 が GABA transaminase に与える機能に関して

一方、rs1641025 SNP は GABA transaminase をコードしている ABAT 遺伝子のイントロン部位に位置していた (図 2、図 3)。

GABAは中枢神経系において最も豊富な抑制性神経伝達物質であり、体性感覚や疼痛の認識、不安、報酬系を含めた多くの機能を調節している。シナプスにおいて、その作用はシナプス後膜のGABA特異的受容体を介して行われる。

GABA transaminase はGABAアミノ基を転移することによってGABAを分解する酵素であり、シナプス前神経終末やグリア細胞に発現する。

GABAはGABA transaminaseにより代謝されコハク酸セミアルデヒドとなり、その結果GABA作動性神経伝達が不活性化される。従って、GABA transaminaseは中枢神経系においてGABA作動性神経伝達を調節することができる。例えば、rs1641025 SNPとは無関係に、感情障害と自閉症の危険が高い群において、ABAT遺伝子の遺伝子変異は脳波体性感覚誘発電位と関連があるとしている [16、17]。バルプロ酸などのGABA transaminase 阻害薬はシナプス間隙におけ

るGABA濃度を上昇させることによって抑制性神経系を賦活し、抗痙攣作用や筋弛緩作用、鎮静作用を発現する。

痛みの伝達経路を脊髄レベルで示す（図11）。末梢の痛み入力是一次侵害受容ニューロンの自由終末（侵害受容器）から一次侵害受容ニューロンを介して脊髄後角へと伝わり、二次侵害受容ニューロン経由で脳幹、視床、大脳皮質などの上位中枢へ伝わる。GABA transaminase 阻害薬は、1980年代から鎮痛作用を持つことが報告されている。ABAT 阻害薬により脊髄後角の抑制性介在ニューロン（図11、緑）と二次侵害受容ニューロン（図11、オレンジ）間あるいは一次侵害ニューロンシナプス終末（紺）とのシナプス間隙のGABA濃度が増加し、侵害受容ニューロンの興奮性が抑制される結果、鎮痛効果を発揮しており、さらに、疼痛下行性抑制系がGABAとGlycineを介して直接的に侵害受容ニューロンの興奮性を抑制することもGABA transaminase 阻害薬による鎮痛機序として知られている[18]。

オピオイド鎮痛薬は二次侵害受容ニューロン（図11、オレンジ）に対して直接的に抑制効果をもたらす。それだけでなく、脊髄には抑制性介在ニューロン（図11、緑）が存在し、この介在ニューロンからGABAが分泌され、侵害受

容ニューロンが抑制され、痛みの伝達を抑制するという作用が知られている。

オピオイド鎮痛薬はこの抑制性介在ニューロンに作用し、GABA が分泌される

結果、侵害受容ニューロンの活動が抑制され、痛みの伝達を抑制する効果もある。

実際、脊髄において GABA transaminase を阻害すると、抗侵害受容作用と

オピオイド鎮痛薬の作用を増強することができる [19]。従って、GABA

transaminase の遺伝子の変異により、GABA transaminase 機能の減弱が起こるなら

ば、抑制性介在ニューロンと侵害受容ニューロンの間のシナプス間隙に

GABA が高濃度で存在することになり、結果的に侵害受容ニューロンをより強

く抑制するという可能性が考えられる。

また、オピオイド鎮痛薬は、疼痛下行性抑制系と言われる侵害受容ニューロン

を抑制するシステムにも作用することが知られている。これは、中脳水道周囲

灰白質から脊髄に向かって神経の伝達があることが分かっているが、この抑制

に関してもGABAが作用するため、GABA transaminase機能の減弱が起こるなら

ばGABAが高濃度で存在することになり、侵害受容ニューロンの抑制が強まる

結果痛みが減弱すると考えられる。

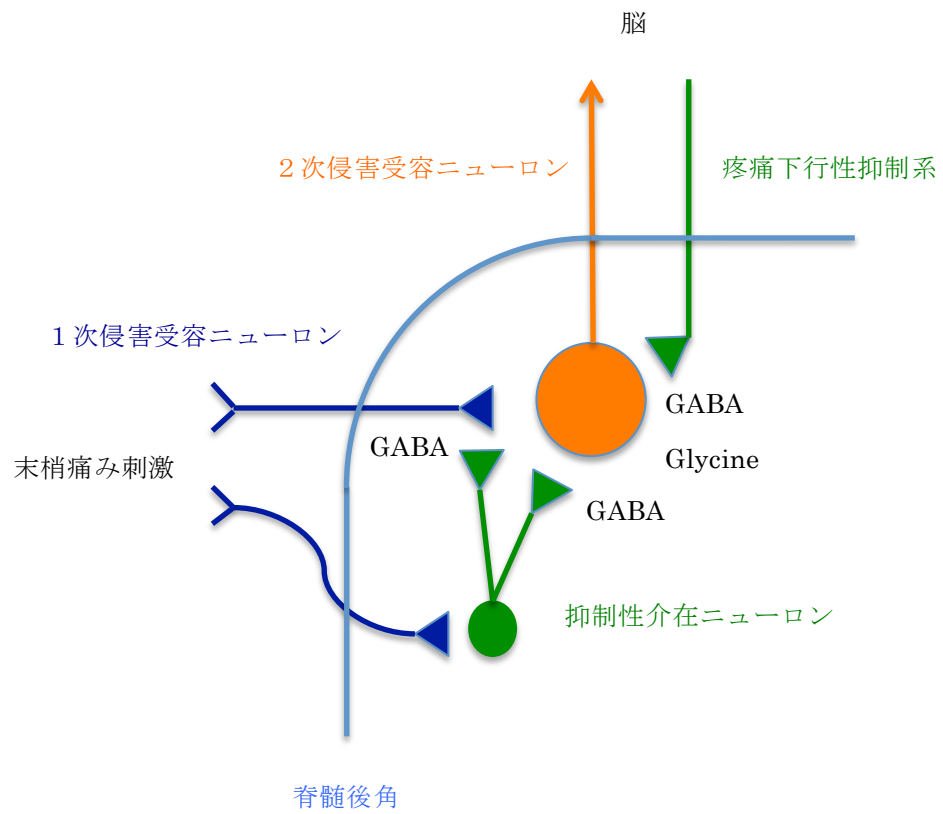


図 1 1 脊髄レベルでの疼痛伝達経路

GABA transaminase機能の減弱について考察してきたが、一方では基礎研究からは逆の働きであるGABA transaminase機能の亢進についても考える必要がある。

疼痛下行性抑制系のターミナルである神経核は中脳水道周囲灰白質に存在する（図12）。ここでは脊髄レベルでの侵害受容ニューロンを抑制する神経伝達機構があるが、これを抑制性介在ニューロンが常時抑制している。すなわち、侵害受容伝達を抑制するものを抑制しているものがあるためブレーキが働きにくい状態になっているということが生理的に考えられる。オピオイド鎮痛薬はこの抑制性介在ニューロンの働きを弱める結果、疼痛下行性抑制系を賦活し、痛みを弱める作用があることが分かっている[20]。従って、GABA transaminase機能の亢進が起こるならば、抑制性介在ニューロンが疼痛下行性抑制系を抑制するシナプス間隙でのGABAの濃度減少を来し、疼痛下行性抑制系が働きやすい状態になると考えられる。

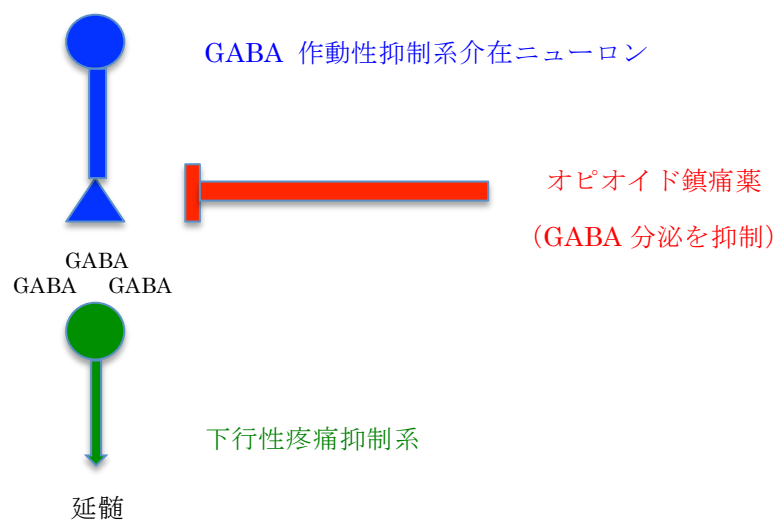


図 1 2 中脳水道周囲灰白質での下行性疼痛抑制系とオピオイド鎮痛薬作用機序

中脳水道周囲灰白質でのオピオイド鎮痛薬は、GABA 作動性抑制系介在ニューロン（青）を抑制することで下行性疼痛抑制系（緑）を賦活して鎮痛効果を発現している。

我々の知る限りでは、rs1641025 SNPとGABA transaminaseの関連についての文献はなく、rs1641025 SNPがGABA transaminaseに与える影響は不明で、その機能を増強ないしは抑制（あるいは、いずれでもない）に働くかは分からない。

今回の研究ではrs1641025 SNPがGABA transaminaseの機能に与える影響は明らかにされていない。

しかし、GABA transaminaseの機能の増強／減弱のいずれでもオピオイド鎮痛薬の効果を増強することは説明可能である。

遺伝子発現に与える影響に関するデータベースのうち代表的な以下の4つのデータベースを用いてrs1641025にはどのような意義があるかを調べた。

(1) Genotype-Tissue Expression (GTRx) Portal

<https://gtexportal.org/home/>

SNPの遺伝子発現量に与える影響に関するデータベース

(2) SNP Function Prediction (FuncPred)

<https://snpinfo.niehs.nih.gov/snpinfo/snpfunc.html>

SNPの遺伝子産物機能・発現量に与える影響に関するデータベース

(3) PolyPhen-2

<http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2/>

非同義 SNP の遺伝子産物機能・構造等に与える影響に関するデータベース

(4) ClinVar

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/>

SNP のヒトの臨床的特徴（疾患・その他形質等）等に与える影響に関する

データベース

4つのデータベースのうち、3つのデータベースに関してはほとんど no results

のような結果であったが、(1) の GTEx Portal に関しては、rs1641025 が有意

に遺伝子発現量に影響を与える遺伝子が見つかった。一方、同データベースに

おいて、rs12494691 はネガティブな結果であった。この結果は全血における

ABAT 遺伝子発現量に rs1641025 が影響を与える可能性を示唆しているが、

rs1641025 に関しては全血データにおける GABA transaminase の mRNA 発現量

との関連に有意である、ということしかわからない。

rs1641025 は ABAT のイントロンに存在するので、mRNA 発現量との関連に関

しては転写を介して mRNA 発現に影響を与えているものと推察されるとしか

言えず、解明には今後の基礎研究が必要であると考ええる。

今後、GABA transaminase の機能の増強／減弱のいずれかが判明すれば、その機能を有する薬剤によるオピオイド鎮痛薬の増強を期待する臨床試験に取り組みたい。

6.4. 合併症に関して

オピオイド鎮痛薬増量前は、オピオイド・ナイーブ群と非オピオイド・ナイーブ群の Likert scale を比較すると、嘔気、嘔吐、便秘に関しては有意差がなかったが、眠気に関しては非オピオイド・ナイーブ群で強かった（表3）。嘔気、嘔吐、便秘に対しては治療薬が存在し、オピオイド鎮痛薬と併用することにより合併症の管理を行うことができるが、眠気に対しては使用できる治療薬がほとんど存在しないため、必要な鎮痛を得るために眠気を許容することができる範囲でオピオイドを使用することが慣例である。

合併症の人数のデータ（表4-2、表5-2）からは、オピオイド鎮痛薬増量後で副作用が大きく増加しているとは言えず、逆に合併症が減少している項目もある。その理由としては、がん性疼痛管理に精通した医師によってオピオイド鎮痛薬が慎重に増量されたこと、合併症治療薬を併用した可能性があることが挙げられる。併用した合併症治療薬の情報がないことは、データを多施設で収集したため出来るだけアンケート調査を簡略化したためである。

遺伝子型による3群間でオピオイド鎮痛薬増量後の合併症悪化率に有意差がな

かったという結果を示したが（図8、図10）、使用したオピオイド鎮痛薬の種類や量、オピオイド・ナイーブ群と非オピオイド・ナイーブ群での違いに関しては今後サブ解析に臨みたい。

6.5. 線形回帰モデルについて

線形回帰モデルにおいて、オピオイド鎮痛薬増量後の疼痛減少率を従属変数とし、年齢、性、フェンタニル静脈投与等量、SNP を共変数とした ($y = \beta_0 + \beta_1 \times \text{Age} + \beta_2 \times \text{Sex} + \beta_3 \times \text{Adding fentanyl dose} + \beta_4 \times \text{SNP} + \varepsilon$)。

我々の知る限りでは、疼痛罹患期間とオピオイド鎮痛薬使用期間ががん性疼痛患者のオピオイド鎮痛薬感受性に影響を与えるという知見は確認されていなかったため、疼痛罹患期間とオピオイド鎮痛薬使用期間の両者は共変数としてモデルに入れなかった。

薬物動態と感受性には年齢による変化がある。薬物動態学的には、腎機能低下、肝代謝の低下、体内水分量の低下による薬物分配の変化があり、ホメオスタシス調節の低下もある。故に若年者に比べて反応が強く、副作用の頻度と程度も高い[21]。

性別が痛みに関する重要な因子であることはこれまでも多数の知見がある。女性の方が痛みに対する感受性が高く、痛みを伴う疾患に罹患するのも女性に多く、痛みの治療に対する反応も性差がある。痛みを修飾する遺伝的、解剖学的、

生理学的、神経系、内分泌系、心理的、社会的因子には性差があり、これらの相互作用により痛みに対する性差が生じており、実験的にも内因性オピオイド系や性ホルモンが疼痛に対する性差の要因としている[22]。

6.6. ABAT と他の遺伝子との関連に関して

ABAT 遺伝子の近傍にある遺伝子には、METTL22 (methyltransferase like 22)、PMM2 (phosphomannomutase 2)、THEM186 (transmembrane protein 186)、RN7SL734P (pseudogene)、RNU7-63P (pseudogene) が存在するが (図 1 3)、これらと ABAT の関連についての報告はなく、ABAT がこれらの遺伝子による影響を受けていることは考えにくい。



図 1 3 ABAT と近傍の遺伝子の遺伝子座

第 16 染色体上の ABAT の近傍には METTL22、PMM2、THEM186、RN7SL734P、RNU7-63P が存在する。

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/18>

第 16 染色体上に存在する痛みに関連のある遺伝子には GRIN2A (glutamate ionotropic receptor NMDA type subunit 2A) がある。これは NMDA (N-methyl-D-aspartate) 受容体サブユニット 2A を規定する遺伝子である。

NMDA 受容体は中枢神経系を中心に生体内に広く分布し、記憶学習や痛みに関連するシナプス伝達の可塑性に関与しているグルタミン酸をリガンドとする。

これまでの GRIN2A の遺伝子多型に関する研究としては、自閉症の罹患に関する遺伝子多型の報告がある。最も関連が強いのは GRIN2A の遺伝子多型であるが ABAT の遺伝子多型も関連がある可能性があるとするものの、両者の関連については述べておらず今後調べる必要があるとしている [23]。GRIN2A と ABAT の間に関連して機能を発現するという報告はない。

その他の GRIN2A の遺伝子多型に関する研究は、帝王切開が小児の知能に与える影響 [24]、てんかん [25]、統合失調症 [26] [27] [28] [29]、パーキンソン病 [30]、薬物依存 [31] [32] [33]、感情と行動 [34] の報告があるが、痛みに関連する報告はない。

遺伝子座の位置としても、同じ第 16 染色体上に存在するものの、975340-101829 (GRIN2A) と 8674587-8784575 (ABAT) の間には距離があり (図 1 4)、GRIN

2A と ABAT 間に影響がある可能性が高いとは言えない。

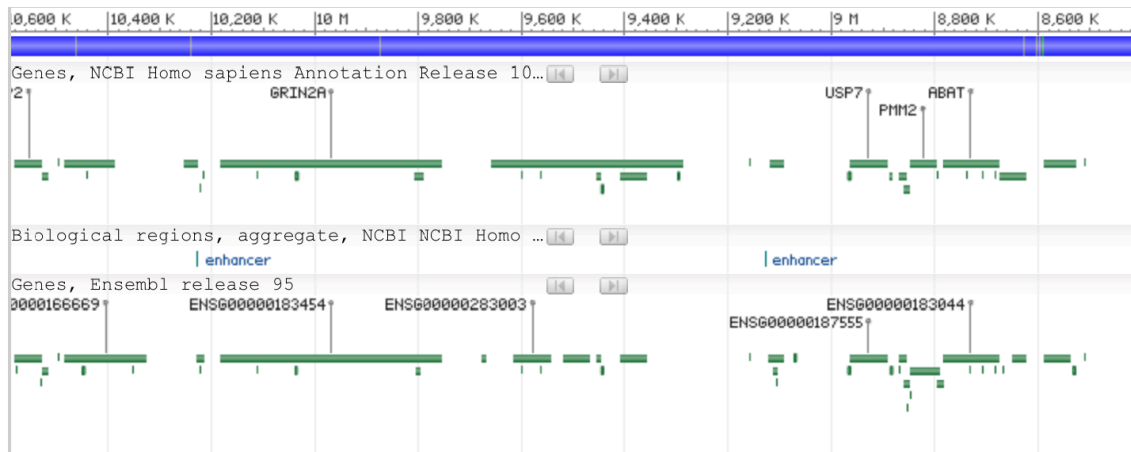


図 1 4 GRIN2A と ABAT の第 16 染色体上の遺伝子座
 GRIN2A は 975340-101829、ABAT は 8674587-8784575 に位置する。
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/2903>

これまでに痛覚知覚やピオイド鎮痛薬感受性に関する遺伝子多型が報告されている遺伝子、OPRM1、OPRD1、OPRK1、COMT、TRPV1、TRPA1、FAAH、GCHI、IL1RN、IL1A、IL1B、MC1R、CYP2D6、CYP3A4、ABCB1、UGT、GIRK に関しては、今回検出された rs1641025 と rs12494691 との関連を示唆する報告はなく、データベース上でも rs1641025 と rs12494691 の近傍には存在しないため、関連が強いとは考えにくい。

7. 限界

今回の研究では2点の限界がある。1点目は、登録患者数が少なく、マイナーアレルホモ接合体を持つ患者数も両 SNP で少なかったことと、偽陽性の多重性を考慮し設定した有意水準 genome-wide significance を満たしているものの、Manhattan plot と locus zoom 双方における SNP のピークが孤立していることである。

どちらの限界も偽陽性の可能性を増大する恐れがあるため、今回の我々の結果はより大きな標本サイズを用いてより大きな規模で検証する必要があると考える。

オピオイド鎮痛薬増量後の疼痛減少率において、rs1641025 に関しては、メジャーアレルホモ群とヘテロ群の間で有意であったという結果であったが、もし他の群間でも有意差を見つけようとした場合に必要なサンプルサイズを計算した。計算には、SWOG Statistics and Data Management Center の statistical tool である Two Arm Normal を使用した。各群の平均と群間の人数の比率は今回と同じであると仮定し、標準偏差は近似し 25 とし、 $\alpha = 0.0167$ 、検出力 = 0.80 とした。

メジャーアレルホモ群とマイナーアレルホモ群の間で有意となるには両群合わせて 69 人必要であり、3 群の人数は 102 人（メジャーアレルホモ群 60 人、ヘテロ群 33 人、マイナーアレルホモ群 9 人）必要であるという結果であった。ヘテロ群とマイナーアレルホモ群の間で有意となるには両群合わせて 260 人必要であり、3 群の人数は 637 人（メジャーアレルホモ群 377 人、ヘテロ群 206 人、マイナーアレルホモ群 54 人）必要であるという結果であった。

102 人以上の人数に対して解析を行えば、メジャーアレルホモ群が、ヘテロ群に対してだけでなく、マイナーアレルホモ群に対しても有意差を示すことができる可能性がある。この人数を指標にした解析を今後行いたい。

2 点目は、疼痛の原因となっているがんの種類についての情報を得なかったことである。その理由としては、がんの種類によって痛みの重症度には関わらないことと、データを多施設で収集したため出来るだけアンケート調査を簡略化したためである。

8. 謝辞

はじめに、本研究を行う機会を頂き当初より御指導頂きました東京大学大学院医学系研究科外科学専攻生体管理医学講座麻酔学分野の山田芳嗣教授に心より感謝申し上げます。

同じく本研究を一貫して御指導頂き終始温かく支えて下さった東京大学医学部附属病院緩和ケア診療部の住谷昌彦准教授に深く感謝申し上げます。

東京大学医学部附属病院麻酔科・痛みセンターの穂積淳先生、阿部博昭先生、土田陸平先生、緩和ケア診療部の東賢志先生には御指導御協力を頂きました。

東京都医学総合研究所依存性薬物プロジェクトの西澤大輔先生、池田和隆先生には、遺伝子研究に関して御指導頂きました。

東邦大学佐倉医療センター外科の長島誠先生、加藤良二先生には、データ取得に関して多大な御協力を頂きました。

厚生労働省 TR-Center Pain 研究班「がん性疼痛患者の QOL 向上のための橋渡し研究連携拠点構築」にはデータの取得に御協力を頂きました。

ここに深く御礼申し上げます。

9. 引用文献

1. Klepstad P, Borchgrevink PC, Kaasa S. Effect on cancer patients' health-related quality of life after the start of morphine therapy. *J Pain Symptom Manage.* 20:19-26., 2000.
2. Van den Beuken-van Everdingen MHJ, De Rijke JM, Kessels AG, Schouten HC, van Kleef M, Patijn J.

Prevalence of pain in patients with cancer: a systemic review of the past 40 years. *Ann Oncol.* 18:1437-49., 2007.
3. Arslan D, Koca T, Akar E, Tural D, Ozdogan M. Cancer pain prevalence and its management. *Asian Pac J Cancer Prev.* 15:8557-62., 2014.
4. Oldenmenger WH, Sillevs Smitt PAE, van Dooren S, Stoter G, van der Rijt CCD.

A systematic review on barriers hindering adequate cancer pain management and intervention to reduce them: a critical appraisal. *Eur J Cancer.* 45:1370-80., 2009.
5. Lotsch J, Geisslinger G. Current evidence for a modulation of nociception by

- human genetic polymorphisms. *Pain*. 132:18-22., 2007.
6. Lotsch J, Stuck B, Hummel T. The human mu-opioid receptor gene polymorphism 118 A > G decreases cortical activation in response to specific nociceptive stimulation. *Behav Neurosci*. 120:1218-24., 2006.
 7. Klepstad P, Rakvag TT, Kaasa S, Holthe M, Dale O, Borchgrevink P.C, Baar C, Vikan T, Krokan H.E, Skorpen F. The 118 A > G polymorphism in the human mu-opioid receptor gene may increase morphine requirements in patients with pain caused by malignant diseases. *Acta Anaesthesiol Scand*. 48:1232-9., 2004.
 8. Nielsen LM, Olesen AE, Branford R, Christrup LL, Sato H, Drewes AM. Association between human pain-related genotypes and variability in opioid analgesia: an updated review. *Pain Pract*. 15:580-94., 2015.
 9. Purcell S, Neale B, Todd-Brown K, Thomas L, Ferreira MAR, Bender D, Maller J, Sklar P, de Bakker PIW, Daly MJ, Sham PC. PLINK: a tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses. *Am J Hum Genet*. 81:559-75.,

2007.

10. Price AL, Patterson NJ, Plenge RM, Weinblatt ME, Shadick NA, Reich D.
Principal components analysis corrects for stratification in genome-wide
association studies. *Nat Genet.* 38:904-9., 2006.
11. Barrett JC, Fry B, Maller J, Daly MJ. Haploview: analysis and visualization of
LD and haplotype maps. *Bioinformatics.* 21:263-5., 2005.
12. Pruim RJ, Welch RP, Sanna S, Teslovich TM, Chines PS, Gliedt TP,
Boehnke M, Abecasis GR, Willer CJ. Regional visualization of genome-wide
association scan results. *Bioinformatics.* 26:2336-7., 2010.
13. World Health Organization. Cancer pain relief: with guide to opioid availability.
2nd ed. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 1996.
14. Nishizawa D, Fukuda K, Kasai S, Hasegawa J, Aoki Y, Nishi A, Saita N,
Koukita Y, Nagashima M, Katoh R, Satoh Y, Tagami M, Higuchi S, Ujike H,
Ozaki N, Inada T, Iwata N, Sora I, Iyo M, Kondo N, Won M-J, Naruse N,
Uehara-Aoyama K, Itokawa M, Koga M, Arinami T, Kaneko Y, Hayashida M,
Ikeda K. Genome-wide association study identifies a potent locus associated with

- human opioid sensitivity. *Mol Psychiatry*. 19:55-62., 2014.
15. Chen P, Wang X, Xu C, Xiao H, Zhang WH, Wang XH, Zhang XH. Association of polymorphism of A260G and A386G in DAZL gene with male infertility: a meta-analysis and systemic review. *Asian J Androl*. 18:96-101., 2016.
 16. Wegerer M, Adena S, Pfennig A, Czamara D, Sailer U, Bettecken T, Müller-Myhso B, Model S, Isin M . Variants within the GABAtransaminase(ABAT)gene region are associated with somatosensory evoked EEG potential in families at high risk for affective disorders. *Psychol Med*. 43:1207-17., 2013.
 17. Barnby G, Abbott A, Sykes N, Morris A, Weeks DE, Mott R, Lamb J, Bailey AJ, Monaco AP, and the International Molecular Genetics Study of Autism Consortium (IMGSAC). International Molecular Genetics Study of Autism Consortium, candidate-gene screening and association analysis at the autism-susceptibility locus on chromosome 16p: evidence of association at GRIN2A and ABAT. *Am J Hum Genet*. 76:950-66., 2005.
 18. Zeilhofer HU, Mohler H, Di Lio A. GABAergic analgesia: new insights from

- mutant mice and subtype-selective agonists. *Trends Pharmacol Sci.* 30:397-402.,
2009.
19. Buckett WR. Irreversible inhibitions of GABA transaminase induce
antinociceptive effects and potentiate morphine. *Neuropharmacology.* 19:715-22.,
1980.
20. Goodman LS, Brunton LL, Chabner BA, Knollmann BC. *Goodman & Gilman's
the pharmacological basis of therapeutics.* 12th ed. New York, NY: McGraw-Hill;
2011: p.491.
21. Tumheim K. Drug therapy in the elderly. *Exp Gerontol.* 39(11-12):1731-8.,
2004.
22. Pieretti S, Di Giannuario A, Di Giovannandrea R, Marzoli F, Piccaro G,
Minosi P, Aloisi AM. Gender differences in pain and its relief. *Ann Ist Super
Sanita.* 52(2):184-9., 2016.
23. Barnby G, Abbott A, Sykes N, Morris A, Weeks DE, Mott R, Lamb J, Bailey
AJ, Monaco AP; International Molecular Genetics Study of Autism Consortium.
Candidate-gene screening and association analysis at the autism-susceptibility

locus on chromosome 16p: evidence of association at GRIN2A and ABAT.

Am J Hum Genet. 76(6):950-66., 2005.

24. Smajlagić D, Kvarme Jacobsen K, Myrun C, Haavik L, Johansson S, Zayats T.
Moderating effect of mode of delivery on the genetics of intelligence: Explorative genome-wide analyses in ALSPAC. *Brain Behav.* 8(12):e01144., 2018.
25. Addis L, Sproviero W, Thomas SV, Caraballo RH, Newhouse SJ, Gomez K, Hughes E, Kinali M, McCormick D, Hannan S, Cossu S, Taylor J, Akman CI, Wolf SM, Mandelbaum DE, Gupta R, van der Spek RA, Pruna D, Pal DK.
Identification of new risk factors for rolandic epilepsy: CNV at Xp22.31 and alterations at cholinergic synapses. *J Med Genet.* 55(9):607-616., 2018.
26. Marballi KK, Gallitano AL. Immediate Early Genes Anchor a Biological Pathway of Proteins Required for Memory Formation, Long-Term Depression and Risk for Schizophrenia. *Front Behav Neurosci.* 19;12:23., 2018.
27. Goes FS, McGrath J, Avramopoulos D, Wolyniec P, Pirooznia M, Ruczinski I, Netadt G, Kenny EE, Vacic V, Peters I, Lenez T, Darvasi A, Mulle JG, Warren ST, Pulver AE. Genome-wide association study of schizophrenia in Ashkenazi

- Jews. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* 168(8):649-59.,2015.
28. Demontis D, Nyegaard M, Buttenschøn HN, Hedemand A, Pedersen CB, Grove J, Flint TJ, Nordentoft M, Werge T, Hougaard DM, Sørensen KM, Yolken RH, Mors O, Børglum AD, Mortensen PB. Association of GRIN1 and GRIN2-D with schizophrenia and genetic interaction with maternal herpes simplex Virus-2 infection affecting disease risk. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* 156B(8):913-22., 2011.
29. Zhao X, Li H, Shi Y, Tang R, Chen W, Liu F, Feng G, Shi J, Yan L, Liu H, He L. Significant association between the genetic Variations in the 5' end of the N-methyl-d-aspartate receptor subunit gene GRIN1 and schizophrenia. *Biol Psychiatry.* 15;59(8):747-53., 2006.
30. Hamza TH, Chen H, Hill-Burns EM, Rhodes SL, Montimurro J, Kay DM, Tenesa A, Kusel VI, Sheehan P, Eaaswarkhanth M, Yearout D, Samii A, Roberts JW, Agarwal P, Bordelon Y, Park Y, Wang L, Gao J, Vance JM, Kendler KS, Bacanu SA, Scott WK, Ritz B, Nutt J, Factor SA, Zabetian CP, Payami H. Genome-wide gene-environment study identifies glutamate receptor

gene GRIN2A as a Parkinson's disease modifier gene via interaction with coffee.

PLoS Genet. 7(8):e1002237., 2011.

31. Chen J, Ma Y, Fan R, Yang Z, Li MD. Implication of Genes for the N-Methyl-D-Aspartate (NMDA) Receptor in Substance Addictions. *Mol Neurobiol.* 55(9):7567-7578., 2018.
32. Levan O, Peles E, Randesi M, Correa da Rosa J, Ott J, Rotrosen J, Adelson M, Kreek MJ. Glutamatergic and GABAergic susceptibility loci for heroin and cocaine addiction in subjects of African and European ancestry. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 4;64:118-23., 2016.
33. Levran O, Londono D, O'Hara K, Randesi M, Rotrosen J, Casadonte P, Linzy S, Ott J, Adelson M, Kreek MJ. Heroin addiction in African Americans: a hypothesis-driven association study. *Genes Brain Behav.* 8(5):531-40., 2009.
34. Lee LC, Cho YC, Lin PJ, Yeh TC, Chang CY, Yeh TK. Influence of Genetic Variants of the N-Methyl-D-Aspartate receptor on Emotion and Social Behavior in Adolescents. *Neural Plast.* 2016:6851592., 2016.