

博士論文

Adiponectin receptor 1 遺伝子多型の
開腹術後痛とがん性疼痛の重症度への影響

蜷川 純

Adiponectin receptor 1 遺伝子多型の
開腹術後痛とがん性疼痛の重症度への影響

所属：東京大学大学院医学系研究科外科学専攻

指導教員： 内田 寛治 教授

申請者： 蛭川 純

目次

1. 要旨	5
2. 序文	6
2.1. 背景	6
2.2. アディポネクチンと、その受容体	9
2.3. 一塩基多型 SNPs: singlenucleotide polymorphisms	12
2.4. 遺伝的要因による疼痛強度の個人差	13
3. 目的	16
4. 方法	17
4.1. 実験 1	17
4.1.1. 対象	17
4.1.2. 評価方法	18
4.1.3. ゲノム解析	19
4.1.4. 遺伝子型の統計解析	20
4.2. 実験 2	22

4.2.1. 対象	22
4.2.2. 評価方法	23
4.2.3. ゲノム解析	24
4.2.4. 遺伝子型の統計解析	24
5. 結果	27
5.1. 実験 1	27
5.2. 実験 2	32
6. 考察	37
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	37
6.2. 炎症性疼痛のメカニズム	39
6.3. ADIPOR1 の SNP である rs1204862 が炎症性疼痛に影響を及ぼす メカニズム	42
6.4. 術後痛の強度に影響を及ぼす ADIPOR2 の SNP が 発見されなかったことに対する考察	48
7. 限界	50

8. 謝辭	54
9. 引用文献	55
10. 付録	64

1. 要旨

背景 : アディポネクチンは ADIPOR1 と ADIPOR2 の 2 種類の受容体に結合することで抗炎症作用を発揮する。本研究は、炎症性疼痛の強度を規定する ADIPOR1 と ADIPOR2 の遺伝子を探索し同定することを目的とした。

方法 : 56 人の開腹術後痛患者を対象に、疼痛強度と、ADIPOR1 と ADIPOR2 の一塩基多型 (SNPs) のゲノム解析を行った。この解析で開腹術後痛強度と関連があった SNP に関して、88 人のがん性疼痛患者を対象に、疼痛強度との関連を調べた。

結果 : ADIPOR1 の SNP である rs12045862 が、開腹術後痛の強度と関連を示した。同 SNP は、がん性疼痛の強度とは関連を示さなかった。

結論 : 開腹術後痛の強度には ADIPOR1 遺伝子多型が関連する。ADIPOR1 は鎮痛薬開発の新たな標的となる可能性がある。

2. 序文

2.1. 背景

脂肪組織はエネルギーの貯蔵庫としてだけではなく、様々な生理活性物質を分泌する器官としても機能しており、tumor necrosis factor α (TNF α) やインターロイキン 6 (IL6)、monocyte chemoattractant protein-1 (MCP1) などの炎症性サイトカインを産生している。肥満状態では脂肪細胞数は増加し、脂肪細胞は肥大化しており、肥大化した脂肪細胞ではこれらの炎症性サイトカインの産生が増加している。また、MCP1 は脂肪組織へのマクロファージの浸潤を誘導し、脂肪細胞からの IL6 や TNF α の分泌を更に増加させるため、肥大化した脂肪細胞は、それ自身により炎症反応を増幅させる。結果的に、肥満は全身の炎症反応へつながり [1]、プロスタグランジン、キニン、ヒスタミンなどの炎症メディエーターが増加する。これらの脂肪細胞から分泌されるサイトカインはアディポカインと称される (表 2-1)。

これらの炎症物質は、侵害受容器に作用することで疼痛閾値の低下を引き起こ

すことが知られている。肥満は、頭痛や腹痛、神経障害性疼痛などの様々な疼痛の増強や慢性化の危険因子であることが報告されているが[2,3,4,5]、その機序の一つとして、このような肥満による全身の慢性炎症状態が疼痛の増強に関連していると考えられている[6,7]。

アディポカイン	主な分泌細胞	結合相手、受容体	機能
レプチン	脂肪細胞	レプチン受容体	中枢神経を介した食欲調節
レジスチン	末梢血単核細胞、脂肪細胞		マクロファージからの IL6 と TNF 分泌を介した、インスリン抵抗性と炎症の促進
RBP4	肝臓、脂肪細胞、マクロファージ	レチノール、トランスサイレチン	インスリン抵抗性との関連
リポカリン 2	脂肪細胞、マクロファージ		脂肪脂肪からの TNF 分泌を介した、インスリン抵抗性と炎症の促進
ANGPTL2	脂肪細胞など		局所と血管の炎症
TNF	間質血管細胞群、脂肪細胞	TNF 受容体	炎症の促進、インスリンシグナル伝達の拮抗
IL6	間質血管細胞群、脂肪細胞、肝臓、筋肉	IL6 受容体	
IL-18	間質血管細胞群	IL-18 受容体、IL-18 結合蛋白	炎症の促進
CCL2 (MCP1)	間質血管細胞群、脂肪細胞	CCR2	単球走化性
CXCL5	間質血管細胞群	CXCR2	インスリンシグナル伝達の拮抗
NAMPT	脂肪細胞、マクロファージ		単球走化性
アディポネクチン	脂肪細胞	ADIPOR1, ADIPOR2, T-カドヘリン, カルレティキュリン-CD91	インスリン感受性の増強、抗炎症作用
SFRP5	脂肪細胞	WNT5a	抗炎症性 Wnt シグナル伝達の抑制

表 2-1 主なアディポカインと、その機能 [1]

ANGPTL2, angiopoietin-like protein 2; CCL2, CC-chemokine ligand 2; CXCL5, CXC-chemokine ligand 5; IL, interleukin; JAK, Janus kinase; NAMPT, nicotinamide phosphoribosyltransferase; RBP4, retinol-binding protein 4; SFRP5, secreted frizzled-related protein 5; STAT, signal transducer and activator of transcription; TNF, tumor necrosis factor

2.2 アディポネクチンと、その受容体

アディポネクチンは白色脂肪細胞から分泌されるアディポカインで、抗炎症作用を有する数少ないアディポカインの一つである[8]。その作用は様々で、肝臓や骨格筋における adenosine monophosphate protein kinase (AMPK) を活性化することでインスリン感受性を亢進させる、血管内皮細胞における一酸化窒素産生を刺激することで血管拡張を起こす、TNF α によって誘導される nuclear factor- κ B (NF- κ B) の活性化を抑制することで血管内皮細胞における炎症反応を抑制する、などである[9,10]。肥大化した脂肪細胞からのアディポネクチン分泌は減少するため、肥満状態や内臓脂肪蓄積時には前述のアディポネクチンの抗炎症作用が減弱し、インスリン抵抗性や動脈硬化につながることが知られている[8]。

アディポネクチンの生体内における作用は、その血中濃度だけではなく、受容体を介した細胞内シグナル伝達にも影響を受ける。アディポネクチンが結合する受容体は、adiponectin receptor 1 (ADIPOR1) と adiponectin receptor 2 (ADIPOR2) の2つが同定されている[11]。ADIPOR1 は AMPK 経路の活性化に、ADIPOR2

は peroxisome proliferator activated receptor α (PPAR- α)経路の活性化に主に関与している[12]。これらの細胞内シグナル伝達はインスリン抵抗性の改善や抗炎症作用などと関連しており、これまでにアディポネクチン、ADIPOR1、ADIPOR2の様々な遺伝子多型（表 2-2）が、インスリン抵抗性や 2 型糖尿病、肥満などのメタボリック症候群と関連すると報告されている[13,14,15,16]。

遺伝子	SNP	マイナーアレルによる影響	国
ADIPOQ	rs822393	白人でインスリン感受性↓	アメリカ [14]
ADIPOR1	rs10920534, rs22757538, rs1342387	BMI、体重、身長、腹囲など	フィンランド [15]
	rs12045862, rs7539542 rs10920534	空腹時・2時間後インスリン値↓ (男性) 2時間後インスリン値↓	
	rs12733285 rs10494839	DM DM, HL	コロンビア [16]
	ADIPOR2	rs10848554, rs1058322, rs11061937, rs16928751	心血管疾患
rs11061946, rs11061973		耐糖能異常から2型糖尿病への移行↑	
rs767870		冠動脈疾患↑、腹囲↑、頸動脈内膜肥厚↑	ギリシャ [35]

表 2-2 メタボリック症候群との関連が報告されている、アディポネクチン、ADIPOR1、ADIPOR2 の主な遺伝子多型

2.3. 一塩基多型 SNPs (single nucleotide polymorphisms)

ヒトゲノムは 30 億塩基対からなるが、その配列の個体差を遺伝子多型と呼ぶ。

具体的には、ある塩基が別の塩基に置き換わっている、塩基の反復配列の反復回数が異なる、ある塩基が欠失している、ある塩基が挿入されているなどの違いである。全塩基配列の約 0.1% に遺伝子多型が認められる。

ヒトゲノム上で最も多い遺伝子多型が一塩基多型 SNPs (single nucleotide polymorphisms) であり、ある遺伝子の 1 塩基が別の塩基に置き換わったものである。SNP は平均して約 1000 塩基ごとに 1 個の割合で存在する。

2.4. 遺伝的要因による疼痛強度の個人差

組織が障害されたことによって知覚される疼痛強度には個人差があり、その個人差に影響を与える様々な要因の一つとして遺伝的要因が挙げられ、これまでに様々な遺伝子多型が疼痛強度と関連することが報告されている（表 2-3、2-4）[17,18,19]。その疼痛強度に影響を及ぼす機序は様々であり、例えば μ オピオイド受容体をコードする遺伝子 **OPRM1** の **SNPs** は、内因性オピオイドやオピオイド鎮痛薬の鎮痛効果を媒介する μ オピオイド受容体の作用発現に影響を与え、その結果、疼痛閾値の差に関連する。また、インターロイキン 1 (**IL1**) に関連する遺伝子の **SNPs** は、炎症性サイトカインの産生促進による局所炎症の増強や、侵害受容器の閾値低下に影響を及ぼし、疼痛閾値の個人差に影響すると考えられる。

	遺伝子	マイナーアレル の頻度	影響を受ける疼痛の種類	マイナーアレルによる 疼痛の変化
オピオイド受容体	OPRM1	10～11.2%	圧痛	減弱
	OPRD1	10.9%	熱刺激	減弱
Catechol-O-Methyltransferase	COMT	10.7～49%	圧痛、熱刺激、冷刺激	増強、減弱
Transient receptor potential cation channel	TRPV1	36.8%	冷刺激	減弱
	TRPA1	41%	冷刺激、熱刺激	増強
Fatty acid amino hydrolase	FAAH	19～49%	冷刺激	増強
GTP cyclohydrolase 1	GCH1	14.7～28%	圧痛、熱刺激、慢性腰痛	減弱
インターロイキン 1	IL1RN	26%	腰痛	増強
	IL1A	38.2%	腰痛	増強
	IL1B	31%	腰痛	増強

表 2-3 疼痛閾値との関連が報告されている主な遺伝子

	遺伝子	SNPs	マイナーアレルによる疼痛への影響
Catechol-O-methyl transferase	COMT	rs4818, rs4633	増強
		rs6269, rs4680	減弱
オピオイド受容体	OPRM1	rs1799971	増強
ナトリウムチャンネル	KCNA1	rs4766311	減弱
		rs17376373	減弱
	KCND2	rs1072198	増強
		rs734784, rs13043825	増強
	KCNS1	rs17641121	増強
		rs12995382	減弱
	KCNJ3	rs858003, rs2835925	増強
	KCNC9	rs2014712, rs2545457	増強
rs2542424		減弱	
Ionotropic ATP-gated purinoceptor	P2X7R	rs208294	増強
		rs208296, rs7958311	減弱
膜貫通 AMPA 受容体調節性タンパク質 γ 2	CACNG	rs4820242, rs2284015, rs2284017, rs2284018, rs1883988	増強
ニコチン性アセチルコリン受容体 α 6 サブユニット	CHRNA6	rs7828365	増強
インターロイキン 1	IL1R2	rs11674595	増強
Human leukocyte antigen	HLA	DRB1*04, DQB1*03:02	増強

表 2-4 慢性術後痛との関連が報告されている主な遺伝子多型

3. 目的

以上のように、疼痛強度の個人差には様々な遺伝子多型が関与することが報告されているが、多くの研究は白色人種群を対象にしており、日本人を対象とした報告は少ない。

我々はアディポネクチンの抗炎症作用に着目し、アディポネクチンが炎症性疼痛に関連しているとの仮説を立て、アディポネクチンの遺伝子多型と血中濃度が術後痛と関連するかどうかを、日本人を対象に調査した。しかし、アディポネクチンの遺伝子多型も血中濃度も、術後痛の強度を減弱させるという結果は得られなかった[20]。そこで、次に我々はアディポネクチン受容体の遺伝子多型が炎症性疼痛強度の個人差に影響を及ぼすという仮説を立て、術後痛とがん性疼痛でその仮説を検討することとした。

4. 方法

4.1. 実験 1

まず、炎症性疼痛と関連がある ADIPOR1 と ADIPOR2 の SNPs を調査するために、これらの SNPs と開腹手術の術後痛強度、術中術後のオピオイド投与量との関連を調査した。

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。

4.1.1 対象

組み入れ基準は、結腸がん、直腸がんに対して、硬膜外麻酔併用全身麻酔で開腹手術を受けた患者とした。組み入れ期間は 2009 年 4 月 1 日から 2014 年 3 月

31日、対象施設は1施設であり、56人の患者が登録された。患者背景を表4-1に示す。術後の疼痛コントロールは持続硬膜外麻酔を用いた。持続硬膜外麻酔は、術前に胸部硬膜外腔、もしくは腰部硬膜外腔に挿入されたカテーテルを用い、0.25%ブピバカインとフェンタニルの混合液を1時間当たり2 mLの投与で行った。疼痛を訴えた場合の鎮痛薬投与のプロトコールは設定せず、担当医の判断により、レスキュー薬としてオピオイド（フェンタニル、モルヒネ、ブプレノルフィン、ペンタゾシン、ペチジン）や非ステロイド系抗炎症薬（ジクロフェナク、フルルビプロフェン）の全身投与が行われた。

4.1.2. 評価方法

(a) オピオイド投与量

術中と術後に投与されたオピオイドの総量を記録した。フェンタニル以外のオピオイドに関しては、同等の力価となるフェンタニル静脈投与量に換算し、疼痛評価時の体重に基づいて総投与量 (mcg/kg/day) を計算した。

(b) 疼痛強度

術後 24 時間の疼痛の強さを、5 段階 Likert scale (0=no pain, 1=mild, 2=moderate, 3=severe, 4=extremely severe) を用いて評価した。

4.1.3. ゲノム解析

全ての患者から術前に末梢血を採取した。塩析法を用いて末梢血リンパ細胞から DNA を抽出した。DNA の全ゲノムを増幅したのちに断片化し、得られた変性 DNA にハイブリダイゼーションを行ったものを、1,140,419 個のマーカータを持つ Omni1-Quad Beadchip (Illumina, San Diego, CA, USA) を用いて遺伝子解析を行った。遺伝子解析は 56 人の患者すべてに行われた。SNPs データの品質管理 (quality control) には PLINK version 1.07 を用いた。サンプル及び SNPs の call rates が 95% 以下のものは統計解析から除外した。MAF (minor allele frequency) が 0.1% 未満の SNPs、Hardy-Weinberg equilibrium からの逸脱 ($p < 0.001$) を示した SNPs は統計解析から除外した。

患者それぞれの末梢血から得られた標準化 bead intensity データを

GenomeStudio software (Genotyping module ver. 1.8.4; Illumina, San Diego, CA, USA)に読み込み、蛍光強度を SNPgenotype に変換した。全ゲノムの genotyping により得られた genotype データを用い、BeadChip に搭載されている ADIPOR1 遺伝子内にある 17 の SNPs と、ADIPOR2 遺伝子内にある 27 の SNPs の解析を行った。

4.1.4. 遺伝子型の統計解析

遺伝子型の統計解析として、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 3 つの遺伝子型に対し、術後痛強度、オピオイド投与量との関係を Kruskal-Wallis test で解析を行った。Post hoc analysis として Scheffe test を行った。Scheffe test での有意水準を $p < 0.00113$ (Bonferroni 補正後 $p = 0.05$) と設定した。

更に、これまでに多くの ADIPOR1 と ADIPOR2 の SNPs がメタボリック症候群との関連を調べられているが、その中で rs12054862 の SNP は、マイナーアレルホモ接合体の遺伝子型群において、メジャーアレルホモ接合体、ヘテロ接合

体それぞれの遺伝子型群と比較して有意に血中インスリン濃度が低く、また、メジャーアレルホモ接合体とヘテロ接合体の遺伝子群では血中インスリン濃度に有意差はなかったと報告されている[15]。この報告を踏まえ、調査した ADIPOR 1 と ADIPOR2 の SNPs の遺伝子型を「メジャーアレルホモ接合体とヘテロ接合体 (major+homo)」と「マイナーアレルホモ接合体 (minor)」の 2 群に分け、オピオイド投与量と術後痛強度との関係を Mann-Whitney test で解析した。有意水準を $p < 0.00113$ (Bonferroni 補正後 $p = 0.05$) と設定した。

4.2. 実験 2

次に、実験 1 において開腹術後痛と有意に関連があった SNP に関して、がん性疼痛との関連を調査した。

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。

4.2.1. 対象

組み入れ基準は以下の通りであった。

- (a) がん性疼痛と診断されている患者（悪性病変の臓器や病理は問わない）
- (b) 年齢が 20 歳を超える患者
- (c) 1 週間以上、疼痛が持続している患者
- (d) 11 段階数値評価スケール (numerical rating scale : NRS) (0=no pain、10=worst)

possible pain) を用いて評価した疼痛強度の過去 1 週間の平均が、3 を超える患者

除外基準は以下の通りであった。

- (a) 軽度、もしくはより重篤な認知機能障害のある患者
- (b) 脳転移を有する患者
- (c) がん以外に疼痛の原因が疑われる患者

組み入れ期間は 2009 年 4 月 1 日から 2014 年 3 月 31 日、対象施設は 7 施設であり、88 人の患者が登録された。患者背景を表 4-1 に示す。

4.2.2. 評価方法

(a) オピオイド投与量

疼痛強度を記録した日に投与されたオピオイドの総量、同等の力価となるフェンタニル静脈投与量に換算し、疼痛評価時の体重に基づいて総投与量 (mcg/kg/day) を記録した

(b) 疼痛強度

疼痛強度の測定は、11段階 NRS（0=no pain、10=worst possible pain）を用いて評価した。

4.2.3. ゲノム解析

実験 1 と同様のゲノム解析を、88 人の患者全員に対して行った。

4.2.4. 遺伝子型の統計解析

実験 1 と同様に、調査の対象となった SNP の遺伝子型において、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 3 つの遺伝子型に対し、術後痛強度、オピオイド投与量との関係を Kruskal-Wallis test で解析を行った。Post hoc analysis として Scheffe test を行った。調査の対象となった SNP は rs12045862 のみであったが、結果が疑陽性となる可能性を最小限にするため、Scheffe test での有意水準を $p < 0.00113$ （Bonferroni 補正後 $p = 0.05$ ）と設定した。

更に、「メジャーアレルホモ接合体とヘテロ接合体 (major+homo)」と「マイナーアレルホモ接合体(minor)」の2群に分け、オピオイドの総投与量とがん性疼痛強度との関係を Mann-Whitney test で解析した。同様に、有意水準を $p < 0.00113$ (Bonferroni 補正後 $p = 0.05$) と設定した。

	実験 1 (n = 56)	実験 2 (n = 88)
年齢	63.0 ± 12.3	58.3 ± 13.4
性別 (男 : 女)	26 : 30	38 : 50
体重	54.5 ± 10.2	55.1 ± 10.5

表 4-1 実験 1 と実験 2 の患者背景。データは (平均値 ± 標準偏差) で表した。

5. 結果

5.1. 実験 1

調査した 44 の SNPs のうち、ADIPOR1 の SNP である rs12045862 のみが術後痛強度との有意な関連を示した (Kruskal-Wallis test: $p=0.0023$)。表 5-1 に rs12045862 の遺伝子型による 3 群のプロフィールと、術後痛強度、オピオイド投与量を示す。術後痛強度は、マイナーアレルホモ接合体群 (5 段階 Likert scale 2.7 ± 1.2) はメジャーアレルホモ接合体群 (5 段階 Likert scale 1.2 ± 1.0) と比較して有意に強く (Scheffe test: $p=0.0006$)、ヘテロ接合体群 (5 段階 Likert scale 0.8 ± 0.6) と比較しても有意に強かった (Scheffe test: $p<0.0001$ 、図 5-1-1)。オピオイドの総投与量に関しては、3 群間で有意な差を示さなかった (静注フェンタニル換算、メジャーアレルホモ接合体群 $10.4 \pm 3.3\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$: ヘテロ接合体群 $10.6 \pm 4.0\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$: マイナーアレルホモ接合体群 $11.4 \pm 3.9\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ 、Kruskal-Wallis test: $p=0.84$)。年齢、体重は 3 群間で有意な差を認めなかった (Kruskal-Wallis test: $p=0.95, 0.69$)。

また、major+hetero 群と minor 群の 2 群に分けたところ、術後痛の強度は major+hetero 群 (5 段階 Likert scale 1.0 ± 0.9) と比較して、minor 群 (5 段階 Likert scale 2.7 ± 1.2) で有意に強かった (Mann-Whitney test: $p=0.00002$ 、図 5-1-2)。オピオイドの総投与量に関しては、2 群間で有意な差を示さなかった ($p=0.59$)。年齢、体重は 2 群間で有意な差を認めなかった ($p=0.99, 0.61$)。残りの 43 の SNPs に関する遺伝子型による 3 群のプロフィールと術後痛強度を、付録として表 10-1～表 10-9 に示す。

一塩基多型	rs12045862 (intronic SNP)		
遺伝子	ADIPOR1		
遺伝子座	第1染色体 202947678		
アレル メジャー/マイナー	T/C		
マイナーアレルの頻度	0.29		
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 (男 : 女)	30 (14 : 16)	19 (9 : 10)	7 (3 : 4)
年齢 (歳)	63.2 ± 12.5	62.7 ± 12.1	62.7 ± 13.0
疼痛強度 (5段階 Likert scale)	1.2 ± 1.0	0.8 ± 0.6	2.7 ± 1.2
	1.0 ± 0.9		
3 群間 p 値 (K-W test)	0.0023		
2 群間 p 値 (M-W test)	0.00002		
静注フェンタニルに換算した オピオイド投与量 (µk/kg/day)	10.4 ± 3.3	10.6 ± 4.0	11.4 ± 3.9
	10.5 ± 3.6		
3 群間 p 値 (K-W test)	0.84		
2 群間 p 値 (M-W test)	0.59		

表 5-1 術後痛患者における rs12045862 の遺伝子型 3 群間と 2 群間 ("major+hetero", "minor") の比較。データは (平均値 ± 標準偏差) で表した。

K-W test, Kruscal-Wallis test; M-W test, Mann-Whitney test

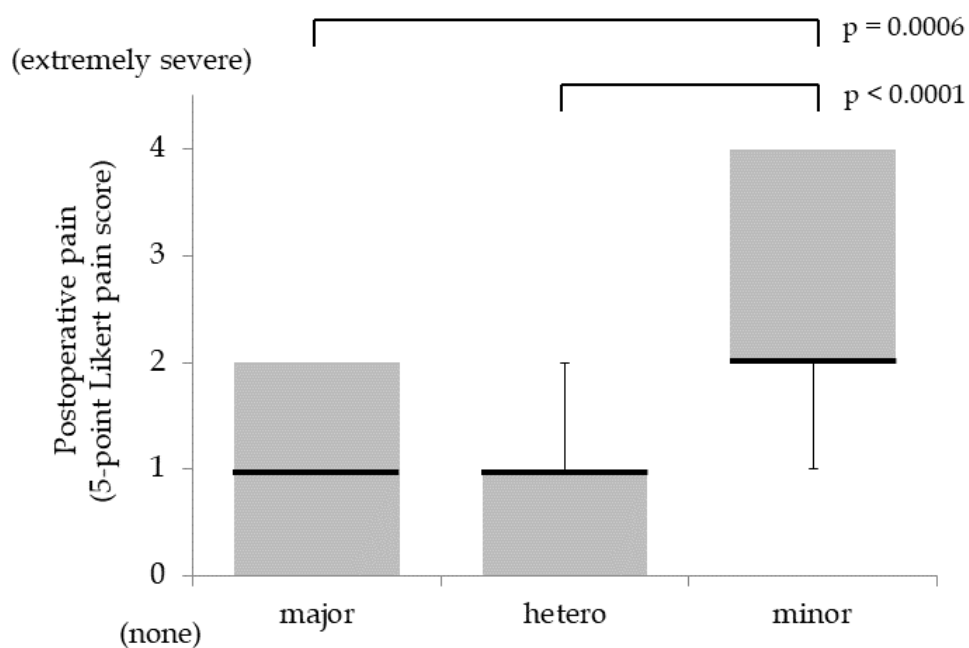


図 5-1-1 : 5 段階 Likert score で表した術後痛強度と、ADIPOR1 遺伝子の rs12045861 遺伝子型との関連。縦軸に術後痛強度、横軸に 3 群の遺伝子型を示す。箱は 25~75 パーセントイルを、太線は中央値を、ひげ部分は 10 パーセントイルと 90 パーセントイルを表す。

Kruskal-Wallis test の結果、マイナーアレルホモ群はメジャーアレルホモ接合群、ヘテロ群と比較して、有意に疼痛が強かった (Scheffe test : $p=0.0006$, $p<0.0001$)。

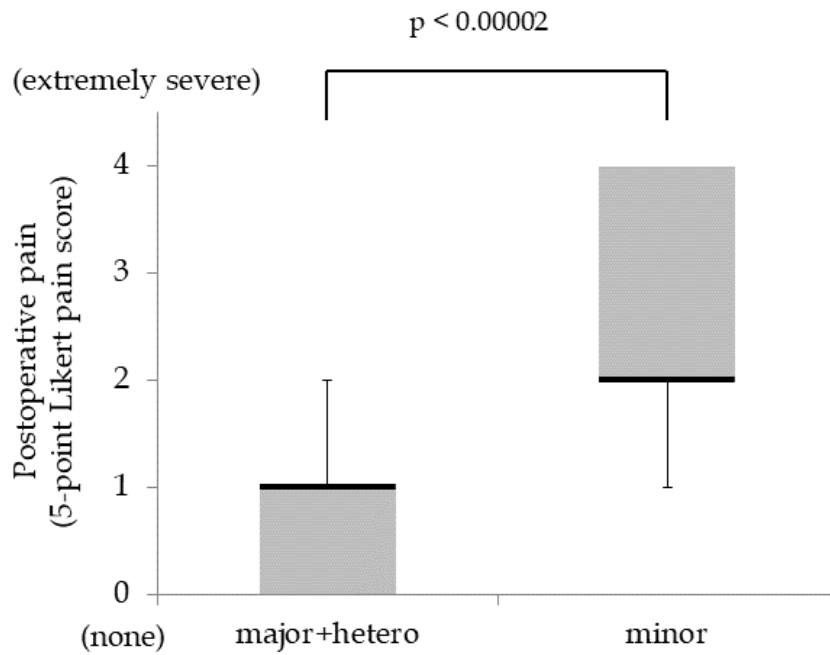


図 5-1-2 : 5 段階 Likert score で表した術後痛強度と、ADIPOR1 遺伝子の rs12045861 遺伝子型 (major+hetero 群と minor 群) との関連。minor 群は major+hetero 群と比較して、有意に疼痛が強かった (Mann-Whitney test: $p=0.00002$)。

5.2. 実験 2

実験 1 で術後痛の強度との関連を示した ADIPOR1 遺伝子の rs12045862 の SNP は、がん性疼痛の強度においては有意な関連を示さなかった (Kruskal-Wallis test: $p=0.0017$)。表 5-2 に、がん性疼痛患者における rs12045862 の major+hetero 群と minor 群のプロフィールと、がん性疼痛強度、オピオイド投与量を示す。

がん性疼痛の強度は、メジャーアレルホモ接合体群 (11 段階 NRS 5.1 ± 1.8) と比較して、マイナーアレルホモ接合体群 (11 段階 NRS 7.0 ± 1.2) とヘテロ接合体群 (11 段階 NRS scale 6.3 ± 1.8) で強い傾向にあったが、有意差は認めなかった (Scheffe test: $p=0.032$, $p=0.01$)。また、ヘテロ接合体群とマイナーアレルホモ接合体群の比較においても疼痛強度に有意差を認めなかった (Scheffe test: $p=0.62$, 図 5-2-1)。オピオイドの総投与量に関しては、3 群間で有意な差を示さなかった (静注フェンタニル換算、メジャーアレルホモ接合体群 $4.6 \pm 14.8 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$: ヘテロ接合体群 $10.8 \pm 42.7 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$: マイナーアレルホモ接合体群 $4.2 \pm 7.1 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ 、Kruskal-Wallis test: $p=0.63$)。年齢、体重は 3 群間で有意な差を認めなかった (Kruskal-Wallis test: $p=0.95$, 0.69)。

また、major+hetero 群と minor 群の 2 群に分けたところ、がん性疼痛の強度は

major+hetero 群（11 段階 NRS 5.6 ± 1.9 ）と比較して minor 群で強い傾向にあったが、有意差を認めなかった（Mann-Whitney test: $p=0.037$ 、図 5-2-2）。オピオイドの総投与量に関しては、2 群間で有意な差を示さなかった（ $p=0.66$ ）。年齢、体重は 2 群間で有意な差を認めなかった（ $p=0.43$ 、 0.60 ）。

一塩基多型	rs12045862 (intronic SNP)		
遺伝子	ADIPOR1		
遺伝子座	第1染色体 202947678		
アレル メジャー/マイナー	T/C		
マイナーアレルの頻度	0.30		
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 (男 : 女)	43 (19 : 24)	38 (15 : 23)	7 (4 : 3)
年齢 (歳)	56.9 ± 13.9	60.6 ± 12.8	54.9 ± 13.3
疼痛強度 (5段階 Likert scale)	5.1 ± 1.8	6.3 ± 1.8	7.0 ± 1.2
	5.6 ± 1.9		
3 群間 p 値 (K-W test)	0.0017		
2 群間 p 値 (M-W test)	0.037		
静注フェンタニルに換算した オピオイド投与量 (µk/kg/day)	4.6 ± 14.8	10.8 ± 42.7	4.2 ± 7.1
	7.5 ± 31.1		
3 群間 p 値 (K-W test)	0.63		
2 群間 p 値 (M-W test)	0.66		

表 5-2 がん性疼痛患者における rs12045862 の遺伝子型 3 群間と 2 群間 ("major+hetero", "minor") の比較。データは (平均値 ± 標準偏差) で表した。

K-W test, Kruscal-Wallis test; M-W test, Mann-Whitney test

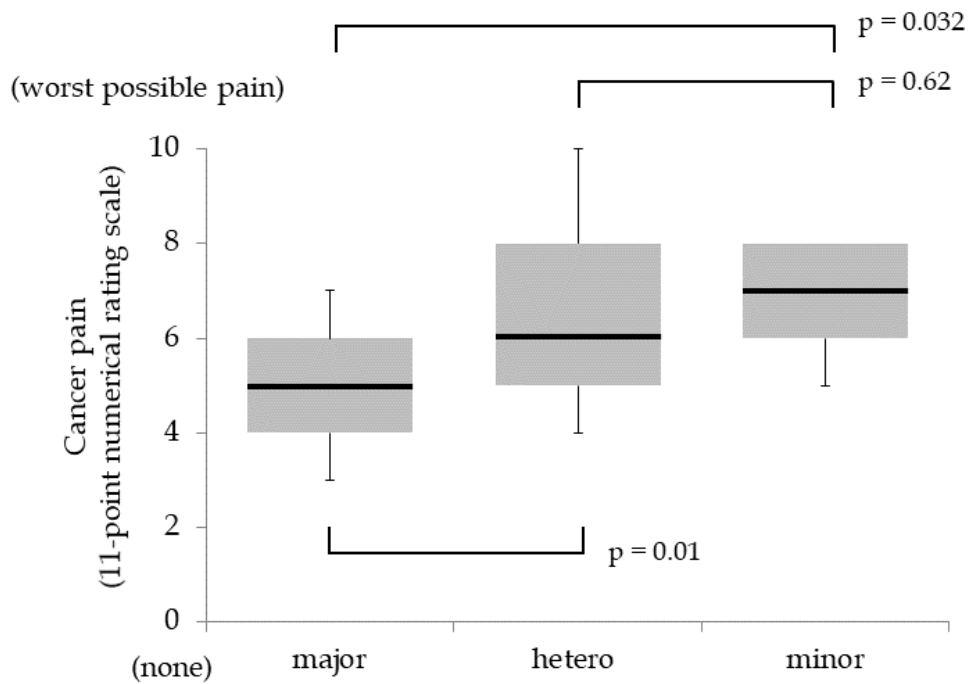


図 5-2-1 : 11 段階 NRS で表したがん性疼痛強度と、ADIPOR1 遺伝子の rs12045862 遺伝子型との関連。major 群と比較して、minor 群と hetero 群でのがん性疼痛の強度は強い傾向にあったが、有意差は認めなかった (Scheffe test : $p=0.032$, $p=0.01$)。また、hetero 群は minor 群と比較して疼痛強度に有意差はなかった (Scheffe test : $p=0.62$)。

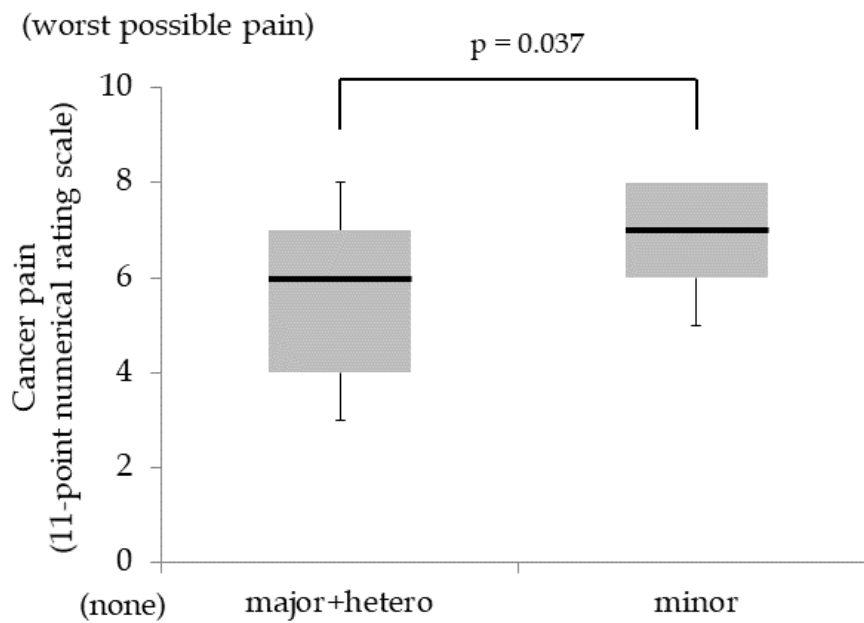


図 5-2-2 : 11 段階 NRS で表したがん性疼痛強度と、ADIPOR1 遺伝子の rs12045862 遺伝子型 (major+hetero 群と minor 群) との関連。minor 群は major+hetero 群と比較して、がん性疼痛の強度は強い傾向にあったが、有意差は認めなかった (Mann-Whitney test: $p=0.037$)。

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

我々の調べた限りでは、本調査は、アディポネクチン受容体の SNPs と術後痛、がん性疼痛の強度の関連について日本人を対象とした初めてのゲノム解析である。

今回の我々の調査では、ADIPOR1 の rs12045862 の SNP に関してマイナーアレルホモを持つ患者の方が、マイナーアレルホモを持たない患者に比べて開腹術後痛が有意に強かった。がん性疼痛の強度に関しては、rs12045862 のメジャーアレルと比較してマイナーアレル、ヘテロで強い傾向にあったものの、有意な関連は見られなかった。一方、rs12045862 の SNP と体重あたりのオピオイド投与量は、術後痛、がん性疼痛のどちらにおいても関連が見られなかったが、遺伝子多型と疼痛強度に関する過去の報告では、疼痛強度とオピオイド消費量は必ずしも関連していない[21,22]。これらの結果から、ADIPOR1 の rs12045862 の SNP は、術後痛に関連する遺伝子多型の有力候補と考えられる。

また、日本人を対象とした rs12045862 を含む研究として、アディポネクチン受容体の SNPs と高齢者の腎機能の関連を調べた報告が挙げられる。271 人の日本人を対象にした Kobayashi らの報告によると、rs12045862 の SNP の MAF は 0.3691 であった[23]。我々の研究では rs12045862 の SNP の MAF は実験 1 で 0.29、実験 2 で 0.30 であり、Kobayashi らの報告と近い値を示している。このことから、rs12045862 の SNP は日本人において一定の頻度で出現していると考えられる。従って、rs12045862 の SNP と術後痛に関する検証を日本人を対象として行うことで、疼痛強度の個人差や、必要な鎮痛薬の投与量の予測、それによる鎮痛効果の最適化、鎮痛効果が得られるまでの時間の最短化に寄与し、患者の鎮痛治療に対する満足度や QOL の改善に寄与する可能性がある。

6.2. 炎症性疼痛のメカニズム

術後痛は、手術侵襲によって多様なメカニズムで生じる複合的な疼痛の総称である。手術などにより組織に侵害刺激や損傷が発生すると、ブラジキニンやプロスタグランジン、ヒスタミンなどの炎症性メディエーターが放出され、血管拡張、血管透過性の亢進が生じ、白血球の遊走が生じる。遊走した単球はマクロファージとなり、プロスタグランジンや、 $\text{TNF}\alpha$ 、 IL6 などの炎症性サイトカインを放出し、炎症反応を増幅させる[24]。これらの炎症性サイトカインは、一次求心性神経の自由終末にある侵害受容器を刺激して疼痛を発生させるほか、侵害受容器の過敏化や刺激閾値の低下を引き起こし、痛覚過敏やアロディニアの原因となる[25]。このような炎症性疼痛の機序が術後痛の機序の一つとして考えられているが、そのほかに、組織の損傷により機械的な侵害受容器への刺激が生じることでも術後痛が生じる。また、末梢からの侵害刺激が増強されて脊髄後角ニューロンに入力されると、グルタミン酸やサブスタンス P、カルシトニン関連遺伝子ペプチドなどの興奮性神経伝達物質が放出され、中枢神経に

おける興奮閾値の低下を引き起こし、術後痛の増悪につながるということが分かっている。

がん性疼痛の発症にも炎症性疼痛が関与している。例えば、がん自体や、がんによって破壊された組織から $\text{TNF}\alpha$ や神経成長因子 (nerve growth factor : NGF) などのサイトカインが放出される。また、腫瘍による臓器の圧迫や消化管閉塞は、周囲組織の炎症を引き起こす。これらのメカニズムは侵害受容器の刺激や刺激閾値の低下などを引き起こし、がん性疼痛の悪化に関与している。また、がんの神経系への浸潤や圧迫は神経障害性疼痛を引き起こすが、その発生には、損傷が起きた神経におけるマクロファージや肥満細胞による炎症反応が寄与している[26]。このような炎症性疼痛の機序は術後痛と共通する側面があるが、急性の経過をたどる術後痛と異なり、がん性疼痛は慢性的な経過であり、持続する侵害刺激による侵害受容器の過敏化と、それによる中枢神経の感作による疼痛の悪化が術後急性痛と比べて生じやすい。

本研究では炎症性疼痛とアディポネクチン受容体の SNPs の関連を調査するために、炎症性疼痛としての術後痛とがん性疼痛に着目し、術後痛とがん性疼痛を対象とした。今回の我々の結果では、ADIPOR1 の rs12045862 の SNP は術後痛の悪化と有意に関連していたが、がん性疼痛の悪化との有意な関連は見られなかった。

6.3. ADIPOR1 の SNP である rs1204862 が術後痛に影響を及ぼすメカニズム

アディポネクチンは、脂肪細胞から特異的に分泌されるサイトカイン、すなわちアディポカインの一つである。アディポネクチンは2つの受容体、すなわち ADIPOR1 と ADIPOR2 に結合することで様々な作用を発揮する。どちらも様々な組織に発現しているが、ADIPOR1 は骨格筋や肝臓に、ADIPOR2 は肝臓に比較的多く発現することが分かっている[11]。アディポネクチンは ADIPOR1 を介して AMPK を活性化し、骨格筋における脂肪酸酸化や糖利用の促進、肝臓での糖新生の抑制を引き起こす。また、ADIPOR2 を介したアディポネクチンの作用は、PPAR α を活性化させることで脂肪酸酸化を促進させる[11,12]。更に、これらの経路の活性化は TNF α や IL6 などの抗炎症性サイトカインの産生を抑制することで抗炎症効果を発揮することが示されている[12,27]。

これまでに、様々な遺伝子多型が、ADIPOR1 や ADIPOR2 の細胞内シグナル伝達の個人差に影響を与えると報告されてきた。Siitonen らは、今回我々の調査で炎症性疼痛の強度と関連があると示された rs12045862 の SNP に関して、血中インスリン濃度と関連すると報告している。すなわち、rs12045862 のマイナ

一アレルホモ群では、メジャーアレルホモ群とヘテロ群に比較して、男性において空腹時と食後2時間の血中インスリン濃度が低いという結果となった（図6-1）[15]。その他にも、肥満やインスリン感受性低下、2型糖尿病といったメタボリック症候群、すなわち慢性全身炎症状態と関連する ADIPOR1 遺伝子の SNPs が報告されている [14,15,16]。一方で、血中アディポネクチン濃度が慢性全身炎症状態と関連している報告もあるが、血中アディポネクチン濃度と ADIPOR1 遺伝子の遺伝子多型は関連しないと報告されている[28,29]。従って、ADIPOR1 遺伝子の遺伝子多型と慢性全身炎症状態との関連は、ADIPOR1 の細胞内シグナル伝達が遺伝子多型により機能修飾を受け、その結果、アディポネクチンの抗炎症作用が減弱するためと推察される。

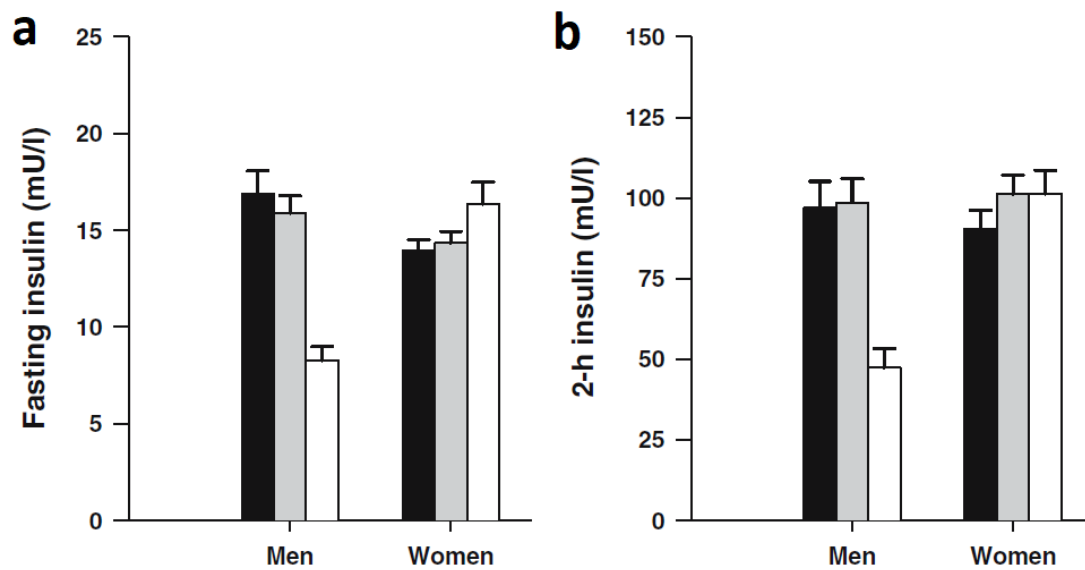


図 6-1 : rs12045862 の SNP による、空腹時の血中インスリン値 (a) と食後 2 時間の血中インスリン値 (b) への影響 ([15]より引用)

どちらも男性において、マイナーアレルホモ群の方が、メジャーアレルホモとヘテロを合わせた群と比較して、血中インスリン値は低かった (空腹時 $p < 0.001$ 、食後 2 時間 $p = 0.003$)。

(黒 : メジャーアレルホモ、灰色 : ヘテロ、白 : マイナーアレルホモ)

基礎実験におけるアディポネクチンと疼痛強度の関連については、いくつかの報告が散見される。Iannitti らは、炎症性疼痛モデルマウスにおいて、アディポネクチンをクモ膜下腔に投与すると炎症性疼痛が減弱したと報告している[30]。また、Sun らは、アディポネクチンのノックアウトマウスが侵害刺激に対して痛覚過敏を呈することを報告している[31]。しかし、我々の以前の報告では、血中アディポネクチン濃度と術後痛の強度は関連が示されなかった[20]。

これらの知見を合わせて考察すると、今回の我々の調査の結果は次のようなメカニズムによるものと考えることができる。ADIPOR1 遺伝子の rs12045862 のマイナーアレルホモを持つ患者では、ADIPOR1 の細胞内シグナル伝達が減弱しており、それにより TNF α や IL6 などの炎症性サイトカインが増加した結果、これらの炎症性サイトカインが末梢神経終末において侵害受容ニューロンを感作し、炎症性疼痛である術後痛の疼痛閾値を下げたと考えられる。また、炎症性疼痛に影響を及ぼすのは血中アディポネクチン濃度ではなく、ADIPOR1 を介したアディポネクチンの細胞内シグナル伝達の機能修飾であることが示唆される。

一方でアディポネクチンは、より直接的に中枢神経系の機能修飾をしている可能性もある。アディポネクチンは脳脊髄液中にも存在することが報告されている[32]。また、アディポネクチン受容体は神経細胞やグリア細胞にも発現しており、特に ADIPOR1 はマウスにおいて脊髄のミクログリアに高度に発現していると報告されている[31]。脊髄ミクログリアは、神経障害性疼痛において神経細胞の炎症性応答に反応して TNF α や IL-1 β 、脳由来神経栄養因子 (Brain-derived neurotrophic factor, BDNF) などのサイトカインを分泌し、神経細胞の過敏性獲得、すなわち疼痛の中樞性感作に関わっていることが知られている[33]。一方、ADIPOR1 によって活性化されるシグナル伝達として、AMPK 経路の他に p38 mitogen-activated protein kinase (MAPK) 経路が知られているが [11]、p-38MAPK 経路はミクログリアにおけるこれらのサイトカインの分泌に関わっている。炎症性疼痛モデルや術後痛モデルのラットにおいては、p38MAPK の活性化が脊髄ミクログリアで観察され、痛覚過敏と関連すると報告されている [34,35]。これらの知見を合わせて考察すると、ADIPOR1 の遺伝子多型は p38MAPK 経路を介して炎症性疼痛の悪化に関与している可能性も考えられる。

今回の調査では、ADIPOR1 遺伝子の rs12045862 のマイナーアレルホモ群において、アディポネクチン受容体のシグナル伝達を介した機能が促進されているのか、阻害されているのかは、もしくは不変かどうかは明らかにできていない。

しかし、今回の結果によって、ADIPOR1 の遺伝子多型が何らかの ADIPOR1 のシグナル伝達の機能修飾を介して炎症性疼痛を悪化させている可能性は十分に考えられる。今後、炎症性サイトカインの血中濃度測定などを含めた ADIPOR1 のシグナル伝達と、炎症性疼痛の強度との関連を明らかにする臨床研究に取り組みたい。

6.4. 術後痛の強度に影響を及ぼす ADIPOR2 の SNP が発見されなかったこと に対する考察

ADIPOR2 の SNP に関しては、これまでに 2 型糖尿病やインスリン感受性、冠動脈疾患、動脈硬化病変などとの関連が報告されている [11,36]。しかし、今回の調査では術後痛強度と有意な関連を示す ADIPOR2 の SNP は発見されなかった。マウスにおいて ADIPOR2 は脊髄後角ニューロンに多く発現しており、中枢神経において脊髄のミクログリアに多く発現している ADIPOR1 とは発現部位が異なる [31]。このような発現部位の違いが、炎症性疼痛への寄与の程度の違いに関与しているのかもしれない。

この考察を支持するものとして、アディポネクチン受容体の SNP と加齢黄斑変性に関する報告が挙げられる。Kaarnieranta らの報告によると、ADIPOR1 と ADIPOR2 の遺伝子多型と加齢黄斑変性との関連を調べた結果、ADIPOR1 遺伝子の rs10753929 の SNP のみが加齢黄斑変性との有意な関連を示した [37]。加齢黄斑変性の病態と進行には、網膜における慢性的な酸化ストレスと炎症が関与しており、特に、慢性炎症による網膜のミクログリアの活性化が密接に関係

している[38]。ミクログリアの活性化は炎症性疼痛の重症化にも関わっていることから[39]、Kaarnieranta らの報告と今回の結果を合わせて考察すると、ニューロンに多く発現している ADIPOR2 よりも、ミクログリアにより多く発現している ADIPOR1 の方が炎症過程に強く影響を及ぼしている可能性がある。そう考えると、ADIPOR1 の遺伝子多型のみが炎症性疼痛の悪化を引き起こしたとしても矛盾しない。

7. 限界

今回の我々の研究には、いくつかの限界がある。1 点目は、アディポネクチンの血中濃度を測定できていないことである。また、TNF α や IL6 などの、アディポネクチン受容体を介したシグナル伝達により修飾を受ける炎症性サイトカインの血中濃度も測定できていない。我々の過去の研究[20]において、アディポネクチンの血中濃度そのものと炎症性疼痛との関連は見られなかったものの、アディポネクチン受容体の SNPs の調査と合わせてアディポネクチンや炎症性サイトカインの血中濃度を測定することで、アディポネクチンとアディポネクチン受容体がどのようなメカニズムで炎症性疼痛に影響を及ぼしているのか、また、アディポネクチンとアディポネクチン受容体が術後痛とがん性疼痛に及ぼす影響の違いを、より正確に推察することができた可能性がある。

2 点目は、今回の研究は探索的なものであるため、登録患者数が少なく、rs12045862 のマイナーアレルホモを持つ患者数が少なかったことである。具体的に、術後痛の患者において rs12045862 のマイナーアレルホモを持つ患者は 56

人中7人で、がん性疼痛の患者においては89名中7名であった。これにより、今回の我々の結果が偽陽性となる可能性が増大する。また、今回の研究ではrs12045862のSNPsとがん性疼痛に有意な関連は見られなかったが、rs12045862のメジャーアレルホモと比較してマイナーアレルホモ、ヘテロではがん性疼痛が強い傾向にあった。これは、サンプルサイズが小さいことによる偽陰性の可能性も考えられる。従って、より大きなサンプルサイズを用いて、大規模に検証する必要がある。

rs12045862と術後痛強度の関連について、マイナーアレルホモ群はメジャーアレルホモ群と比べて有意に疼痛が強かったという結果を得たが、同様の結果を他の群間で得る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を用いた。各群の平均、群間の人数の比率は今回の調査と同じであると仮定し、標準偏差は近似して1.0、 $\alpha=0.0167$ 、検出力=0.80として計算したところ、マイナーアレルホモ群とメジャーアレルホモ群の間で疼痛強度に有意差が出るには、両群合わせて31人必要という結果となった。同様に、ヘテロ群とマイナーアレルホモ群の間で疼痛強度に有意差が出るために必要なサンプルサイズを計算し

たところ、両群合わせて 15 人という結果となった。今回の調査ではメジャー群とマイナー群合わせて 37 人であり、また、ヘテロ群とマイナー群合わせて 26 人であったため、サンプルサイズは十分だったと言えるが、疑陽性の可能性を最小限とするために、より大きなサンプルサイズでの rs1204586 の SNP に関する検証を今後行いたい。

3 点目は、研究デザインに関する点である。まず、術後痛の患者の背景に関して、BMI や併存疾患の有無、手術時間や出血量などの手術に関する情報などを得ていない。また、非ステロイド系抗炎症薬は炎症性疼痛の強度に影響を及ぼすが、術後にレスキュー薬として投与された非ステロイド系抗炎症薬に関するデータは収集していない。これは、多施設におけるデータ収集を行うために、アンケート調査を簡略化したためである。今後、これらの患者背景に関するデータを収集し、更に、術後鎮痛のプロトコールを厳密に規定した研究デザインを用いて、rs12045862 の SNP と術後痛の関連を検証していく必要がある。

また、今回は開腹術後痛の強度と有意な関連が見られた SNP (rs12045862) に対する検証を、開腹術後痛と疼痛の原因が異なる、がん性疼痛を対象に行った。

本来であれば、rs12045862 に対する検証を、サンプルサイズを増やして開腹術後痛を対象に行う方が望ましいが、炎症性疼痛という観点では術後痛とがん性疼痛における疼痛の機序は共通している部分もあるため、がん性疼痛において検証を行った。しかし、rs12045862 とがん性疼痛の強度との有意な関連は認められなかった。この原因として、限界の2点目で示したようなサンプルサイズによるものや、6.2.で述べたような術後痛とがん性疼痛の経過による疼痛の機序の違いによるものが考えられるほか、以下の限界による可能性もある。

今回の検証では、がん性疼痛の患者において、がんの種類や発生部位、ステージ分類、がんに対する治療薬、疼痛部位、疼痛の持続期間、などの詳細な情報を得ていない。これは、多施設におけるデータ収集を行うために、アンケート調査を簡略化したためと、がんの種類は痛みの重症度には関わらないとされるためであるが、様々な背景を持つ患者を対象としたことにより、疼痛強度にばらつきが出た可能性もある。今後は、がんの種類や部位が同一の症例を対象にした解析を行い、rs12045862 とがん性疼痛の関連を更に調査する必要がある。

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内田寛治教授、国際医療福祉大学医学部の山田芳嗣教授に、心より感謝申し上げます。

同じく、本研究を一貫して丁寧に御指導頂き、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、水枝谷一仁先生、井上玲央先生、土田陸平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御協力を頂きました。

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. Ouchi N, Parker JL, Lugus JJ, Walsh K. Adipokines in inflammation and metabolic disease. *Nat Rev Immunol.* 11(2):85-97, 2011
2. McVinnie DS. Obesity and pain. *Br J Pain.* 7(4):163-170, 2013
3. Chung F, Ritchie E, Su J. Postoperative pain in ambulatory surgery. *Anesth Analg.* 85(4):808-816, 1997
4. Stone AA, Broderick JE. Obesity and pain are associated in the United States. *Obesity.* 20(7):1491-1495, 2012
5. Okifuji A, Hare BD. The association between chronic pain and obesity. *J Pain Res.* 8:399-408, 2015
6. Sandell LJ. Obesity and osteoarthritis: Is leptin the link? *Arthritis Rheum.* 60(10):2858-2860, 2009
7. Briggs MS, Givens DL, Schmitt LC, Taylor CA. Relations of C-reactive protein and obesity to the prevalence and the odds of reporting low back pain. *Arch Phys Med Rehabil.* 94(4):745-752, 2013
8. Ouchi N, Walsh K. Adiponectin as an anti-inflammatory factor. *Clin Chim Acta.*

380(1-2):24-30, 2007

9. Yamauchi T, Kamon J, Minokoshi Y, Ito H, Waki S, Uchida S, Yamashita S, Noda M, Kita S, Ueki K, Eto K, Akanuma Y, Froguel P, Foufelle F, Ferre P, Carling D, Kimura S, Nagai R, Kahn BB, Kadowaki T. Adiponectin stimulates glucose utilization and fatty-acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase. *Nat Med.* 8(11):1288-1295, 2002
10. Ouchi N, Kihara S, Arita Y, Okamoto Y, Maeda K, Kuriyama H, Hotta K, Nishida M, Takahashi M, Muraguchi M, Ohmoto Y, Nakamura T, Yamashita S, Funahashi T, Matsuzawa Y. Adiponectin, an adipocyte-derived plasma protein, inhibits endothelial NF- κ B signaling through a cAMP-dependent pathway. *Circulation.* 102:1296-1301, 2000
11. Yamauchi T, Kamon J, Ito Y, Tsuchida A, Yokomizo T, Kita S, Sugiyama T, Miyagishi M, Hara K, Tsunoda M, Murakami K, Ohteki T, Uchida S, Takekawa S, Waki H, Tsuno NH, Shibata Y, Terauchi Y, Froguel P, Tobe K, Koyasu S, Taira K, Kitamura T, Shimizu T, Nagai R, Kadokawa T. Cloning of adiponectin receptors that mediate antidiabetic metabolic effects. *Nature.*

423(6941):762-769, 2003

12. Yamauchi T, Nio Y, Maki T, Koabayashi M, Takazawa T, Iwabu M, Okada-Iwabu M, Kawamoto S, Kubota N, Kubota T, Ito Y, Kamon J, Tsuchida A, Kumagai K, Kozono H, Hada Y, Ogata H, Tokuyama K, Tsunoda M, Ide T, Murakami K, Awazawa M, Takamoto I, Froguel P, Hara K, Tobe K, Nagai R, Ueki K, Kadokawa T. Targeted disruption of AdipoR1 and AdipoR2 causes abrogation of adiponectin binding and metabolic actions. *Nat Med.* 13(3):332-339, 2007
13. Siitonen N, Pulkkinen L, Lindström J, Kolehmainen M, Schwab U, Eriksson JG, Ilanne-Parikka P, Keinänen-Kiukaanniemi S, Tuomilehto J, Uusitupa M. Association of ADIPOR2 gene variants with cardiovascular disease and type 2 diabetes risk in individuals with impaired glucose tolerance: the Finnish Diabetes Prevention Study. *Cardiovasc Diabetol.* 10(1):83, 2011
14. Rasmussen-Torvik LJ, Pankow JS, Jacobs DR, Steinberger J, Moran A, Sinaiko AR. The association of SNPs in ADIPOQ, ADIPOR1, and ADIPOR2 with insulin sensitivity in a cohort of adolescents and their parents. *Hum Genet.*

125(1):21-28, 2009

15. Siitonen N, Pulkkinen L, Mager U, Lindström J, Eriksson JG, Valle TT, Hämäläinen H, Ilanne-Parikka P, Keinänen-Kiukaanniemi S, Tuomilehto J, Laakso M, Uusitupa M. Association of sequence variations in the gene encoding adiponectin receptor 1 (ADIPOR1) with body size and insulin levels. The Finnish Diabetes Prevention Study. *Diabetologia*. 49(8):1795-1805, 2006
16. Mora-García G, Ruiz-Díaz MS, Espitia-Almeida F, Gómez-Camargo D. Variations in ADIPOR1 but not ADIPOR2 are associated with hypertriglyceridemia and diabetes in an admixed Latin American population. *Rev Diabet Stud*. 14(2-3):311-328, 2017
17. Lötsch J, Geisslinger G. Current evidence for a modulation of nociception by human genetic polymorphisms. *Pain*. 132(1):18-22
18. Fernandez Robles CR, Degnan M, Candiotti KA. Pain and genetics. *Curr Opin Anaesthesiol*. 25(4):444-449, 2012
19. Hoofwijk DMN, van Reij RRI, Rutten BP, Kenis G, Buhre WF, Joosten EA. Genetic polymorphisms and their association with the prevalence and severity

- of chronic postsurgical pain: a systematic review. *Br J Anaesth.* 117(6):708-719, 2016
20. Hozumi J, Sumitani M, Nishizawa D, Nagashima M, Ikeda K, Abe H, Kato R, Kusakae Y, Yamada Y. Resistin is a novel marker for postoperative pain intensity. *Anesth Analg.* 128(3):563-568, 2019
21. Kolesnikov Y, Gabovits B, Levin A, Voiko E, Veske A. Combined catechol-O-methyltransferase and μ -opioid receptor gene polymorphisms affect morphine postoperative analgesia and central side effects. *Anesth Analg.* 112(2):448-453, 2011
22. Campa D, Gioia A, Tomei A, Poli P, Barale R. Association of ABCB1/MDR1 and OPRM1 Gene Polymorphisms With Morphine Pain Relief. *Clin Pharmacol Ther.* 83(4):559-566, 2008
23. Kobayashi H, Otsuka H, Yanai M, Hara M, Hishiki M, Soma M, Abe M. Adiponectin Receptor gene Polymorphisms are Associated with Kidney Function in Elderly Japanese Populations. *J Atheroscler Thromb.* 26(4):328-339, 2019

24. Carvalho B, Clark DJ, Angst MS. Local and Systemic Release of Cytokines, Nerve Growth Factor, Prostaglandin E2, and Substance P in Incisional Wounds and Serum Following Cesarean Delivery. *J Pain*. 9(7):650-657, 2008
25. Hurley RW, Wu CL. 87 Acute Postoperative Pain. *Miller's Anesthesia* 7th edition. Miller RD. 2757-2781, 2010
26. Scholz J, Woolf CJ. The neuropathic pain triad: Neurons, immune cells and glia. *Nat Neurosci*. 10(11):1361-1368, 2007
27. Sag D, Carling D, Stout RD, Suttles J. Adenosine 5'-monophosphate-activated protein kinase promotes macrophage polarization to an anti-inflammatory functional phenotype. *J Immunol*. 181(12):8633-8641, 2008
28. Cohen SS, Gammon MD, North KE, Millikan RC, Lange EM, Williams SM, Zheng W, Cai Q, Long J, Smith JR, Signorello LB, Blot WJ, Matthews CH. ADIPOQ, ADIPOR1, and ADIPOR2 polymorphisms in relation to serum adiponectin levels and BMI in black and white women. *Obesity*. 19(10):2053-2062, 2011
29. Peters KE, Beilby J, Cadby G, Warrington NM, Bruce DG, Davis WA, Davis

- TME, Wiltshire S, Knuiman M, McQuillan BM, Palmer LJ, Thompson PL, Hung J. A comprehensive investigation of variants in genes encoding adiponectin (ADIPOQ) and its receptors (ADIPOR1/R2), and their association with serum adiponectin, type 2 diabetes, insulin resistance and the metabolic syndrome. *BMC Med Genet.* 14(1):15, 2013
30. Iannitti T, Graham A, Dolan S. Adiponectin-mediated analgesia and anti-inflammatory effects in rat. *PLoS One.* 10(9):1-13, 2015
31. Sun L, Li H, Tai LW, Gu P, Cheung CW. Adiponectin regulates thermal nociception in a mouse model of neuropathic pain. *Br J Anaesth.* 120(6):1356-1367, 2018
32. Neumeier M, Weigert J, Buettner R, Wanniger J, Schäffler A, Müller AM, Killian S, Sauerbruch S, Schlachetzki F, Steinbrecher A, Aslanidis C, Schölmerich J, Buechler C. Detection of adiponectin in cerebrospinal fluid in humans. *Am J Physiol Metab.* 293(4):E965-E969, 2007
33. Inoue K, Tsuda M. Microglia in neuropathic pain: Cellular and molecular mechanisms and therapeutic potential. *Nat Rev Neurosci.* 19(3):138-152, 2018

34. Svensson CI, Marsala M, Westerlund A, Calcutt NA, Campana WM, Freshwater JD, Catalano R, Feng Y, Protter AA, Scott B, Yaksh TK. Activation of p38 mitogen-activated protein kinase in spinal microglia is a critical link in inflammation-induced spinal pain processing. *J Neurochem.* 86(6):1534-1544, 2003
35. Wen YR, Suter MR, Ji RR, Yeh GC, Wu YS, Wang KC, Kohno T, Sun WZ, Wang CC. Activation of p38 mitogen-activated protein kinase in spinal microglia contributes to incision-induced mechanical allodynia. *Anesthesiology.* 110(1):155-165, 2009
36. Halvatsiotis I, Tsiotra PC, Ikonomidis I, Kollias A, Mitrou P, Maratou E, Boutati E, Lekakis J, Dimitriadis G, Economopoulos T, Kremastinos DT, Raptis SA. Genetic variation in the adiponectin receptor 2 (ADIPOR2) gene is associated with coronary artery disease and increased ADIPOR2 expression in peripheral monocytes. *Cardiovasc Diabetol.* 9:10, 2010
37. Kaarniranta K, Paananen J, Nevalainen T, Sorri I, Seitsonen S, Immonen I, Salminen A, Pulkkinen L, Uusitupa M. Adiponectin receptor 1 gene

- (ADIPOR1) variant is associated with advanced age-related macular degeneration in Finnish population. *Neurosci Lett.* 513(2):233-237, 2012
38. Chen M, Xu H. Parainflammation, chronic inflammation, and age-related macular degeneration. *J Leukoc Biol.* 98(5):713-725, 2015
39. Kuan YH, Shyu BC. Nociceptive transmission and modulation via P2X receptors in central pain syndrome. *Mol Brain.* 9(1):58, 2016

10. 付録

一塩基多型		rs10494839	rs10581	rs10753929	rs10920532	rs1342387
遺伝子		ADIPOR1	ADIPOR1	ADIPOR1	ADIPOR1	ADIPOR1
遺伝子座		第1染色体 202953066	第1染色体 202941190	第1染色体 202954050	第1染色体 202956128	第1染色体 202945228
アレルメジャー/マイナー		T/C	C/T	C/T	G/A	G/A
マイナーアレルの頻度		0.018	0.16	0.11	0.071	0.51
患者数 (男:女)	メジャーアレルホモ	52 (24 : 28)	40 (18 : 22)	46 (22 : 24)	48 (23 : 25)	15 (5 : 10)
	ヘテロ	2 (1 : 1)	14 (7 : 7)	8 (4 : 4)	8 (3 : 5)	25 (11 : 14)
	マイナーアレルホモ	0	2 (1 : 1)	2 (0 : 2)	0	16 (10 : 6)
	不明	2	0	0	0	0
疼痛強度	メジャーアレルホモ	1.3 ± 1.1	1.3 ± 1.2	1.1 ± 1.0	1.3 ± 1.1	1.3 ± 1.0
	ヘテロ	1.0 ± 0	1.4 ± 0.9	1.3 ± 0.7	1.3 ± 1.3	1.1 ± 1.1
	マイナーアレルホモ	-	0 ± 0	4 ± 0	-	1.4 ± 1.3
	3群間 p 値 (K-W test)	-	0.078	0.042	-	0.77
	2群間 p 値 (M-W test)	0.81	0.05	0.015	0.84	0.54

表 10-1 実験 1 で解析を行った rs12045862 以外の SNPs における、術後痛患者における疼痛強度の比較①。データは (平均値 ± 標準偏差) で表した。

一塩基多型		rs1539355	rs12733285	rs16850799	rs2275735	rs34357845
遺伝子		ADIPOR1	ADIPOR1	ADIPOR1	ADIPOR1	ADIPOR1
遺伝子座		第1染色体 202954952	第1染色体 202952912	第1染色体 202950723	第1染色体 202946427	第1染色体 202950939
アレルメジャー/マイナー		A/G	不明	A/G	G/A	G
マイナーアレルの頻度		0.089	-	0.44	0.16	-
患者数 (男:女)	メジャーアレルホモ	52 (24 : 28)	-	19 (8 : 11)	41 (18 : 23)	55 (26 : 29)
	ヘテロ	2 (1 : 1)	-	25 (12 : 13)	14 (8 : 6)	0
	マイナーアレルホモ	0	-	12 (6 : 6)	2 (1 : 1)	0
	不明	2	0	0	0	1
疼痛強度	メジャーアレルホモ	1.3 ± 1.1	-	1.1 ± 1.1	1.2 ± 1.2	-
	ヘテロ	1.0 ± 0	-	1.0 ± 0.8	1.5 ± 0.8	-
	マイナーアレルホモ	-	-	2.0 ± 1.4	0 ± 0	-
	3群間 p 値 (K-W test)	-	-	0.061	0.04	-
	2群間 p 値 (M-W test)	0.81	-	0.018	0.05	-

表 10-2 実験 1 で解析を行った rs12045862 以外の SNPs における、術後痛患者における疼痛強度の比較②。データは (平均値 ± 標準偏差) で表した。

一塩基多型		rs4336908	rs6666089	rs7514221	rs7539542	SNP1-201179618
遺伝子		ADIPOR1	ADIPOR1	ADIPOR1	ADIPOR1	ADIPOR1
遺伝子座		第1染色体 202939408	第1染色体 202959575	第1染色体 202957385	第1染色体 202940846	第1染色体 202953066
アレルメジャー/マイナー		G/A	G/A	T/C	不明	T
マイナーアレルの頻度		0.33	0.089	0.20	-	-
患者数 (男:女)	メジャーアレルホモ	25 (15 : 10)	54 (25 : 29)	39 (17 : 22)	-	56 (26 : 30)
	ヘテロ	25 (10 : 15)	2 (1 : 1)	12 (7 : 5)	-	0
	マイナーアレルホモ	6 (1 : 5)	0	5 (2 : 3)	-	0
	不明	0	0	0	-	0
疼痛強度	メジャーアレルホモ	1.4 ± 1.2	1.3 ± 1.1	1.1 ± 0.9	-	-
	ヘテロ	1.0 ± 1.1	1.0 ± 0.0	1.3 ± 1.1	-	-
	マイナーアレルホモ	1.3 ± 0.8	-	2.6 ± 1.2	-	-
	3群間 p 値(K-W test)	0.39	-	0.04	-	-
	2群間 p 値(M-W test)	0.64	0.79	0.013	-	-

表 10-3 実験 1 で解析を行った rs12045862 以外の SNPs における、術後痛患者における疼痛強度の比較③。データは（平均値 ± 標準偏差）で表した。

一塩基多型		SNP1-201179623	rs10082860	rs1029629	rs1044471	rs1058311
遺伝子		ADIPOR1	ADIPOR2	ADIPOR2	ADIPOR2	ADIPOR2
遺伝子座		第 1 染色体 202953066	第 12 染色体 1718914	第 12 染色体 1690101	第 12 染色体 1787790	第 12 染色体 27098894
アレルメジャー/マイナー		A	G	A/C	C/T	C/T
マイナーアレルの頻度		-	-	0.32	0.45	0.07
患者数 (男:女)	メジャーアレルホモ	56 (26 : 30)	56 (26 : 30)	25 (11 : 14)	18 (5 : 13)	48 (24 : 24)
	ヘテロ	0	0	26 (13 : 13)	26 (16 : 10)	8 (2 : 6)
	マイナーアレルホモ	0	0	5 (2 : 3)	12 (5 : 7)	0
	不明	0	0	0	0	0
疼痛強度	メジャーアレルホモ	-	-	1.2 ± 1.1	1.3 ± 1.2	1.3 ± 1.1
	ヘテロ	-	-	1.3 ± 1.2	1.3 ± 1.0	1.1 ± 0.7
	マイナーアレルホモ	-	-	1.0 ± 0.6	1.0 ± 1.1	-
	3 群間 p 値 (K-W test)	-	-	0.94	0.49	-
	2 群間 p 値 (M-W test)	-	-	0.74	0.25	1.0

表 10-4 実験 1 で解析を行った rs12045862 以外の SNPs における、術後痛患者における疼痛強度の比較④。データは (平均値 ± 標準偏差) で表した。

一塩基多型		rs10735003	rs10773980	rs10773982	rs10773984	rs10773986
遺伝子		ADIPOR2	ADIPOR2	ADIPOR2	ADIPOR2	ADIPOR2
遺伝子座		第 12 染色体 1771219	第 12 染色体 1689552	第 12 染色体 1718983	第 12 染色体 1722127	第 12 染色体 1732158
アレルメジャー/マイナー		C/T	C/T	C/T	G/A	G/A
マイナーアレルの頻度		0.45	0.45	0.52	-	0.52
患者数 (男:女)	メジャーアレルホモ	18 (5 : 13)	19 (6 : 13)	15 (5 : 10)	56 (26 : 30)	15 (5 : 10)
	ヘテロ	26 (16 : 10)	25 (15 : 10)	24 (14 : 10)	0	24 (14 : 10)
	マイナーアレルホモ	12 (5 : 7)	12 (5 : 7)	17 (7 : 10)	0	17 (7 : 10)
	不明	0	0	0	0	
疼痛強度	メジャーアレルホモ	1.3 ± 1.2	1.4 ± 1.2	1.5 ± 1.3	-	1.5 ± 1.3
	ヘテロ	1.3 ± 1.0	1.3 ± 1.0	1.1 ± 1.0	-	1.1 ± 1.0
	マイナーアレルホモ	1.0 ± 1.1	1.0 ± 1.1	1.2 ± 1.0	-	1.2 ± 1.0
	3 群間 p 値 (K-W test)	0.49	0.48	0.78	-	0.78
	2 群間 p 値 (M-W test)	0.25	0.25	0.88	-	0.88

表 10-5 実験 1 で解析を行った rs12045862 以外の SNPs における、術後痛患者における疼痛強度の比較⑤。データは (平均値 ± 標準偏差) で表した。

一塩基多型		rs10773989	rs10848568	rs11061928	rs11061952	rs11612383
遺伝子		ADIPOR2	ADIPOR2	ADIPOR2	ADIPOR2	ADIPOR2
遺伝子座		第 12 染色体 1747816	第 12 染色体 1741218	第 12 染色体 1698157	第 12 染色体 1729002	第 12 染色体 1722189
アレルメジャー/マイナー		C/T	T/C	G/T	G/A	A/G
マイナーアレルの頻度		0.46	0.07	0.15	0.27	0.48
患者数 (男:女)	メジャーアレルホモ	18 (7 : 11)	48 (24 : 24)	40 (20 : 20)	30 (15 : 15)	16 (5 : 11)
	ヘテロ	24 (14 : 10)	8 (2 : 6)	13 (5 : 8)	22 (9 : 13)	26 (14 : 12)
	マイナーアレルホモ	14 (5 : 9)	0	2 (1 : 1)	4 (2 : 2)	14 (7 : 7)
	不明	0	0	1	0	
疼痛強度	メジャーアレルホモ	1.3 ± 1.2	1.3 ± 1.1	1.2 ± 1.0	1.3 ± 1.1	1.5 ± 1.3
	ヘテロ	1.0 ± 0.8	1.4 ± 0.7	1.0 ± 1.1	1.1 ± 1.1	1.2 ± 1.0
	マイナーアレルホモ	1.6 ± 1.3	-	3.0 ± 1.0	1.2 ± 0.4	1.1 ± 1.0
	3 群間 p 値 (K-W test)	0.57	-	0.076	0.69	0.59
	2 群間 p 値 (M-W test)	0.32	0.36	0.048	0.74	0.42

表 10-6 実験 1 で解析を行った rs12045862 以外の SNPs における、術後痛患者における疼痛強度の比較⑥。データは (平均値 ± 標準偏差) で表した。

一塩基多型		rs12230440	rs12298275	rs12316367	rs12342	rs2058112
遺伝子		ADIPOR2	ADIPOR2	ADIPOR2	ADIPOR2	ADIPOR2
遺伝子座		第 12 染色体 1747787	第 12 染色体 1754459	第 12 染色体 1740980	第 12 染色体 1787714	第 12 染色体 1752992
アレルメジャー／マイナー		T/G	A	G/A	A/G	C/T
マイナーアレルの頻度		0.29	-	0.45	0.51	-
患者数 (男:女)	メジャーアレルホモ	28 (13 : 15)	56 (26 : 30)	18 (5 : 13)	15 (5 : 10)	56 (26 : 30)
	ヘテロ	24 (11 : 13)	0	26 (16 : 10)	22 (11 : 11)	0
	マイナーアレルホモ	4 (2 : 2)	0	12 (5 : 7)	16 (7 : 9)	0
	不明	0	0	0	3	0
疼痛強度	メジャーアレルホモ	1.2 ± 1.0	-	1.3 ± 1.2	1.5 ± 1.3	-
	ヘテロ	1.3 ± 1.2	-	1.3 ± 1.0	1.1 ± 1.0	-
	マイナーアレルホモ	1.3 ± 0.4	-	1.0 ± 1.1	1.2 ± 1.0	-
	3 群間 p 値 (K-W test)	0.94	-	0.49	0.73	-
	2 群間 p 値 (M-W test)	0.34	-	0.25	0.98	-

表 10-7 実験 1 で解析を行った rs12045862 以外の SNPs における、術後痛患者における疼痛強度の比較⑦。データは (平均値 ± 標準偏差) で表した。

一塩基多型		rs2108642	rs2286380	rs4140993	rs7132184	rs7304096
遺伝子		ADIPOR2	ADIPOR2	ADIPOR2	ADIPOR2	ADIPOR2
遺伝子座		第 12 染色体 1757633	第 12 染色体 1788118	第 12 染色体 1780116	第 12 染色体 1762046	第 12 染色体 1692152
アレルメジャー/マイナー		T/G	T/A	A/C	C/A	A
マイナーアレルの頻度		0.46	-	0.073	-	-
患者数 (男:女)	メジャーアレルホモ	17 (5 : 12)	56 (26 : 30)	47 (23 : 24)	56 (26 : 30)	56 (26 : 30)
	ヘテロ	26 (15 : 11)	0	8 (2 : 6)	0	0
	マイナーアレルホモ	13 (6 : 7)	0	0	0	0
	不明	0	0	1	0	0
疼痛強度	メジャーアレルホモ	1.4 ± 1.3	-	1.2 ± 1.2	-	-
	ヘテロ	1.3 ± 0.9	-	1.4 ± 0.7	-	-
	マイナーアレルホモ	1.1 ± 1.1	-	-	-	-
	3 群間 p 値 (K-W test)	0.73	-	-	-	-
	2 群間 p 値 (M-W test)	0.44	-	0.37	-	-

表 10-8 実験 1 で解析を行った rs12045862 以外の SNPs における、術後痛患者における疼痛強度の比較⑧。データは (平均値 ± 標準偏差) で表した。

一塩基多型		rs7304843	rs2286380	SNP12-1760016
遺伝子		ADIPOR2	ADIPOR2	ADIPOR2
遺伝子座		第 12 染色体 1746744	第 12 染色体 1790548	第 12 染色体 1690101
アレルメジャー/マイナー		A	C/A	T
マイナーアレルの頻度		-	0.5	-
患者数 (男:女)	メジャーアレルホモ	56 (26 : 30)	16 (10 : 6)	56 (26 : 30)
	ヘテロ	0	24 (12 : 12)	0
	マイナーアレルホモ	0	16 (4 : 12)	0
	不明	0	0	0
疼痛強度	メジャーアレルホモ	-	0.8 ± 0.7	-
	ヘテロ	-	1.5 ± 1.1	-
	マイナーアレルホモ	-	1.3 ± 1.3	-
	3 群間 p 値 (K-W test)	-	0.072	-
	2 群間 p 値 (M-W test)	-	0.98	-

表 10-9 実験 1 で解析を行った rs12045862 以外の SNPs における、術後痛患者における疼痛強度の比較⑨。データは (平均値 ± 標準偏差) で表した。