

## Genetic Factors for Individual Difference in Sensitivity to Pain and Analgesics

Ayako MORIYAMA<sup>\*1,\*2</sup>, Daisuke NISHIZAWA<sup>\*1</sup>, and Kazutaka IKEDA<sup>\*1</sup>

<sup>\*1</sup>Division of Psychobiology, Tokyo Institute of Psychiatry  
2-1-8 Kamikitazawa, Setagaya-ku, Tokyo 156-8585, Japan

<sup>\*2</sup>Department of Surgery, Toho University Sakura Medical Center  
564-1 Shimoshizu, Sakura, Chiba 285-8741, Japan

**Abstract:** While the pain system is a biological protective system, excessive pain can severely deteriorate the quality of life. In palliative care, opioids are widely used for cancer pain. However, the difference in sensitivity to pain and analgesics among individuals could cause serious problems in clinical practice. Recently such difference has been gradually proven, by use of gene knockout mice and research studies targeting opioid-related genes, to be associated with differences in some kinds of genes. Comprehensive studies to reveal properties of the human genome have further enhanced understanding of the relationship between sensitivity to pain and genetic polymorphisms. Therefore, it is expected that personalized medicine, which aims to provide pain treatment appropriate to each patient, will be realized and implemented in the near future.

**Key words:** pain, opioid, individual differences, polymorphism, personalized medicine

# 痛みと鎮痛における個人差の遺伝子メカニズム

Genetic mechanisms underlying individual differences in pain and analgesia



池田 和隆

Kazutaka IKEDA

東京都精神医学総合研究所精神生物学研究分野

◎痛みは危険を伝える重要で原初的な生体防御システムである。一方、過剰な痛みを取り除く鎮痛システムも生体には備えられている。これらのシステムは快・不快情動の生成において根源的なメカニズムのひとつであると考えられる。また、これらのシステムの大部分は遺伝的に規定されており、関連する遺伝子の塩基配列の違いは、痛みや鎮痛の個人差のひとつの原因であると考えられる。ゲノム科学の進展の著しい今日ではこのような痛みや鎮痛の個人差の遺伝的要因が明らかになりつつあり、テーラーメイド疼痛治療が実現に近づいている。また、痛みと鎮痛の遺伝子メカニズムの解明により、原初的な快・不快情動が生成するメカニズムの解明にもつながると期待できる。



Key word: 痛み, 鎮痛, 情動, オピオイド, GIRKチャネル

## ● 痛みと鎮痛の生体システム

原始感覚のひとつである痛みは、危険を伝える重要で原初的な生体防御システムである。痛みを感じることができない無痛症の患者は身体に加えられている危険を感じることができず、つねに生命の危険にさらされている。

一方、過度の痛みは生活の質(quality of life: QOL)の低下を招き、返って生体を危険にさらすことになる。これに対して生体には鎮痛システムも備わっており、生命の維持、種の保存に貢献していると考えられる(図1)。鎮痛システムでは、エンドルフィンやエンケファリンなどのオピオイドペプチドとその受容体であるオピオイド受容体が重要な役割を果たしている。また、脳から脊髄に至る下行性鎮痛経路が同定されている<sup>1)</sup>。過度の痛みなど強いストレスが生体に与えられると、この鎮痛システムが作動し、ストレス誘発鎮痛が現れる。

痛みは知覚の側面だけでなく不快情動の側面も併せもつ。そして鎮痛システムも、除痛の側面だけでなく快情動の側面も併せもつ。これは、モルヒネなどのオピオイド受容体作動薬が、強い鎮痛薬

として医療上重要であると同時に快情動を引き起こす依存性薬物として大きな問題であることから明らかである。つまり痛みと鎮痛の生体システムは快・不快情動の生成システムでもある。快・不快情動は情動のなかでも基本的なものであり、とくに痛みと鎮痛による快・不快情動は原初的な情動であると考えられる。なぜならば、痛みと鎮痛のシステムはヒトだけではなく、広く生物種に共通したシステムであり、その大部分は遺伝子によってプログラムされていると考えられるからである。

## ● 痛みと鎮痛の個人差

痛みの感じやすさには大きな個人差がある。無痛症患者は極端な例であるが、健常人の間でも同じような侵襲を受けたときに痛がる人とそれほど痛がらない人がいる。侵襲の種類や受ける場所によらず痛みをよく訴える人もいれば、あまり訴えない人がいる。また、病的な痛みのひとつである神経障害性疼痛では、原因となる帯状疱疹や骨折などが同じように起こっても、その後に神経障害性疼痛が現れる人と現れない人がいる。さらに、

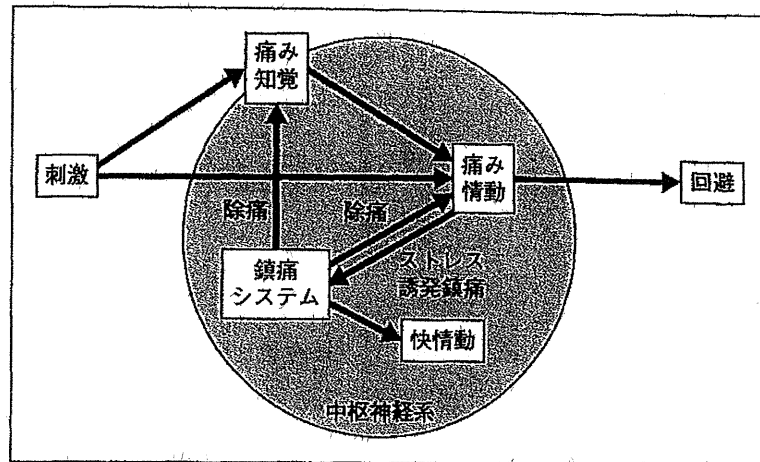


図1 痛みおよび鎮痛の生体システムの概念図

同じ原因で神経障害性疼痛が現れた人のなかでも奏効する薬がまったく異なることが多い。

一方、鎮痛の現れ方にも大きな個人差がある。同様の痛みをもつ患者に鎮痛薬を投与する場合、必要とする鎮痛薬量は患者間で5倍以上違うことが頻繁にあるといわれている。世界保健機関の癌性疼痛治療指針においても鎮痛薬使用における五原則のひとつが「患者ごとに適量を求めること」であり、鎮痛薬感受性の個人差が疼痛治療を難しくしているひとつの原因であることを示している。

### ● 痛み・鎮痛個人差の遺伝要因

痛みや鎮痛の個人差には環境要因もあるが、遺伝要因もあることが双子研究などによって示されている<sup>2)</sup>。また、先天性無痛症の原因もおもに遺伝子変異である<sup>3)</sup>。さらに、ゲノム科学の進展が著しい今日では痛みや鎮痛の個人差の遺伝要因が続々と明らかになってきている<sup>3)</sup>。以下に、ミューオピオイド受容体遺伝子とG蛋白質活性化型内向き整流性カリウム(GIRK)チャンネル遺伝子を中心に紹介する。またその前に、ヒト個人差の遺伝子メカニズムを研究するうえでマウス系統差の遺伝子メカニズムの研究が有用であることを紹介する。

#### 1. マウス系統差研究の有用性

ヒトでは近親婚はまれなので、個人間で遺伝子情報はすこしずつ異なっており、塩基配列には約0.1%の個人差があるといわれている。一方、マウスには3,000以上の系統が樹立しており、これら

の系統は兄妹交配によって維持されているので、系統内では遺伝子配列がほぼ均一である。つまりマウスでは系統内の差は環境要因による差であり、系統間での差は遺伝要因による差であると考えられる。マウス系統差の遺伝子メカニズムを明らかにすることで、ヒト個人差の遺伝子メカニズムを推測することができるのである。

通常、実験に用いられているほとんどのマウス系統は *Mus musculus domesticus* というマウス亜種に分類されており、大きな系統差はない。これに対して国立遺伝学研究所では世界中から野生のマウスを捕獲して系統を樹立しており、これらの系統間では表現型が大きく異なる。実際、これらの野生由来マウス系統では痛みや鎮痛の系統差も大きい<sup>4,5)</sup>。

#### 2. ミューオピオイド受容体遺伝子

ミューオピオイド受容体はデルタおよびカッパオピオイド受容体とともに、3つのオピオイド受容体のひとつであり、モルヒネ、フェンタニル、オキシコドンなどの強力なオピオイド性鎮痛薬の主要な標的である。この受容体を欠損させたマウスではモルヒネの鎮痛作用も副作用の多くも消失している<sup>6,7)</sup>。

著者らは、モルヒネ鎮痛効果が消失しているマウス系統として30年以上研究に用いられてきたCXBKマウスに着目した。このマウスのミューオピオイド受容体遺伝子の塩基配列を解析した結果、翻訳領域の塩基配列は正常であるが、3'非翻訳領域に5,000塩基対以上の挿入配列があり、

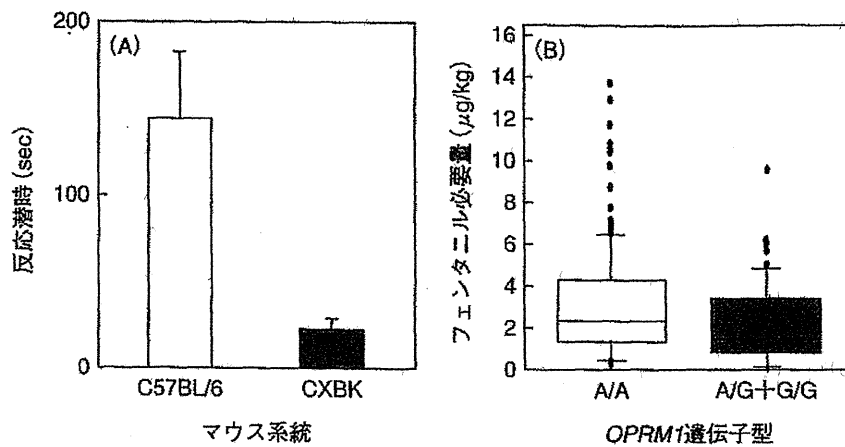


図 2 マウスおよびヒトにおけるミューオピオイド受容体遺伝子配列と鎮痛薬感受性との関連

A: ミューオピオイド受容体遺伝子 3' 非翻訳領域に挿入配列をもつ CXBK マウスにおける, 減弱したモルヒネ鎮痛効果(ホットプレートテスト).

B: ミューオピオイド受容体遺伝子 3' 非翻訳領域の多型と, 下顎骨切り術後のフェンタニル必要量との関連.

ミューオピオイド受容体遺伝子の発現量が半減していることが明らかになった<sup>8,9)</sup>. また, CXBK マウスではモルヒネ鎮痛効果は減弱しているが, 消失しているわけではないことも明らかになった(図 2-A)<sup>10)</sup>. CXBK マウスではミューオピオイド受容体遺伝子の 3' 非翻訳領域に挿入配列があるために, ミューオピオイド受容体のメッセンジャー RNA が不安定になって量が半減し, モルヒネ鎮痛効果が減弱すると考えられる.

さらに, 前述の野生由来マウスにおいてミューオピオイド受容体遺伝子の 3' 非翻訳領域の塩基配列を解析してその差異とモルヒネ鎮痛効果との相関を解析したところ, 有意に相関することが明らかになった<sup>5)</sup>.

そこで, ヒトにおいてもミューオピオイド受容体遺伝子の 3' 非翻訳領域の配列の違いがオピオイド感受性に影響するとの仮説を立てて研究を行った. 被験者は下顎骨切り術の患者とし, 患者自身が鎮痛薬を投与できる PCA(patient controlled analgesia)ポンプを用いてフェンタニルによる鎮痛を術後に施し, 必要であったフェンタニル量を測定した<sup>11)</sup>. ミューオピオイド受容体遺伝子 3' 非翻訳領域の遺伝子多型は連鎖不平衡ブロックを形成しているので, 代表として IVS3+A8449G という遺伝子多型に関して被験者の多型

解析を行った. この遺伝子多型とフェンタニル必要量との関連を解析した結果, この多型が G の配列をもつ患者群(父方と母方の両方が G の配列をもつ G/G か, いずれかが G の配列である A/G)は G の配列をもたない患者群(父方と母方の両方が A の配列をもつ A/A)よりも有意に必要フェンタニル量が少なく, オピオイド高感受性であることが明らかになった(図 2-B). したがって, ヒトにおいてもミューオピオイド受容体遺伝子の 3' 非翻訳領域の配列の違いがオピオイド感受性に影響するという仮説が検証された.

### 3. GIRKチャンネル遺伝子

GIRKチャンネルは, オピオイド受容体などの Gi/o 蛋白質共役型受容体の活性化により開口するチャンネルである<sup>12)</sup>. また, 著者らはこのチャンネルがエタノールによって直接開口することも見出した<sup>13)</sup>. さらに, GIRKチャンネルのサブユニットの遺伝子配列に変異を有するウィーバーマウスではモルヒネによる鎮痛(図 3-A)もエタノールによる鎮痛も減弱していることを見出した<sup>13,14)</sup>.

そこで, ヒトにおいても GIRKチャンネルのサブユニットの遺伝子配列の違いが鎮痛薬感受性に影響するとの仮説を立てて研究を行った. 被験者は開腹手術の患者とし, 術後の疼痛に対して必要であった鎮痛薬回数を測定するとともに, GIRK

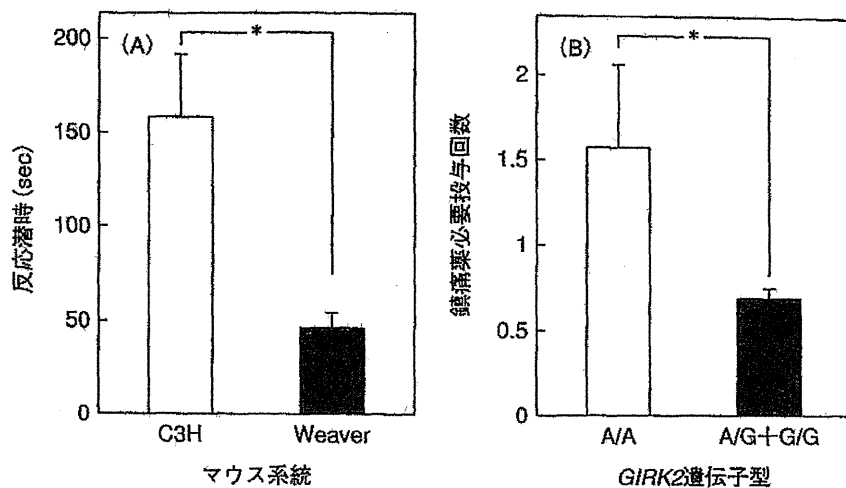


図3 マウスおよびヒトにおけるGIRK2チャンネル遺伝子の配列差異と鎮痛薬感受性との関連

A: GIRK2サブユニットの遺伝子配列に非同義置換の変異を有するウィーバーマウスにおける、減弱したモルヒネ鎮痛効果(ホットプレートテスト)。  
 B: GIRK2サブユニットの遺伝子多型と、開腹術後の鎮痛薬必要回数との関連。

\*:  $p < 0.05$ .

チャンネルサブユニットのひとつであるGIRK2サブユニットのA1032G多型(翻訳領域の同義置換多型)を解析し、両者の関連を解析した<sup>15)</sup>。その結果、この多型がA/Aタイプの患者群では、A/GおよびG/Gタイプの患者と比べて有意に鎮痛薬投与必要回数が多いことが明らかになった(図3-B)。さらに、スタンレー財団のブレインバンクよりヒト死後脳を取り寄せ、GIRK2遺伝子の発現量を調べた結果、A1032G多型がA/Aタイプの脳では、A/GおよびG/Gタイプの脳よりも有意にGIRK2遺伝子の発現が低下していることが明らかになった。したがって、A1032G多型がA/Aタイプのヒトでは脳内のGIRK2サブユニットのメッセンジャーRNA量が低下することにより、GIRK2サブユニット蛋白質量も低下して鎮痛薬感受性が低下すると考えられる。

#### 4. その他の痛み・鎮痛個人差の遺伝要因

痛みと関連する遺伝子多型としては、ミューオピオイド受容体のほか、デルタオピオイド受容体、transient receptor potential (TRP)チャンネル、カテコールメチルトランスフェラーゼ(catechol-O-methyl transferase: COMT), GTPシクロヒドラーゼ(GCH1), fatty acid amide hydrolase (FAAH), サイトカインなどの遺伝子多型が知られている<sup>3,16)</sup>。

オピオイド鎮痛と関連する遺伝子多型としては、ミューオピオイド受容体とGIRKチャンネルのほか、COMT, メラノコルチン1受容体, チトクロームP450 2D6, ABCトランスポーターB1, インターロイキン1受容体内因性アンタゴニストなどの遺伝子多型が知られている<sup>3,16,17)</sup>。

従来は痛みや鎮痛と関連することが知られていた遺伝子について関連解析が進められてきたが、最近ではゲノム上の遺伝子多型を網羅的に解析する技術が開発されたので、ゲノムワイド関連解析(genome wide association study: GWAS)が可能となった。痛みや鎮痛と関連する遺伝子多型を、予想外の遺伝子多型も含めて一網打尽に同定できると期待されている。

#### おわりに

痛みや鎮痛の個人差の遺伝子メカニズムがわかれば、あらかじめ遺伝子を調べることでその患者の痛み感受性や鎮痛薬感受性を予測することができ、効率的なテーラーメイドの疼痛治療が可能となる。また、痛み・鎮痛個人差の遺伝要因が解明されることで、痛みや鎮痛のシステムによって生成される原初的な快・不快情動の遺伝子メカニズムの解明にもつながると期待できる。

## 文献

- 1) Satoh, M. and Takagi, H. : *Eur. J. Pharmacol.*, **14** : 60-65, 1971.
- 2) Nielsen, C. S. et al. : *Pain*, **136** : 21-29, 2008.
- 3) LaCroix-Fralish, M. L. and Mogil, J. S. : *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, **49** : 97-121, 2009.
- 4) Koide, T. et al. : *Mamm. Genome*, **11** : 664-670, 2000.
- 5) Shigeta, Y. et al. : *Pharmacogenet. Genomics*, **18** : 927-936, 2008.
- 6) Sora, I. et al. : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **94** : 1544-1549, 1997.
- 7) Matthes, H. W. et al. : *Nature*, **383** : 819-823, 1996.
- 8) Ikeda, K. et al. : *J. Neurosci.*, **21** : 1334-1339, 2001.
- 9) Han, W. et al. : *Pharmacogenet. Genomics*, **16** : 451-460, 2006.
- 10) Ikeda, K. et al. : *Neurosci. Res.*, **34** : 149-155, 1999.
- 11) Fukuda, K. et al. : *Pain*. (in press)
- 12) Kobayashi, T. and Ikeda, K. : *Curr. Pharm. Des.*, **12** : 4513-4523, 2006.
- 13) Kobayashi, T. et al. : *Nat. Neurosci.*, **2** : 1091-1097, 1999.
- 14) Ikeda, K. et al. : *Neurosci. Res.*, **38** : 113-116, 2000.
- 15) Nishizawa, D. et al. : *PLoS ONE*, **4** : e7060, 2009.
- 16) 西澤大輔・他 : *麻酔*, **58** : 1093-1101, 2009.
- 17) Ikeda, K. et al. : *Trends Pharmacol. Sci.*, **26** : 311-317, 2005.

\* \* \*

#### 4. ペプチド-オピオイド

## ブトルファノールの鎮痛効果とオピオイド受容体

井手聡一郎 南 雅文 池田和隆

[用いられた物質/研究対象となった受容体]

酒石酸ブトルファノール/オピオイド受容体

痛みは生体防御警告系として重要な役割を果たしているが、過剰な痛みや慢性的疼痛は患者の生活の質(QOL: Quality of life)を著しく低下させるため、現在では治療すべき疾患の一つとして認識されている。モルヒネをはじめとした各種オピオイド鎮痛薬は、1986年に世界保健機構(WHO)が、がん性疼痛を緩和することを目的として公表したWHO方式がん疼痛治療法で示されるWHO方式3段階除痛ラダーにおいて、第2段階から第3段階の疼痛治療に用いられている。また、オピオイド鎮痛薬はがん性疼痛のみならず他の激しい痛みを伴う疾患や術後の疼痛管理においても用いられている。

オピオイド系は、内因性オピオイドペプチドファミリーと $\mu$ ,  $\delta$ ,  $\kappa$ と名付けられた三種の受容体サブタイプとから成り立ち、鎮痛をはじめとして広範な生理機能の調節に関わっている。オピオイド鎮痛薬に関する研究においては、モルヒネやフェンタニルなどの $\mu$ オピオイド受容体完全作動薬に関する研究が多くなされている一方で、本邦で臨床使用されている他のオピオイド鎮痛薬の多く、特に $\mu$ オピオイド受容体部分作動薬であるオピオイド拮抗性鎮痛薬に関しては研究が少なく、未だにその作用機序や作用特性に不明瞭な点が多く残されたまま使用されている。

酒石酸ブトルファノール(以下、ブトルファノール。商品名:スタドール)は、サブタイプ非選択的オピオイド受容体部分作動薬であり、WHO方式3段階除痛ラダーにおいて第2段階の疼痛治療に

用いられる。国内では麻薬指定を受けておらず、向精神薬として扱われている。これまで、ブトルファノールの鎮痛効果は様々な拮抗薬を用いた薬理学的実験より、 $\mu$ および $\kappa$ オピオイド受容体のそれぞれを介して発現していると報告されていたが、各サブタイプの関与に関しては矛盾する結果も報告されており、詳細は明らかとされていなかった。本稿では、モルヒネやフェンタニルといった麻薬性鎮痛薬の主たる作用部位である $\mu$ オピオイド受容体の遺伝子を欠損させたノックアウトマウス(MOP-KOマウス)、および $\mu$ ,  $\delta$ ,  $\kappa$ オピオイド受容体を発現させた培養細胞を用いた解析によって明らかになったブトルファノールの薬理作用機序に関して概説する。

#### ●ブトルファノールの鎮痛作用機序

ブトルファノールによる鎮痛効果について、熱的侵害刺激に対する作用を検討するTail-flick法ならびにHot-plate法、および機械的侵害刺激に対する作用を検討するHind-paw pressure法を用いて解析した。野生型マウス(C57BL/6Jマウス)にブトルファノールを皮下投与すると、20分程度で鎮痛効果がピークに達し、その効果は3時間以上持続していた。また、抗熱的侵害受容作用において、脊髄レベルでの鎮痛を反映すると考えられているTail-flick法においては、ブトルファノールは強い鎮痛作用を示したが、より上位中枢での鎮痛を反映すると考えられているHot-plate法においては有意ではあるものの比較的弱い鎮痛効果しか示さなかった。このことは、全身性に投与した際のブトルファノールの鎮痛作用は主として脊髄レベルで作用している可能性を示している。

また、熱的・機械刺激的侵害刺激に対するブトルファノールの鎮痛作用は $\mu$ オピオイド受容体遺伝子量に依存し、ヘテロ型 MOP-KO マウスでは野生型の約半分程度の鎮痛効果しか示さず、ホモ型 MOP-KO マウスにおいては完全に消失していた。この結果は、同じオピオイド拮抗性鎮痛薬であるブプレノルフィン(商品名:レペタン)が、MOP-KO マウスにおいては抗熱的侵害受容作用を示さないという以前の報告と類似している。これらの結果から、ブトルファノールやブプレノルフィンと同様の結合特性を示すペンタゾシンなどを含めたオピオイド拮抗性鎮痛薬全般において、その鎮痛作用の発現に $\mu$ オピオイド受容体が中心的役割を果たしている可能性が考えられる。

一方、ブトルファノールの内臓痛に対する鎮痛効果に関して酢酸ライジング法を用いて検討したところ、抗熱・抗機械的侵害受容作用と同様に、 $\mu$ オピオイド受容体の遺伝子量に有意に依存したが、ホモ型 MOP-KO マウスにおいても依然として有意な鎮痛効果が見られることが明らかとなった。さらに、このホモ型 MOP-KO マウスにおいて見られるブトルファノールの鎮痛効果は、選択的 $\kappa$ オピオイド受容体拮抗薬ノルピナルトルフィミン(norBNI)の前処置により完全に消失することが明らかとなった(図)。これより、 $\mu$ および $\kappa$ の両オピオイド受容体サブタイプが共にブトルファノールの内臓痛に対する鎮痛効果に関与していることが明らかとなった。

●ブトルファノールのオピオイド受容体サブタイプ選択性

ヒトオピオイド受容体を安定的に発現する培養細胞系を用いて、ブトルファノールの受容体各サブタイプに対する結合親和性を、Binding assayにより解析したところ、ブトルファノールはいずれの受容体サブタイプに対してもモルヒネより高い結合親和性を示し、特に $\mu$ ならびに $\kappa$ オピオイド受容体に対して高い結合親和性を示していた(K<sub>d</sub>値  $\mu$ :6.8 nM,  $\delta$ :34.7 nM,  $\kappa$ :7.8 nM)。また、cAMP assayによりアゴニスト活性を解析したところ、いずれの受容体サブタイプに対しても部分作動薬として作用することが明らかとなっ

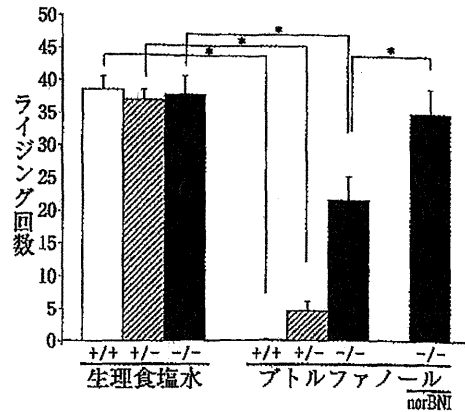


図 ブトルファノールによる鎮痛効果(酢酸ライジング法) 0.6%酢酸腹腔内投与後、15分間のライジング回数。+/+:野生型マウス, +/-:ヘテロ型 MOP-KO マウス, -/-:ホモ型 MOP-KO マウス。\*P<0.05。

た。これら *in vitro* 解析の結果は、ブトルファノールの鎮痛作用が、主として $\mu$ オピオイド受容体を介しており、一部痛みの種類の違いにより $\kappa$ オピオイド受容体も介している上記の行動薬理試験結果と一致している。

\*

筆者らの実験結果とこれまでの知見は、オピオイドによる抗熱・抗機械的侵害受容作用は主に $\mu$ オピオイド受容体を介して発現しているが、内臓痛に対する鎮痛効果は、特にブトルファノールでは、 $\mu$ だけでなく $\kappa$ オピオイド受容体も関与していることを示しており、オピオイドによる鎮痛機序が痛みの種類により一部異なることを示唆している。今後、異なる種類・場所の痛みに対する作用の詳細な解析が行われることで、より複雑な痛みの形態を有するヒト症例に対しても有効な疼痛治療戦略を提供し、よりよい疼痛治療に発展していくことが期待される。

文 献

- 1) Sora I et al: *Proc Natl Acad Sci USA* 94(4): 1544-1549, 1997
- 2) Ide S et al: *Neuropsychopharmacology* 29(9): 1656-1663, 2004
- 3) Ide S et al: *Neuropharmacology* 51(3): 651-658, 2006
- 4) Chang KJ et al: *Proc Natl Acad Sci USA* 78(7): 4141-4145, 1981
- 5) Ide S et al: *Neuropharmacology* 54(8): 1182-1188, 2008



特集 痛みと遺伝子多型

# セロトニン受容体遺伝子多型と鎮痛薬感受性

青木 淳<sup>\*,\*\*</sup> 池田 和隆<sup>\*\*</sup> 岩橋 和彦<sup>\*,\*\*,\*\*\*</sup>

キーワード▶▶ セロトニン (5-HT) 受容体, 5-HT2A 受容体遺伝子多型, 術後痛, 鎮痛

## はじめに

痛みを緩和するために非ステロイド性抗炎症薬, オピオイドなどの鎮痛薬が使用されているが, いずれも鎮痛薬感受性に大きな個人差があることが知られている<sup>1)~3)</sup>。鎮痛薬感受性に個人差を生じさせる要因は複数あると考えられるが, その一つとしてセロトニン (5-hydroxytryptamine : 5-HT) 受容体の関与が推測される。5-HT は組織損傷によって炎症が起こると, ほかの発痛物質とともに痛みを生じさせるが, その作用部位である 5-HT 受容体と痛みとの関連について研究が行われている。5-HT 受容体には複数のサブタイプが存在が知られており, 特に 5-HT2A 受容体において, Abbott ら<sup>4)</sup>は 5-HT2A アンタゴニストであるケタンセリン, スピペロンをホルマリンテスト前に足底注射しておくで疼痛行動が減少したと報告し, Tokunaga ら<sup>5)</sup>も同様にケタンセリンの前投与により 5-HT の足底注射後の疼痛行動が減少したと報告している。これらの研究結果から末梢において, 5-HT2A 受容体の活性化を介し, 疼痛が起こる可能性が考えられる。また, 下行性疼痛抑制系の活性化による脊髄後角における疼痛抑制や中枢神経系においてモルヒネが 5-HT 合成を誘導し, 濃度を増加させるといったことが知られている<sup>6)~8)</sup>。このようなことから, 5-HT および 5-HT 受容体は疼痛について考えるうえで重要な要

因の一つであるといえる。しかし, これまでに行われてきた研究のなかで, ヒトを対象にした疼痛と遺伝子多型との関連について報告したものは非常に少ない。今回, 5-HT に関連するものとして, そのトランスポータである 5-hydroxytryptamine transporter (5-HTT) 3'非翻訳領域 (3'untranslated region : 3'UTR) の多型と疼痛感受性の関連および 5-HT2A 受容体遺伝子多型と鎮痛薬感受性との関連について解析を行ったので紹介する<sup>9)10)</sup>。

## 健康者におけるセロトニントランスポータ (5-HTT) 3'非翻訳領域 (3'UTR) 遺伝子多型と疼痛感受性

5-HT に関連するものとして, われわれは以前, 健康者を対象にセロトニントランスポータ (5-hydroxytryptamine transporter : 5-HTT) 3'非翻訳領域 (3'untranslated region : 3'UTR) の遺伝子多型と疼痛感受性との関連研究を行っている<sup>9)</sup>。この研究で解析した多型の機能はまだ明らかにされていないが, 異常なポリアデニル化が mRNA の安定と細胞質への移動の促進を抑制する可能性があるといわれている<sup>11)</sup>。そこで健康者 181 名 (男性 115 名 : 平均 36.8±13.0 歳, 女性 66 名 : 平均 34.4±12.5 歳) を対象とし, 冷水刺激および圧刺激試験を行って, この多型が疼痛感受性に対して影響を与えるかどうかを検討した。遺伝子多型ごとの疼痛閾値を表に示す。圧刺激痛覚閾値において性別の有意な主効果が見られ (F (1,177) = 31.441, P<0.01), 痛覚閾値は女性に比べて男性のほうが高いことが示された。しかし, この多型と疼痛感受性との関連性は明らかにはならなかつ

\* 麻布大学環境保健学研究科環境保健科学専攻保健生命科学系神経生理学分野

\*\* 東京都医学研究機構東京都精神医学総合研究所精神生物学分野

\*\*\* 麻布大学健康管理センター

表 健常者における 5-HTT3'UTR 遺伝子多型ごとの冷水刺激および圧刺激閾値

	遺伝子型	冷水刺激閾値 (sec)	圧刺激閾値 (kg)
男性	G/G	30.171±17.99	2.707±0.86
	G/T+T/T	29.544±14.11	2.726±0.91
女性	G/G	28.367±18.38	2.005±0.68
	G/T+T/T	23.158±17.67	1.896±0.72
全体	G/G	29.516±18.08	2.451±0.87
	G/T+T/T	27.255±15.62	2.424±0.93

(平均値±標準偏差)

た。機械的刺激、熱刺激およびホルマリンテストの結果は 5-HTT 遺伝子をノックアウトしたマウスと正常マウスの間で有意差はないという報告もあることから<sup>12)</sup>、5-HTT は疼痛感受性に関与せず、5-HTT 遺伝子多型は鎮痛薬感受性を知るうえであまり有効な指標とならない可能性が考えられた。

## 2 セロトニン (5-HT) 受容体と 5-HT2A 受容体遺伝子多型

5-HT 受容体は現在 7 つのファミリーに分類され、各ファミリーはさらにいくつかのサブタイプに分けられている (ただし 5-HT5 受容体遺伝子はヒトにはない<sup>13)</sup>)。そのなかでも 5-HT2A, 5-HT3 受容体は疼痛との関連について検討されることが多いようである。なお、ラットの研究から脊髄後根神経節 (dorsal root ganglia: DRG) における mRNA の発現が 5-HT1B, 5-HT1D, 5-HT2A, 5-HT2C, 5-HT3, 5-HT7 受容体で見られ、特に 5-HT2A と 5-HT3 受容体はほかの受容体サブタイプと比較して発現量が多いという報告がある<sup>14)</sup>。また、5-HT2A または 5-HT3 受容体遺伝子をノックアウトしたマウスでは、正常マウスに比べてホルマリンテストの Phase II において侵害刺激反応が劇的に減少することが報告されている<sup>12)</sup>。このような報告があることから疼痛において 5-HT2A, 5-HT3 受容体が重要な役割を果たしている可能性が考えられる。

5-HT2A 受容体遺伝子にはプロモーター領域

に -1438 A/G 多型、第 1 エキソンに 102T/C 多型が存在することが知られている<sup>15)</sup>。また、これら 2 つの多型は強い連鎖不平衡の関係にあることが確認されている<sup>15)</sup>。両多型に機能的意義はないとされるが 102T/C 多型において C 対立遺伝子の mRNA と蛋白質の発現レベルが T 対立遺伝子よりも約 20% 低いという報告<sup>16)</sup>があることから、102T/C 多型は単なるマーカーであり、-1438 A/G および 102T/C 多型を含む連鎖不平衡ブロック内に、発現量に影響を与える真の多型が存在するのではないかと考えられている<sup>15)</sup>。また、過敏性腸症候群や線維筋痛症患者において 102T/C 多型が T/T 型の患者は痛みを感じやすいことが指摘されている<sup>17)~19)</sup>。そのため、この多型を含む連鎖不平衡ブロックが疼痛感受性に影響を与えることで鎮痛薬必要量に個人差を生じさせる可能性が考えられる。

以下に、われわれの行った研究について、その方法と結果を簡単に述べる。

## 3 開腹手術における鎮痛薬必要量と 5-HT2A 受容体遺伝子多型

われわれは 5-HT2A 受容体遺伝子多型と鎮痛薬感受性との関連について解析を行った。外科開腹手術を受け、術後にオピオイドを用いた持続硬膜外麻酔によって疼痛管理を行った患者で、書面にてインフォームド・コンセントを得られた患者 135 症例 (男性 78 症例: 平均 65.1±8.6 歳, 女性 57 症例: 平均 62.3±10.7 歳) を対象とした。術後鎮痛において、十分な鎮痛が得られない場合に補助鎮痛薬としてオピオイドおよび非ステロイド性抗炎症薬 (NSAIDs) の両方または一方を投与した。

鎮痛薬必要量の指標は、①術後 24 時間内に使用した補助鎮痛薬の必要回数 (術後 24 時間鎮痛薬必要回数)、②術後 24 時間鎮痛薬必要回数 (①) に解熱薬の投与された回数を含めた合計回数 (術後 24 時間鎮痛薬+解熱薬必要回数)、③用いた補助鎮痛薬の総量をペンタゾシンに換算したもの (ペンタゾシン換算総鎮痛薬量)、④ペンタゾシン換算総鎮痛薬量 (③) から解熱薬を除いたもの

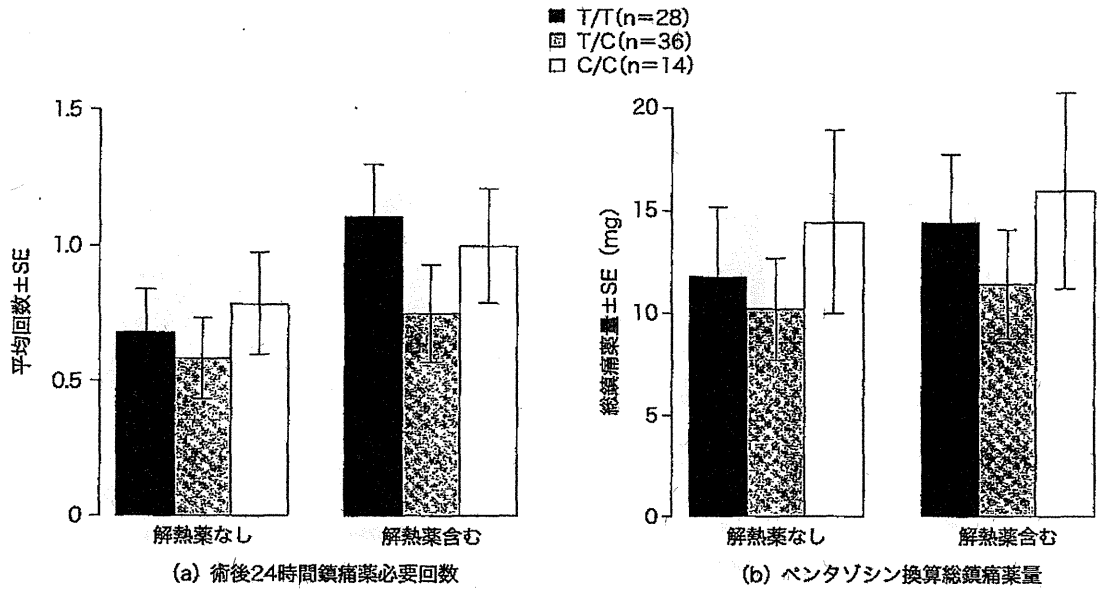


図 1 男性における 5-HT<sub>2A</sub> 102T/C 多型ごとの鎮痛薬感受性

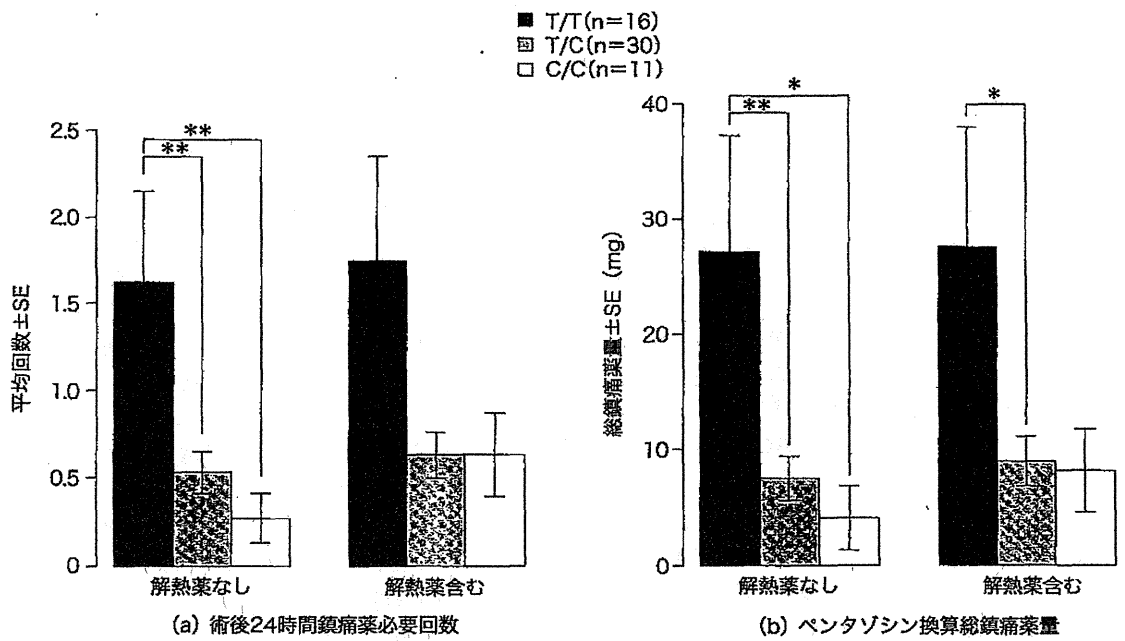


図 2 女性における 5-HT<sub>2A</sub> 102T/C 多型ごとの鎮痛薬感受性

〔ペンタゾシン換算総鎮痛薬量 (解熱薬なし)〕と  
した。

5-HT<sub>2A</sub> 受容体遺伝子多型である -1438 A/G

および 102T/C 多型の同定はポリメラーゼ連鎖反  
応 (polymerase chain reaction : PCR)-制限酵素断  
片多型 (restriction fragment length polymorphism :

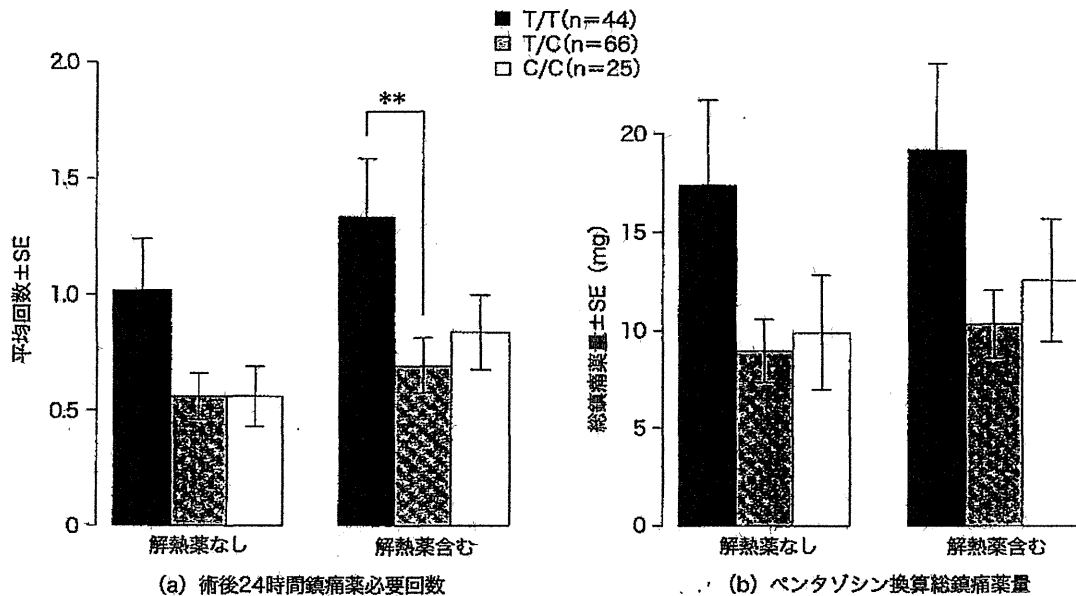


図3 全体における5-HT2A 102T/C多型ごとの鎮痛薬感受性

RFLP) 法により決定した<sup>20)21)</sup>。

両多型は強い連鎖不平衡の関係にあり、われわれが行った多型解析でも両多型の判定が不一致であったものは2検体のみであった。そのため、その後の統計解析は102T/C多型のみに対して行った。また、図1-3に102T/C多型ごとの鎮痛薬必要量のグラフを示した。統計解析は多型と性別を独立変数、年齢を共変数とした二元配置の共分散分析を行った。その結果、術後24時間鎮痛薬+解熱薬必要回数を除く3変数〔術後24時間鎮痛薬必要回数、ペンタゾシン換算総鎮痛薬量、ペンタゾシン換算総鎮痛薬量(解熱薬なし)〕で、女性においてT/T型(-1438A/G多型がA/A型)がT/C型(A/G型)、C/C型(G/G型)に比べ鎮痛薬を有意に多く必要とすることが示唆された。また、術後24時間鎮痛薬+解熱薬必要回数は多型の主効果が有意であり〔F(2,128)=5.671, P=0.004〕、T/T型がT/C型に比べ鎮痛薬量が有意に多かった。なお、この変数は交互作用効果が統計学的には認められなかったが、交互作用項のP値が0.089と小さく、有意傾向が確認され、他の3変数と同様に102T/C多型がT/T型(-1438A/G多型がA/A型)の女性で鎮痛薬を多く必要とす

る傾向が明らかになった。このことは5-HT2A受容体遺伝子多型である-1438A/G多型および102T/C多型が位置する連鎖不平衡ブロックが痛みの感受性に関与し、術後の鎮痛薬必要量に差を生じさせた可能性を示している。さらにこれらのデータは、過敏性腸症候群や線維筋痛症患者で報告されているような102T/CのT/T型の患者で痛みを感じやすいという結果<sup>17)~19)</sup>と同様であり、また、102T/CにおいてC対立遺伝子のmRNAと蛋白質の発現レベルがT対立遺伝子よりも低いという結果<sup>16)</sup>とも整合性があると考えられる。

オピオイドの効果にはヒトと動物の両方で性差が存在することが知られている<sup>22)</sup>。われわれの研究では女性のみで多型と疼痛との関連が見られ、このことから男女で鎮痛の起こるメカニズムに一部、違いが存在する可能性があると考えられた。われわれの研究結果では、性別の有意な主効果は見られなかったが、性差を生じさせる原因の一つとして、この多型を含む連鎖不平衡ブロックが関与する可能性もあるかもしれない。一般的に、女性のほうが男性より痛覚閾値や疼痛耐性が低いことが知られているが、エストロゲン、テストステ

ロンなどの性腺ホルモンが疼痛感受性に性差を生じさせているという指摘がある<sup>23)</sup>。今後、遺伝子多型と疼痛との関連研究を行ううえで、性差を考慮する必要があると考えられる。

### ■ おわりに

鎮痛薬感受性はさまざまな要因の相互作用によって決定されるが、本項は 5-HT 受容体遺伝子、特に 5-HT<sub>2A</sub> 受容体遺伝子多型について述べた。多くの遺伝子多型が存在するが、なかでも発現量や蛋白質の活性を変化させたりするような機能的意義のある多型は鎮痛薬感受性に影響を与える可能性が高いと予想される。しかし、その多型自体に機能的意義がない場合でもマーカーとして利用可能なものもある。今後、鎮痛薬感受性と関連する遺伝子多型を見つけだし、臨床の現場で応用していくことで、これまで以上に効率の良い医療を患者に提供できることを期待したい。

### 引用文献

- 1) Faraday N, Becker DM, Becker LC. Pharmacogenomics of platelet responsiveness to aspirin. *Pharmacogenomics* 2007 ; 8 : 1413-25.
- 2) Goodman T, Ferro A, Sharma P. Pharmacogenetics of aspirin resistance : a comprehensive systematic review. *Br J Clin Pharmacol* 2008 ; 66 : 222-32.
- 3) 児玉謙次, 中嶋保則, 高橋成輔. 術後痛のコントロール. *臨床と研究* 2001 ; 78 : 497-500.
- 4) Abbott FV, Hong Y, Blier P. Activation of 5-HT<sub>2A</sub> receptors potentiates pain produced by inflammatory mediators. *Neuropharmacology* 1996 ; 35 : 99-110.
- 5) Tokunaga A, Saika M, Senba E. 5-HT<sub>2A</sub> receptor subtype is involved in the thermal hyperalgesic mechanism of serotonin in the periphery. *Pain* 1998 ; 76 : 349-55.
- 6) Godefroy F, Weil-Fugazza J, Coudert D, Besson JM. Effect of acute administration of morphine on newly synthesized 5-hydroxytryptamine in spinal cord of the rat. *Brain Res* 1980 ; 199 : 415-24.
- 7) Tao R, Auerbach SB. Involvement of the dorsal raphe but not median raphe nucleus in morphine-induced increases in serotonin release in the rat forebrain. *Neuroscience* 1995 ; 68 : 553-61.
- 8) Yoshimura M, Furue H. Mechanisms for the antinociceptive actions of the descending noradrenergic and serotonergic systems in the spinal cord. *J Pharmacol Sci* 2006 ; 101 : 107-17.
- 9) 青木 淳, 池田和隆, 大谷保和, 岩橋和彦. セロトニントランスポーター 3'非翻訳領域 (5-HTT 3'UTR) 遺伝子多型と痛覚閾値およびパーソナリティとの関連研究. *精神医学* 2008 ; 50 : 819-25.
- 10) 青木 淳, 林田真和, 田上 恵, 長島 誠, 福田謙一, 西澤大輔ほか. 開腹手術の術後鎮痛における鎮痛薬必要量と 5-HT<sub>2A</sub> 受容体遺伝子多型との関連研究. *臨床精神薬理* 2009 ; 12 : 1159-64.
- 11) Kent L, Doerry U, Hardy E, Parmar R, Gingell K, Hawi Z, et al. Evidence that variation at the serotonin transporter gene influences susceptibility to attention deficit hyperactivity disorder (ADHD) : analysis and pooled analysis. *Mol Psychiatry* 2002 ; 7 : 908-12.
- 12) Kayser V, Elfassi IE, Auel B, Melfort M, Julius D, Gingrich JA, et al. Mechanical, thermal and formalin-induced nociception is differentially altered in 5-HT<sub>1A</sub>-/-, 5-HT<sub>1B</sub>-/-, 5-HT<sub>2A</sub>-/-, 5-HT<sub>2A/3A</sub>-/- and 5-HTT-/- knock-out male mice. *Pain* 2007 ; 130 : 235-48.
- 13) Terry AV Jr, Buccafusco JJ, Wilson C. Cognitive dysfunction in neuropsychiatric disorders : selected serotonin receptor subtypes as therapeutic targets. *Behav Brain Res* 2008 ; 195 : 30-8.
- 14) Pierce PA, Xie GX, Levine JD, Peroutka SJ. 5-hydroxytryptamine receptor subtype messenger RNAs in rat peripheral sensory and sympathetic ganglia : a polymerase chain reaction study. *Neuroscience* 1996 ; 70 : 553-9.
- 15) 鈴木竜世, 阿部徳一郎, 岩田仲生, 尾崎紀夫. セロトニン 2A (5-HT<sub>2A</sub>) 受容体遺伝子多型. *分子精神医学* 2003 ; 3 : 345-56.
- 16) Poleskaya OO, Sokolov BP. Differential expression of the "C" and "T" alleles of the 5-HT<sub>2A</sub> receptor gene in the temporal cortex of normal individuals and schizophrenics. *J Neurosci Res* 2002 ; 67 :

812-22.

- 17) Bondy B, Spaeth M, Offenbaecher M, Glatzeder K, Stratz T, Schwarz M, et al. The T102C polymorphism of the 5-HT<sub>2A</sub>-receptor gene in fibromyalgia. *Neurobiol Dis* 1999 ; 6 : 433-9.
- 18) GURSOY S, ERDAL E, HERKEN H, MADENCI E, ALASEHIRLI B. Association of T102C polymorphism of the 5-HT<sub>2A</sub> receptor gene with psychiatric status in fibromyalgia syndrome. *Rheumatol Int* 2001 ; 21 : 58-61.
- 19) PATA C, ERDAL E, YAZC K, CAMDEVIREN H, OZKAYA M, ULU O. Association of the -1438 G/A and 102T/C polymorphism of the 5-HT<sub>2A</sub> receptor gene with irritable bowel syndrome 5-HT<sub>2A</sub> gene polymorphism in irritable bowel syndrome. *J Clin Gastroenterol* 2004 ; 38 : 561-6.
- 20) ARRANZ MJ, MUNRO J, OWEN MJ, SPURLOCK G, SHAM PC, ZHAO J, et al. Evidence for association between polymorphisms in the promoter and coding regions of the 5-HT<sub>2A</sub> receptor gene and response to clozapine. *Mol Psychiatry* 1998 ; 3 : 61-6.
- 21) WARREN JT, PEACOCK ML, RODRIGUEZ LC, FINK JK. An Msp I polymorphism in the human serotonin receptor gene (HTR<sub>2</sub>) : detection by DGGE and RFLP analysis. *Hum Mol Genet* 1993 ; 2 : 338.
- 22) GILES BE, WALKER JS. Sex differences in pain and analgesia. *Pain Reviews* 2000 ; 7 : 181-93.
- 23) CRAFT RM. Modulation of pain by estrogens. *Pain* 2007 ; 132 : S3-12.

## ABSTRACT

### Serotonin Receptor Gene Polymorphism and Analgesic Sensitivity

Jun AOKI<sup>\*,\*\*</sup>, Kazutaka IKEDA<sup>\*\*</sup>,  
Kazuhiko IWAHASHI<sup>\*,\*\*,\*\*\*</sup>

*\*Laboratory of Neurophysiology, the Graduate School of Environmental Health Sciences, Azabu University, Sagamihara 229-8501*

*\*\*Division of Psychobiology, Tokyo Institute of Psychiatry, Tokyo 156-8585*

*\*\*\*Health Administration Center, Azabu University, Sagamihara 229-8501*

There are gene polymorphisms changing the expression or activation of the serotonin (5-HT) receptors, which are associated with pain. This review showed an availability of 5-HT<sub>2A</sub> receptor gene polymorphism in analgesic sensitivity. To search gene polymorphisms related to analgesic sensitivity is important to further effective pain management. In future 5-HT<sub>2A</sub> receptor gene polymorphisms, together with polymorphisms of other genes, may greatly contribute to effective postoperative pain management and personalized medicine.

**key words :** serotonin (5-HT) receptor, 5-HT<sub>2A</sub> receptor gene polymorphism, postoperative pain, analgesia

## 特集 痛みと遺伝子多型

## ATP 受容体遺伝子多型と疼痛感受性

井手聡一郎<sup>\*,\*\*</sup> 南 雅文<sup>\*</sup> 池田 和隆<sup>\*\*</sup>

キーワード▶ ATP, 痛み, 遺伝子多型, プリン受容体

## ■ はじめに

アデノシン三リン酸 (adenosine triphosphate : ATP) は, 生体細胞内におけるエネルギー源として, きわめて重要な役割を担っていることは, 広く知られている。一方, 近年, ATP が細胞外に遊離され, ATP 受容体に結合することで情報伝達物質として働くことが明らかにされてきている。ATP 受容体を介した情報伝達の生理的・病態生理的な作用としては, 中枢神経や自律神経におけるシナプス伝達の調節をはじめとして, 神経障害性疼痛 (ニューロパシックペイン) を含む痛みの発生, ならびに情報伝達や血小板凝集など多岐にわたることが示されてきている。これまでに, ATP 受容体をターゲットとした薬として, 血小板凝集阻害薬のチクロピジンやクロピドグレルが臨床使用されており, また痛みに関しても現在, 既存の鎮痛薬で効果が得られにくいことが多い神経障害性疼痛に対して, ATP 受容体拮抗薬を治療薬とする試みが国内外で進められており, 今後の発展が期待されている。

一方, 1990 年に開始された国際ヒトゲノムプロジェクトが 2002 年に終了し, ヒトゲノムの完全公開がなされた (International Human Genome Sequencing Consortium, 2004)。現在, 疾患原因遺伝子の同定をはじめとし, 個人間の遺伝子配列の違いを解析することで, 医療のテーラーメイド化を目指して, 各方面で精力的な研究がなされてい

る。しかしながら, 遺伝子多型の一部は人種によりその頻度が大きく異なることが知られており, また, 疾患や薬物の作用, 副作用の発現においては, 複数の遺伝子多型が関与することが考えられる。痛みの種類・程度に合わせた適切な疼痛治療による生活の質 (quality of life : QOL) の向上のために, 日本人における種々の遺伝子に対するゲノム科学研究および臨床研究が行われていくことが必要とされる。本項では特に, 痛みとの関係に焦点を当て, ATP 受容体とその遺伝子多型に関して述べる。

## 1 ATP 受容体

ATP はプリン塩基を有する生理活性物質であり, ATP およびその細胞外放出後の代謝産物の一つであるアデノシンが結合する受容体を, プリン受容体と総称する。そのうち, ATP とその類縁体 (アデノシン二リン酸 : ADP, ウリジン二リン酸 : UDP, ウリジン三リン酸 : UTP, 糖ヌクレオチドなど) が結合するものが ATP 受容体 [プリン 2 (P2) 受容体] である。ATP 受容体は, さらに大きく 2 つのサブファミリー, つまりイオンチャネル型の P2X 受容体および G 蛋白質共役型の P2Y 受容体に分類される。

P2X 受容体は, これまでに P2X<sub>1</sub> から P2X<sub>7</sub> までの 7 種類のサブタイプが報告されている (表 1)。これらの分子は, 膜 2 回貫通型の構造をとり, ホモ 3 量体 (同一サブタイプの 3 分子会合) あるいはヘテロ 3 量体 (2 種のサブタイプの 3 分子会合) を形成して, 非選択的陽イオンチャネルとし

\* 北海道大学大学院薬学研究院薬理学研究室

\*\* 東京都医学研究機構東京都精神医学総合研究所精神生物学分野

表 1 ATP 受容体 (P2X 受容体) [イオンチャネル内蔵型]

サブタイプ	アゴニスト	アンタゴニスト	情報伝達系	分布
P2X <sub>1</sub>	ATP > ADP	TNP-ATP	非選択的カチオンチャネル	血小板, アストロサイト, 平滑筋
P2X <sub>2</sub>	ATP > ADP	スラミン	非選択的カチオンチャネル	神経節, 中枢, クロマフィン細胞
P2X <sub>3</sub>	ATP >> ADP	TNP-ATP	非選択的カチオンチャネル	知覚神経, 心臓
P2X <sub>4</sub>	ATP > ADP	PPADS (ヒト, マウス)	非選択的カチオンチャネル	ミクログリア, 上皮細胞 (ほぼ全身)
P2X <sub>5</sub>	ATP > ADP	PPADS	非選択的カチオンチャネル	三叉神経
P2X <sub>6</sub>	ATP > ADP	—	非選択的カチオンチャネル	脳
P2X <sub>7</sub>	ATP	KN-62, BBG	非選択的カチオンチャネル	免疫細胞

表 2 ATP 受容体 (P2Y 受容体) [G 蛋白質共役型]

サブタイプ	アゴニスト	アンタゴニスト	連関する G 蛋白質	情報伝達系	分布
P2Y <sub>1</sub>	ADP	MRS2279	G <sub>q</sub> /G <sub>11</sub>	IP <sub>3</sub> /DG ↑	血小板, 中枢, 消化管
P2Y <sub>2</sub>	UTP >> ATP	スラミン	G <sub>q</sub> /G <sub>11</sub>	IP <sub>3</sub> /DG ↑	中枢, 心血管, 肺, 腎臓
P2Y <sub>4</sub>	UTP > ATP	PPADS	G <sub>q</sub> /G <sub>11</sub>	IP <sub>3</sub> /DG ↑	胎盤, 脳, 心臓
P2Y <sub>6</sub>	UDP > UTP	RB-2	G <sub>q</sub> /G <sub>11</sub>	IP <sub>3</sub> /DG ↑	胎盤, 血液細胞, 心臓, 腎臓
P2Y <sub>11</sub>	ATP	スラミン	G <sub>s</sub> , G <sub>q</sub> /G <sub>11</sub>	cAMP ↑, IP <sub>3</sub> /DG ↑	脾臓, 小腸
P2Y <sub>12</sub>	ADP	ARC69931MX	G <sub>i</sub> /G <sub>o</sub>	cAMP ↓	血小板, ミクログリア
P2Y <sub>13</sub>	ADP	ARC69931MX	G <sub>i</sub> /G <sub>o</sub>	cAMP ↓	造血臓器, 中枢
P2Y <sub>14</sub>	UDP-glucose	—	G <sub>i</sub> /G <sub>o</sub>	cAMP ↓	胎盤, 脂肪細胞, 中枢

て機能すると考えられている。

P2Y 受容体は, これまでに P2Y<sub>1</sub>, P2Y<sub>2</sub>, P2Y<sub>4</sub>, P2Y<sub>6</sub>, P2Y<sub>11</sub>, P2Y<sub>12</sub>, P2Y<sub>13</sub>, P2Y<sub>14</sub> の 8 種類のサブタイプが報告されており (表 2), これらは膜 7 回貫通型で G 蛋白質共役型受容体である。また, P2Y<sub>15</sub> サブタイプも報告されているが, アデノシンや AMP をアゴニストとするため, 機能的にはアデノシン受容体 (P1 受容体) に属すると考えられている。

## 2 ATP 受容体と痛み

ATP 受容体の生理的役割は多岐にわたると考えられているが, 現在, 痛覚の発生ならびにその情報伝達制御における役割が注目されている。

1977 年にヒトにおいて ATP が痛みを惹起することが報告されて以降<sup>1)</sup>, 種々の行動薬理学的研究により, 末梢における ATP の投与により, ① 自発痛 (ATP 投与そのものによる仮性疼痛反応), ② 痛覚過敏反応 (熱や機械刺激に対する疼痛閾値の低下), および③ アロディニア (触刺激や圧刺激など, 通常痛みとは感じない刺激に対する異痛反応), が引き起こされることが示されてきた<sup>2)~4)</sup>。これらの末梢での ATP の作用においては, P2X<sub>3</sub> ホモ 3 量体ならびに P2X<sub>2/3</sub> ヘテロ 3 量体をもっとも注目されている。一次求心性知覚神経には, P2X 受容体のうち P2X<sub>1</sub> から P2X<sub>6</sub> 受容体までのすべてが発現しているが, その中でも P2X<sub>3</sub> 受容体の発現量をもっとも多い。これまでに, 種々の ATP 受容体アゴニストの投与<sup>5)6)</sup>や P2X<sub>3</sub> 受容体



遺伝子ノックアウトマウスを用いた研究<sup>78)</sup>から、ATP 受容体刺激による自発痛や熱刺激痛覚過敏の発現には、P2X<sub>3</sub> 受容体が中心的な役割を担っていることが示されてきた。さらに近年、P2X<sub>2</sub> および P2X<sub>3</sub> 受容体遺伝子ダブルノックアウトマウスを用いた研究において、ATP に対する一次求心性知覚神経の応答がほぼ消失することが示されている<sup>9)</sup>。これらの報告から、P2X<sub>3</sub> ホモ 3 量体ならびに P2X<sub>2/3</sub> ヘテロ 3 量体が、末梢での ATP による疼痛発生および伝達において、主要な役割を担っていることが明らかにされている。一方、P2Y<sub>1</sub> 受容体 mRNA が、一次求心性神経の細胞体である脊髄後根神経節 (dorsal root ganglia: DRG)、ならびに三叉神経節において多く発現していることが示され<sup>10)</sup>、また坐骨神経結紮による神経障害性疼痛モデル動物において、神経損傷後の遺伝子発現量の増加が認められたことから<sup>11)</sup>、P2Y<sub>1</sub> 受容体は特に Aβ 神経線維による知覚伝達と、それを介したアロディニアの発現に関与することが示唆されている。さらに、P2Y<sub>2</sub> 受容体が、ATP によるカプサイシン受容体バニロイド受容体 1 (TRPV1) の活性化において重要な役割を果たすことが明らかにされ<sup>12)</sup>、熱的痛覚過敏に関与していることも示唆されている。

一方、中枢においては、さらに別の ATP 受容体サブタイプの関与を示唆する報告がなされている。これまでに、脊髄神経損傷によるアロディニアのモデル動物において、脊髄内ミクログリアに特異的な P2X<sub>4</sub> 受容体蛋白質の発現増加が確認され、さらに脊髄内への P2X<sub>4</sub> 受容体アンチセンスオリゴヌクレオチド投与により P2X<sub>4</sub> 受容体発現を抑制することで、アロディニアが抑制されることが報告されている<sup>13)</sup>。また、P2X<sub>7</sub> 受容体は、ミクログリアにおいて P2X<sub>4</sub> 受容体と同様に発現が多く見られ、P2X<sub>4/7</sub> ヘテロ 3 量体を形成して機能している可能性も示唆されている<sup>14)</sup>。この P2X<sub>7</sub> 受容体ノックアウトマウスにおいては、慢性炎症や神経損傷による熱的および機械的な刺激に対する痛覚過敏反応が消失していることが明らかにされている<sup>15)</sup>。さらに最近、ミクログリアにおいては P2Y<sub>12</sub> 受容体も同様に発現が見られ<sup>16)</sup>、P2Y<sub>12</sub> 受容体ノックアウトマウスにおいては、神経損傷

によるアロディニア形成が阻害されることや、血小板凝集阻害薬として臨床使用されているクロピドグレル (P2Y<sub>12</sub> 受容体アンタゴニスト) の投与によりアロディニアが軽減することが報告されている<sup>17)</sup>。

このように、複数の ATP 受容体サブタイプが、疼痛の発生および痛覚伝達に促進的に関与することが報告されているが、一方で、逆に ATP 受容体が痛みに対して抑制的に働いているという報告も存在する。これまでに、ATP およびそのアナログ化合物の側脳室内投与によって、P2X<sub>3</sub> ホモ 3 量体ならびに P2X<sub>2/3</sub> ヘテロ 3 量体を介して、急性痛や炎症性疼痛を抑制することが示唆されている<sup>18)</sup>。さらに、UTP や UDP の脊髄くも膜下腔内投与により、急性痛ならびに神経障害によるアロディニアを抑制することも報告され<sup>19)</sup>、P2Y<sub>2</sub>、P2Y<sub>4</sub>、P2Y<sub>6</sub> 受容体は脊髄レベルでは痛覚抑制方向に機能していることが示唆されている。また、P2X<sub>7</sub> 受容体は、DRG において P2X<sub>3</sub> 受容体を介した痛覚伝達を抑制しているという small interfering RNA (siRNA) を用いた研究報告もなされている<sup>20)</sup>。これらの知見は、末梢での神経伝達とは異なり、中枢神経系において ATP 受容体サブタイプの一部は、痛みに対して抑制的に機能している可能性を示している。

ATP および ATP 受容体は、疼痛感受性や痛覚伝達ならびに抑制に深く関与しているが、その制御機構は痛みの種類や程度、部位などにより大きく異なることが予測される。今後、臨床研究も含めたより多くの研究により、個々の疾患・病態における ATP 受容体各サブタイプの役割が明らかにされていくことが期待される。

### 3 ATP 受容体遺伝子多型

ATP 受容体のうち、痛みとの関連でこれまでに報告のある、P2X<sub>2</sub>、P2X<sub>3</sub>、P2X<sub>4</sub>、P2X<sub>7</sub> 受容体ならびに P2Y<sub>1</sub>、P2Y<sub>2</sub>、P2Y<sub>4</sub>、P2Y<sub>6</sub>、P2Y<sub>12</sub> 受容体の遺伝子 (それぞれ P2RX<sub>n</sub> および P2RY<sub>n</sub> と表記) に着目すると、その mRNA 長は、いずれも約 1.5-3 kbp であるが、ゲノム遺伝子上の配列では 1.6-53.2 kbp と各サブタイプ間で大きな違いがある

受容体名	遺伝子名	染色体番号	近傍遺伝子	Splice variants	mRNA (base)	ゲノム長 (kbp)	ゲノム配列の模式図
P2X2	P2RX2	12	POLE	variant 1	1830	3.6	
				variant 2	1629	3.6	
				variant 3	1758	3.6	
				variant 4	1908	3.6	
				variant 5	1554	3.6	
				variant 6	1614	3.6	
P2X3	P2RX3	11	SSRPI, PRG3	-	1349	31.6	
P2X4	P2RX4	12	CAMKK2, P2RX7	-	2043	24.2	
P2X7	P2RX7	12	P2RX4	-	3155	53.2	
P2Y1	P2RY1	3	-	-	3122	3.1	
P2Y2	P2RY2	11	P2RY6	variant 1	2681	18.1	
				variant 2	2547	18.1	
				variant 3	2613	17.9	
P2Y4	P2RY4	X	ARR3, DGAT2L3	-	1639	1.6	
P2Y6	P2RY6	11	P2RY2, ARHGEF17	variant 1	1555	33.3	
				variant 2	1832	33.3	
				variant 3	1700	27.9	
				variant 4	2400	26.4	
P2Y12	P2RY12	3	P2RY13, MED12L	variant 1	1502	47.2	
				variant 2	1474	3.2	

図 疼痛に関連する ATP 受容体の遺伝子情報

模式図内、直線で示すゲノム配列上において、四角の部分がエキソンを示し、翻訳領域を黒四角、非翻訳領域を白四角で示している。

POLE : DNA ポリメラーゼ ε, SSRPI : structure-specific recognition protein 1, PRG3 : プロテオグリカン 3, CAMKK2 : Ca<sup>2+</sup>/カルモジュリン依存性蛋白質リン酸化酵素リン酸化酵素 2, ARR3 : アレスチン 3, DGAT2L3 : diacylglycerol O-acyltransferase 2-like 3, ARHGEF17 : Rho グアニンヌクレオチド交換因子 (GEF) 17, MED12L : mediator complex subunit 12-like

(図)。また、エキソンの数も P2RX 遺伝子では 9-13, P2RY 遺伝子では 1-4 と異なっており、なかでも P2RX<sub>2</sub> および P2RY<sub>2</sub>, P2RY<sub>6</sub>, P2RY<sub>12</sub> 遺伝子には、いくつかのスプライシング変異体が存在することが明らかにされている。さらに、ATP 受容体遺伝子のうちいくつかは同一染色体上に存在しており、なかでも P2RX<sub>4</sub> と P2RX<sub>7</sub> 遺伝子、ならびに P2RY<sub>2</sub> と P2RY<sub>6</sub> 遺伝子、P2RY<sub>12</sub> と P2RY<sub>13</sub> 遺伝子はそれぞれ比較的近傍 (50 kbp 以内) に存在している。

これら疼痛関連 ATP 受容体の遺伝子上には、数多くの遺伝子多型が存在している。特に染色体 12q24 に位置する P2RX<sub>7</sub> 遺伝子では、イントロンや非翻訳領域を含めると 220 を超える一塩基多

型 (single nucleotide polymorphism : SNP) が存在している (国際 HapMap 計画 : <http://www.hapmap.org/>)。一方、これら遺伝子多型のうち、日本人のゲノム上で見られる翻訳領域の SNP は、表 3 に示すように、これまでに 17 SNP が報告されており、うち 8 つが受容体蛋白においてアミノ酸置換を引き起こす SNP であり (JSNP データベース : <http://snp.ims.u-tokyo.ac.jp/>)<sup>21)22)</sup>、これらの SNP のうちいくつかは、受容体の機能的変化を引き起こすことが報告されている。P2RX<sub>7</sub> 遺伝子上の SNP A1513C (E496A) は、細胞質側にある C 末端に存在するグルタミン酸をアラニンに置換させる。このアミノ酸置換は、P2X<sub>7</sub> 受容体機能の消失を引き起こしていることが、健康人血液より単離

表 3 日本人における疼痛関連 ATP 受容体遺伝子翻訳領域上のアミノ酸非同義置換を伴う遺伝子多型

遺伝子名	多型番号	エキソン	codon	アミノ酸置換	多型頻度
<i>P2RX3</i>	rs2276039	12	ACG/ACA	T365T	54.4%
	rs2276038	12	GCG/GTG	A383V	61.0%
<i>P2RX4</i>	rs2303998	2	GCG/GCA	A87A	0.2%
	rs25642	4	GTG/GTA	V125V	14.3%
	rs25643	5	TCT/TCC	S155S	34.3%
	rs25644	7	AGT/GGT	S242G	19.3%
<i>P2RX7</i>	rs208294	5	CAT/TAT	H155Y	54.3%
	rs3751144	13	CCC/CCT	P474P	13.3%
	rs3751143	13	GAG/GCG	E496A	23.9%
<i>P2RY1</i>	rs3751142	13	CTG/CTT	L534L	14.1%
	rs701265	1	GTA/GTG	V262V	28.4%
	rs2511241	1	CCT/CTT	P46L	90.9%
<i>P2RY2</i>	rs1783596	1	CGC/CGT	R272R	59.8%
	rs3741156	1	AGG/AGC	R312S	44.4%
<i>P2RY4</i>	rs1152187	1	AAC/ACC	N178T	45.5%
	rs3829709	1	TCT/GCT	S234A	40.3%
	rs3829708	1	CGC/CGA	R242R	31.8%

した単核球やリンパ球, ならびに野生型および置換型受容体を強制発現させた培養細胞による, ATP 誘発のエチジウムプロマイド取り込み能の解析により報告されている<sup>23)</sup>。また, 同じ *P2RX<sub>7</sub>* 遺伝子上の SNP C489T (H155Y) は, 細胞外領域に存在するヒスチジンをチロシンに置換させ, *P2RX<sub>7</sub>* 受容体機能が亢進されることが報告されている<sup>24)</sup>。さらに, これまでに日本人のゲノムでは報告がない *P2RX<sub>7</sub>* 遺伝子上の他の SNP, ならびに別のサブタイプ遺伝子上の SNP において, 受容体の機能的変化を引き起こす結果も報告されている。アミノ酸置換を引き起こす遺伝子多型に関しては, 受容体の高次構造の変化をもたらす, 受容体に対するリガンドの結合能の変化や, 細胞内情報伝達系の機能変化, 各種蛋白質リン酸化酵素によるリン酸化などの受容体修飾の変化などをもたらす可能性があるため, これらの遺伝子多型がもたらす機能的変化の詳細な解析が今後必要である。また一方で, *P2RX<sub>7</sub>* 遺伝子のイントロン 1 の 1 塩基目に存在する SNP が受容体機能を低下させるという報告もなされている<sup>25)</sup>。翻訳領域のみならず, 3'ならびに 5'の非翻訳領域やプロモ-

ーター領域, イントロン領域の多型は, mRNA の転写活性や, スプライシングの調節, mRNA の安定性に影響を与える可能性があるため, これらの領域を含めた解析も必要である。また, 遺伝子多型の多型頻度は人種間によって大きく異なることが知られており<sup>26)</sup>, テーラーメイド医療に向けて日本人のゲノムを用いた解析を進めていくことが重要である。

4 ATP 受容体遺伝子多型の関連解析

これまでに, 一部の ATP 受容体遺伝子多型と特定の疾患, 病態との関連解析が報告されている。カナダの研究チームは, ケベック州の特定地域の 41 家系 (フランス系カナダ人) のヒトゲノム解析により, 受容体蛋白質の C 末端領域に位置する *P2RX<sub>7</sub>* 遺伝子上の SNP (rs2230912: Q460R) は, 双極性感情障害と有意な関連性を示すことを報告している<sup>27)</sup>。また, ハンガリーの研究チームは, 同じ SNP が糖尿病患者における抑うつ症状の発現と関連性を示すことを, Caucasian のサンプルを用いて報告している<sup>28)</sup>。一方, *P2RX<sub>7</sub>* 遺伝子上の

SNP A1513C (E496A) ならびに C489T (H155Y) に関して、乳頭様甲状腺癌の患者サンプルを用いた関連解析を行い、A1513C SNP が乳頭様甲状腺癌の濾胞性変異と関連性を示すことをイタリア人研究グループが報告している<sup>29)</sup>。また、血小板 P2RX<sub>12</sub> 上の遺伝子多型のハプロタイプ解析により、この遺伝子における多型と冠動脈疾患（アテローム性動脈硬化症）との間に有意な関連性があることが報告されている<sup>30)</sup>。また、クローン病患者や高血圧の患者を用いた遺伝子多型の関連研究なども行われ、関連性がないことが示されている。ATP 受容体の生理的役割が多岐にわたるため、種々の疾患・病態に対する研究が多くの研究グループにより精力的に進められている。

しかしながら、これまでに日本人のゲノムを用いた ATP 受容体遺伝子多型の関連解析は報告されていない。また、世界的に見ても、疼痛関連遺伝子としての ATP 受容体遺伝子多型に注目した研究はない。そこでわれわれは、ATP 受容体遺伝子多型と、疼痛感受性、ならびに術後疼痛や癌性疼痛との関連性に関する研究を現在進めている。痛覚感受性の指標としては、手指に対する冷水負荷時の疼痛感知時間（人差し指および中指の付け根まで 0°C の冷水に浸けた際に疼痛を感知するまでの時間の両指の平均）、ならびに圧刺激負荷時の疼痛感知圧（親指を除く 4 指にそれぞれ圧力を加えていく際に、疼痛を感知した圧力の平均）を測定し、ATP 受容体遺伝子多型との関連解析を行っている。これまでに、日本人の健常人ボランティアのゲノム解析を行った結果、表 3 に示した ATP 受容体遺伝子多型の中の一つにおいて冷刺激誘発疼痛の感受性との間に関連性を示す傾向が確認され、当該受容体サブタイプの冷刺激による痛みの発生ないし末梢の痛覚情報伝達制御に関与する可能性を見出している。今後、疼痛感受性と ATP 受容体遺伝子多型との関連解析をさらに進めることで、痛みの発生と伝達における個人差において、ATP 受容体遺伝子多型が与える影響が明らかにされると考えられる。また、術後痛や癌性疼痛、さらに神経障害性疼痛患者のゲノムを用いて、痛みの種類・程度・発生原因および部位などにより分類し、鎮痛薬の効力、副作用などとの関

連解析を進めることで、日本人におけるテーラーメイド疼痛緩和医療の実現に向けて、有用な知見を提供することが期待される。

## ■ おわりに

ATP 受容体を介した情報伝達の生体内における役割に関する研究は、現在急速に進んでいる。特に、疼痛関連分子としての ATP に着目した研究は、難治性疼痛である神経障害性疼痛への関与が多く報告されていることから、神経障害性疼痛の治療に対する新たな治療概念を提供することが期待される。一方で、ATP 受容体遺伝子多型と痛みに関する関連解析は、まさにこれから始まるようとしている分野である。痛みや疼痛緩和と遺伝子多型の関連研究は、人種や年齢、性差のみならず、痛みの程度や、部位、原因などの要因が結果に影響を与えるため、均一なサンプル数を確保することが非常に困難ではあるが、日本人におけるテーラーメイド疼痛緩和医療の実現に向けて、疼痛関連遺伝子の遺伝子多型解析は不可欠であり有意義な知見をもたらすと考えられる。

## 引用文献

- 1) Bleehen T, Keele CA. Observations on the algogenic actions of adenosine compounds on the human blister base preparation. *Pain* 1977; 3: 367-77.
- 2) Bland-Ward PA, Humphrey PP. Acute nociception mediated by hindpaw P2X receptor activation in the rat. *Br J Pharmacol* 1997; 122: 365-71.
- 3) Hamilton SG, Wade A, McMahon SB. The effects of inflammation and inflammatory mediators on nociceptive behaviour induced by ATP analogues in the rat. *Br J Pharmacol* 1999; 126: 326-32.
- 4) Tsuda M, Koizumi S, Kita A, Shigemoto Y, Ueno S, Inoue K. Mechanical allodynia caused by intraplantar injection of P2X receptor agonist in rats: involvement of heteromeric P2X<sub>2/3</sub> receptor signaling in capsaicin-insensitive primary afferent neurons. *J Neurosci* 2000; 20: RC90.
- 5) Hamilton SG, McMahon SB. ATP as a peripheral mediator of pain. *J Auton Nerv Syst* 2000; 81: