

Materials and Methods

The subjects in this study were 261 of schizophrenic patients (137 males and 124 females) and 277 of control subjects (149 males and 129 females). All the subjects were Japanese and the controls were healthy volunteers with no history of psychiatric disorders confirmed by clinical interviews. The mean ages of the cases and controls were 45.7 ± 14.1 and 41.7 ± 10.6 years, respectively. All patients were diagnosed as having schizophrenia according to the DSM-IV criteria¹⁰. None of the patients or controls were related. All subjects were residents of the Niigata area, in northern Japan. Written informed consent was obtained from all subjects prior to their participation in this study. This study was approved by the ethics committee on genetics of the Niigata University School of Medicine.

We selected four SNPs, JST101566 (dbSNP ID; rs162004), JST003213 (rs162006), JST116774 (rs162009) and JST116776 (rs3763043) from the JSNP database¹¹. Their order and physical location are shown in Fig. SNPs were genotyped by the TaqMan assay. The probe sets were designed and synthesized by Applied Biosystems, USA. We carried out PCR using TaqMan Universal Master Mix, No AmpErase UNG (Applied Biosystems), 5 ng of DNA from leukocytes of the subjects, 0.9 μ M of each primer and 200 nM of each probe in total volume of 5 μ l. Each 96-well plate contained 94 samples and two no-DNA template controls. Thermal cycler conditions were 95 °C for 10 min, 40 cycles of 92 °C for 15 sec and 60 °C for 1 min. Measuring the



Figure

fluorescence and allelic discrimination were performed on an ABI PRISM 7900HT Sequence Detection System with SDS 2.0 software (Applied Biosystems).

We analyzed association and Hardy-Weinberg equilibrium by the χ^2 test.

Haplotype frequencies were estimated using the expectation maximization algorithm.

Pairwise linkage disequilibrium (LD) indices, D' and r^2 , were calculated in the control subjects^{12,13}. We identified a strong LD region from JST101566 to JST116776, therefore we assessed haplotype association between cases and controls. In this analysis, rare haplotypes with frequencies less than 2% were not assessed. To detect a haplotype block, we used Haploview program (www.broad.mit.edu/mpg/haploview/)¹⁴. The level of significance was 0.05.

Results

The genotype frequencies of all SNPs in both groups were not significantly different from the values expected from Hardy-Weinberg equilibrium (all of the $P > 0.50$, $df = 2$). Table 1 shows the allele and genotype frequencies for each SNP. The allele and genotype frequencies of the patients with schizophrenia did not differ from those in the controls. Table 2 shows strong LD among three SNPs, JST003213, JST116774 and JST116776. A LD block comprises of three SNPs, from JST003213 to JST116776, which was showed by Haploview, contains almost all region of *AQP4* gene except for more than 1 kb 5' upstream region. These findings may indicate that 5' regulatory

Table 1

Table 2

region of the gene and all exons of *AQP4* are on different LD blocks. Next, we analyzed the haplotype structures constituted with these three SNPs. Three haplotypes were estimated to be more than 2% frequency in both cases and controls. No difference was observed in these haplotype frequencies between two groups (Table 3).

Discussion

Table 3

Water homeostasis is frequently disturbed in patients with schizophrenia, as in a case of polydipsia, ie pathological excessive water drinking. A potential function of *AQP4* is regulation of neuronal environment through potassium buffering. In addition, *AQP4* locus is within a suggestive linkage region with schizophrenia. From these points of view, *AQP4* is a candidate gene for susceptibility of schizophrenia. However, we could not find association either SNP study nor haplotype analysis. Using the Genetic Power Calculation¹⁵ (statgen.iop.kcl.ac.uk/gpc/), our sample has powers of 0.97-0.98 to detect a significant association between each minor allele and schizophrenia with an α of 0.05, assuming a disease prevalence of 0.01, each risk allele frequency of each observed minor allele frequency in cases, and a genotypic relative risk of 2.6 for homozygotes of minor allele and of 1.8 for heterozygotes. Accordingly, the likelihood of type II error with our sample size appears to be considerably low.

We found strong LD in the region between JST003213 and JST116776 in Japanese population, consequently these SNPs that we tested can provide most of the

information on the pattern of genetic variation in this region. For that reason, we did not examine any extra SNPs in this study. In the international HapMap project¹⁶ data (www.hapmap.org), a similar pattern of strong LD is observed in a region containing whole *AQP4* gene and nearly 1 kb of 5'-upstream region in four different populations (Utah residents with ancestry from northern and western Europe, Han Chinese in Beijing, China, Japanese in Tokyo, Japan and Yoruba in Ibadan, Nigeria).

We found no association between *AQP4* gene and schizophrenia but the possibility that *AQP4* is involved in other brain disorders stays to clarify. Our findings about LD can facilitate further investigations for molecular genetic study of *AQP4*.

Acknowledgements

We would like to express our deep gratitude to all the patients. Hiroshi Kusano, Miki Inomata and Hiromi Tanabe provided excellent technical assistance.

References

1. Hasegawa H, Ma T, Skach W, Matthay MA, Verkman AS. Molecular cloning of a mercurial-insensitive water channel expressed in selected water-transporting tissues. *J. Biol. Chem.* 1994; **269**: 5497-5500.
2. Jung JS, Bhat RV, Preston GM, Guggino WB, Baraban JM, Agre P. Molecular characterization of an aquaporin cDNA from brain: candidate osmoreceptor and regulator of water balance. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1994; **91**: 13052-13056.
3. Venero JL, Vizuite ML, Ilundain AA, Machado A, Echevarria M, Cano J. Detailed localization of aquaporin-4 messenger RNA in the CNS: preferential expression in periventricular organs. *Neuroscience* 1999; **94**: 239-250.
4. Venero JL, Vizuite ML, Machado A, Cano J. Aquaporins in the central nervous system. *Progress Neurobiol.* 2001; **63**: 321-336.
5. Badaut J, Lasbennes F, Magistretti PJ, Regli L. Aquaporins in brain: distribution, physiology, and pathophysiology. *J. Cereb. Blood Flow Metabol.* 2002; **22**: 367-378.
6. Nagelhus EA, Horio Y, Inanobe A *et al.* Immunogold evidence suggests that coupling of K⁺ siphoning and water transport in rat retinal Muller cells is mediated by a coenrichment of Kir4.1 and AQP4 in specific membrane domains. *Glia* 1999; **26**: 47-54.

7. Wen H, Nagelhus EA, Amiry-Moghaddam M, Agre P, Ottersen OP, Nielsen S. Ontogeny of water transport in rat brain: postnatal expression of the aquaporin-4 water channel. *Eur. J. Neurosci.* 1999; 11: 935-945.
8. Williams NM, Rees MI, Holmans P *et al.* A two-stage genome scan for schizophrenia susceptibility genes in 196 affected sibling pairs. *Hum. Mol. Genet.* 1999; 8: 1729-1739.
9. Paunio T, Ekelund J, Varilo T *et al.* Genome-wide scan in a nationwide study sample of schizophrenia families in Finland reveals susceptibility loci on chromosomes 2q and 5q. *Hum. Mol. Genet.* 2001; 10: 3037-3048.
10. American Psychiatric Association. *Diagnostic and statistical manual of mental disorders, 4th edn.* American Psychiatric Association, Washington, DC, 1994.
11. Haga H, Yamada R, Ohnishi Y, Nakamura Y, Tanaka T. Gene-based SNP discovery as part of the Japanese Millennium Genome Project: identification of 190,562 genetic variations in the human genome. Single-nucleotide polymorphism. *J. Hum. Genet.* 2002; 47: 605-610.
12. Lewontin RC. The interaction of selection and linkage. I. General considerations: heterotic models. *Genetics* 1964; 49: 49-67.
13. Hill WG, Robertson A. Linkage disequilibrium in finite populations. *Theor. Appl. Genet.* 1968; 38: 226-231.
14. Barrett JC, Fry B, Maller J, Daly MJ. Haploview: analysis and visualization of

- LD and haplotype maps. *Bioinformatics* 2005; 21:263-265.
15. Purcell S, Cherny SS, Sham PC. Genetic Power Calculator: design of linkage and association genetic mapping studies of complex traits. *Bioinformatics* 2003; 19:149-150.
16. The International HapMap Consortium. The international HapMap project. *Nature* 2003; 426: 789-796.

Figure legend

A legend for Figure

Locations of the SNPs used in this study. *Aquaporin 4* gene has five exons (rectangles) and spans more than 10 kb. JST101566 and JST003213 is 2.2 kb and 0.8 kb away from translation initiation site of *AQP4*, respectively. JST116774 is located on the first intron and JST116776 is located on the 3'-noncoding region of *AQP4*. Solid rectangles indicate coding regions.

Table 1 Genotype and allele frequencies in cases and controls

SNP	Genotype						Statistics			
	Case (n = 261)			Control (n = 278)			Genotype		Allele 1 vs Allele 2	
	11	12	22	11	12	22	χ^2	P	χ^2	P
	minor allele freq.			minor allele freq.			(df = 2)		(df = 1)	
JST101566 (rs162004)	125	109	27	138	116	24	0.50	0.78	0.30	0.58
Allele 1: C, Allele 2: G										
JST003213 (rs162006)	112	115	34	120	123	35	0.02	0.99	0.003	0.97
Allele 1: G, Allele 2: A										
JST116774 (rs162009)	115	111	35	124	121	33	0.29	0.86	0.09	0.77
Allele 1: C, Allele 2: T										
JST116776 (rs3763043)	94	120	47	89	145	44	2.06	0.36	0.06	0.81
Allele 1: G, Allele 2: A										

Table 2

Linkage disequilibrium indices (D' and r^2 , above and below diagonal, respectively) in control subjects

SNP and the distance between adjacent SNPs	JST101566	JST003213	JST116774	JST116776
JST101566 (rs162004)	-----	0.674	0.685	0.008
1.4 kb				
JST003213 (rs162006)	0.101	-----	0.966	0.882
2.3 kb				
JST116774 (rs162009)	0.099	0.883	-----	0.982
8.4 kb				
JST116776 (rs3763043)	0.000	0.299	0.350	-----

Table 3

Haplotype structures of *AQP4* and their frequencies

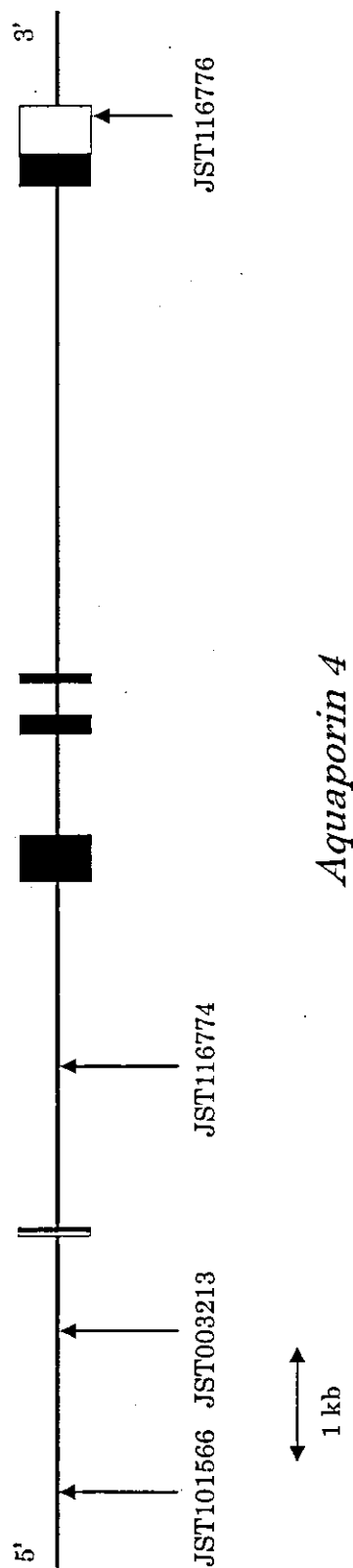
Haplotype	SNP		Haplotype frequency	
	JST003213	JST116774	Case	Control
haplotype A	1	1	0.406	0.414
haplotype B	2	2	0.348	0.334
haplotype C	1	1	0.246	0.252

Permutation *P* 0.802

0.657

0.830

(1 and 2 denote major and minor alleles, respectively.)



Figure

抗うつ薬の反応性に関する 分子薬理遺伝学的研究

鈴木雄太郎*, 染矢 俊幸*¹⁾

日本人うつ病患者 65 名を fluvoxamine で 12 週間治療し、薬物動態学的・薬力学的因子から臨床効果を予測できるか検討した。その結果、効果を最大化するために必要な fluvoxamine 血中濃度が存在することが明らかになり、また血中濃度を CYP2D6 遺伝子多型と CYP1A2 を誘導するといわれる喫煙の有無などから予測できる可能性が示唆された。セロトニン・トランスポーター遺伝子多型と抗うつ効果の間に有意な相関は認められなかったが、セロトニン 1A 受容体遺伝子多型が治療反応性を予測する可能性が示唆された。

I. はじめに

選択的セロトニン再取り込み阻害薬 (SSRI) はわが国でもうつ病治療の第一選択薬となっているものの、症例によっては三環系抗うつ薬 (TCA) などを最初に選択すべきと思われる患者が少なからず存在することも事実である。しかし、現在のところ、臨床現場では実際に患者に薬剤を投与してみないとその薬剤の効果を正確に判定することはできないのが実情である。これまで様々な視点から、抗うつ効果を予測しようという試みがなされてきたが、実際の臨床に応用されるほど確立されたものはない。TCA については治療的血中濃度モニタリング (TDM) が抗うつ効果、副作用予測に有用であることが明らかになっているが、SSRI については TDM の意義は非常に限られたものであるとい

う¹⁾。また、近年 SSRI の作用部位であるセロトニン・トランスポーターやセロトニン受容体における遺伝子多型が SSRI の臨床効果に影響を与える可能性が示唆されている。そこで、我々は本邦初の SSRI である fluvoxamine (フルボキサミン: FLV) について臨床研究を行い、日本人うつ病患者に対する FLV の臨床効果を、うつ病の臨床的特徴、FLV の薬物動態学的特性、FLV の作用部位の特性などから予測できないか検討した。

II. 対象と方法

1. 対象

対象は本研究に参加したうつ病患者 65 名で、平均年齢は 40.5 ± 14.0 (平均 ± SD) 歳、男性 34 名、女性 31 名であった。初診時ハミルトンうつ病評価尺度

* Yutaro Suzuki, Toshiyuki Someya 新潟大学大学院医歯学総合研究科精神医学分野 ¹⁾ 教授

(HAM-D-17) は平均 20.9 ± 5.2 点, 診断の内訳は大うつ病性障害 58 名, 適応障害 3 名, 特定不能のうつ病性障害 4 名。本研究は新潟大学医学部遺伝子倫理委員会の承諾を得ており, 本研究内容を文書で十分に説明し, 書面にて同意の得られた症例を対象とした。

2. FLV 用量設定と臨床評価

初診時 FLV 25 mg で治療開始し, 1 週目に HAM-D-17・副作用を評価。以後は 2 週間ごとに 12 週目まで HAM-D-17・副作用評価を行い, 前回受診時と比較して HAM-D-17 改善率が 40% 未満の場合は FLV を 50 mg 間隔で最大 200 mg まで増量した。HAM-D-17 得点が 7 点以下となった寛解例については, その時点での FLV 用量を最終用量とし, 以後は増量しないこととした。

3. 採血・血中濃度測定・遺伝子型同定

採血は最終服薬から 12 時間後, 外来受診時に毎回行った。血中濃度測定は HPLC (high performance liquid chromatography) 法を用い, 遺伝子型は 5-HTTLPR (セロトニン・トランスポーター遺伝子多型) の L 型, S 型, 5-HT1A (セロトニン 1A) 受容体遺伝子の Gly272Asp とチトクローム P450 (CYP) 2D6 変異アレル (*1, *2, *5, *10) を PCR (polymerase chain reaction) 法により同定した。

III. 結果

1. FLV の副作用と用量・血中濃度との関連

65 名中, 12 週間の治療終了例が 55 名, 治療中断例が 10 名であった。中断例の内訳は, 副作用による中断

が 6 名, 原因不明による中断が 4 名であった。副作用による中断例では 5 例が嘔気, 1 例が手足のしびれを原因として中断となっていた。嘔気による中断例での FLV 最終用量は 25 mg または 50 mg であり, 血中濃度は平均 9.7 ± 5.9 ng/mL であった (表 1)。

2. 重症度と寛解率との関係

治療終了例 55 名の最終寛解率は 54.5% (30/55 例), 平均寛解週数は 5.4 ± 3.3 週, 寛解時の FLV の平均用量は 91.7 ± 55.1 mg/day であり, 寛解例と非寛解例における男女比, 年齢, 初診時 HAM-D-17 平均総得点のいずれも両群間に統計的有意差はなかった。

HAM-D-17 重症度による最終寛解率を検討したところ, 初診時 HAM-D-17 総得点が 18 点未満群 (15 例) の最終寛解率は 73.3%, 18 点以上群 (40 例) は 47.5% であった。次に対象を DSM-IV の大うつ病性障害に限定し, 重症度による最終寛解率を検討したところ, 軽症群 (17 例) の最終寛解率は 70.6%, 中等症以上群 (31 例) では 51.6% であった。

3. FLV の血中濃度と治療反応性との関係

12 週間の研究を終了した 55 名について, 寛解例はその時点での FLV 血中濃度, 非寛解例は用量 200 mg での FLV 血中濃度を最終血中濃度とし, 最終血中濃度と累積寛解率, 累積非寛解率との関係を検討した (図 1)。最終血中濃度 71.8 ng/mL で累積寛解率, 累積非寛解率がそれぞれ 81%, 35% となり, この濃度を超える群では寛解例と非寛解例はそれぞれ 6 名と 11 名, 71.8 ng/mL 以下の群ではそれぞれ 25 人と 6 人であり, 両群で寛解者, 非寛解者の割合が有意に異なっていた ($p = 0.004$)。

表 1 FLV 副作用による中止例

症例	年齢	性	診断	FLV 最終用量	副作用	FLV 血中濃度
1	43	女	大うつ病性障害	25 mg/day	嘔気	5.3 ng/mL
2	33	女	大うつ病性障害	50 mg/day	嘔気	16.1 ng/mL
3	59	男	大うつ病性障害	50 mg/day	嘔気	17.5 ng/mL
4	34	男	大うつ病性障害	50 mg/day	嘔気	5.3 ng/mL
5	34	男	大うつ病性障害	150 mg/day	手足のしびれ	80.1 ng/mL
6	45	男	大うつ病性障害	25 mg/day	嘔気	10.2 ng/mL

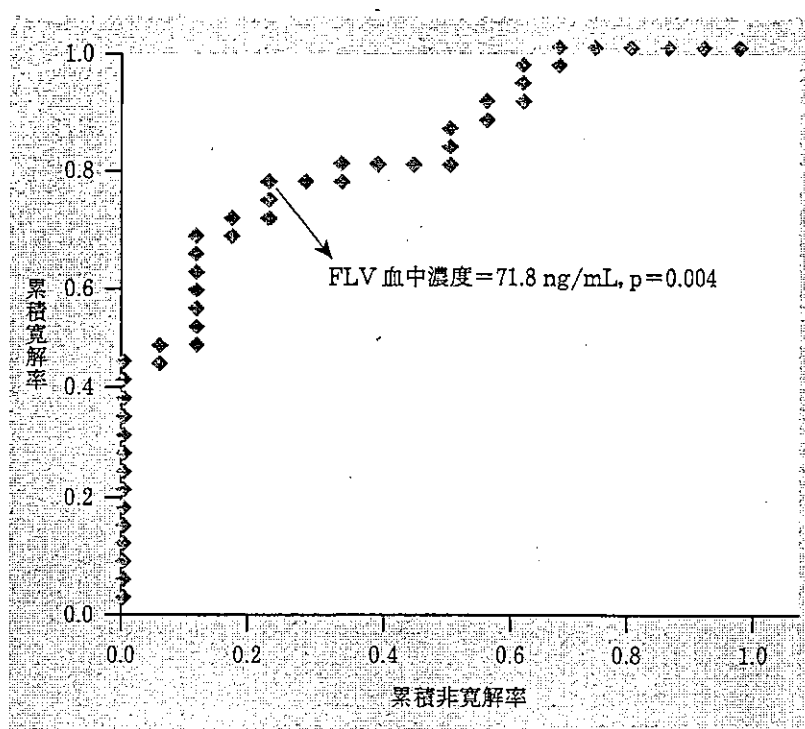


図1 FLV 血中濃度と治療反応性との関係—ROC 曲線による検討—

最終血中濃度 71.8ng/mL で累積寛解率, 累積非寛解率がそれぞれ 81%, 35% となり, この濃度を超える群とこの濃度以下の群では寛解者, 非寛解者の割合が有意に異なっていた。臨床的には FLV 血中濃度を最低 71.8ng/mL 以上にするこ
とで治療効果を十分に引き出せると考えられた。

4. 用量, 喫煙, CYP2D6 遺伝子多型が FLV 血中濃度に与える影響

FLV 同一用量を内服していても, 血中濃度はそれぞれ大きくばらついていた(図2)。そこでこれらの血中濃度の個体差に影響を与える因子を検討した。

FLV 用量が増加すると血中濃度は non-linear に増加し, FLV の各用量 (50, 100, 150 mg/day) で補正した FLV 血中濃度は, それぞれ 0.31 ± 0.20 , 0.40 ± 0.25 , 0.58 ± 0.45 ng/mL/mg であり, これら 3 群間に有意差を認めた ($p < 0.001$) (図3)。更に CYP2D6 変異アレルをもつ個体と変異アレルをもたない個体を比較すると, 変異アレルをもつ個体では FLV 増量による血中濃度変化がより大きくなることが示された(図3)。喫煙者を除いた FLV 50 mg 内服群 32 名において CYP2D6 遺伝子型 *1/*1, *1/*10, *10/*10 をもつ個体での FLV 血中濃度はそれぞれ 14.6 ± 11.0 , 12.0 ± 7.0 , 28.2 ± 10.0 ng/mL であり, *10/*10 をも

つ群で FLV 血中濃度が有意に高値であった(図4)。

FLV 50 mg 内服群のうち, CYP2D6 変異アレルをもたない個体 16 名において 1 日 20 本以上の喫煙が FLV 血中濃度に及ぼす影響を検討したところ, 喫煙者では非喫煙者と比較して FLV 血中濃度が有意に低値であった(5.2 ± 2.8 vs 14.2 ± 10.5 ng/mL, $p = 0.027$) (図5)。

5. 5-HTTLPR および 5-HT1A 受容体遺伝子多型と臨床効果との関係

寛解群, 非寛解群それぞれにおいて 5-HTTLPR の S/S, S/L または L/L 遺伝子型の割合に有意差はなかった。また 12 週目の HAM-D-17 得点が初診時と比べて 50% 以上減少している場合を改善と定義し, 改善群, 非改善群で遺伝子型の分布を検討したが, 有意な差は認められなかった。2 週毎の HAM-D-17 改善の仕方を S/S 型, S/L または L/L 型で比較したが有意差は認められなかった(図6)。

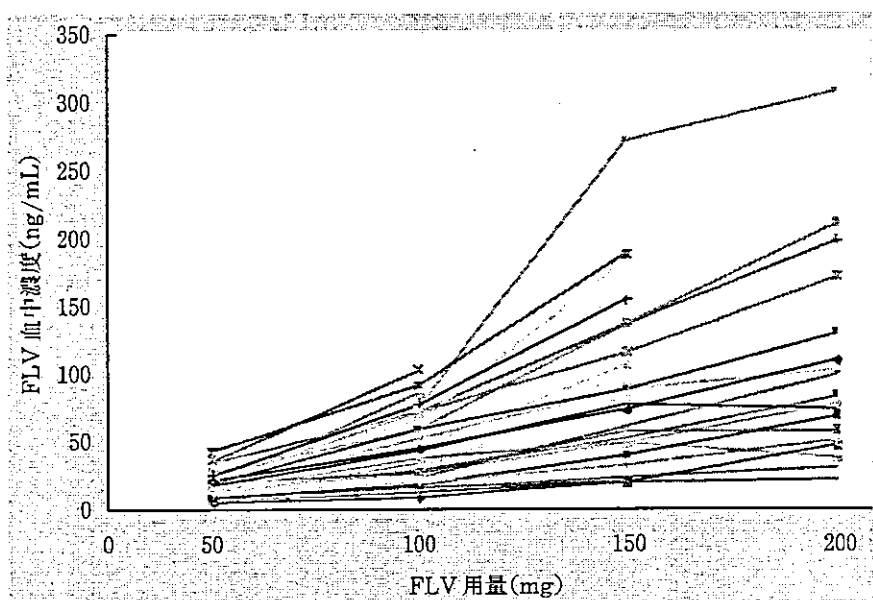


図2 FLV用量と血中濃度との関係

FLV 同一用量を内服していても、血中濃度は個体間で大きくばらついており、用量から血中濃度を予測することは困難であると考えられた。

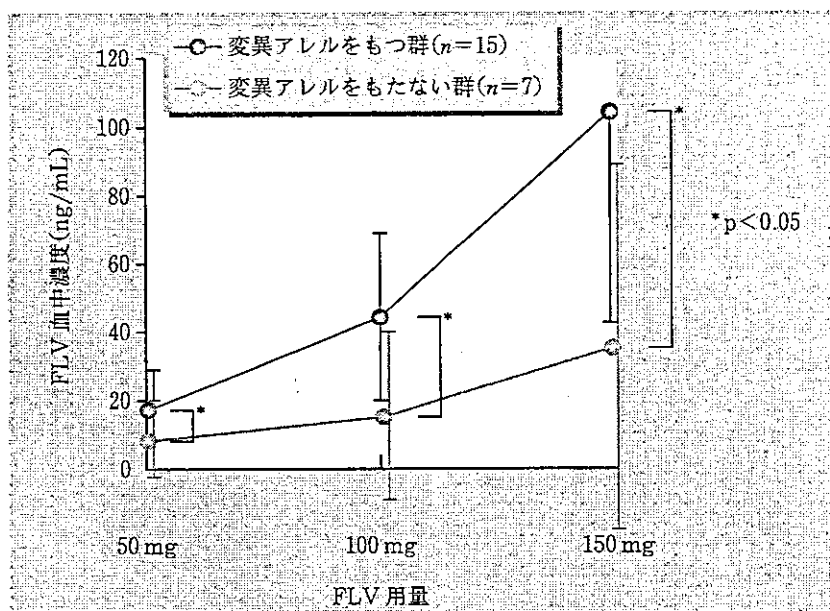


図3 FLV の非線形薬物動態と CYP2D6 変異アレルとの関係

FLV の用量が増加すると血中濃度は non-linear に増加した。更に CYP2D6 変異アレルを持つ個体では FLV 増量による血中濃度変化がより大きくなることが示された。

寛解群, 非寛解群それぞれにおいて 5-HT1A 受容体遺伝子型の Gly/Gly と Gly/Asp または Asp/Asp 遺伝子型の割合に有意差はなかったものの, 改善群, 非改

善群で検討すると遺伝子型の分布に有意差を認めた ($p = 0.042$)。2 週毎の HAM-D-17 改善の仕方と遺伝子型との関係を検討したところ, 遺伝子型と HAM-D-

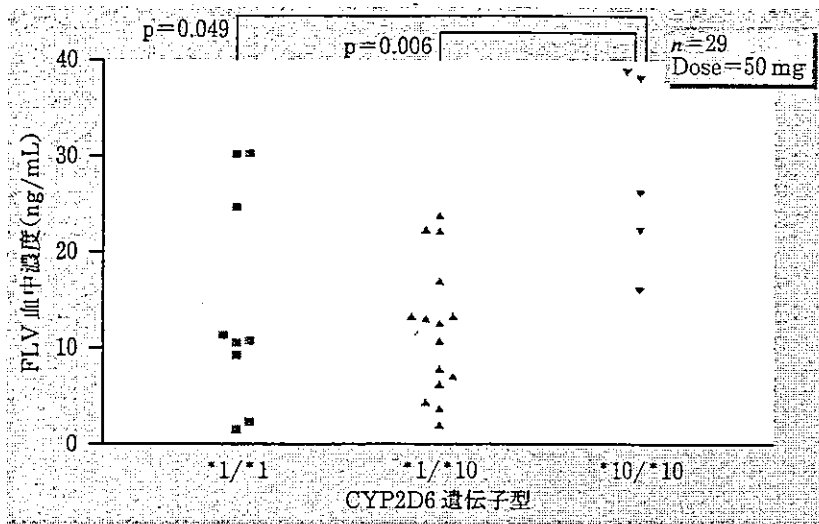


図4 非喫煙者におけるFLV血中濃度とCYP2D6遺伝子型との関係
CYP2D6 *10/*10 遺伝子型を持つ群ではFLV血中濃度が上昇していた。

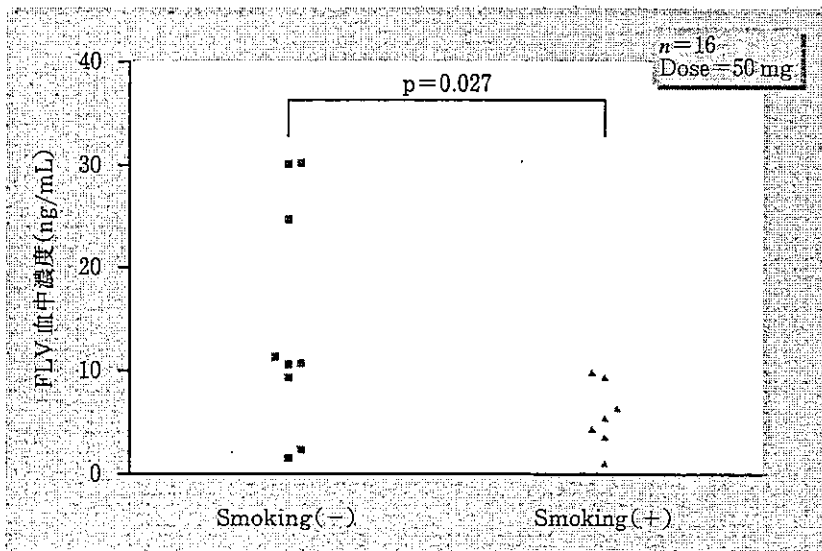


図5 喫煙とFLV血中濃度との関係
一日20本以上の喫煙はFLV血中濃度を低下させた。

17 改善の仕方に有意な交互作用を認め ($p = 0.043$), 治療開始 2 週目 (53.5 ± 20.3 vs. $26.3 \pm 27.0\%$, $p = 0.009$), 6 週目 (64.5 ± 19.1 vs. $44.9 \pm 35.0\%$, $p = 0.036$), 12 週目 (80.8 ± 16.4 vs. $61.6 \pm 40.9\%$, $p = 0.031$)において Gly/Asp または Asp/Asp 多型をもつ群では Gly/Gly 群と比べて HAM-D-17 改善率が有意に高かった (図 7)。

IV. 考察

1. FLV の副作用と用量・血中濃度との関連

SSRI の副作用として最も重要なのは嘔気を主体とした消化器症状であり, これらの症状を予測し, あるいは最小限に抑えることが臨床上重要である。

本研究では 5 名が嘔気といった消化器系の副作用で

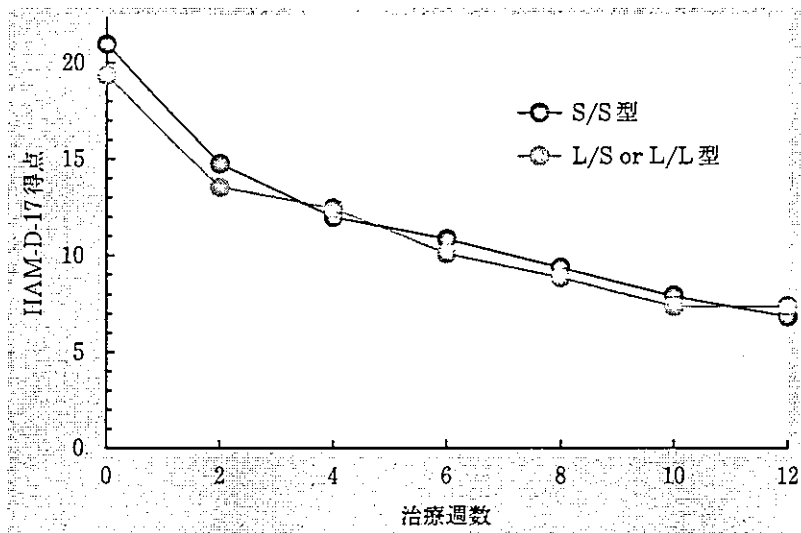


図6 5-HTTLPR と臨床効果
5-HTTLPR 遺伝子型は FLV の臨床効果に影響を与えなかった。

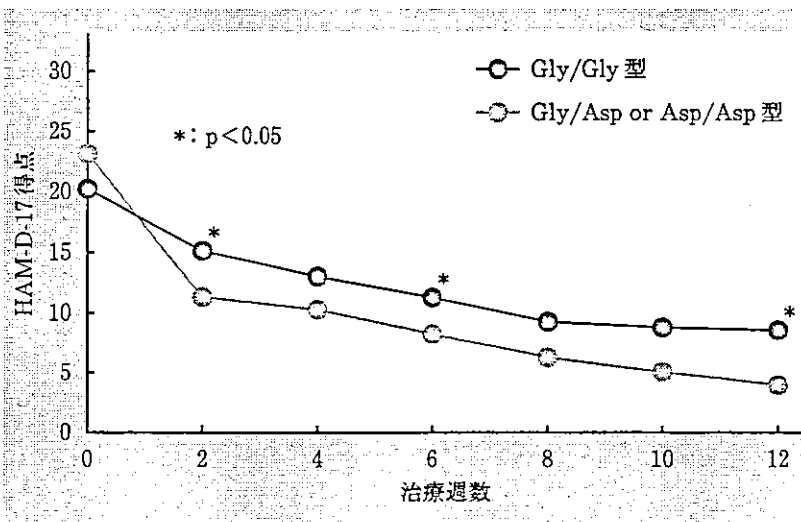


図7 5-HT1A 受容体遺伝子多型と臨床効果
5-HT1A 受容体遺伝子の Gly272Asp 多型は FLV の臨床効果に有意な影響を与えた。

中断したが、中断時の FLV 用量と血中濃度は表 1 のように低用量、低濃度であり、中断例の FLV 血中濃度が他と比べて高値であるということにはなかった。これは SSRI については必ずしも高い血中濃度といった薬物動態学的な問題で副作用が生じるのではなく、副作用発現は薬力学的な個体差に依存しているということを示唆するものである。TCA では血中濃度の therapeutic range が示され、その上限を超えると副作用

のリスクが増大することが明らかになっている¹⁾。例えば TCA の濃度が 300 ng/mL、450 ng/mL 以上の場合、せん妄のリスクがそれぞれ、14.7 倍、37 倍にもなるというが¹⁾、SSRI についてはこうした副作用出現を予想する血中濃度は示されておらず、Kasper ら²⁾や Hartter ら³⁾ は嘔気と SSRI 血中濃度に相関は認められないと報告している。本研究でも副作用出現を予測する FLV 血中濃度は検出できなかった。しかし、副

作用である嘔気が治療初期に出現した症例では、その後用量を増加させると嘔気が悪化するということが観察された。実際に、副作用で中断した5例の内、FLV 50 mg で中断となった3例はFLV 25 mg 内服時には嘔気が弱く、または認められなかったが、50 mg に増量して嘔気が強くなり中断となってしまった。これは薬力学的因子による影響で、副作用に対する感受性が高い個体では用量依存的に副作用が増加または悪化することを意味しており、この個体差を明らかにすることが副作用予測において重要である。Takahashiら⁴⁾は5-HTTLPRとtryptophan hydroxylase 遺伝子多型がFLVによる嘔気出現に与える影響を検討したが、有意な関係は認められなかったと報告している。SSRIによる嘔気については5-HT₃受容体の関与が示唆されており、5-HT₃受容体アゴニストがFLVによる嘔気を減弱させるという報告もある^{5), 6)}。したがって今後、5-HT₃受容体の機能からSSRIによる嘔気出現を予測できるかもしれない。

本研究では、嘔気に対する鎮吐薬の投与を行っていないが、副作用による中断率を9.2% (6/65例) に抑えることが可能であった。FLV 25 mg という低用量から治療開始したことによって副作用感受性の高い症例においても、初期に出現する副作用の程度を比較的軽症に抑えることができたのかもしれない。以上の結果から、日常臨床ではできればFLV 25 mg を数日間から1週間投与し、その時点で副作用が出現する症例に関してはその後のFLV増量を慎重に行う必要があることが示唆されており、一方、全く副作用の出現しないような症例に対しては、比較的大胆にその後の増量を行えると考えられる。

2. 重症度と寛解率との関係

うつ病の各症状項目や重症度の違い、メランコリー型、非定型または難治性などのうつ病の様々な病型の違いなどによってSSRIの臨床効果が異なる可能性が示唆されている。従来報告ではSSRIによる寛解率は20～30%程度であったが、本研究での最終寛解率はこれらに比べて高い値である。これは本研究では外来で治療を継続できる比較的軽症のうつ病患者を対象としていること、観察期間が12週と長期であること、

FLV用量を症状改善度に応じて増量したことなどによるのかもしれない。またSSRIはTCAに比べて重症例に対しての効果が低いという報告もあるが、今回の結果ではFLVはHAM-D-17 18点以上の症例に対しても最終寛解率47.5%と高い有効性を示した。症例数が少ないためHAM-D-17 25点以上の重症例に関しての寛解率については更なる検討が必要であるが、十分な観察期間をとり、症状に応じた用量の変更を行えば、SSRIは少なくとも中等症以上のうつ病にも有効であることが示唆されたといえる。これまでの報告では特に入院患者においてTCAがSSRIに勝るとされ、これが「SSRIは重症例に効かない」という根拠になっている。しかし、入院が必要となる症例では、希死念慮などの特定の症状が「重症」であるためであるとか、うつ病以外の精神疾患の併存や、その他の疾患以外の問題が存在するために入院に至る場合が稀ではない。一方、入院に至る症例ではメランコリー型を多く含む可能性が考えられるが、メランコリー型ではSSRI反応性が劣るという報告もある。これらの点を考慮すると、入院＝重症とは一概にはいえず、今後はより厳密に重症度を定義した比較試験が必要であると考えられる。

3. FLVの用量・血中濃度と臨床効果との関係

最終血中濃度71.8 ng/mLで累積寛解率、累積非寛解率がそれぞれ81%、35%となり、この濃度を超える群とこの濃度以下の群では寛解者、非寛解者の割合が有意に異なっていた(図1)。71.8 ng/mL以下では、その時点でのFLVの効果が不十分であっても、今後更なるFLVの増量によって寛解に至る可能性が残されていることを意味している。従って臨床的にはFLV血中濃度を最低71.8 ng/mL以上にすることで、FLVの治療効果を十分に引き出せると考えられる。FLVの用量と血中濃度との間には肝代謝酵素CYPの活性の個体差、喫煙などの要因により、大きなばらつきが見られる(図2)。このため用量150～200 mg/dayでも血中濃度71.8 ng/mL未満の者がいる一方、100 mg/dayで71.8 ng/mL以上の血中濃度を示す者がいることから、治療効果を予測する上で用量はあくまでも目安にすぎないと考えられる。また、本邦ではFLV

の用量は 150 mg までとされているものの、今回の結果では 150 mg からさらに 200 mg へ増量することで寛解に至った症例が 10% (3/30) 存在した。この結果から FLV の最大用量を 150 mg ではなく、200 mg とすることによって FLV の臨床効果を最大化できるのではないかと考えられる。

従来、TCA 治療における TDM の有用性については確立されているが、SSRI については臨床効果を予測する上では役立たず、服薬コンプライアンスの確認や有害な薬物相互作用を避けるために行われるべき程度のものであるといわれてきた^{11, 12)}。Kasper ら⁸⁾ は 32 人の大うつ病患者を対象に FLV およびマプロチリンの血中濃度と臨床効果との関係を検討し、マプロチリンでは血中濃度が高くなるとそれだけ臨床効果が良くなる傾向がみられたが、FLV ではそのような相関はみられなかったと報告している。また、20 人の外来うつ病患者を対象として FLV 300 mg/day を投与し、血中濃度と臨床効果との関係を検討した報告でも、相関は認められなかったという⁹⁾。その他の SSRI についても、血中濃度と臨床効果との関係を分析した報告は数多くあるが、ほとんどが相関を否定している⁷⁾。しかし、これら従来の研究では用量を固定して投与し、その時点で反応した群と反応しない群の血中濃度を検討している。前述のように用量と血中濃度との関係は大きくばらつき、これは CYP 遺伝子多型や喫煙などの影響によって決定されている。従ってこれら要因の影響を考慮せず、血中濃度と臨床効果との関連を検討することは意味がないと考えられる。確かに臨床効果は薬力学的個体差によって決定されていると考えられるが、本研究で示された FLV 血中濃度と臨床効果の間に見られる関係は、薬力学的個体差を予測できない現在、「いったいどの程度まで血中濃度をあげれば FLV の効果を判定してよいのか？」という疑問に答える、新しい視点である。

4. 喫煙、CYP2D6 遺伝子多型が FLV 血中濃度に与える影響

本研究では FLV 臨床効果を最大化する血中濃度が示された。この濃度を早く達成することがうつ病治療の短期化のためには重要と考えられる。しかし、図 2

のように FLV 同一用量において血中濃度は大きくばらついており、寛解に至らなかった症例の中には 1 日用量 200 mg を内服しても非常に血中濃度の低い個体が存在している。こうした例では先に示した十分な効果を得るのに必要最低の血中濃度に達していないため、更なる増量を行うことで新たな臨床効果を得られる可能性を残していると考えられる。こうしたばらつきを事前に予測できれば、その患者に最適な用量設定を行うことができるかもしれない。このばらつきの原因は個体毎の薬物代謝能の違いによるものである。FLV の主代謝は肝臓の CYP1A2、CYP2D6 で行われるといわれ^{10, 11)}、前者は喫煙により誘導され、後者には酵素活性を規定する様々な遺伝子多型が存在することが知られている。本研究では喫煙と CYP2D6 遺伝子多型が FLV 血中濃度に与える影響を検討し、喫煙は FLV 血中濃度を低下させることを明らかにした。一方、CYP2D6 酵素活性を低下あるいは消失させる変異アレルをもつ個体では、FLV 血中濃度が高くなることを確認した。これは先行研究の結果に一致するものであり、日本人においても、ある程度用量から FLV 血中濃度を予測できる可能性があることを示唆したものである。最近 FLV の主代謝は CYP1A2 ではなく、CYP2D6 であるという報告もあり¹²⁾、現時点では FLV 血中濃度を正確に予測することはできないが、将来的には実際の臨床において FLV 代謝能を予測することで、個人毎の処方計画をたてるのが可能となるかもしれない。

5. 5-HTTLPR と臨床効果との関係

薬力学的な個体差から臨床効果を予測できるかについては、うつ病だけではなく統合失調症に対しても同じ視点で盛んに研究が行われているが、まだまだ十分な結果がでていない状況である。SSRI に関しては特に作用部位である serotonin transporter (5-HTT) に注目が集まっている。5-HTT 遺伝子については主として 2 つの遺伝子多型が知られている。ひとつは second intron における VNTR (variable number of tandem repeats) で、17 bp の繰り返しが 9, 10, 11, 12 回のアレルが存在する。もうひとつはプロモーター領域における、約 22 bp の配列を基本単位と

した挿入/欠損多型で、主として14回(S型)と16回(L型)の繰り返しが知られている。抗うつ薬の臨床効果に有意な影響を及ぼすという報告がなされているものは、ほとんど後者のプロモーター領域における多型(5-HTTLPR)である。Leschら¹³⁾が*in vitro*で、L型はS型の2倍以上転写活性が強いと報告したことに端を発し、5-HTTLPRが注目されることとなった。また、この研究結果からS型を有する個体はSSRIが効きにくいという仮説が立てられ、これを支持する幾つかの研究が報告されてきた。Smeraldiら¹⁴⁾は妄想を伴ったうつ病患者では、L型をもつ個体でFLVに対する反応性が良好であったと報告し、Zanardiら¹⁵⁾もパロキセチンについて同様の報告をしている。Pollockら¹⁶⁾は60歳以上のうつ病患者に対してパロキセチンを使用し、L/L型の患者でパロキセチンの抗うつ効果発現が早かったと報告している。一方、韓国人ではS/Sを有する群で有意にパロキセチンの効果が優れていたとの報告¹⁷⁾があり、我が国でもS型を有する個体でFLVの効果が良好であったと報告されている¹⁸⁾。アジア人種では欧米と逆の結果となり注目を集めたが、同じアジア人種である中国人大うつ病患者を対象とした報告では、L/L型でfluoxetineの効果が良好であったという¹⁹⁾。

本研究の結果では5-HTTLPRとFLVの臨床効果には相関が認められず、先行研究の結果とは異なるものであった。5-HTTLPRのアレル頻度には人種差が知られており、白人に比べて日本人を含むアジア人種ではS型を有する割合が高く、そのアレル頻度は4:1である。このため、FLVが国内に導入された当初、日本人ではSSRIが効きにくいと言われてきたが、本研究の結果を考えても、少なくとも欧米人と比べて日本人でFLVの効果が劣るということはないと考えられる。最近5-HTTLPRについては、14回、16回繰り返し以外のvariantsが存在するだけでなく、14回、16回繰り返しのなかにもそれぞれsubtypeがあり、それぞれ転写活性に違いが認められたという報告がある^{20), 21)}。また、L/S型、S/S型をもつ個体では、L/L型と比べて血小板における5-HTTの機能が低下していたとの報告があり²²⁾、L/S型とS/S型では5-HTT発現に与える影響にあまり違いがない可能性も示唆されてい

る。症例数が少なく、L/L型が2名しかエントリーできなかったために、本研究ではL/L型とS/S型との比較は行っていない。こうした分析方法上の問題が5-HTTLPRの影響について結果をばらつかせているのかもしれない。

6. 5-HT1A受容体遺伝子多型と臨床効果との関係

5-HT1A受容体遺伝子にはいくつかの遺伝子変異が見つまっているが、我々の知る限りこれらが抗うつ薬への治療反応性に与える影響を検討した報告はない。本研究ではAspアレルはHAM-D-17の改善の仕方に影響を与え、特に治療2週目においてAspアレルをもつ個体ではHAM-D-17改善率が特に良好であった。抗うつ薬の投与開始から臨床効果発現までにある程度の時間経過を必要とすることは臨床的に大きな問題であるが、近年シナプス細胞体における5-HT1A自己受容体がSSRIの治療効果発現の遅れと関係している可能性が示唆されている。また、ピンドロールなどの5-HT1A受容体アンタゴニストの併用により、SSRIの臨床効果発現が早まる可能性もいくつかの論文で報告されている。今回の結果はGly272Asp多型が5-HT1A受容体機能に影響を与え、その結果FLVに対する初期治療反応性が変化したと考えられる。しかしGly272Asp多型は日本人サンプルで同定された変異であり²³⁾、人種差やその機能についての詳細は明らかになっていない。またAspアレルをもつ個体は8名と少ないため、今後更なる検討が必要である。

V. おわりに

FLVの血中濃度と臨床効果との関係を検討し、薬物動態学的因子がある程度臨床効果を予測するうえで有用であることを示した。しかし、こうした薬物動態学的知見はFLVの臨床効果を最大にするために考慮すべき要因であるが、治療開始時に薬剤選択を行う上では役立たない。その点で5-HT1A受容体遺伝子多型と臨床効果との関係は非常に興味深いものであるが、症例数が少なく予備的なものであり、今後の検討が必要である。

文 献

- 1) Preskorn SH : Pharmacokinetics of antidepressants: why and how they are relevant to treatment. *J Clin Psychiatry* 54 (Suppl) : 14-34, 1993
- 2) Kasper S, Fuger J, Moller HJ : Comparative efficacy of antidepressants. *Drugs* 43 (Suppl 2) : 11-23, 1992
- 3) Hartter S, Wetzel H, Hammes E, et al : Serum concentrations of fluvoxamine and clinical effects. A prospective open clinical trial. *Pharmacopsychiatry* 311 : 99-200, 1998
- 4) Takahashi H, Yoshida K, Ito K, et al : No association between the serotonergic polymorphisms and incidence of nausea induced by fluvoxamine treatment. *Eur Neuropsychopharmacol* 12 (5) : 477-481, 2002
- 5) Bailey JE, Potokar JP, Coupland NJ : The 5-HT3 antagonist ondansetron reduces gastrointestinal side effects induced by a specific serotonin reuptake inhibitor in man. *J Psychopharmacol* 9 : 137-141, 1995
- 6) Bergeron R, Blier P : Cisapride for the treatment of nausea produced by selective serotonin reuptake inhibitors. *Am J Psychiatry* 151 : 1084-1086, 1994
- 7) Rasmussen BB, Brosen K : Is therapeutic drug monitoring a case for optimizing clinical outcome and avoiding interactions of the selective serotonin reuptake inhibitors? *Ther Drug Monit* 22 : 143-154, 2000
- 8) Kasper S, Dotsch M, Kick H, et al : Plasma concentrations of fluvoxamine and maprotiline in major depression : implications on therapeutic efficacy and side effects. *Eur Neuropsychopharmacol* 3 : 13-21, 1993
- 9) De Wilde JE, Mertens C, Wakeline JS : Clinical trials of fluvoxamine vs chlorimipramine with single and three times daily dosing. *Br J Clin Pharmacol* 15 (suppl) : 427S-431S, 1983
- 10) Carrillo JA, Dahl ML, Svensson JO, et al : Disposition of fluvoxamine in humans is determined by the polymorphic CYP2D6 and also by the CYP1A2 activity. *Clin Pharmacol Ther* 60 : 183-190, 1996
- 11) Spigset O, Carleborg L, Hedenmalm K, et al : Effect of cigarette smoking on fluvoxamine pharmacokinetics in humans. *Clin Pharmacol Ther* 58 : 399-403, 1995
- 12) Spigset O, Axelsson S, Norstrom A, et al : The major fluvoxamine metabolite in urine is formed by CYP2D6. *Eur J Clin Pharmacol* 57 : 653-658, 2001
- 13) Lesch KP, Bengel D, Heils A, et al : Association of anxiety-related traits with a polymorphism in the serotonin transporter gene regulatory region. *Science* 274 : 1527-1531, 1996
- 14) Smeraldi E, Zanardi R, Benedetti F, et al : Polymorphism within the promoter of the serotonin transporter gene and antidepressant efficacy of fluvoxamine. *Mol Psychiatry* 3 : 508-511, 1998
- 15) Zanardi R, Benedetti F, Di Bella D, et al : Efficacy of paroxetine in depression is influenced by a functional polymorphism within the promoter of the serotonin transporter gene. *J Clin Psychopharmacol* 20 : 105-107, 2000
- 16) Pollock BG, Ferrel RE, Mulsant BH, et al : Allelic variation in the serotonin transporter promoter affects onset of paroxetine treatment response in late-life depression. *Neuropsychopharmacology* 23 : 587-590, 2000
- 17) Kim DK, Lim SW, Lee S, et al : Serotonin transporter gene polymorphism and antidepressant response. *Neuroreport* 11 : 215-219, 2000
- 18) Yoshida K, Ito K, Sato K, et al : Influence of the serotonin transporter gene-linked polymorphic region on the antidepressant response to fluvoxamine in Japanese depressed patients. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 26 : 383-386, 2002
- 19) Yu YW, Tsai SJ, Chen TJ, et al : Association study of the serotonin transporter promoter polymorphism and symptomatology and antidepressant response in major depressive disorders. *Mol Psychiatry* 7 : 1115-1119, 2002
- 20) Nakamura M, Ueno S, Sano A, et al : The human serotonin transporter gene linked polymorphism (5-HTTLPR) shows ten novel allelic variants. *Mol Psychiatry* 5 : 32-38, 2000
- 21) Sakai K, Nakamura M, Ueno S, et al : The si-