



Research report

Effect of genetic polymorphism on the metabolism of endogenous neuroactive substances, progesterone and *p*-tyramine, catalyzed by CYP2D6

Toshiro Niwa^{a,1}, Toyoko Hiroi^a, Daisuke Tsuzuki^b, Shigeo Yamamoto^b, Shizuo Narimatsu^b, Tsuyoshi Fukuda^c, Junichi Azuma^c, Yoshihiko Funae^{a,*}

^aDepartment of Chemical Biology, Osaka City University Medical School, 1-4-3 Asahimachi, Abeno-ku, Osaka 545-8585, Japan

^bLaboratories of Health Chemistry, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Okayama University, 1-1-1 Tsushima-naka, Okayama 700-8530, Japan

^cClinical Evaluation of Medicines and Therapeutics, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Osaka University, 1-6 Yamada-oka, Suita, Osaka 565-0871, Japan

Accepted 26 June 2004

Available online 3 August 2004

Abstract

Metabolic activities toward endogenous substrates in the brain, progesterone and *p*-tyramine, by cytochrome P450 2D6.2 (CYP2D6.2), CYP2D6.10A, CYP2D6.10C, and P34S, G42R, R296C, and S486T mutants expressed in recombinant *Saccharomyces cerevisiae* were compared with those by CYP2D6.1 (wild-type) in order to clarify the effects of genetic polymorphism of CYP2D6 on the metabolism of neuroactive steroids and amines in the brain. For the 6 β -hydroxylation of progesterone, the V_{\max} values for CYP2D6.2, CYP2D6.10A, and the P34S and G42R mutants, were less than half of those for CYP2D6.1, and CYP2D6.10C had a higher K_m and a lower V_{\max} than the wild-type. The V_{\max}/K_m values for CYP2D6.10A, CYP2D6.10C, and the P34S and G42R mutants were 12–31% of that for CYP2D6. The 16 α -hydroxylation and 21-hydroxylation of progesterone by CYP2D6.10A, CYP2D6.10C, and the P34S and G42R mutants were not detected, and the R296C mutant had a higher K_m for the 16 α -hydroxylation and a lower V_{\max} for the 21-hydroxylation than those for CYP2D6.1. For dopamine formation from *p*-tyramine, the K_m values for CYP2D6.2 and the R296C mutant were higher than those for CYP2D6.1, CYP2D6.10A, and CYP2D6.10C had a higher K_m and a lower V_{\max} than the wild-type. The V_{\max}/K_m values for CYP2D6.2, CYP2D6.10A, CYP2D6.10C and the P34S, G42R and R296C mutants were less than 45% of those for the wild-type. These results suggest the possibility that the polymorphism of CYP2D6, including *CYP2D6*2*, *CYP2D6*10* and *CYP2D6*12*, might affect an individual behavior and the central nervous system through endogenous compounds, such as neuroactive steroids and tyramine, in the brain.

© 2004 Elsevier B.V. All rights reserved.

Theme: Other systems of the CNS

Topic: Brain metabolism and blood flow

Keywords: CYP2D6; Progesterone hydroxylation; Dopamine formation from *p*-tyramine; Human brain; Polymorphism

1. Introduction

Cytochrome P450s (P450 or CYP) comprise a superfamily of enzymes that catalyze the oxidation of a wide

variety of xenobiotic chemicals including drugs, carcinogens, and steroids [10,12,35]. In spite of the fact that CYP2D6 constitutes only 2–9% of constitutively expressed hepatic P450s among humans [17,36], it plays important roles in the metabolism of a wide range of therapeutic agents including drugs affecting the central nervous system [5,9,30,35]. Interestingly, CYP2D6 is expressed in the brain, especially the midbrain [27], as well as in the liver. The reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR)

* Corresponding author. Tel.: +81 6 6645 3915; fax: +81 6 6645 3917.

E-mail address: funae@med.osaka-cu.ac.jp (Y. Funae).

¹ Current address: Fujisawa Pharmaceutical Co., Ltd., 3-4-7 Doshomachi, Chuo-ku, Osaka 541-8514, Japan.

product from CYP2D4, the predominant CYP2D isoform in rat brain, is more abundant in cerebellum, striatum, pons, and medulla oblongata [21]. However, the physiological and pharmacological functions of CYP2D isoforms in the brain are still unknown.

Progesterone not only is one of the female steroid hormones secreted from the placenta and corpus luteum but also has various functions in the central nervous system as a neurosteroid in the brain [2,19]. For example, progesterone has the ability to increase myelin-specific protein levels and to enhance γ -aminobutyric acid (GABA)-induced chloride current [19,39], and the progesterone metabolites, 3 α -hydroxy-5 α -pregnan-20-one (allopregnanolone) and 3 α ,5 α -tetrahydrodeoxycorticosterone, act as positive allosteric modulators of GABA type A receptors, and thereby reduce brain excitability and elicit sedative-hypnotic, anxiolytic, and anticonvulsant effects [32]. Recently, we have shown that CYP2D6 catalyzes the 2 β -, 6 β -, 16 α -, and 21-hydroxylation of progesterone [15,29], and that progesterone 2 β - and 21-hydroxylation activities in rat brain microsomes are completely inhibited by CYP2D antibodies, suggesting that CYP2D may be involved in the regulation (metabolism and/or synthesis) of endogenous neuroactive steroids, such as progesterone and its derivatives, in the brain [15]. Additionally, we have reported that the 21-hydroxylation of allopregnanolone as well as progesterone and 17 α -progesterone is catalyzed by CYP2D isoforms in the brain [9,20].

Tyramine is not only an exogenous compound, which is found in fermented foods such as cheese and wine, but also an endogenous compound, which exists in the brain. Tyramine is especially present in the basal ganglia or limbic systems, which are thought to be related to an individual behavior and emotion [33], and dopamine is a neurotransmitter and a precursor of norepinephrine and epinephrine [14]. Previous studies conducted in this laboratory demonstrated that dopamine is formed from *p*-tyramine as well as *m*-tyramine by CYP2D6 [14].

CYP2D6 is one of the most extensively characterized polymorphic drug-metabolizing enzymes; the CYP2D6 gene is highly polymorphic, with more than 70 allelic variants [4,6,26]. Interestingly, it has been shown that CYP2D6 polymorphism has some relationship with an individual behavior [3,24]. Five to ten percent of Caucasians [1] and less than 1% of Japanese and Chinese [16] lack in vivo metabolic activity toward CYP2D6 substrates estimated by use of the urinary metabolic ratio, and are referred to as poor metabolizers. The CYP2D6*12 allele, which is associated with a deficient activity and consequently with the poor metabolizer phenotype, carries three functional mutations, G42R, R296C, and S486T [6,26]. On the other hand, in spite of the very low prevalence of CYP2D6 poor metabolizers in Asians, these groups display less CYP2D6 activity, and this has been attributed to the high frequency of the CYP2D6.10 enzyme [40]. That is, the CYP2D6*10 allele, including both CYP2D6*10A and CYP2D6*10B

variants, is widely observed in Japanese (31–38%) [22,28] and Chinese (51%) [18], and has two amino acid substitutions, P34S and S486T [6,26]. Additionally, CYP2D6*10C has the gene conversion in exon 9 derived from CYP2D7 and has 13 base substitutions more than CYP2D6*10B [18]. Fukuda et al. [8] reported that the K_m values of CYP2D6.10A and CYP2D6.10C for bufuralol 1'-hydroxylation and venlafaxine *O*-demethylation were higher than those of CYP2D6.1, and Tsuzuki et al. [37] reported that the substitution G42R increased the K_m and decreased the V_{max} for debrisoquine 4-hydroxylation, whereas it increased both V_{max} and K_m for bunitrolol 4-hydroxylation. Recent studies have shown that CYP2D6.10A had a higher K_m and/or a lower V_{max} than CYP2D6.1 for various exogenous substrates, including dextromethorphan, methamphetamine, and amitriptyline [34]. On the other hand, it has been reported that the R296C and S486T substitution (CYP2D6.2) affected only minimally the metabolism of dextromethorphan, bufuralol, and debrisoquine [25]. Furthermore, a number of investigators have proposed the key residues of CYP2D6 for exogenous substrates containing a basic nitrogen [7,13,38]. However, the key residues of CYP2D6 for the metabolism of other substrates, including the endogenous chemicals, which exist in the brain, and non-nitrogen containing compounds, are still unknown.

The present study was designed to elucidate the effects of CYP2D6 polymorphism, especially P34S, G42R, R296C, and S486T substitutions such as CYP2D6.2, CYP2D6.10A, and CYP2D6.10C, on CYP2D6 activities toward endogenous substrates in the brain, progesterone and *p*-tyramine.

2. Materials and Methods

2.1. Materials

Progesterone and 16 α - and 21-hydroxyprogesterone were obtained from Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA). 6 β -Hydroxyprogesterone, dopamine hydrochloride, and NADPH were purchased from Steraloids (Newport, RI, USA), Research Biochemicals International (Natick, MA, USA), and Oriental Yeast (Tokyo, Japan), respectively. *p*-Tyramine and other reagents and organic solvents were obtained from Wako Pure Chemical Industries (Osaka, Japan).

2.2. Microsomal fraction specifically expressing human P450

Cloning of human CYP2D6 cDNA, site-directed mutagenesis, the expression of mutated cDNA in recombinant *Saccharomyces cerevisiae* and the preparation of microsomal fractions from the cells were carried out according to methods described previously [8,37]. With these methods, we prepared CYP2D6.2 (R296C/S486T), CYP2D6.10A (P34S/S486T), CYP2D6.10C, and four mutant proteins

with single amino acid substitutions of P34S, G42R, R296C, and S486T.

2.3. Assay of progesterone hydroxylase activity

Progesterone hydroxylase activity was measured by the method described previously [15] with a minor modification. The incubation mixture consisted of microsomes from cells containing recombinant P450s (10–20 pmol/ml), 5, 10, 20, 50, 100, or 200 μ M progesterone, 1 mM NADPH, and 100 mM potassium phosphate buffer (pH 7.4) in a final volume of 0.5 ml. After a 3-min preincubation at 37 °C, the reaction was started by adding NADPH. Incubation was carried out at 37 °C for 10 min and the reaction was terminated by the addition of 2 ml of ethyl acetate. The mixture was shaken and centrifuged at 1900 \times g for 5 min. The organic phase (1.5 ml) was evaporated under reduced pressure, and residue was dissolved immediately in 250 μ l of 50% methanol. The HPLC system consisted of a Tosoh model DP-8020 pump (Tosoh, Tokyo, Japan), Tosoh model CO-8020 column heater, Tosoh model AS-8021 autosampler, an SPD-6-AV UV-detector (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan) set at 240 nm, and an analytical column TSK-gel ODS-80Ts (5 μ m, 2.0 \times 150 mm; Tosoh). The column temperature was set at 40 °C. The mobile phase was eluted at a flow rate of 0.3 ml/min as follows. The mobile phase was water as eluent A and methanol as eluent B, and the initial eluent profile was 50% B and then the eluent B was linearly increased to 65% over 20 min.

2.4. Assay of dopamine formation from *p*-tyramine

Dopamine formation from *p*-tyramine was measured by the method described previously [14] with a minor modification. The incubation mixture consisted of microsomes from cells containing recombinant P450s (10–20 pmol/ml), 0.05, 0.1, 0.2, 0.5, 1, or 2 mM, 0.05, 0.1, 0.2, 0.5, 1, 2, or 4 mM (for the G42R mutant), or 0.05, 0.1, 0.2, 0.5, 1, 2, 4, 10, or 20 mM (for CYP2D6.10C) *p*-tyramine, 1 mM NADPH, and 100 mM potassium phosphate buffer (pH 7.4) in a final volume of 0.5 ml. After a 3-min preincubation at 37 °C, the reaction was started by adding NADPH. Incubation was carried out at 37 °C for 10 min and the reaction was terminated by the addition of 20 μ l of 60% perchloric acid. After the mixtures were shaken and centrifuged at 1900 \times g for 10 min, dopamine in the supernatant was determined by HPLC. The HPLC system described above was used except that a Tosoh model FS-8011 fluorometric detector, and an analytical column TSK-gel ODS-120T (5 μ m, 4.6 \times 250 mm; Tosoh) were employed. The fluorescence intensity was determined at an excitation wavelength of 280 nm and emission wavelength of 340 nm. The column temperature was set at 40 °C, and flow rate was 0.7 ml/min. The mobile phase was a 6.8:93.2 (v/v) mixture of acetonitrile and an aqueous solution containing 160 mM ammonium dihydrogen phos-

Table 1
Kinetic parameters for the progesterone hydroxylation by CYP2D6 and its variants

P450	6 β -Hydroxylation			16 α -Hydroxylation			21-Hydroxylation		
	K_m (μ M)	V_{max} (nmol/min/nmol P450)	V_{max}/K_m (μ l/min/nmol P450)	K_m (μ M)	V_{max} (nmol/min/nmol P450)	V_{max}/K_m (μ l/min/nmol P450)	K_m (μ M)	V_{max}/K_m (nmol/min/nmol P450)	V_{max}/K_m (μ l/min/nmol P450)
CYP2D6.1	23 \pm 5	0.39 \pm 0.03	17.3 \pm 4.2	16 \pm 8	0.079 \pm 0.013	5.0 \pm 2.7	34 \pm 23	0.12 \pm 0.03	3.5 \pm 2.5
CYP2D6.2	19 \pm 8	0.19 \pm 0.02	9.8 \pm 4.3	17 \pm 8	0.068 \pm 0.010	4.0 \pm 1.8	49 \pm 21	0.091 \pm 0.018	1.8 \pm 0.9
(R296C/S486T)									
CYP2D6.10A	11 \pm 7	0.061 \pm 0.010	5.4 \pm 3.3	–	<0.02 ^a	–	–	<0.02 ^a	–
(P34S/S486T)									
CYP2D6.10C	50 \pm 37	0.10 \pm 0.03	2.0 \pm 1.6	–	<0.02 ^a	–	–	<0.02 ^a	–
P34S	36 \pm 15	0.19 \pm 0.03	5.3 \pm 2.4	–	<0.02 ^a	–	–	<0.02 ^a	–
G42R	35 \pm 21	0.068 \pm 0.017	2.0 \pm 1.3	–	<0.02 ^a	–	–	<0.02 ^a	–
R296C	44 \pm 6	0.38 \pm 0.02	8.6 \pm 1.2	53 \pm 21	0.11 \pm 0.02	2.1 \pm 0.9	15 \pm 8	0.053 \pm 0.008	3.6 \pm 2.0
S486T	21 \pm 6	0.29 \pm 0.02	13.8 \pm 3.7	22 \pm 11	0.089 \pm 0.015	4.1 \pm 2.2	21 \pm 9	0.073 \pm 0.011	3.6 \pm 1.6

Progesterone at 5–200 μ M was incubated with CYP2D6 and its variants (10–20 pmol/ml) and 1 mM NADPH at 37 °C for 10 min after a 3-min preincubation. Values are the means \pm S.D. of the data set using a nonlinear kinetic analysis from mean values obtained in duplicate at each substrate concentration.

^a The activity at 5–500 μ M as a substrate concentration was <0.02 nmol/min/nmol P450.

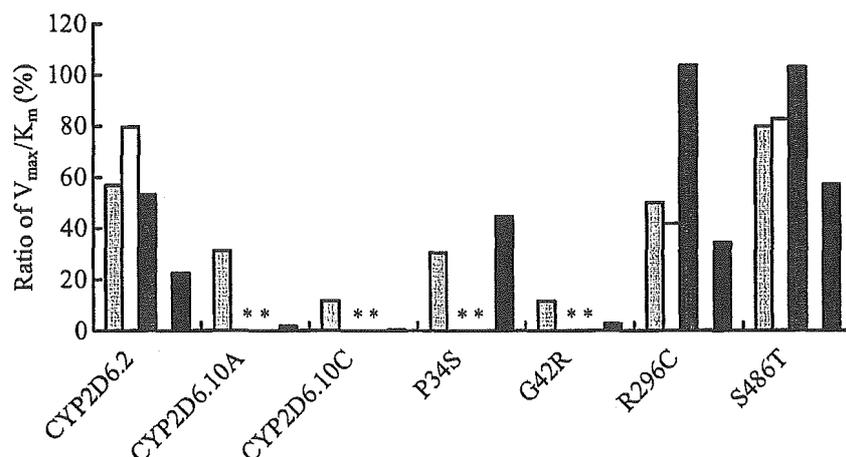


Fig. 1. Ratio of V_{max}/K_m for the metabolism of progesterone and *p*-tyramine by CYP2D6 variants. Ratios of V_{max}/K_m for 6 β -hydroxylation (shaded column), 16 α -hydroxylation (open column), 21-hydroxylation (striped column) of progesterone and dopamine formation from *p*-tyramine (closed column) were calculated by dividing the V_{max}/K_m for the variant by that for CYP2D6.1. *The 16 α -hydroxylated and 21-hydroxylated metabolites for CYP2D6.10A, CYP2D6.10C and the P34S and G42R mutants were not detected (less than 0.02 nmol/min/nmol P450) even using 500 μ M progesterone.

phate, 60 mM citric acid, 150 mM disodium EDTA, 10 mM dibutylamine, and 6 mM sodium 1-octanesulfonate.

2.5. Data analysis

In preliminary experiments, the linearity of the reaction with the protein concentration and incubation time was confirmed for each set of assay conditions. All data were analyzed using the mean of duplicate determinations. V_{max} and K_m values for progesterone hydroxylation and dopamine formation from *p*-tyramine were determined by fitting to Michaelis-Menten kinetics by nonlinear regression analysis (Microcal Origin, version 5.0J, Origin LabCorp, Northampton, MA, USA).

3. Results

3.1. Progesterone hydroxylation by CYP2D6 and its variants

Kinetic parameters for progesterone hydroxylase activities of CYP2D6 and its variants are summarized in Table 1.

The V_{max} value of CYP2D6.1 was highest for the 6 β -hydroxylation followed by 21-hydroxylation and 16 α -hydroxylation, whereas there were no marked differences between the K_m values for the three reactions. Although the K_m values for the 6 β -hydroxylation by the CYP2D6 variants except for CYP2D6.10C were similar to those of CYP2D6.1, the V_{max} values for CYP2D6.2, CYP2D6.10A, and the P34S and G42R mutants, were less than half of those for CYP2D6.1. CYP2D6.10C had a higher K_m and a lower V_{max} than CYP2D6.1, whereas the V_{max} values as well as the K_m values for the R296C and S486T mutants were similar to those for the wild-type. The V_{max}/K_m values for CYP2D6.10A, CYP2D6.10C, and the P34S and G42R mutants were 12–31% of that for CYP2D6.1 (Fig. 1).

The 16 α -hydroxylated and 21-hydroxylated metabolites for CYP2D6.10A, CYP2D6.10C, and the P34S and G42R mutants were not detected (less than 0.02 nmol/min/nmol P450) even using 500 μ M progesterone. In addition, the K_m value for the 16 α -hydroxylation and the V_{max} value for the 21-hydroxylation by the R296C mutant were 333% and 45%, respectively, of those for CYP2D6.1.

Table 2
Kinetic parameters for the dopamine formation from *p*-tyramine by CYP2D6 and its variants

P450	K_m (mM)	V_{max} (nmol/min/nmol P450)	V_{max}/K_m (μ l/min/nmol P450)
CYP2D6.1	0.13 \pm 0.02	8.0 \pm 0.3	61 \pm 9
CYP2D6.2 (R296C/S486T)	0.33 \pm 0.07	4.5 \pm 0.3	14 \pm 3
CYP2D6.10A (P34S/S486T)	1.0 \pm 0.4	1.1 \pm 0.2	1.1 \pm 0.5
CYP2D6.10C	16.2 \pm 0.5	3.9 \pm 0.1	0.24 \pm 0.01
P34S	0.91 \pm 0.13	25.0 \pm 1.6	27 \pm 4
G42R	1.6 \pm 0.3	2.6 \pm 0.2	1.6 \pm 0.4
R296C	0.28 \pm 0.01	5.9 \pm 0.1	21 \pm 1
S486T	0.21 \pm 0.05	7.4 \pm 0.5	35 \pm 8

p-Tyramine at 50–2000 μ M, 50–4000 μ M (for G42R mutant) or 50–40000 μ M (for CYP2D6.10C) was incubated with CYP2D6 and its variants (10–20 pmol/ml) and 1 mM NADPH at 37 $^{\circ}$ C for 10 min after a 3-min preincubation. Values are the means \pm S.D. of the data set using a nonlinear kinetic analysis from mean values obtained in duplicate at each substrate concentration.

3.2. Dopamine formation from *p*-tyramine by CYP2D6 and its variants

Kinetic parameters for dopamine formation from *p*-tyramine by CYP2D6 and its variants are shown in Table 2. Although a mutation at 486 (S486T) had no marked effect on the K_m and V_{max} values, the K_m values for CYP2D6.2 and the R296C mutant were 2.1–2.5 times higher than those for CYP2D6.1 without affecting the V_{max} values. CYP2D6.10A had an 8-fold higher K_m and a 7-fold lower V_{max} than CYP2D6.1, and CYP2D6.10C exhibited an 124-fold higher K_m and a 51% reduction in V_{max} relative to the wild type. The P34S mutant had a 7-fold higher K_m and a 3-fold higher V_{max} than CYP2D6.1, and the G42R mutant had a 12-fold higher K_m and a 3-fold lower V_{max} than the wild type. Therefore, the V_{max}/K_m for CYP2D6.2 and the P34S and R296C mutants were 23–45% of those for CYP2D6.1, and the values for CYP2D6.10A, CYP2D6.10C and the G42R mutant, were 0.3–2.6% of those for the wild-type (Fig. 1).

4. Discussion

Progesterone exists in the brain and has various functions in the nervous system as a neurosteroid [2,19]. Although it is well known that CYP3A4 is one of the major metabolizing enzymes for progesterone hydroxylation in human liver [35], we have reported that progesterone 2 β - and 21-hydroxylation in rat brain microsomes are catalyzed by CYP2D [15] and that the 21-hydroxylation of allopregnanolone as well as progesterone and 17 α -progesterone is catalyzed by CYP2D isoforms in the brain [9,20], suggesting that CYP2D is involved in the regulation of endogenous neuroactive steroids in brain tissues. In addition, tyramine, one of the trace amines, is present in the brain, especially in the basal ganglia or limbic systems, which are thought to be related to an individual behavior and emotion [33], and CYP2D6 polymorphism has some relationship with an individual behavior [3,24]. In this study, we have demonstrated that the V_{max} and/or K_m values for the metabolism of progesterone and *p*-tyramine by CYP2D6.2, CYP2D6.10A, and CYP2D6.10C were different from those for CYP2D6.1, and that the G42R, P34S, and R296C substitutions affected these metabolic activities (Tables 1 and 2). Additionally, the V_{max}/K_m values for all of the variants except for progesterone 16 α -hydroxylation by CYP2D6.2 and progesterone hydroxylations by the S486T mutant were less than 57% of those for CYP2D6.1 (Fig. 1). The G42R substitution is found in a CYP2D6*12 allele in combination with R296C and S486T [6,26]. Furthermore, it has been shown that, when an individual behavior was compared between extensive and poor metabolizers of debrisoquine, a typical probe substrate of CYP2D6, using the Eysenck personality questionnaire and the Karolinska Scales of personality inventory in 769 healthy Swedes, poor metabolizers had

significantly lower scores in the Karolinska psychasthenia scales and a higher frequency of extreme responses than extensive metabolizer [3]. Comparison of the debrisoquine hydroxylation capacity and the Karolinska scales of personality in 225 healthy subjects in Spain indicated that poor metabolizers of debrisoquine are more anxiety-prone and less successfully socialized than extensive metabolizers [24]. These studies suggest that there may be a relationship between an individual behavior and the activity of the enzyme hydroxylating debrisoquine (CYP2D6). Although the patients are phenotyped but not genotyped in these papers, it has been reported that the study to assess the relationship between CYP2D6 genotype (including CYP2D6*10 allele) and debrisoquine phenotype in African-Americans and Caucasians in Los Angeles shows the positive identification of 88% of phenotypic poor metabolizers by genotyping [23]. Therefore, the present results suggest that the polymorphism of CYP2D6, including CYP2D6*2, CYP2D6*10 and CYP2D6*12, might affect not only the metabolic activities toward exogenous compounds in the liver [25,34,37] but also an individual behavior and the nervous system through endogenous compounds, such as neuroactive steroids and tyramine, in the brain.

For all of the metabolic activities investigated, the V_{max} values for the G42R mutant were lower than those for CYP2D6.1 (wild-type), and the K_m values for the mutant were higher than those for the wild-type except for progesterone 6 β -hydroxylation. On the other hand, the substitution at Pro34 decreased the V_{max} value for progesterone 6 β -hydroxylation and increased both the V_{max} and K_m values for dopamine formation from *p*-tyramine. Tsuzuki et al. [37] reported that the G42R substitution but not the P34S substitution increased K_m and decreased V_{max} for debrisoquine 4-hydroxylation, whereas the G42R substitution increased both V_{max} and K_m and the P34S substitution gave only an increased K_m for bunitrolol 4-hydroxylation. Therefore, the present findings suggest that Gly42 is essential for the metabolic activities toward not only exogenous substrate but also endogenous compounds such as progesterone, a non-nitrogen containing compounds, and *p*-tyramine, and that the P34S substitution also affects the metabolism of progesterone and *p*-tyramine.

Gotoh [11] predicted six potential substrate recognition sites (SRS) in the CYP2 family, and the SRSs span residues 100–125, 211–218, 239–247, 294–312, 367–377 and 477–484 for CYP2D6.1. In this study, although the metabolic activities were affected only minimally by the S486T substitution, a mutation of 296 (R296C) of CYP2D6 decreased the V_{max}/K_m for progesterone hydroxylations and dopamine formation from *p*-tyramine. Although it has been reported that the R296C mutation is of little importance for debrisoquine 4-hydroxylation and bunitrolol 4-hydroxylation [37], it is possible to speculate that Arg296, which is included in SRS 4, also might be important to some extent to the metabolism of progesterone and tyramine.

Similarly, V_{\max} , K_m and V_{\max}/K_m of debrisoquine 4-hydroxylation and bunitrolol 4-hydroxylation by CYP2D6.2 (R296C/S486T) are similar to those by CYP2D6.1 [37], whereas consistent changes in the kinetic characterizing dextromethorphan, bufuralol, and debrisoquine biotransformation by CYP2D6.2 relative to CYP2D6.1 are observed for all three substrates, with an increase in K_m and V_{\max} such that V_{\max}/K_m values are the same or slightly greater for CYP2D6.2 [34]. In addition, it has been reported that the V_{\max}/K_m of CYP2D6.2 toward dextromethorphan, fluoxetine, and codeine decreased levels to less than 35% that of CYP2D6.1 [41], and that the V_{\max} for codeine *O*-demethylation catalyzed by CYP2D6.2 are significantly higher than for CYP2D6.1 [31]. In the present study, the V_{\max}/K_m values for dopamine formation from *p*-tyramine by CYP2D6.2 were 23% of those for CYP2D6.1, whereas the K_m and V_{\max} values for the 21-hydroxylation and 16 α -hydroxylation by CYP2D6.2 were comparable with those for CYP2D6.1. Therefore, it is possible to speculate that the effect of the R296C/S486T variant is substrate-dependent.

In summary, our results suggest that the polymorphism of CYP2D6 might influence an individual behavior and the nervous system through endogenous compounds, including neuroactive steroids and tyramine, in the brain.

References

- [1] G. Alvan, P. Bechtel, L. Iselius, U. Gundert-Remy, Hydroxylation polymorphisms of debrisoquine and mephenytoin in European populations, *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 39 (1990) 533–537.
- [2] E.E. Baurieu, Neurosteroids: a new function of the brain, *Psychoneuroendocrinology* 23 (1998) 963–987.
- [3] L. Bertilsson, C. Alm, C. De Las Carreras, J. Widen, G. Edman, D. Schalling, Debrisoquine hydroxylation polymorphism and personality, *Lancet* ii (1989) 555.
- [4] L. Bertilsson, M.-L. Dahl, P. Dalen, A. Al-Shurbaji, Molecular genetics of CYP2D6: Clinical relevance with focus on psychotropic drugs, *Br. J. Clin. Pharmacol.* 53 (2002) 111–122.
- [5] S. Cholerton, A.K. Daly, J.R. Idle, The role of individual human cytochromes P450 in drug metabolism and clinical response, *Trends Pharmacol. Sci.* 13 (1992) 434–439.
- [6] A.K. Daly, J. Brockmoller, F. Broly, M. Eichelbaum, W.E. Evans, F.J. Gonzalez, J.-D. Huang, J.R. Idle, M. Ingelman-Sundberg, T. Ishizaki, E. Jacqz-Aigrain, U.A. Meyer, D.W. Nebert, V.M. Steen, C.R. Wolf, U.M. Zanger, Nomenclature for human CYP2D6 alleles, *Pharmacogenetics* 6 (1996) 193–201.
- [7] S.W. Ellis, G.P. Hayhurst, G. Smith, T. Lightfoot, M.M.S. Wong, A.P. Simula, M.J. Ackland, M.J.E. Sternberg, M.S. Lennard, G.T. Tucker, C.R. Wolf, Evidence that aspartic acid 301 is a critical substrate-contact residue in the active site of cytochrome P450 2D6, *J. Biol. Chem.* 270 (1995) 29055–29058.
- [8] T. Fukuda, Y. Nishida, S. Imaoka, T. Hiroi, M. Naohara, Y. Funae, J. Azuma, The decreased in vivo clearance of CYP2D6 substrates by CYP2D6*10 might be caused not only by the low-expression but also by low affinity of CYP2D6, *Arch. Biochem., Biophys.* 380 (2000) 303–308.
- [9] Y. Funae, W. Kishimoto, T. Cho, T. Niwa, T. Hiroi, CYP2D in the brain, *Drug Metab. Pharmacokin.* 18 (2003) 337–349.
- [10] F.J. Gonzalez, Molecular genetics of the P-450 superfamily, *Pharmacol. Ther.* 45 (1990) 1–38.
- [11] O. Gotoh, Substrate recognition sites in cytochrome P450 family 2 (CYP2) proteins inferred from comparative analyses of amino acid and coding nucleotide sequences, *J. Biol. Chem.* 267 (1992) 83–90.
- [12] F.P. Guengerich, Characterization of human cytochrome P450 enzymes, *FASEB J.* 6 (1992) 745–748.
- [13] F.P. Guengerich, I.H. Hanna, M.V. Martin, E.M. Gillam, Role of glutamic acid 216 in cytochrome P450 2D6 substrate binding and catalysis, *Biochemistry* 42 (2003) 1245–1253.
- [14] T. Hiroi, S. Imaoka, Y. Funae, Dopamine formation from tyramine by CYP2D6, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 249 (1998) 838–843.
- [15] T. Hiroi, W. Kishimoto, T. Chow, S. Imaoka, T. Igarashi, Y. Funae, Progesterone oxidation by cytochrome P450 2D isoforms in the brain, *Endocrinology* 142 (2001) 3901–3908.
- [16] Y. Horai, M. Nakano, T. Ishizaki, K. Ishikawa, H.-H. Zhou, B.-J. Zhou, C.-L. Liao, L.-M. Zhang, Metoprolol and mephenytoin oxidation polymorphisms in Far Eastern Oriental subjects: Japanese versus mainland Chinese, *Clin. Pharmacol. Ther.* 46 (1989) 198–207.
- [17] S. Imaoka, T. Yamada, T. Hiroi, K. Hayashi, T. Sakaki, Y. Yabusaki, Y. Funae, Multiple forms of human P450 expressed in *Saccharomyces cerevisiae*. Systemic characterization and comparison with those of rat, *Biochem. Pharmacol.* 51 (1996) 1041–1050.
- [18] I. Johansson, M. Oscarson, Q.-Y. Yue, L. Bertilsson, F. Sjoqvist, M. Ingelman-Sundberg, Genetic analysis of the Chinese cytochrome P4502D locus: Characterization of variant CYP2D6 genes in subjects with diminished capacity for debrisoquine hydroxylation, *Mol. Pharmacol.* 46 (1994) 452–459.
- [19] I. Jung-Testas, A. Do Thi, H. Koenig, F. Desarnaud, K. Shazand, M. Schumacher, E.E. Baulieu, Progesterone as a neurosteroid: synthesis and actions in rat glial cells, *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 69 (1999) 97–107.
- [20] W. Kishimoto, T. Hiroi, M. Shiraishi, M. Osada, S. Imaoka, S. Kominami, T. Igarashi, Y. Funae, Cytochrome P450 2D catalyze steroid 21-hydroxylation in the brain, *Endocrinology* 145 (2004) 699–705.
- [21] M. Komori, A novel P450 expressed at the high level in rat brain, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 196 (1993) 721–728.
- [22] T. Kubota, Y. Yamaura, N. Ohkawa, H. Hara, K. Chiba, Frequencies of CYP2D6 mutant alleles in a normal Japanese population and metabolic activity of dextromethorphan *O*-demethylation in different CYP2D6 genotypes, *Br. J. Clin. Pharmacol.* 50 (2000) 31–34.
- [23] J.B.S. Leathart, S.J. London, A. Steward, J.D. Adams, J.R. Idle, A.K. Daly, CYP2D6 phenotype–genotype relationships in African-Americans and Caucasians in Los Angeles, *Pharmacogenetics* 8 (1998) 529–541.
- [24] A. Llerena, G. Edman, J. Cobaleda, J. Benitez, D. Schalling, L. Bertilsson, Relationship between personality and debrisoquine hydroxylation capacity. Suggestion of an endogenous neuroactive substrate or product of the cytochrome P4502D6, *Acta Psychiatrica Scandinavica* 87 (1993) 23–28.
- [25] K.A. Marcucci, R.E. Pearce, C. Crespi, D.T. Steimel, J.S. Leeder, A. Gaedigk, Characterization of cytochrome P450 2D6.1 (CYP2D6.1), CYP2D6.2, and CYP2D6.17 activities toward model CYP2D6 substrates dextromethorphan, bufuralol, and debrisoquine, *Drug Metab. Dispos.* 30 (2002) 595–601.
- [26] D. Marez, M. Legrand, N. Sabbagh, J.-M. Lo Guidice, C. Spire, J.-J. Laffite, U.A. Meyer, F. Broly, Polymorphism of the cytochrome P450 CYP2D6 gene in a European population: characterization of 48 mutations and 53 alleles, their frequencies and evolution, *Pharmacogenetics* 7 (1997) 193–202.
- [27] M.C.E. McFadyen, W.T. Melvin, G.I. Murray, Regional distribution of individual forms of cytochrome P450 mRNA in normal adult human brain, *Biochem. Pharmacol.* 55 (1998) 625–630.
- [28] Y. Nishida, T. Fukuda, I. Yamamoto, J. Azuma, CYP2D6 genotypes in a Japanese population: low frequencies of CYP2D6 gene duplication but high frequency of CYP2D6*10, *Pharmacogenetics* 10 (2000) 567–570.

- [29] T. Niwa, Y. Yabusaki, K. Honma, N. Matsuo, K. Tatsuta, F. Ishibashi, M. Katagiri, Contribution of human hepatic cytochrome P450 isoforms to regioselective hydroxylation of steroid hormones, *Xenobiotica* 28 (1998) 539–547.
- [30] T. Niwa, T. Shiraga, Y. Mitani, M. Terakawa, Y. Tokuma, A. Kagayama, Stereoselective metabolism of cibenzoline, an antiarrhythmic drug, by human and rat liver microsomes: Possible involvement of CYP2D and CYP3A, *Drug Metab. Dispos.* 28 (2000) 1128–1134.
- [31] M. Oscarson, M. Hidestrand, I. Johansson, M. Ingelman-Sundberg, A combination of mutations in the CYP2D6*17 (CYP2D6Z) allele causes alterations in enzyme function, *Mol. Pharmacol.* 52 (1997) 1034–1040.
- [32] S.M. Paul, R.H. Purdy, Neuroactive steroids, *FASEB J.* 6 (1992) 2311–2322.
- [33] S.R. Philips, B. Rozdilsky, A.A. Boulton, Evidence for the presence of *m*-tyramine, *p*-tyramine, tryptamine, and phenylethylamine in the rat brain and several areas of the human brain, *Biol. Psychiatry* 13 (1978) 51–57.
- [34] Y. Ramamoorthy, R.F. Tyndale, E.M. Sellers, Cytochrome P450 2D6.1 and cytochrome P450 2D6.10 differ in catalytic activity for multiple substrates, *Pharmacogenetics* 11 (2001) 477–487.
- [35] S. Rendic, Summary of information on human CYP enzymes: human P450 metabolism data, *Drug Metab. Rev.* 34 (2002) 83–448.
- [36] T. Shimada, H. Yamazaki, M. Mimura, Y. Inui, F.P. Guengerich, Interindividual variation in human liver cytochrome P-450 enzymes involved in the oxidation of drugs, carcinogens and toxic chemicals: studies with liver microsomes of 30 Japanese and 30 Caucasians, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 270 (1994) 414–423.
- [37] D. Tsuzuki, C. Takemi, S. Yamamoto, K. Tamagake, S. Imaoka, Y. Funae, H. Kataoka, S. Shinoda, S. Narimatsu, Functional evaluation of cytochrome P450 2D6 with Gly42Arg substitution expressed in *Saccharomyces cerevisiae*, *Pharmacogenetics* 11 (2001) 709–718.
- [38] J. Venhorst, A.M. ter Laak, J.N.M. Commandeur, Y. Funae, T. Hiroi, N.P.E. Vermeulen, Homology modeling of rat and human cytochrome P450 2D (CYP2D) isoforms and computational rationalization of experimental ligand-binding, *J. Med. Chem.* 46 (2003) 74–86.
- [39] F.S. Wu, T.T. Gibbs, D.H. Farb, Inverse modulation of gamma-aminobutyric acid- and glycine-induced currents by progesterone, *Mol. Pharmacol.* 37 (1990) 597–602.
- [40] H. Yokota, S. Tamura, H. Furuya, S. Kimura, M. Watanabe, I. Kanazawa, I. Kondo, F.J. Gonzalez, Evidence for a new variant CYP2D6 allele CYP2D6J in a Japanese population associated with lower in vivo rates of sparteine metabolism, *Pharmacogenetics* 3 (1993) 256–263.
- [41] A. Yu, B.M. Kneller, A.E. Rettie, R.L. Haining, Expression, purification, biochemical characterization, and comparative function of human cytochrome P450 2D6.1, 2D6.2, 2D6.10, and 2D6.17 allelic isoforms, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 303 (2002) 1291–1300.

TOPICS TOPICS TOPICS TOPICS TOPICS TOPICS TOPICS TOPICS TOPICS TOPICS

治験におけるファーマコゲノミクス研究の進展のために —医療現場の状況と方向性—

昭和大学医学部第二薬理学

内田 英二*

1. ファーマコジェネティクスとファーマコゲノミクス

ファーマコジェネティクス (pharmacogenetics) は薬理遺伝学と訳され、1950年代から学問領域として発達してきた。医薬品に対する反応性の個人差で遺伝的因子に関与するものを対象としてきた。とくに、薬物動態に関する分子種の研究は1990年代に入り飛躍的に発展し、薬物代謝酵素の遺伝多型と疾患や薬物代謝速度との関連で多くの業績を残してきている。近年、「ヒトゲノム解析計画」が本格化し、ファーマコゲノミクス (pharmacogenomics: PGx) と呼ばれる分野が登場した。PGxはゲノム薬理学と訳され、遺伝子多型解析と遺伝子発現情報解析を手段とする。遺伝子多型解析は、単一塩基変異多型 (single nucleotide polymorphism: SNP) をターゲットに各個人を個別化し臨床情報と比較解析するものである¹⁾。遺伝子発現情報解析は、病態と遺伝子の動的な変化を薬物の応答性と関連づけて解析するものである。

薬理遺伝学とゲノム薬理学はアプローチの差異はあるものの、かなりオーバーラップする領域である。用語の使用に若干混乱が生じていることは事実である。現在、治験に組み込まれている解析遺伝子の対象は薬物代謝酵素だけではなく疾患関連遺伝子を含む場合もあるため、本章ではPGxを用いて話を進めたい。

2. 新規医薬品の開発と治療の個別化

PGxは種々の医薬品開発に利用されている。たとえば、癌治療薬の開発として、癌細胞増殖に結びつくシグナル伝達分子、癌抑制遺伝子/細胞周期関連遺伝子、薬剤耐性因子、血管新生関連分子、湿潤・転移関連分子、テロメラーゼ/アポトーシス機構、などが分子ターゲットとして上げられている。癌細胞の増殖に関係するHER2のモノクローナル抗体やファルネシル基転移酵素の阻害剤、血管内皮細胞増殖因子 (vascular endothelial cell growth factor: VEGF) のモノクローナル抗体、受容体型チロシンキナーゼ

(epidermal growth factor receptor tyrosine kinase) の阻害剤など、いくつかの薬剤で臨床試験が進行している。

薬物の体内濃度が同じでも個人間で反応に差が生じる原因として、薬物のターゲットとなる分子の遺伝多型が考えられている。いわゆる薬物受容体の変化により、薬物に対するレスポナー・ノンレスポナーが規定されるという考え方である。事実、C型肝炎ウイルス (HCV) に対するインターフェロン (IFN) の有効率は当初30%程度であったが、レスポナー・ノンレスポナーの持つHCVの遺伝多型を解析した結果、HCVの遺伝多型によりIFN有効群と無効群に分かれることが判明した。現在、C型肝炎のIFN治療はHCVの遺伝多型に基づいて行われている。QT延長症候群ではβブロッカーが有効な群と突然死を引き起こす無効群が存在したが、遺伝子多型のSNP診断により有効群と無効群の層別が可能となり治療薬の選択に寄与している。この他にも、高血圧症でのβ₂レセプター・アンジオテンシン変換酵素多型、骨粗鬆症でのビタミンDレセプター・エストロゲンレセプター多型、気管支喘息でのβ₂レセプター多型、肥満におけるβ₃レセプター・レプチンレセプター多型、ゲフチニブの有効性と上皮成長因子受容体 (epidermal growth factor receptor) の変異との関連、などが報告されてきており、同じ疾患でも個人の遺伝的背景により治療法 (有効性) の選択が異なってくる可能性を示している。

3. PGx研究への期待

医療現場では対症療法的な治療が多くを占め、根本原因の治療に結びつく対応がとれる場合は限られている。PGxを推進する2大アプローチは、遺伝子多型解析と遺伝子発現情報解析であるが、これらのアプローチから解明が期待されていることは下記のとおりである。

- ① 薬物に対する個体の反応性の相違の識別 (薬物代謝速度、薬物輸送速度、薬物受容体の感受性、等)、
- ② 化合物の薬効・毒性評価の判別、
- ③ 疾患の原因究明、
- ④ 原因を標的分子とした治療法の開発、
- ⑤ 罹患のリスク判定、など

具体的には、既存薬物に対するレスポナー・ノンレスポナーの識別、副作用発現群の層別などを通じて、既存薬の再評価や新たな医薬品の開発の可能性がある。また、疾患遺伝子が作り出す蛋白質に対する阻害剤の開発や、至適に個別化された薬物選択や投与設計 (personalized medicine) の現実化が期待される。

Key words : pharmacogenetics, pharmacogenomics, clinical research coordinator, clinical research associate

* 〒142-8555 東京都品川区旗の台1-5-8 昭和大学医学部第二薬理学

Table 研究主体者：治験とPGx研究

	治験	PGx
プロトコル	製薬企業（担当医師関与可）	製薬企業
IC	担当医師	担当医師
観察	担当医師	—
評価	担当医師	—
解析	製薬企業	製薬企業
結果公表	担当医師、患者も共有可能（推奨）	製薬企業 不可（通常）

4. PGx 試験の種類

PGx 試験と一言でいってもその内容は試験によって異なる。ゲノム・遺伝子解析を実施する臨床試験は下記に分類される：

- ① 目的遺伝子と実施時期が特定されている
- ② 目的遺伝子は特定されているが実施時期は未決定
- ③ 目的遺伝子は特定されていないが医薬品の評価のために解析を実施
- ④ 疾患関連遺伝子の探索

臨床試験がどのタイプのPGx検討を行うものであるかの同定は重要である。なぜかという、その内容によってインフォームドコンセントのプロセスや第三者による審査内容が影響を受けるからである。

5. 治験におけるゲノム解析試料収集のための同意取得

治験責任医師は実施する治験の内容を分かりやすく記載した説明文書を作成して、被験者に説明し同意を取得する。治験での処置、観察、評価は医療行為であり、日常診療の延長として対応できる。治験を実施する医師は、対象とする疾患分野の専門家であるため患者からの質問に対しても明確に回答できる。では、ゲノム解析試料収集に関するインフォームドコンセントはどうであろうか。治験の中で実施する試料収集の意義・意味を、医師は明確に理解し、被験者に説明し同意を取得できるのだろうか。試料収集だけで、解析のプロセスや結果にアクセスできない医師にインセンティブは存在するのだろうか。Tableに治験とPGx研究の研究主体者の比較を示す。

通常、治験の実施は日常診療と混在している。治験専門施設でないかぎり、この状況は変わらない。治験の内容を説明するためには概ね30～60分程度必要となる。したがって、現状では医師は概略を説明し、詳細は治験協力者（clinical research coordinator：CRC）に委ねている。CRCは、被験者となる患者の質問に答えられるよう、疾患の特性やプロトコルの内容を前もって理解している。CRCは、看護師、薬剤師、臨床検査技師、等の免許を取得しており、医療に関連する知識は兼ね備えている。治験の内容や関連する質問には答えられるようにしている。では、PGxに関する知識と理解はどうであろうか。誤解を

恐れずはっきり言うと現段階では十分ではない者がほとんどであると考えられる。資料採取の目的や方法が記載された文書があっても、その内容を自ら理解し質問に対応できなければ他者に説明はできない。治験のプロトコルの記載に疑問が生じた場合、通常CRCは依頼者の担当モニター（clinical research associate：CRA）に確認を行う。仮に、CRAがPGx解析の意義、資料の保管方法や情報の取扱い方法を詳細に説明できない場合があったとすると、ジ・エンドである。

6. 第三者による審査

文部科学省、厚生労働省および経済産業省は、2001年に「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」を告示した（いわゆる三省指針）。2005年4月1日施行の個人情報保護法に対応するため、2004年12月に同指針を改正した（2005年6月一部改正）。この指針では、薬事法に基づく臨床試験（治験）と製造販売後臨床試験は対象から除外している。しかしながら、PGx試験の遺伝子解析に係わる部分を、ヒトゲノム・遺伝子解析倫理委員会に審査を依頼している医療機関は存在する。三省指針に記載されている倫理委員会の構成は下記のとおりである²⁾：

- ・倫理・法律を含む人文・社会科学面の有識者、自然科学面の有識者、一般の立場の者から構成される必要がある。
- ・外部委員を半数以上置くことが望ましいが、その確保が困難な場合には、少なくとも複数名置かれる必要がある。
- ・外部委員の半数以上は、人文・社会科学面の有識者または一般の立場の者である必要がある。
- ・男女両性で構成される必要がある。

GCPで定められている審査委員会（institutional review board：IRB）の構成は次のとおりである³⁾：

- ・5名以上の委員からなること。
- ・委員のうち、医学、歯学、薬学その他の医療または臨床試験に関する専門的知識を有する者以外の者（次号の規定により委員に加えられている者を除く）が加えられていること。
- ・委員のうち、実施医療機関と利害関係を有しない者が加えられていること。

三省指針は個人情報保護法に対応しているため、具体的できつ縛りとなっている。一方、GCPは倫理性、科学性、信頼性の確保の観点から、被験者の人権、安全、福祉の保護を謳っており、個人情報の保護を第一義とするものではない。「PGx試験の対象とするところが遺伝子という個人情報である」という考え方が存在する以上、より具体性のある規制に基づいて判断する委員会に審査を依頼する傾向を即座には否定できない。問題は、GCPに則ったプロセスと管理が理解されて審査されているか、ということ

ころに存在する。この点は、申請者の提出資料の内容と説明に依存するところである。申請者である治験責任医師が十分な説明ができなければ、審査側は容易には承認しないということは簡単に推測できる。このことはIRBでの審査でも同様である。

7. PGx 研究の推進

PGx 試験の推進のためには、考慮すべき点がまだまだ存在する。被験者となる患者の理解を得ることはもちろんであるが、担当医師の理解、協力者（CRC等）の理解、詳細をきちんと説明できるモニターの存在、などPGx 研究を担う関係者の教育が必要である。

また、資料採取以後の手順の明確化、情報管理体制、企

業研究者の責務、企業管理者の責務、監査手順、等をオープンにして理解を得る方策も考慮すべきだと考える。さらに、現在と将来の測定に関する別個の同意取得方法など、PGx 試験の内容に応じた適切な対応を考えていく必要があるだろう。

文 献

- 1) 中村祐輔（編）. *SNP 遺伝子多型の戦略*. 中山書店, 2000.
- 2) ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針第 29 細則 1. 文部科学省, 厚生労働省, 経済産業省, 2004.
- 3) 医薬品の臨床試験の実施の基準に関する省令第 28 条, 厚生労働省令第 106 号, 2003.

7. 英国バイオバンクプロジェクト

増井 徹, 高田容子

英国バイオバンク計画の検討がはじまってから5年が過ぎた。その間に、本稿で示すように、科学研究に関するプロトコルの検討を重ね、最近第3版の意見公募が行われ、重点がタンパク質に移ったことを印象づけた。それと並行して、倫理的、法的、社会的問題への対処も行っている。計画の慎重さは1990年代の社会問題で培われたリスクマネジメント感覚によると考えている。英国はバイオバンクを社会的実験として捉え、国際戦略と位置づけている。ゲノム情報の利用できる社会をめざす、英国の実験を注意深く観察し、学ぶべきものは学ぶことが重要である。

はじめに

英国バイオバンクといわれる活動は、「人の生物学としての医学（医学・生物学）」を支える公的な研究資源の整備をめざす英国の取り組みである。45歳から69歳の英国国民50万人からインフォームド・コンセントにより病歴と、生活習慣など環境情報と、人体試料（血液、尿：ゲノムとタンパク試料として）を収集し、30年間その集団（コホート）を追跡しようとするものである。英国の平均寿命を考えるとほぼ死ぬまで追跡することとなるという。バイオバンクについては、私のもを含め、これまでも発表がある、参照されることを勧める^{1)~8)}。

[キーワード&略語]

英国バイオバンク, Genetics Knowledge Parks, 公的な研究資源, 科学研究プロトコル, 社会実験

GKPs : genetics knowledge parks

HGC : human genetics commission

(人類遺伝学委員会)

MRC : medical research council

英国では、ゲノム解析も含むこの壮大な追跡研究を行うために、長期的に社会から信用されるシステムづくりに最も神経を使っている。と同時に、科学性に関する議論が長期にわたってなされている。本稿は、その科学的計画作成の過程の概要を示すことと、英国全体のゲノム情報国家戦略の中での新しいBottom Up政策について紹介する。というのは、科学的な検討とその変遷からみえてくることは、将来のゲノム情報利用社会の不確実さである。と同時に、この不確実な研究の行方と、それを活かす医療のあり方について社会を準備するためには、広範な受け止め体制の準備が必要である。このような大規模な戦略を英国がとっているのは、打ち出した弾の着弾点が、政策の守備範囲を超えていると、研究成果を活かすことが難しくなると考えられるからである。さらに研究の成果が企業活動を通じて、医療の場で活かされるようになるためには、多様なそして重層する問題がある。このことを視野に入れた英国の取り組みの一側面として、英国のバイオバンクを捉えることが重要である。

UK biobank project

Tohru Masui/Yoko Takada : JCRB Cell Bank, Division of Genetics and Mutagenesis, National Institute of Health Sciences (国立医薬品食品衛生研究所変異遺伝部JCRB細胞バンク)

表1 英国バイオバンク年譜

1999年5月	「英国集団医学・生物学試料収集」に関するワークショップ開催
6月	MRC (Medical Research Council: 医学研究評議会) とウエルカム財団は「英国集団医学・生物学試料収集」の計画立案を予算化
● 9月	死亡小児臓器の無断保存が大きな社会問題となる
11月	MRCは「ヒト組織と試料の研究利用に関する暫定指針」を公表
◎ 12月	HGC (人類遺伝学委員会) の発足
2000~02年	市民, 医療関係者, 専門家, 製薬業界関係者のヒト資料の研究利用に関する意識調査と小グループによる検討会を多数実施
2001年4月	MRC「ヒト組織と試料の研究利用に関する指針」を公表
8月	「英国集団医学・生物学試料収集のためのプロトコル案」を公表
2001年10月	「英国バイオバンク, 遺伝子と環境と健康に関する研究」背景説明文書の公表
2002年2月	「英国バイオバンクのためのプロトコル案」を公表
4月	MRC, ウエルカム財団, 保健省による全面的計画実施準備宣言
◎ 4月	GKPs (Genetics Knowledge Parks) の設立
2003年2月	暫定助言グループをウィリアム・ロレンス博士以下9名で設立。「倫理とガバナンスの枠組」について検討を開始
● 3月	英国議会下院, 科学技術委員会による医学研究評議会の事業監査報告書の中で, 英国バイオバンク計画についての批判を展開する
3月	オックスフォード大学のラドクリフ病院の研究開発責任者, 疫学者ジョン・ニュートン教授がCEOに就任
4月	英国議会の科学委員会に英国バイオバンクのCEOとしてニュートン氏出席
5月	マンチェスター大学が統括調整センターとして, さらに6カ所の地域協力センターが選出された
7月	オックスフォード大学のジョン・ベル教授以下22名が科学委員会委員として科学面でのプロトコルの検討に着手
9月	「倫理とガバナンスの枠組, 第1版」をコメントのために公表
2003年11月~12月	英国バイオバンクが保証有限会社として設立され, 慈善事業に登録
2004年1月	第1回取締役会 (Board of Directors) 会長アラン・ラングマン卿以下8名
5月	倫理とガバナンス委員会の委員選定委員会, ジョン・ポーキーンホン牧師以下5名により設立
5月	「倫理とガバナンスの枠組, 第1版に対するコメントの報告書」を公表
7月	「試料の取扱いと保存に関する小検討委員会のプロトコルと勧告, 第1版」を公表し意見公募. ポール・エリオット教授以下9名
8月	ブリストル大学のアリストイル・キャンベル教授が倫理とガバナンス委員会の委員長に選出される
—	さらに「参加者の募集」, 「質問項目」, 「収集した情報の利用」, 「情報のセキュリティ」に関する報告書が科学委員会から発表される予定
2005年9月	本格的事業開始の予定

注: ●は英国バイオバンクに関して直接的に, 批判的影響を与えた事柄

◎は英国バイオバンクを支える主な活動のはじまり

社会的信用の問題

1980~90年代に英国の医療現場は荒廃し, 現在改革が進行している⁹⁾. 英国では医療機関が保有する医療情報を電子化し, 匿名化して積極的にリスク管理や品質管理のために公開する計画が進められている¹⁰⁾. このしくみの一部はバイオバンクへと医療情報を提供する際に利用される可能性があるという. また, バイオバンク計画の鍵を握る病気にまつわる情報を集めるためには, 医療現場と研究基盤整備計画の連携が必須であり, また, 医療の標準化, 特に診断システムの標準化がキーとなることも, 医療改革の方向性と軌を一にする.

'90年代の英国は公的機関や研究者, 医療者の信用失墜を経験している. BSEや遺伝子改変作物の問題である. 政府, 公的機関には, 社会的信用のためにコストを払う意識が高い. そのために, バイオバンクの計画は2001年4月(表1)の段階まで, めだたないように行われていた. というのは, 準備の整わない段階で, 社会の期待が過熱することを関係者は恐れていたのだ. この姿勢は, 先のBSEと遺伝子改変作物問題から生まれたリスクマネジメント意識として, インタビューした多くのバイオバンク関係者が共有していた.

バイオバンク計画の社会へのインパクトを考えてみよう. この活動に直接関係する範囲50万人は対象年齢の4%弱である. そして, 地域の偏りがないように

選別された家庭医を軸にして、その家庭医に登録^{*}している人たちを対象に計画参加の勧誘を行うという。そのため地域的には例えば5人に1人、あるいはそれ以上というような参加者のネットワークができることになる。

このようなネットワークが地域社会にでき、かつ、直接は加わらない、だけど黙っていない市民が回りにいる。この計画を実施することは、衆人環視の中の社会実験であるという、バイオバンク計画担当者の姿勢を理解することができる。社会実験だから、失敗する可能性もある。だから、慎重に準備しているのだ。参加者の募集や長期の継続的関係の維持を通じて、バイオバンクの活動自体が、ゲノム情報を活かすことのできる社会の創生に寄与するという構想である。

2 英国バイオバンクの歴史

表1に年譜を示した。1998年末あるいは'99年のはじめから、既存のゲノム疫学研究、疫学研究の実態を見直し、それを補完する新たな大規模な公的研究基盤の整備として計画がはじまっている。そして、'99年6月の準備計画の予算化、2002年4月の正式計画実施準備宣言を経て2005年9月の本格実施をめざして準備が進んでいる。

英国での研究費の支給システムの全般についてはよくわからないのだが、英国バイオバンクの予算約90億円¹¹⁾、2002年4月の時点でその支出が約束されており、バイオバンクCEOのニュートン氏にインタビューしたところ、自分たちの計画が確定され、準備が整った段階で要求することができるという。

英国バイオバンクのHP (<http://www.ukbiobank.ac.uk/>)での定義は、「英国バイオバンクは、病気の予防、診断、治療と社会に行き渡る健康の増進のための多様な研究を支援する大規模な研究資源の整備をめざすものである。この事業は、多くのボランティアの健康状態を長期間(20~30年)にわたり追跡調査し、環境と生活習慣に関する情報を収集し、これらの

※ 家庭医への登録

英国の医療は国営であり、国立保健サービス(NHS)より提供される。そこで、英国国民は疾患のあるなしにかかわらず、まず地域で開業している家庭医に登録しなければならない。そこでこのシステムによって健康人のリクルートができるのである。

情報を、ボランティアの病歴と生物試料(血液と尿)と関連させる。生物試料は保存され、将来の生物学的解析、あるいはゲノム解析に利用することができる。これらの収集された情報と試料は、バイオバンクの目的にかなう、倫理面と科学面での審査によって承認を受けた研究にのみ用いられる。提供者の情報と試料に対する守秘義務を尊重するために、厳密な安全措置を継続的に持続する。匿名化した情報のみが研究に利用される。英国バイオバンクは、この研究資源の存在する間、提供者、研究に利用する人々、そして社会と積極的な相互関係を追及する」である。英国バイオバンクは、あくまでも公的な、すなわち研究者として一定の質をもつと認められた人(qualified researcher)は誰であれ、一定の審査を経て利用できる公共研究資源として計画されている。この意味するところは、ゲノム情報が人類で99.9%共有され、小集団ではさらに高いレベルで共有され、そしてそれに絡む利害関係を解決するために、Public Ownershipを打ち出しているのである。このようなバイオバンクについての考え方の起源は明らかではない。ただ、英国がヒトゲノム研究、人類遺伝学の進展がもたらすものについて意識する中で、同時進行的に起きた、BSEや遺伝子組換え作物などの不祥事の経験を通じ、ゲノム情報時代の利益の公正な共有を考えるためには、公的な所有体制(Public Ownership)という考え方しかないという結論に達したと考えられる。

最後にこの資源共有システムが科学にもつ意味について簡単にふれる。

3 英国バイオバンクの科学的側面

英国バイオバンクの研究プロトコールに関しては、過去3回報告書が出ている。表2にその目次を掲げる。この検討の芯となるのは、2002年2月に公表された文書であることがわかる。ここで扱われている項目の一部が、2004年7月に公表された収集生物試料の取り扱いへと発展している。全体の研究計画に関しては、2004年12月現在科学委員会(図1)で検討中の「参加者の募集」、「質問項目」、「収集した情報の利用」、「情報のセキュリティー」の報告書で扱われるという。また、倫理的配慮や対社会という側面は現在委員の選考の最終段階に入っている倫理とガバナンス委員会が担当する(図1)。

表2 英国バイオバンクの研究計画プロトコルの検討過程

Report of the UK Population Biomedical Collection Protocol Development Workshop 2001年10月 http://www.ukbiobank.ac.uk/documents/protocol-workshop.pdf	Protocol for the UK Biobank 2002年2月 http://www.ukbiobank.ac.uk/documents/draft-protocol.pdf	Sample Handling and Storage Subgroup Protocol and Recommendations 2004年7月 http://www.ukbiobank.ac.uk/Sample%20Storage%20report/Sample%20Handling%20and%20Storage%20Subgroup%20report%20for%20comment.pdf
<p>導入部 実務的、技術的問題—ワークショップの報告 血液試料: 収集, 抽出, 保存, 解析 コホートの選択と募集 情報技術: データの収集とデータベース 食物摂取の数値化について 倫理: 承諾とフィードバック</p> <p>ベースラインデータの収集と結果の評価 ワークショップの報告 心臓血管 糖尿病/代謝異常疾患 呼吸器病/感染症 精神病/神経疾患 癌 筋肉と骨の病気</p> <p>全般の議論にかかわる問題点</p>	<p>1. 要約 背景 目的 方法 期待される成果と知識への貢献</p> <p>2. 研究計画の記載 目的 提案の性質と用語定義 理由づけ ねらいと目的 研究仮説の例 研究デザインの正当性 研究デザイン 参加者の年齢と収集の規模 ベースラインの測定と生物試料</p> <p>背景 先行研究 血液試料を用いた他の大規模研究 国を対象とした生物試料の収集 コホートと他のタイプの研究</p> <p>研究計画 提案された研究計画の構造 参加者の募集 コホートの構成 要求される標本数の確保 家庭医の選任に関して 年齢と性別 民族性</p> <p>ベースライン測定 質問票 承諾 聞き取り 身体測定 食事に関するさらなるデータ</p> <p>血液試料 要請 収集 処理と長期保存 解析 データ管理, 品質管理と安全措施 回帰希釈のための参加者のための部分集団への再調査 分子, タンパク質, 代謝物の測定を取り入れた研究 ファーマコジェネティクス</p> <p>追跡手順 国民医療サービス (NHS) の中央登録による追跡 家庭医とNHSの他の情報を用いた追跡 参加者への質問回答を通じた追跡と情報の更新 診断の評価 追跡での喪失を最小にするために</p> <p>データ管理 参加者の募集 データ入力 守秘性の高い情報の取扱いと保存 組織</p> <p>統計的解析手法 遺伝子型と環境曝露の協働解析 サンプル数と解析力 コホート内でのイベントの期待値 解析力に関する議論</p> <p>研究要員の教育訓練 予備的研究 コホートにおける他の研究 ものの流れと時間管理</p> <p>3. 研究器材と社会基盤の将来の開発 4. 期待される成果と知識への貢献 研究と富に関する意味</p> <p>5. 倫理的考慮事項 インフォームド・コンセント 守秘 リスクとベネフィットの勘案 リスク ベネフィット 追加的倫理についての配慮事項 参加者へのフィードバック 商業的な活動に参加すること</p> <p>6. 他の研究計画とのリンク 7. 研究成果の普及 8. 表11枚 9. 図6枚 10. 付録 11. 参考文献</p>	<p>1. 要約 報告の要旨</p> <p>2. 収集のデザインを決めることによる対応 試料の質と将来の利用価値 技術的開発 処理過程の開発 経費</p> <p>3. 英国バイオバンクのプロトコル報告案 英国バイオバンクの組織 報告 科学的妥当性 処理過程の記載とその意味 試料と処理過程の質の一貫性 経費 自前の処理過程 全体の処理手順 地域協働センターにおける一次処理 報告 科学的妥当性 結論 処理過程の記載とその意味 血液と尿試料の収集 処理センターへの一夜の中の輸送 報告 科学的妥当性 処理過程の記載とその意味 尿 DNA抽出のために紙に全血を吸収させて保存 血球像解析, 生化学的, 免疫学的解析 処理過程の自動化 品質の確認と管理の手順</p> <p>試料の保管と分配 報告 科学的妥当性 全体像 処理過程の記載とその意味 液体試料 マイナス80度の試料に関する大規模保管取り出しの自動化 大規模液体窒素保存施設 乾燥試料 試料の追跡管理と在庫管理 参加者の部分集団での試料再採取 報告 科学的妥当性 処理過程の記載とその意味</p> <p>4. 予備研究 報告 科学的妥当性 処理過程の記載とその意味</p> <p>5. 図23枚 6. 参考文献 7. 付録6篇</p>

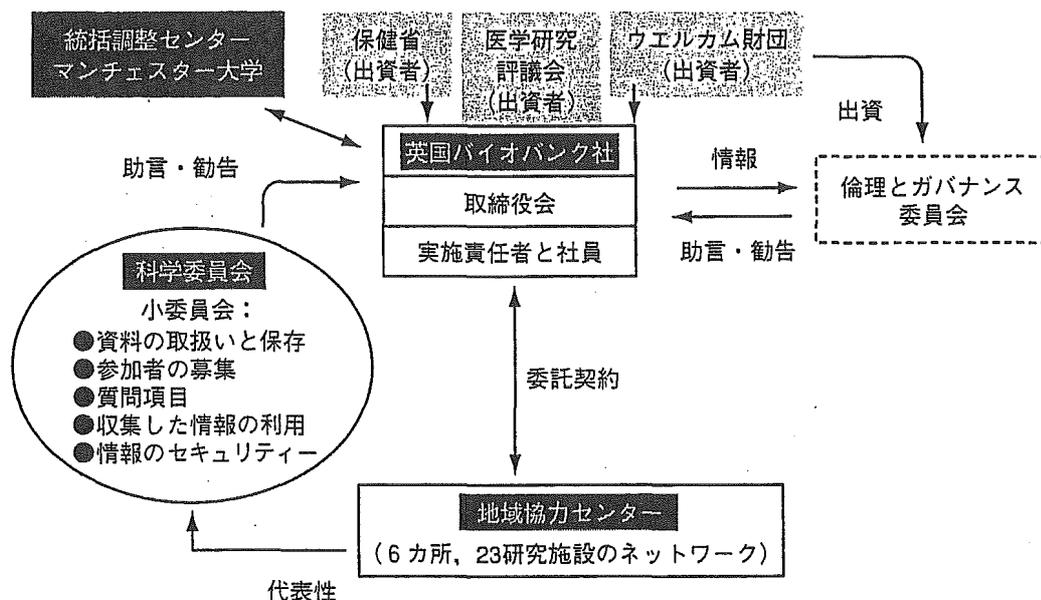


図1 英国バイオバンク組織

英国バイオバンクは、保健省、MRC、ウエルカム財団を出資者として運営される。取締役会が全体の責任をもち、日々の業務の責任は実施責任者（CEO）が負う。試料収集の実務は地域協力センターが行い、統括調整センターが中心的役割を果たす。内部の科学委員会は6つの小委員会をもち、本文中に示した多くの問題についてのプロトコルを作成する。英国バイオバンクの「人由来試料と情報」の長期のオープンエンドの利用を可能にするために、倫理とガバナンス委員会がバイオバンクの活動を監督し、取締役会に助言・勧告する

収集生物試料の取り扱いについての報告書は '04年7月に公表され、1カ月のパブリックコメントに付された。今後、改訂版が公表される。他の科学委員会からの報告書、さらには倫理とガバナンスの枠組みについても、広く意見を受け、それに対応した改訂が行われるという。

最初のプロトコルは39ページであり、2番目に公表されたものは47ページである。その時点までは、タンパク質に関する記載は少なかった。ところが、最新の報告書では、全体91ページの後半3分の2は、タンパク質試料に関する問題を扱っている。

プロテオーム研究において、健常人が年を経て病に罹る過程を追いつながり、その個人の健常なときのサンプルを対照として疾患特異的な生体マーカーの研究ができる体制が必要である。ゲノム情報を基礎として環境因子の影響の下に発症する生活習慣病の研究において、健常人の長期追跡体制を、生物学試料の収集保存とリンクして行うことの重要性が、前面に押し出されている。このあたり、ゲノム情報だけでは難しい問題への意欲的な取り組みがみられ、興味深い。

誌面の関係で多くのことを語るができない。しかし、バイオバンクを公的な資金90億円（こんなも

ので済むとは、誰も考えていないようであるが) によって行うために、科学性を確保する努力が行われている様子は、「公的な共有体制」を必要とする大規模ゲノム研究の性質を端的に現している。

英国バイオバンクを上と下から支えるゲノム政策

先に述べた1990年代のBSEと遺伝子改変作物の騒動を通じて、公的な機関、政府や学者研究者が信用を失った。この経験を通じて、英国では '98年から '99年にかけてバイオテクノロジーの助言・勧告と規制の枠組みに関する見直しが行われた¹²⁾。その結果生まれたのが人類遺伝学委員会（HGC：human genetics commission）である。この '99年の勧告へ至る様子を図2に示す。HGCの勧告を受けるのは、政府と担当大臣であるが、そのほかに13機関に影響が及ぶ。助言・勧告と規制の機能を分け、規制機関を細分化することによって、社会的信用を保持する機能が保たれているという。このHGCを中心にした体制が、英国バイオバンク事業計画に対しても、間接的に勧告機能をもつ。

次に、2002年に設立されたGKPs（genetics knowledge parks）について紹介する。人の健康に関する、

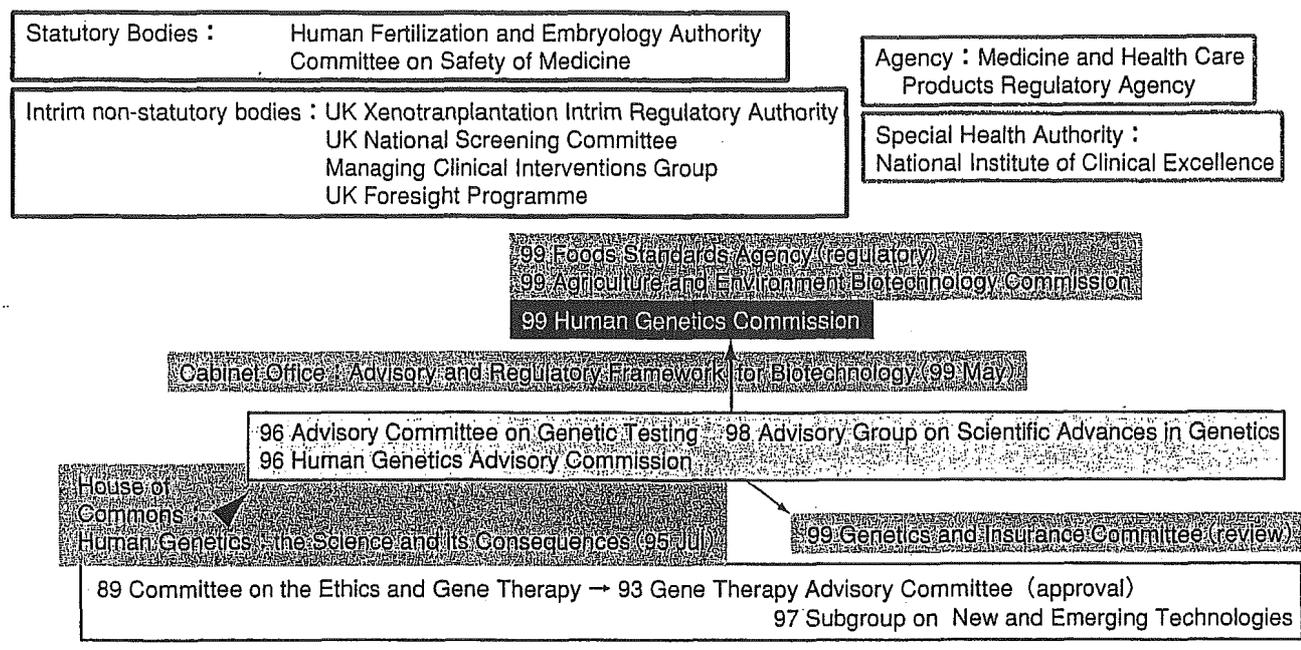


図2 バイオ技術に関する助言・勧告と規制の枠組み

英国は1990年代の遺伝子改変作物の問題を期に、科学研究政策に対する助言・勧告と評価体制の見直しを行い、'99年5月に報告書を公表した。その結果'99年12月にHGC (Human Genetics Commission) が設立された。そのときにAdvisory Committee on Genetic Testing, Advisory Group on Scientific Advances in Genetics, Human Genetics Advisory Commissionを吸収した。HGCは図の上部に示す8の助言・勧告機関と規制機関の活動を阻害することなく、協働して働くことが求められている。また、同じゲノム問題の領域には、Genetics and Insurance CommitteeとGene Therapy Advisory Committee、および後者の下部機関であるSubgroup on New and Emerging Technologiesが存在し、HGCと密な連携を取ることが期待されている(文献12より作成)

ゲノム研究を中心とした医学・生物学研究について国際的に通じる研究や社会活動を支援し、発信するCOEとして構想された。この活動は、ゲノム分野だけではなく、バイオテクノロジー全体を含む研究とその実用化の活動と、その受け皿の整備を社会的実験として位置づけていると考えられる。事業は保健省と通産省との共同事業として、支援基金30億円の5年計画である。スタッフは地域の大学などの人材が参加し、この計画によって新規で雇われる人は少ない。基金は、建物や人件費ではなく、主に活動資金に利用されている。保健省はさらにパートナーとして私企業の参画を広く求めることによって、資金と人材を結集しGKPsの活性化を図っている。

事業内容は、以下のような研究自体、その成果の意味、それらと社会の関係に関するあらゆる側面を検討することが含まれる。その中には、英国内の問題として、NHS (国立保健サービス) においてゲノム研究成果を医療に活かすための問題、英国企業の国際戦略におけるゲノム研究の問題なども含まれる。そのほかに、

- ・研究開発活動
 - ・教育・訓練と公衆の参画
 - ・成果活用プログラム
 - ・監視のための基盤整備
- が行われている。

保健省は公募して4カ所をGKPsに選定する予定であった。しかし、申請された事業計画の質が高いという理由で、イングランド内で5カ所とウェールズに設置されることとなった。それらは、ニューキャッスル、マンチェスターを中心とする西北部地域、オックスフォード、ケンブリッジ、ロンドン、そしてカーディフである(図3)。

実際にそれぞれの地を訪問すると、地域でのそれまでの研究・活動の成果を活かす形で個々のGKPが設計されていることが理解される。それぞれの地域がその利点を最大限に活かす研究計画を策定しているのだ。このような体制は、重要な問題について異なった視点からの検討を行うことができ、かつ補い合うネットワークを構築する可能性を生んでいる。重要な点は、ゲ

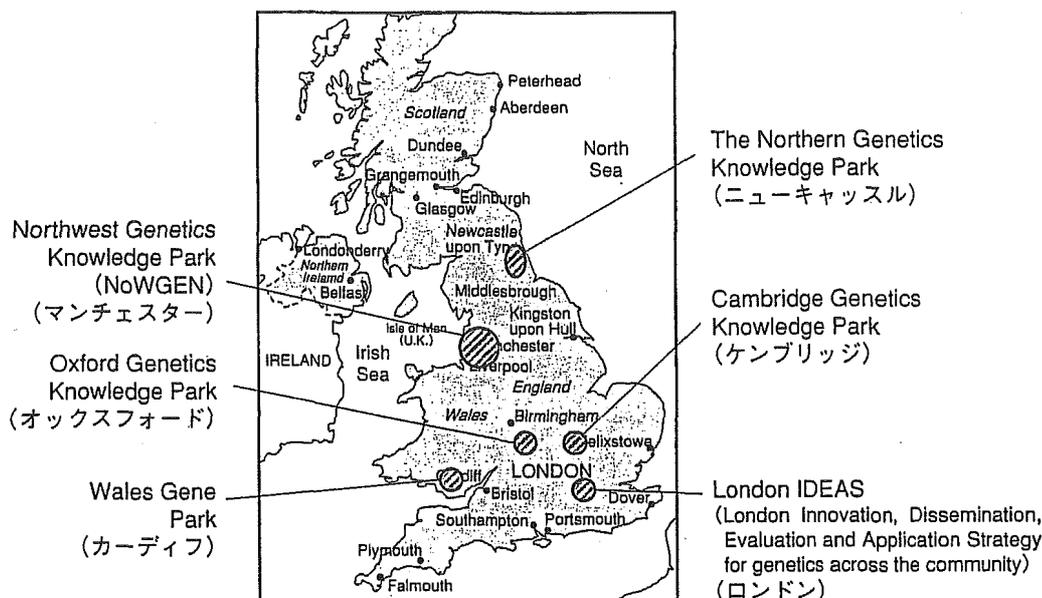


図3 英国の Genetics Knowledge Parks

ノム研究、バイオテクノロジーという将来像の不確定な領域の広大な実験場を、英国内に設けたことにあると考えている。5年後の評価で、これらの多様な活動の中から、芽の出たものを育てていくのだろう。

HGCとGKPsというTop downとBottom upの活動が、公的な研究資源バンクである英国バイオバンクを支えていると考える。

おわりに

科学を支えている大きな柱の1つは検証可能性である。それは、同じ材料を用いて、同じ方法を用いて、同じ結果を得るという「実験の再現」を基本とする。

科学論文が、材料と方法、結果、そして議論と考察という章立てになっているのは、同じ実験結果からでも異なった考察によって、異なった結論へ至る可能性をもっているからだ。そのことは、論文読みの最初に習うことである。後半の議論と考察を支えるのは、前半の道具立てである。同じと思っている材料が同じなのかという問題も大きい。

そういう目で、一流国際学術誌の投稿規程を整理してみると、材料の共有に関する考えかたが明確に示されている(高田&増井, 未発表)。雑誌の性質によって多少異なるが、「その実験で用いた材料の提供を求められた場合には、それに応ずること」を受理の一条件として示している。もちろん、現実はその簡単な話

ではなく、材料を得ることは難しい。英国バイオバンクの切り開いてきた人体由来の情報と試料の共有という夢は、人の生物学としての医学の夢でもあるのだ。

英国バイオバンクも、そしてHGCも、PKGsもすべて英国の国際戦略において位置づけられている。ゲノム研究も先端医療の研究も、医療の場からはじまり、医療の場へ帰る。研究が社会との相互作用ではじまり、社会へ戻ることは、さらに大枠の構造である。英国において製薬企業の活性化策と並列で論じられる、これらの壮大な道具立てについて、英国の実験を注意深く見守り、学ぶべきものは学ぶことが重要であると考えている。

この分野の検討に加わり、多くの方々のご教示を賜ったことに感謝する。また、このような活動を支援下さっている林真部長、水澤博室長、細胞バンク(JCRB)の同僚に心から感謝する。本研究は、厚生労働省研究費・ヒトゲノム再生医療研究・宇都木伸班、およびHS創薬等総合研究事業・林真班、文部科学省・科学技術振興調整費・野口和彦班によって助成されている。

文献

- 1) 増井 徹: SRL宝函, 28: 161-166, 2004
- 2) 増井 徹, 水澤 博: ヒューマンサイエンス, March 2004: 16-20, 2004
- 3) 増井 徹: バイオサイエンスとインダストリー, 62: 468-471, 2004

- 4) 増井 徹：SRL宝函, 27：170-176, 2003
- 5) 増井 徹：世界11月号：199-208, 2003
- 6) 増井 徹：ジュリスト, 1247：29-36, 2003
- 7) 増井 徹, 高田容子：薬学雑誌, 123：107-119, 2003
- 8) 織井優佳：朝日総研レポート, 168：2-15, 2004
- 9) 『医療費抑制の時代を超えて—イギリスの医療・福祉改革』(近藤克則／著), 医学書院, 2004
- 10) Information Policy Unit, Dept. of Health：Building the Information Core, 2001
- 11) House of Commons, Science and Technology Committee：The Work Review of the Medical Research Council, 2003
- 12) The Human Genetics Commission：The UK Regulatory and Advisory Framework for Human Genetics, 2000年5月. <http://www.hgc.gov.uk/raframework.pdf>

<著者プロフィール>

増井 徹：人由来の情報とモノの研究利用について、戦略的視点から調査研究をはじめて10年になる。その間に日本では多くの研究指針が策定された。この過程で、科学研究のもつ評価を拒否する本性は、「評価可能性」へと押し込められた。しかし、科学の歴史が示すように、評価され、研究費が潤沢な領域から新しいものが出てくる可能性は少ない。社会基盤の整備を通じて、人を対象とした科学研究が「野生」を失わないようにすることが重要であると考え。英国での動きはこのことを突きつけてくる。

高田容子：この研究領域に入ってから3年になる。獣医の立場としては実験動物の問題も気になるところだ。しかし、急を要する人の問題ですらこの状態だと、いつになったら動物の問題へ移れるのかは疑わしい。今回、科学研究の検証に欠かすことのできない研究資源の共有体制を、国際誌の投稿規程から整理してみた。情報とモノの共有による研究体制が、科学の本質に属することに改めて気がつかされた。

〈抄録〉 第 25 回 日本臨床薬理学会年会 2004 年 9 月 17～18 日 静岡
シンポジウム 6 (個別化分野) : Pharmacogenomic Test

3. Pharmacogenomic test の利用を支えるコアコンピタンス

増 井 徹*

はじめに

薬と人体の相互作用が、薬理学の研究対象と考えられる。薬を中心にして考えれば、化学物質としての純度が重要となり、検証可能性を持つ(漢方薬での考え方は異なる)。ところが、からだに薬が入り、生体により代謝され、元物質と代謝物の総体が生体環境に作用し、最終的には薬効やその延長上の副作用、また、想定外の毒性として観察される。ここにはさらに、個人による反応の「ばらつき」がある。

ヒトゲノム情報の利用環境が整備され、個人差をゲノム情報と環境因子の差の総体として考える基礎が作られた。環境因子は複雑なので、まずはヒト集団をゲノム情報によって分類して薬理作用の差を検証しようとする考えが出てきたことは当然である。

生体と薬の相互作用の多様性を、ゲノム研究の成果に拠ってより狭い範囲に限定することができれば、薬の使い方にとって、大きな福音となると考えられている。

この仮説に則り、Pharmacogenomic や Pharmacogenetics が重要性を増している。本稿では、Pharmacogenomic test を開発するために必要な、広範なゲノム研究とその成果を生かすための研究基盤と社会基盤の整備のために、専門家並びに市民・患者が備えるべきコアコンピタンス(理解の核となる認識)について述べる。

臨床研究の現状を認識する

ヘルシンキ宣言は 2000 年改訂版(日本医師会誌, http://www.med.or.jp/wma/helsinki02_j.html)において、医学研究と医療をめぐる厳しい現状認識を示している。「7. 現在行われている医療や医学研究においては、ほとんどの予防、診断及び治療方法に危険及び負担が伴う。(7. In current medical practice and

in medical research, most prophylactic, diagnostic and therapeutic procedures involve risks and burdens.)」

宣言が「4. 医学の進歩は、最終的にはヒトを対象とする試験に一部依存せざるを得ない研究に基づく(4. Medical progress is based on research which ultimately must rest in part on experimentation involving human subjects.)」と言うとき、この 7 条の「リスクと負担」の常在という認識に基づいた積極的意味を持つ。

ヘルシンキ宣言の 1964 年版は「Clinical Research on a Human Being」となっている。ところが、1975 年版以降は、「human subjects」となっている。此处には、患者と医師が一対一で行ってきた従来の臨床研究が、人の生物学としての医学研究の確立により、人集団を対象としたものへと変化したことを示している。この進展により、集団を対象とした研究は、被験者個人の問題だけでなく、対象集団の利益の問題をも扱わなければならない。そして、ヘルシンキ宣言は「19. 医学研究は、研究が行われる対象集団が、その研究の結果から利益を得られる相当な可能性がある場合にのみ正当とされる(19. Medical research is only justified if there is a reasonable likelihood that the populations in which the research is carried out stand to benefit from the results of the research)」と述べる。このようなコンテキストの中で「5. ヒトを対象とする医学研究においては、被験者の福利に対する配慮が科学的及び社会的利益よりも優先されなければならない(5. In medical research on human subjects, considerations related to the well-being of the human subject should take precedence over the interests of science and society)」と表現されるのである。英語の表現は、集団(human subjects)と個人(the human subject, 「被験者」と訳されている)を使い分けている。

ヘルシンキ宣言の持つ、個人の福利と、集団の

* 国立医薬品食品衛生研究所 JCRB 細胞バンク
〒158-0081 東京都世田谷区上用賀 1-18-1

利益との間に存在する一種の対立を日本の臨床研究指針（平成15年7月）は取り込んでいない。この指針の検討はヘルシンキ宣言との対照表から始まったのであるが、現状認識としての第7条が存在しない。となると、最終的に人で試すしかないという姿勢の持つ、専門家と市民・患者の「腰の据わり方」も異なってしまう。

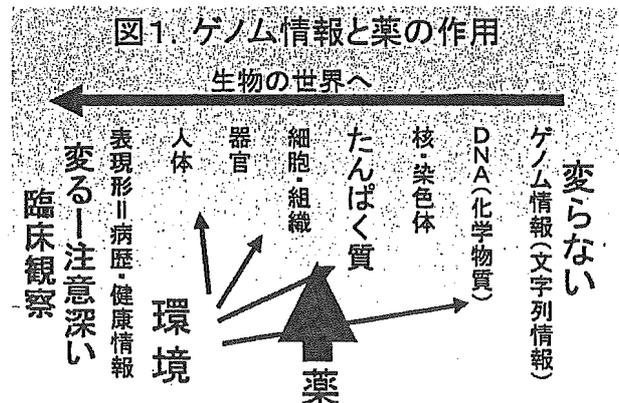
このような背景の下に、人集団を対象とした研究で最も議論的となる「プラセボ」や「対照群」の原則が示されていないのである。さらには、日本の臨床研究では、そもそも「まるのままの人を対象とした研究（本来の意味での臨床研究）」への対応も記されていない。

治験と医師主導の治験という枠に入らない、ゲノム情報を利用した薬の臨床研究が、その多様性を広げている中で、先の問題は、臨床薬理学の専門家が現実と直面するものであると考えている。それについての検討は、専門家から行われるべきものと考えている。

患者・市民との対話の中でのコアコンピタンス

後半では、市民へ伝えるべきゲノム情報の利用した薬の研究と研究成果の利用でのコアコンピタンスについて取りあげる。

ゲノム情報は個人のからだの基本情報として、薬に対する生体の反応を規定する側面を持つ。しかし、実際には、ゲノム情報が発現され、生体の反応、表現型（今のからだの状態）へとくみ上げられていく過程で、多様な環境因子が作用する(図1)。そして、薬を使うときは、からだの機能が正



常に働かないときであり、ゲノム情報から推測される薬の作用を額面どおりに、患者へと適応することには無理がある場合もある。現在、調整の難しい高血圧や糖尿病の薬の処方を変える場合に、

「それでは入院して調整しましょう」となる。将来、ゲノム情報の利用によって、あるゲノム特性をもつ集団での薬への反応が絞り込めたとしても、図1に示すように、医師による臨床観察の重要性は変わらない。患者の顔色も見ずに、血液検査の結果（表現型として、ゲノム情報より病気の実態に近い）を見ながら「問題ないですね」という現状がある。それをさらに進め、ゲノム情報を見ながら、推測を個人に当てはめることが、薬の使い方の進歩とは言えない。今後、医師の教育や薬剤師の機能強化も含めて対応が求められている。

今ひとつ重要な点は、多因子に関わる複雑な現象について、研究成果の全体像を患者・市民に伝えることの難しさだ。例として、表1に喫煙と肺がんの関係についての4分割表を示した。この結果は、「タバコを吸う人は、吸わない人と比較すると約4倍肺がんになり易い」と表現される。全体をみると、タバコを吸う人でも約100人に1人、しかし、吸わない人でも約400人に1人が肺がんになることを示す。

集団の反応は、個人のばらつきを集めてさらに複雑になる。集団の反応の全体像を伝えることが重要である。そして、4分割表の考え方を理解することで、集団研究の成果について説明を受けた患者・市民が、自ら責任の持てる判断へと進んでいくことが期待される。

表1. 4分割表の考え方

	肺がんになる	肺がんにならない
タバコを吸う	231人 (0.99%)	23,036人
タバコを吸わない	26人 (0.24%)	10,813人

International J. Cancer 99 (2002)
'90-99年追跡、男子のデータ

終わりに

薬の使い方の賢さとは、ゲノムと病気との関係を測り、集団での現象を患者・市民に適切に伝え、市民が納得することと、医師が注意深く患者を観察することによって、成り立つものであると考えられる。臨床研究の現状認識を深め、その成果の全体像を眺めながら、社会との関係を育てることが、研究者集団にも求められている。