

200707037A

厚生労働科学研究研究費補助金

創薬基盤推進研究事業

(ヒトゲノムテーラーメイド研究)

抗精神病薬と抗うつ薬のファーマコジェネティクス

平成 19 年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 功刀 浩

平成 20 (2008) 年 4 月

目 次

I.	総括研究報告	
	抗精神病薬と抗うつ薬のファーマコジェネティクス	1
	功刀 浩	
II.	分担研究報告	
	1. 抗うつ薬の薬理遺伝学的解析	6
	功刀 浩	
	2. 抗精神病薬の薬物代謝と副作用を規定する遺伝子の探索	18
	岩田 仲生	
	3. 向精神病薬によるQTc延長に関する研究	24
	尾関 祐二	
	4. 抗精神病薬の治療効果に関する薬力学的研究	30
	稲田 俊也	
III.	研究成果の刊行に関する一覧表	34
IV.	研究成果の刊行物・別刷	37

厚生労働科学研究費補助金
(創薬基盤推進研究事業：ヒトゲノムテーラーメイド研究)

総括研究報告書

抗精神病薬と抗うつ薬のファーマコジェネティクス

主任研究者 功刀 浩

国立精神・神経センター 神経研究所 疾病研究第三部 部長

研究要旨

本研究は、精神疾患の病態に関与する可能性のある遺伝子や薬物代謝に関わる遺伝子の多型と抗精神病薬・抗うつ薬への薬物応答（治療反応性、重大な副作用）との関連を検討し、効率的で薬害の少ないオーダーメイド医療の実現につながる知見を得ることを目的とする。

今年度は、次のような主要な成果が得られた。

①抗うつ薬で治療されているうつ病患者の DNA サンプルをおよそ 80 例収集した。これは、今後、テーラーメイド医療実現のための遺伝子研究の貴重なリソースとなる。

②抗うつ薬に対する治療反応性が明らかなくうつ病患者の DNA サンプルを用いて 37 万 SNPs チップを用いた全ゲノム解析を行った。これは、オーダーメイド医療実現に寄与する遺伝子を同定するための極めて貴重な基盤的データベースとなる。

③GRM3 と DISC1 の遺伝子多型が抗うつ薬の治療反応性と有意に関連することを見出した。この所見は臨床応用に結び付き得る。

④DRD2 や AKT1 の遺伝子多型がリスペリドンへの治療反応性と有意に関連することを見出した。この所見は臨床応用に結び付き得る。

⑤1000 人以上の統合失調症患者の心電図を解析し、ハロペリドール（経口、静脈注射）、クロルプロマジン、スルトプリドなどの第一世代抗精神病薬が QTc 延長のリスクを高めることを見出した。一方、第二世代の抗精神病薬は概して QTc 延長のリスクが低かった。これは临床上重要な知見である。第一世代より第二世代の抗精神病薬の方が概して安全であったことから、QTc の高い傾向にある者に対しては、第二世代の薬物を使用すべきであるという具体的な指針となる。今後、遺伝子情報を解析し、危険性の高い個体の遺伝要因を明らかにしたい。

分担研究者

岩田仲生 藤田保健衛生大学医学部・教授

尾関祐二 国立精神・神経センター・室長

稲田俊也 帝京大学医学部・教授

A. 研究目的

本研究は、抗精神病薬や抗うつ薬の治療反応性と重大な副作用と関連する遺伝的要因について明らかにすることで、オーダーメイド医療の実現に向けた知見を得ることを目的とする。統合失調症は、およそ人口の1%が罹患する common disease であり、幻覚や妄想などの精神病症状に加え、意欲低下や自閉などの社会的機能の低下を生じ、約15%の患者は、自殺という不幸な転帰をたどる。抗精神病薬の個々の患者に対する有効性はケースバイケースであり、薬物選択の基準となる客観的な指標やエビデンスは殆どなく、医療者の「経験と勘」に基づいて行われているのが現状である。また、抗精神病薬は重大な副作用が生じることが少なくなく、中でも非可逆的な錐体外路系副作用である遅発性ジスキネジアをしばしば生じる（定型的抗精神病薬ではおよそ15%）。近年開発された非定型抗精神病薬では、これらの錐体外路系副作用は少ない一方、耐糖能異常や肥満などのメタボリック症候群をしばしば生じる。また、抗精神病薬によって心電図上QTc延長を生じる場合があり、突然死のリスクを高めることが知られている。

うつ病は、およそ人口の10~20%が罹患する頻度の高い疾患であり、自殺の主要な原因疾患で

ある。本邦では、自殺者は1990年代後半から急増し、年間3万人以上にのぼり、20~40歳代では死因の第一位であり、多くはうつ病/うつ状態と関連している。うつ病患者の約2/3は抗うつ薬の反応者であり症状の少なくとも50%が改善するが、残りの1/3の非反応者を前もって予測する客観的な指標がないため、4~6週間の経過をみて薬効を判断するほか有効な手段がないのが現状である。非反応者の場合、その6週間の間に症状が悪化し、自殺にいたる場合も少なくない。また、SSRIなどの新規抗うつ薬の副作用として嘔気・嘔吐があり、それによって薬物服用のコンプライアンスが低下することが知られており、これも予後を悪化させる要因となる。

このように向精神薬による治療の特徴として、患者によって治療への反応性が大きく異なり、今のところ反応性を予測できる明らかな臨床的要因が少ないこと、重大な副作用を生じる可能性が少なくないことが挙げられる。したがって、ゲノム情報を用いて、あらかじめ薬効や重大な副作用発現の予測を行うことが可能になることが期待される。

B. 研究方法

1) ヒト研究試料の収集： 国立精神・神経センター武蔵病院において治療中のうつ病患者と健常者を対象として、ゲノムDNA、血液中のRNA、血漿サンプルを多数収集した。

2) 抗うつ薬の薬理遺伝学的解析： 抗うつ薬に

対する治療反応性が明らかなうつ病患者の DNA サンプルを用いて候補遺伝子研究として脳由来神経栄養因子(BDNF)、ニューロトロフィ共通の低親和性受容体 p75NTR、代謝型グルタミン酸受容体遺伝子の1つ mGluR3 (GRM3)と DISC1 (Disrupted-in-Schizophrenia 1) の遺伝子多型が抗うつ薬の治療反応性と有意に関連するか否かについて検討した。

また、同じサンプルを用いて 37 万 SNPs チップを用いた全ゲノム解析を行っている。

3) 抗精神病薬の薬理遺伝学的解析

分担研究者の岩田らは、最も汎用されている抗精神病薬の一つリスペリドンによって治療されており、反応性に関する詳細な情報をもつ統合失調症患者177名（抗精神病薬の投与歴のない患者108名とリスペリドンに置換したものが69名）を対象として、治療薬への反応性と関連する遺伝子を候補遺伝子研究により探索した。すなわち、候補遺伝子として、ドパミン関連遺伝子（ドパミン受容体遺伝子 (DRD1-DRD5)、AKT1、GSK3遺伝子）、セロトニン関連遺伝子（HTR1A, HTR1B, HTR1D, HTR2A, HTR2C, HTR6, HTR7）内の30の遺伝子多型をタイプした。

4) 向精神薬によるQT延長に関する解析

4 箇所の精神科病院に入院中の統合失調症患者 1065 人の臨床情報（投与薬剤など）を収集し、心電図をスクリーニングした。また、QTc 延長の

見られた患者から DNA を採取した。内服薬と QTc との関連は、各薬剤を標準薬へ等価換算を行った上で比較した。すなわち、抗精神病薬はクロルプロマジン、抗パーキンソン薬はビペリデン、ベンゾジアゼピン系薬物はジアゼパムに換算した。バルプロ酸、カルバマゼピン、炭酸リチウムも同時に検討した。抗精神病薬に関しては、個々の薬剤投与量とも関連を検討した。QTc 異常の有無と標準化した薬剤、各抗精神病薬との関連はロジスティック回帰分析、QTc の値と各抗精神病薬との関連は重回帰分析で検討した。なお薬剤は 3%以上の患者が使用しているもののみを対象とした。

HERG の遺伝子配列はダイレクトシークエンス法にて各エクソンの遺伝子配列を直接検討した。

（倫理面への配慮）

本研究は、精神疾患患者を対象とした遺伝子解析研究である。試料提供者およびその血縁者の遺伝的素因を研究するため、その取り扱いによっては、さまざまな倫理的、社会的問題を招く可能性がある。したがって、文部科学省、厚生労働省、経済産業省告示第1号の「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」を遵守した研究計画書を作成し、研究施設での倫理委員会において承認を受けた上で研究を行う。試料提供者への説明とインフォームド・コンセント、個人情報の厳重な管理（匿名化）などを徹底している。

C. D. 研究結果、考察

1) ヒト研究試料の収集： 国立精神・神経センター武蔵病院において治療中のうつ病患者およそ 80 名のゲノム DNA、血液中の RNA、血漿サンプルを収集した。健常者は 150 名以上収集した。

2) 抗うつ薬の薬理遺伝学的研究

BDNF の Val66Met 多型 や p75NTR の Ser205Leu多型に関しては抗うつ薬への反応性との統計的に有意な関連は認められなかったが、DISC1やGRM3との有意な関連が認められた。DISC1は、うつ病との関連が指摘されており、抗うつ薬の治療反応性も規定していることは、興味深い所見である。グルタミン酸は主要な興奮性神経伝達物質であり、脳の大部分のシナプス興奮や可塑性において重要な役割を果たす。近年、代謝型グルタミン酸受容体(metabotropic glutamate receptors: mGluRs) に作用する薬物が、新しい抗うつ薬の開発において注目されていることもあり、今回のmGluR3 (GRM3)との関連は抗うつ薬の作用機序を考える上でも興味深い知見である。

37万SNPsによるタイピングは現在進行中である。このデータベースが完成すれば、抗うつ薬の治療反応性と関連する遺伝子多型を探索するための極めて貴重なデータベースとなろう。

3) 抗精神病薬の薬理遺伝学的解析

DRD2 の-241A>G と TaqIA、AKT1 の AKT1-SNP1 と AKT1-SNP5 が有意な予測因子である可能性が示され、両者とも十分有用な予測因子であることが示唆された。ドパミン D2 受容体とそのシグナル伝達経路で特に神経伸張などに関連する AKT1 遺伝子の両遺伝子での遺伝子多型と治療反応性を予測しうる可能性が示された。これはファーマコジェネティックスの方法論は従来の仮説上の統計モデルに当てはめて反応性を予測する手法とは大きく異なり、決定論的にその結果を予測する方法が開発できる可能性を示したと考えることができる。

4) 向精神薬によるQT延長に関する解析

QTc が 470msec^{1/2} 以上の異常値を示した患者は 39 人 (3.8%) であった。クロルプロマジン換算した抗精神病薬と QTc 延長との間に関連が認められた。それぞれの抗精神病薬について検討したところ、ハロペリドール静脈内投与、クロルプロマジン、スルトプリドの経口投与が用量依存的に QTc 延長を引き起こすことが示された。QTc を連続変数として、各抗精神病薬と QTc 時間との関連を重回帰分析にて検討したところ、ハロペリドール静脈内投与、ハロペリドール経口投与、クロルプロマジン、レボメプロマジン、スルトプリドが、用量依存的に QTc 時間を延長させることが明らかになった。非定型抗精神病薬は概して安全であった。今回の研究より、抗精神病薬の総量が増加すると QTc が延長すること、抗精神病薬の

中でも特にハロペリソール、クロルプロマジン、レボメプロマジン、スルトブリドが危険であることが判明した。また逆に、第二世代抗精神病薬といわれる、リスパダール、オランザピン、クエチアピン、ゾテピンはQTc延長との関連が見出せず、疾患の危険性が高い患者では第二世代の抗精神病薬が勧められるという具体的な指針となる。

16人のQTcが延長した患者のHERG遺伝子のエクソン部分(16エクソン)の遺伝子配列をダイレクトシーケンス法で検討したが、QTc延長に関連するような遺伝子多型は今のところ見出されなかった。今後、さらに症例を増やして検討する必要がある。

E. 結論

①抗うつ薬で治療されているうつ病患者のDNAサンプルをおよそ80例収集した。これは、今後、テーラーメイド医療実現のための遺伝子研究の貴重なリソースとなる。

②抗うつ薬に対する治療反応性が明らかうつ病患者のDNAサンプルを用いて37万SNPsチップを用いた全ゲノム解析を行った。これは、オーダーメイド医療実現に寄与する遺伝子を同定するための極めて貴重な基盤的データベースとなる。

③GRM3とDISC1の遺伝子多型が抗うつ薬の治療反応性と有意に関連することを見出した。この所見は臨床応用に結び付き得る。

④DRD2やAKT1の遺伝子多型がリスペリドンへの治療反応性と有意に関連することを見出した。この所見は臨床応用に結び付き得る。

⑤1000人以上の統合失調症患者の心電図を解析し、ハロペリドール(経口、静脈注射)、クロルプロマジン、スルトブリドなどの第一世代抗精神病薬がQTc延長のリスクを高めることを見出した。一方、第二世代の抗精神病薬は概してQTc延長のリスクが低かった。これは临床上重要な知見である。第一世代より第二世代の抗精神病薬の方が概して安全であったことから、QTcの高い傾向にある者に対しては、第二世代の薬物を使用すべきであるという具体的な指針となる。今後、遺伝子情報を解析し、危険性の高い個体の遺伝要因を明らかにしたい。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

それぞれの分担研究報告書に記載

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

厚生労働科学研究費補助金
(創薬基盤推進研究事業：ヒトゲノムテーラーメイド研究)

分担研究報告書

抗うつ薬の薬理遺伝学的解析

分担研究者 功刀 浩
国立精神・神経センター 神経研究所
疾病研究第三部 部長

研究要旨

抗うつ薬に対する治療反応性が明らかなうつ病患者の DNA サンプルを用いて候補遺伝子研究を行い、GRM3 と DISC1 の遺伝子多型が抗うつ薬の治療反応性と有意に関連することを見出した。この所見は遺伝子情報による治療反応予測を可能にする知見であり、臨床応用に結び付き得る。

また、37 万 SNPs チップを用いた全ゲノム解析を行っており、オーダーメイド医療実現に寄与する遺伝子を同定するための極めて貴重な基盤的データベースとなる。

A. 研究目的

気分障害は、躁状態とうつ状態とを呈する双極性障害とうつ状態だけを呈する単極性うつ病とに大別される。双極性障害は、人口のおよそ 1～2%に発症し、単極性はその数倍～十数倍頻度の高い疾患である。近年、自殺者は年間 35000 人にのぼっているが、自殺者の大多数はうつ病ないしうつ状態に罹患しており、抗うつ薬による薬物療法の成否は自殺予防に直結する重要な問題である。抗うつ薬は古くから三環系抗うつ薬などがあるが、近年、SSRI (選択的セロトニン再取り込み阻害薬) や SNRI (セロトニン・ノルアドレナリン再取り込み阻害薬) などの新しい抗うつ薬が次々

に発売されてきている。これらの薬物に対して反応する患者と非反応者とが存在するが、今のところ治療反応性を予測する臨床的指標は乏しく、薬物投与後に 4～6 週間経過をみないと効果が判断できないのが現状である。治療に反応しない場合、患者の苦痛が持続する上、自殺の危険性が高まることにもなる。

抗うつ薬の治療反応性は遺伝的要因が関与することが明らかにされているが、具体的な遺伝子多型については不明の部分が多い。近年、ヒト遺伝子多型に関するデータベースが急ピッチで蓄積されており、本研究は、このゲノム情報を用いて、抗うつ薬 (特に SSRI である fluvoxamine と

paroxetine、SNRIであるmilnacipranを中心とする抗うつ薬)への治療反応性を規定する薬力学的因子となる遺伝子の多型(SNPs: single nucleotide polymorphisms)を同定することを目的とする。患者のゲノム情報からあらかじめ抗うつ薬への治療反応性を予測することが可能となれば、効率的なオーダーメイド医療が可能となり、自殺予防にもつながることが期待される。

薬理遺伝学的研究は、薬物の吸収・代謝に関与する遺伝子の個体差に関する研究を行う薬物動態学的研究と、薬物の標的タンパクを制御する遺伝子の個体差に関する研究を行う薬力学的研究とに大別される。抗うつ薬に関する薬理遺伝学的研究は内外に少なくないが、これまでに行われてきたものは、cytochrome P450系などの遺伝子に関する薬物動態学的研究が多く、CYP2D6やCYP2C19の遺伝子多型と血中濃度、治療効果との関連などについて明らかになってきている。しかし、薬力学的研究に関しては、セロトニン神経系を制御する遺伝子(セロトニン・トランスポーターなど)の遺伝子多型との関連が探られているが、いまだに検討された遺伝子はそれほど多くない。

われわれは、これまでに気分障害と関連する可能性がある遺伝子について報告してきた。そのうち、脳由来神経栄養因子(brain-derived neurotrophic factor; BDNF)は、中枢神経系の発達、成長、維持、可塑性などにおいて重要な働きをしており、うつ病患者の死後脳の発現レベルや末梢血濃度が低下しており、抗うつ薬は逆にBDNF

の発現を高め、血中濃度を上昇させることから、気分障害の発症や抗うつ薬の作用において重要な役割を果たすと考えられている。われわれは、BDNFの遺伝子多型と気分障害との関連を検討し、アミノ酸置換を伴うVal66Met(66番目のアミノ酸がバリンからメチオニンに置換する多型)については、双極性障害の発症リスクとは関連しないことや、気分安定薬であるリチウムへの反応性と関連しない可能性を指摘した。しかし、この遺伝子多型については、他の研究グループにより、抗うつ薬への反応性と関連する可能性も複数報告されている。また、われわれは、BDNF遺伝子のプロモーターと想定される領域に存在する繰り返し配列多型が、対立遺伝子依存的に転写制御を行っており、双極性障害の発病リスクと関連する可能性について見出した。BDNFの受容体には高親和性受容体としてTrkB、低親和性受容体ではp75NTRが知られている。興味深いことに両者は相反する働きをしており、TrkBが神経栄養作用をもつのに対し、p75NTRはアポトーシスを引き起こすことが示唆されている。われわれは、このp75NTR遺伝子のアミノ酸置換を伴う遺伝子多型(Ser205Leu)が、大うつ病の発病リスクや自殺行動と関連する可能性を初めて報告した。本研究では、BDNFのVal66Met多型(rs6265)とp75NTRのSer205Leu多型(rs2072446)が抗うつ薬への反応性と関連するか否かについて検討した結果を報告する。

また、DISC1(Disrupted in Schizophrenia 1)遺伝子は、統合失調症や気分障害が多発していた

スコットランドの大家系にみられた染色体異常、すなわち相互平衡転座(1;11)(q42;q14.3)の染色体切断点に存在していた遺伝子の1つで、当初統合失調症の有力候補遺伝子として同定された。しかし、われわれはこの遺伝子の多型を詳細に検討し、大うつ病の発病リスクとも有意に関連することを最近見出した。そこで、DISC1の遺伝子多型と抗うつ薬への反応性との関連についても検討した。

グルタミン酸は主要な興奮性神経伝達物質であり、脳の大部分のシナプス興奮や可塑性において重要な役割を果たす。近年、代謝型グルタミン酸受容体(metabotropic glutamate receptors: mGluRs)に作用する薬物が、新しい抗うつ薬の開発において注目されている。mGluRsは、神経伝達物質放出や後シナプスにおけるグルタミン酸への反応性を変化させることによってグルタミン酸系の神経伝達を制御する。神経幹細胞の増殖(神経新生)やモノアミンの放出に関与することを示唆する報告も増えており、気分障害の新しい治療標的となっている。事実、グループIのmGluRs(mGluR1, mGluR5)に対する拮抗薬(LY367385、R-193845、MPEP [2-methyl-6-[phenylethynyl]-pyridine]など)、グループIIのmGluRs(mGluR2, mGluR3)に対する拮抗薬(LY341495, MSG0039など)は、げっ歯類による行動実験で強制水泳テストの無動時間を減少させるなどの抗うつ効果があることが次々に報告されている。一方、イミプラミンなど

の抗うつ薬の慢性投与や脳への電気ショックは、グループIやグループIIのmGluRsの発現を変化させるという動物実験の結果も報告されており、従来の抗うつ治療の治療機転においてもmGluRsが関与している可能性が強く示唆されている。そこで今回、mGluR3(GRM3)の遺伝子多型と抗うつ薬への治療反応性について検討を行った。

B. 研究方法

対象は、米国精神医学会の診断基準DSM-IVによって大うつ病ないし双極性障害のうつ病相と診断され、fluvoxamine(SSRI)、paroxetine(SSRI)、milnacipran(SNRI)、nortryptiline(三環系)のいずれか単剤によって治療されていた患者である。これらの患者については、服薬歴、うつ病治療経過(治療後1、2、4、6、8、12週後のハミルトンうつ病症状評価尺度[HAMD]スコア)、副作用、治療中断、自殺企図歴などの詳細な臨床データを得た。その情報に基づき、治療開始時点から治療8週間後まで服薬を継続し、症状評価を行うことにより抗うつ薬への治療反応性が明らかにされていた患者106例を解析対象とした。なお、被験者に対しては研究について十分な説明を行った後に、研究参加について書面にて同意を得た。

抗うつ薬への反応性は、治療開始時のHAMDスコアが15点以上であり、8週間後のスコアが治療開始時の50%以下にまで減少した患者を

レスポonder、そうでない者をノンレスポonderと定義した。

末梢血からゲノム DNA を抽出し、BDNF の Val66Met、P75NTR の Ser205Leu、DISC1 の 13 個の SNPs、GRM3 の 6 個の SNPs について TaqMan 法でジェノタイピングを行った。それぞれの SNPs についてレスポonderとノンレスポonderとの間で対立遺伝子頻度を比較し、統計的に有意差があるかどうか χ^2 独立性の検定を行った。DISC1 については、COAPHASE 2.4 を用いてハプロタイプ解析を行った。他の統計解析は SPSSv. 11 を用いて行い、 $p < 0.05$ (両側検定) を有意とした。

全ゲノム解析は、37 万 SNPs (Illumina Human CNV370 BeadChip) を用いてタイピングを行っている。本 Chip によるタイピングにより、HapMap 由来の 317000 の tag SNPs と 55000 のコピー数変化(CNV)に関する情報が得られる。

(倫理面への配慮)

本研究は、文部科学省、厚生労働省、経済産業省告示第 1 号の「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」を遵守した研究計画書を作成し、研究施設での倫理委員会において承認を受けた上で研究を行った。

C. 研究結果

抗うつ薬に関する反応性が明らかな 106 例のう

ち、レスポonderは 65 名 (61%)、ノンレスポonderが 41 名 (39%) であった。年齢、性、投与薬剤に関して両群間に有意差を認めなかったが、レスポonderはノンレスポonderと比較して治療開始時の HAMD スコアが有意に高く、また、当然のことながら治療 8 週間における HAMD スコアの変化が有意に大きかった (表 1)。

BDNF の Val66Met 多型の遺伝子型と対立遺伝子頻度に関するレスポonderとノンレスポonderとの比較を表 2 に示す。全ての抗うつ薬を併せて分析した場合、遺伝子型頻度、対立遺伝子頻度ともに両群間で有意差を認めなかった。そこで抗うつ薬を SSRI 群 (fluvoxamine と paroxetine) とノルアドレナリン系への作用が比較的強い薬剤 (milnacipran と nortriptyline) の 2 群に分けて分析した。しかし、SSRI 群 (遺伝子型分布 $p=0.65$; 対立遺伝子頻度 $p=0.75$)、ノルアドレナリン系群 (遺伝子型分布 $p=0.91$; 対立遺伝子頻度 $p=0.95$) のいずれにおいても、BDNF と治療反応性との間に有意な関連を認めなかった。さらに、抗うつ薬投与開始時と投与後 8 週間後との間の HAMD スコアの変化と BDNF の遺伝子型との間にも有意な関連を認めなかった (Val/Val 型 : 13.6 ± 7.6 ; Val/Met 型 : 13.6 ± 7.8 ; Met/Met 型 : 12.7 ± 6.3 , $p=0.89$ ANOVA 検定)。

次に、BDNF の低親和性受容体である p75NTR の Ser205Leu 多型についての結果を表 3 に示す。この多型は変異型対立遺伝子 (minor allele) の頻度が比較的 low、205Leu のホモ接合体はいなか

った。抗うつ薬への反応性との有意な関連はみられなかった。BDNFと同様に抗うつ薬を2群に分けて分析しても有意な関連を認めなかった。

DISC1の13個のSNPsと抗うつ薬への反応性との関連をみた結果を表4に示す。調べた13個のSNPsのうち、抗うつ薬との関連がある傾向($p < 0.10$)を示したSNPsが2つ存在した(SNP2とSNP13)。そのうち、SNP2は、アミノ酸置換を伴う多型(Gln264Arg)であった。次に13個のSNPsの隣接する2つのマーカーによって構成されるハプロタイプによって解析したところ、いくつかの有意な関連が見られた(表5)。最も強い関連性を示したのは、SNP7とSNP8で構成されるT-Cハプロタイプであった(individual $p = 0.004$)。

GRM3についての結果を表6に示す。調べた6個のSNPsのうち、4個のSNPsが有意($p < 0.05$)でないし、統計的傾向($p < 0.10$)をもって、レスポonderとノンレスポonderとの間で対立遺伝子頻度に差がみられた。

37万SNPsによるタイピングは現在進行中である。

D. 考察

本研究で用いた4つの抗うつ薬(flvoxamine、paroxetine、milnacipran、nortryptiline)による治療に対する反応性はレスポonderが61%であった。レスポonder群とノンレスポonder群

との間に年齢、性に関しては殆ど差が無かった。4薬剤におけるレスポonderの比率を比較すると、三環系であるnortryptilineに対する反応性は4薬のなかで最も高い数字(75%)であったが、統計学的有意差はみられなかった(表1)。例えばHirschfeld(1999)によれば、本研究と類似の定義を用いた抗うつ薬に対するレスポonderの割合は、SSRIでは53~64%、三環系では43~70%という数字を挙げている。本研究の日本人における反応性もこれと概ね一致していた。レスポonderはノンレスポonderと比較して治療開始時点でのHAMDスコアが高かったが、これは治療開始時点でスコアが低い場合は、抗うつ薬の効果が現れにくいのかも知れない。

BDNFのVal66Met多型では、Val型とMet型タンパクとで種々の機能差があることが示唆されている。Eganら(2003)は、Met型をもつと、Val型と比較してエピソード記憶力が低く、機能的MRI画像では海馬の活性化が減弱していることなどを見出した。細胞レベルでは、Met型ではVal型と比較して活動依存的なBDNFの放出が低下するという。種々の抗うつ薬や通電療法などにおいて、BDNFの発現上昇が指摘されていること(もあり1)、Val66Met多型は抗うつ薬への反応性を規定している可能性が考えられる。しかし、本研究では、抗うつ薬全体でも、SSRI群とノルアドレナリン系に作用する群の2群に分けた場合でも、遺伝子多型と抗うつ薬への反応性との間に有意な関連を認めなかった。しかし、この多型と

抗うつ薬への反応性が関連するとする報告は複数ある。Choiら(2006)は韓国において、日本では未発売のSSRIであるcitalopramで8週間治療を行った大うつ病患者を対象としてVal66Met多型との関連をみた。その結果、レスポナーはノンレスポナーと比較してMet型対立遺伝子を持つ群が有意に多かったという。Tsaiら(2003)は、SSRIであるfluoxetineで4週間治療した大うつ病患者とBDNFのVal66Met多型との関連をみた結果、遺伝子型と反応性との間に有意な関連はなかったが、ヘテロ接合体(Val/Met型をもつ者)はホモ接合体(Val/Val型かMet/Met型をもつ)よりも反応が良い傾向があったという。日本のYoshidaら(2006)はmilnacipranやfluvoxamineで治療した群で同様の結果を得ている。しかし、ヘテロ接合体がホモ接合体と比べて反応性が良いメカニズムは不明である。以上のように研究結果が一致していないことは、いまだに症例数が少ないことによるtype I errorないしtype II errorに由来する可能性も高く、今後結論付けるためにはさらに症例数を増やして検討を行う必要がある。

p75NTRは、BDNFの低親和性受容体であり、アポトーシスにおいて重要な働きをなすとされる分子である。うつ病では、海馬体積が減少していることを示唆する報告も多く、われわれはp75NTRがうつ病における脳の可塑的变化において何らかの役割を果たしているのではないかと考えている。さらに、われわれはSer205Leu

多型とうつ病との関連を以前に見出したことから(Kunugi et al, 2004)、抗うつ薬への治療反応性も規定している可能性が考えられた。今回の検討では、有意な関連は見出されなかったが、この多型の変異型対立遺伝子(205Leu)は頻度が非常に低いために(およそ8%)、症例数が少ないことによるtype II errorである可能性も十分残されており、やはり今後さらに症例を増やして検討する必要がある。

DISC1遺伝子については、解析した13個のSNPsのうち、2つのSNPs(SNP2とSNP13)において、傾向レベル($p < 0.10$)であるが、関連がある可能性を認めた。そのうちの1つであるSNP2はアミノ酸置換を伴う変異(Gln264Arg)であった。いっぽう、ハプロタイプ解析においてもいくつかの有意な関連を示すハプロタイプが同定された。しかし、有意な関連を示したいずれのハプロタイプも、傾向を示した2つのSNPのどちらも含んでいなかった。以上から、本研究結果から、DISC1と抗うつ薬への反応性は関連する可能性が示唆されたものの、その原因となるSNPを特定することは困難である。すなわち、抗うつ薬への反応性を規定している”responsible SNPs”は、今回調べなかった未知のSNPである可能性がある。DISC1は、元来、統合失調症やうつ病が多発しているスコットランドの家系においてこの遺伝子が分断されている転座をもつことからクローニングされてきた遺伝子である。いまだにその機能は不明の部分が多いが、われわれは、この遺

伝子の多型が大うつ病と関連すること、DISC1 タンパクが細胞内シグナル伝達において ERK (extracellular signal-regulated kinase)や AKT のリン酸化を促進する働きがあることを見出した(Hashimoto et al, 2006)。ERK は、BDNF を介したシグナル伝達で重要な働きをしている分子の1つであり、気分安定薬の作用メカニズムに関与することも指摘されている。また、うつ病患者の死後脳では ERK が減少しているという報告もある。従って、DISC1 の何らかの機能的遺伝子変異が ERK などのシグナルへの影響を介して抗うつ薬への反応性を規定している可能性がある。

GRM3 遺伝子では検討した6個の SNPs のうち、4個の SNPs が有意($p < 0.05$)ないし、統計的傾向($p < 0.10$)をもって、レスポンドとノンレスポンドとの間で対立遺伝子頻度に差がみられた。このことは、GRM3 の遺伝子変異によって規定される機能変化が抗うつ薬への反応性を規定している可能性を示唆する。検討した SNPs はいずれも機能への影響が不明であるが、今後、responsible SNP を探し、機能への影響を検討していくことが重要である。

E. 結論

抗うつ薬に対する治療反応性が明らかなくうつ病患者の DNA サンプルを用いて DISC1 と GRM3 の遺伝子多型が抗うつ薬の治療反応性と有意に関連することを見出した。この所見は臨床応用に結び付き得る。

また、37万 SNPs チップを用いた全ゲノム解析を行っており、オーダーメイド医療実現に寄与する遺伝子を同定するための極めて貴重な基盤的データベースとなる。

F. 健康危険情報

特記すべきことなし。

G. 研究発表 (主なもの)

Izumi A, Iijima Y, Noguchi H, Numakawa T, Okada T, Hori H, Kato T, Tatsumi M, Kosuga A, Kamijima K, Asada T, Arima K, Saitoh O, Shiosaka S, Kunugi H. Genetic Variations of Human Neuropsin Gene and Psychiatric Disorders: Polymorphism Screening and Possible Association with Bipolar Disorder and Cognitive Functions. *Neuropsychopharmacology*. 2008 Mar 19; [Epub ahead of print]

Ohtsuki T, Koga M, Ishiguro H, Horiuchi Y, Arai M, Niizato K, Itokawa M, Inada T, Iwata N, Iritani S, Ozaki N, Kunugi H, Ujike H, Watanabe Y, Someya T, Arinami T. A polymorphism of the metabotropic glutamate receptor mGluR7 (GRM7) gene is associated with schizophrenia. *Schizophr Res*. 2008 Mar 6; [Epub ahead of print]

Hashimoto R, Kusumi I, Suzuki K, Tanaka T,

- Nakagawa S, Suzuki T, Iwata N, Ozaki N, Kato T, Takeda M, Kunugi H, Koyama T. A possible association between missense polymorphism of the breakpoint cluster region gene and lithium prophylaxis in bipolar disorder. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2008 Jan 1;32(1):204-8.
- Kakiuchi C, Ishiwata M, Nanko S, Kunugi H, Minabe Y, Nakamura K, Mori N, Fujii K, Umekage T, Tochigi M, Kohda K, Sasaki T, Yamada K, Yoshikawa T, Kato T. Association analysis of HSP90B1 with bipolar disorder. *J Hum Genet*. 2007;52(10):794-803.
- Numata S, Ueno S, Iga J, Yamauchi K, Hongwei S, Hashimoto R, Takeda M, Kunugi H, Itakura M, Ohmori T. TGFB2 gene expression and genetic association with schizophrenia. *J Psychiatr Res*. 2008 May;42(6):425-32.
- Hashimoto R, Hashimoto H, Shintani N, Chiba S, Hattori S, Okada T, Nakajima M, Tanaka K, Kawagishi N, Nemoto K, Mori T, Ohnishi T, Noguchi H, Hori H, Suzuki T, Iwata N, Ozaki N, Nakabayashi T, Saitoh O, Kosuga A, Tatsumi M, Kamijima K, Weinberger DR, Kunugi H, Baba A. Pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide is associated with schizophrenia. *Mol Psychiatry*. 2007 Nov;12(11):1026-32.
- Kakiuchi C, Ishiwata M, Nanko S, Kunugi H, Minabe Y, Nakamura K, Mori N, Fujii K, Yamada K, Yoshikawa T, Kato T. Association analysis of ATF4 and ATF5, genes for interacting-proteins of DISC1, in bipolar disorder. *Neurosci Lett*. 2007 May 7;417(3):316-21.
- 学会発表 (主なもの)
- 橋本亮太, 功刀浩, 馬場明道: PACAP 遺伝子は統合失調症と関連する. 第 30 回日本神経科学大会・第 50 回日本神経化学学会大会・第 17 回日本神経回路学会大会 合同年会、横浜、2007 年 9 月 11 日.
- 橋本亮太, 沼川忠広, 大西 隆, 熊丸絵美, 矢ヶ崎有希, 石本哲也, 森 健之, 根本清貴, 安達直樹, 泉 愛子, 鈴木竜世, 岩田仲生, 尾崎紀夫, 田口隆久, 神谷 篤, 小菅麻子, 巽 雅彦, 上島国利, 澤 明, 功刀 浩: DISC1 遺伝子 Ser704Cys 機能多型はうつ病のリスク、ヒトの脳構造、神経細胞保護に影響を与える. 第 29 回日本生物学的精神医学会・第 37 回日本神経精神薬理学会合同年会, 札幌, 7.13, 2007

飯嶋良味, Richards Misty, 岡田武也, 近藤仁美,
志津野朋子, 亀ヶ谷洋子, 堀 弘明, 中村哲
夫, 有馬邦正, 齊藤 治, 功刀 浩: 統合失調
症における Epsin 4 (ENTH) 遺伝子多型の関
連. 第 29 回日本生物学的精神医学会・第 37
回日本神経精神薬理学会合同年会, 札幌, 7.12,
2007

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

1. 特許取得

該当なし。

2. 実用新案登録

該当なし。

3. その他

該当なし。

表1 抗うつ薬へのレスポーターとノンレスポーターの年齢、性、投与薬剤、HAMD スコアの比較

	レスポーター	ノンレスポーター	P
N	65	41	
年齢	43±13	43±13	p=0.96
男/女	30/35	17/24	p=0.64
投与薬剤			p=0.51
Fluvoxamine	18 (60%)	12 (40%)	
Paroxetine	19 (54%)	16 (46%)	
Milnaciparan	13 (62%)	8 (38%)	
Nortriptyline	15 (75%)	5 (25%)	
開始時 HAMD スコア	23.4±5.7	21.0±4.1	p=0.011
HAMD スコア変化*	-17.4±5.3	-6/0±4.1	p<0.001

* 治療開始時と治療開始8週間後のスコアの変化

表2 BDNF の Val66Met 多型と抗うつ薬への反応性

	N	遺伝子型頻度			N	対立遺伝子頻度	
		Val/Val	Val/Met	Met/Met		Val	Met
レスポーター	64	24 (38%)	27 (22%)	13 (20%)	128	75 (59%)	53 (41%)
ノンレスポーター	40	18 (45%)	13 (33%)	9 (23%)	80	49 (61%)	31 (39%)
P		p=0.61				p=0.73	

表3 P75NTR の Ser205Leu 多型と抗うつ薬への反応性

	N	遺伝子型頻度			N	対立遺伝子頻度	
		Ser/Se	Sel/Leu	Leu/Leu		Ser	Leu
レスポonder	54	45 (83%)	9 (17%)	0 (0%)	108	99 (92%)	9 (8%)
ノンレスポonder	36	31 (86%)	5 (14%)	0 (0%)	72	67 (92%)	5 (8%)
P		p=0.78				p=0.73	

表4 DISC1 の 13SNPs の対立遺伝子頻度に関する抗うつ薬レスポonderとノンレスポonder間の比較

SNP	dbSNP	SNP1 と の距離 (bp)	Major/minor allele	アミノ酸置 換	レスポ onder n=65	ノンレ ス ポonder n=41	P 値
1	rs6541281		C/T	-	0.116	0.095	0.22
2	rs3738401	17161	G/A	Gln264Arg	0.3	0.192	<u>0.082</u>
3	rs1340982	48898	C/T	-	0.476	0.45	0.7
4	rs1322784	115801	T/C	-	0.384	0.368	0.83
5	rs1535529	141475	C/T	-	0.422	0.45	0.69
6	rs7551537	159083	C/T	-	0.331	0.319	0.87
7	rs999710	197809	C/T	-	0.458	0.382	0.29
8	rs967433	218681	T/C	-	0.366	0.423	0.43
9	rs821577	253923	G/T	-	0.217	0.238	0.74
10	rs821597	289130	T/C	-	0.455	0.397	0.44
11	rs843979	317474	C/G	-	0.383	0.295	0.2
12	rs821616	331464	A/T	Ser704Cys	0.123	0.1	0.61
13	rs2806465	353160	G/C	-	0.397	0.269	<u>0.065</u>

Minor allele の頻度を示す。

傾向(p<0.10)がみられた P 値を下線で示す。

表5 DISC1 の 2 マーカーハプロタイプによる抗うつ薬レスポonderとノンレスポonderの比較

SNP	ハプロタイプ											
1	C											
2	G	A										
3		T	T									
4			C	C								
5				T	T							
6					C	C						
7						T	T					
8							C	C				
9								T	G			
10									T	C		
11										C	G	
12											A	A
13												C
Global P	0.36	0.23	<u>0.027</u>	0.35	0.84	0.81	<u>0.0068</u>	0.093	0.5	0.92	0.38	0.19
Individual P	0.17	0.13	<u>0.0082</u>	0.49	0.59	0.4	<u>0.004</u>	<u>0.012</u>	0.3	0.51	0.18	<u>0.037</u>
レスポonder	0.61	0.28	0.11	0.0624	0.432	0.221	0.0956	0	0.383	0.507	0.275	0.318
ノンレスポonder	0.643	0.19	0	0.241	0.472	0.167	0	0.086	0.29	0.558	0.192	0.182

2

Individual P-value は最小の P 値を示す。P<0.05 は下線で示す。

表6 GRM3 の 6 つの SNPs の対立遺伝子頻度に関する抗うつ薬レスポonderとノンレスポonder間の比較

SNP	dbSNP	Major/minor allele	アミノ酸置換	レスポonder n=65	ノンレスポonder n=41	P 値
1	SNP1	G/T	-	0.545	0.716	<u>0.034</u>
2	SNP2	C/T	-	0.093	0.013	<u>0.022</u>
3	SNP3	C/T	-	0.245	0.244	0.98
4	SNP4	A/G	-	0.12	0.025	<u>0.009</u>
5	SNP5	A/T	-	0.155	0.079	0.118
6	SNP6	A/G	-	0.134	0.053	<u>0.07</u>

厚生労働科学研究費補助金
(創薬基盤推進研究事業：ヒトゲノムテーラーメイド研究)
分担研究報告書

抗精神病薬の薬物代謝と副作用を規定する遺伝子の探索

分担研究者 岩田 仲生
藤田保健衛生大学医学部精神医学教室 教授

研究要旨

統合失調症は未だ病態生理が不明であり、従って治療薬としての抗精神病薬の真の作用機序も不明である。しかし統合失調症臨床においてはその病態進行をできる限り早期に防止することが予後に大きく影響することから、個々人においてどの治療薬が最も有効かを事前に予測するファーマコジェネティクスの成果が期待されている。本研究においては現在日本において最も処方されている抗精神病薬リスペリドンについてその治療反応性を予測する方法を全ゲノム上の SNPs 解析を行うことにより開発を目指す。本年度はまず患者サンプルの整備と一時スクリーニングとしての主要な候補遺伝子解析を行った。

A. 研究目的

Risperidone (RIS) は代表的な第二世代抗精神病薬の一つであり、従来の定型抗精神病薬に比べ、効果に優れ副作用が少ないとされる。この有効性はドパミン D2 受容体以外の神経伝達物質受容体への効果が一因と推定されている。本年度の研究では、RIS の親和性プロファイルを考慮し、いくつかの候補遺伝子についてそれらの遺伝子型が RIS 治療反応性を予測することが可能か否かを検討した。

候補遺伝子として、ドパミン関連遺伝子（ドパミン受容体遺伝子 (DRD1-DRD5)、AKT1、GSK3 遺伝子）、セロトニン関連遺伝子（HTR1A, HTR1B, HTR1D, HTR2A, HTR2C, HTR6, HTR7）内の 30 の遺伝子多型をタイプした。対象として抗精神病薬投与歴のない 120 例の統合失調症患者を RIS 単剤治療において 8 週間の治療反応性を PANSS によって評価した。統計解析として他の予測因子（発症年齢・性

別・未治療期間・当初の精神症状）を加味した重回帰分析を行うことにより、どの遺伝子型が治療反応性を予測するかを検定した。DRD2 の-241A>G と TaqIA, AKT1 の AKT1-SNP1 と AKT1-SNP5 が有意な予測因子である可能性が示された。他の因子として当初の精神症状の程度が有意差をもっていたがその寄与率よりこれらの遺伝子多型の方が強い寄与率をもっており、臨床上有用な予測因子であると考察する。

B. 研究方法

1. 対象

対象は DSM-VI-TR によって診断された統合失調症患者 177 名。うちこれまでに抗精神病薬の投与歴のない患者 108 名、事前に定型抗精神病薬の投与を受けており、そこからリスペリドンに置換したものが 69 名。治療は抗精神