

と考えられた。

E. 結論

非定型抗精神病薬リスペリドンに関してはまとまったデータがそろい、急性期においてはドパミン遺伝子多型の検索で治療効果が、ある程度予測できることを示した。副作用に関しては高プロラクチン血症ではデータがそろったが、明らかな遺伝子多型との関連は見つからなかった。耐糖能異常はオランザピンの危険性を明らかにできたが、遺伝子多型との関係には至らなかった。

F. 健康危険情報

G. 研究発表

1. 論文発表

Nakagami T, Yasui-Furukori N, Saito M, Tateishi T, **Kaneo S**. Effect of verapamil on pharmacokinetics and pharmacodynamics of risperidone: in vivo evidence of involvement of P-glycoprotein in risperidone disposition. *Clin Pharmacol Ther.* 78: 43-51, 2005.

Saito M, Yasui-Furukori N, Nakagami T, Furukori H, **Kaneko S**. Dose-dependent interaction of paroxetine with riperidone in schizophrenic patients. *J. Clin. Psychopharmacol.* 25: 527-32, 2005.

Yasui-Furukori N, Saito M, Nakagami T, Kaneda A, **Kaneko S**. Association between Multidrug Resistance 1 (MDR1) gene polymorphism and therapeutic response to bromperidol: A preliminary study. *Prog. Neuro-Psychopharmacol. & Biol. Psychiat.* 30: 286-91, 2005.

Yasui-Furukori N, **Kaneko S**. Digitalis intoxication induced by paroxetine co-administration. *Lancet.* 367(9512): 788, 2006.

Niioka T, Yasui-Furukori N, Uno T, Sugawara K, **Kaneko S**, Tateishi T. Identification of the time-point to give a plasma lansoprazole concentration that adequately reflected area under the concentration-time curve. *Ther. Drug Monit.* 28: 321-325, 2006.

Yasui-Furukori N, Saito M, Inoue Y, Niioka T, Sato Y, Tsuchimine S, **Kaneko S**. Terbinafine increases the plasma concentration of paroxetine after a single oral administration of paroxetine in healthy subjects. *Eur J Clin Pharmacol.* 63: 51-6, 2007.

Yasui-Furukori N, Saito M, Niioka T, Inoue Y, Sato, **Kaneko S**. Effect of itraconazole on pharmacokinetics of paroxetine: The role of gut transporters. *Ther Drug Monit.* 29(1): 45-48, 2007.

Iwashima K, Yasui-Furukori N, Kaneda A, Saito, M., Nakagami, T., Tsuchimine, T., **Kaneko, S**. No association between CYP2D6 polymorphisms and personality trait in Japanese. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 64(1): 96-9, 2007.

Yasui-Furukori N, Kaneda A, Iwashima K, Saito, M., Nakagami, T., Tsuchimine, T., **Kaneko, S**. Association between CYP2C19 polymorphisms and Harm Avoidance in Japanese. *Am. J. Med. Genetics* 144B: 724-727, 2007.

Yasui-Furukori N, Saito M, Nakagami T, Niioka T, Sato Y, Fujii A, **Kaneko S**. Different serum concentrations of valproic acid at steady state between two sustained-release formulations. *Psychiatry Clin Neurosci.* 61(3): 308-12, 2007.

Yasui-Furukori N, Tsuchimine S, Saito M, Nakagami T, Sato Y, **Kaneko S**. Association between Multidrug Resistance 1 (MDR1) gene polymorphisms and plasma concentration of prolactin during risperidone treatment in schizophrenic patients. *Progress in Neuropsychopharmacology & Biological Psychiatry.* 31(6): 1230-4, 2007.

2. 学会発表

<25th CINP Congress 2006.7.13. Chicago> ○Saito M, Yasui-Furukori N, Niioka T, Sugawara K, **Kaneko S**. Effect of terbinafine on paroxetine metabolism in human.

<25th CINP Congress 2006.7.13. Chicago> ○Iwashima K, Kaneko A, Yasui-Furukori N, Saito M, Nakagami T, Sato Y, **Kaneko S**. Association between CYP2D6 polymorphisms and personality trait in Japanese.

- <25th CINP Congress 2006.7.13. Chicago> ○ Yasui-Furukori N, Iwashima K, Kaneko A, Saito M, Nakagami T, Sato Y, Kaneko S. Association between CYP2C19 polymorphisms and Harm Avoidance in Japanese. 25回 CINP シカゴ, 米国, 2006年7月9-13日
- <25th CINP Congress 2006.7.13. Chicago> ○Sato Y, Yasui-Furukori N, Nakagami T, Saito M, Furukori H, Kaneko S. Comparison of glucose tolerance during treatments with risperidone and olanzapine in the same patients with schizophrenia.
- <第15回日本臨床精神神経薬理学会 2005.10.11-13. 東京> ○古郡規雄, 岩島久美子, 斉藤まなぶ, 金田絢子, 中神卓, 兼子直. 統合失調症における長期予後とドパミン関連遺伝子多型の関係について.
- <第15回日本臨床精神神経薬理学会 2005.10.11-13. 東京> ○佐藤靖, 古郡規雄, 中神卓, 斉藤まなぶ, 古郡華子, 兼子直. 統合失調症同一患者におけるリスペリドンとオランザピン治療における耐糖能比較試験.
- <第15回日本臨床精神神経薬理学会 2005.10.11-13. 東京> ○斉藤まなぶ, 古郡規雄, 金田絢子, 中神卓, 兼子直. 摂食障害患者に対する非定型抗精神病薬の比較.
- <第15回日本臨床精神神経薬理学会 2005.10.11-13. 東京> ○中神卓, 古郡規雄, 斉藤まなぶ, 佐藤靖, 兼子直. 治療抵抗性うつ症状に対してオランザピンを追加投与した3症例.
- <第15回日本臨床精神神経薬理学会 2005.10.11-13. 東京> ○田中治, 佐藤靖, 古郡規雄, 平野敬之, 兼子直. 抗精神病薬オランザピン中止により出現したセロトニン症候群の一例.
- <第28回日本生物学的精神医学会 2006.9.16. 名古屋> ○岩島久美子, 古郡規雄, 金田絢子, 斉藤まなぶ, 中神卓, 土嶺章子, 兼子直. Association between CYP2D6 polymorphisms and personality trait in Japanese.
- <第28回日本生物学的精神医学会 2006.9.16. 名古屋> ○古郡規雄, 金田絢子, 岩島久美子, 斉藤まなぶ, 中神卓, 土嶺章子, 兼子直. Association between CYP2C19 polymorphisms and Harm Avoidance in Japanese.
- <第28回日本生物学的精神医学会 2006.9.16. 名古屋> ○古郡規雄, 兼子直. COMTを中心とした臨床薬理学的視点から.
- <第16回日本臨床精神神経薬理学会 2006.10.25-27. 北九州> ○古郡規雄, 斉藤まなぶ, 中神卓, 古郡華子, 佐藤靖, 兼子直. リスペリドンあるいはオランザピンで治療中の統合失調症患者における耐糖能試験.
- <第16回日本臨床精神神経薬理学会 2006.10.25-27. 北九州> ○中神卓, 古郡規雄, 斉藤まなぶ, 新潟丈典, 兼子直. パルプロ酸徐放製剤(デパケンRとセレニカR)の薬物動態比較試験.
- <第16回日本臨床精神神経薬理学会 2006.10.25-27. 北九州> ○佐藤靖, 森山貴子, 林進, 平野敬之, 古郡規雄, 兼子直. リスペリドン追加投与後糖尿病性ケトアシドーシスを生じた統合失調症の一例.
- <第16回日本臨床精神神経薬理学会 2006.10.25-27. 北九州> ○斉藤まなぶ, 古郡規雄, 土嶺章子, 中神卓, 古郡華子, 兼子直. リスペリドンで治療中の統合失調症患者におけるプロラクチン濃度に影響を与える因子の検討.
- <第17回日本臨床精神神経薬理学会 2007.10.3-5. 大阪> ○古郡規雄, 斉藤まなぶ, 中神卓, 古郡華子, 鈴木昭仁, 三原一雄, 近藤毅, 兼子直. 統合失調症におけるリスペリドンによる薬物治療と血漿薬物濃度との関係について.
- <第17回日本臨床精神神経薬理学会 2007.10.3-5. 大阪> ○斉藤まなぶ, 古郡規雄, 中神卓, 古郡華子, 石田正之, 田中治, 三原一雄, 鈴木昭仁, 大谷浩一, 近藤毅, 兼子直. 急性期におけるリスペリドンと選択的ドパミン遮断薬の治療反応性の比較.
- <第17回日本臨床精神神経薬理学会 2007.10.3-5. 大阪> ○中神卓, 古郡規雄, 土嶺章子, 斉藤まなぶ, 古郡華子, 高橋一志, 樋口久, 近藤毅, 兼子直. リスペリドンの薬物反応性における主要MDR1遺伝子多型C3435Tの役割について.
- <第17回日本臨床精神神経薬理学会 2007.10.3-5. 大

阪> ○楠木将人、古郡規雄、斉藤まなぶ、中神卓、古郡華子、鈴木昭仁、近藤毅、兼子直. 早期治療反応性を用いたリスペリドンの急性期治療効果予測の試み.

<第 17 回日本臨床精神神経薬理学会 2007.10.3-5.大

阪> ○佐藤靖、古郡規雄、斉藤まなぶ、中神卓、古郡華子、兼子直. オランザピンおよびリスペリドン内服中の統合失調症患者のクッキーテストによる代謝性因子の比較検討.

<第 17 回日本臨床精神神経薬理学会 2007.10.3-5.大

阪> ○古郡華子、古郡規雄、斉藤まなぶ、中神卓、楠木将人、三浦淳、近藤毅、兼子直. 統合失調症のリスペリドンによる初期治療におけるプロラクチン反応.

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定も含む。）

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

ゲノム医学を活用した統合失調症及び気分障害に対する個別化治療法の開発

分担研究者 尾崎紀夫 名古屋大学大学院医学系研究科精神医学分野 教授

研究要旨

1)セロトニンノルアドレナリン再取り込み阻害薬（SNRI）milnacipran 反応性と TH、BDNF、COMT 機能的遺伝子多型との薬理遺伝研究 2)セロトニン選択的再取り込み阻害剤（SSRI）fluvoxamine 反応性と HPA 系遺伝子および VAMP2 遺伝子、paroxetine 副作用出現と HTR3B との薬理遺伝研究 3)新規抗精神病薬 risperidone の陰性症状と HTR2A・治療反応性と AKT1、GSK3 β 、DA 系遺伝子、5-HT 系遺伝子に関する薬理遺伝研究 4)抗精神病薬投与量を指標とした治療抵抗性と 5-HT 系遺伝子多型との関連研究 5)気分安定薬 lithium の再発予防効果と breakpoint cluster region 遺伝子との薬理遺伝研究を実施した。その結果、COMT Met/Met、BDNF Val/Met 多型と milnacipran 反応性、paroxetine による吐き気と HTR3B-100_-102AAG insertion/deletion 多型、risperidone に関して陰性症状残存型と HTR2A プロモーター領域-1438A/G 多型 (Odds ratio 2.07 (1.21-3.54))治療反応性に関しては AKT1-SNP5 が、HT3B のプロモーター領域にある Del-AAG が抗精神病薬の治療抵抗性と関連が認められた。また、lithium 再発予防効果に関して、breakpoint cluster region 遺伝子 Ser 型は再発予防効果が不良であった。

A. 研究目的

抗うつ薬、抗精神病薬、気分安定薬などの向精神薬を投与する際、その至適薬用量、効果・副作用発現には個々人により差異があり、これらを予測できる生物学的あるいは症候的なマーカーは未だ明らかにされていない。一方、ゲノム医学の進展から個々人の遺伝的差異の指標である一塩基置換多型（SNPs）をはじめとする遺伝子多型を用いて個々人に最適の治療を事前に予測できる個別化医療ないしテーラーメイド医療の臨床実用が期待されている。

抗うつ薬の中で、近年はセロトニンノルアドレナリン再取り込み阻害薬（SNRI）及び選択的セロトニン再取り込み阻害薬(SSRI)が汎用されている。これらの薬剤は、従来の三環系抗うつ薬に比べ、副作用は少ないものの、効果においては、従来薬と同様に個人差が大きい。したがって、薬理遺伝学的検討によって、治療反応性の指標を得ることが求められている。

また、抗精神病薬の中で汎用されている risperidone(RIS)は、従来の haloperidol などの薬剤と比べ副作用は少ないものの、効果においては、

従来薬と同様に個人差が大きい。したがって、薬理遺伝学的検討によって、治療反応性の指標を得ることが求められている。また統合失調症患者の中には抗精神病薬の用量を増やしても治療反応性が悪く、長期に入院を余儀なくされている治療困難例(treatment-resistant schizophrenia:TRS)が存在し、問題となっている。

気分安定薬の薬理遺伝学的研究は、抗うつ剤に比較して非常に少ない。炭酸 lithium その他気分安定薬の作用機序が未だ十分に解明されていないため、候補遺伝子の選択が困難であることや、治療反応性をどの様にして判定するのが十分なコンセンサスが得られていないということがその主要な理由であると考えられる。我々は、lithium の再発予防効果の指標を策定し、この再発予防効果を lithium の治療効果の指標としてゲノム解析を行ってきた。

この点を踏まえ、以下の課題に関する検討を行った。

- 1) セロトニンノルアドレナリン再取り込み阻害薬（SNRI）milnacipran 反応性と TH、BDNF、COMT 機能的遺伝子多型との薬理遺伝研究

- 2) 選択的セロトニン再取り込み阻害剤 (SSRI) fluvoxamine 反応性と HPA 系遺伝子および VAMP2 遺伝子、paroxetine 副作用出現と HTR3B との薬理遺伝研究
- 3) 新規抗精神病薬 risperidone の陰性症状と HTR2A・治療反応性と AKT1、GSK3 β 、DA 系遺伝子、5-HT 系遺伝子に関する薬理遺伝研究
- 4) 抗精神病薬投与量を指標とした治療抵抗性と 5-HT 系遺伝子多型との関連研究
- 5) 気分安定薬リチウムの再発予防効果と breakpoint cluster region 遺伝子との薬理遺伝研究

B. 研究方法

1) Milnacipran に関する課題

DSM-IV 診断基準により大うつ病と診断され、Montgomery and Asberg depression rating scale (MADRS)スコアの得点が 21 点以上、年齢 20~69 歳の患者を対象とした。他の精神疾患併存が明らかかなものは試験に導入しなかった。

基準を満たすうつ病患者に対して、milnacipran を 6 週間にわたり投与した。Milnacipran の投与量は、投与開始から 1 週間後までは 50 mg/day、以降は 100 mg/day とした。試験期間中は、不眠に対して brotizolam 0.25-0.5 mg/day のみ投与出来ることとし、他の向精神薬は併用しなかった。

薬剤投与開始前および 1、2、4、6 週間後に、抑うつ症状を MADRS を用いて評価した。試験終了時点の MADRS スコア総得点が試験開始前に比べて 50 %以上低下しているものを responder、50 %未満しか改善していないものを non-responder と定義した。投与開始から 4 週間後の評価時に、血液サンプルの採取を行い、PCR 法を用いて遺伝子型を同定した。高速液体クロマトグラフィーを用いて milnacipran の血中濃度を測定した。

Responder と non-responder の間で性別、年齢、前病相回数、メランコリアの有無に関して有意差はみられなかった。

2) SSRI に関する課題

対象は大うつ病性障害と診断された患者 106 名である。これらの患者全てに対し fluvoxamine を投与し、SIGH-D を用いて 0 週、8 週の臨床評価を行った。治療反応群を、①8 週後の SIGH-D が 50 %以上改善している、および②8 週後の SIGH-D が 7 点以下の 2 通りの定義で検討した。

また、paroxetine を投与し副作用の一つである吐き気の有無を一定の基準を用いて評価した。

3) Risperidone に関する課題

対象は DSM-IV-TR によって診断した統合失調症患者である。risperidone 単剤による治療 8 週後で、精神症状評価尺度である Positive and Negative Symptom Scale (PANSS)による効果判定を行う。

Risperidone 反応性である PANSS 変化率を従属変数として、説明変数の候補として AKT1、GSK3 β および D1-D5 受容体(DRD1)、5-HT1A、1B、1D、2A、2C、6、7 受容体遺伝子に加えて、性別、年齢、発症後の未治療期間、RIS 投与量、投与前の PANSS 点数の各因子を選び線形多重回帰分析による検討を行った。また、陰性症状は PANSS 陰性症状因子において 19 点以上の群を抽出した。

4) 治療抵抗性に関する課題

一年以上入院中の 345 名統合失調症患者の抗精神病薬投与量を確認し、一年以上にわたって chlorpromazine 換算量 1000 mg/day が継続されいながら入院を継続している群を治療抵抗例 (treatment-resistant schizophrenia:TRS)と定義し、TRS と non-TRS を判別する因子として、5-HT 受容体遺伝子多型の検討を行った。

5) Lithium の再発予防効果

対象は DSM で双極性障害と診断し、lithium 単剤で一年以上経過を観察した症例 151 例とした。Lithium の再発予防効果は以下の規準で判定した。

- ・完全反応者(Complete responder): Lithium 治療中 1 年間以上経過観察をしたが、コンプライアンスは良好で、明らかな再発は見られなかった。

- ・部分反応者(Partial Responder): Lithium 治療中 1 年間以上経過観察をしたところ、コンプライアンスが良好な期間に再発が見られた。ただしその重

症度ないし頻度は lithium 治療開始前に比べて減少していた。

- ・完全非反応者(Complete Non-responder): Lithium 治療中 1 年間以上経過観察をしたが、コンプライアンスが良好であるにもかかわらず、投与前と同じ頻度で再発が続いた。

- ・判定不能: 上記の基準でどこにも判定できない者。観察期間が足りない、コンプライアンスが悪い等。

対象から得たゲノムサンプルを用いて、breakpoint cluster region 遺伝子の遺伝子型を同定した。

尚、各候補遺伝子の Genotyping には PCR-RFLP 法、TaqMan 法、direct sequencing 法を用いた。(倫理面への配慮)

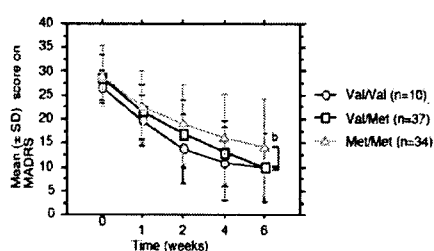
本研究は三省合同のゲノム研究に関する倫理指針に則った名古屋大学医学部倫理委員会の承認を得ており、対象者には本研究に関して十分な説明を行い、文書にて同意を取得した。

C. 研究結果

1) Milnacipran 反応性と遺伝子多型

- ・Milnacipran 反応性と THVal81Met 遺伝子多型

Figure 1. MADRS scores during 6 weeks of treatment in three TH Val81met genotype groups^a

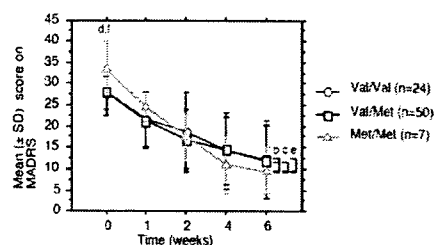


^a No significant genotype x time interaction among all three genotype groups interaction (F=0.99, df=8, p=0.44)

関連は見られなかった。

- ・Milnacipran 反応性と COMTVal158Met 遺伝子多型

Figure 2. MADRS scores during 6 weeks of treatment in three COMT val158met genotype groups^a

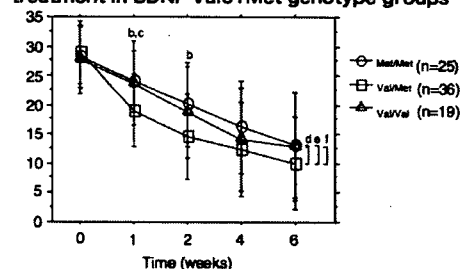


^a Significant genotype x time interaction among all three genotype groups (F=2.00, df=8, p=0.046); ^c significant genotype x time interaction between the val/met and met/met genotype groups (F=3.31, df=4, p=0.011); ^d significant difference at the 0 week between the val/met and met/met group (Z=0.0098); ^e significant genotype x time interaction between the val/val and met/met groups (F=3.18, df=4, p=0.011); ^f significant difference at the 0 week between the val/val and met/met group (p=0.013).

COMT Met/Met は、milnacipran 反応性が良好であった。

- ・Milnacipran 反応性と BDNFVal66Met 遺伝子多型

MADRS scores during 6 weeks of milnacipran treatment in BDNF Val61Met genotype groups



^a Significant difference at each point between the GA and GG groups (p<0.0001 at week 1 and p=0.0068 at week 2); ^b significant difference between the GA and AA groups (p=0.011 at week 1); ^c significant genotype x time interaction among all three genotype groups (F=2.30, df=4, p=0.021); ^d significant genotype x time interaction between the GA and GG groups (F=3.54, df=4, p=0.0077); ^e significant genotype x time interaction between the GA and AA groups (F=2.58, df=4, p=0.029).

BDNF Val/Met が milnacipran の良好な抗うつ効果と関連していた。

2) SSRI に関する課題

Fluvoxamine 反応性に関して CRHR1 (corticotropin-releasing hormone receptor1) FKBP5 (glucocorticoid receptor-regulating cochaperone of hsp-90), VAMP2 (Vesicle associated membrane protein 2)との間に有意な関連はみられなかった。

Paroxetine による吐き気と HTR3B-100_102AAG insertion/deletion 多型との関連が確認された。

3) Risperidone に関する課題

陰性症状残存型は HTR2A プロモーター領域の -1438A/G 多型との関連が検出された (Odds ratio 2.07(1.21-3.54))。治療反応性に関しては AKT1-SNP5 が説明変数として抽出された。しかし、他の遺伝子多型については有意な関連を認めなかった。

4) 治療抵抗性に関する課題

HT3B のプロモーター領域にある Del-AAG が抗精神病薬の治療抵抗性の予測因子である可能性が確認された。

5) Lithium の再発予防効果と breakpoint cluster region 遺伝子多型

Table 3. Genotype distribution and allele frequencies in responders and nonresponders (milnacipran treatment)

	Genotype distribution ^a			Allele frequency ^a	
	G/G	G/A	A/A	G	A
Responder	13 (26.0%)	26 (52.0%)	11 (22.0%)	52 (52.0%)	48 (48.0%)
Nonresponder	12 (40.0%)	19 (33.3%)	8 (26.7%)	34 (56.7%)	26 (43.3%)

^aAnalysis performed with the use of the χ^2 test.

^bNo significant difference between responders and nonresponders ($\chi^2=2.00$, $df=2$, $p=0.25$).

^cNo significant difference between responders and nonresponders ($\chi^2=0.030$, $df=1$, $p=0.57$).

Ser 型は再発予防効果が不良であった。

D.E. 考察と結論

Milnacipran 反応性に関しては COMT Met/Met の反応性が良好であった。COMT Met/Met は COMT 活性が低く、シナプス間隙には NA の濃度が高いことが予測され、それが SNRI である milnacipran に対する良好な治療反応性に繋がったと考える。また、BDNF Val/Met が milnacipran の良好な抗うつ効果と関連していた。ヘテロ接合体が機能的にホモ接合体と異なるには molecular heterosis を確認する必要があると考える

Risperidone に関する課題の結果から、HTR2A 遺伝子の発現に影響を与えうると考えられているプロモーター領域の-1438A/G 多型と陰性症状残存型統合失調症とのみ関連検出された。これまで、統合失調症一般とこれまで、統合失調症一般と-1438A/G あるいは T102/C との関連の有無に関して、多用な報告がなされているが、今回の結果から、陰性症状残存型の統合失調症にのみ関連が示唆された結果は、これまでの結果の不一致を証明するひとつの方向性と考えられる。また、プロモーター領域の-1438A/G が発現に影響を与えて、治療抵抗性陰性症状の基盤を形成している可能性が示唆され、今後、例数を追加して確認を要す

る課題と考える。更に、AKT1 の遺伝子多型と RIS 反応性との関連が抽出された。ただし、本遺伝子多型は機能的多型とは考えられず、今後、本多型と LD にある機能的多型の探索が必須である。

統合失調症治療抵抗性に関して HT3B のプロモーター領域にある Del-AAG が抗精神病薬の治療抵抗性の予測因子である可能性が示唆された。本遺伝子の機能的意義、特に発現に与える影響を現在検討中である。

Lithium 再発予防効果に関して、breakpoint cluster region 遺伝子 Ser 型は再発予防効果が不良であった。Ser 型は双極性障害そのものとも関連を示しており、病因に関与するとともに重症度を増す多型と考えられる。

F. 健康危険情報

G. 研究発表

1. 論文発表

Yoshida K, Higuchi H, Kamata M, Takahashi H, Inoue K, Suzuki T, Itoh K, Ozaki N: The G196A polymorphism of the brain-derived neurotrophic factor gene and the antidepressant effect of milnacipran and fluvoxamine. *J Psychopharmacol* 21 (6):650-6, 2007.

Saito S, Takahashi N, Ishihara R, Ikeda M, Suzuki T, Kitajima T, Yamanouchi Y, Iwata N, Yamada M, Yoshida K, Inada T, Ozaki N: Association Study between Vesicle-Associated Membrane Protein 2 Gene Polymorphisms and Fluvoxamine Response in Japanese Major Depressive Patients. *Neuropsychobiology* 54 (4):226-230, 2007.

Yoshida K, Higuchi H, Takahashi H, Kamata M, Sato K, Inoue K, Suzuki T, Itoh K, Ozaki N: Influence of the tyrosine hydroxylase val81met polymorphism and catechol-O-methyltransferase val158met polymorphism on the antidepressant effect of milnacipran. *Hum Psychopharmacol* (in press).

Ji X, Takahashi N, Saito S, Ishihara R, Maeno N,

- Inada T, Ozaki N: Relationship between three serotonin receptor subtypes (HTR3A, HTR2A and HTR4) and treatment-resistant schizophrenia in the Japanese population. *Neurosci Lett* (in press).
- Tanaka M, Kobayashi D, Murakami Y, Ozaki N, Suzuki T, Iwata N, Haraguchi K, Ieiri I, Kinukawa N, Hosoi M, Ohtani H, Sawada Y, Mine K: Genetic polymorphisms in the 5-hydroxytryptamine type 3B receptor gene and paroxetine-induced nausea. *Int J Neuropsychopharmacol* 1-7 (in press).
- Masui T, 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* (in press).
2. 学会発表
- <12th Annual Meeting of Pacific Rim Association for Clinical Pharmacogenetics, 2005> ○Xiaofei J, Ishihara R, Takahashi N, Saito S, Maeno N, Aoyama N, Inada T, Ozaki N: Relationship between HTR3A and treatment-resistant schizophrenia.
- <12th Annual Meeting of Pacific Rim Association for Clinical Pharmacogenetics: Luncheon Seminar, 2005> ○ Ozaki N: Pharmacogenetics of antidepressant response.
- <12th Annual Meeting of Pacific Rim Association for Clinical Pharmacogenetics, 2005> ○Kitajima T, Suzuki T, Yamanouchi Y, Ikeda M, Kinoshita Y, Iwata N, Ozaki N: Pharmacogenetic study of fluvoxamine response in major depression using 5HTT, 5HT2A and 5HT3A gene polymorphisms; second report.
- <14th World Congress on Psychiatric Genetics, Calgali, Italy, 2006> ○Saito S, Takahashi N, Ishihara R, Ikeda M, Suzuki T, Kitajima T, Yamanouchi Y, Iwata N, Yoshida K, Inada T, Ozaki N: VAMP2 gene polymorphisms and fluvoxamine response in Japanese major depressive patients.
- <15th World Congress on Psychiatric Genetics, 2007> ○Usui H, Nagahide Takahashi, Shinichi Saito, Ryoko Ishihara, Masashi Ikeda, Tatsuyo Suzuki, Tsuyoshi Kitajima, Yoshio Yamanouchi, Yoko Kinoshita KY, Toshiya Inada, Tetsuya Iidaka, Nakao Iwata, Ozaki N: Association study between the MPZL1/PZR gene and schizophrenia in the Japanese population.
- <15th World Congress on Psychiatric Genetics, 2007> ○Saito S, Takahashi N, Ito Y, Aleksic B, Ishihara R, Yoshida K, Inada T, Iidaka T, Ozaki N: Association study between the TACR3 gene polymorphisms and Japanese schizophrenia.
- <2nd WFSBP International Congress of Biological Psychiatry :Symposium Pathogenesis of Schizophrenia, 2007> ○Ozaki N, Ikeda M, Taya S, Kaibuchi K, Iwata N: DISC1-interacting molecules and pathogenesis of schizophrenia: A candidate gene approach.
- <第 15 回日本臨床精神神経薬理学会, 2005> ○鈴木竜世, 西山毅, 山之内芳雄, 北島剛司, 池田匡志, 木下葉子, 岸太郎, 尾崎紀夫, 岩田仲生: セロトニン 2A 受容体遺伝子 (HTR2A)T102C 多型と統合失調症の陰性症状: リスペリドン単剤治療下での PANSS 陰性症状評価尺度を用いた関連解析.
- <第 15 回日本臨床精神神経薬理学会, 2005> ○田中美鈴, 小林大介, 村上裕子, 鈴木竜世, 岩田仲生, 尾崎紀夫, 原口浩一, 家入一郎, 細井昌子, 澤田康文, 久保千春, 美根和典: Paroxetine による嘔気・嘔吐発現と 5-HT3B 受容体遺伝子多型との関連.
- <第 16 回日本臨床精神神経薬理学会 北九州, 2006> ○吉田契造, 樋口久, 鎌田光宏, 高橋

一志, 井上和幸, 鈴木敏夫, 伊藤邦彦, 尾崎紀夫: 脳由来神経栄養因子 (BDNF) 遺伝子多型と milnacipran および fluvoxamine の抗うつ効果との関連性.

<BP/NP/NC 合同学会 合同シンポジウム, 2006>

○池田匡志, 山之内芳雄, 吉村玲児, 橋本修二, 鈴木竜世, 北島剛司, 木下葉子, 中村純, 尾崎紀夫, 岩田仲生: リスペリドンの治療効果におけるドパミン関連遺伝子多型の関与の検討.

<BP/NP/NC 合同学会 国際ミニシンポジウム,

2006> ○李曉飛, 高橋長秀, 齋藤真一, 前野信久, 石原良子, 稲田俊也, 尾崎紀夫: Relationship between serotonin receptor 3B gene (HTR3b) and treatment-resistant schizophrenia (TRS).

<第 28 回日本生物学的精神医学会, 第 36 回日本

神経精神薬理学会, 第 49 回日本神経化学学会大会 合同年会, 2006> ○木下葉子, 山之内芳雄, 池田匡志, 鈴木竜世, 北島剛司, 岸太郎, 川島邦裕, 尾崎紀夫, 岩田仲生: 統合失調症患者における Risperidone 反応性と PPP3CC 多型との関連研究.

<第 17 回日本臨床精神神経薬理学会, 2007> ○岩

本邦弘, 高橋正洋, 中村由嘉子, 川村由季子, 石原良子, 内山祐二, 江部和俊, 野田明子, 吉田契造, 飯高哲也, 尾崎紀夫: 抗うつ薬が運転技能及び認知機能に与える影響.

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

抗精神病薬の反応性と副作用に関する分子薬理遺伝学的研究

分担研究者 近藤毅 琉球大学医学部高次機能医科学講座精神病態医学分野 教授

研究要旨

「ゲノム医学を活用した統合失調症及び気分障害に対する個別化治療の開発」の研究課題において、「抗精神病薬の反応性と副作用に関する分子薬理遺伝学的研究」を分担研究として担当したので、平成17年度における研究成果を報告する。

TaqI A および-141C Ins/Del などの dopamine D2 受容体遺伝子多型の組み合わせにより、治療用量の定型抗精神病薬に対する反応は80%的中率で予測された。また、反応良好マーカーである A1 遺伝子 (+) / Del 遺伝子 (-) の組み合わせで偽陽性であった群においても錐体外路症状スコアは有意に高値であったことから、これらの遺伝子多型の組み合わせが、総じて定型抗精神病薬への感受性の高さを予測する因子であることが示唆された。

代表的な非定型抗精神病薬 risperidone への反応については、血中薬物濃度 20 ng/ml 以下において nonresponse が、80 ng/ml 以上においては錐体外路性副作用による intolerance が明らかとなり、薬物動態により反応性が規定されることが判明した。一方、risperidone の投与量が 6 mg/日に収束された場合、定型抗精神病薬と同様に、A1 遺伝子 (+) または Del 遺伝子 (-) の症例で治療反応性および錐体外路性副作用スコアがともに高くなっており、同一の薬物動態学的条件では dopamine D2 受容体遺伝子多型などの薬力学的因子が予測指標として重要な意味を持つことが判明した。

A. 研究目的

ゲノム医学を活用した統合失調症及び気分障害に対する個別化治療の開発のため、抗精神病薬の反応性と副作用に関する分子薬理遺伝学的側面を分担研究として担当した。平成17年度は、dopamine受容体遮断薬などの定型抗精神病薬に加え、臨床的に頻用されている非定型抗精神病薬の代表であるrisperidone について、それらの治療効果及び副作用とdopamine D2受容体遺伝子多型との関連を検討することを目的として研究を行った。

B. 研究方法

Dopamine D2 受容体遺伝子多型を用いた定型抗精神病薬への反応の予測精度を検討するため、平成17年度末までに、未治療または治療中断後1ヶ月以上を経て急性増悪をきたした統合失調症の患者を対象に、急性期治療を3週間行うとともに1週毎に Brief Psychiatric Rating Scale (BPRS)による治療効果につ

いて定量的評価を行った。これらの対象症例の内訳は、dopamine 受容体遮断薬である nemonapride による治療例 19 例および bromperidol 治療例 30 例の計 49 例であり、弘前大学との協力により全症例の収集が達成された。これらの症例について、dopamine 受容体の密度や機能を修飾すると報告されている TaqI A および-141C Ins/Del の2つの dopamine D2 受容体遺伝子多型を PCR 法にて同定した。dopamine 受容体の密度や機能の低下に関連する TaqI A 遺伝子多型の A1 遺伝子保有者 (A1/A1 および A1/A2) と-141C Ins/Del 遺伝子多型の Del 遺伝子非保有者 (Ins/Ins) に着目しながら全症例の分類を試み、TaqI A および -141C Ins/Del の各遺伝子多型、および2つの遺伝子多型の組み合わせによる反応予測の精度および妥当性について統計学的な解析を行った。

次に、dopamine 受容体遺伝子多型と非定型抗精神病薬 risperidone の反応（治療効果・副作用）についても同様の検討を行った。平成17年度末までに弘前

大学との協同により、同一プロトコールで19症例が収集された。これらの対象症例はランダムに3種類の投与量に割付され、その内訳は、6例が2 mg/日、7例が6 mg/日、6例が12 mg/日であった。これらの投与量に3週間固定した後、次に6 mg/日にて1週間の投与を行った。3週後に risperidone および活性代謝産物である9-hydroxyrisperidone の定常状態血漿薬物濃度を行い、両者の総和を薬物動態学的な薬理活性 (active moiety) として、治療反応および副作用との関連を検討した。また、dopamine D2 受容体遺伝子多型については、4 週後の治療効果および副作用との関連を検討した。

C. 研究結果

定型抗精神病薬にて治療された49例において、A1 遺伝子およびDel遺伝子の保有/非保有の組み合わせからなる4群が形成された。その結果、A1 遺伝子 (+) またはDel遺伝子 (-) の条件を満たす群では良好な反応性が得られ、A1 遺伝子 (-) かつDel遺伝子 (+) 群では治療抵抗性が示された (Fisher exact test: $p=0.049$)。全症例における予測パラメーターは、sensitivity 90.6%、specificity 35.3%、efficiency 71.4% であり、positive predictive value (PPV) およびnegative predictive value (NPV) は各々72.5%、66.7%であった。また、反応良好マーカーであるA1 (+) /Del (-) の組み合わせで偽陽性であった群では、錐体外路症状スコアが他群の約2倍以上と有意に高値であった。

49例の中から治療用量を越えた症例19例 (haloperidol換算量 12 mg/日以上) を除き、常用量で治療された30例に焦点を当てて同様の検討を行ったところ、治療反応の予測精度はさらに向上し (Fisher exact test: $p=0.0045$)、各パラメーターに関してもsensitivity 94.7%、specificity 54.5%、efficiency 80.0%、PPV 78.3%、NPV 85.7%と上昇をみた。

以上より、治療用量の定型抗精神病薬による治療において、その反応性はTaqI A および-141C Ins/Del の2つのdopamine D2受容体遺伝子多型により、高い精度での予測が可能であり、これらは臨床応用可能なレベルにあることが明らかにされた。

次に、代表的な非定型抗精神病薬risperidoneにて治

療された19例について、薬物動態学および薬力学的観点の両面から治療反応の予測指標を探索した。2、6、12 mg/日のいずれかにて投与量を3週間固定した19例において、血漿薬物濃度 (active moiety) と臨床反応 (治療効果・錐体外路性副作用) との関連を検討したところ、血漿薬物濃度と症状改善率の間には $y = 17.1\text{Ln}(x) - 10.9$ ($r^2=0.36$, $p<0.02$) のnonlinearな相関が示され、特に20 ng/ml以下においてはnonresponseである確率が高かった。また、血漿薬物濃度と錐体外路性副作用スコアの間にはlinearな正の相関 ($r_s=0.789$, $p<0.001$) が認められ、80 ng/ml以上においては錐体外路性副作用によるintoleranceが明らかであった。以上の結果より、薬物動態学的指標はrisperidoneへの反応性に一定の影響をおよぼすことが判明した。

引き続き、3週後よりrisperidoneの投与量を6 mg/日に収束させ、薬物動態学的条件を同一にした後に、TaqI A および-141C Ins/Delの2つのdopamine D₂受容体遺伝子多型とrisperidoneの臨床反応との関連を検討した。その結果、定型抗精神病薬と同様に、A1 遺伝子 (+) またはDel遺伝子 (-) のいずれかの条件を満たす症例では、A1 (-) /Del (+) 群と比較して、治療反応性および錐体外路性副作用スコアの両者がともに高かった。したがって、risperidoneにおいても同一の薬物動態学的条件下ではdopamine D2受容体遺伝子多型などの薬力学的因子が薬物反応の予測指標として重要な意味を持つことが判明した。

D. 考察

今回の結果より、TaqI A および-141C Ins/Del dopamine 受容体遺伝子多型の組み合わせ同定は、dopamine 受容体遮断薬に対する臨床反応の予測において、その精度および妥当性に優れており、特に常用量にて使用するという条件下では、反応予測の治療前指標として実際上の臨床応用を行うに足るレベルに達しているものであることが示唆された。

非定型抗精神病薬である risperidone に関しては、投与量の範囲が比較的広いものである場合には、血漿薬物濃度などの薬物動態学的指標により、治療効果や副作用を予測することが可能であり、risperidone および活性代謝産物である9-hydroxy- risperidone の

血漿濃度の総和である active moiety が 20-80 ng/ml の範囲の中に有効な治療域があると考えられた。なお、risperidone から 9-hydroxyrisperidone への代謝は cytochrome P450 2D6 (CYP2D6) に強力に依存することが知られているが、親薬剤と代謝産物は同程度の薬理効果を有しており、しかもそれらの総和が本剤の薬理効果全体に寄与しうる。このため、CYP2D6 遺伝子多型により、risperidone/9-hydroxy-risperidone の代謝比には差異を生じていても、総体としての active moiety には変化がないことが予想され、CYP2D6 遺伝子多型自体は臨床反応の直接的な予測にはつながらないものと考えられる。

一方、全症例で 3 週間より risperidone 投与量を 6 mg/日に収束させた後の薬物動態学的条件が統一された状況下においては、定型抗精神病薬の際と同様に、dopamine D2 受容体遺伝子多型が risperidone の治療効果や錐体外路性副作用の程度を予測するのに一定の有用性を発揮した。この点に関しては、risperidone が定型抗精神病薬に匹敵する強力な dopamine D2 受容体遮断作用を有しており、dopamine 受容体密度および機能を修飾する dopamine D2 受容体遺伝子多型の影響を受けやすかったためである可能性が考えられよう。

しかしながら、詳細な関連を検討するためにはまだ症例数が十分ではないため、弘前大学を中心とした他の研究分担機関との協同により、さらなる症例の収集を行う予定である。また、risperidone が dopamine 受容体とともに serotonin 受容体にも同様に強力な遮断効果を有することから、dopamine D2 受容体遺伝子多型のみならず複数の serotonin 受容体遺伝子多型との関連において、risperidone への反応性を検討し、予測精度を高めていく必要があると考えられた。

E. 結論

TaqI A および-141C Ins/Del などの dopamine D2 受容体遺伝子多型の組み合わせにより、治療用量の定型抗精神病薬に対する反応は 80%の的中率で予測された。また、反応良好マーカーである A1 遺伝子 (+) /Del 遺伝子 (-) の組み合わせで偽陽性であった群においても錐体外路症状スコアは有意に高

値であったことから、これらの遺伝子多型の組み合わせが、総じて定型抗精神病薬への感受性の高さを予測する因子であることが示唆された。今回の結果は、上記の 2 つの受容体遺伝子多型の組み合わせ同定が、常用量における dopamine 受容体遮断薬に対する臨床反応の予測において、十分な臨床応用性を持った有用なツールであることを示したものである。

代表的な非定型抗精神病薬 risperidone への反応については、血中薬物濃度 20 ng/ml 以下において nonresponse が、80 ng/ml 以上においては錐体外路性副作用による intolerance が明らかとなり、薬物動態により反応性が規定されることが判明した。一方、risperidone の投与量が 6 mg/日に収束された場合、定型抗精神病薬と同様に、A1 遺伝子 (+) または Del 遺伝子 (-) の症例で治療反応性および錐体外路性副作用スコアがともに高くなっており、同一の薬物動態学的条件下では dopamine D2 受容体遺伝子多型などの薬力学的因子が予測指標として重要な意味を持つことが示唆された。

F. 健康危険情報

G. 研究発表

1. 論文発表

Wang J, Hirayasu Y, Hokama H, Tanaka S, **Kondo T**, Zhang M, Xiao Z. Influence of duration of untreated psychosis on auditory P300 in drug-naive and first-episode schizophrenia. *Psychiatry Clin Neurosci.* 59, 209-14, 2005.

近藤毅. 精神科治療のテーラーメイド化を進めるうえでの基本コンセプト. *精神科* 7, 405-408, 2005.

2. 学会発表

<12th Meeting of Pacific Rim Association for Clinical Pharmacogenetics 2005.4.17. Kyoto> ○ Yasui-Furukori N, **Kondo T**. Clinical pharmacogenetics in the treatment of schizophrenia.

<第 15 回日本臨床精神神経薬理学会, 2005> ○中村明文, 佐久本昇, 古郡規雄, 鈴木昭仁, 永井五洋, 三原一雄, 近藤毅. Dopamine D2 受容体遺伝子を用いた dopamine 受容体遮断薬に対する治療反応性の予測精度の向上.

<第 15 回日本臨床精神神経薬理学会, 2005> ○佐久本昇, 古郡規雄, 中村明文, 鈴木昭仁, 永井五洋, 三原一雄, 近藤毅. Risperidone と 9-hydroxy-risperidone の血漿濃度とその治療効果及び副作用発現との関連.

<第 15 回日本臨床精神神経薬理学会, 2005> ○永井五洋, 小野真吾, 三原一雄, 近藤毅. 代謝動態学的側面からみたバルプロ酸徐放剤の安全性—単回投与時の従来剤と徐放剤の代謝動態の比較—.

H. 知的財産権の出願・取得状況(予定も含む。)

特許取得	なし
実用新案登録	なし
その他	なし

ゲノム医学を活用した統合失調症及び気分障害に対する個別化治療法の開発

分担研究者 山田光彦 国立精神・神経センター精神保健研究所 部長

研究要旨

我々はこれまでにうつ病の治癒機転及び抗うつ薬の奏効機転に関与する遺伝子を網羅的に探索してきた。平成17年度は、differential cloning 法により同定した抗うつ薬の奏効機転に関与する707の候補遺伝子の中から、うつ病の治癒機転に関与すると考えられている機能の1つである神経新生に関与する遺伝子をレーザーキャプチャーマイクロダイセクション法、マイクロアレイ法により2次スクリーニングした。その結果、複数の候補遺伝子を選別することに成功した。平成18年度は、抗うつ薬の作用機序を明らかにする上で有用なツールとして考えている嗅球部位を摘出し長期隔離飼育したラット及び同処置に抗うつ薬のイミプラミンを反復投与したラットの脳内遺伝子発現プロファイルを検討した。その結果、イミプラミン投与により行動が改善したラットにおいて発現変化する遺伝子群を同定した。平成19年度は、抗不安様作用、抗うつ様作用を示すことが明らかとなっているオピオイドδ受容体作動薬 SNC80 を反復投与した嗅球摘出ラットの脳内遺伝子発現プロファイルを明らかとし、平成18年度に行ったイミプラミン投与による遺伝子発現プロファイルと比較検討した。その結果、SNC80 およびイミプラミンにより行動が改善したラットにおいて、共通して発現変化する遺伝子群を同定した。これらのうつ病の治癒機転及び抗うつ薬の奏効機転に関与する候補遺伝子を主任及び他の分担研究者に提示することができた。

A. 研究目的

主任研究者が行う「精神科薬物療法における個人に適した薬剤選択・用量設定の目安となるような客観的指標、各向精神薬の薬理作用や疾患の治癒機転を解明するための薬理ゲノム情報の蓄積を目指した統合失調症及びうつ病の薬物の臨床効果・副作用および QOL の推移とゲノム情報との関連の検討」の中で、我々は、仮説にとらわれないうつ病の治癒機転及び抗うつ薬の奏効機転に関与するターゲット遺伝子を同定し主任及び他の分担研究者に提示するため、網羅的スクリーニングを行い、うつ病の治癒機転及び抗うつ薬の奏効機転に関与する遺伝子の絞り込みを行うことを目的とした。

平成17年度は、これまでに同定した抗うつ薬の奏効機転に関与する候補遺伝子 (antidepressant related genes : ADRGs) の中からうつ病の治癒機転に関与することが示唆されている神経新生に関与する遺伝子を絞り込むことを目的とした。

平成18年度は、薬物の長期投与可能なうつ病の動物モデルとして捉えている嗅球摘出 (OB) ラットを用い、イミプラミン反復投与による行動変化に伴う脳内遺伝子発現プロファイルを検討することにより、抗うつ薬の作用機序に関与する遺伝子を探索することを目的とした。

平成19年度は、抗不安様作用及び抗うつ様作用を有する新規治療薬となる可能性を考えている選択的オピオイドδ受容体作動薬である SNC80 を反復投与した嗅球摘出ラットの脳内遺伝子発現プロファイルを明らかとし、平成18年度に行ったイミプラミン投与による遺伝子発現プロファイルと比較検討することにより、抗うつ様作用メカニズムに関与する遺伝子を探索、選定することを目的とした。

B. 研究方法

神経新生に関与する ADRG の探索

SD 系雄性ラット (7 週齢) に、イミプラミ

ン、セルトラリン、ベンラファキシン (10 mg/kg)、フルオキセチン (5mg/kg) を1日1回3週間腹腔内投与した。対照群には溶媒として用いた 1.5% Tween 80 含有生理食塩水を投与した。ECT 処置は、ラットをセボフルレンにより吸入麻酔した。クリップ式電極のスポンジ部分を生理食塩水で湿らせ、ラットの左右耳介前方部付近をはさんだ。UGO Basile 社製、モデル 7800 を使用し、電気的設定は、299 Hz、振幅 0.9、電流 90 mA、電撃時間 1秒 とした。この処置を、隔日1回、計7回施行した。

最終投与または処置から4日後に、5-bromo-2'deoxyuridine (BrdU, 75mg/kg, 2時間毎、4回) を腹腔内投与し、24時間後、灌流固定し、脳を摘出した。40 μ m にスライスし、抗 BrdU 抗体による免疫染色を行い、BrdU 陽性細胞を確認し、カウントした。BrdU 陽性細胞及びその周辺をレーザーキャプチャーマイクロダイセクションシステムにより切り分け捕捉し、RNA 抽出、増幅、ラベル後、ADRG 遺伝子をスポットした cDNA microarray を解析した。

嗅球摘出ラットの作製

実験には、Wister 系雄性ラット (日本チャールズリバー) 7週齢を用いた。ペントバルビタール (50 mg/ml/kg, 腹腔内) の麻酔下、左右嗅球部位 (bregma から前方に 7mm、左右に 1.8mm) を吸引・除去した後、頭皮を縫合し、2週間以上単独隔離飼育した。被刺激性の程度は Gomita ら(1983)の方法を基に作成した評価基準に従い採点を行い、各項目のスコアの合計が14点以上の動物を、情動過多を示した動物として選択した。これらの動物を3群に分け、溶媒、SNC80 (10mg/kg)またはイミプラミン (10mg/kg)の反復投与を行った。

GeneChip 解析による抗うつ薬作用機序に関する遺伝子の探索

偽手術(sham)、嗅球摘出(OB)、OB ラットに SNC80 またはイミプラミン投与の4群 (各4匹) より total RNA を抽出し、Affymetrix 社 GeneChip expression analysis technical manual に従い増幅し、ピオチンラベルした cRNA を作成し、GeneChip rat genome 230 2.0 Array

(Affymetrix) にハイブリダイズさせた。Streptavidin Phycoerythrin (SAPE)で染色し、蛍光画像をスキャナーで取り込み、その蛍光強度から各プローブの発現量を算出した。

(倫理面への配慮)

すべての動物実験は、動物愛護上十分な配慮をし、NIH ガイドラインに準拠した動物実験プロトコールに基づき、施設内審査委員会の規定に則り倫理性と科学性に十分配慮して実施した。

C. 研究結果

神経新生に関する ADRG の探索

抗うつ薬長期投与、電気けいれん負荷ラットの脳スライスを用いて抗 BrdU 抗体による免疫染色を行った結果、対照群及び処置群において海馬歯状回顆粒細胞下層に抗 BrdU 陽性細胞数が認められた。これらの陽性細胞数をカウントした結果、セルトラリン投与で対照群の約200%と有意な増加が認められた。また、イミプラミン、フルオキセチン、ベンラファキシン投与群においてもそれぞれ約120%、160%、150%と増加傾向が認められた。さらに ECT 処置群では約230%と有意な増加が認められた。また、これらの BrdU 陽性細胞は、海馬歯状回顆粒細胞下層 (内側) に偏っていることが明らかとなった。そこで、BrdU 陽性細胞を含む顆粒細胞層の内側と外側をレーザーキャプチャーマイクロダイセクションシステムにより切り分け、ADRG microarray を解析した。その結果、ADRG#116、#429、#485、#604 の発現増加が認められた。

SNC80 またはイミプラミンの反復投与による嗅球摘出ラットの情動行動及び脳内遺伝子発現プロファイルの比較検討

嗅球摘出ラットにおける情動過多評価基準は Gomita ら(1983)の方法を基に作成した。A) 鼻先に差し出した棒に対する反応、B)空気を吹きかけたときの反応、C)捕獲や取り扱いに対する抵抗性、D)尾を鉗子で挟んだときの反応、E) テスト中の鳴き声の5項目についてそれぞれ無反応から激しい反応の5段階 (0から4点) のスコアを採点し、合計スコアで判定した。

ラット嗅球部位を摘出し長期隔離飼育したラット(OB)は、偽手術を施したラット(sham)に比べ情動過多スコアが有意な高値を示した。また、SNC80、イミプラミン反復投与により有意な低下を示し、情動過多反応が改善していることが示された。

そこでこれらの動物の前頭葉皮質より total RNA を抽出し、GeneChip rat genome 230 2.0 Array による遺伝子発現プロファイル解析を行った。発現が確認されたスポットは 18,509 遺伝子であった。OB と OB+ SNC80 群または OB+ イミプラミン群におけるそれぞれの遺伝子の平均の発現比に 1.5 倍以上の差があり、さらに統計処理 (t-test 及び Benjamini test) により有意差が認められたものを「発現変化あり」と選別した。OB に比べて OB+ SNC80 群、OB+ イミプラミン投与で共通して発現変化していた遺伝子が 589 遺伝子あった。これらの遺伝子について機能別分類を行ったところ、細胞接着や細胞骨格、細胞周期、細胞内情報伝達系等に関与する遺伝子が含まれていた。

D. 考察

現在用いられている抗うつ薬のモノアミン再取り込み阻害作用等の薬理作用は比較的短時間に認められるものの、実際の臨床現場では抗うつ効果発現までに反復投与が必要である。したがって、抗うつ効果の作用機序を考える上で、急性の薬理作用と反復投与によって認められる神経化学的な脳内変化を区別して考える必要がある。我々は、抗うつ薬の反復投与によって認められる脳内変化こそが抗うつ薬の治癒機転であり、新規抗うつ薬創薬のターゲット分子システムであると考えている。

選択的オピオイド δ 受容体作動薬である SNC80 は、オピオイド μ 及び κ 受容体に対する結合選択性の比が 500 倍、300 倍と優れた分離を示す化合物である。強制水泳試験において用量依存的な無動時間の短縮作用が認められ、その作用はオピオイド δ 受容体拮抗薬である naltrindole 前処置により完全に拮抗される。また、高架式十字迷路試験では、用量依存的な壁無し走行路滞在時間の延長及び侵入回数の増

加を示すこと、その作用が naltrindole 前処置により完全に拮抗され、 μ 及び κ 受容体の拮抗薬では影響が認められないことが報告されている。さらに、心理的ストレス負荷により認められる行動抑制 (すくみ行動) を指標とした恐怖条件付けストレスモデルにおいても、SNC80 が著明なすくみ行動の緩解作用を示すことが報告されている。これらのことから、オピオイド δ 受容体作動薬が抗不安様作用、抗うつ様作用を有する新規治療薬となる可能性を提案してきている。

一方、マウス絶望モデルは、逃避不可能な水槽中で強制的にマウスを水泳させ、泳いでいない状態 (無動) を「うつ」と定義するもので、既存の抗うつ薬により無動時間の短縮が認められる。強制水泳試験法は、本モデルを用いて、薬物による無動時間の短縮を評価する方法で、薬物を簡便かつ迅速に評価できるだけでなく、臨床での薬効比と動物モデルでの効力比が一致するという特徴も有することから、従来から薬物の抗うつ効果を評価するモデルとして数多くの報告がなされている。しかし、マウス絶望モデルにおける既存の抗うつ薬の無動時間短縮作用は単回投与でも認められることから、長期投与が必要なうつ病病態モデルとして十分であるとはいきれない。

嗅球を摘出したラットを長期隔離飼育する嗅球摘出モデルは、被刺激性・攻撃性が高じ、情動過多反応を示す。これらの情動過多反応の改善には既存の抗うつ薬の反復投与を必要とする。したがって、我々は本モデルを薬物の長期投与可能な動物モデルとして捉え、反復投与による抗うつ薬の作用機序を明らかにする有用なツールとして考えている。そこで本研究では、嗅球摘出 (OB) ラットを用い、SNC80 またはイミプラミン反復投与による行動変化に伴う脳内遺伝子発現プロファイルを比較検討することにより、抗うつ薬の作用機序に関与する遺伝子を探索した。全く異なる作用機序の化合物によって共通した発現変化を示したこれらの遺伝子群は、抗うつ薬の作用機序に深く関与すると考えられる。これらの候補遺伝子の多型を、SSRI の代謝系、薬理作用を考慮したタ

ターゲット遺伝子の解析 (CYP 系、セロトニン系、GABA 系、DA 系) に加え同定していくことにより、主任研究者が行う「統合失調症及び気分障害の患者の個別化医療の実現、画期的治療薬開発そして発症脆弱性遺伝子解明」に寄与するものと考えられた。

E. 結論

嗅球摘出ラットを用いて、オピオイドδ受容体作動薬及び抗うつ薬の反復投与により情動過多反応の改善に伴い発現変化する遺伝子を同定した。

F. 健康危険情報

特記すべきことなし。

G. 研究成果発表

1. 論文発表

Yamada M, Takahashi K, Kurahashi C, **Yamada M**, Honda K: The Expression of Synaptic Vesicle Proteins after Chronic Antidepressant Treatment in Rat Brain. Breathing, Feeding, and Neuroprotection. Springer-Verlag, Tokyo, pp82-87, 2006.

Yamada M, Yamada M: Identification of Molecular Systems Responsible for the Therapeutic Effect of Antidepressant. Breathing, Feeding, and Neuroprotection. Springer-Verlag, Tokyo, pp88-96, 2006.

Takahashi K, Yamada M, Ohata H, Momose K, Higuchi T, Honda K, **Yamada M**: Expression of Ndr2 in the rat frontal cortex after antidepressant and electroconvulsive treatment. Int J Neuropsychopharmacol. 8: 381-389, 2005.

Yamada M, Iwabuchi T, Takahashi K, Turahashi C, Ohata H, Honda K, Higuchi T, **Yamada M**: Identification and Expression of Frizzled-3 Protein in Rat Frontal Cortex After Antidepressant and Electroconvulsive Treatment. J. Pharmacol. Sci. 99: 239-246, 2005.

Takahashi K, Yamada M, Ohata H, Honda K, **Yamada M**: Ndr2 promotes neurite outgrowth of NGF-differentiated PC12 cells. Neurosci Lett

388: 157-162, 2005.

Kudo K, Yamada M, Takahashi K, Nishioka G, Tanaka S, Hashiguchi T, Fukuzako H, Takigawa M, Higuchi T, Momose K, Kamijima K, **Yamada M**: Repetitive transcranial magnetic stimulation induces kf-1 expression in the rat brain. Life Sci. 76: 2421-2429, 2005.

Yamada M, Yamada M and Higuchi T: Antidepressant-elicited changes in gene expression, Remodeling of neuronal circuits as a new hypothesis for drug efficacy, Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry. 29: 999-1009, 2005.

Saitoh A, Yamada M, **Yamada M**, Kobayashi S, Hirose N, Honda K, Kamei J: ROCK inhibition produces anxiety-related behaviors in mice. Psychopharmacology, 188: 1-11, 2006.

Tanaka S, Yamada M, Kitahara S, Higuchi T, Honda K, Kamijima K, **Yamada M**: Induction of Neuroserpin Expression in Rat Frontal Cortex after Chronic Antidepressant Treatment and Electroconvulsive Treatment. Jpn J Neuropsychopharmacol. 26: 51-56, 2006.

Saitoh A, Hirose N, Yamada M, **Yamada M**, Nozaki C, Oka T, Kamei J: Changes in Emotional Behavior of Mice in the Hole-Board Test After Olfactory Bulbectomy. J Pharmacol Sci 102: 377-386, 2006.

Kamei J, Hirose N, Oka T, Miyata S, Saitoh A, **Yamada M**: Effects of Methylphenidate on the Hyperemotional Behavior in Olfactory Bulbectomized Mice by Using the Hole-Board Test. J Pharmacol Sci 103: 175-180, 2007.

Matsuzawa D, Hashimoto K, Miyatake R, Shirayama Y, Shimizu E, Maeda K, Suzuki Y, Mashimo Y, Sekine Y, Inada T, **Ozaki N**, Iwata N, Harano M, Komiyama T, **Yamada M**, Sora I, Ujike H, Hata A, Sawa A, Iyo M: Identification of Functional Polymorphisms in the Promoter Region of the Human PICK1 Gene and Their Association With Methamphetamine Psychosis. Am J Psychiatry 164: 1105-1114, 2007.

山田光彦, 山田美佐, 高橋弘, 丸山良亮: 遺伝子

から探る新規抗うつ薬の開発, 日本薬理学
雑誌, 128: 19-22, 2006.

丸山良亮, 山田光彦: TREK-1カリウムチャンネル:
抗うつ薬創出の新たなターゲット. 日本神
経精神薬理学雑誌 27: 147-151, 2007.

2. 学会発表

<第30回日本分子生物学会年会, 第80回日本
生化学会大会合同大会 BMB2007, 横浜,
2007.12.11-15.>○Maruyama Y, Yamada M,
Takahashi K, Yamada M: The RING finger
domain of Kf-1 is required for ubiquitin ligase
activity and subcellular redistribution.

<第30回日本分子生物学会年会, 第80回日本
生化学会大会合同大会 BMB2007, 横浜,
2007.12.11-15.>○志田美子, 高橋弘, 山田美
佐, 中野泰子, 戸部徹, 山田光彦: 抗うつ薬
の作用メカニズムに関わる転写因子
ADRG701 が制御する下流遺伝子の探索.

H. 知的財産権の出願登録状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案 なし
3. その他 なし

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

1. 書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
Yamada M, Takahashi K, Kurahashi C, Yamada M, Honda K	The Expression of Synaptic Vesicle Proteins after Chronic Antidepressant Treatment in Rat Brain.	Homma T, Shioda S	Breathing, Feeding, and Neuroprotection	Springer-Verlag	Tokyo	2006	82-87
Yamada M, Yamada M	Identification of Molecular Systems Responsible for the Therapeutic Effect of Antidepressant.	Homma T, Shioda S	Breathing, Feeding, and Neuroprotection	Springer-Verlag	Tokyo	2006	88-96
		染矢俊幸, 下田和孝, 渡部雄一郎	そこが知りたい 精神科薬物療法 Q&A	星和書店	東京	2005	366
川嶋義章, 染矢俊幸	薬物療法と遺伝子多型	大野裕	チーム医療のための最新精神医学ハンドブック	弘文堂	東京	2006	458-461
染矢俊幸, 鈴木雄太郎, 澤村一司	臨床精神神経薬理学とは -概念, 定義, 領域, 歴史, 専門医としての心構え-	日本臨床精神神経薬理学会専門医制度委員会	臨床精神神経薬理学テキスト	星和書店	東京	2006	3-6
鈴木雄太郎, 渡邊純蔵, 染矢俊幸	薬物動態・薬力学における個体差	日本臨床精神神経薬理学会専門医制度委員会	臨床精神神経薬理学テキスト	星和書店	東京	2006	78-88
須貝拓朗, 澤村一司, 染矢俊幸	SSRIの薬物動態と代謝	小山司	SSRIのすべて	先端医学社	東京	2007	56-62

2. 雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Reist C, Albers LJ, Marder SR, Williams-Jones B, Wu JC, Mee S, Shimoda K, Someya T, Ozdemir V	A candidate pathway strategy for integration of pharmacogenomic components of variability in antipsychotic treatment outcomes: a focus on aripiprazole	Curr Pharmacogenomics	3	305-317	2005
Nakagami T, Yasui-Furukori N, Saito M,	Effect of verapamil on pharmacokinetics and pharmacodynamics of risperidone: in	Clin Pharmacol Ther	78(1)	43-51	2005

Tateishi T, Kaneko S	vivo evidence of involvement of P-glycoprotein in risperidone disposition.				
Saito M, Yasui-Furukori N, Nakagami T, Furukori H, Kaneko S	Dose-dependent interaction of paroxetine with risperidone in schizophrenic patients	J Clin Psychopharmacol	25	527-532	2005
Wang J, Hirayasu Y, Hokama H, Tanaka S, Kondo T, Zhang M, Xiao Z	Influence of duration of untreated psychosis on auditory P300 in drug-naïve and first-episode schizophrenia	Psychiatry Clin Neurosci	59	209-214	2005
Takahashi K, Yamada M, Ohata H, Momose K, Higuchi T, Honda K, Yamada M	Expression of Ndr2 in the rat frontal cortex after antidepressant and electroconvulsive treatment	Int. J. Neuro-psychopharmacol	8	381-389	2005
Yamada M, Iwabuchi T, Takahashi K, Turahashi C, Ohata H, Honda K, Higuchi T, Yamada M	Identification and Expression of Frizzled-3 Protein in Rat Frontal Cortex After Antidepressant and Electroconvulsive	J. Pharmacol. Sci	99	239-246	2005
Takahashi K, Yamada M, Ohata H, Honda K, Yamada M	Ndr2 promotes neurite outgrowth of NGF-differentiated PC12 cells	Neurosci. Lett	388	157-162	2005
Kudo K, Yamada M, Takahashi K, Nishioka G, Tanaka S, Hashiguchi T, Fukuzako H, Takigawa M, Higuchi T, Momose K, Kamijima K, Yamada M	Repetitive transcranial magnetic stimulation induces kf-1 expression in the rat brain	Life Sci	76	2421-2429	2005
Yamada M, Yamada M, Higuchi T	Antidepressant-elicited changes in gene expression, Remodeling of neuronal circuits as a new hypothesis for drug efficacy	Prog. Neuro-Psychopharmacol. Biol. Psychiatry	29	999-1009	2005
Suzuki Y, Sawamura K, Someya T	Polymorphisms in the 5-hydroxytryptamine 2A receptor and cytochrome P4502D6 genes synergistically predict fluvoxamine-induced side effects in Japanese depressed patients	Neuropsychopharmacology	31(4)	825-831	2006
Sugai T, Suzuki Y, Sawamura K,	The effect of 5-hydroxytryptamine 3A and 3B receptor genes on nausea induced by paroxetine	Pharmacogenomics J.	6(5)	351-356	2006