

200807015A

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 20 年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 功刀 浩

平成 21 (2009) 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	7
	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	15
	岩田 仲生	
	3. SSRI によるパニック障害の治療における薬理遺伝学的研究	22
	下田和孝	
	4. 向精神病薬による QTc 延長に関する研究	26
	尾関 祐二	
	5. 抗精神病薬の治療効果に関する薬力学的研究	29
	稲田 俊也	
III.	研究成果の刊行に関する一覧表	31
IV.	研究成果の刊行物・別刷	33

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、臨床応用に結び付き得る所見も多数得られた。

- ① 抗うつ薬で治療されている気分障害患者の DNA サンプルをおよそ 90 例収集した。健常者の DNA サンプルもおよそ 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気分障害患者の 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。また、PDLIM5 などの遺伝子が抗うつ薬の治療メカニズムにおいて重要な働きをしている可能性が示唆された。
- ③ CYP2D6 と ABCG2 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。
- ④ 最も汎用されている非定型抗精神病薬の 1 つリスペリドンによって治療されている統合失調症患者について全ゲノム解析を終了し、治療反応性を予測する遺伝子を 18 個同定した。その中では、最も治療反応性を予測する遺伝子として NOS2A が選択された。
- ⑤ パニック障害では、パロキセチン血中濃度が高値、5HTT L/S 遺伝子型を保有していること、身体合併症を有していることが、パロキセチンによる初期治療反応性が不良であることと関連していることが判明した。この所見は臨床応用に結び付き得る。

- ⑥ 426 人の気分障害患者を対象に、向精神薬と心電図上の QT 間隔を比較した結果、女性、抗精神病薬の使用、トラゾドンの内服が QTc 間隔の延長のリスクとなることが明らかになった。
- ⑦ GABA 系の遺伝子 GABRG3 遺伝子と遅発性ジスキネジアの関連について明らかにした。

分担研究者

岩田仲生 藤田保健衛生大学医学部・教授
 下田和孝 獨協医科大学・教授
 尾関祐二 獨協医科大学・准教授
 稲田俊也 神経研究所附属晴和病院・副院長

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。また、抗うつ薬でも心電図上 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。

さらに、抗うつ薬はパニック障害の主要な治療薬でもあるが、パニック障害では、外出恐怖など

の症状によって社会活動が制限を受けることもあり、やはりゲノム情報によって治療反応性を予測することができれば、臨床的に有用である。

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薬物動態において重要な役割を果たす cytochrome P450 遺伝子スーパーファミリーの主要な SNPs について解析した。また、脳血液関門などにおいて重要な役割を果たす ABC トランスポーターファミリーのうち、ABCB1 と ABCG2 について解析した。また、このサンプルを用いて 37 万 SNPs チップを用いた全ゲノム解析を行った。

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、全ゲノム解析を行った。イルミナ社製の DNA チップアレイ 100K を用いた。本チップは全ゲノム上に連鎖不平衡の概念を用いて効率的に選出した約 10 万個の SNP をタイプする。タイピングデータ解析には Partek Genomics Suite version 6.4 を用いた。

4) パニック障害に対するパロキセチンの治療反応性に関する薬理遺伝学的解析

パニック障害患者でパロキセチン(10mg/day)を服用しており、本研究の趣旨を説明し同意が得られた 27 名を対象に、パニック障害の臨床評価尺度として PAS を使用し、パロキセチン血中濃度は HPLC にて測定した。5-HTT の L、S 遺伝子多型については、Heilis ら(1996)の方法により同定した。

5) 向精神薬による QT 延長に関する解析

国立精神・神経センター病院にて入院もしくはうつ病専門外来で治療を受けた気分障害患者 426 人を対象に年齢、性別、治療期間、内服内容を調べ、心電図上の QT 時間の延長との関連を、統計学的に検討した。QT 時間は Bazett の補正式 ($QTc = QT/RR^{1/2}$) で補正した値を用いた。内服薬に関しては、抗うつ薬はイミプラミン、ベンゾジアゼピン系薬物はジアゼパム換算、抗精神病薬はクロロプロマジン換算、抗パーキンソン薬はピペリ

デン換算し、比較した。気分安定薬は換算せずに検討した。

6) GABRG3 遺伝子と遅発性ジスキネジアの関連

統合失調症患者で遅発性ジスキネジア群 86 人と非遅発性ジスキネジア群 188 人を対象とした。GABRG3 遺伝子の 110 の 1 塩基多型(SNPs)を用いて詳細に関連を検討した。死後脳はオーストラリアブレインバンクよりの 17 例(コントロール 9, 統合失調症 8)と新潟大より提供の 17 人(コントロール 11, 統合失調症 6)を対象とした。マウスは C57/BJ6 雄で 40 週ハロペリドール投与と生食投与で比較した。遺伝子型判定は、TaqMan 法、遺伝子発現は real-time PCR を使用した。

(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 90 名のゲノム DNA、血液中の RNA、血漿サンプルを収集した。健常者はおよそ 80 名収集した。

2) 抗うつ薬の薬理遺伝学的研究

CYP 遺伝子スーパーファミリーの主要な SNPs についての解析では、CYP2D6 の機能低下型アレル (*10 アレル) が良好な治療反応と関連していた。これは、代謝酵素が弱いために血中濃度が高まり、効果が高まることによると考えられる合理的な結果である。また、脳血液関門などにおいて重要な役割を果たす ABC 輸送タンパク質ファミリーのうち、ABCG2 が治療反応性と関連する傾向がみられた。このことから、ABCG2 遺伝子の機能が低下すると、脳内の抗うつ薬濃度が高まり、治療効果が高まるメカニズムが考えられる。また、37 万 SNPs チップを用いたゲノムワイド関連解析により、PDLIM5 などの薬理学遺伝子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。ゲノムワイド関連解析のデータは膨大であり、解析が進行中であるが、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

3) 抗精神病薬の薬理遺伝学的解析

全ゲノム解析により、治療反応性を予測する 18 個の遺伝子変異を利用した予測式が開発できた ($p=0.01$, $\beta=0.34$, $R^2=0.097$)。この予測式は独

立したサンプルおよび定型薬からの切り替え群においても同様に有意に治療反応性を予測することが示された。最も治療反応性を予測する遺伝子として NOS2A が選択された。遺伝子の中には神経伝達と深く関連するものもあれば、全く機能が不明な遺伝子も存在していた。今後これらの遺伝子の機能と薬物治療反応性についての検討が必要である。

4) パニック障害に対するパロキセチンの治療反応性に関する薬理遺伝学的解析

パロキセチン血中濃度が高値、5HTT L/S 遺伝子型を保有していること、身体合併症を有していることが、パロキセチンによる治療反応性が不良であることと関連していることが判明した。このことからパロキセチン血中濃度の調整を 5HTT 遺伝子型を参考にしながら行なうことで、パニック障害患者の初期治療反応性を向上させることが示唆された。

5) 向精神薬によるQT延長に関する解析

女性であることとQTc間隔の異常が有意に関連しており ($p<0.01$)、抗精神病薬の服用と関連する傾向が見られた ($p=0.06$)。抗精神病薬を服用していない患者のみを対象に再び重回帰分析を行ったところ、やはり女性であることとQTc間隔延長との間に有意な相関がみられ ($p<0.01$)、抗うつ薬との間に有意な傾向が見られた ($p=0.09$)。さらに各抗うつ薬、気分安定薬とQTc時間の延長を重回帰分析 (ステップワイズ法) すると、女性であることと、トラゾドンを服用していること

2点、QTc間隔延長と関連していた (各々 $p<0.01$)。QTc間隔延長が女性に多いことは多くの研究によって指摘されており、本研究でも確認された。抗精神病薬の併用や抗うつ薬の総量もQTc間隔延長と関連しており、トラゾドンがQTc間隔延長と特に関連しているとの結果を得た。これは本研究が最初であり、他のサンプルによる検証を要する。

6) GABRG3 遺伝子と遅発性ジスキネジアの関連

GABRG3 遺伝子の 110 の 1塩基多型(SNPs)を用いてスクリーニングした結果、rs2286946 で $P=0.002$ 、rs741124 で $P=0.002$ の関連を同定した。ヒト死後脳前頭前野では遺伝子型別の GABRG3 遺伝子発現レベルに有意差はなかったが、rs741124 の遺伝子型と診断グループに交絡作用があり、防御的遺伝子型では統合失調症群は有意に遺伝子発現レベルが上昇していたのに対して、リスク遺伝子型群ではそのような傾向はなかった。マウスに 40 週間ハロペリドールを投与した結果、Gabrg3 遺伝子の発現は上昇していた。以上から、GABRG3 遺伝子と遅発性ジスキネジアの関連が確認された。マウスのハロペリドール長期投与後の結果から、抗精神病薬により GABRG3 遺伝子の発現上昇は「正常な」反応であり、この反応が乏しいことが遅発性ジスキネジアの脆弱性に関わっていると推測された。

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なくつ病者の 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。これは臨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

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と 37 万 SNPs チップを用いたゲノムワイド関連解析を行い、CYP2D6 や ABC トランスポーターなどの薬物代謝や脳血液関門を制御する遺伝子や PDLIM5 などの薬理学遺伝子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。これら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。ゲノムワイド関連解析のデータは膨大であり、解析が進行中であるが、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 of 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物代謝遺伝子や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。

昨年度は、代謝型グルタミン酸受容体 (metabotropic glutamate receptors: mGluRs) の 1 つ mGluR3 (GRM3) や種々の精神疾患のリスク遺伝子として注目されている DISC1 (Disrupted in Schizophrenia 1) が、抗うつ薬への治療反応性と関連することを報告した。今年度は、薬物代

謝や脳血液関門に関わる遺伝子、すなわち、pharmacokinetics に関連する遺伝子に関する候補遺伝子研究をおこなったほか、37 万 SNPs チップを用いた全ゲノム解析を行い、データ解析を行っているた。

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)、nortriptyline (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ンド、そうでない者をノンレスポンドと定義した。

末梢血からゲノム DNA を抽出し、薬物代謝に

関わる CYP2D6 の 4 個、CYP2C9 の 2 個、CYP2C19 の 5 個の SNPs、脳血液関門において重要な役割を果たす ABCB1 の 4 個、ABCG2 遺伝子の 13 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 についてレスポンドーとノンレスポンドー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。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た。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、レスポンドーは 65 名 (61%)、ノンレスポンドーが 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、レスポンドーはノンレスポンドーと比較して治療

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)。

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

	レスポンドー	ノンレスポンドー	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

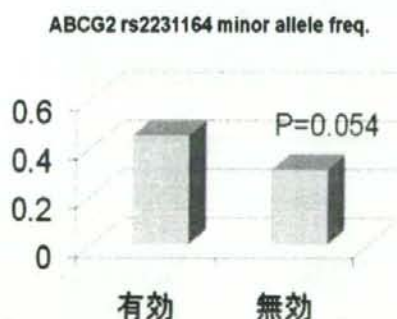
CYP スーパーファミリーに関する解析では、CYP2D6 の複数の SNPs が抗うつ薬への治療反応性と関連していた。すなわち、アジア人で多い機能低下型対立遺伝子である *10 アレルは、抗うつ薬治療が有効であった群において、有効でなかった群と比較して多かった (P=0.016) (図 1)。

図1 抗うつ薬有効群では無効群と比較して CYP2D6*10 のアレル頻度が高い (p=0.016)



また、脳血液関門で重要な役割を果たす ABCB1 と ABCG2 とでは、後者の複数の SNPs が抗うつ薬への治療反応性と関連する傾向を見出した (図2)。

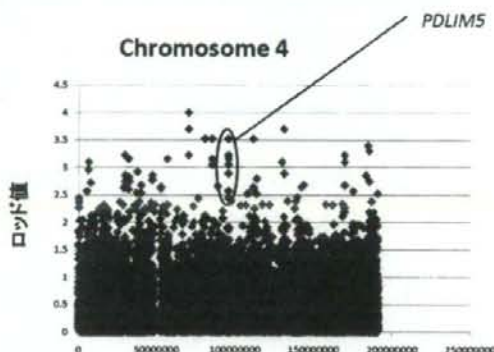
図2 抗うつ薬有効群と無効群における ABCG2 rs2231164 のアレル頻度 (p=0.054)



37 万 SNPs の解析では、有意な関連を示す SNPs が非常に多数見出され、その遺伝子の抽出を行っている。特に、注目されたのは、4 番染色

体上に存在する PDLIM5 であり (図3)、これまでにわれわれの研究も含め、多数の研究により、うつ病や統合失調症の病態に関与することが示唆されている。

図3 抗うつ薬治療反応性に関する4番染色体の全ゲノム解析と PDLIM5 のシグナル



D. 考察

本研究で用いた4つの抗うつ薬 (fluvoxamine、paroxetine、milnacipran、nortriptyline) による治療に対する反応性はレスポナーが 61%であった。レスポナー群とノンレスポナー群との間に年齢、性に関しては殆ど差が無かった。4薬剤におけるレスポナーの比率を比較すると、三環系である nortriptyline 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ナーの割合は、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。

CYPスーパーファミリーでは、薬物代謝に関わる重要な酵素としてCYP1A2, CYP2C (特にCYP2C9とCYP2C19), CYP2D6, CYP3A4が挙げられており、それぞれ薬物の5%、19%、24%、51%の代謝を司るとされる(Wolf & Smith, 1999)。本研究では、これらの遺伝子すべてについて検討することを目的としていたが、CYP1A2やCYP3A4に関しては、データベース上にvalidationされた頻度の高いSNPsが存在しなかったため、今回は解析から省いた。解析したサンプルでは、抗うつ薬としてfluvoxamine、paroxetine、milnacipran、nortriptylineが使用されており、CYP3A4によって代謝されるmilnacipran以外の3薬はCYP2D6によって代謝されるため、得られた結果は合理的なものであったといえる。例えば、CYP2C19は、日本人では約20%が欠損していることが指摘されており、CYP2C19で代謝されるイミプラミンやクロミプラミンが使用されていれば、治療反応性との関連がみられたのではないと思われる。

脳血液関門などにおいて重要な役割を果たすABC遺伝子ファミリーについても多くの分子種が知られているが、P糖タンパクとして知られるABCB1やbreast cancer resistance protein

(BCRP)としても知られているABCG2が重要であることが知られている。しかし、それぞれの分子がどの抗うつ薬を基質にするかについては、すべてが明らかにされているわけではない。ただし、ABCB1はnortriptylineやparoxetineを基質にすること知られている。しかし、ABCB1遺伝子変異がこれらの抗うつ薬への治療反応性と関連するか否かについては、必ずしも一致した結果が得られているわけではなく、たとえば、Kato et al (Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry. 2008;32: 398-404)は、有意に関連するという結果を報告しているが、Mihaljevic et al (Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry 2008; 32: 1439-44)は関連がなかったとしている。われわれの研究では、強い関連はみられなかったが、サンプル数が少ないことによるtype II errorである可能性もある。ABCG2に関しては関連する傾向がみられた。このことから、ABCG2遺伝子の機能が低下すると、脳内の抗うつ薬濃度が高まり、治療効果が高まるメカニズムが考えられる。

37万SNPsチップによる解析から、膨大なデータが得られ、抗うつ薬の治療メカニズムを探るうえでデータの宝庫であるといえる。これは、今後抗うつ薬のテーラーメイド医療を実現するうえできわめて貴重なデータベースである。その中にはPDLIM5のように注目すべき遺伝子が含まれていた。PDLIM5は、protein kinase C ϵ やN-type calcium channel alpha-1B subunitと相互作用し、神経のカルシウムシグナルを調節する働きを

もつ。これまでのわれわれの研究を含む先行研究により、未服薬のうつ病患者の末梢血では PDLIM5 の遺伝子発現が減少しており (Iga et al: *Neurosci Lett* 2006; 400: 203-7)、未服薬の統合失調症患者では、PDLIM5 が上昇している (Numata et al: *Neurosci Lett* 2007; 415:28-33) という興味深い結果が得られている。今回のわれわれの結果から、PDLIM5 は抗うつ薬の作用メカニズムにおいても重要な役割を果たしている可能性が示唆される。

E. 結論

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 サンプルを用いて薬物動態関連遺伝子のうち、CYP2D6 と ABCG2 が治療反応性と関与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い、治療反応性と関連する可能性のある遺伝子を極めて多数見出した。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。例えば PDLIM5 は、これまでうつ病や統合失調症などの遺伝子発現研究において異常が指摘されており、抗うつ薬の治療メカニズムにおいても重要な役割を果たしている可能性が強い。

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)

Numakawa T, Kumamaru E, Adachi N, Yagasaki Y, Izumi A, Kunugi H. Glucocorticoid receptor interaction with TrkB promotes BDNF-triggered PLC-gamma signaling for glutamate release via a glutamate transporter. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009;106:647-52.

Numata S, Iga JI, Nakataki M, Tayoshi S, Taniguchi K, Sumitani S, Tomotake M, Tanahashi T, Itakura M, Kamegaya Y, Tatsumi M, Sano A, Asada T, Kunugi H, Ueno SI, Ohmori T. Gene expression and association analyses of the phosphodiesterase 4B (PDE4B) gene in major depressive disorder in the Japanese population. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*. 2008 [Epub ahead of print]

Adachi N, Kunugi H: Impaired secretion of brain-derived neurotrophic factor and neuropsychiatric diseases. *Open Neurosci J* 2008; 2: 59-64,.

Richards M, Iijima Y, Shizuno T, Kamegaya Y, Hori H, Omori M, Arima K, Saitoh O, Kunugi H. Failure to confirm an association between Epsin 4 and schizophrenia in a Japanese population. *J Neural Transm*. 2008;115(9):1347-54.

Mizuguchi T, Hashimoto R, Itokawa M, Sano A, Shimokawa O, Yoshimura Y, Harada N, Miyake N, Nishimura A, Saito H, Sosonkina N, Niikawa N, Kunugi H, Matsumoto N. Microarray

- comparative genomic hybridization analysis of 59 patients with schizophrenia. *J Hum Genet.* 2008;53(10):914-9.
- Nunokawa A, Watanabe Y, Kitamura H, Kaneko N, Arinami T, Ujike H, Inada T, Iwata N, Kunugi H, Itokawa M, Ozaki N, Someya T. Large-scale case-control study of a functional polymorphism in the glutamate receptor, metabotropic 3 gene in patients with schizophrenia. *Psychiatry Clin Neurosci.* 2008; 62:239-40.
- 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 neurexin gene and psychiatric disorders: polymorphism screening and possible association with bipolar disorder and cognitive functions. *Neuropsychopharmacology* 2008; 33:3237-45.
- 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; 101:9-16.
- Numata S, Ueno S, Iga J, Yamauchi K, Hongwei S, Hashimoto R, Takeda M, Kunugi H, Itakura M, Ohmori T. TGFBR2 gene expression and genetic association with schizophrenia. *J Psychiatr Res.* 2008;42:425-32.
- 学会発表 (主なもの)
- Kunugi H: Altered expression of BDNF gene and vulnerability to stress in schizophrenia. In Symposium on "Stress sensitization in spontaneous recurrence of methamphetamine psychosis, schizophrenia and depression" (chaired by Kunio Yui and Charles Nemeroff). XXVI CINP Congress. Munich, Germany, July 16, 2008.
- Kunugi H: Genetic Variations of BDNF and Psychiatric Diseases. In Symposium on "The role of cytokine and brain-derived neurotrophic factor in psychiatric disorders" (chaired by Kim YS and Nakamura J). 2nd World Federation of Societies of Biological Psychiatry (WFSBP) and 30th Annual Meeting of Japanese Society of Biological Psychiatry (JSBP), Toyama, Sep 12, 2008.
- Kunugi H, Tatsumi M, Kamijima K: Susceptibility genes for mood disorders and response to antidepressants. In Advances of pharmacogenetics in psychiatry: towards tailor-made medicine (symposium organized by Kunugi H). 13th Pacific Rim College of Psychiatrists Scientific Meeting. Tokyo, Japan, Nov 2, 2008.
- Ozeki Y, Fujii K, Kurimoto N, Tsuji K, Aoki T,

<p>Takahashi J, Ishida N, Narita M, Saito O, Horie M, Kunugi H: Risk factors of QT interval prolongation in 1000 Japanese patients with schizophrenia. XXVI CINP Congress. Munich, Germany, July 14, 2008.</p>	<p>2008</p> <p>H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）</p>
<p>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: Possible association of the human neuropeptide Y gene with bipolar disorder and cognitive functions. Society for Neuroscience 2008, Washington, DC, Nov. 15-19,</p>	<p>1. 特許取得 該当なし。</p> <p>2. 実用新案登録 該当なし。</p> <p>3. その他 該当なし。</p>

厚生労働科学研究費補助金
(創薬基盤推進研究事業：ヒトゲノムテラーメード研究)
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、全ゲノム上の SNPs 解析を行うことにより、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の開発を行った。昨年度に引き続き本年度は特定の作業仮説による候補遺伝子アプローチではなく網羅的にゲノム上の SNP マーカーをタイプする全ゲノム解析の手法を用いることにより、連続変数である治療効果を予測する定式が統計学的手法として可能か否かを行い、18 個の遺伝子変異の組み合わせにより有意に治療反応性を予測する方法を開発することに成功した。少数例による精度の問題を今後克服する必要がある。

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。昨年度の研究では、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を行った。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 108 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した。

本年度は従来の仮説に基づく候補遺伝子アプローチではなく、事前仮説をもたない全ゲノム上の遺伝的変異として SNP マーカーを網羅的に解析することにより、統計学的手法によって実用可能レベルの予測式が開発可能かについてのパイロット研究を行った。

B. 研究方法

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。治療は抗精神病薬としての単剤投与とし、0 週及び 8 週での症状評価を PANSS で行った。その他の副作用情報も同時に取得した。

サンプルの調整

末梢血から B リンパ球を分離精製し EB ウィルスを感染させることにより不死化させ株化を行った。株化 B リンパ球より通常の方法で DNA を抽出し以後の解析に使用した。

全ゲノム関連解析

全ゲノムを網羅する SNP タイピングシステムとしてイルミナ社製の DNA チップアレイ 100K を用いた。本チップは全ゲノム上に連鎖不平衡の概念を用いて効率的に選出した約 10 万個の SNP をタイプする。タイピングデータ解析には Partek Genomics Suite version 6.4 を用いた。

統計学的解析

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、どの遺伝子が最も効率よく治療反応性を予測するかを検定した。抗精神病薬の治療反応性予測因子としてはこれまでの臨床報告から、発症年齢・未治療期間・性別・初診時の症状の程度など

が関連すると考えられており、これらの要因も同時に解析する目的で多重回帰解析を用いて行った。

（倫理面への配慮）

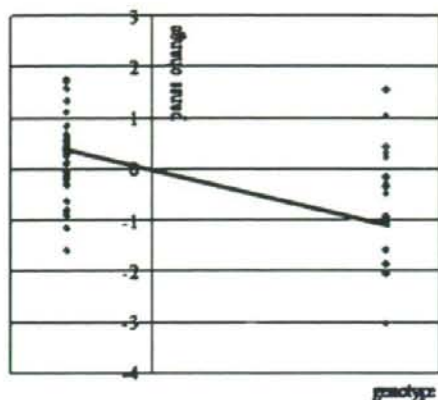
本研究課題は、統合失調症患者、健常対照群を対象とした遺伝子解析研究である。したがって、文部科学省、厚生労働省、経済産業省告示第 1 号の「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」に即して編成された藤田保健衛生大学倫理委員会において本研究課題に直結するゲノム研究に関する課題、「遺伝子解析によるこころの健康とこころの病気に対するかかりやすさ（発症脆弱性）や薬の効きめや副作用（治療反応性）等の解明に関する研究」の研究計画書を提出し、承認を受け、これまでも研究を遂行してきた。

平成18年度も（平成19年度以降も）、試料提供者へのインフォームド・コンセント、個人情報の厳重な管理（匿名化）などを徹底し、倫理的配慮を持って研究を進める。

また申請者は日本人類遺伝学会の臨床遺伝専門医として藤田保健衛生大学病院遺伝医療相談を担当しており、本研究のみならず様々な遺伝相談に応じる体制を構築し対応する環境を整備している。

C. 研究結果

まず名古屋圏での症例 55 例について検索を行った (1st set)。遺伝子型を入れ替えることによる permutation test を行うことにより診断確度を高めた。最初の解析からは 24 遺伝子が選出された。この結果を北九州地区で独立に収集したサンプルに適応し、さらに両者を併せた解析を行ったところ合計 18 個の遺伝子変異を利用した予測式が開発できた ($p=0.01$, $\beta=0.34$, $R^2=0.097$)。



この予測式は独立したサンプルおよび定型薬からの切り替え群においても同様に有意に治療反応性を予測することが示された。最も治療反応性を予測する遺伝子として NOS2A が選択された。

D. 考察

本年度の解析においてこれまで仮説に基づいて行われた候補遺伝子アプローチではなく、全く事前の仮説なしに新規の遺伝子を治療反応性予測因子として選出することができた。遺伝子の中には神経伝達と深く関連するものもあれば、全く機能が不明な遺伝子も存在していた。今後これらの遺伝子の機能と薬物治療反応性についての検討が必要である。

また今回の名古屋圏のサンプルでの当てはまりを示す R^2 は 10% 前後と必ずしも大きくなく、これはサンプル数が少ないことによるものと考察している。今後例数を増やすとともにさらに精度の高い予測式開発を目指す。

E. 結論

抗精神病薬治療反応性を予測する方法をファーマコジェネティクスは高い確度で提供しうる可能性が示された。本年度の検討では NOS2A を含む 18 遺伝子多型がリスペリドン治療反応性を予測することを明確にした。今後は全ゲノム解析

をすすめることにより、より精度の高い治療反応性予測法を確立していきたい。

F. 健康危険情報

特記すべきことなし。

G. 研究発表

H. 論文発表 (2008-2009)

2009

- Ohi K, Hashimoto R, Yasuda Y, Yoshida T, Takahashi H, Iike N, Fukumoto M, Takamura H, Iwase M, Kamino K, Ishii R, Kazui H, Sekiyama R, Kitamura Y, Azechi M, Ikezawa K, Kurimoto R, Kamagata E, Tanimukai H, Tagami S, Morihara T, Ogasawara M, Okochi M, Tokunaga H, Numata S, Ikeda M, Ohnuma T, Ueno SI, Fukunaga T, Tanaka T, Kudo T, Arai H, Ohmori T, Iwata N, Ozaki N, Takeda M. Association study of the G72 gene with schizophrenia in a Japanese population: A multicenter study. *Schizophr Res.* 2009 Feb 21. [Epub ahead of print]
- Kishi T, Kitajima T, Ikeda M, Yamanouchi Y, Kinoshita Y, Kawashima K, Okochi T, Okumura T, Tsunoka T, Inada T, Ozaki N, Iwata N. Association study of clock gene (CLOCK) and schizophrenia and mood disorders in the Japanese population. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci.* 2009 Feb 17. [Epub ahead of print]
- Watanabe Y, Nunokawa A, Kaneko N, Muratake T, Arinami T, Ujike H, Inada T, Iwata N, Kunugi H, Itokawa M, Otowa T, Ozaki N, Someya T. Two-stage case-control association study of

polymorphisms in rheumatoid arthritis susceptibility genes with schizophrenia. *J Hum Genet.* 2009;54(1):62-5. Epub 2009 Jan 9.

4. Nishiyama T, Ozaki N, Iwata N. Use of questionnaire infeasibility in order to detect cognitive disorders: example of the Center for Epidemiologic Studies Depression Scale in psychiatry settings. *Psychiatry Clin Neurosci.* 2009 Feb;63(1):23-9.
 5. Arai S, Shibata H, Sakai M, Ninomiya H, Iwata N, Ozaki N, Fukumaki Y. Association analysis of the glutamic acid decarboxylase 2 and the glutamine synthetase genes (GAD2, GLUL) with schizophrenia. *Psychiatr Genet.* 2009 Feb;19(1):6-13.
- 2008**
6. Ishiguro H, Koga M, Horiuchi Y, Noguchi E, Morikawa M, Suzuki Y, Arai M, Niizato K, Iritani S, Itokawa M, Inada T, Iwata N, Ozaki N, Ujike H, Kunugi H, Sasaki T, Takahashi M, Watanabe Y, Someya T, Kakita A, Takahashi H, Nawa H, Arinami T. Supportive evidence for reduced expression of GNB1L in schizophrenia. *Schizophr Bull.* 2008 Nov 14. [Epub ahead of print]
 7. Ezaki N, Nakamura K, Sekine Y, Thanseem I, Anitha A, Iwata Y, Kawai M, Takebayashi K, Suzuki K, Takei N, Iyo M, Inada T, Iwata N, Harano M, Komiyama T, Yamada M, Sora I, Ujike H, Mori N. Short allele of 5-HTTLPR as a risk factor for the development of psychosis in Japanese methamphetamine abusers. *Ann N Y Acad Sci.* 2008 Oct;1139:49-56.
 8. Kotaka T, Ujike H, Morita Y, Kishimoto M, Okahisa Y, Inada T, Harano M, Komiyama T, Hori T, Yamada M, Sekine Y, Iwata N, Iyo M, Sora I, Ozaki N, Kuroda S. Association study between casein kinase 1 epsilon gene and methamphetamine dependence. *Ann N Y Acad Sci.* 2008 Oct;1139:43-8.
 9. Arai S, Shibata H, Sakai M, Ninomiya H, Iwata N, Ozaki N, Fukumaki Y. Association analysis of the glutamic acid decarboxylase 2 and the glutamine synthetase genes (GAD2, GLUL) with schizophrenia. *Psychiatr Genet.* 2009 Feb;19(1):6-13.
 10. Kinoshita Y, Ikeda M, Ujike H, Kitajima T, Yamanouchi Y, Aleksic B, Kishi T, Kawashima K, Ohkouchi T, Ozaki N, Inada T, Harano M, Komiyama T, Hori T, Yamada M, Sekine Y, Iyo M, Sora I, Iwata N. Association study of the calcineurin A gamma subunit gene (PPP3CC) and methamphetamine-use disorder in a Japanese population. *Ann N Y Acad Sci.* 2008 Oct;1139:57-62.
 11. Kishi T, Ikeda M, Kitajima T, Yamanouchi Y, Kinoshita Y, Kawashima K, Inada T, Harano M, Komiyama T, Hori T, Yamada M, Iyo M, Sora I, Sekine Y, Ozaki N, Ujike H, Iwata N. Glutamate cysteine ligase modifier (GCLM) subunit gene is not associated with methamphetamine-use disorder or schizophrenia in the Japanese population. *Ann N Y Acad Sci.* 2008 Oct;1139:63-9.