

200907002B

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～21年度 総合研究報告書

研究代表者 功刀 浩

平成22(2010)年5月

## 目 次

I.	総合研究報告	
	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	
	抗うつ薬の薬理遺伝学的解析-----	8
	功刀 浩	
	抗精神病薬と抗うつ薬のファーマコジェネティクス-----	30
	岩田 仲生	
	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-----	38
	下田和孝	
	向精神病薬によるQTc延長に関する研究-----	45
	尾関 祐二	
	遅発性ジスキネジアの発症脆弱性に関する分子遺伝学的研究-----	50
	稲田 俊也	
III.	研究成果の刊行に関する一覧表-----	55
IV.	研究成果の刊行物・別刷 (主要なものを選択)-----	63

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

研究代表者 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テーラ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。H19年度～21年の研究によって、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 310 例収集した。健康者の DNA サンプルもおよそ 220 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 サンプルを用いて候補遺伝子研究を行い、薬理力学的遺伝子として DISC1 や GRM3 が抗うつ薬反応性と関連することを見出した。薬物動態関連遺伝子のうち、CYP2D6 と ABCG2 が治療反応性と関連することを見出した。これら所見は臨床応用に結び付き得る。

③37 万 SNPs チップを用いたゲノムワイド関連解析データの詳細な解析を行い、PDLIM5 などの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が、そのうち特に有望なもの 7 遺伝子を同定した。これは治療反応性予測キットなどの作成に有用な知見となる。また、今後、テーラ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。

④うつ病の 100 万 SNPs チップによる全ゲノム解析を行い、関連が強く示唆される領域に

関するデータを得た。これは、抗うつ薬の標的分子探索のための貴重なデータベースとなる。(①～④は功刀らによる)

⑤分担研究者の岩田らは、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に関するデータベースを構築した。また、リスペリドン投与マウスの脳内の mRNA の発現量の計測を行い、前述の薬理遺伝学的アプローチと重複する遺伝子を抽出することにより、確度の高い 14 遺伝子を同定した。そのうち PDE7B は疾患感受性にも関連することが認められた。これらの治験が集積すればバイオマーカーとしての遺伝子型を用いて最適薬物の選択を可能にするものと期待される。

⑥岩田らはさらに、抗うつ薬の反応性を規定する遺伝子について候補遺伝子研究を行い、セロトニン 2 A 受容体遺伝子多型、CLOCK 遺伝子多型と抗うつ薬の反応性が関連していることを示唆する結果を得た。

⑦分担研究者の下田らは、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おり、5-HT1A 受容体遺伝子型 C/C 型が良好な治療反応と関連していることを見出した。以上から、これらの遺伝子型と薬物血中濃度を参考にすることで、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できる可能性が示唆された。

⑧分担研究者の尾関らは、心電図上の QT 間隔延長のリスクとなる要因について検討した。1017 人の統合失調症患者を対象とした検討では、抗精神病薬の総量、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 QT 延長を引き起こすことが示された。613 人の抗うつ薬治療を受けている患者では、女性、高齢、三環系抗うつ薬（クロミプラミンなど）、抗精神病薬併用が、QT 間隔延長と有意に関係していた。

⑨分担研究者の稲田らは、抗精神病薬によって惹起される重大な副作用である遅発性ジスキネジア発症に関連する脆弱性遺伝子を探索した。発症脆弱群と非脆弱群の 2 群に分けて、ゲノムワイド関連解析を行い、発症脆弱性の示唆される候補遺伝子を多数見いだした。その中でも特に GABRG3 遺伝子と DPP6 遺伝子が遅発性ジスキネジアの発症脆弱性に関わっている可能性を示唆する多面的なエビデンスを得た。

#### 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、テーラ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（詳細は各分担研究報告書に記載した）

- ① ヒト研究試料の収集： 国立精神・神経センター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。
- ②～④ 抗うつ薬の薬理遺伝学的解析： 抗うつ薬（fluvoxamine (SSRI)、paroxetine (SSRI), milnacipran (SNRI), nortryptiline (三環系)のいずれか単剤によって治療) 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や 37 万 SNPs チップを用いたゲノムワイド関連解析を行った。また、詳細な臨床情報のあるうつ病患者と健常者を用いて 100 万 SNPs チップによるゲノムワイド関連解析も行った。
- ⑤ 分担研究者の岩田らは、抗精神病薬予測に関して Genome-wide の遺伝子多型を利用し、リスペリドン単剤治療による反応性の関連を検討した。さらに、リスペリドン投与マウスの脳内の mRNA の発現量の計測を行い、薬理遺伝学的アプローチと重複する遺伝子を抽出することで、複数の確度の高い遺伝子を同定した。
- ⑥ さらに岩田らは、抗うつ薬の治療反応性を規する遺伝子に関し、候補遺伝子研究として、セロ

トニン 1A 受容体 (HTR1A)、セロトニン 2A 受容体(HTR2A)、circadian rhythm 関連の clock gene として、CLOCK、SIRT1、PROK2、PROKR2、NR1D1、2 型代謝型グルタメート受容体 (GRM2、GRM3) を候補遺伝子として選んで検討した。

⑦ 分担研究者の下田らは、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を行った。パニック障害患者65名を対象にパロキセチンによる治療(10mg/日×4週間)を行い、パロキセチン血中濃度、セロトニントランスポーター(5-HTTLPR) 遺伝子型、C(-1019) G 5-HT1A受容体遺伝子多型などとパニック障害の治療反応性との関連を重回帰分析により解析した。

⑧ 分担研究者の尾関らは、向精神薬によるQT延長に関する解析を行った。1017人の抗精神病薬で治療を受けている患者、613人の抗うつ薬治療を受けている患者を対象に、QT間隔を測定し、統計処理することで、QT延長のリスク要因（各種薬剤や臨床要因）について重回帰分析によって解析した。

⑨ 分担研究者の稲田らは、抗精神病薬の重大な副作用である遅発性ジスキネジアのリスク遺伝子に関しゲノムワイド関連解析によるデータベース構築と動物などによる多面的検討を行った。

(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（詳細は各分担研究報告書に記載した）

①ヒト研究試料の収集：H19年度～21年度の3年間で国立精神・神経センター病院において治療中の気分障害患者およそ310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220名収集した。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、薬理力学的遺伝子としてDISC1やGRM3が抗うつ薬反応性と関連することを見出した。薬物動態関連遺伝子のうち、CYP2D6と

ABCG2が治療反応性と関連することを見出した。これら所見は臨床应用到に結び付き得る。

③37万SNPsを用いた全ゲノム解析では、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。注目された遺伝子の1つに4番染色体上に存在するPDLIM5があり、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参与することが示唆されている。データの詳細な解析により、抗うつ薬によってHAMDスコアが7点以下にまで低下した群を寛解群とすると、50%以上のスコア低下・寛解の両者と強く関連する45のSNPsを同定した。それらは7つの遺伝子座に存在していた。結果が独立サンプルで再現されれば、治療反応性予測キットなどの作成に有用な知見となる。

④詳細な臨床情報をもつうつ病患者に関する全ゲノム解析を行い、極めて精度の高いジェノタイプング結果が得られた。100万SNPsのデータであることから、このデータも極めて膨大な貴重なものであり、詳細な解析を行っている。その結果、染色体6番などにリスク遺伝子が存在することを強く示唆するp値のピークが見られた。これは、抗うつ薬の標的分子探索のための貴重なデータベースとなる。(図表11)。

⑤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に関するデータベースを構築した。また、リスペリドン投与マウスの脳内のmRNAの発現量の計測を行い、前述の薬理遺伝学的アプローチと重複する遺伝子を抽出することにより、14遺伝子を同定した。そのうちPDE7Bは疾患感受性にも関連することが認められた。これらの治験が集積すればバイオマーカーとしての遺伝子型を用いて最適薬物の選択を可能にするものと期待される。

⑥岩田らによる抗うつ薬の治療反応性を規定する遺伝子の候補遺伝子研究により、HTR2AおよびCLOCKとSSRI反応性とが有意な関連を示した。これらの所見は臨床応用に結び付き得る。

⑦下田らによる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では、パロキセチン血中濃度が高値、5HTTL/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、初期治療反応性が不良であることと関連しており、5-HT1A受容体遺伝子型C/C型が良好な治療反応と関連していることを見出した。以上から、これらの遺伝子型と薬物血中濃度を参考にすることで、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できる可能性が示唆された。

⑧分担研究者の尾関らは、向精神薬によるQT延

長に関する解析を行った。1017人の統合失調症患者を対象とした検討では、抗精神病薬の総量、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QT延長を引き起こすことが示された。613人の抗うつ薬治療を受けている患者では、女性、高齢、三環系抗うつ薬（クロミプラミンなど）、抗精神病薬併用が、QT間隔と有意に関係していた。以上の結果は、QT延長を来すことによる突然死の予防に極めて有用な知見である。今後DNA解析によってQT延長のリスク遺伝子を明らかにすることができる。

⑨分担研究者の稲田らは、抗精神病薬によって惹起される重大な副作用である遅発性ジスキネジア発症に関連する脆弱性遺伝子を探索した。発症脆弱群と非脆弱群の2群に分けて、ゲノムワイド関連解析を行い、発症脆弱性の示唆される候補遺伝子を多数見いだした。その中でも特にGABRG3遺伝子とDPP6遺伝子が遅発性ジスキネジアの発症脆弱性に関わっている可能性を示唆する多面的なエビデンスを得た。

## E. 結論

<主な研究成果>

●リサーチリソースの構築

●抗うつ薬への治療反応性（有効性、副作用）とゲノム上の殆ど全ての遺伝子との関連の有無についての検討（37万遺伝子多型による全ゲノム解析）を終了し、反応性と強く関連する7



つの遺伝子を同定した。

●抗精神病薬リスペリドンの治療反応性についても全ゲノム解析（10万遺伝子多型）を終了し、効果判定予測に有用な遺伝子を同定した。

●抗うつ薬や抗精神病薬の作用標的分子や代謝に関与する遺伝子と治療反応性との関連を見出した。

●抗精神病薬の重大副作用である遅発性ジスキネジアの全ゲノム解析（10万遺伝子多型）を行い、GABRG3遺伝子やDPP6遺伝子の重要性などについて明らかにした。

●うつ病患者の臨床特性（ストレスホルモン反応性など）を規定する遺伝子について全ゲノム解析（100万遺伝子多型）を行い、抗うつ薬の標的となる分子のデータベースを構築した。

●突然死のリスクとなるQTc延長について抗精神病薬投与1017人の調査に引き続き、抗うつ薬投与613人について調査を完了した（計1630人：世界最大級）。

<今後の展望>

●全ゲノム解析による極めて貴重なデータベースを構築した。今後はこれを基盤として再現性を確認するとともに詳細な解析を行い、さらに精度の高いデータベースの構築を進める。

●治療効果だけでなく副作用（遅発性ジスキネジア以外）や至適用量を予測するための解析を進める。

●ゲノム情報に基づく治療反応性予測キットを臨床実用化する。

●突然死のリスクとなるQTc延長患者のゲノム解析を進め、ハイリスク患者の同定法を開発する。

<社会に与える影響>

●効率的で副作用の少ないテイラーメイド医療の実現

●早期回復と社会復帰の実現

●入院患者の減少、自殺者の減少

●医療費の削減

## 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

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テーラ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。H19年度～21年の研究によって、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。

抗うつ薬の治療反応性を規定する遺伝子を探索するための DNA などリサーチリソースを多数収集した（気分障害患者 310 名、健常者 220 名）。抗うつ薬に対する治療反応性が明らかうつ病患者の DNA サンプルを用いて候補遺伝子研究を行い、DISC1 や GRM3 などが関連することを見出した。また、薬物動態関連遺伝子のうち、CYP2D6 と ABCG2 が治療反応性と関連することを見出した。これら所見は臨床応用に結び付き得る。さらに、37 万 SNPs チップを用いた全ゲノム解析を行い、PDLIM5 などの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が、そのうち特に有望なもの 7 遺伝子を同定した。これは、テーラ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、うつ病の 100 万遺伝子による全ゲノム解析を終了した。このサンプルはストレスホルモン応答性などの臨床情報を含んでおり、極めて貴重な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。

## B. 研究方法

1) ヒト研究試料の収集： 国立精神・神経センター病院において治療中の気分障害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) 抗うつ薬への治療反応性に関する候補遺伝子研究と全ゲノム解析

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。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ナー、そうでない者をノンレスポナーと定義した。

< 候補遺伝子研究 >

H19 年度は、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 $\chi^2$  独立性の検定を行った。DISC1 については、COCAPHASE 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。

H20年度は、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。

#### <全ゲノム解析>

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。

#### 3) 詳細な臨床情報をもつうつ病患者に関する全ゲノム解析

大うつ病 72 例と年齢・性のマッチした健常者 72 例について 100 万 SNPs (イルミナ HumanOmni1-Quad BeadChip) を用いてタイピングを行った。

(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. 研究結果

1) ヒト研究試料の収集: H19 年度~21 年度の 3 年間で国立精神・神経センター病院において治療中の気分障害患者およそ 310 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 220 名収集した。

#### 2) 抗うつ薬への治療反応性に関する候補遺伝子研究と全ゲノム解析

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 (図表 1)。

#### <候補遺伝子研究結果>

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との比較を図表 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:  $13.6 \pm 7.6$ ; Val/Met 型:  $13.6 \pm 7.8$ ; Met/Met 型:  $12.7 \pm 6.3$ ,  $p=0.89$  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図表 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図表 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、SNP 2 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 (図表 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 についての結果を図表 6 に示す。調べた 6 個の SNPs のうち、4 個の SNPs が有意 ( $p<0.05$ ) 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。

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 ( $P=0.016$ ) (図表 7)。

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 (図表 8)。

#### <全ゲノム解析>

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（図表9）、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。

データの詳細な解析により、抗うつ薬によって HAMD スコアが7点以下にまで低下した群を寛解群とすると、50%以上のスコア低下・寛解の両者と強く関連する45のSNPsを同定した。それらは7つの遺伝子座に存在していた（図表10）。

### 3) 詳細な臨床情報をもつうつ病患者に関する全ゲノム解析

極めて精度の高いジェノタイピング結果が得られた。100万SNPsのデータであることから、このデータも極めて膨大な貴重なものであり、解析中である。その結果、染色体6番などにリスク遺伝子が存在することを強く示唆するp値のピークが見られた（図表11）。

また、抗うつ薬への反応性と関連した7つの遺伝子は、うつ病のリスクとは関連しなかった。このことから、抗うつ薬への反応性を規定する遺伝子とうつ病リスク遺伝子とは別であることが示唆される。すなわち、うつ病は抗うつ薬に反応する群と非反応群に分かれ、heterogenousなものである。従って、反応性を規定するベクトルとうつ病のリスクを規定するベクトルは相関しないということを示唆していると思われる。

## D. 考察

1) ヒト研究試料の収集では、500名以上の患者・健常者からの研究参加の協力を得た。これは、今後抗うつ薬のテーラーメイド研究に多大に寄与する貴重なリソースとなる。

### 2) 抗うつ薬への治療反応性に関する候補遺伝子研究と全ゲノム解析

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 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（図表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。

#### <候補遺伝子研究>

BDNFのVal66Met多型では、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との関連とする報告も複数ある。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。BDNFの低親和性受容体であるP75NTRも抗うつ薬の反応性に関連するという報告もあり、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。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。

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かと思われる。

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。

#### <全ゲノム解析>

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 $\epsilon$**  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。

また、そのデータの詳細な解析によって7つの遺伝子を特定した。現在、この結果が再現されるか否かについて独立のサンプルを用いて検証中である。結果が再現されれば、抗うつ薬への治療反応性を予測する遺伝子チップ作成につながる知見となる。

#### 3) 詳細な臨床情報をもつうつ病患者に関する全ゲノム解析

さらにうつ病の100万遺伝子による全ゲノム解析を終了した。このサンプルはストレスホルモン応答性などの臨床情報を含んでおり、極めて貴重なデータベースとなる。

#### E. 結論

抗うつ薬の治療反応性を規定する遺伝子を探索するための DNA などリサーチリソースを多数収集した。

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、**DISC1** や **GRM3** などが関連することを



見出した。また、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。これら所見は臨床応用に結び付き得る。

37万SNPsチップを用いた全ゲノム解析を行い、PDLIM5などの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が、そのうち特に有望なもの7遺伝子を同定した。これは、テーラ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、うつ病の100万遺伝子による全ゲノム解析を終了した。このサンプルはストレスホルモン応答性などの臨床情報を含んでおり、極めて貴重な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)

##### 1. 論文発表

- 1) 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.

- 2) 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.
- 3) 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 May;42(6):425-32.
- 4) 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.
- 5) 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.
- 6) 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.
  - 7) Adachi N, Kunugi H: Impaired secretion of brain-derived neurotrophic factor and neuropsychiatric diseases. *Open Neurosci J* 2008; 2: 59-64
  - 8) 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.
  - 9) Mizuguchi T, Hashimoto R, Itokawa M, Sano A, Shimokawa O, Yoshimura Y, Harada N, Miyake N, Nishimura A, Saitsu 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.
  - 10) 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.
  - 11) 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 neuropeptide Y gene and psychiatric disorders: polymorphism screening and possible association with bipolar disorder and cognitive functions. *Neuropsychopharmacology* 2008; 33:3237-45.
  - 12) 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.
  - 13) 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.

- 14) Nunokawa A, Watanabe Y, Kaneko N, Sugai T, Yazaki S, Arinami T, Ujike H, Inada T, Iwata N, Kunugi H, Sasaki T, Itokawa M, Ozaki N, Hashimoto R, Someya T. The dopamine D3 receptor (DRD3) gene and risk of schizophrenia: case-control studies and an updated meta-analysis. *Schizophr Research* 116(1):61-67, 2010.
- 15) Hashimoto R, Hashimoto H, Shintani N, Ohi K, Hori H, Saitoh O, Kosuga A, Tatsumi M, Iwata N, Ozaki N, Kamijima K, Baba A, Takeda M, Kunugi H. Possible association between the pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide (PACAP) gene and major depressive disorder. *Neurosci Letters* 468(3):300-302, 2010. Epub 2009 Nov 13.
- 16) Ishiguro H, Horiuchi Y, Ishikawa M, Koga M, Imai K, Suzuki Y, Morikawa M, Inada T, Watanabe Y, Takahashi M, Someya T, Ujike H, Iwata N, Ozaki N, Onaivi ES, Kunugi H, Sasaki T, Itokawa M, Arai M, Niizato K, Iritani S, Naka I, Ohashi J, Kakita A, Takahashi H, Nawa H, Arinami T. Brain Cannabinoid CB2 Receptor in Schizophrenia. *Biological Psychiatry*. 67(10):974-982, 2010.
- 17) Kajiyama Y, Iijima Y, Chiba S, Furuta M, Ninomiya M, Izumi A, Shibata S, Kunugi H. Prednisolone causes anxiety- and depression-like behaviors and altered expression of apoptotic genes in mice hippocampus. *Prog Neuropsychopharmacol Biological Psychiatry* 34(1):159-165, 2010. Epub 2009 Oct 30.
- 18) Okahisa Y, Ujike H, Kunugi H, Ishihara T, Kodama M, Takaki M, Kotaka T, Kuroda S. Leukemia inhibitory factor gene is associated with schizophrenia and working memory function. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 34(1):172-176, 2010. Epub 2009 Oct 30.
- 19) Iwayama Y, Hattori E, Maekawa M, Yamada K, Toyota T, Ohnishi T, Iwata Y, Tsuchiya KJ, Sugihara G, Kikuchi M, Hashimoto K, Iyo M, Inada T, Kunugi H, Ozaki N, Iwata N, Nanko S, Iwamoto K, Okazaki Y, Kato T, Yoshikawa T. Association analyses between brain-expressed fatty-acid binding protein (FABP) genes and schizophrenia and bipolar disorder. *American Journal of Medical Genetics B Neuropsychiatric Genetics* 153B(2):484-493, 2010.
- 20) Fukumoto N, Fujii T, Combarros O, Kambh MI, Tsai SJ, Matsushita S, Nacmias B, Comings

- DE, Arboleda H, Ingelsson M, Hyman BT, Akatsu H, Grupe A, Nishimura AL, Zatz M, Mattila KM, Rinne J, Goto Y, Asada T, Nakamura S, Kunugi H. Sexually dimorphic effect of the Val66Met polymorphism of BDNF on susceptibility to Alzheimer's disease: New data and meta-analysis. *American Journal of Medical Genetics B Neuropsychiatric Genetics* 153B(1): 235-242, 2010.
- 21) Hashimoto R, Noguchi H, Hori H, Nakabayashi T, Suzuki T, Iwata N, Ozaki N, Kosuga A, Tatsumi M, Kamijima K, Harada S, Takeda M, Saitoh O, Kunugi H. A genetic variation in the dysbindin gene (DTNBP1) is associated with memory performance in healthy controls. *World Journal of Biological Psychiatry* 11(2 Pt2): 431-438, 2010.
- 22) Hashimoto R, Noguchi H, Hori H, Nakabayashi T, Suzuki T, Iwata N, Ozaki N, Kosuga A, Tatsumi M, Kamijima K, Harada S, Takeda M, Saitoh O, Kunugi H. A genetic variation in the dysbindin gene (DTNBP1) is associated with memory performance in healthy controls. *World Journal of Biological Psychiatry*. 2009 Apr 7:1-8. [Epub ahead of print]
- 23) Hashimoto R, Noguchi H, Hori H, Ohi K, Yasuda Y, Takeda M, Kunugi H. Association between the dysbindin gene (DTNBP1) and cognitive functions in Japanese subjects. *Psychiatry and Clinical Neurosciences* 2009 63(4):550-556, 2009. Epub 2009 May 22.
- 24) Hashimoto R, Mori T, Nemoto K, Moriguchi Y, Noguchi H, Nakabayashi T, Hori H, Harada S, Kunugi H, Saitoh O, Ohnishi T. Abnormal microstructures of the basal ganglia in schizophrenia revealed by diffusion tensor imaging. *World Journal of Biological Psychiatry* 2009;10(1):65-9.
- 25) Hashimoto R, Ohi K, Okada T, Yasuda Y, Yamamori H, Hori H, Hikita T, Taya S, Saitoh O, Kosuga A, Tatsumi M, Kamijima K, Kaibuchi K, Takeda M, Kunugi H. Association analysis between schizophrenia and the AP-3 complex genes. *Neuroscience Research* 65(1): 113-115, 2009. Epub 2009 May 27.
- 26) Hattori E, Toyota T, Ishitsuka Y, Iwayama Y, Yamada K, Ujike H, Morita Y, Kodama M, Nakata K, Minabe Y, Nakamura K, Iwata Y, Takei N, Mori N, Naitoh H, Yamanouchi Y, Iwata N, Ozaki N, Kato T, Nishikawa T, Kashiwa A, Suzuki M, Shioe K, Shinohara M, Hirano M, Nanko S, Akahane A, Ueno M, Kaneko N,