

索を行い、日本人で比較的頻度が高く、論文が数報出ているなど、活性影響に対する評価がある程度定まっていると判断された多型を中心にまとめた。

### ③有用遺伝子多型のタイピング系開発

有用多型約 20 種に関し、日本人由来樹立細胞株のゲノム DNA を各 25ng 用いて、目的多型部位を含む約 300-600 bp の断片を PCR 増幅し、これをミニシーケンス法の一つであるパイロシーケンス法にて、迅速タイピング系を構築した。

### ④ 抗うつ薬の有効性・安全性に関連する候補遺伝子多型の解析

候補遺伝子多型として、ドパミン受容体 DRD2 (DRD2) Taq1A (intron 6)、-141C Ins/Del、セロトニン受容体 (5-HTR) 2A -1438G/A、3A 178C/T (5' UTR)、3B -102 AAG Ins/Del、セロトニントランスポーター (5-HTT) LPR、アドレナリン $\alpha$ 受容体 (ADRA) 2A -1297C/G、2C 322-325 Ins/Del を解析対象とした。投与薬剤別 [paroxetine (PAR)、fluvoxamine (FLV)、milnacipran (MIL)] に、遺伝子多型と抗うつ効果及び副作用との関連を検討した。

### ⑤ 有効性・安全性を指標とした SSRI・SNRI 服用患者の網羅的遺伝子多型関連解析

SSRI 及び SNRI 服用うつ病患者の検体 DNA を、Affymetrix 社のマイクロアレイを用いてジェノタイプピングし、そのデータを基に、副作用が発生した患者群としなかった群並びに有効性を示した群 (HAM-D 値が投与前の 50%以下) と示さなかった群とで比較し、関連解析を行った。関連解析は、「リスクアレルの個数」と「副作用あるいは有効性の発現割合」との間に減少または増加傾向が有るか否かを Cochran-Armitage test により検定し、多重検定の補正を行い、統計的に有意な SNP を検出した。

### ⑥ PGx 試験のための支援・評価システムの構築

SSRI、SNRI の服薬で副作用を発症した患者の試料と臨床情報を医療機関から多数収集し解析する為のシステムを構築した。さらに、患者の診療情報・遺伝子多型の統合データベースを作成した。

#### (倫理面への配慮)

研究全般を通じて「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」等を遵守し、また、各研究実施機関毎に研究倫理審査委員会より適正な審査を受け、実施の承認を得た上で行った。また、人権に十分考慮し、この点を含めたインフォームドコンセントを得た上で試料を採取すると共に、患者の個人情報に遺漏することのないように、適切な匿名化を行った。

### C. 研究結果および考察

#### ① 遺伝子多型のインビトロ機能解析

CYP2C9 の野生型 CYP2C9\*1、\*26 (Thr130Arg)、\*33 (Arg132Gln)、\*34 (Arg335Gln) に関し、3 種の基質を対象に機能解析を行った。CYP2C9\*26 では LOS で約

96%の大幅な活性低下が、DIC では約 76%の中程度の活性低下が認められ、GLM はその中間であった。一方、CYP2C9\*33 では、LOS 及び GLM で約 98%の大幅な活性低下が、DIC では約 82%の中程度の活性低下が認められた。CYP2C9\*34 では有意な活性低下は、いずれの基質でも見られなかった。従って、CYP2C9\*26 及び\*33 の活性低下には基質依存性が示唆された。

CYP3A4 の野生型 CYP3A4\*1、\*16 (Thr185Ser)、\*18 (Leu293Pro) に関し、6 種の基質を対象に機能解析を行った。CYP3A4\*16 では ATV (4-水酸化)、IRI (APC 産生)、PTX、CBZ で約 80%の活性低下が、TER では約 25-40%の活性低下が認められ、それ以外の基質・代謝経路では、この中間であった。一方、CYP3A4\*18 では、PTX、IRI で約 50%の活性低下が認められたものの、CBZ では活性低下は認められず、それ以外の基質・代謝経路では、この中間であった。従って、CYP3A4\*16 及び \*18 の活性低下には基質依存性が示唆された。

CYP2C8 の野生型 CYP2C8\*1、\*13 (Ile223Met)、\*14 (Ala238Pro) に関し、PTX を基質として機能解析を行った。CYP2C8\*13 では活性変化が認められなかったものの、CYP2C8\*14 で Km 値の約 3 倍の上昇が認められ、親和性の低下が示唆された。

また CYP2D6 と UGT2B7 の共発現系も確立した。以上の成果は、当該遺伝子多型を有する患者に医薬品を投与する際に、重要な知見となる。

#### ②有用多型の一覧作成

薬物代謝酵素 12 種の計 39 多型・ハプロタイプ、薬物トランスポーター 11 種の計 25 多型・ハプロタイプ等に関し、有用多型の一覧を作成した。

#### ③遺伝子多型のタイピング系開発

抗がん剤イリノテカン等の薬物動態・副作用発現に関わる薬物トランスポーター *ABCC2* 及び *SLCO1B1*、並びに抗がん剤ゲムシタビン等の薬物動態・副作用発現に関わる代謝酵素 *CDA*、*DCK* 及び薬物トランスポーター *ABCC4*、等の有用多型、計約 20 種に関し、迅速タイピング系を確立した。

#### ④ うつ薬の有効性・安全性に関連する候補遺伝子多型の解析

1) FLV 服用群において、DRD2 Taq1A 多型の A1/A1 群が他の遺伝子型に比べて十分なうつ症状の改善が得られなかった ( $p=0.03$ )。DRD2 Taq1A 多型の A1 アレル保有群では DRD2 の密度が低下すると報告されており、DA 神経の反応性の低下をきたす。このため、A1/A1 群で十分な抗うつ効果が得られなかったと考えられる。2) 5-HTR2A -1438A/G 遺伝子多型において、G/G 群で嘔気の発現率の高いことが判明した ( $p=0.043$ )。このことは、中枢神経系だけでなく腸管平滑筋においても 5-HTR2A 活性が変化するこ

とに起因する可能性がある。3) ADRA2A -1297C/G 多型において、G/G 群で、中枢のノルエピネフリン (NE)量を反映する血中 MHPG 濃度が高値を示す被験者の比率が高かった ( $p=0.022$ )。我々は ADRA2A -1297C/G 多型が SNRI の抗うつ効果の個人差に関与することを明らかにしており、また、血中 MHPG 濃度により、ミルナシプラン (SNRI) の有効性が予測可能であることから、本成果は、ADRA2A -1297C/G 多型が SNRI の抗うつ効果に関与するという結果を強力に支持するものである。4) 近年、5-HTT LPR 多型の Ins 部分に一塩基多型 (La/Lg) が存在し、5-HTT 発現量に影響を及ぼすことが報告された。そこで、5-HTTLPR 多型と La/Lg 多型の両多型を用いて SSRI の反応性予測を試みたところ、より予測精度が向上した。

#### ⑤ 有効性・安全性を指標とした SSRI・SNRI 服用患者の網羅的遺伝子多型関連解析

220 検体のジェノタイピングを行った。データの品質評価を行い、関連解析を行うに十分な品質を保持していることを確認した。安全性に関しては、SSRI、SNRI の代表的な副作用である嘔気・性機能障害と一塩基多型 (SNP) との関連解析を行った。性機能障害有り無しで比較したところ、FDR 法による有意水準、 $p \leq 4.29e-6$ 、を満たす SNP が 16 個見出された。また、性欲低下有りに限定し、性機能障害無しと比較したところ、有意水準、 $p \leq 3.48e-6$  (FDR 法) を満たす SNP が 13 個見出された。一方、嘔気に関しては、SSRI あるいは SNRI いずれかを服用した患者における嘔気発現との関連解析において、QQ-plot の形状から統計的な信頼性は高いと判定されたが、Bonferroni 補正後も有意水準を満たした SNP は見出されなかった。検体を SSRI 服用患者に限定した場合、FDR 法による有意水準、 $p \leq 2.65e-7$  を満たす 3 個の SNP が見出された。有効性との関連解析においては、SSRI 及び SNRI 服用患者では、うつの症状を中等度以上に限定した場合に、有効性と関連する候補 SNP が 3 個見出された (FDR,  $p \leq 8.068e-7$ )。SSRI に限定した場合では、うつ症状の程度を限定をしない条件において、FDR および Bonferroni 補正後も有意水準を満たす SNP が複数見出された (FDR  $p \leq 8.186e-7$ ; BF  $p \leq 2.729e-7$ )。

#### ⑥ PGx 試験のための支援・評価システムの構築

評価支援システムとして副作用発症患者の血液試料収集システムを構築した。大阪圏の精神神経科がある医療機関リストを作成、血液試料の提供体制を構築した。また、副作用症例患者の診療情報と遺伝子解析データを一元管理し、関連解析を実施するため、カスタマイズした症例報告書ソフトへの入力システムを構築した。

## D. 結論

比較的頻度の高い主要薬物代謝動態関連分子につき遺伝子多型の機能影響を明らかにし、医薬品開発において考慮すべき重要多型を明らかにした。候補遺伝子解析により、SSRI/SNRI の有効性、副作用発現の個人差を予測可能な遺伝子多型を特定することができたが、他方、全ゲノムに渡る網羅的な遺伝子マーカーの探索と有効性・副作用との関連解析の結果、従来法である候補遺伝子アプローチでは探索できなかった関連遺伝子 (多型) が明らかとなり、ゲノム網羅的解析の重要性が評価された。PGx 試験のための支援・評価システムの構築については大阪圏の医療機関において運用を行い、患者試料の収集を行った。これらの成果は、我が国における PGx 情報の医薬品開発・申請への利用にあたっての基盤的情報を総合的に与えるものである。今後、PGx 情報の医薬品開発・臨床現場における有効かつ効率的な利用に資するものと期待される。

## E. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Maekawa K, Harakawa N, Sugiyama E, Tohkin M, Kim SR, Kaniwa N, Katori N, Hasegawa R, Yasuda K, Kamide K, Miyata T, Saito Y, Sawada J.: Substrate-dependent functional alterations of seven CYP2C9 variants found in Japanese subjects. *Drug Metab. Dispos.*, 37: 1895-1903 (2009).
- 2) Hanioka, N., Matsumoto, K., Saito, Y., Narimatsu, S.: Functional characterization of CYP2C8.13 and CYP2C8.14: catalytic activities toward paclitaxel. *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.*, in press.
- 3) Hanioka, N., Yamamoto, M., Tanaka-Kagawa, T., Jinno, H., Narimatsu, S.: Functional characterization of human cytochrome P450 2E1 allelic variants: in vitro metabolism of benzene and toluene by recombinant enzymes expressed in yeast cells. *Arch. Toxicol.*, in press.
- 4) Kato M, Okugawa G, Wakeno M, Takekita Y, Nonen S, Tetsuo S, Nishida K, Azuma J, Kinoshita T, Serretti A. Effect of basic fibroblast growth factor (FGF2) gene polymorphisms on SSRIs treatment response and side effects. *Eur Neuropsychopharmacol.* 2009;19(10):718-25.
- 5) Tsutsumi A, Kanazawa T, Kikuyama H, Okugawa G, Uenishi H, Miyamoto T, Matsumoto N, Koh J, Shinosaki K, Kishimoto T, Yoneda H, Kinoshita T. Genetic polymorphisms in dopamine- and serotonin-related genes and treatment response to risperidone and perospirone. *Psychiatry Investig.* 2009; 6: 222-225.
- 6) Okugawa G, Kato M, Wakeno M, Koh J, Morikawa M, Matsumoto N, Shinosaki K, Yoneda H, Kishimoto T, Kinoshita T. Randomized clinical comparison of perospirone and risperidone in patients with schizophrenia: Kansai Psychiatric Multicenter Study. *Psychiatry Clin Neurosci* 2009; 63: 322-328.
- 7) Kato M, Zanardi R, Rossini D, De Ronchi D, Okugawa G,

- Kinoshita T, Colombo C, Serretti A. 5-HT2A gene variants influence specific and different aspect of antidepressant response in Japanese and Italian mood disorder patients. *Psychiatry Res* 2009; 167: 97-105.
- 8) Miyoshi K, Mori H, Mizobe Y, Akasaka E, Ozawa A, Yoshida M, and Sato M: Development of a noninvasive monitoring system for evaluation of Oct-3/4 promoter status in miniature pig somatic cell nuclear transfer embryos. *J Reprod Dev* 55, 661-6629, 2009.
- 9) Ohtsuka M, Warita T, Sakurai T, Watanabe S, Inoko H, and Sato M: Development of CRTEIL and CETRIZ, Cre-loxP-based systems, which allow change of expression of red to green or green to red fluorescence upon transfection with a Cre-expression vector. *J Biomed Biotechnol Volume* (2009), Article ID 985140, 9 pages
- 10) Miyoshi K, Mori H, Mizobe Y, Akasaka E, Ozawa A, Yoshida M, and Sato M: Valproic acid enhances in vitro development and Oct-3/4 expression of miniature pig somatic cell nuclear transfer embryos. *Cell Reprogram* 12, 67-74, 2010.
- 11) Himaki T, Mori H, Mizobe Y, Miyoshi K, Sato M, Takao S, and Yoshida M: Latrunculin A dramatically improves the developmental capacity of nuclear transfer embryos derived from gene-modified Clawn miniature pig cells. *Cloning Stem Cells*, in press.
- 12) Miyoshi K, Mori H, Yoshida M, and Sato M: Beneficial effects of reversine on in vitro development of miniature pig somatic cell nuclear transfer embryos. *J Reprod Dev*, in press.
- 13) Akasaka E, Watanabe S, Himaki T, Ohtsuka M, Yoshida M, Miyoshi K, and Sato M: Enrichment of xenograft-competent genetically modified pig cells using a targeted toxin, isolectin BS-I-B4 conjugate. *Xenotransplantation*, in press.
- 14) Ozawa A, Akasaka E, Watanabe S, Yoshida M, Miyoshi K, and Sato M: Usefulness of a non-invasive reporter system for monitoring reprogramming state in pig cells: Results of a cell fusion experiment. *J Reprod Dev*, in press.
- 15) Shrestha B, Hashiguchi T, Ito T, Miura N, Takenouchi K, Oyama Y, Kawahara K, Yoshinaga N, Arimura N, Noma S, Nitanda T, Kitajima S, Arimura K, Sato M, Sakamoto T, and Maruyama I: Immunomodulatory roles of VEGF-A: VEGF-A in B cells promotes lymphangiogenesis in lymph nodes but suppresses the ensuing immune responses. *J Immunol*, in press.
- 16) 南畝晋平, 東純一. 医薬品開発におけるチトクロム P-450 遺伝子多型. *日薬理誌* 2009 134 212-215.
- 17) 加藤正樹, 福田剛史, 分野正貴, 奥川 学, 嶽北佳輝, Serretti A, 東 純一, 木下利彦, 大うつ病性障害者における抗うつ薬の治療反応性に対する 5-HTA 受容体遺伝子多型の影響, *日本神経精神薬理学雑誌*, 29, 23-31, 2009
- 18) 加藤正樹, 奥川 学, 木下利彦, 気分安定薬としての lamotrigine 双極性障害治療における有効性, *臨床精神薬理*, 12, 903-912, 2009
- 19) 森田紗千, 上野千穂, 高瀬勝教, 南 智久, 分野正貴, 嶽北佳輝, 入澤 聡, 奥川 学, 木下利彦, 脳波異常を伴った若年周期精神病の一症例, *大阪てんかん研究会雑誌*, 18, 11-15, 2008
- 20) Hanioka, N., Tsuneto, Y., Saito, Y., Maekawa, K., Sawada, J., and Narimatsu, S.: Influence of CYP2C19\*18 and CYP2C19\*19 alleles on omeprazole 5-hydroxylation: in vitro functional analysis of recombinant enzymes expressed in *Saccharomyces cerevisiae*. *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.*, 102: 388-393 (2008).
- 21) Miyashita K, Kokubo Y, Akaiwa Y, Otsubo R, Nagatsuka K, Otsuki T, Horio T, Takiuchi S, Kawano Y, Minematsu K, Naritomi H, Tomoike H, Sawada J, Miyata T.: Genetic variations of CYP2C9 in 724 Japanese individuals and their impact on the antihypertensive effects of losartan. *Hypertens Res.*, 31: 1549-1557 (2008).
- 22) K. Maekawa, T. Yoshimura, Y. Saito, Y. Fujimura, F. Aohara, C. Emoto, K. Iwasaki, N. Hanioka, S. Narimatsu, T. Niwa, and J. Sawada: Functional characterization of CYP3A4.16: catalytic activities toward midazolam and carbamazepine. *Xenobiotica*, 39: 140-147 (2009).
- 23) 今川健一, 伊藤継孝, 東純一: ファーマコゲノミクスとトキシコゲノミクスの現状と今後の展開. *臨床薬理* 39(2): 61-67(2008).
- 24) Wakeno M, Kato M, Okugawa G, Fukuda T, Hosoi Y, Takekita Y, Yamashita M, Nonen S, Azuma J, Kinoshita T. The alpha 2A-adrenergic receptor gene polymorphism modifies antidepressant responses to milnacipran. *J Clin Psychopharmacol.* 2008;28(5):518-524.
- 25) Kato M, Wakeno M, Okugawa G, Fukuda T, Takekita Y, Hosoi Y, Azuma J, Kinoshita T, Serretti A. Antidepressant response and intolerance to SSRI is not influenced by G-protein beta3 subunit gene C825T polymorphism in Japanese major depressive patients. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2008;32(4):1041-1044.
- 26) 奥川 学, 加藤正樹, 分野正貴, 嶽北佳輝, 木下利彦 将来期待される抗うつ薬の研究と開発 *最新精神医学* 2008; 13: 457-462
- 27) 奥川 学, 加藤正樹, 分野正貴, 嶽北佳輝, 木下利彦 うつ病の薬物療法におけるオーダーメイド医療 *精神神経学雑誌* 2008; 110: 623-627
- 28) Kato M, Fukuda T, Wakeno M, Okugawa G, Takekita Y, Watanabe S, Yamashita M, Hosoi Y, Azuma J, Kinoshita T, Serretti A. Effect of 5-HT1A gene polymorphisms on antidepressant response in major depressive disorder. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 2009; 150B: 115-123.
- 29) Muramatsu H, Kusano T, Sato M, Oda Y, Kobori K, Muramatsu T: Embryonic stem cells deficient in I  $\beta$  1,6-N-acetylglucosaminyl-transferase exhibit reduced expression of embryoglycan and the loss of a Lewis X antigen, 4C9. *Glycobiology*, 18, 242-249, 2008.
- 30) Sakurai T, Kamiyoshi A, Watanabe S, Sato M, Shindo T: Rapid zygosity determination in mice by SYBR Green real-time genomic PCR of a crude DNA solution. *Transgenic Research*, 17:149-155,

- 2008.
- 31) Watanabe S, Misawa M, Matsuzaki T, Sakurai T, Muramatsu T, Yokomine T, Sato M: Production and characterization of transgenic mice systemically expressing endo-  $\beta$  -galactosidase C. *Glycobiology*, 18:9-19, 2008.
- 32) Kurose K, Saeki M, Tohkin M, Hasegawa R. Thyroid hormone receptor mediates human MDR1 gene expression —Identification of the response region essential for gene expression. *Arch Biochem Biophys*, 76(4): 531-42. 2008
- 33) Nakamura S, Watanabe S, Ohtsuka M, Maehara T, Ishihara M, Yokomine T, Sato M: Cre-loxP system as a versatile tool for conferring increased levels of tissue-specific gene expression from a weak promoter. *Molecular Reproduction and Development*, 75: 1085-1093, 2008.
- 34) Hanioka, N., Yamamoto, M., Iwabu, H., Jinno, H., Tanaka-Kagawa, T., Naito, S., Shimizu, T., Masuda, K., Katsu, T., and Narimatsu, S.: Functional characterization of human and cynomolgus monkey cytochrome P450 2E1 enzymes. *Life Sci*, 81: 1436-1445 (2007).
- 35) Koue T, Kubo M, Funaki T, Fukuda T, Azuma J, Takaai M, Kayano Y, Hashimoto Y. Nonlinear mixed effects model analysis of the pharmacokinetics of aripiprazole in healthy Japanese males. *Biol Pharm Bull.*, 30: 2154-2158 (2007).
- 36) Kubo M, Koue T, Maune H, Fukuda T, Azuma J. Pharmacokinetics of Aripiprazole, a New Antipsychotic, following Oral Dosing in Healthy Adult Japanese Volunteers: Influence of CYP2D6 Polymorphism. *Drug Metab Pharmacokinet.*, 22: 358-366 (2007).
- 37) Wakeno M, Okugawa G, Takekita Y, Kato M, Fukuda T, Yamashita M, Hosoi Y, Azuma J, Kinoshita T. Delirium associated with paroxetine in an elderly depressive patient: a case report. *Pharmacopsychiatry*. 40: 199-200 (2007).
- 38) Kato M, Fukuda T, Serretti A, Wakeno M, Okugawa G, Ikenaga Y, Hosoi Y, Takekita Y, Mandelli L, Azuma J, Kinoshita T. ABCB1 (MDR1) gene polymorphisms are associated with the clinical response to paroxetine in patients with major depressive disorder. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 32: 398-404 (2008).
- 39) Sai K, Saito Y, Fukushima-Uesaka H, Kurose K, Kaniwa N, Kamatani N, Shirao K, Yamamoto N, Hamaguchi T, Kunitoh H, Ohe Y, Tamura T, Yamada Y, Minami H, Ohtsu A, Yoshida T, Saijo N, Sawada J: Impact of CYP3A4 haplotypes on irinotecan pharmacokinetics in Japanese cancer patients. *Cancer Chemother. Pharmacol.* 2008 62(3):529-37.
- 40) Sai K, Saito Y, Itoda M, Fukushima-Uesaka H, Nishimaki-Mogami T, Ozawa S, Maekawa K, Kurose K, Kaniwa N, Kawamoto M, Kamatani N, Shirao K, Hamaguchi T, Yamamoto N, Kunitoh H, Ohe Y, Yamada Y, Tamura T, Yoshida T, Minami H, Matsumura Y, Ohtsu A, Saijo N, Sawada J: Genetic variations and haplotypes of *ABCC2* encoding MRP2 in a Japanese population. *Drug Metab. Pharmacokinet.*, 2008;23(2):139-47.
- 41) Shinpei Nonen, Yorinobu Maeda, Shiho Hirahara, Masahiko Hara, Masami Nishino, Akiko Yamamoto, Yuiko Masunaga, Masako Ohno, Yasushi Fujio, Junichi Azuma. Impact of genetic polymorphism on maintenance dose of warfarin; a case report of the patient with high dose. *Jpn J Therapeutic Drug Monitoring*, 2008 25(4):141-144
- 42) 分野正貴、加藤正樹、嶽北佳輝、坂井志帆、西田圭一郎、奥川 学、木下利彦、抗うつ薬パロキセチン (パキシル)、最新精神医学、13、435-438、2008
- 43) 奥川 学、統合失調症の診断学的研究と治療学的研究、分子精神医学、2007
- 44) 加藤正樹、奥川 学、分野正貴、嶽北佳輝、木下利彦、セロトニントランスポーター遺伝子多型がうつ薬の臨床効果に与える影響、臨床精神薬理、10、831-842、2007
- 45) 奥川 学、高瀬勝教、加藤正樹、分野正貴、嶽北佳輝、木下利彦、臨床薬理遺伝学からみた抗うつ薬の治療効果予測、臨床精神薬理、10、1439-1446、2007
- 46) 奥川 学、高瀬勝教、加藤正樹、分野正貴、嶽北佳輝、木下利彦、臨床薬理遺伝学からみた抗うつ薬の治療効果予測、臨床精神薬理、10、1439-1446、2007

## 2. 学会発表

- 1) 松本公彰, 埴岡伸光, 齋藤嘉朗, 成松鎮雄: 日本人で新たに見出された変異型 CYP2C8 酵素 (CYP2C8.13 及び CYP2C8.14) の機能解析。第 48 回日本薬学会・日本薬剤師会・日本病院薬剤師会中国四国支部学術大会, 徳島(2009 年 11 月)
- 2) 野中結子, 埴岡伸光, 齋藤啓太, 片岡洋行, 成松鎮雄: アフラトキシン B1 による HepG2 細胞における薬物代謝酵素の変動。第 48 回日本薬学会・日本薬剤師会・日本病院薬剤師会中国四国支部学術大会, 徳島 (2009 年 11 月)
- 3) 前川京子, 原川則子, 杉山永見子, 頭金正博, 金秀良, 鹿庭なほ子, 香取典子, 長谷川隆一, 内藤幹彦, 奥田晴宏, 安田和基, 神出計, 宮田敏行, 齋藤嘉朗, 澤田純一: 薬物代謝酵素 CYP2C9 の遺伝子多型 7 種の機能解析。日本薬物動態学会第 24 回年会, 京都 (2009 年 11 月)
- 4) 藤村 義幸, 前川 京子, Kim Su-Ryang, 澤田 純一, 齋藤 嘉朗, 丹羽 卓朗: CYP 3A4.16 および CYP3A4.18 の機能解析。日本薬物動態学会第 24 回年会, 京都 (2009 年 11 月)。
- 5) 鉄尾真司、加藤正樹、分野正貴、奥川学、南畝晋平、嶽北佳輝、藤尾 慈、木下利彦、東純一、第 30 回日本臨床薬理学会年会, 2009 年 12 月 3 日～5 日 (横浜) 抗うつ薬 SSRI の臨床効果に及ぼすセロトニントランスポーター遺伝子多型の影響 ～La/Lg 多型を考慮した検討～:
- 6) Yoshiteru Takekita, Masaki Kato, Masataka Wakeno, Shiho Sakai, Azusa Suwa, Gaku Okugawa, Toshihiko Kinoshita, Perospirone and aripiprazole showed equal efficacy for Japanese schizophrenia 第 19 回日本臨床薬理学会年会, 2009 年 11 月 13 日～11 月 15 日 (京都)
- 7) 黒瀬光一, 石渡和也, 平塚一幸、南畝晋平、東純一、奥川

- 学、加藤正樹、木下利彦、伊藤継孝、黒沢亨、長谷川隆一 「抗うつ薬 SSRI、SNRI による副作用の発現に関する遺伝子マーカーの探索」日本薬学会第 130 回年会、2010 年 3 月
- 8) 平塚一幸、石渡和也、南畝晋平、東純一、奥川学、加藤正樹、木下利彦、伊藤継孝、長谷川隆一、黒沢亨、黒瀬光一 「抗うつ薬 SSRI 及び SNRI の有効性発現に関する遺伝子マーカーの探索」日本薬学会第 130 回年会、2010 年 3 月
- 9) 佐藤正宏、赤坂恵理、小澤明央. ミニブタ体細胞の *in vitro* 脱分化誘導の試み. 第 56 回日本実験動物学会総会 (さいたま市)、2009 5. 14-5. 16
- 10) 赤坂恵理、小澤明央、森寛倫、溝部大和、吉田光敏、三好和睦、佐藤正宏. 全ゲノム増幅法を用いた核移植由来ブタ胚細胞における外来性遺伝子検出の試み. 第 56 回日本実験動物学会総会 (さいたま市)、2009 5. 14-5. 16
- 11) 岡宏之、埴岡伸光、生城真一、成松嶺雄: アミノ酸置換を伴う変異型 UGT2B15 の機能解析. 第 47 回日本薬学会・日本薬剤師会・日本病院薬剤師会中国四国支部学術大会、岡山 (2008 年 11 月 8-9 日) .
- 12) 鉄尾真司、分野正貴、奥川学、加藤正樹、南畝晋平、嶽北佳輝、細井夕香、福田剛史、木下利彦、東純一 Milnacipran 反応性個人差におけるアドレナリン  $\alpha$ 2A 受容体-1297C/G 多型と血中 MHPG 濃度との関連第 29 回日本臨床薬理学会年会、2008 年 12 月 4 日～6 日 (東京)
- 13) 鉄尾真司、分野正貴、奥川学、加藤正樹、南畝晋平、嶽北佳輝、細井夕香、福田剛史、木下利彦、東純一 Paroxetine により生じる嘔気に関するゲノム薬理的検討 医療薬学フォーラム 2008/第 16 回クリニカルファーマシーシンポジウム、2008 年 7 月 12 日～13 日 (東京)
- 14) 黒瀬光一、石渡和也、平塚一幸、南畝晋平、東純一、奥川学、加藤正樹、木下利彦、黒沢亨、長谷川隆一 「抗うつ薬 SSRI (serotonin selective reuptake inhibitor) による性機能障害の発現に関する遺伝子マーカーの探索」日本薬学会第 129 回年会、2009 年 3 月
- 15) 石渡和也、平塚一幸、南畝晋平、東純一、奥川学、加藤正樹、木下利彦、長谷川隆一、黒沢亨、黒瀬光一 「抗うつ薬 SSRI (serotonin selective reuptake inhibitor) による嘔気に関する遺伝子マーカーの探索」日本薬学会第 129 回年会、2009 年 3 月
- 16) 平塚一幸、石渡和也、南畝晋平、東純一、奥川学、加藤正樹、木下利彦、長谷川隆一、黒沢亨、黒瀬光一 「抗うつ薬 SSRI (serotonin selective reuptake inhibitor) による有効性の指標となる遺伝子マーカーの探索」日本薬学会第 129 回年会、2009 年 3 月
- 17) 奥川学 第 104 回日本精神神経学会年会、2008 年 5 月 29 日～5 月 31 日 (東京) シンポジウム  
うつ病の薬物療法におけるオーダーメイド医療
- 18) 小澤明央、赤坂恵理、森寛倫、溝部大和、吉田光敏、三好和睦、佐藤正宏: ブタ初期化因子を非侵襲的に探索するために有効なテスター細胞株の開発. 第 31 回日本分子生物学会年会/第 81 回日本生化学会大会合同大会 (神戸)、2008.
- 19) 赤坂恵理、小澤明央、森寛倫、溝部大和、吉田光敏、三好和睦、佐藤正宏: 全ゲノム増幅法を用いたブタ胚盤胞における transgene 及び targeted allele 検出の試み. 第 31 回日本分子生物学会年会/第 81 回日本生化学会大会合同大会 (神戸)、2008.
- 20) Yuka Hosoi, Tsuyoshi Fukuda, Masaki Kato, Masataka Wakeno, Megumi Yamashita, Yoshiteru Takekita, Gaku Okugawa, Toshihiko Kinoshita, Junichi Azuma: Dopamine receptor D2 (DRD2) polymorphism could modulate the clinical response to antidepressant drug SSRI. The 3rd China-Japan Joint Meeting of Basic and Clinical Pharmacology, August 23-24, 2007 (Dalian, China)
- 21) 奥川 学: ペロスピロンー統合失調症に対するペロスピロンとリスペリドンの他施設共同無作為割付試験. 第 17 回日本臨床精神神経薬理学会、2007 年 10 月 3～5 日 (大阪) シンポジウム
- 22) Hanioka, N., Takeda, Y., Jinno, H., Tanaka-Kagawa, T., Naito, S., Shimizu, T., and Narimatsu, S.: Characterization of cynomolgus monkey UGT1A6: comparison with human UGT1A6. 8th International ISSX Meeting, October 9-12, 2007 (Sendai, Japan)
- 23) M. Saeki, K. Kurose, M. Tohkin and R. Hasegawa, Identification of vitamin D receptor response elements in the human MDR1 gene. The 8th International ISSX Meeting, October 9-12, 2007 (Sendai, Japan)
- 24) 長岡憲次郎、風盛大地、埴岡伸光、清水剛文、内藤真策、成松嶺雄: カニクイザル UGT2B20 の酵素機能解析. 第 46 回日本薬学会・日本薬剤師会・日本病院薬剤師会中国四国支部学術大会、2007 年 11 月 10～11 日 (高知)
- 25) 細井夕香、福田剛史、分野正貴、奥川学、加藤正樹、南畝晋平、嶽北佳輝、山下恵実、鉄尾真司、木下利彦、東純一: 抗うつ薬の臨床効果に及ぼす ADRA2A 及び NET 遺伝子多型の影響. 第 28 回日本臨床薬理学会年会、2007 年 11 月 28 日～12 月 1 日 (宇都宮)
- 26) 前川京子、Tong Yin, 神出計、斎藤嘉朗、他: 日本人における薬物代謝酵素 CYP2C9 の新規遺伝子多型の機能解析及びロサルタンの血圧降下作用に対する影響. 日本薬学会第 128 年会、2008 年 3 月 (横浜)
- 27) 分野正貴、奥川 学、福田剛史、細井夕香、加藤正樹、嶽北佳輝、南畝晋平、山下恵実、東純一、木下利彦 アドレナリン  $\alpha$  2A 受容体遺伝子多型と SSRI/SNRI の抗うつ効果の関連について 第 17 回日本臨床精神神経薬理学会、大阪、2007
- 28) 菊山裕貴、金沢徹文、堤 淳、奥川 学、木下利彦、篠崎和弘、岸本年史、康 純、米田 博  
Risperidone と perospirone の臨床効果、副作用発現率における serotonin transporter 遺伝子多型の影響について第 17 回日本臨床精神神経薬理学会、大阪、2007

#### F. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

## ファーマコゲノミクス情報に基づいた医薬品の有効性及び安全性評価系の開発と医薬品開発への応用

所属 国立医薬品食品衛生研究所 医薬安全科学部  
研究者 黒瀬 光一

**研究要旨** CYP3A4 の2 遺伝子多型につき機能解析や阻害実験を、CYP2C9 の3 多型につき機能解析を行い、多型による基質依存的機能変化を詳細に明らかにした。計9種の有用多型につきタイプング系を開発した。薬物受容体等に関して有用多型の一覧を作成した。一方、網羅的遺伝子多型解析・候補遺伝子解析を行い、抗うつ薬の有効性・安全性と関連のある SNP 候補を見出した。

### 研究分担者

- 1) 国立医薬品食品衛生研究所 医薬安全科学部  
齋藤嘉朗
- 2) 国立医薬品食品衛生研究所 機能生化学部  
佐井君江
- 3) 積水メディカル(株) つくば研究所  
森 篤雄
- 4) 田辺三菱製薬(株) 薬物動態研究所  
丹羽卓朗
- 5) 兵庫医療大学 (大阪大学薬学研究科)  
東 純一
- 6) 岡山大学大学院 医歯薬学総合研究科  
埴岡伸光
- 7) 関西医科大学 精神神経科  
奥川 学
- 8) 明治製菓 (株) 医薬総合研究所  
平塚一幸
- 9) 薬効ゲノム情報 (株)  
伊藤継孝
- 10) 鹿児島大学フロンティアサイエンス  
研究推進センター  
佐藤正宏

### A. 研究目的

医薬品の薬効及び副作用の発現等、薬物応答性に関しては、個人差や人種差のあることがよく知られている。この「差」は、薬物動態関連および薬効・副作用関連分子(以下、薬物応答性分子)の遺伝子多型に基づく機能の差異に起因し、それにより薬物体内動態や受容体の量的・質的变化がもたらされることが、近年明らかになってきた。本研究では、まず薬物動態関連分子の機能変化を引き起こし得る比較的頻度の高い多型について、その機能影響を、基質特異性を含めて評価し、医薬品開発において考慮すべき重要多型を明らかにし一覧を作成する。さらにこれらに関しては、臨床試験における評価が可能となるよう迅速タイプング系をあわせて開発する。他方、遺伝子の違いに起因する個人差を幅広く検索するためには、対象遺伝子を限定せず、ゲノム網羅的に調べることも必要であると考えられる。そこで、近年投与患者が増加している向精神薬を例として、薬物動態関連分子の遺伝子多型に加えて、全ゲノム

に渡り網羅的に多型解析し、薬効や副作用の発現と相関する薬物応答性分子の遺伝子多型を事象発症群と対照群、有効例と無効例とで比較・解析して、その有用性を検討する。また、また、PGx 試験の実施に必要な支援・評価システムも併せて構築する。

### B. 研究方法

#### ① 遺伝子多型のインビトロ機能解析

##### 1) CYP3A4 及び CYP2C9 多型の機能解析

ヒト野生型 CYP3A4\*1、CYP3A4\*16 (Thr185Ser)、CYP3A4\*18 (Leu293Pro)は、昨年度と同様にして調製したマイクロソーム画分を用いた。CYP2C9\*1、CYP2C9\*26 (Thr130Arg)、CYP2C9\*33 (Arg132Gln)、CYP2C9\*34 (Arg335Gln) は、昨年度調製したマイクロソーム画分を用いた。酵素活性は、CYP3A4 ではドセタキセルを基質として、UPLC/MS により代謝物の生成量を測定した。CYP2C9 の酵素活性は、グリメピリドを基質として、HPLC/MS により代謝物の生成量を測定した。活性阻害実験は、CYP3A4 に関し、ミダゾラム (MDZ) 1'位水酸化活性に対するケトコナゾール (KTZ) の阻害効果を解析した。

##### 2) 第一相及び第二相酵素の共発現系構築と機能解析

ヒト CYP2D6 及び UGT2B7 の cDNA を、それぞれ pFastBacDual/fp2 及び pFastBac1 ベクターに挿入し、これらを Bacmid DNA に組換えた後、Sf9 細胞にリポフェクション法で導入した。組換えウイルスを含む培養液を用いて、さらに3回感染し、高タイトターのウイルスストック ( $\geq 2 \times 10^8$  pfu/mL) を得た。これらを用いて HighFive 細胞に感染させ、48時間後に超音波破碎し、マイクロソーム画分を調製した。酵素タンパク発現量はイムノプロット法または CO 差還元スペクトル(P450)にて測定した。酵素活性は、ブフラロールに対する 1'-水酸化活性 (CYP2D6 活性)

及び7-ヒドロキシ-4-トリフルオロメチルクマリンに対するグルクロン酸抱合活性 (UGT2B7 活性) に関し、蛍光検出の HPLC 系にて代謝物の生成量を測定した。

## ② 有用遺伝子多型のタイピング系開発

白金系抗がん剤の体内動態に関与する薬物トランスポーター、ATP7A 遺伝子の 1 多型 (4390A>G, Ile1464Val)、ATP7B 遺伝子の 1 多型 (3889G>A, Val1297Ile)、SLC31A1 遺伝子の 2 多型 (\*1226A>C 及び\*3094C>T)、および白金系抗がん剤の有効性等に関連する遺伝子修復系酵素、ERCC1 遺伝子の 2 多型 (-978T>C および 824C>A, Ala274Asp)、ERCC2 遺伝子の 2 多型 (934G>A, Asp312Asn および IVS16-136G>A)、XRCC1 遺伝子の 1 多型

(IVS16+33C>T)、を対象とした。いずれも各遺伝子のハプロタイプを同定するためのタグ多型である。

まず各多型部位を含む約 500 bp の断片をゲノム DNA (25ng、日本人樹立細胞株由来) より、特異的なプライマー (いずれか一方は、ビオチンラベルしたもの) を用いて、PCR 増幅した。産物を Streptavidin-Sepharose ビーズに結合させた後、フィルタープレート上に移した。0.2 M NaOH を添加して 1 本鎖化し、さらに洗浄後、ビーズを懸濁し、専用 plate に移した。シーケンシングプライマーを加え、95°C で 2 分間処理した後、室温まで冷却し、シーケンシングプライマーと PCR 産物をハイブリダイズさせた。ミニシーケンシング反応を行い、塩基配列を解読することにより多型を解析した。

## ③ 有用遺伝子多型の一覧作成 (薬物トランスポーター)

国立医薬品食品衛生研究所で解析し公表した結果に加えて、文献検索を行い、日本人で比較的頻度が高く、論文が数報出ているなど、活性影響に対する評価がある程度定まっていると判断された多型を中心にまとめた。

## ④ 抗精神薬の有効性・安全性に影響を及ぼすと考えられる候補遺伝子多型の解析

### 1) Low density lipoprotein related protein 1B (LRP1B) 遺伝子多型と抗うつ薬反応性の個人差

うつ症状が未治療の患者のうち、DSM-IV 基準で大うつ病または気分変調性障害と診断 (原則として HAM-D score 10 点以上) され、書面にて同意の得られた患者 100 名を対象に、パロキセチン (PAR) を投与した。有効性は、抗うつ薬投与前の HAM-D score を 100% とした減少率により評価した。遺伝子型間における HAM-D score の減少率を経時的 (投与後 2 週、4 週、6 週間) に比較した。遺伝子多型の判定は、

患者末梢血からゲノム DNA を抽出後、TaqMan 法により行った。

### 2) Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) 遺伝子多型と抗うつ薬反応性の個人差

うつ症状が未治療の患者のうち、DSM-IV 基準で大うつ病または気分変調性障害と診断 (原則として HAM-D score 10 点以上) され、書面にて同意の得られた患者 201 名を対象とした。投与薬剤の内訳は、PAR 100 名 (前述の患者群と同一)、フルボキサミン (FLV) 50 名、ミルナシプラン (MIL) 51 名である。臨床効果は HAM-D score により経時的 (投与後 2 週、4 週、6 週間) に評価し、BDNF Val66Met 遺伝子型間の HAM-D score 減少率を比較した。遺伝子多型の判定は、患者末梢血からゲノム DNA を抽出後、TaqMan 法により行った。

### 3) リスペリドン・ペロスピロンの有効性に関する遺伝子多型の解析

関西地区 14 医療機関を外来受診もしくは入院治療を受けた統合失調症患者を対象とした。リスペリドン・ペロスピロンは中央管理によって無作為割付を行った。統合失調症の治療効果については陽性症状陰性症状評価スケールを用いて、治療開始前、治療 4 週後、8 週後、12 週後に評価した。副作用については随時観察した。患者血液から DNA を採取してドパミン関連遺伝子多型の判定を行った。

## ⑤ 有効性・安全性を指標とした SSRI、SNRI 服用患者の網羅的遺伝子多型関連解析

### 1) ゲノム網羅的 SNP ジェノタイピング

Affymetrix 社の GeneChip® Human Mapping 250K Nsp Array を用いて、26 万 SNPs の genotyping を Affymetrix 社が作成したプロトコールに従って行った。

### 2) 全ゲノム関連解析

得られた遺伝子多型に関するデータは、統計計算ソフトウェア R および関連解析ソフトウェア GQuest (株) スタージェン) および遺伝統計研究デザインソフトウェア GDesignPlus (株) スタージェン) を用いて解析を行った。関連解析は有効性および副作用 (嘔気、性機能障害) に関して行った。

## ⑥ PGx 臨床試験のための支援・評価システムの構築

遺伝子多型を解析するため、SSRI あるいは SNRI の服薬で副作用を発症した患者の血液試料を大阪圏の医療機関から多数収集するシステム構築する。さらに、得られた患者の診療情報・遺伝子多型の統合データベースを作成し、これを用いて薬物応答性との関連解析を実施する。



### (倫理面への配慮)

本研究において、患者由来の試料 (DNA) を用いて解析を行った場合は、事前に各研究実施機関毎に研究目的、研究内容等の倫理的、科学的妥当性について研究倫理審査委員会より適正な審査を受け、実施の承認を得た上で、研究全般を通じて「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」あるいは臨床研究に関する指針等を遵守して行った。また、その際は試料提供者に一切の不利益、危険性を伴わないよう配慮し、また、人権に十分考慮し、この点を含めたインフォームドコンセントを得た上で試料を採取すると共に、患者の個人情報に遺漏することのないように、適切な匿名化を行った。市販されているヒト由来試料等を用いた場合には、インフォームドコンセントを得て正当に採取された検体であることを購入時に業者に確認した。

## C. 研究結果

### ① 遺伝子多型のインビトロ機能解析

#### 1) CYP3A4 及び CYP2C9 多型の機能解析

##### a) CYP3A4 の機能解析

ドセタキセルを基質として野生型 (CYP3A4\*1) 及び変異型 (CYP3A4\*16、CYP3A4\*18) 酵素の CYP3A4 活性の測定を行った。野生型及び両変異型の代謝プロファイルは、Michaelis-Menten モデル式にフィットした。CYP3A4\*16 の  $K_m$  値は、野生型に比して、有意な低下が認められたものの野生型の 72%であり、大きな変化は認められなかった。また CYP3A4\*18 の  $K_m$  値は野生型と同等であった。一方  $V_{max}$  値は、いずれの変異体においても野生型より 30-40%程度の有意な低下が認められた。この結果、CYP3A4\*18 の  $V_{max}/K_m$  値は、野生型に比して約 40%の有意な低下が見られたが、CYP3A4\*16 に関しては、有意な intrinsic clearance 値の変化は認められなかった。

##### b) CYP3A4 の阻害実験

KTZ は濃度依存的に CYP3A4 の MDZ 1'水酸化活性を強く阻害した (表 1)。CYP3A4\*1、CYP3A4\*16 および CYP3A4\*18 の MDZ 1'水酸化活性に対する KTZ の  $IC_{50}$  値は、それぞれ  $0.027 \pm 0.007 \mu\text{mol/L}$ 、 $0.036 \pm 0.005 \mu\text{mol/L}$  および  $0.022 \pm 0.002 \mu\text{mol/L}$  であった。Tukey 多重分析の結果、CYP3A4\*16 と CYP3A4\*18 の  $IC_{50}$  値の間に統計的な有意差 ( $p=0.0366$ ) が認められた。

##### c) CYP2C9 の機能解析

グリメピリドを用いて、CYP2C9\*1 (野生型) 及び変異型 (CYP2C9\*26、CYP2C9\*33、CYP2C9\*34) 酵素の CYP2C9 活性の測定を行った (表 2)。野生型及び両変異型の代謝プロファイルは、Michaelis-Menten モデル式にフィットした。 $K_m$  値に

ついては CYP2C9\*26、CYP2C9\*33 および CYP2C9\*34 のいずれも、野生型と有意な差は認められなかった。一方、 $V_{max}$  値については、CYP2C9\*33 は野生型の 0.8%、CYP2C9\*26 は 8.5%、CYP2C9\*34 は 63.6%と有意に低下した。この結果、intrinsic clearance 値は、CYP2C9\*33 が野生型の 0.8%、CYP2C9\*26 は 10.2%と大幅に低く、CYP2C9\*34 は 71.8%と、その低下は有意ではあるものの、他の 2 種に比べて活性低下は小さなものであった。

### 2) 第一相及び第二相酵素の共発現系構築と機能解析

CYP2D6 と UGT2B7 の酵素タンパク質が共発現されているかを確認するためにウェスタンブロット分析を行ったところ、いずれの酵素に関しても、目的とするバンドが検出された。また、還元型 CO 差スペクトルによる CYP 含量測定の結果、CYP2D6 含量は 14.3~15.2 pmol/mg protein であった。

次に酵素活性の測定のため、マイクロゾーム画分のブフラロール 1'-水酸化活性 (CYP2D6 活性) 及び 7-ヒドロキシ-4-トリフルオロメチルルクマリングルクロン酸抱合活性 (UGT2B7 活性) を測定した。CYP2D6-UGT2B7 酵素のブフラロール 1'-水酸化及び 7-ヒドロキシ-4-トリフルオロメチルルクマリングルクロン酸抱合活性は、それぞれ 12.4~24.3 pmol/min/pmol CYP (基質濃度 10  $\mu\text{M}$ ) 及び 171~205 pmol/min/mg protein (基質濃度 500  $\mu\text{M}$ ) であった。従って、高い酵素活性を有する CYP2D6-UGT2B7 共発現系が確立された。

### ② 遺伝子多型のタイピング系開発

日本人由来ヒト培養細胞 12 株のゲノム DNA を用いて、開発したパイロシーケンシング法による *ATP7A*, *ATP7B*, *SLC31A1*, *ERCC1*, *ERCC2* 及び *XRCC1* 遺伝子の計 9 多型のタイピングを試みたところ、全ての多型・細胞株につき明瞭なタイピング結果が得られた。*ATP7A* 4390A>G (Ile1464Val) と *ATP7B* 3889G>A (Val1297Ile) 多型の理論的パターンと実測パターンを、図 1 に示した。全ての多型に関して、パイロシーケンシング法による解析結果は直接シーケンス法による結果と完全に一致したことから、結果は正確であり、今回確立したパイロシーケンシング法によるタイピング系は有用であることが示された。

### ③ 有用多型の一覧作成 (薬物受容体等)

*HNF4A*, *PXR*, *VDR*, *HTR3B*, *HTR2A*, *BDKRB2*, *ADRB2*, *ERCC1*, *ERCC2*, *XRCC1* の多型・ハプロタイプにつき、日本人における有用多型の一覧を作成し



た。

#### ④ 抗精神薬の有効性・安全性に影響を及ぼすと考えられる候補遺伝子多型の解析

##### 1) LRP1B 遺伝子多型と抗うつ薬反応性の個人差

全ゲノム網羅的遺伝子多型解析により PAR の反応性個人差への関連が示唆された LRP1B 遺伝子多型 (rs2683825、rs2714212、rs2683858) は、全てイントロン3に存在していた。そこで、これら3多型の周辺に存在し、日本人でのアレル頻度が10%以上であるアミノ酸置換多型を NCBI データベースにより調査したところ、exon2 に Gln48Arg 多型が該当した。この遺伝子多型を解析対象とした。PAR 服用患者100名のうち、試験期間6週間を完遂した被験者は68名であった。この68名に対し、PAR の薬効を解析した。判定遺伝子多型の頻度は以下の通りであった；LRP1B Gln48Arg Gln/Gln 19名 Gln/Arg 35名 Arg/Arg 14名 アレル頻度 Arg 0.46。各遺伝子型の HAM-D score 変化率に有意な差は認められなかった。

##### 2) BDNF 遺伝子多型と抗うつ薬反応性の個人差

対象患者201名のうち試験期間6週間を完遂した被験者は PAR 68名(前述の患者群と同一)、FLV 41名、MIL 32名であった。各薬剤における BDNF Val66Met 多型の頻度は以下の通り；PAR Val/Val 23名 Val/Met 32名 Met/Met 13名 アレル頻度 Met 0.43、FLV Val/Val 17名 Val/Met 21名 Met/Met 3名 アレル頻度 Met 0.33、MIL Val/Val 9名 Val/Met 14名 Met/Met 9名 アレル頻度 Met 0.50。

SNRI である MIL 投与群において、Met/Met 群が Val 保有群と比較して有効性が有意に高いことが示唆された ( $p=0.006$ 、repeated measure ANOVA により算出) (図2)。SSRI である PAR、FLV 投与群においては、このような差は認められなかった (図3、図4)。

#### 3) リスペリドン・ペロスピロンの有効性に関する遺伝子多型の解析

リスペリドン・ペロスピロンの有効性について、Dopamine receptor D2 (DRD2) の変異 (rs1801028 and rs6277) はそれぞれの薬物の治療効果との関連は認められなかった。一方、DRD4 (120-bp tandem repeats and rs1800955) はペロスピロンの効果判定の予測因子になることが示唆された。

#### ⑤ 有効性・安全性を指標とした SSRI、SNRI 服用患者の網羅的遺伝子多型関連解析

##### 1) 網羅的 SNP データの品質評価

SSRI、SNRI 服用患者のゲノム DNA 220 検体に対して、ゲノム網羅的遺伝子多型解析を行った。まず、全検体の多型データについて、測定の実質(精度)および遺伝継承法則への適合性の点からデータ品質を

評価した。検体毎の品質評価としては、検体毎の Call Rate および男性 X 染色体へのヘテロ接合度をそれぞれ 95%以上、10%以下とした。集団における品質評価としては、マイナーアレル頻度 (MAF) と各 SNP における Call Rate をそれぞれ 1%以上、95%以下とした。また、全検体の各 SNP につきハーディー・ワインベルク平衡 (HWE) を満たしているか否かの検定をフィッシャーの正確確率法を用いて評価し (有意水準を 0.001 に設定)、満たしていない SNP を解析対象から除外した。全検体の解析で、解析対象とする SNP を選定するための上記条件をすべて満たした SNP 座位は最終的にどの解析項目に対しても 80%以上 (多形性を全く示さない SNP を除いて計算した) となった。また、集団の構造化については、Genomic Control を考慮した解析法である  $\lambda$  値を算出して判断した。 $\lambda$  値が 1.1 以上あると集団の構造化が疑われるが、最終的にどの解析項目に対しても  $\lambda$  値は 1.1 未満となり、データの品質については、問題がないと考えられたので、これら SNP 多型データを用いて関連解析を行った。

##### 2) 有効性・安全性に関する SNP の関連解析

SNP データを事象発現群と非発現群とで比較し、関連解析を行った。関連性の有無は、「リスクアレルの個数」と「副作用の発現割合」との間に減少または増加傾向が有るか否かを Cochran-Armitage test により検定し、タイプ I の誤りの多重性については、ボンフェローニの不等式による有意水準の補正と FDR のコントロールによる有意水準の設定を採用するとともに、確率点確率点プロット (logQQ-p value plot) の形状を指標とした関連性の判断も行った。

##### 2-1) 性機能障害の発現に関する SNP の関連解析

SSRI、SNRI 服用患者 201 例 (コホート試料) に対して次の解析項目を設定し、関連解析を行った。項目1：性機能障害ありの患者：無しの患者 (36例：165例)、項目2：性欲低下ありの患者：性機能障害無しの患者 (18例：165例)、項目3：射精遅延ありの男性患者：性機能障害無しの男性患者 (11例：81例)。各解析項目の QQ-plot を図3~5に示した。QQ-plot の形状から統計的な信頼性は高いと判定した。項目1、2、3では、FDR の補正後も有意となった SNP が、それぞれ、16、13、3個存在した。このうちで Bonferroni の補正後も有意差を示した SNP は、項目1、2、3でそれぞれ、0、2、3個存在した。

##### 2-2) 嘔気の発現に関する SNP の関連解析

服薬前より嘔気の症状が有った2例を除いたコホート試料 199 検体に、関西地区医療機関より新たに集積した嘔気有りの14検体と嘔気無しの5検体を加え、ケース・コントロール研究として以下のように解析項目を設定し、関連解析を行った。項目4：SSRI

あるいはSNRI服用患者で嘔気あり：無し（51例：167例）、項目5：SSRI服用患者で嘔気あり：無し（36例：129例）。各解析項目のQQ-plotを図6、7に示した。QQ-plotの形状から統計的な信頼性は高いと判定した。項目4では多重検定補正後も有意なSNPは見出されなかったが、項目5では、FDRの補正後も有意となったSNPが3個存在し、そのうちBonferroniの補正後も有意差を示したSNPは、2個存在した。

### 2-3) 有効性の指標となるSNPの関連解析

SSRI、SNRI服用患者201例（コホート試料）に対して次の解析項目を設定し、関連解析を行った。項目6：SSRIまたはSNRIを服用し服用期間内に効果を示した患者（服用前のHAM-D値が50%以上低下）：服用終了時まで効果が見られなかった患者

（108：26）、項目7：SSRIまたはSNRIを服用し服用3週以降から効果がみられた患者：服用終了時まで効果がみられなかった患者（87：26）、項目8：中等度以上（投与前HAM-D値が18以上）のうつ病患者においてSSRIまたはSNRIを服用し服用期間内に効果を示した患者：服用終了時まで効果が見られなかった患者（79：18）、項目9：SSRIを服用し服用期間内に効果を示した患者：服用終了時まで効果が見られなかった患者（90：16）、項目10：SSRIを服用し服用3週以降から効果がみられた患者：服用終了時まで効果がみられなかった患者（74：16）。QQ-plotの形状から統計的な信頼性は高いと判定した。項目6から8においては、ボンフェローニ補正では有意水準を満たすSNPは見出されなかったが、FDRでは項目8で有意水準 $p \leq 8.068e-7$ を満たす3個のSNPが見出された（図8）。SSRIに限定した項目9及び10では、ボンフェローニ補正においてそれぞれ、 $p \leq 1.107e-7$ で2個及び $p \leq 1.075e-7$ で1個のSNPが見出され、かつFDRでも $p \leq 8.186e-7$ で3個及び $p \leq 2.695e-7$ で1個のSNPが見出された（図9、10）。

## ⑥ PGx 臨床試験のための支援・評価システムの構築

副作用発症患者の血液試料収集システムを用いて、医療機関支援機関SMOの協力を得、運用を開始し、大阪圏の精神神経科がある医療機関リストを作成、郵送し、血液試料の提供要請を行った。その結果、12医療機関から提供の申出を得た。各医療機関を訪問し、詳細説明を行った。また、大阪精神科診療所協会倫理審査委員会で本収集体制を説明し、協力を求めると共に、大阪精神科診療所協会の機関紙に参加依頼の案内を掲載した。2008年11月に大阪大学ゲノム研究倫理審査委員会（中央倫理審査委員会）で本研究実施の承認を得、2009年2月各

クリニックから血液試料の収集を開始した。医療機関の倫理審査委員会の審議が必要な場合、その承認を待ち、血液収集を開始した。その結果、19症例の血液試料と診療情報を収集した。副作用症例患者の診療情報と遺伝子解析データを一元管理し、関連解析を実施するため、外部に依頼しカスタマイズした症例報告書ソフトへの診療情報データの入力を行い、データベース化した。

## D. 考察

### ① 遺伝子多型のインビトロ機能解析

#### 1) CYP3A4及びCYP2C9多型の機能解析

##### a) CYP3A4の機能解析

ドセタキセルは、昨年度解析を行ったパクリタキセルと構造が類似しているため、\*16および\*18による代謝活性影響の基質依存性を明らかにする目的で行った。ドセタキセル代謝において、CYP3A4\*18多型では、Vmax値の低下に基づくintrinsic clearance値の低下が認められたものの、\*16多型ではKm値およびVmax値共に低下したため、有意な変化が認められなかった。一方、パクリタキセルでは、\*16でKm値の大幅な上昇が認められており、またVmax値の変化は認められなかった。対照的に\*18多型の場合は、ドセタキセルの場合と同様の傾向であった。従って、構造が類似するドセタキセルとパクリタキセルに対する代謝活性は、\*18多型の影響は類似するものの、\*16多型は大きく異なることが示唆された。

##### b) CYP3A4の阻害実験

我々は既に遺伝子多型による活性低下の基質依存性を明らかにしているが、薬物相互作用に対する多型の影響も異なることが示唆された。CYP3A4\*1と比較し、1アミノ酸が異なるCYP3A4\*16またはCYP3A4\*18では、KTZのIC50値に有意差は認められなかったが、2アミノ酸が異なる変異体（CYP3A4\*16およびCYP3A4\*18）間では、有意差が認められた。アミノ酸置換が増えれば蛋白構造もより変化することを示唆しているのかも知れない。今後さらに、異なる基質、阻害剤の組み合わせでの検討が望まれる。

##### c) CYP2C9の機能解析

本年度はグリメピリドを基質として機能解析を行ったが、昨年度測定したロサルタンと同様に、3種の変異体共に、Km値の変化は認められず、一方でVmax値の有意な低下が認められた。Vmax値の低下の度合いも、ロサルタンとグリメピリドではほぼ同様であり、CYP2C9\*33及びCYP2C9\*26で低下の度合いが大きく、CYP2C9\*34で小さかった。Thr130（CYP2C9\*26）とArg132（CYP2C9\*33）は、互いに近傍にあり、共にCYP2C9とORとの相互作用部位

とされているため、電子伝達の異常及び触媒サイクル上でのアンカップリング反応が、その活性低下に関与していると思われる。一方、Arg335

(CYP2C9\*34)はCYP2C9の立体構造上で、基質の入口及び認識部位とは離れたタンパク表面に位置していることから、活性に対する影響は少ないと考えられる。

重要な薬物代謝酵素であるCYP3A4及びCYP2C9の遺伝子多型に関する本成果は、薬物の有効性の確保及び副作用発現の回避に役立つとともに、多型影響の構造活性相関に関する有用な知見が得られる。これは遺伝子多型に基づく体内代謝の低下による副作用発現を回避するため、医薬品開発時に化合物選択法として利用することが可能である。

## 2) 第一相及び第二相酵素の共発現系構築と機能解析

本研究では、医薬品に対する代謝能に関し、包括的評価法を *in vitro* 系として開発することを目的として、CYP2D6 及び UGT2B7 に着目してこれら両酵素の昆虫細胞 (High Five 細胞) における共発現系構築を試みた。例えば中枢性非麻薬性鎮咳薬のデキストロメトルフアンは主に CYP2D6 によってデキストロファンに代謝され、さらにデキストロファンは UGT によりグルクロン酸抱合反応を受けることが報告されている。調製した CYP2D6-UGT2B7 共発現系は、いずれの基質に対しても活性を有し、CYP2D6 及び UGT2B7 の機能が十分保持されていることが示唆され、有用なアッセイ系が確立できた。

## ② 有用遺伝子多型のタイピング系開発

今年度は白金系抗がん剤の体内動態及び有効性等に関連が報告されている遺伝子群のハプロタイプタグ多型に焦点を絞り、迅速タイピング系を作成した。今回作成したタイピング系は、使用ゲノム量も比較的少なく、これらの分子が体内代謝・動態に関与する薬物のファーマコゲノミクス解析に有用と思われる。

## ③ 有用多型の一覧作成 (薬物受容体等)

日本人を対象とした我々の解析結果 (既発表) を中心に、文献情報を加えて、有用多型の一覧を作成した。薬物受容体等の多型では解析する手法、組織、検体数等により相反する結果が報告されている例が比較的多く、そのようなケースでは、幾つかの報告を詳細に解析して判断した。本成果は遺伝子多型情報の医薬品開発への応用及び臨床現場における有効性・安全性確保に有用と思われる。

## ④ 抗精神薬の有効性・安全性に影響を及ぼすと考

## えられる候補遺伝子多型の解析

### 1) LRP1B 遺伝子多型と抗うつ薬反応性の個人差

今回の結果から、LRP1B Gln48Arg 遺伝子多型は PAR 反応性個人差に関与しないことが示唆された。FLV、MIL においても同様の検討を行ったが、有意な有効性の差は認められなかった (data not shown)。今後の課題として、データベースに登録されているがアレル頻度が報告されていないアミノ酸置換多型について、PAR 反応性個人差との関連を検討していく。

### 2) BDNF 遺伝子多型と抗うつ薬反応性の個人差

本検討により、SNRI である MIL 投与群においてのみ Val66Met 多型が有効性の個人差に関連することが示唆された。SSRI (PAR、FLV) 服用群ではこの多型と有効性個人差との間に関連は認められなかったことから、BDNF がノルエピネフリン (NE) 神経系に影響を与えていることが推察される。BDNF はシナプス間隙で NE の再取り込みを増加させ、NE の放出を減少させること (Neuropeptide 2009;43(4):275-82)、Met アレル保持者では海馬での BDNF の分泌が Val アレル保持者よりも低くなること (Cell. 2003;112(2):257-69) が報告されている。このことから、Met/Met 群では BDNF の分泌が少なく NE 再取り込みの度合いが少ないためシナプスでの NE 濃度が高くなり、MIL の効果がより高く現れていると考えられる。

### 3) リスペリドン・ペロスピロンの有効性に関する遺伝子多型の解析

これまでに抗精神病薬の効果と関連があると報告されていた DRD2 の遺伝子多型はペロスピロンとリスペリドンの効果との関連は認められなかった。しかし、DRD2 family である DRD4 の遺伝子多型がペロスピロンの効果判定予測因子であることが明らかとなった。今後、さらに解析を進め、抗精神病薬の有効性と遺伝子多型との関連の有無を明らかにすることが期待される。

## ⑤ 有効性・安全性を指標とした SSRI、SNRI 服用患者の網羅的遺伝子多型関連解析

結果の項で述べた通り SNPs データの品質に関しては、関連解析を行うに十分な品質を保持していると考えられた。

### 2-1) 副作用発現に関する SNP の関連解析

QQ-plot の形状から統計的な信頼性が高いと判定され、かつ多重検定の補正 (FDR 法) 後も有意であると判定された性機能障害と関連のある SNP を複数発見した。嘔気に関しては SSRI あるいは SNRI 服用患者全体では多重検定後も有意な P 値を示す SNP は見出されなかったが、最も低い P 値は 2.72E-7 で有り、これは Bonferroni 補正後の P 値である

2.64E-7 に非常に近い値であることを考えると P 値としては充分マーカーとしての条件を満たしていると考えられる。今回得られた各副作用と関連のある SNP の中で、最も P 値の低かったものの相対危険度、あるいはオッズ比、{リスクアレル (該当する SNP) が 1 つ増えると副作用発症のリスクが何倍増加するのを示す尺度} は、性機能障害：2.9、性欲低下：7.1、射精遅延：10.0、嘔気 (SSRI・SNRI)：11.4、嘔気 (SSRI)：17.5 であり、また、検出力はそれぞれ、0.43、0.55、0.55、0.47、0.60 であった。リスクに関してはこれらマーカーとして充分意味のある数値となっていると考えられる。また、検出力についても、充分な値を示したが、理想とされる 8 割程度の検出力を得るためには、解析サンプル数のさらなる集積が望まれる。また、今回得られた結果の信頼性についてはバリデーション用検体のさらなる集積を図り、検証を行う必要があると考えられる。

### 2-2) 有効性の指標となる SNP の関連解析

SSRI と SNRI は厳密な薬理学的作用機序は異なるものの、モノアミン仮説に基づいた治療効果を期待する抗うつ薬であることから、SSRI と SNRI を合わせて関連解析を行った場合と SSRI に限定した場合とで検討を行った。限られたサンプルサイズで可能な限り関連性の強い候補 SNP を見出すことを試みた。SSRI と SNRI を合わせて関連解析を行った場合 (項目 1 から 3) においても、中等度以上のうつ病患者に限定して解析 (項目 3) を行った結果、ボンフェローニ補正での有意水準を満たす SNP はなかったが、FDR の有意水準を満たす SNP が 3 個見出された。また、SSRI に限定して関連解析を実施した場合では、患者のうつ病の程度を限定しない条件の項目 4 及び項目 5 において、FDR および Bonferroni 補正後も有意水準を満たす SNP が複数見出された。

## ⑥ PGx 臨床試験のための支援・評価システムの構築

本研究では、まず、大阪圏の医療機関(精神神経科等)の協力を求め、12 医療機関より協力する旨の連絡を得た。大阪大学のゲノム研究倫理審査委員会の承認後、血液試料の収集を開始し、院内 IRB 承認が必要な医療機関に関してはその承認後、速やかに試料の収集を開始した。なお、収集依頼の段階で、レトロスペクティブな血液収集の場合、既に多数の患者がおり、血液収集は容易であるとの医師の見解があり、大阪圏に限定して積極的に試料を収集することとした。また、参加医療機関名を公表することにより、本プロジェクトがより推進するとの意見があり、医療機関の了解を得、公表することとした。しかしながら、倫理審査委員会の承認に時間を要した医療機関が多く、血液収集の開始時期が遅延したた

め、集積検体数は予定を下回った。

## E. 結論

有用多型の詳細なインビトロ機能解析のため、多くの医薬品の代謝に関与する CYP3A4 (\*16, \*18 多型)及び CYP2C9 (\*26, \*33 及び\*34 多型)に関し、追加基質を用いた測定を行った。さらに CYP3A4 に関しては、薬物相互作用における多型影響を明らかにするため、阻害実験を行った。また、医薬品に対する代謝能及び多型影響を包括的に評価する系を開発するため、CYP2D6 及び UGT2B7 の共発現系を確立した。白金系抗がん剤の体内動態及び有効性等に関連が報告されている遺伝子群の 7 種 9 多型に関し、迅速タイピング系を開発した。薬物受容体、転写因子、遺伝子修復系酵素に関して、機能変化を有する多型の一覧を作成した。

候補遺伝子多型解析により、BDNF Val66Met 多型が、SSRI(PAR、FLV)有効性の個人差には関与しないが SNRI(MIL)有効性の個人差には関与することを明らかにした。このことは、各患者に適した抗うつ薬の使い分けを推進していく上で極めて重要なデータである。LRP1B 遺伝子多型と抗うつ薬反応性個人差との関連については、Gln48Arg 以外の遺伝子多型との関連の検討が今後必要であると考えられる。DRD2 の遺伝子多型はペロスピロンとリスペリドンの効果との関連は認められなかったが、DRD4 の遺伝子多型がペロスピロンの効果判定予測因子であることが明らかとなった。

SSRI あるいは SNRI 服用患者試料を用いた関連解析により、QQ-plot の形状から統計的な信頼性が高いと判定され、かつ多重検定の補正後も有意であると判定された性機能障害・嘔気と関連のある SNP が見出された。有意 (関連有り) と判定された SNP はマーカーとして充分な相対危険度あるいはオッズ比を有しており、また、検出力も充分な値を示した。有効性に関しては SSRI の治療効果発現と統計学的に関連の高い SNP を見出すとともに、薬理作用が異なる SSRI と SNRI に共通して有効性と関連する SNP が見出された。今後、これらが、うつ病治療における抗うつ剤選択のためのマーカーとして使用できるかの検証試験が実施され、個別化医療に応用されることを期待したい。

PGx 試験のための支援・評価システムの構築については、大阪圏の医療機関(精神神経科等)の協力を求め、12 医療機関の協力が得られ、運用を行った。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

1) Maekawa K, Harakawa N, Sugiyama E, Tohkin M, Kim SR, Kaniwa N, Katori N, Hasegawa R, Yasuda K, Kamide

K, Miyata T, Saito Y, Sawada J.: Substrate-dependent functional alterations of seven CYP2C9 variants found in Japanese subjects. *Drug Metab. Dispos.*, 37: 1895-1903 (2009).

2) Hanioka, N., Matsumoto, K., Saito, Y., Narimatsu, S.: Functional characterization of CYP2C8\*13 and CYP2C8\*14: catalytic activities toward paclitaxel. *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.*, in press.

3) Hanioka, N., Yamamoto, M., Tanaka-Kagawa, T., Jinno, H., Narimatsu, S.: Functional characterization of human cytochrome P450 2E1 allelic variants: in vitro metabolism of benzene and toluene by recombinant enzymes expressed in yeast cells. *Arch. Toxicol.*, in press.

5) Kato M, Okugawa G, Wakeno M, Takekita Y, Nonen S, Tetsuo S, Nishida K, Azuma J, Kinoshita T, Serretti A. Effect of basic fibroblast growth factor (FGF2) gene polymorphisms on SSRIs treatment response and side effects. *Eur Neuropsychopharmacol.* 2009 ;19(10):718-25.

6) Tsutsumi A, Kanazawa T, Kikuyama H, Okugawa G, Uenishi H, Miyamoto T, Matsumoto N, Koh J, Shinosaki K, Kishimoto T, Yoneda H, Kinoshita T. Genetic polymorphisms in dopamine- and serotonin-related genes and treatment response to risperidone and perospirone. *Psychiatry Investig.* 2009; 6: 222-225.

7) Okugawa G, Kato M, Wakeno M, Koh J, Morikawa M, Matsumoto N, Shinosaki K, Yoneda H, Kishimoto T, Kinoshita T. Randomized clinical comparison of perospirone and risperidone in patients with schizophrenia: Kansai Psychiatric Multicenter Study. *Psychiatry Clin Neurosci* 2009; 63: 322-328.

8) Kato M, Zanardi R, Rossini D, De Ronchi D, Okugawa G, Kinoshita T, Colombo C, Serretti A. 5-HT2A gene variants influence specific and different aspect of antidepressant response in Japanese and Italian mood disorder patients. *Psychiatry Res* 2009; 167: 97-105.

9) Miyoshi K, Mori H, Mizobe Y, Akasaka E, Ozawa A, Yoshida M, and Sato M: Development of a noninvasive monitoring system for evaluation of Oct-3/4 promoter status in miniature pig somatic cell nuclear transfer embryos. *J Reprod Dev* 55, 661-6629, 2009.

10) Ohtsuka M, Warita T, Sakurai T, Watanabe S, Inoko H, and Sato M: Development of CRTEIL and CETRIZ, Cre-loxP-based systems, which allow change of expression of red to green or green to red fluorescence upon transfection with a Cre-expression vector. *J Biomed Biotechnol Volume* (2009), Article ID 985140, 9 pages

11) Miyoshi K, Mori H, Mizobe Y, Akasaka E, Ozawa A, Yoshida M, and Sato M: Valproic acid enhances in vitro development and Oct-3/4 expression of miniature pig somatic cell nuclear transfer embryos. *Cell Reprogram* 12,

67-74, 2010.

12) Himaki T, Mori H, Mizobe Y, Miyoshi K, Sato M, Takao S, and Yoshida M: Latrunculin A dramatically improves the developmental capacity of nuclear transfer embryos derived from gene-modified Clawn miniature pig cells. *Cloning Stem Cells*, in press.

13) Miyoshi K, Mori H, Yoshida M, and Sato M: Beneficial effects of reversine on in vitro development of miniature pig somatic cell nuclear transfer embryos. *J Reprod Dev*, in press.

14) Akasaka E, Watanabe S, Himaki T, Ohtsuka M, Yoshida M, Miyoshi K, and Sato M: Enrichment of xenograft-competent genetically modified pig cells using a targeted toxin, isolectin BS-I-B4 conjugate. *Xenotransplantation*, in press.

15) Ozawa A, Akasaka E, Watanabe S, Yoshida M, Miyoshi K, and Sato M: Usefulness of a non-invasive reporter system for monitoring reprogramming state in pig cells: Results of a cell fusion experiment. *J Reprod Dev*, in press.

16) Shrestha B, Hashiguchi T, Ito T, Miura N, Takenouchi K, Oyama Y, Kawahara K, Yoshinaga N, Arimura N, Noma S, Nitanda T, Kitajima S, Arimura K, Sato M, Sakamoto T, and Maruyama I:

17) Immunomodulatory roles of VEGF-A: VEGF-A in B cells promotes lymphangiogenesis in lymph nodes but suppresses the ensuing immune responses. *J Immunol*, in press.

18) 加藤正樹、福田剛史、分野正貴、奥川 学、嶽北佳輝、Serretti Alessandro、東 純一、木下利彦、大うつ病性障害者における抗うつ薬の治療反応性に対する5-HT<sub>2A</sub>受容体遺伝子多型の影響、*日本神経精神薬理学雑誌*、29、23-31、2009

## 2. 学会発表

1) 松本公彰, 埴岡伸光, 齋藤嘉朗, 成松鎮雄: 日本人で新たに見出された変異型 CYP2C8 酵素 (CYP2C8\*13 及び CYP2C8\*14) の機能解析。第 48 回日本薬学会・日本薬剤師会・日本病院薬剤師会中国四国支部学術大会, 徳島(2009 年 11 月)

2) 野中結子, 埴岡伸光, 齋藤啓太, 片岡洋行, 成松鎮雄: アフラトキシン B1 による HepG2 細胞における薬物代謝酵素の変動。第 48 回日本薬学会・日本薬剤師会・日本病院薬剤師会中国四国支部学術大会, 徳島 (2009 年 11 月)

3) 前川京子, 原川則子, 杉山永見子, 頭金正博, 金秀良, 鹿庭なほ子, 香取典子, 長谷川隆一, 内藤幹彦, 奥田晴宏, 安田和基, 神出計, 宮田敏行, 齋藤嘉朗, 澤田純一: 薬物代謝酵素 CYP2C9 の遺伝子多型 7 種の機能解析。日本薬物動態学会第 24 回年会, 京都 (2009 年 11 月)

4) 藤村 義幸, 前川 京子, Kim Su-Ryang, 澤田 純一, 齋藤 嘉朗, 丹羽 卓朗: CYP3A4\*16 および CYP3A4\*18 の機能解析. 日本薬物動態学会第 24 回年会, 京都 (2009 年 11 月)。

5) 鉄尾真司, 加藤正樹, 分野正貴, 奥川学, 南畝晋平, 嶽北佳輝, 藤尾 慈, 木下利彦, 東純一, 第 30 回日本臨床薬理学会年会, 2009 年 12 月 3 日~5 日 (横浜) 抗うつ薬 SSRI の臨床効果に及ぼすセロトニントランスポーター遺伝子多型の影響 ~La/Lg 多型を考慮した検討~:

6) Yoshiteru Takekita, Masaki Kato, Masataka Wakeno, Shiho Sakai, Azusa Suwa, Gaku Okugawa, Toshihiko Kinoshita, Perospirone and aripiprazole showed equal efficacy for Japanese schizophrenia 第 19 回日本臨床薬理学会年会, 2009 年 11 月 13 日~11 月 15 日 (京都)

7) 黒瀬光一, 石渡和也, 平塚一幸, 南畝晋平, 東純一, 奥川学, 加藤正樹, 木下利彦, 伊藤継孝, 黒沢亨, 長谷川隆一 「抗うつ薬 SSRI, SNRI による副作用の発現に関する遺伝子マーカーの探索」 日本薬学会第 130

回年会, 2010 年 3 月

8) 平塚一幸, 石渡和也, 南畝晋平, 東純一, 奥川学, 加藤正樹, 木下利彦, 伊藤継孝, 長谷川隆一, 黒沢亨, 黒瀬光一 「抗うつ薬 SSRI 及び SNRI の有効性発現に関する遺伝子マーカーの探索」 日本薬学会第 130 回年会, 2010 年 3 月

9) 佐藤正宏, 赤坂恵理, 小澤明央, ミニブタ体細胞の in vitro 脱分化誘導の試み. 第 56 回日本実験動物学会総会 (さいたま市), 2009 5. 14-5. 16

10) 赤坂恵理, 小澤明央, 森寛倫, 溝部大和, 吉田光敏, 三好和睦, 佐藤正宏. 全ゲノム増幅法を用いた核移植由来ブタ胚細胞における外来性遺伝子検出の試み. 第 56 回日本実験動物学会総会 (さいたま市), 2009 5. 14-5. 16

G. 知的財産権の出願・登録状況  
該当なし

表 1 各種 CYP3A4 酵素における MDZ 1' 水酸化活性における KTZ 阻害の解析

	Amino acid substitution		Lot	IC50 (μmol/L)	mean	SD	
	185	293					
CYP3A4.1	Thr	Leu	4	0.035	0.027	0.007	N.S.
			5	0.026			
			6	0.021			
CYP3A4.16	Ser	Leu	4	0.035	0.036	0.005	N.S.
			5	0.031			
			6	0.042			
CYP3A4.18	Thr	Pro	7	0.020	0.022	0.002	*
			8	0.023			
			9	0.022			

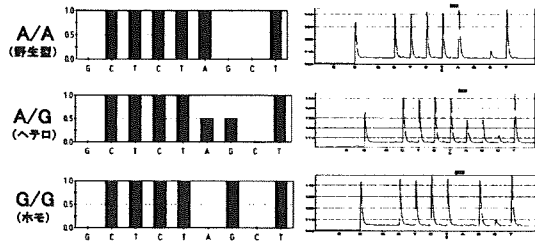
\*: p<0.05, N.S.: not significant (by Tukey's Multiple Comparison Test)

表 2 各種 CYP2C9 酵素のグリメピリド水酸化活性

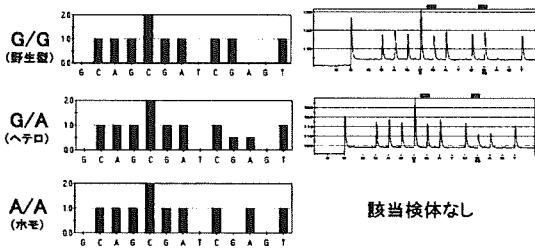
Recombinant enzymes (Amino acid alteration)	K <sub>m</sub> (M)	V <sub>max</sub> (pmol/min/pmol P450)	Clearance (V <sub>max</sub> /K <sub>m</sub> ) (l/min/pmol P450)
CTP2C9.1 (Wild-type)	0.18 ± 0.03	1.65 ± 0.11	9.22 ± 1.85
CYP2C9.26 (Thr130Arg)	0.16 ± 0.05	0.14 ± 0.03 ***	0.94 ± 0.42 ***
CYP2C9.33 (Arg132Gln)	0.20 ± 0.04	0.013 ± 0.001 ***	0.07 ± 0.01 ***
CYP2C9.34 (Arg335Gln)	0.16 ± 0.03	1.05 ± 0.09 ***	6.62 ± 0.55 **

Data is represented by mean ± S.D. of 3-4 different expression experiments.  
(\*\* p<0.01, \*\*\* p<0.001 vs. wild type. One-way ANOVA, post-hoc test; Dunnett.)

A: *ATP7A* 4390A>G (Ile1464Val): 順鎖



B: *ATP7B* 3889G>A (Val1297Ile): 順鎖



理論的パターン

測定パターン

図 1 *ATP7A* 4390A>G (Ile1464Val)と *ATP7B* 3889G>A (Val1297Ile)の理論的パターンと実測パターン

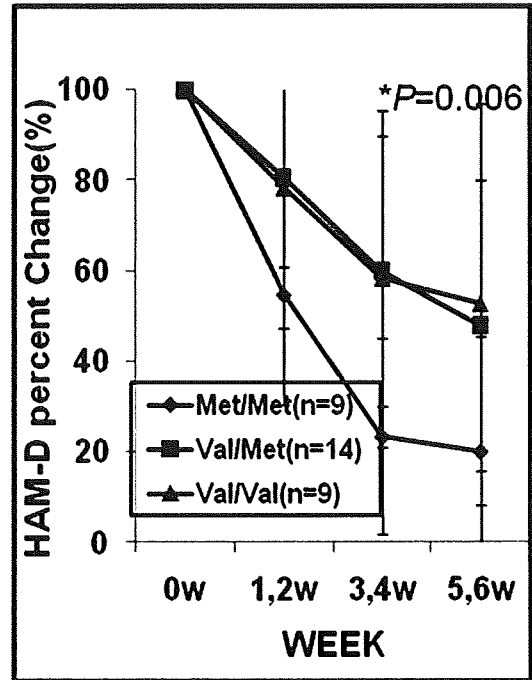


図 2 *BDNF* Val66Met 多型と MIL 有効性との関連

図 3~7.

副作用発症患者と非発症患者に対して、リスクアレルの増減と発症割合との間に線形傾向が有るかどうかの検定をコクラン・アーミテージ法により行い、得られた各 SNP の p 値の QQ plot を作成した。横軸に帰無仮説の下での P 値の経験分布 (一様分布)、縦軸に観測から得られた P 値をとった。両軸とも 10 を底とする P 値の -log をとっている。BF: ボンフェローニの補正、FDR: FDR のコントロールによる補正。

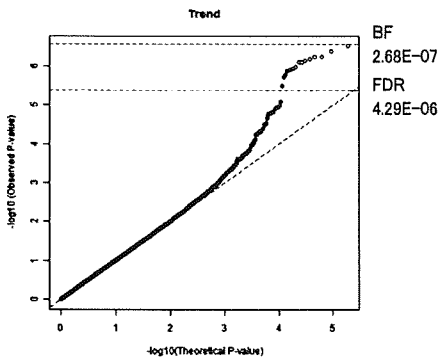


図 3 性機能障害ありの患者: 無し患者

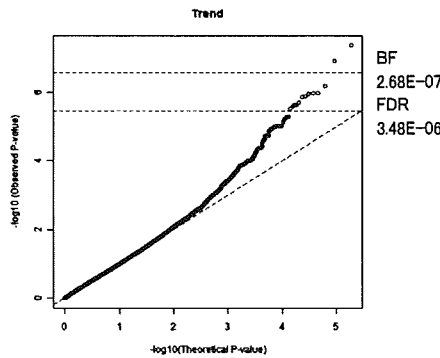


図 4 性欲低下ありの患者: 性機能障害無しの患者

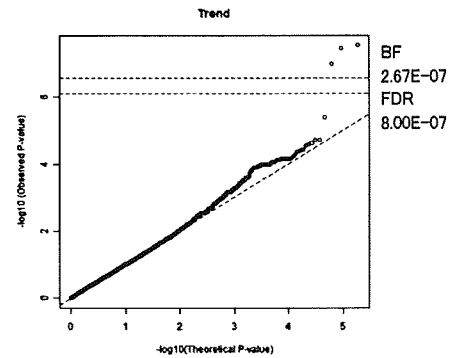


図 5 射精遅延ありの男性患者: 性機能障害無しの男性患者



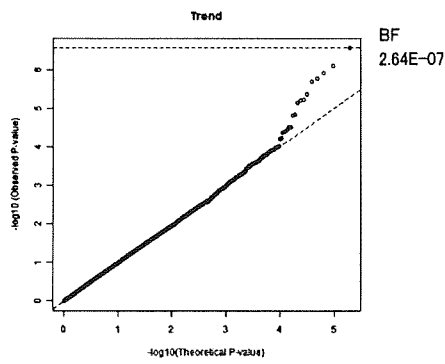


図6 SSRIあるいはSNRI服用患者で嘔気あり:無し

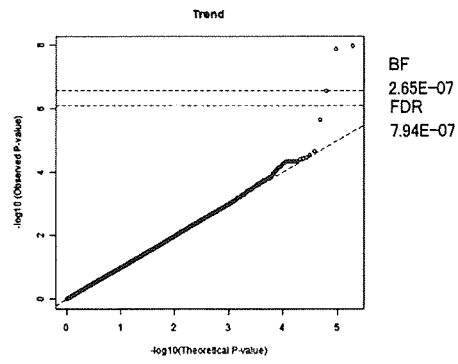


図7 SSRI服用患者で嘔気あり:無し

図8~10.

SSRI あるいは SNRI 奏功患者患者と非奏功患者に対して、対象アレルの増減と奏功割合との間に線形傾向があるかどうかの検定をコクラン・アーミテージ法により行い、得られた各 SNP の p 値の QQ plot を作成した。横軸に帰無仮説の下での P 値の経験分布（一様分布）、縦軸に観測から得られた P 値をとった。両軸とも 10 を底とする P 値の  $-\log$  をとっている。BF：ボンフェローニの補正、FDR：FDR のコントロールによる補正。

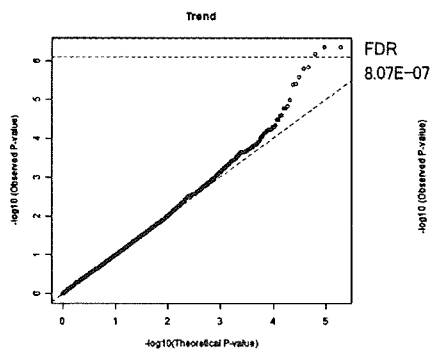


図8 中等度以上のうつ病患者でSSRIまたはSNRIを服用し薬効有り:無し

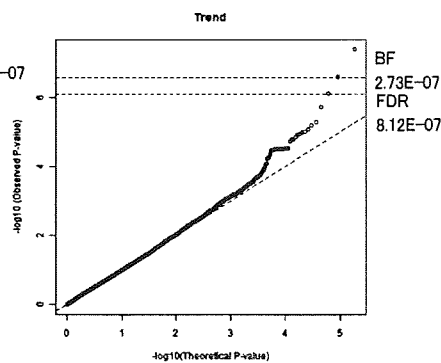


図9 SSRIを服用患者で薬効有り:無し

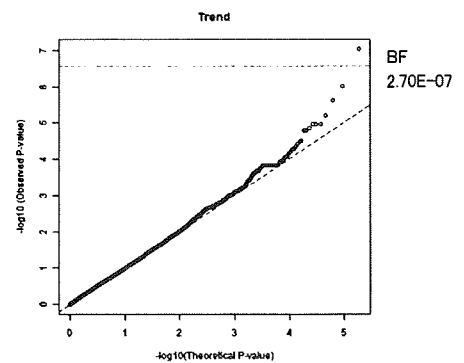


図10 SSRIの服用開始3週以降から薬効有り:無し

## 医薬品の安全性監視と安全性監視計画立案のための 医薬品安全性情報の解析、評価に関する研究

所 属 国立医薬品食品衛生研究所 安全情報部  
研究者 森川 馨  
研究期間 平成 19 年 4 月～平成 22 年 3 月

研究要旨 市販後の医薬品の安全性確保と安全性監視の必要性から、公開されている米国 FDA の AERS のデータベースを用い、精神神経領域、循環器領域、内分泌領域、眼科領域における医薬品の副作用を解析すると共に医薬品の安全性に向けた検討を行った。

- 分担研究者 (括弧内は年度を示す)
- (1) 国立医薬品食品衛生研究所・安全情報部  
森川 馨(19, 20, 21)
  - (2) 京都大学大学院・医学研究科社会健康医学系  
専攻、健康情報学 中山健夫(19, 20, 21)
  - (3) あすか製薬(株)薬制部 松倉竹雄 (19)  
あすか製薬(株) 高見廣行 (20, 21)
  - (4) エーザイ(株)信頼性保証本部・安全管理部  
大家正芳 (19)  
佐伯俊学 (20, 21)  
宇田恒信 (21)
  - (5) 参天製薬(株)研究開発本部  
西畑利明(19, 20, 21)
  - (6) 塩野義製薬(株)医薬開発本部・解析センター  
田崎武信 (19)  
塩野義製薬(株)信頼性保証本部・安全管理部  
吉川剛兆 (20, 21)
  - (7) 協和発酵キリン(株)信頼性保証本部  
関 利之(19, 20, 21)
  - (8) アステラス製薬(株)信頼性保証本部・ファーマ  
コヴィジランス部 中村信弘 (19, 20)  
松本法幸 (21)
  - (9) 国立医薬品食品衛生研究所・安全情報部  
竹村玲子 (19)  
芦澤一英 (19)  
天沼喜美子 (20, 21)

### A. 研究目的

医薬品の安全性は、有効性と異なり、市販後の医療現場での使用によりその特性が明らかにされていく。安全性は個々の患者背景、使用法、期間等で異なり、膨大な安全性データがあって初めて科学的な検討が可能になる。一方、ICH から開発から市販後までの医薬品のライフサイクルマネジメントとして安全性監視に関するガイドライン E2E が提案され、厚労省

からも医薬品安全性監視計画実施が通知されている(平成 17 年 3 月 28 日)。しかしながら安全性監視計画策定に当たり、リスク検出のための手法は確立されておらず、行政、製薬企業にとって大きな課題となっている。今日、世界各国の規制機関は、市販後の安全性データを収集し、いかに科学的に評価し、活用するかが焦点になっている。米国 FDA は、世界規模で副作用データを集め Adverse Event Reporting System(AERS)として、副作用症例報告データ(13 年分約 330 万件)を公開している。上記データベースは自発報告ではあるが、報告数が年 44 万件と膨大なデータ(日本からの報告は米国に次ぎ 2 位)であり、医薬品の安全性を考える上で非常に価値の高いデータである。そこで、本研究では、大規模副作用症例データベースの解析法の検討を通じて、医薬品の副作用を未然に防止するための監視方法、および安全性監視計画について検討した。

### B. 研究方法

本研究では、現在世界で唯一公開されている米国 FDA の大規模副作用報告データベース Adverse Event Reporting System(AERS:報告数約 316 万件)を用い、医薬品に関する有害事象を検討した。AERS 12 年分(1997 年～2009 年 3rdQTR; 2,489,587 症例)を用いて、各薬剤における有害事象を報告数、Proportional Reporting Ratio(PRR)、併用薬、経時変化等により解析した。なお、PRR は当該医薬品の副作用の特徴を示す値(リスク比に相当し、他のすべての薬剤での報告に比べ何倍高いかを表す)である。(倫理面への配慮)

本研究は、米国 FDA で公開されている大規模副作用データ AERS を用いた医薬品の副作用情報の解析に関する研究であり、用いているデータでは個人は非特定化され公開されているデータであり、倫理的配慮は特に必要としない。

## C. 研究結果

本研究では、いくつかの臨床領域の医薬品の解析結果を得たが、本概要では、開発したシステムの有用性を示す解析事例として、主に精神科領域での研究成果を示した。

### 1) 抗精神病薬における有害事象報告の解析

抗精神病薬は統合失調症治療において重要な役割を果たしているが、過量投与や併用、また高齢者での使用において有害事象が報告されている。本研究では、定型抗精神病薬 2 種、非定型抗精神病薬 5 種の有害事象を検討した。AERS データの解析の結果、抗精神病薬で報告された有害事象では、抗精神病薬を含む向精神薬との併用が多く行われていた。表 4 に定型抗精神病薬 haloperidol の AERS に報告された有害事象を PRR 順(該当医薬品の有害事象の特徴を表す)に示した。錐体外路障害、悪性症候群、及び体重増加、糖尿病が多いことが分かる。これら錐体外路障害、悪性症候群は使用された抗精神病薬によるものと考えられたが、抗精神病薬で多くの報告がある糖尿病に関しては quetiapine, olanzapine の併用による可能性が考えられた。典型的な例として aripiprazole の結果を示す。aripiprazole は代謝障害が少ないと考えられているが、報告数の第 1 位は糖尿病であった。一方、これらの症例の 7 割で quetiapine, olanzapine の併用が行われていた。一方、錐体外路障害、悪性症候群では、こうした併用はみられなかった。また、olanzapine, quetiapine では膵炎の報告が多く、注目された。quetiapine, olanzapine の適応は、本邦では抗精神病薬のみであるが、海外では主にうつ病、双極性障害、感情障害であり、統合失調症の適応は 1/3 であった。また、risperidone では適用不明の薬剤使用が多く、報告年齢から高齢者認知症の BPSD に用いられた可能性が考えられた。

### 2) 抗うつ薬における有害事象報告の解析

抗うつ薬は、向精神薬の中で報告数が最も多く、抗精神病薬、てんかん治療薬と並び報告数が多かった(表 3)。検討した抗うつ薬 8 種(clomipramine, mirtazapine, floxetine, paroxetine, sertraline, venlafaxine, duloxetine, bupropion)では、全体としてセロトニン症候群、自殺関連の報告が多く、PRR が高かった。三環系、四環系抗うつ薬では、QT 延長、不整脈等の PRR が高く、SSRI, SNRI では、薬剤離脱症候群、錯乱の報告が多かった。錯乱は高齢者での割合が高かった。三環系抗うつ薬 clomipramine では件数は多くないが新生児に対する有害事象が特徴的であった。一方、SSRI である paroxetine では、心臓に関連した先天性奇形の有害事象が多かった。また、三環系、四環系、SSRI, SNRI での自殺関連事象の報告件数では、paroxetine と venlafaxine で報告件数と

報告に占める割合が高かった。

### 3) 抗てんかん薬における有害事象報告の解析

検討した抗てんかん薬 valproate, carbamazepine, phenytoin, topiramart, lamotrigine, gabapentin で PRR が高い有害事象として valproate, carbamazepine, lamotrigine, topiramart では、先天奇形が多く報告され、特に valproate では高い PRR を示した。また、lamotrigine, phenytoin では皮膚関連の有害事象が多く、lamotrigine, phenytoin, carbamazepine では、スティーブンス・ジョンソン症候群(SJS)のような重篤な皮膚反応が報告されていた。特に、lamotrigine での SJS の報告は、全 AERS 報告 8485 件のうち 822 件(9.7%)と高い値を示した。他の有害事象として、valproate では膵炎、血液障害、carbamazepine では抗利尿ホルモン不適合分泌が原因と考えられる低ナトリウム血症が報告されていた。Topiramart では発汗障害や閉塞隅角緑内障等の眼科領域の有害事象が特徴的であり、gabapentin では自殺関連事象が多く報告されていた。また、抗てんかん薬の適応については、valproate, carbamazepine, phenytoin ではてんかんの適応が多かったが、lamotrigine では双極性障害、gabapentin では疼痛、また topiramart では片頭痛への適応が多く報告されていた。特に、topiramart での眼科領域の有害事象は片頭痛での適応で多く報告されており、また gabapentin では双極性障害、うつ病の適応で自殺関連事象の報告の割合が高くなっていた。抗てんかん薬では、先天性奇形の報告数が多かった。

### 4) Lithium における有害事象報告の解析

双極性障害の治療に用いられる気分安定薬の lithium では、lithium による中毒関連の報告が多く、腎性尿崩症や甲状腺・副甲状腺関連の有害事象の PRR が高かった。また、lithium においても併用による有害事象が多く報告されており、糖尿病・悪性症候群では、9 割で olanzapine, quetiapine 等の抗精神病薬との併用が報告されていた。セロトニン症候群も、抗うつ薬との併用が 9 割と高かったが、特定の抗うつ薬との組み合わせは見られず、抗うつ薬のクラス効果であると考えられた。このように lithium でも併用による有害事象が頻度高く観察された。

### 5) 麦角系パーキンソン病治療薬における有害事象報告の解析

Pergolide の有害事象報告は、1997 年より計 713 症例、米国が約半数であるが、cabergoline では計 1182 症例のうち 1/4 (260 例) が日本からで、最も報告数が多かった。報告有害事象は、パーキンソン治療薬としての pergolide, cabergoline は、共に僧帽弁閉鎖不全症、大動脈弁閉鎖不全症、三尖弁閉鎖不全症等の心臓弁の線維化、及び後腹膜線維症等が報告されていた。また、高プロラクチン血症治療薬と

しての cabergoline では、心臓障害はほとんどなく、妄想、錯乱等の精神・神経障害が報告されていた。Pergolide, cabergoline の線維化による心弁膜症は、2005 年の論文や各国規制機関からの安全性情報により広く知られるようになったが、pergolide での発現率、報告率は共に 2005 年以降は報告が減少していたが、cabergoline での減少は少なく、日本での発現はほとんど変わっていないかった。Cabergoline での AERS に報告されている発現日と使用期間を検討すると、規制機関からの警告により、発現後の使用が短くなっていることが分かった。

#### 6) 医薬品安全性情報発出前後のパーキンソン病治療薬処方と心エコー検査の変化:レセプトデータベースを用いた評価

パーキンソン病(PD)患者に広く用いられてきた麦角系ドパミンアゴニストのうち、cabergoline 及び pergolide による心弁膜症リスクが複数の疫学研究で指摘されている。日本では2007年4月に添付文書が改訂され、上記2剤を第2選択薬とすること、処方前及び処方中に定期的な(6-12カ月に1回以上)心エコー検査を実施することが明記された。しかし、これらの医薬品安全性情報が臨床でどの程度実践されているかは不明である。そこで本研究では、2005年1月から2008年12月までのPD患者におけるPD治療薬の処方の動向を記述し、cabergoline 及び pergolide 服用者における心エコーの実施頻度とその背景要因を検討し、特に添付文書改訂の影響を明らかにすることを目的とした。

解析には2005年1月から2008年12月までの健康保険組合のレセプトデータベース(累積患者数約53万人)を用いた。解析対象患者は levodopa、dopamine agonists、monoamine oxidase inhibitor のうち1種以上を処方された30歳以上の者とした。対象患者における年ごとのPD治療薬の処方日数割合を算出した。更に、対象患者を case 群 (cabergoline and/or pergolide) 及び比較群に分け、添付文書改訂(2007年4月)前後の心エコーの実施割合を比較した。更に添付文書改訂後の case 群を心エコーの有無で2群に分け、関連要因を検討した。解析には SPSS 16.0 版を使用し、カテゴリー変数にはフィッシャーの直接確率法、連続変数にはウィルコクソンの順位和検定を用いた(有意水準(両側) $<0.05$ )。

解析対象患者222人(男性41.0%, 平均年齢61.1歳[SD 14.6])のうち、case 群は73人、reference 群は149人であった。Cabergoline 及び pergolide の処方日数割合は減少傾向にあり(2005年24.2%から2008年13.5%)、非麦角製剤が増加傾向にあった(7.3%から21.4%)。

改訂前後の心エコーの実施割合は、case 群では、3/62(4.8%)から12/43(27.9%)( $p=0.010$ )に増加した

が、reference 群では11/103(10.7%)から12/109(11.0%)( $p=1.000$ )と変化がなかった。Reference 群に対する case 群の心エコーの実施割合は、改訂前では有意な違いはなかったが( $p=0.255$ )、改訂後では高かった( $p=0.014$ )。改訂後に cabergoline 又は pergolide の処方が12カ月以上継続していた22人のうち、心エコーが2回以上行われていた者は2名であった。改訂後の case 群において心エコー実施と関連する要因を探求したところ、改訂後の cabergoline 又は pergolide 処方期間が心エコー(+) sub 群で長かった。

以上、添付文書改訂後 cabergoline 及び pergolide の処方は減少傾向にあり、心エコー実施割合は増加したことから一定の安全性情報の影響が認められた。ただし、心エコーの実施割合は27%と多くはなく、添付文書に従った定期的な心エコーを実施されている者は更に少なかった。麦角系ドパミンアゴニストによる心弁膜症の副作用情報の注意喚起と心エコー検査の呼びかけが必要であると考えられた。

#### 7) 眼科領域における副作用情報の評価と活用

眼科領域では高齢化に伴い、視力予後を長期に保つことが益々重要になっており、失明の主要原因を占める緑内障、加齢黄斑変性等に対する有用な治療法の確立が重要な課題である。本研究では、緑内障及び加齢黄斑変性について、AERSを解析することで治療領域の安全性の問題点を探索することを目的とした。

1997.4Q~2008.4QのAERSデータを用いて解析を行った。緑内障については、現在、世界中で最も頻用されているプロスタグランジン(PG)系点眼薬の Class Effectを評価するため、ラタノプロスト(米国発売1996年8月)、トラボプロスト(同2001年3月)、ビマトプロスト(同2001年3月)を1997.4Q~2008.1Qのデータ範囲で、加齢黄斑変性については、加齢黄斑変性治療薬として最近臨床使用可能となった抗血管新生薬(VEGF阻害薬)であるペガブタニブ(国際誕生2004年12月)、ラニビズマブ(同2006年6月)、ベバシズマブ(同2004年2月、但し抗癌剤として)を2004.1Q~2008.4Qのデータ範囲で検討した。

各PG系点眼薬の報告件数は、ラタノプロスト1,516件、トラボプロスト281件、ビマトプロスト458件であった。PRRの高い事象、報告数の多い事象には、点眼剤特有の事象、原疾患関連事象が多く含まれ、PRRや報告数からだけではノイズが多く Class Effect の評価は困難であった。そこで、同じ緑内障治療点眼薬の中からPG系薬剤とは薬理作用の異なるドルゾラミド(報告件数299件)とブリモニジン(367件)を対照集団とし、PG系点眼薬と比較することで Class Effect の評価を試みた。注目する2つの事象、黄斑浮腫と狭心症について検討した結果、黄斑浮腫はPG3剤ともシグナル

陽性、対照集団ではシグナル陰性であったことより PGのClass Effectと考えられた。一方、狭心症はブリモジンのみシグナル陽性であったことより、PGのClass Effectでないと考えられた。

VEGF阻害薬3剤のうちベバシズマブは、オフラベルで眼科使用されているため、投与経路が眼科と判断できる場合のみ解析対象とした。各VEGF阻害薬の報告件数は、ペガプタニブ257件、ラニビズマブ1,113件、ベバシズマブ510件であった。各薬剤とも硝子体内投与であり、投与方法に関連した事象が多く、また、原疾患関連事象も多かった。一方、眼以外のシグナル陽性事象として、ラニビズマブで脳血管発作、一過性脳虚血発作、虚血性脳卒中など脳卒中関連の事象が目立った。VEGF阻害薬の投与対象は高齢者が多く、脳卒中の背景発現率は高いと考えられることより、AERSを60歳以上の高齢者に限定して解析した。結果、前記の3事象はいずれもシグナル陽性であり、ラニビズマブは脳卒中発現リスクを高める可能性が示唆されたが、高齢者集団のPRR値は脳血管発作の2.3等高いものではなく、強いシグナルとは言えなかった。

製薬企業は自社品の安全性情報を保有するものの、類薬の安全性に関して入手しうる情報源は、添付文書、公表文献等に限られ、治療領域の安全性の問題点、同一薬効群での個々の薬剤の安全性の特徴といった視点での評価は難しい。一方、AERSは米国のみならず世界中から重篤な有害事象情報が集積されたデータベースであることから横断的な解析が可能である。AERSの利用により、多面的なリスクアセスメントが可能になるものと考えられる。

医薬品の安全性監視計画としては、最近FDAから警告の出されたコルヒチンを例にAERSによる解析結果とそれにもとづく日本における安全対策をまとめると共にFDAの最近の安全対策REMS(リスク評価・軽減対策)、及びカナダにおけるファーマコヴィジランスシステムについて調査を行った。

#### D. 考察

抗精神病薬による錐体外路障害、悪性症候群の検出のみならず、抗精神病薬併用による糖尿病の発症、抗てんかん薬によるSJS等の有害事象や偏頭痛への適用による閉塞隅角緑内障、抗てんかん薬に関連した自殺、また適応により有害事象頻度が大きく異なるなど、医薬品の安全性を考える上で多くの重要な知見を得た。また高齢者群での適用外使用や特徴的な有害事象等を見出した。これらの知見は当初の予想を大きく上回る成果であり、グローバルに集めた大規模データ316万件の威力であると共に大規模データ解析の重要性を示していると言える。

AERSは自発報告にもとづく副作用症例データで

あるが、この膨大なデータは統計学的にも悉皆的な性格を持ち、その解析は医学的にも統計学的にも新しい研究領域である。臨床試験のような介入試験のみが医薬品の評価ではなく、IT技術を駆使し、現実の大量データからも精度は落ちるが、大規模である現実データからの科学的な帰納的推論は可能であり、その解析は、医薬品の安全性確保に重要であるのみならず統計学的にも新しい研究課題である。

パーキンソン病治療薬cabergolineは、日本から最も多く報告がなされていた。心弁膜症は、2005年の論文や各国規制機関からの安全性情報により広く知られるようになったが、AERS上では1998年から報告がなされていた。また、抗HIV薬のような日本では十分な症例数を持たない医薬品の安全性については、グローバルに集められた大規模データは重要な情報源である。大規模副作用データの解析は世界でもまだ解決されていない医薬品の安全性における最重要課題であるが、本研究で得られた成果はその解決の一端を示すことが出来たと考えている。

以上、AERSは自発報告であるため、結果の解釈にはバイアスの存在に留意する必要があるが、これらの結果を安全性シグナルとして臨床現場での安全対策に生かしていくことが重要であると考えられる。

#### E. 結論

本研究では、AERSを用いて医薬品の安全情報を解析した。このようにグローバルに集められた大規模副作用データの解析は、世界の臨床現場で起きている副作用の実際を知る重要な手段であり、特に重篤な有害事象については、報告義務が生じるため悉皆的なデータになっており、一層重要である。大規模副作用データは自発報告によるため、バイアスの存在などに留意する必要があるが、それを考慮した解析ができれば、医薬品の安全性を考える上で最も重要な臨床現場からの声に直接耳を傾けることが出来ることになる。こうした解析が、病院、規制機関、企業、大学等で容易に行えるようになれば、世界の医療そして医薬品の使用は大きく変わると考える。

#### E. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) 竹村玲子, 森川 馨:市販後の医薬品の副作用-海外の安全性情報から-, *ファルマシア*, 43(11), 1085-1090 (2007).
- 2) 天沼喜美子, 森川 馨:2008年の「医薬品安全性情報」から 一免疫抑制薬使用に伴う感染症のリスクについて 一, *The Japanese Journal of Antibiotics*, 62(5), 460-470 (2009)
- 3) 天沼喜美子, 森川 馨:海外の医薬品安全性情報の入手と活用, *月刊薬事*, 52(1) 55-61 (2010)

##### 2. 学会発表

- 1) シンポジウム