

17. Snyder SH (1973): Amphetamine psychosis: A "model" schizophrenia mediated by catecholamines. *Am J Psychiatry* 130:61–67.
18. Ujike H (2002): Stimulant-induced psychosis and schizophrenia: The role of sensitization. *Curr Psychiatry Rep* 4:177–184.
19. Sato M, Chen CC, Akiyama K, Otsuki S (1983): Acute exacerbation of paranoid psychotic state after long-term abstinence in patients with previous methamphetamine psychosis. *Biol Psychiatry* 18:429–440.
20. Benson MA, Newey SE, Martin-Rendon E, Hawkes R, Blake DJ (2001): Dysbindin, a novel coiled-coil-containing protein that interacts with the dystrobrevins in muscle and brain. *J Biol Chem* 276:24232–24241.
21. Moghaddam B (2003): Bringing order to the glutamate chaos in schizophrenia. *Neuron* 40:881–884.
22. Konradi C, Heckers S (2003): Molecular aspects of glutamate dysregulation: Implications for schizophrenia and its treatment. *Pharmacol Ther* 97:153–179.
23. Reid MS, Berger SP (1996): Evidence for sensitization of cocaine-induced nucleus accumbens glutamate release. *Neuroreport* 7:1325–1329.
24. Xue CJ, Ng JP, Li Y, Wolf ME (1996): Acute and repeated systemic amphetamine administration: Effects on extracellular glutamate, aspartate, and serine levels in rat ventral tegmental area and nucleus accumbens. *J Neurochem* 67:352–363.
25. Karler R, Calder LD, Chaudhry IA, Turkianis SA (1989): Blockade of "reverse tolerance" to cocaine and amphetamine by MK-801. *Life Sci* 45:599–606.
26. Segal DS, Kuczenski R, Florin SM (1995): Does dizocilpine (MK-801) selectively block the enhanced responsiveness to repeated amphetamine administration? *Behav Neurosci* 109:532–546.
27. Wolf ME, Jeziorski M (1993): Coadministration of MK-801 with amphetamine, cocaine or morphine prevents rather than transiently masks the development of behavioral sensitization. *Brain Res* 613:291–294.
28. Cador M, Bjiou Y, Cailhol S, Stinus L (1999): D-amphetamine-induced behavioral sensitization: Implication of a glutamatergic medial prefrontal cortex-ventral tegmental area innervation. *Neuroscience* 94:705–721.
29. Greenberg BD, Segal DS (1985): Acute and chronic behavioral interactions between phencyclidine (PCP) and amphetamine: evidence for a dopaminergic role in some PCP-induced behaviors. *Pharmacol Biochem Behav* 23:99–105.
30. Balla A, Sershen H, Serra M, Koneru R, Javitt DC (2003): Subchronic continuous phencyclidine administration potentiates amphetamine-induced frontal cortex dopamine release. *Neuropsychopharmacology* 28:34–44.
31. Balla A, Hashim A, Burch S, Javitt DC, Lajtha A, Sershen H (2001): Phencyclidine-induced dysregulation of dopamine response to amphetamine in prefrontal cortex and striatum. *Neurochem Res* 26:1001–1006.
32. Yeh GC, Chen JC, Tsai HC, Wu HH, Lin CY, Hsu PC, *et al.* (2002): Amphetamine inhibits the N-methyl-D-aspartate receptor-mediated responses by directly interacting with the receptor/channel complex. *J Pharmacol Exp Ther* 300:1008–1016.
33. Emamian ES, Hall D, Birnbaum MJ, Karayiorgou M, Gogos JA (2004): Convergent evidence for impaired AKT1-GSK3 β signaling in schizophrenia. *Nat Genet* 36:131–137.
34. Zhao Z, Ksiazek-Reding H, Riggio S, Haroutunian V, Pasinetti GM (2006): Insulin receptor deficits in schizophrenia and in cellular and animal models of insulin receptor dysfunction. *Schizophr Res* 84:1–14.
35. Ikeda M, Iwata N, Suzuki T, Kitajima T, Yamanouchi Y, Kinoshiya Y, *et al.* (2006): Positive association of AKT1 haplotype to Japanese methamphetamine use disorder. *Int J Neuropsychopharmacol* 9:77–81.
36. Kumamoto N, Matsuzaki S, Inoue K, Hattori T, Shimizu S, Hashimoto R, *et al.* (2006): Hyperactivation of midbrain dopaminergic system in schizophrenia could be attributed to the down-regulation of dysbindin. *Biochem Biophys Res Commun* 345:904–909.
37. Fothergill KE, Ensminger ME (2006): Childhood and adolescent antecedents of drug and alcohol problems: A longitudinal study. *Drug Alcohol Depend* 82:61–76.

Reduced CYP2D6 activity is a negative risk factor for methamphetamine dependence

Kyohei Otani^a, Hiroshi Ujike^{a,b,*}, Ayumu Sakai^a, Yuko Okahisa^a, Tatsuya Kotaka^a,
Toshiya Inada^{b,c}, Mutsuo Harano^{b,d}, Tokutaro Komiyama^{b,e}, Toru Horii^{b,f},
Mitsuhiko Yamada^{b,g}, Yoshimoto Sekine^{b,h}, Nakao Iwata^{b,i}, Masaomi Iyo^{b,j},
Ichiro Sora^{b,k}, Norio Ozaki^{b,l}, Shigetoshi Kuroda^a

^a Department of Neuropsychiatry, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences, Shikata-cho 2-5-1, Okayama 700-8558, Japan

^b Japanese Genetics Initiative for Drug Abuse (JGIDA), Japan

^c Institute of Neuropsychiatry, Seiwa Hospital, Tokyo, Japan

^d Department of Neuropsychiatry, Kurume University Graduate School of Medicine, Kurume, Japan

^e Department of Rehabilitation Medicine, Iida Hospital, Iida, Japan

^f Division of Psychiatry, National Center Hospital for Mental, Nervous and Muscular Disorders, National Center of Neurology and Psychiatry, Tokyo, Japan

^g National Institute of Mental Health, National Center of Neurology and Psychiatry, Ichikawa, Japan

^h Department of Psychiatry and Neurology, Hamamatsu University School of Medicine, Hamamatsu, Japan

ⁱ Department of Psychiatry, Fujita Health University School of Medicine, Houmei, Japan

^j Department of Psychiatry, Chiba University Graduate School of Medicine, Chiba, Japan

^k Division of Psychobiology, Department of Neuroscience, Tohoku University Graduate School of Medicine, Sendai, Japan

^l Department of Psychiatry and Psychobiology, Nagoya University Graduate School of Medicine, Nagoya, Japan

Received 28 November 2007; received in revised form 12 January 2008; accepted 15 January 2008

Abstract

Because methamphetamine (METH) is metabolized by CYP2D6 at the first step of hydroxylation and demethylation, it is possible that functional variants of CYP2D6 alter susceptibility to methamphetamine-induced dependence. We genotyped *CYP2D6**1, *4, *5, *10, and *14 for 202 patients with METH dependence and 337 controls in a Japanese population and found a significant association of the *CYP2D6* gene with METH dependence ($p = 0.0299$). The patients had fewer *10 and *14 alleles, which are hypofunction alleles, than the controls. *CYP2D6* genotypes were divided into three phenotypes: extensive metabolizers, intermediate metabolizers, and poor metabolizers. There was no poor metabolizer among our Japanese subjects, and intermediate metabolizers of CYP2D6 were significantly fewer in methamphetamine-dependent subjects than in controls ($p = 0.0212$), with an odds ratio of 0.62 (95% confidence interval: 0.51–0.76). The present study demonstrated that reduced CYP2D6 activity was a negative risk factor for methamphetamine dependence.

© 2008 Elsevier Ireland Ltd. All rights reserved.

Keywords: CYP2D6; Methamphetamine; Amphetamine; Dependence; Intermediate metabolizer; Case-control association study

Methamphetamine (METH) is an addictive stimulant drug used all over the world, and METH has long been the most popular substance of abuse in Japan [33,40]. Genetic

factors may contribute substantially to the development of substance dependence. Family and twin studies have shown that predisposition to drug-taking behaviors and psychological dependence on substances including amphetamines has a strong hereditary component [24,38]. Several genetic risk factors for METH dependence and psychosis, e.g., the dopamine transporter gene [39], μ -opioid receptor gene [18], prodynorphin gene [31], GABA_A receptor γ 2 subunit gene [30], and AKT-1 gene [19], have been identified by our

* Corresponding author at: Department of Neuropsychiatry, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences, Shikata-cho 2-5-1, Okayama 700-8558, Japan. Tel.: +81 86 235 7242; fax: +81 86 235 7246.

E-mail address: hujike@cc.okayama-u.ac.jp (H. Ujike).

group, but more, currently unknown, genetic factors are likely.

Several previous studies showed that genetic variability in the enzyme that metabolizes a certain drug was associated with dependence on that drug [17], e.g., alcohol dehydrogenase and aldehyde dehydrogenase genes for alcoholism [5,16,27], *CYP2A6* for nicotine dependence [2,28], and *CYP2D6* for codeine dependence [14]. METH is metabolized by 4-hydroxylation or *N*-demethylation as the first step and then converted to 4-hydroxy METH (4OH-METH) or amphetamine (AMPH); the latter is subsequently metabolized to 4-hydroxy AMPH (4OH-AMPH) by 4-hydroxylation. These metabolites of METH, 4-OH METH, AMPH, 4-OH AMPH, and norephedrine [4,26], are all active and have psychostimulating actions [12]. An experimental study showed that chronic but not acute treatment with AMPH produced accumulation of hydroxylated metabolites in the striatum [10]. Studies of patients with AMPH psychosis showed that the intensity of the psychosis was positively correlated with the amount of basic polar metabolites of AMPH, including 4-OH AMPH and norephedrine, excreted in the urine but not with the AMPH plasma level [1]. The two initial metabolic pathways of METH in humans, 4-hydroxylation and *N*-demethylation, are catalyzed by *CYP2D6* [26]. Therefore, it is possible that an alteration of *CYP2D6* activity changes the metabolism of METH and synthesis of hydroxylated metabolites and may affect susceptibility to METH dependence.

CYP2D6 is one of the best-known of the polymorphic drug-metabolizing enzymes. *CYP2D6* is involved in the metabolism of 20–25% of clinically used drugs and exhibits a clinically relevant gene polymorphism that modifies the pharmacokinetics of nearly 50% of the drugs [20]. Approximately 5–6% of Caucasians are *CYP2D6* deficient due to inactivating mutations of the *CYP2D6* gene (*CYP2D6*), *CYP2D6**3 (5%), *4 (75%), and *5 (15%) and are termed poor metabolizers (PM) [3,6,7]. In comparison, the ratio of PM among Japanese is less than 1%, comprising mostly *CYP2D6**5 with a few *CYP2D6**4 and *14 genotypes [25,29,36]. However, the allele frequency of *CYP2D6**10 in Japanese (38–51%) [25,29,36] is much higher than that in Caucasians (1–5%), black Africans (6%), and Ethiopians and Saudi Arabians (3–9%) [6]. Individuals with *CYP2D6**10/*10, which causes decreased *CYP2D6* activity, are termed intermediate metabolizers (IM) [22] and account for approximately 15% of Japanese. Therefore, we examined *CYP2D6**1, *4, *5, *10, *14 in patients with METH dependence in a Japanese population to test our hypothesis that genetic variants of the *CYP2D6* gene could be a genetic factor in susceptibility to METH dependence.

Genotyping was performed on 202 patients with METH dependence (167 males and 35 females; mean age, 36.9 ± 11.8 years; ICD-10-DCR criteria; F15.2), and 337 control subjects (271 males and 66 females; mean age, 37.2 ± 13.1 years) who were age-, gender-, and geographically matched to patients. All subjects in the present study were Japanese, born and living in restricted regions of Japan. The patients were inpatients or outpatients at medical institutions participating in the Japanese Genetics Initiative for Drug Abuse (JGIDA) [39]. The clinical diagnosis was made by two trained psychiatrists according to ICD-10-DCR on the basis of unstructured medical interviews and records. Healthy volunteers were recruited mainly from the medical staff and had no present or past history of major psychiatric disorders, e.g., schizophrenia, bipolar disorder, and drug dependence. This study was approved by the ethics committee of each JGIDA institution. After a complete description of the study to the subjects, written informed consent was obtained.

Genomic DNA was extracted from peripheral leukocytes using standard procedures. The *CYP2D6**5 genotype was identified using long-PCR analysis according to the method of Johansson et al. [21]. Those of *CYP2D6**4 (G1840A), *CYP2D6**10 (C188T), and *CYP2D6**14 (G169A) were identified by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) according to the methods of Heim and Meyer [15] and Wang et al. [41,42]. We did not examine other *CYP2D6* alleles, e.g., *3, and *2xN alleles, in the present study because it has been demonstrated that the frequency of those alleles is below 0.7% in the Japanese population [25,29,36]. The frequency of *2 in the Japanese population is high, but we did not identify it because it has no effect on *CYP2D6* activity. We carried out genotyping in a blinded fashion with control and patient samples randomly mixed. Allele frequencies were calculated using the allele-counting method. Genotype deviation from Hardy–Weinberg equilibrium was assessed by χ^2 goodness-of-fit test. The statistical significance of case-control associations was evaluated by χ^2 test, Fisher's exact test, and the CLUMP program (ver 2.3) [34]. A T4 value was adopted as the *p*-value by CLUMP analysis. Statistical significance was accepted at *p* < 0.05.

The genotype distribution of patients with METH dependence and controls is shown in Table 1. We identified six *CYP2D6* genotypes in the Japanese subjects in the present study, *CYP2D6**1/*1, *1/*5, *1/*10, *5/*10, *10/*10, and *10/*14, whereas no *CYP2D6**4 allele or no *CYP2D6**1/*14, *5/*5, *5/*14, *14/*14 genotype was found in either patients with METH dependence or controls. Genotype distributions of the patients and controls did not deviate from Hardy–Weinberg equi-

Table 1
CYP2D6 genotypes of patients with methamphetamine dependence and controls

Subjects	N	<i>CYP2D6</i> genotypes						p
		*1/*1	*1/*5	*1/*10	*5/*10	*10/*10	*10/*14	
Patients	202	74(36.6)	6(3.0)	77(38.1)	4(2.0)	41(20.3)	0(0.0)	0.121
Controls	337	98(28.9)	16(4.7)	121(36.0)	12(3.6)	88(26.2)	2(0.6)	

p-Value was generated by CLUMP ver 2.3 using 10,000 simulations.

Table 2
CYP2D6 allele frequencies of patients with methamphetamine dependence and controls

Subjects	N	CYP2D6 alleles				p
		*1	*5	*10	*14	
Patients	404	231(57.2)	10(2.5)	163(40.3)	0(0.0)	0.0299
Controls	672	329(48.9)	28(4.2)	313(46.6)	2(0.3)	

p-Value was generated by CLUMP ver 2.3 using 10,000 simulations.

librium (patients: $G = 2.75$, d.f. = 4, $p = 0.60$; controls: $G = 7.92$, d.f. = 6, $p = 0.24$). The frequency of *CYP2D6**1/*1, a wild-type genotype, was 36.9% in patients with METH dependence, and was higher than that in controls, 28.9%. In contrast, *CYP2D6**10/*10 and *5/*10 genotypes were observed in 20.3% and 2.0% of patients, respectively, which were lower than those in controls, 26.2% and 3.6%, respectively. However, the difference in the *CYP2D6* genotype distribution between controls and patients with METH dependence was not statistically significant ($p = 0.121$).

The allele distributions of *CYP2D6* in patients and controls are shown in Table 2. The frequency of the wild-type allele, *1, was 48.9% in controls, which was less than that of patients, 57.2%. The frequencies of *5 and *10 alleles in controls were 4.2% and 46.6%, respectively, which were higher than those in patients, 2.5% and 40.3%, respectively. Only two subjects had the *14 allele, and they were controls (0.3%). The distribution of allele frequencies of the *CYP2D6* gene differed significantly between patients with METH dependence and controls ($p = 0.0299$).

Then we divided *CYP2D6* genotypes into three functional phenotypes, EM, IM, and PM, according to as the level of enzyme activity. The definition of the three phenotypes follows the modified method described by Someya et al. [35]. They defined the heterozygote of a wild and inactivating allele, e.g., *CYP2D6**1/*5 as IM because they did not find a significant difference in *CYP2D6* activity between *CYP2D6**10/*10 and *CYP2D6**1/*5. Briefly, EM comprise *CYP2D6**1/*1 and *1/*10, IM comprise of *CYP2D6**10/*10, *1/*5, *5/*10, *10/*14, and PM comprise *CYP2D6**5/*5, *5/*14, and *14/*14. No subject with the PM phenotype was observed in the subjects of the present study. The patients with METH dependence had significantly fewer IM and more EM ($p = 0.0212$, Table 3). The odds ratio of IM for METH dependence was 0.62 (95% confidence interval: 0.51–0.76).

We found that the distributions of *CYP2D6* allele and phenotype frequency were significantly associated with susceptibility to METH dependence. Hypofunction alleles of *CYP2D6*, *10

and *14, and IM phenotypes comprising *CYP2D6**10/*10, *1/*5, *5/*10, *10/*14 were fewer in the patients than in the controls. Intermediate metabolism of *CYP2D6* was identified as a negative risk factor for development of METH dependence, and reduced the risk of METH dependence to about six out of ten. *CYP2D6* catalyzes the first step in the metabolism of METH, 4-hydroxylation of the aromatic ring and *N*-demethylation [26], which produces several kinds of metabolites, e.g., 4-OH METH, 4-OH AMPH, and norephedrine. The ratios of these metabolites excreted in urine were different among human, rat, and guinea pig species [8]. In humans, the major metabolites of METH in urine are the unchanged drug and 4-OH METH, and the minor ones are hippuric acid, norephedrine, 4-OH AMPH, and 4-OH norephedrine. Hydroxylated metabolites of METH were shown to be active neurochemically and behaviorally like the parent compound. OH-METH and OH-AMPH inhibited uptake of noradrenaline in chopped cerebral cortex [43], uptake of dopamine into striatal homogenates [9], and induced release of noradrenaline and dopamine from striatal homogenates [13]. The potency of 4-OH AMPH in inhibition and release of dopamine from the striatum was almost equivalent to that of AMPH. These hydroxylated metabolites themselves had propensity to induce hyperlocomotion and stereotyped behaviors [37], indicating psychostimulating and psychotomimetic activities, and also to enhance abnormal behaviors induced by the parent drugs [11]. These metabolites were taken up by dopaminergic terminals [23] and accumulated greatly in synaptic terminals of the striatum and hypothalamus after chronic administration of METH or AMPH because the half life of hydroxylated AMPH is 1.5 days in rat brain, whereas the half-life of AMPH is 45 min. Therefore, hydroxylated metabolites of METH could preferentially contribute to the development of dependence or the psychotic disorder induced by METH in the chronic phase of METH abuse. This speculation seems to be consistent with a clinical observation by Anggard et al. [1], who noted that the intensity of the psychosis of patients with AMPH dependence is more closely related to the urinary levels of hydroxylated metabolites than to the plasma levels of AMPH.

Ramamoorthy et al. [32] showed that the intrinsic clearance rate of (+)- and (–)-METH in 4-hydroxylation by *10 of *CYP2D6* was 30- and 67-fold slower than the wild-type *1 *in vitro*. Thus, it can be expected that, *in vivo*, an individual who is a *CYP2D6* IM, for example, the *10/*10 genotype, would display much lower levels of hydroxylated metabolites of METH after abuse of METH, resulting in less accumulation of the hydroxylated metabolites of METH in the brain and more rapid excretion of unchanged METH in the urine. This pharmacokinetic change of METH by *CYP2D6* IM could result in relative insuscepti-

Table 3
Phenotypes of patients with methamphetamine dependence and controls

Subjects	N	CYP2D6 phenotypes		p
		EM	IM	
Patients	202	151(74.8)	51(25.2)	0.0212
Controls	336	218(64.9)	118(35.1)	

No poor metabolizer was found. EM, extensive metabolizer; IM, intermediate metabolizer.

bility to development of dependence on the drug. However, our findings need to be confirmed in larger samples because our sample size may not be large enough to exclude possibilities of population stratification and type 1 and 2 errors. Confirmation in different populations, e.g., Caucasian should be very useful because there are poor metabolizers of CYP2D6, who must show the least dependence to methamphetamine. In addition, examination of the *CYP2D6* gene in patients who abuse methylenedioxymethamphetamine, another widely abused drug, should be informative because it is also a substrate for CYP2D6.

Acknowledgements

We are grateful to Dr. Yutaro Suzuki from Niigata University for technical advice on *CYP2D6* genotyping. This work was partly supported by the Zikei Institute of Psychiatry (Okayama, Japan) and Grants-in-Aid from the Japanese Ministry of Health, Labor and Welfare.

References

- [1] E. Anggard, L.E. Jonsson, A.L. Hogmark, L.M. Gunne, Amphetamine metabolism in amphetamine psychosis, *Clin. Pharmacol. Ther.* 14 (1973) 870–880.
- [2] T. Arinami, H. Ishiguro, E.S. Onaivi, Polymorphisms in genes involved in neurotransmission in relation to smoking, *Eur. J. Pharmacol.* 410 (2000) 215–226.
- [3] L. Bertilsson, M.L. Dahl, P. Dalen, A. Al-Shurbaji, Molecular genetics of CYP2D6: clinical relevance with focus on psychotropic drugs, *Br. J. Clin. Pharmacol.* 53 (2002) 111–122.
- [4] R.E. Billings, P.J. Murphy, R.E. McMahon, J. Ashmore, Aromatic hydroxylation of amphetamine with rat liver microsomes, perfused liver, and isolated hepatocytes, *Biochem. Pharmacol.* 27 (1978) 2525–2529.
- [5] W.F. Bosron, T.K. Li, Genetic polymorphism of human liver alcohol and aldehyde dehydrogenases, and their relationship to alcohol metabolism and alcoholism, *Hepatology* 6 (1986) 502–510.
- [6] L.D. Bradford, CYP2D6 allele frequency in European Caucasians, Asians, Africans and their descendants, *Pharmacogenomics* 3 (2002) 229–243.
- [7] F. Broly, A. Gaedigk, M. Heim, M. Eichelbaum, K. Morike, U.A. Meyer, Debrisoquine/sparteine hydroxylation genotype and phenotype: analysis of common mutations and alleles of CYP2D6 in a European population, *DNA Cell Biol.* 10 (1991) 545–558.
- [8] J. Caldwell, L.G. Dring, R.T. Williams, Metabolism of (14C)methamphetamine in man, the guinea pig and the rat, *Biochem. J.* 129 (1972) 11–22.
- [9] A.K. Cho, B.J. Hodshon, B. Lindeke, J. Jonsson, The *p*-hydroxylation of amphetamine and phentermine by rat liver microsomes, *Xenobiotica* 5 (1975) 531–538.
- [10] D.F. Dougan, A.M. Duffield, P.H. Duffield, D.N. Wade, Stereoselective accumulation of hydroxylated metabolites of amphetamine in rat striatum and hypothalamus, *Br. J. Pharmacol.* 88 (1986) 285–290.
- [11] D.F. Dougan, S.L. Labrie, P.D. Paull, P.H. Duffield, D.N. Wade, Evidence that alpha-methyl-*p*-tyramine is implicated in behavioural augmentation to amphetamine, *Gen. Pharmacol.* 17 (1986) 453–456.
- [12] D.F. Dougan, D.N. Wade, P. Duffield, How metabolites may augment some psychostimulant actions of amphetamine, *TIPS* 8 (1987) 277–280.
- [13] J.F. Fischer, A.K. Cho, Chemical release of dopamine from striatal homogenates: evidence for an exchange diffusion model, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 208 (1979) 203–209.
- [14] Y. Gasche, Y. Daali, M. Fathi, A. Chiappe, S. Cottini, P. Dayer, J. Desmeules, Codeine intoxication associated with ultrarapid CYP2D6 metabolism, *N. Engl. J. Med.* 351 (2004) 2827–2831.
- [15] M. Heim, U.A. Meyer, Genotyping of poor metabolizers of debrisoquine by allele-specific PCR amplification, *Lancet* 336 (1990) 529–532.
- [16] S. Higuchi, S. Matsushita, M. Murayama, S. Takagi, M. Hayashida, Alcohol and aldehyde dehydrogenase polymorphisms and the risk for alcoholism, *Am. J. Psychiatry* 152 (1995) 1219–1221.
- [17] N. Hiroi, S. Agatsuma, Genetic susceptibility to substance dependence, *Mol. Psychiatry* 10 (2005) 336–344.
- [18] S. Ide, H. Kobayashi, H. Ujike, N. Ozaki, Y. Sekine, T. Inada, M. Harano, T. Komiyama, M. Yamada, M. Iyo, N. Iwata, K. Tanaka, H. Shen, K. Iwahashi, M. Itokawa, M. Minami, M. Satoh, K. Ikeda, I. Sora, Linkage disequilibrium and association with methamphetamine dependence/psychosis of mu-opioid receptor gene polymorphisms, *Pharmacogenomics J.* 6 (2006) 179–188.
- [19] M. Ikeda, N. Iwata, T. Suzuki, T. Kitajima, Y. Yamanouchi, Y. Kinoshiya, Y. Sekine, M. Iyo, M. Harano, T. Komiyama, M. Yamada, I. Sora, H. Ujike, T. Inada, N. Ozaki, Positive association of AKT1 haplotype to Japanese methamphetamine use disorder, *Int. J. Neuropsychopharmacol.* 9 (2006) 77–81.
- [20] M. Ingelman-Sundberg, Genetic polymorphisms of cytochrome P450 2D6 (CYP2D6): clinical consequences, evolutionary aspects and functional diversity, *Pharmacogenomics J.* 5 (2005) 6–13.
- [21] I. Johansson, E. Lundqvist, M.L. Dahl, M. Ingelman-Sundberg, PCR-based genotyping for duplicated and deleted CYP2D6 genes, *Pharmacogenetics* 6 (1996) 351–355.
- [22] I. Johansson, M. Oscarson, Q.Y. Yue, L. Bertilsson, F. Sjoqvist, M. Ingelman-Sundberg, Genetic analysis of the Chinese cytochrome P4502D locus: characterization of variant CYP2D6 genes present in subjects with diminished capacity for debrisoquine hydroxylation, *Mol. Pharmacol.* 46 (1994) 452–459.
- [23] A. Jori, S. Caccia, A. Guiso, M. Ballabio, S. Garattini, Selective storage of *p*-hydroxy-*D*-amphetamine in the dopaminergic nerve terminals, *Biochem. Pharmacol.* 28 (1979) 1205–1207.
- [24] K.S. Kendler, C.A. Prescott, J. Myers, M.C. Neale, The structure of genetic and environmental risk factors for common psychiatric and substance use disorders in men and women, *Arch. Gen. Psychiatry* 60 (2003) 929–937.
- [25] T. Kubota, Y. Yamaura, N. Ohkawa, H. Hara, K. Chiba, Frequencies of CYP2D6 mutant alleles in a normal Japanese population and metabolic activity of dextromethorphan *O*-demethylation in different CYP2D6 genotypes, *Br. J. Clin. Pharmacol.* 50 (2000) 31–34.
- [26] L.Y. Lin, E.W. Di Stefano, D.A. Schmitz, L. Hsu, S.W. Ellis, M.S. Lennard, G.T. Tucker, A.K. Cho, Oxidation of methamphetamine and methylenedioxymethamphetamine by CYP2D6, *Drug Metab. Dispos.* 25 (1997) 1059–1064.
- [27] Y. Maezawa, M. Yamauchi, G. Toda, H. Suzuki, S. Sakurai, Alcohol-metabolizing enzyme polymorphisms and alcoholism in Japan, *Alcohol Clin. Exp. Res.* 19 (1995) 951–954.
- [28] V. Malaiyandi, E.M. Sellers, R.F. Tyndale, Implications of CYP2A6 genetic variation for smoking behaviors and nicotine dependence, *Clin. Pharmacol. Ther.* 77 (2005) 145–158.
- [29] Y. Nishida, T. Fukuda, I. Yamamoto, J. Azuma, CYP2D6 genotypes in a Japanese population: low frequencies of CYP2D6 gene duplication but high frequency of CYP2D6*10, *Pharmacogenetics* 10 (2000) 567–570.
- [30] T. Nishiyama, M. Ikeda, N. Iwata, T. Suzuki, T. Kitajima, Y. Yamanouchi, Y. Sekine, M. Iyo, M. Harano, T. Komiyama, M. Yamada, I. Sora, H. Ujike, T. Inada, T. Furukawa, N. Ozaki, Haplotype association between GABAA receptor gamma2 subunit gene (GABRG2) and methamphetamine use disorder, *Pharmacogenomics J.* 5 (2005) 89–95.
- [31] A. Nomura, H. Ujike, Y. Tanaka, K. Otani, Y. Morita, M. Kishimoto, A. Morio, M. Harano, T. Inada, M. Yamada, T. Komiyama, Y. Sekine, N. Iwata, I. Sora, M. Iyo, N. Ozaki, S. Kuroda, Genetic variant of prodynorphin gene is risk factor for methamphetamine dependence, *Neurosci. Lett.* 400 (2006) 158–162.
- [32] Y. Ramamoorthy, R.F. Tyndale, E.M. Sellers, Cytochrome P450 2D6.1 and cytochrome P450 2D6.10 differ in catalytic activity for multiple substrates, *Pharmacogenetics* 11 (2001) 477–487.
- [33] M. Sato, Y. Numachi, T. Hamamura, Relapse of paranoid psychotic state in methamphetamine model of schizophrenia, *Schizophr. Bull.* 18 (1992) 115–122.
- [34] P.C. Sham, D. Curtis, Monte Carlo tests for associations between disease and alleles at highly polymorphic loci, *Ann. Hum. Genet.* 59 (1995) 97–105.

- [35] T. Someya, Y. Suzuki, K. Shimoda, G. Hirokane, S. Morita, A. Yokono, Y. Inoue, S. Takahashi, The effect of cytochrome P450 2D6 genotypes on haloperidol metabolism: a preliminary study in a psychiatric population, *Psychiatry Clin. Neurosci.* 53 (1999) 593–597.
- [36] T. Tateishi, M. Chida, N. Ariyoshi, Y. Mizorogi, T. Kamataki, S. Kobayashi, Analysis of the CYP2D6 gene in relation to dextromethorphan *O*-demethylation capacity in a Japanese population, *Clin. Pharmacol. Ther.* 65 (1999) 570–575.
- [37] W.A. Taylor, F. Sulser, Effects of amphetamine and its hydroxylated metabolites on central noradrenergic mechanisms, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 185 (1973) 620–632.
- [38] M.T. Tsuang, J.L. Bar, R.M. Harley, M.J. Lyons, The Harvard Twin Study of Substance Abuse: what we have learned, *Harv. Rev. Psychiatry* 9 (2001) 267–279.
- [39] H. Ujike, M. Harano, T. Inada, M. Yamada, T. Komiyama, Y. Sekine, I. Sora, M. Iyo, T. Katsu, A. Nomura, K. Nakata, N. Ozaki, Nine- or fewer repeat alleles in VNTR polymorphism of the dopamine transporter gene is a strong risk factor for prolonged methamphetamine psychosis, *Pharmacogenomics J.* 3 (2003) 242–247.
- [40] H. Ujike, M. Sato, Clinical features of sensitization to methamphetamine observed in patients with methamphetamine dependence and psychosis, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1025 (2004) 279–287.
- [41] S.L. Wang, J.D. Huang, M.D. Lai, B.H. Liu, M.L. Lai, Molecular basis of genetic variation in debrisoquin hydroxylation in Chinese subjects: polymorphism in RFLP and DNA sequence of CYP2D6, *Clin. Pharmacol. Ther.* 53 (1993) 410–418.
- [42] S.L. Wang, M.D. Lai, J.D. Huang, G169R mutation diminishes the metabolic activity of CYP2D6 in Chinese, *Drug Metab. Dispos.* 27 (1999) 385–388.
- [43] G.R. Wenger, C.O. Rutledge, A comparison of the effects of amphetamine and its metabolites, *p*-hydroxyamphetamine and *p*-hydroxynorephedrine, on uptake, release and catabolism of 3H-norepinephrine in cerebral cortex of rat brain, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 189 (1974) 725–732.

精神疾患領域における国際共同治験 ～実施施設の観点を交えて～

三好 出 国立精神・神経センター武蔵病院治験管理室

山田 光彦 国立精神・神経センター精神保健研究所老人保健部

〒187-8551 東京都小平市小川東町 4-1-1 Tel: 042-341-2712 ext: 3803 Fax: 042-346-2120
E-mail: miyoshi-izuru@ncnp.go.jp

1 はじめに

筆者は、独立行政法人医薬品医療機器総合機構（以降 PMDA）に精神科医としての臨床経験を有した初めての審査専門員として勤務した後、国立精神・神経センター（以降 NCNP）が治験中核病院に指定され、厚生労働科学研究費補助金（医療技術実用化総合研究事業：臨床研究基盤整備推進研究）の支給が決定した 2007 年 7 月に国立精神・神経センター武蔵病院治験管理室長に就任した。

上記の経緯の中、特に PMDA での経験及び、短期間ではあるが実施機関である NCNP 武蔵病院治験管理室での経験から国際共同治験について述べたい。ただし、2007 年時点で統合失調症、気分障害などの主な精神科領域の国際共同治験は実施されておらず、したがって実施機関として国際共同治験を完遂した経験は NCNP にはまだないという状況であることをご了解いただきたい。

2 当施設の現状

国立精神・神経センター武蔵病院治験管理室は 2000 年に開設され、以降、年率約 30% 程度ずつ契約症例数を増していき、2007 年度は 300 例程度の契約数となる目算である。契約した治験の疾患構成は精神疾患・神経内科疾患を中心にしている。また、このような実績によって、2007 年度から治験中核病院に指定されると

もに、厚生労働科学研究費補助金（医療技術実用化総合研究事業：臨床研究基盤整備推進研究）を同年度から 3 年間、支給されることになった。臨床研究基盤整備推進研究事業とは、臨床研究の質の向上を目標に、医療機関・教育機関等の臨床研究を支える基盤の整備を主に人材育成の観点から効率的に行う研究事業である。また、中核病院とは、高度に専門的な知識や経験が要求される等、実施に困難を伴う治験等を計画・実施できる専門部門及びスタッフを有し、基盤が整備された病院をいい、医師主導治験を含む臨床研究が円滑に実施され、他機関との共同研究を主導できるよう、研究計画の立案・統計解析、データマネジメント等を行うことができること、他の共同研究を行う医療機関に対して、治験等に関するコンサルティング機能を提供できること、治験手続等が円滑に実施されるよう、治験事務等の効率化を図っていることが条件としてあげられている。

（引用：<http://www-bm.mhlw.go.jp/topics/bukyoku/isei/chiken/03.html>）

当センターでは治験管理室を発展的に改組して、①企業がデザインした「治験」を実施するという従来の治験管理室の機能、②基礎から臨床への橋渡し研究、観察研究から介入研究までの臨床研究にデザインから実施支援（CRC の導入、データマネジメントなど）まで医師主導治験を含めたアカデミックな臨床研究を支える機能、③人材育成機能（臨床研究を主導する医師、生物統計家、CRC、データマネージャーなど）の三つの機能を持つことを目標にしている。

3 国際共同治験への関わり

上記のような条件の下、規制当局とも連携し、治験実施の他に精神科疾患の治験の評価（HAM-D など）に心理士による評価を導入するための臨床研究、筋疾患、精神疾患における医師主導治験を企画している。実際にトランスレーショナルな医師主導治験を企画すると、その実施を国際共同で行う必要がある場合があることを実感する。つまり、当施設のような実施施設においても国際共同治験に企画段階から関わる可能性が生じているわけである。このことは、アカデミックな領域からのトランスレーショナル研究を行う際のみならず、他の臨床研究全体に広がっていくトレンドであろうと考えている。2007年12月21日に、中国北京大学、韓国ヨンセ大学とともに精神疾患における国際共同臨床研究のシンポジウムを開催したが、各国とも国際共同治験が非常に大きな位置を占め始めているものの、それを企画・実践するというよりも欧米から依頼されたプロトコールを実施するというのが役割であるというのが印象である。また、アジアにおいては地政学的な要因があり、どの国がインセンティブをとって国際共同の臨床試験・治験を実施していくかを考慮した際に日本がその任を担うことが適切であろうという印象も持った。

製薬に関しても、2007年現在、世界で継続的に医薬品を創出できるのは7カ国程度であり、アジアでは日本が唯一である。一方で、日本における新薬アクセスは、「世界標準の新薬85品目の新薬上市数」、「最初の上市からの遅れ」のいずれも最下位との結果が報告されており¹⁾、海外では承認されているが日本では未承認といった「ドラッグ・ラグ」が問題となっている。また、世界初上市から各国での上市までの平均年数は、米国及び英国の1.4年を始めとし、ドイツ1.7年、フランス2.5年、日本3.9年などと報告されている²⁾。

抗うつ薬に関して言えば、2006年8月現在、海外で既に承認されているシタロプラム、エスシタロプラム、フルオキセチン、ヴェンラファキシン、デュロキセチン、ネファゾドン、ミルタザピン、プロロピオンなど、抗精神病薬では、クロザピン、ジプラジドン、アミスルピリドなどが日本では未承認という状況である。また、近年、

CATIE Studyのような大規模臨床試験の結果が実地臨床にも影響を与えているが、この試験に使用された薬剤のうち、クロザピンとジプラジドンは日本での承認は未だ得られておらず、気分障害治療研究におけるLandmark StudyであるSTAR*D³⁾で使用された薬剤は、プロロピオン、ヴェンラファキシン、シタロプラム、ミルタザピン、トラニルシプロミン、ノルトリプチリン、甲状腺ホルモン製剤、リチウム、塩酸セルトラリンであり、日本国内で使用可能であるのは10剤の内、後半4剤のみである。このような状況の中で望まれるのは、世界的に上梓が遅れている薬剤に関しては国内開発、またはアジアでの国際共同治験であり、これらで国際共同治験の経験を蓄積しつつ、世界的に未承認の最先端の国際共同治験に参画していくことが望まれる。

規制当局も積極的に国際共同開発を推進しており、既に国際共同治験であるRENAAL Study⁴⁾といった結果に基づき糖尿病性腎症に対して国内で承認されたロサルタンカリウムのような薬剤も登場している。国際共同治験のメリットは、ある1国で必要な症例数を組入れることが困難であっても、多くの国と共同することで、多数の症例数を組入れることが可能となり、真のエンドポイントを主要評価項目とした臨床試験の実施が可能となる点であり、早期から国際共同開発を進めることで、民族的要因の有無についても早期に同定可能である。また、これらの要因も考慮して、その後の臨床開発を計画することが可能となる点もメリットと考えられる。さらに結果として、世界的な開発時期が同調されるため、ほぼ同時に世界各国に承認申請を行うことが可能になり、日本における医薬品の申請時期を海外と同時期に実施できるようになると考えられる。

4 精神科領域での国際共同治験

精神科領域での国際共同治験について考えると、海外では統合失調症、うつ病、アルツハイマー型認知症など多くの領域の検証試験でプラセボ対照試験が必要とされ、国際共同治験では基本的に世界共通のプロトコールで実施されるため、日本が国際共同治験に参画しようとするならば、国内においても海外と同様のプロト

コールを実施する必要がある。すなわち、日本で世界共通プロトコルの臨床試験を実施できなければ、日本は国際共同治験に参加できず、世界の医薬品開発から日本が孤立しドラッグ・ラグを解消することもできない。最近の抗うつ薬、アルツハイマー型認知症に対する治験など、現在、世界的に標準的と考えられているプロトコルが日本の精神科領域でも実施可能であることは実証されてきており、今後、日本で実施される治験のプロトコルが国際的に標準とされるプロトコルに近づく傾向は加速されるものと考えている。

一方、日本以外で実施された国際共同治験の結果のみを根拠データとして受け入れ、日本で承認を得ることも考えられるが、黒人のみを対象とした BiDil® (isosorbide dinitrate/hydralazine hydrochloride) といった医薬品の承認状況⁵⁾、ICH E5 ガイドラインのブリッジングコンセプトに基づく日本での経験⁶⁾等を考えると、民族的要因が医薬品の有効性及び安全性に影響を及ぼす場合もある。近年、ハプロタイプマップからみた遺伝的特性が、日本人と中国人で類似していると報告⁷⁾されているが、医療環境、標準治療、併用薬等の差も考慮すべきであり、生活環境や文化が大きく疾病構造に影響を及ぼす精神疾患領域もこれに該当すると考えられることから、これらの外的要因が医薬品の有効性及び安全性にどのように影響するのかを明らかにしていくことが必要と考えられる。さらに、治験では有効性及び安全性が明確でない物質をヒトに投与するため、常にある一定のリスクを伴う。最近ではイギリスで起きた第 I 相試験での事故が大きく取り上げられた⁸⁾が、新しい医薬品を創設するためには、世界の主要な国で医薬品開発を推進する必要がある。アジアで唯一の創薬基盤を持ち、ICH の一極を担っている日本が、これらの医薬品開発に参加せず、海外の結果を根拠として承認されたものを臨床に導入していくということは不適切であると考えられる。

以上のように、医薬品開発での国際的な協力関係を築きながら、各国で医薬品開発のリスクを分担することも重要であり、その結果として医薬品開発に参加した国でほぼ同時に承認されるという目標に向かうことは理にかなっている。

当センターでは、てんかん 1 件、パーキンソン病 1

件での国際共同治験を開始し、気分障害領域で 1 試験を準備中である。また、神経内科領域で、国際共同医師主導治験を計画中である。

5 実施施設での問題

これらの実施に際しては、予想していたほどの問題は現在のところ生じていない。しかし、最近では国際共同治験であるかどうかにかかわらず、海外の施設で検体検査、心電図の判読などが集中的に行われるようになった。このような状況に伴い、シンガポールなどへの検体回収に伴い、海外向け宅配便の手配が 3 日前までに必要だったりするため当日エントリーが困難になること、営業日の相違、スピッツへのラベル貼付方法、単位の相違するため換算が必要になること、休暇の考え方の違うこと、心電図のインドなど遠隔地への電話回線を通じた転送、など細部には様々な困難・相違があり、これらがミスを誘い、とくに CRC のストレスを増す。また、治験薬管理表、治験薬などの実物が国内で確認できるまでに時間がかかるため国内での治験薬管理表、処方フォームなどの作成に困難が生じることなども施設毎の準備の障害になっている。

「国際共同治験」であることに基づく問題は、言葉と文化の壁が大きいようである。もちろん、問い合わせも英語が基本であるので、結局のところ、日本のスポンサーである製薬企業の日本側窓口や、CRO から海外問い合わせ窓口への間接的問い合わせになってしまうことも多く、回答までの時間を要してしまう。最近の国際共同治験は CRF の記入は Electric Data Capture (EDC) を用いてネットを介して行われるが、これが英語である。マニュアルには丁寧な日本語解説を付けてあり、標準的に記入する各項目についてはほぼチェックボックスや、スクロールしてクリックするだけになっているが、典型的でない有害事象を記入しようとするれば、そこで作業が「語学の問題」によって止まってしまうのである。また、心電図の検査はインドに電話回線を通じて送り、英語のファックスがヨーロッパから流れてくるという具合である。

中国や韓国でも問題は同じのようであるが、彼らの比

較的若い世代の医師・CRC などには流ちょうな英語を話す人材が多いように感じる。しかし、日本の英語教育の問題を嘆いていても仕方がないので、医師、CRC 等に対する英語教育を進めている。

もう一つの問題は、プロトコールの問題である。これは、「国際共同治験」による問題というよりも治験の試験デザインが大きく変更されたことによって、それに日本の治験環境が適応するために時間がかかるという問題である。すなわち、国際共同治験導入初期においては「差が検出されなかったこと」が求められる実薬対照非劣性試験から、「差を検出すること」を求めるプラセボ対照比較試験に変わる。また、プラセボ群が設定されることにより統合失調症、うつ病の領域では慢性期ではなく、安定していない急性期の患者を組み込む必要が出てくることにより、実施施設の体勢も変更する必要が出てくるのである。

また、国際共同治験が導入され、それが成功し、ドラッグ・ラグが解消していくことにより、日本で実施される必要症例数が減少していくという問題である。例示すると、統合失調症の領域では、実薬対照非劣性試験が2試験、多くの施設において実施され、その必要症例数は1000例に及んでいた。しかし、国際共同治験になると、プラセボ対照比較試験が1試験、多く見積もっても日本での必要症例が100例ということになる可能性がある。

国立精神・神経センターでは、気分障害領域の国際共同治験がこれから実施される予定であり、これらの問題にどう対応していくか苦慮しているところである。精神疾患領域においてはこれから経験が積み重ねられていくという段階であるが、他疾患領域以上に倫理的側面も含めて実施機関、製薬企業、主任研究者などが知識や知恵を共有していく必要があると考えている。

参考文献

- 1) Patricia MD. et al. Health Economics 14 : 269-292, 2005
- 2) 福原浩行, 医薬産業政策研究所リサーチペーパーシリーズNo31, 2006
- 3) Rush AJ. et al. Control Clin Trials, 25 : 119-142, 2004
- 4) BARRY MB. et al. N Engl J Med, 345 : 861-9, 2001
- 5) Taylor, A. L. et al. N Engl J Med, 351 : 2049-2057, 2004
- 6) Uyama Y et al, Clin Pharmacol Ther, 78 : 102-113, 2005
- 7) The International HapMap Consortium, Nature, 437 : 1299-320, 2005
- 8) Pearson H, Nature, 440 : 388, 2006

第 103 回日本精神神経学会総会

シンポジウム

自殺対策のための戦略研究：J-MISP について

山田 光彦 (国立精神・神経センター精神保健研究所)

高橋 清久 (財団法人精神・神経科学振興財団)

我が国における自殺死者数は年間 3 万人を超える高水準が続いており、自殺者数の減少に向けた取り組みは安心・安全な社会を構築するために重要かつ緊急の課題である。そのため、効果的な支援方法に関するエビデンスを大規模多施設共同研究により構築し、今後の政策立案に役立てることを目的として「自殺対策のための戦略研究 (Japanese Multimodal Intervention Trials for Suicide Prevention) : J-MISP」が実施されることとなった。具体的には、全国各地の先駆的な取り組みを踏まえ、2 つの試験研究、「複合的自殺対策プログラムの自殺企図予防効果に関する地域介入試験 (NOCOMIT-J)」及び「自殺企図の再発防止に対する複合的ケースマネジメントの効果：多施設共同による無作為比較試験 (ACTION-J)」が平成 18 年度よりスタートしている。本戦略研究の推進により、我が国の自殺率の減少を目指した施策に大いに役立つものと期待している。

1. はじめに

我が国の経済は成長をとげ、生活も豊かになった。暮らし向きの意識でも、生活の満足感、中流意識を多くの国民が感じている。しかし、既に我が国は、少子高齢化の急速な進行や都市部への人口の集中など社会保障を取り巻く大きな変化を経験している。同時に、社会経済をはじめとする変化の流れは、国民生活にも大きな変化をもたらしており、多くの人々にとって、人生の生き方や生活の取り組みのモデルが見つからない状態、すなわち先々が不透明であることからくる不安も生じさせていると言えよう。

一方、わが国では平成 10 年に年間自殺者が前年度比 130 % 以上という、他国に類のない激増をみており、しかもこれ以降自殺者数は毎年 3 万人を超えたまま高止まりの状況が続いている (表 1)。実に、交通事故による死者数の約 5 倍もの人が毎年自殺によって命を落としているのである。自殺死亡率は世界で 10 位、G7 の中で最高率であり、自殺者数の減少に向けた取り組みは安心・安全な社会を構築するために重要かつ緊急の課題

である。このような中で、自殺防止対策有識者懇談会は「自殺予防に向けての提言」を平成 14 年に報告しており、社会全体として自殺に取り組むことが提言された。このように、わが国の社会において自殺問題は極めて深刻な問題でありその対策は急務である。さらに、自殺未遂はその 10 倍以上ともいわれており、自殺や自殺未遂によって家族や友人など周囲の人々が受ける心理的影響を考慮すると、毎年、百数十万人の人々が自殺問題に苦しんでいることになる。

諸外国では、自殺した人の 80~100 % が生前に精神障害に罹患していたことが WHO 資料に報告されている¹⁾。そのうち、約 3 割が気分障害、次いでアルコール/物質関連障害、統合失調症の

表 1 日本の現状、客観的事実

- ・自殺死者数は年間 3 万人を超える高水準
- ・自殺死亡率は 10 万人あたり約 24 人/年
- ・世界で第 10 位、G7 の中で第 1 位
- ・交通事故死亡の約 5 倍
- ・約 15 分に 1 人死亡、1 日に約 90 人が死亡

順で、自殺行動直前のプロセスにおいて精神障害の関与が報告されているのである。逆に、自殺の生涯危険率は、うつ病に代表される気分障害で6～12%、アルコール依存症で7～15%、統合失調症で4～10%である。また、罹病疾患数に比例して不眠頻度が増大すること、不眠（特に悪夢を伴う）を合併するうつ病では自殺率が高いことなどがコホート研究等で示されている。これらの事実は、不眠や他の身体愁訴がうつ病や自殺ハイリスク者の早期発見、早期介入のための有用な臨床指標となる可能性を示唆している。このように、うつ病や統合失調症、アルコール依存症などの精神疾患は常に自殺の背景として重要であり、自殺防止のために精神科医療の果たすべき役割は大きい。警視庁の発表においても、我が国の自殺の原因・動機の第1位は健康問題（精神科疾患を含む）である¹⁾。

今回、自殺対策のための実証的根拠を得ることを目的として、厚生労働科学研究費補助金こころの健康科学研究事業により「自殺対策のための戦略研究（Japanese Multimodal Intervention Trials for Suicide Prevention, J-MISP）」が開始された。本稿では、この戦略研究プログラムが開始された背景とその全体像について紹介することを試みる。

2. 「自殺対策のための戦略研究：J-MISP」の背景

近年の自殺死亡者数増加の背景には、健康問題（精神疾患・身体疾患）、経済・生活問題、家庭問題の他、人生観・価値観や地域・職場・学校教育のあり方の変化等、様々な社会的要因が複雑に関係しており、予防対策の実施に当たっては多角的な検討と包括的な対策が必要になる。しかし、効果的な複合的自殺予防対策のあり方に注目した研究および施策は甚だ不十分な現状である。そのため、全国各地の先駆的な取り組みの経験を踏まえ、大規模多施設共同研究で効果的な支援方法に関するエビデンスを構築して今後の政策立案に役立てることが必要である。具体的には、「地域特性に

応じた複合的自殺予防プログラムの開発（ポピュレーションアプローチ）」「自殺企図者の再発防止策の開発（ハイリスクアプローチ）」が必要であり、自殺者数の減少に向けた取組みが重要かつ緊急の課題として必要と考えられた。そこで、このような背景のもとに平成17年度より開始された2つの「戦略研究課題」の1つとして、「糖尿病予防のための戦略研究」とともに「自殺対策のための戦略研究」が選定された。

戦略研究とは、わが国を支える多くの国民の健康を維持・増進させるために、優先順位の高い慢性疾患・健康障害を標的として、その予防・治療介入および診療の質改善介入など、国民の健康を守る政策に関連する「実証的根拠（エビデンス）」を生み出すために実施される厚生労働科学研究費補助金による大型の研究プログラムである。平成17年度より創設された戦略研究は、「厚生労働省が、あらかじめ国民のニーズにもとづいて策定された行政の方針に従って具体的な政策目標を定めた上で、成果（アウトカム）指標と研究計画の骨子を定める」という点で成果指標、研究計画をすべて研究者に一任してきたこれまでの厚生労働科学研究の一般公募研究あるいは班研究とは一線を画すものである。戦略研究の成果指標および研究計画の骨子は、その研究成果を「政策」として全国に均てん化することを前提として作成されなければならない。つまり、戦略研究はその成果が「現実的な問題解決」のために利用されることを前提として実施される研究なのである。

欧米では、「数多くの客観的な証拠」に基づいて各種疾患の予防・診断・治療の標準化が試みられ、「理論や経験に依存した医療」から「実証的根拠に基づく医療」への転換が図られてきた。しかし、我が国ではこうした臨床研究への取り組みが大きく立ち遅れており、全国的かつ継続的な調査もきわめて少ない。こうした現状は、日本学術会議の報告（平成16年5月20日）「我が国における臨床疫学研究推進のための基盤整備について」にも示されているところである³⁾。

例えば米国では、National Institute of Men-

tal Health (NIMH) が多額の費用を提供し、うつ病患者 4000 名が参加する大規模臨床研究 The Sequenced Treatment Alternatives to Relieve Depression (STAR*D) Study⁴⁾、抗精神病薬の効果と安全性を比較した大規模多施設無作為二重盲検比較試験：The Clinical Antipsychotic Trials of Intervention Effectiveness (CATIE) Study⁵⁾、などが行われている。こうした公的研究費による大型多施設共同研究を、我が国でそっくり同じに実施する必要性について論じるつもりはない。しかし、両プログラムともに長期間にわたり多施設共同で行われた「高額の研究費（国費）」を必要とする実証的医学研究であることを指摘しておきたい。この事実は、米国政府が「こころの健康」を重大な医療保健福祉における課題であると認識していることを明瞭に示していると考えられる。

ここで、公共政策としての自殺対策について少し考えてみたい。例えば、集中豪雨の後に河川が氾濫し今にも堤防が決壊しようとしている時、皆で協力して土嚢を積むことによって被害を未然に防ぐことができるかもしれない。しかし、本当の原因である「上流の森林開発」についての理解や、その川の「生態系の変化」などを十分に考慮しない限り、「100年もつ頑丈な堤防」を適切に設計することはできない。自殺対策についても同様である。何においても今すぐやれる施策を迅速に実施することはとても大事である。しかし、医療や保健福祉をより良くしていくためには、「その介入方法に効果があるのか」「その対策が社会にどんな予想外の影響を与えるのか」などコツコツと検証し、科学的な証拠を積み上げていくしかない。

3. 「自殺対策のための戦略研究：J-MISP」の実施体制

本戦略研究の実施主体は、財団法人精神・神経科学振興財団（以下、財団）であり、国立精神・神経センターが高度先進的な研究機関として平常的かつ専門的な研究支援を行っている（表2）。また、財団は「自殺対策のための戦略研究：J-MISP」を適切に進捗させ、研究の精度を高く維持するために、各研究グループから独立した複数の委員会を組織している（表3）。

具体的には、2つの試験研究、「複合的自殺対策プログラムの自殺企図予防効果に関する地域介入研究（NOCOMIT-J）」および「自殺企図の再発防止に対する複合的ケースマネジメントの効果：多施設共同による無作為化比較研究（ACTION-J）」を開始している（表4）。詳細は他稿に譲るが、以下に、2つの試験研究プロジェクトについて簡単に紹介する。

複合的自殺対策プログラムの自殺企図予防効果に関する地域介入研究（NOCOMIT-J）、戦略研究リーダー：大野 裕 慶應義塾大学教授、サブリーダー：酒井明夫 岩手医科大学教授、事務局長：大塚耕太郎 岩手医科大学講師）の主たる研

表2 自殺対策のための戦略研究

統括責任者：プログラムディレクター 財団法人 精神・神経科学振興財団 理事長 高橋 清久 運営管理担当：プログラムオーガナイザー 国立精神・神経センター精神保健研究所 部長 山田 光彦 事務ロジスティック担当： 財団法人 精神・神経科学振興財団 戦略研究担当事業部
--

表3 自殺対策のための戦略研究：J-MISP に設置されている委員会

運営委員会：委員長（日本医療機能評価機構 理事 上田 茂）
研究倫理委員会：委員長（九州大学 教授 神庭重信）
研究評価委員会：委員長（国立精神・神経センター 総長 樋口輝彦）
進捗管理委員会：委員長（統計数理研究所 教授 藤田利治）
流動研究員選考委員会：委員長（国立精神・神経センター 部長 吉川和男）

表4 自殺対策のための戦略研究：J-MISPで実施されている大規模多施設共同研究課題

-
- (1) 複合的自殺対策プログラムの自殺企図予防効果に関する地域介入研究 (A community intervention trial of multimodal suicide prevention program in Japan: A Novel multimodal Community Intervention program to prevent suicide and suicide attempt in Japan, NOCOMIT-J)
 研究リーダー：大野 裕 慶應義塾大学教授 (精神医学)
 サブリーダー：酒井 明夫 岩手医科大学教授 (精神医学)
 事務局 長：大塚耕太郎 岩手医科大学講師 (精神医学)
- (2) 自殺企図の再発防止に対する複合的ケースマネジメントの効果：多施設共同による無作為化比較研究 (A randomized, controlled, multicenter trial of post-suicide attempt case management for the prevention of further attempts in Japan, ACTION-J)
 研究リーダー：平安 良雄 横浜市立大学教授 (精神医学)
 研究顧問：有賀 徹 昭和大学教授 (救急医学)
 事務局 長：河西 千秋 横浜市立大学准教授 (精神医学)
-

究目的は、自殺死亡率が長年にわたって高率な地域において、1次予防から自死遺族対策までのさまざまな自殺対策を組み合わせた新しい複合的自殺予防対策プログラム（以下自殺対策プログラムと略）を介入地区で実施し、通常の自殺予防対策を行う対照地区と比較して、自殺企図（自殺死亡および自殺未遂）の発生に効果があるかどうかを検討することである（ポピュレーションアプローチ）。さらに、近年急激に自殺者数が増加した大都市圏において有効な自殺予防対策を確立するため、人口が密集している都市部地域において新しい自殺対策プログラムを実施し、自殺企図（自殺死亡および自殺未遂）の発生に効果があるかどうかも並行して副次的に検討することである。2次予防対策においてスクリーニングされたうつ病/自殺ハイリスク者には適切な精神医学的対応が不可欠である。この役割は、精神科専門病院、総合病院精神科、精神科診療所等が果たしていくことになる。また、自殺予防対策で言う3次予防とは、自死遺族が近親者の自殺を自らの責任であるかのように捉えたり、隣人や地域との交流を閉ざしてしまわないように配慮し、グリーフワーク（喪の作業）を支えるケアを提供することを指す。このプロジェクトは、様々な行政機関・医療機関・教育機関やNPO等の組織、そして、地域住民の方々の理解と協力なしには研究を進めることができない大規模な地域介入研究である。

自殺企図の再発防止に対する複合的ケースマネジメントの効果：多施設共同による無作為化比較研究 (ACTION-J, 戦略研究リーダー：平安良雄 横浜市立大学教授, 研究顧問：有賀 徹 昭和大学教授, 事務局 長：河西千秋 横浜市立大学准教授)の主たる研究目的は、救急医療施設に搬送された自殺未遂者に対して、精神科的評価および心理教育を行い、その後試験介入としてケースマネジメントを行い、試験介入が通常介入と比較して自殺企図再発の防止に効果があるかどうかを検証することである（ハイリスクアプローチ）。ケースマネジメントの経過の中で、研究参加者の病状悪化や自殺リスクが高まった場合には迅速な精神医学的対応が不可欠である。この役割は、精神科専門病院、総合病院精神科、精神科診療所等が果たしていくことになる。主要評価項目は自殺企図（自殺既遂および未遂）の再発としている。このプロジェクトは、救急医療施設に搬送された自殺未遂者に対する現実的で効果的な支援法の開発を目指した、目標対象者数が1000名を超える大規模多施設共同研究である。

5. 自殺対策基本法および自殺総合対策大綱の成立をうけて

平成18年6月に「自殺対策基本法」が成立し、同年10月には異例な早さで施行された¹⁾。この法律の目的は、自殺対策を総合的に推進して、自

表5 自殺対策基本法の概要

○本法の目的
自殺対策を総合的に推進して、自殺の防止を図り、あわせて自殺者の親族等に対する支援の充実を図り、もって国民が健康で生きがいを持って暮らすことのできる社会の実現に寄与すること
○内容の概要
1 自殺対策の基本理念
①自殺が個人的な問題としてのみとらえられるべきものではなく、その背景に様々な社会的な要因があることを踏まえ、社会的な取組として実施されなければならないこと。
②自殺が多様かつ複合的な原因および背景を有するものであることを踏まえ、単に精神保健的観点からのみならず、自殺の実態に即して実施されるようにしなければならないこと。
③自殺の事前予防、自殺発生の危機への対応および自殺が発生した後又は自殺が未遂に終わった後の事後対応の各段階に応じた効果的な施策として実施されなければならないこと。
④国、地方公共団体、医療機関、事業主、学校、自殺の防止等に関する活動を行う民間の団体その他の関係する者の相互の密接な連携の下に実施されなければならないこと。
2 国、地方公共団体、事業主、国民のそれぞれの責務
3 政府による自殺対策大綱の策定と、国会への年次報告
4 国・地方公共団体の基本的施策
①自殺の防止等に関する調査研究の推進並びに情報の収集、整理、分析および提供の実施並びにそれらに必要な体制の整備
②教育活動、広報活動等を通じた自殺の防止等に関する国民の理解の増進
③自殺の防止等に関する人材の確保、養成および資質の向上
④職域、学校、地域等における国民の心の健康の保持に係る体制の整備
⑤自殺の防止に関する医療提供体制の整備
⑥自殺する危険性が高い者を早期に発見し、自殺の発生を回避するための体制の整備
⑦自殺未遂者に対する支援
⑧自殺者の親族等に対する支援
⑨民間団体が行う自殺の防止等に関する活動に対する支援
5 内閣府に、関係閣僚をメンバーとする自殺総合対策会議を設置

自殺の防止を図り、あわせて自殺者の親族等に対する支援の充実を図り、もって国民が健康で生きがいを持って暮らすことのできる社会の実現に寄与することとされている(表5)。さらに、平成19年6月には、「自殺総合対策大綱」が閣議決定された¹⁾。我々は、「自殺対策基本法」と「自殺対策大綱」を強固な足場として「自殺対策のための戦略研究」を実施していくことにより、わが国で自殺対策を進めていく上での実証的根拠を提供していくことができると期待している。

6. おわりに

自殺の背景は複雑であり、生物・心理・社会的要因を十分に検討した複合的自殺対策プログラムの重要性が指摘されている。また、うつ病や統合失調症、アルコール依存症などの精神疾患は常に

自殺の背景として重要であり、自殺防止のための最前線として精神科医療の果たすべき役割は大きい。「本人が自殺しようとしているのだから止めることはできない」という意見を聞く機会も少ない。しかし、これは大きな誤解である。世の中に「あっても良い自殺」などないのである。我々が「自殺対策のための戦略研究」を通じて真に伝えるべきは、「自殺は避けることができる」というメッセージである。この理念があればこそ、自殺対策が「持続性をもった当たり前のもの」として社会に根をおろしていくものであると考える。

文 献

- 1) 自殺対策大綱, 自殺対策基本法, 自殺防止対策有識者懇談会: 自殺予防に向けての提言, 基本的自殺統計資料他は, 国立精神・神経センター自殺予防総合対策センタ

一のホームページ「いきる」にて入手可能. <http://www.ncnp.go.jp/ikiru-hp/>

2) 自殺対策のための戦略研究ホームページ <http://www.jfnm.or.jp/itaku/J-MISP/index.html>

3) 日本学術会議報告「我が国における臨床疫学研究推進のための基盤整備について」<http://www.scj.go.jp/ja/info/kohyo/pdf/kohyo-19-t1013.pdf>

4) Rush, A.J., Fava, M., Wisniewski, S.R., et al.:

STAR*D Investigators Group. Sequenced treatment alternatives to relieve depression (STAR*D): rationale and design. *Control Clin Trials*, 25; 119-142, 2004

5) Lieberman, J.A., Stroup, T.S., McEvoy, J.P., et al.: Clinical Antipsychotic Trials of Intervention Effectiveness (CATIE) Investigators; Effectiveness of antipsychotic drugs in patients with chronic schizophrenia. *N Engl J Med*, 353; 1209-1223, 2005

新規うつ病治療標的分子としてのfrizzled-3 proteinの可能性

山田 光彦

山田 美佐

高橋 弘

丸山 良亮

尾崎 紀夫

岩田 伸生

臨床薬理の進歩2008別刷
財団法人臨床薬理研究振興財団

新規うつ病治療標的分子としてのfrizzled-3 proteinの可能性

Frizzled-3 protein as a candidate molecular target for novel antidepressant

山田 光彦*¹ 山田 美佐*² 高橋 弘*³ 丸山 良亮*⁴ 尾崎 紀夫*⁵ 岩田 伸生*⁶

Key words : うつ病, 抗うつ薬, 7回膜貫通受容体, 遺伝子多型, 創薬

はじめに

うつ病の治療は、主に抗うつ薬による薬物療法を中心に行われているが、現在用いられている抗うつ薬は、臨床効果発現までに数週間を要する点、臨床効果に先駆けてしばしば副作用が出現する点など、理想的な薬物とは言い難い。新規抗うつ薬の開発は神経伝達物質の薬理学に基づいて行われており、選択的セロトニン再取り込み阻害薬などの開発が進み一定の成果を上げている。しかしながら、これらの医薬品もこれまでに用いられている抗うつ薬と同様、シナプス間隙におけるモノアミン濃度を増加させることにより抗うつ作用を発揮するという「モノアミン仮説」に基づく抗うつ薬の限界を超えるものではない。実際、こうした急性薬理作用が脳内において直ちに起こるのに対して、臨床場面では治療効果の発現に数週間かかることが経験的にわかっており、何らかの遺伝子発現機構を介する神経可塑的变化が大きく関与していると考えられる。そのため、うつ病治癒機転の基盤となる神経化学的メカニズムを、既存の仮説にとらわれることなく解明することは急務の課題である。

そこで我々は、うつ病の治癒機転に関与する機

能分子を未知タンパク質も含めてスクリーニングするために、抗うつ薬の長期投与後にラット脳内で発現が特異的に変化する遺伝子をDifferential Cloning法により707種同定し、順にantidepressant related gene (ADRG) #1~707と命名してきた¹⁾。本研究では、特にADRG #78に着目しfrizzled-3 proteinとして同定するとともに、新たなうつ病治療標的分子としての可能性について検討した。

抗うつ薬関連分子 frizzled-3 proteinの同定

はじめに、cDNA全長塩基配列を決定するため、ADRG #78フラグメントの塩基配列を決定した。次に、得られた部分塩基配列をもとにプライマーを設計し、残りの5'側および3'側の塩基配列をRACE法により決定した。その結果、ADRG #78 cDNA全長は2764bpであり、372~2730bpがopen reading frameであることが明らかとなった²⁾。

予想アミノ酸配列の疎水性検索の結果、7箇所疎水性領域を持つことが予測された。次いで、FASTA法を用いてEMBL/GenBankデータベースに登録されている既知遺伝子およびESTとの検索を行った結果、ADRG #78は、マウスfrizzled-

*¹YAMADA MITSUHIKO 国立精神・神経センター精神保健研究所 老人精神保健部

*²YAMADA MISA 同 上

*³TAKAHASHI KOU 同 上

*⁴MARUYAMA YOSHIAKI 同 上

*⁵OZAKI NORIO 名古屋大学大学院医学系研究科 細胞情報医学専攻脳神経病態制御学講座

*⁶IWATA NAKAO 藤田保健衛生大学医学部 精神医学教室

3proteinと95.2%，ヒトfrizzled-3 proteinと88.5%の相同性を示した。また，予想アミノ酸配列について検索を行った結果，マウスfrizzled-3 protein³⁾と99.4%，ヒトfrizzled-3 protein⁴⁾と97.7%の相同性を示した。ラットfrizzled-1 protein，およびラットfrizzled-2 protein⁵⁾と相同性検索を行ったところ，アミノ酸配列でそれぞれ50.6%，44.5%の相同性であった。以上のことより，ADRG#78は，マウスおよびヒトfrizzled-3 proteinのホモログ(表1)であると考えられた²⁾。

Frizzled proteinファミリーは，動物の発生に重要なタンパクであり，体軸形成や陥入運動などの形作りの基盤となる初期発生過程のプロセスから種々の組織・器官の形成に至るまで，さらに細胞増殖抑制など広く研究されている。また，frizzled proteinファミリーは7回膜貫通型受容体であり，アゴニストであるWnt (the Wingless type MMTV integration site family of signaling proteins) との結合により，GSK-3 β の活性が抑制され， β -cateninが蓄積する(図1)。 β -cateninは，細胞膜近傍での接着や運動の制御および核に移行して下流分子の転写制御等を行うことが報告されている^{6,7)}。感情障害治療薬であるリチウムがGSK-3 β の活性を抑制し β -cateninを蓄積させること，GSK-3 β のアンタゴニストがラットに抗うつ薬と同様の行動変化を起こさせることが報告されており^{8,9)}，これらの知見はうつ病の治癒機転にfrizzled-3 proteinカスケードが重要であるという

表1 抗うつ薬関連分子frizzled-3 proteinの同定

- ・ Wntをアゴニストとする7回膜貫通型受容体
- ・ 初期発生過程，組織・器官の形成等に関与
- ・ 成体中枢神経系における機能は不明
- ・ ヒトfrizzled-3 protein遺伝子は染色体8p21に存在
- ・ 48 Kbのサイズに8のエクソンが存在
- ・ 8箇所の遺伝子多型 (SNP) が登録

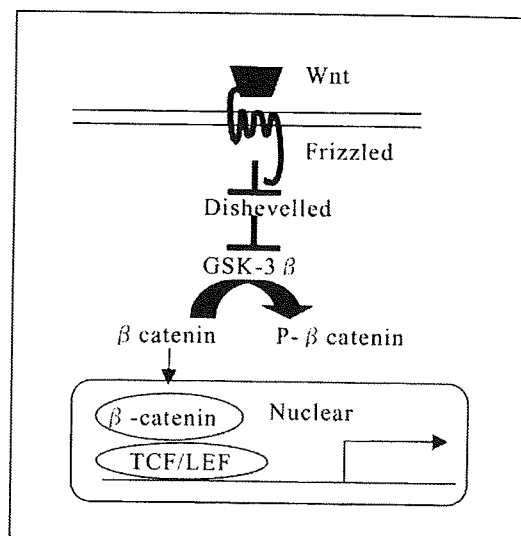


図1 Wnt-Frizzledシグナルカスケード

Frizzled proteinファミリーは7回膜貫通型受容体であり，アゴニストであるWnt (the Wingless type MMTV integration site family of signaling proteins) との結合により，GSK-3 β の活性が抑制され， β -cateninが蓄積する。 β -cateninは，細胞膜近傍での接着や運動の制御および核に移行して下流分子の転写制御等を行うことが報告されている。

我々の仮説をサポートするものである。また，バルプロ酸も，GSK-3 β により調節を受けている神経突起の再編成に関与すると報告されている⁹⁾。さらに，GSK-3 β のアンタゴニストであるAR-A014418がラットに抗うつ薬と同様の行動変化を起こさせることが報告された¹⁰⁾。これらの報告は，Wnt/frizzledシグナル伝達系 (β -catenin pathway) が感情障害に深く関与していることを示唆するものである。生体内のタンパクは複雑な高次構造を形成しているが，7回膜貫通型受容体では，1アミノ酸の変異によりアゴニストとの結合が阻害されるなどのケースが報告されており，frizzled-3 proteinのアミノ酸変異を伴う遺伝子多型と抗うつ薬治療抵抗性の関連が考えられる。

中枢神経系における発現分布

我々は，全身各組織，脳，発達段階におけるfrizzled-3 proteinの脳内発現量の変化を確認する

ため、Differential Cloning法で得られたADRG #78フラグメントを [³²P]-dCTP存在下ランダムプライム法によりラベルし、ラット組織、脳各部位および発生の段階におけるfrizzled-3 proteinの発現分布についてNorthern Blotting法により検討した。

frizzled-3 proteinの発現は、脳、精巣、子宮に多く、次いで腎臓、肺、脾臓、胃、皮膚で認められた²⁾。これらの組織では、約11.0Kbに単一バンドとして転写物が認められた。一方、心臓、肝臓、小腸、骨格筋、胸腺、胎盤には認められなかった。精巣においては、約1.8Kb付近に主転写物のバンドと11.0Kb付近に副転写物の2つのバンドを検出した。次に、発生の過程での脳における発現を調べたところ、E20.5より出生後4週間まで高レベルで発現していた²⁾。また、脳では、視床下部で多く、次いで大脳皮質、小脳、海馬、視床、橋と延髄、脊髄に認められ、中脳ではほとんど認められなかった²⁾。

抗うつ薬およびECTによる frizzled-3 proteinの発現変化

Differential Cloning法は、一度に多数の遺伝子の発現変化を調べることができるという利点があるが、定量性に優れた解析ではないために、false positiveとして検出される場合もしばしばある。そこで本研究では、frizzled-3 proteinの特異的プライマーを設計し、real time RT-PCR法により抗うつ薬によるmRNA発現変化の再確認および定量的解析を行った。発現量は、house keeping geneであるβ-actinの発現量により補正した。データは平均±標準誤差 (SEM) で示し、群間の差の検定はStudent-t-testを用い、p<0.05を統計学的に有意と判定した。

図2に示したとおり、抗うつ薬長期投与群でのfrizzled-3 proteinのmRNA発現は、imipramine群で49.7±10.1%、sertraline群で62.4±16.1%と、両群で有意な減少を示した²⁾。一方、抗うつ薬単回

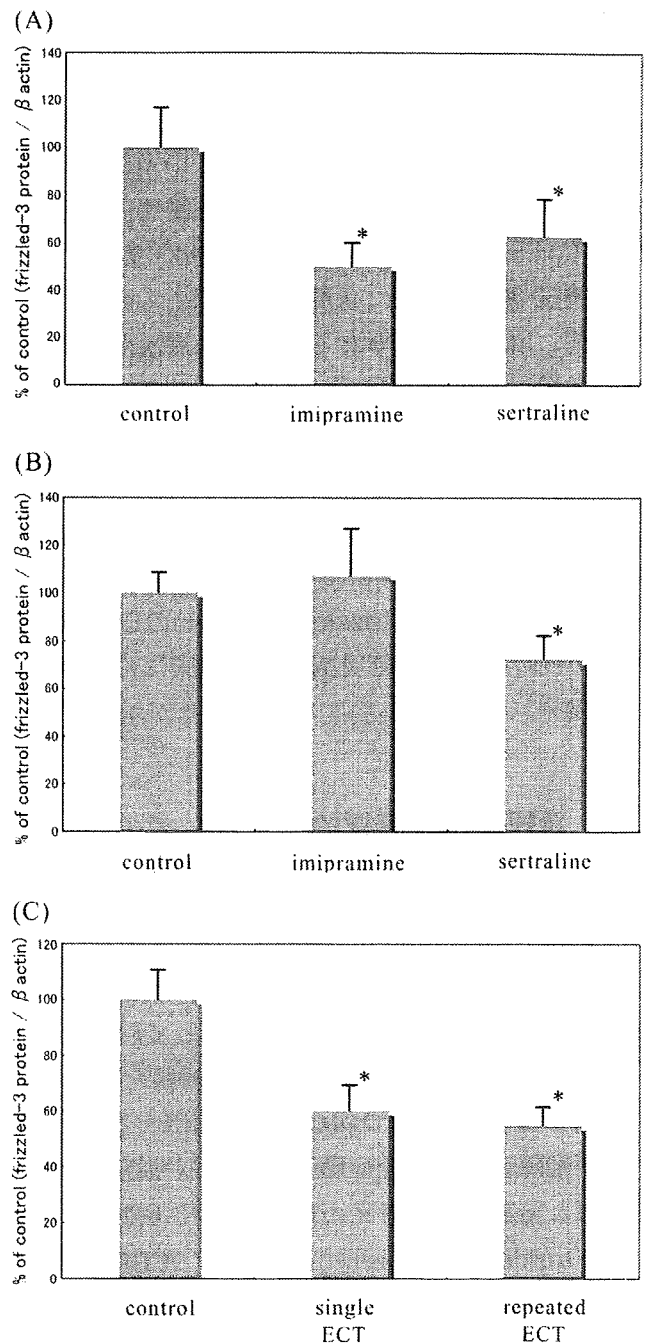


図2 Frizzled-3 proteinの発現変化

抗うつ薬 (imipramine 10mg/kg, sertraline 10mg/kg) を1日1回3週間 (A), 1日間 (B), または、ECTを1回 (C, single), 隔日1回計7回 (C, repeated) 施行したラット前頭葉皮質サンプルを用いてreal time RT-PCR法によりfrizzled-3 proteinの発現量を定量した。発現量は、house keeping geneであるβ-actinの発現量により補正した。データは平均±標準誤差 (SEM) で示し、群間の差の検定はStudent-t-testを用いた。
*p<0.05を統計学的に有意と判定した。