

寄稿

series
25

臨床薬理学海外研修を終えて

イタリア共和国ボローニャにありますがボローニャ大学(Alma mater studiorum—University of Bologna)にての2年2ヶ月海外研修より帰国し1年が経ちました。イタリアのペースになっていた体内時計もこの1年で、どうにか日本のペースに戻ったようです。美味しい食べ物と、中世の建物、美しい音楽のある恵まれた環境で、充実した研究生活を送る事が出来ました。イタリアでの研修を振り返り、研究の概要と成果を報告いたします。

Department of Psychiatry, Alma Mater Studiorum, University of Bologna, Italy

加藤 正樹 (関西医科大学精神神経学教室 講師)

世界最古、ボローニャ大学

ボ

ローニャはイタリア北部のエミリアロマーニャ州の州都です。エミリアロマーニャ州には他にもプロシュート(ハム)やパルメザンチーズで有名なパルマ、バルサミコ酢やフェラーリ工場で有名なモデナがあります。また、著名な観光地であるフィレンツェやヴェネチアまでも1時間ほどで行くことができます。ボローニャ大学は1088年に創設されたヨーロッパ最古かつ、現存する大学では世界最古で、ダンテ、ガリレオ、コペルニクスなども学んだ大学であり、現在10万人を超える学生が在籍しています。世界で最初に解剖学講義を行ったことでも知られており、その時の教室が今でも残されており、見学する事が出来ます。ボローニャは、大学を中心とした学生の街であり、イタリアの胃袋ともいわれる食の街です。また、コンサートやオペラ、見本市など公共の催し物にイタリアで一番お金をかけていること、オペラをはじめとする音楽教育に対する取り組みが

評価され、ユネスコの文化活動遺産に指定されています。その政治的傾向と、建物の色から赤の街ともよばれています。街の中心には、大きくて美しいマッジョーレ広場があり、その一角に教会、市庁舎、噴水そして2本の斜塔などの壮麗な建造物が並び、その広場を中心に外に向かって放射状に道路が走り、中世の城壁と城門に囲まれています。街中に張り巡らされたポルティコとよばれる屋根付きの柱廊や、



斜塔の上からボローニャの街を見下ろす。



イタリアでも屈指のオペラ劇場などもあり、観光客も多く訪れます。私の所属したDr.Serrettiの研究室は、街を囲む城壁の西側の壁沿いにありました。

Dr. Serrettiは、serotonin transporter gene promoter polymorphism(5-HTTLPR)(セロトニントランスポーター遺伝子多型)と抗うつ薬の臨床効果の関連性に早くから注目し、その結果を世界で初めて報告したSmeraldiのグループの中心となっていた精神科医であり、その後も継続的に、感情病圏における薬理遺伝分野で第一線で活躍しています。この研究室の主要構成メンバーは精神科医3名と臨床心理士2名と、とてもコンパクトなのですが、ここでは薬理遺伝研究以外にも臨床薬理、臨床心理に関する研究を活発に行い、年間40本ほどの論文を報告しております。そのような研究室で、私が携わっていた研究概要と研究成果を報告します。

研究概要、目的

近

年、我が国において高頻度に認められるうつ病は、患者の健康のみならず社会全体に大きな負担をもたらしているのは周知の事実です。選択的セロトニン再取り込み阻害薬(SSRI)の登場により、うつ病の薬物療法は大きく進歩しましたが、3~4割の患者では適切な用量および投与期間におきましても、良好な治療反応が得られません。このような反応性の個体差においては、遺伝学的要因が何らかの役割を果たしているであろうとの仮説に基づき、セロトニン(5-HT)関連遺伝因子を中心に様々な遺伝子多型とSSRIの臨床効果との関連性を評価しています。つまり、ある抗うつ薬が、どの遺伝子多型(またはその組み合わせ)を持つ人に効果が良好であるのか、あるいは副作用が出やすいのかを探索する研究です。この研究のゴールは、同定された、抗うつ薬反応性予測因子を薬物治療の前に把握することにより、個々の症例に適切な薬物療法(いわゆるテーラーメイド治療)を行う指標を提示する事と考えています。客観的評価指標の乏しい精神科領域において、早期症状改善につながる新たな指標の獲得は重要であり、その結果、うつ状態の遷延や副作用で苦しむ症例の軽減につながり、社会全体の生産性の向上にも寄与できるものと考えています。

抗うつ薬の臨床効果予測因子を同定するために、

機能的な観点から候補遺伝子多型をしぼり、自ら集めたサンプルで探索的にその多型の影響を確認すること、そして、それらの遺伝子多型の影響に関して、自らのデータを含む、公表されている結果を用いてメタアナリシスを行いました。

●5-HTTLPRがうつ病患者におけるSSRI治療効果に与える影響-meta-analysis(メタ解析)-

この研究は、すでに我々も解析した5-HTTLPRとSSRIの治療効果との関連研究についてのmeta-analysis (n=1435)です。この試験では表現型としてremission rate(寛解率)(Hamilton Rating Scale for Depression(HAM-D)7点以下)とresponse rate(反応率)(HAM-D50%以上改善)、4週以前のresponse rateを評価しました。その結果、全対象においてIアレル保持者がsアレル保持者よりもSSRIに対して有意に良好な反応を示すことが確認されました(p=0.00001-0.003)。さらに、これまで統一した見解が得られていないアジア人のみを対象にした結果においても、各研究間にheterogeneity(不均一性)があったものの、欧米人同様に、ここでもIアレル保持者がsアレル保持者よりも、治療反応性が良いと確認され(p=0.0001-0.004)、我々のサンプルでの結果と一致していました。また、アジア人においてみられる各試験間の結果の相違は、5-HTTLPRのアレル頻度が欧米人と異なることが原因の1つとして考えられていますが、このアレル頻度の差よりも、評価する期間の違いを含めた評価方法が大きく起因していると考えられました。このmeta-analysisにおける5-HTTLPRの影響はOR.2.57と大きくはありませんがSSRIの治療反応に確かに影響しており、他の遺伝因子の影響を考慮する必要がありますが、今後、有効な評価指標となり得るものであると考えられました。この研究成果はMolecular Psychiatry に報告しましたMolecular Psychiatry(2007)12, 247-257。

●うつ病の薬理遺伝学研究における

ガイドラインの提案

上記のmeta-analysisに取り組んで、各研究間の方法論の相違を強く感じました。それが結果へバイアスをかけており、遺伝子多型が薬物の反応に与える影響の解釈を混乱させていると考えて、今後のう

うつ病の薬理遺伝学的研究を行う際の方法論をガイドラインとしてまとめました。研究に関連して生じやすい問題点を、1;DIAGNOSTIC AND CLINICAL ISSUES(診断および臨床における問題), 2;SOCIO-DEMOGRAPHICAL AND PSYCHOLOGICAL ISSUES(社会人口統計学および心理的問題), 3;TREATMENT ISSUES(治療における問題), 4;ASSESSMENT ISSUES(評価における問題), 5; STATISTICAL ISSUES(統計における問題), 6; GENETIC ISSUES(遺伝子における問題), 7; ETHICAL ISSUES(倫理的問題)の7つの観点から検討し、解決策や推奨される方法をまとめています。スーパーバイザーのDr.Serrettiの指示で取り組んだ、難しいテーマの論文ですが、うつ病の pharmacogenetics(薬理遺伝学)領域で、新たに研究に取り組む際や、論文を評価する際に役立つものになったと思います。Pharmacogenomics J 2008 Apr;8(2):90-100. として報告しました。

●薬物トランスポーターMultidrug resistance 1 (ABCB1/MDR1)遺伝子のパロキセチンの抗うつ効果への影響

薬物トランスポーターMultidrug resistance 1 (ABCB1/MDR1)遺伝子はP糖タンパク質をコードしている遺伝子です。P糖タンパク質は、消化管、腎尿細管、肝細胞等に発現し末梢組織の薬物動態に関与していますが、特に脳血液関門における、薬物の脳内移行性の調整する働きが重要です。SSRIであるパロキセチンは、P糖タンパク質の基質であるため、MDR1 遺伝子の機能的多型であり、互いに強い連鎖不均衡関係を持つ3つの多型C3435T, G2677T/A, C1236Tが、うつ病におけるパロキセチンの臨床効果と関連しているという仮説のもと、これらの関連を各多型、ならびに3多型のハプロタイプで解析したものです。G2677T/A 多型とパロキセチンの臨床効果において、2677Gとパロキセチンの反応性低下に有意な相関を認め(p=0.011)、さらにハプロタイプ解析にて、the wild variants haplotype(3435C-2677G-1236T)が、他のハプロタイプに比べ、パロキセチンの反応性の低下とより強い相関が認めました(p=0.006)。つまり、パロキセチンの脳内濃度が低いと想定される遺伝子多型の組み合わせにおいて、反応性の低下を認めま

した。さらにこの相関関係は、治療前のHAM-Dスコア、5-HTTLPR、およびパロキセチン血中濃度に影響されるものではないことも示しました。これらの結果より、我々は、パロキセチンのうつ症状の臨床効果予測に、測定の難しい脳内血中濃度を反映する因子としての可能性の観点からも、MDR1多型のハプロタイプ解析は有用であると考えました。Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry 2008 Feb 15;32(2):398-404.で報告しています。

●5-HT2A遺伝子多型は、日本人とイタリア人とで、異なる方向で抗うつ効果に影響する

日本人とイタリア人のサンプル(n=203)を使用し、セロトニン2A受容体(5-HT2A)の遺伝子多型(T102C)と抗うつ効果との関連性を検討した研究です。これまでに、我々は5-HT2Aに関し、日本人、イタリア人でそれぞれ報告しておりますが、この研究では両人種のサンプルを同時、かつ、ハミルトンうつ病評価尺度(HAM-D)の総スコアおよびCore(項目1, 2, 7, 8, 10, 13), Sleep(i項目4, 5, 6) Activity(項目7, 8)Anxiety(項目9, 10, 11, 12, 13)Psychic anxiety(項目9, 10), Somatic anxiety(項目11, 12, 13), Delusion(項目2, 15, 20)の下位症状を検討することで、この遺伝子多型が、他人種間で各症状にどのように影響しているのかを5-HTTLPRの影響も考慮し評価いたしました。5-HT2A T102C 多型において、日本人ではTアレル保持者がCアレル保持者よりも、delusion(p=0.012)とactivity(p=0.021)の項目でSSRIに対する有効性が低かった一方、イタリア人では、somatic anxiety(p=0.029)の項目でCアレル保持者の有効性がTアレル保持者よりも低い結果となりました。つまり、日本人とイタリア人では、この多型が異なったうつ症状の下位項目に影響し、さらにその影響は互いの人種で相反していました。5-HT2A阻害作用が多くの抗精神病薬や抗うつ薬のメインターゲットの1つであることも、今回の結果であるdelusion, activity, somatic anxietyと5-HT2A多型の有意な相関を裏付けてくれるものであると考えます。

この結果より、うつ症状のSSRIに対する反応は単一の現象ではなく、かつ人種によって遺伝子の影

響が異なっていると考えました。その原因の1つとして、5-HTTLPRや5-HT2A T102C以外の遺伝子多型の関与が考えられ、さらなる遺伝子多型を各人種で検討する試験が必要であると考えました。Psychiatric Research, 2009 May 15;167(1-2):97-105で報告しています。

●セロトニン受容体およびセロトニントランスポーター遺伝子多型が抗うつ薬の臨床効果に与える影響:総説

抗うつ薬の治療反応性と有害事象発現に関し、各種5-HT受容体およびセロトニントランスポーター遺伝子多型が及ぼす影響について、我々がこれまでに行ったpharmacogenetics研究に触れながら2本の総説を書きました。これらの論文は、Expert Rev Neurother. 2008 Jan;8(1):111-20.および臨床精神薬理,10(5):831-842, 2007.に掲載され、臨床精神薬理誌では年間優秀論文賞をいただきました。

TPH1 218A/Cおよび、G-protein beta3 825C/T遺伝子多型は、SSRIの効果、副作用に影響しないセロトニンを合成するTPHのうち、末梢に多く存在するTPH1の218A/C多型およびGNB3の825C/T多型と大うつ病患者におけるSSRIの治療反応性、および有害事象との相関を確認する目的で行われました。解析の結果、どちらの遺伝子多型ともHAM-D減少率、各週のresponder rateおよび、胃腸症状を含む有害事象の発現率との間に有意な相関は認められませんでした。この結果はそれぞれ、Neuropsychobiology 2007;56(4):167-171と Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry 2008;32:1041-4.で報告しています。

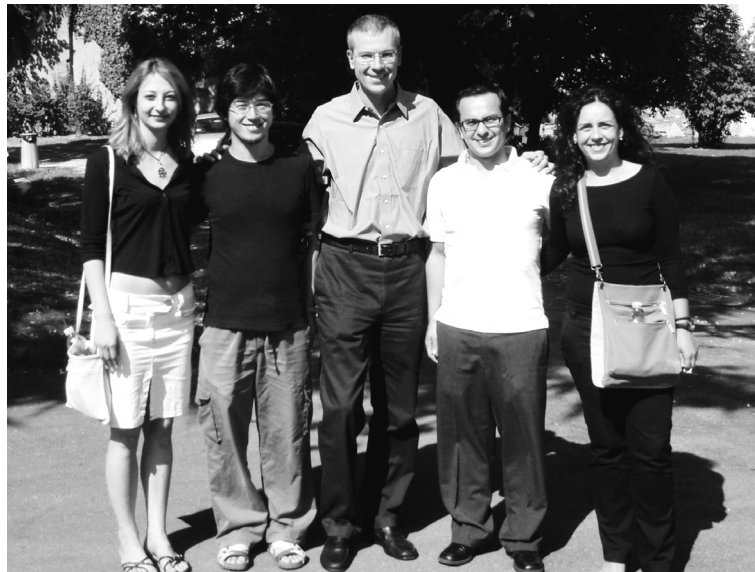
●5-HT1A遺伝子多型が、うつ病患者における抗うつ効果に及ぼす影響

post-synaptic, pre-synapticどちらにも存在しセロトニン神経系において重要な役割を担っている5-HT1A レセプターの薬理遺伝研究です。5-HT1A 遺伝子(HTR1A), のSNPsのうちプロモータ部にあるrs6295C/G多型はHTR1Aの表出や機能と関連があると報告されています。また、このSNPは他のSNPと強いlinkage disequilibrium(連鎖不均衡)関係にあるため、上述のHTR1Aの機能的および量的

な変化はrs6295C/G 以外のSNPsの影響を受けている可能性も示唆されます。そこで、我々は、HTR1A におけるいくつかのSNPs が影響しあって抗うつ薬の反応性と相関しているのではないかと、この仮説のもと、日本人うつ病患者におけるpharmacogenetic study(薬理遺伝学的研究)を行いました。その結果、rs10042486C/C (P<0.0001), rs6295G/G(P<0.0001)そしてrs1364043T/T(P.0.018)遺伝子保有者、つまりそれぞれの多型におけるmutant allele homozygotes(変異対立遺伝子のホモ接合体)、と抗うつ薬の良好な反応性とに有意な相関を認めました。さらに、これらの3SNPsすべてにおけるmutant allele homozygotesはさらに強固に、良好な反応性との相関が認められました。(HAM-Dスコアの経時的変化 (P=0.001), 第2週 (P<0.0001), 第4週 (P=0.007), and第6週 (P=0.048)response rate (P=0.0005) and remission rate (P=0.004)). またこの論文では、これまでに報告されている4つの論文でrs6265C/GのGenotypingの確認方法が間違っており、その結果、抗うつ効果に良好な影響を与える多型を反応しにくい多型として報告していることを指摘しました。Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet. 2009 Jan 5;150B(1):115-23で報告しています。

●うつ病患者における、抗うつ薬の薬理遺伝メタアナリシス

これまでに我々が探索的に検討してきた遺伝因子の結果を含む、抗うつ薬に関連すると報告されている遺伝子を対象として、抗うつ効果、副作用に与える影響をメタ解析したものです。8つの遺伝子(SLC6A4, HTR1A, HTR2A, TPH1, GNB3, BDNF, HTR3A and HTR3B)の9つの遺伝子多型が解析されました。研究間のheterogeneityを少なくするために、躁うつ病患者は可能な限り除外し、研究数が十分である場合は各種の薬剤、各人種群において再解析しました。研究間に有意なheterogeneity (p<0.10)がある時はrandom effect model(変量効果モデル)を用い、それ以外はfixed effect model(固定効果モデル)を用いました。パブリケーションバイアスを評価するために、



各国の研究者。中心がDr.Serretti ADDIN EN.REFLIST

funnel plotを作成しEgger法で対照性を解析しました。

臨床効果においては、TPH1 218C/C多型が754人を含む7つの研究を解析した結果、抗うつ薬への良好な反応性と関連していました(OR=1.62 p=0.005)。SSRIを用いている661人を含む6つの研究のみを対象にした結果においても同じ関連が認められました(OR=1.71, p=0.003)。また、BDNF 66Val/Met多型においてMet多型保持者において、490名を含む4研究を解析した結果、良好な抗うつ効果と関連がありました(OR=1.63, p=0.02)。STin2 12/12多型とHTR1A G/G多型は、アジア人において良好な抗うつ反応と関連していました(STin2:5研究-686サンプル- OR=3.89, p=0.03, HTR1A: 2研究-361サンプル-OR=4.56, p=0.01)。またHTR2A-1438G/G多型も、SSRIの良好な抗うつ効果と有意に関連していました(4研究-429サンプル-OR=1.69, p=0.04)。副作用に関しては、5-HTTLPR s/s(9研究-2642 サンプル), とHTR2A-1438G/G(7 研究-801 サンプル)が、副作用の出現しやすさと関連しており、ORはそれぞれ、5-HTLPR: OR=1.56, p=0.0005, HTR2A:OR=1.91 p=0.0006でした。興味深いことに、この相関はSSRIによる副作用のみで解析すると、より強くなりました(5-HTTLPR: p=0.0001, HTR2A: p<0.0001)。他の遺伝子多

型においては有意な相関は認められませんでした。このメタアナリシスの結果より、各研究間にheterogeneityはあるものの、5-HTTLPR, STin2, HTR1A, HTR2A TPH1 BDNFは、抗うつ薬の臨床効果、および/または[市浦1]、副作用に寄与していると示唆されました。Mol Psychiatry in press, 2008 Nov 4.[Epub ahead of print]で報告しています。

おわりに

イ

タリアで過ごした2年2ヶ月は、今振り返ると夢の中の出来事のように。言葉、文化、生活習慣が異なる国で、とまどいながらも、日本では体験できないような生活を体験し、研究に関してもいくつかの成果を出すことが出来ました。休日を利用してイタリアを始め近隣諸国にも出来るだけたくさん旅行しました。イタリアで生まれた娘は2歳になり、1歳だった息子は、イタリアの幼稚園で1年過ごし4歳になりました。留学で得た知識を活用し、引き続き研究活動にとりくみ、今後も精神科領域における臨床薬理学の発展に貢献出来るように努力していきたいと思います。最後になりましたが、2年間にわたりこのような貴重な機会を与えてくださいました日本製薬工業協会および日本臨床薬理学会の皆様へ心より感謝いたします。