

【25】

氏 名	きさき たろう 佐々木 太 郎
学位の種類	博士（医学）
学位記番号	甲第821号
学位授与の日付	令和4年3月4日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項 (精神神経科学)
学位論文題目	CYP2D6*10 polymorphism and the enantioselective O-desmethylation of S-(+)- and R-(-)-venlafaxine in Japanese psychiatric patients (日本人精神疾患患者におけるCYP2D6*10多型とS-(+)-およびR- (-)-venlafaxineのエナンチオ選択的O-脱メチル化反応)
論文審査委員	(主査) 教授 藤 田 朋 恵 (副査) 教授 杉 本 博 之 教授 井 原 裕

論 文 内 容 の 要 旨

【背 景】

Venlafaxine (VEN) は、VENのエナンチオマー（光学異性体・鏡像異性体）であるS-(+)-VENおよびR-(-)-VENの1：1の混合物、つまりラセミ体として、うつ病患者に対する薬物治療に使用されている。S-(+)-VENがセロトニンの再取り込みを選択的に阻害するのに対し、R-(-)-VENはセロトニンとノルアドレナリンの両方の再取り込みを阻害することが示唆されている。VENはCYP2D6、CYP2C19、CYP3A、CYP2C9等により代謝され、代謝物にはO-desmethylvenlafaxine (ODV)、N-desmethylvenlafaxine (NDV)、N-O-desmethylvenlafaxine (DDV) がある。ODVはVENと同等の薬理活性を持つが、NDVとDDVは薬理活性が著しく低いとされている。VENは主にCYP2D6を介してODVに代謝されるが、CYP2D6活性には個体差がある。CYP2D6の活性に影響を与える遺伝子変異が数多く報告されているが、そのうち、CYP2D6*10 (*10) は、アジア人種でのアリル頻度が高いことから、日本人におけるCYP2D6変異遺伝子の向精神薬の薬物動態を検討することは重要であると考えられる。

【目 的】

過去の研究においては、*10がVENの代謝に及ぼす影響について、日本人を対象に検討されているが、VENのエナンチオマーであるS-(+)-VENとR-(-)-VENの定常状態での薬物動態を臨床場面で検討した研究はない。このため、日本人精神疾患患者において*10がVENのエナンチオマーの薬物動態に

どのような影響を与えるかについて検討した。

【対象と方法】

獨協医科大学病院精神神経科、弘前大学医学部附属病院神経科精神科、栃木県立岡本台病院、さくら・ら心療内科でVENの投与を受けた精神疾患患者を対象とした。対象患者は、VENおよびODVの血漿中濃度の定常状態を得るために、少なくとも1週間以上VENを投与していることを条件とした。本研究は、獨協医科大学生命倫理委員会および弘前大学医学部附属病院生命倫理委員会の承認を得て行った。また、栃木県立岡本台病院、さくら・ら心療内科については本研究への参加に同意を得たため、獨協医科大学生命倫理委員会へ研究協力施設として申請した。対象患者には、本研究の内容に関して、書面を用いて十分な説明を行い、対象患者が書面に署名して同意が得られた症例を対象とした。

対象患者から10ml採血し、遠心分離して得られた血漿7mlを用いて、chiral columnを用いた高速液体クロマトグラフィーによりVENのエナンチオマーであるS-(+)-VEN、R-(-)-VENおよびODVのエナンチオマーであるS-(+)-ODV、R-(-)-ODVの血漿中濃度を測定した。CYP2D6遺伝子解析は、CYP2D6*1 (*1)、CYP2D6*2 (*2)、*10をpolymerase chain reaction (PCR) 法にて、CYP2D6*5 (*5)をlong-PCR法を用いて検出した。

データの正規性の検定にはKolmogorov-Smirnov検定を用いた。VEN投与量（体重で補正した値）と、S-(+)-VEN、R-(-)-VEN、S-(+)-ODV、R-(-)-ODVの血漿中濃度との相関は、Spearman rank correlation検定を用いて検討した。S-(+)-VEN、R-(-)-VENおよびS-(+)-ODV、R-(-)-ODVの血漿中濃度に有意な影響を与える因子は、独立変数（性別、年齢、喫煙状況、*10アリル数）と従属変数（体重1kgあたりVEN投与量で補正した各薬物血漿中濃度）を設定し、重回帰分析（ステップワイズ法）を用いて検討した。喫煙群と非喫煙群の2群間におけるVENおよびその代謝物の血漿中濃度（体重1kgあたりVEN投与量での補正值）の差の検定には、Mann-Whitney検定を用いた。

【結 果】

75名のCYP2D6遺伝子型を同定したが、*10の影響を評価するために、まずは*5を持たない個体、つまり、*1/*1 (n=23)、*1/*2 (n=11)、*2/*2 (n=1)、*1/*10 (n=17)、*2/*10 (n=7)、*10/*10 (n=12)、計71名のデータを解析の対象とした。

S-(+)-VENおよびR-(-)-VENの血漿中濃度（体重1kgあたりVEN投与量での補正值）を*10保有群（*1/*10 (n=17)、または*2/*10 (n=7)；*10/*10 (n=12)）と*10非保有群（*1/*1 (n=23)、*1/*2 (n=11)、または*2/*2 (n=1)）との3群間でKruskal-Wallis testを用いて比較したところ、S-(+)-VENの血漿中濃度（体重1kgあたりVEN投与量での補正值）において有意差を認めた ($P=0.048$)。

S-(+)-ODV/S-(+)-VENおよびR-(-)-ODV/R-(-)-VEN比について、*10保有群（*1/*10 (n=17)、または*2/*10 (n=7)；*10/*10 (n=12)）と*10非保有群（*1/*1 (n=23)、*1/*2 (n=11)、または*2/*2 (n=1)）との3群間でKruskal-Wallis testを用いて比較したところ、S-(+)-ODV/S-(+)-VEN ($P=0.003$) およびR-(-)-ODV/R-(-)-VEN比 ($P=0.005$) のいずれも有意な群間差を認めた。その後、S-(+)-ODV/S-(+)-VENおよびR-(-)-ODV/R-(-)-VEN比について、*10保有数毎に事後検定としてMann-Whitney U検定

を行った。S-(+)-ODV/S-(+)-VEN比において、*10を1つ有する群(*1/*10 (n=17)、または*2/*10 (n=7)) ($P=0.006$)、および*10を2つ有する群(*10/*10 (n=12))は、*10非保有群(*1/*1 (n=23)、*1/*2 (n=11)、または*2/*2 (n=1)) ($P=0.008$) に比べて有意に低かった。

S-(+)-VEN/R-(-)-VENおよびS-(+)-ODV/R-(-)-ODV比について、*10保有群(*1/*10 (n=17)、または*2/*10 (n=7); *10/*10 (n=12))と*10非保有群(*1/*1 (n=23)、*1/*2 (n=11)、または*2/*2 (n=1))との3群間でKruskal-Wallis testを用いて比較したところ、S-(+)-ODV/R-(-)-ODV比で有意な群間差を認めた($P=0.029$)。その後、S-(+)-ODV/R-(-)-ODV比について、*10保有数毎に、事後検定としてMann-Whitney U検定を行ったところ、*10を2つ有する群(*10/*10 (n=12))が*10非保有群(*1/*1 (n=23)、*1/*2 (n=11)、または*2/*2 (n=1)) に比べて有意に高かった($P=0.025$)。

重回帰分析(ステップワイズ法)の結果、*10保有数はS-(+)-VENの血漿中濃度(体重1 kgあたりVEN投与量での補正值)($P=0.007$)、S-(+)-ODV/S-(+)-VEN比($P=0.008$)、およびR-(-)-ODV/R-(-)-VEN比($P=0.008$)に有意に関連する因子であることが分かった。性別はS-(+)-ODVの血漿中濃度(体重1 kgあたりVEN投与量での補正值)と有意に関連する因子であった($P=0.011$)。性別($P=0.043$)および*10保有数($P=0.010$)は、S-(+)-ODV/R-(-)-ODV比と有意な相関があった。

他のCYP2D6変異アレルの影響を確認するために、*5を持つ群(*1/*5 (n=2)、*5/*10 (n=2))についても同じ手順で分析したが、*5を持たない群(*1/*1 (n=23)、*1/*2 (n=11)、*2/*2 (n=1)、*1/*10 (n=17)、*2/*10 (n=7)、*10/*10 (n=12))と同様の傾向を示した。

【考 察】

本研究において、*10保有群(*1/*10 (n=17)、または*2/*10 (n=7); *10/*10 (n=12))では、*10非保有群(*1/*1 (n=23)、*1/*2 (n=11)、または*2/*2 (n=1))に比べ、R-(-)-ODV/R-(-)-VEN比とS-(+)-ODV/S-(+)-VEN比が有意に低く、R-(-)-VENのO-脱メチル化が低下していることが示された。このことから、R-(-)-VENからR-(-)-ODVおよびS-(-)-VENからS-(-)-ODVへの代謝は*10の影響を受けていることが示唆された。

ヒトCYP2D6 cDNAを含む発現プラスミドで形質転換した酵母を用いたin vitro実験で、R-(-)-VENはS-(+)-VENに比べて1.5~2倍高いエナンチオ選択性を示すという結果やin vivo研究においてもCYP2D6遺伝子多型がVENのO-脱メチル化、特にR-(-)-VENへのエナンチオ選択的な代謝に影響を与えることが報告されている。

本研究でも、S-(+)-VENとR-(-)-VENのO-脱メチル化率(ODV/VEN比)は*10によって有意に影響を受けており、これは過去の研究結果と同様であった。先行研究では、VEN、ODVのS/R比はCYP2D6遺伝子多型の影響を受けていたが、本研究ではODVのS/R比にのみ有意な影響が見られた。これは、先行研究では代謝不全者(*3、*4、*5)を対象としていたのに対し、本研究では主にCYP2D6の代謝活性低下を起こす*10を対象としていたためと考えられる。

【結 論】

日本人うつ病患者において、*10は、S-(+)-VEN、R-(-)-VENのO-脱メチル化率に影響を与えることが示された。

論文審査の結果の要旨

【論文概要】

これまでの研究によると、R-(-)-venlafaxine (VEN) はS-(+)-VENよりもCYP2D6に対して高いエナンチオ選択性を有しており、R-(-)-VENの血漿中濃度はCYP2D6活性に依存して変化するとされる。そこでVENのエナンチオマー（光学異性体・鏡像異性体）の定常状態における血漿中濃度に対するCYP2D6*10遺伝子型の薬物動態学的影響を検討した。対象は日本人うつ病患者71名で、VENのラセミ体を投与した。VEN、O-desmethylvenlafaxine (ODV) それぞれのエナンチオマー（S-(+)-VEN, R-(-)-VEN, S-(+)-ODV, R-(-)-ODV）の血漿中濃度を測定した。また、polymerase chain reaction (PCR) を用いて、CYP2D6*10の遺伝子型を決定した。S-(+)-VENの血漿中濃度はR-(-)-VENの血漿中濃度と比べて約1.9倍高かった。上記先行研究とは異なる結果ではあるが、CYP2D6*10アリル数毎の3群間比較においてCYP2D6*10アリルを2つ有する症例では、S-(+)-VEN血漿中濃度 ($P=0.048$) は高く、有意差が認められたものの、R-(-)-VEN血漿中濃度は高い傾向で、有意差を認めなかった ($P=0.054$)。このことは、VEN代謝には主にCYP2D6が関与しているが、一部CYP2C19による代謝も関与しており、CYP2D6以外の要因としてCYP2C19遺伝子多型が血漿中濃度に影響している可能性が考えられた。

S-(+)-ODV/S-(+)-VEN比 ($P=0.003$) とR-(-)-ODV/R-(-)-VEN比 ($P=0.005$) はCYP2D6*10アリル数が増えると有意に低かった。重回帰分析においても、CYP2D6*10アリル数は、S-(+)-ODV/S-(+)-VEN比 ($P=0.008$) とR-(-)-ODV/R-(-)-VEN比 ($P=0.008$) に有意に関連する因子であった。このことから、CYP2D6*10アリルはR-(-)-VENおよびS-(+)-VENの脱メチル化に影響を与えることが示唆されたと結論付けている。

【研究方法の妥当性】

申請論文では、Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders - fifth edition (DSM-5) を用いて精神医学的診断を行い、適切な対象者からサンプルおよびデータを収集している。定常状態を得るためにVENを1週間以上投与された患者を対象とし、S-(+)-VEN、R-(-)-VEN、S-(+)-ODV、R-(-)-ODV血漿中濃度は高い測定精度で測定している。統計解析は、Kolmogorov-Smirnov検定、Spearman rank correlation検定、重回帰分析、Kruskal-Wallis検定を使用しており、適切な統計解析法を行っている。以上より、本研究方法は妥当なものである。

【研究結果の新奇性・独創性】

先行研究においては、CYP2D6*10がVENの代謝に及ぼす影響について、日本人を対象に検討されているが、VENのエナンチオマーであるS-(+)-VEN、R-(-)-VEN、S-(+)-ODV、R-(-)-ODVの定常状態での薬物動態を臨床場面で検討した報告はされておらず、本研究は新奇性・独創性に優れたものと評価できる。

【結論の妥当性】

申請論文では、DSM-5を用いて精神医学的診断を行い、適切に対象者の選定がなされている。また、適切な方法で血漿中濃度の測定や遺伝子解析、統計解析が行われている。そこから導き出された

結論は、論理的に矛盾するものではなく、かつ先行研究の結果と照らし合わせても、矛盾するものではない。

【当該分野における位置付け】

申請論文では、日本人におけるCYP2D6変異遺伝子*10のVENおよびODVのエナンチオマーの薬物動態に及ぼす影響を検討した。その結果、S-(+)-ODV/S-(+)-VEN比、R-(-)-ODV/R-(-)-VEN比がCYP2D6*10により有意な影響を受けることが示された。血漿中濃度に対するCYP2D6*10の影響は、S-(+)-VENは有意な影響が示されたが、R-(-)-VENは有意な影響が示されなかった。これらのことから、CYP2D6は、S-(+)-VENの血漿中濃度およびその脱メチル化に影響するが、R-(-)-VENの血漿中濃度には影響せず、その脱メチル化には影響することが明らかになった。また他の結果として、CYP2D6*10保有数が多い程、S-(+)-VEN/R-(-)-VEN比は低値の傾向が示され ($P=0.569$)、S-(+)-ODV/R-(-)-ODV比は有意に高値であった ($P=0.029$)。これらのことから、VENのS/R比に影響を及ぼす要因にはCYP2D6遺伝子多型に加えてCYP2C19遺伝子多型が考えられた。今回の結果から、今後、日本人においてCYP2D6/CYP2C19遺伝子判定を行う事に対する科学的根拠となることが期待される。さらに、VENの安全で効果的な薬物療法の実践につながるため、臨床的に示唆に富むものであり、大変意義深い研究と評価できる。

【申請者の研究能力】

申請者は、臨床精神医学、臨床精神薬理学について、多くの研鑽を積み、特に申請論文に関連するVEN光学異性体の脱メチル化の重要性に関する学会発表を既に行っている。その研究成果は、既に国際誌Basic & Clinical Pharmacology & Toxicologyに掲載されており、申請者の研究能力は高いと評価できる。

【学位授与の可否】

本論文は独創的で質の高い研究内容を有しており、当該分野における貢献度も高い。よって博士(医学)の学位授与に相応しいと判定した。

(主論文公表誌)

Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology

(128 : 677-685, 2021)