

氏名・(本籍)	森田幸代(京都府)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	博士第376号
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位授与年月日	平成13年3月26日
学位論文題目	steady-state plasma levels of nortriptyline and its hydroxylated metabolites in Japanese patients : Impact of CYP2D6 genotype on the hydroxylation of nortriptyline (日本人患者におけるノルトリプチリンとその水酸化代謝物の定常状態血漿中濃度：ノルトリプチリンの水酸化に与える CYP2D6 遺伝子型の影響について)

審査委員	主査 教授	大久保 岩 男
	副査 教授	西 克 治
	副査 教授	大 川 匡 子

論文内容の要旨

【目的】

2級アミン三環系抗うつ薬である nortriptyline(NT) の主な代謝経路である trans-10-hydroxynortriptyline(EHNT) への水酸化には CYP2D6 の関与が示唆されている。CYP2D6 の代表的基質である debrisoquine の代謝率には、白人と東洋人間で分布に差が認められ、このような人種差の分子薬理遺伝学的背景が明らかにされてきた。本研究では日本人における NT の水酸化の個体差と、それに与える CYP2D6 変異遺伝子の影響を明らかにすることを目的とした。

【方法】

滋賀医科大学精神科神経科または昭和大学精神科に入院中あるいは外来通院中の患者で NT を経口的に服用しており、本研究の主旨と手順について文書にて説明し同意を得られた者41名(男性20名、女性21名)を対象とした。尚、本研究は滋賀医科大学、および昭和大学医学部倫理委員会の承認を受けている。対象患者の年齢は17~76歳、体重は35~86kg、NTの経口服用量は15~120mgであった。定常状態血漿中濃度を得るために同一用量のNTを2週間以上投与した後採血を行い、採取した血液は遠沈後、血漿ならびに血球成分を分離し、分析まで-80℃で保存した。

NTとその代謝物であるEHNT、cis-10-hydroxynortriptyline(ZHNT)の血漿中濃度はShimodaらの方法を用いて高速液体クロマトグラフィー(HPLC)法にて測定した。

末梢血からQIAamp Blood Kit(QIAGEN Inc. Chatsworth, CA, USA)を用いてDNAを抽出し、Johanssonらの方法によって、PCR法を行いCYP2D6*2、CYP2D6*10を検出した。CYP2D6*5の検出にはSteenらによるlong-PCR法を用いた。

対象から得られたNTとその代謝物の体重あたり投与量で補正した血漿中濃度を用いて

1) CYP2D6 変異遺伝子の数とNTとその代謝物の定常状態血漿濃度およびNTの水酸化率を示すNT/EHNT比との関係を分析した。

2) NTとその代謝物の定常状態血漿中濃度とNT/EHNT比に対する以下の因子の影響を調べるため重回帰分析を行った。すなわち、年齢、性別、CYP2D6 変異遺伝子の数を従属変数とし、NTとその代謝物の定常状態血漿中濃度とNT/EHNT比の自然対数値を独立変数としてSPSSを用いて重回帰分析を行った。

【結果】

NT、EHNT、ZHNT血漿中濃度には10~35倍の個体差が認められ、各血漿中濃度を体重あたり投与量で補正してもなお約6~10倍の個体差を認めた。NT/EHNT比には約10倍の個体差を認め

た。体重あたり1日投与量とNT、EHNT、ZHNT血漿中濃度との間にはいずれも有意な正の相関を認めた ($r=0.66\sim 0.74$)。

各変異遺伝子の出現頻度は *CYP2D6*10*; 34.1%、*CYP2D6*5*; 4.9%、*CYP2D6*2*; 11.0%であった。活性低下変異遺伝子 (*CYP2D6*10*、*CYP2D6*5*) の数に従って3群に分けた対象群の体重あたり投与量で補正したNT血漿中濃度の平均値は変異遺伝子を持たない群 (0群) (N=15) で $70.3\pm 25.4\text{ng/mL/mg/kg}$ 、変異遺伝子を1つ持つ群 (1群) (N=20) で $98.4\pm 36.6\text{ng/mL/mg/kg}$ 、変異遺伝子を2つ持つ群 (2群) (N=6) で $147\pm 31.1\text{ng/mL/mg/kg}$ であり、0群と比較して1群、2群はともに有意に高い値を示した ($p<0.05$)。

NT/EHNT比の平均値は0群で 0.82 ± 0.30 、1群で 1.04 ± 0.35 、2群で 2.71 ± 0.84 であり、0群と比較して2群では有意に高い値を示した ($p<0.05$)。

重回帰分析において $\log(\text{NT血漿中濃度})$ 、 $\log(\text{NT/EHNT})$ に有意な影響を与えた因子は *CYP2D6* 変異遺伝子のみであった ($p<0.05$)。 $\log(\text{EHNT血漿中濃度})$ 、 $\log(\text{ZHNT血漿中濃度})$ についてはいずれの従属変数も有意な影響を与えなかった。

【考 察】

CYP2D6 の変異遺伝子の存在がNTの水酸化を低下させることが示された。このことから *CYP2D6* の変異遺伝子を持つ個体ではNTをはじめとする *CYP2D6* で代謝される薬物の血漿中濃度が上昇しやすくなり、これにより副作用の出現率が増加する可能性が示唆される。副作用の出現を未然に防ぎ、また初期投与量を設定するうえでも *CYP2D6* 変異遺伝子の検出は有用であると考えられる。

【結 論】

三環系抗うつ薬であるNTの水酸化には大きな個体差が存在し、遺伝的多型性を示す *CYP2D6* 遺伝子の変異遺伝子の存在がこの個体差の一因と考えられた。

論文審査の結果の要旨

本論文は、日本人集団における CytochromeP450(CYP)2D6 遺伝子多型の遺伝子型と薬物代謝の関連を、抗うつ薬であるノルトリプチリン (NT) とその代謝物、E-OH-ノルトリプチリン (EHNT) 及び Z-OH-ノルトリプチリン (ZHNT) の血中濃度を測定することにより検討したものである。

インフォームドコンセントの得られた外来および入院患者の *CYP2D6* 遺伝子型を複数の PCR 法で決定、NT投与後のNT、EHNTおよびZHNT量を高速液体クロマトグラフィーで測定し、各遺伝子型と代謝率を比較検討している。検出された変異型 *CYP2D6-10*、*CYP2D6-5*、*CYP2D6-2* の内、*CYP2D6-10*、*CYP2D6-5* のいずれか1つ、あるいは2つを持つ群は、対照例に比して有意に代謝レベルが低かったことを明らかにしている。また、年齢、性別等の因子関与を統計学的に検討し、変異遺伝子のみが代謝能と密接に関連していることを確認している。

本研究は、薬物代謝能に個人差が存在し、それが遺伝子変異によることを明確にしたもので、個々人の薬物代謝酵素遺伝子型の重要性を示唆しており、博士 (医学) の学位論文として価値あるものとみとめられる。

なお、申請者は、平成13年2月27日の最終試験において合格と判断されている。