



|              |  |
|--------------|--|
| Title        | 日本人における薬物代謝酵素CYP 2D6遺伝子多型の特徴および臨床応用に関する研究  |
| Author(s)    | 福田, 剛史   |
| Citation     | 大阪大学, 2000, 博士論文   |
| Version Type |  |
| URL          | <a href="https://hdl.handle.net/11094/41959">https://hdl.handle.net/11094/41959</a>  |
| rights       |  |
| Note         | 著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、<a href=" <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> ">大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。 |

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

|            |  |
|------------|--|
| 氏名         | 福田剛史                                     |
| 博士の専攻分野の名称 | 博士(薬学)                                   |
| 学位記番号      | 第15374号                                  |
| 学位授与年月日    | 平成12年3月24日                               |
| 学位授与の要件    | 学位規則第4条第1項該当<br>薬学研究科応用薬学専攻              |
| 学位論文名      | 日本人における薬物代謝酵素CYP2D6遺伝子多型の特徴および臨床応用に関する研究 |
| 論文審査委員     | (主査)<br>教授 東 純一                          |
|            | (副査)<br>教授 馬場 明道 教授 松田 敏夫 教授 黒川 信夫       |

### 論文内容の要旨

本研究におけるCYP2D6(以下2D6)は、薬物代謝酵素チトクロムP450の一分種であり、向精神薬やβブロッカーを始め、50種類以上の薬物の代謝に関与している。また2D6には、CYP2C19とともに遺伝的にその代謝能が欠損しているいわゆるPoor Metabolizer(PM)の存在が知られている。PMでは常用量の服用によっても血中濃度が高く推移し、効き過ぎが生じる。近年、遺伝子解析により、PMの原因が遺伝子変異にあることが明らかとなり、2D6については既に20種以上の異なる遺伝子型が報告されている。また、以前より欧米人並びに中国人、日本人の表現型の比較研究で、欧米人のPMより高く野生型より低い活性を有する中国人、日本人の存在が示唆されており、この原因が東洋人に特異的なExtensive Metabolizer(EM)群内の遺伝子変異[日本人:J型変異(2D6\*10A)、中国人:Ch型変異(2D6\*10B)]として報告された。

一方、venlafaxineはノルエピネフリンおよびセロトニンの再取り込みを選択的に阻害する新規抗うつ薬である。日本における初期の臨床試験で最高血中濃度(Cmax)に3~4倍の個体差が認められた。Venlafaxineの2D6による代謝物O-desmethylvenlafaxine(ODV)の血中濃度が逆の相関を示していたことから血中濃度のバラツキが代謝能の個体差に起因すると考えられた。そこで、venlafaxineおよびODVの血中濃度の個体差が2D6遺伝子多型に起因するか否かを検討した。

東洋人に特異的な2D6\*10(\*10)、野生型と同等の活性を有する2D6\*2(\*2)、PMの原因遺伝子2D6\*4(\*4)、2D6\*5(\*5)の判定法を確立した。被験者12名のvenlafaxineのCmaxで約3倍、AUCで約10倍の個体差が認められた。血中濃度が高値を示した4名は遺伝子解析の結果\*10/\*10あるいは\*5/\*10であり、血中濃度が低値を示した4名は\*1/\*2あるいは\*1/\*1であった。Venlafaxineの徐放性製剤の試験でも、\*10がvenlafaxineの血中濃度のバラツキに関与することが確認された。また、\*10により分類された各群内にバラツキが認められたことから、CYP2C19遺伝子多型も検討した。CYP2C19の変異を両方の対立遺伝子に有する被験者のvenlafaxineの血中濃度は、\*10のホモ接合体およびヘテロ接合体の群内で高値を示した。このことから、CYP2C19がvenlafaxineの代謝に一部関与している可能性が示唆された。

次に、主代謝酵素が2D6と想定されている新規カルシウム受容体アゴニストKRN568について検討した。400mg投与群で、\*1/\*1の未変化体血中濃度は最も低く、次いで\*1/\*10、\*1/\*5の順に推移し、さらに、\*5/\*10の1名は他の5名に比してCmaxが約10倍と高値で、米国における臨床試験でのPMと同様の推移であった。この被験

者は本薬物の薬理作用である血中Ca濃度の低下作用が最も顕著で、遺伝子型が薬物の血中濃度および薬理効果の指標となることが示唆された。

さらに、日本人206名を対象として\*10を含めた2D6遺伝子多型の頻度解析を行った。\*10が38.1%と非常に高頻度で存在した。我々の結果と既報の頻度成績を比較したところ、各遺伝子型の発現頻度に明らかな民族差が認められた。さらに、日本における臨床応用を考慮し、簡便な判定法開発の一環として、Long-PCR法による検出法が利用可能か否かを検討した。代謝能亢進の要因となる\*2×N型、2D6遺伝子全欠損型である\*5型はこれまでサザンハイブリダイゼーション法により判定されてきたが、Long-PCR法の代用により、ゲノムDNA量は約10分の1に減量され、判定に要する時間も1週間から1日に短縮された。

また、*in vitro*試験で\*10の代謝特性について検討した。日本でヒト肝試料入手することは容易でないことから、CYP2D分子種の酵母でのNADPH-P450 reductase共発現系の手法に従い、CYP2D6.10（以下2D6.10）酵素を発現させた。Western blottingにより2D6の発現を確認し、CO差還元スペクトルによりミクロソーム中のP450含量を算出した。2D6.10では、野生型に比して2D6の発現量が低いことが示唆された。さらに、bufuralolとvenlafaxineのKm、Vmaxを算出した。Bufuralolに対する2D6.10のKmは野生型に比してやや高値を示し、同様に、venlafaxineに対しても高値を示した。このことから\*10遺伝子保有者におけるvenlafaxineの血中濃度の増加は、野生型酵素に比して2D6.10酵素の発現が低いだけではなく、venlafaxineに対するKmの上昇に基づく代謝クリアランスの低下も関与していると考えられた。

最近まで、2D6のPMの頻度は欧米人の5～10%に対し日本人では1%未満と非常に少なく、\*10がEM群内の遺伝子型であることから2D6遺伝子多型は臨床的に重要とされてこなかった。しかし、今回、venlafaxineやKRN568の血中濃度のバラツキが\*10で説明できた。また、\*10が日本人で高頻度に存在することを明らかにした。さらに、*in vitro*試験により、2D6.10での活性の低下が発現量の低下と親和性の低下に起因することを示した。以上の検討は、日本人では\*10が血中薬物濃度の個体差を説明する上で重要な2D6の遺伝子型であることを示すものであった。これらの報告以降、日本人においても、市販薬をはじめ開発中の新薬のヒト血中薬物濃度と2D6遺伝子多型との関連の検討が開始された。

### 論文審査の結果の要旨

薬物代謝酵素チトクロムP450の一分種CYP2D6はβプロッカーや向精神薬を始め、50種類以上の薬物の代謝に関与している。またCYP2D6には、遺伝的にその代謝能が欠損しているPoor Metabolizer(PM)の存在が知られている。しかし、このPMの頻度は欧米人の5～10%に対し、日本人では1%未満と非常に少ないと日本では最近まで、CYP2D6の遺伝子多型は臨床的に取り上げられなかった。

本研究では、CYP2D6の基質薬である新規抗うつ薬venlafaxineおよび新規カルシウム受容体アゴニストKRN568のヒト血中濃度の個体差が、CYP2D6の遺伝子型の一種であるCYP2D6\*10ではほぼ完全に説明できることを検証した。CYP2D6\*10はExtensive Metabolizer(EM)群に属する遺伝子型として分類されていたものである。また、CYP2D6\*10が日本人で高頻度に存在することも明らかにした。さらに、*in vitro*試験により、CYP2D6\*10酵素活性の低下が酵素の発現量低下に起因すること、さらに酵素と薬物の親和性の低下もこの一因となることを明らかにした。

以上、本研究は、日本人におけるCYP2D6遺伝子多型の臨床的な重要性を喚起し、個別化適正投与の推進に有用な基盤を開拓したもので、博士（薬学）の学位を授与するに相応しいものと考える。