

非定型抗精神病薬の効果と脳内レセプター遺伝子に関する神経薬理学的研究

Neuropsychopharmacological approach to the effects of atypical antipsychotics and neurotransmitter-receptor gene

岩橋和彦, 吉原英児, 村山 洋, 山本静雄

麻布大学大学院環境保健学研究科

Kazuhiko Iwahashi, Eiji Yoshihara, Ohoshi Murayama, Shizuo Yamamoto

Neurophysiology, Molecular Biology and Immunology, Course of Environmental Health Science, Graduate school, Azabu University,

Abstract. We investigated the relationships between the effects of atypical antipsychotics such as olanzapine and neurotransmitter receptor and transporter gene polymorphisms such as serotonin receptor and transporter (5-HTT).

There was a significant difference in the effect of olanzapine on the schizophrenia negative syndrome among the patients with and without the s allele of 5-HTT.

Two types of tau isoform are found in neurofibrillary tangles-a pathological hallmark of tauopathies. To study how and which tau isoforms contribute to neurobal degeneration, we have developed two novel conformation-sensitive antibodies.

There was no cross-reactivity between T3R (tau isoform, three-repeat tau) and T4R (four-repeat tau), and T3R and T4R showed reduced binding to the thioflavin-positive β -structural form of their target.

1. 目 的

神経伝達物質のセロトニン (5-HT) の大部分は消化管や血小板に存在し, 脳内にはわずかに全体の1%ほどが存在する。5-HTは情動, 行動の調節やうつなどの感情, さらには神経症圏内の不安, 強迫症状にも関与すると指摘されている^{1,2)}。

5-HT_{2A}受容体の主な遺伝子多型としては, exon1のサイレント変異のT102C及びプロモーター領域の変異であるA-1438Gが知られている。これまでに我々はA-1438G多型とNEO Five Factor Inventory (NEO-FFI) における誠実性 (C), T102C多型と外向性 (E) という心理要因の項目で相関があることを

指摘した。秋本らは非定型抗精神病薬 olanzapine の PANSS による陰性症状改善の薬理効果と A-1438G 多型の A allele との相関を指摘している。最近では抗うつ薬の SSRI (Selective Serotonin Reuptake Inhibitors) の作用部位とされるセロトニントランスポーター (5-HTT) の遺伝子多型のうち, 特に転写調節部位にある1型 (転写活性が高い) と s 型に関して, Pollock らは SSRI は l/l の homozygote にもっとも有効であると報告し, 加藤らは 60% 以上が s/s の homozygote である日本人においては paroxetine が fluvoxamine よりも有効であると指摘している。

今回われわれは, オランザピン投与患者 31 人を対象に, その治療効果と 5-HT_{2A} 受容体の主な遺伝子

多型 (A-1438G) 及び 5-HTT の遺伝子多型 (s/l) との相関について検討した。

一方、アルツハイマー病患者では、精神神経症状が認められる。情動やうつなどの感情、さらには神経症圏内の不安等に関与すると考えられている 5HT2A 受容体に関する免疫組織学的解析や PET を用いた解析により、アルツハイマー病患者脳において、タンパク質レベルの量が減少しており³⁾、 $[^{18}\text{F}]$ altan-serin の結合能も低下していること⁴⁾が報告されている。また、5HT2A 受容体遺伝子において、アルツハイマー病の臨床症状と相関する遺伝子多型が同定されている^{5,6)}。従って、アルツハイマー病患者に認められる精神神経症状には 5HT2A 受容体の関与が考えられる。アルツハイマー病発症に関与するタウは微小管結合タンパク質として神経細胞の軸索輸送などに重要な役割を果たしていることから、5HT2A 受容体の神経細胞内においても輸送などに関与している可能性が十分に考えられる。従って、5HT2A 受容体の動態とタウタンパク質との関係の詳細な解析から、アルツハイマー病に見られる精神神経症状の緩和につながる知見を得ることが期待できる。タウは 6 種類のアイソフォームとして発現しているが、それぞれどのような機能を持っているのか、必ずしも明らかになっていない。本研究では、5HT2A 受容体とタウの関係を明らかにするための予備段階の研究として、タウに見られる 2 つのタイプのアイソフォームを明確に識別することを可能にする抗体の作製を試み、作製した抗体の特性を解析した。

2. 方 法

麻布大学倫理委員会で承認を得て協力を得られた関連病院にて精神科に入院中の統合失調症の患者で、研究の趣旨を説明し、文章によるインフォームド・コンセントを得られた、1 年間オランザピンを服用中の、定期的に PANSS による症状評価を行っている患者 31 名を対象とし、5-HT2AR は A-1438G 多型について、Gutierrez らの方法に基づき PCR-RFLP 法により制限酵素 *Msp* I を用いて判定した⁷⁾。5-HTT (l/s) は Lesch らの方法に基づき PCR 法を用いて判定した⁸⁾。

オランザピンの投与量は 1 日 1 回の服用 (10-15mg)

で、いずれも 1 年間継続して服用していた。抗精神病薬の併用薬については、オランザピン服薬中に高血糖を呈して投薬を中止した 3 例を除く 31 人中 26 人がオランザピン投与開始時に何らかの抗精神病薬を服用しており、オランザピン投与にあわせて一気に中止することなくしばらくは併用していた。併用薬の種類はオランザピンとは作用部位が多少異なる (ドーパミンやセロトニン等のレセプター遮断作用、親和性が異なる) 定型抗精神病薬のレボメプロマジン、クロルプロマジン、ゾテピン、ハロペリドール、及びベンゾジアゼピン系薬物などで、これらの併用薬は経過を見ながら徐々に減量していった。

オランザピンの薬理効果の評価については、服薬を開始して 1 年後の時点で陽性症状及び陰性症状について PANSS を用いて症状改善の度合いをレトロスペクティブな調査によって判定した⁹⁾。PANSS の改善度の比較は遺伝子多型ごとに、*t*-検定による平均値の差の検定と、Mann-whitney の 1 因子三群間での比較検定を行った。

3. 結果と考察

5-HTT の l/s 型遺伝子多型のうち、s 型を持っている群 (s/s, s/l) と持っていない群 (l/l) との間で陰性症状改善について有意差が認められ (*T* 検定, $p < 0.05$), s 型の遺伝子を持っている群 (うちオランザピン単剤投与 4 例) では s 型の遺伝子を持っていない群 (うちオランザピン単剤投与例は 1 例) より陰性症状の改善の度合いが高かった。陽性症状については両群間で有意差は見られなかった (Table 1 & 3)。

5-HT2AR の遺伝子多型については、A-1438G 多型に関して、各遺伝子型 (A/A, A/G, G/G) 3 群間で、陰性症状については有意 (Mann-Whitney 検定) な影響は見出されず、また PANSS negative syndrome score 得点差をみると A/A 群は G 遺伝子を持つ群 (A/G 群及び G/G 群) に比較して有意な改善傾向を示さなかった。

しかしながら、陽性症状については 3 群間では有意差が出なかったものの、G/G 群は A 遺伝子を持つ群 (AA 群と AG 群) に比べて PANSS positive syndrome score 得点差で、有意な改善傾向を示した (Table 2 & 3)。

オランザピンの薬理効果 (臨床症状改善) と 5-

HT2A 受容体の A-1438G 遺伝子多型との関連については秋本らの報告がある。それによると、オランザピン投与前後において PANSS total score の差は $G/G < G/A < A/A$ 群の順に大きくなり -1438G → A の変異があると臨床症状はより改善したという。さらに negative syndrome scale については、G allele を持たない群 (A/A) と持つ群 (A/G + G/G) の間に有意差が見られたと報告している。

-1438G/A はセロトニン 2A 受容体の promoter region の SNP で、DNA から mRNA への転写に影響する可能性があり、一方 T102C については、ヘテロ接合体の者で mRNA 発現レベルが T allele ホモと比べて約 20% 低く、この遺伝子多型がニコチン依存（喫煙行動）形成に影響を与えているとの指摘もある²⁾。

Table 1 Serotonin transporter (5-HTT) gene polymorphism and Positive and Negative Syndrome Scale (PANSS)

5-HTT genotype	Positive syndrome scale	Negative syndrome scale
s/s (n=18)	2.6±2.0	1.9±1.9
s/l (n=10)	3.3±2.1	1.6±2.1
l/l (n=3)	0.3±0.6	0.6±0.7
with s allele (l/l) (n=3)	0.3±0.6*	0.6±0.7
without s allele (l/s, s/s) (n=28)	2.8±2.0*	1.8±1.9

*P=0.043

5-HT2A 受容体の主な遺伝子多型は、exon1 のサイレント変異 T102C 及びプロモーター領域の変異 A-1438G が知られ、これらの多型は完全連鎖不均衡の関係にある（我々の調査でも -1438 は 102T と、-1438G は 102C と完全に連鎖していた）ため、A-1438G 多型を調べればこれら 2 つの多型との相関は同時に調べられることになる。この研究では A-1438G 多型により 5-HT2A 受容体の遺伝子型とオランザピンの薬理効果について調査を行った。

我々と秋本らの結果との相違は、抗精神病薬の併用の有無の違いが影響している可能性がある。秋本

Table 2 Serotonin 2A receptor (5-HT2A) gene A-1438G polymorphism and Positive and Negative Syndrome Scale (PANSS)

5-HT2A genotype	Positive syndrome scale	Negative syndrome scale
A/A (n=11)	2.5±2.1	1.3±1.2
A/G (n=13)	2.4±2.0	0.8±0.6
G/G (n=7)	3.0±2.2	2.1±0.9
without G allele (A/A) (n=11)	2.5±2.1	1.3±1.2
with G allele (A/G or G/G) (n=20)	2.6±2.1	1.3±0.9
without A allele (G/G) (n=7)	3.0±2.2	2.1±0.9
with A allele (A/G or A/A) (n=24)	2.4±2.0	1.0±0.9*

*p<0.05

Table 3 Concentration of olanzapine in blood, Positive and Negative Syndrome Scale (PANSS) and 5-HT2A receptor and 5-HTT gene polymorphism

No.	olanzapine [†]	NSS [‡]	PSS [‡]	5-HT2AR 102	5-HT2AR -1438	5-HTT LPR	5-HTT 3' UTR
1	49.87	1	1	C/C	G/G	s/s	G/T
2	39.74	1	1	C/C	G/G	s/s	G/G
3	39.21	5	0	T/C	A/G	s/s	G/G
4	38.48	1	1	T/C	A/G	l/l	G/G
5	37.06	2	1	T/T	A/A	s/s	G/G
6	36.28	1	0	T/T	A/A	l/s	G/T
7	34.05	0	0	T/C	A/G	l/s	G/T
8	27.85	2	1	T/C	A/G	s/s	G/G
9	26.25	1	0	T/T	A/A	s/s	G/G
10	23.41	5	1	T/C	A/G	l/s	G/G
11	23.24	1	1	T/C	A/G	l/s	G/T
12	22.88	0	1	T/T	A/A	s/s	G/G
13	22.51	5	5	T/T	A/A	l/s	G/T
14	21.16	5	5	C/C	G/G	s/s	G/G
15	16.69	5	1	T/T	A/A	s/s	G/G
16	11.94	1	1	T/C	A/G	l/l	G/G
17	NT*	2	1	C/C	G/G	s/s	G/G
18	NT	1	1	C/C	G/G	s/s	G/T
19	NT	1	1	T/C	A/G	l/l	G/G
20	NT	2	1	T/T	A/A	s/s	G/G
21	NT	5	1	T/C	A/G	s/s	G/G
22	NT	1	0	T/T	A/A	l/s	G/T
23	NT	1	1	T/C	A/G	s/s	G/G
24	NT	1	1	T/C	A/G	l/s	G/T
25	NT	4	1	T/C	A/G	l/s	G/G
26	NT	1	0	T/T	A/A	s/s	G/G
27	NT	1	1	T/T	A/A	s/s	G/G
28	NT	1	1	T/C	A/G	l/s	G/T
29	NT	6	5	C/C	G/G	s/s	G/G
30	NT	5	6	C/C	G/G	s/s	G/G
31	NT	6	6	T/T	A/A	l/s	G/T

[†] Concentration in blood, [‡] Negative syndrome scale, ^{*} Positive syndrome scale, ^{*} Not tested

らはすべての症例においてオランザピン単剤に変更して研究を行ったが、この研究では対象者全員をオランザピン単剤投与に変更する事はできず、最初からオランザピン単剤投与を行えたのは31例中5例であった。残りの26例は、興奮や不安などの症状があり、何らかの抗精神病薬の併用を余儀なくされ、そのうち10例は今回の調査期間中にオランザピン単剤投与までには至らず、定型抗精神病薬やベンゾジアゼピン系の併用薬が残っていた。その状況下で、5-HTTのI/s型遺伝子多型のうちs型遺伝子を持つ群（うちオランザピン単剤投与1例）ではs型遺伝子を持たない群（オランザピン単剤投与例1例）より陰性症状改善の度合いが高かった（Table 1）。

なお、5-HTTの3'UTR（3'側非翻訳領域）のs/l以外の多型（G/T）はBattersby^{10）}らの方法に基づきPCR-RFLP法により制限酵素 *TruI* I 用いて判定したが、この多型に関しては陰性症状、陽性症状ともに有意な影響は示されなかった。

一方、2つのタイプのタウタンパク質アイソフォームに対する特性の高いポリクローン抗体の作製に成功した¹¹⁾。また、各アイソフォーム特異抗体が、アルツハイマー病の病態に関係のあるタウの構造変化をモニターすることが出来る抗体であることが明らかになった（Fig 1）。今後はこれらの抗体を用いて5HT2A受容体とタウとの関係を明らかにするために免疫組織化学的解析等を進める必要がある。

謝辞

この研究（の一部）は、厚生労働科学研究費補助金「研究課題：遺伝子多型検査によるテーラーメイド疼痛治療法の開発（H17-ファーマコ-001）」及び日本私立学校振興・共済事業団の私学助成により行った。

4. 要 約

我々は、セロトニン受容体のような神経伝達物質受容体あるいはそのトランスポーター（例えばセロトニン・トランスポーター（5-HTT））の遺伝子多型とオランザピンのような非定型抗精神病薬との関係を調査した。その結果、5-HTTのs対立遺伝子をもつ患者ともたない患者との間で、統合失調症陰性症状に対するオランザピンの効果に、統計学的な有意

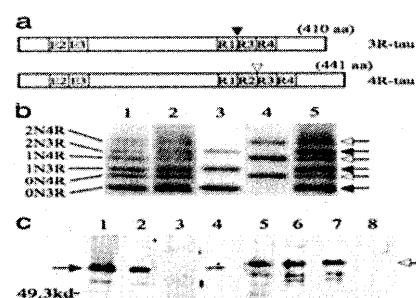


Fig. 1. (a) Location of the peptide sequences designed for producing two isoform-specific antibodies, T3R (closed arrowhead) and T4R (open arrowhead). R1, R2, R3 and R4 (gray box) represent repeat domains in the MTBD. In this study, the amino acid numbering is based on 2N4R (441 aa). (b) The six tau isoforms bacterially synthesized. The 1N isoform contains the N-terminal domain E2. The 2N contains both E2 and E3. Neither E2 nor E3 is contained in the ON. 3R and 4R represent three- and four-repeat tau, respectively. Proteins were detected by western blot analysis using the antibodies TauN (lane 1), TauC (lane 2), HT7 (lane 5), T3R (lane 3) and T4R (lane 4). (c) Absorbing the binding activities of the antisera. 2N3R (lanes 1-4) and 2N4R (lanes 5-8) were detected by TauC (lanes 1 and 5) and the antisera raised against the synthetic peptides 3R^{PHF6} (lanes 2-4) and 4R^{PHF6} (lanes 6-8). The antisera were also incubated with the peptides 3R^{PHF6} (lanes 3 and 7) and 4R^{PHF6} (lanes 4 and 8). Closed arrows and open arrows represent three- and four-repeat tau, respectively.

差が見られた。

一方、アルツハイマー病患者に認められる精神神経症状に関わる5HT2A受容体と神経機能に重要な役割を持つタウの関係を明らかにするための予備段階として、2つのタウ・アイソフォーム（T3RとT4R）を明確に識別できる特性の高いポリクローン抗体を作製した。これらの抗体を用いて5HT2A受容体とタウとの関係を明らかにするために免疫組織化学的解析等を進める予定である。

文 献

- 1) 笹 征史：セロトニン受容体機能と自律神経疾患。自律神経 36: 184-190, 1999.
- 2) Suzuki Y, Sawamura K, Someya T, et al., Polymorphisms in the 5-hydroxytryptamine 2A receptor and CytochromeP4502D6 genes synergistically predict fluvoxamine-induced side effects in Japanese depressed patients. Neuropsychopharmacology, 31: 825-831, 2006.
- 3) Lorke DE et al., Serotonin 5-HT2A and 5-HT6 receptors in the prefrontal cortex of Alzheimer and normal aging patients. BMC Neurosci. Apr 27; 7: 36, 2006.

- 4) Meltzer CC et al., PET imaging of serotonin type 2A receptors in late-life neuropsychiatric disorders. *Am J Psychiatry*. Dec; 156(12): 1871-1878, 1999.
- 5) Holmes C et al., 5-HT_{2A} and 5-HT_{2C} receptor polymorphisms and psychopathology in late onset Alzheimer's disease. *Hum Mol Genet*. Sep; 7(9): 1507-1509, 1998.
- 6) Assal F et al., Association of the serotonin transporter and receptor gene polymorphisms in neuropsychiatric symptoms in Alzheimer disease. *Arch Neurol*. Aug; 61(8): 1249-1253, 2004.
- 7) Gutierrez B, Bertranpett J, Coller D et al., Genetic variation of the 5-HT_{2A} receptor gene and bipolar affective disorder. *Hum Genetics*, 13: 261-276, 1997.
- 8) Lesch K P, Bengel D, Heils A, et al., Association of anxiety-related traits with a polymorphism in serotonin transporter gene regulatory region. *Science*, 274: 1527-1531, 1996.
- 9) 工藤義雄, 西村 健, 田中稔久 LY170053 (Olanzapine) の第 I 相試験—単回および連続投与試験—. *臨床医薬*, 14: 2527-2554, 1998.
- 10) Battersby S, Ogilvie A D, Blackwood D H R, et al., Presence of multiple function polyadenylation signals and a single nucleotide polymorphism in the 3' untranslated region of the human serotonin transporter gene. *J Neurochem*, 72: 1384-1388, 1999.
- 11) Ueno H et al., Novel conformation-sensitive antibodies specific to three- and four-repeat tau. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* Jun 29; 358(2): 602-607, 2007.