

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24年 5月30日現在

機関番号：17501

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21590597

研究課題名（和文） オピオイド鎮痛薬個別化治療への遺伝子メカニズムの解明と応用

研究課題名（英文） Clinical Usefulness and evaluation of pharmacogenetics on the personalized therapy of opioid analgesics.

研究代表者

大橋 京一（OHASHI KYOICHI）

大分大学・医学部・臨床薬理学・教授

研究者番号：20137714

研究成果の概要（和文）：オピオイド $\mu$ 受容体の遺伝子（*OPRM1*）の118A>Gは、白人でのアレル頻度は10～20%であるが、我々の検討した結果では41%と人種差が存在していた。オキシコドン、フェンタニール投与の癌患者について調べた結果では、オピオイド鎮痛薬による鎮痛効果と遺伝子多型に差は認めなかったが、118G変異を有する患者で悪心・嘔吐、眠気の発現率が有意に少ないことを認めた。さらにGG型群とAA群の健常者を対象として、オピオイド鎮痛薬であるブプレノルフィン静脈投与後の血中濃度、痛覚閾値と同時に副作用（悪心・嘔吐、傾眠）を経時的に測定したところ、薬物動態には差を認めないものの、GG群において痛覚閾値、副作用が有意に減弱していた。*OPRM1*の118変異は $\mu$ 受容体に対するオピオイド鎮痛薬の親和性を減弱させる可能性が、癌患者並びに健常者において認められ、今後オピオイド鎮痛薬の個別化治療の有用なバイオマーカーとなる可能性がある。

研究成果の概要（英文）：Opioid analgesics exert their therapeutic effects by binding to the  $\mu$ -opioid receptor (MOR). More than 100 variants in the  $\mu$ -receptor gene (*OPRM1*) have been identified, which include at least 20 polymorphic mutants that cause amino acid substitutions, thereby affecting the response of the  $\mu$ -receptor. The clinical usefulness of A118G in exon-1 of the *OPRM1* gene which result in an amino acid substitution from asparagine to aspartate at position 40 (Asn40Asp) was studied. The allele frequency of 118G is 41% in our Japanese healthy-volunteers, on the other hand, 10-20% of Caucasian is reported. In order to examine the functional significance of the A118G gene mutation, clinical studies have been conducted in both healthy subjects and cancer patients. We have founded that cancer pain patients with 118GG who were treated with oxycodone or fentanyl were observed less frequency of adverse reactions including nausea, vomiting and sleepiness than that with 118AA, although no clear difference was observed on the pain threshold. Moreover, we have studied the effects of buprenorphine,  $\mu$  receptor partial agonist, in healthy volunteers with 118GG or 118AA. Although pharmacokinetics of buprenorphine of the two groups were similar, 118GG group were significantly lower sensitiveness of pain threshold and VAS ratings of sleepiness, fatigue, nausea and euphoria. The genetic polymorphism of *OPRM1* c.118 position may affect the sensitivity of  $\mu$  opioid receptor and may become a useful biomarker in the opioid pain therapy.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	3,400,000	1,020,000	4,420,000
2010年度	400,000	120,000	520,000
2011年度	100,000	30,000	130,000
年度			
年度			
総計	3,900,000	1,170,000	5,070,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：境界医学、応用薬理学

キーワード：ゲノム、薬剤反応性、オピオイド

1. 研究開始当初の背景

WHO方式癌疼痛療法の普及に伴い、オピオイド鎮痛薬の重要性が増しており、モルヒネに加え、複数のオピオイド鎮痛薬が近年、臨床使用可能となった。さらに、我が国においては2007年に「がん対策基本法」が施行され疼痛治療の向上は重要な課題となっている。しかしながら、オピオイド鎮痛薬の鎮痛効果と副作用の出現には大きな個人差が存在しているため、経験的な量加減で投与量を決定しているのが現状である。

オピオイド鎮痛薬の代表であるモルヒネは、肝のUDP-glucuronyl transferase (UGT)のisoformである2B7によりグルクロン酸抱合され、活性代謝物であるmorphine-3-glucuronic acid (M3G)とmorphine-6-glucuronic acid (M6G)となる。UGT2B7には802番目の塩基がCからTへ変異するUGT2B7\*2が認められ、アミノ酸変異を生じる(Carrier et al, Biochem Biophys Res Commun, 2000)。我々は癌患者において血中M3G/モルヒネ濃度比をUGT2B7活性の指標として検討したところ、経口投与時、点滴静注時ともに10倍以上の個人差を認めた(Tateishi et al, Int J Clin Pharmacol Res, 2003)。さらにUGT2B7\*2のホモ型変異でM3G/モルヒネ濃度比が有意に低くなることが明らかになった(Furuta et al, Clin Pharmacol Ther, 2003)。しかし、その差は極めて僅かであり、UGT2B7のみでモルヒネの個人差は説明がつかない。

モルヒネは脳内オピオイド受容体( $\mu$ 、 $\delta$ 、 $\kappa$ )のうち、 $\mu$ 受容体に親和性が高く、 $\mu$ 受容体と結合し、鎮痛作用を始めとして呼吸抑制作用、縮瞳、催吐作用また依存性など多彩な薬理作用を発現すると考えられているが、これらの副作用は疼痛治療上問題となっている(Ikeda et al. Tr Pharmacol Sci, 2005)。 $\mu$ 受容体の遺伝子(OPRM1)には20以上の変異が存在しているが、アミノ酸変化を生じ

オピオイド受容体蛋白に変化を生じると報告されているOPRM1多型は10個である(Lotsch et al, Mol Med 2005)。このうち、exon1に認める118A>GのSNPは $\mu$ オピオイド受容体蛋白の40位のアミノ酸をasparagineからaspartateに変異させる。In vitroの研究では118Gをtransfectionした細胞ではOPRM1のmRNAのexpressionが抑制されているが、一方で同じ細胞において $\beta$ -endorphinへの親和性を観察すると野生型に比し3倍高いが、しかしモルヒネへの親和性は変わらないとされ、基質により親和性が異なる可能性が示唆されている(Zhang et al, J Biol Chem 2005)。我々がオキシコドン、フェンタニール投与の癌患者51名について鎮痛作用と副作用について調べた結果では、これらのオピオイド鎮痛薬投与による鎮痛効果と投与量と遺伝子多型に差は認めなかったが、118G変異を有する患者で悪心・嘔吐、眠気の発現率が有意に少ないことを認めた(IXth World Conference on Clinical Pharmacology and Therapeutics, 2008, Canadaにて発表)。また、大量のオピオイド鎮痛薬を投与されて鎮痛効果が不十分であった2名の癌患者のOPRM1をdirect sequence法にて解析を行ったところ、118A/Gのヘテロ並びに118G/Gのホモ型であり、118A>Gオピオイド鎮痛薬の個人差に関与すると推測されるが、日本人では約半数に変異を認めており、この変異のみでは説明できない。以上のごとくオピオイド鎮痛薬の薬物体内動態や薬力学に関する臨床薬理的検討は充分なされていないために、科学的根拠に基づいた癌疼痛緩和療法が行われていないのが現状である。

2. 研究の目的

オピオイド鎮痛薬の薬効、副作用に認められる大きな個人差には、オピオイド鎮痛薬の薬物動態関連遺伝子、受容体遺伝子の遺伝子多型が関与している可能性が考えられている。

申請者はモルヒネの薬物代謝酵素 UGT2B7 活性に大きな個人差を認め、UGT2B7 の遺伝子多型の関与を明らかにした。オピオイド鎮痛薬の作用発現には脳内移行が必要であり、P-糖蛋白 (ABCB1) を含む薬物トランスポーターが関与している。MDR1 knockout マウスではモルヒネの脳内濃度が上昇し、極めて強い鎮痛作用を示す (Lotsch et al., J Neurochem 2002,) が、ヒトにおける MDR1 多型の関与については不明であり、本研究の目的の一つである。また、 $\mu$  受容体の遺伝子 (*OPRM1*) 多型がオピオイド鎮痛薬の鎮痛効果、安全性に関与していると、我々の研究を含めて推測される。しかし、118A>G 変異は日本人では約半数に認められるため、118A>G のみで鎮痛作用の個体差を生じているのか不明であり、臨床オピオイド鎮痛薬を使用する際に重要な知見となる。そこで、オピオイド鎮痛薬であるが麻薬指定になっていないブプレノルフィンを用いて、健常人を対象とした鎮痛効果を評価する系を確立し、鎮痛効果を検討する。遺伝子多型情報をもとに癌患者の適正な治療計画確立のための基礎検討を行うことが本研究の目的である。

### 3. 研究の方法

本研究は3省の「遺伝子解析研究に付随する倫理問題に対応するための指針」に則った遺伝子解析研究倫理審査委員会の承認を受けてから実施した。また、本研究の臨床試験は、臨床試験実施施設における臨床研究倫理審査委員会の承認を得て実施した。本研究は期間中に下記の3試験を実施した。

1) *OPRM1* 遺伝子多型 (-172G/T, 118G>A) の PCR-RFLP 法による測定系を確立し、確認のために Direct Sequencing 法を用いた。日本人の *OPRM1* 遺伝子多型 (-172G/T, 118G>A) 頻度を求めるため、248名の健常者のDNAを測定し、白人の Allele 頻度と比較した。

2) オキシコドン徐放錠またはフェンタニル経皮吸収剤の投与を受けている肺がん患者 (43症例) から文書による同意を取得し、投与開始前と投与後 (投与期間: 42.2±59.0日、平均値±標準偏差) において visual analog scale (VAS) により評価した疼痛の程度、ならびに眠気、嘔気・嘔吐と便秘の有無を調査した。

3) 健常人を対象とした前向き試験を実施した。118GG型群 (n=5) と野生型 (118AA) 群 (n=5) においてオピオイド鎮痛薬であり、オピオイド  $\mu$  受容体のパーシャルアゴニストであるブプレノルフィン静脈投与後の血中ブプレノルフィン濃度、温・冷型痛覚計を用いた痛覚閾値と同時に副作用 (悪心・嘔吐、傾眠) を VAS scale 法により経時的に測定した。また、MDR1 の多型との関係についても解析を行った。

### 4. 研究成果

(1) 日本人における *OPRM1* 遺伝子多型頻度は、118A>G の A/A 群は 34%、A/G 群は 49%、G/G 群は 16%であった。また、G の Allele 頻度は 41%であった。-172G/T においては G/G 群は 80%、G/T 群は 19%、T/T 群は 1%であった。T の Allele 頻度は 10%であった。日本人の 118 G Allele 頻度は白人 (約 15%) に比し高頻度であり、人種差を認めることが示唆される。-172 T Allele 頻度についての日本人の報告は初めてであり、白人 (4%) より若干高値であった。

(2) 対象患者における *OPRM1* 遺伝子型 (118 A/A, G/A, G/G) の出現頻度は、それぞれ 35%、44%および 28%であった。また *OPRM1* 17C>T については全症例が C/C であった。オピオイド鎮痛薬投与により VAS は 6.46±1.54 から 1.62±1.42 に有意に減少した。VAS の減少率は A/A が 75.4±18.1%、A/G が 66.8±32.1%、G/G が 81.6±8.7%と遺伝子型間に差異を認めなかった。一方、眠気の出現率は A/A と A/G でそれぞれ 31 および 32%であったのに対し G/G では 0%であった。また嘔気・嘔吐の出現率は A/A と A/G でそれぞれ 31 および 21%に対し G/G では 0%であり、G/G におけるそれらの副作用出現率は低値を示す傾向が認められた。また便秘の出現率には遺伝子型間に差異は認められなかった。

(3) *OPRM1* の遺伝子多型 118AA 群 5名、118GG 群 5名の健康成人男性 10名にブプレノルフィン 0.001mg/kg (体重) を静脈内投与し、投与直前から 360分後まで経時的に採血を行い、薬物動態値を検討した。同時に Visual Analogue Scale (VAS) による自覚症状、Digital Symbol Substitution Test (DSST) による作業能力、及び温・冷型痛覚計による痛覚閾値の薬力学的評価を行った。その結果、ブプレノルフィンの薬物動態値には両群間に統計学的に有意な差を認めなかったが、疼痛閾値、DSST、VAS の眠気、倦怠感、嘔気、多幸福感の項目において両群間に有意な差が認められた。本研究では *OPRM1* の遺伝子多型 (118AA, 118GG) 間にブプレノルフィンの薬物動態には差を認めないものの、薬効に明らかな差異を認めた。GG 群ではオピオイド  $\mu$  受容体の感受性が AA 群より低下している可能性が示唆された。一方、MDR-1 の遺伝子多型で解析したがブプレノルフィンの薬効に差を認めなかった。

*OPRM1* 遺伝子多型 (118G>A) はアミノ酸変異 (N40D) を伴う SNP であり、このミスセンス変異により受容体のリガンドに対する親和性が変化すると考えられた。本研究により、癌疼痛患者並びに健常人においてオピオイド鎮痛薬の鎮痛効果並びに副作用発現頻度に 118G>A 遺伝子多型が影響を及ぼすことが

認められた。日本人の G Allele 頻度は白人に比して2倍以上高く、オピオイド鎮痛薬の使用にあたって考慮すべきバイオマーカーになるであろう。今後さらに症例を追加することにより、遺伝子多型情報に基づくオピオイド鎮痛薬の個別化投与指針の設定が可能になると期待される。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計1件)

1. Shinya Uchida Benzbromarone Pharmacokinetics and Pharmacodynamics in Different Cytochrome P450 2C9 Genotypes, Drug Metab. Pharmacokinet, 査読有、25 巻、2010、605-610

[学会発表] (計3件)

1. Uchida S, In vivo phenotyping for CYP3A4 by determination of a single-point plasma concentration and urinary excretion of midazolam and its metabolites, WorldPharma2010 16th World Congress on Basic and Clinical Pharmacology, 2010.7.22、コペンハーゲン

2. 今井浩光、ブプレノルフィン<sub>μ</sub>1 受容体遺伝子多型 (118A>G) の影響、第 32 回日本臨床薬理学会年会、2011.12.3、浜松市

3. 今井浩光、The effects of OPRM1 c.118A>G polymorphism on the pharmacodynamics of buprenorphine in humans, American Society for Clinical Pharmacology and Therapeutics 2012 Annual Meeting、2012.3.17、メリーランド

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

大橋 京一 (OHASHI KYOICHI)  
大分大学・医学部・臨床薬理学・教授  
研究者番号：20137714

##### (2) 研究分担者

内田 信也 (UCHIDA SHINYA)  
静岡県立大学・薬学部・実践薬学分野・講師  
研究者番号：80372522

##### (3) 連携研究者

白尾 國昭 (SHIRAO KUNIAKI)  
大分大学・医学部・腫瘍内科学・教授  
研究者番号：10467996

野口 隆之 (NOGUCHI TAKAYUKI)  
大分大学・医学部・麻酔科学・医学部長、教授  
研究者番号：90156183

小手川 勤 (KOTEGAWA TSUTOMU)  
大分大学・医学部・臨床薬理学・准教授  
研究者番号：20264343

森本 卓哉 (MORIMOTO TAKUYA)  
大分大学・医学部附属病院・臨床薬理センター・准教授  
研究者番号：10392242

今井 浩光 (IMAI HIROMITSU)  
大分大学・医学部・臨床薬理学・助教  
研究者番号：30398250

立石 正登 (TATEISHI MASATO)  
長崎国際大学・薬学部・臨床薬剤学・教授  
研究者番号：20446123