

令和 6 年 5 月 22 日現在

機関番号： 1 7 1 0 2

研究種目： 奨励研究

研究期間： 2023 ~ 2023

課題番号： 2 3 H 0 5 3 1 5

研究課題名 メタボローム解析でひも解くクロザピン薬物療法における新規モニタリング法の開発

研究代表者

土谷 祐一 (TSUCHIYA, Yuichi)

九州大学・大学病院・薬剤師

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 480,000 円

研究成果の概要：本研究では九州大学病院精神科神経科に通院する患者のうち、クロザピンを内服中の患者30名を対象とし、LC-MS/MSを用いてクロザピン及び複数の活性代謝物血中濃度の測定とメタボローム解析を行う計画を立てた。しかし、該当疾患の患者の臨床研究へのリクルートに難渋した。そのため、研究期間において十分な母数を収集することができなかった。そこでクロザピンの副作用の中で特に問題となる好中球減少症についてHL-60細胞を用いて、その機序の解明を試みた。メタボローム解析の結果いくつかの候補バイオマーカーを検出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

クロザピンは治療抵抗性統合失調症に対して唯一効果が示されている薬物である。しかし、無顆粒球症などの致命的な副作用が発現することから、その導入には慎重を要する。クロザピンの副作用発現の分子メカニズムは複雑であり、十分に解明されていない。クロザピンを有効かつ安全に使用するためには副作用発現の機序の解明と、副作用発現を予測するバイオマーカーの発見は急務である。本研究で検出された候補バイオマーカーの有用性を精査することでクロザピン薬物治療を行う多くの患者の福音となることが期待される。

研究分野： 医療薬学

キーワード： クロザピン メタボロミクス 治療薬物モニタリング

1. 研究の目的

クロザピンの重篤な副作用として、無顆粒球症や非典型的糖尿病が知られているが、これらの副作用発現の分子メカニズムは複雑であり、十分に解明されていない。近年、質量分析計による生体内の代謝物群（メタボローム）解析が、疾患の治療効果の評価や副作用発現予測マーカーの探索に有用であることが示された。メタボローム解析を行うことで、クロザピンの副作用発現に先行する事象を捉え、副作用発現を予測するバイオマーカーの発見と、発現機序の解明が期待される。

本研究では、クロザピン薬物治療を有効かつ安全に進めるための新規モニタリング法の開発を行うことを最終目的としており、研究期間（1年）で得た各種測定データをもとに、ROC 解析により、クロザピン及びその活性代謝物を含めた目標治療域の設定を行う。さらに、主成分分析を用いて副作用発現を予測するバイオマーカーの絞り込みを行う。

2. 研究成果

本研究では九州大学病院精神科神経科に通院する患者のうち、クロザピンを内服中の患者 30 名を対象とし、LC-MS/MS を用いてクロザピン及び複数の活性代謝物血中濃度の測定とメタボローム解析を行う計画を立てた。しかし、該当疾患の患者の臨床研究へのリクルートに難渋した。そのため、研究期間において統計解析を実施するのに十分な母数を収集することができなかった。そこで、クロザピンの副作用の中で特に問題となる好中球減少症について HL-60 細胞を用いて、その機序の解明を試みた。

(1) HL-60 細胞におけるクロザピンによる細胞死の誘導

HL-60 細胞を懸濁した RPMI1640 培地に最終濃度が 0 – 100 μM となるようにクロザピンを添加して培養し、経時的にサンプリングを行った。各サンプルをアネキシン V-FITC アポトーシス検出キット（ナカライテスク）で染色し、フローサイトメトリーで解析した。クロザピンを 100 μM で 24 時間曝露させることで死細胞の増加が見られた（図 1）。

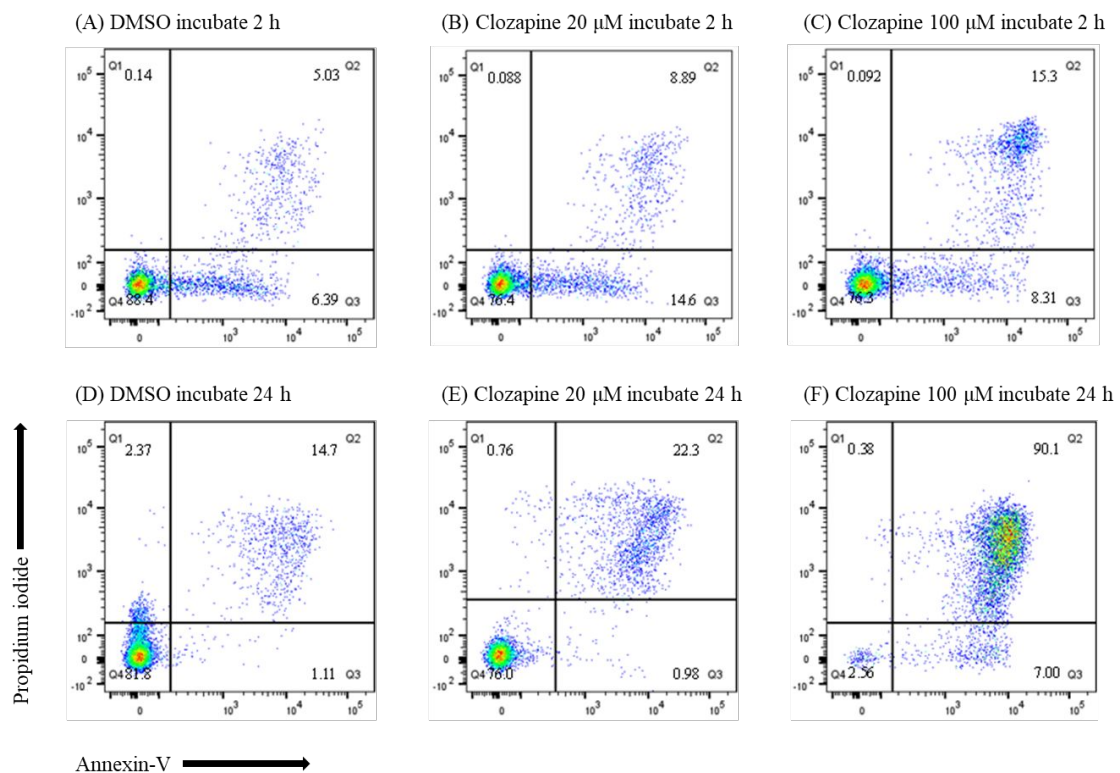
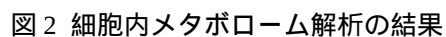


図 1. HL-60 細胞の生存率に対するクロザピンの影響

「クロザピン 100 μ M で 24 時間曝露させる」を HL-60 細胞の細胞死誘導条件として、経時的に培養した細胞のサンプリングを行った。各サンプルにおける細胞内のメタボロームを解析し、Volcano plot 描画により代謝物の挙動の解析を行った。

その結果、細胞死が生じる前のインキュベート 2 時間の時点ですでに一部のアミノ酸で細胞内の濃度が変化していた (図 2)。



今後はこれら候補バイオマーカーと細胞死との関連を調べて細胞死の機序を解明し、臨床検体で検証を行っていく予定である。

主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

研究組織（研究協力者）

氏名	ローマ字氏名
----	--------