〈抄録〉第21回 日本臨床薬理学会年会 2000年9月28~29日 札幌

Nortriptyline (NT) および N-desmethyldesmethylclomipramine (DC) の水酸化に対する CYP2D6 の関与の差異

下田 和孝*¹ 井上 義政*² 染矢 俊幸*³
高橋 三郎*⁴ 大川 匡子*¹

はじめに
臨床的に有用な3級アミンTCAである
clomipramine(C)の代謝へのCYP2C19/CYP2D6変異遺伝子の影響について昨年の本学会で報告したが、Cの脱メチル化代謝物であり、2級アミンであるN-desmethyl-clomipramine(DC)の水酸化能とCYP2D6変異遺伝子数の間に有意な関係がみとめられなかった[9]。この結果は一般に信じられている「nortriptyline(NT)、desipramine(D)やDCなどの2級アミンTCAの水酸化にはCYP2D6が関与する」ということや日本人でもCYP2D6変異遺伝子数とNT・Dの水酸化率との間に有意な関係が存在する[2, 7]ことと矛盾する。本研究ではCYP2D6発現系を用いてNTとDCの水酸化の差異について検討した。

方法

ヒトリンパ芽球細胞に発現させたヒトCYP2D6(Gentest Corp., USA)を用い、Couttsら[1]の方法・条件に従った。NADP⁺(25 µl (20 µg/ µl buffer)), D-glucose 6-phosphate(25 µl (20 µg/ µl buffer)), MgCl 6H₂O(50 µl (6.7 µg/ 1 µl buffer)), glucose 6-phosphate dehydrogenase (10 µl (50 unit/ml buffer)), 基質 (NT および DC :340 µl, 各基質の最終濃度は0-100 nmol/mlとなるように調節) のmixtureにCYP2D6を加えることで反応を開始させ、37°Cで15分間incubateした。反応は試験管を氷冷し、25% K₂CO₃を50 µl加えることで停止させた。生成された代謝産物(E-10-hydroxy-nortriptyline および 8-hydroxy-N-desmethyldesmethylclomipramine)の定量は高速液体クロマトグラフィーにておこなった[6, 8]。

結果

DCの水酸化に対するミハエリス・メンテン定数(K_m)はNTのそれに比して約7倍高く(15.46 ± 3.17 vs 2.05 ± 0.32 nmol/ml, p=0.0006, n=5)、DC

の最大反応速度(V_{max})はNTのそれに比して有意に高かった(2.47 ± 0.31 vs 1.65 ± 0.25 nmol/15 min/100 pmol of CYP2D6, p=0.002, n=5)。DCの水酸化に対する内因性クリアランス(V_{max}/K_m)はNTのそれの約20%であった(0.16 ± 0.03 vs 0.82 ± 0.17 ml/100 pmol of CYP2D6/15 min., p=0.0008, n=5)。

考察

これまでの研究結果からはDCの8-水酸化はCYP2D6によって触媒され则认为られている[3-5]。しかしながら、我々の研究結果からは日本人ではDCの水酸化能とCYP2D6変異遺伝子数の間に有意な関係がみとめられなかった[9]。これは日本人ではCYP2D6*3, *4, *5などのdefective alleleの頻度が低く、活性の低下のみを起こすCYP2D6*10の頻度が高いということが理由にあげられるが、日本人でもCYP2D6変異遺伝子数とNT・Dの水酸化率との間に有意な関係が存在する[2, 7]という結果を既に我々は報告している。本研究の結果はNTとDCの水酸化に対するCYP2D6の関与度には大きな差異が存在し、日本人でのNTの水酸化能とCYP2D6変異遺伝子の数との間には有意な関係があるのに対して、DCの水酸化能とCYP2D6変異遺伝子の数との間に有意な関係がない理由であることが示唆された。

文献

1. Coutts RT, Su P, Baker GB, Daneshmand M. Metabolism of imipramine in vitro by isozyme CYP2D6 expressed in a human cell line, and observations on metabolite stability. J Chromatogr 615:265-272 (1993).
2. Morita S, Shimoda K, Someya T, et al. Steady-state plasma levels of nortriptyline and its hydroxylated metabolites in Japanese: The impact of CYP2D6 genotype on the hydroxylation of nortriptyline. J Clin Psychopharmacol 20:141-149 (2000).

*1 滋賀医科大学精神科

〒520-2192 大津市瀬田月輪町

*2 ウエルファイド株式会社開発研究所

*3 新潟大学精神医学, *4 埼玉江南病院

3. Nielsen KK, Brøsen K, Hansen MGJ, et al. Single-dose kinetics of clomipramine: Relationship to the sparteine and S-mephenytoin oxidation polymorphisms. Clin Pharmacol Ther 55:518-527 (1994).
4. Nielsen KK, Brøsen K, Gram LF, et al. Steady-state plasma levels of clomipramine and its metabolites: impact of the sparteine/debrisoquine oxidation polymorphism. Eur J Clin Pharmacol 43:405-411(1992).
5. Nielsen KK, Flinois PP, Beaune P, et al. The biotransformation of clomipramine in vitro, identification of the cytochrome p450s responsible for the separate metabolic pathways. J Pharmacol Exp Ther 277:1659-1664(1996).
6. Shimoda K, Minowada T, Noguchi T, et al. Interindividual variations of desmethylation and hydroxylation of clomipramine in an Oriental psychiatric population. J Clin Psychopharmacol 13:181-188(1993).
7. Shimoda K, Morita S, Hirokane G, et al. Metabolism of desipramine in Japanese psychiatric patients: The impact of *CYP2D6* genotype on the hydroxylation of desipramine. Pharmacol Toxicol 86:245-249(2000).
8. Shimoda K, Yasuda S, Morita S, et al. Significance of monitoring plasma levels of amitriptyline, and its hydroxylated and desmethylated metabolites in prediction of the clinical outcome of depressive state. Psychiat Clin Neurosci 51:35-41(1997).
9. Yokono A, Morita S, Someya T, et al. The impact of CYP2C19 and CYP2D6 genotypes on the metabolism of clomipramine in Japanese psychiatric patients. in submission to J Clin Psychopharmacol.