

氏 名	後 藤 綾
国 籍 ・ 本 籍	愛知県
学 位 の 種 別	博士（薬学）
学 位 の 番 号	甲第298号
学位授与の日付	平成30年 3 月20日
学位授与の要件	名城大学学位規程第 3 条第 3 項該当
学 位 論 文 題 目	抗精神病薬による血液毒性の発現機序に関する研究
論文審査委員	主 査 野 田 幸 裕
	副 査 平 松 正 行
	副 査 脇 田 康 志

論文内容の要旨

クロザピンは、ハロペリドールやクロルプロマジンなど他の抗精神病薬と比較して遅発性ジスキネジアが発現しにくい薬剤である。しかし、副作用で致命的となりうる無顆粒球症を惹き起こすことが判明し、クロザピンによる血液毒性（無顆粒球症や好中球減少症）（Tiihonen et al., 2009）の発現予防・早期発見および治療を目的とした血液モニタリングの導入を前提に、クロザリル患者モニタリングサービス（clozaril patient monitoring service: CPMS）により、対応可能な登録施設・医師の下、検査基準に適合し頻回な血液検査などの厳重な管理の下で使用が可能となっている（Bastiampillai et al., 2016）。しかし、その発現機序は明らかにされておらず、CPMS に則してクロザピンを使用した場合でも、血液毒性の発現によりやむなく中止となる患者も少なくない。

クロザピンによる血液毒性は、投与開始直後ばかりでなく、18 週までに頻発する（Cohen et al., 2013, Galderisi et al., 1998, Munro et al., 1999）こと、クロザピンによる無顆粒球症を発現した患者の骨髓において、分化増殖過程の造血系細胞が減少していることから、クロザピンによる血液毒性は、クロザピンの急性・慢性作用による成熟血液細胞や造血系細胞の分化増殖過程の障害を伴って惹起すると報告されている（Deliliers, et al., 2016）。一方、クロザピンは、骨髓細胞や好中球のミエロペルオキシダーゼによって過酸化水素および塩素イオンから生成された次亜塩素酸による N-ニトロソ化を受け、フリーラジカルを有するクロザピン反応性代謝物を生成する。これがハプテンとして細胞表面に結合し、抗原となって細胞毒性を示す（Gardner et al., 1998）ことから、無顆粒球症の発

現には酸化的活性化によるクロザピン反応性代謝物が関与している可能性がある (Maggs et al., 1995)。しかし、ヒト好中球および分化増殖過程の造血系細胞や成熟血液細胞におけるクロザピンとその反応性代謝物を長時間曝露した場合の細胞生存、細胞数、および細胞分化への影響を検討した報告はない。クロザピンは、脳よりも骨髄の分化増殖過程の造血系細胞に高発現し、好中球減少と関連する受容体 (Takeshita et al., 2004) であるヒスタミン H_4 受容体に対して部分作動薬として作用することが見出されている (Smits et al., 2006 ; Sugata et al., 2007)。しかし、ヒスタミン H_4 受容体がクロザピンおよびその反応性代謝物の血液毒性の発現に関与しているかどうかは不明である。

本研究では、クロザピンによる血液毒性の発現機序を解明することを目的として、ヒト好中球およびヒト急性前骨髄球性白血病細胞株で顆粒球様細胞への分化能を有する HL-60 細胞の分化増殖過程の造血系細胞や成熟血液細胞におけるクロザピンおよびその反応性代謝物の細胞生存、細胞数、および細胞分化への影響、およびその作用機序としてヒスタミン H_4 受容体の関与について検討した。

第 1 章では、末梢血より分離したヒト好中球におけるクロザピンとその反応性代謝物による細胞生存への影響について検討した。その結果、クロザピン未変化体の 2 時間曝露およびこれまでに検討されていなかった 2 時間以上 (24 時間および 48 時間) の曝露は、濃度の増加および時間の経過に伴って細胞毒性を示した。クロザピン反応性代謝物も濃度の増加および時間の経過に伴って細胞毒性を示し、その毒性は未変化体よりも低い濃度で発現する可能性が示唆された。しかし、このような細胞毒性はオランザピンには認められなかった。本研究では臨床検体を用いたことから人種差や年齢差などによる違いがある可能性があり、個人差の少ない細胞株などの成熟血液細胞におけるクロザピンの作用を詳細に検討する必要がある。

第 2 章の第 1 節では、第 1 章で得られた結果に基づいて、ヒト急性前骨髄球性白血病細胞株で顆粒球様細胞への分化能を有する HL-60 細胞を用いて成熟血液細胞だけでなく、分化増殖過程の造血系細胞におけるクロザピンの細胞生存、細胞数、および細胞分化への影響、およびその作用機序としてヒスタミン H_4 受容体の関与について検討した。その結果、クロザピンは分化期の HL-60 細胞に対して他期より低濃度の長期間 (120 時間) 曝露によって細胞生存率を低下させ、細胞毒性を示した。その発現機序にはヒスタミン H_4 受容体を介するアポトーシス誘導が関与している可能性が示唆された。一方、クロザピンは細胞数も減少させて細胞毒性を示すことが見出され、その作用にはヒスタミン H_4 受容体以外の機序が関与していることが示唆された。このようなクロザピンによる細胞毒性はオランザピンでは認められず、ドキシソルビンによる細胞毒性の発現機序とも異なっていたことから、クロザピンに特異的な薬理作用によるものと示唆された。第 2 節では、分化期の HL-60 細胞に対するクロザピン反応性代謝物への影響とヒスタミン H_4 受容体の関与について検討した結果、クロザピン未変化体より強力に細胞生存率を低下させ、細胞毒性を示した。その作用はヒスタミン H_4 受容体を介して発現していることが示唆された。

以上のように、本研究ではクロザピンの副作用のうち、血液毒性に関して培養細胞および臨床検体を用いて中毒性機序に着目して発現機序を検討した。本研究で得られた結果は、クロザピンによる無顆粒球症に対する新規予防・早期発見および治療法の開発ばかりでなく、血液毒性を有する他の薬物による有害事象の発現および進展の予防・早期発見および治療にも有用な医薬品の開発に繋がるものと思われる。

論文審査の結果の要旨

本研究では、ヒト好中球および分化増殖過程の造血系細胞や成熟血液細胞におけるクロザピンおよびその反応性代謝物の細胞生存や細胞増殖への影響とその発現機序を検討し、クロザピンが有する重篤な副作用の早期発見や予防法の開発に繋げることを目標としている。こうしたリスクを制御することで、治療効果を最大限に発揮させることの一助になる研究内容の学位論文である。

第 1 章では、末梢血より分離したヒト好中球におけるクロザピンとその反応性代謝物による細胞生存への影響について検討した。その結果、クロザピン未変化体とその反応性代謝物は、曝露した濃度の増加および時間の経過に応じて細胞生存率を低下させ、細胞毒性を示したが、このような細胞毒性はオランザピンでは認められないことを明らかにした。

第 2 章では、ヒト前骨髄性白血病細胞 (HL-60 細胞) を用いて分化増殖過程 (未分化期、分化期、および成熟期) の造血系細胞におけるクロザピンとその反応性代謝物の曝露による細胞生存への影響について検討した。その結果、クロザピンは未分化期、分化期、および成熟期のいずれの HL-60 細胞においても細胞生存を低下させることを見出した。特に、分化期の HL-60 細胞においてクロザピン未変化体とその反応性代謝物は、長時間で低濃度の曝露によって細胞毒性を示すことを明らかにした。これらの細胞毒性の発現には、ヒスタミン H_4 受容体を介するアポトーシス誘導が関与していることを見出した。

本研究は、クロザピンによる無顆粒球症に対する新規予防・早期発見および治療法の開発に繋がる知見を有しており、本論文は、学位論文としての条件を備えていると評価できる。従って、学位を授与することを妥当なものと判断する。

