

# 学位論文要旨

学位申請者氏名 秋元 勇人

## バレニクリンのうつ病・自殺のリスク要因に関するトランスレーショナル研究

禁煙補助薬の1つであるバレニクリン(チャンピックス®)は、ブプロピオンやニコチン代替療法のような他の禁煙補助薬と比較し、禁煙成功率が高いことが報告されている。しかしながら、バレニクリンと抑うつ状態や自殺念慮、自殺行動との関連性が指摘されたことから、米国 Food and Drug Administration (FDA)はバレニクリンの添付文書中に枠組み警告を追加した。一方でバレニクリンとうつ病や自殺との関連性を支持しない研究も報告されている。そのため、バレニクリンそれ自体がうつ病や自殺のリスク因子であるかを調べることは重要である。近年、薬剤疫学的研究のような臨床研究と基礎研究とを組み合わせたトランスレーショナル研究が注目されている。そこで本研究では、トランスレーショナル研究を実施することで、バレニクリンのうつ病・自殺のリスク要因を調べることにした。

### 1. バレニクリン使用中における自殺関連事象発現リスクの実態調査

まず、臨床においてバレニクリンのうつ病や自殺のような自殺関連事象発現(SRE)リスクを調べる必要がある。そこで、本章では、FDA が公開している有害事象自発報告システム(FAERS)を用いて、バレニクリン使用症例の SRE リスクをうつ病治療症例と比較した。SRE リスクを評価するために、報告オッズ比(Reporting Odds Ratio)を算出した。その結果、バレニクリン使用症例の SRE リスクはうつ病治療症例と比較し、4 倍高いことが明らかとなった。うつ病治療患者では、たとえ抗うつ薬を使用している、健常者と比較し有意に自殺リスクが高いことが報告されている。したがって、臨床におけるバレニクリンの SRE リスクは非常に大きいことが示唆された。

### 2. うつ病モデルラットの脳内メタボローム解析

疾患の病態生理学的特徴を解析するための方法として、メタボロミクスが注目されている。メタボロミクスは生体サンプル中の低分子代謝物を包括的に解析するオミックス技術である。そこで本章では、メタボローム解析がうつ状態を評価可能か否かを調べた。雄性 Wistar/ST ラットをストレス群と対照群に分け、ストレス群に対し慢性的にストレスを負荷した(4 週間)。ストレス群がうつ状態になったかを評価するために、次の行動評価が実施された: 体重測定、ショ糖嗜好性試験(SPT)、オープンフィールド試験(OFT)。SPT はうつ病の中核症状である無快楽状態(anhedonia)を、OFT は自発行動や不安を評価するために実施した。慢性ストレス負荷後、ストレス群において、体重の減少、anhedonia、自発行動の低下、不安の増加が認められたため、うつ病モデルラットが作成された。うつ病モデルラットの中には、anhedonia を呈する susceptible なラットと、呈さない resilient なラットが混在していた。うつ病モデルラット海馬の代謝物プロファイルは、対照ラットと明確に判別することはできなかった。しかしながら、susceptible なラットの海馬の代謝物プロファイルは健常ラットと明確に判別することが可能であった。加えて、うつ病モデルラットの海馬では N-アセチルアスパラギン酸は増加、 $\gamma$ -アミノ酪酸(GABA)

は減少しており、これら 2 種の代謝物は、うつ病モデルラットと対照ラットとを判別することが可能な、潜在的なバイオマーカーであることが示唆された。したがって、ラット海馬のメタボローム解析はうつ状態を評価可能であることが明らかとなった。

### 3. バレニクリンが及ぼすラットの行動および脳内代謝物プロファイルへの影響

第 2 章において、海馬のメタボローム解析はうつ状態を評価可能であることが明らかとなった。そこで本章では、バレニクリンを慢性的に投与されたラットとうつ病モデルラットの行動および海馬の代謝物プロファイルの違いを調べることとした。バレニクリンを慢性的に経口投与されたラット(バレニクリン投与ラット)は、うつ病モデルラットではなく、健常ラットと類似した行動を示した。また、海馬の代謝物プロファイルにおいても、バレニクリン投与ラットは健常ラットと類似していた。このことから、ラットを用いた基礎研究においては、バレニクリン自体がうつ病や自殺を誘発する可能性が低いことが明らかとなった。

### 4. バレニクリンの自殺関連事象発現タイミングから推定されるうつ病・自殺のリスク要因

第 3 章において、バレニクリンはうつ病や自殺のような精神神経系疾患を誘発させないことが明らかとなった。しかしながら、依然としてバレニクリン使用中に発現する SRE のリスク要因は不明なままである。そこで本章では、各種禁煙補助薬使用期間中の SRE 発現タイミングを調べるために、FAERS に報告された禁煙補助薬使用症例を解析した。その結果、バレニクリン使用症例(666 cases)の SRE の発現は、使用開始後 1-3, 5, 7 週目に有意なシグナルが検出された。ブプロピオン使用症例(20 cases)については、使用開始後 1-3 週目、ニコチン代替療法症例(11 cases)においては、使用開始後 1 週目に有意なシグナルが検出された。すなわち、禁煙補助薬の種類によらず、SRE の発現タイミングは早期であることが明らかとなった。したがって、禁煙期間中に発現する SRE の要因は禁煙補助薬ではなく、ニコチン退薬症候である可能性が示唆された。

### 5. ニコチン退薬症候モデルラットの脳内メタボローム解析

第 4 章において、ニコチン退薬症候がバレニクリン使用中の SRE のリスク要因である可能性が示唆された。そこで本章では、ニコチン退薬症候モデルラットの脳内代謝物の変動を調べることで、および、同モデルラットとうつ病モデルラットの脳内代謝物変動の類似性を調べた。ニコチン退薬症候モデルラットの海馬では、N-アセチルアスパラギン酸が有意に増加し、GABA が有意に減少した。また、この 2 種の代謝物はニコチン退薬症候ラットと対照ラットの判別に大きく寄与する代謝物であった。したがって、うつ病モデルラットにおいて変動していた 2 種類の代謝物はニコチン退薬症候モデルラットにおいても同様の変動を呈することが明らかとなった。

バレニクリン使用中の SRE 発現リスクは非常に高いことが明らかとなった。しかしながら、バレニクリン自体は SRE のリスク要因ではなく、禁煙に伴うニコチン退薬症候が潜在的なリスク要因であることが示唆された。加えて、臨床研究と基礎研究とを橋渡しすることで、得られた知見を裏付けることが可能であることが示された。

# Thesis abstract

Translational research for the risk factor of depression and suicide during varenicline use

Hayato Akimoto

It is reported that varenicline (chantix®) that is one of the smoking cessation drugs is highly abstinence rate compared to other smoking cessation drugs such as bupropion and nicotine replacement therapy. However, as the association between varenicline and depression, suicide thought, and suicide behavior was pointed out, Food and Drug Administration added boxed warning to the label of varenicline. On the other hand, some studies reported that no association between varenicline and these events. Therefore, it is important to investigate whether varenicline itself is a risk factor of these events. Recently, translational research combining clinical research such as pharmacoepidemiology with basic research has attracted attention. Therefore, the author aimed to investigate the risk factor of depression and suicide for varenicline performing translational research.

## 1. The fact of the onset risk of suicide-related events during varenicline use

Firstly, it is necessary to investigate the risk of suicide-related event (SRE) including depression and suicide for varenicline in clinical setting. Therefore, in this chapter, the SRE risk of varenicline use cases was compared with depression treatment cases using FDA Adverse Event Reporting System (FAERS). In order to assess the SRE risk, Reporting Odds Ratio were calculated. As a result of risk assessment, the SRE risk of varenicline use cases is 4 times higher than that of depression treatment cases. Even if antidepressants was used for treatment in depressed patients, it is reported that suicide risk of these patients is significantly higher than healthy individuals. Therefore, it was suggested that the SRE risk of varenicline use is highly significant in clinical setting.

## 2. Brain metabolomic analysis of a rat model of depression

An effective modern method to analyze disease pathophysiology is represented by metabolomics. Metabolomics is an omics technique that comprehensively analyzes small molecule metabolites in biological samples. Therefore, in this chapter, the author investigated whether metabolomic analysis can evaluate depressed state. Male Wistar/ST rats were divided into stress group and control group, and chronic stress were loaded to rats of stress group (4 weeks). In order to evaluate whether stress group manifest depressed state, the following behavior testing were performed: body weight measurement, sucrose preference test (SPT), and open field test (OFT). SPT were performed to evaluate core symptom of depression (loss of interest or pleasure; anhedonia), and OFT were performed to evaluate locomotor activity and anxiety. After chronic stress loading, because rats of stress group manifested weight loss, anhedonia, decreased locomotor activity, and increased anxiety, these rats were regarded as depression model rats. Susceptible rats (manifest anhedonia) and resilient rats (do not anhedonia) were mixed in the depression model rats. Metabolic profiles in the hippocampus of the depression model rats and control rats could not be discriminated. However, metabolic profiles of susceptible rats and control rats could be clearly discriminated. Additionally,

N-acetylaspartate was increased and  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) was decreased in the hippocampus of the depression model rats, and these 2 metabolites were identified as potential biomarker candidates that could be used to distinguish between control rats and the depression model rats. Therefore, metabolomics analysis of rat hippocampi revealed that depressive state could be evaluated.

### 3. The effect of varenicline on behavior and brain metabolite profiles of rats

In 2nd chapter, it was revealed that depressive state could be assessed using metabolomic analysis of rat hippocampi. Therefore, in this chapter, the author aimed to investigate the difference in behavior and metabolic profiles of hippocampi of varenicline chronically oral administered rats and the depression model rats. Behavior of varenicline administered rats were similar to healthy rats, but not the depression model rats. Additionally, metabolic profiles of varenicline administered rats were also similar to healthy rats. Thus, it was suggested that varenicline itself does not induce depression and suicide on basic research using animal models.

### 4. The risk factor of depression and suicide presumed from the onset timing of suicide-related event during varenicline use

In 3rd chapter, it was revealed that varenicline could not induce neuropsychiatric event such as depression and suicide. However, the risk factor of SRE during varenicline use remain unclear. In order to investigate the onset timing of SRE during each smoking cessation drug, cases used any smoking cessation drugs were analyzed. As a result of the analysis, the SRE onset of varenicline cases (666 cases) were significantly detected at 1-3, 5, and 7 weeks after use. In addition, bupropion cases (20 cases) were significantly detected at 1-3 weeks and nicotine replacement therapy cases (11 cases) were significantly detected at 1 week. The onset timing of SRE is early regardless of types of smoking cessation drugs. Hence, it is suggested that the potential risk factor of SRE is nicotine withdrawal, but not smoking cessation drugs themselves.

### 5. Brain metabolomic analysis of a rat model of nicotine withdrawal

In 4th chapter, it was suggested that nicotine withdrawal is a potential risk factor of SRE during varenicline use. Therefore, the author aimed to investigate changes in brain metabolites on nicotine withdrawal model rats and similarities between nicotine withdrawal model rats and depression model rats. In the hippocampi of nicotine withdrawal rats, N-acetylaspartate was increased and GABA was decreased significantly. In addition, these 2 metabolites largely contributed to discrimination between nicotine withdrawal and control rats. Therefore, it was revealed that these 2 metabolites changed in depression model rats also exhibit similar changes in nicotine withdrawal model rats.

The onset risk of SRE during varenicline use is very high. However, metabolomics analysis and pharmacoepidemiological study revealed that nicotine withdrawal symptoms during smoking cessation is a potential risk factor, but not varenicline itself. Additionally, by combining clinical study and basic study, it was revealed that the findings obtained in the recent study was supported by translational research.

## 論文審査の結果の要旨

全世界におけるうつ病の有病者数は、2015年時点で3億2000万人以上に上る、とWHOは発表している。うつ病は自殺の主なリスク要因になるため、うつ病がもたらす社会的、経済的な損失は非常に大きい。一方、薬物誘発性のうつ病や自殺の報告も多く、うつ病の治療に用いられる薬物が誘発する自殺については、医療者が特に注意を払って患者の治療にあたらなければならない。

バレニクリンは禁煙成功率が高い薬物として知られ、他の禁煙補助薬よりも多く処方、使用されている。しかし、バレニクリンは、バレニクリン使用による抑うつ状態や自殺念慮の惹起との関連性が高く、薬物誘発性うつ病の報告件数では1位、薬物誘発性自殺の報告件数では2位であることが知られている。そこで、本論文ではバレニクリンを研究対象とし、バレニクリン使用によるうつ病や自殺のリスク要因を探索することを目的として疾患の表現型を反映しやすいメタボローム解析によって評価することを試みた。

論文構成は5章からなり、第1章ではパブリックデータベースを用いてバレニクリン使用症例の自殺関連事象発現リスクの高さ、精神疾患増悪の可能性、および自殺関連事象発現リスク低下に寄与する薬物について調査した。第2章ではうつ病モデルラットの海馬組織を用いた脳内メタボローム解析が「うつ」と「非うつ」を判別可能かどうか、および両者間で変動する代謝物について調べた。第3章ではバレニクリン投与によって発現するうつ病様行動の観察と脳内代謝物プロファイルのうつ病モデルラットとの類似性について調べた。第4章では3種類の禁煙補助薬ごとの自殺関連事象発現タイミングを調べた。第5章ではニコチン退薬症候モデルラットおよび退薬症候回復モデルラットを作成し、メタボローム解析によるニコチン退薬症候状態の判別とニコチン退薬症候状態で変動する代謝物について調べた。

第1章では、FDAが公開しているデータベースFAERS（米国食品医薬品局有害事象報告システム）の日本語検索システムCzeekVを用いてバレニクリン使用症例の自殺関連事象発現リスクを調べたところ、抗うつ薬使用症例に比較して4倍高いリスクがあり、バレニクリン単独使用で自殺関連事象を誘発する可能性のあることが示唆された。また、抗うつ薬によるうつ病治療を行っている症例にバレニクリンを併用すると自殺関連事象発現リスクがさらに上昇することが判明したことから、バレニクリンの使用は精神疾患を悪化させることがある、という添付文書の記載事項（使用上の注意）を支持する知見が得られた。また、併用することで自殺関連事象発現リスクが高くなる抗うつ薬はミルタザピンであり、低下させる抗うつ薬はアミトリプチリンであることを明らかにした。ただし、バレニクリン使用によって高くなる自殺関連事象のリスク要因がバレニクリン使用によるうつ病誘発なのか、あるいはニコチン退薬症候なのかは不明であった。そこで、薬物使用によるうつ病誘発リスクの有無を明らかにするためにメタボローム解析による評価を行うこととした。

第2章では、慢性的ストレス負荷で作成したうつ病モデルラットの海馬組織を用いて脳内メタボローム解析を行った。うつ病モデルラットの中にはストレスに対して脆弱なsusceptibleラットとストレス抵抗性を示すresilientラットがいて、脳内代謝物プロファイルにおいて、ストレスを与えていない対照ラットとsusceptibleラットのプロファイルは明確に判別できたが、対照ラットとresilientラットとの判別は困難であった。よって、脳内代謝物プロファイルは、「うつ」と「非うつ」の判別だけでなく、スト

レス susceptibility も反映可能であることが示唆された。脳内代謝物の変動については、うつ状態で *N*アセチルアスパラギン酸の増加とγ-アミノ酪酸 (GABA) の低下が認められ、この2つの脳内代謝物が「うつ」と「非うつ」を判別するバイオマーカーになり得ることが示唆された。さらに *N*アセチルアスパラギン酸は、ストレス susceptibility のマーカーにもなり得ることが見出された。

第3章では、ラットにバレニクリンを3週間連日経口投与することで、うつ病様行動が観察されるか、および脳内代謝物プロファイルがうつ病モデルラットに類似するかを調べた。その結果、バレニクリンはラットの行動に影響しないことが分かった。またストレスをかけてうつ状態としたラットに対して、バレニクリンはうつ病様行動を増悪させないことが示唆された。脳内代謝物プロファイルにおいて、バレニクリン投与ラットは対照ラットと類似したプロファイルを示し、バレニクリンとストレスの両方を負荷したラットでも対照ラットと同様のプロファイルを示したことから、バレニクリンは抗うつ作用を持つ可能性が示唆された。バレニクリン投与によるうつ病の誘発や増悪の可能性は低いことが示唆されたため、第1章において明らかにされたバレニクリン使用による自殺関連事象発現リスクの増高要因は、バレニクリンによるうつ病誘発ではなく、ニコチン退薬症候である可能性が考えられた。

第4章では、バレニクリン使用による自殺関連事象発現の主たる要因がニコチン退薬症候であるとするならば、禁煙補助薬の種類によらず特定の期間に集中して精神神経イベントが発現するであろうと考え、FAERS データベースを用いて3種類の禁煙補助薬 (バレニクリン、ブプロピオン、ニコチン製剤) の自殺関連事象発現タイミングを解析した。その結果、自殺関連事象発現タイミングはいずれの禁煙補助薬でも使用後3週間以内に集中していることが分かった。これにより、バレニクリン使用による自殺関連事象発現の要因はニコチン退薬症候である可能性が高いことが示唆された。

第5章では、ニコチン退薬症候モデルラットおよび退薬症候回復モデルラットを作成し、メタボローム解析はニコチン退薬症候状態と退薬症候回復状態とを判別可能であるか、およびニコチン退薬症候状態で変動する代謝物はうつ病モデルラットと類似するかを調べた。その結果、脳内メタボローム解析はニコチン退薬症候状態と退薬症候回復状態とを明確に判別可能であった。ニコチン退薬症候状態の判別マーカーとして、*N*アセチルアスパラギン酸、GABA、クレアチンが示唆され、このうちの *N*アセチルアスパラギン酸、GABA はうつ病状態でも変動する共通のマーカーであることが分かった。

以上、秋元勇人氏は、本論文において、バレニクリン使用によって発現する自殺関連事象のリスクは、バレニクリンそのものが引き起こす精神状態の変化によるものではなく、主としてニコチン退薬症候によって高まることを示した。大規模臨床データベースを用いた薬剤疫学的研究から導かれた結果の要因をエビデンスレベルの高い大規模臨床試験を実施することなく、メタボローム解析という基礎研究によって解明したことは非常に意義深く、今後このようなトランスレーショナルリサーチが様々な疾患や薬物に応用されることが期待されるものであり、本論文は、薬学研究科課程による博士 (薬学) 論文に十分値すると判定した。