

第1回 基礎・臨床融合の学内共同研究発表会

UDP-グルクロン酸転移酵素遺伝子多型による薬剤代謝への影響と副作用発現の予測のための研究

- ◆日 時 平成22年11月29日(月) 16時~18時
- ◆場 所 管理棟3階大会議室
- ◆研究責任者 佐藤 浩(生命科学講座)
丸尾良浩(小児科学講座)
- ◆司 会 小笠原一誠(病理学講座)

口演者と演題

1. 丸尾良浩(小児科学講座) UDP-グルクロン酸転移酵素ファミリーの遺伝子多型と薬剤副作用
2. 生城真一(生命科学講座客員) 薬物代謝酵素発現系を用いた薬物代謝予測
3. 寺田智祐(薬剤部) 遺伝子多型情報のがん薬物療法への応用

はじめに

佐藤 浩(生命科学講座)

研究活動推進室会議(服部隆則室長)において滋賀医科大学独自のプロジェクトとして、5大重点プロジェクトに続き基礎医学講座と臨床医学講座が融合した研究を、全学を挙げて推進することとなり、十数テーマが選出採択された。今年度のさきがけとして学内共同研究発表会を馬場忠雄学長の列席のもとで行ったので報告する。

「UDP-グルクロン酸転移酵素遺伝子多型による薬剤代謝への影響と副作用発現の予測」という研究テーマで生命科学講座の佐藤浩と小児科学講座の丸尾良浩が研究責任者となり、平成22年11月29日(月)16時より管理棟3階大会議室で、研究発表会が服部

隆則副学長の挨拶のあと病理学講座教授の小笠原一誠先生の司会で行われた。

初めに臨床から、小児科学講座講師の丸尾良浩先生による「UDP-グルクロン酸転移酵素ファミリーの遺伝子多型と薬剤副作用」、ついで基礎から、生命科学講座客員准教授の生城真一先生(富山県立大学准教授)による「薬物代謝酵素発現系を用いた薬物代謝予測」、そして臨床と基礎の両方の立場から、薬剤部長・教授の寺田智祐先生により「遺伝子多型情報のがん薬物療法への応用」の研究発表が行われた。

研究発表会は、臨床から40名、基礎医学および大学院生が27名、合わせて67名の出席者で行われた。内科学教授の安藤朗先生、精神医学講座講師の森田幸代先生などからアドバイスや質疑があり、このプロジェクトを今後推進していく上での貴重な手掛かりが得られた。

UDP-グルクロン酸転移酵素ファミリーの遺伝子多型と 薬剤副作用回避のための研究

丸尾良浩¹、生城真一^{2,3}、松井克之¹、三村由卯¹、太田依子¹、森麻美¹、佐藤浩³、竹内義博¹

¹滋賀医科大学 小児学講座

²富山県立大学 工学部 生物工学科

³滋賀医科大学 生命科学講座

Polymorphism of UDP-glucuronosyltransferase and side effect of drug

Yoshihiro Maruo¹, Shinichi Ikusiro^{2,3}, Katsuyuki Matsui¹, Yu Mimura¹, Yoriko Oota¹, Asami Mori¹,
Hiroshi Sato³ and Yoshihiro Takeuchi¹

¹Departments of Pediatrics and ³Bioscience, Shiga University of Medical Science

²Faculty of Engineering, Toyama Prefectural University

UDP-グルクロン酸転移酵素(UGT)ファミリーは薬剤代謝の第2相を担う主要な酵素であり17のアイソフォームが存在する。これら酵素により膨大な数の薬剤や、生体内物質の代謝・解毒が行われている。タンパク構造の類似性により1型(UGT1)と2型(UGT2)のサブファミリーに分けられる。私たちは、日本人における1型ファミリー(UGT1A1-UGT1A9)の多型を発見し、薬剤代謝への影響を明らかにしてきた。

UGT1A1は薬剤代謝のみならず、内因性物質であるビリルビンの唯一の代謝酵素であり、UGT1A1の多型および変異は遺伝性非抱合型高ビリルビン血症

(Crigler-Najjar症候群、Gilbert症候群、母乳性黄疸)をきたすだけでなく、イリノテカン(CPT-11)の活性型代謝産物(SN-38)の解毒にも関わる。UGT1A3, UGT1A4はアミンを中心とした薬剤の解毒を、UGT1A9はプロポフォール(Propofol)の解毒を行うなど、臨床現場で頻用

される薬剤との関係がある。今回、日本人の解析で見られたUGT1の遺伝子多型とその多型による酵素の変化がどのように代謝活性に影響するかについて報告する。

UGT1A3は肝臓に発現しており、1級アミン、一部の3級アミン、Opioids, Coumarins, Flavonoids: Naringenin, Anthraquinones, Estrone, 2-hydroxyestosterone, Carboxylic acids(NSAIDs: Ibuprofen など), Phenolic compounds, Aliphatic alcohols, ARBなどの解毒を行なう。日本人においてはQ6R、W11R、R45W、V47Aのvariantがみついている。なかでもR45Wは培養細胞を用いた発現実験で、estrone(E1)に対し野生型の70%に活性が低下、またW11R-V47Aを持つUGT1A3は野生型の369%に活性が上昇する。

UGT1A4も肝臓に発現するUGTで、基質特異性はUGT1A3に似るが、UGT1A3よりはるかに多くの薬剤

や生体内物質の解毒を行なっている(sapogenins (hecogenin, diosgenin, tigogenin), primary amines (aminofluorene, aminobiphenyl, benzidine), secondary amines(diphenylamine), tertiary amines (imipramine, diphenhydramine, amitriptyline, clozapine), estrogens (estradiol),androgens (androsterone, androstanediol), progestins (pregnandiol, progesterone)). 日本人において UGT1A4 には L48V の多型がみついている。これは、白人、黒人とも異なる多型である。培養細胞を用いた発現実験において、L48V を持つ UGT1A4 は様々な基質に対する活性を下げるため、臨床上も重要な多型であると考えられた。

UGT1A9も肝臓に発現するUGTで、内因性物質 (estrone, 2-hydroestrone, 4-hydroestrone, 2-hydroxyestradiol, 4-hydroxyestradiol, retinoic acid) を始め、多数の薬剤や化学物質 (acetaminophen, 4-methylumbelliferone, 7-ethyl-10-hydroxycamptothecin (SN- 38), propofol, eugenol, thymol, α -naphthol, β -naphthol, 4-hydroxybiphenyl, 4-nitrophenol, 7-hydroxyflavone, fisetin, naringenin, galagin, anthraflavic acid, alizarin, emodin, mycophenolic acid) の解毒を行なう。日本人のUGT1A9にはD256N変異が存在し、propofolを初めとする薬剤代謝の活性を大きく下げる。UDP-グルクロン酸転移酵素には多数の薬剤を解毒し、また多数の変異や多型が存在するため、総合的にUGTを解析する事が薬剤副作用を回避するための基礎的データとして必要であると考えられた。

文献

- [1] Matsui K, Maruo Y, Sato H, Takeuchi Y. Combined effect of regulatory polymorphisms on transcription of UGT1A1 as a cause of Gilbert syndrome. *BMC Gastroenterology*, **10**, 57, 2010.
- [2] Maruo Y, Iwai M, Mori A, Sato H, Takeuchi Y. Polymorphism of UDP-glucuronosyltransferase and drug metabolism. *Current Drug Metabolism*, **6**:91-9, 2005.
- [3] Takahashi H, Maruo Y, Mori A, Iwai M, Sato H, Takeuchi Y. Effect of D256N and Y483D on propofol glucuronidation by human uridine 5'-diphosphate glucuronosyl-transferase (UGT1A9). *Basic Clinical Pharmacology and Toxicology*, **103**, 131-6, 2008.
- [4] Maruo Y, Verma IC, Matsui K, Takahashi H, Mimura Y, Ota Y, Mori A, Maruo Y, Verma IC, Matsui K, Takahashi H, Mimura Y, Ota Y, Mori A, Saxena R, Sato H, Takeuchi Y. Conformational change of UGT1A1 by a novel missense mutation (p.L131P). *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, **46**, 308-11, 2008.
- [5] Mori A, Maruo Y, Iwai M, Sato H, Takeuchi Y, Saxena R, Sato H, Takeuchi Y. UDP-glucuronosyltransferase 1A4 polymorphisms in a Japanese population and kinetics of clozapine glucuronidation. *Drug Metabolism and Disposition*, **33**, 672-5, 2005.

薬物代謝酵素発現系を用いた薬物代謝予測

生城 真一

富山県立大学 工学部 生物工学科 准教授
滋賀医科大学 生命科学講座 客員准教授

Evaluation of drug metabolism using drug metabolizing enzymes expression system

Shinichi IKUSHIRO

Department of Biotechnology, Faculty of Engineering, Toyama Prefectural University

近年、薬効、副作用の遺伝的背景を把握して、遺伝子多型に基づく個人に最適化されたテーラーメイド治療の実現が期待されている。これまでにシトクロムP450、グルクロン酸転移酵素やトランスポーターなどの薬物代謝酵素系が薬剤への応答性に重大な影響を持つと考えられているが、これら酵素群は協調して機能していることから総合的な理解が必要とされている。このような背景から、我々は*in vitro*での薬効、副作用の予測可能な解析系の構築を目指し、酵母を宿主としてヒト及び実験動物由来薬物代謝酵素遺伝子を発現させることによりさまざまな薬物の代謝解析を可能にした[1]。とくにグルクロン酸転移酵素に関しては遺伝子ファミリーを形成しており、薬物のみならず広く生体異物代謝に関与することから食品成分との相互作用にも適応できるものである[2-4]。さらに、これら酵母発現菌体を用いて有機化学的に合成困難な抱合代謝物を容易に調製する技術にも発展できる可能性を示した(図1)。今後、これら酵母を含めた薬物代謝酵素発現システムを用いて遺伝子多型を有する複数の薬物代謝酵素による代謝予測をおこなうことにより、薬物治療におけるテーラーメイド医療に大きく貢献できるものと考えている。

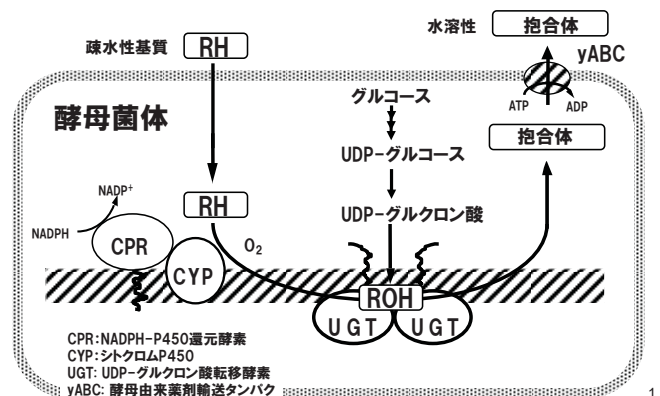


図1. 酵母発現系における薬物代謝酵素発現

文献

- [1] Ikushiro, S., Sahara, M., Emi, Y., Yabusaki, Y., and Iyanagi, T. Functional Coexpression of Xenobiotic Metabolizing Enzymes, Rat Cytochrome P4501A1 and UDP-Glucuronosyltransferase 1A6, in Yeast Microsomes. *Biochimica Biophysica Acta*, **1672**, 86-92, 2004.
- [2] Mackenzie, P.I., Walter Bock, K., Burchell, B., Guillemette, C., Ikushiro, S.I., Iyanagi, T., Miners, J.O., Owens, I.S., and Nebert, D.W. Nomenclature Update for the Mammalian UDP Glycosyltransferase (UGT) Gene Superfamily. *Pharmacogenetics and Genomics*, **10**, 677-685, 2005.
- [3] 生城真一、鎌倉昌樹、榊利之. ヒトグルクロン酸転移酵素分子種によるケルセチン抱合代謝, *ビタミン*, **83**, 351-358, 2009.
- [4] Ikushiro, S. Takashi Iyanagi: UGT1 gene complex (From Gunn rat to Human), *Drug Metabolism Review*. **42**, 14-22, 2010.

遺伝子多型情報のがん薬物療法への応用

寺田 智祐

滋賀医科大学医学部附属病院薬剤部

Application of Genetic Polymorphism Information to Cancer Chemotherapy

Tomohiro TERADA

Department of Pharmacy, Shiga University of Medical Science Hospital

はじめに

ゲノム科学や分子生物学の進歩によって得られた技術や知見を臨床の現場に活用して、個々の患者の特性に応じた医療を提供する、いわゆるオーダーメイド医療が医学的並びに社会的に求められている。特に薬物療法に関わるこのようなアプローチは、**pharmacogenomics** と呼ばれ、臨床の場だけでなく、医薬品開発や毒性試験などの非臨床の分野でも応用が期待されている。具体的な例としては、以下のものが挙げられる。

1. 病態関連遺伝子の探索
2. 遺伝子多型と医薬品の反応性
3. 遺伝子検査による医薬品の有効性の予測

抗がん剤は有効域が狭く、副作用が起これば重篤になるケースが多いこと、また分子標的抗がん剤が続々と上市され、高額な医療費が患者の経済的負担増をもたらしていることなどから、がんの領域は個別化薬物療法の実践が盛んに検討されている分野である。上記項目の2と3は、がんの薬物治療に密接に関わる項目であり、特に3では既に診療報酬上認められているものも多い。例えば、遺伝子発現量の増大を指標とするものとして、乳がん治療における **HER2**、エストロゲンレセプター (**ER**)、プロゲステロンレセプター (**PR**) の検査、また遺伝子の変異を調べる検査として、**EGFR** の変異 (肺がん治療薬ゲフェチニブの有効性の指標) や、**K-ras** の変異 (大腸がん治療薬である抗 **EGFR** 抗体の有効性の指標) の同定などが挙げられる。一方、2に挙げた遺伝子多型と医薬品の反応性については、副作用の予測精度を向上させることが様々な臨床研究によって明らかにされてきたが、診療報酬上請求可能な検査は、グルクロン酸転移酵素 (**UGT1A1**) の遺伝子

多型解析のみである。本稿では、**UGT1A1** 遺伝子多型情報の活用を例にして、がん薬物療法を支える **pharmacokinetics (PK)/pharmacogenomics (PGx)** 研究の有用性について紹介する。

UGT1A1 の遺伝子多型解析

イリノテカン[®]は、肺がん、胃がん、大腸がん等の標準的治療薬の1つとして位置づけられており、下痢と好中球減少が主な副作用である。イリノテカンは肝臓のカルボキシルエステラーゼによって、活性代謝物である **SN-38** に変換され、その後 **UGT1A1** によりグルクロン酸抱合体である **SN-38G** となり、主に胆汁中から排泄される。2005年、米国においてイリノテカン添付文書の改訂が行われ、「**UGT1A1***28 ホモを有している患者は、好中球減少のリスクが高いことから、初回投与量を減量すべき」の文章が追記された。本邦でも、国内での臨床研究¹⁾に基づいて、2008年にイリノテカンの添付文書の改訂が行われた。興味深いことに、日本人を含む東アジア人の場合には **UGT1A1***28 よりも **UGT1A1***6 の頻度が高く、添付文書にはハイリスク遺伝子多型として、**UGT1A1***6/*6、**UGT1A1***28/*28、**UGT1A1***6/*28 が記載されている。著者も京大病院在籍中に133名を対象にした臨床研究によって、**UGT1A1***6/*6を有する患者では、グレード3の好中球減少発現のオッズ比が約8倍大きいことを明らかにした²⁾。その後も **UGT1A1** 遺伝子多型の情報を継続的に収集し、ハイリスク遺伝子多型を有する患者の割合は、約1割であることが分かった (33名/400名)。

ハイリスク遺伝子多型を有する患者の典型的な経過を示す。胃がん手術後再発に対して、イリノテカン (60 mg/m²) + シスプラチン療法が開始された。**UGT1A1***6 の遺伝子多型解析結果がホモであったため、

患者の副作用状況の確認を行なったところ、Grade 4の好中球減少が認められていた。2回目以降の投与は外来化学療法部で行われることになっていたので、担当医に解析結果と副作用の発現状況について情報提供を行った。遺伝子多型解析結果と発現した副作用のGradeを考慮して、塩酸イリノテカンの投与量を80%に減量して投与することとなった。しかし、再度Grade 4の好中球減少が認められたため、3回目の投与は中止となり、70%投与量まで減量することとなった。その後も好中球数値は低値を示す傾向であったが、再発病巣は認められず、特に問題となる副作用は発現しなかったため、レジメン変更は行われずに継続して投与された。また、ハイリスク遺伝子多型を有する精巣腫瘍の患者に対して、200 mg/m²という高用量のイリノテカン投与した際も、事前に遺伝子多型情報を調べていたため、副作用対策が後手に回らず、2コース完遂できた例も経験した。

このように、UGT1A1遺伝子多型解析を実施することによって副作用の予測精度が向上し、イリノテカンによる治療を安心して実施することが可能になった。しかし、中には、UGT1A1のハイリスク遺伝子多型を有さずとも、重篤な有害事象を示す患者もおり、レジメンの種類、患者のPS、あるいはUGT1A7ならびにUGT1A9など他のUGT遺伝子の多型などが影響を及ぼしている可能性が考えられる。また、ハイリスク遺伝子多型患者への投与量設定についてもエビデンスが乏しく、今後の検討課題と考えられる。

経口分子標的抗がん剤スニチニブのファーマコゲノミクス解析

スニチニブは、経口のマルチキナーゼ阻害剤として2008年に本邦に導入された経口の分子標的抗がん剤であるが、厚生労働省の未承認使用問題検討会議で早期承認が必要と判断された薬剤であり、海外での用法・用量がそのまま国内に導入されている。好中球減少症や血小板減少症などの副作用が欧米人よりも日本人で高頻度に発現するため、標準投与量での治療継続が困難となる症例が多い。さらに、スニチニブでは投与を中止すると一気に病勢が進行するリバウンド現象も認められ、きめ細やかな投与量設定や副作用モニタリングが必要な薬剤である。著者が京大病院在籍中に、スニチニブ治療開始早期にグレード3-4の様々な副作用を呈した症例を経験した。当該患者(n=1)の服用後8日目の血中濃度を測定し、他の患者(n=4)の血中濃度プロファイルと比較したところ、スニチニブの最高血中濃度や薬物血中濃度-時間曲線下面積は約2.5倍大きかった。また、*in vitro*の輸送実験から、スニチニブは薬物排出ポンプBrest Cancer Resistant Protein (BCRP/ABCG2)の基質になることが判明した。BCRPは消化管上皮細胞の管腔側

に発現し、薬物排出ポンプとして機能している。そこで、スニチニブの血中濃度を測定した患者のBCRP遺伝子の多型解析を実施したところ、副作用の多く発現した患者はABCG2 421C>Aのホモ型であったが、他の患者は野生型(n=3)ならびにヘテロ型(n=1)であった。従って、ABCG2 421C>Aの遺伝子多型は、スニチニブの曝露量増加と関連していることが示唆された³⁾。興味深いことに、ABCG2 421C>Aの遺伝子多型の頻度は、欧米人よりも日本人の方が多いことが報告されており、スニチニブによる副作用発現の人種差にこの多型が一部関与している可能性が示唆された。

文献

- [1] Minami H, Sai K, Saeki M, Saito Y, Ozawa S, Suzuki K, Kaniwa N, Sawada J, Hamaguchi T, Yamamoto N, Shirao K, Yamada Y, Ohmatsu H, Kubota K, Yoshida T, Ohtsu A, Saijo N: Irinotecan pharmacokinetics/pharmacodynamics and UGT1A genetic polymorphisms in Japanese: roles of UGT1A1*6 and *28. *Pharmacogenet. Genomics*, 17(7), 497-504, 2007.
- [2] Onoue M, Terada T, Kobayashi M, Katsura T, Matsumoto S, Yanagihara K, Nishimura T, Kanai M, Teramukai S, Shimizu A, Fukushima M, Inui K: UGT1A1*6 polymorphism is most predictive of severe neutropenia induced by irinotecan in Japanese cancer patients. *Int. J. Clin. Oncol.*, 14(2):136-142, 2009.
- [3] Mizuno T, Terada T, Kamba T, Fukudo M, Katsura T, Nakamura E, Ogawa O, Inui K: ABCG2 421C>A polymorphism and high exposure of sunitinib in a patient with renal cell carcinoma. *Ann. Oncol.*, 21(6):1382-1383, 2010.