

194. Arnadóttir M, Eriksson LO, Thysel H, Karkas JD. 1993. Plasma concentration profiles of simvastatin 3-hydroxy-3-methyl-glutaryl-coenzyme A reductase inhibitory activity in kidney transplant recipients with and without ciclosporin. *Nephron* 65:410-13
195. Goldberg R, Roth D. 1996. Evaluation of fluvastatin in the treatment of hypercholesterolemia in renal transplant recipients taking cyclosporine. *Transplantation* 62:1559-64
196. Kyrklund C, Backman JT, Kivistö KT, Neuvonen M, Latila J, et al. 2001. Plasma concentrations of active lovastatin acid are markedly increased by gemfibrozil but not by bezafibrate. *Clin. Pharmacol. Ther.* 69:340-45
197. Backman JT, Kyrklund C, Kivistö KT, Wang J-S, Neuvonen PJ. 2000. Plasma concentrations of active simvastatin acid are increased by gemfibrozil. *Clin. Pharmacol. Ther.* 68:122-29
198. Kyrklund C, Backman JT, Neuvonen M, Neuvonen PJ. 2003. Gemfibrozil increases plasma pravastatin concentrations and reduces pravastatin renal clearance. *Clin. Pharmacol. Ther.* 73:538-44
199. Spence JD, Munoz CE, Hendricks L, Latchinian L, Khouri HE. 1995. Pharmacokinetics of the combination of fluvastatin and gemfibrozil. *Am. J. Cardiol.* 76: 80A-83
200. Mathew P, Cuddy T, Tracewell WG, Salazar D. 2004. An open-label study on the pharmacokinetics (PK) of pitavastatin (NK-104) when administered concomitantly with fenofibrate or gemfibrozil in healthy volunteers. *Clin. Pharmacol. Ther.* 75:P33

## 遺伝子多型と薬物の効果の個人差

前田和哉, 杉山雄一

Kazuya Maeda, Yuichi Sugiyama

東京大学大学院薬学系研究科分子薬物動態学教室

### ポイント

- 薬効の個人差を生み出す要因は、薬物動態的な要因と薬力学的な要因の2つに大別され、それぞれを決定するタンパク質の遺伝子多型が重要と考えられる。
- 体内動態にかかわる分子には、代謝酵素・トランスポーターがあり、それぞれ遺伝子多型によって生じる機能変化が薬物動態を大きく変え、ひいては効果・副作用を規定する事例が数多く報告されている。
- 薬効・副作用の感受性の個人差は、直接薬のターゲットタンパク質の遺伝子多型によるケース以外に、薬効標的と関連のないタンパク質の多型とリンクするケースがあり、今後広範囲な遺伝子多型と感受性の関連解析、原因の追究が望まれる。

### はじめに

臨床において、同じ量の薬物を投与しても、適正な治療効果を示す人もあれば、まったく効果のない人や副作用がでる人もある。その手がかりとして、患者集団での薬物血中濃度のヒストグラムに多峰性が観察されたり、2種の薬物を個々の患者に投与したときに、それぞれの代謝物の総量に相関が認められたりすること〔たとえば、デブリソキンとスバルテイン<sup>1)</sup>(CYP2D6の多型に起因する)〕、また一卵性双生児と二卵性双生児ペアに薬物を投与して動態をペア間で比較したところ一卵性双生児の方が有意にペア間の変動が小さいことなどから、薬物動態の個人差の原因として遺伝的要因が関与することが示唆されてきた。現在では、これらは薬物代謝酵素の遺伝子多型で説明がついている。

一般的に、薬効・副作用の個人間変動に影響する過程は、投与後の体内での薬物動態の個人差の部分(pharmacokinetics)と、薬物の標的

部位との相互作用、シグナル伝達の感受性など薬力学的な個人差の部分(pharmacodynamics)に大別できる。前者は、薬物の吸収、分布、代謝、排泄を決定する代謝酵素・トランスポーターの遺伝子多型が主に関与し、投与設計、投与量の個別化で個人差を克服できる。一方、後者は、薬物の標的となるレセプター、転写因子や、その下流のシグナル伝達を行うアダプター分子群の遺伝子多型が該当し、個人差の克服には薬剤選択の個別化が必要となる。またより厳密には、薬効発現の程度は標的分子近傍の薬物濃度の関数として表されることから、細胞内にターゲットをもつ場合は、血中濃度のみならず、標的細胞内濃度を決定する要因も考慮に入れる必要がある(たとえば耐性癌細胞における排出トランスポーター)(図1)。

### 薬物の体内動態にかかわる分子の遺伝子多型

一般に薬物の排泄は、①血中から臓器細胞へ

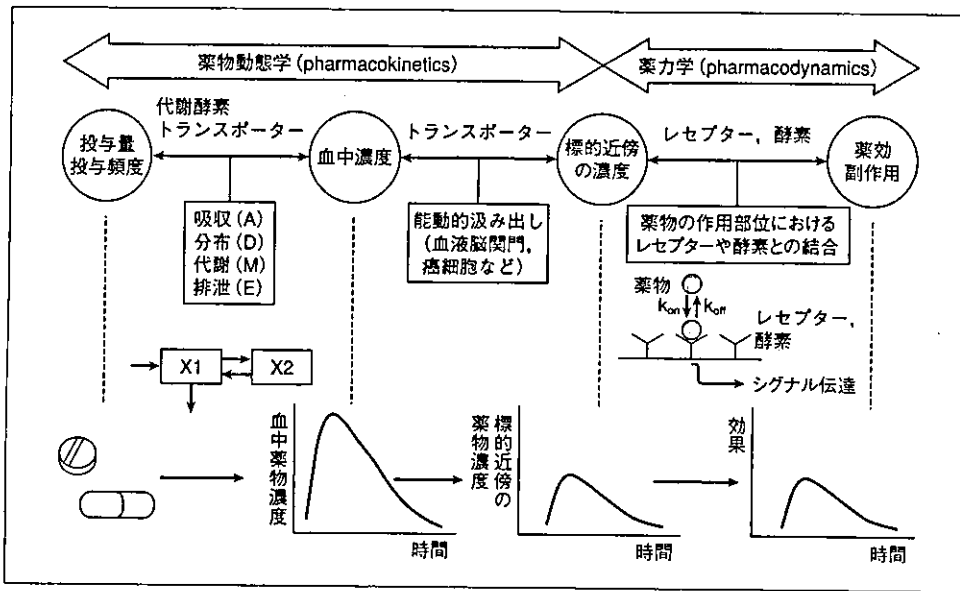


図1 薬物が効果・副作用を発現するまでの過程

(杉山雄一ほか編：ファーマコキネティクス 演習による理解, p249, 南山堂, 2003<sup>2)</sup>より改変)

の細胞膜を介した取り込み, ②細胞内での主にシトクロム P-450 (CYP) による酸化反応などの種々の物質変換, ③グルクロン酸, グルタチオン, 硫酸基など水溶性を上げる官能基を付加する抱合反応, ④細胞内からの排出の各過程からなっており, それぞれの段階において多くの分子が機能している。①, ④の段階においては, 脂溶性が低く容易に膜透過できない物質について多くのトランスポーターが効率良い膜輸送を担っていることが明らかとなっており, これらの遺伝子多型も現在解析が進みつつある。

### 1. CYPの遺伝子多型と薬物動態の個人差

CYPは薬物の排泄にかかわる分子としていち早く遺伝子多型解析と体内動態との個人差の相関研究が行われた領域であり, 臨床でも多くの事例が集積している。また多型のハプロタイプごとに体系化された命名法が確立している<sup>3)</sup>。

CYP2D6は, 肝臓内におけるCYP含量としては比較的少ないが, 薬物代謝への寄与は, CYP3A4に次ぎ薬物全体の約20%を占めるほ

ど重要な酵素である<sup>4)</sup>。現在までに, 79種類もの変異アレルの報告がある。多型の頻度には大きな人種差が認められている。欧米人には, 機能欠損した遺伝子(主に\*3, \*4, \*5)を両アレルにもつ poor metabolizer (PM) が5~10%存在するのに対し, 日本人では, PMの頻度は1%未満(主に\*5)である。さらに発現量と結合親和性の低下を示す\*10は, 東洋人にも高頻度に出現し, PMと extensive metabolizer (EM, 野生型)の中間の性質を示す intermediate metabolizer (IM, \*5/\*10, \*10/\*10)の分類が存在する。また, 頻度は少ないものの, 2D6の遺伝子重複による発現の上昇がみられる ultra rapid metabolizer (UM) も存在する。2D6の基質薬物には,  $\beta$ 遮断薬(プロプラノロール, メトプロロール), 抗うつ薬(ノルトリプチリン, フルオキセチン), 抗不整脈薬(プロパフェノン)など治療域の狭い重要な薬物が多く, 実際にPM, IMなど遺伝子型に対応した血中クリアランスの変動がみられている<sup>5,6)</sup>。また, 向精神薬の副作用発現と2D6

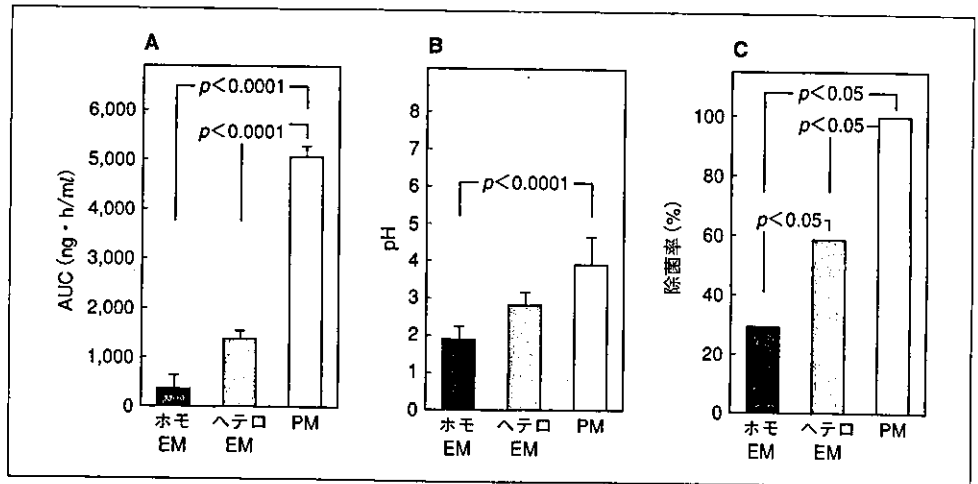


図2 CYP2C19の遺伝子多型がオメプラゾール (OMZ) に与える影響

A: OMZ 20 mg 経口投与時の AUC

B: OMZ 20 mg 経口投与後 24 時間の平均胃内 pH

C: OMZ 20 mg + アモキシシリン 2.0 g, 2 週間投与後の *H. pylori* の除菌率

EM: extensive metabolizer, PM: poor metabolizer

(大河内秀昭: 月刊薬事 43, 473-7, 2001<sup>14)</sup> より)

の EM の割合との間にも相関が認められるとの報告がある<sup>7)</sup> ことから, 特に初期の投与量設定において多型診断は臨床上重要な役割を示すと考えられる。

CYP2C19 は, PM (主に\*2, \*3) の頻度は東洋人 (20%) が欧米人 (10%) より高い<sup>8)</sup>. 2C19 はプロトンポンプ阻害薬 (PPI) を基質とすることから, 2C19 の多型と, PPI の薬物動態・効果, また PPI は胃十二指腸潰瘍時の *H. pylori* 除菌療法に併用されるため除菌成績との関連が詳細に観察されている<sup>9-13)</sup>. 2C19 の PM では, オメプラゾール経口投与後の AUC (薬物血中濃度時間曲線下面積) が EM の 10 倍まで上昇する<sup>11)</sup>. それに伴い, 投与 24 時間後の平均胃内 pH の上昇も PM の方が有意に高い<sup>11)</sup>. また, 抗生物質アモキシシリンとの併用による除菌成績も PM の方が有意に高く, 胃内 pH 上昇による抗生物質の安定化と *H. pylori* の増殖による感受性上昇によるものと考えられている<sup>10)</sup>. 実際に, オメプラゾールの投与量を増加すると除菌効率の上昇がみられること<sup>12)</sup>,

また 2C19 による代謝の寄与が比較的小さいラベプラゾールについては, 上記のような変動は小さかったこと<sup>9, 13)</sup> からも 2C19 の遺伝子型による PPI の投与設計が有効であると考えられる (図 2)<sup>14)</sup>.

CYP2C9 にも, \*3 を保有する \*1/\*3 群が 2~3% 程度存在する. 2C9 はきわめて治療域の狭い薬剤であるフェニトインやワルファリンの主要代謝酵素で, 血中濃度の変動と中枢毒性や抗凝固能の変化といった重篤な副作用との相関が報告されており<sup>15, 16)</sup>, 多型の頻度は低いものの, 遺伝子型による投与量の層別化が必要であろうと思われる. 一方で, 2C9 を主代謝経路にもつジクロフェナクは, \*3 変異による代謝能の変化がみられないとの報告<sup>17)</sup> があり, 多型の影響が薬物により異なることが示唆されている。

## 2. CYP 以外の代謝酵素 (抱合酵素) の遺伝子多型と薬物動態の個人差

1950 年代に, 抗結核薬イソニアジドの *N*-

アセチル化代謝活性に個人差がみられることがすでに示唆されており、現在ではその原因が NAT (*N*-acetyltransferase) 2 にあることがわかっている。すなわち、通常は加水分解産物のヒドラジンが NAT2 によりすみやかにアセチル化され解毒されるが、変異により NAT2 活性の低下があると、ヒドラジンが肝臓内に蓄積し、肝障害を発現すると考えられている<sup>18)</sup>。また、抗不整脈薬プロカイナムドや潰瘍性大腸炎治療薬スルファサラジンについては NAT2 変異と全身性エリテマトーデス様の副作用発現の間に関連が認められている<sup>19, 20)</sup>。

CPT-11 (カンプトテシン) の活性代謝物 SN-38 は、UGT (UDP-glucuronosyltransferase) 1A1 により肝臓で抱合を受け解毒・胆汁排泄される。UGT の変異は、もともと高ビリルビン血症である Crigler-Najjar 症候群および Gilbert 症候群の解析から多数同定されてきた<sup>21)</sup>。UGT1A1 プロモーター領域の TA リピートが通常より 1 回多い変異では転写活性が半分に低下しており、UGT の活性低下から SN-38 の消失遅延につながる可能性が考えられている<sup>22)</sup>。また、TPMT (thiopurine S-methyltransferase) はプリン代謝拮抗薬メルカプトプリン (6-MP) の活性本体 6-チオグアニンヌクレオチドの不活化を担っている酵素であり、特に \*2, \*3 変異体は、発現量の低下による活性体の消失遅延、それに伴う骨髄抑制など重篤な副作用発現を引き起こす<sup>23)</sup>。ドナーの赤血球ライセートと 6-MP を混合して活性体の生成をみる方法もある<sup>24)</sup> が、遺伝子多型判定が簡便になれば、TPMT の多型による投与量の層別化も今後可能になると思われる<sup>25)</sup>。また、5-FU (5-fluorouracil) の代謝律速酵素である DPD (dehydropyrimidine dehydrogenase) も活性の低下する多型があり、5-FU の神経毒性が低活性の人で有意に多くみられている<sup>26)</sup>。

### 3. トランスポーターの遺伝子多型と薬物動態の個人差

近年、ヒトにおいても非常に多様なトランスポーターの発現が認められており、容易に膜透過できない化合物の濃縮的な取り込み・排出機構として働いていることが知られている。一般にトランスポーターは、きわめて広範な構造の化合物を認識することが知られており、それゆえ、トランスポーターの遺伝子多型による輸送活性、発現変動は、多くの基質化合物の輸送を変え、体内動態に影響を与えることが考えうる。

臨床において、遺伝子多型と薬物動態の個人差について関連解析が最も進んでいるのは、MDR1 [P-gp (P 糖タンパク質), ABCB1] であると思われる。MDR1 は、肝臓の胆管側や小腸の管腔側、血液脳関門の血管側に発現が認められ、ATP 水解活性を駆動力として細胞内からの排出を担うタンパク質である。現在では多くの遺伝子多型が同定されているが、なかでもアミノ酸変化を伴わない変異である C3435T は、興味深いことに、この変異の保有者の十二指腸における MDR1 の発現量は有意に低く、経口投与したジゴキシンの AUC の上昇が認められている<sup>27)</sup>。別の機能変化、発現変動を引き起こしうる変異との連鎖が想定され、実際、G2677 (T, A), C1236T との間に連鎖不平衡が観察されている<sup>28)</sup>。ただし *in vitro* 発現系を用いた実験においては、2677, 3435 位の変異を考慮した多型体の機能解析では差異がみられないことが報告されている<sup>29)</sup>。また連鎖不平衡ブロックの統計解析から、既知の変異の周辺 40~80 kb 以内に別の未知の変異がリンクする可能性が示唆されており<sup>28)</sup>、今後の解析が待たれる。最近のハプロタイプ解析により、先に述べた 3 か所の変異保有者のみならず、7 か所のイントロンのみの変異の保有者においても SN-38 の腎クリアランスの低下がみられており<sup>30)</sup>、きわめて興味深い。しかし、多くの臨

床試験のなかで、先のジゴキシンの結果に矛盾する結果も報告されており<sup>31)</sup>、今後情報の蓄積が望まれる。

また最近、肝臓に選択的な発現が認められる取り込みトランスポーター OATP2 (SLC21A6, OATP1B1) についても多型に関して報告がされてきた。たとえば *in vitro* 実験で、抗結核薬リファンピシンの輸送能力が多型により変動し、そのため PXR (pregnane X receptor) を介した転写誘導能にも影響を与える可能性を示唆する報告もある<sup>32)</sup>。日本人においては、特に \*15 (Asn130Asp, Val174Ala) が約 10% 存在しており、HMG-CoA (hydroxymethylglutaryl-CoA) 還元酵素阻害薬プラバスタチンの腎外クリアランス (すなわち肝クリアランス) が \*15 保有者で有意に低下することが臨床事例として初めて報告された (図 3)<sup>33)</sup>。一方、筆者らは *in vitro* 実験系を用いて \*15 変異が単位タンパク質あたりの輸送量を低下させることを示し、腎外クリアランス低下の程度と半定量的に一致することを見出している (投稿中)。OATP2 は基質認識性が非常に広範であることから、多様な薬物の肝クリアランスの第 1 ステップを担う取り込みトランスポーターの変異が体内動態に影響を与えうる可能性は十分に考えられ、今後のさらなる臨床試験が待たれる。

### 薬物の効果の感受性にかかわる分子の遺伝子多型

近年、多くの薬物に関して薬効の標的分子やその後のシグナル伝達、転写制御のカスケードが明らかになるにつれ、それらの遺伝子多型と効果との関連を示す報告が相次いでいる。特にレセプター分子や酵素との結合を介して効果を発揮する薬物にとって、直接相互作用する分子の遺伝子多型は薬効に影響を与える可能性が強く、解析が進んでいる。最近の主な事例を簡単に表 1 にまとめた<sup>34-36)</sup>。

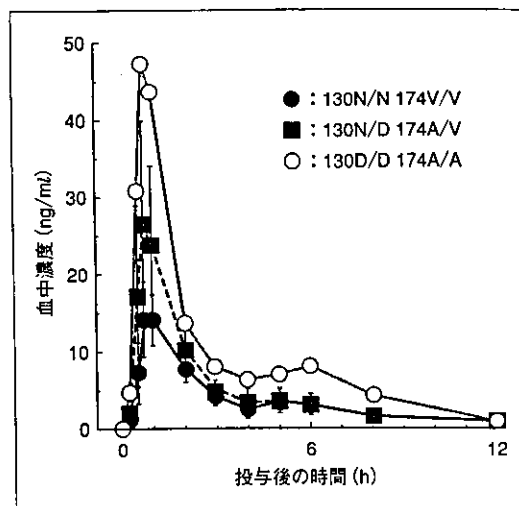


図 3 OATP2 遺伝子多型とプラバスタチン血中濃度推移との関連

(Nishizato Y, et al: *Clin Pharmacol Ther* 73, 554-65, 2003<sup>33)</sup> より)

この領域で最も報告の多い  $\beta_2$  アドレナリンレセプターの遺伝的多型は、特に頻度が高い Arg16Gly, Gln27Glu の 2 か所について多くの検討がなされている<sup>37)</sup>。 *in vitro* によるイソプロテレノールを用いた検討では、Arg16Gly, Gln27Glu それぞれ単独の変異体においては、レセプターと薬物の親和性やアデニル酸シクラーゼの活性には影響ないが、前者では脱感作の亢進がみられたのに対し、後者では逆にまったくみられなかった<sup>38)</sup>。ヒトにおける変異解析の結果から、Arg16-Gln27, Gly16-Glu27 の間で強い連鎖不平衡がみられ<sup>39)</sup>、一方、Gly16-Glu27 両方の変異を入れたタンパク質は、脱感作の亢進 (Gly16 の性質) がみられた<sup>38)</sup> ことから、 *in vitro* 実験においてもハプロタイプを考慮した実験デザインの重要性がうかがえる。薬効との関連では、喘息患者に  $\beta_2$  刺激薬アルブテロールを経口投与した後、血中濃度は多型により変化しないが、喘息の改善効果の指標となる FEV<sub>1</sub> (forced expiratory volume in the first second) の値の変化は、Arg16/Arg16 が、Gly16/Arg16, Gly16/Gly16 群に比べて有意に大きな改善がみられている (図 4)<sup>40)</sup>。ほかに

表1 薬物の効果・副作用に遺伝子多型が関連する報告のある遺伝子群

| 遺伝子名   | 薬剤のカテゴリー・代表的薬物名                       | 影響がみられる事象                      |
|--|---------------------------------------|--------------------------------|
| <b>1. 直接薬効ターゲットに関係する遺伝子</b>                                    |                                       |                                |
| アンジオテンシン変換酵素 (ACE)   | ACE阻害薬 (エナラプリル)                       | 血圧の低下, 腎保護作用など                 |
| $\beta_2$ アドレナリンレセプター  | $\beta_2$ 刺激薬 (アルブテロール)               | 気管支拡張作用, 心血管作用など               |
| アラキドン酸5-リポキシゲナーゼ   | ロイコトリエン阻害薬                            | FEV <sub>1</sub> の改善           |
| ドーパミンレセプター (D <sub>2</sub> , D <sub>3</sub> , D <sub>4</sub> ) | 抗精神病薬 (プロムペリドール)                      | 抗精神病作用                         |
| エストロゲンレセプター $\alpha$   | エストロゲン                                | 骨密度上昇, HDL上昇など                 |
| グリコプロテインIIIaサブユニット   | アスピリン, グリコプロテインIIb/IIIa阻害薬            | 抗血小板作用                         |
| セロトニントランスポーター (5-HT)   | 抗うつ薬 (クロザピン)                          | 抗うつ作用                          |
| アンジオテンシンレセプター (AT1R)   | AT1R拮抗薬 (カンデサルタン)                     | 腎血液循環改善作用                      |
| スルホニルウレアレセプター (SUR1)   | SU系糖尿病薬 (トルブタミド)                      | インスリン分泌促進作用                    |
| ビタミンDレセプター   | 活性型ビタミンD <sub>3</sub>                 | くる病改善効果                        |
| <b>2. 副作用に関係する遺伝子</b>  |                                       |                                |
| ブラジキニンB2レセプター  | ACE阻害薬 (エナラプリル)                       | (ACE阻害薬により誘発される) から咳           |
| ドーパミンレセプター (D <sub>2</sub> , D <sub>3</sub> , D <sub>4</sub> ) | 抗精神病薬 (プロムペリドール)                      | 運動障害, 静座不能                     |
| HLA  | アバカビル (抗HIV薬)                         | 過敏症反応                          |
| K <sup>+</sup> チャネルおよび関連タンパク質 (HERG, KvLQT1, Mink, MiRP1)      | エリスロマイシン, テルフェナジン, シサプリド, クラリスロマイシンなど | 薬剤誘導性のtorsade de pointesのリスク上昇 |
| プロトンポンプおよび第V因子   | 経口避妊薬                                 | 血栓症のリスク上昇                      |
| 過敏症反応  | カルバマゼピン (抗痙攣薬)                        | 過敏症反応                          |
| <b>3. 間接的に効果に関係する遺伝子 (作用が明らかでないものも含む)</b>                      |                                       |                                |
| アンジオテンシン変換酵素 (ACE)   | HMG-CoA還元酵素阻害薬                        | 血中LDL減少, 動脈硬化進展など              |
| adducin  | 利尿薬                                   | 心筋梗塞の危険因子                      |
| アポリポタンパク質E   | タクリン (Alzheimer病治療薬)                  | 病状の改善                          |
|  | HMG-CoA還元酵素阻害薬                        | 生存率上昇                          |
| コレステロールエステル転送タンパク質 (CETP)                                      | HMG-CoA還元酵素阻害薬                        | 動脈硬化進展の遅延                      |
| メチルグアニンメチル転移酵素 (MGMT)  | カルムスチン (抗腫瘍薬)                         | gliomaに対する効果                   |
| Parkin   | デボドバ                                  | Parkinson病の治療効果改善              |
| stromelysin-1  | HMG-CoA還元酵素阻害薬                        | 心血管イベントの減少など                   |
| リポタンパク質リパーゼ  | HMG-CoA還元酵素阻害薬                        | 動脈硬化進展の遅延                      |
| インターロイキン6  | HMG-CoA還元酵素阻害薬                        | 血中LDL減少                        |
| Toll-likeレセプター4  | HMG-CoA還元酵素阻害薬                        | 心血管イベントの減少など                   |
| レプチンレセプター  | HMG-CoA還元酵素阻害薬                        | 血中コレステロール低下                    |

(Evans WE & McLeod HL: *N Engl J Med* 348, 538-49, 2003<sup>34)</sup> を中心にまとめた)

もさまざまな臨床研究がなされているが, 同じ指標で評価しているにもかかわらず, 結果が互いに相反する事例が多くみられる. その原因の一つとして, 多くの研究が単独の SNP を対象としており, 対象集団のなかで連鎖する他の変異の影響を考慮していないために, 的確な層別化が図れていない可能性が示唆される. 実際, 77人の13か所の変異についてハプロタイプ解析を行ったところ, わずか12種類に分類され, アルブテロール投与後のFEV<sub>1</sub>の変化を層別化

して評価したところ, 単独の SNP とはいずれも相関が認められなかったのに対し, ハプロタイプ別の解析では有意な相関がみられたとする報告がある<sup>39)</sup>.

また, 先天的QT延長症候群の発症に関与する候補遺伝子の多型に関しては数多くの報告があり, タイプごとに適した治療法が提案されてきたが, 一方, 多種の薬剤について, 薬剤誘導性のQT延長が臨床で重篤な副作用として問題視されている. 現に, これが原因で上市されな

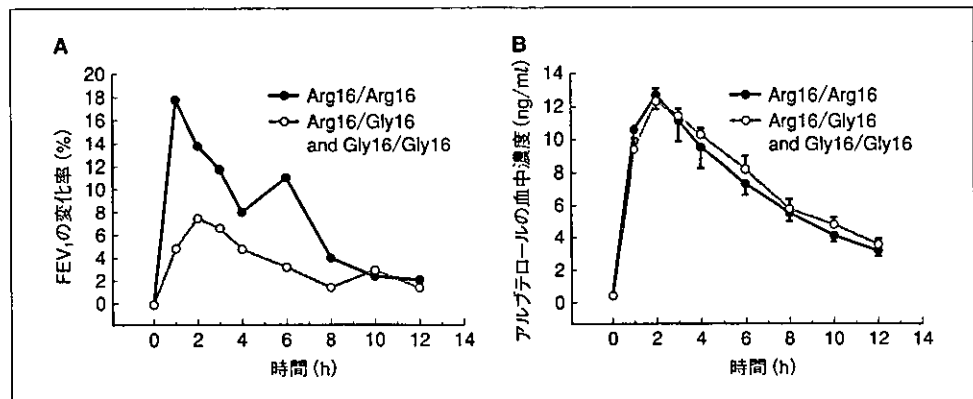


図4  $\beta_2$ アドレナリンレセプター遺伝子多型とアルブテロールの効果 (A) と血中濃度 (B) との関連 (Lima JJ, et al : *Clin Pharmacol Ther* 65, 519-25, 1999<sup>40)</sup> より)

かった薬剤も多い。これらについて  $K^+$ チャネルと複合体を形成すると考えられている KCNE2 の変異が、クラリスロマイシンやスルファメトキサゾールが誘発する QT 延長の原因となることが明らかとされており<sup>41, 42)</sup>、特に後者の変異 (Thr8Ala) は、1.6% の頻度であるため、投薬前の遺伝子型の確認により危険な副作用を回避できる可能性がある<sup>41)</sup>。

また、直接の標的分子とは異なる遺伝子の多型と効果との相関がみられた事例も数多く報告されている。たとえば HMG-CoA 還元酵素阻害薬プラバスタチンの効果が、CETP (cholesteryl ester transfer protein) のイントロンの多型 (TaqIB) により決定され、高脂血症患者のうち B2/B2 タイプ (16%) で、動脈硬化の進行抑制がみられないという報告<sup>43)</sup> や、Alzheimer 病治療薬や高脂血症薬の治療効果とアポリポタンパク質 E の多型との間に相関が認められるとする報告がある<sup>44, 45)</sup>。

### 遺伝子情報に基づくテーラーメイド医療の実現可能性

本項ではごく一部しか事例を紹介できなかったが、現在では SNP 解析や発現解析において多くの手法が開発されており、高速化・大規模

化が進んだため、薬の効果・副作用にかかわる因子やその多型に関する論文が続々と報告されている。また、薬の開発において最近では、分子標的治療を指向した薬剤が増加しており、標的分子の多型解析からレスポンスをあらかじめ絞り込んだうえでの個別化医療が可能をみせているし、代謝経路などに関しては、多型性のある 1 つの酵素のみを経由して排泄される薬剤は安全性の面から開発を嫌う傾向が出てきている。また一方で、QT 延長や臓器毒性など薬物の種類を越えて共通の副作用を示すものについても徐々に明らかとなりつつあり、*in vitro* 実験で創薬段階初期のスクリーニングが可能になるものと思われる。クロザピンに関しては、4 分子種の 6 種の変異から 95% 以上の精度でレスポンスの予測が可能とされている<sup>46)</sup>。

しかしながら、臨床研究の結果には互いに矛盾がみられるものも多い。その原因としては、試験そのものの規模、効果の指標、交絡要因の排除など試験デザインが、対象遺伝子の変異をみる十分な検出力をもっていないことや、単独の SNP にのみ焦点を当てて、ハプロタイプを考慮していないことに起因する見逃しなどがあるとされている。スタチン類に関しては、大規模多施設臨床試験の結果から、効果にかかわる遺伝子群の検討が数多く報告されている<sup>47-49)</sup>



が、効果の指標（LDLの減少、血管壁の肥厚抑制、臨床イベントの減少）によって多型との関連が異なり、結果の解釈に注意を要する。また、複数の多型遺伝子のうち、特定の効果に対する特定の遺伝子の影響について、発現誘導などにつながるような環境要因の大きさと併せて寄与率を決定しておくことが必要となる。そのためには、小規模な検討では検体総数に限りがあり、特に頻度が低く多要因が絡む多型の場合には、影響がみづらいことが多い。倫理的問題

も介在するであろうが、今後、多施設共同で試験を行い情報を共有することで、集団の規模を拡大し、多くの候補遺伝子についてハプロタイプ解析の結果と、臨床で重要視される治療指標との間の相関を取るような研究が必要であろう。その一方で、*in vitro*において適切な変異体のスクリーニング系を作成し、*in vivo*でみえた事象を説明可能にする取り組みが、将来の個別化医療に向けて必須になるとと思われる。

#### 文献, Web site

- 1) Eichelbaum M, Bertilsson L, Sawe J & Zekorn C. Polymorphic oxidation of sparteine and debrisoquine : Related pharmacogenetic entities. *Clin Pharmacol Ther* **31**, 184-6 (1982)
- 2) 杉山雄一, 山下伸二, 加藤基浩 編. ファーマコキネティクス—演習による理解 (南山堂, 東京, 2003)
- 3) Human Cytochrome P450 (CYP) Allele Nomenclature Committee.  
<http://www.imm.ki.se/CYPalleles/>
- 4) Zanger UM, Raimundo S & Eichelbaum M. Cytochrome P450 2D6 : Overview and update on pharmacology, genetics, biochemistry. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* **369**, 23-37 (2004)
- 5) Dalen P, Dahl ML, Ruiz ML, Nordin J & Bertilsson L. 10-hydroxylation of nortriptyline in white persons with 0, 1, 2, 3, and 13 functional CYP2D6 genes. *Clin Pharmacol Ther* **63**, 444-52 (1998)
- 6) Huang J, Chuang SK, Cheng CL & Lai ML. Pharmacokinetics of metoprolol enantiomers in Chinese subjects of major CYP2D6 genotypes. *Clin Pharmacol Ther* **65**, 402-7 (1999)
- 7) Vandel P, Haffen E, Vandel S, et al. Drug extrapyramidal side effects : CYP2D6 genotypes and phenotypes. *Eur J Clin Pharmacol* **55**, 659-65 (1999)
- 8) Desta Z, Zhao X, Shin JG & Flockhart DA. Clinical significance of the cytochrome P450 2C19 genetic polymorphism. *Clin Pharmacokinet* **41**, 913-58 (2002)
- 9) Furuta T, Shirai N, Takashima M, et al. Effects of genotypic differences in CYP2C19 status on cure rates for *Helicobacter pylori* infection by dual therapy with rabeprazole plus amoxicillin. *Pharmacogenetics* **11**, 341-8 (2001)
- 10) Furuta T, Ohashi K, Kamata T, et al. Effect of genetic differences in omeprazole metabolism on cure rates for *Helicobacter pylori* infection and peptic ulcer. *Ann Intern Med* **129**, 1027-30 (1998)
- 11) Furuta T, Ohashi K, Kosuge K, et al. CYP2C19 genotype status and effect of omeprazole on intragastric pH in humans. *Clin Pharmacol Ther* **65**, 552-61 (1999)
- 12) Furuta T, Takashima M, Shirai N, et al. Cure of refractory duodenal ulcer and infection caused by *Helicobacter pylori* by high doses of omeprazole and amoxicillin in a homozygous CYP2C19 extensive metabolizer patient. *Clin Pharmacol Ther* **67**, 684-9 (2000)
- 13) Hokari K, Sugiyama T, Kato M, et al. Efficacy of triple therapy with rabeprazole for

- Helicobacter pylori* infection and CYP2C19 genetic polymorphism. *Aliment Pharmacol Ther* **15**, 1479-84 (2001)
- 14) 大河内秀昭. CYP2C と遺伝子多型. 月刊薬事 **43**, 473-7 (2001)
  - 15) Ninomiya H, Mamiya K, Matsuo S, et al. Genetic polymorphism of the CYP2C subfamily and excessive serum phenytoin concentration with central nervous system intoxication. *Ther Drug Monit* **22**, 230-2 (2000)
  - 16) Aithal GP, Day CP, Kesteven PJ & Daly AK. Association of polymorphisms in the cytochrome P450 CYP2C9 with warfarin dose requirement and risk of bleeding complications. *Lancet* **353**, 717-9 (1999)
  - 17) Shimamoto J, Ieiri I, Urae A, et al. Lack of differences in diclofenac (a substrate for CYP2C9) pharmacokinetics in healthy volunteers with respect to the single CYP2C9 \*3 allele. *Eur J Clin Pharmacol* **56**, 65-8 (2000)
  - 18) Sarich TC, Youssefi M, Zhou T, et al. Role of hydrazine in the mechanism of isoniazid hepatotoxicity in rabbits. *Arch Toxicol* **70**, 835-40 (1996)
  - 19) Woosley RL, Drayer DE, Reidenberg MM, et al. Effect of acetylator phenotype on the rate at which procainamide induces antinuclear antibodies and the lupus syndrome. *N Engl J Med* **298**, 1157-9 (1978)
  - 20) Gunnarsson I, Kanerud L, Pettersson E, et al. Predisposing factors in sulphasalazine-induced systemic lupus erythematosus. *Br J Rheumatol* **36**, 1089-94 (1997)
  - 21) Iyanagi T, Emi Y & Ikushiro S. Biochemical and molecular aspects of genetic disorders of bilirubin metabolism. *Biochim Biophys Acta* **1407**, 173-84 (1998)
  - 22) Iyer L, Hall D, Das S, et al. Phenotype-genotype correlation of *in vitro* SN-38 (active metabolite of irinotecan) and bilirubin glucuronidation in human liver tissue with UGT1A1 promoter polymorphism. *Clin Pharmacol Ther* **65**, 576-82 (1999)
  - 23) Relling MV, Hancock ML, Rivera GK, et al. Mercaptopurine therapy intolerance and heterozygosity at the thiopurine S-methyltransferase gene locus. *J Natl Cancer Inst* **91**, 2001-8 (1999)
  - 24) Weinshilboum RM, Raymond FA & Pazmino PA. Human erythrocyte thiopurine methyltransferase : Radiochemical microassay and biochemical properties. *Clin Chim Acta* **85**, 323-33 (1978)
  - 25) Krynetski EY & Evans WE. Pharmacogenetics of cancer therapy : Getting personal. *Am J Hum Genet* **63**, 11-6 (1998)
  - 26) Van Kuilenburg AB, Meinsma R, Zoetekouw L & Van Gennip AH. High prevalence of the IVS14+1G >A mutation in the dihydropyrimidine dehydrogenase gene of patients with severe 5-fluorouracil-associated toxicity. *Pharmacogenetics* **12**, 555-8 (2002)
  - 27) Hoffmeyer S, Burk O, von Richter O, et al. Functional polymorphisms of the human multidrug-resistance gene : Multiple sequence variations and correlation of one allele with P-glycoprotein expression and activity *in vivo*. *Proc Natl Acad Sci USA* **97**, 3473-8 (2000)
  - 28) Tang K, Ngoi SM, Gwee PC, et al. Distinct haplotype profiles and strong linkage disequilibrium at the MDR1 multidrug transporter gene locus in three ethnic Asian populations. *Pharmacogenetics* **12**, 437-50 (2002)
  - 29) Morita N, Yasumori T & Nakayama K. Human MDR1 polymorphism : G2677T/A and C3435T have no effect on MDR1 transport activities. *Biochem Pharmacol* **65**, 1843-52 (2003)
  - 30) Sai K, Kaniwa N, Itoda M, et al. Haplotype analysis of ABCB1/MDR1 blocks in a

- Japanese population reveals genotype-dependent renal clearance of irinotecan. *Pharmacogenetics* **13**, 741-57 (2003)
- 31) Sakaeda T, Nakamura T, Horinouchi M, et al. MDR1 genotype-related pharmacokinetics of digoxin after single oral administration in healthy Japanese subjects. *Pharm Res* **18**, 1400-4 (2001)
  - 32) Tirona RG, Leake BF, Wolkoff AW & Kim RB. Human organic anion transporting polypeptide-C (SLC21A6) is a major determinant of rifampin-mediated pregnane X receptor activation. *J Pharmacol Exp Ther* **304**, 223-8 (2003)
  - 33) Nishizato Y, Ieiri I, Suzuki H, et al. Polymorphisms of OATP-C (SLC21A6) and OAT3 (SLC22A8) genes : Consequences for pravastatin pharmacokinetics. *Clin Pharmacol Ther* **73**, 554-65 (2003)
  - 34) Evans WE & McLeod HL. Pharmacogenomics : Drug disposition, drug targets, and side effects. *N Engl J Med* **348**, 538-49 (2003)
  - 35) Ingelman-Sundberg M. Pharmacogenetics : An opportunity for a safer and more efficient pharmacotherapy. *J Intern Med* **250**, 186-200 (2001)
  - 36) Koopmans RP, Insel PA & Michel MC. Pharmacogenetics of hypertension treatment : A structured review. *Pharmacogenetics* **13**, 705-13 (2003)
  - 37) Leineweber K, Buscher R, Bruck H & Brodde OE.  $\beta$ -adrenoceptor polymorphisms. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* **369**, 1-22 (2004)
  - 38) Green SA, Turki J, Innis M & Liggett SB. Amino-terminal polymorphisms of the human  $\beta_2$ -adrenergic receptor impart distinct agonist-promoted regulatory properties. *Biochemistry* **33**, 9414-9 (1994)
  - 39) Drysdale CM, McGraw DW, Stack CB, et al. Complex promoter and coding region  $\beta_2$ -adrenergic receptor haplotypes alter receptor expression and predict *in vivo* responsiveness. *Proc Natl Acad Sci USA* **97**, 10483-8 (2000)
  - 40) Lima JJ, Thomason DB, Mohamed MH, et al. Impact of genetic polymorphisms of the  $\beta_2$ -adrenergic receptor on albuterol bronchodilator pharmacodynamics. *Clin Pharmacol Ther* **65**, 519-25 (1999)
  - 41) Sesti F, Abbott GW, Wei J, et al. A common polymorphism associated with antibiotic-induced cardiac arrhythmia. *Proc Natl Acad Sci USA* **97**, 10613-8 (2000)
  - 42) Abbott GW, Sesti F, Splawski I, et al. MiRP1 forms IKr potassium channels with HERG and is associated with cardiac arrhythmia. *Cell* **97**, 175-87 (1999)
  - 43) Kuivenhoven JA, Jukema JW, Zwinderman AH, et al. The role of a common variant of the cholesteryl ester transfer protein gene in the progression of coronary atherosclerosis : The Regression Growth Evaluation Statin Study Group. *N Engl J Med* **338**, 86-93 (1998)
  - 44) Gerdes LU, Gerdes C, Kervinen K, et al. The apolipoprotein  $\epsilon$ 4 allele determines prognosis and the effect on prognosis of simvastatin in survivors of myocardial infarction : A substudy of the Scandinavian simvastatin survival study. *Circulation* **101**, 1366-71 (2000)
  - 45) Poirier J, Delisle MC, Quirion R, et al. Apolipoprotein E4 allele as a predictor of cholinergic deficits and treatment outcome in Alzheimer disease. *Proc Natl Acad Sci USA* **92**, 12260-4 (1995)
  - 46) Arranz MJ, Munro J, Birkett J, et al. Pharmacogenetic prediction of clozapine response. *Lancet* **355**, 1615-6 (2000)
  - 47) Dornbrook-Lavender KA & Pieper JA. Genetic polymorphisms in emerging cardiovascular risk factors and response to statin therapy. *Cardiovasc Drugs Ther* **17**, 75-82

(2003)

- 48) Maitland-van der Zee AH, Klungel OH, Stricker BH, et al. Genetic polymorphisms : Importance for response to HMG-CoA reductase inhibitors. *Atherosclerosis* **163**, 213-22 (2002)
- 49) Schmitz G & Drobnik W. Pharmacogenomics and pharmacogenetics of cholesterol-lowering therapy. *Clin Chem Lab Med* **41**, 581-9 (2003)

■参考文献.....

- 澤田康文 編. 薬物動態・作用と遺伝子多型 (医薬ジャーナル社, 東京, 2001)
- 前田和哉, 杉山雄一. 遺伝子情報に基づく薬物療法. *医学のあゆみ* **200**, 853-8 (2002)
- 家入一郎, 高根 浩, 大坪健司. 薬理遺伝学の現状と今後の展望—薬剤の適正使用を目指して. *薬局* **53**, 2513-32 (2002)

## トランスポーターの遺伝子多型と薬物動態の個人差

Impact of genetic polymorphisms of transporters on inter-individual variability of pharmacokinetics



前田和哉 杉山雄一

Kazuya MAEDA and Yuichi SUGIYAMA

東京大学大学院薬学系研究科分子薬物動態学教室

◎細胞の膜透過にかかわる薬物トランスポーターが多数同定され、多くの薬物の体内動態を決めるうえで重要な役割を果たしていることがわかってきた。トランスポーターの役割は、①肝や腎などで薬物の消失に関与し、物質の体内動態を決定すること、②血液脳関門のように体内動態に直接影響しないが、物質の内外移行に対する障壁となり、局所の物質の分布を決定することに大別される。いずれの場合も効果・副作用を規定する要因となりうることから、臨床におけるトランスポーターの重要性が明らかとされつつある。一方で近年、トランスポーターについて多くの遺伝子多型が同定され、*in vitro* 研究、臨床試験などにより臨床医療における意義が注目されている。本稿ではトランスポーターの遺伝子多型研究の現状について例をあげながら、これらの情報を臨床で活用可能な形にするための課題について述べてみたい。



Key word : SNPs(single nucleotide polymorphisms), OATP2, MRP2, MDR1/P-gp, ハプロタイプ

一般に、同量の薬物を投与しても、その効果・副作用の出方は千差万別である。アメリカの統計では毎年 200 万人が薬の副作用で入院し、うち 10 万人が死亡しているという報告があり<sup>1)</sup>、患者にとってむだな診療を減らす意味でも薬効・副作用の個人差の原因探求は急務とされている。薬物が薬効・副作用を発揮するまでの過程は、①投与された薬物が標的部位に到達する濃度を決定する薬物動態学(pharmacokinetics: PK)の領域と、②薬物が標的分子に結合した後の一連のシグナル伝達、転写制御などに関連する薬力学(pharmacodynamics: PD)の領域に大別される。近年、遺伝子多型の解析が進むにつれ、これらを支配する遺伝子についても一塩基置換(single nucleotide polymorphisms/SNPs)をはじめとする変異探索、臨床研究ならびに *in vitro* での変異体の機能解析が進みつつある。

PD にかかわる分子(レセプター、転写因子など)の認識性は比較的狭いことが多く、限定された薬

物種でしか変異による影響がみられないケースが多いのに対し、PK を支配する分子(代謝酵素(チトクローム P450 など)、トランスポーターなど)の基質認識性は広範であり、1つの分子の変異があらゆる薬物の体内分布、排泄を変動させる可能性があることに特徴がある。代謝酵素に関しては比較的早くから解析が進められ、テーラーメイド医療への基礎情報が蓄積しているのに対し、種々臓器の膜透過過程にかかわる薬物トランスポーターについても発見から日が浅いにもかかわらず事例が着実に集まりつつある。

図1には各種臓器に発現するおもなトランスポーターについて示した。トランスポーターの機能変動は肝や腎など血中からの薬物の消失にかかわる臓器で起こった場合、薬物の体内動態全体に影響を与える一方、血液脳関門などでは体内動態に直接影響を与えないが、物質の内外移行を制限するバリアー機能の変化に伴い、局所の薬物分布が変動し、ひいては薬効や副作用の増強・減弱に

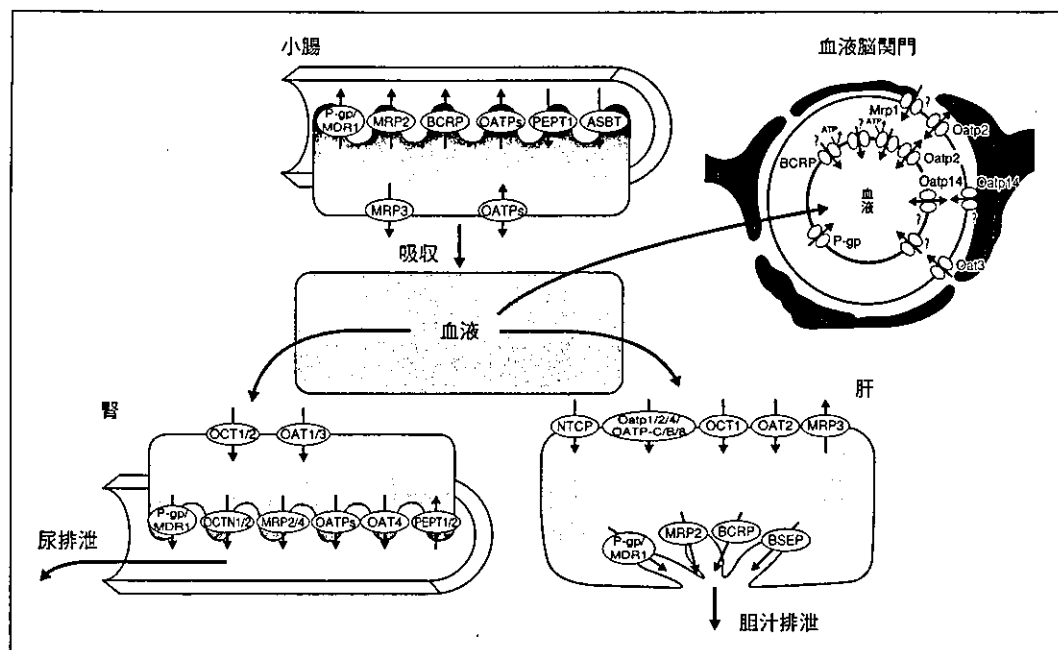


図1 トランスポーターの全身分布(文献<sup>31)</sup>より改変)

サイド  
メモ

ハプロタイプ解析の重要性

多くの研究では *in vitro*, *in vivo* 問わず、個々の SNPs に着目し、層別化・比較している。しかし、一部の複数の SNPs はたがいに高頻度でリンクして表れる連鎖不平衡(linkage disequilibrium)を示すことが明らかになってきた。それに伴い、たとえば 10 種類の SNPs があるとすれば、理論上  $2^{10}$  種類のアレルが考えうるが、実際には上記で述べたリンクのため、数種類のアレルで集団の大部分を説明可能なケースがある。このアレル単位の SNPs の組合せパターンをハプロタイプとよび、2 本のアレルのハプロタイプ構成をディプロタイプとよんでいる。たとえば、 $\beta_2$ -アドレナリン受容体について、77 名の 13 カ所の SNPs が、12 種類のハプロタイプに場合分けされることが報告されており、mRNA レベルを層別化解析した結果、2 つのハプロタイプ間の比較で発現量の有意な差を見出したが、個々の SNPs に関してはいずれも有意差が見出せなかった事例がある<sup>32)</sup>。また、*in vitro* 解析においても個々の SNPs が相反する結果を示す一方、両方の SNPs を合わせもった場合、片方の性質しかみえないケースが報告されており<sup>33)</sup>、今後 *in vitro* 解析においてもハプロタイプを考慮した解析が必要である。

つながる。

本稿ではトランスポーターの遺伝子多型についての知見を紹介するとともに、今後の展望について論じる。

MDR1 の遺伝子多型

MDR1 (multidrug resistance 1/P-glycoprotein) は 12 回膜貫通型の排出トランスポーターであり、2 つの ABC (ATP binding cassette) 領域を介して、ATP の水解活性を駆動力とした輸送を担うトランスポーターである。肝の胆管側膜、腎や小腸の管腔側膜、血液脳関門の血液側膜など全身にわたって広範な発現が認められている。このトランスポーターの *in vivo* における重要性はおもにノックアウトマウスの解析を通じて明らかとなりつつあり、たとえば *mdr1a*<sup>-/-</sup> マウスにおいて経口投与した paclitaxel の血漿 AUC の上昇<sup>2)</sup>や、ivermectin や cyclosporin など MDR1 基質の脳移行の大幅な上昇<sup>3,4)</sup>、ジゴキシンの胆汁排泄クリアランスの低下<sup>5)</sup>などがあげられる。

MDR1 全長にわたる遺伝子多型解析は、Hoffmeyer らの 24 名の Caucasian を用いた研究による 15 カ所の変異の発見<sup>6)</sup>を端緒として、現在では

50カ所以上の変異が報告されるに至っている。うち coding 領域にはアミノ酸変異を伴う変異が11カ所、およびアミノ酸に影響を与えない silent mutation が4カ所報告されている。とくに Hoffmeyer らの報告で興味深いのは exon 26 の silent mutation (C3435T) の変異型アレルを有するヒトで、十二指腸における MDR1 の発現量に有意な低下がみられ、それに伴いジゴキシン経口投与後の血漿中 AUC の上昇がみられたことである<sup>6)</sup>。本変異は比較的頻度が高く、また人種差がみられ Africans で10~27%、Caucasians や Asians では37~66%であることから、本変異の意義についての研究が数多く報告されてきた。

これまでの C3435T に着目した臨床研究の結果を表1にまとめたが、発現量、薬物動態ともに統一した見解が得られていないのが現状である<sup>7,8)</sup>。また、薬効との関連では抗 HIV 治療薬を用いた治療において治療開始6カ月後における CD4 細胞の回復の程度を決める要因解析を行ったところ、3435位が T/T の遺伝子型をもつことがよりよい回復を決める一要因となっており、変異による MDR1 の機能低下が細胞内からの治療薬の排出を抑制し、より強い効果を発揮したことによるという仮説が提唱されている<sup>9)</sup>。また、病気との関連でも腎上皮癌や潰瘍性大腸炎の発症リスクが、3435位の変異で有意に高くなる傾向にあり、何らかの異物解毒の機能低下が原因ではないかと考えられている<sup>10,11)</sup>。

3435位の変異はアミノ酸変化を伴わないことから、機能変化を引き起こす原因のひとつの仮説として別のアミノ酸変化を伴う変異との連鎖の可能性が提唱され、連鎖不平衡(linkage disequilibrium: LD)解析も進められてきた。その結果、とくに C1236T(silent)と G2677T/A(Ala893Ser/Thr)との連鎖が強いことがわかり、2677/3435の2種および3種のハプロタイプに層別化した臨床試験の結果、いずれも、T/T、T/T/T タイプのほうが MDR1 の機能が弱いと思われる結果が得られている<sup>12-14)</sup>。

一方、*in vitro* での発現系を用いた解析の結果では Kim らは、アミノ酸変異を伴う 2677T の MDR1 発現系において野生型と比較して単位蛋白

量当りのジゴキシンの細胞内蓄積が小さい(すなわち MDR1 の機能が強い)と報告しているが<sup>15)</sup>、Morita や Kimchi-Sarfaty らは複数の薬物で 2677位の変異は活性変化を引き起こさないと報告している<sup>16,17)</sup>ことから、アミノ酸変異自身が重要であるかは定かではない。また、coding 領域以外の、たとえば転写を制御するような部位の変異との連鎖も考えられ、さきの3カ所の LD block の統計的解析から、周囲 40~80 kb 以内に別の変異との連鎖がある可能性も示唆されている<sup>18)</sup>。

最近、5'上流域の5カ所の変異が5種類のハプロタイプに分類され、うち2種類の保有者で有意に大腸での MDR1 mRNA 発現量が低いことが明らかとなり、この SNPs により周辺の配列に対して、何らかの転写因子と思われる蛋白質の結合能が変化することが示された<sup>19)</sup>。また、イントロンにのみ8カ所の変異をもつハプロタイプで、有意に SN-38(irinotecan の活性代謝物)の腎クリアランスが低下することが報告された<sup>14)</sup>。残念ながら、これらと 1236/2677/3435 位の変異には連鎖が認められなかったが、他にも MDR1 の発現を変化させる変異があることを示唆しており、さらなる検証が求められる。

## OATP2 の遺伝子多型

OATP2(organic anion transporting polypeptide 2/OATP1B1/OATP-C)は肝の血管側膜上にもみ発現が認められる12回膜貫通型の取込みトランスポーターであり、これまでの検討から非常に多様な化合物を基質とすることが明らかとされてきた。これらのなかには HMG-CoA 還元酵素阻害薬(高脂血症薬)である pravastatin、抗結核薬 rifampicin、抗悪性腫瘍薬 methotrexate など臨床で重要な薬物も多く含まれる<sup>20)</sup>。

OATP2 の遺伝子多型に関しては Tirona らが、71名について14カ所のアミノ酸変化を伴う変異を報告したのが最初である<sup>21)</sup>。ここでも、たとえば OATP2\*1b(Asn130Asp)の頻度について、European-Americans では0.30に対し African-Americans では0.74のようにいくつかの変異について人種差がみられている。*In vitro* 実験の結果、うち7カ所の変異について、OATP ファミリートラン

表 1 MDR1 の C3435T 変異が薬物動態に与える影響

| 薬物名                | 評価パラメータ               | 被験者                                      | reference  |
|--------------------|-----------------------|--|--|
| <b>OT/T&gt;C/C</b> |                       |  |  |
| digoxin            | 血中濃度                  | Caucasian 21 名                           | Hoffmeyer, S. et al. : <i>Proc. Natl. Acad. Sci. USA</i> , <b>97</b> : 3473, 2000  |
| digoxin            | AUC(0-4h), Cmax       | Caucasian 24 名                           | Johne, A. et al. : <i>Clin. Pharmacol. Ther.</i> , <b>72</b> : 584, 2002           |
| digoxin            | AUC                   | Caucasian + African 32 名                 | Verstuyft, C. et al. : <i>Eur. J. Clin. Pharmacol.</i> , <b>58</b> : 809, 2003     |
| digoxin            | Bioavailability       | Japanese 15 名                            | Kurata, Y. et al. : <i>Clin. Pharmacol. Ther.</i> , <b>72</b> : 209, 2002          |
| cyclosporine       | AUC(0-4, 0-12h), Cmax | Asian 14 名(心移植患者)                        | Chowbay, B. et al. : <i>Pharmacogenetics</i> , <b>13</b> : 89, 2003                |
| cyclosporine       | AUC(0-4h)             | Chinese 10 名(心移植患者)                      | Balram, C. et al. : <i>Br. J. Clin. Pharmacol.</i> , <b>56</b> : 78, 2003          |
| tacrolimus         | 血中濃度                  | 180 名(腎移植患者)                             | Macphee, I. et al. : <i>Transplantation</i> , <b>74</b> : 1486, 2002               |
| tacrolimus         | 血中濃度                  | 69 名(小児, 心移植患者)                          | Zheng, H. et al. : <i>Am. J. Transplant.</i> , <b>3</b> : 477, 2003                |
| phenytoin          | 血中濃度                  | Turkish 96 名                             | Kerb, R. et al. : <i>Pharmacogenomics J.</i> , <b>1</b> : 204, 2001                |
| <b>OT/T&lt;C/C</b> |                       |  |  |
| digoxin            | AUC                   | Japanese 114 名                           | Sakaeda, T. et al. : <i>Pharm. Res.</i> , <b>18</b> : 1400, 2001                   |
| digoxin            | AUC                   | Japanese 117 名                           | Horinouchi, M. et al. : <i>Pharm. Res.</i> , <b>19</b> : 1581, 2002                |
| fexofenadine       | AUC                   | Caucasian + African-American 60 名        | Kim, R. et al. : <i>Clin. Pharmacol. Ther.</i> , <b>70</b> : 189, 2001             |
| nelfinavir         | 血中濃度                  | Caucasian 123 名                          | Fellay, J. et al. : <i>Lancet</i> , <b>359</b> : 30, 2002                          |
| cyclosporine       | AUC(0-4h)             | Caucasian + African-American 10 名(腎移植患者) | Yates, C. et al. : <i>J. Clin. Pharmacol.</i> , <b>43</b> : 555, 2003              |
| <b>OT/T=C/C</b>    |                       |  |  |
| digoxin            | AUC(0-4h), Cmax       | Caucasian 50 名                           | Gerloff, T. et al. : <i>Br. J. Clin. Pharmacol.</i> , <b>54</b> : 610, 2002        |
| fexofenadine       | AUC                   | Caucasian 20 名                           | Drescher, S. et al. : <i>Br. J. Clin. Pharmacol.</i> , <b>53</b> : 526, 2002       |
| cyclosporine       | トラフ濃度                 | Caucasian 124 名(腎移植患者)                   | von Ahsen, N. et al. : <i>Clin. Chem.</i> , <b>47</b> : 1048, 2001                 |
| cyclosporine       | AUC, Cmax             | Caucasian + African-American 14 名        | Min, D. I. and Ellingrod, V. L. : <i>Ther. Drug Monit.</i> , <b>24</b> : 400, 2002 |
| tacrolimus         | 血中濃度                  | Caucasian + African 81 名(腎移植患者)          | Anglicheau, D. et al. : <i>J. Am. Soc. Nephrol.</i> , <b>14</b> : 1889, 2003       |
| tacrolimus         | 血中濃度                  | Japanese 69 名(肝移植患者)                     | Goto, M. et al. : <i>Pharmacogenetics</i> , <b>12</b> : 451, 2002                  |
| nortriptyline      | 血中濃度                  | Caucasian 78 名                           | Roberts, R. L. et al. : <i>Pharmacogenomics J.</i> , <b>2</b> : 191, 2002          |
| talinolol          | AUC                   | Caucasian 67 名                           | Siegmund, W. et al. : <i>Clin. Pharmacol. Ther.</i> , <b>72</b> : 572, 2002        |
| loperamide         | Cmax, AUC             | Caucasian 16 名                           | Pauli-Magnus, C. et al. : <i>Clin. Pharmacol. Ther.</i> , <b>73</b> : 72, 2003     |
| dicloxacillin      | 血中濃度                  | 17 名                                     | Putnam, W. et al. : <i>Clin. Pharmacol. Ther.</i> , <b>73</b> : 57, 2003           |
| docetaxel          | クリアランス                | Asian 32 名                               | Goh, B. C. et al. : <i>J. Clin. Oncol.</i> , <b>20</b> : 3683, 2002                |

過去, MDR1 C3435T について薬物動態が検討された報告を文献<sup>7)</sup>に基づきまとめた。T/T(ホモ変異型)を C/C(野生型)と比較したときの評価パラメータの大小で分類した。



スポーターの代表的基質である estrone sulfate (E-sul) と estradiol-17 $\beta$ -glucuronide (E<sub>2</sub>17 $\beta$ G) の輸送活性が有意に低下することが示される一方で、\*10 (Asp655Gly) のように、前者の輸送活性は低下するものの、後者の輸送活性は変化しないものなど、基質による活性変動の差がみられることを示唆する結果も観察されている<sup>21)</sup>。これは後の Michalski らの報告で \*1b において、sulfobromophthalein や E<sub>2</sub>17 $\beta$ G の輸送が変わらないのに対し、taurocholate の輸送が有意に低下する事例<sup>22)</sup> や、Tirona らの報告で、\*1b について E-sul, E<sub>2</sub>17 $\beta$ G の輸送は変わらないが rifampin の輸送は有意に低下する事例<sup>23)</sup> もある。一方、5 種のハプロタイプでは HeLa 細胞発現系において総蛋白量は差がないものの、細胞表面の発現量が低下しており、蛋白の maturation あるいは sorting の段階での欠陥が原因であろうと考えられる<sup>21)</sup>。また、別の報告で T578G (Leu193Arg) も MDCKII 発現系において大部分が細胞内に観察されている<sup>22)</sup>。\*5 (Val174Ala) については、Tirona らは HeLa 一過的発現系で輸送活性低下、膜局在異常が起こるとしているが<sup>21)</sup>、Nozawa らは、HEK293 発現系を用いて細胞膜表面の発現と、E-sul の輸送活性が変わらないことを示しており<sup>24)</sup>、発現系による結果の相違の可能性があり、*in vitro* 実験の結果の解釈に注意を要することを示唆している。

臨床での薬物動態の変化について、Nishizato らは興味深い報告をしている<sup>25)</sup>。日本人においては OATP2\*15 (Asn130Asp and Val174Ala) がアレル頻度約 15% で現れ、\*5 はまったく観察されないことから、ハプロタイプ形成の人種差であろうと推察される。一方、日本人健康人にプラバスタチンを経口投与後の血漿中、尿中濃度推移を観察したところ、\*15 保有者について \*1b と比較して血漿中濃度推移の有意な増加、腎外クリアランス (ほぼ肝クリアランスを反映) の低下が観察された (図 2)<sup>25)</sup>。一方、当教室において、HEK293 細胞を用いて \*1a, \*1b, \*5, \*15 について *in vitro* 解析を行っており \*15 では単位発現量当りの活性が著しく減少しており、その減少度合はさきの *in vivo* 試験のクリアランス低下の割合と定量的にある程度一致する結果を得ている (現在投稿中)。

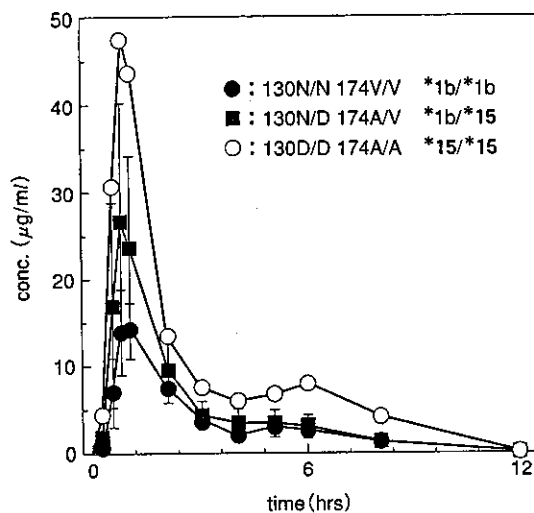


図 2 OATP2 の遺伝子型とプラバスタチンの血中濃度推移との関連<sup>25)</sup>

OATP2 の基質薬物は広範であること、また *in vitro* 実験の結果から薬物により影響が異なる可能性があることなどから、今後いろいろな臨床事例が集積し、OATP2 の遺伝子多型の薬物動態における重要性が明らかになることが期待される。

### MRP2 の遺伝子多型

MRP2 (multidrug resistance associated protein 2) は 17 回膜貫通型の ABC トランスポーターであり、肝の胆管側や小腸や腎の管腔側などに発現がみられている。とくに肝においては OATP2 と並び基質認識性が広範で、かつかなりオーバーラップがみられることから、肝における経細胞輸送を担うトランスポーターとして重要であると考えられている。また、Mrp2 遺伝子欠損ラット (EHBR; Eisai Hyperbilirubinemic rats, TR<sup>-</sup>rats) を用いた *in vivo*, CMV (canalicular membrane vesicle) 実験の結果から、多くの薬物が Mrp2 を介して胆汁排泄されることが明らかとされている。また、ヒトにおいて MRP2 欠損は胆汁うっ滞を主症状とする Dubin-Johnson syndrome を引き起こす。

これまで本症の原因となる変異解析が進められ、非常に多くの変異が同定されている<sup>26)</sup>。その多くはフレームシフト、ナンセンス変異のほか、ABC 領域付近の変異で ATP 水解活性に影響を与えるケースや、膜上に sorting されないケースであ

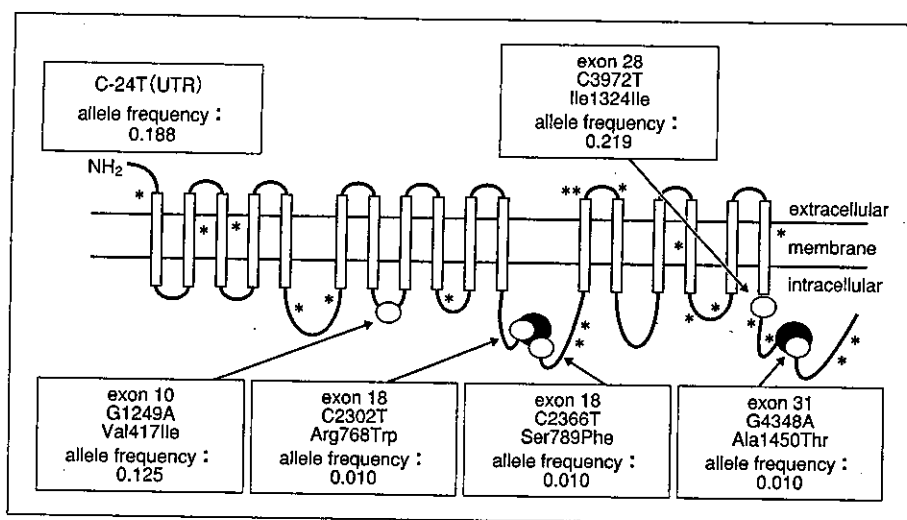


図3 MRP2の構造とSNPs<sup>26)</sup>

○で示す個所は、文献<sup>27)</sup>で48人の日本人からみつかったSNPsの部位、頻度を示す。\*で示す個所は文献<sup>28)</sup>で72名の日本人由来の cell line からみつかったSNPsの部位を示す。黒丸はABC(ATP binding cassette)領域を示す。

る。一方、健常人におけるSNPsについてItoらは48人の日本人健常人から6カ所のSNPsを見出し<sup>27)</sup>、また、Itodaらは72人の日本人から cell line 化した細胞より27カ所のSNPsを発見している<sup>28)</sup>(図3)。とくに日本人では5'上流域のC-24T、G1249T(Val417Ile)、C3972T(silent)の3カ所の頻度が比較的高く、アレル頻度で0.1~0.2程度である。

当教室のHirouchiらはItoらの報告のうちアミノ酸が変化する4種類の変異に関してLLC-PK1発現細胞から調製した膜ベシクルにおける輸送活性を評価することで機能解析を試みた<sup>29)</sup>。その結果、C2366T(Ser789Phe)、G4348A(Ala1450Thr)の2つの変異に関しては、LLC-PK1細胞のapical側のみならず細胞内にも発現が認められた。さらに、輸送を観察した結果、前者は発現量当りの活性が野生型の1.4~2.0倍程度になっているが、後者ではE<sub>2</sub>17βGの輸送は非常に低下したものの、DNP-SGやleukotriene C<sub>4</sub>といったグルタチオン抱合体では発現量当りの活性は変化がなかったことから、基質による違いが観察されているといえる。一方、頻度の高いG1249A(Val417Ile)は、局在、活性とも変化はみられなかった。今後、臨床での薬物動態に与えるこれらSNPsの影響が注目される。

### おわりに

以上、トランスポーターのSNPsと機能との関連についていくつかの例を取り上げた。このほかにも肝や小腸、脳における排出トランスポーターBCRP(breast cancer resistance protein)や、有機カチオンの輸送に働くOCT1(organic cation transporter 1)、OCT2、OCTN2などについても、SNPsの*in vitro*機能解析が進められている<sup>30)</sup>。しかし、現時点ではヒトにおけるこれらSNPsの意義に関する臨床研究は数が少ない。*in vitro*解析の結果はときに実験条件により異なった結果を生む事例があるので、直接的にヒト*in vivo*における解析が必須となる。また、簡便にヒトにおけるトランスポーター機能を評価できるプローブ薬の探索も必要であると思われる。さらに、ヒトサンプルがようやく入手可能になったいま、ヒトサンプルをあらかじめgenotypingしておき、発現量や輸送活性をより直接的に比較することができることから、ヒト組織バンクの充実も望まれるところである。一方で、これらSNPsの影響を*in vitro*実験の結果から予測する試みも創薬プロセスにおいて個人差を予測するうえで重要であり、そのためには単にSNPsによる機能変動の情報だけでなく、対象となるトランスポーター自身が体内動態にどの程度寄与しているかに関する情報も必要であり、各膜透

過プロセスにおける寄与率を評価できる系の確立も合わせて行うべきであろうと考えており、検討を進めている。そして、これらの統合された情報を利用して患者の遺伝子型に応じた投与設計が可能になることを期待している。

#### 文献

- 1) Lazarou, J. et al. : *JAMA*, **279** : 1200-1205, 1998.
- 2) Sparreboom, A. et al. : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **94** : 2031-2035, 1997.
- 3) Schinkel, A. H. et al. : *Cell*, **77** : 491-502, 1994.
- 4) Schinkel, A. H. et al. : *J. Clin. Invest.*, **96** : 1698-1705, 1995.
- 5) Kawahara, M. et al. : *J. Pharm. Sci.*, **88** : 1281-1287, 1999.
- 6) Hoffmeyer, S. et al. : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **97** : 3473-3478, 2000.
- 7) Marzolini, C. et al. : *Clin. Pharmacol. Ther.*, **75** : 13-33, 2004.
- 8) Schwab, M. et al. : *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, **43** : 285-307, 2003.
- 9) Fellay, J. et al. : *Lancet*, **359** : 30-36, 2002.
- 10) Siegsmond, M. et al. : *J. Am. Soc. Nephrol.*, **13** : 1847-1854, 2002.
- 11) Schwab, M. et al. : *Gastroenterology*, **124** : 26-33, 2003.
- 12) Kurata, Y. et al. : *Clin. Pharmacol. Ther.*, **72** : 209-219, 2002.
- 13) Chowbay, B. et al. : *Pharmacogenetics*, **13** : 89-95, 2003.
- 14) Sai, K. et al. : *Pharmacogenetics*, **13** : 741-757, 2003.
- 15) Kim, R. B. et al. : *Clin. Pharmacol. Ther.*, **70** : 189-199, 2001.
- 16) Morita, N. et al. : *Biochem. Pharmacol.*, **65** : 1843-1852, 2003.
- 17) Kimchi-Sarfaty, C. et al. : *Mol. Pharmacol.*, **62** : 1-6, 2002.
- 18) Tang, K. et al. : *Pharmacogenetics*, **12** : 437-450, 2002.
- 19) Taniguchi, S. et al. : *Mol. Cancer Ther.*, **2** : 1351-1359, 2003.
- 20) Hagenbuch, B. and Meier, P.J. : *Biochim. Biophys. Acta*, **1609** : 1-18, 2003.
- 21) Tirona, R. G. et al. : *J. Biol. Chem.*, **276** : 35669-35675, 2001.
- 22) Michalski, C. et al. : *J. Biol. Chem.*, **277** : 43058-43063, 2002.
- 23) Tirona, R. G. et al. : *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **304** : 223-228, 2003.
- 24) Nozawa, T. et al. : *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **302** : 804-813, 2002.
- 25) Nishizato, Y. et al. : *Clin. Pharmacol. Ther.*, **73** : 554-565, 2003.
- 26) Suzuki, H. and Sugiyama, Y. : *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **54** : 1311-1331, 2002.
- 27) Ito, S. et al. : *Pharmacogenetics*, **11** : 175-184, 2001.
- 28) Itoda, M. et al. : *Drug Metab. Dispos.*, **30** : 363-364, 2002.
- 29) Hirouchi, M. et al. : Characterization of the cellular localization, expression level and function of SNPs variants of MRP2/ABCC2. *Pharm. Res.* (accepted)
- 30) Takane, H. et al. : *Curr. Pharmacogenomics*, **1** : 245-257, 2003.
- 31) Mizuno, N. and Sugiyama, Y. : *Drug Metab. Pharmacokin.*, **17** : 93-108, 2002.
- 32) Drysdale, C. M. et al. : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **97** : 10483-10488, 2000.
- 33) Green, S. A. et al. : *Biochemistry*, **33** : 9414-9419, 1994.

#### ●お知らせ●

##### ■第2回世界薬学会議

期 間：2004年5月30日(日)～6月3日(木)  
場 所：国立京都国際会館(京都市左京区宝ヶ池)  
メインテーマ：「先端治療を担う医薬品開発に向けた科学の地球的展開」

第2回世界薬学会議事務局：  
〒113-0033 東京都文京区本郷4-2-8 フローラビル7F  
(財)日本学会事務センター内  
TEL : 03-3815-1681 FAX : 03-3815-1691  
E-mail : pswc2004@bcasj.or.jp



## Influence of common variants in the pharmacokinetic genes (*OATP-C*, *UGT1A1*, and *MRP2*) on serum bilirubin levels in healthy subjects

Ichiro Ieiri<sup>a,\*</sup>, Hiroshi Suzuki<sup>b</sup>, Miyuki Kimura<sup>c</sup>, Hiroshi Takane<sup>a</sup>, Yohei Nishizato<sup>d</sup>, Shin Irie<sup>c</sup>,  
Akinori Urae<sup>c</sup>, Kiyoshi Kawabata<sup>c</sup>, Shun Higuchi<sup>d</sup>, Kenji Otsubo<sup>a</sup>, Yuichi Sugiyama<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Department of Hospital Pharmacy, Faculty of Medicine, Tottori University, Nishi-machi 36-1, Yonago, Tottori 6838504, Japan

<sup>b</sup> Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Tokyo University, Tokyo 1130033, Japan

<sup>c</sup> Kyushu Pharmacology Research Clinic, Fukuoka, Fukuoka 8100064, Japan

<sup>d</sup> Department of Clinical Pharmacokinetics, Graduate School, Kyushu University, Fukuoka, Fukuoka 8128583, Japan

<sup>e</sup> Drug Metabolism and Pharmacokinetics Research Laboratories, Sankyo Co., Ltd., Tokyo 1408710, Japan

Received 12 May 2004; received in revised form 14 July 2004; accepted 26 July 2004

Available online 27 September 2004

### Abstract

To assess the contribution of *OATP-C* to the hepatobiliary transport of bilirubin, a pharmacogenomic evaluation with regard to polymorphisms of three candidate genes, *OATP-C*, *MRP2*, and *UGT1A1*, was performed. Serum total and direct (conjugated) bilirubin levels were used as phenotypic indexes. Pharmacokinetic variables of pravastatin, a typical substrate for *OATP-C*, were obtained from our previous study. Among 23 volunteers, two variants (Val417Ile and Ser789Phe) were observed in the *MRP2* gene. While there was no apparent effect of these two variants and the *UGT1A1*\*28 on direct bilirubin levels, the *OATP-C* variants were associated with differences in unconjugated bilirubin levels. Subjects with the *OATP-C*\*15 allele had higher bilirubin levels; unconjugated bilirubin levels in \*1b/\*1b ( $n = 3$ ), \*1b/\*15 ( $n = 7$ ), and \*15/\*15 ( $n = 1$ ) subjects were  $0.40 \pm 0.10$ ,  $0.77 \pm 0.35$ , and  $0.70$  (mg/dL), respectively. In addition, the correlation between unconjugated bilirubin levels and pharmacokinetic parameters of pravastatin revealed that the subjects with higher bilirubin levels had lower non-renal clearance values, and then higher serum concentrations of pravastatin. Large clinical studies are needed to confirm a role of *OATP-C* in the carrier-mediated uptake of bilirubin in the human liver.

© 2004 Elsevier B.V. All rights reserved.

**Keywords:** Organic anion transporter; Polymorphism; Hepatobiliary transport; Pravastatin

### 1. Introduction

After rapidly and selectively being taken up from blood into the liver [1], bilirubin is conjugated with glucuronate

by uridine diphosphate glucuronosyltransferase (UGT) isoform 1A1 (*UGT1A1*) [2,3], and then secreted into bile across the canalicular membrane of hepatocytes by multidrug resistance-associated protein 2 (*MRP2*, symbol *ABCC2*) [4,5]. Although the mechanisms responsible for the uptake of bilirubin by hepatocytes have not yet been well defined in humans, passive diffusion and/or carrier-mediated transport by specific membrane proteins have been proposed [6–8]. Among known transporters expressed in the basolateral membrane of human hepatocytes [9,10], a recent in vitro study indicated that organic anion transporting polypeptide C (*OATP-C*, also known as *OATP2* and *LST-1*; symbol

**Abbreviations:** *UGT1A1*, uridine diphosphate glucuronosyltransferase 1A1; *MRP2*, multidrug resistance-associated protein 2; *OATP-C*, organic anion transporting polypeptide C; *DJS*, Dubin–Johnson syndrome; *AUC*, area under the serum concentration–time curve; *CL<sub>nr</sub>*, non-renal clearance; *SSCP*, single-strand conformational polymorphism analysis

\* Corresponding author. Tel.: +81 85 934 8385; fax: +81 85 934 8087.

E-mail address: [ieiri@grape.med.tottori-u.ac.jp](mailto:ieiri@grape.med.tottori-u.ac.jp) (I. Ieiri).