

amonafileの投与で、fast acetylatorの方が、slow acetylatorと比較して、骨髓毒性の発現を示しやすいことやamonafileのAUCが大きいことから、Phase I 試験では、fast, slow acetylatorの投与量を、250, 375 mg/m²に設定して行うことで、ほぼ同じamonafileの血中AUCを得ることに成功している³⁵⁾。fast acetylatorでamonafileのクリアランスが低下する原因については、生成されたN-acetyl-amonafileが、CYP1A2による代謝経路を阻害するためであると考えられている。さらに、PDモデルの構築により、NAT2の活性に加え、白血球数と性別を考慮することでよりamonafileの個別化投与設計が可能であることが示唆されており、このように、あらかじめ特定の分子の遺伝子型や表現型（酵素活性など）に応じて層別化された臨床試験を行うことにより、できるだけ多くのヒトに対して効果を最大限発揮させ、かつ副作用の少ない投与法を実証するような試験が今後組まれることが期待される。

(6) glutathione-S-transferase (GST)

GSTは、様々な異物をグルタチオン抱合することで水溶性を上げ排出を促す酵素として機能しており、GSTA1, GSTP1, GSTM1, GSTT1, GSTZ1の5種類のサブタイプが存在している。抗がん剤の代謝との関連では、GSTP1がoxaliplatinなど白金製剤やアルキル化剤であるcyclophosphamideの活性代謝物の不活化に、また、GSTM1, GSTA1は、アルキル化剤busulfanの不活化に寄与している。GSTP1の遺伝子変異としてCaucasianで頻度の高いもの（33%）に、Ile105Valの変異があり、酵素活性が低下することがin vitro実験で実証されている³⁶⁾。240名のcyclophosphamide治療を受けている患者を対象として、前述のGSTP1の変異で層別化を試み、生存率を比較したところ、Val変異アレルをホモで保持する患者群について、Ile型アレルをホモで保持する患者と比較して、有意に死亡リスクの低下が見られた³⁷⁾。また、進行性大腸がん治療のため、5-FUとoxaliplatinの併用療法を受ける患者107名を対象として、先の変異により層別化をして、生存期間の中央値を比較したところ、Ile型アレルをホモで保持する患者では、7.9カ月であったのに対し、Val変異アレルをホモで保持する患者では、24.9カ月であることが示された³⁸⁾。これらのことは、cyclophosphamideの活性代謝物やoxaliplatinの暴露の多いほうが効果的な治療効果を生み出すことを意味しているといえる。さらに毒性との関連では、骨髓移植に伴う合併症である冠動脈閉鎖症(HVOD)は、

busulfanなどの毒性により引き起こされる場合があることが知られており、114名の移植患者を対象として、HVODの発症を観察したところ、GSTM1の活性欠損を示す遺伝子型において、有意にHVODの発症率が高いという結果を得、さらにbusulfanのクリアランスが上昇していることが明らかとされている³⁸⁾。この現象は、GSTM1の活性欠損により、busulfanの代謝の主要な寄与を占めるGSTA1の発現が2～4倍上昇することが知られており、そのためクリアランスが上昇したと考えられ、毒性発現には、おそらくbusulfanの代謝物の毒性と、機能上昇によるGSHの枯渇が原因になると推測されている³⁸⁾。

(7) CYP (cytochrome P450)

肝臓より消失する薬物の多くは、肝臓内に主に発現するCYPにより水溶性が高まる傾向の構造に変換され、排泄される。CYPの遺伝子多型については、これまで多くのin vitroおよび臨床研究が行われており、機能解析が進められてきた。一般薬では、CYP2C19の遺伝子多型とプロトンポンプ阻害剤の血中濃度、効果およびH.pylori除菌率との関連³⁹⁾や、CYP2D6の遺伝子多型と降圧薬デブリソキンの血中濃度との関連⁴⁰⁾など非常に数多くの事例が報告されている。抗がん剤の多くもCYPによる代謝を受け、活性化および不活化されることが知られているが、薬物の代謝経路が複数存在し、1つの酵素の機能変化が血中濃度推移全体に与える影響が観察しにくいことや、副作用が致死的であるため、遺伝子多型による層別化試験が実施しにくいことなどにより、あまり臨床における事例は報告されていないのが現状である。cyclophosphamideは、アルキル化剤として抗がん治療に用いられるが、一方で、ループス腎炎の治療においても間欠的静注療法が取られる。そこで、CYPの遺伝子多型と腎疾患への効果、副作用（早期閉経など）との関連が62名の患者を用いて調べられている。その結果、CYP2C19*2 (G681A, スプライシング異常を引き起こす)を有する患者について、早期閉経のリスクが有意に減少、さらにCYP2C19*2, CYP2B6*5 (C1459T, 発現量低下を示す)をそれぞれホモで有する患者について、腎疾患の悪化が促進される傾向が示された⁴¹⁾。cyclophosphamideの活性化には、CYPによる4-hydroxylationが必須で、この過程には、種々のCYPが関与することが示唆されており、今回の結果は、この活性化の減少が薬効・副作用の低下につながったものと考えられている。また、Tegafurは、

CYP2A6により活性化されて5-FUに変換され抗がん活性を示すプロドラッグである。最近、tegafurと5-chloro-2,4-dihydropyridine (DPD inhibitor) の合剤であるTS-1を服用した消化器がん患者中で有意に高い血中濃度を示した1患者について、CYP2A6*4C (全遺伝子欠損) と*11 (in vitroでVmax値が野生型の半分) の変異を有していることがわかり、これらがtegafurの活性化の低下をきたしていることが明らかになった⁴²⁾。また、in vitroでの検証であるが、paclitaxelの不活性化に寄与するCYP2C8の*3多型は、Caucasianで13%のアレル頻度であり、paclitaxelの代謝活性をまったく示さないことが明らかとされており、今後臨床での意義付けがなされるものと思われる⁴³⁾。

(8) 薬物トランスポーター

近年、小腸での吸収過程、肝臓・腎臓などにおける薬物の体内からの消失過程、また、血液脳関門・血液脳脊髄液関門など、重要な組織への薬物の分布を制限する機構において、膜上に存在する種々の薬物トランスポーターによる効率よい取り込み・排泄の重要性が明らかにされてきた。特にATPの加水分解によるエネルギーを駆動力とする排出トランスポーター (ABC transporter) は、もともとがん細胞の多剤耐性獲得の分子機構として明らかにされてきたものであり、種々の抗がん剤を基質とすることが知られている。代表的なABCトランスポーターとしては、MDR1 (multidrug resistance 1)や、MRP (multidrug resistance associated protein) ファミリーのトランスポーター、BCRP (breast cancer resistance protein)などがあげられる。いずれも基質認識性は広範であり、トランスポーター間でオーバーラップも見受けられる。詳細は、他の総説を参照されたい⁴⁴⁾ ⁴⁵⁾。排出トランスポーターのがん細胞における発現は、個々のがんにより異なっており、マイクロアレイなどを用いたがんの個性診断が進められているのが現状である。また、BCRPにおいては、がん特有に見られる482位のアミノ酸変異によって薬物の種類依存的に、輸送機能・薬剤耐性に変化が見られることが知られており、adriamycin耐性はR482G or Tの変異型でしかみられないのに対し、methotrexateの輸送は、逆に野生型 (R482) でしか見られず、一方、mitoxantrone耐性は、すべての型で見られるということが報告されている⁴⁶⁾ ⁴⁷⁾。これらは、健常人のSNPsとしては見られないことから、抗がん剤の効果を考える上で、がん特有の遺伝子変化にも気を配る必要があることを示唆し

ている。

一方、前述のとおり、全身に発現するトランスポーターは、抗がん剤の薬物動態の決定因子としても重要である。特に抗がん剤のように安全域の狭い薬物においては、小さな血中濃度の変化が、薬効や副作用に大きな影響をもたらすことが予想され、トランスポーターの遺伝子変異による機能変化は、治療効果を変える一因になりうる。最近、トランスポーターについてもSNPs解析が進められ、一部のSNPsについては、in vitroによる解析やヒト臨床研究により、機能変化が認められている。例えば、肝取り込みトランスポーターであり、広範な有機アニオン化合物を基質にするOATP (organic anion transporting polypeptide) 1B1については、日本人で約15%の頻度を示す*15 (Asn130Asp, Val174Ala) アレル保持者において、HMG-CoA還元酵素阻害薬であるpravastatinの血中AUCが有意に上昇することが示されており⁴⁸⁾、in vitroの解析からも、*15変異体発現細胞において、単位蛋白あたりのVmax値の低下が認められている⁴⁹⁾。また、*15多型では、SN-38の輸送能力も低下することがin vitro実験で示されていることから、CPT-11の効果・副作用との関連が考えられる⁵⁰⁾。MDR1では、アミノ酸変化を伴わない変異 (C3435T) を持つ人で、digoxin経口投与後の血中濃度が高くなるという現象が見出されており⁵¹⁾、その後様々な臨床研究が行われているが、機能変化について一致した見解が得られていないのが現状である⁵²⁾。また、BCRPについては、diflomotecanの血中AUCが、Gln141Lys変異を有する患者において有意に上昇することが明らかとなっている (図3)⁵³⁾。一方、in vitroの解析により、変異型蛋白のアデノウイルス発現系において、単位蛋白あたりの発現が野生型と比べて低いが、単位蛋白あたりの活性は複数の基質で変わらないことが示されている⁵⁴⁾。さらに、胎盤におけるBCRPの発現を調べたところ、Gln141Lys変異型の発現は野生型と比べて有意に低下していることが明らかにされている⁵⁵⁾。したがって、BCRPが小腸の管腔側ならびに肝臓の胆管側に発現していることを考えると、diflomotecanの血中濃度の変化は、BCRPによる発現低下による吸収の抑制・胆汁排泄の促進効果の減少で説明可能である。トランスポーターの多くは、種々の抗がん剤を基質とすることを考えると、今後、抗がん剤の効果とトランスポーターの遺伝子変異の関係についてもさらに明らかにされることが期待される。

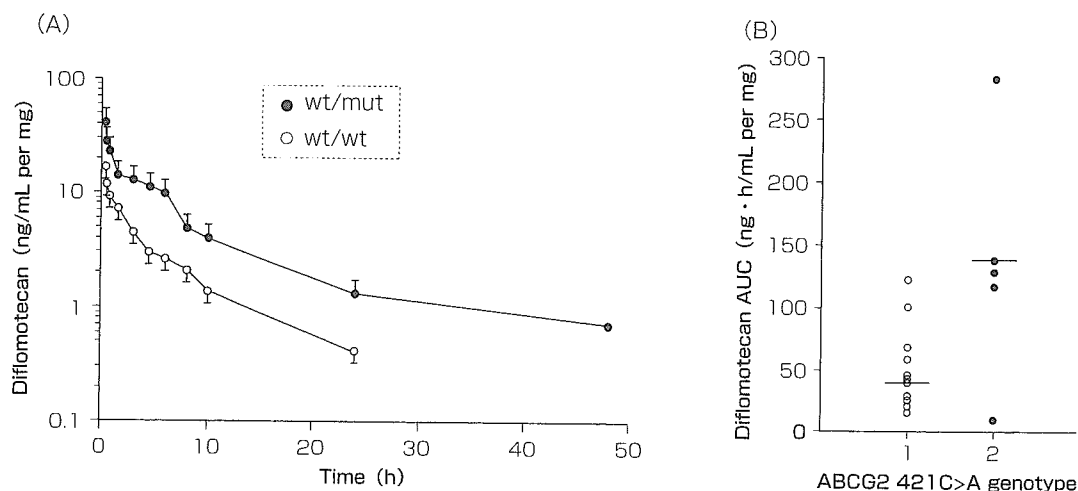


図3 BCRP(ABCG2)のC421A遺伝子変異がdiflomotecanの血中濃度に与える影響

- (A) C421A保持、非保持者におけるdiflomotecan静脈内投与後の血漿中濃度推移。
421位がC, Aのアレルをそれぞれ, wt, mutとあらわしている。
(B) C421A保持、非保持者におけるdiflomotecan静脈内投与後の血漿中AUC1は, wt/wt, 2は, wt/mutのヒトをあらわしている。

(Sparreboom A, et al.2004⁵³) より改変引用)

(9) 最 後 に

以上、薬物代謝酵素・トランスポーターにおける遺伝子変異が抗がん剤の薬物動態に与える影響について、現在の知見を概説した。抗がん剤の効果や副作用発現には、大きな個人差が見られるが、その原因は、全身の血中濃度を規定する因子、がん細胞や副作用臓器における薬物の集積を規定する因子ならびに薬物の標的因子のそれぞれの個人差の総体としてとらえることができる。現在では、多種類の標的SNPsを網羅的に同定可能なSNPチップの開発も進んでおり、すべての

因子の代表的なSNPsを簡便に検査することができる日もそう遠くないと思われる。そのためにも、現段階では、抗がん剤の効果を規定する因子のさらなる同定と変異による機能変化の実証を進めていく必要があると思われる。そのためには、健常人での抗がん剤を用いた臨床研究が困難であることを考慮すると、各蛋白の機能を予測しうるプローブ薬の開発ならびに、変異蛋白発現細胞などin vitro実験において見られた機能変化からin vivoにおける薬物動態を予測する方法論など基盤作りも同時に行っていく必要があると思われる。

文 献

- 1) Weinshilboum RM, Sladek SL : Mercaptopurine pharmacogenetics: monogenic inheritance of erythrocyte thiopurine methyltransferase activity. *Am J Hum Genet* 1980, 32, 651-62
- 2) Krynetski EY, Tai HL, Yates CR, et al. : Genetic polymorphism of thiopurine S-methyltransferase: clinical importance and molecular mechanisms. *Pharmacogenetics* 1996, 6, 279-90
- 3) Tai HL, Fessing MY, Bonten EJ, et al. : Enhanced proteasomal degradation of mutant human thiopurine S-methyltransferase (TPMT) in mammalian cells: mechanism for TPMT protein deficiency inherited by TPMT*2, TPMT*3A, TPMT*3B or TPMT*3C. *Pharmacogenetics* 1999, 9, 641-50
- 4) Tai HL, Krynetski EY, Schuetz EG, et al. : Enhanced proteolysis of thiopurine S-methyltransferase (TPMT) encoded by mutant alleles in humans (TPMT*3A, TPMT*2): mechanisms for the genetic polymorphism of TPMT activity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997, 94, 6444-9
- 5) Collie-Duguid ES, Pritchard SC, Powrie RH, et al. : The frequency and distribution of thiopurine methyltransferase alleles in Caucasian and Asian populations. *Pharmacogenetics* 1999, 9, 37-42
- 6) McLeod HL, Pritchard SC, Githang'a J, et al. : Ethnic differences in thiopurine methyltransferase pharmacogenetics: evidence for allele specificity in Caucasian and Kenyan individuals. *Pharmacogenetics* 1999, 9, 773-6
- 7) Otterness D, Szumlanski C, Lennard L, et al. : Human thiopurine methyltransferase pharmacogenetics: gene sequence polymorphisms. *Clin Pharmacol Ther* 1997, 62, 60-73
- 8) Yates CR, Krynetski EY, Loennechen T, et al. : Molecular diagnosis of thiopurine S-methyltransferase deficiency: genetic basis for azathioprine and mercaptopurine intolerance. *Ann Intern Med* 1997, 126, 608-14
- 9) Hiratsuka M, Inoue T, Omori F, et al. : Genetic analysis of thiopurine methyltransferase polymorphism in a Japanese population. *Mutat Res* 2000, 448, 91-5
- 10) Yan L, Zhang S, Eloff B, et al. : Thiopurine methyltransferase polymorphic tandem repeat: genotype-phenotype correlation analysis. *Clin Pharmacol Ther* 2000, 68, 210-9
- 11) McLeod HL, Relling MV, Liu Q, et al. : Polymorphic thiopurine methyltransferase in erythrocytes is indicative of activity in leukemic blasts from children with acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 1995, 85, 1897-902
- 12) Szumlanski CL, Honchel R, Scott MC, et al. : Human liver thiopurine methyltransferase pharmacogenetics: biochemical properties, liver-erythrocyte correlation and presence of isozymes. *Pharmacogenetics* 1992, 2, 148-59
- 13) Woodson LC, Dunnette JH, Weinshilboum RM : Pharmacogenetics of human thiopurine methyltransferase: kidney-erythrocyte correlation and

- immunotitration studies. *J Pharmacol Exp Ther* 1982, 222, 174-81
- 14) Evans WE : Pharmacogenetics of thiopurine S-methyltransferase and thiopurine therapy. *Ther Drug Monit* 2004, 26, 186-91
 - 15) Evans WE : Thiopurine S-methyltransferase: a genetic polymorphism that affects a small number of drugs in a big way. *Pharmacogenetics* 2002, 12, 421-3
 - 16) Relling MV, Hancock ML, Rivera GK, et al. : Mercaptopurine therapy intolerance and heterozygosity at the thiopurine S-methyltransferase gene locus. *J Natl Cancer Inst* 1999, 91, 2001-8
 - 17) Fleming RA, Milano G, Thyss A, et al. : Correlation between dihydropyrimidine dehydrogenase activity in peripheral mononuclear cells and systemic clearance of fluorouracil in cancer patients. *Cancer Res* 1992, 52, 2899-902
 - 18) Wei X, McLeod HL, McMurrough J, et al. : Molecular basis of the human dihydropyrimidine dehydrogenase deficiency and 5-fluorouracil toxicity. *J Clin Invest* 1996, 98, 610-5
 - 19) Diasio RB, Beavers TL, Carpenter JT : Familial deficiency of dihydropyrimidine dehydrogenase. Biochemical basis for familial pyrimidinemia and severe 5-fluorouracil-induced toxicity. *J Clin Invest* 1988, 81, 47-51
 - 20) Van Kuilenburg AB, Meinsma R, Zoetekouw L, et al. : Increased risk of grade IV neutropenia after administration of 5-fluorouracil due to a dihydropyrimidine dehydrogenase deficiency: high prevalence of the IVS14+1g>a mutation. *Int J Cancer* 2002, 101, 253-8
 - 21) van Kuilenburg AB, Haasjes J, Richel, DJ, et al. : Clinical implications of dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD) deficiency in patients with severe 5-fluorouracil-associated toxicity: identification of new mutations in the DPD gene. *Clin Cancer Res* 2000, 6, 4705-12
 - 22) Okuda H, Ogura, K, Kato, A, et al. : A possible mechanism of eighteen patient deaths caused by interactions of sorivudine, a new antiviral drug, with oral 5-fluorouracil prodrugs. *J Pharmacol Exp Ther* 1998, 287, 791-9
 - 23) Johnson MR, Hageboutos A, Wang, K, et al. : Life-threatening toxicity in a dihydropyrimidine dehydrogenase-deficient patient after treatment with topical 5-fluorouracil. *Clin Cancer Res* 1999, 5, 2006-11
 - 24) van Kuilenburg, A. B., Muller, E. W., Haasjes, J., et al. Lethal outcome of a patient with a complete dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD) deficiency after administration of 5-fluorouracil: frequency of the common IVS14+1G>A mutation causing DPD deficiency. *Clin Cancer Res* 2001, 7, 1149-53
 - 25) Maring JG, van Kuilenburg AB, Haasjes J., et al. : Reduced 5-FU clearance in a patient with low DPD activity due to heterozygosity for a mutant allele of the DPYD gene. *Br J Cancer* 2002, 86, 1028-33
 - 26) Van Kuilenburg AB, Meinsma R, Zoetekouw L, et al. : High prevalence of the IVS14 + 1G>A mutation in the dihydropyrimidine dehydrogenase gene of patients with severe 5-fluorouracil-associated toxicity. *Pharmacogenetics* 2002, 12, 555-8
 - 27) Collie-Duguid ES, Etienne MC, Milano G, et al. : Known variant DPYD alleles do not explain DPD deficiency in cancer patients. *Pharmacogenetics* 2000, 10, 217-23
 - 28) Wei X, Elizond, G, Sapone A., et al. : Characterization of the human dihydropyrimidine dehydrogenase gene. *Genomics* 1998, 51, 391-400
 - 29) Relling MV, Dervieux T : Pharmacogenetics and cancer therapy. *Nat Rev Cancer* 2001, 1, 99-108
 - 30) Fisher MB, Vandenbranden M, Findlay K, et al. : Tissue distribution and interindividual variation in human UDP-glucuronosyltransferase activity: relationship between UGT1A1 promoter genotype and variability in a liver bank. *Pharmacogenetics* 2000, 10, 727-39
 - 31) Bosma PJ, Chowdhury JR., Bakker C, et al. : The genetic basis of the reduced expression of bilirubin UDP-glucuronosyltransferase 1 in Gilbert's syndrome. *N Engl J Med* 1995, 333, 1171-5
 - 32) Iyer L, Das S, Janisch L, et al. : UGT1A1*28 polymorphism as a determinant of irinotecan disposition and toxicity. *Pharmacogenomics J* 2002, 2, 43-7
 - 33) Ando Y, Saka H, Ando M, et al. : Polymorphisms of UDP-glucuronosyltransferase gene and irinotecan toxicity: a pharmacogenetic analysis. *Cancer Res* 2000, 60, 6921-6
 - 34) Beutler E, Gelbart T, Demina A : Racial variability in the UDP-glucuronosyltransferase 1 (UGT1A1) promoter: a balanced polymorphism for regulation of bilirubin metabolism? *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998, 95, 8170-4
 - 35) Ratain MJ, Mic, R, Berezin F, et al. : Phase I study of amonafide dosing based on acetylator phenotype. *Cancer Res* 1993, 53, 2304-8
 - 36) Watson MA, Stewart RK, Smith GB, et al. : Human glutathione S-transferase P1 polymorphisms: relationship to lung tissue enzyme activity and population frequency distribution. *Carcinogenesis* 1998, 19, 275-80
 - 37) Sweeney C, McClure GY, Fares MY, et al. : Association between survival after treatment for breast cancer and glutathione S-transferase P1 Ile105Val polymorphism. *Cancer Res* 2000, 60, 5621-4
 - 38) Stoehlmacher J, Park DJ, Zhang W, et al. : Association between glutathione S-transferase P1, T1, and M1 genetic polymorphism and survival of patients with metastatic colorectal cancer. *J Natl Cancer Inst* 2002, 94, 936-42
 - 39) Furuta T, Takashima M, Shirai N, et al. : Cure of refractory duodenal ulcer and population frequency distribution. *Carcinogenesis* 1998, 19, 275-80
 - 40) Dalen P, Dahl ML, Eichelbaum M, et al. : Disposition of debrisoquine in Caucasians with different CYP2D6-genotypes including those with multiple genes. *Pharmacogenetics* 1999, 9, 697-706
 - 41) Takada K, Arefayene M, Desta Z, et al. : Cytochrome P450 pharmacogenetics as a predictor of toxicity and clinical response to pulse cyclophosphamide in lupus nephritis. *Arthritis Rheum* 2004, 50, 2202-10
 - 42) Daigo S, Takahashi Y, Fujieda M, et al. : A novel mutant allele of the CYP2A6 gene (CYP2A6*11) found in a cancer patient who showed poor metabolic phenotype towards tegafur. *Pharmacogenetics* 2002, 12, 299-306
 - 43) Dai D, Zeldin D C, Blaisdell JA, et al. : Polymorphisms in human CYP2C8 decrease metabolism of the anticancer drug paclitaxel and arachidonic acid. *Pharmacogenetics* 2001, 11, 597-607
 - 44) Doyle LA, Ross DD : Multidrug resistance mediated by the breast cancer resistance protein BCRP (ABCG2). *Oncogene* 2003, 22, 7340-58
 - 45) Kruh GD, Belinsky MG : The MRP family of drug efflux pumps. *Oncogene* 2003, 22, 7537-52
 - 46) Volk EL, Schneider E : Wild-type breast cancer resistance protein (BCRP/ABCG2) is a methotrexate polyglutamate transporter. *Cancer Res* 2003, 63, 5538-43
 - 47) Honjo Y, Hrycyna CA, Yan QW, et al. : Acquired mutations in the MXR/BCRP/ABCP gene alter substrate specificity in MXR/BCRP/ABCP-overexpressing cells. *Cancer Res* 2001, 61, 6635-9
 - 48) Nishizato Y, Ieiri I, Suzuki H, et al. : Polymorphisms of OATP-C (SLC21A6) and OAT3 (SLC22A8) genes: consequences for pravastatin pharmacokinetics. *Clin Pharmacol Ther* 2003, 73, 554-65
 - 49) Iwai M, Suzuki H, Ieiri I, et al. : Functional analysis of single nucleotide polymorphisms of hepatic organic anion transporter OATP1B1 (OATP-C). *Pharmacogenetics* 2004, 14, 749-57
 - 50) Nozawa T, Minami H, Sugiura S, et al. : Role of Organic Anion Transporter Oatp1b1 (Oatp-C) in Hepatic Uptake of Irinotecan and Its Active Metabolite Sn-38: In Vitro Evidence and Effect of Single Nucleotide Polymorphisms. *Drug Metab Dispos* 2004,
 - 51) 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 U S A* 2000, 97, 3473-8
 - 52) Marzolini C, Paus E, Buclin T, et al. : Polymorphisms in human MDR1 (P-glycoprotein): recent advances and clinical relevance. *Clin Pharmacol Ther* 2004, 75, 13-33
 - 53) Sparreboom A., Gelderblom H, Marsh S, et al. : Diflomotecan pharmacokinetics in relation to ABCG2 421C>A genotype. *Clin Pharmacol Ther* 2004, 76, 38-44
 - 54) Kondo C, Suzuki H, Itoda M, et al. : Functional analysis of SNPs variants of BCRP/ABCG2. *Pharm Res* 2004, 21, 1895-903
 - 55) Kobayashi D, Ieiri I, Hirota T, et al. : Functional assessment of abcg2 (bcpr) gene polymorphisms to protein expression in human placenta. *Drug Metab Dispos* 2005, 33, 94-101

予防医学 事典

松島綱治
酒井敏行
石川 昌
稲寺秀邦
……[編集]……

朝倉書店

創薬の現場において前臨床および臨床開発の段階で数多くの開発候補化合物がドロップアウトすることは憂慮すべき重大な問題である。開発中止のケースの約 50% は薬物動態の不具合と毒性に起因する。トキシコゲノミクスのめざすところは、毒作用の分子機序の理解とヒトで起こりうる毒作用（副作用）の予測性を高めることにある。トキシコゲノミクスは、DNA チップなどを用いて遺伝子発現パターンを同定/定量化し、毒作用発現機序を明確にしている研究方法である。毒性発現機序の解明にあたっては、ゲノミクスとバイオインフォマティクスの技術を融合させ、遺伝子発現のパターンを確証しながらデータベースを構築していき、最終的には毒性予測を可能にする。

4) 遺伝子多型と薬剤応答性の個人差：ファーマコゲノミクス

薬剤応答性に個人差が存在するが、薬剤応答性の差は、薬剤ターゲット分子（レセプター、イオンチャネル、酵素など）と薬物動態関連蛋白質（薬物代謝酵素、薬剤トランスポーターなど）の遺伝子多型と発現量に関連する。ファーマコゲノミクスは薬剤応答性の多様性を説明し、その基礎にある遺伝的背景を探索する研究分野である。遺伝子多型とは全個体数中 1% 以上の頻度で存在するゲノムの多様性のことで、1~数十の塩基の置換、欠失もしくは挿入、あるいは反復配列における繰り返し回数の違いなどが知られている。一方、個々人の表現型の多様性に関係していると考えられている因子、一塩基多型（single nucleotide polymorphism: SNP）はヒトゲノムにおいて平均して約 1,000 bp ごとに 1 個の頻度で存在し、疾患原因や薬剤応答性との関連情報を得る上で有効な情報源となる。

参考文献

- 1) 野口照久, 石井威望: 21 世紀の創薬科学. 共立出版, 東京, 1998.
- 2) 石川智久, 堀江 透: 創薬サイエンスのすすめ. 共立出版, 東京, 2002.
- 3) Kalow W, Meyer UA, Tyndale RF 著, 石川智久監訳: ファーマコゲノミクス: 21 世紀の創薬と個の医療. テクノミック, 東京, 2002.
- 4) 石川智久: ゲノム創薬と未来産業. エルゼビア・ジャパン, 東京, 2003.

石川智久@東京工業大学

97 解毒・排出の遺伝子多型

1. 組織細胞の異物解毒・排出にかかわる因

解毒排出系の分子の機能変化は、ホルモンな因性物質の濃度調節や、環境・食物から摂取する物質の排除のみならず、種々の薬物の体内動態変動させる要因としても重要である。旧来より一の投与量の薬物を患者に投与しても、その血中推移や効果には個人差が認められることが既に知られており、一卵性双生児の血中濃度の比較血中濃度のヒストグラムの多峰性から、遺伝的が示唆されてきた。現在では、いくつかの事例としては、遺伝子多型から個人差が説明可能になつある。これらの情報は、医療現場において、の遺伝子情報をもとにした最適な薬物の選択や設計といった個別化薬物治療への利用や、新薬時にあらかじめ被験者の遺伝的背景を考慮した、化試験を行うことで効率よい治験を進める上で、わめて有用であると考えられる。

解毒排出系分子の発現は、おもに、肝臓や腎臓と体内からの異物排出に関与する臓器と、脳、心臓など特に重要な器官の局所的な保護に働く、の移行を制限する関門（血液脳関門、血液胎盤関門など）にみられる。ただし、発現する分子種両ケースでかなりオーバーラップがみられる。能面からの分類としては、① 血中から臓器細胞の取込みに関与するトランスポーター、② 細胞でおもに酸化反応など種々の物質変換にかかわる cytochrome P-450 (CYP)、③ グルクロン酸、シタチオン、硫酸基など種々の水溶性を高める官能を付加する抱合酵素、④ CYP 以外の物質変換にかかわる酵素、⑤ 細胞内からの排出を担うトランスポーターなどに大別される。本項ではこれら各にかかわる遺伝子多型に関する現在の知見を概説する。

2. CYP の遺伝子多型

解毒排出系分子のなかでは、いち早く遺伝子多解析と体内動態の個体差の相関研究が行われた域であり、臨床的にも多くの事例が集積してい

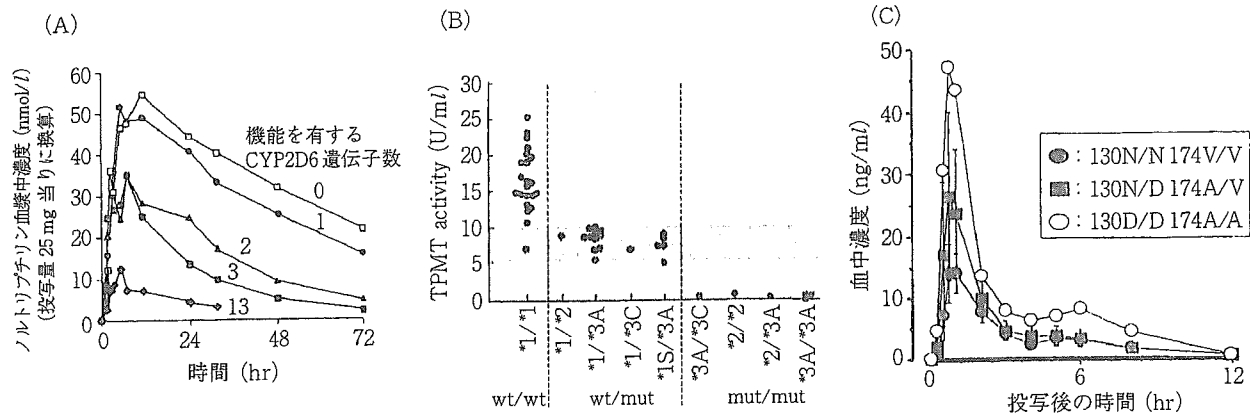


図 解毒排出系に関与する分子の遺伝子多型と薬物動態の相関の例
 (A) CYP2D6 の遺伝子多型とノルトリプチリンの血中濃度推移との関連⁵⁾
 (B) TPMT の遺伝子多型と TPMT 活性の相関⁶⁾
 (C) OATP1B1 遺伝子多型とプラバスタチン血中濃度推移との関連⁷⁾

多型の命名法に関しても体系化されている (<http://www.imm.ki.se/CYPalleles/>).

2D6 の遺伝子多型は、子宮収縮薬 sparteine と降圧薬 debrisoquine の両方で代謝物の排泄量に二峰性が認められ、両方の代謝能力が個々で相関するという臨床事象から見出された。現在では数多くの多型が同定されており、酵素欠損、機能低下や、遺伝子重複による機能亢進もみられている。2D6 の基質薬物は、 β 遮断薬 propranolol・metoprolol、抗うつ薬 nortriptyline・fluoxetine、鎮咳薬 codeine など、比較的治療域が狭い薬物が多く、2D6 多型診断は臨床での投与設計において有用な情報を与えると考えられる (図 A)。2C19 においては、胃十二指腸潰瘍の治療戦略の 1 つとして *H. pylori* 除菌時に併用されるプロトンポンプ阻害剤 omeprazole の代謝能力が、2C19 の蛋白欠損変異 (*2, *3) の保持者において有意に低下しており、さらに薬効を反映した胃内 pH の低下、amoxicillin 併用時の除菌率とも相関することが知られている。他には催眠鎮静薬 diazepam や抗うつ薬 imipramine など数種の薬物で 2C19 多型と薬物動態との相関が報告されている。2C9 では、phenytoin, warfarin, 糖尿病薬 glipizide の薬物動態、薬効・副作用と活性低下を引き起こす *3 変異との明確な相関が報告されている。しかし中には、遺伝子型と表現系の不一致がみられるケースも報告されている。たとえば、同じ 2C9 で代謝される diclofenac の血中濃度推移に *3 変異は影響を与えず、基質により変異の影響が異なる事例や、また、2C19 などで遺伝子型はヘテロ欠損型であるにもかかわらず、薬物動態はホモ欠損型と同様の挙動を示すといったいわゆる phenocopy 現象

がみられる事例があり、遺伝子型の診断だけでは不十分であるケースがあることも念頭に入れておく必要がある。また、アルコール依存症患者の 2E1 誘導や、喫煙者の 1A2 の誘導などイントロンや 5' 上流域の多型に起因して特殊な環境下での誘導の程度が異なる事例や、最近では、nicotine 代謝を司る 2A6 の欠損型変異をもつヒトでは喫煙頻度や肺癌のリスクが低いとする報告や、3A4 多型と前立腺癌、白血病発症との関連に関する報告もあり、病気のリスクとの関連も興味深い。

3. 抱合酵素の遺伝子多型

抗結核薬 isoniazid の *N*-アセチル化代謝活性の個人差は旧来より知られており、現在では、その大部分が NAT2 (*N*-acetyltransferase 2) の多型で説明可能であることが明らかとされている。通常は加水分解産物の hydrazine 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 NAT2 の活性低下による hydrazine の蓄積により肝障害が発現することが知られている。また procainamide, sulfasalazine の代謝能力、および、副作用である全身性エリテマトーデスの発症と、NAT2 変異との相関も認められている。グルクロン酸抱合酵素である UGT (UDP-glucuronosyltransferase) の遺伝子変異は、高ビリルビン血症を示す Crigler-Najjar および Gilbert 症候群の解析から多数同定されてきた。抗癌剤 CPT-11 の活性代謝物 SN-38 は、UGT1A1 により抱合されるが、UGT1A1 プロモーター領域の TA リピートが野生型より 1~2 回多い変異では転写活性が半分に低下するという報告があり、SN-38 の消失遅延につながる可能性が考えられる。また UGT1A1 は、ステロイドホルモ

ンの抱合にもかかわり、変異と乳癌発症率との相関も示唆されている。グルタチオン抱合酵素 GST (glutathione S-transferase) や、硫酸抱合酵素 SULT (sulfotransferase) の遺伝子多型については、薬物動態に関する事例は少なく、癌原物質やステロイド化合物の抱合活性や癌感受性との相関研究も統一した見解が得られていないのが現状である。

4. そのほかの代謝酵素の遺伝子多型

TPMT (thiopurine S-methyltransferase) に関しては、プリン代謝拮抗薬 6-mercaptopurine の活性本体である 6-thioguanine nucleotides の不活化を担う酵素であるが、遺伝子多型と酵素活性に明確な相関が認められており、骨髓抑制など重篤な副作用回避のためには、TPMT の遺伝子検査を事前に行い、投与量を調節する必要性が提唱されている (図 B)。また、DPD (dihydropyrimidine dehydrogenase) は、5-FU の代謝律速酵素であるが、この欠損多型と 5-FU の副作用の相関も認められている。

5. トランスポーターの遺伝子多型

細胞膜上には、非常に多様なトランスポーターが発現しており、脂質膜の透過が困難な物質の濃縮的な取込み・排泄に関与していることが知られてきた。たとえば有機アニオン系化合物の細胞内への取込みは OATP (organic anion transporting polypeptide) や OAT (organic anion transporter) ファミリーが、排出には ATP 加水分解を駆動力として機能する一連の ABC (ATP binding cassette) トランスポーターがおもに関与する。トランスポーター遺伝子変異による機能欠損で引き起こされる病態は、胆汁うっ滞を主症状とする Dubin-Johnson syndrome (multidrug resistance associated protein 2: MRP2) や PFIC (primary familial intrahepatic cholestasis) (bile salt export pump: BSEP) など多数知られているが、健常人における遺伝子多型と薬物動態の個人差の関連に関しては限られた事例しか報告がないのが現状である。おもに中性・カチオン性化合物を基質とし肝臓や小腸、血液脳関門などで排出輸送を担う P 糖蛋白 (multidrug resistance 1: P-gp/MDR1) の遺伝子多型と digoxin の消化管吸収の個人差に関する報告では、興味深いことにアミノ酸変異を伴わない高頻度の変異 (C3435T) が、MDR1 の十二指腸の発現量減少、経口投与 digoxin の AUC 増加を引き起こすことが報告された。現在では多くの臨床研究の結果が集積しつつあるが、同一基質を用いた研究ですら互いに矛盾する結果もあり、結論には至っていない。一方、ハプロタイ

プ解析から、別の 2 ヶ所の変異 (G2677 (T, C1236T) と高頻度にリンクすることが明らかになり、連鎖不平衡解析から未知の変異とのリンク可能性も示唆されている。OATP1B1 (OATP OATP2) は、肝臓血管側に特異的に発現する。ミトランスポーターであり、きわめて広範な有機アニオンを基質とすることから、多くの薬物の体内動態に大きな影響をもつことが推察されている。最 OATP1B1 について多くの SNPs が同定され、一部が *in vitro* において機能解析が進められている。一方、臨床においても、OATP1B1*15 多型 (N130V174A) を保持する日本人において、HMG-CoA 還元酵素阻害薬 pravastatin の血漿中 AUC が野生型と比較して有意に上昇する事例 (図 C) や、*in vivo* においても、OATP1B1*5 (V174A), *1b (N130V174A) の保持者について、pravastatin の血漿中 AUC 上昇、低下が見られることが明らかとされた。また、薬効である血清コレステロール値の変化害も *5 変異で有意に低下することや、重篤な副作用である横紋筋融解症の初期指標となる creatine phosphokinase (CPK) 上昇が起こった患者群において有意に *15 多型が見られる報告がされてお。トランスポーターの遺伝子多型が薬効・副作用に影響を与えうることが示唆され、今後多くの事例集積が待たれる。

参考文献

- 1) 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、大阪、2001。
- 2) Kalow W, Meyer UA, Tyndale RF 編、石川智久監訳。ファーマコゲノミクス。テクノミック、東京、2002。
- 3) 日本薬学会 (杉山雄一) 編：次世代ゲノム創薬。中山書局、東京、2003。
- 4) Lee VHL ed: Pharmacogenetics of CYP enzymes and drug transporters. In: Advanced Drug Delivery Reviews, 54 (10), Elsevier, Ireland, 2002.
- 5) Dalen P, et al: *Clin Pharmacol Ther* 63 (4): 444-449, 1998.
- 6) Yates CR, et al: *Ann Intern Med* 126: 608, 1997.
- 7) Nishizato Y, et al: *Clin Pharmacol Ther* 73: 554-560, 2003.

予 防 医 学 事 典

定価は外函に表示

2005 年 5 月 25 日 初版第 1 刷

編 者 松 島 綱 治
酒 井 敏 行
石 川 昌
稲 寺 秀 邦
発行所 朝 倉 邦 造
株式 朝 倉 書 店

東京都新宿区新小川町 6-29
郵便番号 162-8707
電 話 03 (3260) 0141
F A X 03 (3260) 0180
<http://www.asakura.co.jp>

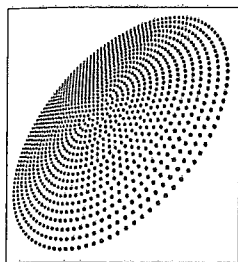
〈検印省略〉

©2005 〈無断複写・転載を禁ず〉

中央印刷・渡辺製本

ISBN 4-254-30081-6 C 3547

Printed in Japan



特集●Vol.34 No.1 トランスポーター

トランスポーターの 遺伝子多型と臨床

家入 一郎*

1. はじめに

トランスポーターは、腫瘍細胞に発現する抗がん剤に対する耐性の原因タンパクとして特定された。しかし、その後の研究により、特定されたトランスポーターの殆どがヒトの正常組織に普通に発現しており、生体物質や異物を始めとする医薬品の膜を介した取り込みと汲み出しに関与することが明らかとされた。近年、薬物の効果や体内動態に見る大きな個人差を関連タンパク遺伝子の多型から説明し、医薬品の適正使用へ活用する試みが盛んに行われている。その代表は、薬物代謝酵素であるが、代謝を受けるためには、肝臓に薬物が運ばれる、すなわち、分布する必要がある。トランスポーターは、この分布のみならず、吸収や排泄過程にも重要な役割を果たすことから、代謝酵素と同様に遺伝子多型からの個人差解明が期待されている。本稿では、現在までに詳細な遺伝子多型解析が行われ、その機能への関与が明らかとなったトランスポーターを取り上げ、遺伝子診断に基づいた医薬品適正使用への試みの一端を紹介する。

2. トランスポーター遺伝子多型

現在までに数多くのトランスポーター遺伝子について多型が報告されている。表1にその一部をまとめたが、総ての変異が機能の変化を伴う訳ではない。変異の多くは一塩基置換(SNPs)であり、薬物代謝酵素に見られる遺伝子の全欠損や重複の報告はない。変異のヒトでの機能評価はSNPsの有無で行われるケースが多いものの、MDR1やOATP-C遺伝子では、いくつかのSNPsが連鎖不均衡にあるため、ハプロタイプが指標となる場合がある。また、薬物代謝酵素遺伝子と同様に、変異の頻度には人種間で差が見られることから、以下に述べる効果や体内動態への影響には人種差に留意する必要がある。我々の解析経験では、例外もあるだろうが、日本人での変異の頻度は、アフリカ系黒人と共通点が多い印象がある。また、変異の数は代謝酵素遺伝子と比べ、多い感がある。

3. 遺伝子多型の臨床的意義

トランスポーター遺伝子多型の機能評価は遺伝性疾患との関連が中心に展開されてきた。

*鳥取大学医学部附属病院薬剤部 助教授・副薬剤部長

表1 主な薬物トランスポーター遺伝子の多型と日本人での頻度

gene	mutation	effect	frequency (%)	遺伝子多型の機能評価	
				<i>in vitro</i> 評価	<i>in vitro</i> 評価
<i>MDR1</i>	-129T>C	—	8.30		
	1236C>T	—	64.60		
	2677G>T	893Ala>Ser	41.70	◎	◎
	2677G>A	893Ala>Thr	21.80		
	2956A>G	986Met>Val	0.50		
	3435C>T	—	49.00		
<i>MRP1</i>	128G>C	43Cys>Ser	1.00		
	218C>T	73Thr>Ile	1.00	◎	なし
	2168G>A	723Arg>Gln	7.30		
	3173G>A	1058Arg>Gln	1.00		
<i>MRP2</i>	-24C>T	—	18.80		
	1249G>A	417Val>Ile	12.50		
	2302C>T	768Arg>Trp	1.00	◎	◎
	2366C>T	789Ser>Phe	1.00		
	4348G>A	1450Ala>Thr	1.00		
<i>BCRP</i>	34G>A	12Val>Met	18.00		
	376C>T	126Gln>Stop codon	1.00	◎	◎
	1515C>delete	509Met>Stop codon	0.50		
<i>OATP-B</i>	109C>T	37Pro>Thr	30.90		
	935G>A	312Arg>Gln	32.80	◎	なし
	1457C>T	486Ser>Phe	30.90		
<i>OATP-C</i>	388A>G	130Asn>Asp	62.90		
	521T>C	174Val>Ala	15.80	◎	◎
	1454G>T	485Cys>Phe	0.80		
<i>OATP-8</i>	334T>G	112Ser>Ala	29.70	◎	なし
	699G>A	233Met>Ile	29.70		
<i>OAT3</i>	1166C>T	389Ala>Val	0.80	なし	◎
<i>OCT1</i>	123625C>T	341Phe>Leu	16.10	◎	◎
	126827A>G	408Met>Val	82.80		
<i>OCT2</i>	29679C>T	200Thr>Met	98.96	◎	なし
	31048T>G	270Ser>Ala	12.50		

表中の変異は、我々の研究室で検討を加えたもので、一部のみを抜粋した。また、健康成人から得たゲノムDNAを試料とした。

しかし、ここ数年、薬物の効果や体内動態についての知見が急速に蓄積されつつある。機能評価はノックアウトマウスや発現細胞実験が中心となるが、それらの結果を受けて展開されているヒトでの臨床試験の結果を中心に述べる。

3.1 *MDR1* (*ABCB1*) 遺伝子

表1に見るように、p-糖タンパクをコードする*MDR1*遺伝子には、非常に多くの変異が確認されている。100名の日本人の遺伝子解析を行った結果では、総ての検体は何らかの変異を有していた¹⁾。それらの変異の中では、1236C>T (exon 12)、2677G>T/A (exon 21)、3435C>T (exon 26) が注目されている。当初、

3435C>Tの機能変化が衝撃をもって報告されたが、本変異はアミノ酸置換も伴わない変異であったことから、別の変異との関連が考えられていた。その後、これら3種の変異が連鎖不均衡にあり、高率に同一染色体上に存在する(このパターンをハプロタイプと呼び、総ての位置に変異がない場合はC-G-Cの配列を、総て変異体であると、T-T(A)-Tの配列をとる)ことが明らかとなった。2677G>T/Aがアミノ酸置換[893Ala>Ser(Thr)]を伴う。図1には、心不全治療薬であり、血中濃度を測定するジゴキシンでの結果を示す²⁾。検討は、2677G-3435Cと2677T-3435Tのホモ接合タイプ(それぞれI群とIII群)、G-C/T-Tのヘテロ接合タイ

プ (II群) の遺伝子型を示す健常成人にジゴキシンを経口と静注で投与し、体内動態を比較した。興味深いことに、ジゴキシンを静注した際の血中濃度には3群間で差は無かったが、経口投与での吸収率は、III群>II群>I群の順で低い結果であった。この検討では、2つのポイントがある。1つ目は、I群で吸収率が低かった点である。腸管に発現するp-糖タンパクは、小腸上皮細胞に到達した薬物を再度、腸管内に汲み出す働きを有していることから、機能が正常に働く場合は、薬物の吸収率を低下させる方向に作用する。従って、本検討の結果からは、変異は機能低下、すなわち、汲み出し能の低下=吸収率の上昇、を伴うことが考えられる。2つ目は、多型の影響が経口投与時にのみ見られた点である。静注したジゴキシンは腸管上皮細胞と接触することがない。従って、腸管に発現するp-糖タンパクの影響を受けない。現在までに、p-糖タンパクが関与する体内動態や薬物相互作用が数多く報告されているが³⁾、経口と静注、すなわち、医薬品の投与方法の違いにより結果が異なる。本現象は臨床的にも極めて重要となる。

トランスポーター遺伝子多型の機能評価では、MDR1遺伝子が最もよく検討が加えられており、情報量も多い。一部を表2にまとめた³⁾。効果との関連では、三環系抗うつ薬と薬剤性低血圧、HIV-1治療薬と免疫機能改善、免疫抑制剤とステロイド使用期間や中枢性副作用などが

あり、いずれも変異による機能低下を指摘する。しかし、体内動態への影響を見ると、論文間で必ずしも一致した知見が得られておらず、ジゴキシンの抗アレルギー薬であるフェキソフェナジンに見られる結果は、機能評価に混乱を招いている。MDR1遺伝子のヒトでの機能評価には、いくつかの問題点がある。1つ目は、使用する基質の特異性がある。表2に挙げた医薬品の中で、ジゴキシンのフェキソフェナジンは、p-糖タンパクの基質であるが、同時に後述するOATPの基質でもある。OATPの分子種の中には、機能変化を伴う遺伝子変異が知られている。また、シクロスポリンやタクロリムスは、より特異性の高い基質と思われるが、いずれも個人差の大きい代謝酵素 (CYP3A) で代謝されるため、得られる結果に代謝酵素の個人差が混在する。2つ目は、発現部位が挙げられる。p-糖タンパクは、小腸、肝臓、腎臓、脳毛細血管など、多くの部位に発現し、それぞれが輸送方向性を持って機能している。従って、血中濃度を指標した場合には、どこかの部位の関与が反映されたかが不明と言える。残念ながら、p-糖タンパクに特異的で、代謝を受けない基質は、今のところ見つかっていない。しかし、後者の問題については、PETを用いた脳毛細血管、 γ カメラによる肝胆輸送⁴⁾といった、局所での機能の評価する方法が工夫されている。

3.2 BCRP (ABCG2) 遺伝子

p-糖タンパクと同様にATPを駆動力として異

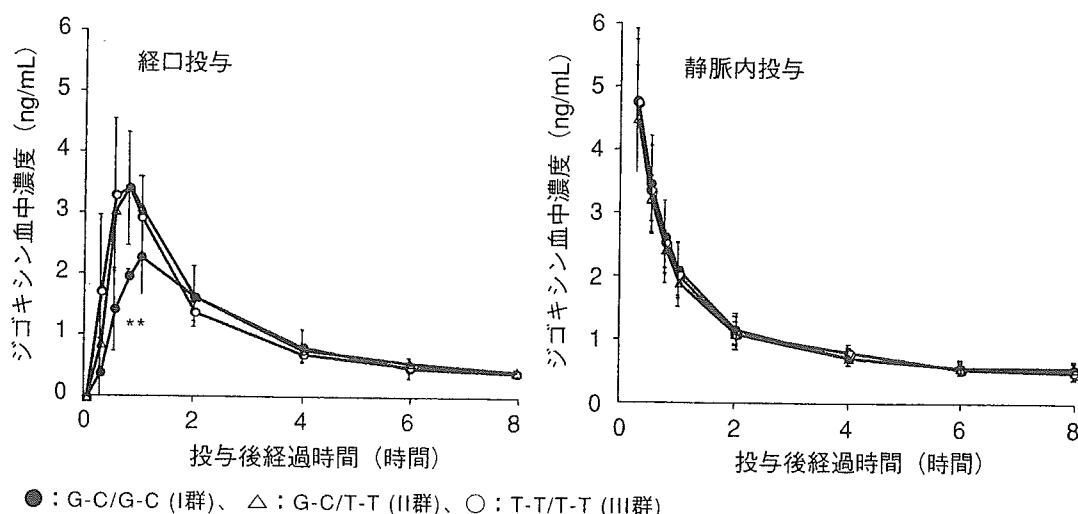


図1 MDR1遺伝子型とジゴキシンの血中濃度推移 (文献2を一部変更)

表2 MDR1遺伝子多型のヒトでの機能評価 (文献3より一部抜粋)

遺伝子変異	基質薬物	対象	機能変化
3435C>T	ジゴキシシン	健常成人	T/T>C/C (最高血中濃度)
2677G>T	ジゴキシシン	健常成人	M/M>W/M>W/W (吸収率)
3435C>T	ジゴキシシン	健常成人	W/W>W/M>M/M (腎・分泌クリアランス)
3435C>T	ジゴキシシン	健常成人	C/C>T allele 保有者 (血中濃度)
3435C>T	フェニトイン	健常成人	T/T>C/C (血中濃度)
3435C>T	シクロスポリン	健常成人	(T/T+T/C)>(C/C) (血中濃度)
3435C>T	シクロスポリン	腎移植患者	変化なし (血中濃度や拒絶反応の頻度)
3435C>T	フェキソフェナジン	健常成人	C/C=T/T
3435C>T	フェキソフェナジン	健常成人	C/C>T/T
3435C>T	ノルトリプチリン	鬱患者	T/T>C/T>C/C (薬剤性低血圧)
3435C>T	ネルフィナビル エファビレンツ	HIV-1患者	T/T>C/T>C/C (CD4細胞数や回復率) C/C>C/T>T/T (最低血中濃度)
2677G>T	ステロイド	小児心移植患者	W/W>W/M>M/M (ステロイド服用期間)
3435C>T	タクロリムス	部分肝移植患者	(T/A)>G (中枢性副作用頻度)

W：野生型アレル、M：変異アレル、

物を細胞外へ汲み出すABCトランスポーター (後述するMRP2もこの種類) に属するBCRPにもその遺伝子には多くの変異が報告されている。その中では、421C>A (141Gln>Lys) が注目される。ヒト胎盤や変異導入細胞でのタンパク発現量が、本変異により著しく減少することが報告されている⁵⁾。ヒトでの機能評価は十分ではないが、抗がん剤であるカンプトテシンの誘導体、ジフロモテカンを経口投与した臨床試験が報告されている (図2)⁶⁾。平均血中濃度推移には、変異の有無で大きな差が観察される。

3.3 MRP2 (ABCC2) 遺伝子

肝臓の胆管側膜に発現するMRP2は、肝臓内で産生される各種抱合体を基質としている。抱合体ビリルビン高値を主徴とする先天性疾患であるDubin-Johnson症候群はMRP2の機能障害により生じ、原因となる遺伝子変異が数多く同定されている。789Ser>Pheといった原因となる遺伝子変異は、タンパクの膜上へのソーティングを障害する⁷⁾。これらの変異の多くはその頻度は低い (<1%) もの、健常人でもよく目にする可能性がある。しかし、変異がホモ型で存在する頻度は極めて低い。Dubin-Johnson症候群は

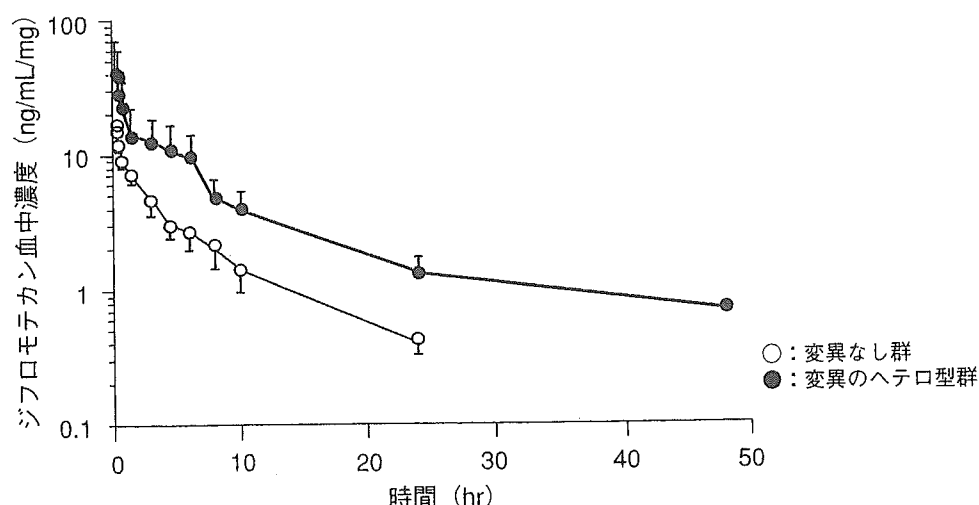


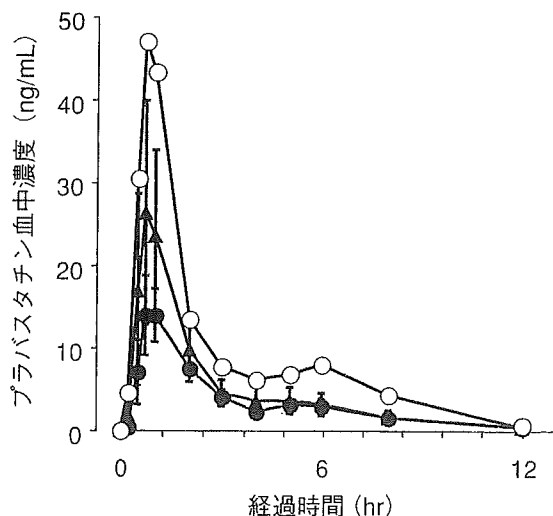
図2 BCRP421C>A (141Gln>Lys) 変異とジフロモテカン血中濃度推移 (文献6より)

原因遺伝子変異がホモ接合体をとることで発症することから、実際には希な疾患となる。これらの変異に対して、機能に影響しない変異も多い。例えば、417Val>Ileの日本人での頻度は、12.5%と極めて高いが、その機能には変化が見られない^{7,8)}。

3.4 OATP-C (SLCO1B1) 遺伝子

p-糖タンパク、BCRP、MRP2が排出系 (efflux) のトランスポーターであるのに対し、肝の類洞側膜に発現するOATP-Cは、薬物の肝への取り込み (uptake) に働く。多数の遺伝子変異が確認されており、現在までに約20種類のハプロタイプが報告されている。その中で、アミノ酸置換を伴う130Asn>Aspと174Val>Ala、さらには、最近、プロモーター領域に位置する-11187G>Aが注目されている。日本人の一部ではこれらの変異はハプロタイプを構成している。130位と174位の2箇所の変異が同時に存在するタイプをOATP-C*15型、3種類の変異が同時に存在する場合をOATP-C*17型と呼ぶ (国際命名) が、著者らの解析では、日本人では*17型が多いようである。130位のみに変異がある場合は、OATP-C*1b型と呼び、日本人で最も多い遺伝子型である。*1b型、*15型のホモ型 (それぞれをI、III群)、ヘテロ型 (II群) にOATP-Cの基質薬物であり、高脂血症治療薬であるプラバスタチン (HMG-CoA還元酵素阻害剤) を投与した際の血中濃度推移を図3に示す⁹⁾。II群、III群、すなわち、174位に変異を有する被検者では、全身クリアランスの低下と血中濃度の上昇が観察される。OATP-C遺伝子多型のヒトでの機能評価は、その後、数報が報告されている。いずれの研究もプラバスタチンを使用しているが、総ての報告で一致した結果が得られている。さらに、発現系による*in vitro*研究もいくつか実施されている。それらの知見をまとめると、174位の変異により基質薬物の輸送能は低下する。従って、ヒトで観察された変異保有者での血中濃度の上昇は、プラバスタチンの肝への取り込みの低下が原因と考えられる。HMG-CoA還元酵素阻害剤は肝に取り込まれることでコレステロール低下作用を示すことから、本変

異保有患者では、期待する効果が得られないことが予想される。この仮説を証明する研究が徐々に報告されつつある¹⁰⁾。本変異保有患者に対しては、OATP-Cの基質ではないスタチンの投与が適切であることが示唆される。



●: *1b/*1b (I群)、▲: *1b/*15 (II群)、○: *15/*15 (III群)

図3 OATP-C遺伝子型とプラバスタチン血中濃度推移 (文献9より)

3.5 ビリルビンの肝輸送と遺伝子多型

肝でのビリルビンの輸送については、まだ不明な点が多いが、トランスポーターが関与する輸送機構としては図4に示す経路が考えられている; OATP-Cによる非抱合型ビリルビンの取り込み→グルクロン酸転移酵素 (UGT1A1) による抱合化→MRP2による抱合体の胆汁排泄。いずれのタンパクをコードする遺伝子にも機能変化を伴う多型が知られている。UGT1A1では、プロモーター領域に存在する (TA) 配列の繰り返し数の異なるUGT1A1*28が日本人で知られており、ジルベール症候群 (Gilbert syndrome) の原因遺伝子変異である。それぞれの機能を評価する目的で、変異の有無による血清ビリルビン値の比較を試みた⁸⁾。その結果、UGT1A1*28やOATP-C*15変異を有する場合、総ビリルビンとともに、非抱合型ビリルビンが高値となる傾向が見られた。さらに、非抱合型ビリルビン濃度とプラバスタチンの血中濃度とは良好な正の相関を認めた。以上の結果から、遊離型ビリルビンの肝取り込みの一部には、OATP-Cが関与することが示唆された。ここでは、生体成分で

あるビリルビンを取り上げたが、医薬品の体内動態を数種類の遺伝子多型を考慮して明らかにする検討が最近の本領域の流れとなっている。

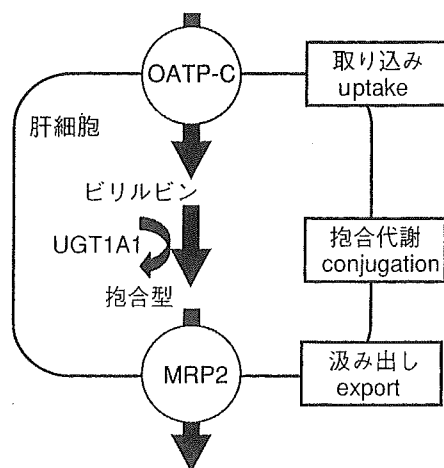


図4 トランスポーターが関与したビリルビン肝輸送の1例

4. おわりに

一部のトランスポーターのみを取り上げたが、その輸送機能の個人差が遺伝子多型により生じていることが明らかとなりつつある。しかし、生体成分や医薬品の動態は、いくつかのプロセスからなり、多くのタンパクが関与する。代謝酵素やトランスポーター遺伝子多型により、大まかな個人の特徴付けは可能となってきたが、実用化には、さらなる精度が要求される。多遺伝子多型の同時解析（診断）やエピジェネティクスな遺伝子発現メカニズムなど、さまざまなハード、ソフトを取り入れた研究の展開が、今後ますます必要となるであろう。

■文 献

- 1) Tanabe M, Ieiri I, Nagata N, Inoue K, Ito S, Kanamori Y, Takahashi M, Kurata Y, Kigawa J, Higuchi S, Terakawa N, Otsubo K: Expression of P-glycoprotein in human placenta: relation to genetic polymorphism of the multidrug resistance (MDR)-1 gene, *J Pharmacol Exp Ther*, **297**: 1137-1143, 2001.
- 2) Kurata Y, Ieiri I, Kimura M, Morita T, Irie S, Urae A, Ohdo S, Ohtani H, Sawada Y, Higuchi S, Otsubo K: Role of human MDR1 gene polymorphism in bioavailability and interaction of digoxin, a substrate of P-glycoprotein, *Clin Pharmacol Ther*, **72**: 209-219, 2002.

- 3) Ieiri I, Takane H, Otsubo K: The MDR1 (ABCB1) gene polymorphism and its clinical implications, *Clin Pharmacokinet*, **43**: 553-576, 2004.
- 4) Wong M, Evans S, Rivory LP, Hoskins JM, Mann GJ, Farlow D, Clarke CL, Balleine RL, Gurney H: Hepatic technetium Tc 99m-labeled sestamibi elimination rate and ABCB1 (MDR1) genotype as indicators of ABCB1 (P-glycoprotein) activity in patients with cancer, *Clin Pharmacol Ther*, **77**: 33-42, 2005.
- 5) Kobayashi D, Ieiri I, Hirota T, Takane H, Maegawa S, Kigawa J, Suzuki H, Nanba E, Oshimura M, Terakawa N, Otsubo K, Mine K, Sugiyama Y: Functional assessment of abcg2 (bcpr) gene polymorphisms to protein expression in human placenta, *Drug Metab Dispos*, **33**: 94-101, 2005.
- 6) Sparreboom A, Gelderblom H, Marsh S, Ahluwalia R, Obach R, Principe P, Twelves C, Verweij J, McLeod HL: Diflomotecan pharmacokinetics in relation to ABCG2 421C>A genotype, *Clin Pharmacol Ther*, **76**: 38-44, 2004.
- 7) Hirouchi M, Suzuki H, Itoda M, Ozawa S, Sawada J, Ieiri I, Otsubo K, Sugiyama Y: Characterization of the cellular localization, expression level, and function of SNP variants of MRP2/ABCC2, *Pharm Res*, **21**: 742-748, 2004.
- 8) Ieiri I, Suzuki H, Kimura M, Takane H, Nishizato Y, Irie S, Urae A, Kawabata K, Higuchi S, Otsubo K, Sugiyama Y: Influence of common variants in the pharmacokinetic genes (OATP-C, UGT1A1, and MRP2) on serum bilirubin levels in healthy subjects, *Hepatol Res*, **30**: 91-95, 2004.
- 9) Nishizato Y, Ieiri I, Suzuki H, Kimura M, Kawabata K, Hirota T, Takane H, Irie S, Kusuhara H, Urasaki Y, Urae A, Higuchi S, Otsubo K, Sugiyama Y: Polymorphisms of OATP-C (SLC21A6) and OAT3 (SLC22A8) genes: Consequences for pravastatin pharmacokinetics, *Clin Pharmacol Ther*, **73**: 554-565, 2003.
- 10) Tachibana-Iimori R, Tabara Y, Kusuhara H, Kohara K, Kawamoto R, Nakamura J, Tokunaga K, Kondo I, Sugiyama Y, Miki T: Effect of genetic polymorphism of OATP-C (SLC01B1) on lipid-lowering response to HGM-CoA reductase inhibitors, *Drug Metab Pharmacokinet*, **19**: 375-380, 2004.

Pharmacogenetics of Drug Transporter and its Clinical Implications

Ichiro Ieiri*

*Department of Hospital Pharmacy, Tottori University Hospital

● 基 礎

薬物トランスポーターと薬剤感受性 (2)

—薬物トランスポーター遺伝子多型の臨床的意義—

家 入 一 郎*

要 旨

抗癌剤の耐性原因タンパク質として同定されたトランスポーターの多くは、血液脳関門、肝、腎、消化管などの諸臓器にも発現し、薬物の体内動態（吸収、分布、排泄）や臨床効果に大きく寄与することが明らかになりつつある。体内動態や効果の個人差をこれらのトランスポーターをコードする遺伝子多型から説明し、医薬品の個別適正使用に活用する研究が精力的に行われている。薬物代謝酵素遺伝子多型とともにその有用性が期待される。

はじめに

消化管から循環血への薬物移行（経口吸収）、その後の臓器や組織への分布、胆汁や尿への排泄は、種々の細胞膜を介した輸送現象である。受動的な拡散に加え、細胞膜に局在する輸送担体、トランスポーターが重要な役割を果たす。多くは小腸、肝、腎などの消化管や脳、肺といった主要臓器の上皮細胞（あるいは血管内皮細胞）に発現し、膜を介した薬物の取り込みと汲み出しに関与する。トランスポーターが関与する薬物の吸収、分布、排泄過程には、代謝過程と同様に大きな個人差が見られる。このため、代謝酵素と同

様にトランスポーターをコードする遺伝子の多型や発現調節機構からこの個人差を解明する研究が精力的に行われている。本稿では、現在までに詳細な遺伝子多型解析が行われ、その機能への関与が明らかとなったトランスポーターを取り上げ、遺伝子診断に基づいた医薬品適正使用への試みの一端を紹介する。

トランスポーター遺伝子多型

現在までに数多くのトランスポーター遺伝子について多型が報告されている。表1に重要な変異のみを抜粋してまとめた。変異の多くは1塩基多型（SNPs）で、薬物代謝酵素に見られる遺伝子の全欠損や重複の報告は今のところない。ヒトでの変異の機能評価は、SNPsの有無で行われるケースが多い。しかしSNPsのみでは個人差が説明できないケースや幾つかのSNPsが連鎖不均衡にある遺伝子では、ハプロタイプ解析が導入されてい

* 鳥取大学医学部附属病院 薬剤部 助教授・副薬剤部長

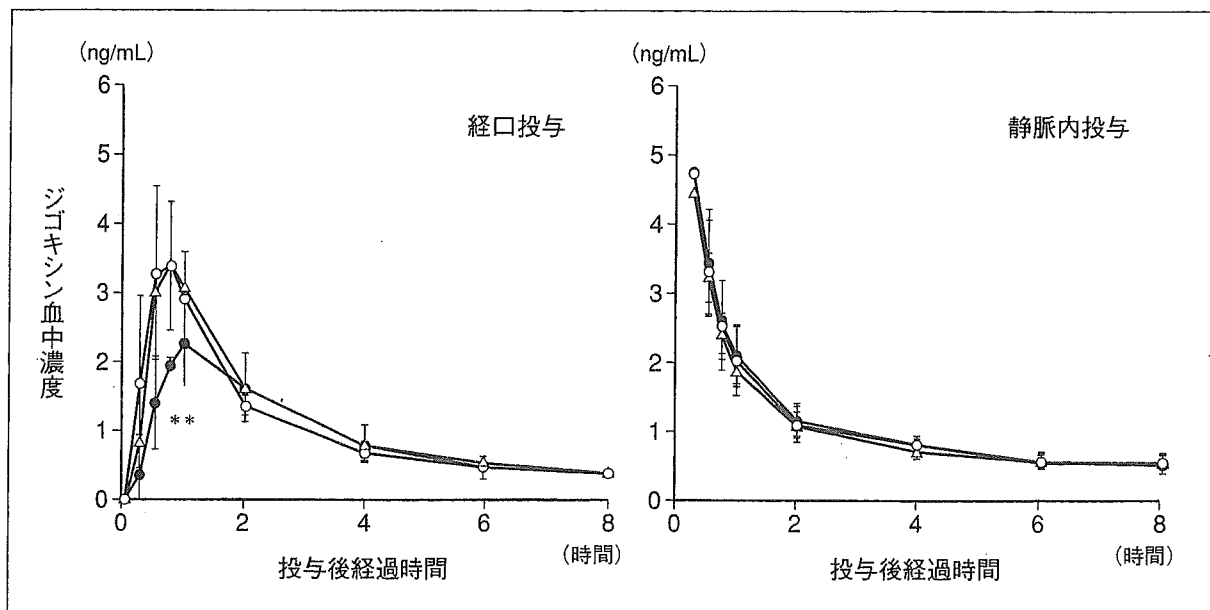
キーワード：薬物輸送タンパク質，
薬物トランスポーター，遺伝子多型，
薬物動態，臨床効果

表1 主な薬物トランスポーター遺伝子の多型と日本人での頻度

遺伝子	変異	効果	頻度 (%)
<i>MDR1</i>	-129T>C	—	8.30
	1236C>T	—	64.60
	2677G>T	893Ala>Ser	41.70
	2677G>A	893Ala>Thr	21.80
	2956A>G	986Met>Val	0.50
	3435C>T	—	49.00
<i>MRP1</i>	128G>C	43Cys>Ser	1.00
	218C>T	73Thr>Ile	1.00
	2168G>A	723Arg>Gln	7.30
	3173G>A	1058Arg>Gln	1.00
<i>MRP2</i>	-24C>T	—	18.80
	1249G>A	417Val>Ile	12.50
	2302C>T	768Arg>Trp	1.00
	2366C>T	789Ser>Phe	1.00
	4348G>A	1450Ala>Thr	1.00
<i>MRP4</i>	559G>T	187Gly>Trp	?
	2578G>A	860Val>Met	?
	3095C>G	1932Pro>Arg	?
<i>BCRP</i>	34G>A	12Val>Met	18.00
	376C>T	126Gln>stop codon	1.00
	421C>A	141Gln>Lys	35.50
	1515C>delete	509Met>stop codon	0.50
<i>OATP-B</i>	109C>T	37Pro>Thr	30.90
	935G>A	312Arg>Gln	32.80
	1457C>T	486Ser>Phe	30.90
<i>OATP-C</i>	388A>G	130Asn>Asp	62.90
	521T>C	174Val>Ala	15.80
	1454G>T	485Cys>Phe	0.80
<i>OATP-8</i>	334T>G	112Ser>Ala	29.70
	699G>A	233Met>Ile	29.70
<i>OAT3</i>	1166C>T	389Ala>Val	0.80
<i>OCT1</i>	123625C>T	341Phe>Leu	16.10
	126827A>G	408Met>Val	82.80
<i>OCT2</i>	29679C>T	200Thr>Met	98.96
	31048T>G	270Ser>Ala	12.50

表中の変異は我々の研究室で検討を加えたもので、一部のみを抜粋した。また、健常成人から得たゲノム DNA を試料とした。表中?印は未検討を意味する。

略語：巻末の「今月の略語」参照

図1 *MDR1* 遺伝子多型とジゴキシン血中濃度推移 (文献³⁾ より引用一部改変)

●：2677G/3435C のホモ接合タイプ(1群)，△：2677G/3435C と 2677T/3435T のヘテロ接合タイプ(2群)，○：2677T/3435T のホモ接合タイプ(3群)，*P<0.05. 1群の血中濃度が2群，3群の値より有意に低い。

る。*MDR1* や *OATP-C* 遺伝子が例として挙げられる。さらに，薬物代謝酵素遺伝子と同様に変異の頻度には人種間で差が見られることから，効果や体内動態への影響には人種差が指摘される。我々の解析経験では，例外もあるだろうが，日本人での変異の頻度はアフリカ系黒人と共通する印象を持つ。また，変異の数は代謝酵素遺伝子と比べて多い。

遺伝子多型の臨床的意義

トランスポーター遺伝子多型の機能評価は，遺伝性疾患との関連が中心に展開されてきた。薬物の体内動態や臨床効果についての知見は，ここ数年急速に蓄積されつつある。機能評価はノックアウトマウスや発現細胞実験が中心であるが，ここではヒトでの機能評価を中心に述べる。

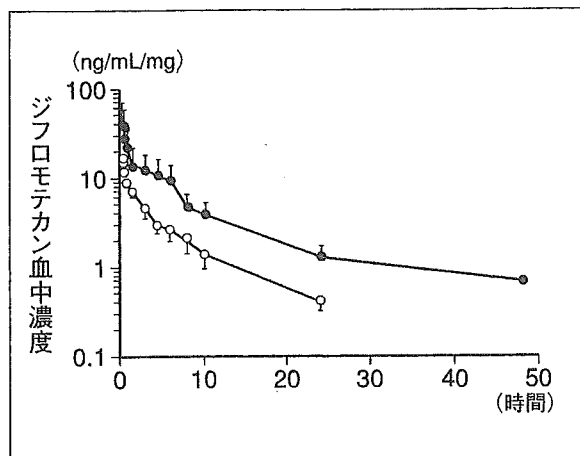
1. *MDR1* (*ABCB1*) 遺伝子¹⁾

p糖タンパク質をコードする *MDR1* 遺伝子には数多くの変異が確認されている。100人の日本人の解析結果ではすべての検体が何

らかの変異を有していた。それらの変異の中では，5' 上流非翻訳領域にある -1517aT>C と -129T>C，翻訳領域にある 2677G>T(A) (エキソン 21) と 3435C>T (エキソン 26) が注目されている。面白いことに，それぞれの領域にある変異は高率に連鎖不均衡の関係にあり，同一染色体上に存在する。-1517aT/-129T，-1517aC/-129C，2677G/3435C，2677T(A)/3435T のハプロタイプを高率で構成する¹⁾²⁾。しかし，2677G>T(A) のみがアミノ酸置換 [893Ala>Ser(Thr)] を伴う。

図1に，心不全治療薬ジゴキシンでの結果を示す³⁾。検討は，2677G/3435C と 2677T/3435T のホモ接合タイプ (それぞれ1群と3群)，(2677G/3435C)/(2677T/3435T) のヘテロ接合タイプ (2群) の遺伝子型を示す健常成人にジゴキシンを経口と静注で投与し，体内動態を比較した。興味深いことに，ジゴキシンを静注した際の血中濃度には3群間で差はなかったが，経口投与での吸収率は3群>2群>1群の順で低い結果であった。腸管に発現するp糖タンパク質は，小腸上皮

図2 BCRP 421C>A (141Gln>Lys) 変異による
ジフロモテカン体内動態変化
(文献⁵⁾より引用改変)



縦軸はジフロモテカン血中濃度で、濃度を投与量で補正してある。

○：変異なし群

●：421C>A変異のヘテロタイプ保有患者

細胞に到達した薬物を再度腸管内に汲み出す働きを有していることから、機能が正常に働く場合や高発現する場合は薬物の吸収率を低下させる方向に作用する。したがって本検討の結果からは、変異は機能低下=汲み出し能の低下=吸収率の上昇を伴うことが考えられる。さらに、本検討では多型の影響が経口投与時にのみ見られた。静注したジゴキシンは腸管上皮細胞と接触することがない。したがって、腸管に発現するp糖タンパク質の影響を受けない。現在までに、p糖タンパク質が関与する体内動態や薬物相互作用が数多く報告されているが、経口と静注、すなわち医薬品の投与方法の違いにより得られる結果が異なる。p糖タンパク質の基質で経口と注射の両方の剤形がある医薬品を使用する場合には注意が必要と言える。

トランスポーターの中ではMDR1遺伝子多型が最もよく検討が加えられており、情報量も多い¹⁾。臨床効果との関連では、三環系抗うつ薬ノルトリプチリンによる薬剤性低血圧(3435T/Tで生じやすい)、HIV-1治療

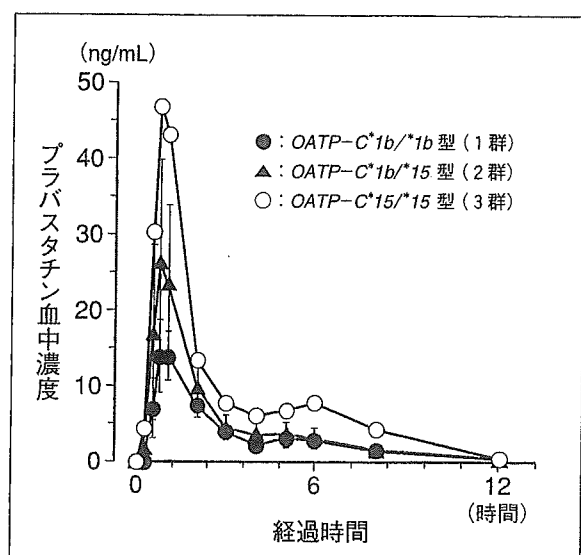
薬によるCD4細胞数や免疫機能改善効果(3435T/Tで高い)、心移植小児患者におけるステロイド使用期間(2677T/T, 3435T/Tで短い)などがあり、いずれも変異による機能低下を支持する結果である。

MDR1遺伝子多型の機能評価で特に体内動態への影響を見ると、報告論文間で異なった結果が得られており混乱が見られる。具体的には、ここで紹介した結果とは異なり、変異が輸送機能亢進を伴う方向に作用することを指摘する。検討に使用する基質薬物の特異性、取り扱う変異の種類などの影響に加え、さまざまな部位で輸送方向性を保ちながら機能するp糖タンパク質の評価の難しさを示す結果と言える。可能な限り局所での機能評価が理想的であり、PETを用いた脳毛細血管を介した脳への薬物移行やγカメラによる肝胆輸送などの知見の集積が行われている。

2. BCRP (ABCG2) 遺伝子

p糖タンパク質と同様にATPを駆動力として薬物を細胞外に汲み出すABCトランスポーターに属するBCRPにも、その遺伝子には多くの変異が認められる⁴⁾。アミノ酸置換を伴う34G>A(12Val>Met), 376C>T(126Gln>終止コドン), 421C>A(141Gln>Lys)の3種類の変異はハプロタイプを構成する。しかし、その中でも421C>Aが注目される。ヒト胎盤や発現細胞実験では、本変異によるタンパク質発現量の低下が報告されている。ヒトでの機能評価は十分ではないが、抗癌剤であるカンプトテシン誘導体、ジフロモテカンでの臨床試験の報告がある(図2)⁵⁾。変異を有する患者では、高い平均血中濃度の推移が見られる。日本人での421C>A頻度は35.5%と高く、C/C型、C/A型、A/A型がそれぞれ42, 45, 13%であった。ホモ型変異保有者も多いことから、さらなる機能解析が望まれる。

図3 OATP-C遺伝子多型とプラバスタチン血中濃度推移 (文献⁷⁾より引用改変)



3. MRP2 (ABCC2) 遺伝子

肝臓の胆管側膜に発現する ABC トランスポーターである MRP2 は、肝臓内で産生される各種抱合体を基質としている。抱合型ビリルビン高値を主徴とする先天性疾患である Dubin-Johnson 症候群は MRP2 の機能障害により生じ、原因となる遺伝子変異が 10 種類以上同定されている。789Ser>Phe といった原因となる遺伝子変異は、タンパク質の膜上へのソーティングを障害する。これらの変異の多くはその頻度は低い (1% 以下)、健常人でもよく目にすることがある。しかし、変異がホモ型で存在する頻度は極めて低い。Dubin-Johnson 症候群は原因遺伝子変異がホモ接合体をとることで発症することから、実際にはまれな疾患となる。これらの変異に対して、機能に影響しない変異も多い。例えば 417Val>Ile の日本人での頻度は 12.5% と極めて高いが、その機能には変化が見られない⁶⁾。

4. OATP-C (SLCO1B1) 遺伝子

p 糖タンパク質、BCRP, MRP2 が汲み出し (efflux) のトランスポーターであるのに

対し、肝の類洞側膜に特異的に発現する OATP-C は薬物の肝への取り込み (uptake) に働く。他のトランスポーター同様、多数の遺伝子変異が確認されており、現在までに約 20 種類のハプロタイプも報告されている。その中では、5' 上流非翻訳領域に位置する -11187G>A、アミノ酸置換を伴う 388A>G (130Asn>Asp, エキソン 4) と 521T>C (174Val>Ala, エキソン 5) が注目される。これらの変異も高率でハプロタイプを構成している。130 位のみが存在するタイプを OATP-C*1b 型、174 位のみを OATP-C*5 型、130 位と 174 位の 2 カ所の変異が同時に存在するタイプを OATP-C*15 型、3 種類の変異が同時に存在する場合を OATP-C*17 型と呼ぶ (国際命名委員会)。174 位の変異に注目した場合、白人では *5 型と *15 型が存在するのに対し、日本人では *17 型が多いようである。*1b 型、*15 型のホモ接合タイプ (それぞれを 1, 3 群)、ヘテロ接合タイプ (2 群) を示す健常成人に、OATP-C の基質薬物であり高脂血症治療薬であるプラバスタチン (HMG-CoA 還元酵素阻害薬) を投与した際に得られた血中濃度推移を図 3 に示す⁷⁾。2 群、3 群、すなわち 174 位に変異を有する被検者では、肝クリアランスの低下と血中濃度の上昇が観察される。興味あることに、血中濃度は 3 群>2 群>1 群の順で低くなる gene-dose effect を示す。現在までに、OATP-C 遺伝子多型のヒトでの機能評価は数報が報告されている。いずれの研究もプラバスタチンあるいはピタバスタチンを使用しているが、すべての報告で一致した結果が得られている。さらに、発現系による *in vitro* 研究も幾つかが報告されている。これらの知見をまとめると、174 位の変異により基質薬物の輸送能は低下する。したがって、ヒトで観察された変異保有者での血中濃度の上昇は、プラバスタチンの