

厚生労働科学研究費補助金
医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業
薬剤性肺障害に関する包括的研究
総合分担研究報告

薬剤性肺障害の発症に関する
遺伝子学的検討に関わる研究

研究分担者 太田 正穂
信州大学医学部法医学教室 准教授

研究要旨

難治疾患・癌疾患治療に効果が期待されている分子標的薬は、作用点が明確なうえに薬剤効果も優れている一方、薬剤による薬剤性肺障害の報告が増加して見られる。薬剤服用により、喘息、間質性肺炎、好酸球性肺炎、肺水腫、胸膜炎など多様な肺病変を示す薬剤性肺障害は、使用する薬剤により人種間で障害度に差異が生じることが指摘され、また同一民族間においても薬剤感受性・抵抗性が認められていることから、薬剤性肺障害発症に遺伝的素因が関わっていることが示唆される。

この2年間の研究は、近年薬剤副作用 (ADRs: adverse drug reactions) 発現とHLA (Human Leukocyte Antigen) との相関、HLAが特定の薬剤副作用発現の個人差に影響するとの報告例から、薬剤性肺障害とHLAとの相関を、これまでの蓄積した試料 (発症例55、非発症例35) を用いて行った。更に少数例 (発症例19、非発症例14) であるが、50万種類のSNPsで選出された候補遺伝子のうち、*HIVEP3*と*NME7*遺伝子について、遺伝子内に設けたSNPsのTaqMan SNP genotyping assayを行った。検査はこれまでに収集された症例 (発症例58例、非発症例66例) を用いて行った。

*A,B,C,DRB1,DQB1*のアリルタイピングによるHLAとの相関では、両群に $p < 0.05$ で有意差を示すアリルは検出されなかった。しかし、健常人との比較では、*DRB1*04:05, DQB1*04:01*アリル頻度が、肺障害発症患者群で有意に上昇していた (*DRB1*04:05*; $p=0.022$ OR=2.10, *DQB1*04:01*; $p=0.018$ OR=2.17)。

またSNPsと薬剤性肺障害発症については、*HIVE3*遺伝子内に設けた3種類のSNP (*rs10493099, rs710235, rs2165303*) が肺障害発症に正の相関を示した ($p < 0.0019$, R.R.=2.28)。NME遺伝子についても、3種類のSNPと強い正の相関を示した (*rs3820056*; $p < 6.03 \times 10^{-8}$, *rs9633334*; $p < 6.44 \times 10^{-5}$, *rs6688038*; $p < 7.63 \times 10^{-7}$)。

A. 研究目的

本研究は日本人における薬剤性肺障害に遺伝的要因が影響しているかについて検討した。分子標的薬ゲフィチニブ、新規抗リウマチ薬レフルノミド、抗がん薬ブレオマイシン、ボルテ

ゾミブ等の薬剤により肺障害を発症した発症群 (HLA:55例、SNPs:58例) と無症状の非発症群 (HLA:35例、SNPs:66例) について相関解析を行った。

B. 研究方法

① 解析サンプル

解析に使用した症例は、薬剤による肺障害を発症した発症群と無症状の非発症群のヒトの血液を用いた。DNA抽出は自動DNA抽出器(Quick Gene, FUJIFILM Co.)を用いて行なった。

② HLA-DNAタイピング

HLA-DNAタイピングは、LABType SSO試薬(One Lambda Inc.)にて、HLA-A*, -B*, -DRB1*, -DQB1*をLuminex法で検査した。

SNPタイピング

ABI TaqMan SNP genotyping assay kitを用い、TaqMan Real Time PCR (7500 Real Time PCR System, ABI)で行った。

統計解析は、 χ^2 test, Fisher's exact testを行なった。

(倫理面への配慮)

全ての血液提供者に対して研究の目的、研究の期間と方法等、研究に関わる事項を十分説明して、インフォームドコンセントを得た上で参加して頂いた。得られた個人情報(連結匿名化の上、本研究に関わらない個人情報は管理者により厳重に管理されている。また、研究にあたっては、信州大学の倫理委員会で承認を受けている。

C. D. E. 研究結果と考察

① 発症群と非発症群との比較

薬剤性肺障害発症群と非発症群におけるHLAアレル頻度および両群における相関解析結果は表1に示したように、アレル頻度、アレル陽性者頻度について、両群間に統計学的有意差($p < 0.05$)を示すアレルは認められなかった。

② 健常人との比較

健常人201人との相関解析では、健常者に比べアレル陽性率で、発症群にHLA-DRB1*04:05 (OR:2.10, $p=0.022$)とDQB1*04:01 (OR:2.17, $p=0.018$), -C*01:02 (OR:1.86, $p=0.049$)が有意差を示した

(表2)。また、非発症群においてはHLA-A*24:02 (OR:2.51, $p=0.012$), -C*01:02 (OR:2.10, $p=0.047$), -C*12:02 (OR:2.59, $p=0.039$), -DRB1*15:02 (OR:0.31, $p=0.029$), -DQB1*06:01 (OR:2.10, $p=0.047$), -DQB1*06:02 (OR:0.22, $p=0.012$)が有意差を示した(表2)。

③ HIVEP3遺伝子内SNPsおよびNME7遺伝子内SNPsを用いた確認試験

HIVEP3遺伝子内のSNPsの中で、5種類のSNPs (SNP1~SNP5)について相関解析を行ったところ、表3に示したように肺障害発症群に強い相関($p < 0.0019$, R.R.=2.28)を示すSNPが3種類確認された。

NME7遺伝子内のSNPsの中で、4種類のSNPs (SNP1~SNP4)について相関解析を行った(表2)。SNP3(rs10800418)以外の3つのSNPはいずれも強い相関を示した(rs3820056: $p < 6.03 \times 10^{-8}$, rs963334: $p < 6.44 \times 10^{-5}$)。特にSNP4(rs6688038)は、GWASで見られたようにTaqManを用いた確認試験でも、更に強い相関($p < 7.63 \times 10^{-7}$)を示した。今回の症例数を増やした解析結果が、GWAS解析時より著しく強い相関を示したことから、このNME7遺伝子と薬剤性肺障害発症との因果関係について機能的解析を含めた、より詳細な解析が必要である。また、薬剤性肺障害発症患者群ではHLAクラスII遺伝子であるHLA-DRB1*04:05とHLA-DQB1*04:01が健常者に比較して、統計学的有意に増加していたことより、この遺伝子が肺障害発症に関して機能的な役割をしていることが推測される。更に、分子標的薬ゲフィチニブ、新規抗リウマチ薬レフルノミド、抗がん薬ブレオマイシン、ボルテゾミブ等の薬剤投与をしても疾患発症を示さなかった患者群では、HLA-DRB1*15:01とHLA-DQB1*06:02のアレル保有率が有意に減少していた。しかし、肺障害発症群と非発症群間においては、HLAのアレル頻度、アレル保有率に有意な相違は無かった。

これまでの解析結果から、機能的にも興味あ

表1 薬剤性肺障害発症群と非発症群間におけるHLA アリル頻度とアリル保有率

HLA-locus	alleles	Allele Frequency		Allele Positivity		HLA-locus	alleles	Allele Frequency		Allele Positivity	
		DILD(+), n (%)	DILD(-) n (%)	DILD(+), n (%)	DILD(-) n (%)			DILD(+), n (%)	DILD(-) n (%)		
A*	01:01	1(0.91)	1(1.43)	1(1.82)	1(2.86)	B*	07:02	6(5.45)	2(2.86)	6(10.91)	2(5.71)
	02:01	14(12.73)	8(11.43)	14(25.45)	8(22.86)		13:01	0(0.00)	1(1.43)	0(0.00)	1(2.86)
	02:06	15(13.64)	9(12.86)	15(27.27)	9(25.71)		15:01	10(9.09)	5(7.14)	10(18.18)	5(14.29)
	02:07	2(1.82)	1(1.43)	2(3.64)	1(2.86)		15:07	1(0.91)	0(0.00)	1(1.82)	0(0.00)
	03:01	0(0.00)	1(1.43)	0(0.00)	1(2.86)		15:11	2(1.82)	1(1.43)	2(3.64)	1(2.86)
	11:01	8(7.27)	6(8.57)	8(14.55)	6(17.14)		15:18	1(0.91)	0(0.00)	1(1.82)	0(0.00)
	24:02	36(32.73)	28(40.00)	30(54.55)	23(65.71)		35:01	4(3.64)	5(7.14)	4(7.27)	5(14.29)
	24:20	1(0.91)	0(0.00)	1(1.82)	0(0.00)		37:01	1(0.91)	1(1.43)	1(1.82)	1(2.86)
	26:01	4(3.64)	1(1.43)	4(7.27)	1(2.86)		39:01	5(4.55)	5(7.14)	5(8.09)	5(14.29)
	26:02	2(1.82)	2(2.86)	2(3.64)	2(5.71)		39:02	3(2.73)	0(0.00)	3(5.45)	0(0.00)
	26:03	1(0.91)	4(5.71)	1(1.82)	4(11.43)		40:01	6(5.45)	2(2.86)	6(10.91)	2(5.71)
	31:01	13(11.82)	4(5.71)	9(16.36)	4(11.43)		40:02	7(6.36)	5(7.14)	7(12.73)	5(14.29)
	33:03	13(11.82)	5(7.14)	13(23.64)	5(14.29)		40:03	1(0.91)	0(0.00)	1(1.82)	0(0.00)
	C*	01:02	25(22.73)	17(24.29)	22(73.33)		15(42.86)	40:06	6(5.45)	3(4.29)	6(10.91)
03:02		1(0.91)	0(0.00)	1(3.33)	0(0.00)	44:02	1(0.91)	1(1.43)	1(1.82)	1(2.86)	
03:03		12(10.91)	10(14.29)	11(36.6)	8(22.86)	44:03	9(8.18)	6(8.57)	9(16.36)	6(17.14)	
03:04		12(10.91)	6(8.57)	11(36.67)	6(17.14)	46:01	3(2.73)	4(5.71)	3(5.45)	4(11.43)	
04:01		3(2.73)	1(1.43)	3(10.00)	1(2.86)	48:01	2(1.82)	2(2.86)	2(3.64)	2(5.71)	
05:01		1(0.91)	1(1.43)	1(3.33)	1(2.86)	48:04	1(0.91)	0(0.00)	1(1.82)	0(0.00)	
06:02		1(0.91)	1(1.43)	1(3.33)	1(2.86)	51:01	10(9.09)	2(2.86)	10(18.18)	1(2.86)	
07:02		18(16.36)	10(14.29)	18(60.00)	10(28.57)	51:02	1(0.91)	1(1.43)	1(1.82)	1(2.86)	
07:04		1(0.91)	0(0.00)	1(3.33)	0(0.00)	52:01	10(9.09)	8(11.43)	10(18.18)	8(22.86)	
08:01		8(7.27)	7(10.00)	8(26.67)	7(20.00)	54:01	7(6.36)	9(12.86)	7(12.73)	9(25.71)	
12:02		9(8.18)	8(11.43)	9(30.00)	8(22.86)	55:02	2(3.64)	2(2.86)	3(5.45)	2(5.71)	
14:02		7(6.36)	1(1.43)	7(23.33)	1(2.86)	56:01	1(0.91)	1(1.43)	1(1.82)	1(2.86)	
14:03		9(8.18)	6(8.57)	9(30.00)	6(17.14)	58:01	1(0.91)	0(0.00)	1(1.82)	0(0.00)	
15:02		3(2.73)	2(2.86)	3(10.00)	2(5.71)	59:01	5(4.55)	3(4.29)	5(9.09)	3(8.57)	
					67:01	2(1.82)	1(1.43)	2(3.64)	1(2.86)		

DILD: drug induced lung disease, DILD(+)=110, DILD(-)=70

HLA-locus	alleles	Allele Frequency		Allele Positivity		HLA-locus	alleles	Allele Frequency		Allele Positivity	
		DILD(+), n (%)	DILD(-) n (%)	DILD(+), n (%)	DILD(-) n (%)			DILD(+), n (%)	DILD(-) n (%)		
DRB1*	01:01	7(8.36)	4(5.71)	7(12.73)	4(11.43)	DQB1*	03:01	15(13.64)	7(10.00)	14(25.45)	6(17.14)
	04:01	1(0.91)	0(0.00)	1(1.82)	0(0.00)		03:02	7(6.36)	5(7.14)	7(12.73)	5(14.29)
	04:03	0(0.00)	2(2.86)	0(0.00)	2(5.71)		03:03	10(9.09)	10(14.29)	10(18.18)	10(28.57)
	04:05	22(20.00)	11(15.71)	20(36.36)	9(25.71)		03:10	0(0.00)	1(1.43)	0(0.00)	1(2.86)
	04:06	6(5.45)	1(1.43)	6(10.91)	1(2.86)		04:01	22(20.00)	10(14.29)	20(36.36)	8(22.86)
	04:10	5(4.55)	0(0.00)	5(9.09)	0(0.00)		04:02	6(5.45)	0(0.00)	6(10.91)	0(0.00)
	08:02	2(1.82)	1(1.43)	2(3.64)	1(2.86)		05:01	7(6.36)	5(7.14)	7(12.73)	5(14.29)
	08:03	7(6.36)	11(15.71)	7(12.73)	10(28.57)		05:02	3(2.73)	5(7.14)	3(5.45)	5(14.29)
	08:04	0(0.00)	1(1.43)	0(0.00)	1(2.86)		06:03	3(2.73)	1(1.43)	3(5.45)	1(2.86)
	09:01	8(7.27)	7(10.00)	8(14.55)	7(20.00)		06:01	17(15.45)	18(25.71)	17(30.91)	15(42.86)
	09:02	0(0.00)	1(1.43)	0(0.00)	1(2.86)		06:02	10(9.09)	3(4.29)	10(18.18)	2(5.71)
	10:01	1(0.91)	1(1.43)	1(1.82)	1(2.86)		06:03	1(0.91)	1(1.43)	1(1.82)	1(2.86)
	11:01	2(1.82)	3(4.29)	2(3.64)	3(8.57)		06:04	8(7.27)	4(5.71)	8(14.55)	4(11.43)
	12:01	5(4.55)	3(4.29)	5(9.09)	3(8.57)		06:09	1(0.91)	0(0.00)	1(1.82)	0(0.00)
	12:02	2(1.82)	2(2.86)	2(3.64)	2(5.71)						
	13:01	1(0.91)	1(1.43)	1(1.82)	1(2.86)						
	13:02	9(8.18)	5(7.14)	9(16.36)	5(14.29)						
	14:03	1(0.91)	0(0.00)	1(1.82)	0(0.00)						
	14:05	0(0.00)	1(1.43)	0(0.00)	1(2.86)						
14:06	5(4.55)	1(1.43)	5(9.09)	1(2.86)							
14:54	5(4.55)	5(7.14)	5(9.09)	5(14.29)							
15:01	10(9.09)	4(5.71)	10(18.18)	3(8.57)							
15:02	10(9.09)	5(7.14)	10(18.18)	5(14.29)							

表2 肺障害発症群・非発症群と健常者群とのHLA アリル保有率の相関関係

alleles	Allele Positivity			DILD(+) vs Control		DILD(-) vs Control	
	DILD(+), n (%)	DILD(-) n (%)	Control, n (%)	OR	P	OR	P
24:02	30(54.55)	23(65.71)	86(42.79)			2.51	0.012
01:02	22(73.33)	15(42.86)	53(26.37)	1.86	0.049	2.10	0.047
12:02	9(30.00)	8(22.86)	21(10.45)			2.59	0.039
04:05	20(36.36)	9(25.71)	43(21.39)	2.10	0.022		
15:01	10(18.18)	3(8.57)	51(25.37)			0.31	0.029
04:01	20(36.36)	8(22.86)	42(20.90)	2.17	0.018		
06:02	10(18.18)	2(5.71)	50(24.88)			0.22	0.012

DILD: drug induced lung disease, DILD(+)=110, DILD(-)=70, Control =201

表3 HIVEP3 遺伝子内 SNP との相関解析

dBSNP ID	SNP No	Chr.	Chr. Position	Detection	Alleles	Risk allele	P	RR
rs4526604		1p34.2	41954731	GWAS	[C/T]	C	0.000219	12.24
rs10493099	1	1p34.2	41959792	GWAS TaqMan	[A/G]	G	0.000219 0.00187	12.24 2.58
rs12088923		1p34.2	41964947	GWAS	[A/T]	A	0.000219	12.24
rs710235	2	1p34.2	41975301	GWAS TaqMan	[A/G]	G	0.000219 0.00187	12.24 2.58
rs710234		1p34.2	41975444	GWAS	[C/T]	T	0.000219	12.24
rs12126740		1p34.2	41996496	GWAS	[A/G]	G	0.000273	12.00
rs4660204		1p34.2	41999389	GWAS	[A/G]	A	0.000219	12.24
rs2165303	3	1p34.2	42000606	GWAS TaqMan	[C/T]	T	0.000219 0.00187	12.24 2.58
rs393950	4	1p34.2	42016136	TaqMan	[G/T]	G	0.889	0.95
rs2786480	5	1p34.2	42043750	TaqMan	[T/G]	T	0.00605	2.11

Risk allele は発症群について危険アリルを示す。

GWASで示した値は障害発症 14 人、非発症 19 人から得た結果である。

表4 NME 遺伝子内 SNP との相関解析

dBSNP ID	SNP No	Chr.	Chr. Position	Detection	Alleles	Risk allele	P	RR
rs7541564		1q24.2	167406175	GWAS	[C/T]	C	0.000187	9.64
rs3820056	1	1q24.2	167415902	TaqMan	[T/G]	T	6.03x10 ⁻⁸	5.51
rs12067018		1q24.2	167416957	GWAS	[C/T]	T	0.000187	9.64
rs9633334	2	1q24.2	167436480	TaqMan	[T/C]	T	6.44x10 ⁻⁵	4.19
rs10800418	3	1q24.2	167450009	TaqMan	[A/C]	A	0.0320	2.62
rs6688038	4	1q24.2	167457196	GWAS TaqMan	[C/T]	T	0.000871 7.63 x10 ⁻⁷	16.59 7.10
rs12145969		1q24.2	167458734	GWAS	[C/T]	T	0.000871	16.59

Risk allele は発症群について危険アリルを示す。

GWASで示した値は障害発症 14 人、非発症 19 人から得た結果である。

るNME7遺伝子の薬剤性肺障害発症に及ぼす影響を更に検討する必要がある。

F. 健康危険情報

特記事項なし

G. 論文発表

1. Hanaoka M, Droma Y, Basnyat B, Ito M, Kobayashi N, Katsuyama Y, Kubo K, Ota M. Genetic variants in EPAS1 contribute to adaptation to high-altitude hypoxia in Sherpas. PLoS One 2012; 7(12) e40566.
2. Kobayashi N, Hanaoka M, Droma Y, Ito M, Katsuyama Y, Kubo K, Ota M. Polymorphisms

of the Tissue Inhibitor of Metalloproteinase 3 Gene Are Associated with Resistance to High-Altitude Pulmonary Edema (HAPE) in a Japanese Population: A Case Control Study Using Polymorphic Microsatellite Markers. PLoS One. 2013 Aug 22;8(8):e71993

H. 知的財産権の出願・特許状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

