

学位論文の内容の要旨

学位論文題目 薬剤師業務におけるゲノム情報に基づいた個別化医療の発展に関する研究

論文指導教授 黒 澤 菜穂子 ①

学位申請者 守 屋 寛 之 ②

個人のゲノム情報をもとに行う **Personalized Medicine**（個別化医療）の実現に向けた大きな潮流は、全世界的なものであるといっても過言ではない。また、近年のゲノム科学の進歩による分子標的薬の開発をはじめ、遺伝子多型診断法の承認による医薬品添付文書の改訂などのように、この流れは薬剤師を取り巻く医療環境を徐々に変化させている。しかしながら、この個別化医療はまだ過渡期にあり、今後、明らかにされる未知の事象だけでなく、現実には、いまだ検証が必要な課題も多い。したがって、ゲノム科学の分野における研究成果の積み重ねが、将来の個別化医療実現につながっていくものと考えられる。一方で、がん化学療法とその支持療法だけでなく、緩和ケアなどに薬剤師が携わる機会が今後さらに増加することが明らかである。このような状況の中、薬剤師自身が薬物治療の個別化についての理解を深め、積極的に参画しなければならないことも周知の事実である。その反面、個別化医療へ密接に関わる薬理遺伝学やゲノム薬理学などについて、現在実務に携わる薬剤師における知識の深さや理解度についての詳細は不明である。

これらを背景に、ゲノム情報に基づく薬物治療の個別化、および、薬剤師業務への個別化医療の浸透に寄与するため、今回、本研究は以下の3点について検討を行った。（1）多数知られる薬物感受性遺伝子のうち、*UGT1A1* 遺伝子と *FCGR* 遺伝子の日本人で不足している一塩基多型（SNP）およびコピー数多型（CNV）の情報について検討する。（2）遺伝子多型診断の先駆けとなった *UGT1A1* 遺伝子変異について、血清ビリルビン値の変動、および抗がん剤イリノテカンによる重篤な好中球減少発現の個人差との関連について精査する。（3）個別化医療に関わる薬理遺伝学・ゲノム薬理学についての開局薬剤師に

における知識や意識、および大学におけるゲノム関連科目の教育効果を調査する。

なお、本研究における遺伝子解析は、札幌医科大学倫理委員会および北海道がんセンター倫理委員会の承認と、全ての被験者および患者から書面により同意を得て行った。

1. 健常日本人における *UGT1A1* および *FCGR* 遺伝子の SNP と CNV 解析

対象は日本人の健常人で、その人数は Table 1 および Table 2 に示した。SNP の判定は、*UGT1A1* 遺伝子では DNA ダイレクトシーケンシング法、*FCGR* 遺伝子では TaqMan[®] SNP Genotyping Assay 法を用いた。また、CNV の判定は、両者ともに TaqMan[®] Copy Number Assay 法にて行った。

その結果、各 SNP の遺伝子型の人数は、それぞれ Table 1 に示す通りで、既報の健常日本人の頻度分布との間に違いは認められなかった。一方、*UGT1A1* および *FCGR2A* の CNV は被験者全員が 2 コピーであったが、*FCGR3A* は 105 名の被験者が 2 コピー、3 名が 1 コピー、および 5 名が 3 コピーと判定された (Table 2)。なお、*FCGR3A* の CNV のコピー数と rs396991 の遺伝子型との関係は以下の通りで、1 コピーの 3 名は T/T; 2 コピーの 60 名は T/T、40 名が T/G および 5 名が G/G; 3 コピーの 1 名は T/T および 4 名は T/G であった。

Table 1 Number of genotypes in *UGT1A1*, *FCGR2A* and *FCGR3A* in this study.

Gene	SNP	<i>N</i>	Genotype		
<i>UGT1A1</i>	*6	93	G/G	G/A	A/A
			64	28	1
	*28	93	TA ₆ /TA ₆	TA ₆ /TA ₇	TA ₇ /TA ₇
			70	21	2
<i>FCGR2A</i>	rs1801274	113	A/A	A/G	G/G
			79	33	1
<i>FCGR3A</i>	rs396991	113	T/T	T/G	G/G
			64	44	5

Table 2 Number of CNVs in *UGT1A1*, *FCGR2A* and *FCGR3A* in this study.

Gene	TaqMan [®] Copy	N	CNV		
	Number Assay ID		1 copy	2 copy	3 copy
<i>UGT1A1</i>	Hs01964514_cn	89	0	89	0
<i>FCGR2A</i>	Hs00103511_cn	113	0	113	0
<i>FCGR3A</i>	Hs00139300_cn	113	3	105	5

このような健常人での検討によって、日本人における *UGT1A1* および *FCGR* 遺伝子における SNP と CNV 情報の概要が明らかにされた。この基礎的な知見は、これらの基質となる薬物の効果や副作用予測の遺伝的なバイオマーカー研究の更なる発展に寄与しうるものであると考えられる。

2. 個別化医療における *UGT1A1* 遺伝子変異の重要性の精査

① 健常人の血清総ビリルビン値に対する影響

血清総ビリルビン値は、*UGT1A1* 遺伝子の *6 や *28 変異により上昇し、これらのホモ接合体 (*6/*6 および *28/*28) は体質性黄疸の原因となる。しかしながら、ヘテロ接合体 (*1/*6, *1/*28 および *6/*28) の影響は、ほとんど検討されていない。対象は 20~30 歳の健康な日本人 92 名 (男性 37 名、女性 55 名) である。これら被験者の血清総ビリルビン値を男女および *UGT1A1* の遺伝子型間で比較した。さらに、血清総ビリルビン値の個体差と *UGT1A1* の遺伝子変異や性別等の関連について重回帰分析を行った。

その結果、女性の血清総ビリルビン値は男性に比べ有意に低くなった。また、血清総ビリルビン値は *1/*1 と *1/*28、*1/*1 と *6/*28、*1/*6 と *1/*28、および *1/*6 と *6/*28 との間に有意差が認められた (Fig. 1)。さらに重回帰分析の結果、性別、*1/*28 および *6/*28 は血清総ビリルビン値の変動に有意に関連しており、この重回帰式は血清総ビリルビン値の個体間変動を 44.3% 説明していた (Table 3)。

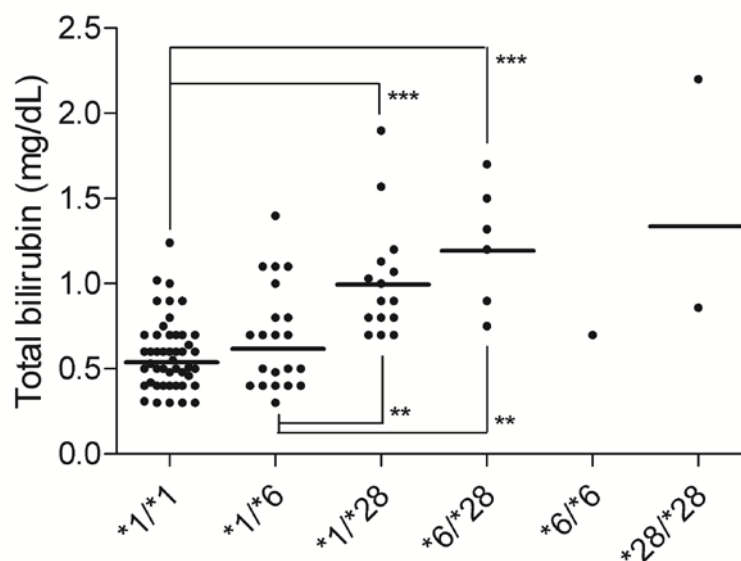


Fig. 1 Serum total-bilirubin levels according to the *UGT1A1* genotype.

The horizontal lines indicate the mean serum total-bilirubin levels.

** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$

Table. 3 Correlations of ln-transformed serum total-bilirubin level with sex and the **1/*28* and **6/*28* genotypes by stepwise multiple regression analysis.

Factors	β	95% CI	P	Partial R^2	R^2
Intercept	-0.378	-0.498 to -0.259	1.33×10^{-8}		0.443
Sex	-0.292	-0.436 to -0.149	1.15×10^{-4}	0.133	
<i>*1/*28</i>	0.504	0.315 to 0.693	8.85×10^{-7}	0.175	
<i>*6/*28</i>	0.643	0.359 to 0.927	2.18×10^{-5}	0.134	

β , standardized coefficient; 95% CI, 95% confidence interval

このように、体質性黄疸の原因となる **6/*6* や **28/*28* だけでなく、健常人における血清総ビリルビン値は **1/*28* や **6/*28* を有する場合にも高くなることが示された。このことは、**6/*6* や **28/*28* の関与が示唆されているニコチンブにより誘発される高ビリルビン血症には、**1/*28* や **6/*28* も影響を及ぼすことを疑わせるものであり、*UGT1A1* の遺伝子型を判定することの重要性を示していると考えられる。

② 婦人科領域におけるイリノテカンによる重篤な好中球減少との関連

イリノテカン（CPT-11）による重篤な好中球減少の発現の遺伝的要因は、*UGT1A1* の*6や*28であることが示唆されている。しかし、CPT-11の低用量レジメンによる重篤な好中球減少の発現とこれらの変異との関連についての婦人科領域における検討は十分でない。対象は日本人の婦人科癌患者44名である。これらの患者におけるCPT-11総投与量と最低好中球数（ANC nadir）値、*UGT1A1* 遺伝子型とANC nadir値の関係を検討した。また、グレード4の好中球減少発現に関与する要因の検討は、単変量解析による要因の絞込みを行った後、多変量ロジスティック回帰分析による解析で行った。

ANC nadir値とCPT-11の総投与量に相関性は認められなかった（Fig. 2）。ANC nadir値は*UGT1A1* *1/*1群と*6/*6、*6/*28群との間に有意差が認められた（Fig. 3）。多変量解析の結果、*6/*6および*6/*28はグレード4の好中球減少の発現と有意に関連していた（ $P=0.029$; odds ratio, 6.90; 95% CI, 1.22-38.99）。しかし、*1/*6、*1/*28、レジメンの種類、および年齢とグレード4の好中球減少の発現との関連は示されなかった。

日本人における婦人科がん患者において、*6/*6および*6/*28変異がCPT-11により誘発される重篤な好中球減少の発現に関与することが明らかとなった。この知見は、大腸がんや肺がんと同様、*UGT1A1* 遺伝子多型の診断が婦人科領域のCPT-11による化学療法においても有用であることを示唆するものである。

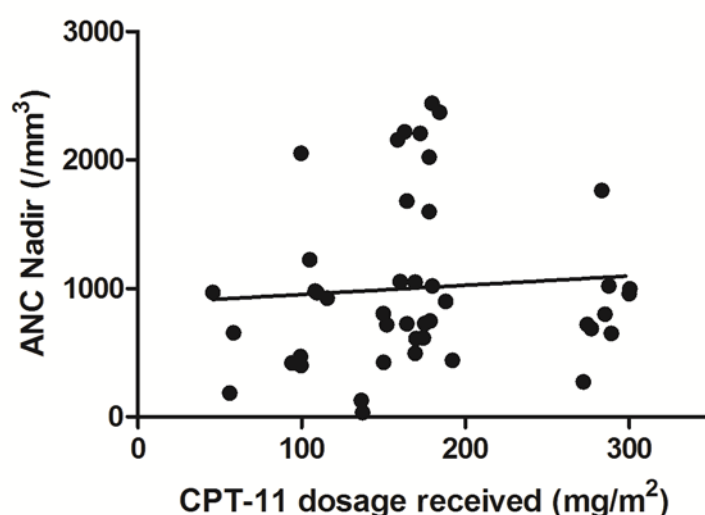


Fig. 2 The correlation between the total dose of CPT-11 received in the first cycle and the absolute neutrophil count (ANC) nadir values ($R^2=0.006$, $P=0.185$) in 44 patients with gynecologic cancer treated with regimens containing CPT-11.

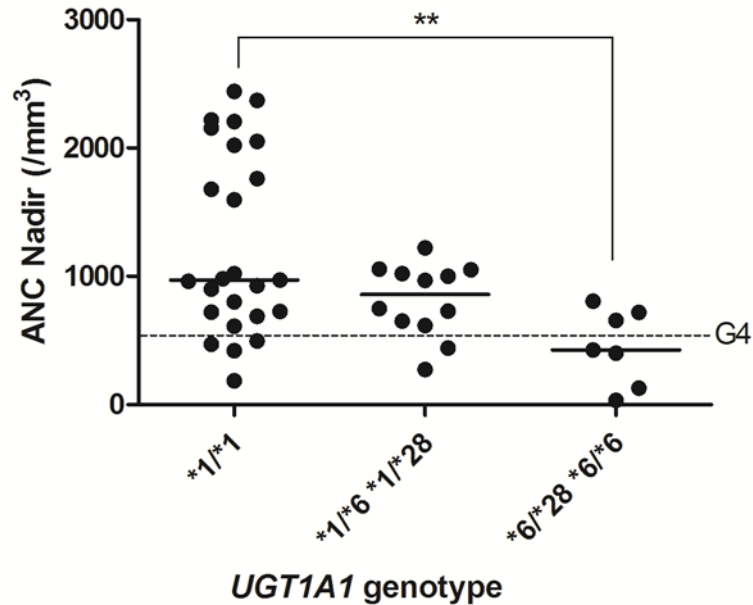


Fig. 3 The relationship between *UGT1A1* genotype and absolute neutrophil count (ANC) nadir values during low-dose irinotecan (CPT-11) administration. The horizontal line for each genotypes indicates median of ANC nadir values. The dotted line indicates the ANC at which grade 4 (G4) neutropenia is observed. ** $P < 0.01$.

3. 開局薬剤師に対するゲノム薬学に関するアンケート調査

本学では 2004 年以降、3 年生を対象とした「ゲノム薬学」を開講していることから、本学卒業生で北海道在住の開局薬剤師 976 人を対象に遺伝子に対する理解度をアンケート調査し、「ゲノム薬学」の未履修群と履修群の比較検討を行った。138 人が回答し、有効回収率は 12.9% だった。設問は薬理遺伝学・ゲノム薬理学に関する問題 15 問、遺伝子多型と薬効に関する問題 7 問、興味・関心、薬剤師業務への必要性や学習の必要性に関する問題 3 問とした。

その結果、薬理遺伝学・ゲノム薬理学に関する問題は 9 問、遺伝子多型と薬効に関する問題は 6 問、興味・関心の程度において、2 群間で有意差が認められた (Table 4)。また、今回の結果から、未履修群と履修群とも薬理遺伝学・ゲノム薬学に対する学習意欲はあるものの、薬剤師業務ではそれらの知識を活用しにくいことが判明した。

以上のことから、開局薬剤師は将来、このような薬理遺伝学やゲノム薬学の知識が必要なものであると理解し、勉強する意欲を持っているものの、これら

の内容が難解であり、実際の薬剤師業務には取り入れにくい内容であると捕えていることがうかがえた。今後、このような知識が在宅医療などの地域医療に関わる薬剤師にも重要となっていくことは必然であり、これらについて理解しやすいよう、卒前の教育だけでなく、卒後の教育においても十分に支援していく必要性のあることが示唆された。

Table 4 「ゲノム薬学」講義開講前と開講後の卒業生におけるスコアの比較

問	質問内容	未履修群のスコア (n = 105)		履修群のスコア (n = 21)		P 値*
		平均	SD	平均	SD	
問1	① 一塩基多型	1.44	0.59	2.48	0.87	<0.0001
	② ヘテロ接合体	1.48	0.61	2.14	0.73	<0.0001
	③ 遺伝子座	1.27	0.54	1.52	0.60	0.021
	④ イントロン	1.31	0.61	2.19	1.03	<0.0001
	⑤ アレル頻度	1.13	0.34	1.52	0.75	0.001
	⑥ ハプロタイプ	1.20	0.47	1.48	0.51	0.004
	⑦ コピー数多型	1.16	0.40	1.14	0.36	0.903
	⑧ フレームシフト変異	1.25	0.51	2.10	1.04	<0.0001
	⑨ 体細胞変異	1.49	0.64	2.00	0.89	0.006
	⑩ マイクロサテライト	1.23	0.49	1.57	0.75	0.010
	⑪ PCR-RFLP法	1.25	0.50	1.81	0.68	<0.0001
	⑫ エピジェネティクス	1.13	0.34	1.38	0.67	0.061
	⑬ KRAS変異テスト	1.16	0.42	1.33	0.58	0.109
	⑭ 疾患感受性遺伝子	1.30	0.57	1.52	0.81	0.183
	⑮ コンパニオン診断薬	1.21	0.43	1.29	0.46	0.402
問2	1) <i>CYP2C19</i> とオメプラゾール	1.81	0.83	3.10	0.83	<0.0001
	2) <i>CYP2B6</i> とエファビレンツ	1.29	0.57	1.81	0.75	<0.001
	3) <i>CYP2C9</i> とワルファリン	1.71	0.82	2.90	0.89	<0.0001
	4) <i>CYP2D6</i> とタモキシフェン	1.43	0.68	1.95	0.86	0.003
	5) <i>VKORC1</i> とワルファリン	1.29	0.53	1.90	0.94	<0.001
	6) <i>IL28B</i> とペグインターフェロン・リバビリン療法	1.24	0.49	1.67	0.97	0.022
	7) <i>UGT1A1</i> とイリノテカン	1.24	0.49	2.19	1.25	<0.0001
問3	興味・関心があるか?	2.41	0.90	3.00	0.84	0.007
問5	将来の業務に知識は必要か?	2.74	0.84	2.81	0.81	0.664
問7	学習したいか?	2.75	0.87	3.14	0.65	0.070

問1と問2は説明できるを4点、少し説明できるを3点、聞いたことはあるが説明できないを2点、知らないのに説明できないを1点、問3は、あるを4点、少しあるを3点、あまりないを2点、ないを1点、問5と問7は、思うを4点、少し思うを3点、あまり思わないを2点、思わないを1点とした。

*: Mann-WhitneyのU検定

5. まとめ

本研究の SNP および CNV 解析によって、*UGT1A1* 遺伝子と *FCGR* 遺伝子の日本人において不足しているゲノム情報の集積に貢献することができた。また、健常日本人における血清総ビリルビン値は、*UGT1A1* 遺伝子変異のホモ接合体だけでなく、*1/*28 や *6/*28 のようなヘテロ接合体によっても高くなることが示唆された。さらに、CPT-11 により引き起こされる重篤な好中球減少の発現に *UGT1A1* の *6/*6 および *6/*28 が婦人科領域においても関与することが示された。一方、開局薬剤師は、ゲノム薬理学や個別化医療の重要性を認知しているが、これらの知識が難解であり、実務に反映しにくいと感じていることから、これらを考慮した教育の必要性が示された。

以上のことから、本研究により得られた知見は、薬剤師業務におけるゲノム情報に基づいた個別化医療の更なる発展に寄与することが期待される。