

氏 名	喜 多 知 子
学位(専攻分野)	博 士 (薬 学)
学 位 記 番 号	論 薬 博 第 677 号
学位授与の日付	平 成 14 年 9 月 24 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当
学位論文題目	薬物代謝酵素 NAT2, CYP2C19 の遺伝子診断に基づくテーラーメイド 薬物療法に関する研究

論文調査委員	(主 査) 教 授 乾 賢 一 教 授 橋 田 充 教 授 高 倉 喜 信
--------	--

論 文 内 容 の 要 旨

薬物治療に際しては、患者個々に対し最も適切な薬剤を選択し、必要十分量を過不足なく投与することが肝要である。しかしながら、実際の薬物治療の大半は画一的な用法用量で実施されており、そのために引き起こされる予期せぬ副作用が大きな問題となっている。近年、ヒトゲノムドラフトの解読がほぼ終了し、続いて、疾患感受性や薬物治療効果の個人差を決定し得る遺伝子多型に関する情報が、世界規模で集積されつつある。具体的には、患者個々について遺伝子診断を行い、得られた遺伝的情報に基づいて最適な薬物治療計画を構築すること、いわゆるテーラーメイド薬物療法の実現に大きな期待が寄せられている。そこで本研究では、薬物代謝酵素の遺伝子診断に基づく薬物治療の個別化を目的として、N-アセチルトランスフェラーゼ 2 (NAT2) 並びにチトクローム P450 2C19 (CYP2C19) について、遺伝子型と薬物体内動態、薬物治療効果あるいは副作用発現との相関に関する検討を行なった。また、これに先立ち非血液検体を用いた遺伝子診断方法も開発した。

I. 非血液検体を用いた遺伝子診断方法の開発

毛髪(毛幹部、毛根部)、口腔粘膜および爪を用いた、NAT2 及び CYP2C19 遺伝子診断方法の開発を試みた。これら非血液検体から抽出した DNA は、血液検体に比べて、ごく微量であり、また断片化が起きているために、正確な遺伝子診断を実施することは不可能であった。そこで、30もしくは50名から各非血液検体を採取し、DNA 抽出方法などに関する様々な検討を行った。その結果、1) 抽出時における蛋白分解酵素処理時間の延長、2) 限外濾過フィルターを用いた DNA の精製及び濃縮、3) PCR 条件の変更(反応液量の縮小、反応サイクル数の増加、制限酵素 *EcoR* I の前処理)が有効であることが判明した。

II. NAT2 遺伝子型と薬物体内動態または副作用発現との関連性

日本人に特徴的な 3 箇所の SNPs (C481T, G590A, G875A) を検出し、判定された NAT2 遺伝子型に基づいて、被験者を野生型遺伝子同士の homozygote (Rapid Type)、野生型遺伝子と変異型遺伝子との heterozygote (Intermediate Type)、変異型遺伝子同士の homozygote (Slow Type) の 3 群にグループ分けした。NAT2 の基質薬物である抗不整脈薬プロカインアミド、炎症性腸疾患治療薬及び抗リウマチ薬スルファサラジン (SASP)、抗結核薬イソニアジドを健常者に投与したところ、いずれの薬物についても NAT2 遺伝子型と薬物体内動態との間に良好な相関性が認められた。また、SASP 投与後の副作用発現に NAT2 遺伝子型が関与していることも示された。さらに、NAT2 遺伝子型と薬物体内動態との相関関係に及ぼす反復投与、疾患、肝機能、併用薬の有無の影響は小さいことが確認された。従って、NAT2 遺伝子診断により、基質薬物の体内動態あるいは副作用発現における個人差を予測できることが明らかとなった。

III. CYP2C19 遺伝子型と薬物体内動態または薬理効果との関連性、及び CYP2C19 遺伝子診断に基づく薬物の至適投与量の設定

日本人に特徴的な 2 箇所の SNPs (G636A, G681A) を検出し、判定された CYP2C19 遺伝子型に基づいて、被験者を野生型遺伝子同士の homozygote (homoEM)、野生型遺伝子と変異型遺伝子との heterozygote (heteroEM)、変異型遺伝子

同士の homozygote (PM) の 3 群にグループ分けした。CYP2C19 の基質薬物であるプロトンポンプ阻害剤オメプラゾール (OPZ) を健常者に投与したところ、CYP2C19 遺伝子型と OPZ 体内動態および OPZ 投与後の胃内 pH との間に良好な相関性が認められた。また、CYP2C19 遺伝子診断において、homoEMs と heteroEMs との区別が必要ないことも明らかとなった。さらには、OPZ+アモキシシリン+クラリスロマイシンによる *Helicobacter pylori* 除菌率は、homoEMs+heteroEMs で83%、PMs で100%であり、CYP2C19 遺伝子型に依存していた。また、OPZ の用量依存性試験を行った結果、homoEMs+heteroEMs に対しては、通常量の 4 倍の OPZ を使用すれば100%の除菌率が達成できるものと推察できた。なお、ランソプラゾール (LPZ) およびラベプラゾールについても、CYP2C19 遺伝子型と薬物体内動態との相関解析を行ったところ、LPZ では OPZ と同様、良好な相関性が認められた。よって、CYP2C19 遺伝子診断により、基質薬物の体内動態、薬物治療効果あるいは副作用発現における個人差を予測でき、なおかつ至適投与量を設定できることが明らかとなった。

以上、著者は非血液検体を用いた遺伝子診断方法を開発し、NAT2 及び CYP2C19 の遺伝子型と、基質薬物の体内動態、薬物治療効果あるいは副作用発現とが良好に相関することを示した。また、薬物代謝酵素の遺伝子診断に基づいた至適投与量の設定が可能であることを明らかにした。本研究成果は、薬物代謝酵素の遺伝子診断に基づいて、患者個々に最適な薬物治療計画を構築することが可能であることを示しており、テーラーメイド薬物療法の実現に有用な情報を供与するものと考ええる。

論文審査の結果の要旨

薬物治療に際しては、適切な薬剤の選択および投与設計が肝要である。一方、患者一人ひとりの薬物感受性や異物排除能には個人差が存在することから、画一的な用法・用量による予期せぬ副作用発現が大きな問題として提起されている。申請者は、肝薬物代謝酵素 N-アセチルトランスフェラーゼ 2 (NAT2) 並びにチトクローム P450 2C19 (CYP2C19) の遺伝子多型解析が薬物治療の個別化に寄与する可能性に着目し、遺伝子型と薬物体内動態、薬物治療効果あるいは副作用発現との相関に関する検討を行い、以下の新知見を得た。

毛髪、口腔粘膜及び爪などの非血液検体を用いた正確な遺伝子診断を実施するためには、DNA 抽出時の蛋白分解酵素処理時間の延長、限外濾過による DNA の精製・濃縮及び PCR 条件の変更が有効であることを明らかにした。

NAT2 について日本人に特徴的な 3 箇所の一塩基多型 (SNP) (C481T, G590A, G875A) に着目し、遺伝子多型解析に基づいて被験者を野生型遺伝子同士の homozygote (Rapid Type)、野生型と変異型との heterozygote (Intermediate Type)、変異型同士の homozygote (Slow Type) の 3 群に分けた。NAT2 の基質である抗不整脈薬プロカインアミド、炎症性腸疾患治療薬スルファサラジン及び抗結核薬イソニアジドを健常被験者に投与したところ、いずれの薬物についても NAT2 遺伝子型と薬物体内動態との間に良好な相関関係が認められた。また、スルファサラジン投与後の副作用発現に NAT2 遺伝子多型の関与が示され、基質薬物の体内動態並びに副作用発現における個人差は、NAT2 遺伝子診断によって予測可能であることを明らかにした。

CYP2C19 について日本人に特徴的な 2 箇所の SNPs (G636A, G681A) に着目し、遺伝子多型解析に基づいて NAT2 の場合と同様に被験者を 3 群に分けた結果、CYP2C19 の基質であるプロトンポンプ阻害薬オメプラゾール (OPZ) の体内動態及び OPZ 投与後の胃内 pH は、CYP2C19 遺伝子型との間に良好な相関性が示された。また、OPZ+アモキシシリン+クラリスロマイシンによる *Helicobacter pylori* 除菌率は、野生型アレルで83%、変異型 homo で100%であり、CYP2C19 遺伝子型に依存していた。また、OPZ の用量依存性試験を行った結果、野生型アレルにおいて100%の除菌効果を得るためには通常量の 4 倍の OPZ 投与量を必要とした。さらに、ランソプラゾールについても同様の結果を得た。これらの結果から、CYP2C19 遺伝子診断によって、基質薬物の体内動態、薬物治療効果あるいは副作用発現における個人差を予測でき、なおかつ至適投与量を設定できることが判明した。

以上、本研究は NAT2 及び CYP2C19 遺伝子型と基質薬物の体内動態、薬物治療効果あるいは副作用発現とが良好に相関すること、すなわち、これら遺伝子に着目した多型診断が適切な薬物の選択並びに投与量設定を可能にすることを初めて明らかにしたものであり、今後のテーラーメイド薬物療法の実現に貢献するところ大であり、医療薬剤学の発展に寄与するものと考ええる。

よって、本論文は博士（薬学）の論文として価値あるものと認める。

更に、平成14年8月19日論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果合格と認めた。