

平成 22 年 5 月 28 日現在

研究種目：若手研究（B）
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19791148
 研究課題名（和文） 塩酸イリノテカン代謝酵素 *UGT1A1* の遺伝子多型と同薬剤の副作用発現との関連
 研究課題名（英文） Analysis of *UGT1A1* polymorphisms predictive for adverse effect in patients treated with irinotecan.
 研究代表者
 出口 雅士（DEGUCHI MASASHI）
 神戸大学・医学部附属病院・助教
 研究者番号：19791148

研究成果の概要（和文）：日本人の婦人科癌患者においても *UGT1A1* *6・*28 のアレル頻度は日本人における肺症小細胞癌や大腸癌などの固形癌患者における研究と同様の結果であった。日本人婦人科癌患者においても *UGT1A1* *6 ヘテロ かつ *28 ヘテロ接合体、または *UGT1A1* *6 ホモ接合体の遺伝子多型は、塩酸イリノテカンを用いた抗癌化学療法に伴う高度の好中球減少の発現と関連する可能性がある。

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	1,600,000	0	1,600,000
2008 年度	1,600,000	480,000	2,080,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,200,000	480,000	3,680,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・産婦人科学

キーワード：① 遺伝子 ② 薬剤反応性 ③ 臨床

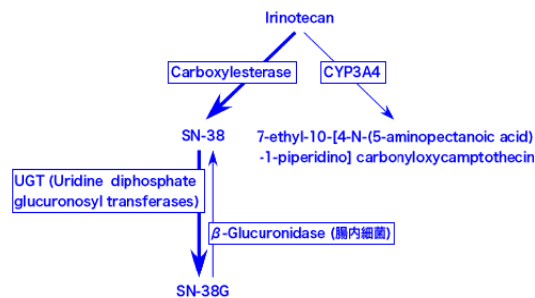
1. 研究開始当初の背景

塩酸イリノテカンは臨床的に有用な抗癌剤であり婦人科悪性腫瘍に対して広く一般臨床で用いられているが、その副作用は時に致死的となることがあり、その予見は困難である。イリノテカンの重篤な副作用として下痢や骨髄抑制が挙げられるが、この副作用の発現には個人差が多いことが知られている。下痢については Grade3～4 (CTC-AE ver. 3) の症状が 20%程度の患者に出現する一方、下痢を

ほとんど認めない患者も 40%弱存在する。

近年抗癌剤の効果・副作用の個体差の原因として個々における薬物代謝や排泄能の差が注目されており、代謝活性の差の原因として、薬物代謝酵素の遺伝子多型が注目されている。

塩酸イリノテカンの主たる代謝経路を下図に示す。
 塩酸イリノテカンはプロドラックであり、体



内で代謝を受け SN-38 となり、主たる作用を発現する。イリノテカンに比して SN-38 は 1000 倍の抗腫瘍活性を有している。この SN-38 の不活化に関わるのが UGT (Uridine diphosphate glucuronosyl transferases) で、なかでも UGT1A1 が重要とされている。〔他に UGT1A7, UGT1A9 の関与が知られている〕グルクロン酸抱合を受け SN-38 は SN-38G となり、胆汁を介して腸管内に排出される。これらの UGT の活性が低いと SN-38 が不活化されにくく、副作用が強くなると考えられている。

SN-38 の主たる不活化酵素である UGT1A1 について、代表的な遺伝子多型とその変位部位・UGT1A1*1 (Wild type) と比較した酵素活性を以下に示す。

- UGT1A1*28
Promoter : [TA]6 → [TA]7
ホモ接合体: 25%、ヘテロ接合体: 50%
- UGT1A1*6
Exon : 211 G → A
ホモ接合体: 32%、ヘテロ接合体: 60%
- UGT1A1*27
Exon : 686 C → A
SN-38 の不活化効率で 52%
- UGT1A1*7
Exon : 1456 T → G
SN-38 の不活化効率で 5%

2. 研究の目的

塩酸イリノテカンの分解に関わる酵素として知られている UGT1A1 について注目し、婦人科癌（子宮頸癌・子宮内膜癌・卵巣癌）患者での UGT1A1 の主たる遺伝子多型について検討し、その頻度を解明するとともに、婦人科癌患者での塩酸イリノテカンの効果および Grade3 以上の下痢や好中球減少の出現頻度についても検討し、UGT1A1 の遺伝子多型と塩酸イリノテカンの効果及び副作用出現の相関について検討した。

なお、UGT1A1 *7 の頻度はかなり低いこと、UGT1A1 *28 と*27 および *28 と*60 の間には連鎖不平衡が存在することが知られるよう

になってきていることから、解析対象とする遺伝子多型は UGT1A1 *28 と UGT1A1 *6 の 2 つとした。

UGT1A1*28 は白人での研究において、塩酸イリノテカンの薬物有害反応に関係する最も重要な遺伝子多型と考えられている。この UGT1A1 *28 はプロモーター領域に存在する TATA ホックスにおける変異で、UGT1A1 の蛋白そのものには変化がないが、この変異により UGT1A1 の mRNA やタンパク発現量が低下し酵素活性の著しい低下を来すと考えられている。

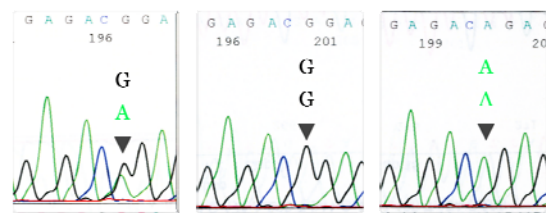
UGT1A1 *6 はエクソン 1 に存在する遺伝子多型で、変異によりアミノ酸の変化を伴う non-synonymous SNP (coding SNP) である。この変異では UGT1A1 の蛋白そのものが変化することにより、酵素活性の著しい低下を来すと考えられている。

3. 研究の方法

神戸大学医学部附属病院婦人科で塩酸イリノテカンによる治療を行い外来通院にて経過観察中の子宮頸癌・子宮内膜癌・卵巣癌患者より承諾を得て末梢静脈から EDTA 採血 10ml を行い、Wizard Genomic DNA purification Kit (Promega A1620) を用いて末梢血中の白血球より DNA 抽出した。

前述のように UGT1A1 の遺伝子多型のなかでも、UGT1A1 *6, *28 について今回は解析を行った。実際には下記のプライマーを用いて PCR の後、ABI377 オートシーケンサーにて塩基配列を解析して遺伝子多型 (SNP) の解析を行った。なお、FWD primer による代表的なシーケンサー波形とその解析方法についても合わせて図に示す。

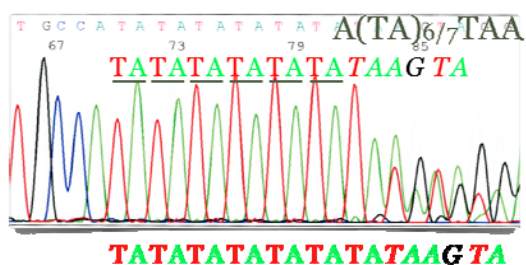
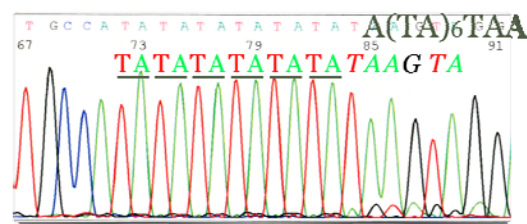
• UGT1A1 *6



FWD primer: TCCTGCTACCTTTGTGGA
REV primer: AGGAAAGGGTCCGTCAGC

• UGT1A1 *28

FWD primer: CAGCCTCAAGACCCACA
REV primer: TGTCCTGCCAGAGGTTTC



各患者の副作用（下痢・好中球減少）発現状況と塩酸イリノテカンの使用状況（前治療の有無とその種類・併用薬剤の有無とその種類・投与量）、臨床効果については、retrospective にカルテ記載を基に調査した。

臨床効果については評価可能病変のあるものについてRECISTガイドラインに基づきCR, PR, NC, PDを判定しPR以上の効果の頻度（奏効率）、その他 生存率・無病生存期間について差があるか検討した。副作用については塩酸イリノテカンを初めて投与した際の副作用につきNCI-CTCAE v3.0に基づきGrade1~5に分類し、Grade3 または 4以上の副作用の発現頻度に差があるかを検討した。

4. 研究成果

神戸大学医学部附属病院婦人科で塩酸イリノテカンを含む抗癌剤治療を受けた患者のイリノテカン投与量は60-100mg/m²（毎週投与）で、単剤での投与例はなかった。併用薬剤はマイトマイシンCが22%で、残りはシスプラチンを併用していた。前治療のないものが33%で、前治療としてはタキサン系薬剤と白金製剤の併用が行われていた。

UGT1A1 *28 と *UGT1A1* *6 の遺伝子多型頻度の解析では

UGT1A1 *6 アレル頻度...16.7%

UGT1A1 *28 アレル頻度...16.7%
（全例ヘテロ接合体）

となり、これまでの日本人における肺症小細胞癌や大腸癌などの固形癌での検討（*UGT1A1* *6 16.7% - 21.3% / *28 11.3% - 13.8%）と差はなかった。白人では *UGT1A1* *28 の頻度が30-40%、*UGT1A1* *6 はほとんど存在

しないといわれており、白人とは *UGT1A1* 遺伝子多型頻度に大きな差があることが確認された。韓国の報告でも、*UGT1A1* *28 と *UGT1A1* *6 の遺伝子多型頻度は日本人と同様であり、アジア人種では比較的 *UGT1A1* 遺伝子多型頻度分布が似ているものと推察された。

婦人科癌で first line chemotherapy として CPT-11 はエビデンスに乏しく、初回治療例や単剤治療例がほとんど無いこと、卵巣明細胞腺癌での CPT-11/CDDP は唯一エビデンスがあるが、CPT-11 投与量が60mg/m²と比較的少ない〔肺小細胞癌では80mg/m²が標準投与量〕こと、主に 2nd line で使用するため、前治療の影響もあり CPT-11 投与量が一定しないことなどが原因で、蓄積症例の数が少なく、背景も一定しなかったため奏効率についての検討では有意差は得られず、生存率・無病生存期間についての検討は行えなかった。

UGT1A1 *6 遺伝子多型伝の有無と下痢・好中球減少、*UGT1A1* *28 遺伝子多型の有無と下痢・好中球減少の間には有意差は認められなかった。

今回の解析症例では、*UGT1A1* *6 ヘテロ かつ *28 ヘテロ接合体、または *UGT1A1* *6 ホモ接合体の遺伝子多型を持つものは2例のみであり、統計的解析は行えなかったが、これらの症例では、Grade4 以上の好中球減少の発現によりともに塩酸イリノテカンの初回投与時に好中球が100未満となるなど非常に強い骨髄抑制を認めていた。これまでの日本人における肺症小細胞癌や大腸癌などの固形癌での検討でも *UGT1A1* *6 ヘテロ かつ *28 ヘテロ接合体、または *UGT1A1* *6 ホモ接合体の遺伝子多型と Grade3 以上の好中球減少の関連が示されており、婦人科癌でも同様の傾向にあると判断された。

UGT1A1 *28, *6 の遺伝子多型解析については、イリノテカンの投与対象となる患者に対してその投与量等を判断することを目的として測定を行うことが2009年4月に保険適応となっている。また、米国では *UGT1A1* *28 ヘテロでは80%doseでの投与を添付文書で推奨されるに至っている。日本人婦人科癌患者においても *UGT1A1* *28, *6 の遺伝子多型分布は日本人の肺症小細胞癌や大腸癌などの固形癌と同様であり、日本人婦人科癌患者に対する塩酸イリノテカンを含む抗癌剤治療前の *UGT1A1* *28, *6 の遺伝子多型解析は副作用予測、ひいては安全管理に有用と考えられた。

5. 主な発表論文等
(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計0件)

[学会発表] (計0件)

[図書] (計0件)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

出口 雅士 (DEGUCHI MASASHI)

神戸大学・医学部附属病院・助教

研究者番号 : 50403291