

令和 2 年 5 月 22 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K10129

研究課題名(和文) 小児の急性リンパ性白血病治療における有害事象に関わる遺伝子多型の解明

研究課題名(英文) Elucidation of gene polymorphisms related with adverse events in the treatment of childhood acute lymphoblastic leukemia

研究代表者

真部 淳 (Manabe, Atsushi)

北海道大学・医学研究院・教授

研究者番号：20292849

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は急性リンパ性白血病の小児において、治療毒性と関連する遺伝子多型を検討した。大量メソトレキサート(MTX)療法における有害事象についてSLC01B1、SLC19A1、ABCB1、ABCC2、ABCG2、MTHFRの遺伝子多型を検索したところ、MTHFR多型とMTXのクリアランスとの間に相関がみられた(n=79)。6-メルカプトプリンの血液毒性では、白人で意味のあるTPMT多型は有意でなく、NUDT15多型は有意であった(n=239, p=8 x 10e-6)。また別コホートでも検討したが、NUDT15以外に有意な多型はなかった(n=55)。人種による差異が大きいことが明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

急性リンパ性白血病(ALL)は最も頻度の高い小児がんである。ALLの治療成績の改善はめざましく、約80%に長期生存が期待できるが、化学療法に伴う治療毒性は大きな問題である。近年のゲノム薬理学の進歩により、治療毒性に関わる遺伝子変異が同定されてきたが、人種による差異が大きい。本研究の結果、MTHFR遺伝子多型とメソトレキサートのクリアランスとの間に相関がみられた。また6-メルカプトプリンの血液毒性では、白人で意味のあるTPMT多型は有意でなく、NUDT15多型は有意であった。薬剤による有害事象は人種差が大きいいため、日本人を対象にした遺伝子多型の検討は重要である。

研究成果の概要(英文)：Acute lymphoblastic leukemia (ALL) is the most common childhood cancer and long-term survival is expected in roughly 80% of patients. However, treatment-related toxicity is still a problem. We conducted a pharmacogenomic study in children with ALL. As a result, MTHFR gene polymorphism was related with clearance of methotrexate (MTX) in high-dose MTX treatment (n=79) among 5 genes (SLC01B1, SLC19A1, ABCB1, ABCC2, ABCG2, and MTHFR). The most relevant gene polymorphism related with hematotoxicity of 6-mercaptopurine was NUDT15 (n=239), but not TPMT, which was strongly correlated in Caucasians. The result was validated using another cohort of patients (n=55). The difference in ethnicity should be considered to interpret the pharmacogenomic data.

研究分野：小児科学 血液腫瘍学

キーワード：小児 白血病 治療毒性 遺伝子多型 薬理ゲノム学

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

急性リンパ性白血病 (ALL) は最も頻度の高い小児がんであり、本邦では年間 600 人程度の新規患者が発生する。ALL の治療成績は治療の強化により 80% 以上の長期生存が期待できるが、なお約 20% は再発し予後不良となる。化学療法に伴う治療毒性により ALL に対する治療が中断または続行不能となることもあり、治療毒性の軽減は ALL の治療成績のさらなる向上に不可欠である。近年のゲノム薬理学の進歩により、治療毒性に関わる遺伝子変異が同定されてきたが、人種による遺伝子多型頻度の差異が大きいこともわかってきた。

2. 研究の目的

急性リンパ性白血病 (ALL) は最も頻度の高い小児がんである。ALL の治療成績の改善はめざましく、約 80% に長期生存が期待できるが、化学療法に伴う治療毒性は大きな問題である。近年のゲノム薬理学の進歩により、治療毒性に関わる遺伝子変異が同定されてきたが、人種による差異が大きい。我々は *NUDT15* の遺伝子多型が欧米人に比べ日本人において 6-メルカプトプリンによる血液毒性とより密接に相関することを示したが、アジア人におけるその他の薬剤毒性に関わる遺伝子多型の意義は不明である。本研究ではまず、近年欧米において同定された遺伝子多型について本邦における意義を検討する。次いで全ゲノムシーケンス解析を行い、探索的に日本人 ALL 患児における治療毒性と関連する遺伝子多型 (変異) を同定することを目的とする。

3. 研究の方法

(1) 既報の薬剤関連毒性遺伝子変異の日本人における意義の検討

すでに治療を終了した ALL 患児 300 名における臨床情報と生殖細胞系列 DNA を用いて、6MP 関連毒性、VCR 関連毒性、L-アスパラギナーゼ関連毒性について、現在までに欧米において同定された遺伝子変異が我が国の ALL 患児においても意義を有するかどうかを明らかにする。

東京小児がん研究グループ (TCCSG) は 1980 年代から関東地区において小児 ALL を対象に臨床研究を行っており、長期フォローしている患者は 2000 人を超える。本研究について本人または代諾者の同意が文書で得られていることを研究参加の条件とする。患者の有害事象除法 *TPMT*、*NUDT15*、*CEPT2*、*NFATC2*、*HLA-DRB1*、*CPA2* の各遺伝子の既知の遺伝子多型との関連を検索する。

生殖細胞系列 DNA の検索に当たっては、患者の個人情報の厳格な管理を行う。また原則として結果は患者には開示しない。

(2) 日本人の治療毒性に影響を及ぼす新たな遺伝子多型 (変異) の発見

既に報告されている遺伝子多型では説明ができない治療毒性を発現した患者を対象に全ゲノムシーケンス解析を行い、探索的に臨床的に意味のある遺伝子多型 (変異) を発見する。治療毒性としては血液毒性、肝毒性に限らず、神経毒性、心毒性、薬剤アレルギー、代謝性の問題、治療中の重大な感染症など、幅広い毒性を含める。

4. 研究成果

(1) 大量メソトレキサート療法における薬剤のクリアランスに関わる遺伝子多型

79 人の急性リンパ性白血病の患者を対象に大量メソトレキサート (MTX) 療法における MTX のクリアランスと関連する遺伝子多型として *SLCO1B1*、*SLC19A1*、*ABCB1*、*ABCC2*、*ABCG2*、*MTHFR* の 5 種類の遺伝子多型を検討した。その結果、*MTHFR* の遺伝子多型と MTX のクリアランスとの間に相関がみられた。

(2) 6-メルカプトプリンの血液毒性に関わる遺伝子多型

6-メルカプトプリン (6-MP) の血液毒性と相関する遺伝子多型について、小児 ALL 患者 239 人の生殖細胞系列検体 (唾液) を用いて 495 万の多型を検討した。その結果、予想通り、日本人では *TPMT* は意味のある多型ではなく、*NUDT15* は意味のある多型であった ($p=8 \times 10e-6$ 図 1)。その他に候補遺伝子として *NEGR1*、*CCSER1*、*MLLT3*、*CUX2* が見出された。次いで 55 人の患者を validation cohort として検討したところ、*NUDT15* 以外は有意な多型と判断されなかった。

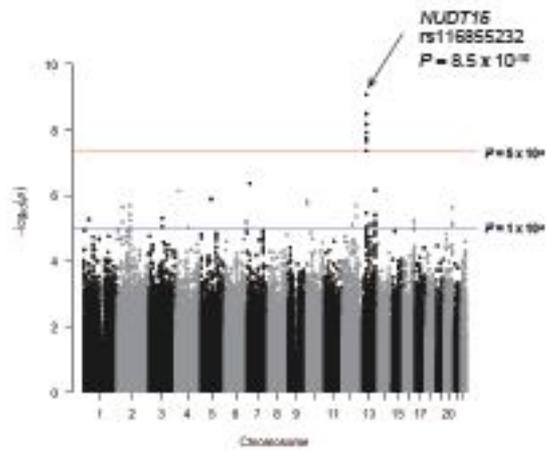


図1 維持療法開始後 168 日（中央値）における 6-MP の投与量に相関する遺伝子多型（マンハッタン・プロット）

（3）アスパラギナーゼによる急性膵炎に関わる遺伝子多型

急性リンパ性白血病治療中にアスパラギナーゼによる重症膵炎を発症した 17 人の患者にみられる遺伝子多型を網羅的に検討するプロジェクトが計画され、実際に患者検体が収集された。現在遺伝子解析を行っている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 3件/うちオープンアクセス 0件）

| | |
|--|-------------------------|
| 1. 著者名 Kato M, Manabe A. | 4. 巻 60 |
| 2. 論文標題 Treatment and biology of pediatric acute lymphoblastic leukemia | 5. 発行年 2018年 |
| 3. 雑誌名 Pediatrics International | 6. 最初と最後の頁 4~12 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/ped.13457 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |
| 1. 著者名 Urayama K, Takagi M, Kawaguchi T, Matsuo K, Tanaka Y, Manabe A, et al. | 4. 巻 8 |
| 2. 論文標題 Regional evaluation of childhood acute lymphoblastic leukemia genetic susceptibility loci among Japanese | 5. 発行年 2018年 |
| 3. 雑誌名 Scientific Reports | 6. 最初と最後の頁 789 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-017-19127-7 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |
| 1. 著者名 Nishii R, Moriyama T, Janke L, Yang W, Suiter CC, Lin TN, Li L, Kihira K, Toyoda H, Hofmann U, Schwab M, Takagi M, Morio T, Manabe A, Kham S, Jiang N, Rabin KR, Kato M, Koh K, Yeoh Allen EJ, Hori H, Yang JJ. | 4. 巻 131 |
| 2. 論文標題 Preclinical evaluation ofNUDT15-guided thiopurine therapy and its effects on toxicity and antileukemic efficacy | 5. 発行年 2018年 |
| 3. 雑誌名 Blood | 6. 最初と最後の頁 2466~2474 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1182/blood-2017-11-815506 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 該当する |
| 1. 著者名 Tsujiimoto S, Osumi T, Uchiyama M, Shirai R, Moriyama T, Nishii R, Yamada Y, Kudo K, Sekiguchi M, Arakawa Y, Yoshida M, Uchiyama T, Terui K, Ito S, Koh K, Takita J, Ito E, Tomizawa D, Manabe A, Kiyokawa N, Yang JJ, Kato M. | 4. 巻 32 |
| 2. 論文標題 DiploTYPE analysis of NUDT15 variants and 6-mercaptopurine sensitivity in pediatric lymphoid neoplasms | 5. 発行年 2018年 |
| 3. 雑誌名 Leukemia | 6. 最初と最後の頁 2710~2714 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41375-018-0190-1 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 該当する |

| | |
|---|-------------------------|
| 1. 著者名 Tanaka Y, Nakadate H, Kondoh K, Nakamura K, Koh K, Manabe A | 4. 巻 18 |
| 2. 論文標題 Interaction between NUDT15 and ABCC4 variants enhances intolerability of 6-mercaptopurine in Japanese patients with childhood acute lymphoblastic leukemia | 5. 発行年 2018年 |
| 3. 雑誌名 The Pharmacogenomics Journal | 6. 最初と最後の頁 275 ~ 280 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/tpj.2017.12 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|--|-------------------------|
| 1. 著者名 Moriyama Takaya, Nishii Rina, Lin Ting-Nien, Kihira Kentaro, Toyoda Hidemi, Jacob Nersting, Kato Motohiro, Koh Katsuyoshi, Inaba Hiroto, Manabe Atsushi, Schmiegelow Kjeld, Yang Jun J., Hori Hiroki | 4. 巻 27 |
| 2. 論文標題 The effects of inherited NUDT15 polymorphisms on thiopurine active metabolites in Japanese children with acute lymphoblastic leukemia | 5. 発行年 2017年 |
| 3. 雑誌名 Pharmacogenetics and Genomics | 6. 最初と最後の頁 236 ~ 239 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.1097/FPC.0000000000000282 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 該当する |

| | |
|---|-------------------------|
| 1. 著者名 Ishimaru S, Okamoto Y, Imai C, Sakaguchi H, Taki T, Hasegawa D, Cho Y, Kakuda H, Sano H, Manabe A, 他13名 | 4. 巻 61 |
| 2. 論文標題 Nationwide survey of pediatric hypodiploid acute lymphoblastic leukemia in Japan. | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 Pediatr Int | 6. 最初と最後の頁 1103-1108 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/ped.14006 | 査読の有無 無 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|--|-----------------------|
| 1. 著者名 Ohki K, Kiyokawa N, Saito Y, Hirabayashi S, Nakabayashi K, Ichikawa H, Momozawa Y, Okamura K, Yoshimi A, Ogata-Kawata H, Sakamoto H, Kato M, Fukushima K, Hasegawa D, Fukushima H, Imai M, Kajiwara R, Koike T, Komori I, Matsui A, Mori M, Moriwaki K, Noguchi Y, Park ML, Ueda T, Manabe A, Ohara A 他10名 | 4. 巻 104 |
| 2. 論文標題 Clinical and molecular characteristics of MEF2D fusion-positive precursor B-cell acute lymphoblastic leukemia in childhood, including a novel translocation resulting in MEF2D-HNRNP1 gene fusion. | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 Haematologica | 6. 最初と最後の頁 128-137 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3324/haematol.2017.186320 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件）

| |
|--|
| 1. 発表者名 田中庸一、康 勝好、真部 淳 |
| 2. 発表標題 1. 小児ALLにおける高用量メトトレキサート療法時の薬物クリアランスへ影響を及ぼす因子の検討 |
| 3. 学会等名 第80回日本血液学会学術集会 |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 田中庸一、康 勝好、真部 淳 |
| 2. 発表標題 患者の年齢と肥満度の6-メルカプトプリン投与量への影響 |
| 3. 学会等名 第60回日本小児血液・がん学会学術集会 |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Tanaka Y, Kato M, Arakawa Y, Hasegawa D, Fujimura J, Keino D, Sato A, Ueda T, Taneyama Y, Takagi M, Yamamoto M, Matsuoka M, Hino M, Hori H, Koh K, Moriyama T, Yeoh A, Yang JJ, Manabe A. |
| 2. 発表標題 3. Tolerable dose of 6-mercaptopurine and prognostic impact of NUDT15-deficient genotype in childhood acute lymphoblastic leukemia |
| 3. 学会等名 60th ASH Annual Meeting & Exposition (国際学会) |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Tanaka Y, Urayama K, Mori M, Hasegawa D, Noguchi Y, Yanagimachi M, Keino D, Ota S, Akabane K, Hangai M, Kawaguchi T, Takagi M, Koh K, Matsuda F, Manabe A. |
| 2. 発表標題 NUDT15 genetic variation is the strongest predictive marker of tolerance to 6-mercaptopurine in Japanese childhood ALL patients: A genome-wide association study. |
| 3. 学会等名 アメリカ血液学会 (ASH) (国際学会) |
| 4. 発表年 2019年 |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

| | 氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号) | 所属研究機関・部局・職 (機関番号) | 備考 |
|-----------|---|---|----|
| 研究 分担者 | 田中 庸一 (Tanaka Yoichi) (40525341) | 北里大学・薬学部・講師 (32607) | |
| 研究 分担者 | 浦山 ケビン (Urayama Kevin) (60726850) | 聖路加国際大学・専門職大学院公衆衛生学研究科（公衆衛生 大学院）・教授 (32633) | |