

機関番号：12501

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2009～2010

課題番号：21890035

研究課題名（和文）

ゲノム網羅的薬理ゲノム研究における研究デザインとそのデータ解析法に関する研究

研究課題名（英文）

Study Design and Statistical Analysis in a Genome-Wide Pharmacogenomics Study

研究代表者

佐藤 泰憲 (SATO YASUNORI)

千葉大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：90536723

研究成果の概要（和文）：薬剤反応性の個体差の原因となる遺伝子を明らかにすることを目標として、ゲノム網羅的薬理ゲノム研究における以下の三つの課題を統計学的視点から取り組み、新たな提案を与えた。① 薬物動態関連遺伝子を同定するための統計手法の開発及び実データへの適用、② 薬剤反応性遺伝子を同定するための統計手法の開発及び実データへの適用、③ 薬物動態及び遺伝子多型情報を考慮した薬効強度の予測モデルの構築。これらの研究成果は、学術雑誌や国際学会等で発表した。

研究成果の概要（英文）：The purpose of this research is to examine problems of study design and analyzing methods for genome-wide pharmacogenomics studies from statistical viewpoints, and then to present new proposals in order to contribute to the development of personalized. In this study, three specific issues were addressed regarding the genome-wide pharmacogenomics studies as follows; i) Statistical analysis for the association between pharmacokinetics and SNP, ii) Statistical analysis for the association between clinical outcome and SNP, iii) Statistical analysis for PK and SNP-PD modeling. These findings of research were reported in academic journals and meetings.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,070,000	321,000	1,391,000
2010年度	970,000	291,000	1,261,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,040,000	612,000	2,652,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：人類遺伝学

キーワード：ゲノム、薬剤反応性、統計科学、遺伝疫学

1. 研究開始当初の背景

医薬品に対する患者の反応には、著しい個体差がみられる場合がある。この個体差の原因の一つとして、薬剤の曝露量に影響する薬物動態関連分子や応答性に影響を与える薬効強度関連分子の遺伝子多型が考えられる。このため、個々の患者背景や病状を考慮した

有効で副作用の少ない個別化医療が、臨床現場で求められており、その実現のためには薬剤反応性の個体差の原因となる遺伝子多型などの諸因子を探索し、臨床的意義との関連を調べる必要がある。

ゲノム科学の進展によって、薬物動態関連遺伝子、薬剤反応性遺伝子、疾患感受性

遺伝子などを含む多くの遺伝子の多型情報や発現情報などがゲノム網羅的に収集されデータベースに公開されるようになってきているが、これらの遺伝子の機能や臨床アウトカムについては未だ十分に解明されておらず、治療前に個々の患者に対する薬剤の有効性や副作用を予測することは困難である。

さらに、この分野において、実験計画やデータ解析法についての確な処理や判断が下されていない事例が散見する。最近、それを裏付けるような論文や総説が多く報告されている。その一例として、Michiels et al (2005)、Dupuy et al (2007)は、ゲノム薬理学で適用されている統計手法は実データの特性を考慮しないで、不適切な統計解析が適用され、そのため結果の再現性にはあまり期待がもてない。しかしながら、研究計画の段階から統計学的に考慮し、適切な解析を行えば今よりは良い結果が得られると指摘している。このような指摘を踏まえると、当該分野においてデータの特性を考慮した生物統計手法及びバイオインフォマティクスの開発は最重要課題である。また、上記のような誤用例が生じる背景に、統計を専門としない研究者が手近なソフトウェアを用い、問題点の理解がないまま解析することが要因の一つと考えられることから、本研究で開発した手法をアプリケーションまたはプログラムとして統計パッケージを開発し、統計を専門としない研究者に無償提供する。

2. 研究の目的

薬剤反応性の個体差の原因となる遺伝子多型を明らかにし、バイオマーカーを開発することを目標として、ゲノム網羅的薬理ゲノム研究における諸問題を統計学的視点から検討することが本研究の主な目的である。その目的を達成するために、以下の三つの研究課題に取り組む。(1) 薬物動態関連遺伝子を同定するための統計手法の開発及び実データへの適用、(2) 薬剤反応性遺伝子を同定するための統計手法の開発及び実データへの適用、(3) 薬物動態及び遺伝子多型情報を考慮した薬効強度の予測モデルの構築の三つの課題について取り組み、新たな提案を与える。

3. 研究の方法

ゲノム網羅的薬理ゲノム研究における諸問題を統計学的視点から検討するために、上記の三つの研究課題に取り組む。

まず、第一課題については、薬物動態パラメータと遺伝子多型との関連を検出する統計手法の開発を行い、また、コンパートメントモデルを仮定した解析を行い、遺伝子多型が吸収、分布、代謝、排泄のどの過程に影響するか検討を行なう。

第二課題については、薬効強度・有害反応に影響を与える遺伝子多型を同定するための統計手法の開発を行う。特に、統計学上の問題として検定の多重性(検定を複数回繰り返し行くと、第一種の過誤確率(偽陽性割合)が増大する現象)が生じるため、この問題の解決策に取り組む。

第三課題については、薬物動態情報、遺伝子多型情報及び臨床情報から薬効強度および有害反応を予測するための数理モデルを構築し、モデルの評価を行なう。

これらの課題を解決することで、薬物動態関連遺伝子あるいは薬効強度関連遺伝子を同定し、個別化医療、創薬などを実現させ、国民の健康の向上に大きく寄与するものと考ええる。

4. 研究成果

本研究では三つの研究課題に取り組んだ。

(1) 薬物動態関連遺伝子を同定するための統計手法の開発及び実データへの適用

ゲノム網羅的研究では一度に 10 万～100 万 SNP のタイピングデータが得られるため、検出される SNP の数が非常に多く、実験家が目視により遺伝子型反応パターン(優性、劣性、相加的モデル)を一つずつ確認することは困難になっている。そこで、PK パラメータ(薬物血中濃度-時間曲線下面積、最高血中濃度など)と関連する遺伝子を見つけるために、遺伝子型反応パターンを考慮して薬物動態関連 SNP を検出するための統計学的スクリーニング法を提案した。

提案法では、反応パターンに対して単調な関係を示す複数の対比統計量を設定した。設定された複数の反応関係を仮定した場合に、統計的に有意な差があるか否かを検討し、有意な差があった場合には、設定した反応関係の中からデータに最も適合する反応関係を選択することができる。

計算機シミュレーションにより提案法の性能評価した結果、提案法は既存法よりも効率良く薬物動態関連 SNP が検出できることが示唆された。さらに数値計算の速度及び精度を向上させるために提案法の改良を行った。その結果、10-100 万 SNP の中から薬物動態関連 SNP を迅速かつ正確にスクリーニングできるようになった。

また、抗がん剤のゲノム網羅的研究に提案法を適用した結果、提案法ではアンジオテンシン前駆体遺伝子の SNP が検出されたが、従来法では検出できなかった。したがって、提案法は従来法と比較して偽陽性を抑え、生物学的に意味のある反応パターンをより多く検出することができ、ゲノム

網羅的研究における統計学的スクリーニング法として、有用な手法であることが示唆された。提案法は、実験家に提案法を幅広く利用してもらうため、フリーソフトウェアとして公開している (<http://cran.r-project.org/web/packages/mmc/>)。

(2) 薬剤反応性遺伝子を同定するための統計手法の開発及び実データへの適用

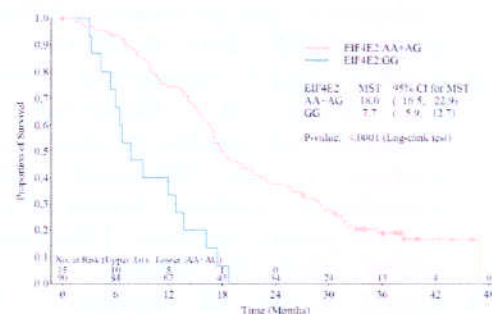
最近、遺伝子タイピング技術は急速に進歩し、低コストでハイスループットな DNA-saving SNP typing system が確立され、ゲノム網羅的アプローチが実施可能となった。しかしながら、研究デザインや得られたデータの統計解析に関して標準的な手法は確立されておらず、統計学的に未解決な問題が多く存在する。そこで、医薬品の有効性及び安全性を予測するバイオマーカを同定するために、これまでに用いられていた統計解析法がどの程度の精度でバイオマーカを同定して、どの方法を適用すればより多くのバイオマーカが同定できるか統計学的側面から検討を行った。

その結果、各判定法を比較すると、ボンフェロニ法の改良であるホルム法は、仮説の数が多いもとは、感度及び陽性的中率がボンフェロニ法とほぼ同じになる。FDR法は、感度が最大になり、ホルム法に比して陽性的中率が約 25~30%小さくなるが、感度が約 4~12%大きくなる。したがって、偽陽性を極力少なくしたいという観点からは、ホルム法が望ましく、ある程度の偽陽性を許容して極力たくさんの薬剤反応性 SNP を見つけたいというのであれば FDR法が望ましい。点推定値による判定方法と区間推定 (95%信頼区間の下限) による判定方法は、真の薬剤反応性 SNP のリスク比が既知の時にはカットオフ値を調整することで、感度及び陽性的中率をコントロールすることができることが分かった。

カットオフ値を変化させたときに陽性的中率及び感度がどう変化するかを検討した。シミュレーションでは母リスク比を既知としているが、実際には未知であり、この関係で最適なカットオフ値を設定することは困難であるが、カットオフ値を母リスク比より少し小さい値にするのが良いことは明らかなので、薬剤反応性 SNP の母リスク比について情報を集めることは重要である。また、仮説検定を行う場合に有意水準をいくりにするかは、同様に難しい問題であるが、有意水準が 0.0001 より小さければ陽性的中率及び感度は、ほぼ同じ値になる。しかしながら、第 1 種の過

誤確率が約 40%増大することが分かった。

さらに、非小細胞肺癌のゲノム網羅的研究において、生命予後に関連するバイオマーカを同定するために、Cox 比例ハザードモデルにより SNP の影響を評価した。その結果、3つの SNP において有意に予後不良の傾向が認められた。バイオマーカとして一番有望な SNP の Kaplan-Meier plot を下記に示す。本研究で同定された 3SNP は進行非小細胞肺癌における新しい生物学的予後因子の可能性が示唆された。これらの研究成果は、米国臨床腫瘍学会で発表し、英文誌に刊行された。



(3) 薬物動態情報及び遺伝子多型情報を考慮した薬効強度の予測モデルの構築

ヒトに投与された医薬品は、吸収、分布、代謝、排泄の 4 つの過程をたどる。薬物動態解析は、体内での各過程における血中濃度の時間変化を調べ、薬物動態パラメータを推定することがよく行われる。

そこで、血中濃度推移から薬剤の効果と個人毎に定量的に評価するために、個人のパラメータを推定することよりも母集団におけるパラメータの分布に興味がある。そのため個人を变量効果とし、薬効などの推定に興味あるパラメータを固定効果とした非線形混合効果モデルを適用した。

その結果、提案したモデルに SNP を固定効果として含めることで、变量効果の分散が小さくなり、SNP を考慮することで個体間変動が説明できたことを意味している。提案法は、SNP の影響を定量的に評価することができ、従来の体内動態モデルよりも当てはまりがよいことが分かった。

さらに、コンパートメントモデルに薬物動態関連 SNP の影響が存在しないことを仮定した帰無モデルと、薬物動態関連 SNP の影響が存在すると仮定した対立モデルを構築し比較を行った。その結果、第一種の過誤確率を制御するために、総被験者は 200 程度、各被験者に対して 4 時点の測定が必要であることが示唆された。

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6件)

1. Sato Y, Yamamoto N, Kunitoh H, Ohe Y, Minami H, Laird NM, Katori N, Saito Y, Ohnami S, Sakamoto H, Sawada J, Saijo N, Yoshida T, Tamura T. Genome-wide association study detected candidate polymorphisms associated with overall survival (OS) in advanced non-small cell lung cancer treated with carboplatin and paclitaxel. J Thorac Oncol. 査読有. 2011. 6. 132-138.
2. Andoh M, Sato Y, Sakamoto H, Yoshida T, Ohtaki M. Detection of inappropriate samples in association studies by an IBS-based method considering linkage disequilibrium between genetic markers. J Hum Genet. 査読有. 2010; 55. 436-440.
3. Sato Y, Laird NM, Yoshida T. Bio-statistic tools in Pharmacogenomics - advances, challenges, potential. Cur Pharm Design. 査読有. 2010.
4. Sangrajrang S, Sato Y, Sakamoto H, Ohnami S, Khuhaprema T, Yoshida T. Genetic Polymorphisms in Folate and Alcohol metabolism and breast cancer risk: A case-control study in Thai women. Breast Cancer Res Treat. 査読有. 2010
5. 佐藤泰憲, 長島健悟, 浜田知久馬. 個別化医療のための研究デザインと統計解析法. 臨床薬理. 査読有. 2010. 41. 291-300.
6. Sato Y, Laird N, Suganami H, Hamada C, Niki N, Yoshimura I, Yoshida T. Statistical screening method for genetic factors influencing susceptibility to common diseases in a two-stage genome-wide association study. Stat Appl Genet Mol Biol. 査読有. 2009.

[学会発表] (計3件)

1. Nagashima K, Sato Y, Hamada C. Studentized modified maximum contrast method for unequal sample sizes in pharmacogenomics Studies. International Biometric Society. 2010年12月10日. Florianópolis, Brazil.
2. Sato Y, Yamamoto N, Tamura T, Kunitoh H, Ohe Y, Katori N, Sawada J, Sakamoto H, Saijo N and Yoshida T.

Genome-wide association scan detected candidate polymorphisms associated with overall survival (OS) in advanced non-small cell lung cancer (NSCLC) treated with carboplatin (CBDCA) and paclitaxel (PTX). 第45回米国臨床腫瘍学会. 2009年5月30日~6月1日. 米国・オーランド

3. Ueno H, Okusaka T, Furuse J, Ishii H, Saijo N, Saito Y, Sawada J, Sakamoto H, Yoshida T, and Sato Y. Genome-wide association scan detected candidate polymorphisms associated with overall survival in stage IV pancreatic adenocarcinoma patients receiving gemcitabine monotherapy. 第45回米国臨床腫瘍学会. 2009年5月30日~6月1日. 米国・オーランド

[図書] (計0件)

なし

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

なし

○取得状況 (計0件)

なし

[その他]

ホームページ等

<http://cran.r-project.org/web/packages/mcmc/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

佐藤 泰憲 (SATO YASUNORI)

千葉大学・医学部附属病院・講師

研究者番号: 90536723

(2) 研究分担者

該当なし

(3) 連携研究者

該当なし