

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 9 日現在

機関番号：32666

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23591909

研究課題名(和文)バセドウ病患者における個別化医療実現のための基礎的研究

研究課題名(英文)Basic study for personalized medicine of Graves' disease

研究代表者

五十嵐 健人(Takehito, Igarashi)

日本医科大学・医学部・准教授

研究者番号：80381391

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円、(間接経費) 1,200,000円

研究成果の概要(和文)：バセドウ病患者のメルカゾール(抗甲状腺薬)による無顆粒球症発症の原因遺伝子の可能性を検討すべく、FM03の遺伝子の解析をおこなった。FM03の一塩基多型(SNP)の解析やFM03の全てのエクソンを解析してところ、4箇所のアミノ酸変異を伴うバリエーションが見られました。しかしながら、これらのバリエーションは一般集団においても一般的であるため、無顆粒球症の発症リスクに関連する可能性は低いと考えられる。治療中の副作用出現は身体的にも精神的にも負担が大きい。副作用を未然に判断するバイオマーカーの検索は極めて重要で引き続き検討していかなければいけない課題である。

研究成果の概要(英文)：We analyzed the gene of FM03 in order to examine the possibility of the responsible gene of the agranulocytosis onset with Thiamazole(MMI) of the patients with Graves' disease. We analyzed the single nucleotide polymorphism(SNP) and all Exons of FM03. The variations with four places of amino acid alterations were found. However, we are thought to be less likely to be associated with an onset-risk of agranulocytosis because these variations are common in the general population. It is extremely important to continue the search of the biomarker judging a side effect of MMI for the Graves' disease patients.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・外科学一般

キーワード：バセドウ病 個別化医療 SNP

1. 研究開始当初の背景

日本でのバセドウ病罹患率は1%で比較的頻度の高い疾患である。治療法としては薬物療法、放射線療法、外科治療などがあるが、我が国では薬物治療がこの疾患治療の中心的役割を担っている。

薬物療法は抗甲状腺剤であるチアマゾール(メチアマゾール, MMI)、プロピルチオウラシル(PTU)の2剤により行われている。欧米に比し圧倒的に薬物療法の割合が高く、我が国ではMMIが第一選択として広く用いられている。しかしながら、この治療法の問題点は、1)寛解率が低い(約30%)、2)寛解にいたる時間が長い、3)副作用の頻度が高いことが上げられる。特に3番目の副作用には生命に危険を及ぼす無顆粒球症、多発性関節炎、重症肝障害、MPO-ANCA関連血管炎などの発症がありその発症予測が望まれる。また、寛解率に関連する事象の予測が可能であるならば治療方針の早期の変更が可能となり患者のQOLや医療経済の点からも質の高い症例に応じた医療、すなわち、個別化医療を提供することができる。

個別化医療とは、患者の遺伝的背景、生理的状态、疾患の状態などを考慮して、患者個々に適切な医療を提供する医療である。この医療をバセドウ病患者に実現するためにはバセドウ病の病態とMMIの薬物動態の観点から標的遺伝子、すなわち、非特異的なバイオマーカーを選定しなければならない。MMIは化学構造上窒素原子(N)と硫黄原子(S)を含有している。NやSを含有した薬剤の代謝はフラビン含有モノオキシゲナーゼ(FMO)によって触媒がなされる。FMOには、アミノ酸配列の相同性に基づきFMO1~5の5つに分類されている。また、FMOは薬物の解毒のみならず毒性発現にも関与している。KoukouritakiらはFMOのうちFMO3の遺伝子多型とその違いによる機能上の相違を報告(Pharmacogenomics 6:807-822, 2005,

J Pharmacology and Experimental Therapeutics 320:266-273, 2007)している。これらの報告において注目すべき点はFMO3の一塩基多型(SNP)の解析結果からE24D, N61K, K416NのSNPを同定し、そのSNPの人種間頻度の相違やそれぞれのSNPに基づく酵素のMMIに対する活性の違いを明確に試験管内の実験にて示している。

その薬剤の代謝に深く関わる薬剤代謝酵素：フラビン含有モノオキシゲナーゼ(FMO)は遺伝子多型(SNP)を有しており、MMIの効果や副作用に関連している可能性が高いと推察される。

このFMO3遺伝子とバセドウ病患者と関連を検討した研究はいまだなされていない。従って、FMO3が有力なバイオマーカーであれば、バセドウ病患者に個別化医療を提供する可能性が大いに期待される。

2. 研究の目的

バセドウ病患者の薬物医療における個別化医療は、個人の持つゲノム情報を検討することが重要である。本研究においてはバセドウ病患者に使用されるMMIの代謝に重要な関与をしているフラビン含有モノオキシゲナーゼ(FMO)3遺伝子と副作用出現の関連を検討しb世道病と関連を検討した研究はいまだなされていない。従って、FMO3が有力なバイオマーカーであれば、早期にバセドウ病患者に個別化医療を提供することが本研究の目的である。可能性が大いに期待される。

を指すことが本研究の目的である。

3. 研究の方法

日本医科大学遺伝子倫理委員会に申請して本研究に対して審議し、承認を得た。また、関連病院金地病院にて同様に承認を得て検体を採取した。

検体はバセドウ病に対してMMIを投与されている患者を対象とした。治療中に無顆粒球

症を発症した患者に対して説明を行い本研究に同意された方から血液を採取した。

末梢血より DNA を抽出し、FM03 遺伝子の E24D, N61K, K416N につき SNP の分析を行った。DNA Amplification: genomic DNA を PCR により増幅した。

Multiplex Single Base Extension Assay: 目的の SNP に対するプライマーを用い増幅の後シーケンスを行い変異の有無を解析した。

さらに、FM03 遺伝子の全 EXON 遺伝子解析を検討した。

3. 研究成果

FM03 の一塩基多型 (SNP) の解析結果から E24D, N61K, K416N の SNP はいずれの症例にも見られなかった。FM03 の全てのエクソンをリシーケンシングしたところ、4 箇所のアミノ酸変異を伴うバリエーションを認めた。しかしながら、これらのバリエーションは一般集団においても一般的であるため、無顆粒球症の発症リスクに関連する可能性は低いと考えられる。今回、研究期間中に発症した無顆粒球症患者の発症診断時から顆粒球回復時までの経時的な血清採取ができたため、MMI の薬物動態検討も行った。今回の症例においては、発症時から MMI の濃度を測定することはできなく、前述の FM03 の遺伝子解析の結果からも、MMI 薬物代謝が遷延して無顆粒球が発症する仮説は証明できないとの結論にいたった。バセドウ病に対する Personalized medicine を実現するためのバイオマーカーとしての FM03 はその候補遺伝子としては特異性が低いと思われる。研究期間内に発症したバセドウ病患者の MMI による無顆粒球症発症例は適切な治療により治療がなされ甲状腺全摘後の経過は良好である。しかしながら、治療中の患者の負担は身体的にも精神的にも大きい。MMI による副作用を未然に判断するバイオマーカーの検索は

極めて重要で、個別化医療を進める上で、引き続き検討していかなければいけない課題である。

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 1件)

1. Takehito Igarashi, Ritsuko Okamura, Tomoo Jikuzono, Shinya Uchino, Iwao Sugitani, Kazuo Shimizu

“An extended family with familial medullary thyroid carcinoma and Hirschsprung’s disease”
J Nippon Med Sch Vol.81 No.2 2014, p64-69

[学会発表](計 2件)

1. 日本甲状腺外科学会 (第45回)
2012年10月

“当科におけるバセドウ病外科治療の現状”

2. 日本臨床外科学会 (第73回)
2011年11月

“当科のバセドウ病外科治療における内視鏡補助下手術 (VANS) の現状”

[図書](計 2件)

1. Hiroshi Takami *Editor-in-chief*

Yasuhiro Ito, Hitoshi Noguchi, Akira Yoshida, Takahiro Okamoto *Editors*
“Treatment of Thyroid Tumor Japanese Clinical Guidelines”
Springer 2013 P.149-155

2. 多発性内分泌腫瘍症診療ガイドブック
編集委員会編

金原出版株式会社 2013年

“CQ51 MEN2 を積極的に疑う褐色細胞腫は?”

P.111

“開発中の新たな治療法: MEN2” P.15

[産業財産権]

出願状況 (計 0件)

名称:

発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者
(五十嵐健人)

研究者番号：80381391

(2) 研究分担者
(別所竜蔵)

研究者番号：60281432

(3) 連携研究者
()

研究者番号：