

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 13 日現在

機関番号：24303

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24590665

研究課題名(和文)アザチオプリン血中濃度予測バイオマーカーとしてのSLC38A9：機能・有用性解析

研究課題名(英文)The examination about the usefulness of SLC38A9 as genetic biomarker to predict blood concentration of azathioprine.

研究代表者

内山 和彦(Uchiyama, Kazuhiko)

京都府立医科大学・医学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：50298428

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、当院におけるazathioprine(AZA)の使用経験、およびその代謝産物である血中6-TGN濃度測定結果を元に、AZAの有用性と安全性を予測するgenetic biomarkerを同定することを目的とした。EG(エクспレス・ジェノタイピング)法を用いたAZA投与後のHapMap由来ヒトリンパ球細胞における遺伝子発現をもとに、患者における血中6-TGN濃度の測定結果を層別化した結果、6-TGN濃度を予測するgenetic biomarkerがSLC38A9であることが同定された。これらの研究成果はPLoS One誌に報告した。

研究成果の概要(英文)：Azathioprine (AZA) is widely used for the treatment of inflammatory bowel disease (IBD) patients. In this study, single nucleotide polymorphisms (SNPs) related to differential gene expression affecting AZA drug metabolism in combination therapy with 5-ASA were examined.

To identify genetic biomarkers for the prediction of 6-TGN blood concentration, ExpressGenotyping analysis, which is able to detect critical pharmacogenetic SNPs by analyzing drug-induced expression allelic imbalance (EAI) of premature RNA, was used. Both in HapMap lymphocytes, and blood samples on 38 patients with inflammatory bowel disease treated with AZA, corroboration of the obtained SNPs was attempted. Among them, SNPs within SLC38A9 showed a particular correlation with patients' 6-TGN blood concentrations. This study provides helpful information on genetic biomarkers for optimized AZA/5-ASA treatment of IBD patients.

研究分野：Gastroenterology

キーワード：azathioprine 6-TGN genetic biomarker

1. 研究開始当初の背景

近年、潰瘍性大腸炎 (Ulcerative Colitis; UC) やクローン病 (Crohn's Disease; CD) などの炎症性腸疾患 (IBD) に対する薬物治療として Azathioprine や Tacrolimus などの免疫調節剤が IBD の病勢コントロールにおける中心的な役割を果たすようになってきている。それらの免疫調節剤は白血球減少など時に重篤な副作用を認めることがあるため、薬剤の血中濃度を定期的に測定することが必須である。しかし、高用量の 5-ASA 製剤との併用によって血中濃度が予想以上に上昇したり、あるいは患者によって血中濃度が不安定であったりなど、薬剤のコントロールが困難な例も少なからず認められる。それら薬物の血中濃度を左右するのは薬物代謝酵素の存在であり、これまでそれらの代謝酵素の遺伝子多型が薬物の血中濃度に影響を与えることが知られている。しかし、IBD の治療において azathioprine を併用した際の他の薬物の血中濃度とそれらの薬剤の代謝酵素やその応答性遺伝子の多型および病勢コントロールの関連に関する詳細な報告はない。

2. 研究の目的

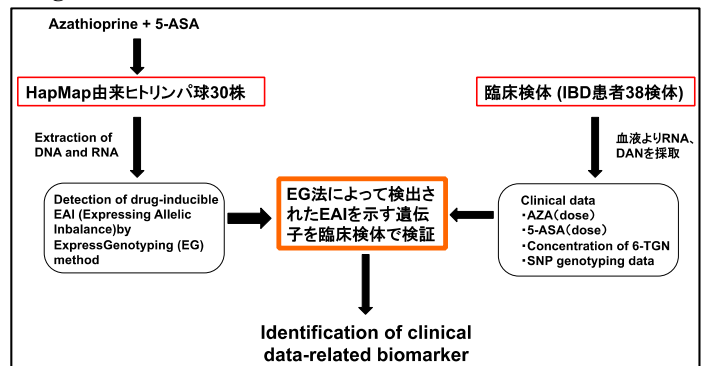
本研究では、IBD 患者における免疫調節剤の代謝酵素を含む応答性の遺伝子多型を解析することで薬物の血中濃度との相関を検討し、最終的には遺伝子多型ならびに併用薬剤から患者個人の免疫調整薬の至適投与量を決定することが主な目的である。

3. 研究の方法

本検討では HapMap 由来ヒトリンパ球細胞 30 株を用いて 5-ASA および Azathioprine 刺激にて発現誘導される遺伝子の EAI (Expressing Allele Inbalance) を EG (Express Genotyping) 法を用いて測定し、複数の細胞株で SNP (遺伝子多型 (一塩基多型)) によって EAI を生じる

遺伝子発現を同定する。さらに当院にて azathioprine 投与中の炎症性腸疾患患者の血液より、同定された遺伝子多型の genotype をそれぞれの患者で測定し、Azathioprine の代謝産物である血中 6-TGN 濃度との相関を検討する。SNP の測定には、末梢静脈血から抽出されたゲノム DNA を用い、シーケンス法もしくはマスアレイ法により実施する。この方法により、特定の遺伝子の genotyping が azathioprine 投与時の血中濃度決定のバイオマーカーとなり、炎症性腸疾患患者への投与量や投与薬剤の選択についての検討が可能となる (Figure 1)。

Figure 1



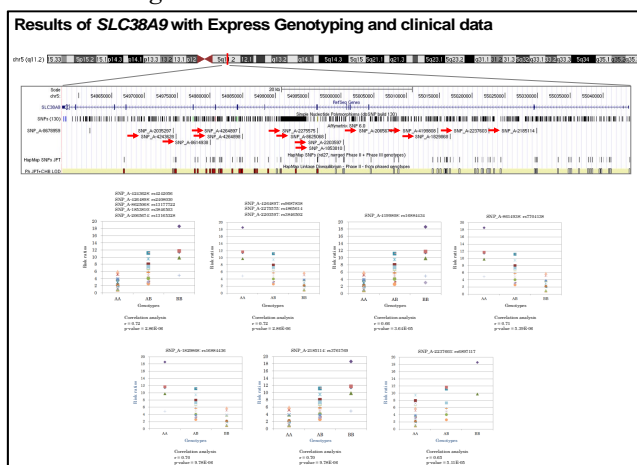
4. 研究成果

HapMap 由来ヒトリンパ球細胞に 5-ASA および Azathioprine にて刺激した際に 2 倍以上の EAI を検出できたプローブ数は全部で 7803 個であった。このうち、3 細胞株以上で共通して有意な EAI を検出できたのは 78 であった。そのうち上位 4 つのプローブについて患者血液から同定した genotype とそれぞれの患者の血中 6-TGN 値との相関を検討した結果、細胞表面のトランスポーターの一つである SLC38A9 の遺伝子多型の genotype が、Azathioprine 投与時の血中 6-TGN 濃度と非常に強い相関を示すことが分かった (Figure 2)。

ヒトリンパ球細胞に 5-ASA と

Azathioprine の刺激によって誘導される SNP を有する遺伝子の EAI の測定が可能であった。本検討では候補遺伝子として *SLC38A9* が同定され、その genotyping は患者の血中 6-TGN 値と強い相関を示した。今後、さらなる症例の蓄積とともに、*SLC38A9* の機能解析をおこなうことで、*SLC38A9* の Azathioprine 投与時の血中濃度予測ジェネティックバイオマーカーとしての有用性、および炎症性腸疾患患者における病態への関与が明らかになると考えられる。

Figure 2



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)

Uchiyama K, Takagi T, Iwamoto Y, Kondo N, Okayama T, Yoshida N, Kamada K, Katada K, Handa O, Ishikawa T, Yasuda H, Sakagami J, Konishi H, Yagi N, Naito Y, Itoh Y. New genetic biomarkers predicting azathioprine blood concentrations in combination therapy with 5-aminosalicylic acid. PLoS One. 2014 Apr 24;9(4):e95080

[学会発表](計2件)

内山和彦、高木智久、堅田和弘、鎌田和浩、半田 修、保田宏明、阪上順一、小西英幸、八木 信明、内藤裕二、伊藤 義人
Azathioprine 血中濃度予測バイオマーカーとしての *SLC38A9* 遺伝子多型の有用性に関する解析 第 50 回日本消化器免疫学会総会、東京、2013 年 8 月 1 日

内山和彦、高木智久、内藤裕二、Allele 解析をもとにした *SLC38A9* の遺伝子多型と炎症性腸疾患の治療における azathioprine の薬物代謝に関する検討、鹿児島、第 99 回日本消化器病学会総会、2013 年 3 月 21 日

[図書](計0件)

[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：
出願年月日：
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

内山 和彦 (UCHIYAMA, Kazuhiko)
京都府立医科大学・医学研究科・助教
研究者番号：50298428

(2)研究分担者

内藤 裕二 (NAITO, Yuji)

京都府立医科大学・医学研究科・准教授

研究者番号：00305575

高木 智久 (TAKAGI, Tomohisa)

京都府立医科大学・医学研究科・准教授

研究者番号：70405257