

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 16 日現在

機関番号：32653

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2016

課題番号：25460659

研究課題名(和文)薬物代謝遺伝子解析用アレイを用いた、CPT-11副作用予測因子の探索

研究課題名(英文)Comprehensive analysis of genetic polymorphisms and irinotecan-induced adverse events in Japanese gastrointestinal cancer patients: a DMET microarray profiling study

研究代表者

倉持 英和 (KURAMOCHI, HIDEKAZU)

東京女子医科大学・医学部・准教授

研究者番号：30287362

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：塩酸イリノテカン(CPT-11)は主要な固形癌においてkey drugの一つである。今回我々は、DMETマイクロアレイを用いて末梢血から採取した14例のCPT-11投与患者の遺伝子多型を網羅的に解析しCPT-11による治療の有害事象との関連性を検討した。Grade 4の好中球減少症と遺伝子多型の間には有意な相関を認めなかったが、Grade 2の下痢との間には、検定の多重性を考慮しても1種類の遺伝子多型との有意な相関が認められた。24例の別コホートをを用いた検討でも同遺伝子と下痢の発現との間に関連性が示唆された。UGT1A1*6多型と好中球減少の怠惰にも有意な関連を認めた。

研究成果の概要(英文)：Irinotecan (CPT-11) is one of the key drug in major solid tumors. We investigated the relationship between gene polymorphisms and adverse events (especially neutropenia and diarrhea) in patients who received CPT-11, using DMET microarray technique. No gene polymorphism was found which significantly related to Grade 4 neutropenia. However, there was one SNP which was significantly related to Grade 2 or more diarrhea. We confirmed this relationship among different cohort of 24 patients, and found similar relationship. We also verified the relationship between UGT1A1 *6 polymorphism, which was already known as a CPT-11 biomarker, and neutropenia.

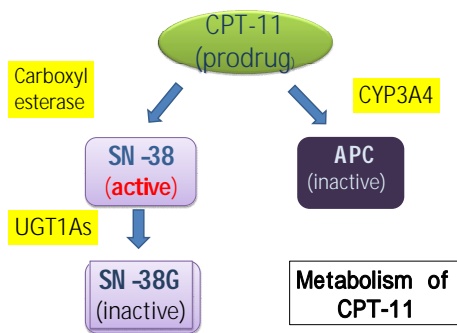
研究分野：癌化学療法におけるバイオマーカー探索

キーワード：遺伝子多型 CPT-11 バイオマーカー DMET

1. 研究開始当初の背景

塩酸イリノテカン (CPT-11) は DNA 修復酵素であるトポイソメラーゼ 1 の阻害剤であり、現在全世界的に胃癌、大腸癌、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、卵巣癌など様々な癌腫で広く用いられている薬剤である。特に大腸癌においては一次治療としての有用性が証明されており、胃癌においても二次治療での生命予後延長効果が証明され、これらの癌腫の Key drug の一つとなっている。CPT-11 の主な用量制限毒性としては、遅発性の下痢と好中球減少症が挙げられるが、特に生命にかかわるような Grade3 の下痢が好発することが知られている⁽¹⁾。

CPT-11 は体内で活性体である SN-38 に変換され、この活性体が抗腫瘍効果と毒性を呈すると考えられている。SN-38 は体内でグルクロン酸抱合を受け、SN-38G に変換されることで不活性化されるが、この変換を触媒するのがウリジン二リン酸グルクロノシルトランスフェラーゼ (UGT) A1 (UGT1A1) である⁽²⁾。



この UGT1A1 遺伝子には 30 種類以上の多型が存在することが知られており、その中でもプロモーター領域の多型である *28 多型と *6 多型は UGT1A1 の酵素活性の低下の原因となることが *in vitro* の研究で検証されている⁽³⁾。これらの多型と CPT-11 の毒性の発現との相関は多数報告されており^(4, 5)、現在この UGT1A1 遺伝子多型 *6 及び *28 の測定は保険収載され実臨床の現場で副作用の予測因子として用いられている。このように一定の有用性が証明されている UGT1A1 多型ではあるが、その一方でこれらの多型と副作用の相関に関しては関連がなかったとする報告も多く、実際にはこの遺伝子多型の結果のみで副作用が完全に予測できるわけではない。これはつまり UGT1A1 *6, *28 多型以外にもまだ探索されていない他のバイオマーカーが存在する可能性を示唆していると考えられる。

2. 研究の目的

本研究の目的は、1900 個を超える遺伝子マーカーを網羅的に解析可能な DMET TM plus マイクロアレイを用いて、CPT-11 の副作用、特に好中球減少と下痢の発現予測マーカーを

同定することにある。これをもとに患者別に投与量を設定することにより、重篤な副作用を未然に防ぎより効率的な治療が行えると考えられる。

3. 研究の方法

DMET TM Plus (以下 DMET) は Affymetrix 社から発売されている薬物代謝・トランスポーター遺伝子解析用マイクロアレイであり、網羅的に 225 遺伝子上の 1,936 個の薬物代謝マーカーの解析が可能である⁽⁶⁻⁸⁾。これは FDA によって評価されているすべての遺伝子マーカーを搭載しており、PharmaADME グループによって定義されている現在の ADME Core マーカーの 90% 以上をカバーしている。特長として、一般的な SNP のみならず、挿入、欠損、トリアレル、コピー数など様々な遺伝子変異をカバーしており、従来の SNP アレイで測定不可能であった遺伝子マーカーも検討対象に加えることができ、これら多数のマーカーを一度に網羅的に解析することができるため、未知のバイオマーカーを探索するのに適している。

今回我々は CPT-11 を投与された胃癌、大腸癌患者の患者から採取した末梢血より DNA を抽出して、DMET を用いて遺伝子多型の測定を行った。また患者の副作用情報を検討し、CPT-11 の毒性の発現と関連する遺伝子多型の抽出を行った。毒性発現との関連性が示唆された遺伝子多型に関しては、別コホートの患者群を用いて検証を行った。

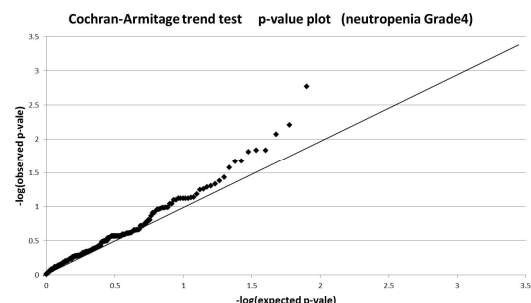
4. 研究成果

1) 患者背景

東京女子医科大学病院で CPT-11 を用いた化学療法を施行された 14 例の患者を対象とした。患者の内訳は胃癌 5 例、大腸癌 9 例、男性 8 例、女性 6 例、年齢は中央値 69 歳 (52-80 歳)、CPT-11 投与量は中央値 150mg/m²、投与回数の中央値は 10 回であった。

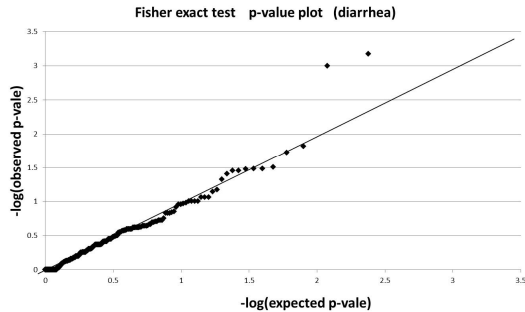
2) 好中球減少と遺伝子多型

G4 の好中球減少は 2 例 (14.3%) に出現した。連鎖不平衡係数 D が -0.8 以下、又は 0.8 以上の時、他の SNPs と連鎖しているとみなした。その結果、239 個の多型を解析の対象とした。G4 の好中球減少との関連では 11 個の多型が有意な関連 (P<0.05) を示したが、検定の多重性を考慮すると有意なものなかった。



3) 下痢と遺伝子多型

Grade2 の下痢は 4 例(28.6%)に出現した。下痢の Grade との相関では、12 個の多型で有意な関連を認め、共変量を考慮した検定の結果、多重性を考慮しても CYP2F1_96G>A(P32P) に有意な関連 (p<0.00001) を認めた。



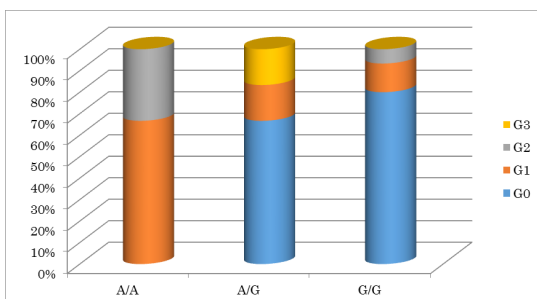
4) UGT1A1 遺伝子多型と有害事象の関連

既知の副作用関連マーカーである UGT1A1*6, *28 と副作用の解析では、Grade4 の好中球減少と*6 多型との間に有意な関連 (p=0.044) を認めたが、*6 と下痢、*28 と下痢、好中球減少との間には有意な関連を認めなかった。

UGT1A1*6	A/A	G/A	G/G	Fisher exact test
Neutropenia Grade4	1	1	0	P = 0.044
Neutropenia Grade 0-3	0	3	9	

5) CYP2F1_96G>A(P32P) と下痢との関連性の検証

DMET 解析において下痢との関連性が示唆された CYP2F1_96G>A(P32P) の SNP に関して、別コホートの患者群を用いて検証を行った。FOLFIRI 療法 (CPT-11 を含む) を施行された 23 名の大腸癌患者に対して Real-time PCR を用いて SNP typing を行い遺伝子型を同定した。Genotype は G/G が 15 例、A/G が 6 例、A/A が 3 例であった。下痢の出現との間の関連性を検討すると、下図のように、A のアレルと下痢との間に関連性が示唆された。特に A/A 型では 3 例すべての患者に Grade 1 の下痢の出現が認められた。



下痢の Grade と CYP2F1 Genotype

	A/A	A/G	G/G	total
G0		0	4	12
G1		2	1	2
G2		1	0	1
G3		0	1	0

引用文献

- 1) Kawahara M. Irinotecan in the treatment of small cell lung cancer: a review of patient safety considerations. *Expert Opin Drug Saf* 2006;5:303-12.
- 2) Marsh S, Hoskins JM. Irinotecan pharmacogenomics. *Pharmacogenomics* 2010;11(7):1003-10
- 3) Aiello M, Vella N, Cannavò C, Scalisi A, Spandidos DA, Toffoli G, Buonadonna A, Libra M, Stivala F. Role of genetic polymorphisms and mutations in colorectal cancer therapy (Review). *Mol Med Report*. 2011 Mar-Apr;4(2):203-8.
- 4) Hu ZY, Yu Q, Zhao YS. Dose-dependent association between UGT1A1*28 polymorphism and irinotecan-induced diarrhoea: a meta-analysis. *Eur J Cancer*. 2010 Jul;46(10):1856-65.
- 5) Ando Y, Saka H, Ando M, Sawa T, Muro K, Ueoka H, Yokoyama A, Saitoh S, Shimokata K, Hasegawa Y. Polymorphisms of UDP-glucuronosyltransferase gene and irinotecan toxicity: a pharmacogenetic analysis. *Cancer Res*. 2000 Dec 15;60(24):6921-6.
- 6) Burmester J. K., et al. DMET microarray technology for pharmacogenomics-based personalized medicine. *Methods in Molecular Biology* 2010 :632:99-124
- 7) Sissung T. M., et al. Clinical pharmacology and pharmacogenetics in a genomics era: the DMET platform. *Pharmacogenomics* 2010: **11**(1):89-103

- 8) Deeken J. F. The Affymetrix DMET platform and pharmacogenetics in drug development. Current Opinion in Molecular Therapeutics 2009;11(3):260-268

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 2 件)

2016年4月16日 American Association for Cancer Research Annual Meeting 2016
Phase II study of bevacizumab and irinotecan as second-line therapy for the patients with metastatic colorectal cancer previously treated with fluoropyrimidine, oxaliplatin and bevacizumab

Go Nakajima, Hidekazu Kuramochi, Kazuhiko Hayashi et al. USA (New Orleans)

2016年7月28日 日本臨床腫瘍学会学術集会

フッ化ピリミジン、オキサリプラチン、ベバシズマブ既治療進行大腸癌に対するベバシズマブ+イリノテカン療法の多施設第二相試験

板橋道朗、倉持英和、中島豪、林和彦他
神戸国際会議場(兵庫県神戸市)

〔図書〕(計 0 件)

6. 研究組織

(1)研究代表者

倉持 英和 (KURAMOCHI, Hidekazu)
東京女子医科大学・医学部・准教授
研究者番号：30287362

(2)研究分担者

中島 豪 (NAKAJIMA, Go)
東京女子医科大学・医学部・助教
研究者番号：80338996

林 和彦 (HAYASHI, Kazuhiko)
東京女子医科大学・医学部・教授
研究者番号：10208613

(3)連携研究者

菅野 仁 (KANNO, Hitoshi)
東京女子医科大学・医学部・教授
研究者番号：70221207