

免疫抑制剤の pharmacogenomics

谷口 敦夫*・浦野 和子*・田中 栄一*
 北村 豊**・齋藤 仁之**・赤真 秀人***
 山中 寿*・齋藤 輝信*・鎌谷 直之***

Jpn. J. Clin. Immun., 25 (1) : 105~109, 2002.

Pharmacogenomics of the immunosuppressive agents

Atsuo Taniguchi*, Wako Urano*, Eiichi Tanaka*,
 Yutaka Kitamura**, Masayuki Saito**, Hideto Akama***,
 Hishashi Yamanak*, Terunobu Saito*, Naoyuki Kamatani***

**Institute of Rheumatology, Tokyo Women's medical University,*

***Division of Statistical Genetics*

抗リウマチ薬は慢性関節リウマチ (rheumatoid arthritis, RA) の薬物療法の中心である。一般に、抗リウマチ薬に共通する特徴として、効果に個体差が大きいこと (responder, non-responder の存在)、有効性を示す薬物投与量に個体差があること、副作用の発現頻度は軽度のものまで含めると比較的高いが、全く副作用を発現しない症例もあることなどがあげられる。これらの個体差がどのような原因に由来するかについては明らかではないが、我々は薬物代謝関連酵素の多型がこれらの個体差に及ぼす影響について検討している。本稿では RA 治療におけるメソトレキサート (methotrexate, MTX) の pharmacogenomics について、私共の研究結果¹⁾を紹介し、pharmacogenomics の RA 治療における意義について言及したい。

I. MTX と methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) 遺伝子多型

MTX は今日では最も多く用いられる抗リウマチ薬である。MTX の主な作用点は dihydrofolate reductase の阻害である。MTX が発揮する抗リウマチ作用の機序については確定されていないが、葉酸の投与により効果が減弱したり、副作用の発現が減少することより、抗リウマチ作用においても葉酸代謝拮抗作用が重要であると考えられている。

一方、MTHFR は 5,10-methylenetetrahydrofolate から 5-methyltetrahydrofolate の生成に作用し、葉酸代謝経路における主要な酵素である。MTHFR 遺伝子には exon 4 の C 677 T 多型, exon 11 の A 1298 C 多型があり、いずれも変異により酵素活性が低下し、特に 677 T アレルでは血清葉酸濃度が減少することが報告されている²⁻⁴⁾。したがって、これらの遺伝子多型は MTX の臨床的有用性に何らかの影響を与えるのではないかと考えられる。そこで、我々は RA 患者を対象に MTHFR 遺伝子多型が MTX の効果・副作用に与える影響を検討した。

*東京女子医科大学附属膠原病リウマチ痛風センター

**同 遺伝統計部門

II. 方 法

1998年3月から6月の間に当センターを受診したRA患者からMTX服用歴のある患者106例を無作為に抽出した。インフォームドコンセントを得た後、患

表 1 対象患者

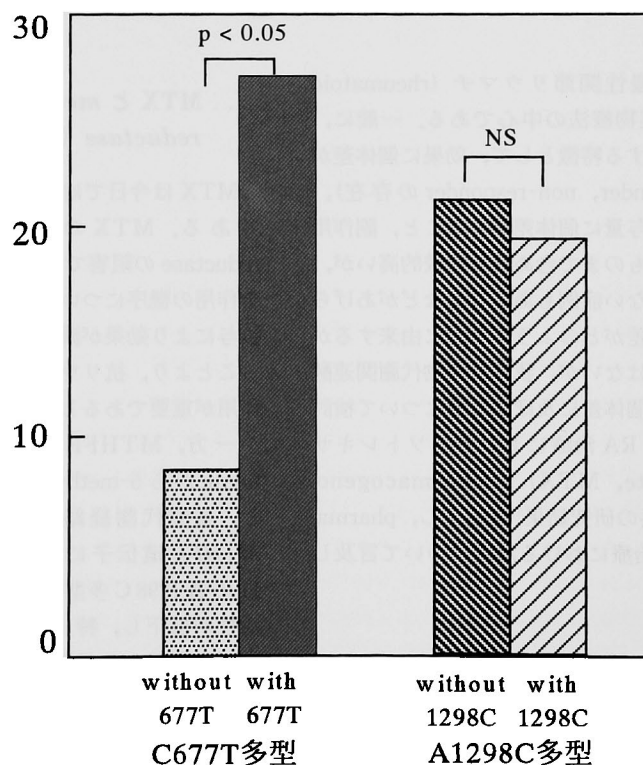
対象患者数	106
平均年齢 (歳)	56.7±10.2
女性症例数 (%)	93 (87.8%)
平均罹病期間 (年)	8.2±5.8
平均観察期間 (年)	1.5±0.7
リウマトイド因子陽性症例数 (%)	86 (81.2%)
圧痛関節数	5.3±5.4
腫脹関節数	6.0±6.3
血沈値 (mm/hr)	58.2±20.9
C-reactive protein (mg/100 ml)	4.6±3.5
副腎皮質ホルモン薬投与症例数 (%)	63 (59.4%)
過去に使用した抗リウマチ薬	2.5±1.3
葉酸投与症例数	2

者末梢血からゲノムDNAを採取し、*MTHFR* 遺伝子型をすでに報告されている方法を用いてPCR-RFLPで検討した。すなわち、C 677 T 多型についてはFrosstらによる方法²⁾、A 1298 C 多型についてはWeisbergらの方法⁴⁾に従った。

対象患者において、MTXは2.5 mg/週～7.5 mg/週で開始され、臨床効果に応じて増量された。MTXの有効性はMTX 5 mg/週で開始された症例における投与前後3カ月間の圧痛関節数、腫脹関節数、CRP、赤沈値の比較で検討した。また、MTX投与量の増加症例数も検討した。これらの有効性の指標および調査期間中に生じた副作用と*MTHFR* 遺伝子型の関係をretrospectiveに検討した。

統計解析にはMann-Whitney's U test, Fisherの直接確率法、 χ^2 検定, Spearman's rank correlation-testを用い、 $p < 0.05$ をもって有意差ありとした。ハプロタイプの推定にはEMアルゴリズムに基づいて作成されたプログラムであるLDSUPPORT (北村

症例数 (%)



NS: not significant

図 1 *MTHFR* 遺伝子型と MTX の副作用

症例数 (%)

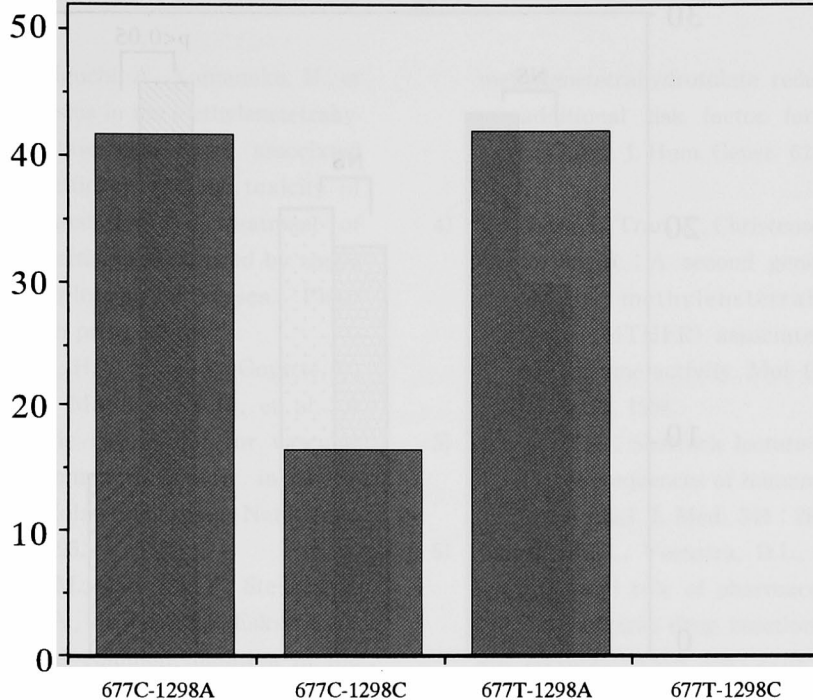


図 2 MTHFR 遺伝子ハプロタイプの頻度

ら、投稿中)を用いた¹⁾。

III. 結 果

対象 RA 患者 106 例の MTX 開始時の平均罹病期間は 8.2 年、圧痛関節数は 5 個、腫脹関節数 6 個、赤沈値 58 mm/hr、CRP 4.6 mg/dl であり、比較的高い疾患活動性を有する症例群であった (表 1)。平均観察期間は 1.5 年であり、投与開始時の MTX 量は 5 mg/週の症例が 83 例と最も多いが、観察期間終了時には半数以上が 7.5 mg/週以上に増量されていた。

1. 遺伝子型との関連

観察期間中には 19.8% の症例で副作用が認められた。副作用の発症を MTHFR 遺伝子型別に検討すると、C 677 T 多型の 677 T アレルを有する症例で副作用の発症が有意に高頻度であった ($p < 0.05$) (図 1)。しかし、A 1298 C 多型の間には有意な関係は認められなかった。有効性との関連では、MTX 5 mg/週で投与開始した症例で、投与開始時と 3 カ月後の臨床指標を検討したところ、A 1298 C 多型の C アレルを

有する症例では血沈値、CRP 値が有意に改善していた ($p < 0.05$)。また、MTX 5 mg/週以下で投与開始した症例において、最終評価時の MTX 投与量が 5 mg/週以下であった症例数は A 1298 C 多型の C アレルを有する症例で有意に多かった ($p < 0.05$)。一方、C 677 T 多型では有効性との関連は認められなかった¹⁾。

2. ハプロタイプとの関連

C 677 T 多型と A 1298 C 多型とは連鎖不平衡にあるので、個々の患者におけるハプロタイプと臨床的有用性の関連を検討した。LDSUPPORT (北村ら、投稿中)により推定されたハプロタイプ頻度を表 2 に示すが、このなかで酵素活性の低下に関連しているアレルである 677 T と 1298 C のハプロタイプが存在しないことは興味深い。副作用との関連では 677 T-1298 A ハプロタイプが有意に高頻度であり ($p < 0.05$) (図 2)、677 C-1298 C ハプロタイプは MTX の有効性に関連していることが示された¹⁾。

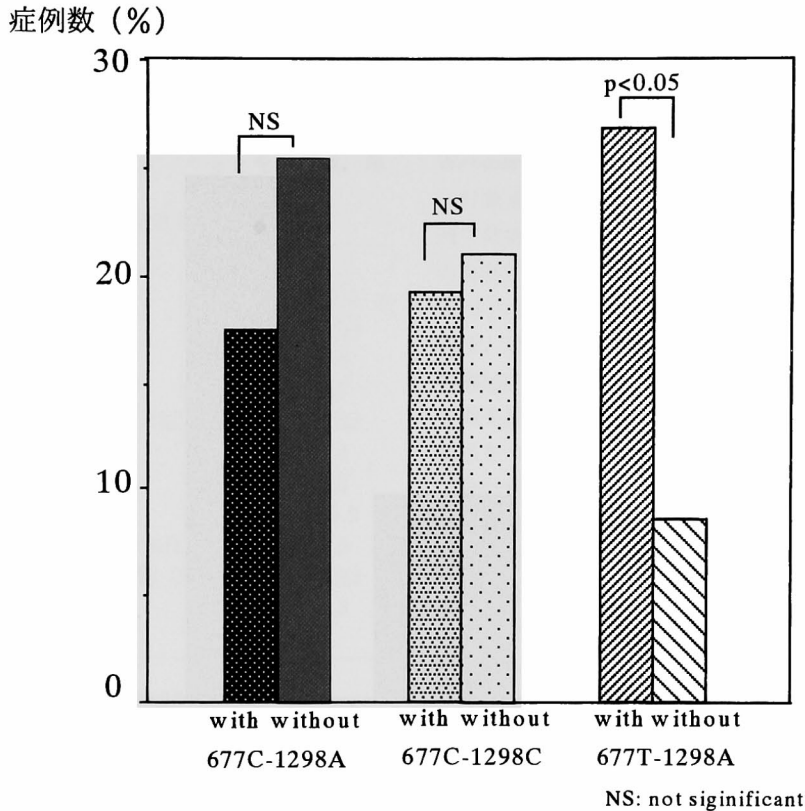


図3 *MTHFR* 遺伝子ハプロタイプと MTX の副作用

IV. 考 察

ヒトゲノム計画の進行とともに新しい分野が注目を集めるようになった。ヒトゲノム情報から得られた遺伝子多型 (SNP) をもとに薬物療法の効果や副作用を予測しようとする pharmacogenomics⁵⁾ もその一つであり、ゲノム情報に基づいて個々の患者の治療方針を立てるオーダーメイド医療を行うことがにわかには現実味を帯びてきた。Pharmacogenomics において対象になる多型を持つ遺伝子は主に薬物代謝に関係するものであり、数百以上あるとされている。実際、副作用の原因として頻繁に報告されている薬物の約 60% が、一つ以上の single nucleotide polymorphism (SNP) をもつ薬物代謝酵素で代謝され、これに対し無作為に抽出した薬物では 22% であった ($p=0.006$) と報告されており、副作用の軽減に pharmacogenomics の応用が期待される⁶⁾。

今回の我々の検討では、RA 治療に用いられる

MTX の効果、副作用の予測に *MTHFR* 遺伝子多型、およびそのハプロタイプが有用である可能性が示された。最近、我々は MTX とともに RA 治療によく使われるスルファサラジン (sulfasalazine, SSZ) の代謝酵素である *N-acetyltransferase-2* (*NAT-2*) 遺伝子多型が SSZ の副作用発現を予測する因子として重要であることを見いだしている (田中ら、投稿中)。以上の結果は、RA の薬物治療においてもオーダーメイド医療を行うことが可能であることを示唆している。

Pharmacogenomics に基づくオーダーメイド医療により、RA 薬物治療の効率を高めることができると考えられるが、そのためには薬効に関する SNP 情報と臨床情報を統合し、その結果を患者個人に還元する遺伝統計学的手法が重要であると考えられる。

文 献

- 1) Urano, W., Taniguchi, A., Yamanaka, H., et al. : Polymorphisms in the methylenetetrahydrofolate reductase gene were associated with both the efficacy and the toxicity of methotrexate used for the treatment of rheumatoid arthritis, as evidenced by single locus and haplotype analyses. Pharmacogenomics in press.
 - 2) Frosst, P., Blom, H.J., Milos, R., Goyette, P., Sheppard, C.A., Matthews, R.G., et al. : A candidate genetic risk factor for vascular disease : a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. Nat Genet. 10 : 111~113, 1995.
 - 3) van der Put, N.M., Gabreels, F., Stevens, E. M., Smeitink, J.A., Trijbels, F.J., Eskes, T.K., et al. : A second common mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene : an additional risk factor for neural-tube defects? Am. J. Hum. Genet. 62 : 1044~1051, 1998.
 - 4) Weisberg, I., Tran, P., Christensen, B., Sibani, S., Rozen, R. : A second genetic polymorphism in methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) associated with decreased enzyme activity. Mol. Genet. Metab. 64 : 169~172, 1998.
 - 5) Collins, F.S. : Shattuck lecture-Medical and societal consequences of human genome project. New Engl. J. Med. 341 : 28~37, 1999.
 - 6) Phillips, K.A., Veenstra, D.L., Oren, E., et al. : Potential role of pharmacogenomics in reducing adverse drug reactions. A systematic review. JAMA 286 : 2270~2279, 2001.
-