

シンポジウム1 ● PGx の進歩

UGT1A1 遺伝子検査キットの開発

積水メディカル株式会社

研究開発統括部つくば研究所¹⁾ 検査薬事業部マーケティング部²⁾

森 篤雄¹⁾ 小谷 一夫²⁾

はじめに

イリノテカン塩酸塩水和物（以下イリノテカン）はカンプトテシンの誘導体で、日本で開発された抗がん剤である。現在世界中で高い評価を受けており、とくに欧米では大腸がんの化学療法においては不可欠な薬剤となっている。イリノテカンは DNA の複製に関与するトポイソメラーゼ I の作用を抑制することにより強い抗腫瘍作用を示し、「切れ味がシャープ」という言葉で形容されるほどよく効く。その一方で、白血球減少や下痢などの重篤な副作用を引き起こすことがあり、ときとして致命的な経過をたどることが問題視されてきた。イリノテカンの代謝(図1)には、UDP グルクロン酸転移酵素 (uridine diphosphate glucuronosyltransferase, UGT) の分子種の一つである UGT1A1 が関与しており、UGT の活性低下の原因となっている遺伝子多型をもつ患者においては重篤副作用の発現率が高いことが明らかになってきた^{1,2)}。そこでわれわれは、イリノテカンの代謝と重篤副作用発現に深く関与するとされている UGT1A1*28 (*28)、UGT1A1*6 (*6) および UGT1A1*27 (*27) を判定するキットを開発し体外診断用医薬品として申請した。その後に承認されたキット「インベーター® UGT1A1 アッセイ」は、*27 が除かれ*28 と*6 を判定するものとなった。

1 UGT1A1 遺伝子多型

UGT1A1 遺伝子多型のうち、*28 はプロモーター領域にある通常 6 回の TA 繰り返し配列 (TATA box) が 2 塩基 (TA) 挿入により 7 回の繰り返しとなる多型であり、酵素蛋白質の発現量が30-80%減少する^{3,4)}(図2)。*6 はエキソン 1 に存在する遺伝子多型であり (211G>A)、酵素蛋白質のアミノ酸置換 (Gly71Arg) が生じ、酵素蛋白質あたりの UGT 活性が約 50%低下する^{5,6)}(図2)。

*28 は出現頻度に差はあるがアフリカ人・アジア人・コーカシアンなど多くの民族に分布している。一方*6 は、日本人を含めた東アジア人にのみ存在することがわかっている⁷⁾(図2)。また*28 と*6 は異なるアレル上に存在するためにそれぞれが別個に UGT 活性の低下に関与している。

2 遺伝子多型検出法

「インベーター® UGT1A1 アッセイ」(図3) は全血から抽出したゲノム DNA を試料として、インベーター法により UGT1A1 遺伝子多型*28, *6 を検出するキットである。インベーター法は、DNA の特殊な三重鎖構造を特異的に認識して切断するエンドヌクレアーゼの一種であるクリベースの性質を利用した遺伝子多型の検出方法で、米国 Third Wave Technologies (現 Hologic) 社が開発した方法である。試薬構成は、ワイルド型と遺伝子多型それぞれの標的

Development of Diagnostic Kit for UGT1A1 Gene

Atsuo Mori : Sekisui Medical Co., Ltd., Tsukuba Research Institute, Research & Development Division ; Kazuo Kotani : Sekisui Medical Co., Ltd., Marketing Department, Diagnostic Reagents Division

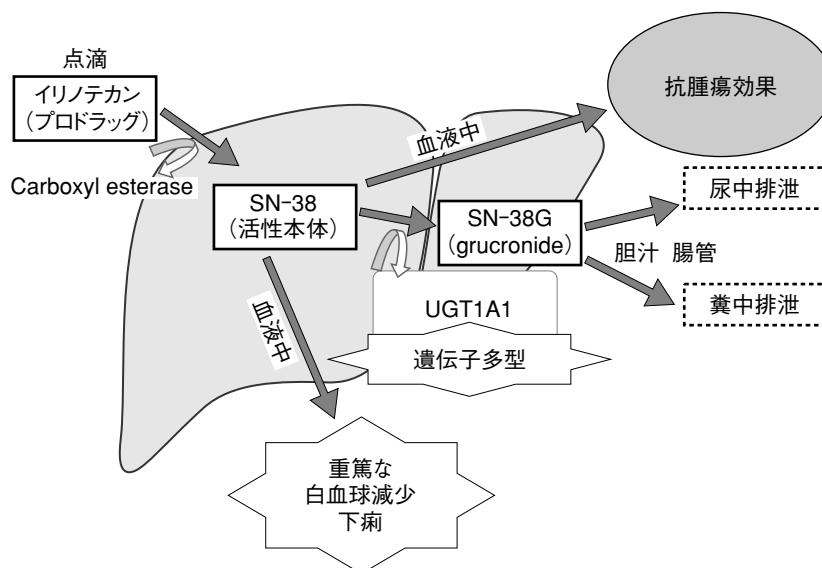


図 1 イリノテカンの代謝経路と副作用発現

Polymorphisms	Area	Nucleotide change	Amino acid change	Reduction of UGT1A1 expression
UGT1A1*28	Promoter	(TA) ₆ →(TA) ₇	—	30-80%
UGT1A1*6	Exon 1	211G→A	Gly71Arg	50%

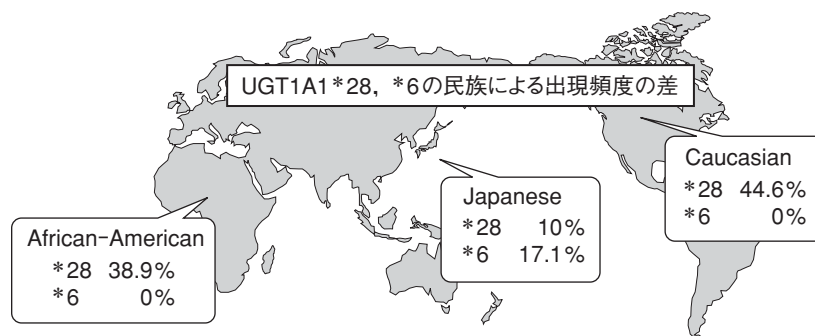


図 2 イリノテカンの副作用に関与する UGT1A1 遺伝子多型

塩基を特異的に認識するプローブ類と、それぞれの標的塩基に依存した 2 種類の蛍光シグナルを発するように設計されたプローブ類が入った混液と、クリベースが入った酵素液の 2 種類からなっている。測定試料となるゲノム DNA がプローブ混液・酵素液と混ざり、63°C で反応した後に発する 2 種類の蛍光シグナルを測定し、それらの値の比を本アッセイ用の公式を使ってコンピューターで計算することにより、遺伝子型（ワイルド型、ヘテロ接合体、ホモ接合体）の判定を行う。本品は*6 のような SNP だ

けでなく独自の工夫により*28 のような繰り返し配列の検出も可能である。本法は、遺伝子増幅反応を必要としないホモジニアスな等温反応であるため、簡便かつ正確性が高いという特長をもっている。

3 UGT1A1 遺伝子多型を判定する意義

UGT 活性の低下は塩酸イリノテカンの重篤な副作用、とくに好中球減少の発現率を高くすることが知られている。UGT1A1 遺伝子多型の検査結果はそれのみで副作用の発現リスクがすべて判定されるも



分類	体外診断用医薬品 (IVD)
製品名	インバーダー® UGT1A1 アッセイ
使用目的	全血より抽出したゲノム DNA 中の UDP グルクロン酸転移酵素遺伝子多型 UGT1A1*28, UGT1A1*6 の判定。
臨床的意義	UGT1A1 の遺伝子多型 (UGT1A1*28, UGT1A1*6 遺伝子多型) を判定することにより、イリノテカンの重篤な副作用発現の可能性を予測し、安全で効率的な抗がん剤治療を補助する。
原理および操作法	2 種の蛍光を用いるインバーダー® 法により、それぞれの遺伝子のワイルドタイプ、ヘテロ接合、ホモ接合の同定を行う。

図 3 インバーダー® UGT1A1 アッセイキットのプロフィール (2008 年 6 月医薬品承認)

遺伝子多型		UGT1A1*28		
		ワイルド型 (TA6/TA6)	ヘテロ接合体 (TA6/TA7)	ホモ接合体 (TA7/TA7)
UGT1A1*6	ワイルド型 (G/G)	—/—	+/—	+/+ (*28 ホモ)
	ヘテロ接合体 (G/A)	+/—	+/+ (複合ヘテロ)	—
	ホモ接合体 (A/A)	+/+ (*6 ホモ)	—	—

図 4 *28 と *6 の組み合わせによる重篤な副作用発現のハイリスク群の判定 (積水メディカル・HP より引用)

のではなく、これまで用いられてきた副作用発現予測のためのデータに、さらなる重要な臨床情報として付加されるべきものといえる。したがって本品の添付文書によると、UGT1A1 遺伝子多型を判定する意義とは、「*28 と *6 を判定することにより UGT 活性が減少している可能性をもつ患者の識別を補助することで、塩酸イリノテカンの重篤な副作用を発現する可能性の高い患者を投与前にあらかじめ予測し、投与量を調節するなどの適切な治療法を選択することで、安全で効率的な抗がん剤治療を可能にする」こととなっている。

イリノテカンの添付文書にもあるように、具体的

には*28 と *6 について、どちらか一方をホモ接合体でもつ、あるいは両方をヘテロ接合体つまり複合ヘテロ接合体でもつ場合は、代謝の遅延により重篤な副作用、とくに好中球減少を認めるリスクが高いと考えられる²⁾(図 4)。

4 本検査の運用

本検査は遺伝学的検査あるいは生殖細胞系列遺伝子検査に相当するため、検査の運用にあたり「遺伝学的検査に関するガイドライン」(遺伝医学関連 10 学会, 2003 年)や、「ファーマコゲノミクス検査の運用指針」(臨床検査医学会他 2 学会, 2009 年)な

どの指針を参照する必要がある。本指針によると、検査を実施する場合には、事前に被験者に対して文書を用いた説明を行い、同意を得る必要があると示されている。そこで弊社では、本検査に関するインフォームド・コンセント資料(案)をホームページで公開し、各施設における検査の運用にご活用願いたいと考えている。

ま と め

本検査により、イリノテカンの副作用発現の可能性を科学的に評価したうえで適正な治療法を選択することが可能になった。このような薬剤の副作用予測だけでなく効果予測の検査も含めた個別化医療が、今後ますます発展し普及することを期待したい。

文 献

- 1) Ando Y, Saka H, Ando M, et al. Polymorphisms of UDP-glucuronosyltransferase gene and irinotecan toxicity: a pharmacogenetic analysis. *Cancer Research* 2000 ; 60 (24) : 6921-6.
- 2) Minami H, Sai K, Saeki M, et al. Irinotecan pharmacokinetics/pharmacodynamics and UGT1A genetic polymorphisms in Japanese: roles of UGT1A1*6 and *28. *Pharmacogenetics and Genomics* 2007 ; 17 (7) : 497-504.
- 3) Bosma PJ, Chowdhury JR, Bakker C, et al. The genetic basis of the reduced expression of bilirubin UDP-glucuronosyltransferase 1 in Gilbert's syndrome. *N Eng J Med* 1995 ; 333 (18) : 1171-5.
- 4) Beulter E, Gelbart T, Demina A. Racial variability in the UDP-glucuronosyltransferase 1 (UGT1A1) promoter: a balanced polymorphism for regulation of bilirubin metabolism? *Proc Natl Acad Sci USA* 1998 ; 95 (14) : 8170-4.
- 5) Gagne JF, Montminy V, Belanger P, et al. Common Human UGT1A polymorphisms and the altered metabolism of irinotecan active metabolite 7-ethyl-10-hydrooxycamptothecin (SN-38). *Mol Pharmacol* 2002 ; 62 (3) : 608-17.
- 6) Jinno H, Tanaka-Kagawa T, Hanioka N, et al. Glucuronidation of 7-ethyl-10-hydroxycamptothecin (SN-38), an active metabolite of irinotecan (CPT-11), by human UGT1A1 variants, G71R, P229Q and Y486D. *Drug Metab Dispos* 2002 ; 31 (1) : 108-13.
- 7) Kaniwa N, Kuroze K, Jinno H, et al. Racial variability in haplotype frequencies of UGT1A1 and glucuronidation activity of a novel single nucleotide polymorphism 686C>T (P229L) found in an African-American. *Drug Metab Dispos* 2005 ; 33 (3) : 458-65.