

氏 名	伴 宏 充
学 位 の 種 類	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	博 士 第 6 2 3 号
学 位 授 与 の 要 件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
学 位 授 与 年 月 日	平 成 2 2 年 9 月 8 日
学 位 論 文 題 目	The multidrug-resistance protein 4 polymorphism is a new factor accounting for thiopurine sensitivity in Japanese patients with inflammatory bowel disease (MRP4 多型は日本人炎症性腸疾患患者におけるチオプリン高感受性の新しい因子である)
審 査 委 員	主 査 教 授 清 水 猛 史 副 査 教 授 後 藤 敏 副 査 教 授 犬 伏 敏 郎

論文内容要旨

※整理番号	628	(ふりがな) 氏名	ばん ひろみつ 伴 宏充
学位論文題目	<p>The multidrug-resistance protein 4 polymorphism is a new factor accounting for thiopurine sensitivity in Japanese patients with inflammatory bowel disease</p> <p>(MRP4 多型は日本人炎症性腸疾患患者におけるチオプリン高感受性の新しい因子である)</p>		
<p><目的></p> <p>ステロイド依存性の炎症性腸疾患 (inflammatory bowel disease, IBD : 潰瘍性大腸炎、クローン病) の緩解維持目的において、2006 年に免疫調節剤 (アザチオプリン (AZA) /6-メルカプトプリン (6-MP)) の保険適応が認められ、その投与機会が増えている。一方で白血球減少や肝機能障害などの副作用が 15-30%の患者に起こると報告されており、また日本人ではこの薬剤に対する感受性が高いことから、欧米人に比べて少量の投与が推奨されている (日本人 0.6-1.2mg/kg, 欧米人 2-3mg/kg)。当院では、以前より投与量の指標として AZA/6-MP の最終代謝産物であり、プリン拮抗剤として DNA 合成を阻害する 6-thioguanine nucleotide (6-TGN) 濃度を測定しているが、ほとんどの症例で推奨されている投与量で至適濃度が得られ (基準値 250-450 pmol/8×10⁸RBC) また 6-TGN 濃度と白血球数が逆相関することも報告している。</p> <p>現在までに、AZA/6-MP の代謝酵素である thiopurine s-methyltransferase (TPMT) や inosine triphosphate pyrophosphatase (ITPase) の遺伝子多型に由来する酵素活性の低下と白血球減少との関連が様々な施設で検討されてきた。しかし日本人では、TPMT 遺伝子多型の頻度は低く数パーセントであり、また、ITPase 遺伝子多型との関連は、メタアナリシスで否定されている。すなわち、日本人におけるチオプリン高感受性や副作用と関連した遺伝的背景因子は特定されていない。</p> <p>一方、細胞膜に存在する薬物トランスポーター multidrug resistance protein 4 (MRP4) は、6-MP や 6-TGN の細胞内から細胞外への能動輸送に係わり、その活性低下は、6-TGN の細胞内への蓄積を増加させる。2008 年に MRP4 の SNP (G2269A; rs3765534) は、MRP4 の細胞膜発現低下を来とし、6-TGN の細胞外への排出異常から細胞内 6-TGN 濃度が上昇し、骨髄抑制をきたすと報告された。さらに、この SNP は日本人の 20%前後に認められるが、欧米人での発現は数%とされる。すなわち、日本人のチオプリン高感受性との関連が示唆されるが、現在までにこの事に関する報告はない。</p>			

- (備考) 1. 論文内容要旨は、研究の目的・方法・結果・考察・結論の順に記載し、2千字程度でタイプ等で印字すること。
2. ※印の欄には記入しないこと。

今回我々は、日本人 IBD 患者における MRP4 遺伝子多型を中心に、TPMT 遺伝子多型、ITPase 遺伝子多型の解析、および白血球数、6-TGN 濃度との関連についての検討し、遺伝子多型とチオプリン感受性との関連について明らかにすることを目的とした。

<方法>

対象患者の末梢血単核球より DNA を採取し、TPMT (G238C, G460A, A719G)、ITPase (C94A, IVS2+A21C) 遺伝子多型は PCR-RFLP 法で、MRP4 (G2269A) は direct sequence 法で解析を行った。また、6-TGN 濃度は HPLC 法で測定した。潰瘍性大腸炎 157 人、クローン病 78 人、健康人 44 人の計 279 人に遺伝子多型の解析を行い、このうち免疫調節剤で加療を行った 130 人に対して白血球数、6-TGN 濃度と遺伝子多型の関連について解析を行った。

<結果>

アリル頻度は MRP4 G2269A 14.7%、TPMT A719G は 0.9%、ITPase C94A は 13.1%であった(その他の多型は認めなかった)。遺伝子多型別の白血球数と 6-TGN 濃度の関連では、MRP4 単独変異群では変異の無い群に比べて白血球数は有意に低値であり ($3.5 \pm 0.22 \times 10^9/L$ vs. $4.3 \pm 0.19 \times 10^9/L$, $P=0.014$)、6-TGN は有意に高値であった ($331.8 \pm 35.5 \text{ pmol}/8 \times 10^8 \text{RBC}$ vs. $299.7 \pm 15.8 \text{ pmol}/8 \times 10^8 \text{RBC}$, $P=0.049$)。また MRP4 および ITPase 重複変異群ではその傾向はなくなった。ITPase 単独変異群では、変異の無い群に比べて、白血球数は高い傾向に、6-TGN は有意に低値であった。

また、遺伝子多型と白血球減少(白血球数 3000 以下)について検討を行うと、MRP4 単独変異は odds 比で 3.30 95%信頼区間が 1.03-10.57、P 値は 0.036 と白血球減少との関連を認めた。

<考察>

MRP4 G2269A は AZA/6-MP に対する薬剤感受性を上昇させ、ITPase C94A は AZA/6-MP に対する薬剤感受性を低下させた。MRP4 と ITPase の重複変異を有する患者では AZA/6-MP に対する薬剤感受性は遺伝子変異の無い患者と同程度であった。以上より日本人のチオプリン高感受性は、MRP4 G2269A と関連している可能性が示唆され、ITPase C94A が、MRP4 G2269A のチオプリン高感受性を低下させている可能性が示唆された。

<結論>

IBD 患者に対する免疫調節剤投与時において、MRP4, ITPase, TPMT 遺伝子多型の検索が薬剤感受性の予測に有用であると考えられた。

学位論文審査の結果の要旨

整理番号	628	氏名	伴 宏充
論文審査委員			
<p>(学位論文審査の結果の要旨) (明朝体 11ポイント、600字以内で作成のこと。)</p> <p>ステロイド依存性の炎症性腸疾患の寛解維持目的において、免疫調節剤(AZA/6-MP)の投与機会が増えているが、日本人ではこの薬剤に対する感受性が高いことから、欧米人に比べて少量の投与が推奨されている。しかし、日本人におけるチオプリン高感受性と関連した遺伝的背景因子は明らかにされていない。</p> <p>2008年に細胞膜に存在する薬物トランスポーターMRP4が、6-MP/6-TGNの細胞内から細胞外への能動輸送に係わり、MRP4 G2269Aにより6-MP/6-TGNの排出低下を起し、6-TGN濃度の上昇から骨髄抑制をきたすと報告された。さらに、このSNPは日本人の20%前後に認められるが、欧米人での発現は数%とされ、日本人のチオプリン高感受性との関連が示唆される。</p> <p>今回、日本人炎症性腸疾患患者におけるMRP4、TPMT、ITPase遺伝子多型の解析、および白血球数、6-TGN濃度との関連についての検討を行い、以下の点を明らかにした。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) MRP4単独変異は変異のない群に比べて白血球数は有意に低値であった 2) ITPase単独変異は変異のない群に比べて白血球数は有意に多く、6-TGN濃度は有意に低値であった 3) MRP4とITPaseの重複変異では変異のない群と比べて白血球数、6-TGN濃度に差がなかった 4) MRP4単独変異と白血球減少は有意な関連を認めたが、ITPase単独変異と白血球減少は関連を認めなかった <p>本論文は日本人におけるアザチオプリン高感受性の遺伝的背景について新しい知見を与えたものであり、最終試験として論文内容に関連した試問を受け、博士(医学)の学位論文に値するものと認められた。</p> <p style="text-align: right;">(総字数 597字)</p> <p style="text-align: right;">(平成 22 年 9 月 1 日)</p>			