

研 究 報 告 書

一般課題：B
(平成28年度)

平成30年4月2日

公益財団法人 がん研究振興財団

理事長 堀 田 知 光 殿

研究施設 東北大学大学院薬学研究科

住 所 〒980-8578
仙台市青葉区荒巻字青葉 6-3

研究者氏名 平塚 真弘



(研究課題)

5-FU 系抗がん剤の副作用を予測する新たな DPYD および DPYS 遺伝子多型の探索

平成29年1月25日付助成金交付のあった標記一般課題：Bについて研究が終了致しましたのでご報告いたします。

平塚 真弘

東北大学大学院薬学研究科・東北大学病院 准教授

研究課題名：5-FU 系抗がん剤の副作用を予測する新たな DPYD および DPYS 遺伝子多型の探索

研究内容

5-フルオロウラシル (5-FU) を代表するフッ化ピリミジン系抗がん剤は、多くのがん種の治療に用いられている。しかし、投与患者の約 10~30%に重篤な副作用が発現するため、治療が中断されるケースや患者が死亡するケースも少なくなく、その原因説明が期待されている。私たちは最近、大腸癌の術後補助療法として 5-FU 系抗がん剤を投与した患者において、重篤副作用を呈した症例の遺伝的な原因を明らかにした (Hiratsuka et al. PLoS One, 2015)。患者の尿中ウラシル/ジヒドロウラシル比が健常者の数千倍に達していることに着目し、5-FU の二次代謝酵素ジヒドロピリミジンナーゼ (DPYS) の遺伝的酵素欠損を疑い、酵素活性が完全に消失する原因となる SNP を 2 カ所同定した。したがって、5-FU の分解を触媒する酵素群の遺伝子多型解析は副作用発現の予測精度を向上させる上で極めて重要な研究となる。本研究では、DPYS だけでなく 5-FU 系抗がん剤を服用している患者の副作用発現と 5-FU の一次代謝酵素ジヒドロピリミジンデヒドロゲナーゼ (DPYD) の遺伝子多型との関連性を明らかにし、これらの遺伝子の SNP 検出が有害事象を回避するためのファーマコゲノミクスマーカーとして有用か否かを検証した。

方法

本研究では、5-FU による副作用が発現した 15 人の患者の血液検体について、DPYD、DPYS の各エクソン領域および miR-27a の n. 40A>G を含む領域を特異的に PCR 増幅し、ダイレクトシーケンスによって塩基配列を解析した。末梢血 7 検体については遠心分離によって得た血漿を用いて、LC-MS/MS により 5-FU、ウラシルおよびこれらの代謝物 (5-フルオロジヒドロウラシル、 α -フルオロ- β -ウレイドプロピオン酸、ジヒドロウラシルおよび β -ウレイドプロピオン酸) の血中濃度を測定した。

結果

1. 遺伝子多型解析

DPYD 遺伝子について、アミノ酸置換を伴うエクソン領域の SNP が 3 種類 (Met166Val, *5, *6)、イントロン領域の SNP が 5 種類同定された。エクソン領域の SNP に関して、*5 および *6 の SNP が同一アレル上に存在する新規バリエーション (*5-*6) が同定された。DPYS 遺伝子について、サイレント SNP が 1 種類、イントロン領域の SNP が 5 種類同定された。アミノ酸置換を伴う SNP は同定されなかった。患者における DHP タンパク質のアミノ酸配列は、全て野生型であった。miR-27a については、7 検体より n. 40A>G が同定された。4 名は、DPYD のエクソン SNP と併せて miR-27a の SNP を有していることが明らかとなった。

2. 血漿中ピリミジン代謝物濃度測定

末梢血 7 検体について、5-FU、ウラシルおよびそれらの代謝物について血漿中濃度を測定した。5-FU および 5-FU 代謝物は全て検出限界以下であった。また、 β -ウレイドプロピオン酸については定量下限以下 (< 0.3 μ M) となった。ジヒドロウラシル (UH2)/ウラシル (U) 比は、DPYD*5-*6 ヘテロ接合体および miR-27a n. 40A>G ホモ接合体の患者において、健常ヒト血漿プールより低値を示し、その他の患者では同程度か高い値を示した。

考察

DPYS についてはアミノ酸置換を伴う SNP は検出されず、今回の患者における 5-FU による副作用発現に DPYS 遺伝子多型が関与している可能性は低いと考えられた。-1T>C に関しては、開始コドンの 1 塩基上流に位置するため、翻訳効率の変化が DHP 発現量に影響する可能性が考えられるが、現時点で -1T>C が DHP 発現に及ぼす影響は不明である。その他のイントロン領域の SNP については、5-FU の副作用発現に対してクリティカルな影響はないと考えられた。

次に、DPYD ではアミノ酸置換を伴う 496A>G、*5、*6 が検出された。*5 および*6 における DPD 酵素活性は野生型と同等であるとの報告がされているが、5-FU による副作用発現との関連の有無については一貫した結果は得られていない。496A>G については、DPWG ガイドラインの分類が inactive であること、*5-*6 については血中 UH₂/U 比が低値であることから、これらの SNP をもつ患者ではウラシル代謝能が低下していることが推測され、5-FU 投与による副作用発現の要因となった可能性が考えられた。

DPD 酵素活性の個人差にはプロモーター領域のメチル化など SNP 以外の要因も存在し、このことは DHP においても同様の可能性がある。今回、DPD、DHP 共に野生型であった患者については、SNP 以外の要因が 5-FU による副作用発現に関与した可能性がある。今回は患者血漿において 5-FU 代謝物を検出できず、5-FU 代謝酵素群の遺伝子多型と 5-FU 体内動態について評価を行うことはできなかった。5-FU 動態を評価するためには、5-FU 投与中の患者、あるいは投与中止直後の患者から採血を行い、血中濃度を測定することが必要であると考えられた。