

# ゲノム医学の現状と将来 - 6 (最終回)

## 遺伝子医学の臨床応用



あべ とおる  
**安倍 達**  
 Toru ABE  
 埼玉医科大学総合医療センター

### 1. RUNK トリオと自己免疫疾患

最近急速に進歩し臨床の場に取り入れられた遺伝子解析の技術は、これまで謎とされていた“遺伝病”の原因を次々に明らかにしてきた。さらにその技術は遺伝素因と環境因子がその発病に関係する多因子性疾患でも病因解明解析の一手段であることも分かった。その結果、私が専門とするリウマチ、膠原病の分野でも新しい発展が見られている。Tokuhiro (Nature Genetics 35: 341, 2003) らは関節リウマチ (RA) の疾患感受性遺伝子として SLC 22A4 の SNP を報告した。SLC 22A4 は造血、免疫系の細胞に特異的に発現するがそれがコラーゲン誘発関節炎の滑膜にも発現することからそれと RA の関連を考えた。SCL 22A4 の SNP が生じた結果 *in vitro* でそれが造血系の転写調節物質である RUNX-1 (cbfa-2) に対する親和性が変わると考えるものである。しかしそれが RA の発症にどのように具体的に関与するかは明らかでない。RUNX-1 は RUNK ファミリーの 1 つであるがそれに属する RUNX-2 (cbfa-1) は骨産生細胞の成熟に必要なものであることを Komori (1997) らが報告し、それをノックアウトすると“骨なし”マウスが生まれることを発見しそのマウスの骨格標本は科学雑誌である Cell の表紙を飾った。そのように RUNK ファミリーはいろいろな病気の発症と関連しており Alarcon-Riquyme (Nature Genetics 35: 299, 2003) はその総説で、RA, SLE, psoriasis を RUNK ファミリーの異常によって発症する自己免疫三疾患と呼んでいる。

### 2. 剤代謝の slow acetylator と副作用発現

以前から抗結核薬であるイソニアジドを代謝する酵素である N-acetyl transferase 2 (NAT 2) は体内

でそれが早くアセチル化される rapid acetylator とゆっくりアセチル化される slow acetylator があることが分かっていた。このことが臨床的にその薬剤に対する効果減弱であるとか、副作用の発現に関係する因子の 1 つとして注目されてきた。その 2 つのフェノタイプを持つ患者は血中や尿中の NAT 2 を測定することによって区別できる。NAT 2 は抗結核薬だけでなく RA の抗リウマチ薬であるサラソスルファピリジン (SASP) の代謝酵素でもある。SASP は関節リウマチに広く使用され、その有用性が証明されているが、その反面この薬剤には重篤な皮疹、中枢神経障害、骨髄障害が起きることがある。そこでアセチレーターフェノタイプを遺伝子解析で決定し、SASP の治療反応性や副作用発現予測をする研究が行われてきた (Deguchi T. et al.: J. Biol Chem 265: 12757, 1990)。このような薬剤の効果や副作用を遺伝子多型の面から検索する試みはポストゲノムプロジェクトの中核をなすものである。

### 3. NAT 2 遺伝子多型からみたアセチレーターフェノタイプ

第 8 染色体に存在する NAT 2 cDNA 遺伝子はいくつかの点突然変異を起こす。そのうちエクソン 2 の G<sup>191</sup>A, C<sup>282</sup>T, T<sup>341</sup>C, C<sup>481</sup>T, G<sup>590</sup>A, A<sup>803</sup>G, G<sup>857</sup>A の 7 つが重要な SNP サイトである。それらゲノタイプの組み合わせから NAT 2\*4 (wild type) である正常ハプロタイプと変異ハプロタイプに分類される。NAT 2 の酵素活性はそれらハプロタイプの組み合わせで決まるデアロタイプ型によって決まる。従来の血中、尿中 NAT 2 から分類した表現系と遺伝子手法の成績の関係をみると NAT 2\*4 ハプロタイプを 1 つでも持つ表現型は rapid acetylator, それを持たない型は slow acetylator になる。これを日本人に当てはめると日本人では欧米人に比べ正常型が多い。

## ゲノム医学の現状と将来 - 6

### 4. 関節リウマチ (RA) における SASP 副作用と NAT 2 遺伝子多型

田中ら (リウマチ科 30: 74, 2003) は患者の同意の下にゲノム DNA の NAT 2 遺伝子の SNP 7カ所のゲノムタイプを検索している。それを使って rapid acetylator, slow acetylator を決め、それと臨床データとの相関を副作用発現ということで解析している。その結果、副作用発現は rapid acetylator で 8.1% (11/136), slow acetylator 25% (2/8) であったと報告している。

### 5. C 型肝炎に対するインターフェロン (IFN) 治療反応性を予測する cDNA チップの開発

治療反応性を予測する cDNA チップの開発にはこれまで病因遺伝子検索に使用されてきた網羅的遺伝子搭載による cDNA チップは使用できない。それは cDNA チップの成績を臨床所見との関連で解析しなければならないためにその作業が非常に複雑になるからである。このためには解析目的とすることに関連する機能蛋白をコードする遺伝子を絞り込んだ遺伝子 cDNA を搭載することが要求される。この考えにそって JGS (Japan Gene Solution) ではすでに肝炎チップを開発している。その骨子は①目的に適した遺伝子を 300 程度に絞り込み、その標識 cDNA を搭載したチップの作成 ②多数の検体の解析に必要なデータの標準化のため精度管理されたリファレンスによる発現データの比較分析 ③遺伝子発現情報と臨床情報の解析にマハラノビス理論の導入である。しかしこの解析にはウイルス情報は使用していない。

そのチップによる成績を IFN 治療が投与された 88 例で見ると IFN による治療の著効、有効群を 93%、無効群を 82% の確立で予測できたと報告されている。

### 6. 乳癌の化学療法の延命効果を予測する cDNA チップの開発

乳癌に対する抗癌剤の効果、副作用は個人差があり薬剤選択は患者ごとに決められる。この決定を遺伝子発現パターンで予測する方法を Puzstal (2003, 6) が報告している。このアプローチでの効果適中率は 75% でその病理学的緩解を予測できたと報告している。それは効果予測だけでなく副作用の発

現予測も可能である。またそれは医療費削減の形で医療経済性の大きな貢献をすることが分かった。

### 7. RA に対する生物製剤の治療反応性予測する cSNA チップの開発

ここ数年関節リウマチの関節破壊機序が明らかにされた。それはリンパ球、マクロファージ、滑膜細胞が重要であり、それ自身、あるいはそれら細胞が産生するサイトカイン、ケモカイン、プロスタグランジン、蛋白分解酵素によって惹起される。その中で TNF  $\alpha$  が主役を演ずる。それらの関係を図 1 で示した。

昨年 7 月には TNF  $\alpha$  を標的とする生物製剤が厚労省で承認された。この製剤は大変有効であり、骨破壊の進行を抑制し、患者の QOL を改善する効果があることが実証された。そのことは図 2 のように関節リウマチを早期に診断し適切な治療をすれば関節の破壊が予防できることを意味する。しかし 40% の患者はそれが無効であったり、またその薬価は治療開始初年度には年間 1,500,000 円 (実際はこの 3 割) と高価である。さらに副作用発現の問題もあり、あらかじめその有効性を予測する手段の開発が必要となり、それに遺伝子解析が応用できないかということがここ数年来注目されるようになった。RA 患者を対象とする生物製剤の効果予測を遺伝子検索で知るにはその検体として末梢血中の細胞を使うか滑膜組織を使うかがまず問題となる。

病変滑膜組織はそこに実際起きている病態をよく反映するため検体として意味がある。しかしその欠点は反復検査ができないことである。それに対して末梢血を使うと採取が容易であり反復検査が可能である。その意味でわれわれは末梢血を使用することにした。遺伝子解析には通常 Affymetrix 社が開発したオリゴヌクレオチドを photolithography によって合成する DNA チップが使用される。DNA マイクロアレイはスライドガラスなどの固相基板に多数の DNA プローブを搭載したもので 6,800 個が掲載されている。搭載 DNA プローブをたくさん搭載しても解析は可能であるが、私たちが目的とする臨床検査ではただ数が多い必要はない。DNA チップに搭載する遺伝子は薬剤投与によって変動するもの、生理的活性が関節リウマチに意味あるものでなければいけない。2001 年の ACR (アメリカリウマチ学会) で英国のケネディ研究所の C.Edward らは関節リウマチの末梢血に発現亢進した遺伝子を報告した

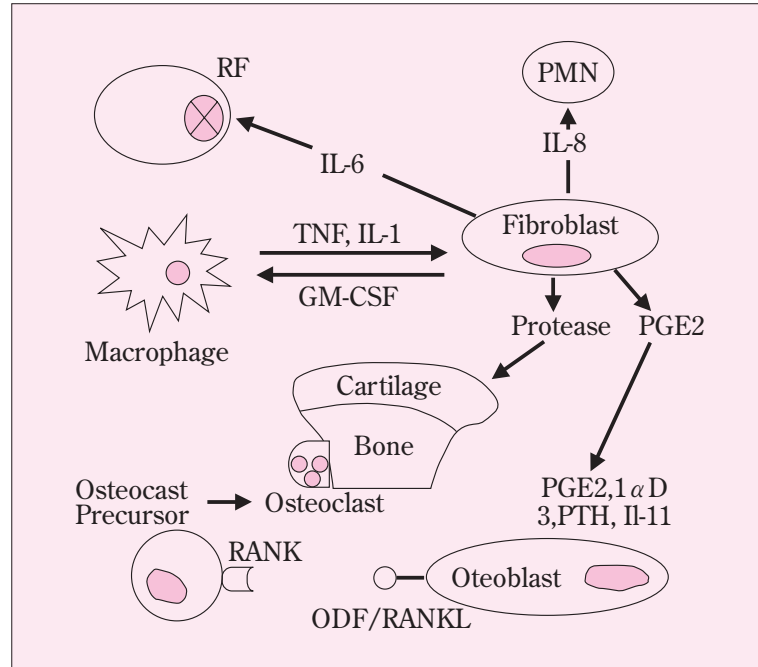


図1 関節リウマチの関節破壊機序

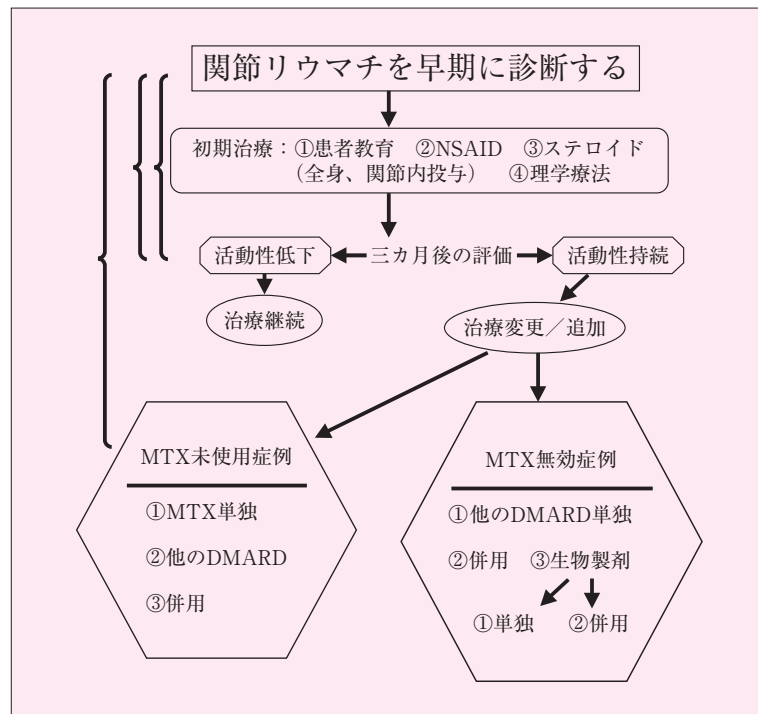


図2 リウマチ治療ガイドライン (ACR 2002)

表 関節リウマチ末梢血に発現亢進した遺伝子群

1. 細胞表面分子	2. 細胞内分子	3. プロテアーゼ抑制物質
コロニー刺激因子 3 セレクトイン P リガンド CD33 抗原 RANTES TNF-R 2 MHC class 1-related gene B ICAM 3	ユビキチン活性化酵素 NF-kB ISGE Interferon-induced leucine zipper protein Fos Neutrophilic cytosolic factor PIGS	TIMP 2 カテプシン D Neutrophilic cytosolic factor 2 Protease inhibitor 6 コルヒチン特異的 protease

(Edward C., ACR 2001)

(表)。

われわれのチップは独自に開発されたもので機能蛋白をコードする 720 個の DNA プローベを搭載したカスタムチップである。

この問題は世界的な関心事で多くの成績が出されている。昨年のアメリカリウマチ学会では生物製剤であるレミケードを投与した患者で有効例では血清 VEGF は減少した (ACR 2003, ポスター 1831) と報告されている。またレミケードが有効例であった患者の末梢血の検査で TNF  $\alpha$  1bAC1d3c3 mutation のプロトタイプが増加 (ACR 2003, ポスター 233) があったとする報告がある。さらには TNF の A/A か A/G の phenotype が有効例に多いという成績も発表されている (Arthritis Rheum 2003)。

## 8. おわりに

これまで 6 回にわたってゲノム医学の現状と将来に関することを紹介した。このように遺伝子の解析は医学の多方面でその応用が進められている。

遺伝子解析もその異常がいかなる機能に関連し病態発症に至るのかを明確にしなければならない。

このシリーズの最後にポストゲノムプロジェクトの臨床への応用として、現在われわれが取り組んでいる関節リウマチに対する生物製剤の効果予測を目指すカスタムチップの作成を紹介した。今後早い時期にその完成を図るべく努力している。