

薬剤師業務におけるゲノム情報に基づいた
個別化医療の発展に関する研究

本論文は2014年北海道薬科大学における博士（薬学）の
学位取得のために提出し受理されたものである。

守屋寛之

目 次

緒 言	1
第 1 章 健常日本人における <i>UGT1A1</i> および <i>FCGR</i> 遺伝子の SNP と CNV 解析	7
第 1 節 序論	7
第 2 節 方法	8
第 1 項 対象	8
第 2 項 ゲノム DNA の抽出	8
第 3 項 SNPs の遺伝子型の判定	9
1) <i>UGT1A1</i> 遺伝子	9
2) <i>FCGR</i> 遺伝子	9
第 4 項 CNV の判定	10
第 5 項 統計解析	10
第 3 節 結果	11
第 1 項 遺伝子型の判定および既報の健常人とのアレル頻度の比較	11
第 2 項 CNV の判定および既報の健常人との頻度の比較	12
第 4 節 考察	15
第 5 節 小括	18
第 2 章 個別化医療における <i>UGT1A1</i> 遺伝子変異の重要性の精査 (1) — 健常人の血清総ビリルビン値に対する影響 —	19
第 1 節 序論	19
第 2 節 方法	20
第 1 項 対象	20
第 2 項 ゲノム DNA の抽出と血清総ビリルビン値の測定法	20
第 3 項 SNPs の遺伝子型の判定	20
第 4 項 統計解析	20
第 3 節 結果	23

第 4 節	考察	27
第 5 節	小括	30
第 3 章	個別化医療における <i>UGT1A1</i> 遺伝子変異の重要性の精査 (2) - 婦人科領域におけるイリノテカンによる重篤な好中球減少 との関連 -	31
第 1 節	序論	31
第 2 節	方法	32
第 1 項	患者	32
第 2 項	SNPs の遺伝子型の判定	33
第 3 項	統計解析	33
第 3 節	結果	34
第 1 項	患者の特徴	34
第 2 項	<i>UGT1A1</i> と <i>ABCG2</i> の遺伝子型の人数とアレル頻度	34
第 3 項	ANC nadir と CPT-11 の総投与量、 <i>UGT1A1</i> および <i>ABCG2</i> 遺伝子型との関係	35
第 4 項	G4 の好中球減少と患者特徴、 <i>UGT1A1</i> および <i>ABCG2</i> 遺伝 子型との関連	35
第 4 節	考察	41
第 5 節	小括	44
第 4 章	開局薬剤師に対するゲノム薬学に関するアンケート調査	45
第 1 節	序論	45
第 2 節	方法	46
第 1 項	調査の対象および方法	46
第 2 項	調査項目	46
第 3 項	分析方法	47
第 4 項	倫理的配慮	48
第 3 節	結果	49
第 1 項	回答者の属性	49

第 2 項 アンケート結果	49
第 4 節 考察	55
第 5 節 小括	59
総 括	60
謝 辞	61
参考文献	62
略語表	76

緒 言

薬物の感受性や代謝能は患者ごとに大きく異なり、これは一塩基多型 (SNP) のような種々の遺伝子変異や遺伝子発現などの遺伝的多様性がその要因のひとつである¹⁾。他方で医薬品の適正使用における最終的なゴールは、患者個々の背景や病態に適した個別化医療の実践にあるはずである。したがって、この実践のためには医薬品の物理化学的・薬理的な特徴・特性のみならず、先に示した遺伝的要素や種々のバイオマーカーを用いながら薬物治療の成果を個別に評価し、個々の患者に「最少の副作用のもとに最大の効果」を引き出す必要がある。

その一方、約 10 年前にヒトゲノム計画による全ゲノム塩基配列の解読完了が宣言され、この成果から“ゲノム情報に基づく”医療が注目されるようになった²⁾。また、ゲノム解析技術の目覚ましい進歩により、個人の遺伝子型の判定や遺伝子発現プロファイルの確認等が容易になっている。これらによって、疾患感受性遺伝子の探索やゲノム薬理学などの分野における研究が盛んに行われることとなり、その研究成果が次々と多数報告されている。これからも明らかかなように、個人のゲノム情報をもとに行う個別化医療の実現に向けた大きな潮流は、もはや全世界的なものであると言っても過言ではない。

また、近年のゲノム科学の進展による分子標的薬の開発や臨床応用をはじめ、遺伝子多型診断法の承認による医薬品添付文書の改訂などのように、このような流れは薬剤師を取り巻く医療環境を徐々に変化させている。しかしながら、個別化医療はまだ過渡期にあり、今後、明らかにされる未知の事象だけではなく、現実には、いまだ検証が必要な課題も多いのも事実である。したがって、ゲノム科学の分野における研究成果のさらなる積み重ねが、将来の個別化医療の実現につながっていくものと考えられる。

このようなゲノム情報に基づく個別化医療の実現へ向け、我々薬剤師も薬物の効果や副作用発現における個体差解明に惜しまず助力すべきである。この解明のためには、薬物の代謝酵素、トランスポーターや受容体などをコードする種々の薬物感受性遺伝子における SNPs などの変異頻度情報を多方面から集積し、精査・評価することが必須である。その代表的な例を Table 1 に示すが、

その中の著名なものには、生体内物質であるビリルビンや抗がん剤であるイリノテカン (CPT-11) のグルクロン酸抱合を担う *UGT1A1* 遺伝子における 2 つの変異 (*6 および *28) がある。これらの変異型ホモ接合体 (*6/*6 および *28/*28) は、体質性黄疸である Gilbert 症候群の発症³⁻⁵⁾や、CPT-11 による重篤な好中球減少の発現に関与⁶⁻¹⁷⁾することが知られている。しかしながら、*UGT1A1* 遺伝子のヘテロ接合体 (*1/*6, *1/*28 および *6/*28) が及ぼすこれらの基質に対する影響についての研究者の見解は一致せず、まだ議論の余地が残っている。この変異に代表されるように、多くの場合、変異型ホモ接合体と比較し、ヘテロ接合体の薬物応答性における個人差の検討は不十分で、このことはゲノム情報に基づく個別化医療実現に向けて解明する必要がある課題のひとつである。

Table 1 代表的な薬物感受性遺伝子と薬物の応答性への影響

遺伝子名	薬剤のカテゴリー・薬物名	影響がみられる事象
1. チトクロームP450遺伝子		
CYP2B6	エファピレンツ	抗ウイルス作用の応答性
CYP2D6	メブプロロール、プロプラノロール コデイン タモキシフェン	血圧低下作用の上昇 鎮痛作用の低下 乳がんの進行
CYP2C9	トルブタミド フェニトイン ワルファリン トリアゾラム シクロスポリン	低血糖発作の上昇 脳症状の上昇 出血傾向の上昇 中枢抑制作用の増強 腎毒性発現の上昇
CYP2C19	プロトンポンプ阻害薬 ジアゼパム	胃内pHの上昇効果の増強 ピロリ菌除菌率の増加 胃潰瘍治療効果の増加 中枢抑制作用の増強
2. 他の代謝酵素遺伝子		
UGT1A1	イリノテカン ニロチニブ	重篤な好中球減少発現の増加 高ビリルビン血症
DPD	5-FU系抗がん剤	毒性発現の増加
TPMT	メルカプトプリン系抗がん剤	毒性発現の増加
3. トランスポーター遺伝子		
SLCO1B1	レバグリニド プラバスタチン	血漿中グルコースの低下 コレステロール合成能の阻害
ABCB1 (MDR1)	HIV治療薬 シクロスポリン	抗ウイルス作用の応答性、CD4細胞の回復 腎毒性発現
ABCG2 (BCRP)	イリノテカン	重篤な好中球減少発現の増加
OCT1	メトホルミン	血漿中グルコースの低下
4. 薬物受容体遺伝子		
β_2 アドレナリン受容体	β_2 刺激薬	気管支拡張作用、心血管作用など
ドパミン受容体(D ₂ 、D ₃ 、D ₄)	抗精神病薬(ブロムペリドール)	抗精神病作用
エストロゲン受容体 α	エストロゲン	骨密度上昇、HDL上昇など
ビタミンD受容体	活性型ビタミンD ₃	くる病改善効果
上皮成長因子受容体(EGFR)	EGFRチロシナーゼ阻害薬	抗腫瘍効果の変化など
Fc γ 受容体(FCGR)	リツキシマブ、トラスツズマブ セツキシマブ	抗腫瘍効果の変化
5. その他遺伝子		
NAT2	イソニアジド	肝障害
VKORC1	ワルファリン	出血傾向の上昇
アンジオテンシン変換酵素(ACE)	ACE阻害薬(エナラプリル)	血圧の低下、腎保護作用など
IL28B	ペグインターフェロン・リバビリン療法	抗ウイルス作用の応答性

また近年、ゲノム上の 1,000 塩基以上のまとまった塩基配列が広範囲で欠失や重複・挿入するコピー数多型 (CNV) の存在が知られた¹⁸⁾ (Fig. 1)。この CNV は、ヒトゲノム上の 1 割以上を占める大規模な範囲で起こっていることから、SNP と同様に種々の表現型に影響を及ぼし、多くの疾患感受性や薬物反応性などに関与することが示唆されている¹⁹⁻²²⁾。したがって、薬物の応答性における個人差をゲノム薬理的なアプローチから解明するためには、SNP のみならず CNV 情報についての多方面の収集も必要である。しかしながら、これら SNP や CNV の発現頻度は人種や民族の間で異なり、このことは人種や民族独自の SNP や CNV 情報収集の重要性を示唆させる。したがって、日本人における種々薬物感受性遺伝子の SNP や CNV の発現頻度の集積と精査・評価が、本邦におけるゲノム情報に基づいた個別化医療の基盤構築上なくてはならない。

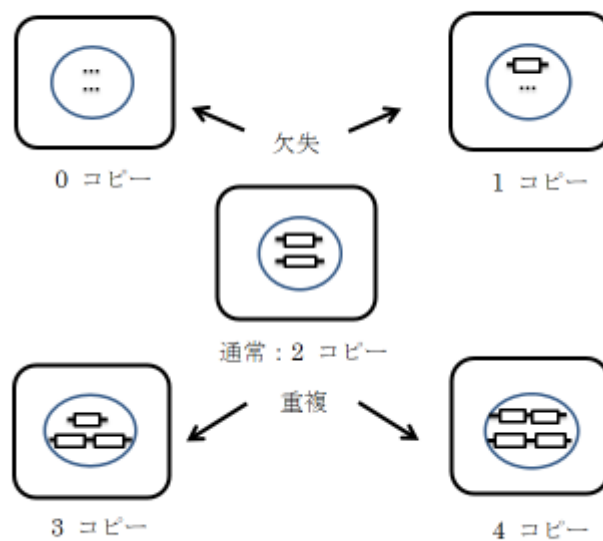


Fig. 1 コピー数多型 (CNV) の概念図

一方で、がん化学療法とその支持療法、緩和ケアなどに薬剤師が携わる機会が今後さらに増加することは明らかである。このような状況の中、薬剤師自身が薬物治療の個別化についての理解を深め、積極的に参画しなければならないことも周知の事実である。その反面、個別化医療へ密接に関わる薬理遺伝学やゲノム薬理学などについて、現在実務に携わる薬剤師における知識の深さや理解度についての詳細は不明である。また、このような医療・社会環境の変化に伴い、日本薬学会が2002年に掲げた薬学教育モデル・コアカリキュラムにおいて、個別化医療に関する項目が明示され（Fig. 2）、大学においてもゲノム関連科目が教育されるようになった。しかしながら、大学におけるゲノム関連科目の教育効果と卒業後の薬剤師のゲノム情報と個別化医療に関する認識、およびその認識と薬剤師業務との関係は知られていない。

C15 薬物治療に役立つ情報

一般目標：

薬物治療に必要な情報を医療チームおよび患者に提供するために、医薬品情報ならびに患者から得られる情報の収集、評価、加工などに関する基本的知識を修得し、それらを活用するための基本的技能と態度を身につける。

・・・途中、省略

(3) テーラーメイド薬物治療を目指して

一般目標：

個々の患者に応じた投与計画を立案できるようになるために、薬物治療の個別化に関する基本的知識と技能を修得する。

【遺伝的素因】

到達目標：

- 1) 薬物の作用発現に及ぼす代表的な遺伝的素因について、例を挙げて説明できる。
- 2) 薬物動態に影響する代表的な遺伝的素因について、例を挙げて説明できる。
- 3) 遺伝的素因を考慮した薬物治療について、例を挙げて説明できる。

Fig. 2 薬学教育モデル・コアカリキュラム（2002年）の抜粋

これらを背景として、本研究は以下について検討を行うこととした。それらは日本人で不足していると考えられる *UGT1A1* 遺伝子と *FCGR* 遺伝子の SNPs および CNV の情報についての収集・検証²³⁾ (第 1 章)、*UGT1A1* 遺伝子変異と健常人における血清ビリルビン値の変動との関係²⁴⁾ (第 2 章) および婦人科がん患者における CPT-11 の低用量レジメンによる重篤な好中球減少発現の個人差との関連²⁵⁾ (第 3 章) のヘテロ接合体を含めた検証である。さらに、このようなゲノム情報に基づく個別化医療の臨床応用が進んでいる中、個別化医療に関わる薬理遺伝学・ゲノム薬理学の知識や意識、および大学におけるゲノム関連科目の教育効果について開局薬剤師を対象に検討を行った²⁶⁾ (第 4 章)。

第1章 健常日本人における *UGT1A1* および *FCGR* 遺伝子の SNP と CNV 解析

第1節 序論

緒言で述べた通り、*UGT1A1* 遺伝子はビリルビンや CPT-11 などのグルクロン酸抱合を担う *UGT1A1* をコードしている。この *UGT1A1* のグルクロン酸抱合能の遺伝的な低下を引き起こす原因は、*6 や *28 などの変異である。これらのアレル頻度には人種差が存在し、日本人を含むアジア人の *28 のアレル頻度は白人や黒人よりも低い^{3, 27)}。しかし、*6 は日本人を含むアジア人種に認められる特徴的な変異で、白人や黒人には稀である^{3, 27)}。このように、*UGT1A1* 遺伝子における SNPs の発現頻度は人種によって異なっている。他方、これら SNPs と同様に基質の表現型に影響を及ぼす可能性のある CNV の存在は、この *UGT1A1* 遺伝子領域において現在報告が見当たらない。したがって、日本人の健常人において *UGT1A1* 遺伝子の SNPs に加え、CNV の存在を確認することは、日本人独自の *UGT1A1* 遺伝子構造の解明のために意義が大きいことと考えられる。

一方、免疫グロブリン G の γ 鎖の Fc 領域に特異的に結合する Fc γ R は、この免疫細胞の機能と密接に関与し、免疫応答を調節している。このうち、低親和性の受容体である Fc γ RIIa²⁸⁾ および Fc γ RIIIa²⁹⁾ をコードする *FCGR2A* および *FCGR3A* 遺伝子には、それぞれ rs1801274 (A>G; H131R) および rs396991 (T>G; F158V) のアミノ酸置換を伴う非同義な SNPs の存在が知られている³⁰⁻³⁴⁾。これらは抗体の Fc 領域との結合親和性を変化させる機能的な SNPs で、その親和性の強さの程度は、Fc γ RIIa が H131 > R131、および Fc γ RIIIa が F158 < V158 であることが報告されている^{31, 35, 36)}。さらに、これらの SNPs は、全身性エリテマトーデス (SLE) のような自己免疫疾患の発症リスク³⁷⁻³⁹⁾ や、リツキシマブ⁴⁰⁻⁴³⁾、トラスツズマブ^{44, 45)} およびセツキシマブ⁴⁶⁻⁴⁸⁾ などのがん抗体医薬における反応性の個人差に関連することが報告されている。しかしながら、これらの知見に関する一貫した見解はまだ得られていないだけでなく、これらの SNPs の頻度情報についての日本人における検討も僅かである³⁴⁾。他方、*FCGR2A* および *FCGR3A* が位置する遺伝子座 (1q23) には CNV の存在が知ら

れ^{33, 49-52)}、この CNV は SLE のような自己免疫疾患の発症におけるリスクファクターとなることも報告されている^{36, 50, 53, 54)}。しかしながら、*FCGR2A* および *FCGR3A* の CNV と自己免疫疾患との関連性についての見解は SNPs と同様に一致していない。そればかりか、日本人の *FCGR2A* における標準的な CNV の頻度情報に関する報告は見当たらない。

以上に述べたように、*UGT1A1*、*FCGR2A* および *FCGR3A* 遺伝子の日本人における SNPs や CNV の頻度情報についての集積は、まだ十分であるとは言えない。これらのことから、第 1 章における本研究の目的は、多数知られる薬物感受性遺伝子のうち、健常日本人における *UGT1A1*、*FCGR2A* および *FCGR3A* の SNPs および CNV を同時に調査することである。

第 2 節 方法

第 1 項 対象

対象は、疾患の診断がなく、かつ薬物治療を受けていない札幌市近郊在住の日本人の健康成人である。その人数は、*UGT1A1* 遺伝子の SNPs と CNV 解析ではそれぞれ 93 名および 89 名、*FCGR2A* および *FCGR3A* では 113 名ずつとした。なお、本研究は、札幌医科大学倫理委員会および北海道がんセンター倫理委員会の承認と、全ての被験者から書面により同意を得て行った。

第 2 項 ゲノム DNA の抽出

ゲノム DNA は、被験者の肘静脈より EDTA K₂ で処理した真空採血管に末梢血約 2 mL を採取し、この末梢静脈血から Puregene[®] DNA Isolation Kit (Qiagen) を用い、製造業者のプロトコールに従って分離した。抽出したゲノム DNA の質と量は、NanoDrop[™] ND-1000 分光光度計 (Thermo Fisher Scientific, Inc.) およびアガロースゲル電気泳動 (Pico-2, TAITEC) を用いて評価した。

第3項 SNPsの遺伝子型の判定

1) *UGT1A1* 遺伝子

*UGT1A1**6 を含む exon 1 および*28 を含むプロモーター領域を、PCR (PTC-200, Bio-Rad) にて増幅した (それぞれ 416 bp および 249 bp)。各々の PCR に用いたプライマーは、15~21 塩基であり、SIGMA Genosys Japan, Inc. に委託し合成した。それらプライマーの塩基配列は、*6 : 5'-AGGAGCAAAGGCGCC-3' (forward) および 5'-TTGTTGTGCAGTAAGTGGG A-3' (reverse)、*28 : 5'-AAGTGA ACTCCCTGCTACCTT-3' (forward) および 5'-CCACTGGGATCAACAGTATCT-3' (reverse) である。これら PCR の反応液の組成は、KOD-plus- DNA polymerase (Toyobo) が 1.0 unit、10×PCRbuffer が 5 μL、MgSO₄ が 0.2 mM、dNTPs が 1.0 mM、forward と reverse プライマーがそれぞれ 0.3 mM、およびゲノム DNA 50-100 ng で、合計 50 μL とした。また、これらの PCR の温度条件は、initial denaturation : 94°C 2 min の後、denaturation : 94°C 15 sec、annealing : 55°C 30 sec、extension : 68°C 30 sec を 30 サイクル行い、final extension : 68°C 5 min に設定した。これら PCR 産物は、アガロースゲル電気泳動にて増幅の有無を確認し、その後、MultiScreen[®] PCRμ96 Filter Plate (MILLIPORE) にて精製した。

遺伝子型の判定は、精製した PCR 産物と先に示した forward および reverse primer を用い、我々が既に行った *UGT2B7* の研究⁵⁵⁾と同様、DNAダイレクトシーケンシング法により塩基配列を決定することで行った。

2) *FCGR* 遺伝子

FCGR2A における rs1801274 (A>G) および *FCGR3A* における rs396991 (T>G) の遺伝子型の判定は、TaqMan[®] SNP Genotyping Assay (Life Technologies, Inc.) により行った。そのアッセイ ID はそれぞれ、rs1801274 が c_9077561_20、および rs396991 が c_25815666_10 である。ABI PRISM[®] 7500 Fast Real-Time PCR System (Life Technologies, Inc.) を用いてテンプレート DNA を増幅し、エンドポイントから得られた蛍光強度により 7500 System ソフトウェア (Life Technologies) を用いてアレル判定を行った。この PCR 反応液の組成は約 100 ng のゲノム DNA、40×TaqMan[®] SNP Genotyping Assay 0.25 μL、さらに、rs1801274

の場合には 2×TaqMan® Fast Universal PCR Master Mix 5 µL、rs396991 の場合には 2×TaqMan® Universal PCR Master Mix 5 µL を加え、滅菌精製水（扶桑薬品工業株式会社）にて全量 10 µL とした。なお、PCR の温度条件を rs1801274 は pre-read : 60°C 1 min、AmpliTaq Gold activation (hot start) : 95°C 20 sec の後、denaturation : 95°C 3 sec、annealing/extension : 60°C 30 sec を 40 サイクル、post-read : 60°C 1 min、rs396991 は pre-read : 60°C 1 min、UDG activation : 50°C 2 min、AmpliTaq Gold activation : 95°C 10 min の後、denaturation : 95°C 15 sec、annealing/extension : 60°C 1 min を 40 サイクル、post-read : 60°C 1 min で行った。

第 4 項 CNV の判定

UGT1A1、*FCGR2A* および *FCGR3A* における CNVs の判定は、TaqMan® Copy Number Assay 法にて以下の通り行った。なお、使用した TaqMan® Copy Number Assay (Life Technologies, Inc.) のアッセイ ID は、*UGT1A1* が Hs01964514_cn、*FCGR2A* が Hs00103511_cn、および *FCGR3A* が Hs00139300_cn で、TaqMan® Copy Number Reference Assay には RNase P を用いた。

ABI PRISM® 7500 Fast Real-Time PCR System を用いてテンプレート DNA を増幅し、エンドポイントから得られた蛍光強度により CopyCaller™ ソフトウェア (Life Technologies, Inc.) を用いてコピー数の判定を行った。この場合、コピー数を正確に判定するため、1 検体につき 4 つのテンプレートを作成して解析した。また、CopyCaller™ ソフトウェアを用いて解析するため、7 検体以上での同時解析を行った。PCR 反応液の組成は、ゲノム DNA 約 20 ng (4 µL)、2×TaqMan® Universal PCR Master Mix 10 µL、20×TaqMan® Copy Number Assay 0.5 µL、20×TaqMan® Copy Number Reference Assay 1.0 µL で、滅菌精製水を加え全量 20 µL とした。PCR の温度条件は、酵素 activation (hot start) : 95°C 10 min の後、denaturation : 95°C 15 sec、annealing/extension : 60°C 1 min を 40 サイクルで行った。

第 5 項 統計解析

本母集団における各 SNP の遺伝子型頻度の Hardy-Weinberg 平衡 (HWE) テ

ストは、Power Marker v3.0⁵⁶⁾および Hardy-Weinberg equilibrium calculator including analysis for ascertainment bias ソフトウェア⁵⁷⁾により行った。また、本母集団と既に報告されている健常人との対立遺伝子および CNV 頻度の比較には SPSS Statistics 21 ソフトウェア (IBM Japan, Inc.) を用い、Fisher's exact test にて検定を行った。なお、統計学的有意性は $P < 0.05$ をもって判定した。

第 3 節 結果

第 1 項 遺伝子型の判定および既報の健常人とのアレル頻度の比較

本研究における *UGT1A1* の *6 および *28、*FCGR2A* の rs1801274 と *FCGR3A* の rs396991 の遺伝子型の分布は Table 2 に示した。また、これら SNPs におけるアレル頻度の分布を本研究と既報とで比較した結果は、*6 および *28 を Table 3、rs1801274 を Table 4、および rs396991 を Table 5 に示した。*UGT1A1* 遺伝子の *6 および *28 におけるアレル頻度の分布は、いずれも本研究と白人種^{60, 63)} および黒人種⁶⁰⁾との間に有意差が存在し、日本人はそれらの人種よりも *6 アレルの発現が高いのに対し、*28 アレルの発現が低かった。他方、*FCGR2A* における rs1801274 のアレル頻度の分布は、本研究と他の研究の白人種^{30, 32, 33)} および黒人種^{30, 32, 33)}との間に有意な差が認められ、日本人は他の人種よりも A アレルの頻度が高かった。また、*FCGR3A* における rs396991 のアレル頻度の分布は rs1801274 とはやや異なり、本研究と白人種³³⁾や非日系ブラジル人³⁴⁾での報告との間に有意な差は認められなかった。しかしながら、本母集団とエチオピア人³²⁾やノルウェー人³²⁾での報告との間には有意な差が認められ、日本人はエチオピア人とノルウェー人に比べ T アレルの頻度が高かった。一方、本研究における全ての SNPs のアレル頻度は、日本人を含むアジア人種^{58-62, 34)}や日系ブラジル人³⁴⁾との間にいずれも有意差はなかった。なお、本母集団において *6 および *28、rs1801274 および rs396991 の HWE からの逸脱は、全てにおいて認められなかった ($P < 0.3$)。

第2項 CNV の判定および既報の健常人との頻度の比較

本母集団における *UGT1A1*、*FCGR2A* および *FCGR3A* の CNV のコピー数の分布を Table 6 に示した。*UGT1A1* および *FCGR2A* は被験者全員が 2 コピーと判定された。一方、*FCGR3A* は 105 名の被験者が 2 コピーであったが、3 名が 1 コピー、および 5 名が 3 コピーと判定された。なお、*FCGR3A* の CNV のコピー数と rs396991 の遺伝子型との関係は以下の通りで、1 コピーの 3 名は T/T; 2 コピーの 60 名は T/T、40 名が T/G および 5 名が G/G; 3 コピーの 1 名は T/T および 4 名は T/G であった。*FCGR3A* におけるコピー数の頻度の分布を本研究と既報とで比較した結果は Table 7 に示す通りで、本母集団と他の報告⁴⁹⁻⁵¹⁾との間に有意な差は認められなかった。

Table 2 Number of genotypes in *UGT1A1*, *FCGR2A* and *FCGR3A* in this study.

Gene	SNP	N	Genotype		
<i>UGT1A1</i>	*6	93	G/G	G/A	A/A
			64	28	1
<i>UGT1A1</i>	*28	93	TA ₆ /TA ₆	TA ₆ /TA ₇	TA ₇ /TA ₇
			70	21	2
<i>FCGR2A</i>	rs1801274	113	A/A	A/G	G/G
			79	33	1
<i>FCGR3A</i>	rs396991	113	T/T	T/G	G/G
			64	44	5

Table 3 Ethnic differences of the allele frequency of *UGT1A1**6 and *28 in healthy subjects.

SNP	Study	Population	N	Allele frequency		P value*	Ref.
				G	A		
*6	This study	Japanese	93	0.839	0.161	—	
	Akaba et al.	Japanese	101	0.866	0.134	0.475	58)
	Takeuchi et al.	Japanese	71	0.817	0.183	0.658	59)
	Kaniwa et al.	Japanese	150	0.843	0.157	0.899	60)
	Ki et al.	Korean	324	0.787	0.213	0.146	61)
	Zhang et al.	Chinese	539	0.815	0.185	0.473	62)
	Innocenti et al.	Caucasian	132	1	0	6.99×10^{-13}	63)
	Kaniwa et al.	Caucasian	150	0.993	0.007	1.43×10^{-11}	60)
		African-American	150	1	0	6.44×10^{-14}	60)
*28				TA ₆	TA ₇		
	This study	Japanese	93	0.866	0.134	—	
	Takeuchi et al.	Japanese	71	0.887	0.113	0.615	59)
	Kaniwa et al.	Japanese	150	0.903	0.097	0.235	60)
	Ki et al.	Korean	324	0.873	0.127	0.804	61)
	Zhang et al.	Chinese	539	0.882	0.118	0.541	62)
	Innocenti et al.	Caucasian	133	0.662	0.338	6.42×10^{-7}	63)
	Kaniwa et al.	Caucasian	150	0.612	0.388	8.92×10^{-10}	60)
		African-American	150	0.554	0.446	1.77×10^{-13}	60)

* Fisher's exact test

Table 4 Ethnic differences of the allele frequency of *FCGR2A* rs1801274 (A>G) in healthy subjects.

Study	Population	N	Allele frequency		P value*	Ref.
			A	G		
This study	Japanese	113	0.845	0.155	—	
Iwasaki et al.	Japanese	403	0.800	0.200	0.128	34)
	Japanese Brazilians	80	0.806	0.194	0.318	34)
	Non-Japanese Brazilians	386	0.469	0.531	<0.0001	34)
Breunis et al.	Northern-European	100	0.540	0.460	<0.0001	33)
Van Den Berg et al.	Ethiopians	77	0.470	0.530	<0.0001	32)
	Norwegians	86	0.420	0.580	<0.0001	32)
Reilly et al.	African American	50	0.440	0.560	<0.0001	30)
	Caucasian American	47	0.540	0.460	<0.0001	30)

* Fisher's exact test

Table 5 Ethnic differences of the allele frequency of *FCGR3A* rs396991 (T>G) in healthy subjects.

Study	Population	N	Allele frequency		P value*	Ref.
			T	G		
This study	Japanese	113	0.761	0.239	—	
Iwasaki et al.	Japanese	403	0.754	0.246	0.824	34)
	Japanese Brazilians	80	0.713	0.287	0.300	34)
	Non-Japanese Brazilians	386	0.715	0.285	0.177	34)
Breunis et al.	Northern-European	100	0.710	0.290	0.232	33)
Van Den Berg et al.	Ethiopians	77	0.540	0.460	<0.0001	32)
	Norwegians	86	0.660	0.340	0.031	32)

* Fisher's exact test

Table 6 Number of CNVs in *UGT1A1*, *FCGR2A* and *FCGR3A* in this study.

Gene	TaqMan [®] Copy Number Assay ID	N	CNV		
			1 copy	2 copy	3 copy
<i>UGT1A1</i>	Hs01964514_cn	89	0	89	0
<i>FCGR2A</i>	Hs00103511_cn	113	0	113	0
<i>FCGR3A</i>	Hs00139300_cn	113	3	105	5

Table 7 Ethnic differences of the frequency of CNV in *FCGR3A* in healthy subjects.

Study	Population	N	CNV frequency				P value*	Ref.
			1 copy	2 copy	3 copy	4 copy		
This study	Japanese	113	0.027	0.929	0.044	0		
Hollox et al.	Japanese	32	0	0.875	0.094	0.031	0.301	49)
	Chinese	32	0.031	0.813	0.156	0	0.082	49)
	Yoruba	35	0.029	0.943	0.029	0	1	49)
	Europeans	110	0.027	0.891	0.082	0	0.356	49)
Breunis et al.	Northern-Europeans	129	0.016	0.946	0.039	0	0.606	50)
Zhou et al.	Han Chinese	146	0.041	0.877	0.075	0	0.289	51)

* Fisher's exact test; The differences in the copy number distributions between this study and other studies were determined by dividing the subjects into 2 groups, 1 with 2 copies and the other with different copy numbers.

第4節 考察

本研究における *UGT1A1* の *6 および *28 のアレル頻度は、それぞれ 16.1% および 13.4% であり、既報の健常日本人⁵⁸⁻⁶⁰⁾との間に有意差は認められなかった (Table 3)。これらのことから、以前の報告を加味すると、日本人における *6 および *28 のアレル頻度はそれぞれ 13~18% および 10~13% 程度であり、日本人は *28 に比べ *6 アレルの発現頻度が若干高いことが推察される。この結果と同様に、*6 および *28 のアレル頻度は本母集団と韓国人⁶¹⁾ および中国人⁶²⁾との間に有意差がなかったことから、東アジア人種間のこれらアレル頻度の分布は類似している可能性が示唆された。他方、白人種^{60, 63)} や黒人種⁶⁰⁾ においては、*28 アレルの発現が 34~45% と東アジア人種に比べ高いのに対し、*6 アレルはこれらの人種に存在しない、もしくは極めて稀であることが示された。このことは、*6 は白人種や黒人種における *UGT1A1* の代謝能の個体間変動となる可能性が低いことを示していると考えられる。この *6 および *28 は *UGT1A1* の代謝能や遺伝子発現を低下させる機能的な SNPs であることから、日本人においては *6 および *28 の両者の遺伝子型を判定することの重要性が示唆された。他方、本母集団における *UGT1A1* の CNV は、被験者全員が 2 コピーであった (Table 6)。このことは、日本人の *UGT1A1* 遺伝子領域には CNV が存在しない、もしくは極めて稀であり、この CNV は日本人における *UGT1A1* の遺伝子発現の個人差への寄与が低いことが推察された。いずれにせよ、本研究によって日本人の *UGT1A1* の CNV について初めて明らかとなった。

一方、*FCGR2A* の rs1801274 (A>G, H131R) の G アレルの頻度は 15.5% で、本母集団には G/G の遺伝子型を持つ被験者は 1 名だけであった (Table 4)。他方、Iwasaki らの報告³⁴⁾において、この頻度は日本人が 20.0%、日系ブラジル人が 19.4% であった。これらのことから、この SNP のマイナーアレルの日本人における頻度は 15~20% と考えられる。その一方で、本母集団と白人種^{30, 32, 33)} および黒人種^{30, 32)}にはメジャーアレルとマイナーアレルの逆転を含むアレルの分布の違いが認められ (Table 4)、この SNP の変異頻度における人種差の存在が示唆される。さらに、rs1801274 は機能的な SNP であることから、FcγRIIa と抗体との親和性にもこの多型に起因した人種差が生じている可能性が浮か

び上がる。一方、*FCGR3A* の rs396991 (T>G, F158V) の日本人における G アレルの頻度は、Iwasaki らの報告³⁴⁾を加味しながら推定すると 20-30%と考えられ、この SNP の変異頻度は *FCGR2A* の rs1801274 よりもやや高いものと思われる (Table 5)。また、rs396991 のアレルの分布は、本研究とエチオピア人³²⁾およびノルウェー人³²⁾での報告との間に差がみられ、日本人はそれらの人種と比べて G アレルの頻度は低いと考えられる (Table 5)。先と同様、rs396991 も機能的な SNP であり、FcγRIIIa と抗体との親和性にもこの多型に起因した人種差が生じている可能性が予想される。他方、本母集団における *FCGR2A* のコピー数は、被験者全員が 2 コピーであった (Table 6)。また、Breunis らの報告⁵⁰⁾においても、白人種の健常人のみならず特発性血小板減少性紫斑病、川崎病および関節リウマチなどの患者に *FCGR2A* の CNV は検出されていなかった。したがって、日本人は白人種と類似した CNV 構造を有し、*FCGR2A* 領域には CNV がいないことが示唆され、本研究によって日本人の *FCGR2A* の CNV について初めて明らかとなった。その一方で、本母集団において *FCGR3A* に 1 コピーと 3 コピーの被験者が認められ、CNV の存在が確認された (Table 6)。同様に、Hollox らは小規模なサンプルサイズ (N=32) であったが、日本人の健常人における *FCGR3A* の CNV について報告している⁴⁹⁾。Table 7 に示した通り、本研究と彼らとで 1 コピーと 4 コピーの検出の有無について異なったものであった。このうち、彼らの報告で 1 コピーが検出されなかったことは、彼ら自身も指摘しているように被験者数の少なさによるものと推察される。一方、本母集団で確認されなかった 4 コピーの検出は copy gain variations の存在とその頻度が低いためと考えられる。また、*FCGR3A* のコピー数の分布は、日本人と同じ東アジア人である中国人^{49, 51)}のみならず、白人種^{49, 50)}および黒人種^{49, 50)}での報告と本母集団との間に差がみられなかった (Table 6)。このことは、*FCGR3A* 領域の CNV は類似した構造かつ、人種に共通し存在する可能性を示めしており、この CNV による gene dosage の変化は FcγRIIIa の発現の個人差に関与する可能性がある。なお、*FCGR3A* のコピー数が 1 コピーの被験者は rs396991 の遺伝子型が 3 名とも T/T と判定されたが、copy loss variations を有していることから CNV を考慮した実際の遺伝子型は T/- (T/del) であると考えられる。他方、3 コピーの被験者のうち T/T であった 1 名における実際の遺伝子型は T/T/T、

T/Gであった4名はT/T/GもしくはT/G/Gと推定される。このようにCNVを考慮したSNPの遺伝子型の評価は重要であると考えられる。

しかしながら、本研究では*UGT1A1*、*FCGR2A*と*FCGR3A*のコピー数の判定のためにTaqMan[®] Copy Number Assayを用い、そのプローブは*UGT1A1*がexon 1、*FCGR2A*がexon 1とintron 1の間に、*FCGR3A*がexon 2に対してデザインされたものをそれぞれ使用した。本来であれば、より正確な結果を期するために各遺伝子領域の全般にわたる複数のプローブを使ったCNV解析が必要であった。また、*UGT1A1*、*FCGR2A*および*FCGR3A*とそれぞれタンデムな状態で染色体2q37および1q23に位置する*UGT1A6*、*UGT1A7*および*UGT1A9*、あるいは*FCGR2B*、*FCGR2C*および*FCGR3B*についても同時に検討する必要があると思われるが、今回、日本人の健常人における*UGT1A1*、*FCGR2A*および*FCGR3A*のSNPsとCNVについての概要を明らかにすることができた。今後、これらについてさらに詳細な検討を加えるためには、Breunisらの報告⁵⁰⁾で用いられたMultiplex Ligation-dependent Probe Amplification法や*FCGR*全領域に渡る次世代ゲノムシーケンサーでの大規模な解析が有用と考えられる。

本研究によるこのような健常人での検討によって、日本人における*UGT1A1*および*FCGR*遺伝子におけるSNPとCNV情報の概要が明らかにされた。この基礎的な知見は、これらの基質となる薬物の効果や副作用予測の遺伝的なバイオマーカー研究のさらなる発展に寄与するものと考えられる。

第 5 節 小括

1. *UGT1A1*、*FCGR2A* および *FCGR3A* における SNPs の発現頻度には人種差の存在が確認された。
2. 日本人における *UGT1A1* および *FCGR2A* の遺伝子領域には CNV は存在しない、もしくは極めて稀であることが示唆された。
3. *FCGR3A* の遺伝子領域には 1 コピーおよび 3 コピーの被験者が存在し、日本人において *FCGR3A* における CNV が認められた。

このような健常人での検討によって、日本人における *UGT1A1* および *FCGR* 遺伝子における SNP と CNV 情報の概要が明らかにされた。この基礎的な知見は、これらの基質となる薬物の効果や副作用予測の遺伝的なバイオマーカー研究の更なる発展に寄与しうるものと考えられる。

第2章 個別化医療における *UGT1A1* 遺伝子変異の重要性の精査 (1)

－健常人の血清総ビリルビン値に対する影響－

第1節 序論

第1章における検討の結果、健常日本人における *UGT1A1* 遺伝子の SNPs や CNV 情報の概要が明らかとなった。本章では個別化医療における *UGT1A1* 遺伝子の重要性について精査を加えるため、この *UGT1A1* 遺伝子変異の健常人における血清総ビリルビン値への影響について検討を行った。

主に、老廃赤血球のヘムの分解によって生成されるビリルビンは血中から肝細胞内へ取り込まれた後、*UGT1A1* によって、そのほとんどがグルクロン酸抱合を受ける。このビリルビンのグルクロン酸抱合体は胆汁中へ排泄され、体内から消失する。したがって、肝胆道系の異常や溶血性の疾患が認められる際には血中のビリルビンレベルは上昇し、これらの診断において重要な指標となる。他方、血清総ビリルビン値の個体間変動はこのような異常が認められない健常人にも存在する。この個人差には年齢、性別、BMI、喫煙、および飲酒や食事などの生理学的小および環境的な種々の因子が関与し、またヒトの総ビリルビン値は男性に比べ女性の方が低いことが多数報告されている⁶⁴⁻⁷¹⁾。さらに、総ビリルビン値は男女共に19~30歳の頃に最も高くなることも報告されている⁶⁶⁾。

一方、*UGT1A1* のグルクロン酸抱合能の遺伝的な低下によって引き起される Crigler-Najjar 症候群や Gilbert 症候群などの体質性黄疸の原因は、*UGT1A1**6 や*28 などの変異である^{3-5, 72)}。健常人におけるこれらのアレル頻度には人種差が存在し、日本人を含むアジア人の*28のアレル頻度は白人や黒人よりも低い^{3, 27)}。しかし、*6は日本人を含むアジア人種に認められる特徴的な変異で、白人や黒人には稀である^{3, 27)}。グルクロン酸抱合能を低下させるこれらの変異は健常人の総ビリルビン値の個体差にも関与し、当然、変異型ホモ接合体である*6/*6 および*28/*28の総ビリルビン値は*1/*1と比較して高いことが示されている^{4, 61, 62, 73, 74)}。しかしながら、ヘテロ接合体である*1/*6 や*1/*28 および*6/*28の健常人における総ビリルビン値への関与についての見解は一致しておらず^{4, 61, 62, 73, 74)}、まだ議論の余地が残っている。

このように、総ビリルビン値の個体間変動は性別や肝機能などの因子だけでなく、*UGT1A1* 変異によって引き起こされるが、この変動についての *UGT1A1**1/*6 と *1/*28 の寄与については明らかではない。本研究の目的は、総ビリルビン値の個人差への *UGT1A1**6 と *28 ヘテロ接合体の関与を検討することであり、今回、総ビリルビン値が最も高くなることが示唆されている年齢層である 20 代の健常日本人を被験者とし、その総ビリルビン値の変動要因を重回帰分析にて解析した。

第 2 節 方法

第 1 項 対象

対象は、第 1 章における *UGT1A1* 遺伝子の SNPs と CNV 解析における健常な被験者のうち、ビリルビン値が年齢によって変動する^{66, 68)}ことを考慮し、20~30 歳に限定した 92 名（男性 37 名、女性 55 名）とした。これら被験者の特徴は、Table 8 に示した。なお、本研究は、札幌医科大学倫理委員会の承認と、全ての被験者から書面により同意を得て行った。

第 2 項 ゲノム DNA の抽出と血清総ビリルビン値の測定法

ゲノム DNA の抽出は、第 1 章と同様の方法で行った。また、血清総ビリルビン値は、Hitachi 7600 自動解析装置（Hitachi）を使用し、ビリルビンオキシダーゼを用いた酵素法によって測定した。

第 3 項 SNPs の遺伝子型の判定

第 1 章と同様の方法で行った。

第 4 項 統計解析

各因子の正規性の検定には、Kolmogorov-Smirnov test および Shapiro-Wilk test を用いた。パラメトリック検定および重回帰分析への適用を可能にするため、正規性を示さなかった因子は自然対数（LN）へ変換した。異なるグループ間

での血清総ビリルビン値の比較には、対応のない Student's t test もしくはボンフェローニの多重比較による分散分析 (ANOVA) を用いた。血清総ビリルビン値に関する albumin (Alb)、aspartate aminotransferase (AST)、alanine aminotransferase (ALT)、alkaline phosphatase (ALP)、lactate dehydrogenase (LDH)、 γ -glutamyltranspeptidase (γ -GTP)、cholinesterase (ChE)、triglyceride (TG)、total cholesterol (TC)、および high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C) との関係推定するため、Pearson's もしくは Spearman's correlation analysis を用いた。この単変量解析において $P < 0.1$ であった因子を用い、血清総ビリルビン値に影響を及ぼす因子を決定するため、重回帰分析を行った。この重回帰分析において、ゲノム薬理学的な因子と性別はダミー変数、Alb と ALT は連続変数として用いた。これらの単回帰分析および重回帰分析は、1 名の *6/*6 および 2 名の *28/*28 を除いた 89 名で行った。これらの統計解析には、SPSS Statistics 19 (IBM Japan, Inc.) および GraphPad Prism 5.0 (GraphPad Prism Software) ソフトウェアを使用した。なお、統計学的有意差は、 $P < 0.05$ をもって判定した。

さらに、重回帰分析における post-hoc な統計学的検出力 ($1-\beta$) を算出するため、G*Power Version 3.1.5 を使用した ($\alpha=0.05$ 、サンプル数=89、およびグループ数=3 を入力)。その検出力 ($1-\beta$) は、“medium” effect size ($f=0.15$) であり 0.864 であった。なお、本章において Table や Fig. において示した値は、LN 変換した値ではなく生のデータである。

Table 8 Characteristics of study subjects.

Characteristics	Value
No. of subjects (male/female)	92 (37/55)
Age (years), median (range)	22 (21-30)
Total bilirubin (mg/dL), median (range)	0.74 (0.3-2.2)
Alb (g/dL), median (range)	4.7 (4.1-5.4)
AST (IU/L), median (range)	18 (9-56)
ALT (IU/L), median (range)	14 (4-64)
ALP (IU/L), median (range)	192 (115-436)
LDH (IU/L), median (range)	160.5 (61-367)
γ -GTP (IU/L), median (range)	16 (5-37)
ChE (IU/L), median (range)	280 (127-477)
TG (mg/dL), median (range)	74.5 (37-310)
TC (mg/dL), median (range)	167 (111-272)
HDL-C (mg/dL), median (range)	59.5 (37-90)
No. of subjects in <i>UGT1A1</i> genotype (male/female)	
*1/*1	47 (17/30)
*1/*6	21 (9/12)
*1/*28	15 (7/8)
*6/*28	6 (4/2)
*6/*6	1 (0/1)
*28/*28	2 (0/2)

Alb: albumin, AST: aspartate aminotransferase, ALT: alanine aminotransferase, ALP: alkaline phosphatase, LDH: lactate dehydrogenase, γ -GTP: γ -glutamyltranspeptidase, ChE: cholinesterase, TG: triglyceride, TC: total cholesterol, and HDL-C: high-density lipoprotein cholesterol

第3節 結果

本研究の被験者における *UGT1A1**6 および*28 の遺伝子型は Table 8 に示した通りで、その分布は HWE に従っていた ($P>0.3$)。また、本母集団におけるこの遺伝子型の分布は男女間で差が認められなかった ($P>0.7$)。一方、総ビリルビン値は男女共に歪んだ分布を呈し、正規性が認められなかった ($P<0.001$)。LN 変換した総ビリルビン値は、女性が男性に比べ有意に低値を示し ($P=6.26 \times 10^{-4}$)、男性および女性の総ビリルビン濃度の平均値はそれぞれ 0.81 mg/dL および 0.59 mg/dL であった (Fig. 3)。また、*UGT1A1* 遺伝子型間の LN 変換した総ビリルビン濃度を多重比較した結果、*1/*1 と*1/*28 ($P=4.53 \times 10^{-6}$)、*1/*1 と*6/*28 ($P=2.47 \times 10^{-5}$)、*1/*6 と*1/*28 ($P=0.003$)、および*1/*6 と*6/*28 ($P=0.002$) との間に有意差が認められた (Fig. 4)。しかしながら、総ビリルビン値は*1/*1 と*1/*6、および*1/*28 と*6/*28 の間に有意な違いが認められなかった。この*1/*1、*1/*6、*1/*28 および*6/*28 の総ビリルビンレベルの平均値は、それぞれ 0.55 mg/dL、0.63 mg/dL、0.97 mg/dL、および 1.18 mg/dL であった。

一方、単回帰分析において、LN 変換した総ビリルビン値は Alb との間に有意な正の相関を示した ($P=7.90 \times 10^{-5}$) が、AST、ALT、ALP、LDH、ChE、TG、TC、および HDL-C との間に有意な関係は認められなかった (Table 9)。さらに、性別や*1/*6、*1/*28 および*6/*28、および単回帰分析で $P<0.1$ であった Alb と LN 変換した ALT を因子に加え重回帰分析を行った。このステップワイズ法による重回帰分析において、性別、*1/*28 および*6/*28 は血清総ビリルビン値と有意に関連していた (Table 10)。この重回帰式は総ビリルビン値の変動の 44.3%を説明しており、性別、*1/*28 および*6/*28 の partial R^2 は、それぞれ 13.3%、17.5%および 13.4%であった。

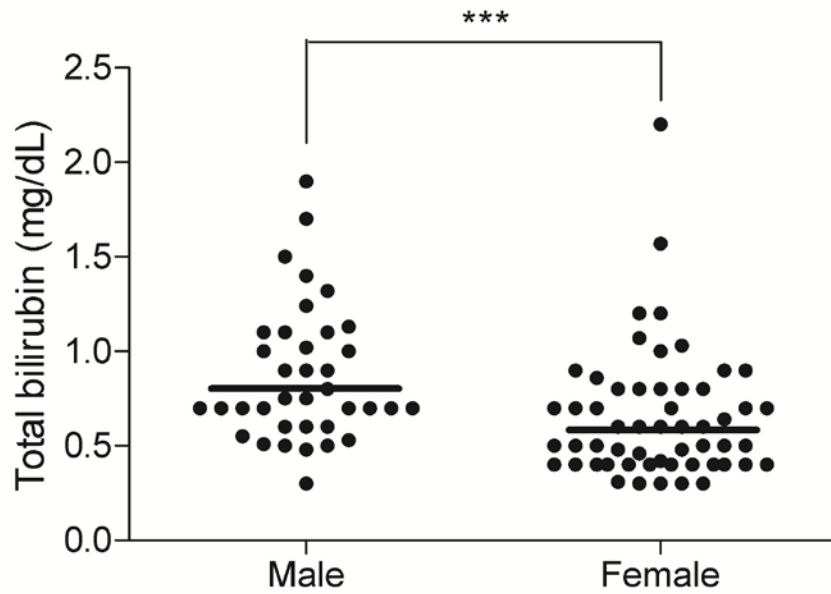


Fig. 3 Serum total-bilirubin levels according to sex.

Comparisons of LN-transformed total bilirubin levels between males and females were analysed using an unpaired Student's *t* test. Serum total-bilirubin levels were significantly lower in females than in males. The horizontal lines indicate the mean serum total-bilirubin levels; 0.81 mg/dL and 0.59 mg/dL for males and females, respectively. *** $P < 0.001$

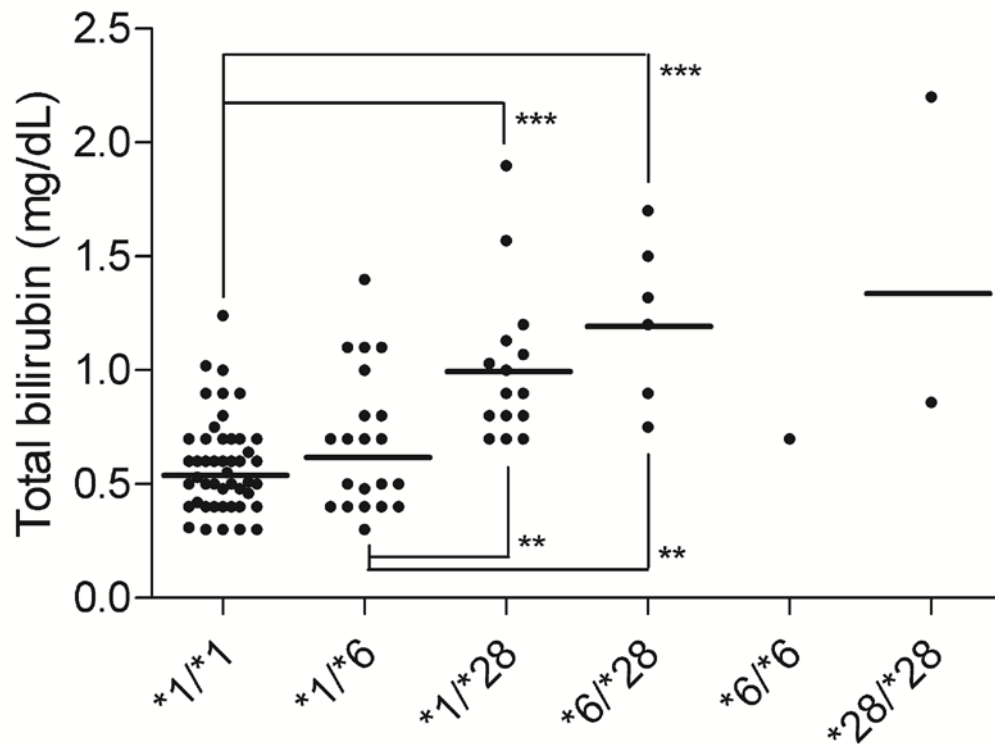


Fig. 4 Serum total-bilirubin levels according to *UGT1A1* genotype.

The horizontal lines indicate the mean serum total-bilirubin levels which were 0.55 mg/dL, 0.63 mg/dL, 0.97 mg/dL, and 1.18 mg/dL for the genotypes *1/*1, *1/*6, *1/*28, and *6/*28, respectively. Comparisons of LN-transformed total-bilirubin levels between the *UGT1A1* genotypes were undertaken using ANOVA with Bonferroni's multiple comparison test. Serum total-bilirubin levels were significantly different between those subjects with the genotypes *1/*1 compared with *1/*28; *1/*1 compared with *6/*28; *1/*6 compared with *1/*28, and *1/*6 compared with *6/*28. ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$

Table 9 Correlations of LN-transformed serum total-bilirubin levels with clinical biomarkers by simple regression analysis (n=89)

Factors	Serum total bilirubin	
	R	P
Alb	0.406	7.90×10 ⁻⁵
AST	0.118	0.272
ALT	0.197	0.064
ALP	0.152	0.155
LDH	0.004	0.972
γ-GTP	0.114	0.287
ChE	0.119	0.265
TG	0.017	0.877
TC	- 0.009	0.932
HDL-C	0.014	0.897

LN-transformed serum total-bilirubin levels were significantly and positively correlated with Alb levels.

Table 10 Correlations of LN-transformed serum total-bilirubin level with sex, *1/*28 and *6/*28 genotype by stepwise multiple regression analysis (n=89)

Factors	β	95% CI	P	Partial R ²	R ²
Intercept	- 0.378	- 0.498 to - 0.259	1.33×10 ⁻⁸		0.443
Sex	- 0.292	- 0.436 to - 0.149	1.15×10 ⁻⁴	0.133	
*1/*28	0.504	0.315 to 0.693	8.85×10 ⁻⁷	0.175	
*6/*28	0.643	0.359 to 0.927	2.18×10 ⁻⁵	0.134	

We used multiple regression analysis by including the variables Alb and ALT, which showed $P < 0.1$ by simple regression analysis, as well as sex, and the genotypes *1/*6, *1/*28, and *6/*28.

In the stepwise multiple linear regression analysis, sex, *1/*28 and *6/*28 were significantly associated with serum total-bilirubin level. β: standardized coefficient, 95% CI: 95% confidence interval

第 4 節 考察

本研究において、20 代の健常日本人における総ビリルビン濃度の平均値は女性が男性に比べ有意に低く (Fig. 3)、その女/男比は 0.73 (0.59 mg/dL /0.81 mg/dL) であった。本母集団と同じ健常な日本人 (平均年齢 48.7 歳) による Oda らの報告⁷¹⁾では、総ビリルビン濃度の平均値はそれぞれ女性が 0.73 mg/dL、男性が 0.85 mg/dL であることが示され、その比を計算すると 0.86 となる。本研究と彼らの報告を単純に比較すると、女性の総ビリルビン値は本研究の方がやや低く、総ビリルビン値の男女比も若干小さい。年齢的に、総ビリルビン値は 20~30 歳が最も高い⁶⁶⁾ため、本来であれば本研究の被験者の総ビリルビン値は Oda らの結果よりも高いと考えられる。この差が生じた理由の詳細は定かではないが、健常な日本人の総ビリルビン値は女性が男性より 20%程度低いことが示唆された。また、日本人と同じアジア人である中国人⁶⁹⁾と韓国人⁷⁰⁾の健常人において、総ビリルビン濃度の女性および男性の平均値 (総ビリルビン値の女/男比) は、中国人 (平均年齢 61.1 歳) が 0.60 mg/dL と 0.78 mg/dL (0.77)、韓国人 (平均年齢 44.1 歳) が 0.74 mg/dL と 0.94 mg/dL (0.78) と報告され、先と同様、これらと本研究の結果は類似していると思われる。このことについての詳細な検討が必要であるが、健康な中国人や韓国人における総ビリルビン値の性差も日本人と同程度と考えられる。このように、総ビリルビン値が最も高くなることが報告されている年齢層を被験者に選んだ本研究においても男性と女性の総ビリルビン値には差があり、20 歳代の日本人の健康成人における総ビリルビン値の性差の存在が示された。

一方、このような性差を含めずに *UGT1A1* の遺伝子型間の総ビリルビン値を多重比較した結果 (Fig. 4)、*1/*1 と *1/*28、*1/*1 と *6/*28、*1/*6 と *1/*28、および *1/*6 と *6/*28 の総ビリルビン値の間に有意差が認められたものの、*1/*1 と *1/*6、*1/*28 と *6/*28 には差が認められなかった。*6/*6 および *28/*28 についても同時に考慮する必要があるかもしれないが、これらのことは、regulatory SNP である *28 の 1 コピーの存在は総ビリルビン値を上昇させる要因となるが、これに対し、非同義な coding SNP である *6 の 1 コピーの影響の程度はあまり大きくないことを示しているのかもしれない。Saeki らは、本研

究と同様に健常な日本人を対象にした検討を行い、本研究の結果とは異なり、*1/*1 と *1/*28 の間の総ビリルビン値には有意な差がなかったことを報告している⁷⁵⁾。また、日本人と遺伝的に近い台湾人の健康成人を被験者とした Huang らの報告も本研究と異なり、*1/*28 と *1/*6 は両者ともに総ビリルビン値が高くなることを示唆している⁷³⁾。一方、中国人の健康成人を対象とした Zhang らの報告⁶²⁾は、本研究と同じ結果を示し、本研究の見解を支持している。このような見解の不一致の起こる原因については不明な部分が多いが、本研究以外には被験者の性別もしくは年齢が不明であることも要因と考えられる。この性差や年齢差は、総ビリルビン値の個体間変動の要因となることから、*UGT1A1* 遺伝子におけるヘテロ接合体の総ビリルビン値に及ぼす影響についての評価の際には、性別や年齢を考慮して検討することの必要性が示唆された。なお、*6/*28 についての見解は、いずれの研究においても一致し、*1/*1 に比べ *6/*28 の総ビリルビン値はアジア人種において有意に高くなることが示されている^{62, 73, 75)}。

本研究における *6/*6 と *28/*28 を除いた被験者による重回帰分析によって、性別、*1/*28 および *6/*28 が 20 歳代の健常日本人における総ビリルビン値の個人差に關与する要因であることが示唆され、先に示した結果 (Fig. 3 と Fig. 4) からも、このことが支持されると考えられる。また、この重回帰式によって *1/*1、*1/*28 および *6/*28 の総ビリルビン値は、男性が 0.69 mg/dL、1.13 mg/dL および 1.30 mg/dL、女性が 0.51 mg/dL、0.85 mg/dL および 0.97 mg/dL と推定され、これらの総ビリルビン値の比は男性に対し女性が 0.75、*1/*1 に対し *1/*28 が 1.65、および *1/*1 に対し *6/*28 が 1.90 となる。本研究は、総ビリルビン値への年齢の影響を抑えるために被験者を 20 歳代に限定したが、性別、*1/*28 および *6/*28 の因子からなる重回帰式から得られた決定係数 (R^2) は 44.3% に留まり、当初の予想より若干低値であった。このことは、総ビリルビン値の変動にはこれらの因子以外にも食事や喫煙のような環境的要因の影響が少なくないことを再認識させる。また、性別、*1/*28 および *6/*28 の partial R^2 はそれぞれが 13.3%、17.5% および 13.4% とほぼ同程度であったことから、これらの要因の総ビリルビン値の個人差に対する寄与は同程度であることが示唆される。なお、Sai らは日本人のがん患者における総ビリルビン値の変動要因を

重回帰分析にて検討した結果、性別や年齢は有意な要因ではなかったが、*UGT1A1**28 と 1813C>T 変異が関与し、その R^2 は 20.3%であったことを報告している⁷⁶⁾。一方、性別を考慮せず総ビリルビン値を遺伝子型毎に比較した場合 (Fig. 4)、*1/*28 と *6/*28 の間に有意な差が認められなかったが、重回帰分析では*1/*28 に対し*6/*28 の総ビリルビン値が 1.15 倍上昇することが示された。この差の理由について言及することはできないが、*6 や*28 の gene-dose effect が*6/*6 と*28/*28 の被験者数を十分に確保できるような大規模研究によって検討されることで、これが明らかになると考えている。さらに、単回帰分析において Alb は総ビリルビン値との間に有意な相関が認められたものの、重回帰モデルに含まれる有意な説明変数とはならなかった。一般に、血中の非抱合型ビリルビンは Alb と結合していることが知られ⁷⁷⁾、低アルブミン血症のような Alb の変化がビリルビンの体内動態に影響を与える可能性が考えられる。しかし、本研究の被験者は若い健常成人で、被験者全員の Alb は正常値範囲内であり、大きな変動を示していなかった。このため、Alb は重回帰分析の変動要因として採択される結果とならなかったことが推察される。しかし、高齢者のように Alb 値が低下した場合は、総ビリルビン値への影響が大きくなることも考えられ、今後、このことについての検討も必要であると考えられる。

他方、*28/*28 の患者は、癌化学療法によって誘発される高ビリルビン血症の発症リスクが高くなる⁷⁸⁻⁸¹⁾のみならず、このような高ビリルビン血症の症例は*1/*6 や*1/*28 を保因していたことも報告されている^{82, 83)}。このように、*UGT1A1* のヘテロ接合体は変異型ホモ接合体と同様に薬理遺伝学的な意義を持ち、薬物治療上のマーカーとして有用である可能性が考えられる。したがって、今後このような検討を行うことは実臨床において有用であると思われる。また、本研究で検討を加えていないが、ビリルビン値の個体差には喫煙やアルコール、および食事の摂取状況^{64, 65, 67, 68)}のような環境要因、*UGT1A1**60^{61, 62, 75, 76)}やいくつかの薬物トランスポーター遺伝子の変異⁸⁴⁻⁸⁶⁾の関与が報告されている。さらに、ビリルビンの日内変動⁶¹⁾についての考慮の必要性も少なからず考えられる。これらの今回検討していない因子があるものの、20 歳代の健常日本人における総ビリルビン値の個体間変動は性別、*UGT1A1**1/*28 および*6/*28 と関連性のあることが本研究によって明らかになった。

第5節 小括

1. 女性の血清総ビリルビン値は、男性に比べ低くなることが確認された。
2. 健常日本人における血清総ビリルビン値は、*UGT1A1* 遺伝子における *1/*28 および *6/*28 を有する場合に高くなることが示唆された。
3. *UGT1A1* 遺伝子における *1/*6 は、健常日本人における血清総ビリルビン値の変動にさほど影響を及ぼさないことが考えられた。

以上のように本章では、体質性黄疸の原因となる変異型ホモ接合体である *6/*6 や *28/*28 ばかりでなく、健常日本人における血清総ビリルビン値は、ヘテロ接合体である *1/*28 および *6/*28 においても高くなることが示唆された。このことは、*6/*6 や *28/*28 の関与が示唆されているニロチニブなどにより誘発される高ビリルビン血症には、*1/*28 および *6/*28 も影響を及ぼすことを疑わせるものであり、*UGT1A1* の遺伝子型を判定することの重要性を示していると考えられる。

第3章 個別化医療における *UGT1A1* 遺伝子変異の重要性の精査 (2)

- 婦人科領域におけるイリノテカンによる重篤な好中球減少との関連 -

第1節 序論

先に述べたように、第2章では健常日本人の血清総ビリルビン値の変動について、*UGT1A1* 遺伝子多型を実臨床において判定することの重要性を確認することができた。本章ではそれに引き続き、*UGT1A1* のもうひとつの代表的な基質であるイリノテカン (CPT-11) に関し、個別化医療における *UGT1A1* 遺伝子変異の重要性の精査することを目的とし、婦人科領域における CPT-11 による重篤な好中球減少との関連について検討した。

婦人科領域の癌化学療法における現在のキードラッグは、タキサン系とプラチナ系の薬剤である。しかしながら、イリノテカン (CPT-11) とシスプラチン (CDDP) の併用レジメンは、腫瘍減量手術を受けたステージ II -IV の日本人の卵巣明細胞癌患者における補助化学療法において、パクリタキセルとプラチナ系の併用レジメンに比べ無増悪生存期間を延長させることが示唆されている⁸⁷⁾。また、タキサン系とプラチナ系との併用レジメンに感受性を示さなかった高齢の日本人の婦人科癌患者に対し、CPT-11 とマイトマイシン C (MMC) の併用療法が有効であったことも報告されている⁸⁸⁾。このような CPT-11 を含んだレジメンは、現在の婦人科領域における標準的な癌化学療法ではないものの、まだ本邦において有用な役割を果たしている。

一方、CPT-11 は、時として重篤な好中球減少を引き起こし、この副作用の発現の遺伝的要因のひとつは、*UGT1A1* における *6 や *28 などの遺伝子変異であると報告されている⁶⁻¹⁷⁾。特に、*28 アレルのホモ接合体は重篤な好中球減少の発現リスクを高めることが知られている⁶⁻¹²⁾。しかしながら、肺癌や大腸癌の化学療法において CPT-11 が低用量で用いられる場合、この副作用発現に対する *28/*28 の関与はあまり大きくないと報告されている^{12, 89, 90)}。また、婦人科癌の化学療法では、CPT-11+CDDP あるいは CPT-11+MMC のような低用量 CPT-11 レジメンが用いられることがあるが、その場合の好中球減少発現と *28 との関連もあまり知られていない。他方、*UGT1A1**6 は東アジア人種において

*28 よりも高頻度に認められる変異である^{3,27)}。日本人の大腸癌および肺癌の検討において、*6/*6 および*6/*28 は重篤な好中球減少の発現と有意な関連が報告されている¹⁰⁾。このことから、*6/*6 および*6/*28 は CPT-11 による重篤な好中球減少発現の日本人におけるリスクファクターであることが示唆されている。さらに、婦人科領域の CPT-11+CDDP のレジメンでの検討において、*1/*6 の重篤な好中球減少発現のリスクは*1/*1 より高くなることも示されているが¹⁶⁾、*6/*6 および*6/*28 の好中球減少への影響は明らかにされていない。

それら *UGT1A1* の変異に加え、CPT-11 を含む種々の抗癌剤を基質とすることが知られる ABC トランスポーターである BCRP をコードする *ABCG2* の 421C>A(Q141K)変異は、*in vitro* において *ABCG2* の遺伝子発現の減少と CPT-11 への抵抗性をもたらすことが報告されている⁹¹⁾。他方、肺癌や大腸癌において、この 421C>A 変異は重篤な好中球減少に関与しないことが示唆され^{16,92)}、この SNP の臨床薬理遺伝学的な意義は議論の余地がまだ残っている。さらに、婦人科癌患者において CPT-11 の好中球減少の発現と *ABCG2* の 421C>A との関連についての報告は未だない。

このように、婦人科領域における CPT-11 の低用量レジメンによる重篤な好中球減少の発現とこれらの遺伝子変異との関連についての検討は十分とは言えない。以上のことから、本研究の目的は婦人科癌の CPT-11+CDDP あるいは CPT-11+MMC におけるグレード 4 の好中球減少の発現に関与する要因を明らかにすることとした。

第 2 節 方法

第 1 項 患者

対象は北海道がんセンターの婦人科にて CPT-11 ベースの化学療法を受けた日本人の患者で、治療に用いた化学療法レジメンは CPT-11+CDDP、および CPT-11+MMC とした。全ての患者は、CPT-11 を含むレジメンの使用前において骨髄を含め正常な臓器機能を有していた (Table 11)。また、CPT-11 との間に相互作用を有することが知られている薬物を使用していた患者は存在しな

かった。本研究の除外基準は CPT-11 の使用した経験が以前にある患者、Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) の Performance Status (PS) が 3 以上の患者、年齢が 18 歳未満、もしくは 80 歳以上の患者とした。これらの患者の好中球数を含む臨床データはカルテ情報をレトロスペクティブに調査した。重篤な好中球減少は Common Terminology Criteria for Adverse Events version 3.0 を用い、CPT-11 を含むレジメンの第 1 サイクルの間に観察された Absolute neutrophil count (ANC) nadir 値にて決定した。また、グレード 4 の好中球減少を重篤な副作用として定義した。なお、本研究は北海道がんセンター倫理委員会の承認を得て実施し、文書によるインフォームドコンセントは全ての患者から得て行った。

第 2 項 SNPs の遺伝子型の判定

ゲノム DNA の抽出および *UGT1A1* 遺伝子における *6 および *28 の遺伝子型の判定は、第 1 章と同様の方法で行った。一方、*ABCG2* 遺伝子の 421C>A 変異を含む exon 5 は PCR にて増幅した。その PCR および sequencing に用いたプライマーは SIGMA Genosys Japan, Inc.により合成した。その forward および reverse プライマーの配列は、それぞれ 5'-GGTTCATCATTAGCTAGAACTTTAC-3' および 5'-TGGAAAGCAACCATTTTTGA-3'である。この PCR による増幅は PTC-200 pelitier thermal cycler (BIO-RAD Laboratories, Inc.) および AmpliTaq Gold[®] 360 Master Mix (Life Technologies, Inc.) を用いて行った。PCR の温度条件は、initial denaturation : 95 °C 10 min に続き、subsequent denaturation : 95 °C 30 sec、annealing : 58 °C 30 sec、extension : 72 °C 30 sec を 30 サイクル繰り返し、その後 final extension : 72 °C 7 min とした。この 421C>A 変異における遺伝子型は、精製した PCR 産物と先に示した forward および reverse primer を用い、direct sequencing により決定した。

第 3 項 統計解析

被験者における *UGT1A1* と *ABCG2* の遺伝子型頻度の HWE テストは Fisher's exact test により行った。CPT-11 総投与量と ANC nadir 値の比較は、Spearman's rank correlation test にて行った。*UGT1A1* および *ABCG2* の遺伝子型と ANC nadir

値の関係は、ボンフェローニの補正をした Fisher's exact test により比較した。また、重篤な好中球減少発現に影響を及ぼす要因の推定は、以下のような探索的な単変量解析による因子の絞込みを行った後、多変量解析によって行った。好中球減少のグレード 0-3 (G0-3) 群とグレード 4 (G4) 群間における化学療法施行前の患者の特徴の単変量解析には Mann-Whitney's *U* test を使用した。また、G0-3 群と G4 群の間における遺伝子型、前治療、レジメン、がん種および PS についての単変量解析には Fisher's exact test を用いた。これらの単変量解析において $P < 0.1$ であった要因を説明変数として採択し、G4 の好中球減少の発現を目的変数とした多変量ロジスティック回帰分析を行った。これらの統計解析には、SPSS Statistics 21 (IBM Japan, Inc.) および GraphPad Prism 5.0 (GraphPad Prism Software) ソフトウェアを使用した。なお、統計学的有意差は、 $P < 0.05$ をもって判定した。

第 3 節 結果

第 1 項 患者の特徴

2007 年 7 月から 2011 年 9 月の期間に登録され、評価した患者は全部で 44 名 (卵巣癌 24 名、子宮体癌 10 名、子宮頸癌 9 名、およびその他 1 名) であった。これらの患者に施行された化学療法の投与量は、CPT-11 と CDDP はそれぞれ $40-60 \text{ mg/m}^2$ (day 1, 8 and 15) と $40-60 \text{ mg/m}^2$ (day 1)、および CPT-11 と MMC はそれぞれ $70-150 \text{ mg/m}^2$ (day 1 and 15 or day 1, 8 and 15) と $4-10 \text{ mg/m}^2$ (Day 1 or Days 1 and 15) であった。それら前者および後者の人数は、共に 22 名であった。また、G4 の好中球減少を発現した患者は 10 名 (22.7%) であった。なお、患者の特性は Table 11 および Table 12 に示した。

第 2 項 *UGT1A1* と *ABCG2* の遺伝子型の人数とアレル頻度

本母集団における *UGT1A1* の各遺伝子型の人数は、*1/*1 が 25 名、*1/*6 が 3 名、*1/*28 が 9 名、*6/*28 が 3 名および*6/*6 が 4 名であり、*28/*28 は誰もいなかった。また、*ABCG2* の 421C>A における各遺伝子型の人数は、C/C が

28名、C/Aが10名およびA/Aが6名であった。この *UGT1A1* および *ABCG2* における遺伝子型の分布は、両者ともに HWE からの逸脱は認められなかった（それぞれ $P=0.204$ および $P=0.285$ ）。一方、各遺伝子多型のアレル頻度は、それぞれ *UGT1A1* の*6が0.159、*28が0.136、および *ABCG2* の421Aが0.250であり、東アジア人種におけるこれまでの報告と類似していた²⁷⁾。

第3項 ANC nadir と CPT-11 の総投与量、*UGT1A1* および *ABCG2* 遺伝子型との関係

Fig. 5 に示したように、CPT-11 の1サイクル目における総投与量と ANC nadir との間に相関性は確認されなかった ($R^2=0.006$, $P=0.185$)。一方、*UGT1A1* の各遺伝子型の間における ANC nadir を比較した結果、*1/*1 と*6/*28 および*6/*6 との間に統計学的な有意差が認められたが、それら以外に有意差はなかった (Fig. 6)。また、*ABCG2* の421C>A 変異の各遺伝子型間における ANC nadir の比較に関しては、いずれの間にも有意差を示さなかった (Fig. 7)。

第4項 G4 の好中球減少と患者特徴、*UGT1A1* および *ABCG2* 遺伝子型との関連

G4 の好中球減少の発現と患者の特徴との関連を比較した結果 (Table 11)、AST および ALT において有意差が認められた（それぞれ $P=0.018$ および $P=0.001$ ）。他方、年齢は G4 の好中球減少の発現との間に有意差を示さなかったものの、これを発現した患者の年齢が高くなる傾向にあった ($P=0.098$)。次に、遺伝子型と G4 の好中球減少の発現における比較では、Table 12 に示した通り、*UGT1A1* の劣性遺伝モデルにおいて有意差が認められた ($P=0.037$)。一方、*ABCG2* の421C>A は優性および劣性遺伝モデルともに有意な違いがなかった。また、前治療、レジメン、がん種および PS と G4 の好中球減少の発現との関係はいずれも有意ではなかった。しかしながら、CPT-11 と MMC との併用レジメンは CDDP との併用に比べ G4 の好中球減少の発現を高める傾向があった ($P=0.069$)。さらに、ロジスティック回帰分析の結果、*UGT1A1**6/*6 および*6/*28 は G4 の好中球減少の発現と有意に関連していた ($P=0.029$; odds ratio, 6.90; 95% CI, 1.22-38.99)。一方、*1/*6 および*1/*28、レジメンの種類および

年齢はこの解析において G4 の好中球減少の発現との間に有意差が認められなかった。なお、AST、ALT および γ -GTP は単変量の解析において $P < 0.1$ であったが、G4 の好中球減少を呈した全ての患者はこれらの値が正常値の範囲内であったため、ロジスティック回帰分析の説明変数としなかった。

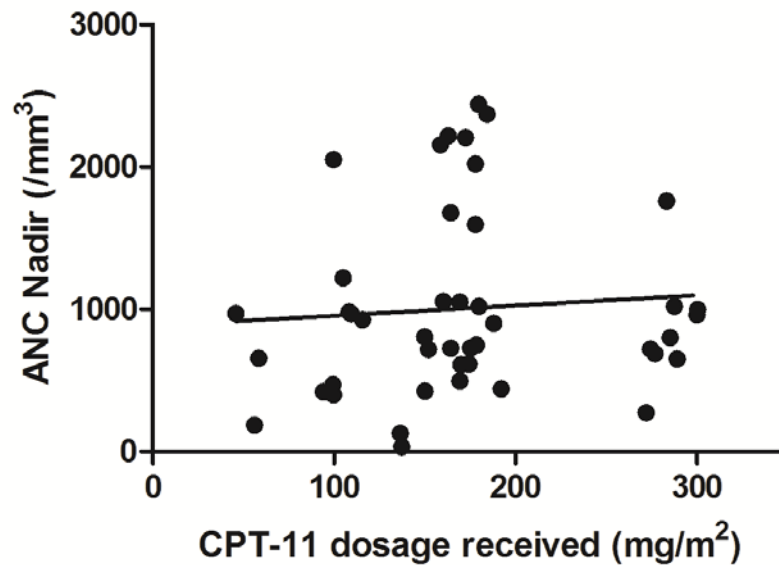


Fig. 5 The correlation between the total dose of irinotecan (CPT-11) received in the first cycle and the absolute neutrophil count (ANC) nadir values ($R^2=0.006$, $P=0.185$) in 44 patients with gynecologic cancer treated with regimens containing CPT-11.

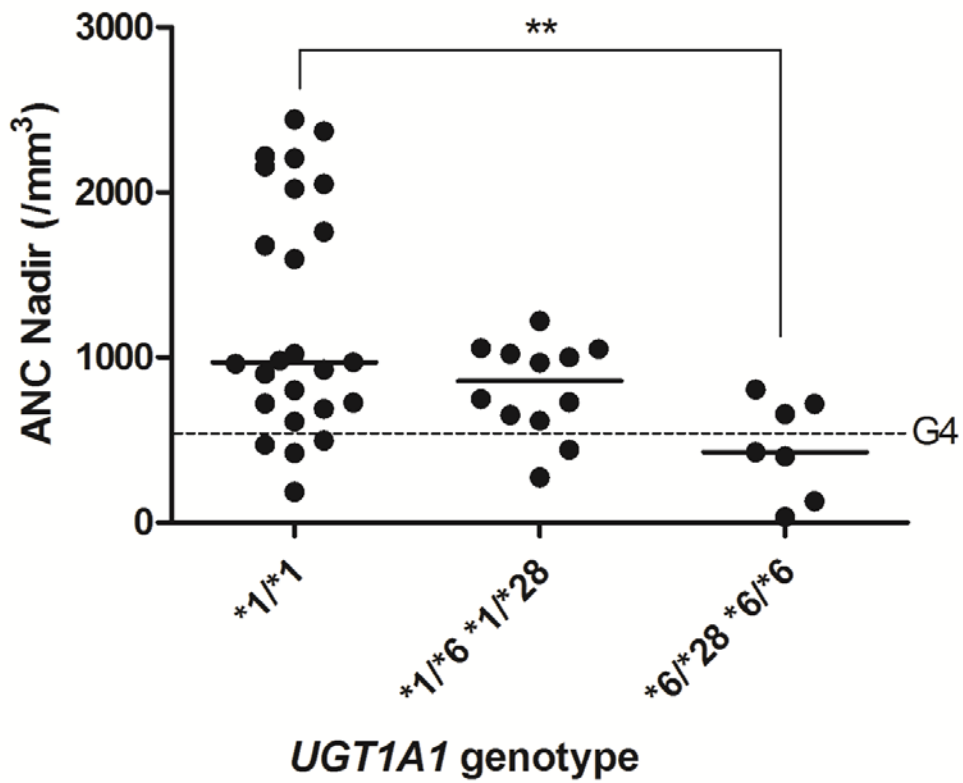


Fig. 6 The relationship between *UGT1A1* genotype and absolute neutrophil count (ANC) nadir values during low-dose irinotecan (CPT-11) administration. The horizontal line for each genotypes indicates median of ANC nadir values. The dotted line indicates the ANC at which grade 4 (G4) neutropenia is observed. ** $P < 0.01$.

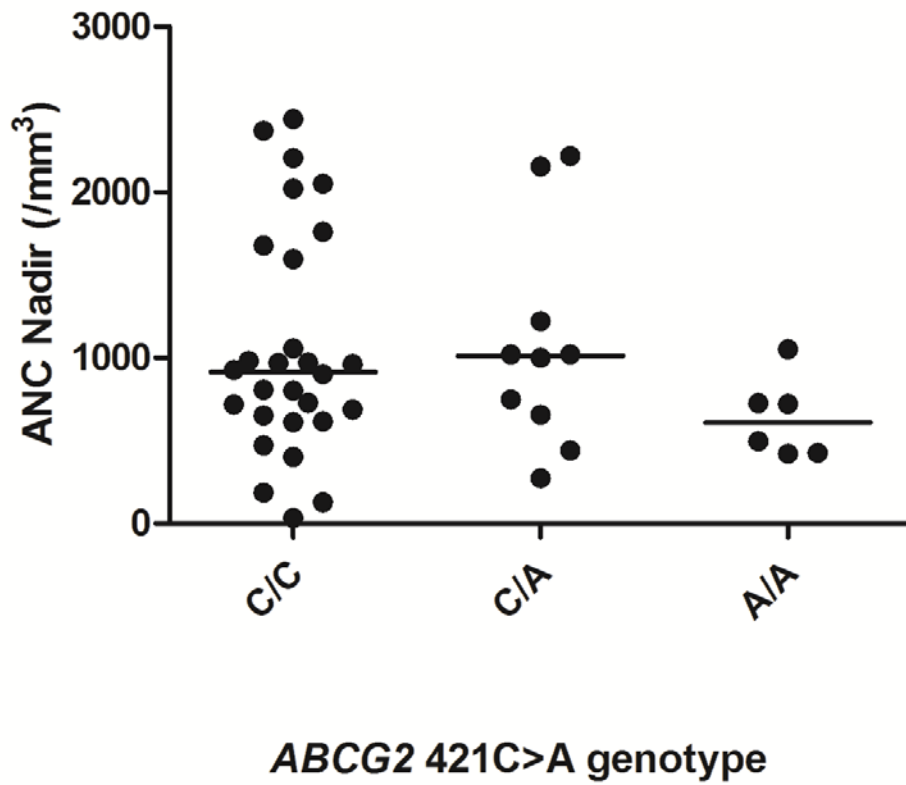


Fig. 7 The relationship between *ABCG2* (421C>A) genotype and absolute neutrophil count (ANC) nadir values during low-dose irinotecan (CPT-11) administration. The horizontal line of ANC nadir values for each genotypes indicates median.

Table 11 Relationships between patient characteristics prior to irinotecan (CPT-11) based chemotherapy and toxicity outcome (neutropenia).

Characteristics	Neutropenia				P*
	G0-3	(n=34)	G4	(n=10)	
Age (years)	55	(18-79)	59.5	(52-72)	0.098
Height (cm)	153.5	(147.0-167.7)	151.4	(138.5-161.0)	0.202
Weight (kg)	54.7	(38.7-95.7)	51	(42.0-65.5)	0.481
BSA (m ²)	1.49	(1.27-1.95)	1.46	(1.24-1.67)	0.3
BMI (kg/m ²)	21.8	(16.0-40.6)	22.4	(19.3-28.4)	0.933
WBC (mm ³)	4465	(2590-8940)	4290	(3070-7230)	0.911
Neutrophils (mm ³)	2590	(970-7108)	2652	(1627-6116)	0.737
Total bilirubin (mg/dL)	0.52	(0.20-1.18)	0.48	(0.22-1.04)	0.889
Albumin (mg/dL)	3.9	(2.9-4.5)	3.9	(2.3-4.3)	0.966
AST (IU/L)	20	(12-87)	15.5	(11-23)	0.018
ALT (IU/L)	17	(5-121)	10.5	(4-24)	0.001
γ-GTP (IU/L)	24.2	(11-89)	15.5	(7-35)	0.059
ALP (IU/L)	245	(138-696)	238.5	(169-376)	0.6
SCr (mg/dL)	0.67	(0.37-1.33)	0.645	(0.48-0.92)	0.793

*: Mann-Whitney's U test, BSA: body surface area, BMI: body mass index, WBC: white blood cell, AST: aspartate aminotransferase, ALT: alanine aminotransferase, γ-GTP: γ-glutamyl-transpeptidase, ALP: alkaline phosphatase, SCr: serum creatinine.

The values of patient characteristics and those in the parentheses indicate the median and range, respectively.

Table 12 Relationships between development of grade 4 neutropenia and genotypes, previous treatments, regimens, cancer types and performance status.

Characteristics	Neutropenia		P*
	G0-3 (n=34)	G4 (n=10)	
Genotype			
<i>UGT1A1</i>			
Dominant model			0.287
-/- ^a	21 (84.0%)	4 (16.0%)	
-/+ ^b , +/+ ^c	13 (68.4%)	6 (31.6%)	
Recessive model			0.037
-/- ^a , -/+ ^b	31 (83.8%)	6 (16.2%)	
+/+ ^c	3 (42.9%)	4 (57.1%)	
<i>ABCG2 421C>A</i>			
Dominant model			0.456
C/C	23 (82.1%)	5 (17.9%)	
C/A, A/A	11 (68.8%)	5 (31.2%)	
Recessive model			0.12
C/C, C/A	31 (81.6%)	7 (18.4%)	
A/A	3 (50.0%)	3 (50.0%)	
Previous treatment			1
No	5 (83.3%)	1 (16.7%)	
Yes	29 (76.3%)	9 (23.7%)	
Regimen			0.069
CPT-11+CDDP	20 (90.9%)	2 (9.1%)	
CPT-11+MMC	14 (63.6%)	8 (36.4%)	
Cancer type			0.147
Ovarian cancer	21 (87.5%)	3 (12.5%)	
Other cancers	13 (65.0%)	7 (35.0%)	
Performance status			1
0	22 (78.6%)	6 (21.4%)	
1, 2	12 (75.0%)	4 (25.0%)	

*: Fisher's exact test, ^a: *1/*1, ^b: *1/*6 and *1/*28, ^c: *6/*28 and *6/*6

第4節 考察

本研究の主眼は、婦人科癌患者における低用量 CPT-11 レジメンの 1 サイクル目に発現した重篤な好中球減少の原因を明らかにすることにある。しかしながら、今回の CPT-11 の総投与量は 40~150 mg/m² で、患者間で差が認められた (Fig. 5)。この総投与量の違いが副作用発現に関わる可能性を否定できないことから、まず初めに、総投与量と ANC nadir 値の相関について確認した。その結果は、Fig. 5 のように線形性は示されなかった。このことは、CPT-11 の総投与量の多寡が必ずしも ANC nadir 値に影響を及ぼさないことのみならず、*UGT1A1* の多型のような要因が ANC nadir 値へ関与することが示唆された。したがって、婦人科癌患者における ANC nadir 値に対する *UGT1A1**6 や*28 の関与についてさらに検証を行った。この結果、*6/*6 および*6/*28 は ANC nadir 値を有意に低下させたのみならず、これらの変異を有する全ての患者は好中球数が 1000/mm³ 未満であるグレード 3/4 (G3/4) の好中球減少を呈していた (Fig. 6)。これらのことは、*UGT1A1**6/*6 および*6/*28 が婦人科領域の低用量 CPT-11 のレジメンにより引き起こされる重篤な好中球減少発現に関与する遺伝的な要因であると考えられる。しかしながら、本研究の 44 名の患者に、*28/*28 はひとりも存在しなかったため、この関与について検討することはできなかった。その一方で、Innocenti らは高用量 CPT-11 において、1 サイクル目の ANC nadir 値と *UGT1A1* 遺伝子型との関連について検討し、*28/*28 の場合は ANC nadir 値が有意に低下したことを報告している⁷⁾。彼らの対象とした欧米人を中心とした癌患者からは*6 アレルは検出されなかったが、このことは*28/*28 は日本人においても ANC nadir 値を低下させる遺伝的な要因となる可能性を示唆している。しかしながら、日本人における*28のアレル頻度は低いため、*28/*28 についての検証は大規模なサンプルサイズを必要とすると考えられる。さらに、Gao らは中国人の大腸癌患者における研究において、CPT-11 により誘発される G3/4 の好中球減少の発現が、男性に比べ女性で有意に高いことを報告している⁹³⁾。したがって、ANC nadir 値と *UGT1A1* の遺伝子型との関連を検討する際には、人種、投与量やレジメンの違いのみならず、性差について考慮することも必要と考えられる。

一方で、本研究において G4 の好中球減少を呈した患者の中には、4名の*1/*1が存在していた。このことは重篤な好中球減少の発現に対し、UGT1A1 遺伝子変異以外の要因が関与する可能性を示唆している。この要因の予備的な探索のため、本研究で行った単変量解析では、年齢とレジメンが G4 の好中球減少の発現リスクに影響を及ぼす傾向を示した。しかし、多変量ロジスティック回帰分析の結果、低用量 CPT-11 の投与を受けた婦人科癌患者における G4 の好中球減少発現には UGT1A1*6/*6 と*6/*28 だけの関与が示され、年齢やレジメンには統計学的な有意性が示されなかった。年齢については、高用量の CPT-11 レジメンが 70 歳以上の患者において安全に使用できることが複数の研究で示唆されている⁹⁴⁻⁹⁶⁾。その一方で、G3/4 の好中球減少の発現が 65 歳以上で高まることも示されている⁹⁷⁾。これらのことは、CPT-11 による重篤な好中球減少の発現リスクにおける加齢の影響について精査する必要性を示している。他方、レジメンについては、Sai らが日本人における肺癌や胃癌を中心とした研究において、G3/4 の好中球減少の発現は CPT-11+CDDP よりも CPT-11+MMC の方が 15%程度多かったことを示している¹³⁾。このことから、CPT-11+MMC は CPT-11+CDDP よりも重篤な好中球減少の発現リスクを高める可能性が疑われるが、まだ議論の余地があると思われる。

一方、日本人の肺癌や大腸癌を主体とした研究において、UGT1A1*6/*6 は G3/4 の好中球減少のリスクが有意に高いとの報告がなされている^{13, 15)}。また、韓国人の非小細胞肺癌患者において、G4 の好中球減少の発現に*6/*6 が関連することも報告されている^{9, 14)}。今回の*6/*6 に関する我々の見解は、これらの報告と同様であった。また、複合ヘテロ接合体である*6/*28 は、CPT-11 による G3/4 の好中球減少の発現リスクに関与することが日本人の大腸癌や肺癌患者において報告されている^{10, 98)}。これらの研究は*6/*28 についての本研究の見解を支持するが、その一方で Gao らは CPT-11 の投与を受けた中国人の大腸癌患者において、*6/*28 と G3/4 の好中球減少の発現との間に関連がなかったことを報告している⁹³⁾。このような見解が一致しない報告の存在は、*6/*28 についてのさらなる検討の必要性を示唆している。

これに対し、単一のヘテロ接合体については Sunakawa らが FOLFIRI レジメンで治療された日本人の大腸癌患者では、本研究の結果と同様、*1/*6 および

*1/*28 が G3/4 の好中球減少の発現に関与しなかったことを報告している⁹⁹⁾。しかし、日本人の肺癌や大腸癌を主体とした Onoue らの報告¹⁵⁾、および日本人の婦人科癌患者における Takano らの報告¹⁶⁾において、*1/*6 における G3/4 の好中球減少の発現リスクは*1/*1 よりも高かったことが示されている。このように、日本人における単一のヘテロ接合体についての見解は一致せず、まだ議論の余地が残っている。

一方、*ABCG2* 421C>A は CPT-11 による G4 の好中球減少の発現に影響を及ぼさないことが本研究において示唆された。この結果と同様、Han らは CPT-11+CDDP の化学療法を受けた韓国人の非小細胞肺癌患者では、G4 の好中球減少の発現と 421C>A の遺伝子型の間には関連がなかったことを報告している⁹²⁾。しかしながら、*ABCG2* 421C>A を遺伝子導入させた PA317 細胞は、野生型に比べて BCRP タンパクの発現および薬物耐性が低下し、*in vitro* において、この変異は表現型を変化させることが示唆されている⁹¹⁾。一方、日本人癌患者の症例対照研究では、*ABCG2* のイントロンの SNP である rs2622604 が CPT-11 による重篤な骨髄抑制のリスクを高めるとの報告¹⁰⁰⁾も認められる。これらのことから、*ABCG2* 421C>A についての再検証の必要性が示唆される。

これらの知見は、大腸癌や肺癌と同様、*UGT1A1* の変異の診断が婦人科領域の CPT-11 による化学療法においても有用であることを示唆するものであると考えられる。しかし、本研究は小標本なものであったため、*28/*28 の影響についての検討は行うことができなかった。また、本解析に使用したデータは CPT-11 が引き起す下痢や血小板減少などの副作用を含まず、好中球減少のみに関する限定的な研究である。さらに、今回は効果についての検討も実施していない。加えて、CPT-11 の重篤な好中球減少の発現には、*UGT1A1* 変異のみならず、*UGT1A7* や *UGT1A9*、*ABCB1* や *ABCC2* のような遺伝子における変異の関与も報告されている^{9, 14, 92, 101-104)}。したがって、これらの遺伝子におけるレアバリエントを含めた検討も今後必要であると考えられる。生理学的および環境的な要因に関する検討の必要性は言うまでもなく、年齢のみならず性別や喫煙など^{93, 105)}が CPT-11 による重篤な好中球減少の発現に関連する要因となることから、これらを考慮した解析が今後望まれる。

第 5 節 小括

1. ANC nadir 値と CPT-11 総投与量との間に相関性は存在しなかった。
2. ANC nadir 値は、*UGT1A1* の *1/*1 群に比べ、*6/*6 および*6/*28 群において低くなることが示唆された。
3. *UGT1A1* の *6/*6 および*6/*28 群は G4 の好中球減少の発現に関与することが示された。
4. *UGT1A1* の *1/*6 および*1/*28 群、*ABCG2* の 421C>A、レジメンの種類、および年齢は、G4 の好中球減少の発現との間に関連は認められなかった。

以上のように、本章では日本人における婦人科がん患者において、*UGT1A1* 遺伝子における *6/*6 および*6/*28 変異が CPT-11 により誘発される重篤な好中球減少の発現に関与することが明らかとなった。この知見は、大腸癌や肺癌と同様、*UGT1A1* 遺伝子多型の診断が婦人科領域の CPT-11 による化学療法においても有用であることを示唆するものである。

第4章 開局薬剤師に対するゲノム薬学に関するアンケート調査

第1節 序論

第1章から第3章における *UGT1A1* 遺伝子を主体とした種々の検討において、ゲノム情報に基づいた個別化医療の重要性がさらに示された。一方、このような個別化医療を実現させるためには、薬剤師自身が薬物治療の個別化についての理解を深め、積極的に参画しなければならないことも周知の事実である。また、*CYP2D6**5 や *CYP2C19**2/*3 などの遺伝子多型を判定する「おくすり体質検査」や健康食品会社の遺伝子検査によるダイエット対策キットの販売など、一般人が遺伝子検査に関心を示す機会が最近増えつつある。*UGT1A1* 遺伝子多型以外にも遺伝子多型診断法が将来、保険適用になる場合も考えられ、病院薬剤師のみならず開局薬局やドラッグストアの薬剤師もゲノム情報と個別化医療に関する知識は今後必要になるとと思われる。

緒言で述べた通り、このような医療・社会環境の変化に伴い、日本薬学会は教育を充実させるために2002年、薬学教育モデル・コアカリキュラムを掲げた (Fig. 2)。薬学専門教育「C15 薬物治療に役立つ情報」のなかに項目「テーラーメイド薬物治療をめざして」を提示し、その一般目標を「個々の患者に応じた投与計画を立案できるようになるために、薬物治療の個別化に関する基本的知識と技能を修得すること」とした。このモデル・コアカリキュラムに先がけて、北海道薬科大学（以下、本学とする）は、2000年、大学院に臨床薬学専攻を新設し、医薬情報学特論として臨床と関連した遺伝子情報の解析・活用に関する研究を行ってきた。大学院での教育を通じて、学部学生に対するゲノム解析実習の重要性を認識したことから、2002年～2007年、学部3年生を対象とした自由科目セミナー「お酒に強い人・弱い人—*ALDH2* 遺伝子の多型解析—」（6日間）を開講し、薬物代謝酵素遺伝子の解析について病院薬剤師と連携した教育プログラムを展開した。そして2004年から現在まで、「ゲノム薬学」を3年前期に必修講義（15講）として開講している。

以上のことから、2002年度入学以前の本学卒業生はゲノム薬学を履修していないものの、ゲノム情報の知識は薬剤師業務をするうえで重要になってくる

と考えられる。これまでに薬剤師に対する遺伝子診断に関する教育的取り組みとして、名古屋市立大学の報告がある¹⁰⁶⁾。しかしながら、大学におけるゲノム関連科目の教育効果と卒業後の薬剤師のゲノム情報と個別化医療に関する認識、薬剤師業務との関係性については、報告がない。そこで本章では、北海道内の開局薬局に勤務する薬剤師を対象として、この分野の知識の状況を把握するためにアンケート調査を実施した。アンケート調査内容は、患者個々のゲノム情報を薬物療法の個別化に活用する際に必要と思われる薬理遺伝学・ゲノム薬理的な知識・事項とした。本学での講義「ゲノム薬学」の未履修と履修の回答者のアンケート結果を解析し、比較検討した。

第2節 方法

第1項 調査の対象および方法

平成25年7月18日～同7月31日（14日間）を調査期間とした。対象者は本学を卒業した北海道在住の開局薬剤師976名とした。調査方法は郵送で、データの匿名性を確保するため、アンケート票は内封筒に入れるよう依頼し、いずれも無記名で行った。

第2項 調査項目

今回のアンケート調査票を Fig. 8 に示す。アンケートの内容は、薬理遺伝学・ゲノム薬理学に関わる用語についての15問の理解度（問1）、遺伝子多型と薬効や代謝能の個人差との関連についての7問の理解度（問2）、薬理遺伝学やゲノム薬理学に対する興味・関心の程度（問3）およびその理由（問4）、自分の薬剤師業務に対する薬理遺伝学やゲノム薬理的知識の有用性の程度（問5）およびその理由（問6）、それらの学習に対する意欲の程度（問7）とした。薬理遺伝学・ゲノム薬理学に関わる用語は、本学講義「ゲノム薬学」のシラバス、および「ゲノム薬理学における用語集」¹⁰⁷⁾を参考にした。なお、理解度、興味・関心、意欲の程度の回答は4択（4段階）とした。回答者の属性については、年齢、卒業年、薬剤師および開局薬剤師としての経験年数、勤務先の業務

形態および経営形態について質問した（問 8）。

第 3 項 分析方法

アンケート回答者の属性についての設問である問 8、および 4 択の設問である問 1~3、問 5 と問 7 について、講義「ゲノム薬学」の開講前に卒業した回答者（2005 年 3 月以前に卒業）である「未履修群」と開講後に卒業した回答者である「履修群」の 2 群に対して、以下のような分析を行った。問 8 については、この 2 群間における性別および回答者の勤務している施設の業種形態の分布の比較に Fisher's exact test、年齢および薬剤師経験年数の 2 群間の比較に Mann-Whitney's *U* test を用いた。回答者の勤務している施設の経営形態の 2 群間の比較に chi-square test を用いた。また、問 1~3、問 5、および問 7 の 4 択回答を“説明できる”・“ある”・“思う”を 4 点、“少し説明できる”・“少しある”・“少し思う”を 3 点、“聞いたことはあるが説明できない”・“あまりない”・“あまり思わない”を 2 点、“知らないので説明できない”・“ない”・“思わない”を 1 点とし、4 段階にスコア化して集計した。さらに、これらのスコアの違いを 2 群間で比較した（Mann-Whitney's *U* test）。また、薬理遺伝学やゲノム薬理学的な知識の学習意欲に関する設問である問 7 における回答の“あまり思わない”・“思わない”を「学習意欲なし」、 “思う”・“少し思う”を「学習意欲あり」の 2 項に分類した。これを目的変数とし、性別、年齢、履修歴、および問 3 と問 5 の回答を説明変数としたロジスティック回帰分析を行った。この分析では最初に単変量解析を行い、粗オッズ比および 95%信頼区間（95%CI）を求めた。さらに、この単変量解析において有意な関連性が認められた説明変数があった場合は、その説明変数を投入したステップワイズ法による多変量解析を行い、調整オッズ比および 95%CI を求めた。なお、問 3 と問 5 の回答は問 7 と同様、4 択の回答を 2 つに分類し、説明変数とした。これらの統計解析には、SPSS Statistics 21（IBM Japan, Inc.）および GraphPad Prism 5.0（GraphPad Prism Software）ソフトウェアを使用した。なお、統計学的有意差は、 $P < 0.05$ をもって判定した。

第4項 倫理的配慮

対象者には研究の概要および個人情報の保護について説明した調査依頼書をアンケート票と共に送付した。

問1 薬理遺伝学・ゲノム薬理学に関わる以下の用語の内容について（該当すると思われる□に✓印）

	説明できる	少し説明できる	聞いたことはあるが説明できない	知らないので説明できない
① 一塩基多型	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
② ヘテロ接合体	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
③ 遺伝子座	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
④ イントロン	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
⑤ アレル頻度	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
⑥ ハプロタイプ	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
⑦ コピー数多型	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
⑧ フレームシフト変異	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
⑨ 体細胞変異	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
⑩ マイクロサテライト	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
⑪ PCR-RFLP法	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
⑫ エピジェネティクス	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
⑬ KRAS 変異テスト	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
⑭ 疾患感受性遺伝子	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
⑮ コンパニオン診断薬	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

問2 遺伝子多型と薬効や代謝能の個人差との関連について（該当すると思われる□に✓印）

1) CYP2C19 の遺伝子多型とオメプラゾールの代謝能の個人差との関連について

説明できる 聞いたことはあるが説明できない
 少し説明できる 知らないで説明できない

2) CYP2B6 の遺伝子多型とエfavピレンツの代謝能・副作用発現の個人差との関連について

説明できる 聞いたことはあるが説明できない
 少し説明できる 知らないで説明できない

3) CYP2C9 の遺伝子多型とワルファリンの代謝能の個人差との関連について

説明できる 聞いたことはあるが説明できない
 少し説明できる 知らないで説明できない

4) CYP2D6 の遺伝子多型とタモキシフェンの効果の個人差との関連について

説明できる 聞いたことはあるが説明できない
 少し説明できる 知らないで説明できない

5) VKORC1 の遺伝子多型とワルファリンの効果の個人差との関連について

説明できる 聞いたことはあるが説明できない
 少し説明できる 知らないで説明できない

6) IL28B の遺伝子多型とペグインターフェロン・リバビリン療法の効果の個人差との関連について

説明できる 聞いたことはあるが説明できない
 少し説明できる 知らないで説明できない

7) UGT1A1 の遺伝子多型とイリノテカンの代謝能・副作用発現の個人差との関連について

説明できる 聞いたことはあるが説明できない
 少し説明できる 知らないで説明できない

問3 あなたは薬理遺伝学やゲノム薬理学に興味・関心がありますか？（該当すると思われる□に✓印）

ある あまりない
 少しある ない

問4 問3の回答の理由をお教え下さい。

問5 将来のご自身の薬剤師業務に薬理遺伝学やゲノム薬理学的な知識は必要だと思いますか？

思う あまり思わない
 少し思う 思わない

問6 問5の回答の理由をお教え下さい。

問7 最新の薬理遺伝学やゲノム薬理学的な知識について学習したいと思いますか？

思う あまり思わない
 少し思う 思わない

問8 最後に、ご自身のことについてお教え下さい。（□には✓印）

1) _____ 年生 昭和・平成 _____ 年3月学部卒（男・女） 年齢 _____ 歳

2) 薬剤師としての経験年数 _____ 年

3) 問答薬局薬剤師としての経験年数 _____ 年

4) 勤務している薬局の業種形態

保険薬局 保険薬局および OTC 販売併設 OTC 販売のみ
 その他 _____

5) 勤務している薬局の経営形態

チェーン店 個人経営 その他 _____

— 以上、ご協力頂きありがとうございます —

Fig. 8 アンケート調査票

第3節 結果

第1項 回答者の属性

アンケートの回収数は138名（回収率：14.1%）で、そのうち解析可能な有効回答者数は126名（男性61名、女性65名）であった。「ゲノム薬学」開講前の卒業生である未履修群は105名、開講後の卒業生である履修群は21名であった。年齢、薬剤師経験の平均年数、および開局薬剤師経験の平均年数は、未履修群と履修群との間に統計学的な有意差が認められた。一方、性別、業種形態および経営形態は、2群間に差が認められなかった（Table 13）。

第2項 アンケート結果

薬理遺伝学・ゲノム薬理学に関する用語についての設問である問1（15項目）における回答の全体的な分布に極端に大きな違いはなかった。しかし、“知らないので説明できない”は、いずれの項目も50%を超え、問1全体の平均値は71.8%と高かった（Table 14）。また、問1の項目を各々スコア化した場合、「①一塩基多型」のスコアが最も高かった一方で、「⑦コピー数多型」のスコアは最も低く、同じ遺伝子多型の項目同士にも開きがあった。他方、遺伝子多型と薬効や代謝能の個人差との関連についての設問である問2（7項目）における回答の分布にも、さほど大きな違いはなかった（Table 14）。しかし、「*CYP2C19*とオメプラゾール」の項目では、3割の回答者が“説明できる”もしくは“少し説明できる”と回答していた。さらに、「1) *CYP2C19*とオメプラゾール」のスコアは最も高く、逆に、「6) *IL28B*とペグインターフェロン・リバビリン療法」は最も低く、これらの上に0.7ポイントの開きがあった。また、問3、問5、および問7についての回答の分布は、問1や問2とは逆に、いずれも“ある・思う”および“少しある・少し思う”が50%を超え、スコアもすべて2ポイント以上と高かった。

講義「ゲノム薬学」の未履修群と履修群で問1の項目を比較した結果、そのうち「コピー数多型」、「エピジェネティクス」、「*KRAS*変異テスト」、「疾患感受性遺伝子」、および「コンパニオン診断薬」については、2群間で有意な差は認められなかった（Table 15）。しかし、それ以外の「一塩基多型」、「ヘテロ

接合体」、「遺伝子座」、「イントロン」、「アレル頻度」、「ハプロタイプ」、「フレームシフト変異」、「体細胞変異」、「マイクロサテライト」、および「PCR-RFLP法」に2群間で有意な差が認められた (Table 15)。同様に、問2の項目について比較した結果、7項目全てに2群間で有意差が認められた (Table 15)。また、問3、問5、および問7については、未履修群と履修群間では問3のみに有意な差が認められ、問5と問7には違いがなかった (Table 15)。

また、薬理遺伝学やゲノム薬理学の学習意欲 (問7) に影響を与える要因をロジスティック回帰分析した結果、単変量解析では年齢、問3と問5の回答が有意であったが、多変量解析では年齢は除外され、問3と問5の回答が有意な説明変数であった (Table 16)。

問3の回答理由についての自由記述 (問4) では、興味・関心のない理由として「難しそう・よくわからないから」、「日常の業務に関係がない」、および「苦手な分野だから」などを主に挙げていた。この逆に、興味・関心のある理由には「よくわからないので知りたい・知識を広げたい」、「薬剤師としてこの分野の知識は必要だから」、「最近、話題にあがるから」、「今後、必要になる (と思われる) 分野だから」などを挙げていた。なお、「大学で習わなかったから」という理由は、興味があると興味がないに共通していた。

また、問5の回答理由について自由記述 (問6) では、将来、自分の業務にこの分野の知識が必要だと思わない主な理由として「現時点では仕事に必要な (と感じ) ない」、「知識があってもそれを活かせる場がない」、「薬剤師の業務の範囲外」、「年齢的に厳しい」、「専門的で難しい・内容に馴染みがない」、および「遺伝子多型を調べた患者が来たことがない」などであった。反対に、自分の業務に知識が必要だと思う理由に「患者の質問に役立てたい」、「これからの薬剤師に必要なになる」、「在宅医療に関わることで必要」、「将来、有望視されている」、「今後、遺伝子多型による効果・副作用の判断が必要」、「実際に生かせたら患者の利益、サービス向上につながる」、「現在も必要だと思っている」、「実際に患者が遺伝子治療による処方箋を持ってきたので」、および「抗癌剤の多様化や個別化に伴って必要」などを挙げていた。

Table 13 有効回答者の属性の内訳

項目		回答者全体		未履修群		履修群		P値
人数	(人)	126		105		21		
性別(男/女)	(人)	(61/65)		(51/54)		(10/11)		1.000 (NS) ^{a)}
		平均	(SD)	平均	(SD)	平均	(SD)	
年齢	(歳)	41.97	9.27	44.88	7.15	27.43	2.18	<0.0001 ^{b)}
薬剤師としての経験年数	(年)	17.14	8.97	19.48	7.66	5.58	5.29	<0.0001 ^{b)}
開局薬剤師としての経験年数	(年)	12.05	8.16	13.45	7.99	4.26	3.29	<0.0001 ^{b)}
業種形態		人数	(%)	人数	(%)	人数	(%)	
1.保険薬局またはOTC販売のみ		81	64.3	65	61.9	16	76.2	0.318 (NS) ^{a)}
2.保険薬局およびOTC販売併設		45	35.7	40	38.1	5	23.8	
経営形態								
1.チェーン店		86	68.3	69	65.7	17	81.0	0.137 (NS) ^{c)}
2.個人経営		33	26.2	31	29.5	2	9.5	
3.その他・無回答		7	5.6	5	4.8	2	9.5	

a): Fisherの直接確率法、b): Mann-WhitneyのU検定、c): χ^2 検定

Table 14 有効回答者における回答の内訳 (n = 126)

問 質問内容	説明できる		少し説明できる		聞いたことはあるが説明できない		知らないので説明できない		スコア*	
	人数	(%)	人数	(%)	人数	(%)	人数	(%)	平均	SD
問1 ① 一塩基多型	3	2.4	11	8.7	46	36.5	66	52.4	1.61	0.75
② ヘテロ接合体	2	1.6	7	5.6	54	42.9	63	50.0	1.59	0.67
③ 遺伝子座	0	0	6	4.8	27	21.4	93	73.8	1.31	0.56
④ イントロン	4	3.2	9	7.1	28	22.2	85	67.5	1.46	0.77
⑤ アレル頻度	1	0.8	0	0	22	17.5	103	81.7	1.20	0.46
⑥ ハプロタイプ	0	0	3	2.4	25	19.8	98	77.8	1.25	0.48
⑦ コピー数多型	0	0	1	0.8	18	14.3	107	84.9	1.16	0.39
⑧ フレームシフト変異	3	2.4	7	5.6	26	20.6	90	71.4	1.39	0.70
⑨ 体細胞変異	3	2.4	7	5.6	49	38.9	67	53.2	1.57	0.71
⑩ マイクロサテライト	2	1.6	0	0	30	23.8	94	74.6	1.29	0.55
⑪ PCR-RFLP法	0	0	6	4.8	31	24.6	89	70.6	1.34	0.57
⑫ エピジェネティクス	0	0	2	1.6	18	14.3	106	84.1	1.17	0.42
⑬ KRAS変異テスト	0	0	3	2.4	18	14.3	105	83.3	1.19	0.45
⑭ 疾患感受性遺伝子	2	1.6	4	3.2	28	22.2	92	73.0	1.33	0.62
⑮ コンパニオン診断薬	0	0	1	0.8	26	20.6	99	78.6	1.22	0.44
問1の平均	1.3	1.1	4.5	3.5	29.7	23.6	90.5	71.8	1.34	
問2 1) CYP2C19とオメプラゾール	10	7.9	29	23.0	41	32.5	46	36.5	2.02	0.96
2) CYP2B6とエフィアレックス	1	0.8	7	5.6	30	23.8	88	69.8	1.37	0.63
3) CYP2C9とワルファリン	9	7.1	23	18.3	42	33.3	52	41.3	1.91	0.94
4) CYP2D6とタモキシフェン	3	2.4	9	7.1	38	30.2	76	60.3	1.52	0.73
5) VKORC1とワルファリン	3	2.4	3	2.4	34	27.0	86	68.3	1.39	0.66
6) IL28Bとベグインターフェロン・リバビリン療法	2	1.6	4	3.2	25	19.8	95	75.4	1.31	0.61
7) UGT1A1とイリノテカン	5	4.0	6	4.8	23	18.3	92	73.0	1.40	0.76
問2の平均	4.7	3.7	11.6	9.2	33.3	26.4	76.4	60.7	1.56	
					あまりない ・あまり思わない		ない・思わない		スコア**	
					人数 (%)	人数 (%)	人数 (%)	人数 (%)	平均	SD
問3 興味・関心があるか?	16	12.7	52	41.3	38	30.2	20	15.9	2.51	0.91
問5 将来の業務に知識は必要か?	23	18.3	58	46.0	36	28.6	9	7.1	2.75	0.84
問7 学習したいか?	24	19.0	67	53.2	23	18.3	12	9.5	2.82	0.85

*: 問1と問2は説明できるを4点、少し説明できるを3点、聞いたことはあるが説明できないを2点、知らないで説明できないを1点としてスコアを計算した。

** : 問3は、あるを4点、少しあるを3点、あまりないを2点、ないを1点、問5と問7は、思うを4点、少し思うを3点、あまり思わないを2点、思わないを1点としてスコアを計算した。
講義「ゲノム薬学」: 2004年度から開講。開講前の回答者(未履修群)は2005年3月卒業より前、開講後の回答者(履修群)はそれ以降に本学を卒業している。

Table 15 「ゲノム薬学」講義開講前と開講後の卒業生におけるスコアの比較

問	質問内容	未履修群のスコア (n = 105)		履修群のスコア (n = 21)		P 値*
		平均	SD	平均	SD	
問1	① 一塩基多型	1.44	0.59	2.48	0.87	<0.0001
	② ヘテロ接合体	1.48	0.61	2.14	0.73	<0.0001
	③ 遺伝子座	1.27	0.54	1.52	0.60	0.021
	④ イントロン	1.31	0.61	2.19	1.03	<0.0001
	⑤ アレル頻度	1.13	0.34	1.52	0.75	0.001
	⑥ ハプロタイプ	1.20	0.47	1.48	0.51	0.004
	⑦ コピー数多型	1.16	0.40	1.14	0.36	0.903
	⑧ フレームシフト変異	1.25	0.51	2.10	1.04	<0.0001
	⑨ 体細胞変異	1.49	0.64	2.00	0.89	0.006
	⑩ マイクロサテライト	1.23	0.49	1.57	0.75	0.010
	⑪ PCR-RFLP法	1.25	0.50	1.81	0.68	<0.0001
	⑫ エピジェネティクス	1.13	0.34	1.38	0.67	0.061
	⑬ KRAS変異テスト	1.16	0.42	1.33	0.58	0.109
	⑭ 疾患感受性遺伝子	1.30	0.57	1.52	0.81	0.183
	⑮ コンパニオン診断薬	1.21	0.43	1.29	0.46	0.402
問2	1) <i>CYP2C19</i> とオメプラゾール	1.81	0.83	3.10	0.83	<0.0001
	2) <i>CYP2B6</i> とエファビレンツ	1.29	0.57	1.81	0.75	<0.001
	3) <i>CYP2C9</i> とワルファリン	1.71	0.82	2.90	0.89	<0.0001
	4) <i>CYP2D6</i> とタモキシフェン	1.43	0.68	1.95	0.86	0.003
	5) <i>VKORC1</i> とワルファリン	1.29	0.53	1.90	0.94	<0.001
	6) <i>IL28B</i> とペグインターフェロン・リバビリン療法	1.24	0.49	1.67	0.97	0.022
	7) <i>UGT1A1</i> とイリノテカン	1.24	0.49	2.19	1.25	<0.0001
問3	興味・関心があるか?	2.41	0.90	3.00	0.84	0.007
問5	将来の業務に知識は必要か?	2.74	0.84	2.81	0.81	0.664
問7	学習したいか?	2.75	0.87	3.14	0.65	0.070

問1と問2は説明できるを4点、少し説明できるを3点、聞いたことはあるが説明できないを2点、知らないで説明できないを1点、問3は、あるを4点、少しあるを3点、あまりないを2点、ないを1点、問5と問7は、思うを4点、少し思うを3点、あまり思わないを2点、思わないを1点とした。

*: Mann-WhitneyのU検定

Table 16 薬理遺伝学やゲノム薬理学の学習意欲に影響を与える要因のロジスティック回帰分析

項目		単変量分析			多変量分析		
		オッズ比	95%信頼区間	P値	オッズ比	95%信頼区間	P値
性別	男	1					
	女	0.861	0.394-1.88	0.707			
年齢	歳	0.951	0.908-0.995	0.029			
「ゲノム薬学」の履修	なし	1					
	あり	2.63	0.723-9.56	0.142			
問3 興味・関心があるか？	あまりない・ない	1					
	ある・少しある	10.3	3.87-27.6	<0.001	8.78	2.99-25.8	<0.001
問5 将来の業務に知識は必要か？	あまり思わない・思わない	1					
	思う・少し思う	10.9	4.40-27.2	<0.001	9.38	3.44-25.6	<0.001

単変量, および多変量解析の目的変数には問7(最新の薬理遺伝学やゲノム薬理学的知識を学習したいか)の回答「あまり思わない・思わない」および「思う・少し思う」を設定した。

第4節 考察

本学において「ゲノム薬学」が開講されてから、まだ10年も経過していただけでなく、この間、6年制に移行したこともあり、本研究の解析対象の126名の回答者うち、履修群の人数は21名(16.7%)にとどまった(Table 13)。このように、未履修の比率が高く、解析結果はこれらの回答者の意見に偏重する傾向があることは否めない。本来であれば、未履修者と履修者は同程度の人数で検討を行うべきだったと考えられるが、本アンケートの性質上は困難であった。しかしながら、業務および経営形態は、両群間に違いが認められなかったことから、少なくとも、本母集団には業務環境の点についての偏りは小さいと考えられる。

一方、問1の全項目における“説明できる”と“少し説明できる”の割合は、各々、1.1%と3.5%(Table 14)で、両方合わせても5%に満たなかったことから、本母集団は、全体的に薬理遺伝学・ゲノム薬理学に関わる基本的な用語の理解に乏しい状況だったことが明らかになった。また、Table 14の問1の各スコアの平均値における上位5項目は、「一塩基多型」、「ヘテロ接合体」、「体細胞変異」、「イントロン」、および「フレームシフト変異」の順であった。これらはいずれも「ゲノム薬学」以外に、生物学や生化学で講義される内容であるため、説明できる回答者が少なかった問1の項目のなかでも、若干、理解できる傾向だったと思われる。これと反対に、下位の5項目は低い順に「コピー数多型」、「エピジェネティクス」、「KRAS 変異テスト」、「アレル頻度」、および「コンパニオン診断薬」などであった(Table 14)。「アレル頻度」以外は、ゲノムに関連した新しい用語であるため、このようにスコアがやや低めになったと考えられる。さらに、「アレル頻度」については“アレル”を“対立遺伝子”と日本語で表記しなかったため、スコアが低くなった可能性も考えられる。また、問1の各項目における未履修群と履修群のスコアを比較したが「コピー数多型」、「エピジェネティクス」、「KRAS 変異テスト」、「疾患感受性遺伝子」、および「コンパニオン診断薬」には有意な違いは認められなかった(Table 15)。これらの項目は最近話題とされたものであり、本学の「ゲノム薬学」の講義においても、ここ数年、内容に盛り込まれたものが多い。そのため、未履修群と

履修群の母数には隔たりがあるものの、両群間で差がなかったと考えられる。これらのような基礎的な語句や事項の理解の不足が、この分野に対して持つことが多い、“取っ付きにくい上、難しく、興味が持てないもの”というイメージをさらに助長させてしまうと考えられる。このことから、現役の学生の講義における方法や内容を配慮するだけでなく、変化が著しいこの分野についての卒後のサポートの重要性が再確認される。

また、遺伝子多型と薬効や代謝能の個人差との関連についての設問である問2について (Table 14) は、回答者全体でみると、“知らないので説明できない”の平均は 60.7%で、問1と類似した結果であった。また、エファビレンツは抗 HIV 薬、ペグ・インターフェロンとイリノテカン注射薬であり、保険調剤薬局で取り扱うことが少ないため、特に、これらの項目の認知度が低かった可能性が考えられる。なお、「CYP2C19 とオメプラゾール」と「CYP2C9 とワルファリン」を“説明できる”や“少し説明できる”とした回答者は、各々、10名と29名、および9名と23名で、これら以外の項目より若干多かった。これは、両者が内服薬であり、保険調剤薬局においても調剤・投薬される機会が多いことが要因であると考えられる。一方、今回アンケートの質問項目とはしなかったが、チロシンキナーゼ阻害剤のゲフィチニブやイマチニブの耐性化には体細胞変異が関与し、このような分子標的治療薬が処方された患者に服薬指導するためには保険調剤薬局の薬剤師においてもゲノムの知識の習得が必須である。また近年、新たな分子標的治療薬が続々と登場していることから、将来は保険調剤薬局が個別化薬物治療における主体の場になることが推察される。

他方、問3の薬理遺伝学やゲノム薬理学についての興味・関心についての回答は“ある”と“少しある”をあわせると54%で、半数以上が興味を持っていた (Table 14)。しかし、未履修群と履修群の間でスコアに有意な差が認められ (Table 15)、この分野に対し、「ゲノム薬学」の履修者が母数は少ないものの、より興味を持っていることが示唆された。この“興味のある”理由には大学の講義の時、興味を持ったからとの記述も認められ、本学の「ゲノム薬学」の講義は少ないながらも有効であったことがうかがえる。また、大学で「ゲノム薬学」を履修していない回答者の中には、この分野が現在の保険薬局業務に直結しないと考えていても、その有用性を理解しているような回答も多く見う

けられた。したがって、履修の有無や年齢に関係なく、この分野に興味・関心を示している回答者も少なくないと考えられる。

今回、ロジスティック回帰分析を用い、この学習意欲の要因の解析を行った結果 (Table 16)、「この分野の知識の興味・関心」、および「業務上の必要性」が有意な要因であった。このことから、学習意欲には、性別、年齢、「ゲノム薬学」の履修歴ではなく、この分野の興味・関心と将来の業務にこのような知識が必要か否かという回答者自身の考え方が独立した影響を及ぼしていると考えられる。したがって、この分野の学習意欲の向上には、これらのことを考慮する必要のあることが明らかとなった。

多くの回答者は、薬理遺伝学およびゲノム薬理学について学習意欲を有しているものの、基本的な事項の知識について難点のあることが今回のアンケート結果から浮かび上がった。また、「ゲノム薬学」の履修の有無で、薬理遺伝学およびゲノム薬学に対する理解度や関心に若干の開きもあることも明らかになった。さらに、この分野に関する知識は実際の業務の中になかなか活用できないことも判明し、このことから、臨床に即した内容を簡素に教示することの重要性が示唆される。一方で、次世代の薬剤師へのこの啓蒙も重要であるが、卒後は、将来のオーダーメイド医療に向けた薬理遺伝学やゲノム薬学のアップデートな知識の自らの継続した習得が望ましいと思われる。

「ゲノム薬理学を適用する臨床研究と検査に関するガイドライン」¹⁰⁸⁾や玉起の報告¹⁰⁹⁾によると、遺伝子検査は患者が投与された薬の副作用回避のみならず、個人の医療経費の見直しに繋がり、ひいては国民医療費の削減に繋がるものである。今後、薬剤師はこのような分野の知識を基に、医療費と臨床的効果をも考慮した「オーダーメイド (テーラーメイド) 医療」を提案する能力が求められる可能性も考えられる。次世代ゲノムシーケンサーを用いることにより、個人の全ゲノム配列が数日で解読できる時代に突入し、倫理的な配慮は必須であるが、今後、このような個人の遺伝情報が臨床検査データと同様に電子媒体として記録されることとなることも夢物語ではないと考えられる。政府が2010年に発表した「どこでも MY 病院」構想の実現を考えると、将来、病院勤務や保険薬局勤務に関係なく、どの薬剤師も個人のゲノム情報に関与する可能性は否定できず、その場合、このような知識の習得は必須である。今後、

このような知識が在宅医療に関わる薬剤師にも重要となっていくことは必然である。

第5節 小括

1. 「ゲノム薬学」履修群は未履修群に比べ、薬理遺伝学・ゲノム薬理学、遺伝子多型と薬効に関する知識が多く、この分野の知識の興味・関心の程度や学習意欲も高かった。
2. 未履修群および履修群ともに薬理遺伝学・ゲノム薬理学に対する学習意欲はあるものの、薬剤師業務ではそれらの知識を活用しにくいことが判明した。
3. ロジスティック回帰分析の結果、薬理遺伝学やゲノム薬理学の学習意欲には「この分野の知識の興味・関心」、および「業務上の必要性」が影響していることが確認された。

以上のことから、開局薬剤師は将来、このような薬理遺伝学やゲノム薬学の知識が必要なものであると理解し、勉強する意欲を持っているものの、これらの内容が難解であり、実際の薬剤師業務には取り入れにくい内容であると捕えていることがうかがえた。今後、このような知識が在宅医療などの地域医療に関わる薬剤師にも重要となっていくことは必然であり、これらについて理解しやすいよう、卒前の教育だけでなく、卒後の教育においても十分に支援していく必要性のあることが示唆された。

総 括

1. 本研究の SNP および CNV 解析によって、*UGT1A1* 遺伝子と *FCGR* 遺伝子の日本人において不足しているゲノム情報の集積に貢献することができた。
2. 健常日本人における血清総ビリルビン値は、*UGT1A1* 遺伝子変異のホモ接合体だけでなく、*1/*28 や *6/*28 のようなヘテロ接合体によっても高くなることが示された。
3. 婦人科がん化学療法においても CPT-11 により引き起こされるグレード 4 の好中球減少の発現に *UGT1A1* の *6/*6 および *6/*28 が関与することが示された。
4. 開局薬剤師は、ゲノム薬理学や個別化医療の重要性を認知しているが、これらの知識が難解であり、実務に反映しにくいと感じていることから、これらを考慮した教育の必要性が示された。

以上のことから、本研究により得られた知見は、薬剤師業務におけるゲノム情報に基づいた個別化医療の更なる発展に寄与することが期待される。

謝 辞

本研究に際し、終始懇切なる御指導御鞭撻を賜りました北海道薬科大学医薬情報解析学分野 黒澤 菜穂子 教授に深甚なる謝意を表します。さらに、本研究に有益な御助言と御指導御鞭撻を賜りました札幌北楡病院薬剤部 齊藤 嘉津彦 部長に心より謝意を表します。また、本研究に種々の御協力を頂いた北海道薬科大学医薬情報解析学分野 梅田 純代 講師に厚くお礼申し上げます。

また、本研究の実施にあたり御協力御助言を頂きましたオークランド大学 Dr. Nuala Helsby、札幌医科大学医学部麻酔科学講座 山蔭 道明 教授、同 杉野 繁一 助教、独立行政法人国立病院機構北海道がんセンター薬剤科 高崎 雅彦 科長、独立行政法人国立病院機構北海道がんセンター乳腺外科 高橋 将人 診療統括部長、独立行政法人国立病院機構北海道がんセンター婦人科 加藤 秀則 副院長、自治医科大学附属病院薬剤部 澤口 武尊 先生、独立行政法人国立がん研究センター東病院薬剤部 林 直美 先生に厚くお礼申し上げます。

参考文献

- 1) Pagliarulo V, Datar RH, Cote RJ: Role of genetic and expression profiling in pharmacogenomics: the changing face of patient management, *Curr. Issues Mol. Biol.*, 4, 101-10 (2002).
- 2) Jain KK: Personalized medicine, *Curr. Opin. Mol. Ther.*, 4, 548-58 (2002).
- 3) Guillemette C: Pharmacogenomics of human UDP-glucuronosyltransferase enzymes, *Pharmacogenomics J.*, 3, 136-158 (2003).
- 4) Bosma PJ, Chowdhury JR, Bakker C, Gantla S, de Boer A, Oostra BA, Lindhout D, Tytgat GN, Jansen PL, Oude Elferink RP, *et al.*: The genetic basis of the reduced expression of bilirubin UDP-glucuronosyltransferase 1 in Gilbert's syndrome, *N. Engl. J. Med.*, 333, 1171-5 (1995).
- 5) Aono S, Adachi Y, Uyama E, Yamada Y, Keino H, Nanno T, Koiwai O, Sato H: Analysis of genes for bilirubin UDP-glucuronosyltransferase in Gilbert's syndrome. *Lancet*, 345, 958-9 (1995).
- 6) Iyer L, Das S, Janisch L, Wen M, Ramírez J, Karrison T, Fleming GF, Vokes EE, Schilsky RL, Ratain MJ: *UGT1A1**28 polymorphism as a determinant of irinotecan disposition and toxicity, *Pharmacogenomics J.*, 2, 43-7 (2002).
- 7) Innocenti F, Undevia SD, Iyer L, Chen PX, Das S, Kocherginsky M, Karrison T, Janisch L, Ramírez J, Rudin CM, Vokes EE, Ratain MJ: Genetic variants in the *UDP-glucuronosyltransferase 1A1* gene predict the risk of severe neutropenia of irinotecan, *J. Clin. Oncol.*, 22, 1382-8 (2004).
- 8) Rouits E, Boisdron-Celle M, Dumont A, Guérin O, Morel A, Gamelin E: Relevance of different *UGT1A1* polymorphisms in irinotecan-induced toxicity: a molecular and clinical study of 75 patients, *Clin. Cancer Res.*, 10, 5151-9 (2004).
- 9) Han JY, Lim HS, Shin ES, Yoo YK, Park YH, Lee JE, Jang IJ, Lee DH, Lee JS: Comprehensive analysis of *UGT1A* polymorphisms predictive for pharmacokinetics and treatment outcome in patients with non-small-cell lung cancer treated with irinotecan and cisplatin, *J. Clin. Oncol.*, 24, 2237-44

- (2006).
- 10) Minami H, Sai K, Saeki M, Saito Y, Ozawa S, Suzuki K, Kaniwa N, Sawada J, Hamaguchi T, Yamamoto N, Shirao K, Yamada Y, Ohmatsu H, Kubota K, Yoshida T, Ohtsu A, Saijo N: Irinotecan pharmacokinetics/pharmacodynamics and *UGT1A1* genetic polymorphisms in Japanese: roles of *UGT1A1**6 and *28, *Pharmacogenet. Genomics*, 17, 497-504 (2007).
 - 11) Jada SR, Lim R, Wong CI, Shu X, Lee SC, Zhou Q, Goh BC, Chowbay B: Role of *UGT1A1**6, *UGT1A1**28 and *ABCG2* c.421C>A polymorphisms in irinotecan-induced neutropenia in Asian cancer patients, *Cancer Sci.*, 98, 1461-7 (2007).
 - 12) Hoskins JM, Goldberg RM, Qu P, Ibrahim JG, McLeod HL: *UGT1A1**28 genotype and irinotecan-induced neutropenia: dose matters, *J. Natl. Cancer Inst.*, 99, 1290-5 (2007).
 - 13) Sai K, Saito Y, Sakamoto H, Shirao K, Kurose K, Saeki M, Ozawa S, Kaniwa N, Hirohashi S, Saijo N, Sawada J, Yoshida T: Importance of *UDP-glucuronosyltransferase 1A1**6 for irinotecan toxicities in Japanese cancer patients, *Cancer Lett.*, 261, 165-71 (2008).
 - 14) Han JY, Lim HS, Park YH, Lee SY, Lee JS: Integrated pharmacogenetic prediction of irinotecan pharmacokinetics and toxicity in patients with advanced non-small cell lung cancer, *Lung Cancer*, 63, 115-20 (2009).
 - 15) Onoue M, Terada T, Kobayashi M, Katsura T, Matsumoto S, Yanagihara K, Nishimura T, Kanai M, Teramukai S, Shimizu A, Fukushima M, Inui K: *UGT1A1**6 polymorphism is most predictive of severe neutropenia induced by irinotecan in Japanese cancer patients, *Int. J. Clin. Oncol.*, 14, 136-42 (2009).
 - 16) Takano M, Kato M, Yoshikawa T, Sasaki N, Hirata J, Furuya K, Takahashi M, Yokota H, Kino N, Horie K, Goto T, Fujiwara K, Ishii K, Kikuchi Y, Kita T: Clinical significance of *UDP-glucuronosyltransferase 1A1**6 for toxicities of combination chemotherapy with irinotecan and cisplatin in gynecologic cancers: a prospective multi-institutional study, *Oncology*, 76, 315-21 (2009).
 - 17) Takahara N, Nakai Y, Isayama H, Sasaki T, Satoh Y, Takai D, Hamada T,

- Uchino R, Mizuno S, Miyabayashi K, Mohri D, Kawakubo K, Kogure H, Yamamoto N, Sasahira N, Hirano K, Ijichi H, Tada M, Yatomi Y, Koike K: Uridine diphosphate glucuronosyl transferase 1 family polypeptide A1 gene (*UGT1A1*) polymorphisms are associated with toxicity and efficacy in irinotecan monotherapy for refractory pancreatic cancer, *Cancer Chemother. Pharmacol.*, 71, 85-92 (2013).
- 18) Freeman JL, Perry GH, Feuk L, Redon R, McCarroll SA, Altshuler DM, Aburatani H, Jones KW, Tyler-Smith C, Hurles ME, Carter NP, Scherer SW, Lee C: Copy number variation: new insights in genome diversity, *Genome Res.*, 16, 949-61 (2006).
- 19) Ionita-Laza I, Rogers AJ, Lange C, Raby BA, Lee C: Genetic association analysis of copy-number variation (CNV) in human disease pathogenesis, *Genomics*, 93, 22-6 (2009).
- 20) Wain LV, Armour JA, Tobin MD: Genomic copy number variation, human health, and disease, *Lancet*, 374, 340-50 (2009).
- 21) Fanciulli M, Petretto E, Aitman TJ: Gene copy number variation and common human disease, *Clin. Genet.*, 77, 201-13 (2010).
- 22) Hebring SJ, Moyer AM, Weinshilboum RM: Sulfotransferase gene copy number variation: pharmacogenetics and function, *Cytogenet. Genome Res.*, 123, 205-10 (2008).
- 23) Moriya H, Saito K, Helsby N, Hayashi N, Sugino S, Yamakage M, Sawaguchi T, Takasaki M, Takahashi M, Kurosawa N: Single-nucleotide polymorphisms and copy number variations of the *FCGR2A* and *FCGR3A* genes in healthy Japanese subjects, *Biomed. Rep.*, in press.
- 24) Moriya H, Saito K, Helsby N, Sugino S, Yamakage M, Takasaki M, Kato H, Kurosawa N: The association between heterozygosity for *UGT1A1**6, *UGT1A1**28, and variation in the serum total-bilirubin level in healthy young Japanese adults, *Genet. Test. Mol. Biomarkers*, 17, 464-9 (2013).
- 25) Moriya H, Saito K, Helsby N, Sugino S, Yamakage M, Sawaguchi T, Takasaki M, Kato H, Kurosawa N: The relationship between the low-dose irinotecan

- regimen-induced occurrence of grade 4 neutropenia and genetic variants of *UGT1A1* in Japanese patients with gynecologic cancers, *Oncol. Lett.*, in press.
- 26) 守屋寛之, 梅田純代, 齊藤嘉津彦, 黒澤菜穂子: 「ゲノム情報と個別化医療」教育における取り組みの検討ー開局薬局薬剤師に対するアンケート調査ー, *薬局薬学*, in press.
 - 27) Kurose K, Sugiyama E, Saito Y: Population differences in major functional polymorphisms of pharmacokinetics/pharmacodynamics-related genes in Eastern Asians and Europeans: implications in the clinical trials for novel drug development, *Drug Metab. Pharmacokinet.*, 27, 9-54 (2012).
 - 28) Maenaka K, van der Merwe PA, Stuart DI, Jones EY, Sondermann P: The human low affinity Fcγ receptors IIa, IIb, and III bind IgG with fast kinetics and distinct thermodynamic properties, *J. Biol. Chem.*, 276, 44898-904 (2001).
 - 29) Galon J, Robertson MW, Galinha A, Mazières N, Spagnoli R, Fridman WH, Sautès C: Affinity of the interaction between Fc γ receptor type III (Fc γ₃R) and monomeric human IgG subclasses. Role of Fc γ₃R glycosylation, *Eur. J. Immunol.*, 27, 1928-32 (1997).
 - 30) Reilly AF, Norris CF, Surrey S, Bruchak FJ, Rappaport EF, Schwartz E, McKenzie SE: Genetic diversity in human Fc receptor II for immunoglobulin G: Fc γ receptor IIA ligand-binding polymorphism, *Clin. Diagn. Lab. Immunol.*, 1, 640-4 (1994).
 - 31) Koene HR, Kleijer M, Algra J, Roos D, von dem Borne AE, de Haas M: Fc γ₃R-158V/F polymorphism influences the binding of IgG by natural killer cell Fc γ₃R, independently of the Fc γ₃R-48L/R/H phenotype, *Blood*, 90, 1109-14 (1997).
 - 32) Van Den Berg L, Myhr KM, Kluge B, Vedeler CA: Fcγ receptor polymorphisms in populations in Ethiopia and Norway, *Immunology*, 104, 87-91 (2001).
 - 33) Breunis WB, van Mirre E, Bruin M, Geissler J, de Boer M, Peters M, Roos D, de Haas M, Koene HR, Kuijpers TW: Copy number variation of the activating *FCGR2C* gene predisposes to idiopathic thrombocytopenic purpura, *Blood*, 111,

- 1029-38 (2008).
- 34) Iwasaki M, Shimada N, Kasuga Y, Yokoyama S, Onuma H, Nishimura H, Kusama R, Hamada GS, Nishimoto IN, Iyeyasu H, Motola J Jr, Laginha FM, Anzai R, Tsugane S: Fragment c gamma receptor gene polymorphisms and breast cancer risk in case-control studies in Japanese, Japanese Brazilians, and non-Japanese Brazilians, *Breast Cancer Res. Treat.*, 126, 497-505 (2011).
 - 35) Concetti F, Napolioni V: Insights into the role of Fc gamma receptors (FcgammaRs) genetic variations in monoclonal antibody-based anti-cancer therapy, *Recent Pat. Anticancer Drug Discov.*, 5, 197-204 (2010).
 - 36) Bournazos S, Woof JM, Hart SP, Dransfield I: Functional and clinical consequences of Fc receptor polymorphic and copy number variants, *Clin. Exp. Immunol.*, 157, 244-54 (2009).
 - 37) Song YW, Han CW, Kang SW, Baek HJ, Lee EB, Shin CH, Hahn BH, Tsao BP: Abnormal distribution of Fc gamma receptor type IIa polymorphisms in Korean patients with systemic lupus erythematosus, *Arthritis Rheum.*, 41, 421-6 (1998).
 - 38) Magnusson V, Johanneson B, Lima G, Odeberg J, Alarcón-Segovia D, Alarcón-Riquelme ME: Both risk alleles for FcgammaRIIA and FcgammaRIIIA are susceptibility factors for SLE: a unifying hypothesis, *Genes Immun.*, 5, 130-7 (2004).
 - 39) Cartron G, Dacheux L, Salles G, Solal-Celigny P, Bardos P, Colombat P, Watier H: Therapeutic activity of humanized anti-CD20 monoclonal antibody and polymorphism in IgG Fc receptor FcgammaRIIIa gene, *Blood*, 99, 754-8 (2002).
 - 40) Weng WK, Levy R: Two immunoglobulin G fragment C receptor polymorphisms independently predict response to rituximab in patients with follicular lymphoma. *J. Clin. Oncol.*, 21, 3940-7 (2003).
 - 41) Hatjiharissi E, Xu L, Santos DD, Hunter ZR, Ciccarelli BT, Verselis S, Modica M, Cao Y, Manning RJ, Leleu X, Dimmock EA, Kortsaris A, Mitsiades C, Anderson KC, Fox EA, Treon SP: Increased natural killer cell expression of

- CD16, augmented binding and ADCC activity to rituximab among individuals expressing the Fc{gamma}RIIIa-158 V/V and V/F polymorphism, *Blood*, 110, 2561-4 (2007).
- 42) Paiva M, Marques H, Martins A, Ferreira P, Catarino R, Medeiros R: Fc{gamma}RIIIa polymorphism and clinical response to rituximab in non-Hodgkin lymphoma patients, *Cancer Genet. Cytogenet.*, 183, 35-40 (2008).
- 43) Weng WK, Negrin RS, Lavori P, Horning SJ: Immunoglobulin G Fc receptor Fc{gamma}RIIIa 158 V/F polymorphism correlates with rituximab-induced neutropenia after autologous transplantation in patients with non-Hodgkin's lymphoma, *J. Clin. Oncol.*, 28, 279-84 (2010).
- 44) Musolino A, Naldi N, Bortesi B, Pezzuolo D, Capelletti M, Missale G, Laccabue D, Zerbini A, Camisa R, Bisagni G, Neri TM, Ardizzoni A: Immunoglobulin G fragment C receptor polymorphisms and clinical efficacy of trastuzumab-based therapy in patients with HER-2/neu-positive metastatic breast cancer, *J. Clin. Oncol.*, 26, 1789-96 (2008).
- 45) Tamura K, Shimizu C, Hojo T, Akashi-Tanaka S, Kinoshita T, Yonemori K, Kouno T, Katsumata N, Ando M, Aogi K, Koizumi F, Nishio K, Fujiwara Y: *Fc³R2A* and *3A* polymorphisms predict clinical outcome of trastuzumab in both neoadjuvant and metastatic settings in patients with HER2-positive breast cancer, *Ann. Oncol.*, 22, 1302-7 (2011).
- 46) Zhang W, Gordon M, Schultheis AM, Yang DY, Nagashima F, Azuma M, Chang HM, Borucka E, Lurje G, Sherrod AE, Iqbal S, Groshen S, Lenz HJ: *FCGR2A* and *FCGR3A* polymorphisms associated with clinical outcome of epidermal growth factor receptor expressing metastatic colorectal cancer patients treated with single-agent cetuximab, *J. Clin. Oncol.*, 25, 3712-8 (2007).
- 47) Bibeau F, Lopez-Crapez E, Di Fiore F, Thezenas S, Ychou M, Blanchard F, Lamy A, Penault-Llorca F, Frébourg T, Michel P, Sabourin JC, Boissière-Michot F: Impact of Fc{gamma}RIIIa-Fc{gamma}RIIIa polymorphisms and *KRAS* mutations on the clinical outcome of patients with metastatic colorectal cancer treated with cetuximab plus irinotecan, *J. Clin.*

- Oncol.*, 27, 1122-9 (2009).
- 48) Pander J, Gelderblom H, Antonini NF, Tol J, van Krieken JH, van der Straaten T, Punt CJ, Guchelaar HJ: Correlation of *FCGR3A* and *EGFR* germline polymorphisms with the efficacy of cetuximab in *KRAS* wild-type metastatic colorectal cancer, *Eur. J. Cancer.*, 46, 1829-34 (2010).
 - 49) Hollox EJ, Detering JC, Dehugara T: An integrated approach for measuring copy number variation at the *FCGR3* (CD16) locus, *Hum. Mutat.*, 30, 477-84 (2009).
 - 50) Breunis WB, van Mirre E, Geissler J, Laddach N, Wolbink G, van der Schoot E, de Haas M, de Boer M, Roos D, Kuijpers TW: Copy number variation at the *FCGR* locus includes *FCGR3A*, *FCGR2C* and *FCGR3B* but not *FCGR2A* and *FCGR2B*, *Hum. Mutat.*, 30, E640-50 (2009).
 - 51) Zhou XJ, Lv JC, Bu DF, Yu L, Yang YR, Zhao J, Cui Z, Yang R, Zhao MH, Zhang H: Copy number variation of *FCGR3A* rather than *FCGR3B* and *FCGR2B* is associated with susceptibility to anti-GBM disease, *Int. Immunol.*, 22, 45-51 (2010).
 - 52) Niederer HA, Willcocks LC, Rayner TF, Yang W, Lau YL, Williams TN, Scott JA, Urban BC, Peshu N, Dunstan SJ, Hien TT, Phu NH, Padyukov L, Gunnarsson I, Svenungsson E, Savage CO, Watts RA, Lyons PA, Clayton DG, Smith KG: Copy number, linkage disequilibrium and disease association in the *FCGR* locus, *Hum. Mol. Genet.*, 19, 3282-94 (2010).
 - 53) Fanciulli M, Vyse TJ, Aitman TJ: Copy number variation of Fc gamma receptor genes and disease predisposition, *Cytogenet. Genome Res.*, 123, 161-8 (2008).
 - 54) Schaschl H, Aitman TJ, Vyse TJ: Copy number variation in the human genome and its implication in autoimmunity, *Clin. Exp. Immunol.*, 156, 12-6 (2009).
 - 55) Saito K, Moriya H, Sawaguchi T, Hayakawa T, Nakahara S, Goto A, Arimura Y, Imai K, Kurosawa N, Owada E, Miyamoto A: Haplotype analysis of UDP-glucuronocyltransferase 2B7 gene (*UGT2B7*) polymorphisms in healthy Japanese subjects, *Clin. Biochem.*, 39, 303-8 (2006).
 - 56) Liu K, Muse SV: PowerMarker: an integrated analysis environment for genetic

- marker analysis, *Bioinformatics*, 21, 2128-9 (2005).
- 57) Rodriguez S, Gaunt TR, Day IN: Hardy-Weinberg equilibrium testing of biological ascertainment for Mendelian randomization studies, *Am. J. Epidemiol.*, 169, 505-14 (2009).
- 58) Akaba K, Kimura T, Sasaki A, Tanabe S, Ikegami T, Hashimoto M, Umeda H, Yoshida H, Umetsu K, Chiba H, Yuasa I, Hayasaka K: Neonatal hyperbilirubinemia and mutation of the bilirubin uridine diphosphate-glucuronosyltransferase gene: a common missense mutation among Japanese, Koreans and Chinese, *Biochem. Mol. Biol. Int.*, 46, 21-6 (1998).
- 59) Takeuchi K, Kobayashi Y, Tamaki S, Ishihara T, Maruo Y, Araki J, Mifuji R, Itani T, Kuroda M, Sato H, Kaito M, Adachi Y: Genetic polymorphisms of bilirubin uridine diphosphate-glucuronosyltransferase gene in Japanese patients with Crigler-Najjar syndrome or Gilbert's syndrome as well as in healthy Japanese subjects, *J. Gastroenterol. Hepatol.*, 19, 1023-8 (2004).
- 60) Kaniwa N, Kurose K, Jinno H, Tanaka-Kagawa T, Saito Y, Saeki M, Sawada J, Tohkin M, Hasegawa R: 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.*, 33, 458-65 (2005).
- 61) Ki CS, Lee KA, Lee SY, Kim HJ, Cho SS, Park JH, Cho S, Sohn KM, Kim JW: Haplotype structure of the UDP-glucuronosyltransferase 1A1 (*UGT1A1*) gene and its relationship to serum total bilirubin concentration in a male Korean population, *Clin. Chem.*, 49, 2078-81 (2003).
- 62) Zhang A, Xing Q, Qin S, Du J, Wang L, Yu L, Li X, Xu L, Xu M, Feng G, He L: Intra-ethnic differences in genetic variants of the *UGT-glucuronosyltransferase 1A1* gene in Chinese populations, *Pharmacogenomics J.*, 7, 333-8 (2007).
- 63) Innocenti F, Liu W, Chen P, Desai AA, Das S, Ratain MJ: Haplotypes of variants in the *UDP-glucuronosyltransferase 1A9* and *1A1* genes, *Pharmacogenet. Genomics*, 15, 295-301 (2005).

- 64) White GL Jr, Nelson JA, Pedersen DM, Ash KO: Fasting and gender (and altitude?) influence reference intervals for serum bilirubin in healthy adults, *Clin. Chem.*, 27, 1140-2 (1981).
- 65) Jo J, Kimm H, Yun JE, Lee KJ, Jee SH: Cigarette smoking and serum bilirubin subtypes in healthy Korean men: the Korea medical institute study, *J. Prev. Med. Public Health.*, 45, 105-2 (2012).
- 66) Rosenthal P, Pincus M, Fink D: Sex- and age-related differences in bilirubin concentrations in serum, *Clin. Chem.*, 30, 1380-2 (1984).
- 67) Zucker SD, Horn PS, Sherman KE: Serum bilirubin levels in the U.S. population: gender effect and inverse correlation with colorectal cancer, *Hepatology*, 40, 827-35 (2004).
- 68) Horsfall LJ, Rait G, Walters K, Swallow DM, Pereira SP, Nazareth I, Petersen I: Serum bilirubin and risk of respiratory disease and death, *JAMA.*, 305, 691-7 (2011).
- 69) Lin R, Wang Y, Wang Y, Fu W, Zhang D, Zheng H, Yu T, Wang Y, Shen M, Lei R, Wu H, Sun A, Zhang R, Wang X, Xiong M, Huang W, Jin L: Common variants of four bilirubin metabolism genes and their association with serum bilirubin and coronary artery disease in Chinese Han population, *Pharmacogenet. Genomics*, 19, 310-8 (2009).
- 70) Lee SG, Lee W, Kim JH, Hun Kwon O: Gender-specific reference intervals for serum total bilirubin in healthy Korean adults, *Clin. Biochem.*, 45, 1257-9 (2012).
- 71) Oda E, Kawai R: Bilirubin is negatively associated with hemoglobin a(1c) independently of other cardiovascular risk factors in apparently healthy Japanese men and women, *Circ. J.*, 75, 190-5 (2011).
- 72) Aono S, Yamada Y, Keino H, Hanada N, Nakagawa T, Sasaoka Y, Yazawa T, Sato H, Koiwai O: Identification of defect in the genes for bilirubin UDP-glucuronosyl-transferase in a patient with Crigler-Najjar syndrome type II, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 30, 1239-44 (1993).
- 73) Huang CS, Luo GA, Huang ML, Yu SC, Yang SS: Variations of the bilirubin

- uridine-diphosphoglucuronosyl transferase 1A1 gene in healthy Taiwanese. *Pharmacogenetics*, 10, 539-44 (2000).
- 74) Mercke Odeberg J, Andrade J, Holmberg K, Hoglund P, Malmqvist U, Odeberg J: *UGT1A* polymorphisms in a Swedish cohort and a human diversity panel, and the relation to bilirubin plasma levels in males and females, *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, 62, 829-37 (2006).
- 75) Saeki M, Saito Y, Sai K, Maekawa K, Kaniwa N, Sawada J, Kawamoto M, Saito A, Kamatani N: A combinatorial haplotype of the *UDP-glucuronosyltransferase 1A1* gene (#60-#IB) increases total bilirubin concentrations in Japanese volunteers, *Clin. Chem.*, 53, 356-8 (2007).
- 76) Sai K, Saeki M, Saito Y, Ozawa S, Katori N, Jinno H, Hasegawa R, Kaniwa N, Sawada J, Komamura K, Ueno K, Kamakura S, Kitakaze M, Kitamura Y, Kamatani N, Minami H, Ohtsu A, Shirao K, Yoshida T, Saijo N: *UGT1A1* haplotypes associated with reduced glucuronidation and increased serum bilirubin in irinotecan-administered Japanese patients with cancer, *Clin. Pharmacol. Ther.*, 75, 501-15 (2004).
- 77) Brodersen R: Binding of bilirubin to albumin, *CRC Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.*, 11, 305-399 (1980).
- 78) Tsunoda A, Nakao K, Watanabe M, Matsui N, Ooyama A, Kusano M: Associations of various gene polymorphisms with toxicity in colorectal cancer patients receiving oral uracil and tegafur plus leucovorin: a prospective study, *Ann. Oncol.*, 22, 355-61 (2011).
- 79) Singer JB, Shou Y, Giles F, Kantarjian HM, Hsu Y, Robeva AS, Rae P, Weitzman A, Meyer JM, Dugan M, Ottmann OG: *UGT1A1* promoter polymorphism increase risk of nilotinib-induced hyperbilirubinemia, *Leukemia*, 21, 2311-5 (2007).
- 80) Chen SP, Poon WT, Mak CM, Lam CW, Kwong YL, Chan AY, Tam S: Application of pharmacogenetics: *UGT1A1**28 and nilotinib-induced unconjugated hyperbilirubinemia in a patient with chronic myeloid leukaemia, *Pathology*, 43, 273-4 (2011).

- 81) Xu CF, Reck BH, Xue Z, Huang L, Baker KL, Chen M, Chen EP, Ellens HE, Mooser VE, Cardon LR, Spraggs CF, Pandite L: Pazopanib-induced hyperbilirubinemia is associated with Gilbert's syndrome *UGT1A1* polymorphism, *Br. J. Cancer*, 102, 1371-7 (2010).
- 82) Maruo Y, Sato H, Bamba N, Iwai M, Sawa H, Fujino H, Taga T, Ota S, Shimada M: Chemotherapy-induced unconjugated hyperbilirubinemia caused by a mutation of the bilirubin uridine-5'-diphosphate-glucuronosyltransferase gene, *J. Pediatr. Hematol. Oncol.*, 23, 45-7 (2001).
- 83) Meza-Junco J, Chu QS, Christensen O, Rajagopalan P, Das S, Stefanyschyn R, Sawyer MB: *UGT1A1* polymorphism and hyperbilirubinemia in a patient who received sorafenib, *Cancer Chemother. Pharmacol.*, 65, 1-4 (2009).
- 84) Ieiri I, Suzuki H, Kimura M, Takane H, Nishizato Y, Irie S, Urae A, Kawabata K, Higuchi S, Otsubo K, Sugiyama Y: Influence of common variants in the pharmacokinetic genes (*OATP-C*, *UGT1A1*, and *MRP2*) on serum bilirubin levels in healthy subjects, *Hepatol. Res.*, 30, 91-5 (2004).
- 85) Huang CS, Huang MJ, Lin MS, Yang SS, Teng HC, Tang KS: Genetic factors related to unconjugated hyperbilirubinemia amongst adults, *Pharmacogenet. Genomics*, 15, 43-50 (2005).
- 86) Zhang W, He YJ, Gan Z, Fan L, Li Q, Wang A, Liu ZQ, Deng S, Huang YF, Xu LY, Zhou HH: *OATP1B1* polymorphism is a major determinant of serum bilirubin level but not associated with rifampicin-mediated bilirubin elevation, *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.*, 34, 1240-4 (2007).
- 87) Takano M, Kikuchi Y, Yaegashi N, Suzuki M, Tsuda H, Sagae S, Udagawa Y, Kuzuya K, Kigawa J, Takeuchi S, Tsuda H, Moriya T, Sugiyama T: Adjuvant chemotherapy with irinotecan hydrochloride and cisplatin for clear cell carcinoma of the ovary, *Oncol. Rep.*, 16, 1301-6 (2006).
- 88) Tanaka H, Kihira T, Nomura Y, Ishihara A: Salvage chemotherapy with a combination of irinotecan hydrochloride and mitomycin C in elderly Japanese patients with gynecological malignancies: a pilot study, *J. Infect. Chemother.*, 12, 220-3 (2006).

- 89) Stewart CF, Panetta JC, O'Shaughnessy MA, Throm SL, Fraga CH, Owens T, Liu T, Billups C, Rodriguez-Galindo C, Gajjar A, Furman WL, McGregor LM: *UGT1A1* promoter genotype correlates with SN-38 pharmacokinetics, but not severe toxicity in patients receiving low-dose irinotecan, *J. Clin. Oncol.*, 25, 2594-600 (2007).
- 90) Sugiyama T, Hirose T, Kusumoto S, Shirai T, Yamaoka T, Okuda K, Ohnishi T, Ohmori T, Adachi M: The *UGT1A1**28 genotype and the toxicity of low-dose irinotecan in patients with advanced lung cancer, *Oncol. Res.*, 18, 337-42 (2010).
- 91) Imai Y, Nakane M, Kage K, Tsukahara S, Ishikawa E, Tsuruo T, Miki Y, Sugimoto Y: C421A polymorphism in the human breast cancer resistance protein gene is associated with low expression of Q141K protein and low-level drug resistance, *Mol. Cancer Ther.*, 1, 611-6 (2002).
- 92) Han JY, Lim HS, Yoo YK, Shin ES, Park YH, Lee SY, Lee JE, Lee DH, Kim HT, Lee JS: Associations of *ABCB1*, *ABCC2*, and *ABCG2* polymorphisms with irinotecan-pharmacokinetics and clinical outcome in patients with advanced non-small cell lung cancer, *Cancer*, 110, 138-47 (2007).
- 93) Gao J, Zhou J, Li Y, Lu M, Jia R, Shen L: *UGT1A1**6/*28 polymorphisms could predict irinotecan-induced severe neutropenia not diarrhea in Chinese colorectal cancer patients, *Med. Oncol.*, 30, 604 (2013).
- 94) Comella P, Farris A, Lorusso V, Palmeri S, Maiorino L, De Lucia L, Buzzi F, Mancarella S, De Vita F, Gambardella A: Irinotecan plus leucovorin-modulated 5-fluorouracil I.V. bolus every other week may be a suitable therapeutic option also for elderly patients with metastatic colorectal carcinoma, *Br. J. Cancer*, 89, 992-6 (2003).
- 95) Chau I, Norman AR, Cunningham D, Waters JS, Topham C, Middleton G, Hill M, Ross PJ, Katopodis R, Stewart G, Oates JR: Elderly patients with fluoropyrimidine and thymidylate synthase inhibitor-resistant advanced colorectal cancer derive similar benefit without excessive toxicity when treated with irinotecan monotherapy, *Br. J. Cancer*, 91, 1453-8 (2004).

- 96) Souglakos J, Pallis A, Kakolyris S, Mavroudis D, Androulakis N, Kouroussis C, Agelaki S, Xenidis N, Milaki G, Georgoulas V: Combination of irinotecan (CPT-11) plus 5-fluorouracil and leucovorin (FOLFIRI regimen) as first line treatment for elderly patients with metastatic colorectal cancer: a phase II trial, *Oncology*, 69, 384-90 (2005).
- 97) Rougier P, Bugat R, Douillard JY, Culine S, Suc E, Brunet P, Becouarn Y, Ychou M, Marty M, Extra JM, Bonnetterre J, Adenis A, Seitz JF, Ganem G, Namer M, Conroy T, Negrier S, Merrouche Y, Burki F, Mousseau M, Herait P, Mahjoubi M: Phase II study of irinotecan in the treatment of advanced colorectal cancer in chemotherapy-naïve patients and patients pretreated with fluorouracil-based chemotherapy, *J. Clin. Oncol.*, 15, 251-60 (1997).
- 98) Okuyama Y, Hazama S, Nozawa H, Kobayashi M, Takahashi K, Fujikawa K, Kato T, Nagata N, Kimura H, Oba K, Sakamoto J, Mishima H: Prospective phase II study of FOLFIRI for mCRC in Japan, including the analysis of *UGT1A1**28/*6 polymorphisms, *Jpn. J. Clin. Oncol.*, 41, 477-82 (2011).
- 99) Sunakawa Y, Ichikawa W, Fujita K, Nagashima F, Ishida H, Yamashita K, Mizuno K, Miwa K, Kawara K, Akiyama Y, Araki K, Yamamoto W, Miya T, Narabayashi M, Ando Y, Hirose T, Saji S, Sasaki Y: *UGT1A1**1/*28 and *1/*6 genotypes have no effects on the efficacy and toxicity of FOLFIRI in Japanese patients with advanced colorectal cancer, *Cancer Chemother. Pharmacol.*, 68, 279-84 (2011).
- 100) Cha PC, Mushiroda T, Zembutsu H, Harada H, Shinoda N, Kawamoto S, Shimoyama R, Nishidate T, Furuhashi T, Sasaki K, Hirata K, Nakamura Y: Single nucleotide polymorphism in *ABCG2* is associated with irinotecan-induced severe myelosuppression, *J. Hum. Genet.*, 54, 572-80 (2009).
- 101) Sai K, Saito Y, Maekawa K, Kim SR, Kaniwa N, Nishimaki-Mogami T, Sawada J, Shirao K, Hamaguchi T, Yamamoto N, Kunitoh H, Ohe Y, Yamada Y, Tamura T, Yoshida T, Matsumura Y, Ohtsu A, Saijo N, Minami H: Additive effects of drug transporter genetic polymorphisms on irinotecan

- pharmacokinetics/pharmacodynamics in Japanese cancer patients, *Cancer Chemother. Pharmacol.*, 66, 95-105 (2010).
- 102) Cecchin E, Innocenti F, D'Andrea M, Corona G, De Mattia E, Biason P, Buonadonna A, Toffoli G: Predictive role of the *UGT1A1*, *UGT1A7*, and *UGT1A9* genetic variants and their haplotypes on the outcome of metastatic colorectal cancer patients treated with fluorouracil, leucovorin, and irinotecan, *J. Clin. Oncol.*, 27, 2457-65 (2009).
- 103) Lévesque E, Bélanger AS, Harvey M, Couture F, Jonker D, Innocenti F, Cecchin E, Toffoli G, Guillemette C: Refining the *UGT1A* haplotype associated with irinotecan-induced hematological toxicity in metastatic colorectal cancer patients treated with 5-fluorouracil/irinotecan-based regimens, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 345, 95-101 (2013).
- 104) Glimelius B, Garmo H, Berglund A, Fredriksson LA, Berglund M, Kohnke H, Byström P, Sørbye H, Wadelius M: Prediction of irinotecan and 5-fluorouracil toxicity and response in patients with advanced colorectal cancer, *Pharmacogenomics J.*, 11, 61-71 (2011).
- 105) van der Bol JM, Mathijssen RH, Loos WJ, Friberg LE, van Schaik RH, de Jonge MJ, Planting AS, Verweij J, Sparreboom A, de Jong FA: Cigarette smoking and irinotecan treatment: pharmacokinetic interaction and effects on neutropenia, *J. Clin. Oncol.*, 25, 2719-26 (2007).
- 106) 名古屋市立大学, チーム医療に貢献する薬局薬剤師の養成「遺伝子診断と薬物療法」, 2012年2月実施.
<http://www.phar.nagoya-cu.ac.jp/ph-gp/newsletter/h24/20.html>
- 107) 厚生労働省医薬食品局: ゲノム薬理学における用語集について, 薬食審査発第 0109013 号, 2010年1月.
- 108) 日本人類遺伝学会, 日本臨床検査医学会, 日本臨床薬理学会ほか: ゲノム薬理学を適用する臨床研究と検査に関するガイドライン, 2010年12月.
- 109) 玉起美恵子: 医薬品開発におけるファーマコゲノミクスの現状と展望, 薬学雑誌, 129, 135-145 (2009).

略語表

略語	正式名
ABCB1	ATP-binding cassette, sub-family B, member 1
ABCG2	ATP-binding cassette, sub-family G, member 2
ANC	Absolute neutrophil count
BCRP	Breast cancer resistance protein
CDDP	Cisplatin
CNV	Copy number variation
CPT-11	Irinotecan
CYP	Cytochrome P450
DPD	Dihydropyrimidine dehydrogenase
EGFR	Epidermal growth factor receptor
FCGR	Fc fragment immunoglobulin G receptor
HWE	Hardy-Weinberg equilibrium
IL28B	Interleukin 28B
MDR1	Multidrug resistance protein, member 1
MMC	Mitomycin C
NAT2	N-acetyltransferase, member 2
OCT1	Organic cation transporter, member 1
PS	Performance status
SLCO1B1	Solute carrier organic anion transporter family, member 1B1
SNP	Single nucleotide polymorphism
TPMT	Thiopurine methyltransferase
UGT1A1	UDP-glucuronosyltransferase, member 1A1
VKORC1	Vitamin K epoxide reductase complex subunit 1