論文の内容の要旨

論文題目　ABC トランスポーター遺伝子の遺伝的多型と抗 HIV 薬の治療効果の相関関係に関する研究

指導教員　岩本　愛吉教授

東京大学大学院医学系研究科

平成 14 年 4 月入学

医学博士課程

内科学専攻

氏名　朱　大勇

抗 HIV (human immunodeficiency virus) 薬の治療効果には個人差があり、副作用が出現する症例や薬効が不十分な症例が少なくない。その原因の一つとして、感染細胞における細胞内の抗 HIV 薬がウイルス抑制に必要な至適濃度範囲に維持されていないことが推測される。細胞内の抗 HIV 薬濃度は細胞内からの薬剤排出に関わる ABC トランスポーター (ATP binding cassette transporter) の活性(排出能)の高低による影響を受ける。例えば、高活性 ABCB1 トランスポーター(以下、ABCB1)は、ネルフィナビル (NFV) などの HIV プロテアーゼ阻害薬 (PI) の細胞内濃度を低下させ、また、高活性 ABCC4 トランスポーター(以下、ABCC4)は、ジドブジン(zidovudine, AZT)などのヌクレオシド系逆転写酵素阻害薬

(NRTI) の細胞内濃度を低下させることが明らかにされている。

遺伝情報の個人差を遺伝的多型という。なかでも、1 塩基だけの多型を 1 塩基多型 (single nucleotide polymorphism, SNP) と呼ぶ。SNP はヒトゲノム上に 140 万箇所以上存在し、個人差の良い指標となることが知られている。近年ヒトゲノム解析の進展に伴い、ABC トランスポーターをコードする遺伝子の特定部位に SNP が存在し、SNP と ABC トランスポーターの活性の高低が密接に関連していることが明らかになってきた。ABC トランスポーター遺伝子の SNP と抗 HIV 薬の効果との間に相関関係があるならば、SNP の情報が HIV 感染者の予後の推定、及び投与薬剤の選択に有用であると思われる。本研究は ABCB1 及び ABCC4 の 2 種類の ABC トランスポーターに注目し、日本人 HIV 感染者におけるこられの遺伝子の SNP を解析し、こられの SNP と抗 HIV 薬の治療効果に相関関係があるかどうかを調べることを目的とした。また、ABCB1 遺伝子の SNP が細胞内からの PI 排出能力に影響するかどうかを検討するために、HIV 感染者由来の細胞を用いて NFV の排出能力を比較した。

Ⅰ. ABCB1 遺伝子(*MDR1*)についての研究結果

ABCB1 は第 7 染色体上に存在する *MDR1* にコードされる糖タンパク質であり、正常組織細胞に広く発現している。近年 *MDR1* に複数の SNP が報告され、日本人では *MDR1* 1236 (エクソン 12), *MDR1* 2677 (エクソン 21), *MDR1* 3435 (エクソン 26) 3 箇所の SNP が確認されている。そこで、私は PCR 法と DNA シーケンス法を組み合わせた SNaPshot/Genescan 解析(一塩基プライマー伸長法)を

用いて *MDR1* エクソン内の上記 3 箇所の SNP の遺伝子型を解析し、79 人の日本人 HIV 感染者におけるこれらの遺伝子型頻度を明らかにした。また、新たな知見として *MDR1* 2677 A と *MDR1* 1236 C、*MDR1* 2677 T と *MDR1* 1236 T、及び *MDR1* 2677 A と *MDR1* 3435 C の間に密接な連鎖が存在することを見いだした。

ABCB1 遺伝子の SNP は ABCB1 の発現量および活性の高低に相関するという報告があり、私は *MDR1* 3435 T/T と C/C 遺伝子型を有する HIV 感染者の B 細胞株（LCL）を用いて細胞内からの NFV 排出能を比較した。NFV 存在下で一定時間培養したのち細胞を NFV を含まない培地に移し、経時的に高速液体クロマトグラフィー(HPLC)で細胞内 NFV 濃度の測定を行なった。その結果、C/C 遺伝子型細胞は T/T 遺伝子型細胞に比べ NFV の排出能が有意に高いことが明らかになった。同様に、異なる *MDR1* 1236 と *MDR1* 2677 遺伝子型を有する LCL を用いて細胞内からの NFV 排出能を比較することを試みたが、低頻度遺伝子型の患者における末梢血単核球を採取できなかったため、本研究ではこの 2 箇所の SNP における細胞内 NFV 濃度の比較を検討し得なかった。

次に、PI を含む多剤併用療法（HAART）を受けた患者について、*MDR1* エクソン内の 3 箇所の SNP と臨床効果の指標（CD4 細胞数と血中ウイルス量）との関係を調べた。その結果、*MDR1* 1236 の SNP と治療効果の間の相関が見いだされ、*MDR1* 1236 T/T 遺伝子型の患者では、C/C 遺伝子型の患者と比較して CD4 細胞数の回復が有意に速いことが明らかになった。*MDR1* 2677 と *MDR1* 3435 については、臨床治療効果との関連は見出せなっかた。

II. ABCC4 遺伝子(*MRP4*)についての研究結果

ABCC4 は第 13 染色体上に存在する *MRP4* 遺伝子にコードされる糖タンパク質である。日本人においては 8 箇所エクソンの SNP (exon 6, exon 8-1, exon 8-2, exon 8-3, exon 18, exon 22, exon 23, exon 26)が確認されており、これらの SNP は細胞内からの NRTI 排出能力に影響すると考えられる。しかし、HIV 感染者について、これらの SNP が NRTI の治療効果に影響するかどうかはまだ明らかになっていない。

私は、ABCB1 遺伝子の場合と同様に一塩基プライマー伸長法によって、78 人の日本人 HIV 感染者について *MRP4* エクソン内の上記 8 箇所の SNP の遺伝子型頻度を明らかにした。この情報をもとに、2 剤治療（AZT を含む）および NRTI を含む 3 剤治療（HAART）を受けた患者について、*MRP4* エクソン内の 8 箇所の SNP と抗 HIV 薬の臨床薬効の指標との関係を検討した。その結果、2 剤治療（AZT を含む）を受けた患者 15 人において、*MRP4* エクソン 26 の SNP が A/A 遺伝子型の患者では、G/G 遺伝子型の患者と比較して CD4 細胞数の回復が有意に速いことが明らかになった。他の 7 箇所の SNP については臨床効果との間に有意な関連を認めなかった。

以上より、私は２つの ABC トランスポーター遺伝子(*MDR1* と *MRP4*)の計 11 箇所の SNP を解析し、そのうち *MDR1* 1236 と *MRP4* エクソン 26 の SNP が抗 HIV 療法の治療効果と相関することを明らかにした。また、*MDR1* 3435 の SNP が NFV の細胞内濃度に影響することを見出した。