

[課程—2]

審査の結果の要旨

チャ ペイ チェン
氏名 CHA PEI CHIENG

ワーファリンは経口抗凝固薬であり、肝臓でのビタミンKの代謝サイクルを阻害することにより薬効を発揮する。しかしながら、ワーファリンに対する反応性に個人差があるため、患者毎に適切なワーファリン維持用量を事前に予測することが困難である。これまでに報告されているワーファリン感受性関連遺伝子は *CYP2C9* と *VKORC1* のみである。そこで本研究は、新たなワーファリン感受性関連遺伝子の同定を目的としている。研究手法としては、候補遺伝子アプローチとゲノムワイドアプローチの2つを用いた。

1. 候補遺伝子アプローチにおいて、ビタミンKの代謝サイクルに重要な役割をもつ遺伝子を8つ選んで、96人の日本人ワーファリン投与患者のDNAを用いて、それぞれの遺伝子上の遺伝子多型のジェノタイプを調べ、関連解析を行った。

1) まず、*GGCX* 遺伝子を含む 18 kb のゲノム領域のシーケンス解析を行った。その結果、41 SNPs, 7つの insertion/deletion 多型及び1つのマイクロサテライト多型（数塩基の反復配列）が同定した。それぞれの遺伝子多型のジェノタイプが、個々の患者のワーファリン維持用量に関連するかどうかを検討したが、有意な関連は認められなかった。

2) 次に、7つのワーファリン感受性関連候補遺伝子 (*GAS6*, *PROC*, *PROS1*, *PROZ*, *PXR*, *CAR* 及び *HNF4A*) 内の計 80 のタグ SNP または機能的な SNP についてジェノタイプを解析した。SNP のジェノタイプと患者のワーファリン維持用量の関連解析を行ったが、有意な関連は認められなかった。

2. ゲノムワイドアプローチにおいて、ワーファリン維持用量が 1 mg/day 以下の患者 811人と維持用量が 4 mg/day 以上の患者 704人のDNAを用いて、ゲノムワイド関連解析を行った。

1) それぞれの SNP のジェノタイプと患者のワーファリン維持用量の関連を回帰分析で検討し、関連がある (Suggestive association) 18 の SNP ($P < 1 \times 10^{-5}$) を同定した。これらのワーファリン感受性関連候補 SNP について、444人の独立した別の日本人集団で再現性を検証した。その結果、*CYP4F2* の SNP である rs2108622 がワーファリン維持用量に有意な関連 ($P_{\text{Combined}} = 2.57 \times 10^{-8}$) を示すことが分かった。これは日本人において初めての報告である。

2) また、回帰分析により、患者の年齢、体表面積、そして *CYP2C9* (SNP rs10509680) 及び *VKORC1* (SNP rs9923231) の多型がワーファリン維持用量に強く関連しているため、*CYP4F2* (SNP rs2108622) とワーファリン維持用量の関連が隠されることが明らかになった。

- 3) SNP rs2108622 (V433M 多型) の変異型ホモ接合体である TT 型 (M433/M433) とヘテロ接合体である TC 型 (V433/M433) を持つ患者は、野生型ホモ接合体である CC 型 (V433/V433) よりワーファリン維持用量が高いことが明らかになった。さらに、T アレルがワーファリン維持用量を 0.23 mg/day 増加させることが推定された。それに対し、*CYP2C9* (SNP rs10509680) の G アレル及び *VKORC1* (SNP rs9923231) の C アレルを持つ患者は、それぞれ *CYP2C9* (SNP rs10509680) の T アレル及び *VKORC1* (SNP rs9923231) の T アレルを持つ患者よりも 0.70 mg/day、1.39 mg/day ワーファリン維持用量が多いことが示された。また、回帰分析により、*CYP2C9* の阻害剤であるアミオダロンを併用した場合、ワーファリン維持用量が低下することも明らかになった。
- 4) 以上の結果に基づいて、ワーファリン維持用量を予測するアルゴリズムの構築を試みた。上記の 6 つの環境要因及び遺伝要因 (年齢、体表面積、アミオダロンの併用、*CYP2C9* (SNP rs10509680)、*VKORC1* (SNP rs9923231) 及び *CYP4F2* (SNP rs2108622) のジェノタイプ) を含む予測式
- $$\text{Predicted daily warfarin dose} = 1.823954 - (0.023583 * \text{Age in year}) + (1.118196 * \text{BSA in cm}^2) + (0.697966 * \text{CYP2C9' s genotype}) + (1.386091 * \text{VKORC1' s genotype}) + (0.22656 * \text{CYP4F2' s genotype}) - (0.755881 * \text{Status of amiodarone administration})$$
- を作成できた。またこのアルゴリズムを用いてにより、解析した 444 例のうち 43.4% のワーファリン維持用量の個人間変動が説明可能であった。
- 5) 本研究で同定された *CYP4F2* は薬物代謝酵素の一つである。今までの報告において、SNP rs2108622 (V433M 多型) の野生型ホモ接合体である CC 型 (V433/V433) に比べて、変異型ホモ接合体である TT 型 (M433/M433) のリコンビナント *CYP4F2* によるビタミン K1 酸化酵素活性は低下していることが示されている。すなわち、SNP rs2108622 (V433M) の T アレルをもつ患者では、酵素活性の低下によってビタミン K1 代謝が抑制されるために肝臓内ビタミン K1 濃度が上昇するので、*VKORC1* (ビタミン K 還元酵素) の阻害剤であるワルファリンの維持用量が増加することが考えられた。

以上、本論文は *CYP4F2* 遺伝子が日本人においてもワーファリン感受性関連遺伝子の一つであることを明らかにした。本研究はこれまで報告されていなかった、*CYP2C9* と *VKORC1* 以外のワーファリン感受性関連遺伝子の解明に重要な貢献を果たしたと考えられ、また、将来的に、患者の体質に応じた適切なワーファリン維持用量を予測することができるアルゴリズムを構築しており、学位の授与に値するものであると認める。