

# がんの薬剤感受性を制御する一塩基多型の同定

中部大学応用生物学部  
応用生物化学科 講師 中川 大

## 研究の目的

本研究では、がんのテーラーメイド医療の実現を見据え、テーラーメイド医療を実行する時の診断材料として利用できる「がんの薬剤感受性を制御する一塩基多型」を同定することを目指した。また、がんをピンポイントで攻撃する分子標的薬の開発段階にたいして、当該薬物の感受性の個人差を評価できる細胞ライブラリーを提供することを目指した。これらの目的を達成するために、本研究では、がんの化学療法 of 成否を左右する因子の一つである ABC 輸送体とその遺伝子上に存在する一塩基多型、特にアミノ酸置換を伴う一塩基多型、に焦点を絞り、がんの薬剤感受性を制御する一塩基多型を同定することを目指す。具体的には、次の 2 つの課題を解決することを目指した。

課題 1. ABC 輸送体とその一塩基多型バリエーションをそれぞれ安定発現する細胞の樹立

課題 2. がんの薬剤感受性を制御する一塩基多型の同定

なお、基質ではない抗がん剤を基質として認識できるようにする一塩基多型を新たに見出すことも本研究では目指した。

## 結果と考察

本研究では、野生型および一塩基多型バリエーション間における一塩基多型の影響を定量的に比較するために、Invitrogen 社が提供する Flp-In system を用いて、それぞれの ABC 輸送体を安定発現する細胞を樹立した。その結果、ABCB1, ABCB9, ABCB10, ABCG2, ABCG4 に加えて、ABCC4 を安定発現する細胞を新たに樹立することに成功した。また、*ABCC4* 遺伝子の非同義一塩基多型 51 種のうち 10 種 (t551a, a587g, t706c, a877g, a890g, t896c, g912t, g912c, g1049a, c1208t) の作成に成功した。

一方、野生型 *ABCG2* 遺伝子をそれぞれ安定発現する細胞を用いて、9 種の抗

がん剤 (Daunorubicin, Docetaxel, Doxorubicin, Etoposide, Mitoxantrone, SN-38, Taxol, Vinblastin, Vincristin)にたいする感受性を MTT assay にて評価した。その結果、ABCG2 の基質として既に報告されている Mitoxantrone と SN-38 以外にタキサン系抗がん剤である Taxol と Docetaxel に対しても ABCG2 を安定発現する細胞は耐性を示した。それぞれの化合物にたいする IC<sub>50</sub> 値を算出して比較した結果、野生型 ABCG2 を安定発現する細胞は、ベクターのみを導入した細胞と比して Taxol にたいして約 135 倍の耐性を示した。また、野生型 ABCG2 を安定発現する細胞は、ベクターのみを導入した細胞と比して Docetaxel にたいして約 790 倍の耐性を示した。これらの結果から、タキサン系抗がん剤が ABCG2 の基質である可能性が考えられる。一方、野生型 ABCB1 を安定発現する細胞を用いて行った MTT assay の結果から算出した IC<sub>50</sub> 値を比較した結果、ベクターのみを導入した細胞と比して野生型 ABCB1 を安定発現する細胞は約 8500 倍 (Taxol)、約 870000 倍 (Docetaxel)の耐性を示した。これらの結果から、ABCB1 が存在しない細胞では、タキサン系抗がん剤感受性に ABCG2 が大きな影響を及ぼすと考えられる。なお、今後は、培養細胞を用いて得られたこれらの結果が *in vivo* においても認められるかについて検証を行う予定である。さらに、本研究では、同様の実験を ABCG2 遺伝子の非同義一塩基多型バリエーション 7 種 (V12M, Q141K, F208S, S248P, F431L, S441N, F489L) をそれぞれ安定発現する細胞を用いて行った。その結果、ABCG2(F208S)あるいは ABCG2(S441N)を安定発現させた細胞においては、タキサン系抗がん剤にたいする耐性が認められなかった。また、ABCG2(F431L)を安定発現する細胞は、Taxol に対しては耐性を示さなかったが、Docetaxel にたいしては、IC<sub>50</sub> 値を比較した場合に約 100000 倍の耐性を示した。これは、ABCG2(F431L)を発現している細胞が野生型 ABCG2 を発現している細胞よりも 10 倍以上強い Docetaxel 耐性を示すことを意味している。今後は、この一塩基多型の臨床上の意義について解析を行う予定である。