

# 細胞の抗がん剤耐性に影響を及ぼす一塩基多型の臨床的意義の検証

中部大学応用生物学部

応用生物化学科 講師 中川 大

愛知県がんセンター研究所

疫学・予防部 室長 伊藤 秀美

遺伝子医療研究部 部長 松尾 恵太郎

京都薬科大学薬学部

臨床腫瘍学分野 准教授 中田 晋

## 研究の目的

申請者は、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、当該薬物にたいする感受性の個人差を評価できる細胞ライブラリーを構築・提供することも目指した。これらの目的を達成するために、本申請課題では、がんの化学療法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した。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. がんの薬剤感受性を制御するABC輸送体遺伝子上の一塩基多型の同定

課題2. ABC輸送体遺伝子上の一塩基多型と抗がん剤の奏効率との相互連関解析

なお、ABC 輸送体を発現する細胞を新たに樹立し、ABC 輸送体によって認識される抗がん剤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、野生型 ABCC4 および野生型 ABCG4 をそれぞれ安定発現する細胞に加え、*ABCC4* 遺伝子の非同義一塩基多型 146 種のうち 9 種 (M184K, K293E, N297S, I299T, K304N, R350H, P403L, V458M, E757K) および *ABCG4* 遺伝子の非同義一塩基多型 46 種のうち 10 種 (T45A, R94H, T157M, S192L, R208H, P352L, R395Q, V404M, T494M, R502H) をそれぞれ安定発現する細胞の樹立に成功した。

本研究では、MTT assay を行い、ABCC4 の基質として報告されている抗がん剤 (Azathioprine, 6-Mercaptoprine, Methotrexate, SN-38) にたいして示す樹立した細胞の感受性についても評価した。その結果、Azathioprine および 6-Mercaptoprine にたいして、ABCC4(K304N)、ABCC4(E757K) をそれぞれ発現させた細胞は、野生型 ABCC4 を発現させた細胞と比して、IC<sub>50</sub> 値基準で約 2 倍高い感受性を示した。また、ABCC4 の基質として報告されている SN-38 にたいしては、ABCC4(K304N)、ABCC4(P403L)、ABCC4(E757K) をそれぞれ発現させた細胞は、野生型 ABCC4 を発現させた細胞と比して、IC<sub>50</sub> 値基準で約 2 倍高い感受性を示した。これらの結果から、304 番目と 403 番目、757 番目のアミノ酸の置換を伴う ABCC4 の一塩基多型を有するがん患者においては、これらの抗がん剤が効きやすい可能性が考えられる。以上の成果は、オーストリア インスブルックにて開催された The 6th Special Meeting on ATP-Binding Cassette (ABC) Proteins: From Multidrug Resistance to Genetic Diseases にて報告した (投稿準備中)。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。