様　式　Ｃ－１９、Ｆ－１９、Ｚ－１９　（共通）

科学研究費助成事業　　研究成果報告書

平成 ２７ 年　 ６ 月 １１ 日現在

機関番号：１４１０１
研究種目：基盤研究(C)
研究期間：2012～2014
課題番号：２４５９０６９３

研究課題名（和文）糖尿病薬併用療法におけるファーマコゲノミクス検査の有用性の検討

研究課題名（英文）Pharmacogenomics using DNA Microarray in the treatment of type 2 diabetes

研究代表者
中谷　中（NAKATANI, KANAME）

三重大学・医学部附属病院・准教授

研究者番号：８０２３７３０４

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費）　　4,100,000円

研究成果の概要（和文）：ゲノム解析技術の開発速度は著しく、多くの研究室でゲノムを扱えるようになり、多数の研究成果が創出されるようになった。全自動SNP解析装置が次々と開発され医療現場に導入されていった。我々の施設でも導入しPGx検査に活用しているが、単一あるいは少数のSNP解析で臨床に役立つものは、それほど多いわけではない。多数のSNPを解析する有用性も明らかになってきたため、網羅的解析が可能となるマイクロアレイシステムを導入し、PGx検査を用いた2型糖尿病患者の薬剤効果予測の検討を始めた。

研究成果の概要（英文）：Personalized medicine based on pharmacogenomics is being developed at the clinical stage. These developments in personalized medicine are strongly supported by marked innovations in genetic analyses. However, there are currently no potential companion diagnostics for common diseases. As common diseases are multifactorial, we appreciated that drugs pass through complex metabolic pathways was important rather than experience a single enzymatic modification to predict therapeutic efficacy. We attempted DNA microarray system in type 2 diabetes mellitus (T2DM). Sitagliptin is most popular DPP4-i, but showed individual response variability. We designed a study to develop personalized medicine of T2DM by sitagliptin based on drug metabolism. Sitagliptin is excreted through kidney and pharmacokinetics is mostly regulated by P-glycoprotein (ABCB1) and organic anion transport (OAT3). We analyzed multiple genetic variants determined by the DMET including ABCB1 and OAT3 in T2DM patients.

研究分野：ゲノム薬理学

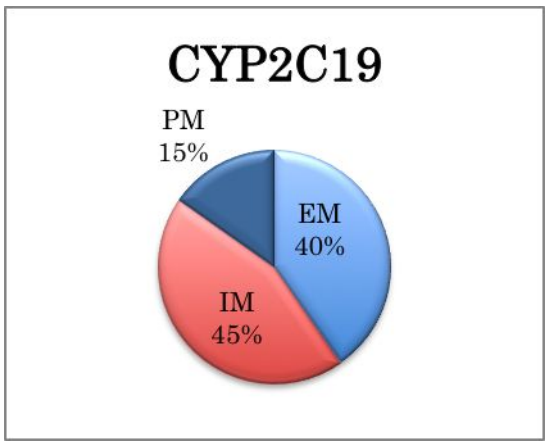
キーワード：ファーマコゲノミクス　2型糖尿病　薬剤トランスポーター　DNAマイクロアレイ

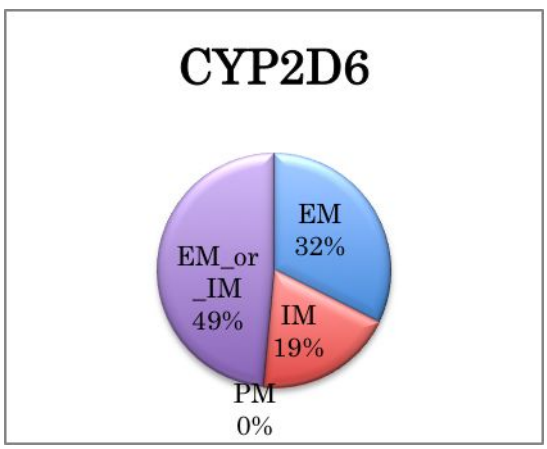
１．研究開始当初の背景
(1)近年､ファーマコゲノミクスに基づくオーダーメイド医療が注目されている。例えば､抗凝固療法に用いるクロピドグレルは､体内でチトクロームＰ４５０　２Ｃ１９（ＣＹＰ２Ｃ１９）により、活性体に変換される。このため、ＣＹＰ２Ｃ１９の遺伝子多型検査はクロピドグレルの薬剤効果を予測するのに有用である。さらに、抗凝固療法の際に消化管出血を危惧してプロトンポンプ阻害剤（ＰＰＩ）を投与することも多いが、ＰＰＩもまたＣＹＰ２Ｃ１９で代謝される。このため、両者を併用すると、クロピドグレルの作用が減弱し、プロトンポンプ阻害剤の作用が増強されることが想定され、実際のそうした報告があり、米国食品薬品局（ＦＤＡ）では注意勧告を出している。これらの併用の影響は、ＣＹＰ２Ｃ１９遺伝子型が低代謝型（ＰＭ）でより顕著となる。したがって、併用の際には遺伝子検査がより有用と考えられる。
(2)研究代表者は糖尿病診療も実施しているが､ワーファリンとスルホニルウレア(ＳＵ剤）を併用したところ、ワーファリン作用が増強したことがあった。これは、両薬剤がＣＹＰ２Ｃ９で代謝されるため、併用の影響が出たものと考えられる。このように、薬剤効果を予測に於いても、薬剤代謝経路や遺伝的背景の探索が重要であると考えられるようになっている。
(3)糖尿病薬としては､スルフォニルウレア薬(ＳＵ剤)､グリニド薬､ビグアナイド薬、αグリコシダーゼ阻害薬、チアゾリジン薬がそれぞれに組み合わされて、使用されている。研究題目採択以降、近年、新規糖尿病薬ＤＰＰ-４阻害薬が上市され､これを中心に糖尿病治療が実施されるように変化してきた。このため、ＤＰＰ-４阻害薬を中心とした代謝経路の探索が必要となってきている。しかし、これらの代謝は単一代謝酵素だけが関与しているわけではなく、複数の代謝酵素が関与しており、代謝経路の網羅的解析が必要となってきている。

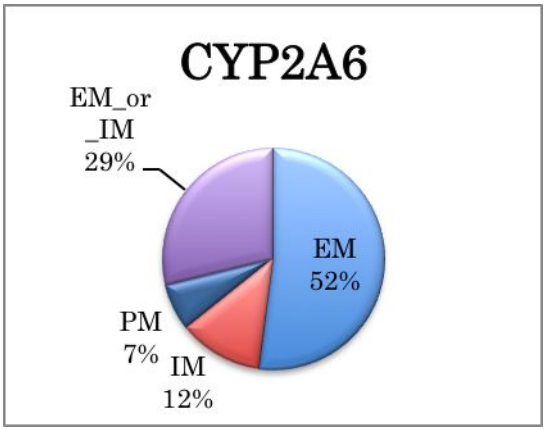
２．研究の目的
(1)これまでのＰＧｘ検査は単独の代謝酵素に対して実施されていたが、日常診療において使用される薬剤の中で、単一の代謝酵素での解析で有効な結果を出せるものは少ない。これが、ＰＧｘ検査の普及の障害となっている。そこで、代謝経路を網羅的に解析できるDNAマイクロアレイを活用し、実際に有用であることを実証することを目的とする。
(2)新規糖尿病薬ＤＰＰ-４阻害薬は、販売開始後５年で、2型糖尿病治療で最も使用される薬剤となっている。なかでも、本邦初のＤＰＰ-４阻害薬であるシタグリプチンが最も使用頻度の高い薬剤となっている。研究代表者も、実際にこの薬剤を多用している。その中で、この薬剤が極めて有効な患者群（Effective:Ｅ群）、当初は有効であるが後に無効となる群（Second Failure:SF群）と当初より無効な群（Ineffective:Ｉ群）があることを経験した。この効果の差が、代謝系の差によるものかを検討することを目的とした。
(3)シタグリプチンは腎排泄されたりするため、薬剤代謝酵素遺伝子多型だけでなく薬物トランスポーターの解析も目的とした。

３．研究の方法
研究責任者が糖尿病診療に従事する桑名東医療センター病院にて、文書同意を得た後に研究に協力していただく。末梢血2mlを採血し、DNA抽出した後、225遺伝子上の1963薬剤代謝マーカー、ADOMEcoreマーカー32遺伝子などが搭載されているDNAマイクロアレイ（DMET™PLUS）にて解析する。また、患者への投薬開始前後の医療情報を採取し、解析データとの関連を検討する。

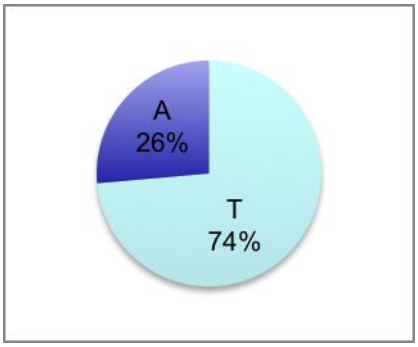
４．研究成果
(1)74名の患者より同意を得て、研究を実施した。
(2)74サンプルに対しマイクロアレイ解析を実施したところ、コールレートは99.8%と良好であり、代謝経路解析、さらには臨床検査としても十分に活用できることが実証された。さらに､既知のCYPについては､その表現型(通常代謝型(EM),中間型(IM)、低代謝型（PM))）を解析することが可能であり、薬剤相互作用を探索する上で有効であろうと考えられた。



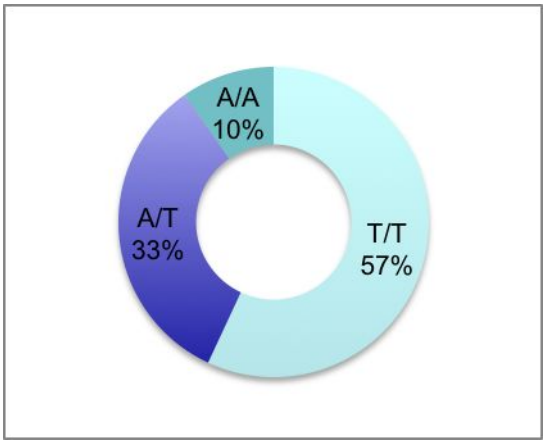




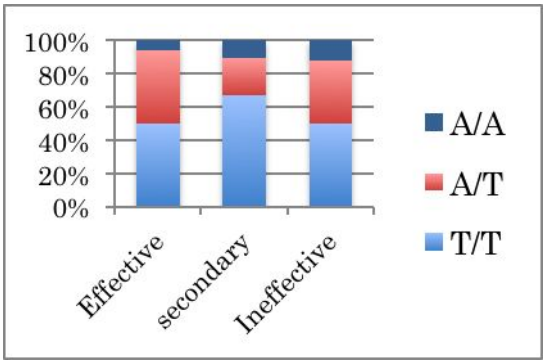
(3)シタグリプチンの腎排泄に重要と考えられる薬物トランスポーターSLC22A8 および ABCB1 の遺伝子多型についても解析し、E 群、SF 群、I 群での多型頻度を検討した。
1.SLC22A8_c.723T>A:rs2276299)
アレル頻度



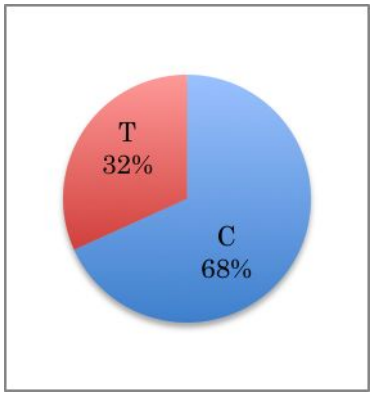
遺伝子頻度



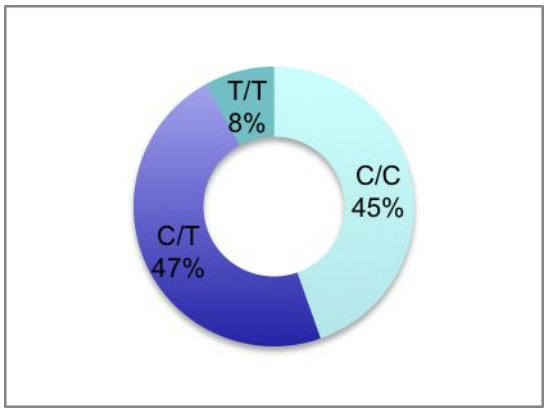
遺伝子型と薬剤効果



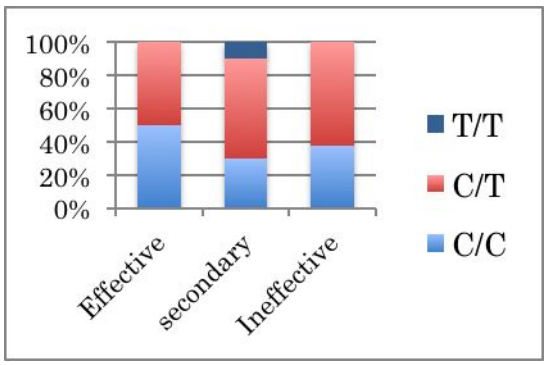
2．ABCB1_c.3435C>T:rs1045642
アレル頻度



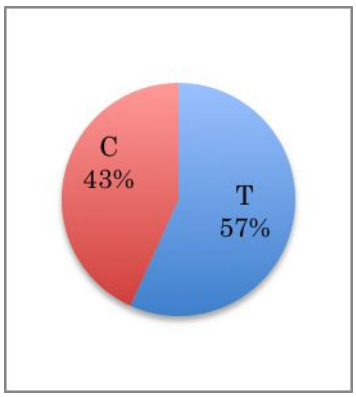
遺伝子頻度



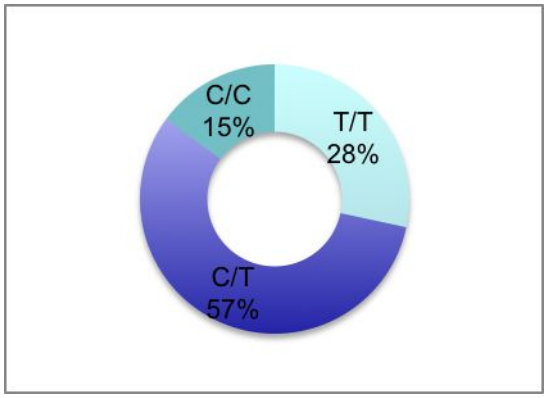
遺伝子型と薬剤効果



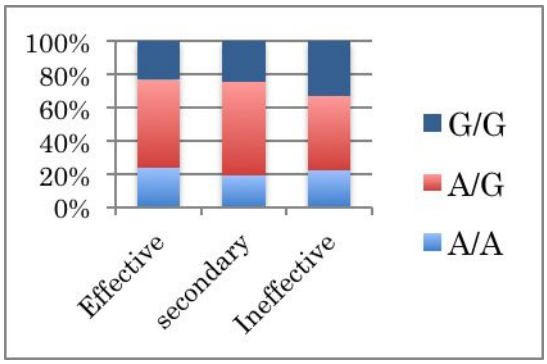
3．ABCB1_c.1554+24C>T:rs2235033
アレル頻度



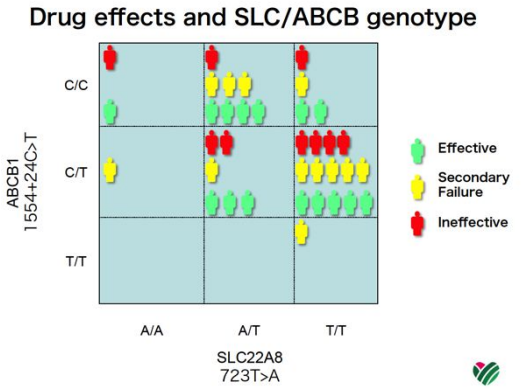
遺伝子頻度



遺伝子型と薬剤効果



これらの遺伝子多型と薬剤効果の関連に明らかなものはなかった。
(4)遺伝子多型を組み合わせて検討した。



この 2 遺伝子多型のみでは効果予測は十分ではなかった。このため、さらに複数の遺伝子多型の組み合わせが必要と考えられ、検討中である。

５．主な発表論文等
（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔雑誌論文〕（計 28 件）

① Fujimoto N, Nakajima H, Sugiura E, Dohi K, Kanemitsu S, Yamada N, Aoki Y, Nakatani K, Shimpo H, Nobori T, Ito M: Bilateral giant coronary aneurysms in a 40-year-old male with Noonan syndrome caused by a KRAS germline mutation. Int J Cadiol 査読あり 173: e63-66, 2014

② Nakata T, Miyahara M, Nakatani K, Wada H, Tanigawa T, Komada F, Hoshino K, Aoki T, Nishimura Y, Tamaru S, Ito M, Nishikawa M: Relationship between CYP2C19 loss-of-function polymorphism and platelet reactivities with clopidogrel treatment in Japanese patients undergoing coronary stent implantation. Circ J 査読あり 77: 1436-1444, 2013

③ Nobuoka Y, Mizuno S, Nishikawa K, Nakatani K, Muraki Y, Yamada T, Okuda M, Nobori T, Sugimura Y, Isaji S: Immune response following liver transplantation compared to kidney transplantation: usefulness of monitoring peripheral blood CD4+ adenosine triphosphate activity and cytochrome P450 3A5 genotype assay. Clin Dev Immunol 査読あり 2013

④ Mizuno S, Muraki Y, Nakatani K, Tanemura A, Kuriyama N, Ohsawa I, Azumi Y, Kishiwada M, Usui M, Sakurai H, Tabata M, Yamamoto N, Yamada T, Shiraki K, Takei Y, Nobori T, Okuda M, Isaji S.: Immunological aspects in late phase of living donor liver transplant patients: usefulness of monitoring peripheral blood CD4+ adenosine triphosphate activity. Clin Dev Immunol 査読あり. 2013

⑤ Mizuno S, Nakatani K, Muraki Y, Tanemura A, Azumi Y, Kuriyama N, Ohsawa I, Kishiwada M, Usui M, Sakurai H, Tabata M, Okuda M, Nobori T, Isaji S.: Combination assays for evaluation of immune function and CYP3A5 genotype to identify the risk of infectious complications and mortality in living donor liver transplant patients. Ann Transplant 査読あり. 2013 Jul 11;18:349-357.

⑥ Kojima M, Okubo S, Mizubayashi R, Isaka N, Machida H, Okamoto S, Hirota H, Takeuchi M, Kato T, Nakatani K, Mizuno O, Miyagawa K, Makino K, Okura T, Dohi Y, Ito M, Kimura G: Kidney-protective effects of azelnidipine versus a diuretic in combination with olmesartan in hypertensive patients with diabetes and albuminuria: a randomized study.

Nephrol Dial Transplant 査読あり (Epub), 2013

⑦ Sakurai N, Iwamoto S, Miura Y, Nakamura T, Matsumine A, Nishioka J, Nakatani K, Komada Y: Novel p53 splicing site mutation in Li-Fraumeni-like syndrome with osteosarcoma. Pediatr Int 査読あり 55: 107-111, 2013

⑧ Piao J, Sakurai N, Iwamoto S, Nishioka J, Nakatani K, Komada Y, Mizutani S, Takagi M: Functional studies of a novel germline p53 splicing mutation identified in a patient with Li-Fraumeni-like syndrome. Mol Carcinog 査読あり (Electronic) 52(10):770-776, 2012

⑨ Ikejiri M, Shindo A, Ii Y, Tomimoto H, Yamada, N, Matsumoto T, Abe Y, Nakatani K, Nobori T, Wada H: Frequent association of thrombophilia in cerebral venous sinus thrombosis. Int J Hematol査読あり 95: 257-262, 2012

⑩ Shindo A, Ikejiri M, Ii Y, Nakatani K, Wada H, Nobori T, Tomimoto H: A novel protein S gene mutation combined with protein S Tokushima mutation in a patient with superior sagittal sinus thrombosis. J Neurol 査読あり 259: 178-179, 2012

⑪ Okura, T, Kojima, M, Machida, H, Sugiyama, M, Kato, T, Komada, T, Miyazaki, T, Ninomiya, T, Ichikawa, T, Nakatani, K, Watanabe, Y, Dohi, Y, Ito, M, Kimura, G: Effects of up-titration of candesartan versus candesartan plus amlodipine on kidney function in type 2 diabetic patients with albuminuria. J Hum Hypertens査読あり 26: 214-219, 2012

⑫中谷　中：遺伝子解析による体質診断の科学的評価、Bio Clinica 査読無 29, 100-103,2014

⑬中谷　中：診療における遺伝情報の取り扱いについて、臨床病理 査読無　62, 1122-1127,2014

⑭中谷　中：アカデミアにおけるバイオマーカー検査、臨床病理レビュー 査読無153号、71-75,2014

⑮中谷　中：コンパニオン診断の実践に求められる検査体制、臨床検査 査読無 58, 933-938, 2014

⑯中谷　中、登　勉：分子疫学解析に利用される遺伝子検査-ヒト編-ファーマコゲノミクス、臨床病理 査読無 61, 1018-1025, 2013

⑰中谷　中：オーダーメイド医療と臨床検査、日本内科学会誌　査読無 102,3103-3109, 2013

⑱中谷　中：「遺伝子検査の標準化に向けて」ウイルス感染症関連検査、臨床検査 査読無57: 726-730, 2013

⑲中谷 中：「個別化医療と臨床検査　新しいバイオマーカーとしてのPharmacogenomics: PGx」移植医療におけるオーダーメイド医療、臨床病理 査読無 61: 428-433, 2013

⑳中谷　中：「個別化医療推進に向けたコンパニオン診断法の役割と期待」個別化医療の実施に向けた医療機関での検査体制作り、日本臨床検査自動化学会会誌 査読無 38: 169-172, 2013

21中谷　中：アカデミアにおける個別化医療の推進、腫瘍内科　査読無 11:640-643, 2013

22荒木里香、町野由佳、中嶋　寛、谷川高士、中谷　中、伊藤正明、矢野　裕、住田安弘：若年にて糖尿病合併症が進行しミトコンドリア遺伝子T3308Cホモ変異と心筋ミトコンドリア形態異常を認めた糖尿病の一例、糖尿病合併症 査読あり 27:124, 2013

23登　勉、望木郁代、中谷　中：バイオマーカーとコンパニオン診断薬、個別化医療におけるバイオマーカーとコンパニオン診断薬、レギュラトリーサイエンス学会誌 査読無 3, 180-189, 2013

24中谷　中：オーダーメイド医療、Medical Technology 査読無 40: 1424, 2012

25西川晃平、桝井　覚、中谷　中、登　勉、榎屋友幸、村木　優、岩本卓也、奥田真弘、杉村芳樹：CYP3A5遺伝子多型が移植後早期のタクロリムス徐放性剤投与量に及ぼす影響、腎移植・血管外科 査読あり 24: 14-20, 2012

26中谷　中：抗血栓療法におけるファーマコゲノミクス検査の現状、日本血栓止血学会誌 査読無 23: 443-449, 2012

27西尾和人、中谷　中、田澤義明、森　一彦：コンパニオン・ダイアグノーシス、がん分子標的治療 査読無　10: 242-249, 2012

28中谷　中：個別薬物療法を支える臨床検査　個別薬物療法システム、日本臨床検査自動化学会会誌 査読無 37: 196-199, 2012

〔学会発表〕(計 12 件)

① Kaname Nakatani: Pharmacogenomics using DNA microarray, The 9th International Conference of Clinical Laboratory Automation and Robotics, Cherry Blossom Symposium, 2014/4/18, Yokohama Red Brick Warehouse (Yokohama)

② 中谷　中、登　勉：シンポジウム「ゲノム解析技術の検査医学研究への応用」第 25 回日本臨床化学会東海・北陸支部総会(2014/8/1)名古屋大学(名古屋市)

③ 中谷　中、登　勉：シンポジウム「臨床検査における個人情報の管理につ

いて」診療における遺伝情報の取り扱い、第 60 回日本臨床検査医学会(2013/11/1-3)神戸国際会議場（神戸市）

④ 中谷　中：シンポジウム「遺伝子解析研究の進歩と臨床検査への応用」ファーマコゲノミクスの臨床応用、第 53 回日本臨床化学会(20138/31-9/1)あわぎんホール（徳島市）

⑤ 中谷　中：シンポジウム「薬剤師が担うファーマコゲノミクスの現在と未来」アカデミアにおけるファーマコゲノミクの現状と可能性、第 23 回日本医療薬学会(2013/3/22)東北大学（仙台市）

⑥ 中谷　中；ミートザエキスパート「循環器領域でオーダーメイド医療は可能か？」循環器領域でのオーダーメイド医療の可能性、第 77 回循環器学会学術集会(2013/15/-17)パシフィコ横浜（横浜市）

⑦ 中谷　中：「個別化医療における薬剤および診断薬開発に向けての課題」アカデミアにおける個別化医療の推進、第 14 回抗悪性腫瘍薬開発フォーラム(2013/2/16)がん研有明病院（東京、有明）

⑧ 中谷　中；個別化医療実現に向けた医療現場の現状、日経バイオテクセミナー(2012/11/12)秋葉原コンベンションセンター（東京都、秋葉原）

⑨ 中谷　中；シンポジウム「個別化医療の実践」オーダーメイド医療部と移植医療、第 59 回日本臨床検査医学会学術集会(2012/11/29-12/2)京都国際会議場（京都市）

⑩ 中谷　中；シンポジウム「個別化医療推進に向けたコンパニオン診断法の役割と期待」個別化医療の実施に向けた医療機関での検査体制作り、日本臨床検査自動化学会第 44 回大会(201210/11-13)パシフィコ横浜（横浜市）

⑪ 中谷　中；シンポジウム「ファーマコゲノミクスによる個別化医療と現況と展望」ファーマコゲノミクス検査と個別化医療、第 19 回日本遺伝子診療学会大会（2012/7/26-28）三井ガーデンホテル（千葉市）

⑫ 中谷　中；シンポジウム「遺伝子検査の今後」ファーマコゲノミクス、第 22 回日本臨床検査専門医会春季大会（2012/3/23-24）国際ホテル宇部（山口市）

〔図書〕（計　1 件）

① 中谷　中：コルフ臨床遺伝医学：集団遺伝学、pp287（pp129-141）、櫻井晃洋監修、丸善出版、2014

６．研究組織

(1)研究代表者

中谷　中（NAKATANI, Kaname）
三重大学・医学部附属病院・准教授
研究者番号：80237304

(2)研究分担者

望木　郁代（MOCHIKI, Ikuyo）
三重大学・医学部・講師
研究者番号：20369614

登　勉（NOBORI, Tsutomu）
三重大学・医学（系）研究科・特任教授
研究者番号：60106995