〈抄録〉 第 21 回 日本臨床薬理学会年会 2000 年 9 月 28~29 日 札幌

ヒト胎盤に発現する P-糖蛋白遺伝子 (MDR 1) の多型解析

田 辺 瑞 穂^{*1} 家 入 一 郎^{*2} 伊 東 惣一郎^{*1}
長 田 直 樹^{*3} 井 上 和 子^{*2} 紀 川 純 三^{*3}
樋 口 駿^{*1} 寺 川 直 樹^{*3} 大 坪 健 司^{*2}

【目的】

近年、ABC トランスポーター(ABC-t)が薬物の体内動態、効果の面から注目されている。しかし、生体中での機能については未だ不明な点も多い。我々はゲノム DNA について ABC-t 遺伝子の多型解析を行い、多くの変異が存在することを報告してきた¹⁾。本研究では、これら遺伝子多型の機能評価を目的に、胎盤に発現する P-糖蛋白をコードする MDR1 遺伝子の多型解析を行うと共に、胎盤における P-糖蛋白の発現量や妊娠・出産との関連について評価を加えた。

【方法】

対象；鳥取大学医学部倫理委員会の承認の後、十分な説明を行い、同意を得た鳥取大学医学部附属病院産婦人科にて出産した日本人女性 100 名より得た胎盤組織を試料とした。

多型解析；①-80℃で保存した胎盤から、ISOGEN (ニッポンジーン) により抽出した mRNA からランダムプライマーを用いて cDNA を合成した。②MDR1 遺伝子の全長を 27 分割するプライマーに

より増幅の後、PCR-SSCP 法により遺伝子変異のスクリーニングを行った。③遺伝子変異の同定は Dye Terminator 法によるダイレクトシーケンスあるいはサブクローニングを行った。

蛋白定量；P-糖蛋白に特異的な 1 次抗体、Anti-P-Glycoprotein, Clone F4 (KAMIYA BIOMEDIKAL COMPANY) を用い Western Blotting を行った。胎盤中に発現するアルカリフォスファターゼ(ALP)も同時に定量し P-糖蛋白発現量の補正を行った。

統計解析およびデータ処理；2 群間の比較には Wilcoxon test、多群間の比較には分散分析を用い、危険率 $p < 0.05$ を統計的に有意とした。新生児体重は、厚生省の児発育標準値をもとに補正を行い、胎児発育度とした。

【結果・考察】

胎盤中の MDR1 遺伝子の解析の結果、C-145G (exon 1a), T-129C (exon 1b), T1236C (exon 12), G2677(A)/(T) (exon 21), A2956G (exon 24), C3435T (exon 26), G4030C (exon 28), A4036G (exon 28) の 8 箇所、9 種類の変異を認めた。変異の頻度は、それぞれ、0.025, 0.060, 0.345, 0.18/0.39, 0.005, 0.415, 0.005, 0.305 であった。解析した胎盤 100 件全

*1 九州大学大学院薬学研究薬物動態学分野
〒 812-8582 福岡市東区馬出 3-1-1

*2 鳥取大学医学部附属病院薬剤部

*3 鳥取大学医学部産婦人科

ての検体に何らかの変異が認められ、多くの変異が同一遺伝子上に同時に生じていた。しかし、変異のリンクには規則性は認められなかった。

ALP の胎盤中での発現量は個体差は少なく、安定した値が得られた。P-糖蛋白発現量(mean±s.d)と変異の関連を見ると、T-129C については、野生型ホモ体(wt/wt)で 2.0 ± 1.5 、ヘテロ体(wt/M)で 1.1 ± 0.9 であり、変異により有意な低下が認められた ($p=0.0023$)。G2677(T)/(A)の wt/wt, wt/M, 変異型ホモ体(M/M)では、それぞれ、 2.4 ± 1.5 、 2.0 ± 1.6 、 1.4 ± 0.9 であった。C3435T の値はそれぞれ、 2.2 ± 1.8 、 1.9 ± 1.3 、 1.5 ± 1.0 であった。さらに、A4036G においては、 2.1 ± 1.8 (wt/wt)、 1.8 ± 1.0 (wt/M)、 1.0 ± 0.8 (M/M)であり、いずれの変異の場合においても、有意差は見られなかったが、変異の存在により、発現量の低下傾向が認められた。

胎児発育度と MDR1 遺伝子多型との関連については、T-129C の wt/wt, wt/M でそれぞれ -0.3 ± 0.8 、 -0.1 ± 1.1 であった。G2677(T)/(A)が wt/wt, wt/M, M/M でそれぞれ、 0.1 ± 0.5 、 -0.2 ± 1.0 、 -0.5 ± 0.7 、C3435T では、 -0.1 ± 0.9 、 -0.4 ± 0.9 、 -0.5 ± 0.8 、A4036G では、 -0.4 ± 0.9 、 -0.1 ± 0.9 、 -0.0 ± 0.4 と、一定の傾向は見られなかった。しかし、変異によっては発現量の低下に伴い胎児発育度が低下する傾向が認められた。

近年、MDR1 遺伝子上の C3435T 変異により小腸の P-糖蛋白発現量が有意に低下し、基質薬物の体内動態が変化することが報告された²⁾。本研究においても、有意ではなかったが、変異による発現量の低下が認められた。C3435T を有する検体の多くが G2677(T)/(A)を伴うこと、2677 位の変異がアミノ酸変異を伴うことから、後者のより強い機能への関与が

示唆される。しかし、一方で、翻訳領域の変異と発現量との関連には疑問点も残り、今後の問題と言える。また、変異の機能についても、今回の検討では一定の傾向が見られなかったことから、基質薬物を使用したより詳細な検討が必要と言える。

【参考文献】

- 1)S.Ito,I.Ieiri,M.Tanabe et al.;Polymorphism of the ABC transporter genes,MDR1,MRP1 and MRP2/cMOAT,in healthy Japanese subject ;*Pharmacogenetics* in press.
- 2)S.Hoffmeyer,O.Burk,O.von Richter et al.,: Functional polymorphisms of the human multidrug-resistance gene : Multiple sequence variations and correlation of one allele with P-glycoprotein expression and activity *in vivo* ; *ProNAS* 2000 ; 97 : 3473-3478