

がんバイオバンク愛知を活用したパクリタキセルによる好中球減少に対する遺伝子バリエーションおよび環境因子の探索

愛知県がんセンター

薬剤部 専門員 前田 章光

愛知県がんセンター研究所

がん予防研究分野 分野長 松尾 恵太郎

愛知県がんセンター

内視鏡部 部長 田近 正洋

薬物療法部 部長 室 圭

薬剤部 部長 内田 幸作

金沢大学

医薬保健研究域医学系細胞分子機能学 教授 安藤 仁

1. 研究の背景・目的

パクリタキセル (PTX) およびナノ粒子アルブミン結合型パクリタキセル (nab-PTX) は、胃がんを含む様々ながんの治療に使用される抗がん薬である。しかし、これらの薬物はその副作用として骨髄抑制を引き起こすことが知られている。特に治療早期に極めて重篤な好中球減少症が発生すると、致死的な転帰をたどることがあることから、その有害事象を事前に予測することは临床上極めて重要である。

PTX は薬物を排他的に運搬する P-糖タンパク質 (P-glycoprotein, P-gp) の基質である。P-gp の機能はコードする *ABCB1* 遺伝子である T1236C (rs1128503)、G2677T/A (rs2032582)、C3435T (rs1045642) の一塩基多型 (SNV) によって機能変化が生じることが報告されており、SNV による P-gp の機能低下は薬物の代謝・排泄クリアランスを低下させ、副作用のリスクが増加する可能性が指摘されている¹⁾。これら SNV と PTX の副作用の関連については過去に複数報告されているが、治療早期に発症する極めて重篤な好中球減少症に着目した研究は実施されていない^{2,3)}。

そこで本研究では、進行または再発胃がん治療で二次治療において、PTX/nab-PTX+ラムシルマブを使用した患者を対象に、*ABCB1* 遺伝子の SNV と治療早期の極めて重篤な好

中球減少症の発症との関連を明らかにすることで、副作用のリスク因子を特定し、遺伝子情報に基づく個別化医療の可能性を探ることを目的として研究を実施した。

2. 研究の対象ならびに方法

(1) 対象

キャンサーバイオバンク愛知 (CBBA) に DNA 検体が保管されている、2018 年 1 月 1 日から 2023 年 8 月 31 日までの期間において、愛知県がんセンターで胃癌の二次治療として PTX または nab-PTX+ラムシルマブの治療が行われた全患者を対象とした。なお、除外基準は設けなかった。

(2) 倫理

本研究は、愛知県がんセンター倫理委員会の承認を受け (承認番号: 2023-0-363) 実施した。すべての対象患者は、愛知県がんセンター病院への初診時に CBBA への血液サンプルの提供について、書面によるインフォームド・コンセントを得ている。なお、CBBA の事業は愛知県がんセンター倫理委員会の承認を得ている (承認番号: 2022-0-333)。

(3) 遺伝子解析

DNA は、Takara NucleoSpin 96 blood kit (タカラバイオ) を用いて血液サンプルの buffy coat から抽出した。これらの検体について TaqMan Drug Metabolism Genotyping assay (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) と Applied Biosystems QuantStudio 6 Pro (Thermo Fisher Scientific) を用いて、*ABCB1* T1236C (rs1128503)、G2677T/A (rs2032582) および C3435T (rs1045642) の遺伝子型を共同研究者である安藤仁教授らと判定した。

(4) 統計

治療早期に発症する極めて重篤な好中球減少症を我々は治療開始 28 日以内に好中球数 $<100/\mu\text{L}$ が生じることと定義した。しかし、統計的検出力を考慮し、研究デザインの段階で、治療開始後 28 日以内に好中球数が $100/\mu\text{L}$ 未満および $250/\mu\text{L}$ 未満に低下する事象と *ABCB1* 遺伝子の SNV の関連を調査した。

ABCB1 T1236C (rs1128503)、G2677T/A (rs2032582)、C3435T (rs1045642) の間にはリンケージ不平衡 (LD: linkage disequilibrium) があることが知られていることから⁴⁾、統計学的な検討は、Firth のロジスティック回帰分析を用いて、C3435T (rs1045642) の TT ホモ接合型遺伝子型を説明変数とし、年齢・性別・ベースラインの好中球数・血清アルブミン値・アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST) 値を調整因子として行った。すべての統計解析は、Stata バージョン 18.0 (StataCorp, College Station, TX, USA)

を用いて実施した。

3. 研究結果

調査対象 204 名のうち 4 名は治療開始早期に死亡が認められた。そのうち 1 名は *ABCB1* C3435T (rs1045642) TT ホモ接合型遺伝子型であったが、治療開始 1 週間以内の突然死により投与後の臨床検査値を得ることが出来なかったため、解析からは除外した。

(1) 患者背景と治療早期の重篤な好中球減少症との関連調査

解析対象となった 203 名の患者背景は表 1 のとおり。治療開始後 28 日以内に好中球

表1:患者背景

	全患者 (n = 203)	好中球減少 ($\geq 100/\mu\text{L}$) (n = 198)	好中球減少 ($< 100/\mu\text{L}$) (n = 5)	P value
年齢, median (IQR)	68 (59–74)	68 (58–74)	71 (66–73)	0.73 ^a
性別, n (%)				
男性	135 (67)	132 (66)	3 (60)	1.00 ^b
女性	69 (34)	67 (34)	2 (40)	
体表面積 (m ²), median (IQR)	1.58 (1.46–1.72)	1.58 (1.46–1.72)	1.61 (1.38–1.70)	0.97 ^a
病理, n (%)				
Diffuse	122 (60)	119 (60)	3 (60)	1.00 ^b
Intestinal	71 (35)	69 (35)	2 (40)	
Neuroendocrine carcinoma	5 (2.5)	5 (2.5)	0 (0)	
unknown	5 (2.5)	5 (2.5)	0 (0)	
転移臓器数, n (%)				
<2	80 (39)	78 (39)	2 (40)	1.00 ^b
≥ 2	123 (61)	120 (61)	3 (60)	
前治療, n (%)				
SOX	113 (56)	109 (55)	4 (80)	
FOLFOX	56 (28)	56 (28)	0 (0)	
CapOX	13 (6)	12 (6)	1 (20)	
SP	7 (3)	7 (4)	0 (0)	
XP	4 (2)	4 (2)	0 (0)	
S1	4 (2)	4 (2)	0 (0)	
VP16+ CBDCA	5 (2)	5 (3)	0 (0)	
+トラスツズマブ	37 (18)	34 (17)	3 (60)	
+免疫チェックポイント阻害薬	16 (8)	15 (8)	1 (20)	

	全患者 (n = 203)	好中球減少 ($\geq 100/\mu\text{L}$) (n = 198)	好中球減少 ($< 100/\mu\text{L}$) (n = 5)	P value
治療レジメン, n (%)				
Nab-PTX + RAM	126 (62)	124 (63)	2 (40)	0.37 ^b
PTX + RAM	77 (38)	74 (37)	3 (60)	
PTX/nab-PTX 減量の有無, n (%)				
なし	151 (74)	148 (75)	3 (60)	0.60 ^b
あり	52 (26)	50 (25)	2 (40)	
減量投与量, % (IQR)	78 (77–80)	78 (77–80)	80, 80	0.18 ^a
投与前臨床検査値, median (IQR)				
白血球数 (μL)	5450 (4330–7570)	5470 (4350–7600)	5180 (3730–5630)	0.38 ^a
好中球数 (μL)	3480 (2300–5360)	3530 (2310–5400)	2300 (1810–2860)	0.14 ^a
ヘモグロビン (g/dL)	11.2 (10.0–12.4)	11.1 (10.0–12.3)	11.8 (11.6–13.0)	0.40 ^a
CRP (mg/dL)	0.37 (0.10–1.71)	0.37 (0.10–1.72)	0.27 (0.04–2.67)	0.52 ^a
血清アルブミン (g/dL)	3.4 (2.9–3.8)	3.4 (2.9–3.9)	2.9 (2.6–2.9)	0.06 ^a
AST (U/L)	28 (23–42)	28 (23–41)	49 (46–50)	0.01 ^a
ALT (U/L)	18 (14–27)	18 (14–27)	27 (21–50)	0.18 ^a
総ビリルビン (mg/dL)	0.7 (0.5–1.1)	0.7 (0.5–1.1)	1.2 (0.8–1.9)	0.05 ^a
血清クレアチニン (mg/dL)	0.74 (0.63–0.9)	0.74 (0.63–0.90)	0.64 (0.55–0.72)	0.52 ^a

数が $100/\mu\text{L}$ 未満を認めた患者は 5 名 (2%) であった。うち 3 名は播種性血管内凝固症候群 (DIC) を併発する重篤な感染症によって死亡が確認された。患者背景において、好中球数が $100/\mu\text{L}$ 未満を認めた患者群ではそれ以外の患者群と比較し、血清アルブミンが低い傾向にあり、AST や血清ビリルビン値は有意に高かった。これは、好中球数が $250/\mu\text{L}$ 未満を認めた患者群と認めなかった患者群で比較しても同様の傾向であった。

(2) SNV と治療早期の重篤な好中球減少症との関連調査

ABCB1 の遺伝子バリエーションの頻度は、*ABCB1* T1236C、G2677T、G2677A 及び C3435T でそれぞれ 42%、41%、18%及び 40%であり、既報と同程度であった^{5,6)}。好中球減少症 Grade4 に相当する好中数 $500/\mu\text{L}$ 未満の発症率で検討すると、すべての遺伝子バリエーション

ト及び *ABCB1* のハプロタイプにおいて、有意な関連性は認められなかった。一方で、好中数 250/ μ L 未満の発症においては、各遺伝子バリエーションの TT 型と有意な関連が認められた。特に、*ABCB1* C3435T の TT 型は最も治療開始早期の重篤な好中球減少症に関連が認められ、好中球減少症 100/ μ L の発症について 32 名中 4 名（13%）で認め、好中球減少症 100/ μ L 未満を認めた 5 名中 4 名が、*ABCB1* C3435T の TT 型であった（表 2）。

表2:好中球減少と*ABCB1*遺伝子多型の関連

	<i>ABCB1</i> genotype	Total	Grade 0-1 >1500/ μ L	Grade 2 1500-1000/ μ L	Grade 3 1000-500/ μ L	Grade 4		
						500-250/ μ L	250-100/ μ L	<100/ μ L
T1236C	CC	36 (18%)	9 (25%)	9 (25%)	9 (25%)	6 (17%)	3 (8%)	0 (0%)
rs1128503	TC	99 (49%)	30 (30%)	19 (19%)	25 (25%)	17 (17%)	7 (7%)	1 (1%)
	TT	68 (33%)	18 (26%)	11 (16%)	16 (24%)	12 (18%)	7 (10%)	4 (6%)
G2677T/A	GG	33 (16%)	8 (24%)	8 (24%)	9 (27%)	5 (15%)	3 (9%)	0 (0%)
rs2032582	GA	30 (15%)	8 (27%)	8 (27%)	6 (20%)	5 (17%)	3 (10%)	0 (0%)
	AA	9 (5%)	2 (22%)	1 (11%)	4 (44%)	1 (11%)	1 (11%)	0 (0%)
	AT	25 (12%)	11 (44%)	3 (12%)	5 (20%)	4 (16%)	2 (8%)	0 (0%)
	GT	72 (35%)	21 (29%)	13 (18%)	17 (24%)	14 (19%)	5 (7%)	2 (3%)
	TT	34 (17%)	7 (21%)	6 (18%)	9 (26%)	6 (18%)	3 (9%)	3 (9%)
C3435T	CC	71 (35%)	17 (24%)	14 (20%)	21 (30%)	12 (17%)	7 (10%)	0 (0%)
rs1045642	CT	100 (49%)	35 (35%)	17 (17%)	21 (21%)	19 (19%)	7 (7%)	1 (1%)
	TT	32 (16%)	5 (16%)	8 (25%)	8 (25%)	4 (13%)	3 (9%)	4 (13%)
Haplotype	other	176 (87%)	52 (30%)	34 (19%)	42 (24%)	32 (18%)	14 (8%)	2 (1%)
	TTT=ITT	27 (13%)	5 (19%)	5 (19%)	8 (30%)	3 (11%)	3 (11%)	3 (11%)
	Total	203	57 (28%)	39 (19%)	50 (25%)	35 (17%)	17 (8%)	5 (2%)

ABCB1 C3435T の TT 型の非 TT 型に対するオッズ比は、治療開始後に好中球減少症 250/ μ L 未満及び 100/ μ L 未満それぞれ 3.4 (95% confidence interval 1.2-10.0; $P = 0.025$)及び 28.1 (95% confidence interval 2.8-283.3; $P = 0.005$)と有意に高かった。一方、20%程度の減量投与を実施した患者においては、*ABCB1* C3435T の TT 型は治療開始早期の重篤な好中球減少症の有意なリスク因子とは認められなかった（表 3）。

表3:*ABCB1* C3435T TT遺伝子型に関連する治療早期の極めて重篤な好中球減少症の発症オッズ比

	好中球減少 (<250/ μ L)		好中球減少 (<100/ μ L)	
	Odds ratio (95% confidence interval)	P value	Odds ratio (95% confidence interval)	P value
全患者 <i>ABCB1</i> C3435T (rs1045642) TT	3.4 (1.2-10.0)	0.025	28.1 (2.8-283.3)	0.005
用量減量なし <i>ABCB1</i> C3435T (rs1045642) TT	4.6 (1.4-15.4)	0.012	46.7 (1.9-1132.5)	0.018
用量減量あり <i>ABCB1</i> C3435T (rs1045642) TT	1.5 (0.1-18.3)	0.767	6.3 (0.1-324.4)	0.36

Adjusted for 年齢, 性別, 治療前好中球数, 血清アルブミン, AST.

4. 考察

我々は切除不能な進行・再発胃がん患者を対象とした比較的大規模な後ろ向き研究を実施することによって *ABCB1* C3435T (rs1045642) TT 型と PTX または nab-PTX による治療早期の極めて重度の好中球減少症の発生との間に有意な関連があることを明らかにした。

過去に実施されたパクリタキセル誘発性好中球減少症と *ABCB1* SNV の関連性に関する研究では、相反する結果が報告されており、その関連性に関するコンセンサスは得られていなかった²⁷⁾。そこで、我々は既治療の影響や PTX 以外の細胞障害性抗がん薬の影響を排除するために、対象を胃癌の二次治療で治療レジメンを PTX または nab-PTX + ラムシルマブに限定することで、パクリタキセル誘発性好中球減少症と *ABCB1* SNV の関連性をより正確に評価することを試みた。その結果、Grade 4 の好中球減少症（好中球数 500/ μ L 未満）との有意な関連は認められなかったが、早期極めて重度の好中球減少症（好中球数 100/ μ L 未満）に関しては、*ABCB1* SNV との間に有意な関連が認められた。

先行研究では、*ABCB1* SNV に関して本研究で評価した 3 つの SNV (T1236C、G2677T/A、C3435T) に基づいたハプロタイプ解析が行われることが多い⁸⁾。しかし、T1236C (rs1128503) と C3435T (rs1045642) の間には明確な LD が認められたため、我々は最も強い関連が認められた C3435T (rs1045642) をこの遺伝子座の代表的な SNV として解析を行った。その結果、1 つの SNV のスクリーニングにおいても、PTX/nab-PTX 治療による早期極めて重度の好中球減少症の予測に有用である可能性が示唆された。この知見は、遺伝子型判定による個別化医療をより簡便に臨床導入できる可能性を示したものと考えている。

ABCB1 SNV 以外にも、総ビリルビン値の上昇がパクリタキセル誘発性好中球減少症のリスク因子として報告されている⁹⁾。本研究の結果もこれと一致しており、総ビリルビン値の高い患者や血清アルブミン値の低い患者で好中球減少症の発生頻度が高いことが確認された。さらに、本研究では *ABCB1* C3435T (rs1045642) TT ホモ接合型遺伝子型が極めて重度の好中球減少症と有意に関連していたが、約 20% の減量投与を受けた患者群では、この関連は統計的に有意ではなかった。この結果は、*ABCB1* SNV の遺伝子型に基づいた用量調整が、早期極めて重度の好中球減少症の予防につながる可能性を示唆しており、今後は、これら因子を考慮した、本副作用に対する予測モデルの確立への研究も考えている。

本研究では、好中球数 100/ μ L 未満発現は 5 名 (2%) で認められ、その 5 名のうち 3 名が重篤な感染症と播種性血管内凝固 (DIC) を合併し死亡していた。したがって、治療早期の重度な好中球減少症 (100/ μ L 未満) を予測することは極めて重要である。本研究によって、我々は *ABCB1* C3435T の TT ホモ接合型遺伝子型が非 TT 型に対して、オッズ比 28.1 (95% confidence interval 2.8–283.3; $P = .005$) と強いリスク因子であることを明らかにした。

一方で、本研究で認めた *ABCB1* C3435T の TT ホモ接合型遺伝子型の日本人の発現頻度は 16% と比較的高頻度であることを考慮すると、このような稀な副作用の遺伝的影響因子については、頻度の高い遺伝子バリエント (Common variants) よりも、より頻度の低い遺伝子バリエント (Rare Alleles) の特定が臨床上重要な遺伝子バリエントとなる可能性がある。そこで、我々の今後の展望としては、CBBA に保管されている他癌腫において PTX/nab-PTX 治療を実施した患者にも対象を広げ、*ABCB1* の全エクソン領域をターゲットとして、より影響のある Rare Alleles を探索することを計画している。それにより治療早期に発生する重篤な好中球減少の遺伝的リスク因子を明らかにし、臨床応用に向けた臨床試験を進めていく。

結論として、本研究では、*ABCB1* C3435T (rs1045642) TT ホモ接合型遺伝子型が PTX/nab-PTX 誘発性の治療早期極めて重度の好中球減少症と有意に関連することを明らかにした。本研究結果を受けて、今後はさらなる副作用予測精度を上げるための調査研究を計画し、将来的には SNV のリスクを事前に評価することで、PTX/nab-PTX の重篤な副作用リスクに応じた個別化医療の確立に向けた取り組みを目指している。

5. 文献

- 1) Hsin CH, Stoffel MS, Gazzaz M, et al. Combinations of common SNPs of the transporter gene *ABCB1* influence apparent bioavailability, but not renal elimination of oral digoxin, *Scientific reports*, 2020, **10**, 12457.
- 2) Sissung TM, Mross K, Steinberg SM, et al. Association of *ABCB1* genotypes with paclitaxel-mediated peripheral neuropathy and neutropenia, *European journal of cancer (Oxford, England : 1990)*, 2006, **42**, 2893-2896.
- 3) Gandara DR, Kawaguchi T, Crowley J, et al. Japanese-US common-arm analysis of paclitaxel plus carboplatin in advanced non-small-cell lung cancer: a model for assessing population-related pharmacogenomics, *Journal of clinical oncology* :

- official journal of the American Society of Clinical Oncology*, 2009, **27**, 3540-3546.
- 4) Lal S, Wong ZW, Sandanaraj E, et al. Chowbay B, Influence of ABCB1 and ABCG2 polymorphisms on doxorubicin disposition in Asian breast cancer patients, *Cancer science*, 2008, **99**, 816-823.
 - 5) Maeda A, Ando H, Irie K, et al. Effects of ABCB1 and ABCG2 polymorphisms on the pharmacokinetics of abemaciclib, *European journal of clinical pharmacology*, 2022, **78**, 1239-1247.
 - 6) Komoto C, Nakamura T, Sakaeda T, et al. Okumura K, MDR1 haplotype frequencies in Japanese and Caucasian, and in Japanese patients with colorectal cancer and esophageal cancer, *Drug metabolism and pharmacokinetics*, 2006, **21**, 126-132.
 - 7) Bergmann TK, Brasch-Andersen C, Gréen H, et al. Impact of ABCB1 variants on neutrophil depression: a pharmacogenomic study of paclitaxel in 92 women with ovarian cancer, *Basic & clinical pharmacology & toxicology*, 2012, **110**, 199-204.
 - 8) Keskitalo JE, Kurkinen KJ, Neuvoneni PJ, et al. ABCB1 haplotypes differentially affect the pharmacokinetics of the acid and lactone forms of simvastatin and atorvastatin, *Clinical pharmacology and therapeutics*, 2008, **84**, 457-461.
 - 9) Nara K, Yamamoto T, Yamashita H, et al. Prior treatment with oxaliplatin-containing regimens and higher total bilirubin levels are risk factors for neutropenia and febrile neutropenia in patients with gastric or esophagogastric junction cancer receiving weekly paclitaxel and ramucirumab therapy: a single center retrospective study, *BMC cancer*, 2023, **23**, 979.

6. 論文発表

Maeda A, Matsuo K, Ando H, Morishige JI, Muro K, Uchida K, Tajika M. Impact of *ABCB1* single-nucleotide variants on early, extremely severe neutropenia induced by paclitaxel/nanoparticle albumin-bound paclitaxel in patients with gastric cancer. *Br J Clin Pharmacol*. 2024. doi:

10.1111/bcp.16359. Online ahead of print.

前田章光, 松尾恵太郎, 安藤仁, 盛重純一, 室圭, 内田幸作, 田近正洋: パクリタキセルによる治療早期の重篤な好中球減少に対する *ABCB1* 遺伝子バリエーションの及ぼす影響. 第 45 回日本臨床薬理学会学術総会, 2024.12.13, (大宮), [口頭]