

27PB-am073S

ヒト ABC 輸送体 *ABCC4* 遺伝子上の非同義一塩基多型に依存した薬剤耐性の定量評価

○塚本 めぐみ¹, 佐竹 一紘¹, 三宅 美月¹, 石川 智久², 中川 大¹ (¹中部大応用生物,
²NPO 地方再興・個別化医療支援)

【目的】一塩基多型は、当該遺伝子産物の機能や細胞内安定性に影響を及ぼし、疾患の発症リスクを含めた体質の個人差を決定する要因の一つである。本研究では、抗ウイルス薬、抗生物質、抗がん剤といった幅広い基質特異性を有するヒト ABC 輸送体 *ABCC4* に注目し、その遺伝子上に存在する 146 種の非同義一塩基多型が薬剤耐性に与える影響を解析することを目的とした。

【方法】一塩基の違いを定量的に分析するために、本研究では、染色体上の特定の部位に目的遺伝子を導入することができる「Flp-In トランスフェクションシステム¹」を採用し、*ABCC4* の野生型および一塩基多型バリエント (M184K, N297S, K304N, P403L, E757K) をそれぞれ発現する細胞を樹立した。これらの細胞にたいして MTT assay² を実施し、*ABCC4* の基質である抗がん剤 (azathioprine, methotrexate, 6-mercaptopurine, SN-38) 感受性にたいする一塩基の影響を評価した。

【結果および考察】一塩基多型バリエントを発現する細胞は、azathioprine, 6-mercaptopurine にたいして、野生型を発現する細胞と比して抵抗性の低下が認められた。また、*ABCC4* (N297S, K304N, P403L, E757K) をそれぞれ発現する細胞は、野生型を発現する細胞と比して、SN-38 にたいする抵抗性の低下が認められた。また、一塩基多型バリエントを発現する細胞において *ABCC4* タンパク質の安定性を評価した結果、安定性に影響を与えるような一塩基多型は見出されなかった。これらの結果から、*ABCC4* における 184, 297, 304, 403, 757 番目のアミノ酸残基が *ABCC4* による基質特異性に影響を及ぼしている可能性が示唆された。

[1] Wakabayashi-Nakao et al., *Methods Mol. Biol.*, 2010, 648, 139-159.

[2] Nakagawa et al., *FEBS J.*, 2009, 276, 7237-7252.