

AMCoR

Asahikawa Medical University Repository <http://amcor.asahikawa-med.ac.jp/>

旭川医科大学研究フォーラム (2014.02) 14巻1号:62～64.

平成23.24年度「独創性のある生命科学研究」個別研究課題
16)生体肝移植における免疫抑制剤代謝酵素群の遺伝子変異と薬物血中濃度との関連性の検討

研究代表者 谷口 雅彦

く投与設計が必須とされている。その理由として、移植患者によっては多量の免疫抑制剤を服用しても血中濃度が上昇しない症例が存在し、移植後拒絶反応やそれによる graft loss の可能性もあることによる。他方、少量の免疫抑制剤にて血中濃度が異常高値になる症例もあり、このような症例では脳症（タクロリムス脳症）等も危惧される。これらの薬剤の体内動態に変動を及ぼす因子として、腸管に発現している P-糖蛋白（MDR1）や、腸管や肝組織に発現している薬物代謝酵素チトクローム P450（CYP）3A4 や CYP3A5 の一塩基多型（SNP）による酵素活性の変化が示唆されている^{1,4)}。すなわち、遺伝子変異によって各分子の酵素活性が変化することで免疫抑制剤の代謝が亢進、または遅延し、薬物血中濃度に影響を及ぼすと考えられる。これらの SNP 情報による酵素活性の変化を事前に把握することができれば、例えば生体肝移植の場合、移植前にドナーが決定していることから移植前に免疫抑制剤の体内動態を予測し、至適免疫抑制剤の選択、投与量の調整を行うことが可能となる。さらに、移植後に処方されることが多い薬剤（プロトンポンプ阻害薬や抗真菌薬など）についても、これら分子の SNP 情報による酵素活性の変化が示唆されていることから⁵⁾、副作用発現予測や薬効評価の予測なども可能となる。

[目的]

1. 免疫抑制剤の体内動態に関与する遺伝子変異検査を行い、各分子の SNP 情報と薬物血中濃度の関連性を明らかにする。
2. 得られた SNP の情報から、肝移植前に免疫抑制剤の体内動態を予測し、免疫抑制剤の投与量の調整を可能にできるかを検討する。

[対象と方法]

対象：当院で施行した生体肝移植症例：3例

1. インフォームドコンセントを得た後、移植術時に採取されるレシピエント小腸片（Roux-en-Y 吻合部）、ドナー肝組織片の余剰部分を液体窒素で凍結後、組織中より DNA 抽出キットを用いてゲノム DNA を抽出する。同時に末梢血も採取し、同様の手法でゲノム DNA を抽出する。
2. ゲノム DNA から SNP 部位を含む部位を特異的に

16) 生体肝移植における免疫抑制剤代謝酵素群の遺伝子変異と薬物血中濃度との関連性の検討

代表研究者 谷口 雅彦

[背景]

タクロリムスやシクロスポリン等の免疫抑制剤は、その体内動態に個体内変動が認められることが知られており、薬物血中濃度モニタリング（TDM）に基づ

増幅させるプライマーを人工合成し、PCR 反応にて増幅後、SNP 部位領域を特異的に切断する制限酵素を用いて PCR 産物を切断後、アガロース電気泳動を行い、SNP 判定を行う。

3. タクロリムス投与を開始した翌日より連日、投与直前に採血を行い（トラフ値）、化学発光免疫測定法（CLIA 法）により全血中濃度を測定し、薬物血中濃度をモニタリングする。
4. 移植後に用いられる免疫抑制剤の血中濃度と投与量比（C/D 比）を算出し、これら分子の遺伝子変異との関連性を検討する。

【結果】

検討 1：一塩基多型（SNP）による酵素活性の変化

免疫抑制剤、抗真菌剤に影響を及ぼすとされる代表的な SNP による酵素活性の変化を各症例別に示す。

case A	CYP3A5	CYP2C19
donor	*1/*3	*2/*3
recipient	*1/*3	*1/*2
case B	CYP3A5	CYP2C19
donor	*1/*3	*1/*2
recipient	*3/*3	*1/*1
case C	CYP3A5	CYP2C19
donor	*1/*3	*1/*1
recipient	*1/*3	*1/*2

Case A では CYP3A5 はドナー肝でヘテロ（酵素活性あり）、レシピエント小腸でもヘテロであった（酵素活性あり）。一方、CYP2C19 においては、ドナー肝でヘテロ（機能欠損）、レシピエント小腸でヘテロ（酵素活性あり）であった。

Case B においては、CYP3A5、CYP2C19 ともにドナーでヘテロ（酵素活性あり）、一方レシピエントでは CYP3A5 でホモ（機能欠損）、CYP2C19 でホモ（酵素活性あり）であった。

Case C では CYP3A5 はドナー、レシピエントともにヘテロ（酵素活性あり）である一方で、CYP2C19 はドナーがホモ（機能欠損）、レシピエントがヘテロ（酵素活性あり）であった。

検討 2：免疫抑制剤の体内動態の検討

図 1 に移植後 6～10 日までのタクロリムスの血中濃度 / 投与量比（C/D）を、図 2 に移植後 15～19 日までのタクロリムスの C/D を示す。移植直後の 6～

10 日までは case A にて C/D 比は低く、case B, C には高い傾向であった。一方、移植後 15～19 日での C/D 比は case A は移植直後と同様であったが、case B にて下がる傾向にあった。Case C においてはデータのばらつきを認めた。

【考察】

本研究では、免疫抑制剤、抗真菌剤に影響を及ぼすとされる代表的な SNP による酵素活性の変化と免疫抑制剤の体内動態との関連性について検討した。一般的に CYP3A5 は主にタクロリムス、CYP2C19 はボリコナゾールの代謝に影響を強く与えられている。

まず、タクロリムスの代謝に関して、Case A では CYP3A5 はドナー肝で酵素活性あり、レシピエント小腸でも酵素活性あり、共に酵素活性を有することから

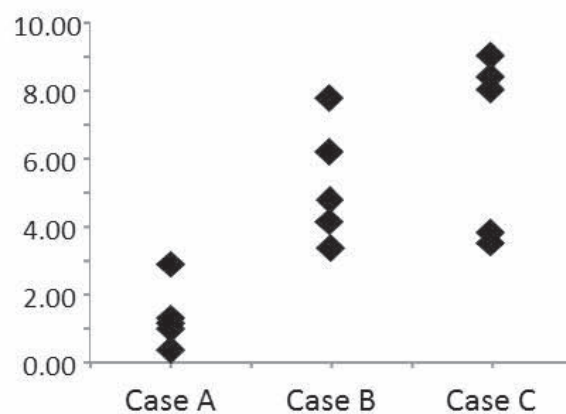


図 1 移植後 6～10 日目の C / D 比

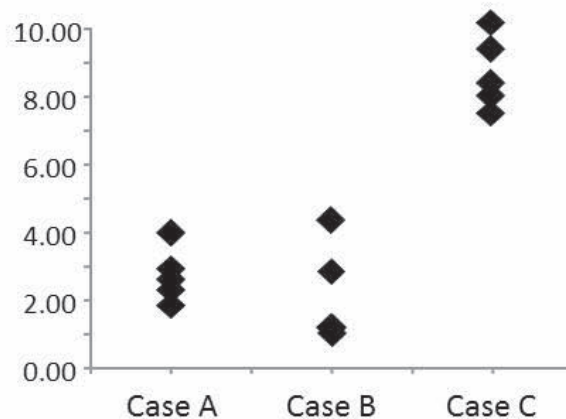


図 2 移植後 16～20 日目の C / D 比

タクロリムスの血中濃度が上昇しづらいことが予想されたが、C/D 比も移植 10 日目まで、20 日目までのいずれも低い傾向にあり、予想と一致していた。Case B においては、CYP3A5 はドナーで酵素活性あり、一方レシピエントでは CYP3A5 で機能欠損であった。これまでの報告からすでに、タクロリムスの代謝に関しては移植直後の 6 ~ 10 日目まではレシピエントの小腸での代謝が優位とされるが、移植後 15 日以降はドナー肝での代謝が優位になると言われている¹⁾。その報告通り、移植 10 日目まで C/D 比は高く、15 日以降では低くなる傾向にあった。Case C では CYP3A5 はドナー、レシピエントともに酵素活性あることからタクロリムスは血中濃度が上昇しづらいところが予想されたが、C/D 比は移植 10 日目まではデータにばらつきがあり、20 日目まででは高い傾向にあった。これは case C は再移植症例であり、術前に肝不全の状態から移植を行ったことから全身状態の悪化がタクロリムスへの代謝に影響を及ぼしたものと思われる。

抗真菌剤と SNP 情報の関係については、今回 case A と case B においてポリコナゾールを投与したため、この 2 症例のみの検討となるが、ポリコナゾールの代謝に強く影響すると言われる CYP2C19 に関しては、case A においてレシピエント小腸で酵素活性あり、ドナー肝で機能欠損であった結果から、ポリコナゾールの血中濃度は上昇しやすいことが予想された。事実本症例では、ポリコナゾールの著明な血中濃度上昇のために中断を余儀なくされた。他方、case B ではレシピエント・ドナーとも酵素活性あり、血中濃度は平均的であることが予想され、実際にも血中濃度の上昇は認めなかった。

今後さらに症例を蓄積して検討する必要があるものの、本研究の結果からタクロリムス、ポリコナゾールともに移植前の SNP 情報と実際の血中濃度の推移は関連がある可能性が高い。従って、移植前からの薬物の体内動態が予想できることから、事前に拒絶反応や真菌感染症に対する対策が可能となる。今後は SNP 情報と拒絶反応、肝機能障害との関連性についても検討していきたい。

[謝 辞]

平成 24 年度「独創性のある生命科学研究」に採択していただき、このような研究の機会を与えて頂きま

したことをこの場を借りて厚く御礼申し上げます。

[参考文献]

- 1) Fukudo M. [Individualized dosage regimen of immunosuppressive drugs based on pharmacokinetic and pharmacodynamic analysis]. Yakugaku zasshi : Journal of the Pharmaceutical Society of Japan. 2007 Jul;127 (7) :1081-9. PubMed PMID: 17603267.
- 2) Hosohata K, Masuda S, Yonezawa A, Katsura T, Oike F, Ogura Y, et al. MDR1 haplotypes conferring an increased expression of intestinal CYP3A4 rather than MDR1 in female living-donor liver transplant patients. Pharmaceutical research. 2009 Jul;26 (7) :1590-5. PubMed PMID: 19267185.
- 3) Uesugi M, Masuda S, Katsura T, Oike F, Takada Y, Inui K. Effect of intestinal CYP3A5 on postoperative tacrolimus trough levels in living-donor liver transplant recipients. Pharmacogenetics and genomics. 2006 Feb;16 (2) :119-27. PubMed PMID: 16424824.
- 4) Goto M, Masuda S, Kiuchi T, Ogura Y, Oike F, Okuda M, et al. CYP3A5*1-carrying graft liver reduces the concentration/oral dose ratio of tacrolimus in recipients of living-donor liver transplantation. Pharmacogenetics. 2004 Jul;14 (7) :471-8. PubMed PMID: 15226679.
- 5) Hosohata K, Masuda S, Yonezawa A, Sugimoto M, Takada Y, Kaido T, et al. Absence of influence of concomitant administration of rabeprazole on the pharmacokinetics of tacrolimus in adult living-donor liver transplant patients: a case-control study. Drug metabolism and pharmacokinetics. 2009;24 (5) :458-63. PubMed PMID: 19881258.