

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 4月 9日現在

機関番号：12301

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21590150

研究課題名（和文）薬剤抵抗性の発現機構解明と薬動力学解析に基づく対処法の構築

研究課題名（英文） Mechanism of drug resistance and its rational treatment based on pharmacodynamic analysis.

研究代表者

山本 康次郎（YAMAMOTO KOJIRO）

群馬大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号：70174787

研究成果の概要（和文）：

ワルファリン抵抗性因子としてビタミンK還元酵素遺伝子 VKORC1 が重要である一方、ビタミンK代謝酵素である CYP4F2 の影響は限定的であった。全身紅斑性エリテマトーデス患者におけるアザチオプリンの治療効果に及ぼすチオプリンメチル基転移酵素 (TPMT) およびイノシン三リン酸化酵素 (ITPA) 遺伝子型の、臨床における治療効果への影響を検討した。我が国では伝統的に低用量でアザチオプリンによる治療が行われるため、ITPA 遺伝子変異を有する患者では十分に効果が得られるが、通常型の場合はやや効果が劣ることが明らかとなった。

研究成果の概要（英文）：

Vitamin K oxide reductase gene VKORC1 was important as a warfarin-resistant factor, while influence of CYP4F2, a vitamin K metabolism enzyme, was limited. Effect of thiopurine methyltransferase (TPMT) and inosine triphosphorus pyrophosphohydrolase (ITPA) was investigated in the systemic lupus erythematosus patients. Since treatment with azathioprine was provided at a low dose traditionally in Japan, azathioprine therapy is effective in the patients who had ITPA gene variant.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2010年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2011年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：臨床薬理学、薬物動態学

科研費の分科・細目：薬学・医療系薬学

キーワード：薬剤抵抗性、ワルファリン、ビタミンK、VKORC1、アザチオプリン、ITPA

1. 研究開始当初の背景

薬物の効果が減弱する機構のうち、薬物の吸収阻害や、薬物代謝酵素・トランスポータの

誘導については比較的解明されている。一方、一般に薬剤感受性の変化による薬剤耐性の速度論的解析は困難であり、国際的にも限られた報告しか見られない。これまで、神経伝

達物質の枯渇や受容体脱感作を考慮したモデル解析が行われており、薬剤耐性発現の薬物動力的解析は確立していない。

2. 研究の目的

本研究では、薬剤抵抗性の原因となる遺伝的因子を探索し、従来から蓄積されてきた「副作用発現の危険性」の情報と、「無効あるいは非効率性」の情報を併せることにより、より効率よく個別の治療設計を行う方法論を確立することを目的とする。臨床での用量設定が重要である血糖降下薬、抗凝固薬および免疫抑制薬を対象薬物とし、それぞれの薬物動態に影響を与える薬物代謝酵素や薬物輸送担体、薬効発現に影響する受容体、酵素などの遺伝子型との関連を解析する一方、薬物に暴露されることによる薬剤感受性など生体側の変化を動態学的に解析する。

3. 研究の方法

臨床で薬物治療が無効な患者を抽出し、薬剤抵抗性の遺伝的因子を探索する。遺伝子がコードする蛋白の機能を動物実験や in vitro 試験で確認し、薬剤抵抗性の発症条件を解析する。最終的に薬剤抵抗性発症を目的とする薬動力学モデルを確立し、臨床上の有用性を確認する。薬物体内動態に影響する可能性がある各種代謝酵素およびトランスポータの遺伝子型を制限酵素反応による DNA 鎖長の比較 (RFLP) または直接シーケンス法により解析する。ワルファリン投与患者については薬効発現に関与するビタミンKサイクル関連酵素の遺伝子型も同時に検討する。

4. 研究成果

ワルファリン抵抗性因子としてビタミンK還元酵素遺伝子 VKOR、ビタミンK代謝酵素である CYP4F2 が薬剤感受性に及ぼす影響を検討した。また、VKOR 遺伝子型によりワルファリン治療が安定するまでの期間に差があり、当該遺伝子解析が臨床的にも重要であることを明らかにした。食物から摂取するビタミンKの含量と、その生体内代謝活性がワルファリンの作用に及ぼす影響の検討を進めており、薬剤感受性に及ぼす環境因子の評価を行った。

また、全身紅斑性エリテマトーデス患者におけるアザチオプリンの治療効果に及ぼすチオプリンメチル基転移酵素 (TPMT) およびイノシン三リン酸化酵素 (ITPA) 遺伝子型の、臨床における治療効果への影響を検討した。我が国では伝統的に低用量でアザチオプリンによる治療が行われるため、ITPA 遺伝子変異を有する患者では十分に効果が得られるが、

通常型の場合はやや効果が劣ることが明らかとなった。さらにアザチオプリンの薬効発現に関与する可能性がある遺伝子として肝臓での代謝酵素であるキサンチンオキシダーゼおよび細胞内からの排出トランスポータである MDR1 の影響を評価した。

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7件)

①Ohno, I, Araki T, Kawano M, Nakamura T, Yamamoto K: Sensitive and simple determination of vitamin K1 in human plasma by ultra-performance liquid chromatography coupled with a fluorescence detector. J Liq Chromatogr & Related Tech., in press. 査読有

②Nakamura K, Obayashi K, Araki T, Aomori T, Fujita Y, Okada Y, Kurabayashi M, Hasegawa A, Ohmori S, Nakamura T, Yamamoto K: CYP4F2 gene polymorphism as a contributor to warfarin maintenance dose in Japanese subjects. J. Pharmacy Ther. 2011; In press. 査読有

③Aomori T, Obayashi K, Fujita Y, Araki T, Nakamura K, Nakamura T, Kurabayashi M, Yamamoto K: Influence of CYP2C9 and VKORC1 polymorphisms on time to determine the warfarin maintenance dose. Pharmazie 2011; 66: 222-225. 査読有

④ Yamamoto K, Okada Y, Nakamura K, Hiromura K, Nojima Y, Nakamura T: Inosine triphosphate pyrophosphatase 94C>A polymorphism: clinical implications for patients with systemic lupus erythematosus treated with azathioprine. Exp Opin Drug Saf 2010; 9 (3) 447-57. 査読有

⑤Aomori T, Yamamoto K, Oguchi-Katayama A, Kawai Y, Ishida T, Mitani Y, Kogo Y, Lezhava A, Fujita Y, Obayashi K, Nakamura K, Kohnke H, Wadelius M, Ekström L, Skogastierna C, Rane A, Kurabayashi M, Murakami M, Cizdziel PE., Hayashizaki Y, Horiuchi R: Rapid SNP detection of the cytochrome P450 (CYP) 2C9 and the vitamin K oxide reductase (VKOR) gene for the warfarin dose adjustment by SMart-Amplification Process. Clin. Chem. 2009; 55 (4) 804-12. 査読有

⑥Okada Y, Nakamura K, Hiromura K, Nojima K, Horiuchi R, Yamamoto K: Pro32Thr polymorphism of inosine triphosphate gene predicts efficacy of low-dose azathioprine for patients with systemic lupus erythematosus. Clin. Pharmacol. Ther. 2009; 85 (5): 527-30. 査読有

⑦山本康次郎、岡田裕子、中村智徳、アザチオプリンの治療効果に対するITPA 94C>A遺伝子多型の影響. 医薬ジャーナル 2009; 45 (12): 3089-94. 査読無

[学会発表] (計 13 件)

①Kawano M, Araki T, Nakamura T, Yamamoto K: Comparison of the VKOR inhibitory activity by S- and R-warfarin. 2nd Asian Federation for Pharmaceutical Sciences 2011 (2011/12/9, Kuala Lumpur, Malaysia)

②Takuya Araki, Masashi Kawano, Izumi Ohno, Tomonori Nakamura, Koujiro Yamamoto: Association of genotype, pharmacokinetics of vitamin Ks, and response of warfarin. 第5回次世代を担う若手医療薬科学シンポジウム 2011年11月26-27日(名古屋大学病院)

③川野雅嗣、荒木拓也、中村智徳、山本康次郎：肝ミクロソームを用いたSおよびRワルファリンによるVKOR阻害活性の比較検討. 第55回日本薬学会関東支部大会 2011年10月8日(東邦大学、船橋)

④Aomori T, Nagamine A, Takenaka M, Okada Y, Hiromura K, Nojima Y, Araki T, Nakamura T, Yamamoto K: Effect of genetic polymorphisms on the efficacy of low-dose azathioprine therapy in patients with systemic lupus erythematosus. 10th Congress of the European Association for Clinical Pharmacology and Therapeutics (2011/6/26-29, Budapest, Hungary)

⑤Ayumu Nagamine, Miki Takenaka, Tohru Aomori, Yuko Okada, Keiju Hiromura, Yoshihisa Nojima, Takuya Araki, Tomonori Nakamura, Koujiro Yamamoto: Contribution of genetic polymorphisms to the efficacy of low-dose azathioprine therapy in Japanese patients with systemic lupus erythematosus. 第4回次世代を担う若手医療薬科学シンポジウム(東京)、2010年11月27~28日

⑥Ayano Ito, Yuko Okada, Keiju Hiromura, Yoshihisa Nojima, Takuya Araki, Tomonori Nakamura, Koujiro Yamamoto: The Contribution of CYP3A5 and MDR1 (ABCB1) Polymorphisms on the pharmacokinetics of tacrolimus in patients with Rheumatoid arthritis and Lupus nephritis. 第4回次世代を担う若手医療薬科学シンポジウム(東京)、2010年11月27~28日

⑦中村智徳：ITPA遺伝子多型解析のSLE患者におけるアザチオプリン薬物療法への応用. シンポジウム 20 病院薬剤師による薬物治療個別化への遺伝子情報の活用. 第20回日本医療薬学会年会(千葉)、2010年11月13日~14日

⑧中村克徳、荒木拓也、大林恭子、川名純一、倉林正彦、中村智徳、大森 栄、山本康次郎：ワルファリン維持投与量に対するCYP4F2遺伝子多型の影響の検討、日本薬学会第130年会、岡山、2010年3月28~30日

⑨ Koujiro Yamamoto, Yuko Okada, Katsunori Nakamura, Tomonori Nakamura, Keiju Hiromura and Yoshihisa Nojima: Individualization of Azathioprine dose for patients with Systemic Lupus Erythematosus. 38th European Society of Clinical Pharmacy, Geneva, Switzerland, 2009年11月03-06日

⑩Tomonori Nakamura, Yuko Okada, Keiju Hiromura, Yoshihisa Nojima, Katsunori Nakamura, Koujiro Yamamoto: Influence of CYP3A5 and MDR1 (ABCB1) polymorphisms on the pharmacokinetics of tacrolimus in patients with rheumatoid arthritis and lupus nephritis. 30th American College of Clinical Pharmacy, Anaheim, CA, USA, 2009年10月18-21日

⑪青森達、大林恭子、中村克徳、中村智徳、倉林正彦、三谷康正、石田尾武文、片山敦子、Alexander Lezhava、林崎良英、山本康次郎：ワルファリン維持投与量決定までの期間に対するVKORおよびCYP2C9遺伝子型の影響. 第16回日本遺伝子診療学会、札幌、2009年7月30-8月1日

⑫ Katsunori Nakamura, Kyoko Obayashi, Junichi Kawana, Hiroyasu Ogata, Kazuhiko Hanada, Masahiko Kurabayashi, Akira Hasegawa, Tomonori Nakamura, Koujiro Yamamoto: CYP4F2 gene polymorphism as a contributor of warfarin dose in Japanese. 16th International Conference on

Cytochrome P450, Nago, Okinawa, Japan,
2009年06月21日

⑬ Tomonori Nakamura, Yuko Okada, Keiju Hiromura, Yoshihisa Nojima, Katsunori Nakamura, Koujirou Yamamoto: Influence of CYP3A5 and MDR1 (ABCB1) polymorphisms on the pharmacokinetics of tacrolimus in patients with rheumatoid arthritis and lupus nephritis. 3rd Asian Pacific Region ISSX Meeting, Bangkok, Thailand, 2009年05月11日

[その他]

ホームページ等

<http://clinpharmacol.dept.med.gunma-u.ac.jp/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山本 康次郎 (YAMAMOTO KOJIRO)
群馬大学・大学院医学系研究科・教授
研究者番号：70174787

(2) 研究分担者

中村 智徳 (NAKAMURA TOMONORI)
群馬大学・大学院医学系研究科・准教授
研究者番号：30251151

中村 克徳 (NAKAMURA KATSUNORI)
信州大学・医学部附属病院・准教授
研究者番号：20361363

(3) 連携研究者

()

研究者番号：