

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 24 日現在

機関番号：33303

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25460661

研究課題名(和文) 栄養薬理遺伝学を用いた次世代抗凝固療法の開発

研究課題名(英文) Development of next-generation anticoagulant therapy using nutri-pharmaco-genomic approach

研究代表者

梶波 康二 (KAJINAMI, Kouji)

金沢医科大学・医学部・教授

研究者番号：40262563

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：ワルファリン薬効規定因子の栄養学的探索目的に、コレステロールトランスポーターNPC1L1遺伝子多型別にビタミンK摂取量との関係を232例で検討した。その結果VKORC1-1639A/G多型ヘテロ接合体でのみNPC1L1多型rs2072813が経口ビタミンK摂取量とワルファリン薬効の間に有意に影響することを見出し、NPC1L1遺伝子多型が脂質代謝と血栓性疾患をつなぐ可能性を示唆した。

Xa阻害薬投与中の50例で、Xa活性と凝固線溶バイオマーカーを測定した。F1+2がXa活性と最も良く相関し、同薬剤投与中の有用なモニターと考えられた。性、年齢、体重、Cr、Xa活性がF1+2の独立規定因子であった。

研究成果の概要(英文)：Intestinal cholesterol transporter NPC1L1-genotype dependent influence of dietary vit K intake on warfarin anticoagulation was examined in 232 patients. Only in those with VKORC1 -1639A/G heterozygotes, NPC1L1 functional SNP rs2072813 influenced significantly on the relation between warfarin efficiency and the amount of vit K intake, suggesting possible role of NPC1L1 linking lipid metabolism and thrombotic diseases.

In subjects receiving novel anticoagulant, Xa inhibitor, Xa activity and several biomarkers were measured in 50 patients. F1+2 showed the best association with Xa activity among examined variables, and Xa activity in addition to sex, age, body weight, and creatinine was independent determinant for F1+2 level.

研究分野：ファーマコゲノミクス

キーワード：ファーマコゲノミクス 血栓 抗凝固薬 脂質代謝 ビタミンK

1. 研究開始当初の背景

(1)心房細動や深部静脈血栓症に続発する脳梗塞や肺梗塞の予防には的確な抗凝固療法が不可欠である。従来はビタミンK代謝拮抗薬ワルファリンがその中心であったが、その反応性には個人差が大きく、またビタミンKなど栄養素摂取量に薬効が大きく影響される難点があった。従来の研究によりワルファリン反応性の個人差は、薬物代謝関連遺伝子(CYP2C9)およびビタミンK代謝関連遺伝子(VKORC1)における高頻度多型が影響することが明らかとなったが、ビタミンK摂取量を考慮した研究は皆無である。

(2)一方ワルファリンの課題克服を期待され2010年以降登場した凝固因子(トロンビンおよびXa)新規阻害薬は、重篤な出血性副作用が予想以上に高頻度で、抗凝固療法の有効性・安全性規定因子の解明が大きな課題となっている。またこれら新規抗凝固薬の薬効ならびに有害事象規定因子に関する研究報告はない。

2. 研究の目的

(1)ワルファリンの薬効発現におよぼすビタミンK経口摂取量の影響について、新たな規定因子を探索するとともに、われわれの開発した質問紙を用いた推測アルゴリズムの確立を目指す。

(2)Xa阻害薬を中心とした新規抗凝固薬の薬効を規定する因子を探索し、それぞれへのビタミンK摂取量の影響を検討する。

3. 研究の方法

(1)小腸上皮に発現するコレステロール吸収トランスポーターNPC1L1がビタミンK摂取に関与するとの知見(Sci Transl Med 2015)に着想を得て、実臨床でのその再現性を明らかにする目的で、232例の安定したワルファリン投与例を対象に、われわれが開発した質問紙法(J Thromb Thrombolys 2014)を用いて定量したビタミンK摂取量と、NPC1L1遺伝子の機能多型との関係を検討した。

また新規ワルファリン投与開始例を対象とした前向き研究によって、ビタミンK摂取量を含む臨床情報から作成したワルファリン投与量推測アルゴリズムの妥当性を遺伝子多型別に検証した。

(2)Xa阻害薬を始めとする新規抗凝固薬投与患者を対象に、Xa活性を間接的に測定するとともに、凝固線溶バイオマーカー(APTT, PT, Dダイマー, TAT, PT F1+2, fibrin monomer)を測定し、同薬剤の抗凝固作用を規定する因子を、臨床的、凝固学的、さらには遺伝学的探索するとともに、それぞれへのビタミンK摂取量の影響を比較検討した。

4. 研究成果

(1)NPC1L1機能的遺伝子多型3種を検討し、検討に十分な多型頻度が見られたrs2071183について、遺伝子型別にワルファリンの薬効(PT-INR)とビタミンK摂取スコアを比較した。われわれの既報(J Thromb Thrombolys 2014)において、経口ビタミンK摂取量がワルファリン薬効に与える影響は、ビタミンK代謝酵素VKORC1遺伝子-1639A/G多型の変異アレルAの存在に依存することが見出されたことから、同多型別にNPC1L1多型の関与を比較した(下表)。

その結果、VKORC1-1639A/G多型のアレルAを有する症例でのみ、rs2071183多型野生型アレルGのホモ接合体(NPC1L1活性が高く吸収能が高いと報告されている)でビタミンK摂取量が有意に低値(平均16.7)を示した(2016年3月日本循環器学会学術集会発表、論文作成中)。

表 コレステロール吸収トランスポーターNPC1L1遺伝子多型が経口ビタミンK摂取量とワルファリン薬効(PT-INR)の関係に及ぼす影響：VKORC1遺伝子多型別の比較

VKORC1 -1639A/G 多型	GG n=197		AG+AA n=34	
	NPC1L1 rs2071183	GG* n=70	GC+ CC n=127	GG* n=11
ワルファリン薬効 (PT-INR)	1.86	1.85	1.76	1.75
Vit K 摂取 スコア(平均)	21.7	23.0	16.7 #	27.1

\* トランスポーターとしてのコレステロール吸収能が高いと報告されている遺伝子型  
# p<0.01 as compared to other 3 subgroups

上記結果は、消化管上皮に発現するトランスポーター遺伝子多型が抗凝固療法の薬効に有意な影響を与えることを実臨床例で初めて明らかにした知見である。また同トランスポーターを介して、脂質代謝と血栓性疾患治療薬の薬効が関連していることを示す初の事例としても注目される(図)。

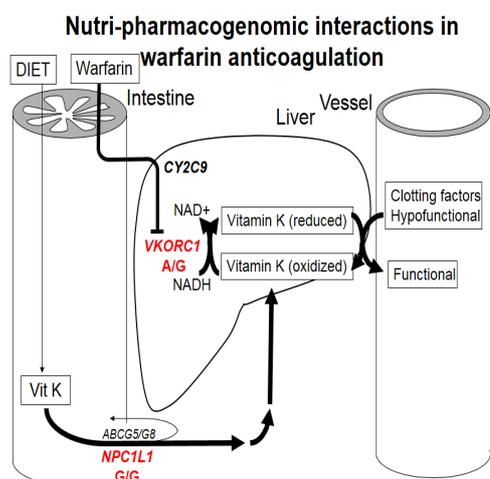


図 本研究によって明らかとなったワルファリンによる抗凝固療法に関する栄養薬理遺伝学的関係

(2)Xa 阻害薬 ( rivaroxaban, apixaban ) 投与連続 50 例を対象に以下の知見を得た ( 2016 年欧州心臓病学会発表予定 )

市販の試薬を用いて、高い再現性を持って Xa 活性阻害薬の血中濃度を推定する測定系を確立した。

この測定系を用いて Xa 阻害薬投与中の連続 50 例を対象に、前述の凝固線溶系バイオマーカーを測定した。その中で Xa 活性と最も良く相関したのは PT F1+2 であり、Xa 阻害薬投与患者における有用な薬効指標である可能性が示唆された。さらに臨床的ならびに凝固学的諸指標を含む多変量解析の結果、性、年齢、体重、クレアチニン、推定 Xa 活性が、PT F1+2 の独立した規定因子であり、これら 5 因子で PT F1+2 変動の 37% が説明可能であった。

現在 Xa 活性測定値およびこれら凝固線溶系バイオマーカーと連鎖する遺伝子多型の探索を進めている。

## 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 11 件 )

- (1) Fujita W, Matsunari I, Aoki H, Nekolla SG, Kajinami K. Prediction of all-cause death using 11C hydroxyephedrine positron emission tomography in Japanese patients with

left ventricular dysfunction. Ann Nucl Med. 2016 May 18. [Epub ahead of print] 査読有

- (2) Takano S, Fujibayashi K, Fujioka N, Ueno E, Wakasa M, Kawai Y, Kajinami K. Circulating glutamate and taurine levels are associated with the generation of reactive oxygen species in paroxysmal atrial fibrillation. Disease Markers 2016;2016:7650976. <http://dx.doi.org/10.1155/2016/7650976> 査読有

- (3) Kajinami K. Lipoprotein(a): revisiting a next therapeutic target. Circ J 2016;80:329-331. doi: 10.1253/circj.CJ-15-1381. 査読有

- (4) Tsuchiya T, Iida O, Shiraki T, Soga Y, Hirano K, Suzuki K, Yamaoka T, Miyashita Y, Kitayama M, Kajinami K. Clinical characteristics of patients with Rutherford category IV, compared with V and VI. SAGE Open Med. 2015 Jul 22;3:2050312115597087. doi: 10.1177/2050312115597087. eCollection 2015. 査読有

- (5) Kawai Y, Kitayama M, Akao H, Motoyama A, Tsuchiya T, Kajinami K. A case of coronary rupture and pseudoaneurysm formation after fracture of implanted paclitaxel-eluting stents. Cardiovasc Interv Ther. 2015 May 22. [Epub ahead of print] 査読有

- (6) Tanabe K, Kawai Y, Kitayama M, Akao H, Ishida R, Motoyama A, Wakasa M, Saito R, Aoki H, Fujibayashi K, Watanabe M, Tsuchiya T, Kimura H, Yoshida K, Kajinami K. Increased levels of the oxidative stress marker, nitrotyrosine in patients with provocation test-induced coronary

- vasospasm. *J Cardiol.* 2014 Aug;64(2):86-90. Jan 3. pii: S0914-5087(13)00380-8. doi: 10.1016/j.jjcc.2013.11.017. 査読有
- (7) Akao H, Polisecki E, Schaefer EJ, Trompet S, Robertson M, Ford I, Jukema JW, de Craen AJM, Packard C, Buckley BM, Kajinami K. ABCA1 gene variation and heart disease risk reduction in the elderly during pravastatin treatment. *Atherosclerosis* 2014;235:176-181. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2014.04.030. 査読有
- (8) Saito R, Takeda K, Yamamoto K, Nakagawa A, Aoki H, Fujibayashi K, Wakasa M, Motoyama A, Iwadare M, Ishida R, Fujioka N, Tsuchiya T, Akao H, Kawai Y, Kitayama M, Kajinami K. Nutri-pharmacogenomics of warfarin anticoagulation therapy: VKORC1 genotype-dependent influence of dietary vitamin K intake. *J Thromb Thrombolysis.* 2014;38:105-114. doi: 10.1007/s11239-013-0978-9. 査読有
- (9) Aoki H, Matsunari I, Nomura Y, Fujita W, Komatsu R, Miyazaki Y, Nekolla SG, Kajinami K. Myocardial sympathetic innervation, function, and oxidative metabolism in non-infarcted myocardium in patients with prior myocardial infarction. *Ann Nucl Med.* 2013;27:523-531. doi: 10.1007/s12149-013-0716-6. 査読有
- (10) Takeda K, Takata T, Kawai Y, Ishigaki Y, Kajinami K. Chk1-mediated phosphorylation of receptor-associated late transducer at serine 250 increases its stability by stimulating its interaction with
- 14-3-3. *Genes Cells.* 2013 May;18(5):369-86. doi: 10.1111/gtc.12043. 査読有
- (11) Daida H, Miyauchi K, Ogawa H, Yokoi H, Matsumoto M, Kitakaze M, Kimura T, Matsubara T, Ikari Y, Kimura K, Tsukahara K, Origasa H, Morino Y, Tsutsui H, Kobayashi M, Isshiki T, PACIFIC investigators et al. Management and two-year long-term clinical outcome of acute coronary syndrome in Japan: prevention of atherothrombotic incidents following ischemic coronary attack (PACIFIC) registry. *Circ J.* 2013;77(4):934-43. 査読有
- [学会発表](計2件)  
本研究直接成果に限定
- (1) Saito R, Takeda K, Aoki H, Fujibayashi K, Wakasa M, Motoyama A, Fujioka N, Akao H, Kawai Y, Tsuchiya T, Kitayama M, Kajinami K. Nutri-pharmacogenomic interaction of intestinal cholesterol transporter (NPC1L1) with VKORC1 as a determinant of warfarin anticoagulation. (presented at 80th Scientific Session of Japanese Circulation Society, March 19, 2016, 仙台国際会議場、仙台市、宮城県)
- (2) Ueno E, Fujibayashi K, Sawaguchi J, Yasuda Y, Takano S, Saito R, Wakasa M, Fujioka N, Kawai Y, Kajinami K. Prothrombin activation fragment (F1+2) as an index of anticoagulant therapy with factor Xa inhibitor in atrial fibrillation. (Accepted for presentation in Annual Meeting of European Society of Cardiology, Aug 2016, Rome (Italy))

〔図書〕(計0件)

〔その他〕

ホームページ等:

<http://www.cardiol-kmu.jp/index.html>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

梶波 康二 (KAJINAMI, Kouji)

金沢医科大学・医学部・教授

研究者番号: 40262563