

平成30年6月19日現在

機関番号：11401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2017

課題番号：26460189

研究課題名(和文) タクロリムス血中濃度測定に加えCYP3A5遺伝子多型解析を行う意味はあるのか？

研究課題名(英文) Do patients taking tacrolimus need to undergo CYP3A5 genotyping along with blood concentration monitoring?

研究代表者

新岡 丈典(Niioka, Takenori)

秋田大学・医学部・講師

研究者番号：20722276

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：固定用量でタクロリムスの投与を開始した場合、トラフ濃度を目標域に到達させるためには、CYP3A5 expressorはnonexpressorより多くの時間と増量を必要とする。一方、CYP3A阻害活性を有するアゾール系抗真菌薬との併用時におけるタクロリムストラフ濃度の上昇は、CYP3A5 nonexpressorにおいて顕著に認められる。ゆえに、タクロリムス投与開始、またはCYP3A阻害薬併用前に、CYP3A5遺伝子多型に基づき、タクロリムスの投与量を最適化できる。CYP3A5遺伝子多型は、タクロリムスのtherapeutic drug monitoringにおいて有用な情報となり得る。

研究成果の概要(英文)：Appropriate tacrolimus (FK) treatment requires higher doses in CYP3A5 expressors (CYP3A5*1/*1 + *1/*3) compared with CYP3A5 nonexpressors (CYP3A5*3/*3), with the former also demonstrating longer times to achieve target trough concentration levels. On the other hand, the concentration of FK in the blood increases significantly in CYP3A5 nonexpressors taking CYP3A inhibitors, such as triazole antifungal agents. Therefore, FK administration should be dose-adjusted based on CYP3A5 genotype prior to initial FK administration, or co-administered with a CYP3A5 inhibitor. Thus, information on the CYP3A5 genotype is useful for therapeutic drug monitoring of FK.

研究分野：臨床薬理学

キーワード：タクロリムス CYP3A5遺伝子多型 薬物動態 腎移植 骨髄移植 TDM

1. 研究開始当初の背景

免疫抑制薬であるタクロリムスは小腸粘膜から吸収されるが、同部位にはシトクロム P450 (CYP) 3A および P 糖タンパク質 (P-gp) が存在し、これらは吸収障壁として機能する¹⁾。その後門脈を通過し肝臓に運ばれ、再び CYP3A により代謝される¹⁾。CYP3A サブファミリーである CYP3A4 は、タクロリムスの代謝において重要な役割を担うが、CYP3A4 と同等以上に CYP3A5 も重要な役割を担う²⁾。

CYP3A5 遺伝子多型は基質となる薬物の体内動態に影響を及ぼすことが知られており³⁾、*1 (Wild-type) アレルは CYP3A5 蛋白を発現するが、*3 (6986A>G) アレルは CYP3A5 蛋白を発現しない⁴⁾。ゆえにタクロリムス服用時においては、CYP3A5*3/*3 患者 (CYP3A5 nonexpressor) と同等の血中濃度を得るために、*1 アレル保有患者 (CYP3A5 expressor) ではより多くの投与量が必要となる⁵⁾。

血中濃度治療域が狭いタクロリムスの投与設計を行う際、血中濃度モニタリング (therapeutic drug monitoring: TDM) は必要不可欠となるが¹⁾、TDM に加え CYP3A5 遺伝子多型解析を行うメリットについては、十分なエビデンスが確立していなかった。申請者らは、日本人腎移植患者の術後 28 日目におけるタクロリムス体内動態比較試験にて、アドヒアランス向上目的に改良された 1 日 1 回投与の徐放性製剤 (グラセプター®: FK-QD) 投与時には、従来の 1 日 2 回投与製剤 (プログラフ®: FK-BID) 投与時と比較し、CYP3A5 遺伝子多型の影響が強く現れることを報告した⁶⁾。また、タクロリムスの体内動態に及ぼす CYP3A5 遺伝子多型の影響は、肝臓での代謝過程よりも、小腸での吸収過程において顕著に認められることを報告した⁷⁾。

日本人の CYP3A5*3 アレル発現頻度は欧米人と異なる⁸⁾。したがって、今後本邦でタクロリムスの最適な個別化投与設計を実践していくうえで、CYP3A5 遺伝子多型解析の有効性に関する更なる検討が必要であった。

2. 研究の目的

実臨床でのタクロリムスの TDM において、CYP3A5 遺伝子多型情報はどのような場面で有効活用されるべきか明らかにするために、薬物動態学-薬力学-遺伝薬理学 (PK-PD-PGx) 研究を実施した。腎移植領域においては、CYP3A5 遺伝子多型が FK-QD の体内動態に最も影響を及ぼす術後の時期について、また CYP3A5 遺伝子多型と拒絶反応やタクロリムス誘発副作用 (主に腎機能障害) 発現との関連性について検討を行った。骨髄移植領域および膠原病領域においては、タクロリムスのトラフ濃度 (C_0) および CYP3A5 遺伝子多型と腎機能障害発現との関連について、また CYP3A5 遺伝子多型別にみた、アゾール系抗真菌薬併用時におけるタクロリムス C_0 上昇率 (C_0) の個体差について検討を行った。

3. 研究の方法

全ての研究は秋田大学医学部倫理委員会の承認後、患者の同意を得て実施された。タクロリムスの血中濃度は Chemiluminescent enzyme immunoassay (CLIA) 法を用いて測定した。CYP3A5 遺伝子多型は Polymerase chain reaction - restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) 法を用いて解析した。PK-PGx 解析においては、タクロリムス投与量 (D) で補正した C_0 (C_0/D) や血中濃度-時間曲線下面積 (AUC/D)、 C_0 、ターゲット C_0 (TC_0) 到達率 (% TC_0) および年間 C_0 変動率 (%CV) に及ぼす CYP3A5 遺伝子多型の影響について、統計学的解析を実施した。PK-PD-PGx 解析においては、急性拒絶反応や腎機能障害発現に及ぼす CYP3A5 遺伝子多型やタクロリムス PK パラメータの影響について、同様の検討を実施した。

4. 研究成果

(1) 腎移植後早期におけるタクロリムス C_0 に及ぼす CYP3A5 遺伝子多型の影響

(主な発表論文)

腎移植患者 50 名 (CYP3A5 expressor 群: 17 名、nonexpressor 群: 33 名) に対し、術日 2 日前より FK-QD が 0.20 mg/kg/day にて投与開始となった。個々の患者における FK-QD の投与量は、術後 1 週目あたりから CYP3A5 遺伝子多型の影響を受け始め、術後 4 週目には投与量の約 20% を説明できる要因であることが判明した。当院の腎移植後免疫抑制薬物療法プロトコルにおける術後 7、14、21 および 28 日目の FK-QD の TC_0 は、それぞれ 12、12、10 および 8 ng/mL である。そこで、各ステージにおける C_0 の測定結果が TC_0 の $\pm 20\%$ であった場合、目標域に到達したと判定し、% TC_0 について CYP3A5 遺伝子多型別に比較した。各ステージにおける % TC_0 は、CYP3A5 expressor 群で 11.8、5.9、41.2 および 52.9%、nonexpressor 群で 51.5、54.5、54.5 および 66.7% であった (図 1)。FK-QD の添付文書に記載されている投与開始時の上限 (0.2mg/kg/日) で投与を開始した場合、CYP3A5 expressor 群では nonexpressor 群と比較し、タクロリムスの C_0 が目標域に到達しづらいことが判明した。

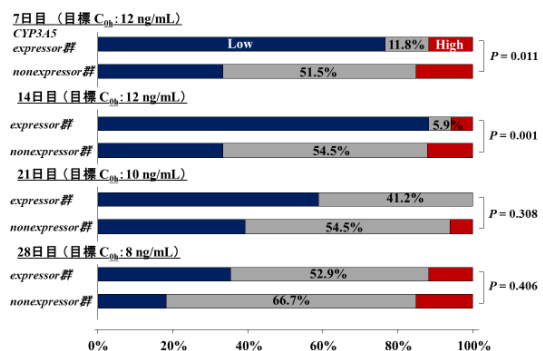


図 1 ステージ別にみた TC_0 到達率

(2) ループス腎炎患者におけるタクロリムスの血中濃度と CYP3A5 遺伝子多型および急性腎障害発現との関連

(主な発表論文)

タクロリムスはループス腎炎 (LN) に適応を有し、LN 患者に対して FK-BID が 1 日 1 回夕食後に投与される。FK-BID 服用 12 時間後の血中濃度 (C_{12}) および CYP3A5 遺伝子多型が急性腎機能障害発現に及ぼす影響について検討を行った。35 名の LN 患者を調査対象とし、追跡期間は FK-BID 服用開始から 1 年間とした。急性腎機能障害発現に関しては、血清クレアチニン値 (S-Cre) に基づき CTCAEver.4.0 を用いて評価し、グレード 1 以上で発現有と判定した。急性腎機能障害発現の有無で患者背景を比較し、また CYP3A5 遺伝子多型別に C_{12} を比較した。急性腎機能障害発現群 ($n=5$) の年間平均 C_{12} の中央値は、非発現群 ($n=30$) と比較し有意に高かった (6.6 vs. 2.8 ng/mL、急性腎機能障害発現カットオフ値: 5.2 ng/mL、 $P=0.001$)。また CYP3A5 nonexpressor 群の年間平均 C_{12} の中央値は、expressor 群と比較し有意に高かった (4.6 vs. 2.5 ng/mL、 $P=0.002$)。急性腎機能障害は FK-BID 服用後 3 カ月以内に発現する頻度が高かった。したがって、FK-BID で治療を開始する膠原病患者においては、CYP3A5 遺伝子多型に基づき初回および維持投与量を個別化することで、急性腎機能障害の発現を抑制できると考えられる。

(3) タクロリムスとアゾール系抗真菌薬との薬物動態学的相互作用における CYP3A5 遺伝子多型の影響

(主な発表論文)

膠原病患者や慢性骨髄性白血病患者における免疫抑制薬物療法では、深在性真菌症予防目的にアゾール系抗真菌薬が使用されることがある。同系抗真菌薬であるイトラコゾール (ITCZ) は CYP3A および P-gp を阻害するため、併用時にはタクロリムスの血中濃度上昇に注意を要する。本研究では、膠原病患者を対象に、タクロリムスと ITCZ との薬物相互作用に及ぼす CYP3A5 遺伝子多型の影響について検討した。ITCZ 併用時 ($n=74$) および非併用時 ($n=35$) における投与量で補正した FK-BID 服用 12 時間後の血中濃度 (C_{12}/D) を CYP3A5 遺伝子多型別に比較した。タクロリムスの C_{12}/D は ITCZ 併用の有無にかかわらず CYP3A5 expressor 群と比較し、nonexpressor 群で有意に高かった [CYP3A5 *1/*1 vs. *1/*3 vs. *3/*3 = 0.68 vs. 0.97 vs. 2.20 ng/mL/mg (ITCZ 非併用時、 $P<0.001$) および 1.67 vs. 2.70 vs. 4.83 ng/mL/mg (ITCZ 併用時、 $P=0.003$)] (図 2)。また、膠原病治療期間中に ITCZ の投与が開始となった 28 名の患者において、FK-BID の C_{12}/D は併用後に有意に増加し ($P<0.001$)、特に CYP3A5 nonexpressor 群の C_{12}/D は高値を示した。さらに、ITCZ 併用前後における

eGFR 減少率は、併用後における C_{12} と有意な負の相関を示した ($r=-0.482$, $P=0.009$)。ITCZ は CYP3A5 よりも CYP3A4 を強く阻害する⁹⁾。したがって、タクロリムスの代謝が CYP3A4 のみに依存する CYP3A5 nonexpressor 群では、ITCZ 併用後に CYP3A4 および CYP3A5 の両代謝経路における活性が低下し、FK-BID の C_{12}/D が特に高値を示したと考えられる。一方、ITCZ と同じアゾール系抗真菌薬であるフルコナゾール (FLCZ) の CYP3A4 活性阻害効果は、*in vitro* の研究において、ITCZ と比較し弱いことが報告されている¹⁰⁾。しかし、骨髄移植患者を対象に我々が実施したタクロリムスと FLCZ との薬物動態学的相互作用に関する臨床研究では、ITCZ 併用時と同様、CYP3A5 nonexpressor 群で FK-QD の C_0/D が高値を示した¹¹⁾。また、併用後 28 日間における急性腎機能障害発現率は、CYP3A5 expressor 群と比較し、nonexpressor 群で有意に高かった (Log Rank-test: $P=0.037$) (図 3)¹¹⁾。したがって、CYP3A5 の遺伝子多型は、アゾール系抗真菌薬併用前にタクロリムスの血中濃度上昇の程度を予測するうえで、有用な指標になり得ると考えられる。

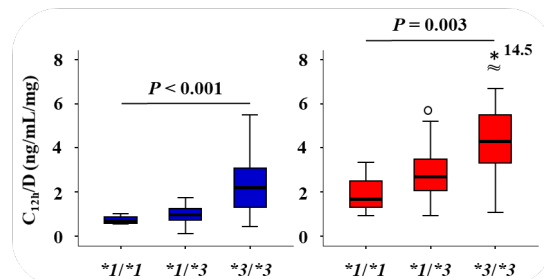


図 2 ITCZ 非併用時 (左) および併用時 (右) における CYP3A5 遺伝子多型別にみたタクロリムス C_{12}/D の比較

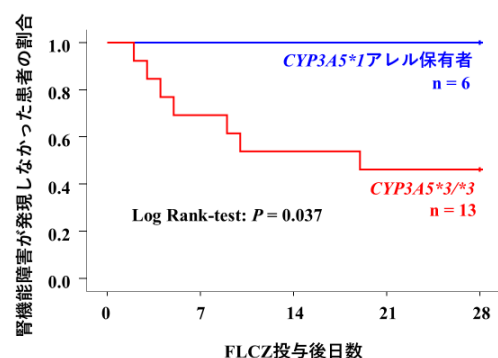


図 3 CYP3A5 遺伝子多型別にみた FLCZ 併用後における急性腎機能障害発現状況

(4) 腎移植後におけるタクロリムス誘発有害事象と CYP3A5 遺伝子多型との関連

(主な発表論文)

腎移植後 1 年目における拒絶反応発現率および S-Cre を評価項目とし、これらに及ぼす、CYP3A5 遺伝子多型の影響について検討を行った。多変量解析の結果、拒絶反応発現に影

響を及ぼすリスク要因として独立性が認められたのは、タクロリムス製剤 (FK-BID)、CYP3A5 遺伝子多型 (CYP3A5 *3/*3)、および移植後 1 年目における C_0/D の月間変動 (%CV = 平均値/S.D.) だった。特に %CV の寄与率は大きかった (オッズ比: 1.028、 $P = 0.033$)。一方、S-Cre に影響を及ぼすリスク要因は特定されなかった。FK-BID あるいは FK-QD を服用している各患者群において、CYP3A5 遺伝子多型間で %CV を比較したところ有意差は認められなかったが、CYP3A5 expressor 群の %CV は、FK-BID 服用患者群と比較し FK-QD 服用患者群で有意に小さかった (23.3% vs. 20.4%、 $P = 0.003$)。以上の結果から、FK-QD 服用患者の C_0 は、目標域に到達後 CYP3A5 expressor 群において、安定して推移することが明らかとなった。%CV が大きい程、急性拒絶反応が発現し易いことから、CYP3A5 expressor に対しては、FK-BID ではなく、 C_0 が安定し易い FK-QD を投与すべきと考えられる。

(5) CYP3A5 遺伝子多型別にみたタクロリムスとエベロリムスとの薬物動態的関連

(主な発表論文 および)

腎移植後の免疫薬物抑制療法において、タクロリムスは中心的な役割を担うが、個体間変動が大きく治療域も狭い。近年、タクロリムスの腎障害を予防する目的で、エベロリムス (EVL) を併用し、タクロリムスの曝露量を低下させる試みがなされている。EVL は CYP3A4/5 の基質となることが知られている¹²⁾。本研究では、FK-QD の AUC_{0-24}/D の患者間変動に及ぼす CYP3A5 遺伝子多型および EVL の AUC_{0-12}/D の影響について検討した。術後 29 日目 ($n=50$) および 1 年目 ($n=31$) のタクロリムスの AUC_{0-24}/D について、CYP3A5 遺伝子多型の差、および EVL の AUC_{0-12}/D との相関を検討した。術後 29 日目および 1 年目のタクロリムスの AUC_{0-24}/D は、CYP3A5 expressor 群と比較して nonexpressor 群で有意に高かったが、EVL の AUC_{0-12}/D は両群間で差が認められなかった。また各群において、タクロリムスの AUC_{0-24}/D と EVL の AUC_{0-12}/D との間に良好な正の相関が認められ、EVL の AUC_{0-12}/D の増加に伴うタクロリムスの AUC_{0-24}/D の増加率 (回帰直線の係数) は、いずれのステージにおいても CYP3A5 expressor 群と比較し、nonexpressor 群で有意に高かった (術後 29 日目: 0.330 vs. 0.755、 $P = 0.009$ 、および、術後 1 年目: 0.194 vs. 0.864、 $P = 0.012$) (図 4)。一方、タクロリムスと EVL 間で薬物動態学的相互作用は観察されなかった。多変量解析の結果、術後 29 日目および 1 年目におけるタクロリムス AUC_{0-24}/D の患者間変動は、CYP3A5 *3/*3 および EVL の AUC_{0-12}/D の両要因によって 61.6% および 63.3% 説明可能であった。本研究結果における各 CYP3A5 遺伝子多型群での両 AUC/D 間の相関は、個々の患者の CYP3A4 活性を反映した結果であると考えられる。EVL の AUC_{0-12}/D が高値を示す患者では、

CYP3A4 活性が低いと考えられることから、CYP3A5 nonexpressor 群では、タクロリムスの AUC_{0-24}/D の増加率が高値を示したと考えられる。したがって、このような背景を有する患者群においては、タクロリムスの血中濃度上昇に伴う副作用発現に注意が必要と考えられる。

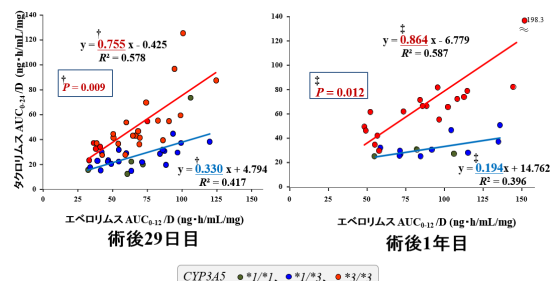


図 4 術後 29 日目および術後 1 年目における CYP3A5 遺伝子多型別のタクロリムス AUC_{0-24}/D とエベロリムス AUC_{0-12}/D との関連

(6) まとめ

タクロリムスの投与前、またはアゾール系抗真菌薬などの CYP3A 活性阻害薬の併用前に CYP3A5 遺伝子多型に基づき投与量を設定し、投与後または併用後に TDM により投与量を補正する戦略は、タクロリムスの個別化投与設計を实践するうえで、極めて有用と考えられる。

< 引用文献 >

- 1) Staatz CE, et al., Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of tacrolimus in solid organ transplantation. Clin Pharmacokinet. 2004; 43: 623-53.
- 2) Hesselink DA, et al., The role of pharmacogenetics in the disposition of and response to tacrolimus in solid organ transplantation. Clin Pharmacokinet. 2014; 53: 123-39.
- 3) Tseng E, et al., Relative contributions of cytochrome CYP3A4 versus CYP3A5 for CYP3A-cleared drugs assessed in vitro using a CYP3A4-selective inactivator (CYP3cide). Drug Metab Dispos. 2014; 42: 1163-73.
- 4) Hesselink DA, et al., Genetic polymorphisms of the CYP3A4, CYP3A5, and MDR-1 genes and pharmacokinetics of the calcineurin inhibitors cyclosporine and tacrolimus. Clin Pharmacol Ther. 2003; 74: 245-254.
- 5) Birdwell KA, et al., Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) Guidelines for CYP3A5 Genotype and Tacrolimus Dosing. Clin Pharmacol Ther. 2015; 98: 19-24.

- 6) Niioka T, et al., Comparison of pharmacokinetics and pharmacogenetics of once- and twice-daily tacrolimus in the early stage after renal transplantation. *Transplantation*. 2012; 94: 1013-9.
- 7) Niioka T, et al., Pharmaceutical and genetic determinants for interindividual differences of tacrolimus bioavailability in renal transplant recipients. *Eur J Clin Pharmacol*. 2013; 69: 1659-65.
- 8) Hiratsuka M, et al., Allele and genotype frequencies of CYP2B6 and CYP3A5 in the Japanese population. *Eur J Clin Pharmacol*. 2002; 58: 417-21.
- 9) Shirasaka Y, et al., Effect of CYP3A5 expression on the inhibition of CYP3A-catalyzed drug metabolism: impact on modeling CYP3A-mediated drug-drug interactions. *Drug Metab Dispos*. 2013; 41: 1566-74.
- 10) Saad AH, et al., Factors influencing the magnitude and clinical significance of drug interactions between azole antifungals and select immunosuppressants. *Pharmacotherapy*. 2006; 26: 1730-44.
- 11) Yamashita T, et al., Effects of CYP3A5 polymorphism on the pharmacokinetics of a once-daily modified-release tacrolimus formulation and acute kidney injury in hematopoietic stem cell transplantation. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2016; 78: 111-8.
- 12) Kirchner, et al., Clinical pharmacokinetics of everolimus. *Clin Pharmacokinet*. 2004; 43: 83-95.

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6件)

Kagaya H, Niioka T, Saito M, Inoue T, Numakura K, Yamamoto R, Akamine Y, Habuchi T, Satoh S, Miura M. Prediction of Tacrolimus Exposure by CYP3A5 Genotype and Exposure of Co-Administered Everolimus in Japanese Renal Transplant Recipients. *Int J Mol Sci*. 2018; 19. pii: E882. doi: 10.3390/ijms19030882. (査読あり)

Niioka T, Kagaya H, Saito M, Inoue T, Numakura K, Yamamoto R, Habuchi T, Satoh S, Miura M. Impact of the CYP3A5 genotype on the distributions of dose-adjusted trough concentrations and incidence of rejection in Japanese renal transplant recipients receiving different tacrolimus formulations.

Clin Exp Nephrol. 2017; 21: 787-796. doi: 10.1007/s10157-016-1375-4. (査読あり)

Niioka T, Kagaya H, Saito M, Inoue T, Numakura K, Yamamoto R, Akamine Y, Habuchi T, Satoh S, Miura M. Influence of everolimus on the pharmacokinetics of tacrolimus in Japanese renal transplant patients. *Int J Urol*. 2016; 23: 484-90. doi: 10.1111/iju.13081. (査読あり)

Niioka T, Komatsuda A, Kato S, Togashi M, Okuyama S, Omokawa A, Nara M, Wakui H, Takahashi N, Miura M. Effects of CYP3A5 polymorphism and the tacrolimus 12 h concentration on tacrolimus-induced acute renal dysfunction in patients with lupus nephritis. *Xenobiotica*. 2015; 45: 1147-53. doi: 10.3109/00498254.2015.1045571. (査読あり)

Togashi M, Niioka T, Komatsuda A, Nara M, Okuyama S, Omokawa A, Abumiya M, Wakui H, Takahashi N, Miura M. Effect of CYP3A5 and ABCB1 polymorphisms on the interaction between tacrolimus and itraconazole in patients with connective tissue disease. *Eur J Clin Pharmacol*. 2015; 71: 1091-7. doi: 10.1007/s00228-015-1901-4. (査読あり)

Niioka T, Kagaya H, Saito M, Inoue T, Numakura K, Habuchi T, Satoh S, Miura M. Capability of utilizing CYP3A5 polymorphisms to predict therapeutic dosage of tacrolimus at early stage post-renal transplantation. *Int J Mol Sci*. 2015; 16: 1840-54. doi: 10.3390/ijms16011840. (査読あり)

〔学会発表〕(計7件)

一般演題

新岡文典、富樫賢、小松田敦、奈良瑞穂、奥山慎、面川歩、鎧屋舞子、涌井秀樹、高橋直人、三浦昌朋：膠原病患者におけるタクロリムスとイトラコナゾールとの薬物相互作用に及ぼす CYP3A5 および ABCB1 遺伝子多型の影響。日本医療薬学会第25回年会，2015

新岡文典、加賀谷英彰、齋藤満、井上高光、沼倉一幸、羽瀨友則、佐藤滋、三浦昌朋：CYP3A5 遺伝子多型情報を用いたタクロリムスの初期投与量設定に関する検討。日本薬学会第135年会，2015

新岡文典、加賀谷英彰、齋藤満、井上高光、沼倉一幸、羽瀨友則、佐藤滋、三浦昌朋：臨床濃度範囲でエベロリムスはタクロリムス体内動態に影響しない。第51回日本移植学会総会，2015

シンポジウム

新岡丈典：TDM 解析結果に基づく免疫抑制薬の投与設計と服薬指導の個別化．第 49 回日本臨床腎移植学会，2016．

新岡丈典：抗真菌薬の適正使用に薬剤師は如何に関わるべきか「注意すべき薬物動態学的相互作用」．第 26 回日本医療薬学会年会，2016．

新岡丈典、三浦 昌朋：遺伝子多型情報を用いた抗がん剤と免疫抑制剤の個別化投与設計．日本薬物動態学会 第 31 回年会，2016

新岡丈典：タクロリムス TDM における CYP3A5 遺伝子多型解析の有用性と経済的效果 第 32 回日本 TDM 学会・学術大会，2015．

〔その他〕(計 2 件)

松元 一明(申請者は執筆者の 1 人) 基本が身につく・考え方がわかる エキスパートが教える 薬物動態(免疫抑制薬) 月間薬事、じほう社、2017

日本 TDM 学会/日本移植学会(申請者は策定委員) 免疫抑制薬 TDM 標準化ガイドライン 2014【臓器移植編】、金原出版株式会社、(Ver 2、2018 発行予定)

6．研究組織

(1)研究代表者

新岡 丈典 (NIIOKA Takenori)

秋田大学・病院・講師

研究者番号：20722276

(2)連携研究者

三浦 昌朋 (MIURA Masatomo)

秋田大学・医学部・教授

研究者番号：30265194

佐藤 滋 (SATO Shigeru)

秋田大学・医学部・教授

研究者番号：80187195

高橋 直人 (TAKAHASHI Naoto)

秋田大学・医学部・教授

研究者番号：80344753

(3)研究協力者

加賀谷 英彰 (KAGAYA Hideaki)

秋田大学・病院・主任