

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：2015～2017

課題番号：15K10636

研究課題名(和文) 遺伝子多型によるタクロリムス投与量設計での拒絶反応と移植腎線維増生の多型間比較

研究課題名(英文) Influence of tacrolimus initial dosing strategy based on the CYP3A5 polymorphisms on quantitative interstitial fibrosis, rejection rate, and long-term graft function in kidney transplant recipients.

研究代表者

佐藤 滋 (Satoh, Shigeru)

秋田大学・医学部・教授

研究者番号：80187195

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：体重当たりのTac初期投与量とする、同一目標トラフ値免疫抑制法の96例について、以下の項目を検討した。1) 移植1年後までの多型間別Tacトラフ値、2) 移植1年後までの多型間別臨床事象、3) 移植5年後までの多型間別移植腎機能、4) CYP3A5遺伝子多型別移植腎長期生着率。その結果、移植1年後までTacトラフ値はCYP3A5非保有者で高値であった。しかし、保有者群と非保有者群間には臨床事象、移植腎線維増生、長期移植腎機能および長期生着率に差が認められなかった。Tacトラフ値の調整を適切に行えば、多型間での腎移植の長期成績に影響しないと結論された。

研究成果の概要(英文)：We investigated the impact of CYP3A5 pharmacogenetic differences on the development of interstitial fibrosis (IF) from 0 hours to 1 year post-transplantation in 96 living kidney recipients under the same target trough regimen of tacrolimus. The relationships among CYP3A5 polymorphisms, long-term graft function, and death-censored graft survival were also examined. The mean increase in the ratio of percent IF from 0 hours to 1 year was  $1.38 \pm 0.74$ -fold. Trough levels of tacrolimus were lower in carriers with the CYP3A5\*1 allele than in those with the CYP3A5\*3/\*3 genotype throughout the 1 year post-transplantation period. However, CYP3A5 genetic differences were not associated with the development of IF, any clinical events, or the long-term function and survival of grafts. The clinical impact of CYP3A5 pharmacogenetic differences may be small under the current lower target trough levels with suitable therapeutic drug monitoring in a lower immunological risk population.

研究分野：腎移植

キーワード：タクロリムス 遺伝子多型 薬物動態 薬理遺伝学 線維増生 画像解析 個別投与量設計 拒絶反応

## 1. 研究開始当初の背景

本研究は平成 20 年度から平成 22 年度までの 3 年間、および平成 23 年度から平成 25 年度までの 3 年間の学術研究費補助金の交付を得た研究課題「早期に進行する慢性移植腎症の臨床危険因子とその関連遺伝子多型の解析」と「移植腎線維増生関連因子の解析と免疫抑制薬個別投与設計による線維化軽減の効果」をさらに発展させるものであった。

### 【背景】

#### 1) タクロリムス (Tac) と遺伝子多型

Tac はわが国で開発された最も強力な免疫抑制薬であり、多くの免疫抑制法の中心的役割を担っている。しかし、投与量不足で拒絶反応を誘発し、過剰投与で移植腎組織の線維化など腎障害の副作用が生じ易く、therapeutic range の狭い薬剤である。そのため、血中濃度測定 (TDM; therapeutic drug monitoring) が欠かせない。Tac の主たる代謝酵素はチトクローム (CYP) 3A4 と 3A5 であるが、CYP3A5 には重要な遺伝子多型 (CYP3A5 6986A>G; SNP rs776746) があり、6986A を CYP3A5\*1、6986G を\*3 とし、\*1 アレルを有するヒトは CYP3A5 酵素を生成する CYP3A5 expresser (酵素保有者)、\*3/\*3 遺伝子型は酵素生成のない non-expresser (酵素非保有者) と称している。Non-expresser は腸管や肝臓の CYP3A5 酵素がないため、Tac の吸収が早く代謝が遅い。したがって、CYP3A5 expresser に比べ少量の投与量で、目標の次回服用直前の血中濃度 (トラフ値) が維持できる。この多型による臨床事象は 2002 年 (MacPhee IA, et al. Transplantation) に報告された。私達は 2 年後、より詳細な薬物動態を世界で最初に報告した (Tsuchiya N, Satoh S, et al. Transplantation 2004)。その後多くの研究報告があり、現在 Tac と CYP3A5 で PubMed を検索すると 300 を越える報告がみられ、臨床事象と多型の関連性が示唆されている。

#### 2) CYP3A5 多型と移植腎線維組織増生

移植腎長期生着を妨げる移植腎線維組織増生に注目し、線維組織増生の程度を画像解析装置による定量的測定で解析した。その研究成果である「Factors Increasing Quantitative Interstitial Fibrosis from 0-hour to 1-year in Living Kidney Transplant Recipients Receiving Tacrolimus」(Miura Y, Satoh S, et al. Transplantation 2011) は、2010 年米国移植学会優秀ポスター賞、2010 年米国泌尿器科学会最優秀ポスター賞、2012 年日本移植学会賞を授与し、国内外で高い評価を受けた。この研究において、移植時から 1 年後までの移植腎線維組織の増生に最も関与した因子は non-expresser であった。私達の以前の報告 (Satoh S, et al. Eur J Clin Pharmacol 2009) 同様、CYP3A5 expresser に比べ常に Tac の血中濃度が高値であり、そのために腎線維増生が生じているものと考えられた。

#### 3) 1 日 2 回服用製剤 (Prograf; Tac-BID) と 1 回服用製剤 (Gracepor; Tac-QD)

以上の背景から、CYP3A5 遺伝子多型を基にした Tac の個別投与量設計が必要ではないかと考えていた。そのような時期、薬物服用アドヒアランス向上を目的とした 1 日 1 回服用の徐放性製剤が 2008 年製造承認された。Tac-BID から Tac-QD に切替えの初期研究では、1 日同量服用で同等の薬物動態が得られるとの報告があった。しかし、同量服用では Tac-QD のトラフ値や 24 時間血中濃度時間曲線下面積 (AUC) が低値になるとの報告もなされた。そこで、CYP3A5 遺伝子多型を基にした Tac-QD の個別投与量設計を開始する前に、Tac-BID と Tac-QD の薬物動態および CYP3A5 薬理遺伝学を比較検討する必要性が生じた。

比較検討の結果、Tac-QD は Tac-BID に比べ 24 時間 AUC が 25% 低値であった。興味深いことに expresser の投与量補正 AUC とトラフ値は Tac-QD で低くなるが、non-expresser で

は Tac-BID と Tac-QD で差がなかった。Tac-QD は徐放性製剤であり、Tac-BID より腸内に留まる時間が長く、腸管に CYP3A5 を有する CYP3A5 expresser でその影響を受けやすいものと考えられた。このことは世界に先駆けた報告となった (Niioka T, Satoh S, et al. Transplantation 2012)。さらにこの相違は移植 1 年後でも同様であることも報告した (Satoh S, et al. Pharmacogenetics 2014)。

#### 4) 適正投与量設定のための検討

CYP3A5 遺伝子多型を基にした Tac-QD 個別投与の適正投与量を決定するため、CYP3A5 expresser と non-expresser に同量 0.2 mg/day 投与群、CYP3A5 expresser 0.2 mg/day と non-expresser 0.1 mg/day 投与群、さらに CYP3A5 expresser 0.3mg/day と non-expresser 0.2mg/day 投与群についてトラフ値と急性拒絶反応発症率を比較した。急性拒絶反応の診断は移植腎生検で免疫抑制強化が必要とされた症例とした。その結果、CYP3A5 expresser に 0.3mg/day、non-expresser に 0.2 mg/day の初期投与量設計が、両遺伝子多型で急性拒絶反応発症率が低く、トラフ値も両多型間で差がなかったことから、最適な初期投与量と判断した。

## 2 . 研究の目的

私達の臨床研究の目的は移植腎長期生着の向上に寄与することである。長期生着を妨げる要因として、抗体関連型拒絶反応や腎組織線維化などがある。これらを抑制する手段として免疫抑制薬の適正な投与が重要である。しかし、免疫抑制薬目標血中濃度の適正範囲は狭く、投与量は個人によって大きく異なる。様々な領域で**医療の個別化**が提唱されており、薬物投与量の個別設計もそのひとつである。最も強力な免疫抑制薬であるタクロリムスは、その薬物代謝酵素の遺伝子多型によって臨床結果が異なることを私達は報告してきた。本研究で

は、多型解析を基にしたタクロリムスの初期投与量の個別投与量設計を実践し、これによってこれまで確認されている拒絶反応発症率や移植腎組織線維増生率の多型間での差が消失するかを検討することが目的であった。

具体的に明らかにする項目は以下のように設定した。すなわち、CYP3A5 expresser 0.3mg/day、non-expresser 0.2 mg/day の初期投与量設計により以下の項目に関し多型別の比較を行い、個別投与量設計によって多型間の相違が消失するかを検討する。

- 1) 急性拒絶反応発症率
- 2) De novo 抗体産生率  
Luminex 法を用いて HLA 抗体産生率を多型別に検討し、Tac-QD 薬物動態との関連性を検討
- 3) 移植後 1 月・半年・1 年の Tac-QD 薬物動態・薬理遺伝学
- 4) 移植後 1 年の移植腎組織線維増生率  
画像解析装置を用いて移植腎線維組織増加率検討
- 5) CYP3A5 遺伝子多型以外の Tac 薬物動態に影響する遺伝子多型の探索  
Tac 薬物動態は CYP3A5 多型以外の多型の関与が示唆されている。特に PRO\*28 SNP が注目される場所である。この多型と Tac-QD 薬物動態および急性拒絶反応との関連性も検討する。

以上が、研究開始当初の目的であった。しかし、遺伝子多型を基盤とする Tac 初期投与量設計の成果を確認する前に、**多型に基づかない体重当たりの初期投与量設計**における、**移植 1 年後の臨床事象と移植腎線維増生**、および**長期の移植腎機能と生着率を遺伝子多型間で比較**することを、研究費助成期間にまじり行なった。

## 3 . 研究の方法

2004 年 12 月から 2010 年 12 月まで、体重当たりの Tac 初期投与量とする、同一目標トラ

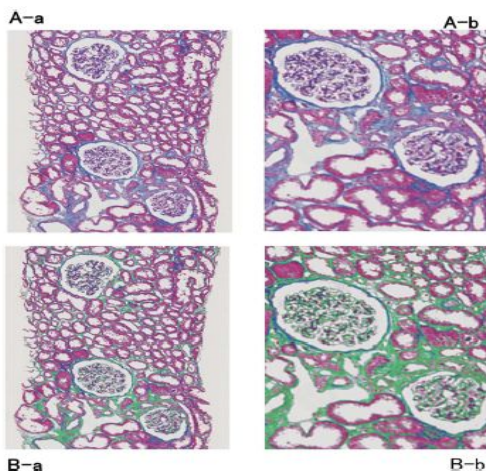
フ値免疫抑制法の96例について、以下の項目を検討した。Tac 初期投与量は全例 0.2 mg/day とし、移植後経過に伴う目標トラフ値に調整した。

- 1) 移植1年後までの多型間別 Tac トラフ値
- 2) 移植1年後までの多型間別臨床事象
- 3) 移植5年後までの多型間別移植腎機能
- 4) CYP3A5 遺伝子多型別移植腎長期生着率

#### 4. 研究成果

##### (1) 画像解析による線維増生評価

画像解析装置 Nikon Eclipse E200 と解析ソフト WinRoof ver. 5.5.0 を用いて、移植腎線維組織占有率および移植1年後の線維組織増加率は、尿細管の間の間質のみを測定し、これと移植腎機能および移植腎生着率との相関性を検討した。



##### (2) 移植1年後までの多型間別 Tac トラフ値

Table 2  
Comparison of trough levels of tacrolimus (ng/dL) between CYP3A5 expressor and non-expressor.

	Expressor (n = 47)		Non-expressor (n = 49)		P
Day 1	22.1	(17.8-26.8)	24.2	(21.5-28.2)	0.405
Day 3	17.6	(14.8-20.8)	18.8	(15.7-21.5)	0.420
Day 7	10.5	(8.0-14.9)	12.7	(11.3-17.0)	0.003
Day 14	10.9	(8.7-13.5)	13.2	(11.0-17.1)	0.003
Day 21	10.4	(7.5-12.2)	10.8	(8.9-12.8)	0.042
Month 1	8.5	(6.8-10.4)	8.8	(7.6-10.5)	0.352
Month 2	7.1	(6.1-8.2)	7.8	(6.1-9.8)	0.133
Month 3	7.2	(6.2-8.4)	7.5	(6.1-9.1)	0.781
Month 4	6.5	(5.3-8.0)	7.7	(6.2-9.2)	0.034
Month 5	6.2	(5.0-7.4)	7.4	(5.7-8.5)	0.014
Month 6	6.8	(5.1-8.1)	7.1	(6.4-8.3)	0.618
Month 7	6.5	(4.8-7.9)	7.2	(5.8-8.2)	0.146
Month 8	5.9	(4.4-8.8)	7.1	(5.6-8.7)	0.012
Month 9	5.5	(4.4-6.7)	6.8	(5.4-8.7)	0.006
Month 10	5.7	(4.5-7.1)	6.8	(5.4-8.2)	0.153
Month 11	5.7	(4.3-6.6)	6.4	(5.0-7.8)	0.034
Month 12	5.3	(4.2-6.4)	6.2	(4.8-7.7)	0.077

Values are expressed as median (quartile 1-quartile 3).  
CYP, cytochrome P450; Expressor, patient with the CYP3A5 \*1 allele.  
Non-expressor, patient with the CYP3A5 \*3/\*3 genotype.

移植1年後まで CYP3A5 non-expressor の Tac トラフ値が有意に高値であった。

##### (3) 移植1年後までの多型間別臨床事象

Table 3  
Comparison of increases in percent interstitial fibrosis and the frequency of clinical events within 1 year post-transplantation.

CYP3A5	Expressor (n = 47)	Non-expressor (n = 49)	P
Interstitial fibrosis (IF)			
0h (%)	10.9 ± 4.5	12.7 ± 5.9	0.097
1 year (%)	13.4 ± 4.2	15.5 ± 7.2	0.105
Increase in the ratio of %IF (times)	1.41 ± 0.87	1.29 ± 0.44	0.424
Clinical events			
DGF (yes/no)	3/44	3/46	0.936
MP pulse therapy (yes/no)	13/34	14/35	0.973
Hypertension (yes/no)	12/35	20/29	0.129
Hypotension (yes/no)	39/8	36/13	0.283
Diabetes mellitus (yes/no)	15/32	13/36	0.516
VUR (yes/no)	11/36	12/37	0.946

Values are expressed as the mean ± SD.  
CYP, cytochrome P450.  
CYP3A5 expressor, patient with the CYP3A5 \*1 allele.  
CYP3A5 non-expressor, patient with the CYP3A5 \*3/\*3 genotype.  
DGF, delayed graft function.  
MP, methylprednisolone.  
VUR, vesicoureteral reflux.

繊維増生や拒絶反応などに多型間の差はなかった。

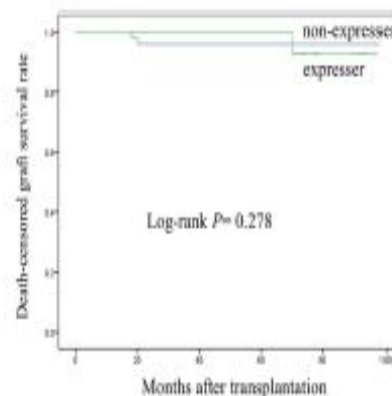
##### (4) 移植5年後までの多型間別移植腎機能

Table 4  
Comparison of eGFR 1 month and 1, 3, and 5 years post-transplantation between CYP3A5 expressor and non-expressor.

CYP3A5		Expressor	Non-expressor	P
eGFR (ml/min/1.73 m <sup>2</sup> )	1 month	51.5 ± 15.9 (21.2-100.2)	47.8 ± 12.2 (22.7-73.0)	0.201
	1 year	53.6 ± 14.3 (26.2-87.5)	50.5 ± 12.8 (26.1-78.5)	0.260
	3 years	51.9 ± 13.9 (26.3-81.9)	48.6 ± 12.4 (22.9-76.3)	0.247
	5 years	53.3 ± 16.7 (16.9-95.0)	47.1 ± 14.7 (13.7-72.3)	0.082

多型間に移植腎機能の差はなかった。

##### (5) CYP3A5 遺伝子多型別移植腎長期生着率



No. at risk	0	20	40	60	80	100
expressor	47	47	33	19	6	
non-expressor	49	48	30	16	14	

Fig. 2. Death-censored graft survival rates after renal transplantation in CYP3A5 expressor and non-expressors.

CYP3A5 遺伝子多型での移植腎長期生着に差はなかった。

## (6) まとめ

多型別 Tac 初期投与量設計をせず、体重当たり初期投与量設計の場合、移植 1 年後まで Tac トラフ値は多型間に差があった。しかし、このトラフ値の差は、臨床事象や線維化、長期移植腎機能や生着率に影響しなかった。

すなわち、Tac トラフ値の調整を適切に行えば、多型間での腎移植の長期成績に影響しないと結論される。

当初の研究目的と異なるが、その目的は本研究成果で概ね達成されているものと考えられた。今後、遺伝子多型に基づく Tac 初期投与量設計において、本研究成果と同様の解析を行う予定であるが、移植 1 年以内での Tac トラフ値の多型間相違が消失するか否かが、注目される。

## 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 5 件)

- 1) Komine N, Satoh S, Saito M, Numakura K, Inoue T, Tsuruta H, Narita S, Komatsuda A, Nanjo H, Kagaya H, Niioka T, Miura M, Mitobe Y, Habuchi T. Influence of CYP3A5 genetic differences in tacrolimus on quantitative interstitial fibrosis and long-term graft function in kidney transplant recipients. *Int Immunopharmacol* 2018; 58: 57-63. Doi: 10.1016 査読有
- 2) 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; 9. Doi: 10.3390 査読有
- 3) Nara M, Komatsuda A, Numakura K, Saito M, Inoue T, Niioka T, Miura M, Mitobe Y, Okuyama S, Takahashi N, Habuchi T, Satoh S. Quantification of interstitial fibrosis in renal allografts and clinical correlates of long-term graft function. *Am J Nephrol* 2017; 46: 187-194. Doi: 10.1159 査読有
- 4) 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 査読有
- 5) Kagaya H, Niioka T, Saito M, Inoue T, Numakura K, Habuchi T, Satoh S, Miura M. Effect of hepatic drug transporter polymorphisms on the pharmacokinetics of mycophenolic acid in patients with severe renal dysfunction before renal transplantation. *Xenobiotica* 2017; 47: 916-922. Doi: 10.1080 査読有

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

佐藤 滋 (SATOH SHIGERU)  
秋田大学医学部・教授  
研究者番号: 80187195

### (2) 連携研究者

三浦 昌朋 (MIURA MASTOMO)  
秋田大学・医学部・教授  
研究者番号: 30265194

齋藤 満 (SAITO MITSURU)  
秋田大学・医学部・講師  
研究者番号: 80400505

小松田 敦 (KOMATSUDA ATSUSHI)  
秋田大学・医学部・准教授  
研究者番号: 70272044

新岡 文典 (NIIOKA TAKENORI)  
秋田大学・医学部・講師  
研究者番号: 20722276

奥山 慎 (OKUYAMA SHIN)  
秋田大学・医学部・准教授  
研究者番号: 40543286

藤山 信弘 (FUJIYAMA NOBUHIRO)  
秋田大学・医学部・助教  
研究者番号: 90603275