

平成 30 年 6 月 1 日現在

機関番号：32612

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K18933

研究課題名(和文) リウマチ性疾患へのアザチオプリンの治療効果に対する遺伝子型の影響とその機序の解明

研究課題名(英文) Effect of genetic polymorphisms of azathioprine-metabolizing enzymes on response to rheumatoid arthritis treatment

研究代表者

青森 達 (AOMORI, Tohru)

慶應義塾大学・薬学部(芝共立)・准教授

研究者番号：40620802

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では関節リウマチ患者を対象として、アザチオプリン(AZA)の代謝に関連する酵素の遺伝子多型と治療効果との関連を調査した。

AZA代謝酵素の一つであるイノシントリホスファターゼ(ITPA)に、変異がある患者(変異群)とない患者(野生群)とで比較した結果、AZAの投与量は変異群で 0.851 ± 0.302 mg/kg/day、野生群で 1.24 ± 0.463 mg/kg/dayであった。治療の反応性について6カ月間のDAS28の変化には両群で有意差はなかった。以上のことからITPA変異群のは野生群と比べて、より少ない投与量で同等の治療効果を得ていたことが明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：The aim of this study was to evaluate the association between the genetic polymorphisms of azathioprine (AZA)-metabolizing enzymes and their influence on rheumatoid arthritis treatment.

As a result of comparison between patients with and without mutation in inosine triphosphatase (ITPA), one of the metabolic enzymes of AZA, the dosage of AZA was 0.851 ± 0.302 mg/kg/day in the mutant group, while 1.24 ± 0.463 mg/kg/day in the wild type group. On the other hand, there was no significant difference between the two groups in the change of DAS28 during 6 months, which is an index of the therapeutic effect. As a conclusion, patients with ITPA mutation had equivalent therapeutic effect with a lower dose compared with patients without the mutation.

研究分野：臨床薬学

キーワード：アザチオプリン 関節リウマチ inosine triphosphatase ITPA

1. 研究開始当初の背景

アザチオプリン (AZA) は炎症性腸疾患や臓器移植、全身性エリテマトーデス (SLE) などに対して用いられる免疫抑制薬である。経口投与された AZA は glutathione S-transferase (GST) により 6-mercaptopurine に変換されて細胞内に取り込まれ、種々のプリン代謝酵素により代謝されて活性の本体である 6-thioguanine nucleotides (6-TGNs) へと変換される。この過程に参与する酵素のうち、thiopurine S-methyltransferase (TPMT) の活性が低い患者では、細胞内 6-TGNs 濃度が上昇し、炎症性腸疾患や SLE に対する低用量 AZA 療法が奏功しやすい。また inosine triphosphatase (ITPA) は、副作用の原因物質と考えられている 6-thioinosine triphosphate を 6-thioinosine monophosphate へと戻す働きを担っており、この酵素の活性が弱い ITPA 94C>A 遺伝子変異患者群では副作用の発現率が高いことが報告されている。しかしこれらの報告はいずれも欧米人を対象としたものである。いずれの遺伝子も欧米人と日本人では変異型のアレル頻度が異なり (TPMT: 10% [欧米] vs. 5% [アジア]、ITPA: 5-6% [欧米] vs. >19% [アジア])、これらの結果をそのまま当てはめれば、アジア人の 95% は AZA に対する反応性が低いことになるが、これは明らかに実態と異なる。申請者らの予備的な調査では 51 名の低用量 AZA 療法を受けた SLE 患者のうち 24 名 (47%) には、疾患活動性の指標である SLEDAI (SLE disease activity index) スコアの改善を認めた。

この矛盾を解明するため、申請者らの研究グループは、低用量 AZA 療法を受けた日本人 SLE 患者において、ITPA の遺伝子多型と SLEDAI スコアとの相関性を調査し、ITPA 94C>A 変異を持つ群で有意に改善することを見出した^①。これは ITPA の遺伝子変異が治療を改善することを示した最初の報告であった。また、TPMT を含め、AZA が細胞内で 6-TGNs に変換されるまでに参与する主要な酵素および薬物輸送担体の遺伝子型と薬効との相関性についても解析し、日本人患者においては、これらの酵素および薬物輸送担体は治療効果や副作用に有意な影響を与えない事を報告した。

2. 研究の目的

(1) 日本人関節リウマチ (RA) 患者に対する AZA の治療効果と代謝酵素の遺伝子変異の関係

RA は、免疫機能異常状態を基盤とする慢性炎症性疾患であり、多発する関節炎と、急速に進行する関節破壊等の関節症状を主症状とし、肺、腎臓、心臓、眼、皮下組織等にも炎症性障害が分布する全身性疾患である。適切な治療を施さなければ、関節炎の増悪・寛解を繰り返しつつ進行し、重症の関節障害

や運動機能障害に陥る。このため、関節炎による疼痛の軽減、関節破壊の防止および関節機能の維持により、患者の身体的、精神および社会的な生活の質の向上を図ることが RA 治療の目標とされる。RA に対する薬物療法では、AZA よりも治療成績に勝るメトトレキサート (MTX) が第一選択薬であるが、肝・腎機能低下患者などでは使いづらい。そのような中で AZA はセカンドチョイスとして用いることができる。欧米において、RA 治療薬としての AZA は、治療効果は MTX を除く他の抗リウマチ薬と同等だが、副作用はより現れやすいと評価されている。しかしその一方で遺伝的な背景が異なる日本人患者に対する評価は定まっていない。

本研究では日本人 RA 患者に対する AZA の治療効果が SLE 同様に ITPA 等の AZA の代謝に参与する一連の酵素の遺伝子型の影響を強く受けるか否かを臨床研究により検討した。

(2) AZA による抗生物学的製剤抗体抑制作用の検討

MTX や AZA は生物学的製剤と併用される場合が多い。MTX はその免疫抑制作用により抗生物学的製剤抗体の産生を抑制するが、AZA にも同様の効果があるかどうかは明らかになっていない。本研究では AZA と生物学的製剤を併用する患者の血清中生物学的製剤濃度とこれに対する抗体価を測定し、AZA による抗生物学的製剤抗体産生抑制効果について検討した。

3. 研究の方法

(1) 日本人 RA 患者に対する AZA の治療効果と代謝酵素の遺伝子変異の関係患者

AZA を 6 ヶ月以上継続投与している成人日本人 RA 患者 22 名を対象とし、血液検体から DNA を抽出した。

本研究は、研究倫理委員会の承認を得て行った。すべての患者から書面によるインフォームドコンセントを取得した。

遺伝子型判定

AZA の代謝および輸送に参与する以下の遺伝子について、多型の有無を解析した。ITPA 94C>A、TPMT*3C、GST (glutathione S-transferase)-M1 および GST-T1 の欠損、MRP4/ABCC4 (multidrug-resistance protein 4) 2269G>A

解析

各遺伝子型の野生型と変異型において、年齢、体重、RA の罹患期間、AZA 投与前の DAS28 スコア、AZA 投与後 6 ヶ月目の DAS28 スコア、AZA 投与前と AZA 投与後 6 ヶ月目の DAS28 スコア変化値、AZA 維持投与量、性別、病期ステージ、レスポンス、生物学的製剤の併用、AZA 増減、AZA 中止、

プレドニゾロン (PSL) の併用を比較した。

(2) AZA による抗生物学的製剤抗体抑制作用の検討 患者

インフリキシマブ (IFX) と MTX または AZA を 6 ヶ月以上継続して併用している成人日本人 RA 患者 10 名を対象とした。

本研究は、研究倫理委員会の承認を得て行った。すべての患者から書面によるインフォームドコンセントを取得した。

血清中 IFX 濃度および抗 IFX 抗体濃度の測定

IFX 投与前に 2 mL の血液を採取し、遠心分離により血清を分取した。血清中 IFX 濃度および抗 IFX 抗体濃度は SHIKARI® Q-INFLIXI and SHIKARI® Q-ATI を用いて測定した。

4. 研究成果

(1) 日本人 RA 患者に対する AZA の治療効果と代謝酵素の遺伝子変異の関係 患者背景

対象患者 22 名のうち、男性が 3 名、女性が 19 名であった。ITPA 94C>A、MRP4/ABCC4 2269G>A のアレル頻度はそれぞれ、0.16、0.23 だった。また GST-M1、GST-T1 の欠損頻度はそれぞれ、0.64、0.55 だった。ITPA 94C>A のホモ変異型は検出されなかった。TPMT*3C 遺伝子型においては、22 名すべて野生型であった。

ITPA 94C>A、GST-M1、GST-T1 遺伝子それぞれの野生型群と変異型/欠損型群において、年齢、体重、性別、RA 罹患期間、病期ステージの各項目では、両群で有意差は見られなかった。一方、MRP4/ABCC4 野生型群、および変異型群の年齢はそれぞれ 63 ± 6.0、71 ± 11、また体重はそれぞれ 49 ± 8.4、60 ± 14 と統計的有意差 ($p = 0.0036$ 、 $p = 0.027$) が見られた。

性別、RA 罹患期間、病期ステージについては、有意差は見られなかった。各々の遺伝子型変異の関連については、MRP4/ABCC4 2269G/G と GST-M1 欠損に関連が見られた。その他の遺伝子型変異に関連はなかった。

対象患者 22 名が AZA を開始した理由として最も多かったのは、MTX による間質性肺炎で 9 名あった。2 番目に、MTX によるリンパ増殖性疾患で 3 名であった。

遺伝子多型による AZA 治療効果への影響

ITPA 94C>A 遺伝子型の比較において、AZA の維持用量は、野生型群 (C/C 群) で 1.24 ± 0.463 mg/kg/day、ヘテロ変異型群 (C/A 群) で 0.851 ± 0.302 mg/kg/day であり、変異型群で有意に少なかった ($p = 0.043$)。

治療の反応性については、DAS28 を用いて評価した。6 ヶ月間の DAS28 変化スコアについて、ITPA 94C>A 遺伝子型の C/C 群

で -1.63 ± 2.11 、C/A 群で -1.87 ± 2.24 であり、両群で有意差はなかった。欧州リウマチ学会 (EULAR) 改善基準による治療の反応率は、C/C 群で 54.5%、C/A 群で 40.0% であり、両群で有意差はなかった。

GST-M1、GST-T1、MRP4/ABCC4 遺伝子型の比較については、AZA の維持用量及び、DAS28 変化スコア、EULAR 改善基準によるスコアに差は見られなかった。

GST-M1 と GST-T1 の少なくとも一方が欠損でない患者群でのプレドニゾロン併用者は 14 名中 2 名 (14.3%)、どちらも欠損している患者群での併用者は 8 名中 5 名 (62.5%) と統計的有意差は見られなかったものの、欠損型ではプレドニゾロン併用率が高い傾向が見られた ($p = 0.052$)。

安全性

22 名中 7 名が AZA 開始から 20 ヶ月以内に投与を中止した。理由として、肝障害が 3 名、嘔気が 1 名、不明が 3 名であった。ITPA 94C>A 遺伝子型の C/C 群では、15 名中 4 名 (26.7%) が AZA を中止し、C/A 群では、7 名中 3 名 (42.9%) が AZA を中止したが、統計学的に有意ではなかった。その他の遺伝子変異についても、AZA 中止との間に相関が見られるものはなかった。

(2) AZA による抗生物学的製剤抗体抑制作用の検討

血清中 IFX 濃度および抗 IFX 抗体濃度

対象患者 10 名の血清中 IFX 濃度の平均値は、MTX 併用患者において 1.6 ± 1.3 µg/mL であり、AZA 併用患者においては 1.0 ± 0.5 µg/mL であった。血清中 IFX 濃度が 1.0 µg/mL 未満であったのは、MTX を併用した患者では 5 名中 3 名、AZA 併用患者では 5 名中 2 名であった。

いずれの患者群においても、5 名中 4 名の血清中抗 IFX 抗体濃度は定量限界未満であった。抗 IFX 抗体が検出された患者の血清中 IFX 濃度は MTX 併用患者では 0.68 µg/mL、AZA 併用患者では 0.20 µg/mL と、いずれも 1.0 µg/mL を下まわった。

各患者の治療への反応

IFX 投与後 3 ヶ月の DAS28 スコアは、すべての患者で寛解基準である 2.6 を下回っていた。EULAR response criteria に基づいて評価すると、AZA 併用患者のうち 1 名が no response と判定されたが、そのほかの患者は good または moderate response であり、治療に対する反応性は良好であった。No response であった 1 名の患者は AZA と IFX の併用治療を開始する以前から寛解状態であったため no response の判定となった。

<引用文献>

Okada et al., Pro32Thr polymorphism of inosine triphosphate pyrophosphatase gene predicts efficacy of low-dose azathioprine for patients with systemic lupus erythematosus. Clin Pharmacol Ther. 85: 527-530 (2009).

Suarez-Almazor et al., Azathioprine for rheumatoid arthritis. Cochrane Database Syst Rev. 2 (2000).

坂本 麻美 (SAKAMOTO, Mami)
竹内 亜理沙 (TAKEUCHI, Arisa)
石岡 江梨子 (ISHIOKA, Eriko)
金子 裕子 (KANEKO, Yuko)

5 . 主な発表論文等

[雑誌論文](計2件)

Aomori Tohru, Tsuchiya Ayumi, Suzuki Sayo, Jibiki Aya, Otsuka Naoko, Ishioka Eriko, Kaneko Yuko, Takeuchi Tsutomu, Nakamura Tomonori: Suppression of antibody to infliximab by azathioprine in a patient with rheumatoid arthritis. Die Pharmazie. 72: 95-97 (2017). 査読有

Tsuchiya Ayumi, Aomori Tohru, Sakamoto Mami, Takeuchi Arisa, Suzuki Sayo, Jibiki Aya, Otsuka Naoko, Ishioka Eriko, Kaneko Yuko, Takeuchi Tsutomu, Nakamura Tomonori: Effect of genetic polymorphisms of azathioprine-metabolizing enzymes on response to rheumatoid arthritis treatment. Die Pharmazie. 72: 22-28 (2017). 査読有

[学会発表](計2件)

Aomori Tohru, Tsuchiya Ayumi, Sakamoto Mami, Suzuki Sayo, Jibiki Aya, Otsuka Naoko, Ishioka Eriko, Kaneko Yuko, Takeuchi Tsutomu, Nakamura Tomonori: Effect of genetic polymorphism of azathioprine metabolizing enzymes on response to rheumatoid arthritis treatment. 21st Congress of European Association of Hospital Pharmacists, Vienna, March, 2016.

坂本麻美, 青森達, 金子裕子, 石岡江梨子, 鈴木小夜, 小林典子, 中島綾, 竹内勤, 中村智徳: アザチオプリン代謝酵素遺伝子多型の関節リウマチ治療効果に対する影響. 日本薬学会第135年会, 神戸, 2015年3月.

6 . 研究組織

(1)研究代表者

青森 達 (AOMORI, Tohru)
慶應義塾大学・薬学部・准教授
研究者番号: 40620802

(2)研究協力者

土屋 亜由美 (TSUCHIYA, Ayumi)