

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和元年6月18日現在

機関番号：32610

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K09070

研究課題名(和文) 遺伝子情報を用いた新規経口抗凝固薬の出血性副作用予測マーカーの同定

研究課題名(英文) Pharmacogenomic study for bleeding risk of direct oral anticoagulants in ischemic cerebral stroke patients

研究代表者

市川 弥生子 (Ichikawa, Yaeko)

杏林大学・医学部・准教授

研究者番号：90341081

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：直接阻害型経口抗凝固薬(DOAC)の出血性副作用を予測するバイオマーカーの同定を目的に前向き研究を行った。CaucasianにおいてDOACの薬理効果に関与すると報告された遺伝子多型(CES1: rs2244613, ABCB1: rs4148738)を日本人脳卒中患者で検証し、アレル頻度、遺伝子型を明らかにした。ダビガトランの出血リスクを下げると報告されたCES1: rs2244613のCアレルの頻度は本研究では52%で、Caucasianでの頻度(18%)に比して高かった。本研究期間内では出血事象はなく、遺伝子型との関連性は特定されなかった。今後も、遺伝子型と出血性副作用との関連を検討していく。

研究成果の学術的意義や社会的意義

脳塞栓症の二次予防を目的とした抗凝固療法において、ワルファリンに代わり、DOACが使われるようになった。DOACは血液凝固機能のモニタリングは不要とされるが、適切な薬物療法を行うために、出血性副作用を回避する指標が求められている。本研究は、欧米の先行研究でDOACとの関連が明らかとなった遺伝子多型について、日本人で検証した。年齢と腎機能の観点からDOACを選択したところ、現時点までに脳梗塞再発および出血性副作用はみられていない。今後も経過を追って、出血性副作用と遺伝子型との関連を検討していく。出血性副作用を予測するバイオマーカーの同定は、個人の薬物代謝能力に応じた個別化治療への礎となる。

研究成果の概要(英文)：This prospective study was aimed to identify biomarkers for bleeding risk of direct oral anticoagulants (DOAC) in cerebral stroke patients. We investigated the allele frequencies and the genotypes of CES1: rs2244613 and ABCB1: rs4148738 polymorphisms in 22 Japanese patients with cerebral stroke. These polymorphisms were reported to be associated with the dabigatran concentrations and the risk of bleeding in dabigatran-treated Caucasian patients. The minor allele (C allele) of CES1: rs2244613 polymorphism was associated with lower trough concentrations and a lower risk of bleeding (Circulation, 2013). In our Japanese patients, the C allele frequency of CES1: rs2244613 polymorphism was 52%, which was higher than in the Caucasian participants of RE-LY Trial (18%). Bleeding events have not occurred in our patients during this study. Further studies are needed to clarify the association between the polymorphisms and the bleeding risk of DOAC in Japanese patients with cerebral stroke.

研究分野：神経内科学

キーワード：直接阻害型経口抗凝固薬 脳梗塞 脳塞栓症 ファーマコゲノミクス 一塩基多型 CES1 ABCB1

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

非弁膜症性心房細動を合併した脳梗塞の抗凝固療法において、ワルファリンに代わり、近年、新規経口抗凝固薬として直接阻害型経口抗凝固薬(direct oral anticoagulants: DOAC)が使われるようになった。現在、我が国ではダビガトラン、リバーロキサバン、アピキサバン、エドキサバンの4種のDOACが使用可能である。DOACは、凝固機能のモニタリングが不要とされる。しかし、発売当初、多くの患者に指標もないままDOACが投与された結果、死亡例も含めた出血性副作用が報告された。患者の薬物代謝能力に基づく、出血性副作用を回避する指標が必要とされている。

ダビガトランに関する第III相国際共同試験 Randomized Evaluation of Long-term Anticoagulation Therapy (RE-LY)試験参加者のうち、約3000名の欧州由来Caucasianを対象としたゲノムワイド関連解析が行われ、ダビガトランの血中濃度と出血事象に関連する遺伝子多型(SNP: single nucleotide polymorphism)が報告された¹⁾。ダビガトランエテキシラートの代謝酵素CES1(Carboxylesterase 1)のSNP: rs2244613は、ダビガトラン血中濃度のトラフ値と相関し、出血リスクが低くなる関連性がみられた。P糖蛋白 ABCB1 (ATP-binding Cassette Sub-family B Member 1)のSNP: rs4148738は、ダビガトラン血中濃度のピーク値と相関することが示された。

当院の脳卒中センターは、脳卒中の超急性期治療から、予防的治療まで一貫して行える脳卒中医療の拠点病院である。患者個人に適した脳卒中の再発予防にも力を入れている。今後の個別化治療の確立に向けて、本研究を行った。

2. 研究の目的

本研究は、ゲノム薬理的(PGx)研究を基盤として、DOACの出血性副作用を予測するバイオマーカーを同定することを目的として行った。CaucasianにおいてDOACの薬理効果に關すると報告された遺伝子多型を日本人で検証し、脳梗塞再発や出血事象の有無について前向き研究を行った。

3. 研究の方法

(1) 対象: 2017年以降、当院脳卒中センターに入院し、入院中にDOACを開始した患者

(2) DOAC内服患者の臨床データベースの構築および前向き研究

再発予防を目的として、DOACを新規に内服開始した脳梗塞患者について臨床情報[性別、年齢、血液凝固機能検査(APTT, PT-INR)、クレアチニンクリアランス(Ccr)等]のデータベースを構築する。DOACと脳梗塞の再発・出血性副作用に関して、前向き研究を行う。

(3) DOACの薬理効果に關する遺伝子多型の解析

Caucasianを対象とした先行研究でダビガトラン血中濃度との関連が明らかとなったSNP: CES1: rs2244613(A/C), ABCB1: rs4148738(A/G)について、日本人でのアレル頻度、遺伝子型の頻度を明らかにする。そして、遺伝子型と凝固機能、出血性副作用との関連を検討する。本研究では、DOACの4剤とも腎臓の薬剤排泄ポンプであるABCB1(P糖蛋白)の基質であることにも注目し、ABCB1の機能多型として知られている3箇所のSNP²⁾: rs1128503(C1236T)、rs2032582(G2667A/T)、rs1045642(C3435T)についても、アレル頻度と遺伝子型、凝固機能、出血性副作用の関連性について検討を行う。

4. 研究成果

(1) 対象者の臨床データ

対象者は日本人22名(男性12名、女性10名)、平均年齢76±9歳(54歳~87歳)であった。入院時の疾患は、心原性脳塞栓症: 14名、脳血栓症: 2名、奇異性脳塞栓症: 2名、ラクナ梗塞: 2名、一過性脳虚血(TIA)+深部静脈血栓症(DVT)1名、ワルファリン内服中に小脳出血を来した陳旧性脳梗塞1名であった(図1)。何れの患者も心房細動もしくはDVTを伴っており、抗凝固療法の適応があった。

図1 入院時疾患

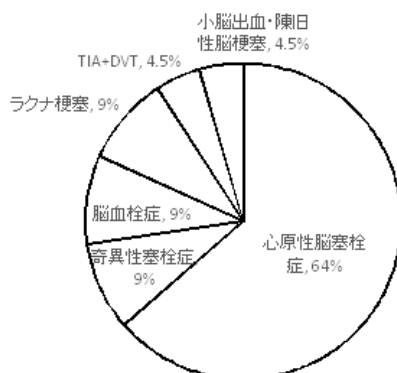
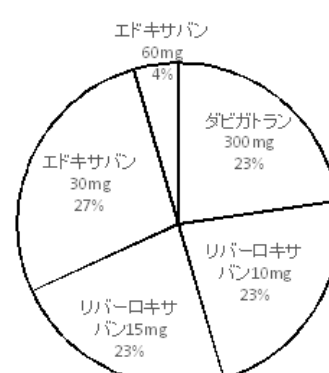


図2 内服開始したDOAC



(2) DOAC の選択

開始した DOAC はダビガトラン 300mg/日：5名(65±6歳)、リバーロキサバン 10mg/日：5名(84±2歳)、同 15mg/日：5名(76±5歳)、エドキサバン 30mg/日：6名(80±6歳)、同 60mg/日：1名(62歳)であった(図2, 表1)。

開始した DOAC ごとの平均年齢と平均 Ccr を表1に示す。年齢と腎機能に基づいて、DOAC の選択が行われる傾向がみられた(表1)。ダビガトランは腎機能が保たれ、平均年齢が60歳代と比較的年齢の若い発症者において用いられていた。一方、Ccr 50ml/min 以下の腎機能低下症例(9例)では、全例リバーロキサバンもしくはエドキサバンの低用量製剤が選択された。

表1 DOAC開始時年齢とクレアチニンクリアランス

DOAC	人数	平均年齢(歳)	平均Ccr (ml/min)
ダビガトラン	5	64.8±6.4	92.5±21.9
リバーロキサバン 10mg	5	84.0±2.2	44.7±5.0
リバーロキサバン 15mg	5	75.6±5.4	64.5±11.1
エドキサバン30mg	6	80.2±5.8	50.5±17.3
エドキサバン60mg	1	62	126.1

(3) 有害事象(脳梗塞再発・出血)の有無

本研究期間内において、脳梗塞再発や出血事象が生じた症例はなかった。対象患者のうち、16例(73%)において、DOAC 内服開始数時間前まで、抗凝固療法としてヘパリン投与を行っていた。各 DOAC 製剤の適正使用ガイドに従い、ヘパリンから DOAC に切替えたところ、切替え時に、脳梗塞再発や出血の有害事象は生じなかった。

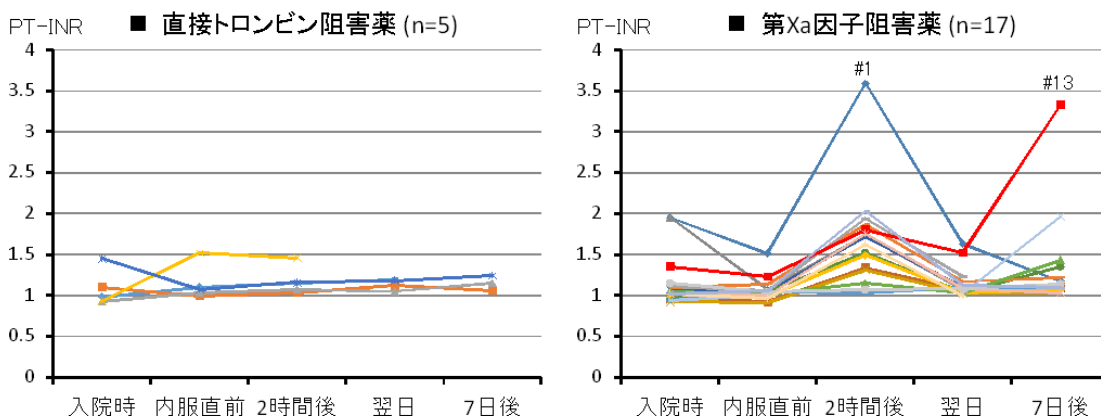
(4) DOAC と凝固機能、出血性副作用回避の指標

DOAC は、標的とする凝固因子の違いから、直接トロンピン阻害薬(ダビガトラン)と、第 Xa 因子阻害薬(リバーロキサバン、エドキサバン、アピキサバン)の2種類に大別される。直接トロンピン阻害薬は PT より APTT の延長に影響を及ぼし、第 Xa 阻害薬では PT が薬剤の血中濃度と正の相関をすることが知られている。

DOAC はワルファリンに比べて、効果の発現と減衰が迅速である点が特徴である。本研究において、内服後経過と PT-INR の推移を調べた(図3)。直接トロンピン阻害薬では、内服前後での PT-INR の変化はみられなかった。一方、第 Xa 因子阻害薬では、内服約 2 時間後の PT-INR 値は上昇しているが、翌朝には内服開始前の状態にほぼ戻ることが明らかとなった。

第 Xa 因子阻害薬内服後、PT-INR が急上昇した症例(図3: #1, #13)は、いずれも Ccr43ml/min、85歳以上の高齢者であった。#1(85歳男性、体重57kg)では、PT-INR は、内服前 1.51 がリバーロキサバン 10mg 内服後に 3.59 と上昇したが、翌朝には 1.63 と下がっていた。内服7日後に PT-INR が急上昇した#13(86歳男性、体重38.5kg)は、エドキサバン 30mg 内服開始後、食思不振による腎前性腎不全を併発した症例である。内服7日後の腎機能は Ccr19ml/min と低下し、PT-INR も 3.33 と上昇した。エドキサバンをヘパリンに切り換え、腎前性腎障害も改善させたところ、出血性副作用は生じず経過し、PT-INR は 1.18 まで低下した。

図3 PT-INR 推移



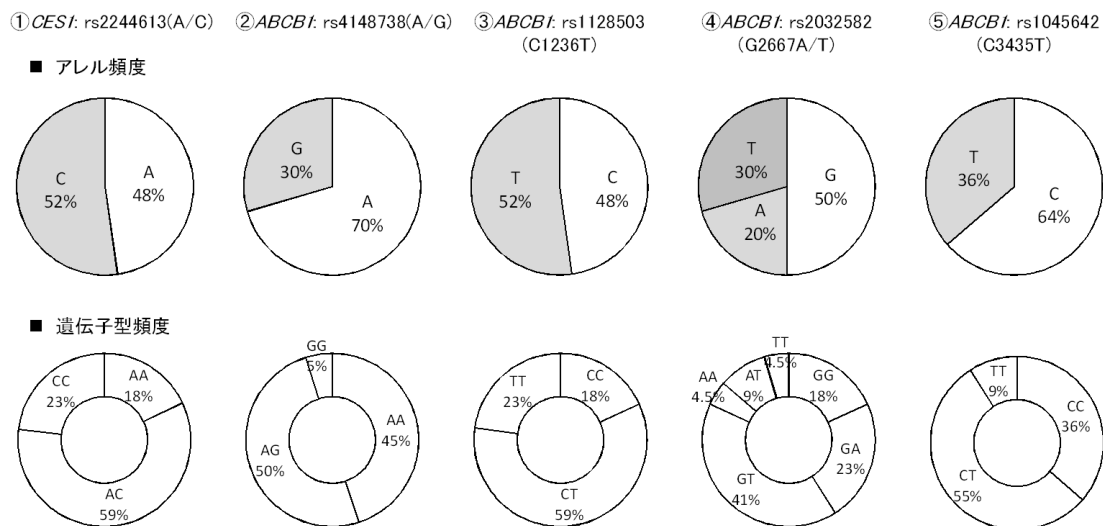
第 Xa 因子阻害薬においては、PT-INR は出血性副作用回避の指標となる可能性が示唆された。高齢者の腎機能低下症例では、PT の延長を来しやすい。ここで注意しなければならないことは、DOAC 内服後、PT-INR の値は、時間とともに刻々と変化するという点である。PT-INR の高値をみた場合に、PT-INR 値が DOAC 内服前に測定された値なのか、内服後の測定結果なのか、まず確認する必要がある。その上で、年齢、腎機能、体重も併せて、DOAC の減量や中止が必要な状態かどうか、慎重に判断することが肝要と考える。特に、外来フォロー時においては、DOAC の内服時刻を確認することが、PT-INR 値を適正に評価するためには必要である。

(5) 遺伝子多型の解析

5 箇所の SNP について、遺伝子多型を検出するオリゴプライマー、PCR 条件を確立し、サンガー法を用いて解析した。各 SNP におけるアレル頻度と、遺伝子型を明らかにした (図 4)。
[遺伝子型]

CES1: rs2244613(A/C) [AA:4, AC:13, CC:5], *ABCB1*: rs4148738(A/G) [AA:10, AG:11, GG:1],
ABCB1: rs1128503(C1236T)[CC:4, CT:13, TT:5], *ABCB1*: rs2032582(G2667A/T) [GG:4, GA:5, GT:9, AA:1, AT:2, TT:1], *ABCB1*: rs1045642(C3435T) [CC:8, CT:12, TT:2]

図4 各SNPにおけるアレル頻度と遺伝子型頻度 (n=22)



欧州由来の Caucasian を対象とした解析では、*CES1*: rs2244613(A/C)では、A アレルが圧倒的に多く、C アレルの頻度は約 20%と報告されている^{1),3)}。そして、Caucasian の C アレル保有者では、ダビガトランのトラフ血中濃度が低く (C アレル 1 個につき、トラフ血中濃度が 15%低下)、出血リスクが低くなると報告されている (オッズ比 0.67)¹⁾。一方、我々が解析した限りにおいては、日本人では C アレルの頻度が 52%と過半数を占めた (図 4)。日本人のゲノムデータベース Integrative Japanese Genome Variation Database (<http://ijgvd.megabank.tohoku.ac.jp/>)でも C アレルの頻度は 60%であった。日本人集団では、C アレルの頻度が高いことから、ダビガトランの出血性リスクが Caucasian に比べて低い可能性がある。

(6) 遺伝子型と凝固機能、有害事象 (再発・出血)

研究期間内では、脳梗塞再発や出血事象が生じた症例はなく、遺伝子型と出血性副作用の関連については、現時点では明らかではない。

遺伝子型と凝固機能(APTT, PT-INR)の関連性については、統計的有意差は明らかではなかったが、人数が増えた段階で検証する必要がある。

<引用文献>

- 1) Paré G et al., Genetic determinants of dabigatran plasma levels and their relation to bleeding. *Circulation*. 127:1404-12, 2013
- 2) Kimchi-Sarfaty C et al., A "silent" polymorphism in the MDR1 gene changes substrate specificity., *Science*. 315:525-8, 2007
- 3) Sychev DA et al., Genetic determinants of dabigatran safety (*CES1* gene rs2244613 polymorphism) in the Russian population: multi-ethnic analysis. *Mol Biol Rep*. 2019

5 . 主な発表論文等

[雑誌論文](計 11 件)

- 平野照之: 患者背景から DOAC をいかに使い分けるか? 薬局. 査読無、70: 62-68, 2019
Yasaka M, Minematsu K, Toyoda K, Mori E, Hirano T, Hamasaki T, Yamagami H, Nagao T, Yoshimura S, Uchiyama S, for the RELAXED study group: Rivaroxaban administration after acute ischemic stroke: the RELAXED study. *PLOS ONE*. 査読有、14: e0212354, 2019
DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0212354>
- 峰松一夫, 内山真一郎, 平野照之, 矢坂正弘, 吉村紳一: 脳梗塞急性期における抗凝固療法を考える～超高齢社会の脳卒中治療とは～. *Medical Tribune*. 査読無、51: 4-5, 2018
- 平野照之: ESUS (embolic stroke of undetermined source): update. *脳神経外科速報* 査読無、

28: 889-895, 2018

平野照之: 脳梗塞の抗凝固療法. 日本血栓止血学会誌、査読無、28: 335-344, 2017

DOI: <https://doi.org/10.2491/jjsth.28.335>

Hirano T, Kaneko H, Mishina S, Wang F, Morita S: Suboptimal anticoagulant management in Japanese nonvalvular atrial fibrillation patients receiving warfarin for stroke prevention. J Stroke Cerebrovasc Dis. 査読有、26: 2102-2110, 2017

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2017.04.030>

橋本洋一郎, 阪本徹郎, 坂本憲治, 平野照之: DOAC による心房性脳塞栓症の二次予防. Thrombosis Medicine、査読無、6: 257-263, 2016

平野照之: 抗凝固療法中の出血および緊急手術 脳梗塞と心房細動、査読無、9: 69-73, 2016

平野照之: Cryptogenic stroke と ESUS. 循環器内科、査読無、80: 71-76, 2016

平野照之: ESUS と発作性心房細動. 分子脳血管病、査読無、15:141-145, 2016

平野照之: 脳卒中センターの役割. Cardio-Coagulation、査読無、3: 129-134, 2016

[学会発表](計9件)

市川弥生子, 丸岡響, 山下ひとみ, 齋藤幹人, 城野喬史, 上月直樹, 齋藤幹人, 城野喬史, 白鳥嵩之, 澁谷裕彦, 中島昌典, 本田有子, 天野達雄, 鳥居正剛, 岡野晴子, 河野浩之, 海野佳子, 平野照之: 脳梗塞患者における直接阻害型経口抗凝固薬の出血性副作用とゲノム薬理学的検討. 第60回日本神経学会学術大会. 2019年5月

平野照之: 抗凝固療法はいつまで行うのか(フレイル/認知症/ポリファーマシーの観点から): 継続する立場から. Thrombocardiology Expert Camp (招待講演). 2018年12月

平野照之: 高齢心房細動患者における並存症の把握: Stroke の既往. Thrombocardiology Expert Camp (招待講演). 2018年12月

平野照之: 抗凝固療法のアプローチ・ニーズ~XaPASS, RELAXED から見えてきたこと.

第47回日本脳卒中の外科学会総会(招待講演). 2018年3月

平野照之: イダルシズマブに係る最新の話題(抗凝固療法中の急性血行再建療法を含めて). 第43回日本脳卒中学会学術集会(招待講演). 2018年3月

Hirano T: The second stage of DOAC era – Interpreting Real World Evidence –. 8th Korea-Japan Joint Stroke Conference (招待講演). 2017年

Hirano T, Kaneko H, Mishina S, Wang F, Morita S: Patient demographic and clinical characteristics in Japanese real world setting who received warfarin, switched from warfarin to NOAC, Apixaban for stroke prevention in atrial fibrillation. 10th World Stroke Congress. 2016年10月 Hyderabad, India

平野照之: 危険因子を共有する脳卒中と認知症. 第17回日本早期認知症学会学術大会 シンポジウム3: Treatable Dementia (治療できる認知症)を見逃さない. 2016年9月

Hirano T: Oral anticoagulant therapy for prevention of cardioembolism. 第57回日本神経学会学術大会 シンポジウム: なおる神経内科04. 2016年5月19日

[図書](計3件)

平野照之: 南山堂. 塞栓源の同定に苦慮した脳塞栓症 67歳男性(ESUS). 伊藤義彰編: 症例から学ぶ 戦略的急性期脳卒中の診断と治療. pp.170-176, 2019

平野照之: 医学書院. 急性期脳梗塞(ブレインアタック). 福井次矢, 高木誠, 小室一成編: 今日の治療指針 2018. pp 890-892, 2018

平野照之: NHK 出版. 脳梗塞になってしまったら. 岡田靖総監修: 別冊 NHK きょうの健康「脳梗塞」最新治療・再発予防・リハビリのすべて. pp.17-34, 2016

6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名: 平野 照之

ローマ字氏名: Teruyuki Hirano

所属研究機関名: 杏林大学

部局名: 医学部

職名: 教授

研究者番号(8桁): 50346996

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。