

機関番号：32684

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2008～2010

課題番号：20590548

研究課題名（和文） 遺伝子情報を利用したワルファリンによる抗凝固治療の個別化

研究課題名（英文） Individualization of anticoagulation therapy of warfarin based on pharmacogenetic information

研究代表者

高橋 晴美 (TAKAHASHI HARUMI)

明治薬科大学・薬学部・教授

研究者番号：20211344

研究成果の概要（和文）：ワルファリン（WF）の投与量や抗凝固効果（INR）の個体差の原因を明らかにする目的で、アジア人（日本人と中国人）を対象として WF の応答性に関与することが報告されている体内動態と感受性に寄与する遺伝子変異（*CYP2C9*3* と *VKORC1*2*）の臨床的影響について、後向き試験と前向き試験により検討した。その結果、WF の体内動態の変動因子としては *CYP2C9*3* 変異と体重、感受性の変動因子としては年齢と *VKORC1*2* 変異の寄与が明かとなった。

研究成果の概要（英文）：Influences of *CYP2C9*3* and *VKORC1*2* polymorphisms on the inter-individual differences in anticoagulation responses and maintenance dosages of warfarin were investigated in Asian (Japanese & Chinese) patients by performing the retrospective and prospective clinical studies. As a results, a *CYP2C9*3* mutation and a body weight, and *VKORC1*2* mutation and an age were extracted as pharmacokinetic and pharmacodynamic covariates, respectively.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2009 年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2010 年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：境界医学・応用薬理学

キーワード：ワルファリン、個体差、応答性、*CYP2C9*、*VKORC1*、遺伝子多型、INR

1. 研究開始当初の背景

我が国においてワルファリン（WF）は経口投与可能な唯一の抗凝固薬であるが、WF による治療は、常に出血性合併症という重大な臨床的リスクを伴う。更に、WF により安定した抗凝固効果を維持するための投与量には 10 倍以上の個人差（患者間変動）が存在

するため、特に投与初期の出血合併症の予防という観点から WF の投与開始時には各症例毎に抗凝固効果 (INR) を綿密にモニターし、至適な治療域内に維持するように投与量の調節が行われている。それでも尚、しばしば WF 導入期や維持量で投与中に治療域を逸脱してしまう症例を経験するが（患者内変動）、

この原因は現在のところ不明である。

2. 研究の目的

(1)WF による抗凝固効果(INR)の個体差の原因を明らかにする目的で、日本人を対象として応答性に関与する体内動態と感受性の遺伝子変異 (*CYP2C9* と *VKORC1*) の影響について後ろ向き臨床試験を実施する。

(2)WF 治療における遺伝子検査の臨床的有用性を明らかにする目的で、アジア人 (日本人と中国人) 患者を対象として WF 投与前に *CYP2C9* と *VKORC1* 遺伝子変異検査後、WF 導入投与量を設定する前向き試験を行う。

(3)WF 治療における抗凝固効果(INR)のコントロールに及ぼす投与前凝固活性(NPT₀)の個体差の変動要因とその臨床的意義を明確にする。

3. 研究の方法

(1)研究対象者と患者情報の収集:血栓塞栓症予防のため WF 導入が予定されている年齢 20 才以上の日本人と中国人患者

① 入院・外来患者:心房細動などのため WF 投与が必要な患者

*除外基準:文書による同意が得られない患者、及び担当医師が不適切と判断した患者

(2)試験期間

①採血・遺伝子診断期間 (試験エントリー時期):1月(2008)~12月(2010)

②採血・INR・出血事象を WF 導入後定期的に1年間観察する。

③患者情報の収集項目:年齢、性別、身長、体重、腎機能、肝機能、食生活、飲酒・喫煙習慣、WF 応答性に影響する併用薬

④測定項目

*遊離形経ロクリアランス(CL_{p0,u}):WF 血漿中濃度 (HPLC 法) と WF 血漿中遊離形分率 (限外濾過法) から算出した。

* *CYP2C9* 遺伝子変異 (*CYP2C9*3*) と *VKORC1* 遺伝子変異 (*VKORC1*2*):SMAP 法とダイレクトシーケンス法により検査した。

*凝固活性:カルボキシル化トロンビン活性 (Normal Prothrombin activity):Carin activase-1 法により測定した。

*抗凝固効果:INR を指標とした。

4. 研究成果

(1)日本人を対象とした応答性に関与する体内動態と感受性の遺伝子変異 (*CYP2C9*と

VKORC1) の影響について無作為化臨床試験を実施した結果、両遺伝子変異に関して以下の影響が予想された。

①WFの初期維持投与量:*CYP2C9*3*変異や *VKORC1*変異を有する患者では、変異数に伴い投与量が減少していた。

②投与開始から安定した抗凝固効果を得るまでにかかる時間:*CYP2C9*3*変異を有する患者では投与量を減少し、一方、*VKORC1*野生型を有する患者では投与量を上昇するため、維持量設定までにより長い時間が必要であった。

③初期維持量設定までの抗凝固効果の個体内変動:*CYP2C9*3*変異を有する患者では導入期にINRの変動 (INR>4) の傾向が認められたが、*VKORC1*変異型患者においては導入期においてINR>4となる傾向はほとんど認められなかった。

④初期維持量設定までの投与量の個体内変動:*CYP2C9*3*変異型患者、及び *VKORC1*野生型患者では維持量設定までに投与量をそれぞれ減少、上昇させる必要性があった。

⑤初期維持量設定までにおける

over-anticoagulation(INR>4):

*CYP2C9*3*変異を有する患者では投与量の増加に伴うINR>4の傾向が認められた。

(2)アジア人 (日本人と中国人) 患者を対象としてWF 投与前に *CYP2C9* と *VKORC1* 遺伝子変異検査後、WF 導入投与量を設定する前向き試験を行い、WF 導入後血中遊離形 S-WF 濃度が上昇し (体内動態)、次いで NPT 活性の低下に伴い INR が上昇する過程 (感受性) に関する過程について、モデル構築を行い母集団解析法を用いて解析した。

①体内動態と感受性の各過程における患者間変動要因:

* アジア人では、WFの体内動態に関しては S-WFの定常状態における遊離形血中濃度を決定するWFの肝代謝活性 (S-WFの遊離形経ロクリアランス) に対して *CYP2C9*3*変異と体重が有意な影響因子であった。

* WFの感受性に関しては、投与前の凝固活性 (NPT₀) とIC₅₀で規定でき、NPT₀に

対しては年齢が、IC50に対しては *VKORC1*変異が影響因子として抽出できた。

②WF導入期におけるover-anticoagulation (INR \geq 4)の影響因子: WF導入期のINR \geq 4には、感受性側の要因ではなくWFの体内動態 (S-WFの遊離形経口クリアランスが小さいこと) が有意な影響因子であることを明らかにできた。

(3)WFを外来導入した中国人患者181名を対象とし、WF投与前と投与後3ヶ月間に最低5回NPTとINRを測定し、両者の関係を検討した結果、以下の結果が得られた。

①NPT₀の変動要因: NPT₀を従属変数とし、患者背景因子を独立変数として重回帰分析を母集団解析法(NONMEM)により行った。NPT₀に対して年齢と肝疾患が有意な変動要因であり、肝機能低下による凝固因子生成能が低下すると考えられた。一方、*VKORC1**2変異や*CYP4F2**3変異はNPT₀に対して有意な影響を及ぼしていなかった。

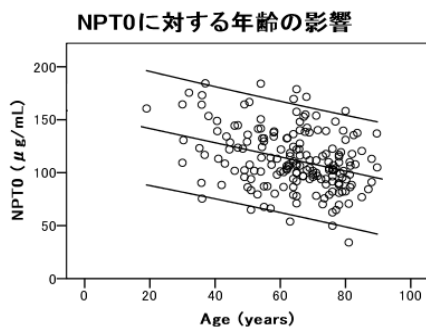


図1 加齢に伴うNPT₀の低下

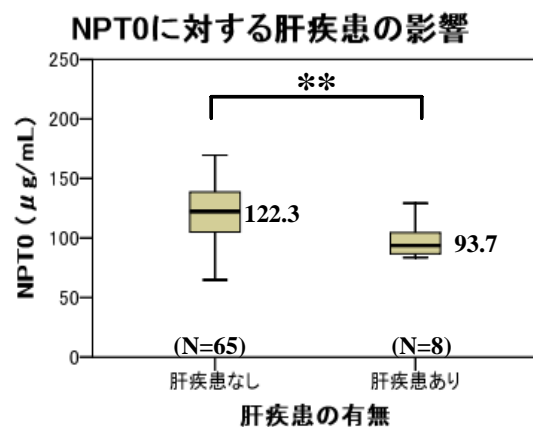


図2 肝疾患によるNPT₀の低下

②INRのコントロールに及ぼすNPT₀の影響: INRが治療域(2~3)にコントロールされるNPT濃度(治療域NPT)とNPT₀の関係について検討した結果、NPTの低下幅はNPT₀に依存していたが、低下率はNPT₀によらず約70%とほぼ一定であった。INR>4の患者ではNPTはNPT₀の15~25%まで低下していた。

③NPT-INR関係のモデル解析とシミュレーション: WF投与後のINRはNPT低下率(1-NPT/NPT₀)に伴い非線形的に上昇すると仮定したモデル式により得られた母集団解析法値を用いてNPT-INRの関係についてsimulationの結果、低NPT₀群ではNPT濃度の低下によりINRが治療域外へ上昇しやすい傾向が示した。以上よりNPT-INRの個体間変動にNPT₀が関与している可能性が示唆された。

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12件)

①Clinical and economic evaluation of first-line therapy with FOLFIRI or modified FOLFOX6 for metastatic colorectal cancer: Ajima H, Ogata H, Fujita K, Miwa K, Sunakawa Y, Mizuno K, Ishida H, Yamashita K, Nakayama H, Kawara K, Takahashi H, Sasaki Y, *Jpn.J.Clin.Oncol.* **40**, 634-638 (2010)、査読有

② A population approach to Eplerenone pharmacokinetics and saturable protein binding: Mori Y, Chiba K, Takahashi H, Ogata H, *Drug Metab.Pharmacokinet.* **25**, 551-559 (2010)、査読有

③高橋晴美: 抗凝固薬ワルファリンのトランスレーショナルPK/PD研究、*日本薬理学雑誌*, **136**, pp.229-232 (2010)、査読有

④Takahashi H: Warfarin pharmacogenetics: a single *VKORC1* polymorphism is predictive of dose across 3 racial groups, *Int. Rev. Thromb.* **5**, 264-265 (2010)、査読無

⑤高橋晴美: ワルファリン応答性に関わる遺伝因子と臨床的影響、*日本老年医学会雑誌*, **47**, 38-40 (2010)、査読無

⑥Takahashi H: Pharmacogenomics of warfarin, *Int. Rev. Thromb.* **4**, 30-33 (2009)、査読無

⑦高橋晴美: Warfarinと*CYP2C9*、*VKORC1*遺伝子多型、臨床薬理、**39**, pp.243-246 (2008)、査読有

[学会発表] (計22件)

①シンポジウム: ワルファリンの個別化治療にむけた今後の課題: 高橋晴美、第17回薬と医療シンポジウム、2010/8、大阪

②シンポジウム: 抗凝固療法の個別化薬物治

療：高橋晴美、第 42 回日本臨床検査自動化学会、2010/10、神戸

③ Prediction of drug elimination pathways based on pH-dependent physicochemical properties in a random forest classification model: Uesawa Y, Takahashi H, Ogata H and Mohri K, 情報計算化学生物学会年会、2010/9、東京

④ QSAR classification between hepatically- and renally-eliminated drugs using a machine learning technique : Uesawa Y, Takahashi H, Ogata H and Mohri K, 日本薬物動態学会第 25 回年会、2010/10、大宮

⑤ Population approach to epleneone pharmacokinetics and saturable protein binding : Mori Y, Chiba K, Takahashi H and Ogata H, 日本薬物動態学会第 25 回年会、2010/10、大宮

⑥ Invader Plus 法を用いた装置 SNP Analyzer によるワルファリン関連遺伝子多型の解析：藤田京志、小笠原彩子、中島美咲、堀部聖、高橋晴美、筈田泰誠、渡邊 淳、島田 隆、臨床検査自動学会、2010/10、神戸

⑦ ワルファリンによる抗凝固効果のコントロールに及ぼす投与前凝固活性の個体差と臨床的影響：市村洋介、高橋晴美、MTM Lee、YT Chen、塩見真理、森田隆司、越前宏俊、第 31 回日本臨床薬理学会年会、2010/12、京都

⑧ シンポジウム：ワルファリン応答性に関わる遺伝因子と臨床的影響：高橋晴美、第 26 回日本老年医学会学術集会、2009/6、横浜

⑨ 教育講演：warfarin 療法の実際（基礎）：高橋晴美、第 30 回日本臨床薬理学会年会、2009/12、横浜

⑩ 利尿薬とメチマゾールによるシスプラチン腎毒性の軽減機構の検討：体内動態への影響と腎臓内タンパクおよび mRNA 発現量への影響：花田和彦、浅野邦仁、渡邊正教、望月潤一、高橋晴美、緒方宏泰、第 24 回日本薬物動態学会年会、2009/11、京都

⑪ 爪白癬症に対するイトラコナゾールパルス療法施工時の CYP3A 活性の経時的変化：柴田壮一、高橋晴美、小野紀子、和田直子、久保博昭、篠崎公一、齊藤 京、稲本伸子、越前宏俊、厚田幸一郎、第 30 回日本臨床薬理学会年会、2009/12、横浜

⑫ 薬物治療をとらえるための SOAP 作成 [I] : 高橋晴美、第 46 回薬物治療モニタリング研究会特別ゼミナール、2009/9、東京

⑬ シンポジウム: ワルファリン応答性に関与する遺伝子情報は抗凝固治療の個別化にどこまで有用か? : 高橋晴美、日本薬学会第 128 年会、2008/3、横浜

⑭ シンポジウム: 抗凝固薬の遺伝子診断と臨床への応用: 高橋晴美、第 25 回日本 TDM 学会、2008/6、東京

⑮ 癌化学療法での急性悪心・嘔吐に対するメチルプレドニゾロンとデキサメタゾンの予防

効果の比較: 橋本佳奈、小川竜一、高橋晴美、井上正広、越前宏俊、第 18 回日本医療薬学会年会、2008/9、札幌

⑯ イリノテカン塩酸塩により誘発される遅発性下痢に対する予防法の有効性に関するメタ解析: 高井佐知子、小川竜一、高橋晴美、堀 治、越前宏俊、第 18 回日本医療薬学会年会、2008/9、札幌

⑰ 閉経後骨粗鬆症患者に対する経口ビスホスフォネートとラロキシフェンの効果と安全性の比較に関するメタ解析: 高地恵市、小川竜一、高橋晴美、後藤一美、越前宏俊、第 18 回日本医療薬学会年会、2008/9、札幌

⑱ 薬物治療をとらえるための SOAP 作成～うつ血性心不全を例に: 高橋晴美、第 44 回薬物治療モニタリング研究会特別ゼミナール、2008/9、東京

〔図書〕 (計 3 件)

① 高橋 晴美: 薬剤師による患者フォローと SOAP チャートの作成、*In 病態を理解して組み立てる薬剤師のための疾患別薬物療法第 1 巻* pp.124-128、日本医療薬学会編集、南江堂 (2010)

② 高橋 晴美: 経口抗不整脈薬の臨床薬物動態、*In 薬物動態学と薬力学の臨床応用: TDM の正しい理解のために* pp.391-410、篠崎 公一、平岡 聖樹、渋谷 正則、鈴木 昭之監訳・翻訳、メディカルサイエンス・インターナショナル、東京 (2009)

③ 高橋晴美: ワルファリン療法関連遺伝子多型、ワルファリン抵抗性、抗凝固薬の適正な使い方 (第 2 版)、pp.20-33、櫻川信男、上塚芳郎、和田英夫編集、医師薬出版 (2008)

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.my-pharm.ac.jp/~yakuzai>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

高橋 晴美 (TAKAHASHI HARUMI)
明治薬科大学・薬学部・教授
研究者番号：20211344

(2) 研究分担者

越前 宏俊 (ECHIZEN HIROTOSHI)
明治薬科大学・薬学部・教授
研究者番号：00191924
(H20 と H21：研究分担者)

(3) 連携研究者

後藤 信哉 (GOTO SHINYA)
東海大学・医学部・教授
研究者番号：50225653