

機関番号：82506

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2008～2010

課題番号：20591540

研究課題名 (和文) 移植腎機能に影響を及ぼす遺伝子多型の解析

研究課題名 (英文) Impact of gene polymorphisms on graft function in renal transplantation

研究代表者

西郷 健一 (SAIGO KENICHI)

国立病院機構千葉東病院・臨床研究センター・部長

研究者番号：60323424

研究成果の概要 (和文)：

シクロスポリン、タクロリムス等免疫抑制剤の薬物動態に影響すると考えられる CYP や MDR1 等の SNP について腎臓移植 128 症例に就き解析した。その結果 CYP3A4\*1B, 4\*16 では殆ど総てが野生型であり、CYP3A5 では野生型が稀で変異型が半数以上を占めていた。MDR1 exon21,26 もヘテロ型が約半数を占め、野生型は其々16%、30%程度を占めるに過ぎなかった。経過中の拒絶反応との関係は明らかではなかったが、CYP3A5 の遺伝子多型の解析はタクロリムスの投与量の参考になると示唆され、免疫抑制剤のテーラーメイド医療化に遺伝子多型の解析は役立つと考えられた。

研究成果の概要 (英文)：

Cyclosporine and tacrolimus are the substrates for Cytochrome P450 (CYP) 3A and P-glycoprotein, which are encoded by CYP3A gene and MDR1 gene. Several single nucleotide polymorphisms have been identified in these genes. In order to investigate the possible association of the CYP3A gene polymorphism and MDR1 gene polymorphism with graft function and rejection trough concentration and dose requirement in 128 renal transplant recipients.

100% and 96.8% of population showed a CYP3A4\*1B \*1/\*1 and CYP3A4\*16 \*1/\*1 genotype, while only 8% of population showed CYP3A5\*3 \*1/\*1. For the SNP of MDR1 at exon21(2677G>(T,A)), wild type (G/G), hetero type (G/A, G/T), mutant type (T/T, A/A, A/T) were observed in 21 (16.5%), 51 (40.2%) and 55 (43.3%) cases and SNP of MDR1 at exon26(3435C>T), the CC,CT and TT genotypes were observed in 39 (30.7%), 67 (52.8%) and 21 (16.5%) cases, respectively. There is no clear relationship between rejection and genotype. Some of our patients having CYP3A5\*1/\*1 genotype required a larger dose of tacrolimus to achieve the same concentrations as patients having other genotype.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2009年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2010年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：移植・再生医療

科研費の分科・細目：外科学一般・移植外科

キーワード：移植・再生医療、遺伝子、薬剤反応性、外科

1. 研究開始当初の背景

我が国では慢性腎不全の治療として 1964 年に始めて腎移植が行われ現在年間約 1,000 件の腎臓移植が行われており、免疫学の進歩やタクロリムス等免疫抑制剤の開発も有り腎移植の成績が向上しているにも拘らず、移植腎機能が低下する症例が認められる。シクロスポリン、タクロリムスはその強い免疫抑制作用から臓器移植拒絶反応の抑制等に臨床応用されている。シクロスポリン、タクロリムスともにイムノフィリンと総称される細胞内受容体と結合することによって最終的に T 細胞機能を抑制する。又シクロスポリン、タクロリムスともに肝臓で薬物代謝酵素であるチトクローム P450 (CYP) によって代謝される。多剤耐性遺伝子 MDR1 は薬物を能動的に輸送する細胞 P 糖タンパク質をコードする遺伝子で、P 糖タンパク質の機能や発現量が MDR1 の遺伝子型に依存する事が示唆されている。症例について解析が進めるうちに、免疫抑制剤に対する生体反応にはかなりの個人差が認められ、これら薬物の反応性に影響を及ぼす因子として遺伝子の一塩基多型(SNPs)に就いての報告がされて来た (Robert A.M et al. Tacrolimus pharmacokinetics and pharmacogenetics : influence of adenosine triphosphate-binding cassette B1 (ABCB1) and cytochrome (CYP) 3A polymorphism. *Fundamental & Clinical Pharmacology* 2007. Xin Zhang et al. Influence of CYP3A5 and MDR1 polymorphism on Tacrolimus concentration in early stage after renal transplantation. *Clinical Transplantation* 2005. Anglicheau D et al. CYP3A5 and MDR1 genetic polymorphisms and cyclosporine pharmacokinetics after renal transplantation. *Clinical pharmacology and therapeutics* 2004)。腎移植症例のこれ

ら薬物代謝遺伝子や免疫反応に係わる遺伝子について解析を行うことが、薬物の臨床効果・評価、延いては治療の予後向上に寄与する可能性が考えられようになってきた。

2. 研究の目的

腎移植の際に殆どの症例で投与される免疫抑制剤であるシクロスポリン、タクロリムス等免疫抑制剤の薬物動態も様々な複合的要因に影響されると考えられるが、薬剤の効果の程度や副作用の出やすさなどの個人差の原因は、代謝酵素や膜輸送タンパク機能の個人差に基づく薬物動態の個人差が一つの大きな要因と考えられる。これら薬剤の代謝・輸送に関する酵素や膜タンパクなどの活性の個人差の原因の一つとして、それらをコードする遺伝子の一塩基多型に起因するものと考えられる。シクロスポリン、タクロリムス等免疫抑制剤の薬物動態に影響すると考えられる CYP3A4, 3A5 及び MDR1 exon21, 26 の遺伝子多型について、当院での腎臓移植臨床症例について解析し、その解析結果を薬剤投与量と経過観察中に行われる腎機能検査値、薬物血中濃度や腎生検病理組織学的所見等の臨床情報と比較することにより、これら遺伝子多型の薬物に及ぼす反応性、動態、副作用との関連に就き臨床症例から詳細に解析する事でテーラーメイド医療の具現化を目指す基礎的な知見を得ることを目的とする。

薬物反応関連遺伝子の中には、CYP2C19 のように白人に比較し日本人ではその多型の頻度が高いと報告されているもののあり、腎移植臨床症例での解析を通じてその頻度を明らかにしていきたい。

### 3. 研究の方法

本研究に対し院内倫理委員会より承認を得て、更に研究承諾の得られた生体及び献腎移植症例(研究協力者) 128 症例を対象とし、研究協力者より提供された血液より DNA を抽出。サンプル DNA を鋳型とし解析対象の SNP を含む領域を PCR により増幅し、相補的な配列を持つ蛍光標識された QP プローブと結合させる。相補配列の適合度により QP プローブの解離温度が異なることを利用し、解離の際に得られる蛍光を検出することで各研究協力者の SNP の判定を行う。解析された各研究協力者の SNP と拒絶反応、副作用、薬物動態ならびに腎生検を含めた臨床データとの関係について検討を行う。

### 4. 研究成果

健常ボランティア 22 例、腎移植症例 128 例に対して行った遺伝子多型の解析結果を示す。

#### 健常ボランティア

	CYP3A4*1B, CYP3A4*16, CYP3A5*3		
Wild	22	22	4 (18.2%)
Hetero	0	0	8 (36.4%)
Mutant	0	0	10 (45.4%)

#### 健常ボランティア

	MDR1 exon21, MDR1 exon26	
Wild	7 (31.8%)	12 (54.5%)
Hetero	9 (40.9%)	6 (27.3%)
Mutant	6 (27.3%)	4 (18.2%)

#### 腎移植症例

	CYP3A4*1B, CYP3A4*16, CYP3A5*3		
Wild	128	124 (96.8%)	8 (6.25%)
Hetero	0	4 (3.2%)	48 (37.5%)
Mutant	0	0	72 (56.25%)

#### 腎移植症例

	MDR1 exon21, MDR1 exon26	
Wild	21 (16.5%)	39 (30.7%)
Hetero	51 (40.2%)	67 (52.8%)
Mutant	55 (43.3%)	21 (16.5%)

今回検索しえた遺伝子多型の解析では、健常ボランティア及び腎移植症例の何れにおいても CYP3A は殆ど総てが野生型であったのに対し CYP3A5 では野生型が稀で変異型が半数以上を占めていた。解析しえた 127 例の MDR1 exon2 及び 26 についても其々野生型 21 例(16.5%)、39 例(30.7%)、ヘテロ型 73 例 (57.5%)、67 例 (52.8%)、

変異型 33 例 (26.0%)、21 例 (16.5%) と野生型が半数にも満たないことが示された。

128 例の症例の内、経過中に 25 例で急性拒絶反応を見たがこれら遺伝子の多型との関係は明らかではなかった。しかし、経過中に免疫抑制剤の重篤な副作用である白質脳症を起こした症例は本邦からの報告にあるように MDR1 exon21 が野生型ではない症例であった。

CYP3A5 の野生型を有する症例では変異を有する症例に比べて血中濃度を維持するためにより多量のタクロリムスが必要であると考えられているが、今回解析した症例のかには野生型を有する 2 症例でタクロリムスが投与されていたが、その内 1 例では有効血中濃度を維持するのに他の症例に比べ多量の薬剤を必要としていた。

移植後の消化性潰瘍の予防のために投与されるプロトンポンプ阻害薬(PPI)も CYP2C19 及び CYP3A によって代謝を受けるため、直接の拮抗作用は無くても、CYP2C19 の遺伝子変異が CYP3A による薬物代謝に影響を及ぼすことがあると報告されている。経過中に PPI 投与中にも係らず胃潰瘍を発症した 3 症例はタクロリムスが投与されていた症例で、CYP3A5 は変異型、CYP2C19 は 2 例がヘテロ型、1 例が変異型であった。CYP2C19、CYP3A による薬物代謝を受けない抗潰瘍薬に変更して潰瘍は治癒にいたった。

#### まとめ

今回検討した遺伝子多型からは拒絶反応との関連は明らかではなかったが、移植後発症の胃潰瘍に対して遺伝子多型解析の結果に基づき薬剤投与を計画し良好な結果が得られた。今後は、症例毎の遺伝子解析の結果を用いて薬剤投与などテーラーメイド化を行うことによって腎移植の予後の向上が図られていくものと考えられる。最後に本研究の成果が、今後の臓器移植の研究及び臨床に寄与し移植医療に貢献することを期待したい。

### 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 1 件)  
Kenichi Saigo, Kenichi Yoshida, Ryuji Ikeda, Yoshiko Sakamoto, Yoshiki Murakami, Tetsuro Urashima, Takehide Asano, Takeshi Kenmochi, Ituro Inoue

Integration of hepatitis B virus DNA into the myeloid/lymphoid or mixed-lineage leukemia (MLL4) gene and rearrangements of MLL4 in human hepatocellular carcinoma  
Human Mutation. 29 (5): 703-708 2008

〔学会発表〕(計11件)

西郷健一、剣持敬、坪 尚武、伊藤泰平、大月  
和宣、岩下 力、丸山通弘、浅野武秀、倉  
田里穂、井ノ上逸朗 (2011)  
腎移植後発症の胃潰瘍と遺伝子多型  
第44回日本臨床腎移植学会、宝塚、  
2011.1.26-28

西郷健一、坪 尚武、丸山通弘、岩下 力、  
大月和宣、伊藤泰平、剣持 敬、北村博司、  
林幹男、松屋福蔵、高橋千寛、田中信一郎、  
黒田達夫、絵野沢伸 (2010)  
TGFB 遺伝子検査による移植腎機能評価の検  
討  
第46回日本移植学会総会、京都、  
2010.10.20-22

K. Saigo, H. Kitamura, K. Ohtsuki, N. Akutsu,  
C. Iwashita, M. Maruyama, T. Itoh,  
T. Kenmochi (2010)

Therapeutic effects of S-1 plus CDDP  
combination therapy in Patients with  
highly advanced or recurrent gastric  
cancer  
15th Congress of the European Society of  
Surgical Oncology,  
15-17 September 2010 (Bordeaux, France)

西郷健一、剣持 敬、坪 尚武、丸山通広、  
岩下 力、大月和宣、伊藤泰平、松原久裕、  
井ノ上逸朗 (2010)  
肝細胞癌における Hepatitis B virus DNA 組  
み込みとその意義  
第110回日本外科学会定期学術集会、名古  
屋、2010.4.8~10

丸 裕吾、剣持 敬、坪 尚武、丸山通広、  
大月和宣、岩下 力、伊藤泰平、西郷健一  
(2010)  
腎移植後 HCC を生じた HCV 抗体陽性、HBs 抗  
原陰性患者の一治験例  
第43回日本臨床腎移植学会、高知、  
2010.1.28~30

西郷健一、北村博司、大月和宣、伊藤泰平、  
岩下 力、丸山通弘、坪 尚武、剣持 敬  
(2009)  
Complete Response に至った症例の治療をい  
かに行うか—StageIV 胃癌の治療経験  
第64回日本消化器外科学会総会、大阪、

2009.7.16-18

K. Ohtsuki, C. Iwashita, M. Maruyama,  
N. Akutsu, T. Kenmochi, K. Saigo (2008)  
Two Patients with stage IV gastric cancers  
successfully treated by the combination  
Therapy of S-1 plus CDDP.  
14th Congress of the European Society of  
Surgical Oncology,  
10-12 September 2008 (The Hague, The  
Netherlands)

Kenichi Saigo, Naotake Akutsu, Michihiro  
Maruyama, Taihei Itoh, Kazunori Ohtsuki,  
Chikara Iwashita and Takeshi Kenmochi  
Epstein-Barr Virus (EBV)-associated  
Posttransplant lymphoproliferative  
disorders (PTLD)  
In Renal and Pancreas Recipients.  
67th Annual meeting of the Japanese Cancer  
Association, Nagoya, October 28-30 2008.

西郷健一、大月和宣、岩下 力、丸山通弘、  
坪 尚武、剣持敬 (2008)  
腎臓移植後に発症した移植後リンパ増殖症  
—当施設における治療経験  
第108回日本外科学会総会、長崎、  
2008.5.15~5.17

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

○取得状況 (計0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

西郷 健一 (SAIGO KENICHI)

研究者番号 : 60323424

(2) 研究分担者

( )

研究者番号 :

(3) 連携研究者

丸山 通広 (MARUYAMA MICHIIHIRO)

千葉東病院・臨床研究センター・室長

研究者番号 : 40399751

大月 和宣 (OHTSUKI KAZUNORI)

千葉東病院・臨床研究センター・室長

研究者番号 : 50399755

北村 博司 (KITAMURA HIROSHI)

千葉東病院・臨床研究センター・室長

研究者番号 : 40287701

坏 尚武 (AKUTSU NAOTAKE)

千葉東病院・臨床研究センター・室長

研究者番号 : 00344979

剣持 敬 (KENMOCHI TAKASHI)

千葉東病院・臨床研究センター長

研究者番号 : 50215133