

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 11 日現在

機関番号：11401

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23592378

研究課題名(和文) 移植腎線維増生関連因子の解析と免疫抑制薬個別投与量設計による線維化軽減効果の検討

研究課題名(英文) Factors Increasing Interstitial Fibrosis and Its Reduction with Personalized Dosing of Immunosuppressive Drugs after Kidney Transplantation

研究代表者

佐藤 滋 (Sato, 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) 3,300,000円、(間接経費) 990,000円

研究成果の概要(和文)： CYP3A5*3/*3 遺伝子型患者(非保有者)はCYP3A5*1 アレルを有する患者(保有者)に比べ少量の免疫抑制薬タクロリムス(Tac)で目標薬物血中濃度を維持できる。私達は最近、非保有者の移植腎間質線維増生(IF)が増大することを示した。これは予想以上にTac血中濃度上昇しているためと考えられた。そこで、CYP3A5遺伝子多型に基づいたTac個別初投与量設計を行い(個別群)、移植腎機能やIF増生について、個別投与していない群(非個別群)と比較した。

その結果、個別群の移植腎機能は良好であり、保有者群と非保有者群間の差が消失した。現在、IF増生についてはまだ解析中である。

研究成果の概要(英文)： Patients with CYP3A5*1 allele (CYP3A5 expressers) require a higher daily tacrolimus dose than those with CYP3A5*3/*3 genotype (non-expressers) in order to maintain target trough levels. Recently, we reported that renal cortical interstitial fibrosis (IF) from 0-hour to 1-year post-transplantation increased in non-expressers than CYP3A5 expressers. Therefore, we have started to a personalized initial dosing regimen of tacrolimus based on the CYP3A5 polymorphism. Initial oral doses of tacrolimus were 0.20mg/kg for CYP3A5 expressers and 0.10mg/kg for non-expressers. In the non-personalized regimen, all patients received 0.20mg/kg of tacrolimus.

In results, the personalized medicine of tacrolimus based on the CYP3A5 polymorphism may decrease the pharmacokinetic difference between two groups, and it may contribute better graft function in non-expressers in the early post-transplantation. We are analyzing the 1-year post-transplant outcome and IF.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・泌尿器科学

キーワード：腎移植 移植腎線維増生 臨床因子 遺伝子多型 免疫抑制薬 カルシニユリン阻害薬 個別投与量設計

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、科学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」をさらに発展させるものであった。

(1) 関連研究の動向と位置づけ

Pub Med で腎移植と遺伝子多型の 2 つのキーワードで論文を検索すると、1995 年から次第に論文数は増加し、2008 年には 100 以上の論文が世界から発表されている。一方、日本からの報告はほぼ皆無であったが、2004 年に私達がこの領域の研究成果を発表し、以後年間の発表論文数は 4 から 8 であるが、そのほとんどが私達からの報告であった。

(2) これまでの研究成果

線維組織増生の程度は通常半定量的な評価であるが、私達は画像解析装置を用いて定量的に測定し、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」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受賞し、研究内容は Transplantation (国際移植学会雑誌) に掲載された。

2. 研究の目的

研究の全体構想は長期腎移植生着の向上に寄与するための臨床研究である。特に長期生着を妨げる移植腎線維組織増生(いわゆる慢性移植腎症の組織像)に注目し、その臨床関連因子と患者の個体差を規定する因子である遺伝子多型を解析する。さらに、これまでの研究成果から、免疫抑制薬(カルシニューリン)代謝酵素がない CYP3A5 遺伝子多型では血中濃度が高くなり、線維増生と相関する

ことを見出した。そこで、遺伝子多型解析を基にしたカルシニューリン初期投与量の個別設計が、腎移植線維増生を軽減するかを検討する。期待される結果が得られれば、多施設共同研究に発展させるための準備企画まで行なう。

[何をどこまで明らかにするか]

以上より、当初の目的は以下の 4 点とした。

(1) 画像取込み装置を用いた画像解析

現在使用している画像解析装置 Nikon Eclipse E200 と解析ソフト WinRoof ver.5.5.0 は、組織スライドの取込みができない。そこで、移植腎生検組織を画像取込み装置に入力し、繰り返し測定による差や測定者による個人差が軽減するか否かを明らかにする。

(2) TGF beta や線維増生関連サイトカインと線維増生の関連性

TGF beta の活性が腎線維増生の一因となることが報告されている。CYP3A5 の遺伝子多型と免疫抑制薬の血中濃度のみならず、TGF beta や他のサイトカインの血中・尿中濃度や遺伝子多型が線維増生に関与しているか、同一の免疫抑制法を施行した 120 例に絞り、明らかにする。

(3) タクロリムス 1 日 2 回投与(プログラム: Tac-BID) と 1 日 1 回投与(グラセプタ: Tac-QD) の差

薬物服用遵守の観点から、1 日 2 回服用から 1 回服用薬となったが、線維増生と急性拒絶や感染症などの臨床事象の発症率の差について、20 例ずつの症例対照研究で比較し明らかにする。

(4) 薬理遺伝学に基づいたグラセプタ初期投与量設計の効果

これまでの研究から CYP3A5 遺伝子多型および薬物血中濃度が移植腎線維増生に関与していることを明らかにした。そこで、CYP3A5 酵素保有者(*1)にグラセプタ初期投与量を 0.2 mg/kg、酵素非保有

者(*3/*3)の初期投与量を半量の0.1 mg/kgとし、移植1年以内の急性拒絶反応発症率、感染症発症率、線維増生率は薬物個別設計をしなかった症例と比較し、個別医療設計の優位性・劣性について明らかにする。また、TGF betaやサイトカインの関与についても検討する。

3. 研究の方法

移植腎線維増生の危険因子とその機序を明らかにするため以下の研究方法を用いることとした。

- (1) 移植腎生検組織の画像取込みと画像解析による線維組織の解析
- (2) 血中尿中のTGF betaや他のサイトカイン濃度と遺伝子多型の解析
- (3) タクロリムス1日2回服用と1回服用症例での臨床事象発生率の比較
- (4) タクロリムス1回投与における薬理遺伝学に基づいた個別投与量設計の開始とその臨床効果

4. 研究成果

研究開始後、当初予定の研究内容の一部中止や新たな研究内容の追加があった。4つの当初目的に準じて成果を記載する。

- (1) 画像取込み装置を用いた画像解析
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。また、移植腎生検組織を画像取込み装置に入力し、繰り返し測定する新たな解析ソフトを利用し、先の解析とは別の研究者によって、移植腎すべての線維組織について解析した。
両解析法は測定する間質の部位が異なるため、その結果は比較できない。しか

し、前者の解析法と臨床事象を比較すると、線維増生が多い群の移植腎機能は低く、移植腎予後に影響していた。後者の測定法では、移植腎予後と関連性は認めなかった。

いずれの研究成果も、今年度中に論文発表する予定である。

- (2) TGF beta や線維増生関連サイトカインと線維増生の関連性
この内容の研究進捗はなく、中止した。
- (3) タクロリムス1日2回投与(プログラフ: Tac-BID)と1日1回投与(グラセプタ: Tac-QD)の差
薬物服用遵守の観点から、1日2回服用から1回服用薬となったが、線維増生と急性拒絶や感染症などの臨床事象の発症率の差について、20例ずつの症例対照研究で比較し明らかにする予定であった。

この3年間、最も時間と労力を費やし、Tac-BIDとTac-QDの薬物動態、薬理遺伝学の違いを検討した。

図1: 移植1月後の Tac-BID と Tac-QD の血中濃度曲線

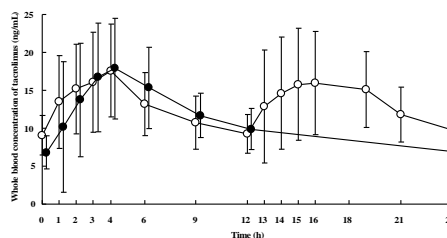


図2: 移植1月後の Tac-BID および Tac-QD のトラフ濃度(次回薬物服用直前の血中濃度)と24時間血中濃度時間曲線下面積(AUC)

いずれもほぼ同等に相関性を示した。こ

れは同等のトラフ値で同等の AUC が得るであろうことを示唆している。

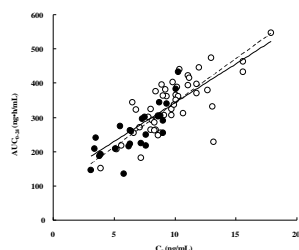
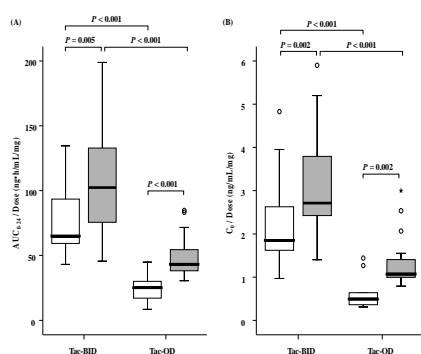


図 3：移植 1 月後の CYP3A5 保有者（白抜き）と非保有者（黒塗り）での Tac-BID および Tac-QD の投与量補正トラフ濃度（次回薬物服用直前の血中濃度）と 24 時間血中濃度時間曲線下面積（AUC）

CYP3A5 酵素保有者は非保有者より投与量補正トラフ値と 24hr AUC が Tac-BID および Tac-QD で低値であった。また Tac-QD において Tac-BID より低値であった。



(4) 薬理遺伝学に基づいたグラセプタ初期投与量設計の効果

これまでの研究から CYP3A5 遺伝子多型および薬物血中濃度が移植腎線維増生に関与していることを明らかにした。そこで、CYP3A5 酵素保有者（*1）にグラセプタ初期投与量を 0.2 mg/kg、酵素非

保有者（*3/*3）の初期投与量を半量の 0.1 mg/kg とし、移植 1 年以内の急性拒絶反応発症率、感染症発症率、線維増生率は薬物個別設計をしなかった症例と比較し、個別医療設計の優位性・劣性について明らかにする。この結果は本研究成果報告の概要に記載してある。

しかし、グラセプタ初期投与量を 0.2 mg/kg と 0.1 mg/kg にすると急性拒絶反応例が多く、H24 年 6 月よりグラセプタ初期投与量を酵素保有 0.3 mg/kg、酵素非保有者（*3/*3）0.2 mg/kg としてデータ収集をし直している。

本研究内容こそが、最も重要な部分であるが、途中で投与量変更を行ったため、現在データ収集中であり、最終的な成果報告には至っていない。

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 18 件)

1. Pharmaceutical and genetic determinants for interindividual differences of tacrolimus bioavailability in renal transplant recipients. Niioka T, Kagaya H, Miura M, Numakura K, Saito M, Inoue T, Habuchi T, Satoh S. (2013) Eur J Clin Pharmacol 69, 1659-1665. 査読有
2. A limited sampling strategy to estimate the area under the concentration-time curve of tacrolimus modified-release once-daily preparation in renal transplant recipients. Niioka T, Miura M, Kagaya H, Saito M, Numakura K, Habuchi T, Satoh S. (2013) Ther Drug Monit 35, 228-232. 査読有

3. Comparison of pharmacokinetics and pharmacogenetics of once- and twice-daily tacrolimus in the early stage after renal transplantation. Niioka T, Satoh S, Kagaya H, Numakura K, Inoue T, Saito M, Narita S, Tsuchiya N, Habuchi T, Miura M. (2012) Transplantation 94, 1013-101. 査読有
 4. Influence of NAT2 polymorphisms on sulfamethoxazole pharmacokinetics in renal transplant recipients. Kagaya H, Miura M, Niioka T, Saito M, Numakura K, Habuchi T, Satoh S. (2012) Antimicrob Agents Chemother 56, 825-829. 査読有
 5. Impact of the CYP3A4*1G polymorphism and its combination with CYP3A5 genotypes on tacrolimus pharmacokinetics in renal transplant patients. Miura M, Satoh S, Kagaya H, Saito M, et al. (2011) Pharmacogenomics 12, 977-984. 査読有
 6. Monitoring of mycophenolic acid predose concentration in the maintenance phase more than one year after renal transplantation. Miura M, Niioka T, Kato S, Kagaya H, Saito M, Habuchi T, Satoh S. (2011) Ther Drug Monit 33, 295-302. 査読有
 7. Factors increasing quantitative interstitial fibrosis from 0 hr to 1 year in living kidney transplant patients receiving tacrolimus. Miura Y, Satoh S, Saito M, Numakura K, Inoue T, Obara T, Tsuruta H, Narita S, Horikawa Y, Tsuchiya N, Komatsuda A, Kagaya H, Miura M, Habuchi T. (2011) Transplantation 91, 78-85. 査読有
 8. Pharmacogenetic determinants for interindividual difference of tacrolimus pharmacokinetics 1 year after renal transplantation. Miura M, Niioka T, Kagaya H, Saito M, Hayakari M, Habuchi T, Satoh S. (2011) J Clin Pharm Ther 36, 208-216. 査読有
 9. 腎移植患者における免疫抑制剤の個別化療法. 三浦昌朋, 佐藤 滋. (2013) 日病薬誌 49, 1061-1065. 査読無
 10. グラセプタのトラフ値はプログラフと同等か? 佐藤 滋, 新岡丈典, 加賀谷英彰, 沼倉一幸, 井上高光, 斎藤 満, 小峰直樹, 秋濱 晋, 成田伸太郎, 土谷順彦, 羽瀧友則, 三浦昌朋. (2013) 日本臨床腎移植学会雑誌 1, 78-81. 査読有
 11. タクロリムスの薬物動態・薬理遺伝学. 佐藤 滋. (2013) 今日の移植 26, 351-358. 査読無
 12. 腎移植の適応. 特集 腎移植治療の最前線. 佐藤 滋 (2013) 泌尿器外科 26, 1605-1610. 査読無
 13. 薬物動態、薬力学および薬理遺伝学に基づくミコフェノール酸の個別化療法の確立. 三浦昌朋, 佐藤 滋. (2011) 臨床薬理の進歩. 別冊 90-98. 査読無
- [学会発表](計 25 件)
1. Lack of clinical factors increasing quantitative interstitial fibrosis after renal transplantation under a lower target trough strategy of tacrolimus. Komine, N., Satoh S, Numakura K, Saito, M., Inoue T, Narita, S., Miura, Y., Tsuchiya, N., Kagaya, H., Miura M, Habuchi, H. (2013) The 108th Annunal Meeting of the American Urological Association, May, San Diego, USA
 2. Pharmacokinetics and CYP3A5 pharmacogenetics for once- versus twice-daily tacrolimus from first

- dosing day to 1 year post-transplantation. Satoh, S., Niioka, T., Kagaya, H., Numakura, K., Saito, M., Inoue, T., Komine, N., Akihama, S., Narita, S., Tsuchiya, T., Habuchi, T., Miura, M. (2013) The 13rd Annual Meeting of the American Transplant Congress, May, Seattle
3. Personalized initial dose of tacrolimus based on CYP3A5 polymorphism and its impact on 1-month graft function: a preliminary experience. Satoh S, Numakura K, Maita S, Obara T, Inoue T, Narita S, Horikawa Y, Tsuchiya N, Habuchi T, Kagaya H, Miura M. (2012) 24 th International Congress of the Transplantation Society, July, Berlin
4. Basiliximab induction therapy combined with a lower target trough level of tacrolimus and low dose of mycophenolate mofetil decreased interstitial fibrosis at 1-year posttransplantation and improved the 5-year graft survival Satoh S, Numakura K, Saito M, Miura Y, Obara T, Tsuruta H, Inoue T, Narita S, Horikawa Y, Tsuchiya N, Habuchi T, Kagaya H, Miura M (2011). The 106th Annual Meeting of the American Urological Association, May, Washington DC.
5. 特別講演 遺伝子多型解析を基にした移植免疫抑制剤投与量. 佐藤 滋. (2012) 第9回岐阜腎不全研究会, 12月, 岐阜.
6. 特別講演 MMF 血中濃度測定の現状. Global Consensus と最近の研究動向. 佐藤 滋. (2011) 第47回日本移植学会総会, 10月, 仙台.
7. 佐藤 滋, 三浦昌朋, 加賀谷英彰, 沼倉

一幸、齋藤 満、土谷順彦、羽瀧友則
(2011) タクロリムス薬物動態に及ぼす
CYP3A4*1G遺伝子多型の影響と
CYP3A5*1/*3との比較. 第47回日本移植
学会総会、10月、仙台

〔図書〕(計 1 件)

1. ミコフェノール酸モフェチル. 佐藤 滋, 三浦昌朋. (2013) 腎疾患治療マニユアル 2013-2014 腎と透析 74 増刊号(編) 腎と透析編集委員会, 東京医学社, 東京, pp727-730.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

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

(2) 研究分担者

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

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

井上 高光 (INOUE TAKAMITSU)
秋田大学・医学部・講師
研究者番号: 60375243

沼倉 一幸 (NUMAKURA KAZUYUKI)
秋田大学・医学部・助教
研究者番号: 90566415