

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 8 日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25460213

研究課題名(和文) CYP2D6遺伝子多型別トラマドール光学異性体血中濃度推移と効果に関する研究

研究課題名(英文) Effect of the CYP2D6*10 polymorphism on the pharmacokinetics and Pharmacodynamics of tramadol in cancer patients

研究代表者

須野 学 (Suno, Manabu)

岡山大学・医療教育統合開発センター・准教授

研究者番号：20621189

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：トラマドール(TR)代謝に関連するCYP2D6遺伝子多型別にTR血中濃度測定し、その血中濃度推移および副作用発現状況を調査した。その結果、CYP2D6遺伝子に変異を有し、CYP2D6代謝活性能力低下群では、変異のない通常代謝能力群と比較するとTR血中濃度が高く推移することを見出した。副作用の評価項目として抽出した頭痛、嘔気や嘔吐は、TR投与開始7日間では、CYP2D6代謝活性能力低下群での発現頻度は通常能力群より有意に高かった。TR服用の際には、CYP2D6遺伝子多型を考慮することによって、より効果的かつ安全ながん緩和ケアを提供できると考えられる。

研究成果の概要(英文)：CYP2D6, tramadol metabolism related enzymes, has polymorphisms. In this study, plasma concentrations of tramadol measured and, examined the plasma concentration changes of tramadol and occurrence of side effects in cancer pain patients. As a result, the plasma concentration of tramadol in patients with CYP2D6 intermediate metabolizer was higher than that in patients with CYP2D6 extensive metabolizer. Assessment of side effects, as headaches, nausea and vomiting, were observed on high frequency in the CYP2D6 intermediate metabolizer patients after tramadol administration 7 days. These finding suggests that considering the CYP2D6 polymorphism can be effectiveness and safely use for tramadol in cancer pain patients.

研究分野：臨床薬学

キーワード：トラマドール 光学異性体 遺伝子多型

1. 研究開始当初の背景

トラマドール(TR)は、コデイン類似の合成化合物であり、弱オピオイドに分類される。临床上の特徴としては、消化管運動抑制作用が弱いため消化器癌の患者にも使用しやすいこと、麻薬あるいは向精神薬の指定がないので処方しやすいことなどが上げられる。しかしながら、TRの鎮痛効果と副作用(悪心・嘔気や頭痛)発現頻度には大きな個人差があることが临床上問題となっている。TRの鎮痛効果は、 μ オピオイド受容体に対する弱い親和性と、TRは不斉炭素原子を持つことから(+)-TRと(-)-TRのラセミ体を有し、(+)-TRは選択的セロトニン再取り込み阻害作用、(-)-TRはノルアドレナリン再取り込み阻害作用と異なった作用機序を合わせ持つことで発揮されると考えられている。TRは、主に肝臓のCYP2D6によってO-デスメチルトラマドール(M1)に代謝される。M1は、 μ オピオイド受容体に対して未変化体よりも高い親和性を有するため、TRの数倍の鎮痛効果を発揮する。しかしながら、このCYP2D6酵素活性には遺伝的多型による人種差が存在し、日本人における変異型は、酵素が完全欠損している*5や酵素活性を減弱させる*10の対立遺伝子が報告されている。これらの変異型遺伝子を有している患者では、TRの代謝遅延が起これ、ノルアドレナリン再取り込み阻害の増強などによる副作用発現頻度の増大、あるいはM1生成量が低下することによって鎮痛効果を減弱させることが予測される。TRの効果を十分に発揮するためには、CYP2D6遺伝子多型別にTRの各光学異性体の薬物動態パラメーターを算出し、鎮痛効果や副作用発現頻度を評価する必要があると考えた。

2. 研究の目的

CYP2D6遺伝子多型を判定し、TRの各光学異性体の薬物動態パラメーターを解析することによって、CYP2D6遺伝子多型別に新規投与量の設定、あるいは得られる鎮痛効果や副作用発現の予測が可能ではないかと推定し、患者のCYP2D6遺伝子多型の判定、TRおよびM1光学異性体の血中濃度、臨床効果を測定することにより、次の3点を明らかにすることを目的とした。

- (1) CYP2D6遺伝子多型別のTR、M1の各光学異性体血中濃度推移から、TR、M1の各光学異性体の薬物動態学的パラメーター(C_{max}, AUC, 半減期など)。
- (2) TR、M1の薬物動態学的パラメーターを用い、鎮痛効果および副作用に関連するTR化合物の血中濃度域を推定することによって、それぞれに到達するTR投与量。
- (3) 最も鎮痛効果が得られた、あるいは副作用発現頻度の高いCYP2D6遺伝子多型を明らかにする。

3. 研究の方法

(1) TRおよびM1の光学異性体血中濃度測定
TRおよびM1の光学異性体血中濃度測定は、Chystilらの報告をもとに改変し、LC-MS/MS(液体クロマトグラフ-質量分析装置、LC装置; Prominence UFLC システム(シマズ)、MS/MS装置; トリプル四重極型質量分析装置 API 4000 (ABサイエックス)、解析ソフト; Analyst software version 1.5.1 (ABサイエックス))を用い、分析カラムにはCHIRALCEL OZ-3 (3 μ m, 150 mm \times 4.6 mm, i.d., DAISEL)を用い、TRおよび活性代謝体M1の光学異性体の同時測定方法を開発した。この方法を用いて臨床サンプルの測定を行った。臨床サンプルは、TR体内動態推移の検索として、入院患者初回TR投与患者群を対象に、投与前、投与後1, 2, 4, 8, 24, 48, 168時間後に採血を行い、測定サンプルとした。

(2) CYP2D6 遺伝子多型の判定

CYP2D6 遺伝子多型のうち*1(野生型)、*5(完全欠損)、*10(C100T, 酵素活性を減弱させる対立遺伝子)は、申請者がこれまでに発表したPCR-RFLP法(Leg. Med., 5, 132-138, 2003)に基づいて行った。その表現型は以下のように分類した。

- ①EM (extensive metabolizer; *1*1)
- ②HZ (heterozygous metabolizer; *1*5, *1*10)
- ③IM (intermediate metabolizer; *10*10)
- ④PM (poor metabolizer; *5*5, *5*10)

(3) 臨床サンプル

臨床サンプルは、TR体内動態推移の検索として、入院患者初回TR投与患者群を対象に、投与前、投与後1, 2, 4, 8, 24, 48, 168時間後に採血を行い、測定サンプルとした。本研究は、岡山大学臨床研究倫理審査委員会で承認を得て、文書にて同意の得られたTR投与患者12名を対象に行った。

(4) 効果および副作用モニタリング

治療に必要な生化学検査(電解質、肝機能、腎機能値など)、数値的疼痛評価スケール(VAS)を用いた疼痛評価、有害事象は国際標準版CTC-AE(ver 4.0)に基づき判定を行った。これらの得られたデータに基づき、統計的解析を総合して行った。(統計)薬物血中濃度などは平均値 \pm 標準偏差を求めた。

疼痛効果は、TR投与前、投与後3, 7, 14, 28日目に行った。疼痛評価はVASを用いて行った。VASで得られた値はbox plotを用いて評価した。TR治療前後におけるVASの比較はwilcoxonの符号付順位検定を用いた。CYP2D6遺伝子多型別の有害事象の発現頻度はスピアマンの順位相関係数を求め、各光学異性体血中濃度は分散分析を行った。

4. 研究成果

(1) TRおよびM1の光学異性体血中濃度測定
本研究にて開発した血漿中TR光学異性体ならびにその代謝体の測定は、図1に示すよう

に、良好な分離が得られ、TR およびその代謝体の同時測定が可能であった。本研究で開発した測定法は、精度、正確度および再現性も良好であり、FDA ガイドラインで示されている生体試料中薬物濃度測定の規定を満たしており、臨床サンプルの測定に適合していた (表 1)。

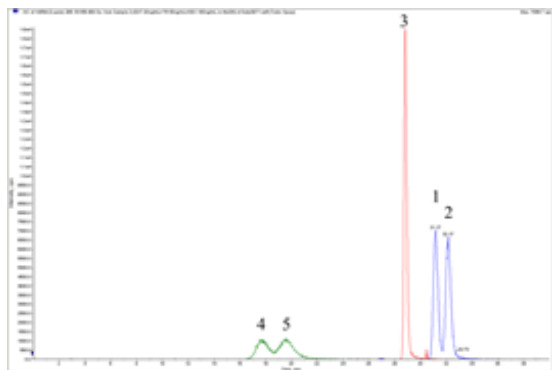


図 1. Chromatogram of (±)-Tramadol in patients plasma.

Peak 1; (+)-tramadol, 2; (-)-tramadol, 3; dexmedetomidine (Internal Standard) 4; (+)-O-desmethylnormetadone, 5; (-)-O-desmethylnormetadone

表 1 トラマドール光学異性体測定法における日内、日差試験

	QC 1		QC 2		QC 3	
	Accuracy (%)	Precision (CV %)	Accuracy (%)	Precision (CV %)	Accuracy (%)	Precision (CV %)
Intra-day variation						
(+)-TR	100.2	4.5	109.1	4.8	100.8	4.5
(-)-TR	102.8	5.5	103.0	5.1	103.6	4.7
Inter-day variation						
(+)-TR	104.1	3.4	104.7	3.7	99.5	4.4
(-)-TR	102.7	5.3	99.2	6.0	102.2	6.7

QC 1: 10 ng/mL of each enantiomer of TR; QC 2: 150 ng/mL of each enantiomer of TR; QC 3: 500 ng/mL of each enantiomer of TR.

表 2 患者背景

	CYP2D6*1/*1 (n=4)	CYP2D6*1/*10 (n=3)	CYP2D6*10/*10 (n=5)
Sex: F/M	2/2	2/1	3/2
Age (years)	47.1±13.2	49.5±14.3	50.3±12.7
Weight (kg)	65.3±14.8	63.4±8.7	64.6±11.2
Height (cm)	165.4±8.6	164.3±10.6	165.8±9.2
Dose of TR (mg/time)	50	50	50

Data were expressed as mean±SD

(2, 3) 臨床サンプルならびに CYP2D6 遺伝子多型の判定

表 2 に患者背景ならびに CYP2D6 遺伝子多型を示した。患者は、がん性疼痛のためトラマドールを投与開始する 12 名から同意が得られた。CYP2D6*1/*1 群 (EM); 4 名, CYP2D6*1/*10 群 (HM); 3 名, CYP2D6*10/*10 群 (IM); 5 名であり、CYP2D6*5 を有する症例はいなかった。身長、体重、年齢について、これら 3 群間に有意差はなかった。トラマド

ールは治療ガイドラインに従い、50mg/回が投与されていた。

(4) 効果および副作用モニタリング

① TR 血中濃度推移の評価

TR 治療開始から 7 日目までは、CYP2D6*10/*10 群は、CYP2D6*1/*1 および CYP2D6*1/*10 に比較し、(+)-TR、(-)-TR 濃度ともに高く推移する傾向が認められたが有意差は認めなかった。TR 投与 14 日目には、CYP2D6 genotype 間での TR 血中濃度の差はなくなった (表 3)。(±)TR の代謝体も同様な推移を示した。

表 3 CYP2D6 遺伝子多型別(±)-トラマドール血中濃度の変動

	CYP2D6*1/*1 (n=4)	CYP2D6*1/*10 (n=3)	CYP2D6*10/*10 (n=5)
day 7			
Trough (ng/mL)			
(+)-TR	60.2±15.3	58.5±14.4	80.3±25.6
(-)-TR	52.2±18.4	50.4±12.5	60.2±32.6
Cmax (ng/mL)			
(+)-TR	120.6±36.3	122.6±42.3	145.3±68.4
(-)-TR	100.8±42.1	106.0±48.8	118.0±53.8
day 14			
Trough (ng/mL)			
(+)-TR	62.3±22.9	61.5±23.5	69.6±46.0
(-)-TR	56.8±18.5	57.0±22.6	61.2±20.0

Data were expressed as mean±SD

② 疼痛評価と副作用

TR 治療開始 7 日目において、CYP2D6*1/*1 および CYP2D6*1/*10 群では良好な疼痛効果が得られたが、CYP2D6*10/*10 群では 7 日目では不十分は症例が認められた。VAS スコアも、CYP2D6*10/*10 群は、CYP2D6*1/*1 および CYP2D6*1/*10 群と比較すると有意に高かった (表 4)。また、CYP2D6*10/*10 群では、TR 投与 7 日目までの副作用として頭痛を発現した症例が 3/5 例 (CYP2D6*1/*1 および CYP2D6*1/*10 群では 1/7 例) であった(4)。

表 4 CYP2D6 遺伝子多型別治療効果と副作用発現頻度

	CYP2D6*1/*1 (n=4)	CYP2D6*1/*10 (n=3)	CYP2D6*10/*10 (n=5)
VAS (mean±SD, cm)			
day 7	2.6±1.3	1.8±0.6	3.8±1.6*
day 14	1.2±0.8	1.5±0.6	1.8±1.0
有害事象経験数			
day 7 まで	1	0	3
day 14 まで	1	1	2

VAS: visual analog scale, mean±SD; *p<0.05 (analyzed by repeated measures of ANOVA)

有害事象: 頭痛、嘔気・嘔吐

本研究では、LC-MSMS を用いた TR ラセミ、その代謝体同時血中濃度測定法を確立した。CYP2D6*10/*10 群では、投与初期 (day 7) では、TR 血中濃度は高く推移する傾向にあった。CYP2D6 遺伝子多型別に (+)TR と (-)TR トラフ濃度には有意な差を認めなかった。

VAS を用いた疼痛評価では、CYP2D6*10*10 群は、CYP2D6*1*1 および*1*10 群と比較すると TR 投与初期は疼痛コントロールが難しい傾向にあったが、day14 では CYP2D6 genotype 間の差異はない結果が得られた。TR 代謝体である M1(±)-O-desmethyltramadol は薬効を有しているため、今後、さらなる検討を続けたいと考える。また、今回の研究では、CYP2D6*10*10 群において TR 投与初期にめられた TR 血中濃度が高く推移する状況が TR 投与 14 日目には認められなくなったことは、TR が CYP2D6 を誘導していることも考えられる。このことは CYP2D6 完全欠損である*5 をもつ症例を検出し、データを収集することで解明できるのではないかと考える。

TR を用いた疼痛治療を行う場合、CYP2D6 遺伝子多型を考慮し、*10*10 患者群においては、TR 投与初期に鎮痛補助薬を勧める、あるいは有害事象の説明など、薬剤師が積極的介入することによって、より良い疼痛コントロールが得られる可能性がある。

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 4 件)

- ① Yasuko Kurata, Narumi Miyauchi, Manabu Suno, Takahiro Ito, Toshiaki Sendo, katsuyuki Kiura. Correlation of plasma crizotinib trough concentration with adverse events in patients with anaplastic lymphoma kinase positive non-small-cell lung cancer. Journal of Pharmaceutical Health Care and Sciences. 査読有, (2015)1:8, doi: 10.1186/s40780-014-0008-x
- ② Manabu Suno, Yuriko Endo, Nishie H, Makoto Kajizono, Toshiaki Sendo, Junji Matsuoka. Refractory cachexia is associated with increased plasma concentrations of fentanyl in cancer patients. Therapeutics and Clinical Risk Management. 査読有, (2015) 17;11:107-14. doi: 10.2147/TCRM.S74867.
- ③ Manabu Suno, Hidenori Ichihara, Takahiro Ishino, Kento Yamamoto and Yuta Yoshizaki, Photostability studies on (±)-tramadol in a liquid formulation. Journal of Pharmaceutical Health Care and Sciences, 査読有, (2015) 1:5, DOI 10.1186/s40780-014-0003-2
- ④ Kunitoshi Shigeyasu, Takeshi Nagasaka, Yoshiko Mori, Naosuke Yokomichi, Takashi Kawai, Tomokazu Fuji, Keisuke Kimura, Yuzo Umeda, Shunsuke Kagawa, Ajay Goel, Toshiyoshi Fujiwara.

Clinical Significance of MLH1 Methylation and CpG Island Methylator Phenotype as Prognostic Markers in Patients with Gastric Cancer. PLoS One. 査読有, (2015) 29;10(6):e0130409. doi: 10.1371/journal.pone.0130409.

[学会発表] (計 4 件)

- ① 須野学, 伊藤雄大, 山本健人, 吉崎祐太, 中西里佳. CYP2D6 遺伝子多型別トラマドール光学異性体血中濃度と臨床効果に関する研究. 2015 年 11 月 22 日, 第 25 回日本医療薬学会 (横浜)
- ② 中西里佳, 須野学, 伊藤雄大, 国沢卓之, 吉村学, 青木和葉, 黒澤温, 菅原亜美. ヒト血漿中および乳汁中の dexmedetomidine 濃度測定法の開発とその臨床応用 2015 年 11 月 22 日, 第 25 回日本医療薬学会 (横浜)
- ③ 伊藤雄大, 須野学, 坂本健太, 吉崎祐太, 川西秀明, 千堂年昭, 三好健太郎, 山根正修, 杉本誠一郎, 大藤剛宏. 肺移植患者におけるミコフェノール酸による移植後早期の下痢発現リスク因子の検討. 2015 年 11 月 22 日, 第 25 回日本医療薬学会 (横浜)
- ④ 市原英則, 青木和葉, 石野貴大, 遠藤友理子, 須野学, 北村佳久, 千堂年昭: "トラマドール光分解特性の解析およびトラマドール内用液剤の光安定性の評価" 2014 年 3 月 29 日, 日本薬学会 134 年会. (熊本)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

- 出願状況 (計 0 件)
- 取得状況 (計 0 件)

[その他]

ホームページ等, 特記なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

須野学 (SUNO, Manabu)
研究者番号: 20621189
岡山大学・医療教育統合開発センター・准教授

(2) 研究分担者

永坂 岳司 (NAGASAKA, Takeshi)
研究者番号: 30452569
岡山大学・病院・講師

北村 佳久 (KITAMURA, Yoshihisa)
研究者番号: 40423339
岡山大学・病院・准教授