

## 8. 生物学的製剤のリウマチ治療効果予測モデルの構築

中村 智徳

Key words: 関節リウマチ, アザチオプリン,  
イノシン三リン酸ピロホスファターゼ,  
代謝酵素遺伝子多型, DAS28

\*慶應義塾大学 薬学部  
医療薬学センター

### 緒言

アザチオプリン (AZA) は炎症性腸疾患や関節リウマチ (RA), 臓器移植, 全身性エリテマトーデスに古くから用いられてきた免疫抑制剤であり, 種々の酵素により代謝され, 薬効や副作用が現れる. RA の治療ガイドラインでは, メトトレキサート (MTX) が第一選択薬として推奨されているが, 肝・腎機能低下や, 副作用発現により MTX 服用を中止せざるを得ない患者もいる. その場合の選択薬として AZA が処方される機会が増えたが, 日本人 RA 患者の治療効果および副作用プロファイルは明らかにされていない.

そこで本研究では, 日本人 RA 患者を対象に AZA の代謝酵素である TPMT と ITPA の遺伝子多型が, RA の治療効果に対して与える影響を検証し, AZA の効果・副作用予測を試みる.

### 方法

1. 患者: 以下の3条件を満たす者とした.

- ・ 慶應義塾大学病院リウマチ内科を 2011 年 7 月～2014 年 9 月の期間に受診し, 米国・欧州リウマチ学会の分類基準 (2009 年) により関節リウマチと診断された 20 歳以上の日本人患者であること.
- ・ AZA を継続投与している者であること.
- ・ 本研究への参加に関し, 文書で同意取得済みであること.

2. 評価指標

- ・ 関節リウマチの活動性指標として以下の式により算出した DAS (disease activity score) 28 を用いた.  
 $DAS28 = 0.56\sqrt{TJC} + 0.28\sqrt{SJC} + 0.36 \ln(CRP+1) + 0.014GH + 0.96$ . (TJC = 圧痛関節数, SJC = 腫脹関節数, GH = 全般健康状態 (100 mm の VAS (Visual Analog Scale))).

3. DNA の抽出, 遺伝子型判定

- ・ DNA の抽出: QIAamp<sup>®</sup>DNA Blood Mini Kit (QIAGEN, Valencia, CA) を使用し, スピンプロトコールに従って抽出.
- ・ 検体: 臨床検査のために採取した血液の余剰検体.
- ・ 判定: Applied Biosystems (Foster City, CA, USA) の TaqMan<sup>®</sup> genotyping assay を使用し, Bio-Rad Laboratories の CFX96TM Real-Time RT-PCR にて PCR を実施した.

4. 統計解析

- ・ ITPA の遺伝子型 (ITPA 94C/C と C/A) と DAS28 の値および各種診療情報を Microsoft Excel<sup>®</sup> 2013 を用いて解析し, 有意水準  $P < 0.05$  とした以下の Unpaired Non-parametric 検定を行った. Mann-Whitney U-test 関連性の強さの比較検定, Fisher exact probability / Yates  $m \times n$  Chi square test.

\*現所属: 慶應義塾大学 薬学部 医療薬学部門

## 5. 臨床研究承認番号

慶應義塾大学薬学部臨床研究倫理委員会：承 140514-1, ヒトゲノム研究倫理委員会：承 G140514-1.

## 結 果

RA 患者 19 名（男性 2 名，女性 17 名）の背景を表 1 に示す。ITPA 94 野生型遺伝子 (C/C) を持つ患者は 14 名（男性 1 名 (5.26%)，女性 13 名 (68.4%)），ITPA 94C>A ヘテロ変異型遺伝子 (C/A) を持つ患者は 5 名（男性 1 名 (5.26%)，女性 4 名 (21.1%)）であった。C/C 患者群と C/A 患者群とを比較すると，年齢の平均値は， $64.7 \pm 9.70$  歳と  $65.6 \pm 5.73$  歳，RA の治療期間は  $15.3 \pm 17.6$  ヶ月と  $13.0 \pm 11.2$  ヶ月，RA の病期分類，いずれの項目についても両群で有意な差は無かった。

表 1. 患者背景

ITPA 94C>A mutation	C/C	C/A	P value
Number of Patients, n (%)	14 (73.7)	5 (26.3)	
Age, years, mean $\pm$ SD	$64.7 \pm 9.70$	$65.6 \pm 5.73$	0.428
Sex, n (%)			0.468
Male	1 (5.26)	1 (5.26)	
Female	13 (68.4)	4 (21.1)	
Duration of RA, month, mean $\pm$ SD	$15.3 \pm 17.6$	$13.0 \pm 11.2$	0.500
Stage of disease n (%)			0.907
I	0 (0)	1 (5.26)	
II	5 (26.3)	2 (10.5)	
III	1 (5.26)	0 (0)	
IV	6 (31.6)	2 (10.5)	

C/C 患者群と C/A 患者群とを比較すると，年齢の平均値，RA の治療期間，RA の病期分類，いずれの項目についても両群で有意な差は無かった。

DAS28 の治療前と治療後 6 ヶ月目の値を評価できた患者 16 名において，EULAR の改善基準で比較した項目を表 2 に示す。ITPA 94C/C 患者群と ITPA 94C/A 患者群で 6 ヶ月間の DAS28 の変化値に有意差はみられなかった ( $P = 0.406$ )。治療の反応率は，C/C 群 58.3%，C/A 群 25.0% だったが，統計学的に有意ではなかった ( $P = 0.569$ )。

表 2. 治療反応性

ITPA 94C>A mutation	C/C	C/A	P value
DAS28 score, mean $\pm$ SD	$3.92 \pm 2.25$	$3.29 \pm 2.23$	0.245
Changes between baseline evaluation and 6month follow-up in DAS score, mean $\pm$ SD	$-1.70 \pm 2.12$	$-1.23 \pm 2.00$	0.406
<b>response rate (responder/all, %)</b>	<b>7/12 (58.3)</b>	<b>1/4 (25.0)</b>	0.569

治療の反応率は，C/C 群 58.3%，C/A 群 25.0% だったが，統計学的に有意ではなかった ( $P = 0.569$ )。

C/C および C/A 両群の薬物治療について、生物学的製剤の使用、AZA の投与量、その調節や中止などの比較を表 3 に示す。いずれの項目についても両群で有意な差はなかったが、AZA の投与量では C/C 群  $1.21 \pm 0.523$  mg/kg/day に対して、C/A 群  $0.782 \pm 0.341$  mg/kg/day であった ( $P = 0.0516$ )。図 1 には患者の AZA 投与量の推移を示す。

表 3. 薬物治療に関する項目

ITPA 94C>A mutation	C/C	C/A	P value
<b>Biologic antirheumatic drugs, n (%)</b>			
with	11 (57.9)	5 (26.3)	0.530
without	3 (15.8)	0 (0)	
<b>Maintenance dose of AZA, mg/kg/day, mean <math>\pm</math> SD</b>	<b><math>1.21 \pm 0.523</math></b>	<b><math>0.782 \pm 0.341</math></b>	<b>0.0516</b>
<b>AZA administration, n (%)</b>			
discontinuation	5 (26.3)	3 (15.8)	0.677
continuation	9 (47.4)	2 (10.5)	
<b>Discontinuance rate (discontinuation/all, %)</b>	<b>5/14 (35.7)</b>	<b>3/5 (60.0)</b>	

いずれの項目についても両群で有意な差はなかったが、AZA の投与量では C/C 群 ( $1.21 \pm 0.523$  mg/kg/day) よりも C/A 群 ( $0.782 \pm 0.341$  mg/kg/day) で有意に低用量であった ( $P = 0.0516$ )。

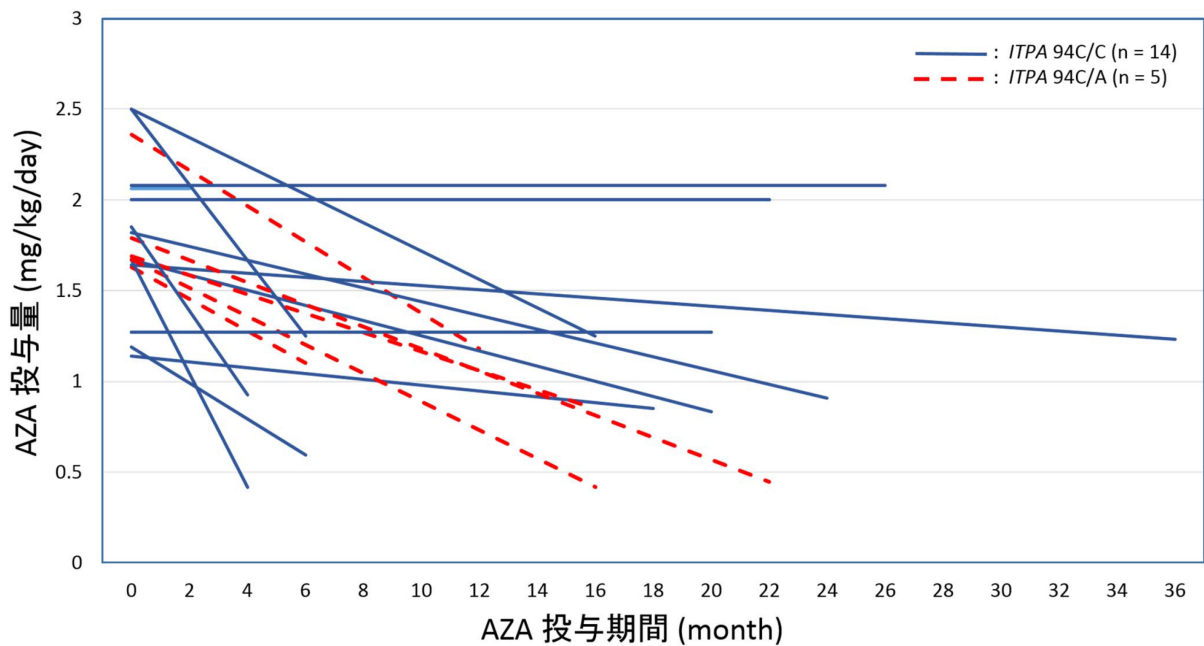


図 1. AZA 投与量と投与期間との関係。

ITPA 94C/C 群の患者よりも C/A 群の患者で、投与量が減少する患者の割合が多かった。

中止の理由として、C/C 群患者で肝障害が 3 名、嘔気が 1 名、不明が 1 名、C/A 群患者で肝障害 1 名、不明が 2 名であった。生物学的製剤は、野生型遺伝子患者でインフリキシマブが 6 名、トシリズマブが 3 名、エタネルセプトが 2 名、ヘテロ変異型遺伝子患者でインフリキシマブが 3 名、トシリズマブが 2 名で併用されていた。

## 考 察

本研究で AZA の投与量の傾向が両群で異なった理由としては2点が考えられる。第一には、ITPA 94C/C 患者と C/A 患者とが同量の AZA を投与されたことにより、6-TITP の生体内濃度が上昇し、C/A 患者で副作用が発現したことで AZA の減量が行われた。第二には、C/A 患者で AZA の投与量が少ないことにより、治療効果が出ずに AZA の中止に至った。AZA の減量や中止に至った理由を詳しく調査し、AZA の副作用や治療効果との関係をさらに検討する必要がある。

欧米の RA 患者を対象とした placebo-controlled randomized clinical trial や controlled clinical trial などの報告では、AZA の投与量は通常、2.0–3.0 mg/kg/day であった<sup>1)</sup>。英国での RA 患者を対象とした placebo-controlled double blind trial では 2.5 mg/kg/day での治療が 1.25 mg/kg/day より効果的であるとの報告もある<sup>2)</sup>。

本邦では、イムラン<sup>®</sup>錠 50 mg の添付文書より、治療抵抗性のリウマチ性疾患への用法用量は1日量 1–2 mg/kg 相当量を経口投与となっている。なお、1日量として 3 mg/kg を超えない範囲で症状により適宜増減が可能である<sup>3)</sup>。

日本人の RA 患者に対する AZA の適正な用量を示した報告はない。Stocco G. らの研究より、ITPA の活性は ITPA 94C/A 群で 25% 下がり、ITPA 94C>A 変異は ITPA のハプロタイプの中で、ITPA の活性の低下と最も関連のある変異である。また、急性リンパ球性白血病患者で、AZA の投与量を TPMT の変異やメルカプトプリン代謝産物濃度に基づいて調節したところ、ITPA 94C>A 変異を持つ患者では ITPA 94C/C 群の患者に比べて、発熱性好中球減少症の発症率が高かった<sup>4)</sup>。先行研究では、日本人 SLE 患者の AZA 代謝酵素遺伝子多型と SLE の疾患活動性 (SLE disease activity index: SLEDAI) について調査した。その結果、ITPA 94C>A 変異を持つ患者では副作用の発現に関しては明確な関連性はみられなかったが、変異を持たない患者に比べて有意に SLEDAI 値が低下した。また、ITPA 94C>A 以外の AZA 代謝酵素である TPMT\*3C, ITPA 138G>A, ITPA 563G>A, IMPDH 1575A>G, XO 837C>T, XO 2211C>T, XO 3030C>T 変異や、薬物輸送担体である MRP4 2269G>A 変異は、AZA の治療効果や副作用に影響を与えなかった。しかし、対象患者への AZA 投与量は 1.0 mg/kg/day からの減量はなかった<sup>5)</sup>。よって本研究でも ITPA 94 C/C 患者と ITPA 94C/A 患者で投与量が同量であれば、C/C 患者よりも C/A 患者の治療への反応性が良いという結果になったことも考えられる。

AZA の作用機序や代謝経路より、TPMT の変異アレル頻度が低い日本人では、ITPA 94C>A 変異の影響で、AZA の副作用が発現しやすく、AZA の治療効果が不十分となる可能性が高いと考えられる。

以上より本研究では、ITPA 94C>A 変異は AZA による RA 治療に対して、一定の影響を与える可能性が示唆された。今後は対象患者数をさらに増やし、ITPA 94C>A 変異と AZA の副作用や治療効果の有無についての相関関係を検討することで、日本人 RA 患者に対する AZA 治療をより安全かつ有効にする方法を見出すことができると考える。また、AZA による生物学的製剤への中和抗体の産生抑制効果の可能性についても調査する意義がある。

## 共同研究者

共同研究者は、慶應義塾大学薬学部の坂本麻味、中島 綾、青森 達、鈴木小夜、慶應義塾大学医学部リウマチ内科学の石岡江梨子、金子祐子、竹内 勤である。

## 文 献

- 1) Suarez-Almazor, M. E., Spooner, C. & Belseck, E. : Azathioprine for treating rheumatoid arthritis. *Cochrane Database Syst. Rev.*, **4** : CD001461, 2000.
- 2) Woodland, J., Chaput de Saintonge, D. M., Evans, S. J., Sharman, V. L. & Currey, H. L. : Azathioprine in rheumatoid arthritis: double-blind study of full versus half doses versus placebo. *Ann Rheum. Dis.*, **40** : 355-359, 1981.
- 3) イムラン錠<sup>®</sup>50 mg 添付文書. 2012 年 5 月改定 (第 13 版).
- 4) Stocco, G., Cheok, M. H., Crews, K. R., Dervieux, T., French, D., Pei, D., Yang, W., Cheng, C., Pui, C. H., Relling, M. V. & Evans, W. E. : Genetic polymorphism of inosine triphosphate pyrophosphatase is a determinant of mercaptopurine metabolism and toxicity during treatment for acute lymphoblastic leukemia. *Clin. Pharmacol. Ther.*, **85** : 164-172, 2009.
- 5) Nagamine, A., Takenaka, M., Aomori, T., Okada, Y., Hiromura, K., Nojima, Y., Araki, T., Nakamura, T. & Yamamoto, K. : Effect of genetic polymorphisms on effectiveness of low-dose azathioprine in Japanese patients with systemic lupus erythematosus. *Am. J. Health Syst. Pharm.*, **69** : 2072-2078, 2012.