

厚生労働科学研究費補助金

長寿科学総合研究事業

高齢者の薬物治療における薬物代謝酵素遺伝子
多型情報のシステム化と有用性の評価

平成14年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 大橋 京一

(浜松医科大学医学部教授)

平成15(2003)年4月

厚生科学研究費補助金
長寿科学総合研究事業

高齢者の薬物治療における薬物代謝酵素遺伝子多型情報の
システム化と有用性の評価

平成14年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 大橋 京一

平成15（2003）年 4月

目次

I	総括研究報告	
	高齢者の薬物治療における薬物代謝酵素遺伝子多型情報の システム化と有用性の評価	1
	大橋 京一	
II	分担研究報告	
	1. 高齢者における CYP2C19 遺伝子多型情報の有用性の研究	9
	大橋 京一	
	2. 遺伝子多型情報の臨床的有用性の検討	20
	渡辺 裕司	
	3. 高齢者における薬物有害反応と遺伝子多型との関連	24
	山田 浩	
	4. FRET を利用した微量 DNA 検体での SNP 測定	27
	平松 光夫	
	5. 遺伝子多型情報のシステム化	30
	橋本 久邦	
III	研究成果の刊行に関する一覧表	40
IV	研究成果の刊行物・別冊	

厚生科学研究費補助金（長寿科学総合研究事業）
総括研究報告書

高齢者の薬物治療における薬物代謝酵素遺伝子多型情報のシステム化と有用性の評価

主任研究者 大橋 京一
浜松医科大学医学部教授

研究要旨：薬物治療が主たる治療手段となる高齢者においては薬物代謝酵素遺伝子多型情報は適切な薬物投与計画の実施、あるいは薬物有害反応、薬物相互作用を回避する上で必要である。本研究は高齢者の薬物治療における薬物代謝酵素遺伝子多型情報の臨床上有用性と多型情報の医療機関内におけるシステム化の現状について焦点をおいて検討を行った。

(1) 消化性潰瘍と診断され *H. pylori* 陽性である患者において *H. pylori* 除菌療法と CYP2C19 の遺伝子多型との関係について検討した。CYP2C19 の遺伝子多型によって除菌率は異なり、PM 群は homEM 群より有意に *H. pylori* 除菌率が高かった。一方、clarithromycin 耐性菌では homEM の除菌率は若年者、高齢者ともに低かったが、hetEM では若年者で 25.0% と低いが高齢者では 100.0% 除菌可能であった。また、症候性胃食道逆流症の治癒率も CYP2C19 の遺伝子多型に依存することが明らかになった。CYP2C19 遺伝子多型情報は *H. pylori* 除菌療法及び症候性胃食道逆流症の治療に極めて有用であった。

(2) CYP2C9 遺伝子多型とアンギオテンシン II 受容体拮抗薬である candesartan の薬物動態と薬効について検討した。CYP2C9 のヘテロ型の遺伝子変異 (*1/*3) が認められた高齢者患者において、血漿中 candesartan 濃度は、高齢高血圧患者群に比べ高値を示し、Cl_{oral} は高齢高血圧患者群に比し 50% 低値であり、過度の降圧効果を生じた。CYP2C9*3 の allele を有する患者においては candesartan の薬物動態とともに降圧効果も変化することが認められた。

(3) CYP2C19 および CYP2D6 の遺伝子多型検査を行なった外来通院中の高齢者 33 名を対象とし、薬物有害反応について調査を行なった。平均服用薬剤数は 12±9 剤であった。有害反応発生の内訳は CYP2C19 では homEM7 名中 3 名、hetEM16 名中 6 名、PM6 名中 3 名、CYP2D6 では EM16 名中 8 名、IM3 名中 1 名に認められた。薬物代謝酵素遺伝子多型情報は薬物有害反応のモニタリングにおいて有用な情報である。

(4) 全国の日本内科学会認定教育施設（460 施設）に対して遺伝子多型検査の実施に関するアンケート調査を行った。600 床以上の医療機関では 40% で検査を実施しているが、病院システムとして整備されている施設は僅かであった。また、遺伝子解析を希望する施設は未実施の 70% と多いが、手技や費用と共に情報管理が問題点としてあげられた。我々はこれらの問題点を考慮して遺伝子多型情報利用のシステム案を提示した。

分担研究者

渡辺裕司（浜松医科大学医学部助教授）

山田 浩（浜松医科大学治験管理センター
助教授）

橋本久邦（浜松医科大学教授、薬剤部長）

平松光夫（浜松ホトニクス（株）中央研究所
室長代理）

A. 研究目的

近年、薬物代謝の個人差が遺伝的に決定され、遺伝的薬物代謝酵素多型が薬効や薬物有害反応の発現における個人差の主要因と考えられている。速やかにかつ確実な遺伝子多型情報が臨床現場で得られるならば、適切な薬物投与計画をたてることが可能になり、不必要な薬の投与を避け、薬物治療の適正化に有用となる。薬物治療が主たる治療手段となる高齢者においては薬物代謝酵素遺伝子多型情報は薬物有害反応、薬物相互作用を回避する上で必要である。さらに、この遺伝子多型情報を利用することにより、薬物治療の個別化が図られ、不必要な投与量、投与計画が減少し、医療経済的にも有用となるであろう。

まず本研究では、高齢者における遺伝子多型情報が *H. pylori* 除菌療法、並びにアンジオテンシン II 受容体拮抗薬による高血圧治療に有用性についての検討を目的とした。

胃潰瘍や十二指腸潰瘍の治療における *H. pylori* の除菌療法は現在、プロトンポンプ阻害剤 (PPI) と amoxicillin (AMPC)、及び clarithromycin (CAM) の三剤が用いられている。この治療法における PPI の役割は、胃内での抗菌剤の安定化、胃液中濃度の上昇と胃からの排出遅延、*H. pylori* の抗生剤感受性の増

加、PPI 自体の抗菌作用等が挙げられる。従って PPI の効果が十分発揮されるか否かは *H. pylori* の除菌の成否に影響する因子である。この PPI は CYP2C19 で主に代謝されるが、我々はこの CYP2C19 の遺伝子多型が PPI の酸分泌抑制効果に加えて PPI と抗生剤による *H. pylori* の除菌療法の成否に関わる因子であることをこれまで報告してきた(1-6)。一方、高齢者では一般に生理機能の低下に伴い、薬物の代謝、排泄能も低下しており、薬物の効果が若年者よりも増強しやすい可能性が考えられる。そこで、高齢者における *H. pylori* 除菌療法を CYP2C19 の遺伝子多型とともに比較検討した。

アンジオテンシン II 受容体拮抗薬である candesartan は現在、高齢者における高血圧治療薬として用いられている。Candesartan は CYP2C9 で主に代謝されることより、CYP2C9 の遺伝子変異を有する高齢者に投与された際に、予期せぬ有害反応が生じる可能性がある。CYP2C9 遺伝子多型と candesartan の薬物動態と薬効について検討した。

本研究を推進するためには簡便で迅速で安価な遺伝子変異の測定法を確立する必要がある。蛍光共鳴エネルギー転移 (FRET) 法は従来の PCR による方法に比し手間が少なく、迅速に測定が可能になり、臨床現場での利用が期待される(7)。本研究では FRET 法を薬物代謝酵素遺伝子多型測定に応用し、PCR を行う手間をはぶき、検体から抽出した DNA より直接測定が可能であるかを検討する。また、医療現場においては遺伝子多型情報を臨床活用するシステム化が、今後益々望まれてくるところであるが、個人情報の取り扱い等のシス

テムの構築が急がれている。そこで本研究においては、薬物代謝酵素遺伝子多型情報の臨床における取り扱いの現状をアンケート調査し、今後の方向性を提言する。

本研究は以上の研究を通して高齢者の薬物治療における遺伝子多型情報の有用性を検討し、オーダーメイド医療を実践するシステムを提言することを目的として実施している。

B. 研究方法

1. 内視鏡的に消化性潰瘍もしくは胃炎を認め、迅速ウレアーゼテスト、組織検査、培養法のいずれかにて *H. pylori* 陽性と診断された患者で *H. pylori* 除菌療法を完遂した患者を対象とした。*H. pylori* の除菌方法として、プロトンポンプ阻害剤である rabeprazole 10 mg、もしくは lansoprazole 30 mg 朝夕の二回内服と、さらに抗生物質である CAM 200 mg および、AMPC 500mg を一日三回内服を一週間行い、さらに消化性潰瘍患者は PPI の 6~8 週間投与を行った。投与終了一ヶ月以降に内視鏡検査をおこない、除菌判定をおこなった。CYP2C19 の遺伝子多型は患者血液もしくは胃粘膜生検組織より抽出された DNA より、PCR-RFLP 法にて行った。患者は除菌治療開始時の年齢によって 60 歳以上を高齢者、59 歳以下を若年者として比較検討した。*H. pylori* の CAM 耐性は培養もしくは *H. pylori* の 23S rRNA の 2143 位および 2144 位の A-G への変異の有無で検索した。頻度や除菌率の比較は Fisher's exact test にて行い、体重等の比較は one-way ANOVA にて行った。

2. 症例は 89 歳の男性で、高血圧および心不全 (NYHA 心機能分類 II 度) のため benidipine, doxazosin, spironolactone および furosemide

の投与を受けていた。Candesartan 初回投与時には自覚症状には変化がなかった。しかし、candesartan 投与後 2 日目より、服用して約 1 時間にふらつき感とめまいが出現し、さらにその翌日にも同様のふらつき感とめまいを強く自覚した。本患者より文書同意取得後、CYP2C9 の遺伝子型および candesartan の薬物動態を解析した。PCR-RFLP 法による CYP2C9 の遺伝子型判定にてヘテロ型の遺伝子変異 (*1/*3) が認められた。血漿中 candesartan 濃度は HPLC 法により測定した。

3. 1997 年 12 月から 2 年間に CYP2C19 および CYP2D6 の遺伝子多型検査を行なった外来通院中の高齢者 33 名 (年齢: 66±16 歳 (平均±S.D.) 男性 12 名、女性 21 名) を対象とした。追跡期間は遺伝子多型検査実施日より 2 年間とし、追跡期間中に受診した全ての科における服用薬剤および薬物有害反応についてカルテ調査を行なった。また、転院、転居などの諸事情により追跡不能であったものに関しては、転院先の主治医への質問用紙の郵送あるいは患者への電話により有害反応発現の有無を確認した。

次いで地域医療ネットワークでの遺伝情報共有化について診療所医師 20 名、当院医師 66 名および事務系職員 98 名計 184 名を対象とし無記名方式で文書によるアンケート調査を実施した。

4. 蛍光共鳴エネルギー転移 (FRET) 法による SNP 判定の対象試料として代表的な薬物代謝酵素である CYP2C19 を選択した。その SNP の部位を含む配列 *1, *2, *3 の領域をそれぞれ 2 つに分割し、それぞれに相補的な塩基配列を持つ蛍光標識オリゴヌクレオチドを作成した。これら 2 種類の蛍光標識オリゴヌクレ

オチドと標的DNAを溶液中で混合したときの蛍光スペクトル変化を測定した。3者によるハイブリッドが形成されると蛍光色素間でFRETが起り、蛍光スペクトルが変化する。SNPにより、標的DNAの塩基配列とプローブの塩基配列にミスマッチがある場合は、これらで形成されるハイブリッドの融解温度(T_m 値)は低下する。

5. 日本内科学会認定教育施設(460施設)の病院薬剤部(科)を対象に「薬物の体内動態及び反応性に関連する遺伝子検査の実施に関するアンケート」を送付し、我が国の遺伝子多型情報の現状について調査をおこなった。アンケートの内容は次の通りであった。

問1. 貴施設において薬物の体内動態や反応性に関連する酵素・受容体・輸送担体などの遺伝子変異についての解析を行ったことがありますか。

問2. 貴施設において倫理委員会はありますか。

問3. 解析を行った主体(個人・部署)はどこですか。

問4. 解析を行った遺伝子はなんですか。

問5. 今後、薬物の体内動態や反応性に関連する酵素・受容体・輸送担体などの遺伝子変異についての解析(外部依頼を含む)を行いたいと思いますか。

問6. 貴施設において現在までに解析を行わなかった理由はなんですか。

倫理面での配慮

臨床試験を実施する研究においては実施施設の倫理委員会の承認を得た上で、被験者に対し十分な説明を行い、文書で同意を取得した後に実施した。また、遺伝子解析については、3省庁の「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」の趣旨に添った浜松医科

大学遺伝子解析研究倫理審査委員会の承認ならびに被験者の同意を取得した後に実施した。

C. 研究結果

1. 若年者、高齢者における *H. pylori* 除菌率は、83.5% (142/170), 88.4% (38/43)であり、除菌率に統計学的な差は認めなかった ($P = 0.4197$)。CYP2C19の遺伝子多型との関連では、CYP2C19の遺伝子多型によって除菌率は異なり、homEM, hetEM, PMの順に除菌率は高くなり、PM群はhomEM群より有意に除菌率が高かった ($P = 0.0224$)。CYP2C19の遺伝子多型各群で若年者と高齢者の除菌率を比較すると、homEMでは若年者は81.2% (56/69)で高齢者は69.2% (9/13)であり、hetEMでは若年者は81.3% (61/75)で高齢者は96.0% (24/25)であり、PM群で若年者は96.1% (25/26)で高齢者は100.0% (5/5)であり、いずれも統計学的な有意差は認めなかった。

CAM耐性菌は全体の15.0% (32/213)に認めた。

CAM感受性菌に対する除菌率は90.1% (163/181)であるのに対して耐性菌に対する除菌率は53.1% (17/32)であり、CAM耐性菌に対する除菌率は有意に低かった ($P < 0.0001$)。この耐性菌の頻度を年齢群別に検討すると、若年者では11.8% (20/170)であるのに対し、高齢者では27.9% (12/43)に認め、高齢者での耐性菌の頻度は有意に高かった ($P = 0.0149$)。CAM感受性菌の除菌率はCYP2C19のいずれの多型群において高齢者と若年者で差は認めなかった。一方、CAM耐性菌ではhetEMにおいて若年者での除菌率は25.0% (2/8)と低い、高齢者での除菌率は100.0% (6/6)と良好であった ($P = 0.0050$)。PM群では高齢者、若年者共に良好な除菌率が得られた。

PPI による GERD 全体の治癒率は 63.1% (41/65) であった。多変量解析では治癒率に影響する因子は、CYP2C19 遺伝子多型と治療前の GERD 重症度であった。年齢は有意の寄与因子ではなかった。CYP2C19 遺伝子多型と治癒率の関係は、homEM; 45.8%、hetEM; 97.9%、PM; 84.6%であった。また、治療前の GERD 重症度が重症であるほど (C, D) 治癒率は低かった (A; 85%、B; 60.0%、C, D; 45.0%、)。CYP2C19 が homEM であり、重症度が C あるいは D の GERD では治癒率が極めて低かった (16.7%)。

2. 本症例は CYP2C9*1/*3 を認めており、血漿中 candesartan 濃度は、高齢高血圧患者群 (n=6、年齢: 67.2±1.7 (65-70) 歳) に比べ投与後 6 時間以降高値を示した。Candesartan の血漿中濃度推移から算出した薬物動態学的パラメータのうち、Cl_{oral} は本症例において高齢高血圧患者群に比べ 1/2 倍低値を示した。一方 AUC および MRT はいずれも 2.5 倍高値であった。また消失半減期は本症例では 14.3 時間と高齢高血圧患者群 (5.46 時間) に比べて 2.6 倍の延長を示した。非活性代謝物である M-2 の血漿中濃度は、本症例と高齢高血圧患者群との間で有意な差異は認められなかった。CYP2C9*3 の allele を有する患者においては candesartan の薬物動態とともに降圧効果も変化することが認められた。

3. 平均服用薬剤数は 12±9 剤であった。有害反応発生の内訳は CYP2C19 では homEM 3/7 名、hetEM 6/16 名、PM 3/6 名であり、CYP2D6 では EM 8/16 名、IM 1/3 名に認められた。薬物代謝酵素と関連した有害反応は CYP2C19 では diazepam による日中の眠気・幻暈、CYP2D6 では risperidol による薬剤性 Parkinsonism、

haloperidol による歩行障害であった。

遺伝情報共有化についてのアンケート回収率は 79% (診療所医師 85%、当院医師 77%、事務系職員 80%) であった。院内倫理指針の浸透度に関しては 69%の当院医師に浸透していた。患者遺伝子情報の施設間共有化に関しては、診療所医師、当院医師とも、「患者が複数の医療機関を受診していても正確な情報が得られる」 (77%、68%)、「患者が複数の医療機関を受診していても迅速な情報が得られる」 (65%、59%)、「検査が重複しなくてすむ」 (59%、82%) と回答された。一方事務系職員では、遺伝情報を他の医療機関と共有することについて、「メリットがある」36%に対し、「セキュリティに不安を感じる」59%と回答された。

4. ドナープローブの塩基数を一定 (20mer) とし、アクセプタープローブの長さ (塩基数) を変えた。一方 (ドナープローブ) の長さを 20 mer 以上に保つことで、配列に対する特異性を維持した。相補的な配列と SNP が存在する場合で、アクセプタープローブの長さが 20, 15, 12 mer のとき、T_m の差はそれぞれ 7, 10, 12 °C であった。また、SNP のある 12 mer の T_m は 35°C であった。

今回の検討では、最適なプローブの長さは、12 から 15mer 程度であった。

プローブの長さ (塩基数) が短くなるほど、ハイブリダイズ部位の塩基組成が、野生型と変異型の T_m 値の差に影響を与える可能性が大きくなる。

5. アンケートを送付した 460 施設のうち 319 施設 (69.3%) から回答を得た。薬物の体内動態及び反応性に関連する遺伝子解析を外部委託を含めて実施している施設は 25.1% であっ

た。遺伝子解析を行っている主体は、医師・薬局が 49.0%、薬剤部 28.1%、検査部 9.4%であった。

一方、未実施施設においても 65.1%が実施希望であるとの回答を得ている。遺伝子解析を行っていない理由は、解析の手技の問題 (20.5%)、遺伝子情報管理の問題 (12.6%)、臨床的意義が不明確 (11.6%) などが挙げられていた。

D. 考察

本研究は薬物治療が主たる治療手段となる高齢者において、薬物代謝酵素遺伝子多型情報が薬効を予測する有用であり、薬物有害反応、薬物相互作用を回避する上で必要であることが示された。さらに、この遺伝子多型情報を利用することにより、薬物治療の個別化が図られ、不必要な投与量、投与計画が減少し、医療経済的にも有用となるであろう。

PPI を用いた *H. pylori* の除菌療法は CYP2C19 の遺伝子多型の影響を受け、さらに CAM 耐性の有無の影響を受けたが、さらに CAM 耐性菌においては加齢の影響を受けることが示唆された。特にこれまでの報告では耐性菌の場合では *hetEM* では除菌率は低かったが、高齢者に限れば高い除菌率が期待できることが示唆された。今回の検討では CYP2C19 の *hetEM* では高齢者では CAM の耐性に関わらず除菌に成功しており、高齢者では *hetEM* でも PPI が十分に効果が発揮される血中濃度に達している可能性がある。その理由としては、PPI は CYP2C19 で代謝されるとともに CYP3A4 でも一部代謝されるが、この CYP3A4 の活性は加齢とともに低下することが知られている。また、PPI と CAM には相互作用が働くことは以前に

報告したが、CAM は CYP3A4 の加齢による活性の低下に伴い、ますますその代謝に CYP2C19 に依存するようになり、それは PPI の代謝をより阻害する事になると推察される。

現在、実際の医療現場で、高齢者における CYP 遺伝子多型と薬物有害反応との関連を長期にわたって科学的に追跡調査した報告はほとんどない。今回の 2 年間の追跡調査においては、追跡期間における服用薬剤数は平均 12 剤と非常に多く、CYP の基質となる薬物とその阻害剤との併用によって有害反応が発生した例も認められた。また、有害反応出現者の多くは複数の薬剤で有害反応を経験していた。多くの患者が有害反応を経験しているものの、今回の結果では遺伝子多型と有害反応との明確な関連は見出せなかった。その原因として、追跡調査を行なった PM に対して必ずしもその基質として知られている薬物が投与されていなかったこと、追跡調査を行なった PM の症例数が少なかったことなどが考えられた。服用薬剤数の多い高齢者に対しては薬物相互作用に十分注意を払い、可能であれば CYP 遺伝子多型検査を行なうシステムを構築し、薬物有害反応の発生に注意する必要がある。

診療所および病院医師に対するアンケート結果では、遺伝子情報を施設間で共有する場合、患者が複数の医療機関を受診していても迅速かつ正確な情報が得られると回答され、有害反応の未然回避へ結びつく可能性が示された。一方患者に比較的近い立場である事務系職員からは遺伝子情報を病院間で共有することに不安を感じているものも多く見受けられ、地域医療ネットワークでの遺伝子情報共有システム構築にあたって、倫理性を考慮したセキュリティの高いシステムの必要性が

認識された。

遺伝子解析の実施率は大学病院で高く、600床以上の施設では病床数に無関係で実施率は約40%であった。このことから、現時点では遺伝子解析は研究的な面が大きいと考えられる。遺伝子解析の主体は医師・医局が最も多かった。遺伝子解析未実施の施設においても実施希望は70.7%と高く、遺伝子解析に対する関心が高いことが明らかとなった。遺伝子解析実施上の問題点として、手技や費用などのハード面とならんで同意取得や情報管理などがあげられた。我々はそれらの問題点を考慮に入れた遺伝子多型情報利用のシステム案を提示した。この場合、薬物動態に関与するゲノムDNAにおいては、ゲノムDNAの保存を行わない場合は匿名化及び文書同意は必要ないとし、ゲノムDNAを保存し別の薬物動態および反応性関連遺伝子解析に供する場合は連結可能匿名化を行う、という点が特徴である。

E. 結論

本研究により、高齢者における遺伝子多型情報が *H. pylori* 除菌療法、症候性胃食道逆流症の治療並びにアンジオテンシンII受容体拮抗薬による高血圧治療に有用性であることが明らかになった。さらに、投与薬剤数の多い高齢者に対して、CYP 遺伝子多型情報は薬物相互作用、薬物有害反応を防止するために有用であった。

本研究のアンケートより、わが国の薬物動態に関する遺伝子解析の現状が把握できた。大学付属病院を中心に遺伝子解析を行っているが、ほとんどが研究目的にとどまっているのが現状であり、病院における遺伝子情報提供システムを構築している医療機関は極めて

僅かであった。今後倫理性を考慮したセキュリティの高い遺伝子多型情報を活用するシステム構築が求められる。

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Furuta T, Shirai N, Watanabe F, Honda S, Takeuchi K, Iida T, Sato Y, Kajimura M, Futami H, Takayanagi S, Yamada M, Ohashi K, Ishizaki T, Hanai H: Effect of Cytochrome P4502C19 genotypic differences on cure rates for gastroesophageal reflux disease by lansoprazole. Clin Pharmacol Ther 72: 453-460, 2002

2) Furuta T, Shirai N, Xiao F, Ohashi K, Ishizaki T : Effect of high-dose lansoprazole on intragastric pH in subjects who are homozygous extensive metabolizers of cytochrome P4502C19. Clin Pharmacol Ther 70: 484-492, 2001

3) Shirai N, Furuta T, Moriyama Y, Kobayashi K, Takashima M, Xiao F, Kosuge K, Nakagawa K, Hanai H, Chiba K, Ohashi K, Ishizaki T : Effect of CYP2C19-genotypic differences in the metabolism of omeprazole and rabeprazole on intragastric pH. Aliment Pharmacol Ther, 15(12): 1929-37, 2001

4) 大橋京一：高齢者の薬物代謝能。老年消化器病 13(1)：41-45, 2001

2. 学会発表

1) Ohashi K, Shirai N, Furuta T, Ishizaki T : Effect of lansoprazole and famotidine on daytime and nocturnal gastric pH in CYP2C19 genotype. 103rd meeting of American Society

for Clinical Pharmacology and Therapeutics,
Atlanta, March 27, 2002

2) 内田信也、渡辺裕司、山崎慶介、林秀晴、
大橋京一、橋本久邦：Candesartan 投与によ
り低血圧を示した CYP2C9 遺伝子変異 (*1/*3)
患者における薬物動態、第 22 回日本臨床薬理
学会、横浜、2001 年 12 月 15 日

3) 辻大樹、渥美位知子、夏目有希子、鈴木
千恵子、大貫よし子、堀雅博、生田孝、大橋
寿彦、清水貴子、渥美哲至、山田浩、大橋京
一：薬剤部における薬物有害反応や薬効低下
への対応—チトクローム P450 遺伝多型性検査
の導入について、第 21 回日本臨床薬理学会年
会、札幌、2000 年 9 月 28-29 日

4) 白井直人、古田隆久、森山陽子、大河内
秀昭、小林カオル、肖 芳、小菅和仁、中川
和子、花井洋行、大橋京一、千葉 寛、石崎
高志。Omeprazole および Rabeprazole 単回・
反復投与時に CYP2C19 の Genotype が胃内 pH
に与える影響、第 21 回日本臨床薬理学会年会、
札幌、2000 年 9 月 28-29 日

5) 内田信也、橋本久邦、小菅和仁、渡辺裕
司、大橋京一：薬物の体内動態及び反応性に
関連する遺伝子検査実施についての調査。第

23 回日本臨床薬理学会年会、大阪、2002 年 12
月 10 日

6) 辻大樹、鈴木千恵子、松本洋一、清水貴
子、渥美哲至、浅野正宏、山田浩、大橋京一：
地域医療ネットワークにおける倫理性を配慮
した遺伝子情報共有化システムに関するアン
ケート調査。日本臨床薬理学会年会、大阪、2002
年 12 月 10-11 日

研究協力者

小菅 和仁 浜松医科大学医学部助手

西尾信一郎 浜松医科大学医学部大学院

内田 信也 浜松医科大学薬剤部

辻 明彦 浜松ホトニクス (株)

山下 豊 浜松ホトニクス (株)

小田 元樹 浜松ホトニクス (株)

大前 悦子 浜松ホトニクス (株)

渥美 哲至 聖隷浜松病院臨床研究部長

辻 大樹 聖隷浜松病院薬剤部

鈴木千恵子 聖隷浜松病院臨床研究センター
課長

厚生科学研究費補助金（長寿科学総合研究事業）
分担研究報告書

高齢者における CYP2C19 遺伝子多型情報の有用性の研究

主任研究者 大橋 京一
浜松医科大学医学部 教授

研究要旨：高齢者は *H. pylori* 感染率が高く、消化性潰瘍あるいは症候性胃食道逆流症の罹患率が比較的高いことが知られている。プロトンポンプ阻害剤 (PPI) と amoxicillin (AMPC) および clarithromycin (CAM) による三剤療法が現在 *H. pylori* 除菌療法として行われている。三剤療法での *H. pylori* の除菌率を *H. pylori* の CAM 耐性、及び CYP2C19 の遺伝子多型とともに 60 歳以上の高齢者と 59 歳以下の若年者に分けて比較検討した。全体の *H. pylori* の除菌率は高齢者と若年者では差は認めなかったが、CAM 耐性菌の場合では若年者より高齢者での除菌率が高く、特に CYP2C19 の hetEM 群でその差を認めた。CYP2C19 の hetEM でも高齢者では CAM との相互作用も相まって、PPI の高い血中濃度が得られているために高い除菌率が得られたと推察される。また、CYP2C19 遺伝子多型情報は症候性胃食道逆流症の重症度と共に症候性胃食道逆流症の治癒率を決定する要因となりうる。

A. 研究目的

近年、薬物代謝の個人差が遺伝的に決定され、遺伝的薬物代謝酵素多型が薬効や薬物有害反応の発現における個人差の主要因と考えられている。速やかでかつ確実な遺伝子多型情報が臨床現場で得られるならば、適切な薬物投与計画をたてることが可能になり、不必要な薬の投与を避け、薬物治療の適正化に有用となる。薬物治療が主たる治療手段となる高齢者において薬物代謝酵素遺伝子多型情報は薬物有害反応、薬物相互作用を回避する上で必要である。

高齢者は *H. pylori* 感染率が 70%以上と高く、消化性潰瘍、特に潰瘍部からの出血性潰

瘍の罹患率が比較的高いことが知られている¹⁾。現在、プロトンポンプ阻害剤 (PPI) と amoxicillin (AMPC) および clarithromycin (CAM) による三剤療法が *H. pylori* 除菌療法として行われている。しかしながら、高齢者における *H. pylori* 除菌療法についてはほとんど報告がない。また、症候性胃食道逆流症 (Symptomatic Gastroesophageal reflux disease; GERD) は高齢者に比較的多く、PPI の適用と考えられているが、CYP2C19 遺伝子多型との関連については検討がなされていない。

肝薬物代謝酵素である CYP2C19 には Poor Metabolizer (PM) と Extensive metabolizer

(EM)の遺伝子多型が存在し、日本人では PM の割合が約 20%と欧米の白人(3-5%)に比して大であることが報告されている²⁾。PPI の omeprazole あるいは lansoprazole は主として CYP2C19 で代謝を受け、PM 群と EM 群で薬物動態が異なることが認められている。しかしながら CYP2C19 遺伝子多型の臨床効果上での意義については不明であった。我々は上部消化管潰瘍患者において omeprazole と AMPC の 2 者併用療法による *H. pylori* 除菌率と CYP2C19 遺伝子多型について検討してみた。この結果 PM 群では 100%の除菌率であったのに対し、ヘテロの EM 群では 60%、ホモの EM 群では 29%と CYP2C19 遺伝子多型に依存することを見出し³⁾、PM 群では omeprazole と AMPC の 2 剤併用療法で *H. pylori* の除菌が可能であると考えられた。さらに omeprazole の単回投与による胃酸分泌抑制作用は PM 群で EM 群よりも明らかに強いことを認め⁴⁾、十分な PPI 血中濃度の上昇と胃酸分泌抑制の長時間持続が重要と考えられた。しかし、除菌不成功例が十分な PPI 血中濃度に達していないためであるのか不明である。また、高齢者では一般に生理機能の低下に伴い、薬物の代謝、排泄能も低下しており、薬物の効果が若年者よりも増強しやすい可能性が考えられる⁵⁾。そこで、高齢者における *H. pylori* 除菌療法を中心に CYP2C19 の遺伝子多型情報の有用性について検討した。

B. 研究方法

1) *H. pylori* 除菌と CYP2C19 遺伝子多型

H. pylori 除菌対象患者は内視鏡的に消化性潰瘍もしくは胃炎を認め、迅速ウレアーゼテスト、組織検査、培養法のいずれかにて *H.*

pylori 陽性と診断された患者のうち後述の *H. pylori* 除菌療法を完遂した症例を対象とした(表 1)。

表 1. 被験者背景

	若年: ~59 歳以下	高齢:60 歳 以上	P-value
男女比 M/F	127/43	33/10	0.7824
体重 kg (mean ± SD)	60.2 ± 10.5	62.3 ± 9.1	0.2412
CYP2C19 (homEM/het EM/PM)	69/75/26	13/25/5	0.2579
除菌に用い た PPI の 種類 (LPZ/RPZ)	148/22	33/10	0.0908

H. pylori の除菌治療は、PPI である rabeprazole 10 mg、もしくは lansoprazole 30 mg 朝夕の二回内服と、さらに抗生物質である CAM 200 mg および、AMPC 500mg を一日三回内服を一週間行い、さらに消化性潰瘍患者は PPI の 6~8 週間投与を行い、投与終了一ヶ月以降に内視鏡検査をおこない、除菌判定をおこなった。

CYP2C19 の遺伝子多型は患者血液もしくは胃粘膜生検組織より抽出された DNA より、PCR-RFLP 法にて行った⁶⁾。患者は除菌治療開始時の年齢によって 60 歳以上を高齢者、59 歳以下を若年者として比較検討した。*H. pylori* の CAM 耐性は培養もしくは *H. pylori* の 23S rRNA の 2143 位および 2144 位の A-G への変異の有無で検索した⁷⁾。頻度や除菌率の比較は Fisher's exact test にて行い、体重等の比較は one-way ANOVA にて行った。そして、 $P < 0.05$ で統計学的に有意であると判定した。

2) GERD と CYP2C19 遺伝子多型

内視鏡的に GERD を認め、ロスアンゼルス重症度分類 (grade A ~ D) に分類した 65 名を対象とした。Lansoprazole 30 mg を一日一回内服し、8 週間経口投与を行った。Lansoprazole 30 mg の最終服薬後 3 時間目に採血し、血中 Lansoprazole 濃度を測定した。投与終了後に内視鏡検査において重症度の分類を行った。

CYP2C19 の遺伝子多型は前述のごとく患者血液もしくは胃粘膜生検組織より抽出された DNA より、PCR-RFLP 法にて行った。CYP2C19 遺伝子多型による治癒率等は one-way ANOVA にて行った。GERD の重症度や除菌率の比較は Fisher's exact test にて行った。P < 0.05 で統計学的に有意であると判定した。

C. 研究結果

1) *H. pylori* 除菌と CYP2C19 遺伝子多型

PPI、CAM、AMPC 併用による全体の除菌率は、84.5% (180/213) であった。若年者、高齢者における除菌率は、83.5% (142/170), 88.4% (38/43) であり、除菌率に統計学的な差は認めなかった (P = 0.4197) (図 1)。CYP2C19 の遺伝子多型との関連では、homEM 79.3% (65/82), hetEM 85.0% (85/100), PM 96.8% (30/31) であり、CYP2C19 の遺伝子多型によって除菌率は異なり、homEM, hetEM, PM の順に除菌率は高くなり、PM 群は homEM 群より有意に除菌率が高かった (P = 0.0224) (図 2)。CYP2C19 の各群で若年者と高齢者の除菌率を比較すると、homEM では若年者は 81.2% (56/69) で高齢者は 69.2% (9/13) であり、hetEM では若年者は 81.3% (61/75) で高齢者は 96.0% (24/25) であり、PM 群で若年者は 96.1% (25/26) で高齢者は 100.0% (5/5) であり、いずれも統計学的

な有意差は認めなかった (図 3)。

CAM 耐性菌は全体の 15.0% (32/213) に認めた。CAM 感受性菌に対する除菌率は 90.1% (163/181) であるのに対して耐性菌に対する除菌率は 53.1% (17/32) であり、CAM 耐性菌に対する除菌率は有意に低かった (P < 0.0001)。この耐性菌の頻度を年齢群別に検討すると、若年者では 11.8% (20/170) であるのに対し、高齢者では 27.9% (12/43) に認め、高齢者での耐性菌の頻度は有意に高かった (P = 0.0149)。耐性菌の有無別に除菌率を年齢群で比較検討すると、感受性菌では若年者の除菌率は 90.0% (135/150)、高齢者は 90.3% (28/31) であり、ほぼ同等であったが、耐性菌において、除菌率は若年者では 35.0% (7/20) であるのに対し、高齢者では 83.3% (10/12) と高齢者の除菌率が有意に高かった (P = 0.0118) (図 4)。

さらに CYP2C19 の遺伝子多型とともに除菌率を検討した結果を図 5 に示す。感受性菌の場合では CYP2C19 のいずれの多型の群でも高齢者と若年者で差は認めなかった。一方、耐性菌では CYP2C19 が homEM の場合、除菌率は若年者、高齢者ともに除菌率は低かったが、hetEM では若年者での除菌率は 25.0% (2/8) と低いが高齢者での除菌率は 100.0% (6/6) と良好であり、若年者と比較して有意に高かった (P = 0.0050)。PM 群では高齢者、若年者共に良好な除菌率が得られた。

2) GERD と CYP2C19 遺伝子多型

PPI による GERD 全体の治癒率は 63.1% (41/65) であった。多変量解析では治癒率に影響する因子は、CYP2C19 遺伝子多型と治療前の GERD 重症度であった。年齢は有意の寄与因子ではなかった。CYP2C19 遺伝子多型と治

癒率の関係は図 6 に示すごとく、homEM; 45.8%、hetEM; 97.9%、PM; 84.6%であった。また、治療前の GERD 重症度が重症であるほど (C, D) 治癒率は低かった (A; 85%、B; 60.0%、C, D; 45.0%、図 7)。CYP2C19 が homEM であり、重症度が C あるいは D の GERD では治癒率が極めて低かった (16.7%)。

血中 lansoprazole 濃度はこれまでの報告と同様に CYP2C19 遺伝子多型に依存していた (図 8)。GERD の治癒群では非治癒群に比し明らかに高い血中 lansoprazole 濃度を認めた (図 9)。

D. 考察

PPI を用いた *H. pylori* の除菌療法は CYP2C19 の遺伝子多型の影響を受け、さらに CAM 耐性の有無の影響を受けたが、さらに CAM 耐性菌においては加齢の影響を受けることが示唆された。特にこれまでの報告では、耐性菌の場合では hetEM において除菌率が低かったが、高齢者に限れば高い除菌率が期待できることが示唆された。CAM 耐性の場合では AMPC のみが抗生剤として作用するが、その AMPC は酸に弱いため、AMPC で除菌が成功する場合は、PPI で十分に胃酸が抑制されて AMPC が安定で十分に効く環境が整うことが必要である。今回の検討では CYP2C19 の hetEM では高齢者では CAM の耐性に関わらず除菌に成功しており、高齢者では hetEM でも PPI が十分に効果を発揮される血中濃度に達している可能性がある。その理由としては、PPI は CYP2C19 で代謝されるとともに CYP3A4 でも一部代謝されるが、この CYP3A4 の活性は加齢とともに低下することが知られている。また、PPI と CAM には相互作用が働くことは以前に報告したが、CAM

は CYP3A4 の加齢による活性の低下に伴い、ますますその代謝に CYP2C19 に依存するようになり、それは PPI の代謝をより阻害する事になると推察される。高齢者ではこうした CAM との相互作用に加えて 8)、加齢に伴う肝の薬物代謝能の低下にともない、hetEM でも PPI の血中濃度が上昇し、十分な酸分泌抑制効果が得られ、CAM 耐性菌でも十分な除菌効果が得られた可能性がある。今後は高齢者の hetEM では CAM を併用せずに PM と同様に十分な除菌効果が得られるかが検討課題である。

今回の検討で高齢者での CAM 耐性菌の出現頻度が高いことが認められた。高齢者では若年者に比較して、マクロライド系の抗生剤を処方される機会も多く、耐性菌の頻度が増加した可能性が推察される。

GERD の PPI による治癒は CYP2C19 遺伝子多型と治療前の GERD 重症度に依存していた。特に、homEM で GERD の重症度が grade C, D の患者での治癒率は極めて悪かった。血中 lansoprazole 濃度は CYP2C19 遺伝子多型により決定し 9)、PM では高い血中 lansoprazole 濃度により GERD の治癒率が高いと考えられる。夜間の胃酸分泌亢進 (NAB) は GERD 治療に重要な因子の一つであるが、homEM では hetEM, PM に比し NAB が頻回に認められることを報告している 9,10)。GERD の非治癒群の血中 lansoprazole 濃度は治癒群に比し有意に低く、homEM で治癒率が低い原因は低い血中 lansoprazole 濃度により NAB が抑えられないためと考えられる。

E. 結論

高齢者の hetEM では若年者以上に *H. pylori* 除菌率が高く、CYP2C19 の遺伝子多型、CAM 耐

性に加えて、さらに年齢を加味した処方計画がより安全で効率的な除菌療法に必要なになると考えられる。

高齢者で比較的頻度の高い GERD の治療においても CYP2C19 遺伝子情報は PPI 治療を予測する因子の一つとなりうる。

CYP2C19 遺伝子情報を治療開始前に知り得ることは、患者の適正な治療計画を立てるのに大いに役立つことであり、オーダーメイド医療の実践につながるものである。特に、*homEM* では通常の投与量では期待した効果が得られず、遺伝子多型情報に基づいた投与計画が必須となる。

参考文献

- 1) Pilotto A. Helicobacter pylori-associated peptic ulcer disease in older patients: current management strategies. *Drugs Aging* 18(7):487-494, 2001
- 2) Sohn DR, Kwon JT, Kim HK, Ishizaki T. Metabolic disposition of lansoprazole in relation to the S-mephenytoin 4-hydroxylation phenotype status. *Clin Pharmacol Ther* 61: 574-582, 1997
- 3) Furuta T, Ohashi K, Kamata T, Takashima M, Kosuge K, Kawasaki T, Hanai H, Kubota T, Ishizaki T, Kaneko E. Effect of genetic differences in omeprazole metabolism on cure rates for Helicobacter pylori infection and peptic ulcer. *Ann Intern Med* 129: 1027-30, 1998
- 4) Furuta T, Ohashi K, Kosuge K, Zhao XJ, Takashima M, Kimura M, Nishimoto M, Hanai H, Kaneko E, Ishizaki T. CYP2C19 genotype status and effect of omeprazole on intragastric pH in humans. *Clin Pharmacol Ther* 65: 552-61, 1999
- 5) 大橋京一: 高齢者の薬物代謝能. *老年消化器病* 13(1): 41-45, 2001
- 6) Kubota T, Chiba K, Ishizaki T. Genotyping of S-mephenytoin 4'-hydroxylation in an extended Japanese population. *Clin Pharmacol Ther* 60: 661-666, 1996
- 7) Maeda S, Yoshida H, Ogura K, Kanai F, Shiratori Y, Omata M. Helicobacter pylori specific nested PCR assay for the detection of 23S rRNA mutation associated with clarithromycin resistance. *Gut* 43:317-321, 1998
- 8) Furuta T, Ohashi K, Kobayashi K, Iida I, Yoshida H, Shirai N, Takashima M, Hanai H, Chiba K, Ishizaki T, Kaneko E. Effect of clarithromycin on the metabolism of omeprazole in relation to CYP2C19 genotype status in humans. *Clin Pharmacol Ther* 66: 265-74, 1999
- 9) Shirai N, Furuta T, Xiao F, Kajimura M, Hanai H, Ohashi K, Ishizaki T. Comparison of lansoprazole and famotidine for gastric acid inhibition during the daytime and night-time in different CYP2C19 genotype groups. *Aliment Pharmacol Ther* 16: 837-846, 2002
- 10) Furuta T, Shirai N, Xiao F, Ohashi K, Ishizaki T. Effect of high-dose lansoprazole on intragastric pH in subjects who are homozygous extensive metabolizers of cytochrome P450 2C19. *Clin Pharmacol Ther* 70: 484-92, 2001

G. 研究発表

1. 論文発表

Furuta T, Shirai N, Watanabe F, Honda S, Takeuchi K, Iida T, Sato Y, Kajimura M, Futami H, Takayanagi S, Yamada M, Ohashi K, Ishizaki T, Hanai H: Effect of CYP2C19 genotypic differences on cure rates for gastroesophageal reflux disease by lansoprazole. Clin Pharmacol Ther 72: 453-460, 2002

Furuta T, Shirai N, Xiao F, Ohashi K, Ishizaki T : Effect of high-dose lansoprazole on intragastric pH in subjects who are homozygous extensive metabolizers of cytochrome P4502C19. Clin Pharmacol Ther 70: 484-492, 2001

Shirai N, Furuta T, Moriyama Y, Kobayashi K, Takashima M, Xiao F, Kosuge K, Nakagawa K, Hanai H, Chiba K, Ohashi K, Ishizaki T : Effect of CYP2C19-genotypic differences in the metabolism of omeprazole and rabeprazole on intragastric pH. Aliment Pharmacol Ther, 15(12): 1929-37, 2001

大橋京一：高齢者の薬物代謝能. 老年消化器病 13(1): 41-45, 2001

2. 学会発表

白井直人、古田隆久、森山陽子、大河内秀昭、小林カオル、肖 芳、小菅和仁、中川和子、花井洋行、大橋京一、千葉 寛、石崎高志. Omeprazole および Rabeprazole 単回・反復投与時に CYP2C19 の Genotype が胃内 pH に与える影響、第 21 回日本臨床薬理学会年会、2000 年 9. 28, 札幌

Ohashi K., Shirai N., Furuta T., Kosuge K., Chiba K., Watanabe H., Ishizaki T. Effect of genetic differences on omeprazole and rabeprazole metabolism and 24-hour intragastric pH. 2001 Annual Meeting of American Society for Clinical Pharmacology and Therapeutics, 2001, 3. 24, Orlando, USA

【研究協力者】

古田 隆久 浜松医科大学医学部助手
白井 直人 浜松医科大学医学部大学院
小菅 和仁 浜松医科大学医学部助手
西尾信一郎 浜松医科大学医学部大学院

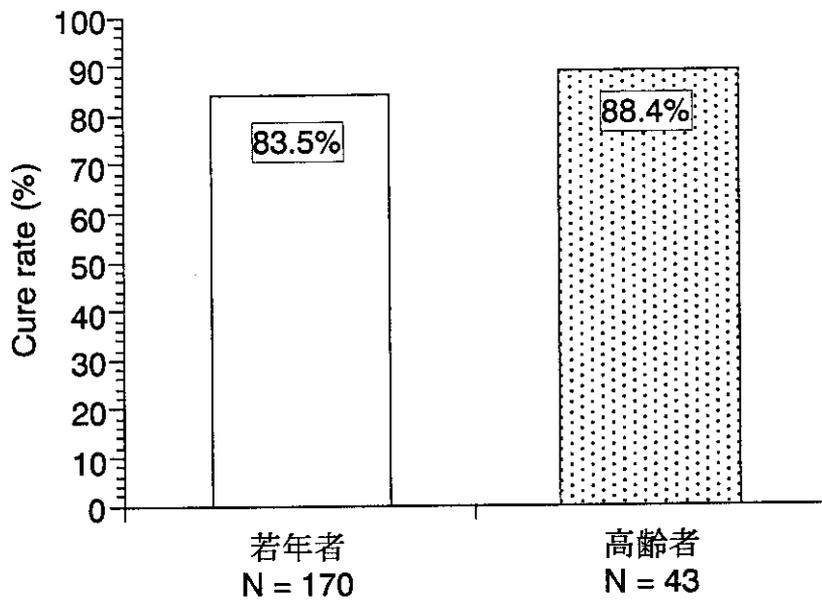


図1：若年者と高齢者における除菌率

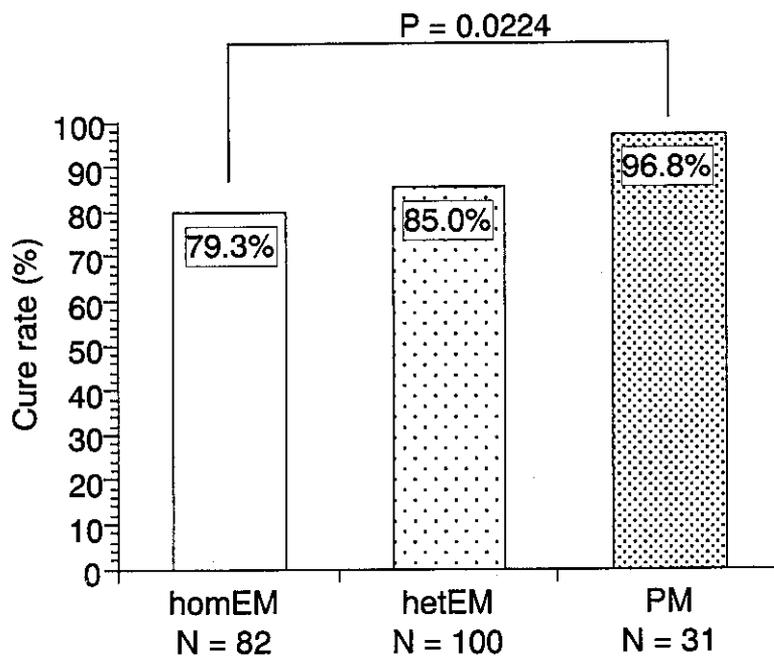


図2：CYP2C19遺伝子多型別による除菌率

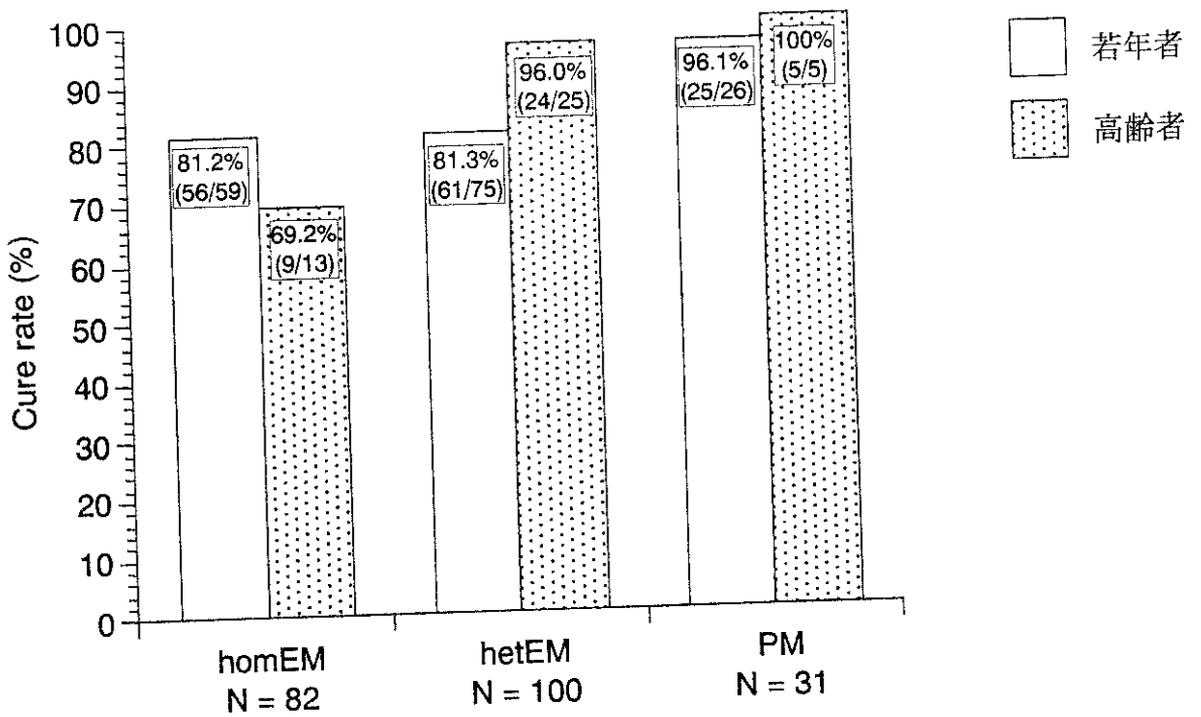


図3：高齢者と若年者のCYP2C19遺伝子多型別による除菌率

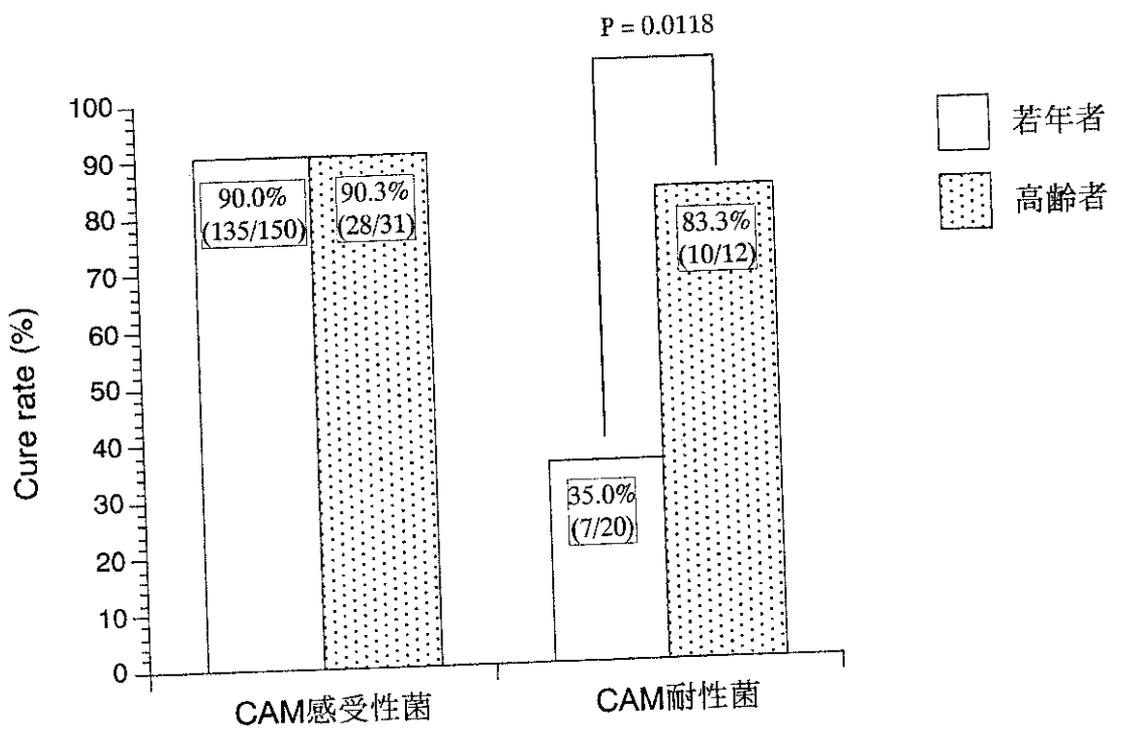


図4：Clarithromycin (CAM) 感受性菌と耐性菌における若年者と高齢者の除菌率

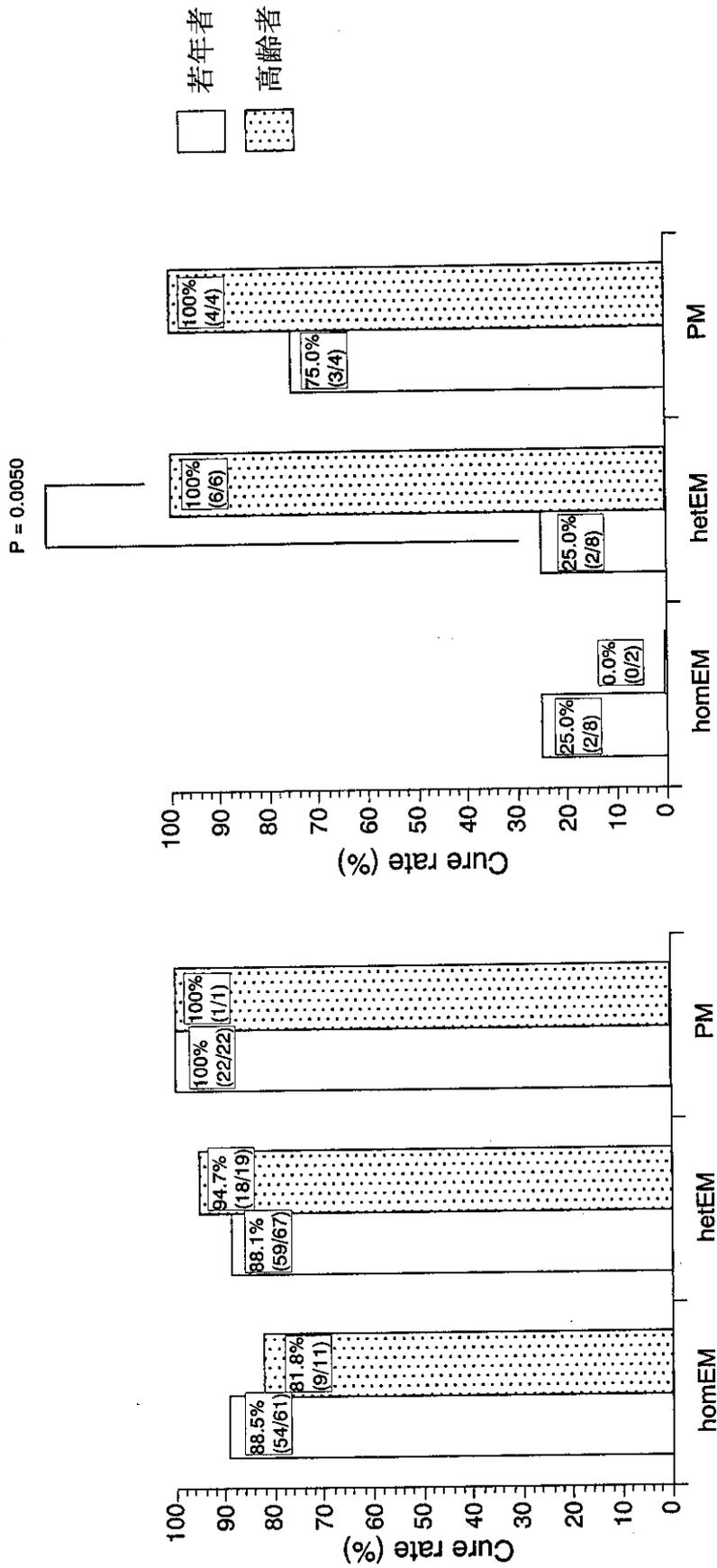


図 5 : Clarithromycin (CAM) 感受性菌と耐性菌におけるCYP2C19遺伝子多型別の除菌率
 A. CAM感受性菌
 B. CAM耐性菌

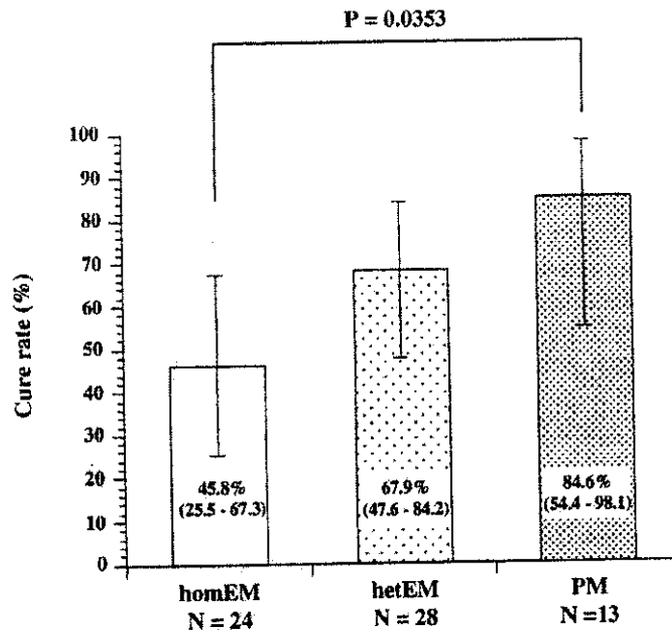


図 6 : CYP2C19 遺伝子多型別の GERD 治癒率

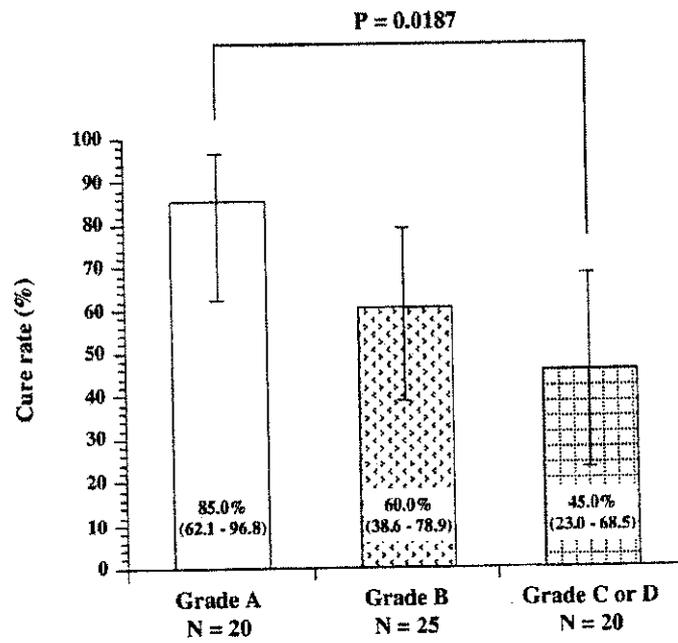


図 7 : 治療開始前の GERD 重症度と治癒率