




試験薬の服用チェックシート(回目)

年月日	朝 (6:00-12:00)	昼 (12:00-18:00)	夜 (18:00-24:00)	服用 回数	備考
外来診察日前日 20__年__月__日			PM __時__分		
外来診察日当日 20__年__月__日	AM __時__分	AM __時__分*			*午後の診察の 場合記入
外来診察予定日の2週間前から例に習って記入する。					
20__年__月__日	例) ○	○	○	3	約8時間毎
20__年__月__日					
20__年__月__日					
20__年__月__日					
20__年__月__日					
20__年__月__日					
20__年__月__日					
20__年__月__日					
20__年__月__日					
20__年__月__日					
20__年__月__日					
20__年__月__日					
20__年__月__日					
20__年__月__日					
20__年__月__日					

症例報告書 (回目)

1. 患者背景と用法・用量

施設名：	診療科：_____担当医：_____先生
被験者識別コード 男・女	生年月日（西暦） _____年 ____月 ____日
①疾患名： 1.高インスリン血症性低血糖症 2.その他（ _____ ）	
②発症日： _____年 ____月 ____日	
③重症度： 1. 軽症 2. 中等症 3. 重症	
④基礎疾患： 1. なし 2. あり（1. 軽症 2. 中等症 3. 重症）  疾患名： _____	
⑤合併症： 1. なし 2. あり（1. 軽症 2. 中等症 3. 重症）  疾患名： _____	
⑥前治療： 1. なし 2. あり（1. 手術 2. 投薬 3. その他）  質問⑦へ	
⑦ ⑥で前治療ありの場合 1. 手術（内容： _____ 年 ____月 ____日実施） 2. 投薬（薬剤名： _____ 投与量： _____mg/日 _____年__月__日～_____年__月__日） （薬剤名： _____ 投与量： _____mg/日 _____年__月__日～_____年__月__日） （薬剤名： _____ 投与量： _____mg/日 _____年__月__日～_____年__月__日）	
⑧ジアゾキシド投与開始日： _____年 ____月 ____日	
⑨ジアゾキシド投与量： 1回 _____mg 一日 ____回 （ _____年 ____月 ____日～ _____年 ____月 ____日） 1回 _____mg 一日 ____回 （ _____年 ____月 ____日～ _____年 ____月 ____日） 1回 _____mg 一日 ____回 （ _____年 ____月 ____日～ _____年 ____月 ____日）	
⑩剤型： 1.カプセル 2.粉末	
⑪併用薬： 1. なし 2. あり 	{ 薬剤名： _____ 投与量： _____mg/日 _____年__月__日～_____年__月__日） 薬剤名： _____ 投与量： _____mg/日 _____年__月__日～_____年__月__日） 薬剤名： _____ 投与量： _____mg/日 _____年__月__日～_____年__月__日）

2. 検査成績

(測定していない際はNAあるいは二重線を書き入れてください)

時期	前観察期間	観察開始日	投与後	投与後	投与後
年月日	20__年__月__日	20__年__月__日	20__年__月__日	20__年__月__日	20__年__月__日
体重 (kg)					
身長 (cm)					
血圧 (mmHg)					
脈拍数 (/min)					
血液学的検査					
赤血球数($\times 10^6/\mu\text{l}$)					
白血球数($\times 10^3/\mu\text{l}$)					
ヘモグロビン (g/dl)					
ヘマトクリット (%)					
好中球 ($\times 10^3/\mu\text{l}$)					
血小板 ($\times 10^3/\mu\text{l}$)					
HbA1c (%)					
グリコアルブミン (%)					
血液生化学的検査					
AST(GOT) (IU)					
ALT(GTP) (IU)					
尿酸 (mg/dl)					
尿素窒素 (mg/dl)					
クレアチニン(mg/dl)					
Na (mEq/l)					
K (mEq/l)					
Cl (mEq/l)					
グルコース(mg/dl)					
インスリン ($\mu\text{U/ml}$)					
尿検査					
糖	- ± + ++	- ± + ++	- ± + ++	- ± + ++	- ± + ++
蛋白	- ± + ++	- ± + ++	- ± + ++	- ± + ++	- ± + ++
潜血	- ± + ++	- ± + ++	- ± + ++	- ± + ++	- ± + ++
ケトン体	- ± + ++	- ± + ++	- ± + ++	- ± + ++	- ± + ++
血中濃度測定					

時期	前観察期間	観察開始日	投与後	投与後	投与後
年月日	20__年__月__日	20__年__月__日	20__年__月__日	20__年__月__日	20__年__月__日
測定時間	AM・PM __:__	AM・PM __:__	AM・PM __:__	AM・PM __:__	AM・PM __:__
血中濃度 (µg/ml)*					

*空欄のままで結構です。

3. 血清サンプル採取表

採血実施日	外来診察前日夜	外来診察当日朝	外来診察当日昼*
20__年__月__日 AM・PM __時__分	20__年__月__日 PM __時__分	20__年__月__日 AM __時__分	20__年__月__日 AM・PM __時__分
20__年__月__日 AM・PM __時__分	20__年__月__日 PM __時__分	20__年__月__日 AM __時__分	20__年__月__日 AM・PM __時__分
20__年__月__日 AM・PM __時__分	20__年__月__日 PM __時__分	20__年__月__日 AM __時__分	20__年__月__日 AM・PM __時__分

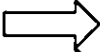

* 外来診察が午後で、採血前に朝と昼の2回服用した場合は、当日昼の服用時間も記入する。

3. 有害事象

①有害事象（臨床症状）：					
1. なし  ⑦「臨床検査値異常」へ 2. あり  ②以降の質問へ					
②有害事象の項目	③発現日	④重篤性	⑤本剤の処置	⑥本剤との因果関係	⑦転帰
1. 多毛 (含 毛深い)	20____年 ____月____日	1.非重篤（軽微） 2.非重篤 (軽微でない) 3.重篤	1.継続 2.減量 3.休薬	1.関係あり 2.おそらく関係あり 3.可能性あり 4.関係なし 5.評価不能	1.回復 2.軽快 3.未回復 4.後遺症有 5.死亡
2.肝障害	20____年 ____月____日	1.非重篤（軽微） 2.非重篤 (軽微でない) 3.重篤	1.継続 2.減量 3.休薬	1.関係あり 2.おそらく関係あり 3.可能性あり 4.関係なし 5.評価不能	1.回復 2.軽快 3.未回復 4.後遺症有 5.死亡
3.嘔気	20____年 ____月____日	1.非重篤（軽微） 2.非重篤 (軽微でない) 3.重篤	1.継続 2.減量 3.休薬	1.関係あり 2.おそらく関係あり 3.可能性あり 4.関係なし 5.評価不能	1.回復 2.軽快 3.未回復 4.後遺症有 5.死亡
4.乳房肥大	20____年 ____月____日	1.非重篤（軽微） 2.非重篤 (軽微でない) 3.重篤	1.継続 2.減量 3.休薬	1.関係あり 2.おそらく関係あり 3.可能性あり 4.関係なし 5.評価不能	1.回復 2.軽快 3.未回復 4.後遺症有 5.死亡
5.むくみ (全身)	20____年 ____月____日	1.非重篤（軽微） 2.非重篤 (軽微でない) 3.重篤	1.継続 2.減量 3.休薬	1.関係あり 2.おそらく関係あり 3.可能性あり 4.関係なし 5.評価不能	1.回復 2.軽快 3.未回復 4.後遺症有 5.死亡
6.むくみ (局所)	20____年 ____月____日	1.非重篤（軽微） 2.非重篤 (軽微でない) 3.重篤	1.継続 2.減量 3.休薬	1.関係あり 2.おそらく関係あり 3.可能性あり 4.関係なし 5.評価不能	1.回復 2.軽快 3.未回復 4.後遺症有 5.死亡
7.高血糖	20____年	1.非重篤（軽微）	1.継続	1.関係あり	1.回復

	___月___日	2.非重篤 (軽微でない) 3.重篤	2.減量 3.休薬	2.おそらく関係あり 3.可能性あり 4.関係なし 5.評価不能	2.軽快 3.未回復 4.後遺症有 5.死亡
8.その他 ()	20___年 ___月___日	1.非重篤 (軽微) 2.非重篤 (軽微でない) 3.重篤	1.継続 2.減量 3.休薬	1.関係あり 2.おそらく関係あり 3.可能性あり 4.関係なし 5.評価不能	1.回復 2.軽快 3.未回復 4.後遺症有 5.死亡
9.その他 ()	20___年 ___月___日	1.非重篤 (軽微) 2.非重篤 (軽微でない) 3.重篤	1.継続 2.減量 3.休薬	1.関係あり 2.おそらく関係あり 3.可能性あり 4.関係なし 5.評価不能	1.回復 2.軽快 3.未回復 4.後遺症有 5.死亡

⑦臨床検査値異常：

1. なし  項目4「有効性評価」へ
 2. あり  ⑧以降の質問へ

⑧ ⑦で異常ありの場合の臨床検査成績

項目	投与前 (___月___日)	投与中 (___月___日)	投与後 (___月___日)	⑨本剤との 因果関係 (番号で記入)

本剤との因果関係：

1. 関係あり 2. おそらく関係あり 3. 可能性あり 4. 関係なし 5. 評価不能

4. 有効性評価

①臨床効果： 1. 著効 2. 有効 3. やや有効 4. 無効 5. 評価不能				
②検査項目				
採血日、採血時間	グルコース mg/dl	HbA1c %	グリコアルブミン(%)	IRI μ U/ml
20__年__月__日 AM・PM__時__分				
20__年__月__日 AM・PM__時__分				
20__年__月__日 AM・PM__時__分				
20__年__月__日 AM・PM__時__分				
20__年__月__日 AM・PM__時__分				
③グルコース静注量				
投与期間			投与量	
20__年__月__日 ~ 20__年__月__日			mg/kg/min	
20__年__月__日 ~ 20__年__月__日			mg/kg/min	
20__年__月__日 ~ 20__年__月__日			mg/kg/min	
20__年__月__日 ~ 20__年__月__日			mg/kg/min	
20__年__月__日 ~ 20__年__月__日			mg/kg/min	
④臨床効果の判定根拠				

Proglidem®

カプセル剤、懸濁剤

一般名； Diazoxide ジアゾキシド

経口血糖上昇剤

【組成・性状】 **Proglidem** は利尿作用のないベンゾチアジド誘導体で、25、50 または 100 mg のジアゾキシドを含むカプセル剤あるいは、50 mg/mL のジアゾキシド懸濁剤として投与される。

【効能・効果】 経口投与されたジアゾキシドは、主に膵臓からのインスリン分泌を抑制することにより、さらには膵外作用により、迅速かつ用量依存的に血糖値を上昇させる。

ジアゾキシドはナトリウムと水分の排泄を減少させ、体液貯留を生ずることがあり、臨床上注意を要する。

経口投与の場合、血圧に対する効果は通常顕著ではない。

ジアゾキシドの他の薬理学的効果：脈拍数の増加；尿酸排泄減少による血清尿酸値の上昇；血清遊離脂肪酸の増加；塩化物排泄の減少；糸球体濾過速度に影響を及ぼさない程度のパラアミノ馬尿酸（PAH）クリアランスの減少。

【適応および用法】 **Proglidem** のカプセルと懸濁剤は下記のような高インスリン血症に起因する低血糖症の治療に有効である。

成人：手術適応のない膵島細胞腫や膵臓癌、及び膵臓以外の悪性腫瘍

幼児・小児：ロイシン過敏性低血糖症、膵島過形成、nesidioblastosis、膵島細胞腫、膵臓以外の悪性腫瘍及び糖原病。

術前や術後に低血糖が持続する場合は、一時的に、**Proglidem** のカプセルあるいは懸濁剤を投与することは可能である。

上記疾患に起因する低血糖症と診断された場合にのみ、**Proglidem** のカプセルあるいは懸濁剤が使用されること。

他の内科的治療や外科的治療で十分な効果が得られないか、または実施困難な場合は、**Proglidem** のカプセルあるいは懸濁剤による治療を考慮すべきである。

【用法・用量】 **Proglidem** のカプセルあるいは懸濁剤の投与が開始された場合は、患者は嚴重に臨床症状を観察されるべきである。患者の状態が十分に安定するまで、臨床症状と血糖値を嚴重にモニターすべきであり、多くの患者は数日で安定する。**Proglidem** のカプセルや懸濁剤の投与開始後 2、3 週間で効果を認めない場合は、投薬を中止すべきである。

Proglidem のカプセルや懸濁剤の服用量は、低血糖症状の重症度、血糖値および患者の臨床症状に基づいて個々に設定されなくてはならない。臨床的に、そして検査値的に望ましい効果が最少量の投薬で得られるまで、服用量は調節されるべきである。特に乳幼児や小児には正確な量を服用させるため、配慮

を要する。

成人・小児：一日 3 ～ 8 mg/kg、分 2～3、8 または 12 時間間隔。難治性の低血糖症の場合は増量を要する可能性がある。

通常、適切な開始時の用量は 3 mg/kg/day で 8 時間ごとの等間隔で一日 3 回である。

従って、平均成人の開始時の用量は一日約 200mg である。

幼児・新生児：通常用量は一日 8～15 mg/kg、分 2～3、8 または 12 時間間隔。適切な開始時の用量は 10mg/kg/day で 8 時間ごとの等間隔で一日 3 回である。

【薬物相互作用】ジアゾキシドは血清タンパクへの結合率が高いため、同様に蛋白結合するビリルビンやクマリン、あるいはその誘導体と競合し、それらの血中濃度を上昇させる可能性がある。従って、抗凝固剤はジアゾキシドの内服と併用する場合、減量を要する可能性がある。また高ビリルビン血症を合併する新生児に投与される際は、特に、ビリルビンと競合することを考慮すべきである。

ジアゾキシドとジフェニルヒダントインの併用内服による薬物相互作用が報告されている。これらの薬剤を併用すると、けいれんのコントロールが困難となる可能性がある。

サイアザイド系薬剤や他の通常よく使用される利尿薬との併用は、ジアゾキシドの血糖上昇作用や尿酸値上昇作用を増強する可能性がある。低カリウム血症の存在下では、血糖上昇作用は増強される。

ジアゾキシドによる血糖上昇作用はインスリンあるいはトルブタミドの投与によって拮抗される。

ジアゾキシドによるインスリン分泌抑制は α 遮断薬によって拮抗される。

他の血圧降下剤はジアゾキシドの内服を併用することにより、血圧降下作用が増強される可能性がある。これらの起こりうる相互作用は、**Progligem** のカプセルあるいは懸濁剤を投与するとき考慮されるべきである。

【有害事象】

頻度が高く重大な副作用：

ナトリウムと体液貯留は乳幼児や大人で最も多く認められる事象で、心機能が低下している患者ではうっ血性心不全を引き起こす可能性がある。

まれではあるが重大な副作用：

糖尿病性ケトアシドーシスや高浸透圧性非ケトン性昏睡が急激に生じる可能性がある。

その他の頻度が高い有害事象：産毛様の多毛が、主に前額部、背中及び四肢に認められることがあり、

特に子供や女性に生じやすく、美容上受け入れ難いと思われ、断薬の原因となりうる。

高血糖や尿糖を認めた場合、ケトアシドーシスや高浸透圧性非ケトン性昏睡の合併を防ぐために内服量の減量を要することがある。

胃腸障害として、食欲不振、吐き気、嘔吐、腹痛、腸閉塞、下痢、一過性の味覚消失などが生じる可能性がある。

頻脈、動悸、血中尿酸値の上昇を伴いやすい。

血小板減少症は紫斑の有無にかかわらず、投与の中止を要することがある。好中球減少は一過性であり、多くは易感染性の危険を伴わず、通常、投与の中止を必要としない。発疹、頭痛、虚脱感や疲労感も伴うことがある。

その他観察された有害事象：

心血管系：低血圧を認めることがある。これはサイアザイド系利尿剤との同時投与により、増強されうる。一過性の高血圧を認めることがある。胸痛がまれに報告されている。

血液：好酸球増多症；ヘモグロビン／ヘマトクリットの減少；出血傾向；IgG の減少

肝臓・腎臓：血清 AST (GOT) や ALP の上昇；高窒素血症、クレアチニンクリアランスの低下、可逆性のネフローゼ症候群、尿量減少、血尿、アルブミン尿

神経：不安、めまい、不眠症、多発性神経炎、感覚異常、かゆみ、錐体外路症状

眼：一過性の白内障、結膜下出血、輪状暗点、目のかすみ、複視、流涙症

骨格・皮膚：モリニア皮膚炎、ヘルペス、骨年齢促進、頭髮の脱毛

全身：発熱、リンパ節腫脹。

その他：痛風、急性膵炎／膵臓の壊死、乳汁漏出、乳房腫大

【禁忌】高インスリン性低血糖症以外の原因による絶対的な糖不足に反応した低血糖症（脱水、胃腸炎、絶食など）では、ジアゾキシドの投与は禁忌であり、糖の補給や原疾患の治療を考慮する。ジアゾキシドおよび他のサイアザイドに過敏症の患者には **Proglidem** のカプセルおよび懸濁剤の使用は禁忌である。

【注意】 **Proglidem** のカプセルあるいは懸濁剤を投与する際、患者の臨床症状を厳重に観察すべきである。

長期の投与では、血糖値や尿糖および尿ケトン体を定期的にモニタリングする必要がある。

そして造血系や血中尿酸値へのジアゾキシドの影響を考慮すべきである。

ジアゾキシドの抗利尿作用は重篤な体液貯留を生じることがあり、心機能が低下した患者ではうっ血性心不全を誘発する恐れがある。

Proglidem のカプセルや懸濁剤を通常量投与されている患者で、ケトアシドーシスや高浸透圧性非ケトン性昏睡を認めることがあるが、他の疾患を併発した時に生じている。早期発見と早期治療が必須である。

幼児で高浸透圧性昏睡に起因した一過性の白内障を合併したが、高浸透圧血症を治療することにより軽快した。

Proglidem のカプセル剤より液剤の内服で高い血中濃度を認めることがある。剤型を変更する場合は、個々の患者で用量の調節をすべきである。ジアゾキシドの半減期は、腎機能の低下した患者では長くなるので、投与量の減量を考慮すべきである。このような患者では、血清電解質バランスも評価すべきである。

【妊婦への投与】妊婦への使用の安全性は確立されていない。 **Proglidem** のカプセルや懸濁剤の使用を考慮するとき、母親への可能な利益と胎児に起こりうる有害性を比較しなければならない。

【過量投与】 **Proglidem** のカプセルあるいは懸濁剤の過量投与は著明な高血糖を生じ、ケトアシドーシスを合併する可能性がある。この場合、直ちにインスリンを投与することにより、体液貯留と電解質バランスの補正が可能である。ジアゾキシドの半減期は極めて長いため、血糖値が正常範囲に安定し、過量投与の症状が消失するまでには、7日間の監視が必要である。

腹膜透析および血液透析によってジアゾキシドの血中濃度を低下できた例が報告されている。

【包装】

Proglidem カプセル、25mg、1シートに20カプセル、5シート在中

Proglidem カプセル、50mg、1瓶に100カプセル在中

Proglidem カプセル、100mg、1シートに20カプセル、5シート在中

Proglidem 懸濁剤 50 mg/ml、チョコレートミント風味、1瓶が30ml。10、20、30、40 及び 50 mg 相当のジアゾキシドを採取するための目盛りが付けられたスポイトが添えられている。使用前によく振ること。遮光。

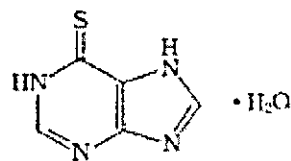
厚生労働科学研究費補助金
(小児疾患臨床研究：小児疾患臨床研究分野)

TPMT*3C スクリーニング検査運用の実際
分担研究者 小崎健次郎 (慶應義塾大学医学部小児科 助教授)

研究要旨 小児リンパ芽球性白血病治療の中心的薬剤である6メルカプトプリン(以下6MP)はチオプリンメチル転移酵素(以下TPMT)により不活化される。TPMT機能の低下する多型を有する患者では6MP投与時に強い骨髄抑制が生じる。6MPやアザチオプリンの投与前に赤血球TPMT活性を測定して副作用を事前回避する試みが行われているが、輸血すると患者自身のTPMT酵素活性を測定することが出来なくなる。そこで6MP投与前に遺伝子検査を行ってリスクの高い患者を同定することが出来れば、低用量で治療を開始することにより副作用の発症を防止できると期待されている。白人においてTPMTの活性の個人差を規定する要因として、現在*2、*3A、*3C等のSNPが知られており、このSNPsを有する患者は、TPMT活性が低値ないし中間値である者の80から95%をしめる。変異アレルの種類と頻度は民族間で異なっている。たとえば、*2アレル(G238C)は欧米白人における変異アレルの6-9%をしめるが、アフリカ人やアジア人においては同定されていない。これらのことから、非白人においては*2アレルの頻度は非常に低いと考えられる。日本人健康人ボランティアでは、TPMT*3Cのみが検出されており、アレル頻度は0.8%であった。我々は、日本人に認められるTPMT*3C多型の患者情報を臨床で利用可能にする為、迅速なTPMT*3C多型スクリーニングシステムを確立した。本稿では検査の運用の実際を報告する。

研究協力者

森 鉄也 慶應義塾大学医学部小児科 専任講師
山岸敬幸 慶應義塾大学医学部小児科 専任講師
熊谷昌明 国立成育医療センター血液腫瘍科
医員
杉田憲一 獨協医科大学病院小児科 助教授
鮫島葉月 慶應義塾大学医学部小児科 研究員



A. 研究目的

6メルカプトプリン(以下、6-MP、商品名ロイケリン)はプリン体の類似体である。

6-MPは急性白血病・慢性骨髄性白血病にたいして保険適応が認められており、小児期において最も頻度の高い悪性腫瘍であるALLの治療において、維持療法の中心的薬剤である。維持療法の

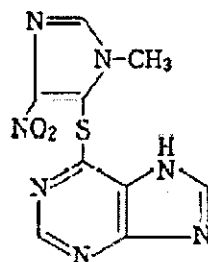
2~3年間の期間中、患者は6MPとメソトレキセートの組み合わせを内服する。この期間中、患者の骨髄は抑制された状況に置かれ、その程度を参照しつつ薬剤投与のスケジュールが決定される。

小児期のALLは治療可能な疾患と考えられているものの、一部の症例は完治しない。治療成績の向上を目指すためには、6MPの複雑な薬理学的特性を理解する必要がある。特に80%のALLの再発例は造血組織内で起こっており、骨髄において6MPが十分に効果を発揮することが重要である。6MPはいわゆるプロドラッグで薬効を発現する前に代謝される必要があり、その抗腫瘍活性は投与量ばかりでなく、6MPから活性中間体への変換効率によっても大きな影響を受ける。まず6MPは6-thioinosine monophosphateに変換され、その後、6-thioguanine triphosphate nucleotide (6-TGN)に変換される。6-TGNがDNAに取り込まれることにより、DNAリガーゼ・エンドヌクレアーゼ・ポリメラーゼの阻害により6-MPの抗腫瘍活性が発揮される。

6-MPは主として肝臓でキサンチンオキシダーゼ(XO)によってチオ尿素(thiouric acid)に代謝されて尿中に排出される。XOは小腸・肝臓に発現しているが、血球細胞にはほとんど存在しない。また6-MPは標的臓器である造血細胞中で、ヒポキサンチン Guanin ホスホリボシル転移酵素(HGPRT)によりチオグアニン化合物に変換され、薬効と細胞毒性を発揮する。一部の6-MPはチオグアニン化合物に変換されることなくチオプリン転移酵素(TPMT)によりメチル化され、不活化される。メチル化した6MPと6-TIMPはプリンサルベージ経路を阻害する作用を有するが、毒性効果としては、6-TGN程重要ではない。結果としてTPMTは6-TGN産生量を調節しており、その活性は6MPの抗腫瘍効果の主たる決定因子となる。

アザチオプリン(商品名: イムラン・アザニン)

は体内で非酵素的に6-メルカプトプリンに変換される。アザチオプリンは腎移植、肝移植、心移植、肺移植の移植における拒絶反応の抑制に保険適応が認められている。



アザチオプリン

TPMTを欠損する患者では6MP投与時に強い骨髄抑制が生じる。臨床的経験からは、TPMT欠損ホモ接合体患者に対する6MPの至適投与量は常用量の5から10%程度である。赤血球のライセートを用いて、活性を測定し、標的臓器における代謝活性の参照値とすることが行われている。赤血球TPMT活性には民族間差が存在する。例えば北ノルウェーの研究によれば、Saamiという民族における赤血球のTPMT活性は同地域に住む白人に比べて、29%高値であった。アメリカの白人に比べて黒人のTPMT活性は17-33%低かった。アメリカの黒人や白人のTPMT活性は119人の中国人に比べて、有意に低い。

6MPやアザチオプリンの投与前に赤血球TPMT活性を測定して副作用を事前回避する試みが行われているが、輸血すると患者自身のTPMT酵素活性を測定することが出来なくなる。そこで6-MP投与前に遺伝子検査を行ってリスクの高い患者を同定することが出来れば、低用量で治療を開始することにより副作用の発症を防止できると期待される。

TPMT遺伝子の変異アレルの種類と頻度は民族間で異なっている。たとえば、*2アレル(G238C)は欧米白人における変異アレルの6-9%をしめる

が、アフリカ人やアジア人においては同定されていない。これらのことから、非白人においては*2アレルの頻度は非常に低いと考えられる。日本人健常人ボランティアでは、TPMT*3C のみが検出されており、アレル頻度は 0.8%であった。TPMT*3C のホモ接合体は4000人に1人と試算される。欧米において*3Aアレルと*3Cアレルが強い骨髄抑制の発症に関連することが報告されている。日本人における*3C頻度は低いがアレルヘテロ接合体が強い骨髄抑制の発症に関連することが報告されている。

6-MP 投与前に遺伝子検査を行ってリスクの高い患者を同定する試みは、我々もこれまで行ってきた。今回の検討は、実際の臨床に応用可能なシステムの構築を目的とした。特に*3C ジェノタイピングの検査結果を迅速に検査依頼者へ返却できるよう、簡便で安価な検査方法を DHPLC 法により確立、現実的な検査の運用を行った。

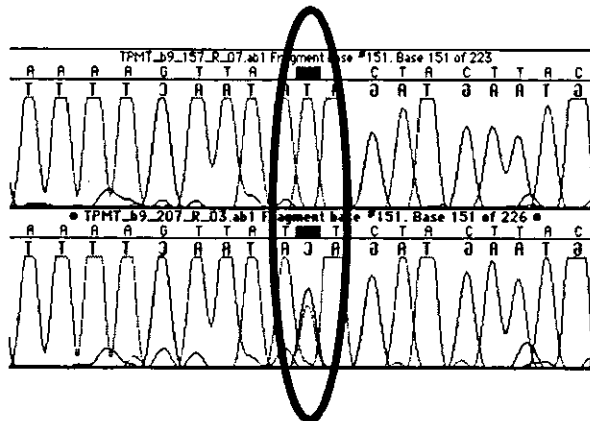


図1・直接シーケンス法による TPMT*3C 多型 (719A>G Tyr240Cys) の波形 (上段・WildType 下段・*3C Hetero 接合体)

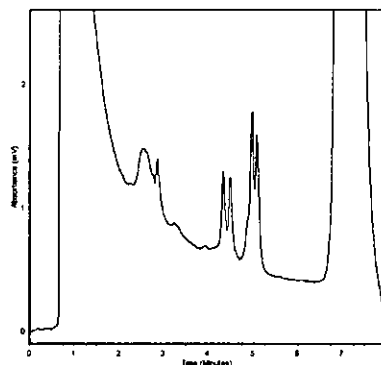
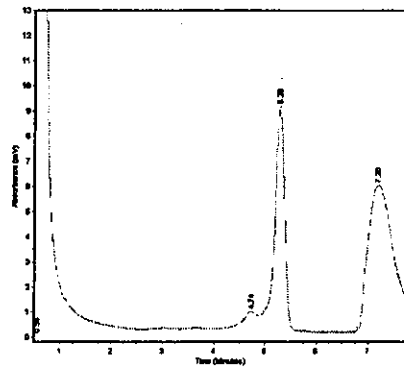


図2 熱変性高速液体クロマトグラフィー法による、TPMT*3C 多型 (719A>G Tyr240Cys) の波形 (上段・正常検体 下段・*3CHetero 接合体)

B. 研究方法

運用の実際

・患者

2004年から2005年まで、外部施設より送付された11検体を対象にスクリーニングを行った。

・検査方法

検査は、各医療機関からの依頼により行われた(各医療機関の倫理審査協議時に取り交わした研究計画書は、末尾に添付資料とする)。

依頼時は各医療機関にて、「チオプリンメリル転移酵素 (TPMT) の遺伝子多型による薬剤反応性の予測に関する研究」の実施について説明の上、本人および家族の同意を得た。所定の書式 1~3 (添付資料「チオプリンメチル転位酵素 (TPMT) の遺伝子多型による薬剤反応性の予測に関する

研究」研究計画書を参照) および所定の書式 1~3 (添付資料 1~3) および同意書、患者血液を送付することで検査依頼を受諾した。

全血から QIAGEN 社脱塩カラムによりゲノム DNA を抽出した。以下のプライマーを用いて、PCR 増幅を行い、熱変性高速液体クロマトグラフィー法によりジェノタイピングを行った。

解析の各条件は以下の通りである。

Primer

LEFT PRIMER ccaccataccagctcattt
RIGHT PRIMER
CCTCAAAAACATGTCAGTGTGA

Amplicon sequence

CCACCATACCCAGCTCATTTTGTATTTTGTAG
TAGAGACAGAGTTTCACCATCTTGGCCAGG
CTGGTCATGAACTCCTGACCTCAAGTGATC
CACCTGCCTCGGCCTCCCAAAGTGTGGGA
TTACAGGTGTGAGCCACCGACCCAGCCAA
TTTTGAGTATTTTAAAGAATCCCTGATGT
CATTCTTCATAGTATTTTAACATGTTACTCT
TTCTTGTTTCAGGTAAAATATGCAATATAC
GTTGTCTTGAGAAGGTTGATGCTTTTGAAG
AACGACATAAAAGTTGGGGAATTGACTGTC
TTTTTGAAAAGTTATATCTACTTACAGAAAA
GTAAATGAGACATAGATAAAAATAAAATCAC
ACTGACATGTTTTTGAGG

Buffer Parameters

Template DNA: 50 ng Genomic DNA
Polymerase: 1.0 U Optimase Polymerase ,
TRANSGENOMIC
PCRBuffer: TRANSGENOMIC Optimase
Polymerase attached buffer
Reaction Vol.: 20.0 µl
Primer 1 conc.: 0.5 µM (dried up in each vial)
Primer 2 conc.: 0.5 µM (dried up in each vial)
Magnesium Sulphate conc.: 1.5mM (in PCR

Buffer)
dNTPs conc.: 0.2 mM
Other Reagents: None

Cycle program

Initial Denaturation

Denaturation: 96°C, 5:00 mins

TouchDown Cycles

Denaturation: 95°C, 0:30 mins

TD Anneal Start: 63°C, 0:30 mins

Decrement: 0.5

Extension: 72°C, 1:00 mins

Cycles: 10

Cycling Conditions

Denaturation: 95°C, 0:30 mins

Anneal: 58°C, 0:30 mins

Extension: 72°C, 1:00 mins

Cycles: 30

Final Extension: None, proceed to heteroduplex formation reaction.

DHPLC condition

1)

Oven Temperature: 53.3°C

time shift: -0.5min

2)

Oven Temperature: 55.2°C

time shift: 0min

C. 結果

熱変性高速液体クロマトグラフィー法では、増幅産物内の変異は、クロマトグラム中の異常ピークとして検出される。現在までの検査中異常なピークは検出されておらず、TPMT*3C 多型は見つからなかった。

検査依頼時、患者が今後 6MP を投与する事が明記されている場合、検査によって今後の治療に支障が出ないように至急の対応をし、結果返却まで 1

週間～10日の日数で行った(表1)。

表1・検査依頼から検査終了までの日数

	受諾日	返却日	至急返却要	返却日数
D-1	2004 10/13	11/4		22
D-2	10/13	11/4		22
D-3	10/27	11/2	有り	6
D-4	10/28	11/2		5
D-5	11/4	11/10		6
D-6	11/4	11/10		6
D-7	1/10	11/17	有り	7
D-8	1/17	11/27	有り	10
D-9	1/17	11/27		10
D-10	12/1	12/7	有り	6
D-11	2005 2/16	3/3		16

検査結果返却日数 平均 10.5日

D. 考察

検査結果を依頼機関に返却する日数として、現実的には2週間程度であることが望ましい。今回の検討では検査体制を開始させた初期の検体以外は日数を満たしており、今後も継続した検査を行うことのできる水準である。

また、DHPLCによる検査では、依頼数が多くなったとしても充分対応可能である点からも、この検査システムが果たす役割は今後大きいと考えられる。

E. 結論

TPMT*3C多型のスクリーニング検査を多施設共同研究として実施した。検査依頼から検査終了までの日数は平均10日で、匿名化についても問題なく実施し得た。今後、臨書検査としてTPMT*3C多型検査を実施する基盤が整備された。

F. 健康危険情報

特記すべきことなにもなし。

G. 研究発表

本研究課題に関する発表はない。

平成14年度厚生労働科学研究費補助金（効果的医療技術の確立推進臨床研究事業）
小児科診療における効果的薬剤使用のための遺伝子多型スクリーニングシステムの構築に関する研究

チオプリンメチル転位酵素（TPMT）の遺伝子多型による
薬剤反応性の予測に関する研究

研究計画書

主任研究者：小崎健次郎

所属機関：慶應義塾大学医学部小児科

1. 計画の概要

小児リンパ芽球性白血病（ALL）の治療において、アザチオプリンおよびその活性中間体である6MPは重要な薬物である。6MPは標的臓器である骨髄細胞においてTGNに変換され抗腫瘍効果を発揮する。一部の6MPは、TGNに変換されず、チオプリンメチル転位酵素（以下TPMT）によりメチル化を受け、不活化される。人口の一部はTPMT活性の低い遺伝子多型を持っており、これらの多型を持つ患者においては6MPの抗腫瘍効果は増大し、通常の投与量によっても強い骨髄毒性を来す。既に欧米においては、6MPの投与前にTPMTの遺伝子多型の検査が行われ、遺伝子多型に応じて、初期投与量が調節されている。

欧米人においてTPMTの活性を低化させる多型は*2や*3Aであり、そのヘテロ接合体頻度は1/10と極めて高い。日本人においてTPMTの活性を低化させる既知の多型は、*3Cであり、ヘテロ接合体頻度は1/50程度であることが知られている。6MPによる副反応の頻度は1/50より高いので、日本人においては未発見の多型が副反応の発症に寄与していると推測されている。

検討項目Ⅰ □ 6MPによる治療を受けた患者のうち同意の得られた者を対象に、*3C多型の有無をDHPLC法により判定する。強い骨髄抑制のために初期投与量を減量した患者で*3C多型を有する者の修正後投与量を集計する。□ *3C多型に基づく基準投与量を設定する。

検討項目Ⅱ □ 初期投与量の減量を要した患者群のうち*3C多型をもたない患者群をケース群、初期投与量を減量する必要のなかった患者群を対照群とする。□ 両患者群におけるTPMT遺伝子近傍のSNPハプロタイプを決定する。

解析するSNPは日本人SNPデータベースより得る。□ 各SNPにおける遺伝子型は熱変成高速液体クロマトグラフィー法（DHPLC法）により決定する。□ ケース群において頻度の高いハプロタイプが認められた場合、この患者のTPMT遺伝子の翻訳領域及び5'転写調節領域について塩基配列を決定し、TPMT活性低化の原因となる遺伝子変異を特定する。

2. 計画の対象および実施場所

慶應義塾大学病院、および研究協力施設に勤務する主治医の協力を得て、6MP・アザチオプリンの投与を過去に受けたまたはこれから受ける患者・両親から本研究についての理解を求め、研究への参加について同意が得られた患者を対象として研究を実施する。性別、入院・外来の区別は問わない。氏名、年齢、性別、身長、体重、薬歴、併用薬、臨床検査値、副作用の有無などの患者情報および患者検体を得る。遺伝子検査について同意を得られた患者に対して小児科学教室研究室にて患者全血を用いてDNAの抽出および分析を行う。検体は同研究室に連結可能匿名化して保存する。

3. 計画における医学的倫理的配慮について：

（1）計画の対象とする個人の人権の擁護

自発的な同意を患者・両親から得ることのできた患者のみを解析の対象とする。研究に参加しないことで、本人が不利益を被ることがない事をあらかじめ明確にする。患者・両親のプライバシー、臨床情報およびDNA検査結果が、雇用者、保険会社、学校、民間企業、政府機関を含む第三者に漏洩しないように十分に配慮する。具体的には、診療録の写しなど個人名を特定することができる情報は施錠が可能なスペースに管理する。個人情報と検体については、連結可能匿名化し秘密の保持につとめる。匿名化のためのコード表は、個人情報管理者が管理する。

（2）計画によって生ずる医学上の利益と個人への危険性の予測

□ *3C多型を安価・迅速に診断する方法が開発され、我が国において6MP治療前に遺伝子検査を実施するためのプロトタイプが確立される。□ *3C以外に日本人の6MP反応性に関連するTPMTハプロタイプが同定される。□ 上記ハプロタイプと連鎖するTPMT遺伝子変異が同定される。

ただし、本計画が研究段階の検査であって患者・両親に直接的な利益が得られない場合もあり、治療に直接に結びつく性質の研究ではない事を明確に伝える。患者・両親が希望すれば、研究結果を開示する。両親・患者の希望があれば、結果についての遺伝カウンセリングを行う。研究の進行状況やその成果、学術

的な意義を定期的に公表すること、また提供者の求めがあればそれに応じて説明することを告げる

(3) 計画の対象となる者に理解を求め同意を得る方法

慶應義塾大学病院、および研究協力施設に勤務する主治医の協力を得て、当該薬剤の投与を受けている患者および両親（法的な保護者）に対し、本研究について書面を用いながら説明し理解を得る。臨床研究への参加について同意が得られた患者を対象として研究を実施する。患者本人の人権を尊重し、9歳以上の患者には理解しやすいことばで説明を行い同意を得る。中学生以上の患者からはアセント文書（インフォームド・アセント）を得る。法的な保護者からは文書で同意（インフォームド・コンセント）を得る。

(4) 試料等提供者を選ぶ方針

（合理的に提供していることがわかる具体的な方法、試料等提供者が疾病や薬剤反応性異常を有する場合等にあっては病名またはそれに相当する状態等の告知方法）

慶應義塾大学病院、および研究協力施設に勤務する小児科血液外来でフォローされている ALL 患者およびその両親のうち、十分な説明により本人・保護者の同意が得られている患者を対象とする。研究期間中に受診した初発患者についてはプロスペクティブに臨床データを集積する、研究開始前から受診している患者についてはレトロスペクティブに臨床データを収集する。ハプロタイプの決定のためには両親のゲノム DNA が必要であるので、同意が得られる場合には、両親の末梢血リンパ球についてもゲノム DNA を抽出する。

(5) 研究意義、目的、方法

（対象とする疾患、分析方法、期間、予測される成果および危険、個人に関する情報の保護の方法）

<対象>急性リンパ性白血病（ALL）、またはリンパ芽球性リンパ腫の治療過程で6MP・アザチオプリンの投与を過去に受けたかこれから受ける患者で、患者本人・両親に本研究についての理解を求め、研究への参加について同意が得られた場合に、研究を実施する。

<分析方法>主治医に依頼して患者情報（疾患名、年齢、性別、身長、体重、薬歴、併用薬、臨床検査値、副作用の有無など）および患者検体（末梢血全血 2-5ml）を得る。骨髄抑制等の副反応の発生と TPMT 遺伝子多型の関係について解析を行う。小児科学教室研究室にて患者全血または頬粘膜細胞から DNA の抽出および分析を行う。検体は同研究室に連結可能匿名化して保存する。

<研究期間>平成 15 年 2 月 1 日から平成 17 年 3 月 31 日まで

<予測される成果>□ *3C 多型を安価・迅速に診断しうる方法が開発され、我が国において 6MP 治療前に遺伝子検査を実施するためのプロトタイプが確立される。

□ *3C 以外に日本人の 6MP 反応性に関連する TPMT ハプロタイプが同定される。

□ 上記ハプロタイプと連鎖する TPMT 遺伝子変異が同定される。

<危険>従来の薬物投与を継続しつつ血中濃度測定と多型解析を行う。治療法には介入しないので、患者に新たなリスクが加わる可能性は低い。遺伝子検査を含む研究であり、本人あるいは家族が遺伝に関して不安を持つ可能性がある。不安のある場合は、検査前に慶應義塾大学病院小児科遺伝外来にて日本人類遺伝学会専門医が遺伝カウンセリングを提供する。

<個人に関する情報の保護>

患者・両親のプライバシー、患者情報および DNA 検査結果が、雇用者、保険会社、学校、民間企業、政府機関を含む第三者に漏洩しないように十分に配慮するには、診療録の写しなど個人名を特定することができる情報は施設が可能なスペースに管理する。個人情報と検体については、連結可能匿名化し秘密の保持につとめる。匿名化のためのコード表は、個人情報管理者が管理する。

(6) 遺伝情報の開示に関する考え方

希望があった場合に両親・16歳以上の患者に開示する。患者が16歳未満である場合には、両親の求めに応じて、結果を開示する。必要に応じて日本人類遺伝学会専門医が遺伝カウンセリングを行う。

(7) 試料または遺伝情報の他の研究機関への提供

試料・診療情報またはそれから得られた遺伝情報を他の機関へ提供しないことを伝える。ただし本研究は、4. に示す研究協力施設との共同研究であり、研究成績の要約にあたり、共同研究施設のデータを集計する。ただし、試料および個人情報が特定できる診療情報については共同研究施設と共有しない。

(8) 試料等の保存法およびその必要性

（他の研究への利用の可能性と予測される研究内容を含む）

連結可能匿名化して、検体と個人情報を切り離して保存する。将来、複数の遺伝子の変異が発症に関与することが明らかにされた際に再分析する可能性を説明して、患者・両親の了解を得られた場合には検体を保存する。患者・両親の了解を得られない場合は、研究終了時に検体を廃棄する。

(9) ヒト細胞・遺伝子・組織バンクに試料等を提供の有無
組織バンクへの試料の供与は予定していない。

(10) 試料等の廃棄方法およびその際の匿名化の方法
廃棄する際は、全ての検体識別番号を取り除く。

(11) 報酬
原則として本人、法的保護者に報酬を与えない。交通費等を支払う場合がある。

(12) 患者の費用負担
遺伝子検査の費用は下記研究費から支給され、患者負担とはならない。

(13) 資金の調達方法
平成14年度厚生労働科学研究費補助金（効果的医療技術の確立推進臨床研究事業）
「小児科診療における効果的薬剤使用のための遺伝子多型スクリーニングシステムの構築に関する研究」
（主任研究者 小崎健次郎）

4. 研究協力施設

本研究における研究協力予定施設は以下である。各施設において本研究が倫理審査委員会で承認され次第、共同研究を開始する。

施設名
埼玉県立小児医療センター
獨協医科大学病院
都立清瀬小児病院
横浜市立大学医学部附属病院
順天堂大学医学部附属順天堂病院
国立成育医療センター