

チオプリン誘発白血球減少症と NUDT15 遺伝子多型の関連

研究分担者 安藤 朗 滋賀医科大学内科学講座消化器内科 教授

研究要旨：NUDT15 は、酸化ストレスにより損傷したグアニン(8-oxoG)を加水分解して DNA から取り除き、8-oxo-dGTP の取り込みにより起こる DNA の複製転写エラーを防ぐ酵素である。NUDT15 一遺伝子多型とアザチオプリンの副作用の白血球減少の出現に関連性を認めた。このことは将来的に NUDT15 がチオプリン投与時におけるバイオマーカーとなる可能性があることを示唆している。

共同研究者

本学単施設における前向きコホート研究

西田淳史（滋賀医科大学消化器内科）

今枝広丞（滋賀医科大学消化器内科）

馬場重樹（滋賀医科大学消化器内科）

杉本光繁（滋賀医科大学光学医療診療部）

TPMT A719G (rs1142345)、MRP4 G2269A

(rs3765534)、ITPA C94A (rs1127354)の SNP

を解析した。白血球減少の副作用と SNP について変量解析を用い検討した。赤血球内 6-TGN 濃度を HPLC 法で測定した。

（倫理面への配慮）

（２）「（倫理面への配慮）」には、研究対象者に対する人権擁護上の配慮、研究方法による研究対象者に対する不利益、危険性の排除や説明と同意（インフォームド・コンセント）に関わる状況、実験動物に対する動物愛護上の配慮など、当該研究を行った際に実施した倫理面への配慮の内容及び方法について、具体的に記入すること。倫理面に問題がないと判断した場合には、その旨を記入するとともに必ず理由を明記することとした。

A. 研究目的

本研究は「的確な診断・治療の確立プロジェクト—バイオマーカー—」のプロジェクトの一環として、炎症性腸疾患、特に潰瘍性大腸炎およびクローン病におけるアザチオプリン(AZA、イムラン®)の副作用である白血球減少の出現と NUDT15 (Nucleoside Diphosphate Linked Moiety X)-Type Motif 15)一遺伝子多型(SNPs)との関連について検討することにより、副作用出現のバイオマーカーとするとともにその予測・予防に適應することを目的とした。

B. 研究方法

滋賀医科大学附属病院にて AZA 治療を受けた炎症性腸疾患患者のうち同意を得られた 161 名（潰瘍性大腸炎(UC) 89 名、クローン病(CD) 72 名）と健常人 79 名を対象とした。

対象患者の末梢血より DNA を採取し、TaqMan PCR 法を用いて NUDT15 R139C (rs116855232)、

C. 研究結果

本年度の検討結果より、被験者 240 人の NUDT15 R139C の C/C Major homo は 80.8%、C/T hetero は 17.9%、T/T Minor homo は 1.3%であり、T allele の頻度は 0.10、C allele の頻度は 0.90 であった【表 1】。この頻度はこれまで我々が報告してきたアザチオプリン代謝酵素の SNP (MRP4, ITPase)と比較しても大きな差は認めず、ITPase と比較して minor allele 頻度の高い結果となった。

【表 1】

Genotype allele	Total (n=240)	UC (n=89)	CD (n=72)	Healthy (n=79)
NUDT15 R139C				
C/C (wild type)	194 (80.8%)	69	58	67
C/T	43 (17.9%)	18	14	11
T/T	3 (1.3%)	2	0	1
Allele frequency	0.10			
TPMT A719G				
A/A (wild type)	233 (97.1%)	86	70	77
A/G	7 (2.9%)	3	2	2
G/G	0	0	0	0
Allele frequency	0.014			
MRP4 G2269A				
G/G (wild type)	181 (75.4%)	67	55	59
G/A	55 (22.9%)	20	16	19
A/A	4 (1.7%)	2	1	1
Allele frequency	0.13			
ITPA C94A				
C/C (wild type)	188 (78.3%)	72	56	60
C/A	48 (20.0%)	16	16	16
A/A	4 (1.7%)	1	0	3
Allele frequency	0.12			

NUDT15 R139C ホモ接合体の患者において、アザチオプリンの副作用である白血球減少の副作用出現までの期間は、野生型の患者と比較して有意に短い結果となった。それぞれのジェノタイプ間の平均 6-TGN 値に差はなかった【表 2】。

【表 2】

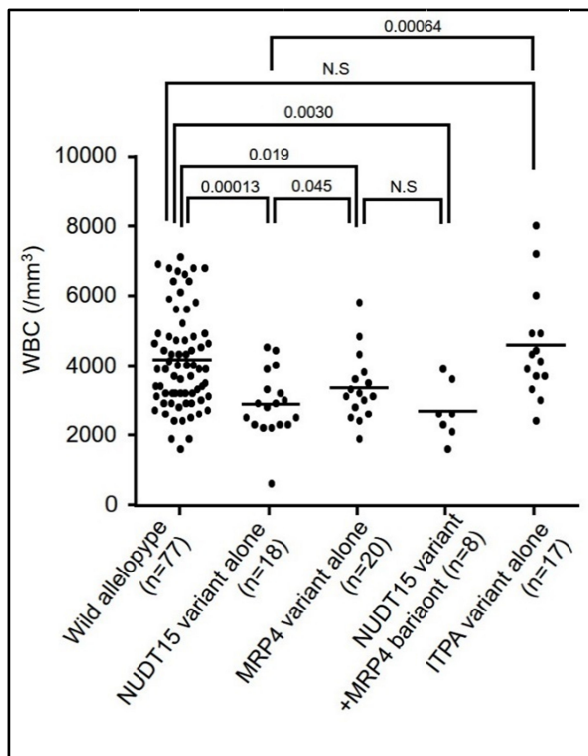
NUDT15 rs116855232				
	CC	CT	TT	P value
Number (Total=161)	127	32	2	
Azathioprine dose (mg/kg/day)	0.85 (0.37-1.53)	0.90 (0.47-1.42)	0.95 (0.90-0.99)	0.51
Interval to leukopenia (days)	274 (44-3041)	239 (29-1520)	33 (15-51)	0.009
ΔWBC count (2 weeks)	0 (-6800-5300)	800 (-4700-7400)	4550 (2400-6700)	0.021
ΔWBC count (4 weeks)	600 (-6300-7700)	2300 (-2700-9500)	4430	0.00057
Leukopenia (WBC<3000)	25 (19.6%)	18 (56%)	2 (100%)	6.28×10 ⁻⁶
6TGN (pmol/8×10 ⁸ RBC)	323 (71-1150)	287 (54-927)	341	0.36

アザチオプリンによる 3,000 以下となった白血球減少症との多変量解析において、に関して、NUDT15 R139C (rs116855232)は独立したリスク因子であった【表 3】。

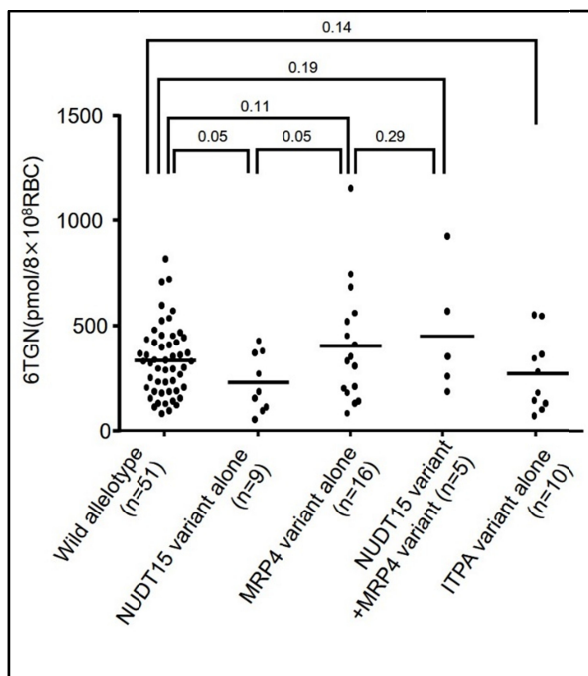
【表 3】

variables	OR	95% CI	P value
Predicting thiopurine-induced leukopenia (WBC<3000)			
NUDT15 variant	5.86	2.52-13.60	3.91 × 10 ⁻⁵
TPMT variant	2.16	0.25-18.37	0.48
Female	2.09	0.98-4.48	0.057
MRP4 variant	1.49	0.63-3.53	0.36
ITPA variant	0.46	0.16-1.31	0.15

NUDT15 R139C (rs116855232)は MRP4 SNP や ITPA SNP との相乗関係になく、独立した因子であり【図 1】、それらは 6-TGN 濃度とも関連がなかった【図 2】。



【図 1】



【図 2】

D. 考察

日本人チオプリン関連白血球減少症の予測因子として日本人においても NUDT15 SNP 解析が有用であることが分かった。NUDT15 genotype と 6TGN 濃度に関連は認めなかった。

NUDT15 T/T genotype ではチオプリンの投与は禁忌、NUDT15 genotype C/T genotype ではチオプリンは慎重投与。他の SNP の関与の可能性の検討では明らかな関係は認めなかった。

E. 結論

NUDT15 R139C (rs116855232)はアザチオプリン投与時における白血球減少の独立したリスク因子であり、副作用出現の有用なマーカーのひとつである。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1.論文発表

Asada A, Nishida A, Shioya M, Imaeda H, Inatomi O, Bamba S, Kito K, Sugimoto M, Andoh A. NUDT15 R139C-related thiopurine leukocytopenia is mediated by 6-thioguanine nucleotide-independent mechanism in Japanese patients with inflammatory bowel disease. J Gastroenterol. 2015 Nov 21.

Takahashi K, Fujimoto T, Shioya M, Nishida A, Bamba S, Inatomi O, Imaeda H, Kitoh K, Andoh A. A case of Crohn's disease that developed anti-infliximab and anti-adalimumab antibodies. Clin J Gastroenterol. 2015 Apr;8(2):88-91.

2.学会発表

Imaeda H., Morita Y, Nishida A, Bamba S, Andoh A. The Relationship Between Pharmacokinetics of Adalimumab and Mucosal Healing in Patients With Crohn's Disease. ACG2015 Annual Scientific Meeting & Postgraduate Course (Honolulu, Hawaii) Oct 20, 2015.

Asada A, Bamba S, Ban H, Ohsaki R, Fujii M, Morita Y, Hidaka K, Kanda T, Takahashi K, Imaeda H, Nishida A, Shioya M, Inatomi O, Tsujikawa T, Sasaki M, Andoh A.

International Poster Session (JDDW) IP-70G. The CYP3A5 genetic polymorphism and clinical course of ulcerative colitis treated with tacrolimus. (2015.10.9) グランドプリンスホテル新高輪(東京)

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

1.特許取得

該当なし

2.実用新案登録

該当なし

3.その他

該当なし