

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等政策研究事業）

難治性炎症性腸管障害に関する調査研究

分担研究報告書（平成 30 年度）

炎症性腸疾患患者におけるチオプリン関連副作用と NUDT15 遺伝子多型との相関性に関する多施設共同研究（MENDEL Study）

研究協力者 角田洋一 東北大学病院・消化器内科 助教

研究協力者 木内喜孝 東北大学高度教養教育学生支援機構・臨床医学開発室 教授

研究要旨：

多施設研究 MENDEL Study の結果から、日本人のチオプリン製剤投与後早期に発症する白血球減少症と脱毛が NUDT15 のコドン 139 の遺伝子型で決定されていることが確認された。また、開発していたコドン 139 の検査キットが 2018 年 4 月に薬事承認され、2019 年 2 月より保険適応検査となった。

共同研究者

中村志郎 1、高川哲也 1、花井洋行 2、池谷賢太郎 2、櫻庭裕丈 3、西田淳史 4、佐々木誠人 5、岡庭紀子 5、久松理一 6、小林 拓 7、小野寺 馨 8、石黒 陽 9、篠崎 大 10、長沼 誠 11、平岡佐規子 12、荒木寛司 13、佐々木悠 14、志賀永嗣 15、本谷 聡 16、小野寺基之 17、松岡克善 18、藤谷幹浩 19、佐藤雄一郎 20、桂田武彦 21、梁井俊一 22、穂苅量太 23、石原俊治 24、新井勝大 25、野口光徳 26、中川倫夫 27、加藤 順 28、杉田 昭 29、松浦 稔 30、遠藤克哉 31、内藤健夫 32、諸井林太郎 32、黒羽正剛 32、木村智哉 32、金澤 義丈 32、安藤 朗 4、鈴木康夫 33、下瀬川 徹 32 兵庫医科大学 1、浜松南病院 2、弘前大学 3、滋賀医科大学 4、愛知医科大学 5、杏林大学 6、北里大学北里研究所病院 7、札幌医科大学 8、国立弘前病院 9、東京大学医科学研究所附属病院 10、慶應義塾大学 11、岡山大学 12、岐阜大学 13、山形大学 14、秋田大学 15、札幌厚生病院 16、胆沢病院 17、東京医科歯科大学 18、旭川医科大学 19、大崎市民病院 20、北海道大学 21、岩手医科大学 22、防衛医科大学校 23、島根大学 24、国立成育医療研究センター 25、野口胃腸内科医院 26、千葉大学 27、和歌山県立医科大学 28、横浜市立市民病院 29、京都大学 30、東北医科薬科大学 31、東北大学 32、東邦大学医療センター佐倉病院 33

A. 研究目的

クローン病・潰瘍性大腸炎のいずれの炎症性腸疾患の治療でも重要で有効な薬剤であるチオプリン製剤は、以前からその不耐性が問題になっている。2014 年に韓国よりチオプリンによる白血球減少症が NUDT15 遺伝子の R139C 多型と相関するという報告があり、日本でも同様の相関と、さらに脱毛はほぼ完全に相関する可能性が示された。つまり事前にこの多型を調べることで、患者側の服用への不安感が解消され、さらに白血球減少による入院などを回避できる可能性がある。

本研究では、全国的な過去のチオプリン製剤による重篤な副作用との相関性を、実際に受託検査として運用を開始しながら確認し、臨床応用を目指す。

B. 研究方法

全国の研究参加施設において、倫理委員会の承認ののち、通院中の患者で以下の条件を満たしたものを対象とする。書面で遺伝子研究に関する同意を得られている、炎症性腸疾患としての診断がなされている、チオプリン、5-ASA、抗 TNF 抗体製剤での治療歴

がある。対象患者より末梢血を採取し、LSIメディアエンス社でDNA抽出と、NUDT15 R139C多型の同定をTaqMan法を用いて行う。検査結果とDNA検体を東北大学に集積し、R139C多型と各種薬剤の副作用との相関解析と、他の遺伝的背景がないか全ゲノム解析を行う。遺伝子多型の検査キットに関しては、医学生物学研究所(MBL)に委託し開発を進める。プロトタイプキットの臨床性能試験、薬事承認を行い、最終的に保険適応検査を目指す。

(倫理面への配慮)

多施設共同後ろ向き研究・臨床性能試験ともに臨床検体を用いた遺伝子解析であり、国の「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」と「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」を厳守し、また実施責任施設である東北大学医学系研究科倫理委員会の承認を得て行っている。また、各研究参加施設でも、東北大学の倫理申請に基づき、各施設での倫理委員会の承認を得てから参加を行っている。

C. 研究結果

2630例の研究参加者のうち、データのクリーニング後チオプリン服用歴のあった1291例について解析を行った。既報通り、NUDT15R139C多型と白血球減少・脱毛ともに強い相関を認めた。 $(p = 2.20E-63, 1.32E-69, OR = 6.59, 12.1,)$ 。また、あらたに消化器症状と弱い相関性を発見した $(p = 6.39E-04, OR = 1.89)$ 。白血球減少までの期間と、白血球減少診断時のチオプリン服用量は、有意にArg/Cys, Cys/Cys型で、短期間かつ少量であった。ゲノムワイド相関解析では、R139C多型以外に副作用と有意な相関性を示す新たな多型は認めなかった。軽度なものも含めた白血球減少の頻度は、ディプロタイプから予測されるNUDT15の酵素活性と強い相関があったが $(r^2 = 0.926, p = 0.0087)$ 、重篤な副作用に

限定した場合には、ディプロタイプではなく、Codon139のみで高いAUCがROC解析で得られた(AUC = 0.916, 0.921, 急性重度白血球減少、AUC = 0.990, 0.991, 高度脱毛)。

また、検査キットの開発を進めた。Codon139の3つの遺伝子型(Arg, Cys, His)を適切に判定できる検査キットMEBRIGHT NUDT15キットを開発し、東北大学・杏林大学・浜松南病院の3施設の検体を用いて臨床性能試験を行った。その結果、キットの測定結果とダイレクトシーケンス法による結果が完全に一致したことから、検査キットの性能が確認された。

D. 考察

ゲノムワイド相関解析の結果およびディプロタイプの解析結果、ROC解析の結果から、日本人に限定した場合、臨床的には、Codon139の検査のみで十分に重篤な副作用症例を判別することが可能であると考えられた。また、それに対して適切な検査キットの提供ができた。また、2019年2月1日より保険収載され臨床応用されたことで、今後本検査を活用することで、チオプリンによる重篤な副作用の回避と、適切かつ安全な使用法の提供により、安価なチオプリン製剤が活用できるようになったと考えられる。

E. 結論

NUDT15のコドン139の遺伝子型によって日本人炎症性腸疾患におけるチオプリン関連早期白血球減少と脱毛の発症が予測可能であり、本遺伝子多型検査に関する検査キットの開発・薬事承認をえて、2019年2月より保険適応検査として、臨床応用に至った。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Kakuta Y, Kawai Y, Okamoto D, Takagawa T, Ikeya K, Sakuraba H, Nishida A, Nakagawa S, Miura M, Toyonaga T, Onodera K, Shinozaki M, Ishiguro Y, Mizuno S, Takahara M, Yanai S, Hokari R, Nakagawa T, Araki H, Motoya S, Naito T, Moroi R, Shiga H, Endo K, Kobayashi T, Naganuma M, Hiraoka S, Matsumoto T, Nakamura S, Nakase H, Hisamatsu T, Sasaki M, Hanai H, Andoh A, Nagasaki M, Kinouchi Y, Shimosegawa T, Masamune A, Suzuki Y; MENDEL study group. NUDT15 codon 139 is the best pharmacogenetic marker for predicting thiopurine-induced severe adverse events in Japanese patients with inflammatory bowel disease: a multicenter study. *J Gastroenterol.* 2018; 53(9): 1065-1078.

2. 学会発表

1. チオプリンの副作用を予測する NUDT15 遺伝子多型検査の有用性について、角田洋一、木内喜孝、正宗淳、JDDW2018 パネルディスカッション9「炎症性腸疾患における既存治療を見直す」、神戸、2018.11.3

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

1. 特許取得

特願 2015-91401