

# 造血幹細胞移植後のタクロリムス個別化投与設計に向けた臨床情報・遺伝子多型情報の有用性解明に関する研究

末次, 王卓

<https://hdl.handle.net/2324/2236168>

---

出版情報 : Kyushu University, 2018, 博士 (臨床薬学), 課程博士  
バージョン :  
権利関係 :

造血幹細胞移植後のタクロリムス個別化投与設計に向けた  
臨床情報・遺伝子多型情報の有用性解明に関する研究

2019年3月

末次 王卓



## 目次

序論 .....	1
<b>第 1 章 造血幹細胞移植後のタクロリムス持続静注から経口への投与経路変更 に伴う血中濃度の変動要因に関する臨床調査</b>	
1 緒言 .....	7
2 方法	
2-1 対象患者 .....	9
2-2 治療スケジュール .....	9
2-3 データ収集および評価 .....	9
2-4 統計解析 .....	10
3 結果	
3-1 患者背景 .....	11
3-2 投与経路変更時におけるタクロリムスの血中濃度と C/D 比 .....	13
3-3 タクロリムス (C/Dpo)/(C/Div) の変動要因に関する調査 .....	15
3-4 タクロリムス (C/Dpo)/(C/Div) に対するアゾール系抗真菌薬の影響 .....	16
3-5 タクロリムス C/Dpo と C/Div との相関関係に対するアゾール系抗真菌薬の影響 .....	17
3-6 タクロリムス (C/Dpo)/(C/Div) が急性 GVHD と腎障害に与える影響 .....	18
4 考察 .....	20

## 第 2 章 造血幹細胞移植後のタクロリムス個別化投与設計に向けた遺伝子多型情報の有用性解明に関する研究

1 緒言 .....	24
2 方法	
2-1 対象患者とタクロリムス投与スケジュール .....	26
2-2 <i>CYP3A5</i> 、 <i>CYP2C19</i> 、 <i>POR28</i> の遺伝子型判定 .....	26
2-3 サンプル採取と分析方法.....	27
2-4 統計解析.....	28
3 結果	
3-1 患者背景.....	30
3-2 持続静注時のタクロリムスの C/D 比に対する <i>CYP3A5</i> 遺伝子多型の影響.....	32
3-3 持続静注時のタクロリムスの C/D 比に対する <i>CYP3A5</i> と <i>POR28</i> 遺伝子多型の組み合わせによる影響.....	34
3-4 <i>CYP3A5</i> 遺伝子多型と急性 GVHD、AKI 累積発症率との関係.....	37
3-5 投与経路変更時のタクロリムス (C/Dpo)/(C/Div) に対する <i>CYP3A5</i> 遺伝子多型の影響.....	38
3-6 投与経路変更時のタクロリムス (C/Dpo)/(C/Div) に影響を与える因子の探索 ....	40
3-7 投与経路変更時のタクロリムス (C/Dpo)/(C/Div) に対する抗真菌薬および <i>CYP3A5</i> 、 <i>CYP2C19</i> 遺伝子多型の影響 .....	42
3-8 タクロリムス投与経路変更時の至適な用量換算比の検討 .....	45
4 考察 .....	46
総括 .....	51

引用文献..... 54

論文目録..... 61

謝辞..... 62

## 略語一覽

ABCB 1	ATP-binding cassette subfamily B member 1
AKI	Acute kidney injury
AST	Aspartate aminotransferase
ALT	Alanine aminotransferase
AUC	Area under the blood concentration-time curve
C/D	Concentration/Dose
CTCAE	Common terminology criteria for adverse events
CYP	Cytochrome P450
FLCZ	Fluconazole
GVHD	Graft-versus-host disease
HSCT	Hematopoietic stem cell transplantation
ITCZ	Itraconazole
L-AMB	Liposomal amphotericin B
MCFG	Micafungin
POR	P450 oxidoreductase
Scr	Serum creatinine
SNP	Single nucleotide polymorphism
TDM	Therapeutic drug monitoring
VRCZ	Voriconazole

## 序論

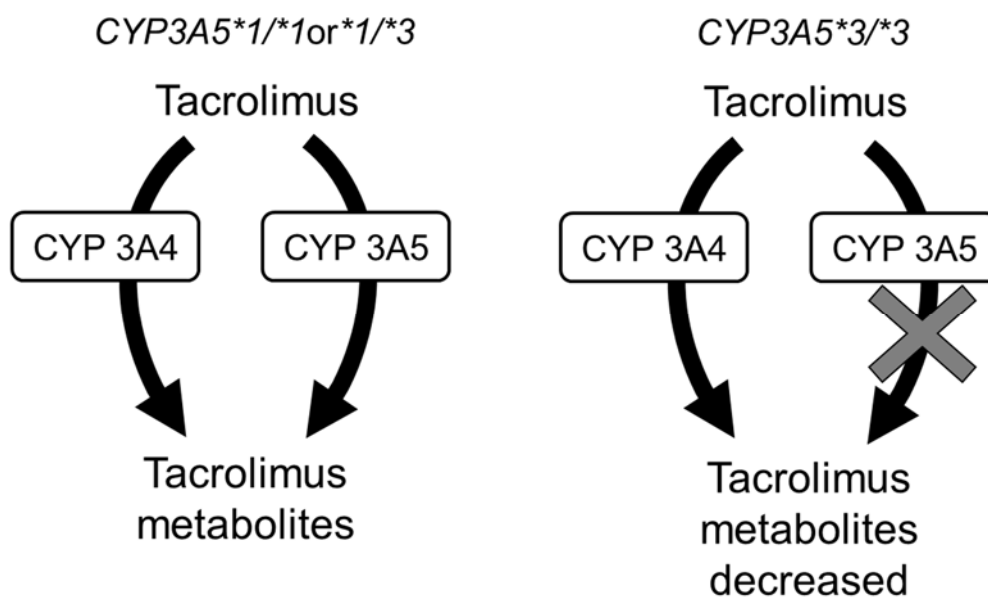
造血幹細胞移植 (HSCT, hematopoietic stem cell transplantation) は、骨髓、末梢血、臍帯血などの造血幹細胞を多く含む移植片 (細胞) を輸注することで正常造血を回復させる治療法であり、主として造血器腫瘍の根治療法として定着しつつある。HSCT では、生着後の造血幹細胞由来の免疫担当細胞が媒介する免疫反応が移植片 (graft) から宿主 (host) に対して発現するため、移植関連死の主要原因の一つである移植片対宿主病 (GVHD, graft-versus-host disease) を制御することが極めて重要であり、移植治療そのものの成績を向上させるために免疫抑制薬の適正使用が必要不可欠となる。カルシニューリン阻害薬のタクロリムスは、腎臓や肝臓など臓器移植治療における主要な免疫抑制薬として使用されており<sup>1)</sup>、近年 HSCT 後の GVHD 制御にも応用されるようになり、最近では最も汎用される免疫抑制薬の一つとして位置づけられる<sup>2-7)</sup>。一方、その有効治療域は狭く、体内動態に大きな個体間・個体内変動が見られることから<sup>8)</sup>、日々の治療薬物モニタリング (TDM, therapeutic drug monitoring) に基づく精密な用量調節が必要とされる。

HSCT では、移植前処置として大量の抗がん薬や全身放射線治療が行われ移植後は口腔や消化器の粘膜炎などの副作用により経口摂取が困難となることから、タクロリムスの使用は通常静脈注射から開始され、後に経口投与に切り替えとなる。静脈注射から経口投与への切り替えの際、静脈注射の 3~4 倍量を用いることが HSCT では推奨されているが<sup>9,10)</sup>、われわれはこれまでに推奨された用量での切り替えにも関わらず、GVHD を発症もしくは再燃した症例を経験してきた。

近年、薬理遺伝学的解析技術の進展により、一部の薬物代謝酵素やトランスポータに遺伝的多型性が見出され、体内動態の個人差を考える上で有用な情報とされてい



る<sup>11)</sup>。チトクロム P450 (CYP) 3A (CYP3A4 と CYP3A5) が代謝する化合物の範囲は極めて広く、医薬品の約半数に上る。CYP3A によって代謝を受けるカルシニューリン阻害薬やアゾール系抗真菌薬などを使用する HSCT 患者においては、CYP3A を中心とした薬物相互作用を回避することは困難とされる<sup>12,13)</sup>。タクロリムスの代謝は CYP3A4 と CYP3A5 の両方が協働的に担うと考えられているが、CYP3A5 の多型性については、CYP3A5 ゲノム上のイントロン 3 における一塩基変異が CYP3A5 mRNA のスプライシング異常とそれに引き続く機能蛋白の欠失を引き起こす<sup>14,15)</sup>。この CYP3A5 遺伝子多型は、全ての人種においてタクロリムスの体内動態の個体間変動を説明する上で有用な指標になり得ることが示されており<sup>16,17)</sup>、日本人では約半数がこの酵素の活性型の遺伝子型を有している<sup>18)</sup>。HSCT 領域においても、CYP3A5\*3/\*3 (機能欠損型) の患者は、タクロリムスの血中濃度/投与量 (C/D) 比や血中濃度が、CYP3A5\*1/\*1 あるいは CYP3A5\*1/\*3 (機能型) に比して高値になることはいくつか報告<sup>19-22)</sup> されているものの、CYP3A5 遺伝子多型が静脈注射から経口投与への投与経路の切り替え時にどのように影響するかは、未だ報告が無い。CYP3A5 遺伝子多型がタクロリムスの代謝に与える影響について Figure 1 に示す。



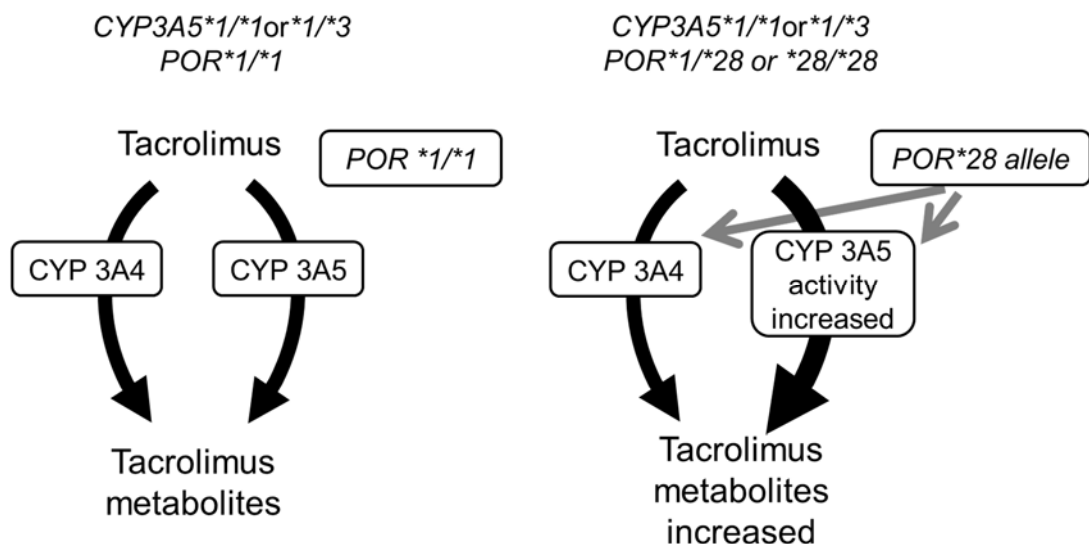
**Figure 1.**

**The influence of *CYP3A5* polymorphism on tacrolimus metabolism.**

一方、*CYP3A4* の薬物代謝能に影響を及ぼす遺伝子多型はいくつか知られているが、大部分の研究では *CYP3A4* の遺伝子多型とタクロリムスの薬物動態の間の関連性を見出せておらず<sup>23)</sup>、日本人における頻度は極めて小さいことから日常診療上の有用性は低いと考えられる。また、がん細胞の多剤耐性因子として見出された薬物排出ポンプ P 糖蛋白質 (*ABCB1*, ATP-binding cassette subfamily B member 1) は、経口投与されたタクロリムスの吸収障壁として、肝臓から胆汁中への排出トランスポータとして体内動態の個体間変動、個体内変更を支配する生体因子として考えられているが、*ABCB1* の遺伝子多型についても、多くの研究においてタクロリムスとの薬物動態の間の関連性を見出せていない<sup>23)</sup>。これらのことは、HSCT 領域においても同様の報告が存在する<sup>22)</sup>。

最近では、酸化型 CYP の還元を媒介する酵素である P450 oxidoreductase (POR) の機能亢進に繋がる *POR\*28* 遺伝子多型が見出され、*CYP3A* の活性を亢進することに

より、タクロリムスの体内動態を規定する分子生物学的指標の一つとして注目されている。腎移植領域では、*CYP3A5* 機能型 (*CYP3A5\*1/\*1* もしくは *CYP3A5\*1/\*3*) の患者において、*POR\*28* の対立遺伝子を少なくとも1つ有する患者 (*POR\*1/\*28* もしくは *POR\*28/\*28*) では、*POR\*28* を伴わない患者 (*POR\*1/\*1*) に比してタクロリムスの C/D 比や血中濃度を有意に低下させることが報告<sup>24,25)</sup>されているが、HSCT 領域では未だ報告は無い。これらの報告から考えられる、*CYP3A5* 機能型における *POR28* 遺伝子多型がタクロリムスの代謝に与える影響を Figure 2 に示す。

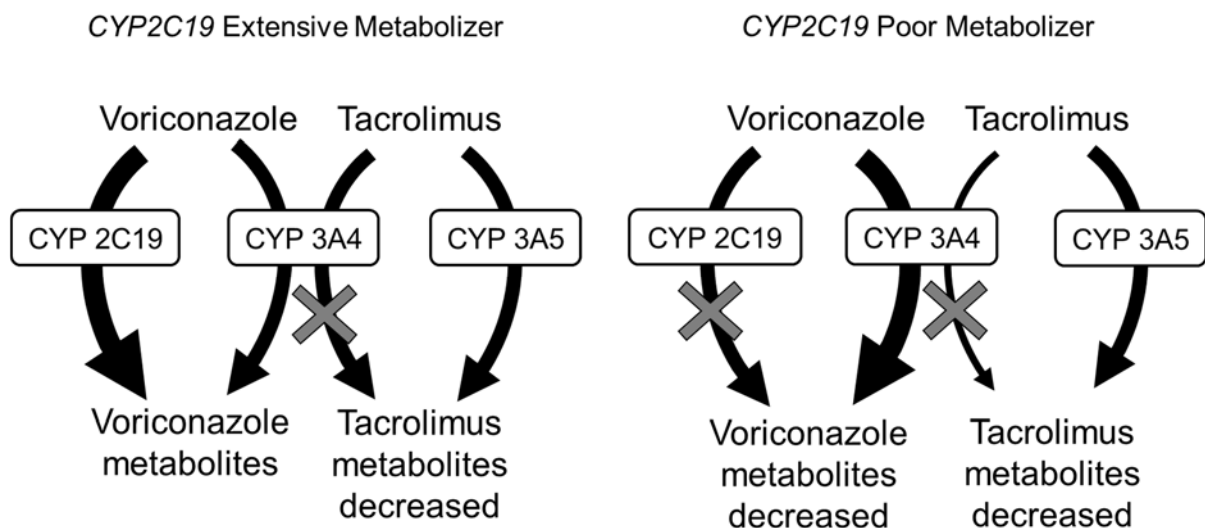


**Figure 2.**

**The influence of *POR\*28* polymorphism on tacrolimus metabolism with *CYP3A5* expressor.**

HSCT では、真菌感染予防もしくは治療にアゾール系抗真菌薬がしばしば用いられる<sup>26,27)</sup>。アゾール系抗真菌薬の一つであるボリコナゾール (VRCZ, voriconazole) の代謝は、主に *CYP2C19* が関与し一部が *CYP3A* により代謝される。*CYP2C19* の薬物代謝機能に関しては、機能を有する EMs (extensive metabolizers : *CYP2C19\*1/\*1*)、機

能を有さない PMs (poor metabolizers: *CYP2C19*\*2/\*2, *CYP2C19*\*2/\*3, *CYP2C19*\*3/\*3)、EMs と PMs の中間型代謝能を示す IMs (intermediate metabolizers : *CYP2C19*\*1/\*2、*CYP2C19*\*1/\*3) の大きく 3 つに分類される。*CYP2C19* 機能欠損者の割合は日本人では約 20%<sup>28)</sup>と高頻度であるが、日本の健常人において *CYP2C19* PMs の患者では、経口タクロリムスの AUC が *CYP2C19* EMs の患者に比して約 4 倍、*CYP2C19* IMs の患者では約 2 倍に上昇したとの報告がある<sup>29)</sup>。VRCZ 併用患者における *CYP2C19* の遺伝子多型がタクロリムスの代謝に与える影響について Figure 3 に示す。



**Figure 3.**

**The influence of *CYP2C19* polymorphism on tacrolimus metabolism with coadministered voriconazole.**

以上の背景と問題点を踏まえて著者は、HSCT 患者におけるタクロリムス個別化投与設計の確立を目的として以下の検討を行った。第 1 章では HSCT 後のタクロリムス持続静注から経口への投与経路変更に伴う血中濃度の変動要因ならびに至適な用量換算比について検討した。第 2 章では HSCT 後のタクロリムス個別化投与設計に向け

た遺伝子多型情報の有用性について検討した。

# 第 1 章 造血幹細胞移植後のタクロリムス持続静注から経口への投与経路変更に伴う血中濃度の変動要因に関する臨床調査

## 1. 緒言

カルシニューリン阻害薬のタクロリムスは、造血幹細胞移植 (HSCT, hematopoietic stem cell transplantation) 後の移植片対宿主病 (GVHD, graft-versus-host disease) 予防を目的に幅広く使用されている免疫抑制薬である<sup>2-7)</sup>。GVHD は HSCT を受けた患者の移植関連死の主要原因の一つであり、重篤な GVHD を制御することは移植治療成功のために重要とされる<sup>30)</sup>。タクロリムスは、通常 HSCT の前日から 24 時間持続静注で開始され、経口摂取可能となった後に経口投与へ切り替えとなる。

タクロリムスは、有効治療域が狭く、体内動態における個体内・個体間変動が大きいため、タクロリムスの治療薬物モニタリング (TDM, therapeutic drug monitoring) は必要不可欠とされている。また、タクロリムスは体内動態の変動が大きい一方で、トラフ血中濃度に対する薬物血中濃度-時間曲線下面積 (AUC, area under the concentration-time curve) は、HSCT 患者において良好な相関を示している<sup>31)</sup>。これらのことから、HSCT 患者では、タクロリムス血中濃度のトラフ値のモニタリングが推奨されている。これまでの報告から、HSCT 患者では 10-20 ng/mL がタクロリムスの至適なトラフ血中濃度であることが示唆されており<sup>7,32,33)</sup>、血中濃度が低いほど GVHD が生じやすく、血中濃度が 20 ng/mL を超えると腎障害のリスクが高まるとされている。

HSCT におけるタクロリムスの薬物動態は、持続静注と経口投与で異なるが<sup>10,31)</sup>、投与経路変更時のタクロリムス血中濃度に影響を及ぼす変動要因はこれまで十分に

明らかにされていない。したがって、HSCT 患者では持続静注から経口投与に切り替える際に、タクロリムスの用量調節に難渋することが多い。本研究では、この投与経路変更時におけるタクロリムス血中濃度の変動要因を臨床調査によって明らかにすることを目的とした。さらに、投与経路変更時のタクロリムス至適な用量換算比を検討し、タクロリムス血中濃度の変動が急性 GVHD や腎機能に与える影響についても検討した。

## 2. 方法

### 2-1. 対象患者

対象は、2010年12月から2013年12月の間に九州大学病院でHSCTを施行し、GVHD予防目的にタクロリムスを使用した20歳以上の造血器腫瘍患者とした。なお、本研究は九州大学医学地区部局臨床研究（観察研究）倫理審査委員会の承認を得て実施した（承認番号 26-26）。

### 2-2. 治療スケジュール

タクロリムス持続静注の開始用量は0.03 mg/kg/dayであり、持続静注時の目標血中濃度は10-15 ng/mLであった。患者の経口摂取が可能となった後、タクロリムスの投与経路を持続静注から1日2回の経口投与（持続静注の3-4倍量を目安）に切り替えられた。持続静注は、初回の経口投与の直前に中止された。タクロリムスの血中濃度は、経口投与に切り替えた後、週3回測定された。タクロリムス血中濃度の測定には、化学発光免疫測定法（CLIA; ARCHITECT system by Abbott, Tokyo, Japan）を用いた。タクロリムスの用量は、血中濃度結果に基づき担当医師の判断で調節された。

### 2-3. データ収集および評価

すべてのデータは、電子カルテシステムから後方視的に調査した。本研究では、投与経路変更直前の持続静注におけるタクロリムス血中濃度/投与量（C/D, concentration/dose）比（以下、C/Div）（単位: ng/mL/mg/day）と、タクロリムス血中濃度の変動が安定する経口への切り替え3-5日後のC/D比（以下、C/Dpo）（単位: ng/mL/mg/day）を比較した<sup>34)</sup>。



主要評価項目は、(C/Dpo) を (C/Div) で除した (C/Dpo)/(C/Div) の変動に影響を与える因子の解明とした。副次評価項目は、タクロリムス投与経路変更時の至適な用量換算比の解明、ならびに (C/Dpo)/(C/Div) 値と投与経路変更後 2 週間における急性 GVHD および腎障害との関係を解明することとした。急性 GVHD の重症度分類は Glucksberg らによる分類法を 1994 年の急性 GVHD の grading に関する consensus conference において一部改訂されたものを用いた<sup>9,35)</sup>。腎障害の評価は、血清クレアチニン (Scr, serum creatinine) を用い、タクロリムス投与経路変更当日 (day0)、1 週間後 (day7)、2 週間後 (day14) の値で評価した。その他、臨床検査値としてアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST, aspartate aminotransferase)、アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT, alanine aminotransferase)、総ビリルビン、血清アルブミンおよびヘマトクリット値を調査した。また、タクロリムスの血中濃度に影響を及ぼす併用薬物についても調査した。抗真菌薬については、アゾール系抗真菌薬の CYP 3A4 阻害作用の強さ (FLCZ < ITCZ = VRCZ)<sup>12,36)</sup> に応じて、アゾール系抗真菌薬の併用無し (Control 群)、フルコナゾール (FLCZ, fluconazole) 群、およびイトラコナゾール (ITCZ, itraconazole) もしくはボリコナゾール (VRCZ, voriconazole) 群の 3 つに分類した。

#### 2-4. 統計解析

2 群間の比較について、カテゴリ変数は Chi-Square test または Fisher exact test を、連続変数は Mann-Whitney *U* test を用いた。3 群以上の比較については、Kruskal-Wallis test を用いた。多変量解析については、単変量解析で  $P < 0.10$  の因子を重回帰分析 (変数減少法) の対象とした。数量値は中央値 (範囲) で表し、統計的有意水準は  $P < 0.05$  とした。データ解析は JMP 11.0.2 (SAS Institute Inc., Cary, NC) および GraphPad PRISM, version 6 (GraphPad Software, San Diego, CA) を用いて行った。

### 3. 結果

#### 3-1. 患者背景

対象期間に 73 名の HSCT 患者が登録された。HSCT 開始時における年齢、性別、体重、疾患、移植ソース、移植前処置レジメン、GVHD 予防レジメン、ヒト白血球抗原 (HLA, human leukocyte antigen)、ならびに持続静注から経口への投与経路変更時の用量換算比と投与経路変更日について Table 1 に示す。タクロリムス経口投与への切り替え用量の中央値は、持続静注の 3.0 倍 (範囲: 1.7-4.0) であった。また、持続静注から経口投与への投与経路変更日の中央値は HSCT 後 45 日 (範囲: 21-162) であった。

**Table 1. Patient characteristics at the time of HSCT treatment and switching the route of administration<sup>a</sup>.**

Characteristic	n = 73
Age	
Median, year [range]	51 [20–69]
Gender, no. (%)	
Male	36 (49.3%)
Female	37 (50.7%)
Body weight	
Median, kg [range]	55 [27–109]
Primary disease, no. (%)	
Acute Leukemia	39 (53.4%)
Malignant lymphoma	24 (32.9%)
Myelodysplastic syndromes	5 (6.8%)
Myeloproliferative neoplasms	3 (4.1%)
Multiple myeloma	1 (1.4%)
Other	1 (1.4%)
Donor type and stem cell, no. (%)	
Related, bone marrow	1 (1.4%)
Related, peripheral blood	11 (15.1%)
Unrelated, bone marrow	46 (63.0%)
Unrelated, peripheral blood	2 (2.7%)
Unrelated, cord blood	13 (17.8%)
Conditioning regimen, no. (%)	
Myeloablative	22 (30.1%)
Reduced intensity	51 (69.9%)
GVHD prophylaxis, no. (%)	
Tacrolimus plus MTX	55 (75.3%)
Tacrolimus plus MMF	13 (17.8%)
Tacrolimus plus mPSL	3 (4.1%)
Other	2 (2.8%)
HLA-mismatched, no. (%)	39 (53.4%)
Tacrolimus Dpo/Div ratio <sup>b</sup> , Median [range]	3.0 [1.7-4.0]
Days of switching the route of tacrolimus, Median [range]	45 [21-162]

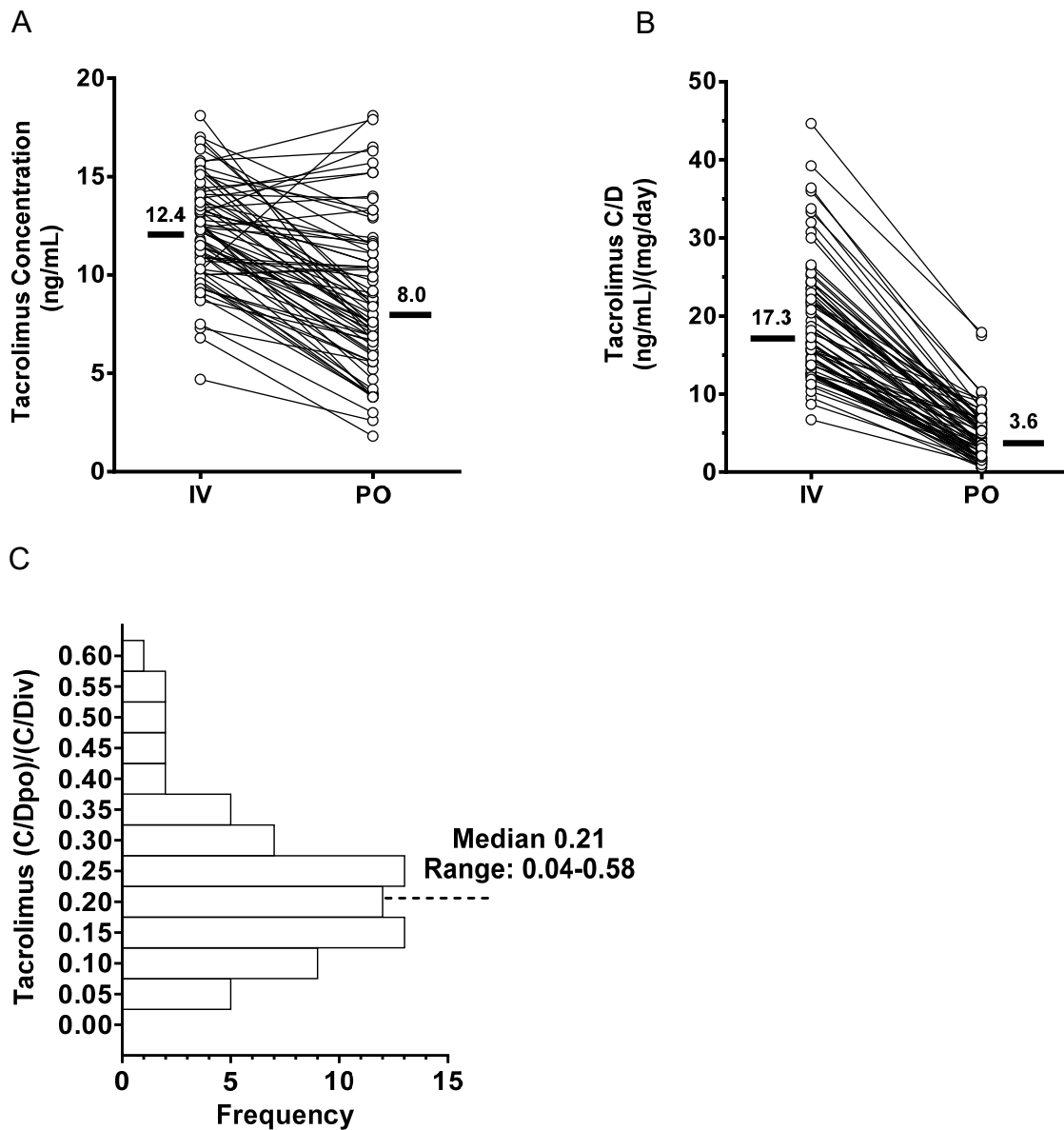
GVHD, graft versus host disease; MTX, methotrexate; MMF, mycophenolate mofetil; mPSL, methylprednisolone; HLA, human leukocyte antigen.

a) Patient characteristics at the time of HSCT treatment were age, gender, body weight, primary disease, donor type and stem cell, conditioning regimen, GVHD prophylaxis and HLA-mismatched. Patient characteristics at the time of switching the route of administration were tacrolimus (Dpo)/(Div) ratio and days of switching the route of tacrolimus.

b) Dose ratio of tacrolimus just before the change from continuous intravenous infusion (Div) was compared with that from between 3 and 5 days after the change to oral administration (Dpo).

### 3-2. 投与経路変更時におけるタクロリムスの血中濃度と C/D 比

持続静注から経口への投与経路変更直前 (iv) と変更後 3-5 日 (po) におけるタクロリムスの血中濃度を Figure 4A に示す。持続静注 (iv) におけるタクロリムス血中濃度の中央値は 12.4 ng/mL (範囲:4.7-18.1) であり、経口投与 3-5 日目 (po) の中央値は 8.0 ng/mL (範囲:1.8-18.1) であったことから、投与経路変更により血中濃度のバラつきが大きくなる傾向がみられた。同様に、持続静注から経口への投与経路変更直前 (iv) と変更後 3-5 日 (po) におけるタクロリムスの C/D 比を Figure 4B に示す。持続静注時の(C/Div) の中央値は 17.3 [(ng/mL)/(mg/day)] (範囲:6.7-44.7) であり、経口投与時の(C/Dpo)の中央値は 3.6 [(ng/mL)/(mg/day)] (範囲:0.6-17.9) であった。さらに、(C/Dpo)を(C/Div)で除した(C/Dpo)/(C/Div)の中央値は 0.21 (範囲:0.04-0.58) であった (Figure 4C)。すなわち、持続静注と経口で同じ血中濃度を維持する場合、経口への用量換算比の中央値は、持続静注時の 4.8 倍 (範囲: 1.7-25.0) であることが示唆された。



**Figure 4.**

**Result of the switch from immediately before the change from continuous intravenous infusion to between 3–5 days after the change to oral twice-daily administration of tacrolimus, blood concentration (A), concentration/dose (C/D) (B), and C/D during oral administration (C/Dpo) divided by during continuous intravenous infusion (C/Div) ((C/Dpo)/(C/Div)) (C). The bars show the median values.**

### 3-3. タクロリムス (C/Dpo)/(C/Div) の変動要因に関する調査

単変量解析の結果、 $P < 0.10$  を満たす変数として、経口 ITCZ もしくは VRCZ の併用 ( $n = 29, P < 0.001$ )、および経口 FLCZ の併用 ( $n = 30, P = 0.022$ ) が (C/Dpo)/(C/Div) 上昇の因子として挙げられた。また、女性 ( $n = 37, P = 0.069$ )、アゾール抗真菌薬の併用無し ( $n = 13, P = 0.021$ )、オメプラゾールの併用 ( $n = 4, P = 0.074$ )、および Ca ブロッカーの併用 ( $n = 7, P = 0.071$ ) が (C/Dpo)/(C/Div) 低下の因子として挙げられた (Table 2)。重回帰分析の結果、経口 ITCZ もしくは VRCZ の併用のみがタクロリムスの (C/Dpo)/(C/Div) の変動に影響を与える有意な因子であった ( $P = 0.002$ ) (Table 3)。

**Table 2. Univariate analysis to identify the variable factors associated with the variation of (C/Dpo)/(C/Div).**

Variable	n	p-value
Female Gender	37	0.069 <sup>a</sup>
Age (years)	–	0.550
Body weight (kg)	–	0.117
Myeloablative conditioning regimen	22	0.602
GVHD prophylaxis	–	0.712
Without azole antifungals	13	0.021 <sup>a</sup>
Concomitant use of oral FLCZ	30	0.022 <sup>b</sup>
Concomitant use of oral ITCZ or VRCZ	29	< 0.001 <sup>b</sup>
Concomitant use of omeprazole	4	0.074 <sup>a</sup>
Concomitant use of lansoprazole	25	0.907
Concomitant use of steroid	36	0.913
Concomitant use of calcium channel blocker	7	0.071 <sup>a</sup>
History of gut GVHD	20	0.564
Serum albumin (g/dL)	–	0.752
Hematocrit (%)	–	0.302
Scr (mg/dL)	–	0.825
T-Bil (mg/dL)	–	0.230
AST (IU/L)	–	0.760
ALT (IU/L)	–	0.567

GVHD, graft versus host disease; FLCZ, fluconazole; ITCZ, itraconazole; VRCZ, voriconazole; Scr, serum creatinine; T-Bil, total bilirubin; AST, aspartate aminotransferase; ALT, alanine aminotransferase.

a) A factor in the decrease of the (C/Dpo)/(C/Div) ratio of tacrolimus.

b) A factor in the increase of the (C/Dpo)/(C/Div) ratio of tacrolimus.

**Table 3. Multiple regression analysis to identify the variable factors associated with the variation of (C/Dpo)/(C/Div).**

Variable	<i>P</i> -value
$\frac{C/Dpo}{C/Div} = 0.245 + 0.064 (A)^a$	0.002

FLCZ, fluconazole; ITCZ, itraconazole; VRCZ, voriconazole.

a) A=0, concomitant use of FLCZ or no concomitant use of azole antifungal agents.

A=1, concomitant use of oral ITCZ or VRCZ.

#### 3-4. タクロリムス (C/Dpo)/(C/Div) に対するアゾール系抗真菌薬の影響

多変量解析の結果を受け、抗真菌薬を Control 群、FLCZ 群、ITCZ もしくは VRCZ 群の 3 群に分けて (C/Dpo)/(C/Div) を比較した。ITCZ または VRCZ 群におけるタクロリムスの (C/Dpo)/(C/Div) の中央値は 0.28 (0.06-0.58)であり、Control 群の中央値 0.11 (0.04-0.52) ( $P < 0.001$ ) ならびに FLCZ 群の中央値 0.19 (0.07- 0.30) ( $P < 0.01$ ) に比して有意に高値を示した (Figure 5)。一方、Control 群と FLCZ 群との間でタクロリムス(C/Dpo)/(C/Div) に有意な差はみられなかった。なお、Control 群では、MCFG を併用した 1 名の患者で (C/Dpo)/(C/Div) が 0.52 と高値を示したが、この患者の AST 値および ALT 値は、それぞれ 70 IU/L および 321 IU/L であった。

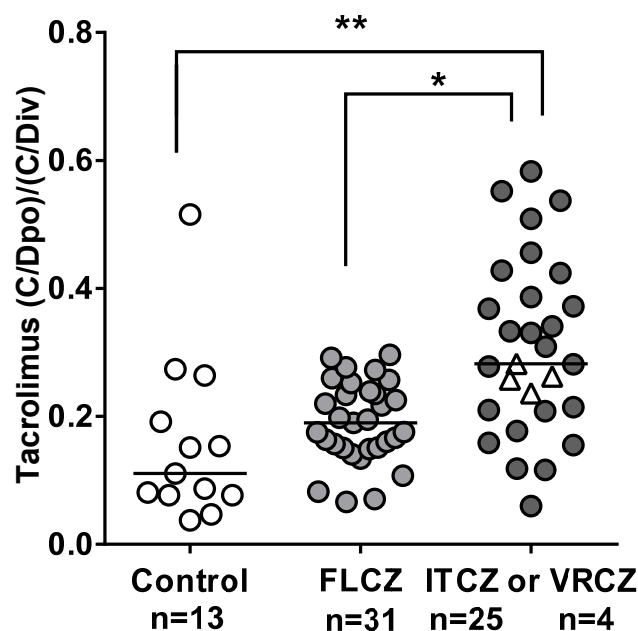


Figure 5.

**Influence of azole antifungal agents on the (C/Dpo)/(C/Div) of tacrolimus.** Patients were divided into the following 3 groups based on the concomitant use of azole antifungal agent: control (intravenous micafungin [n = 9], intravenous liposomal amphotericin B [n = 2], and without concomitant use of antifungal agents [n = 2]), FLCZ (oral FLCZ [n = 30] and intravenous fosfluconazole [n = 1]), and ITCZ or VRCZ (oral ITCZ [n = 25] and oral VRCZ [n = 4]). Closed circles show ITCZ and opened triangles show VRCZ. Bar shows the median value in each group. \*  $P < 0.01$ , \*\*  $P < 0.001$ , between groups.

### 3-5. タクロリムス C/Dpo と C/Div の相関関係に対するアゾール系抗真菌薬の影響

タクロリムスの C/Dpo および C/Div との相関関係を抗真菌薬別に調査したところ、FLCZ 群 ( $r^2 = 0.542$ ,  $P < 0.001$ ) および ITCZ もしくは VRCZ 群 ( $r^2 = 0.707$ ,  $P < 0.001$ ) において、有意な相関関係を認めた。また、タクロリムス持続静注から経口投与への用量換算比を示唆する直線の傾きは、Control 群で 0.12、FLCZ 群で 0.21、ITCZ もしくは VRCZ 群で 0.39 であった (Figure 6)。すなわち、有意な相関関係を示した FLCZ 群および ITCZ もしくは VRCZ 群において、持続静注と経口で同じ血中濃度を



維持する場合、経口への用量換算比は FLCZ 群で持続静注時の約 5 倍、ITCZ もしくは VRCZ 群では、約 3 倍であることが示唆された。

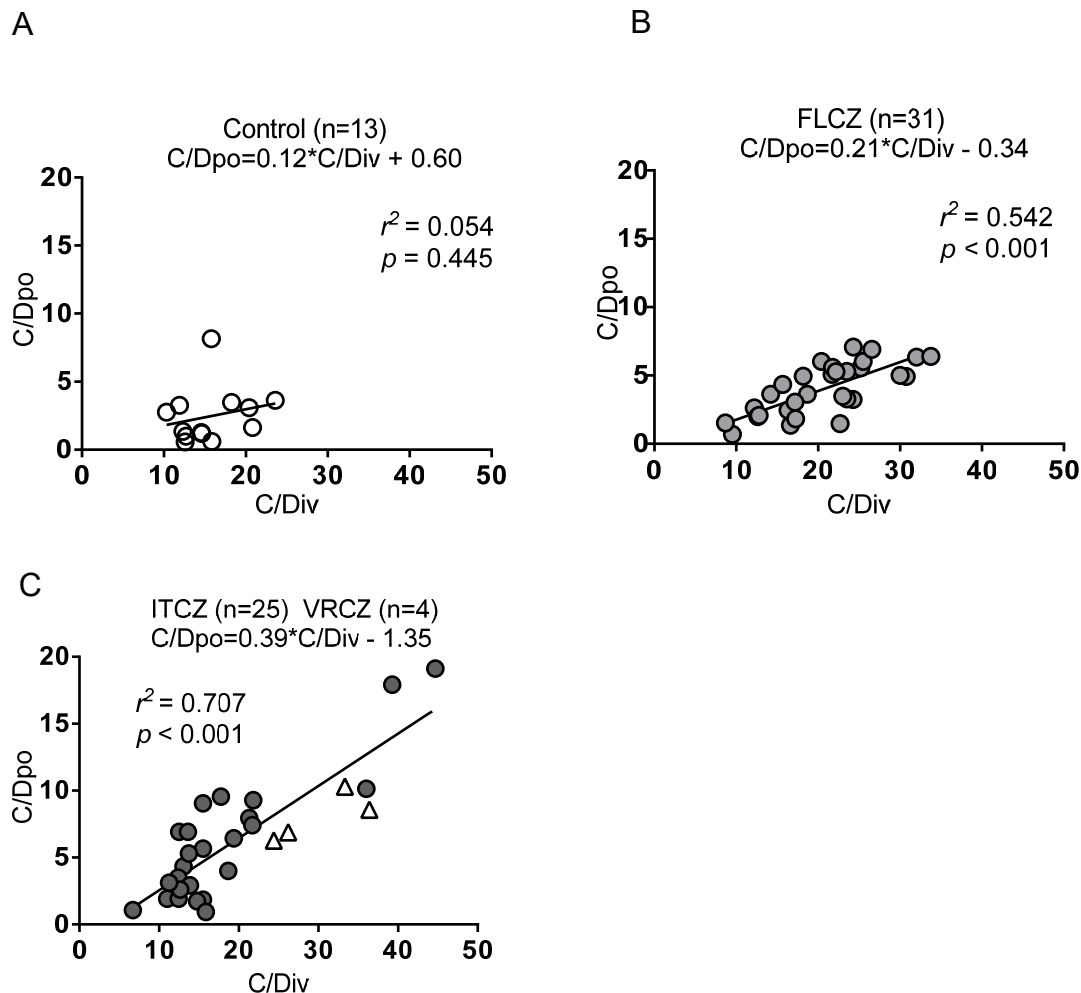


Figure 6.

**Influence of azole antifungal agents on the correlation between the C/Dpo and C/Div of tacrolimus in the control group (A), in the FLCZ group (B), and in the ITCZ or VRCZ group (C). Closed circles show ITCZ and opened triangles show VRCZ.**

### 3-6. タクロリムス (C/Dpo)/(C/Div) が急性 GVHD と腎障害に与える影響

タクロリムス(C/Dpo)/(C/Div)と急性 GVHD との関連性を調査するため、(C/Dpo)/(C/Div) を下位 25%と上位 75%に分けて比較した。下位 25% に該当する 18 名のうち 5 名 (27.8%) が投与経路の変更後 2 週以内に急性 GVHD を発症もしくは再

燃したが、これは上位 75% に該当する 55 名中 5 名 (9.1%) に比して有意に高かった ( $P = 0.045$ ) (Table 4)。また、急性 GVHD の発症と併用したアゾール系抗真菌薬の種類との間に有意な関連性はみられなかった。次に、(C/Dpo)/(C/Div) の変動が腎機能に与える影響を調査するために、タクロリムス (C/Dpo)/(C/Div) を上位 25%と下位 75%に分けて Scr 値で比較したところ、0 日目 ( $P = 0.949$ )、7 日目 ( $P = 0.768$ )、14 日目 ( $P = 0.451$ ) において、いずれも有意差はみられなかった (Table 5)。

**Table 4. Association between tacrolimus (C/Dpo)/(C/Div) values and the occurrence of acute GVHD.**

acute GVHD, grades	Lowest quartile <sup>a</sup> no (%) (n=18)	Other quartiles <sup>b</sup> no (%) (n=55)	<i>p</i> -value
All grades	5 (27.8%)	5 (9.1%)	0.045
Grade 1	2 (11.1%)	1 (1.8%)	–
Grade 2	2 (11.1%)	4 (7.3%)	–
Grade 3	1 (5.6%)	0 (0%)	–

a) The range of (C/Dpo)/(C/Div) ratio in the lowest quartile group was 0.04–0.15.

b) The range of (C/Dpo)/(C/Div) ratio in the other quartiles was 0.15–0.58.

**Table 5. Association between tacrolimus (C/Dpo)/(C/Div) values and the occurrence of kidney injury.**

Days	Serum creatinine (mg per 100 mL), mean (minimum-maximum)		
	(C/Dpo)/(C/Div)		<i>p</i> -value
	Highest quartile <sup>a</sup> (n=18)	Other quartiles <sup>b</sup> (n = 55)	
Day 0	0.72 (0.43–1.58)	0.73 (0.33–1.50)	0.949
Day 7	0.78 (0.44–1.49)	0.81 (0.39–1.88)	0.768
Day14	0.84 (0.46–1.43)	0.84 (0.38–1.70) <sup>c</sup>	0.451

a) The range of highest quartile of (C/Dpo)/(C/Div) ratio was 0.28–0.58.

b) The range of other quartiles of (C/Dpo)/(C/Div) ratio was 0.04–0.28.

c) n = 53; two patients were already discharged.

#### 4. 考察

本研究により、以下の3点が示された。(1)重回帰分析の結果より、HSCT患者におけるタクロリムス (C/Dpo)/(C/Div) を有意に上昇させる変動要因として経口 ITCZ または VRCZ の併用が示された (Table 3)。(2)タクロリムス持続静注から経口への投与経路変更に伴う至適な用量換算比は、1:5が目安となるが、経口 ITCZ または VRCZ を服用している患者には、より低用量 (1:3が目安) からの切り替えが推奨されることが示唆された (Figure 4C、Figure 5、Figure 6)。(3)持続静注から経口への投与経路変更により、タクロリムス血中濃度が急に低下した患者では、急性 GVHD の発症もしくは再燃に注意する必要があることが示された (Table 4)。

まず、アゾール系抗真菌薬の併用がタクロリムスの C/D 比に与える影響について考察する。タクロリムスは、主に CYP3A4/5 により代謝されるため、臨床的に重要な薬物相互作用を多く有することが HSCT 領域においても報告されている<sup>13)</sup>。CYP3A4 の代謝を強力に阻害するアゾール系抗真菌薬とタクロリムスとの薬物相互作用は、広く認知されているが<sup>12,13,36)</sup>、CYP3A4 阻害作用の強さは、アゾール系抗真菌薬の中でも違いがみられ、FLCZ に比して、ITCZ と VRCZ は CYP3A4 を強力に阻害することが報告されている<sup>12,37,38)</sup>。これらのことは、本研究の結果とも一致している (Figure 5)。本研究におけるアゾール系抗真菌薬の投与経路は、ほとんど全ての症例で経口投与であり、投与経路 (経口と静注) の違いがタクロリムス (C/Dpo)/(C/Div) に与える影響については明らかにすることができなかった。Mihara ら<sup>39)</sup> は、FLCZ において静脈内投与に比して経口の CYP3A4 阻害作用が強い理由として、腸管 CYP3A4 阻害作用によるものと結論づけており、経口のアゾール系抗真菌薬を併用する場合は、相互作用により注意を払う必要があることを報告している。他方、アゾール系抗真菌薬以外

の Control 群について、MCFG は *in vitro* において CYP3A4 の弱い阻害作用が示されているが<sup>36)</sup>、健常者<sup>40)</sup>、血液疾患患者<sup>41)</sup>、および HSCT 患者<sup>42)</sup> において、タクロリムスとの間に臨床的に影響のある相互作用はみられなかったと報告されている。本研究では、MCFG が併用された 9 名の患者のうち 1 名のみタクロリムス (C/Dpo)/(C/Div) が 0.52 と高い値を示したが (Figure 2)、この患者は AST が 70 IU/L、ALT 値が 321 IU/L であり、肝機能が低下していたことが原因と考えられた。また、Sakaeda ら<sup>43)</sup> は、アムホテリシン B について、*in vitro* で CYP3A4 の代謝活性に対して阻害効果を示さないことを報告している。本研究では、L-AMB を併用した患者 2 名のタクロリムス (C/Dpo)/(C/Div) はそれぞれ 0.08 と 0.09 と低値であった (data not shown)。したがって、アゾール系抗真菌薬、特に経口 ITCZ もしくは VRCZ の併用は、腸管 CYP3A4 の阻害を介してタクロリムスの (C/Dpo)/(C/Div) を上昇させたことが考えられた。

次にタクロリムス投与経路変更時の至適な用量換算比について考察する。日本造血細胞移植学会の GVHD ガイドライン<sup>9)</sup> によると、HSCT 患者においてタクロリムスの持続静注から経口投与に切り替える際には 3~4 倍量を用いることが推奨されている。しかしながら、Yano ら<sup>44)</sup> は静注：経口の換算比を 1：4 にした場合、10 名中 6 名 (60%) でタクロリムスの AUC の減少がみられ、増量が必要であったことを報告している。本研究では、タクロリムスの (C/Dpo)/(C/Div) の中央値は 0.21 であった (Figure 4C)。また重回帰分析の結果、経口 ITCZ または VRCZ の併用がタクロリムスの (C/Dpo)/(C/Div) を有意に増加させることが示された (Table 3、Figure 5)。さらに、タクロリムスの持続静注から経口投与への用量換算比を示唆する直線の傾きは、Control 群では 0.12、FLCZ 群では 0.21、ITCZ もしくは VRCZ 群では 0.39 であった (Figure 6)。したがって、タクロリムス投与経路変更時の至適な用量換算比については、

持続静注時の5倍量が目安となるが、経口ITCZもしくはVRCZを併用している患者では、CYP3A4阻害作用による影響を強く受けるため、より低用量（3倍量が目安）からの切り替えが望ましいことが示唆された。

最後に、タクロリムス血中濃度の変動と合併症との関係について考察する。投与経路変更によりタクロリムスの血中濃度が急激に変動すると、GVHDや腎障害などの発症のリスクを考慮する必要がある。本研究では、タクロリムス(C/Dpo)/(C/Div)が低かった患者（下位25%）では、上位75%の患者に比して、投与経路変更後2週以内に急性GVHDの発症もしくは再燃の割合が有意に高かった（Table 4）。なお、急性GVHDの発症もしくは再燃と併用したアゾール抗真菌薬の種類との間に有意な関連性はみられなかった（data not shown）。特に、タクロリムス(C/Dpo)/(C/Div)が低かった患者（下位25%）のうち1名は、投与経路変更後に血中濃度の急激な減少を生じ、Grade IIIの重度の腸管GVHDを発症した。Yanoら<sup>44)</sup>は、1名のHSCT患者において投与経路の変更直後にタクロリムスのトラフ濃度が9.8から3.6 ng/mLへと急速に低下し、Grade 2の皮膚GVHDを発症したと報告している。したがって、投与経路変更後にタクロリムスの(C/Dpo)/(C/Div)が減少した患者では、GVHDの有無を注意深く観察するとともに、血中濃度結果を考慮してタクロリムスの用量を速やかに調整する必要があると考えられた。さらに、投与経路の変更は、血中濃度が安定するまで入院下で行うことが望ましいと考えられた。一方、タクロリムス(C/Dpo)/(C/Div)の変動と腎障害との間に統計的に有意な関連はみられなかった（Table 5）。Grade 1-2の腎障害が認められた患者はいたものの、軽度で一時的なものであった。

なお、本研究は以下の限界があると考えられる。今回は後方視的な調査研究であったため、タクロリムスのC/D比に影響を与えるCYP3A5遺伝子多型の情報を調べる

ことができなかった<sup>1,19-22)</sup>。CYP3A5 遺伝子多型の診断は、日本における日常診療では検査されないことが理由であるが、今後はタクロリムスの C/D 比に影響を与える可能性のある遺伝子多型情報を含めた検討が必要であると考えられた。

以上、タクロリムスを経口投与に切り替える際は、持続静注時の約 5 倍量が目安となるが、経口 ITCZ もしくは VRCZ を併用している患者では、CYP3A4 阻害による薬物相互作用が強く生じるため、より低用量 (約 3 倍量) からの切り替えが望ましいと考えられた。また、切り替え後に血中濃度が低下した患者では GVHD の発現に注意し、定期的な血中濃度測定と速やかな投与量調節が重要であることが示唆された。

## 第 2 章 造血幹細胞移植後のタクロリムス個別化投与設計に向けた遺伝子多型情報の有用性解明に関する研究

### 1. 緒言

第 1 章では、造血幹細胞移植 (HSCT, hematopoietic stem cell transplantation) 後のタクロリムス持続静注から経口への投与経路変更に伴う血中濃度の変動要因ならびに至適な用量換算比について検討した。第 2 章では、HSCT 後のタクロリムス個別化投与設計に向けた遺伝子多型情報の有用性に関する研究を行うこととした。

タクロリムスの代謝にはチトクロム P450 (CYP) 3A4 と CYP3A5 が協働的に担うとされているが、CYP3A5 の多型性については、CYP3A5 ゲノム上のイントロン 3 における一塩基変異が CYP3A5 mRNA のスプライシング異常とそれに引き続く機能蛋白の欠失を引き起こす<sup>14,15)</sup>。この CYP3A5 遺伝子多型は、腎臓や肝臓などの臓器移植患者<sup>16,17)</sup>だけでなく、HSCT 患者<sup>19-22)</sup>においてもタクロリムスの体内動態の個体間変動を説明する上で有用な指標になり得ることが報告されており、日本人における報告もいくつか存在する<sup>19,20,22)</sup>。しかしながら、HSCT 領域における CYP3A5 遺伝子多型情報の有用性に関する報告は、持続静注時<sup>19,20)</sup> および経口投与時<sup>21,22)</sup> に限られており、持続静脈から経口投与への切り替え時にどのように影響するかは、未だ明らかにされていない。また最近では、酸化型 CYP の還元を媒介する酵素である P450 oxidoreductase (POR) の機能亢進に繋がる POR\*28 遺伝子多型が見出され、CYP3A の活性を亢進することにより、タクロリムスの体内動態を規定する分子生物学的指標の一つとして腎移植領域で報告<sup>24,25)</sup>されたが、HSCT 領域では未解明である。

HSCT では、真菌感染予防もしくは治療にアゾール系抗真菌薬がしばしば併用される<sup>26,27)</sup>。タクロリムスの代謝は CYP3A4 と CYP3A5 が協働的に担うため、CYP3A5

遺伝子型の違いがアゾール系抗真菌薬との相互作用に影響する可能性がある。また、アゾール系抗真菌薬の一つであるボリコナゾール (VRCZ, voriconazole) の代謝は、主に CYP2C19 が関与し、一部が CYP3A により代謝される。CYP2C19 機能欠損者の割合は日本人では約 20%<sup>28)</sup> と高頻度であり、日本の健常人においてこの遺伝子型の違いが VRCZ 併用時のタクロリムスの薬物動態に影響を及ぼしたとの報告もある<sup>29)</sup>。

したがって、タクロリムスの使用前に CYP3A5、POR28、CYP2C19 の遺伝子多型の情報を得ることができれば、初回からの用量調節が容易になるばかりでなく、副作用発現の危険性も回避することが期待される。しかしながら、HSCT 領域におけるこれらの遺伝子多型情報の臨床的有用性は未だ確立されていない。本研究では、これまでのタクロリムスの精密な血中濃度管理を中心とした投与設計法に、薬物代謝酵素の遺伝子多型情報 (CYP3A5、POR28、CYP2C19) を加えることによって、HSCT 後の個別化免疫抑制療法を発展させる分子生物学的指標の確立を目的とした。



## 2. 方法

### 2-1. 対象患者とタクロリムス投与スケジュール

2009年8月～2018年7月の間に、九州大学病院にて初回のHSCTを施行し、移植片対宿主病 (GVHD, graft-versus-host disease) の予防のためにタクロリムスを使用した36人の日本人血液疾患患者を対象とした。なお、生体肝移植歴のある患者1名は本研究から除外した。

タクロリムス持続静注の開始用量は0.02～0.03 mg/kg/dayであり、移植前日から開始された。患者の経口摂取が可能となった後、タクロリムスの投与経路を持続静注から2-4倍量の経口投与 (1日2回内服) に切り替えられた。持続静注は、タクロリムス経口投与の直前に中止された。タクロリムスのトラフ目標血中濃度は、持続静注では10-15 ng/mL、経口投与に切り替えた後は8-12 ng/mLに調節された。タクロリムスの用量は目標濃度域に収まるように医師によって調節された。

なお本研究は、九州大学大学院医系地区部局ヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理委員会の承認を得て実施した (承認番号652-01)。

### 2-2. *CYP3A5*、*CYP2C19*、*POR28* の遺伝子型判定

DNA抽出について、既に移植済みの患者については頬粘膜から、移植前の患者については末梢血あるいは骨髄液を一部採取し、QIAamp Mini Kit (Qiagen, Hilden, Germany) を用いて行った。*CYP3A5*\*3、*CYP2C19*\*2、*CYP2C19*\*3 および *POR*\*28 の一塩基多型 (SNP, single nucleotide polymorphism) の検出は、LightCycler (Roche) を用い、PCR法による融解曲線分析にて行った<sup>25,45)</sup>。*CYP3A5* の薬物代謝機能に関しては、機

能群 (*CYP3A5\*1/\*1*、*CYP3A5\*1/\*3*)と欠損群 (*CYP3A5\*3/\*3*) に分類した。*POR28* の機能に関しては、活性型 (*POR\*1/\*28*、*POR\*28/\*28*) と非活性型 (*POR\*1/\*1*) に分類した。*CYP2C19* の薬物代謝機能に関しては、機能を有する EMs (extensive metabolizers : *CYP2C19\*1/\*1*)、機能を有さない PMs (poor metabolizers : *CYP2C19\*2/\*2*、*CYP2C19\*2/\*3*、*CYP2C19\*3/\*3*)、EMs と PMs の中間型代謝能を示す IMs (intermediate metabolizers : *CYP2C19\*1/\*2*、*CYP2C19\*1/\*3*) に分類した。なお、*CYP3A5*、*CYP2C19*、*POR28* 遺伝子型の結果は、タクロリムスの用量調節には使用されていない。

### 2-3. サンプル採取と分析方法

タクロリムス血中濃度は、2010年12月19日まではACMIA法 (Dimension X pand plus, Siemens, Tokyo, Japan)を、2010年12月20日からはCLIA法 (ARCHITECT i1000 SR, Abbott, Tokyo, Japan) を用いて測定した。タクロリムス血中濃度の測定頻度は、持続静注の期間中はほぼ連日、経口投与に切り替えた後は1週間に3回測定された。血漿ポリコナゾール濃度は、外部委託による測定とし、測定結果の解析には高速液体クロマトグラフ法もしくは高速液体クロマトグラフ・タンデム質量分析法で得られた結果を用いた。

すべての診療データは電子カルテシステムから後ろ向きに収集した。HSCTから100日間、薬物血中濃度とタクロリムスの用量を記録し、タクロリムスの体内動態は血中濃度/投与量 (C/D, concentration/dose) 比で評価した。タクロリムス投与経路変更時の至適な用量換算比を検討するため、経口投与への変更直前の持続静注時のC/D比 (C/Div) および定常状態に達した経口投与変更後4-7日目のタクロリムスC/D比 (C/Dpo)を算出した。

主要評価項目は、HSCT 患者における持続静注時ならびに投与経路変更時におけるタクロリムス C/D 比に影響を与える遺伝子多型情報の有用性の評価とした。副次評価項目は、これら遺伝子多型情報と急性 GVHD および急性腎障害 (AKI, acute kidney injury) との関係、タクロリムス投与経路変更時の C/D 比に影響を与える因子の探索、および投与経路変更時の至適な用量換算比の解析とした。急性 GVHD の重症度分類は Glucksberg らによる分類法を 1994 年の急性 GVHD の grading に関する consensus conference において一部改訂されたものを用いた<sup>9,35)</sup>。AKI の重症度分類には有害事象共通用語規準 (CTCAE, common terminology criteria for adverse events) Ver4.0 を用いた。併用した抗真菌薬について、CYP3A4 阻害作用の強さから、アゾール系抗真菌薬なし (Control)、フルコナゾール (FLCZ, fluconazole)、ボリコナゾール (VRCZ, voriconazole)、イトラコナゾール (ITCZ, itraconazole) の 4 群に分類した。また、タクロリムス持続静注時におけるアゾール系抗真菌薬併用の影響について、その影響を除く解析として、タクロリムスとの併用期間、ならびに FLCZ と ITCZ は中止後 5 日間、VRCZ は中止後 3 日間をアゾール系抗真菌薬の影響があるものとみなして除いた。

#### 2-4. 統計解析

2 群間の比較について、カテゴリ変数は Chi-Square test または Fisher exact test を、連続変数は Mann-Whitney *U* test を用いた。3 群以上の比較については、Kruskal-Wallis test を用いた。遺伝子多型情報と急性 GVHD、AKI の発現率との関係については、Kaplan-Meier 法を用いた。これらの統計は、GraphPad PRISM, version 6 (GraphPad Software, San Diego, CA)を用いて解析した。多変量解析については、単変量解析にて  $P < 0.10$  の因子を重回帰分析 (変数減少法) の対象とした。単変量および多変量解析は、JMP 13 (SAS Institute Inc, Cary, NC)を用いて行った。数量値は中央値 (範

困) で表し、統計学的有意水準は 5%未満とした。

### 3. 結果

#### 3-1. 患者背景

対象患者 36 名について、*CYP3A5* 機能群 (n = 19) と *CYP3A5* 欠損群 (n = 17) の 2 群に分けた患者背景を Table 6 に示す。両群の間で年齢、性別、体重、*CYP2C19* 遺伝子型、*POR28* 遺伝子型、疾患、移植前処置レジメン、GVHD 予防レジメン、移植ソース、HLA、併用した抗真菌薬、肝機能ならびに腎機能に有意差はみられなかった。

**Table 6. Demographics of HSCT Recipients According to *CYP3A5* Genotype (n = 36).**

Characteristics	<i>CYP3A5</i> *1/*1 or *1/*3 (n = 19)	<i>CYP3A5</i> *3/*3 (n = 17)	P value
Age, Median, year (range)	55 (34-69)	55 (17-67)	0.894
Gender, Male / Female, no.	11/8	10/7	1.000
Body weight, Median, kg (range)	63.1 (42.0-98.9)	59.3 (43.6-74.1)	0.367
<i>POR28</i> genotype, no.			
*1/*1	10	6	0.335
*1/*28 or *28/*28	9	11	
<i>CYP2C19</i> genotype, no.			0.230
*1/*1	5	5	
*1/*2 or *1/*3	11	12	
*2/*2 or *3/*3	3	0	
Diagnosis, no.			0.236
AML/MDS	13	7	
ALL	1	2	
CML	1	1	
Lymphoma	3	7	
AA	1	0	
Donor type and stem cell, no.			0.667
Unrelated, bone marrow	10	9	
Unrelated, peripheral blood	1	1	
Unrelated, cord blood	3	4	
Related, peripheral blood	0	1	

Related, haplo-peripheral blood	5	2	
HLA, no.			0.281
Full match	4	7	
Mismatch	15	10	
Conditioning regimen, no.			1.000
Myeloablative	6	6	
Reduced intensity	13	11	
GVHD prophylaxis, no.			0.157
MTX	11	13	
MMF	3	4	
mPSL	3	0	
MMF + CY	2	0	
Concomitant antifungal agents, no.			0.422
CPFG or MCFG	15	10	
FLCZ	3	5	
VRCZ	1	2	
AST, Median, U/L (range)	22 (12-57)	21 (10-32)	0.567
ALT, Median, U/L (range)	29 (10-71)	20 (8-54)	0.101
T-Bil, Median, mg/dL (range)	0.5 (0.3-1.4)	0.4 (0.3-1.0)	0.077
Scr, Median, mg/dL (range)	0.67 (0.52-1.38)	0.63 (0.42-1.06)	0.182

AML indicates acute myeloid leukemia; ALL, acute lymphoblastic leukemia, CML, chronic myeloid leukemia; AA, aplastic anemia; MTX, methotrexate; MMF, mycophenolate mofetil; mPSL, methylprednisolone; CY, cyclophosphamide; CPFG, aspofofungin; MCFG, micafungin; FLCZ, fluconazole; VRCZ, voriconazole; AST, aspartate aminotransferase; ALT, alanine aminotransferase; T-Bil, total bilirubin; Scr, serum creatinine.

### 3-2. 持続静注時のタクロリムス C/D 比に対する CYP3A5 遺伝子多型の影響

HSCT 後 3 週間における持続静注時のタクロリムス C/D 比に対する CYP3A5 遺伝子多型の影響について調査した (Table 7)。HSCT 後 1 週目のタクロリムス C/D 比について、CYP3A5 欠損群 12.7 (4.8-22.7) は機能群 11.5 (4.7-18.9) に比し有意に高値を示した ( $P = 0.032$ )。2 週目においても、CYP3A5 欠損群 11.2 (4.2-26.2) は機能群 10.0 (3.4-15.5) に比し有意に高値を示した ( $P = 0.001$ )。一方、HSCT 後 3 週目の C/D 比においては、CYP3A5 欠損群 10.8 (4.9-19.3) と機能群 11.0 (4.8-20.3) の間に有意差はみられなかった ( $P = 0.860$ )。

また、アゾール系抗真菌薬併用期間の影響を除いた場合の、持続点滴時のタクロリムス C/D 比に対する CYP3A5 遺伝子多型の影響を HSCT 後 3 週間で調査した (Table 7)。HSCT 後 2 週目において、CYP3A5 欠損群 9.9 (4.8-26.2) では機能群 9.9 (3.4-15.5) に比し、有意に高値を示したものの ( $P = 0.048$ )、HSCT 後 1 週目の C/D 比については、CYP3A5 欠損群 10.6 (4.8-21.0) と機能群 11.5 (4.7-18.9) の間に有意差はみられなかった ( $P = 0.398$ )。同様に、HSCT 後 3 週目の C/D 比についても、CYP3A5 欠損群 10.3 (4.9-18.4) と機能群 10.5 (4.8-20.3) の間に有意差はみられなかった ( $P = 0.569$ )。

**Table 7. Day +1 to Day +21 Median Tacrolimus C/D Ratio According to CYP3A5 Genotype (n = 36).**

Days	CYP3A5 Genotype						P value
	CYP3A5 *1/*1 or *1/*3			CYP3A5 *3/*3			
	C/D Ratio, median	Range	n <sup>a</sup> (sample) <sup>b</sup>	C/D Ratio, median	Range	n <sup>a</sup> (sample) <sup>b</sup>	
All patients							
Day 1-7	11.5	4.7 - 18.9	19 (117) <sup>c</sup>	12.7	4.8 - 22.7	17 (119)	0.032
Day 8-14	10.0	3.4 - 15.5	19 (133)	11.2	4.2 - 26.2	17 (118)	0.001
Day 15-21	11.0	4.8 - 20.3	19 (131)	10.8	4.9 - 19.3	17 (118)	0.860
Without azole antifungal agents							
Day 1-7	11.5	4.7 - 18.9	15 (91)	10.6	4.8 - 21.0	10 (70)	0.398
Day 8-14	9.9	3.4 - 15.5	16 (107)	9.9	4.8 - 26.2	13 (77)	0.048
Day 15-21	10.5	4.8 - 20.3	17 (117)	10.3	4.9 - 18.4	15 (100)	0.569

C/D indicates concentration/dose.

a) Number of subjects

b) Number of sample

c) Two patients started tacrolimus on day 5 after HSCT because of HLA-haploidentical hematopoietic stem cell transplantation.



### 3-3. 持続静注時のタクロリムス C/D 比に対する CYP3A5 と POR28 遺伝子多型の組み合わせによる影響

HSCT 後 3 週間における CYP3A5 機能群および欠損群と POR28 遺伝子多型の組み合わせによる影響を調査した。

CYP3A5 機能群では、HSCT 後 1~3 週目の全ての週において、POR28 活性型は非活性型に比し、タクロリムスの C/D 比はそれぞれ有意に低値を示した (1 週目 :  $P < 0.001$ 、2 週目 :  $P = 0.030$ 、3 週目 :  $P < 0.001$ )。アゾール系抗真菌薬併用期間の影響を除いた場合、HSCT 後 1 週目と 3 週目において、POR28 活性型は非活性型に比し、タクロリムスの C/D 比はそれぞれ有意に低値を示したが (1 週目 :  $P = 0.001$ 、3 週目 :  $P < 0.001$ )、2 週目では両群間に有意差はみられなかった ( $P = 0.418$ ) (Table 8A)。

他方、CYP3A5 欠損群においては HSCT 後 1 週目のみ POR28 活性型は非活性型に比し、タクロリムスの C/D 比は有意に低値を示したが ( $P = 0.003$ )、2 週目および 3 週目に有意差はみられなかった (2 週目 :  $P = 0.178$ 、3 週目 :  $P = 0.350$ )。アゾール系抗真菌薬併用期間の影響を除いた場合、HSCT 後 1~3 週目の全ての週において、POR28 活性型と非活性型の間で、タクロリムスの C/D 比に有意差はみられなかった (1 週目 :  $P = 0.686$ 、2 週目 :  $P = 0.159$ 、3 週目 :  $P = 0.517$ ) (Table 8B)。

**Table 8A. Day +1 to Day +21 Median Tacrolimus C/D Ratio According to *CYP3A5* \*1/\*1 or \*1/\*3 and *POR28* Genotype Combinations (n = 19).**

Days	<i>CYP3A5</i> *1/*1 or *1/*3 (n = 19)						<i>P</i> value
	<i>POR</i> *1/*1			<i>POR</i> *1/*28 or *28/*28			
	C/D Ratio, median	Range	n <sup>a</sup> (sample) <sup>b</sup>	C/D Ratio, median	Range	n <sup>a</sup> (sample) <sup>b</sup>	
All patients							
Day 1-7	12.3	5.9 - 18.9	10 (67)	10.3	4.7 - 16.8	9 (50)	< 0.001
Day 8-14	10.6	4.5 - 15.5	10 (70)	8.9	3.4 - 15.0	9 (63)	0.030
Day 15-21	12.4	4.8 - 20.3	10 (68)	9.3	5.1 - 18.7	9 (63)	< 0.001
Without azole antifungal agents							
Day 1-7	13.0	5.9 - 18.9	7 (48)	10.1	4.7 - 16.8	8 (43)	0.001
Day 8-14	10.1	4.5 - 15.5	8 (51)	9.4	3.4 - 15.0	8 (56)	0.418
Day 15-21	12.25	4.8 - 20.3	8 (54)	9.3	5.1 - 18.7	9 (63)	< 0.001

C/D indicates concentration/dose.

a) Number of subjects

b) Number of sample

**Table 8B. Day+1 to Day+21 Median Tacrolimus C/D Ratio According to *CYP3A5* \*3/\*3 and *POR28* Genotype Combinations (n = 17).**

Days	<i>CYP3A5</i> *3/*3 (n = 17)						<i>P</i> value
	<i>POR</i> *1/*1			<i>POR</i> *1/*28 or *28/*28			
	C/D Ratio, median	Range	n <sup>a</sup> (sample) <sup>b</sup>	C/D Ratio, median	Range	n <sup>a</sup> (sample) <sup>b</sup>	
All patients							
Day 1-7	16.05	7.0 - 22.7	6 (42)	11.6	4.8 - 22.0	11 (77)	0.003
Day 8-14	11.5	6.6 - 26.2	6 (42)	10.5	4.2 - 20.0	11 (76)	0.178
Day 15-21	11.25	6.9 - 18.0	6 (42)	10.3	4.9 - 19.3	11 (76)	0.350
Without azole antifungal agents							
Day 1-7	9.8	7.0 - 21.0	3 (21)	10.8	4.8 - 18.9	7 (49)	0.686
Day 8-14	10.45	7.9 - 26.2	4 (22)	9.1	4.8 - 20.0	9 (55)	0.159
Day 15-21	10.5	6.9 - 18.0	5 (31)	10.2	4.9 - 18.4	10 (69)	0.517

C/D indicates concentration/dose.

a) Number of subjects

b) Number of sample

### 3-4. CYP3A5 遺伝子多型と急性 GVHD、AKI 累積発症率との関係

HSCT 後 4 週間において、CYP3A5 遺伝子多型と Grade 2 以上の急性 GVHD 発症との関係を調査した。Grade 2 以上の急性 GVHD の発症率は全体で 10 名 (27.8%) であり、そのうち、CYP3A5 機能群が 19 名中 7 名 (36.8%)、CYP3A5 欠損群が 17 名中 3 名 (17.6%) であった。CYP3A5 機能群は、欠損群に比し Grade 2 以上の急性 GVHD の累積発症率が高値である傾向を示したものの、有意差はみられなかった ( $P = 0.172$ ) (Figure 7)。他方、HSCT 後 4 週間における AKI の発症率は全体で 10 名 (27.8%) であり、そのうち、CYP3A5 機能群が 19 名中 4 名 (21.1%)、CYP3A5 欠損群が 16 名中 3 名 (35.3%) であった。CYP3A5 機能群と欠損群の間で AKI の累積発症率に差はみられなかった ( $P = 0.389$ ) (Figure 8)。

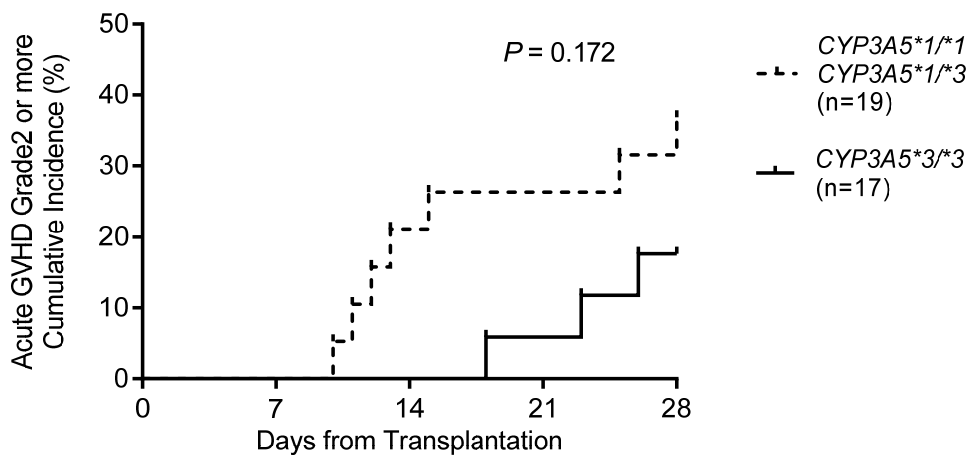
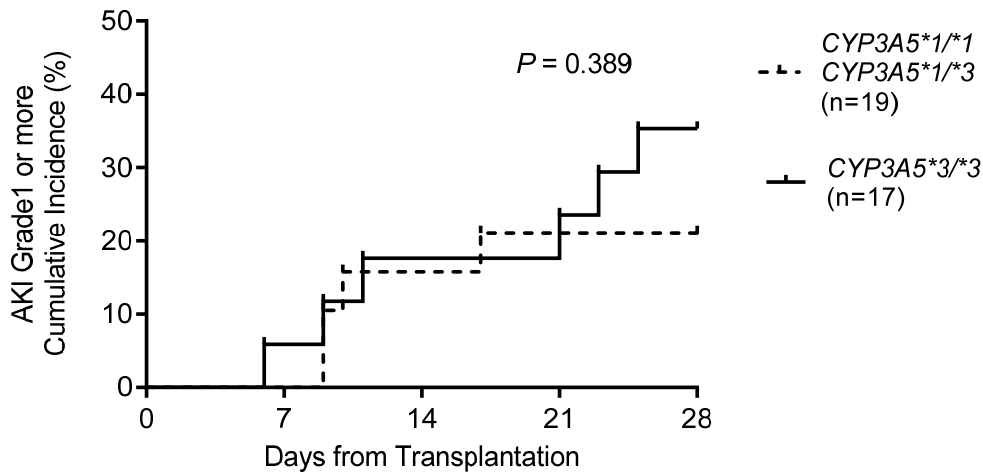


Figure 7.

**Cumulative incidence of acute GVHD stratified by CYP3A5 genotypic variant.** Cumulative incidence of grade II to IV acute graft-versus-host disease (GVHD) is plotted from day of transplantation stem cell infusion (day0) with curves for each genotypic variant.

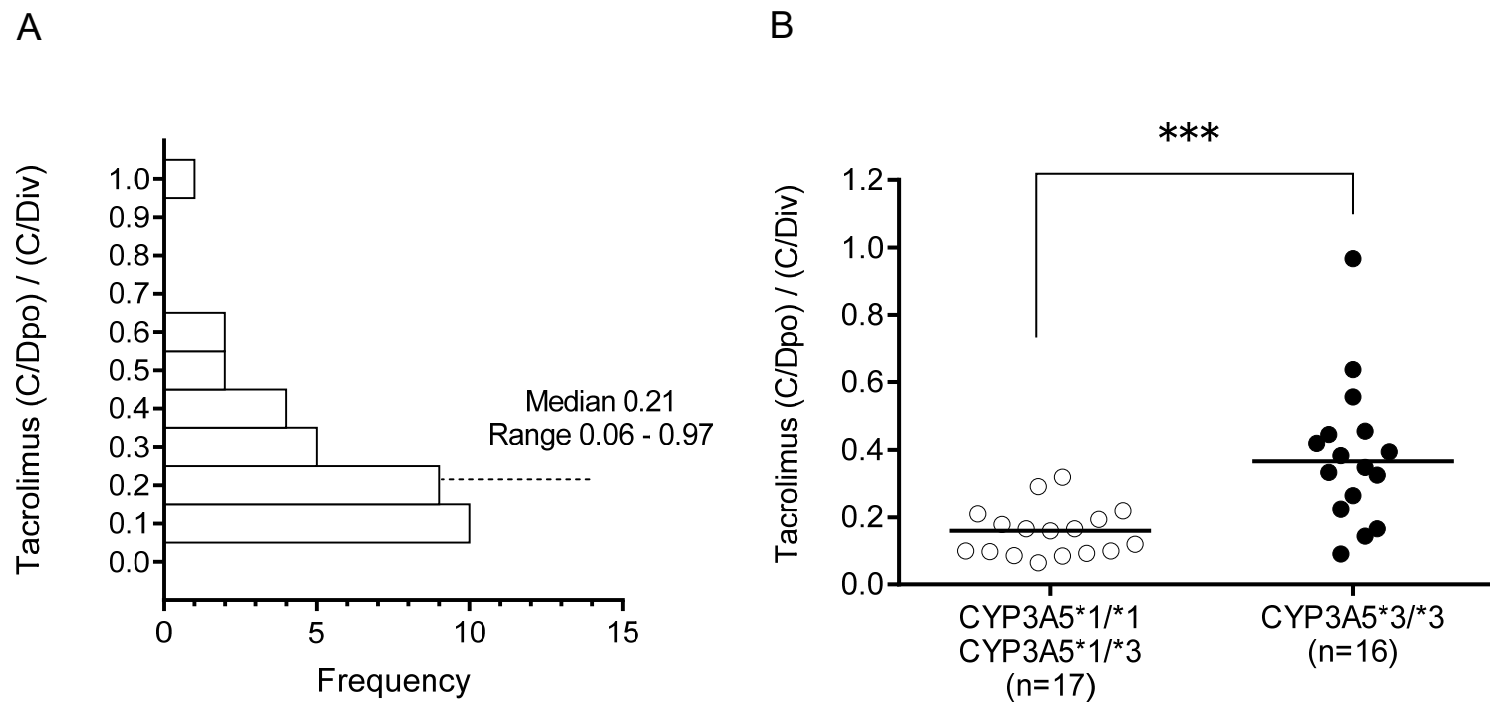


**Figure 8.**

**Cumulative incidence of AKI stratified by *CYP3A5* genotypic variant.** Cumulative incidence of grade I or more acute kidney injury (AKI) is plotted from day of transplantation stem cell infusion (day0) with curves for each genotypic variant.

### 3-5. 投与経路変更時のタクロリムス (C/Dpo)/(C/Div) に対する *CYP3A5* 遺伝子多型の影響

タクロリムス投与経路変更時の (C/Dpo)/(C/Div) の中央値は 0.21 (0.06-0.97) であった (Figure 9A)。また、投与経路変更時の *CYP3A5* 遺伝子多型の影響を確認したところ、*CYP3A5* 欠損群 0.37 (0.09-0.97) では機能群 0.16 (0.06-0.32) に比し、(C/Dpo)/(C/Div) が有意に高値を示した ( $P < 0.001$ ) (Figure 9B)。



**Figure 9.**

**Histogram of [(C/Dpo) / (C/Div)] on tacrolimus (A), and [(C/Dpo) / (C/Div)] of tacrolimus according to *CYP3A5* genotype (B).**

*C/D* ratio of tacrolimus just before the change from continuous intravenous infusion (*C/Div*) was compared with that from between 4–7 days after the change to oral administration (*C/Dpo*). (*C/Dpo*) divided by (*C/Div*) was [(*C/Dpo*) / (*C/Div*)]. The bars show the median values. \*\*\*  $p < 0.001$ .

### 3-6. 投与経路変更時のタクロリムス (C/Dpo)/(C/Div) に影響を与える因子の探索

タクロリムス投与経路変更時の (C/Dpo)/(C/Div) を増加させる因子を調査した。単変量解析の結果、 $P < 0.10$  を満たした因子は、*CYP3A5* 欠損型の患者 ( $P < 0.001$ ) および VRCZ の併用 ( $P = 0.009$ ) であった (Table 9)。これらの因子を用いて重回帰分析を行ったところ、*CYP3A5* 欠損型の患者 ( $P < 0.001$ ) および VRCZ 併用患者 ( $P = 0.028$ ) がタクロリムス投与経路変更時の (C/Dpo)/(C/Div) の増加に影響を及ぼす有意な因子であることが示された (Table 10)。

**Table 9. Univariate Logistic Regression Analysis of the Variables Associated with an Increase in Tacrolimus (C/Dpo)/(C/Div) (n = 33).**

Variables	[(C/D) po / (C/D) iv]	
	n	P value
Age (years)	—	0.294
Male	19	0.829
<i>CYP3A5</i> *3/*3	16	< 0.001
<i>POR</i> *1/*1	14	0.700
<i>CYP2C19</i> IM or PM	22	0.960
Concomitant FLCZ	11	0.392
Concomitant VRCZ	7	0.009
Concomitant ITCZ	10	0.874
AST Grade1 or more	4	0.131
ALT Grade1 or more	13	0.513
T-Bil Grade1 or more	1	0.365

FLCZ indicates fluconazole; VRCZ, voriconazole; ITCZ, itraconazole; AST, aspartate aminotransferase; ALT, alanine aminotransferase; T-Bil, total bilirubin.

**Table 10. Multiple Logistic Regression Analysis of the Variables Associated with an Increase in Tacrolimus (C/Dpo)/(C/Div) (n = 33).**

Variables		<i>P</i> value
<i>CYP3A5</i> *3/*3	[(C/D)po / (C/D)iv] = 0.31 + 0.10 ( <i>CYP3A5</i> *3/*3 Genotype) + 0.07 (Concomitant VRCZ)	< 0.001
Concomitant VRCZ		0.028

VRCZ indicates voriconazole.

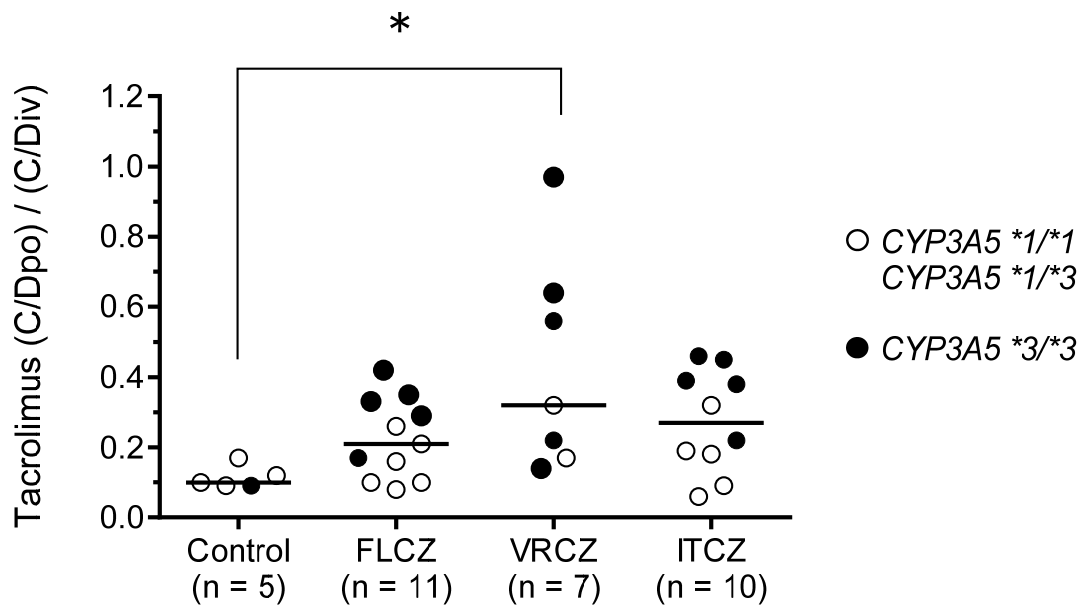
Multivariate analysis with variables *P* < 0.1 in univariate analysis.



### 3-7. 投与経路変更時のタクロリムス (C/Dpo)/(C/Div) に対する抗真菌薬および CYP3A5、CYP2C19 遺伝子多型の影響

併用した抗真菌薬がタクロリムス (C/Dpo)/(C/Div) に与える影響を検討した結果、VRCZ 群における (C/Dpo)/(C/Div) の中央値は 0.33 (0.14-0.96) (n = 7) であり、Control 群の中央値 0.10 (0.09-0.17) (n = 5) に比して有意に高値を示した ( $P = 0.045$ ) (Figure 10)。また、アゾール系抗真菌薬 (FLCZ、VRCZ、ITCZ) の併用患者では、CYP3A5 欠損型において、タクロリムス (C/Dpo)/(C/Div) が高値となる傾向がみられた。

今回、VRCZ 群 7 名におけるタクロリムス (C/Dpo)/(C/Div) にバラつきが確認されたため、CYP3A5、CYP2C19、POR28 の遺伝子多型との関係を調査した (Table 11)。(C/Dpo)/(C/Div) が 0.97 (Table11. No.1)、0.70 (Table11. No.2) の 2 名については、いずれも CYP3A5 欠損型、且つ CYP2C19 IMs であった。一方、CYP3A5 欠損型で (C/Dpo)/(C/Div) が 0.14 (Table11. No.7)、0.22 (Table11. No.5) の 2 名については、いずれも CYP2C19 IMs であったが、VRCZ トラフ血漿中濃度はそれぞれ 1.13 mcg/mL、1.90 mcg/mL であった。なお、CYP2C19PMs は 7 名中 1 名であり、(C/Dpo)/(C/Div) は 0.17 で CYP3A5 は機能型であった (Table11. No.6)。



**Figure 10.**

**Influence of azole antifungal agents on the (C/Dpo)/(C/Div) of tacrolimus.** Patients were divided into the following 4 groups based on the concomitant use of azole antifungal agent: Control (n=5), FLCZ (n = 11), VRCZ (n = 7), and ITCZ (n = 10). Opened circles show *CYP3A5* \*1/\*1 or *CYP3A5* \*1/\*3 genotypes (n = 17) and Closed circles show *CYP3A5* \*3/\*3 genotype (n = 16). Bar shows the median value in each group. \*  $P < 0.05$ .

**Table 11. Tacrolimus (C/Dpo)/(C/Div) and Variables Associated With *CYP3A5*, *CYP2C19*, and *POR28* Genotypes in Recipients Receiving VRCZ (n = 7)**

No.	Tacrolimus [(C/D)po/(C/D)iv]	Genotypes			VRCZ		
		<i>CYP3A5</i>	<i>CYP2C19</i>	<i>POR28</i>	Dose/Day (mg)	Route of administration	Plasma Trough Concentration* (mcg/mL)
1	0.96	*3/*3	IMs	*1/*1	300	Oral	1.84
2	0.70	*3/*3	IMs	*1/*28	600	Oral	4.25
3	0.56	*3/*3	EMs	*1/*1	400	Oral	3.07
4	0.33	*1/*3	EMs	*1/*28	400	Oral	0.82
5	0.22	*3/*3	IMs	*1/*28	400	Oral	1.90
6	0.17	*1/*3	PMs	*1/*28	400	Oral	2.72
7	0.14	*3/*3	IMs	*1/*28	400	Oral	1.13

VRCZ indicates voriconazole; *CYP2C19* EMs, *CYP2C19* \*1/\*1; *CYP2C19* IMs, *CYP2C19* \*1/\*2 or \*1/\*3; *CYP2C19* PMs, *CYP2C19* \*2/\*2 or \*3/\*3.

\*Plasma Trough VRCZ concentrations were measured from -1 to 9 days after switching the route of tacrolimus.

### 3-8. タクロリムス投与経路変更時の至適な用量換算比の検討

タクロリムス投与経路変更後7日目の経口投与量 [Dpo(day7)] を投与経路変更直前の持続静注時の投与量で除した値 [Dpo(day7)/Div(day0)] を用いて *CYP3A5* 遺伝子型で比較したところ、*CYP3A5* 欠損群 2.2 (1.2-9.6) では機能群 5.6 (2.3-16.0) に比し、有意に低値を示した ( $P < 0.001$ ) (Figure 11)。

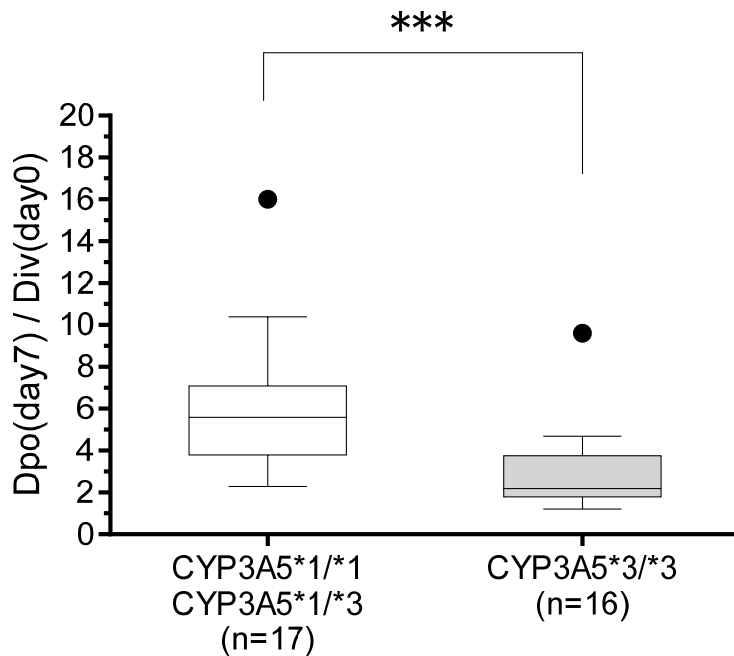


Figure 11.

Comparison of tacrolimus dose ratio [Dpo(day7)/Div(day0)] between *CYP3A5* \*1/\*1 or *CYP3A5* \*1/\*3 genotypes (n = 17) and *CYP3A5* \*3/\*3 genotype (n = 16). Dose ratio just before the change from continuous intravenous infusion [Div(day0)] was compared with that from 7 days after the change to oral administration [Dpo(day7)]. The bars show the median values and boxes represent the 25<sup>th</sup> and 75<sup>th</sup> percentiles of the data. \*\*\*  $P < 0.001$ .

#### 4. 考察

本研究では、HSCT 施行患者におけるタクロリムス個別化投与設計のための *CYP3A5*、*POR28*、*CYP2C19* 遺伝子多型情報の有用性について、持続静注時と持続静注から経口への投与経路変更時で評価した。

タクロリムスの持続静注時では、*CYP3A5* 欠損型の患者においてタクロリムスの C/D 比や血中濃度が *CYP3A5* 機能型に比して高値になることは、これまでに HSCT においても複数報告があり<sup>19-22)</sup>、本研究でも同様の結果が得られた (Table 7)。一方、アゾール系抗真菌薬併用期間の影響を除いた場合、*CYP3A5* 欠損型と *CYP3A5* 機能型の間で C/D 比の影響は小さくなる傾向がみられた。このことから、タクロリムスの持続点滴静注時の C/D 比を評価する場合は、*CYP3A5* 遺伝子型に加えてアゾール系抗真菌薬の併用の有無を考慮する必要があると考えられた。アゾール系抗真菌薬は主に *CYP3A4* を阻害することが報告されており<sup>12,13,36)</sup>、*CYP3A5* 欠損型の患者ではタクロリムスは主に *CYP3A4* で代謝されることから<sup>15,16)</sup>、アゾール系抗真菌薬の影響をより受けやすくなると考えられた。

今回、*CYP3A5* 機能型の患者において、少なくとも 1 つの *POR\*28* 対立遺伝子を有する患者は、*POR\*28* を伴わない患者に比してタクロリムスの C/D 比を有意に低下させることが HSCT 患者においてはじめて示された (Table 8A)。このことは、腎移植患者<sup>24,25,46-49)</sup>、心移植患者<sup>50)</sup> においても同様の報告があり、*POR\*28* の活性は *CYP3A4* よりも、むしろ *CYP3A5* の代謝に影響を及ぼしていることが考えられた。しかしながら、*POR28* 遺伝子多型がタクロリムスの代謝にどのように影響を与えるかについては未だ十分に明らかにされておらず、今後さらなる研究が必要と考えられた。一方、*CYP3A5* 欠損型では、HSCT 後 1 週目のみ少なくとも 1 つの *POR\*28* 対立遺伝子を有

する患者は、*POR\*28* を伴わない患者に比してタクロリムスの C/D 比を有意に低下させた。しかしながら、アゾール系抗真菌薬の併用期間を除いた場合は有意差がみられなかったため、アゾール系抗真菌薬の併用による影響と考えられた (Table 8B)。

HSCT 後 4 週以内の早期における急性 GVHD と *CYP3A5* 遺伝子多型との関係を調査したところ、*CYP3A5* 機能群は、欠損群に比し Grade 2-4 の急性 GVHD の累積発症率が高い傾向がみられた (Figure 7)。Khaled ら<sup>21)</sup>は 170 名の HSCT 患者を対象とし、HSCT 後 100 日間において *CYP3A5\*1/\*1* (8 名) を有する患者では、*CYP3A5\*1/\*3* (40 名) および *CYP3A5\*3/\*3* (122 名) を有する患者に比し、Grade 2-4 の急性 GVHD の累積発症率が有意に高かったことを報告している ( $P = 0.04$ )。また、Yamashita ら<sup>22)</sup>は、24 名の HSCT 患者を対象として、HSCT 後 100 日間において、*CYP3A5* 機能群 (11 名) は *CYP3A5* 欠損群 (13 名) に比し、Grade 3-4 の重度の急性 GVHD 発症率が有意に高かったことを報告している ( $P = 0.017$ )。しかしながら、本研究では *CYP3A5\*1/\*1* の患者は 3 名 (data not shown) であり、また Grade 3-4 の重度の急性 GVHD の発症も 2 名 (data not shown) と少なかった。これらの報告では、*CYP3A5* 機能群は、欠損群に比し、C/D 比が低値となることが要因として考えられているが、今回は症例数が少なく詳細な解析が行えなかった。今後さらに症例を蓄積し、*CYP3A5* 遺伝子多型と急性 GVHD 発症との関係を明らかにしていく必要があると考えられた。

持続静注から経口への投与経路変更時におけるタクロリムス (C/Dpo)/(C/Div) に対する *CYP3A5* 遺伝子多型の影響について、*CYP3A5* 欠損群では機能群に比し、有意に高値を示した ( $P < 0.001$ ) (Figure 9B)。これは *CYP3A5* が肝臓と小腸に発現し<sup>51-53)</sup>、小腸の *CYP3A5* がより重要な役割を果たすことが理由として考えられた<sup>54,55)</sup>。また、重回帰分析において、(C/Dpo)/(C/Div) を有意に増加させる因子として、*CYP3A5* 欠損

型の患者ならびに VRCZ の併用が示された (Table 10)。さらに、アゾール系抗真菌薬を併用した患者において、*CYP3A5* 欠損群では機能群に比し、タクロリムス (C/Dpo)/(C/Div) が全体的に高値となる傾向がみられた (Figure 10)。Yamashita ら<sup>22)</sup> は、HSCT 患者において、アゾール系抗真菌薬併用時における経口タクロリムスの血中濃度は、*CYP3A5* 欠損型の患者において有意に高く ( $P = 0.034$ )、投与量は有意に低かった ( $P = 0.041$ ) ことを報告している。アゾール系抗真菌薬は肝臓だけでなく、小腸の *CYP3A4* も阻害することから、持続静注から経口への投与経路変更時においては、*CYP3A5* の遺伝子型とアゾール系抗真菌薬の組み合わせを考慮して、血中濃度を管理することが重要と考えられた。他方、VRCZ は主に *CYP2C19* で代謝され、日本人の成人健常人において *CYP2C19* IMs の患者では、経口タクロリムスの AUC が *CYP2C19* EMs の患者に比して約 2 倍、*CYP2C19* PMs の患者では約 4 倍に上昇したとの報告がある<sup>29)</sup>。Iwamoto ら<sup>20)</sup> は、*CYP3A5* と *CYP2C19* の遺伝子型の組み合わせにより、HSCT 患者におけるタクロリムスの持続静注の用量が異なることを報告している。本研究では VRCZ 併用患者 7 名を解析した結果、*CYP3A5*、*CYP2C19* 遺伝子多型の組み合わせがタクロリムス (C/Dpo)/(C/Div) に与える影響について十分に明らかにすることはできなかったが、(C/Dpo)/(C/Div) が 0.97 (Table11. No.1)、0.70 (Table11. No.2) と高値であった 2 名については、いずれも *CYP3A5* 欠損型、且つ *CYP2C19* IMs であった。一方、*CYP3A5* 欠損型で (C/Dpo)/(C/Div) が 0.14 (Table11. No.7)、0.22 (Table11. No.5) と低値であった 2 名については、いずれも *CYP2C19* IMs であったが、VRCZ のトラフ血漿中濃度はそれぞれ 1.13 mcg/mL、1.90 mcg/mL と推奨される目標トラフ値  $\geq 1 \sim 2$  mcg/mL の下限付近であった<sup>56)</sup>。また、VRCZ によるタクロリムスの代謝阻害は、VRCZ 濃度に依存することが *in vitro* 試験で報告されており<sup>57)</sup>、これらのことから VRCZ 併

用患者では、*CYP3A5*、*CYP2C19* 遺伝子多型に加えて、*VRCZ* の血中濃度の情報も重要であると考えられた。なお、今回は *CYP2C19*PMs の患者が 1 名と少なかったため、今後さらに症例を蓄積し、これらの関係を明らかにしていく必要があると考えられた。

タクロリムス投与経路変更時の至適な用量換算比については、*CYP3A5* の遺伝子型を考慮する必要があると考えられた (Figure 11)。日本造血細胞移植学会のガイドライン<sup>9)</sup>によれば、HSCT 後のタクロリムス持続静注から経口投与に切り替える際には 3~4 倍量での切り替えが推奨されている。また、われわれは第 1 章の研究にて、投与経路変更時の至適な用量換算比として、Control 群ならびに FLCZ 群では 5 倍量が目安に、経口 ITCZ または *VRCZ* を服用している患者ではそれよりも低い 3 倍量が目安になることを報告したが、これらの情報には *CYP3A5* 遺伝子多型の情報が加味されていなかった。本研究より、*CYP3A5* 欠損型の患者は、タクロリムス(C/Dpo)/(C/Div)を増加させる有意な因子であることが重回帰分析の結果から示されており (Table10)、*CYP3A5* 機能型の患者では、5 倍量を目安として切り替えが推奨されるが、*CYP3A5* 欠損型の患者ではそれよりも少ない 2~3 倍量が目安になると考えられた (Figure 8)。ただし、*VRCZ* を併用している患者では、タクロリムス血中濃度変動のバラつきが大きいため、定期的な血中濃度モニタリングによる速やかな投与量調節が重要であると考えられた (Figure 10)。

本研究には限界があり、症例数が 36 名と少なく、且つ単施設の後向き研究である。そのため、タクロリムスの開始用量、投与経路変更時のタクロリムス換算比や血中濃度測定日が統一されていないなどの問題点が考えられた。今後は症例数を増やし、さらには前向きの研究が望まれるが、前述の限界に関わらず、我々の研究結果は、HSCT 後のタクロリムス個別化投与設計に *CYP3A5*、*POR28*、*CYP2C19* 遺伝子多型情



報が有用であることを示したことは重要な成果であると考えられた。

## 総括

以上、2章にわたり、著者は造血幹細胞移植後のタクロリムス個別化投与設計に向けた臨床情報・遺伝子多型情報の有用性解明に関する研究を行い、以下のような結論を得た。

### 第1章 造血幹細胞移植後のタクロリムス持続静注から経口への投与経路変更に伴う血中濃度の変動要因に関する臨床調査

造血幹細胞移植を受けた73名の造血器腫瘍患者を対象として、持続静注から1日2回の経口投与への切り替えに伴うタクロリムス血中濃度の変動要因について電子カルテシステムを用いて後ろ向きに調査した。重回帰分析の結果、経口のITCZもしくはVRCZを併用した場合のみ、タクロリムスの $(C/Dpo)/(C/Div)$ を有意に増加させることが示された( $P=0.002$ )。これはおそらく、腸管のCYP3A4阻害作用によるものであると考えられた。また、投与経路変更時の至適な用量換算比を検討したところ、持続静注時の5倍量が目安となるが、経口のITCZもしくはVRCZを併用している患者では、CYP3A4阻害による影響を強く受けるため、より低用量(3倍量が目安)からの切り替えが望ましいことが示唆された。

また、 $(C/Dpo)/(C/Div)$ が急性GVHDならびに腎機能に及ぼす影響について検討したところ、 $(C/Dpo)/(C/Div)$ が低い患者18名(下位25%)では、投与経路変更後2週以内に急性GVHDが5名(27.8%)発現もしくは再燃し、その他の55名中5名(9.1%)と比較して、急性GVHDの発現頻度が有意に高いことが示された( $P=0.045$ )。一方、 $(C/Dpo)/(C/Div)$ の高い患者(上位25%)では、それ以外の患者(下位75%)と

比較して、腎機能への影響は確認されなかった。したがって、投与経路変更後にタクロリムスの血中濃度が低下した患者では急性 GVHD 発現の頻度が高くなることから、入院下での定期的な血中濃度モニタリングによる速やかな投与量調節が重要であることが示唆された。

## 第 2 章 造血幹細胞移植後のタクロリムス個別化投与設計に向けた遺伝子多型情報の有用性に関する研究

初回の造血幹細胞移植を受けた 36 名の造血器疾患患者を対象として、*CYP3A5*、*POR28*、*CYP2C19* の遺伝子多型を診断し、これらの情報がタクロリムスの個別化投与設計に有用であるかを検討した。

持続静注では、*CYP3A5* 機能型 (*CYP3A5*\*1/\*1 もしくは *CYP3A5*\*1/\*3) の患者において、*POR*\*28 の対立遺伝子を少なくとも 1 つ有する患者 (*POR*\*1/\*28 もしくは *POR*\*28/\*28) では、*POR*\*28 を伴わない患者 (*POR*\*1/\*1) に比してタクロリムスの C/D 比を有意に低下させることが示された。*CYP3A5* 欠損型 (*CYP3A5*\*3/\*3) の患者が *CYP3A5* 機能型の患者に比して C/D 比が有意に高い要因の一つに、*CYP3A4* を阻害するアゾール系抗真菌薬の併用の影響が示唆された。

持続静注から経口への投与経路変更時において、*CYP3A5* 欠損型の患者では、*CYP3A5* 機能型の患者に比して、タクロリムス (C/Dpo)/(C/Div) が有意に高くなることが示された ( $P < 0.001$ )。また重回帰分析の結果、(C/Dpo)/(C/Div) を増加させる因子として *CYP3A5* 欠損型の患者 ( $P < 0.001$ ) と VRCZ の併用 ( $P = 0.028$ ) が示された。さらに、投与経路変更時の至適な用量換算比を検討したところ、*CYP3A5* 機能型の患

者では、持続静注時の5倍量を目安として切り替えが推奨されるが、*CYP3A5* 欠損型の患者ではそれよりも少ない2~3倍量が目安になることが示唆された。特に、VRCZ併用患者では、血中濃度の変動のバラつきが大きいため、*CYP3A5*、*CYP2C19* の遺伝子多型情報に加えて VRCZ の血中濃度モニタリングの重要性も確認された。

以上、タクロリムスの精密な血中濃度管理に、*CYP3A5*、*POR28*、*CYP2C19* の遺伝子多型情報を加えることが、造血幹細胞移植後のタクロリムス個別化免疫抑制療法をさらに発展させることに寄与することが示唆された。

## 引用文献

- 1) Masuda S, Inui K. An up-date review on individualized dosage adjustment of calcineurin inhibitors in organ transplant patients. *Pharmacol Ther* 2006, **112**: 184–98.
- 2) Murata M. Prophylactic and therapeutic treatment of graft-versus-host disease in Japan. *Int J Hematol* 2015, **101**: 467-86.
- 3) Ratanatharathorn V, Nash RA, Przepiorka D, et al. Phase III study comparing methotrexate and tacrolimus (prograf, FK506) with methotrexate and cyclosporine for graft-versus-host disease prophylaxis after HLA-identical sibling bone marrow transplantation. *Blood* 1998, **92**: 2303-14.
- 4) Przepiorka D, Khouri I, Ippoliti C, et al. Tacrolimus and minidose methotrexate for prevention of acute graft-versus-host disease after HLA-mismatched marrow or blood stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 1999, **24**: 763-78.
- 5) Nash RA, Antin JH, Karanes C, et al. Phase 3 study comparing methotrexate and tacrolimus with methotrexate and cyclosporine for prophylaxis of acute graft-versus-host disease after marrow transplantation from unrelated donors. *Blood* 2000, **96**: 2062-8.
- 6) Hiraoka A, Ohashi Y, Okamoto S, et al. Japanese FK506 BMT(Bone Marrow Transplantation) Study Group. Phase III study comparing tacrolimus (FK506) with cyclosporine for graft-versus-host disease prophylaxis after allogeneic bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2001, **28**: 181-5.
- 7) Yanada M, Emi N, Naoe T, et al. Tacrolimus instead of cyclosporine used for prophylaxis against graft-versus-host disease improves outcome after hematopoietic stem cell transplantation from unrelated donors, but not from HLA-identical sibling donors: a nationwide survey conducted in Japan. *Bone Marrow Transplant* 2004, **34**: 331-7.
- 8) Venkataramanan R, Swaminathan A, Prasad T, Jain A, Zuckerman S, Warty V et al. Clinical pharmacokinetics of tacrolimus. *Clin Pharmacokinet* 1995, **29**: 404-30.

- 9) 日本造血細胞移植学会 編. 造血細胞移植ガイドライン. GVHD 第2版 2008, p15.
- 10) Jacobson P, Ng J, Ratanatharathorn V, et al. Factors affecting the pharmacokinetics of tacrolimus (FK506) in hematopoietic cell transplant (HCT) patients. *Bone Marrow Transplant* 2001, **28**: 753-8.
- 11) Evans WE, Relling MV. Moving towards individualized medicine with pharmacogenomics. *Nature* 2004, **429**: 464-8.
- 12) Saad AH, DePestel DD, Carver PL. Factors influencing the magnitude and clinical significance of drug interactions between azole antifungals and select immunosuppressants. *Pharmacotherapy* 2006, **26**: 1730-44.
- 13) Glotzbecker B, Duncan C, Alyea E 3rd, et al. Important drug interactions in hematopoietic stem cell transplantation: what every physician should know. *Biol Blood Marrow Transplant* 2012, **18**: 989-1006.
- 14) Hustert E, Haberl M, Burk O, et al. The genetic determinants of the CYP3A5 polymorphism. *Pharmacogenetics* 2001, **11**: 773-9.
- 15) Kuehl P, Zhang J, Lin Y, et al. Sequence diversity in CYP3A promoters and characterization of the genetic basis of polymorphic CYP3A5 expression. *Nat Genet* 2001, **27**: 383-91.
- 16) Anglicheau D, Legendre C, Beaune P, et al. Cytochrome P450 3A polymorphisms and immunosuppressive drugs: an update. *Pharmacogenomics* 2007, **8**: 835-49.
- 17) Fu R, Tajima S, Suetsugu K, et al. Biomarkers for individualized dosage adjustments in immunosuppressive therapy using calcineurin inhibitors after organ transplantation. *Acta Pharmacol Sin* 2018. doi: 10.1038/s41401-018-0070-2.
- 18) van Schaik RH. Implications of cytochrome P450 genetic polymorphisms on the toxicity of antitumor agents. *Ther Drug Monit* 2004, **26**: 236-40.
- 19) Onizuka M, Kunii N, Toyosaki M, et al. Cytochrome P450 genetic polymorphisms

- influence the serum concentration of calcineurin inhibitors in allogeneic hematopoietic SCT recipients. *Bone Marrow Transplant* 2011, **46**: 1113–7.
- 20) Iwamoto T, Monma F, Fujieda A et al. Effect of Genetic Polymorphism of CYP3A5 and CYP2C19 and Concomitant Use of Voriconazole on Blood Tacrolimus Concentration in Patients Receiving Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Ther Drug Monit* 2015, **37**: 581-8.
- 21) Khaled SK, Palmer JM, Herzog J, et al. Influence of Absorption, Distribution, Metabolism, and Excretion Genomic Variants on Tacrolimus/Sirolimus Blood Levels and Graft-versus-Host Disease after Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2016, **22**: 268-76.
- 22) Yamashita T, Fujishima N, Miura M, et al. Effects of CYP3A5 polymorphism on the pharmacokinetics of a once-daily modified-release tacrolimus formulation and acute kidney injury in hematopoietic stem cell transplantation. *Cancer Chemother Pharmacol* 2016, **78**: 111-8.
- 23) Staatz CE, Goodman LK, Tett SE. Effect of CYP3A and ABCB1 single nucleotide polymorphisms on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of calcineurin inhibitors: Part I. *Clin Pharmacokinet.* 2010, **49**: 141-75.
- 24) De Jonge H, Metalidis C, Naesens M, et al. The P450 oxidoreductase \*28 SNP is associated with low initial tacrolimus exposure and increased dose requirements in CYP3A5-expressing renal recipients. *Pharmacogenomics* 2011, **12**: 1281-91.
- 25) Lunde I, Bremer S, Midtvedt K, et al. The influence of CYP3A, PPARA, and POR genetic variants on the pharmacokinetics of tacrolimus and cyclosporine in renal transplant recipients. *Eur J Clin Pharmacol* 2014, **70**: 685-93.
- 26) Marr KA, Bow E, Chiller T, et al. Fungal infection prevention after hematopoietic cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2009, **44**: 483-7.

- 27) Maertens J, Marchetti O, Herbrecht R, et al. European guidelines for antifungal management in leukemia and hematopoietic stem cell transplant recipients: summary of the ECIL 3--2009 update. *Bone Marrow Transplant* 2011, **46**: 709-18.
- 28) De Morais SM, Wilkinson GR, Blaisdell J, et al. Identification of a new genetic defect responsible for the polymorphism of (S)-mephenytoin metabolism in Japanese. *Mol Pharmacol*. 1994, **46**: 594-8.
- 29) Imamura CK, Furihata K, Okamoto S, Impact of cytochrome P450 2C19 polymorphisms on the pharmacokinetics of tacrolimus when coadministered with voriconazole. *J Clin Pharmacol*. 2016, **56**: 408-13.
- 30) Gooley TA, Chien JW, Pergam SA, et al. Reduced mortality after allogeneic hematopoietic-cell transplantation. *N Engl J Med* 2010, **363**: 2091–101.
- 31) Boswell GW, Bekersky, Fay J, et al. Tacrolimus pharmacokinetics in BMT patients. *Bone Marrow Transplant* 1998, **21**: 23–8.
- 32) Wingard JR, Nash RA, Przepiorka D, et al. Relationship of tacrolimus (FK506) whole blood concentrations and efficacy and safety after HLA-identical sibling bone marrow transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 1998, **4**: 157–63.
- 33) Przepiorka D, Nash RA, Wingard JR, et al. Relationship of tacrolimus whole blood levels to efficacy and safety outcomes after unrelated donor marrow transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 1999, **5**: 94–7.
- 34) 日本 TDM 学会、日本移植学会 編. 免疫抑制薬 TDM 標準化ガイドライン (臓器移植編). 2014, p31.
- 35) Przepiorka D, Weisdorf D, Martin P, et al. 1994 Consensus conference on acute GVHD grading. *Bone Marrow Transplant* 1995, **15**: 825–8.
- 36) Niwa T, Shiraga T, Takagi A. Drug-drug interaction of antifungal drug. *YAKUGAKU ZASSHI* 2005, **125**: 795–805.



- 37) Hisaka A, Ohno Y, Yamamoto T, et al. Prediction of pharmacokinetic drug-drug interaction caused by changes in cytochrome P450 activity using in vivo information. *Pharmacol Ther* 2010, **125**: 230–48.
- 38) Kawazoe H, Takiguchi Y, Tanaka H, et al. Change of the blood concentration of tacrolimus after the switch from fluconazole to voriconazole in patients receiving allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Pharm Bull* 2006, **29**: 2528–31.
- 39) Mihara A, Mori T, Aisa Y, et al. Greater impact of oral fluconazole on drug interaction with intravenous calcineurin inhibitors as compared with intravenous fluconazole. *Eur J Clin Pharmacol* 2008, **64**: 89–91.
- 40) Hebert MF, Blough DK, Townsend RW, et al. Concomitant tacrolimus and micafungin pharmacokinetics in healthy volunteers. *J Clin Pharmacol* 2005, **45**: 1018–24.
- 41) Shimoeda S, Ohta S, Kobayashi H, et al. Analysis of the blood level of micafungin involving patients with hematological diseases: new findings regarding combination therapy with tacrolimus. *Biol Pharm Bull* 2005, **28**: 477–80.
- 42) Fukuoka N, Imataki O, Ohnishi H, et al. Micafungin does not influence the concentration of tacrolimus in patients after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Transplantation Proceedings* 2010, **42**: 2725–30.
- 43) Sakaeda T, Iwaki K, Kakumoto M, et al. Effect of micafungin on cytochrome P450 3A4 and multidrug resistance protein 1 activities, and its comparison with azole antifungal drugs. *J Pharm Pharmacol* 2005, **57**: 759–64.
- 44) Yano S, Mori S, Saito T, et al. Pharmacokinetics for once-daily modified release formulation of tacrolimus hydrate in unrelated hematopoietic stem cell transplantation. *Ann Hematol* 2015, **94**: 491–6.
- 45) Yamamoto Y, Takahashi Y, Nishimura S, et al. Development of Rapid Genotyping Methods for Single Nucleotide Polymorphisms of Cytochrome P450 2C9 (CYP2C9)

- and Cytochrome P450 2C19 (CYP2C19) and Their Clinical Application in Pediatric Patients with Epilepsy. *YAKUGAKU ZASSHI* 2011, **131**: 809-815.
- 46) Elens L, Hesselink DA, Bouamar R, et al. Impact of POR\*28 on the pharmacokinetics of tacrolimus and cyclosporine A in renal transplant patients. *Ther Drug Monit* 2014, **36**: 71-9.
- 47) Kuypers DR, de Loor H, Naesens M, et al. Combined effects of CYP3A5\*1, POR\*28, and CYP3A4\*22 single nucleotide polymorphisms on early concentration-controlled tacrolimus exposure in de-novo renal recipients. *Pharmacogenet Genomics* 2014, **24**: 597-606.
- 48) Zhang JJ, Liu SB, Xue L, et al. The genetic polymorphisms of POR\*28 and CYP3A5\*3 significantly influence the pharmacokinetics of tacrolimus in Chinese renal transplant recipients. *Int J Clin Pharmacol Ther* 2015, **53**: 728-36.
- 49) Phupradit A, Vadcharavivad S, Ingsathit A, et al. Impact of POR and CYP3A5 Polymorphisms on Trough Concentration to Dose Ratio of Tacrolimus in the Early Post-operative Period Following Kidney Transplantation. *Ther Drug Monit* 2018, **40**: 549-557.
- 50) Lesche D, Sigurdardottir V, Setoud R, et al. CYP3A5\*3 and POR\*28 genetic variants influence the required dose of tacrolimus in heart transplant recipients. *Ther Drug Monit* 2014, **36**: 710-5.
- 51) Op den Buijsch RA, Christiaans MH, Stolk LM, et al. Tacrolimus pharmacokinetics and pharmacogenetics: influence of adenosine triphosphate-binding cassette B1 (ABCB1) and cytochrome (CYP) 3A polymorphisms. *Fundam Clin Pharmacol* 2007, **21**: 427-35.
- 52) Lamba JK, Lin YS, Schuetz EG, et al. Genetic contribution to variable human CYP3A-mediated metabolism. *Adv Drug Deliv Rev* 2002, **54**: 1271-94.
- 53) Koch I, Weil R, Wolbold R, et al. Interindividual variability and tissue-specificity in the

- expression of cytochrome P450 3A mRNA. *Drug Metab Dispos* 2002, **30**: 1108-14.
- 54) Tsuchiya N, Satoh S, Tada H, et al. Influence of CYP3A5 and MDR1 (ABCB1) polymorphisms on the pharmacokinetics of tacrolimus in renal transplant recipients. *Transplantation* 2004, **78**: 1182-7.
- 55) Uesugi M, Kikuchi M, Shinke H, et al. Impact of cytochrome P450 3A5 polymorphism in graft livers on the frequency of acute cellular rejection in living-donor liver transplantation. *Pharmacogenet Genomics* 2014, **24**: 356-66.
- 56) Hamada Y, Tokimatsu I, Mikamo H, et al. Practice guidelines for therapeutic drug monitoring of voriconazole: a consensus review of the Japanese Society of Chemotherapy and the Japanese Society of Therapeutic Drug Monitoring. *J Infect Chemother* 2013, **19**: 381-92.
- 57) Venkataramanan R, Zang S, Gayowski T, et al. Voriconazole inhibition of the metabolism of tacrolimus in a liver transplant recipient and in human liver microsomes. *Antimicrob Agents Chemother* 2002, **46**: 3091-3.

## 論文目録

Analysis of the variable factors influencing tacrolimus blood concentration during the switch from continuous intravenous infusion to oral administration after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation.

*Int J Hematol* 2017, **105**: 361-68.

Impact of *CYP3A5*, *POR28* and *CYP2C19* polymorphism on Trough Concentration to Dose Ratio of Tacrolimus in Hematopoietic Stem Cell Transplantation.

In Preparation

## 謝辞

本研究に際して、終始御懇切なる御指導と御鞭撻、御校閲を賜りました九州大学病院薬剤部 増田智先教授に謹んで感謝の意を表します。また、本論文をまとめるにあたり、種々の有益な御助言と御指導を賜りました九州大学大学院薬学府 家入一郎教授、九州大学大学院薬学府 大戸茂弘教授、九州大学病院薬剤部 江頭伸昭准教授に謹んで感謝致します。

本研究を遂行するにあたり、多くの御指導と御助力を賜りました、九州大学病院副薬剤部長 渡邊裕之先生、神戸市立医療センター中央市民病院副部長代行 池末裕明先生に謹んで感謝致します。また、本研究の遂行にあたり、多くの御理解と御支援を賜りました九州大学病院副薬剤部長 金谷朗子先生、辻 敏和先生に謹んで感謝致します。

さらに、臨床検体ならびに臨床情報の提供など多くの御助力を賜りました九州大学病院血液・腫瘍・心血管内科 赤司浩一 教授、宮本敏浩 准教授、加藤光次 講師、森 康雄 助教、吉本五一 助教、沼田晃彦 助教に深く感謝致します。最後になりましたが、多くの御理解と御支援を戴きました九州大学病院薬剤部の先生方に心より感謝致します。

