

肝臓移植術後の免疫抑制療法に関連する腎障害の要因分析ならびに腎障害対策の構築に関する研究

福田, 未音

<https://doi.org/10.15017/4060100>

出版情報 : Kyushu University, 2019, 博士 (臨床薬学) , 課程博士
バージョン :
権利関係 :

肝臓移植術後の免疫抑制療法に関連する腎障害の要因分析ならびに
腎障害対策の構築に関する研究

2020 年

九州大学大学院薬学府

臨床薬学専攻 臨床薬物治療学分野

福田 未音

目次

序論.....	1
第1章 肝臓移植後におけるタクロリムス誘発性腎障害の早期検出に資する 尿中バイオマーカーの探索	
1 緒言	9
2 方法	
2-1 対象患者	12
2-2 タクロリムス誘発性腎障害の診断基準	13
2-3 尿サンプルの採取	15
2-4 尿中バイオマーカー濃度の測定、評価方法	15
2-5 免疫抑制療法プロトコル	16
2-6 診療情報の収集方法	18
2-7 統計解析	18
3 結果	
3-1 患者背景	18
3-2 血清クレアチニン値の変動	20
3-3 タクロリムス誘発性腎障害により生じる尿中 NGAL の濃度変化	21
3-4 タクロリムス誘発性腎障害により生じる尿中 L-FABP、MCP-1 及び HE4 の濃度変化.....	22

4 考察.....	24
5 小括.....	28

第2章 タクロリムス誘発性腎障害の回避を念頭にしたミコフェノール酸モフェチル体内動態の検討

1 緒言	29
2 方法	
2-1 対象患者及び免疫抑制療法プロトコル	31
2-2 血中濃度測定法	31
2-3 タクロリムス誘発性腎障害の診断基準	32
2-4 診療情報の収集方法	32
2-5 統計解析	32
3 結果	
3-1 患者背景	33
3-2 ミコフェノール酸の血中濃度の推移（剤型間の比較）	34
3-3 タクロリムス開始時期及び血中濃度の推移と血清クレアチニン値の 変動.....	36
4 考察	39
5 小括.....	42

第3章 肝臓移植後患者におけるタクロリムスの体内動態に及ぼす *CYP3A5* 及び *POR28* 遺伝子多型の影響

1 緒言	43
2 方法	
2-1 対象患者およびドナー	45
2-2 DNA の抽出・定量.....	45
2-3 <i>CYP3A5</i> 、 <i>POR28</i> の遺伝子型判定と分類方法.....	46
2-4 免疫抑制療法プロトコル	47
2-5 診療情報の収集方法及び評価	47
2-6 統計解析	48
3 結果	
3-1 患者背景	48
3-2 患者・ドナーの <i>CYP3A5</i> 遺伝子型の組み合わせの割合.....	50
3-3 <i>CYP3A5</i> ・ <i>POR28</i> 遺伝子型の組み合わせの割合	51
3-4 タクロリムスの C/D 比に対する患者及びドナー各々の <i>CYP3A5</i> 遺伝子 多型の影響.....	52
3-5 タクロリムスの C/D 比に対する患者及びドナーの <i>CYP3A5</i> 遺伝子多型 の組み合わせによる影響.....	54
3-6 タクロリムスの C/D 比に及ぼす <i>CYP3A5</i> と <i>POR28</i> 遺伝子型の組み合	

わせによる影響.....	56
3-7 術後1ヶ月間のタクロリムスのC/D比に影響を及ぼす因子に関する重回帰分析による検討.....	59
4 考察.....	60
5 小括.....	63
総括.....	65
参考文献.....	68
論文目録.....	81
謝辞.....	82

略語一覽

AKI	Acute kidney injury
AUC	Area under the blood concentration-time curve
AST	Aspartate transaminase
ALT	Alanine aminotransferase
BUN	Blood urea nitrogen
C/D	Concentration/Dose
CKD	Chronic kidney disease
CNI	Calcineurin inhibitor
CYP	Cytochrome P450
eGFR	Estimated glomerular filtration rate
GV	Graft volume
GRWR	Graft-recipient weight ratio
γ -GTP	γ -Glutamyl transpeptidase
HE4	Human epididymis secretory protein 4
KDIGO	Kidney Disease Improving Global Outcomes
L-FABP	Liver-type fatty acid binding protein

MCP-1	Monocyte chemotactic protein-1
MMF	Mycophenolate mofetil
MELD	Model for end-stage liver disease
NGAL	Neutrophil gelatinase-associated lipocalin
TDM	Therapeutic drug monitoring
POR	P450 oxidoreductase
Scr	Serum creatinine
SNP	Single nucleotide polymorphism

序論

肝臓移植術は末期肝不全患者に対する根本的治療法として、1960年代より行われ、現在までの肝移植総数は国内のみで約9000件にのぼる。また、それに伴い、免疫抑制薬の開発も進み、臓器移植の成功率および患者の予後改善に大きく寄与している。移植後の免疫抑制療法は、移植臓器の拒絶反応を抑制するために必須の治療であり、中でもカルシニューリン阻害薬 (calcineurin inhibitor; CNI) の一つであるタクロリムスは、現在最も汎用される代表的な免疫抑制薬である^{1,2)}。しかしタクロリムスは、腎毒性、神経毒性、高血圧などの副作用を引き起こす原因にもなっている²⁾。特に腎不全は肝臓移植患者での罹患率が高いことが知られており^{3,4)}、腎機能の指標である血清クレアチニン値のわずかな上昇がその後の死亡率に大きく影響すること^{5,6)}や、急性腎障害 (acute kidney injury; AKI) が進展し慢性腎不全へ至った場合は死亡のリスクが4.5倍に上昇する³⁾という報告もある。また、他の臓器移植に比べ慢性腎不全の累積発症率が最も高いことも示されており (Figure 1)、CNIの一つであるシクロスポリンの使用が慢性腎不全を引き起こす要因であると報告されている³⁾。ほとんどの末期肝不全患者は肝移植前から腎臓の細動脈が収縮していることに加え、肝臓移植術そのものも侵襲性が極めて高く、腎臓を始めとした他臓器への虚血再灌流障害などの負担がかかる⁷⁾ことから、移植直後のCNI投与により腎障害がさらに増悪する可能性があると言われている。そのため肝臓移植において現在汎用されているCNIのタクロリムスによる腎障害の適切な診断とそれに基づく早期からの介入が、患者の生命予後の改善ならびに移植の成績向上に大きく貢献すると考えられる。

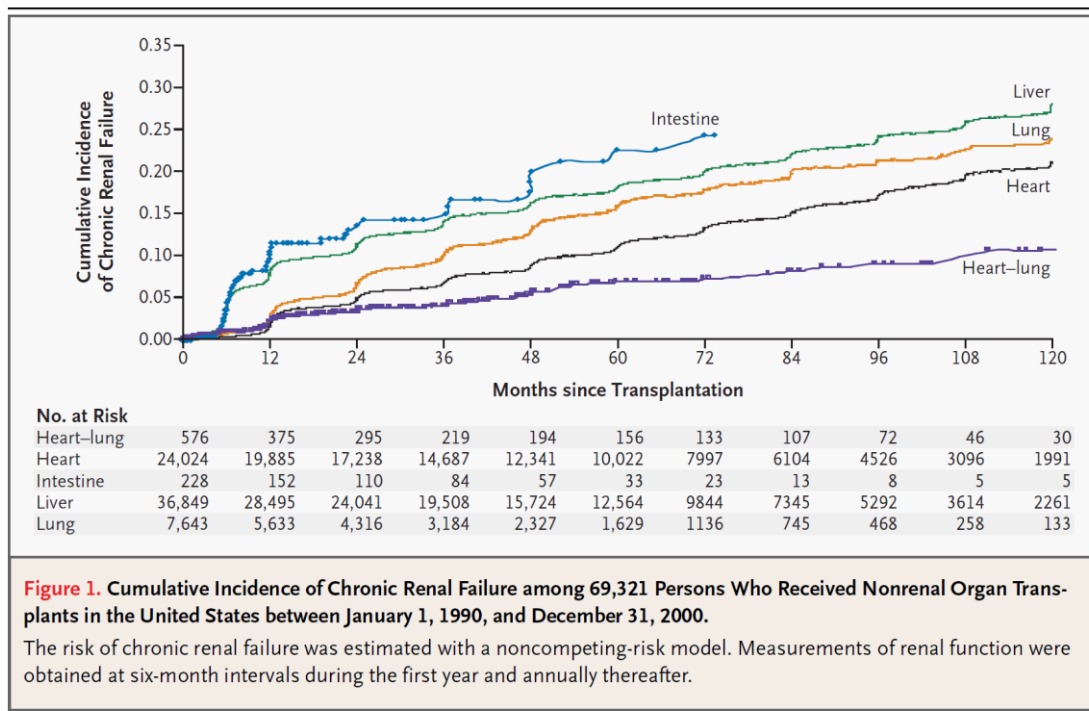


Figure 1. 各臓器移植における慢性腎不全の累積発症率

(参考文献 3 より引用)

通常、日常診療では腎機能の指標として血清クレアチニン (serum creatinine; Scr) 値が用いられているが、主に糸球体ろ過能の変化を反映するため、薬剤による影響を最も受けやすい近位尿細管上皮細胞での障害を反映する指標としては感度が低い。さらに Scr 値は食餌や筋肉量など腎機能以外の因子による変動も受けるため、薬剤誘発性の腎障害に対して特異性が高くないことが問題として指摘されている^{8,9)}。

一方、2012年に腎疾患診療のガイドライン作成と世界的な標準化を推し進める KDIGO (Kidney Disease : Improving Global Outcomes) による AKI ガイドラインが発表された¹⁰⁾。これによると 48 時間以内に Scr 値が 0.3 mg/dL 以上上昇した場合、または Scr 値がそれ以前の 7 日以内の基礎値より 1.5 倍以上の上昇を認めた場合、または尿量が 6 時間にわたって 0.5 mL/kg/時間減少した場合に AKI と診断することが推奨されている。しかしながら、先にも述べたように AKI の原

因となる腎臓の虚血や腎毒性をもつ薬剤による尿細管細胞障害と Scr 値の上昇との間には 24-48 時間の時間差があると考えられている¹¹⁾。そのため Scr 値を指標として用いている KDIGO による診断基準は AKI の早期検出と正確性には問題があるとされ、AKI が起こる前に高い感度と特異度で予見して早期治療と予防を可能とするバイオマーカーに関する研究が進められてきた¹²⁾ (Table 1)。なかでも Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL)^{13, 14)}、および Liver-type fatty acid binding protein (L-FABP)¹⁵⁾ の測定は、AKI の指標として保険適用されており、日本腎臓学会が作成した AKI 診療ガイドラインにおいても AKI の早期診断の指標として測定が推奨されている。また、薬剤性の AKI についてはシスプラチン誘発性腎障害を中心に研究が進められ、これまでにシスプラチン誘発性腎障害を反映するバイオマーカーとして尿中 Monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1) の有用性に関する報告がなされている^{16, 17)}。さらに、国内で有数の肝臓移植術症例を扱う京都大学病院にて、Tsuchimoto ら¹⁸⁾ は、肝臓移植術翌朝からタクロリムスを開始する免疫抑制療法を受けた患者においてタクロリムス誘発性 AKI を反映するバイオマーカーとして NGAL の有用性について報告するとともに、予測バイオマーカーになりうる可能性についても見出した。しかしながら、免疫抑制療法の異なる九州大学病院（当院）にて NGAL がタクロリムス誘発性 AKI を反映するバイオマーカーとなるかどうかは不明であり、当院におけるタクロリムス誘発性 AKI を反映する高感度で特異性の高い指標が必要であると考えられる。

Table 1. 尿中バイオマーカー候補として研究されている分子

候補分子	特徴など
・近位尿細管上皮細胞由来と考えられている分子	
α -glutathione-S-transferase (α -GST)	細胞質に存在、AKI や腎細胞がんで上昇
γ -glutamyl transpeptidase (γ -GTP)	刷子縁膜上の酵素
N-acetyl- β -glucosaminidase (NAG)	細胞質に存在、内因性尿素による活性阻害
Kidney Injury Molecule-1 (KIM-1)	I 型膜タンパク質、細胞外部位が尿中に漏出、AKI や腎細胞がんにより誘導される
Clusterin	脱分化後の上皮細胞に発現; AKI により尿中に漏出
Neutrophil gelatinase associated lipocalin (NGAL)	炎症等において誘導される。心肺バイパス術時の早期 AKI マーカーとして見出される
Cysteine-rich protein (CYR-61)	近位直尿細管の虚血性損傷に応じて尿中に漏出される
Osteopontin	炎症、尿細管間質繊維化に応じて誘導される
Liver type fatty acid binding protein (L-FABP)	肝臓型と名付けられているが、腎では活性酸素ストレスに応じて誘導、尿中に漏出される
Na ⁺ /H ⁺ exchanger 3 (NHE3)	尿細管において高発現する Na ⁺ /H ⁺ アンチポータ
human epididymis secretory protein 4 (HE4)別名 WFDC2	尿細管上皮細胞において高発現するセリンプロテアーゼインヒビター
Monocyte chemotactic protein 1 (MCP-1)別名 CCL2	薬剤性腎障害によって近位尿細管上皮細胞より分泌される
・他の臓器・細胞由来で、糸球体濾過後の再吸収能低下によって尿中に漏出する分子	
β 2-microglobulins	MHC I 軽鎖
α 1-microglobulins	肝臓由来
Retinol binding protein	肝臓由来、ビタミン A の輸送を担う
Cystatin C	システインプロテアーゼインヒビター
Microalbumin	近位尿細管の損傷によって尿中に漏出
Interleukin-6 (IL-6)	慢性的な炎症反応に誘導される
Interleukin-18 (IL-18)	遠位尿細管に発現、虚血性損傷時に誘導される

一般的に、急性期における肝臓移植患者に対する免疫抑制療法は、CNI、ミコフェノール酸モフェチル (mycophenolate mofetil; MMF)、ステロイドを基本とする3剤併用療法が用いられている^{19, 20)}。特にMMFは腎臓に対して低毒性であることから、CNIによる有害事象を軽減するために広く用いられている^{4, 21)}。Neubergerら²²⁾は肝臓移植後1日目にMMFを開始し、5日目よりタクロリムスを開始するプロトコルにおいて、移植後1年間の糸球体ろ過量 (GFR) の低下を軽減することができることを報告した。そのため当院における肝臓移植後の免疫抑制療法では、術後翌日に高用量 (2000-3000 mg/日) のMMFならびにステロイドの2剤より投与を開始し、CNIの一つであるタクロリムスを移植2-3日後から開始することで、腎機能低下の回避に努めている (Figure 2)。

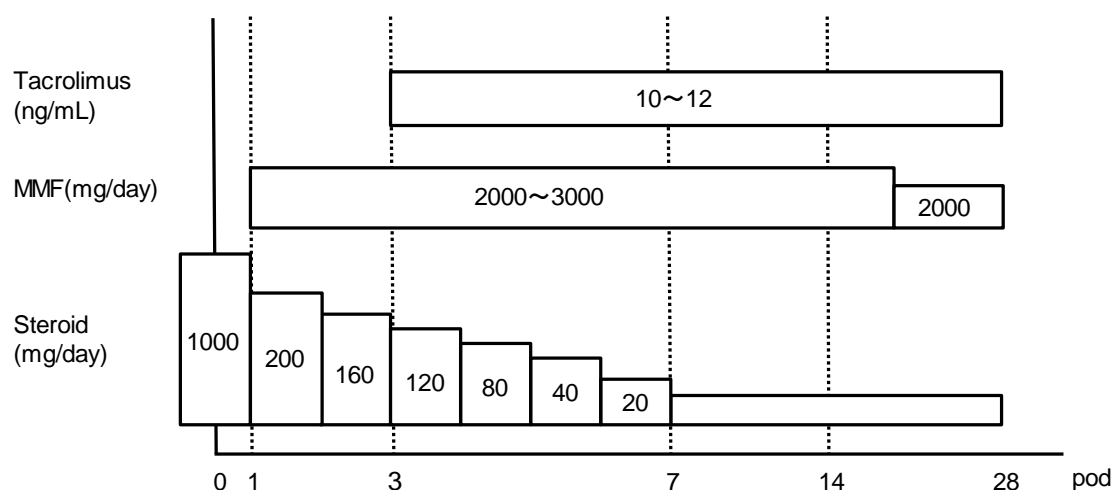


Figure 2. Immunosuppression protocols at Kyushu University Hospital

MMF, mycophenolate mofetil; pod, postoperative day.

The numbers indicate the blood levels of tacrolimus and the dose of MMF and steroid.

腎臓に対して低毒性であるMMFは、セルセプト®カプセル250とセルセプト®懸濁用散31.8%の2製剤が市販されている。当院では当初セルセプト®カプセル250を使用していたが、セルセプト®懸濁用散31.8%の販売開始に伴い2016年より懸濁用散製剤の使用を開始している。この懸濁用散製剤は脱カプセル操

作が不要なため、医療従事者の薬物に対する曝露回避も含めて利便性と安全性が高いことから、経胃管投与を繁用する肝臓移植術直後の肝臓移植全症例に対し導入されている。しかしながら CNI の開始を遅らせて MMF のみを術直後より開始するという免疫抑制療法を行う例はこれまでになく、生体肝移植術直後の MMF 製剤の体内動態については未だ不明な点も多い。また、セルセプト®の添付文書にて健康成人男性を対象にした剤型別血漿中 MPA 薬物動態パラメータ (Table 2) はあるものの、肝臓移植患者を対象に比較した報告例は存在せず、肝臓移植患者におけるセルセプト®懸濁用散 31.8% の薬物動態については十分に検討されていない。過去の臨床研究から、MMF による拒絶反応抑制効果は唯一 MPA の血中濃度時間曲線下面積 (AUC) に対応するという結果が腎移植領域において認められており²³⁾、他の領域 (心臓、肝臓、肺など) においても MPA の AUC モニタリングは MMF の効果や有害反応を検討する上で有用であると考えられている。しかしながら、海外の肝臓移植領域において MPA の AUC に関する報告²⁴⁾ はあるものの、国内における報告は未だなされておらず、臨床効果に及ぼす影響についても情報が少ない。そのため、肝臓移植患者において MMF の薬物動態を検討することは、今後の移植領域において有益な情報になると考えられる。

Table 2. 剤型別血漿中 MPA 薬物動態パラメータ

Characteristic	CELLCEPT capsules (n = 36)	CELLCEPT powder for oral suspension (n = 37)
Cmax (µg/mL)	10.9 ± 3.44	9.35 ± 1.86
Tmax (hr)	0.63 ± 0.21	0.46 ± 0.13
T _{1/2} (hr)	13.1 ± 3.65	12.9 ± 4.81
AUC _{0-48h} (µg · h/mL)	16.4 ± 4.17	15.5 ± 3.74

mean ± SD

(セルセプト®添付文書より引用)

一方、タクロリムスは治療域が狭く、個体間・個体内変動が大きいことから²⁵⁾、経験的な投与計画の確立が困難であるとされており²⁶⁾、血中濃度モニタリング (therapeutic drug monitoring, TDM) に基づく精密な用量調節が行われている^{27,28)}。その体内動態の差を生み出す因子として小腸及び肝臓における代謝を司るシトクロム P450 (cytochrome P450, CYP) 3A5 の遺伝子多型が知られている²⁹⁾。CYP3A5 の多型性については、CYP3A5 ゲノム上のイントロン 3 における一塩基多型 (SNP) が引き起こす CYP3A5 mRNA のスプライシング異常とそれに引き続く機能蛋白質の欠失に左右される。すなわちグアニンへの変異をホモ型で持つ *CYP3A5**3/*3 の「機能欠損型」は、CYP3A5 活性を持たずタクロリムスを消失させることができないことから³⁰⁾、*CYP3A5**1/*1 または *CYP3A5**1/*3 である「機能型」に比べ、タクロリムスの血中濃度やタクロリムスの血中濃度/投与量 (C/D) 比が高値になることが報告されている^{31,32)}。さらに、CYP3A5 は肝臓だけではなく小腸にも発現している³³⁾ ことから、他の臓器移植と異なり、肝移植患者においては患者の小腸とドナーに由来する肝臓の CYP3A によりタクロリムスが代謝され、ドナー・患者双方の *CYP3A5**3 多型がタクロリムスの体内動態に影響を及ぼす可能性が示唆されている^{30, 34, 35)}。

最近、酸化型 CYP の還元を媒介する酵素である Cytochrome P450 oxidoreductase (POR) の機能亢進に繋がる *POR**28 遺伝子多型が見出され、CYP の活性化に関与することが報告がされており³⁶⁻³⁸⁾、*POR**28 が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 活性をもつ「機能型」の患者において、この *POR**28 多型が CYP3A5 の活性上昇を介してタクロリムスの代謝を亢進させると考えられており、*POR**28 の対立遺伝子を少なくとも 1 つ有する患者 (*1/*28 もしくは*28/*28) では、*POR**28 を伴わない患者 (*1/*1) と比較して、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されている^{39,40)}。一方、肝移植領域においてはドナー・患者双方の *CYP3A5**3 多型ならびに *POR**28 多型がタクロリムスの代謝に影響することが予想されるが、未だ国内外における報告はされていない。

以上の背景から、本研究では、当院で使用される肝臓移植後免疫抑制療法におけるタクロリムス誘発性腎障害を反映するバイオマーカーの探索ならびにそれに基づく対策の構築に関する研究を行い、肝臓移植後患者の生命予後改善を目指して以下の検討を行った。第 1 章では、肝臓移植後におけるタクロリムス誘発性腎障害の早期検出に資する尿中バイオマーカーの探索を行った。第 2 章では投与 1 日目の MMF の曝露量に着目し、活性代謝物であるミコフェノール酸 (MPA) の体内動態について剤型間の比較検討を行った。第 3 章では、タクロリムス血中濃度の個体間変動の要因となりうるドナー・患者の *CYP3A5* ならび *POR28* の遺伝子多型に着目し、タクロリムスの体内動態に関連する指標について検討を行った。

第1章 肝臓移植後におけるタクロリムス誘発性腎障害の早期検出に資する尿中バイオマーカーの探索

1 緒言

カルシニューリン阻害剤 (calcineurin inhibitor; CNI) であるタクロリムスは肝臓移植後の拒絶反応の抑制目的で使用される主要な免疫抑制剤のひとつであるが²⁾、治療域が狭いことが知られており、血中濃度モニタリング (therapeutic drug monitoring; TDM) が必須とされる。タクロリムスは、血中濃度が治療域を上回る患者においては腎毒性や神経毒性などの有害反応が知られ⁴¹⁾、その中でも肝臓移植後における急性腎障害 (acute kidney injury; AKI) は高頻度で生じるのみならず⁴²⁾、患者の生命予後へ大きく影響する合併症として問題とされている⁵⁾。特に末期肝不全時においては腎細動脈が収縮しているため移植直後の CNI 投与によりその収縮はさらに増悪し、尿細管間質障害を起こすことから、肝臓移植治療においては CNI による AKI の発生頻度が高いと言われている¹⁸⁾。そのためタクロリムスによる AKI を予防することが肝臓移植後患者の予後改善につながると考えられている。

日常診療で腎機能の指標として用いられている血清クレアチニン (serum creatinine; Scr) 値は、主に糸球体ろ過能の変化を反映するため、薬剤による影響を最も受けやすい近位尿細管上皮細胞での障害を反映する指標としては感度が低いことが指摘されている^{8,9)}。また年齢や体重、筋肉量といった腎機能以外の要因の影響も受け、特に末期肝不全においては栄養状態が不良であることから、骨格筋におけるエネルギー代謝の老廃物であるクレアチニンを腎機能の指標として評価することは信頼性が低いといわれている⁴³⁾。一方、2012年に腎疾患診療のガイドライン作成と世界的な標準化を推し進める KDIGO (Kidney Disease :

Improving Global Outcomes) による AKI ガイドラインが発表され、診断基準が統一された¹⁰⁾。これによると 48 時間以内に Scr 値が 0.3 mg/dL 以上上昇した場合、または Scr 値がそれ以前の 7 日以内の基礎値より 1.5 倍以上の上昇を認めた場合、または尿量が 6 時間にわたって 0.5 mL/kg/時間減少した場合に AKI と診断することが推奨されている。しかしながら、先にも述べたように AKI の原因となる腎臓の虚血や腎毒性をもつ薬剤による尿細管細胞障害と Scr 値の上昇との間には 24-48 時間の時間差があると考えられており¹¹⁾、そのため Scr 値を指標として用いている KDIGO による診断基準は AKI の早期検出と正確性には問題があるとされ、AKI を反映する感度と特異性の高いバイオマーカーに関する研究が進められている¹²⁾。また、最近では慢性腎臓病 (Chronic kidney disease : CKD) を反映するバイオマーカーに関しても研究が進められており、Human epididymis secretory protein 4 (HE4) は慢性腎臓病患者の腎障害の程度を低侵襲的に評価できる可能性を示した、CKD の診断マーカーとしての応用が今後期待されているバイオマーカーである⁴⁴⁻⁴⁷⁾。

現在、Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL)^{13,14)}、および Liver-type fatty acid binding protein (L-FABP)¹⁵⁾ の測定が、AKI の指標として保険適用されており、日本腎臓学会が作成した AKI 診療ガイドラインにおいても AKI の早期診断の指標として測定が推奨されている。また、薬剤性の AKI についてはシスプラチン誘発性腎障害を中心に研究が進められ、これまでにシスプラチン誘発性腎障害を反映するバイオマーカーとして尿中 Monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1) の有用性に関する報告がなされている^{16,17)}。さらに、国内で有数の肝臓移植術症例を扱う京都大学病院にて、Tsuchimoto ら¹⁸⁾ は、肝臓移植術翌朝からタクロリムスの投与を開始する免疫抑制療法を受けた患者においてタクロリムス誘発性 AKI を的確に反映するバイオマーカーとしての尿中 NGAL の有用性

について報告した。一方、当院では腎臓を保護する目的で、タクロリムスを術後2-3日目から開始しており、免疫抑制療法の違いがタクロリムス誘発性 AKI を反映する尿中バイオマーカーにどのように影響するかは不明である。

このような背景のもと、本章では当院で使用される肝臓移植後免疫抑制療法においてタクロリムス誘発性 AKI の早期検出に資する尿中バイオマーカーの探索を行うことを目的とし、これまでに AKI を反映する尿中バイオマーカーとして報告されている NGAL、L-FABP、MCP-1 に加え、CKD を反映する尿中バイオマーカーとして報告されている HE4 の4分子の挙動について比較検討を行った。

2 方法

2-1 対象患者

2016年6月から2018年3月の間に当院で生体肝移植術を施行され、免疫抑制剤としてタクロリムスを使用した18歳以上の成人患者のうち、書面にて同意を得られた70例を対象とした。このうち、術後に腎機能低下を引き起こす以下の要因を除外基準として設定し、その基準に従って患者を選択したのち、26例を対象患者として解析を行った (Figure 3)。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 588-04)。

除外基準

- ・ 周術期に腎代替療法が施行された患者
- ・ 術前に糖尿病と診断された患者
- ・ 術前の推算糸球体ろ過量 (estimated glomerular filtration rate; eGFR) が 60ml/min/1.73m² 未満の患者
- ・ 術後感染症と診断された患者

推定 GFR (eGFR) 値の算出は以下の式を用いた。

$$\text{eGFR} = 194 * \text{Age}^{-0.287} * \text{Scr}^{-1.094} (*0.739, \text{ 女性の場合})$$

2-2 タクロリムス誘発性腎障害の診断基準

タクロリムス誘発性腎障害の診断は KDIGO 診断基準に従い、48 時間以内に Scr 値が 0.3 mg/dL 以上上昇した患者の中で、タクロリムスの血中濃度の変動により Scr 値が変動した患者を TAC-AKI 群として分類し、基準とした Scr 値に戻るまでの期間をタクロリムス誘発性腎障害が生じている期間とした。また、腎機能の変動が認められなかった患者を non-AKI 群として分類した。なお、タクロリムス投与前に腎機能障害を起こした患者、タクロリムスを減量したにも関わらず Scr 値の低下が認められなかった患者は、腎機能障害の要因がタクロリムスによるものではないと判断し、除外した (Figure 3)。

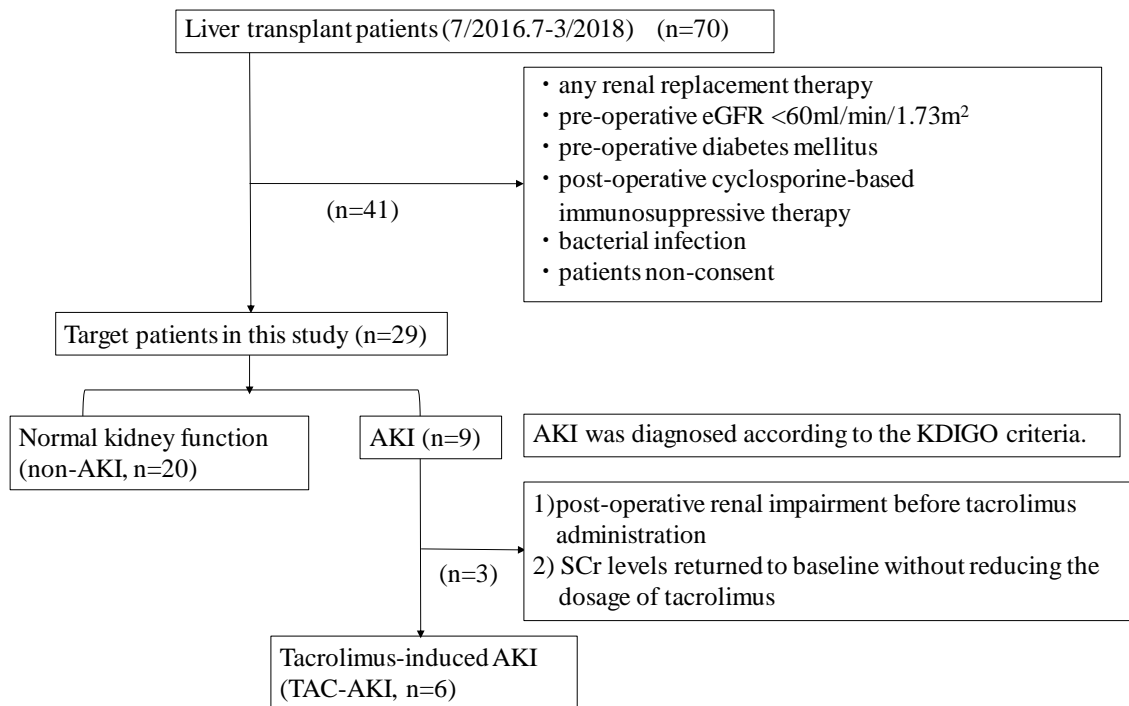


Figure 3. Diagnostic algorithm of patient selection.

A total of 70 patients (29 men and 41 women; age, >18 years) who underwent living donor liver transplantation at Kyushu University Hospital between July 2016 and March 2018 were enrolled in the study after obtaining written informed consent.

2-3 尿サンプルの採取

肝臓移植術後のタクロリムス投与開始前（術後 1 日目）、投与中（術後 7、14 日）を基準とし尿検体の採取を行った。尿検体は早朝第一尿を避け、導尿されている患者は尿バックからシリンジを用いて看護師が採取し、自立歩行が可能な患者は各自採尿コップを用いて採取した。採取した尿検体にはタンパク質分解酵素阻害剤コンプリートミニ (Roche) 及びタンパク質脱リン酸化酵素阻害剤ホスストップ (Roche) を加え、測定の直前まで -80°C にて保存した。

2-4 尿中バイオマーカー濃度の測定、評価方法

尿中バイオマーカーはそれぞれ市販の ELISA キットを用いて測定した。NGAL の測定には Human Lipocalin-2 / NGAL DuoSet ELISA 【DY1757】 (R&D Systems, Minneapolis, MN)、HE4 の測定には Human HE4 / WFDC2 Quantikine ELISA Kit 【DHE400】 (R&D Systems, Minneapolis, MN)、L-FABP の測定には Human L-FABP ELISA TMB Kit (CMIC, Tokyo, Japan)、MCP-1 の測定には Human MCP-1 ELISA Kit 【ab179886】 (Abcam, Cambridge, UK) を用いた。尿中クレアチニン値はラボアッセイクレアチニン (Wako) を用いて Jaffe 法により算出し、測定した各バイオマーカー濃度は尿中クレアチニン値を用いて補正を行った。

評価方法として、まず、タクロリムス投与前（術後 1 日目）の尿中バイオマーカーの値を non-AKI 群と TAC-AKI 群に分けて比較した。次にタクロリムス投与期間中（術後 7 日目、14 日目）において尿中バイオマーカーの値を 2 群間で比較した。なお、タクロリムス投与期間中における TAC-AKI 群の尿中バイオマーカーの値は、タクロリムス誘発性腎障害と認められている期間の値を抽出した。

2-5 免疫抑制療法プロトコル

当院 (A) と京都大学病院 (B) における肝臓移植後免疫抑制療法の標準プロトコルを Figure 4 に示す。当院ではミコフェノール酸モフェチル (mycophenolate mofetil ; MMF) を術翌日より2000-3000 mg/日で開始し、タクロリムスを術後 2-3 日目より2-4 mg/日で開始した。タクロリムスの目標血中濃度について、術後 1 ヶ月間は10-12 ng/mLの範囲内に収まるようにタクロリムスの投与量を調節された。ステロイドは術中より静注にて開始し、その後 5 日目まで漸減し、6 日目に経口投与へ移行した。一方、京都大学病院においては術翌日より MMF を500 mg/日で開始し、同時にタクロリムスを2-4 mg/日で開始した。タクロリムスの目標血中濃度について、術後 2 週間は10-15 ng/mL、その後は10 ng/mLの範囲内に収まるように調節された。ステロイドは術中に10 mg/kg/回投与された。タクロリムス血中濃度は、2 施設ともに化学発光免疫測定法 (CLIA; ARCHITECT system by Abbott, Tokyo, Japan) を用いて測定した。

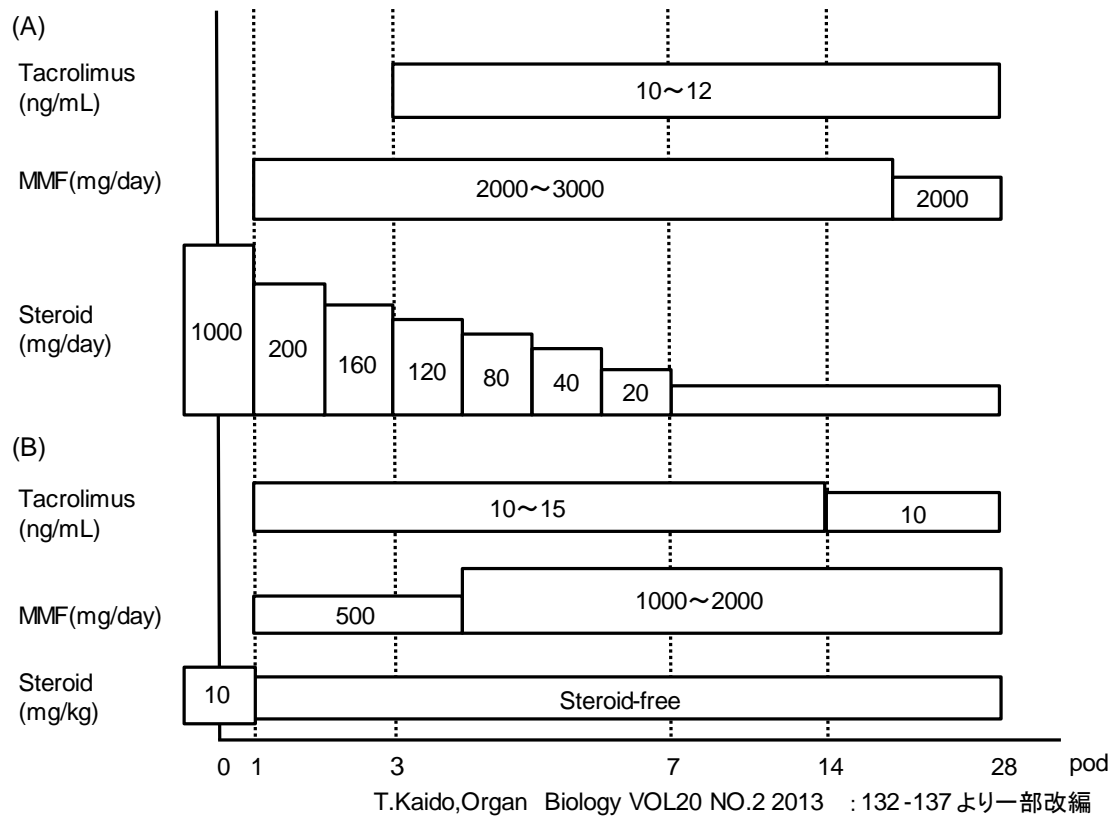


Figure 4. Immunosuppression protocols.

(A) Kyushu University Hospital (2016.6 ~ 2018.3). (B) Kyoto University Hospital (2010.3 ~ 2013.6), MMF, mycophenolate mofetil; pod, postoperative day.

The numbers indicate the target blood concentration of tacrolimus and MMF and steroid dosage per day (A). The numbers indicate the target blood concentration of tacrolimus and MMF and steroid dosage per weight (B).

2-6 診療情報の収集方法

全てのデータは電子カルテシステムより抽出した。術前の背景として、年齢、性別、体重、臨床検査値 (Scr、BUN、eGFR、MELD score、Child Pugh score)、原疾患、移植肝容積、移植肝容積/体重比、血液型適合性を調査した。臨床検査値については、手術前日の値を抽出した。但し前日の情報がない場合は、術前直近のデータを抽出した。また、肝臓移植術後 2 週間のタクロリムスの用量とタクロリムス血中濃度を記録した。

2-7 統計解析

2 群間の比較について、カテゴリー変数は Chi-Square test または Fisher exact test を、連続変数は Mann-Whitney *U* test を用いた。統計的有意水準は $p < 0.05$ とした。これらの統計は GraphPad Prism version 8 (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA) を用いて解析した。

3 結果

3-1 患者背景

対象患者 26 名について non-AKI 群 (n=20) と TAC-AKI 群 (n=6) の 2 群に分けた患者背景を Table 3 に示す。得られたデータは平均 ± 標準偏差で表した。

両群間で性別、体重、術前肝予備能、術前腎機能、術後 2 週間のタクロリムス平均血中濃度ならびにタクロリムス総投与量に有意差はみられなかった。一方で、GV (移植肝容積) は TAC-AKI 群において non-AKI 群に比して有意に小さかった。

Table 3. Patient characteristics

Characteristic	non-AKI (n = 20)	TAC-AKI (n = 6)	<i>p</i> - value
Age (years)	53.6 ± 11.3	47.4 ± 6.63	0.046
Sex (male/female)	6/14	0/6	NS
Preoperative body weight (kg)	60.0 ± 10.68	58.0 ± 10.13	NS
Preoperative Scr (mg/dL)	0.57 ± 0.15	0.57 ± 0.10	NS
Preoperative BUN (mg/dL)	10.4 ± 4.4	13.8 ± 8.7	NS
Preoperative eGFR (mL/min/1.73 m ²)	103.9 ± 30.2	90.8 ± 19.4	NS
MELD score	15.5 ± 6.75	15.0 ± 6.45	NS
Child-Pugh score	10.2 ± 1.9	10.5 ± 2.4	NS
GV (g)	525.0 ± 106.6	416.2 ± 47.2	0.006
GV/preoperative body weight (%)	0.88 ± 0.15	0.73 ± 0.14	NS
Primary disease (n)			NS
Primary biliary cirrhosis	3	5	
Hepatitis C virus-related liver cancer	5	1	
Hepatitis B virus	3	0	
Alcoholic cirrhosis	5	0	
Other	4	0	
Total tacrolimus dose between PODs 1 and 14 (mg)	59.0 ± 20.6	50.64 ± 20.75	NS
Blood tacrolimus between PODs 1 and 14 (ng/mL)	10.71 ± 1.9	12.08 ± 1.00	NS
ABO blood group match			NS
Identical/Compatible/Incompatible	11/3/6	4/1/1	

Abbreviations: AKI, acute kidney injury; BUN, blood urea nitrogen; eGFR, estimated glomerular filtration rate; GV, graft volume; MELD, Model for End-stage Liver Disease; NS, not significant; POD, postoperative day; SLV, standard liver volume; Scr, serum creatinine; TAC, tacrolimus.

3-2 血清クレアチニン値の変動

肝臓移植術後2週間におけるScr値の変動をnon-AKI群(A)とTAC-AKI群(B)に分けてFigure 5に示す。値は平均値 ± 標準偏差で示した。TAC-AKI群において、Scrの上昇が認められた。一方、non-AKI群においては術後3日目以降のScr値に大きな変動は認められなかった。なお、タクロリムスの導入は術後2日目以降であり、術後3日以内に生じたScr値の上昇は医師の判断によりタクロリムスに関連しないAKIと診断された。

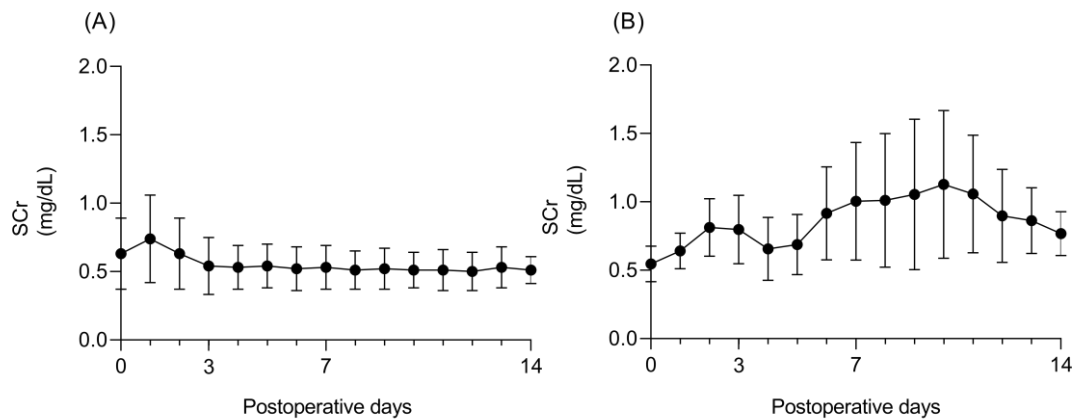


Figure 5. Time-dependent changes in Scr levels in the liver transplant patients. The average \pm SD of Scr levels in the liver transplant patients of non-AKI (A) and those of tacrolimus-induced AKI (B) during the Postoperative Days 0–14. There were 20 subjects in the non-AKI group and 6 subjects in the TAC-AKI group.

3-3 タクロリムス誘発性腎障害により生じる尿中 NGAL の濃度変化

尿中 NGAL の値について、タクロリムス投与前（術後 1 日目）(A)、投与中（術後 7 日目または 14 日目）(B) において、non-AKI 群と TAC-AKI 群に分けて比較したグラフを Figure 6 に示す。タクロリムス投与前、投与中ともに non-AKI 群および TAC-AKI 群間で有意な差は認められなかった。

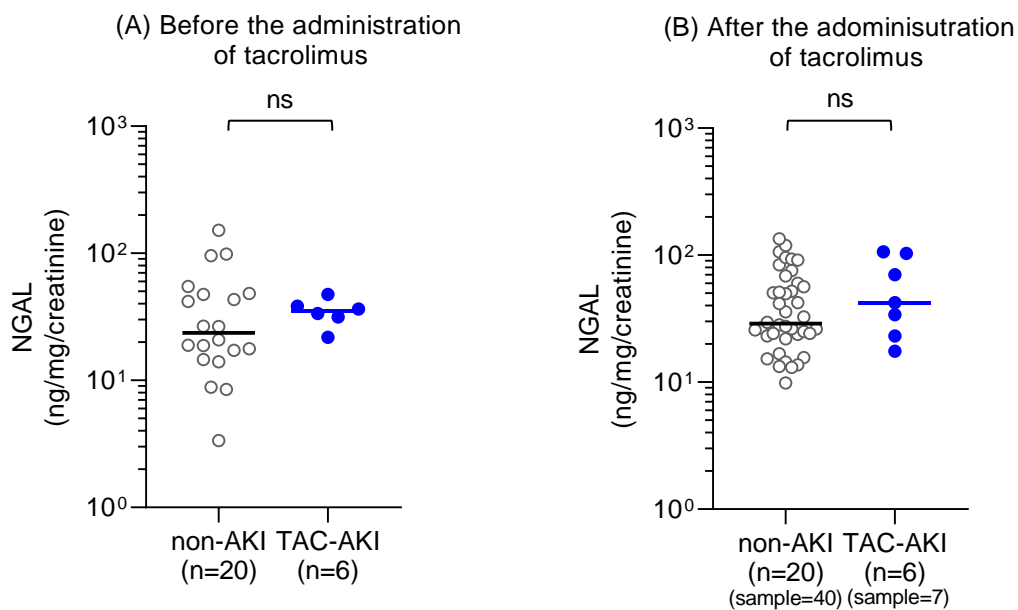


Figure 6.

Urinary levels of NGAL in the non-AKI and TAC-AKI groups before and after the administration of tacrolimus.

(A) Urinary samples were collected on postoperative day 1 immediately before the administration of tacrolimus. There were 20 measurements (20 subjects) in the non-AKI group and 6 measurements (6 subjects) in the TAC-AKI group. (B) Urinary samples were collected during tacrolimus therapy (either postoperative day 7 or 14). There were 40 measurements in the non-AKI group and 7 measurements in the TAC-AKI group.

3-4 タクロリムス誘発性腎障害により生じる尿中 L-FABP、MCP-1 及び HE4 の濃度変化

尿中 L-FABP、MCP-1、HE4 の値について、タクロリムス投与前（術後 1 日目）(A-C)、投与中（術後 7 日目または 14 日目）(D-F) において、non-AKI 群と TAC-AKI 群に分けて比較したグラフを Figure 7 に示す。

タクロリムス投与前（術後 1 日目）において、non-AKI 群および TAC-AKI 群間で L-FABP、MCP-1、HE4 の値に有意な差は認められなかった (A-C)。また、タクロリムス投与中（術後 7 日目または 14 日目）において、non-AKI 群および TAC-AKI 群間で L-FABP、MCP-1 の値に有意な差は認められなかった (D,E)。一方で、タクロリムス投与中（術後 7 日目または 14 日目）において、TAC-AKI 群は non-AKI 群に比して、HE4 の値が有意に上昇した (F) ($p=0.042$)。

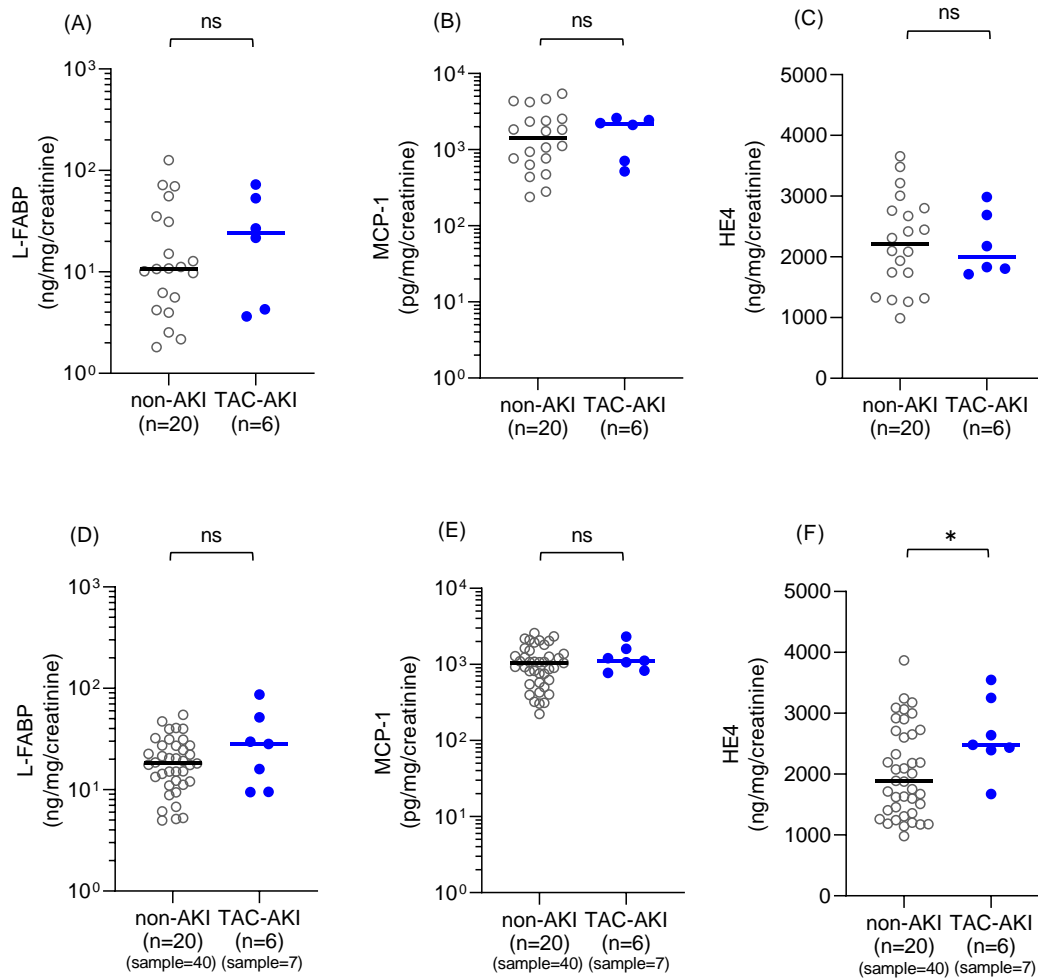


Figure 7.

Urinary levels of L-FABP (A), MCP-1 (B), and HE4 (C) in the non-AKI group and TAC-AKI group immediately before tacrolimus administration on postoperative day 1. There were 20 measurements in the non-AKI group (20 subjects) and 6 measurements in the TAC-AKI group (6 subjects). Urinary levels of L-FABP (D), MCP-1 (E), HE4 (F) in the non-AKI and TAC-AKI groups during tacrolimus therapy (either postoperative day 7 or 14). There were 40 measurements in the non-AKI group (20 subjects) and 7 measurements in the TAC-AKI group (6 subjects).

L-FABP and MCP-1 levels were normalized to urinary creatinine levels and plotted on a logarithmic y-axis. HE4 levels were normalized to urinary creatinine levels and plotted on the y-axis as real numbers. Statistical analyses were performed using the Mann–Whitney U test. * $p < 0.05$. AKI, acute kidney injury; L-FABP, liver-type fatty acid-binding protein; MCP-1, monocyte chemoattractant protein 1; HE4, human epididymis secretory protein 4; ns, not significant; TAC, tacrolimus.

4 考察

患者背景として、non-AKI 群とTAC-AKI 群間において術前肝機能ならびに腎機能については差がなかった。患者の術前の腎機能低下が AKI の発症に関連しているという報告⁴⁸⁾があるが、本研究においてはタクロリムスによる AKI の条件として、術前の $eGFR < 60 \text{ mL/min/1.73 m}^2$ の患者を除外していることから、2 群間で術前の腎機能に差が認められなかったものと推察できる。そのため、本研究におけるタクロリムスによる AKI に術前の腎機能は関連していないと考えられた。また、TAC-AKI 群においては non-AKI 群に比して、GV (移植肝容積) が有意に低値を示したが ($p = 0.006$)、移植肝容積が小さいことが肝臓移植後の AKI 発症の危険性を高めるという報告があることから⁴⁹⁾、本研究結果は妥当な結果と考えられる。さらに今回、有意な差は認められなかったものの、TAC-AKI 群において観察期間中のタクロリムスの平均血中濃度が高い傾向にあった (Table 1)。移植領域においては血中濃度が高いほど AKI のリスクが高まるという報告もなされていることから^{50,51)}、肝臓移植においてもタクロリムスによる AKI に平均血中濃度が影響している可能性が考えられた。

今回、これまでに AKI を反映する尿中バイオマーカーとして報告されている NGAL、L-FABP、MCP-1 に加え、CKD を反映する尿中バイオマーカーとして報告されている HE4 の 4 分子の挙動について検討を行った。まず、尿中 NGAL については、タクロリムス投与前、投与中いずれにおいても、non-AKI 群とTAC-AKI 群の間に有意な差は認められなかった (Figure 6)。また、L-FABP、MCP-1 についても同様に、タクロリムス投与前、投与中いずれにおいても non-AKI 群とTAC-AKI 群の間に有意な差は認められなかった (Figure 7 A,B,D,E)。一方、HE4 は、タクロリムス投与中 (術後 7 日目または 14 日目) において、

non-AKI 群に比してTAC-AKI 群において、有意に上昇した (Figure 7 C,F) ($p < 0.05$)。これらの結果から、本研究においては NGAL、L-FABP、MCP-1 ではなく、新たに HE4 がタクロリムスによる AKI を反映する指標となる可能性が示された。

MCP-1、及び L-FABP は近位尿細管上皮細胞の障害を主に反映し、一方で NGAL、及び HE4 は近位尿細管だけではなく遠位尿細管における障害も検出することが報告されている⁸⁾。CNI によって引き起こされる腎障害に関しては、近位尿細管へ障害が生じること⁵²⁾ や、腎臓へ流入する血管である輸入細動脈を収縮させること⁵³⁾ が報告されている。特にタクロリムス誘発性腎障害については、近位尿細管上皮細胞のみならず、遠位尿細管における異物輸送能も低下させ⁵⁴⁾、さらには間質の繊維化も惹起すると示されている⁵⁵⁾。今回 TAC-AKI 群においてタクロリムス投与中の MCP-1、及び L-FABP の値の変動がみられなかったことは、本研究においてはタクロリムスによる近位尿細管における障害の程度が軽度であった可能性が考えられる。

NGAL は、1993 年にヒトの好中球から分離同定された約 25kDa のタンパク質であり⁵⁶⁾、骨髄や気管、腎臓、肺、胃などの臓器に非常に低濃度で発現している⁵⁷⁾。その後研究が進められ、虚血性の腎障害や急性の尿細管壊死を早期に反映するバイオマーカーとして報告された^{13,14,58-61)}。その一方で鉄結合性小化合物であるシデロフォアを介して鉄と結合した NGAL は障害時の腎保護作用を有することが報告される⁶²⁾ など、これまで腎障害に関与するタンパクであることが明らかになっている。特に腎障害時における NGAL の産生部位は近位尿細管ではなく遠位尿細管が主であることがこれまでの検討により示されている⁸⁾。また肝移植における臨床検体を用いた既報においてはタクロリムス誘発性腎障害を反映する尿中バイオマーカーとして報告されており、さらには早期に検出す

るバイオマーカーになりうる可能性を見出した¹⁸⁾。

一方、HE4 は WAP (Whey Acidic Protein) ファミリーに属し、WFDC2 (WAP Four-Disulfide Core Domain Protein2) と呼ばれる分子量約 25KDa の分泌型糖タンパク質である。主にヒト精巣上体でのみ発現し、精子の成熟に関する転写物として同定されたが⁶³⁾、その後気道や口腔内などの正常組織のみならず肺腺がんや卵巣がんの腫瘍細胞株において強く発現していることが発見され^{64,65)}、現在は卵巣がんの血清マーカーとして用いられている⁶⁵⁾。最近、繊維症に関連する筋線維芽細胞中で発現が最も増大する遺伝子産物であることが突き止められ、複数のプロテアーゼ活性を阻害するプロテアーゼ阻害剤として作用し、間接的に I 型コラーゲンの分解が抑制されることで腎繊維症が誘発されることが示された⁶⁶⁾。その後多くの研究が行われ、慢性腎臓病における腎繊維症ならびに尿細管損傷において高値の HE4 が検出されている⁴⁴⁻⁴⁷⁾ ことから、慢性腎臓病患者の腎障害の程度を低侵襲的に評価できる可能性を示しており、診断マーカーとしての応用が今後期待されているバイオマーカーの一つである。また最近では腎繊維症に関連する最も重要な要因のひとつである腎移植後の急性拒絶反応の早期診断バイオマーカーとしても報告されている⁶⁷⁾。

今回、タクロリムス投与中に non-AKI 群、TAC-AKI 群間で NGAL の尿中への漏出量に有意な差は認められなかった。このことより、当院における肝臓移植術後の免疫抑制療法において、タクロリムス誘発性腎障害の指標として NGAL が有用ではないことが示された。その一方で、タクロリムス投与中に新規に TAC-AKI 群において HE4 の尿中への漏出量の増加が認められた。当院の免疫抑制療法においては尿細管障害を悪化させる新たなサイトカインやケモカインの放出によって、タクロリムス誘発性腎障害を引き起こし、HE4 が尿中へ漏出した可能性がある。タクロリムスによる腎障害の主な原因が腎臓の尿細管間質

線維化であること⁵⁵⁾ から、HE4 が間質性線維化のメカニズムである筋線維芽細胞の分化の刺激にも寄与する可能性が考えられる。しかしながら、タクロリムス誘発性腎障害の診断補助の指標として HE4 が使用できる可能性については、腎障害に関する詳細な機序の解明を含め今後の検討が必要である。

また今回、本研究においてTAC-AKI 群の割合は 23% であり、タクロリムス誘発性腎障害として本研究とほぼ同様の基準で行われた既報¹⁸⁾ における TAC-AKI 群の割合に比べ低い割合であった。この違いは目標血中濃度の違いならびに術後免疫抑制療法の違いによるものと考えられる。まず、当時の京都大学病院においては、術後 2 週間のタクロリムスの目標血中濃度が10-15 ng/mLであり、当院よりも高い値で目標血中濃度が設定されていた (Figure 4)。術後 2 週間の実際の血中濃度の推移に関しては不明であるが、目標血中濃度に応じてタクロリムスの投与量が調整されることから、実際の血中濃度も目標血中濃度と近い値であると推察できる。タクロリムスのトラフ値が高値であるほど AKI が発症しやすいという報告⁵¹⁾ があることから、今回の考察は妥当であると考えられる。次に、当時の京都大学病院においては、術後 1 日目の朝からタクロリムスを投与するのに対し、当院においては術後 1 日目からタクロリムスを投与せず、MMF (2000-3000mg) とステロイドのみを投与するという方法を取り、タクロリムスは術後 2-3 日目から開始している (Figure 4)。すなわち、タクロリムスが投与されない期間を MMF で補完した形をとっている。MMF は腎臓に対して低毒性であることが知られており、CNI による副作用を軽減する免疫抑制剤として併用して用いられることが多い^{4,21,68)}。CNI による急性腎障害を軽減するための術後免疫抑制療法⁵¹⁾ や、腎保護目的にタクロリムスの投与を遅らせる投与方法²²⁾ など腎保護目的の免疫抑制療法に関する研究が現在まで進められている。今回の結果より、当院における肝移植術後免疫抑制療法においては、タクロリム

スによる急性腎障害の発生頻度を低下させる可能性があることが示すとともに、タクロリムス誘発性腎障害を検出する指標として尿中 NGAL が有用ではないことが示された。

5 小括

当院で使用される肝臓移植後免疫抑制療法においてタクロリムスによる急性腎障害の早期検出に資する尿中バイオマーカーの探索を行った。その結果、当院の免疫抑制療法においてはタクロリムスによる急性腎障害時に尿中 HE4 の変動が認められたが、タクロリムスによる急性腎障害を検出するバイオマーカーとして尿中 NGAL が有効ではないことが示された。以上より、免疫抑制療法が異なることで、タクロリムスによる急性腎障害時に変動する尿中バイオマーカーが異なることが示された (Figure 8)。

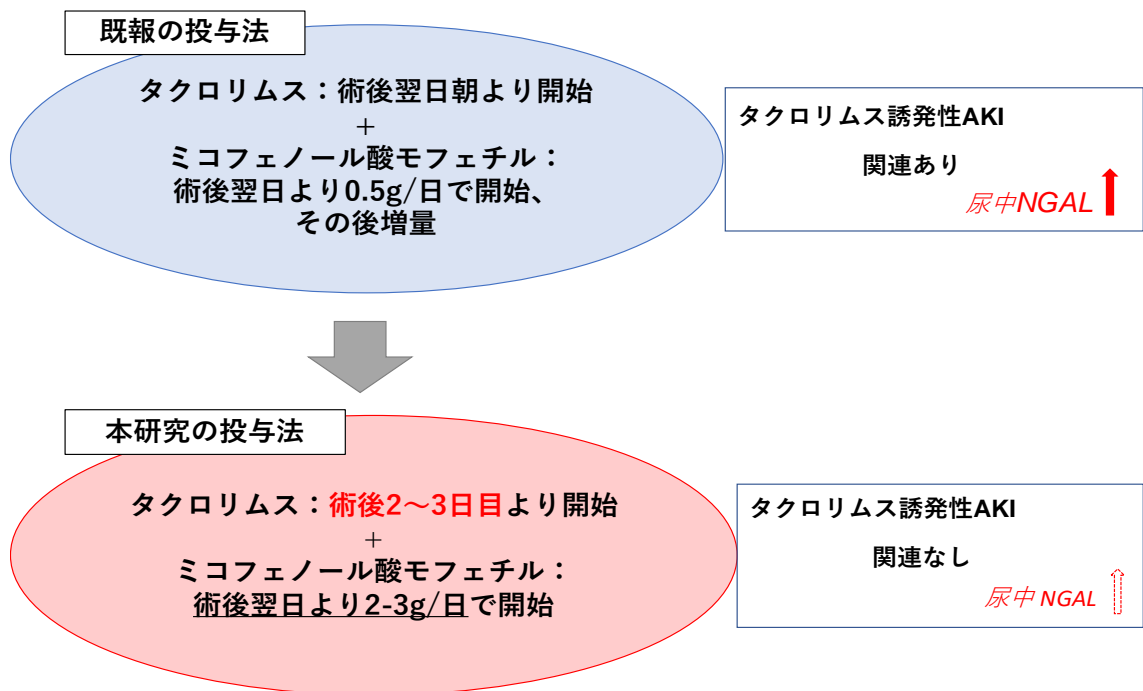


Figure 8. 肝臓移植後におけるタクロリムス誘発性腎障害と尿中NGALの関係

第2章 タクロリムス誘発性腎障害の回避を念頭にしたミコフェノール酸モフェチル体内動態の検討

1 緒言

九州大学病院（当院）で使用される肝臓移植後免疫抑制療法【術後 1 日目から、ミコフェノール酸モフェチル (MMF) とステロイドを投与し、術後 2-3 日目からタクロリムスを投与する術後管理計画】において、タクロリムス誘発性腎障害の発症割合が低いことが示された⁶⁹⁾。著者は、その理由として、肝臓移植後の免疫抑制療法として用いるタクロリムスの投与を遅らせたこと、タクロリムスの投与開始までの期間に腎臓に対してより毒性の少ない MMF を高用量投与することで補完した影響であると考えた。

MMF は、イノシンモノリン酸デヒドロゲナーゼ (IMPDH) を選択的かつ可逆的に阻害することによって *de novo* 核酸合成依存的な T 細胞および B 細胞の増殖を抑制することから、臓器移植患者における急性拒絶反応の予防として、CNI や副腎皮質ステロイドと組み合わせて用いられる⁷⁰⁾。プロドラッグである MMF は体内で速やかに加水分解され活性代謝物のミコフェノール酸 (MPA) へ変換される。その後、肝臓に存在する UDP-グルクロン酸転移酵素 (UGT) 1A8 や UGT1A9 によって、約 95% が薬理活性を有さないフェノール性水酸基グルクロン酸抱合体 (MPAG) に、一部は IMPDH 阻害活性を有するアシル抱合体に代謝され、胆汁及び尿に排泄される⁷¹⁾。胆汁中に排泄された代謝物は腸内細菌由来の β -グルクロニダーゼによって腸管内で加水分解され、再び MPA となり体内に取り込まれる (腸肝循環)⁷¹⁻⁷³⁾。このように、MMF の体内動態は複雑であり、個体内に加えて個体間変動が大きいいため、投与量から血中濃度をはじめ薬理効果の予測は難しい。過去の臨床研究から、MMF による拒絶反応抑制効果は唯

一MPA の血中濃度時間曲線下面積 (AUC) に対応するという結果が腎移植領域において認められており²³⁾、他の領域 (心臓、肝臓、肺など) においても MPA の AUC モニタリングは MMF の効果や有害反応を検討する上で有用であると考えられている。しかしながら、海外の肝臓移植領域において MPA の AUC に関する報告²⁴⁾ はあるものの、国内における報告は未だなされておらず、臨床効果に及ぼす影響についても情報が少ない。

MMF は、セルセプト[®]カプセル 250 とセルセプト[®]懸濁用散 31.8% の 2 製剤が市販されている。カプセル剤は 1999 年に本邦にて販売開始となったが、カプセルが大きいことにより服用が患者の負担につながりやすいことや、医師による用量の微調整が難しいことが問題となっていた。一方、2015 年に発売されたセルセプト[®]懸濁用散 31.8% はそのような問題の解決を目的として開発された新規製剤であり、このことにより患者個々の状況に合った剤型の選択が可能になった。当院では当初セルセプト[®]カプセル 250 を使用していたが、セルセプト[®]懸濁用散 31.8% の販売開始に伴い 2016 年より懸濁用散製剤の使用を開始している。脱カプセル操作が不要な懸濁用散製剤は、医療従事者の薬物に対する曝露回避も含めて利便性と安全性が高いことから、経胃管投与を繁用する肝臓移植術直後の全症例に対し導入されている。しかしながら CNI の開始を遅らせて MMF のみを術直後より開始するという免疫抑制療法を行う例はこれまでになく、生体肝移植術直後の MMF 製剤の体内動態については未だ不明な点も多い。また、セルセプト[®]の添付文書にて健康成人男性を対象にした剤型別血漿中 MPA 薬物動態パラメータ (Table 2) はあるものの、肝臓移植患者を対象に比較した報告例は存在せず、肝臓移植患者におけるセルセプト[®]懸濁用散 31.8% の使用方法については十分に検討されていない。

このような背景をもとに本章では、MMF の体内動態の検討として、肝臓移植

後 1 日目のセルセプト®カプセル 250 またはセルセプト®懸濁用散 31.8% の AUC_{0-12h} の測定を行い製剤間の薬物動態について比較検討を行うとともに、タクロリムス誘発性腎障害の発現状況についても調査した。

2 方法

2-1 対象患者および免疫抑制療法プロトコル

2017年6月から2019年6月の間に、当院にて生体肝移植を実施し、移植術後1日目にMMFが3000mg投与された患者のうち、移植術後1日目の服用直前(C₀)、服用後1.2.4.8.12時間後(C₁, C₂, C₄, C₈, C₁₂)の6点で採血が行われ、得られた血中濃度から直線台形法によりMPA-AUC_{0-12h}の算出が可能であった患者14名(セルセプト®カプセル使用患者8名とセルセプト®懸濁用散31.8%使用患者6名)を対象とした。なお、医師の診断において全ての患者に急性拒絶は認めしていない。

免疫抑制療法プロトコルは、第1章の方法2-5に記載した通りである。なお、タクロリムスの開始時期については、術後2-3日目を基本とし、明らかな腎機能低下時には医師の判断によりタクロリムスの開始時期が決定された。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588-04)。

2-2 血中濃度測定法

MPAの血中濃度の測定には、Enzyme-mimicking assay法(Cobas 6000®; Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany)を用いた。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。

2-3 タクロリムス誘発性腎障害の診断基準

タクロリムス誘発性腎障害の診断は KDIGO 診断基準に従い、48 時間以内に Scr 値が 0.3 mg/dL 以上上昇した患者の中で、タクロリムスの血中濃度の変動により Scr 値が変動した患者をタクロリムス誘発性腎障害であると判断した。

2-4 診療情報の収集方法

全てのデータは電子カルテシステムより抽出した。患者の年齢、性別、体重、原疾患、術後 1 日目の臨床検査値 (Scr、AST、ALT、アルブミン値) ならびに MPA の血中濃度を調査した。術後 1 日目の臨床検査値については、当日に数回測定されている場合は、測定 1 回目のデータを抽出した。また、肝臓移植術後 1 週間のタクロリムス血中濃度と Scr 値を記録した。

2-5 統計解析

データは平均値±標準偏差で示した。2 群間の比較については、Student's *t*-test を用いた。統計的有意水準は $p < 0.05$ とした。これらの統計は GraphPad Prism version 8 (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA) を用いて解析した。

3 結果

3-1 患者背景

対象患者数 14 名について、セルセプト®カプセル使用群 (CELLCEPT capsules、以下、カプセル群) とセルセプト®懸濁用散 31.8% 使用群 (CELLCEPT powder for oral suspension、以下、懸濁用散群) の 2 群に分けた患者背景ならびに術後 1 日目の臨床検査値を Table 4 に示す。得られたデータは平均 ± 標準偏差で表した。両群間で性別、体重、肝機能、腎機能、アルブミン値に有意差は認められなかった。

Table 4. Patient characteristics

Characteristic	CELLCEPT Capsules (n = 8)	CELLCEPT powder for oral suspension (n = 6)	p- value
Age (years)	60.7 ± 6.84	54.2 ± 17.06	NS
Sex (male/female)	6/2	4/2	NS
body weight (kg)	64.9 ± 9.93	66.2 ± 8.76	NS
Scr (mg/dL)	0.98 ± 0.26	0.96 ± 0.72	NS
BUN (mg/dL)	19.1 ± 7.42	22.7 ± 14.1	NS
Albumin (g/dL)	3.7 ± 0.54	3.6 ± 0.39	NS
AST (g/dL)	302.8 ± 242.1	366.8 ± 293.5	NS
ALT (g/dL)	231.2 ± 120.9	320.3 ± 287.2	NS
Primary disease (n)			
Hepatitis C virus-related liver cancer	1	2	
Hepatitis B virus	1	1	
Alcoholic cirrhosis	3	1	
NASH	2	0	
Other	1	2	

Abbreviations: Scr, serum creatinine; eGFR, estimated glomerular filtration rate; HCV, Hepatitis C virus-related liver cancer; HBV, Hepatitis B virus; NASH, nonalcoholic steato-hepatitis;

3-2 ミコフェノール酸の血中濃度の推移（剤型間の比較）

術後1日目のミコフェノール酸 (MPA) の血中濃度の推移、C_{max}、T_{max}、トラフ値 (C₁₂)、AUC_{0-12h} について、カプセル群 (n=8) と懸濁用散群 (n=6) の2群に分けて比較した結果を Figure 9, Table 5 に示す。

カプセル群において、明らかな C_{max} (ピーク値) が認められたのに対し、懸濁用散群 においては明らかな C_{max} は認められなかった (Figure 9)。一方で、C_{max}、T_{max}、トラフ値 (C₁₂)、AUC_{0-12h} の平均値についてはいずれにおいても両群間に有意な差は認められなかったが、カプセル群では懸濁用散群に比して C_{max} が高い傾向にあり、T_{max} が短い傾向にあった (Table 5)。

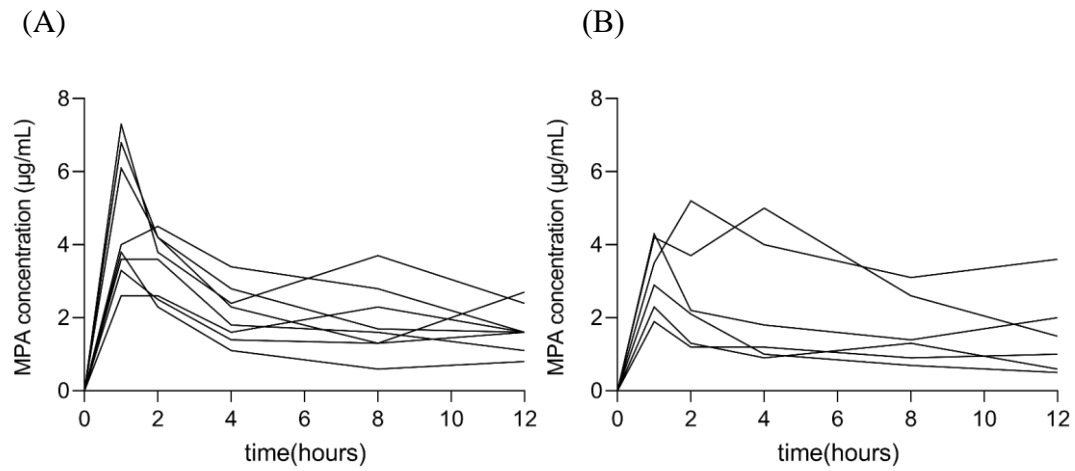


Figure 9.
Serial measurement of 12-hour mycophenolic acid (MPA) concentration in liver transplant recipient after administration of mycophenolate mofetil :
 (A) CELLCEPT capsules, (B) CELLCEPT powder for oral suspension

Table 5. Pharmacokinetic results

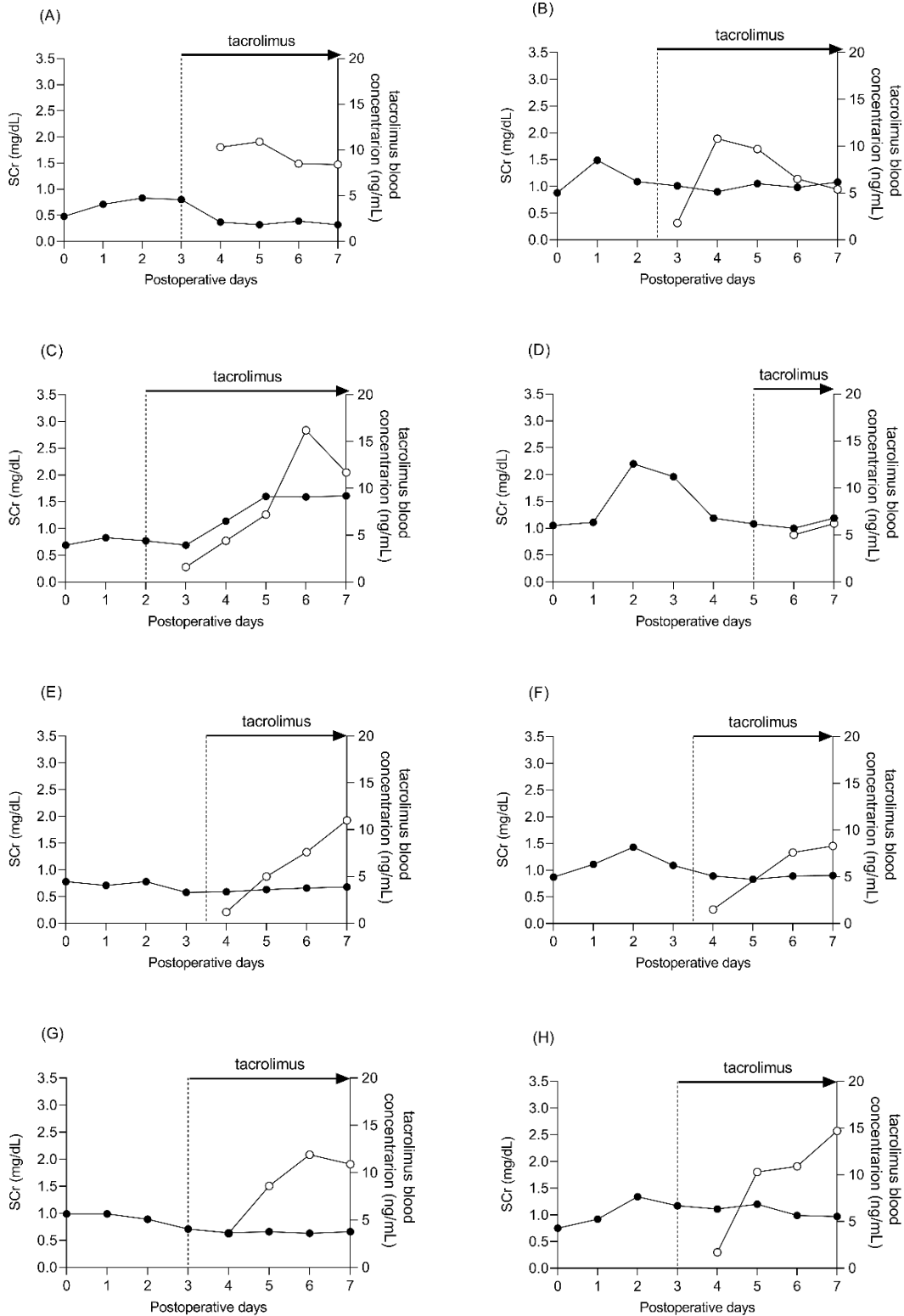
	Total (n=14)	CELLCEPT capsules (n = 8)	CELLCEPT powder for oral suspension (n = 6)	<i>p</i> -value
C _{max} (µg/mL)	4.21 ± 1.36	4.75 ± 1.75	3.48 ± 1.26	NS
T _{max} (hr)	1.36 ± 0.84	1.13 ± 0.35	1.67 ± 1.11	NS
C ₁₂ (trough value) (µg/mL)	1.69 ± 0.94	1.68 ± 0.62	1.72 ± 1.21	NS
AUC _{0-12h} (µg·h/mL)	26.32 ± 10.45	27.18 ± 8.09	24.98 ± 13.75	NS

mean ± SD

3-3 タクロリムス開始時期及び血中濃度の推移と血清クレアチニン値の変動

対象患者数 14 名 (A-H : カプセル群、I-N : 懸濁用散群) について、肝臓移植術後 1 週間におけるタクロリムス開始時期及び血中濃度の推移 (○) と血清クレアチニン値の変動 (●) を示したグラフを Figure 10 に示す。

術後 2-3 日目の時点で明らかな腎機能低下が認められる場合には、医師の判断によりタクロリムスの開始時期が決定された。全ての症例において、タクロリムス誘発性腎障害は認められなかった。(C) については、術後 3-5 日目においてタクロリムスの血中濃度の上昇とともに Scr 値の上昇が認められたが、医師の判断によりタクロリムス誘発性腎障害ではないと判断された。



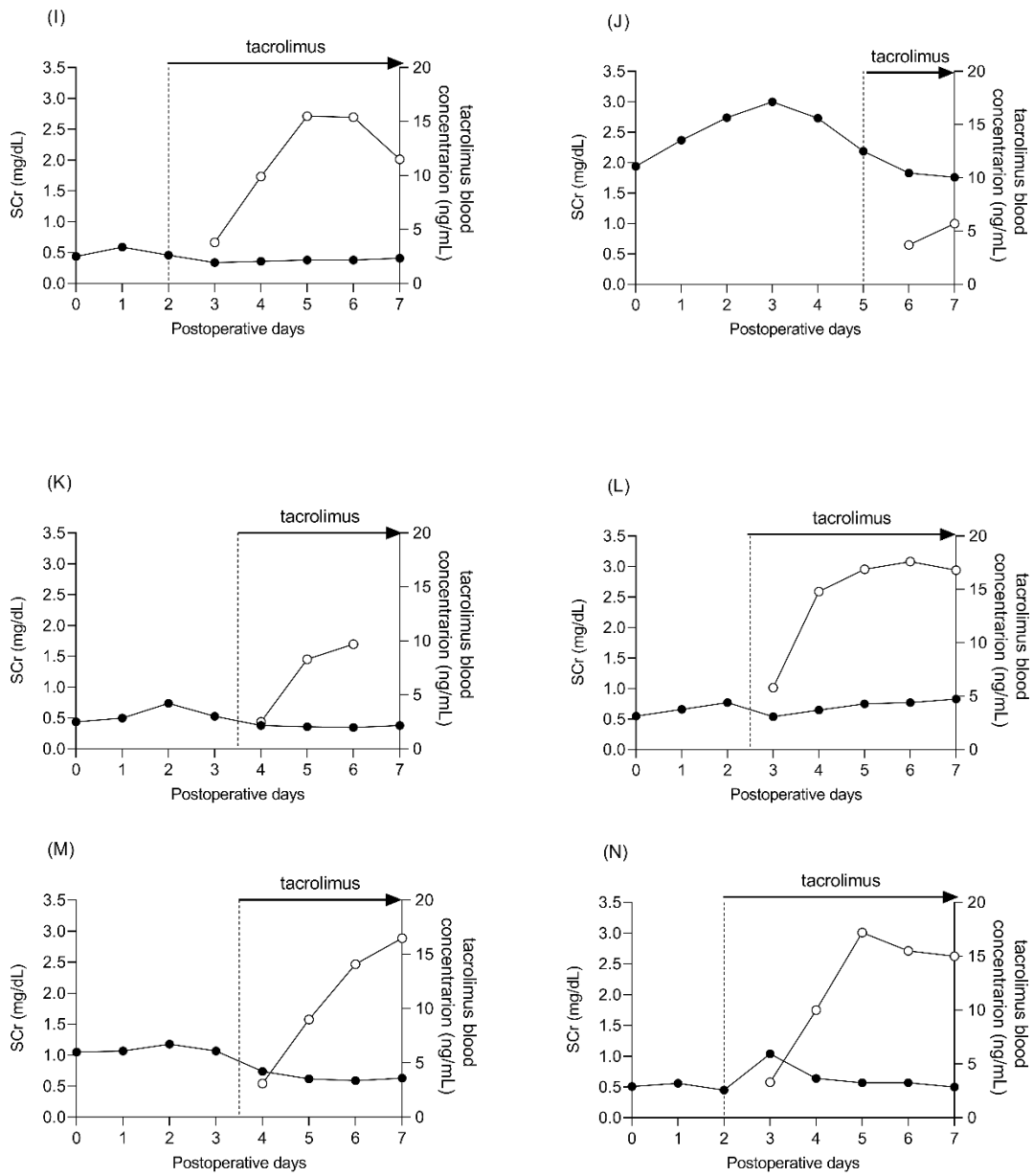


Figure 10.

Time-dependent changes in Scr levels (closed circle) and tacrolimus blood concentration (open circle) in the liver transplant patients who administered to the CELLCEPT capsules (A-H) and CELLCEPT powder for oral suspension (I-N) during the period of Postoperative Days 0–7 are summarized.

4 考察

1 章でも述べたように肝臓移植後に生じる AKI の主な原因のひとつが、免疫抑制薬として使用される CNI の投与であることが報告されており、主に使用されるタクロリムスが原因となって誘発される AKI を回避することは、肝臓移植患者の予後改善につながると期待される。CNI と同様に移植後に使用される MMF は、CNI との併用により急性拒絶反応を抑制する^{21, 74, 75)}のみならず、腎臓に対して低毒性である特徴を持つことから、CNI の用量減量による副作用軽減を目指して併用する免疫抑制剤として用いられることが多い^{4, 21, 74)}。その併用方法に関しては、腎機能の改善には CNI を減量することが必要であるという報告^{74, 76)}がなされるなど、急性拒絶ならびに AKI を回避するための免疫抑制療法として MMF の使用量・使用方法に関する研究が今後も進められていくものと思われ、免疫抑制剤としての MMF への期待はますます高くなると考えられる。そのため、肝臓移植患者において MMF の薬物動態を検討することは、今後の移植領域において有益な情報になると考えられる。

MMF の薬物動態については、腎移植症例において多くの知見があり、変動要因の一つにアルブミン値があげられる⁷⁷⁾。MMF のタンパク結合率は 90% 以上と言われており、低アルブミン血症時における遊離型 MPA 濃度の変動は、薬物動態の変動及び薬効に影響を及ぼす可能性が推察される^{77, 78)}。肝移植患者は血清アルブミン値が低下していることが多いが、本研究における対象患者の術後 1 日目のアルブミンの平均値は約 3.5 g/dL であり、正常値 (4.0 g/dL 以上) よりやや低値であった。しかしながら重篤な低アルブミン血症というわけではなく、また、肝臓移植術時においては十分量のアルブミンが補充されながら手術が行われることから、今回アルブミン値についての考慮は不要であると考えられた。

本研究において、肝臓移植術 1 日目の MMF の薬物動態について剤型間の比較検討を行ったところ、カプセル群において Cmax (ピーク値) が認められたのに対し、懸濁用散群においては Cmax に個人間でばらつきが認められた。これは、カプセル群では懸濁用散群に比して Cmax の平均値が高い傾向にあり、Tmax の平均値が短い傾向にあったことから同様のことがいえる (Table 5)。

しかしながら、今回、同一製剤内においても血中濃度の推移にばらつきがみられた。生体肝移植においては、移植肝が成育するまでに約 1 か月要すると言われている⁷⁹⁾。そのため術後間もない時期では肝臓における薬物の代謝能力の個人間ならびに個体内変動が大きい。実際に、生体肝移植では全肝移植に比べ移植肝容積が小さいことからグルクロン酸抱合が起こりにくくなり、術後早期における MPA の血中濃度の推移に違いが生じるという報告⁸⁰⁾ がなされている。また手術の侵襲により腸における MMF の吸収が遅延し、MPA の血中濃度に個人差が生じる可能性があるという報告⁸¹⁾ もあることから、侵襲の大きい術式である生体肝移植術後 1 日目という特殊な状況において様々な要因が重なり血中濃度の推移にばらつきがでたものと推察している。また、先にも述べたように、MPA は約 40% の割合で腸肝循環をされると言われており、MPA の体内動態において投与後 6 時間以降に再度血中濃度のピーク (セカンドピーク) が認められる⁷⁷⁾ が、肝臓移植後は、胆管吻合部分の縫合不全を予防するために、肝臓から分泌された胆汁を体外に排出する胆管ドレナージを留置する。そのため著者は、胆管ドレナージを留置している術後 1 日目には胆汁が外部に排泄されるため MPA の腸肝循環は起こらず、体内動態においてもセカンドピークは認められないと考えている。よって、今回の血中濃度のピークのばらつきは、腸肝循環によるセカンドピークではなく、体内動態におけるばらつきと推察している。

MPA の AUC はトラフ濃度と相関せず、AUC_{0-12h} が臨床効果や拒絶反応を予

測する有効な薬物動態パラメータとなることが示唆されている^{82,83)}。今回、MMF 投与後 1 日目の AUC_{0-12h} の平均値に関しては剤型間で差は認められず、全症例の平均値は $30\mu\text{g} \cdot \text{h/mL}$ 以下であった (Table 5)。また、急性拒絶ならびにタクロリムスによる急性腎障害は認められなかった。MMF は定常状態に達するのに約 1 週間かかるといわれており⁸⁴⁾、免疫抑制薬 TDM 標準化ガイドラインにおいては 7 日目以降に AUC_{0-12h} を測定することが推奨されている。腎移植領域においては、 AUC_{0-12h} が $30\mu\text{g} \cdot \text{h/mL}$ 以下を推移すると拒絶反応のリスクが上昇し、 $60\mu\text{g} \cdot \text{h/mL}$ 以上では骨髄抑制や感染症のリスクが上昇するとされていることから、 AUC_{0-12h} は $30\sim 60\mu\text{g} \cdot \text{h/mL}$ の範囲内が推奨されている^{78, 85, 86)}。定常状態に達していない 1 日目のみの AUC_{0-12h} の測定に関して、臨床上の必要性については議論の分かれるところではあるが、移植直後の C_{max} ならびに AUC_{0-12h} は移植 3 か月後よりも 30-50% 程度低いという腎移植における報告⁷²⁾ や、移植後 2 週間内の AUC_{0-12h} が $30\mu\text{g} \cdot \text{h/mL}$ 以下でも急性拒絶は起こらないという肝移植における報告²⁴⁾ は、今回の結果を支持するものと考ええる。しかしながら、本検討においては MMF の投与量の違いや、グルクロン酸抱合体の MPAG など、体内動態に関連がある要因について検討を行っていないため、今後は併せて評価する必要があると考える。

MMF と CNI の併用により慢性腎障害を軽減する報告^{21,74)} はあるものの、肝臓移植術後のタクロリムスによる急性腎障害に対する使用方法として、術後 1 日目の MMF の体内動態を検討した報告は本報告が初めてのことである。今後は定常状態に達する MMF 投与後 7 日目以降の血中濃度を含め、個体内および個体間の変動要因を詳細に検討する必要があるが、今回の研究結果より、術後 1 日目においては MMF の剤型間には C_{max} のばらつきがあるものの、臨床効果として急性拒絶やタクロリムスによる急性腎障害は認められず、臨床効果に差はな

い可能性が示された。また、術後 1 日目の AUC_{0-12h} は $30\mu\text{g} \cdot \text{h/mL}$ 以下であることも示された。さらに、タクロリムスによる急性腎障害を回避するためには、タクロリムスの適切な開始時期を決定する医師の判断も重要ではあるが、術後 1 日目より MMF を使用した当院の免疫抑制療法が急性拒絶ならびにタクロリムスによる急性腎障害を軽減するプロトコルである可能性が示された。

5 小括

当院で使用される肝臓移植後免疫抑制療法において、タクロリムス誘発性腎障害の発症割合が低い理由として、免疫抑制療法として用いるタクロリムスの投与を遅らせると共に、タクロリムスの投与開始までの期間により腎臓に対する毒性の少ない MMF で補完した影響であると考えた。しかしながら、肝臓移植術後の MMF 製剤の体内動態については未だ不明な点も多いことから、第 2 章では投与 1 日目の MMF の曝露量に着目し、剤型間の薬物動態について比較検討を行うとともに、タクロリムスによる急性腎障害の発現状況についても調査した。

その結果、当院の免疫抑制療法では MMF の投与 1 日目において、カプセル剤には明らかな C_{max} が認められたが、懸濁用散には認められず、剤型間で体内動態が異なる可能性が示された。また、 AUC_{0-12h} の平均値に剤型間の差はなく、 $30\mu\text{g} \cdot \text{h/mL}$ 以下であった。その一方で、臨床効果においては剤型間の差がない可能性が示された。

第3章 肝臓移植後患者におけるタクロリムスの体内動態に及ぼす *CYP3A5* 及び *POR28* 遺伝子多型の影響

1 緒言

タクロリムスは、治療域が狭く、個体内及び個体間の変動が大きいいため経験的な投与計画の確立が困難であることから²⁶⁾、血中濃度モニタリング (therapeutic drug monitoring, TDM) を行いながら用量調節を行うことが必要不可欠である^{27, 28)}。特に肝臓移植においては、移植される肝臓の機能に加えて術後経過日数の影響が大きいと言われており²⁸⁾、移植直後においては、術後2週間は毎日血中濃度を測定することが推奨されている。血中濃度が治療域を上回る患者では、腎障害や神経障害などの副作用のリスクが高まることが報告されている²⁾が、著者は、移植術直後の患者において、同じ用量のタクロリムスが投薬開始されているにも関わらず、血中濃度が上昇する症例としない症例を経験してきた。

タクロリムスの個体内あるいは個体間変動を生み出す要因として、肝臓及び小腸における *CYP3A* の遺伝子多型が大きく関わっていることが広く知られている。タクロリムスの代謝は *CYP3A5* と *CYP3A4* の両方が協働的に担うと考えられているが、*CYP3A4* の遺伝子多型とタクロリムスの薬物動態の間に関連性については情報が少なく⁸⁷⁾、大きな個体間変動を説明しうる明確な分子学的指標としては確立されていない。また、薬物代謝能に影響を及ぼす *CYP3A4* の遺伝子多型はいくつか知られているが、日本人における頻度は極めて低いことから日常診療上の有用性は小さいと考えられる⁸⁸⁾。

一方、*CYP3A5* の遺伝子多型は、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バイオマーカーになり得ることが示されており²⁹⁾、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。

CYP3A5 の多型性については、*CYP3A5* ゲノム上のイントロン 3 における一塩基多型 (SNP) が引き起こす *CYP3A5* mRNA のスプライシング異常とそれに引き続く機能蛋白質の欠失に左右される。すなわちグアニンへの変異をホモ型で持つ *CYP3A5**3/*3 の「機能欠損型」は、*CYP3A5* 活性を持たずタクロリムスを消失させることができないことから³⁰⁾、*CYP3A5**1/*1 または *CYP3A5**1/*3 である「機能型」に比べ、タクロリムスの血中濃度やタクロリムスの血中濃度/投与量 (C/D) 比が高値になることが報告されている^{31,32)}。さらに、*CYP3A5* は肝臓だけではなく小腸にも発現している³³⁾ ことから、他の臓器移植と異なり、肝移植患者においては患者の小腸とドナーに由来する肝臓の *CYP3A* によりタクロリムスが代謝され、ドナー・患者双方の *CYP3A5* 多型がタクロリムスの体内動態に影響を及ぼす可能性が示唆されている^{30,34,35)}。

さらに最近では、酸化型 CYP の還元を媒介する酵素である Cytochrome P450 oxidoreductase (POR) の機能亢進に繋がる *POR**28 遺伝子多型が見出され、CYP の活性に関与するという報告がなされており^{36,37)}、*POR**28 が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。実際に腎移植領域においては、*CYP3A5* 活性をもつ「機能型」の患者において、この *POR**28 多型が *CYP3A5* の活性上昇を介してタクロリムスの代謝を亢進させると言われており、*POR**28 の対立遺伝子を少なくとも 1 つ有する患者 (**1*/**28* もしくは **28*/**28*) では、*POR**28 を伴わない患者 (**1*/**1*) と比較して、タクロリムスの C/D 比や血中濃度を有意に低下させる^{39,40)} という報告がなされている。一方、肝臓移植領域においてはドナー・患者双方の *CYP3A5* 及び *POR28* 遺伝子多型がタクロリムスの代謝に関与することが予想されるが、未だ国内外における報告はない。

そこで本研究では、肝臓移植後における患者とドナー双方の *CYP3A5* 及び

POR28 遺伝子多型が術後 1 ヶ月間のタクロリムスの C/D 比に及ぼす影響を調査した。当院で使用される肝臓移植術後免疫抑制療法に、薬物代謝酵素の遺伝子多型情報、すなわち、ドナー・患者双方の *CYP3A5*、*POR28* の遺伝子多型の情報を加えることで、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をさらに発展させた肝個別化免疫抑制療法の確立を目的とした。

2 方法

2-1 対象患者およびドナー

2016 年 7 月～2019 年 1 月の間に、当院にて生体肝移植を行い、術後より 1 ヶ月間免疫抑制剤としてタクロリムスを使用した 20 歳以上の患者およびドナーのうち、書面にて同意を得られた 65 組（患者：65 名、ドナー：65 名）を調査対象とした。なお、術後 1 ヶ月内に転院し、転院先にてタクロリムスの投与量が調節された患者を含む 2 組は、タクロリムスの投与量が把握できないため調査対象に含んでいない。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 710-00）。

2-2 DNA の抽出・定量

全血検体 300 μ L と Wizard Genomic DNA purification Kit (Promega, Wisconsin, USA) を用いてゲノム DNA を抽出した。抽出したゲノム DNA を分光光度計 (BioDrop μ Lite; Berthold Technologies, Baden-Wurttemberg, Germany) にて定量し、Tris-EDTA buffer pH 8.0 (Nacalai Tesque, Kyoto, Japan) により 10 ng/mL に希釈した。また、全血検体の採取方法として、患者については、日常診療上のタクロリムス血中濃度測定を終えた後の再測定を念頭において保管されている残余検体を用いた。ドナーについては、肝移植術時に血液を 2mL 採取した。

2-3 CYP3A5、POR28 の遺伝子型判定と分類方法

TaqMan assay (Step One Plus; Applied Biosystems, Massachusetts, USA) を用いてリアルタイム PCR 法にて行い、CYP3A5*3 (rs776746) と POR*28 (rs1057868) の遺伝子型を決定した。

CYP3A5 の薬物代謝機能に関しては、「機能型 : f」(*1/*1, *1/*3) と「欠損型 : d」(*3/*3) に分類した (Table 6A)。さらに、CYP3A5 遺伝子型の組み合わせにより、各組を Rf/Df 群 (患者 : 機能型、ドナー : 機能型)、Rf/Dd 群 (患者 : 機能型、ドナー : 欠損型)、Rd/Df 群 (患者 : 欠損型、ドナー : 機能型)、Rd/Dd 群 (患者 : 欠損型、ドナー : 欠損型) の 4 群に分類した (Table 6B)。

POR28 の機能に関しては、「活性型 : *28」(*1/*28, *28/*28) と「非活性型 : *1」(*1/*1) に分類した (Table 6C)。さらに、CYP3A5・POR28 遺伝子型の組み合わせにより、f/*28 群 (CYP3A5 : 機能型、POR : 活性型)、f/*1 群 (CYP3A5 : 機能型、POR : 非活性型)、d/*28 群 (CYP3A5 : 欠損型、POR : 活性型)、d/*1 群 (CYP3A5 : 欠損型、POR : 非活性型) の 4 群に、患者、ドナーについてそれぞれ分類した (Table 6D)。なお、対象とした集団において CYP3A5 および POR の各対立遺伝子はハーディ・ワインベルグ平衡にあることが確認された。また今回、CYP3A5、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。

Table 6A. *CYP3A5* の遺伝子型

機能型 : f	*1/*1, *1/*3
欠損型 : d	*3/*3

f, functional *CYP3A5*; d, defective *CYP3A5*

Table 6B. 患者・ドナーの *CYP3A5* 遺伝子型の組み合わせ

患者: R / ドナー: D	機能型 : f	欠損型 : d
機能型 : f	Rf / Df	Rf / Dd
欠損型 : d	Rd / Df	Rd / Dd

R, recipient; D, donor;

Table 6C. *POR28* の遺伝子型

活性型 : *28	*1/*28, *28/*28
非活性型 : *1	*1/*1

Table 6D. *CYP3A5* と *POR28* 遺伝子型の組み合わせ

<i>CYP3A5</i> / <i>POR28</i>	活性型 : *28	非活性型 : *1
機能型 : f	f/*28	f/*1
欠損型 : d	d/*28	d/*1

2-4 免疫抑制療法プロトコル

免疫抑制療法プロトコルは第 1 章の方法 2-5 に示した通りである (Figure 4)。タクロリムス (プログラフ®カプセル) は術後 2-3 日目より 2-4 mg /日の用量で開始され、術後 1 ヶ月間の血中濃度は 10-12 ng/mL の範囲内に収まるように調節された。タクロリムスの血中濃度は、化学発光免疫測定法 (CLIA; ARCHITECT system by Abbott, Tokyo, Japan) を用いて測定した。

2-5 診療情報の収集方法および評価

全てのデータは電子カルテシステムより抽出した。肝移植術後 1 ヶ月間、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を血中濃

度/投与量 (C/D, concentration/dose) 比 (以下、C/D) で評価し、1 週間ごとに分けて比較を行った。また、術前の背景として、対象患者及びドナーの性別、年齢、その他患者の臨床検査値 (体重、Scr、BUN、eGFR、AST、ALT、 γ -GTP、ビリルビン、アルブミン)、原疾患、移植肝容積、移植肝容積/体重比を調査した。臨床検査値については、手術前日のデータを抽出した。手術前日のデータがない場合は、術前直近のデータを抽出した。

2-6 統計解析

2 群間の比較について、カテゴリ変数は Chi-squared test, 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。統計的有意水準は $p < 0.05$ とした。これらの統計は GraphPad Prism version 8 (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA) を用いて解析した。多変量解析については、ステップワイズ法 (変数減少法) による重回帰分析を実施した。この統計解析には、JMP[®]Pro 14 (SAS Institute Inc, North Carolina, USA) を使用した。なお、C/D 比の予測値と実測値の残差の正規化のため、Box-cox Y 変換を行った。

3 結果

3-1 患者背景

対象症例 (患者およびドナー) 65 組について、患者背景を Table 7 に示す。術前の臨床検査値にて AST・総ビリルビンが高い傾向にあり、血清アルブミン値は低い傾向が見られ、肝疾患における一般的な臨床所見が認められた。その他の項目において特筆すべき点は見られなかった。患者の原疾患に関しては、アルコール性肝疾患が 24.6% と最も多く、現在国内における生体肝移植の原疾患の特徴と同様の傾向が認められた。

Table 7. Characteristics of recipients and donors

	Recipient (n=65)	Donor (n=65)
Pre-operative data		
Sex (male/female)	28/37 (43.1/56.9)	43/22 (66.2/33.8)
Age (years)	59 [51-65]	39 [33-48]
Body weight (kg)	61.5 [54.0-67.9]	
Scr (mg/dL)	0.68 [0.52-0.90]	
BUN (mg/dL)	14 [10-19]	
eGFR (mL/min/1.73m ²)	78 [58-97]	
AST (U/L)	47 [31-74]	
ALT (U/L)	24 [17-38]	
γ-GTP (U/L)	36 [25-81]	
T-Bil (mg/dL)	2.5 [1.6-5.0]	
Alb (g/dL)	2.7 [2.4-3.0]	
Graft data		
GV (g)	490 [439-556]	
GRWR (%)	0.82 [0.69-0.91]	
Primary disease		
Alcoholic liver disease	16 (24.6)	
Primary biliary cholangitis	13 (20.0)	
Hepatitis C	10 (15.4)	
Hepatitis B	7 (10.8)	
Hepatocellular carcinoma	6 (9.2)	
Non-alcoholic steatohepatitis	5 (7.7)	
Autoimmune hepatitis	2 (3.1)	
Wilson's disease	1 (1.5)	
Others	5 (7.7)	
ABO blood group match		
Identical	34 (52.3)	
Compatible	11 (16.9)	
Incompatible	20 (30.8)	

Continuous data are represented as median [25th to 75th quartiles], categorical data are represented as numbers and proportions (%). Scr, serum creatinine; BUN, blood urea nitrogen; eGFR, estimated glomerular filtration; AST, aspartate aminotransferase; ALT, alanine aminotransferase; γ-GTP, gamma-glutamyl transpeptidase; T-Bil, total bilirubin; Alb, serum albumin; GV, graft volume; GRWR, graft-recipient weight ratio

3-2 患者・ドナーの CYP3A5 遺伝子型の組み合わせの割合

対象症例 65 組について、CYP3A5 遺伝子型の組み合わせの割合を Table 8 に示す。Dd（ドナー：欠損型）を有する組み合わせが 35 例、Rd（患者：欠損型）を有する組み合わせが 38 例であり、患者ならびにドナーにおいて CYP3A5 遺伝子型が欠損型である割合が約 50 % を占めた。

Table 8. Genotypings of patients by the combination of recipient and donor CYP3A5 polymorphisms

Category	n (%)
Rf / Df	21 (32.3)
Rf / Dd	6 (9.2)
Rd / Df	9 (13.8)
Rd / Dd	29 (44.6)

R, recipient; D, donor; f, functional CYP3A5; d, defective CYP3A5

3-3 CYP3A5・POR 遺伝子型の組み合わせの割合

対象症例 65 組について、CYP3A5・POR 遺伝子型の組み合わせの割合を患者 (Table 9A) ・ドナー (Table 9B) それぞれに分けて示す。患者・ドナーともに、CYP3A5・POR 遺伝子型の組み合わせはほぼ同じ割合であった。

Table 9. Demographics of recipients and donors by the combination of CYP3A5 and POR genotypes

A) Recipients

Category	n (%)
f/*1	8 (12.3)
f/*28	19 (29.2)
d/*1	13 (20.0)
d/*28	25 (38.5)

B) Donors

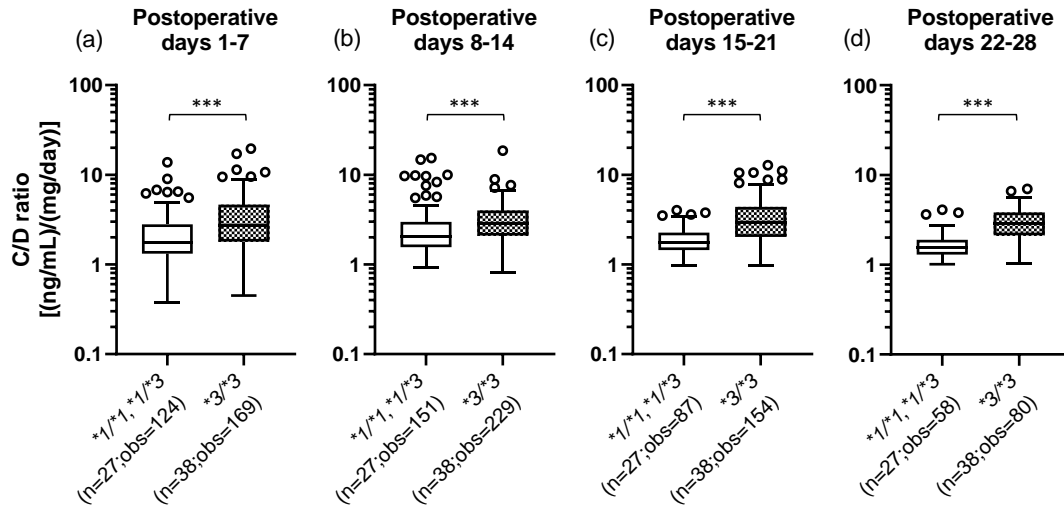
Category	n (%)
f/*1	9 (13.8)
f/*28	21 (32.3)
d/*1	10 (15.4)
d/*28	25 (38.5)

f, functional CYP3A5; d, defective CYP3A5;

3-4 タクロリムスの C/D 比に対する患者及びドナー各々の *CYP3A5* 遺伝子多型の影響

術後1ヶ月間におけるタクロリムスの C/D 比に対する患者及びドナー各々の *CYP3A5* 遺伝子多型の影響について調査した結果を Figure 11 に示す。タクロリムス C/D 比について、術後1週目、2週目、3週目、4週目のすべての期間において、患者、ドナーいずれにおいても *CYP3A5* 欠損型 (*3/*3) が機能型 (*1/*1, *1/*3) に比し、有意に高値を示した ($p < 0.001$)。これらの結果より、患者・ドナーに関わらず全ての *CYP3A5* 欠損型は機能型に比べ、C/D 比が高値になることが示された。

*CYP3A5**3 genotype of the recipient



*CYP3A5**3 genotype of the donor

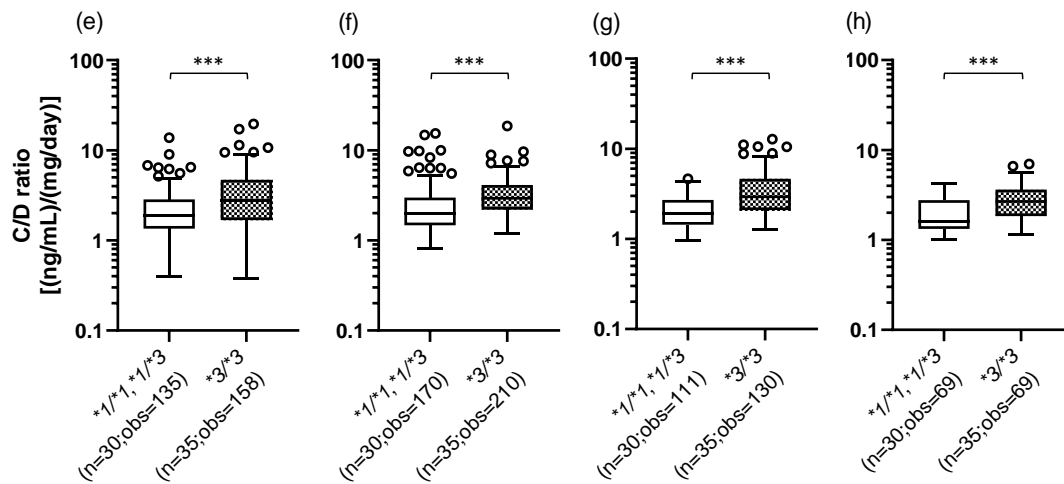


Figure 11.

The influence of recipient or donor *CYP3A5* polymorphism on concentration/dose (C/D) ratio of tacrolimus for postoperative days 1-28 after living-donor liver transplantation. The C/D ratios of tacrolimus for 1-7 (a, e), 8-14 (b, f), 15-21 (c, g) and 22-28 (d, h) days after transplantation for each *CYP3A5* genotype were compared. The bar indicates the median tacrolimus C/D ratio for each group and boxes represent the 25th and 75th percentiles of the data. The whiskers represent the lowest and highest values that fall within 1.5 times the interquartile range of the lower quartile and the upper quartile, respectively. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ and *** $p < 0.001$, between groups.

n, number of patients; obs, number of tacrolimus troughs

3-5 タクロリムスの C/D 比に対する、患者とドナーの *CYP3A5* 遺伝子型の組み合わせによる影響

術後 1 ヶ月間におけるタクロリムスの C/D 比に対する患者とドナーの *CYP3A5* 遺伝子型の組み合わせによる影響について調査した結果を Figure 12 に示す。

タクロリムスの C/D 比について、術後 1 週目、2 週目、3 週目、4 週目のすべての期間において Rd/Dd 群（患者：欠損型、ドナー：欠損型）が Rf/Df 群（患者：機能型、ドナー：機能型）に比べて有意に高値を示した ($p < 0.001$)。

また、Rd/Dd 群は、術後 1~3 週目において、Rf/Dd 群（患者：機能型、ドナー：欠損型）に比べて有意に高値を示し ($p < 0.001$)、Rd/Df 群（患者：欠損型、ドナー：機能型）に比べても有意に高値を示した (1 週目： $p < 0.001$, 2 週目： $p < 0.001$, 3 週目： $p = 0.002$)。これらの結果より、患者・ドナーの *CYP3A5* 遺伝子型が共に欠損型の群が、タクロリムスの C/D 比が最も高値であることが示された。

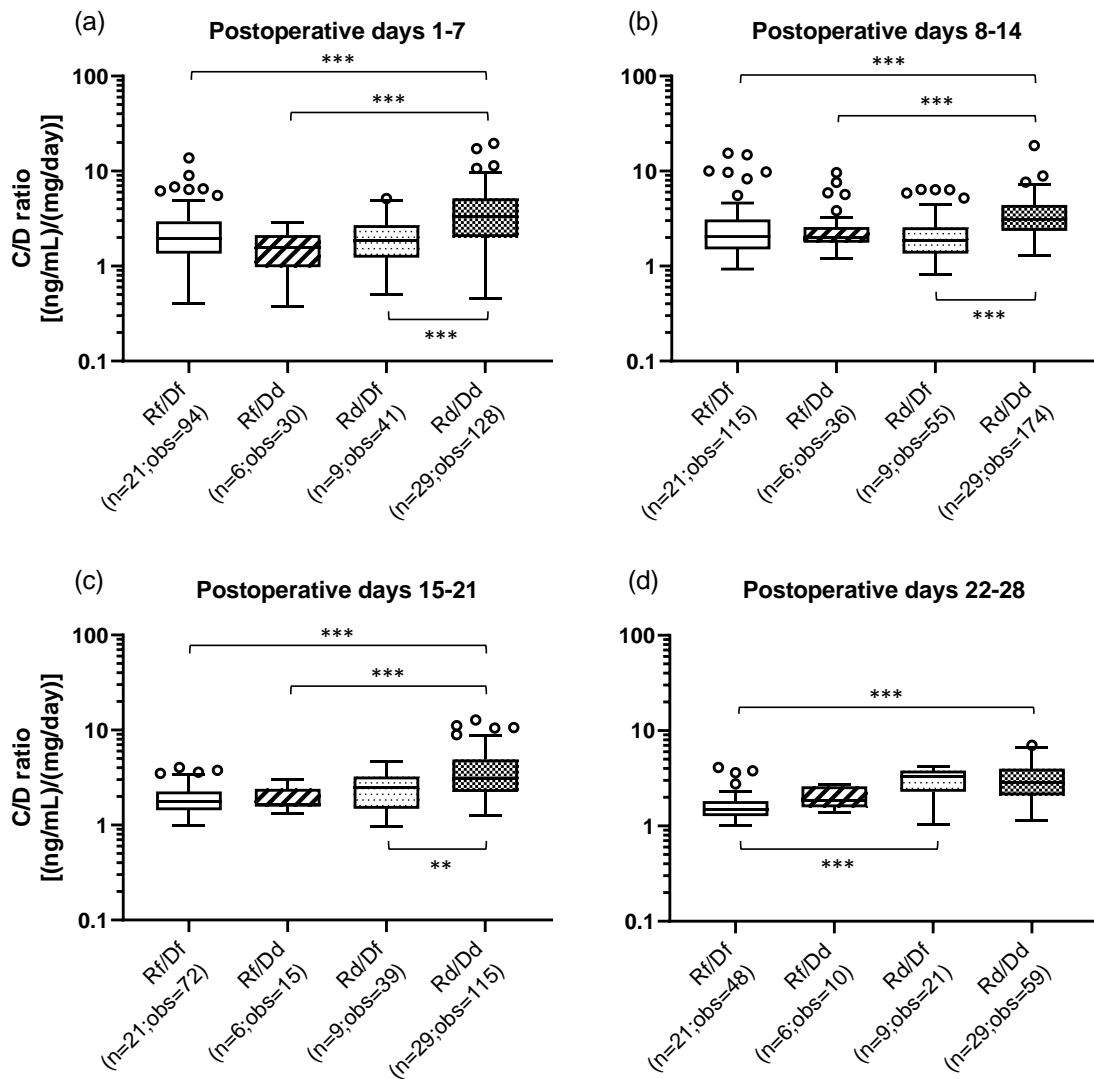


Figure 12. Combination of recipient and donor *CYP3A53 polymorphism**

The influence of combination of recipient and donor *CYP3A5* genotypes on the C/D ratio of tacrolimus for postoperative days 1-28 after living-donor liver transplantation. The patient groups were divided into four groups by recipient and donor *CYP3A5* polymorphism (R, recipient; D, donor; *1, *CYP3A5**1/*1 and *CYP3A5**1/*3; *3, *CYP3A5**3/*3). The C/D ratios of tacrolimus for 1-7 (a), 8-14 (b), 15-21 (c) and 22-28 (d) days after transplantation were compared. The bar indicates the median tacrolimus C/D ratio for each group and boxes represent the 25th and 75th percentiles of the data. The whiskers represent the lowest and highest values that fall within 1.5 times the interquartile range of the lower quartile and the upper quartile, respectively. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ and *** $p < 0.001$, between groups.

n, number of patients; obs, number of tacrolimus troughs

3-6 タクロリムスの C/D 比に対する CYP3A5 機能 POR28 遺伝子型の組み合わせによる影響

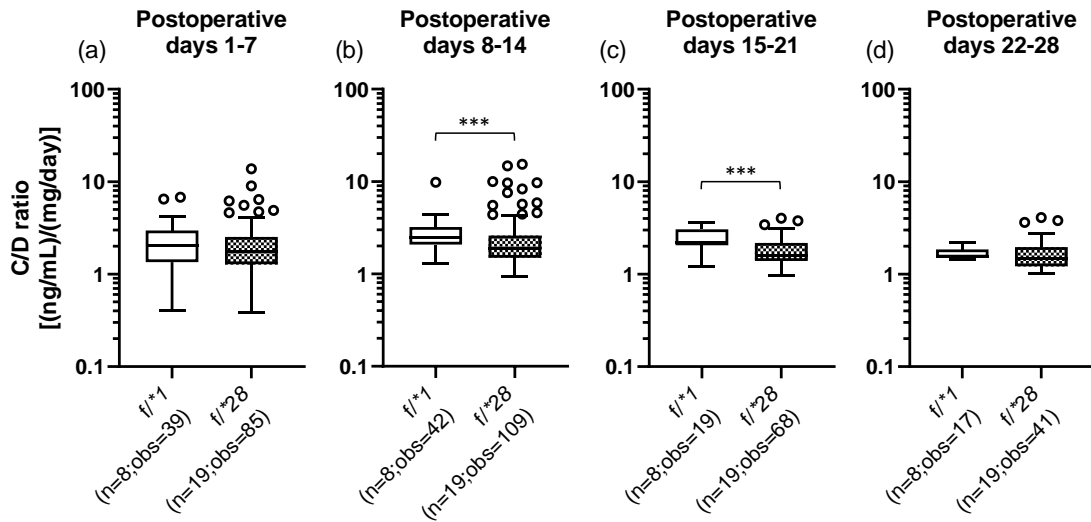
術後1ヶ月間におけるタクロリムスの C/D 比に対する CYP3A5 と POR28 遺伝子型の組み合わせによる影響について調査した。CYP3A5 機能型に対する POR28 の遺伝子型の影響を患者 (Figure 13:a-d) ならびにドナー (Figure 13 :e-h) に分けて示した。また、CYP3A5 欠損型に対する POR28 の遺伝子型の影響を患者 (Figure 14:a-d) ならびにドナー (Figure 14 :e-h) に分けて示した。

CYP3A5 機能型の患者については、術後2週目及び3週目において、f/*28 群 (POR28 : 活性型) が f/*1 群 (POR28 : 非活性型) に比してタクロリムスの C/D 比が有意に低値を示した ($p < 0.001$) (Figure 13 b, c)。一方で、CYP3A5 機能型のドナーについては f/*28 群が f/*1 群に比してタクロリムスの C/D 比が有意に高値を示し、患者とは逆の結果が得られた (2週目 : $p < 0.001$, 3週目 : $p = 0.015$) (Figure 13 f, g)。

CYP3A5 欠損型の患者については、d/*28 群 (POR28:活性型) が d/*1 群 (POR28:非活性型) に比してタクロリムスの C/D 比が有意に高値を示した (2週目 : $p < 0.001$, 3週目 : $p = 0.022$) (Figure 14 b, c)。

これらの結果より、CYP3A5 機能型・欠損型いずれにおいても、POR28 の遺伝子型がタクロリムスの C/D 比に影響を及ぼしていることが示された。

*POR**28 genotype of the recipient with functional *CYP3A5*



*POR**28 genotype of the donor with functional *CYP3A5*

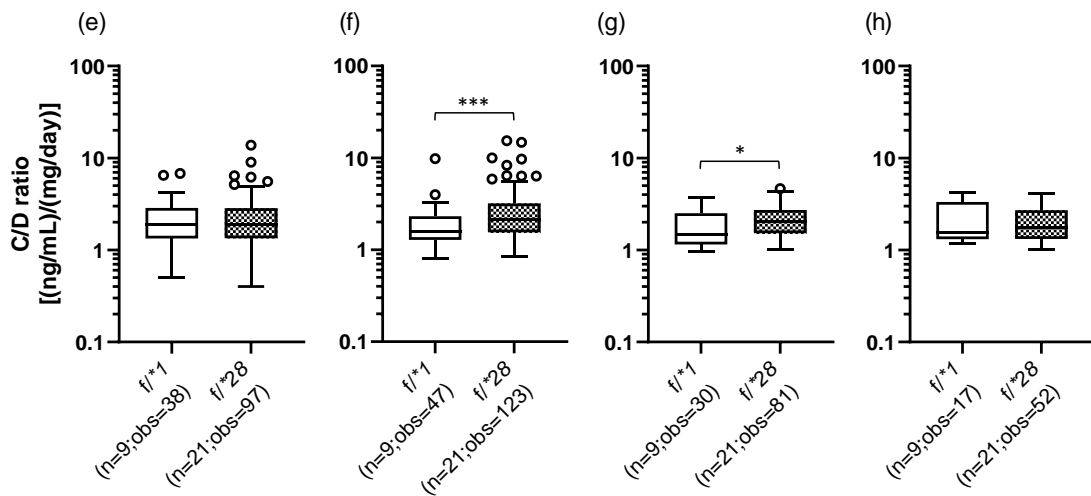


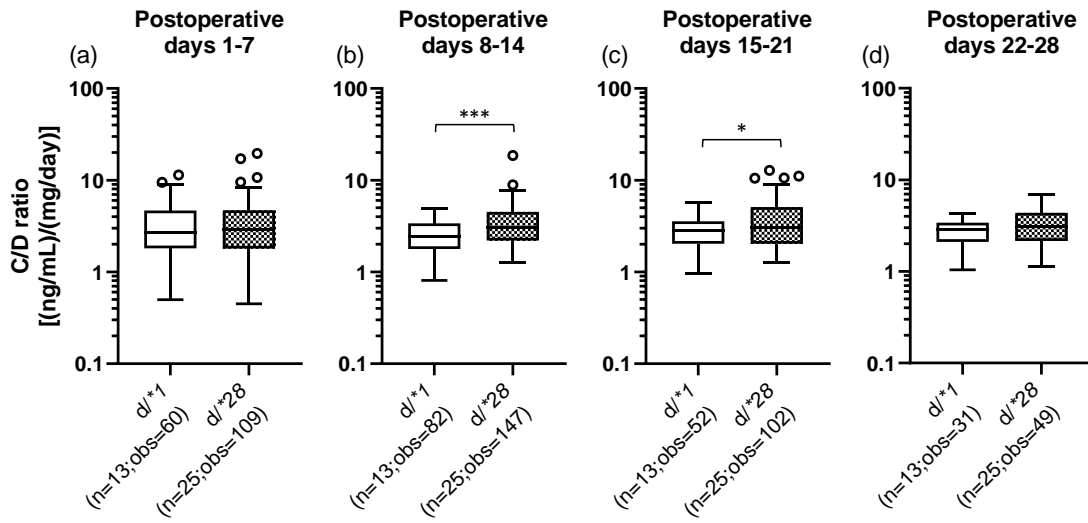
Figure 13.

The impact of *POR**28 polymorphism for recipient or donor with functional *CYP3A5* on the C/D ratio of tacrolimus for postoperative days 1-28 after living-donor liver transplantation. The C/D ratios of tacrolimus for 1-7 (a, e), 8-14 (b, f), 15-21 (c, g) and 22-28 (d, h) days after transplantation were compared by *POR* polymorphism (F, functional; *1, *POR**1/*1; *28, *POR**1/*28 and *POR**28/*28). The bar indicates the median tacrolimus C/D ratio for each group and boxes represent the 25th and 75th percentiles of the data. The whiskers represent the lowest and highest values that fall within 1.5 times the interquartile range of the lower quartile and the upper quartile, respectively.

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ and *** $p < 0.001$, between groups.

n, number of patients; obs, number of tacrolimus troughs

*POR**28 genotype of the recipient with defective *CYP3A5*



*POR**28 genotype of the donor with defective *CYP3A5*

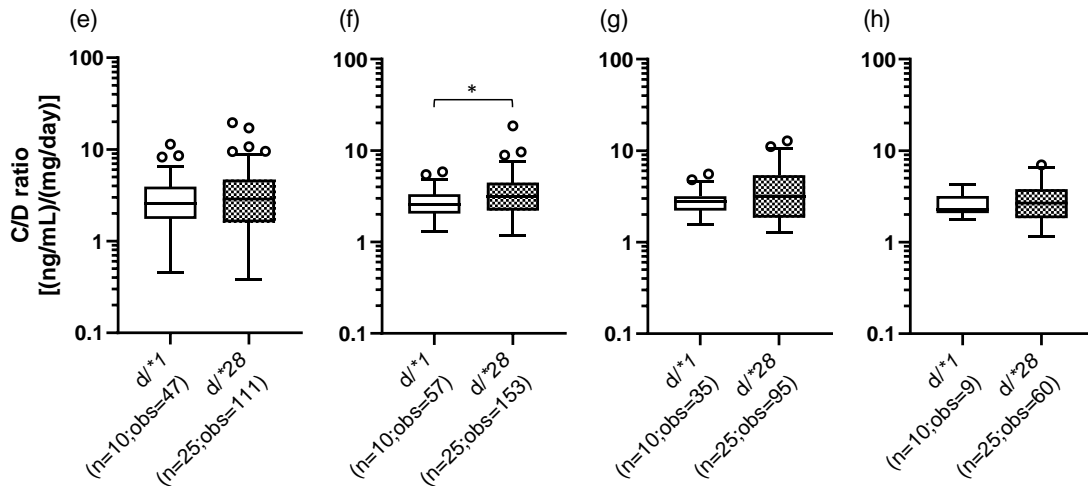


Figure 14.

The impact of *POR**28 polymorphism for recipient or donor with defective *CYP3A5* on the C/D ratio of tacrolimus for postoperative days 1-28 after living-donor liver transplantation. The C/D ratios of tacrolimus for 1-7 (a, e), 8-14 (b, f), 15-21 (c, g) and 22-28 (d, h) days after transplantation were compared by *POR* polymorphism (D, defective; *1, *POR**1/*1; *28, *POR**1/*28 and *POR**28/*28). The bar indicates the median tacrolimus C/D ratio for each group and boxes represent the 25th and 75th percentiles of the data. The whiskers represent the lowest and highest values that fall within 1.5 times the interquartile range of the lower quartile and the upper quartile, respectively. **p* < 0.05, ***p* < 0.01 and *** *p* < 0.001, between groups. n, number of patients; obs, number of tacrolimus troughs

3-7 術後1ヶ月間のタクロリムスのC/D比に影響を及ぼす因子に関する重回帰分析による検討

術後1ヶ月間のタクロリムスのC/D比に影響を及ぼす因子を検討する目的で行った重回帰分析の結果をTable 10に示す。術後1~4週目の全ての期間において、患者のCYP3A5欠損型に比してCYP3A5機能型が有意にC/D比を低下させる因子であることが示された ($p < 0.001$) が、ドナーのCYP3A5機能型の影響は術後3週目のみであった ($p = 0.004$)。一方で、POR28遺伝子型は全期間において患者、ドナー共にC/D比に影響を及ぼす因子として認められなかった。

その他、患者の性別や年齢、体重、移植片重量がC/D比に影響を及ぼす因子であることが示された。なお、ステップワイズ法により回帰式から除外された変数は表中に記載していない。

Table 10. Multiple regression analysis for all patient

All patient	Pod 1-7		Pod 8-14		Pod 15-21		Pod 22-28	
	β	<i>p</i>	β	<i>p</i>	β	<i>p</i>	β	<i>p</i>
Recipient sex (male vs. female)	-0.184	0.002	-	-	-	-	-	-
Recipient age (years)	0.156	0.002	0.095	0.018	0.100	0.043	-	-
Recipient BW (kg)	-0.262	<0.001	-0.185	<0.001	-0.138	0.008	-	-
Donor sex (male vs. female)	-	-	-	-	-	-	-	-
Donor age (years)	-	-	-	-	-	-	-	-
Graft volume (g)	-0.157	0.003	-0.520	<0.001	-0.383	<0.001	-0.274	<0.001
Recipient CYP3A5 (f vs. d)	-0.389	<0.001	-0.345	<0.001	-0.417	<0.001	-0.627	<0.001
Donor CYP3A5 (f vs. d)	-	-	-	-	-0.175	0.004	-	-
Recipient POR (*1 vs. *28)	-	-	-	-	-	-	-	-
Donor POR (*1 vs. *28)	-	-	-	-	-	-	-	-

Pod, post-operative days; β , standard partial regression coefficient

f, functional CYP3A5 (*1/*1 or *1/*3); d, defective CYP3A5 (*3/*3)

*1, POR*1/*1; *28, POR*1/*28 or *28/*28

4 考察

本研究では、生体肝移植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* 及び *POR28* 遺伝子多型情報の有用性について明らかにするため、生体肝移植施行患者およびドナーの *CYP3A5**3 多型・*POR**28 多型が術後 1 ヶ月間のタクロリムスの C/D 比に及ぼす影響について検討した。

今回、*CYP3A5**3 多型を有する割合が患者・ドナー共に約 50%であった (Table 8)。

この割合は人種間で大きな差があり、白人人種は約 85%、黒人人種では約 15% 日本人における保有者は約 50%といわれている⁸⁹⁾ ことから、今回のこの結果は妥当と考えられる。また、各 *CYP3A5* の遺伝子型において *POR**28 多型を有する割合は 30-40% といわれており^{37,90)}、本研究においても患者・ドナー共に同様の割合が見られた (Table 8)。

今回、*CYP3A5* 欠損型の患者あるいはドナーにおいて、*CYP3A5* 機能型に比してタクロリムスの C/D 比が有意に高値を示した (Figure 11)。また、患者あるいはドナーのどちらかが *CYP3A5* 欠損型にある場合、双方とも機能型である群に比して、C/D 比が有意に高値を示したことから、患者およびドナーの *CYP3A5* が互いに TAC の代謝に寄与していることが考えられた (Figure 12)。肝移植患者においては、患者及びドナーの双方の *CYP3A5**3 多型の影響により、タクロリムスの C/D 比が高値になるという報告が複数なされており^{30, 34, 35)}、本研究結果においても同様の結果が得られた。今回、重回帰分析にて、術後 1~4 週目の全ての期間において、患者の *CYP3A5* 欠損型に比して *CYP3A5* 機能型が有意に C/D 比を低下させる因子であることが示された ($p < 0.001$) が、ドナーの *CYP3A5* 機能型の影響は術後 3 週目のみであった ($p = 0.004$)。移植肝は術後 1 ヶ月程度で正

常に機能すると言われており⁷⁹⁾、術後の肝機能の回復に伴って肝臓に発現する CYP3A5 の寄与度が徐々に大きくなること⁹¹⁾が知られている。このことより、術後 1 ヶ月以内のタクロリムスの代謝に関しては、ドナーから提供された移植肝に発現する CYP3A5 に比べ、患者自身の小腸に発現する CYP3A5 の寄与度が大きい可能性が考えられた。これまでも CYP3A5*3 多型の影響は移植肝よりもむしろ患者自身の小腸の CYP3A5 遺伝子型が優位であるという複数の報告^{34, 35, 92)}があることから、これらの報告は本研究結果を支持するものと考えられる。

今回、タクロリムスの C/D 比に影響を与える因子として、重回帰分析にて検討したところ、CYP3A5 遺伝子多型の要因以外に、患者の性別や年齢、体重、移植片重量が予測因子となりうることが示された (Table 10)。年齢、体重、移植片重量に関しては同様の報告もなされており⁹³⁻⁹⁷⁾、妥当な結果と考えられる。

一方で、性別に関しては、女性に比べ男性の方がタクロリムスの C/D 比が低い傾向にあった (date not shown)。肝臓の CYP3A4 の発現量は男性に比して女性の方が多⁹⁸⁻¹⁰⁰⁾とされている一方で、小腸における発現量は性差がないことが示されている¹⁰¹⁾が、CYP3A5 に関しては未だ不明な点が多い。本研究において患者の組織中の CYP3A の発現量について検討を行っていないことから、性差による影響に関してはさらなる検討が必要と考える。

次に、POR28 遺伝子多型の影響について検討したところ、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 比が低い傾向にあり、特に術後 2, 3 週目においては有意に低下させることが示された (Figure 13 b,c)。これまで腎移植患者^{39, 40, 102-104)}、心移植患者¹⁰⁵⁾、及び造血幹細胞移植患者¹⁰⁶⁾を対象とした研究においても同様の報告があるものの、肝臓移植患者においては初めての報告である。CYP3A5 機能型の患者において、POR*28 の活性は CYP3A4

よりも CYP3A5 の代謝に影響を及ぼしていることが考えられた。

一方、CYP3A5 欠損型患者においては、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術後 2, 3 週目において C/D 比を有意に上昇させるという CYP3A5 機能型患者と逆の結果が得られた (Figure 14 b, c)。CYP3A5 が欠損している場合、タクロリムスは主に CYP3A4 により代謝されるが³³⁾、CYP3A4 に対する *POR*28* 多型の影響については様々な報告がある。ヒトの肝ミクロソームを用いた *in vitro* における実験では CYP3A4 活性および発現量に対する *POR*28* 多型の影響はないという報告¹⁰⁷⁾ もあれば、リコンビナントタンパク質を使用した実験では、テストステロンやミダゾラムを CYP3A4 の基質として用いた場合に *POR*28* 多型により 20~40% 程度の CYP3A4 活性の低下が見られたという報告¹⁰⁸⁾ もある。さらに *in vivo* の研究においては、*POR*28* 多型により CYP3A4 活性は変化しないという報告^{39, 40, 106)} もあれば、活性が上昇するという報告^{102, 109, 110)} もあり、逆に活性が低下することを示唆する報告¹¹¹⁾ もあることから、一致した見解が得られていない。本研究においては、術後 1 ヶ月間に関しては *POR*28* 多型が CYP3A4 活性を低下させる可能性が考えられたが、*POR*28* 多型による CYP3A4 活性の変化についての検討は行えていないことから、これらの関係も明らかにしていく必要があると考えられた。

また、CYP3A5 機能型のドナーにおいても同様の検討を行ったところ、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術後 2, 3 週目において C/D 比を有意に上昇させるという結果が得られた (Figure 13 f, g)。肝臓移植においては、術時に肝臓が一時的に虚血状態に陥ることがあるが、*POR* は好氣的な条件でシトクロム P450 の還元を媒介すると言われており¹¹²⁾、移植後早期においては *POR* が十分に機能を発揮できない可能性も考えられるが、詳細についてはさらなる検討が必要である。

しかしながら、本研究では重回帰解析にてタクロリムスの C/D 比に影響を与える因子として術後 1 ヶ月間全ての期間において患者・ドナー共に *POR28* 遺伝子多型が認められなかったことから (Table 10)、肝臓移植後 1 ヶ月間におけるタクロリムスの体内動態には、患者、ドナーの *POR28* 遺伝子多型の寄与度は小さく、*CYP3A5* 遺伝子多型の寄与度が大きいことが示唆された。その一方で、タクロリムスの体内動態には少なからず *POR28* 遺伝子多型が関連している可能性が示された。

本研究は、症例数が 65 組と少なく、且つ単施設の後向き研究であるため、今後は症例数を増やすなどさらに前向きの研究が望まれる。また、*CYP3A5* と *POR28* の遺伝子型に関して患者とドナーを組み合わせた症例が少なかったことから (date not shown)、患者とドナーの *CYP3A5* と *POR28* 遺伝子型の組み合わせによるタクロリムスの C/D 比に与える影響については十分に明らかにすることができなかった。また今回、タクロリムスの体内動態に影響を及ぼすもう一つの因子である ABCB1 【ATP binding cassette transporter subfamily B (別名) MDR1, P 糖たんぱく質】の影響¹¹³⁻¹¹⁵⁾ については検討を行えていないことから、今後研究を進めていくなかで検討が必要であると考え。しかしながら、肝臓移植領域において *CYP3A5* と *POR28* の遺伝子型を加味したタクロリムスの代謝に関する報告は本研究が初めてのことであり、我々の研究結果は、ドナー・患者双方の *CYP3A5* と *POR28* の遺伝子多型情報が肝臓移植後のタクロリムス個別化投与設計に有用となる可能性を示した重要な成果であると考え。

5 小括

肝臓移植後 1 ヶ月以内において、*CYP3A5* 欠損型の患者あるいはドナーにおいて、*CYP3A5* 機能型に比してタクロリムスの C/D 比が有意に高値を示した。さら

にタクロリムスの C/D 比には、ドナーの *CYP3A5* 遺伝子型に比して患者の *CYP3A5* 遺伝子型が大きく寄与していることが明らかになったことから、タクロリムスの代謝にはドナー由来の肝臓というよりはむしろ患者自身の小腸による寄与が大きい可能性が示唆された (Figure 15)。一方、*POR28* 遺伝子多型に関しては肝臓移植後 1 ヶ月間におけるタクロリムスの体内動態への寄与度は低いことが示されたが、タクロリムスの体内動態には少なからず *POR28* 遺伝子多型が関連している可能性が示された (Figure 16)。

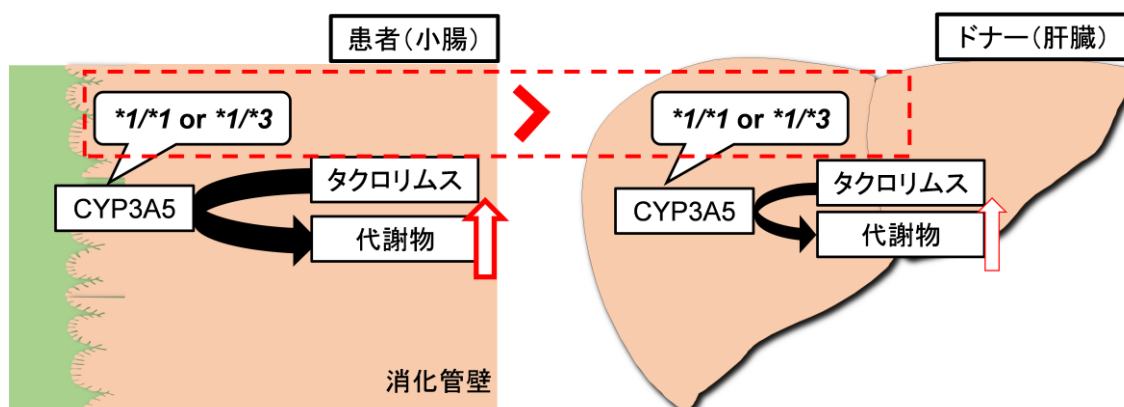


Figure 15. 肝臓移植後 1 ヶ月間におけるタクロリムスの代謝に影響を及ぼす小腸と肝臓の *CYP3A5* 遺伝子型の寄与度

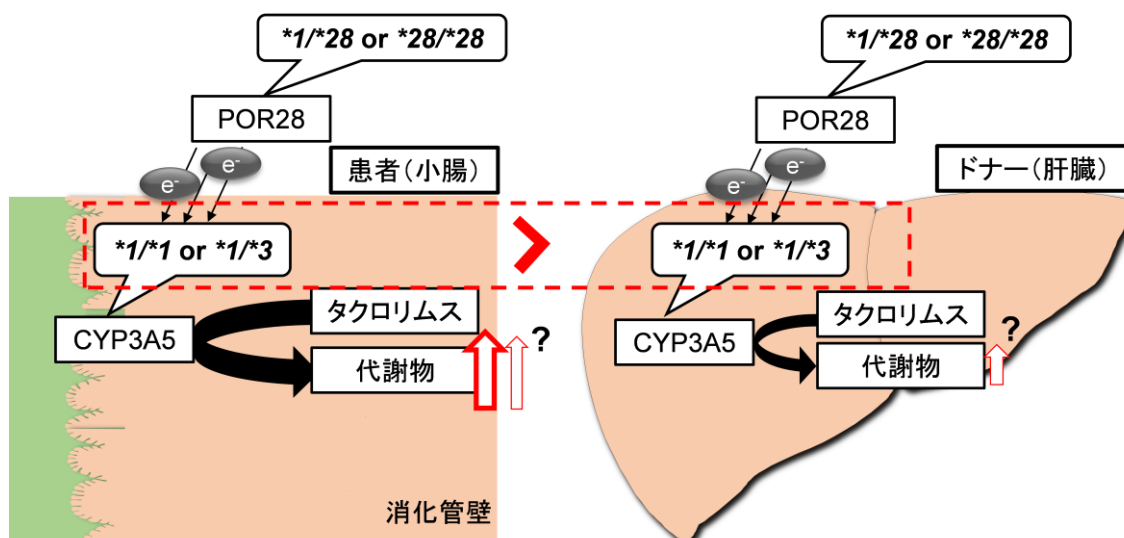


Figure 16. 肝臓移植後 1 ヶ月間におけるタクロリムスの代謝に影響を及ぼす小腸と肝臓の *CYP3A5* 機能型における *POR28* 遺伝子多型の影響

総括

本研究では、肝臓移植術後における術後タクロリムス誘発性腎障害に着目し、適切な診断のための分子生物学的指標の探索、腎臓に対する毒性の少ない免疫抑制療法における薬物動態の検討、さらには早期予防のための周術期免疫抑制療法の個別化実現を目的として、肝臓移植術後患者由来の尿、血液などの生体試料を用いた検討を行い、以下の結論を得た。

第1章 肝臓移植後におけるタクロリムス誘発性腎障害の早期検出に資する尿中バイオマーカーの探索

肝臓移植後の免疫抑制薬として広く用いられているタクロリムスは、その腎毒性が治療の継続ならびに患者の生命予後を左右する重大な問題となる。そのため肝臓移植後のタクロリムス誘発性腎障害の適切な診断と早期からの介入が求められている。第1章では、肝臓移植後の患者より経時的に随時尿を採取し、タクロリムス誘発性腎障害の予測バイオマーカーとして報告されているNGALに加え、3種のペプチド分子について尿中への漏出量を測定した。その結果、当院での免疫抑制療法においてはタクロリムスによる急性腎障害時に尿中 HE4の上昇が認められたが、タクロリムスによる急性腎障害を検出するバイオマーカーとして尿中 NGAL が有効ではないことが示された。以上より、免疫抑制療法が異なることで、タクロリムスによる急性腎障害時に変動する尿中バイオマーカーが異なることが示された。

第2章 タクロリムス誘発性腎障害の回避を念頭にしたミコフェノール酸モフェチル体内動態の検討

当院においては、肝臓移植術後の免疫抑制療法として、腎臓を保護するために【術後1日目から、ミコフェノール酸モフェチル (MMF) とステロイドを投与し、術後2-3日目からタクロリムスを投与する術後管理計画】を実施している。第2章では、タクロリムスの開始を遅らせて腎臓に対して毒性の低いMMFのみを術直後より開始するという免疫抑制療法において、投与1日目のMMFの曝露量に着目し、セルセプト®カプセルとセルセプト®懸濁用散31.8%の剤型間の血中濃度推移の比較を行った。その結果、当院の免疫抑制療法ではMMFの投与1日目において、カプセル剤には明らかなC_{max}が認められたが、懸濁用散には認められず、剤型間で体内動態が異なる可能性が示された。また、AUC_{0-12h}の平均値に剤型間の差はなく、30μg・h/mL以下であった。その一方で、臨床効果においては剤型間の差がない可能性が示された。

第3章 肝臓移植後患者におけるタクロリムスの体内動態に及ぼすCYP3A5及びPOR28遺伝子多型の影響

タクロリムスは、治療域が狭く、血中濃度が治療域を上回る患者では腎障害や神経障害などの副作用のリスクが高まることが報告されている。治療域が狭いことに加え、個体内及び個体間の変動が大きいことから、血中濃度モニタリング (therapeutic drug monitoring, TDM) が必要不可欠である。その個体内あるいは個体間変動を生み出す要因として、肝臓及び小腸におけるCYP3A5遺伝子多型が大きく関わっていることが広く知られている。最近では酸化型CYPの還元を媒

介する酵素である Cytochrome P450 oxidoreductase (POR) の機能亢進に繋がる *POR28* 遺伝子多型の関与についても明らかになりつつある。そこで第3章では、患者およびドナー双方の *CYP3A5* 及び *POR28* 遺伝子多型がタクロリムスの C/D (血中濃度/投与量) 比に及ぼす影響について検討を行った。

その結果、肝臓移植後1ヶ月以内においては、*CYP3A5* 欠損型の患者あるいはドナーにおいて、*CYP3A5* 機能型に比してタクロリムスの C/D 比が有意に高値を示した。さらにタクロリムスの C/D 比には、ドナーの *CYP3A5* 遺伝子型よりは患者の *CYP3A5* 遺伝子型が大きく寄与していることが明らかになったことから、肝移植後1ヶ月以内においては、タクロリムスの代謝にはドナー由来の肝臓というよりはむしろ患者自身の小腸による寄与が大きい可能性が示唆された。一方、*POR28* 遺伝子多型に関しては肝臓移植後1ヶ月間におけるタクロリムスの体内動態への寄与度は低く、*CYP3A5* 遺伝子多型の寄与度が高いことが示唆されたが、その一方でタクロリムスの体内動態には少なからず *POR28* 遺伝子多型が関連している可能性が示された。

参考文献

1. Muduma, G., et al., Systematic Review and Meta-Analysis of Tacrolimus versus Cyclosporin as Primary Immunosuppression After Liver Transplant. *PLoS One*, 2016. 11(11): p. e0160421.
2. Henry, M.L., Cyclosporine and tacrolimus (FK506): a comparison of efficacy and safety profiles. *Clin Transplant*, 1999. 13(3): p. 209-20.
3. Ojo, A.O., et al., Chronic renal failure after transplantation of a nonrenal organ. *N Engl J Med*, 2003. 349(10): p. 931-40.
4. Wilkinson, A. and P.T. Pham, Kidney dysfunction in the recipients of liver transplants. *Liver Transpl*, 2005(11 Suppl 2): p. S47-51.
5. O'Riordan, A., et al., Acute renal disease, as defined by the RIFLE criteria, post-liver transplantation. *Am J Transplant*, 2007. 7(1): p. 168-76.
6. Lassnigg, A., et al., Impact of minimal increases in serum creatinine on outcome in patients after cardiothoracic surgery: do we have to revise current definitions of acute renal failure? *Crit Care Med*, 2008. 36(4): p. 1129-37.
7. Yalavarthy, R., C.L. Edelstein, and I. Teitelbaum, Acute renal failure and chronic kidney disease following liver transplantation. *Hemodial Int*, 2007. 11 Suppl 3: p. S7-12.
8. Bonventre, J.V., et al., Next-generation biomarkers for detecting kidney toxicity. *Nat Biotechnol*, 2010. 28(5): p. 436-40.
9. Sieber, M., et al., Comparative analysis of novel noninvasive renal biomarkers and metabonomic changes in a rat model of gentamicin nephrotoxicity. *Toxicol Sci*, 2009. 109(2): p. 336-49.

10. Khwaja, A., KDIGO clinical practice guidelines for acute kidney injury. *Nephron Clin Pract*, 2012. 120(4): p. c179-84.
11. Bellomo, R., J.A. Kellum, and C. Ronco, Acute kidney injury. *Lancet*, 2012. 380(9843): p. 756-66.
12. Lewandowska, L., J. Malyszko, and J. Joanna Matuszkiewicz-Rowinska, Urinary and Serum Biomarkers for Prediction of Acute Kidney Injury in Patients Undergoing Liver Transplantation. *Ann Transplant*, 2019. 24: p. 291-297.
13. Wagener, G., et al., Urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a marker of acute kidney injury after orthotopic liver transplantation. *Nephrol Dial Transplant*, 2011. 26(5): p. 1717-23.
14. Mishra, J., et al., Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) as a biomarker for acute renal injury after cardiac surgery. *The Lancet*, 2005. 365(9466): p. 1231-1238.
15. Hishikari, K., et al., Urinary Liver-Type Fatty Acid-Binding Protein Level as a Predictive Biomarker of Acute Kidney Injury in Patients with Acute Decompensated Heart Failure. *Cardiorenal Med*, 2017. 7(4): p. 267-275.
16. Nishihara, K., et al., Urinary chemokine (C-C motif) ligand 2 (monocyte chemoattractant protein-1) as a tubular injury marker for early detection of cisplatin-induced nephrotoxicity. *Biochem Pharmacol*, 2013. 85(4): p. 570-82.
17. Shinke, H., et al., Urinary kidney injury molecule-1 and monocyte chemoattractant protein-1 are noninvasive biomarkers of cisplatin-induced nephrotoxicity in lung cancer patients. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2015. 76(5): p. 989-96.
18. Tsuchimoto, A., et al., Urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin: a useful biomarker for tacrolimus-induced acute kidney injury in liver transplant patients.

- PLoS One, 2014. 9(10): p. e110527.
19. Cullaro, G., et al., Early Postoperative Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin Predicts the Development of Chronic Kidney Disease After Liver Transplantation. *Transplantation*, 2018. 102(5): p. 809-815.
 20. Gu, Z., et al., Pharmacokinetics of free mycophenolic acid and limited sampling strategy for the estimation of area under the curve in liver transplant patients. *Eur J Pharm Sci*, 2012. 47(4): p. 636-41.
 21. Schmeding, M., et al., Mycophenolate mofetil monotherapy in liver transplantation: 5-year follow-up of a prospective randomized trial. *Transplantation*, 2011. 92(8): p. 923-9.
 22. Neuberger, J.M., et al., Delayed introduction of reduced-dose tacrolimus, and renal function in liver transplantation: the 'ReSpECT' study. *Am J Transplant*, 2009. 9(2): p. 327-36.
 23. Hale, M.D., et al., The pharmacokinetic-pharmacodynamic relationship for mycophenolate mofetil in renal transplantation. *Clin Pharmacol Ther*, 1998. 64(6): p. 672-83.
 24. Kim, H., et al., Safety of reduced dose of mycophenolate mofetil combined with tacrolimus in living-donor liver transplantation. *Clin Mol Hepatol*, 2014. 20(3): p. 291-9.
 25. Jusko, W.J., et al., Pharmacokinetics of tacrolimus in liver transplant patients. *Clin Pharmacol Ther*, 1995. 57(3): p. 281-90.
 26. Denton, M.D., C.C. Magee, and M.H. Sayegh, Immunosuppressive strategies in transplantation. *Lancet*, 1999. 353(9158): p. 1083-91.
 27. Kahan, B.D., et al., Therapeutic drug monitoring of immunosuppressant drugs in

- clinical practice. *Clin Ther*, 2002. 24(3): p. 330-50; discussion 329.
28. Brunet, M., et al., Therapeutic Drug Monitoring of Tacrolimus-Personalized Therapy: Second Consensus Report. *Ther Drug Monit*, 2019. 41(3): p. 261-307.
 29. Anglicheau, D., et al., Cytochrome P450 3A polymorphisms and immunosuppressive drugs: an update. *Pharmacogenomics*, 2007. 8(7): p. 835-49.
 30. Goto, M., et al., CYP3A5*1-carrying graft liver reduces the concentration/oral dose ratio of tacrolimus in recipients of living-donor liver transplantation. *Pharmacogenetics*, 2004. 14(7): p. 471-8.
 31. Haufroid, V., et al., CYP3A5 and ABCB1 polymorphisms and tacrolimus pharmacokinetics in renal transplant candidates: guidelines from an experimental study. *Am J Transplant*, 2006. 6(11): p. 2706-13.
 32. Hesselink, D.A., et al., Genetic polymorphisms of the CYP3A4, CYP3A5, and MDR-1 genes and pharmacokinetics of the calcineurin inhibitors cyclosporine and tacrolimus. *Clin Pharmacol Ther*, 2003. 74(3): p. 245-54.
 33. Iwasaki, K., Metabolism of tacrolimus (FK506) and recent topics in clinical pharmacokinetics. *Drug Metab Pharmacokinet*, 2007. 22(5): p. 328-35.
 34. Gomez-Bravo, M.A., et al., Impact of donor and recipient CYP3A5 and ABCB1 genetic polymorphisms on tacrolimus dosage requirements and rejection in Caucasian Spanish liver transplant patients. *J Clin Pharmacol*, 2013. 53(11): p. 1146-54.
 35. Uesugi, M., et al., Effect of intestinal CYP3A5 on postoperative tacrolimus trough levels in living-donor liver transplant recipients. *Pharmacogenet Genomics*, 2006. 16(2): p. 119-27.
 36. Fluck, C.E., C. Nicolo, and A.V. Pandey, Clinical, structural and functional

- implications of mutations and polymorphisms in human NADPH P450 oxidoreductase. *Fundam Clin Pharmacol*, 2007. 21(4): p. 399-410.
37. Huang, N., et al., Genetics of P450 oxidoreductase: sequence variation in 842 individuals of four ethnicities and activities of 15 missense mutations. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2008. 105(5): p. 1733-8.
 38. Hart, S.N. and X.B. Zhong, P450 oxidoreductase: genetic polymorphisms and implications for drug metabolism and toxicity. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*, 2008. 4(4): p. 439-52.
 39. de Jonge, H., 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(9): p. 1281-91.
 40. Zhang, J.J., 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(9): p. 728-36.
 41. Masuda, S. and K. Inui, An up-date review on individualized dosage adjustment of calcineurin inhibitors in organ transplant patients. *Pharmacol Ther*, 2006. 112(1): p. 184-98.
 42. Barri, Y.M., et al., Acute kidney injury following liver transplantation: definition and outcome. *Liver Transpl*, 2009. 15(5): p. 475-83.
 43. Sherman, D.S., D.N. Fish, and I. Teitelbaum, Assessing renal function in cirrhotic patients: problems and pitfalls. *Am J Kidney Dis*, 2003. 41(2): p. 269-78.
 44. Wan, J., et al., Elevated serum concentrations of HE4 as a novel biomarker of disease severity and renal fibrosis in kidney disease. *Oncotarget*, 2016. 7(42): p. 67748-67759.

45. Nakagawa, S., et al., Molecular Markers of Tubulointerstitial Fibrosis and Tubular Cell Damage in Patients with Chronic Kidney Disease. *PLoS One*, 2015. 10(8): p. e0136994.
46. Nagy, B., Jr., et al., Elevated human epididymis protein 4 concentrations in chronic kidney disease. *Ann Clin Biochem*, 2012. 49(Pt 4): p. 377-80.
47. Yuan, T. and Y. Li, Human Epididymis Protein 4 as a Potential Biomarker of Chronic Kidney Disease in Female Patients With Normal Ovarian Function. *Lab Med*, 2017. 48(3): p. 238-243.
48. Zhu, F.X., et al., [Risk factors of renal failure in the early post-liver transplantation period]. *Zhonghua Gan Zang Bing Za Zhi*, 2005. 13(3): p. 168-70.
49. Iwata, H., et al., Negative prognostic impact of renal replacement therapy in adult living-donor liver transplant recipients: preoperative recipient condition and donor factors. *Transplant Proc*, 2014. 46(3): p. 716-20.
50. Miano, T.A., et al., Early Tacrolimus Concentrations After Lung Transplant Are Predicted by Combined Clinical and Genetic Factors and Associated With Acute Kidney Injury. *Clin Pharmacol Ther*, 2019.
51. Smoter, P., et al., Risk factors of acute renal failure after orthotopic liver transplantation: single-center experience. *Transplant Proc*, 2014. 46(8): p. 2786-9.
52. Whiting, P.H., et al., Experimental cyclosporin A nephrotoxicity. *Br J Exp Pathol*, 1982. 63(1): p. 88-94.
53. Murray, B.M., M.S. Paller, and T.F. Ferris, Effect of cyclosporine administration on renal hemodynamics in conscious rats. *Kidney Int*, 1985. 28(5): p. 767-74.
54. Mohebbi, N., M. Mihailova, and C.A. Wagner, The calcineurin inhibitor FK506

- (tacrolimus) is associated with transient metabolic acidosis and altered expression of renal acid-base transport proteins. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2009. 297(2): p. F499-509.
55. Morgan, C., et al., Renal interstitial fibrosis in children treated with FK506 for nephrotic syndrome. *Nephrol Dial Transplant*, 2011. 26(9): p. 2860-5.
 56. Kjeldsen, L., et al., Isolation and primary structure of NGAL, a novel protein associated with human neutrophil gelatinase. *J Biol Chem*, 1993. 268(14): p. 10425-32.
 57. Cowland, J.B. and N. Borregaard, Molecular characterization and pattern of tissue expression of the gene for neutrophil gelatinase-associated lipocalin from humans. *Genomics*, 1997. 45(1): p. 17-23.
 58. Hirsch, R., et al., NGAL is an early predictive biomarker of contrast-induced nephropathy in children. *Pediatr Nephrol*, 2007. 22(12): p. 2089-95.
 59. Kuwabara, T., et al., Urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin levels reflect damage to glomeruli, proximal tubules, and distal nephrons. *Kidney Int*, 2009. 75(3): p. 285-94.
 60. Bennett, M., et al., Urine NGAL predicts severity of acute kidney injury after cardiac surgery: a prospective study. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2008. 3(3): p. 665-73.
 61. Gaspari, F., et al., Predicting cisplatin-induced acute kidney injury by urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin excretion: a pilot prospective case-control study. *Nephron Clin Pract*, 2010. 115(2): p. c154-60.
 62. Mori, K., et al., Endocytic delivery of lipocalin-siderophore-iron complex rescues the kidney from ischemia-reperfusion injury. *J Clin Invest*, 2005. 115(3): p. 610-

- 21.
63. Clauss, A., H. Lilja, and A. Lundwall, A locus on human chromosome 20 contains several genes expressing protease inhibitor domains with homology to whey acidic protein. *Biochem J*, 2002. 368(Pt 1): p. 233-42.
64. Bingle, L., et al., WFDC2 (HE4): a potential role in the innate immunity of the oral cavity and respiratory tract and the development of adenocarcinomas of the lung. *Respir Res*, 2006. 7: p. 61.
65. Yang, Z., et al., Clinical value of serum human epididymis protein 4 assay in the diagnosis of ovarian cancer: a meta-analysis. *Onco Targets Ther*, 2013. 6: p. 957-66.
66. LeBleu, V.S., et al., Identification of human epididymis protein-4 as a fibroblast-derived mediator of fibrosis. *Nat Med*, 2013. 19(2): p. 227-31.
67. Tajima, S., et al., Urinary Human Epididymis Secretory Protein 4 as a Useful Biomarker for Subclinical Acute Rejection Three Months after Kidney Transplantation. *Int J Mol Sci*, 2019. 20(19).
68. Pageaux, G.P., et al., Mycophenolate mofetil in combination with reduction of calcineurin inhibitors for chronic renal dysfunction after liver transplantation. *Liver Transpl*, 2006. 12(12): p. 1755-60.
69. Fukuda, M., et al., Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin Is Not Associated with Tacrolimus-Induced Acute Kidney Injury in Liver Transplant Patients Who Received Mycophenolate Mofetil with Delayed Introduction of Tacrolimus. *Int J Mol Sci*, 2019. 20(12).
70. Kaltenborn, A. and H. Schrem, Mycophenolate mofetil in liver transplantation: a review. *Ann Transplant*, 2013. 18: p. 685-96.

71. Shipkova, M., et al., Identification of glucoside and carboxyl-linked glucuronide conjugates of mycophenolic acid in plasma of transplant recipients treated with mycophenolate mofetil. *Br J Pharmacol*, 1999. 126(5): p. 1075-82.
72. Bullingham, R.E., A.J. Nicholls, and B.R. Kamm, Clinical pharmacokinetics of mycophenolate mofetil. *Clin Pharmacokinet*, 1998. 34(6): p. 429-55.
73. Shaw, L.M. and I. Nowak, Mycophenolic acid: measurement and relationship to pharmacologic effects. *Ther Drug Monit*, 1995. 17(6): p. 685-9.
74. Boudjema, K., et al., Reduced-dose tacrolimus with mycophenolate mofetil vs. standard-dose tacrolimus in liver transplantation: a randomized study. *Am J Transplant*, 2011. 11(5): p. 965-76.
75. Eckhoff, D.E., et al., Tacrolimus (FK506) and mycophenolate mofetil combination therapy versus tacrolimus in adult liver transplantation. *Transplantation*, 1998. 65(2): p. 180-7.
76. Jain, A., et al., A prospective randomized trial of mycophenolate mofetil in liver transplant recipients with hepatitis C. *Liver Transpl*, 2002. 8(1): p. 40-6.
77. Staatz, C.E. and S.E. Tett, Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of mycophenolate in solid organ transplant recipients. *Clin Pharmacokinet*, 2007. 46(1): p. 13-58.
78. Martial, L.C., et al., Pharmacokinetics and target attainment of mycophenolate in pediatric renal transplant patients. *Pediatr Transplant*, 2016. 20(4): p. 492-9.
79. Kawasaki, S., et al., Liver regeneration in recipients and donors after transplantation. *Lancet*, 1992. 339(8793): p. 580-1.
80. Jain, A., et al., Pharmacokinetics of mycophenolic acid in live donor liver transplant patients vs deceased donor liver transplant patients. *J Clin Pharmacol*,

2008. 48(5): p. 547-52.
81. Jain, A.B., et al., Effect of t-tube clamping on the pharmacokinetics of mycophenolic acid in liver transplant patients on oral therapy of mycophenolate mofetil. *Liver Transpl Surg*, 1999. 5(2): p. 101-6.
 82. Miura, M., et al., Limited sampling strategy for simultaneous estimation of the area under the concentration-time curve of tacrolimus and mycophenolic acid in adult renal transplant recipients. *Ther Drug Monit*, 2008. 30(1): p. 52-9.
 83. Chen, H., et al., Pharmacokinetics of mycophenolic acid and determination of area under the curve by abbreviated sampling strategy in Chinese liver transplant recipients. *Clin Pharmacokinet*, 2007. 46(2): p. 175-85.
 84. Bullingham, R., et al., Pharmacokinetics and bioavailability of mycophenolate mofetil in healthy subjects after single-dose oral and intravenous administration. *J Clin Pharmacol*, 1996. 36(4): p. 315-24.
 85. Kuypers, D.R., et al., Consensus report on therapeutic drug monitoring of mycophenolic acid in solid organ transplantation. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2010. 5(2): p. 341-58.
 86. Hwang, S., et al., A clinical assessment of mycophenolate drug monitoring after liver transplantation. *Clin Transplant*, 2010. 24(2): p. E35-42.
 87. Staatz, C.E., L.K. Goodman, and S.E. Tett, Effect of CYP3A and ABCB1 single nucleotide polymorphisms on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of calcineurin inhibitors: Part II. *Clin Pharmacokinet*, 2010. 49(4): p. 207-21.
 88. Elens, L., et al., A new functional CYP3A4 intron 6 polymorphism significantly affects tacrolimus pharmacokinetics in kidney transplant recipients. *Clin Chem*, 2011. 57(11): p. 1574-83.

89. Barry, A. and M. Levine, A systematic review of the effect of CYP3A5 genotype on the apparent oral clearance of tacrolimus in renal transplant recipients. *Ther Drug Monit*, 2010. 32(6): p. 708-14.
90. Suetsugu, K., et al., Impact of CYP3A5, POR, and CYP2C19 Polymorphisms on Trough Concentration to Dose Ratio of Tacrolimus in Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Int J Mol Sci*, 2019. 20(10).
91. Ji, E., et al., Combinational effect of intestinal and hepatic CYP3A5 genotypes on tacrolimus pharmacokinetics in recipients of living donor liver transplantation. *Transplantation*, 2012. 94(8): p. 866-72.
92. Uesugi, M., 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(7): p. 356-66.
93. Cotreau, M.M., L.L. von Moltke, and D.J. Greenblatt, The influence of age and sex on the clearance of cytochrome P450 3A substrates. *Clin Pharmacokinet*, 2005. 44(1): p. 33-60.
94. Herrlinger, C. and U. Klotz, Drug metabolism and drug interactions in the elderly. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*, 2001. 15(6): p. 897-918.
95. Anderson, B.J. and N.H. Holford, Mechanism-based concepts of size and maturity in pharmacokinetics. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2008. 48: p. 303-32.
96. Sugawara, Y., et al., Correlation between optimal tacrolimus doses and the graft weight in living donor liver transplantation. *Clin Transplant*, 2002. 16(2): p. 102-6.
97. Fukatsu, S., et al., Population pharmacokinetics of tacrolimus in adult recipients receiving living-donor liver transplantation. *Eur J Clin Pharmacol*, 2001. 57(6-7):

- p. 479-84.
98. Wolbold, R., et al., Sex is a major determinant of CYP3A4 expression in human liver. *Hepatology*, 2003. 38(4): p. 978-88.
 99. Lamba, V., et al., Genetic predictors of interindividual variability in hepatic CYP3A4 expression. *J Pharmacol Exp Ther*, 2010. 332(3): p. 1088-99.
 100. Yang, X., et al., Systematic genetic and genomic analysis of cytochrome P450 enzyme activities in human liver. *Genome Res*, 2010. 20(8): p. 1020-36.
 101. Paine, M.F., et al., Do men and women differ in proximal small intestinal CYP3A or P-glycoprotein expression? *Drug Metab Dispos*, 2005. 33(3): p. 426-33.
 102. Elens, L., et al., Impact of POR*28 on the pharmacokinetics of tacrolimus and cyclosporine A in renal transplant patients. *Ther Drug Monit*, 2014. 36(1): p. 71-9.
 103. Kuypers, D.R., 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(12): p. 597-606.
 104. Phupradit, 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(5): p. 549-557.
 105. Lesche, D., et al., CYP3A5*3 and POR*28 genetic variants influence the required dose of tacrolimus in heart transplant recipients. *Ther Drug Monit*, 2014. 36(6): p. 710-5.
 106. Fu, R., et al., Biomarkers for individualized dosage adjustments in immunosuppressive therapy using calcineurin inhibitors after organ

- transplantation. *Acta Pharmacol Sin*, 2019. 40(2): p. 151-159.
107. Gomes, A.M., et al., Pharmacogenomics of human liver cytochrome P450 oxidoreductase: multifactorial analysis and impact on microsomal drug oxidation. *Pharmacogenomics*, 2009. 10(4): p. 579-99.
 108. Agrawal, V., et al., Substrate-specific modulation of CYP3A4 activity by genetic variants of cytochrome P450 oxidoreductase. *Pharmacogenet Genomics*, 2010. 20(10): p. 611-8.
 109. Lunde, I., 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(6): p. 685-93.
 110. Oneda, B., et al., The P450 oxidoreductase genotype is associated with CYP3A activity in vivo as measured by the midazolam phenotyping test. *Pharmacogenet Genomics*, 2009. 19(11): p. 877-83.
 111. Almeida-Paulo, G.N., et al., Weight of ABCB1 and POR genes on oral tacrolimus exposure in CYP3A5 nonexpressor pediatric patients with stable kidney transplant. *Pharmacogenomics J*, 2018. 18(1): p. 180-186.
 112. Cederbaum, A.I., Molecular mechanisms of the microsomal mixed function oxidases and biological and pathological implications. *Redox Biol*, 2015. 4: p. 60-73.
 113. Masuda, S., et al., Effect of intestinal P-glycoprotein on daily tacrolimus trough level in a living-donor small bowel recipient. *Clin Pharmacol Ther*, 2000. 68(1): p. 98-103.
 114. Masuda, S., et al., Intestinal MDR1/ABCB1 level at surgery as a risk factor of acute cellular rejection in living-donor liver transplant patients. *Clin Pharmacol*

Ther, 2006. 79(1): p. 90-102.

115. Hashida, T., et al., Pharmacokinetic and prognostic significance of intestinal MDR1 expression in recipients of living-donor liver transplantation. Clin Pharmacol Ther, 2001. 69(5): p. 308-16.

論文目録

Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin Is Not Associated with Tacrolimus-Induced Acute Kidney Injury in Liver Transplant Patients Who Received Mycophenolate Mofetil with Delayed Introduction of Tacrolimus.

Int.J.Mol.Sci, Jun 25;20(12), 2019

Influence of *POR*28* polymorphisms on *CYP3A5*3*-associated variation of tacrolimus blood levels at the early stage after liver transplantation.

In Preparation

謝辞

本研究を遂行し学位論文をまとめるに当たり、終始御懇切なる御指導と御鞭撻、御校閲を賜りました現国際医療福祉大学薬学部 増田智先 教授に深謝いたします。本研究に際して、終始温かい御指導と激励を賜りました九州大学病院薬剤部 江頭伸昭 准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、種々の有益なご助言とご指導を賜りました九州大学大学院薬学府薬物動態学教室 家入一郎 教授、廣田豪 准教授、九州大学大学院薬学府臨床育薬学教室 小林大介 講師に謹んで感謝いたします。

また本研究の遂行にあたり、多くの御指導と御助力を賜りました九州大学病院薬剤部 末次王卓 先生に謹んで感謝いたします。本研究の実施に際して、実験に協力いただきました 中園真理 氏に心から感謝申し上げます。本研究に対し温かい御支援、御協力、多くの御理解をいただきました九州大学病院薬剤部の先生方、ならびに臨床薬物治療学教室の皆様にも心より感謝いたします。

また、臨床検体の提供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大学院消化器・総合外科 吉住朋晴 准教授、原田昇 講師に深く感謝いたします。最後になりましたが、様々なことがあったこの博士課程生活の4年間、温かく見守り応援し続けてくれた母に対して深い感謝の意を表して謝辞といたします。