

腎移植患者における内因性物質を指標とした降圧治療抵抗性および薬物代謝能の評価に関する研究

Evaluation of Resistance to Antihypertensive Therapy and Drug Metabolizing Capacity Using Endogenous Substances as Biomarker in Kidney Transplant Recipients

平成 25 年度 論文博士申請者 鈴木 陽介 (Suzuki, Yosuke)

指導教員 岸野 吏志

近年、わが国における臓器移植の発展はめざましく、多くの施設で臓器移植が行われるようになった。中でも腎移植の治療成績は年々向上し、今や定着した治療法となっている。しかし、腎移植患者の長期生存に伴い、安定期における合併症が問題となっている。特に、内科系合併症のうち腎移植後高血圧は約 40～60%の症例に認められ、生活習慣の是正や薬剤による降圧治療が行われる。しかし、一部の症例では多くの降圧薬が投与されているにもかかわらず、治療抵抗性の高血圧が出現し、臨床上大きな問題となっている。また、腎移植患者では降圧薬や免疫抑制薬等の種々の薬剤が投与されることから、これらの代謝に重要な役割を果たす薬物代謝酵素の活性を評価することは、個々の患者に最適な薬物療法を行う上で重要である。したがって、本研究では、腎移植患者における降圧薬および免疫抑制薬等の肝代謝型薬剤の最適な投与法の確立を目的として、内因性物質を指標とした降圧治療抵抗性の評価および薬物代謝能の個体差の要因解析を行った。なお、本研究は大分大学医学部附属病院臨床研究審査委員会または大分大学医学部倫理委員会の承認を得ており、患者からの文書による同意取得後に実施した。

1. 腎移植患者における血漿中 mid-regional pro-adrenomedullin 濃度を指標とした降圧治療抵抗性の評価^{1,2)}

Adrenomedullin (ADM) は、ヒト褐色細胞腫から同定された 52 個のアミノ酸からなるペプチドであり、肺、心臓、腎臓や血管内皮細胞など循環器系の主要臓器で産生され、血管拡張作用を有する。したがって、血漿中 ADM 濃度は降圧治療を行う上での降圧治療抵抗性の予知マーカーとなる可能性が示唆されるが、ADM は血液中での消失が非常に早く、臨床適応は難しいのが実状であった。一方、近年 ADM の前駆体 preproADM の中央領域フラグメント (preproADM(45-92)) である mid-regional pro-adrenomedullin (MR-proADM) が見いだされ、本ペプチドが血液中で高い安定性を有し、生成される物質量が ADM と同等であることが明らかとなった。我々は、血漿中 ADM 濃度の代替指標として MR-proADM 濃度の有用性を考慮し、遅延添加法および二抗体固相法に基づいた酵素免疫測定法による血漿中 MR-proADM 濃度の測定法を確立した。標準曲線は、MR-proADM 濃度が 0.16 - 10 nmol/L の範囲内で直線性を示し、酵素標識抗原として用いた preproADM(83-94) を除き、他の preproADM fragment と交差反応性は認められなかった (図 1)。日内、日間変動はいずれも 10.8% 未満 (n = 6) であり、良好な再現性が認められた。

本方法を用いて、健常人 (n = 6) および末期腎不全患者 (n = 6) の血漿中 MR-proADM 濃度を測定した結果、それぞれ 0.19 ± 0.07 および 1.39

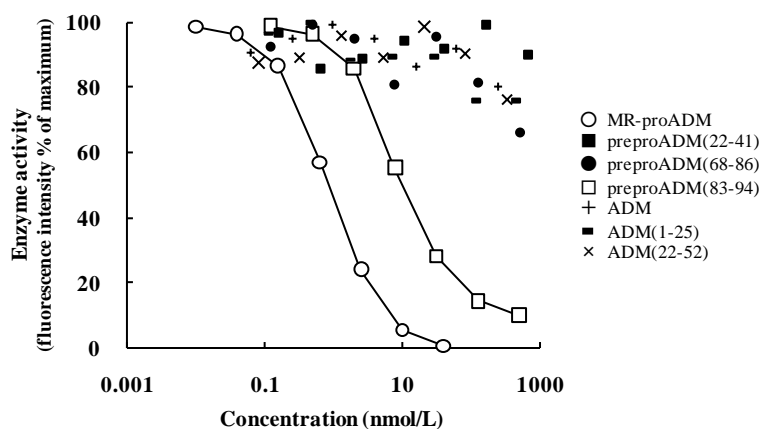


図 1 MR-proADM の標準曲線

± 0.50 nmol/L (mean \pm S.D.) であり、末期腎不全患者では、有意に高いことが明らかになった ($p = 0.022$)。これらの結果は、今回新たに確立した酵素免疫測定法は、正常時および病態時の血漿中 MR-proADM 濃度の評価に応用可能であることを示すものである。次に、本方法を用いて安定期腎移植患者の血漿中 MR-proADM 濃度を測定し、降圧治療抵抗性との関連性を検討した。なお、腎移植に伴い、血漿中 MR-proADM 濃度および収縮期血圧、拡張期血圧は移植後 90 日目までに十分低下することから³⁾、対象は腎移植後 90 日以上経過したレシピエント 46 名とした。降圧治療抵抗性の指標は、服用中のそれぞれの降圧薬の投与量を一日最大投与量で除した値の総和である Treatment intensity score を用いた。対象患者の Treatment intensity score および血漿中 MR-proADM 濃度は、それぞれ 0.95 ± 0.77 および 0.44 ± 0.21 nmol/L であり、両者の間には有意な正の相関が認められた ($r_s = 0.53$, $p = 0.00043$)。Treatment intensity score に影響をおよぼす要因を明らかにするために、血漿中 MR-proADM 濃度および各種患者背景 (性別、年齢、BMI およびクレアチニンクリアランス) を対象に重回帰分析を行った結果、血漿中 MR-proADM 濃度および BMI が有意な因子として抽出された (表 1)。これらの結果より、安定期腎移植患者における血漿中 MR-proADM 濃度は、降圧薬の treatment intensity score の個体差を説明する一因子であることが明らかになった。すなわち、血漿中 MR-proADM 濃度の評価は、降圧治療抵抗性の予測に有益であることが示唆された。

表 1 Treatment intensity score を従属変数とした重回帰分析

Explanatory variable	Partial r ²	p value	Partial regression coefficient
Plasma MR-proADM level (nmol/L)	0.28	0.00021	1.7
BMI (kg/m ²)	0.13	0.0025	0.12

2. 腎移植患者における血漿中 4β-hydroxycholesterol 濃度を指標とした CYP3A 活性の評価^{4, 5)}

Cytochrome P450 (CYP) は、多くの薬物の代謝に関与する薬物代謝酵素であり、中でも CYP3A はヒト肝臓における CYP 発現量の約 3 割を占める。近年、腎機能障害に伴い CYP3A 活性が低下することが報告され、CYP3A 活性の個体差を説明する要因の一つとなる可能性が示唆されている。したがって、腎機能回復の程度と CYP3A 活性との関連性を明らかにするために、腎移植術施行予定の末期腎不全患者 13 名を対象に、腎移植前および移植後経時的に、CYP3A 活性の指標である血漿中 4β-hydroxycholesterol (4β-OHC) 濃度を測定した。その結果、血漿中 4β-OHC 濃度は腎移植前と比べ、移植後 90 および 180 日目に有意な上昇が認められ、腎機能の回復に伴い CYP3A 活性は回復することが初めて示唆された。しかし、患者間で血漿中 4β-OHC 濃度の回復に個体差が認められたことから、CYP3A 活性の回復に腎機能以外の要因の関与が示唆された。CYP3A 活性の個体差の遺伝的要因として、そのサブファミリーである CYP3A5 の酵素発現量を低下させる CYP3A5*3 (Intron 3, A6986G) 型の保持が挙げられる。また、腎機能障害時に CYP3A 活性が低下する機序として、尿毒症物質の蓄積による影響が明らかになっており、特に indoxyl sulfate (3-INDS) および indole-3-acetic acid (3-IAA) の関与が示唆されている。したがって、CYP3A 活性の変動要因を探索することを目的に、安定期腎移植患者を対象として血漿中 4β-OHC 濃度を測定し、CYP3A 活性と CYP3A5 遺伝子多型、血漿中 3-INDS、3-IAA 濃度および各種患者背景との関連性を検討した。対象はカルシニューリン阻害薬 (CNI) 等の免疫抑制療法を行っているが、他に CYP3A を誘導または阻害する薬剤を服用していない腎移植後 90 日以上経過したレシピエント 45 名とした。対象患者の血漿中 4β-OHC、3-INDS および 3-IAA

濃度は、それぞれ 39.5 ± 11.7 ng/mL、 10.9 ± 9.4 μ M および 2.6 ± 1.4 μ M であった。血漿中 4β -OHC 濃度は、*CYP3A5**1/*1 群と比較して、*CYP3A5**1/*3 群 および *CYP3A5**3/*3 群で有意に低値を示した (図 2)。また、血漿中 4β -OHC 濃度と血漿中

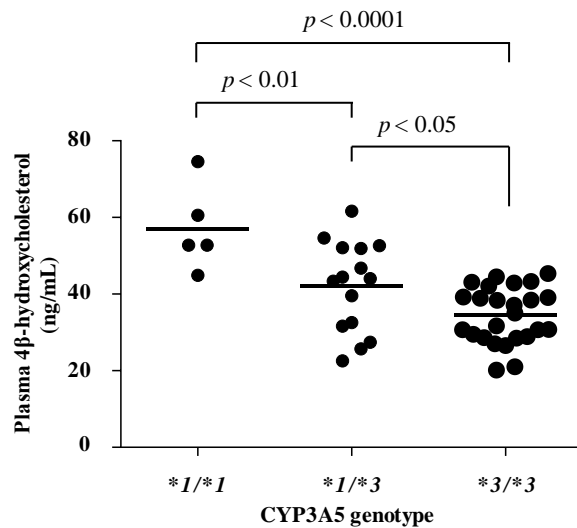


図 2 *CYP3A5* 遺伝子多型と血漿中 4β -OHC 濃度の関係

Statistics: Tukey-Kramer test.

3-INDS 濃度と血漿中 4β -OHC 濃度との間に有意な負の相関が認められた (図 3a)。一方、血漿中 4β -OHC 濃度と血漿中 3-IAA 濃度との間に有意な相関は認められなかった (図 3b)。血漿中 4β -OHC 濃度に影響をおよぼす要因を明らかにするために、*CYP3A5**3 アレル数、血漿中 3-INDS、3-IAA 濃度および各種患者背景 (性別、年齢、体重、クレアチニンクリアランス、CNI の種類およびそのトラフ濃度) を対象に重回帰分析を行った結果、*CYP3A5**3 アレル数 (partial $r^2 = 0.34$)、血漿中 3-INDS 濃度 (partial $r^2 = 0.13$) および体重 (partial $r^2 =$

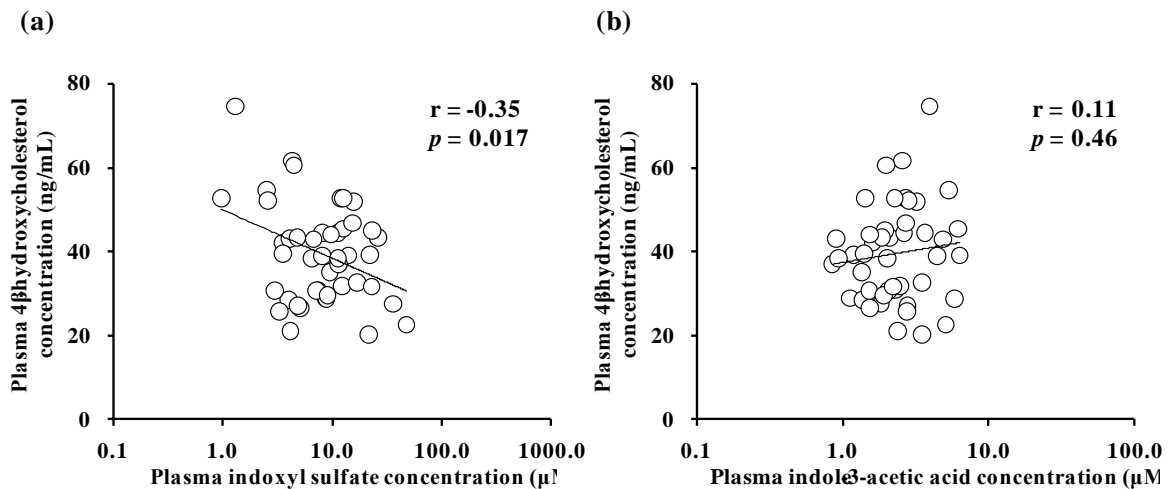


図 3 血漿中 3-INDS (a) および 3-IAA (b) 濃度と血漿中 4β -OHC 濃度の関係

Statistics: Pearson's product-moment correlation coefficient.

0.052) が有意な因子として抽出された。これらの結果より、*CYP3A5**3 型の保持および 3-INDS の蓄積は血漿中 4β -OHC 濃度を低下させ、その個体差の約 47%を説明することが明らかになった。すなわち、安定期腎移植患者における *CYP3A* 活性の個体差は、*CYP3A5* 遺伝子多型と尿毒症物質の蓄積により、部分的に説明が可能であることが示唆された。

3. 総括

血漿中 MR-proADM の酵素免疫測定法を確立し、安定期腎移植患者の血漿中 MR-proADM 濃度と降圧薬の treatment intensity score の関連性を検討した結果、血漿中 MR-proADM 濃度の評価は、降圧治療抵抗性の予測に有用であることを明らかにした。一方、腎移植患者の血漿中 4β -OHC 濃度の経時的な測定により、初めて腎機能の改善が *CYP3A* 活性を回復させる可能性が明らかになった。また、安定期腎移植患者における血漿中 3-INDS 濃度は、*CYP3A5* 遺伝子多型のみでは説明できない *CYP3A* 活性の個体差を説明する一要因であることが明らかになった。

本研究は、腎移植患者における降圧治療および肝代謝型薬剤の最適な投与設計に関する有用な知見を提供するものである。

《参考文献》

- 1) Suzuki Y., Itoh H., Katagiri F., Sato F., Sato Y., Kawasaki K., Sato Y., Mimata H., Takeyama M., *J. Pept. Sci.*, **19**, 59-63 (2013).
- 2) Suzuki Y., Itoh H., Katagiri F., Sato F., Kawasaki K., Sato Y., Sato Y., Mimata H., Takeyama M., *Peptides*, **48**, 45-48 (2013).
- 3) Suzuki Y., Itoh H., Katagiri F., Sato F., Kawasaki K., Sato Y., Sato Y., Mimata H., Takeyama M., *Peptides*, **43**, 102-104 (2013).
- 4) Suzuki Y., Itoh H., Sato F., Kawasaki K., Sato Y., Fujioka T., Sato Y., Ohno K., Mimata H., Kishino S., *J. Lipid Res.*, **54**, 2568-2572 (2013).
- 5) Suzuki Y., Itoh H., Fujioka T., Sato F., Kawasaki K., Sato Y., Sato Y., Ohno K., Mimata H., Kishino S., *Drug Metab. Dispos.*, **42**, 105-110 (2014).