

平成 30 年 6 月 29 日

報道機関 各位

国立大学法人東北大学病院
株式会社医学生物学研究所
国立研究開発法人日本医療研究開発機構

**世界初の体外診断用医薬品の開発成功につながる
チオプリン製剤の重篤な副作用を予測する
日本人に最も適切な遺伝的マーカーを同定**

【発表のポイント】

- 東北大学病院 消化器内科 角田洋一助教らの研究グループは、炎症性腸疾患^{注1}、白血病^{注2}、リウマチ性疾患、臓器移植後の治療におけるチオプリン製剤^{注3}の重篤な副作用を予測する、日本人に最も適切な遺伝的マーカーを探索するため、全国 32 施設による多施設共同研究にて収集された 2,630 人の炎症性腸疾患の患者 DNA を解析し、*NUDT15*(Nudix Hydrolase 15) 遺伝子のコドン^{注4}139 が最も適切な遺伝的マーカーであることを示した(参考文献 1)。
- 本成果は、科学雑誌『*Journal of Gastroenterology*』に掲載されるのに先立ち、オンライン版(6月19日)に公開された。
- *NUDT15* 遺伝子のコドン 139 の遺伝子多型^{注5}を検出するキット(製品名: MEBRIGHT *NUDT15* キット)を株式会社医学生物学研究所と共同開発し、世界で初めて体外診断用医薬品として製造販売承認(平成 30 年 4 月 6 日)を取得した。本キットの発売は平成 30 年 7 月 2 日を予定(図 1, 2)。
- 本研究は国立研究開発法人 日本医療研究開発機構(AMED)のゲノム創薬基盤推進研究事業「チオプリン不耐例を判別する *NUDT15* R139C 遺伝子多型検査キットの開発を軸とした炎症性腸疾患におけるゲノム実用化フレームワークの確立」(以下、本研究課題)において行われた。

【研究の背景】

チオプリン製剤は、炎症性腸疾患を始め、小児の急性リンパ性白血病^{注6}を始めとする白血病、リウマチ性疾患、臓器移植後の治療に効能効果が認められる安価か

つ有用な薬剤であり(参考文献 2, 3, 4)、日本国内で広く使用されています(参考文献 5, 6, 7)。国内における炎症性腸疾患の患者数は約 29 万人とされ、年々増加の一途を辿っており、その年間新規患者数は約 1 万 5 千人と推計されます。また、チオプリン製剤の使用頻度が高い小児急性リンパ性白血病の患者数は約 2 千人と推計され、年間新規患者数は約 600 人に上ります。

しかしながら、日本人を含む東アジア人では、チオプリン製剤を投与した一部の患者さんにおいて、早期に重度の白血球減少^{注7}症や全脱毛^{注8}といった重篤な副作用を生じることが知られています。重度の白血球減少症は、致命的な感染症を合併するリスクを増大させることから生命に重大な影響を及ぼし、発見や治療が遅れると患者さんが死亡するケースもあります。また、脱毛は一度発起こるとチオプリン製剤の投与中止後も進行し、完全脱毛に至ると回復に数か月以上を要するため、日常生活に著しい影響を及ぼします。

これまではチオプリン製剤による重篤な副作用の事前予測方法がなかったため、慎重に投与するしかありませんでしたが、それにも関わらず一部の患者さんでは重篤な副作用が発症し、治療の中断や入院加療を余儀なくされてきました。また、このような重篤な副作用への懸念からチオプリン製剤による治療法の選択を避けることも少なくありませんでした。

近年、チオプリン製剤の投与による重篤な副作用には、*NUDT15* 遺伝子多型が強く関連していることが発見されました(参考文献 8)。*NUDT15* タンパク質はチオプリン製剤の薬効を示す活性型分子の代謝に関与する酵素であり、その遺伝子多型によって酵素活性が大きく変化します。特に *NUDT15* 遺伝子のコドン 139 の塩基配列がアルギニンからシステインとなる遺伝子多型を持つ場合、その酵素活性が著しく低下します。複数の研究結果から、*NUDT15* 遺伝子のコドン 139 の塩基配列がシステインとなる遺伝子多型のみを持つ患者さんは、チオプリン製剤の活性型分子の代謝が抑制され薬効が強くなるため、チオプリン製剤の投与による重篤な副作用のリスクが高いことが報告されています(参考文献 9, 10)。さらに、東北大学病院消化器内科 角田 洋一助教らが中心となって行った本研究課題の分担研究の一つである臨床研究プロジェクト「*NUDT15* 遺伝子多型検査の有用性に関する多施設共同研究」(以下、MENDEL Study)は、日本人の炎症性腸疾患患者さんにおいては、*NUDT15* 遺伝子のコドン 139 がチオプリン製剤の投与による重篤な副作用を予測するための遺伝的マーカーとして最も有用であることを報告しました(図 3)(参考文献 1)。

そこで今回、研究グループは、適切な治療選択に結びつけることを目的に、チオプリン製剤の投与による重篤な副作用に関与する *NUDT15* 遺伝子のコドン 139 の遺伝子多型の情報を正確かつ迅速に提供できる体外診断用医薬品キットの開発を、株式会社医学生物学研究所(研究開発分担者:阿部由紀子)らと共同で行いました。

【研究の内容】

開発したキット(製品名:MEBRIGHT NUDT15 キット、以下「本キット」)は、患者さんの血液から抽出されたゲノム DNA を検体に用いて *NUDT15* 遺伝子多型を検出する試薬です(図 4)。リアルタイム PCR 法を原理としており、3 種類のアレル(アルギニン、システインもしくはヒスチジンをコードする塩基配列)に対応する蛍光標識プローブの反応から、検体中の *NUDT15* 遺伝子のコドン 139 の遺伝子多型を検出します(図 5)。また、本キットの試薬調製から判定までに必要な時間はおよそ 2 時間程度であり、多数検体の同時測定も可能なことから、迅速性を特徴としています。

本キットの性能を評価するため、3 施設(国立大学法人東北大学病院、医療法人社団 綾和会 浜松南病院、杏林大学医学部付属病院)から 160 症例の炎症性腸疾患の患者さんを登録し、臨床性能試験を実施しました。対照法としてダイレクトシーケンス法を用い、本キットとダイレクトシーケンス法の判定結果の一致率を解析したところ、160 症例の全てで判定結果が一致しました。さらに、本キットの判定結果とチオプリン製剤による重篤な副作用との関連を解析したところ、重度の白血球減少症、全脱毛を発症した患者さんは全員、コドン 139 がシステインとなる遺伝子多型のみを持つと判定され、それ以外の組み合わせを持つと判定された患者さんでは重篤な副作用を発症していませんでした(図 6)。したがって、本キットは迅速かつ正確に *NUDT15* 遺伝子のコドン 139 の遺伝子多型を検出し、その判定結果と重篤な副作用の発症には非常に強い関連が確認されました。

なお、東北大学東北メディカル・メガバンク機構が構築した 3,554 人の日本人の全ゲノムリファレンスパネルでは、アルギニンがシステインに変化するアレルが 10.5%、ヒスチジンに変化するアレルが 0.7%の頻度で確認されています。また、東北大学東北メディカル・メガバンク機構は、バイオバンクとしての役割を担っており、MENDEL Study で収集された約 3 千検体の全国の炎症性腸疾患患者さんの DNA の管理を行うことでプロジェクトに貢献しました。今回、本キットの臨床性能試験は、このバイオバンクで保管されている DNA 検体を用いて行われました。

【研究の意義・今後期待される展開】

世界で初めて体外診断用医薬品として製造販売承認され、迅速かつ正確に *NUDT15* 遺伝子のコドン 139 の遺伝子多型を検出できる性能を有する本キットの開発によって、チオプリン製剤の投与前に重篤な副作用を発症するリスクの高い患者さんを特定できるようになりました。日本人では、重篤な副作用を発症するリスクの高い *NUDT15* 遺伝子のコドン 139 の塩基配列がシステインとなる遺伝子多型のみを持つ方の割合は、1%程度と報告されています(参考文献 11)。チオプリン製剤による治療法を医師が安心して選択できるようになり、また重篤な副作用を恐れてより高額な別の治療法を選択していた患者さんがチオプリン製剤を使うようになることで医療費

の適正化にも貢献するものと期待されます(図 7, 8)。また *NUDT15* 遺伝子多型とチオプリン製剤の重篤な副作用は、日本だけでなく、中国、韓国など東アジアを中心に多数報告されているため、日本発の遺伝子検査薬として国際的に貢献することが期待されます。

本研究課題の分担研究プロジェクトの紹介

臨床研究プロジェクト

[*NUDT15* 遺伝子多型検査の有用性に関する多施設共同研究]

MENDEL STUDY

研究開発代表：東北大学病院 角田洋一

ゲノム研究プロジェクト

[炎症性腸疾患治療薬に関連する新規遺伝子マーカーの探索研究、DNAバンク化]

東北大学東北メディカル・メガバンク機構：河合洋介・長崎正朗

橋渡しプロジェクト

[炎症性腸疾患治療薬関連遺伝子マーカーのシーズ発掘と臨床応用研究]

東北大学：木内喜孝

キット開発プロジェクト

[*NUDT15* R139C 遺伝子多型検査キットの開発]

株式会社医学生物学研究所：阿部由紀子

図 1. 本研究課題の分担研究プロジェクトの紹介

キットの開発と体外診断用医薬品化

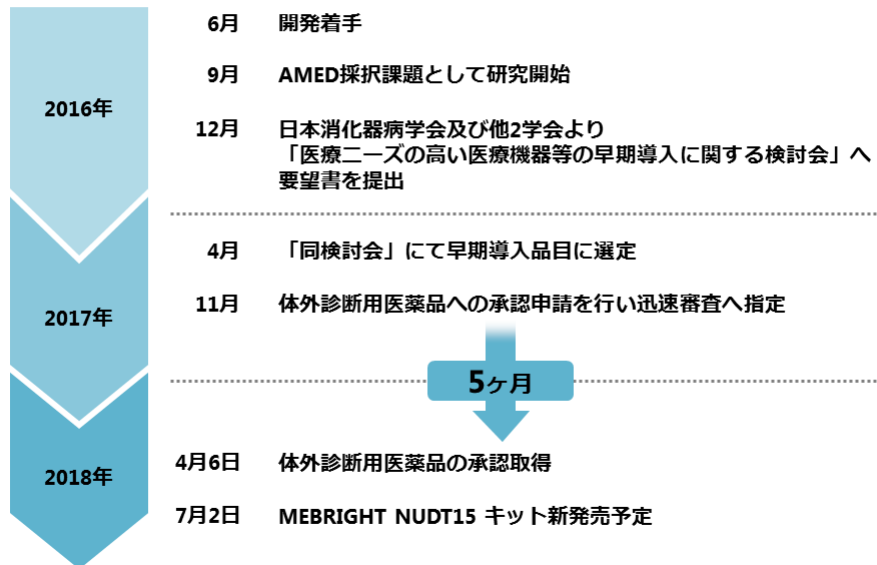


図 2. キットの開発と体外診断用医薬品

NUDT15コドン139の遺伝子多型




図 3. NUDT15コドン 139 の遺伝子多型

MEBRIGHT NUDT15 キットの概要

一般的名称 : Nudix hydrolase 15 (NUDT15) 遺伝子多型キット
 販売名 : MEBRIGHT NUDT15 キット
 使用目的 : 全血から抽出したゲノムDNA中のNudix hydrolase 15 (NUDT15) 遺伝子多型の検出 (NUDT15活性低下症例における治療選択の補助)
 承認年月日 : 平成30年4月6日
 承認番号 : 23000EZ00018000

キット構成



マスターミックス
・プライマー
・Arg/Cys/Hisプローブ

DNA
ポリメラーゼ

コントロール
DNA





図 4. MEBRIGHT NUDT15 キットの概要

MEBRIGHT NUDT15 キットの検査フロー

測定 (所要時間 : 2.0 時間)



末梢血

ゲノムDNA
20-100 ng/ test

リアルタイムPCR

出力結果

遺伝子型判定

推奨機器

アプライドバイオシステムズ™ 7500 Fast Dx
(製造販売届出番号: 13B3X10113000001)

判定方法

判定結果	Argプローブ	Cysプローブ	Hisプローブ
Arg/Arg	陽性	-	-
Cys/Cys	-	陽性	-
His/His	-	-	陽性
Arg/Cys	陽性	陽性	-
Arg/His	陽性	-	陽性
Cys/His	-	陽性	陽性
判定不能	陽性	陽性	陽性
	-	-	-

図 5. MEBRIGHT NUDT15 キットの検査フロー

MEBRIGHT NUDT15 キットの判定結果とチオプリン製剤による重篤な副作用の発症率

重度の白血球減少の発症率				
		白血球減少症 (8週未満、Grade3以上)		合計
		あり	なし	
MEBRIGHT NUDT15 キット	Cys/Cys	4	1	5
	Cys/Cys以外	0	77	77
合計		4	78	82

全脱毛の発症率				
		脱毛の発症 (8週未満)		合計
		あり	なし	
MEBRIGHT NUDT15 キット	Cys/Cys	5	0	5
	Cys/Cys以外	0	77	77
合計		5	77	82

図 6. MEBRIGHT NUDT15 キットの判定結果とチオプリン製剤による重篤な副作用の発症率

NUDT15 遺伝子多型検査が炎症性腸疾患 (IBD) の寛解維持療法へ与える変化



図 7. NUDT15 遺伝子多型検査が炎症性腸疾患 (IBD) 寛解維持療法へ与える変化

NUDT15 遺伝子多型検査によるメリット

1%の患者の副作用による生命の危険を予防します
99%の患者が治療を安心して受け入れやすくなります



全てのチオプリン製剤投与対象者に
恩恵がある検査です

図 8. NUDT15 遺伝子多型検査によるメリット

【用語説明】

注 1. 炎症性腸疾患 (Inflammatory Bowel Disease: IBD) :

炎症性腸疾患は主に潰瘍性大腸炎とクローン病の二つの疾患からなる、大腸及び小腸の粘膜に慢性的炎症や潰瘍が生じる原因不明の難治性炎症性腸管障害です。慢性的あるいは寛解と再燃を繰り返す疾患であり、治療では速やかな寛解導入療法と寛解の維持療法が重要となります。

注 2. 白血病:

白血病は急性骨髄性白血病や急性リンパ性白血病に代表される血液のがんであり、血液細胞ががん化し骨髄内で増殖することで正常な血液細胞が減少し、免疫機能の低下、出血、貧血などの症状が現れる疾患です。

注 3. チオプリン製剤

日本国内で使用されているチオプリン製剤は、アザチオプリンとメルカプトプリン水和物散が存在します。チオプリン製剤は生体内で代謝され、活性型分子 (TGTP および TdGTP) となって効能・効果を発揮します。NUDT15 はチオプリン製剤の代謝関連酵素として、活性型分子の脱リン酸化に関与しています。

注 4. コドン:

タンパク質を構成している 20 種類のアミノ酸に対応する、3 個 1 組の塩基配列のことを言います。1 種類のアミノ酸を指定するコドンはアミノ酸の種類によって複数存在するものもあり、生体内での翻訳のステップでは 1 つのコドンから 1 つのアミノ酸が合成されます。

注 5. 遺伝子多型:

遺伝子を構成している DNA 配列で見られる個人差であり、一般的に人口の 1%以上の頻度で存在するものと定義されます。遺伝子多型によって遺伝子の機能が変化する場合があり、病気との関係や薬の効果予測など、臨床に役立つ遺伝的マーカーへの利用が期待されています。

注 6. 急性リンパ性白血病:

急性リンパ性白血病はリンパ系幹細胞ががん化した白血病であり、小児の白血病/悪性リンパ腫の 70%を占めます。化学療法により大部分の患者が寛解しますが、再発がみられるため、寛解導入療法の後も、2~3 年間にわたって強化療法や維持療法が行われます。

注 7. 白血球減少:

血中の白血球数が一定基準未満に減少することを指します。白血球の減少に伴い、一般に免疫機能が大幅に低下します。副作用のグレードとして、下記分類があります。

	Grade1	Grade2	Grade3	Graed4
範囲 (/mm³)	<LLN[※]~3,000	<3,000~2,000	<2,000~1,000	<1,000

※LLN: (施設) 基準値下限

(Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE) Version 4.0、有害事象共通用語規準 v4.0 日本語訳 JCOG 版(略称:CTCAE v4.0 - JCOG))より引用・改変)

注 8. 全脱毛:

毛髪、全身の体毛が失われてしまうことを指します。薬剤によって引き起こされる高度の脱毛は、一度発症すると服用を中止しても全脱毛に至る場合があり、回復に長い時間が必要です。そのため、かつらやヘアピースが必要になるなど QOL が大幅に低下します。

【参考文献】

1. Kakuta Y, Kawai Y, Okamoto D, et al., NUDT15 codon 139 is the best pharmacogenetic marker for predicting thiopurine induced severe adverse events in Japanese patients with inflammatory bowel disease: A multicenter study. *J Gastroenterol.* 2018; (in press).
2. アスペンジャパン株式会社. イムラン®錠 50mg. 添付文書. 2017年2月改定(第16版)
3. 田辺三菱製薬株式会社. アザニン®錠 50mg. 添付文書. 2016年1月改定(第15版)
4. 大原薬品工業株式会社. ロイケリン®散 10%. 添付文書. 2017年6月改定(第12版)
5. 炎症性腸疾患 (IBD) 診療ガイドライン 2016. 編集 日本消化器病学会. 南江堂 2016
6. 平成 28 年度 改訂版 潰瘍性大腸炎・クローン病 診断基準・治療指針. 厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患等政策研究事業 「難治性炎症性腸管障害に関する調査研究」(鈴木班) 平成 28 年度分担研究報告書 別冊
7. 小児白血病診療ガイドライン. 日本癌治療学会 がん診療ガイドライン
8. Yang SK, Hong M, Baek J, et al., A common missense variant in NUDT15 confers susceptibility to thiopurine-induced leukopenia. *Nat Genet.* 2014; 46(9):1017-20.
9. Kakuta Y, Naito T, Onodera M, et al., NUDT15 R139C causes thiopurine-induced early severe hair loss and leukopenia in Japanese patients with IBD. *Pharmacogenomics J.* 2016; 16(3):280–5
10. Tanaka Y, Kato M, Hasegawa D, et al., Susceptibility to 6-MP toxicity conferred by a NUDT15 variant in Japanese children with acute lymphoblastic leukaemia. *Br J Haematol.* 2015; 171(1): 109-15
11. Kakuta Y, Kinouchi Y, Shimosegawa T., Pharmacogenomics of thiopurines for inflammatory bowel disease in East Asia: prospects for clinical application of NUDT15 genotyping. *J Gastroenterol.* 2018; 53(2):172-80

【問い合わせ先】

(研究に関すること)

東北大学病院 消化器内科

助教 角田 洋一(かくた よういち)

電話番号:022-717-7171

Eメール:ykakuta@med.tohoku.ac.jp

株式会社医学生物学研究所

研究開発本部 遺伝子試薬開発ユニット

ユニット長 阿部 由紀子(あべ ゆきこ)

電話番号:024-537-2350

Eメール:abe.yukiko@mbl.co.jp

(報道に関すること)

東北大学病院 広報室

電話番号:022-717-7149

FAX 番号:022-717-8931

Eメール:pr@hosp.tohoku.ac.jp

株式会社医学生物学研究所

総務部 本社総務グループ

グループリーダー 東 成見(あずま まさちか)

電話番号:052-238-1901

Eメール:kouhou@mbl.co.jp

(AMED 事業に関すること)

日本医療研究開発機構

基盤研究事業部 バイオバンク課

〒100-0004 東京都千代田区大手町 1-7-1

電話番号:03-6870-2228

Eメール:genomic-medicine@amed.go.jp