

# Nudix hydrolase 15 (NUDT15) 遺伝子多型検査

## NUDT15 Genotyping Test

かく た よう いち  
角 田 洋 一  
Yoichi KAKUTA

### はじめに

本検査は 2019 年 2 月に保険適用となったばかりの新しい検査である。さらに、国内で実用化された薬剤関連遺伝子多型検査はこれがまだ 2 つ目ということもあり、結果の解釈はもちろん、同意取得の必要性や、実際の検査の運用方法などはまだ十分浸透していない部分がある。本稿では、本検査の開発背景から、意義、活用法などについて、開発に携わった臨床医の立場から解説したい。

### I. チオプリン製剤の問題点

6-メルカプトプリン (商品名ロイケリン散<sup>®</sup>、以下 6-MP) と、そのプロドラッグであるアザチオプリン (商品名イムラン<sup>®</sup>、アザニン<sup>®</sup>、以下 AZA) の 2 剤 3 商品は総称してチオプリン製剤と呼ばれ、6-MP は、主に小児急性リンパ性白血病 (ALL) の治療に、AZA は臓器移植後の免疫抑制剤として、あるいは炎症性腸疾患やリウマチ性疾患などの免疫調節剤として寛解維持治療に用いられる。特に、抗体製剤などの新薬での治療が増えている炎症性腸疾患においては、多くの患者が現在も使用しているキードラッグであり、いかに使いこなすかが議論され続けている<sup>1)</sup>。チオプリン製剤は発売から半世紀もの長い年月が経っている薬剤であるものの、2018 年 7 月には AZA の妊婦への投与が禁忌から外れ、自己免疫性肝炎への適応が追加されるなど、適応拡大の動きが継続しており、現在においても活用され続けている重要かつ医療ニーズの高い薬剤である。

チオプリン製剤は最近の免疫疾患に用いる抗体製剤に比較するとはるかに安価で、さらに長い歴史からも効果のエビデンスが蓄積されている。しかしその一方で、その使いにくさが問題となることが多い。特に問題となるのは、白血球減少や脱毛といったチオプリン製剤に特有の副作用である。白血球減少は、常にチオプリン製剤による治療におけるマネージメントのうえで特に注意が払われてきた。白血球減少はチオプリン製剤の免疫抑制効果そのものでもあるが、大部分の患者には全く問題がない服用量でも、一部の患者では危険なレベルの行き過ぎた白血球減少が起こることから、白血球減少=副作用とされている。つまり副作用でもあるが、ただ効果が強く出すぎているだけ、とも言い換えることができる。このような副作用は「用量依存性」であり、用量調整で副作用 (過剰な効果) を防ぐことは可能である。そういう意味では、人それぞれで用量調整が必要という意味で使いづらいが、それ以外に、特に日本人を含む東アジア人では副作用が多いということがよく知られており、白血球減少の頻度が欧米人では 1.8 ~ 5.5% であるのに対し<sup>2,3)</sup>、中国人や日本人などの東アジア人では 15.0 ~ 15.8% 程度という報告がある<sup>4)</sup>。そのため、例えば炎症性腸疾患の一般的な治療開始量が、欧米人では AZA 1.0 ~ 3.0 mg/kg であるのに対し、日本人ではより少量の 0.5 ~ 1.0 mg/kg から開始することが多い。このように、全体として副作用に配慮をしながら治療を開始する日本人患者においても、極めて少量のチオプリンであるにもかかわらず、白血球数が 1,000/ $\mu$ L 未満まで急激に低下することもしばしば経験され、用量調整だけでは対応が難しいことがある。また、そのような症例の

ほとんどが高度の脱毛（毛髪が抜け始め、その後は薬剤の投与を中止してもどんどん抜けてほぼ全部なくなる）を併発し、回復に数か月かかる。つまり、用量調整で対応できると思われているチオプリン製剤の副作用において、一部の患者に極端な反応があるため、この印象が特にチオプリン製剤のハードルをさらに高くしている。

## II. 遺伝的なチオプリン製剤の代謝力の違いが副作用を引き起こす

チオプリン製剤に対する感受性の違いの要因の一つとして、チオプリンの代謝能力の個人差があげられる。チオプリン製剤の代謝経路には多くの代謝酵素がかかわっており（図 1A）、多くの部分にかかわる thiopurine S-methyltransferase (TPMT) は、遺伝的なバリエーションが多く、活性が低い TPMT を持つ患者では、チオプリン製剤の最終的な活性物質となる 6-thioguanine nucleotide (6-TGN) の濃度が高くなりすぎるために、白血球が過剰に減少する。欧米では、TPMT 遺伝子型（あるいは酵素活性）をチオプリン製剤の感受性治療開始前に検査し、初期投与量を AZA で 0.2 ~ 3.0 mg/kg/day で調整するガイドラインが出されている<sup>5)</sup>。しかし、白血球減少症がより高頻度に起こる日本人において、低活性 TPMT の遺伝子型を持つ人はほとんどおらず、稀にいる TPMT\*3C キャリアにおいても白血球減少症との相関が認められていない<sup>4,6)</sup>。そのためガイドラインに従うと、多くの日本人が AZA 150 mg/日、まれに 75 mg/日となり、全員が日本での通常量 (50 mg/day) を超えた量で服用を開始することになってしまう。以上から、日本人で特に多い白血球減少の原因は TPMT の活性とは別のメカニズムがかかわっていると考えられる。

代謝経路にある別の酵素の遺伝子多型との関係も報告があり、日本人でも、MPR4 (ABCC4) などの多型が白血球減少との相関が報告されていたものの<sup>7)</sup>、強烈な副作用を引き起こす症例の原因としては相関が弱く、日本人のチオプリン高感受性を説明することはできていなかった<sup>8)</sup>。

## III. NUDT15 遺伝子とのアジア人固有の重篤な副作用との相関関係

アジア人のチオプリン感受性について、2014 年に Yang らのグループによってブレイクスルーとなる結果が報告された<sup>9)</sup>。この研究では韓国人クローン病患者を対象に、チオプリン関連白血球減少症に関するゲノムワイド相関解析が行われ、NUDT15 遺伝子のコドン 139 が、CGT (アルギニン、Arg) から CAT (システイン、Cys) に変化する非同義置換多型 (R139C 多型) が副作用と相関することが報告された。この相関は、特にチオプリン服用後早期 (8 週以内) に発症する急性かつ高度の白血球減少との相関が明らかであり、変異型ホモ (塩基表記で TT 型、アミノ酸表記で Cys/Cys あるいは CC 型) の場合には頻度 100% で白血球数 2,000/ $\mu$ L 未満の高度白血球減少があった。この遺伝子多型は、日本人ではヘテロが約 20% 程度、変異型ホモが 1% で存在するありふれた多型である一方で、白人では極めてまれ (ヘテロでも 1% 未満) であるため、この遺伝子多型こそがアジア人固有の副作用の原因と考えられた。

われわれのグループは、日本人炎症性腸疾患患者でも全く同じ結果であることをすぐに確認し、さらに新しい知見として、本遺伝子多型がアジア人に多い「脱毛」の副作用とより強く相関することを発見した<sup>10)</sup>。その後、滋賀医科大学からも同様の報告があり<sup>11)</sup>、急性の高度白血球減少との相関だけでなく、高度の脱毛は、変異型ホモ (Cys/Cys) で必発であるが、それ以外 (Arg/Arg, Arg/Cys) では 0% であり、感度・特異度 100% で予測可能であることが共通する知見として得られた<sup>12)</sup>。脱毛の副作用はアジアでは 1 ~ 2% 程度でよく知られた「まれだが遭遇すると非常にトラブルになりやすい副作用」であるが、白人ではほぼ 0% であり、この頻度は、NUDT15 遺伝子の変異型ホモの一般人口での頻度とほぼ一致する。全脱毛の副作用は高度白血球減少に伴うことは経験的にわかっていたものの、その点についての議論が欧米ではほとんどなく、この病態こそがアジア人にしか存在しない NUDT15 遺伝子の変異型ホモ変異によるものであったことが明らかになった。

#### IV. NUDT15 は何をしているのか？

Yang らによって NUDT15 とチオプリン関連白血球減少との相関が発見された時点では、NUDT15 の機能が不明で、なぜ *NUDT15* 遺伝子多型がチオプリンの副作用とかかわるかは不明であった。白血球減少は用量依存性の副作用であることは前述の通りであるため、欧米での相関がある *TPMT* のように 6-TGN 濃度が過剰に上昇して副作用が起きている可能性が検討されたが、*NUDT15* 遺伝子多型と 6-TGN 濃度には相関が認められなかった<sup>11)</sup>。

しかし、その後すぐに Moriyama らによる小児血液腫瘍分野での研究によって、NUDT15 はこれまで 6-TGN とまとめられていたものの中で、チオプリン製剤の薬効を示す最終代謝産物である 6-T (d) GTP を 6-T (d) GMP にする代謝酵素の一つであることが分かった<sup>13)</sup>。つまり、仮に 6-TGN が同じ状態であっても、NUDT15 の活性が低ければ相対的に 6-T (d) GTP が増えるため、免疫抑制作用が通常よりも強く出現し、白血球減少症に至ることになる (図 1B)。以前から 6-TGN は日本人の白血球数と相関が一定しなかったが、NUDT15 の多型がその「内訳」にかかわっており、白血球減少に至っていたということ

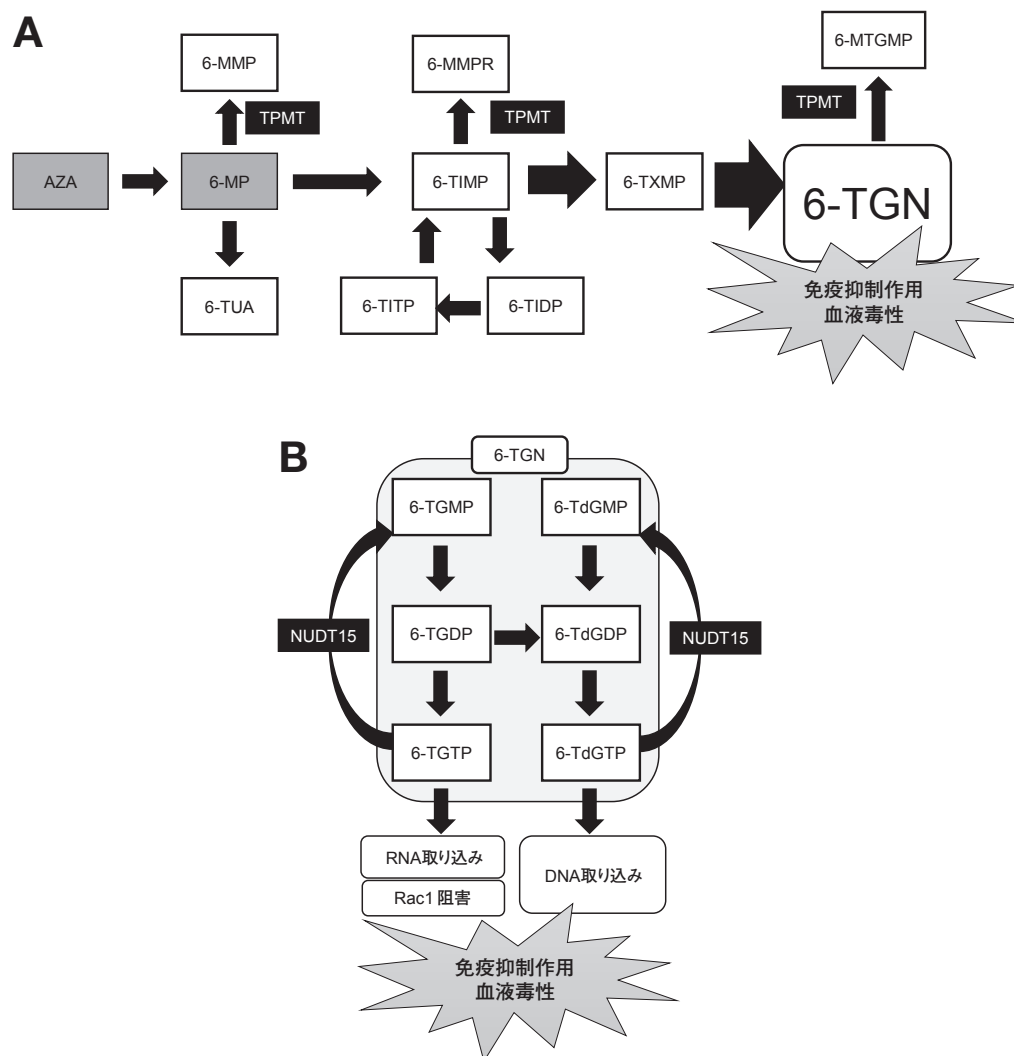


図 1 チオプリン代謝経路における NUDT15 の役割 (略語は本文参照)

(A) チオプリンの代謝経路には TPMT が多くかかわっており、TPMT が低活性の場合は、薬効を示す 6-TGN 濃度が服用量に対して相対的に高くなってしまい用量依存性の副作用が発生すると考えられている。

(B) 6-TGN のうち、NUDT15 は薬効を示す 6TGTP と 6TdGTP を脱リン酸化する作用がある。NUDT15 は最後のブレーキであり、低活性の場合は相対的に 6T (d) GTP が増加するため白血球減少が起きると予想される。

を考えれば合点がいく。また、NUDT15による副作用はやはり用量依存性の副作用であること、また、新たに脱毛も用量依存性の副作用である可能性が示されている。

## V. NUDT15 遺伝子多型検査と臨床応用

NUDT15 遺伝子には R139C 多型以外にもその酵素活性にかかわる多型が存在する。前述の Moriyama らは、小児血液腫瘍患者を対象とした研究で、NUDT15 遺伝子の複数の多型とそのハプロタイプを同定し、さらにその機能と酵素活性の違いを *in vitro* で示した<sup>13)</sup>。臨床検査として NUDT15 遺伝子によって副作用を予測する流れを実用化するにあたり、NUDT15 のすべての遺伝子多型を確認し、より正確に日本人の酵素活性を調べる必要があるのか、NUDT15 遺伝子多型以外の要因の影響は受けないのかという問題がある。また、そもそもこの遺伝子検査で副作用を予測する症例を見分けるのか、適切な服用量を遺伝子多型によって厳密に規定できるのかなど、目的自体も複数の可能性がありうる。とくに、検査の目的は対象とする疾患によって位置づけが異なる。6-MP を用いる小児血液腫瘍分野では体重に応じて調整する必要がある服用量は非常に重要な問題である一方、AZA を用いる成人の免疫疾患や移植後の維持治療では、剤型も 50 mg の錠剤一種類しかなく、そもそも厳密な投与量の調整ができない。また AZA が最もよく使われている炎症性腸疾患では消化管障害があるため、同じ量の服用であっても、どの程度吸収されているかなど、その時点で個人差が大きい。そのため、遺伝子検査をする目的は、成人においては重篤な副作用症例を見分けることが最も重要であるだろう。

副作用の回避という意味だけであれば、NUDT15 遺伝子の R139C 多型をチオプリン投与前のスクリーニング検査として行うことは、回避できる副作用の重症度を考えると臨床応用は急務である。また、患者側が最も嫌がる副作用の一つをほぼ確実に回避できれば、リスクのない患者が安心して治療を受け入れることができるという別の側面もある。そこで、厚生省「難治性炎症性腸管障害に関する調査研究」班（鈴木康夫班長）を母体とし、東北大学が全国 39 施設と日本医療研究開発機構（AMED）の支援を受け

ながら行った多施設共同研究、MENDEL Study は、約 2 年という非常に短い時間で全国 3,000 人を超える炎症性腸疾患患者さんの協力を得て NUDT15 遺伝子検査で何をどこまで調べればいいのか、その検査の有用性と限界点について検討を行うことができた<sup>14)</sup>。

## VI. MENDEL から実用化まで

MENDEL Study で登録された全症例のうちチオプリン服用歴がある 1,291 例中、NUDT15 遺伝子コドン 139 の変異型ホモである Cys/Cys 症例は 49 例であり、その全例（100%）がなんらかの副作用のため治療を中止していた。一方で、Arg/Cys（ヘテロ）型でも 49.1%、Arg/Arg（野生型ホモ）型でも 26.9% の症例が副作用を理由に治療中断をしている。しかし、Cys/Cys 型の副作用の内訳として、多くの症例が脱毛と白血球減少を合併あるいはいずれかを発症しており、特に服用後 8 週以内に白血球数 2,000 未満まで減少した「急性高度白血球減少」あるいは「全脱毛」という 2 つの重篤な症状のいずれかを発症した症例が全体の 93.5% と、重篤な副作用を高率に発症していた。同様の副作用は、Arg/Cys 型で 5.2%、Arg/Arg 型で 0.4% であり、Cys/Cys 型が突出して重篤な副作用を発症していることがわかる（図 2）。

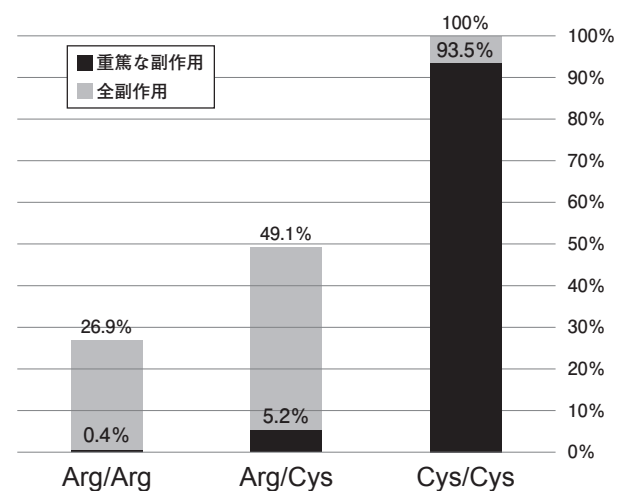


図 2 MENDEL Study で示された NUDT15 コドン 139 遺伝子型別副作用発生率

NUDT15 コドン 139 遺伝子型別の全副作用と重篤な副作用（急性重度白血球減少または高度脱毛）の発生率を比較すると、Cys/Cys 型ではほぼ確実に重篤な副作用が発生していた。また、重篤なものに至らなかった症例も服用早期に吐き気など別の副作用で中止していた症例であった。

副作用が重篤なため、Cys/Cys型は31例(63.2%)は副作用のために入院治療まで要していた。

Cys/Cys型で白血球減少が確認できなかったのは4例のみで、検査が未施行、吐き気など別の副作用で早期に服用中止している症例、脱毛が確認できなかった症例は、極めて低用量(6-MP 2 mg/day)の服用であった症例が1例と、やはり吐き気など別の副作用のため数日で服用を中止した症例であった。以上から、リスクホモ症例では、チオプリンを服用継続することが不可能であること、ほぼ確実に脱毛と白血球減少が起り、高確率で入院治療を要することが確認された。

一方で、チオプリン服用歴のあるノンリスク(Arg/Arg)ヘテロ(Arg/Cys)症例は1,233例で、41例(3.3%)で脱毛の訴えがあった。この中には「抜け毛が多い気がする」など客観性に乏しいものも多く、客観的に脱毛が確認できている症例は4例(0.32%)のみであった。Cys/Cys以外の症例の脱毛は、服用後長期経過を経て発症していることが多く、チオプリンとの因果関係は不明である。

肝障害、膵炎、感染症などの副作用はR139C多型との相関は認めず、これらは用量依存性の副作用とは異なる可能性が考えられた。また、コドン139がヒスチジン(His)に置換している、R139H多型が、極めてまれに存在することが分かったが、この多型はR139C多型ほど影響は強くなく、Arg/HisのヘテロではArg/Argと副作用の発生率は同等で、急性の高度白血球減少や脱毛を認めた症例はなかった。さらにまれなCys/Hisの複合ヘテロ症例は、いずれも高度白血球減少を生じたものの脱毛は認めていない。以上から、Arg/His型の副作用リスクはArg/Argと同等で、Cys/His型では脱毛はないものの白血球減少の高リスクであると予想され、慎重投与すべきであると考えられた。

MENDELでは、コドン139以外の多型も確認し、前述のMoriyamaらの報告にあるハプロタイプ、およびその組み合わせのディプロタイプの推定を行ったうえで、副作用との相関性も確認している。仮に、*NUDT15* 遺伝子を全例ダイレクトシーケンス等でディプロタイプを推定する検査を行った場合と、コドン139のみに限定した検査を行った場合を比較する目的でROC解析を行った。その結果、AUCが最も高かったものは、白血球数3,000/ $\mu$ lの軽度の白血

球減少までの検出を目的とした場合は、ディプロタイプを用いたモデルであったが、白血球数2,000/ $\mu$ lの高度白血球減少あるいは脱毛の検出を目的とした場合は、コドン139のみで最大のAUCが得られた。コドン139検査による早期高度白血球減少は、Arg/Cys、Cys/Cys、Cys/Hisを陽性とした場合が最もAUCが高く、感度92.3%、特異度78.0%、重篤な脱毛についてはCys/Cysのみを陽性としたときに感度91.9%、特異度99.9%と非常に高い値が得られた。以上から、アジア人に固有の重篤な副作用を検出する目的であれば、コドン139の検査のみで十分であると考えられた。

## Ⅶ. MEBRIGHT *NUDT15* キットの発売と保険適用

MENDEL Studyでの結果もあり、AMED事業でキット開発の分担研究を行っていた医学生物学研究所が*NUDT15* 遺伝子のコドン139の多型(R139CおよびH)を検出する遺伝子検査キットを開発した。本検査試薬の早期の実用化を目指すにあたり、日本消化器病学会より要望書が提出されていた「医療ニーズの高い医療機器等に関する検討会」で、本検査試薬は早期導入品目として選定された。また、臨床性能試験は、MENDEL Studyで構築されたゲノムバイオバンクで保管されている検体を分譲して行い、良好な結果が得られた。2017年11月に製造販売承認申請し、迅速審査に指定されたことから2018年4月6日には承認を取得、2019年8月7日に「MEBRIGHT *NUDT15* キット」(承認番号:23000EZX00018000)として発売され、2019年2月1日より保険適用検査(2100点)となった。実にAMED研究開始から2年半足らずで保険適用に至り、その医療ニーズの高さが証明された。

保険適用に伴い、適応範囲が問題となっている。本検査の対象疾患には「難治性の炎症性腸疾患及び急性リンパ性白血病等の患者」とあり、「等」にどこまで含まれるのかが明確ではない。これについては、2019年2月20日付の厚労省による疑義解釈資料によると、「関連学会の定める治療指針等で治療選択基準及び本検査の結果を踏まえた治療方針が明確に示されているもの」とされ、同時点では炎症性腸疾患および急性リンパ性白血病のみであった。炎症性

表1 NUDT15遺伝子型別のチオプリン開始方法  
(日本炎症性腸疾患学会ホームページより)

NUDT15 コドン139 遺伝子型	日本人での頻度	通常量で開始した場合の副作用リスク		安全と思われる開始量
		急性高度白血球減少	全脱毛	
Arg/Arg	81.1%	極めて稀 (<0.1%)	極めて稀 (<0.1%)	通常量で開始
Arg/His				
Arg/Cys	17.8%	低(<5%)	低(<5%)	減量して開始
Cys/His	<0.05%	高(>50%)		
Cys/Cys	1.1%	必発	必発	服用回避

記載されている対応方法は、日本人炎症性腸疾患の場合であり、小児血液疾患などでは対応が異なるため、各疾患のガイドラインや指針を参照すること

腸疾患患者における本検査の解釈について、現在学会から発表されているものは表1のとおりだが、現在も関連疾患の学会や班会議などから声明文や治療指針の改定が進んでおり、この表に準じた改訂が進んでいる。現在も進行中の案件であり、最新の各疾患の治療指針などを参照いただきたい。

## おわりに

ついに臨床の現場で、*NUDT15* 遺伝子検査をチオプリン投与前のスクリーニング検査として活用できるようになった。チオプリンの適応場面は広いいため、その検査結果をどう解釈するか、リアルワールドでのエビデンスの蓄積により明確な形で示していく必要があるだろう。

## 文 献

- 1) 花井 洋行, 池谷 賢太郎. 免疫調節薬を安全に上手に使うためのコツ 基本的事項と臨床のエビデンス. 医学のあゆみ. 2016 ; **256** : 1075-1080.
- 2) Palmieri O, Latiano A, Bossa F, et al. Sequential evaluation of thiopurine methyltransferase, inosine triphosphate pyrophosphatase, and HPRT1 genes polymorphisms to explain thiopurines' toxicity and efficacy. Aliment Pharmacol Ther. 2007 ; **26** : 737-745.
- 3) Geary RB, Barclay ML, Burt MJ, et al. Thiopurine drug adverse effects in a population of New Zealand patients with inflammatory bowel disease. Pharmacoepidemiol Drug Saf. 2004 ; **13** : 563-567.
- 4) Takatsu N, Matsui T, Murakami Y, et al. Adverse reactions to azathioprine cannot be predicted by thiopurine S-methyltransferase genotype in Japanese patients with inflammatory bowel disease. J Gastroenterol Hepatol. 2009 ; **24** : 1258-1264.
- 5) Relling MV, Gardner EE, Sandborn WJ, et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium guidelines for thiopurine methyltransferase genotype and thiopurine dosing. Clin Pharmacol Ther. 2011 ; **89** : 387-391.
- 6) Ban H, Andoh A, Tanaka A, et al. Analysis of Thiopurine S-Methyltransferase Genotypes in Japanese Patients with Inflammatory Bowel Disease. Internal Medicine. 2008 ; **47** : 1645-1648.
- 7) Ban H, Andoh A, Imaeda H, et al. The multidrug-resistance protein 4 polymorphism is a new factor accounting for thiopurine sensitivity in Japanese patients with inflammatory bowel disease. J Gastroenterol. 2010 ; **45** : 1014-1021.
- 8) 安藤 朗, 今枝 広丞, 大崎 理恵, 伴 宏充. チオプリン代謝関連酵素の遺伝子多型と日本人における特徴. 日本臨床. 2012 ; **70** : 639-645.
- 9) Yang SK, Hong M, Baek J, et al. A common missense variant in *NUDT15* confers susceptibility to thiopurine-induced leukopenia. Nat Genet. 2014 ; **46** : 1017-1020.
- 10) 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** : 280-285.
- 11) Asada A, Nishida A, Shioya M, et al. *NUDT15* R139C-related thiopurine leukocytopenia is mediated by 6-thioguanine nucleotide-independent mechanism in Japanese patients with inflammatory bowel disease. J Gastroenterol. 2016 ; **51** : 22-29.
- 12) 角田 洋一, 木内 喜孝. チオプリン製剤と *NUDT15* 遺伝子多型. IBD Research 2018 ; **12** : 119-124.
- 13) Moriyama T, Nishii R, Perez-Andreu V, et al. *NUDT15* polymorphisms alter thiopurine metabolism and hematopoietic toxicity. Nat Genet. 2016 ; **48** : 367-373.
- 14) 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 ; **53** : 1065-1078.