

## 博士の学位論文審査結果の要旨

申請者氏名 若宮 卓也

横浜市立大学大学院医学研究科 発生成育小児医療学講座

### 審査員

主査 横浜市立大学大学院医学研究科 遺伝学 教授 松本直通

副査 横浜市立大学大学院医学研究科 循環器・腎臓・高血圧内科学 准教授 石上友章

副査 横浜市立大学附属病院 集中治療部 准教授 高木俊介



## 博士の学位論文審査結果の要旨

Effect of VKORC1, CYP2C9, CYP4F2, and GGCX gene polymorphisms on Warafin dose in Japanese pediatric patients

ワルファリン感受性関連遺伝子 *VKORC1*, *CYP2C9*, *CYP4F2*, *GGCX* が日本人小児のワルファリン投与量に及ぼす影響についての検討

ワルファリン投与必要量にはかなりの個人差がある。成人では、*CYP2C9*, *VKORC1* などの一塩基多型 (SNP) とワルファリン投与量の相関があるとの報告がいくつかある。しかし、小児では成人に比べて報告が少なく、検討された遺伝子も限られている。我々は、日本人小児患者において、遺伝子変異がワルファリン投与量要件に及ぼす影響を検討した。横浜市立大学附属病院でワルファリンを処方された患者 45 名を対象とした。各患者の *VKORC1*, *CYP2C9*, *CYP4F2*, *GGCX* 遺伝子の SNP (それぞれ rs9923231, rs1057910, rs2108622, rs699664) の遺伝子型を決定し、遺伝子多型がワルファリン安定投与量に及ぼす影響について検討した。*VKORC1* の rs9923231 が TT 遺伝子型の患者は、TC 遺伝子型の患者よりも維持投与量が有意に少なかった ( $p=0.001$ )。多重回帰分析により、ワルファリン維持投与量の変動要因として、*VKORC1* の状態および患者の身長が 78.2 % を占める一方、*CYP4F2* および *GGCX* の多型は投与量に影響せず、*CYP2C9* の影響は評価できなかったものの、*VKORC1* の遺伝子多型は 27 % であることが示された。*VKORC1* の多型は、ワルファリンの 1 日投与量に部分的に影響を及ぼした。*VKORC1* 遺伝子型と身長は、日本人小児患者におけるワルファリン投与量に影響を及ぼす主要な決定因子である。この結果を確認するためには、より大きなサンプル数を用いたさらなる解析が必要である。

高木副査からのそれぞれの質問に対して以下のように答えた。

① 遺伝子検査は普段の診療でも測定しているものか？それとも、今回は研究のために調べたか？また遺伝子検査は簡易的に出来るものか？

> 普段の臨床では測定していない。今回は研究のために測定した。今回の測定方法だと検体時間も費用もかかるが、最近、濾紙血で簡易に調べられる方法も開発されている。今後は遺伝子検査が保険収載されれば、コマーシャルベースでの測定も期待できる。

② DOAC が適応になれば、今後、ワルファリンは使用されなくなるか？

> 疾患によると考えられる。成人でも機械弁術後等、ワルファリンを DOAC に変更出来ない疾患もあるので、ワルファリンが使用されなくなることはないと思う。

③ 対象年齢は 0-19 歳と年齢に幅があるように思う。0 歳と 19 歳で同じ式が使えるというのは少し違和感があるが、年齢によって異なる予測式を検討したか？

>年齢によって異なる予測式の検討に関しては、今回は行っていない。

④ 症例数が増えれば、説明変数にはいると思われる、臨床項目はあるか？

>目標 PT-INR 値と、フォンタン手術後かどうか、は説明変数として入ってくるのではないかと思う。実際、欧米の小児予測式では、この2つ臨床項目が説明変数に入っている。

石上副査からのそれぞれの質問に対して以下のように答えた。

① 今回の研究結果を、実臨床で実際に試してみた経験はあるか？

>その後、実臨床で、遺伝子を調べることは、保険の関係等で出来ていないが、ワルファリンのコントロールに難渋している症例に、VKORC1 の結果の幅をもたせて予測式を用いたところ（幸いにも予測式に遺伝子結果は VKORC1 のみであるため）、コントロール出来た経験はある。

② 成人領域ではワルファリンの効果を不安定化させるのは、食生活や併用薬が関わってくるが、今回の予測式にはその辺りが入らない。そのことに関してはどう考えるか？

>本研究で、ワルファリンの投与量に影響する内服薬（アスピリンや胃薬）を処方されている患者は存在した。併用薬に関しても投与量に影響するかどうか検討したが、今回の研究では有意差はでていない。

③ そうすると、小児では併用薬よりも遺伝子の方が重要ということになるか？

>成人の領域ではアミオダロンがワルファリンの投与量の予測式に組み込まれたりしているが、今回の対象患者でアミオダロンを内服している患者さんはおらず、実際に少ない。成人に比べてワルファリンに強く影響を及ぼす内服薬は小児では処方されていないことも併用薬が予測式に入らなかった理由の一つと考える。

④ ワルファリンの投与量はターゲット PT-INR にかなり影響されると思うが、今回の研究の予測式にターゲット PT-INR が入っていないのは違和感がある。その辺りはいかがか？

>ターゲット INR が予測式に組み込まれないことは予想外であった。原因としては、症例数が少ないことが考えられる。成人の予測式や、欧米の小児の予測式ではターゲット PT-INR も予測式の説明変数に組み込まれており、症例数を増やせば、ターゲット PT-INR も説明変数に入ると考える。

松本からそれぞれの質問に対して以下のように答えた。

① この研究は、若宮氏の学位のために用意された研究なのか、それとも、過去から行われていたり、未来につながったりする研究なのか、どういった位置づけの研究なのか？

>この研究は、以前、小児科の医局員であった小児癌専門の柳町先生が行われていた、抗がん剤の SNP に関する研究と関連する、ワルファリンの SNP に関する研究の位置づけである。

② せっかく式を作成したので、本来であれば過去、未来につなげていくようにデザインされていないといけないと考える（コメント）。

③ 症例数 50 人前後で、遺伝子 4 つだと言えることは限定的だと考えるが、4 つに絞った

理由や妥当性は何か。

> 4つに絞った理由は過去の報告でワルファリンの投与量に影響を及ぼすとされていた遺伝子がこの4つだったためである。

④ 今回の研究では *VKORC1* が遺伝子の中で唯一、差が出たと結論付けているが、本当にそうなのか？他にも影響を及ぼす因子を探索していく必要があると思うが、どうか？

> 可能であれば、網羅的に遺伝子を調べることが必要だとは思う。しかし、日本人の成人領域で、網羅的に行った研究もあるが、その研究では *VKORC1* と *CYP4F2* のみが影響を及ぼすといった結果となった。

⑤ 今回の研究で作成した式では、身長と *VKORC1* が入っているが、*VKORC1* の影響は27%と書かれてい。身長の影響は何%か？小児のワルファリン投与量への影響は *VKORC1* のより、身長のほうが大きいのか？

> %の数値はすぐには出ないが、小児では身長のほうが影響は大きい。

⑥ 作成した式の妥当性を検証したほうがいいと考える。今後、その予定はあるか？

> 成育医療センターの小林先生が他施設共同研究で、同じような研究が継続され、今回の遺伝子結果を提供しており、検証される予定である。

⑦ 今回、学位を取得出来たら、どのように活用していくか？

> 小児循環器グループは、このような臨床研究を行っておらず、他の分野も含め臨床研究を積極的に行っていきたい。

その他、いくつかの質問がなされたが、いずれも的確に回答された。したがって、本研究で得られた知見はワルファリン感受性関連遺伝子とワルファリン投与量の関連の解明に貢献でき、博士（医学）の学位に十分値するものと判定された。