

「がん化学療法に伴う腎機能障害のリスク因子に関する検討」に関する研究

申請者： 名古屋市立大学大学院 医学研究科
附属病院 薬剤部 近藤 勝弘
共同研究者： 名古屋市立大学大学院 薬学研究科
病院薬剤学分野 堀田 祐志
名古屋市立大学大学院 医学研究科
臨床腫瘍部 小松 弘和
名古屋市立大学大学院 医学研究科
臨床薬剤学 木村 和哲

1. 研究の背景・目的

1) 背景

抗がん剤治療によって大量のがん細胞が崩壊し人体の排泄能力を超えた多量の尿酸やカリウムなどが放出されると、急性腎不全を来し、時に致死的となる（腫瘍崩壊症候群；TLS）。TLSは急速に進行するため、事前のリスク評価が重要である。現在、TLS発症リスクはがん種毎に分類されており、TLS発症率の高い急性白血病など高リスク疾患では事前の予防策が確立されている^{1,2)}。しかし、昨今の腫瘍縮小効果の高い抗がん剤治療の登場によって低リスク疾患でもTLSを経験することがあり、患者毎のリスク評価を行う新たな指標が求められている。

我々は、シスプラチン投与患者の腎障害予測マーカーに関する研究など、抗悪性腫瘍剤投与による腎機能障害についての研究を進めてきた。一連の研究の一つとして、TLSによる腎障害に着目し、TLS発症の低リスク疾患である多発性骨髄腫（MM）を対象に名古屋市立大学大学院 医学研究科附属病院（当院）において診療録ベース研究を行った。その結果、抗がん剤治療を受けたMM患者集団からTLS発症例を特定するとともに、リスク因子として「分子標的薬 ボルテゾミブによる治療」と「男性」を見出した。

TLS 原因物質である尿酸は一般に「男性」で高値である。これは「男性」において、腎臓等での尿酸排泄を制御する「尿酸排泄トランスポーター」の遺伝子変異の頻度が高く尿酸排泄能が低いことに起因する³⁾。このことから、尿酸上昇を伴う TLS の発症にもトランスポーターの関与が想定され、尿酸排泄能が低下する特定の遺伝子多型を持った患者で TLS 発症リスクが上昇する可能性が考えられた。そこで、TLS 発症リスクを個別化し、致死的な TLS の発症を回避することを目的とした「尿酸排泄トランスポーター遺伝子解析」の有用性を検討する本研究を計画した。

2) 目的

本研究では、TLS 発症の低リスク疾患である MM 患者を対象に、尿酸排泄トランスポーター ABCG2 遺伝子の遺伝子変異と TLS 発症リスクとの関連性を明らかにすることを目的とした。

2. 研究の対象ならびに方法

1) MM 患者を対象とした診療録ベース研究の拡大調査

尿酸排泄トランスポーターの遺伝子解析研究を円滑に進めるため、より多くの TLS 発症例を見出すこと、また先行実施した診療録ベース研究で見出した TLS 発症に係るリスク因子をより多くの症例数で検証することを目的に、調査期間を拡大して診療録ベース研究を実施した。

(1) 対象

2007年5月～2018年1月に、当院で MM に対する初回化学療法が開始された未治療の症候性 MM 患者とし、次のいずれかに該当する患者を除外した。

- ・ 転院等の理由で初回化学療法が当院で完遂していない患者
- ・ 初回化学療法開始時に既に Laboratory-TLS (LTLS) に該当する臨床検査値異常を有していた患者
- ・ 初回化学療法開始時に透析が施行されていた患者
- ・ 初回化学療法として治験薬が投与されていた患者

(2) 調査方法

対象患者の初回化学療法期間中における LTLS および Clinical-TLS (CTLS) の発現を調査した。TLS 診断基準には「TLS panel consensus 基準^{1,2)}」を用いた。また、多変量ロジスティック回帰モデルを用いて、LTLS 発症に関連するリ

リスク因子の探索を行った。リスク因子の候補となる説明変数には、先行報告が関連の可能性を指摘する因子を用いた^{1,2,4,5)}。

2) 尿酸排泄トランスポーター遺伝子解析

(1) 研究の対象

① 被検群

本項 1)の研究によって見出された LTLS 発症例のうち、当院 血液腫瘍内科学講座に保存検体のある症例とした。

② 対照群

本項 1)の研究において LTLS 診断基準に該当しなかった患者群から、傾向スコアマッチングの手法を用いて LTLS 発症例（被験群）と背景の類似した症例を抽出し、このうち当院 血液腫瘍内科学講座に保存検体のある症例とした。

対照群の症例数は次のように設定した。ABCG2 遺伝子の遺伝子変異に関して、MM 患者を対象に発現頻度を検討した報告は存在しない。そのため、日本人の痛風男性患者を対象とした先行研究³⁾を参考にすることとした。同研究によれば、ABCG2 遺伝子の変異によって推定尿酸排泄能が 1/2 未満に低下した患者割合は、痛風例 29.2%、尿酸値正常の非痛風例 12.8%と報告されている。この結果を参考に、被験群である LTLS 発症例を 17 例と仮定した場合、これに対して有意な差を検出するのに必要な症例数を計算したところ ($\alpha=0.05$, $1-\beta=0.80$)、34 例以上と推定された（被検群:対照群 = 1:2）。そこで、検体量不足等での脱落例も考慮し、本研究における対照群の目標症例数を 51 例（被検群：対照群 = 1:3）とした。

(2) 方法

対象患者の保存検体から DNA を抽出し、*ABCG2* 遺伝子の Q126X (rs72552713) および Q141K (rs2231142) の 2 つの変異を解析した。既に明らかになっている遺伝子変異型に基づく 4 つの推定尿酸排泄能別グループ³⁾に患者を分類し（図 1）、4 グループの患者割合を被験群と対照群で比較した。

Estimated function	Genotype combination	
	Q126X (rs72552713)	Q141K (rs2231142)
≥ 1/4 function	T/T	C/C
	T/C	C/A
1/2 function	T/C	C/C
	C/C	A/A
3/4 function	C/C	C/A
Full function	C/C	C/C

図 1) ABCG2 遺伝子変異型による推定尿酸排泄能別の 4 グループ³⁾

(3) 倫理的配慮

本研究は「ヘルシンキ宣言」「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」および「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」に従って実施した。対象患者の個人情報（遺伝子解析結果等）の取扱いにおいては「個人情報保護法」を遵守した。本研究の実施に際して、名古屋市立大学大学院医学研究科 医学系研究倫理審査委員会の承認を得た。また、本研究では他研究で得た保存検体（将来の研究での利用に関する同意あり）を用いるため、被験者候補への情報公開および拒否機会を保障する目的でオプトアウト文書を当院 臨床研究開発支援センターホームページに公開した。

3. 研究結果

1) MM 患者を対象とした診療録ベース研究の拡大調査

適格性を満たした対象患者は合計 210 例であった（調査期間の拡大以前：2007 年 5 月～2015 年 12 月, 199 例）。210 例中 LTLS 発症例は 17 例（8.1%）、CTLS 発症例は 7 例（3.3%）で、調査期間拡大前と比べて新たな TLS 発症例は確認されなかった。

LTLS 発症に関連するリスク因子の探索では、単独で有意となる因子は認められなかったが、「分子標的薬 ボルテゾミブによる治療」、次いで「男性」との関連が強い傾向が確認された（図 2, Model 2）。

Variables	Crude model		Model 1		Model 2	
	OR (95% CI)	P value	OR (95% CI)	P value	OR (95% CI)	P value
Age ≥ 65 years	0.83 (0.30–2.28)	0.720	–	–	–	–
Male sex	2.75 (0.93–8.10)	0.067	–	–	2.29 (0.74–7.12)	0.153
Bortezomib-containing therapy	3.10 (0.86–11.10)	0.083	3.11 (0.86–11.30)	0.084	3.40 (0.91–12.70)	0.069
ISS stage III	2.69 (0.98–7.38)	0.055	2.48 (0.88–6.94)	0.085	1.67 (0.50–5.59)	0.409
Lactic dehydrogenase level > ULN	0.93 (0.29–2.99)	0.902	0.91 (0.28–2.96)	0.877	–	–
Pretreatment SCr level > ULN	3.32 (1.14–9.09)	0.027	3.20 (1.12–9.19)	0.030	2.09 (0.61–7.16)	0.241
Pretreatment serum uric acid level > ULN	2.56 (0.92–7.14)	0.072	2.11 (0.73–6.08)	0.166	1.71 (0.56–5.20)	0.344
Plasma cells in bone marrow (%)	1.00 (0.97–1.03)	0.956	1.00 (0.97–1.03)	0.990	–	–
Presence of plasma cell in peripheral blood	0.99 (0.21–4.59)	0.985	0.94 (0.20–1.45)	0.936	–	–

Model 1: Adjusted for age and sex, Model 2: Adjusted for the variables that had P values < 0.100 in a crude model.

図 2) 多変量ロジスティック回帰モデルを用いた LTLS 発症に関連するリスク因子の探索

さらに、同モデルを用いて「性別」に着目したサブ・グループ解析を行った結果、「男性」においてのみ「分子標的薬 ボルテゾミブによる治療」と LTLS 発症との間に有意な関連を認めた（図 3）（論文投稿中）。

	No. of patients with LTLS /total No. (%)	OR (95% CI)	P value
Female (n = 108)			
Therapy without bortezomib	2/42 (4.8)	1.00 (reference)	
Bortezomib-containing therapy	3/66 (4.5)	0.77 (0.09–6.10)	0.804
Male (n = 102)			
Therapy without bortezomib	1/38 (2.6)	1.00 (reference)	
Bortezomib-containing therapy	11/64 (17.2)	8.51 (1.04–69.60)	0.046

図 3) 男性および女性の多発性骨髄腫患者における LTLS 発症と「分子標的薬 ポルテゾミブによる治療」との関連 (多変量ロジスティック回帰モデル)

本研究によって、症例数を追加したより大きな集団において、「分子標的薬 ポルテゾミブによる治療」を受けた「男性」で LTLS 発症リスクが高まる可能性のあることが確認された。そこで、LTLS 発症の 17 例を含むこの患者集団から尿酸排泄トランスポーター遺伝子解析を行うための対象症例を抽出し、研究を進めることとした。

2) 尿酸排泄トランスポーター遺伝子解析

(1) 対象症例

LTLS 発症例 17 例のうち、保存検体が確保できたのは 10 例であった (被験群)。この 10 例には、本項 1) の研究における CTLs 発症 7 例のうち 5 例が含まれた。

LTLS 非発症例 193 例から傾向スコアマッチングによって 51 例を抽出し、このうち保存検体が確保できたのは 38 例であった (対照群)。

被験群と対照群の背景は類似しており、性別、化学療法レジメンの種類 (ボルテゾミブを含む治療/含まない治療)、化学療法開始前の臨床検査値 (血清クレアチニン、尿酸、カリウム、リン)、高尿酸血症に対する予防投薬ありの割合など、いずれにおいても両群で有意な差は認められなかった。

(2) 検体からの DNA 抽出と遺伝子多型解析

検体には、全症例で -80°C で凍結保存された末梢血単核細胞を用いた。検体から DNA を抽出し (DNA 抽出試薬: キアゲン AllPrep DNA/RNA Mini Kit)、解析に必要な DNA 量 (300ng, 10ng/μL 以上) を全例で確保できた。

ABCG2 遺伝子多型検査は検査受託会社 (株式会社 DNA チップ研究所, 東京) への委託によって行った。現在 (本報告日時点)、解析結果待ちである。遺伝子

解析データが届き次第データを分析し、遺伝子多型と TLS リスクとの関連について検討を進める。

4. 考察

MM における TLS 発症に関する先行研究は、ほとんどが症例報告である。2 つの後方視的研究^{6,7)}によって実臨床での TLS 発症率等が検討されているが、初発例/再発例の混在した小規模集団 (50 例前後) での検討に留まっており、リスク因子に関する詳細な検討はなされていない。そこでまず本研究では、これまでで最大規模の 210 例による診療データ解析を行い、MM における TLS のリスク因子について検討した。その結果、TLS 発症のリスク上昇因子として「分子標的薬ボルテゾミブでの治療」と「男性」を見出すことができた (論文投稿中)。

「男性」での TLS 発症リスクの上昇については、急性骨髄性白血病患者 194 例を対象にした先行研究での報告がある⁸⁾。しかし、その正確な理由や機序は不明とされており、その後も検討した研究は存在しない。今回の診療データ解析の結果をもとに、腎機能や尿酸値などの化学療法開始前の臨床検査値異常との関連を検討したが、ベースラインの尿酸値等と LTLS 発症との間に強い関連は認められなかった (図 2, Model 2)。そこで本研究では、個々の患者が持つ遺伝的な尿酸排泄能が尿酸上昇を伴う TLS 発症に影響している可能性を考え、体内の尿酸量の調節に係る尿酸トランスポーターに着目した。

尿酸トランスポーターには、尿酸排泄トランスポーター ABCG2 と尿酸再吸収トランスポーター URAT1 および GLUT9 が知られている^{3,9,10)}。このうち ABCG2 については、遺伝子多型に基づく尿酸排泄能低下が痛風の若年発症の主原因であることや、日本人痛風男性患者でのアレル頻度および遺伝子変異型別の推定尿酸排泄能などが明らかにされている³⁾。そこでまず本研究では、これらの知見を参考に、尿酸排泄トランスポーター ABCG2 遺伝子に着目した研究を進めることにした。本報告日時点では遺伝子解析の結果待ちであるが、本研究によって遺伝的な尿酸排泄能と TLS 発症との関連が見出されれば、患者個々の特性に基づくリスク評価や支持療法の個別化に繋がる可能性がある。

一方で、TLS 発症時の血中尿酸値の上昇には、尿酸排泄トランスポーターだけでなく、腎尿細管での尿酸再吸収を制御する尿酸再吸収トランスポーターの関与も考えられる。尿酸再吸収トランスポーター遺伝子 *URAT1/SLC22A12* お

よび *GLUT9/SLC2A9* には機能消失型変異のあることが知られており^{9,10)}、今後これらの遺伝子変異についても検討を行う必要がある。

5. 文献

1. Cairo MS, Coiffier B, Reiter A, Younes A, TLS Expert Panel. Recommendations for the evaluation of risk and prophylaxis of tumour lysis syndrome (TLS) in adults and children with malignant diseases: an expert TLS panel consensus. *Br J Haematol.* 2010;149:578–586.
2. 日本臨床腫瘍学会. 腫瘍崩壊症候群(TLS)診療ガイドランス. 金原出版. 東京. 2013.
3. Matsuo H, Ichida K, Takada T, et al. Common dysfunctional variants in ABCG2 are a major cause of early-onset gout. *Sci Rep.* 2013;3:2014. doi: 10.1038/srep02014.
4. Jaskiewicz AD, Herrington JD, Wong L. Tumor lysis syndrome after bortezomib therapy for plasma cell leukemia. *Pharmacotherapy.* 2005;25:1820–1825.
5. Furtado M, Rule S. Bortezomib-associated tumor lysis syndrome in multiple myeloma. *Leuk Lymphoma.* 2008;49:2380–2382.
6. Oiwa K, Morita M, Kishi S, et al. High risk of tumor lysis syndrome in symptomatic patients with multiple myeloma with renal dysfunction treated with bortezomib. *Anticancer Res.* 2016;36:6655–6662.
7. Suzuki K, Terui Y, Nishimura N, et al. Rapid progression of anemia related to tumor-lysis syndrome associated with bortezomib treatment in myeloma patients. *Jpn J Clin Oncol.* 2014;44:435–441.
8. Mato AR, Riccio BE, Qin L, et al. A predictive model for the detection of tumor lysis syndrome during AML induction therapy. *Leuk Lymphoma.* 2006;47:877–883.
9. Sakiyama M, Mtsuo H, Shimizu S, et al. The effects of URAT1/SLC22A12 nonfunctional variants, R90H and W258X, on serum uric acid levels and gout/hyperuricemia progression. *Sci. Rep.* 2016,6:20148.
10. Matsuo H, Chiba T, Nagamori S, et al. Mutations in glucose transporter 9 gene *SLC2A9* cause renal hypouricemia. *Am J Hum Genet.* 2008,83:744–751.

6. 学会発表

1. 山内 歌恋、近藤 勝弘、堀田 祐志ら. ボルテゾミブは多発性骨髄腫における腫瘍崩壊症候群の発症リスクを上昇させる. 日本医療薬学会 第 3 回フレッシュャーズ・カンファレンス. 2019 年 6 月 16 日
2. **Kondo M**, Hotta Y, Yamauchi K, et al. The effect of bortezomib and male sex on the risk for developing tumor lysis syndrome in patients with multiple myeloma: A retrospective study. *American Society of Nephrology, Kidney Week 2019* (Washington, DC, USA) Nov.7-10. 2019.