

自治医科大学学位論文

表題 クロピドグレルとチクロピジンの抗血小板効果に及ぼす
CYP2C19 遺伝子多型の影響の相違に関する研究

論文の区分 論文博士（乙種）

著者名 前田章光

所属 愛知県がんセンター中央病院 薬剤部
2014年 10月 15日 申請の学位論文

紹介教員 自治医科大学大学院医学研究科
地域医療学系 専攻 臨床薬物治療学
教授 藤村昭夫

目次

はじめに.....	1
方法.....	3
対象者.....	3
血液の採取と血小板凝集能の測定方法.....	3
<i>CYP2C19</i> の遺伝子多型測定.....	7
統計解析.....	8
結果.....	8
ADP 5 μ mol/L と 20 μ mol/L に対する血小板凝集能.....	10
クロピドグレルとチクロピジンの血小板凝集抑制効果.....	10
クロピドグレルとチクロピジンの血小板凝集抑制効果に及ぼす <i>CYP2C19</i> 遺 伝子多型の影響.....	11
クロピドグレルとチクロピジンの血小板凝集抑制効果に及ぼす PPI の影響.....	15
クロピドグレルとチクロピジンの血小板凝集抑制効果に及ぼす肥満の影響.....	15
考察.....	16
結論.....	20
引用文献.....	22

はじめに

低用量アスピリンとチエノピリジン誘導体薬物による抗血小板療法（dual antiplatelet therapy : DAPT）は、冠動脈疾患に対する経皮的経血管的冠動脈形成術（percutaneous coronary intervention :PCI）後の心血管系イベント抑制のために推奨される薬物療法である⁽¹⁻³⁾。従来のベアメタルステントと比較し、薬物溶出ステントは血管平滑筋細胞の増殖を抑制して内皮新生を遅延することで再狭窄のリスクを軽減させる一方、ステント内血栓症のリスクを増加させることが懸念されていた。近年は薬物溶出ステントの発展に伴い DAPT の期間は短縮されつつあるが、本試験を実施した 2009 年当時に多くの患者に使用されていた第 1 世代ステントと呼ばれる免疫抑制剤シロリムス溶出ステント（Cypher ステント）やパクリタキセル溶出ステント（TAXUS ステント）では、国内における DAPT の推奨期間は 1 年以上とベアメタルステントよりも長く、抗血小板薬の有効性がより重要視されていた^(4,5)。しかしながら、チエノピリジン誘導体薬物の 1 つであるクロピドグレルは、服用患者の約 20% が抗血小板凝集能抑制効果が乏しい患者（non-responder）であるとされ、それら non-responder の患者は、responder と比較し PCI 後の死亡や心疾患イベントの発症リスクが約 8 倍に増加することが報告された⁽⁶⁾。クロピドグレルは主にシトクロム P450（CYP）により代謝され活性代謝物となるプロドラッグであり、活性代謝物はその後不可逆的に P2Y₁₂ 受容体に結合し adenosine diphosphate（ADP）による血小板凝集を抑制することで効果を示す⁽⁷⁻⁹⁾。CYP による活性代謝のなかでも特に CYP2C19 による代謝が活性代謝物の生成に大きく寄与していることから、CYP2C19 の機能喪失型対立遺伝子保持者はその活性代謝物の血中濃度及び抗血小板効果が減少し、ステント血栓症などの心血管イベントの発症リスクが増大することが報告されている⁽¹⁰⁻¹³⁾。CYP2C19 遺伝子多型は海外では 5%程度で

あるが本邦においては約 20%と珍しくなく、CYP2C19 機能喪失型対立遺伝子保持患者に対する抗血小板薬の効果の減弱は臨床上重要な問題である。それゆえ、CYP2C19 遺伝子多型に基づく個々の抗血小板療法を確立する必要がある^(14, 15)。

海外ではすでに、CYP2C19 の影響を受けない prasugrel^(16, 17) や ticagrelor^(18, 19) など次世代の抗血小板薬が発売されていたが、2009 年当時国内においてこれら薬物は販売されておらず、CYP2C19 機能喪失型対立遺伝子保持患者に対する抗血小板薬の効果の減弱に対して有効な解決策はなかった。

一方、わが国で使用されてきたもう 1 つのチエノピリジン誘導体であるチクロピジンはクロピドグレルと同様の抗血小板効果を有し、ステント血栓症など重大な心血管イベントを抑制する効果が認められている^(20, 21)。チクロピジンも CYP2C19 を含む CYP で代謝され活性代謝物となるプロドラッグであるが⁽²²⁾、現在のところチクロピジンの薬効に CYP 遺伝子多型が影響を及ぼしたとの報告はなく⁽²³⁾、CYP2C19 遺伝子多型患者に対して有効な治療法となる可能性がある。そこで、本研究では日本人の冠動脈疾患患者に対するクロピドグレルとチクロピジンの血小板凝集抑制効果に及ぼす CYP2C19 遺伝子多型の影響について比較検討した。

また、抗血小板薬服用時には消化管出血リスクが増加することから、プロトンポンプ阻害薬（proton pump inhibitor : PPI）を併用することが少なくない。PPI は主に CYP2C19 により代謝されることから、クロピドグレルとの併用時には CYP2C19 競合阻害によりクロピドグレルの活性代謝物の生成が低下し、その薬効である血小板凝集抑制効果が減弱することにより、心血管系イベント発症リスクの増加を招くことが海外の報告により示唆されている⁽²⁴⁾。そこで本試験では、クロピドグレルとチクロピジンの抗血小板凝集効果に対する PPI の影響に

についても比較検討した。

方法

本試験のプロトコールは愛知県立循環器呼吸器病センター倫理審査委員会及び自治医科大学遺伝子解析倫理審査委員会（受付番号第遺 09-07・09-51 号）にて承認を受けた。なお、被験者に対しては、試験参加時に文書により説明を行い、同意を取得した。

対象者

愛知県立循環器呼吸器病センターの入院・外来患者のうち、アスピリン（100 mg/日）単剤を服用中の成人患者と、アスピリン及びクロピドグレル（75 mg/日、プラビックス®、Sanofi-Aventis、東京、日本）またはチクロピジン（200 mg/日分 2、パナルジン®、Sanofi-Aventis）を 4 週間以上併用している成人の冠動脈疾患患者を対象とし横断的観察研究を行った。また、対照群として健康成人（愛知県循環器呼吸器病センター循環器内科医）9 名からも検体の提供を受けた。

なお、高度の貧血（ヘモグロビン濃度 < 8 g/dL）を有する者、採血前 7 日以内の服薬コンプライアンスが不良の者、7 日以内に血液凝集に影響のある薬物（ワルファリン、ヘパリン、ベラプロストナトリウム、シロスタゾール、リマプロストアルファデクス、サルポグレラート、ジピリダモール、トラネキサム酸、イコサペント酸エチルなど）を服用した者は対象より除外した。

血液の採取と血小板凝集能の測定方法

抗血小板薬は朝食後に内服し、血液の採取は 12 時から 15 時の時間帯に実施した。末梢の正中静脈より 3.13%クエン酸ナトリウム真空採血管に採取した静

脈血を 20 °C 条件下において 80 × g で遠心し、platelet rich plasma (PRP) (図 1-1)を得たのち、さらに 2000 × g で遠心し、platelet poor plasma (PPP) (図 1-2)を作製した。PRP 及び PPP への光透過性をそれぞれ 0%、100%と規定し、PRP に血小板凝集試薬である adenosine diphosphate (ADP) を滴下した際の蛍光透過性の経時的変化をマルチチャンネル血小板凝集能測定装置 PAT-2M (メバニクス社、東京) (図 1-3) を用いて測定した。



図 1-1 : platelet rich plasma の写真

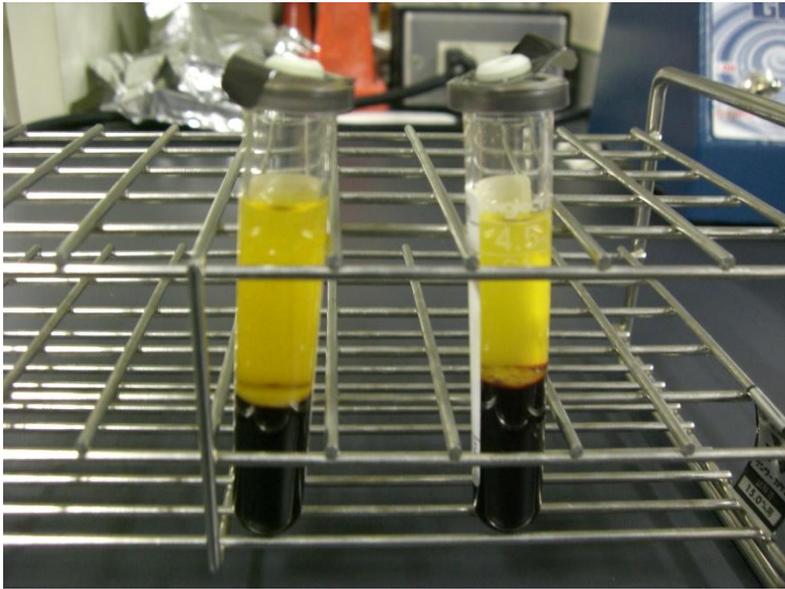


図 1-2 : platelet poor plasma の写真



図 1-3 : マルチチャンネル血小板凝集能測定装置 PAT-2M の写真

健康人の場合、図 2-1 のように ADP 滴下後、経時的に血小板は凝集し、滴下 10 分後には凝集が安定化する (図 2-1)。一方、抗血小板薬の服用患者では血小

血小板凝集は ADP 滴下後一時的な凝集（最大凝集）を示したのち、凝集が安定化する（残存凝集）（図 2-2）。そのため、血小板凝集能は、PRP を $5\mu\text{mol/L}$ 及び $20\mu\text{mol/L}$ の ADP 滴下後の最大凝集及び 10 分後の残存凝集を測定した。

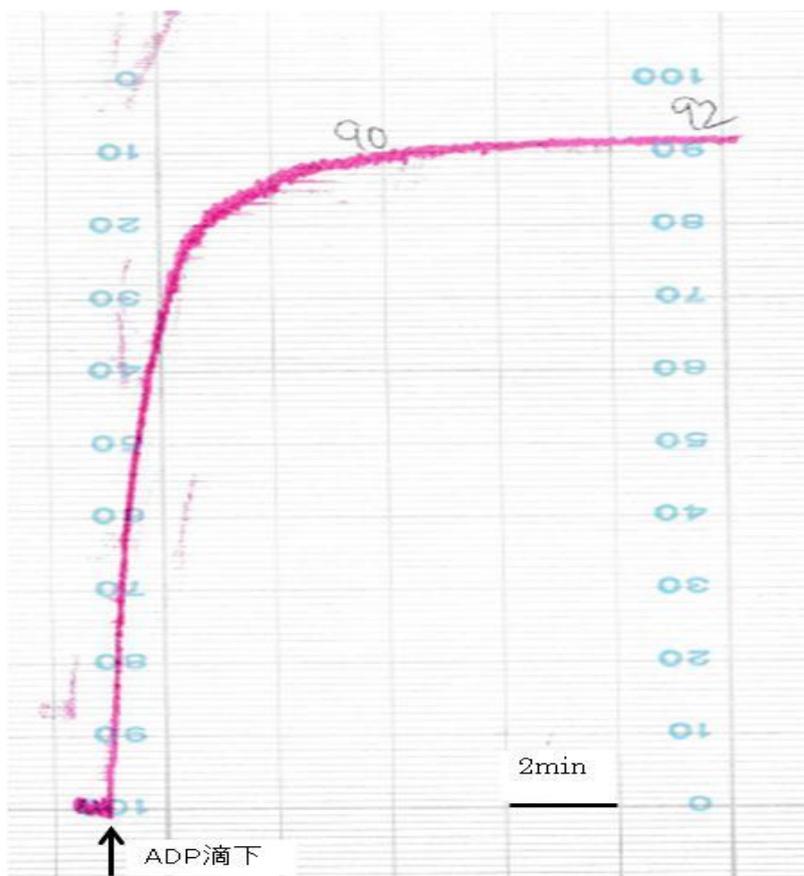


図 2-1：健康人の血小板凝集曲線

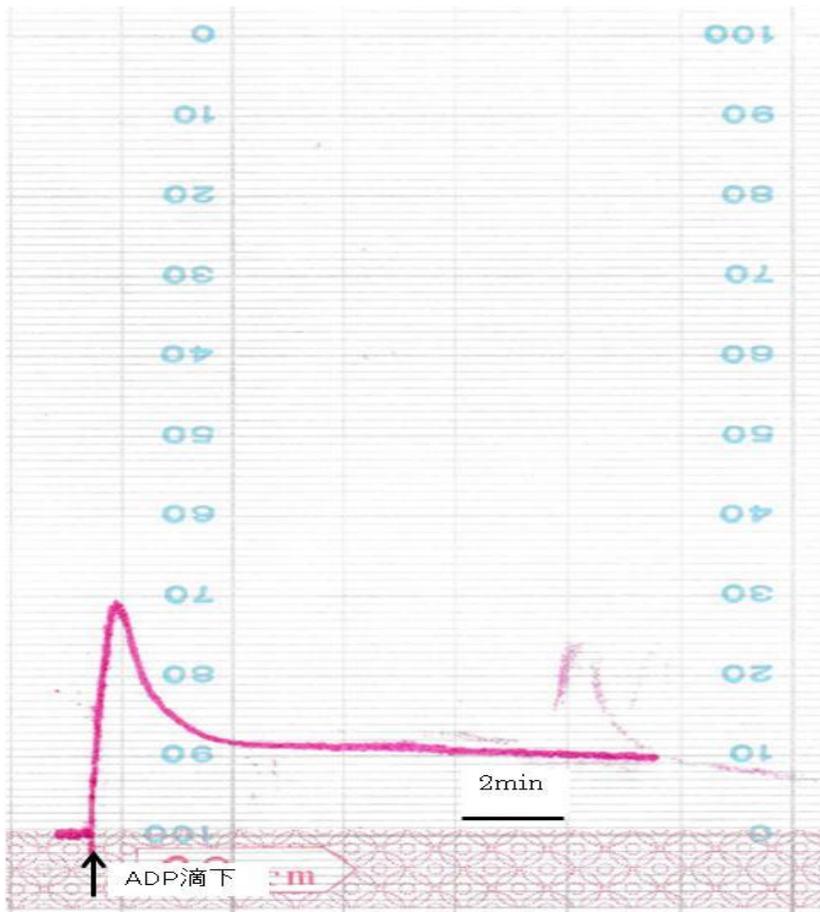


図 2-2：抗血小板薬服用患者の血小板凝集曲線

CYP2C19の遺伝子多型測定

DNA は EDTA 真空採血管に採取した血液検体 2 μ L より TaqMan Sample-to-SNP kit (life technologies 社、米国) を用いて抽出し、TaqMan 法を用いた real-time PCR により *CYP2C19*2* (681G>A) (rs4244285) 及び *CYP2C19*3* (636G>A) (rs4986893) を解析した。なお、プライマーおよび TaqMan プローブは TaqMan SNP genotyping assays (life technologies 社) を用いた (*CYP2C19*2*, *CYP2C19*3* の assay IDs はそれぞれ C_25986767_70、C_27861809_10)。なお、*CYP2C19* 遺伝子多型に応じて、3 群に被験者を分類した； Extensive metabolizer (EM)： *CYP2C19*1/*1*、Intermediate

metabolizer (IM) : *CYP2C19**1/*2, *1/*3、Poor metabolizer (PM) :
*CYP2C19**2/*2, *2/*3, *3/*3。

統計解析

統計は StatView (SAS Institute、Cary、NC、米国) ソフトを使用し、2群間の差は student's *t*-test を用いて行い、多群間は分散分析を行い Scheffe's post hoc test により群間差の検定を行った。なお、有意水準は $P < 0.05$ とした。

結果

被験者は全 165 名であり、アスピリン+クロピドグレル併用群は 97 名、アスピリン+チクロピジン併用群は 47 名、アスピリン単剤服用群は 21 名であった。その *CYP2C19* 遺伝子多型を含む患者背景を (表 1) に示す。

表 1 : 患者背景

	Clopidogrel + Aspirin				Ticlopidine + Aspirin				Aspirin alone
	EM	IM	PM	Total	EM	IM	PM	Total	Total
n (%)	34 (35)	46 (47)	17 (18)	97	15 (32)	23 (49)	9 (19)	47	21
Male (%)	26 (76)	31 (67)	10 (59)	67 (69)	10 (67)	18 (78)	3 (33)	31 (66)	15 (71)
Age (year)	67±10	67±9	66±11	67±10	69±8	69±8	74±9	70±8	71±6
BMI	24.0±3.2	24.1±3.1	23.9±3.0	24.0±3.1	23.1±3.4	22.9±2.7	22.0±3.7	22.8±3.1	24.4±6.4
Diabetes (%)	6 (18)	14 (30)	4 (24)	24 (25)	6 (40)	3 (13)	6 (67)	9 (32)	6 (29)
Current smoker (%)	2 (6)	7 (15)	3 (18)	12 (12)	0 (0)	2 (9)	0 (0)	2 (4)	1 (5)
Platelet count (10 ⁴ /μL)	20.8±7.8	21.0±4.9	18.7±3.3	20.6±6.0	20.6±8.6	23.0±9.5	15.3±5.2	20.7±8.8	20.6±8.6

Data are expressed as the mean ± S.D.

CYP2C19 遺伝子多型の割合は *CYP2C19* *1/*1, *1/*2, *1/*3, *2/*2, *2/*3, *3/*3 がそれぞれ 33%, 36%, 14%, 8%, 8%, 0.6%であった。クロピドグレル群の *CYP2C19* の遺伝子多型の割合は *CYP2C19* *1/*1 (extensive metabolizer; EM)、*CYP2C19* *1/*2, *1/*3 (intermediate metabolizer ; IM)、*CYP2C19**2/*2, *2/*3, *3/*3 (poor metabolizer ; PM) がそれぞれ、34 名 (35%)、46 名 (47%)、17 名 (18%) であり、チクロピジン群の 15 名 (32%)、23 名 (49%)、9 名 (19%) と同程度であった。この *CYP2C19* 遺伝子多型の構成比率は過去の本邦での報告と同程度である^(14, 15, 25)。なお、1 名のアスピリン+クロピドグレル併用患者 (PM) 患者において、血小板凝集能が健康人と同程度の値を示したが、この患者については後日の面談において服薬状況が不良であったことが確認された

め、解析からは除外した。

ADP 5 μ mol/L と 20 μ mol/L に対する血小板凝集能

ADP 5 μ mol/L と 20 μ mol/L の両濃度における血小板凝集能の結果は同様であった (data not shown)。また、ADP 20 μ mol/L では 5 μ mol/L よりも *CYP2C19* 遺伝子多型による群間差が大きく認められたことから (data not shown)、以下の検討は ADP 20 μ mol/L 刺激によって得られた血小板凝集能の値を用いて行った。

クロピドグレルとチクロピジンの血小板凝集抑制効果

血小板凝集能は、最大凝集では健康人群で 84.8 \pm 5.7%であったのに対し、アスピリン単剤服用群で 56.0 \pm 8.5%、アスピリン+クロピドグレル併用群で 46.5 \pm 9.1%、アスピリン+チクロピジン併用群で 40.7 \pm 9.0%であった。一方、残存凝集でも同様の傾向が認められ、血小板残存凝集能は健康人群、アスピリン単剤服用群、アスピリン+クロピドグレル併用群、アスピリン+チクロピジン併用群でそれぞれ 83.8 \pm 5.2%、45.8 \pm 8.5%、24.9 \pm 10.0%、20.2 \pm 8.0%であった。いずれもアスピリン単剤服用群と比較し、併用群では有意 ($p < 0.001$) に血小板凝集能は低下していた。さらに、チクロピジン併用群では、クロピドグレル併用群より血小板凝集能は有意に ($p < 0.05$) 低値を示した (図 3)。

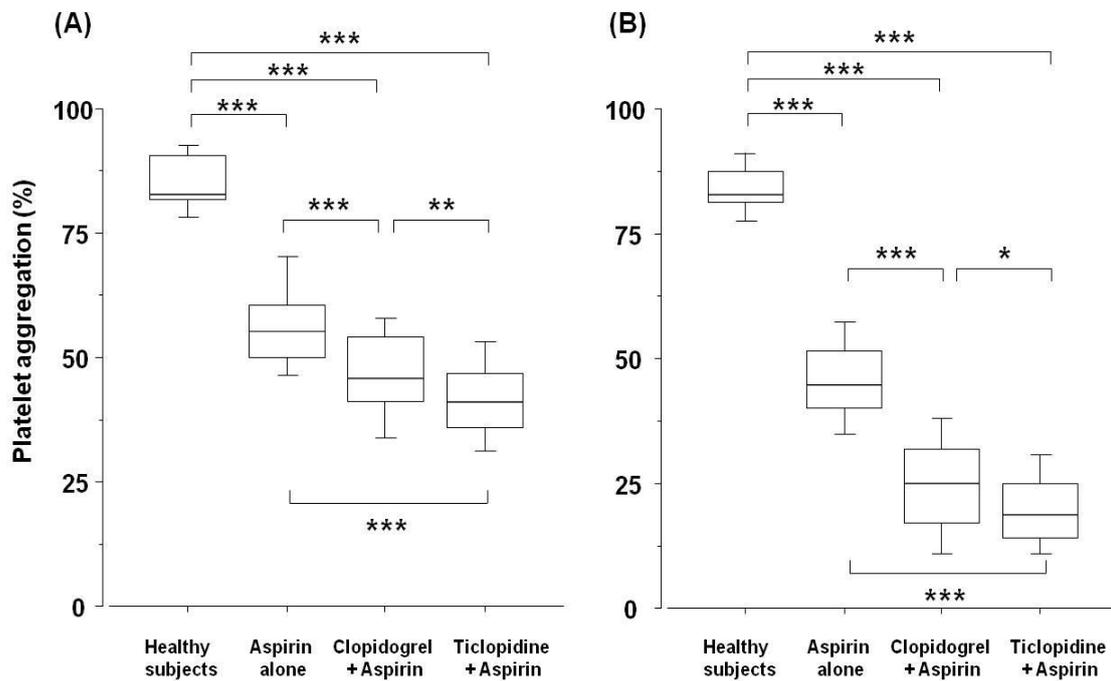


図 3 : Platelet aggregation in each treatment group

Platelet aggregation induced by 20 $\mu\text{mol/L}$ ADP (A, maximum platelet aggregation; B, residual platelet aggregation) was measured in healthy subjects ($n = 9$) and patients receiving antiplatelet therapy (aspirin alone, $n = 21$; aspirin plus clopidogrel, $n = 96$; or aspirin plus ticlopidine, $n = 47$). The lines within boxes represent median values; the upper and lower lines of the boxes represent the 25th and 75th percentiles, respectively, and the upper and lower bars outside the boxes represent the 90th and 10th percentiles, respectively. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$.

クロピドグレルとチクロピジンの血小板凝集抑制効果に及ぼす *CYP2C19* 遺伝子多型の影響

クロピドグレル併用群における、最大血小板凝集は EM、IM、PM 群でそれぞれ $42.1 \pm 8.2\%$ 、 $48.2 \pm 9.4\%$ 、 $50.8 \pm 6.0\%$ 、残存凝集では EM、IM、PM 群

でそれぞれ $19.0 \pm 8.3\%$ 、 $26.2 \pm 9.2\%$ 、 $33.8 \pm 7.8\%$ であった。この結果は過去の海外の報告⁽¹⁰⁾と同様、クロピドグレル併用群の血小板凝集能は、*CYP2C19* EM、IM、PMの順に高値であり、*CYP2C19* 機能喪失型対立遺伝子保持患者においてクロピドグレルの血小板凝集抑制効果の減弱が認められた。特に最大凝集については、PM群においてアスピリン単剤服用群との有意差を認めなかった (図 4A)。

また、血小板凝集能を残存凝集で検討した場合には、*CYP2C19* 遺伝子多型の影響は最大凝集よりもさらに顕著であったが、クロピドグレル服用 PM群においても、アスピリン単剤服用群と比較して有意な血小板凝集抑制を認めた (図 5A)。

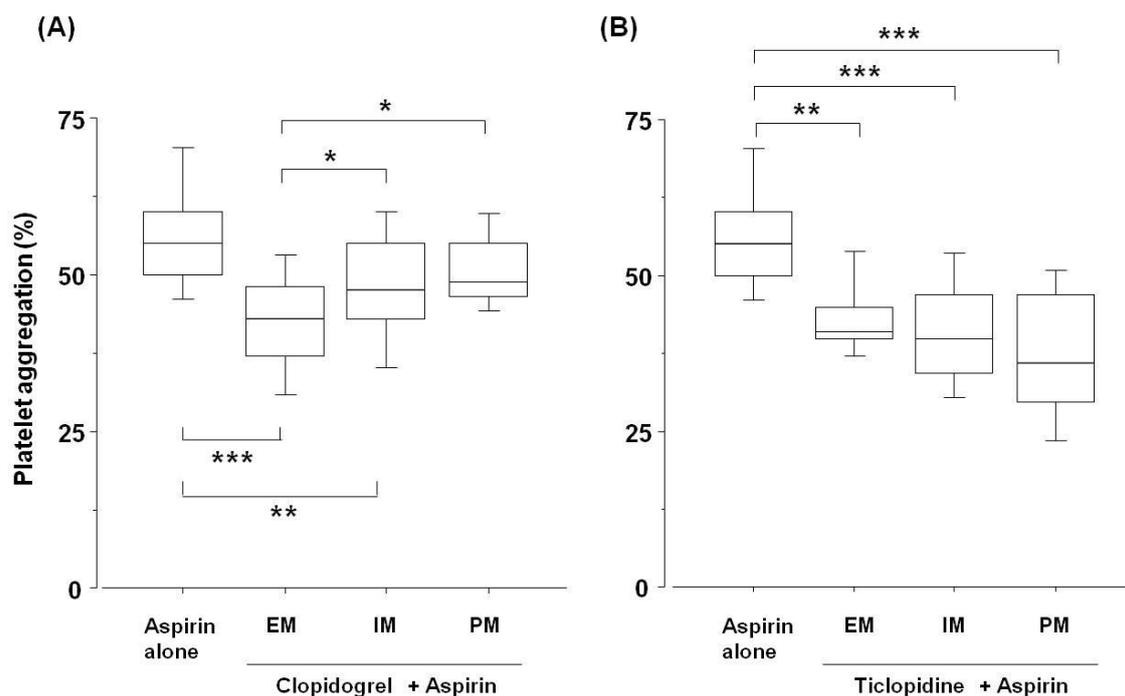


図 4 : Maximum platelet aggregation in each *CYP2C19* phenotype group.

All subjects were genotyped for the *CYP2C19**2 (681G>A) and *CYP2C19**3 (636G>A) alleles and divided into three groups: extensive metabolizers (EM),

*CYP2C19**1/*1; intermediate metabolizers (IM), *CYP2C19**1/*2 and *1/*3, and poor metabolizers (PM), *CYP2C19**2/*2, *2/*3, and *3/*3. Maximum platelet aggregation induced by 20 μ mol/L ADP was measured in patients treated with aspirin plus clopidogrel (A) or aspirin plus ticlopidine (B).

*P < 0.05, **P < 0.01, ***P < 0.001.

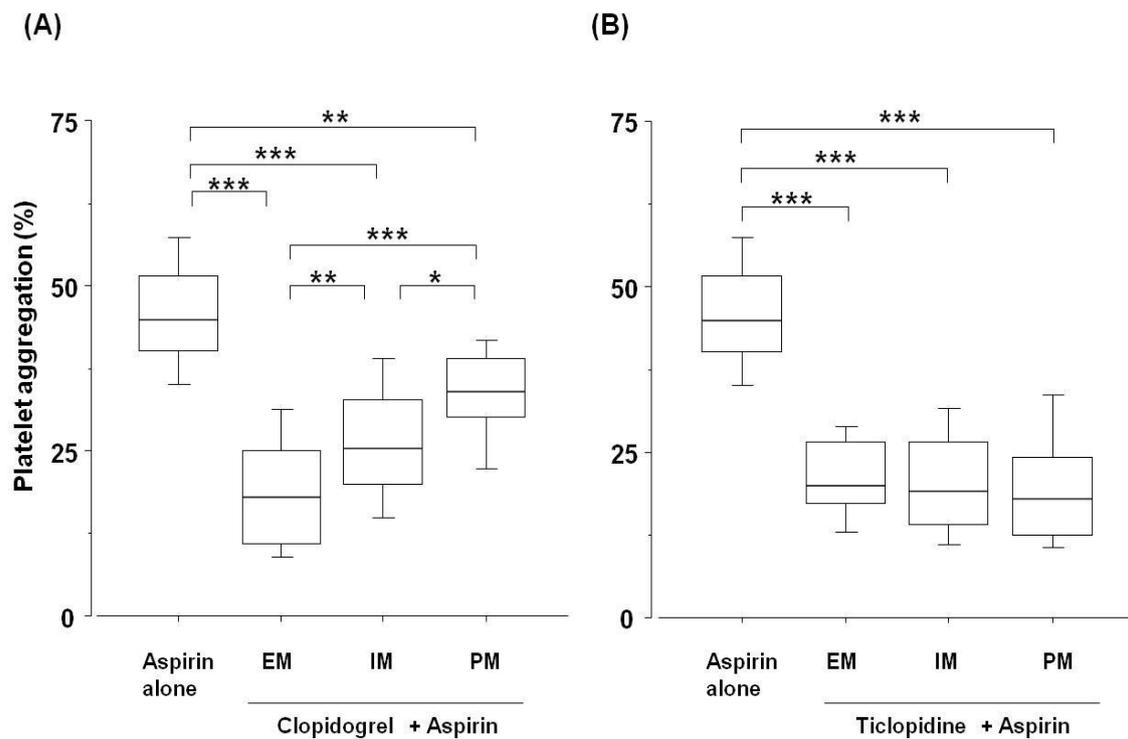


図 5 : Residual platelet aggregation in each *CYP2C19* phenotype group

Residual platelet aggregation induced by 20 μ mol/L ADP was measured in patients treated with aspirin plus clopidogrel (A) or aspirin plus ticlopidine (B). *P < 0.05, **P < 0.01, ***P < 0.001.

一方、チクロピジン群では血小板凝集能は、最大血小板凝集では EM、IM、PM 群でそれぞれ $43.5 \pm 6.1\%$ 、 $40.0 \pm 9.7\%$ 、 $37.9 \pm 10.6\%$ 、残存凝集では $20.8 \pm$

7.2%、 $20.2 \pm 8.4\%$ 、 $19.1 \pm 9.1\%$ と群間での有意差はなく *CYP2C19* 遺伝子多型の影響は認められなかった。これらの血小板凝集能はいずれの遺伝子多型群においてもクロピドグレル併用の *CYP2C19* EM 群と同程度であり、*CYP2C19* PM 患者よりも有意に血小板凝集能が低下していた (図 4・5)。

これらの結果が判明したため、一部のクロピドグレル群 PM 患者 (7 名) では、主治医が患者と相談し、実臨床において服用薬がチクロピジンに変更された。その後、患者の同意を得て薬物変更後の血小板凝集能の値を再度測定したところ、2 週間後の採血においてすべての患者で血小板凝集能の低下を認めた ($33.4 \pm 9.4\%$ v.s. $17.3 \pm 5.6\%$) ($P < 0.01$) (図 6)。

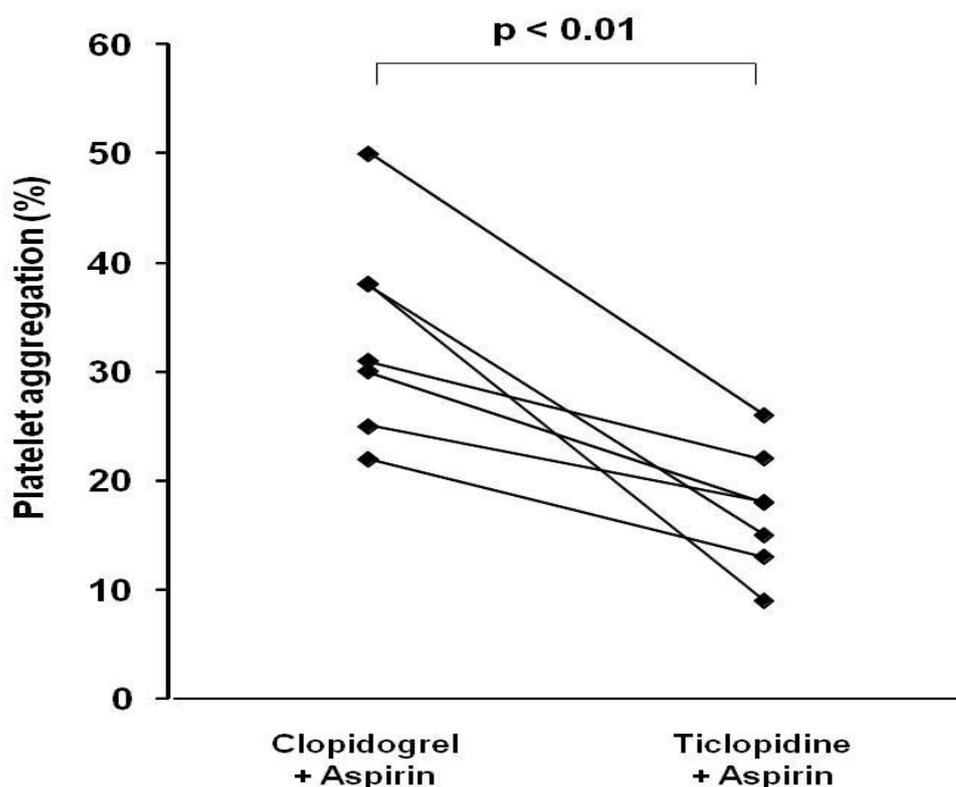


図 6 : Residual platelet aggregations before and after switching from clopidogrel to ticlopidine in *CYP2C19* poor metabolizer patients.

Residual platelet aggregation induced by 20 $\mu\text{mol/L}$ ADP was measured in 7 poor metabolizer patients before and after switching from clopidogrel to

ticlopidine.

クロピドグレルとチクロピジンの血小板凝集抑制効果に及ぼす PPI の影響

本研究では、クロピドグレル服用群の 97 名中 24 名 (25%)、チクロピジン群の 47 名中 10 名 (21%) が PPI を併用していた。また、他の CYP2C19 阻害薬 (ジアゼパム、ボリコナゾール、フルボキサミン) を服用している患者はいなかった。PPI の併用は、クロピドグレル群とチクロピジン群のどちらの群の血小板凝集抑制効果にも影響していなかった (表 2)。

表 2 : 抗血小板薬の薬効に及ぼす PPI の影響

		Clopidogrel + Aspirin				Ticlopidine + Aspirin			
		EM	IM	PM	Total	EM	IM	PM	Total
without PPI	n	25	33	14	72	12	19	6	37
	RPA (%)	17.7 ± 8.4	25.7 ± 9.0	33.5 ± 8.0	24.4 ± 10.3	20.1 ± 6.7	20.1 ± 8.4	19.8 ± 10.7	20.3 ± 8.1
with PPI	n	9	13	2	24	3	4	3	10
	RPA (%)	22.7 ± 7.6	27.5 ± 9.9	36.0 ± 8.5	26.4 ± 9.4	23.6 ± 9.9	18.3 ± 9.4	17.7 ± 6.5	19.7 ± 8.2
p value		0.13	0.57	N.D.	0.42	0.76	0.61	0.76	0.83

RPA : Residual platelet aggregation

クロピドグレルとチクロピジンの血小板凝集抑制効果に及ぼす肥満の影響

クロピドグレルの EM 群では、肥満患者 (a body mass index ; BMI ≥ 25 kg/m²)⁽²⁶⁾において、非肥満患者と比較し、血小板凝集能が有意に高値であった。このことより、一般的に良好な血小板抑制効果が得られる CYP2C19 EM 患者においても、肥満はクロピドグレルの効果を減弱する可能性がある (表 3)。

表 3 : 抗血小板薬の薬効に及ぼす肥満の影響

BMI	Clopidogrel + Aspirin				Ticlopidine + Aspirin				
	EM	IM	PM	Total	EM	IM	PM	Total	
< 25	n	25	30	12	67	11	19	7	37
	RPA (%)	17.1 ± 7.4	26.4 ± 9.8	33.1 ± 8.7	24.7 ± 10.5	20.5 ± 4.8	18.6 ± 7.7	17.6 ± 9.9	19.0 ± 7.3
25 ≤	n	9	16	4	29	4	4	2	10
	RPA (%)	24.4 ± 8.9	25.9 ± 8.5	36.0 ± 4.3	26.8 ± 8.8	21.5 ± 12.7	27.8 ± 8.8	24.5 ± 0.7	24.6 ± 9.4
p value		0.02	0.86	0.54	0.23	0.83	0.05	N.D.	0.05

考察

我々は日本人の冠動脈疾患患者を対象に、クロピドグレルとチクロピジンの抗血小板凝集効果に及ぼす *CYP2C19* 遺伝子多型の影響について調査した。その結果、過去の海外での結果⁽¹⁰⁾と同様に、*CYP2C19* 機能喪失型対立遺伝子 (*CYP2C19**2 or/and *3) を保持している患者は、他の患者と比較してクロピドグレルによる抗血小板凝集効果は乏しいことが明らかとなった。

In vitro 試験の結果よりチクロピジンは *CYP2C19* を含む *CYP* isoforms にて代謝されることで効果を発揮するプロドラッグであると報告⁽²²⁾されているが、本試験においてチクロピジン服用患者の血小板凝集能は、*CYP2C19* のすべての遺伝子多型において十分な抗血小板凝集効果を認めた。このことは、*in vivo* において、チクロピジンの活性代謝には *CYP2C19* 活性が必須ではないことが示唆される。

抗血小板薬の効果の評価方法は、今回我々が行った ADP 刺激による蛍光透過

性試験のほかに、VerifyNow[®]を用いた方法などが用いられるが、蛍光透過性試験は臨床的アウトカムを予測するうえで有用であることが知られている^(6, 27)。我々の試験では、ADP 5 μ mol/L 及び 20 μ mol/L 刺激による最大凝集及び残存凝集を測定し、その結果はすべての評価方法において同様の傾向を認めた。現在のところ、どの評価方法が心血管イベントを予測するうえで最も適切であるかは十分に検討されていないが、クロピドグレルは CYP2C19 機能喪失型対立遺伝子保持患者においても心血管イベント抑制効果を示すことが報告⁽²⁸⁾されていることから、クロピドグレルは CYP2C19 機能喪失型対立遺伝子保持患者に対して一定の抗血小板抑制効果が得られるものと推察される。そのことから今回クロピドグレル併用 CYP2C19 PM 患者とアスピリン単剤服用患者の比較において有意差を認めなかった最大凝集による評価は適切ではなく、残存凝集を用いた血小板凝集能での評価が心血管イベントを予測するうえで妥当ではないかと考える。また、残存凝集能は CYP2C19 遺伝子多型の影響を大きく反映おり、CYP2C19 機能喪失型対立遺伝子によるリスクを探索するうえでも有用であると推察される。

本研究では、CYP2C19 PM 患者においてクロピドグレルからチクロピジンへ服用薬を変更したところ、すべての患者で血小板凝集能が低下した。この結果は、クロピドグレルの効果が減弱する CYP2C19 PM 患者においても、チクロピジンは強い血小板凝集抑制効果を有しており、CYP2C19 PM 患者に対する心血管イベントのリスク軽減に寄与することを示唆する。

心血管系イベント発症リスクは血小板凝集能以外にもステントの種類や心拍出率などでも異なり⁽²⁹⁾、ハイリスク症例ではより厳密な血小板凝集能の管理が必要とされる。近年、PPI の併用により、CYP2C19 が競合阻害されクロピドグレルの活性が減弱することが懸念されていたが⁽²⁴⁾、本試験では PPI 併用による

血小板凝集能への影響は、チクロピジン服用患者はもちろんのことクロピドグレル服用患者においても認められなかった。

この矛盾については、試験に登録された PPI 併用患者数が乏しいことに起因する可能性がある。実際に、CYP2C19 EM のクロピドグレル服用患者においては、PPI 非併用患者と比較し、PPI 併用により血小板凝集能は高値を示す傾向にあった (22.7% vs. 17.7%, $p = 0.13$)。しかしながら、今回の結果より、クロピドグレルの効果に及ぼす PPI の影響は CYP2C19 遺伝子多型によるものよりも小さいことが明らかになった。

一方、海外で主に使用されているオメプラゾールに比べ、日本国内において使用されることの多いランソプラゾールやラベプラゾールは CYP2C19 阻害の程度が軽度であることから⁽³⁰⁾、海外における PPI とクロピドグレルの相互作用の報告を国内の臨床と結び付けることは早計であるとも考えられる。過去の研究において、クロピドグレルと PPI 併用による薬物相互作用の程度は CYP2C19 遺伝子多型において異なり、CYP2C19 機能喪失型対立遺伝子保持患者では相互作用は小さいことが確認されている⁽³¹⁾。本試験においても同様の傾向が認められており、日本人は欧米人と比較し CYP2C19 遺伝子多型の頻度が高いこと^{7, 8)}を考慮すると、国内での PPI とクロピドグレルとの薬物相互作用を検討する場合には、CYP2C19 遺伝子多型ごとに各 PPI 併用による相互作用の検討を行う必要性があると考えられた。そのため、我々は本試験終了後に症例数を増加させた新たな臨床試験を行い、CYP2C19 遺伝子多型別にクロピドグレルと各 PPI との相互作用を検討した⁽³²⁾。

その結果は本試験同様、クロピドグレル服用患者における PPI の併用による血小板凝集能への有意な影響は認められなかった。加えて CYP2C19 遺伝子多型別に併用された PPI ごとに検討を行った結果、ランソプラゾール及びラベプラ

ゾール併用におけるクロピドグレルの血小板凝集能抑制効果への影響はいずれの遺伝子型においても小さいことが明らかになった。

しかしながら、ランソプラゾールは EM 群において血小板凝集能の上昇傾向 ($P=0.144$) を認めており、この要因としてはランソプラゾールの CYP2C19 阻害作用がラベプラゾールより強いこと⁽³⁰⁾や、EM 群では CYP2C19 酵素活性が強く IM/PM 群よりも相互作用を受けやすいこと⁽³¹⁾が考えられる。しかしながら、追加試験の EM 群におけるランソプラゾール併用患者においても血小板凝集能は、IM/PM 群の PPI 非併用患者と比較すると低値であり、海外における報告⁽³³⁾と同様に PPI 併用による血小板凝集抑制効果の減弱が及ぼす心血管系イベントに対する臨床的意義は CYP2C19 機能喪失型遺伝子保持と比較し小さく、クロピドグレル投与中のランソプラゾールやラベプラゾールの併用は臨床的に問題ないと推察された。

以上の結果より、CYP2C19 EM 及び IM 患者が PPI を併用することよりも CYP2C19 PM はクロピドグレルの効果減弱によってもたらされる心血管系イベントの強い危険因子であることが推察された。

チクロピジンはクロピドグレルと比較し、冠動脈疾患患者に対して同程度の再発予防効果を認めているが、肝機能障害など有害反応の発現率が高く忍容性で劣るとされている^(21, 34)。本試験においても、クロピドグレルからチクロピジンに服用薬を変更した患者 1 名は軽度の血清トランスアミラーゼの上昇のため、服用の継続ができなかった。それゆえ、CYP2C19 PM 患者に対して抗血小板療法をクロピドグレルからチクロピジンに切り替える際には十分は注意を行いながら実施する必要がある。

また、本試験では CYP2C19 EM 患者においてクロピドグレルの抗血小板凝集効果が肥満 ($BMI \geq 25 \text{ kg/m}^2$) によって影響を受けることが示された。Angiolillo

らは冠動脈ステント留置を受けている患者において、肥満がクロピドグレルの初回負荷量に対する効果を減弱する因子であることを報告している⁽³⁵⁾。大規模研究においてはクロピドグレルの臨床上の効果はCYP2C19機能喪失型対立遺伝子が強い独立性の危険因子であることを示しているが⁽²⁸⁾、それらの試験は我々の実施した試験とは異なり多くの肥満患者が登録されていることから、非肥満患者に対するCYP2C19機能喪失型対立遺伝子が及ぼすクロピドグレルの治療効果減弱による心血管系イベントリスクについては、今後も検討の余地があるものと考えられる。

近年、大規模な臨床研究において、新規抗血小板薬であるticagrelor^(18, 19)及びprasugrel^(16, 17)といったP2Y₁₂受容体抑制薬がクロピドグレルで治療を受ける患者より、心血管イベントを抑制したと報告されている。TicagrelorとprasugrelはともにCYP2C19遺伝子多型の影響を受けないことやチエノピリジン誘導体の抗血小板薬より臨床的に優れた効果が確認されているが^(36, 37)、これら薬物の効果の優越性は遺伝子多型による効果のバラツキの少なさが一部分影響を受けていると考えられる。海外でのCYP2C19遺伝子多型（PM型）は5%程度であるが、日本人においては20%と多くを占めることを考慮するとこれら新薬は日本人において有用であると期待される。これらの新規抗血小板薬が従来のチエノピリジン系抗血小板薬よりも実際に優れた効果を示すかどうかは、今後の検討が必要である。

結論

本試験において、海外ですでに報告された心血管患者に対するCYP2C19機能喪失型遺伝子によるクロピドグレルの抗血小板凝集効果減弱に及ぼす影響を国内の患者においても確認することができた。一方、チクロピジンはクロピド

ゲレルとは異なり、抗血小板作用発現に *CYP2C19* 遺伝子多型の影響はなく、*CYP2C19* PM 患者においても有効であることが示唆された。

引用文献

1. Leon MB, Baim DS, Popma JJ, Gordon PC, Cutlip DE, Ho KK, Giambartolomei A, Diver DJ, Lasorda DM, Williams DO, Pocock SJ and Kuntz RE: A clinical trial comparing three antithrombotic-drug regimens after coronary-artery stenting. Stent Anticoagulation Restenosis Study Investigators. *N Engl J Med* 339: 1665-1671, 1998.
2. Steinhubl S, Berger P, Mann Jr, Fry E, DeLago A, Wilmer C, Topol E and Observation CICftRoED: Early and sustained dual oral antiplatelet therapy following percutaneous coronary intervention: a randomized controlled trial. *JAMA* 288: 2411-2420, 2002.
3. Bhatt D, Bertrand M, Berger P, L'Allier P, Moussa I, Moses J, Dangas G, Taniuchi M, Lasala J, Holmes D, Ellis S and Topol E: Meta-analysis of randomized and registry comparisons of ticlopidine with clopidogrel after stenting. *J Am Coll Cardiol* 39: 9-14, 2002.
4. van Werkum JW, Heestermaans AA, Zomer AC, Kelder JC, Suttorp MJ, Rensing BJ, Koolen JJ, Brueren BR, Dambrink JH, Hautvast RW, Verheugt FW and ten Berg JM: Predictors of coronary stent thrombosis: the Dutch Stent Thrombosis Registry. *J Am Coll Cardiol* 53: 1399-1409, 2009.
5. Lasala JM, Cox DA, Dobies D, Baran K, Bachinsky WB, Rogers EW, Breall JA, Lewis DH, Song A, Starzyk RM, Mascioli SR, Dawkins KD and Baim DS: Drug-eluting stent thrombosis in routine clinical practice: two-year outcomes and predictors from the TAXUS ARRIVE registries. *Circ Cardiovasc Interv* 2: 285-293, 2009.
6. Snoep J, Hovens M, Eikenboom J, van der Bom J, Jukema J and Huisman M: Clopidogrel nonresponsiveness in patients undergoing percutaneous coronary intervention with stenting: a systematic review and meta-analysis. *Am Heart J* 154: 221-231, 2007.
7. Farid N, Payne C, Small D, Winters K, Ernest Cn, Brandt J, Darstein C, Jakubowski J and Salazar D: Cytochrome P450 3A inhibition by ketoconazole affects prasugrel and clopidogrel pharmacokinetics and pharmacodynamics differently. *Clin Pharmacol Ther* 81: 735-741, 2007.
8. Brandt J, Close S, Iturria S, Payne C, Farid N, Ernest Cn, Lachno D, Salazar D and Winters K: Common polymorphisms of CYP2C19 and CYP2C9 affect the pharmacokinetic and pharmacodynamic response to clopidogrel but not prasugrel. *J*

- Thromb Haemost* 5: 2429-2436, 2007.
9. Clarke T and Waskell L: The metabolism of clopidogrel is catalyzed by human cytochrome P450 3A and is inhibited by atorvastatin. *Drug Metab Dispos* 31: 53-59, 2003.
 10. Mega JL, Close SL, Wiviott SD, Shen L, Hockett RD, Brandt JT, Walker JR, Antman EM, Macias W, Braunwald E and Sabatine MS: Cytochrome p-450 polymorphisms and response to clopidogrel. *N Engl J Med* 360: 354-362, 2009.
 11. Simon T, Verstuyft C, Mary-Krause M, Quteineh L, Drouet E, Méneveau N, Steg P, Ferrières J, Danchin N, Becquemont L and Investigators FRoAS-EaN-S-EMIF-M: Genetic determinants of response to clopidogrel and cardiovascular events. *N Engl J Med* 360: 363-375, 2009.
 12. Geisler T, Schaeffeler E, Dippon J, Winter S, Buse V, Bischofs C, Zuern C, Moerike K, Gawaz M and Schwab M: CYP2C19 and nongenetic factors predict poor responsiveness to clopidogrel loading dose after coronary stent implantation. *Pharmacogenomics* 9: 1251-1259, 2008.
 13. Sofi F, Giusti B, Marcucci R, Gori AM, Abbate R and Gensini GF: Cytochrome P450 2C19*2 polymorphism and cardiovascular recurrences in patients taking clopidogrel: a meta-analysis. *Pharmacogenomics J* 11: 199-206, 2011.
 14. Jinnai T, Horiuchi H, Makiyama T, Tazaki J, Tada T, Akao M, Ono K, Hoshino K, Naruse Y, Takahashi K, Watanabe H, Kita T and Kimura T: Impact of CYP2C19 polymorphisms on the antiplatelet effect of clopidogrel in an actual clinical setting in Japan. *Circ J* 73: 1498-1503, 2009.
 15. Umemura K, Furuta T and Kondo K: The common gene variants of CYP2C19 affect pharmacokinetics and pharmacodynamics in an active metabolite of clopidogrel in healthy subjects. *J Thromb Haemost* 6: 1439-1441, 2008.
 16. Wiviott SD, Trenk D, Frelinger AL, O'Donoghue M, Neumann FJ, Michelson AD, Angiolillo DJ, Hod H, Montalescot G, Miller DL, Jakubowski JA, Cairns R, Murphy SA, McCabe CH, Antman EM, Braunwald E and Investigators P-T: Prasugrel compared with high loading- and maintenance-dose clopidogrel in patients with planned percutaneous coronary intervention: the Prasugrel in Comparison to Clopidogrel for Inhibition of Platelet Activation and Aggregation-Thrombolysis in Myocardial Infarction 44 trial. *Circulation* 116: 2923-2932, 2007.
 17. Wiviott S, Braunwald E, McCabe C, Montalescot G, Ruzyllo W, Gottlieb S, Neumann F, Ardissino D, De Servi S, Murphy S, Riesmeyer J, Weerakkody G, Gibson C, Antman E and Investigators T-T: Prasugrel versus clopidogrel in patients with acute coronary syndromes. *N Engl J Med* 357: 2001-2015, 2007.

18. Wallentin L, Becker R, Budaj A, Cannon C, Emanuelsson H, Held C, Horrow J, Husted S, James S, Katus H, Mahaffey K, Scirica B, Skene A, Steg P, Storey R, Harrington R, Freij A, Thorsén M and Investigators P: Ticagrelor versus clopidogrel in patients with acute coronary syndromes. *N Engl J Med* 361: 1045-1057, 2009.
19. Cannon C, Harrington R, James S, Ardissino D, Becker R, Emanuelsson H, Husted S, Katus H, Keltai M, Khurmi N, Kontny F, Lewis B, Steg P, Storey R, Wojdyla D, Wallentin L and Investigators PiapO: Comparison of ticagrelor with clopidogrel in patients with a planned invasive strategy for acute coronary syndromes (PLATO): a randomised double-blind study. *Lancet* 375: 283-293, 2010.
20. Taniuchi M, Kurz HI and Lasala JM: Randomized Comparison of Ticlopidine and Clopidogrel After Intracoronary Stent Implantation in a Broad Patient Population. *Circulation* 104: 539-543, 2001.
21. Müller C, Büttner H, Petersen J and Roskamm H: A randomized comparison of clopidogrel and aspirin versus ticlopidine and aspirin after the placement of coronary-artery stents. *Circulation* 101: 590-593, 2000.
22. Hagihara K, Nishiya Y, Kurihara A, Kazui M, Farid N and Ikeda T: Comparison of human cytochrome P450 inhibition by the thienopyridines prasugrel, clopidogrel, and ticlopidine. *Drug Metab Pharmacokinet* 23: 412-420, 2008.
23. Quinn M and Fitzgerald D: Ticlopidine and clopidogrel. *Circulation* 100: 1667-1672, 1999.
24. Ho PM, Maddox TM, Wang L, Fihn SD, Jesse RL, Peterson ED and Rumsfeld JS: Risk of adverse outcomes associated with concomitant use of clopidogrel and proton pump inhibitors following acute coronary syndrome. *JAMA* 301: 937-944, 2009.
25. Furuta T, Shirai N, Sugimoto M, Nakamura A, Hishida A and Ishizaki T: Influence of CYP2C19 pharmacogenetic polymorphism on proton pump inhibitor-based therapies. *Drug Metab Pharmacokinet* 20: 153-167, 2005.
26. Japan ECoCfODi and Obesity JSftSo: New criteria for 'obesity disease' in Japan. *Circ J* 66: 987-992, 2002.
27. Breet NJ, van Werkum JW, Bouman HJ, Kelder JC, Ruven HJ, Bal ET, Deneer VH, Harmsze AM, van der Heyden JA, Rensing BJ, Suttorp MJ, Hackeng CM and ten Berg JM: Comparison of platelet function tests in predicting clinical outcome in patients undergoing coronary stent implantation. *JAMA* 303: 754-762, 2010.
28. Pare G, Mehta SR, Yusuf S, Anand SS, Connolly SJ, Hirsh J, Simonsen K, Bhatt DL, Fox KA and Eikelboom JW: Effects of CYP2C19 genotype on outcomes of clopidogrel treatment. *N Engl J Med* 363: 1704-1714, 2010.
29. Trenk D, Hochholzer W, Fromm MF, Chialda LE, Pahl A, Valina CM, Stratz C,

- Schmiebusch P, Bestehorn HP, Buttner HJ and Neumann FJ: Cytochrome P450 2C19 681G>A polymorphism and high on-clopidogrel platelet reactivity associated with adverse 1-year clinical outcome of elective percutaneous coronary intervention with drug-eluting or bare-metal stents. *J Am Coll Cardiol* 51: 1925-1934, 2008.
30. Li XQ, Andersson TB, Ahlström M and Weidolf L: Comparison of inhibitory effects of the proton pump-inhibiting drugs omeprazole, esomeprazole, lansoprazole, pantoprazole, and rabeprazole on human cytochrome P450 activities. *Drug Metab Dispos* 32: 821-827, 2004.
31. Furuta T, Iwaki T and Umemura K: Influences of different proton pump inhibitors on the anti-platelet function of clopidogrel in relation to CYP2C19 genotypes. *Br J Clin Pharmacol* 70: 383-392, 2010.
32. 前田 章, 安藤 仁, 浅井 徹, 石黒 久, 梅本 紀, 志水 清, 伊藤 基, 細畑 圭, 牛島 健 and 藤村 昭: CYP2C19 遺伝子多型別にみたクロピドグレルの薬効に対する各PPIの影響. *医療薬* 37: 481-485, 2011.
33. O'Donoghue ML, Braunwald E, Antman EM, Murphy SA, Bates ER, Rozenman Y, Michelson AD, Hautvast RW, Ver Lee PN, Close SL, Shen L, Mega JL, Sabatine MS and Wiviott SD: Pharmacodynamic effect and clinical efficacy of clopidogrel and prasugrel with or without a proton-pump inhibitor: an analysis of two randomised trials. *Lancet* 374: 989-997, 2009.
34. Bertrand M, Rupprecht H, Urban P, Gershlick A and Investigators C: Double-blind study of the safety of clopidogrel with and without a loading dose in combination with aspirin compared with ticlopidine in combination with aspirin after coronary stenting : the clopidogrel aspirin stent international cooperative study (CLASSICS). *Circulation* 102: 624-629, 2000.
35. Angiolillo D, Fernández-Ortiz A, Bernardo E, Barrera Ramírez C, Sabaté M, Fernandez C, Hernández-Antolín R, Escaned J, Alfonso F and Macaya C: Platelet aggregation according to body mass index in patients undergoing coronary stenting: should clopidogrel loading-dose be weight adjusted? *J Invasive Cardiol* 16: 169-174, 2004.
36. Wallentin L, James S, Storey RF, Armstrong M, Barratt BJ, Horrow J, Husted S, Katus H, Steg PG, Shah SH, Becker RC and investigators P: Effect of CYP2C19 and ABCB1 single nucleotide polymorphisms on outcomes of treatment with ticagrelor versus clopidogrel for acute coronary syndromes: a genetic substudy of the PLATO trial. *Lancet* 376: 1320-1328, 2010.
37. Mega JL, Close SL, Wiviott SD, Shen L, Walker JR, Simon T, Antman EM, Braunwald E and Sabatine MS: Genetic variants in ABCB1 and CYP2C19 and

cardiovascular outcomes after treatment with clopidogrel and prasugrel in the TRITON-TIMI 38 trial: a pharmacogenetic analysis. *Lancet* 376: 1312-1319, 2010.