

## ワルファリン維持投与量に対する性差の影響

わたなべ 渡辺	みのる 実 <sup>1</sup>	まつもと 松本	なおき 直樹 <sup>1</sup>	くまい 熊井	としお 俊夫 <sup>1,2</sup>	たなか 田中	まさみ <sup>1,3</sup> 政巳	たけば 武半	ゆうこ 優子 <sup>1</sup>
はりもと 張本	よしえ 敏江 <sup>1</sup>	むしゅ 武者	はるき <sup>4</sup> 春樹	たかはし 高橋	えいじ <sup>4</sup> 英二	やまうち 山内	まさひろ <sup>4</sup> 正博	いしかわゆ 石川由香子 <sup>5</sup>	かこ 香子 <sup>5</sup>
	たかの 高野	まこと <sup>5</sup> 誠	あかし 明石	よしひろ <sup>5</sup> 嘉浩	みやけ 三宅	ふみひこ <sup>5</sup> 良彦	こばやし 小林	しんいち 真一 <sup>1</sup>	

(受付:平成23年1月4日)

## 抄 録

これまでに, warfarin (WF) 投与量と VKORC1 の遺伝子型との関係についての報告はあるが, WF 投与量を体重補正しさらに性差について解析している報告は見当たらない。そこで今回体重補正した WF 投与量と S-WF 血中濃度, International Normalized Ratio (INR) および VKORC1 遺伝子型について解析した。聖マリアンナ医科大学病院および西部病院に通院中の WF 治療を行っている患者で INR が 1.6 台-2.6 台に良好にコントロールされている 172 例を対象とした。採血は通常診療の INR 検査用採血と同時に施行し, VKORC1 の遺伝子型は SmartAmp 法で, S-WF 血中濃度は抽出後 HPLC で測定した。WF の投与量に性差は認められなかったが(男性: 3.13±1.20 mg/day, 女性: 2.92±0.91 mg/day), 体重換算した WF の投与量は女性の方が有意に多く(女性: 3.36±1.14 mg/day/60 kg, 男性: 2.84±1.00 mg/day/60kg), さらに S-WF 血中濃度も女性の方が有意に高かった(女性: 666.3±350.8 ng/ml, 男性: 522.1±214.8 ng/ml)。INR には有意差が認められなかった(女性: 2.09±0.24, 男性: 2.03±0.27)。一方一般的に WF が効きにくいとされている VKORC1-GA 型の頻度は男性(23.6%, 29/123)に比べ女性(31.3%, 15/48)で高い傾向にあった。すなわち, 日本人において VKORC1-GA 型の頻度が男性に比べ女性で高い可能性が示された。このことは, 同等の INR となるように調節された女性の WF 投与量(体重 60 kg 当たり)と S-WF 血中濃度が男性に比べ高くなる要因の一つであると考えられた。

## 索引用語

ワルファリン, 性差, VKORC1

## 緒 言

ワルファリン (WF) はラセミ体 (R 体と S 体) で投与されており, S 体 (S-WF) は R 体 (R-WF) よ

りも 3~5 倍活性が強いと報告されている<sup>1)</sup>。臨床的には WF は血栓形成性疾患の治療薬として使用されるが, 投与量の個人差が大きく, 初期投与量の推測が困難な薬である。その一因として, WF の体内動態や薬効に関与する遺伝子 (CYP2C9 と VKORC1) の変異が考えられている<sup>2-4)</sup>。これまでに, WF 投与量と VKORC1 の遺伝子型との関係について検討した報告はいくつかある<sup>2-7)</sup>が, WF 投与量を体重補正しさらに性差について解析している

1 聖マリアンナ医科大学 薬理学教室  
2 聖マリアンナ医科大学大学院 遺伝子多型・機能解析  
3 聖マリアンナ医科大学大学院 実験動物施設  
4 聖マリアンナ医科大学横浜市西部病院 循環器内科  
5 聖マリアンナ医科大学病院 循環器内科

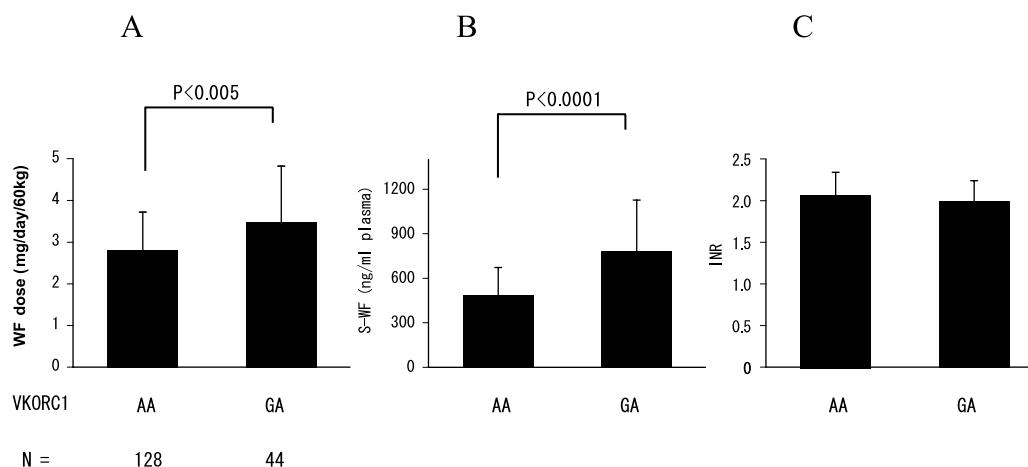


Fig. 1. Effects of VKORC1 genotype on (A) body weight adjusted WF dose, (B) S-WF plasma concentration, and (C) INR.

報告は見当たらない。そこで今回体重補正した WF 投与量と S-WF 血中濃度, INR (international normalized ratio) および VKORC1 遺伝子型について解析した。

#### 材料および方法

聖マリアンナ医科大学病院および西部病院に通院中の 6 カ月以上 WF 治療を行っている心房細動の患者で INR が 1.6 台–2.6 台に良好にコントロールされている 172 例を対象とした。採血は通常診療の INR 検査用採血と同時に施行した。VKORC1 (-1639 G>A) 遺伝子型の解析は SmartAmp (Smart Amplification Process) 法<sup>8)</sup>により行った。S-WF 血中濃度の測定は宇野等の方法<sup>9)</sup>に準じて行った。血漿 1 ml をジエチルエーテル: クロロホルム=80: 20 (4 ml) で抽出し, 風乾後移動相 (0.01 M リン酸緩衝液, pH 2.0: アセトニトリル=45: 55 v/v) 120  $\mu$ l に溶解した。ウルトラフリー (0.45  $\mu$ m) で濾過後 30  $\mu$ l を HPLC にアプライした。分離用のカラムは Chiralcel OD-RH column (150 x 4.6 mm, 粒径 5  $\mu$ m) を用い, 流速 0.5 ml/min, 検出波長 312 nm で測定した。統計解析は統計ソフト JMP (Ver. 7) を用い, 平均値の差については Student の t 検定を, 頻度の差についてはカイ二乗検定に引き続き Fisher の正確検定を行った。なお本研究は聖マリアンナ医科大学生命倫理委員会の承認を受け行った (第 1299 号)。

#### 結 果

今回調べた 172 人の VKORC1 の遺伝子型は, VKORC1-AA 型 (以下 AA 型) が 128 例 (74.4%), VKORC1-GA 型 (以下 GA 型) は 44 例 (25.6%) であった。Fig. 1 に体重補正した WF 投与量 (mg/day/60 kg), S-WF 血中濃度 (ng/ml) に対する VKORC1 の遺伝子型の影響とその時の INR を示した。WF 投与量は GA 型 (3.49  $\pm$  1.34 mg/day/60 kg) が AA 型 (2.82  $\pm$  0.90 mg/day/60 kg) に比べ有意に多く, 同様に S-WF 血中濃度も GA 型 (783.5  $\pm$  342.4 ng/ml) が AA 型 (487.4  $\pm$  185.2 ng/ml) に比べ有意に高くなっており, この時 INR に有意差は認められなかった (AA 型: 2.07  $\pm$  0.27, GA 型: 1.99  $\pm$  0.25)。

この集団において, 年齢 (才) および WF 投与量 (mg/day) に有意な性差は無く, 身長 (cm) は女性が男性に比べ有意に低く, 体重 (kg) も女性が男性に比べ有意に軽かった。しかしながら, 体重 60 kg 当たりに換算した投与量 (mg/day/60 kg) は女性が男性に比べ有意に多く, S-WF 血中濃度 (ng/ml) も女性が男性に比べ有意に高かった。また INR に有意な性差は認められなかった (Table, Fig. 2)。

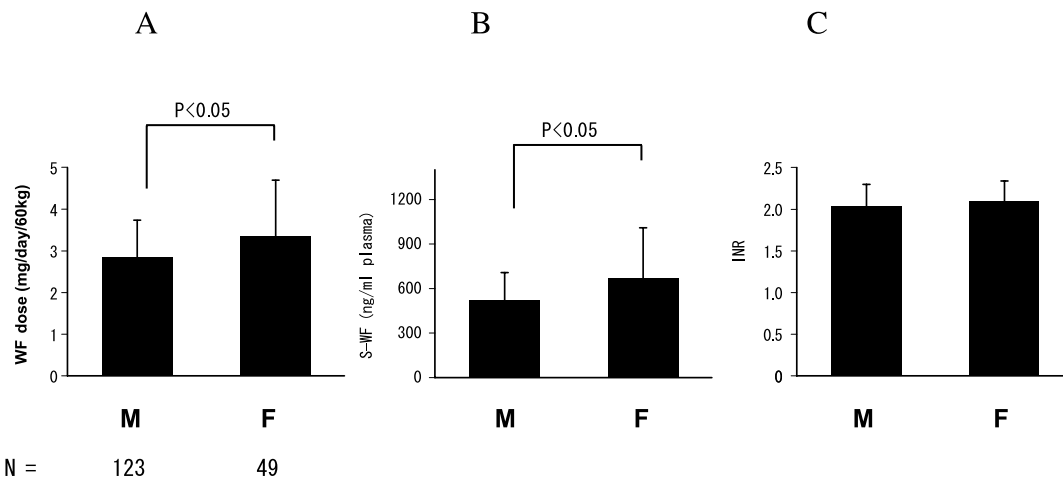
次に WF が効きにくいとされている GA 型の頻度は, 男性が 23.6% (29/123) であるのに対して女性では 30.6% (15/49) となり, GA 型の頻度が女性で高い傾向にあることが示された。

また, WF が効きにくいとされる GA 型の集団で性差について解析したところ WF 投与量 (男性:

**Table.** Gender Difference for Background of Patient, the Maintenance Dose or Blood Concentration of Warfarin, and INR

	All (n=172)	Male (n=123)	Female (n=49)	Gender difference
Age (year)	68.6 ± 10.9	67.7 ± 11.8	70.6 ± 8.2	Non
Hight (cm)	163.7 ± 8.9	167.7 ± 6.4	153.6 ± 5.6	P<0.001
Body weight (kg)	62.4 ± 10.9	66.1 ± 9.7	53.4 ± 8.1	P<0.001
Dose (mg/day)	3.07 ± 1.13	3.13 ± 1.20	2.92 ± 0.91	Non
Adjusted dose (mg/day/60kg)	2.99 ± 1.07	2.84 ± 1.00	3.36 ± 1.14	P<0.05
S-WF plasma concentration (ng/ml)	563.2 ± 267.8	522.1 ± 214.8	666.3 ± 350.8	P<0.05
INR	2.05 ± 0.27	2.03 ± 0.27	2.09 ± 0.24	Non

WF : warfarin

**Fig. 2.** Effects of gender differences on (A) body weight adjusted WF dose, (B) S-WF plasma concentration, and (C) INR.

3.37±1.35 mg/day/60 kg, 女性: 3.72±1.35 mg/day/60kg), S-WF 血中濃度 (732.0±257.4 ng/ml, 女性: 882.9±459.8 ng/ml), INR (男性: 1.97±0.23, 女性: 2.00±0.26) のそれぞれに性差が認められなかった (Fig. 3)。

一方, WF が効きやすいとされている AA 型の集団では WF 投与量 (男性: 2.68±0.81 mg/day/60 kg, 女性: 3.20±1.02 mg/day/60 kg) は女性で有意に多くなっており, S-WF 血中濃度 (男性: 457.3±150.4 ng/ml, 女性: 570.8±242.0 ng/ml) も女性で有意に高くなっておりさらに INR (男性: 2.04±0.28,

女性: 2.15±0.24) も女性で有意に高くなっていた (Fig. 4)。

## 考 察

これまでに warfarin (WF) の投与量に関わる因子として, VKORC1 の遺伝子多型以外にも CYP2C9 の遺伝子多型や, 年齢, 身長, 体重, 体表面積, 人種などが報告されている<sup>4), 6), 10)</sup>。しかしながら WF 投与量を体重補正さらに性差について解析している報告は見当たらない。

今回の我々が研究対象とした集団は, 年齢に性差

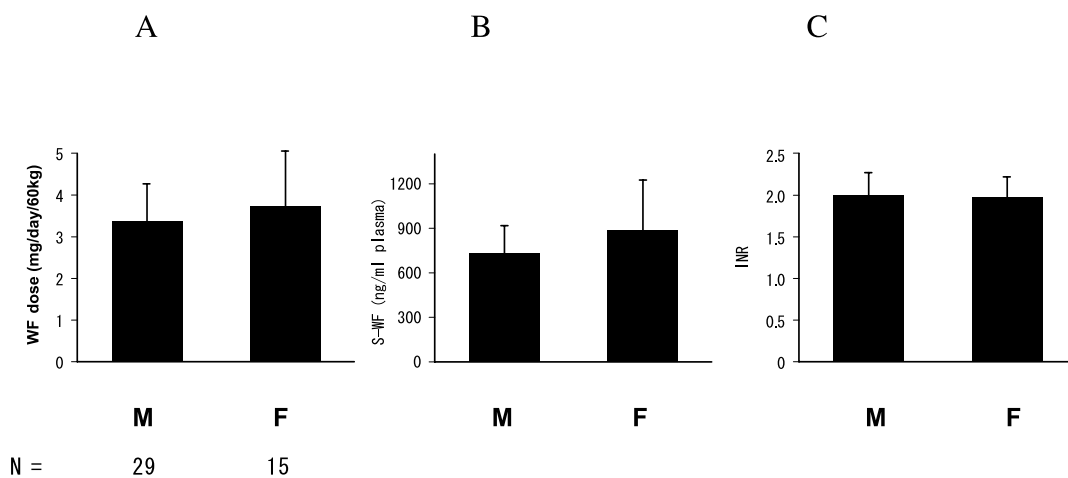


Fig. 3. Effects of gender differences on (A) body weight adjusted WF dose, (B) S-WF plasma concentration and (C) INR in the genotype (GA) of VKORC1.

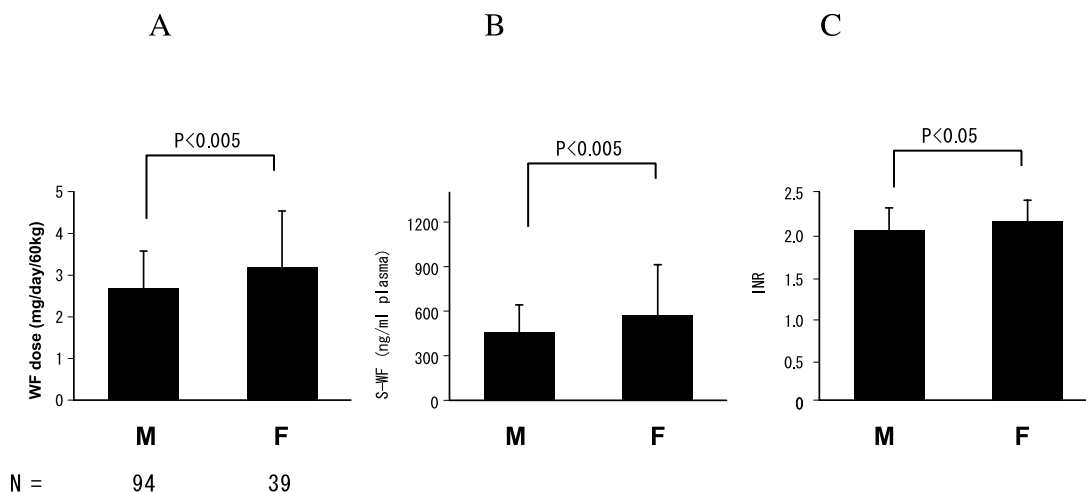


Fig. 4. Effects of gender differences on (A) body weight adjusted WF dose, (B) S-WF plasma concentration, and (C) INR in the genotype (AA) of VKORC1.

はなく、身長は女性の方が低く、体重は女性の方が軽かった。またこの集団では WF 投与量 (mg/day) に性差はなく、INR に性差は認められなかったが、体重 60kg 当たりに換算した WF 投与量 (mg/day/60kg) は女性の方が多く、S-WF 血中濃度も女性の方が高かった。この結果から、同程度の WF の効果を得るためには、女性は男性よりも体重換算した投与量を増やす必要がある、すなわち女性は男性よりも WF が効きにくい事を示していると考えられた。

次にこの性差の原因について考えてみた。Fig. 1 にみられるように、同じ薬効 (INR) を得るために

必要な WF 投与量は AA 型より GA 型の方が多いことがわかる。この軽度 WF 抵抗性を有する GA 型の発現頻度に注目したところ、GA 型の発現頻度が男性に比べ女性で高い傾向にあることが示された。WF が効きにくい GA 型の発現頻度が女性で高いので、男性と同じ INR を得るために必要な WF 投与量 (mg/day/60kg) の平均値が女性では多く必要になってしまい、その結果 S-WF 血中濃度が高くなると考えられた。

GA 型の発現頻度が女性で高いことが、女性で WF 投与量 (mg/day/60kg) や S-FW 血中濃度が高いことの原因であるとすれば、VKORC1 の遺伝子

型が同じ集団では WF 投与量 (mg/day/60 kg) に性差が認められないと考えられるので、遺伝子型別にも解析を行った。WF が効きにくいとされている GA 型の集団で性差について解析したところ、WF 投与量 (mg/day/60 kg)、S-WF 血中濃度および INR のいずれにも性差が認められなかった。一方、WF が効き易いとされる AA 型の集団では WF 投与量 (mg/day/60 kg) が女性で有意に多く、S-WF 血中濃度も女性で有意に高く、さらに INR も女性で有意に高くなっていった。女性で INR、S-WF 血中濃度が高くなっていった原因は WF 投与量 (mg/day/60 kg) が女性で多かったためと考えられる。従って WF 投与量 (mg/day/60 kg) が女性で多くなっていった原因は女性の体重が少ないために WF 投与量の調節の影響が大きく出たためと推察される。すなわち多くの症例が 1 mg 錠によって投与量の調節がなされている為きめ細かな投与量の調節ができないので、体重の軽い女性では結果的に多目の WF が投与されている、という実態が明らかになった。すなわち女性では WF 抵抗性の GA 型の発現頻度が多いことと WF が効き易い AA 型においても投与量の細かな調節ができず多目に投与されていることの両方の要因により、女性では WF 投与量 (mg/day/60 kg) が多くなっているものと考えられた。ただし、VKORC1 は常染色体上にあるため<sup>11-13)</sup>、VKORC1-GA 型と AA 型の発現頻度に性差が生じる理由は今のところ明確にすることはできない。

現在、WF 投与量の性差について確定した見解はない。我々の所見も、VKORC1 遺伝子型発現頻度に性差があり得るという理論的裏付けがない以上、偶然生じた傾向である可能性を否定しない。しかし、我々の VKORC1 遺伝子型に関する所見と考案が、WF 投与量に性差が生じる可能性を説明する見解と考えた。

#### 結 語

以上から、日本人において WF が効きにくいとされる VKORC1 GA 型の頻度が男性に比べ女性で高い可能性を示し、このことが同等の INR となるように調節された女性の WF 投与量 (mg/day/60 kg) や血中濃度が男性に比べ高くなる要因の一つであると考えられた。

#### 引用文献

- 1) Rettie AE, Korzekwa KR, Kunze KL, Lawrence RF, Eddy AC, Aoyama T, Gelboin HV, Gonzalez FJ and Trager WF. Hydroxylation of warfarin by human cDNA-expressed cytochrome P-450: a role for P-450C9 in the etiology of (S)-warfarin-drug interactions. *Chem Res Toxicol* 1992; 5: 54-59.
- 2) Zhu Y, Shennan M, Reynolds KK, Johnson NA, Herrnberger MR, Valdes R Jr and Linder MW. Estimation of warfarin maintenance dose based on VKORC1 (-1639 G>A) and CYP2C9 genotypes. *Clin Chem* 2007; 53: 1199-1205.
- 3) Sconce EA, Khan TI, Wynne HA, Avery P, Monkhouse L, King BP, Wood P, Kesteven P, Daly AK and Kamali F. The impact of CYP2C9 and VKORC1 genetic polymorphism and patient characteristics upon warfarin dose requirements: proposal for a new dosing regimen. *Blood* 2005; 106: 2329-2333.
- 4) Langley MR, Booker JK, Evans JP, McLeod HL and Weck KE. Validation of clinical testing for warfarin sensitivity: comparison of CYP2C9-VKORC1 genotyping assays and warfarin-dosing algorithms. *J Mol Diagn* 2009; 11: 216-225.
- 5) Obayashi K, Nakamura K, Kawana J, Ogata H, Hanada K, Kurabayashi M, Hasegawa A, Yamamoto K and Horiuchi R. VKORC1 gene variations are the major contributors of variation in warfarin dose in Japanese patients. *Clin Pharmacol Ther* 2006; 80: 169-178.
- 6) The International Warfarin Pharmacogenetics Consortium. Estimation of the Warfarin Dose with Clinical and Pharmacogenetic Data. *N Engl J Med* 2009; 360: 753-764.
- 7) Rieder MJ, Reiner AP, Gage BF, Nickerson DA, Eby CS, McLeod HL, Blough DK, Thummel KE, Veenstra DL and Rettie AE. Effect of VKORC1 haplotypes on transcriptional regulation and warfarin dose. *N Engl J Med* 2005; 352: 2285-2293.
- 8) Hoshi K, Takakura H, Mitani Y, Tatsumi K,

- Momiyama N, Ichikawa Y, Togo S, Miyagi T, Kawai Y, Kogo Y, Kikuchi T, Kato C, Arakawa T, Uno S, Cizdziel PE, Lezhava A, Ogawa N, Hayashizaki Y and Shimada H. Rapid detection of epidermal growth factor receptor mutations in lung cancer by the S<sup>M</sup>art-Amplification Process. *Clin Cancer Res* 2007; 13: 4974-4983.
- 9) Uno T, Niioka T, Hayakari M, Sugawara K and Tateishi T. Simultaneous determination of warfarin enantiomers and its metabolite in human plasma by column-switching high-performance liquid chromatography with chiral separation. *Ther Drug Monit* 2007; 29: 333-339.
- 10) Yuan HY, Chen JJ, Lee MT, Wung JC, Chen YF, Charng MJ, Lu MJ, Hung CR, Wei CY, Chen CH, Wu JY and Chen YT. A novel functional VKORC1 promoter polymorphism is associated with inter-individual and inter-ethnic differences in warfarin sensitivity. *Hum Mol Genet* 2005; 14: 1745-1751.
- 11) Li T, Chang CY, Jin DY, Lin PJ, Khvorova A and Stafford DW. Identification of the gene for vitamin K epoxide reductase. *Nature* 2001; 427: 541-544.
- 12) Fregin A, Rost S, Wolz W, Krebsova A, Muller CR and Oldenburg J. Homozygosity mapping of a second gene locus for hereditary combined deficiency of vitamin K-dependent clotting factors to the centromeric region of chromosome 16. *Blood* 2002; 100: 3229-3232.
- 13) Rost S, Fregin A, Ivaskevicius V, Conzelmann E, Hörtnagel K, Pelz HJ, Lappegard K, Seifried E, Scharrer I, Tuddenham EG, Müller CR, Strom TM and Oldenburg J. Mutations in VKORC1 cause warfarin resistance and multiple coagulation factor deficiency type 2. *Nature* 2004; 427: 537-541.

## Abstract

**The Influence of Gender Difference on Warfarin Maintenance Dose**

**Minoru Watanabe<sup>1</sup>, Naoki Matsumoto<sup>1</sup>, Toshio Kumai<sup>1,2</sup>, Masami Tanaka<sup>1,3</sup>,  
Yuko Takeba<sup>1</sup>, Yoshie Harimoto<sup>1</sup>, Haruki Musha<sup>4</sup>, Eiji Takahashi<sup>4</sup>,  
Masahiro Yamauchi<sup>4</sup>, Yukako Ishikawa<sup>5</sup>, Makoto Takano<sup>5</sup>,  
Yoshihiro Akashi<sup>5</sup>, Fumihiko Miyake<sup>5</sup>, and Shinichi Kobayashi<sup>1</sup>**

Although we can find reports about the relation between warfarin (WF) maintenance dose and the genotype of VKORC1 (-1639G>A), it is difficult to find further analysis on gender difference. We analyzed the maintenance dose of WF adjusted by body weight, S-WF plasma concentration, and VKORC1 genotype to study about gender difference in the patients (N=172) with stable anticoagulation condition within the target range of international normalized ratio (INR) between 1.6 and 2.6. Gender difference was not found with WF dose (mg/day) between female ( $2.92 \pm 0.91$ ) and male ( $3.13 \pm 1.20$ ), but adjusted WF dose (mg/day /60kg of body weight) was statistically significantly higher in female ( $3.36 \pm 1.14$ ) than in male ( $2.84 \pm 1.00$ ). S-WF plasma concentration (ng/ml) was also higher in female ( $666.3 \pm 350.8$ ) than in male ( $522.1 \pm 214.8$ ). On the other hand, INR was not significantly different between female ( $2.09 \pm 0.24$ ) and male ( $2.03 \pm 0.27$ ). In VKORC1 (-1639G>A) analysis, GA genotype frequency was high with female (31.3%) than male (23.6%). GA genotype usually requires higher WF dose, which might have contributed to the higher average WF dose of female population.

---

1 Department of Pharmacology, St. Marianna University School of Medicine

2 Department of Pharmacogenomics, St. Marianna University Graduate School of Medicine

3 Institute for Animal Experimentation, St. Marianna University Graduate School of Medicine

4 Division of Cardiology, St. Marianna University, Yokohama-City Seibu Hospital

5 Division of Cardiology, St. Marianna University School of Medicine