The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	結核治療におけるN-acetyltransferase2の遺伝子多型と肝障害
Author(s)	大野, 雅子
Citation	大阪大学, 2000, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/41966
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

【 2 】

氏　　名	大野雅子（おおの まさこ）
博士の専攻分野の名称	博　士（薬　学）
学位記番号	第　15058　号
学位授与年月日	平成12年1月31日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 薬学研究科　応用薬学専攻
学位論文名	**結核治療における *N*-acetyltransferase 2 の遺伝子多型と肝障害**
論文審査委員	（主査） 教授 東　純一 （副査） 教授 馬場 明道　教授 松田 敏夫　教授 高木 達也

論文内容の要旨

結核治療の中心となる isoniazid（INH）と rifampicin（RFP）の併用投与で発現する肝障害は、結核治療の中断を必要とするため、いかにして肝障害を回避するかが現在の結核治療において臨床上重要な課題である。この有害反応を薬物代謝の個体差という観点から科学的に説明できれば、個々の患者にとって安全かつ有効な結核治療が可能になると考えられる。

INH の主代謝酵素 *N*-acetyltransferase 2（NAT2）には遺伝的多型が存在するので、INH の体内動態はヒトによって大きく異なる。各人のアセチル化能を左右する NAT2 の遺伝子多型は個々の患者の副作用発現に影響する可能性がある。また、RFP と INH を併用すると INH 単独投与時よりも肝障害の発現率が増加することから、酵素誘導を起こす RFP との薬物相互作用がこの有害事象の原因である可能性が示唆されている。しかし、その詳細は明らかでない。本研究では、この *NAT2* 遺伝子型や RFP による薬物代謝酵素誘導と肝障害発現の関連性を明確し、肺結核治療時における肝障害の発現を回避するための科学的根拠を得ることを目的として、以下の検討を行った。

まず、臨床試験に先立ち日本人で確認されている *NAT2* 遺伝子型（*NAT2**4*、**5*、**6*、**7*）の判定法を確立し、日本人における頻度解析を行った。各人の遺伝子型に存在する rapid acetylator allele（r）と slow acetylator allele (s) 数を基準にして、*NAT2* 遺伝子型を3群（RA-type：r/r、IA-type：r/s、SA-type：s/s）に分類することにより、ほぼ完全に表現型を推定できることを確認した。

また、RFP による薬物代謝酵素誘導の肝障害発現への関与について検討するために、LC/APCI-MS による尿中 6β-hydroxycortisol と cortisol の選択的定量法を確立した。内因性副腎皮質ホルモン cortisol をプローブとした尿中 6β-hydroxycortisol/cortisol 比（6β-OHC/C 比）は非侵襲的に薬物代謝酵素誘導を調べることができる唯一の指標である。そこで 6β-OHC/C の臨床的意義を明らかにするため、各個人の尿中 6β-OHC/C 比の日差変動および日内変動を検討した。その結果、各人の24時間尿中 6β-OHC/C 比に日差変動は認められないが、明らかな日内変動が存在することが明らかとなった。このことから、24時間尿中 6β-OHC/C 比は肝 CYP3A 活性の個体差を反映している可能性が示唆された。また、24時間尿中 6β-OHC/C 比を用いて、肺結核患者における RFP による CYP3A 酵素の誘導を評価でき

ることを確認した。RFPによって惹起されるCYP3A以外の非特異的な薬物代謝酵素誘導を尿中6β-OHC/C比で推定できるかどうかについては今後さらに検討が必要である。

つぎに、INHとREPの併用投与時における肝機能検査値異常の発現と*NAT2*遺伝子多型の関連性を明確にすることを目的として、以下の臨床試験を行った。対象はINHとRFPを併用投与され、かつ薬物療法開始前の肝機能検値が基準範囲内の肺結核患者とした。まず*NAT2*遺伝子を判定し、次に患者の臨床経過を薬物療法開始3月カ月間追跡調査し、肝機能検査値異常発現の有無について肝機能検査値を中心に検討した。その判定基準は、血清ASTまたはALTが投与前値の2倍以上で、かつ基準値の1.5倍を越えれば肝機能検査値異常発現とした。治療開始後1カ月以内に約20%（RA-type：28名中1名、IA-type：42名中6名、SA-type：7名全員）に肝機能検査値異常が発現した。本臨床試験の結果、INHとRFPの併用投与時の肝機能検査値異常発現率と*NAT2*遺伝子型の間には明確な差異が認められ、特にSA-typeが肝機能検査値異常発現のリスクとなる可能性が極めて高く、肝機能検査値の変動も大きいことが明らかとなった。

さらに、肝障害の誘発物質である可能性が示唆されているacetylhydrazine（AcHz）およびhydrazine（Hz）と肝障害発現の関連性について検討した。まず、血中INHとAcHz、およびHzの高感度定量法をセミミクロカラムスイッチングHPLCで確立した。肺結核患者（RA-type 17名、IA-type 16名、SA-type 4名）について検討したところ、SA-typeではINH、AcHzおよびHzのトラフ濃度が顕著に高く、hydrazine代謝物が肝機能検査値異常の発現に関与している可能性が示された。また、ヒト肝癌由来細胞株HepG2による*in vitro*試験において、Hzの直接細胞毒性が観察された。しかし、AcHzでは毒性が認められず、肝障害の誘発物質がHzであることが示唆された。

これまで結核治療薬の効果や副作用における個人差は、薬物に対する感受性の差であるとみなされていた。しかし、本研究の結果、INH、RFP併用時の肝機能検査値異常発現と*NAT2*遺伝子多型の間には明確な関連性があり、特にSA-typeはその危険因子であることが実証された。日本におけるINHの常用量は400 mg/day (8 mg/kg/day)で、欧米の常用量300 mg/day（5 mg/kg/day）より多く、これはSA typeの出現頻度（日本人；約10%、欧米人；約50%）を反映しているものと考えられる。したがって、今回の臨床試験で、SA-typeにおける肝機能検査値異常の発現率が極めて高かったのは、日本におけるINHの常用量がSA-typeに対して明らかに過剰投与であるためだと推察される。現在の常用量でも、RA-typeではINHのトラフ濃度が最小発育阻止濃度(MIC)以下になるものがみられた。このことは、INHの副作用の面からだけでなく、その有効性の面からも、事前の*NAT2*遺伝子型判定に基づき、INHを適切に投与することの必要性を強く示唆するものである。

以上、*NAT2*遺伝子型はINHとRFPの併用投与時における肝機能検査値異常発現ならびにINHの体内動態に強く影響していることを明らかにした。このことから、*NAT2*遺伝子型に基づいて初回からの薬物投与量を個別に考慮することにより、肝機能検査値異常発現を予防できることが示唆された。

論文審査の結果の要旨

基本的な結核治療法であるisoniazid（INH）とrifampicin（RFP）の併用投与で、高頻度に肝機能障害が発現することが知られている。本研究は、この肝障発現リスクを薬物代謝の個体差という観点から解明し、結核治療における個別化適正投与の推進に寄与する科学的根拠を示した臨床的に極めて重要なものである。すなわち、肺結核患者を対象として臨床試験を実施し、INHの主代謝酵素N-acetyltransferase 2（NAT2）の遺伝子多型とINH、RFP併用投与時の肝機能検査値の異常発現との関連性について検討した。その結果、NAT2活性の低下したSA-type患者では、肝機能異常の発現率が極めて高いことが初めて明確にされた。INHとその代謝物の血中濃度から、日本人におけるINHの常用量がSA-typeでは過剰となることを実証し、NAT2遺伝子型に基づく個別化治療への可能性を示した。さらに、INHの代謝物hydrazineが肝障害を誘発する可能性を*in vivo*および*in vitro*の両面から証明した。また、INH、RFP併用時の肝障害発現の主因子と考えられるRFPによる薬物代謝酵素誘導を*in vivo*で非侵襲的に評価するための基礎を築いた。

以上、本研究は、結核治療における薬剤性肝障害の発現因子を同定し、肺結核治療における「個の医療」の推進に有用な基盤を開拓したもので、博士（薬学）の学位を授与するに相応しいものと考える。