

肺結核治療における肝障害と INH 代謝

佐々木結花 山岸文雄 川崎 剛 志村龍飛 水野里子 藤川文字子
上野光一* 平井成和* 生城山克己* 曾束貴代* 中村高行*

IRYO Vol. 63 No. 5 (312-321) 2009

要 旨

結核治療において副作用発現は治癒率を低下させる大きな要因であり，その中でも薬剤性肝障害の発症率が高い．今回，活動性肺結核日本人症例134例における抗結核薬，イソニコチン酸ヒドラジド：isonicotinic acid hydrazide (INH) の代謝に関与する N-アセチルトランスフェラーゼ 2 (NAT 2)，チトクローム P450 2 E 1 (CYP 2 E 1)，グルタチオン S トランスフェラーゼ (GST) の遺伝子多型を検討し，肝障害発症との関連を検討した．しかし，臨床問題となる肝障害の発現率と NAT 2，CYP 2 E 1，GST に明らかな関連は認めなかったことから，結核治療における肝障害について遺伝子多型で推測することは困難であった．結核治療における肝障害対策については総合的な判断が必要と考えられた．

キーワード 結核，N-アセチルトランスフェラーゼ 2，チトクローム P450 2 E 1，
遺伝子多型，薬剤性肝障害

はじめに

結核は，世界最大の感染症であり，さまざまな対策が行われている．本邦は先進国において未だ結核罹患率が人口10万人当たり19.8の中蔓延状態を呈している (<http://www.mhlw.go.jp/shingi/2008/12/dl/s1205-7i.pdf>)．現在，活動性結核患者の標準治療方式は，初期2カ月間にイソニコチン酸ヒドラジド：isonicotinic acid hydrazide (INH)，リファンピ

シン (RFP)，ピラジナミド (PZA)，エタンブール (EB) あるいは硫酸ストレプトマイシン (SM) を投与し，その後4カ月間INHとRFPを投与する治療 (A法)，また，やむをえない場合には，初期2カ月間INH，RFP，SM (またはEB) の3剤併用で2カ月間治療後，INHとRFPを7カ月間投与する治療 (B法) であり¹⁾，潜在性結核感染患者にはINHを6ないし9カ月間投与する治療が行われている²⁾．しかし，抗結核薬は副作用が多く，また

国立病院機構千葉東病院 呼吸器科 *千葉大学大学院薬学研究院 高齢者薬剤学研究室
別刷請求先：佐々木結花 国立病院機構千葉東病院 呼吸器科 〒260-8712 千葉県千葉市中央区仁戸名町673
(平成20年8月18日受付，平成21年3月13日受理)

Hepatotoxicity in the Tuberculosis Treatment and INH Metabolism.

Yuka Sasaki, Fumio Yamagishi, Takeshi Kawasaki, Ryuhi Shimura, Satoko Mizuno, Ayako Fujikawa Koichi Ueno*, Shigekazu Hirai*, Katsumi Fukino*, Takayo Sotsuka* and Takayuki Nakamura*, NHO National Chiba Higashi Hospital, *Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Chiba University

Key Words: tuberculosis, N-acetyltransferase 2, cytochrome P450 2 E 1, glutathione-S-transferase, genetic polymorphism, hepatotoxicity

薬剤相互作用が多数存在することが知られており、抗結核薬の主軸であるINH, RFPの両者においても同様で³⁾、現在のように合併症や高齢化の進んだ結核患者に対する治療では、副作用による治療中断が大きな問題となっており、その結果、新たな薬剤耐性菌を生み出す結果に至る可能性が報告されている (www.mhlw.go.jp/houdou/0103/h0329-5.html)。

INHの代謝は肝臓におけるN-acetyltransferase 2 (NAT2)によるアセチル化が主な代謝経路であり、NAT2によりアセチル化されacetyl isoniazid (AcINH)に代謝される。AcINHの一部はさらにamidaseによる加水分解を受け、Acetyl hydrazine (AcHz)を生成する。また、INHが直接amidaseにより加水分解されHydrazine (Hz)を生成する代謝経路も存在する。このHzはNAT2によりアセチル化されAcHzが生成される。AcHzはNAT2による代謝を受けてDiacetylhydrazineとなり排泄される。また、AcHzの一部が肝臓でCytochrome P450 2E1 (CYP2E1)により代謝され、その代謝産物をglutathione-S-transferase (GST)が代謝し排泄する経路も存在する。

INHの代謝をつかさどるNAT2には遺伝子多型が存在する。遺伝子多型とは、ヒトゲノムDNA配列上の個体差が表現型に反映される遺伝子型で、同一集団において、遺伝子変異によりある遺伝子座に対立遺伝子が2種以上存在しその確率が1%以上であるものと、定義されている。NAT2多型は、INHのアセチル化に関連するため、INHによる肝障害の原因の一つとして検討されてきた⁴⁾⁻⁶⁾。しかし、一定の結論は得られておらず、NAT2以外のINH代謝に関わるCYP2E1, GSTの多型の関連も検討する必要がある。

NAT2は、日本人では野生型遺伝子NAT2*4の他に、3つの変異型遺伝子、NAT2*5B, NAT2*6A, NAT2*7Bが報告されている⁷⁾⁸⁾。変異型遺伝子を有さないアセチル化が速やかに行われるRapid Acetylator (RA), 変異型遺伝子をホモで有しアセチル化の遅いSlow Acetylator (SA), NAT2*4と変異型遺伝子のヘテロの組み合わせをIntermediate Acetylator (IA)と分類されている⁹⁾。

CYP2E1はCytochrome P450の一つで、野生型と12種の変異型遺伝子があり、酵素活性との関連が知られている変異としては、5'-flanking領域に存在し制限酵素Pst IおよびRsa Iで判定される遺伝子多型CYP2E1*5B¹⁰⁾と、Intron 6に存在し制限

酵素Dra Iで判定される遺伝子多型CYP2E1*6¹¹⁾が知られている。GSTはCytochrome P450により活性化された物質をグルタチオン抱合するなど、解毒機構に関連する酵素で、AcHzの代謝に関連する¹²⁾が、遺伝子多型の検討としてはglutathione-S-transferase M1 (GSTM1), glutathione-S-transferase T1 (GSTT1)について行われている¹³⁾。GSTM1では、M1a, M1b, M1nullの3種の対立遺伝子が報告され、M1null遺伝子がホモで存在する場合GSTM1活性が欠如することが多いとされ、GSTT1にはT1, T1nullの2種の対立遺伝子が報告され、T1null遺伝子がホモで存在する場合GSTT1活性が欠如することが多いと報告されている。とくにGSTM1nullタイプでは発癌との関係も研究されている¹⁴⁾。

今回、肺結核における肝障害検討する目的で、千葉東病院で治療した肺結核患者の治療中の肝障害とINHの代謝について、INH代謝産物の血中濃度、主たる代謝経路に関連するNAT2, およびINH代謝産物に関連するCYP2E1, GSTの遺伝子多型を検討した。

対 象

国立病院機構千葉東病院呼吸器科において2005年9月から2007年9月までに入院加療した活動性肺結核患者のうち、文書にて同意が得られた日本人肺結核患者134例を検討対象とした。なお、本研究にあたっては、研究実施前に国立病院機構千葉東病院倫理委員会に研究計画書を提出し、第三者による審査、承認を受けている。

方 法

1. 試料

当院では、標準治療方式が可能な場合、看護師見守りのもと午前10時に抗結核薬を内服する。本検討の対象患者は、抗結核薬内服2時間後昼食前に採血を行い、INH, AcINH, Hz, RFPの血中濃度、NAT2, CYP2E1, GSTの各遺伝子多型を測定した。本研究対象の患者は、INH, RFP, EB, PZA投与開始後、8週間以内に採血を行った。

いずれの採血検体も当院内で匿名化した後、千葉大学大学院薬学研究院高齢者薬剤学研究室に輸送し各測定が行われた。その後カルテから、患者背景、

表1 NAT 2 表現型別患者背景

	RA	IA	SA
症例数	60	62	12
男性：女性	48：12	51:11	9：3
年齢	54.0±17.2	49.6±18.1	49.0±19.1
初回治療：再治療	49：11	54：8	10：2
体重 (kg)	55.0±10.4	56.1±11.3	50.9±8.2
HBs抗原陽性 (例)	0	1	1
HCV抗体陽性 (例)	3	4	0
アルコール多飲者 (例)	11	15	3
肝硬変 (例)	1	1	1
INH投与量 (g/body/day)	0.27±0.03	0.26±0.04	0.25±0.03
RFP投与量 (g/body/day)	0.47±0.06	0.46±0.06	0.47±0.06
PZA投与量 (g/body/day)	1.17±0.29	1.21±0.17	1.24±0.14
INH投与量 (mg/kg)	4.86±0.60	4.75±0.60	5.04±0.49
RFP投与量 (mg/kg)	8.67±1.17	8.48±1.46	9.34±0.89
PZA 投与量 (mg/kg)	20.6±6.70	21.4±5.00	20.4±9.4

治療内容、血液検査などの臨床情報を収集した。

2. INH, RFP および INH 代謝産物の血中濃度測定法

抗結核薬および INH 代謝産物の測定法は、INH, AcINH, Hz については Seifart らの方法¹⁵⁾に基づき、RFP の測定に関しては久保らの方法¹⁶⁾に基づいて試行した。

3. 遺伝子多型の測定

採取した患者血液から QIAamp[®]DNA Blood MiniKit を用い、そのプロトコールに基づき、末梢血200μl から DNA を抽出し、次に PCR 法を行い、PCR 産物を精製し、NAT 2, CYP 2 E 1 * 5 B, CYP 2 E 1 * 6 については確認泳動後、制限酵素処理を行った。

a) NAT 2

制限酵素 (NAT 2 * 5 B は Kpn I, NAT 2 * 6 A は Taq I, NAT 2 * 7 B は BamH 1) 処理を行った。その後、電気泳動を行い、Kpn I による制限酵素処理では、酵素添加により 655bp のバンドが確認できるものを野生型遺伝子*4, 710bp のバンドが確認できるものを変異型遺伝子* 5 B と判断した。Taq I による制限酵素処理では、酵素添加により 377bp のバンドと 170bp と 163bp のバンドが確認できるものを野生型遺伝子*4, 377bp のバンドと 333bp のバンドが確認できるものを変異型遺伝子* 6 A と判断した。BamH 1 による制限酵素処理では、酵素添加により 431bp のバンドと 279bp のバンドが確認できるものを野生型遺伝子*4, 710bp のバンドが確認でき

るものを変異型遺伝子* 7 B と判断した。NAT 2 の表現型は遺伝子の組み合わせにより遺伝子型を決定した。

b) CYP 2 E 1 * 5 B

Rsa I による制限酵素処理にて酵素添加により 352bp のバンドが確認できるものを野生型遺伝子 c 1, 413bp のバンドが確認できるものを変異型遺伝子 c 2 とした。

c) CYP 2 E 1 * 6

Dra I による制限酵素処理を行い、酵素添加により 251bp と 125bp のバンドが確認できるものを野生型遺伝子 D, 376bp のバンドが確認できるものを変異型遺伝子 C とした。

d) GST

GSTM 1 では、電気泳動を用い 219bp のバンドが確認できるものを野生型 wild とし、確認できないものを欠損型 null とした。

GSTT 1 では、電気泳動を用い、259bp のバンドが確認できるものを野生型 wild とし、確認できないものを欠損型 null とした。

4. 検討方法

本検討では、日本酒換算毎日 3 合以上飲酒者をアルコール多飲者とした。当院では、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST), アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT) の正常値上限は AST33U/l, ALT42U/l であり、AST, ALT のいずれかが正常値上限以内から正常値上限の 2 倍以内に上昇したものを A, AST, ALT のいずれかが正

常値上限の2倍を超え3倍以内に上昇したものをB, AST, ALTのいずれかが正常値上限の3倍を超え4倍以内に上昇したものをC, AST, ALTのいずれかが正常値上限の4倍を超え上昇したものをDと分類し検討した. このCとDを合計したものを肝障害あり, AとBを合計したものを軽度肝障害と定義した.

数値の表示は平均値±標準偏差とし, 2群間の差の検討はt検定を用い, 危険率5%未満で有意差ありとした. 比率の検討は χ^2 検定を用い, 危険率5%未満で有意差ありとした.

結 果

対象は134例(男性108例, 女性26例)で, 平均年齢は51.1±17.8歳, 平均体重は55.4±10.6kgであった. 初回治療は114例(85.1%)であった. 体重当たり抗結核薬投与量は, INHは4.82±0.57mg/kg, RFPは8.65±1.31mg/kg, PZAは22.3±3.5mg/kgであり, 標準投与量はINH5mg/kg, RFP10mg/kg, PZA25mg/kgであることから, 標準投与量と比較し若干低い投与量であった. NAT2遺伝子多型別各群の患者背景を表1に示す. NAT2遺伝子多型別人数は, RA60例, IA62例, SA12例であった. 女性の割合が, RA20.0%, IA17.7%, SA25.0%とSAが多かったが, 有意差はなかった. 各群間において, 年齢, 再治療例の率, HBs抗原・HCV抗体陽性率, アルコール多飲者の率, INH, RFP, PZA体重当たり投与量で有意差を示す項目は認めなかった. RAの合併症は, 糖尿病14例, 高血圧9例, 胃潰瘍7例, 腎障害5例, 肺癌3例, 高血圧を除外した循環器疾患2例, 肝硬変, 肝硬変を除外した肝障害, 脳梗塞, 甲状腺機能亢進症, シェーグレン症候群各1例であった. IAの合併症は, 糖尿病14例, 肝硬変を除外した肝障害5例, 胃潰瘍4例, 循環器疾患4例, 高血圧3例, 肺癌2例, 脳梗塞2例, 肝硬変, 胃癌, 喉頭癌, 白血病骨髄移植後, 甲状腺機能亢進症, 関節リウマチ, パーキンソン病各1例であった. SAの合併症は, 高血圧2例, 糖尿病1例, 肝硬変, 肝硬変を除外した肝障害, 甲状腺機能亢進症各1例であった.

表2にNAT2遺伝子多型別CYP2E1*5B, CYP2E1*6遺伝子多型の患者数, 頻度を示す. CYP2E1*5BではIAでc1/c1の頻度がRA, SAと比較し高率であったが有意差はなかった.

表2-1 NAT2遺伝子多型別CYP2E1遺伝子多型頻度

		RA	IA	SA	計	全体の%
症例数		60	62	12	134	
CYP2E1*5B	c1/c1	34 (56.7%)	42 (67.7%)	7 (58.3%)	83	61.9%
	c1/c2	21 (35.0%)	17 (27.4%)	4 (33.3%)	42	31.3%
	c2/c2	5 (8.3%)	3 (4.8%)	1 (8.3%)	9	6.7%
CYP2E1*6	D/D	26 (43.3%)	30 (48.4%)	7 (58.3%)	63	47.0%
	D/C	26 (43.3%)	26 (41.9%)	5 (41.7%)	57	42.5%
	C/C	8 (13.3%)	6 (9.7%)	0	14	10.4%

()内はNAT2「遺伝子多型」別%

表2-2 NAT2遺伝子多型別GST遺伝子多型頻度

		RA	IA	SA	計	全体の%
症例数		60	62	12	134	
GST	M1 wild	33 (55.0%)	26 (41.9%)	3 (25.0%)	62	46.3%
	T1 wild	41 (68.3%)	33 (53.2%)	8 (66.7%)	82	61.2%

()内はNAT2遺伝子多型別%

CYP2E1*6では, SAで他群と比較しD/Dの頻度が高率で, C/Cが認められなかったが有意差はなかった. GSTM1多型では, M1 wildの頻度はRAで最も高くSAで最も低かったが有意差は認めなかった. T1 wildの頻度も各群で有意差を認めなかった.

表3に抗結核薬服用2時間後のINH, RFPおよびINH代謝産物の血中濃度を示す. INH血中濃度は, RA2.36±0.94 μ g/ml, IA3.44±1.44 μ g/ml, SA4.85±0.73 μ g/mlと, RAで最も低値であり各群と有意差を認めた. また, IAはSAと比較し有意に低値であった. RFP血中濃度は3群間に有意差を認めなかった. AcINH血中濃度では, RAはIA, SAと比較し有意に高値であり, IAはSAと比較し有意に高値であった. アセチル化能を示すAcINH/INHは, RAで2.06±0.97と最も高かった. Hz濃度では, RAはIA, SAと比較し有意に低値であり, IAはSAと比較し有意に低値であった.

表4にNAT2遺伝子多型別肝障害の頻度を示す. 方法に記したように, 肝障害の程度をA, B, C, Dに分け, A+B群を肝障害軽度群, C+D群を肝障害あり群とした. なお, C群までは治療中抗結核薬

表3 各群の薬剤および代謝産物の血中濃度

	RA	IA	SA
症例数 (例)	60	62	12
INH血中濃度 ($\mu\text{g/ml}$)	2.36 ± 0.94	$3.44 \pm 1.44^*$	$4.85 \pm 0.73^{**\#}$
RFP血中濃度 ($\mu\text{g/ml}$)	4.60 ± 3.92	3.78 ± 4.08	3.71 ± 3.12
AcINH血中濃度 ($\mu\text{g/ml}$)	4.36 ± 1.94	$2.72 \pm 1.14^*$	$0.90 \pm 0.59^{**\#}$
AcINH/INH	2.06 ± 0.97	$0.94 \pm 0.62^*$	$0.20 \pm 0.16^{**\#}$
Hydrazine血中濃度 (ng/ml)	20.58 ± 8.62	$25.70 \pm 12.0^*$	$30.70 \pm 12.98^{**\#}$

* : RAとIAで有意差あり, ** : RAとIAで有意差あり, # : IAとSAで有意差あり

表4 肝機能障害の頻度

	RA	IA	SA	計
症例数	60	62	12	134
肝障害A	7	12	5	24
肝障害B	2	5	1	8
肝障害C	4	0	1	5
肝障害D	3	8	0	11
合計	16 (26.7%)	25 (40.3%)	7 (58.3%)	48 (35.8%)
A+B/群症例数	9 (15.0%)	17 (27.4%)	6 (50.0%)	32 (23.9%)
C+D/群症例数	7 (11.7%)	8 (12.9%)	1 (16.7%)	16 (11.9%)

肝障害A : AST/ALTのいずれかが正常値上限の2倍以内

肝障害B : AST/ALTのいずれかが正常値上限の2倍を超え3倍以内

肝障害C : AST/ALTのいずれかが正常値上限の3倍を超え4倍以内

肝障害D : AST/ALTのいずれかが正常値上限の4倍を超える

中等症以上の肝障害あり群 : 肝障害C、肝障害Dを併せた群

の中止はなく治療継続中にAST, ALTは低下し、D群では全例抗結核薬が中止されていた。経過中何らかの肝障害が生じた症例は、RAで60例中16例(26.7%)、IAで62例中25例(40.3%)、SAで12例中7例(58.3%)と、SAが最も高率であった。しかし、臨床上問題となる肝障害あり群を検討した場合、RAでは7例(11.7%)、IA8例(12.9%)、SA1例(16.7%)で、各群で有意差を認めず、とくに抗結核薬を中止したD群はRA3例、IA8例で、SAでは認めなかった。

次に、肝障害あり群、肝障害軽度群、肝障害を認めなかった86例を肝障害なし群とし比較した。各群の背景、抗結核薬服用2時間後のINH, RFPおよびINH代謝産物の血中濃度を表5に示す。各群の性別、平均年齢、治療歴、体重、INH, RFP, PZAの体重当たり投与量に有意差を認めなかった。RA, IA, SAの比率では、肝障害あり群では43.8%, 50.0%, 6.3%, 肝障害軽度群では28.1%, 53.1%, 18.8%, 肝障害なし群では51.2%, 43.0%, 5.8%

と、肝障害軽度群でRAの頻度が肝障害なし群より有意に低かった。また肝障害軽度群は肝障害なし群と比較し、SAの頻度が有意に高率であった。3群で、抗結核薬投与量、INH, RFP, AcINH, Hz血中濃度に有意差を認めなかった。

表6に肝障害別のCYP2E1*5B, CYP2E1*6遺伝子多型の頻度を示す。CYP2E1*5Bでは、肝障害による遺伝子多型の頻度に有意差を認めなかった。CYP2E1*6では、肝障害なし群で他群と比較し、有意にD/Cが低率であった。しかし、D/D, C/Cでは有意差を認めなかった。表7に肝障害別のGST遺伝子多型の頻度を示す。肝障害軽度群でGSTM1, GSTT1で野生型アレルがやや高率であったが有意差は認めなかった。

表 5 肝機能障害別患者群の比較

	肝障害あり		肝障害軽度		肝障害なし	
	平均±標準偏差	症例数	平均±標準偏差	症例数	平均±標準偏差	症例数
男性：女性	15：1	16	30：2	32	63：23	86
年齢	57.3±20.6	16	51.8±17.3	32	49.7±17.2	86
初回：再発	15：1	16	29：3	32	69：17	86
NAT 2 (RA：IA：SA)	7：8：1	16	9：17：6	32	44：37：5	86
体重	58.6±8.7	16	57.1±11.8	32	54.1±10.3	86
INH投与量	0.27±0.03	16	0.28±0.04	32	0.26±0.04	86
RFP投与量	0.49±0.07	16	0.46±0.07	32	0.46±0.06	86
PZA投与量	1.25±0.19	14	1.26±0.18	32	1.19±0.17	82
INH投与量 (/kg)	4.67±0.32	16	4.78±0.63	32	4.87±0.62	86
RFP投与量 (/kg)	8.45±1.31	16	8.63±1.38	32	8.69±1.28	86
PZA投与量 (/kg)	21.5±4.2	14	20.92±6.2	32	22.2±4.2	82
INH血中濃度	2.97±1.11	16	3.30±1.26	32	3.02±1.50	86
RFP血中濃度	3.33±2.88	16	4.62±4.59	32	3.67±3.75	86
AcINH血中濃度	3.26±1.27	16	2.75±1.58	32	3.50±2.02	86
AcINH/INH	1.26±0.70	16	1.12±0.94	32	1.49±1.06	86
Hydrazine血中濃度	23.96±12.38	16	25.22±14.0	32	23.29±11.00	86

表 6 肝障害の有無による CYP 2 E 1 遺伝子多型の頻度

(1)CYP 2 E 1 * 5

症例数 () 内は各群の%		c 1 / c 1	c 1 / c 2	c 2 / c 2
肝障害あり	16	9 (56.3%)	6 (37.5%)	1 (6.3%)
肝障害軽度	32	18 (56.3%)	13 (40.6%)	1 (3.1%)
肝障害なし	86	56 (65.1%)	23 (26.7%)	7 (8.1%)

(2)CYP 2 E 1 * 6

症例数 () 内は各群の%		D/D	D/C	C/C
肝障害あり	16	6 (37.5%)	9 (56.3%)	1 (6.3%)
肝障害軽度	32	14 (43.8%)	15 (46.9%)	3 (9.4%)
肝障害なし	86	43 (50.0%)	33 (38.4%)	10 (11.6%)

表 7 肝障害別 NAT 2 表現型別 GSTM 1 , GSTT 1 における野生型の頻度

	症例数	GSTM 1 wild	GSTT 1 wild
肝障害あり	16	6 (37.5%)	9 (56.3%)
肝障害軽度	32	17 (53.1%)	23 (71.9%)
肝障害なし	86	39 (45.3%)	50 (58.1%)

考 案

抗結核治療は標準方式が定められ医療の基準として示されているため、容易に治療可能な印象があるが、副作用が生じ標準治療を行えない場合、抗結核薬の選択肢が少なく複数の薬剤の組み合わせを必要とするだけに、治療失敗を招く場合がある。本邦では、RFP, INH, PZA は最も強力な抗菌作用を示し、菌の撲滅に必須の薬剤として First-line drugs (a) と称され、主軸をなしており¹⁾、治療成功のポイントとなる薬剤である。INH は治療開始から他の薬剤に比し数日で菌量を減少させること¹⁷⁾、細胞内に存在する菌に対して非常に有効であること¹⁸⁾から、全治療期間を通して主軸となる薬剤であるが、その副作用は、肝障害、骨髄抑制、末梢神経炎、腎障害、皮疹など多岐にわたっている¹⁹⁾。INH 投与量について米国胸部疾患学会の勧告²⁰⁾では、副作用の発現を鑑み、5 mg/kg の投与とし300mg を上限としている。現在、日本結核病学会治療委員会において結核医療の基準の見直しを勧告し¹⁹⁾、本邦も欧米と同様の治療指針となった。

INH の代謝は肝臓における NAT 2 によるアセチル化が主な代謝経路であり、アセチル化を受け AcINH となりその後加水分解し AcHz となり、再び NAT 2 にてアセチル化され Diacetylhydrazine となり排泄される。この NAT 2 には遺伝子多型が存在し、アセチル化能の差による代謝産物が INH による肝障害の原因の一つと考えられ検討されてきた⁴⁾。当初、RA においてアセチル化が速やかに進行し AcHz が高濃度となり高率に肝障害が生じる可能性が報告された²¹⁾²²⁾が、AcHz は RA では速やかにジアセチルヒドラジンとなり代謝されるため SA で高値を示し²³⁾、AST, ALT の正常上限3倍以上を示す確率は RA11%, SA26%と SA で有意に高率であったという報告がなされ⁶⁾、SA において肝障害が生じやすいことが本邦においても報告された²⁵⁾。しかし、NAT 2 遺伝子多型と肝障害について関連がなかったという報告⁵⁾²⁶⁾もあり、明確ではない。近年、INH が加水分解された Hz が肝障害の原因物質となりうることが実験的に確認され²⁷⁾²⁸⁾、とくに Hz の肝毒性は AcHz より強いと報告されたため²⁸⁾、Hz, AcHz の代謝に関わる CYP 2 E 1, GST が肝障害に影響する可能性が報告された²⁹⁾³¹⁾。CYP 2 E 1 は薬物代謝の第 I 相で酸化反応を触媒する酵素で、さまざまな薬剤性肝障害に関連がある。INH 代謝

において、CYP 2 E* 5 B 遺伝子多型にて c1/c1 患者では肝障害の頻度が高い²⁹⁾、潜在性結核感染治療に INH を用いた場合 NAT 2 遺伝子多型は肝障害の発生頻度に差は認めなかったが、CYP 2 E 1 c1/c1 を有する患者では有意に肝障害が高率であった、と報告されており³⁰⁾、肝障害への関与が示唆されている。また、GST は、薬物代謝の第 II 相でグルクロン酸抱合を触媒し、グルクロン酸抱合体を生成し、薬理活性を消失させる。GST の多型にて薬剤性の肝障害が報告されているが、GST M 1 欠損型では肝障害が高率であったが、NAT 2, GST T 1 の遺伝子多型では肝障害発現に有意差を認めなかった³¹⁾、GST M 1 欠損型で抗結核薬による肝障害は優位に高率であった³²⁾、GST T 1 欠損型で肝障害は有意に高率であったが GST M 1 欠損型では有意差を認めなかった³³⁾、と様々な報告がされている。しかし、肝障害を遺伝子多型のみで説明することは困難で、米国呼吸器学会では結核治療上の肝障害の危険因子について、年齢ほか多要因と並列に挙げている³⁴⁾。

今回、NAT 2, CYP 2 E 1, GST の遺伝子多型を検討し、肺結核における肝障害発現について、INH およびその代謝産物の血中濃度と治療中の肝障害の有無を検討した。肝障害について AST, ALT のいずれかが正常値上限の2倍以内、3倍以内、4倍以内、4倍を上回る4群に分け、肝障害ありを、AST, ALT のいずれかが正常値上限の3倍を上回る症例として検討した。抗結核薬投与後、AST, ALT の上昇が認められても軽度であれば投与を継続し正常値に復する場合も少なくない³⁴⁾³⁵⁾。抗結核薬中止が患者にもたらす負の要因が多であることから AST, ALT の一過性の上昇を治療に影響する肝障害として考慮せず経過観察をすることが多いため、肝障害として臨床問題となるのは、AST ないしは ALT が基準値の5倍以上となった場合か、総ビリルビン値が 2 mg/dl 以上となった場合に抗結核薬すべてを中止する場合である³⁵⁾。

今回の検討で、血中 INH 濃度および代謝産物である AcINH, Hz の血中濃度は RA, IA, SA 間に有意差を認め、血中 INH 濃度は RA で最も低値であり、IA, SA の順に高値であり、AcINH 血中濃度は、RA で最も高く、SA で最も低値であり、アセチル化能を反映していた。Hz 血中濃度は、SA にて最も INH 血中濃度が高く、RA では最も低かった。この傾向は従来の報告と同様の結果であったが、肝障害の発症頻度について比較した結果、軽度

の肝機能障害まで含めた肝機能障害全体では3群中最もSAが高率でRAで最も低率であったものの、SAでは抗結核薬を中止するに至るほどの肝障害を生ぜず正常値に服したため、中等度以上の肝障害を生じた頻度は3群で差を有さなかった。本検討の結果、INH, AcINH, Hzの投与2時間後の血中濃度およびNAT2遺伝子多型では肝障害発症を説明できないという結論であった。SAが134例中12例と少数であることが結果に影響した可能性を考慮し、肝障害を呈した症例を肝障害の程度で2群に分け、肝障害を生じなかった群を加え3群で比較したが、肝障害をきたした患者に有意に男性が高率であった以外に有意差を認めた項目はなかった。INH, INH代謝産物血中濃度は3群で有意差を認めず、NAT2遺伝子多型のみならず、CYP2E1, GST遺伝子多型のNAT2遺伝子多型別比率、肝障害別比率を比較したが、肝障害の発症において有意な結果は得られず、肝障害を代謝に関連する遺伝子多型で説明することは困難であった。肝障害あり群の検討でINHおよび代謝産物血中濃度について有意差が認められなかったのは、内服後2時間にワンポイントのみ検体採取を行っており、薬物血中濃度-時間曲線下面積: Area under the blood concentration time curve (AUC)の比較ではないことも原因と考えられ、今後検討する必要がある。

抗結核薬は多剤併用が原則であり、患者背景も多彩であることから、肝障害の予防について複数の因子を考慮しなくてはならない。今回の検討では有意な結果が導き出せなかったが、INH, RFP, PZAという主軸の薬剤代謝と副作用発現の関連については今後も引き続き検討すべきと考えられた。

なお、本研究は、平成17年度千葉県血清研究所記念保険医療福祉基金調査研究事業「結核患者における関連遺伝子の多型解析と予防と治療に関する研究」(主任研究者 山岸 文雄)から研究費の補助を受けて実施された。

[文献]

- 1) 石川直子. 医療基準の考え方. In: 厚生労働省保健医療局エイズ感染症課監修: 新しい結核医療の基準. 東京: 財団法人結核予防会; 2004: p1-11.
- 2) 厚生労働省健康局結核感染症課長: 潜在性結核感染症の取り扱いについて. 健感発第0801001号, 2007.
- 3) 日本結核病学会治療委員会. 抗結核薬使用中の肝障害への対応について. 結核. 2007; 82: 115-8.
- 4) Mitchell JR, Thorgeirsson UN, Black M et al: Increased incidence of isoniazid hepatitis in rapid acetylators: possible relation to hydrazine metabolites. Clin Pharmacol Ther 1975; 18: 70-9.
- 5) Gurumurthy P, Krishnamurthy MS, Nazareth O et al. Lack of relationship between hepatic toxicity and acetylator phenotype in three thousand South Indian patients during treatment with isoniazid for tuberculosis. Am rev respire Dis 1984; 129: 58-61.
- 6) Huang YS, Chern HD, Su WJ et al. Polymorphism of the N-acetyltransferase 2 gene as a susceptibility risk factor for antituberculosis drug-induced hepatitis. Hepatology 2002; 35: 883-9.
- 7) Deguchi T. Sequences and expression of alleles of polymorphic arylamine N-acetyltransferase of human liver. J Biol Chem 1992; 267: 18140-7.
- 8) Parkin DP, Vandenplas S, Botha, FJ et al. Trimodality of isoniazid elimination: phenotype and genotype in patients with tuberculosis. Am J Respir Crit Care Med 1997; 155: 1717-22.
- 9) Kita T, Tanigawa Y, Chikazawa S et al. N-acetyltransferase 2 genotype correlated with isoniazid acetylation in Japanese tuberculosis patients. Biol Pharm Bull 2001; 24: 544-9.
- 10) Hayashi S, Watanabe J, Kawajiri K. Genetic polymorphism in the 5' -flanking region change transcriptional regulation of the human Cytochrome P450 II E 1 gene. J Biochem 1991; 110: 559-65.
- 11) Uematsu F, Kikuchi H, Ohmachi T et al. Two common RFLPs of the human CYP2E gene. Nucleic Acids Res 1991; 19: 2803.
- 12) Roy B, Chowdhury A, Kundu S et al. Increased risk of antituberculosis drug-induced hepatotoxicity in individuals with glutathione S-transferase M1' null' mutation. J Gastroenterol Hepatol 2001; 16: 1033-7.
- 13) Strange RC, Spiteri MA, Ramachandran S et al. Glutathione-S-transferase family of enzymes. Mutat Res 2001; 482: 21-6.
- 14) Deakin M, Elder J, Hendrickse et al. Glutathione-S-transferase GSTT1 genotypes and

- susceptibility to cancer: studies of interactions with GSTM1 in lung, oral, gastric and colorectal cancers. *Carcinogenesis* 1996; 17: 881-4.
- 15) Seifart HI, Gent WL, Parkin DP et al. High-performance liquid chromatographic determination of isoniazid acetylisoniazid and hydrazine in biological fluids. *J Chromatogr B Biomed Appl* 1995; 674: 269-75.
 - 16) 久保博昭, 木下俊夫, 小林良江ほか. 高速液体クロマトグラフィーによる血清中リファンピシンの測定. *分析化学* 1982; 31: 175-9.
 - 17) Jindai A, Aber VR, Edwards EA et al. The early bactericidal activity of drugs in patients with pulmonary tuberculosis. *Am Rev Respir Dis* 1980; 121: 939-49.
 - 18) Iceman MD. Tuberculosis chemotherapy, including Directly Observed Therapy. In: Iceman MD. *A clinician's guide to tuberculosis*. Philadelphia: Lippincott Williams&Wilkins; 2000: p271-322.
 - 19) 日本結核病学会治療委員会. 結核医療の基準の見直し-第2報-. *結核* 2003; 78: 497-9.
 - 20) American Thoracic Society, Centers for Disease Control and Prevention, and Infectious Diseases Society of America: Treatment of tuberculosis. *MMWR* 2003; 52 (RR-11): 1-77.
 - 21) Mitchell JR, Thorgeirsson UN, Black M et al. Increased incidence of isoniazid hepatitis in rapid acetylators: possible relation to hydrazine metabolites. *Clin Pharmacol Ther.* 1975; 18: 70-9.
 - 22) Timbrell JA, Mitchell JR, Snodgrass WR et al. Isoniazid hepatotoxicity: the relationship between covalent binding and metabolism in vivo. *J Pharmacol Exp Ther* 1980; 213: 364-9.
 - 23) Lauterburg BH, Smith CV, Todd EL et al. Pharmacokinetics of the toxic hydrazino metabolites formed from isoniazid in humans. *J Pharmacol Exp Ther* 1985; 235: 566-70.
 - 24) Dickinson DS, Bailey WC, Hirschowitz BI et al. Risk factors for isoniazid (INH)-induced liver dysfunction. *J Clin Gastroenterol* 1981; 3: 271-9.
 - 25) Ohno M, Yamaguchi I, Yamamoto T et al. Slow-N-acetyltransferase 2 genotype affects the incidence of isoniazid and rifampicin-induced hepatotoxicity. *Int J Tuberc Lung Dis* 2000; 4: 256-61.
 - 26) Singh J, Grg AP, Thakur VS et al. antitubercular treatment induced hepatotoxicity: Dose acetylator status matter?. *Indian J Physiol Pharmacol* 1995; 39: 43-6.
 - 27) Sarich TC, Adams SP, Petricca G et al. Inhibition of isoniazid-induced hepatotoxicity in rabbits by pretreatment with an amidase inhibitor. *J pharmacol Exp Ther* 1999; 289: 695-702.
 - 28) Noda A, Hsu KY, Noda H et al. Is isoniazid-Hepatotoxicity Induced by the Metabolite, hydrazine? *J UOEH* 1983; 5: 183-90.
 - 29) Huang YS, Chern HD, Su WJ et al. Cytochrome P4502E1 genotype and the susceptibility to antituberculosis drug-induced hepatitis. *Hepatology* 2003; 37: 924-30.
 - 30) Vuilleumier N, Rossier MF, Chiappe A et al. CYP2E1 genotype and isoniazid-induced hepatotoxicity in patients treated for latent tuberculosis. *Eur J Clin Pharmacol* 2006; 62: 423-9.
 - 31) Roy B, Chowdhury A, Kundu S et al. Increased risk of antituberculosis drug-induced hepatotoxicity in individuals with glutathione S-transferase M1' null' mutation. *Gastroenterol and Heat* 2002; 16: 1033-7.
 - 32) Huang W, Su Y, Huang C et al. Genetic polymorphisms of manganese superoxide dismutase, NAD(P)H: quinone oxidoreductase, glutathione S-transferase M1 and T1, and the susceptibility to drug-induced liver injury. *J Hepato* 2007; 47: 128-34.
 - 33) Leiro V, Villar AF, Valverde D et al. Influence of glutathione S-transferase M1 and T1 homozygous null mutations on the risk of antituberculosis drug-induced hepatotoxicity in a Caucasian population. *Liv Int* 2008; 28: 835-9.
 - 34) American Thoracic Society. Hepatotoxicity of Antituberculosis Therapy. *Am J Respir Crit Care Med* 2006; 174: 935-52.
 - 35) 日本結核病学会治療委員会. 抗結核薬使用中の肝障害への対応について. *結核* 2007; 82: 115-8.