

厚生科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）
分担研究報告書

薬剤耐性マラリアに対するプログアニール治療の薬理遺伝学的研究

分担研究者 金子明

東京女子医大国際環境・熱帯医学教室助教授

研究要旨

Proguanil(PG)治療後マラリア患者において、CYP2C19 に関する遺伝子型は PG 代謝の程度と強く相関し gene dose effect を示したが、抗マラリア効果には関与しなかった。これは「PG は prodrug である。」という従来の仮説を否定するものであり、PG 自体が未知の抗マラリア作用を示すことを示唆している。PG 治療後認められた上部消化管に対する副作用は血中 PG 濃度と相関した。

A. 研究目的

マラリア化学療法の治療効果を規定する因子としては原虫の薬剤耐性のみならず、患者の薬物代謝が重要である。肝 cytochrome P450 の isozyme である CYP2C19 は、omeprazole, diazepam 等多くの薬剤代謝に関与し、その発現には多様性がある。poor metabolizer (PM)の割合は、白人およびアフリカ人では 3-6%、アジア人では 13-23%と報告されていた。アジア人集団においては PM となる変異の 99%以上は 2 つの 1 塩基変異(CYP2C19*2 および CYP2C19*3)によって説明されている。マラリア流行地において、CYP2C19 はマラリア化学療法剤 proguanil(PG)代謝において重要性を持つ。

我々は、南太平洋のマラリア流行地であるヴァヌアツにおいて、CYP2C19 に関する PM 遺伝子型の頻度が、71%と極めて高いことを既に報告した (Kaneko et al., Lancet 1997)。当地における我々のフィールド研究では、現地で臨床的寄生虫学的に観察されるマラリア患者の PG による治療効果を患者の CYP2C19 に関する遺伝子型、血中薬剤濃度による表現型と関連させて理解し、クロロキン等の既存の薬剤耐性マラリアに対する治療薬として重要な PG を含む有効な治療戦略を樹立するのが一義的な目的である。

B. 研究方法

ヴァヌアツの PG 治療後マラリア患者から得られたサンプルについて CYP2C19 遺伝子型と PG 代謝および治療効果の関係を解析した。マラクラ島において、合併症のない *Plasmodium falciparum* ないし *P. vivax* 患者 100 名に PG 300 mg/day、3 日間経口投与した。指頭より毛細管血を濾紙に採血し、これらのサンプルより CYP2C19 に関する遺伝子型を PCR 制限酵素法にて、および PG とその代謝産物濃度の経時的変化(最初と最後の PG 投与の 3 および 24 時間後)を HPLC 法にて決定

した。

(倫理面への配慮)

研究計画にはヴァヌアツ保健省において審査され許可された。個々の患者(子供の場合は保護者)に対しては村長や保健婦の助力により研究の主旨、検査、危険性について説明し、参加することについて同意を得た。

C. 研究結果および考察

1. PG で治療した 100 人のマラリア患者における CYP2C19*1(wild type)、CYP2C19*2、CYP2C19*3 の頻度はそれぞれ 0.18、0.57、0.25 であり、68 名が CYP2C19 遺伝子型に関して PM、32 名が extensive metabolizer (EM)であった。PM 群においては EM 群に比べて PG 血中濃度は高く、代謝産物である cycloguanil (CG) および 4-chlorophenylbiguanide は低かった。EM は更に野生型遺伝子の数でヘテロとホモの 2 群に分けられたが、ヘテロ EM の PG 代謝の程度はホモ EM と PM の中間であり、“gene dose effect”の存在が示唆された。結論として我々のデータは CYP2C19 の変異と PG 代謝の程度はよく相関することを示した。

2. PG は“prodrug”であり、人間の体内で CG に代謝されると原虫 dihydrofolate reductase (DHFR)阻止薬としての抗マラリア作用が発揮されると考えられてきた。つまり、「PM のマラリア患者においては PG が効かないだろう。」という仮説が提唱されていた。この PG 治療は *P. falciparum* の 71%および *P. vivax* の 90%に有効であったが、予想に反し、この効果は PM 群と EM 群で同様であった。これらの結果は従来の PG に関する仮説を否定するものであり、PG に代謝産物である CG の原虫 DHFR 阻止以外の抗マラリア作用があることを示唆している。最近ヒトの DHFR 遺伝子を導入された *P. falciparum* 培養原虫

が CG に対しては耐性になったが、PG に対しては感受性が変化しなかったことが報告された。この *in vitro* のデータと我々の患者における研究は相互に補完するものである。現在、新しい治療薬として atovaquone と PG の合剤が注目されており、我々の結果は今後のマラリア対策に重要な意義があると考えられる。

3. PG は一般的に副作用が非常に少ない薬剤と認識されているが、今回の調査では腹痛、吐き気等の軽度の上部消化管に対する副作用が 44% の患者に観られた。この頻度は血中 PG 濃度に有意に相関したが、CYP2C19 に関しての EM 群と PM 群の間では有意差を認めなかった。これらの結果は副作用発現にも人種間差があり、CYP 等を含むなんらかの遺伝学的因子によって影響を受けることを示唆していた。

D. 結論

従来、抗マラリア剤の効果は原虫の薬剤耐性の観点から主として研究が進められてきたが、我々の研究は効果・副作用の発現に、地理的人種間で差異を認める薬理遺伝学的因子も重要であることを示している。多くの臨床的に重要な薬剤は平均的な西欧人における代謝の程度が基準とされており、開発途上国で特に必要なマラリア治療を考える上で、我々の結果は新たな観点の医学的意義があると思われた。

E. 研究発表

1. 論文発表

Kaneko A, Lum JK, Yaviong J, Takahashi N, Ishizaki T, Bertilson L, Kobayakawa T, Björkman A. High and variable frequencies of *CYP2C19* mutations: medical consequences of poor drug metabolism in Vanuatu and other Pacific islands. *Pharmacogenetics* 1999; 9: 581-590.

Kaneko A, Bergqvist Y, Taleo G, Kobayakawa T, Ishizaki T, Björkman A. Proguanil disposition and toxicity in malaria patient from Vanuatu with high frequencies of *CYP2C19* mutations. *Pharmacogenetics* 1999; 9: 317-326.

Kaneko A, Bergqvist Y, Takechi M, Kalkoa M, Kaneko O, Kobayakawa T, Ishizaki T, Björkman A. Intrinsic efficacy of proguanil against falciparum and vivax malaria independent of the metabolite cycloguanil. *J Infect Dis* 1999; 179: 974-979.

2. 学会発表

Kaneko A. A practical exercise in malaria control in a low endemic setting. Agenda for meeting on Strategic considerations for the Development of Vaccines against Malaria Transmission; 1999 Dec 3-5; Bethesda, USA.

Kaneko A, Bergqvist Y, Takechi M, Kalkoa M, Kaneko O, Kobayakawa T, Ishizaki T, Björkman A. *CYP2C19* polymorphism and proguanil efficacy in malaria patients from Vanuatu. American Society of

Tropical Medicine and Hygiene 48th Annual Meeting Program Update; 1999 Nov 28 – Dec 2; Washington, USA.

Kaneko A, Lum JK, Yaviong J, Ishizaki T, Bertilson L, Kobayakawa T, Björkman A. High frequencies of *CYP2C19* mutations and poor drug metabolism in Vanuatu. 1999 Gordon Research Conference on Molecular Evolution; 1999 Oct 24-29; Hayama, Japan.

Kaneko A, Taleo G, Yamar S, Ichimori K, Rieckmann KH, Kobayakawa T, Perlmann H, Perlmann P, Björkman A. Persistence of immune responses 7 years after the eradication of malaria on an island of Vanuatu. Programme and abstracts of the 11th British Society for Parasitology Malaria Meeting; 1999 Sep 20-22; London, UK. p. 71.

Kaneko A, Taleo G, Perlmann H, Perlmann P, Ichimori K, Mita T, Kobayakawa T, Björkman A. Eradication of malaria on an island of Vanuatu. Joint Conference of the 40th Annual Meeting of Japanese Society of Tropical Medicine and the 14th Annual Meeting of Japanese Association for International Health; 1999 Sep 3-5; Tokyo, Japan. *Jap J Trop Med Hyg* 1999; 27 (Suppl.): 79 (291).

金子明, Taleo G, Björkman A. プログアニール治療の ethnopharmacology. 科学研究費補助金「特、Björkman A 定領域研究 (A)」マラリア制圧の分子論的展開, 第 2 回全体班会議 講演要旨集; 1999 年 1 月 8-9 日, 東京. 1999. p.60-1.

金子明. バヌアツにおけるマラリア対策に関わる遺伝的多様性 日本オセアニア学会 第 16 回研究大会 プログラム・研究発表要旨; 1999 年 3 月 14-15 日, 大仁. 1999. p.6.

金子明. 南太平洋における島しょマラリア対策 第 23 回日本熱帯医学会九州支部大会, 熱帯医学シンポジウム, プログラム及び抄録; 1999 年 2 月 20-21 日, 長崎.

Kaneko A, Bergqvist Y, Taleo G, Kobayakawa T, Ishizaki T, Björkman A. Proguanil disposition and toxicity in relation to *CYP2C19* polymorphism. Program and abstracts of the 68th annual meeting of the Japanese society of parasitology; 1999 April 5-7; Tochigi, Japan. *Parasitology International* 1999; 48(supl.):117.

金子明. マラリアの諸問題ーバヌアツの経験から 第 73 回日本感染症学会総会, 教育講演, 学術講演抄録 1999 年 3 月 30-31 日, 東京, 感染症学雑誌 1999; 73 増刊号.

19990438

以降のページは雑誌／図書等に掲載された論文となりますので
「研究成果の刊行に関する一覧表」をご参照ください。

研究成果の刊行に関する一覧表

Bhisutthibhan J, Philbert A, Fujioka H, Aikawa M and Meshnick S R (1999) .The *Plasmodium falciparum* translationally controlled tumor protein : subcellular localization and binding. *Euro J Cell Biol*; 78: 665-670.

Hamagami J, Kanamura K, Umegaki T, Nakagawa T, Nakano Y, Aikawa M and Yamashita K (1999). SURFACE POTENTIAL MEASUREMENT OF ELECTRICALLY POLED HAP CERAMICS. *Bioceramics*; 12: 169-172.

Kaneko A, Bergqvist Y, Kobayakawa T, Taleo G, Ishizaka T. and Bjorkman, A (1999). Proguanil disposition and toxicity in malaria patients from Vanuatu with high frequencies of CYP2C19 mutations. *Pharmacogenetics*; 9: 317-326.

Kaneko A, Lum, JK, Yaviong J, Takahashi N., Ishizaka T, Bertilsson L, Kobayakawa T and Bjorkman A (1999). High and variable frequencies of CYP2C19 mutations: medical consequences of poor drug metabolism in Vanuatu and other Pacific islands. *Pharmacogenetics*; 9: 581-590.

Kaneko A, Bergqvist Y, Takeuchi, Kalkoa M, Kaneko O, Kobayakawa T, Ishizaka T and Bjorkman A. (1999). Intrinsic Efficacy of Proguanil against Falciparum and Vivax Malaria Independent of the Metabolite Cycloguanil. *J Infect Dis*; 179: 974-979.