

Table 2
Combined genotypes of β_1 AR and the risk for heart failure

β_1 Ser49Gly	β_1 Arg389Gly	Controls	Patients with heart failure	Odds ratio for heart failure (95%CI)	P-value
		No. of subjects			
		119	91		
\equiv 1Gly	\equiv 1Gly	6	6	1.00	–
\equiv 1Gly	Arg/Arg	30	19	0.63 (0.18–2.25)	0.35
Ser/Ser	\equiv 1Gly	34	25	0.74 (0.21–2.55)	0.43
Ser/Ser	Arg/Arg	49	41	0.84 (0.25–2.79)	0.50

Subjects with at least one β_1 Gly49 allele and at least one β_1 Gly389 allele served as the reference group. Odds ratios and P-values between the reference group and each other group were determined by $2 \times 2 \chi^2$ test. P-value < 0.017 (0.05/3) was considered to be significant.

frequency of the α_{2c} Del322–325 variant was lower in patients with CHF than in controls (0.04 vs. 0.11, $P = 0.011 < 0.017$, by Bonferroni correction) and the genotype frequency was not significant but showed the P-value nearly equal to the borderline of significance ($P = 0.022 > 0.017$, by Bonferroni correction). The allele and genotype frequencies of the β_1 Arg389 and β_1 Ser49 variants in the patients with heart failure were consistent with those of controls.

Combined genotypes of β_1 Arg389 and β_1 Ser49 variants were not associated with the risk of heart failure (Table 2).

Discussion

The frequency of β_1 Arg389Gly and β_1 Ser49Gly polymorphisms did not differ from those in the control group, nor were there any trends, suggesting that these polymorphisms are not associated with susceptibility to CHF. Similarly, the combined genotype of β_1 Arg389Gly and β_1 Ser49Gly was not associated with the risk of CHF. However, we cannot definitely exclude the possibility that lack of association is derived from a β error problem, although the number of samples in our study was more than that in the previous study [7].

The allele frequency of the α_{2c} Del322–325 variant was statistically lower in CHF than in the controls. However, it is uncertain that the α_{2c} Del322–325 variant is a negative risk factor clinically, because the genotype frequency of this variant was of borderline significance, probably due to the low frequency of the homozygous genotype for α_{2c} Del322–325 variant in the Japanese population. Thus, considering the limitation of low genotype frequency of this polymorphism, a reasonable interpretation of our results is that α_{2c} Del322–325 vari-

ant is not a positive risk factor for CHF due to DCM in the Japanese population.

Previously, it was reported that allele frequency of α_{2c} Del322–325 positively correlated with heart failure in both the white and black populations [7]. It remains to be clarified why our data are not consistent with the previous study [7]. One possibility is that the inconsistency might be derived from the difference in the cause of heart failure. The previous study included patients with ischaemic cardiomyopathy, while we excluded ischaemia because some adrenoceptor polymorphisms are related to hypertension, a risk factor for ischaemic heart disease [9, 10]. Another possibility is that the pathophysiological significance of the adrenoceptor polymorphism is closely related to the severity of heart failure. Importantly, the ratio of the patients classified as NYHA III or IV is lower in the present study than that in the previous report [7]. It may be hypothesized that there is a racial difference in the severity of CHF. Indeed, the previous study reported that Japanese patients with congestive heart failure show low mortality [11].

In addition to healthy controls, who are all males aged between 20 and 40 years, we analysed 189 diabetes patients (58% male with an age 60.4 ± 9.8 years) who did not suffer from CHF, as an age-matched control. It was found that there were no differences in the allele and genotype frequencies of α_{2c} Del322–325 among healthy controls, male diabetes patients, and female diabetes patients (data not shown). Moreover, the allele frequency of α_{2c} Del322–325 was lower in the patients with CHF than in those with diabetes (0.04 and 0.10, respectively). Thus it is unlikely that α_{2c} Del322–325 polymorphism affected survival through other causes, resulting in the influence on allele frequency of samples.

Recent studies demonstrated that a genetic variability of β_2 AR, Thr164Ile, is closely related to heart failure. In patients with congestive cardiac failure, patients with homozygous genotype Ile/Ile show high mortality compared with those with other genotypes [12]. However, we could not statistically confirm the previous findings, probably because of low frequency of the mutation.

In summary, the α_{2c} Del322–325, β_1 Ser49 and β_1 Arg389 variants do not appear to be risk factors for CHF due to DCM in a Japanese population, and the α_{2c} Del322–325 variant may be protective. Considering the contradiction with the previous report, it is proposed that there may be a racial difference in the clinical importance of this polymorphism. Further efforts should be made to address any possible racial differences in the responsiveness of heart failure from different causes to β -blockers.

Shinji Negoro, Osamu Kato, Tomoyuki Hamaguchi and Isamu Yamamoto contributed to evaluation of chronic heart failure patients. Tsuyoshi Fukuda and Tomoko Kubota contributed to preparation of the manuscript. We thank Dr Mitsuru Sugawara (Department of Pharmacy, Hokkaido University Hospital) for collecting blood samples. We also thank Prof. Tatsuya Takagi (Department of Pharmaceutical Information Science, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Osaka University) for helpful discussion about statistics. This study was supported in part by a grant from the Organization for Pharmaceutical Safety and Research (OPSR) in Japan and Grants-in-Aid for Research on Measures for Intractable Diseases from Ministry of Health, Labour and Welfare and for Scientific Research from the Ministry of Education, Science, Sports and Culture of Japan. This study was also supported by a grant from Daiichi Pharmaceutical Co., Ltd.

References

- 1 Cohn JN, Levine TB, Olivari MT, Garberg V, Lura D, Francis GS, Simon AB, Rector T. Plasma norepinephrine as a guide to prognosis in patients with chronic congestive heart failure. *N Engl J Med* 1984; 311: 819–23.
- 2 Bristow MR, Minobe W, Rasmussen R, Larrabee P, Skerl L, Klein JW, Anderson FL, Murray J, Mestroni L, Karwande SV, Fowler M, Ginsburg R. β -adrenergic neuroeffector abnormalities in the failing human heart are produced by local rather than systemic mechanisms. *J Clin Invest* 1992; 89: 803–15.
- 3 Hein L, Altman JD, Kobilka BK. Two functionally distinct alpha2-adrenergic receptors regulate sympathetic neurotransmission. *Nature* 1999; 402: 181–4.
- 4 Small KM, Forbes SL, Rahman FF, Bridges KM, Liggett SB. A four amino acid deletion polymorphism in the third intracellular loop of the human α_{2c} -adrenergic receptor confers impaired coupling to multiple effectors. *J Biol Chem* 2000; 275: 23059–64.
- 5 Levin MC, Marullo S, Muntaner O, Andersson B, Magnusson Y. The myocardium-protective Gly-49 variant of the β_1 -adrenergic receptor exhibits constitutive activity and increased desensitization and down-regulation. *J Biol Chem* 2002; 277: 30429–35.
- 6 Mason DA, Moore JD, Green SA, Liggett SB. A gain-of-function polymorphism in a G-protein coupling domain of the human β_1 -adrenergic receptor. *J Biol Chem* 1999; 274: 12670–4.
- 7 Small KM, Wagoner LE, Levin AM, Kardias SL, Liggett SB. Synergistic polymorphisms of β_1 - and α_{2c} -adrenergic receptors and the risk of congestive heart failure. *N Engl J Med* 2002; 347: 1135–42.
- 8 Meisel C, Kopke K, Roots I. Polymorphisms of adrenergic receptors and the risk of heart failure. *N Engl J Med* 2003; 348: 468–70.
- 9 McCaffery JM, Pogue-Geile MF, Ferrell RE, Petro N, Manuck SB. Variability within α - and β -adrenoreceptor genes as a predictor of cardiovascular function at rest and in response to mental challenge. *J Hypertens* 2002; 20: 1105–14.
- 10 Hoit BD, Suresh DP, Craft L, Walsh RA, Liggett SB. β_2 -adrenergic receptor polymorphisms at amino acid 16 differentially influence agonist-stimulated blood pressure and peripheral blood flow in normal individuals. *Am Heart J* 2000; 139: 537–42.
- 11 Tsuchihashi M, Tsutsui H, Kodama K, Kasagi F, Takeshita A. Clinical characteristics and prognosis of hospitalized patients with congestive heart failure — a study in Fukuoka. *Japan Jpn Circ J* 2000; 64: 953–9.
- 12 Liggett SB, Wagoner LE, Craft LL, Hornung RW, Hoit BD, McIntosh TC, Walsh RA. The Ile164 β_2 -adrenergic receptor polymorphism adversely affects the outcome of congestive heart failure. *J Clin Invest* 1998; 102: 1534–9.

原 著

N-アセチルトランスフェラーゼ2遺伝子多型に基づいた結核治療の試み

窪田 竜二*¹ 大野 雅子*^{1,3} 安永 実沙*¹
横田 総一郎*² 前倉 亮二*² 東 純一*¹

Tentative Treatments for Tuberculosis Based on N-acetyltransferase Gene Polymorphism

Ryuji KUBOTA *¹, Masako OHNO *^{1,3}, Misa YASUNAGA *¹,
Soichiro YOKOTA *², Ryoji MAEKURA *², Junichi AZUMA *¹

Clinical Evaluation of Medicines and Therapeutics, Graduate School of
Pharmaceutical Sciences, Osaka University, 1-6 Yamadaoka, Suita, Osaka
565-0871, Japan *¹

Toneyama National Hospital, 5-1-1 Toneyama, Toyonaka, Osaka
560-8552, Japan *²

Osaka Medical Center and Research Institute for Maternal and Child
Health, 840 Murodo-cho, Izumi, Osaka 594-1011, Japan *³

ABSTRACT

During tuberculosis chemotherapy, hepatotoxicity occurs at 10 to 20% of Japanese patients receiving isoniazid (INH) and rifampicin (RFP). Prevention of this adverse reaction is expected to be clinically beneficial. However, the pathological mechanisms involved in liver dysfunction remain to be fully elucidated. Here, we report two cases in which decreased

dosage of INH, based on the genotype of NAT2, prevented a relapse of hepatotoxicity without reducing its antituberculous effect. The patients were genotyped as a slow acetylator (SA-type patients). The first case illustrated hepatotoxicity when treated with a regimen of INH 200mg and RFP 150mg twice daily (INH 400mg/day, RFP 300mg/day), but not when treated with a regimen of INH 100mg twice daily and RFP 150mg three times daily (INH

-
- * 1 Ryuji KUBOTA, Masako OHNO, Misa YASUNAGA, Junichi AZUMA
大阪大学大学院薬学研究科臨床薬効解析学分野 (〒565-0871 大阪府吹田市山田丘1-6)
* 2 Soichiro YOKOTA, Ryoji MAEKURA
国立病院機構刀根山病院 内科 (〒560-8552 大阪府豊中市刀根山5-1-1)
* 3 Masako OHNO
大阪府立母子保健総合医療医療センター臨床試験支援室 (〒594-1011 大阪府和泉市室堂町840)

受付日: 2004.9.3.
受理日: 2005.2.21.

200mg/day, RFP 450mg/day). This suggests that the daily dose of isoniazid was excessive for this patient, causing hepatotoxicity. In the second case, plasma concentration of INH was optimized by reducing the dosage from 200mg to 100mg twice daily. This reduction was sufficient to prevent recurrence of hepatotoxicity. We propose that the dosage of INH should be determined by

NAT2 genotyping. These cases provide the possibility that NAT2 genotyping contributes to individualized medicine for tuberculosis.

Keywords : tuberculosis, pharmacogenetics, *N*-acetyl-transferase 2, individualized medicine, drug-induced hepatotoxicity

要 旨

イソニアジド (INH) とリファンピシン (RFP) を含む結核標準化学療法時には1~2割の患者で肝機能異常が認められる。これは日常診療において最も注意すべき副作用で、その発現機序の解明と、有害事象を未然に防ぐ治療法の確立が求められている。本論文では、治療中に重篤な肝障害を起こした肺結核患者において、*N*-アセチルトランスフェラーゼ2 (NAT2) 遺伝子多型に基づいてINHを減量したところ、副作用の再発をみることなく完治した症例を報告する。症例1では肝障害による休薬の後、INH 400mg/day (分2), RFP 300mg/day (分2) 投与時には肝障害が再発したが、INH 200mg/day

(分2), RFP 450mg/day (分3) では肝障害は発現せず完治した。このことから、この患者の肝障害の原因薬剤はINHであったと推察される。症例2では400mg/day (分2) 投与時には高濃度域に入っていた血中濃度が、200mg/day (分2) に減量することで適切な濃度を推移した。これらの例は、NAT2 遺伝子多型に基づいてINH用量を設定することで、副作用を未然に防ぐ適正な結核治療を実現できる可能性を示唆するものである。

索引用語 : 結核, 遺伝子多型, *N*-アセチルトランスフェラーゼ2, 個別化適正医療, 薬剤性肝障害

I はじめに

抗結核薬イソニアジド (INH) には肝毒性があり、特にリファンピシン (RFP) 併用時には1~2割の患者で肝機能検査値に異常が認められる。RFPによるINHの肝毒性増強作用の詳細は不明であるが、RFPの酵素誘導作用によりINHから生成する肝毒性代謝物の生成量が増大するためだと推測されている^{1) 2)}。肝機能異常発現時には、通常、全て休薬後に抗結核薬の再導入を試みる。しかし、肝障害を再発することも多く、適切な指針の立案が求められている。INHの主代謝酵素である*N*-acetyltransferase 2 (NAT2) の酵素活性には個体差が存在し、その表現型はNAT2 遺伝子多型によって推定できる。すなわち、野生型の遺伝子 (NAT2*4)

を2つ持つ人が高い代謝能を持つRapid Acetylator (RA)、野生型と変異型の遺伝子 (NAT2*5, *6, *7) を1つずつ持つ人がIntermediate Acetylator (IA)、変異型の遺伝子型を2つ持つ人が低い代謝能を持つSlow Acetylator (SA) となる^{3) 4)}。著者らはこれまでに、INHとRFPを含む化学療法中にはSA患者で肝障害の起こる危険性が高いことを報告し⁵⁾、NAT2 遺伝子多型に基づいてイソニアジド投与量を設定する結核の個別化治療の可能性を提言している⁶⁾。本論文では、肝障害の出現したSA患者に対しNAT2 遺伝子多型に応じたINHの減量を試み、肝障害の再発を回避できた代表的症例を報告する。

II 方 法

本検討は国立療養所刀根山病院の倫理委員会で承認を受けた後に実施し、十分な説明をした上で文書による同意を得た肺結核入院患者を対象とした。対象患者はINH 400mg/day (分2)とRFP 450mg/day (分1)を含む化学療法で治療を開始した。患者のNAT2遺伝子型を判定するとともに、INHの血漿中濃度を測定し、臨床経過観察を行った。肝障害発現後のINH用量はSA患者であることを考慮し、INH 100mg/day (分1)から投薬を再開し、200mg/day (分2)で治療を継続した。

III 症 例

症例1

患者(31歳女性)の臨床経過を図1に示す。結核治療開始時のINH量は通常通り400mg/day (分2)であった。投薬開始7日目に血清AST 967 IU/l, ALT 472 IU/lと肝障害が発現したため、検査値が正常化するまで投薬を中止した。その後INHの投薬を再開し、400mg/day

day (分2)まで漸増したが、INH単剤での治療では肝機能異常は認められなかった。経過が良好であったため、RFPを150mg/day (分1)より開始し、300mg/day (分2)まで増量した。INH 400mg/day (分2), RFP 300mg/day (分2)での治療に移行したところ、肝障害が再発したため、RFPの投与を中止し、肝機能が正常化するまでINH 400mg/day (分2)で治療を継続した。肝障害再発時のINH投与後3時間の血中濃度は4.51 μ g/mlと高値であった。NAT2遺伝子多型判定を行ったところSA型(NAT2*6/*7)であったため、その結果に基づきINHを200mg/day (分2)に減量し、RFPを150mg/day (分1)から450mg/day (分3)まで逐次増量した。最終的にINH 200mg/day (分2), RFP 450mg/day (分3)の投与量で治療を継続し、肝障害の再発をみることなく完治し退院となった。

症例2

患者(69歳女性)の臨床経過を図2(a)に、INH減量前後の血中濃度を図2(b)に示す。INH 400mg/day (分2)を含む結核標準治療を

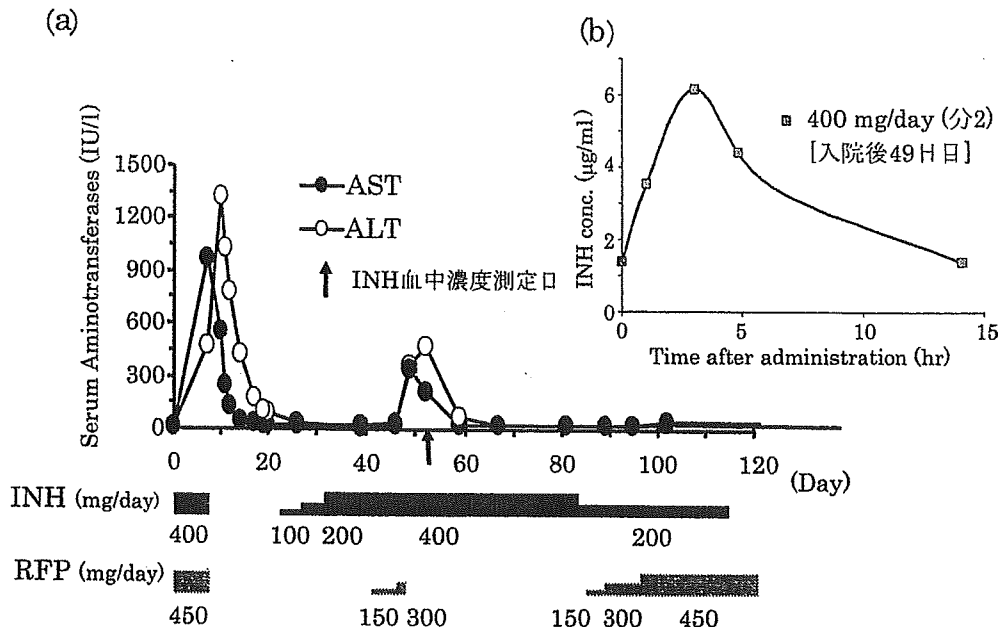


図1 症例1の臨床経過

(a)入院後のAST, ALTの推移およびINHとRFPの投与量推移
 (b)入院後49日目のINH血中濃度

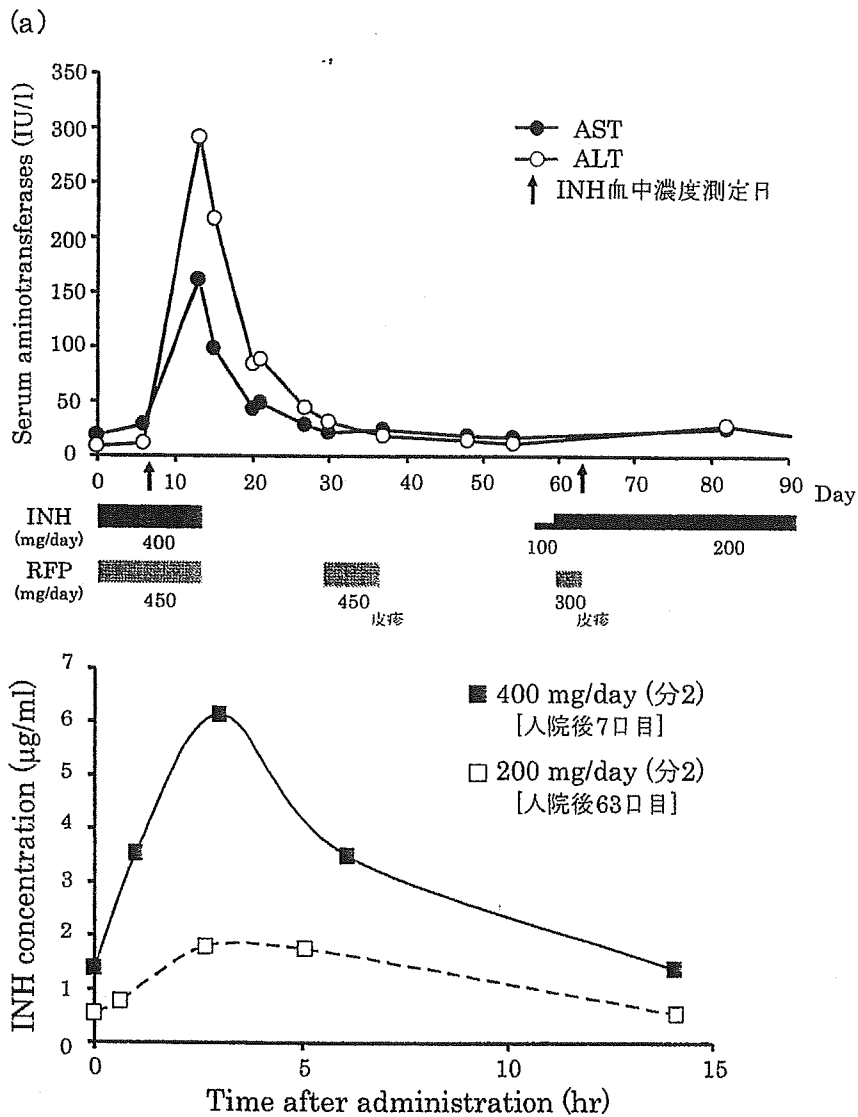


図2 症例2の臨床経過
 (a) 入院後のAST, ALTの推移およびINHとRFPの投与量推移
 (b) 入院7日目と入院63日目のINH血中濃度

開始した。投薬開始7日目に NAT2 遺伝子多型を判定したところ SA 型 (NAT2*6/*6) であった。同時に INH 血中濃度を測定したところ投与後 2 時間値は $6.14 \mu\text{g/ml}$ と高値であったが、肝機能検査値に異常が認められなかったためそのまま投薬を続けた。投薬開始 14 日後には血清 AST 162 IU/l, ALT 292 IU/l と肝障害が発現したため、投薬を中止した。休薬後 3 日目より、肝障害の少ないレボフロキサシン投

薬を開始した⁸⁾。さらに、RFPの追加を試みたが薬疹が見られたため、RFPの投薬を中止した。その後、NAT2 判定結果を基に INH 100mg/day (分1) より投薬を再開し、5 日後に 200mg/day (分2) に増量した。投薬再開後 6 日目における投与後 1.5 時間の血中濃度は $1.79 \mu\text{g/ml}$ となり、肝機能検査値にも異常はみられなかった。薬疹が発現したため RFP の投薬を中止して、そのまま治療を継続したところ、肝障害の

再発をみることなく完治し退院となった。

IV 考 察

症例 1 は, INH が肝障害の起因薬剤であり, 通常の投与量が SA 患者では過量であることを示す典型例である。結核治療薬を再導入したときに再現した肝機能検査値の上昇程度が 1 回目比べて小さいことから, アレルギー性肝障害ではなく中毒性肝障害だと判断される。また, 胆汁うっ滞性肝障害の特徴であるアルカリフォスファターゼやビリルビンの上昇を認めなかったことから, RFP に起因するものとは考え難い。今回, NAT2 遺伝子型に基づいて INH を減量した結果, 本 SA 患者は副作用をみることなく INH と RFP を含む化学療法を完結することができた。

INH を 1 日 1 回 300mg 投与した時, 投与後 1~2 時間の血中濃度は 3~5 $\mu\text{g/ml}$ が望ましいとされている⁷⁾が, 1 日 2 回投与の時の有効血中濃度に関する報告はない。我々は, これまでの研究成績に基づき, INH 400mg/day (分 2) と RFP 450mg/day (分 1) を併用する場合には, 服薬 2 時間後の血中 INH 濃度が 3 $\mu\text{g/ml}$ を超えると肝機能障害の出現する危険性が高くなると考えている。INH の用量変更前後の血中濃度を実測した症例 2 では, 400mg/day (分 2) で中毒域に達していた INH 濃度が, 200mg/day (分 2) にすると適切な血中濃度で推移することが確認された。これらの症例は, いずれも代謝能の低い SA であり, INH 400mg/day (分 2) が過量投与となったために肝障害が引き起こされたと考えられる。

以上, NAT2 遺伝子多型に基づく INH の減量が, SA 患者における肝障害の再発防止に役立つ実例を報告した。これらは, 結核治療を未然に防ぐ結核治療の個別適正化に, NAT2 遺伝子多型が極めて有用な情報となり得ることを示している。

謝 辞

本研究はヒューマンサイエンス振興財団 (KH31036), 厚生労働省, 医薬品機構, 臨床薬理財団, 医科学応用研究財団からの助成を受けている。

参 考 文 献

- 1) Mitchell JR, Thorgeirsson UP, Black M, et al. Increased incidence of isoniazid hepatitis in rapid acetylators: possible relation to hydrazine metabolites. *Clin Pharmacol Ther* 1975; 18: 70-9.
- 2) Sarma GR, Immanuel C, Kailasam S, Narayana AS, Venkatesan P. Rifampin-induced release of hydrazine from isoniazid. A possible cause of hepatitis during treatment of tuberculosis with regimens containing isoniazid and rifampin. *Am Rev Respir Dis* 1986; 133: 1072-5.
- 3) 窪田竜二, 大野雅子, 東 純一. N-アセチルトランスフェラーゼの遺伝子多型の検出法. *臨床検査* 2004; 48: 171-176.
- 4) 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.
- 5) Ohno M, Yamaguchi I, Yamamoto et al. Slow N-acetyltransferase 2 genotype affects the incidence of isoniazid and rifampicin-induced hepatotoxicity. *Int J Tuberc Lung Dis* 2000; 4: 256-261.
- 6) 大野雅子, 東 純一. 抗結核薬. *呼吸* 2002; 21 (7): 653-657.
- 7) Peloquin CA. Therapeutic drug monitoring in the treatment of tuberculosis. *Drugs* 2002; 62: 2169-83.
- 8) Blumberg HM, Burman WJ, Chaisson RE et al. American Thoracic Society/Centers for Disease Control and Prevention/Infectious Diseases Society of America: treatment of tuberculosis. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2003; 167: 603-662.