

抗結核薬の肝障害感受性遺伝子の同定

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科生命薬科学専攻 七嶋 和孝

[目的]

結核は再興感染症の一つである。近年の結核患者の増加に対して1999年7月に「結核緊急事態宣言」が厚生省より発表された。高齢者結核の再燃・再発やエイズ患者への感染増加、多剤耐性結核菌の出現、抗結核薬による副作用の出現による治療抵抗性、難治性の患者の増加などが深刻な問題となっている。

結核患者の中でも発病とその後の進展に、あるいは抗結核薬の治療効果や副作用の出現に個人差が存在する。この個人差には結核菌側と宿主側の両要因が関与している。特に副作用の出現には抗結核薬に対する宿主側の要因の寄与が大きいとされている。

本研究では、治療継続の主な妨害要因となる肝障害に注目し、肝障害出現群と非出現群間で遺伝子多型の出現頻度を有意差検定することで、肝障害感受性遺伝子を同定した。

[実験方法]

isoniazid と rifampicin を含む抗結核薬治療を受けた肺結核患者 100 名を対象とした。活性酸素種 reactive oxygen species (ROS)の生成や抑制に関連する遺伝子、抗酸化酵素発現に関連する遺伝子、グルタチオン合成に関連する遺伝子の計 11 個の遺伝子を候補遺伝子とした。各候補遺伝子の領域内から tag single nucleotide polymorphisms (tag SNPs)を選出した。本研究で解析した tag SNPs は計 51 個であった。多型の検出には PCR-restriction fragment length polymorphism 法、もしくは PCR-direct DNA sequencing 法を用いた。抗結核薬誘発性肝障害出現群 (18 名) と非出現群 (82 名) の間で、それぞれの多型の出現頻度を有意差検定した(chi-square test, Fisher's exact test, logistic regression analysis)。

[結果]

- 1) *NOS2A* の rs11080344 SNP において C/C genotype は肝障害感受性を示した($P=0.044$, OR = 2.87)。
- 2) *MAFK* の rs 4720833 SNP において G/A あるいは A/A genotype は肝障害感受性を示した($P=0.037$, OR = 3.162)。
- 3) *XPO1* の rs 11125883 SNP において A/A genotype は肝障害感受性を示した($P=0.026$, OR = 3.21)。
- 4) *BACH1* の rs2070401 SNP において C/C genotype は肝障害感受性を示した($P=0.018$, OR = 16.200)。
- 5) *GCLC* の rs553822 SNP において C/C genotype は肝障害感受性を示した($P=0.019$, OR = 7.524)。
- 6) *GCLC* の rs670548 SNP において T/C genotype あるいは C/C genotype は肝障害感受性を示した($P=0.005$, OR = 4.286)。
- 7) *GCLM* の rs2301022 SNP において G/A genotype あるいは A/A genotype は肝障害感受性を示した($P=0.034$, OR = 3.031)。
- 8) *GCLM* の rs12140446 SNP において A/T genotype あるいは T/T genotype は肝障害感受性を示した($P=0.019$, OR = 5.388)。

表1: Allele and genotype comparison in three genetic models between TB patients with and without ATDH

Gene	tag SNP	Major > minor	Allele model		Dominant model		Recessive model	
			OR (95% CI)	P value*	OR (95% CI)	P value*	OR (95% CI)	P value*
NOS2A	rs10459953	C > G	0.680 (0.328 - 1.412)	0.299	0.541 (0.186 - 1.577)	0.256	0.733 (0.218 - 2.461)	0.773
	rs3794764	G > A	0.844 (0.364 - 1.955)	0.692	1.129 (0.404 - 3.158)	0.817	2.353 (0.202 - 27.456)	0.452
	rs12944039	G > A	0.645 (0.296 - 1.406)	0.268	1.447 (0.519 - 4.038)	0.479	5.000 (0.655 - 38.153)	0.147
	rs11080344	C > T	0.424 (0.182 - 0.988)	0.043	0.348 (0.122 - 0.995)	0.044	0.312 (0.038 - 2.555)	0.455
	rs2314810	G > C	0.829 (0.336 - 2.044)	0.683	0.855 (0.301 - 2.427)	0.768	0.870 (0.040 - 18.910)	1.000
	rs3729966	C > T	0.964 (0.449 - 2.071)	0.926	0.800 (0.286 - 2.241)	0.671	1.583 (0.293 - 8.570)	0.632
	rs944722	T > C	1.033 (0.450 - 2.373)	0.939	0.882 (0.316 - 2.460)	0.810	1.549 (0.152 - 15.811)	0.554
	rs2255929	A > T	0.826 (0.379 - 1.799)	0.630	0.708 (0.255 - 1.970)	0.508	1.014 (0.200 - 5.149)	1.000
	rs3794756	C > T	1.000 (0.435 - 2.300)	1.000	0.579 (0.198 - 1.691)	0.314	5.267 (0.969 - 28.625)	0.070
BACH1	rs2300301	A > G	0.959 (0.462 - 1.993)	0.911	0.541 (0.186 - 1.577)	0.256	2.318 (0.626 - 8.583)	0.244
	rs1153285	G > A	1.455 (0.695 - 3.045)	0.318	1.417 (0.484 - 4.147)	0.524	2.533 (0.570 - 11.268)	0.203
	rs2070401	T > C	2.063 (0.933 - 4.560)	0.070	1.645 (0.590 - 4.590)	0.339	16.200 (1.577 - 166.387)	0.018
MAFK	rs4720833	G > A	0.669 (0.312 - 1.433)	0.299	3.162 (1.033 - 9.686)	0.037	0.237 (0.013 - 4.296)	0.344
	rs3808337	T > C	0.711 (0.333 - 1.519)	0.377	2.100 (0.719 - 6.131)	0.169	0.630 (0.073 - 5.468)	1.000
XPO1	rs7606167	G > C	1.174 (0.534 - 2.533)	0.684	1.050 (0.379 - 2.913)	0.925	1.622 (0.392 - 6.711)	0.449
	rs11125883	A > C	0.416 (0.184 - 0.939)	0.031	0.312 (0.109 - 0.896)	0.026	0.444 (0.093 - 2.116)	0.515
	rs1050567	G > A	1.327 (0.622 - 2.830)	0.464	0.907 (0.327 - 2.517)	0.851	3.619 (0.904 - 14.50)	0.078
GCLC	rs534957	G > T	1.175 (0.564 - 2.449)	0.666	1.500 (0.487 - 4.621)	0.478	0.900 (0.180 - 4.511)	1.000
	rs2397147	T > C	0.830 (0.363 - 1.897)	0.658	0.702 (0.248 - 1.989)	0.504	1.156 (0.224 - 5.967)	1.000
	rs3799698	A > G	1.345 (0.651 - 2.778)	0.422	0.839 (0.266 - 2.644)	0.769	2.433 (0.820 - 7.220)	0.129
	rs531557	T > A	1.455 (0.695 - 3.045)	0.318	1.058 (0.372 - 3.010)	0.915	4.400 (1.050 - 18.438)	0.053
	rs2100375	C > T	0.876 (0.419 - 1.834)	0.726	1.140 (0.367 - 3.543)	0.820	0.343 (0.042 - 2.824)	0.453
	rs600033	G > G	0.869 (0.418 - 1.804)	0.718	1.014 (0.325 - 3.164)	0.982	0.558 (0.116 - 2.692)	0.730
	rs553822	T > C	2.949 (1.384 - 6.282)	0.004	3.125 (1.066 - 9.163)	0.032	7.524 (1.517 - 37.312)	0.019
	rs84933	G > A	0.848 (0.408 - 1.760)	0.657	1.014 (0.325 - 3.164)	0.982	0.516 (0.108 - 2.474)	0.515
	rs9474576	A > G	1.101 (0.532 - 2.279)	0.794	0.650 (0.225 - 1.878)	0.424	2.483 (0.739 - 8.336)	0.158
	rs670548	T > C	3.465 (1.540 - 7.794)	0.002	4.286 (1.476 - 12.447)	0.005	10.125 (0.865 - 118.471)	0.083
	rs2066511	C > T	0.427 (0.156 - 1.165)	0.089	0.348 (0.105 - 1.146)	0.074	0.544 (0.064 - 4.646)	1.000
	rs16883893	G > A	1.650 (0.721 - 3.775)	0.232	1.929 (0.688 - 5.405)	0.207	1.549 (0.152 - 15.811)	0.554
	GCLM	rs2301022	G > A	1.912 (0.868 - 4.210)	0.104	3.031 (1.059 - 8.676)	0.034	0.745 (0.084 - 6.600)
rs12140446		A > T	2.519 (1.201 - 5.283)	0.013	5.388 (1.161 - 25.002)	0.019	2.439 (0.780 - 7.566)	0.189
rs7549683		G > T	1.718 (0.749 - 3.940)	0.198	2.411 (0.856 - 6.791)	0.090	0.870 (0.040 - 18.915)	1.000

[考察]

抗結核薬の肝障害感受性遺伝子として、ROSの生成に関与するiNOS、抗酸化酵素発現の抑制経路に関与するBach1/MafK/Xpo1、グルタチオン合成に関与するGCLC/GCLMの計6つの遺伝子を同定した。これらの遺伝子多型と肝障害との相関は初めての報告である。

分子機序では、iNOSの一多型ではiNOSの発現・機能亢進によりROSの産生亢進が寄与する。Bach1/MafK/Xpo1の一多型では抗酸化酵素発現の抑制経路が亢進するため、抗酸化酵素の発現が減少し、ROSが除去できずに肝障害に至る。GCLC/GCLMの一多型ではグルタチオン合成の減少により、ROSが除去できずに肝障害に関与すると推察された。

また、抗結核薬による肝障害の分子病態に上記の3つのシグナル経路（活性酸素種生成経路、抗酸化酵素発現抑制経路、グルタチオン合成経路）が重要であることから、同経路を分子標的とした新規ゲノム創薬（肝庇護薬）の開発に繋がる可能性が示唆された。

さらに、統計学的有意差を認めた遺伝子多型を組み合わせ、新規のバイオマーカーに用いて遺伝子診断に応用すれば、抗結核薬を投与する前に肝障害を起こしやすい高リスク患

者を識別できることが期待される。肝障害の出現が予測される結核患者には抗結核薬を予め減量して投与することで継続した治療が可能となる。つまり、個々人の病態に応じて最適な治療法の選択，至適投与量の決定，治療効果の予測が可能となるテーラーメイド医療の実現に繋がるであろう。

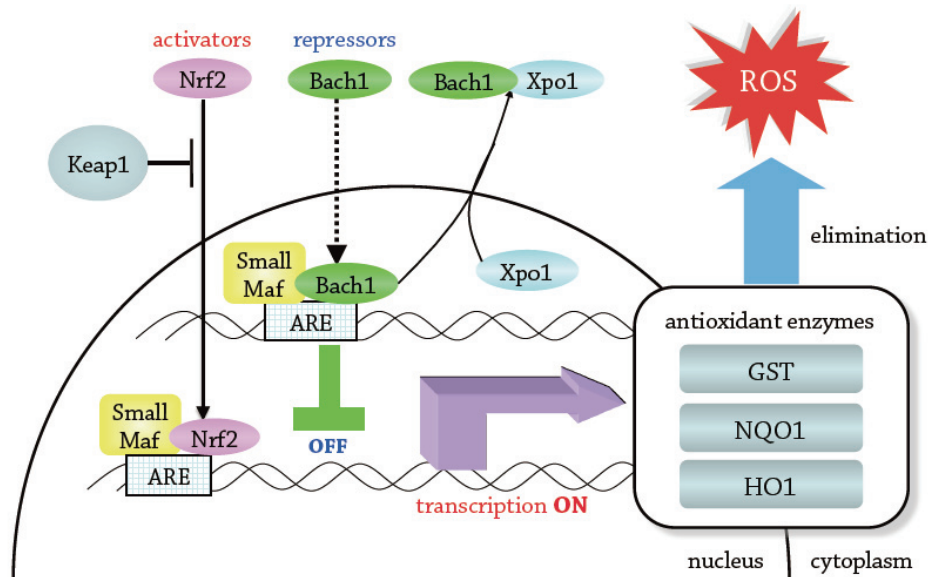


図2: Activator and repressor arms in the antioxidant pathway

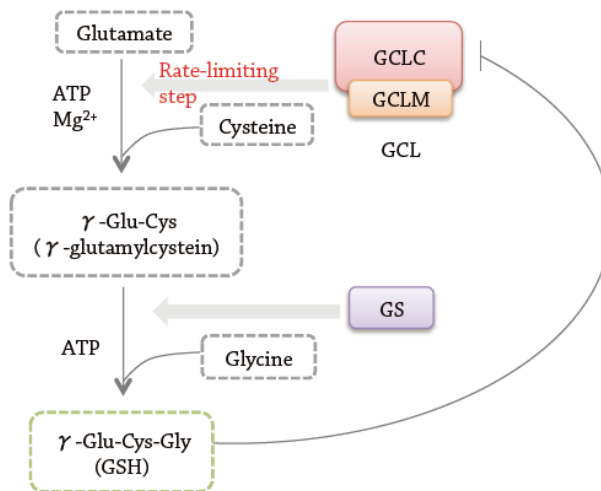


図3. GSH synthesis and the function of GSH in hepatocytes

[基礎となった学術論文]

1. Nanashima K., Tsukamoto K., et al. Genetic variants in antioxidant pathway: risk factors for hepatotoxicity in tuberculosis patients. *Tuberculosis* (2012) [in press].
2. Nanashima K., Tsukamoto K., et al. Genetic polymorphisms in glutathione synthesis pathway: Risk factors for hepatotoxicity in tuberculosis patients. [In preparation].