

薬物代謝酵素の遺伝的多型性と薬効および毒性の個体差

小澤正吾[#]

Interindividual differences in efficacy and toxicity induced by therapeutic drugs and xenobiotics in relation to genetic polymorphisms in xenobiotic metabolizing enzymes

Shogo Ozawa[#]

Humans incessantly ingest wide-variety of chemicals through the administration of therapeutic drugs, diets and beverages. Humans are also exposed to environmental mutagens and carcinogens and substances causing endocrine disruption. Metabolism and disposition have been regarded as one of the most important determinants of efficacy and toxicity induced by ingested chemicals, since remarkable individual difference was observed in the plasma concentration and/or urinary excretion after the administration of wide variety of therapeutic drugs such as isoniazid, sulfamethazine, debrisoquin, sparteine, mephenytoin and so on. This variability is resulted from pharmacogenetically regulated difference in the activities of xenobiotic metabolizing enzymes (so called genetic polymorphisms). Polymorphic appearance of xenobiotic metabolism has also been observed with various toxic substances such as ethanol, acetaldehyde, benzene, organic phosphates and environmental mutagens and carcinogens. Enzymes which show genetic polymorphisms include cytochrome P450s (CYP1A1, CYP1A2, CYP2A6, CYP2C19, CYP2D6 and CYP2E1) and phase II drug metabolizing enzymes (arylamine N-acetyltransferases, glutathione S-transferases and UDP-glucuronosyl transferases). A number of mutations on the genes encoding polymorphic xenobiotic metabolizing enzymes have been associated with the remarkable individual difference in the metabolism and disposition *in vivo*. Individuals with distinct alleles of genes which encode defective enzymes have been shown to be at higher risk to toxic side effects by therapeutic drugs and more susceptible to certain malignant diseases. Research has to be conducted for each human race concerning risk assessment of chemicals, since ethnic differences in frequency of distinct alleles of genes encoding xenobiotic metabolizing enzymes are reported. In case of type 1 Crigler-Najjar syndrome causing unconjugated hyperbilirubinemia, complete loss of bilirubin-detoxifying UDP-glucuronosyl transferase has been attributed to nonsense, missense, and/or frameshift mutations that occurred at various sites on *UGT1* gene. Thus, genetic polymorphisms of xenobiotic metabolizing enzymes are one of the most important factors influencing efficacy of therapeutic drugs and toxicity by wide-variety of chemicals.

Keywords: drug metabolizing enzyme, bioactivation and detoxification, pharmacogenetics, drug efficacy, toxicity

1. はじめに

薬物、食事、飲料、嗜好品、呼気など人間はさまざまな経路で、極めて多様な化学物質を摂取している。摂取された化学物質がそのままの構造でヒトに何らかの作用を現す場合もあるが、代謝活性化を受けて作用を発現することも多い。また、構造変換を受けずに作用する場合でも、解毒・排泄のため、より水溶性が高まるような代謝を受けること

が多い。このように、医薬品、その他の一般化学物質の安全性や有効性の発現に代謝能が大きく影響すると考えられる。薬物や生体外異物の代謝研究のために動物実験が大いに貢献したが、代謝酵素の種差の問題が現れ、ヒト型の実験系が用いられることが多くなってきている。これは、「実験動物から得られたデータのヒトへの外挿の困難さ」を示すものであるが、ヒト型の実験系を用いていても生じうるもうひとつの問題がある。それは、ヒトは実験動物のように遺伝的に均一ではなく、雑種であるために、「遺伝的要因による個体差が大きい」ことである。遺伝的要因による薬物代謝能の個体差は、薬物代謝酵素をコードする遺伝子上の多型、すなわち遺伝的多型性が原因となっている。

[#] To whom correspondence should be addressed: Shogo Ozawa; 1-18-1, Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501, Japan; Tel: +81-3-3700-1141 ext.327; Fax: +81-3-3707-6950; E-mail: sozawa@nihs.go.jp

この現象は、薬物治療において、血中濃度の顕著な個体差により、薬効や副作用の程度に大きな差異がみられ、時に薬物による毒性発現のリスクが高いヒトの存在が明らかにされたことから注目された。ヒトを含めた薬物代謝酵素研究の進歩と共に、研究対象は薬物のみならず一般化学物質へと広がりを見せ、「ヒト薬物代謝の遺伝的多型性」は、種々の毒性物質に対する個体リスクに影響する因子の一つとしても研究されている。このように、薬物代謝酵素の多型は人間を取りまくあらゆる化学物質に対する安全性、有効性を評価するために必要な基礎的情報の一つであると考えられる。薬物代謝酵素の遺伝子多型（遺伝的多型性）が、薬効、毒性の個人差にどのように関連しているかを研究する学問分野は薬理遺伝学（pharmacogenetics）と呼ばれる。本稿では、国立医薬品食品衛生研究所の使命の一つ、「化学物質によるヒトの健康影響の評価」を遂行するための重要な基礎研究の一端である薬理遺伝学の最近までの知見につき、少数であるが代表的な薬物や毒性物質を例として挙げながら総説したい。

2. 薬物の副作用および薬効の個体差と遺伝多型

2-1. アリルアミンアセチル転移酵素の多型による薬理作用の個人差

化学療法薬イソニアジド（INH）やスルファメサジン（SMZ）は分子内の一級アミンがN-アセチル化を受けて不活性化され、尿中に排泄される。しかし、INHやSMZ服用後、尿中排泄された総薬物量のうちのN-アセチル抱合体の割合や、最高血中薬物濃度には著しい個体差があり、欧米人について、N-アセチル化体の割合や、血中濃度の値の分布には、Fig. 1に示すような2ないし3峰性が認められる^{1,2)}。尿中のN-アセチルINHの排泄率の差異は薬効や副作用の発現と関連があり、INHの副作用として知られる末梢神経障害は代謝が遅い群の個体に起こりやすいことが明らかにされている³⁾。一方、N-アセチル化体

の分解により生じるアセチルヒドラジンによって惹起される肝炎もINHの副作用の一つである。この副作用はむしろアセチル化能の高い個体群（迅速群、または rapid acetylator と称される）で起こりやすいと想定される。日本人を含め、東洋人には、INHのN-アセチル化能が低い遅延群（または slow acetylator）の頻度が低い。したがって、日本人には多発性神経炎は比較的まれであるが、東洋人の肝炎の発生頻度は高いとされる。これらの副作用の頻度と、N-アセチル化形質の出現頻度とが一致しているかどうか十分な検証が必要と思われる。INHによる末梢神経障害のような注意すべき副作用の発生頻度と、N-アセチル化形質との密接な関連が明らかとなって以来、N-アセチル化能の多型の機構が解析された。ヒト、ウサギ、マウス、ラット、ハムスターなどの実験動物の肝上清画分にINHのN-アセチル化酵素活性が検出され、また、ウサギ、マウス、ラット、ハムスターでは、N-アセチル化能が低い系統と高い系統が見い出され、交配実験により、形質はメンデルの法則にしたがって遺伝することが示された⁴⁾。筆者は、1990年、慶応義塾大学医学部薬理学教室の加藤隆一教授（現・名誉教授）、山添康助教授（現・東北大学薬学部教授）らとともにシリアンハムスター肝のN-アセチル化酵素の遺伝的多型性の機構を解析した。その結果、ハムスター肝アリルアミンN-アセチル転移酵素の2つの近縁分子種（NAT1 および NAT2）のうち、slow acetylatorではNAT2タンパクが欠損していることにより、本分子種によりアセチル化される基質の代謝活性に著しい個体差が生じ、アセチル化の形質はメンデルの法則により遺伝することが示された⁵⁾（Fig. 2）。本酵素活性は皮膚にも発現していたことから皮膚の小断片からアセチル化形質を知り、迅速群、遅延群の系統を確立し、両群の個体の遺伝子を解析した。遅延群の個体では、NAT2をコードする遺伝子の塩基配列に変異があり、野性型NAT2遺伝子のコドン243番目のArgがストップコドンを生じるため、結果とし

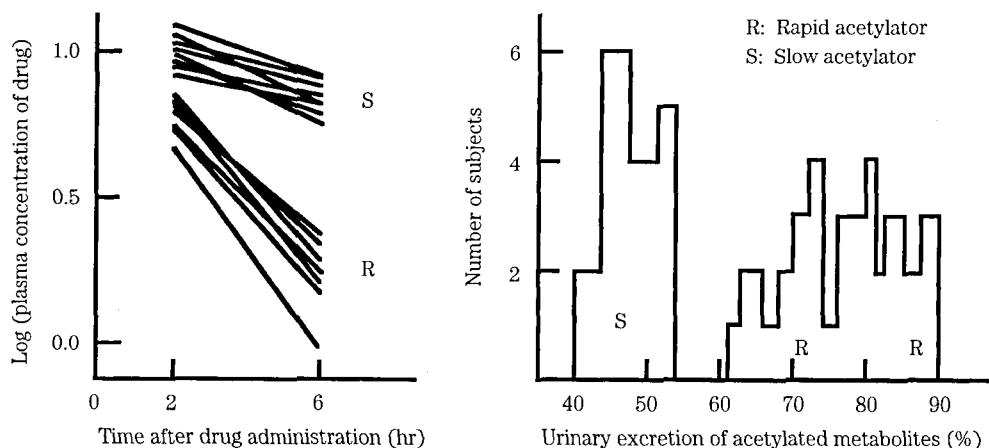


Fig. 1 Schematic representation of polymorphic appearance in arylamine acetylation^{1,2)}

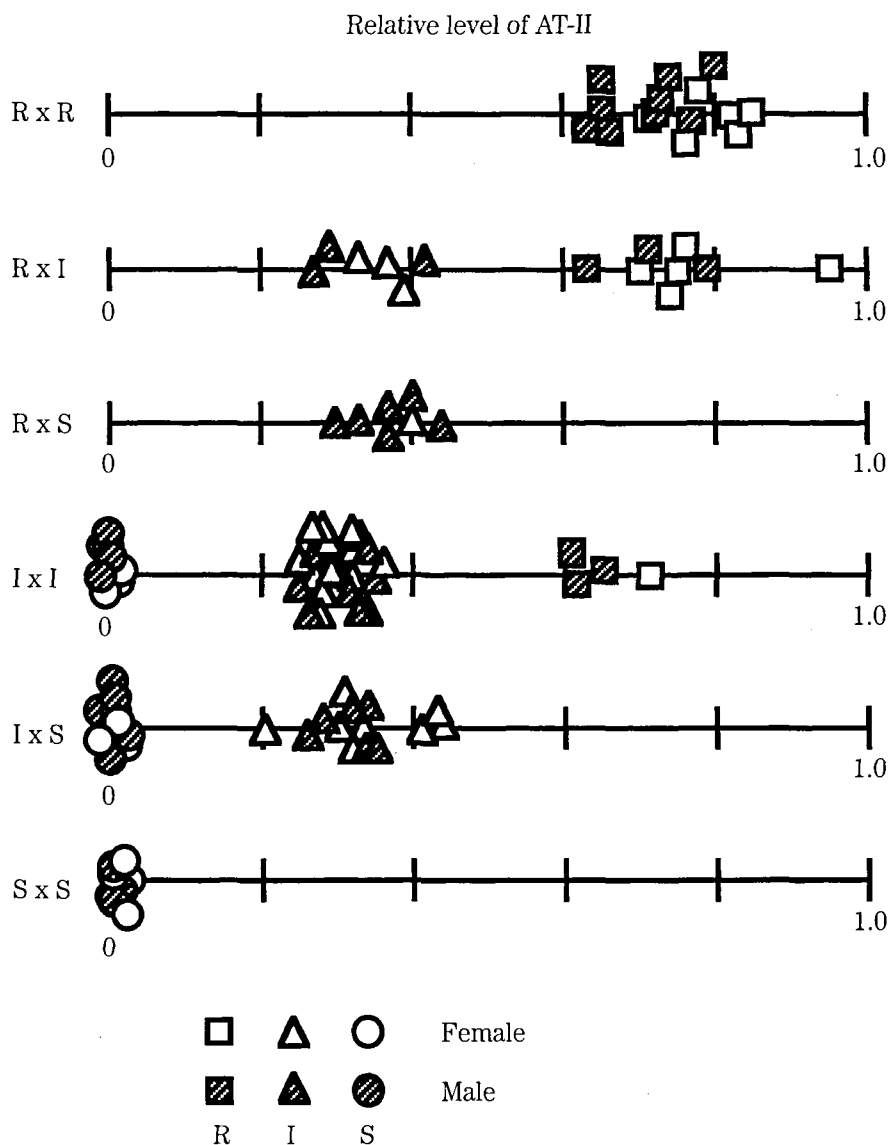


Fig. 2 Results of cross-matings of various hamster acetylators
R, Rapid acetylator; I, Intermediate acetylator; S, Slow acetylator

て正常な *NAT2* タンパクが発現しないことが示された⁶⁾。興味深いことに、ハムスター以外にアセチル化多型のみられる動物種であるヒト、ウサギ、マウスにおいて、多型の分子機構はかなり異なる。ヒトでは、アミノ酸の置換を伴うものを含め、翻訳領域内の塩基配列の差異⁷⁻¹²⁾、ウサギでは *NAT2* 遺伝子の欠損が認められている^{13,14)}。ラットでは、アセチル転移酵素の系統差がみられ、SD, F344, Peth, Wister 系は迅速型、WKY, NSD 系は遅延型で遅延型はコドン121および266の Val が Ile に変異していることが知られ^{15,16)}、マウスではコドン99番目の Asn の Ile への置換が報告されている¹⁷⁾。

ヒト *NAT2* 遺伝子については最近、多くの異型遺伝子の情報が整理され¹⁸⁾、1997年の Hein らの報告によれば、1996年2月の時点で23の異なる遺伝子型があるとされてい

る¹⁶⁾。アセチル化能の多型につき、迅速群と遅延群の出現頻度には白人と東洋人間で大きな差異があることが知られており、白人における遅延群の割合は、52-68%であるのに対し、日本人の遅延群の頻度は10-15%と報告されている¹⁹⁾。*NAT2* 遺伝子上の変異の頻度も白人が東洋人より高く、アセチル化形質と遺伝子型の出現頻度の傾向は大体一致している。

2-2. チトクロム P450 の一分子種 CYP2D6 の多型による薬理作用の個体差

本酵素は交感神経遮断作用をもつ抗高血圧薬デブリスロキンの4-水酸化や子宮収縮・抗不整脈薬スバルテインのN-酸化反応を触媒する酵素として知られている。デブリスロキンの4-水酸化能の著しい個体差は、当初個体間でその排泄量に著しい差異があることが見いだされたことから認識され

るようになった²⁰⁾。デブリソキンの代謝能の個体差の指標として、尿中排泄物のデブリソキン/4-水酸化体比が適当であることが提唱され、さらにスバルテインについてもスバルテイン/N-酸化体比がそのN-酸化能の形質の良い指標になることが示された^{21,22)}。その後、デブリソキンやス

バルテイン代謝の遅延群（この場合は poor metabolizer, 略して PM と呼ばれる）が別の薬物の代謝についても PM であるかどうかについて、種々の薬物につき検討され、Table 1 に示すような例について、デブリソキン代謝の表現型と関連があるとされた。たとえば、 β -アドレナリン

Table 1 Relationship between metabolism of various therapeutic drugs and debrisoquin/spartein oxidation phenotype (CYP2D6)

薬効	薬物, 代謝反応	デブリソキン(Deb)やスバルテイン(Spa)代謝形質との関連性	文献
β -遮断薬	プロプラノロール 4-水酸化	Deb 代謝の EM, PM 間で 4-水酸化体生成クリアランスを比較: EM > PM	23-26
	メトプロロール α -水酸化	Deb 代謝の EM, PM 間で血中メトプロロール濃度に差異: EM < PM	27, 28
	ブフラロール 1'-水酸化	Deb 代謝の EM, PM 間で 1'-水酸化体濃度: EM > PM 経口投与の場合の差異が顕著; 1'-水酸化反応の V_{max}/K_m 比, EM が PM の 16 倍	29-31
	ブプラノロール チモロール	CYP2D6 欠損肝ミクロソームで本薬の代謝能欠損 Deb 代謝の EM, PM 間でチモロールの AUC, 血漿中濃度に差異, β -受容体抑制に差異 (PM > EM)	32 33, 34
抗不整脈薬	エンカイニド O-脱メチル化	Deb 代謝の EM, PM 間でエンカイニドの血漿半減期に差異: EM, 1.2 h, PM, 13.2 h	35
	フレカイニド (MODF ^{a)} , MODLF ^{a)} の生成)	Deb/Spa 代謝の EM, PM 間で, 尿中代謝物量に差異	36
	メキシレチン (主代謝物 PHM ^{c)} , HMM ^{c)} 生成)	Deb 代謝 MR ^{b)} とメキシレチン MR による両形質が一致	37, 38
	プロパフェノン 5-水酸化	Deb 代謝の EM : CYP2D6 阻害薬キニジンの併用効果	39
抗うつ薬	ノルトリプチリン 10-水酸化	Deb 代謝とノルトリプチリン代謝の表現形 (EM, PM) が一致	40, 41
	アミトリプチリン 10-水酸化	(-) -E-10-ヒドロキシアミトリプチリンの尿中排泄量とデキストロメトルフアンの MR が相関	42
	デシプラミン 2-水酸化	Deb 代謝 MR とデシプラミンや 2-ヒドロキシデシプラミンの血中濃度が相関	43, 44
	イミプラミン 2-水酸化	Spa 代謝形質と 2-ヒドロキシイミプラミン/イミプラミンによるイミプラミンの 2-水酸化代謝形質とが一致	45
向精神薬	チオリダジン (スルホキシドの生成)	Deb 代謝の PM は血中チオリダジン濃度が高い	46, 47
	ハロペリドール	CYP2D6 阻害薬キニジンによる代謝阻害/肝ミクロソームによるハロペリドールの代謝形質と Deb 代謝形質が一致	48
鎮咳薬	コデイン	Deb の MR とコデインの MR (コデイン/[モルフィン (M) + M3-および M6-グルクロニド + ノルモルフィン]) による両代謝形質が一致	49-51
	デキストロメトルフアン	Deb の MR とデキストロメトルフアンの MR (デキストロメトルフアン/デキストロルファン) による両代謝形質が一致	52-54
MAO 阻害薬	プロファロミン	Deb の MR とプロフラミンの MR による両代謝形質が一致	55
交感神経興奮性アミン	メトキシフェナミン	Deb の MR とメトキシフェナミン/O-デメチル体比による両代謝形質が一致	56

a) MODF, meta-O-dealkylated flecainide; MODLF, meta-O-dealkylated lactam of flecainide

b) MR, metabolic ratio

c) PHM, p-hydroxymexiletine; HMM, hydroxymethylmexiletine

遮断作用を示し、高血圧の治療に用いられるチモロールの血漿中濃度は、デブリソキン代謝の迅速群（この場合は extensive metabolizer, 略して EM と呼ばれる）の個体の方が PM の個体より有意に低く³⁴⁾、また、area under concentration-time curve (AUC, 血中濃度-時間曲線下面積)も EM では PM の約1/4であった。また、薬効の指標として、運動後の心拍数低下を指標にした β -遮断作用をみると、PM 28.3%, EM 13.1%であり、ほぼ同投与量において PM のヒトは EM のヒトより有意に高い薬効を示した³³⁾。

鎮咳薬ヒドロコドン³⁵⁾は CYP2D6 により O-脱メチル化を受けて活性代謝物ヒドロモルフォンを生じる。デキストロメトルファン³⁶⁾の O-脱メチル化に関する PM (デキストロメトルファン/デキストロルファン比を指標として)は、ヒドロコドンの O-脱メチル化に関しても PM であった。薬物を同投与量与えた後の血中ヒドロコドンのレベルは、EM, PM 間でほとんど差異はなかったが、活性代謝物ヒドロモルフォンの最高血中濃度は EM が約5倍高かった。8時間までのヒドロコドンの AUC とヒドロモルフォンの AUC の比は、EM が4.2, PM が24.2と有意な差が認められた。また、デキストロメトルファンの PM の個体群に比べると、EM の個体からは、多幸感などの好ましい作用が多く報告され、不快感の報告が少なかったとされた⁵⁷⁾。これらの例のように、薬物代謝酵素活性の差異は、生物活性を有する薬物(代謝物)の血中濃度に差異を生じ、結果的に異なる薬効をもたらす。ある薬物の代謝形質とデブリソキン4-水酸化形質との関連を血中や尿中の metabolic ratio (MR, デブリソキンの場合は、デブリソキン/4-ヒドロキシデブリソキン比)を指標にして調べる場合、薬物のどのような反応が主代謝経路であり、どの薬物代謝酵素分子種がその経路に関与するかが重要である。アミトリプチリンは Fig. 3 の様な代謝経路で代謝される。ノルトリプチリンおよびアミトリプチリンの10-水酸化反応の主代謝酵素は CYP2D6 であることが明らかにされている⁴⁰⁻⁴²⁾。アミトリプチリンの水酸化は、CYP2D6 で触媒されることから、アミトリプチリンは CYP2D6 と親和性を有することは明らかであるが、経口投与後のアミトリプチリンは N-脱メチル化を受け、ノルトリプチリンを生成する経路で主に代謝され、その脱メチル化クリアランスはデブリソキンの4-水酸化能とは相関しない。すなわち、N-脱メチル化反応には CYP2D6 とは異なる酵素の関与が重要であった^{58,59)}。異種細胞内 CYP 分子種発現系を用いて、CYP3A4 がアミトリプチリン N-脱メチル化酵素であるとされたが^{60,61)}、ごく最近 CYP1A2, 2C9, 2C19, 2D6, 3A4 の発現系を用いた詳細な解析により、アミトリプチリン濃度が 5 μ M 程度では CYP2C19 の、100 μ M 程度では CYP3A4 の寄与が大きいことが示された⁶²⁾。アミトリプチリン 50 mg 経口投与後の最高血中濃度は約 300-400 nM であったこと

から、アミトリプチリンの N-脱メチル化に関与する酵素は CYP2D6 である可能性はきわめて低く、デブリソキン4-水酸化の MR と相関しなかったことは妥当であると考えられる。

Mahgoub らによるデブリソキン4-水酸化の欠損者の報告後²⁰⁾、Kalow らによりデブリソキン4-水酸化の PM の出現率が白人と東洋人の間で顕著に異なる、すなわち人種差が認められるとの報告がなされた⁶³⁾。多くの施設による研究により、デブリソキン4-水酸化の PM の出現率は、白人で約7%、日本人、中国人、韓国人では約1%と、明瞭な差異があることが示された^{21,64-69)}。以上述べてきたデブリソキン4-水酸化の PM の形質の遺伝的機構については、当初、ゲノム DNA のサザンブロット分析により、制限酵素 *Xba*I による restriction fragment length polymorphism (RFLP) の 11.5 kbp のバンドが PM のうちの一部を説明できることが明らかにされた⁷⁰⁾。その後、白人において、PM の主な原因となる遺伝子の欠損として、A, B, D 型変異が報告され、1996年までに PM の形質と関連づけられた15以上の異なる遺伝子型が整理され、総説された⁷¹⁾。日本人、中国人、韓国人には、A, B 型変異はきわめて少ないため、東洋人特有の変異が検索され、Yokoi らにより、エクソン9に9塩基対の挿入、エクソン5に1塩基の挿入、*CYP2D6/Ch2* が複数直列に配置され、CYP2D6 の機能が損なわれた新しい変異 *CYP2D6/Ch2-Ch2* が発見された^{72,73)}。以上のように、CYP2D6 依存的な薬物代謝の多型は活性代謝物の血中濃度、薬効、さらに分子機構に至るまで解析され、互いによく関連づけられている。

2-3. チトクロム P450 のうち、CYP2C19 の多型による薬理作用の個体差

抗痙攣薬メフェニトインのラセミ体を投与すると、尿中の4(-)-ヒドロキシメフェニトインの排泄量に著しい個体差が認められ、メフェニトインの4(-)-水酸化形質の指標として mephenytoin hydroxylation index (HI, μ mol S-メフェニトイン投与量/8-12時間の尿中4(-)-ヒドロキシメフェニトイン回収量比)を用いることが提唱された⁷⁴⁾。また、ラセミ体投与後の R-メフェニトインの尿中回収量には大きな個体差が認められないが、S-体の尿中回収量には著しい個体差が認められ、尿中の R/S 比を用いて代謝能の形質を表現することが提唱された⁷⁵⁾。Meier らは、13名の EM (代謝が速い群)、2名の PM (代謝が遅い群)の患者につき、ラセミ体のメフェニトイン投与後の尿中のメフェニトインの HI を求め、さらにこれら患者より肝生検を通じて調製した肝ミクロソームを用いて in vitro での S-, R-メフェニトインの代謝酵素活性を調べた⁷⁶⁾。その結果、2例の PM のメフェニトイン4-水酸化反応の K_m 値は、150.6 μ M, 180.6 μ M であったのに対し、8例の EM の同反応の K_M の平均値 (\pm SD) は 37.8 \pm 9.6 μ M であった。

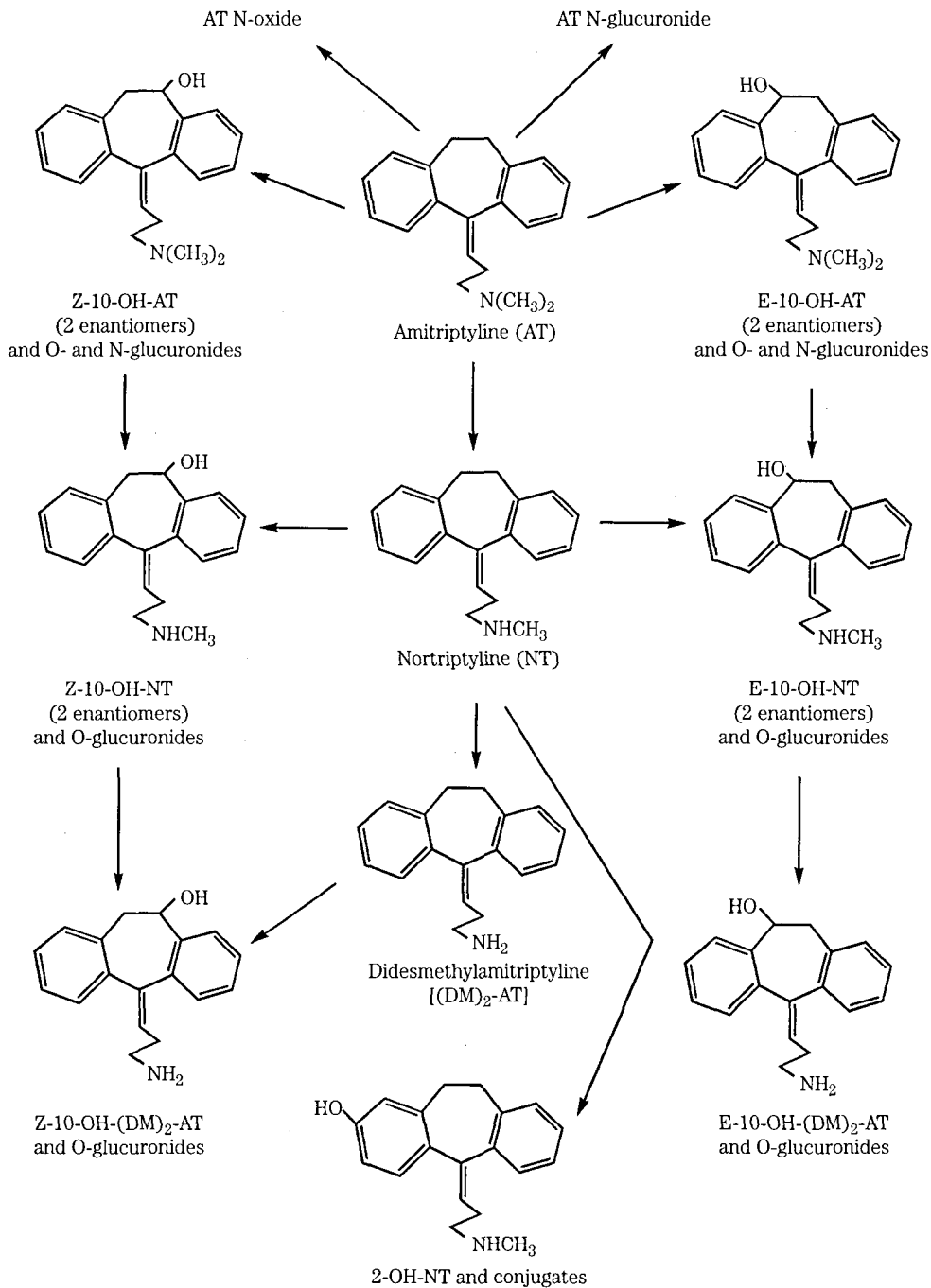


Fig. 3 Metabolic pathway of amitriptyline and nortriptyline

PMの肝ミクロソームが示したVmaxも低く、0.76, 0.69 nmol/mg protein/min に対し、8名のEMの平均は4.85±1.65 nmol/mg protein/minであった。立体選択的メフェニトイン4-水酸化反応については、R-およびS-エナンチオマーの4-水酸化速度の比(R/S比)が求められ、2名のPMのR/S比は1.1および0.76であったのに対し、13名のEMのR/S比の平均は0.11±0.04であった。一方、R-メフェニトインの4-水酸化及び脱メチル化の速度はPM, EMの間で顕著な差はなかった。これらの結果から、メフェニトインの代謝能の個体差は、S-メフェニトイン

に高親和性を示し、4-水酸化反応を効率良く触媒する酵素の欠損の有無によるものと考えられた⁷⁰⁾。

S-メフェニトインの4-水酸化に関与する酵素タンパク分子種の精製と同定が本酵素活性を指標として行われ、現在のP-450の命名法でCYP2C9, CYP2C8に相当すると思われる分子種が精製された^{77,78)}。一方、分子生物学的手法でCYP2Cファミリーに属する分子種をコードするcDNA(CYP2C8, CYP2C9, CYP2C17, CYP2C18, CYP2C19)が単離された⁷⁹⁻⁸²⁾。さらに、1993年になって、抗ラットCYP2B1/2を認識する抗体に対する交差性を利用して、

CYP2C19 cDNA から予想されたN-末端アミノ酸配列を有するタンパクが単離された⁸³⁾。また、異種細胞内発現系を用いて、CYP2C8, CYP2C9, CYP2C18, CYP2C19は、SDS-PAGE上での移動度が少しずつ異なることが示された⁸⁴⁾。SDS-PAGE上の挙動が調べられたこれら4分子種のどれがS-メフェニトイン4-水酸化活性に重要な役割を果たしているのかを明確にするため、ウエスタンブロットで求められた各種CYP2C分子種含量とS-メフェニトイン4-水酸化活性との相関が調べられた。その結果、CYP2C19の含量が最も本酵素活性と良好な相関を示した⁸⁴⁾。さらに、異種細胞内発現系を用いた実験結果および、CYP2C9の異型と肝S-メフェニトイン4'-水酸化活性との間に明瞭な相関が認められなかったことをあわせ、ヒト肝において、S-メフェニトイン4-水酸化活性にはCYP2C19が最も重要な役割を果たしていることが明らかとなった⁸⁴⁾。

代謝経路にCYP2C19が重要な関与をするためにメフェニトイン4'-水酸化反応と同様の代謝多型を示す主な薬物は、催眠薬、抗うつ薬、抗潰瘍薬等、様々であり、CYP2C19が触媒作用を示す代謝反応とともに、Table 2にまとめた。イミプラミンは主にCYP2C19でN-脱メチル化され、デシプラミンを生じる経路と、主にCYP2D6で2位の水酸化を受け2-ヒドロキシイミプラミンを生じる経路がある。Koyamaらは、東洋人について、メフェニトインの4'-水酸化体の尿中排泄率からCYP2C19、メトプロロールの水酸化体排泄量によるMRからCYP2D6の代謝能の形質を調べた⁸⁷⁾。このようなヒトにイミプラミンを投与後、各代謝物の尿中排泄率を調べた。CYP2D6を欠損していなければ2-ヒドロキシイミプラミンの尿中排泄は30%にのぼるものが、CYP2D6欠損者では5%程度と低かった。また、CYP2D6欠損だった被験者は全員がCYP2C19の機能を有しており、そのようなヒトではイミプラミンはN-脱メチ

ル化の経路で代謝され、N-脱メチル化体の尿中排泄率が4%であった。CYP2D6のEMではイミプラミンの2-水酸化の経路が主であることと、N-脱メチル化体の2-水酸化も速いため、デシプラミンの尿中排泄率は1%未満と低かった⁸⁷⁾。以上は、薬物の代謝経路により、関与する代謝酵素が異なり、それぞれの酵素に遺伝的多型性が認められる場合の興味深い例といえる。

de Moraisらは、本酵素の遺伝的多型の機構を調べるため、S-メフェニトイン4'-水酸化活性が低く、4'-位のR/S比が高く、かつCYP2C19タンパクが欠損していると思われる肝より、CYP2C分子種中、2C19に特異的なプライマーを用いてcDNA断片を得、エクソン5において異常なスプライシングが起こり、酵素機能の欠損という結果に至る変異を見出した⁹⁴⁾。日本人を含め、東洋人におけるS-メフェニトイン4'-水酸化のPMの頻度は18-23%で、欧米人の2-5%より際立って高かった^{64,67,69,95)}。しかし、エクソン5のG→A変異(*m1*)のみでは、日本人及び白人におけるPMのヒトの75-85%しか説明できなかったため、あらかじめメフェニトイン服用後のHIでPMと判断していたが、*m1*変異を有していないヒトの遺伝子をさらに解析し、エクソン4上の新しいG→A変異(*m2*)を見出した⁹⁶⁾。この変異により、本来の翻訳領域の途中で終止コドンが生じ、211のアミノ酸しかコードされない不完全なタンパクが生じる。日本人についてはこれらの変異でほとんどのPMの機構を説明できることから、東洋人を中心にこれら*m1*, *m2*変異の頻度が調べられた⁹⁷⁻¹⁰⁰⁾。日本人では*m1*, *m2*変異の頻度はそれぞれ22-29%, 12-13%と報告された⁹⁸⁻¹⁰⁰⁾。白人のPMにおいては、ほとんどが*m1*であり、*m2*は見つからなかったため、未発見の多型があると想定されごく最近、翻訳開始コドンATGのAがGに置換した新しい変異(*m3*)がPMの白人2名に見

Table 2. Relationship between metabolism of various therapeutic drugs and mephenytoin 4'-hydroxylation phenotype (CYP2C19)

薬効	薬物, 代謝反応	メフェニトイン(MP)4'-水酸化形質との関連性	文献
催眠薬	メホバルピタール4-水酸化	MP代謝のEM, PM間で尿中4-ヒドロキシメホバルピタールの回収量に差異: EM >> PM	85
抗うつ薬	アミトリプチリンN-脱メチル化	MPのMR ^{a)} と、アミトリプチリン尿中回収率とが相関	42
	イミプラミン-脱メチル化	MPのEM, PM間でAUC _{DMI} /AUC _{IMI} 比に差異(EM > PM)	86, 87
	クロミプラミン脱-メチル化	MPのEM, PM間でクロミプラミンの血清中のデメチル化指標に差異(EM _{MP} のデメチル化能 > PM _{MP} のデメチル化能)	88
向精神薬	ジアゼパムの脱メチル化	MPのEM, PM間でジアゼパムのデメチル化指標に差異(EM _{MP} のデメチル化能 > PM _{MP} のデメチル化能)	89
抗マラリア薬	クロログアニド(プログアニル)代謝活性化体シクログアニル生成	MPの4'-水酸化のHIによるMPの代謝形質とプログアニル代謝形質(プログアニル/シクログアニル比)が一致	90
抗潰瘍薬	オメプラゾール5-水酸化	MPのEM, PM間でオメプラゾールのAUCに差異(EM < PM) 5-ヒドロキシ体のAUCに差異(EM > PM)	91-93

a) MR, metabolic ratio

い出された¹⁰¹⁾。これら2名は $m1/m3$ のヘテロの遺伝子型をもってPMになっていることが明らかとなった¹⁰¹⁾。

3. 毒性物質の代謝酵素の遺伝的多型性と毒性発現の個体差

3-1. アルコール代謝とアルコール関連疾病

日本人には、アルコールに対する感受性が高いヒトが少なからぬ割合で存在するので、アルコール感受性の個体差については実体験を通じて身近なものといえるかもしれない。一般に、日本人集団のなかで、酒に弱く、顔面紅潮等の症状を呈しやすいヒトは、アセトアルデヒド脱水素反応のKM値の低い酵素(ALDH2)の欠損であると考えられている¹⁰²⁾。アルコールには、顔面紅潮や悪酔いをしやすいといった問題のみならず、アルコール中毒という深刻な問題がある。このような背景から、アルコールの解毒代謝経路に関与する酵素の多型と、アルコールに関連した好ましくない症状との関係はよく研究されてきた。ALDH2の欠損者を簡便に見出すためのエタノールパッチテストが開発され¹⁰³⁾、日本人に多くみられるALDH2の欠損者は酒を多量に飲むことができず、アルコール中毒になる可能性は低いと考えられた。最近、Yoshidaらは、ヒトアルデヒド脱水素酵素遺伝子ファミリーに属する12のALDH遺伝子の情報を整理して総説した¹⁰⁴⁾。これらのうち、ヒトにおいてアセトアルデヒドの酸化に重要な役割を果たしているミトコンドリアに局在するALDH2の欠損者は、エクソン12のG→Aの変異を有し、コドン487のGluがLysに変化しており¹⁰⁵⁾、この変化にともない、酵素の機能が著しく損なわれていると報告された。中国人のアルコール関連疾病患者についての研究でも、大量飲酒者、すなわちアルコール中毒者には、機能が低下したALDH2をコードするALDH2*2 alleleを有するヒトの頻度が低く¹⁰⁶⁾、エタノールパッチテストなどを通じて考えられていた結果と一致していた。

3-2. ベンゼンの代謝に関与する酵素の多型とベンゼンによる毒性発現の個体差

ベンゼンは1982年血液毒性、及び急性非リンパ球性白血病を惹起すると報告された¹⁰⁷⁾。また、最近、ベンゼン暴露量が高いヒトはMDS-骨髄 dysplastic syndrome や非ホジキンリンパ腫の危険度が高いとされた¹⁰⁸⁾。ベンゼンは、CYP2E1によるベンゼンオキシドへの酸化を通じてフェノールとなり、さらにCYP2E1によりヒドロキノンを生じる¹⁰⁹⁾。ベンゼンオキシドの生成が起こる際、ベンゼン環が開環してtrans-trans-ムコンアルデヒドが生じることも知られ¹¹⁰⁾、この代謝物はベンゼンの血液毒性発現に重要な役割を果たすことも示唆されている^{109,111)}。また、フェノールはカテコールへ、ヒドロキノンには1,2,4-ベンゼントリオールへとさらに酸化される。ヒドロキノン、カテコー

ル、1,2,4-ベンゼントリオールはミエロペルオキシダーゼによりそれぞれ1,4-ベンゾキノン、1,2-ベンゾキノン、2-ヒドロキシ-1,4-ベンゾキノンとなり、これらが、ベンゼンの毒性代謝物であると考えられている¹⁰⁹⁾。また、毒性代謝物1,4-ベンゾキノン、1,2-ベンゾキノン、2-ヒドロキシ-1,4-ベンゾキノンは、NADPH-キノンオキシドレダクターゼ(NQO)により、より毒性が低いそれぞれのヒドロキノン体へと変換されると考えられている¹¹²⁾。これらのことから、CYP2E1活性が高く、かつNQO活性が低いヒトは、最もベンゼンを毒性代謝物へと変換しやすく、ベンゼンの血液毒性に対して高感受性を示すのではないかと想定しうる。このような考え方で、上海在住でベンゼン毒性によって白血球のカウントが $3,500/\mu l$ 以下となっている患者50名とベンゼン暴露歴がない健常者50名とが選ばれ、CYP2E1遺伝子型、酵素活性形質、およびNQO1遺伝子型についての症例対照研究が行われた¹¹³⁾。CYP2E1活性のin vivoの指標として、CYP2E1依存的代謝反応と考えられているクロルゾキサゾン6-水酸化能が測定された。すなわち、250 mgのクロルゾキサゾン服用後、8時間までの尿を集め、尿中の6-水酸化体排泄量を測定し、その排泄率を求めた。さらに、CYP2E1遺伝子の5'-上流領域のPstI, RsaI多型、およびNQOをコードするNQO1遺伝子上の⁶⁰⁹C→T変異がPCR-RFLP法で測定された。ここで、触れておかななくてはならないことは、CYP2E1遺伝子の5'-上流領域のPstI, RsaI多型とクロルゾキサゾン6-水酸化能の形質との関連は認められなかったこと¹¹⁴⁾、NQO1変異型遺伝子(⁶⁰⁹T)でコードされるNQOはジクロロフェノールインドフェノールを基質としたときの酵素活性を失っていたこと¹¹⁵⁾である。したがって、CYP2E1遺伝子のPCR-RFLP解析の結果、CYP2E1遺伝子のPstI, RsaI多型の頻度につき、健常人と、ベンゼン暴露による血液毒性発現患者との間に差異が認められなかったのは当然のことかもしれない。それに対して、クロルゾキサゾンを服用させ、尿中の6-水酸化体排泄量をみる方法でCYP2E1活性を測定した場合、活性が高いヒトのベンゼン毒性に対する危険度は2.6倍、NQO1遺伝子に変異があつて酵素活性が低下しているヒトは危険度が2.4倍高いことが明らかとなった¹¹³⁾。また、CYP2E1高活性と異型NQO1遺伝子(⁶⁰⁹T)の両方をあわせもつヒトのベンゼン毒性に対する危険度は7.8倍高かった¹¹³⁾。このようにして、ベンゼンの毒性代謝物の生成能、及び解毒能とベンゼン毒性発現のリスクの関係が報告された。

3-3. 有機リン系毒物サリンの解毒能の人種差

1995年3月に起こった狂信的カルト「オウム真理教」による「地下鉄サリン事件」で使われたサリンは有機リン系の神経毒であるが、ヒトはパラオキシナーゼ(paraoxonase)と呼ばれる有機リン剤を解毒する酵素を持っている。パラ

オキシナーゼにはコドン192番目が Arg であるものと、Gln であるものの2分子種（すなわち遺伝的多型）が存在し、サリンの加水分解活性は¹⁹²Arg のホモ接合体のヒトは 38 U/ℓ でしかないのに対し、¹⁹²Gln のホモ接合体のヒトは 355 U/ℓ もの高い活性を示すことが明らかにされた¹¹⁶。Yamasaki らは最近、Arg192Gln の多型の出現頻度を326名の日本人について調べ、欧米人と比較したところ、サリンの解毒活性の低い¹⁹²Arg 接合体の出現頻度は日本人では66%もあったのに対し、米国人では31%、フランス人では24%、フィンランド人では26%でしかなかった¹¹⁷。これらの結果から、日本人に低活性 paraoxonase allele (¹⁹²Arg) を有するヒトが多かったことで地下鉄サリン事件が5,000人以上の死傷者を出すほど悲惨なものになった可能性があると考えられた¹¹⁷。

4. 薬物代謝酵素の欠損による疾病 (UDP-グルクロンシルトランスフェラーゼ欠損による Crigler-Najjar syndrome)

Crigler-Najjar syndrome (CN)¹¹⁸とは、劣性の遺伝性疾患で、ビリルビンの解毒代謝経路であるグルクロン酸抱合が著しく欠損しているために、血中ビリルビンレベルが高く、kernicterus 等の重篤な症状をひきおこす疾病である。CN は、その臨床症状により、CN1 型、CN2 型、Gilbert's syndrome に分類されるが、ここでは最も重症な CN1 型の発症機構につき遺伝子レベルの解析結果を中心に述べる。ビリルビンのグルクロン酸抱合を触媒する酵素をコードする *UGT1* 遺伝子は特徴的な構造をもつ¹¹⁹。Fig. 4 に示すように、基質との親和力の差異により基質特異性の重要な要因となっていると考えられる領域をコードする数個のエクソン1が配置され、constant region であるエクソン2-5が続き、各エクソン1は独立にスプライシングを受け、エクソン2-5に接続され mRNA が作られる。CN1 の患者とその家族に見い出される、ビリルビンのグルクロン酸抱合酵素タンパク（ビリルビンの主代謝酵素はエクソン1A1でコードされる）の欠損の原因となっている *UGT1* 遺伝子上の変異箇所は様々である¹²⁰。これまでに、エクソン1A1内の、塩基欠損に伴う Phe の欠損、¹⁷⁷Cys → Arg、²⁷⁶Gly → Arg、エクソン2では、本エクソン全体の

欠失、13塩基の欠失、²⁹¹Ala → Val、³⁰⁸Gly → Glu、³³¹Gln → Stop、エクソン3内では³³⁵Trp → Stop、³⁴¹Arg → Stop、³⁵⁷Gln → Stop(または Arg)、³⁶¹Gln → Stop、エクソン4内では³⁶⁸Ala → Thr、1塩基挿入によるフレームシフト、³⁷⁶Ser → Phe、³⁸¹Ser → Arg、³⁸⁷Pro → Arg、⁴⁰¹Ala → Pro、エクソン5の⁴³⁷Lys → Stop、が知られている。これらの変異を有する患者の血清中ビリルビン濃度は340 μM を超え、CN1 との診断になる。遺伝子構造からも予想されるように、エクソン1A1の変異の場合、エクソン1A6でコードされるフェノールのグルクロン酸抱合酵素 UGT1A6 にはほとんど障害はみられないが、エクソン2またはそれより下流のエクソン内にノンセンス変異等、酵素機能を著しく損なう変異がおきている場合は、いくつかの分子種の発現が同時に欠損する。CN2 では、アミノ酸の置換を伴うが酵素活性はある程度残っているので、CN1 に比べると緩和な症状を呈すると考えられている¹²⁰。

5. 癌原物質の代謝に関する薬物代謝酵素の遺伝的多型性と発癌感受性

遺伝子毒性を示す癌原物質の多くは生体内で代謝活性化を受けて遺伝子傷害性を発揮し、癌を生じさせると考えられている。また、癌原物質は代謝活性化のみならず、解毒代謝をも受けている場合が多い。最近までに明らかにされているヒトの薬物代謝酵素の遺伝的多型性を考慮すると、癌原物質の代謝活性化反応や、解毒代謝反応を触媒する薬物代謝酵素活性の遺伝的多型性による個体差が、個々のヒトについて癌原物質に対する感受性の決定因子になりうる可能性が想定される。このような観点から、薬物代謝酵素の遺伝的多型性が、種々の臓器癌に対するヒト個体レベルの感受性をどの程度規定しているかについて多くの研究がなされている。このような問題を考えるためにはどのような癌原物質がヒト化学発癌の原因物質で、それらはどのような代謝経路で代謝されるのか、また、どのような代謝酵素が役割を果たしているのかを考慮しなければならない。たとえば、タバコの煙や大気汚染物質に含まれるベンゾ[a]ピレンはヒト肺にも発現している CYP1A1 分子種により、代謝活性化されることが知られている^{121,122}。肉や魚の加熱調理の過程で生成するヘテロサイクリックアミンは肝の

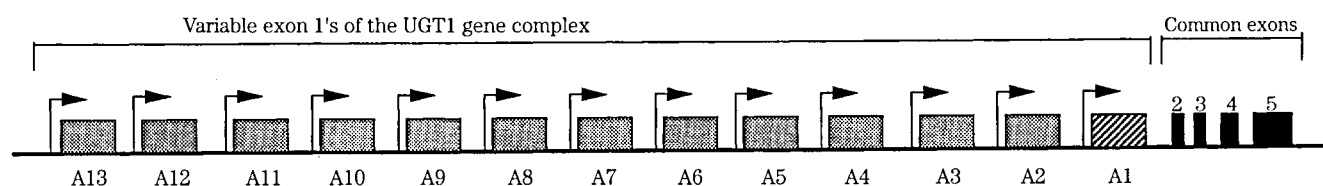


Fig. 4 Human *UGT1* gene structure¹²⁰
Schematic representation of structure of *UGT1* gene complex

CYP1A2でN-水酸化され、ついで、アリルアミンアセチルトランスフェラーゼにより第2段階目の活性化反応であるO-アセチル化を受け、標的組織に運ばれ、DNAに損傷を与える¹²³⁾。あるいは、N-水酸化体が標的組織に運ばれ、組織のアリルアミンアセチルトランスフェラーゼによりO-アセチル化を受けると考えられている。種々の臓器癌の原因になりうると想定される物質の代謝酵素について知られている遺伝的多型性に着目して、多くの症例対照研究が行われた。その結果、CYP1A1遺伝子の⁴⁶² Val型、およびCYP2D6のEMと肺癌リスク、NAT2形質と膀胱癌、結腸癌との関連、glutathione S-transferase M1(GSTM1)欠損と肺癌リスクなどの関連を指摘した報告が出された。しかし、このような症例対照研究は、多施設で実施されたが、ある特定の形質や遺伝子型がある臓器癌に対してハイリスク(危険性が高い)であるという結果が、どこの施設でも一貫して得られているわけではなく、議論の余地が多い(具体例については最近の筆者の総説など^{124,125)}を参照されたい)。

おわりに

INHやSMZなどのアリルアミン薬物による好ましくない副作用が発現しやすいヒトの存在がすでに1954年に報告され、その原因が薬物の解毒・排泄のための代謝経路であるN-アセチル抱合能の欠損であることが1960年代には明らかにされた。その後、デブリソキン、スパルテイン、メフェニトイン代謝多型などの研究を通じてヒトの薬物代謝の遺伝的多型が薬効や、副作用の発現の個体差に影響する重要な因子であるとの認識が強まり、薬理遺伝学の研究が発展した。実験動物にも系統差があり、「ラット」という一動物種の中でも多型が認められることがあるが、ヒトは一つの人種のなかでも遺伝的に雑種であり、生体外異物の代謝に関与する酵素は生存に必須でないものが多いため、異型遺伝子、すなわち遺伝的多型性がヒト集団のなかに残っているのであろう。PCR法の普及など、分子生物学的解析技術の進歩により、ヒト血液等の材料さえあれば、変異型遺伝子を見出すことすらかなり容易になってきた。そのため、ある遺伝子の塩基配列の差異、すなわち多型の情報が先行して得られることが多くなっているが、塩基配列の差異の情報からだけではその遺伝子によりコードされる酵素の機能の差異を予見することはできない。実際、現在知られているCYP2E1遺伝子の5'-上流領域のPstI、RsaI多型ではクロルゾキサゾン6-水酸化を指標にしたCYP2E1形質が説明できなかった。これは「ジェノタイプ(遺伝多型)とフェノタイプ(発現形質)」の対応がっていないということで、薬物代謝酵素の多型の研究においてよく遭遇する問題である。このような場合はクロルゾキサゾン服用後の尿中排泄率でCYP2E1の形質を調べる

必要があり、*in vivo* 代謝の診断薬(プローブ薬)の開発の必要性はいささかも衰えていない。また、たとえば中国人に見い出された異型CYP2D6遺伝子CYP2D6/Ch1および2においても、酵素活性にはあまり影響していないと考えられるが、野性型遺伝子とは異なる塩基配列が見い出されている¹²⁶⁾。このように考えると、本稿で取り上げた例は、薬物代謝酵素活性が顕著に損なわれるような遺伝子多型の「最初に注目すべき」重要な例なのと思われる。CYP2E1以外にも、酵素タンパクの発現量の個体差や代謝多型が確かに認められるのに、多型の遺伝的機構がよくわかっていないCYP1A2やグルタチオンS-トランスフェラーゼの一分子種(GSTP1)のような例がある。分子生物学的解析法の粋を用いて、代謝酵素遺伝子上及び近傍の塩基配列をくまなく調べればそのような例についても遺伝的多型性の機構の解明ができるのか、これは薬理遺伝学研究の今後の課題である。

用語の説明

1. allele

対立遺伝子。常染色体は対になって存在しているが、染色体上の同じ座位にある一對の遺伝子を対立遺伝子という。ある(人種など)集団で大多数がもつ対立遺伝子を野性型(対立)遺伝子、野性型と異なる塩基配列をもった遺伝子を変異(対立)遺伝子あるいは異型(対立)遺伝子という。野性型、変異(対立)遺伝子を問わず、まったく同質の一対の対立遺伝子をもつ個体をホモ接合体(homozygotes)と呼ぶ。片方の遺伝子が野性型、もう片方が変異遺伝子をもつ個体をヘテロ接合体(heterozygotes)と呼ぶ。

2. サザンブロット

特定の配列を有するDNA断片を検出するために用いる方法。DNA断片をアガロースゲル電気泳動により、分画し、ゲル中で変性させ、ナイロンメンブレンなどに転写して固定化する。この転写の操作をブロット、転写される分子がDNAの場合、サザンブロットと呼ばれる。(Southernという研究者により考案されたことに因む。)

3. ウェスタンブロット

試料中のタンパクをSDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動(SDS-PAGE)により分画後、免疫染色で検出するために用いる方法。タンパクのブロットの場合ウェスタンブロット(Western blot)と呼ばれる。ちなみに、RNAのブロットの操作はノーザンブロット(Northern blot)と呼ばれる。西さん、北さんはそれぞれの考案者ではない、念のため。

4. エクソンとスプライシング

真核細胞のゲノム遺伝子のなかで、タンパクをコードする構造遺伝子の核酸塩基配列を調べると、アミノ酸に翻訳されるべき領域が、アミノ酸をコードする情報をもたない

塩基配列 (イントロン) によって分断されているところが見られる。ゲノム遺伝子は、最初イントロンを含んだまま転写され、その後、イントロン部分が除去されることにより成熟 mRNA となる。構造遺伝子の塩基配列のうち、成熟 mRNA に含まれる情報領域をエクソンと呼び、成熟 mRNA ができるための、イントロン部分の除去の過程をスプライシングと呼ぶ。

5. CYP2D6/Ch2

1994年 Johansson¹²⁶⁾ らにより報告された中国人に見いだされた2つの変異 CYP2D6 遺伝子 (CYP2D6/Ch1 および CYP2D6/Ch2) のうちの1つ。Ch は Chinese の Ch であり、Ch1, Ch2 の2つの変異が報告された。これらは CYP2D6 遺伝子の5'-上流領域を含めて野性型と比較して数か所の塩基配列の違いが認められる。酵素活性に影響を与える塩基置換は Ch1 では¹⁸⁸C → T (³⁴Pro → Ser) および⁴²⁶⁶G → C (⁴⁸⁶Ser → Thr) であった。Ch2 では、¹⁸⁸C → T (³⁴Pro → Ser) の他、エクソン9が CYP2D7 遺伝子のエクソン9に置換されており、これにより、6カ所のアミノ酸が野性型と変わっており、⁴²⁶⁶G → C (⁴⁸⁶Ser → Thr) と合わせ、計8個のアミノ酸の変換が認められた。

文 献

- Evans, D. A. P., Manley, K. A. and McKusick, V. A.: *British Med. J.*, **2**, 485-491 (1960)
- Sunahara, S., Urano, M. and Ogawa, M.: *Science*, **134**, 1530-1531 (1961)
- Hughes, H. B., Biehl, J. P., Jones, A. P. and Schmidt, L. H.: *Am. Rev. Tubercul.*, **70**, 266-273 (1954)
- Weber, W. W. and Hein, D. W.: *Pharmacol. Rev.*, **37**, 25-79 (1985)
- Ozawa, S., Abu-Zeid, M., Kawakubo, Y., Toyama, S., Yamazoe, Y. and Kato, R.: *Carcinogenesis*, **11**, 2137-2144 (1990)
- Nagata, K., Ozawa, S., Miyata, M., Shimada, M., Yamazoe, Y. and Kato, R.: *Pharmacogenetics*, **4**, 91-100 (1994)
- Vatsis, K. P., Martell, K. J. and Weber, W. W.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **88**, 6333-6337 (1991)
- Blum, M., Demierre, A., Grant, D. M., Heim, M. and Meyer, U. A.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **88**, 5237-5241 (1991)
- Sim, E. and Hickman, D.: *Trends Pharmacol. Sci.*, **12**, 211-213 (1991)
- Deguchi, T. J.: *Biol. Chem.*, **267**, 18140-18147 (1992)
- Lin, H. J., Han, C. Y., Lin, B. K. and Hardy, S.: *Am. J. Hum. Genet.*, **52**, 827-834 (1993)
- Abe, M., Deguchi, T. and Suzuki, T.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **191**, 811-816 (1993)
- Blum, M., Grant, D. M., Demierre, A. and Meyer, U. A.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **86**, 9554-9557 (1989)
- Sasaki, Y., Ohsako, S. and Deguchi, T.: *J. Biol. Chem.*, **266**, 13243-13250 (1991)
- Doll, M. A. and Hein, D. W.: *Pharmacogenetics*, **5**, 247-251 (1995)
- Hein, D. W.: *Mut. Res.*, **376**, 101-106 (1997)
- Martell, K. J., Levy, G. N. and Weber, W. W.: *Molec. Pharmacol.*, **42**, 265-272 (1992)
- Vatsis, K. P., Weber, W. W., Bell, D. A., Dupret, J.-M., Evans, D. A. P., Grant, D. M., Hein, D. W., Lin, H. J., Meyer, U. A., Relling, M. V., Sim, E., Suzuki, T. and Yamazoe, Y.: *Pharmacogenetics*, **5**, 1-17 (1995)
- Kalow, W.: *Trends Pharmacol. Sci.*, **12**, 102-107 (1991)
- Mahgoub, A., Idle, J. R., Dring, L. G., Lancaster, R. and Smith, R. L.: *Lancet*, **2**(8038), 584-586 (1977)
- Eichelbaum, M., Spannbrucker, N., Steinecke, B., Dengler, H. J.: *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, **16**, 183-187 (1979)
- Bertilsson, L., Dengler, H. J., Eichelbaum, M. and Schulz, H.-U.: *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, **17**, 153-155 (1980)
- Lennard, M. S., Jackson, P. R., Freestone, S., Tucker, G. T., Ramsay, L. E. and Woods, H. F.: *Br. J. Clin. Pharmacol.*, **17**, 679-685 (1984)
- Raghuram, T. C., Koshakji, R. P., Wilkinson, G. R. and Wood, A. J.: *Clin. Pharmacol. Ther.*, **36**, 51-56 (1984)
- Ward, S. A., Walle, T., Walle, U. K., Wilkinson, G. R. and Branch, R. A.: *Clin. Pharmacol. Ther.*, **45**, 72-79 (1989)
- Anthony, L., Koshakji, R. and Wood, A. J. J.: *Clin. Pharmacol. Ther.*, **46**, 297-300 (1989)
- Lennard, M. S., Silas, J. H., Freestone, S. and Trevethick, J.: *Br. J. Clin. Pharmacol.*, **14**, 301-303 (1982)
- Dayer, P., Leemann, T., Marmy, A. and Rosenthaler, J.: *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, **28**, 149-153 (1985)
- Dayer, P., Gasser, R., Gut, J., Kronbach, T., Robertz, G.-M., Eichelbaum, M. and Meyer, U.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **125**, 374-380 (1984)
- Dayer, P., Balant, L., Kupfer, A., Striberni, R. and Leemann, T.: *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, **28**, 317-320 (1985)
- Dayer, P., Leemann, T., Kupfer, A., Kronbach, T. and Meyer, U. A.: *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, **31**, 313-318 (1986)
- Pressacco, J., Muller, R. and Kalow, W.: *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, **45**, 261-264 (1993)
- McGourty, J. C., Silas, J. H., Fleming, J. J., McBurney, A. and Ward, J. W.: *Clin. Pharmacol. Ther.*, **38**, 409-413 (1985)
- Lennard, M. S., Lewis, R. V., Brawn, L. A., Tucker, G. T., Ramsay, L. E., Jackson, P. R. and Woods, H. F.: *Br. J. Clin. Pharmacol.*, **27**, 429-434 (1989)
- Woodsley, R. L., Roden, D. M., Dai, G., Wang, T., Altenbern, D., Oates, J. and Wilkinson, G. R.: *Clin. Pharmacol. Ther.*, **39**, 282-287 (1986)
- Gross, A. S., Mikus, G., Fischer, C., Hertrampf, R., Gundert-Remy, U. and Eichelbaum, M.: *Br. J. Clin. Pharmacol.*, **28**, 555-566 (1989)
- Broly, F., Vandamme, N., Libersa, C. and Lhermitte, M.: *Br. J. Clin. Pharmacol.*, **32**, 459-466 (1991)
- Broly, F., Libersa, C., Lhermitte, M. and Dupuis, B.: *Biochem. Pharmacol.*, **39**, 1045-1053 (1990)
- Funck-Brentano, C., Kroemer, H. K., Pavlou, H., Woodsley, R. L. and Roden, D. M.: *Br. J. Clin. Pharmacol.*, **27**, 435-444 (1989)

- 40) Bertilsson, L., Mellstöm, B., Sjöqvist, F., Mårtensson, B. and Åsberg, M.: *Lancet*, **1**(8219), 560-561 (1981)
- 41) Bertilsson, L., Eichelbaum, M., Mellstöm, B., Säwe, J., Schulz, H.-U. and Sjöqvist, F.: *Life Sci.*, **27**, 1673-1677 (1980)
- 42) Breyer-Pfaff, U., Pfandl, B., Nill, K., Nusser, E., Monney, C., Jonzier-perey, M., Baettig, D. and Baumann, P.: *Clin. Pharmacol. Ther.*, **52**, 350-358 (1992)
- 43) Bertilsson, L. and Aberg-Wistedt, A.: *Br. J. Clin. Pharmacol.*, **15**, 388-390 (1983)
- 44) Spina, E., Birgersson, C., von Bahr, C., Ericsson, Ö., Mellström, B., Steiner, E. and Sjöqvist, F.: *Clin. Pharmacol. Ther.*, **36**, 677-682 (1984)
- 45) Brøsen, K., Klysner, R., Gram, L. F., Otton, S. V., Bech, P. and Bertilsson, L.: *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, **30**, 679-684 (1986)
- 46) Meyer, J. W., Woggon, B., Baumann, P. and Meyer, U. A.: *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, **39**, 613-614 (1990)
- 47) von Bahr, C., Movin, G., Nordin, C., Lidén, A., Hammarlund-Udenaes, M., Hedberg, A., Ring, H. and Sjöqvist, F.: *Clin. Pharmacol. Ther.*, **49**, 234-240 (1991)
- 48) Tyndale, R. F., Kalow, W. and Inaba, T.: *Br. J. Clin. Pharmacol.*, **31**, 655-660 (1991)
- 49) Yue, Q. Y., Svensson, J.-O., Alm, C., Sjöqvist, F. and Säwe, J.: *Br. J. Clin. Pharmacol.*, **28**, 639-645 (1989)
- 50) Yue, Q. Y., Hasselström, J., Svensson, J. O. and Säwe, J.: *Br. J. Clin. Pharmacol.*, **31**, 635-642 (1991)
- 51) Yue, Q. Y., Svensson, J. O., Sjöqvist, F. and Säwe, J.: *Br. J. Clin. Pharmacol.*, **31**, 643-647 (1991)
- 52) Küpfer, A., Schmid, B., Preisig, R. and Pfaff, G.: *Lancet*, **2**(8401), 517-518 (1984)
- 53) Roy, S. D., Hawes, E. M., Hubbard, J. W., McKay, G. and Midha, K. K.: *Lancet*, **2**(8416), 1393 (1984)
- 54) Schmid, B., Bircher, J., Preisig, R. and Küpfer, A.: *Clin. Pharmacol. Ther.*, **38**, 618-624 (1985)
- 55) Feifel, N., Kucher, K., Fuchs, L., Jedrychowski, M., Schmidt, E., Antonin, K.-H., Bieck, P. R. and Gleiter, C. H.: *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, **45**, 265-269 (1993)
- 56) Roy, S. D., Hawes, E. M., McKay, G., Korczynski, E. D. and Midha, K. K.: *Clin. Pharmacol. Ther.*, **38**, 128-133 (1985)
- 57) Otton, S. V., Schadel, M., Cheung, S. W., Kaplan, H. L., Busto, U. E. and Sellers, E. M.: *Clin. Pharmacol. Ther.*, **54**, 463-472 (1993)
- 58) Rollins, D. E., Alván, G., Bertilsson, L., Gillette, J. R., Mellström, B., Sjöqvist, F. and Träskman, L.: *Clin. Pharmacol. Ther.*, **28**, 121-129 (1980)
- 59) Mellström, B., Bertilsson, L., Lou, Y.-C., Säwe, J. and Sjöqvist, F.: *Clin. Pharmacol. Ther.*, **34**, 516-520 (1983)
- 60) Schmider, J., Greenblatt, D. J., von Moltke, L. L., Harmatz, J. S. and Shader, R. I.: *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **275**, 592-597 (1995)
- 61) Ghahramani, S., Ellis, S. W., Lennard, M. S., Ramsay, L. E. and Tucker, G. T.: *Br. J. Clin. Pharmacol.*, **43**, 137-144 (1997)
- 62) Venkatakrisnan, K., Greenblatt, D. J., von Moltke, L. L., Schmider, J., Harmatz, J. S. and Shader, R. I.: *J. Clin. Pharmacol.*, **38**, 112-121 (1998)
- 63) Kalow, W., Otton, S. V., Kadar, D., Endrenyi, L. and Inaba, T.: *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, **58**, 1142-1144 (1980)
- 64) Nakamura, K., Goto, F., Ray, W. A., McAllister, C. B., Jacqz, E., Wilkinson, G. R. and Branch, R. A.: *Clin. Pharmacol. Ther.*, **38**, 402-408 (1985)
- 65) Alván, G., Bechtel, P., Iselius, L. and Gundert-Remy, U.: *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, **39**, 533-537 (1990)
- 66) Lou, Y. C., Ying, L., Bertilsson, L. and Sjöqvist, F.: *Lancet*, **2**(8563), 852-853 (1987)
- 67) Horai, Y., Nakano, M., Ishizaki, T., Ishikawa, K., Zhou, H.-H., Zhou, B.-J., Liao, C.-L. and Zhang, L.-M.: *Clin. Pharmacol. Ther.*, **46**, 198-207 (1989)
- 68) Sohn, D.-R., Shin, S.-G., Park, C.-W., Kusaka, M., Chiba, K. and Ishizaki, T.: *Br. J. Clin. Pharmacol.*, **32**, 504-507 (1991)
- 69) Bertilsson, L., Lou, Y.-Q., Du, Y.-L., Liu, Y., Kuang, T.-Y., Liao, X.-M., Wang, K.-Y., Reviriego, J., Iselius, L. and Sjöqvist, F.: *Clin. Pharmacol. Ther.*, **51**, 388-397 (1992)
- 70) Gaedigk, A., Blum, M., Gaedigk, R., Eichelbaum, M. and Meyer, U. A.: *Am. J. Hum. Genet.*, **48**, 943-950 (1991)
- 71) Daly, A. K., Brockmüller, J., Broly, F., Eichelbaum, M., Evans, W. E., Gonzalez, F. J., Huarig, J.-D., Idle, J. R., Ingelman-Sundberg, M., Ishizaki, T., Jacqz-Aigrain, E., Meyer, U. A., Nebert, D. W., Steen, V. M., Wolf C. R. and Zanger, U. M.: *Pharmacogenetics*, **6**, 193-201 (1996)
- 72) Yokoi, T., Kosaka, Y., Chida, M., Chiba, K., Nakamura, H., Ishizaki, T., Kinoshita, M., Sato, K., Gonzalez, F. J. and Kamataki, T.: *Pharmacogenetics*, **6**, 395-401 (1996)
- 73) Yokoi, T. and Kamataki, T.: *Seikagaku*, **69**, 1196-1199 (1997)
- 74) Küpfer, A. and Preisig, R.: *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, **26**, 753-759 (1984)
- 75) Wedlund, P. J., Aslanian, W. S., McAllister, C. B., Wilkinson, G. R. and Branch, R. A.: *Clin. Pharmacol. Ther.*, **36**, 773-780 (1984)
- 76) Meier, U. T., Dayer, P., Malè, P.-J., Kronbach, T. and Meyer, U. A.: *Clin. Pharmacol. Ther.*, **38**, 488-494 (1985)
- 77) Shimada, T., Misono, K. S. and Guengerich, F. P.: *J. Biol. Chem.*, **261**, 909-921 (1986)
- 78) Wrighton, S. A., Thomas, P. E., Willis, P., Maines, S. L., Watkins, P. B., Levin, W. and Guzelian, P. S.: *J. Clin. Invest.*, **80**, 1017-1022 (1987)
- 79) Yasumori, T., Kawano, S., Nagata, K., Shimada, M., Yamazoe, Y. and Kato, R.: *J. Biochem.*, **102**, 1075-1082 (1987)
- 80) Kimura, S., Pastewka, J., Gelboin, H. V. and Gonzalez, F. J.: *Nucleic Acids Res.*, **15**, 10053-10054 (1987)
- 81) Meehan, R. R., Gosden, J. R., Rout, D., Hastie, N. D., Friedberg, T., Adesnik, M., Buchland, R., van Heyningen, V., Fletcher, J., Spurr, N. K., Sweeney, J. and Wolf, C. R.: *Am. J. Hum. Genet.*, **42**, 26-37 (1988)
- 82) Romkes, M., Faletto, M. B., Blaisdell, J. A., Raucy, J. L. and Goldstein, J. A.: *Biochemistry*, **30**, 3247-3255 (1991)
- 83) Wrighton, S. A., Stevens, J. C., Becker, G. W. and VandenBranden, M.: *Arch. Biochem. Biophys.*, **306**, 240-245 (1993)
- 84) Goldstein, J. A., Faletto, M. B., Romkes-Sparks, M.,

- Sullivan, T., Kitareewan, S., Raucy, J. L., Lasker, J. M. and Ghanayem, B. I.: *Biochemistry*, **33**, 1743-1752 (1994)
- 85) Küpfer, A. and Branch, R. A.: *Clin. Pharmacol. Ther.*, **38**, 414-418 (1985)
- 86) Skjelbo, E., Br sen, K., Hallas, J. and Gram, L. F.: *Clin. Pharmacol. Ther.*, **49**, 18-23 (1991)
- 87) Koyama, E., Sohn, D-R., Shin, S-G., Chiba, K., Shin, J-G., Kim, Y-H., Echizen, H. and Ishizaki, T.: *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **271**, 860-867 (1994)
- 88) Nielsen, K. K., Br sen, K., Hansen, M. G. J. and Gram, L. F.: *Clin. Pharmacol. Ther.*, **55**, 518-527 (1994)
- 89) Bertilsson, L., Henthorn, T. K., Sanz, E., Tybring, G., S we, J. E. and Vill n, T.: *Clin. Pharmacol. Ther.*, **45**, 348-355 (1989)
- 90) Funck-Brentano, C., Bosco, O., Jacqz-Aigrain, E., Keundjian, A. and Jaillon, P.: *Clin. Pharmacol. Ther.*, **51**, 507-512 (1992)
- 91) Andersson, T., Reg rdh, C. G., Lou, Y. C., Zhang, Y., Dahl, M. L. and Bertilsson, L.: *Pharmacogenetics*, **2**, 25-31 (1992)
- 92) Sohn, D. R., Kobayashi, K., Chiba, K., Lee, K. H., Shin, S. G. and Ishizaki, T.: *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **262**, 1195-1202 (1992)
- 93) Ieiri, I., Kubota, T., Urae, A., Kimura, M., Wada, Y., Mamiya, K., Yoshioka, S., Irie, S., Amamoto, T., Nakamura, K., Nakano, S. and Higuchi, S.: *Clin. Pharmacol. Ther.*, **59**, 647-653 (1996)
- 94) de Morais, S. M. F., Wilkinson, G. R., Blaisdell, J., Nakamura, K., Meyer, U. A. and Goldstein, J. A.: *J. Biol. Chem.*, **269**, 15419-15422 (1994)
- 95) Sohn, D. R., Kusaka, M., Ishizaki, T., Shin, S. G., Jang, I. J., Shin, J. G. and Chiba, K.: *Clin. Pharmacol. Ther.*, **52**, 160-169 (1992)
- 96) de Morais, S. M. F., Wilkinson, G. R., Blaisdell, J., Meyer, U. A., Nakamura, K. and Goldstein, J. A.: *Molec. Pharmacol.*, **46**, 594-598 (1994)
- 97) de Morais, S. M. F., Goldstein, J. A., Xie, H.-G., Huang, S.-L., Lu, Y.-Q., Xia, H., Xiao, Z.-S., Ile, N. and Zhou, H.-H.: *Clin. Pharmacol. Ther.*, **58**, 404-411 (1995)
- 98) Takakubo, F., Kuwano, A. and Kondo, I.: *Pharmacogenetics*, **6**, 265-267 (1996)
- 99) Kubota, T., Chiba, K. and Ishizaki, T.: *Clin. Pharmacol. Ther.*, **60**, 661-666 (1996)
- 100) Tsuneoka, Y., Fukushima, K., Matsuo, Y., Ichikawa, Y. and Watanabe, Y.: *Life Sci.*, **59**, 1711-1715 (1996)
- 101) Ferguson, R. J., de Morais, S. M. F., Benhamou, S., Bouchardy, C., Blaisdell, J., Ibeanu, G., Wilkinson, G. R., Sarich, T. C., Wright, J. M., Dayer, P. and Goldstein, J. A.: *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **284**, 356-361 (1998)
- 102) Harada, S., Agarwal, D. P. and Goedde, H. W.: *Lancet*, **2**(8253), 982 (1981)
- 103) Higuchi, S., Muramatsu, T., Saito, M., Sasao, M., Maruyama, K. and Kono, H.: *Lancet*, **1**(8533), 629 (1987)
- 104) Yoshida, A., Rzhetsky, A., Hsu, L. C. and Chang, C.: *Eur. J. Biochem.*, **251**, 549-557 (1998)
- 105) Yoshida, A.: *Alcohol Alcohol.*, **29**, 693-696 (1991)
- 106) Chao, Y.-C., Young, T.-H., Tang, H.-S. and Hsu, C.-T.: *Hepatology*, **25**, 112-117 (1997)
- 107) IARC.: "IARC Scientific Publ." No. 29, IARC, Lyon, France, pp. 93-148 (1981)
- 108) Hayes, R. B., Yin, S.-N., Dosemeci, M., Li, G.-L., Wacholder, S., Travis, L. B., Li, C.-Y., Rothman, N., Hoover, R. N., Linet, M. S. and the Benzen Study Group: *J. Natl. Cancer Inst.*, **89**, 1065-1071 (1997)
- 109) Snyder, R. and Hedli, C. C.: *Environ. Health Perspect.*, **104** (Suppl. 6), 1165-1171 (1996)
- 110) Latriano, L., Goldstein, B. D. and Witz, G.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **83**, 8356-8360 (1986)
- 111) Ho, T.-Y. and Witz, G.: *Carcinogenesis*, **18**, 739-744 (1997)
- 112) Ross, D.: *Eur. J. Hematol.*, **60** (Suppl.), 111-118 (1996)
- 113) Rothman, N., Smith, M. T., Hayes, R. B., Traver, R. D., Hoener, B., Campleman, S., Li, G.-L., Dosemeci, M., Linet, M., Zhang, L., Xi, L., Wacholder, S., Lu, W., Meyer, K. B., Titenko-Holland, N., Stewart, J. T., Yin, S. and Ross, D.: *Cancer Res.*, **57**, 2839-2842 (1997)
- 114) Carriere, V., Berthou, F., Baird, S., Belloc, C., Beaune, P. and de Waziers, I.: *Pharmacogenetics*, **6**, 203-211 (1996)
- 115) Traver, R. D., Horikoshi, T., Daneberg, K. D., Stadlbauer, T. H., Danenberg, P. V., Ross, D. and Gibson, N. W.: *Cancer Res.*, **52**, 797-802 (1992)
- 116) Davies, H. G., Richter, R. J., Keifer, M., Broomfield, C. A., Sowalla, J. and Furlong, C. E.: *Nat. Genet.*, **14**, 334-336 (1996)
- 117) Yamasaki, Y., Sakamoto, K., Watada, H., Kajimoto, Y. and Hori, M.: *Hum. Genet.*, **101**, 67-68 (1997)
- 118) Crigler, J. F. Jr. and Najjar, V. A.: *Pediatrics*, **10**, 169-179 (1952)
- 119) Mackenzie, P. I., Owens, I. S., Burchell, B., Bock, K. W., Bairoch, A., Bélanger, A., Fournel-Gigleux, S., Green, M., Hum, D. W., Iyanagi, T., Lancet, D., Louisot, P., Magdalou, J., Chowdhury, J. R., Ritter, J. K., Schachter, H., Tephly, T. R., Tipton, K. F. and Nebert, D. W.: *Pharmacogenetics*, **7**, 255-269 (1997)
- 120) Clarke, D. J., Moghrabi, N., Monaghan, G., Cassidy, A., Boxer, M., Hume, R. Burchell, B.: *Clin. Chimica Acta*, **266**, 63-74 (1997)
- 121) Shimada, T., Martin, M. V., Pruess-Schwartz, D., Marnett, L. J. and Guengerich, F. P.: *Cancer Res.*, **49**, 6304-6312 (1989)
- 122) McManus, M. E., Burgess, W. M., Veronese, M. E., Huggett, A., Quattrochi, L. C. and Tukey, R. H.: *Cancer Res.*, **50**, 3367-3376 (1990)
- 123) Kato, R. and Yamazoe, Y.: *Jpn. J. Cancer Res.*, **78**, 297-311 (1987)
- 124) Daly, A. K.: *Environ. Health Perspect.*, **102** (Suppl 9), 55-61 (1994)
- 125) Ozawa, S.: *Yakugaku zasshi*, **117**, 895-909 (1997)
- 126) Johansson, I., Oscarson, M., Yue, Q.-Y., Bertilsson, L., Sjöqvist, F. and Ingelman-Sundberg, M.: *Molec. Pharmacol.*, **46**, 452-459 (1994)