

ヒト肝薬物代謝活性形質診断法の最近までの進歩

小澤正吾[#]

Diagnosis of hepatic enzyme activities of drug metabolizing enzymes-phenotyping and genotyping

Shogo Ozawa[#]

Drug metabolizing enzymes (DMEs) play an important role in the biotransformation of various xenobiotics, generally by detoxifying and eliminating substrates by converting them to more hydrophilic derivatives, or in some cases, activating substrates by conversion to intermediates that are highly reactive with biological macromolecules. It is widely accepted that the enzymatic activities of hepatic DMEs are one of the most important determinants of the concentration of drugs at their site of action or in the blood. Wide inter-individual variability in drug concentrations in the blood has been demonstrated even after the administration of the same doses on the basis of body weight, and in many cases the wide differences in plasma drug concentrations have been attributed to the individual differences in the enzymatic activities of DMEs. Attempts have therefore been made to estimate the hepatic DME activities of each individual before administration of drugs clinically.

Three different approaches were taken to estimate patients' hepatic DME activities: 1) the use of probe drugs (phenotyping); 2) molecular diagnosis of genetic DME deficiency (genotyping); 3) examination of DME levels/activities in peripheral blood leukocytes/lymphocytes on the assumption that their activities in leukocytes/lymphocytes are well correlated with hepatic enzyme activities. A great number of data have been accumulated concerning the specificity of certain DME for candidate probe drugs, and searches have been made for mutated alleles of DME genes that indicate whether an individual is deficient in DMEs. Gene expression is measured by sensitive methods such as the reverse-transcriptase polymerase chain reaction and/or immunochemical methods in peripheral blood leukocytes/lymphocytes, which are less invasive tissues. Knowledge is being accumulated that will allow the development of useful methods of predicting the activities of hepatic DMEs that affect individual pharmacokinetics/pharmacodynamics.

In this article, various reported methods of assessing hepatic DME activities are reviewed for the purpose of maximizing the efficacy and safety of pharmacotherapy.

Keywords: drug metabolizing enzymes, probe drugs, pharmacogenetics, peripheral blood lymphocytes, drug efficacy and safety

1. はじめに

薬物代謝酵素は、ヒトをとりまく膨大な種類の化学物質に対応し、それらの水溶性を高め、解毒・排泄する重要な役割を果たしている。また、薬物代謝活性の高低は化学物質の体内動態に大きく影響を与える重要な因子であることが明らかになっている。半世紀近く前にはすでに、薬効の重要指標である薬物の血中濃度に、等量の薬物が投与されていても著しい個体差があることが認識されていた。一卵

性双生児の代謝能はほとんど差異が認められないのに対し、二卵性双生児ではかなり大きな代謝能の差異が認められることから、薬物代謝能という一つの表現形質が遺伝因子により決定されていることが示された。さらに、病態時に薬物代謝能が低下する場合があることが判明したことで、薬物療法上、患者の薬物代謝能をあらかじめ知る必要性が感じられるようになった。そこで、大別して以下の3つの方法で薬物代謝能を診断する方法の開発が行われ始めた。1) 第一の方法は、antipyrine等すでに用いられている薬物を低用量投与した後に得られる全身クリアランスなどの体内動態の指標を用いて、薬物代謝能の診断をすることである(2-1項)。その後酵素学的解析が進み、どの基質がどの薬物代謝酵素で代謝されるかが理解されるようになると共に、

[#]To whom correspondence should be addressed: Shogo Ozawa; 1-18-1, Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501, Japan; Tel: +81-3-3700-1141 ext.349; Fax: +81-3-3707-6950; E-mail: sozawa@nihs.go.jp

分子多様性の大きい薬物代謝酵素のうちのある特定の分子種の酵素活性を診断する方法の確立へ、努力が払われた(2-2 から 5 項). 2) 第二の方法は、薬物代謝多型を規定する遺伝子上の変異の有無を調べる方法である(3 項). これまでに種々の薬物代謝酵素欠損や時には過剰発現、またそれを規定する変異遺伝子が同定された。変異遺伝子の検出は、患者の血液から白血球を分離すれば可能であり、簡便である。3) 第三の方法は、白血球等比較的少ない侵襲で得られる組織に発現している代謝酵素の活性、タンパク量、mRNA を測定することである。これは、得られたデータが、薬物代謝に重要な、肝などの組織の活性と相関することを確認する必要があると考えられる(4 項)。

これらの方法のうち、代謝酵素欠損に結びつく変異対立遺伝子による検査法はその簡便さと方法の確実性から最良の方法かと思われるが、たとえ知られている変異対立遺伝子を有していないとしても、未知の変異遺伝子の存在の可能性は常につきまとう。また、病態下、薬物相互作用、食品成分による相互作用など、遺伝以外の因子により、薬物代謝能が変動していることも考慮しなければならない。このことは、代謝酵素の基質を投与する方法や、肝外組織における薬物代謝酵素活性を測定する方法を適宜組み合わせる必要があることを意味する。薬物代謝能を「診断」することは、次に列記する薬物療法上極めて重要な諸問題の解決のための方策である。すなわち、i) 病態下における薬物代謝能を知る、ii) 併用薬物や、食品成分による相互作用の結果としての薬物代謝能の変化を知る、iii) 薬物治療上

好ましくない結果に結びつく変異遺伝子を検出し、変異遺伝子を有する患者への不要で危険な投与を避ける。究極的には、薬物の適正使用という目標達成に資することであると考えられる。以上の観点から、本稿では現在までに開発されたヒトの薬物代謝能を「診断」する方法について概説したい。本稿では、主にヒト肝で発現している薬物代謝酵素について述べる。

それら多様な薬物代謝酵素分子種、および本稿では取り上げなかったが特徴的な分子種につき、その代表的基質や知られている遺伝子多型の現況について、"Table for Introduction"にまとめた。

2. 診断薬投与後の尿中、血中代謝物の測定による方法

薬物の代謝能に遺伝因子で規定された個体差があること、薬物の代謝能は病態下や、薬物相互作用により変動することが古くから知られている。このため、肝での代謝が、体内動態に反映され、血中や尿中代謝物量を測定することで、肝代謝能が診断できる「プローブ薬(診断薬)」の開発は極めて多くの研究グループにより試みられてきた¹⁻³⁾。タンパクの分析技術や遺伝子クローニングなど分子生物学的方法の進歩により、薬物代謝酵素の多様性が明らかになっている。各種薬物代謝酵素はそれぞれ多くの分子種から構成されており、ある程度の特異性がある一方、同じ基質に対して親和性を示すことも多い。たとえば、降圧薬 debrisoquin や子宮収縮薬 sparteine はシトクロム P450 (CYP) の一分子種である CYP2D6 の欠損によって特徴的

Table for Introduction

Introduction to molecular diversity and genetic polymorphism in human drug metabolizing enzymes expressed in livers including phase I enzymes, cytochrome P450 (CYP) and epoxide hydrolase (EH), and phase II conjugation enzymes

	主な基質	遺伝子多型と酵素の機能との関連
Phase I 酵素 (シトクロム P450 など)		
CYP1A2	carcinogenic aromatic amines, phenacetin, caffeine	+
CYP2A6	coumarin, nitrosoamines in tobacco smoke	+++
CYP2C9	phenytoin, hexobarbital, tolbutamide, S-mephenytoin	++
CYP2C19	S-mephenytoin, imipramine, amitriptyline, omeprazole	+++
CYP2D6	debrisoquin, sparteine, codeine, dextromethorphan	+++
CYP2E1	benzene, chlorzoxazone, ethanol, nitrosamines, p-nitrophenol	+
CYP3A4	testosterone, cyclosporine, erythromycin, dapsone, nifedipine	+ ~ ?
EH	benzo[a]pyrene 7,8-oxide, styrene 7,8-oxide	+
Phase II 酵素 (抱合系酵素)		
NAT	sulfamethazine, isoniazid, carcinogenic N-OH aromatic amines	+++
SULT	p-nitrophenol, dopamine, dehydroepiandrosterone	+
UGT	bilirubin, p-nitrophenol, steroids	*
GSTA1	carcinogenic N-OH aromatic amines	?
GSTM1	(+)-anti-benzo[a]pyrene-7,8-diol-9,10-oxide, trans-stilbene oxide	+++

NAT, arylamine N-acetyltransferase; SULT, sulfotransferase; UGT, UDP-glucuronyltransferase; GST, glutathione S-transferase; N-OH, N-hydroxy

+++、遺伝子多型と *in vivo* 薬物代謝の表現形質がよく対応；++、遺伝子多型とヒト肝組織を用いた *in vitro* の酵素活性が対応、一部 *in vivo* の薬物代謝の表現形質との対応がみられる；+、遺伝子多型の報告はあるが、代謝活性との関連について、さらに検討が必要なもの；?、肝の酵素活性に個体差があるが、遺伝子多型によるものかどうか検討の途上にあるもの；

*、Crigler-Najjar syndrome の原因となる変異のような疾病を引き起こす変異遺伝子が明らかにされている。

Table 1. Assessment of *in vivo* activities of various drug metabolizing enzymes using probe drugs

Drug metabolizing enzymes assessed Probe drugs used	Metabolic reactions or other pharmacokinetic parameters assessed	References
CYP1A2		
Antipyrine (Phenazone)	Amounts of urinary 4-hydroxy-antipyrine (phenazone) excreted	4,7-12
Aminopyrine	Aminopyrine clearance	5
Caffeine (1,3,7-trimethylxanthine)	Amounts of urinary N-3-demethyl caffeine excreted	13,14,16-22
CYP2D6		
Debrisoquin	MR (Debrisoquin/4-hydroxy debrisoquin)	23
Sparteine	Sparteine/ Sparteine-N1-oxide	24
Dextromethorphan	Dextromethorphan/Dextrorphan	26-29
CYP2C19		
S-Mephenytoin (Meph.)	HI (Meph. administered/urinary 4'-hydroxy meph. ratio)	30,31
Omeprazole	Omeprazole 5-hydroxylation	32
Proguanil	MR (proguanil/cycloguanil ratio)	33
CYP3A		
Erythromycin	Breath test, N-demethylation of erythromycin	34
Midazolam	1'-Hydroxylation of midazolam	35
Nifedipine	Aromatization of nifedipine	36
Dapsone	Amounts of urinary N-hydroxy dapsone excreted	37
CYP2E1		
Chlorzoxazone	Chlorzoxazone 6-hydroxylation	42-44
NAT2		
Caffeine	Ratio of urinary AFMU and 1X excreted (AFMU/1X)	18,20-22
Dapsone	MR (Urinary Dapsone/Monoacetyldapsone)	57
UDP-glucuronyltransferase		
Lorazepam	Clearance of lorazepam	45,46
(S, R) Oxazepam	Oxazepam clearance; raio of S/R oxazepam glucuronide in urine	47
CYP1A2, CYP2D6, CYP3A, CYP2E1 and NAT2	Urinary metabolites of caffeine, dextromethorphan, dapsone (N-hydroxy dapsone), 6-hydroxy-chlorzoxazone and dapsone (monoacetyldapsone)	57

MR, metabolic ratio

HI, hydroxylation index

な血中動態が認められる薬物として有名で、CYP2D6の典型的、特異的基質である。また、mephenytoinは、CYP2C19の欠損に関連して、CYP2C19の典型的基質であることが示された。CYP2D6とCYP2C19のN-末端の30アミノ酸配列は全く異なり、全体の相同性も低い。一方、大きく異なるこれらCYP分子種が、共に抗うつ薬 amitriptyline を基質とする。ただし、酸化を行う部位は異なる。このような状況では、多種の薬物代謝酵素活性形質を診断するために、多数の診断薬を、しかも、診断する酵素に特異的なものを選定することが必要であることが容易に推察できる。以上の条件を満足するために、実際に投与された後の体内動態のデータと、ヒト組織より精製した酵素や、cDNAの異種細胞発現系を用いて、問題の薬物に対し、どの酵素が特異性を示すかについてのデータが集積された (Table 1)。

2-1. 初期の薬物代謝能の診断薬, antipyrine (phenazone) および aminopyrine

併用薬物や食品成分による antipyrine (phenazone) や aminopyrine の体内動態の変化, および病態時のクリアランスの測定などを通じて肝薬物代謝能を診断する試みは古く

から始まり、最近も行われている⁴⁻¹²⁾。また、antipyrine (phenazone) の主要代謝物 4-hydroxy phenazone, 3-hydroxymethyl-phenazone, norphenazone の生成にどの CYP 分子種が関与するかが調べられ、4-hydroxy-phenazone の生成には CYP1A2 が、norphenazone の生成にはその生成量が CYP3A 誘導薬である rifampicin (rifampin) により増加することから、CYP3A が関与することを示唆する結果が得られている。aminopyrine については、4-dimethyl-¹⁴C-aminopyrine を健常者に投与した後の脱メチル化による呼気中の ¹⁴CO₂ の排泄量と血清 aminopyrine クリアランスによい一致をみた。また、フェノバルビタールを同一の個体に前投与した後の呼気中 ¹⁴CO₂ の排泄および血清中 aminopyrine クリアランスの分析により、フェノバルビタールが両者を上昇させることを示した⁹⁾。

2-2. シトクロム P450 の一分子種, CYP1A2 および抱合系酵素の一分子種, arylamine N-acetyltransferase 依存的な薬物代謝能の診断薬

CYP1A2 による代謝能の診断薬としてカフェインテストが開発された。caffeine についても CO₂ の呼気中の排泄の

測定などを通じ¹³⁾, caffeine の脱メチル化に CYP1A2 が関与することが示された¹⁴⁾. この後 caffeine の代謝物バラキサンチンを経由し, N-アセチル化を経て生成し, 尿中に検出される代謝物 5-acetylamino-6-formylamino-3-methyluracil (AFMU)¹⁵⁾ の量から arylamine N-acetyltransferase (NAT) によるアセチル化能を評価することが可能であることが示され, カフェインテストが非常に有用であると認識され, 多くの研究グループに使用されるようになった¹⁶⁻²²⁾.

2-3. シトクロム P450 の一分子種, CYP2D6 依存的な薬物代謝能の診断薬

CYP2D6 の欠損者は debrisoquin の代謝欠損に関する 1977 年の Mahgoub の報告²³⁾ や sparteine の代謝欠損に関する 1979 年の Eichelbaum の報告²⁴⁾ 以来世界中で研究されてきた. 1980 年代は, いろいろな薬物の代謝欠損が debrisoquin や sparteine の代謝欠損形質と一致するかどうかに関して非常に多くの研究が行われた. その膨大な研究のなかで, dextromethorphan の O-demethylation の主代謝酵素が CYP2D6 であり, 肝ミクロソーム中の CYP2D6 の活性のよい指標であることが示された²⁵⁾. その後, dextromethorphan 服用後の尿中代謝物 dextrorphan の量を測定し, metabolic ratio (MR) = $\mu\text{mol dextromethorphan} / \mu\text{mol dextrorphan}$ を求めて CYP2D6 活性の指標とする方法が用いられている²⁶⁻²⁹⁾.

2-4. シトクロム P450 の一分子種, CYP2C19 依存的な薬物代謝能の診断薬

CYP2C19 の欠損は S-mephenytoin の代謝欠損に関する 1984 年の Küpfer ら³⁰⁾ や Wedlund ら³¹⁾ の報告以後よく研究されてきた. CYP2C19 欠損者でないヒトの肝において, S-mephenytoin 4-hydroxylase の主酵素は CYP2C19 であるという強い証拠が提出されるまでには S-mephenytoin の代謝欠損が知られてから約 10 年の歳月を要した. ヒト肝には CYP2C19 よりも含量はるかに高く, 肝 CYP 全体からみてもかなり高い割合を占める CYP2C9 が存在する. CYP2C9 も S-mephenytoin 4-hydroxylase 活性を示す. 当初は, 良質かつ大量の出発材料が得られ難いヒト肝組織から本酵素活性を指標にしてタンパク精製が試みられた. その結果現在の命名法で CYP2C9, CYP2C8 に相当すると考えられる分子種が単離されてきた. その後, 分子クローニングがなされ, 現在 CYP2C19 と呼ばれる分子種の存在が明確になった. さらに, cDNA の発現系を用いることにより, 電気泳動上の微妙な挙動の差異が捉えられ, ヒト肝ミクロソームにおける CYP2C19 含量が, S-mephenytoin 4-hydroxylase 活性と最もよく相関する分子種であることが示され, CYP2C19 が, ヒト肝の S-mephenytoin 4-hydroxylase の主酵素であることが確実になった. このような歴史をたどり,

CYP2C19 の診断薬として, S-mephenytoin^{30,31)} が用いられるようになり, 最近では, 他に omeprazole³²⁾, proguanil³³⁾ などが用いられている.

2-5. シトクロム P450 の一分子種, CYP3A 依存的な薬物代謝能の診断薬

CYP3A 分子種については, erythromycin を用いた breath test³⁴⁾, midazolam³⁵⁾, nifedipine³⁶⁾, dapsone³⁷⁾ を用いる方法が報告されている. しかし, 尿中の dapsone の N-水酸化体を測定する方法について, 本反応には生体内で主に CYP2E1 が dapsone に対する "low Km enzyme" として役割を果たしているとする報告もあり³⁸⁾, 議論の余地がある. 一方, Jones らは, CYP3A4/5 が生体内で dextromethorphan の N-demethylation の主代謝酵素であり, N-脱メチル化体である 3-methoxymorphan が尿中に回収されることを示した³⁹⁾. 回収量は dextrorphan に比べればはるかに少ないものの, breath test を日本で施行できる可能性は少ないこと, 上述の dapsone の代謝酵素の特異性の問題を考えると, 一考に値する方法かもしれない.

2-6. シトクロム P450 の一分子種, CYP2E1 依存的な薬物代謝能の診断薬

CYP2E1 については, chlorzoxazone の主代謝物 6-hydroxychlorzoxazone の生成反応を触媒する主酵素であることが示されて以来⁴⁰⁻⁴²⁾, 血しょう中の 6-hydroxychlorzoxazone/chlorzoxazone (6OH-CHZ/CHZ) の比が本酵素活性の指標となりうるかどうか検討された⁴³⁾. (6OH-CHZ/CHZ) の比をもって, アルコール中毒患者における CYP2E1 の誘導と禁酒による CYP2E1 の誘導の解除の観察に応用された⁴⁴⁾.

2-7. 抱合系薬物代謝酵素の一分子種, UDP-glucuronyltransferase 依存的な薬物代謝能の診断薬

抱合酵素系のうち, 前出の NAT の他, UDP-glucuronyltransferase (UGT) の診断薬として, lorazepam^{45,46)}, oxazepam⁴⁷⁾ が用いられた報告がある. oxazepam は estradiol や 3,4-catechol estrogen を基質とするヒト UGT2B7 という UGT 分子種によってグルクロン酸抱合を受けることが示唆されている⁴⁸⁾.

2-8. 複数の診断薬の同時投与 (カクテル) による複数の薬物代謝酵素依存的代謝能の診断

CYP 分子種の多様性が明かになるにつれ, 多様な CYP 分子種の活性形質を迅速に知るため, いくつかの診断薬の同時投与が試みられた⁴⁹⁻⁵⁶⁾. そのために, i) 別種の CYP 分子種により代謝され, ii) 代謝経路があまり複雑ではなく, かつその経路が律速段階であり, iii) 薬物が安全で入

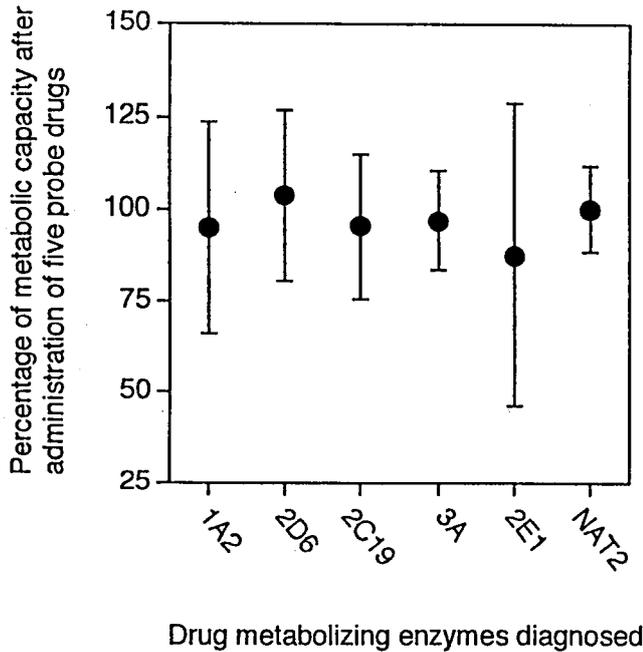


Fig. 1. Percentage of metabolic capacity after simultaneous administration of five probe drugs as compared to that after administration of each probe drug. Adapted from Ref. 57)

Names of CYP forms are abbreviated: 1A2, CYP1A2; 2D6, CYP2D6; 2C19, CYP2C19; 3A, CYP3A; 2E1, CYP2E1. NAT2 means arylamine N-acetyltransferase 2.

手が容易であり, iv) 生体試料からの分離定量及び速度論的解析が容易であるという条件を満たす薬物が選定された。いわゆる"cocktails of test compounds"あるいは単に"cocktail approach"などとも呼ばれている。カクテルの最大の問題は相互作用であろう。しかし, CYP3A, CYP2D6, CYP2Cの活性形質の診断薬と考えられる nifedipine, sparteine, phenytoin を同時投与した場合でも, それらの体内動態はそれぞれの単独投与の場合と比較して大きな変化は認められ

なかった⁵⁰⁾。

1997年, FryeらのPittsburg大学の研究グループは5種の薬物のカクテル"Pittsburg cocktail"を考案した⁵⁷⁾。さらに, Fig. 1に示すように, これら5種の薬物により, 14名のボランティアについて測定する5種のCYP分子種の活性の診断結果に対し, 診断薬をカクテルにするものの影響は(少数の例外はあるが)大きくないと思われた⁵⁷⁾。また, dapsoneのN-アセチル化を指標としたNAT活性に対しては併用したCYP分子種の診断薬をカクテルにするものの影響はほとんど認められなかった⁵⁷⁾。

3. ヒト肝薬物代謝酵素の遺伝子多型に着目した遺伝子診断

ヒト肝薬物代謝酵素活性の顕著な個体差を規定する遺伝因子が最近までの知見の積み重ねにより明かにされつつある。ある薬物代謝酵素をコードする対立遺伝子上に変異があり, その変異が当該酵素の欠損の原因となることが明かにされている場合, そのような変異遺伝子を両方の対立遺伝子に有する個体は明瞭な酵素欠損の形質をもったヒトであることが予想される。前章で述べた診断薬を用いて, 著しく薬物の代謝能が低い形質を有することが明らかになったヒトの血液から白血球DNAを抽出し, どのような変異を有しているために問題の薬物の代謝欠損になったかを調べ(genotyping), 遺伝子型の情報を蓄積して, genotypingで代謝欠損を予測できれば, 遺伝子診断はもっとも被検者の負担が少ない方法であるといえる。genotyping, すなわち変異遺伝子の検出に用いられるよく普及した方法は, southern blotting, polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP)法や, PCR-single strand conformation polymorphism (PCR-SSCP)法であろう。genotypingにより遺伝的に雑種であるヒトの全集団のうちの代謝欠損者を100%に限りなく近い正確さで予測する努力がいろいろな薬物代謝酵素遺伝子について払われ,

Table 2. Homozygosity of certain genetic polymorphism observed in genes encoding drug metabolizing enzymes which are associated with deficiency in the enzyme activities

Genotypic defects	Phenotypic defects	(Blanket) References
CYP2D6 Numerous known allelic variants such as CYP2D6*2-CYP2D6*17, J9, C8 etc.	MR (Debrisoquin/4-hydroxy debrisoquin) Sparteine/N-oxidated metabolite Dextromethorphan/Dextrorphan	68,78,79
CYP2C19 Known allelic variants such as CYP2C19*2-CYP2C19*6	HI (Meph. administered/urinary 4'-hydroxy meph. ratio)	30,31 80-84
NAT2 Known allelic variants such as NAT2*5A-*5C, *6A, *7B, *14B	Ratio of urinary AFMU and 1X excreted (AFMU/1X) MR (Urinary Dapsone/Monoacetyldapsone)	18,20-22 57 85,88

MR, metabolic ratio

HI, hydroxylation index

No allelic variant has been associated with defects in CYP1A2.

No conclusive report has been thus far available on association of allelic variants of CYP2E1 genes with alteration of its enzymatic activities, in spite of some suggestive reports such as refs. 92 and 95.

CYP2D6, CYP2C19, NAT2 については、その努力目標が達成されつつある (Table 2)。しかし、診断薬を用いて、著しい代謝活性の個体差が明らかにされており、しかもその酵素遺伝子につき多くの変異遺伝子が発見されているにもかかわらず、genotype (遺伝子型) と phenotype (形質) の対応につき今後引き続いて検討がなされるべき薬物代謝酵素 (遺伝子) が存在することもまた事実である。そのよい例は CYP1A2 や CYP2E1 と考えられる。

3-1. シトクロム P450 の一分子種、CYP2D6 の遺伝多型による代謝欠損の診断

抗高血圧薬 debrisoquin の 4-水酸化や子宮収縮・抗不整脈薬 sparteine の N-酸化反応を、これら薬物を用いて代謝活性を診断する際、血中または尿中における親化合物量 (濃度)/CYP2D6 依存性代謝物量 (濃度) すなわち MR が用いられることは前章で述べた。CYP2D6 欠損の分子機構の解明を求め、異常な splicing の結果と考えられる mRNA の検出や CYP2D6 酵素タンパクの欠如などが報告された⁵⁸⁾。Kimura ら⁵⁹⁾により、野生型 CYP2D6 遺伝子の構造、核酸塩基配列が明らかにされ、CYP2D6A, B, C, D の変異型遺伝子が相次いで報告された⁶⁰⁻⁶⁶⁾。これら変異遺伝子を有するヒトのうち、白人では B 型の頻度が約 80% と圧倒的に高く、次いで D 型の頻度が約 14% とされていた。これら変異型遺伝子を見出すため、前出の 2 種の薬物のほか、鎮咳薬 dextromethorphan を用いて本酵素による代謝能の欠損者が選り出された。1994 年、Evert らによる T 型対立遺伝子を明らかにした報告では⁶⁷⁾、sparteine を診断薬として、CYP2D6 依存的活性を欠損している、いわゆる poor metabolizer (遅延群, PM) の形質を有すると判断されたヒトの遺伝子が解析された。その時点までの遺伝子型の判定では、野生型/B 型のヘテロ接合子を有することになっており、遺伝子型からでは PM 形質を説明できなかったのだからに遺伝子の検索が進められた。このようにして、より出現頻度の低い対立遺伝子が発見され、1996 年、Daly らにより遺伝子型の命名法が整理された⁶⁸⁾。ところで、CYP2D6 依存的な代謝活性の PM の出現率には明瞭な人種差が認められている⁶⁹⁻⁷⁴⁾。日本人の PM のうち、最も頻度が高い変異遺伝子型は D 型であるといわれていた⁷⁵⁾。このような人種差に着目し、Yokoi らは CYP2D6 で主に代謝される抗ヒスタミン薬 (H1 受容体拮抗薬) promethazine により持続的な眠気が残るヒト⁷⁶⁾、あるいは sparteine の MR を指標にして日本人の PM のヒトを選定した⁷⁷⁾。そのようにして選ばれた日本人 PM 集団からはじめて J9 と呼ばれる変異遺伝子⁷⁸⁾や CYP2D6 遺伝子のエクソン 5 の 2661 番からのシトシンが 7 個連続する部位にさらに 1 個のシトシンが挿入された変異遺伝子が発見された⁷⁹⁾。

3-2. シトクロム P450 の一分子種、CYP2C19 の遺伝多型による代謝欠損の診断

抗癌薬メフェニトインのラセミ体投与後の、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た。メフェニトインの 4(')-水酸化形質の指標として mephenytoin hydroxylation index (HI, $\mu\text{mol S-メフェニトイン投与量}/8\text{-}12\text{時間尿中}4(')\text{-ヒドロキシメフェニトイン回収量比}$) や³⁰⁾、S-体の尿中回収量には著しい個体差が認められることから、尿中の R/S 比が用いられた³¹⁾。S-mephenytoin の水酸化酵素 CYP2C19 の欠損の原因となる遺伝子の多型は、エクソン 5 のスプライシングの異常をきたす m1 変異 (*2) と、エクソン 4 内でコードされるアミノ酸が終止コドンに変化する m2 変異 (*3) により、日本人における遅延群のヒトを診断できた⁸⁰⁾。また、白人においては、S-mephenytoin の 4 位の水酸化の PM の頻度が 18-23% である日本人に比べて非常に低く、2-5% である。また、白人の m2 対立遺伝子の頻度も非常に低く、0.3% であったので、さらに、白人において PM の原因となる遺伝子の変異が調べられた。その結果、1997 年に 74 名の中国人 PM のうち 1 例から見い出された Arg433Trp (*5) をはじめ^{81,82)}、開始コドンの変異 (*4)⁸³⁾、Arg132Gln (*6)⁸⁴⁾ の変異が最近 2 年のうちに報告された。*6 の変異を有するヒトはスイス人であり、その変異は 172 名のフランス系白人について検索されたが、一例も見い出されなかった⁸⁴⁾。白人ではもともと PM の頻度が低いこともあり、人種ごとの正確な対立遺伝子の出現頻度の算出は難しいかも知れない。これら CYP2C19 の変異対立遺伝子すべての発見に関わった Goldstein らの研究グループは、いわゆるヨーロッパ系白人集団から CYP2C19 依存性の代謝活性に関する PM37 名を集め、PM の原因遺伝子の検索を進めた結果 CYP2C19*6 を発見した。その報告の時点で遺伝子型から mephenytoin 代謝欠損の形質が説明できない例 (outlier) はさらに少数まで絞り込まれた⁸⁴⁾。

3-3. 抱合系薬物代謝酵素の一分子種、N-acetyltransferase 2 (NAT2) の遺伝多型による代謝欠損の診断

ヒト NAT2 遺伝子については 1995 年、多くの異型遺伝子の情報が整理された⁸⁵⁾。ヒト NAT2*4 と呼ばれる遺伝子型が野生型で、アミノ酸翻訳領域内のいくつかの塩基置換及びそれらの組み合わせにより、野生型遺伝子がコードするアミノ酸配列とは異なるアミノ酸配列を有する NAT2 タンパクがコードされる。異種細胞に発現した酵素分子種の機能の比較により、*12 と命名された対立遺伝子によりコードされる異型酵素 (²⁶⁸Lys→Arg の置換) 以外は、野生型に比べ明瞭な機能低下が示されている。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⁸⁶⁾。

ヒト NAT2 の欠損に結びつく変異遺伝子を同定するため Cascorbi らは caffeine を診断薬としたテストを行い、アリルアミン N-アセチル化能と、NAT2 遺伝子型との関連を調べた⁸⁷⁾。563 名にカフェインテストを行い、尿中代謝物につき、 $\log[\text{AFMU}/1\text{-methylxanthine (1X)}]$ (2-2 の項参照) の値を求めたところ、その分布には明瞭な二相性が認められた。それに対し、その時点で知られていたアセチル化能が低いヒト (遅延群) と関連する遺伝子型を、両方の対立遺伝子共にもつ個体群を遺伝子型から判定した遅延群 (318 名) とした。また、野生型対立遺伝子を 1 つ以上もつ個体群を遺伝子型から判定した迅速群 (245 名) とした。前者のうちの 23 名 (7.2%) は、カフェインテストからは高いアセチル化能を示す (迅速群) 個体と判定され、後者のうちの 15 名 (6.1%) は、カフェインテストでは低いアセチル化の遅延群の個体と判定された。1995 年の NAT2 に関する本報告⁸⁷⁾ の時点で、遺伝子型と表現形質の間にこの程度の不一致が認められた (Table 3)。genotyping における技術的な問題がごく最近、上述の文献の著者 Cascorbi らにより指摘された⁸⁸⁾。問題が生じる原因は、PCR-RFLP 法において用いられる制限酵素による消化が不十分であることと、特定の対立遺伝子にのみ PCR 増幅が起こるいわゆる allele-specific primer を用いることに伴う false positive/negative に集約される⁸⁸⁾。簡便にテストできる反面、検体数が多くなってくると、実験者の技術の巧拙による問題が生じるものと考えられた。

3-4. 遺伝多型による代謝欠損の診断についてさらなる検討が必要な例 - CYP1A2 および CYP2E1

Table 3. Relationship between genotype and phenotype of human NAT2 (adapted from Ref. 87)

Genotypically rapid	Phenotypically slow
*4/*4	0/29
*4/*5A	0/11
*4/*5B	9/107
*4/*5C	1/14
*4/*6A	4/77
*4/*7B	1/7
*4/*14B	0/1
Genotypically slow	Phenotypically rapid
*5A/*5A	0/2
*5A/*5B	1/16
*5A/*5C	1/3
*5A/*6A	1/4
*5A/*7B	0/1
*5B/*5B	7/78
*5A/*5C	2/14
*5B/*6A	8/118
*5B/*7B	0/1
*5B/*13	0/5
*5C/*5C	0/2
*5C/*6A	1/13
*6A/*6A	2/46
*6A/*7B	0/6
*6A/*13	0/8
*13/*13	0/1

Numbers in phenotype columns represent numbers of individuals with the corresponding phenotype/numbers of individuals with the corresponding genotype.

ヒト肝ミクロソームを用いた CYP1A2 依存的代謝活性 (phenacetin O-dealkylation; 2-acetylaminofluorene N-oxidation; 4-aminobiphenyl N-oxidation; caffeine N-demethylation 等) の著しい個体差およびその二峰性、三峰性の分布から、CYP1A2 に遺伝的多型が存在することが示唆されている²⁰⁾。しかし、カフェインテストで CYP1A2 高活性 (extensive metabolizer, EM, 迅速群)、低活性 (PM) の形質が決められた日本人の CYP1A2 遺伝子の解析では、EM, PM 間に塩基配列の相違が認められなかった⁸⁹⁾。ごく最近、日本人喫煙者において、CYP1A2 依存的代謝反応である caffeine の 3-demethylation を低下させる、すなわち、喫煙による CYP1A2 の誘導を起こりにくくさせる CYP1A2 遺伝子の 5'-上流領域の多型が報告された⁹⁰⁾。さらに今後の解析に期待がもたれる。

ヒト CYP2E1 はエタノールを酸化的に代謝すると共に、エタノールで誘導される。このことから、CYP2E1 は肝ミクロソームにおけるアルコール代謝すなわち、microsomal ethanol oxidizing system (MEOS) の本体であると考えられている⁹¹⁾。最近、CYP1A2 も本反応に関わることが示された⁹²⁾。また、CYP2E1 は、癌原性を有するニトロソ化合物の代謝活性化に関与することが知られており、発癌感受性を規定する因子の候補という観点からもよく研究されている。これらのことから、CYP2E1 依存的代謝活性を規定する変異対立遺伝子がこれまでにいくつか見い出されてきた。それらを列挙すると、CYP2E1 遺伝子の 5'-上流領域の PstI/RsaI 多型⁹³⁾、イントロン 6 の DraI 多型⁹⁴⁾、イントロン 7 の TaqI 多型⁹⁵⁾、アミノ酸翻訳領域内の 2 ヶ所の変異⁹⁶⁾ の他、1998 年、6 種の新規 CYP2E1 対立遺伝子が北ヨーロッパ起源のヒト集団に認められた⁹⁷⁾。これら変異遺伝子のうち、5'-上流領域の PstI/RsaI 多型および 1998 年に報告された G-35T についてはそれら変異により CYP2E1 の発現が若干高まることが示唆されている。変異対立遺伝子と酵素活性との関連について、今後さらに検討が必要である。

4. 侵襲の少ない組織に発現している酵素活性の測定による肝薬物代謝酵素活性形質の診断

近年、肝外での組織、特に小腸における薬物代謝の役割が注目されている。肝外組織での薬物代謝の役割はいろいろな薬物代謝酵素について調べられている。ヒト肝での薬物代謝能を診断する目的で肝外組織における酵素の発現を調べる場合、血液由来の細胞のように、被検者の負担を最小限にして採取できる組織が対象となる。肝での発現が非常に低い場合はこの限りではないかもしれないが、血液由来細胞の酵素活性と、肝における酵素活性との相関が何らかの方法で示され、血液由来細胞の酵素活性が肝での薬物代謝活性の指標になりうる可能性があるか否かについて考察したいと考える (Table 4)。

Table 4. Activities of drug metabolizing enzymes that are detected in easily accessible tissues as blood leukocytes, lymphocytes and platelets as well as livers and small intestines

Enzymes	Easily accessible tissues where enzyme activities are detected	Correlation with enzyme activities in other tissues as liver etc.	References
CYP1A1	AHH in lymphocytes	Very low level of hepatic CYP1A1	97-100,102
	CYP1A1 mRNA in leukocytes		101
	Induction of AHH activity in lymphocytes		97-100,102
CYP1B1	CYP1B1 mRNA in lymphocytes, monocytes and macrophage	?	104
			105
CYP2E1	CYP2E1 level in lymphocytes	Blood concentration of 6-hydroxy-chlorzoxazone correlated with lymphocyte CYP2E1 levels	106
CYP3A	CYP3A3/4 mRNA in monocytes/macrophage (under induced condition)	?	107
EH (microsomal)	EH activities using (+/-)-benzo[a]pyrene-4,5-epoxide as a substrate in polynuclear leukocytes	Leukocyte enzyme activities correlated with microsomal enzyme activities in livers	110,111
GSTM1	GSH-conjugation with TSO as a substrate GSTM1 deletion	Subjects with defect in GST activities toward TSO showed defect in GSTM1 gene by PCR method	115
TS-PSULT	Platelet p-nitrophenol sulfating-activities	Platelet activities correlated with activities in intestine and brain	119,120

AHH, Aryl hydrocarbon hydroxylase; EH, epoxide hydrolase; GST, glutathione S-transferase; GSH, glutathione; TSO, trans-stilbene oxide; PCR, polymerase chain reaction; TS-PSULT, thermostable phenol sulfotransferase

4-1. ヒト血球系細胞を用いたシトクロム P450 の一分子種、CYP1A1 依存的薬物代謝能の診断

ヒト CYP1A1 は、肝での発現レベルは低く、むしろ肝外組織で発現していると考えられている⁹⁸⁾。本酵素は、benzo[a]pyrene の代謝活性化酵素、すなわち、いわゆる aryl hydrocarbon hydroxylase (AHH) と呼ばれている酵素である。また、aryl hydrocarbon receptor (Ahr) および Ahr nuclear translocator (Arnt) 複合体による本酵素の誘導率と肺癌感受性との関連、あるいは、CYP1A1 遺伝子そのものの遺伝子型と肺癌感受性との関連など、様々な角度から研究されてきた。AHH 活性は約 30 年前にはヒトリンパ球に検出されていた⁹⁹⁻¹⁰²⁾。Williams らは、CYP1A1 mRNA をヒト好中球に検出した¹⁰³⁾。また、別の報告によれば、ヒトリンパ球の AHH 活性の 3-methylcholanthrene による誘導率が高いことと、肺癌高感受性とが関連しているという興味深い結果が報告されている¹⁰⁴⁾。

4-2. ヒト血球系細胞を用いたシトクロム P450 の一分子種、CYP1B1 依存的薬物代謝能の診断

ヒト CYP1B1 も、dioxin で誘導される CYP 分子種であり、dioxin 等への暴露の生物学的指標を確立することを目指してリンパ球における CYP1B1 mRNA の測定が行われた。in vitro culture に移したリンパ球を dioxin (TCDD) で処理すると、CYP1B1 mRNA のレベルの上昇が観察しうる^{105,106)}。ヒト単球/マクロファージ系で、reverse-transcriptase PCR 法により、強い CYP1B1 mRNA のシグナルが検出された¹⁰⁷⁾。他に、CYP2B6/7、CYP2E1 も検出された。単球系を単離するか、lipopolysaccharide、12-O-tetradecanoyl-phorbol-13-

acetate 24 時間処理を行うことにより、CYP1A1 mRNA も検出された。この系で、cyclosporine A や phenobarbital により CYP3A3/4 mRNA の検出できることが示された¹⁰⁷⁾。CYP1A1 や CYP1B1 をコードする mRNA を血球系細胞で検出する方法は、それぞれの分子種の肝での活性を予測するというよりは、むしろ、疾病との関連や、dioxin のバイオマーカーの確立としての意義があると考えられる。

4-3. ヒト血球系細胞を用いた肝シトクロム P450 の一分子種、CYP2E1 依存的薬物代謝能の診断

ヒトリンパ球における CYP2E1 レベルと、肝 CYP2E1 依存的代謝活性を反映していると考えられる診断薬 chlorzoxazone 服用後生成する 6-hydroxychlorzoxazone の量とが相関することが示された¹⁰⁸⁾。ある薬物代謝酵素について少ない侵襲で得られる組織における代謝活性/代謝酵素レベルと肝における代謝活性が相関する一つの例であり、貴重な研究結果であると考えられる。

4-4. ヒト血球系細胞を用いた肝シトクロム P450 の一分子種、CYP3A 依存的薬物代謝能の診断

多核白血球およびリンパ球において、ヒト CYP3A 分子種すべてに免疫交差性を示すとされたマウス単クローン抗体を用いて、51 kDa のタンパクが検出された¹⁰⁹⁾。しかし、この免疫交差性を示すタンパクは、血球細胞を rifampicin で処理しても誘導が認められなかった。rifampicin 処理により、肝 CYP3A の主な構成タンパクである CYP3A4 が誘導されると考えられている。このことから、血球細胞で認められた CYP3A タンパクの発現レベルが、肝 CYP3A4 依存

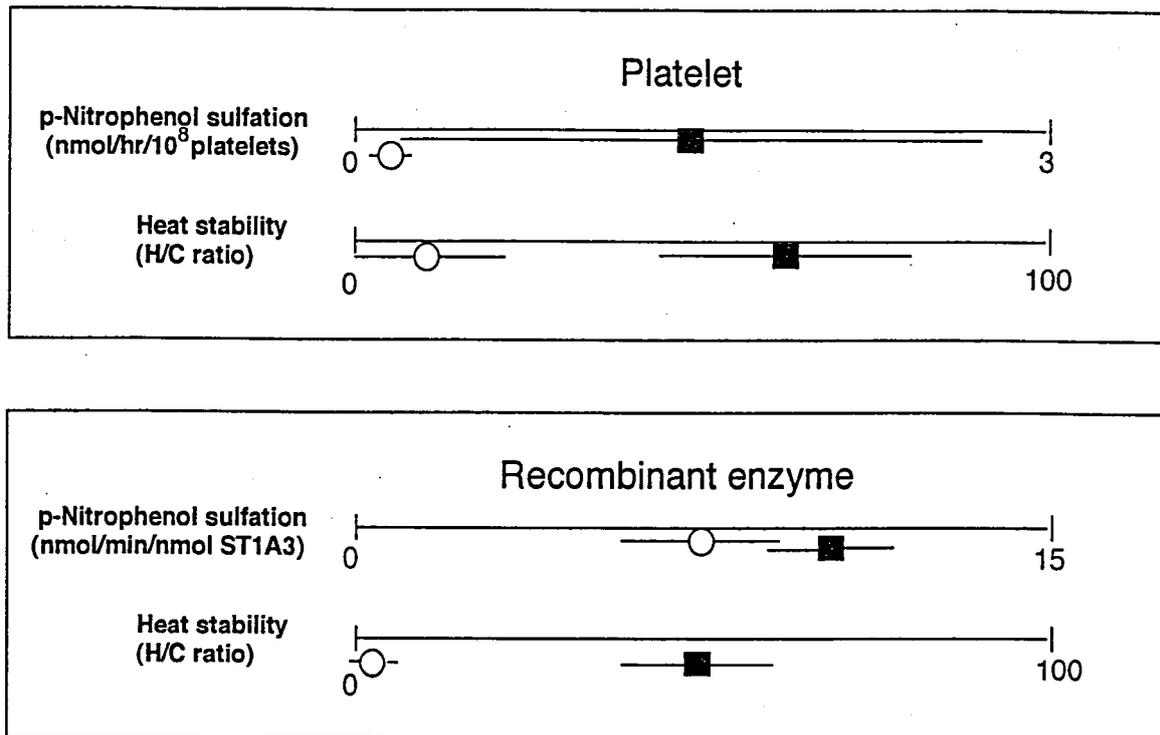


Fig. 2. p-Nitrophenol-sulfating activities and heat stability of human platelets and recombinant ST1A3*1 and ST1A3*2. Results with platelets are adapted from Ref. 130). In "platelets", ■ and ○ represent values of *1/*1 and *2/*2 homozygotes; and bars represent range of enzymatic activities and enzyme stability of 11 and 13 different individuals, respectively. Heat stability implies percentage of enzyme activities in the platelet preincubated at 44°C for 15 min to those without heat treatment. In "recombinant enzymes", ■ and ○ represent values with *1 and *2 recombinant enzymes. Data is expressed mean \pm SD (bars). Heat stability implies percentage of enzyme activities in the platelet preincubated at 37°C for 12 hr to controls.

的代謝活性を反映する可能性は低いかもしれないと思われた¹⁰⁹⁾。

4-4. ヒト血球系細胞を用いた肝 microsomal epoxide hydrolase 依存的薬物代謝能の診断

ヒト epoxide hydrolase (EH) はヒト肝をはじめとした組織の上清画分に存在する分子種¹¹⁰⁾と、ミクロソーム画分に存在する分子種が知られている¹¹¹⁾。これら分子種の活性は、ミクロソーム酵素は cis-stilben oxide, 上清酵素は trans-stilben oxide を基質にして、多核白血球中で測定できることが示された¹¹²⁾。(±)-benzo[a]pyrene-4,5-epoxide を基質としたヒト末梢リンパ球ミクロソーム画分の EH 活性と、同一被験者の肝ミクロソーム画分の EH 活性とはよく相関することが報告され¹¹³⁾、ヒトリンパ球の EH 活性がヒト肝ミクロソームの EH の活性形質を知る指標になることが明らかになった。

4-5. ヒト血球系細胞を用いた肝抱合系薬物代謝酵素の一分子種 glutathione S-transferase M 依存的薬物代謝能

の診断

抱合系薬物代謝酵素では, glutathione S-transferase (GST) 分子種のうち GSTM に属する分子種のリンパ球や白血球における検出結果が報告された¹¹⁴⁻¹¹⁶⁾。GSTM1 については, PCR を用いてその遺伝子欠損が容易に検出できることが知られている。trans-stilbene oxide (TSO) の glutathione (GSH) 抱合活性の陰性/陽性と, PCR を用いた *GSTM1* 遺伝子の欠損/陽性とがよく相関しており, リンパ球の TSO の GSH 抱合活性により, *GSTM1* 欠損が診断できると考えられた¹¹⁷⁾。

4-6. ヒト血球系細胞を用いた抱合系薬物代謝酵素の一分子種 phenol sulfotransferase 依存的薬物代謝能の診断

Sulfotransferase (SULT) は UDP-glucuronyltransferase と並ぶ重要な抱合系代謝酵素である。ヒト肝では, phenol SULT (3 分子種), estrogen SULT (1 分子種), steroid SULT (1 分子種) が発現している¹¹⁸⁾。phenol SULT は, 温度安定で p-nitrophenol を典型的基質とする 2 分子種 (TS-PSULT) と温度不安定で dopamine を典型的基質とする 1 分子種

(TL-PSULT) が知られている¹¹⁹⁾。TS-およびTL-PSULT 依存活性は共に、血小板においても測定される¹²⁰⁾。p-nitrophenol を用いて測定した同一被験者の血小板の TS-PSULT 活性と、小腸¹²¹⁾および脳¹²²⁾の活性が相関するとの結果が Mayo Clinic の Weinshilboum らの研究グループにより報告された。また、血小板に発現している TS-PSULT 分子種は、肝における TS-PSULT 分子種のうち、mRNA レベルが高く、酵素活性からも主要と考えられる分子種 (ST1A3¹²³⁾) と、生化学的性質が類似している¹¹⁹⁾。Van Loon ら¹²⁴⁾は、44℃の前処理で著しく不安定な血小板 TS-PSULT を有するヒトの亜集団を見出した¹²⁴⁾。その TS-PSULT の不安定性は遺伝因子によって規定されていることも明らかにされた¹²⁴⁾。その後、50 核家族、237 名のヒト由来の血小板を用いて、詳細な遺伝学的解析が行われ、TS-PSULT の不安定性と個体の熱処理前の TS-PSULT 活性の高/低の形質とは異なる遺伝因子により規定されていることが示唆された¹²⁵⁾。TS-PSULT の 2 分子種 ST1A3 (P-PST, HAST1/2) と ST1A2 (HAST4) のアミノ酸配列が分子生物学的方法で明らかにされた¹²⁶⁻¹²⁹⁾。Raftogianis¹³⁰⁾ および Ozawa¹²³⁾ により、白人集団において、コドン 213 が Arg である ST1A3*1 対立遺伝子 (出現率約 68%)、およびコドン 213 が His である ST1A3*2 対立遺伝子 (出現率約 31%) の存在が報告された。さらに、Raftogianis らは、213His 対立遺伝子ホモのヒトは、例外なく熱不安定で、低活性 (213Arg の対立遺伝子を 1 つでも有するヒトの血小板の活性の約 7 分の 1 以下) の血小板 TS-PSULT を有していたと報告した¹³⁰⁾。著者らは、ST1A3*1、ST1A3*2 をコードする cDNA を単離、大腸菌内に発現させ、213His 型酵素は 45℃の前処理ばかりでなく、37℃の前処理でも 213Arg 型酵素に比べて不安定であることを示した¹³¹⁾。また、nmolTS-PSULT タンパク分子当たりで比較すると、p-nitrophenol 硫酸抱合活性は、不安定な 213His 型酵素でも 213Arg 型酵素の約 70% 程度の活性が認められた¹³¹⁾。これらの結果を、Fig.2 にまとめ、血小板の結果と、著者らの大腸菌内発現系を用いた結果とを比較した。著者らの結果は Weinshilboum らの研究グループが「血小板 TS-PSULT の不安定性と、低活性の形質は異なる遺伝因子により規定される」と示唆していたことを支持するものであったと考えられる。このように、ヒト血小板における TS-PSULT の多型の一部は 213Arg/His 多型によって説明できることが明らかとなった。しかし、Raftogianis¹³⁰⁾ にも述べているように、*1/*1、*1/*2 の遺伝子型を有するヒトの中にも、*2/*2 と同程度に低い血小板 TS-PSULT 活性を有するヒトが認められた。肝臓でも明らかにされた個体差の少なくとも一部が血小板と同様の議論により 213Arg/His 多型で説明できるかどうかを明らかにすることが、今後に残された課題である。

おわりに

薬物代謝酵素活性の遺伝的多型性が種々の酵素活性について認められ、中でも著しい代謝欠損が起こっている場合、薬物治療上大きな問題が生ずる。すなわち、薬物の血中濃度が高すぎたり、薬物が代謝活性化を受けたりする場合には期待された薬効が現われないということである。薬物代謝能の欠損による問題を簡便に、正確に、また、被験者の負担をできる限り軽くして測定するために、いろいろな方策がとられており、それらについて本稿で述べた。大別すると 1) 診断薬投与後の尿中、血中代謝物の測定、2) 遺伝子多型の判定で代謝酵素欠損を正確に予測、3) 侵襲の少ない組織の薬物代謝酵素活性から肝の薬物代謝活性を予測すること、の 3 つとなる。これらの方法を適宜組み合わせることにより、酵素欠損を含め、個体差を「診断」できる薬物代謝酵素がかなり多くなってきていると思われた。その反面、多数の薬物代謝に関与し、肝における含量も高い CYP3A や、肝における主な GST と思われる GSTA1、UGT では 2 family 以外のもの、SULT のうち、肝での含量が高い hydroxysteroid SULT (SULT2 family) の分子種など、肝での活性を診断するよい方法が今のところ見当たらないものも存在する。特に CYP3A 分子種は多くの薬物の代謝に関与することが知られている。また、CYP3A は肝のみならず、小腸でもかなり高いレベルの発現が見られ、薬物の初回通過効果に果たす役割が大きいと考えられているので、本酵素活性の形質を診断する方法を開発することはきわめて重要である。

方法論としては、核酸塩基配列の差異を測定する方法が最も簡便、確実かつ再現性も高いと思われる。最近、ヒトの遺伝子多型を網羅的に明らかにする計画が進んでいる。実際、DNA チップの開発や DNA シークエンサーの改良により従来よりはるかに速いスピードで未知の遺伝多型を見つけ出せる状況が生み出されてきた。それら新発見の多型の中から、生物学的に意義の深い多型をつかまえることが重要であろう。DNA チップは同時に多数の検体の遺伝子型を素早くスクリーニングすることができるので、薬物代謝形質の差異と一致する遺伝子多型を見出す break through となる可能性は高い。このような新しい方法を用いることにより、薬物代謝の形質を遺伝子型で false positive, false negative を可能な限り少なくして診断できる薬物代謝酵素が増えることが大いに期待される。本稿で、薬物代謝酵素遺伝子の多型で薬効や薬物毒性の発現が「診断」できる場合もあるが、新しい遺伝子多型を見出す努力を継続しなければならぬ薬物代謝酵素遺伝子もあると述べた。一方、薬物以外の一般化学物質にもヒトは常に暴露されている。

「化学物質の安全性・リスク評価」と「生体外異物の代謝に関与する薬物代謝酵素の遺伝子多型」の関連では、化学

物質による発癌リスクに関する多くの疫学的研究が行われてきた。具体的には、癌原物質の代謝活性化や解毒に関与する酵素の遺伝子多型に着目した症例対照研究である。すなわち、benzo[a]pyrene など喫煙により暴露される癌原物質代謝酵素の特定の遺伝子型（または表現形質）の出現頻度に、健康者グループと肺癌患者のグループとの間に差異が認められるかどうかを調査し、統計学的手法で解析することである。このような研究において、考慮されるべき因子はがん原物質代謝酵素にとどまらない。DNA 修復酵素の遺伝子多型や、癌（抑制）遺伝子の遺伝子多型（例、p53 など）もその例であると考えられる。このように、癌という疾病に対する感受性の決定要因はきわめて複雑であるゆえ、研究は非常に難しい。できるだけ多くの因子を含めて統計学的な解析を行おうとすると解析の信頼性が低下するからである。しかし、上述のように多検体由来の遺伝子の配列や、多型を短時間に解析できる方法が開発された。現状を打開するためには、これまでよりはるかに大きな規模の症例対照研究を行い、ヒトの健康を守るための有用情報を蓄積し、活用することを目指して研究する戦略をたてる必要がある。

文 献

- 1) Kivistö, K. T. and Kroemer, H. K.: *J. Clin. Pharmacol.*, **37**, 40S-48S (1997)
- 2) Brockmöller, J. and Roots, I.: *Clin. Pharmacokin.*, **27**, 216-248 (1994)
- 3) Sturgill, M. G. and Lambert, G. H.: *Clin. Chem.*, **43**, 1512-1526 (1997)
- 4) Vesell, E. S. and Page, J. G.: *Science*, **161**, 72-73 (1968)
- 5) Hepner, G. W. and Vesell, E. S.: *New Engl. J. Med.*, **291**, 1384-1388 (1974)
- 6) Conney, A. H., Pantuck, E. J., Kuntzman, R., Kappas, A., Anderson, K. E. and Alvares, A. P.: *Clin. Pharmacol. Ther.*, **22**, 707-720 (1977)
- 7) Vesell, E. S.: *Clin. Pharmacol. Ther.*, **26**, 275-286 (1979)
- 8) Dssing, M., Poulsen, H.E., Andreasen, P. B. and Tygstrup, N.: *Clin. Pharmacol. Ther.*, **32**, 392-396 (1982)
- 9) Toverud, E.-L., Boobis, A. R., Brodie, M. J., Murray, S., Bennett, P. N., Whitmarsh, V. and Davies, D. S.: *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, **21**, 155-160 (1981)
- 10) Danhof, M., van Zuilen, A., Boeijinga, J. K. and Breimer, D. D.: *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, **21**, 433-441 (1982)
- 11) Teunissen, M. W. E., Kampf, D., Roots, I., Vermeulen, N. P. E., and Breimer, D. D.: *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, **28**, 589-595 (1985)
- 12) Groen, K., Horan, M. A., Roberts, N. A., Gulati, R. S., Miljkovic, B., Jansen, E. J., Paramsothy, V., Breimer, D. D. and van Bezooijen, C. F. A.: *Clin. Pharmacokin.*, **25**, 136-144 (1993)
- 13) Kotake, A. N., Schoeller, D. A., Lambert, G. H., Baker, A. L., Schaffer, D. D. and Josephs, H.: *Clin. Pharmacol. Ther.*, **32**, 261-269 (1982)
- 14) Wietholtz, H., Voegelin, M., Arnaud, M. J., Bircher, J. and Preisig, R.: *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, **21**, 53-59 (1981)
- 15) Tang, B. K., Grant, D. M. and Kalow, W.: *Drug Metab. Dispos.*, **11**, 218-220 (1983)
- 16) Campbell, M. E., Spielberg, S. P. and Kalow, W.: *Clin. Pharmacol. Ther.*, **42**, 157-165 (1987)
- 17) Rost, K. L., Brösicke, H., Brockmöller, J., Scheffler, M., Helge, H. and Roots, I.: *Clin. Pharmacol. Ther.*, **52**, 170-180 (1992)
- 18) Kalow, W. and Tang, B. K.: *Clin. Pharmacol. Ther.*, **53**, 503-514 (1993)
- 19) Fuhr, U. and Rost, K. L.: *Pharmacogenetics*, **4**, 109-116 (1994)
- 20) Butler, M. A., Lang, N. P., Young, J. F., Caporaso, N. E., Vineis, P., Hayes, R. B., Teitel, C. H., Massengill, J. P., Lawsen, M. F. and Kadlubar, F. F.: *Pharmacogenetics*, **2**, 116-127 (1992)
- 21) Notarianni, L. J., Dobrocky, P., Godlewski, G., Jones, R. W. and Bennett, P. N.: *Br. J. Clin. Pharmacol.*, **41**, 169-173 (1996)
- 22) Straka, R. J., Hansen, S. R., Benson, S. R. and Walker, P. F.: *J. Clin. Pharmacol.*, **36**, 740-747 (1996)
- 23) Mahgoub, A., Idle, J. R., Dring, L. G., Lancaster, R. and Smith, R. L.: *Lancet*, **2(8038)**, 584-586 (1977)
- 24) Eichelbaum, M., Spannbrucker, N., Steincke, B., Dengler, H. J.: *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, **16**, 183-187 (1979)
- 25) Dayer, P., Leemann, T., and Striberni, R.: *Clin. Pharmacol. Ther.*, **45**, 34-40 (1989)
- 26) Guttendorf, R. J., Britto, M., Blouin, R. A., Foster, T. S., John, W., Pittman, K. A. and Wedlund, P. J.: *Br. J. Clin. Pharmacol.*, **29**, 373-380 (1990)
- 27) Köhler, D., Härter, S., Fuchs, K., Sieghart, W. and Hiemke, C.: *Pharmacogenetics*, **7**, 453-461 (1997)
- 28) Griese, E.-U., Zanger, U. M., Bruderhann, U., Gaedigk, A., Mikus, G., Mörike, K., Stüven, T. and Eichelbaum, M.: *Pharmacogenetics*, **8**, 15-26 (1998)
- 29) Desta, Z., Kerbusch, T. and Flockhart, D. A.: *Clin. Pharmacol. Ther.*, **65**, 10-20 (1999)
- 30) Küpfer, A. and Preisig, R.: *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, **26**, 753-759 (1984)
- 31) Wedlund, P. J., Aslanian, W. S., McAllister, C. B., Wilkinson, G. R. and Branch, R. A.: *Clin. Pharmacol. Ther.*, **36**, 773-780 (1984)
- 32) Chang, M., Tybring, G. Dahl, M.-L., Götharson, E., Sagar, M., Seensalu, R. and Bertilsson, L.: *Br. J. Clin. Pharmacol.*, **39**, 511-518 (1995)
- 33) Somogyi, A. A., Reinhard, H. A. and Bochner, F.: *Br J Clin Pharmacol.*, **41**, 175-179 (1996)
- 34) Watkins, P. B., Hamilton, T. A., Annesley, T. M., Ellis, C. N., Kolars, J. C. and Voorhees, J. J.: *Clin. Pharmacol. Ther.*, **48**, 120-129 (1990)
- 35) Thummel, K. E., Shen, D. D., Podoll, T. D., Kunze, K. L., Trager, W. F., Hartwell, P. S., Raisys, V. A., Marsh, C. L., McVicar, J. P., Barr, D. M., Perkins, J. D. and Carithers, R. L., Jr.: *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **271**, 549-556 (1994)
- 36) Schellens, J. H. M., Ghabrial, H., van der Wart, H. H. F., Bakker, E. N., Wilkinson, G. R. and Breimer, D. D.: *Clin. Pharmacol. Ther.*, **50**, 520-528 (1991)
- 37) May, D. G., Porter, J., Wilkinson, G. R. and Branch, R. A.:

- Clin Pharmacol. Ther.*, 55, 492-500 (1994)
- 38) Mitra, A. K., Thummel, K. E., Kalhorn, T. F., Kharasch, E. D., Unadkat, J. D. and Slaterry, J. T.: *Clin Pharmacol. Ther.*, 58, 556-566 (1995)
- 39) Jones, D. R., Gorski, J. C., Haehner, B. D., O'Mara, E. M., Jr. and Hall, S. D.: *Clin. Pharmacol. Ther.*, 60, 374-384 (1996)
- 40) Peter, R., Böcker, R., Beaune, P. H., Iwasaki, M., Guengerich, F. P. and Yang, C. S.: *Chem. Res. Toxicol.* 3, 566-573 (1990)
- 41) Lucas, D., Berthou, F., Girre, C., Poitrenaud, F. and Menez, J.-F.: *J. Chromatogr.*, 622, 79-86 (1993)
- 42) Kharasch, E. D., Thummel, K. E., Mhyre, J. and Lillibridge, J. H.: *Clin Pharmacol. Ther.*, 53, 643-650 (1993)
- 43) Frye, R. F., Adedoyin, A., Mauro, K., Matzke, G. R. and Branch, R. A.: *J. Clin Pharmacol.*, 38, 82-89 (1998)
- 44) Girre, C., Lucas, D., Hispard, E., Menez, C., Dally, S. and Menez, J.-F.: *Biochem. Pharmacol.*, 47, 1503-1508 (1994)
- 45) Bachmann, K. A., Nunlee, M., Martin, M., Schwartz, J., Jauregui, L. and Forney, R.B., Jr.: *Xenobiotica*, 20, 537-547 (1990)
- 46) Relling, M.V., Crom, W. R., Pieper, J. A., Cupit, G. C., Rivera, G. K., Evans, W. E.: *Clin. Pharmacol. Ther.*, 41, 651-660 (1987)
- 47) Patel, M., Tang, B. K., Grant, D. M. and Kalow, W.: *Pharmacogenetics*, 5, 287-297 (1995)
- 48) Patel, M., Tang, B. K., Kalow, W.: *Pharmacogenetics*, 5, 43-49 (1995)
- 49) Campbell, M. E., Grant, D. M., Inaba, T., and Kalow, W.: *Drug Metab. Dispos.*, 15, 237-249 (1987)
- 50) Schellens, J. H. M., Soons, P. A., van der Wart, J. H. F., Hoevers, J. W. and Breimer, D. D.: *Br. J. Clin. Pharmacol.*, 31, 175-178 (1991)
- 51) Israel, B. C., Blouin, R. A., McIntyre, W. and Shedlofsky, S. I.: *Br. J. Clin. Pharmacol.*, 36, 229-235 (1993)
- 52) Setiabudy, R., Kusaka, M., Chiba, K., Darmansjah, I. and Ishizaki, T.: *Clin. Pharmacol. Ther.*, 56, 142-153 (1994)
- 53) Endres, H. G. E., Henschel, L., Merkel, U., Hippus, M. and Hoffmann, A.: *Pharmazie*, 51, 46-51 (1996)
- 54) Lautenschlager, M. T., Viktor, S., Müller, U. A. and Hoffmann, A.: *Pharmazie*, 51, 750-753 (1996)
- 55) Lanchote, V. L., Ping, W. C. and Santos, S. R. C. J.: *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, 50, 83-89 (1996)
- 56) Evans, W. E., Relling, M. V., Petros, W. P., Meyer, W. H., Mirro, J. and Crom, W. R.: *Clin. Pharmacol. Ther.*, 45, 568-573 (1989)
- 57) Frye, R. F., Matzke, G. R., Adedoyin, A., Porter, J. A. and Branch, R. A.: *Clin. Pharmacol. Ther.*, 62, 365-376 (1997)
- 58) Gonzalez, F. J., Skoda, R. C., Kimura, S., Umeno, M., Zanger, U. M., Nebert, D. W., Gelboin, H. V., Hartwick, J. P. and Meyer, U. A.: *Nature*, 331, 442-446 (1988)
- 59) Kimura, S., Umeno, M., Skoda, R. C., Meyer, U. A. and Gonzalez, F. J.: *Am. J. Hum. Genet.*, 45, 889-904 (1989)
- 60) Skoda, R. C., Gonzalez, F. J., Demierre, A. and Meyer, U. A.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 85, 5240-5243 (1988)
- 61) Broly, F., Gaedigk, A., Heim, M., Eichelbaum, M., Mörike, K. and Meyer, U. A.: *DNA Cell Biol.*, 10, 545-558 (1991)
- 62) Kagimoto, M., Heim, M., Kagimoto, K., Zeuglin, T. and Meyer, U. A.: *J. Biol. Chem.*, 265, 17209-17214 (1990)
- 63) Gough, A. C., Miles, J. S., Spurr, N. K., Moss, J. E., Gaedigk, A., Eichelbaum, M. and Wolf, C. R.: *Nature*, 347, 773-776 (1990)
- 64) Gaedigk, A., Blum, M., Gaedigk, R., Eichelbaum, M. and Meyer, U. A.: *Am. J. Hum. Genet.*, 48, 943-950 (1991)
- 65) Hanioka, N., Kimura, S., Meyer, U. A. and Gonzalez, F. J.: *Am. J. Hum. Genet.*, 47, 994-1001 (1990)
- 66) Tyndale, R., Aoyama, T., Broly, F., Matsunaga, T., Inaba, T. and Kalow, W., Gelboin, H. V., Meyer, U. A. and Gonzalez, F. J.: *Pharmacogenetics*, 1, 26-32 (1991)
- 67) Evert, B., Griese, E.-U. and Eichelbaum, M.: *Pharmacogenetics*, 4, 271-274 (1994)
- 68) Daly, A. K., Brockmöller, 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)
- 69) 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)
- 70) Alván, G., Bechtel, P., Iselius, L. and Gundert-Remy, U.: *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, 39, 533-537 (1990)
- 71) Lou, Y. C., Ying, L., Bertilsson, L. and Sjöqvist, F.: *Lancet*, 2(8563), 852-853 (1987)
- 72) Horai, Y., Nakano, M., Ishizaki, T., Ishikawa, K., Zhou, H.-H., Zhou, B.-I., Liao, C.-L. and Zhang, L.-M.: *Clin. Pharmacol. Ther.*, 46, 198-207 (1989)
- 73) Sohn, D.-R., Shin, S.-G., Park, C.-W., Kusaka, M., Chiba, K. and Ishizaki, T.: *Br. J. Clin. Pharmacol.*, 32, 504-507 (1992)
- 74) 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)
- 75) Yokoi, T. and Kamataki, T.: *Seikagaku*, 69, 1196-1199 (1997)
- 76) Nakamura, K., Yokoi, T., Inoue, K., Shimada, N., Ohashi, N., Kume, T. and Kamataki, T.: *Pharmacogenetics*, 6, 449-457 (1996)
- 77) Ishizaki, T., Eichelbaum, M., Horai, Y., Hashimoto, K., Chiba, K. and Dengler, H. J.: *Br. J. Clin. Pharmacol.*, 23, 482-485 (1987)
- 78) 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)
- 79) Yokoi, T. and Kamataki, T.: *Pharmaceutical Research*, 15, 517-524 (1998)
- 80) Kubota, T., Chiba, K. and Ishizaki, T.: *Clin. Pharmacol. Ther.*, 60, 661-666 (1996)
- 81) Xiao, Z. S., Goldstein, J. A., Xie, H.-G., Blaisdell, J., Wang, W., Jiang, C.-H., Yan, F.-X., He, N., Huang, S.-L., Xu, Z.-H. and Zhou, H.-H.: *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 281, 604-609 (1997)
- 82) Ibeanu, G. C., Blaisdell, J., Ghanayem, B. I., Beyeler, C., Benhamou, S., Bouchardy, C., Wilkinson, G. R., Dayer, P., Daly, A. K. and Goldstein, J. A.: *Pharmacogenetics*, 8, 129-135 (1998)
- 83) 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)
- 84) Ibeanu, G. C., Goldstein, J. A., Meyer, U., Benhamou, S., Bouchardy, C., Dayer, P., Ghanayem, B. I. and Blaisdell, J.: *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **286**, 1490-1495 (1998)
- 85) 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)
- 86) Kalow, W.: *Trends Pharmacol. Sci.*, **12**, 102-107 (1991)
- 87) Cascorbi, I., Drakoulis, N., Brockmöller, J., Maurer, A., Sperling, K. and Roots, I.: *Am. J. Hum. Genet.*, **57**, 581-592 (1995)
- 88) Cascorbi, I. and Roots, I.: *Pharmacogenetics*, **9**, 123-127 (1999)
- 89) Nakajima, M., Yokoi, T., Mizutani, M., Shin, S., Kadlubar, F. F. and Kamataki, T.: *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, **3**, 413-421 (1994)
- 90) Nakajima, M., Yokoi, T., Mizutani, M., Kinoshita, M., Funayama, M. and Kamataki, T.: *J. Biochem. (Tokyo)*, **125**, 803-808 (1999)
- 91) Lieber, C. S. and DeCarli, L. M.: *J. Biol. Chem.*, **245**, 2505-2512 (1970)
- 92) Asai, H., Imaoka, S., Kuroki, T., Monna, T. and Funae, Y.: *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **277**, 1004-1009 (1996)
- 93) Hayashi, S., Watanabe, J. and Kawajiri, K.: *J. Biochem.*, **110**, 559-565 (1991)
- 94) Uematsu, F., Kikuchi, H., Motomiya, M., Abe, T., Sagami, I., Ohmachi, T., Wakui, A., Kanamaru, R. and Watanabe, M.: *Jpn. J. Cancer Res.*, **82**, 254-256 (1991)
- 95) McBride, O. W., Umeno, M., Gelboin, H. V. and Gonzalez, F. J.: *Nucl. Acids Res.*, **15**, 10071 (1987)
- 96) Hu, Y., Oscarson, M., Johansson, I., Yue, Q.-Y., Dahl, M.-L., Tabone, M., Arinco, S., Albano, E. and Ingelman-Sundberg, M.: *Mol. Pharmacol.*, **51**, 370-376 (1997)
- 97) Fairbrother, K. S., Grove, J., de Waziers, I., Steimel, D. T., Day, C. P., Crespi, C. L. and Daly, A. K.: *Pharmacogenetics*, **8**, 543-552 (1998)
- 98) Schweikl, H., Taylor, J. A., Kitareewan, S., Linko, P., Nagorney, D. and Goldstein, J. A.: *Pharmacogenetics*, **3**, 239-249 (1993)
- 99) Nebert, D. W. and Gelboin, H. V.: *J. Biol. Chem.*, **243**, 6242-6249 (1968)
- 100) Whitlock, J. P. Jr., Cooper, H. L. and Gelboin, H. V.: *Science*, **177**, 618-619 (1972)
- 101) Busbee, D. L., Shaw, C. R. and Cantrell, E. T.: *Science*, **178**, 315-316 (1972)
- 102) Kellermann, G., Shaw, C. R. and Luyten-Kellerman, M.: *N. Engl. J. Med.*, **289**, 934-937 (1973)
- 103) Williams, J. A., Stone, E. M., Millar, B. C., Gusterson, B. A., Grover, P. L. and Phillips, D. H.: *Pharmacogenetics*, **8**, 519-528 (1998)
- 104) Kiyohara, C., Nakanishi, Y., Inutsuka, S., Takayama, K., Hara, N., Motohiro, A., Tanaka, K., Kono, S. and Hirohata, T.: *Pharmacogenetics*, **8**, 315-323 (1998)
- 105) Dassi, C., Signorini, S., Gerthoux, P., Cazzaniga, M. and Brambilla, P.: *Clin. Chem.*, **44**, 2416-2421 (1998)
- 106) Spencer, D. L., Masten, S. A., Lanier, K. M., Yang, X., Grassman, J. A., Miller, C. R., Sutter, T. R., Lucier, G. W. and Walker, N. J.: *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, **8**, 139-146 (1999)
- 107) Baron, J. M., Zwadlo-Klarwasser, G., Jugert, F., Hamann, W., Rübber, A., Mukhtar, H. and Merk, H. F.: *Biochem. Pharmacol.*, **56**, 1105-1110 (1998)
- 108) Raucy, J. L., Schultz, E. D., Wester, M. R., Arora, S., Johnston, D. E., Omdahl, J. L. and Carpenter, S. P.: *Drug Metab. Dispos.*, **25**, 1429-1435 (1997)
- 109) Stärkel, P., Sempoux, C., Van Den Berge, V., Stevens, M., De Saeger, C., Desager, J. P. and Horsmans, Y.: *Life Sci.*, **64**, 643-653 (1999)
- 110) Meijer, J. and DePierre, J. W.: *Chem.-Biol. Interact.*, **64**, 207-249 (1988)
- 111) Seidegård, J. and DePierre, J. W.: *Biochim. Biophys. Acta*, **695**, 251-270 (1983)
- 112) Seidegård, J., DePierre, J. W. and Pero, R. W.: *Cancer Res.*, **44**, 3654-3660 (1984)
- 113) Omiecinski, C. J., Aicher, L., Holubkov, R. and Checkoway, H.: *Pharmacogenetics*, **3**, 150-158 (1993)
- 114) Seidegård, J., DePierre, J. W., Birberg, W., Pilotti, Å. and Pero, R. W.: *Biochem. Pharmacol.*, **33**, 3053-3058 (1984)
- 115) Seidegård, J., DePierre, J. W. and Pero, R. W.: *Carcinogenesis*, **6**, 1211-1216 (1985)
- 116) Seidegård, J., Guthenberg, C., Pero, R. W. and Mannervik, B.: *Biochem. J.*, **246**, 783-785 (1987)
- 117) Brockmöller, J., Gross, D., Kerb, R., Drakoulis, N. and Roots, I.: *Biochem. Pharmacol.*, **43**, 647-650 (1992)
- 118) Coughtrie, M. W. H., Sharp, S., Maxwell, K. Innes, N. P.: *Chem.-Biol. Interact.*, **109**, 3-27 (1998)
- 119) Weinshilboum, R. M.: *Federation Proc.*, **45**, 2223-2228 (1986)
- 120) Hart, R. F., Renskers, K. J., Nelson, E. B. and Roth, J. A.: *Life Sci.*, **24**, 125-130 (1979)
- 121) Sundaram, R. S., Van Loon, J. A., Tucker, R. and Weinshilboum, R. M.: *Clin. Pharmacol. Ther.*, **46**, 501-509 (1989)
- 122) Young, W. F., Jr., Okazaki, H., Laws, E. R., Jr. and Weinshilboum, R. M.: *J. Neurochem.*, **43**, 706-715 (1984)
- 123) Ozawa, S., Tang, Y.-M., Yamazoe, Y., Kato, R., Lang, N. P. and Kadlubar, F. F.: *Chemico-Biological Interactions*, **109**, 237-248 (1998)
- 124) Van Loon, J. and Weinshilboum, R. M.: *Biochem. Genetics*, **22**, 997-1014 (1984)
- 125) Price, R. A., Spielman, R. S., Lucena, A. L., Van Loon, J. A., Maidak, B. L. and Weinshilboum, R. M.: *Genetics*, **122**, 905-914 (1989)
- 126) Wilborn, T. W., Comer, K. A., Dooley, T. P., Reardon, I. M., Heinrichson, R. L. and Falany, C. N.: *Mol. Pharmacol.*, **43**, 70-77 (1993)
- 127) Zhu, X., Veronese, M. E., Sansom, L. N. and McManus, M. E.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **192**, 671-676 (1993)
- 128) Ozawa, S., Nagata, K., Shimada, M., Ueda, M., Tsuzuki, T., Yamazoe, Y. and Kato, R.: *Pharmacogenetics*, **5**, S-135-S140 (1995)
- 129) Zhu, X., Veronese, M. E., Iocco, P. and McManus, M. E.: *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, **28**, 565-571 (1996)
- 130) Raftogianis, R. B., Wood, T. C., Otterness, D. M., Van Loon, J. A. and Weinshilboum, R. M.: *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **239**, 298-304 (1997)

- 131) Ozawa, S., Shimizu, M., Katoh, T., Miyajima, A., Ohno, Y., Matsumoto, Y., Fukuoka, M., Tang, Y.-M., Lang, N. P. and Kadlubar, F. F.: *J. Biochem (Tokyo)*, 126, 271-277(1999)

本文中で用いられた略語,およびその説明

1. CYP, cytochrome P450 日本語表記ではシトクロム (またはチトクロム) P450

2. cDNA, complementary DNA (相補 DNA). すなわち, mRNA から逆転写酵素により DNA に「逆転写」されたもの。また, 分子クローニングによりプラスミドなどに挿入され, 大腸菌などで容易に増やせる形にされた mRNA 由来の

DNA 断片のことをいう。

3. AFMU, caffeine の代謝物の一つ, 5-acetylamino-6-formylamino-3-methyluracil

4. PM, poor metabolizer (遅延群) の略。代謝活性が低い (遅い) 形質のことをこのように呼ぶ。

5. 1X, caffeine の代謝物の一つ, 1-methylxanthine. caffeine は別名 1,3,7-trimethylxanthine である。caffeine が N-demethylation (N-脱メチル化) をうける際, 3位のメチル基が脱離して生成した代謝物が 1,7-dimethylxanthine であり 17X, 別名 paraxanthine である。

6. EM, extensive metabolizer (迅速群) の略。4. の PM の反対語として用いられる。