

ゲノム薬理学の医薬品安全性予測への応用

澤田 純一

Pharmacogenomic Prediction of Safety of Pharmaceuticals

Jun-ichi Sawada

Recently, a number of genetic polymorphisms, individual and ethnic differences in the human genome, have been reported to affect pharmacokinetics and pharmacodynamics of pharmaceuticals. This field in pharmacology, pharmacogenomics, is rapidly developing, and its outcomes, as sensitive genetic biomarkers for drug safety and efficacy, have been already applied to development of novel pharmaceuticals, usages for in vitro diagnostic kits and revisions of labels of approved pharmaceuticals. In this review, I would like to outline the current status of this research field, in Japan, including clinical relevance of genetic polymorphisms, ethnic differences, and applications to personalized medicine.

Keywords: pharmacogenomics, personalized medicine, drug-metabolizing enzyme, genetic polymorphism, adverse reaction

1. 緒言

医薬品への応答性、即ち、薬効の有無（奏効性）や有害事象（副作用）の発現には個人差や人種差が認められることが古くから知られている。これらの薬物応答性の変化をもたらす原因としては、併用薬、飲食、喫煙等の環境的要因の他に、遺伝的要因がある。ゲノム配列上には、約1,000塩基に1ヶ所以上の塩基置換があり、挿入・欠損等を含めて遺伝子多型と呼ばれる。このようなゲノム配列上の個人差である遺伝子多型の中には、遺伝子発現やタンパク質機能に影響を及ぼすものがあり、薬物応答性の個人差や人種差の原因となりうる。これらの因果関係を明らかにする研究領域は、ゲノム薬理学（ファーマコゲノミクス；PGx）と呼ばれ、ヒトゲノムプロジェクト等による遺伝子構造の解明及び多型解析技術の発展と軌を一にして、急速に進みつつあり、既に、医薬品の安全性・有効性に影響を及ぼしうる遺伝子多型の例が多数報告されている。また、一部の遺伝子多型マーカーに関しては、体外診断薬として、実用化の段階に至っているものもある。例えば、米国では、P450代謝酵素の一部（2004年12月）や抗がん剤イリノテカンの副作用発現と相関するグルクロン酸転移酵素UGT1A1（2005年

7月）の多型診断キットが、日本でも、グルクロン酸転移酵素UGT1A1の多型診断キット（2008年6月）が、既に認可されている。本稿では、抗がん剤を含めた典型的な医薬品を例に、医薬品安全性予測への薬理ゲノム学的アプローチの最近の進展を概説したい。

2. 遺伝子多型、ハプロタイプ、タグ多型

遺伝子多型の中では、一塩基多型（single nucleotide polymorphism; SNP）と呼ばれる一塩基の置換が非常に多くみられ、上述のように約1000塩基に1つ以上の割合で存在する。CYP3A4の一塩基多型（後述）の実例をFig. 1に示した。その他に、1塩基から数塩基の欠失や

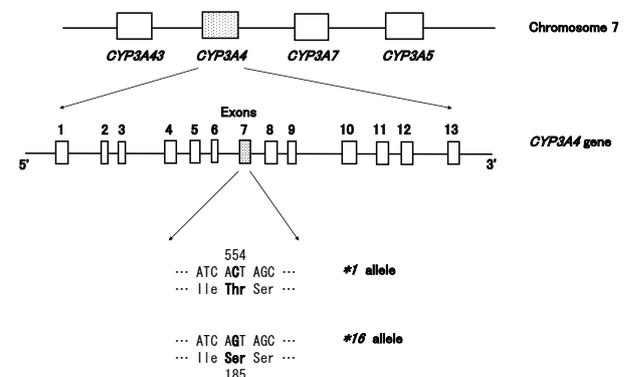


Fig. 1 Single nucleotide polymorphism: CYP3A4*16(554C>G, Thr185Ser)

The *1 (wild-type) allele harbors 554C (185Thr) in exon 7, while the *16 allele harbors 154T (185Ser).

To whom correspondence should be addressed:

Jun-ichi Sawada; Kamiyoga 1-18-1, Setagaya, Tokyo 158-8501, Japan; Tel 03-3700-9428; Fax 03-3707-6950; E-mail: sawada@nihs.go.jp

挿入、遺伝子全体の欠失や重複なども頻度は低いもの認められる。

通常、これらの多型が存在する部位を座位 (locus), その座位の多型の1つをアレル (allele, 対立遺伝子) と呼ぶことが多い。また、頻度の高い正常型のアレルは、野生型 (wild-type) アレルと呼ばれる。変異型 (variant-type) のアレルは、同一の染色体上に複数存在しており、これらのアレルの組合せはハプロタイプと呼ばれる。相同染色体は2本あり、ハプロタイプの組合せをディプロタイプと呼ぶ (Fig. 2)。特に頻度の高い複数のアレルが比較的近接している場合には、ディプロタイプの同定が重要となる場合が多い。例えば、活性変化を伴うアレルが同一染色体上にある場合、2つのアレルが相加的または相乗的な効果を示す場合がある。また、ある

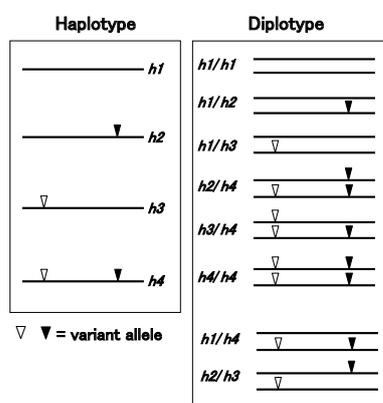


Fig. 2 Haplotypes and diploypes
The two diploypes *h1/h4* and *h2/h3* cannot be distinguished by usual genotyping methods. When both alleles are functionally important, the two diploypes *h1/h4* and *h2/h3* should be identified.

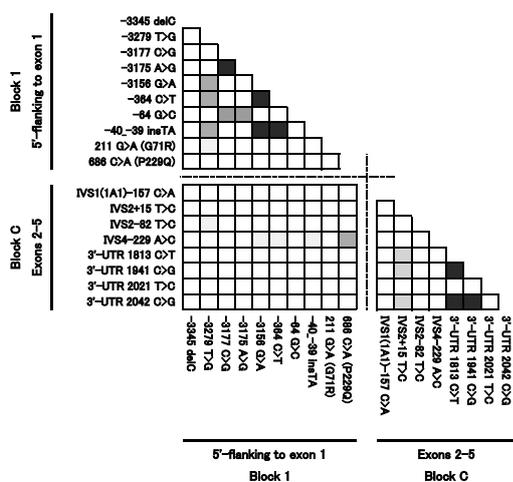


Fig. 3 LD map of the *UGT1A1* gene
Pairwise LD between the variations of the *UGT1A1* gene is expressed as r^2 by 10-graded black color. Denser color indicates higher LD. The *UGT1A1* gene has two LD blocks. $-40_{-}39insTA$ is the same as $-54_{-}39A(TA)_6TAA>A(TA)_7TAA$.

ハプロタイプに未知の活性変化をもたらすアレルが存在しているようなケースもありうる。Fig. 2は2つのアレルの例であるが、通常のゲノタイピング法では、2つのアレルがどちらの染色体上にあるかを決定することができない場合があり (Fig. 2では、*h1/h4* と *h2/h3* の場合)、アレル頻度から統計学的手法を用いて推定を行う。同一染色体上の2つのアレルの連鎖を詳しく調べると、相互に密接にリンクしていることが多く、連鎖不平衡 [linkage disequilibrium (LD)] と呼ばれる。複数のアレルに関して、それぞれの対の間の連鎖を求め図示化したものはLDマップ (LD map) と呼ばれる。その一例をFig. 3に示した。通常、強い連鎖不平衡は染色体のある一定の範囲の中でのみ認められ、その領域はLDブロック (LD block) と呼ばれる。換言すると、ハプロタイプは、あるLDブロックの中で同定すればよいこととなる (2つのアレルがLDブロックを超えて、強い連鎖を示すような例外もたまにはある)。LD ブロックは、数kbから数10 kb程度のことが多いが、数100kbに亘る場合もある。このようなハプロタイプを同定しうるマーカーとなるSNPや多型は、タグSNP (haplotype-tagging SNP; ht-SNP) またはタグ多型と呼ばれる。

3. 医薬品の副作用と遺伝子多型

合成医薬品の副作用は、大きく分けて、その医薬品の薬理作用が過剰に、または非意図的な組織において現れる場合と、薬効を担う薬理作用に関係なく生ずる場合がある。前者としては、抗がん剤による骨髄抑制、降圧剤による過度の低血圧、ワルファリンによる出血、インシュリンによる過度の低血糖等が典型例であり、頻度も高い。後者としては薬物アレルギー、薬物性血小板減少症、薬物性肝障害等を典型例として挙げることができる。また、薬物やその代謝物が、別の意図せざる受容体や標的分子に結合し、予期せぬ副作用をもたらす場合もある。

薬理作用に基づく副作用では、血漿または標的細胞内の活性薬物濃度の過度の上昇によるケースが比較的多く、このような場合には、肝臓や標的細胞内で解毒代謝を担っている薬物代謝酵素や、活性のある薬物や代謝物の血中又は細胞内のレベルを左右するトランスポーターの機能低下が原因となりうる。そのような原因の一つとして、遺伝子多型が注目されている訳である。副作用の原因となりうる分子が既知である場合には、その遺伝子の多型の有無とそのインビトロまたはインビボの機能変化を調べて、副作用発症との関係を明らかにすることが可能である。

しかし、副作用の責任多型は頻度が低いことが多く、統計学的な相関解析に耐えない場合も多い。特に、非常

に稀に発生する重篤な副作用 (idiosyncratic drug reaction) に関しては, 十分な数の患者試料の収集が困難なものもある。従って, 重篤副作用を呈した患者試料を, 原因究明のために収集・保存する国レベルのシステムを構築する必要性が高い。

一方, 副作用の原因遺伝子が未同定の場合や, 追加して未知の原因遺伝子を探索したい場合には, 副作用の有無や重篤度により層別化された患者群から得られたDNA試料を用い, ゲノム網羅的な多型頻度解析が行われる。多くの場合, 網羅的スクリーニングでリストアップされた遺伝子多型を手がかりして, 真の責任多型を同定するステップがさらに必要とされる。

4. 遺伝子多型の人種差

薬物代謝酵素の遺伝子多型の人種差が古くから知られている。遺伝子によってケースバイケースであり, 多型そのものが非常に少ない遺伝子もあるが, 多型の位置と頻度の両者ともかなり大きな人種差が認められる遺伝子が多々ある。また, 遺伝子の組換えやコピー数の相違等, 遺伝子の構造そのものが大きく異なる場合もある。また, ハプロタイプの頻度を比較しようとする際に, LDブロックの範囲自体に人種差が認められる場合もある。従って, 海外で開発された遺伝子診断薬が, そのままでは, 日本人に適用できないこともあるので, 注意が必要とされる所以である。以下, いくつかの代表的な例を紹介したい (Table 1も参照)。

4.1 UGT1A1

人種差の最も典型的な例は, UDP-グルクロン酸転移酵素をコードするUGT1A1の遺伝子多型の1つである*6 (211G>A, Gly71Arg)であろう。本多型は, 日本人 (アレル頻度, 約0.22)¹⁾, 韓国人 (アレル頻度, 約0.22), 中国人 (0.10-0.19)²⁾, タイ人 (0.10) で検出されているが, 南アジア以西及び白人, 黒人では極めてまれである³⁾。また, プロモーター領域 (-54_-39)にあるTATAボックスのTA反復数は野生型では6回 [A(TA)₆TAA]であるが, 7回反復型の*28 [A(TA)₇TAA]が欧米人には多い。そのアレル頻度は, 欧米人 (白人) やアフリカ人 (黒人) では約0.35-0.45であり, 日本人の約3-4倍である (図2)^{1, 3-5)}。また, *36及び*37と命名された5回及び8回反復型も知られ, それぞれ, 転写活性の上昇及び低下が知られている⁵⁾。これらは, 白人 (両多型ともアレル頻度0.01 - 0.02) 及び黒人 (0.02 - 0.08) で検出される^{2, 3, 5)}が, 日本人を含む東アジア人では検出されない^{2, 3)}。

4.2 CYP3A4

CYP3A4は, シトクロムP450の1つであり, 肝臓で

Table 1. Ethnic differences in genetic polymorphisms of major drug-metabolizing enzymes between Japanese and Caucasians

Gene	Allele or haplotype	Frequency	
		Japanese ^a	Caucasian
CYP2C9	*2	ND ^b	0.10 - 0.15
	*3	0.030	0.05 - 0.10
CYP2C19	*2	0.26	0.13 - 0.19
	*3	0.13	ND
	*17	0.008	0.18
CYP2D6	*3	ND	0.02
	*4	ND	0.22
	*5	0.042	0.05
	*10B ^c	0.33	0.02
	*10D ^d	0.006	
	*36 (single)	0.004	
	*14	0.008	ND
	*21	0.004	ND
	*41	0.020	0.08
CYP3A4	*1B	ND	0.036 - 0.096
	*2	ND	0.027 - 0.045
	*6	0.001	ND
	*10	ND	0.002
	*11	0.002	0.003
	*12	ND	0.003
	*13	ND	0.003
	*16	0.014	ND
	*17	ND	0.021
*18	0.028	ND	
UGT1A1	*6	0.03 - 0.18	ND
	*28	0.086 - 0.13	0.30 - 0.39

^a The allele frequencies of CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP3A4, and UGT1A1 are from Ref. 3 and our unpublished results.

^b ND: not detected.

^c including *36-*10B.

^d including *36-*10D.

の発現量も多く, 非常に多くの薬物の代謝に関与する主要な薬物代謝酵素である。CYP3A4遺伝子では, 日本人を含め東アジア人の低活性アレルである*16や*6は, 欧米人では殆ど検出されない。逆に, 欧米人によく認められる*1B, *3, *17が日本人にはない (Table 1)。さらに, 中国人で検出される*4, *5は日本人では殆ど認められない^{3, 6)}。CYP3A4, CYP3A7, CYP3A5の3つの遺伝子は, 日本人では, 同一のLDブロック上にあり, これらの3つの遺伝子の多型の間には強い連鎖が認められるが, アフリカ人のLDブロックの5'側の境界は, 日本人とは異なることが示されている³⁾。

4.3 CYP2D6

CYP2D6も, CYP3A4に次いで多くの薬物を基質とする重要な薬物代謝酵素であるが, 数多くの多型の存在が古くから知られている。CYP2D6遺伝子の人種差としては, *4 (スプライシング異常) が欧米人には多いが, 日本人では殆ど検出されないこと, 低活性型の*10が,

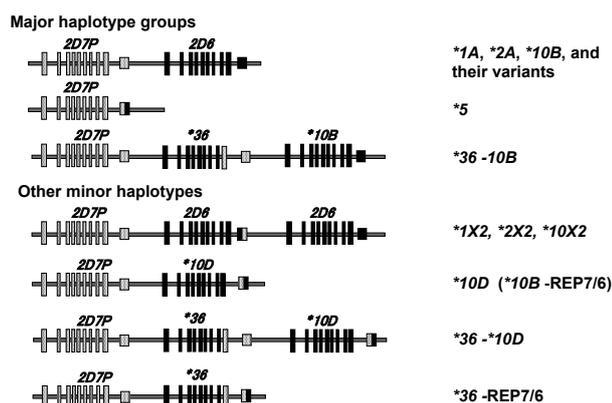


Fig. 4 Diversity of the *CYP2D6* gene in Japanese Black box, derived from *CYP2D6*; shaded box, from *CYP2D7P*.

東アジア人には多いが、欧米人では非常に少ないことがあげられる。さらに、日本人で、*10の約8割の上流に、非常に活性の弱い*36と呼ばれる遺伝子(*CYP2D7P*

と*CYP2D6*10*のキメラ遺伝子)がタンデムに並んで存在する(*36-*10ハプロタイプ)ことを筆者らは明らかにした⁷⁾(Fig. 4)。即ち、単一型の*10ハプロタイプは、約2割に過ぎない(Table 1)。*10に次いで日本人で重要な多型は、全欠損型の*5であるが、全欠損のタイピングに従来頻用されていたREP7/REP6キメラ構造(*CYP2D7P*の下流の反復配列REP7と*CYP2D6*10*下流の反復配列REP6の間で相同組換えが起こり、遺伝子が欠失した後の構造)を検出するPCR法が、活性を有する*10Dを誤って検出することが明らかにされている^{8, 9)}。このように、日本人の*CYP2D6*遺伝子に関しては、Fig. 4に模式的に示したように、その欠失や重複が複雑に絡んでおり³⁾、*CYP2D6*の遺伝子多型の正確なタイピングには、相応の注意が必要とされる。

4. 4 HLA遺伝子群

人種差の典型的な例として、最後にHLA遺伝子群の

Table 2. Representative genetic polymorphisms affecting pharmacokinetics (PK) or pharmacodynamics (PD) in Japanese

	Gene	Polymorphism		Drug	Changes in PK/PD
		Name	Variation ^a		
Drug-metabolizing enzyme	<i>CYP2C8</i>	*1G	IVS3-21T>A, etc.	Paclitaxel	Changes in metabolite PK
	<i>CYP2C9</i>	*3	1075A>C (Ile359Leu)	Phenytoin	Increased plasma levels
	<i>CYP2C19</i>	*2	681G>A (splicing defect)	Proton pump inhibitors	Insufficient doses in *1/*1
		*3	636G>A (Trp212Stop)		
	<i>CYP2D6</i>	*5	Whole gene deletion	Fluvoxamine	Gastrointestinal toxicities
		*10 (including *36-*10)	100C>T (Pro34Ser), etc.	Many drugs	Changes in PK/PD
	<i>CYP3A4</i>	*6	830-831insA (frameshift)	Paclitaxel, irinotecan	Lowered plasma metabolite levels
		*16	554C>G (Thr185Ser)		
	<i>CYP3A5</i>	*3	IVS3-237A>G (splicing error)	Several drugs	Changes in PK/PD
	<i>UGT1A1</i>	*28	-54_-39A (TA) ₆ TAA>A (TA) ₇ TAA	Irinotecan	Neutropenia
		*6	211G>A (Gly71Arg)		
		*60-*1B	-3279T>G, 1941C>G, etc.		
	<i>NAT2</i>	*5B	341T>C (Ile114Thr), etc.	Sulfasalazine	Rash, fever, etc.
		*6A	590G>A (Arg197Gln), etc.	Sulfamethoxazole-trimethoprim	Hepatotoxicity, etc.
	<i>TPMT</i>	*3C	719A>G (Tyr240Cys)	Azathioprine	Neutropenia
		*6	539A>T (Tyr180Phe)		
	<i>GSTT1</i>	*0 (null)	Whole gene deletion	Troglitazone	Hepatotoxicity
	<i>GSTM1</i>	*0 (null)	Whole gene deletion		
	<i>EPHX1</i>	*2 (block 3)	337T>C (Tyr113His)	Carbamazepine	Lowered plasma metabolite levels
		*1c (block 3)	IVS3-129A>G, etc.		Increased plasma metabolite levels
<i>MTHFR</i>		665C>T ^b (Ala222Val)	Methotrexate	Hepatotoxicity, etc.	
<i>CDA</i>	*3	208G>A (Ala70Thr)	Gemcitabine	Neutropenia	
<i>VKORC1</i>		-1639G>A, IVS1-136C>T, etc.	Warfarin	Lowered maintenance doses	
Transporter	<i>ABCB1</i>		2677G>T, 3435C>T	Digoxin	Increased plasma levels
		*2 (block 2)	1236C>T, 2677G>T, 3435C>T	Irinotecan	Decrease renal excretion
	<i>SLCO1B1</i>	*15 (including *17)	388A>G (Asn130Asp), 521T>C (Val174Ala), etc.	Statins	Increased plasma levels
Receptor	<i>HTR3B</i>		386A>C (Tyr129Ser)	Paroxetine	Increased severe nausea (Tyr)
	<i>HTR2A</i>		-1438A>G	Paroxetine	Increased severe nausea (G/G)
	<i>BDKRB2</i>		-58C>T	Fluvoxamine	Increased gastrointestinal toxicities
Other	Mitochondrial 12S rRNA		1555A>G	ACE inhibitors	Cough
				Aminoglycoside antibiotics	Ototoxicity

a IVS: intervening sequence (intron)

b Also called 677C>T.

例を紹介したい。Stevens-Johnson症候群 (SJS) や中毒性表皮壊死 (TEN) などの重症薬疹は、その発生頻度は極めて低いものの、比較的多くの医薬品で発症する。SJS/TEN発症とヒト白血球抗原 (HLA) 型との相関に関する報告が近年注目を集めている。これは、抗てんかん薬カルバマゼピンによってSJS/TENを発症した患者の全てが、HLA-B*1502を有していたとの中国人 (台湾の漢民族) に関する報告¹⁰⁾ に始まる。このため、米国FDAは、アジア系 (中国系) アメリカ人におけるカルバマゼピン使用に関して注意喚起を行っており、同時に添付文書も改訂されている。注目すべきことは、このHLA型は、日本人では殆ど検出されないことである。欧州からの報告によると、カルバマゼピンによる重症薬疹12例のうち、HLA-B*1502保持者は4例であり、彼らの人種は全てアジア系であったとされる¹¹⁾。即ち、非常に民族特異性の高いことが示されている。

5. 医薬品の副作用の原因となりうる遺伝子多型またはハプロタイプ

既に、遺伝子多型が医薬品の副作用や奏効性に関与するとの多くの報告があるが、日本人を対象にしたものに焦点を当て、筆者らの得た抗がん剤に関するデータも含めて、代表的な例を紹介したい。副作用や薬物応答性との相関が示されている遺伝子多型の代表例をTable 2に示した。

5.1 イリノテカン

抗がん剤イリノテカン (irinotecan, CPT-11) はカンプトテシン誘導体であり、肺癌、子宮頸癌、胃癌、卵巣癌、結腸・直腸癌等に広く適用されている。イリノテカンの副作用としては好中球減少等の骨髓毒性及び下痢が知られており、用量制限因子となっている。イリノテカンはプロドラッグであり、カルボキシエステルアゼにより活性代謝物SN-38 (7-ethyl-10-hydroxycamptothecin) に変換される¹²⁾ (Fig. 5)。SN-38の抗腫瘍作用はトポイソメラーゼI阻害による。SN-38は、さらにUDP-グルクロン酸転移酵素 (UDP-glucuronosyltransferase; UGT) による抱合を受けて解毒代謝される。イリノテカンの代謝経路としては、CYP3A4による不活性代謝物APC等への変換も報告されている。イリノテカン及び代謝物は、P-糖タンパク質 (P-gP/MDR1/ABCB1), MRP2 (ABCC2/cMOAT) 及びBCRP (ABCG2) 等のABCトランスポーターにより、肝細胞内から胆汁へと排出され、一部は腸管において再吸収されると推定されている。なお、SN-38の血流から肝細胞への取り込みには、有機アニオントランスポーター OATP1B1 (OATP2/OATP-C/SLCO1B1) の関与が示唆されている¹³⁾ (Fig. 5)。体外

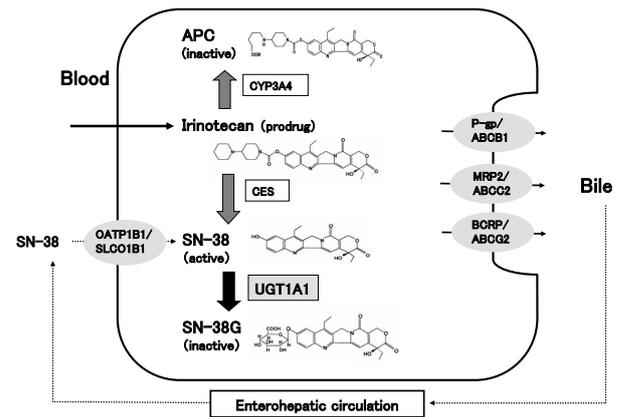


Fig. 5 Metabolic pathways of irinotecan in human hepatocytes

へは糞中排泄が主であるが、尿中へも排泄される。

ヒトUGT遺伝子スーパーファミリーには、UGT1A, UGT2A, UGT2B, UGT8のサブファミリーがあるが、SN-38のグルクロン酸抱合活性がインビトロで示されているものは、UGT1Aサブファミリーに属するUGT1A1, UGT1A7, UGT1A9及びUGT1A10である¹⁴⁾。この中で、肝臓に豊富にあり、ビリルビン抱合にも関与するUGT1A1が、主要なイリノテカン解毒酵素であると考えられている。従って、UGT1A1の活性低下は、解毒抱合の低下によるSN-38濃度の上昇を招き、副作用発現率の上昇の原因となりうる。上述の様に、日本人で頻度の高いUGT1A1の遺伝子多型としては、UGT1A1*28 (アレル頻度約0.11)、*60 (-3279T>G, 約0.26)、並びに*6 (約0.15) 及び*27 (Pro229Gln, 約0.005) がある (Fig. 6)³⁾。インビトロでの機能解析により、*28及び*60では発現量の低下が、*6及び*27のアミノ酸置換では、酵素活性の低下が報告されている^{15~17)}。また、筆者らは、*60ハプロタイプと*IBハプロタイプ (3'-非翻訳領域にある1813C>T, 1941C>G, 2042C>Gの3つのアレルを同時に持つ) を同一染色体上に有する患者では、UGT活性が低下することを示唆するデータを得ている¹⁸⁾。

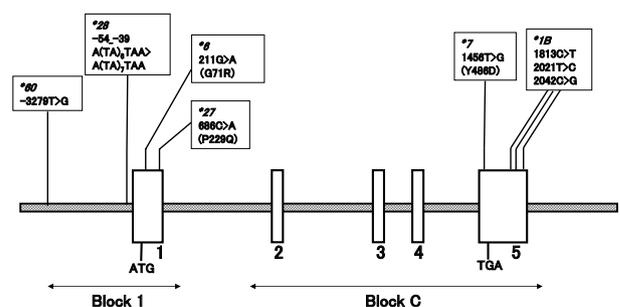


Fig. 6 Genetic polymorphisms found in UGT1A1 in Japanese Block 1, the 5'-flanking region and exon 1; Block C, from exon 2 to exon 5.

筆者らは、イリノテカン投与患者を含む301名の日本人を対象に、*UGT1A1* 遺伝子の多型を検出し、得られた多型を利用した連鎖不平衡解析及びハプロタイプ同定を行った^{19,20}。その結果、*6、*28、*60、*27の4つのアレルは同一のLDブロック内に存在し、*6と*28は別々の染色体上に排他的に存在すること、*28の殆どが*60と連鎖していること、全ての*27が*28に連鎖していることを明らかにした (Fig. 7)。*28と*60との強い連鎖は白人や黒人でも知られており⁴、*28アレルを有するハプロタイプで*UGT1A1*発現の大きな低下がもたらされる一因となっているものと考えられる。また、*60-*IB*ハプロタイプも頻度は低いものの、活性低下が認められるため、副作用の原因となりうる可能性が非常に高いと推定された。

		5'-flanking		Exon 1		Frequency (Japanese) ^b
		PBREM ^a	TATA box	211G>A	686C>A	
Nucleotide change		-3278T>G	A(TA) ₆ TAA A(TA) ₇ TAA	211G>A	686C>A	
Amino acid change				Gly71Arg	Pro229Gln	
Marker allele		*60	*28	*6	*27	

Haplotype					
	*1	*1a	*60	*28	
*60	*60a				0.582-0.610
	*60b				0.136-0.145
	*28b				0.097-0.121
*28	*28c				0.003-0.005
	*28d				0-0.003
*6	*6a				0.141-0.151
	*6d				0-0.003

■ = variant allele

Fig. 7 Haplotypes of *UGT1A1* Block 1 (5'-flanking regions to exon 1) in Japanese

^a Phenobarbital-responsive enhancer module

^b Frequencies from Ref. 3.

イリノテカンの薬物動態と*UGT1A1*多型の相関に関して、1988年にAndoらは、*UGT1A1**28をホモ接合で有する日本人患者で、体内UGT活性指標であるSN-38/SN-38グルクロニド (SN-38G) AUC比の上昇を報告した²¹。*28依存性のAUC比の変化は、欧米人でも確認されている²²。副作用との相関に関して、Andoらは、118人の日本人患者で、グレード3以上の下痢またはグレード4の白血球減少と*28の間の有意な相関を報告した²³。なお、この研究では、*6との有意な相関は得られていない。その後、欧米人において、*28が好中球減少 (及び下痢) と有意に相関するという報告が相次いでなされた^{22,24}。

筆者らは、日本人患者177名を対象に、*UGT1A1*ハプロタイプと薬物動態の間の相関を解析し、*6ハプロタイプが、*28ハプロタイプ (以下、ハプロタイプを省略) と同程度に、生体内*UGT1A1*活性の指標となるSN-38G/SN-38 AUC比の低下をもたらすこと (Fig. 8)、*6または*28のホモ接合 (*6/*6または*28/*28)、及び*6/*28複合ヘテロ接合の患者では、*6または*28のいずれも有しない患者に比べ、SN-38のAUC値が約2倍上昇すること

を明らかとした²⁵。さらに副作用発現に関しても、イリノテカン単剤投与患者及びシスプラチン併用患者ともに、「*6 or *28」はグレード3以上の好中球減少症発現率を有意に上昇させることが示された (Table 3)。筆者らは、別群のイリノテカン単剤投与患者でも、*6が、グレード3以上の好中球減少の発生を高めることを確認している²⁶。

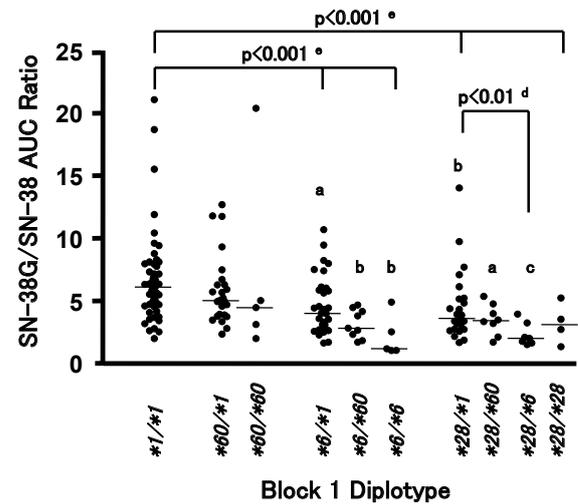


Fig. 8 Association of SN-38G/SN-38 AUC ratios with *UGT1A1* diplotypes

^ap<0.05, ^bp<0.01, ^cp<0.001 vs. the *1/*1 group by Dunn's multiple comparison test; ^dMann-Whitney test; ^eJonckheere-Terpestra test

Table 3. Effects of *UGT1A1**6 and *28 on neutropenia incidence in irinotecan-based chemotherapies

Genotype ^a	Neutropenia (Grade 3 or 4)			P value ^b
	+	-	(%)	
Irinotecan alone				0.012
-/-	3	18	(14.3)	
-/+	7	22	(24.1)	
+/+	4	1	(80.0)	
With cisplatin				0.032
-/-	20	15	(57.1)	
-/+	14	6	(70.0)	
+/+	7	0	(100)	

^a+ = *6 or *28

^bChi-square test for trend

また、シスプラチンを併用された韓国人においても、*6ホモ接合の患者で、グレード4の好中球減少発症率が有意に高まることが報告されている²⁷。これらの結果より、イリノテカン投与による好中球減少の予測に*UGT1A1*多型を用いる際には、東アジア人では、*28と*6の両者を用いる必要があることが示された。なお、*6/*6、*6/*28、*28/*28の頻度の和は、日本人で約6~9%である。

なお、*60ハプロタイプ (*28アレルを同一染色体上

に有せず, *60アレルを単独で有するハプロタイプ) に関しては, SN-38G/SN-38 AUC比の低下の程度は小さく, また, 副作用発現との有意な相関は得られなかった^{25,28)}. *27アレルについても, *27を有さない*28ハプロタイプと比較したが, *27特異的な低下は確認できなかった.

最近, イリノテカン投薬量 (80~350 mg/m²) と*28ホモ接合患者における血液毒性 (グレード3以上) との間のメタ解析が報告された²⁹⁾. 白人を対象とした本報告では, *28ホモ接合患者における血液毒性発症率の増加が, 低用量 (<150 mg/m²) では認められなかったことから, 低用量レジメンでは, 遺伝子多型に基づく減量の必要性は低いとの見解が示された. しかし, 日本人を対象とした筆者らの解析では, 投薬量が100 mg/m²以下の場合でも「*6 or *28ハプロタイプ」に依存するグレード3以上の好中球減少症の発現頻度の上昇が認められている³⁰⁾. この相違は, 低用量における併用抗がん剤との組み合わせの違い (イリノテカン/5-フルオロウラシルとイリノテカン/シスプラチン) による可能性も高いと考えられ, 今後の検証が必要とされる.

筆者らは, *UGT1A1*以外の遺伝子についても解析を行い, *CYP3A4* *16 (554C>G, Thr185Ser) が体内での酵素活性パラメーターであるAPC/イリノテカンAUC比の有意な低下を引き起こすが, 副作用発現には影響を及ぼさないことを報告している³¹⁾. 一方, イリノテカン/シスプラチン併用投与を受けた韓国人患者81人において, *SLCO1B1* 521T>C (Val174Ala, *15または*17) 多型を有する患者で, SN-38 AUC値が上昇することが報告されている³²⁾. また, 多変量解析により, *SLCO1B1* 521T>Cと*UGT1A1**6がグレード4の好中球減少に, *UGT1A9**1b (*22), *ABCC2* 3972C>T (Ile1324Ile), *ABCG2* 34G>A (Val12Met) がグレード3の下痢に関与する可能性が示されている³³⁾. 今後, 日本人や他人種を対象にした臨床試験による検証が必要であろう.

5.2 ゲムシタビン

ゲムシタビン (2', 2'-difluorodeoxycytidine, dFdC) は, 膀胱癌治療の第一選択薬として使われている. スクレオシドトランスポーターにより細胞内に取り込まれたゲムシタビンは, デオキシシチジンキナーゼ等により順次リン酸化され, ジフルオロ-dCTP (dFdCTP) 等のリン酸化体がDNA合成阻害をもたらす (Fig. 9). 一方, ゲムシタビンは, シチジンデアミナーゼ (CDA) により解毒代謝されてdFdUとなり, 最終的に腎臓から尿中排泄される.

国立がんセンターとの共同研究において対象としたゲムシタビン投与患者の中に, 非常に重篤な副作用を示す

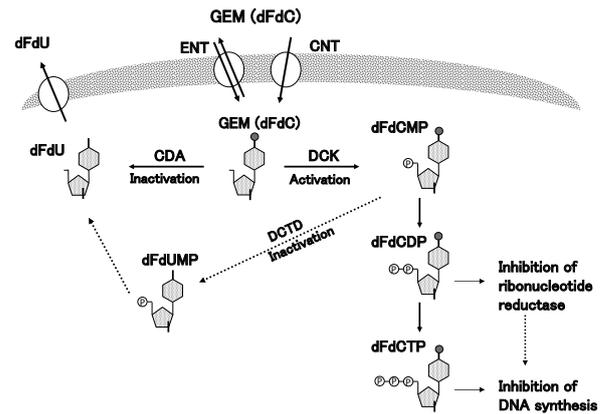


Fig. 9 Cellular metabolism and action of gemcitabine
GEM (dFdC), gemcitabine (2', 2'-difluorodeoxycytidine); dFdU, 2', 2'-difluorodeoxyuridine; CDA, cytidine deaminase; DCK, deoxycytidine kinase; DCTD, dCMP deaminase; CNT, concentrative nucleoside transporter; ENT, equilibrative nucleoside transporter.

シスプラチン併用患者がいたが, この患者は, シチジンデアミナーゼをコードする遺伝子*CDA*の多型の1つである208G>A (Ala70Thr, *CDA**3)をホモ接合で有しており, *3を有しない患者に比べて, ゲムシタビンの血中濃度-時間曲線下面積 (AUC) 値が約5倍となっていた³⁴⁾. さらに, 約250人のゲムシタビン投与患者について, *CDA**3の影響を検討したところ, ゲムシタビンのクリアランス及び血漿CDA活性が, *3に依存して低下することが明らかにされた (Fig. 10). また, ゲムシタビンに5-フルオロウラシルまたはシスプラチン等が併用された場合も, *3を有する患者では, グレード3以上の好中球減少の発生頻度が有意に高いことが示された³⁵⁾. このAla70Thrアミノ酸置換の影響に関しては, 酵母で生産された変異型組換えCDAタンパク質を用いて, シタラビン (ara-C) を基質として用いた酵素活性の低下が既に示されていた³⁶⁾. 従って, アミノ酸置換に伴うCDA活性の低下により, 血中ゲムシタビン濃度が上昇

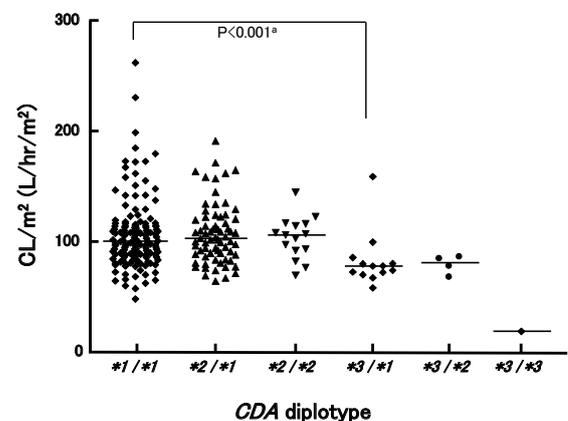


Fig. 10 Effect of *CDA**3 on gemcitabine clearance

^a Dunn's multiple comparison test

し、過度の薬効による重篤な副作用が発現したものと考えられた。

CDA*3は、日本人ではアレル頻度0.04で認められる³⁵⁾が、欧米人では検出されない³⁷⁾。しかし、欧米人の中にも、重篤な副作用を呈する投与患者はおり、血中のCDA酵素活性の著しい低下が認められることが多いと云われる^{38,39)}。筆者らも、CDA*3/*3の患者が、血漿CDA活性の異常な低値を示したことを報告している^{35,40)}。これらのことは、欧米人には別の低活性アレルが存在する可能性が高いこと、また、血中のCDA活性の異常な低値は、原因多型の人種差に拘わらず、重篤副作用予測の代替バイオマーカーとして使えることを示している。

もう1つのアミノ酸置換を伴う多型であるCDA 79A>C (Lys27Gln, *2)の日本人の薬物動態への影響をみると、非常にわずかな酵素活性の上昇傾向が示されているが、副作用への有意な影響は示されなかった。シスプラチンとの併用療法を受けた欧米人において、生存率を向上させるとの報告⁴¹⁾があるが、さらに検証が必要とされよう。

なお、手術前のゲムシタピンを含む化学療法及び放射線療法を施された患者では、DNAヘリカーゼの一種であるRECQL (RecQ1)を含む4種類のDNA修復系酵素等の遺伝子多型が、生存期間の短縮と相関することが報告されている⁴²⁾。これらの遺伝子多型は、併用薬（約半数にシスプラチン）及び放射線の治療効果の変化に関与している可能性も高く、今後の検証が必要と考えられる。

5.3 パクリタキセル

パクリタキセル (PTX) は市販名タキソールと呼ばれる抗がん剤で、卵巣癌、非小細胞肺癌、乳癌、胃癌、子宮体癌に適用される。解毒代謝経路としては、シトクロムP450酵素であるCYP2C8による6 α 位の水酸化とCYP3A4による3'-*p*位の水酸化経路が知られている。代謝物である6 α -ヒドロキシパクリタキセル (6 α -OH-PTX) 及び3'-*p*-ヒドロキシパクリタキセル (3'-*p*-OH-PTX) は、それぞれ、CYP3A4及びCYP2C8により、さらにジヒドロキシ体となる。またABCB1やABCC2等の薬物トランスポーターがパクリタキセル及び代謝物の体内動態に関与する。本薬は難溶性であるため、界面活性剤クレモホルールEL (ポリオキシエチレンヒマシ油) 及びエタノールを含有する注射用製剤の形で市販されるが、クレモホルールELが原因とされるアレルギー様反応を抑えるため、ステロイド剤及び抗ヒスタミン薬等が前投与される。同じタキサン系抗がん剤であるドセタキセルに関しては、 α 1-acid glycoproteinに結合するため、本タンパク質の血漿レベルが高いと生存率が悪化するという報告

もある⁴³⁾。パクリタキセルは、白金系抗がん剤カルボプラチンと併用されることが多く、有害事象としては、好中球減少症が特に強くかつ高頻度に見られる。

筆者らは、パクリタキセルの代謝物の薬物動態に、薬物代謝酵素の遺伝子CYP3A4及びCYP2C8の多型が影響を与えることを明らかにした。CYP3A4に関しては、代謝物のPKパラメータである3'-*p*-OH-PTX/PTX AUC比の低下及び6 α -OH-PTX/PTX AUC比の上昇が、CYP3A4*16及び*6で認められた⁴⁴⁾。また、CYP2C8に関しても、代謝物のPKパラメーター、3'-*p*-OH-PTX/PTX AUC比がCYP2C8*1Gというアミノ酸置換を伴わないハプロタイプで有意に上昇することを報告している⁴⁵⁾。

しかし、これらの代謝酵素の遺伝子多型は、パクリタキセルの血中濃度及びクリアランスには大きな影響を示さず、副作用の発症率への大きな影響も認められなかった。パクリタキセルの血中レベルは、他の抗がん剤に比べて個人差が小さいことが特徴的である。これはパクリタキセルを溶解させるために使用されるクレモホルールELのミセルにパクリタキセルが取り込まれていることの影響が大きいと思われる。パクリタキセルはカルボプラチンと併用する機会が多く、有害事象がカルボプラチンとの相加作用または相乗作用によっているのか否か等、未だ解明されていない点が多い。カルボプラチンに関するゲノム薬理学的情報は少なく、今後の検討が必要とされる。

パクリタキセルは、 β -チューブリンに結合し、微少管タンパク質の重合を促進し、微少管の構造安定化や過剰形成を起こさせることにより、細胞分裂を阻害するといわれている。一時期、 β -チューブリン遺伝子の多型の影響が検討されたが、その多くは偽遺伝子の多型を検出していたことが後に判明している⁴⁶⁾。

なお、タキサン系抗がん剤 (パクリタキセルまたはドセタキセル) 及びカルボプラチンを併用された子宮癌患者914名を対象に、トランスポーター、代謝酵素、DNA修復系酵素を含む16の遺伝子の27の多型と有害事象及び生存率との相関が解析されている。いくつかの候補遺伝子多型がリストされているが、多重性の調整後には、統計学的に有意な影響を示す多型は残らず、明確な結論を得るためには、別の臨床研究による検証が必要とされている⁴⁷⁾。

5.4 5-フルオロウラシル (5-FU) 系抗がん剤

5-フルオロウラシル (5-FU) 系の抗がん剤は、多くのがん種の治療に用いられている。活性代謝物である5-フルオロ-dUMP (FdUMP) は、dUMPからdTMPを合成する酵素であるチミジル酸合成酵素を阻害し、その結

果、細胞内dTTPレベルの低下及びDNA合成阻害をもたらす (Fig. 11). 5-FUは、ジヒドロピリミジンデヒドロゲナーゼによって不活性代謝物に変換されるため、本酵素の遺伝子DPYDの低活性型多型が副作用の原因となる(48,49)が、欧米人でよく知られている活性欠失型の遺伝子多型であるIVS14+1G>A (*2A; スプライシング異常)は、日本人では、全く検出されない⁵⁰⁾.

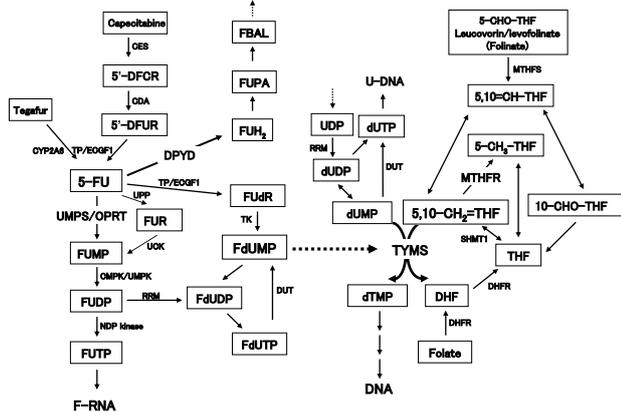


Fig. 11 Metabolism of 5-fluoropyrimidines and folic acid
5'-DFCR, 5'-deoxy-5-fluorocytidine; 5'-DFUR, 5'-deoxy-5-fluorouridine; FUH₂, 5,6-dihydro-5-fluorouracil; FUPA, α -fluoro- β -ureidopropionic acid; FBAL, α -fluoro- β -alanine; DHF, dihydrofolate; THF, tetrahydrofolate; CES, carboxylesterase; CDA, cytidine deaminase; TP/ECGF1, thymidine phosphorylase/endothelial cell growth factor 1; UPP, uridine phosphorylase; UMPS/OPRT, UMP synthase/orotate phosphoribosyltransferase; UCK, uridine-cytidine kinase; CMPK/UMP, cytidine monophosphate kinase/uridine monophosphate kinase; RRM, ribonucleotide reductase; NDP kinase, nucleoside diphosphate kinase; TK, thymidine kinase; DUT, dUTP pyrophosphatase; TYMS, thymidylate synthase; MTHFR, 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase; DHFR, dihydrofolate reductase; SHMT1, serine hydroxymethyltransferase 1; MTHFS, 5,10-methenyltetrahydrofolate synthetase.

一方、チミジル酸合成酵素の発現量が高いと、5-FUの作用を受けにくくなるとされている。チミジル酸合成酵素の遺伝子TYMSの5'-非翻訳領域には、28塩基の反復があり⁵¹⁾、その反復数に多型が認められる⁵²⁾。さらに反復配列の1つの中に、G>C多型が存在する。高頻度のものとして、反復数2回でCアレル (2Rまたは2Rc)、反復数3でGアレル (3Gまたは3Rg) 及びCアレル (3Cまたは3Rc) があり、日本人ではそれぞれ0.124, 0.421, 0.420のアレル頻度で見いだされる⁵³⁾。G>C多型のある位置はUSF-1結合部位に当たり、Cアレルでは転写活性が低いと報告されており⁵⁴⁾、2Rと3Rcは低発現型、3Rgは高発現型のハプロタイプに分類されることがある (患者レベルでは、2R/2R, 2R/3C, 3C/3Cを低発現型、3G/3G, 3G/3C, 3G/2Cを高発現型とする)。低発現型は、フッ化ピリミジン系抗がん剤への応答がよく、副作用がおりやすいが、生存率も長くなることが報告されている⁵⁵⁾

⁵⁹⁾。さらに、TYMS遺伝子には3'-非翻訳領域の6塩基挿入の多型 (日本人のアレル頻度, 0.329) があり、6塩基挿入で、mRNAレベルが高くなることが報告されており、挿入型のホモ接合 (ins/insを高活性型と呼ぶ) で5-FU併用療法への応答が悪いとする報告もある⁶⁰⁾。これらの5'-及び3'-非翻訳領域の両多型の組合せにより、低活性型の組合せが、高活性型の組合せに比べ、3年後生存率及び無病生存率が有意に高くなることが報告されている⁶¹⁾。

葉酸の代謝物5,10-メチレンテトラヒドロ葉酸 (5,10-CH₂=THF) は、チミジル酸合成酵素によるdTMP合成の際のメチル基供与体であり (Fig. 11)、5-FU投与時には、チミジル酸合成酵素、5,10-CH₂=THF及びFdUMPの3者は安定複合体を形成する。このため、酵素活性の阻害効果を増強する目的で、5-FU系抗がん剤投与に際しては、葉酸の誘導体 (レボホリナートまたはロイコボリン) が併用されることが多い。5,10-CH₂=THFは、メチレンテトラヒドロ葉酸還元酵素 (MTHFR, Fig. 11) により代謝されるが、本酵素には665C>T (Ala222Val) という低活性型多型 (多くの論文では677C>Tと表示される。アレル頻度約0.40) があり、Tアレル (Val) は、Cアレル (Ala) に比べて5-FUの薬効をより強めることが報告されている^{62,63)}。

一方、オロチン酸ホスホリボシルトランスフェラーゼ (OPRTまたはUMPS, Fig. 11) の遺伝子の638G>C (Gly213Ala) 多型 (アレル頻度0.27) は、mRNAレベル及び酵素活性の上昇を伴うが、5-FUによるグレード3以上の好中球減少と下痢の発現率増加と相関する傾向が示されている⁵⁹⁾。

5.5 白金系抗がん剤

主要な白金系抗がん剤には、シスプラチン、カルボプラチン、オキサリプラチン等があり、多くのがん種に適用されているが、他の抗がん剤との併用が多い。細胞内で活性化体となり、DNA付加体を形成することにより抗腫瘍作用を発揮し、グルタチオン抱合等により不活性化されると云われている。従って、白金系抗がん剤の奏効性 (生存率) 及び副作用発現に影響を及ぼす遺伝子多型の報告例には、DNA修復系酵素とグルタチオン転移酵素の遺伝子を対象としたものが多い。

シスプラチンまたはカルボプラチン投与非小細胞肺癌患者 (約2/3の症例で放射線療法を同時に受けている) において、DNA修復系酵素の遺伝子XPD/ERCC2 (934G>A, Asp312Asn) 及びXRCCI (1196G>A, Arg399Gln) でアミノ酸置換多型を有する患者の生存率が悪いことが報告されている⁶⁴⁾。また、同様な患者群で、ERCCI 8092C>A (アンチセンス鎖の塩基で表記、3'-flankingに

ある*51+136G>Tに相当)の多型に関して、8092Aにおける生存率の悪化⁶⁵⁾や胃腸管障害の増大の報告もある⁶⁶⁾。XPD/ERCC2及びXRCC1に関しては、シスプラチン投与頭頸部癌患者で同様な報告がなされている⁶⁷⁾。シスプラチン併用においては、ERCC1コドン118C/T多型(正確には、352-354AAC>AAT, Asn118Asn)のコドン118Tで生存率が悪いとの報告がなされている^{68,69)}。また、ゲムシタピン/シスプラチン併用で、XPD/ERCC2 Lys751GlnやXRCC1 Arg399Gln多型の影響の他に、XRCC3 Thr241Met多型において、241Metホモ接合患者で生存率が上昇することが示されている⁷⁰⁾。

第3世代の白金系抗がん剤であるオキサリプラチンは、わが国では、切除不能大腸癌に適用されるが、5-FU/レボホリナートと併用される。オキサリプラチン併用療法においても、上述のXRCC1 Arg399Gln⁷¹⁾及びERCC1コドン118T⁷²⁾で、生存率の悪化が認められている。また、XPD/ERCC2遺伝子の2251A>C(Ly751Gln, Asp312Asnはこの多型に強い連鎖不平衡を示す)のアミノ酸置換も生存率の低下をもたらすことが報告されている^{72,73)}。加えて、GSTP1のエクソン5にある低活性型^{74,75)}のアミノ酸置換多型313A>G(Ile105Val, *Bまたは*C。*Cは同時にAla114Valを有する⁷⁶⁾が、日本人では検出されない。)に関しては、105Val保有者で生存率が上昇することが示されている^{72,77)}。また、105Val保有者で、神経毒性が強くなることが報告されている⁷⁸⁾。しかし、XPD/ERCC2のアミノ酸置換Lys751Glnを有する患者で生存率の悪化があったが、GSTP1 105Valの影響は有意でなかったとする報告もある⁷⁹⁾。

5.6 メルカプトプリン及びアザチオプリンとTPMT

白血病治療薬メルカプトプリンは、チオプリン-S-メチル転移酵素(TPMT)によりメチル化されて不活性体となるため、低活性型TPMTを有する患者では、副作用が発現しやすくなる。抗がん剤(海外で適用)や免疫抑制剤として用いられるアザチオプリンは、メルカプトプリンのプロドラッグであり、同様に活性体がTPMTによる代謝を受ける。チオプリン-S-メチル転移酵素をコードするTPMT遺伝子には数個の機能低下を伴う遺伝子多型またはハプロタイプが知られており、欧米人では、活性低下型の多型である*2, *3A, *3Cの頻度が比較的高い(合わせて、0.04 - 0.07)⁸⁰⁾(Table 1)。

一方、日本人では、*2と*3Aは検出されず、*3C(Tyr240Cys)と*6(Tyr180Phe)が主なアミノ酸置換多型となり、これらの多型をヘテロ接合で有する患者で投薬中止に至る重篤な白血球減少が報告されている^{81,82)}。しかし、そのアレル頻度は、欧米人と比べると低く、合わせて0.003 - 0.02程度である^{81,83)}。

5.7 ワルファリン

抗凝固薬ワルファリンカリウムは、血栓塞栓症の治療及び予防に用いられるが、治療域が狭く、且つ至適投薬量の個体差が大きいため、血液凝固能検査に基づく管理が必要とされる。ワルファリンのゲノム薬理学的研究については、標的分子であるビタミンKエポキシド還元酵素複合体1(VKORC1)及び薬物代謝酵素CYP2C9の遺伝子の多型がよく知られている。

VKORC1は、ビタミンKエポキシド還元酵素複合体の構成要素とされ、ビタミンKエポキシドからビタミンKを生成する(Fig. 12)。ビタミンKから生成したビタミンKヒドロキノンはγ-グルタミルカルボキシラーゼ(GGCX)の基質として、ビタミンK依存性血液凝固因子(第II, VII, IX, X因子)の活性化(グルタミン酸残基側鎖のγ-カルボキシル化)に必要なビタミンKヒドロキノンの生成を抑制することにより、抗凝血及び抗血栓作用を示すと云われている。

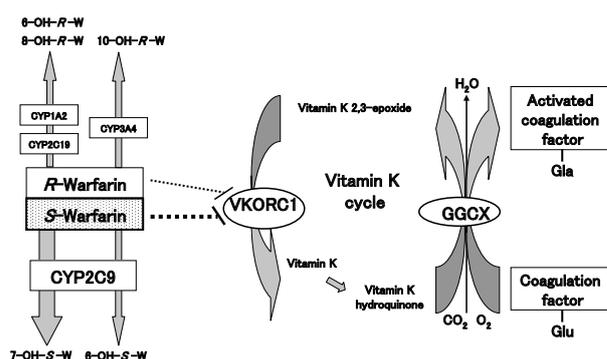


Fig. 12 Metabolism and action of warfarin, vitamin K cycle, and activation of coagulation factors

VKORC1, vitamin K epoxide reductase complex 1; GGCX, γ-glutamylcarboxylase; Glu, glutamic acid residue; Gla, γ-carboxyglutamic acid residue; coagulation factors, factors II, VII, IX, and X, proteins C and S, etc.

Riederらは、欧米人で、VKORC1に見いだされる遺伝子多型のうち、強い連鎖不平衡にある-4931T>C(多くの論文で、381T>Cと表示される。以下同様)、-1639G>A(3673G>A)、IVS1-136C>T(6484C>T)、IVS2+124G>C(6853G>C)、IVS2+837C>T(7566C>T)からなるハプロタイプが、低ワルファリン維持量(高ワルファリン感受性)及び肝臓でのVKORC1 mRNAレベルの低下と相関することを示した⁸⁴⁾。即ち、本ハプロタイプを有する欧米人患者では、ワルファリン用量を低く設定する必要がある。このハプロタイプの頻度は、欧米人、アフリカ人、アジア人でそれぞれ0.37, 0.14, 0.89であり、人種差が認められることも明らかにされてい

る⁸⁴⁾。Yuanらにより、-1639Gアレルのプロモーター活性が、-1639Aアレルよりも44%高いことが示されている⁸⁵⁾。

実際に、香港中国人においては、欧米人とは逆に、上述のワルファリン高感受性型が86%を占めており（即ち、中国人の野生型となる）、その平均維持量は低く、2.93 mg/dayと報告されている⁸⁶⁾。

日本人においても、同様な報告が続いた⁸⁷⁻⁸⁹⁾。3つの多型（-1639G>A, IVS1-136C>T, IVS2+124G>C）が、同一染色体上に存在することが示されており、-1639G>Aをヘテロ接合で有する患者（約2割）のワルファリン維持量（平均4.55 mg/day）は、-1639G>Aをホモ接合で有する患者（約8割）の維持量（2.94 mg/day）と比較して有意に高い。日本人のワルファリン維持量の個体差への-1639G>Aヘテロ接合型の寄与率は16.5%であるとされる⁸⁷⁾。日本人のワルファリン維持量の平均値（3.5 mg/day）は、欧米人（4.7 mg/day）及びアフリカ人（5.3 mg/day）の維持量と比較して低いことが知られているが⁸⁹⁾、上述のように、日本人（及び中国人）では、低活性型の多型がむしろ野生型となっていることが一因と考えられる。因みに、日本におけるワルファリンの添付文書の用法・用量に記載されている維持投薬量（1～5 mg/day）は、米国におけるCoumadinの添付文書に記載されている維持投薬量（2～10 mg/day）の半量となっている。

ワルファリンはラセミ体として使用されているが、R体の3～5倍強力な抗凝固作用をもつS体では、CYP2C9による7位の水酸化が主な代謝経路となる（Fig. 12）。本稿執筆時に、30種のアレル（CYP2C9*1～CYP2C9*30）がCYP2C9遺伝子で報告されている⁹⁰⁾が、日本人で見いだされる主な低活性型アレルは、*3（1075A>C, Ile359Leu）である⁹¹⁾。*3のアレル頻度は、日本人で約0.03であるが、このアレルを有する患者（*1/*3）のワルファリン維持量（1.86 mg/day）は、変異を有しない患者（*1/*1）の維持量（3.36 mg/day）と比較して有意に低く、CYP2C9*3が日本人のワルファリン維持量の個体差に寄与する割合は13.4%とされる⁸⁷⁾。最近、CYP2C9の転写制御領域に、-1565C>T（アレル頻度、日本人0.125, 欧米人0）を始めとする多くの多型が検出されており、人種差も認められている^{3,91)}。CYP2C9に関しては、低頻度アレル⁹¹⁾を含めて、これらの多型の影響についても検討が必要とされよう。

VKORC1ハプロタイプとCYP2C9*3に患者背景因子を加えると、ワルファリン維持量の個体差の約6割を説明しうるとされる⁸⁹⁾。最近、その他の遺伝要因として、血液凝固因子である第Ⅶ因子（プロコンバーチン）及び第Ⅹ因子（スチュアート因子）、これらの活性化因子γ-

グルタミルカルボキシラーゼ（GGCX）、ミクロソーム型エポキシドヒドロラーゼ（EPHX1）、プロテインC、α1-acid glycoprotein等の遺伝子の多型の関与も検討されている⁹²⁻⁹⁶⁾（Fig. 12を参照）。

5.8 プロトンポンプ阻害剤とCYP2C19

CYP2C19の遺伝子多型は、本稿執筆時において、19種類（CYP2C19*1～CYP2C19*19）が報告されている⁹⁷⁾が、日本人に高頻度で認められる低活性型アレルは、*2（681G>A, スプライシング異常）と*3（636G>A, Trp212Stop）である³⁾。*2及び*3のアレル頻度には人種差が認められ、日本人ではそれぞれ0.267及び0.128であり（表1も参照）、欧米人（*2, 0.13 - 0.19; *3, 0 - 0.003）及びアフリカ人（*2, 0.11 - 0.25; *3, 0 - 0.018）と比較して高い³⁾。*2または*3をホモ接合（*2/*2, *3/*3）あるいは複合ヘテロ接合（*2/*3）で有する人は、代謝能の低いpoor metabolizer（PM）とされる⁹⁸⁾。少なからぬ薬物がCYP2C19による代謝を受けることが知られており、CYP2C19遺伝子の多型により薬効が左右される例も多い⁹⁹⁾が、本稿では、プロトンポンプ阻害剤（proton pump inhibitor; PPI）の併用を利用するピロリ菌（*Helicobacter pylori*）除菌治療の例を紹介したい。

消化性潰瘍治療薬であるPPIは、抗生物質によるピロリ菌除菌の補助に適用される。PPI活性体は、胃粘膜壁細胞のH⁺/K⁺-ATPase活性を阻害し、胃酸分泌を抑制する。胃内pH上昇は、抗生物質の制菌作用を増強するといわれている。除菌の標準治療としては、オメプラゾールまたはランソプラゾールのPPIを1剤とアモキシシリンとクラリスロマイシンの抗生物質2剤が投与される。

オメプラゾール及びランソプラゾールとともに、CYP2C19により代謝されるため、その薬物動態及び薬効がCYP2C19の遺伝子多型により影響を受ける¹⁰⁰⁻¹⁰²⁾。Furutaらによると、オメプラゾール20 mg単回投与後のオメプラゾールAUC値が、PM（*2/*2, *3/*3, *2/*3）ではEM（extensive metabolizer, *1/*1）の約13倍となるとされる。また、胃内pHでも、PM, IM（inetermediate metabolizer, *1/*2または*1/*3）、EMで、それぞれの平均値は4.47, 3.30, 2.14となり、有意な差が認められる。即ち、消化性潰瘍の治療に現在臨床適用されている20 mg/dayのオメプラゾールでは、EMにおいて十分なpH上昇が得られない¹⁰³⁾。オメプラゾール40 mg/day、アモキシシリン2000 mg/day、クラリスロマイシン800 mg/dayの7日間投与後の除菌効果は、EMで75%、IMで80～90%、PMで100%であったとの報告がある¹⁰¹⁾。同様に、オメプラゾール40 mg/dayあるいはランソプラゾール60 mg/day、アモキシシリン1500 mg/day、クラリスロマイシン600 mg/dayの7日間投与後の除菌効果は、

EMで72.7%, IMで92.1%, PMで97.8%であったとされる¹⁰⁴⁾。この3剤療法においてなお認められる除菌不良の原因は、EMにおけるPPI用量不足に加えて、クラリスロマイシン耐性菌の存在であるとされている¹⁰²⁾。さらに、*CYP2C19* タイピング結果及び、ピロリ菌23S rRNAタイピングによるクラリスロマイシン耐性の判定結果に応じて、ランソプラゾール用量設定とアモキシリン投与期間延長を行うと、治癒率の向上が得られることが報告されている¹⁰⁵⁾。

6. 添付文書へのゲノム薬理学的情報の記述と遺伝子診断薬

CYP2D6, *CYP2C9*等による代謝を受ける医薬品の中には、投薬対象患者の酵素活性レベル〔発現レベルや遺伝型により、PM, IM, EM, ultrarapid metabolizer (UM)等と呼ばれる〕に応じた投薬量の調節が望まれるものも多い。わが国においても、上述のプロトンポンプ阻害剤であるオメプラゾールやランソプラゾール注射剤の添付文書には、*CYP2C19*のPMやEMに関する情報が記載されているものがある。アザチオプリン錠では、TPMT欠損で骨髄抑制が現れやすい旨の記載がある。また、精神神経安定剤である塩酸ペルフェナジン注射剤で、*CYP2D6*の欠損者でその血中ペルフェナジン・レベルが正常者の約2倍高まるという海外の文献¹⁰⁶⁾が引用されている。今後ともこのような情報の追加が増えてゆくものと予想される。

既に米国においては、遺伝子多型を明示した形でゲノム薬理学的情報が記載される例が増えている。本稿の記述時点で、メルカプトプリン、アザチオプリン、イリノテカン、ワルファリン、カルバマゼピンの添付文書に副作用の原因となり得る遺伝型の記述が追加されている。

例えば、メルカプトプリンの添付文書には、「遺伝的なTPMT欠損(*2, *3A, *3Cの遺伝型または赤血球の酵素活性測定により判断)をホモ接合で有する患者では、骨髄抑制作用への感受性が高いので、投与量の低減が必要とされる。」と、アザチオプリンの添付文書でも、「*2, *3A, *3Cをホモ接合で有する患者では、アザチオプリンに代わる代替療法も考慮すること、ヘテロ接合では投与量を下げることが勧められる」と、記載されている。

また、イリノテカンに関しても、「*28ホモ接合の患者では好中球減少症のリスクが高まるため、初回投与時の投薬量を少なくとも1レベル下げること考えるべきである」と、添付文書に追記され、さらにインベダー法による*28多型の診断キットも承認されている。なお、米国食品医薬品局(FDA)は、ゲノム薬理学的情報の添付文書への掲載までに、診断薬キットが開発さ

れ、ほぼ同時期に承認されることが望ましい¹⁰⁷⁾として、前述のように、日本でも、*UGT1A1*多型(*28及び*6)判定用の体外診断薬キットの承認及びイリノテカンの添付文書の改訂が最近なされている。

米国の添付文書の記載例のように、記述内容は薬剤毎に微妙に異なるものの、遺伝型に応じて、投薬の回避や投薬量の低減が勧められているケースが多い。しかし、現時点では、用量変更の定量的な設定にまで踏み込んだ記載はなされていない。その主な理由としては、その用量設定の根拠となるデータが不足していること、用量の増減に伴う有効性への影響に関する臨床データが十分に得られていないこと等がある。

わが国においては、明示的なゲノム薬理学的情報の添付文書への記載が遅れていたが、欧米人と日本人の間に遺伝子多型の人種差があることもその理由の一つとなっている。即ち、既に解説したように、米国におけるデータや情報をそのままの形で採用できない訳である。

遺伝子診断に関して、問題点として書き留めておきたいことに、インビトロでの機能変化が示されているものの、頻度が極めて低いため臨床データが得られない多型の取り扱いがある。副作用への寄与が大きい責任分子の低活性・低頻度の多型に関しては、合理的な科学的根拠があれば、追加の臨床試験データがなくとも、体外診断薬の測定対象に追加されることが望まれる。

7. 遺伝子多型とその他のバイオマーカー

遺伝子多型は、遺伝的なバイオマーカーであるといえるが、それに加えて、タンパク質や内在性の低分子物質が副作用予測のよいマーカーとなりうる場合がある。

例えば、肝CYP3A4発現量には、大きな個人差が認められるが、既知の遺伝子多型のみでは、この個人差を説明できない。食物に含まれる外来性物質等によりCYP3A4の誘導が起こることも一つの原因と考えられる。このように、遺伝型だけでは生体内レベルの予測ができない時には、環境要因の影響を含めて、生体内活性を反映しうるよりよいバイオマーカーが必要とされる。生体内CYP3A4活性のバイオマーカーの一例としては、尿中の6β-hydroxycortisol/cortisol濃度比がある¹⁰⁸⁾が、CYP3A5の影響評価や測定値の日内変動の問題を解決する必要があるとされている。今後、メタボロミクスなどの技術を応用して、さらに予測率のよいバイオマーカーが見いだす必要がある。

薬物の代謝・動態は、性差、年齢、体格、肝機能、腎機能など多くの因子の影響を受けている。併用薬との相互作用の重要性は既に知られているが、投薬患者の肝臓や腎臓の機能低下が薬物応答に大きく影響することが数多くの医薬品で示されている。これらの患者背景因子や

体質に影響を与える分子は多数存在し、その遺伝子多型が間接的に薬物応答に影響する可能性は大きいと予想される。加えて、患者の生体機能を反映する他のバイオマーカーにも有用なものがあるものと予想される。このような因子は、予後規定因子として捉えることが可能と思われるが、その探索は緒についた段階にあり、この面からの解析を進める必要があると思われる。これらの要因の探索においては、ゲノム網羅的な解析やメタボロミクスやプロテオミクスが有力なツールとなると予想される。

8. おわりに

医薬品の安全性や有効性に関する個人差や人種差を説明しうる遺伝子多型情報は着実に蓄積されつつあり、ゲノムの個人差に応じたテーラーメイド投薬（個別化薬物治療）の普及が今後とも進むものと予想される。しかし、遺伝子多型と臨床情報との相関が報告されたものの、別の研究者による追加研究では相関が再現されない場合もあり、解析検体数、用法の相違、民族差などがその原因として考えられる。従って、ファーマコゲノミクスの臨床応用には追加臨床研究による検証が重要とされている。さらに、頻度は低いものの重篤な副作用の原因となる遺伝子多型の検出とその臨床的意義の確立が重要な課題として残されている。

ゲノム薬理的解析が比較的進められた既承認医薬品においても、既知の遺伝子多型のみでは十分に個人差を説明できない場合も多く、予測率の向上がなお必要とされる。他の未知の責任遺伝子多型や飲食等の環境要因の関与などがさらに明らかにされ、それらを反映する有用なバイオマーカーを追加する必要があるだろう。今後の研究の進展により、薬物投与前の遺伝子多型診断の有用性が広く認知され、より適切で且つ経済効果の高い個別化治療が早期に実現することを期待して、筆を置きたい。

謝 辞

本稿で紹介した著者らの報告の大部分は、「保健医療分野における基礎研究推進事業」の支援を受けて得られたものである。また、非常に多くの所内外の共同研究者のご協力により得られた成果であることを特筆するとともに、この場を借り、共同研究を頂いた多くの方々へに深甚なる感謝の意を表したい。

文 献

1) Kaniwa, N., Kurose, K., Jinnno, H., Tanaka-Kagawa, T., Saito, Y., Saeki, M., Sawada, J., Tohkin, M. and Hasegawa, R.: *Drug Metab. Dispos.*, 33, 458-465 (2005)

2) Zhang A. Xing, Q., Qin, S., Du, J., Wang, L., Yu, L., Li, X., Xu, L., Xu, M., Feng, G. and He, L.: *Pharmacogenomics J.*, 7, 333-338 (2007)

3) Saito, Y., Maekawa, K., Ozawa, S. and Sawada, J.: *Curr. Pharmacogenomics*, 5, 49-78 (2007)

4) Innocenti, F., Grimsley, C., Das, S., Ram_rez, J., Cheng, C., Kuttub-Boulos, H., Ratain, M.J. and Di Rienzo, A.: *Pharmacogenetics*, 12, 725-733 (2002)

5) Beutler, E., Gelbart, T. and Demina, A.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 95, 8170-8174 (1998)

6) Fukushima-Uesaka, H., Saito, Y., Watanabe, H., Shiseki, K., Saeki, M., Nakamura, T., Kurose, K., Sai, K., Komamura, K., Ueno, K., Kamakura, S., Kitakaze, M., Hanai, S., Nakajima, T., Matsumoto, K., Saito, H., Goto, Y., Kimura, H., Katoh, M., Sugai, K., Minami, N., Shirao, K., Tamura, T., Yamamoto, N., Minami, H., Ohtsu, A., Yoshida, T., Saijo, N., Kitamura, Y., Kamatani, N., Ozawa, S. and Sawada, J.: *Hum. Mutat.*, 23, 100, Mutat. Brief #681 (2004)

7) Soyama, A., Saito, Y., Kubo, T., Miyajima, A., Ohno, Y., Komamura, K., Ueno, K., Kamakura, S., Kitakaze, M., Tomoike, H., Ozawa, S. and Sawada, J.: *Drug Metab. Pharmacokinet.*, 21, 208-221 (2006)

8) Ishiguro, A., Kubota, T., Sasaki, H. and Iga, T.: *Clin. Chim. Acta*, 347, 217-221 (2004)

9) Soyama, A., Saito, Y., Ohno, Y., Komamura, K., Kamakura, S., Kitakaze, M., Tomoike, H., Ozawa, S. and Sawada, J.: *Drug Metab. Pharmacokinet.*, 21, 395-405 (2006)

10) Chung, W.H. Hung, S.I., Hong, H.S., Hsieh, M.S., Yang, L.C., Ho, H.C., Wu, J.Y. and Chen, Y.T.: *Nature*, 428, 486 (2004)

11) Lonjou, C., Thomas, L., Borot, N., Ledger, N., de Toma, C., LeLouet, H., Graf, E., Schumacher, M., Hovnanian, A., Mockenhaupt, M., Roujeau, J.C.; RegiSCAR Group: *Pharmacogenomics J.*, 6, 265-268 (2006)

12) Smith, N.F., Figg, W.D. and Sparreboom, A.: *Toxicol. In Vitro*, 20, 163-175 (2006)

13) Nozawa, T., Minami, H., Sugiura, S., Tsuji, A. and Tamai, I.: *Drug Metab Dispos.*, 33, 434-9 (2005)

14) Jinno, H., Tanaka-Kagawa, T., Hanioka, N., Saeki, M., Ishida, S., Nishimura, T., Ando, M., Saito, Y., Ozawa, S. and Sawada, J.: *Drug Metab. Dispos.*, 31, 108-113 (2003)

15) Beutler, E., Gelbart, T. and Demina, A.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 95, 8170-8174 (1998)

- 16) Sugatani, J., Yamakawa, K., Yoshinari, K., Machida, T., Takagi, H., Mori, M., Kakizaki, S., Sueyoshi, T., Negishi, M. and Miwa M.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 292, 492-497 (2002)
- 17) Jinno, H., Saeki, M., Tanaka-Kagawa, T., Hanioka, N., Saito, Y., Ozawa, S., Ando, M., Shirao, K., Minami, H., Ohtsu, A., Yoshida, T., Saijo, N. and Sawada, J.: *Drug Metab. Dispos.*, 31, 528-532 (2003)
- 18) Saeki, M., Y. Saito, K. Sai, K. Maekawa, N. Kaniwa, J. Sawada, M. Kawamoto, A. Saito and N. Kamatani: *Clin. Chem.*, 53, 356-358 (2007)
- 19) Sai, K., Saeki, M., Saito, Y., Ozawa, S., Katori, N., Jinno, H., Hasegawa, R., Kaniwa, N., Sawada, J., Komamura, K., Ueno, K., Kamakura, S., Kitakaze, M., Kitamura, Y., Kamatani, N., Minami, H., Ohtsu, A., Shirao, K., Yoshida, T. and Saijo, N.: *Clin. Pharmacol. Ther.*, 75: 501-515 (2004)
- 20) Saeki, M., Saito, Y., Jinno, H., Sai, K., Ozawa, S., Kurose, K., Kaniwa, N., Komamura, K., Kotake, T., Morishita, H., Kamakura, S., Kitakaze, M., Tomoike, H., Shirao, K., Tamura, T., Yamamoto, N., Kunitoh, H., Hamaguchi, T., Yoshida, T., Kubota, K., Ohtsu, A., Muto, M., Minami, H., Saijo, N., Kamatani, N. and Sawada, J.: *Pharmacogenomics J.*, 6: 63-75 (2006)
- 21) Ando, Y., Saka, H., Asai, G., Sugiura, S., Shimokata, K. and Kamataki, T.: *Ann. Oncol.*, 9, 845-847 (1998)
- 22) Iyer, L., Das, S., Janisch, L., Wen, M., Ramirez, J., Karrison, T., Fleming, G.F., Vokes, E.E., Schilsky, R.L. and Ratain, M.J.: *Pharmacogenomics J.*, 2, 43-47 (2002)
- 23) Ando, Y., Saka, H., Ando, M., Sawa, T., Muro, K., Ueoka, H., Yokoyama, A., Saitoh, S., Shimokata, K. and Hasegawa, Y.: *Cancer Res.*, 60, 6921-6926 (2000)
- 24) de Jong, F.A., de Jonge, M.J., Verweij, J. And Mathijssen, R.H.: *Cancer Lett.*, 234, 90-106 (2006)
- 25) Minami, H., Sai, K., Saeki, M., Saito, Y., Ozawa, S., Suzuki, K., Kaniwa, N., Sawada, J., Hamaguchi, T., Yamamoto, N., Shirao, K., Yamada, Y., Ohmatsu, H., Kubota, K., Yoshida, T., Ohtsu, A. and Saijo, N.: *Pharmacogenet. Genomics*, 17, 497-504 (2007)
- 26) Sai, K., Saito, Y., Sakamoto, H., Shirao, K., Kurose, K., Saeki, M., Ozawa, S., Kaniwa, N., Hirohashi, S., Saijo, N., Sawada, J. and Yoshida T.: *Cancer Lett.*, 261, 165-171 (2008)
- 27) Han, J.Y., Lim, H.S., Shin, E.S., Yoo, Y.K., Park, Y.H., Lee, J.E., Jang, I.J., Lee, D.H. and Lee, J.S.: *J. Clin. Oncol.*, 24, 2237-2244 (2006)
- 28) Kitagawa, C., Ando, M., Ando, Y., Sekido, Y., Wakai, K., Imaizumi, K., Shimokata, K. and Hasegawa, Y.: *Pharmacogenet. Genomics*, 15, 35-41 (2005)
- 29) Hoskins, J.M., Goldberg, R.M., Qu, P., Ibrahim, J.G. and McLeod, H.L.: *J. Natl. Cancer Inst.*, 99: 1290-1295 (2007)
- 30) 佐井君江, 澤田純一, 南博信: 薬学雑誌, 128, 575-584 (2008)
- 31) Sai, K., Saito, Y., Fukushima-Uesaka, H., Kurose, K., Kaniwa, N., Kamatani, N., Shirao, K., Yamamoto, N., Hamaguchi, T., Kunitoh, H., Ohe, Y., Tamura, T., Yamada, Y., Minami, H., Ohtsu, A., Yoshida, T., Saijo, N. and Sawada, J.: *Cancer Chemother. Pharmacol.*, 62, 529-537 (2008)
- 32) Han, J.Y., Lim, H.S., Shin, E.S., Yoo, Y.K., Park, Y.H., Lee, J.E., Kim, H.T. and Lee, J.S.: *Lung Cancer*, 59, 69-75 (2008)
- 33) Han, J.Y., Lim, H.S., Park, Y.H., Lee, S.Y., Lee, J.S.: *Lung Cancer*, in press (2008)
- 34) Yonemori, K., Ueno, H., Okusaka, T., Yamamoto, N., Ikeda, M., Saijo, N., Yoshida, T., Ishii, H., Furuse, J., Sugiyama, E., Kim, S.R., Kikura-Hanajiri, R., Hasegawa, R., Saito, Y., Ozawa, S., Kaniwa, N. and Sawada, J.: *Clin. Cancer Res.*, 11, 2620-2624 (2005)
- 35) Sugiyama, E., Kaniwa, N., Kim, S.R., Kikura-Hanajiri, R., Hasegawa, R., Maekawa, K., Saito, Y., Ozawa, S., Sawada, J., Kamatani, N., Furuse, J., Ishii, H., Yoshida, T., Ueno, H., Okusaka, T. and Saijo, N.: *J. Clin. Oncol.*, 25, 32-42 (2007)
- 36) Yue, L., Saikawa, Y., Ota, K., Tanaka, M., Nishimura, R., Uehara, T., Maeba, H., Ito, T., Sasaki, T. and Koizumi, S.: *Pharmacogenetics*, 13, 29-38 (2003)
- 37) Gilbert, J.A., Salavaggione, O.E., Ji, Y., Pelleymounter, L.L., Eckloff, B.W., Wieben, E.D., Ames, M.M. and Weinshilboum, R.M.: *Clin. Cancer Res.*, 12, 1794-1803 (2006)
- 38) Mercier, C., Raynal, C., Dahan, L., Ortiz, A., Evrard, A., Dupuis, C., Blesius, A., Duluc, M., Franceschini, F., Giacometti, S., Salas, S., Milano, G., Favre, R., Seitz, J.F. and Ciccolini, J.: *Pharmacogenet. Genomics*, 17, 841-844 (2007)
- 39) Mercier, C., Evrard, A. and Ciccolini, J.: *J. Clin. Oncol.*, 25, 4855 (2007)
- 40) Kaniwa, N., Sugiyama, E., Kim, S.R., Saito, Y.,

- Sawada, J., Furuse, J., Ishii, H., Yoshida, T., Ueno, H., Okusaka, T. and Saijo, N.: *J. Clin. Oncol.*, 25, 4855-4856, (2007)
- 41) Tibaldi, C., Giovannetti, E., Vasile, E., Mey, V., Laan, A.C., Nannizzi, S., Di Marsico, R., Antonuzzo, A., Orlandini, C., Ricciardi, S., Del Tacca, M., Peters, G.J., Falcone, A. and Danesi, R.: *Clin. Cancer Res.*, 15, 1797-1803 (2008)
- 42) Li, D., Frazier, M., Evans, D.B., Hess, K.R., Crane, C.H., Jiao, L. and Abbruzzese, J.L.: *J. Clin. Oncol.*, 24, 1720-1728 (2006)
- 43) Bruno, R., Olivares, R., Berille, J., Chaikin, P., J.R.: *Clin. Cancer Res.*, 9, 1077-1082 (2003)
- 44) Nakajima, Y., Yoshitani, T., Fukushima-Uesaka, H., Saito, Y., Kaniwa, N., Kurose, K., Ozawa, S., Aoyagi, N., Kamatani, N., Yamamoto, N., Kunitoh, H., Ohe, Y., Tamura, T., Yoshida, T., Minami, H., Saijo, N., Katori, N. and Sawada, J.: *Clin. Pharmacol. Ther.*, 80, 179-191 (2006)
- 45) Saito, Y., Katori, N., Soyama, A., Nakajima, Y., Yoshitani, T., Kim, S.R., Fukushima-Uesaka, H., Kurose, K., Kaniwa, N., Ozawa, S., Kamatani, N., Komamura, K., Kamakura, S., Kitakaze, M., Tomoike, H., Sugai, K., Minami, N., Kimura, H., Goto, Y., Minami, H., Yoshida, T., Kunitoh, H., Ohe, Y., Yamamoto, N., Tamura, T., Saijo, N. and Sawada, J.: *Pharmacogenet. Genomics*, 17, 461-471 (2007)
- 46) Berrieman, H.K., Lind, M.J., Cawkwell, L.: *Lancet Oncol.*, 5, 158-164 (2004)
- 47) Marsh, S., Paul, J., King, C.G., Gifford, G., McLeod, H.L. and Brown, R.: *J. Clin. Oncol.*, 25, 4528-4535 (2007)
- 48) van Kuilenburg, A.B., Muller, E.W., Haasjes, J., Meinsma, R., Zoetekouw, L., Waterham, H.R., Baas, F., Richel, D.J. and van Gennip, A.H.: *Clin. Cancer Res.*, 7, 1149-1153 (2001)
- 49) Raida, M., Schwabe, W., Häusler, P., Van Kuilenburg, A.B., Van Gennip, A.H., Behnke, D. and Höffken, K.: *Clin. Cancer Res.*, 7, 2832-2839, (2001)
- 50) Maekawa, K., Saeki, M., Saito, Y., Ozawa, S., Kurose, K., Kaniwa, N., Kawamoto, M., Kamatani, N., Hamaguchi, T., Shirao, K., Muto, M., Ohtsu, A., Yoshida, T., Matsumura, Y., Saijo, N. and Sawada, J.: *J. Hum. Genet.*, 52, 804-819 (2007)
- 51) Kaneda, S., Takeishi, K., Ayusawa, D., Shimizu, K., Seno, T. and Altman, S.: *Nucleic Acids Res.*, 15, 1259-1270 (1987)
- 52) Kawakami, K., Omura, K., Kanehira, E. and Watanabe, Y.: *Anticancer Res.*, 19, 3249-3252 (1999)
- 53) Kim, S.R., Ozawa, S., Saito, Y., Kurose, K., Kaniwa, N., Kamatani, N., Hamaguchi, T., Shirao, K., Muto, M., Ohtsu, A., Yoshida, T., Matsumura, Y., Saijo, N. and Sawada, J.: *Drug Metab. Pharmacokinet.*, 21, 509-516 (2006)
- 54) Mandola, M.V., Stoehlmacher, J., Muller-Weeks, S., Cesarone, G., Yu, M.C., Lenz, H.J. and Ladner, R.D.: *Cancer Res.*, 63, 2898-2904 (2003)
- 55) Villafranca, E., Okruzhnov, Y., Dominguez, M.A., García-Foncillas, J., Azinovic, I., Martínez, E., Illarramendi, J.J., Arias, F., Martínez Monge, R., Salgado, E., Angeletti, S. and Brugarolas, A.: *J. Clin. Oncol.*, 19, 1779-1786 (2001)
- 56) Pullarkat, S.T., Stoehlmacher, J., Ghaderi, V., Xiong, Y.P., Ingles, S.A., Sherrod, A., Warren, R., Tsao-Wei, D., Groshen, S. and Lenz, H.J.: *Pharmacogenomics J.*, 1, 65-70 (2001)
- 57) Kawakami, K. and Watanabe, G.: *Cancer Res.*, 63, 6004-6007 (2003)
- 58) Marcuello, E., Altés, A., del Rio, E., César, A., Menoyo, A. and Baiget, M.: *Int. J. Cancer*, 112, 733-737 (2004)
- 59) Ichikawa, W., Takahashi, T., Suto, K., Sasaki, Y. and Hirayama, R.: *Clin. Cancer Res.*, 12, 3928-3934 (2006)
- 60) Lu, J.W., Gao, C.M., Wu, J.Z., Cao, H.X., Tajima, K. and Feng, J.F.: *J. Hum. Genet.*, 51, 155-160 (2006)
- 61) Kawakami, K., Graziano, F., Watanabe, G., Ruzzo, A., Santini, D., Catalano, V., Bisonni, R., Arduini, F., Bearzi, I., Cascinu, S., Muretto, P., Perrone, G., Rabitti, C., Giustini, L., Tonini, G., Pizzagalli, F. and Magnani, M.: *Clin. Cancer Res.*, 11, 3778-3783 (2005)
- 62) Cohen, V., Panet-Raymond, V., Sabbaghian, N., Morin, I., Batist, G. and Rozen, R.: *Clin. Cancer Res.*, 9, 1611-1615 (2003)
- 63) Terrazzino, S., Agostini, M., Pucciarelli, S., Pasetto, L.M., Friso, M.L., Ambrosi, A., Lisi, V., Leon, A., Lise, M. and Nitti, D.: *Pharmacogenet. Genomics*, 16, 817-824 (2006)
- 64) Gurubhagavatula, S., Liu, G., Park, S., Zhou, W., Su, L., Wain, J.C., Lynch, T.J., Neuberg, D.S. and Christiani, D.C.: *J. Clin. Oncol.*, 22, 2594-2601 (2004)
- 65) Zhou, W., Gurubhagavatula, S., Liu, G., Park, S.,

- Neuberg, D.S., Wain, J.C., Lynch, T.J., Su, L. and Christiani, D.C.: *Clin. Cancer Res.*, 10, 4939-4943 (2004)
- 66) Suk, R., Gurubhagavatula, S., Park, S., Zhou, W., Su, L., Lynch, T.J., Wain, J.C., Neuberg, D., Liu, G. and Christiani, D.C.: *Clin. Cancer Res.*, 11, 1534-1538 (2005)
- 67) Quintela-Fandino, M., Hitt, R., Medina, P.P., Gamarra, S., Manso, L., Cortes-Funes, H. and Sanchez-Cespedes, M.: *J. Clin. Oncol.*, 24, 4333-4339 (2006)
- 68) Isla, D., Sarries, C., Rosell, R., Alonso, G., Domine, M., Taron, M., Lopez-Vivanco, G., Camps, C., Botia, M., Nuñez, L., Sanchez-Ronco, M., Sanchez, J.J., Lopez-Brea, M., Barneto, I., Paredes, A., Medina, B., Artal, A. and Lianes, P.: *Ann. Oncol.*, 15, 1194-203 (2004)
- 69) Ryu, J.S., Hong, Y.C., Han, H.S., Lee, J.E., Kim, S., Park, Y.M., Kim, Y.C. and Hwang, T.S.: *Lung Cancer*, 44, 311-316 (2004)
- 70) de las Penas, R., Sanchez-Ronco, M., Alberola, V., Taron, M., Camps, C., Garcia-Carbonero, R., Massuti, B., Queralt, C., Botia, M., Garcia-Gomez, R., Isla, D., Cobo, M., Santarpija, M., Cecere, F., Mendez, P., Sanchez, J.J. and Rosell, R.; Spanish Lung Cancer Group: *Ann. Oncol.*, 17, 668-675 (2006)
- 71) Stoehlmacher, J., Ghaderi, V., Iobal, S., Groshen, S., Tsao-Wei, D., Park, D., Lenz, H.J.: *Anticancer Res.*, 21, 3075-3079 (2001)
- 72) Stoehlmacher, J., Park, D.J., Zhang, W., Yang, D., Groshen, S., Zahedy, S. and Lenz, H.J.: *Br. J. Cancer*, 91, 344-54 (2004)
- 73) Park, D.J., Stoehlmacher, J., Zhang, W., Tsao-Wei, D.D., Groshen, S. and Lenz, H.J.: *Cancer Res.*, 61, 8654-8658 (2001)
- 74) Zimniak, P., Nanduri, B., Piku_a, S., Bandorowicz-Pikuła, J., Singhal, S.S., Srivastava, S.K., Awasthi, S. and Awasthi, Y.C.: *Eur. J. Biochem.*, 15, 224, 893-899 (1994) .
- 75) Watson, M.A., Stewart, R.K., Smith, G.B., Massey, T.E. and Bell, D.A.: *Carcinogenesis*, 19, 275-80 (1998)
- 76) Lo, H.W. and Ali-Osman, F.: *J. Biol. Chem.*, 272, 32743-32749 (1997)
- 77) Stoehlmacher, J., Park, D.J., Zhang, W., Groshen, S., Tsao-Wei, D.D., Yu, M.C. and Lenz, H.J.: *J. Natl. Cancer Inst.*, 19, 936-942 (2002).
- 78) Lecomte, T., Landi, B., Beaune, P., Laurent-Puig, P. and Lorient, M.A.: *Clin. Cancer Res.*, 12, 3050-3056 (2006)
- 79) Le Morvan, V., Smith, D., Laurand, A., Brouste, V., Bellott, R., Soubeyran, I., Mathoulin-Pelissier, S. and Robert J.: *Pharmacogenomics*, 8, 1693-1703 (2007)
- 80) McLeod, H.L. and Siva, C.: *Pharmacogenomics*, 3, 89-98 (2002)
- 81) Ando, M., Ando, Y., Hasegawa, Y., Sekido, Y., Shimokata, K. and Horibe, K.: *Pharmacogenetics*, 11, 269-273 (2001)
- 82) Ishioka, S., Hiyama, K., Sato, H., Yamanishi, Y., McLeod, H.L., Kumagai, K., Maeda, H. and Yamakido, M.: *Intern. Med.*, 38, 944-947 (1999)
- 83) Kubota, T. and Chiba, K.: *Br. J. Clin. Pharmacol.*, 51, 475-477 (2001)
- 84) Rieder, M.J., Reiner, A.P., Gage, B.F., Nickerson, D.A., Eby, C.S., McLeod, H.L., Blough, D.K., Thummel, K.E., Veenstra, D.L. and Rettie, A.E.: *N. Engl. J. Med.*, 352, 2285-2293 (2005)
- 85) Yuan, H.Y., Chen, J.J., Lee, M.T., Wung, J.C., Chen, Y.F., Charng, M.J., Lu, M.J., Hung, C.R., Wei, C.Y., Chen, C.H., Wu, J.Y. and Chen, Y.T.: *Hum. Mol. Genet.*, 14, 1745-1751 (2005)
- 86) Veenstra, D.L., You, J.H., Rieder, M.J., Farin, F.M., Wilkerson, H.W., Blough, D.K., Cheng, G., and Rettie, A.E.: *Pharmacogenet. Genomics*, 15, 687-691 (2005)
- 87) Obayashi, K., Nakamura, K., Kawana, J., Ogata, H., Hanada, K., Kurabayashi, M., Hasegawa, A., Yamamoto, K. and Horiuchi, R.: *Clin. Pharmacol. Ther.*, 80, 169-178 (2006)
- 88) Mushiroda, T., Ohnishi, Y., Saito, S., Takahashi, A., Kikuchi, Y., Saito, S., Shimomura, H., Wanibuchi, Y., Suzuki, T., Kamatani, N. and Nakamura, Y.: *J. Hum. Genet.*, 51, 249-253 (2006)
- 89) Takahashi, H., Wilkinson, G.R., Nutescu, E.A., Morita, T., Ritchie, M.D., Scordo, M.G., Pengo, V., Barban, M., Padriani, R., Ieiri, I., Otsubo, K., Kashima, T., Kimura, S., Kijima, S. and Echizen, H.: *Pharmacogenet. Genomics*, 16, 101-110 (2006)
- 90) The Human Cytochrome P450 (CYP) Allele Nomenclature Committee: CYP2 Family. CYP2C9 allele nomenclature. <http://www.cypalleles.ki.se/cyp2c9.htm>
- 91) Maekawa, K., Fukushima-Uesaka, H., Tohkin, M.,

- Hasegawa, R., Kajio, H., Kuzuya, N., Yasuda, K., Kawamoto, M., Kamatani, N., Suzuki, K., Yanagawa, T., Saito, Y. and Sawada, J.: *Pharmacogenet. Genomics*, 16: 497-514 (2006)
- 92) Chen, L.Y., Eriksson, N., Gwilliam, R., Bentley, D., Deloukas, P. and Wadelius, M.: *Blood*, 106, 3673-3674 (2005)
- 93) Loebstein, R., Vecsler, M., Kurnik, D., Austerweil, N., Gak, E., Halkin, H. and Almog, S.: *Clin. Pharmacol. Ther.*, 77, 365-372 (2005)
- 94) Aquilante, C.L., Langae, T.Y., Lopez, L.M., Yarandi, H.N., Tromberg, J.S., Mohuczy, D., Gaston, K.L., Waddell, C.D., Chirico, M.J. and Johnson, J.A.: *Clin. Pharmacol. Ther.*, 79, 291-302 (2006)
- 95) Wadelius, M., Chen, L.Y., Eriksson, N., Bumpstead, S., Ghorji, J., Wadelius, C., Bentley, D., McGinnis, R. and Deloukas, P.: *Hum. Genet.*, 121, 23-34 (2007)
- 96) Rieder, M.J., Reiner, A.P. and Rettie, A.E.: *J. Thromb. Haemost.*, 5, 2227-2234 (2007)
- 97) The Human Cytochrome P450 (CYP) Allele Nomenclature Committee: CYP2 Family. CYP2C19 allele nomenclature. <http://www.cypalleles.ki.se/cyp2c19.htm>
- 98) De Morais, S.M., Wilkinson, G.R., Blaisdell, J., Meyer, U.A., Nakamura, K. and Goldstein, J.A.: *Mol. Pharmacol.*, 46, 594-598 (1994)
- 99) Desta, Z., Zhao, X., Shin, J.G. and Flockhart, D.A.: *Clin. Pharmacokinet.*, 41, 913-958 (2002)
- 100) Furuta, T., Ohashi, K., Kamata, T., Takashima, M., Kosuge, K., Kawasaki, T., Hanai, H., Kubota, T., Ishizaki, T. and Kaneko, E.: *Ann. Intern. Med.*, 129, 1027-1030 (1998)
- 101) Tanigawara, Y., Aoyama, N., Kita, T., Shirakawa, K., Komada, F., Kasuga, M., Okumura, K.: *Clin. Pharmacol. Ther.*, 66, 528-534 (1999)
- 102) Furuta, T., Shirai, N., Sugimoto, M., Nakamura, A., Hishida, A. and Ishizaki, T.: *Drug Metab. Pharmacokinet.*, 20, 153-167 (2005)
- 103) Furuta, T., Ohashi, K., Kosuge, K., Zhao, X.J., Takashima, M., Kimura, M., Nishimoto, M., Hanai, H., Kaneko, E. and Ishizaki, T.: *Clin. Pharmacol. Ther.*, 65, 552-561. (1999)
- 104) Furuta, T., Shirai, N., Takashima, M., Xiao, F., Hanai, H., Sugimura, H., Ohashi, K., Ishizaki, T. and Kaneko, E.: *Clin. Pharmacol. Ther.*, 69, 158-168 (2001)
- 105) Furuta, T., Shirai, N., Kodaira, M., Sugimoto, M., Nogaki, A., Kuriyama, S., Iwaizumi, M., Yamade, M., Terakawa, I., Ohashi, K., Ishizaki, T. and Hishida, A.: *Clin. Pharmacol. Ther.*, 81, 521-528 (2007)
- 106) Linnet, K. and Wiborg, O.: *Clin. Pharmacol. Ther.*, 60, 41-47 (1996)
- 107) FDA: Drug-diagnostic co-development concept paper (draft) : <http://www.fda.gov/cder/genomics/pharmacoconceptfn.pdf> (April 8, 2005)
- 108) Galteau, M.M. and Sharma, F.: *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, 59, 713-733 (2003)