日本人における CYP2D6 の新しい変異の発見とその遺伝子診断

横井 毅^{*1} 小坂 康之^{*1} 中村 秀文^{*2}
千葉 寛^{*2} 石崎 高志^{*2} Frank J. Gonzalez^{*3}
鎌滝 哲也^{*1}

【緒言】

ヒトチトクロームP450の一分子種であるデブリソキン／スバルテイン型P450 (CYP2D6)は、多くの薬物の代謝に関与している。現在までに抗高血圧薬であるデブリソキン、プロパフェノンや β 遮断薬であるプロプラノロール、三環系抗鬱薬であるイミプラミンなど30種類以上の薬物が、CYP2D6の特異的基質となることが報告されている。CYP2D6には遺伝的にその代謝能が欠損している所謂 poor metabolizer (PM) が存在することが知られている。常用量の薬物服用でもPMでは高い血中濃度が維持され、効き過ぎ（副作用）が生じる。

CYP2D6の多型には人種差があり、PMの頻度は欧米白人では5～7%であるが、日本人では0.2～0.5%と非常に少ない。欧米白人のPMにおいて、すでに幾つかのCYP2D6遺伝子の変異・欠損（A-、B-、D-型）が報告されており、これらの変異・欠損により代謝能が著しく損なわれることが明らかにされている。しかし、我々はこれまでに、これらの変異は日本人には必ずし

も当てはまらないことを明らかにしてきた。本研究では、日本人における一名のPMとその両親のCYP2D6遺伝子を解析し、新しい変異を見い出した。さらに、その遺伝子診断法および日本人におけるこの変異の頻度を検討したので報告する。

【方法】

日本人の一名のPM [尿排Metabolic Ratio (デブリソキン未変化体／デブリソキン4-位水酸化体) = 31.6] とその両親の末梢血からゲノムDNAを調製し、サザンブロッティング法により変異の有無について検討した。さらに、CYP2D6遺伝子の塩基配列の解析を行なった。また、酵母発現系を用いて、変異遺伝子cDNAを導入した酵母発現蛋白の、プロパフェノン1'-水酸化酵素活性について検討を行なった。pAHH5発現ベクターおよび酵母AH22株を用いた。さらに、PMの家族および健常日本人300名のゲノムDNAについて、PCR法でこの遺伝子変異の検出を行なった。

【結果と考察】

PMおよびその両親のゲノムDNAについて、制限酵素 *Xba*Iを用いたサザンブロット分析により、PMの父親とPM本人はCYP2D6遺伝子のヘテロ欠損者(D-型)であることが明らかになった。さらに、A型（エクソン4のスプライス部位にお

^{*1} 北海道大学薬学部代謝分析

〒060 札幌市北区北12条西6丁目

^{*2} 国立国際医療センター研究所臨床薬理

^{*3} NCI, NIH, USA

Fig. 1. Nucleotide Sequence of the Nine Base Insertion in Exon 9 of CYP2D6 Gene in PM. Nine base, from 4213 to 4221, were inserted at the 4213 position of exon 9 in PM.

ける1塩基変異)とB型(エクソン5における1塩基欠損)について、既報のPCR法により検討したが、PMおよび両親はいずれの型でもなかった。次に、PMについて CYP2D6 遺伝子をクローニングし、全エクソン、エクソン-イントロン接合部の遺伝子配列を解析した結果、エクソン9のHR-2領域のN末端部位に、今までに報告のない9塩基の挿入を認めた(図1)。これはゲノムDNAで4213から4221番の9塩基と同一塩基配列の繰り返しであり、バリン、プロリン、スレオニンをコードしている。

この9塩基挿入変異によりペプチドの疎水性が高くなり、代謝活性に影響を及ぼすと考えられたため、酵母発現系を用いて検討を行なった。その結果、ブフラロール1'-水酸化酵素活性に対するKm値で比較すると、wild型 CYP2D6cDNA導入株は、ヒト肝マイクロゾームで

Fig. 2. Familial Study of Nine Base Insertion in Exon 9 by PCR

W, wild; I, 9 base insertion;
D, D-type (whole CYP2D6
gene deletion)

得られた値とはほぼ同程度の4.2 μ Mであったが、9塩基挿入変異cDNA導入株では200倍以上のKm値を示した。

エクソン9とイントロン9にプライマーを設定し、9塩基挿入部位をPCR法にて増幅することにより、シュドジーン(CYP2D7, CYP2D8)を避けて、特異的にこの変異の有無を判定することが出来た。この9塩基挿入変異はPMの母親にヘテロで認められ、母親からPMに遺伝していた。PMはD型変異と9塩基挿入変異を併せ持つことにより、代謝能が著しく低下したものと考えられた(図2)。健常日本人300名について変異の有無を検討した結果、4名にヘテロ型でこの変異が認められた。

以上の結果より、本変異は日本人に見いだされた新規の CYP2D6 遺伝子多型であり、この変異により CYP2D6 による酵素活性が著しく低下することが明らかになった。