新規 CYP2A6 遺伝子多型のハプロタイプおよび機能解析

清谷一馬^{*1}, 藤枝正輝^{*1}, 山崎浩史^{*1}, 島田力^{*2}, F. Peter Guengerich^{*2}, Andrew Parkinson^{*3}, 本田五郎^{*4}, 中川和子^{*5}, 石崎高志^{*5}, 鎌滝哲也^{*1}

【目的】CYP2A6 は臨床的にも毒性学的にも重要な CYP 分子種である。これまでに, *in vivo* および *in vitro* において CYP2A6 の活性には大きな個人差が存在することを明らかにしてきたが, その一部は現在までに報告されている既知の CYP2A6 遺伝子多型で説明することが可能である¹⁾。しかしながら, その個人差のすべてを既知の CYP2A6 遺伝子多型だけで説明することはできず, 新規 CYP2A6 遺伝子多型が存在する可能性が考えられる。そこで本研究では, 新規 CYP2A6 遺伝子多型を探索し, CYP2A6 の発現および酵素活性の個人差の原因を明らかにすることを目的とした。

【方法】日本人 33 名および欧米人 28 名の CYP2A6 遺伝子の全 9 エクソン, エクソン-イントロンジャンクション, 5'-上流および 3'-非翻訳領域をダイレクトシーケンシング法により網羅的に解析した。

【結果および考察】4 種類のアミノ酸置換 (G5R, S29N, K194E および R203S) を伴う変異 (13G>A, 86G>A, 2134A>G および 2161C>A), 1 種類の 5'-上流領域の変異 (-395G>A), 1 種類のサイレント変異 (3396G>A), 4 種類の 3'-非翻訳領域の変異および 11 種類のイントロン領域の変異の 21 種類の一塩基置換型多型を見出した (Fig. 1)²⁾。このうちアミノ酸置換を伴う変異および 5'-上流領域に存在する変異についてハプロタイプ構造を決定した。13G>A および 2134A>G は CYP2A6*9 として報告されている -48T>G と完全に連鎖していた。-395G>A は 3'-非翻訳領域における CYP2A7 遺伝子との置換型変異 (CYP2A6*1B) と連鎖していた。この結果, 5 種類の新規 CYP2A6 ハプロタイプを見出した (CYP2A6*1C および *13-*16) (Table 1)。

さらに, 日本人 380 検体および欧米人 204 検体のゲノム DNA を用いて詳細な頻度を解析した。

Fig. 1. Genetic polymorphisms of the CYP2A6 gene. Single nucleotide polymorphisms (SNPs) newly identified in this study were underlined.

Table 1 Haplotype Analysis of Novel CYP2A6 Genetic Polymorphisms

Allele	Nucleotide substitutions	Amino acid changes
CYP2A6*1C	-395G>A; 51A>G; gene conversion in 3'-UTR	—
CYP2A6*13	-48T>G; 13G>A; 51A>G	Gly5Arg
CYP2A6*14	86G>A	Ser29Asn
CYP2A6*15	-48T>G; 22C>T; 51A>G; 2134A>G	Lys194Glu
CYP2A6*16	51A>G; 2161C>A	Arg203Ser

Additional SNPs, where the haplotype has not yet been determined

1620T>C, 1836G>T, 1874G>T, 1890G>C, 2026C>T, 3396G>A, 3570C>G, 4489C>T, 4932C>A, 5336G>A, 6282A>G, 6354T>C, 6692C>G, 6782C>G, 6832A>G, 6835C>A

CYP2A6*13 および *15 は日本人検体のみに, *1C, *14 および *16 は欧米人検体のみに存在しており, これらのハプロタイプ頻度には人種差が存在することが明らかとなった。

大腸菌発現系を樹立し, CYP2A6*15 および *16 の機能解析を行った。CYP2A6.15 および CYP2A6.16 のクマリン 7-水酸化酵素活性およびニコチン C-酸化酵素活性における V_{max}/K_m 値は野生型の約半分であった。以上の結果から, 新規遺伝子多型は CYP2A6 酵素活性を低下させ, 薬物体内動態の個人差の原因となりうる事が明らかとなった。

【文献】

1) Kiyotani K, Yamazaki H, Fujieda M, Iwano S, *et al.* Decreased Coumarin 7-Hydroxylase Activities and CYP2A6 Expression Levels in Humans Caused by Genetic Polymorphism in CYP2A6 Promoter Region (CYP2A6*9). *Pharmacogenetics* 2003; 13: 689-695.

2) Kiyotani K, Fujieda M, Yamazaki H, Shimada T, Guengerich FP, Parkinson A, Nakagawa K, Ishizaki T, and Kamataki T. Twenty One Novel Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs) of the CYP2A6 Gene in Japanese and Caucasians. *Drug Metab. Pharmacokinet.* 2002; 17: 482-487.

*1 北海道大学大学院 薬学研究科 代謝分析学
〒060-0812 札幌市北区北 12 条西 6 丁目

*2 Department of Biochemistry and Center in Molecular Toxicology, Vanderbilt University School of Medicine

*3 XenoTech

*4 済生会熊本病院

*5 熊本大学大学院 医学薬学研究部 薬物治療学