

原著

抗てんかん薬の epoxide hydrolase および glutathione S-transferase 活性に対する作用

Effects of Antiepileptic Drugs on Epoxide Hydrolase and Glutathione S-transferase Activities

時 永 昇*

要旨：抗てんかん薬 (antiepileptic drugs: AED) の催奇性の機序解明の一環として、胎児毒性との関連が指摘されている epoxide 体の加水分解酵素 epoxide hydrolase (EH) および抱合酵素 glutathione S-transferase (GST) の両酵素活性に与える carbamazepine (CBZ)、phenobarbital (PB)、phenytoin (PHT)、valproic acid (VPA)、zonisamide (ZNS) の影響を検討した。ラット肝マイクロゾームを用いて両酵素の活性を各 AED の影響下で対照群と比較検討したところ、VPA は EH および GST (2-2、4-4、7-7) 活性を治療濃度 (50~100 $\mu\text{g/ml}$) より濃度依存性に抑制し、CBZ (10 $\mu\text{g/ml}$) および PB (40 $\mu\text{g/ml}$) は治療濃度より GST 7-7 活性を有意に抑制した。一方、PHT および ZNS は EH、GST の両酵素活性に対し治療濃度では影響を与えなかった。以上の結果から、VPA、CBZ および PB を含む多剤併用時の奇形発現の増加の一因として、これらの薬剤による epoxide 解毒機構の低下が関与する可能性が示唆された。

てんかん研究 1997; 15: 165-171

Key Words: antiepileptic drug, teratogenicity, epoxide, epoxide hydrolase, glutathione S-transferase

(受付: 1997年3月24日、第1回訂正: 1997年4月21日、第2回訂正: 1997年5月14日、受理: 1997年5月14日)

序 論

てんかんの治療の著しい進歩に伴い、てんかん患者の quality of life に焦点が向けられるようになり、多くの患者は結婚・妊娠・出産を望むようになった。このため、女性てんかん患者の治療においては、このような点に配慮した適切な指導・対処を行うことが臨床医に望まれている。妊娠中に抗てんかん薬 (AED) を中止することは流産・

胎児仮死の危険性を招来するため、原則として妊娠中も継続的な服薬を行うことが一般的である。しかしながら、てんかん妊婦においては一般対照群と比較して児に奇形発現率が高いことが報告されており、さらには、てんかん妊婦においても、AED 服用群での奇形発現率 (11.1%) は非服用群 (5.7%) と比較して高率であることが指摘されている¹⁾。このため、てんかん妊婦の児における奇形発現のリスクに関与する因子として AED の催奇

* 弘前大学医学部神経精神医学
〔〒036 弘前市在府町5〕

Noboru Tokinaga

Department of Neuropsychiatry, Hirosaki University School of Medicine

性をもっとも重視されている²⁾。

AEDの中では、valproic acid (VPA) による奇形発現が投与量または血中濃度依存性であることが報告されており³⁻⁵⁾、また、VPA+carbamazepine (CBZ) あるいは barbiturates+CBZ and/or phenytoin (PHT) の併用療法により奇形発現頻度が増加することが指摘されている^{3,6)}。このため、臨床的には妊娠中の AED 使用について催奇性予防の観点から幾つかの留意すべきガイドラインが挙げられてきたが⁷⁾、一方で、このような AED の濃度依存性の奇形発現頻度増加やある種の AED の組み合わせによる催奇性の増強についての十分な機序解明がなされてきたとは言い難いのが現状である。

こうした中で、AED の催奇性発現機序の一つとして、薬物の代謝過程で生じる epoxide 体の関与が想定されている⁸⁾。この epoxide 体が解毒されないと細胞内高分子物質 (DNA、RNA、蛋白など) に共役結合し、細胞壊死、腫瘍、奇形が発生するとされている^{8,9)}。肝における cytochrome P450 monooxygenase は epoxide 体の産生に関与し、いくつかの AED は本酵素を誘導することが知られている^{10,11)}。また、epoxide 体の加水分解酵素である epoxide hydrolase (EH) や種々の毒性物質の抱合反応を触媒する glutathione S-transferase (GST) は epoxide 体の解毒機構として重要と考えられており、これらの酵素活性の低下は epoxide 体の増加を招来し、AED の催奇性を増強する可能性がある。

そこで、本研究では、AED の奇形発現機序解明の一環として、PTH、phenobarbital (PB)、CBZ、zonisamide (ZNS)、VPA などの AED が epoxide 体代謝に関与する EH、GST の両酵素活性に与える影響について同一基質を用いて比較検討を行った。

方 法

1. 使用薬物およびその濃度範囲

実験に用いた AED およびその濃度範囲は、PHT (20~1,000 $\mu\text{g/ml}$)、PB (40~2,000 $\mu\text{g/ml}$)、CBZ (10~500 $\mu\text{g/ml}$)、ZNS (40~2,000 $\mu\text{g/ml}$)、VPA (50~5,000 $\mu\text{g/ml}$) であり、それぞ

れの薬物の各濃度範囲における EH および GST 活性を測定した。また、水溶性の VPA を除き、疎水性の CBZ、PB、PHT、ZNS は dimethylsulfoxide (DMSO) に溶解し、DMSO をこれらの 4 剤の control とした。

2. 組織標本調整

1) マイクロゾーム: Wistar 系ラット肝臓を摘出し、8 倍容量の 0.25 M sucrose/5 mM Tris-HCl (pH 7.4)/0.1 mM EDTA を加え、テフロン軸頭を持つ Potter-Elvehjem 型ホモジナイザーにてホモジナイズした後、7,000 \times g で 10 分間遠心した。得られた上清にさらに 77,000 \times g で 1 時間の超遠心を加え、沈渣は、前述した buffer にて懸濁し、マイクロゾーム分画として使用した¹²⁾。

2) GST isozymes: ラット肝臓から、アフィニティーカラム、クロマトフォーカシング法を用いて、GST を以下の isozyme、すなわち GST 1-1、GST 2-2、GST 3-3、GST 4-4、GST 7-7 に、それぞれ精製分離した^{13,14)}。

3. 酵素活性の測定

1) EH 活性: EH の活性測定は Watabe らの方法¹⁵⁾を用いて行った。すなわちマイクロゾーム懸濁液を 0.1 M リン酸緩衝液 (pH 7.4) で希釈し、1.5 ml とした後、前述した既知各濃度範囲の各 AED を加え、37°C にて 5 分間プレインキュベートした。これに EH の基質である 50 μM 7-Glycidoxycoumarin (GOC) 溶液 1 ml を添加し、EH による 7-(2', 3'-dihydroxy propoxycoumarin (DHC) への代謝反応を開始した。20 分後、ベンゼン 6 ml を加え攪拌し、10 分間振とう後、2,000 rpm にて 10 分間遠心し、GOC を含んだベンゼン層を吸引除去した。この操作を再度 1 回繰り返し、基質である GOC を完全に除去した後、水層に存在する GOC 生成物である DHC を 0.1 M リン酸緩衝液 (pH 7.4) で希釈し、励起波長 328 nm、蛍光波長 388 nm における蛍光強度を Fluorescence Spectrophotometer (HITACHI: F 2000) にて測定した。

2) GST 活性: GST 活性は Habig ら¹⁶⁾の方法に従って測定し、glutathione (GST) を第一基質、および 1-chloro-2, 4-dinitrobenzene (CDNB) を第二基質とし、glutathione 抱合体を分光光度計

Table 1 Effects of PHT, PB, CBZ, ZNS and VPA on the activity of epoxide hydrolase in liver microsome of Wistar rats

PHT ($\mu\text{g/ml}$)		PB ($\mu\text{g/ml}$)		CBZ ($\mu\text{g/ml}$)		ZNS ($\mu\text{g/ml}$)		VPA ($\mu\text{g/ml}$)	
control	100.0 \pm 0.9	control	100.0 \pm 0.9	control	100.0 \pm 0.9	control	100.0 \pm 0.9	control	100.0 \pm 4.6
20	109.9 \pm 3.1	40	100.2 \pm 3.9	10	99.1 \pm 5.5	40	101.7 \pm 3.0	50	97.0 \pm 5.2
200	103.9 \pm 2.4	400	95.3 \pm 1.0*	100	95.4 \pm 1.1*	400	98.2 \pm 2.2	100	84.2 \pm 6.5**
1,000	97.7 \pm 3.2	2,000	95.3 \pm 1.1*	500	95.3 \pm 1.0*	2,000	97.5 \pm 1.9	500	80.4 \pm 2.4**
								1,000	78.4 \pm 2.4**
								2,500	75.8 \pm 3.1**
								5,000	71.0 \pm 3.2**

PHT : phenytoin, PB : phenobarbital, CBZ : carbamazepin, ZNS : zonisamide, VPA : valproic acid. Values are expressed as % control (mean \pm SD, n=6).

The asterisks indicate significant difference from each control value (* : p<0.05, ** : p<0.01).

Table 2 Effects of PHT, PB, CBZ and ZNS on the activities of GST isozymes in liver microsome of Wistar rats

		GST 1-1	GST 2-2	GST 3-3	GST 4-4	GST 7-7
PHT	control	100.0 \pm 7.5	100.0 \pm 3.0	100.0 \pm 4.2	100.0 \pm 4.3	100.0 \pm 0.0
	20 $\mu\text{g/ml}$	132.5 \pm 8.7	104.2 \pm 3.5	102.3 \pm 1.1	108.7 \pm 5.3	104.4 \pm 0.9
	200 $\mu\text{g/ml}$	112.3 \pm 1.0	101.3 \pm 2.7	98.3 \pm 4.5	98.5 \pm 3.3	92.1 \pm 0.5
	1,000 $\mu\text{g/ml}$	113.6 \pm 11.3	123.0 \pm 2.4	96.4 \pm 5.0	116.2 \pm 3.0	100.3 \pm 7.9
PB	control	100.0 \pm 9.8	100.0 \pm 3.4	100.0 \pm 8.3	100.0 \pm 3.3	100.0 \pm 13.5
	40 $\mu\text{g/ml}$	116.5 \pm 8.4	96.4 \pm 2.1	91.3 \pm 1.7	105.3 \pm 1.5	76.8 \pm 0.8*
	400 $\mu\text{g/ml}$	95.4 \pm 3.0	91.4 \pm 4.7	86.3 \pm 3.0**	103.3 \pm 7.2	82.2 \pm 1.7*
	2,000 $\mu\text{g/ml}$	67.0 \pm 1.5**	81.9 \pm 1.9**	82.5 \pm 3.8**	98.3 \pm 2.2	71.6 \pm 1.7**
CBZ	control	100.0 \pm 8.2	100.0 \pm 3.5	100.0 \pm 5.2	100.0 \pm 3.3	100.0 \pm 13.5
	10 $\mu\text{g/ml}$	111.2 \pm 5.0	103.1 \pm 1.7	105.2 \pm 2.5	96.3 \pm 2.5	74.0 \pm 1.4*
	100 $\mu\text{g/ml}$	112.2 \pm 1.2	102.8 \pm 4.1	94.8 \pm 2.5	102.8 \pm 0.5	73.5 \pm 1.4*
	500 $\mu\text{g/ml}$	92.9 \pm 1.6	86.0 \pm 3.9**	67.8 \pm 3.0**	61.2 \pm 0.8**	70.8 \pm 4.7**
ZNS	control	100.0 \pm 7.8	100.0 \pm 3.4	100.0 \pm 4.2	100.0 \pm 4.3	100.0 \pm 7.8
	40 $\mu\text{g/ml}$	124.2 \pm 2.5	100.0 \pm 2.4	99.5 \pm 5.1	96.5 \pm 2.5	104.1 \pm 4.0
	400 $\mu\text{g/ml}$	114.1 \pm 6.7	98.8 \pm 2.9	94.8 \pm 6.0	104.4 \pm 3.8	101.0 \pm 1.6
	2,000 $\mu\text{g/ml}$	96.9 \pm 2.9	92.0 \pm 2.1*	94.0 \pm 4.3	92.6 \pm 3.8	95.5 \pm 2.0

PHT : phenytoin, PB : phenobarbital, CBZ : carbamazepin, ZNS : zonisamide, GST : glutathione S-transferase, Values are expressed as % control (mean \pm SD, n=6).

The asterisks indicate significant difference from each control value (* : p<0.05, ** : p<0.01).

(HITACHI : 100-10)を用い、測定波長を 340 nm とし、室温 30°Cにて測定した。角型 1 cm の石英セルに 0.2 M リン酸緩衝液 (pH 6.5) 0.5 ml、10 mM GSH 0.1 ml、蒸留水 0.1 ml、各既知濃度の薬剤を加えた溶解液 0.1 ml (VPA 測定時には蒸留水、他は DMSO)、酵素液 (GST) 0.1 ml を混合し、10 mM CDNB 0.1 ml を混入後、1-2 分間の吸光度の変化を測定した。酵素液の濃度はコン

トロール群の吸光度変化の傾きが 45 度を示す程度に希釈して用いた。

4. 統計解析

各 AED について、control 値を 100%として各濃度範囲における EH および GST の活性を比較検討し、統計には Dunnett の多重比較を用い、p < 0.05 を有意とした。

なお本研究は「大学等における動物実験の実地

Table 3 Effects of VPA on the activities of GST isozymes in liver microsome of Wistar rats

	GST 1-1	GST 2-2	GST 3-3	GST 4-4	GST 7-7
control	100.0±3.6	100.0±2.9	100.0±2.8	100.0±4.8	100.0±4.1
50 µg/ml	98.2±1.9	95.4±1.6	98.5±2.7	86.3±7.9**	89.6±3.7**
100 µg/ml	93.0±1.2	91.3±3.4*	96.8±4.9	72.5±3.0**	86.4±1.4**
500 µg/ml	79.0±5.8**	79.2±3.2**	114.4±4.2	66.5±0.6**	85.7±2.6**
1,000 µg/ml	70.3±2.9**	66.6±2.7**	123.3±5.3	57.9±1.2**	81.1±2.7**
2,500 µg/ml	47.6±2.3**	45.3±2.9**	117.8±16.0	47.0±0.6**	72.1±1.3**
5,000 µg/ml	28.0±2.1**	29.2±1.6**	98.5±3.1	36.5±1.0**	55.7±0.9**

VPA : valproic acid, GST : glutathione S-transferase. Values are expressed as % control (mean ± SD, n=6).

The asterisks indicate significant difference from each control value (*: p<0.05, **: p<0.01).

Concentration-dependent inhibitory effects in the activities of GST 1-1, 2-2, 4-4 and 7-7.

に関する基本的な考え方(日本学術審議会)の指針に基づいて、実験計画を立案し、適正な動物実験が施行された。

結 果

1. 各 AED の EH 活性に与える影響

Table 1 に各濃度範囲における CBZ、PB、PHT、ZNS および VPA の 5 剤の EH 活性に与える影響を図示した。いずれの薬剤においても、治療濃度では EH 活性には有意な影響を与えず、PB および CBZ において治療濃度の 10 倍以上の高濃度域より抑制効果が認められたみであった。一方、VPA においては治療濃度域上限 (100 µg/ml) より EH 活性の有意な低下 (P<0.01) が認められ、濃度依存性の抑制効果を示した。

2. 各 AED の GST 活性に与える影響

Table 2 に各濃度範囲における CBZ、PB、PHT および ZNS の GST 各 isozyme の酵素活性に与える影響をまとめた。

治療濃度において、PHT (20 µg/ml) および ZNS (40 µg/ml) は、検討したすべての GST isozyme (1-1、2-2、3-3、4-4、7-7) の活性に対し抑制効果を示さなかった。一方、PB および CBZ は、各々の治療濃度である 40 µg/ml および 10 µg/ml より GST 7-7 活性を有意に抑制した (P<0.05)。また、VPA は GST 3-3 を除くすべての isozyme (GST 1-1、2-2、4-4、7-7) の活性を濃度依存性に抑制し、とくに、GST 2-2 (P<0.05)、4-4 (P<0.01)、7-7 (P<0.01) の活性

については治療濃度域においても有意な抑制効果を示した (Table 3)。

考 察

Martz ら⁹⁾は PHT の epoxide 体の催奇性への関与を動物実験において検討し、EH の抑制により生じる epoxide 体の増加は胎児および胎盤組織への epoxide 体による共役結合を促進し、結果として PHT による奇形発現を増加させることを指摘した。また、Finnell は¹⁷⁾は epoxide 体産生に関与する cytochrome P-450 enzymes の阻害薬である stiripentol の併用により PHT に被曝したマウスの奇形発現が減少することを報告した。ヒトにおいては、Buehler ら¹⁸⁾が fetal phenytoin syndrome の児を出産した母体の amniocyte で EH 活性が有意に低下していることを示した。これらの報告はいずれも PHT の催奇性に epoxide 体の産生・解毒機構の変動が関与する可能性を示唆するものと考えられる。

一方、PHT 以外の AED においても、CBZ、PB、primidone (PRM)、methylphenobarbital (MPB) などがそれらの代謝過程で中間代謝産物として細胞毒性を有す可能性のある epoxide 体を生じ^{19,20)}、これらが AED の催奇性発現の機序に何らかの関与をするのではないかと考えられてきた。Epoxide 体は肝マイクロゾームに局在する cytochrome P-450 monooxygenase により産生され、EH による加水分解や GST による glutathione 抱合を受け、不活化される (Fig.1)^{8-11,19-22)}。この

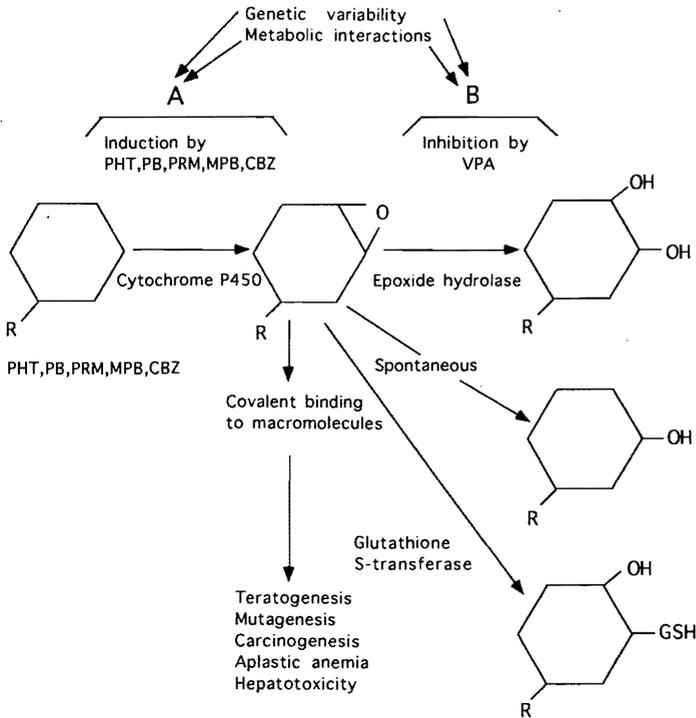


Fig. 1 Schematic representation of epoxide formation (A) and detoxification (B) influenced by genetic factors and metabolic interactions in antiepileptic drug treatment.

PHT : phenytoin, PB : phenobarbital, PRM : primidone, MPB : methylphenobarbital, CBZ : carbamazepine, VPA : valproic acid, GSH : glutathione (文献 8~11, 19~22) から作成)

ため、何らかの原因による epoxide 体の産生の亢進や代謝・排泄の低下は結果として epoxide 体の蓄積を招来するものと考えられる。PTH、CBZ、PB、PRM、MPB など酵素誘導作用を有す AED は cytochrome P-450 enzymes を誘導し^{10,11)}、epoxide 体の産生を促進するものと考えられ、これらの AED の使用または併用時の奇形発現増加の機序に関与する可能性が考えられる。一方、VPA や valpromide は CBZ との相互作用において CBZ-10, 11-epoxide の血中濃度を上昇させることが知られており^{21,22)}、その機序として VPA や valpromide が epoxide 体の代謝に対し阻害的にはたらくことが想定されている。しかしながら、epoxide の解毒機構に関わる代謝酵素である EH および GST に与える種々の AED の影響を比較検討した報告はなされていないのが現状である。

今回の研究では、治療濃度域を含めた様々な濃度範囲を設定し、各 AED における EH および GST 活性を比較検討した。その結果、VPA は治療濃度域より濃度依存性に EH 活性を抑制し、VPA が epoxide 体を上昇せしめた過去の報

告^{21,22)}を支持する結果となった。また、VPA は GST (2-2、4-4、7-7) に対しても、治療濃度域よりその活性を抑制し、CBZ、PB も治療濃度域より GST 7-7 活性に対して抑制作用を示した。したがって、VPA、CBZ および PB を含めた多剤併用時には epoxide 体の解毒機構は低下し、epoxide 体の蓄積が起こる可能性が考えられる。しかも、治療濃度域で、VPA、CBZ および PB に共通して阻害効果が見られた GST 7-7 は特に胎盤に多く分布するとされている^{23,24)}。これらを総合すると、VPA、CBZ、PB を含めた AED の併用療法における奇形発現の機序には epoxide 体の増加が関与する可能性があると考えられる。また、VPA に関しては、臨床的に奇形発現率が濃度依存性に上昇することが指摘されているが^{4,5)}、今回の研究における EH および GST 活性に対する抑制効果も濃度依存性の増強をみており、両者の間の相互的な関連性についても注目されよう。

実際に、これまでの疫学的研究において、AED の多剤併用の中でも奇形発現率の高いとされる組み合わせは、Lindhout ら²⁵⁾によると VPA+

CBZ+PB±PHT、Kanekoら^{3,6)}によるとVPA+CBZおよびbarbiturates+CBZ and/or PHTと報告されている。これらの併用はmaternal compoundの催奇性に加え、前述した中間代謝産物であるepoxide体の増加による催奇性が相乗的に作用し、奇形発現に促進的にはたらく可能性が示唆される。今回の結果は、このような催奇性増強の機序が関与する可能性を裏づけるものであり、これらを念頭において、妊娠可能な女性てんかん患者に対するAEDの投与量および組み合わせを慎重に考慮すべきと考えられた。

本稿を終えるにあたり、御指導、御助言を賜りました弘前大学第二生化学教室 佐藤公彦助教授、東京薬科大学第二衛生化学教室 平塚 明助教授、ご校閲ならびに多大なご助言をいただいた弘前大学医学部神経精神医学教室 兼子 直教授に深く感謝いたします。

文 献

- 1) Kaneko S. Antiepileptic drug therapy and reproductive consequences: Functional and morphologic effects. *Reprod Toxicol* 1991; 5: 179-198.
- 2) Kaneko S, Otani K, Kondo T, Fukushima Y, Nakamura Y, Ogawa Y, et al.: Malformation in infants of mothers with epilepsy receiving antiepileptic drugs. *Neurology* 1992; 42 Suppl 5: 68-74.
- 3) 兼子 直, Battino D, Andermann E, 福島 裕, 菅るみ子, 武田明夫, ら. 抗てんかん薬による奇形発現の機序に関する研究—国際共同研究—. てんかん治療研究振興財団研究年報 1993; 5: 191-199.
- 4) Kaneko S, Kondo T. Antiepileptic agents and birth defects. *CNS Drugs* 1995; 3: 41-55.
- 5) Kondo T, Kaneko S. Teratogenicity of valproate: pharmacokinetic aspects. *Eur J Neurol* 1995; 2 Suppl 4: 41-45.
- 6) Kaneko S, Otani K, Fukushima Y, Ogawa Y, Nomura Y, Ono T, et al. Teratogenicity of antiepileptic drugs: analysis of possible risk factors. *Epilepsia* 1988; 29: 459-467.
- 7) Commission on Genetics, Pregnancy, and the Child, International League Against Epilepsy. Guidelines for the care of women of childbearing age with epilepsy. *Epilepsia* 1993; 34: 588-589.
- 8) Martz F, Failinger C III, Blake DA. Phenytoin teratogenesis: correlation between embryopathic effect and covalent binding of putative arene oxide metabolite in gestational tissue. *J Pharmacol Exp Ther* 1977; 203: 231-239.
- 9) Nebert DW, Jensen NM. The Ah locus: Genetic regulation of the metabolism of carcinogens, drugs, and other environmental chemicals by cytochrome P-450 mediated monooxygenases. *CRC Crit Rev Biochem* 1979; 6: 401-437.
- 10) Kerr BM, Thummel KE, Wurden CJ, Klein SM, Kroetz DL, Gonzalez FJ, et al. Human liver carbamazepine metabolism. *Biochem Pharmacol* 1994; 47: 1969-1979.
- 11) Shaw PM, Houston JB, Rowland M, Hopkins K, Thiercelin JF, Morselli PL. Antipyrine metabolite kinetics in healthy human volunteers during multiple dosing of phenytoin and carbamazepine. *Br J Clin Pharmacol* 1985; 20: 611-618.
- 12) Palade GE, Siekevitz P. Liver microsomes. *J Biophys Biochem Cytol* 1956; 2: 171-200.
- 13) Mannervik B, Jensson H. Binary combinations of four protein subunits with different catalytic specificities explain the relationship between six basic glutathione S-transferases in rat liver cytosol. *J Biol Chem* 1982; 257: 9909-9912.
- 14) Satoh K, Kitahara A, Soma Y, Inaba Y, Hatayama I, Sato K. Purification, induction, and distribution of placental glutathione transferase: A new marker enzyme for preneoplastic cells in the rat chemical hepatocarcinogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1985; 82: 3964-3968.
- 15) Watabe T, Ozawa N, Ishii H, Chiba K, Hiratsuka A. Hepatic microsomal cholesterol epoxide hydrolase: Selective inhibition by detergents and separation from xenobiotic epoxide hydrolase. *Biophys Res Commun* 1986; 140: 632-637.
- 16) Habig WH, Pabst MJ, Jakoby WB. Glutathione S-transferase. *J Biol Chem* 1974; 249: 7130-7139.
- 17) Finnell RH, Kerr BM, Van Waes M, Steward RL, Levy RH. Protection from phenytoin-induced congenital malformations by coadministration of the antiepileptic drug stripentol in a mouse model. *Epilepsia* 1994; 35: 141-148.
- 18) Buehler BA, Delimont D, Van Waes M, Finnell RH. Prenatal prediction of risk of the fetal hydantoin syndrome. *N Engl J Med* 1990; 322: 1567-1572.
- 19) Anderson GD, Levy RH. Phenytoin: Chemistry and biotransformation. In: Levy RH, Mattson RH, Meldrum BS, eds. *Antiepileptic drugs*. 4th ed. New York: Raven Press, 1995: 371-377.
- 20) Frigerio A, Fanelli R, Biandrate P, Passerini G, Morselli PL, Garattini S. Mass spectrometric char-

- acterization of carbamazepine-10, 11-epoxide, a carbamazepine metabolite isolated from human urine. *J Pharm Sci* 1972 ; 61 : 1144-1147.
- 21) Pisani F, Fazio A, Oteri G, Ruello C, Gitto C, Russo F, et al. Sodium valproate and valpromide : Differential interactions with carbamazepine in epileptic patients. *Epilepsia* 1986 ; 27 : 548-552.
- 22) Svinarov DA, Pippenger CE. Valproic acid-carbamazepine interaction : Is valproic acid a selective inhibitor of epoxide hydrolase ? *Ther Drug Monit* 1995 ; 17 : 217-220.
- 23) Moscow JA, Fairchild CR, Madden MJ, Ransom DT, Wieand HS, O'Brien EE, et al. Expression of anionic glutathione S-transferase and P-glycoprotein genes in human tissues and tumors. *Cancer Res* 1989 ; 49 : 1422-1428.
- 24) Tateoka N, Tsuchida S, Soma S, Sato K. Purification and characterization of glutathione S-transferase in human kidney. *Clin Chim Acta* 1987 ; 166 : 207-218.
- 25) Lindhout D, Hoppener RJE, Meinardi H. Teratogenicity of antiepileptic drug combinations with special emphasis on epoxidation (of carbamazepine) *Epilepsia* 1984 ; 25 : 77-83.

Summary

Effects of Antiepileptic Drugs on Epoxide Hydrolase and Glutathione S-transferase Activities

Noboru Tokinaga

Epoxide hydrolase (EH) and glutathione S-transferase (GST) are involved in the detoxification of epoxide, which may be attributable to the mechanism of teratogenicity of antiepileptic drugs (AEDs). In this study, such AEDs as phenytoin (PHT), phenobarbital (PB), carbamazepine (CBZ), zonisamide (ZNS) and valproic acid (VPA) on the activities of these enzymes were investigated using rat liver microsomes. Within respective therapeutic concentrations, PHT, PB, CBZ and ZNS did not affect EH activity while VPA showed a concentration-dependent inhibitory effect on EH activity at 100 $\mu\text{g/ml}$ or more. Regarding the activities of GST isozymes, PHT and ZNS did not affect the activities at any concentrations studied while CBZ (10 $\mu\text{g/ml}$ or more) and PB (40 $\mu\text{g/ml}$ or more) inhibited GST 7-7 activity. VPA showed concentration-dependent inhibitory effects on activities of GST 1-1, 2-2, 4-4 and 7-7 at 100 $\mu\text{g/ml}$ or more. These results may partly explain the increased incidences of malformation in offspring exposed to AED polytherapy including VPA, CBZ and PB through the accumulation of epoxide intermediates of AEDs.

J. Jpn. Epil. Soc. 1997 ; 15 : 165-171

(received : March 24, 1997, 1st revised : April 21, 1997,
2nd revised : May 14, 1997, accepted : May 14, 1997)