

原著

## 下北半島過疎地域在住高齢者における CYP2C19 遺伝子変異頻度の検討

石澤 幸 男<sup>1,4)</sup> 高畑 武 功<sup>2)</sup> 古 郡 規 雄<sup>2)</sup>  
齊 藤 正 人<sup>3)</sup> 佐々木 睦 男<sup>1)</sup> 立 石 智 則<sup>2)</sup>

**抄録** 内因性や外因性物質の酸化代謝を担うチトクローム P450 (CYP) は複数の酵素からなる酵素群であり、その分子種である 2C19 (CYP2C19) は diazepam や omeprazole など多くの薬物の代謝酵素として知られる。生体内 CYP2C19 活性には遺伝的多型性があり、日本人の酵素活性欠損者は CYP2C19\*2 もしくは\*3 の変異遺伝子を有する。これまでの青森地域の ABO 式血液型の頻度分布や東北地方出身者における CYP2C19PM の頻度を検討した報告では青森県出身者と他地域出身者において CYP2C19PM の頻度や変異遺伝子頻度が異なる可能性を示唆している。そこで今回下北半島の過疎地である川内町在住高齢者の CYP2C19 変異遺伝子の頻度を検討し、これまでの日本人の報告と比較した。川内町出身の在住者108名を対象に CYP2C19 変異遺伝子を検索した。今回得られた遺伝子型頻度は homoEM : 32.4%, hetEM : 51.9%, PM : 15.7% および変異遺伝子アリル頻度は \*1 : 58.3%, \*2 : 30.6%, \*3 : 11.1% とこれまでの日本人の報告と有意の差を認めなかった。本研究の結果やこれまでの報告から、日本人においては出身地域による CYP2C19 変異遺伝子の頻度や遺伝子型頻度の差異は小さいと考えられた。

弘前医学 55: 18—22, 2003

**キーワード:** チトクロームP450; CYP2C19; 遺伝子多型.

ORIGINAL ARTICLE

## CYP2C19 MUTATION FREQUENCY IN ELDERLY SUBJECTS LIVING IN A SPARSELY POPULATED AREA OF SHIMOKITA PENINSULA

Yukio Ishizawa<sup>1,4)</sup>, Takenori Takahata<sup>2)</sup>, Norio Yasui-Furukori<sup>2)</sup>,  
Masato Saito<sup>3)</sup>, Mutsuo Sasaki<sup>1)</sup> and Tomonori Tateishi<sup>2)</sup>

**Abstract** Cytochrome P450 plays a major role in oxidizing a number of endogenous and exogenous compounds and it consists of subfamilies including CYP2C19, metabolizing diazepam, omeprazole and so on. The in vivo activity of CYP2C19 shows polymorphism and a Japanese CYP2C19 poor metabolizer (PM) possesses two mutations, *CYP2C19\*2* and/or *CYP2C19\*3*. Previous reports studying the ABO blood type frequency in Aomori district and the CYP2C19 PM frequency in inhabitants of Tohoku area suggested that the CYP2C19 genotype and the mutation allele frequency in a population born in Aomori prefecture might be different from those in other area of Japan. Therefore, 108 inhabitants in Kawauchi town, countryside of Shimokita peninsula, were recruited in this study and analyzed for their CYP2C19 genotype. No significant difference was noted in the CYP2C19 genotype or the mutation allele frequency between the population studied here and those in previous reports. Previous studies and current results indicate that regional variation in the CYP2C19 genotype and the mutation allele frequency may be relatively small in a Japanese population.

Hirosaki Med. J. 55: 18—22, 2003

**Key words:** Cytochrome P450; CYP2C19; genetic polymorphism.

1) 弘前大学医学部外科学第二講座

2) 弘前大学医学部臨床薬理学講座

3) 弘前大学医学部第一内科講座

4) 別刷請求先: 石澤幸男

平成15年6月10日受付

平成15年7月31日受理

1) Second Department of Surgery, Hirosaki University, School of Medicine

2) Department of Clinical Pharmacology, Hirosaki University, School of Medicine

3) First Department of Internal Medicine, Hirosaki University, School of Medicine

4) Correspondence: Y. Ishizawa

Received for publication, June 10, 2003

Accepted for publication, July 31, 2003

## 緒 言

ミクロソームに存在する一原子酸素添加酵素の cytochromeP450 (CYP) は複数の分子種から構成される酵素群であり、ヒトにおいては少なくとも 9 分子種 (1A2, 2A6, 2B6, 2C8, 2C9, 2C19, 2D6, 2E1, 3A4) が種々の薬物を代謝することが知られている<sup>1)</sup>。それぞれの分子種の酵素活性はヒトによって大きく異なり、いくつかの分子種においては遺伝子の変異による酵素活性の低下や欠損が報告されている。この変異遺伝子を有することによる酵素活性欠損者 (poor metabolizer, PM) の頻度には人種差があり、CYP2C19 では日本人のおよそ 20% が PM であるのに対して欧米人 PM の頻度は 5% 未満といわれている<sup>2)</sup>。中国人における CYP2C19PM の頻度は日本人とほぼ同程度と報告されていたが、最近の研究によれば中国には数多くの少数民族があり、その民族間において CYP2C19 PM に頻度の差があることがわかった<sup>3)</sup>。また Okubo らの日本人を対象とした研究では東北地方出身者の CYP2C19PM 頻度は東北地方以外の出身者に比較して高いことを報告している<sup>4)</sup>。従って日本人のなかでも居住地域により CYP2C19 変異遺伝子の頻度が異なる可能性がある。

川内町は下北半島の中ほどに位置する海沿いの過疎地である。明治時代以来その人口は減少しており外部からの人口流入はほとんどないと考えられる。また津軽地方を中心に青森、岩手の血液型を検討した松木の報告においては、ABO 式血液型の分布が西日本と異なることを指摘している<sup>5)</sup>。松木や Okubo らの報告は川内町における CYP2C19PM 頻度に、他地域出身日本人との頻度の差が存在する可能性を示唆する。そこで我々は川内町在住者を対象に CYP2C19 変異遺伝子の頻度を検討した。

### 対象および試験方法

本試験の試験計画について、弘前大学倫理委

員会で審議され承認を得て、試験は 2002 年 7 月より 2003 年 3 月までに実施した。

#### 1) 対象

本試験の被験者 (表 1) として日本人高齢者 108 名 (男性 13 名, 女性 95 名, 年齢: 平均 78 歳 (65~90 歳)) を対象にした。被験者は何れも川内町 (図 1) において生まれ育ち、他地域からの転入者は含まれていない。被験者には本試験に先立ち、本試験の目的および人権保護に関し文書にて十分説明し、同意を書面にて得た。

#### 2) 試験方法

##### 遺伝子型の検討

全血 10 ml をヘパリン採血にて採取し赤血球を溶血後、遠心にて白血球を回収し DNA 抽出キット (QIAamp DNA Blood Maxi Kit, Quiagen 社製) を用いて genomic DNA を得た。次に dNTPs 200  $\mu$ mol/L, 10XPCR w w/o 10 mmol/L, 25 mM MgCl<sub>2</sub> 1.5 mmol/L, Taq

表 1 対象者の年齢と性別

No. of subjects	108
Age (y)	
Mean	78
Range	65-90
Gender	
Men	13
Women	95

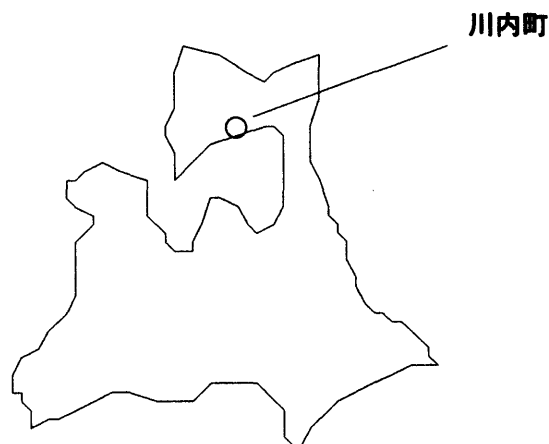


図 1 川内町の位置。

表2 CYP2C19\*2 および\*3 検出のための PCR プライマー

CYP2C19*2 (exon5)	
Forward primer	5'-AATTACAACCAGAGCTTGGC-3'
Reverse primer	5'-TATCACTTTCCATAAAAAGCAAG-3'
CYP2C19*3 (exon4)	
Forward primer	5'-TATTATTATCTGTAACTAATATGA-3'
Reverse primer	5'-ACTTCAGGGCTTGGTCAATATAG-3'

表3 アリル頻度

	n	*1	Exon5 *2	Exon4 *3
Tokyo	186	58.10%	28.70%	13.20%
Kyushu	140	53.90%	35.00%	11.10%
Kawauchi(our study)	108	58.30%	30.60%	11.10%

[文献8) より引用].

polymerase 1.25 units, genomic DNA 200 ng, PCR forward primer 0.1  $\mu$ mol/L, PCR reverse primer 0.1  $\mu$ mol/L で反応液を調製し, PCR の条件(表2)を熱変性ステップ (CYP2C19\*2 : 94°C, 5 min, CYP2C19\*3 : 94°C, 5 min) プライマーのアニリングステップ (CYP2C19\*2 : 53°C, 1 min, CYP2C19\*3 : 53°C, 0.5 min) プライマーの伸長ステップ (CYP2C19\*2 : 72°C, 1 min, CYP2C19\*3 : 72°C, 0.5 min) として CYP2C19\*2 を40 cycle, CYP2C19\*3 を35 cycle とした. PCR かけた後, 制限酵素は exon4 : BamHI, exon5 : SmaI を用いて30°C 6時間 で処理した. その後, agarose で4%ゲルを作成し, 10X loading buffer 1.5  $\mu$ lをDNA5.0  $\mu$ lと混ぜ100 Vで約60分電気泳動した. エチジウムブロマイドで染色し紫外線をかけて CYP2C19 の野生株 (wt) および2種類の突然変異株 (exon5, exon4) の判定を行った.

### 3) 統計学的処理

本研究で得られた川内町在住者の CYP2C19 アリル頻度とこれまでの報告<sup>8)</sup> されている日本人の CYP2C19 アリル頻度との比較には  $\chi^2$  検定を用い,  $P < 0.05$  の場合に統計学的に有意の差があると判定した.

## 結 果

本研究に参加した被験者の背景を表1に示した. 108名より得られた CYP2C19 の total 3 alleles のうち\*1, \*2, \*3 アリル頻度はそれぞれ 58.3%, 30.6%, 11.1%であった. 今回の研究から得られたアリル頻度とこれまでに報告されている日本人のアリル頻度を比較した<sup>8)</sup> (表3) が, 有意の差は得られなかった. またそれぞれの遺伝子型頻度は 32.4%が homozygote extensive metabolizer (EM), 51.9%が heterozygote EM, 15.7%が poor metabolizer (PM) であった. これまでの遺伝子型頻度の報告<sup>6)</sup> と比べて (表4) 有意の差は得られなかった.

## 考 察

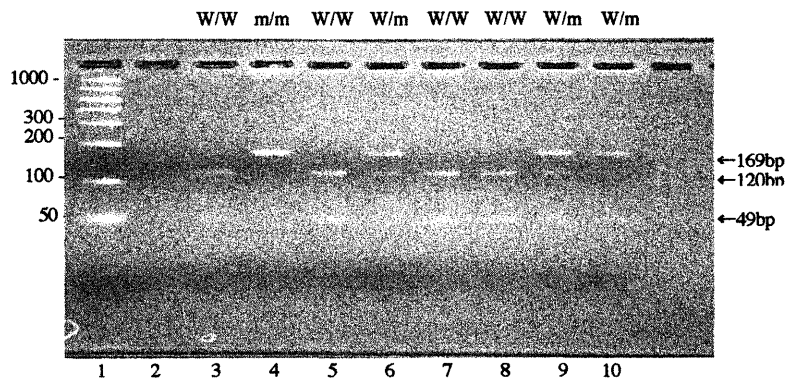
本研究では下北半島の陸奥湾沿岸に位置する川内町在住高齢者を対象に CYP2C19 変異遺伝子の頻度を検討した. 我々の対象の平均年齢は78歳とこれまでの報告に比べ極めて高齢である. しかしながら生体内 CYP2C19 活性と寿命との関連を検討した研究<sup>7)</sup> では, 超高齢者群 (95歳以上) と対照群 (中間値27歳) ではその頻度に差がなく, この酵素の生体内活性は寿命に影響を与えないと結論している. 従って年齢

表 4 遺伝子型頻度

	n	homoEM	hetEM	PM
Tokyo	186	34.90%	46.30%	18.80%
Kyushu	140	31.40%	45.00%	23.60%
Kawauchi(our study)	108	32.40%	51.90%	15.70%

[文献8) より引用].

*SmaI* Digestion(\*2)



*BamH I* Digestion(\*3)

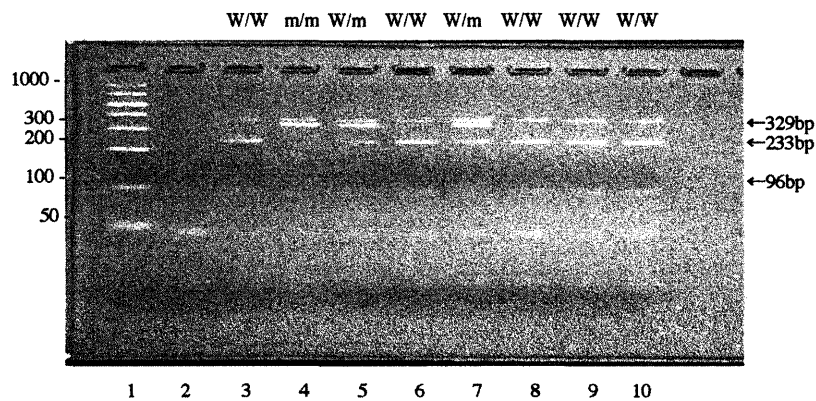


図 2 PCR-RFLP 解析.

1 レーンはマーカー, 2 レーンはブランク, 3 レーンは正常アレルのコントロール, 4 レーンは変異アレルのコントロール, 5 ~ 10 レーンは DNA サンプル

層によって CYP2C19 遺伝子型の頻度が異なる可能性はなく, 対象の年齢を考慮する必要はないと思われる.

生体内 CYP2C19 活性には遺伝的多型が存在し日本人のおよそ20%が PM であると報告されている. また日本人 PM で見出された

CYP2C19 変異遺伝子には exon5 にある G681A 変異 (CYP2C19\*2) と exon4 にある G636A 変異 (CYP2C19\*3) の2種類が知られており, これまでの報告, 久保田らが東京 (八王子市) でおこなった研究ではアレル頻度\*2: 28.7%, \*3: 13.2%, 木村らが九州でおこなった研究で

はアリル頻度\*2: 35.0%, \*3: 11.1%である<sup>8)</sup>. 今回の108名を対象とした我々の検討においてもPMの頻度は15.7%であり, \*2および\*3アリル頻度は30.6%および11.1%とほぼ同様の値を示した. CYP2C19PM頻度はアジア人種で高く, 大陸在住中国人では24.0%, 台湾人では15.0%, ベトナム人は20.0%と報告されている<sup>9)</sup>. しかし\*2および\*3アリル頻度はアジア人種のなかでも一定しておらず, 人種間に若干差が見られる. 中国人では大陸在住や台湾在住に関わらずCYP2C19\*2は日本人より高く40%前後であるのに対し, CYP2C19\*3は日本人より低く10%未満である. それに比較し日本人では10.8%から15.6%といずれも10%以上の値を示している. 我々の対象においてもCYP2C19\*3アリル頻度は11.1%であった. CYP2C19\*3アリル頻度が比較的高頻度を示す民族は少なく, これまでの報告では韓国, ベトナム, メラネシアの一部に限られる. いずれも海沿いの民族であり交流の結果CYP2C19\*3アリル頻度が高くなったのかもしれない. CYP2C19はdiazepam, omeprazole, lansoprazole, mephenytoinなど数多くの薬物を代謝することが報告されている. CYP2C19PMではこれらの薬物のクリアランスが低下し, 除去半減期が延長する. 薬物投与を行う際, その安全性や有効性を考えるにあたりPMに関する検討は重要な意義を持つが, 今回対象となった下北地区の住民においても5~6人に一人がCYP2C19PMであることに留意してCYP2C19の基質となる薬物を使用すべきであろう.

## 結 語

下北半島にある川内町在住高齢者を対象にCYP2C19遺伝子型を検討したところ, 従来の健常成人の報告されている頻度と有意な差はなかった.

## 参 考 文 献

- 1) Goldstein JA, de Morais SM. Biochemistry and molecular biology of the human CYP2C subfamily. *Pharmacogenetics* 1994;4:285-99.
- 2) de Morais SMF, Wilkinson GR, Blaisdell J. Identification of a new genetic defect responsible for the polymorphism of S-mephenytoin metabolism in Japanese. *Mol Pharmacol* 1994;46:594-8.
- 3) de Morais SMF, Goldstein JA, Xie HG, Huang SL, Lu YQ, Xia H, Xiao ZS, et al. Genetic analysis of the S-mephenytoin polymorphism in a Chinese population. *Clin Pharmacol Ther* 1995; 58:404-11.
- 4) Okubo T, Suno M, Sugawara K, Motomura S. Graphic roots of CYP2C19 genetic polymorphism in Japanese population. In: Kaneko S, Motomura S, Tateishi T, Kondo T, Furukawa K, editors. *Pharmacogenetics: Tailor-made pharmacotherapy*. Amsterdam: Elsevier;2002:63-7.
- 5) 松木 明. 日本民族の血液型. 津軽書房. 1976;9-28.
- 6) Kubota T, Chiba K, Ishizaki T. Genotyping of S-mephenytoin 4'-hydroxylation in an extended Japanese population. *Clin Pharmacol Ther* 1996; 60:661-6.
- 7) Bathum L, Andersen-Ranberg K, Boldsen J, Brosen K, Jeune B. Genotypes for the cytochrome P450 enzymes CYP2D6 and CYP2C19 in human longevity. *Eur J Clin Pharmacol* 1998;54:427-30.
- 8) Kimura M, Ieiri I, Mamiya K, Urae A, Higuchi S. Genetic polymorphism of cytochrome P450s, CYP2C19, and CYP2C9 in a Japanese population. *Ther Drug Monit* 1998;20:243-7.
- 9) Tassaneeyakul W, Tawalee A, Tassaneeyakul W, Kukongviriyapan V, Blaisdell J, Goldstein JA. Analysis of the CYP2C19 polymorphism in a North-eastern Thai population. *Pharmacogenetics* 2002;12:221-5.