アセトアミノフェンによる肝障害と日本人における CYP2E1, GSTM1の遺伝子多型との関連について

坂 爪 重 明
新潟大学医歯学総合病院薬剤部
（主任：佐藤　博教授）

Acetaminophen Hepatotoxicity and, CYP2E1 and GSTM1 Genetic Polymorphisms in the Japanese Population

Shigeaki SAKAZUME

Division of Pharmacy, Niigata University Medical & Dental Hospital
(Chef: Prof. Hiroshi SATHO)

Abstract

Genetic polymorphisms at -1293, -1053, -352, -333, -71,1132 and 7632 of CYP2E1 and non-null or null type of GSTM1 were examined in 101 Japanese patients given 0.3-1.35g of acetaminophen (APAP) orally in Niigata University Medical Hospital and 125 healthy Japanese volunteers using PCR-based analysis. In the CYP2E1 and GSTM1 genotype frequencies there was no difference between the patients and the volunteers ($p>0.1$). The sites of -71 and 1132 were monomorphic in 226 DNA samples. For Pst Ⅰ (-1293)/Rsa Ⅰ (-1053) and Dra Ⅰ (7632) sites of the CYP2E1 gene, haplotype frequencies were also estimated by a method with Arlequin Software. The outcome of the calculation showed that all variant alleles (*CYP2E1*5*), recognized by the Pst Ⅰ, but not by the Rsa Ⅰ, carried variant allele A of Dra Ⅰ sites. At the Dra Ⅰ sites, 65 % of all A alleles carried *CYP2E1*5* allele, which could possibly affect its transcription. Seven of the 101 patients were caused drug-induced liver damage by the APAP ingestion. Of the seven patients, one had developed serious liver damage. There was no difference between hepatotoxicity (+)-patients ($n=7$) and hepatotoxicity (−)-patients ($n=94$) either in the CYP2E1 genotype frequencies ($p>0.06$) or in GSTM1 ($p=0.84$). However, the sample number of the hepatotoxicity (+)-patients is too small to evaluate the association between genotypic differences and liver damage by acetaminophen. Of interest was the observation that the genotype *CYP2E1*5/*5* was not found in the hepatotoxicity (+)-patients, but was found in three of the hepatotoxicity (−)-patients. In this study, no association was found between CYP2E1 and GSTM1 polymorphisms examined and APAP-induced liver damage.

Key word: acetaminophen, hepatotoxicity, CYP2E1, GSTM1, polymorphism

---

Reprint requests to: Shigeaki SAKAZUME
Division of Pharmacy
Niigata University Medical & Dental Hospital
1-754 Asahimachi-dori,
Niigata 951-8520 Japan

別刷請求先：〒951-8520　新潟市旭町通り1-754
新潟大学医歯学総合病院 薬剤部　　坂 爪 重 明

はじめに

アセトアミノフェン（APAP: N-Acetyl-p-aminophenol）はアニリン系の解熱鎮痛剤で，総合感冒薬などに日常広く使用されている．しかし，一方ではその活性中間代謝物が中毒性肝障害を起こす薬物でもある．日本中毒情報センター（JPIC）に問い合わせのあったAPAP含有の医薬品中毒は2002年で699件であり，ここ数年増加傾向にある[1]．APAPは大部分が肝でグルクロン酸抱合や硫酸抱合により代謝，排泄され，一部が肝代謝酵素cytochrome P-4502E1（CYP2E1）により肝細胞毒性に関与する活性代謝物N-acetyl-p-benzo-quinoneimine（NAPQI）となる．さらにNAPQIは肝細胞内でグルタチオン抱合を受けた後，メルカプツール酸として尿中に排泄される[2]．一般的にAPAPを多量に摂取すると，代謝産物NAPQIが増加し，肝細胞内のグルタチオンは完全に消費され，NAPQIによる肝障害が引き起こされる[3]．APAPは，成人では150mg～250mg/kgが1回の摂取で重篤な肝毒性を生じる閾値といわれている[2]．しかし，まれに臨床に用いられる通常量（10mg/kg程度）においても肝障害を経験することがある．

近年，薬物の個人に対する効果と薬物代謝酵素の遺伝子多型との関連が大きく注目されている．特に重篤な肝障害や中毒死の発生と，個人の遺伝子多型との関連性を明らかにすることは重要である．APAPの代謝酵素CYP2E1には複数箇所に変異があり，その遺伝子型によって転写活性が異なることが明らかにされてきている[4)5]．酵素活性との関連が知られている変異としては5'-flanking領域におけるPst I（-1293）/Rsa I（-1053）多型[4]とIntron 6のDra I（7632）多型[6]が代表的である．その他，北ヨーロッパ人では5'-flanking領域-71の部位，また中国人ではExon2（1132）の部位の変異が報告されている[8]．一方，NAPQIのグルタチオン抱合に関与する酵素Glutathione-S-Transferase（GST）はAlpha, Mu, Pi, Theta, Sigmaの5つのアイソザイムに分類されている．それぞれのGSTは特異的に一つの薬剤に活性を示すものではなく，多種類のGSTが関与していることが知られている[9]．その中でGSTM1遺伝子は正常人の約半数で欠損し，GSTM1 nullタイプと各種癌との関連性が報告され注目を集めている[10)-12]．しかし，この多型とNAPQIとの関連について検討した報告はこれまでのところない．我々は，APAP投薬を受けた患者を肝障害（＋）群と肝障害（－）群に分け，両群について，2種類の薬物代謝酵素（cytochrome P-450 CYP2E1, GSTM1）の遺伝子多型を判定し，その遺伝子型と肝障害などの中毒発現との関連性を検討した．

材料と方法

本研究は，新潟大学医学部遺伝子倫理審査委員会において承認を得た後，被験者に対して文書を用いて説明を行い，同意文書を得た上で行った．

1．試料

血液サンプルは，健常ボランティア125名（男性62名，女性63名）と1997年4月から2003年3月までの期間に新潟大学医学部附属病院で入院していた患者の中で，APAPを含有する製剤（カロナール散，PL顆粒，フェナセチン散）の投与を受け，且つ投与前後に肝機能検査を行った患者101名（男性36名，女性65名）から採取した．

2．APAPの投与量と肝障害

APAPの投与量は200mg～1200mg/日であった．APAPの投与を受けた患者のうち，肝障害（＋）群は7名（平均投与量450±80.2mg/日），肝障害（－）群は94名（平均投与量427±114.0mg/日）であった．薬剤性肝障害の判定は，薬剤性肝障害診断基準（GPT≧2×正常値の上昇，もしくはGOT≧2×正常値の上昇を伴う）に従った[13]．

3．試薬及び機器

Polymerase chain reaction（PCR）に用いたプライマー（**表1**）および各制限酵素は，宝酒造株式会社より購入した．Taq gold polymeraseはApplied Biosystemsより購入した．Proteinase Kはメルク株式会社（東京）より，フェノール，Tris,

表 1　PCR primers and analysis method

PCR primers			Product size (bp)	Genetic variations: Location		Enzyme recognition site	Analysis method
P1	(F)	5'-CCAGTCGAGTCTACATTGTCA-3'	413	CYP2E1 5'-flanking	G_{-1293}C (Pst I polymorphism)	Pst I (mut)	PCR-RFLP
P2	(R)	5'-TTCATTCTGTCTTCTAACTGG-3'			C_{-1053}T (Psa I polymorphism)	Psa I (wt)	PCR-RFLP
P3	(F)	5'-TACCGTGTCTAGAGGTGGTCG-3'	415	CYP2E1 5'-flanking	A_{-352}G		PCR-SSCP
P4	(R)	5'-ATCCTGTGGAAAGGAAGGTT-3'			T_{-333}A		
P5	(F)	5'-ACAGTGACAGGTGCTAGCAAC-3'	253	CYP2E1 5'-flanking	G_{-71}T	Dde I (wt)	PCR-RFLP
P6	(R)	5'-TGCTGCCAGCCCGGGAGGAC-3'					
P7	(F)	5'-GAGCAACAGCAATACCCG-3'	202	CYP2E1 exon 2	G_{1132}A	Hha I (wt)	PCR-RFLP
P8	(R)	5'-CGTCCTTGTAGTCCAGCA-3'					
P9	(F)	5'-GCAATCATGGCTCATTGTAG-3'	159	CYP2E1 intron 6	T_{7632}A (Dra I polymorphism)	Dra I (wt)	PCR-RFLP
P10	(R)	5'-GATTACAGGTATGAGCCACTG-3'					
P11	(F)	5'-GCCATCTTGTGCTACATTG-3'					
P12	(R)	5'-ATCTTCTCCTCTTCTGTCTC-3'	157*	GSTM1 exson 4-5	nonnull or null		PCR
P13	(R)	5'-TTCTGGATTGTAGCAGATCA-3'	230				

*internal control
(F): forward, (R): reverse, mut: mutant, wt: wild type

EDTAおよびエチジウムブロマイドは和光純薬工業株式会社より購入した. PCR thermal cyclerはASTEC PROGRAM CONTROL SYSTEM PC-700 (ASTEC), シークエンスはABI PRISM 310 Genetic Analyzer (ABI) を使用した.

4. 抽出方法

採取した血液1～3mLから得た白血球をProteinase Kを用いて消化(56℃, 6時間)した後, フェノール/クロロホルム法で抽出し, エタノール沈殿によりDNAを析出させた. DNAを風乾した後, TE buffer (10mM Tris-HCL buffer (pH8), 0.5mM EDTA) 50～100μlを加え, 4℃で保存した. その後, DNA濃度を10ng/μlに調製した.

5. 分析方法(表1)

(1) CYP2E1

①-1293 (PstⅠ多型) および-1053 (RsaⅠ多型) の多型判定

判定はHayashi[4]らの方法に準じて行った. 5'-flanking領域の-1406～-993をプライマーP1, P2を用いて15μlの系でPCRにより増幅し, 増幅産物に制限酵素PstⅠあるいはRsaⅠを加え3時間37℃で反応させた. 次に, 8%ポリアクリルアミドゲル電気泳動を行い, エチジウムブロマイド染色後, 遺伝子型判定した(PstⅠ(−)/RsaⅠ(+)を*CYP2E1*1*, PstⅠ(+)/RsaⅠ(−)を*CYP2E1*5*とした.

②-352, -333多型判定

判定はFairbrotherら[7]の方法に準じた. まず, 5'-flanking領域の-452～-38をプライマーP3, P4を用いてPCRにより増幅し, SSCP法を行った. 増幅したPCR産物を48%ホルムアミド中95℃で1本鎖とし, 7.5%ポリアクリルアミドゲル電気泳動を行った後, 銀染色でDNAバンドを検出した. 次に, 異なるSSCPパターンを示したPCR産物についてシークエンスを行い-352と-333部位のハプロタイプを決定した.

③-71多型判定

判定はFairbrotherら[7]の方法に準じて行った. 5'-flanking領域の-269～-16をプライマーP5, P6を用いてPCRにより増幅し, 制限酵素DdeⅠを用いて消化した後, ①と同様に遺伝子型を判定した.

④ 5'-flanking領域のハプロタイプ(-1293, -1053, -352, -333)の決定

PstⅠ/RsaⅠ多型部位と-352/-333部位の各々のハプロタイプは, 上記方法で示したとおりに決定している. PstⅠ/RsaⅠ多型部位のヘテロタイプ(*CYP2E1*1/*5*遺伝子型)を有するサンプルについてシークエンスを行って-1293, -1053, -352, -333のハプロタイプを決定した. まず, *CYP2E1*1/*5*のサンプルをプライマーP1とP4でPCRにより増幅した後, PstⅠで反応させた. 処理した*CYP2E1*5*アリルから生ずる1259bp (-352と-333を含む) のバンドを8%ポリアクリルアミド上で分離後分取し, Marmaid Kit (Qbiogene) を用いて精製した. 精製したフラグメントをテンプレートとし-452～-249をPCRにて増幅した. 次にダイレクトシークエンスを行い-352と-333の遺伝子型を決定した.

⑤ Exon2 (1132) 多型判定

判定はHuら[8]の方法に準じて行った. 988～1330をプライマーP7, P8を用いてPCRにて増幅し, 制限酵素HhaⅠを用いて処理した後, ①と同様に遺伝子型を判定した.

⑥ Intron6 (7632) 多型判定

判定はUematsuら[6]の方法に準じて行った. 7516～7675をプライマーP9, P10を用いてPCRにて増幅し, 制限酵素DraⅠを用いて処理した後, ①と同様に型判定した.

(2) GSTM1

GSTM1のnullタイプの判定はZhongら[10]の方法に準じて行った. 3種類のプライマーP11, P12, P13を用いて15μlの系でMultiplex PCRを行った. Exon4からExon5の領域で157bp (1201～1357: internal control) と230bp (1201～1430) のPCR産物が得られ, 230bpのDNAバンドの有無でnonnullとnullタイプを判定した.

6. 統計解析

各グループの遺伝子型出現頻度の差の有無は, χ^2 testにて検定した. CYP2E1のPstⅠ/RsaⅠ多型とDraⅠ多型のハプロタイプ頻度は, Arlequin software（ARLEQUIN）のHaplotype frequencies estimationを用いて計算した．

結　　果

1．症例検討（表2）

（1）1997年～2003年の7年間調査した結果，APAPを含有する製剤を投与され，投薬前後で肝機能検査の行われた患者は101名であった．その中で肝障害を起こした患者は7名で，男性3名，女性4名，平均年齢は39才であった．7名中5名は，総合感冒薬PL顆粒（1g中APAP150mg）を服用，他1名はカロナール（1g中APAP100mg），もう1名はフェナセチンを服用していた．肝障害（一）患者群は94名であった．肝障害（＋）患者群と（一）患者群ともにアルコール常用者はおらず，併用された薬剤にはCYP2E1，GSTM1に影響を及ぼ

す薬剤はなかった．

（2）肝機能障害（＋）患者（表2）

症例1：女性　55歳（併用薬　プロピルチオウラシル，レバミピド，ベタメタゾン，ロキサチジン，ウルソデオキシコール酸），感冒様症状（発熱，咽頭痛）のため，総合感冒薬3g（APAP 450mg配合）を7日分処方され服用．投与2日後，AST（GOT）42，ALT（GPT）139と上昇し，10日後に改善傾向が認められた．

症例2：女性　22歳（併用薬　プレドニゾロン，トリメトプリム，スルファメトキサゾール，レバミピド，メトクロプラミド），感冒様症状（発熱，鼻水，痰）のため総合感冒薬3g（APAP 450mg配合）を5日分処方され服用．投与3日目にAST（GOT）47，ALT（GPT）104，γ-GTP80と上昇し，薬剤性肝障害を疑われて本薬剤を中止，10日後に改善傾向が認められた．

症例3：男子　3歳（併用薬なし），扁桃炎により，セフジニル180mg，APAP300mgを3日分処方され服用．投与3日目よりAST（GOT）90，ALT（GPT）90と上昇し，解熱剤をAPAPからアスピリンに変更．12日後に改善傾向が認められた．

症例4：男性　56歳（チアラミド，ロキサチジン，フルコナゾール，タゾバクタム，ピペラシリン，クラリスロマイシン），感冒様症状（発熱，咳）のため，総合感冒薬3g（APAP 450mg配合）を3日分処方され服用．投与3日目よりAST（GOT）74，ALT（GPT）92と上昇し，14日後，改善傾向が認められた．

症例5：男性　70歳（併用薬　プロカインアミド，プロプラノロール，ワルファリン，ブコローム），感冒様症状（発熱，咽頭痛）のため総合感冒薬3g（APAP 450mg配合）を3日分処方され服用．投与2日目，AST（GOT）154，ALT（GPT）199，γ-GTP205と上昇し，感冒薬および併用薬剤中止，17日後，改善傾向が認められた．

症例6：女性　20歳（併用薬　プレドニゾロン，ファモチジン，テプレノン，トリメトプリム，スルファメトキサゾール），感冒様症状（発熱，咽頭痛）のため総合感冒薬3g（APAP 450mg配合）を4日分処方され服用．投与1日目よりAST（GOT）184，ALT（GPT）195，γ-GTP70と上昇し，抗生剤だけが中止された．投与3日目にはALT（GPT）400とさらに上昇し，本剤およびファモチジンが中止された．11日後改善傾向が認められた．

症例7：女性48歳　（併用薬　グリベンクラミド，ベザフィブラート，ジルチアゼム）咽頭炎のため，フェナセチン0.6g，スルピリン1.2g，クラリスロマイシン600mgを10日間服用．投与中，食欲不振，体重減少および尿黄染が認められ，血液検査（25日目）の結果，AST（GOT）1279，ALT（GPT）1021と著しい上昇が認められた．薬剤添加リンパ球刺激試験（drug-induced lymphocyte stimulation test; DLST）ではAPAPのみ疑陽性を認めた．後日，肝移植が行われた．

表2　The characteristics and laboratory data of seven patients with APAP induced liver damage

Case	Sex	Weight (kg)	Product containing APAP	APAP dose (g/day)	Treatment period (days)	AST (GOT), ALT (GPT) ALP and total-Bilirubin transition: parameters	pretreatment	during or after	follow up
1	F	46	PL granules	0.45	2			(day 2)	(day 10)
						AST (IU/L)	31	42	25
						ALT (IU/L)	61	139	95
2	F	65	PL granules	0.45	3			(day 3)	(day 10)
						AST	20	47	26
						ALT	50	104	67
						ALP (IU/L)	197	296	102
3	M	18	Calonarl	0.30	3			(day 3)	(day 12)
						AST	32	90	48
						ALT	22	90	49
						ALP	566	588	884
4	M	63	PL granules	0.45	2			(day 2)	(day 14)
						AST	18	74	12
						ALT	15	92	39
						ALP	154	371	434
5	M	64	PL granules	0.45	2			(day 2)	(day 17)
						AST	17	154	26
						ALT	15	199	44
						ALP	216	402	278
6	F	42	PL granules	0.45	3			(day 3)	(day 11)
						AST	17	56	12
						ALT	49	400	35
7	F	45	Phenacetin	0.60	10			(day 25)	(day 42)
						AST	29	1279	133
						ALT	29	1021	58
						T-Bill (mg/dl)	1.3	12.3	8.1

2．遺伝子解析

（1）アセトアミノフェン服用患者と健常ボランティアとの遺伝子型

アセトアミノフェン服用患者101名と健常ボランティア125名のグループ間について，CYP2E1遺伝子の5'-flanking領域のハプロタイプ，Exon2（1132），Intron 6（7632）およびGSTM1の遺伝子多型を判定した．これら遺伝子頻度分布のχ^2検定ではそれぞれHardy-Weinbergの法則に適合していた（$p > 0.1$）．

（2）CYP2E1

① 5'-flanking領域（表3）

CYP2E1遺伝子の5'-flanking領域では，6種類のハプロタイプが検出された．健常者群では，*CYP2E1*1*のアリル頻度が55.6％，*CYP2E1*5*が2.0％，*CYP2E1*7A*が1.6％，*CYP2E1*7C*が26.0％，*CYP2E1*5 & CYP2E1*7A*が14.8％，*CYP2E1*5 & CYP2E1*7C*は0％であった．肝障

表3 SNP haplotype frequencies in the 5'-flanking region of CYP2E1

Allele	haplotype	Patients with APAP ingestion: Hepatotoxicity (−) allele number n=188	Hepatotoxicity (+) n=14	total n=202	Healthy volunteers n=250
1) CYP2E1*1	G_{-1293} C_{-1053} A_{-352} T_{-333} G_{-71}	98 (0.521)	12 (0.857)	110 (0.545)	139 (0.556)
2) CYP2E1*5	C_{-1293} T_{-1053} A_{-352} T_{-333} G_{-71}	1 (0.005)	0	1 (0.005)	5 (0.020)
3) CYP2E1*7A	G_{-1293} C_{-1053} A_{-352} A_{-333} G_{-71}	7 (0.037)	0	7 (0.035)	4 (0.016)
4) CYP2E1*7C	G_{-1293} C_{-1053} G_{-352} A_{-333} G_{-71}	42 (0.223)	1 (0.071)	43 (0.213)	65 (0.260)
5) CYP2E1*5 & 7A	C_{-1293} T_{-1053} A_{-352} A_{-333} G_{-71}	39 (0.207)	1 (0.071)	40 (0.198)	37 (0.148)
6) CYP2E1*5 & 7C	C_{-1293} T_{-1053} G_{-352} A_{-333} G_{-71}	1 (0.005)	0	1 (0.005)	0

表4 Distribution of Dra I site (7632) polymorphism in the intron 6 of CYP2E1

		Patients with APAP ingestion: Hepatotoxicity (−) n=94	Hepatotoxicity (+) n=7	total n=101	Healthy volunteers n=125
genotype	T/T	41 (0.436)	6 (0.875)	47 (0.465)	67 (0.536)
	T/A	49 (0.521)	1 (0.143)	50 (0.495)	49 (0.392)
	A/A	4 (0.043)	0	4 (0.040)	9 (0.072)
allele	T	131 (0.697)	13 (0.929)	144 (0.713)	183 (0.732)
	A	57 (0.303)	1 (0.071)	58 (0.287)	67 (0.268)

害（−）では，*CYP2E1*1* のアリル頻度が 52.1 %，*CYP2E1*5* が 0.5 %，*CYP2E1*7A* が 3.7 %，*CYP2E1*7C* が 22.3 %，*CYP2E1*5* & *CYP2E1*7A* が 20.7 %，*CYP2E1*5* & *CYP2E1*7C* が 0.5 %であった．肝障害（＋）群でも，*CYP2E1*1* のアリル頻度が 85.7 %，*CYP2E1*7C* が 7.1 %，*CYP2E1*5* & *CYP2E1*7A* が 7.1 %で，他の 3 つのアリルは 0 %であった．

肝障害（＋）群は 7 例と少なく，ハプロタイプの遺伝子型の頻度は，肝障害（−）群，肝障害（＋）群の間で有意の差を認めなかった（p＝0.620）．

また，－71 の部位では，3 群ともにすべての人が G 型を示し，変異型は認められなかった．また，*Pst* I /*Rsa* I 多型においても肝障害（−）群，肝障害（＋）群の間で遺伝子型頻度に有意の差が認められなかった（p＝0.385）．Pst I /Rsa I 多型部位の酵素活性を高めるとされる *CYP2E1*5/*5* は，肝障害（−）群では 3 例（3.2 %）検出されたが，肝障害（＋）群では認められなかった．

② Exon2（1132）

Exon21132 では，健常者群，肝障害（−）群，肝障害（＋）群ともにすべて G 型を示し，変異型は認められなかった．

③ Intron 6（7632）Dra I 多型（表 4）

Dra I 多型の遺伝子型は，健常者群では T/T 53.6 %，T/A 39.2 %，A/A 7.2 %，肝障害（−）群では T/T 43.6 %，T/A 52.1 %，A/A 4.3 %，肝障害（＋）群では T/T 85.7 %，T/A 14.3 %であった．これら遺伝子型の頻度は，肝障害（−）群，

表5 Haplotype frequencies at Pst I sit（－1293），Rsa site（－1053）and Dra I site（7632）of CYPE2E1 in 226 Japanese

Allele	haplotype	n	frequencies
1）CYP2E1*1	G_{-1293} C_{-1053} T_{7632}	323	0.715
2）CYP2E1*5A	G_{-1293} T_{-1053} A_{7632}	84	0.186
3）CYP2E1*5B	G_{-1293} T_{-1053} T_{7632}	0	0.000
4）CYP2E1*6	G_{-1293} C_{-1053} A_{7632}	45	0.100

表6 Genotype frequencies for GSTM1 polymprphism

	Patients with APAP ingestion			Healthy volunteers
	Hepatotoxicity（－）n=94	Hepatotoxicity（＋）n=7	total n=101	n=125
nonnull type	44（0.468）	3（0.429）	47（0.465）	51（0.408）
null type	50（0.532）	4（0.571）	54（0.535）	74（0.592）

肝障害（＋）群の間で差を認めなかった（p＝0.064）．肝障害（＋）群に酵素活性との関連が示唆されているA/A遺伝子型は認められなかった．

④Pst I/Rsa I 多型と Dra I 多型との関連について（表5）

アセトアミノフェン服用患者および健常ボランティアあわせて226名について，haplotypic frequency estimation を行ったところ，*CYP2E1*1* を有し Dra I 多型部位がT型の人は71.5％，*CYP2E1*1* でA型は10.0％，*CYP2E1*5* でA型は18.6％であった．活性が亢進していると考えられる CYP2E1*5 は，すべてA型を示していた．また，Dra I 多型がA型の場合，その65％が *CYP2E1*5* であった．

（3）GSTM1（表6）

GSTM1 null タイプの遺伝子頻度は，肝障害（－）群では53.2％，肝障害（＋）群は57.1％であり，両群間で差は認められなかった（p＝0.840）．

考　　察

1．症例検討

薬剤性肝障害は，中毒性とアレルギー性に大別される．中毒性機序に基づくAPAPの肝毒性の原因として，自殺企図による大量服用，常習飲酒やイソニアジドなどのCYP2E1を誘導する薬剤の併用，絶食や栄養不良などによる肝細胞内GSTの低下などが報告されている[14)－15)]．本研究の症例の中に7名の肝障害患者を認めたが，CYP2E1を誘導する薬剤の併用，アルコール摂取は見当たらなかった．一方，アレルギー性肝障害は，APAPに限らず，すべての薬剤に可能性を秘めている．ただし，本研究の症例でDLSTのような感作リンパ球を証明する試験を実施したのは，肝移植を行った1例（偽陽性）のみであった．さらに，CYP2E1やGSTM1に影響すると考えられる併用薬は認められなかったものの，肝障害を発現させた原因として併用薬の可能性も考えられた．併用薬の中には，頻度は少ないがほとんどの薬剤で肝障害が報告されている．これらの薬剤の関与も否定できない．

本研究の症例の経過を見ると，いずれの患者も感冒様症状を訴えたために投薬されており，2～3日服用した後に，検査データで軽度～中等度の肝機能上昇を認めていた．また，これらの患者の

APAP投与量は0.30g～0.45g/dayであり，重篤な肝毒性を生じるといわれている閾値からみれば，極めて少ない量である．しかし，本邦での報告の中に，本研究の症例と同じくらいの用量で中等度の肝障害を発現している例を散見する[16]．

2．遺伝子解析

本研究ではCYP2E1とGSTM1の遺伝子多型とAPAPによる肝障害との関連を検討した．CYP2E1では5'-flankingのPstⅠ/RsaⅠ多型，-71，Exon 2_{1132}，およびIntron 6_{7632}の部位が転写活性あるいは酵素活性に影響すると報告されている[4)－8)]．

PstⅠ/RsaⅠ多型はHayashiら[4)]によって発見された．われわれのデータでは検査対象とした日本人226名でアリル頻度が*CYP2E1*1*　0.814，*CYP2E1*5*　0.186とHayashiらとほぼ同様の結果であった．さらに，彼らはHepG2細胞を用いたクロラムフェニコールアセチルトランスフェラーゼ分析で，変異遺伝子*CYP2E1*5*の転写活性が野生型*CYP2E1*1*よりも10倍高いと報告している[4)]．また，上島らの報告[5)]ではAPAPの半減期は*CYP2E1*1/*1*で最も長く，*CYP2E1*5/*5*で最も短く，排泄率は*CYP2E1*5/*5*の方が*CYP2E1*1/*1*および*CYP2E1*1/*5*に比べ，2倍以上高いと報告している．本研究の肝障害を発現した症例では*CYP2E1*1/*5*の1例を除いてすべて*CYP2E1*1/*1*であったことからPstⅠ/RsaⅠ多型の関与はないと考えられた．また，5'-flankingのハプロタイプ遺伝子型（表3）では，1)/1）型の29例中5例，1)/4）型の23例中1例，1)/5）型の24例中1例に肝障害が認められた．

-71の変異部位はFairbrotherらによって報告された[7)]．彼らは1998年，北ヨーロッパ人を対象に-352，-333，-71の部位に変異があることを発見した．また，-71に変異があることにより転写活性が高くなることを報告している．本研究では-352，-333に北ヨーロッパ人と同様に変異型を認めたものの，検査対象とした日本人226名すべてにおいて，-71に変異型を認めなかった．

Exon 2_{1132}（G/A）のポイントミューテーションはHuら[8)]によって確認され，中国人2人にA型（*CYP2E1*2*）が確認されている.彼らは，この部位の変異遺伝子が酵素活性を低下させると報告している．本研究ではいずれの群においてもすべてGタイプで変異を認めなかった．

Intron 6_{7668}のDraⅠ多型（*CYP2E1*6*）は，Uematsuら[6)]によって発見された．本研究のDraⅠ多型のアリル頻度はUematsuらの報告とほぼ同様で，Tアリルが72.3％，Aアリルが27.7％であった．DraⅠ多型部位はintronに存在するため，直接発現に影響しないと考えられている[17)]．しかし，DraⅠの変異型Aアリルには野生型Tアリルに比し5'-flanking領域に多くの変異が認められることから，遺伝子発現との関連が注目されている[8)]．本研究では転写活性や酵素活性を高めるとされる*CYP2E1*5*を有した人は，すべてDra多型部位がA型を示していた．*CYP2E1*5A*のアリル頻度はヨーロッパ人に比しアジア人で有意に高いと報告されている[4)17)－21)]．本研究では，彼らのデータとほぼ同様の頻度（0.186）であった．Stephensら[17)]はCYP2E1多型と肺がんとの関連についての研究において，DraⅠのA型が*CYP2E1*5*のマーカーとなるかどうかを検討している．台湾人ではDraⅠA型の91％が*CYP2E1*5*を有しマーカーとして有用であり，それに対しヨーロッパ系アメリカ人では11％と低くマーカーには不適当であると報告した．本研究ではDraⅠA型の65％が*CYP2E1*5*を有しており台湾人に比し必ずしも良いマーカーではない結果が得られ，各種族の頻度が重要であることが示された．また，本研究では野生型*CYP2E1*1*の他，*CYP2E1*5*, *CYP2E1*7A*, *CYP2E1*7C*の既知アリルに加えて，*CYP2E1*5*と*CYP2E1*7A*および*CYP2E1*5*と*CYP2E1*7C*の2種類を併せ持つ新規アリルが検出された．

GSTM1 null typeは肺癌，大腸癌また乳癌との関連性が数多く報告されている[10)]．本研究において，GSTM1 null typeは肝障害（－）群で53％，（＋）群で57％とKatohら[11)]やDeakinら[12)]の報告とほぼ同様であり，また両群間に差は認められず（P＝0.840)，新しい知見は得られなかった．

本研究では，肝障害を発現した症例数が101例

中7例と少ないこともあり，肝障害と薬物代謝酵素CYP2E1，GSTM1の遺伝多型との関連性については，今後さらにデータを蓄積し，調査する必要があると思われた．

謝　辞

本研究にあたり，御指導，御校閲を賜った新潟大学医歯学総合病院薬剤部・佐藤博教授，同大学法医学分野・山内春夫教授，内藤笑美子助手並びに法医学教室の先生方に深甚なる謝意を表します．また，血液サンプルの提供に際し，ご協力を頂きました同大学第一内科塙晴雄講師，第二内科高田俊範助手，小児科柿原敏夫講師に深く感謝致します．

参考文献

1）日本中毒情報センター：2002年受信報告．中毒研究 16: 213 - 243, 2003.

2）福本真理子：アセトアミノフェン中毒．中毒研究 16: 285 - 297, 2003.

3）Prescott LF: Paracetamol Overdosage. Drugs 25: 290 - 314, 1983.

4）Hayashi S, Watanabe J and Kawajiri K: Genetic polymorphisms in the 5'- flanking region change transcriptional regulation of the human cytochrome P450 Ⅱ E1 gene. J Biochem 110: 559 - 565, 1991.

5）Ueshima Y, Tsutsumi M, Takase S, Matsuda Y and Kawahara H: Acetaminophen metabolism in patiens with different cytochrome P450 Ⅱ E1 genotypes. Alcoholism; Clinical and Experimental Research 20: 25A - 28A, 1996.

6）Uematsu F, Kikuchi H, Ohmachi T, Sagami I, Motomiya M, Kamataki T, Komori M and Watanabe M: Two common RFLPs of the human CYP2E gene. Nucleic Acids Res 19: 2803, 1991.

7）Fairbrother KS, Grove J, Waziers I, Steimel DT, Day CP, Crespi CL and Daly AK: Detection and characterization of novel polymorphisms in the CYP2E1 gene. Pharmacogenetics 8: 543 - 552, 1998.

8）Hu Y, Oscaron M, Johansson I, Yue QY, Dahl ML, Tabone M, Arico S, Albano E and Magnus Sundberg M: Genetic polymorphism of human CYP2E1: Characterization of two variant alleles. Molecular Pharmacology 51: 370 - 376, 1997.

9）Mannervik B and Danielson UH: Glutathiione transferases - structure and catalytic activity. RC Crit Rev Biochem 23: 283 - 337, 1988.

10）Zhong S, Wyllie AH, Barnes D, Wolf CR and Spurr NK: Relationship between the GSTM1 genetic polymorphism and susceptibility to bladder ,breast and colon cancer. Carcinogenesis 14: 1821 - 1824, 1993.

11）Deakin M, Elder J, Hendrickse C, Peckham D, Baldwin D, Pantin C, Wild N, Leopard P, Bell DA, Jones P, Duncan H, Brannigan K, Alldersea J, Fryer AA and Strange RC: Glutathione S - transferase GSTT1 genetypes and susceptibility to cancer :studies of interactions with GSTM1 in lung, oral, gastric and colorectal cancers. Carcinogenesis 17: 881 - 884, 1996.

12）Katoh T, Nagata N, Kuroda Y, Itoh H, Kawahara A, Kuroki N, Ookuma R and Bell DA: Glutathione S - transferase M1and T1 genetic polymorphism and susceptibility to gastric and colorectal adenocarcinoma. Carcinogenesis 17: 1855 - 1859, 1996.

13）Benichou C: Criteria of drug - induced liver dis - orders Report of an international consensus meeting . J hepatol 11: 272 - 276, 1990.

14）Zand R, Nelson SD, Slattery JT, Thummel KE, Kalhorn TF, Adams SP and Wright JM: Inhibition and induction of cytochrome P4502E1 - catalyzed oxidation by isoniazid in humans. Clin Pharmacol Ther 54: 142 - 149, 1993.

15）Kurtovic J and Riordan SM: Paracetamol - induced hepatotoxicity at recommended dosage. Journal of Internal Medicine 253: 240 - 243, 2003.

16）厚生労働省医薬食品局安全対策課：PL顆粒による肝機能障害．医薬品・医療用具等安全性情報 No. 153, 1998.

17）Uematsu F, Kikuchi H, Motomiya M, Abe T, Sagami I, Ohmachi T, Wakui A, Kanamaru R and Watanabe M: Association between restric - tion fragment length polymorphism of the human cytochrome P450 Ⅱ E1 gene and susceptibility to lung cancer. Jpn J Cancer Res 82: 254-256, 1991.

18) Hirvonen A, Husgafvel-Pursiainen K, Anttila S, Karjalainen A and Vainio H: The human CYP2E1 gene and lung cancer: Dra Ⅰ and Rsa Ⅰ restriction fragment length polymorphisms in a Finnish study population. Carcinogenesis 14: 85-88, 1993.

19) Kato S, Shields PG, Caporaso NE, Hoover RN, Trump BE, Sugimura H, Weston A and Harris CC: Cytochrome P450 Ⅱ E1 genetic polymorphisms, racial variation, And cancer risk. Cancer Res 52: 6712-6715, 1993.

20) Persson I, Johansson I, Bergling H, Dahl ML, Seidegard J, Rylander R, Raunnug A, Hogberg J and Sundberg MI: Genetic polymorphism of cytochrome P450 Ⅱ E1 in a Swedish population. Relationship to incidence of lung cancer. FEBS Lett 319: 207-211, 1993.

21) Stephens EA, Taylor JA, Kaplan N, Yang CH, Hsieh LL, Lucier GW and Bell DA: Ethnic variation in the CYP2E1 gene: polymorphism analysis of 695 African-Americans, European-Americans and Taiwanese. Pharmacogenetics 4: 185-192, 1994.

（平成16年3月3日受付）