

厚生労働科学研究費補助金

医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス
総合研究事業

薬物動態関連遺伝子多型の人種差に関する研究

平成14年度～16年度 総合研究報告書

主任研究者 千葉 寛

平成17年(2005年)3月

別添1

厚生労働科学研究費補助金

医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス
総合研究事業

薬物動態関連遺伝子多型の人種差に関する研究

平成14年度～平成16年度 総合研究報告書

主任研究者 千葉 寛

平成17年（2005年）3月

目 次

I. 総合研究報告

薬物動態関連遺伝子多型の人種差に関する研究 ----- 1
千葉 寛

資料

CYP2C9に関する総合報告書（越前宏俊）

UGT1A1に関する総合研究報告書（鹿庭なほ子）

トランスポーターに関する総合研究報告書（家入一郎）

CYP3AとOATP-Cに関する総合研究報告書（千葉 寛）

II. 研究成果の刊行に関する一覧表 ----- 47

III. 研究成果の刊行物・別刷 ----- 53

別添3

I 総合研究報告

厚生労働科学研究費補助金（医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業）
（総合）研究報告書

薬物動態関連遺伝子多型の人種差に関する研究

主任研究者：千葉 寛
千葉大学大学院・薬学研究院・教授

研究要旨

本研究班の目的は、医薬品の体内動態を規定する主要な要因である薬物代謝酵素とトランスポーターに着目し、その変異遺伝子の発現頻度を日本人と他人種（白人種及び黒人種）とで比較することによりその相違を明らかにし、医薬品の薬効と安全性に人種差が生じる原因の一端を明らかにする事である。具体的には、日本人、白人、黒人それぞれ 150 人の血液検体からゲノム DNA を抽出し、これらの試料を用いて、CYP3A subfamily, CYP2C9, UGT1A1、薬物トランスポーター（OATP-C, BCRP, OCT etc.）について、活性に影響を与える変異を中心に発現頻度の人種差を検討するとともに、一部の遺伝子変異については発現型又は遺伝子型既知の被験者を対象に機能への影響を検討した。その結果、CYP2C9 については、投与量を個別化する目的で薬物投与前に遺伝子スクリーニングを行う目的に限れば、黒人集団においては、CYP2C9*3 と*11 が重要であり、白人においては、CYP2C9*2 と *3 が重要、日本人においては CYP2C9*3 が重要であることが判明した。他の変異は、存在するにしてもアレル頻度が低いため、副作用症例の原因究明には有用であるが、薬物投与前のスクリーニングには不向きであると考えられた。UGT1A1 については遺伝子の領域を2つに分け、ハプロタイプ解析を行った。グルクロン酸抱合能の低下と密接な関連にあると言われている、UGT1A1 のブロック 1 におけるハプロタイプ*28、*6、*37 の頻度は、人種間で大きく異なっており、主として UGT1A1 によって解毒される薬物を投与する場合、あるいは、開発する場合には、それぞれ異なるタイプの遺伝子多型に注意を払わなければならないことが明らかとなった。また、新規 SNP、P229L は、黒人種における UGT1A1 の機能低下の原因のひとつに成り得ることが示唆された。トランスポーターについては、OATP-C, BCRP, OATP-B, OATP8, MDR1, OCT1-3, MRP4 について検討を加え、一部については、ヒトでの機能評価を加えた。その結果、OATP-C 遺伝子多型とプラバスタチン体内動態、コレステロール低下作用との関連、肝特異的発現するトランスポーター遺伝子多型とビリルビン輸送能との関連、BCRP 遺伝子多型と胎盤でのタンパク発現量ならびに基質薬物の体内動態との関連、MDR1 遺伝子非翻訳領域多型と胎盤でのタンパク発現量との関連などが明らかとなった。また、これらの遺伝子の一部の変異の頻度には人種間での差が観察されたことから、これらの輸送担体によって輸送される薬物の効果や体内動態の人種差の原因となる可能性が示唆された。CYP3A については、CYP3A4 の機能低下に関わるとされる変異のうち CYP3A4*2, CYP3A4*5, CYP3A4*6 と CYP3A5*3 と人種差の関係について検討を行った。その結果、CYP3A4*6 は日本人における CYP3A4 の活性低下に一部寄与する可能性はあるものの、日本人を含めたすべての人種における発現頻度がきわめて低いため、CYP3A 活性の人種差を説明する主要な要因とはなる可能性は低いこと、CYP3A5*

3の多型は CYP3A 活性の個人差の主要な原因の一つであるが、日本人と白人種における人種差の原因になる可能性は低く、黒人種と日本人あるいは白人種との間に人種差が生じる原因となる可能性が示唆された。

分担研究者

越前宏俊
明治薬科大学教授

鹿庭なほ子
国立医薬品食品衛生研究所医薬安全科学部室長

家入一郎
鳥取大学医学部付属病院薬剤部助教授

供された (A 群等試料)。日本人の血液のうち 50 人分は、本研究のために新たに募集された志願者から提供を受け、DNA は定法に従い鳥取大学病院薬剤部で抽出した。なお、本研究のために新たに募集された志願者から提供を受けた血液については、鳥取大学医学部附属病院から提供された血液とともに、連結不可能匿名化されたので、個人情報の漏洩の危険性や人権に対する不利益の発生は排除されている。また、志願者を募ったそれぞれの施設において、適正な研究倫理審査が行われ、志願者には十分な説明を行った後に、インフォームドコンセントを取得した。また、鳥取大学医学部附属病院から提供された A 群等試料は、本研究において使用しても差し支えないことが同施設において承認された。市販の白人種、黒人種の血液については、研究目的に使用されることに同意して採血されたものであり、連結不可能匿名化されている。

CYP2C9 の遺伝子解析は下記のように行った。即ち、CYP2C9*2 については、PCR-制限酵素断片長多型(RFLP)法により判定し、CYP2C9*3、*4、*5、*11 は、エクソン7のほぼ全長を PCR 法で増幅し、シークエンスにより解析をおこなった。CYP2C9*6 変異については、Kidds らの PCR-RFLP 法により解析した。5'上流解析は約-2.1kb まで、全長を 10 数種の細区画に分割し、特異的なプライマーを設計して増幅し解析した。

UGT1A1 については、UGT1A1 のブロック 1 (転写調節領域とエクソン1) におけるハプロタイプのマーカーアレルである -3279T>G, TATA ボックス内 TA リピート

A. 研究目的

医薬品の効果や安全性には人種差が存在することがある。その原因は遺伝や生理的状态などの内的要因と医療環境などの外的要因に大別される。これらの要因の中で、遺伝要因は人種差の形成に最も重要な役割を果たしている。本研究の目的は医薬品の体内動態を規定する主要な要因である薬物代謝酵素とトランスポーターに着目し、その変異遺伝子の発現頻度を日本人と他人種 (白人種及び黒人種) とで比較することによりその相違を明らかにし、医薬品の薬効と安全性に人種差が生じる原因の一端を明らかにする事である。

B. 研究方法

4 施設の共通の試料として、白人、黒人及び日本人各 150 人のゲノム DNA を用いた。白人種及び黒人種の末梢血は、テネシーブラッドサービスより購入した。日本人の血液 100 人分は、鳥取大学医学部附属病院から提

数、211G>A (G71R) 及び 686C>A (P229Q)、並びに、ブロック 2 (エクソン 2-5) におけるハプロタイプのマーカーアレルである 3'・非翻訳領域 (UTR) における 3 箇所の SNPs (1813C>T, 1941C>G 及び 2042C>G) の遺伝子型を、パイロシーケンス法又はダイデオキシ・シーケンス法で決定した。これらのマーカー変異を利用して、人種ごとに各ブロックにおけるハプロタイプ・ディプロタイプ解析を行った。新規 SNP P229L の機能解析は、COS-1 細胞に野生型と変異型の UGT1A1 を発現させ、RT-PCR 法、ウエスタンブロットニング及び SN-38 を基質とした代謝能の測定により行った。

トランスポーターに関しては、以下の遺伝子の多型解析を主に翻訳領域を中心に実施した；OATP-C, BCRP, OATP-B, OATP8, MDR1, OCT1~3, MRP2, MRP4, OAT1~2。さらに以下の遺伝子については、機能評価を加えた；OCTP-C (遺伝子多型とプラバスタチン体内動態とコレステロール低下作用)、肝に発現する数種のトランスポーター群 (ビリルビン輸送能)、BCRP 遺伝子 (胎盤でのタンパク発現量、4MU の体内動態)、MDR1 遺伝子非翻訳領域 (胎盤でのタンパク発現量)、OCT1&2 (メトホルミンによる血糖降下作用)。

CYP3A の遺伝子解析は以下のように行った。CYP3A4*1B は、PCR-RFLP 法により解析した。すなわち、ゲノム DNA を鋳型として PCR を行い、得られた PCR 産物を Pst I により制限酵素処理することにより変異の有無を調べた。CYP3A4*2 と CYP3A4*5 は、PCR-RFLP 法により解析した。すなわち、ゲノム DNA を鋳型として PCR を行い、得られた PCR 産物をそれぞれ Sty I あるいは Cla I で制限酵素処理することにより変異の有無を調べた。CYP3A4*6 については、PCR-RFLP 法と denaturing HPLC 法を組み合わせた DNA フラグメント解析法により解析した。すなわ

ち、野生型では *HinfI* により切断されないため、denaturing HPLC 法によりクロマトグラフ上で単一ピークとして検出されるのに対し、CYP3A4*6 変異型では、二つのピークとして検出されることに基づいて判定した。

Testosterone (TS) 6 β -hydroxylation 活性、midazolam (MDZ) 1'および 4-hydroxylation 活性は、HPLC により測定した。

倫理面への配慮—使用した血液は、研究用に採取されたもので、米国血液供給会社より購入した。これら血液検体や機能評価に使用したヒト臓器は、提供者に研究の目的等を説明した後、提供の同意を得た場合のみに試料として使用した。健常成人に対しても、同様な説明を行い、臨床試験参加の意思確認とともに文書で同意を得た上で、実施した。また、総ての研究は、倫理審査委員会において、審査、承認を得た後に実施した。さらに、総ての検体は、提供個人等が識別できない匿名化の後に使用した。

C. 研究結果

1) CYP2C9

黒人種における CYP2C9 の変異は、CYP2C9*3, *5, *6, *11 がそれぞれアレル頻度で 1, 0.3, 0.3, 2.2% 検出された。この頻度は、日本人 150 人における CYP2C9*3 の 1.3%、および白人 150 人における CYP2C9*2, *3, *11 の 11.0, 4.7, 0.013% と大きな差異を示した。また、上流解析の結果から、多数の 1 塩基置換の存在とそれらの組合せによる 10 種前後のパターンが明らかになった。しかし、3 人種の 5' 上流域の配列は、野生型、CYP2C9*2 および *3 の翻訳領域変異に対して明確な対応があるが、人種特異的なものではなく、変異型に対応する上流域配列は人種間で似通っていた。

2) UGT1A1

ブロック 1 における 686C>A を除いて、今

回解析したすべてのポジションの異型アレルの出現頻度は、3つの人種間で有意に差があった。ブロック1では、黒人種においては、ハプロタイプ*28 (-3279G;TA7;211G;686C)の頻度が最も高く(0.45)、日本人においては、*1a (-3279T;TA6;211G;686C)が主流であった(0.61)。白人種においては、両ハプロタイプの頻度は同程度に高かった。ハプロタイプ*6a (-3279T;TA6;211A;686C)は日本人に特徴的で、その頻度は約0.14であった。一方、黒人種では*36b 及び*37b (-3279T;TA5 及び TA8;211G;686C)の頻度が他の人種に比較して高かった。ブロック2における3つのアレルは、日本人においては完璧に連鎖していることが報告されているが、白人種及び黒人種における連鎖は日本人ほど強いものではなかった。

黒人種において、686C>A と同一のポジションで、それとは異なるアミノ酸変異を伴う新規の SNP 686C>T (P229L) が検出された。In vitro 機能解析では、P229L は野生型に比較して蛋白の安定性が低く、また、アミノ酸変異に伴う酵素のコンフォメーション変化等に由来する著しい活性低下が観察された。

3) トランスポーター

本検討では、多くの遺伝子を対象に検討を加えた。その例として、OATP-C の結果を以下に記載する。OATP-C 遺伝子には、6カ所のアミノ酸置換を伴う変異を同定した。その中で、N130D、V174A、2種類のSNPsについて、ハプロタイプも合わせ評価を加えた。日本人、白人、黒人における130D変異の頻度(mean, 95%CI)はそれぞれ、(0.629, 0.568-0.690)、(0.457, 0.401-0.513)、(0.769, 0.712-0.826)であった。また、174Aの頻度は(0.158, 0.112-0.204)、(0.120, 0.083-0.157)、(0.013, 0.0002-0.026)であった。ハプロタイプについては、*5(130D単独)、*15(130D174A)について検討した結果、*5 alleleの頻度はそれぞれ、0.000、0.015、0.000であり、*15 allele

では、0.150、0.056、0.014であった。以上のことから、V174A変異を有する日本人は、同時にN130D変異を有している一方、白人では両変異は独立して発現している例も比較的高い頻度で存在することが明らかとなった。

次に、プラバスタチンを基質薬物として体内動態への変異の関与について検討を加えた。その結果、*15 alleleは、血中濃度の上昇を伴う変異であり、ホモ接合体での濃度が最も高く、次いで、ヘテロ型、変異無し群で低くなるgene-dose effectが観察された。*15 alleleの構成変異であるV174A変異は、輸送能の低下の原因変異であることから、本変異保有者では、プラバスタチンの肝取り込みが低下すること、血中濃度は上昇するもののコレステロール低下作用の減弱が予想された。次に、この仮説の検討を行った。鳥取大学病院に通院し、プラバスタチンを長期に服用する患者を対象として、多型とコレステロール低下作用との関連について検討を加えた。*1a, *1b, *15, *17遺伝子型で層別した結果、*1b/*1b患者の平均低下率が約25%であったのに対し、*15/*1b型では、約10%前後であった。*15変異を有する患者では、コレステロールの低下率が低い傾向が認められた。

4) CYP3A(+OATP-C)

CYP3A4の機能低下を引き起こすとされる変異のうちCYP3A4*2, CYP3A4*5, CYP3A4*6について解析し、人種間での変異発現頻度の比較を行った。その結果、CYP3A4*2およびCYP3A4*5に関しては、解析した白人種(150人)、黒人種(150人)、日本人(149人)すべてにおいて変異は検出されなかったが、CYP3A4*6に関しては、日本人では149名中1名がヘテロ型の変異を保有していた。さらに、日本人と白色人種の肝組織を用い、CYP3A4*2, CYP3A4*5, CYP3A4*6, CYP3A5*3が薬物代謝活性に与える影響を検討したところ、日本人の検体でCYP3A4*6が一例ヘテロで見いだされ、そのTS6β-hydroxylation活性は日本人の野生型

の平均値の約 1/3 の低値を示した。一方、日本人および白人種の肝組織由来ゲノム DNA について *CYP3A5*3* と *CYP3A* 活性の関係を調べたところ、野生型 *CYP3A5*1* アレルをホモでもつ個体 (*CYP3A5*1*1*) の TS 6 β -hydroxylation 活性は、全検体中最も高い活性を示し、白人種の平均活性値の約 4 倍の高値を示すことが明らかとなった。同様に MDZ 水酸化活性について検討したところ、1', 4-水酸化いずれの活性についても *CYP3A5*1* をホモで保有する検体が最も高い活性を示した。さらに 1'-hydroxylation 活性については、高基質濃度(200 μ M)、低基質濃度(2.5 μ M)のいずれについても、*CYP3A5*1*3*の活性は **3*3*の活性よりも高値を示し、比較的明瞭な gene-dose effect を示すことが明らかとなった。しかし、TS 6 β -hydroxylation 活性と高濃度(200 μ M)の MDZ 4-hydroxylation 活性については、*CYP3A5*1*3* と **3*3*の間に明らかな差は認められなかった。

一方、分担研究者である家入らが人種差の存在を確認した *OATP-C*5* と *OATP-C*15* について機能への影響を *in vitro* で検討した。その結果、*OATP-C*5* と *OATP-C*15* のを導入発現した HEK293 細胞におけるプラバスタチンの輸送活性は *OATP-C*5*、*OATP-C*15* のいずれについても野生型の 1/6 以下の大きな低下を示したが、低下の程度に大きな差は認められなかった。

D. 考察

1) *CYP2C9*

今回の結果から投与量を個別化する目的に薬物投与前に遺伝子スクリーニングを行うためには黒人種の場合、*CYP2C9*3* と **11* が重要であり、白人種においては、*CYP2C9*2* と **3* が、日本人においては *CYP2C9*3* が重要であることが判明した。他の変異は、存在するにしてもアレル頻度が低く、副作用症例

の原因究明には有用であるが、薬物投与前のスクリーニングには不向きであると考えられた。一方、翻訳領域の遺伝多型では *CYP2C9* の酵素活性の個人差を説明できる程頻度の高い変異アレルは存在しないことから、酵素発現量を調節すると想定される、5'上流域の変異とワーファリン代謝活性の個人差の関係を検討したが、個人差に関係する特定のハプロタイプパターンは見いだせなかった。今後の方向性としては、イントロン非翻訳部の多型、あるいはさらなる上流域解析が必要であると考えられた。

2) *UGT1A1*

遺伝子多型と薬物動態や薬効・副作用との関連を検討する際には、個々のアレルとの関係だけではなく、1本の DNA 上で連鎖したアレルの組み合わせ、すなわちハプロタイプとの関係を調べるのが有用である場合が多いと言われている。実際に、比較的頻度の高い *UGT1A1*60* と TA ボックスにおける変異とはかなり強い連鎖があることが報告されており、本研究においてもそれが確認されたので、これらの2箇所のアレルの PK/PD に及ぼす影響を、独立で検討することは好ましくないことは明かである。*UGT1A1*6* (211G>A) はアジア人に特徴的な SNP であるために、ハプロタイプ解析においてマーカー SNP として使用されることが少ないが、本研究においては、211G>A と 686C>A も用いて、詳細なハプロタイプ構造を決定し、人種間の差を検討することができた。今回頻度は低いが白人においても、211G>A が検出されたが、白人における同アレルを含むハプロタイプの構造は明らかにできなかった。

著者のグループの研究では、ハプロタイプ **28*あるいは **6*のいずれかを同時に持つ患者では、SN-38 の代謝が大きく低下していることを明かにしてきた。我が国における標準的なイリノテカンの用法・用量は、1週間間隔

での 100 mg/m² 又は 2 週間間隔での 150 mg/m² 投与であるため、また、副作用に対する処置法が確立されてきたため、現在では重篤な副作用が発症することは少ないが、米国では 3 週間間隔による 350 mg/m² 投与が主流であり、文献によれば今なお重篤な副作用がしばしば観察されている。²⁰⁾ 現在、FDA ではイリノテカンの治療への遺伝子多型診断の導入を検討中であると伝聞するが、本研究成果は、日本人のみならず、米国に住むアジア系癌患者の安全性に対して有用な情報を提供できるのではないかと考える。また、本研究で示された *UGT1A1* の機能変化を伴うハプロタイプの頻度が人種間で相違することは、医薬品の開発にあたって、有効成分の主たる解毒化機構が、*UGT1A1* によるグルクロン酸抱合である場合には、人種間で異なるハプロタイプに対して注意を向けなければならないことを示唆する。

ブロック 2 における 3'-UTR の遺伝子多型は、mRNA の安定性に関与している可能性がある」と報告されている。ブロック 2 は *UGT1A1* のエクソン 2~5 を含んでいるが、同部位は、*UGT1A* の他の分子種と共有されるエクソンである。今回対象にした 3 つの SNP は、従って、*UGT1A1* のみならず、すべての *UGT1A* 分子種の機能に影響を及ぼす可能性がある。Acuna らは、1941C>G の変異があると、主として *UGT1A9* で代謝される tolcapone による肝毒性が緩和される傾向にあると報告した。しかし、佐井らは、同変異があるとイリノテカンの活性代謝物である SN-38 の代謝が抑制されると、と相反する報告をしている。同アレルの *in vivo* における機能変化については、さらに検討が必要であるが、同部位における各 SNPs の頻度は、人種間で差があった。

今回、黒人種で *UGT1A1**27 と同一のポジションで別のタイプの変異、686C>T が検出

された。この変異はアミノ酸の置換を伴う (P229L)。COS-1 細胞を用いた *In vitro* 機能解析の結果、*UGT1A1* の変異種 686C>T の mRNA のレベルは野生種とほぼ同程度であったのに対し、タンパク発現量が有意に低下していたのは、生成したタンパクの安定性が低いことが考えられた。また、P229L の Western blotting でスポットが 2 つに分かれたことは、翻訳後修飾に違いのあるタンパクが生成していることを示唆し、このことがタンパクのコンフォメーションの変化を来し、著しい活性低下の要因のひとつとなっていることが推測できた。P229L は既知の変異 *UGT1A1**27 (P229Q) よりも機能低下の程度は著しく、*in vivo* において、Gilbert 症候群や CN 症候群との関連が懸念される。

3) トランスポーター

今回解析した遺伝子総てにアミノ酸置換を伴う遺伝子変異を同定した。しかし、その種類や日本人での頻度はトランスポーター間で異なる。さらに、一部の変異の頻度については、明らかな人種差が認められ、日本人での頻度は黒人と共通点が多い傾向にあった。OATP-C の例にみるように、一部の変異は、明らかに体内動態の個人差の原因となる。N130D、V174A をハプロタイプで評価すると、明らかに人種差がみとめられることから、体内動態や効果に対する人種差の存在が予想される。本検討では、主に、体内動態関連遺伝子に注目した。今後は、効果に関与するタンパク遺伝子も視野に入れることで、さらに良好に遺伝子型と表現型が関連付けられると考えられる。

4) CYP3A(+OATP-C)

*CYP3A4**2 および *CYP3A4**5 に関しては、検討したいずれの人種においても変異が検出されなかったことから、変異遺伝子の発現頻度は非常に低く、人種差を説明する因子とは言い難いと考えられた。一方、*CYP3A4**6 に関しては、日

本人においてのみ変異遺伝子が検出された。*CYP3A4*6*は、これまで中国人での検討以外に報告が無い。今回の結果から *CYP3A4*6* 変異は、頻度は低いもののアジア人特有の変異である可能性が考えられた。一方、*OATP-C*15* は日本人に多い変異であるが、白人種では日本人で認められていない *OATP-C*5* が存在する。そのため、今回の結果から *OATP-C*5* と *OATP-C*15* を足した頻度で考えた場合、日本人は白人種の約二倍、黒人種の約 10 倍の頻度でこれらの遺伝子が発現していることから、これらの遺伝子変異に起因する *OATP-C* の機能低下者の頻度や *OATP-C* の平均的な機能に人種差が生じる可能性が示唆された。

一方、今回肝検体に見いだされた *CYP3A4*6* の heterozygote (GHL29) の *in vitro* における TS6 β -hydroxylation 活性は日本人の平均値の約 1/3 程度であった。*CYP3A4*6* は 1 塩基挿入によりフレームシフトが起こり、その結果、ストップコドンを形成する。そのため、*CYP3A4*6* を heterozygote として持つ個体では活性が通常の約 1/2 程度に低下するものと予想される。したがって、今回、得られた活性はその予想とほぼ一致するものであった。しかし、*CYP3A4*6* の頻度はきわめて低く、昨年度行った結果では日本人 149 人中 1 人が heterozygote として検出されたのみであった。従って、*CYP3A4*6* は日本人における *CYP3A4* の活性低下に一部寄与する可能性はあるものの、頻度がきわめて低いため、日本人と白人種における *CYP3A* 活性の人種差を説明する主要な要因とはなる可能性は低いものと思われた。

一方、*CYP3A* subfamily の一分子種である *CYP3A5* は個体によっては *CYP3A4* と同程度発現していることもあり、さらに *CYP3A4* と類似した基質特異性を示すこともあり、*CYP3A* 活性に一部寄与している可

能性が指摘されている。これまでに、発現系およびヒト肝ミクロソームを用いた検討により、*CYP3A5* の TS 6 β -hydroxylation 活性は *CYP3A4* より高いあるいは同程度であるという報告や低いという報告があり統一した見解は得られていないが、MDZ 1'-hydroxylation 活性については *CYP3A5* の活性が *CYP3A4* より高いという報告が多く、逆に MDZ 4-hydroxylation 活性は、*CYP3A4* よりも低いか、同程度であるという報告が多い。今回の結果はこれらの報告とよく一致し、MDZ 1'-hydroxylation では *CYP3A5* の関与が大きいため、比較的明瞭な gene-dose effect を示したのに対し、MDZ 4-hydroxylation 活性については低濃度のみ gene-dose effect が認められ、TS 6 β -hydroxylation 活性については明瞭な gene-dose effect が認められなかったものと考えられた。実際、MDZ 4-hydroxylation 活性については高濃度時において *CYP3A4* 活性と高い相関を示すとされており、高濃度の MDZ 4-hydroxylation 活性では *1/*3 と *3/*3 に差が認められなかったという今回の結果とよく一致するものと考えられた。

E. 結論

1) 白人、黒人、アジア (日本) 人の 3 人種における *CYP2C9* 遺伝子の多型検索を完了した。近年、遺伝子発現の調節には非翻訳領域、さらなる 5' 上流域、あるいは 3' 下流領域の多型が関係することが明らかになりつつある。今後は、この方面への研究展開が望まれる。薬物動態関連遺伝子の人種差の検討は、従来考えられているよりも遙かに複雑であることが明らかとなった。

2) *UGT1A1* を 2 つに分け、ハプロタイプ解析を行った。ブロック 1 では、8 種類のハプロタイプを、また、ブロック 2 では 6 種類のハプロタイプを 0.99 以上の確からしきで

推定できた。グルクロン酸抱合能の低下と密接な関連にあると言われている、*UGT1A1* のブロック 1 におけるハプロタイプ*28、*6、*37 の頻度は、人種間で大きく異なった。本研究結果は、欧米と日本では、主として *UGT1A1* によって解毒される薬物を投与する場合、あるいは、開発する場合には、それぞれ異なるタイプの遺伝子多型に注意を払わなければならないことを示唆している。また、新規 SNP、P229L は、黒人種における *UGT1A1* の機能低下の原因のひとつに成り得ることが示唆された。

3) *OATP-C*, *BCRP*, *OATP-B*, *OATP-8*, *MDR1*, *OCT1-3*, *MRP4* の SNPs 検索とハプロタイプ検索を中心に行い、一部については、ヒトでの機能評価を加えた。その結果 *OATP-C* 遺伝子多型とプラバスタチン体内動態、コレステロール低下作用との関連、肝特異的発現するトランスポーター遺伝子多型とビリルビン輸送能との関連、*BCRP* 遺伝子多型と胎盤でのタンパク発現量ならびに基質薬物の体内動態との関連、*MDR1* 遺伝子非翻訳領域多型と胎盤でのタンパク発現量との関連などが明らかとなった。また、トランスポーターに関しては機能に変化を伴う遺伝子変異の頻度が人種間で異なるケースが散見された。従って、頻度からの考察でも、人種間での効果や体内動態の差は存在すると考えられる。これらの現象が臨床でどの程度の意義を有するかは不明であり、データの蓄積が望まれるが、国外の臨床データ評価時の留意点であろう。

4) *CYP3A4**6 は、日本人における *CYP3A4* の活性低下に一部寄与する可能性はあるものの、日本人を含めたすべての人種における発現頻度がきわめて低いため、*CYP3A* 活性の人種差を説明する主要な要因とはなり得ないものと考えられた。一方、*CYP3A5**3 は頻度が高く *CYP3A5* の関与が高い薬物の代謝

の個人差には重要な要因となると考えられた。しかし、日本人と白人種における *CYP3A5**3 の頻度にはほとんど差がないため、個人差の原因とはなっても、人種差の原因になる可能性は低いものと思われる。ただし、黒人種については白人種や日本人と比較して

*CYP3A5**3 の頻度が有意に低いことから、日本人あるいは白人種との間に人種差が生じる原因となる可能性を考慮する必要があるものと考えられた。一方、*OATP-C**5 と *OATP-C**15 に起因する *OATP-C* の機能低下者の頻度は日本人で最も高く、*OATP-C* の平均的な機能が日本人では低い可能性が示唆された。

F. 研究発表

論文発表

Shiraishi T, Hosokawa M, Kobayashi K, Tainaka H, Yamaura Y, Taguchi M, Chiba K. Effects of G169R and P34S substitutions produced by mutations of *CYP2D6**14 on the functional properties of *CYP2D6* expressed in V79 cells. *Drug Metab Dispos.* (2002) 30: 1201-5.

Mitsunaga Y, Kubota T, Ishiguro A, Yamada Y, Sasaki H, Chiba K, Iga T. Frequent occurrence of *CYP2D6**10 duplication allele in a Japanese population. *Mutat Res.* (2002) 505: 83-5.

Kobayashi K, Urashima K, Shimada N, Chiba K. Substrate specificity for rat cytochrome P450 (*CYP*) isoforms: screening with cDNA-expressed systems of the rat. *Biochem Pharmacol.* (2002) 63: 889-96.

Iwahori T, Matsuura T, Maehashi H, Sugo K, Saito M, Hosokawa M, Chiba K, Masaki T, Aizaki H, Ohkawa K, Suzuki T. *CYP3A4* inducible model for in vitro analysis of human

drug metabolism using a bioartificial liver. *Hepatology*. (2003) 37:665-673.

Kobayashi K., Urashima K., Shimada N., Chiba K. Selectivities of human P450 inhibitors toward rat P450 isoforms: study with cDNA-expressed systems of the rat. *Drug Metab Dispos* 31: 833-836, 2003

Senda C., Toda S., Tateishi M., Kobayashi K., Igarashi T., Chiba K. Mexiletine carbonyloxy β -D-glucuronide: a novel metabolite in human urine. *Xenobiotica* 33:871-84, 2003

Mimura N., Kobayashi K., Nakamura Y., Shimada N., Hosokawa M., Chiba K. Metabolism of medroxyprogesterone acetate (MPA) via CYP enzymes *in vitro* and effect of MPA on bleeding time in female rats in dependence on CYP activity *in vivo*. *Life Science* 73:3201-3212, 2003

M. Saeki, Y. Saito, H. Jinno, M. Tohkin, K. Kurose, N. Kaniwa, K. Komamura, K. Ueno, S. Kamakura, M. Kitakaze, S. Ozawa and J. Sawada. Comprehensive *UGT1A1* genotyping in a Japanese population by Pyrosequencing. *Clin. Chem.*, 49, 1182 – 1185, 2003.

Nishizato Y, Ieiri I, Suzuki H., et al. Polymorphisms of OATP-C (SLC21A6) and OAT3 (SLC22A8) genes: Consequences for pravastatin pharmacokinetics. *Clin Pharmacol Ther* 73: 554-565, 2003.

Takane H, Ieiri I, Otsubo K. Genetic polymorphism of organic anion and cation transporters: pharmacokinetic and

pharmacodynamic consequences in pharmacotherapy. *Curr Pharmacogenomics*, 1: 245-257, 2003

Takahashi H, Wilkinson GR, Caraco Y, Muszkat M, Kim RB, Kashima T, Kimura S, Echizen H: Population differences in (S)-warfarin metabolism between CYP2C9 genotype-matched Caucasians and Japanese. *Clin Pharmacol Ther*, 73:253-63, 2003.

Takahashi H, Echizen H: Pharmacogenetics of CYP2C9 and interindividual variability in anticoagulant response to warfarin. *Pharmacogenomics J*, 3:202-14, 2003.

千葉 寛、家入一郎；薬物動態の薬理ゲノミクス、ゲノム医学、3、229-235, 2003.

家入一郎；トランスポーターの臨床域意義ー遺伝子多型から見る薬物療法への寄与、ファルマシア、.39, 427-430, 2003

Takahashi H, Wilkinson GR, Padriani R, Echizen H: CYP2C9 and oral anticoagulation therapy with acenocoumarol and warfarin: similarities yet differences. *Clin Pharmacol Ther*. 75: 376-80, 2004.

Takahashi H, Ieiri I, Wilkinson GR, Mayo G, Kashima T, Kimura S, Otsubo K, Echizen H: 5'-Flanking region polymorphisms of *CYP2C9* and their relationship to S-warfarin metabolism in Caucasian and Japanese patients, *Blood* 103:3055-3057, 2004.

N. Kaniwa, K. Kurose, H. Jinno, T. Tanaka-Kagawa, Y. Saito, M. Saeki, J. Sawada, M. Tohkin and R. Hasegawa: Racial variability in

haplotype frequencies of UGT1A1 and glucuronidation activity of a novel SNP 686C>T (P229L) found in an African-American. *Drug Metab. Dispos.*, 33, 458-465, 2005.

Ieiri I, Takane H, Otsubo K. The MDR1 (ABCB1) gene polymorphism and its clinical implications. *Clin Pharmacokinet*, 43; 553-576, 2004

Kobayashi D, Ieiri I, Hirota T, et al. Functional assessment of ABCG2 (BCRP) gene polymorphisms to protein expression in human placenta. *Drug Metab Dispos* 33; 94-101, 2005

Takane H, Ieiri I, Kobayashi D, et al. Haplotype-oriented genetic analysis and functional assessment of promoter variants in the MDR1 (ABCB1) gene. *J Pharmacol Ther Exp* 311; 1179-1187, 2004

Hirota T, Ieiri I, Takane H, et al. Allelic expression imbalance of the human CYP3A4 gene and individual phenotypic status. *Hum Mol Genet* 13; 2959-2969, 2004

Morita J, Kobayashi K, Wanibuchi A, Kimura M, Irie S, Ishizaki T, Chiba K. A novel single nucleotide polymorphism (SNP) of the CYP2C19 gene in a Japanese subject with lowered capacity of mephobarbital 4'-hydroxylation. *Drug Metab Pharmacokinet*. 19:236-8,2004

Kobayashi K, Morita J, Chiba K, Wanibuchi A, Kimura M, Irie S, Urae A, Ishizaki T. Pharmacogenetic roles of CYP2C19 and CYP2B6 in the metabolism of R- and S-mephobarbital in humans. *Pharmacogenetics*. 14:549-56, 2004

Iida I, Miyata A, Arai M, Hirota M, Akimoto M, Higuchi S, Kobayashi K, Chiba K. Catalytic roles of CYP2C9 and its variants (CYP2C9*2 and CYP2C9*3) in lornoxicam 5'-hydroxylation. *Drug Metab Dispos*. 32:7-9, 2004

Morimoto K, Oishi T, Ueda S, Ueda M, Hosokawa M, Chiba K. A novel variant allele of OATP-C (SLCO1B1) found in a Japanese patient with pravastatin-induced myopathy. *Drug Metab Pharmacokinet*. 19:453-5, 2004

家入一郎、大坪健司：薬物トランスポーターの遺伝多型と臨床的意義 臨床検査 48:139-147, 2004

G. 知的財産権の出願・登録状況
1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

H. 健康危険情報
なし

資料

厚生科学研究費補助金（医薬品・医療機器等総合研究事業）
総合研究報告書（CYP2C9）

薬物動態関連遺伝子多型の人種差に関する研究（14130301）
分担研究者 越前 宏俊 明治薬科大学 教授

研究要旨

医薬品の効果と副作用に関係するデータのブリッジングには、人種的な薬物動態と感受性の差異の検討が不可欠である。我々は厚生科学研究費補助金（医薬安全総合研究事業）「薬物動態関連遺伝子多型の人種差に関する研究」千葉班の分担研究者として、肝薬物代謝酵素である CYP 分子種中でも CYP3A に次いで発現量の多い CYP2C ファミリー、特にその遺伝子多型の動態への影響と臨床的な意義付けが明確である CYP2C9 の遺伝多型について、日本人、白人、黒人各 150 名（300 アレル）に対して翻訳領域および 5' 上流領域の変異を検討した。その結果、投与量を個別化する目的に薬物投与前に遺伝子スクリーニングを行う目的に限れば、黒人集団においては、CYP2C9*3 と *11 が重要であり、白人においては、CYP2C9*2 と *3 が重要、日本人においては CYP2C9*3 が重要であることが判明した。他の変異は、存在するにしてもアレル頻度が低く、副作用症例の原因究明には有用であるが、薬物投与前のスクリーニングには不向きであると考えられた。また、同酵素の翻訳領域の遺伝多型については -2.1kb 程度まで探索した結果、人種内および人種間の酵素活性の個人差を説明できる程頻度の高い変異アレルは存在しなかった。人種特異的な上流域パターンもこれまでの検討では、黒人の CYP2C9*5, *6, *11 における認められていない。黒人においてのみ認められる翻訳領域の変異 CYP2C9*5, *6 においても上流域の配列パターンは従来の野性型パターンと合致していた。近年、遺伝子発現の調節には非翻訳領域、さらなる 5' 上流域、あるいは 3' 下流領域の多型が関係することが明らかになりつつある。今後は、この方面への研究展開が望まれる。

A. 研究目的

医薬品の効果と副作用に関係するデータのブリッジングには、人種的な薬物動態と感受性の差異の検討が不可欠である。諸外国における研究で得られた新規医薬品に関わる薬物動態および感受性のデータを我が国での臨床試験にブリッジングするためには、薬物動態に関連する機能分子である薬物代謝酵素およびトランスポーターの遺伝子多型に関する人種差情報が重要である。我々は肝薬物代謝酵素である CYP 分子種中でも CYP3A に次いで発現量の多い CYP2C ファミリーの遺伝子多型を受け持ち、白人、黒人、アジア（日本）人、各 150 検体について検討を実施した。

B. 研究方法

白人、黒人、サンプルに関しては、班研究で協同入手した試料を用い、日本人サンプルは国内の共同研究各施設においてプロトコルを施設内倫理委員会により了承を受けた上で文書同意の得られた試料を用いた。

CYP2C9*2 については、我々が従来から用いている PCR-制限酵素断片長多型(RFLP)法により判定し、CYP2C9*3, *4, *5, *11 は、変異部位が同一のエクソン 7 に存在するため、このエクソンのほぼ全長を PCR 法で増幅し、シーケンスにより同時解析をおこなった。更に、近年黒人か報告のあった、CYP2C9*6 変異については、Kidds らの PCR-RFLP 法によ

り解析したが、その際の陽性対照試料には Joyce Goldstein から好意にて提供された CYP2C9*6 試料を用いた。5'上流解析は約 -2.1kb まで、全長を10数種の細区画に分割し、特異的なプライマーを設計して増幅し解析した。

C. 研究結果

黒人試料150名に対して検討を加えた結果、CYP2C9の変異は、CYP2C9*3、*5、*6、*11がそれぞれアレル頻度で1、0.3、0.3、2.2%検出された。この頻度は、日本人におけるCYP2C9*3の1.3%、および白人におけるCYP2C9*2、*3、*11の11.0、4.7、0.013%と大きな差異を示した。また、上流解析の結果から、3人種の5'上流域の配列は、野性型、CYP2C9*2および*3に人種特異的なものはなく、変異型に対応する上流域配列は人種間で良く似通っていた。但し、黒人で翻訳領域がホモ野性型保有者のなかで2%の対象者において、従来他の人種においてCYP2C9*3の上流域に特有な4塩基置換のうち2塩基を有する者が発見された。また、黒人のなかで、CYP2C9*5、*6、*11を有する対象者の5'上流域を探索すると、上流域塩基配列は従来白人、日本人の翻訳領域野性型に対応する4種類の上流域配列の何れかに合致していた。

D. 考察

CYP2C9の遺伝子多型は、2004年度研修終了時点で、CYP2C9*2から*13までの12種変異が、CYP命名委員会のホームページ上に報告されている。特に、新規の変異登録は主としてGoldsteinの研究室の貢献による黒人対象者から検出されたものが多い。今年度は、黒人集団を対象として、酵素活性への影響があることが何らかの形で証明されているCYP2C9*2、*3、*4、*5、*6、*11について、黒人、白人、日本人の3人種について変異の解析を完了した。

その結果、投与量を個別化する目的に薬物投与前に遺伝子スクリーニングを行う目的に

限れば、黒人集団においては、CYP2C9*3と*11が重要であり、白人においては、CYP2C9*2と*3が重要、日本人においてはCYP2C9*3が重要であることが判明した。他の変異は、存在するにしてもアレル頻度が低い、副作用症例の原因究明には有用であるが、薬物投与前のスクリーニングには不向きであると考えられた。

CYP2C9により代謝される薬物、とくにワルファリン、の体内動態には大きな個人差が存在するため、同酵素の翻訳領域の遺伝多型の探索が広く行われた。しかし、本研究においても示されたように、酵素活性の個人差を説明できる程頻度の高い変異アレルは存在しなかった。このため、酵素発現量を調節すると想定される、5'上流域の変異および個人差が検討された。本年度の結果から、上流域には多数の変異に基づく10種前後のハプロタイプパターンが存在する。しかし、翻訳領域が野性型の患者において異なる上流域パターンを有する者の間にワルファリンの代謝活性において明確な差異は認められなかった。また、人種特異的な上流域パターンもこれまでの検討では認められていない。黒人においてのみ認められる翻訳領域の変異CYP2C9*5、*6においても上流域の配列パターンは従来野性型パターンと合致していた。

詳細なハプロタイプ解析は今後行われるが、今後の方向性としては、イントロン非翻訳部の多型、あるいはさらなる上流域解析が必要であると結論された。

E. 結論

白人、黒人、アジア（日本）人の3人種におけるCYP2C9遺伝子の多型検索が完成された。近年、遺伝子発現の調節には非翻訳領域、さらなる5'上流域、あるいは3'下流領域の多型が関係することが明らかになりつつある。今後は、この方面への研究展開が望まれる。薬物動態関連遺伝子の人種差の検討は、従来考えられているよりも遙かに複雑であること

が明らかとなった。

F. 健康被害状況

試料の収集は初年度で終了しており、第二年度において倫理上および健康上の被害はありませんでした。

G. 研究発表

1.論文発表

Saima S, Furuie K, Yoshimoto H, Fukuda J, Hayashi T, Echizen H: The effects of rifampicin on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of orally administered nilvadipine to healthy subjects. *Br J Clin Pharmacol* 53:203-206, 2002.

Kadota K, Kamata K, Kobayashi Y, Kagaya H, Shimada S, Yoshimoto-Furuie K, Echizen H: Nomogram for individualizing supplementary iron doses during erythropoietin therapy in haemodialysis patients. *J Clin Pharm Ther* 27:111-119, 2002.

Takahashi M, Echizen H, Takahashi K, Shimada S, Aoyama N, Izumi T. Extremely prolonged elimination of cibenzoline at toxic plasma concentrations in patients with renal impairments. *Ther Drug Monit* 24:492-6, 2002.

Ushiyama H, Echizen H, Nachi S, Ohnishi A. Dose-dependent inhibition of CYP3A activity by clarithromycin during *Helicobacter pylori* eradication therapy assessed by changes in plasma lansoprazole levels and partial cortisol clearance to 6 β -hydroxycortisol. *Clin Pharmacol Ther.* 72:33-43, 2002.

Ohkawa K, Hashiguchi M, Ohno K, Kiuchi C, Takahashi S, Kondo S, Echizen H, Ogata H. Risk factors for antituberculous chemotherapy-induced hepatotoxicity in Japanese pediatric patients. *Clin Pharmacol Ther.* 72:220-6, 2002.

Kanamori M, Takahashi H, Echizen H: Developmental changes in the liver weight-and body weight-normalized clearance of theophylline, phenytoin and cyclosporine in children. *Int J Clin Pharmacol Ther.* 40:485-492, 2002.

Takahashi H, Wilkinson GR, Caraco Y, Muszkat M, Kim RB, Kashima T, Kimura S, Echizen H: Population differences in (S)-warfarin metabolism between CYP2C9 genotype-matched Caucasians and Japanese. *Clin Pharmacol Ther* 73:253-63, 2003.

Shibuya M, Echizen H, Kubo S, Tamura N, Suzuki

K, Ushiyama H, Ohnishi A: Reduced urinary 6 β -hydroxycortisol to cortisol ratios in patients with liver cirrhosis. *Hepatology Res* 26:28-33, 2003.

Takahashi H, Echizen H: Pharmacogenetics of CYP2C9 and interindividual variability in anticoagulant response to warfarin. *Pharmacogenomics J*, 3:202-14, 2003.

Saruwatari J, Nakagawa K, Shindo J, Nachi S, Echizen H, Ishizaki T: Sho-saiko-to, a traditional Chinese herbal medicine, on cytochrome P450 1A2, 3A and xanthine oxidase in humans, *J Pharm Pharmacol* 55:1553-1559, 2003.

Ohno K, Miyazaki S, Hashiguchi M, Unemoto T, Itoh A, Echizen H, Rikihisa T, Ogata H, Murata M: Establishing a comprehensive questionnaire for detecting drug-induced extrapyramidal symptoms, *Yakugaku Zasshi* 123:881-886, 2003.

Yamaguchi T, Oishi K, Uchida M, Echizen H: Edoxone, a radical scavenger, may enhance or produce antiproliferative effects of fluvastatin, amlodipine, ozagrel, GF109203 and Y27632 on cultured basilar artery smooth muscle cells. *Biol Pharm Bull*, 26:1706-1710, 2003.

Takahashi H, Wilkinson GR, Padriani R, Echizen H: CYP2C9 and oral anticoagulation therapy with acenocoumarol and warfarin: similarities yet differences. *Clin Pharmacol Ther.* 75: 376-80, 2004.

Takahashi H, Ieiri I, Wilkinson GR, Mayo G, Kashima T, Kimura S, Otsubo K, Echizen H: 5'-Flanking region polymorphisms of CYP2C9 and their relationship to S-warfarin metabolism in Caucasian and Japanese patients, *Blood* 103:3055-3057, 2004.

2.学会発表

Echizen H, Pharmaceutical Sciences World Congress 2004, Variability analysis of drug response, Symposium 32: Therapeutic Drug Monitoring: Variability in Drug Response, May 31, 2004, Kyoto, Japan

Echizen H, Population differences in pharmacokinetics and pharmacodynamics: what remains to be done, Association of the British Pharmaceutical Industry (ABPI)/Japan Pharmaceutical Manufacturers Association (JPMA)

R&D Conference 2004, June 3, 2004, Kyoto, Japan

H. 知的財産権の出願・登録状況

本年度の成果についてはありません。

薬物動態関連遺伝子多型の人種差に関する研究

分担研究者 鹿庭 なほ子 国立医薬品食品衛生研究所医薬安全科学部長

研究要旨 UDP グルクロノシル転移酵素 (UGT) は、第 II 相代謝の約 40%を担う重要な酵素である。本研究では、薬物動態関連遺伝子の人種差に関する基礎データを提供することを目的に、機能変化を伴う多くの多型が存在することが知られている UDP グルクロノシル転移酵素の分子種のひとつである UGT1A1 をコードする遺伝子 *UGT1A1* のハプロタイプの構造と頻度について、白人種、黒人種、日本人間で比較検討を行った。また、本研究において黒人種の試料から見出された新規一塩基多型 (SNP) P229L の機能解析を行った。

各人種 150 人分の末梢血より抽出した DNA を用いて、*UGT1A1* のブロック 1 (転写調節領域とエクソン 1) におけるハプロタイプのマーカーアレルである・3279T>G, TATA ボックス内 TA リピート数、211G>A (G71R) 及び 686C>A (P229Q)、並びに、ブロック 2 (エクソン 2・5) におけるハプロタイプのマーカーアレルである 3'・非翻訳領域 (UTR) における 3 箇所の SNPs (1813C>T, 1941C>G 及び 2042C>G) の遺伝子型を、パイロシークエンス法又はダイデオキシ・シークエンス法で決定した。これらのマーカー変異を利用して、人種ごとに各ブロックにおけるハプロタイプ・ディプロタイプ解析を行った。新規 SNP P229L の機能解析は、COS-1 細胞に野生型と変異型の UGT1A1 を発現させ、RT-PCR 法、ウエスタンブロッティング及び SN-38 を基質とした代謝能の測定により行った。

ブロック 1 における 686C>A を除いて、今回解析したすべてのポジションの異型アレルの出現頻度は、3つの人種間で有意に差があった。ブロック 1 では、黒人種においては、ハプロタイプ *28 (-3279G;TA7;211G;686C) の頻度が最も高く (0.45)、日本人においては、*1a (-3279T;TA6;211G;686C) が主流であった (0.61)。白人種においては、両ハプロタイプの頻度は同程度に高かった。ハプロタイプ *6a (-3279T;TA6;211A;686C) は日本人に特徴的で、その頻度は約 0.14 であった。一方、黒人種では *36b 及び *37b (-3279T;TA5 及び TA8;211G;686C) の頻度が他の人種に比較して高かった。ブロック 2 における 3つのアレルは、日本人においては完璧に連鎖していると報告されているが、白人種及び黒人種における連鎖は日本人ほど強いものではなかった。

黒人種において、686C>A と同一のポジションで、それとは異なるアミノ酸変異を伴う新規の SNP 686C>T (P229L) が検出された。In vitro 機能解析では、P229L は野生型に比較して蛋白の安定性が低く、また、アミノ酸変異に伴う酵素のコンフォメーション変化等に由来する著しい活性低下が観察された。

以上より、本研究結果は、欧米と日本では、主として UGT1A1 によって解毒される薬物を投与する場合、あるいは、開発する場合には、それぞれ異なるタイプの遺伝子多型に注意を払わなければならないことを示唆している。また、新規 SNP、P229L は、黒人種における UGT1A1 の機能低下の原因のひとつに成り得ることが示唆された。