

慢性肝炎・肝硬変患者における解毒機能の低下と チトクロームP450 遺伝的多型の関わり

大 西 明 弘

東京慈恵会医科大学臨床検査医学講座

LIVER DISEASE-RELATED REDUCTION IN *IN VIVO* CYP ENZYME ACTIVITY IN JAPANESE PATIENTS WITH HCV SEROPOSITIVE CHRONIC HEPATITIS AND CIRRHOSIS

Akihiro OHNISHI

Department of Laboratory Medicine, The Jikei University School of Medicine

The activity of the hepatic cytochrome P450 (CYP) enzyme is thought to be reduced in chronic liver diseases, including cirrhosis. To study whether the disease-related reduction in enzyme activity differs among CYP isoforms and whether genetic polymorphisms have additive effects on the reduction in CYP2C19 activity, we compared *in vivo* CYP2C19 and CYP3A activity using the 3-hour metabolic clearance of omeprazole to 5-hydroxy omeprazole, the 3-hour omeprazole hydroxylation index after an oral 20-mg omeprazole load, and the metabolic clearance of cortisol to 6 β -hydroxycortisol in Japanese patients with chronic liver disease seropositive for hepatitis C virus and healthy controls. Mean disease-related reductions in metabolic clearance (compared with that in control subjects) were greater for CYP 2C19 (78% in chronic hepatitis and 91% in cirrhosis) than for CYP3A (36% in chronic hepatitis and 50% in cirrhosis). The mean omeprazole hydroxylation indices with the homozygous extensive metabolizer genotype, the heterozygous extensive metabolizer (intermediate metabolizer) genotypes, and the poor metabolizer genotypes were 17.2, 20.0, and 26.0, respectively, and were significantly higher than those in control subjects. In conclusion, liver disease-related reductions *in vivo* metabolic activities were greater for CYP2C19 than for CYP3A. Because liver damage and genetic polymorphisms act in an additive manner to reduce *in vivo* CYP2C19 activity, genotyping is recommended to avoid adverse drug reactions in patients before administering drugs metabolized by CYP2C19.

(Tokyo Jikeikai Medical Journal 2011;126:71-8)

Key words: chronic hepatitis, liver cirrhosis, P450, metabolism, genetic, polymorphism

I. 緒 言

肝臓は、体内に入った外来性化学物質（薬物・食品添加物・環境物質等）および内因性化学物質を解毒（代謝）する主要臓器である¹⁾⁻⁵⁾。肝炎ウイルス、飲酒等の原因による慢性肝疾患（慢性肝炎、肝硬変、肝臓癌）では、正常肝細胞数の低下、有効肝血流量の低下、シャント形成等が生ずるため、肝に存在する代謝酵素活性（おもに cytochrome P450 ; CYP）が減少すると考えられる⁵⁾⁻⁷⁾。

この代謝酵素CYPには、現在まで多くの分子種の存在が知られている¹⁻³⁾⁵⁾。慢性肝疾患によるCYP代謝活性の低下の度合いがCYP分子種間で差異はあるのかどうかについて、とくに日本人におけるC型肝炎ウイルスによる慢性肝炎患者で、この点の十分な研究はなされていない。欧米では唯一Branch.らのグループによりCYP分子種のCYP2C19, 3A4, 1A2, 2D6, 2E1活性をそれぞれのprobe薬を使用して調査し、報告している⁸⁾⁻¹⁰⁾。彼らによれば、肝障害に伴う活性の低下度合いは、

CYP2C19 \gg 3A4, 1A2 $>$ 2D6 $>$ 2E1の順になると報告しており、その研究対象患者はおもにアルコール性の患者が対象となっている。そのため日本人慢性C型肝炎患者におけるCYP3AおよびCYP2C19活性がどの程度低下するかを確かめる事は臨床的に重要である。

また肝障害によるCYP代謝酵素活性の低下とCYP遺伝的多型に伴う代謝酵素活性の変動が重なると、低下が相加するのか、どのような影響を受けるのかはまだ報告されていない。薬物治療の面では、活性低下が報告されているCYP分子種代謝酵素欠損者 (Poor Metabolizer) に肝障害によるCYP代謝活性の低下が重なると、正常肝を持つ健康人と同じ薬物治療量・投与方法では副作用を引き起こしかねないと予想される。このため外来を含めた臨床現場で肝疾患を有する患者に薬物治療を行う際、使用する薬物の代謝酵素*in vivo*活性を測定し、個々の低下に沿った投与調節が必要となる。

本研究目的は慢性C型肝炎患者を対象に、①肝障害によるCYP代謝酵素活性の低下の度合いにCYP分子種間 (CYP3A, CYP2C19) で差があるかどうか、②肝障害と遺伝的多型にともなう酵素活性低下が重なった時の低下度合いを調査することである。後者の目的には、遺伝子多型と表現型が一致しており、日本人に多い遺伝子多型が目的に適うためCYP2C19を選択した。CYP2C19は遺伝子変異*2と遺伝子変異*3により表現型が決定される事がすでに報告されている。日本人では5人

に1人が代謝酵素欠損者 (Poor Metabolizer) と報告されている¹¹⁾。今回CYP2C19の*in vivo*代謝活性の指標としては、Omeprazole (OPZ) をprobeとして用い、代謝クリアランス ($CL_{OPZ \rightarrow 5OH-OPZ}$) を計算することに加えて、従来からの指標としてOMZと水酸化体5 hydroxy-OPZの比 (OPZ/5OH-OPZ) を使用した¹²⁾。

CYP3Aは薬物治療で使用されている薬物の55%が関与する最も重要な代謝酵素で、信頼性のあるかつ簡便な*in vivo*代謝活性を評価できる検査の確立が望まれている。内因性cortisol (C) はCYP3Aによって代謝され6 β -hydroxycortisol (6 β -HC) になり尿中に排泄される事は従来から知られており (Fig. 1a), 尿中C/6 β -HC比がCYP3Aの指標とされてきたが、バラツキが大きく信頼性に不十分であった。このため筆者がすでに健康人において信頼性のあるかつ簡便なCYP3A *in vivo*代謝活性の指標として報告している代謝クリアランス ($CL_{C \rightarrow 6\beta-HC}$) を、今回慢性肝疾患患者でも使用した。またこの研究を通じて、CYP代謝クリアランスの検査としての再評価も本研究の別の目的とした¹³⁾⁻¹⁶⁾。

II. 対象および方法

研究はまず慢性肝疾患患者におけるCYP3A *in vivo*代謝活性を評価するうえでStudy 1とStudy 2に分けた。

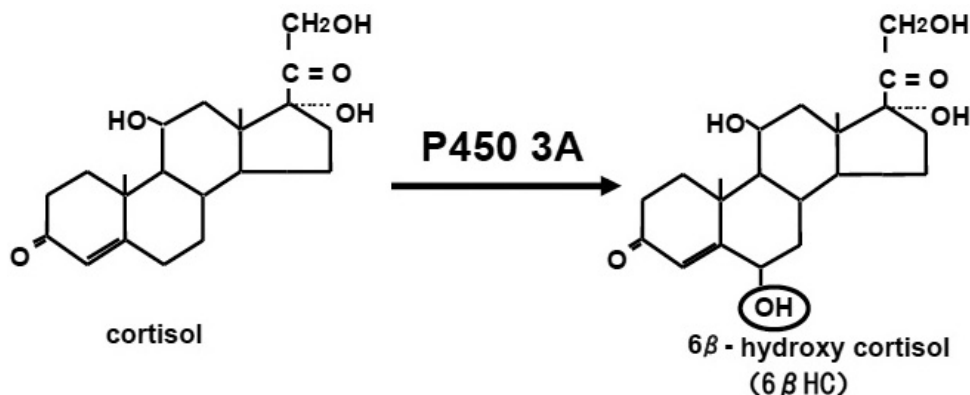


Fig. 1a. Unbound intrinsic cortisol is mainly metabolized by CYP3A to β -hydroxylation form and is excreted in the urine.

1. Study 1

Study 1では7名の肝硬変患者 (Table 1に生化学検査概要) と7名の健常成人男子で構成され、測定は24時間の代謝クリアランス ($CL_{C \rightarrow 6\beta-HC}$) を午前9時から翌日の午前9時まで実施した。すでに報告のように代謝クリアランスは24時間 $6\beta-HC$ 尿中排泄量 ÷ 血中cortisol濃度 (ml/hr) の計算で求めた。健常成人男子は1日目の代謝クリアランス測定後、CYP3A阻害薬として知られているDiltiazem 60 mg 1日3回服用、3日目に同様の24時間代謝クリアランス測定を実施した。

2. Study 2

Study 2ではC型肝炎ウイルス由来の慢性肝疾患患者 (慢性C型肝炎) 47名 (Table 1に生化学検査概要) および健常成人男子30名が対象で、3時間代謝クリアランスを測定した。慢性肝疾患患者は、いずれも測定が外来受診時で午前9時から12時に実施した。

3. Study 3

次に肝障害時の酵素活性低下にCYP分子種間 (CYP3A, CYP2C19) での差があるかどうかを調査するためStudy 3を実施した。Study 3では慢性C型肝炎患者31名 (慢性肝炎9名, 肝硬変22名, Table 2) に3時間cortisol代謝クリアランス ($CL_{C \rightarrow 6\beta-HC}$) 測定を実施した。またCYP2C19 *in vivo* 代謝活性の指標として3時間代謝クリアランス ($CL_{opz \rightarrow 5OH-opz}$) をプロトンポンプ阻害薬Omeprazol 20 mg服用後に実施した。対照として健常成人男子30名 (Table 2参照) も上記と同様に代謝クリアランスを測定した。Study 3では上記目的と平行して、肝障害と遺伝的多型にともなう酵素活性低下を調査するため、OPZと5 hydroxy-OPZの比 (OPZ/5OH-OPZ) を求め、さらに末梢血リンパ球から抽出したgenomic DNAよりCYP2C19の遺伝子変異を解析し、個々の参加者の遺伝的多型を調査した。

Table 1. Clinical and Biochemical characteristics in patients enrolled in study 1 and 2

	n	Sex	Age	Alb	Pt	ALT	AST	T. Bil
		Male/Female	years	g/dl	%	IU/L	IU/L	mg/dl
Study 1	6	5/1	57 ± 14	3.0 ± 0.5	64.7 ± 9.8	47.3 ± 40.7	58.3 ± 25.4	1.23 ± 0.61
Study 2	47	35/12	69 ± 7	3.8 ± 0.6	81.5 ± 10.1	71.8 ± 67.7	69.9 ± 29.7	0.85 ± 0.41

Data indicate mean ± SD.

Table 2. Demographic and clinical characteristic of the healthy subjects and patients with chronic liver disease who enrolled in the present study

	Patients with chronic hepatitis	Patients with cirrhosis	Healthy controls
Numbers of subjects or patients	9	22	30
Sex (male/female)	8/1	14/8	18/12
Age (years)	66 ± 9.5 *	70.8 ± 6.1*	50.6 ± 16.4
Child-Pugh's score [§]	9/0/0	20/1/1	NA
AST (IU/L)	47.5 ± 36.8*	78.5 ± 27.1*	25.7 ± 14.1
ALT (IU/L)	58.4 ± 65.5*	61.4 ± 23.0*	26.9 ± 8.0
Total protein (g/dL)	7.9 ± 0.6	7.4 ± 0.7	7.5 ± 0.5
Albumin (g/dL)	4.3 ± 0.5	3.7 ± 0.5*	4.4 ± 0.4
Total bilirubin (mg/dL)	0.5 ± 0.2	1.6 ± 3.3	0.6 ± 0.3
Prothrombin index (%)	92.6 ± 9.1	77.8 ± 11.5 [#]	ND
Creatinine (mg/dL)	0.7 ± 0.22	0.9 ± 0.31	0.8 ± 0.24

Data indicate mean ± SD. NA = not applicable, ND = not determined, All laboratory data shown are assayed in serum. Data are mean ± SD. * p < 0.05 compared with control; # p < 0.05 compared with chronic hepatitis; gender difference was not significant among 3 groups by X² analysis. § : classification reported by Pugh RN, et al.(8).

Study 1-3はいずれも東京慈恵会医科大学倫理委員会の審査を受け承認されている。慢性肝疾患患者および健常者の方々は文書による同意の後で研究に参加された。

4. 測定

尿中cortisolと6β-hydroxycortisolは高速液体クロマトグラフィー (HPLC) によるBienvenuらの方法で測定し¹⁶⁾¹⁷⁾、血中cortisolはFluorescence immunoassayで測定した。また血中、尿中Omeprazole, 5-hydroxy OPZはともにHPLC法で測定した。

5. 遺伝子多型解析

末梢血白血球からDNA抽出キットを使用してgenomic DNAサンプルを得た後、CYP2C19の遺伝子多型解析はMorarisおよびKubotaらの方法にもとづいて実施された。すなわちCYP2C19*2とCYP2C19*3のアレルの解析はPCR-RFLPを使用し、CYP2C19 exon4の636位 (CYP2C19*3) およびexon5の689位 (CYP2C19*2) を含む領域をそれぞれのspecific primer (BamHIとMspI) を用いてPCR反応後、制限酵素処理を行い、得られたDNA断片の電気泳動パターンからCYP2C19の遺

伝子多型を決定した。Kubotaらの健常人186名の結果に基づき、日本人変異型*2あるいは*3のhomozygousをPoor Metabolizer (PM) (*2/*2; *3/*3), heterozygousをIntermediate Metabolizer (IM) (*1/*2, *1/*3), それに野生型wild homozygousをExtensive Metabolizer (EM) (*1/*1) と判断し表現型を決定した¹¹⁾¹⁸⁾。

6. 代謝クリアランスと統計処理

まず内因性コルチゾールの代謝クリアランス ($CL_{\text{cortisol} \rightarrow 6\beta\text{-HC}}$) は以下の計算式で求めた。

$$CL_{\text{cortisol} \rightarrow 6\beta\text{-HC}} = Ae_{(6\beta\text{-HC})} / C_{\text{cortisol}}$$

Aeは24時間あるいは3時間の代謝物6β-Hydroxycortisol尿中排泄量でCはcortisolの血中濃度である。Omeprazoleの代謝クリアランス ($CL_{\text{opz} \rightarrow 5\text{OH-opz}}$) も同様に求めた¹⁴⁾¹⁶⁾。DataはすべてMean ± SEMで記載し、各群での統計比較検討はDunnnett's t testをもとにmultiple comparison analysisを使用した。

III. 結 果

Study 1では、尿中6βhydroxycortisolと血中cortisolの24時間血中濃度時間推移下面積 (AUC) で求められる代謝クリアランス ($CL_{\text{C} \rightarrow 6\beta\text{-HC}}$) は、健常人でDay 1, 96.5 ± 12.1 ml/hr, CYP3A阻害薬diltiazem投与後のDay 3で 56.1 ± 7.4 ml/hrと約42%有意に低下し ($p < 0.01$)、これは肝硬変患者 49.7 ± 12.6 ml/hrと近似した値を示した (Fig. 1b)。同時に測定した尿中6βOHCとCortisolの尿中濃度比では、健常人でDay 1, 7.8 ± 3.1 , diltiazem投与後のDay 3で 6.2 ± 4.1 と約21%の低下のみで有意差は認められず、バラツキも大きく観察された。Study 2では慢性肝疾患患者47名における代謝クリアランスは 76.8 ± 6.3 ml/hrとなり、健常成人男子 135.8 ± 14.1 ml/hr に比較して44%の有意な低下が観察された ($p < 0.001$; Fig. 2a)。この3時間の代謝クリアランス ($CL_{\text{C} \rightarrow 6\beta\text{-HC}}$) で求めた慢性肝疾患患者におけるこの低下度合いが、肝機能障害に基づくものかを確認するため、血清アルブミン値の低下度合いで代謝クリアランスを分けたところ、血清アルブミン値4.0 g/dl以上で 115.6 ± 10.8 ml/hr、血清アルブミン3.0 - 4.0 g/dlで 71.9 ± 8.3 ml/hr、血清アルブミン3.0

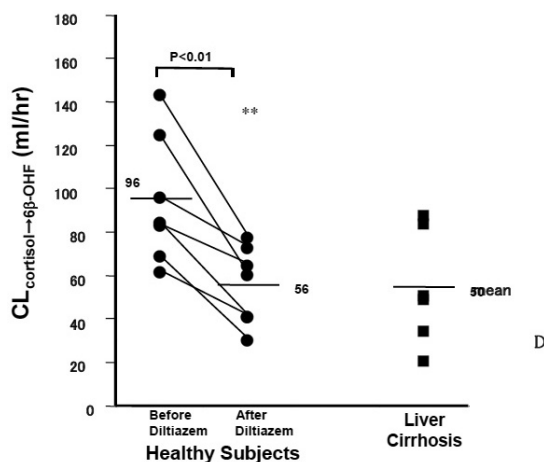


Fig. 1b. Twenty four hours metabolic clearance for 6β-hydroxylation of cortisol ($CL_{\text{C} \rightarrow 6\beta\text{-HC}}$) obtained from 7 healthy subjects on before (Day 1) and after (Day 3) diltiazem treatment and those obtained from 6 patients with liver cirrhosis. The data obtained from the same individual before and after diltiazem treatment were connected by lines. The horizontal bars represent means of the corresponding groups.

g/dl未満で 68.3 ± 8.6 ml/hrとなり段階的に低下している事が観察された (Fig. 2b)。

Study 3で31名の慢性肝疾患患者 (慢性C型肝炎9名, 肝硬変22名) における *in vivo* CYP3A指標 ($CL_{C \rightarrow 6\beta-HC}$) と *in vivo* CYP2C19指標 ($CL_{opz \rightarrow 5OH-opz}$) を調べたところ, CYP3A代謝クリアランスは, 健常成人 (135.6 ± 14.4 ml/hr) に比較して, 慢性肝炎患者 (86.4 ± 10.2 ml/dl) で36%低下, 肝硬変患者 (68.4 ± 8.7 ml/hr) で50%の低下となった。一方CYP2C19代謝クリアランスは健常成人 (1145.5 ± 87.5 ml/hr) に比較して, 慢性肝炎患者 (251.3 ± 19.7 ml/dl) で78%の低下, 肝硬変患者

(88.7 ± 27.3 ml/hr) で91%の低下となり, CYP3A代謝クリアランスの低下に比較して大きく上回る低下を示した (Fig. 3a, b)。

Study 3のもう一つの目的である肝障害とCYP遺伝的多型が重なった場合の結果では, 慢性肝疾患患者におけるOPZ/5OH-OPZ比 (代謝クリアランスと逆相関関係) は, EM (*1/*1, $n=8$) 17.15 ± 2.12 , IM (*1/*2, $n=11$; *1/*3, $n=6$) 20.02 ± 2.63 , PM (*2/*2, $n=3$; *3/*3, $n=3$) 26.04 ± 3.15 の順に上昇しており, いずれも健常人の各々遺伝多型 (EM, 0.81 ± 0.09 ; IM, 1.55 ± 0.20 ; PM, 15.5 ± 1.52) と比較して有意に (p

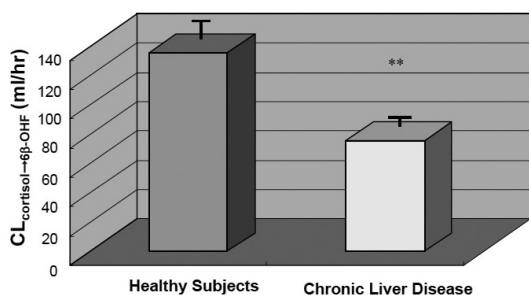


Fig. 2a. Three-hour metabolic clearance ($CL_{C \rightarrow 6\beta-HC}$) in 30 healthy subjects and 47 patients with chronic liver disease seropositive for hepatitis C virus. **: $P < 0.001$ compared with the healthy subject. Data indicate the mean \pm SEM. **: $P < 0.001$ compared with the healthy subject

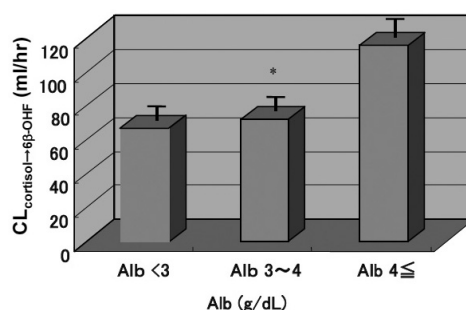


fig. 2b. The mean \pm SEM of 3-hour metabolic clearance ($CL_{C \rightarrow 6\beta-HC}$) in 47 patients with chronic liver disease seropositive for hepatitis C virus reduced in accordance with the serum albumin decrease. Data indicate the mean \pm SEM. *: $P < 0.05$ compared with the value obtained from the patients of $4 \leq$ Alb.

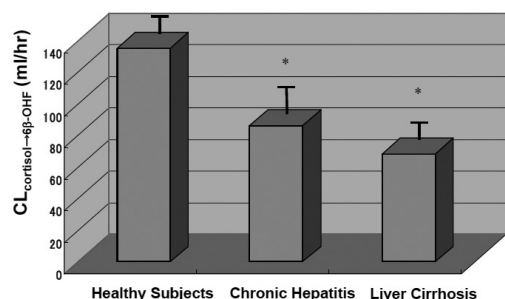


Fig. 3a. Three-hour metabolic clearance ($CL_{C \rightarrow 6\beta-HC}$) in 30 healthy subjects, 9 chronic hepatitis and 22 liver cirrhosis caused by hepatitis C virus infection. Data indicate the mean \pm SEM. *: $P < 0.05$ compared with the healthy subject.

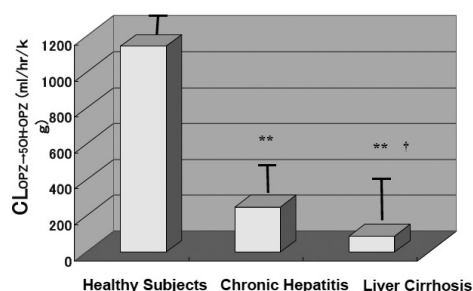


Fig. 3b. Three-hour metabolic clearance of omeprazole to 5-hydroxy omeprazole after an oral 20-mg omeprazole load ($CL_{opz \rightarrow 5OH-opz}$) in 30 healthy subjects, 9 chronic hepatitis and 22 liver cirrhosis caused by hepatitis C virus infection. Data indicate the mean \pm SEM. **: $P < 0.001$ compared with the healthy subject, †: $p < 0.05$ compared with chronic hepatitis.

<0.01) 増加していた (Fig. 4). また両群とも PM は EM に比較して 10 倍以上の有意な高値を示し, 健常人群の PM は肝疾患群 EM と同等の値を示した.

IV. 考 察

Study 1 で代謝クリアランスで求められる CYP3A 活性は治療量 diltiazem (180 mg/日) により, 約 60% に低下, この CYP3A 活性の低下は肝硬変患者における活性低下とほぼ同等の結果となった (Fig. 1b 参照). この事は逆の意味でいえば, 肝硬変患者においては CYP3A で代謝される薬物を服用した場合, 健常人の 60% に満たない解毒能力 (CYP3A) しか持たない事を意味している. この diltiazem 60 mg 1 日 3 回投与の投与量は, Varhe A ら報告の同治療量 diltiazem が睡眠導入薬 triazolam の Cmax 及び AUC を 2-3 倍に増加させる阻害効果と同様だと思われる¹⁹⁾. 代謝クリアランスと 6βOHC/C 比との比較検討で, 6βOHC/C 比が diltiazem 投与時の低下度合いが小さくなった事

は, cortisol 腎クリアランスの変動のため, 低下度が見かけ上弱く反映されていることが予想され, 代謝クリアランスの方がよりよい指標と考えられた. また血中 cortisol 値の高い日中の分画尿より求められる日中代謝クリアランスは 24 時間尿の代謝クリアランスと強い相関が観察された事より, 短い日中蓄尿と中間点採血により評価も可能ではないかと考えられた^{13) 14) 16)}.

肝硬変を含む慢性肝疾患患者では健常人に比較して, 代表的な *in vivo* の CYP3A の代謝酵素活性は Study 1 では約 48%, Study 2 では 44% 低下していたが, 他の分子種ではどれくらい低下するかという疑問がある. Adedoyin や Branch らのグループは, 軽度~中等度肝障害患者にそれぞれの CYP 分子種の基質薬物 (probe drug) を服用させ *in vivo* の CYP 分子種の代謝酵素活性を求めている. その結果 CYP2C19 (Mephenytoin) で 77%, CYP3A (Dapson) で 28%, CYP2D6 (Debrisoquine) で 4% の低下の違いがあることを報告している⁸⁾. また同じグループはさらに多くの肝硬変患者に probe 薬を投与した研究で, CYP2C19 ≫ 3A4, 1A2 > 2D6 > 2E1 の順に低

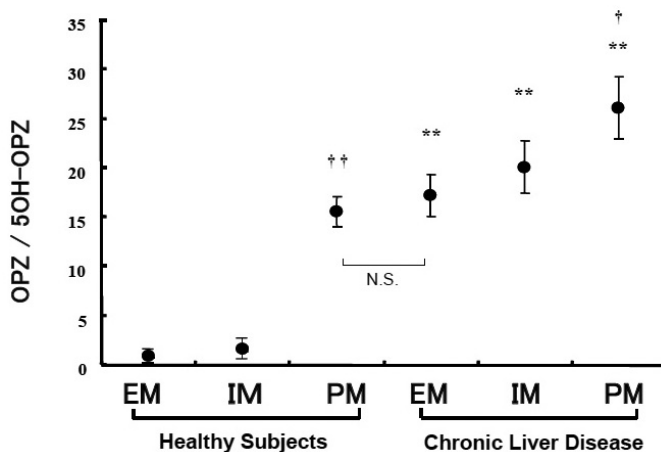


Fig. 4. In 30 healthy subjects and 31 patients with chronic liver disease (9 chronic C type virus caused hepatitis and 22 liver cirrhosis) having the respective CYP2C19 genotypes the omeprazole hydroxylation indices rs (OPZ/5OH-OPZ) were evaluated. Abbreviations: EM = extensive metabolizers with the genotype of *1/*1, IM = intermediate metabolizers with the genotype of *1/*2 or *1/*3 and PM = poor metabolizers with the genotype of *2/*2 or *2/*3 or *3/*3., OPZ/5OH-OPZ = plasma omeprazole to 5-hydroxyomeprazole ratio. For the determination of the genotype peripheral blood were obtained and deoxyribonucleic acid (DNA) was extracted from peripheral leukocytes. Data indicate the mean ± SEM.

** p<0.01 compared with the control subjects having the comparable genotypes of CYP2C19, †† p<0.001 compared with other genotypes (EM, IM) of the control group, † p<0.05 compared with EM patients of the chronic liver disease. N.S.: not significant.

下すると報告している⁸⁾⁻¹⁰⁾。彼らの研究対象患者はおもにアルコール性の患者が対象となっていることから、今回われわれは慢性C型肝炎患者に対し同様の違いが見出されるかについてStudy 3で調査した。CYP3AはCL_{cortisol}→6β-HCを指標とし、CYP2C19はOmeprazoleをprobe drugとしCL_{opz}→5OH-opzを指標としてそれぞれ求めたところ、慢性C型肝炎患者では前述のAdedoyinらの結果とほぼ同様の低下を示していることが判明した⁸⁾。本研究のその低下順はCYP2C19, CYP3Aであり、慢性肝炎の低下に比較して肝硬変ではさらなる低下を示していることが示された。この研究結果は日本人における慢性C型肝炎患者における薬物治療をする上で大きな指針となると考えられる。今回の結果を踏まえると、CYP2C19の*in vivo*代謝活性の低下は顕著なため、このCYPにより代謝を受ける薬物を使用するときは細心の注意が必要となる事がわかった。ではなぜこのような違いが出てくるのであろうか。可能性としてはCYP分子種の肝細胞内での局在の違いに起因するのではなかろうか。多くの研究者により肝細胞の中でのCYP分子種の局在が抗体染色で調べられているが、門脈から中心静脈にかけてのZone1～3ごとに分子種間で局在に違いがある事が報告されている²⁰⁾。肝障害に伴いこのCYP分子種の代謝活性の低下の違いは、その病態により異なってくると思われる。今回筆者は慢性C型肝炎患者での低下であったが、今後他の多くの病態で調べられることが期待される。

さてStudy 3で示されたように肝機能障害と遺伝的多型が重なるとCYP2C19の*in vivo*代謝活性は相加的に低下した。この結果はいままで想定されていたものの、まだどの研究者も確かめた事のない事実で、我々の研究利点は、日本人では5人に1人がCYP2C19のPoor Metabolizerであること、遺伝子変異(*2, *3)を決定すれば、表現型と一致できる事であった¹¹⁾。In vivo CYP2C19の代謝活性が、肝機能障害と遺伝的多型が重なると相加的に激減する事実は、臨床現場で慢性C型肝炎患者がPoor Metabolizerである可能性は十分考えられるため、さらなる細心の注意が必要となる事は言うまでもない。

文 献

- 1) Guengerich FP. Cytochrome P450: advances and prospects. *FASEB J* 1992;6:667-8.
- 2) Guengerich FP. Human cytochrome P-450 enzymes. *Life Sci* 1992;50:1471-8.
- 3) Krishna DR, Klotz U. Extrahepatic metabolism of drugs in humans. *Clin Pharmacokinet* 1994;26:144-60.
- 4) Guengerich FP. Characterization of human microsomal cytochrome P-450 enzymes. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1989;29:241-64.
- 5) 大西明弘. 肝疾患患者の薬物療法 臨床薬理 2005;36:221-5.
- 6) Ludwig J, Elveback LR. Parenchyma weight changes in hepatic cirrhosis. *Lab Invest* 1972;26:338-43.
- 7) Pan Z, Wu XJ, Li JS, Liu FN, Li WS, Han JM. Functional hepatic flow in patients with liver cirrhosis. *World J Gastroenterol* 2004; 10:915-8.
- 8) Frye RF, Zgheib NK, Matzke GR, Chaves-Gnecco D, Rabinovitz M, Branch RA, et al. Liver disease selectively modulates cytochrome P450-mediated metabolism *Clin Pharmacol Ther* 2006;80:235-45.
- 9) Adedoyin A, Arns PA, Richards WO, Wilkinson GR, Branch RA. Selective effect of liver disease on the activities of specific metabolizing enzymes: investigation of cytochromes P450 2C19 and 2D6. *Clin Pharmacol Ther* 1998;64:8-17.
- 10) Branch RA. Drug in liver disease. *Clin Pharmacol Ther* 1998;64:462-5.
- 11) Kubota T, Chiba K, Ishizaki T. Genotyping of *s*-mephenytoin 4'-hydroxylation in an extended Japanese population. *Clin Pharmacol Ther* 1996;60:661-6.
- 12) Ieiri I, Kubota Y, Urae A, Kimura M, Wada Y, Mamiya K, et al. Pharmacokinetics of omeprazole (a substrate of CYP2C19m1 in exon 5 and CYP2C19m2 in exon 4, in Japanese subjects. *Clin Pharmacol Ther* 1996;59:647-53.
- 13) 大西明弘, 村上重人, 越前宏俊. 健康人への治療量ジルチアゼム投与による*in vivo* CYP3A活性抑制と肝硬変病態における同酵素活性低下. *臨床薬理* 2000;31:265-6.
- 14) Ohnishi A, Murakami S, Akizuki S, Mochizuki J, Echizen H, Takagi I. *In vivo* metabolic activity of CYP2C19 and CYP3A in relation to CYP2C19 genetic polymorphism in chronic liver disease. *J Clin Pharmacol* 2005; 45:1221-9.
- 15) Shibuya M, Echizen H, Kubo S, Tamura N, Suzuki K, Ohnishi A, et al. Reduced urinary 6β-hydroxycortisol to cortisol ratios in patients with liver cirrhosis. *Hepatol Res* 2003;26:28-33.
- 16) Ushijima 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* 2002;72:33-43.
- 17) Bienvenu T, Rey E, Pons G, d'Athis P, Olive G. A simple non-invasive procedure for the investigation of cytochrome P-450III A dependent enzymes in human. *Int J Clin Pharmacol Ther Toxicol* 1991; 29:441-5.
- 18) de Morais SMF, Wilkinson GR, Blaisdell J, Meyer UA, Nakamura K, Goldstein JA. Identification of a new genetic defect responsible for the polymorphism of (s)-mephenytoin metabolism in Japanese. *Molecular Pharmacology* 1994;46:594-8.
- 19) Vahre A, Olkkola K, Neuvonen PJ. Diltiazem enhances the effects of triazolam by inhibiting its metabolism. *Clin Pharmacol Ther* 1996;59:369-75.
- 20) Oinonen T, Lindros KO. Zonation of hepatic cytochrome P-450 expression and regulation. *Biochem J* 1998;329:17-35.