

## 遺伝子欠損動物による薬物代謝酵素の機能解析

宮田 昌明

Functional Analysis of Drug Metabolizing Enzymes  
Using Gene Knockout Animals

Masaaki MIYATA

*Division of Drug Metabolism and Molecular Toxicology, Graduate School of  
Pharmaceutical Sciences, Tohoku University, Aramaki,  
Aoba-ku, Sendai 980-8578, Japan*

(Received March 31, 2003)

Several gene knockout mice have been widely used to analyze the role of drug-metabolizing enzymes in pharmacologic and physiologic responses. The metabolic shift of endogenous and exogenous compounds causes pharmacologic and physiologic alterations. Microsomal epoxide hydrolase (mEH)-null mice are less susceptible to the skin tumorigenesis, splenic immunotoxicity, and embryonic toxicity of 7,12-dimethylbenz[*a*]anthracene (DMBA). The production of DMBA-3,4-diol is detected in the target organs of wild-type mice, but not in those of mEH-null mice. Soluble epoxide hydrolase (sEH)-null mice exhibit markedly reduced rates of epoxyeicosatrienoic acid conversion to dihydroxyepoxyeicosatrienoic acid in the liver and kidney. Furthermore, sEH-null male mice have a lower blood pressure phenotype compared with male wild-type mice, suggesting the importance of sEH in blood pressure regulation. Nuclear bile acid receptor, farnesoid X receptor (FXR)-null mice are distinguished from wild-type mice by elevated bile acid levels in the liver and serum. However, hepatic lithocholic acid (LCA) levels are lower in LCA-fed FXR-null female mice compared to those in wild-type female mice. Furthermore, FXR-null female mice are less susceptible to liver damage by LCA compared with female wild-type mice. Marked increases in hepatic LCA-sulfating activity and hepatic hydroxysteroid sulfotransferase and biliary sulfated bile acid levels are detected in FXR-null female mice, suggesting the protective role of hydroxysteroid sulfotransferase in LCA-induced liver damage. These and other studies indicate that mice null for drug-metabolizing enzymes and nuclear receptors are of great value in the study of the role of drug-metabolizing enzymes in pharmacologic and physiologic responses.

**Key words**—gene knockout; epoxide hydrolase; hydroxysteroid sulfotransferase; farnesoid X receptor; drug-metabolizing enzyme; lithocholic acid

## 1. はじめに

近年、多くの遺伝子欠損マウスが作製され、このマウスを用いて多くのタンパク質の生体内での機能が明らかにされている。試験管内で確認された機能が実際に生体内でどれほどの重要性で機能しているのか、遺伝子欠損マウスを用いて明らかにされるとともに全く予期されなかった機能が解明される場合もある。薬物代謝酵素に関しても多くの遺伝子欠損マウスが作製され、その機能について動物個体レベ

ルで解析されている。<sup>1,2)</sup> 薬物代謝酵素を欠損させたマウスで胎性致死となるものは報告されておらず、正常に発育する。このため、個体レベルでの医薬品等の外来異物の代謝、毒性や薬効への薬物代謝酵素の関与について多くの研究がなされている。また薬物代謝酵素は外来異物だけではなく内在性の化学物質の代謝にも関与し、生理的に重要な役割を果たしていることが欠損マウスにより明らかとなる場合もある。一方多くの薬物代謝酵素の発現に関与する核内受容体の欠損マウスも作製されている。それらの核内受容体欠損マウスは薬物代謝酵素の構成的な発現レベルや誘導応答等が野性型マウスと比べて変化しており、ある種の薬物に対する薬効や毒性の感受性が野性型マウスと比べ変化する例も多く報告され

東北大学大学院薬学研究科薬物動態学分野 (〒980-8578 仙台市青葉区荒巻字青葉)

e-mail: miyata@mail.pharm.tohoku.ac.jp

\*本総説は、平成14年度日本薬学会東北支部学術奨励賞の受賞を記念して記述したものである。

ている。<sup>3-6)</sup> 本総説では前者の例として microsomal epoxide hydrolase (mEH) 欠損マウスを用い 7,12-dimethylbenz[*a*]anthracene (DMBA) の毒性発現機構への mEH の関与について、可溶性画分に存在する soluble epoxide hydrolase (sEH) とアラキドン酸代謝、血圧調節との関係について、後者の例として胆汁酸をリガンドとする核内受容体である farnesoid X receptor (FXR) 欠損マウスを用い lithocholic acid (LCA) 誘発肝障害の軽減に対する sulfotransferase (ST) の役割について、各々代謝の変動と生体の薬理的、生理学的変化との関連について中心に紹介する。

## 2. DMBA の毒性発現における標的臓器での mEH の役割

mEH は肝臓を含む多くの組織のミクロゾーム画分に存在し、epoxide を加水分解して dihydrodiol を生成する薬物代謝酵素で一般的に外来異物に対する解毒酵素とみなされているが、多環式芳香族炭化水素等の代謝においては代謝活性化に関与すると考えられている。<sup>7,8)</sup> 典型的な発がんモデル化合物である、多環式芳香族炭化水素の DMBA の代謝活性化経路として cytochrome P450 (P450) と mEH が関与する芳香環の diol epoxide の生成経路やメチル基の水酸化、さらに硫酸抱合される経路等が報告されている (Fig. 1).<sup>9,10)</sup> mEH 欠損マウスでは前者の diol epoxide は生成しない。そこで DMBA の毒性発現における mEH の関与する diol epoxide 生成経路の重要性を明らかにするため、mEH 欠損マウス

を用いて皮膚の発がん試験,<sup>11)</sup> 免疫関連臓器の毒性,<sup>12)</sup> 胎児毒性<sup>13)</sup> について検討した。さらに DMBA は上記のように様々な臓器、組織を毒性発現の標的とするが、肝臓以外の標的臓器の mEH が関与する代謝の毒性発現における役割という観点からも解析した。

**2-1. DMBA 誘発皮膚発がんにおける mEH の関与**  
mEH 欠損マウスを用いて DMBA 単独塗布による完全発がん試験と DMBA と 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA) 塗布の 2 段階発がん試験を実施した。<sup>11)</sup> 完全発がん試験において野性型マウスで 80% のマウスの皮膚にパピローマが生じたが、mEH 欠損マウスではいずれのマウスにもパピローマは生じなかった (Fig. 2)。この結果から DMBA の皮膚発がんに、mEH の関与する代謝が重要な役割を担っていることが示唆された。一方 TPA を塗布する 2 段階発がん試験においては、野性型マウスで 90% のマウスにパピローマが生じるのに対して mEH 欠損マウスでも 50% のマウスにパピローマが生じた。mEH 欠損マウスでもパピローマが生じることから、硫酸抱合体の生成等の mEH に依存しない代謝活性化経路も TPA の存在下、腫瘍形成に関与することも示唆された。CYP1B1 欠損マウスを用いた発がん試験では DMBA を経口投与した場合野性型マウスでのみ皮膚にアデノーマが認められ、欠損型に比べて約 10 倍のリンフォーマが生じることが報告されている。<sup>14)</sup> 一方 glutathione S-transferase P1 を欠損した

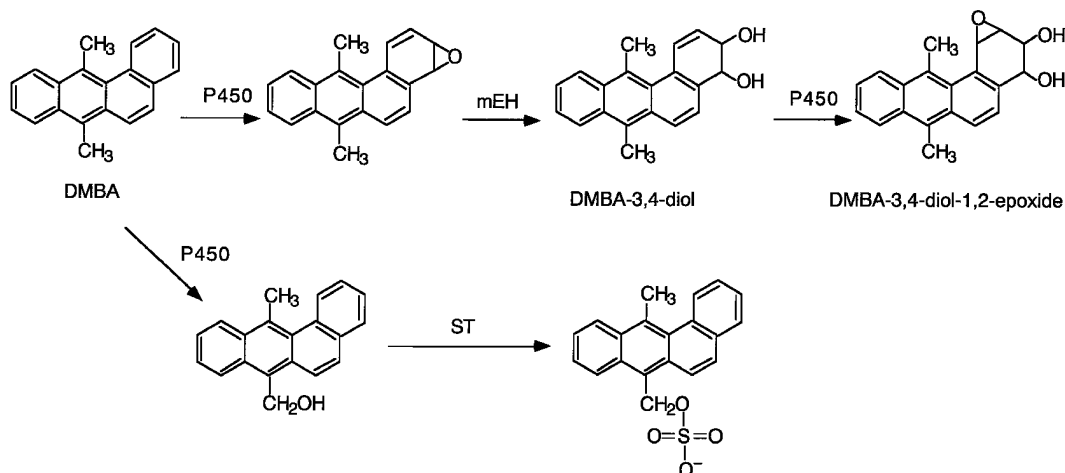


Fig. 1. Possible Metabolic Activation Pathways of DMBA

P450: cytochrome P450, mEH: microsomal epoxide hydrolase, ST: sulfotransferase.

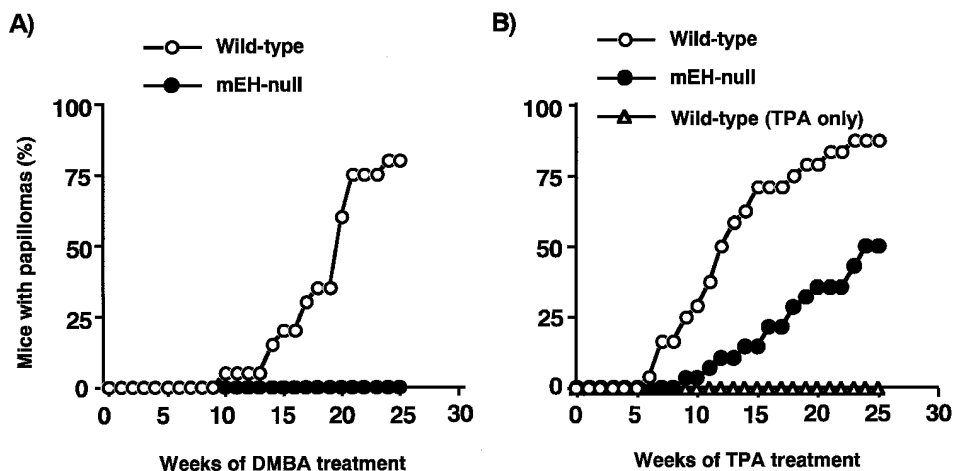


Fig. 2. DMBA-Induced Skin Cancer in Wild-Type and mEH-Null Mice

A) Complete carcinogenic protocol. DMBA (12.8  $\mu\text{g}$ ) was painted on mouse skin weekly for 25 weeks. B) Initiation-promotion protocol. DMBA (25  $\mu\text{g}$ ) were painted on day 1 followed, starting one week later, by three times weekly application of 5  $\mu\text{g}$  12-*O*-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA). Skin papillomas greater than 1 mm in diameter were counted.

マウスでは野性型よりも高い割合で皮膚にパピローマが生じることも報告されており,<sup>15)</sup> これらの欠損マウスを用いた研究は DMBA 誘発がんの代謝活性化への CYP1B1 や mEH の関与や, glutathione S-transferase P1 の解毒への関与を個体レベルで明らかにする上で有用である。

**2-2. DMBA による免疫毒性における標的臓器での mEH の関与** DMBA は免疫関連臓器への毒性を誘発することが知られている。<sup>16,17)</sup> DMBA を腹腔内投与すると野性型マウスの脾臓の重量はコントロールレベルの 40% 以下に減少したが, mEH 欠損マウス脾臓重量の減少は認められなかった。脾臓当たりの脾細胞の数も重量に比例して野性型マウスでは減少が認められた。DMBA 処置したマウス脾臓より脾細胞を調製して免疫機能の指標であるマイトジェンによる応答性を測定したところ野性型マウス脾細胞で欠損型マウスに比べ有意な応答性の低下が認められた。また脾臓より脾細胞を調製して直接 DMBA を処理した場合でも野性型マウスの脾細胞で DMBA により誘発される免疫機能障害に対する高い感受性が認められた。脾臓マイクロゾームを調製し DMBA を基質としてその代謝物を解析した結果, 野性型マウスにおいてのみ DMBA-3,4-diol 体が検出された。またイムノブロット解析により DMBA の代謝活性化に関与すると考えられる CYP1B1 と mEH タンパクの発現が野性型マウスの脾臓で認められた。以上の結果は標的臓器である脾

臓において DMBA が代謝活性化され免疫毒性を生じる可能性を示唆している。

**2-3. DMBA による胎児毒性における胎児 mEH の役割** mEH は胎児期の初期の段階の肝臓に発現が認められている。<sup>18)</sup> また妊娠 15 日のマウス胎児より調製した胎児繊維芽細胞には mEH と CYP1B1 の発現が認められ,<sup>19)</sup> この胎児繊維芽細胞に DMBA を処理すると野性型マウスの細胞では欠損型マウスに比べて DMBA により誘発される細胞毒性に対して有意に高い感受性を示した (Fig. 3)。一方 DMBA の代謝中間体である DMBA-3,4-diol では野性型, 欠損型マウスからの細胞共に DMBA より低濃度で毒性が認められたが, 両細胞間で有意な感受性の差異は認められなかった。この結果は DMBA の胎児毒性に関与する代謝活性化が胎児の体内でも起こる可能性を示唆する。そこで個体レベルで上記の可能性を明らかにするため, 3 種類の交配 (野性型同士の交配, 欠損型同士の交配, 野性型雄性マウスと欠損型雌性マウスの交配) を行い, その妊娠マウスに DMBA を腹腔内投与してその胎児の体重, 体長を測定することにより DMBA 誘発胎児毒性に対する感受性を比較した。上記の 3 種類の交配により DMBA を処置される母体と胎児の mEH のフェノタイプはそれぞれ異なる組み合わせとなることより, 母体での mEH の関与と胎児での関与を区別して解析できる。すべての交配の DMBA 処置群においてコントロール群に比べ有意

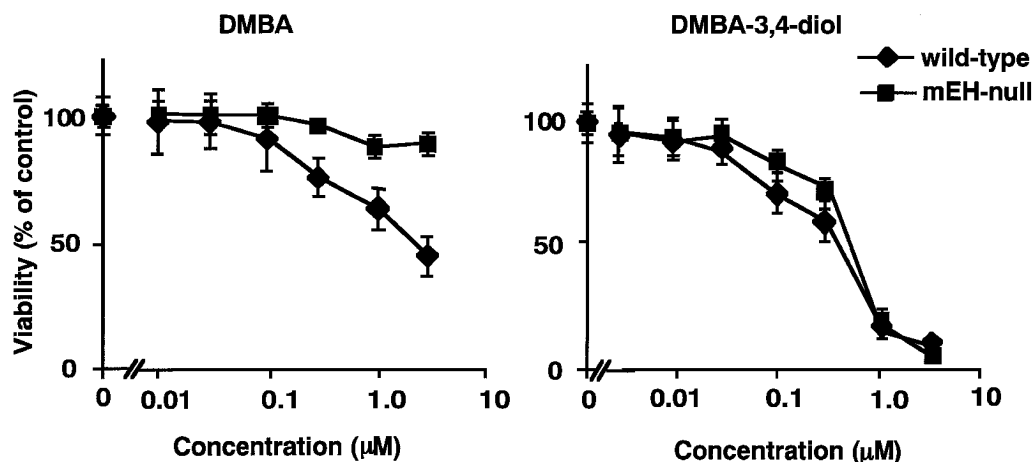


Fig. 3. Cytotoxicity of DMBA and DMBA-3,4-Diol in Embryo Fibroblasts

Embryo fibroblasts were prepared from mouse embryos (GD 14). The cell number was counted by neutral red incorporation, after embryo fibroblasts were treated with DMBA or DMBA-3,4-diol for 72 h. Data are expressed as a percentage of the vehicle control for each mouse. Values represent the mean  $\pm$  SD ( $n=12$ ).

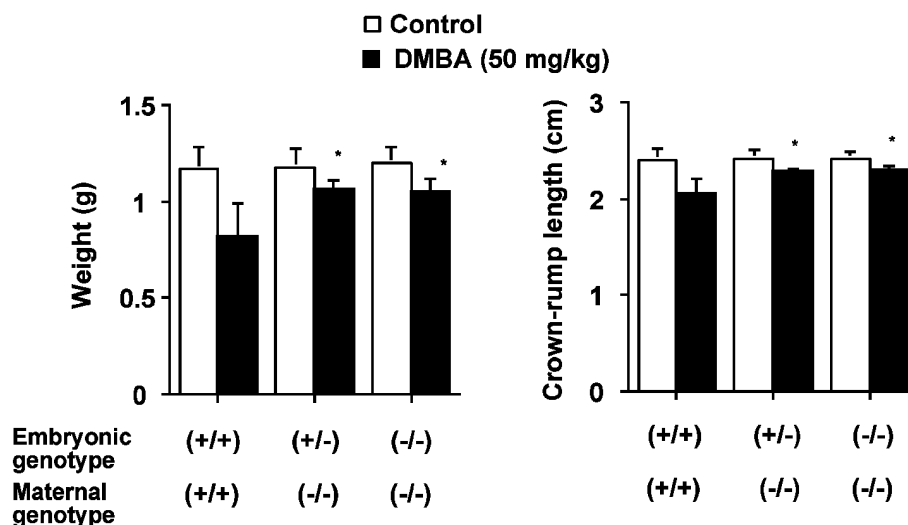


Fig. 4. Weight and Crown-Rump Length of DMBA-Treated mEH-Null and Wild-Type Mice

Pregnant females were treated ip with DMBA (50 mg/kg) daily from GD 11 to GD 15. On GD 18, pregnant females were euthanized, and embryonic weight and crown-rump length were measured. Values represent the mean  $\pm$  SD ( $n=8-13$ ). \*Significant difference from DMBA-treated wild-type mice ( $p<0.05$ ). (+/+): wild-type, (-/-): mEH-null, (+/-): heterozygote between wild-type and mEH-null.

な体重、体長の減少が認められ、さらに野性型同士の交配により得られた胎児において他の2群と比べて有意な体重、体長の減少が認められたが、他の2群間では有意な差異は認められず、胎児のmEHのフェノタイプは胎児毒性に影響を与えないことが示された (Fig. 4). DMBA 処理された妊娠野性型マウスの血清中に DMBA-3,4-diol 体が検出されむしる母体側での代謝の重要性が示唆され、DMBA の胎児毒性には母胎から胎児への代謝物の移行等を考慮して毒性発現の機構を考える必要性が示された。

### 3. アラキドン酸代謝と血圧調節における sEH の役割

sEH は可溶性画分に存在する加水分解酵素で mEH と同様肝臓、腎臓を含む各組織に発現しており epoxide を dihydrodiol に加水分解する。<sup>8)</sup> sEH は多環式芳香族炭化水素の epoxide は基質としないが、mEH と同様に多くの異物の epoxide を基質とする。また内在性の脂肪酸であるアラキドン酸の代謝物の epoxyeicosatrienoic acids (EETs) の加水分解を触媒することも知られている (Fig. 5).<sup>20)</sup> EETs やその加水分解物である dihydroxyeicosatrienoic

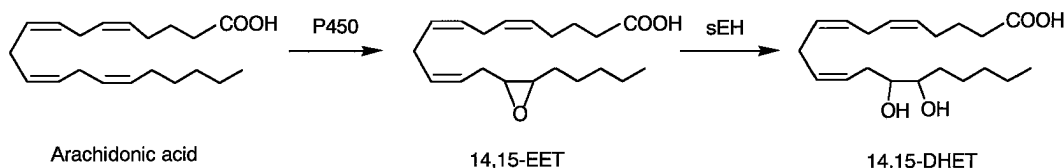


Fig. 5. Endogenous Metabolism of Arachidonic Acid by P450 and sEH

A single representative example of the each of primary classes of P450- and sEH-dependent metabolites is shown. EET: epoxyeicosatrienoic acid, DHET: dihydroxyeicosatrienoic acid.

acids (DHETs) は血管拡張あるいは血管収縮作用が報告されており sEH の欠損はこれらの代謝物の量的関係を変化させ血圧に影響を与える可能性が考えられた。<sup>21)</sup> 肝臓 S9 画分, 腎臓 S9 画分を用いたアラキドン酸の代謝物を解析したところ, 野性型マウス, sEH 欠損マウスの肝臓 S9 では EETs と DHETs はともに検出されたが, EETs と DHETs の比を計算すると sEH 欠損マウスで 50 倍以上となった。<sup>22)</sup> また腎臓 S9 では野性型マウスで EETs は検出されず, 逆に DHETs は欠損型の 3 倍以上検出され, 野性型と sEH 欠損マウスで EETs と DHETs の量比に大きな差異が認められた。一方 2% 食塩水を摂取させた群とコントロール群で血圧を測定したところ sEH 欠損マウスで野性型マウスと比べ両群ともに有意な血圧の減少が認められた (Table 1)。これらの結果は sEH の欠損が血圧の低下を誘発しており, EETs と DHETs の量比の変化がその原因の 1 つである可能性が考えられた。

#### 4. LCA 誘発肝障害の防御機構としての ST の役割

FXR は胆汁酸をリガンドとする核内受容体である。<sup>23-25)</sup> FXR 欠損マウスの作製により FXR は胆汁酸合成酵素の CYP7A や胆汁酸の輸送担体である Bsep, Ntcp 等の胆汁酸関連遺伝子の発現を調節することによって脂質特に胆汁酸の恒常性維持に重要な役割を果たしていることが明らかとなった。<sup>26)</sup> FXR 欠損マウスは肝臓内や血清中の胆汁酸レベルが高くなっているが正常に発育する。ところが cholic acid (CA) の摂取により FXR 欠損マウスでのみ有意な体重の減少が認められ致死に至る。一方二次胆汁酸である LCA を摂取させると CA と異なり雌性マウスではむしろ野性型マウスで FXR 欠損マウスに比べ LCA 誘発肝障害に対して高い感受性が認められた。<sup>27)</sup> 野性型マウスで肝障害の指標である血清中 aspartate aminotransferase (AST), alka-

Table 1. Mean Systolic Blood Pressure and Pulse for Wild-Type and sEH-Null Mice

Genotype	Mean systolic blood pressure		Mean pulse	
	Control	Salt	Control	Salt
	<i>mmHg</i>		<i>BPM</i>	
Wild-type	130.1 ± 3.5	137.7 ± 5.3	639 ± 13	673 ± 20
sEH-null	117.6 ± 2.3*	116.7 ± 1.3*	645 ± 23	682 ± 21

Mean values for each parameter were calculated by averaging the daily values for each animal determined over the 7 days of administration of normal drinking water (control) and the last 7 days of administration of 2 % NaCl (salt) as drinking water. Values shown are the means ± S.E.,  $n=4$  for each group. No significant effect of salt treatment was detected for any group. \* Significantly different from wild-type mice,  $p<0.05$ .

line phosphatase (ALP) 活性が FXR 欠損型マウスより高く, むしろ FXR 欠損型マウスが LCA 誘発肝障害に抵抗性を示した (Table 2)。これらの結果は, 雌性 FXR 欠損マウスに特別な LCA 誘発肝障害の防御機構が存在することを示唆している。LCA を摂取させたマウスの肝内胆汁酸組成を解析したところ肝内 LCA 及び tauroLCA とともに FXR 欠損マウスで低く, FXR 欠損マウスにおいて肝内 LCA レベルを低下させ肝障害を軽減させる機序の存在が示唆された。これらの機序として胆汁酸代謝と胆汁酸輸送の亢進等が考えられた。胆汁酸輸送担体 mRNA の肝臓内発現レベルを RT-PCR 法で解析したが顕著な差異は野性型, FXR 欠損マウス間で認められなかった。一方胆汁酸代謝に関与する薬物代謝酵素として CYP3A や ST2A 等が考えられる。雌性マウスの肝ミクロゾーム, 可溶性画分中の LCA 6 位水酸化活性と LCA 硫酸抱合活性を測定したところ, 6 $\beta$  位水酸化活性はむしろ FXR 欠損マウスで低く, 6 $\alpha$  位水酸化活性は欠損マウスで高かったがそのレベルは 6 $\beta$  位水酸化活性に比べて低く, CYP3A 分子種による LCA の水酸化が雌性 FXR 欠損マウスの LCA 誘発肝障害の軽減に関与している

Table 2. Changes in 3 $\alpha$ -Hydroxy Bile Acid Levels and Liver Damage Diagnostic Markers

Parameters	Wild-type mice			FXR-null mice		
	Control	LCA	LCA/Control	Control	LCA	LCA/Control
Serum 3 $\alpha$ -OH bile acid [ $\mu$ M]	6 $\pm$ 3	494 $\pm$ 267**	82.3	12 $\pm$ 5	64 $\pm$ 11**	5.3
Liver 3 $\alpha$ -OH bile acid [nmol/g liver]	132 $\pm$ 25	1853 $\pm$ 835**	14.0	367 $\pm$ 144	566 $\pm$ 97	1.5
AST activity [IU/l]	20 $\pm$ 1	955 $\pm$ 324**	47.8	98 $\pm$ 22	143 $\pm$ 86	1.5
ALP activity [IU/l]	44 $\pm$ 10	301 $\pm$ 94**	6.8	41 $\pm$ 9	93 $\pm$ 41*	2.3

The data are shown as the mean  $\pm$  standard deviation from three to seven mice. Control or 1% lithocholic acid-supplemented diets were given for 9 days to wild-type and FXR-null female mice. \*, \*\*, indicate significant difference between control and LCA-treated groups with  $p$ -value of 0.05 and 0.01, respectively. Basal levels of both liver bile acid and serum AST were significantly different between wild-type and FXR-null mice ( $p < 0.01$ ). In LCA treated animals, all parameter levels were significantly different between wild-type and FXR-null mice ( $p < 0.05$ ). LCA: lithocholic acid, AST: aspartate aminotransferase, ALP: alkaline phosphatase, 3 $\alpha$ -OH: 3 $\alpha$ -hydroxy bile acid.

Table 3. Changes in 3 $\alpha$ -Sulfated Bile Acid Levels in Liver and Bile

Genotype	Liver		Bile	
	3 $\alpha$ -OH	3 $\alpha$ -sulfate	3 $\alpha$ -OH	3 $\alpha$ -sulfate
	$\mu$ mol/g liver	$\mu$ mol/g liver	$\mu$ mol/ml	$\mu$ mol/ml
Wild-type	1.16 $\pm$ 0.55	<0.06	160.3 $\pm$ 40.1	2.4 $\pm$ 1.5
FXR-null	0.54 $\pm$ 0.22	<0.06	145.0 $\pm$ 24.0	17.9 $\pm$ 5.0**

The data are shown as the mean  $\pm$  standard deviation from three to four mice. Lithocholic acid-supplemented (1%) diets were given for 5 days to wild-type and FXR-null mice. \*\*, indicates significant difference between wild-type and FXR-null mice with  $p$ -value of 0.01. 3 $\alpha$ -OH: 3 $\alpha$ -hydroxy bile acid, 3 $\alpha$ -sulfate: 3 $\alpha$ -sulfated bile acid.

可能性は低いことが示唆された。一方 LCA 硫酸抱合活性は欠損型マウス可溶性画分において野生型マウスに比べて 5.5 倍高かった。各個体で St2a タンパクの含量も LCA 硫酸抱合活性に相関し、FXR 欠損マウスで 5.8 倍高く FXR 欠損マウスにおいて St2a 含量が高いことが、LCA 硫酸抱合活性を増加させていることが示唆された。さらに各個体の St2a タンパク含量と血清中 ALP 活性の間に逆相関の関係が認められ、FXR 欠損マウスにおいて肝内 LCA レベルが低い原因は高い LCA 硫酸抱合活性のため、LCA が消化管から再吸収されにくい硫酸抱合体となって胆汁中に速やかに排出され、<sup>28)</sup> 糞中に排泄されるためである可能性が示唆された。実際に胆嚢胆汁中での LCA の 3 $\alpha$  位の硫酸抱合体の濃度は FXR 欠損マウスで 7.5 倍高く、肝臓での LCA 硫酸抱合活性と相関していた (Table 3)。一方肝臓中の硫酸抱合体は検出限界以下 (<0.06  $\mu$ mol/g liver) であり速やかに Mrp2 等の輸送担体により胆汁中に排泄されたと考えられ、LCA 硫酸抱合体の胆汁排泄量を規定する律速段階は肝臓中での LCA

硫酸抱合活性であることが示唆された。以上の結果から hydroxysteroid sulfotransferase の ST2A は LCA を硫酸抱合することにより肝内 LCA レベルを低下させ肝障害を軽減させていることが示唆され、雌性 FXR 欠損マウスは LCA 硫酸抱合活性の高いヒトにおける LCA 誘発肝障害のモデルとなると考えられた。

### 5. 終わりに

mEH, sEH, FXR の 3 種類の遺伝子欠損マウスを用いた薬物代謝酵素の機能解析について解説した。遺伝子欠損マウスの使用は個体レベルでの機能解析に対して強力なツールとなる。mEH 欠損マウスで示したように外来異物に対する標的臓器での毒性発現の機序を代謝だけでなく代謝物の体内動態等を含めて総合的に解析できる。また sEH 欠損マウスの例のように内在性の基質の代謝と個体レベルでの生理的機能についても解析可能である。さらに FXR 欠損マウスの例のように核内受容体を欠損させるとその受容体の欠損だけでなく、薬物代謝酵素のような機能タンパクのレベルに変化が起こることにより

予期せぬ知見が得られることがある。また生体は1つの遺伝子の欠損を補う適応能力があり野性型と欠損型で予想される有意な差異が認められないことがしばしばあるが、薬物処理などにより負荷をかけることで有意なフェノタイプの差異が認められることがある。遺伝子欠損マウスを用い実験デザインを工夫することにより多くの知見が得られると考えられる。

**謝辞** 本総説で紹介させて頂いた研究成果は、米国国立衛生研究所及び東北大学大学院薬学研究科において行われたものであり、ご指導を賜りました、米国国立衛生研究所のFrank J. Gonzalez博士、東北大学大学院薬学研究科の山添 康教授に心より感謝申し上げます。またご協力を頂きました米国国立衛生研究所、東北大学大学院薬学研究科の皆様にも厚く御礼申し上げます。本研究の一部は文部科学省科学研究費の援助により行われたものであり、ここにお礼申し上げます。

#### REFERENCES

- 1) Gonzalez F. J., Kimura S., *Mutat. Res.*, **477**, 79–87 (2001).
- 2) Gonzalez F. J., *Toxicol. Lett.*, **120**, 199–208 (2001).
- 3) Shimizu Y., Nakatsuru Y., Ichinose M., Takahashi Y., Kume H., Mimura J., Fujii-Kuriyama Y., Ishikawa T., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **97**, 779–782 (2000).
- 4) Zhang J., Huang W., Chua S. S., Wei P., Moore D. D., *Science*, **298**, 422–424 (2002).
- 5) Xie W., Radominska-Pandya A., Shi Y., Simon C. M., Nelson M. C., Ong E. S., Waxman D. J., Evans R. M., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **98**, 3375–3380 (2001).
- 6) Staudinger J. L., Goodwin B., Jones S. A., Hawkins-Brown D., MacKenzie K. I., LaTour A., Liu Y., Klaassen C. D., Brown K. K., Reinhard J., Willson T. M., Koller B. H., Kliever S. A., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **98**, 3369–3374 (2001).
- 7) Shou M., Gonzalez F. J., Gelboin H. V., *Biochemistry*, **35**, 15807–15813 (1996).
- 8) Fretland A. J., Omiecinski C. J., *Chem. Biol. Interact.*, **129**, 41–59 (2000).
- 9) Wislocki P. G., Gadek K. M., Chou M. W., Yang S. K., Lu A. Y., *Cancer Res.*, **40**, 3661–3664 (1980).
- 10) Watabe T., Ishizuka T., Isobe M., Ozawa N., *Science*, **215**, 403–405 (1982).
- 11) Miyata M., Kudo G., Lee Y.-H., Yang T. J., Gelboin H. V., Fernandez-Salguero P., Kimura S., Gonzalez F. J., *J. Biol. Chem.*, **274**, 23963–23968 (1999).
- 12) Miyata M., Furukawa M., Takahashi K., Gonzalez F. J., Yamazoe Y., *Jpn. J. Pharmacol.*, **86**, 302–309 (2001).
- 13) Miyata M., Motoki K., Tamura E., Furukawa M., Gonzalez F. J., Yamazoe Y., *Biochem. Pharmacol.*, **63**, 1077–1084 (2002).
- 14) Buters J. T., Sakai S., Richter T., Pineau T., Alexander D. L., Savas U., Doehmer J., Ward J. M., Jefcoate C. R., Gonzalez F. J., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **96**, 1977–1982 (1999).
- 15) Henderson C. J., Smith A. G., Ure J., Brown K., Bacon E. J., Wolf C. R., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **95**, 5275–5280 (1998).
- 16) Ward E. C., Murray M. J., Lauer L. D., House R. V., Irons R., Dean J. H., *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **75**, 299–308 (1984).
- 17) Thurmond L. M., House R. V., Lauer L. D., Dean J. H., *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **93**, 369–377 (1988).
- 18) Omiecinski C. J., Aicher L., Swenson L., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **269**, 417–423 (1994).
- 19) Miyata M., Tamura E., Yamazoe Y., *Jpn. J. Pharmacol.*, **89**, 320–323 (2002).
- 20) Zeldin D. C., Kobayashi J., Falck J. R., Winder B. S., Hammock B. D., Snapper J. R., Capdevila J. H., *J. Biol. Chem.*, **268**, 6402–6407 (1993).
- 21) Makita K., Falck J. R., Capdevila J. H., *FASEB J.*, **10**, 1456–1463 (1996).
- 22) Sinal C. J., Miyata M., Tohkin M., Nagata K., Bend J. R., Gonzalez F. J., *J. Biol. Chem.*, **275**, 40504–40510 (2000).
- 23) Makishima M., Okamoto A. Y., Repa J. J., Tu H., Learned R. M., Luk A., Hull M. V., Lustig K. D., Mangelsdorf D. J., Shen B., *Science*, **284**, 1362–1365 (1999).
- 24) Park D. J., Blanchard S. G., Bledsoe R. K., Chandra G., Consler T. G., Kliever S. A., Stimmel J. B., Willson T. M., Zavacki A. M., Moore D. D., Lehmann J. M., *Science*, **284**,

- 1365–1368 (1999).
- 25) Wang H., Chen J., Hollister K., Sowers L. C., Forman B. M., *Mol. Cell*, **3**, 543–553 (1999).
- 26) Sinal C. J., Tohkin M., Miyata M., Ward J. M., Lambert G., Gonzalez F. J., *Cell*, **102**, 731–744 (2000).
- 27) Kitada H., Miyata M., Nakamura T., Tozawa A., Honma W., Shimada M., Nagata K., Sinal C. J., Guo J. L., Gonzalez F. J., Yamazoe Y., *J. Biol. Chem.* **278**, 17838–17844 (2003).
- 28) Hofmann A. F., “The Liver: Biology and Pathobiology,” eds. by Arias I. M., Boyer J. L., Fausto N., Jakoby W. B., Schachter D. A., Shafritz D. A., Raven Press, New York, 1994, pp. 677–718.