

한국인 집단에서 Cytochrome P450 2E1의 유전적 다형성

정혜광¹⁾ · 구희경 · 이상섭* · 양규환* · 정태천** · 변부형***

조선대학교 자연과학대학 환경학과, 한국과학기술원 생물과학과*,

한국화학연구소 안전성센터**, 경산대학교 보건대학원***

(1996. 6. 12 접수)

Genetic Polymorphism of Cytochrome P450 2E1 in Korean Population

Hye Gwang Jeong¹⁾, Hee Kyoung Gu, Sang Seop Lee*, Kyu-Hwan Yang*,
Tae Cheon Jeong** and Boo-Hyeong Byun***

Dept. of Environ. Sci., Chosun Univ., Kwangju, *Dept. of Biol. Sci., KAIST, Taejon,

**Toxicol. Res. Center, KRICT, Taejon,

***Graduate School of Public Health, Kyung San Univ., Kyungsan, Korea

ABSTRACT : In this study, we have quantified genotype frequency of the cytochrome P450 (P450) 2E1 which codes for the P450 enzyme primarily responsible for the metabolic activation of carcinogenic nitrosamines and low molecular organic solvents, in Korean population by using PCR and RFLP at two sites previously associated with some cancers; a *Pst*I and *Rsa*I RFLP in the transcriptional regulatory region of the human P450 2E1 gene. The genotype frequencies of homozygous wild type (*Pst*I site-absent) and heterozygous mutant type (*Pst*I site-present) in *Pst*I RFLP were 0.70 and 0.30, respectively. The homozygous mutant type in *Pst*I RFLP was not observed in Korean population. The genotype frequencies of homozygous wild type (*Rsa*I site-present), heterozygous mutant type (*Rsa*I site-absent), and homozygous mutant type in *Rsa*I RFLP were 0.71, 0.26, and 0.03, respectively.

Key Words : Human, Cytochrome P450 2E1, PCR, RFLP, Korean population

서 론

화학적 발암물질은 체내 대사 활성화 과정의 필요 유무에 따라 직접적인 발암원(direct carcinogen)과 전발암원(procarcinogen)으로 대별되며, 이중 procarcinogen은 체내 유입 시 그 자체로는 활성이 없고, 약물 대사 효소계인 cytochrome P450(P450)등에 의하여 대사된 후 생성된 대사체(metabolite)가 전자 친화성을 가지게 되어, DNA, RNA 또는 단백질 등의 세포내 거대분자들과 결합하므로써 각종암을 유발하게 된다 (Guengerich *et al.*, 1991; Guengerich and Shimada, 1991).

약물 대사 효소의 유전적 다형성은 암에 대한 개인적 감수

성을 결정하는 요인이 됨이 알려져 왔다 (Omenn, 1988). 개개인의 암발생과 유전적 차이는 주로 발암물질의 대사 및 배설에 관여하는 phase I과 phase II 효소의 유전적 다형성과 관련이 있을 수 있다. 많은 화학물질은 P450에 의하여 대사되며 (Guengerich *et al.*, 1991; Guengerich and Shimada, 1991), 발암물질의 대사에 관여하는 각종 효소에 대한 분자생물학적 이해가 확대되면서 특정 발암물질의 대사 활성화 및 해독화에 관여하는 여러 동종효소들이 밝혀지기 시작하였다. 현재 인간에서는 100여개의 P450 동종효소가 확인되었거나 존재할 것으로 추측되고 있으며(Gonzalez *et al.*, 1991), 특정약물 및 발암물질에 대한 유전적인 다형성이 존재하여 동일 물질에 대해서

¹⁾To whom correspondence should be addressed.

도 인종 및 개인별로 커다란 차이를 보임이 알려져 있어 발암 물질에 대한 개인별 감수성 여부도 발암물질을 활성화형으로 대사 시키거나 생성된 대사체를 효과적으로 체외로 배출시킬 수 있는 특정 약물 대사 효소의 활성화도에 따라 결정될 수 있음이 보고되어 왔다(Alvan *et al.*, 1990; Ayesh, *et al.*, 1984; Eichelbaum and Gross, 1990; Nebert, 1991). Phase I 효소로서 작용하는 P450 동종효소들은 특정약물 및 발암물질을 선택적으로 대사시킴이 밝혀져 있다. 예를 들면, benzo(a)pyrene과 7,12-dimethylbenz(a)anthracene 등의 다환성 방향족 탄화수소(polycyclic aromatic hydrocarbon)는 P450 IA1이, 발암성 arylamine류의 대사에는 P450 IA2가, 그리고 N-nitrosamine류 및 사염화탄소 같은 저분자 유기물질들은 P450 2E1이 매우 선택적으로 대사 활성화 시켜 궁극적인 독성물질로 전환시킴이 여러 보고를 통하여 입증되었다(Gonzalez *et al.*, 1991; Nebert, 1991; Barstch and Montesano, 1984; Barstch *et al.*, 1987; Hong and Yang, 1985; Wrighton *et al.*, 1988; Yoo *et al.*, 1988; Guengerich and Shimada, 1991; Guengerich *et al.*, 1991; Yang *et al.*, 1990). N-nitrosamine류는 자연환경이나 담배연기에 함유되어 있으며 위 내에서 자발적으로 형성되기도 한다(Bartsch *et al.*, 1987). 이러한 화합물에 노출된 사람의 경우 암 발생과 관련이 있음이 여러 역학연구들에 의해서 알려지게 되었다(Bartsch and Montesano, 1984; Lu *et al.*, 1986a, 1986b; Kamiyama *et al.*, 1987; Chen *et al.*, 1987). 따라서, P450 2E1의 유전형 또는 표현형 차이는 이러한 화학물질에 의한 암발생의 감수성이 있어 개인의 다양성과 관련이 있을 수 있다(Guengerich *et al.*, 1991; Nebert, 1991; Wrighton *et al.*, 1988; Yoo *et al.*, 1988). 그러나 이러한 차이의 유전학적 기초는 아직 명확히 규명되어 있지 않은 실정이다.

인간의 P450 2E1 유전자의 Restriction Fragment Length Polymorphisms(RFLPs)은 제한효소 *TaqI*(McBride *et al.*, 1987), *DraI*(Uematsu *et al.*, 1991a, 1991b), *RsaI*(Uematsu *et al.*, 1991a), 그리고 *MspI*(Uematsu *et al.*, 1991c)에 의해 검출될 수 있는 것으로 알려져 왔다. 또한 인간 P450 2E1 유전자의 5' upstream 지역에서 *PstI*과 *RsaI*에 대한 다형성도 존재함이 알려져 있으며(Watanabe *et al.*, 1990; Hayashi *et al.*, 1991), *PstI*과 *RsaI* RFLP의 경우 유전형질 빈도에서 종족간의 차이가 있음이 보고된 바 있다(Kato *et al.*, 1992).

현재 서양인에 비해 음식섭취 패턴의 이질성 및 과다한 음주, 흡연이 보편화되어 있는 한국인들에 대한 약물대사 효소의 유전적 다형성과 발현정도에 대한 기초적인 정보가 미흡하다. 본 연구에서는 한국인의 약물 대사 효소 P450 2E1에 대한 유전적 다형성을 조사하고자 하였다. 인간의 P450 2E1의 유전자 염기서열 가운데 전사조절부위의 특정부위를 PCR을 이용

하여 증폭시킨 다음, DNA 제한효소를 이용한 RFLP 방법으로 P450 2E1의 유전적 다형성과 빈도를 조사하였으며, 또한 한국인과 다른 민족사이의 유전자 형질빈도를 비교하고자 하였다.

재료 및 방법

인체혈액 임파구 DNA 분리

20세 전후의 건강한 성인 남녀 지원자들로부터 혈액을 제공받아 실험에 이용하였다. 항응고제로써 EDTA를 처리하여 채혈한 후 Lymphoprep™(GIBCO, USA)을 이용하여 임파구만을 분리하였다. 임파구 DNA는 phenol/chloroform으로 추출한 후 ethanol로 침전시켜 분리하였다(Tefre *et al.*, 1990). 또는 아래의 방법에 준하여 임파구의 DNA를 분리하였다. 5 ml의 EDTA-혈액을 20 ml의 차가운 용해 완충액(0.32 M Sucrose, 5 mM MgCl₂, 1 % Triton X-100, 0.01 M Tris-HCl, pH 7.5)과 혼합하고 5분간 혼든 다음, 시료를 얼음에 5분간 방치하였다. 시료를 2,000×g에서 15분간 원심분리하고, pellet을 25 ml의 용해 완충액을 가하고 재현탁시킨 다음 유리병으로 가볍게 섞어 주었다. 다시 2,000×g에서 10분간 원심분리하고 5 ml의 PBS (Mg⁺ and Ca⁺ free)에 재현탁시키고 다시 원심분리 하였다. Pellet을 300-400 μl의 PBS에 희석시키고 60 °C에서 5.6 ml의 추출 완충액(2X 용해 완충액과 30 Unit proteinase K) 14 ml를 가했다. 시료를 흔들면서 60 °C에서 1.5 시간동안 소화시키고, phenol/chloroform으로 두번 추출하고 58 °C에서 두층으로 분리한 다음 수용액층을 취하였다. 수용액층에 0.3 ml의 2 M Na-acetate buffer와 9 ml의 96% ethanol을 가하여 DNA를 두세번 세척한 후 DNA를 취하여 0.2 ml의 TE 완충액(10 mM Tris-HCl, pH 7.6, 1 mM Na-EDTA)에 재현탁시켰다.

PCR을 이용한 P450 2E1의 RFLP 분석

PCR을 이용하여 *PstI*과 *RsaI* 제한효소의 인식부위를 갖는 P450 2E1 유전자의 전사조절부위(Hayashi *et al.*, 1991)를 증폭하였다. Genomic DNA(1 μg)를 P450 2E1 유전자의 -1370부터 -1349에 해당하는 5'-CCAGTCGAGTCTACATTGTCA-3'의 서열을 갖는 primer 및 -999부터 -978에 해당하는 5'-TTCATTCTGTCTTCTAACTGG-3'의 서열을 갖는 primer(각각 100 nM)을 이용하여 50 mM KCl, 3.5 mM MgCl₂, 200 μM dNTP 및 2.5 U *Taq* polymerase(Promega, USA)가 함유된 10 mM Tris-HCl(pH 8.3)용액에서 PCR을 수행하여 410 bp를 갖는 DNA를 증폭시켰다. PCR은 다음 조건에서 30회 수행하였다. 먼저 94 °C에서 10분간 denaturation을 한 후 94 °C에서

2분간 denaturation, 50 °C에서 2분간 annealing, 72 °C에서 2분간 primer extension, 마지막회 PCR은 72 °C에서 5분간 primer extension을 하였다. PCR 산물(15 µl)을 *Pst*I 제한효소(10 unit; GIBCO BRL, 50 mM Tris-HCl, pH 8.3, 50 mM NaCl, 10 mM MgCl₂, 1 mM dithiothreitol, 37 °C에서 4 시간) 또는 *Rsa*I 제한효소(10 unit: GIBCO BRL, 50 mM Tris-HCl, pH 8.3, 90 mM MgCl₂, 1 mM dithiothreitol, 37 °C에서 4 시간)를 처리한 다음 3% agarose gel에서 전기영동하였다. 단편의 크기들은 *Hind*III/λDNA 또는 pUC19/*Hae*III를 동시에 전기영동하여 확인하였다.

이들 제한효소의 작용부위가 존재하는 경우 *Pst*I 제한효소에 대하여 290 및 120 bp의 단편이 생성되었으며(mutant type), *Rsa*I 제한효소에 대하여 360과 50 bp의 단편을 갖는 것(wild type)으로 구분하였다.

결과 및 고찰

P450 2E1 유전자의 *Pst*I 및 *Rsa*I RFLP는 이들 제한효소 부위가 P450 2E1 유전자의 전사조절지역으로서 이 유전자의 발현 또는 활성도에 영향을 미친다(Kato *et al.*, 1992). PCR을 이용하여 *Pst*I 및 *Rsa*I 제한효소의 인식부위를 갖는 P450 2E1 유전자의 전사조절부위(Hayashi 등, 1991)를 증폭한 다음 *Pst*I 또는 *Rsa*I 제한효소로 처리하였을 때 Fig. 1(*Pst*I RFLP)와 Fig. 2 (*Rsa*I RFLP)에서 보여주는 바와 같이 각각의 유전형질을 구분할 수 있었다. *Pst*I RFLP에서 homozygous wild type은 *Pst*I 제한효소의 절단부위가 존재하지 않아 410 bp DNA 단편만이 존재하며 mutant는 이 제한효소의 절단부위가 존재하여 heterozygous mutant type은 410, 290, 120 bp의 DNA 단편들을 보였다. 290과 120 bp의 DNA 단편을 갖는 homozygous mutant type은 한국인 집단에서는 발견되지 않았다(Fig. 1). *Rsa*I RFLP에서는 *Rsa*I 제한효소의 절단부위가 존재하는 homozygous wild type에서는 360과 50 bp의 DNA 단편을 보였으며, 이 제한효소의 절단부위가 존재하지 않는 mutant로 heterozygous mutant type은 410, 360, 50 bp의 DNA 단편들을 보였으며 homozygous mutant type은 410 bp의 DNA 단편만을 보였다(Fig. 2).

P450 2E1 유전자의 *Pst*I RFLP에 대한 한국인의 형질빈도는 homozygous wild type과 heterozygous mutant type이 각각 0.70과 0.30를 나타내었다(Table 1). 그러나 한국인 집단에서는 *Pst*I RFLP의 homozygous mutant type은 발견되지 않았다. 한국인과 기존에 발표된 다른 민족사이의 P450 2E1 유전자의 *Pst*I RFLP를 비교하였다(Table 2). *Pst*I에 대한 형질빈도를 비교하였을 때 일본인과 Caucasian(chi-square=42.1, P<0.005), 일

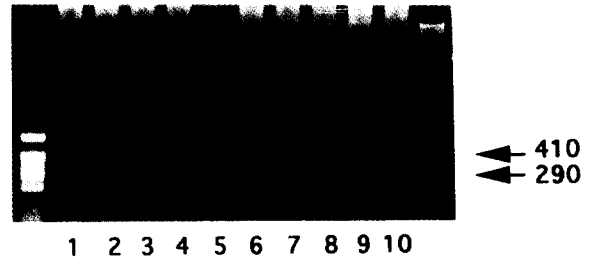


Fig. 1. *Pst*I PCR-RFLP of P450 2E1. Amplified P450 2E1 PCR product(412 bp) were digested with restriction enzyme *Pst*I and analyzed by agarose gel(3%) electrophoresis. Lane 1-5; homozygous wild type(410 bp), Lane 6-10; heterozygous mutant type(410, 290, and 120 bp). Homozygous mutant type was not observed.



Fig. 2. *Rsa*I PCR-RFLP of P450 2E1. Amplified P450 2E1 PCR product (410 bp) were digested with restriction enzyme *Rsa*I and analyzed by agarose gel(3%) electrophoresis. Lane 1, 2, 6, 7, 10; homozygous wild type(360 and 50 bp), Lane 3, 4, 8, 9; heterozygous mutant type(410, 360, and 50 bp), Lane 5; homozygous mutant(410 bp)

본인과 African-American(chi-square=21.9, P<0.005), 한국인과 Caucasian(chi-square=53.4, P<0.005), 그리고 한국인과 African-American(chi-square=30.0, P<0.005) 사이에서 유의성있는 차이가 관찰되었다. 그러나 Caucasian과 African-American(chi-square=3.2, P<0.1), 일본인과 한국인(chi-square=0.64, P<0.9) 사이에서는 유의성있는 차이가 없었다.

P450 2E1 유전자의 *Rsa*I RFLP에 대한 한국인의 형질빈도는 homozygous wild type, heterozygous type, 그리고 homozygous mutant type이 각각 0.71, 0.26, 그리고 0.03를 나타내었다(Table 1). 한국인과 기존에 발표된 다른 종족사이의 P450 2E1 유전자의 *Rsa*I RFLP를 비교하였다(Table 3). *Rsa*I에 대한 형질빈도를 비교하였을 때 일본인과 Caucasian(chi-square=47.04, P<0.005), 일본인과 African-American(chi-square=40.05, P<0.005), 한국인과 Caucasian(chi-square=49.27, P<0.005), 그리고 한국인과 African-American(chi-square=42.85, P<0.005) 사이에서 유의성있는 차이가 관찰되었다. 그러나 Caucasian과

Table 1. Ethnic distribution of *RstI* and *RsaI* RFLP of P450 2E1 gene.

Race (n)	<i>PstI</i> RFLP		<i>RsaI</i> RFLP		Ref.
	wild	mutant	wild	mutant	
Caucasian (214)	0.98 (210)	0.02 (4)	0.98 (210)	0.02 (4)	Kato <i>et al.</i> , (1992)
African-American (174)	0.95 (165)	0.05 (9)	0.98 (171)	0.02 (3)	Kato <i>et al.</i> , (1992)
Japanese (98)	0.76 (74)	0.24 (24)	0.73 (72)	0.27 (26)	Kato <i>et al.</i> , (1992)
Korean (84) (61)*	0.70 (59)	0.30 (25)	0.71 (43)	0.29 (18)**	The present study

Parentheses indicate number of alleles.

*; *RsaI* RFLP numbers, **; includes heterozygous mutant [0.26 (16)] and homozygous mutant [0.03 (2)].

Table 2. Chi-square test of ethnic distribution of P450 2E1 *PstI* RFLP

Race	Caucasian	African-American	Japanese
African-American	$\chi^2=3.233$ 0.05<p<0.1		
Japanese	$\chi^2=42.104$ p<0.005	$\chi^2=21.944$ p<0.005	
Korean	$\chi^2=53.428$ p<0.005	$\chi^2=29.937$ p<0.005	$\chi^2=0.639$ 0.1<p<0.9

Table 3. Chi-square test of ethnic distribution of P450 2E1 *RsaI* RRFLP.

Race	Caucasian	African-American	Japanese
African-American	$\chi^2=0.0114$ 0.9<p<0.95		
Japanese	$\chi^2=47.04$ p<0.005	$\chi^2=40.05$ p<0.005	
Korean	$\chi^2=49.27$ p<0.005	$\chi^2=42.846$ p<0.005	$\chi^2=0.166$ 0.1<p<0.9

African-American(chi-square=0.01, 0.9<p<0.95), 일본인과 한국인(chi-square=0.17, 0.1<p<0.9) 사이에서는 유의성있는 차이가 없었다.

P450 2E1 유전자의 *PstI* 또는 *RsaI* RFLP에서 wild type은 mutant type에 비하여 보다 낮은 P450 2E1 단백질의 발현을 보이는 것으로 알려져 있으며, P450 2E1의 단백질 발현 수준과 효소 활성도에서도 개인간의 많은 차이가 있음이 알려져 있다(Wrighton *et al.*, 1988; Yoo *et al.*, 1988). Kato *et al.*(1992)에 의하면 일본인, African-American, Caucasian에서 이들 종족 사이의 P450 2E1 유전자의 형질빈도가 상당히 차이가 있음이 보고된 바 있다. *PstI* heterozygous의 빈도가 Caucasian, African-American, 일본인집단에서 각각 0.02, 0.05, 0.24를 차지하였으며, *RsaI* heterozygous의 경우 그 빈도가 각각 0.02, 0.02, 0.27 이었다. 이들 집단은 모두 미국내 거주하는 종족을 대상으로 조사되었으며, 폐암과 정상인의 P450 2E1 유전자의 *PstI*과 *RsaI* RFLP에서의 유의성은 없었다. 이들 RFLP의 종족 차이에서 Caucasian은 폐암의 감수성과 관련이 있었으며 일본인집단의 경우에는 위암과 소화기관암과 관련이 있었다(Kato *et al.*, 1992; Uematsu *et al.*, 1991b). P450 2E1 *PstI*과 *RsaI* RFLP에서 한국인의 경우 일본인과 유사한 유전자 다형성을 보여주고 있으므로 한국인의 위암환자에서도 높은 homozygous mutant type이 발견될 것으로 생각되며, 정상인에서도 homozygous mutant type을 가진사람은 다른 유전자형에 비해서 위암발생 감수성이 높을 것으로 생각된다. P450 2E1

유전자의 intron 6에서 *DraI* 제한효소에 대한 다형성도 보고되어 있다. 일본인 집단에서는 이곳에서의 다형성은 폐암(Uematsu *et al.*, 1991b) 및 위장관암(Uematsu *et al.*, 1992)과 밀접한 관계가 있음이 보고되어 있으나 *PstI*과 *RsaI* 다형성과의 상관성은 아직 밝혀지지 않았다.

사람의 경우 특정약물 및 발암물질에 대한 유전적인 다형성이 존재하여 동일물질에 대해서도 인종 및 개인별로 커다란 차이를 보임이 알려져 있어 발암물질에 대한 개인별, 민족별 감수성 여부도 이 발암물질들을 활성형으로 대사시킬 수 있는 특정 약물대사효소의 보유정도에 따라 결정될 수 있다. 이 사실은 각 개인별 약물 또는 발암물질에 대한 대사능을 조사하여 발암 감수성에 대한 자료를 축적하여 도식화하면, 발암위험성을 미리 진단, 주의를 환기시킴으로써 암유발 위험성을 극소화시킬 수 있는 방법을 개발할 수 있을 것으로 생각된다.

감사의 글

본 연구는 1994년도 과학재단(국산연구기기시험 연구과제) 연구비 지원에 의해 수행되었음을 감사드립니다.

참고문헌

Alvan, G., P. Bechtel, L. Iselius, and U. Gundert-Remy

- (1990): Hydroxylation polymorphisms of debrisoquine and mephenytoin in European populations, *Eur. J. Clin. Pharmacol.* **39**: 533-537.
- Ayesh, R., J.R. Idle, J.C. Ritchie, M.J. Crothers, and M.R. Hetzel, (1984): Metabolic oxidation phenotypes as markers for susceptibility to lung cancer, *Nature*. **312**: 169-170.
- Bartsch, H., and R. Montesano, (1984): Relevance of nitrosamines to human cancer, *Carcinogenesis*. **5**: 1381-1393
- Bartsch, H., I. O'Neill, and R. Schulte-Hermann, (1987): The Relevance of N-Nitroso Compounds to Human Cancer. Exposures and Mechanisms, IARC Scientific Publication no. 84. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer.
- Chen, J., H. Ohshima, H. Yang, J. Li, T.C. Campbell, R. Peto, and H. Bartsch, (1987): A correlation study on urinary excretion of N-nitroso compounds and cancer mortality in China: interim results, *IARC Sci. Publ.* **84**: 503-506.
- Eichelbaum, M., and A.S. Gross, (1990): The genetic polymorphism of debrisoquine sparteine metabolism-clinical aspects. *Pharmacol. Ther.* **46**: 377-394.
- Gonzalez, F.J., C.L. Crespi, and H.V. Gelboin, (1991): DNA-expressed human cytochrome P450s: a new age of molecular toxicology and human risk assessment, *Mutat. Res.* **247**: 113-127.
- Guengerich, F.P., and T. Shimada, (1991): Oxidation of toxic and carcinogenic chemicals by human cytochrome P450 enzymes, *Chem. Res. Toxicol.* **4**: 391-407.
- Guengerich, F.P., D.H. Kim, and M. Iwasaki, (1991): Role of human cytochrome P450 2E1 in the oxidation of many low molecular weight cancer suspects, *Chem. Res. Toxicol.* **4**: 168-179.
- Hayashi, S., J. Watanabe, and K. Kawajiri, (1991): Genetic polymorphisms in the 5'-flanking region change transcriptional regulation of the human cytochrome P450 2E1 gene, *J. Biochem.* **110**: 559-565.
- Hong, J., and C.S. Yang, (1985): The nature of microsomal N-nitrosodimethylamine demethylase and its role in carcinogen activation, *Carcinogenesis*. **6**: 1805-1809.
- Kamiyama, S., H. Ohshima, A. Shimada, N. Saito, M.C. Bourgade, P. Ziegler, and H. Bartsch, (1987): Urinary excretion of N-nitrosamine acids and nitrate by inhabitants in high- and low-risk areas for stomach cancer in northern Japan, *IARC Sci. Publ.* **84**: 497-502.
- Kato, S., P.G. Shields, N.E. Caporaso, R.N. Hoover, B.F. Trump, H. Sugimura, A. Weston, and C.C. Harris, (1992): Cytochrome P450 2E1 genetic polymorphisms, racial variation, and lung cancer risk, *Cancer Res.* **52**: 6712-6715.
- Lu, S.H., R. Montesano, M.S. Zhang, L. Feng, F.J. Luo, S. X. Chui, D. Umbenhauer, R. Saffhill, and M.F. Rajewsky, (1986a): Relevance of N-nitrosamines to esophageal cancer in China, *J. Cell. Physiol.* **4(Suppl.)**: 51-58.
- Lu, S.H., H. Ohshima, H.M. Fu, Y. Tian, F.M. Li, M. Blettner, H. Wahrendorf, and H. Bartsch, (1986b): Urinary excretion of N-nitrosamine acids and nitrate by inhabitants of high- and low-risk areas for esophageal cancer in northern China: endogenous formation of nitrosoproline and its inhibition by vitamin C, *Cancer Res.* **46**: 1485-1491.
- McBride, O.W., M. Umeno, H.V. Gelboin, and F.J. Gonzalez, (1987): *TaqI* polymorphism in the human P 4502E1 gene on chromosome 10(CYP2E). *Nucleic Acids. Res.* **15**: 10071
- Nebert, D.W., (1991): Role of genetics and drug metabolism in human cancer risk. *Mutat. Res.* **247**: 267-281.
- Omenn, G.S., (1988): Risk assessment, pharmacogenetics, and ecogenetics, *Banbury Rep.* **16**: 3-13.
- Tefre, T., A.-L. Borrese, S. Aamdal, and A. Brogger, (1990): Studies of the L-myc DNA polymorphism and relationship to metastasis in Norwegian lung cancer patients, *Br. J. Cancer.* **61**: 809-812
- Uematsu, F., H. Kikuchi, T. Ohmachi, I. Sagami, M. Motomiya, T. Kamataki, M. Komori, and M. Watanabe, (1991a): Two Common RFLPs of the human CYP2E gene, *Nucleic Acids Res.* **19**: 2803
- Uematsu, F., H. Kikuchi, M. Motomiya, T. Abe, I. Sagami, T. Ohmachi, A. Wakui, R. Kanamaru, and M. Watanabe, (1991b): Association between restriction fragment length polymorphism of the human cytochrome P4502E1 gene and susceptibility to lung cancer, *Jpn. J. Cancer. Res.* **82**: 254-256.
- Uematsu, F., I. Kikuchi, T. Abe, M. Motomiya, T. Ohmachi, I. Sagami, and M. Watanabe, (1991c): *MspI* polymorphism of the human CYP2E gene. *Nucleic Acids Res.* **19**: 5797.
- Uematsu, F., H. Kikuchi, M. Motomiya, T. Abe, C. Ishioko, R. Kanamaru, I. Sugami, M. Watanabe, 1992. Human cytochrome P450 IIE1 gene; *DraI* polymorphism and susceptibility to cancer, *Tohoku J. Exp. Med.* **168**: 113-117.
- Watanabe, J., S. Hayashi, K. Nakach, K. Imai, Y. Suda, T. Sekine, and K.C. Kawajiri, (1990): *PstI* and *RsaI* in complete linkage disequilibrium at the CYP2E gene, *Nucleic Acids Res.* **18**: 7194.
- Wrighton, S.A., P.E. Thomas, D.T. Molawa, M. Haniu, J.E. Shively, S.L. Maines, P.B. Watkins, G. Parker, G. Medezpicon, W. Lewin, and P.S. Guzelian, (1988): Characterization of ethanol-inducible human liver N-nitrosodimethylamine demethylase, *Biochemistry.* **25**: 6731-6735.

Yang, C.S., J.S. Yoo, H. Ishizaki, and J.Y. Hong, (1990):
Cytochrome P450 2E1: Roles in nitrosamine metabolism
and mechanisms of regulation, *Drug Metab. Rev.* **22**: 147-
159.

Yoo, J.S., F.P. Guengerich, and C.S. Yang, (1988):
Metabolism of N-nitrosodialkylamines by human liver
microsomes, *Cancer Res.* **48**: 1499-1504