

肺癌の臨床分子腫瘍学—最近の研究を中心に—

薬物代謝酵素の遺伝的多型と肺癌感受性

—喫煙との関連—

植松 史行*

Genetic polymorphisms of drug-metabolizing enzymes and susceptibility to lung cancer—relevance to smoking

Fumiyuki Uematsu

Department of Respiratory Medicine, Institute of Development, Aging and Cancer, Tohoku University

Summary

Lung cancer has been associated with smoking and many carcinogenic compounds are thought to contribute to the origin of lung cancer. Most of these carcinogens exert their carcinogenicity after conversion to more potent forms through reactions mediated by drug-metabolizing enzymes, such as cytochrome P450s (CYPs). Carcinogens in the human body are then detoxified by enzymes such as glutathione S-transferase (GST) and excreted. The genetic differences, or polymorphisms, of these enzymes may affect genetically-determined susceptibility to lung cancer. Recently, a variety of polymorphisms have been found for drug-metabolizing enzymes in humans, such as CYP2E1, CYP1A1, CYP2D6, and GST. These polymorphisms have been related to susceptibility to lung cancer by some researchers. Their relevance with the dose of tobacco smoke has also been investigated.

Key words: Restriction fragment length polymorphism, CYP2E1, CYP1A1, CYP2D6, Glutathione S-transferase

1. 発癌物質の生体内における代謝

癌細胞と正常細胞の本質的な違いは、細胞の分化増殖をつかさどる一群の遺伝子の異常の有無にある¹⁾。肺癌の発症には、芳香族炭化水素やN-ニトロソ化合物をはじめとし、多くの発癌物質の関与が想定されている。タバコの煙のなかに含まれている発癌物質の種類は多く、また疫学的なデータからも、喫煙の肺癌に対する関与は確実視されている。さまざまな発癌物質は、生体内に取り込まれたのち酵素反応による活性化(第一相反応)を受け、水溶性の物質に変換され排泄される(第二相反応)。これらの過程には、発癌物質の種類によって異なる一連の酵

素群が関わっている。活性化に関与しているのはチトクローム P450 (CYP)を主とする酵素であり、無毒化に関与しているのは、グルタチオンSトランスフェラーゼ(GST)などの抱合系酵素である。これらのうちいくつかの酵素に関しては、個体による発現量の差が見いだされている。近年酵素遺伝子の解析が進んだことにより、広く多型と呼ばれるこのような個体差の一部は、遺伝子の欠失をはじめとする遺伝子変異によるものであることがわかってきた。そこで、遺伝子変異を指標とし、発癌との関連を探る試みがなされている。特に肺癌は喫煙と関連が深いと考えられているため、喫煙との関連が追求されているのでそれについても概説する。

* 東北大学加齢医学研究所・呼吸器腫瘍研究分野

表1 CYP2E1の *Dra* I RFLP と肺癌感受性

地域		CC(%)	CD(%)	DD(%)	計	文献
日本(宮城)	対 照	11(14.5)	22(28.9)	43(56.6)	76	(4)
	肺 癌	2(2.2)	42(46.2)	47(51.6)	91	
	喫煙歴					
	≤20 py	1(4.0)	16(64.0)	8(32.0)	25	
>20 py	1(1.9)	21(38.9)	32(59.3)	54		
フィンランド	対 照	1(0.8)	24(19.8)	96(79.3)	121	(5)
	肺 癌	2(2.0)	14(13.9)	85(84.2)	101	
スウェーデン	対 照	2(1.0)	38(18.4)	166(80.6)	206	(6)
	肺 癌	0(0.0)	33(17.1)	160(82.9)	193	

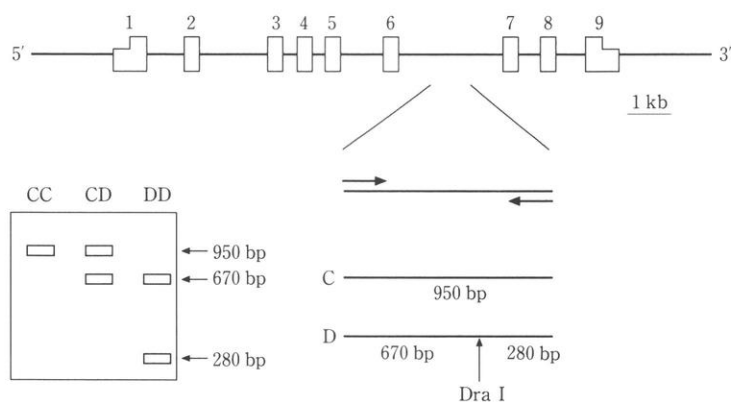


図1 ポリメラーゼ連鎖反応(PCR)により検出したCYP2E1遺伝子の制限酵素断片長多型

イントロン6上に *Dra* I 制限部位をもつアレル(D)と、もたないアレル(C)が存在する。これにより各個体は、CC, CD, DDの3つの遺伝子型に分類される。(文献4より)

II. CYP2E1 多型と肺癌感受性

CYP2E1は、タバコの煙や食物に含まれるニトロソアミン類など、低分子の発癌物質の代謝的活性化に関与している。ヒトでは主に肝臓で発現しており、肺にも少量の蛋白が存在する。CYP2E1遺伝子上には、*Taq* I, *Dra* I, *Rsa* I, *Msp* Iの各制限酵素による制限酵素断片長多型(RFLP)が見いだされているが、われわれはこのうち *Dra* IによるRFLPと肺癌発生との関連について報告してきた²⁻⁴⁾。*Dra* I RFLPはCYP2E1遺伝子のイントロン6上に存在するが、ここを含む950 bpの配列を増幅することにより検出できる(図1)。*Dra* Iサイトを含まないC

アレルと、*Dra* Iサイトを含むDアレルの分布を、肺癌患者と対照において比較した。するとヘテロ接合体であるCD型の割合が肺癌患者では対照に比べて多く、相対危険度は2.1であった⁴⁾(表1)。このような正常人集団からの分布のずれは、消化器系の癌患者においても認められた³⁾。さらに、肺癌患者のなかで喫煙に対する高曝露群(>20 PY)と低曝露群(≤20 PY)を比較すると有意差が存在した(表1)。対照における分布と比較すると、低曝露群のほうが対照からの偏りが大であり、高曝露群のほうが対照における分布に近い傾向がみられた。このことは、喫煙行動からみれば、低曝露群のほうが、高曝露群よりもCYP2E1と肺癌発生の関連が密

である可能性を示唆する⁴⁾。欧米においても CYP2E1 の多形に関する追試が行われているが、現在のところ有意の相関は認められていない^{5,6)}。

ヒトの肝臓における CYP2E1 の mRNA 発現を、ノーザン法によって定量し、*Dra* I RFLP との関連を調べると、ヘテロ接合体(CD 型)での発現が高い傾向がみられた。これによれば、上に述べた RFLP と肺癌との関連は、mRNA レベルにおける遺伝子発現を反映したものである可能性があるといえる⁴⁾。

III. CYP1A1 多型と肺癌感受性

CYP1A1 遺伝子は、ベンツピレンをはじめとし、タバコの煙などに含まれる癌原性芳香族炭化水素の活性化に関わっている。Kellermann らは 20 年以上前の 1973 年、ヒトの末梢血白血球を用い、CYP1A1 の誘導能と、喫煙者における肺癌発症との関連を報告した⁷⁾。すなわち対照における低誘導能の個体の割合は 45%であったのに対し、肺癌患者における低誘導能の割合はわずか 4%であった。しかしその後の追試では必ずしも一致した結論は得られていない。

Kawajiri らは 1990 年、CYP1A1 の *Msp* I による RFLP が、肺癌発症に関与していることを報告した。この多型は CYP1A1 遺伝子の 3' 隣接領域に存在するものであり、まれなホモ接合体である m2/m2 型の割合が、肺癌患者特に扁平上皮癌患者では上昇していた。すなわち正常人では m2/m2 型の割合は 10.6%であったのに対し、肺癌全体および扁平上皮癌では、それぞれ 23.5%、30.4%であった⁸⁾。喫煙量についてみると、低曝露群($< 3 \times 10^5$ 本)では相対危険度は 7.31 であったのに対し、中曝露群($3 \sim 4 \times 10^5$ 本)では 2.00、高曝露群($> 4 \times 10^5$ 本)では 1.13 とそれよりも低かった⁹⁾。またこの多型は、CYP1A1 遺伝子の第 7 エクソンにおけるアミノ酸変異(Val-Ile)と密接に関連していることが示されている¹⁰⁾。さらに、この多型における高感受性群では、より少ない喫煙量で肺癌を発症する可能性が示唆されている⁹⁾。欧米においてもこの多型に関する追試が行われているが、

肺癌との有意な相関は認められず、また人種による遺伝子頻度の差が存在することが明らかになった¹¹⁻¹³⁾。

IV. CYP2D6 多型と肺癌感受性

CYP2D6 は降圧剤であるデブリソキン(日本では未発売)などのほか、タバコの煙に含まれるニトロサミンの一種の活性化にも関与するとされている¹⁴⁾。デブリソキンの代謝では、ヒトにより高代謝型と低代謝型が存在することが知られていたが、近年これは遺伝子欠失をはじめとする変異遺伝子によるものであることが明らかにされつつある。

Ayesh らは 1984 年、肺癌患者では低代謝型は 1.4%と、対照の 9%に比べ低いことを述べている¹⁵⁾。その後も追試が行われているが、一致した結論には達していない¹⁶⁻¹⁹⁾。

V. GST 多型と肺癌感受性

GST は化学物質の代謝経路の第二相においてグルタチオン抱合に関与する酵素群であり、現在までに 4 つのクラスに分けられている。特にそのうちの Mu クラスは、タバコの煙などに含まれる発癌性の多環芳香族炭化水素の解毒に関わっている。Mu クラスの GST のうちアイソザイム GSTM1 では、活性欠損型の個体が 40%ほどの頻度でみられる。これは GSTM1 遺伝子の欠失によるものである²⁰⁾。この GSTM1 欠損型の喫煙者では、肺癌のリスクが上昇するというデータが示されている²¹⁻²³⁾。Hirvonen らの結果では、対照の 44%が欠損型であったのに対し、肺癌患者における欠損型は 53%であり、そのうち扁平上皮癌ではさらに高い相対危険度が認められた²⁴⁾。日本人を対象とした研究でも、同様の結果が得られている²⁵⁾。

GSTM1 遺伝子多型は、肺における GSTM3 発現とも相関している。肺癌患者を対象とした研究において、GSTM1 欠損型の患者では、現在も喫煙しているか最近禁煙した人のほうが、長期禁煙者よりも肺における GSTM3 の発現が低下していることが認められた。これは、GSTM1 と GSTM3 の両遺伝子が、同一の遺伝

子クラスターに属し、共通の制御機構をもつためではないかと考えられている²⁶⁾.

VI. 将来への展望

タバコの煙に含まれる発癌物質の種類は膨大であり、その代謝に関わる酵素が数多く見いだされていることから、肺癌に関与する因子の多様さがうかがわれる。一方、肺癌の原因としては喫煙以外にも食物や大気中の発癌物質の関与も考えられており²⁷⁾、予防を目的とした総合的な対策が求められている。

文 献

- 1) 佐藤 研, 植松史行: 肺癌発生の分子生物学的解析. *Annual Review 呼吸器* 1995, p199-211, 中外医学社, 1995.
- 2) Uematsu F, et al: Association between restriction fragment length polymorphism of the human P450IIE1 gene and susceptibility to lung cancer. *Jpn J Cancer Res* 82: 254-256, 1991.
- 3) Uematsu F, et al: Human cytochrome P450 gene: Dra I polymorphism and susceptibility to cancer. *Tohoku J Exp Med* 168: 113-117, 1992.
- 4) Uematsu F, et al: Restriction fragment length polymorphism of the human CYP2E1 (cytochrome P450IIE1) gene and susceptibility to lung cancer: possible relevance to low smoking exposure. *Pharmacogenetics* 4: 58-63, 1994.
- 5) Hirvonen A, et al: The human CYP2E1 gene and lung cancer: Dra I and Rsa I restriction fragment length polymorphism in Finnish study population. *Carcinogenesis* 14: 85-88, 1993.
- 6) Persson I, et al: Genetic polymorphism of cytochrome P450 2E1 in a Swedish population: relationship to incidence of lung cancer. *FEBS Lett* 319: 207-211, 1993.
- 7) Kellermann G, et al: Aryl hydrocarbon hydroxylase inducibility and bronchogenic carcinoma. *N Engl J Med* 289: 934-936, 1973.
- 8) Kawajiri K, et al: Identification of genetically high risk individuals to lung cancer by DNA polymorphisms of the cytochrome P450IA1 gene. *FEBS Lett* 263: 131-133, 1990.
- 9) Nakachi K, et al: Genetic susceptibility to squamous cell carcinoma of the lung in relation to cigarette smoking dose. *Cancer Res* 51: 5177-5180, 1991.
- 10) Nakachi K, et al: Polymorphisms of the CYP1A1 and glutathione S-transferase genes associated with susceptibility to lung cancer in relation to cigarette dose in a Japanese population. *Cancer Res* 53: 2994-2999, 1993.
- 11) Hirvonen A, et al: Point-mutational Msp I and Ile-Val polymorphisms closely linked in CYP1A1 gene: lack of association with susceptibility to lung cancer in a Finnish study population. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1: 485-489, 1992.
- 12) Shields P G, et al: Lung cancer, race, and a CYP1A1 genetic polymorphism. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2: 481-485, 1993.
- 13) Sugimura H, et al: Cytochrome P-450 IA1 genotype in lung cancer patients and controls in Rio de Janeiro, Brazil. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 3: 145-148, 1994.
- 14) Crespi C L, et al: A tobacco smoke-derived nitrosamine, 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone is activated by the polymorphic human cytochrome P450 2D6. *Carcinogenesis* 12: 1197-1201, 1991.
- 15) Ayesh R, et al: Metabolic oxidation phenotypes as markers for susceptibility to lung cancer. *Nature* 321: 169-170, 1984.
- 16) Benitez J, et al: Polymorphic oxidation of debrisoquine in lung cancer patients. *Eur J Cancer* 27: 158-161, 1991.
- 17) Wolf C R, et al: Relationship between the debrisoquine hydroxylase polymorphism and cancer susceptibility. *Carcinogenesis* 13: 1035, 1992.
- 18) Hirvonen A, et al: PCR-based CYP2D6 genotyping for Finnish lung cancer patients. *Pharmacogenetics* 3: 19-27, 1993.
- 19) Tefre T, et al: Genotyping of the CYP2D6 gene in Norwegian lung cancer patients and controls. *Pharmacogenetics* 4: 47-57, 1994.
- 20) Seidegard J, et al: Hereditary differences in the expression of the human glutathione transferase active on trans-stilbene oxide are due to a gene deletion. *Proc Natl Acad Sci USA* 85: 7293-7297, 1988.
- 21) Seidegard J, et al: A glutathione trans-

- ferase in human leukocytes as marker for the susceptibility to lung cancer. *Carcinogenesis* **7** : 751-753, 1986.
- 22) Seidegard J, et al : Isoenzyme(s) of glutathione transferase (class Mu) as a marker for the susceptibility to lung cancer : a follow up study. *Carcinogenesis* **11** : 33-36, 1990.
- 23) van Poppel G, et al : Increased cytogenetic damage in smokers deficient in glutathione S-transferase isozyme Mu. *Carcinogenesis* **13** : 303-305, 1992.
- 24) Hirvonen A, et al : The GSTM1 null genotype as potential risk modifier for squamous cell carcinoma of the lung. *Carcinogenesis* **14** : 1479-1481, 1993.
- 25) Kihara M, et al : Lung cancer risk of GSTM1 null genotype is dependent on the extent of tobacco smoke exposure. *Carcinogenesis* **15** : 415-418, 1994.
- 26) Anttila S, et al : Pulmonary expression of glutathione S-transferase M3 in lung cancer patients: association with GSTM1 polymorphism, smoking and asbestos exposure. *Cancer Res* **55** : 3305-3309, 1995.
- 27) 蟹沢成好, 北村 均 : 喫煙と肺癌. *Lung* **2** : 379-393, 1994.