

呼吸器病の分子生物学的解析

Annual Review 呼吸器 1995

1995年1月20日発行

中外医学社

1. 肺癌発生の分子生物学的解析

東北大学加齢医学研究所腫瘍制御研究部門 呼吸器腫瘍研究分野 佐藤 研
同 呼吸器腫瘍研究分野 植松 史行

動 向

癌細胞と正常細胞の本質的な違いは、細胞の分化増殖や機能の恒常性を司る一群の遺伝子の異常の有無である。ここ数年の細胞生物学、分子生物学の大きな進歩により、myc, rasなどの癌遺伝子やp53, RBなどの癌抑制遺伝子に関する知見が飛躍的に増大した。その結果、これらの遺伝子の生理的な役割、例えばcAMP系のような既知のシグナル伝達系とのつながりも明らかになりつつある。さらに、発癌の際にこれらの遺伝子にどのような異常が生じているのか、癌の種類や悪性度との関係はどうか、といったことが肺癌においても追究されている。また、このように直接細胞の異常を引き起こす遺伝子群とは別に、特定の環境下で宿主の発癌感受性を左右する遺伝子群がある。発癌物質の代謝に参与するチトクロームP450やグルタチオンSトランスフェラーゼなどの酵素遺伝子群、および多剤耐性(MDR: multiple drug resistance) 遺伝子などの輸送体遺伝子がそれである。環境中の発癌物質はこれらの酵素により活性化されたり不活化されたりするが、その働きには個人差があることがわかってきた。肺癌の発生に関わるこれらの多彩な遺伝子群の性格を明らかにすることが治療や予防の面でも重要になってくると思われる。

1994年度の人口動態統計によると、我が国においても肺癌は胃癌を抜いてついに男性の癌死亡原因の首座を占めるに到った。肺癌に限らず癌の発生メカニズムは未だ十分に解明されたとは言えないが、最近の急速な細胞生物学や分子生物学の進歩から、様々な遺伝子の突然変異の集積により正常細胞が悪性細胞に形質変換する結果である、と理解されるようになった。このような「癌は多段階発症性の遺伝子病」であるとの理解¹⁾に基づき、本稿では現在(1994年6月)までに目を通し得た文献を中心に、肺癌発生に関わる因子を1) 癌遺伝子の変化、2) 癌抑制遺伝子の変化、および3) それらの遺伝子に変化を起こさせる個体の発癌感受性に分けて概観してみたいと思う。

A. 肺癌発生に関わる要因 (図1)²⁾

肺癌を直接的に引き起こす常染色体遺伝子は、「ハイリスク遺伝子」として想定されてはいるものの現在までのところ特定されてはいない³⁾。むしろ数多くの内的(個体)因子と、外的(環境)因子が複雑に絡み合っ、最終的に肺癌発生母地となる細胞の遺伝子、とくに癌遺伝子と癌抑制遺伝子に変化が起きて発癌に到ると考えられている^{1,4,5)}。

例えば煤煙、タバコの煙、排気ガス、食品中の

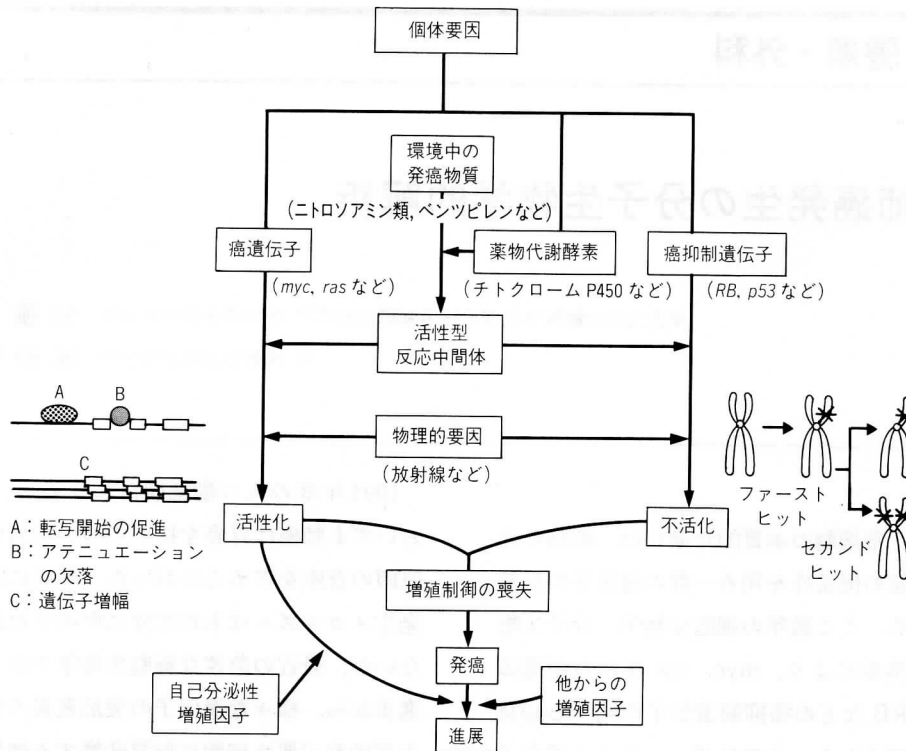


図1 肺癌発生に関与すると考えられている因子 (文献2 改変)

添加物、過酸化物質などは体内に入って代謝されるが、その過程で活性化され、DNA塩基に共有結合的に付着したり塩基間に挿入したりすると、DNAの複製過程で染色体や遺伝子に異常をもたらす発癌物質になり得る。また紫外線や放射線も物理的に遺伝子の損傷を引き起こし得る。これら外的因子による遺伝子損傷の修復過程で突然変異がもたらされる可能性がある。そして、こうした環境因子に対する個体側因子（発癌物質の代謝能やDNA修復能など）の差異が発癌感受性の個人差を生み出していると考えられる⁶⁾。

癌遺伝子のいくつかはプロトオンコジーンとして正常細胞内に存在し、細胞の増殖や分化のコントロールに欠かせない働きをしている優性の遺伝子である。しかし、その遺伝子の一部に変異が起こると機能異常を来し、正常な蛋白でも産生が

過剰であったり、異常な蛋白の産生をみることで細胞の無制限な増殖刺激となり発癌に到る。

具体的には癌遺伝子は次のようなメカニズムで活性化されることが分かってきた⁷⁾。即ち1) レトロウイルスのプロモーターやエンハンサー領域の遺伝子配列がプロトオンコジーン近傍に挿入されてその発現を変化させる、2) 遺伝子コピーの増幅により発現を亢進する、3) 染色体の転座により新たな融合遺伝子や制御ユニットが出来上がる、4) 点突然変異によりコードされた蛋白の機能が変化する、5) 様々な原因、例えば転写抑制因子の低下、mRNAの安定性増加、mRNAプロセッシングの増加、mRNAからの翻訳亢進などにより蛋白合成が昂進する。

一方、癌抑制遺伝子はその喪失あるいは不活性化が癌化を促進するような劣性の遺伝子である。ヒ

表1 肺癌で見られる癌遺伝子, 癌抑制遺伝子*の異常

遺伝子	染色体	異常の種類	出現頻度
c-myc	8q	増幅, 蛋白過剰発現	小細胞癌に多い, 非小細胞癌の一部にも
L-myc	1p	増幅, 蛋白過剰発現	
N-myc	2p	増幅, 蛋白過剰発現	
K-ras	12p	点突然変異	非小細胞癌の一部に, 小細胞癌にはない
bcl-2	18q	転座, 蛋白過剰発現	非小細胞癌の一部に, 小細胞癌の一部にも
erbB-2	17q	増幅, 蛋白過剰発現	非小細胞癌の一部に
c-kit	4q	蛋白過剰発現	小細胞癌の一部に
p 53*	17p	点突然変異, 欠失, 組み替え, 異状 mRNA	小細胞癌に多い, 扁平上皮癌にも多い
rb*	13q	欠失, 点突然変異	小細胞癌に多い, 非小細胞癌の一部にも
?*	3p	欠失	小細胞癌の大部分, 扁平上皮癌にも多い
p 16*	9p	欠失	

ト細胞は二倍体であるので, 癌抑制遺伝子の不活化には両アリル (allele) にとも機能欠陥がある必要がある。即ち, 一方の染色体に欠失や転座があるか, あるいは片方のアリルにすでに突然変異が存在している状況下で, さらに第2の突然変異が他方のアリルにも起こった場合がそれにあたる。これをヘテロ接合性の喪失 (loss of heterozygosity: LOH) と呼ぶ。

現在までに100種以上の癌遺伝子, 癌抑制遺伝子が報告されている。この数は今後さらに増え, 特に癌抑制遺伝子は現在の15種から50種以上に達すると言われている⁵⁾。そのうち肺癌発生に関わっていると考えられているものを表1に示す。

B. 癌遺伝子

1. myc

myc 遺伝子のコードしている蛋白は核内においてDNAに結合し, 遺伝子増幅の制御, 転写の制御に関与している。c-myc, L-myc, N-mycの3者でファミリーを構成しているが, 肺癌との関わりが報告されているのは主としてc-mycである。特に培養小細胞癌でのc-mycの異常による

遺伝子増幅は約80%に認められる⁸⁾。さらに, c-mycに限らずL-myc, N-mycの遺伝子の増幅, あるいは遺伝子増幅を伴わないmyc遺伝子の過剰発現まで含めると, mycの異常は実に全小細胞癌株の95%以上に認められるという⁹⁾。興味あることは, 20~76倍という過剰なc-myc遺伝子の増幅を示す小細胞癌にはバリエーションタイプ (variant type) と呼ばれるものが多く, 増殖速度がより大きく神経分泌顆粒を持たず放射線に耐性であるなどの点で, 軽度のc-myc遺伝子増幅を認めるクラシックタイプ (classic type) と区別される^{10,11)}。また, c-myc遺伝子の増幅は小細胞癌再発例により多く認められることから, 予後不良の指標とする報告もある¹²⁾。

2. ras

1993年は細胞増殖シグナル伝達経路の解明にとって大きな収穫の年であった。まずRasが中心となって形成されている, 外部の細胞増殖シグナルを核内へ伝達する経路の全容が明らかにされた¹³⁾。それに引き続き, セカンドメッセンジャーであるcAMP系とRas経路との関係が解明され^{14,15)}, ここに2大シグナル伝達系が接続するに

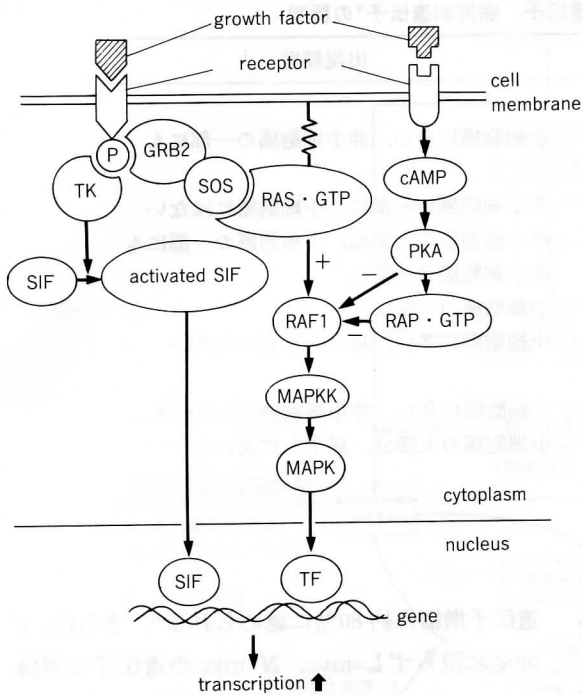


図2 シグナル伝達経路 (文献17 改変)

cAMP: cyclic AMP, GTP: guanosine triphosphate, GRB2: growth factor receptor-binding protein 2 (adapter protein), MAPK: mitogen-activated protein kinase, MAPKK: MAPK-kinase, PKA: protein kinase A, Raf1: proto-oncogene product (serine/threonine kinase), Rap, Ras: proto-oncogene product (GTP-binding protein), SIF: sis-inducible factor, Sos: proto-oncogene product (guanine nucleotide releasing factor), TF: transcription factor, TK: tyrosine kinase.

到った。また、より直接的に、活性化すると自ら核内に移動しDNAに結合してシグナルを伝達する新たな細胞質内蛋白(SIF: sis-inducible factor)も見つかっている¹⁶⁾。これらの意味するところは、単に正常細胞における増殖制御のメカニズムが解明されたに留まらず、より良い癌治療を編み出すために重要な情報を我々に与えてくれるものといえる。

rasの遺伝子産物Rasは21 kDaのG結合蛋白

で、細胞膜内側に存在している¹⁷⁾(図2)。細胞外からの増殖因子やホルモンが膜レセプターに結合すると、レセプターは自己のチロシンキナーゼ活性でリン酸化する。活性化したレセプターには一種のアダプター蛋白であるGRB2(growth factor receptor binding protein)を介してSos(GRF: guanine nucleotide releasing factorの一種)が結合する。SosはRasに結合し、 $Ras \cdot GDP \rightarrow Ras \cdot GTP$ (活性型)というRasのグアニンヌクレオチド交換を促進する。活性化したRasはセリン-スレオニンキナーゼの一種であるRaf1を直接相互作用によって活性化する。活性化したRaf1はMAPKK(mitogen-activated protein kinase-kinase)を活性化しさらに下流のMAPK(MAP-kinase)を活性化する。そして活性化したMAPKは核内の転写因子に増殖シグナルを伝達する。一方、 $Ras \cdot GTP$ はGAP(GTPase activating protein)により活性化されたRas自身のGTPase活性により $Ras \cdot GDP$ (非活性型)に戻ると核内へのシグナル伝達は止む¹³⁾。cAMPはPKA(protein kinase A)を介してRasからRaf1へのシグナル伝達を抑制し、以後のMAPKカスケードの活性化を阻害する^{14,15)}。

肺癌と関わりが深いのはK-rasで、アミノ酸置換を伴う12番コドンの突然変異が主に喫煙者の腺癌で認められる¹⁸⁾。同様に13, 61番コドンの突然変異も非小細胞癌で報告されており、リンパ節転移の有無などの相関が認められる¹⁹⁾。このようなアミノ酸の変化したRasはGTPase活性を持たず、したがって $Ras \cdot GTP$ のまま増殖シグナルを核内に送り続けることになる。

また、マウスの化学発癌実験ではrasの点突然変異パターンに組織特異性があることが示されている。即ち肺癌ではK-rasの61番コドンにA→Tの変異がみられるのに対して、肝癌ではH-rasの61番コドンにC→Aの変異がみられると

いう²⁰⁾.

非小細胞癌とは対照的に、小細胞肺癌では ras の突然変異は報告されていない。また、変異型 ras によるトランスジェニックマウスに発生する肺癌は腺癌であることが多いこと、v-H-ras を導入した小細胞癌は非小細胞癌化すること^{21,22)}などから、ras が非小細胞癌発生に密接に関わっている可能性が示唆される。

3. bcl-2

bcl-2 は最初に濾胞性あるいは B-cell リンパ腫で活性化が認められた癌遺伝子である。しかしその後、bcl-2 の発現はアポトーシスに抑制的に働くことが各種の細胞で示された²³⁾。肺癌での観察では非小細胞癌の 20% で bcl-2 蛋白が強く発現しており、それらの群では予後が良好であったとの報告がある²⁴⁾。一方、小細胞癌での報告では培養株 6 種のうち 5 種で発現が認められた²⁵⁾。c-myc により促進されるアポトーシスを bcl-2 が抑制するという相互作用も想定され^{26,27)}、また bcl-2 のアポトーシス阻害は細胞内における活性酸素産生量の減少を介したものととの研究結果も報告されている^{28,29)}。さらにアポトーシスの制御に関与する主たる遺伝子は、bcl-2 にホモロジーをもつ別の遺伝子であるとの報告もある^{30,31)}。癌細胞における bcl-2 発現の意味付けは今後の課題であろう。

4. erbB, c-kit など

erbB-1 はチロシンキナーゼ型の膜レセプター EGFR (epidermal growth factor receptor) をコードしている癌遺伝子である。非小細胞癌組織での EGFR の発現を調べると、32 例中 17 例で陽性、うち 5 例では細胞外ドメインの一部が欠失した EGFR であった。この異常型 EGFR は正常肺組織には認められないので、新しい癌治療の標的としても期待される³²⁾。

erbB-2 (HER-2, neu) の遺伝子産物は EFGR とホモロジーを有するチロシンキナーゼ型膜レセプターで、肺癌では化学療法の無効な非小細胞癌での過剰発現が認められている。非小細胞癌において予後や多剤耐性のマーカーとして有用かもしれない³³⁾。また、SV 40 でトランスフォームしたヒト気管支上皮細胞に erb-2 発現ベクターを導入しヌードマウスに移植した結果、腺癌様の腫瘤を形成したとの報告³⁴⁾もあり、過剰な erbB-2 の発現が気管支の癌化に関与している可能性を示唆する。

発癌は複数の遺伝子の異常が集積して起こるのであり、癌遺伝子相互の関連についても関心が持たれている³⁵⁾。チロシンキナーゼに属する膜貫通型レセプターをコードする c-kit (リガンドは SCF: stem cell factor) が発現している小細胞癌では、N-, L-myc の発現は認められるが c-myc の発現は認められないことが観察されており、実際 c-myc のトランスフェクションによっても c-kit の発現が抑制された³⁶⁾。バリエーションタイプにおける c-myc 遺伝子発現の増加を考え合わせると、c-kit が小細胞癌の形質決定に大きな役割を担っている可能性を示唆している。

一方、数ある固形癌のうち c-kit の発現は肺小細胞癌にはほぼ限られている³⁷⁾。また、c-kit の発現している小細胞癌株では外からの SCF に反応してチロシンキナーゼが自己リン酸化し、走化性の亢進と細胞増殖が引き起こされた³⁸⁾。以上の結果から、c-kit の異常な発現が癌細胞の悪性度を高める可能性が示唆され、そのための SCF/c-kit による autocrine loop の存在も想定されている。

アスベストへの暴露が悪性中皮腫などを引き起こすことは知られているが、ラットの胸膜細胞をアスベストと共に培養した実験ではアスベスト量に比例して c-fos と c-jun の発現が 2~5 倍上昇し、しかも 24 時間以上持続したという。この場

合アスベストはマイトゲンとして働き、PKC (protein kinase C) を介入して持続的に細胞増殖シグナルを核内に伝達していると考えられる³⁹⁾。

C. 癌抑制遺伝子

1. p53

最もよく肺癌との関連が研究されている癌抑制遺伝子である。野生型 p53 の遺伝子産物は 393 個のアミノ酸からなる核内蛋白ではほぼすべての細胞にホモの二量体として存在しており、1) 特定の蛋白 (mdm-2 遺伝子産物など) やウイルス蛋白 (SV 40 の T 抗原など) との結合能と、2) 特定の遺伝子の近位に位置する DNA 配列への結合能とを合わせ持つ。後者により p53 は遺伝子発現をコントロールする「転写因子」の役割を果たすわけだが、前者の蛋白との結合によってその役割は抑えられる^{40,41)}。癌遺伝子 mdm-2 は p53 とこのような負のフィードバックループを形成している⁴²⁾。最近になって、p53 は細胞増殖を抑制する遺伝子 WAF 1/Cip 1 (蛋白はサイクリン依存性キナーゼに結合してその働きを阻止する) の転写を促進していることが明らかにされ^{43,44)}、p53 による発癌抑制のメカニズム解明がさらに進んだ。

通常、正常細胞での p53 の発現は低レベルである。一方、p53 蛋白が過剰に発現すると細胞は G1 アレストあるいはアポトーシスに陥る。細胞が DNA 損傷を受けた後に p53 発現の上昇がみられること、p53 ノックアウトマウスでは腫瘍形成がみられることなど⁴¹⁾から、p53 は {DNA 損傷に伴う突然変異の出現→細胞分裂に伴う突然変異の集積→発癌} に到る経路を断ち切る“Damage-control specialist”⁴⁵⁾とイメージされる。実際、レトロウイルスによって野生型 p53 を癌細胞に導入し、アポトーシスを誘導し

て肺癌を治療しようとする試みもなされている⁴⁶⁾。また、放射線やアドリマイシン、エトポシドなどの抗癌剤に耐性の癌における p53 の検討から、これらによる治療効果の前提には野生型 p53 の存在が必要であることが分かってきた^{40,47,48)}。

肺癌において p53 の突然変異は 50% で認められ、大腸癌の 70%、乳癌の 40% とならんで高頻度である⁴⁵⁾。特に小細胞癌においては約 70% で認められ、非小細胞癌でも 23% (扁平上皮癌>腺癌) に認められる⁴⁹⁾。また、別な報告では非小細胞癌切除例の 75% に p53 の異常を認めたとしている⁵⁰⁾。p53 突然変異のパターンとしてはアミノ酸の変化を伴う塩基置換が多く、しかも肺癌では G:C→T:A であることが多い。タバコの煙に含まれる発癌物質ベンツピレンの DNA への共有結合の特徴から、この変異と喫煙を関連づける報告もなされている^{40,51)}。

p53 の遺伝子座である 17 番染色体 p13.3 の LOH が 50% の肺癌で認められており⁴⁹⁾、また LOH と変異型 p53 の存在とは 80~100% という高い相関を示していた^{49,50)}。これは発癌における癌抑制遺伝子の“two hit theory”を裏付けるものである。

変異型 p53 の発現と肺癌の予後との関連を論じた報告は多い。変異型 p53 は野生型に比べ半減期が著しく延長し、その結果組織化学的に検出できるようになる。切除肺癌組織や転移リンパ節での検討では p53 陽性例で予後が不良であった^{50,52,53)}。また、変異型 p53 は癌化の極めて早い時期 (扁平上皮化生~異形成の段階) から組織染色で陽性が示されるものがあり、扁平上皮肺癌の早期診断に応用が期待される⁵⁴⁾。

変異型 p53 を利用して癌を治療しようとする試みもなされている。Yanuck らはヒト変異型 p53 蛋白のアミノ酸置換部分を含む 21 個のペプチドを用い cytotoxic T-cell を誘導した。この

リンパ球は変異型 p53 を発現している細胞のみを標的として攻撃したという⁵⁵⁾。

2. rb

rb は最初に証明された癌抑制遺伝子で、その遺伝子産物(RB)は 110 kDa の核内蛋白である。細胞周期に同調してリン酸化、脱リン酸化し、転写因子である E2F との結合を介して細胞周期の制御を行っている。即ち RB は G1 期には脱リン酸化して E2F と結合しその働きを不活化することで S 期への突入を阻止している。RB がリン酸化すると E2F は RB から離れて活性型に戻りチミジンキナーゼ、DNA ポリメラーゼ、c-myc、c-fos など細胞増殖を促進する遺伝子の転写レベルを上昇させる⁵⁾。

肺癌では小細胞癌の 95%以上に、また非小細胞癌でも 25%に 13 番染色体長腕の欠失と rb の欠損、異常転写物と異常 RB の出現が認められる⁵⁾。ただし非小細胞癌例では、DNA、RNA あるいは蛋白のうち、いずれの異常を検出するかにより出現率にはばらつきがある⁵⁶⁾。また、非小細胞癌では rb の不活化が予後不良の指標となりうるとの報告もなされていたが、最近のより大きな検体数 (194 例) での検討では臨床経過との相関は明らかではなかったという⁵⁶⁾。なお、germline レベルでの rb の変異は認められていない⁵⁾。また、肺癌細胞では rb の導入で脱癌化したという報告はない。

3. 3p, p16

3 番染色体短腕 (3p) の欠失は殆どの小細胞肺癌で認められる。また、非小細胞肺癌では特に扁平上皮癌での頻度が高い事実から、3p 上に存在する扁平上皮癌に特異的な癌抑制遺伝子も予想されており、Houle らは扁平上皮癌細胞へのトランスフェクションの結果より、その候補の 1 つとしてレチノール酸レセプター β 遺伝子をあげ

ている⁵⁷⁾。3p にはこの他にも erbA-2, Zn フィンガー含有遺伝子、チロシンリン酸化酵素 γ 遺伝子など複数の遺伝子の存在が想定されている。Hibi らによると肺癌に関連する 3p 上の癌抑制遺伝子は、少なくとも 3 種が各々異なった遺伝子座 (3p14, 3p21, 3p25) に存在するといふ^{58,59)}。

1993 年暮れ、新たな癌抑制遺伝子 p16(MTS1: multiple tumor suppressor1)が報告された⁶⁰⁾。p16 遺伝子産物は、細胞周期を進め細胞分裂に向かわせる酵素群の一種 CDK4 (cyclin-dependent kinase4) と特異的に結合し、細胞増殖を阻止する働きをしている。p16 遺伝子の欠失は脳腫瘍から骨肉腫にいたる広範囲の腫瘍に認められ、肺癌細胞でも 25%で認められるので、p16 は p53 と並んで基本的な癌抑制遺伝子として注目される⁶¹⁾。

D. 発癌感受性と薬物代謝酵素

1. 発癌物質は生体内で代謝される

肺癌の発生においては遺伝的な因子と環境的な因子とが複雑に関与しあっていると考えられる。環境、つまり大気や食物の中には種々の発癌物質が様々な割合で含まれているが、それらの物質は多くの薬物と同様、生体内の薬物代謝酵素によって修飾を受ける。薬物代謝は大きく 2 つの段階に分けられる (図 3)。1 つは第 I 相の反応であり、主としてチトクローム P 450 (CYP) を末端酵素とする電子伝達系の酵素群によってなされている。この反応は化学的に不活性な基質に 1 分子の酸素を挿入するモノオキシゲナーゼ (monooxygenase) 反応であり、多くの環境中の発癌物質はこれによってより強い反応性を獲得する。もう 1 つは第 II 相の反応である。この反応にあずかる酵素群は、第 I 相の反応の結果生成した中間体に内在性の物質を抱かさせ、より水溶性で排泄しや

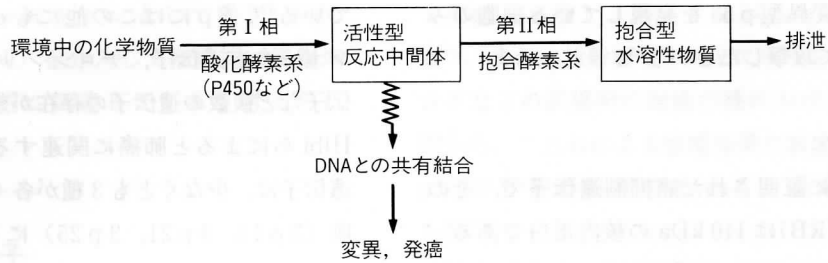


図3 化学物質の代謝経路

すい形にすることを任務とする。これらの酵素群は発癌物質などの解毒に関わっており、 β -グルクロニダーゼや後述のグルタチオンSトランスフェラーゼ (GST) などはこれに含まれる。薬物代謝に関わる酵素群には、遺伝的に規定された個人個人による多様性が存在することが近年わかってきており、その様な多様性と癌になりやすい体質 (発癌感受性) との関連が調べられつつある。ここではいくつかの薬物代謝酵素の多様性と肺癌の関わりについて概説する。

2. CYP1A1の多型と肺癌感受性

CYP1A1はベンツピレンをはじめタバコの煙などに含まれる癌原性芳香族炭化水素の代謝的活性化に関与している。そこで極めて喫煙と関係の深い肺癌の発生と、CYP1A1の多型との関わりが調べられてきた。CYP1A1酵素はアリル炭化水素水酸化酵素 (AHH)活性を持つが、1973年 Kellermannらは、白血球におけるAHH活性の誘導能と、喫煙者における肺癌との関連を報告した⁶²⁾。対照におけるAHHの低誘導能の割合は45%であったのに対し、肺癌患者での低誘導能の割合はわずか4%であった。しかしこの知見は、測定の大変さもあるが、その後の追試でも一貫した結果がえられているとは言いがたい。

1990年、KawajiriらはCYP1A1遺伝子を制限酵素 MspI で消化したときにみられるDNA多型と肺癌発生との関連を報告している⁶³⁾。この

DNA多型はCYP1A1遺伝子の3'末端側に存在する塩基置換によって生じるものであり、各個体は高頻度のホモ接合型 (A型)、ヘテロ接合型 (B型)、低頻度のホモ接合型 (C型)の3つの遺伝子型に分けられる。その後も症例数を増やして検討しており、肺癌患者ではC型の割合が対照にくらべて約2倍高いことが示されている。このMspIによる多型は、CYP1A1遺伝子の第7エクソンにおけるアミノ酸の変異と密接に関連していることが示された⁶⁴⁾。さらにこの多型により高感受性を持つとされたグループでは、比較的少ない喫煙量でも肺癌を発症しやすいことが述べられている⁶⁵⁾。この結果の追試は欧米でも行われたが、白人などを対象にしたこれらの調査では相関が認められなかった。また日本人と白人の間に遺伝子頻度の差が存在することが明らかになった⁶⁶⁻⁶⁸⁾。

3. CYP2D6の多型と肺癌感受性

CYP2D6は降圧剤であるデブリソキンなどの他、タバコの煙などにも含まれるある種のニトロサミンの代謝にも関与することが知られている⁶⁹⁾。デブリソキンの代謝においては高代謝型の個体と低代謝型の個体の存在が以前から知られていた。その区別は、少量のデブリソキンを被験者に投与した後、尿中に排泄されるデブリソキンとその代謝産物の比を求めることで得られる。1984年 Ayeshらは肺癌患者における低代謝型は

1.4%であり、対照の9%に比べて低いことを示した⁷⁰⁾。最近 CYP 2D6 遺伝子の解析が進んだことにより、ヒトでは野生型のほか数種類の変異遺伝子があり、これによって代謝型の区別が生じていることがわかってきた。その後も肺癌と CYP 2D6 の多型の相関について追試が行われているが、一致した結論に達していない⁷¹⁻⁷⁴⁾。

4. CYP2E1 の多型と肺癌感受性

CYP 2E1 は、タバコの煙や食品中にも存在するニトロ化合物などの低分子発癌物質の代謝的活性化に関与している。ヒトでは主に肝臓に存在するが、肺にも蛋白が存在することが確かめられている⁷⁵⁾。ヒト末梢血 DNA を用い制限酵素 DraI で消化することによって、CYP 2E1 の DNA 多型が検出され、各個体は低頻度のホモ接合型 (CC)、ヘテロ接合型 (CD)、高頻度のホモ接合型 (DD) に分けられる⁷⁶⁾。この多型は第6イントロンの塩基置換によって生じるものであり、肺癌では CD 型の割合が 46% と対照の 29% に比して高く、有意差が認められた^{77,78)}。肺癌患者における喫煙歴との相関を調べたところ高喫煙群 (>20 py) と低喫煙群 (≤20 py) で遺伝子型の分布に差がみられた。また分布の型は、高喫煙群のほうが対照における分布により近く、CYP 2E1 の多型は低喫煙群で発癌により強い影響を及ぼしていると考えられる⁷⁸⁾。欧米でも CYP 2E1 の多型に関する追試が行われたが、今までのところ有意な相関はみられていない。ここでも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

文 献

- 1) Carbone DP, Minna JD: The molecular genetics of lung cancer. *Adv Intern Med* 37: 153-171, 1992.
- 2) 佐藤 研, 植松史行: 肺癌発生の分子病態。“呼吸器系の分子医学” 貫和敏博編, 1版, 1993, p 67-80, 羊土社.
- 3) Sellers TA, Bailey-Wilson JE, Elston RC, et al:

った^{79,80)}。

5. GST 多型と肺癌感受性

GST は薬物代謝の第II相においてグルタチオン抱合に関わる酵素群であり (図3), 有害物質の解毒にも関与している。現在までに4クラスの GST 酵素が同定されている。Mu クラスの GST のうちアイソザイム GSTM1 では酵素活性を欠損している個体が高頻度にみられる。GSTM1 活性を欠いた喫煙者では、肺癌のリスクが上昇することが示されてきた⁸¹⁻⁸³⁾。さらに GSTM1 活性の欠損は、GSTM1 遺伝子の欠失によることが明らかになった⁸⁴⁾。Hirvonen らの結果では、対照の 44% が欠損型であったのに対し、肺癌患者では 53% が欠損型であり、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ている⁸⁵⁾。日本でも追試が行われ、同様に肺癌患者において高い欠損型の割合を認めている⁸⁶⁾。

むすび

我が国における肺癌死亡率の上昇は憂うべき問題であり、その対策が切実に求められている。癌遺伝子や癌抑制遺伝子の機能が明らかにされつつある現在、これらの作用の特定の段階を阻害したり、あるいは逆に増強するなどして、癌細胞の増殖を抑制することができるのではないかと期待される。また、肺癌感受性の個体差を規定する遺伝子の解明がさらに進めば、肺癌のハイリスク群を同定することが可能になり、肺癌の予防に役立てることができるかもしれない。

Evidence for mendelian inheritance in the pathogenesis of lung cancer. *J Natl Cancer Inst* 82: 1272-1279, 1990.

- 4) Bishop JM: Molecular themes in oncogenesis. *Cell* 64: 235-248, 1991.
- 5) Knudson AG: Antioncogenes and human cancer.

- Proc Natl Acad Sci USA 90: 10914-10921, 1993.
- 6) Law MR: Genetic predisposition to lung cancer. *Br J Cancer* 61: 195-206, 1990.
 - 7) Kern JA: Dominant oncogenes and tumor suppressor genes in human lung cancer. "Update: Pulmonary Diseases and Disorders" ed by Fishman AP, p 433-450, 1992, McGraw-Hill, New York.
 - 8) Little CD, Nau MM, Carney DN, et al: Amplification and expression of the c-myc oncogene in human lung cancer cell lines. *Nature* 306: 194-196, 1983.
 - 9) Takahashi T, Obata, Y, Sekido Y, et al: Expression and amplification of myc gene family in small cell lung cancer and its relation to biological characteristics. *Cancer Res* 49: 2683-2688, 1989.
 - 10) Johnson BE, Battey J, Linnoila I, et al: Changes in the phenotype of human small cell lung cancer lines following transfection of the c-myc proto-oncogene. *J Clin Invest* 78: 525-532, 1986.
 - 11) Carney DN: Biology of small-cell lung cancer. *Lancet* 339: 843-846, 1992.
 - 12) Johnson BE, Ihde DC, Makuch RW, et al: myc family oncogene amplification in tumor cell lines established from small cell lung cancer patients and its relationship to clinical status and course. *J Clin Invest* 79: 1629-1634, 1987.
 - 13) Moodie SA, Willumsen BM, Weber MJ, et al: Complexes of ras-GTP with raf-1 and mitogen-activated protein kinase kinase. *Science* 260: 1588-1661, 1993.
 - 14) Wu J, Dent P, Jelinek T, et al: Inhibition of the EGF-activated MAP kinase signaling pathway by adenosine 3', 5'-monophosphate. *Science* 262: 1065-1069, 1993.
 - 15) Cook SJ, McCormick F: Inhibition by cAMP of ras-dependent activation of raf. *Science* 262: 1069-1072, 1993.
 - 16) Montminy M: Trying on a new pair of SH2s. *Science* 261: 1694-1695, 1993.
 - 17) Marx J: Two major signal pathways linked. *Science* 262: 988-990, 1993.
 - 18) Rodenhuis S, Slebos RJC: Clinical significance of ras oncogene activation in human lung cancer. *Cancer Res* 52: 2665s-2669s, 1992.
 - 19) Rosell R, Li S, Skacel Z, et al: Prognostic impact of mutated K-ras gene in surgically resected non-small cell lung cancer patients. *Oncogene* 8: 2407-2412, 1993.
 - 20) Wang Y, Wang Y, Stoner G, et al: ras mutations in 2-acetylaminofluorene-induced lung and liver tumors from C3H/HeJ and (C3HxA/J)F1 mice. *Cancer Res* 53: 1620-1624, 1993.
 - 21) Falco JP, Baylin SB, Lupu R, et al: v-ras^H induces non-small cell phenotype, with associated growth factors and receptors, in a small cell lung cancer cell line. *J Clin Invest* 85: 1740-1745, 1990.
 - 22) Penno MB, August JT, Baylin SB, et al: Expression of CD44 in human lung tumors. *Cancer Res* 54: 1381-1387, 1994.
 - 23) Hockenbery D, Nunez G, Millman C, et al: bcl-2 is an inner mitochondrial membrane protein that blocks programmed cell death. *Nature* 348: 334-336, 1990.
 - 24) Pezzella F, Turley H, Kuzu I, et al: bcl-2 protein in non-small-cell lung carcinoma. *New Engl J Med* 329: 690-694, 1993.
 - 25) Ikegaki N, Katsumata M, Minna J, et al: Expression of bcl-2 in small cell lung carcinoma cells. *Cancer Res* 54: 6-8, 1994.
 - 26) Bissonnette R, Echeverri, F, Mahboubi A, et al: Apoptotic cell death induced by c-myc is inhibited by bcl-2. *Nature* 359: 552-554, 1993.
 - 27) Fanidi A, Harrington EA, Evan GI: Cooperative interaction between c-myc and bcl-2 proto-oncogene. *Nature* 359: 554-556, 1993.
 - 28) Jacobson MD, Burne JF, King MP, et al: bcl-2 blocks apoptosis in cells lacking mitochondrial DNA. *Nature* 361: 365-369, 1993.
 - 29) Kane DJ, Sarafian TA, Anton R, et al: bcl-2 inhibition of neural death: Decreased generation of reactive oxygen species. *Science* 262: 1274-1277, 1993.
 - 30) Boise LH, Gonzalez-Garcia M, Poatema CE, et al: bcl-x, a bcl-2-related gene that functions as a dominant regulator of apoptotic cell death. *Cell* 74: 597-608, 1993.
 - 31) Oltvai ZN, Millman CL, Korsmeyer SJ: bcl-2 heterodimerizes in vivo with a conserved homology, Bax, that accelerates programmed cell death. *Cell* 74: 609-619, 1993.
 - 32) Garcia PIE, Adams GP, Sundareshan P, et al: Expression of mutated epidermal growth factor receptor by non-small cell lung carcinomas. *Cancer Res* 53: 3217-3220, 1993.
 - 33) Tsai CM, Chang KTM, Perng RP, et al: Correlation of intrinsic chemoresistance of non-small-cell lung cancer cell lines with HER-2/neu gene expression but not with ras gene mutations. *J Natl Cancer*

- Inst 85: 897-901, 1993.
- 34) Noguchi M, Murakami M, Bennett W, et al: Biological consequences of overexpression of a transfected c-erbB-2 gene in immortalized human bronchial epithelial cells. *Cancer Res* 53: 2035-2043, 1993.
 - 35) Hunter T: Cooperation between oncogenes. *Cell* 64: 249-270, 1991.
 - 36) Plummer H, Catlett J, Leftwich J, et al: c-myc expression correlates with suppression of c-kit protooncogene expression on small cell lung cancer cell lines. *Cancer Res* 53: 4337-4342, 1993.
 - 37) Sekido Y, Obata Y, Ueda R, et al: Preferential expression of c-kit protooncogene transcripts in small cell lung cancer. *Cancer Res* 51: 2416-2419, 1991.
 - 38) Sekido Y, Takahashi T, Ueda R, et al: Recombinant human stem cell factor mediates chemotaxis of small-cell lung cancer cell lines aberrantly expressing the c-kit protooncogene. *Cancer Res* 53: 1709-1714, 1993.
 - 39) Heintz NH, Janssen YM, Mossman BT: Persistent induction of c-fos and c-jun expression by asbestos. *Proc Natl Acad Sci USA* 90: 3299-3303, 1993.
 - 40) Harris CC, Holstein M: Clinical implications of the p 53 tumor-suppressor gene. *N Engl J Med* 329: 1318-1327, 1993.
 - 41) Levine AJ, Perry ME, Chang A, et al: The role of the p 53 tumour-suppressor gene in tumorigenesis. *Br J Cancer* 69: 409-416, 1994.
 - 42) Oliner JC, Pietenpol JA, Thiagalingam S, et al: Oncoprotein MDM2 conceals the activation domain of tumour suppressor p 53. *Nature* 362: 857-860, 1993.
 - 43) El-Deiry WS, Tokono T, Velculescu VE, et al: WAF 1, a potential mediator of p 53 tumor suppression. *Cell* 75: 817-825, 1993.
 - 44) Hunter T: Braking the cycle. *Cell* 75: 839-841, 1993.
 - 45) Culotta E, Koshland DE: p 53 sweeps through cancer research. *Science* 264: 1958-1961, 1993.
 - 46) Fujiwara T, Grimm EA, Mukhopadhyay T, et al: A retroviral wild-type p 53 expression vector penetrates human lung cancer spheroids and inhibits growth by inducing apoptosis. *Cancer Res* 53: 4129-4133, 1993.
 - 47) Lowe SW, Ruley HE, Jacks T, et al: p 53 dependent apoptosis modulated the cytotoxicity of anti-cancer agents. *Cell* 74: 957-967, 1993.
 - 48) Chin KV, Ueda K, Pastan I, et al: Modulation of activity of the promoter of the human MDR1 gene by Ras and p 53. *Science* 255: 459-462, 1992.
 - 49) Miller CW, Simon K, Aslo A, et al: p 53 mutation in human lung tumors. *Cancer Res* 52: 1695-1698, 1992.
 - 50) Marchetti A, Buttitta F, Merlo G, et al: p 53 alteration in non-small cell lung cancers correlate with metastatic involvement of hilar and mediastinal lymph nodes. *Cancer Res* 53: 2846-2851, 1993.
 - 51) Harris CC: P 53: at the crossroads of molecular carcinogenesis and risk assessment. *Science* 262: 1980-1981, 1993.
 - 52) Horio Y, Takahashi T, Kuroishi T, et al: Prognostic significance of p 53 mutations and 3p deletions in primary resected non-small cell lung cancer. *Cancer Res* 53: 1-4, 1993.
 - 53) Mitsudomi T, Oyama T, Kusano T, et al: Mutations of the p 53 gene as a predictor of poor prognosis in patients with non-small-cell lung cancer. *J Natl Cancer Inst* 85: 2018-2023, 1993.
 - 54) Bennett WP, Colby TV, Travis WD, et al: p 53 protein accumulated frequently in early bronchial neoplasia. *Cancer Res* 53: 4817-4822, 1993.
 - 55) Yanuck M, Carbone DP, Pendleton CD, et al: A mutant p 53 tumor suppressor protein is a target for peptide-induced CD 8⁺ cytotoxic T-cells. *Cancer Res* 53: 3257-3261, 1993.
 - 56) Reissmann PT, Koga H, Takahasi R, et al: Inactivation of the retinoblastoma susceptibility gene in non-small-cell lung cancer. *Oncogene* 8: 1913-1919, 1993.
 - 57) Houle B, Rochette-Egly CM, Bradley WEC: Tumor-suppressive effect of the retinoic acid receptor β in human epidermoid lung cancer cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 90: 985-989, 1993.
 - 58) Hibi K, Takahashi T, Yamakawa K, et al: Three distinct regions involved in 3p deletion in human lung cancer. *Oncogene* 7: 445-449, 1992.
 - 59) Horio Y, Takahashi T, Kuroishi T, et al: Prognostic significance of p 53 mutations and 3p deletions in primary resected non-small cell lung cancer. *Cancer Res* 53: 1-4, 1993.
 - 60) Serrano M, Hannon GJ, Beach D: A new regulatory motif in cell-cycle control causing specific inhibition of cyclin D/CDK4. *Nature* 366: 704-707, 1993.
 - 61) Kamb A, Gruis NA, Weaver-Feldhaus J, et al: A cell cycle regulator potentially involved in genesis of many tumor types. *Science* 264: 436-440, 1994.

- 62) Kellermann G, Shaw Cr, Luyten-Kellermann M: Aryl hydrocarbon hydroxylase inducibility and bronchogenic carcinoma. *N Engl J Med* 289: 934-936, 1973.
- 63) Kawajiri K, Nakachi K, Imai K, et al: Identification of genetically high risk individuals to lung cancer by DNA polymorphisms of the cytochrome P 450 IA 1 gene. *FEBS Lett* 263: 131-133, 1990.
- 64) Nakachi K, Imai K, Hayashi S, 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.
- 65) Nakachi K, Imai K, Hayashi S, et al: Genetic susceptibility to squamous cell carcinoma of the lung in relation to cigarette smoking dose. *Cancer Res* 51: 5177-5180, 1991.
- 66) Hirvonen A, Husgafvel-Pursiainen K, Karjalainen A, et al: Point-mutational Msp I and Ile-Val polymorphisms closely linked in CYP 1 A 1 gene: lack of association with susceptibility to lung cancer in a Finnish study population. *Cancer Epidemiol Biomark Prevent* 1: 485-489, 1992.
- 67) Shields PG, Gaporas NE, Falk RT, et al: Lung cancer, race, and a CYP1A1 genetic polymorphism. *Cancer Epidemiol Biomark Prevent* 2: 481-485, 1993.
- 68) Sugimura H, Suzuki I, Hamada GS, et al: Cytochrome P-450 IA1 genotype in lung cancer patients and controls in Rio de Janeiro, Brazil. *Cancer Epidemiol Biomark Prevent* 3: 145-148, 1994.
- 69) Crespi CL, Penman BW, Gelboin HV, et al: A tobacco smoke-derived nitrosamine, 4-(methyl-nitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone is activated by the polymorphic human cytochrome P450 2D6. *Carcinogenesis* 12: 1197-1201, 1991.
- 70) Ayesh R, Idle JR, Ritchie JC, et al: Metabolic oxidation phenotypes as markers for susceptibility to lung cancer. *Nature* 321: 169-170, 1984.
- 71) Benitez J, Ladero JM, Jara C, et al: Polymorphic oxidation of debrisoquine in lung cancer patients. *Eur J Cancer* 27: 158-161, 1991.
- 72) Wolf CR, Smith CAD, Gough AC, et al: Relationship between the debrisoquine hydroxylase polymorphism and cancer susceptibility. *Carcinogenesis* 13: 1035-1038, 1992.
- 73) Hirvonen A, Husgafvel-Pursiainen K, Anttila S, et al: PCR-based CYP2D6 genotyping for Finnish lung cancer patients. *Pharmacogenetics* 3: 19-27, 1993.
- 74) Tefre T, Daly AK, Armstrong M, et al: Genotyping of the CYP2D6 gene in Norwegian lung cancer patients and controls. *Pharmacogenetics* 4: 47-57, 1994.
- 75) Wheeler CW, Wrighton SA, Guenther TM: Detection of human lung cytochromes P450 that are immunochemically related to cytochrome P450IIE1 and cytochrome P450IIIA. *Biochem Pharmacol* 44: 183-186, 1992.
- 76) Uematsu F, Kikuchi H, Ohmachi T, et al: Two common RFLPs of the human CYP 2 E gene. *Nucleic Acids Res* 19: 2803, 1991.
- 77) Uematsu F, Kikuchi H, Motomiya M, 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.
- 78) Uematsu F, Ikawa S, Kikuchi H, 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.
- 79) Hirvonen A, Husgafvel-Purianen K, Anttila S, 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.
- 80) Persson I, Johansson I, Bregling H, et al: Genetic polymorphism of cytochrome P 450 2E1 in a Swedish population: relationship to incidence of lung cancer. *FEBS Lett* 319: 207-211, 1993.
- 81) Seidegard J, Pero RW, Miller DG, et al: A glutathione transferase in human leukocytes as a marker for the susceptibility to lung cancer. *Carcinogenesis* 7: 751-753, 1986.
- 82) Seidegard J, Pero RW, Markowitz MM, et al: Isozyme(s) of glutathione transferase (class Mu) as a marker for the susceptibility to lung cancer: a follow up study. *Carcinogenesis* 11: 33-36, 1990.
- 83) van Poppel G, de Vogel N, van Balderen PJ, et al: Increased cytogenetic damage in smokers deficient in glutathione S-transferase isozyme Mu. *Carcinogenesis* 13: 303-305, 1992.
- 84) Seidegard J, Vorachek WR, Pero RW, 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 85: 7293-7297, 1988.

85) Hirvonen A, Husgafvel-Pursiainen K, Anttila S, et al: The GSTM1 null genotype as a potential risk modifier for squamous cell carcinoma of the lung. *Carcinogenesis* 14: 1479-1481, 1993.

86) Kihara M, Kihara M, Noda K: Lung cancer risk of GSTM1 null genotype is dependent on the extent of tobacco smoke exposure. *Carcinogenesis* 15: 415-418, 1994.

2. 非小細胞肺癌に対する高感化療

chemotherapy

大阪府立総合医療センター呼吸器内科
 高橋 正一, 高橋 正一, 高橋 正一

非小細胞肺癌の診断と治療
 非小細胞肺癌は肺癌の約80%を占める。診断は胸部X線検査、CT、MRI、PET、生検による組織学的診断、免疫組織化学、分子生物学的手法による診断が行われる。治療は手術、化学療法、放射線療法、標的薬療法、免疫療法などである。最近、分子生物学の進歩により、遺伝子変異や発がん因子の同定が進み、個別化医療の実現が期待されている。

非小細胞肺癌の診断
 非小細胞肺癌の診断は、胸部X線検査、CT、MRI、PET、生検による組織学的診断、免疫組織化学、分子生物学的手法による診断が行われる。診断の精度を高めるためには、複数の検査方法を組み合わせることが重要である。

非小細胞肺癌の治療
 非小細胞肺癌の治療は、手術、化学療法、放射線療法、標的薬療法、免疫療法などである。治療の選択は、病期、患者の体力、遺伝子変異の有無などによって異なる。最近、分子生物学の進歩により、遺伝子変異や発がん因子の同定が進み、個別化医療の実現が期待されている。

非小細胞肺癌の診断と治療
 非小細胞肺癌は肺癌の約80%を占める。診断は胸部X線検査、CT、MRI、PET、生検による組織学的診断、免疫組織化学、分子生物学的手法による診断が行われる。治療は手術、化学療法、放射線療法、標的薬療法、免疫療法などである。最近、分子生物学の進歩により、遺伝子変異や発がん因子の同定が進み、個別化医療の実現が期待されている。

非小細胞肺癌の診断
 非小細胞肺癌の診断は、胸部X線検査、CT、MRI、PET、生検による組織学的診断、免疫組織化学、分子生物学的手法による診断が行われる。診断の精度を高めるためには、複数の検査方法を組み合わせることが重要である。

非小細胞肺癌の治療
 非小細胞肺癌の治療は、手術、化学療法、放射線療法、標的薬療法、免疫療法などである。治療の選択は、病期、患者の体力、遺伝子変異の有無などによって異なる。最近、分子生物学の進歩により、遺伝子変異や発がん因子の同定が進み、個別化医療の実現が期待されている。