

CYP2A6の遺伝子多型と喫煙による発がんリスク

鎌滝 哲也*

はじめに

我々のがんの 90-95% は、天然の物質を含む環境中の化学物質によって引き起こされると考えられている。また、たばこの煙の中には数千ものがん原性の化学物質が含まれていることが知られている。さらに、これらの化学物質は、体内で一旦シトクロム P450 (以下、P450 または個々の分子種を指すときには CYP) を代表とする一群の薬物代謝酵素によって代謝され、生成した化学的に反応性の高い代謝産物 (活性代謝物) が DNA に結合し、その結果、発がんを導くと考えられている。活性代謝物の DNA への結合は様々な遺伝子の損傷をもたらすから、活性代謝物が生成すれば、直ぐに発がんしそうに思うが、実はそうではなく、ほとんどの損傷遺伝子は修復酵素によって修復されている (図-1)。これらの基盤的な研究成果を概観すると、たばこの煙に含まれるがん原物質を活性化する薬物代謝酵素が存在しなければ、たばこによる発がんは起こらないと予想される。実際、特定の P450 分子種の遺伝子を欠失させたノックアウトマウスに、がん原物質を投与しても発がんしないことが実証されている。

一方、P450 の遺伝子に変異があることが知られている。遺伝子が完全に欠損していることさえある。P450 は数多くの薬の代謝にも関わるから、P450 の遺伝子を欠失しているヒトでは薬の代謝が異常になり、薬の効きすぎが起こることも知られている。このような例は「個別化薬物治療」の最先端の研究課題として注目されている。上に述べたように、P450 はがん原物質の代

謝的な活性化にも関わるから、P450 の遺伝子の変異によって発がんリスクが変動する可能性が高いが、明確な例は知られていない。

我々は、ヒトの P450 の遺伝子を導入したサルモネラ菌を樹立することに成功した。このサルモネラ菌を使って調べたところ、P450 の分子種の中でも CYP2A6 は、たばこの煙に含まれるニトロソアミン、とりわけ代表的な発がん性ニトロソアミンである 4-(N-nitrosomethylamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone (NNK) などのニトロソアミンを効率よく活性化することを見いだした¹⁾。

当時、住友製薬で抗血小板凝集因子薬として開発中だった (+)-cis-3,5-dimethyl-2-(3-pyridyl)-thiazolidin-4-one hydrochloride (SM-12502) を代謝できないヒト poor metabolizer (PM) が、全被験者 28 名の中に 3 名いた。臨床試験で、薬物動態に大きな個体差が認められた場合には、その原因を探って原因を明らかにするのが、最近では、一般的になってきている。我々の研究室では P450 の遺伝的多型の研究も進めており、そのため住友製薬から共同研究の申し入れがあった。様々な努力により、SM-12502 が受ける S-酸化反応 (ヒトにおける SM-12502 の主代謝反応) は CYP2A6 によって触媒されることを明らかにした。SM-12502 を代謝出来ないヒトは CYP2A6 の酵素活性を持たない可能性がある。そこで、上記の 3 名の PM の遺伝子を解析した結果、これら 3 名の PM の CYP2A6 の遺伝子は完全に欠失していることが分かった²⁾。

* 高崎健康福祉大学薬学部

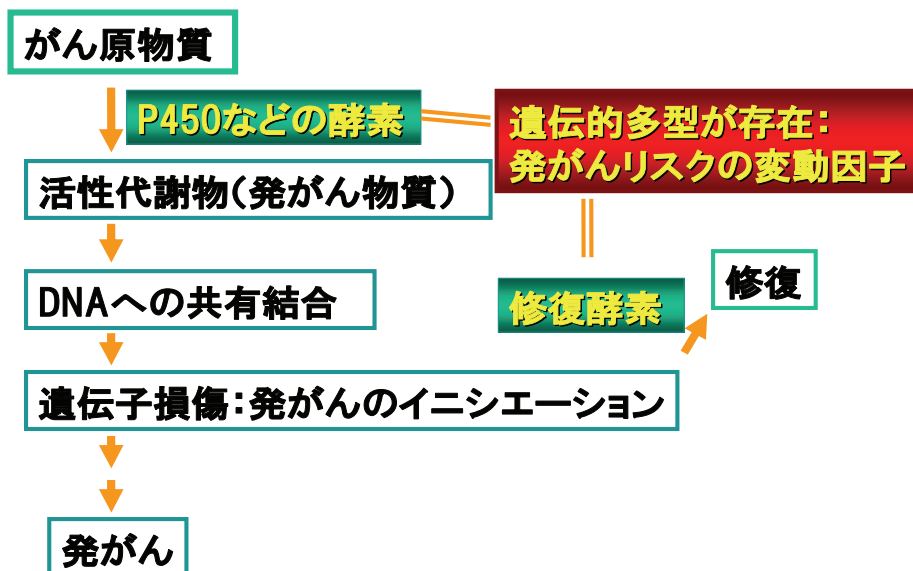


図-1 発がんのプロセスと発がんリスクの個体差

仮説

上記の2つの事実、すなわち、CYP2A6 はたばこの煙に含まれているがん原性ニトロソアミンを活性化して変異原物質に変換させること、と CYP2A6 の遺伝子を欠損しているヒトが日本人に、それも可成りの頻度で (3/28 名) いることをまとめると、CYP2A6 の遺伝子を欠損しているヒトはたばこを吸っても、煙の中の NNK などを活性化できない。したがって、喫煙による発がんリスクが低いかも知れない。

以上の単純な論理が正しいとすれば、喫煙者の中で CYP2A6 の遺伝子を欠損しているヒトでは発がんリスクが低い傾向が見られるはずである。一方、非喫煙者では、このような傾向は認められないはずである。また、喫煙本数が多いヒトでは、少ないヒトよりも傾向が明白なはずである。さらに、ニトロソアミンに焦点を合わせて考えると、シガレットだけでなく噛みタバコでも、口腔がんのリスクが CYP2A6 遺伝子の欠損の影響を受けるはずである。また、CYP2A6 の機能 (ニトロソアミンの活性化) を人工的に阻害すればニトロソアミンによる発がんが予防できる可能性がある。以上のようなパズルは想像してみるだけでも楽しい。加えて、先人達が残

してくれた研究成果、化学発がんのメカニズムが人間にも適用できることになる。

分子疫学研究成果

自分こそ独自の研究を進めているつもりであっても、世界中には同じ発想で研究をしている人が 3 人はいると言われている。この研究の場合にも、過去に既に、我々の研究と同じような発想で研究が行われてきている。遺伝子解析からではなく、CYP2D6 で代謝される薬の体内動態に関わるフェノタイプ分類で、PM と比較して、extensive metabolizer (EM) と喫煙者の肺がんリスクとの間の高い相関性が、既に 1984 年に報告された³⁾。この研究は、世界中で注目を集め、様々な研究室で再現性があるかどうか検証されたが、研究室によってまちまちの結果が報告され、今では誰にも信じられていない。一方で、ベンツピレンの様な多環芳香族炭化水素の代謝的活性化に関わる CYP1A1 の誘導と肺がんリスクについては、さらに昔に、Kellerman ら⁴⁾によって報告され、その後、本邦の Kawajiri ら⁵⁾によって CYP1A1 遺伝子の多型と肺がんリスクについて報告された。しかし、報告された遺伝子多型の頻度が白人に少ないためか、欧米においては未だ再現されていない。

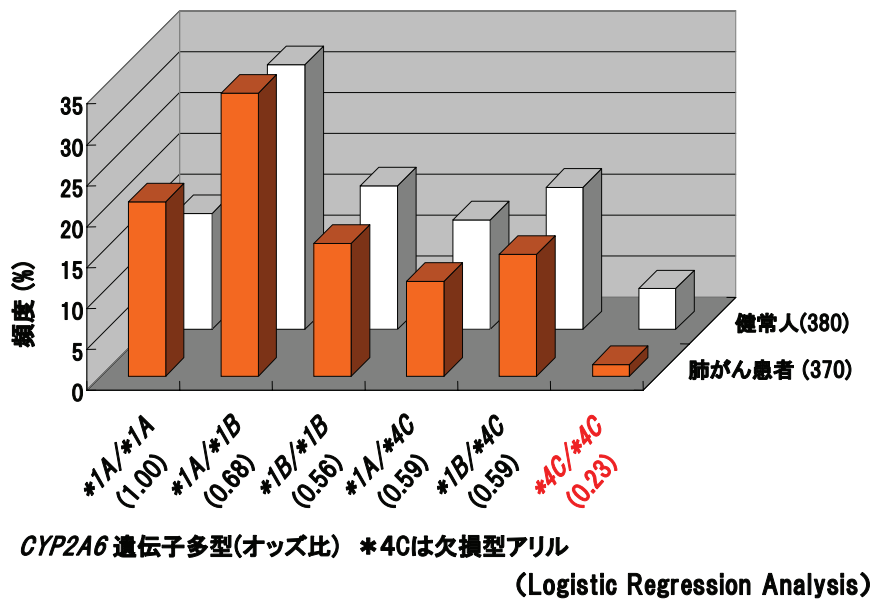


図-2 男性喫煙者の肺がん患者における CYP2A6 遺伝子多型の分布

大規模な疫学調査には、臨床側のドクターの協力が得られなければ不可能である。幸いにも、国立がんセンターの国頭英夫博士など多数のドクターのご協力が得られ、肺がん患者や健常人数 1,000 名の血液検体を得ることができた。

疫学研究の結果、CYP2A6 遺伝子をホモで欠損しているヒトでは、喫煙による発がんリスクが低いことが証明できた (図-2)⁶⁾⁷⁾。しかも、この傾向は喫煙者でのみ明確に示され、非喫煙者では全く傾向すら認められず、むしろ、統計学的には有意ではないものの、CYP2A6 遺伝子をホモで欠損している非喫煙者では、肺がんのリスクが高めであることが分かった。この原因は未だ不明であるが、後に行った大腸がんの患者でも同じ傾向が示されたので、多分間違いのない事実であろうと考えられる。さらに、この結果から、喫煙本数が多いヒトでは CYP2A6 遺伝子欠損の影響が明確で、喫煙本数が少ないヒトでは明確ではないのではないかとアイデアから、喫煙本数が平均値よりも多いヒトと少ないヒトに分けて解析した⁸⁾。予想通り、喫煙本数の多いヒトでは CYP2A6 遺伝子欠損の影響が明確で、少ないヒトではそれほど明確ではなかった。このように、この研究では予想される結果と実際の研究データに、今のところ、全く矛盾が見出

だされていない。

現札幌がんセミナーの小林博北大名誉教授と北大 (現北海道医療大学) 歯学部の千葉博士のご協力で、スリランカとの共同研究を行った。スリランカでは喫みたばこの常習者がおり、これらの常習者でも、口腔がんに罹るヒトと罹らないヒトがいると言う。喫みたばこによる口腔がんのリスクについても、同じ結果が得られるかどうか興味を持たれた。喫みたばこ常習者の疫学研究の結果も明確であり、喫みたばこを日常的に喫んでいる人々でも口腔がんにかかったヒトと罹っていないヒトで、CYP2A6 の遺伝子多型と発がんリスクの相関性が認められ、口腔がんにかかった患者集団には明らかに CYP2A6 の全欠損型の遺伝子をホモで有するヒトが少なかった (オッズ比、0.14)⁹⁾。つまり、CYP2A6 遺伝子をホモで欠損するヒトは喫みたばこによる口腔がんのリスクが少なかった。この研究によって、日本人だけではなく、スリランカ人でも CYP2A6 の遺伝子多型がたばこ由来の発がんリスクに影響を及ぼすことが明らかになったし、さらに喫煙だけではなく、喫みたばこに含まれるがん原物質のリスクにも CYP2A6 が鍵を握っていることが明らかになった。喫みたばこに含まれるがん原物質の候補としてはアレコリンなどが知ら

れている。これらが CYP2A6 によって代謝的に活性化されるかどうかを検証した。その結果、これらのニトロソアミンもまた、CYP2A6 によって効率的に活性化されることが明らかになった。

CYP2A6 の遺伝子多型と喫煙による 発がんリスクが関連する理由

この疫学研究は CYP2A6 がたばこの煙や噛みたばこに含まれるニトロソアミン類を代謝的に活性化するので、CYP2A6 遺伝子を持たないヒトでは発がんリスクが少ないであろうとの推測から始まった。しかしながら、事実はその程簡単ではないのではないかと予想された。可能性として、CYP2A6 の遺伝子欠損の変異が、発がん遺伝子または発がん抑制遺伝子の変異とリンクしている可能性も考えられた。

我々は CYP2A6 遺伝子の完全欠損多型を発見したが、その後になって、CYP2A6 遺伝子の全欠損型変異にも 2-3 種類あることも見出した。さらに網羅的な遺伝子変異の探索によって数々の遺伝子多型を見出すことが出来た。これらの変異が CYP2A6 の酵素活性に影響を及ぼすかどうかについても検討を進め、見出したいくつもの変異の中で、CYP2A6*7、CYP2A6*9、CYP2A6*11 などが酵素活性を減らす要因となることを証明した。そこで、改めてこれらの変異と喫煙による肺がんリスクに相関性があるか否か検証した。

肺がんの中でも、扁平上皮がんや小細胞肺がんは、喫煙によって起こることが多いと報告されている。また、近年フィルターを装着したたばこの普及によって、扁平上皮がんや小細胞肺がんだけでなく、腺がんも増えてきたと報告されている。フィルターたばこは吸った時に軽く

感じて深く煙を吸うためらしい。

表-1⁸⁾ において、肺がんを組織型別にグループ分けするとともに、肺がん患者または健康人を、予想される CYP2A6 の酵素活性から、以下のように、遺伝子型別に分けて検証した。

- EM グループ：野性型の遺伝子をホモで持つグループ
- intermediate extensive metabolizer (IEM) グループ：野性型の遺伝子と変異型アレルのヘテロ接合体のグループ
- intermediate metabolizer (IM) グループ：CYP2A6*4C を除く変異型アレルをホモまたはヘテロで有するグループ
- PM グループ：CYP2A6*4C をホモで有するグループ

その結果は明確であり、予想される CYP2A6 の酵素活性が高いヒトから低いヒトの順に、肺がんのリスクが少なくなること、さらに、喫煙によって起こると言われている扁平上皮がんや小細胞肺がんでは、この傾向が一層顕著に認められた。腺がんでも傾向はみとめられたものの、扁平上皮がんや小細胞肺がんの場合ほど、明確ではなかった。同様の疫学を、大腸がんの患者についても行ったところ、ほぼ同じ結果が得られた（未発表）。ここでもまた、我々の推測があたっており、この現象は単純な論理で説明できることから、今後も様々な角度からの再検証が可能だと思われる。

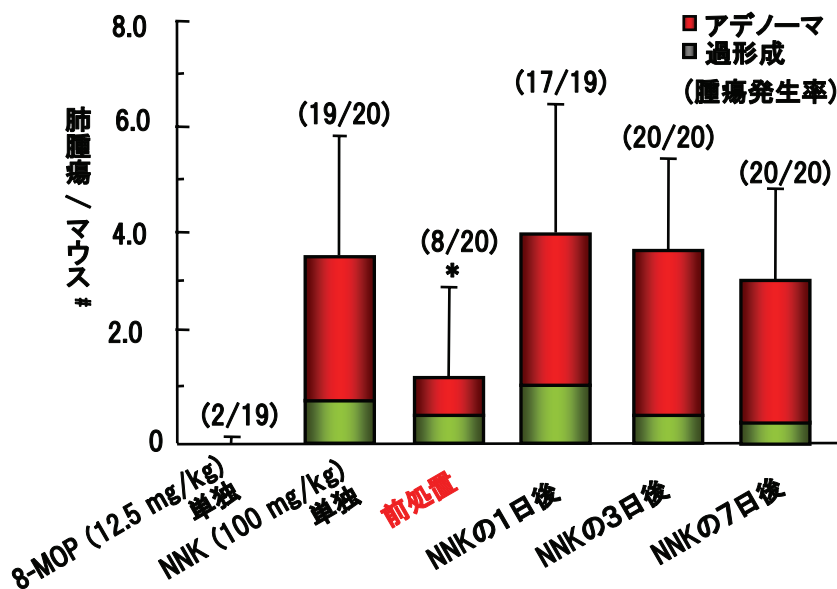
実験動物を用いた検討

疫学研究から予想以上に明確な結果が得られ、CYP2A6 の遺伝子を欠損しているか、あるいは CYP2A6 の遺伝子変異によって CYP2A6 の酵素活

表-1 肺がんリスクの CYP2A6 の酵素活性との相対性：肺がんの組織別リスク

Group	Sq (%)	OR	95% CI	Sm (%)	OR	95% CI	Ad (%)	OR	95% CI	健康人 (%)
EM	80 (27)	1.00		45 (34)	1.00		143 (26)	1.00		110 (18)
IEM	152 (51)	0.62	0.41-0.93**	65 (49)	0.46	0.28-0.77**	256 (46)	0.59	0.42-0.81**	293 (48)
IM	62 (21)	0.52	0.32-0.84**	23 (17)	0.39	0.21-0.72**	138 (25)	0.54	0.37-0.78**	180 (30)
PM	2 (1)	0.07	0.01-0.33**	1 (1)	0.10	0.01-0.87**	20 (4)	0.39	0.20-0.77**	28 (5)

Sq: 扁平上皮がん、Sm: 小細胞肺がん、Ad: 腺がん、OR: オッズ比、**p < 0.05.



*p < 0.01 vs NNK 単独, # 平均値 ± SD

図-3 NNK の後に 8-メトキシプソラレンを投与しても NNK による腫瘍の発生を予防できるか？ (雌性 A/J マウス)

性が低いヒトでは、喫煙による発がんリスクが低い事が判明した。このような研究を延長して、さらにそのメカニズムをヒトを用いて研究するのは不可能である。そこで、肺発がんの研究にしばしば用いられる A/J マウスを用いて研究を進めることにした¹⁰⁾。A/J マウスに NNK を投与すると肺にアデノーマが多発した。このマウスに NNK を投与する前に、臨床で尋常性白斑治療剤として古くから使用され、ヒト CYP2A6 阻害薬としても知られている 8-メトキシプソラレンを投与すると、アデノーマの発生は完全に抑制された。したがって、CYP2A6 の酵素活性が、喫煙による肺がんのリスクを左右することが一層明確になり、先人達の研究によって明らかにされてきた発がんのメカニズムの一端がヒトにも適用できることが分かった。喫煙者なら「それなら、今から 8-メトキシプソラレンのようなものを摂取したら、肺がんが予防できるか？」と期待するかも知れない。我々も同じようなアイデアで、NNK を投与する前、NNK を投与してから1日後、1週間後に 8-メトキシプソラレンを投与するという風に投与のタイミングを変えてみた。残念ながら、8-メトキシプソラレンは、肺がんの予防効果はあっても、NNK の後に投与し

たのでは無効であることが分かった。

ニコチン代謝と CYP2A6

CYP2A6 には以前から縁があり、我々はこの酵素がニコチン代謝酵素であることを見出していた。

CYP2A6 がニコチン代謝酵素であることを考え併せると、CYP2A6 の遺伝子を欠損しているヒトではニコチンの解毒が遅いことになり、1本のたばこを吸っても、ニコチンの充足感があって喫煙本数が少ないことが予想される。そこで、CYP2A6 の遺伝子多型と喫煙本数の関係を調べた。予想通り、CYP2A6 の遺伝子を欠損しているヒト、遺伝子変異によって CYP2A6 の酵素活性が少ないヒトでは喫煙本数が少ないことが分かった⁸⁾。ということは、CYP2A6 遺伝子欠損などのヒトでは喫煙本数が少ないために肺がんリスクが低いのではないかと予想される。そこで、同じ喫煙本数のヒトの肺がんリスクを比較してみた。同じ喫煙本数でも CYP2A6 の遺伝子変異を持っているヒトでは明らかに肺がんリスクが低かったので、喫煙本数が少ないために発がんリスクが低いだけではないことが分かった。したがって、CYP2A6 の欠損のヒトではニコチン由

来のニトロソアミンである NNK などの活性化が出来ないだけでなく、喫煙本数が少ないことも併せて肺がんリスクが少ない原因になっていることが分かった。

考 察

我々の一連の研究で得られた研究成果は疫学研究にしては余りにも明確すぎるように思われる。そこで、なぜこのように明確な疫学データが得られたのかを、今後の研究の展開のためにも考察すべきであると思われる。

喫煙者は喫煙が健康に良くないと知りながら、毎日自分の意志で買い求め、キッチンと定期的に吸っている。実験動物にこのように定期的に、しかも長期的に、さらに定量的にも正確に投与するのは大変なことである。我々は日常的に様々ながん原物質に曝されている。喫煙者も同じようにこれらの様々ながん原物質に曝されている。したがって、喫煙者の場合には、非喫煙者の曝されているがん原物質に加え、さらに発がん因子が一定量加えられた形になっていると考えられる。この一定量の発がん因子の影響を調べるのは比較的簡単なのかも知れない。

ニコチンは、生体内で CYP2A6 とアルデヒド脱水素酵素によって代謝されて、コチニンに変換される。理論的にも CYP2A6 がなければ、ニコチンからコチニンへの代謝が起こらなくなるはずである。実際、CYP2A6 遺伝子を欠損しているヒトでは、ニコチンの体内濃度が高く、喫煙本数も少ない。もし、ニコチンから生成されるコチニンが発がんの鍵を握る因子の 1 つであると仮定すると、CYP2A6 は NNK などのがん原物質の代謝的な活性化とコチニンによる発がんの両者に関わることになり、その効果は相乗的になる可能性がある。現在、このことについて研究を進めており、ある程度の研究結果が得られつつある。

我々は日常的に様々ながん原物質に曝露されており、そのうちのどの因子によってがんに罹ったのかはなかなか明確に出来ないのが普通である。発がんのメカニズムの研究が進歩して成

果が挙がっていても、その知識をヒトに当てはめて考えるのは極めて困難なことと言える。実際、詳細な研究は、実験動物に特定のがん原物質を投与して行われたものであり、ヒトに直ぐにあてはめるのは困難であった。実験動物では遺伝子をノックアウトしてその遺伝子の機能を調べることが可能である。人間では実験動物と異なり、遺伝子をノックアウトすることなど到底不可能である。しかし、幸運にも、我々は人工的に遺伝子をつぶすのではなく、「天然の CYP2A6 遺伝子を欠損(ノックアウト)したヒト」を見いだすことに成功した。このような手法は思いつくのは簡単であるが、実際に研究に取り入れるのは簡単ではなく、今回は運が良かったと言える。新しく遺伝子欠損のヒトを見いだすことが出来た「幸運」と、大規模な疫学研究をする機会を与えてくれたドクターの先生方が周囲に居られたという「幸運」等など、様々な幸運の相乗効果がもたらしてくれた結果だと思われる。

文 献

- 1) Fujita K, Kamataki T. Predicting the mutagenicity of tobacco-related N-nitrosamines in humans using 11 strains of *Salmonella typhimurium* YG7108, each co-expressing a form of human cytochrome P450 along with NADPH-cytochrome P450 reductase. *Environ Mol Mutagen* 2001; 38: 339-46.
- 2) Nunoya KI, Yokoi T, Kimura K, Kainuma T, Satoh K, Kinoshita M, Kamataki T. A new CYP2A6 gene deletion responsible for the *in vivo* polymorphic metabolism of (+)-cis-3,5-dimethyl-2-(3-pyridyl)thiazolidin-4-one hydrochloride in humans. *J Pharmacol Exp Ther* 1999; 289: 437-42.
- 3) Ayesh R, Idle JR, Ritchie JC, Crothers MJ, Hetzel MR. Metabolic oxidation phenotypes as markers for susceptibility to lung cancer. *Nature* 1984; 312: 169-70.
- 4) Kellermann G, Shaw CR, Luyten-Kellerman M. Aryl hydrocarbon hydroxylase inducibility and bronchogenic carcinoma. *N Engl J Med* 1973; 289: 934-7.
- 5) Kawajiri K, Nakachi K, Imai K, Yoshii A, Shinoda N, Watanabe J. Identification of genetically high risk individuals to lung cancer by DNA polymorphisms of the

- cytochrome P450IA1 gene. FEBS Lett 1990; 263: 131-3.
- 6) Miyamoto M, Umetsu Y, Dosaka-Akita H, Sawamura Y, Yokota J, Kunitoh H, Nemoto N, Sato K, Ariyoshi N, Kamataki T. *CYP2A6* gene deletion reduces susceptibility to lung cancer. Biochem Biophys Res Commun 1999; 261: 658-60.
 - 7) Ariyoshi N, Miyamoto M, Umetsu Y, Kunitoh H, Dosaka-Akita H, Sawamura Y, Yokota J, Nemoto N, Sato K, Kamataki T. Genetic polymorphism of *CYP2A6* gene and tobacco-induced lung cancer risk in male smokers. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2002; 11: 890-4.
 - 8) Fujieda M, Yamazaki H, Saito T, Kiyotani K, Gyamfi MA, Sakurai M, Dosaka-Akita H, Sawamura Y, Yokota J, Kunitoh H, Kamataki T. Evaluation of *CYP2A6* genetic polymorphisms as determinants of smoking behavior and tobacco-related lung cancer risk in male Japanese smokers. Carcinogenesis 2004; 25: 2451-8.
 - 9) Topcu Z, Chiba I, Fujieda M, Shibata T, Ariyoshi N, Yamazaki H, Sevgican F, Muthumala M, Kobayashi H, Kamataki T. *CYP2A6* gene deletion reduces oral cancer risk in betel quid chewers in Sri Lanka. Carcinogenesis 2002; 23: 595-8.
 - 10) Takeuchi H, Saoo K, Yokohira M, Ikeda M, Maeta H, Miyazaki M, Yamazaki H, Kamataki T, Imaida K. Pretreatment with 8-methoxy-psoralen, a potent human CYP2A6 inhibitor, strongly inhibits lung tumorigenesis induced by 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone in female A/J mice. Cancer Res 2003; 63: 7581-3.