

## 分子毒性学との出会い

鎌滝 哲也

## Enticed into Molecular Toxicology

Tetsuya KAMATAKI

Laboratory of Drug Metabolism, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Hokkaido University,  
N12W6, Kita-ku, Sapporo City 060-0812, Japan

(Received August 31, 2006)

This paper introduces one of our projects performed at Hokkaido University. During the course of pharmacokinetic studies of SM-12502, which was under development as an anti-platelet-activating factor agent, we found three individuals who showed a slow metabolic phenotype in its pharmacokinetics. Analyzing the genes for CYP2A6 from the three, we discovered that they had the whole *CYP2A6* gene deletion (*CYP2A6\*4C*). Genetically engineered *Salmonella* YG7108 cells expressing human P450 were established to compare the mutagen-producing capacity of the P450 enzymes for various *N*-nitrosamines. We found that CYP2A6 was involved in the metabolic activation of *N*-nitrosamines with relatively bulky alkyl chains such as a tobacco-specific nitrosamine, 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone (NNK), which has been known to cause lung tumors in rodents. Thus, to examine the hypothesis that individuals possessing the *CYP2A6\*4C* have a reduced risk of cancer due to the lack of the metabolic activation of certain carcinogens in tobacco smoke, a case-control study was performed. The results clearly indicated a significant association between the CYP2A6 genotype and lung cancer risk in smokers. In contrast, there was no significant relationship between them in nonsmokers. In addition, our results showed that the reduced risk of cancer was caused by the reduced activity of CYP2A6. Thus it was expected that the inhibition of the enzyme would result in a reduced cancer risk caused by smoking. The results of experiments using mice which were treated with NNK, a carcinogenic nitrosamine contained in tobacco smoke, together with 8-methoxypsoralen, a strong inhibitor of CYP2A6, indicated that the inhibition of CYP2A6 completely abolished the occurrence of adenoma.

**Key words**—cytochrome P450; metabolic activation; genetic polymorphism; CYP2A6; tobacco-related cancer risk

## 1. はしがき

定年というものは奇妙なものです。昨日までは現役、今日からは過去の人なのです。さながら、大晦日と元旦の関係のような感じです。1日にして状況が一変です。薬学雑誌編集委員会から、「現役時代の研究業績を振り返って総説を・・・」と原稿を依頼されました。でも、私はまだ高崎健康福祉大学で現役ですから、これも奇妙と言えば奇妙と言えましょう。でも、「北大までで、人生の一区切り」として考えれば納得です。たしかに、周囲は「一区切り」とみているのですから。

私の毒性学との出会いは、遠く4年生の学生のとときでした。当時、千葉大学薬学部の卒論生のとき、野口照久先生（元日本曹達生物医学研究所）からの依頼で、恩師北川晴雄先生はニッソールという蜜柑に付くダニを駆除するために開発された農薬の解毒方法を開発することにしました。私の卒論のテーマとは違いました。要するに研究費稼ぎのやつつけ仕事です。ところが、私の思い付きが当たってしまって、高濃度のブドウ糖が著効を示すことを発見してしまったのです。<sup>1)</sup> また、詳しくは書きませんが、北大でも塩酸イリノテカンによる遅延性の下痢に半夏瀉心湯が顕著な予防効果を示すことを、これも思い付きでみつけてしまいました。<sup>2-4)</sup> 現在ではわが国で塩酸イリノテカンを投与する患者さんに半夏瀉心湯がかなり使われているようですから、私の「思いつきの毒性学」も人様の役に立ったと言えるでしょう。

北海道大学大学院薬学研究科 (〒060-0812 札幌市北区北12条西6丁目)

現住所：高崎健康福祉大学薬学部薬物代謝学研究室 (〒370-0033 高崎市中大類町60)

e-mail: SNC78123@nifty.com

本総説は、平成17年度退官にあたり在職中の業績を中心に記述されたものである。

毒性学との本格的な出会いは、アメリカに留学したときでした。ポスの Dr. Neal は毒物学センターの所長でしたから、堂々たる毒性学者です。彼のお陰でパラチオン（農薬）のイオウ原子がチトクローム P450（P450 又は CYP）によって遊離し、遊離したイオウ原子が P450 に共有結合して不活性化することをみつけることができました。<sup>5,6)</sup> そのお陰か、Dr. Neal は私を Toxicology and Applied Pharmacology の Editorial Board Member（日本人初）の一人に推挙して下さいましたから、運とは言え毒性学には深い縁ができました。帰国して、慶応大学の加藤隆一先生に師事いたしました。先生は薬理学者兼毒性学者と言えるほど毒性学にも傾倒しておられました。同僚の山添 康先生は化学的なセンスで加藤先生の期待に応えておられ、私は何とか生化学的な手法で加藤先生のお役に立ちたいと思っておりました。慶応大学時代には、他にも優秀な同僚がいて、啓発されました。慶応大学では医学部ですから、薬学と違って卒論生はおらず、大学院生も極めて少数でしたが、それでも多彩な研究が展開されました。お陰で、タンパク質の焼けこげに含まれる癌原性のヘテロサイクリックアミンの活性化酵素として CYP1A2 を発見できました。<sup>7)</sup> また、ラットに明確に認められる、化学物質の毒性の性差の一因と考えられる、CYP2C11 や CYP2C12 を発見することができました。<sup>8,9)</sup>

北大でも優秀な職員や学生によって、様々な研究が展開されました。ヒトの胎児に特異的に発現する CYP3A7<sup>10,11)</sup> を発見しましたし、CYP3A7 遺伝子を導入したトランスジェニックマウス（ヒトの P450 の遺伝子を導入した初めてのトランスジェニックマウス）ができました。<sup>12,13)</sup> また、サリドマイドによる奇形に CYP3A7 が係わっているかも知れないという可能性までも出てきました。さらに、CYP3A7 がヒトの胎児に特異的に発現しており、成人には発現していないこと、<sup>14)</sup> その原因は CYP3A7 遺伝子のたった 1 塩基の違いによることも発見しました。<sup>15)</sup> また、内分泌攪乱物質による毒性の種差の原因<sup>16)</sup> や様々な毒性（体重減少、高脂血症など）のメカニズムも新規な手法で証明しております。<sup>17,18)</sup>

上記のように、一緒に働いてくれた職員や学生達とともに、様々な研究を展開いたしました。ここ

では毒性学でも「ヒトに役に立ち、かつ社会的にも分かり易い」研究をご紹介します。タバコで肺がんになり易いヒトと、肺がんにかかり難いヒトを分ける遺伝子の話です。

## 2. 発がんリスクの個体差：この研究のきっかけ

この研究はあらかじめ論理的に考えてから着手したのではなく、研究をやっていたらこんな研究になっちゃったという、いわば「成り行き任せ」の研究成果でした。それでも、一応体系立てて話を展開しなくては分かり難くなってしまいますから、できるだけ分かり易く、筋道を立てた書き方で話を展開することにいたしましょう。

われわれのがんの多くは人工的に合成したもの、天然の物質を問わず、環境中に存在する化学物質によることが知られております。<sup>19,20)</sup> 過去の研究者による発がんのメカニズムに関する研究から、化学物質の発がん過程は、化学物質の代謝的活性化、生じた活性代謝物による遺伝子の損傷（イニシエーション）、さらにプロモーション、プロパゲーションさらにはプログレッションという一連の過程を経て発がんに至ることが判明してきております（Fig. 1）。したがって、このどこかのステップを遺伝的に、あるいは他の理由で欠失するヒトでは化学発がん物質による発がんリスクが低いことが予想されましたが、この辺は未知のことが多くて解決されておられませんでした。もしこのブラックボックスが解明されれば、同じように生活しても、がんに罹って死亡するヒトもいれば 100 歳までもがんにかからないヒトもいるという事実の一端を説明できるかも知れません。なぜ、がんにかからないヒトと罹らないヒトがいるのかを明らかにすることによって、ヒトにおける発がんのメカニズムを立証できるだけでなく、がんの予防にも役立てることができるとも思われます。

## 3. 化学物質のヒトにおける発がん性を予測する系

私らしくなく、この研究はあらかじめ考えて、研究のインパクトを予測して行いました。広く知られておりますように、化学物質の発がん性の予測には Ames 試験や小核試験などが頻用されておりますが、化学物質のヒトにおける発がん性を予測できる完璧な系は存在しません。化学物質の多くはそのままの形では化学的に安定で変異原性を示すことは少なく、薬物代謝酵素などによって代謝され、生成し

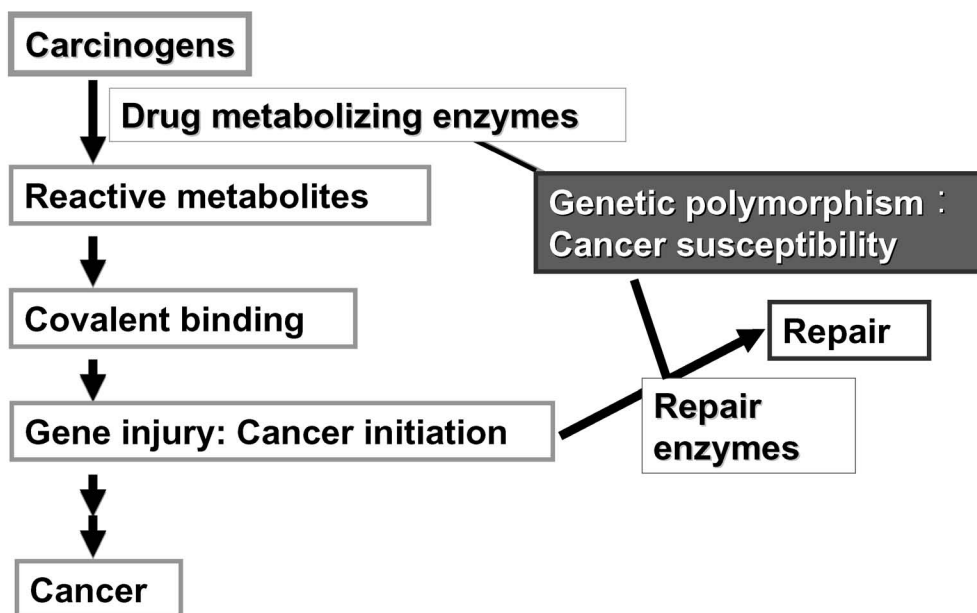


Fig. 1. Process of Carcinogenesis and the Possible Cause of Individual Difference of Cancer Susceptibility

た化学的に不安定な代謝産物が遺伝子を損傷します。Ames 試験には薬物代謝酵素としてラットの肝臓の 9000×g 上清 (S9) 画分を薬物代謝酵素として添加するのが一般的ですが、P450 などの性質は動物の種によって多少異なり、またその存在量も動物の種によって異なることが知られておりますから、ラットの S9 画分を添加するのでは、ラットの体内における化学物質の代謝的活性化は予測できても、ヒトの体内で起こる代謝的な活性化を予測することはできません。そこで、ヒトの肝臓の S9 画分を添加する方法をとることも可能ですが、ヒトの肝臓を使っても問題がすべて解決できる訳ではありません。なぜならば、ヒトの酵素には遺伝的多型に由来する大きな個体差があり、さらに試料として死後のヒトの肝臓が提供されても、死後の変化、死亡前の薬物治療などによって酵素活性や酵素量などが大幅に変動するからです。

Ames 試験のように細菌を使って行う変異原試験には別の問題も存在します。それは、細菌の菌体外で化学物質を代謝させるために起こる問題です。すなわち、菌体外で活性化させるために、生成した化学的に不安定な代謝産物は菌体の細胞壁を通過して、細菌の遺伝子に到達する前に細胞壁や細胞内成分に結合してしまい、菌体外で生成した代謝産物のほんの一部しか細菌の遺伝子を損傷しないと考えられます。つまり、遺伝子損傷の効率が悪く、したが

って変異原試験の感度が悪いと考えられました (Fig. 2)。

このような問題を解決すればヒトにおける化学物質の発がん性の予測に役立つに違いありません。そこで、ヒトの P450 と NADPH-P450 還元酵素の遺伝子をサルモネラ菌の菌体内に導入して、酵素を菌体内に発現させ、菌体内に発現するヒトの酵素によって化学物質が活性化される系を開発することにしました (Fig. 2)。この系では化学物質はヒトの酵素で活性化されますから、ヒトにおける化学物質の変異原性が予測できることになります。また、菌体内で化学物質が活性化されますから、同時に代謝産物による効率的な遺伝子損傷も期待できるという訳です。

このサルモネラ菌は期待通り様々な化学物質に対して高い感受性を示しました。<sup>21)</sup> 例えば、焼けこげに含まれるヘテロサイクリックアミンに対して、ヒトの CYP1A2 を発現したサルモネラ菌は従来のラット S9 を用いた Ames 法よりも数 1000 倍もの高い感受性を示しました。<sup>22)</sup> CYP2E1 は以前からジメチルニトロソアミンなどのニトロソアミンや比較的小さい分子量の小さい化学物質を代謝することが知られております。われわれは煙草に含まれることが知られている何種類ものニトロソアミンを用いて、新規に開発したサルモネラ菌で比較検討しました。その結果、ジメチルニトロソアミンやジエチルニトロソア

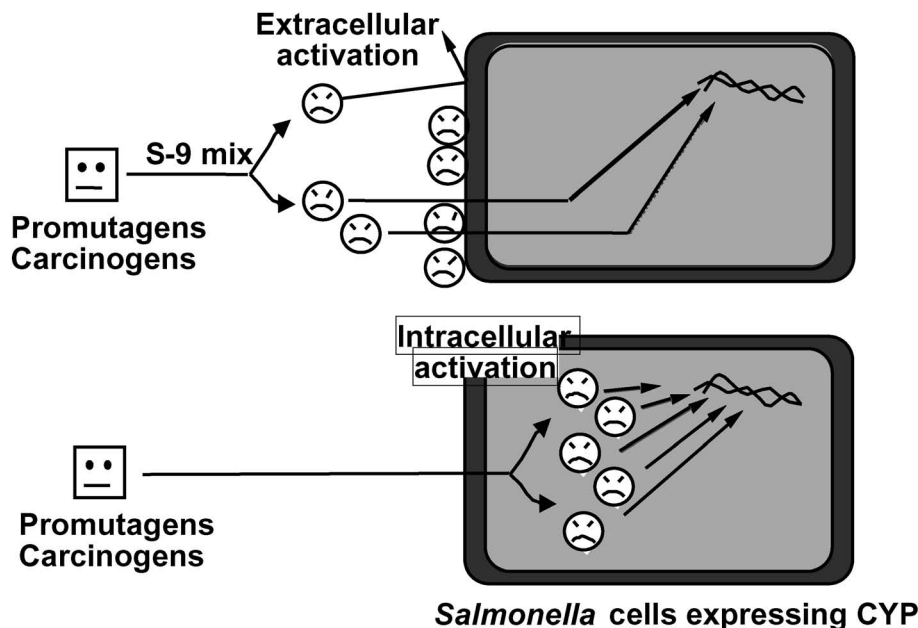


Fig. 2. Traditional and Ideal Mutation Assays

ミンなどのアルキル基の小さいニトロソアミンは CYP2E1 によって活性化され、それより大きな分子量の、例えば 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone (NNK) などのニトロソアミンは CYP2A6 によって効率よく活性化されることを見出しました。<sup>23,24)</sup> さらに大きな分子量のアルキル基を持つニトロソアミンの活性化には CYP1A1 も関与することが分かりました。

#### 4. CYP2A6 の遺伝子欠損型多型の発見

当時、住友製薬で開発中の抗 PAF 薬 SM-12502 の代謝が遅いヒトが見つかり、住友製薬からその原因の追及を共同研究として実施しないかとのお話がありました。SM-12502 の化学構造は Fig. 3 に示してあります。この化合物は主に分子内の S (イオウ) 原子が酸化されます。その S-酸化反応が遅いボランティアが 28 名の内 3 名おりました。一般に S-酸化反応はフラビン含有モノオキシゲナーゼ (FMO) によって触媒されると考えられています。また、FMO の遺伝的多型も知られております。この酵素を欠損するヒトでは体内でトリメチルアミンの N-酸化が起こらなくなり、トリメチルアミンが呼気中に排出されて、アンモニアのような刺激臭を放つ遺伝病 (魚臭症候群, Fish odor syndrome) になるとされています。そこで、SM-12502 の代謝の遅いヒトは、FMO を何らかの形で欠損しているか、又は酵素の活性が低いと

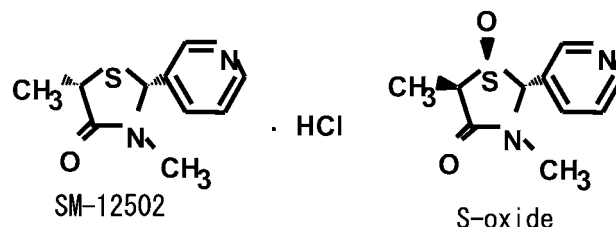


Fig. 3. SM-12502 and Its Major Metabolite Produced in Humans

1. SM-12502 is a receptor antagonist under development as an anti-platelet activating agents (PAF). 2. The S-oxide of SM-12502 was detected as a sole metabolite in plasma and urine after the administration to humans. 3. We already found that in the three out of 28 subjects, the disposition of SM-12502 was markedly low *in vivo*.

予想されました。ちょうど、われわれの研究室でラットの FMO の発現系を作ることに成功したところで、この研究に用いることができました。そこで、試みにこの発現系を使って調べたところ、確かに SM-12502 の S-酸化はラットの FMO によって触媒されることが分かりました。<sup>25)</sup> しかし、その S-酸化反応の速度論的な解析をしたら、Km 値は数 mM のレベルで、この酵素が体内で SM-12502 を代謝しているとは考え難かったです。

それでは、一体どのような酵素が SM-12502 を S-酸化しているのかを突き止めるために様々なアプローチを開始しました。ヒトの P450 の発現系やヒトの肝のマイクロゾーム画分やヒトの P450 に対する抗体などを駆使して、最終的に CYP2A6 が

SM-12502 の S-酸化を触媒していることが分かりました。<sup>26)</sup>

SM-12502 が CYP2A6 によって代謝されるということは、SM-12502 の代謝の遅いヒトでは CYP2A6 の蛋白質ひいては CYP2A6 の遺伝子に何らかの異常があることを意味しています。そこで、SM-12502 の体内動態が異常だった 3 名のボランティアの遺伝子を解析しました。この解析には難渋しました。なぜならば、結果的にこの 3 名のボランティアの遺伝子が完全にすっぽりと欠損していたからです。当時はゲノム研究では全ゲノム情報が解読されていた訳ではなく、遺伝子がどこからどこまで欠損しているかを特定するのは、対照となる正常人の遺伝子と比較しながらの作業となりました。結果的には、CYP2A6 遺伝子のどこからどこまで欠損しているのが解明されました<sup>27,28)</sup>し、また、遺伝子解析によって予測できる方法を開発することができました。<sup>29)</sup>あとで述べますように、あとになって、CYP2A6 遺伝子には数多くの遺伝的な多型があることが判明しました<sup>30-33)</sup>が、当時では CYP2A6 遺伝子の多型はほとんど明らかになっていませんでした。

## 5. CYP2A6 の遺伝子欠損多型と喫煙による肺がんリスク

**5-1. CYP2A6 の遺伝子欠損は喫煙による肺がんリスクを減らすことの証明** 上記の 2 つの事実から、CYP2A6 遺伝子を欠損しているヒトでは煙草煙中のニトロソアミンを活性化できませんから、喫煙しても肺がんには掛かり難いのではないかと予想されました。誰が考えてもこんなことは思い付くはず

ですが、幸いにもわれわれの研究室で上記の 2 つの研究が行われておりましたので、素早くこの疫学研究が開始できたと言えるでしょう。大規模な疫学調査には、ドクターの暖かいご協力が得られなければ不可能です。幸いにも国立がんセンターの国頭英夫先生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 1000 名の血液検体を得ることができました。

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ました (Table 1).<sup>34,35)</sup>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りました。この原因はいまだ分かりませんが、のちに行った大腸がんの患者でも同じ傾向が示されましたので、多分間違いのない事実であろうと考えられます。

**5-2. 他の民族や他の喫煙関連のがんでも、CYP2A6 遺伝子多型の影響が認められるかどうかの検証** 自分が独自に研究を進めたつもりでいても、世界中には同じ発想で研究をしている人が 3 人いると言われております。この研究の場合にも、過去にわれわれの研究と同じような発想で研究が行われてきております。遺伝子解析からではなく、CYP2D6 のフェノタイプ (poor metabolizer, PM と extensive metabolizer, EM) と肺がんリスクの相関はかなり昔に報告<sup>36)</sup>され、注目されました。この研究は世界中で注目を集め、様々な研究室で再現性

Table 1. Relationship between the Activity of CYP2A6 and Lung Cancer Risk : Risk according to the Type of Cancer

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

Sq : squamous cell carcinoma, Sm : small cell carcinoma, Ad : adenocarcinoma. \*\*  $p < 0.05$ .

があるかどうか検証されましたが、研究室によってまちまちの結果が報告され、<sup>37)</sup> 今では誰にも信じられておりません。一方で、ベンツピレンのような多環芳香族炭化水素の代謝的活性化に係わる *CYP1A1* の誘導と肺癌リスクについては、さらに昔に Kellerman ら<sup>38)</sup> によって報告され、その後本邦の Kawajiri ら<sup>39)</sup> によって *CYP1A1* 遺伝子の多型と肺癌リスクについて報告されました。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、欧米においてはいまだ再現されておりません。

われわれの研究に注目してくれた、現札幌がんセミナーの小林 博北大名誉教授がスリランカとの共同研究を勧めてくれました。小林先生によれば、北大（現北海道医療大学）の歯学部千葉先生が噛みタバコによる口腔がんの発がんリスクについてスリランカと共同研究しているとのことでした。早速、共同研究を開始しました。その結果も明確であり、噛みタバコを日常的に噛んでいる人々でも口腔がん罹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、口腔がん罹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のです（オッズ比、0.14）。<sup>40)</sup> *CYP2A6* 遺伝子をホモで欠損するヒトは噛みタバコによる口腔がんのリスクが少なかったのです。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* の遺伝子多型が煙草由来の発がんリスクに影響を及ぼすことが明確になりましたし、さらに喫煙だけではなく、噛みタバコ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りました。噛みタバコ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おります。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なくてはなりません。そこで、アレコリンなどの候補化合物を用い、さらに *CYP2A6* 遺伝子を導入したサルモネラ菌を用いて、これらが *CYP2A6* によって活性化されるか否かを調べました。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りました。<sup>41)</sup>

**5-3. なぜ、*CYP2A6* の遺伝子多型と喫煙による発がんリスクが相関するのか？** *CYP2A6* が煙草の煙や噛みタバコ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発想からこの疫学研究が開始されました。しかしながら、事実はそれ程簡単ではないであろうと予想されました。可能性として、*CYP2A6* の遺伝子欠損の変異が、発がん遺伝子又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ました。

その後、*CYP2A6* 遺伝子の全欠損型変異にも2—3種類あることが分かってきました。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できました（Fig. 4）。<sup>30—33)</sup> 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が明確になってきました。<sup>42)</sup> そこで、改めてこれらの変異と喫煙による肺癌リスクに相関性があるか否か検証しました。

肺癌の中でも、扁平上皮がんや小細胞肺癌は喫煙によって起こることが多いと報告されています。また、近年フィルターを装着した煙草の普及によって、扁平上皮がんや小細胞肺癌だけでなく腺がんも増えてきたと報告されております。<sup>43,44)</sup> フィルター煙草は吸ったときに軽いので深く煙を吸うためらしいのです。

肺癌患者又は健常人を、予想される酵素活性から遺伝子型別に分けて EM グループ（野性型の遺伝子をホモで持つグループ）、IEM グループ（intermediate extensive metabolizer）（野性型の遺伝子と変異型アリルをヘテロ接合体で有するグループ）、IM グループ（intermediate metabolizer）（*CYP2A6*\*4Cを除く変異型アリルをホモ又はヘテロ接合体で有するグループ）、さらに PM グループ（*CYP2A6*\*4Cをホモで有するグループ）に分け、さらに肺癌の組織型別に分けて検証しました。<sup>42)</sup> その結果も明確であり、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癌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癌ではこの傾向が一層顕著に認められました（Table 1）。腺がんでも傾向は認められたものの、扁平上皮がんや小細胞肺癌の場合ほど明確ではありませんでした。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ました（未発表）。

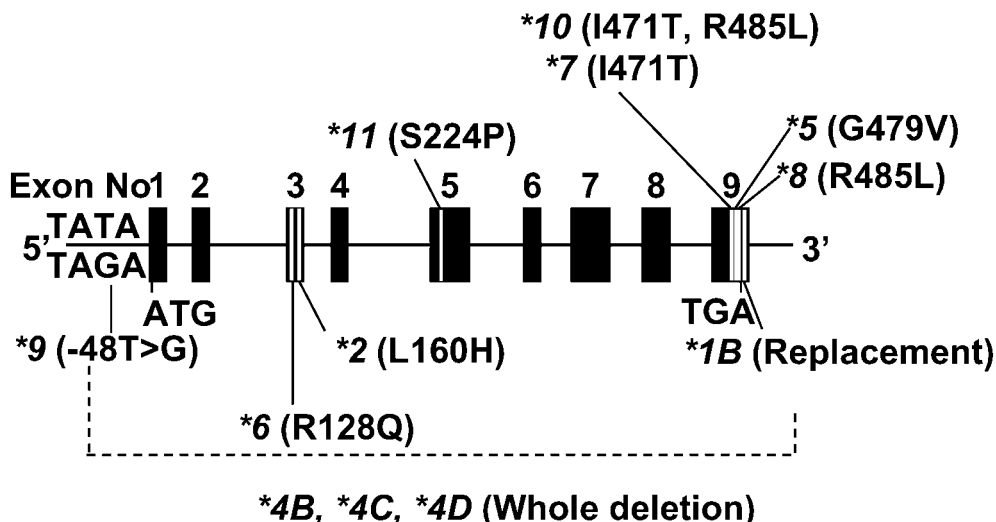


Fig. 4. Representative CYP2A6 Mutations Causing the Decrease of the Activity

Subjects were classified according to the estimated activity of CYP2A6 as extensive metabolizer (EM), intermediate extensive metabolizer (IEM), intermediate metabolizer (IM) and poor metabolizer (PM). EM: *CYP2A6*\*1/\*1, IEM: *CYP2A6*\*1/\*4, \*1/\*7, \*1/\*9, \*1/\*10, and \*1/\*11, IM: \*4/\*7, \*4/\*9, \*4/\*10, \*4/\*11, \*7/\*7, \*7/\*9, \*7/\*10, \*9/\*9, \*9/\*10, \*9/\*11, and \*10/\*10, PM: \*4/\*4.  $\chi^2=24$ ,  $p<0.0001$ . \*\* $p<0.05$ .

疫学研究から予想以上に明確な結果が得られ、*CYP2A6* 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* の酵素活性が低いヒトでは喫煙による発がんリスクが低いことが判明しました。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す。そこで、肺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ました。<sup>45)</sup> A/J マウスに NNK を投与すると肺にアデノーマが多発しました。このマウスに NNK を投与する前に *CYP2A6* の阻害剤であるメトキサレンを投与すると、アデノーマの発生は完全に抑制されました。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りました。

#### 6. *CYP2A6* はニコチン解毒酵素

*CYP2A6* には以前から縁があり、この酵素がニコチン代謝酵素であることを見い出していました。<sup>46,47)</sup> この研究は元々昭和大学の黒岩幸雄教授のアイデアで、当研究室出身で当時黒岩先生の助手をしていた中島美紀君（現金沢大学）が行ったものです。これらの論文の引用回数は多く、100 回以上も引用されております。

*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本のタバコを吸っても、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ます。そこで、*CYP2A6* の遺伝子多型と喫煙本数の関係を調べてみました。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りました (Fig. 5)。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ます。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ました。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、喫煙本数だけではないことが分かりました。

#### 7. 考 察

振り返ってみると、私は最初から毒性学を目指していた訳ではありません。周囲に毒性学が楽しくやりのある学問であり、世の中に役立つ研究であることを教えてくれた恩師がおりました。だからこそ、私が毒性学の魅力に取り付かれたのではないかと思います。

様々な研究を進めてきましたが、最後の肺がんリスクのところに限って考察してみたいと思います。私たちの一連の研究で得られた研究成果は疫学研究にはあまりにも明確すぎるように思われます。

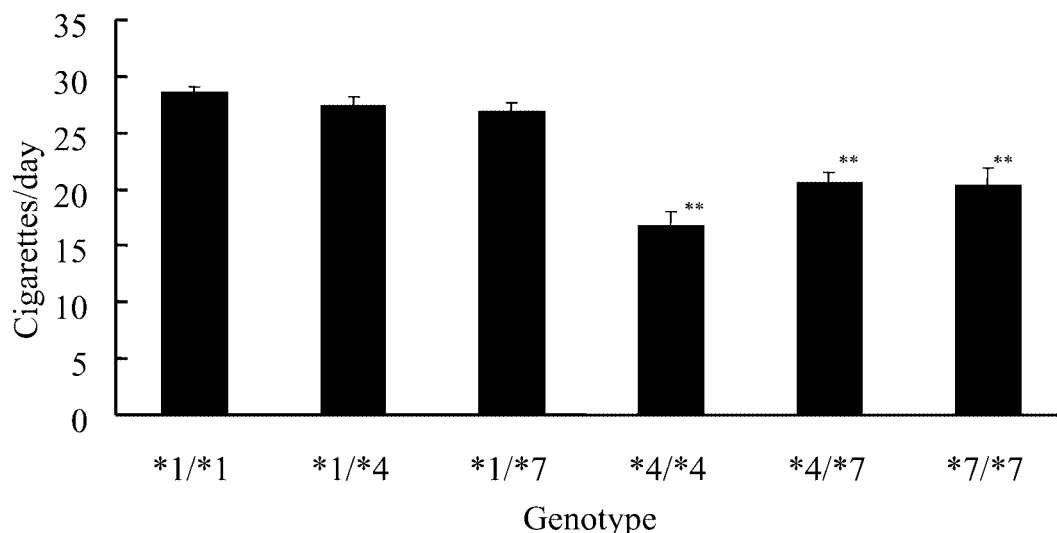


Fig. 5. Effects of the Genotype of the CYP2A6 Gene on the Daily Cigarette Consumption  
Mean  $\pm$  S.E., \*\* $p < 0.01$  towards \*1/\*1, by one-way ANOVA.

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ます。

喫煙は言うまでもなく、健康によくありません。しかし、喫煙者にとっては大切な嗜好品です。健康によくないと知りながら、毎日自分の意志で買い求め、キチンと定期的に吸っているのです。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しょう。われわれは日常的に様々ながん原物質に曝されています。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ます。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ます。この一定量の発がん因子の影響をみるのは比較的容易なことなのかも知れません。

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なります。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すが、もし、コチニンが発がんの鍵を握る因子の 1 つと仮定すると、CYP2A6 は NNK などの癌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係わることになり、その効果は相乗的になるかも知れません。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ります。

われわれは日常的に様々ながん原物質に暴露され

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特定できないのが普通です。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ます。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した。しかし、上述のように、喫煙の場合には通常の生活で暴露されるがん原物質以外に「煙草」という因子が加わっており、それも喫煙者は規則正しく毎日喫煙しているから、実験動物にがん原物質を投与したのと同じような状況が再現できたからではないかと思われる。本稿の冒頭にも記載しましたように、100 歳まで煙草を吸ってもがんにならないヒトがいるのは確かであり、それが CYP2A6 の遺伝子多型で一部でも説明できたのは非常に運がよかったと思います。このような研究をきっかけに、今後は日常的に摂取されたがん原物質に対するリスクについても 1 つずつ明らかにされることが望めますが、喫煙の場合とは異なり、もっともっと解析が困難であると予想されます。それは 1 つ 1 つのがん原物質の摂取量が少なく、かつがん原物質の種類が途方もなく多いからです。

さらに、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す。人間ではそれができません。しかし、幸運にもわれわれは人工的に遺伝子をつぶすのではなく、「天然のノッ



クアウト人間」を見出すことに成功しました。このような手法は思いつくのは簡単ですが、実際に研究に取り入れるのは簡単ではありません。新しく遺伝子欠損のヒトを見出すことができた「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おられたという「幸運」など、様々な幸運の相乗効果をもたらしてくれた結果だと思えます。

**謝辞** 私は千葉大学の学生から始まって、様々な人々と一緒に研究ができて大変幸せでした。千葉大学では後輩に教わることも多く、慶応大学では一流の人々に教わることができました。さらに、北大では職員と学生が毎日深夜まで研究をしてきて大きな研究成果を生み出してくれました。この総説は私の研究成果として書いておりましたが、実際には上記の皆さんの研究成果の「まとめ」に過ぎません。恩師、共同研究者の皆様に心から感謝したいと思います。

#### REFERENCES

- 1) Kitagawa H., Kamataki T., *Fluoride*, **3**, 102–103 (1970).
- 2) Narita M., Nagai E., Hagiwara H., Aburada M., Yokoi T., Kamataki T., *Xenobiotica*, **23**, 5–10 (1993).
- 3) Takasuna K., Hagiwara T., Hirohashi M., Kato M., Nomura M., Nagai E., Yokoi T., Kamataki T., *Cancer Res.*, **56**, 3752–3757 (1996).
- 4) Takasuna K., Hagiwara T., Hirohashi M., Kato M., Nomura M., Nagai E., Yokoi T., Kamataki T., *Cancer Chemother. Pharmacol.*, **42**, 280–286 (1998).
- 5) Kamataki T., Belcher D. H., Neal R. A., *Mol. Pharmacol.*, **12**, 921–932 (1976).
- 6) Kamataki T., Neal R. A., *Mol. Pharmacol.*, **12**, 933–944 (1976).
- 7) Kamataki T., Maeda K., Yamazoe Y., Matsuda N., Ishii K., Kato R., *Mol. Pharmacol.*, **24**, 146–155 (1983).
- 8) Kamataki T., Maeda K., Yamazoe Y., Nagai T., Kato R., *Life Sci.*, **31**, 2603–2610 (1982).
- 9) Kamataki T., Maeda K., Yamazoe Y., Nagai T., Kato R., *Archs. Biochem. Biophys.*, **225**, 758–770 (1983).
- 10) Kitada M., Kamataki T., Itahashi K., Rikihisa T., Kato R., Kanakubo Y., *Archs. Biochem. Biophys.*, **241**, 275–280 (1985).
- 11) Kitada M., Kamataki T., Itahashi K., Rikihisa T., Kanakubo Y., *J. Biol. Chem.*, **262**, 13534–13537 (1987).
- 12) Li Y., Yokoi T., Kitamura R., Sasaki M., Gunji M., Katsuki M., Kamataki T., *Archs. Biochem. Biophys.*, **329**, 235–240 (1996).
- 13) Li Y., Yokoi T., Katsuki M., Wang J.-S., Groopman J. D., Kamataki T., *Cancer Res.*, **57**, 641–645 (1997).
- 14) Komori M., Nishio K., Kitada M., Shiramatsu K., Muroya K., Soma M., Nagashima K., Kamataki T., *Biochemistry*, **29**, 4430–4433 (1990).
- 15) Saito T., Takahashi Y., Hashimoto H., Kamataki T., *J. Biol. Chem.*, **276**, 38010–38022 (2001).
- 16) Takahashi Y., Nakayama K., Itoh S., Fujii-Kuriyama Y., Kamataki T., *J. Biol. Chem.*, **272**, 30025–30031 (1997).
- 17) Nukaya M., Takahashi Y., Gonzalez F. J., Kamataki T., *FEBS Lett.*, **558**, 96–100 (2004).
- 18) Iwano S., Nukaya M., Saito T., Asanuma F., Kamataki T., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **335**, 220–226 (2005).
- 19) Doll R., Peto R., *J. Natl. Cancer Inst.*, **66**, 1191–1308 (1981).
- 20) Kee M., *Nature*, **303**, 648 (1983).
- 21) Kushida H., Fujita K., Suzuki A., Yamada M., Nohmi T., Kamataki T., *Mutat. Res.*, **471**, 135–143 (2000).
- 22) Suzuki A., Kushida H., Iwata H., Watanabe M., Nohmi T., Fujita K., Gonzalez F. J., Kamataki T., *Cancer Res.*, **58**, 1833–1838 (1998).
- 23) Fujita K., Kamataki T., *Environ. Mol. Mutagen.*, **38**, 339–346 (2001).
- 24) Kushida H., Fujita K., Suzuki A., Yamada M., Endo T., Nohmi T., Kamataki T., *Carcinogenesis*, **21**, 1227–1232 (2000).
- 25) Nunoya K., Yokoi T., Itoh K., Itoh S., Kimura K., Kamataki T., *Xenobiotica*, **25**, 1283–1291 (1995).
- 26) Nunoya K., Yokoi T., Kimura K., Kodama T., Funayama M., Inoue K., Nagashima K., Funae Y., Shimada N., Green C., Kamataki T., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **277**, 768–774

- (1996).
- 27) Nunoya K., Yokoi T., Kimura K., Kainuma T., Satoh K., Kinoshita M., Kamataki T., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **289**, 437–442 (1999).
- 28) Nunoya K., Yokoi T., Takahashi Y., Kimura K., Kinoshita M., Kamataki T., *J. Biochem. (Tokyo)*, **126**, 402–407 (1999).
- 29) Ariyoshi N., Takahashi Y., Miyamoto M., Umetsu Y., Daigo S., Tateishi T., Kobayashi S., Mizorogi Y., Loriot M. A., Stucker I., Beaune P., Kinoshita M., Kamataki T., *Pharmacogenetics*, **10**, 687–693 (2000).
- 30) Ariyoshi N., Sawamura Y., Kamataki T., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **281**, 810–814 (2001).
- 31) Pitarque M., von Richter O., Oke B., Berkkan H., Oscarson M., Ingelman-Sundberg M., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **284**, 455–460 (2001).
- 32) Kiyotani K., Yamazaki H., Fujieda M., Iwano S., Matsumura K., Satarug S., Ujjiin P., Shimada T., Guengerich F. P., Parkinson A., Honda G., Nakagawa K., Ishizaki T., Kamataki T., *Pharmacogenetics*, **13**, 689–695 (2003).
- 33) Xu C., Rao Y. S., Xu B., Hoffmann E., Jones J., Sellers E. M., Tyndale R. F., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **290**, 318–324 (2002).
- 34) Miyamoto M., Umetsu Y., Dosaka-Akita H., Sawamura Y., Yokota J., Kunitoh H., Nemoto N., Sato K., Ariyoshi N., Kamataki T., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **261**, 658–660 (1999).
- 35) Ariyoshi N., Miyamoto M., Umetsu Y., Kunitoh H., Dosaka-Akita H., Sawamura Y., Yokota J., Nemoto N., Sato K., Kamataki T., *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, **11**, 890–894 (2002).
- 36) Ayesh R., Idle J. R., Ritchie J. C., Crothers M. J., Hetzel M. R., *Nature*, **312**, 169–170 (1984).
- 37) Caporaso N., DeBaun M. R., Rothman N., *Pharmacogenetics*, **5**, S129–134 (1995).
- 38) Kellermann G., Shaw C. R., Luyten-Kellerman M., *N. Engl. J. Med.*, **289**, 934–937 (1973).
- 39) Kawajiri K., Nakachi K., Imai K., Yoshii A., Shinoda N., Watanabe J., *FEBS Lett.*, **263**, 131–133 (1990).
- 40) Topcu Z., Chiba I., Fujieda M., Shibata T., Ariyoshi N., Yamazaki H., Sevgican F., Muthumala M., Kobayashi H., Kamataki T., *Carcinogenesis*, **23**, 595–598 (2002).
- 41) Miyazaki M., Sugawara E., Yoshimura T., Yamazaki H., Kamataki T., *Mutat. Res.*, **581**, 165–171 (2004).
- 42) Fujieda M., Yamazaki H., Saito T., Kiyotani K., Gyamfi M. A., Sakurai M., Dosaka-Akita H., Sawamura Y., Yokota J., Kunitoh H., Kamataki T., *Carcinogenesis*, **25**, 2451–2458 (2004).
- 43) Wynder E. L., Hoffmann D., *Cancer Res.*, **54**, 5284–5295 (1994).
- 44) Le Marchand L., Sivaraman L., Pierce L., Seifried A., Lum A., Wilkens L.R., Lau A. F., *Cancer Res.*, **58**, 4858–4863 (1998).
- 45) Takeuchi H., Saoo K., Yokohira M., Ikeda M., Maeta H., Miyazaki M., Yamazaki H., Kamataki T., Imaida K., *Cancer Res.*, **63**, 7581–7583 (2003).
- 46) Nakajima M., Yamamoto T., Nunoya K., Yokoi T., Nagashima K., Inoue K., Funae Y., Shimada N., Kamataki T., Kuroiwa Y., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **277**, 1010–1015 (1996).
- 47) Nakajima M., Yamamoto T., Nunoya K., Yokoi T., Nagashima K., Inoue K., Funae Y., Shimada N., Kamataki T., Kuroiwa Y., *Drug Metab. Dispos.*, **24**, 1212–1217 (1996).