

論文の内容の要旨

論文題目 **CYP2C19 遺伝子多型と胆道癌**

指導教員 小池 和彦 教授

東京大学大学院医学系研究科

平成17年4月入学

医学博士課程

内科学専攻

磯村 好洋

CYP は主に肝臓で産生される酵素で、脂溶性の高い基質を水酸化することによって、種々の異質・異物から生体を守る重要な役目を担っている。CYP には基質特異性の異なる30 種以上の分子種があり、化学物質(医薬品を含む)、環境物質、有機溶媒、内因性ステロイドなどきわめて多くの物質の代謝反応に関与する。そのなかには、メチルオイゲノールや芳香族アミン、ヘテロサイクリックアミンなどの化学発癌物質の代謝も含まれており、それらの代謝能力と関係する CYP の遺伝子多型がいくつかの癌腫において発病率と関連することが報告されている。

CYP2C19 は、プロトンポンプ阻害剤、ジアゼパム、クロピドグレルなどの多くの重要な薬物代謝に関与し、代謝能に大きな影響を及ぼす遺伝子多型が存在する。いわゆるオーダーメイド治療としての臨床応用において最も注目されているもののひとつで、とくに日本

人においてその多型頻度が高いことが知られている。CYP の基質特異性は低く、一つの酵素が数多くの化学物質を代謝するという多種・多基質酵素であることから、CYP2C19 も潜在的に発癌作用のある物質の代謝や前発癌物質の生体内活性化に重要な役割を演じていると考えられ、CYP2C19 遺伝子多型がある種の癌において発癌要因の 1 つになっている可能性が考えられた。

今回の研究では CYP2C19 遺伝子多型と潜在的関与をもつ癌種を探るべく、以下の手順で解析をすすめた。はじめに様々な消化器癌の細胞株を用いて CYP2C19 遺伝子多型と関与する可能性のある癌種のスクリーニングを行った。その結果から候補としてあげられた癌種について臨床検体を用いた確認解析を行った。臨床解析では化学発癌や他の癌種において関連が多く指摘されている CYP1A1 と CYP2E1 の遺伝子多型についても解析を行った。また他癌種の代表として肝細胞癌の臨床検体を用いて同様の解析を行い比較対照した。

はじめに、5 種類の消化器癌細胞株、計 115 株を用いて CYP2C19 遺伝子多型の解析を行った。CYP2C19 の PM の割合に注目すると、胃癌では 27.3%(9/33)、大腸癌では 0%(0/32)、肝癌では 6.7%(1/15)、膵癌では 12.0%(3/25)、胆道癌では 60.0%(6/10)であった。胃癌において PM の割合が大きいのは既報の報告と合致していた。さらに胆道癌では 60.0%とより高い頻度で PM の割合が大きいことが判明した。CYP2C19 遺伝子多型には著明な人種差が存在し、日本人での PM の頻度は約 15%と他人種に対して高いことが知られている。胆道癌株についてはすべてが日本人由来であるが、それを考慮しても胆道癌株における PM の頻度は注目に値すると考えられた。以上より CYP2C19 遺伝子多型との関係が示唆される

ものとして胆道癌が候補としてあげられた。

続いて臨床解析を行った。胆道癌症例に関しては、2002年3月から2007年12月にかけて東京大学附属病院消化器内科にて診断された患者65名を対象とした。肝細胞癌症例に関しては、2001年8月から2003年6月にかけて東京大学附属病院消化器内科にて診断された患者64名を対象とした。対照群に関しては、2002年3月から2007年12月にかけて東京大学附属病院消化器内科に入院もしくは外来通院中であった非担癌患者566名を対象とした。対象者の末梢血よりゲノムDNAを抽出し、各種遺伝子多型を解析した。

対照群との比較では、胆道癌群においてCYP2C19遺伝子多型の構成比率に有意差を認めた($p=0.025$)。胆道癌群に注目して年齢と性別で補正して多変量解析をおこなうと、胆道癌群におけるEMに対するPMのオッズ比は2.74(1.29-5.87)、EMに対するIMのオッズ比は1.51(0.79-2.96)であった。この結果よりCYP2C19の代謝能が低下するにつれて胆道癌のリスクが増加する傾向があることが示唆された。アレル解析では*2と*3のいずれの変異型でも野生型と比べてそれぞれ1.57(1.05-2.35)、1.73(1.03-2.90)と高いオッズ比を示した。胆道癌を胆管癌と胆嚢癌に細分類したところ、統計学的有意差は認めなかったが胆嚢癌におけるEM+IMに対するPMのオッズ比は2.72であった。これは胆管癌や胆道癌全体におけるオッズ比よりも大きいものであった。

化学発癌や他の癌種において関連が多く指摘されているCYP1A1とCYP2E1についても解析を行った。胆道癌群と対照群、肝細胞癌群と対照群との二群間でそれぞれの遺伝子多型の構成比率に差があるかを χ^2 検定により解析したところ、いずれも有意差を認めなかつ

た。

切除検体を用いた癌部・非癌部の比較では、解析できたすべての症例で同一の CYP2C19 遺伝子型を示した。またこの結果は末梢血から抽出したゲノム解析の結果とも一致するものであった。

今回の研究によって、CYP2C19 遺伝子多型との関連を示すものとして新たに胆道癌があげられた。わが国における胆道癌の年間死亡数は約 16600 人で全悪性新生物死亡数の約 5.2%を占める。解剖学的問題より症状が出現しにくく、また小病変を検出する特異的な検査もないことから早期発見は難しい。また外科的切除以外に根治治療が期待できる治療法がないことから、その予後は不良である。リスクファクターとしては、膵・胆管合流異常や総胆管拡張症などの先天性疾患や原発性硬化性胆管炎などが上げられているが、そのほかに明らかなものはない。今回の研究によって、CYP2C19 遺伝子多型と胆道癌との関連が示唆され、CYP2C19 の PM は胆道癌のリスクファクターであると考えられた。その原因として、CYP2C19 が胆道癌の原因となる発癌物質の代謝に関与していることが推測される。肝臓で代謝された様々な物質が胆管を通して消化管へ流れる。よって胆管は胆汁中に含まれる潜在的発癌物質の影響を強く受けるのかもしれない。もしそのような潜在的発癌物質が CYP2C19 により代謝・解毒されて胆汁に放出されているとすると、胆管におけるそれらの濃度は EM よりも PM で高くなると考えられ、胆道癌発症のリスクとなることが予想される。また、症例数が少ないこともあり統計学的有意差は認めなかったが、胆嚢癌における EM+IM に対する PM のオッズ比は 2.72 であり、胆管癌や胆道癌全体におけ

るオッズ比よりも大きいものであった。この原因として胆嚢においてそれらの潜在的発癌物質が濃縮されることと関係があるのかもしれない。

胆道癌には特徴的な地域集積性が指摘されており、世界的には日本をはじめとした東アジアに多いといわれ、日本における胆道癌死亡率は欧米に比べ 10 倍以上と圧倒的に高い。一方、CYP2C19 の遺伝子多型についても人種差・地域差があることが知られており、アジア人における EM/IM/PM の頻度はそれぞれ 30-40%/40-50%/14-22%であるのに対して、欧米人ではそれぞれ 70-75%/20-25%/2-5%である。PM が胆道癌のリスクファクターであるならば、日本人において CYP2C19 の PM の割合が多いことが、胆道癌死亡率が欧米より高いことの原因に寄与しているのかもしれない。

CYP には基質特異性の異なる 30 種以上の分子種があるが、その基質特異性は他の酵素と比べるとはるかに低く、一つの酵素が数多くの化学物質を代謝するという多種・多基質酵素である。CYP は化学発癌物質の生体内活性化において重要な役割を果たしており、CYP1A1 や CYP2E1、CYP2D6 などの分子種において発癌との関連が多く報告されている。このなかで特に日本人において遺伝子多型が多く報告されている CYP1A1 と CYP2E1 についても解析したが、いずれも対照群と比較して有意差を認めなかった。また他癌種の代表として肝細胞癌の臨床検体を用いて同様の解析を行ったが、CYP2C19/CYP1A1/CYP2E1 いずれも対照群と比較して有意差を認めなかった。よって、CYP2C19 遺伝子多型は胆道癌において独立した危険因子であることが示唆され、また他癌種と比較して特徴的な因子であると考えられた。

癌細胞は様々な体細胞変異を含んでいる。そのため解析対象である SNP サイトに体細胞

変異があった場合には、解析結果が目的とする一塩基変異を示さず、CYP2C19 遺伝子型の誤判定の可能性も考えられた。しかし切除検体を用いた癌部と非癌部の比較では、解析できた 14 症例全てにおいて遺伝子型は同一であった。またこの結果は末梢血から抽出したゲノム DNA の解析結果とも一致するものであった。したがって、CYP2C19 の SNP サイトにおける体細胞変異はほとんどなく、目的とした一塩基変異を正しく判定しているものと考えられた。

今回の研究によって CYP2C19 の PM が胆道癌の危険因子であることが示された。胆道癌は未だ予後不良な悪性腫瘍であるため、その危険因子を同定することは、予防・早期発見のうえでも重要である。今後、発癌に関与する環境因子と遺伝因子の両面からの機序解明がすすむことが望まれる。