

泌尿器科腫瘍学における分子研究の展望： 予 防 と 分 子 疫 学

京都大学大学院医学研究科器官外科学講座泌尿器病態学（主任：小川 修教授）

賀本 敏行，小川 修

秋田大学医学部泌尿器科学教室（主任：加藤哲郎教授）

羽瀨 友則，加藤 哲郎

MOLECULAR EPIDEMIOLOGY AND CANCER PREVENTION

Toshiyuki KAMOTO and Osamu OGAWA

From the Department of Urology, Kyoto University Graduate School of Medicine

Tomonori HABUCHI and Tetsuro KATO

From the Department of Urology, Faculty of Medicine, Akita University

Environmental factors act in concert with individual susceptibility to cause most human cancers. The modulation of these environmental factors by host susceptibility has rarely been evaluated. Recently, the molecular epidemiology of human cancer has been extended to a study clarifying individual variation and gene-environmental interactions by integrating molecular biology, in vitro and in vivo laboratory models, biochemistry and epidemiology to infer individual cancer risk. This article briefly reviews genetic polymorphisms frequently used in molecular epidemiological studies and shows, as an example, a possible association between the genetic polymorphisms of CYP17 genes and prostate cancer risk.

(Acta Urol. Jpn. 47 : 833-836, 2001)

Key words: Molecular epidemiology, Prostate cancer

緒 言

発癌の予防は、従来の疫学で患者の病歴や生活習慣と発癌率の関係などから同定された危険因子を回避する、あるいは危険因子の曝露集団に対する定期的検診などが中心であった。一方「分子疫学」とは、分子生物学の発展により同定が可能となった分子レベルでの因子と発癌との関係を解析する新しい疫学である^{1,2)}。現在、生活習慣病である癌は決して環境要因のみによって発症するのではなく、遺伝要因との相互作用の結果であるとされている。従来の疫学ではある種の環境要因に曝露された後に生体内でどのような変化をきたすかについては知るすべをもたず、遺伝要因についてはせいぜい家族歴から推しはかるしかなかった。しかし近年の分子生物学的手法の進歩は今までブラックボックスの中にあった生体内変化や遺伝子要因の分析を可能にした。その結果、発癌物質に曝露されてから体内で起る状態には分子（遺伝子）レベルでの個体差があり、その差のある分子（遺伝子）から発癌感受性（susceptibility）を推定し、susceptibility の高いヒトに対する「その発癌物質への曝露を避ける」「早期にスクリーニングをうける」などの二次予防の可能性を

もたらしたのである。

遺伝子多型とは

分子疫学に用いられるバイオマーカーとして遺伝子多型がある。30億塩基対あるといわれる遺伝暗号は親から子への継代される際には数個から数十個の突然変異が起るとされる。その変異が種の保存や生殖にかかわるような遺伝子に変異が起った場合には淘汰され、後世に残ることはないが、それが、種の保存に特にかかわらない場合や環境により適応できるような遺伝子に起った場合には後世にそれが残り、遺伝子多型（polymorphism: ポリモルフィズム）という形で残っていくことになる。これらの遺伝子多型は基本的にはその地域でランダムに交配され、その結果それらの多型頻度（allele frequency）は平衡状態に達する。この平衡状態になることを Hardy-Weinberg の法則という。まとめると、遺伝子多型（genetic polymorphism）とは同一集団内において、ある遺伝子座にあるアレルが2種類以上存在し、その頻度が1%以上である状態と定義される。これは、ある集団におけるきわめて稀なバリエーションではない³⁾

遺伝子多型の種類には、1) 1塩基の違いであるス

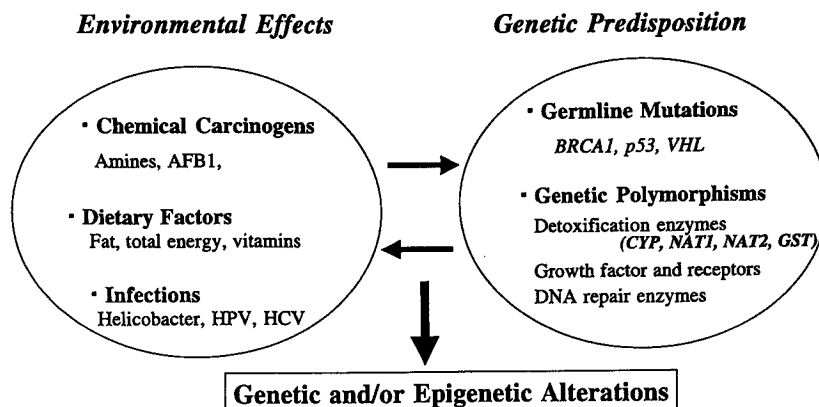


Fig. 1. Environmental and host susceptibility factors in human cancer.

ニップス (SNPs: single nucleotide polymorphisms) や、2) シングルコピーミニサテライト (VNTR: variable number of tandem repeat), 3) マイクロサテライト (Microsatellite: dinucleotide repeat polymorphism) などがある。SNPs は1,000塩基対に1つ位の割合で存在するとされ、存在する位置によって分類され、遺伝子の機能そのものに関係するものや、調節領域 (プロモーターなど) にあり遺伝子の発現に影響を及ぼす可能性のあるものまで様々である。それらの検出には、制限酵素断片長多型 (RFLP: restriction fragment length polymorphisms) や直接シーケンスで塩基配列を決定することで容易にタイピングが可能となる。

遺伝子多型を用いた解析には、1) 連鎖解析 (linkage analysis), 2) 罹患同胞対連鎖解析 (affected sib-pair linkage analysis) 3) 関連解析 (associated analysis): ケース コントロールスタディがある³⁾ 1), 2) は遺伝子多型を染色体位置のマーカーとして用いて疾患の原因遺伝子を同定する手法であり、3) は従来の記述疫学と同じく危険因子を同定する手法である。

ヒト癌における環境因子と宿主感受性因子について代表的なものを Fig. 1 に示す。環境因子としての化学物質や食餌、さらには感染症とそれに対する宿主の感受性は一方通行ではなく、相互に影響しながら遺伝的あるいは後天的な遺伝子変化を生ずるものと考えられる。泌尿器科癌の特徴と遺伝子多型についてみると、例えば腎細胞癌では腫瘍免疫が深く関与しているものと考えられているが、その免疫力にも多型によって差がある可能性がある。また膀胱癌は化学発癌であることが明らかになっているが、発癌物質の代謝にかかわる N-acetyltransferase (NAT) やグルタチオン S トランスフェラーゼの多型がそのリスクと関与していることが示唆されている⁴⁻⁶⁾ また前立腺癌は人種差の著しい癌の1つであるが、その理由については明らかではない。しかしながら、人種差があることは遺伝的関与の強い癌でもめることは明らかである。欧米の

ように罹患頻度の非常に高い地域でのケース コントロールスタディではなく、本邦のように比較的罹患頻度の少ない地域でのスタディで初めて明らかにされるような危険因子もあると期待される。われわれは以前から遺伝子多型を利用した前立腺癌の高リスク群の抽出の可能性を報告してきており^{7,8)}、その一部を以下に示す。

前立腺癌高リスク群の抽出

前立腺癌の発癌に関与する可能性のあるものには Table 1 に示すようにアンドロゲンの代謝過程に関与する酵素群の遺伝子多型と、細胞の増殖などに関与する遺伝子多型に大別される。Fig. 2 はコレステロールからテストステロン合成のカスケードを示す。アンドロゲン依存性の高く natural history の長い前立腺癌発生において、生体内でのアンドロゲンレベルが発癌

Table 1. Prostate and key genes with polymorphisms

• Genes encoding the enzymes involved in androgen metabolism
Androgen receptor (<i>AR</i>)
Steroid 5 α -reductase type II (<i>SRD5A2</i>)
Cytochrome p450c17 (<i>CYP17</i>)
• Genes encoding the molecules associated with cell proliferation and differentiation
Vitamin D receptor (<i>VDR</i>)
Retinoid receptor (<i>RR</i>)

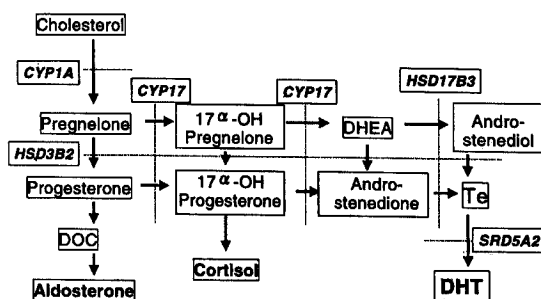


Fig. 2. The androgen metabolism pathway.

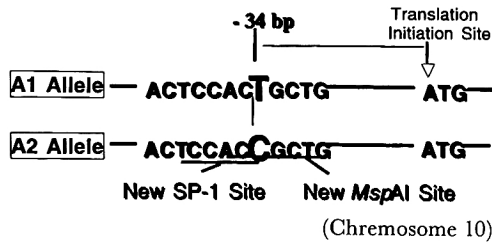


Fig. 3. CYP17 polymorphism in the promoter region.

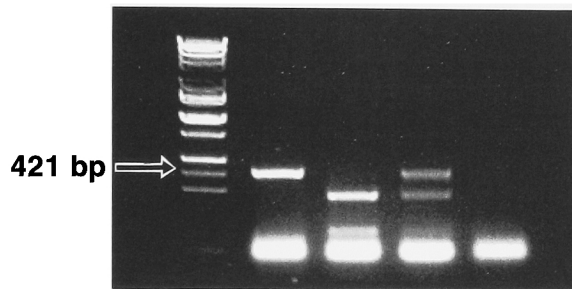


Fig. 4. The CYP17 gene PCR-restriction fragment length polymorphism analyses. M: size marker, A1/A1: A1 homozygote, A2/A2: A2 homozygote, A1/A2: heterozygote, N: negative control, arrow: undigested PCR product.

や進行の過程に影響を及ぼす可能性は十分に考えられる。その中でチトクローム P450 (CYP) 17は2カ所で本経路のおもな酵素であり、その多型によって、もし少しでも代謝効率などに差があればホルモンレベルに影響を及ぼし、ひいては前立腺癌発生が変化する可能性がある。ということになる。

CYP17 遺伝子の翻訳開始部位から 34bp 上流には T と C の SNP がある。ここで T を A1 アレル, C を A2 アレルとすると, A2 アレルでは新たに Sp-1 結合

ドメインができ, *MspAI* という制限酵素で切断できるようになる (Fig. 3)。この新たな Sp-1 結合ドメインによって転写活性が変化するかどうかは定説はないものの可能性はある。また *MspAI* 切断箇所があることで2つのアレルを PCR-RFLP 法で区別することが可能になる。この SNP 多型の領域をはさむように設計したプライマーで 421bp の PCR 産物を増幅し, これを制限酵素である *MspAI* で切断し, さらに泳動すると, A2 アレルは切断されるため Fig. 4 のように A1 アレルと A2 アレルの判別が可能となる。252例の前立腺癌, 202例の BPH 症例, 131例の正常男性群を比較した結果は A1 アレルをホモでもつ方が A2 アレルのホモのヒトと比べると, PC になるリスクが 2.57倍, BPH に2.44倍という結果であった⁸⁾ 最近, E-cadherin のプロモーター領域の多型が報告されており⁹⁾, 現在解析を進行している。

考 察

今後のさらなる研究によって種々の遺伝子多型と発癌リスクが明らかにされ高リスク群が抽出されれば, 早期スクリーニングなどにより早期発見が可能となることも考えられる。しかしながら, これらの「疾患易罹患性 (疾患のかかりやすさ)」という点については十分に理解をする必要がある。Table 4 に現在, 家族性 (遺伝性) 腫瘍として原因遺伝子が判明している疾患をあげる (Table 2)。これらは疾患に決定因子と考えて良いものもあるが, それでも罹患頻度は100%にはならない。今回紹介したような遺伝子多型を用いて明らかになったものはあくまで統計的にはじきだされた危険因子であり, 決して「診断」には用いるべきものではない。Table 3 に示すように ASCO では遺伝

Table 2. Listing of genes in which germline mutation predispose to susceptibility to cancer and other neoplasms

症候群	遺伝子	腫瘍
癌抑制遺伝子		
1) 網膜芽細胞腫	<i>RB</i>	網膜芽細胞腫, 骨肉腫
2) Li-Fraumeni 症候群	<i>p53</i>	肉腫, 白血病, 膀胱癌?
3) 家族性大腸腺腫症	<i>APC</i>	大腸癌
4) 神経線維腫症 1 型	<i>NF1</i>	神経線維腫, 線維肉腫
5) 神経線維腫症 2 型	<i>NF2</i>	神経鞘腫, 髄膜腫
6) WAGR 症候群	<i>WT1</i>	Wilms 腫瘍
Denys-Drash 症候群		
7) von Hippel-Lindau 病	<i>VHL</i>	血管腫, 腎癌, 褐色細胞腫
8) 結節性硬化症	<i>TSC2</i>	腎血管筋脂肪腫, 心横紋筋腫
9) 家族性黒色腫	<i>p16/MTS1</i>	悪性黒色腫
10) 家族性乳癌	<i>BRCA1</i>	乳癌, 卵巣癌
	<i>BRCA2</i>	乳癌
癌遺伝子		
1) 多内分泌腫瘍症 2 型	<i>RET</i>	甲状腺髄様癌, 褐色細胞腫
2) 遺伝性乳頭状腎細胞癌	<i>MET</i>	腎癌 (乳頭状)

Table 3. Three categories of indication for cancer predisposition testing

Group 1	遺伝子検査の有用性が確立された疾患. 診療方針決定のための検査結果が重要である. (<i>APC</i> , <i>RET</i> , <i>VHL</i> , <i>RB1</i> , <i>NF1</i> , <i>NF2</i> など)
Group 2	責任遺伝子と癌の易罹患性との関係がある程度明らかになっている, 医療上のメリットなどに関しては研究段階だが検査がある程度有用と考えられる. (<i>MLH1</i> , <i>BRCA1</i> , <i>p53</i> , <i>CDKN/p16</i> など)
Group 3	疾患と遺伝子変異との関係がまだ明かでない. 診療上の有用性が不明.

(ASCO, Cancer 80: 632-634, 1997)

子診断を行う上で考慮すべきカテゴリーとして3つのグループにわけている¹⁰⁾ 今回のような遺伝子多型はあくまで疾患の遺伝子変異との関係が未だ明らかではなく, かつ診断上の有用性が不明である group 3 に分類されるべきものである.

発癌の予防には大きく3つに大別される. すなわち, 癌関連物質への曝露防止やより良い生活習慣をとっていく一次予防 (primary prevention), 高リスクグループを抽出しそこに積極的に環境改善や早期発見のスクリーニングを行う二次予防 (secondary prevention), 次に chemoprevention を含めて高リスク群などに積極的に介入する三次予防 (tertiary prevention) である. 遺伝子多型を用いた分子疫学の結果は高リスク群の抽出が1つの目的ではあるが, 特定の遺伝子の多型が発癌や進行過程に強い影響を及ぼすことが明らかになることでそれらの発癌機序や進行のメカニズムの解明に寄与しうる可能性も持っている.

遺伝子多型の研究においては, 1) 倫理的配慮, 2) 結果の解釈, 3) 遺伝子ビジネスの監視, 4) 欧米の結果をそのまま日本人にあてはめることができない, などの問題点を十分に理解しなければならない. またこのような研究が将来大きく発展するためにも, 1) 遺伝に対する理解と教育, 2) 遺伝カウンセラーの養成, 3) 研究・研究成果の応用のためのルール作り, ひいては法制化なども十分に議論されるべきであると思われる.

結 語

分子生物学の進歩は泌尿器科腫瘍の遺伝的感受性のリスクを明らかにできる可能性をもたらした. 遺伝子

多型を用いた分子疫学について概説し, 前立腺癌罹患の高リスクグループの抽出として, *CYP17* 遺伝子のプロモーター多型を例として紹介した. このような罹患リスクを推定しうる遺伝子多型が明らかになることで, 発癌の予防にもつながる可能性がある.

文 献

- 1) Perera FP: Molecular epidemiology: insights into cancer susceptibility, risk assessment, and prevention. *J Natl Cancer Inst* 17: 496-509, 1996
- 2) Perera FP and Weinstein IB: Molecular epidemiology: recent advances and future directions. *Carcinogenesis* 21: 517-524, 2000
- 3) 中村祐輔: SNP の医学的意義. SNP 遺伝子多型の戦略. 中村祐輔編, pp 2-17, 中山書店, 東京, 2000
- 4) Hsieh FI, Pu YS, Chern HD, et al.: Genetic polymorphisms of N-acetyltransferase 1 and 2 and risk of cigarette smoking-related bladder cancer. *Br J Cancer* 81: 537-541, 1999
- 5) Filiadis IF, Georgiou I, Alamanos Y, et al.: Genotypes of N-acetyltransferase-2 and risk of bladder cancer: a case-control study. *J Urol* 161: 1672-1675, 1999
- 6) Salagovic J, Kalina I, Stubna J, et al.: Genetic polymorphism of glutathione S-transferases M1 and T1 as a risk factor in lung and bladder cancers. *Neoplasma* 45: 312-317, 1998
- 7) Habuchi T, Suzuki T, Sasaki R, et al.: Association of vitamin D receptor gene polymorphism with prostate cancer and benign prostatic hyperplasia in a Japanese population. *Cancer Res* 60: 305-308, 2000
- 8) Habuchi T, Liqing Z, Suzuki T, et al.: Increased risk of prostate cancer and benign prostatic hyperplasia associated with a *CYP17* gene polymorphism with a gene dosage effect. *Cancer Res* 60: 5710-5713, 2000
- 9) Li L, Chui RM, Sasaki M, et al.: A single nucleotide polymorphism in the E-cadherin gene promoter alters transcriptional activities. *Cancer Res* 60: 873-876, 2000
- 10) Garber JE, Offit K, Olopade OI, et al.: The American society of clinical oncology position on genetic testing. *Cancer* 80: 632-634, 1997

(Received on September 18, 2001)

(Accepted on October 15, 2001)