

# NEWS LETTER

No.34 Dec. 2002

## Japanese Society For Cancer Prevention 日本がん予防研究会

### 慢性細菌性感染と発がん —疫学的考察

青木 國雄  
(愛知県がんセンター名誉総長)



これは第25回日本がん疫学研究会・吉村健晴会長（これは第9回日本がん予防研究会・前田 浩会長と共催）での特別講演の要旨である。〔詳細はがんの臨床に掲載予定〕

最近感染症と発がんの関連性について分子生物学的研究の進展が著しい。感染の場でのサイトカイン、活性酸素、酸化窒素などとDNA障害の機序がウイルス

のみならずピロリ菌などの細菌性感染でも認められている。筆者は1963年秋より約30年間、断続的ではあるが、結核と肺がんの疫学的研究をしていたので、この度、研究概要の講演を要請された。古びた内容で講演する立場になかったが、吉村会長の要請と感染と発がんの指導者であるの前田会長から今後の見通しを含めてということに参加させていただいた。

#### 1. 感染症と発がんの疫学モデル

異質と思われる2病間の因果関係の疫学研究は、後発の病が短期間に発生すればそれほど難しくはない。しかし5年とか10年それ以上にわたり発生する時は、研究方法も、結果の解釈も容易ではない。研究には地域での疾病登録や、レコードリンケイジが可能なのが条件である。後発の病は死亡が指標になることが多いが、第一病〔原疾患〕による死亡率の多寡に大きく影響される。後発病死亡数があまりに少なくて検討できない。地域が広ければ診断精度も問題である。2つの病の間に有意の関連性があったとしても、状況証拠であり、作業仮説にとどまる。因果関係にはその成立を納得させる証拠が必要である。

#### 2. 肺結核と肺がんの関連

米国と日本で10以上の疫学調査を実施した。結核は地域登録を利用し、肺がんは致命率の高い時代であり、がん登録が不備でも時間をかければ大部分追跡可能であった。これらの結果は、J. J. Clin. Oncol. 23:205-220, 1993に発表してある。結論的には、活動性で、進展した肺結核は、結核で高率に死亡するが、生残者は肺がん、腸がん、悪性リンパ腫など悪性新生物死亡のリスクが高い。リスクは男より女子に高い。肺がんはほとんど結核病変のない肺野に発生する。結核関連の医療、喫煙では説明できなかった。各国のコホート調査でも同様の傾向であった。原病死、つまり結核死亡頻度の高い地域、時代ではがん死亡は少なく、結核死亡の減少に伴いがん死亡が目立つが、中高年ではかなり昔から合併率は低くなかった。発がん要因を求め、1990年代に入り、結核菌の代謝産物で毒性や免疫と関連するcord-factorの成分、Trehalose-6-mycolatesを大阪市大矢野勤也教授のご好意で分与を受け、藤木博太前埼玉がんセンター研究所長に検討していただいたところ、強いtumor promoterと判明した。これで一つの説明はできたわけである。進展した結核症では免疫学的にも異常が多く、他の要因も検出されると予想している。

#### 目次

慢性細菌性感染と発がん—疫学的考察（青木國雄）	1
肝炎ウイルスによる肝細胞癌罹患とその修飾要因（田中恵太郎）	2
C型肝硬変症および慢性肝炎における抗炎症療法による肝がんへの進展予防（多羅尾和郎）	4
感染・炎症反応生成物によるDNA損傷（大島寛史）	6
NO誘発性損傷塩基8-ニトログアニンの生体内生成と8-ニトログアニンによる酸化ストレス増強作用（澤 智裕）	8

### 3. 結核性膿胸後のB-cell lymphomaの発生

結核性肋膜肝臓にB-cell lymphomaが発生することは大阪大学青笹教授により確かめられた。サイトカインなどの関連も検討され、X線透視がリスク要因に挙がっていた。

最近のZinkernagelの報告では、感染時、局所のリンパ節での抗体の状態、感染に対するT-cell、B-cellの反応が著しく変わるとしている。結核初感染から2次的発展の時期での個体免疫状態の変化など宿主要因との関連の研究が必要と考えている。

4. その他、抗酸菌関係では、サルコイドーシスと肺がん、ハンセン病とがん死亡の関係についての疫学的関連の報告がある。

### 5. チフス菌保菌者carriersでのがん発生

Scotlandでは1964年発生した腸チフス流行の患者とcarriersが登録されていた。Caygillらは、彼らの予後を19年間追跡調査し、急性期で治癒した患者ではがん死亡のリスクは低いが、carriersでは胆嚢がん死亡が女子で167倍高く、男子は脾臓がんが23倍高かったことを発表した。発がんの原因として、carriersでは胆嚢粘膜が著しく傷害され、また細菌により胆汁代謝が変化し、がん原性物質の産性があるので、リスクが高まるとの仮説を出している。胆嚢切除したcarriersのがんリスクは高くなかった。

6. その他いろいろの慢性細菌感染者に発がんのリスクが高い報告について紹介した。

まとめると慢性感染症では、細胞組織の障害が繰り返され、再生、修復が長年にわたると細胞組織が不安定な状態になり、free radicalsの活動もくり返される。これに細菌からの毒性物質や、代謝によるがん原性物質が関与すれば、前がん状態も成立しやすくなる。そして感染による障害の程度の大きな部位にがんの発生は高くなる可能性がある。

### 7. 急性感染から慢性化要因

急性期のみで治癒、安定する患者では、結核でも、腸チフスでも発がんリスクは高くない。このことは、慢性化した炎症が問題というわけである。急性感染症から慢性化するののはほんの一部の患者のみである。チフス菌carrierは2-3%、蔓延期の結核でも活動性を持続する患者の割合は高くない。慢性化には初

感染時の感染菌量や宿主の感受性、治療とも関係がある。疫学要因としては、結核では思春期の感染、宿主の栄養状態、生活条件などが関連し、腸チフスでは中高年で胆嚢炎、胆石などのある人はがんのリスクが高い報告がある。感染症慢性化には遺伝要因の関与も考えねばならない。

## 肝炎ウイルスによる肝細胞癌罹患とその修飾要因

田中恵太郎

(佐賀医科大学医学部・社会医学講座・教授)



### 1. わが国における肝癌と肝炎ウイルス感染

我々は、肝炎ウイルス感染から肝発癌へ至る危険因子の解明と佐賀県における肝癌対策の支援および評価という二つの観点から研究を進めている。肝癌死亡率は西高東低のパターンを示し、特に北部九州には高率の地域が集中している。肝癌死亡率と抗C型肝炎ウイルス(HCV)抗体陽性率に高い相関が観察されており、HCVの感染率の違いが肝癌地域差の原因となっている事が推測される。我々が福岡県において行った症例対照研究では、肝癌群における第二世代抗HCV抗体陽性率は78%・HBs抗原陽性率が21%であったのに対して、対照群(検診受診者)では抗HCV抗体陽性率7%・HBs抗原陽性率2%であった<sup>1)</sup>。両マーカー陰性者を基準とした場合の肝癌の相対危険は、HCV感染340倍、B型肝炎ウイルス(HBV)感染294倍と極めて高い値となった<sup>2)</sup>。また、肝硬変患者96名を追跡した結果、1年間あたりの肝癌罹患率は抗HCV抗体陽性者が約8%、HBs抗原陽性者が約6%、両マーカー陰性者が約2%であり、抗HCV抗体陽性者に最も高率であった<sup>3)</sup>。肝癌の予防を

考える上では、肝硬変に至る以前に何らかの予防対策を講じる事が重要である。

肝炎ウイルス側の要因としてHCV遺伝子型(1b、2a、2b)との関連を症例対照研究(肝癌患者と検診受診者の比較)により検討した結果、HCV 1b型の肝癌リスクが2a型に比べて、3.8倍上昇していた<sup>4)</sup>。しかし、肝硬変患者を追跡した結果ではHCV遺伝子型による肝癌罹患率の差は見られず<sup>5)</sup>、HCV 1bが肝硬変成立以前の比較的早期の肝疾患進展へ影響を与える可能性が示唆された。また肝硬変患者でHCV 1b感染者を血中HCV-RNA量別に分けて追跡すると、HCV-RNA量が1Meq/ml以上の者において肝癌罹患率が高い傾向を認めた<sup>6)</sup>。

### 2. 肝炎ウイルスによる肝発癌のメカニズム

肝炎ウイルスが直接肝発癌に関与しているとする立場と肝炎ウイルス感染によって引き起こされる肝臓での炎症を重視する立場がある。前者のウイルス発癌の立場では、HBV由来のX蛋白、HCV由来のコア蛋白が癌化へ直接関与している可能性が追求されている。後者の炎症を重視する立場では、肝炎ウイルス感染によって肝細胞の破壊と再生・増殖が繰り返される事により、複数の重要な遺伝子変異(がん遺伝子の活性化、がん抑制遺伝子の不活化など)が一つの細胞に蓄積する確率が飛躍的に高まる事が考えられている。我々のデータでは、血清GPTが正常値に近い肝硬変患者では肝癌罹患率が極めて低く、炎症の重要性が示唆された<sup>7)</sup>。炎症に基づく高癌化状態に、変異の原因として肝炎ウイルス、炎症産物(活性酸素・NOなど)、環境要因(飲酒・喫煙など)と宿主要因(薬物代謝酵素など)が相互的に作用して肝癌に至る可能性を考えている。

### 3. 修飾要因としての環境要因(飲酒・コーヒー飲用)と宿主要因(チトクロームP450 2E1・性ホルモン)

肝炎ウイルス以外の環境要因として従来から飲酒が検討されてきた。我々の成績では、多量飲酒者(3合10年以上)において約2倍の相対危険の上昇が観察された<sup>8)</sup>。飲酒による肝癌リスク上昇には個体差がある可能性があり、一例として、近年チトクロームP450 2E1(CYP2E1)遺伝子多型との関連が検討されてきた。CYP2E1はエタノール摂取によって誘導が起こり、ニトロソアミンなどの発癌物質の代謝活性化に関与している。現在進行中の症例対照研究(肝癌

# NEWS LETTER

患者41名、対照者104名)において、5'-flanking領域のRsa I多型との関連を予備的に解析した結果(図1)、c1/c2あるいはc2/c2型の者においては多飲歴(3合10年以上)のリスク上昇は見られなかったが、c1/c1型の者においては多飲歴による顕著なリスク上昇が観察された。この様に環境要因と遺伝要因との交互作用は肝臓についても今後検討する価値があると考えている。

環境要因として、我々はコーヒー飲用にも注目している。コーヒー飲用が肝機能検査値の低下・肝硬変罹患率の減少と関連している事が多くの疫学的研究から報告されている。我々が職場検診受診者12,687名を対象として行った横断的研究では、コーヒー飲用は血清 $\gamma$ -GTPの低下と強く関連しており、この負の関連は特に男性飲酒者において明瞭であった<sup>4)</sup>。また現在進行中の症例対照研究において肝臓との関連を予備的に検討すると、コーヒー飲用者のリスク減少傾向が観察された。

この他に、我々が宿主要因として検討してきたものに性ホルモンがある。肝臓は男性に高率であり、この性差に性ホルモンが関与している可能性がある。男性肝硬変患者46名を追跡した結果では、血清テストステロン(T)とエストラジオール(E2)の比(T/E2)が、その後の肝臓罹患と強く関連していた(図2)<sup>5)</sup>。すなわち人肝発癌においてテストステロンが促進的に、エストラジオールが抑制的に働く可能性が示唆された。

## 4. 佐賀県における肝疾患対策

佐賀県においては肝臓・肝疾患が高率である事から、全国に先駆けて行政レベルでの対策が講じられてきた。特に1993年度からは住民検診に抗HCV抗体検査が導入され、2000年度までに30歳以上の県民の約3分の1にあたる195,518人が受診し、その内14,887人(7.6%)が陽性と判定され、保健指導・医療機関への受診勧奨が行われてきた。この抗HCV抗体スクリーニングが現実に肝臓対策に貢献しているかどうか、を評価する事は重要である。佐賀県の肝臓罹患率は1993年前後から低下傾向にある様に見えるが、肝臓死亡率については2000年までのデータで低下傾向は見られていない。今後の課題として、受診率(特に職域)、抗HCV抗体陽性者の受療行動(精査をきちんと受けているかどうか?)、医療機関での対応(適切な診断と治療を行っているか?)などの点について評価を行い、行政・関連医療機関と

連携を保ちながら対策を推進する必要がある。

## 参考文献

- 1) Tanaka K, et al: Hepatitis C virus infection and risk of hepatocellular carcinoma among Japanese: possible role of type 1b (II) infection. *J Natl Cancer Inst* 88:742-746, 1996
- 2) Tanaka K, et al: A long-term follow-up study on risk factors for hepatocellular carcinoma among Japanese patients with liver cirrhosis. *Jpn J Cancer Res* 89:1241-1250, 1998
- 3) Tanaka K, et al: Hepatitis B virus, cigarette

smoking and alcohol consumption in the development of hepatocellular carcinoma: a case-control study in Fukuoka, Japan. *Int J Cancer* 51:509-514, 1992

4) Tanaka K, et al: Coffee consumption and decreased serum gamma-glutamyltransferase and aminotransferase activities among male alcohol drinkers. *Int J Epidemiol* 27:438-443, 1998

5) Tanaka K, et al: Serum testosterone:estradiol ratio and the development of hepatocellular carcinoma among male cirrhotic patients. *Cancer Res* 60:5106-5110, 2000

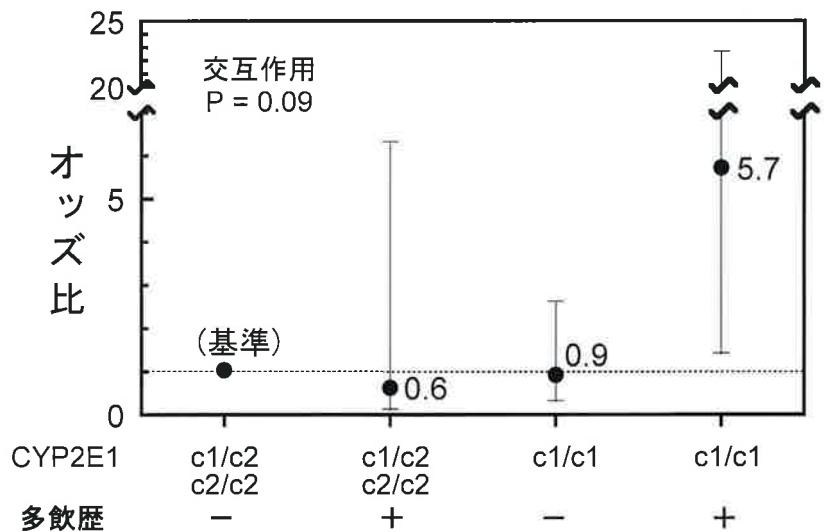


図1. CYP2E1 Rsa I多型と多飲歴(3合10年以上)の有無別の肝細胞癌のオッズ比と95%信頼区間

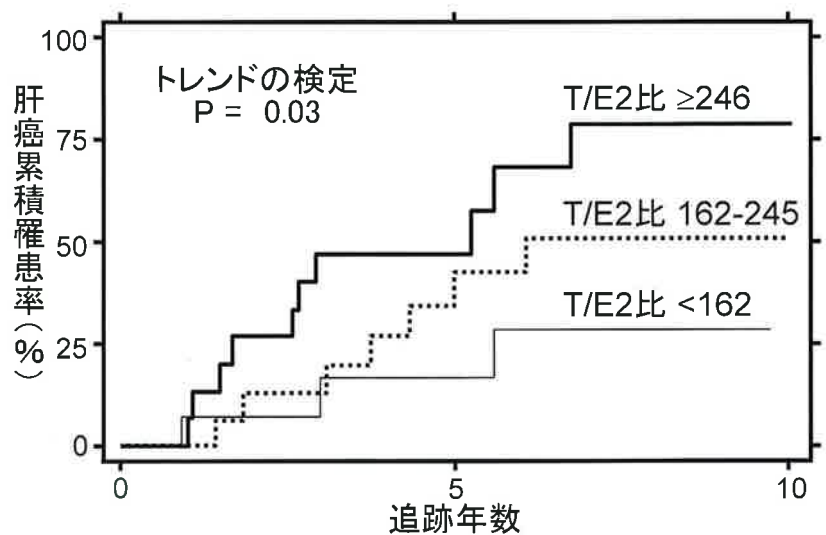


図2. 血清テストステロン(T)/エストラジール(E2)比別の男性肝硬変患者の肝細胞癌累積罹患率



## C型肝硬変症および慢性肝炎における抗炎症療法による肝がんへの進展予防

多羅尾和郎

(神奈川県立がんセンター 病院長)



**I. C型肝硬変症からの肝発癌予防を目的とした抗炎症療法の基礎的な背景**  
 発癌のメカニズムの一つに、持続炎症（慢性炎症）が発癌のtriggerになるという説がある。細胞の持続炎症壊死と、それに続く細胞の異常増殖が発癌を引き

起すことは古くから動物の皮膚創傷発癌などでよく知られている。その発癌機序は細胞の異常増殖による chromosomal instability, random mutation の率の増加、promotion の促進などが考えられている。

一方、炎症が癌細胞の promotion を促進する事に関しては、Vasilievらは、持続炎症を惹起するために組織中に polymer film を挿入し、その近傍に少数の肉腫細胞を接種すると、肉腫の増殖が急速に促進されることを初めて証明し、炎症などの宿主反応が肉腫細胞の増殖を促進すると推定した。浜田らもラットの組織に plastic plate を植え込み持続炎症を発生させ、そこにラット乳癌細胞中の悪性度の低い ERI 株を接種すると、宿主の炎症細胞により ERI 株が急速に悪性度の高い株に変化し、浸潤や転移を起こすことを発見した。

以上の文献的報告から、われわれはヒトのC型肝硬変症においても肝臓の持続的な炎症や肝細胞の炎症壊死が肝発癌の initiation、promotion を促進する可能性があると考え、C型肝硬変患者の血清 GPT 値（肝細胞壊死により血中に遊出する酵素）に着目して、各症例のGPTの年平均値が80単位未満であるか、以上であるかにより星取り表を作成し、肝発癌

率との関係を検討した。すなわち、肝生検にて肝硬変症と確診し、HCV抗体またはHCV-RNA陽性で、過度の飲酒歴がなく、生検診断後5年以上経過を観察し得たChild Aの肝硬変症（US、CTで微量の腹水を証明した極く少数のChild B症例を含む）91例のうち、生検後1年以内に肝癌が発生した3例と、5年以内に肝不全死した3例を除いた85症例を対象とし、全例3カ月に1回のUSと同じく3カ月に1回のMRIまたはCT検査を施行し、肝癌の早期発見に務めた。

図1はGPT年平均80単位以上が持続したGPT持続高値群（持続炎症高度群）32例からの肝癌発生状況を示したもので、上から27例（実に84.4%）が平均観察期間約8年で肝癌の発生をみ、これは年率10.6%となり high risk 群であった。しかも、この群では肝硬変症と診断されてから3～5年の早期に発癌する例が多かった。一方、図2にはGPT年平均値が80単位未満に持続してコントロールできたGPT持続低値群（持続炎症軽度群）38例での肝癌発生状況を示す。この群では平均観察期間約8年半で9例（23.7%）が発癌したにすぎず、これは年率2.8%となり super-low-risk 群であった。さらに、GPT持続高値群、持続低値群のどち

図1. GPT持続高値群（GPT年平均 $\geq 80$  IU）

Case	Age	Sex	Child's Classification	HCC Development	Initial serum ALT	Years														Therapy
						1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	
1	YA	61	M	A	★	263	●●●●★													A
2	MU	63	M	B	★	77	●●●○★													A+B
3	HK	65	M	A	★	245	●●★													B
4	KK	74	M	A	★	66	●●★													G
5	SS	57	M	A	★	288	●●★													A→B
6	AS	46	M	A	★	113	●●●★													A+B+C
7	YU	62	M	A	★	120	●●●★													A+C+D
8	YT	54	M	A	★	72	●●●●★													A+B
9	MN	59	M	A	★	168	●●●●●●●●★													G
10	KF	57	M	A	★	36	●●○★													B
11	KY	69	M	A	★	110	●●★													B
12	YH	56	M	A	★	190	●●●●●●●●★													A+B+C
13	KI	63	M	A	★★	118	●●●●●★													A+B+C
14	KK	66	M	A	★	86	●●●●★													B
15	TM	60	M	A	★	185	●●●●●★													A+B+C
16	KS	51	M	A	★	466	●●●●●●●●●●★													A+etc
17	IS	58	M	A	★	193	●●●●★													A+C
18	TI	60	M	A	★★	264	●●●●●○●★													A+B+C
19	FH	59	F	A	★★	292	●●●●●●●★													A+B
20	KH	73	F	A	★	90	●●●●★													G
21	SS	62	F	A	★★	108	●●●●●●★													A
22	MM	58	F	A	★	244	●●★													A+C
23	TS	66	F	A	★	204	●●●★													A+C
24	MM	62	F	B	★	230	●●●●●○●★													A+B+C
25	YW	53	F	A	★	133	●●●●●○●★													A+C
26	FO	63	F	A	★	202	●●●●●★													A+C+D
27	KK	50	F	A	★	100	●●●●○●●●●●○●●●★													A+C
28	YY	56	M	A		144	●●●●●○●○													B+C
29	MH	50	M	A		138	●●●●●													A
30	YS	57	F	A		112	●●●●●●●●●●													A+B+C
31	EN	60	F	A		111	●●●●●●○●													A+B+E
32	IH	65	F	B		165	●●●●●○●○●○													B→

★HCC developing case  
 ☆AH developing case

図2. GPT持続低値群（GPT年平均<80 IU）

Case	Age	Sex	Child's Classification	HCC Development	Initial serum ALT	Years															Therapy	
						1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15		
1	TO	61	M	A	★	66	○○○●★														G	
2	KS	72	M	A	★	72	○○○★														G	
3	YI	62	M	B	★	37	○○○○○○○○○○○★														G	
4	TK	59	M	A	★	142	○○○○○○○○○○★														B	
5	HK	75	F	A	★	63	○○○○○○○○○○★														C	
6	KI	69	F	A	★	80	○○○○○○○○○○★														A+B+C	
7	SN	65	F	A	★	174	●○○○○○○○○○○★														A+E	
8	KN	65	F	A	★	82	○○○○○○○○○○★														D	
9	KA	70	F	A	★	72	●●○○○○○○○○○★														B+C	
10	HK	61	M	A		329	●○○○○○														A+C	
11	KO	65	M	A		137	●○○○●														A+C+D	
12	NY	59	M	A		66	○○○○○○○○○○○○○○○○○														A	
13	MS	68	M	A		138	○○●●○○○○○○○														A	
14	KO	66	M	A		53	○○○○○														A	
15	MS	57	M	A		88	○○○○○○○○○○○														A+B+C	
16	TU	43	M	A		146	●○○○○○														A+B+C	
17	KK	56	M	B		175	●○○○○○○○														A+E	
18	MY	63	M	A		60	○○○○●●●														B	
19	MF	66	M	A		55	○○○○○														C	
20	YK	65	F	A		59	○○○○○○○○○○○○○○○○○○○														A	
21	HK	60	F	A		58	○○○○○														D	
22	HS	66	F	A		88	○○○○○														F	
23	NS	62	F	A		16	○○○○○○○○○														G	
24	HA	60	F	B		260	○○○○○○○○○○○														G	
25	KA	54	F	A		140	●○○○○														A+B+C	
26	RN	61	F	B		74	○○○○○○○○○○○														G	
27	KM	59	F	B		71	○○○○○														D	
28	TM	64	F	A		62	○○○○○○○○○○○														A+E	
29	TY	63	F	A		92	○○●○○○															B
30	KA	53	F	A		35	○○○○○														A+B+C	
31	YH	71	F	A		103	○○○○○														B	
32	MK	59	F	A		62	○○○○○														C	
33	TN	52	F	A		52	○○○●														A+C	
34	FS	55	F	A		103	○○○○○														B+C	
35	HH	66	F	A		140	●○○○○														A+C	
36	GN	66	F	A		124	●○○○○○○○○○														C	
37	NI	43	F	A		241	○○○○○														A	
38	YY	55	F	A		139	●●○○○○														A+C+D	

★HCC developing case  
 ☆AH developing case

# NEWS LETTER

らとも言えない判別不能群15例からは平均観察期間約8年で8例(53.3%)が発癌し、年率6.7%となり前2群の中間値であった。図3はGPT持続高値群と持続低値群の肝発癌率を棒グラフに示したもので両群間に $p < 0.005$ で有意差を認めた。

## II. C型の肝硬変症および慢性肝炎における肝発癌予防を目的とした抗炎症療法の実際(多剤併用療法を中心として)

### 1. C型肝炎硬変症に対する抗炎症療法の実際

前述のごとく肝細胞の持続炎症壊死は肝癌発生のtriggerまたはpromoterとなり、一方、これを抑えると肝発癌の抑制(予防)につながる事が、われわれの研究により判明した。われわれは、このような傾向に以前より気づき、C型肝炎硬変症からの肝発癌を極力抑えるために、C型肝炎硬変患者の肝細胞の炎症壊死をできる限り抑えるべく、1989年以來prospectiveにGPT年平均80単位未満を目指して、図4のようなstrategyで治療してきた。即ち、先ず、UDCA、小柴胡湯、強力ネオミノファーゲンC(SNMC)、十全大補湯の1剤で先ず治療し、1剤のみでは80単位未満には抑えられそうもない場合には2剤併用(小柴胡湯+UDCA、UDCA+SNMC等)で治療し、2剤併用でも80単位未満に抑えられそうにない場合には3剤併用(SNMC+UDCA+小柴胡湯、SNMC+UDCA+十全大補湯等)で治療する療法である(各治療法の試行期間は約2カ月間であり、SNMCの注射は週3回までとしている)。表1には上記strategyにて現在までに5年以上治療できたC型肝炎硬変症77例からの初回肝生検後5年間の肝癌発生率を示し、Totalでは5年間で77例中14例(18.2%)が発癌しており、これは年率3.6%となり、一般に言われているC型肝炎硬変症からの肝発癌率、年率7%の約半分と低率であった。

### 2. C型慢性肝炎に対する抗炎症療法の実際

われわれはインターフェロン非投与、またはインターフェロン無効なC型慢性肝炎70例に対して、C型肝炎硬変症と同様に上記strategyを施行してきた。平均観察期間は $6.1 \pm 2.8$ 年であったが、全体の70症例中40例(57.1%)でGPT値は平均80単位未満に抑えられ、6.1年間に肝癌が発生した症例は3例(4.3%)にすぎず、年率0.70%となり、これも一般に言われているC型慢性肝炎からの肝発癌

率、年率1.5%の約1/2と低率であった。

### III. まとめ

われわれの長年にわたる臨床観察により、GPT持続低値群(GPT年平均値80単位未満持続群)では、肝発癌率が年率2.8%と低く、肝発癌のsuper-low-risk群となることが判明し、このEvidenceに基づき、われわれは1989年以來、一般に使用されている肝炎治療薬である、SNMC、UDCA、小柴胡湯、十全大補湯等を用い、それらの2剤、3剤の併用療法をも含めた強力な抗炎症療法を、GPT年平均値80単位未満を目標として施行した。その結果、C型肝炎硬変

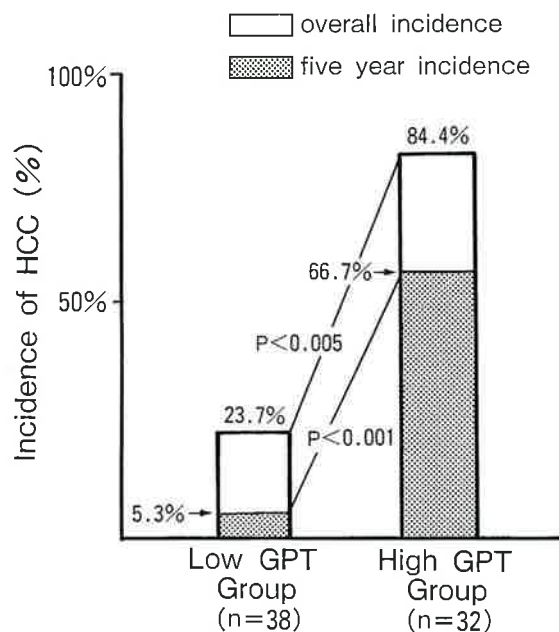


図3. Tarao K. et al, Cancer 86:589, 1999

図4. Efforts to maintain average serum ALT (GPT) level below 80 INU was performed since 1989

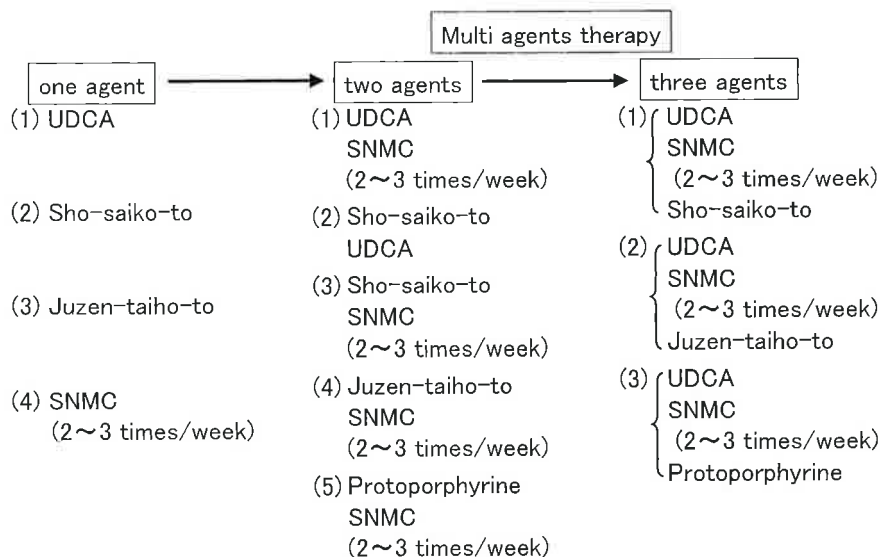


表1. C型肝炎硬変症(Child A)におけるGPT年平均80単位未満を目標とした多剤併用療法下での5年間の肝発癌

Low GPT group	2 / 4 0 ( 5.0%)
High GPT group	9 / 2 3 (39.1%)
Unclassified group	3 / 1 4 (21.4%)
<b>Total</b>	<b>1 4 / 7 7 (18.2%) → 3.6%/year</b>

症、C型慢性肝炎共に肝発癌率が一般に言われている肝発癌率の約1/2と著しく低下した。これにより、われわれの行ってきた一般の肝庇護剤による抗炎症療法が肝発癌予防に有効であることが判明した。

## 感染・炎症反応生成物によるDNA損傷

大島 寛史

(WHO 国際がん研究機関

内因性発癌リスク要因部門、リヨン、フランス)



国際がん研究機関がおこなった最近の推算によると、西暦2000年には、地

球上で、約1000万の人が新しくがん患者と診断され、600万人ががんで亡くなり、2200万人ががんと共に生活している。この新しくがんと診断された1000万人のうち、約18% (およそ180万人) が、ウイルス、細菌、寄生虫などの感染が原因で発癌したと推算されている。喫煙 (約30%)、食事と栄養 (約30%) に次ぐ第3の原因である。例として、肝炎ウイルスBやCと肝臓癌、Helicobacter pylori 菌と胃がん、などをあげることができる。これらの場合、肝炎・肝硬変や萎縮性胃炎などの慢性炎症を経てがん化して行く。感染の他に、アスベストなどの環境由来物質への暴露で起こる炎症や、原因が明らかでない慢性大腸炎や膵炎などを含めると、ヒトのがんの多くで、慢性炎症が関係していることになる。

炎症は、感染あるいは外来物質により組織傷害を受けた部位で、有害物および傷害を受けた細胞を除去し、組織の再生・修復を行おうとする生体の正常な生理反応である。急性炎症の場合、傷害部位には、主として好中球、マクロファージが遊走・浸潤し、一方、慢性炎症では、マクロファージ、リンパ球、形質細胞の浸潤が見られる。病原菌によっては、好酸球、好塩基球、などが遊出して来る場合もある。これらの炎症細胞は、

傷害部位に滲出・生成したサイトカインなどにより活性化され、様々な酵素を活性化したりあるいは誘導する (図-1)。この酵素には、スーパーオキシド ( $O_2^-$ ) を生成するNADPHオキシダーゼ (NOX)、一酸化窒素 (NO) を生成する誘導型NO合成酵素 (iNOS)、過酸化水素 ( $H_2O_2$ ) と塩化物イオン ( $Cl^-$ ) から次亜塩素酸 (HOCl) を作るミエロパーオキシダーゼ (MPO) などがある。また、寄生虫感染やアレルギー反応で活性化される好酸球はエオジノフィルパーオキシダーゼ (EPO) を産生するが、この酵素は  $H_2O_2$  と臭素物イオン ( $Br^-$ ) から、次亜臭素酸 (HOBr) を生成する。

最近、これらの活性種がお互いに反応し合い、さらに強烈な反応性を持つ化合物ができることが解かってきた。例えば、一酸化窒素 (NO) とスーパーオキシド ( $O_2^-$ ) は、ラジカル-ラジカル反応でパーオキシナイトライト ( $ONOO^-$ ) という酸化およびニトロ化能を持つ化合物を生成する。また、HOCl は、 $H_2O_2$ 、 $O_2^-$ 、亜硝酸とそれぞれ反応して、一重項酸素 ( $^1O_2$ )、ヒドロキシル・ラジカル ( $HO\cdot$ )、塩化ニトリル ( $NO_2Cl$ ) などを生成する (図-1)。このような酸化剤は、反応性が高く、酸化、ニトロ化、塩素化、あるいは臭素化反応により、外敵物質を攻撃する。損傷を受

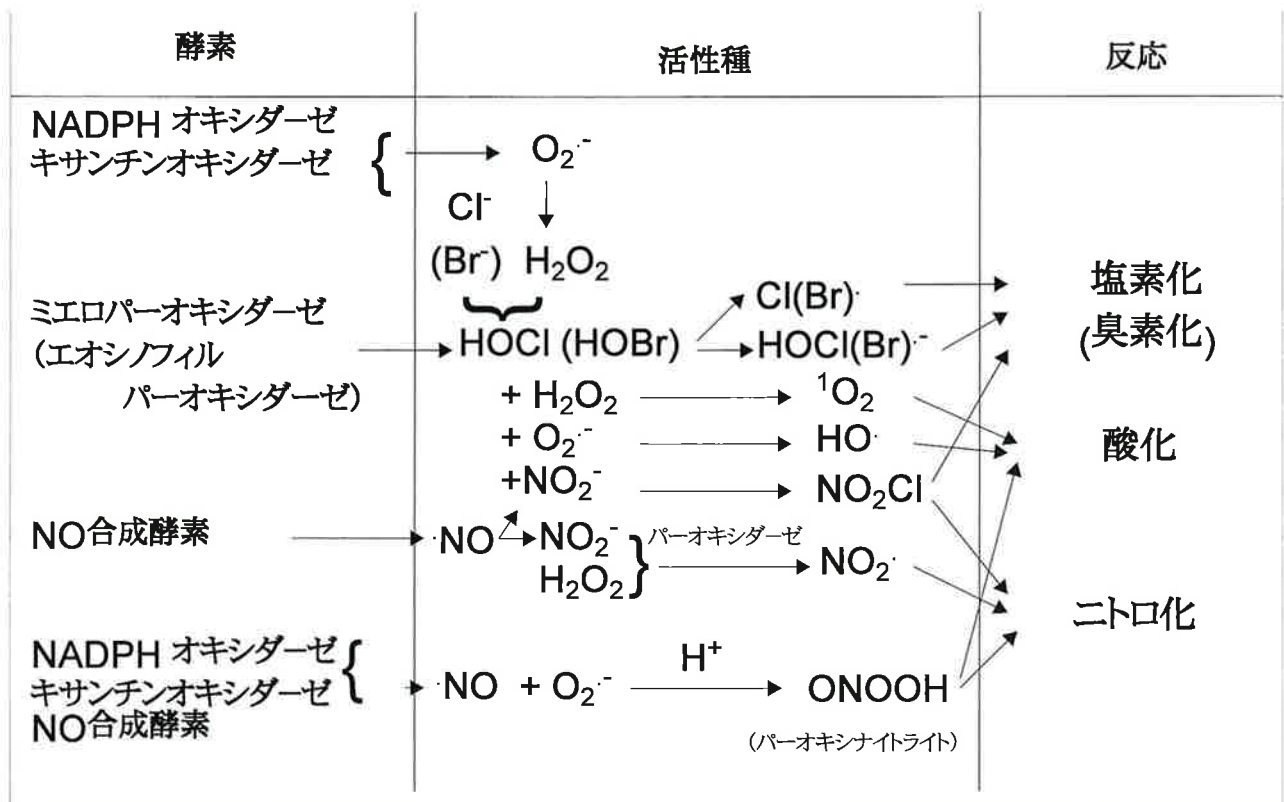
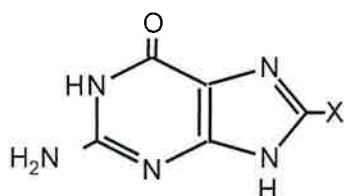


図-1. 炎症細胞の酵素による酸化剤の生成



## A. 酸化、ニトロ化、塩素化(臭素化)反応によるグアニンの修飾

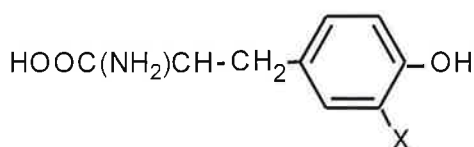
Guanine in DNA/RNA



X: H	Guanine
OH	8-Hydroxyguanine
NO <sub>2</sub>	8-Nitroguanine
Cl	8-Chloroguanine
Br	8-Bromoguanine

## B. 酸化、ニトロ化、塩素化(臭素化)反応による蛋白質中のチロシン残基の修飾

*p*-Tyrosine in proteins



X: H	<i>p</i> -Tyrosine
NO <sub>2</sub>	3-Nitrotyrosine
Cl	3-Chlorotyrosine
Br	3-Bromotyrosine
Tyrosine	3,3'-Dityrosine

図一2. 炎症細胞の作る酸化剤による蛋白質・核酸の修飾

けた外敵物質あるいは自己の細胞・組織は炎症細胞によりさらに貪食されて除去され、その後組織の再生・修復が行われる。しかし、感染・外敵物質が除去されない場合や、炎症がうまく制御されない場合には、炎症が慢性化する。このような条件下では、炎症細胞は活性酸素・窒素酸化物を慢性的に、しかも過剰に生成する。しかし、これらの化合物には、標的に対する特異性が無いので、外敵物質だけでなく周辺の正常な細胞や組織とも反応し、慢性炎症でよく見られる組織傷害の原因となる。すでに、培養細胞を使った様々な系で、炎症細胞の作る酸化剤が突然変異を高めたり、細胞をトランスフォームしたりすること、およ

び、動物を使ったモデル実験においても、慢性炎症が突然変異や発癌リスクを高めることが報告されている。

感染・炎症とヒトの発がんとの関連を調べる上で重要な要素として、(1) 炎症の引き金となる感染症・外敵物質への暴露、(2) サイトカインなどによる炎症細胞の活性化、(3) 活性酸素・窒素酸化物の生成酵素 (NOX, iNOS, MPO, EPO など) の誘導・活性化、(4) 活性種に対する防御・消去酵素 (SOD, カタラーゼなど) の誘導・活性化、(5) 食事由来の抗酸化物質の存在、(6) 傷害を受けたDNA・組織の修復、などを挙げることができる。このうち、(2) (3) (4) (6) は、遺伝により制御されているので、個人の遺伝多型などの要素も絡んでくる。(1) および (5) は、生活習慣、環境由来の要素である。

私どもの研究室では、この慢性炎症による組織傷害と発癌リスクの関係を調べるために、炎症細胞が作る様々な酸化剤と蛋白質あるいはDNAとの反応について検討し、いくつかの新しい修飾物を報告してきた (図2)。例えば、蛋白質中のチロシンは、ニトロ化、塩素化、臭素化され、それぞれの付加物を生成する。同様に、DNAあるいはRNA中のグアニンは、ニトロ化、塩素化、臭素化されて8位に付加物を生成する。これに、従来、酸化的傷害の指標として測定されているジチロシンや蛋白質中のカルボニル基、DNA中の8-オキシグアニンを組み

合わせると、炎症細胞の作る様々な活性酸素・窒素酸化物・ハロゲン化合物による組織・DNA障害の程度を測定することができる。これらを指標にして、感染・炎症の有無、生活習慣 (例えば、喫煙、野菜・果物の摂取など)、活性酸素・窒素酸化物の生成酵素およびその消去酵素の遺伝多型とDNAや組織傷害の関連などを調べることができる。

すでに、アスピリンなどの非ステロイド系の抗炎症剤がある種の発がん予防に効果のあることが報告されているが、この効果がシクロオキシゲナーゼ系のみを阻害して起こるのか、その他の炎症に関連した系をも阻害しているのか明らかでない。従って、iNOS, MPOなど炎症に関わる様々な酵素の誘導・活性・反応を阻害する薬剤や、特に慢性炎症で生成される酸化剤に特異的に働く捕獲剤などが、がん予防に有効かどうかを調べる研究が必要である。このような新規抗炎症剤を使った動物実験やヒトでの介入研究において、上記のバイオマーカーは介入効果を予測する指標として測定することができる。高発がんリスクであり、前がん病変の一種と考えられる慢性炎症を治療して、がん化を予防する研究の更なる発展を期待したい。

### 投稿歓迎

会員の皆様からの投稿を歓迎致します。化学予防に限らず免疫、栄養、素因、喫煙、病理などがんの予防に関わる広い分野の寄稿を歓迎致します。また、会員の皆様にお知らせ致したい研究会等の案内がございましたら事務局 (TEL:011-241-4550、FAX:011-222-1526) までお知らせいただければと存じます。

## NO誘発性損傷塩基8-ニトログアニンの生体内生成と8-ニトログアノシンによる酸化ストレス増強作用

澤 智裕

(熊本大・医・微生物、WHO国際がん研究機関  
内因性発癌リスク要因部門、リヨン、フランス)



### はじめに

細菌、ウイルスなどの慢性感染、潰瘍性大腸炎などの炎症性疾患、アスベストなどの長期的な暴露などは、いずれも持続的な炎症状態をもたらし、発がんのリスクファクターとなることが分かってきた<sup>1)</sup>。炎症病態においては、炎症細胞に由来するいわゆる活性酸素 (ROS) や活性酸化窒素種 (RNS) などの過剰な生成が起こり、これら活性種による組織損傷や遺伝子損傷が発がん過程で重要な役割を演じていると考えられている。

ROSやRNSは、生体分子に可逆的あるいは非可逆的に様々な化学修飾をもたらす。その結果、その生体分子あるいはそれを含む高分子成分 (タンパク質やDNAなど) の機能を失活・変化させる。なかでも、核酸成分の化学修飾は、その遺伝子変異作用との関連から注目されている。8-ニトログアニン (以下ニトログアニン) は、RNSであるパーオキシナイトライト (ONOO<sup>-</sup>) によるグアニン塩基の修飾体として Ohshima らにより報告された<sup>2)</sup>。その後、ニトログアニンは、好中球由来のミエロパーオキシダーゼの触媒による過酸化水素と亜硝酸イオンとの反応からも生成することが明らかになり<sup>3)</sup>、炎症反応における新しい損傷塩基として注目された (図1)。しかしながらこれまで、生体内にニトログアニンの生成を証明したものはなかった。また、生成したニトログアニンの生物学的効果についてはほとんど不明である。

### 8-ニトログアニンの生体内生成：抗体による検出

生体内におけるニトログアニンの生成を調べるために、ニトログアニンを特異的に認識する抗体を作成した。得られた抗体は、グアニンや他の塩基 (アデニン、シトシン、ウラシル、チミン)、さらに、8位に修飾を受けた他の塩基、例えば8-オキソグアニン、8-プロモグアニン、8-アミノグアニンなども反応せず、特異的にニトログアニンと反応することを確認した。

この抗体を用いて、各種培養細胞内のニトログアニン生成を検討した。すなわち、細胞から抽出したRNAを膜上に吸着させ、その上で抗体反応を行うスロットブロット法でニトログアニンを解析したところ、興味深いことに、調べた細胞 (マクロファージ系、上皮系など)、いずれにおいても有意なニトログアニ

ン生成のシグナルが見られた。この結果は、定常状態でグアニンのニトロ化が生じていることを示すものであるが、これがどのような機構により起こっているのかは現在のところ不明である。

一方我々はこれまでに、マウスインフルエンザ肺炎モデルでは、誘導型NO合成酵素 (iNOS)<sup>4)</sup> とキサンチンオキシダーゼおよびNADPHオキシダーゼの活性<sup>5)</sup> が亢進し、RNSのバイオマーカーであるニトロチロシンの生成が認められることを報告した。そこでこのモデルを用いて、ニトログアニンの生体内生成を検討した。

正常の肺組織においては、ニトログアニンの有意な染色像は見られなかったのに対し、ウイルス感染8日後の肺組織には、気管支上皮細胞を中心に顕著な染色像が認められた。さらに、連続組織切片を抗iNOS抗体で染色すると、ニトロ

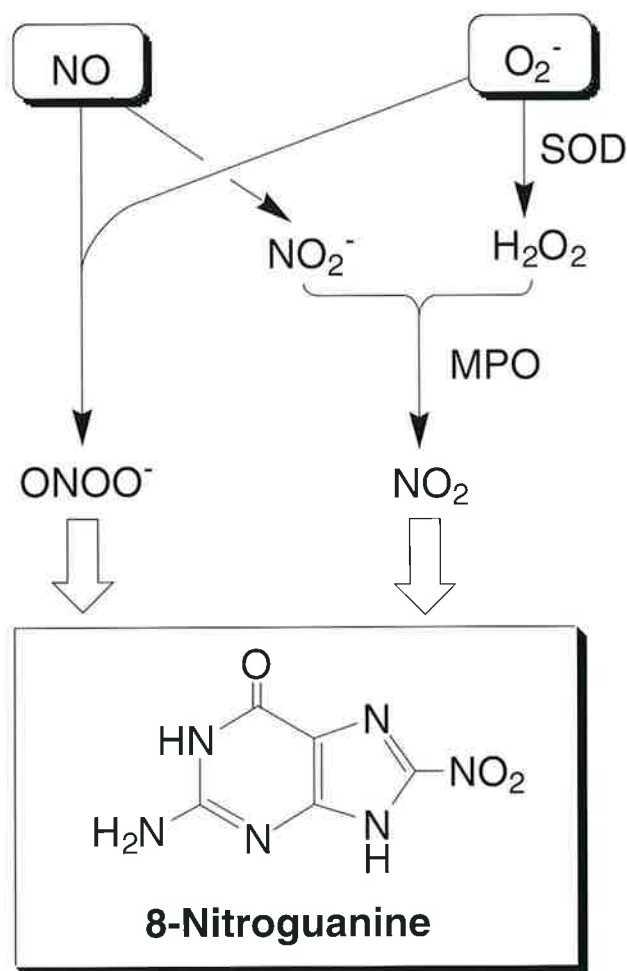


図1. 活性酸素、活性酸化窒素種によるグアニンのニトロ化機構

略語の説明：SOD、スーパーオキシドディスムターゼ；MPO、ミエロパーオキシダーゼ。



# NEWS LETTER

グアニンの局在はiNOSのそれと良く一致することから、iNOS由来のNOが生体内におけるグアニンニトロ化に重要であることが示された。この結果は、iNOSノックアウトマウスではニトログアニンの染色性が著減することからも支持される。以上の結果は、生体内におけるニトログアニン生成が起こっていること、特に炎症反応がそれを増強することを示すものであり、今後、他の炎症モデル、前がん病変、がん組織などにおけるニトログアニン生成の解析が望まれる。

## 8-ニトログアニシンのレドックス活性：還元酵素との共役によるスーパーオキシド産生

ニトログアニンは、強力な電子吸引基であるニトロ基が芳香族性のグアニン骨格に結合した、いわゆるニトロアレンと呼ばれる構造をしている。ある種のニ

トロアレンは還元酵素による活性化を受けた後、ROSであるスーパーオキシド ( $O_2^-$ ) を産生することが知られている<sup>6)</sup>。そこで我々は、ニトログアニンのレドックス活性、特に還元酵素との反応を解析した。

まず、代表的な還元酵素であるチトクロムP450還元酵素（以下P450Rd）とニトログアニシン（ニトログアニンのヌクレオシド体）との反応から生じる $O_2^-$ を電子スピン共鳴（ESR）法にて調べた。その結果、ニトログアニシンは、NADPHとP450Rdの存在下、顕著な $O_2^-$ を生成することが明らかとなった。この反応は、ニトログアニシンに特異的であり、他のグアニシン誘導体（グアニシン、8-アミノグアニシン、8-ブプロモグアニシンなど）では全く起こらなかった。

P450Rdとニトログアニシンの反応を、嫌気的な条件で行うと、ニトログアニシ

ンに由来すると考えられる比較的安定なラジカル分子のESRシグナルが観察された。ニトロ基の窒素原子を $^{15}N$ 同位体で置換したニトログアニシンを合成し、同じく嫌気下でESR測定を行った結果、ニトログアニシンはP450Rdにより1電子還元を受け、アニオンラジカル中間体を形成し、そのラジカル中間体が酸素へと電子を供与することで $O_2^-$ を生成することが示された。

さらに、分子内に還元酵素ドメインと酸化酵素ドメインを持ち、その還元酵素ドメインが、P450Rdと構造上及び機能上高いホモロジーを有しているNOSによるニトログアニシンの活性化を検討した。

その結果、NOSの3種のアイソフォーム（神経型 [nNOS]、内皮型 [eNOS]、iNOS）のヒト型組換え酵素が、ニトログアニシンとNADPH共存下で顕著な

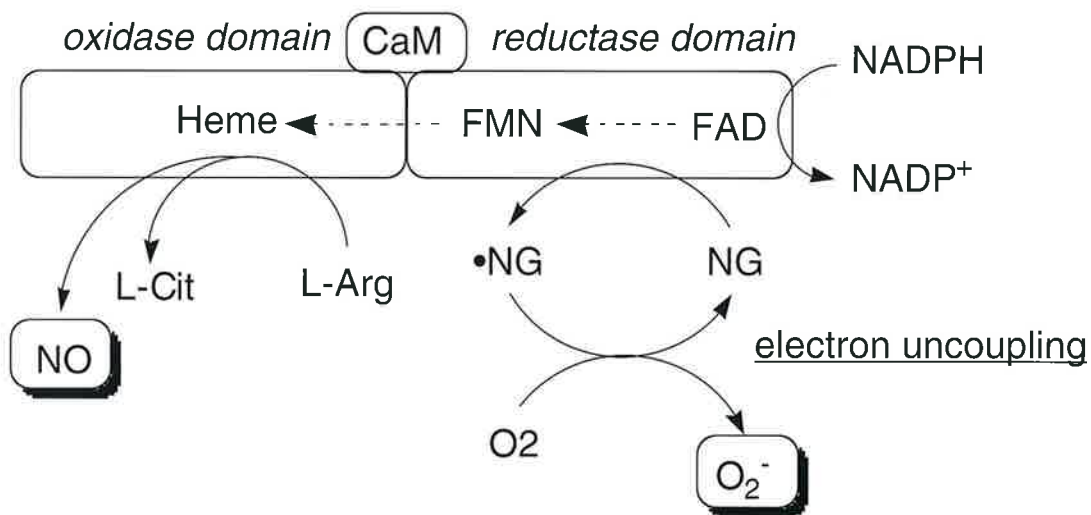


図2. 8-ニトログアニシンによるNO合成酵素のアンカップリング反応の促進とスーパーオキシド産生。  
略語の説明：CaM、カルモジュリン；NG、8-ニトログアニシン；•NG、ニトログアニシンラジカル。

### 会員名簿編集ご協力をお願い

次号NEWS LETTER No.35（平成15年3月1日発行予定）の別冊として「日本がん予防研究会会員名簿」を発刊すべく準備作業を進めています。現在事務局のほうに登録されていますデータを印字した文書を同封致しましたので、お名前・ご住所・ご所属等の確認をお願い致します。誤記、訂正、追加などありましたら来年1月15日（水）までに事務局（FAX：011-222-1526）までご連絡をお願い致します。なお、期日までにご連絡のない場合は現在の登録内容での記載になりますのでご了承下さい。

### 日本がん予防研究会開催予定

第10回日本がん予防研究会（代表世話人：細川真澄男 北海道医療大学看護福祉学部教授）は2003年6月24日（火）、25日（水）の2日間、北海道大学学術交流会館にて開催致します。次号NEWS LETTER No.35（2003年3月発行予定）にて詳細をお知らせ致します。