

[総説] 第2のアルコール代謝経路 Microsomal Ethanol-Oxidizing System (MEOS) とチトクローム P450 2E1 (CYP2E1)

野村 文夫

(2001年1月23日受理)

はじめに

習慣飲酒は肝炎ウイルスとともに、慢性肝障害の2大要因の一つである。わが国の肝硬変症例において、純粹にアルコールのみに起因する症例の占める割合は、10-15%程度とされている。しかし、これは主として大学病院などを対象にして得られた数字であり、200万人を越えると予想されるアルコール依存症の存在を考えると、医療機関を受診する機会がないアルコール性肝障害患者が多数潜在していると予想される。過度の飲酒は肝・膵障害をひきおこすばかりでなく、高血圧症、糖尿病、痛風などの common diseases の増悪因子

でもある。実際に、第一線の中規模病院における一般内科病棟の男性入院患者における問題飲酒者が27%にも及ぶとの報告もある[1]。したがって、現在、厚生労働省が進めている健康日本21においても飲酒を生活習慣としてとらえ、問題飲酒者を減らす方策が重要テーマの一つにあげられている。アルコール性肝障害の発症機序は多岐にわたるが、その多くがアルコール（本稿ではエタノールと同義語として用いる）の代謝と密接に関連する（図1）。本稿では肝臓のアルコール代謝について、とくに第2のエタノール代謝系としてその役割が注目されているミクロソームエタノール酸化系（Microsomal Ethanol-Oxidizing System, 以下

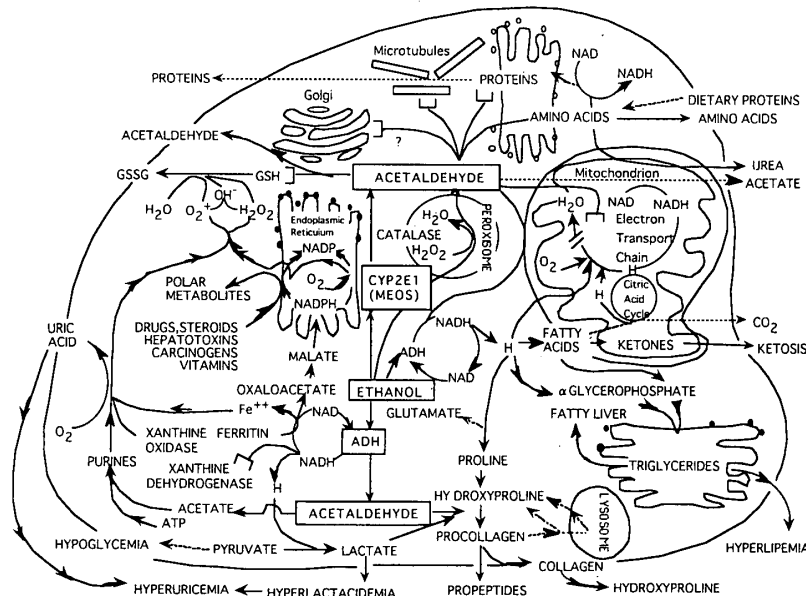


図1 肝のエタノール代謝とその結果ひきこされる中間代謝の障害

千葉大学大学院医学研究院分子病態解析学

Fumio Nomura: Microsomal Ethanol-Oxidizing System and CYP2E1

Department of Molecular Diagnosis, Graduate School of Medicine, Chiba University, Chiba 260-8670.

Accepted January 23, 2002.

MEOS) とその主要素であるチトクロームP450 2E1 (以下 CYP2E1) に焦点をあてて最近の知見を概説する。

1. ミクロソームエタノール酸化系の概略

経口摂取されたエタノールはその90% 以上が肝で代謝される。その代謝系としてはアルコール脱水素酵素が古くから知られているが、長期飲酒後に見られる滑面小胞体の増生に着目したLieberらはミクロソームに第2の、しかも長期飲酒後に誘導される代謝系を見出し、Microsomal Ethanol-Oxidizing System (以下 MEOS) と名付けた[2]。MEOSの本態については1970年代に多くの議論がなされたが、Ohnishiらの再構築実験の結果、チトクローム P-450 (CYP) が関与すること実証された[3]。

古くから知られるアルコール脱水素酵素 (ADH) を介する系と MEOS の相違点を表1にまとめた。細胞内局在の違いに加えて、エタノールに対する Km 値が MEOS が1オーダー高いこと、長期飲酒後に活性が増加することが特徴的である。

表1 アルコール脱水素酵素 (ADH) とミクロソームエタノール酸化系 (MEOS) の比較

| | ADH | MEOS (CYP2E1) |
|--------------|---------|-----------------------|
| Localization | cytosol | endoplasmic reticulum |
| Cofactor | NAD | NADPH |
| Km (ethanol) | 1 mM | 9 mM |
| Inducibility | - | + |

Lieber 研では1980年代に MEOS の生体内での役割に関する多くの研究が行われ、筆者もマントヒヒ (ヒトのアルコール性肝硬変と類似の病変が見られる唯一の実験動物) や ADH 欠損マウスを用いた検討により、MEOS の生体内での意義を示す実験データを得ることができた[4-6]。現在では MEOS は代表的な薬理学の教科書にも記載されるようになった[7]。その Km 値が ADH よりはるかに高いことから、血中エタノール濃度が高まるにしたがって MEOS は作働し始め、長期飲酒後には CYP の induction も加わり、エタノール代謝の50%以上を担うようになる[8]。したがって、常習飲酒家の多量飲酒時には MEOS がエタノール代謝において重要と考えられる。

2. MEOS の主成分としてのチトクローム P450 2E1 (CYP2E1)

肝臓の薬物代謝の主役である CYP は図2に示すように多くの分子種からなる。エタノール代謝能が最も大きいのは CYP2E1 であるが、この他 CYP1A2, CYP3A4 もエタノール代謝能を有し、ヒトのミクロソームにおけるこれら3種の CYP によるエタノール酸化能の比活性の比は 2:1:1 と報告されている[9]。

最近、CYP2E1 はエタノールのみならず第1代謝産物のアセトアルデヒドの酸化能も有することが指摘されたが[10]、エタノール存在下におけるその役割は小さいと考えられている。

また CYP2E1 は肝実質細胞だけでなく、Kupffer 細胞にも存在し、同細胞におけるエタノール

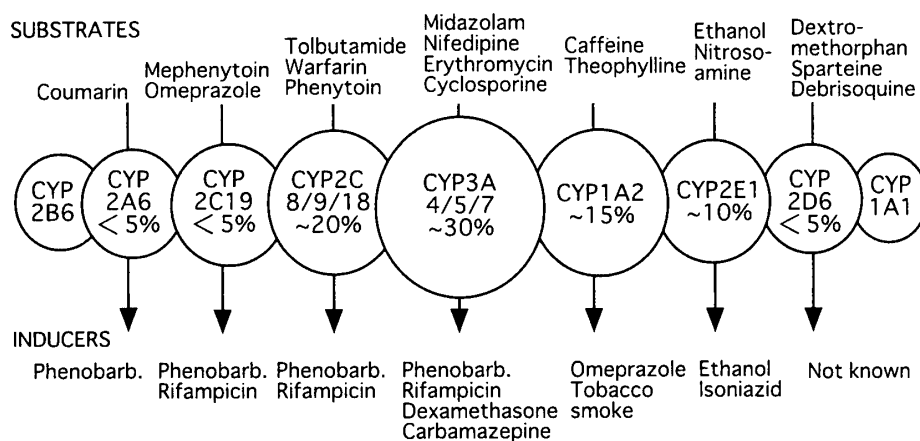


図2 ヒト肝におけるチトクローム P450 ファミリーとその主な基質および誘導物質

ル代謝に関与し、肝細胞の場合と同様に、長期飲酒後により誘導されることが報告されている[11]。

上述のように MEOS の特徴の 1 つは長期飲酒後にその活性が著明に増加することである。この活性増加の主因は CYP2E1 の induction であるが、その誘導の機序は単一ではない。実験動物や培養細胞系を用いた検討によると、エタノール濃度により異なる機序が働くと考えられる。すなわち、低濃度のエタノールに曝された場合は CYP2E1 蛋白の増加はその mRNA の増加を伴わず、翻訳後の機序、たとえば蛋白の安定化などが関与すると考えられているのに対し、高濃度の場合は mRNA の増加に引き続く変化とされている[12]。事実、常習飲酒家の肝においては CYP2E1 蛋白と mRNA が同時に増加している場合が多い[13]。ヒトにおける飲酒後の CYP2E1 mRNA の増加は肝細胞のみならず、末梢血単核球においても認められ、習慣飲酒のマーカーとしても利用しうる可能性が指摘されている[14,15]。

3. アルコールによる肝細胞障害と CYP2E1

ADH によるエタノール代謝の結果生じる NADH/NAD 比の増加の結果、 α -グリセロリン酸の産生増加、脂肪酸酸化の低下が起これる結果、肝細胞における脂肪沈着が引き起こされる。ADH あるいは MEOS により産生されたアセトアルデヒドはミトコンドリアにおいて酸化リン酸化などを阻害するほか[16]、その高い反応性故に、種々の蛋白において acetaldehyde adduct を形成し[17]、また myofibroblast などの線維産生細胞を活性化することにより肝の線維化を促進する[18]。

アルコール性肝障害の機序はきわめて多岐にわたり、エタノール代謝が直接関与しないものもある。重症のアルコール性肝障害では腸管粘膜における透過性の亢進と肝網内系機能障害による処理能の低下があいまって高エンドトキシン血症となり、Kupffer 細胞から放出される種々のサイトカインによる肝障害につながると考えられ、近年多数の知見が集積されている[19,20]。

一方、CYP2E1 の作用により産生される hydroxyethyl radical などのフリーラジカルも脂質の過酸化を介して肝障害に関与すると考えられている。

事実、CYP2E1 のモデル基質である chloro-zoxazone の酸化能より推測された CYP2E1 活性が大きいほどアルコール性肝障害の程度が強いことを示唆する臨床データが報告されている[21]。なお、MEOS を構成する複数種の CYP は多くの薬剤の代謝を担うことより、ここを接点としてアルコールと薬剤の相互作用、すなわち飲酒と同時の薬剤服用による薬効の増強、長期飲酒後の薬剤の肝毒性の増加など、が生じることになる。

4. CYP2E1 の遺伝子多型

ヒトの薬物代謝動態の個体差における遺伝的要因としてもっとも重要と考えられているのは、チトクローム P450 (CYP) の遺伝子多型である。その遺伝子多型については近年多くの知見が出され、内外の最近の総説[22-24]にまとめられている。まさに日進月歩の領域であり <http://www.imm.ki.se/CYPalleles/> で最新情報を参照できる。

ヒト肝における CYP2E1 の発現量には最大 50 倍にもおよぶ個体差があり[25]、その要因として環境要因に加え、遺伝的要因が重要と考えられる。また常習飲酒家や大酒家が一樣に臓器障害をおこすのではなく、その発症には大きな個人差があるが、この点も遺伝的に規定されている可能性が大きい。

CYP2E1 の遺伝子多型のうち疾患感受性との関連が多方面から検討されているのは 5' 末端非転写領域に連鎖して存在する 2 箇所の点突然変異によるものであり、Rsa I で切断される *c1* 遺伝子と切断されない *c2* 遺伝子による多型が存在する[26]。Tsutsumi ら[27]は *c2* 遺伝子の頻度がアルコール性肝障害において一般集団よりも高いと報告したのに対し、Maezawa ら[28]は *c1* 遺伝子をアルコール性肝硬変で高率にみとめており、Rsa I poly-morphism とアルコール性肝障害のリスクとの関連については一定の知見は得られていない。

最近、筆者ら[29]は CYP2E1 遺伝子 5' 末端約 2Kb 上流に存在する反復配列に注目し、その多型の有無について検討した結果、図 3 に示すような A1 から A4 の 4 つのアレルの組合せにより計 6 つの遺伝子型からなる新たな多型を見出した。

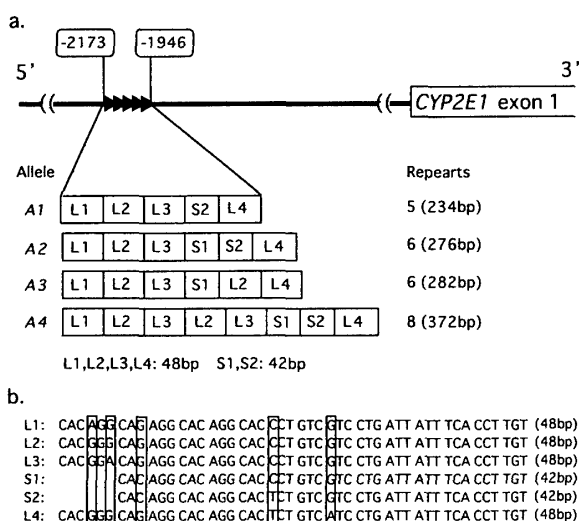


図3 CYP2E1 遺伝子 5' 上流における反復配列多型のシェーマ (a) とその配列 (b)

CYP2E1 はジメチルニトロサミンなど種々の発癌物質を代謝・活性化するので、この多型と発癌リスクの関連も想定される。そこで、本学先端応用外科学講座、胸部外科学講座との共同研究として、食道癌症例と本多型との association study を行った結果、食道癌症例では A4/A4 タイプが有意に高率であり (表 2)、この遺伝子型を持つことにより食道癌罹患のリスクが高まることが示された [30]。現在、この反復配列領域の各遺伝子型と CYP2E1 の機能との関連を検討している。

おわりに

第2のエタノール代謝系として知られる MEOS

表2 食道癌, 肺癌患者における CYP2E1 反復配列多型の頻度

| Groups | A2/A2 | A2/A3 | A2/A4 | A3/A4 | A4/A4 | Allele frequencies |
|-----------------------------|----------------|-------------|---------------|-----------|-------------|--|
| Controls (n=192) | 104 (54.2%) | 6 (3.1%) | 75 (%) | 2 (%) | 5 (%) | A2 : 0.752 A3 : 0.021 A4 : 0.227 |
| Lung cancer (n=85) | 45 (52.9%) | 2 (2.4%) | 32 (37.6%) | 0 (0%) | 6 (7.1%) | A2 : 0.729 A3 : 0.012 A4 : 0.259 |
| Esophageal cancer (n=82) | 41 (50.0%) | 6 (1.2%) | 32 (39.0%) | 0 (0%) | 8 (9.8%) | A2 : 0.701 A3 : 0.006 A4 : 0.293 |

A4/A4 vs. without A4/A4 (Fisher's exact probability)

1) Control vs. Lung cancer: $P=0.098$ (O.R.=2.8),

2) Control vs. Esophageal cancer: $P=0.024$ (O.R.=4.0).

の概略と MEOS を構成する CYP2E1 についての最近の知見を紹介した。

はじめにのべたように、MEOS は血中エタノール濃度が一定レベルを越えると作働し始め、長期に過度の飲酒を続けると酵素誘導によりその活性が高まる。言い換えると、MEOS の関与が大きい程、その飲酒は望ましくないと言える。飲酒家はその飲酒量を正確に申告しないことは古今東西変わらない。患者のことは疑ってかかるのは好ましくないが、現在用いられている γ -GTP などよりも感度・特異度が優れ、飲酒量をより正確に反映するマーカーが求められる。最近導入された protein chip technology による蛋白発現比較解析はそのための有力な武器と思われる。

文 献

- 1) 角田透. 潜在するアルコール関連問題者数の推定について, 河野裕明 (編), 我が国のアルコール問題の現状, 東京: 厚健出版, 1993: 43-53.
- 2) Lieber CS, DeCarli LM. Hepatic microsomal ethanol-oxidizing system: In vitro characteristics and adaptive properties in vivo. *J Biol Chem* 1970; 245: 2505-12.
- 3) Ohnishi K, Lieber CS. Reconstitution of the microsomal ethanol-oxidizing system: Qualitative and quantitative changes of cytochrome P-450 after chronic ethanol consumption. *J Biol Chem* 1977; 252: 7124-31.
- 4) Nomura F, Leo MA, Iida S, Felder MR, Lieber CS. Alcohol metabolism by the microsomal ethanol-oxidizing system (MEOS) in deermice lacking alcohol dehydrogenase. *Hepatology* 1982; 2: 165.

- 5) Nomura F, Pikkarainen PH, Jauhonen P, Arai M, Gordon ER, Baraona E, Lieber CS. Effect of ethanol administration on the metabolism of ethanol in baboons. *J Pharmacol Exp Ther* 1983; 227: 78-83.
- 6) Shigeta Y, Nomura F, Leo MA, Iida S, Felder MR, Lieber CS. Ethanol metabolism in vivo by the microsomal ethanol-oxidizing system in deermice lacking alcohol dehydrogenase (ADH). *Biochem Pharmacol* 1984; 33: 807-14.
- 7) Hardman JG, Limbird LE, Molinoff PB, Ruddon RW. Goodman & Gilman's The Pharmacological basis of therapeutics 9th Edition, McGraw-Hill, New York, 1996.
- 8) Alderman J, Takagi T, Lieber CS. Ethanol metabolizing pathways in deermice: Estimation of flux calculated from isotope effects. *J Biol Chem* 1987; 262: 7497-503.
- 9) Salmela KS, Kessova IG, Tsyroy IB, Lieber CS. Respective roles of human cytochrome P-4502E1, 1A2, 3A4 in the hepatic microsomal ethanol oxidizing system. *Alcohol Clin Exp Res* 1998; 22: 2125-32.
- 10) Kunitoh S, Imaoka S, Hiroi T, Yabusaki Y, Monna T, Funae Y. Acetaldehyde as well as ethanol is metabolized by human CYP2E1. *J Pharmacol Exp Ther* 1997; 280: 527-32.
- 11) Koivisto T, Mishin VM, Mak KM, Cohen PA, Lieber CS. Induction of cytochrome P-4502E1 by ethanol in rat Kupffer cells. *Alcoholism Clin Exp Res* 1996; 20: 207-12.
- 12) Ronis MJ, Huang J, Crouch J, Mercado C, Irby D, Valentine CR, Lumpkin CK, Ingelman-Sundberg M, Badger TM. Cytochrome P-450 CYP2E1 induction during chronic alcohol exposure occurs by a two-step mechanism associated with blood alcohol concentration in rats. *J Pharmacol Exp Ther* 1993; 264: 944-50.
- 13) Takahashi T, Lasker JM, Rosman AS, Lieber CS. Induction of cytochrome P-4502E1 in the human liver by ethanol is caused by a corresponding increase in encoding messenger RNA. *Hepatology* 1993; 17: 236-45.
- 14) Raucy JL, Curley G, Carpenter SP. The use of lymphocytes for assessing ethanol-mediated alterations in the expression of hepatic CYP2E1. *Alcoholism Clin Exp Res* 1995; 19: 1369-75.
- 15) Yano H, Tsutsumi M, Fukura M, Chen WB, Shimanaka K, Tsuchishima M, Takase S, Imaoka S, Funae Y. Study of cytochrome P4502E1 mRNA level of mononuclear cells in patients with alcoholic liver disease. *Alcoholism Clin Exp Res* 2001; 25: 2S-6S.
- 16) Cederbaum AI, Lieber CS, Rubin E. The effect of acetaldehyde on mitochondrial function. *Arch Biochem Biophys* 1974; 161: 26-39.
- 17) Nomura F, Lieber CS. Binding of acetaldehyde to rat liver microsomes: Enhancement after chronic alcohol consumption. *Biochem Biophys Res Commun* 1981; 100: 131-7.
- 18) Moshage H, Casini A, Lieber CS. Acetaldehyde selectively stimulates collagen production in cultured rat liver fat-storing cells but not in hepatocytes. *Hepatology* 1990; 12: 511-8.
- 19) Jarvelainen HA, Orpana AA, Perola M, Savolainen VT, Karhunen PJ, Lindros KO. Promoter polymorphism of the CD14 endotoxin receptor gene as a risk factor for alcoholic liver disease. *Hepatology* 2001; 33: 1148-53.
- 20) Uesugi T, Froh M, Arteel GE, Bradford BU, Gabele E, Wheeler MD, Thurman RG. Delivery of Ikappa B superrepressor gene with adenovirus reduces early alcohol-induced liver injury in rats. *Hepatology* 2001; 34: 1149-57.
- 21) Dupont L, Lucas D, Clot P, Menez C, Albano E. Cytochrome P4502E1 inducibility and hydroxyethyl radical formation among alcoholics. *J Hepatol* 1998; 28: 564-71.
- 22) 横井 毅. CYP の遺伝子多型と薬物代謝の個人差 遺伝子医学 2000; 5: 16-20.
- 23) Evans WE, Relling MV. Pharmacogenetics: Translating functional genomics into rational therapeutics. *Science* 1999; 286: 487-91.
- 24) Roses AD. Pharmacogenetics and the practice of medicine. *Nature* 2000; 405: 857-65.
- 25) Lucas D, Berthou F, Dreano Y, Lozach P, Volant A, Menez JF. Comparison of levels of cytochrome P-450, CYP1A2, CYP2E1, and related monooxygenase activities in human surgical liver samples. *Alcoholism Clin Exp Res* 1993; 17: 900-5.
- 26) Watanabe J, Hayashi SI, Nakauchi K, Imai K, Suda Y, Sekine T. PstI and RsaI RFLPs in complete linkage disequilibrium at the CYP2E1 gene. *Nucleic Acids Res* 1990; 18: 7194.
- 27) Tsutsumi M, Takada A, Wang JS. Genetic polymorphisms of cytochrome P4502E1 related to the development of alcoholic liver disease. *Gastroenterology* 1994; 107: 1430-5.
- 28) Maezawa Y, Yamauchi M, Toda G. Association between restriction fragment length polymorphisms of the human cytochrome P4502E1 gene and susceptibility to alcoholic liver cirrhosis. *Am J Gastroenterol* 1994; 89: 561-5.
- 29) Itoga S, Harada S, Nomura F. Polymorphism of the 5'-flanking region of the CYP2E1 gene: an association study with alcoholism. *Alcoholism Clin Exp Res* 2001; 25: 11S-5S.
- 30) Itoga S, Nomura F, Makino Y, Tomonaga T, Shimada H, Ochiai T, Iizasa T, Baba M, Fujisawa T, Harada S. Tandem Repeat polymorphism of the CYP2E1 gene: an association study with esophageal cancer and lung cancer. *Alcoholism Clin Exp Res* 2002 (in press)