

総説

ニコチン代謝に個人差が生じる要因

中島美紀

金沢大学医薬保健研究域薬学系薬物代謝化学研究室

要 旨

タバコの主成分であるニコチンには依存性があり、喫煙者は体内のニコチン濃度を一定に保とうとして喫煙する。体内に摂取されたニコチンがそのまま尿中に排泄されるのは10%程度であり、ニコチンの体内からの消失には肝臓における代謝が大きく寄与している。主な代謝経路はCYP2A6によるコチニンとそれに続くトランス-3'-水酸化コチニンへの酸化反応である。また、ニコチンとコチニンは主にUGT2B10によりN-グルクロニドへ、トランス-3'-水酸化コチニンは主にUGT2B17によりO-グルクロニドへ代謝される。ニコチンの代謝能には大きな個人差や人種差が認められ、CYP2A6, UGT2B10やUGT2B17の遺伝子多型に起因するところが多い。特に、酵素活性を低下または欠失させるCYP2A6遺伝子変異型を有するヒトでは、ニコチンの消失半減期が延長し、代謝プロファイルも大きく変化する。CYP2A6遺伝子変異は喫煙習慣性や発がん感受性に影響を与えることも示されている。日本人は欧米人や韓国人に比べてニコチン代謝能が低く、その要因としてCYP2A6欠損型および変異型の遺伝子頻度が高いことが大きい。食事や環境など非遺伝的要因も関わっている。CYP2A6の発現はエストロゲン受容体、酸化ストレス応答転写因子NF-E2 related factor 2、プレグナンX受容体などの転写因子によって調節されており、その転写活性化機構もニコチン代謝能の個人差や性差の原因となっている。禁煙補助剤としてニコチンガムやニコチンパッチを使用する際、ニコチン代謝能が低いヒトではニコチンの血中濃度が高くなり、有害作用が現れる可能性があり、注意が必要である。

キーワード：CYP2A6, UGT, 遺伝子多型, 転写調節, 酵素阻害

1. はじめに

タバコの煙には4000種類以上の化学物質が含まれており、そのうちの200種類は有害物質、60種類は発がん物質である。喫煙はがん、狭心症や心筋梗塞、慢性気管支炎や肺気腫、糖尿病血管合併症などのさまざまな病気の危険因子であるだけでなく、早産や流産、低出生体重児の可能性を高めるリスクもある。我が国で習慣的に喫煙している者の割合は減少傾向にあるものの、平成23年の厚生労働省による調査結果^{注1)}では男性が32.4%、女性が9.7%である。そのうち、タバコをやめたいと思っている割合は男性で32.8%、女性

で42.8%と報告されている。

喫煙者がタバコをやめられないのは、ニコチンに依存性があるためである。禁煙時に認められる離脱症状を抑えるために、ニコチン置換療法が行われ、ニコチンガムやニコチンパッチなどの禁煙補助剤としてニコチンが投与されることもある。ニコチンは体内に吸収されたあと、約90%が薬理作用のない代謝物に変換されて排泄される¹⁾。そのため、ニコチンの薬理作用の程度に、代謝が大きく関わっている。本稿では、ヒトにおけるニコチンの代謝経路とその反応に関わる酵素、代謝に個人差が生じるメカニズムについて著者らの研究

成果を中心に、また、最新の報告も併せて紹介する。

2. ニコチンの体内動態

ニコチンは口腔粘膜や肺から素早く吸収され、脳へも10秒ほどで移行する¹⁾。皮膚からの吸収性もよく、ニコチンパッチが適用できるのもそのためである。その後、ニコチンは血流を介して全身に分布するが、特に筋肉、脾臓、肝臓、腎臓へ高く分布する。ニコチンがそのまま尿中へ排泄される割合は10%程度であり、ほとんどが肝臓で代謝される¹⁾。代謝物にはニコチンのような依存性はほとんどないため、肝臓におけるニコチン代謝は喫煙習慣に影響を与える重要な因子の1つである。

タバコを1本喫煙した時、ニコチンの血中濃度は数分で最高値に達し、約10 ng/mlとなる(図1)。その後、血中濃度は低下し、ニコチンの消失半減期は約2時間である²⁾。代謝については後ほど詳しく述べるが、主要代謝物であるコチニンは2～4時間後に最高値に達し、20～60 ng/ml

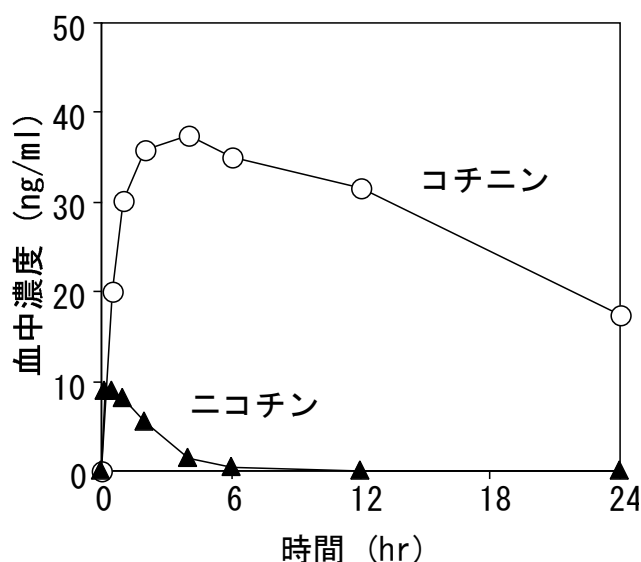


図1 タバコ1本喫煙後の血中ニコチンおよびコチニン濃度推移

平均的な血中濃度を示した典型例を示した。健康日本人喫煙者(22歳の女性、2パックイヤー)に10日間禁煙してもらい、体内のニコチンおよび代謝物を消失させた。その後、タバコを1本喫煙した時のニコチンとコチニンの血中濃度を示す。ニコチンの消失半減期は約2時間である。主要代謝物であるコチニンの血中濃度はニコチンよりも高く、消失半減期は約20時間である。引用文献2)より一部改変

とニコチンよりも高い血中濃度を示す。コチニンの消失半減期は約20時間と長く、蓄積性が高いため、喫煙のバイオマーカーとして用いられる。

3. ニコチンの代謝経路

体内に吸収されたニコチンの約70%がコチニンへと代謝される(図2)。この代謝反応はシトクロムP450の1つであるCYP2A6³⁾とアルデヒドオキシダーゼ(AO)による二段階の酸化反応であり⁴⁾、前者が律速となっている。コチニンはさらにCYP2A6によってトランス-3'-水酸化コチニンへと代謝される⁵⁾。また、ニコチンとコチニンはUDP-グルクロン酸転移酵素であるUGT2B10⁶⁾とUGT1A4⁷⁾によりN-グルクロニドへ、トランス-3'-水酸化コチニンは主にUGT2B17によりO-グルクロニドへと代謝される⁸⁾。また、ニコチンはCYP2A6とCYP2B6により脱メチル化されノルニコチンに代謝され⁹⁾、コチニンもCYP2A6によってノルコチニンへと代謝される¹⁰⁾。さらに、ニコチンとコチニンはフラビン含有モノオキシゲナーゼFMO3によりそれぞれニコチン1'-N-オキシドとコチニンN-オキシドへと代謝される¹¹⁾。このようにニコチンはさまざまな代謝物に変換されるが、中でも代謝に重要な役割を担っているのがCYP2A6である。

4. コチニン生成とCYP2A6遺伝子多型

4-1. ニコチンからのコチニン生成の*in vivo*評価法

一般に、*in vivo*代謝能を評価する際、投与後の親化合物と代謝物の血中濃度や尿中排泄量の比が算出される。通常の喫煙状態における血中コチニン濃度は、喫煙量を反映した濃度でほぼ定常状態にあるが、ニコチンの消失半減期は短いため、採血のどれくらい前にどれくらい喫煙していたかによって、コチニン/ニコチン濃度が変動するため、喫煙者におけるコチニン生成能を通常の喫煙条件下で評価することは難しい。そこで著者らは、非喫煙者を対象として、ニコチンガムを利用したコチニン生成能の評価方法を確立した²⁾。1個のニコチンガムから吸収されるニコチン量はタバコを1本吸った量に相当し、血中濃度推移も喫煙後の

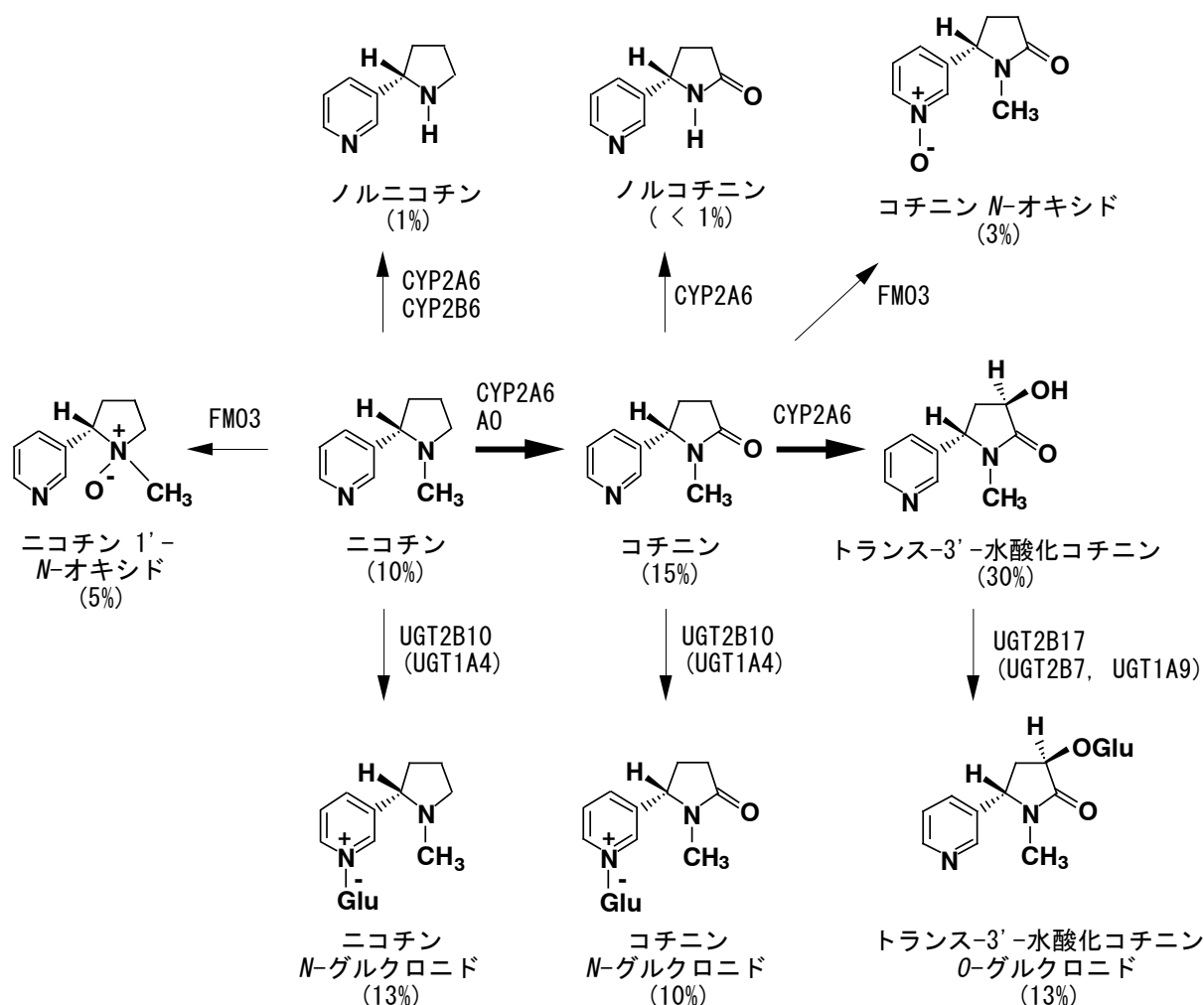


図2 ニコチンの代謝経路

主な代謝経路はCYP2A6によるコチニンとそれに続くトランス-3'-水酸化コチニンへの酸化反応であり、ニコチンも含めてグルクロン酸抱合体へも代謝されて尿中に排泄される。代謝物名の下に示した括弧内の数値は、尿中に排泄された全ニコチン等価量に対する各化合物の平均的な割合を示す。各代謝物の生成に関与する代謝酵素のうち、寄与の小さいものは括弧内に表記した。AO: aldehyde oxidase, CYP: cytochrome P450, FMO: flavin containing monooxygenase, Glu: glucuronic acid, UGT: UDP-glucuronosyltransferase. Elsevierより転載の許諾を得、引用文献15)から一部改変した。

場合とよく類似している²⁾。経時的に採血を行い、血中濃度を測定した詳細な解析の結果、ニコチンガムを1個30分間咀嚼した2時間後のコチニン/ニコチン血中濃度比を算出することでコチニン生成能を評価できることが示された²⁾。

4-2. 日本人におけるコチニン生成の個人差とCYP2A6遺伝子多型

健常日本人92名を対象としてコチニン生成能を評価した結果、3名の被験者でコチニンが検出されず、残りの89名におけるコチニン/ニコチン濃度比には100倍以上の大きな個人差が認めら

れた¹²⁾。代謝能の個人差に遺伝的要因が関与しているかプロビット解析を行った。この解析では、集団が正規分布に従う時、プロットは直線性を示し、遺伝的要因により正規分布に従わない時、プロットは折れ曲がり、その変曲点をもとにpoor metabolizer (PM, 代謝能の低いヒト)とextensive metabolizer (EM, 代謝能の正常なヒト)に区別できる。これにより、コチニン/ニコチン濃度比0.6付近に変曲点が認められ、コチニン生成能の個人差に遺伝的要因が関わっていることが示された(図3)。コチニンが検出されなかった3名に加えて、4名がPMであった。

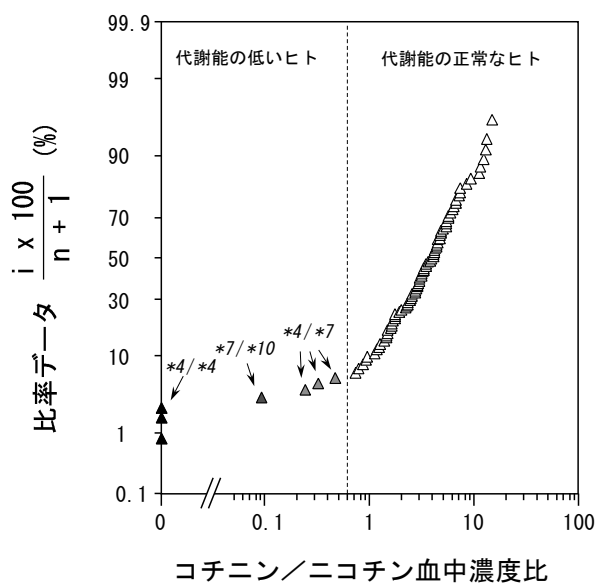


図3 日本人92名のコチニン/ニコチン血中濃度比のプロビットプロットと代謝能の低いヒトにおけるCYP2A6 遺伝子型

ニコチンガムを1個30分間咀嚼し、咀嚼開始から2時間後のコチニン/ニコチン血中濃度比を求め、横軸にプロットした。血中濃度比0.6付近に変曲点が認められ、poor metabolizer (代謝能の低いヒト)とextensive metabolizer (代謝能の正常なヒト)に分類された。nは被験者数、iはコチニン/ニコチン血中濃度比が低い順に被験者を並び替えた時の各被験者の順位を示す。引用文献12)より一部改変

CYP2A6遺伝子には多くの変異型が存在する。コチニンが全く検出されない被験者は遺伝子全欠損型であるCYP2A6*4のホモ保有者であった¹²⁾。PMと判定された被験者はアミノ酸変異により酵素活性が低下する変異型であるCYP2A6*7やCYP2A6*10を全欠損型CYP2A6*4とともに保有していた。また、プロモーター領域に存在する一塩基多型(single nucleotide polymorphism, SNP)により転写活性が低下する変異型であるCYP2A6*9を保有する被験者においてもコチニン生成能の低下が認められた(図4)¹²⁾。このように、CYP2A6遺伝子変異がコチニン生成能を低下させる主要因であることが示された。

4-3. コチニン生成とCYP2A6遺伝子変異型の人種差

喫煙者におけるコチニンの血中濃度は白人に比べて黒人で高いことが示されていた¹³⁾。著者らは、この人種差がコチニン生成能の差によるものか明らかにするため、176名の白人と160名の黒人を

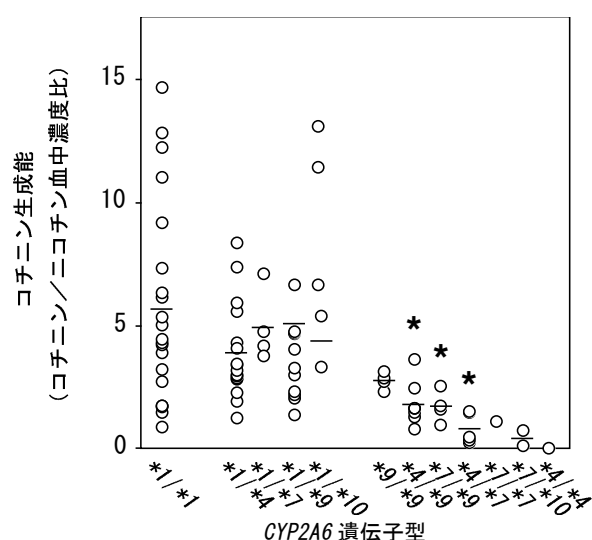


図4 92名の日本人におけるコチニン生成能の個人差とCYP2A6遺伝子型との関係

ホモ野性型(*1/*1)の被験者と比べて、全欠損型CYP2A6*4や活性が低下する変異型CYP2A6*7、CYP2A6*9およびCYP2A6*10を組み合わせる2つ有する被験者は低いコチニン生成能を示した。*P < 0.05 (*1/*1との比較) 引用文献14)より一部改変

対象としてコチニン生成能を評価した。また、アジア人の間での比較を目的として、209名の韓国人についてもコチニン生成能を評価し、日本人との比較を行った¹⁴⁾。図5に示したように、韓国人のプロビットプロットは日本人と同様に二相性を示し、コチニン/ニコチン濃度比が0.6付近に変曲点が認められた。コチニンが検出されなかった4名はCYP2A6*4のホモ保有者であり、1名のPMはCYP2A6*4/*10であった。一方、白人と黒人のプロビットプロットは明確な変曲点を持たず、直線に近いプロットであった。これは、個人差において遺伝的要因が低いことを意味しており、それを支持するように、酵素活性の低下の原因となるCYP2A6*4やCYP2A6*7、CYP2A6*10はほとんど認められなかった(表1)。しかし、日本人には認められないCYP2A6*2、CYP2A6*17、CYP2A6*20およびCYP2A6*21などの酵素活性低下の原因となる変異型が存在し、それらの変異型を有する被験者ではコチニン生成能が低下していることが示された¹⁴⁾。

白人と黒人におけるプロビットプロットはほぼ重なったことから、コチニン生成能に差はないと示唆された。従って、喫煙者におけるコチニンの

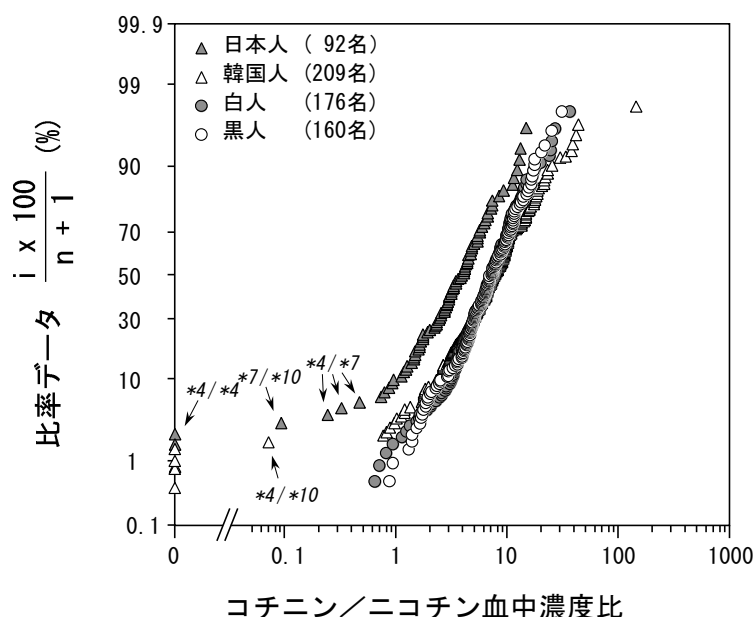


図5 コチニン／ニコチン血中濃度比のプロット

日本人と韓国人のプロットは血中濃度比0.6付近に変曲点が認められ、二相性を示したが、白人と黒人のプロットでは明確な変曲点は認められなかった。日本人のプロットは他の3人種よりも左側にシフトしており、コチニン生成能が低いことが明らかになった。引用文献14)より一部改変

表1 酵素活性低下の原因となるCYP2A6の遺伝子変異型とその遺伝子頻度(%)

遺伝子型	変異による影響	酵素活性	日本人	韓国人	白人	黒人
<i>CYP2A6</i> *2	Leu 160 His	なし	0	0	1.1	0.3
<i>CYP2A6</i> *4	全欠損	なし	19.0	10.8	0	0.9
<i>CYP2A6</i> *7	Ile 471 Thr	低下	9.8	9.8	0	0
<i>CYP2A6</i> *9	プロモーター領域におけるSNP	低下	19.0	19.6	8.0	8.5
<i>CYP2A6</i> *10	Ile 471 Thr + Arg 485 Leu	低下	2.2	1.0	0	0
<i>CYP2A6</i> *17	Val 365 Met	低下	0	0	0	10.5
<i>CYP2A6</i> *20	二塩基欠失によるフレームシフト	低下	0	0	0	1.7
<i>CYP2A6</i> *21	Lys 476 Arg	低下	0	0	0.5	0.6

血中濃度が白人より黒人で高いのは、コチニン生成能が高いためではなく、ニコチンの摂取量が多いためか、コチニンのクリアランスが低いためかもしれない。

興味深いことに、韓国人のプロットも欧米人とほぼ重なり、日本人のプロットだけが左側にシフトしていた。従って、日本人は他の人種と比べてコチニン生成能が低いことが明らかになった。*CYP2A6**4の遺伝子頻度は日本人において約20%と高く、100人中4人が*CYP2A6*酵素活性を全く持たないことを意味する。酵素活性の低下の原因となる変異型の遺伝子頻度から酵素活性の分布を人種ごとに見積もると図6のようになり、日本人は*CYP2A6*酵素活性が低いヒトが多く、それがコチニン生成能の低さに寄与している。また、

*CYP2A6*遺伝子が野性型のヒト同士で比較しても、日本人は白人や黒人よりもコチニン生成能が低く¹⁴⁾、食事や環境因子など、遺伝子以外の要因も関与していると考えられる。

4-4. *CYP2A6*欠損がニコチン代謝に与える影響

*CYP2A6*欠損者では、ニコチンはコチニンへ代謝されず、他の代謝経路が充進している可能性が考えられるため、その検証を行った。ニコチンガムを1個咀嚼した後の尿試料を24時間回収し、蓄尿中のニコチンと代謝物を測定した¹⁵⁾。*CYP2A6*遺伝子がホモ野性型のEMでは、コチニンとそれから生じる代謝物として約70%排泄された(図7)。一方、*CYP2A6*欠損者では、トランス-3'-水酸化コチニンとそのO-グルクロニドは認めら

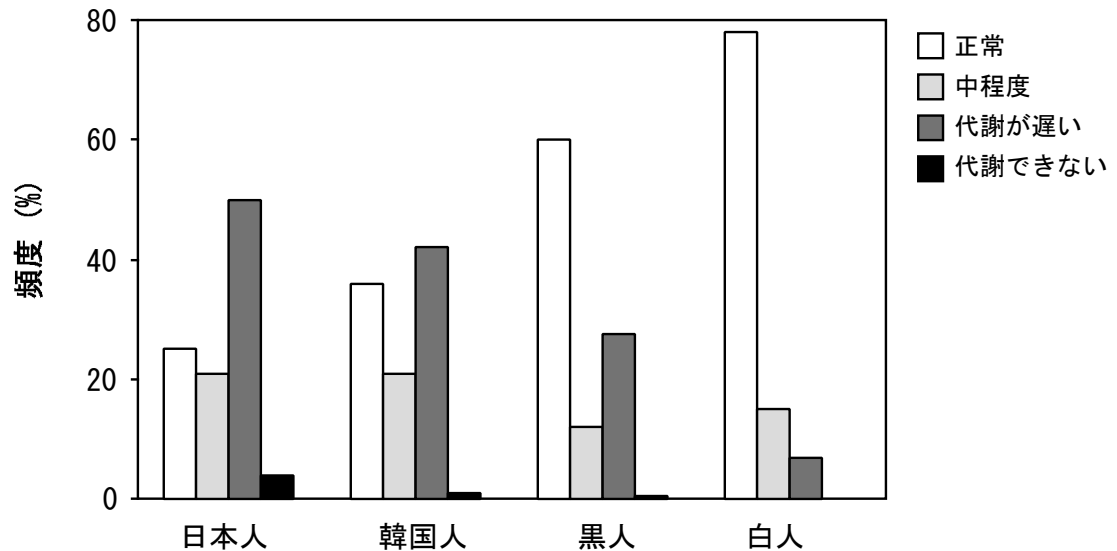


図6 CYP2A6変異型の遺伝子頻度に基づいたニコチン代謝活性の分布

代謝できない：活性が欠失する変異型(*2または*4)を2本保有するヒト，代謝が遅い：活性が低下する変異型(*7,*9,*10,*17,*20または*21など)を2本あるいは欠失する変異型と組み合わせて2本保有するヒト，中程度：活性が低下または欠失する変異型を1本保有するヒト，正常：活性が低下または欠失する変異型をもたないヒト。

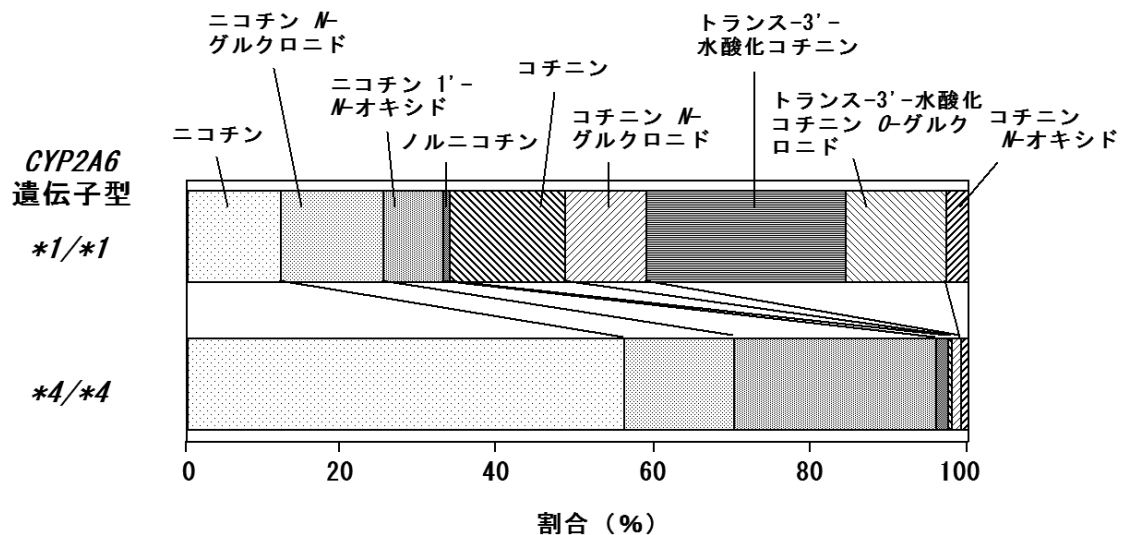


図7 ニコチンとその代謝物の尿中排泄量

健康日本人非喫煙者がニコチンガムを1個咀嚼した後，24時間蓄尿中のニコチンとその代謝物の排泄量を測定した．図はCYP2A6*1/*1の被験者とCYP2A6*4/*4の被験者各1名ずつの結果を示す．CYP2A6欠損者(CYP2A6*4/*4)ではコチニンとコチニン由来の代謝物がほとんど検出されず，ニコチンやニコチン1'-N-オキシドとして排泄される割合が増加した．Elsevirより転載の許諾を得，引用文献15)から一部改変した．

れず，コチニンとコチニンN-グルクロニドおよびコチニンN-オキシドとして数%排泄されているのみで，ほとんどがニコチンそのもの，ニコチンN-グルクロニドまたはニコチン1'-N-オキシドとして排泄された¹⁵⁾．CYP2A6を欠損しているにも関わらずコチニンとその代謝物がわずかに生成されるのは，CYP2A6以外の酵素が代償的にコチニンを生成しているためと考えられる．ヒトCYP分子種の発現系を用いた酵素活性測定に

おいて，CYP2B6とCYP2D6に低いながらもニコチンからのコチニン生成活性が認められる³⁾．これらの酵素のニコチンへの親和性とコチニン生成の固有クリアランスはCYP2A6の10分の1以下であるため³⁾，通常はCYP2A6がコチニン生成の責任酵素として働いているが，CYP2A6を欠損している場合はCYP2B6やCYP2D6が働くと考えられる．また，通常は2時間であるニコチンの消失半減期は約11時間と顕著に延長していた²⁾．従って，

CYP2A6を欠損したヒトではニコチンは体内に長くとどまり、代謝プロファイルも大きく影響を受けている¹⁵⁾。

4-5. CYP2A6欠損と喫煙量、タバコ依存および発がんリスクとの関係

喫煙者はニコチンの血中濃度を維持しようとして喫煙するため、CYP2A6酵素活性が低下し、ニコチンが体内に長く貯留すれば、喫煙量が少なくなると考えられる。実際、CYP2A6変異型遺伝子を有するヒトでは一日の喫煙本数がホモ野性型のヒトより少ないことが示されている¹⁶⁾。一方で、CYP2A6遺伝子変異は喫煙量に影響しないという報告もある¹⁷⁾。タバコの銘柄によってニコチン含量が異なり、また、タバコの吸い方によってニコチンの摂取量も異なるため、喫煙本数での議論は難しいかもしれない。また、CYP2A6酵素活性が高いヒトの方がニコチン依存になりやすく¹⁸⁾、また、禁煙に失敗しやすい¹⁹⁾というデータもある。喫煙習慣にはさまざまな要因が絡んでいるが、CYP2A6遺伝子変異も1つの要因と考えられる。

CYP2A6は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ため、CYP2A6酵素活性が高いと発がんリスクが高まると考えられる。CYP2A6欠損者ではEMに比べてがんになるリスクが低いことを報告する論文が多数報告されており、その関係性は近年のメタ解析によっても支持されている。^{20, 21)}

4-6. ニコチン代謝に及ぼす食事由来成分の影響

日本人においてニコチン代謝能が低い理由の1つとして、食事由来成分による代謝阻害の可能性が考えられた。著者らは、欧米人よりアジア人で20～50倍摂取量が多いといわれる大豆食品由来の成分がニコチン代謝を阻害している可能性を検討した。大豆に豊富に含まれているイソフラボンであるダイゼイン、ゲニステインおよびグリシテインは、ニコチンからのコチニン生成を強く(阻害定数Ki値がそれぞれ1.3 μ M, 0.7 μ Mおよび5.2 μ M)阻害することを、CYP2A6発現系酵素を用いた*in vitro*実験により明らかにした²²⁾。大豆食品や

サプリメントを摂取した際のイソフラボン類の血中濃度は5 μ M程度と報告されており、特にゲニステインのKi値はこの濃度より低い値であった。ニコチンの代謝阻害が*in vivo*でも認められるかどうか、7名の健常日本人非喫煙者(CYP2A6*1/*1の被験者)を対象として評価を行った。1週間大豆食品を摂取しない食事制限下で測定したコチニン/ニコチン血中濃度比は 8.8 ± 2.6 (4.4～11.4)であったのに対し、その後、大豆食品の摂取制限を解除し、かつ1錠あたり10 mgのイソフラボン(4.2 mgダイゼイン, 5.2 mgゲニステイン, 0.6 mgグリシテイン)を含有するサプリメントを1日6錠、5日間摂取した後のコチニン/ニコチン血中濃度比は 6.7 ± 1.6 (4.0～8.2)と有意($P < 0.05$)に低値を示した(図8)。このように、食事由来成分がコチニン生成能に影響を与える一例が示された²²⁾。

韓国人は唐辛子やニンニクが豊富な食事を好んで摂る。これらの食材にはジアリルスルフィドやアリルメチルスルフィド、S-アリルシステイン、カプサイシンなどが多く含まれており、これらの化合物はCYP分子種を誘導することが知られている²³⁾。このような成分が代謝酵素を誘導してニコチン代謝活性を亢進させることが、韓国人が日

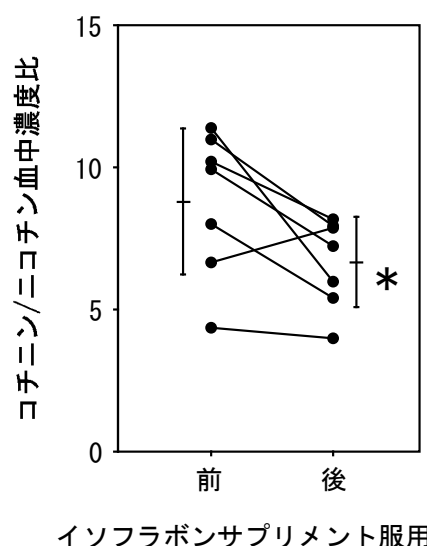


図8 イソフラボンの摂取がニコチン代謝に与える影響
7名の健常日本人非喫煙者が1週間大豆食品を摂取しない食事制限下で測定したコチニン/ニコチン血中濃度比は 8.8 ± 2.6 (4.4～11.4)であり、その後、イソフラボンサプリメントを5日間服用した時の値は 6.7 ± 1.6 (4.0～8.2)と有意に低値を示した。* $P < 0.05$ (paired Student's t-test) 文献22)より引用

本人よりも高いニコチン代謝能を示す理由であるか検証することも興味深い。

4-7. ニコチン代謝の性差とエストロゲン受容体の関与

ニコチン代謝能を評価した際、コチニン/ニコチン血中濃度比は男性よりも女性の方が高値を示した¹⁴⁾。また、エストロゲン含有の経口避妊薬の使用²⁴⁾や妊娠²⁵⁾によってニコチンのクリアランスが増大することも報告されている。このように、エストロゲンが高い状況下でニコチン代謝能が亢進している理由を探ったところ、*CYP2A6*遺伝子の5'-上流領域にエストロゲン受容体結合領域 (estrogen response element, ERE) が存在し (図9)、エストロゲンによって活性化されたエストロゲン受容体が*CYP2A6*の転写を活性化し、発現誘導を起こしていることを明らかにした²⁶⁾。このエストロゲンによる*CYP2A6*誘導機構がニコチン代謝の変動要因であることが示唆された。

4-8. *CYP2A6*発現の変動要因

喫煙は酸化ストレスを亢進させる。酸化ストレスは、慢性閉塞性肺疾患、心血管疾患、がん、動脈硬化、糖尿病などのさまざまな疾患と関連する。しかし生体は酸化ストレスに対する防御機構を備えており、その役割を担っているのが転写因子nuclear factor-erythroid 2-related factor 2 (Nrf2) である。Nrf2は酸化ストレスに応答して、抗酸化蛋白や解毒酵素を誘導することにより、親電子性物質を消去・無毒化する。Nrf2を核内に蓄積させるカドミウムに暴露されているヒトでは*CYP2A6*酵素活性が高いことも報告されている²⁷⁾。著者らの検討により、*CYP2A6*遺伝子5'-上流領域にNrf2結合領域 (antioxidant response element, ARE) が存在し (図9)、*CYP2A6*の発現がNrf2によって調節されていることが明らかになった²⁸⁾。また、*CYP2A6*はいくつかの薬やステロイドなどがリガンドとなって活性化される核内レセプターであるpregnane X receptor (PXR) によっても、コアクチベーターであるperoxisome proliferator-activated receptor- γ coactivator 1

α (PGC1 α) との相互作用を介して転写活性化されることも明らかにした (図9)²⁹⁾。このような発現調節機構を介して生じる*CYP2A6*の発現量の個人差が、遺伝子多型に依存しない個人差の要因になっていると考えられる。

5. グルクロン酸抱合と*UGT*遺伝子多型

5-1. ニコチンとコチニンのグルクロン酸抱合の個人差と*UGT2B10*の遺伝子多型

吸収されたニコチンのそれぞれ10%ほどがニコチン*N*-グルクロニドとコチニン*N*-グルクロニドとして排泄されるが、個人差が大きく、60%ほど排泄される例も認められる。一般に、三級アミンの*N*-グルクロン酸抱合は*UGT1A3*と*UGT1A4*によって触媒されることが知られている。著者らのヒト肝ミクロソームを用いた実験により、ニコチンとコチニンの*N*-グルクロン酸抱合反応には*UGT1A4*と*UGT1A9*が関与することが示され³⁰⁾、その後、Kuehlら³¹⁾による*UGT*発現系酵素を用いた実験により支持され、*UGT1A4*は*UGT1A3*や*UGT1A9*より触媒活性が高いことが報告された³¹⁾。さらにその後、機能が未解明であった*UGT2B10*が*UGT1A4*よりも高い親和性とクリアランスでニコチンのグルクロン酸抱合を触媒することが明らかになった⁶⁾。

著者らの14検体のヒト肝ミクロソームを用いた*in vitro*実験では、ニコチンとコチニンの*N*-グルクロン酸抱合活性にはそれぞれ22倍と89倍の大きな個人差が認められ⁷⁾、また、Benowitzら³²⁾の*in vivo*研究では、ニコチン*N*-グルクロニド/ニコチンのおよびコチニン*N*-グルクロニド/コチニン尿中排泄量比に100倍ほどの個人差が認められている。それらの比は黒人より白人で有意に高く、また黒人のプロビットプロットでは二相性を示したことから個人差に遺伝的要因が示唆された³²⁾。その後、SNPによりアミノ酸変異が生じる*UGT2B10**2の変異型を有する被験者ではニコチン*N*-グルクロニドとコチニン*N*-グルクロニドの尿中排泄量がホモ野性型の被験者に比べて有意に低いことが明らかになった³³⁻³⁵⁾。また、*UGT2B10**2保有者ではホモ野性型の被験者と比べて一日あた

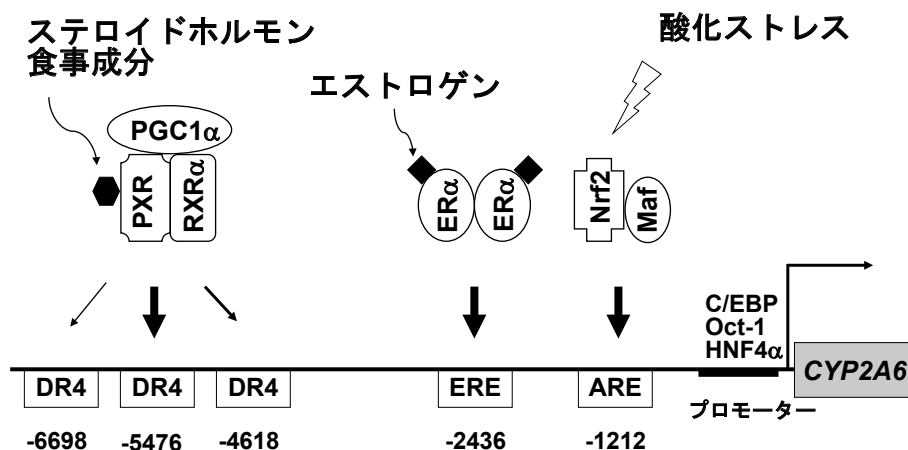


図9 CYP2A6を転写活性化する転写因子

ARE: antioxidant response element, C/EBP: CCAAT/enhancer-binding protein, DR4: direct repeat separated by four nucleotides, ER α : estrogen receptor α , ERE: estrogen response element, HNF4 α : hepatocyte nuclear factor 4 α , Nrf2: NF-E2 related factor 2, PGC1 α : peroxisome proliferator-activated receptor- γ coactivator 1 α , PXR: pregnane X receptor, RXR α : retinoid X receptor α

りの喫煙本数に差は認められないものの、ニコチン摂取量が低いことが示されている³⁴⁾。

5-2. トランス-3'-水酸化コチニンのグルクロン酸抱合の個人差とUGT2B17の遺伝子多型

トランス-3'-水酸化コチニンO-グルクロニド-グルクロニドは尿中で多く検出されるニコチンの主要代謝物の1つである^{1, 15)}。ヒト肝ミクロソームを用いた*in vitro*実験では、トランス-3'-水酸化コチニンはO-グルクロニドよりもN-グルクロニドへと代謝されやすいことが示された^{30, 35)}。トランス-3'-水酸化コチニンのN-グルクロン酸抱合は、ニコチンやコチニンと同様に主にUGT2B10, そして一部UGT1A4によって触媒される⁸⁾。トランス-3'-水酸化コチニンN-グルクロニドが肝臓中で生成されても、尿中に検出されない理由として、尿中ですぐに分解されてしまう可能性、または尿中ではなく胆汁に排泄される可能性が考えられる。

トランス-3'-水酸化コチニンO-グルクロン酸抱合反応は、著者らの発現系酵素を用いた実験で、UGT2B7が最も高い活性を示し、次いでUGT1A9が触媒活性を示すことが示されていたが³⁰⁾、近年、UGT2B17がUGT2B7よりも高い親和性とクリアランスで触媒していることが報告された⁸⁾。しかし、ヒト肝臓中のUGT2B17発現量はUGT1A9よ

りも約3倍高いものの、UGT2B7の7分の1から20分の1程度であることから、これらの3つの分子種がトランス-3'-水酸化コチニンO-グルクロン酸抱合反応に寄与していると考えられている⁸⁾。

UGT2B17には遺伝子全欠損型UGT2B17*2が存在する。UGT2B17*2を有するとトランス-3'-水酸化コチニンO-グルクロニド生成が低いことが*in vitro*⁸⁾および*in vivo*³⁵⁾で示されており、この代謝反応におけるUGT2B17の寄与が支持されるとともにUGTの遺伝子多型もニコチン代謝の個人差の要因となっていることが明らかになった。

6. おわりに

以上のように、ニコチン代謝の個人差には遺伝的要因が大きく関与している。興味深いことに、白人とヒスパニックが88%を占める276人の双子を対象とした解析で、ニコチン代謝の個人差に与える遺伝的要因は60-67%を占め、双子に共通する環境要因(家庭環境、友人・学校などの要因)の影響はほとんどなく、双子に共通しない個人特有の環境要因(食事など)が33%を占めることが報告されている^{36, 37)}。アジア人ではCYP2A6遺伝子変異型が多いために、遺伝的要因の占める割合が上記より高い可能性がある。ニコチン代謝のPMがニコチンを摂取した場合、ニコチンの血中濃度が高くなり有害作用が現れる可能性がある。しかし、

著者らの研究では、CYP2A6を欠損した喫煙者の血中ニコチン濃度はそれほど高くなかった²⁾。タバコを1本喫煙した後の血中ニコチン濃度は、同じ銘柄のタバコを同じ長さまで、同じパフ回数、同じタイミングで喫煙しても、個人によってかなりの差があることも示された²⁾。従って、喫煙者はニコチン濃度が高くなりすぎないように、無意識に喫煙方法をコントロールしてニコチン摂取量を制限しているかもしれない。しかし、このようなCYP2A6欠損喫煙者が禁煙のためにニコチンパッチやニコチンガムなどの禁煙補助剤を利用した場合、血中ニコチン濃度が高くなり、吐き気やめまいなどが高確率で認められることが最近報告された³⁸⁾。日本人はCYP2A6欠損者の割合が特に高いため、禁煙補助剤の使用にも注意が必要である。

謝 辞

本研究は、著者が昭和大学薬学部在籍時に開始し、その後金沢大学薬学部に移動後も継続して行ったものであり、ご指導を賜りました臨床薬学教室元教授黒岩幸雄先生、現教授山元俊憲先生、毒物学教室元教授吉田武美先生、現名古屋大学医学系研究化トキシコゲノミクス分野教授横井毅先生に厚く御礼申し上げます。また、一緒に研究に取り組んでくれた学部生、大学院生ならびに共同研究としてご協力くださいました多くの先生に深謝致します。

文 献

- 1) Hukkanen, J., Jacob, P. 3rd, Benowitz, N.L.: Metabolism and disposition kinetics of nicotine. *Pharmacol. Rev.*, 57, 79-115 (2005)
- 2) Nakajima, M., Yamagishi, S., Yamamoto, H., et al.: Deficient cotinine formation from nicotine is attributed to the whole deletion of the *CYP2A6* gene in humans. *Clin. Pharmacol. Ther.*, 67, 57-69 (2000)
- 3) Nakajima, M., Yamamoto, T., Nunoya, K., et al.: Role of human cytochrome P4502A6 in C-oxidation of nicotine. *Drug Metab. Dispos.*, 24, 1212-1217 (1996)
- 4) Obach, R.S., van Vunakis, H.: Radioimmunoassay of nicotine- $\Delta^{1'(5)}$ -iminium ion, an intermediate formed during the metabolism of nicotine to cotinine. *Drug Metab. Dispos.*, 18, 508-513 (1990)
- 5) Nakajima, M., Yamamoto, T., Nunoya, K., et al.: Characterization of CYP2A6 involved in 3'-hydroxylation of cotinine in human liver microsomes. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 277, 1010-1015 (1996)
- 6) Kaivosari, S., Toivonen, P., Hesse, L.M., et al.: Nicotine glucuronidation and the human UDP-glucuronosyltransferase UGT2B10. *Mol. Pharmacol.*, 72, 761-768 (2007)
- 7) Nakajima, M., Tanaka, E., Kwon, J.T., et al.: Characterization of nicotine and cotinine *N*-glucuronidations in human liver microsomes. *Drug Metab. Dispos.*, 30, 1484-1490 (2002)
- 8) Chen, G., Giambrone, N.E., Lazarus, P.: Glucuronidation of *trans*-3'-hydroxycotinine by UGT2B17 and UGT2B10. *Pharmacogenet. Genomics*, 22, 183-190 (2012)
- 9) Yamanaka, H., Nakajima, M., Fukami, T., et al.: CYP2A6 and CYP2B6 are involved in nornicotine formation from nicotine in humans: interindividual differences in these contributions. *Drug Metab. Dispos.*, 33, 1811-1818 (2005)
- 10) Murphy, S.E., Johnson, L.M., Pullo, D.A.: Characterization of multiple products of cytochrome P450 2A6-catalyzed cotinine metabolism. *Chem. Res. Toxicol.*, 12, 639-645 (1999)
- 11) Park, S.B., Jacob, P. 3rd, Benowitz, N.L., et al.: Stereoselective metabolism of (*S*)-(-)-nicotine in humans: formation of *trans*-(*S*)-(-)-nicotine *N*-1'-oxide. *Chem. Res. Toxicol.*, 6, 880-888 (1993)
- 12) Nakajima, M., Kwon, J.T., Tanaka, N., et al.: Relationship between interindividual differ-

- ences in nicotine metabolism and *CYP2A6* genetic polymorphism in humans. Clin. Pharmacol. Ther., 69, 72-78 (2001)
- 13) Wagenknecht, L.E., Cutter, G.R., Haley, N.J., et al.: Racial differences in serum cotinine levels among smokers in the Coronary Artery Risk Development in (Young) Adults study. Am. J. Public Health, 80, 1053-1056 (1990)
 - 14) Nakajima, M., Fukami, T., Yamanaka, H., et al.: Comprehensive evaluation of variability in nicotine metabolism and *CYP2A6* polymorphic alleles in four ethnic populations. Clin. Pharmacol. Ther., 80, 282-297 (2006)
 - 15) Yamanaka, H., Nakajima, M., Nishimura, K., et al.: Metabolic profile of nicotine in subjects whose *CYP2A6* gene is deleted. Eur. J. Pharm. Sci., 22, 419-425 (2004)
 - 16) Fujieda, M., Yamazaki, H., Saito, T., et al.: Evaluation of *CYP2A6* genetic polymorphisms as determinants of smoking behavior and tobacco-related lung cancer risk in male Japanese smokers. Carcinogenesis, 25, 2451-2458 (2004)
 - 17) Ozaki, S., Oyama, T., Isse, T., et al.: Smoking cessation program and *CYP2A6* polymorphism. Front Biosci., 11, 2590-2597 (2006)
 - 18) Kubota, T., Nakajima-Taniguchi, C., Fukuda, T., et al.: *CYP2A6* polymorphisms are associated with nicotine dependence and influence withdrawal symptoms in smoking cessation. Pharmacogenomics J., 6, 115-119 (2006)
 - 19) Malaiyandi, V., Lerman, C., Benowitz, N.L., et al.: Impact of *CYP2A6* genotype on pre-treatment smoking behaviour and nicotine levels from and usage of nicotine replacement therapy. Mol. Psychiatry, 11, 400-409 (2006)
 - 20) Liu, Z.B., Shu, J., Wang, L.P., et al.: Cytochrome P450 2A6 deletion polymorphism and risk of lung cancer: a meta-analysis. Mol. Biol. Rep., 40, 5255-5259 (2013)
 - 21) Wang, L., Zang, W., Liu, J., et al.: Association of *CYP2A6*4* with susceptibility of lung cancer: a meta-analysis. PLoS One, 8, e59556 (2013)
 - 22) Nakajima, M., Itoh, M., Yamanaka, H., et al.: Isoflavones inhibit nicotine C-oxidation catalyzed by human CYP2A6. J. Clin. Pharmacol., 46, 337-344 (2006)
 - 23) Wilkinson, G.R.: The effects of diet, aging and disease-states on presystemic elimination and oral drug bioavailability in humans. Adv. Drug Deliv. Rev., 27, 129-159 (1997)
 - 24) Benowitz, N.L., Lessov-Schlaggar, C.N., Swan, G.E., et al.: Female sex and oral contraceptive use accelerate nicotine metabolism. Clin. Pharmacol. Ther., 79, 480-488 (2006)
 - 25) Dempsey, D., Jacob, P. 3rd, Benowitz, N.L.: Accelerated metabolism of nicotine and cotinine in pregnant smokers. J. Pharmacol. Exp. Ther., 301, 594-598 (2002)
 - 26) Higashi, E., Fukami, T., Itoh, M., et al.: Human CYP2A6 is induced by estrogen via estrogen receptor. Drug Metab. Dispos., 35, 1935-1941 (2007)
 - 27) Satarug, S., Nishijo, M., Ujji, P., et al.: Effects of chronic exposure to low-level cadmium on renal tubular function and CYP2A6-mediated coumarin metabolism in healthy human subjects. Toxicol. Lett., 148, 187-197 (2004)
 - 28) Yokota, S., Higashi, E., Fukami, T., et al.: Human CYP2A6 is regulated by nuclear factor-erythroid 2 related factor 2. Biochem. Pharmacol. 81, 289-294 (2011)
 - 29) Itoh, M., Nakajima, M., Higashi, E., et al.: Induction of human CYP2A6 is mediated by the pregnane X receptor with peroxisome proliferator-activated receptor- γ coactiva-

- tor 1 α . J. Pharmacol. Exp. Ther., 319, 693-702 (2006)
- 30) Yamanaka, H., Nakajima, M., Katoh, M., et al.: *Trans*-3'-hydroxycotinine *O*- and *N*-glucuronidations in human liver microsomes. Drug Metab. Dispos., 33, 23-30 (2005)
- 31) Kuehl, G.E., Murphy, S.E.: *N*-Glucuronidation of nicotine and cotinine by human liver microsomes and heterologously expressed UDP-glucuronosyltransferases. Drug Metab. Dispos., 31, 1361-1368 (2006)
- 32) Benowitz, N.L., Perez-Stable, E.J., Fong, I., et al.: Ethnic differences in *N*-glucuronidation of nicotine and cotinine. J. Pharmacol. Exp. Ther., 291, 1196-1203 (1999)
- 33) Berg, J.Z., Mason, J., Boettcher, A.J., et al.: Nicotine metabolism in African Americans and European Americans: variation in glucuronidation by ethnicity and UGT2B10 haplotype. J. Pharmacol. Exp. Ther., 332, 202-209 (2010)
- 34) Berg, J.Z., von Weymarn, L.B., Thompson, E.A., et al.: UGT2B10 genotype influences nicotine glucuronidation, oxidation, and consumption. Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev., 1423-1431 (2010)
- 35) Chen, G., Giambrone, N.E. Jr, Dluzen, D.F.: Glucuronidation genotypes and nicotine metabolic phenotypes: importance of functional UGT2B10 and UGT2B17 polymorphisms. Cancer Res., 70, 7543-7552 (2010)
- 36) Swan, G.E., Benowitz, N.L., Lessov, C.N., et al.: Nicotine metabolism: the impact of CYP2A6 on estimates of additive genetic influence. Pharmacogenet. Genomics, 15, 115-125 (2005)
- 37) Swan, G.E., Lessov-Schlaggar, C.N., Bergen, A.W., et al.: Genetic and environmental influences on the ratio of 3'hydroxycotinine to cotinine in plasma and urine. Pharmacogenet. Genomics, 19, 388-398 (2009)
- 38) Dempsey, D.A., St Helen, G., Jacob, P., et al.: Genetic and pharmacokinetic determinants of response to transdermal nicotine in white, black and Asian non-smokers. Clin. Pharmacol. Ther., 94, 687-694 (2013)

Factors causing interindividual variability in nicotine metabolism

Miki Nakajima

Drug Metabolism and Toxicology, Faculty of Pharmaceutical Sciences,
Kanazawa University

Abstract

Smokers intend to smoke cigarettes to keep the concentrations of nicotine in body owing to nicotine dependence. Absorbed nicotine is rapidly and extensively metabolized, and only 10% of the nicotine dose is excreted unchanged in the urine. Major metabolic pathways of nicotine are cotinine and *trans*-3'-hydroxycotinine formations catalyzed by CYP2A6. Nicotine and cotinine are converted to *N*-glucuronides mainly by UGT2B10. *Trans*-3'-hydroxycotinine is converted to *O*-glucuronide mainly by UGT2B17. Large interindividual and interethnic differences in nicotine metabolism were observed, and these differences considerably attributed to genetic polymorphisms of *CYP2A6*, *UGT2B10*, or *UGT2B17* genes. Japanese show especially lower cotinine formation and higher frequency of *CYP2A6* defective alleles than Koreans, Caucasians, and African-Americans. Association of genetic polymorphisms of the *CYP2A6* gene with smoking behavior or cancer risk has been revealed. Non-genetic factors such as diet and environment may also contribute to the interindividual variability of nicotine metabolism. Transcriptional regulation of CYP2A6 via estrogen receptor, pregnane X receptor, or NF-E2 related factor 2 would be involved in sex or interindividual differences of nicotine metabolism. Nicotine is used for replacement therapy for smoking cessation. We must pay attention to a possibility that poor metabolizers may suffer from toxicity of nicotine with appropriate dose for extensive metabolizers.

Key words : CYP2A6, UGT, genetic polymorphism, transcriptional regulation, enzyme inhibition

Received 19 Sep. 2013 ; accepted 28 Oct. 2013

注1. 「平成23年国民健康・栄養調査報告」厚生労働省<http://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/eiyou/h23-houkoku.html>