

日本財団補助金による

1996年度財団法人日中医学協会助成報告書

—調査並びに研究に対する助成—

1997年2月27日

財団法人 日中医学協会

理事長 中島章 殿

研究代表者氏名 下條信弘



所属機関名 筑波大学

職名 教授 年齢 57 才

所在地 〒305茨城県つくば市天王台1-1-1

電話 0298-53-3133 内線

1. 研究課題

中国海南省少数民族におけるGIST遺伝子欠損率および癌発症率の研究
調査研究

2. 研究期間 自 1996年4月15日 ~ 至 1997年3月15日

3. 研究組織

日本側研究者氏名 下條信弘 (57才)

所属機関 筑波大学

職名 教授

中国側研究者氏名 孫貴範 (50才)

所属機関 中国医科大学

職名 教授

4. 研究目的、方法、成果と考察、結論の形式で、A4版にて4,000字以上で報告し、研究成果の発表予定についても記載して下さい。尚、論文発表に当っては、日本財団補助金による旨を明記して下さい。

5. 収支決算報告

中国海南島少数民族におけるGSTα遺伝子欠損率および癌発生率の調査研究
 1996年4月11日交付通知のあった研究課題

についての収支決算を行ないました。関係書類を添えて、次のとおり報告します。

交付を受けた金額	支 出 内 訳				
	消耗品費	謝 金	旅 費	その他	合 計
900,000 円	296,000 円	150,000 円	454,000 円	0 円	900,000 円

支出費内訳（消耗品、謝金、旅費、その他の項目別に記載・別紙可）

区 分	金 額	使 用 目 的
消耗品費	296,000,-	GSTα遺伝子酵素測定用試薬, ガラス器具 実験補助, 資料整理
謝 金	150,000,-	
旅 費	454,000,-	
		1. 航空代(沈陽⇒海口)癌患者4人分 2. 予備調査(海南島4人分) 3. 宿泊代(4人×6泊) 4. 車代(5日肉, 1台) 5. 人件費(8人×7日肉)

中国海南島少数民族におけるGST μ 遺伝子欠損率および癌発生率の調査研究

日本側研究者代表
下條信弘
筑波大学 教授

中国側研究者代表
孫貴範
中国医科大学 教授

1. 目的

グルタチオンS-トランスフェラーゼ(GST μ)は肝を初め、広く生体に存在し、生体解毒機構に關与する多機能酵素である。GSTは等電点、蛋白の一次構造、免疫及び基質特異性によってGST Alpha、GST μ 、GST Pi、GST Thetaに分類される。この中で、GST μ とGST Thetaは癌原物質の解毒抱合に対して重要な役割を担っている。今までの研究^(1,2)によるとGST μ 遺伝子の欠損、非欠損には人種差が見られ、その欠損率は40-60%の範囲である。本研究は中国海南島に居住する四つの民族の健常者についてGST μ 遺伝子を測定し、民族分布の特異性について検討した。

2. 対象及び方法

2.1 研究対象：被験者は中国海南島省通什市、三亜市、陵水県、京中県に居住する四つの民族338人で、各民族間で混血は認められなかった。各民族の年齢構成及び性は表1に示す如くであった。即ち、年齢構成は13-83才、平均 38.83 ± 13.43 才；その内、男性194人の平均年齢は 35.43 ± 13.40 才、女性144人の平均年齢は 31.69 ± 13.18 才であった。また、職種、職歴、既往歴及び生活、飲酒、喫煙等の習慣を調査し、採血してGST μ 測定試料とした。

2.2 DNA抽出：DNA Extractor WB Kitを使ってDNAを抽出し、 $2.5 \mu\text{l}$ 上清をPCRの測定に用いた。

2.3 PCR条件： $25 \mu\text{l}$ 反応系でPCRを行う。反応液は $200 \mu\text{l}/1$ dNTP、 $1 \mu\text{mol/l}$ プライマー、 $2.5 \mu\text{l}$ DNA、 2uTaq であった。増幅条件は 94°C で1分間変性、 58°C で1.5分間複性、 72°C で1分間延長、30サイクル反応させた。

2.4 電気泳動：電流80mA、電圧110v、TAE buffer(pH 8.12)で電気泳動し、300nmの紫外線透射器で観察し現像した。2%アガロース上で250bpにGST μ 遺伝子増幅産物がない検体は欠損と判定した。

表1 研究対象の年齢構成及び性

	漢民族	回族	り族	苗族	合計
年齢	45.45 ± 11.42	34.70 ± 13.08	32.35 ± 14.78	32.37 ± 10.33	33.83 ± 13.43
男性 (人)	15	59	75	45	194
女性 (人)	5	41	59	39	144
総計 (人)	20	100	134	84	338

3. 結果

四つの民族間におけるGST μ 遺伝子欠損率を表2に示した。男性では、苗族、り族、回族がほぼ50%で漢族が最も低く33.33%であった。一方、女性の欠損率はり族、回族、漢族が60-63.42%の範囲であるのに対し、苗族は51.3%で10%程度他の民族より欠損率が低

%であるのに対し、苗族50.00%、漢族40.00%であった。GST Muの欠損率を民族間で比較し、表3に示した。男性、女性およびその合計それぞれにおける民族間の欠損率はいずれも有意の差は見られなかった。しかし、全民族を合計して男女間で比較した場合は有意な性差 (P=0.040) が認められた (表2)。

表2 海南島少数民族のGST Mu欠損率

民族	GST Mu									
	male			female			male:female	total		
	+	-	%	+	-	%	P value	+	-	%
苗族	23	22	48.89	19	20	51.28	0.827	42	42	50.00
リ族	37	38	50.67	22	37	62.71	0.163	59	75	55.97
回族	30	29	49.15	15	26	63.42	0.159	45	55	55.00
漢族	10	5	33.33	2	3	60.00	0.292	12	8	40.00
合計	100	94	48.45	58	86	59.75	0.040	158	180	53.25

表3 海南島少数民族のGST Muの有意差検定

比較組	male		female		total	
	X ² test	P value	X ² test	P value	X ² test	P value
苗族とリ族	0.0356	0.750	1.2606	0.250	0.7401	0.250
苗族と回族	0.0007	0.900	1.2039	0.250	0.4579	0.500
苗族と漢族	1.0999	0.250	0.1350	0.750	0.0039	0.900
リ族と回族	0.0303	0.950	0.7129	0.500	0.0218	0.750
リ族と漢族	1.9120	0.250	0.0788	0.750	1.7862	0.100
回族と漢族	1.2051	0.500	0.1165	0.250	0.5475	0.250

4. 考察

本研究では、PCR分析法で中国海南島の四民族338人を対象としてGST Mu遺伝子分布を調べた。その結果、リ族のGST Mu遺伝子欠損率が一番高く (55.97%)、次は回族(55.00%)、苗族 (50.00%) で一番低いのが漢民族 (40.00%) であった。四つの民族338人のGST Mu欠損率は53.25%で、その内、男性は48.45%、女性が59.75%で性差が認められた。Laisneyの報告⁽²⁾によるとフランス人のGST Mu遺伝子欠損率は40.8%で、Haradaら⁽³⁾は日本人のGST Mu欠損率は48.0%、英国人の欠損率は40.8%としている⁽⁴⁾。今回の調査結果で海南島少数民族のGST Mu遺伝子欠損率はアフリカ系アメリカ人 (33.0)、ヨーロッパ人 (40.8) よりも高く、日本人に近いことが明らかになった。海南島漢民族のGST Mu遺伝

子欠損率は40.00%で、孫らの中国漢民族のGST Mu欠損率51.9%に比べて低い。この主な原因は、人種の生体遺伝子の背景が異なるというよりも、むしろ今回調査した例数が少ないことによるものと考えられる。

GST Muは発癌物質の代謝に重要な役割がある。一般に癌原性物質は生体内のチトクロームP450によって代謝活性化を受け、核染色体DNAを攻撃し、細胞の変異と組織の癌化を促進する。GST Mu遺伝子欠損は宿主因子として発癌の可能性を知るうえで重要である。従ってGST Muの民族、地域分布の調査研究は各民族、地域発癌率及び腫瘍感受性との関係を解明する上に重要な意味がある。今後、GST Mu遺伝子欠損と少数民族地域の腫瘍との関係について研究していく予定である。

5. まとめ

中国海南島四つの民族の健常者338人のGST Mu遺伝子をPCR分析法で測定し、民族間の分布を比較した。その結果、GST Mu遺伝子欠損率は53.25%であった。この内、男性48.45%、女性59.72%で、男女間に差が認められた。各少数民族のGST Mu遺伝子欠損率は回族55.97%、苗族50.00%、漢民族40.00%であり、民族間には有意差は認められなかった。

参考文献

1. Brockmoller J. Genotype and phenotype of glutathione s-transferase class μ isoenzyme μ and ϕ in lung cancer and controls. *Cancer Res.*, 1993; 53: 1004.
2. Lafuente A., Pujol, F., Carretero, P., Villa, J.P. and Cuchi, A. Human glutathione s-transferase μ (GST μ) deficiency as a marker for the susceptibility to bladder and larynx cancer among smokers. *Cancer Letters.*, 1993; 68: 49.
3. Harada, S., Abei, M., Tanaka, N., Agarwal, D.P. and Goedde, H.W. Liver glutathione S-transferase polymorphism in Japanese and its pharmacogenetic importance. *Hum. Genet.*, 1987; 75: 322-325.
4. Strange, R. C., Faulder, G.C., Davis, B.A., Hume, R., Brwn, J.A.H., Cotton, N. and Hopkinson, D.A. The human glutathione S-transferases: studies on the tissue distribution and genetic variation of GST1, GST2 and GST3 isoenzymes. *Ann. Hum. Genet.*, 1984; 48: 11-20.

1996年度日中医学学术交流助成金収支決算

年 月 日	収支	支出	残高
平成8年 6月 6日	400,000		400,000
6月10日		184,000	216,000
8月23日	300,000		516,000
8月30日		50,000	466,000
11月12日		454,000	12,000
11月25日	150,000		162,000
11月27日		112,000	50,000
11月29日		50,000	0
平成9年 1月24日	50,000		50,000
2月 7日		50,000	0

筑波大学・社会医学系・下條信弘