

Genetisk variation i omsætningen af fremmedstoffer

Professor Herman Autrup

Aarhus Universitet, Det Sundhedsvidenskabelige Fakultet, Institut for Folkesundhed, Afdelingen for Miljø- og Arbejdsmedicin

Resume

Genetiske polymorfier er identificeret i gener, der koder for enzymer involveret i organismens forsvar over for giftige fremmedstoffer. Nogle af disse polymorfier medfører en ændret enzymaktivitet og dermed en ændret sygdomsrisiko som følge af udsættelse for fremmedstoffer. Hovedparten af de hidtidige undersøgelser har været fokuseret på enzymerne, cytokrom P-450 og glutathion S-transferase og risikoen for at udvikle kræft. Polymorfier, der medfører et nedsat forsvar, er forbundet med øget kræftisiko, især blandt rygere. Selv om den relative risiko, der er forbundet med disse polymorfier, er lille, har de stor betydning for folkesundheden, idet nogle polymorfier forekommer i høj frekvens i befolkningen.

Det er almindeligt antaget, at miljøfaktorer spiller en vigtig rolle i udviklingen af visse kroniske sygdomme, f.eks. kræft. Dette er dog ikke ensbetydende med, at alle udsatte får sygdommen. Tobaksrøg indeholder mange sundhedsskadelige stoffer, som alle rygere er udsat for. Der er naturligvis forskel i den dosis, som den enkelte ryger modtager, men denne forskel kan ikke alene forklare, hvorfor kun en ud af ti storrygere (en pakke pr. dag) får lungekræft. I en nordisk tvillingeundersøgelse er det vist, at gen-miljø-interaktion, samspil mellem et risikomodificerende gen og en kemisk risikofaktor, spiller en vigtig rolle i udviklingen af kræft [1].

Mange kendte toksiske fremmedstoffer omsættes i organismen til produkter, der enten er farligere, eller til produkter, der er afgiftet og kan udskilles af organismen. Mange forskellige enzymer indgår i denne omsætning, og genetiske forskelle i disse enzymer (genetiske polymorfier) kan på afgørende vis ændre forholdet mellem aktive og afgiftede metabolitter og dermed risikoen for at få en sygdom.

En genetisk polymorfi er defineret som en genetisk æn-

dring, der forekommer hos mindst 1% af befolkningen. Disse polymorfier omfatter både enkelt nukleotidpolymorfier (SNP), deletioner og duplikationer og simple tandem-repeats. Det er dog ikke alle SNP, der er relateret til en ændret funktion af enzymet. Den biologiske konsekvens er afhængig af, hvor i genet ændringen findes. Hvis ændringen findes i den regulatoriske del, kan det f.eks. medføre en ændring i ekspresionen af genet og dermed i enzymaktiviteten. Findes SNP derimod i den kodende del, er resultatet enten et ikkefunktionelt enzym eller et enzym med ændret katalytisk egenskab. Alle SNP er dog ikke relateret til en ændring i biologisk aktivitet eller funktion.

Ud over enzymer, der direkte er involveret i omsætning af miljøgifte, kan ændringer i de enzymer, der beskytter cellen mod f.eks. oxidative skader, påvirke risikoen for en sundhedsskadelig effekt. Reaktive oxidationsprodukter kan induceres af kemiske miljøgifte eller kan dannes som følge af inflammatoriske processer. Ydermere kan en ændring i enzymer, der reparerer skader påført DNA af f.eks. kræftfremkaldende stoffer, påvirke risikoen for at få kræft. I denne oversigtsartikel vil der hovedsagelig blive fokuseret på de såkaldte fase 1- og fase 2-enzymmer, der deltager i henholdsvis oxidation og konjugation af de hydroxylerede metabolitter, idet man i de fleste molekylærepidemiologiske studier har fokuseret på disse enzymer. Disse enzymer omfatter medlemmer af glutathion S-transferase (GST)- og cytokrom P450 (CYP450)-familierne, der begge spiller en vigtig rolle i omsætningen af de kræftfremkaldende stoffer, der findes i tobaksrøg [2]. Enzymernes rolle i omsætningen af tobakskarcinogenet benz(a)pyren er illustreret i **Figur 1**.

Glutathion S-transferase

GST-enzymerne spiller en vigtig rolle i cellens forsvar mod de aktive metabolitter af miljøgifte, og i afgiftningen af sundhedsskadelige oxidative produkter. Der er seks medlemmer af familien, alpha, omega, mu, pi, theta og sigma, men det er hovedsagelig GSTA1 (alpha), GSTM1 (mu), GSTP1 (phi), GSTT1 (theta), der er af betydning for afgiftning af miljøgifte. Undersøgelser med transgene dyr har f.eks. vist, at mus, der mangler GSTP1, har en stærkt forøget risiko for at få hudkræft, når huden pensles med et kræftfremkaldende tøjrestof, idet disse mus ikke kan afgifte de aktive metabolitter [3].

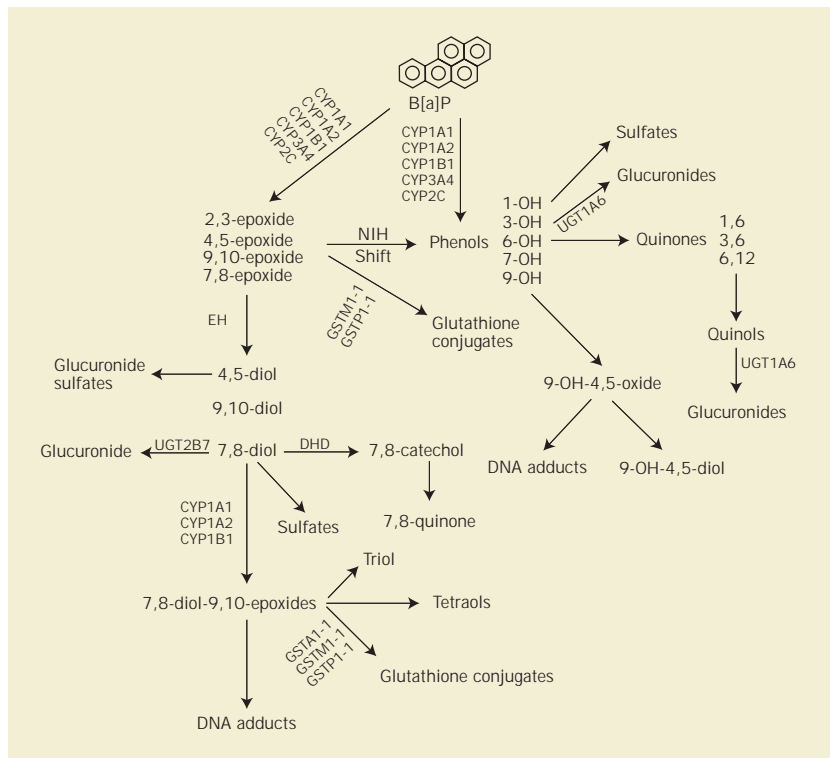
De genetiske polymorfier i GST-generne ændre aktiviteten på forskellig vis. Baggrunden for de genetiske polymorfier i både GSTM1 og GSTT1 er deletioner, hvilket betyder, at enzymerne ikke produceres, og at man derfor har et nedsat forsvar over for nogle miljøgifte, f.eks. tøjrestoffer. Ca. 50% af

Centrale nøglepunkter

- Genetiske polymorfier i enzymer, der deltager i cellulært forsvar over for miljøgifte.
- Effektmodifikation af rygerelaterede kræftformer.
- Gen-gen- og gen-miljø-interaktion i udvikling af kroniske sygdomme.

VIDENSKAB OG PRAKSIS | OVERSIGTSARTIKEL

Figur 1. Omsætning af tobakskarcinogenet benz(a)pyren.



den danske befolkning udtrykker ikke GSTM1-genet, mens ca. 15% ikke udtrykker GSTT1-genet [4]. Personer, der ikke udtrykker et enkelt eller begge gener, har en lidt øget risiko for at få ca. 20 forskellige kræftformer. Den relative risiko for at få lungekræft blandt rygere var 1,17 for personer, der ikke udtrykte GSTM1-genet i forhold til personer, der udtrykte genet [5]. Den risiko, der er relateret til disse polymorfier, er ikke særlig stor, men da frekvensen i befolkningen er høj, har de fra et folkesundhedssynspunkt en stor betydning. Det er estimeret, at manglen på GSTM1-genet blandt rygere kan forklare ca. 20% af de observerede kræfttilfælde. Denne effekt er især udtalt ved lave eksponeringer, og det er estimeret, at deletionen af GSTM1 kan forklare 60% af de lungekræfttilfælde, der ses blandt personer, der er udsat for passiv rygning [6]. I flere studier er det vist, at personer, der ikke udtrykker GSTT1 og GSTM1, har en øget risiko for at få lungekræft især blandt rygere med begrænset tobaksforbrug, mens fravær af GSTT1 tilsyneladende er en beskyttende faktor hos storrygere [7]. I en undersøgelse udført i den danske kost-kræftkohorte fandt vi, at hos rygere var deletion af GSTT1 en risikofaktor, og at den relative risiko var størst hos yngre patienter og hos patienter med planocellulært karcinom [8].

Man kan dog ikke drage den generelle konklusion, at personer, der ikke udtrykker generne, har en øget risiko. Risikoen er også afhængig af det kemiske stof og sygdomsudfald. For eksempel har personer, der udsættes for opløsningsmidlet metylenklorid og ikke udtrykker GSTT1-genet, en øget risiko for neurotoksicitet, mens personer, der udtrykker genet, for-

ventes at have en forøget kræftisiko [9]. Dette skyldes, at GSTT1 indgår i dannelsen af den DNA-beskadigende metabolit.

Der er identificeret to forskellige SNP'er i GSTP1 i området, der koder for substratbindingen, hvilket medfører en ændret enzymkinetik. Ca. 10% af alle danskere er homozygoter for den lavaktive form [10], og denne variant er relateret til en øget risiko for at få lungekræft hos personer, der er udsat for kræftfremkaldende tjærestoffer [11], mens risikogenotypen spiller en mindre rolle i udviklingen af andre, ikke-tobaksrelaterede kræftformer.

I modsætning til de andre GST'er indgår GSTA1 i afgiftningen af den aktive metabolit af aromatiske aminer, der findes i tobaksrøg eller dannes ved stegning af f.eks. rødt kød (stegemutagener). En veletableret genetisk polymorfi i GSTA1 er lokaliseret i det regulatoriske område og bestemmer udtrykket af forskellige isoformer af enzymet. Personer, der har denne polymorfi, har en lavere enzymaktivitet og dermed en nedsat evne til afgiftning af aromatiske aminer. En øget risiko for kolorektalkræft er da også relateret til denne genotype [12].

GSTM1 indgår ikke alene i deaktivering af kræftfremkaldende stoffer, men også i omsætningen af nogle af de stoffer, der findes i grøntsager, og som antagelig beskytter mod kræft. Således bliver isotiocyanater, der stammer fra korsblomstrede grøntsager, der især omfatter kålfamilien, deaktiveret af GSTM1. Derfor vil personer, der ikke udtrykker genet, opnå en højere dosis af den forebyggende komponent og dermed en mere effektiv beskyttelse. En nedsat risiko for

VIDENSKAB OG PRAKSIS | OVERSIGTSARTIKEL

lungekræft hos ikkerygere er kun set hos kvinder, der indtager store mængder af isotiocyanater, og som mangler GSTM1 [13].

Cytokrom P450

Cytokrom P450 (CYP) er en genfamilie, der omfatter mere end 50 forskellige kendte gener. Med nikotinamid-adenin-dinukleotid-fosfat (NADPH)-P450-reduktase som kofaktor er disse enzymer de endelige oxidaser i elektrontransportkæden. Disse enzymer er involveret i omsætningen af kemiske miljøgifte og endogene stoffer, f.eks. steroider og fedtsyrer. Især medlemmer af familierne CYP1, CYP2 og CYP3 spiller en vigtig rolle i metabolismen af miljøgifte, f.eks. tjærestoffer, aromatiske aminer og nitrosaminer. Mange genetiske polymorfier er detekteret i disse gener, men ikke alle medfører en ændret biologisk aktivitet, f.eks. ændret ekspresion eller ændret substrataffinitet. CYP1A1, CYP1A2 og CYP1B1 indgår i omsætningen af tjærestoffer, mens 1B1 og 1A2 desuden indgår i omsætningen af aromatiske aminer. CYP2E1 indgår i omsætningen af relativt små organiske forbindelser, benzen, N-nitrosaminer og alkoholer.

Flere genetiske polymorfier er detekteret i CYP1A-genet, af hvilke nogle er relateret til en højere risiko for at få lungekræft hos rygere. I tidlige epidemiologiske undersøgelser er det vist, at høj tjærestofinduceret CYP1A-aktivitet i lymfocytter var relateret til en øget lungekræftisiko [14]. Denne relation var stærkest hos ikkerygere. Den mest almindeligt forekommende polymorfi er relateret til en øget ekspresion af genet. Frekvensen af CYP4501A-høj-inducerbar genotype er forholdsvis lav og er ikke blevet undersøgt i en dansk befolkningsgruppe. I en metaanalyse er det vist, at personer med den højinducerbare genotype har en øget risiko for at få lungekræft, og at risikoen er større med det antal år, personen har røget [15]. En øget ekspresion af CYP1A1 kræver tilstedeværelsen af en ligand til arylhydrocarbon (Ah)-receptoren, f.eks. dioxiner, polyklorerede bifenyler (PCB) eller tjærestoffer. Mens hverken CYP1A1-genotype eller PCB alene øger risikoen for brystkræft, har kvinder, der er udsat for en høj dosis PCB og er bærere af den højinducerbare CYP1A1-genotype, en øget risiko for at få brystkræft, en effekt, der er stærkest hos postmenopausale kvinder [16].

Andre metabolismeenzymer

Genetiske polymorfier i andre enzymer involveret i fase 1- og fase 2-omsætningen af fremmedstoffer, f.eks. N-acetyltransferaser, NADPH:quino-oxidoreduktase (NQO) og epoxidhydrolase [2] påvirker ligeledes risikoen for at få kræft ved at ændre på forholdet mellem aktive og afgiftede metabolitter.

Metaboliske genotyper og rygevaner

CYP2D6 og CYP2A6 formodes at indgå i omsætningen af nikotin, og deres aktivitet påvirker dermed den farmakologiske dosis og indirekte rygevanerne. Blandt storrygere findes der

således en overhyppighed af personer med en duplikation af CYP2D6-genet, dvs. høj aktivitet og nedsættelse af nikotin-niveauet [17]. Flere genetiske polymorfier er detekteret i CYP2A6. Dette enzym indgår i omsætningen af både nikotin og de kræftfremkaldende nitrosaminer i cigaretrøg. Personer, der blev klassificeret som langsomt metaboliserende, røg færre cigaretter end de hurtigt metaboliserende. Sidstnævnte gruppe havde også en lavere lungekræftisiko [18]. I modsætning til genetiske polymorfier i CYP-enzymet påvirker GST-genotyperne ikke rygevanerne. Dette kan heller ikke forventes, idet GST ikke indgår i metabolismen af nikotin [19]. Ikke desto mindre har man fundet i et rygeafvænningsprogram i USA, hvor deltagerne havde information om deres GSTM1-status, at oplysningen om GSTM1-status tilsyneladende havde en positiv effekt, idet personerne i denne gruppe havde et lavere frafald end personer, der ikke kendte deres genotype [20].

Gen-gen-interaktion

Da kemiske miljøgifte underkastes mange metaboliske processer katalyseret af forskellige enzymer, er det vigtigt ikke at fokusere på en enkelt genotype, men på en kombination af genotyper for enzymer, der indgår i denne omsætning. Hvor CYP1A og GSTM1 hver for sig kun øger kræftisikoen lidt, vil personer, der mangler både GSTM1-genet og udtrykker den højt inducerbare fænotype af CYP1A1, have en større risiko for at få kræft. Disse personer har en øget dannelse af de aktive metabolitter samtidig med, at de har en nedsat evne til at afgifte. I et netop afsluttet molekylærepidemiologiske studium af ikkerygere i den europæiske kost-kræft-kohorte (EPIC) er det vist, at risikoen for at få rygerelaterede kræftformer stiger med antallet af højrisikoalleler i xenobioticametaboliserende enzymer [21].

N-acetyltransferase (NAT) og CYP1A2 spiller en vigtig rolle for metabolismen af aromatiske aminer, og forskelle i enzymatisk aktivitet i disse enzymer er derfor afgørende for, hvor mange af de biologiske aktive metabolitter, der dannes. Aromatiske forbindelser findes både i kosten (stegemutagener) og i cigaretrøg. Personer, der er klassificerede som højaktive for begge enzymer, og som spiste store mængder af gennemstegt kød, havde en højere risiko for at få kolorektal kræft end personer, der var klassificeret som langsomme [22]. For lungekræft er billedet mere komplekst, idet en øget risiko for adenokarcinom sås i gruppen med langsom NAT/hurtig CYP1A2 efter korrektion for rygning [23].

Udsættelse for benzen er relateret til en øget risiko for hæmatoksicitet og leukæmi. Benzen omdannes i leveren ved en fase 1-oxidation til fenol og hydroquinon af CYP2E1. Den sidstnævnte metabolit vil i knoglemarven blive omdannet til quinoner, der er den giftige metabolit, idet reaktive oxygenmolekyler frigøres ved yderligere metabolisering. Quinonerne afgiftes af enzymet NQO1 til mindre giftige metabolitter [24]. GSTT1 indgår i afgiftningen af den primære metabo-

VIDENSKAB OG PRAKSIS | OVERSIGTSARTIKEL

lit, og personer, der udtrykker dette gen, har derfor en større udskillelse af glutathionkonjugatet af benzenoxid og en nedsat risiko for skader på lymfocyt-DNA. Manglen på GSTT1 i kombination med lavaktivitetsallelen af NQO1 resulterede i et højere DNA-skadeniveau og potentielt en højere kræft-risiko [25].

Konklusion

Genetiske ændringer i enzymer, der indgår i omsætningen af miljøfremmede stoffer, kan medfører en ændring i risikoen for at få kroniske sygdomme. De fleste undersøgelser er foretaget inden for kræftområdet, men der er et stigende antal undersøgelser med andre endepunkter; f.eks. at kvinder, der ikke udtrykker GSTT1, har en øget risiko for præmatur fødsel, og denne effekt var forværret, hvis kvinden samtidig var ryger [26]. Manglende udtryk af GSTM1 øgede risikoen for astma eller astmalignende symptomer, hvis man samtidig var udsat for passiv rygning [27]. Udsættelse for passiv røg i fostertilstanden og manglende udtryk af GSTT1 resulterede i et signifikant fald i lungefunktion i forhold til hos børn, der udtrykte genet, og som ikke var udsat for passiv rygning [27]. Progression af aterosklerose hos rygere var tilsvarende hurtigere hos personer, der manglede GSTM1 end hos personer, der udtrykte genet [28].

Da de genetiske varianter alene kun medfører en lille ændret risiko, er det vigtigt at fokusere på kombinationen af gener i den samme kæde, der kan kompensere for hinanden. Ligeledes er det vigtigt at have nøjagtige eksponeringsoplysninger. Dette stiller krav til størrelsen af undersøgelsesgruppen, men vi har i Danmark fordel af at have etableret store kohorter med biologisk materiale, hvori denne form for undersøgelser kan gennemføres, f.eks. »Bedre Sundhed for Mor/Barn« [29] og »Kost Kræft Helbred« [30].

Korrespondance: *Herman Autrup*, Institut for Folkesundhed, Afdelingen for Miljø og Arbejdsmedicin, Aarhus Universitet, DK-8000 Århus C. E-mail: ha@mil.au.dk

Antaget: 11. januar 2005
Interessekonflikter: Ingen angivet

Litteratur

- Lichtenstein P, Holm NV, Verkasalo PK et al. Environmental and heritable factors in the causation of cancer – analyses of cohorts of twins from Sweden, Denmark and Finland. *N Engl J Med* 2000;343:78-85.
- Autrup H. Gene-environment interaction in environmental carcinogenesis. I: Nicolopoulou-Stamati P, Hens L, Howard CV et al, eds. *Cancer as an environmental disease*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 2004;71-103.
- Henderson CJ, Mith AG, Ure J et al. Increased skin tumorigenesis in mice lacking pi class glutathione S-transferases. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95:5275-80.
- Garte S, Gaspari L, Autrup H et al. Metabolic gene polymorphism frequencies in control populations. *Cancer Epi Biomarker Preven* 2001;10:1239-48.
- Benhamou S, Lee WJ, Alexandrie AK et al. Meta and pooled analyses of the effects of glutathione S-transferase M1 polymorphisms and smoking on lung cancer risk. *Carcinogenesis* 2002;23:1343-50.
- Bennett WP, Alavanjo MC, Blomeke B et al. Environmental tobacco smoke, genetic susceptibility, and risk of lung cancer in never-smoking women. *J Natl Cancer Inst* 1999;91:2009-14.
- Alexandrie AK, Nyberg F, Warholm M et al. Influence of CYP1A1, GSTM1, GSTT1 and NQO1 genotypes and cumulative smoking dose on lung cancer risk in a Swedish population. *Cancer Epi Biomarker Preven* 2004;13:908-14.
- Sørensen M, Autrup H, Tjønneland A et al. Glutathione S-transferase T1 null-genotype is associated with an increased risk of lung cancer. *Int J Cancer* 2004;110:219-24.
- Johnsson F, Johanson G. A bayesian analysis of the influence of GSTT1 polymorphism and cancer risk estimate for dichloromethane. *Toxicol Appl Pharmacol* 2001;174:99-112.
- Autrup JL, Thomassen LH, Olsen JH et al. Glutathione S-transferases as risk factors in prostate cancer. *Eur J Cancer Preven* 1999;8:525-32.
- Stücker I, Hirvonen A, de Waziers I et al. Genetic polymorphism of glutathione S-transferases as modulators of lung cancer susceptibility. *Carcinogenesis* 2002;22:11-6.
- Coles B, Nowell SA, MacLeod SL et al. The role of human glutathione S-transferases (hGSTs) in the detoxification of the food-derived carcinogen metabolite N-acetoxy-PhIP, and the effect of a polymorphism in hGSTA1 on colorectal cancer risk. *Mutat Res* 2001;482:3-10.
- Zhao B, Seow A, Lee EJD et al. Dietary isothiocyanate, glutathione S-transferase M1, and T1 polymorphisms and lung cancer risk among Chinese women in Singapore. *Cancer Epi Biomarker Preven* 2001;10:1063-7.
- Kellermann G, Shaw CR, Luyten-Kellerman M. Aryl hydrocarbon hydroxylase inducibility and bronchiogenic carcinoma. *N Engl J Med* 1973;289:934-7.
- Vineis P, Veglia F, Benhamou S et al. CYP1A1 T3801 polymorphism and lung cancer: a pooled analysis of 2451 cases and 3358 controls. *Int J Cancer* 2003;104:650-7.
- Laden F, Ishibe N, Hankinson SE et al. Polychlorinated biphenyls, cytochrome P450 1A1, and breast cancer risk in the nurses' health study. *Cancer Epi Biomarker Preven* 2002;11:1560-5.
- Saarikoski ST, Sata F, Husgafvel-Pursiainen K et al. CYP2D6 ultra-rapid metabolizer genotype as a potential modifier of smoking behavior. *Pharmacogenetics* 2000;10:5-10.
- 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* 2005;26 (i trykken).
- Smits KM, Benhamou S, Garte S et al. Association of metabolic gene polymorphisms with tobacco consumption in healthy controls. *Int J Cancer* 2004;110:266-70.
- McBride CM, Bepler G, Lipkus IM et al. Incorporating genetic susceptibility feedback into a smoking cessation program for African-American smokers with low income. *Cancer Epi Biomarker Preven* 2002;11:521-8.
- Vineis P. Lung cancer associated with environmental tobacco smoke and air pollution: risk assessment in European populations from the GENAIR study. *BMJ* 2005; (i trykken).
- Le Marchand L, Hankin JH, Wilkins LR et al. Combined effects of well-done red meat, smoking and rapid N-acetyltransferase 2 and CYP1A2 phenotypes in increasing colorectal cancer risk. *Cancer Epi Biomarker Preven* 2001;10: 1259-66.
- Seow A, Zhao B, Lee EJD et al. Cytochrome P4501A2 (CYP1A2) activity and lung cancer risk: a preliminary study among Chinese women in Singapore. *Carcinogenesis* 2001;22:673-7.
- Rothman N, Smith MT, Hayes RB et al. Benzene poisoning, a risk factor for hematological malignancy, is associated with NQO1 609C to T mutation and rapid fractional excretion of chloroxazone. *Cancer Res* 1997;57:2839-42.
- Avobge PH, Ayi-Fanou L, Autrup H et al. Ultrafine particulate matter and high-level benzene urban air pollution in relation to oxidative damage. *Carcinogenesis* 2005;26 (i trykken).
- Nukui T, Day RD, Sims CS et al. Maternal/newborn GSTT1 null genotype contributes to risk of preterm, low birth weight infants. *Pharmacogenetics* 2004;14:569-76.
- Kabesch M, Hoefler C, Carr D et al. Glutathione S-transferase deficiency and passive smoking increase childhood asthma. *Thorax* 2004;59:569-73.
- De Waart FG, Kok FJ, Smilde TJ et al. Effect of glutathione S-transferase M1 genotype on progression of atherosclerosis in lifelong male smokers. *Atherosclerosis* 2001;158:227-31.
- Olsen J, Melbye M, Olsen SF et al. The Danish national birth cohort – its background, structure and aim. *Scand J Public Health* 2001;29:300-7.
- Tjønneland AM, Overvad OK. Kost, kræft og helbred. *Ugeskr Læger* 2000; 162:350-4.