

機関番号：14301
研究種目：基盤研究(C)
研究期間：2008～2010
課題番号：20590720
研究課題名（和文） アルコール関連発がんの分子メカニズム解明と予防および
早期診断への応用
研究課題名（英文） Research on the mechanism of alcohol-related carcinogenesis and
its application for prevention and early detection in clinical
研究代表者
武藤 学 (MUTO MANABU)
京都大学・医学研究科・准教授
研究者番号：40360698

研究成果の概要（和文）：飲酒は喫煙とならび、食道癌の危険因子と言われていたが、なぜ癌化に関わるか不明であった。われわれは、飲酒に関する体質の違いにより、食道内の遺伝子の傷が付きやすさが異なることを明らかにした。また、この遺伝子障害が半減するのに要する時間は 35 時間であることを明らかにし、慢性的な遺伝子障害が飲酒による食道癌を引き起こす可能性を示した。食道が特異的に障害される原因は、呼吸を介する可能性も示した。

研究成果の概要（英文）：While alcohol drinking has been considered as carcinogen to the esophageal cancer as well as smoking, definite mechanism has been unclear.

We revealed that difference in activities of alcohol metabolizing enzymes could affect the tendency of DNA damage in the esophagus after drinking. And half-life of the DNA damage was around 35 hours. Then, chronic alcohol exposure has a potential of carcinogenic effect in the esophagus. Carcinogens in the breath after drinking might in part play an important role in the alcohol-related carcinogenesis in the esophagus.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2009 年度	900,000	270,000	1,170,000
2010 年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・消化器内科学

キーワード：アルコール関連発癌・ALDH2・予防・DNA アダクト・呼吸テスト

1. 研究開始当初の背景

食道癌、頭頸部癌は難治性癌であり、早期発見、予防が望まれる。飲酒・喫煙が食道癌の 2 大危険因子とされてきたが、癌化のメカニズムは明らかにされていない。なかでも、アルコール代謝酵素であるアルデヒド脱水

素酵素(ALDH2)の欠損者では、エタノール代謝産物であるアセトアルデヒドの蓄積が食道癌の原因に寄与していると考えられているが、なぜ摂取されたアルコールが肝臓で代謝された後に食道・頭頸部の発癌につながるのかは不明な点が多い。

2. 研究の目的

飲酒が原因とされる食道癌、頭頸部癌の発がんメカニズムを明らかにして、その予防と早期発見に役立てることを目的とする。

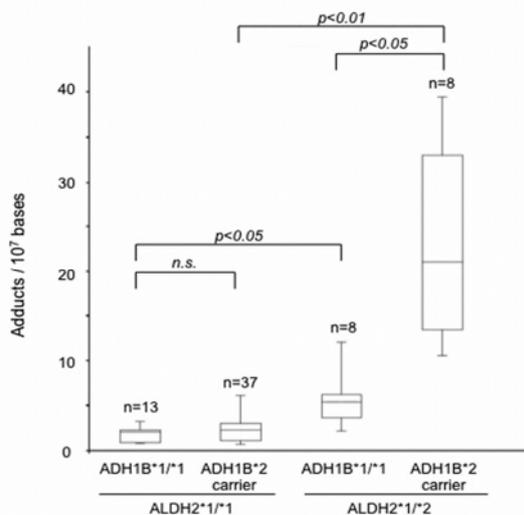
3. 研究の方法

- (1) C13 エタノールを経口投与してヒト呼吸中のC13 アセトアルデヒドの測定を行いALDH2 遺伝子多型判別の簡易診断が可能かを検討した。
- (2) アセトアルデヒドの臓器障害を明らかにするために、ALDH2 欠損マウスを用いて食道を経由しない投与経路(尾静脈または腹腔内)でのエタノール投与後の、食道の炎症性変化と食道を含めた各臓器でのDNA 損傷の程度をバイオマーカーであるDNA アダクト(N2-ethylidine-dG)を指標として検討した。DNA アダクトの測定はLC/MS/MS で測定した。
- (3) アセトアルデヒドが蓄積されるALDH2 ホモ欠損マウスとアセトアルデヒドが蓄積されにくいALDH2 正常マウスに、8週間5%エタノールを自由摂取させ、アセトアルデヒドによるDNA 損傷のマーカーの一つであるDNA アダクト：N-ethyleidine-dGの食道内の量を測定した。
- (4) DNA 損傷に対する重要な修復遺伝子であるp53 遺伝子欠損マウスを掛け合わせて、ALDH2 ホモ欠損/p53 ヘテロ欠損マウス[ALDH2 (-/-)p53 (-/-)]、ALDH2 ホモ欠損/p53 ホモ欠損マウス[ALDH2 (-/-)p53 (+/-)]を作成し、エタノールによるDNA アダクト形成の違いを検討した。
- (5) アセトアルデヒド暴露後の遺伝子損傷の半減期を、浮遊系がん細胞(HL50)を用いて検討した。
- (6) アルコール代謝酵素であるALDH2、ADH1Bの遺伝子多型と、ヒト生体内におけるDNAの損傷の違いを検討した。

4. 研究成果

- (1) 株式会社「化研」と共同開発した酸化チタン光触媒を用いたアルデヒド呼吸測定装置を試作し、ボランティアの協力のもと測定条件を検討した。100 μ lのC13 エタノール(99.9%)を50mlの純水で内服し、1, 3, 5, 7分後に呼吸バックに呼吸を採取して Δ 13C02を赤外分光計で測定した。ALDH2 遺伝子型が野生型に対し、欠損型では1, 3, 5分後に高値を示し1分後の差がもっとも大きかった。したがって、簡易型呼吸テストの条件は、C13 エタノール(99.9%)100 μ l+50ml 純水を内服後、1分後、3分後で検討する必要が示唆された。現在、半導体センサーを用いたより簡便な呼吸テストの開発中であり、低侵襲でかつ簡便に高危険群を判別できる可能性が期待できる。
- (2) 食道を経由しない投与経路(尾静脈または腹腔内)でエタノールを投与しても、ALDH2 欠損マウスでは野生型に比較して、食道内のN2-ethylidine-dGが増加することが示された。したがって、食道を直接経由しない経路で、飲酒後の食道癌発生は起こり得ることが示された。
- (3) エタノールを自由摂取させた場合、ALDH2 ホモ欠損マウスではALDH2 正常マウスに比較して有意に食道内のN-ethyleidine-dGの量が増加した。ALDH2 遺伝子型の差によって、飲酒後の食道内DNA 損傷が異なることが示された。
- (4) ALDH2 (-/-)p53 (+/-)マウスとALDH2 (-/-)p53 (-/-)におけるN-ethyleidine-dG量は、ALDH2 ホモ欠損/p53 正常マウスに比較してやや増加したが有意差はなかった。このことより、アセトアルデヒド暴露によるDNAの損傷は、DNA 修復遺伝子であるp53 遺伝子の状態には左右されないことがあきらかになった。アセトアルデヒドによるDNAの損傷の修復は他のメカニズムが関与していることが示唆された。

- (5) アセトアルデヒド暴露後のDNA損傷マーカーの N2-ethylidene-dG 数の半減期は浮遊系癌細胞 (HL60) を用いて計測すると、約 35 時間であることが推定され、慢性的な飲酒が細胞障害を慢性的に引き起こす可能性が示唆された。
- (6) ALDH2 ヘテロ欠損者では、野生型に対して有意に DNA 損傷が増加していた。また ALDH2 欠損者においては、ADH1B*2 遺伝子が遺伝子損傷を増加させることが示



された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 31 件)

- Horimatsu T, Miyamoto S, Morita S, Mashimo Y, Ezoe Y, Muto M, Chiba T. Pharmacokinetics of oxaliplatin in a hemodialytic patient treated with modified FOLFOX-6 plus bevacizumab therapy. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2011 (Epub) 査読有
- Muto M, Satake H, Yano T, Minashi K, Hayashi R, Fujii S, Ochiai A, Ohtsu A, Morita h, Horimatsu T, Ezoe Y, Miyamoto S, Asato R, Tateya I, Yoshizawa A, Chiba T. Long-term outcome of trans-oral organ-preserving pharyngeal endoscopic resection for superficial pharyngeal cancer. *Gastrointest Endosc* (in press) 査読有
- Muto M, Higuchi H, Ezoe Y, Horimatsu T, Morita S, Miyamoto S, Chiba T. Difference of image enhancement in image-enhanced endoscopy: Narrow band imaging (NBI) vs. Flexible spectral imaging color enhancement (FICE). *J Gastroenterol* (in press) 査読有
- Muto M, Endoscopic diagnosis for superficial neoplasia at the head and neck regions. *Eur J Cancer Prev* (in press) 査読有
- Yano T, Muto M, Minashi K, Kaneko K, Onozawa M, Nihei K, S Ishikura, A Ohtsu. Long-term results of salvage photodynamic therapy for patients with local failure after chemoradiotherapy for esophageal squamous cell carcinoma. *Endoscopy* (in press) 査読有
- Muto M, Morita S, Ezoe Y, Horimatsu T, Miyamoto S, Yoshii T, Iizuka T, Chiba T. Macroscopic Estimation of Submucosal Invasion in the Esophagus. *Tec Gastrointest Endosc* (in press) 査読有
- Aoyagi K, Minashi K, Igaki H, Tachimori Y, Nisimura T, Hokamura N, Ashida A, Daiko H, Ochiai A, Muto M, Ohtsu A, Yoshida T, Sasaki H. Artificially induced epithelial mesenchymal transition in surgical subjects: its implications in clinical and basic cancer research. *PLoS ONE*. 6(4):e18196. 2011 査読有
- Matsuba H, Katada C, Masaki T, Nakayama M, Okamoto T, Hanaoka N, Tanabe S, Koizumi W, Okamoto M, Muto M. Diagnosis of the extent of advanced oropharyngeal and hypopharyngeal cancers by narrow band imaging with magnifying endoscopy. *The Laryngoscope*. 121(4):753-759. 2011 査読有
- Ueda K, Muto M, Chiba T. A case of esophageal ulcer caused by alendronate sodium tablets. *Gastrointest Endosc*.

- 73(5):1037-1038. 2011 査読有
10. Ezoe Y, Muto M, Horimatsu T, Morita S, Miyamoto S, Satoshi M, Minashi K, Yano T, Ohtsu A, Chiba T. Efficacy of Preventive Endoscopic Balloon Dilatation for Esophageal Stricture After Endoscopic Resection. *J Clin Gastroenterol.* 45(3):222-227 2011 査読有
 11. Akitake R, Miyamoto S, Nakamura F, Horimatsu T, Ezoe Y, Muto M, Chiba T. Early Detection of 5-FU-Induced Acute Leukoencephalopathy on Diffusion-Weighted MRI. *Jpn J Clin Oncol.* 41(1):121-124 2011 査読有
 12. Tu CH, Muto M, Horimatsu T, Taku K, Yano T, Minashi K, Onozawa M, Nihei K, Ishikura S, Ohtsu A, Yoshida S. Submucosal tumor appearance is a useful endoscopic predictor of early primary-site recurrence after definitive chemoradiotherapy for esophageal squamous cell carcinoma. *Dis Esophagus* 2010 (Epub) 査読有
 13. Muto M, Minashi K, Yano T, Saito Y, Oda I, Nonaka S, Omori T, Sugiura H, Goda K, Kaise M, Inoue H, Ishikawa H, Ochiai A, Shimoda T, Watanabe H, Tajiri H, Saito D. Early detection of superficial squamous cell carcinoma in the head and neck region and esophagus by narrow band imaging: a multicenter randomized controlled trial. *J Clin Oncol*, 28(9):1566-1572 2010 査読有
 14. Ezoe Y, Muto M, Horimatsu T, Minashi K, Yano T, Chiba T, Ohtsu A. Magnifying narrow-band imaging versus magnifying white-light imaging for differential diagnosis of gastric small depressive lesions: a prospective Study. *Gastrointest Endosc*, 71(3): 477-484 2010 査読有
 15. Katada C, tanabe S, Koizumi W, Higuchi K, Tohru Sasaki, Azuma M, Katada N, Masaki T, Nakayama M, Okamoto M, Muto M, Narrow band imaging for detecting superficial squamous cell carcinoma of the head neck in patients with esophageal squamous cell carcinoma. *Endoscopy*, 42(3):185-190 2010 査読有
 16. Hayashi T, Muto M, Hayashi R, Ugumori T, Kishimoto S, Ebihara S. Usefulness of Narrow Band Imaging for detecting the primary tumor site in patients with primary unknown cervical lymph node metastasis. *Jpn J Clin Oncol*, 40(6):537-541 2010 査読有
 17. Fujii S, Yamazaki M, Muto M, Ochiai A. Microvascular irregularities are associated with composition of squamous epithelial lesion and correlate with subepithelial invasion of superficial type pharyngeal squamous cell carcinoma. *Histopathology*, 56(4):510-522 2010 査読有
 18. Morita S, Miyamoto S, Matsumoto S, Muto M, Chiba T. Multiple early-stage malignant melanoma of the esophagus with long follow-up period after endoscopic treatment:report of a case. *Esophagus*. 6(4):249-252, 2009 査読有
 19. Kurokawa Y, Muto M, Minashi K, Boku N, and Fukuda H, for the Gastrointestinal Oncology Study Group of Japan Clinical Oncology Group (JCOG). A phase II trial of combined treatment of endoscopic mucosal resection and chemoradiotherapy for clinical stage I esophageal carcinoma: Japan Clinical Oncology Group Study JCOG0508. *Jpn J Clin Oncol.* 39(10):686-9, 2009 査読有
 20. Muto M, Horimatsu T, Ezoe Y, Morita S, Miyamoto S. Improving visualization techniques by narrow band imaging and magnification endoscopy. *J Gastroenterol Hepatol.* 24(8):1333-46, 2009 査読有
 21. Onozawa M, Nihei K, Oshikura S, Minashi K, Yano T, Muto M, Ohtsu A, Ogino T. Elective nodal irradiation (ENI) in definitive

- chemoradiotherapy (CRT) for squamous cell carcinoma of the thoracic esophagus. Radiotherapy and Oncol. 92(2):266-9, 2009 査読有
22. Kaltenbach T, Muto M, Soetikno R, Dev P, Okamura K, Hahn J, Shimizu S. Teleteaching endoscopy: the feasibility of real-time, uncompressed video transmission by using advanced-network technologies. Gastrointest Endosco. 70(5):1013-7, 2009 査読有
23. Horimatsu T, Sano Y, Kaneko K, Ikematsu H, Katagiri A, Yano T, Fu KI, Muto M, Fujii S, Ochiai A, Yoshida S. Relationship between MVD and meshed-capillaries using magnifying NBI colonoscopy in colorectal precursor lesions. Hepatogastroenterology. 56(90):372-7, 2009 査読有
24. Yokoyama A, Kumagai Y, Yokoyama T, Omori T, Kato H, Igaki H, Tsujinaka T, Muto M, Yokoyama M, Watanabe H. Health risk appraisal models for mass screening for esophageal and pharyngeal cancer: an endoscopic follow-up study of cancer-free Japanese men. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 18(2):651-5, 2009 査読有
25. Ugumori T, Muto M, Hayashi R, Hayashi T, Kishimoto S. Prospective study of early detection of pharyngeal superficial carcinoma with the narrowband imaging laryngoscope. Head Neck. 31(2):189-94, 2009 査読有
26. Muto M, Horimatsu T, Ezoe Y, Hori K, Yukawa Y, Morita S, Miyamoto S, Chiba T. Narrow Band Imaging of the Gastrointestinal Tract. J Gastroenterol, 44(1):13-25, 2009 査読有
27. Yokoyama T, Yokoyama A, Kumagai Y, Omori T, Kato H, Igaki H, Tsujinaka T, Muto M, Yokoyama M, and Watanabe H. Health risk appraisal models for mass screening of esophageal cancer in Japanese men. Cancer Epidem Biomark & Prev 17(10):2846-2854, 2008 査読有
28. Yano T, Muto M, Hattori S, Minashi K, Onozawa M, Nihei K, Ishikura S, Ohtsu A, Yoshida S. Long-term results of salvage endoscopic mucosal resection in patients with local failure after definitive chemoradiotherapy for esophageal squamous cell carcinoma. Endoscopy 40(9):717-721, 2008 査読有
29. Oyama T, Sugio K, Isse T, Matsumoto A, Nose N, Uramamoto H, Nozoe T, Morita M, Kagawa N, Osaki T, Muto M, Yasumoto K, Kawamoto T. Expression of cytochrome P450 in non-small cell lung cancer. Frontiers in Bioscience 13, 5787-5793, 2008 査読有
30. Fuse N, Doi T, Ohtsu A, Yano T, Hamamoto Y, Minashi K, Tahara M, Muto M, Asaka M, Yoshida S. Safety of irinotecan and infusional fluorouracil/leucovorin (FOLFIRI) in Japan: a retrospective review of 48 patients with metastatic colorectal cancer. Int J of Clin Oncol, 13:144-149, 2008 査読有
31. Katagiri A, Fu KI, Sano Y, Ikematsu H, Horimatsu T, Kaneko K, Muto M, Yoshida S. Narrow band imaging with magnifying colonoscopy as a diagnostic tool for predicting the histology of early colorectal neoplasia. Alim Pharm & Therap 27(12):1269-74, 2008 査読有

[学会発表] (計 12 件)

- ① 湯河 良之、真下 陽子、堀 貴美子、堀松 高博、江副 康正、森田 周子、宮本 心一、武藤 学、千葉 勉、食道多発ヨード不染帯は可逆性か? —化学療法による多発癌発生予防介入の可能性— 第 48 回日本癌治療学会学術集会 口演 1(OS001-5) (2010 年 10 月 28 日) 京都国際会議場
- ② 青柳 一彦、三梨 桂子、山田 康秀、加藤 健、馬淵 智子、西村 公男、武藤 学、大津 敦、吉田 輝彦、佐々木 博己 食道がんの治療効果予測へ向けた生検サンプルの網羅的遺伝子発現解析 第 69 回日本癌学会学術総会 ポスター(P-1302) (2010 年 9 月

- 24日) 大阪国際会議場
- ③ 湯河 良之、堀 貴美子、江副 康正、宮本 心一、武藤 学、松田 知成、千葉 勉、Albh2 欠損およびp53 欠損とアセトアルデヒド由来 DNAアダクト形成との関連性との検討 第 69 回日本癌学会学術総会 (0-277) (2010 年 9月 23 日) 大阪国際会議場
- ④ 堀 貴美子、武藤 学、松田 知成、湯河 良之、アセトアルデヒド由来DNAアダクトの安定性に関する検討 第 69 回日本癌学会学術総会 ポスター(P-0200) (2010 年 9月 22 日) 大阪国際会議場
- ⑤ 武藤 学、咽頭・食道癌の診断と治療 第 6 回日本消化管学会総会学術集会 教育講演 1 (2010 年 2月 19 日) 福岡国際会議場
- ⑥ Manabu Muto. Narrow Band Imaging (NBI) in early detection of head and neck cancer and esophageal cancer 第 22 回国際がん研究シンポジウム (2009 年 5月 18 日) 国際研究交流会館
- ⑦ Manabu Muto, Keiko Minashi, Tomonori Yano, Shigeaki Yoshida, Satoshi Fujii, Atsushi Ochiai. A New Field of Endoscopic Treatment, Superficial Pharyngeal Cancer: A Case Series of 115 Superficial Cancers. ASGE Poster Session DDW 2008 MAY 18. San Diego Convention Center
- ⑧ 湯河良之、堀貴美子、江副康正、永吉晴奈、松田知成、小山倫浩、荒井さゆり、武藤 学、千葉 勉 ALDH2 ノックアウトマウスを用いたアルコール腹腔内投与による臓器アルデヒド分析とDNAアダクトの検討 第 67 回日本癌学会学術総会シンポジウム (2008 年 10月 30 日) 名古屋国際会議場
- ⑨ 堀 貴美子、湯河 良之、江副 康正、高橋 真理、小山 倫浩、武藤 学、千葉 勉 食道扁平上皮におけるALDH2 発現と遺伝子多型の検討 第 67 回日本癌学会学術総会 ワークショップ(2008 年 10月 28 日) 名古屋国際会議場
- ⑩ 横山 徹爾、横山 頭、熊谷 義也、大森 泰、加藤 抱一、井垣 弘康、辻仲利政、武藤 学、横山 雅子、渡辺 寛 飲酒で赤くなる体質をリスク評価に用いた食道癌の新しいスクリーニング法 第

67 回日本癌学会学術総会 (2008 年 10月 29 日) 名古屋国際会議場

- ⑪ 湯河良之、堀貴美子、江副康正、松田知成、小山倫浩、荒井さゆり、武藤 学、千葉 勉 *ALDH2*マウスへのアルコール腹腔内投与による臓器アセトアルデヒド分布とDNAアダクト 第 62 回日本食道学会学術集会 (2008 年 6月 21 日) 都市センターホール

[図書] (計 1 件)

- ① Muto M. Endoscopic diagnosis and treatment of superficial cancer in the oropharynx and hypopharynx. In "New challenges in gastrointestinal endoscopy", P67-76, ed. H. Tajiri and K Yasuda, Springer (Tokyo), 2008

[産業財産権]

○出願状況 (計 1 件)

名称: 生体検査装置および生体検査方法
発明者: 武藤 学・江副 康正・堀松 高博 (京都大学) 奥野 拓也・田中 正人・管 沼 寛 (住友電気工業株式会社)

権利者: 同上

種類: 特許

番号: 2011-040279

出願年月日: 2011 年 2 月 25 日

国内外の別: 国内

○取得状況 (計 0 件)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

武藤 学 (MUTO MANABU)

京都大学・医学研究科・准教授

研究者番号: 40360698

(2) 研究分担者

該当なし

(3) 連携研究者

該当なし