

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 4 月 20 日現在

機関番号：37116

研究種目：若手研究（A）

研究期間：2008～2011

課題番号：20681006

研究課題名（和文）ミトコンドリアゲノム・蛋白質付加体によるアルデヒド類の毒性発現機序の解明

研究課題名（英文） Mitochondrial genome/protein toxicity mechanism of aldehyde.

研究代表者

一瀬 豊日（ISSE TOYOHI）

産業医科大学・医学部・准教授

研究者番号：80341494

研究成果の概要（和文）：

本研究では、日本人のアルデヒド代謝非活性型のモデル動物となる *Aldh2* ノックアウトマウスを用い曝露実験を行い、臓器から抽出した核酸より有意に高いアセトアルデヒド由来の付加体を検出した。アセトアルデヒドはわが国の主要な室内環境汚染物質の1つで、飲酒による代謝で体内に発生し疫学的に発がん性が示唆されている。本結果はアセトアルデヒド由来の核酸付加体が疾病発生の曝露バイオマーカーとなる生物学手的知見を示した。

研究成果の概要（英文）：Levels of acetaldehyde-derived DNA adducts were significantly increased in ethanol and acetaldehyde exposed *Aldh2* knockout mouse organs which were model for inactive aldehyde dehydrogenase 2 polymorphism Japanese population than wild type mouse. Our finding supports epidemiological findings on the carcinogenicity of alcohol and acetaldehyde toxicity in ALDH2-deficient individuals who drink chronically and/or who expose by in room air pollution from the biological mechanism aspects.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	3,200,000	960,000	4,160,000
2009年度	2,200,000	660,000	2,860,000
2010年度	2,100,000	630,000	2,730,000
2011年度	2,600,000	780,000	3,380,000
総計	10,100,000	3,030,000	13,130,000

研究分野：複合新領域

科研費の分科・細目：環境学・放射線・化学物質影響科学

キーワード：トキシコロジー、アセトアルデヒド、発がん性、健康影響

1. 研究開始当初の背景

アセトアルデヒドは主要な室内環境汚染物質の1つであり、発がん性閾値なしと仮定した場合、わが国の人口の98%以上が許容できない吸入曝露を受けていると報告されている。またアセトアルデヒドは飲酒により体内で発生し、アルコール性臓器障害発症に関与している。わが国のアルコール関連疾患による医療費は年間1兆円を上回ると試算されており、医学分野でも重要な課題である。この

ように健康影響が懸念されるにもかかわらず、アセトアルデヒドの発がんおよび非発がんの毒性発現機序は明らかでない。

2. 研究の目的

本課題はアセトアルデヒドのミトコンドリアを介した毒性発現機序を分子機序レベルで解明し、リスク評価の際に有用な毒性発現機序を明らかにすることを目的としている。

3. 研究の方法

(1) アルデヒド曝露で形成された α -Me- γ -OH-PdG が細胞核ゲノムに比べミトコンドリアゲノムにおいて高率に検出されることを示す。

(2) アセトアルデヒドによる臓器障害が、ミトコンドリアゲノム損傷に起因することを、細胞核-ミトコンドリアゲノム数比およびチトクロムc活性で示す

(3) アセトアルデヒドのミトコンドリア蛋白質の付加体形成部位、とくにチトクロムcに関して付加体形成した蛋白質の1次構造を解明する

(4) アセトアルデヒド-ミトコンドリア蛋白質付加体の検出を組織学的検討し、吸入曝露による影響検出の新たな指標とする

4. 研究成果

(1) Aldh2 ノックアウトマウスをアルデヒド全身曝露し、核酸を抽出。形成された α -Me- γ -OH-PdG 核酸付加体は、野生型に比べノックアウトマウスで有意に高いことを認め学術誌に発表。

(2) Aldh2 ノックアウトマウスをアルコール経口投与し、核酸を抽出。形成された α -Me- γ -OH-PdG 核酸付加体は、野生型に比べノックアウトマウスで有意に高いことを認め学術誌に発表した。さらに、食道および唾液腺においても形成された α -Me- γ -OH-PdG 核酸付加体は、野生型に比べノックアウトマウスで有意に高いことを認め学術誌に発表した。

これらの知見は、IARCによる飲酒に伴うアセトアルデヒドが発がん性評価グループ1（ヒトに対する発がん性を示す）の評価を、動物実験および発がん機序の面から補強する知見と考えられる。従来はAldh2 遺伝子多型による発がんリスクの差異は、アルコール摂取量および体内アルデヒド曝露量の差より推算・評価されてきている。さらにアルコール経口投与で食道および唾液腺に多臓器に比べても核酸付加体が有意に高く認めることから、食道がんおよび上部咽頭がんとの生物学的な関連性を強く示唆していると考えられ、本知見は発がんに至る前段階の、影響量評価として位置づけられる。今後の詳細リスク評価および発がん防止につながる研究に利用可能と考えられる。

(3) 細胞核ゲノム対ミトコンドリアゲノム

の α -Me- γ -OH-PdG 核酸付加体の比較、(4) 細胞核およびミトコンドリアゲノムの代表的遺伝子の定量PCRから、アルデヒド曝露によりミトコンドリアゲノムが損傷を受け細胞核に対するミトコンドリアゲノム数減少を検証中である。また、(5) モデル蛋白質で得た反応条件から、複数の付加体構造を認めるため、チトクロム類活性に関わるタンパク質の機能障害に関与すると考えられる部位に絞って研究を推進、付加体結合を検証中である。

また、本研究の副次的成果として骨髄細胞p21 遺伝子発現増加、心血管内皮細胞の小胞体ストレス反応およびアポトーシスが Aldh2 ノックアウトマウスで誘導されていることから、飲酒による骨粗鬆症や心不全発症の病態およびリスクがALDH2 不活性型のヒトで異なる生物学的知見を得た。

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10件)

① Lee HS, Isse T, Kawamoto T, Woo HS, Kim AK, Park JY, Yang M.、

Effects and Action Mechanisms of Korean Pear (*Pyrus pyrifolia* cv. Shingo) on Alcohol Detoxification.、*Phytother Res.*、査読有、[Epub ahead of print]、2012、DOI: 10.1002/ptr.4630.

② Liao J, Sun A, Xie Y, Isse T, Kawamoto T, Zou Y, Ge J.、Aldehyde Dehydrogenase-2 Deficiency Aggravates Cardiac Dysfunction Elicited by Endoplasmic Reticulum Stress Induction.、*Mol Med.*、査読有、[Epub ahead of print]、2012、DOI: 10.2119/molmed.2011.00466.

③ Yu HS, Oyama T, Matsuda T, Isse T, Yamaguchi T, Tanaka M, Tsuji M,

Kawamoto T., The effect of ethanol on the formation of N ((2))-ethylidene-dG adducts in mice: implications for alcohol-related carcinogenicity of the oral cavity and esophagus.、 Biomarkers. 、 査読有、 17巻、 2012、 269-274.、

<http://informahealthcare.com/doi/abs/10.3109/1354750X.2012.666675>

④Shimizu Y, Sakai A, Menuki K, Mori T, Isse T, Oyama T, Kawamoto T, Nakamura T.、 Reduced bone formation in alcohol-induced osteopenia is associated with elevated p21 expression in bone marrow cells in aldehyde dehydrogenase 2-disrupted mice.、 Bone. 、 査読有、 48巻、 2011、 1075-1086.、

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S8756328211000123>

⑤Yu HS, Oyama T, Isse T, Kitagawa K, Pham TT, Tanaka M, Kawamoto T.、 Formation of acetaldehyde-derived DNA adducts due to alcohol exposure.、 Chem Biol Interact. 査読有、 188巻、 2010、 367-375.、

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0009279710005259>

⑥Oyama T, Nagayoshi H, Matsuda T, Oka M, Isse T, Yu HS, Pham TT, Tanaka M, Kagawa N, Kaneko K, Kawamoto T.、 Effects

of acetaldehyde inhalation in mitochondrial aldehyde dehydrogenase deficient mice (Aldh2-/-).、 Front Biosci (Elite Ed).、 査読有、 1巻、 2010、 1344-1354.、

<http://www.bioscience.org/2010/V2E/af/194/fulltext.htm>

⑦Yu HS, Oyama T, Isse T, Kitakawa K, Ogawa M, Pham TT, Kawamoto T.、 Characteristics of aldehyde dehydrogenase 2 (Aldh2) knockout mice.、 Toxicol Mech Methods.、 査読有、 19巻、 2009、 535-540、

<http://informahealthcare.com/doi/abs/10.3109/15376510903401708>

⑧Jamal M, Ameno K, Miki T, Wang W, Kumihashi M, Isse T, Kawamoto T, Kitagawa K, Nakayama K, Ijiri I, Kinoshita H.、 Cholinergic alterations following alcohol exposure in the frontal cortex of Aldh2-deficient mice models.、 Brain Res. 、 査読有、 1295巻、 2009、 37-43.、

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0006899309015935>

⑨Pham TT, Oyama T, Isse T, Kawamoto T.、 Application of tryptophan fluorescence to assess sensitizing potentials of chemicals.、

Arch Environ Contam Toxicol.、 査読有、 57巻、 2009、 427-436.、

<http://www.springerlink.com/content/u8qh1q2366445482/?MUD=MPEpub>

⑩Matsumoto A, Kawamoto T, Mutoh F, Isse T, Oyama T, Kitagawa K, Nakayama KI, Ichiba M.、Effects of 5-week ethanol feeding on the liver of aldehyde dehydrogenase 2 knockout mice.、Pharmacogenet Genomics.、査読有、18巻、2008、847-852.、

<http://journals.lww.com/jpharmacogenetics/pages/articleviewer.aspx?year=2008&issue=10000&article=00004&type=abstract>

〔学会発表〕（計2件）

①一瀬豊日、エタノール摂取による症状とアルデヒド脱水素酵素 (ALDH) 2 多型の影響、平成 22 年度アルコール・薬物依存関連学会合同学術総会、2010 年 10 月 9 日、リーガロイヤルホテル小倉（北九州）

②一瀬豊日、小山倫浩、Pham Thi Thu PHoung、荻野景規、川本俊弘、ダイオートアレイ検出器液体クロマトグラフィーによる感作性化学物質判定法、第 6 回日本予防医学会学術総会、2008 年 11 月 29 日～2008 年 11 月 30 日、東京医科大学病院（東京都新宿区）

6. 研究組織

(1) 研究代表者

一瀬 豊日 (ISSE TOYOHI)
産業医科大学・医学部・准教授
研究者番号：80341494