

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 13 日現在

機関番号：32612

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25461196

研究課題名(和文) Characterization of the role of aldehyde dehydrogenase-2 (ALDH2) and the effect of its human mutant allele (ALDH2*2) on airway stem cells function and predisposition to lung diseases

研究課題名(英文) Characterization of the role of aldehyde dehydrogenase-2 (ALDH2) and the effect of its human mutant allele (ALDH2*2) on airway stem cells function and predisposition to lung diseases

研究代表者

H e g a b A h m e d (Hegab, Ahmed)

慶應義塾大学・医学部・講師

研究者番号：00507915

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：ALDH2はアルデヒド分解酵素の1つである。ALDH2の遺伝子多型は東アジアにおける人口の40%程度にみられ、アルコールフラッシング症候群の他、アルツハイマー病、心疾患や食道癌などの悪性腫瘍を含む多くの疾患の危険因子となっていることがわかっている。しかし、ALDH2の遺伝子多型が気管・気管支・肺に及ぼす影響に関しては、これまで研究がなされていない。我々は、ヒトとマウスの検体を利用して、ALDH2の遺伝子多型が呼吸器系に及ぼす影響を明らかにした。

研究成果の概要(英文)：Aldehyde dehydrogenases (ALDHs) play a major role in detoxification of aldehydes. High ALDH expression is observed in the stem cells of many organs. A common mutation in ALDH2 gene (ALDH2*2), which affects 40% of East Asians, results in inactivation of the enzyme. This mutation is associated with alcohol flushing syndrome and increased risk for cardiovascular and Alzheimer's diseases, and some cancers. However, the effect of this ALDH2 mutation on the lung has not been thoroughly examined.

We detected several subtle effects of ALDH2 mutation on lungs. Some of these effects are similar to changes observed during normal aging, suggesting a "premature lung aging" effect.

研究分野：呼吸器内科

キーワード：ALDH2 aldehyde lung stem cell mitochondria

1. 研究開始当初の背景

ALDH2 はアルデヒドの分解酵素の 1 つである。ALDH2 の遺伝子多型は東アジアにおける人口の 40% 程度にみられ、アルコールフラッシング症候群の他、アルツハイマー病、心疾患や食道癌などの悪性腫瘍を含む多くの疾患の危険因子となっていることがわかっている。しかし、ALDH2 の遺伝子多型が気管・気管支・肺に及ぼす影響に関しては、これまで研究がなされていない。

2. 研究の目的

本研究の目的の一つは、ヒトおよびマウスの検体を用いて ALDH2 遺伝子多型が引き起こす気管・気管支・肺への影響について *in vitro* と *in vivo* の両面から研究することである。また、ALDH2 の遺伝子多型が及ぼすそのような機能変化は気道幹細胞の異常を介するという機序を明らかにすること、以上の 2 点である。

3. 研究の方法

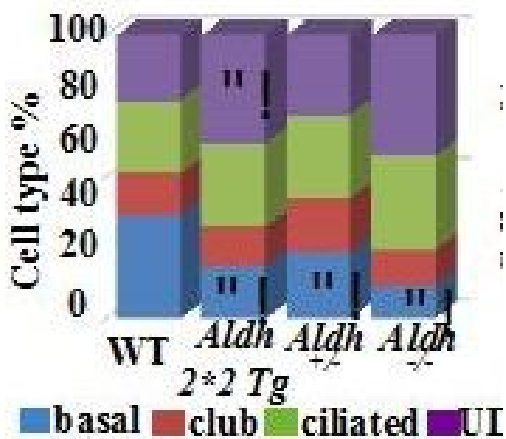
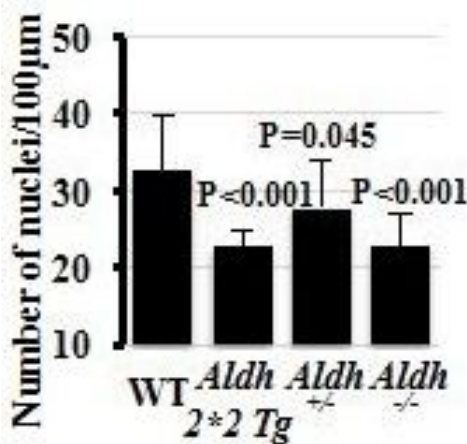
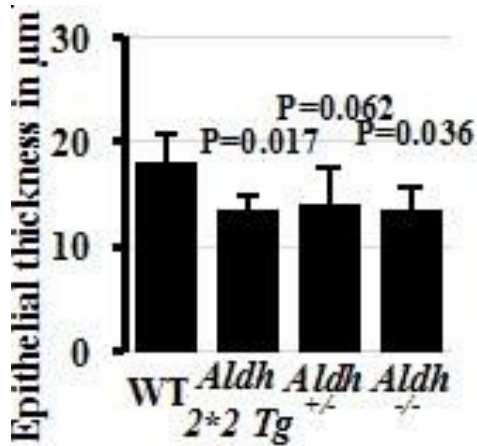
ALDH2 の遺伝子多型が肺機能検査に与える影響を検証した。ALDH2 の遺伝子多型があることで、気管支喘息や COPD の罹患率も異なるか調べた。また、ヒトのオペ検体を用いて、ALDH2 の遺伝子多型と切除した気管支や肺の上皮細胞の培養の検証 (colony forming efficiency) を行った。マウスモデルとしては、ALDH2*2 トランスジェニックマウス、ノックアウトマウスが野生型とどのように異なるか検証した。具体的には、無傷害モデルのマウスの表現型の検証 (気管上皮細胞の細胞分画を HE 染色と蛍光免疫染色を使って行った) また、*in vitro* での気管上皮細胞の培養の検証

(colony forming efficiency) *in vivo* での急性傷害モデル・慢性障害モデルの検証を行った。

4. 研究成果

ALDH2 の遺伝子多型が呼吸器系へ与える影響を検討した。まず、ALDH2 の遺伝子多型と肺機能の検証では、気管支喘息と COPD の罹患率には影響を及ぼさなかった。一方で、ALDH2 の遺伝子多型があると、健常者では FEV1/FVC が低下することがわかった。気管支上皮や肺の上皮において、CFE (colony forming efficiency) には有意差がないことがわかった。

マウスの実験では、ALDH2*2 トランスジェニックマウス、ノックアウトマウスのヘテロとホモが野生型とどのように違うかをまず検証した。無傷害モデルを用いた表現型の検証では、気管及び気管支と肺における上皮を HE 染色と蛍光免疫染色で観察し、統計学的に上皮細胞の細胞分画がそれぞれのマウス群でどのように異なるか検証した。また、電子顕微鏡を用いて、上皮組織の表現型がどのような理由で起こっているのか検証した。同様の検証は、生後 2 日程度のマウスと通常の週齢のマウスと 55 週齢以上の高齢マウスで検証もおこなった。無傷害モデルにおいては、ALDH2*2 トランスジェニックマウス、ノックアウトマウスでは、野生型に比べて、気管上皮細胞の厚み、核の密度・基底細胞(幹細胞)の数などが有意に小さいことがわかった。

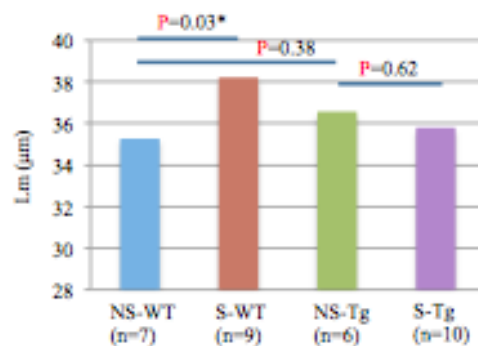


また電子顕微鏡では、ノックアウトマウス気管上皮細胞で、ミトコンドリアのクリステが消失していた。また、これらのマウスで ROS が上昇していた。

急性傷害モデルでは、気管よりポリドカノールを注入し、気管上皮の細胞を剥がすことで、その後起こる修復過程が

4 群でどのように異なるかを検証した。また、気管よりインフルエンザウィルスを注入して、どのように肺に影響をおよぼすかを検証した。急性障害モデルにおいては、マウス間で有意差は認めなかった。

慢性傷害モデルでは、喫煙装置を使って4ヶ月間経鼻的な喫煙を行い、肺における気腫の形成にどのような差があるかを検証した。ALDH2*2 トランスジェニックマウスでは、むしろ肺気腫はおこりにくいという結果であった。



これらの網羅的な解析によって、ALDH2 のトランスジェニックマウスとノックアウトマウス、またヒトにおいて、ALDH2 が呼吸器系にどのような表現型をもたらし、どのように病態や疾患に関わるのかを検証することができた。いくつかの結果は、マウスの老齢化の変化と類似しており、早老の影響を呼吸器系に及ぼしている可能性も示唆された。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計0件)

〔学会発表〕(計5件)

- (1) Ahmed E. Hegab. Characterization of the lung phenotypes of mice with aldehyde dehydrogenase (ALDH)-2 disturbed functions. The 54th Annual Meeting of the

Japanese Respiratory Society (JRS), April 25-27, 2014. Rihga Royal Hotel (Osaka-hu, Osaka-shi)

- (2) Ahmed E. Hegab. Mouse model of the common human aldehyde dehydrogenase (ALDH)-2 mutation exhibits disturbed airway epithelial phenotypes. The Annual International Conference of the American Thoracic Society (ATS) May 16-21, 2014. San Diego (U.S.A.)
- (3) Ahmed E. Hegab. Mouse model of the common human aldehyde dehydrogenase (ALDH)-2 mutation exhibits aberrant tracheal epithelial phenotypes. The 12th Annual Meeting of the International Society for Stem cells Research (ISSCR) June 13-16 2014. Vancouver (Canada)
- (4) Ahmed E. Hegab. Characterization of the lung phenotype of the mice transgenic for the aldehyde dehydrogenase (ALDH)-2 dominant-negative mutation. The 109th annual International Conference of American Thoracic Society(ATS), May 17-22th, 2013. Philadelphia (U.S.A.)
- (5) Ahmed E. Hegab. Characterization of the Lung Phenotype of Mice with Aldehyde Dehydrogenase (ALDH)-2 Disturbed Function, The 53th Annual Meeting of the Japanese Respiratory Society (JRS) April, 2013. Tokyo.

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕
出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕
なし

6 . 研究組織

(1)研究代表者

ヒガブ アハマド (Hegab Ahmed)

慶應義塾大学・医学部・特任講師

研究者番号：00507915

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし