

平成 30 年 6 月 20 日現在

機関番号：15401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K09084

研究課題名(和文)ミトコンドリア酵素ALDH2遺伝子変異と心不全：iPS細胞誘導心筋細胞での検討

研究課題名(英文)Mitochondrial ALDH2 Genotype and Heart Failure

研究代表者

木原 康樹(Kihara, Yasuki)

広島大学・医歯薬保健学研究科(医)・教授

研究者番号：40214853

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：Aldehyde dehydrogenase 2 (ALDH2)は心筋細胞ミトコンドリア内で酸化ストレス制御の中心的役割を果たしているが、同遺伝子変異に基づく酵素機能低下を日本国民の40%が公被っている。心筋障害のStage2である慢性・発作性心房細動のためにカテーテル焼灼術を受ける患者において、ALDH2 遺伝子変異の有無が及ぼす影響を検討した。仮説に反して心房症例の方が対象群に比しALDH2マイナーアレルAは少なかった。その他のSNPについては有意差を認めなかった。孤立性心房細動症例を抽出し、同年齢対象と同様の検討を行ったが同様であった。

研究成果の概要(英文)：Mitochondrial Aldehyde dehydrogenase 2 (ALDH2) is a crucial controller of subcellular oxidative stress and the subsequent cellular damages. Its SNP causes substantial depression of the enzymatic activity, and it could be a potent background of several cardiovascular diseases such as arrhythmia and heart failure. We tested hypothesis that, in Japanese, paroxysmal and persistent atrial fibrillation (Afib, an indicator of the second stage cardiac damage) may precipitate among the ALDH2 hetero-/homo-genetic population. By comparing control (non-Afib) group, however, there were no apparent precipitation of ALDH2 heterogeneity. In contrast, Afib group showed rather less ALDH2 heterogeneity. Effects of longstanding alcohol consumption may cover the hypothetic frames.

研究分野：循環器内科学

キーワード：ミトコンドリア アルデヒド脱水酸化酵素 心不全 心房細動

## 1. 研究開始当初の背景

【2型アルデヒド脱水素酵素 (aldehyde dehydrogenase II: ALDH2) の遺伝子多型と心疾患】ミトコンドリア内酵素である ALDH2 はアルコールの分解を司るのみではなく、ROS 制御やその終末産物である 4-hydroxy-nonenal (4HNE) の産生に直接関与していることが知られている。その遺伝子多型 (E487K: ALDH2\*2) は wild type に比して hetero で 40%、homo 接合型で 9% にまで酵素活性を抑制しており、アルコール飲酒後の顔面紅潮 (Asian flash)、急性中毒、下咽頭・食道癌の主因として知られている。その名が示すようにアジア人の 42% がこの遺伝子多型のキャリアであり、その機能異常はアルコール耐性のみならず頭頸部がんや食道がんなどのがん疾患更には高血圧や認知症など様々な疾患との広範囲な関わりが示唆されている (Physiol Rev 2014)。実際、本邦の吹田研究 (Hyperten Res 2002) や韓国からの報告では、急性心筋梗塞発症の重要因子であることが一致して示されており、ALDH2 の心疾患における役割を体系的に検討してみる必要がある。我々の心不全移行動物モデルによる検討 (JMCC 2006) では、心不全心筋内には顕著な 4HNE の蓄積が生じていた。それは RAS 抑制薬 ARB の慢性投与で軽減させることができたため、AT1 受容体を介する機序が心不全における ROS 発生に決定的であると結論されたが、同等 ROS 産生の下流において、ALDH2 が 4HNE 細胞内放出制御に関与していることは更に興味深い。何故ならば、4HNE は従来考えられてきたような ROS による細胞膜障害のマーカーであるのみならず、それ自体がアルデヒド族として強力な細胞障害物質であるからである。そうすると、一部の患者において RAS 抑制薬の効果が認められないことの原因は、AT1 受容体下流の細胞内機序に求められる可能性がある。前研究で我々が検討対象とした若年肥満者非虚血性心疾患の大半がアルコール非飲用者であることや、同様病態の報告が欧米からは少ないことにも意味付けができると推察される。

## 2. 研究の目的

(1) 特発性拡張型心筋症患者 (DCM) における ALDH2 遺伝子多型と薬剤効果および予後の関係: 広島大学病院および広島地域基幹病院に入院して DCM と臨床診断され、新規に心不全に対する薬物治療を導入される患者を対象として、ALDH2 遺伝子多型を調査する。同時に、RAS 阻害薬の有効性と心事故発生率を 3 年間に亘り前向きに調査する。

(2) 特発性拡張型心筋症患者 (DCM) から得た iPS 誘導心筋細胞を用いた 4HNE 産生・アポトーシスと ALDH2 遺伝子多型との関係: DCM 患者のうち同意が得られた一部対象において、末梢白血球から iPS 細胞を誘導する。同 iPS 細胞から再誘導した心筋細胞を用いて、H2O2 やアンジオテンシンによる酸

化ストレス負荷時の 4HNE 産生量と心筋細胞アポトーシス誘導量を定量する。アンジオテンシン負荷実験を施行し、ALDH2 活性が重大な病態進行因子であることを示す。

## 3. 研究の方法

【臨床研究】広島大学病院および関連 7 病院にて新規に特発性拡張型心筋症 (DCM) と診断された患者を対象に、盲検的に ALDH2 遺伝子検査を実施する。対象に対してはガイドラインに準拠した標準的治療を実施しつつ治療抵抗性や心事故発生について 3 年間前向きに調査する。ALDH2 遺伝子変異の有無と予後との関係を統計学的に解析し、潜在的 ALDH2 遺伝子変異が心不全予後の規定因子であるとの仮説を検証する。

【基礎研究】健常ボランティアに ALDH2 遺伝子検査を実施し正常・ヘテロ・ホモの 3 群を得る。対象者の末梢リンパ球よりヒト iPS 細胞を誘導する。同 iPS 細胞から再誘導した心筋細胞を用いて in vitro 刺激実験を行い、ALDH2 遺伝子異常・同機能障害を有する個体の心筋細胞が酸化ストレスに対する脆弱性を示すことを証明する。

## 4. 研究成果

当初の研究概要: 特発性拡張型心筋症患者 (DCM) における ALDH2 遺伝子多型と薬剤効果および予後の関係: DCM と診断され新規に心不全に対する薬物治療を導入される患者を対象として 1) ALDH2 遺伝子多型を調査する。同遺伝子多型と心事故発生率との関係を調査する; 2) DCM 患者末梢血から得た iPS 誘導心筋細胞を用いて 4HNE 産生・アポトーシスと ALDH2 遺伝子多型との関係を ex vivo で検討する。

本研究で判明したこと: 心不全の増悪因子であると同時に心不全により誘発される代表的な不整脈である心房細動患者についての ALDH2 遺伝子多型を調査した。広島大病院で心房細動カテーテルアブレーションを施行した 577 例 (男性 427 例、平均年齢  $61 \pm 11$  歳) を健常人 (非心房細動者 1935 例 (男性 881 例、平均年齢  $36 \pm 15$  歳)) と比較し rs671 (ALDH2 (Glu487Lys)) 保因割合を調査した。仮説に反して心房症例の方が対象群に比し ALDH2 マイナーアレル A は少なかった。その他の SNP については有意差を認めなかった。孤立性心房細動症例 (高血圧、器質的心疾患なし、年齢 65 歳) 182 例を抽出し、コントロール (高血圧、器質的心疾患なし、年齢 65 歳) の 914 例において同様の検討を行ったが同様であった。飲酒量と心房細動との関係は以前より言われているが今回の検討でも ALDH2, ADH1B SNP genotype と飲酒量との関係が示唆された。 (J Biol Sci 23(1):89, 2016)。また健常男性 2734 名において内皮依存性血管弛緩能を FMD 法により調査したところ軽微なアルコール飲酒習慣でも FMD は低下し飲酒量依存的に更なる低下を示した。 (Int

J Cardiol 230:523-8, 2017)これら FMD 対象者の ALDH2、ADH1 遺伝子解析を目下進めている。

## 5. 主な発表論文等

### 【雑誌論文】(計 22 件)

- 1: Matsui S, Kajikawa M, Kihara Y (5/15). New assessment of endothelial function measured by short timeflow-mediated vasodilation: Comparison with conventional flow-mediated vasodilation measurement. *Int J Cardiol*. 2018 May 4. pii: S0167-5273(18)31661-9. in press. (査読有) doi: 10.1016/j.ijcard.2018.05.006.
- 2: Kurisu S, Nitta K, Kihara Y (7/7). Implications of electrocardiographic frontal QRS axis on left ventricular diastolic parameters derived from electrocardiogram-gated myocardial perfusion single photon emission computed tomography. *Ann Nucl Med*. 2018 Apr 30. doi: 10.1007/s12149-018-1257-9. in press. (査読有)
- 3: Matsui S, Kajikawa M, Kihara Y (9/18). Endothelial dysfunction, abnormal vascular structure and lower urinary tract symptoms in men and women. *Int J Cardiol*. 2018 Jun 15;261:196-203. doi: 10.1016/j.ijcard.2018.02.041. (査読有)
- 4: Maruhashi T, Kihara Y, Higashi Y (2/3). Vascular Digit Injury in a College Baseball Player. *Circ J*. 2018 Feb 20. doi: 10.1253/circj.CJ-17-1335. in press. (査読有)
- 5: Kajikawa M, Maruhashi T, Kihara Y (12/22). Coffee with a high content of chlorogenic acids and low content of hydroxyhydroquinone improves postprandial endothelial dysfunction in patients with borderline and stage 1 hypertension. *Eur J Nutr*. 2018 Jan 12. doi: 10.1007/s00394-018-1611-7. in press. (査読有)
- 6: Amioka M, Sairaku A, N, Kihara Y (8/8). Diagnostic performance of the N-terminal pro-brain natriuretic peptide to detect an increased left atrial pressure in patients with persistent atrial fibrillation. *Clin Chem Lab Med*. 2018 May 24;56(6):e147-e149. doi: 10.1515/ccIm-2017-0903. (査読有)
- 7: Kitagawa T, Oda N, Kihara Y (7/7). Hospitalization and medical cost of patients with elevated serum N-terminal pro-brain natriuretic peptide levels. *PLoS One*. 2018 Jan 5;13(1):e0190979. doi: 10.1371/journal.pone.0190979. (査読有)
- 8: Maruhashi T, Soga J, Kihara Y (12/45). Brachial artery diameter as a marker for cardiovascular risk assessment: FMD-J study. *Atherosclerosis*. 2018 Jan;268:92-98. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2017.11.022. (査読有)
- 9: Sasaki N, Fujiwara S, Kihara Y (7/7). Association between obesity and self-reported sleep duration variability, sleep timing, and age in the Japanese population. *Obes Res Clin Pract*. 2018 Mar-Apr;12(2):187-194. doi: 10.1016/j.orcp.2017.10.008. (査読有)
- 10: Kitagawa T, Yamamoto H, Kihara Y (10/10). Tumor Necrosis Factor- Gene Expression in Epicardial Adipose Tissue is Related to Coronary Atherosclerosis Assessed by Computed Tomography. *J Atheroscler Thromb*. 2018 Mar 1;25(3):269-280. doi: 10.5551/jat.41178. (査読有)
- 11: Ikenaga H, Kurisu S, Kihara Y (14/14). Predictive value of plaque morphology assessed by frequency-domain optical coherence tomography for impaired microvascular perfusion after elective stent implantation: the intracoronary electrocardiogram study. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging*. 2018 Mar 1;19(3):310-318. doi: 10.1093/ehjci/jex023. (査読有)
- 12: Maruhashi T, Iwamoto Y, Kihara Y (11/17). Interrelationships Among Flow-Mediated Vasodilation, Nitroglycerine-Induced Vasodilation, Baseline Brachial Artery Diameter, Hyperemic Shear Stress, and Cardiovascular Risk Factors. *J Am Heart Assoc*. 2017 Dec 29;7(1). pii: e006797. doi: 10.1161/JAHA.117.006797. (査読有)
- 13: Matsumura H, Nakano Y, Kihara Y (16/16). H558R, a common SCN5A polymorphism, modifies the clinical phenotype of Brugada syndrome by modulating DNA methylation of SCN5A promoters. *J Biomed Sci*. 2017 Dec 4;24(1):91. doi: 10.1186/s12929-017-0397-x. (査読有)
- 14: Matsui S, Kajikawa M, Kihara Y (10/17). Optimal Target Level of Low-density Lipoprotein Cholesterol for Vascular Function in Statin Naïve Individuals. *Sci Rep*. 2017 Aug 21;7(1):8422. doi: 10.1038/s41598-017-09043-1. (査読有)
- 15: Maruhashi T, Soga J, Kihara Y (12/22). Endothelial Function Is Impaired in Patients Receiving Antihypertensive Drug Treatment Regardless of Blood Pressure Level: FMD-J Study (Flow-Mediated Dilatation Japan). *Hypertension*. 2017 Oct;70(4):790-797. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.117.09612. (査読有)

- 16: Kitagawa T, Yamamoto H, Kihara Y (10/10). (18)F-sodium fluoride positron emission tomography for molecular imaging of coronary atherosclerosis based on computed tomography analysis. *Atherosclerosis*. 2017 Aug;263:385-392. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2017.04.024. (査読有)
- 17: Yamamoto H, Sugiyama E, Kihara Y (11/11). Clinical features and predictive value of serum inflammatory markers of perivascular involvement in immunoglobulin G4-related disease. *Heart Vessels*. 2017 Oct;32(10):1176-1185. doi: 10.1007/s00380-017-0987-2. (査読有)
- 18: Tanabe N, Ikeda S, Kihara Y (12/25). Efficacy and Safety of an Orally Administered Selective Prostacyclin Receptor Agonist, Selexipag, in Japanese Patients With Pulmonary Arterial Hypertension. *Circ J*. 2017 Aug 25;81(9):1360-1367. doi: 10.1253/circj.CJ-16-1348. (査読有)
- 19: Sairaku A, Yoshida Y, Kihara Y (7/7). Cardiac resynchronization therapy for patients with cardiac sarcoidosis. *Europace*. 2017 May 1;19(5):824-830. doi: 10.1093/europace/euw223. (査読有)
- 20: Masada K, Hidaka T, Kihara Y (8/8). Mitral systolic velocity at peak exercise predicts impaired exercise capacity in patients with heart failure with preserved ejection fraction. *Echocardiography*. 2017 Feb;34(2):217-225. doi: 10.1111/echo.13440. (査読有)
- 21: Suenari K, Chao TF, Kihara Y (6/6). Usefulness of HATCH score in the prediction of new-onset atrial fibrillation for Asians. *Medicine (Baltimore)*. 2017 Jan;96(1):e5597. doi: 10.1097/MD.0000000000005597. (査読有)
- 22: Oda N, Kajikawa M, Kihara Y (8/17). Endothelial function is impaired in relation to alcohol intake even in the case of light alcohol consumption in Asian men; Flow-mediated Dilation Japan (FMD-J) Study. *Int J Cardiol*. 2017 Mar 1;230:523-528. doi: 10.1016/j.ijcard.2016.12.065. (査読有)

## 6 . 研究組織

### ( 1 ) 研究代表者

木原 康樹 (KIHARA, Yasuki)  
広島大学・医歯薬保健学研究所 (医)・  
教授  
研究者番号 : 4 0 2 1 4 8 5 3

### ( 2 ) 研究分担者

東 幸仁 (HIGASHI, Yukihiro)

広島大学・原爆放射線医科学研究所・  
教授  
研究者番号 : 4 0 3 4 6 4 9 0

