

令和 2 年 6 月 1 日現在

機関番号：17201
研究種目：基盤研究(C) (一般)
研究期間：2017～2019
課題番号：17K09115
研究課題名(和文) 飲酒関連癌の新規リスクマーカー：皮膚メラノーシスの検討(ベースライン調査)

研究課題名(英文) Cutaneous melanosis as a risk marker for alcohol-related cancer (baseline survey)

研究代表者
松本 明子(Matsumoto, Akiko)

佐賀大学・医学部・講師

研究者番号：10330979
交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：変異型ALDH2遺伝子(rs671)は東アジア人の約半数が保有し、飲酒関連癌リスクが高い一方肝障害の感受性が低く、従来の血清肝逸脱酵素値に依存した過量飲酒の警告は不適切である。そこで、変異型保有者むけ新規飲酒量マーカー「皮膚メラニン沈着」を提案することを目的に、約千名の成人に対しベースライン調査を実施した。日光曝露スコア等を補正した重回帰分析で、飲酒量とメラニン沈着度は変異型保有者においてのみ正の関連を示した。今後は追跡調査を行い、メラニン沈着と飲酒関連癌の発症の関連を検討する。

研究成果の学術的意義や社会的意義

変異型ALDH2は飲酒習慣を抑制するため、日本では飲酒関連疾患が比較的少ない。ところが、飲酒関連癌はほぼ同数発生している。主な理由は、飲酒により発生するアセトアルデヒドの解毒が変異型ALDH2により遅れる事である。医療従事者は肝障害のない飲酒者に「飲酒OK」の判断を伝えてしまいがちだが、変異型ALDH2では血清AST、ALT、GTPの上昇が少ないため、これに頼った判断は危険である。本研究でより適切なマーカーを示すことは、飲酒関連癌の予防に資する。

研究成果の概要(英文)：ALDH2 gene polymorphism (rs671) is possessed by about half of East Asians, has a high risk of drinking-related cancer but low susceptibility to liver damage. Therefore, warning of excessive drinking based on the levels of serum liver deviation enzyme is inappropriate. To propose a better marker of alcohol consumption, a baseline survey was conducted on 1,056 adults. Multiple regression analysis with adjustment for sun exposure scores and others showed a positive association between alcohol consumption and melanin deposition only in the rs671 carriers. A follow-up survey will be conducted to examine the relationship between melanin deposition and the development of alcohol-related cancer.

研究分野：公衆衛生学

キーワード：ALDH2 飲酒関連癌 遺伝子多型

1. 研究開始当初の背景

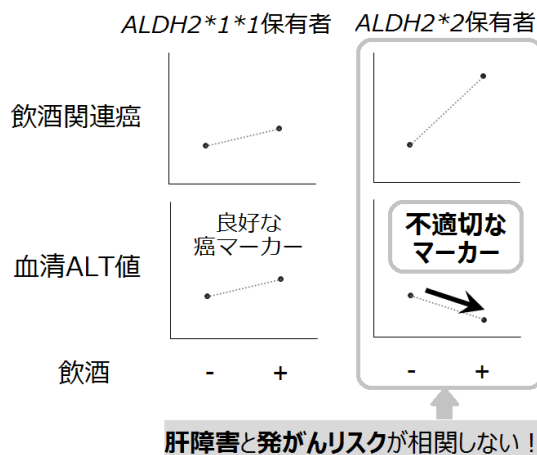
アルデヒド脱水素酵素 (ALDH) 2 は、飲酒によって発生するアセトアルデヒドの解毒酵素である。欠損型遺伝子多型 (*ALDH2*2*) が存在し東アジアでは保有率が約半数である。*ALDH2*2* 保有者が飲酒すると (*ALDH2*2*2* 保有者はいわゆる下戸で飲酒習慣がなく、実際は *ALDH2*1*2* 保有者のみ。日本人の約 4 割にあたる。)、高濃度のアセトアルデヒドが生じ、顔が赤くなり (アジアンフラッシュ)、頭痛や吐き気を生じる。慢性曝露では発がんを促進すると考えられている [1-3]。

東アジア人特有のALDH2多型とは

遺伝子型	飲酒時 顔面紅潮	頻度	酵素 活性	飲酒関連リスク
W型 (<i>ALDH2*1*1</i>)		約 50%	100 %	<ul style="list-style-type: none"> アルコール依存症 肥満・高血圧
R型 (<i>ALDH2*1*2</i>)		約 45%	16%	<ul style="list-style-type: none"> 飲酒・喫煙関連癌 冠攣縮性狭心症 Fanconi貧血悪化 APOE 4 陽性アルツハイマー病悪化
RR型 (<i>ALDH2*2*2</i>)		約 5%	0%	

AST, ALT, γ GPT などの血清肝逸脱酵素値は、一般的にアルコール性肝障害や飲酒量の目安として用いられている。しかし、とくに飲酒を抑えるべき *ALDH2*1*2* 保有者の場合、これらの値が低値となることを申請者らは示してきた [4-6]。つまり、*ALDH2*1*2* 保有者では「肝臓の値が高くないからまだ大丈夫」、と飲酒のリスクが過小評価されかねない [7]。*ALDH2*1*2* 保有者のためのより適切な飲酒量マーカー

が必要である。



下図は申請者が *ALDH2*2* モデルマウスに 0%–20%のエタノールを与えた際認められた色素沈着である。色素沈着強度と飲酒量は相関し、飲酒の中止によって褪色が始まる。この色素沈着が *ALDH2*1*2* 保有者のためのより適切な飲酒量マーカーとなり得ると仮定し、基礎検討を行うこととした。

2. 研究の目的

飲酒関連癌のコホート研究を立ち上げ、*ALDH2*2* 保有者むけ新規飲酒量マーカー (≒ 癌リスクマーカー) として「皮膚メラノシス」の有用性を検討する。また、メカニズムの裏付けを動物実験で行う。



3. 研究の方法

*ALDH2**2 保有者に飲酒による皮膚メラノシスが見られることを確認するため、成人男女（アルコール依存症者含む）について、飲酒歴の調査、*ALDH2* 遺伝子型判定、皮膚メラニン指数計測を行い、統計解析する。

<調査実施場所> 肥前精神医療センター・佐賀大学・佐賀県内の一般事業場

<情報収集> 質問紙を用いて飲酒歴・喫煙歴・日光曝露スコアの調査

<遺伝子型判定> 頬ぬぐい液を採取し DNA を抽出、DNA 濃度測定を行った。適量の DNA を SNP 判定用試薬 TaqMan® SNP Genotyping Assay (Thermo Fisher, Waltham, MA) と混和し PCR を行った。

<メラニン指数計測> 顔面、頸部、手背、前腕を測色し、メラニン指数の算出を行った。分光測色計 CM-700d (Konica Minolta) の測定値 5-6 点の平均を用いた。メラニン指数は肌解析ソフトウェア CM-SA で算出した。手掌部のメラニン指数を個人の色素レベルの基礎値とし、手掌部メラニン指数との比をアウトカムとした。

<除外対象者> 明らかな黄疸がある者・測定箇所にて中等度以上の皮膚炎を持つ者を除外した。ビリルビンは 350~500 nm に吸収を持つため、メラニン指数への影響は限定的と予想されるが、眼球結膜の黄染を伴うような高度の高ビリルビン血症は除外した。皮膚炎についてもヘモグロビンによる影響は限られると考えられるが、軽度の皮膚炎までを対象とした。

<統計処理> SAS9.4 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.) を用い、重回帰分析等を行った。



また、*ALDH2**2 のモデル動物として *Aldh2* ノックアウトマウスを用い、色素の解析や病理評価等を行った。

<エタノール投与実験> 10 週齢まで通常飼育を行い、その後給水ボトルにエタノールを混入させることで投与を行った。色素評価者が 1-5 grade で色素沈着度を主観的に評価した。

<色素の化学的解析> マウス皮膚を抽出し、酸化処理を施し、HPLC で分析した。

<病理学的評価> HE 染色、フォンタナマッソン染色、ベルリンブルー染色、色素脱色などを行った。

4. 研究成果

1053 名の参加者を得た。データに不備のある 59 名を除いた 994 名を追跡対象とする。994 名の属性を表 1 示す。変異型 *ALDH2* 保有者 (*ALDH2**2 carrier) では年齢が低く、喫煙率が低く、飲酒量が少なく、メラニン指数が低い傾向にあった。

表 1. 参加者の属性

	Total		<i>Aldh2</i> *2 Non-carrier		<i>Aldh2</i> *2 Carrier		P*
Total	994		631		363		
Sex							0.1503
Male	588	(59%)	384	(61%)	204	(56%)	
Female	406	(41%)	247	(39%)	159	(44%)	
測定月							0.0001
12 月	380	(38%)	263	(42%)	117	(32%)	
1 月	127	(13%)	91	(14%)	36	(10%)	
2 月	487	(49%)	277	(44%)	210	(58%)	

Age, median (IQR)	42 (27 - 53)	43 (30 - 55)	39 (26 - 51)	0.0002
直近3年の喫煙有, N (%)	257 (26%)	189 (30%)	68 (19%)	0.0001
日光曝露スコア, median (IQR)	9 (6 - 15)	9 (6 - 14)	10 (6 - 15)	0.3071
直近6か月の飲酒量, (g/day), median (IQR)	4.6 (0.5 - 21)	10.1 (1.8 - 31)	0.9 (0.0 - 6.4)	<.0001
1日あたり飲酒量, N (female)				
≤2 g	382 (147)	164 (62)	218 (85)	<.0001
≤10 g	231 (54)	149 (36)	82 (18)	
≤20 g	123 (17)	105 (16)	18 (1)	
≤40 g	107 (15)	85 (14)	22 (1)	
≤60 g	63 (8)	50 (6)	13 (2)	
>60 g	88 (9)	78 (9)	10 (0)	
対手掌メラニン指数比, median (IQR)				
額	1.59 (1.41 - 1.78)	1.60 (1.41 - 1.79)	1.56 (1.40 - 1.76)	0.1148
手背	1.47 (1.28 - 1.68)	1.49 (1.30 - 1.72)	1.44 (1.24 - 1.63)	0.0012
前腕内側	1.03 (0.88 - 1.22)	1.05 (0.89 - 1.23)	1.00 (0.87 - 1.19)	0.0288
統合メラニン指数	1.02 (0.55 - 1.80)	1.05 (0.57 - 1.91)	0.94 (0.50 - 1.58)	0.0120

IQR 四分位幅. *Wilcoxon rank sum test or Chi-square test

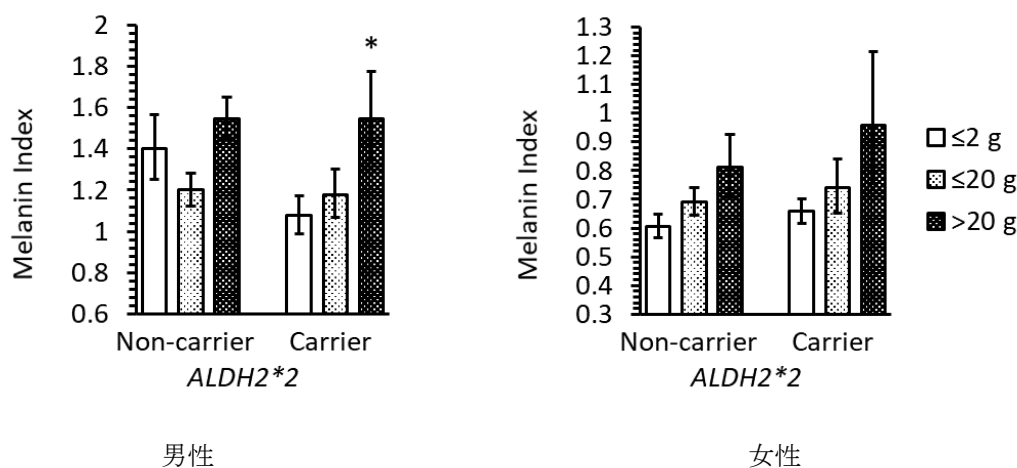


図1 統合メラニン指数の調整平均値

一日当たりのエタノール摂取量が $\leq 2\text{ g}$ 、 $2\text{-}20\text{ g}$ 、 $>20\text{ g}$ の3群に分け、一般線形重回帰モデルで算出した推定値を示す。共変数は性年齢、測定年、測定月、喫煙有無、日光曝露スコア(連続変数)を投入した。アウトカム(統合メラニン指数)はログ変換値を用いて算出し、真数をプロットしている。エラーバーは標準誤差を示す。* <0.05

図1に一般線形重回帰モデルによって算出した推定平均値を示す。男性では変異型 *ALDH2* 保有者でメラニン指数とエタノール摂取量に正の関連がみられ、非保有者では明らかな関連が見られなかった。一方、女性では遺伝子型に関わらず同様の関連が見られた。

今後は追跡調査を実施し、メラニン指数と飲酒関連癌の関連を検討する。

一方、動物実験ではメラニン色素(図2)が容量依存性に沈着し、*Aldh2* ノックアウトマウスで顕著であること、色素は真メラニンであること(図3、HPLC解析結果)、飲酒中止後に褪色する可逆的变化であることが判明した。これらの結果は論文に発表した(Matsumoto ら 2019)。

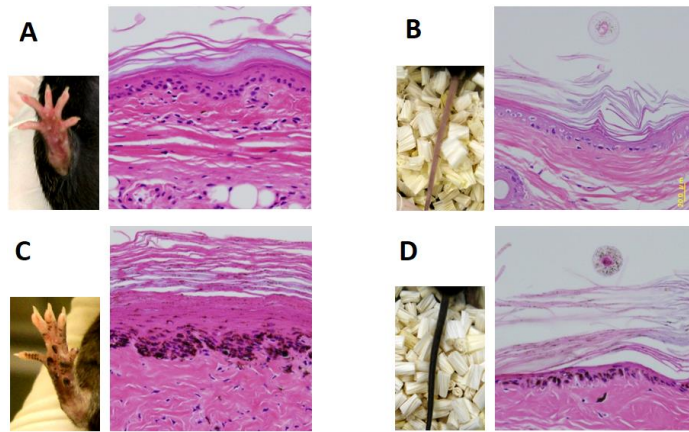


図2 コントロールマウス(AとB)とエタノール投与をうけた *Aldh2* ノックアウトマウス(CとD)の肉眼所見とヘマトキシリン&エオジン染色所見

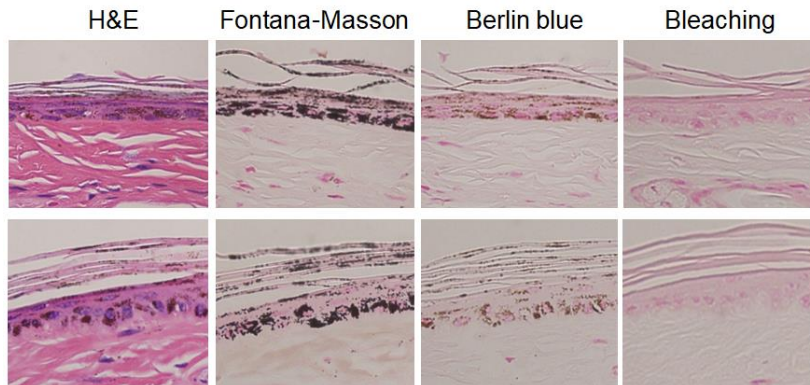


図3 エタノール投与をうけた *Aldh2* ノックアウトマウスの表皮(足裏(上)、尾(下))にみられた色素沈着の評価

マウス組織はホルマリン固定のうえパラフィンブロック包埋し、ヘマトキシリン&エオジン染色、フォンタナマッソン染色他特殊染色を

行って色素の質的評価を行った。

- [1] A. Matsumoto, [Fundamental Properties of Aldehyde Dehydrogenase 2 (ALDH2) and the Importance of the ALDH2 Polymorphism], *Nihon eiseigaku zasshi. Japanese journal of hygiene*, 71 (2016) 55-68.
- [2] A. Matsumoto, [Importance of an Aldehyde Dehydrogenase 2 Polymorphism in Preventive Medicine], *Nihon eiseigaku zasshi. Japanese journal of hygiene*, 73 (2018) 9-20.
- [3] A. Matsumoto, The Bidirectional Effect of Defective ALDH2 Polymorphism and Disease Prevention, *Adv Exp Med Biol*, 1193 (2019) 69-87.
- [4] A. Matsumoto, T. Kawamoto, F. Mutoh, T. Isse, T. Oyama, K. Kitagawa, K.I. Nakayama, M. Ichiba, Effects of 5-week ethanol feeding on the liver of aldehyde dehydrogenase 2 knockout mice, *Pharmacogenetics and genomics*, 18 (2008) 847-852.
- [5] H.J. Kwon, Y.S. Won, O. Park, B. Chang, M.J. Duryee, G.E. Thiele, A. Matsumoto, S. Singh, M.A. Abdelmegeed, B.J. Song, T. Kawamoto, V. Vasiliou, G.M. Thiele, B. Gao, Aldehyde dehydrogenase 2 deficiency ameliorates alcoholic fatty liver but worsens liver inflammation and fibrosis in mice, *Hepatology (Baltimore, Md)*, (2014).
- [6] A. Matsumoto, D. Thompson, Y. Chen, V. Vasiliou, T. Kawamoto, M. Ichiba, Heme oxygenase 1 protects ethanol-administered liver tissue in *Aldh2* knockout mice, *Alcohol (Fayetteville, N.Y)*, 52 (2016) 49-54.
- [7] A. Matsumoto, D.C. Thompson, Y. Chen, K. Kitagawa, V. Vasiliou, Roles of defective ALDH2 polymorphism on liver protection and cancer development, *Environmental health and preventive medicine*, 21 (2016) 395-402.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Matsumoto Akiko, Ito Shosuke, Wakamatsu Kazumasa, Ichiba Masayoshi, Vasiliou Vasilis, Akao Chiho, Song Byoung-Joon, Fujita Mayumi	4. 巻 302
2. 論文標題 Ethanol induces skin hyperpigmentation in mice with aldehyde dehydrogenase 2 deficiency	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Chemico-Biological Interactions	6. 最初と最後の頁 61～66
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） doi.org/10.1016/j.cbi.2019.01.035	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 松本明子	4. 巻 73
2. 論文標題 アルデヒド脱水素酵素2（ALDH2）遺伝子多型の予防医学的重要性	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 日本衛生学会雑誌	6. 最初と最後の頁 9～20
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1265/jjh.73.9	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 1件/うち国際学会 3件）

1. 発表者名 Akiko Matsumoto, Shosuke Ito, Toshiya Hara, Kazumasa Wakamatsu, Tamio Suzuki, Yuko Abe, Chisato Shimano, Takefumi Yuzuriha, Chikako Yoshimori, Takeo Muto, Kouichi Endo, Megumi Hara, Masayoshi Ichiba, Vasilis Vasiliou, Byoung-Joon Song, Mayumi Fujita
2. 発表標題 Alcohol-induced skin pigmentation: a novel phenotype of ALDH2 gene variant
3. 学会等名 Carbonyl2018（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 松本明子、原俊哉、伊藤祥輔、島ノ江千里、若松一雅、杠岳文、吉森智香子、武藤岳夫、遠藤光一、原めぐみ、赤尾千穂、市場正良、藤田真由美
2. 発表標題 ALDH2多型の新規表現型：飲酒誘導性皮膚色素沈着
3. 学会等名 第89回日本衛生学会学術総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 松本明子
2. 発表標題 ALDH2遺伝子多型の予防医学的重要性：ALDH2遺伝子多型の基礎と社会還元への課題
3. 学会等名 日本衛生学会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Matsumoto A, Hara T, Shimano C, Yuzuriha T, Yoshimori C, Muto T, Endo K, Hara M, Ichiba M, Konakahara T, Yajima I, Vasiliou V, Song BJ, Fujita M.
2. 発表標題 A novel phenotype of ALDH2 polymorphism: drinking-induced skin pigmentation.
3. 学会等名 The International Pigment Cell Conference (IPCC) 2017 (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Matsumoto A, Hara T, Shimano C, Yuzuriha T, Yoshimori C, Muto T, Endo K, Hara M, Ichiba M, Konakahara T, Yajima I, Vasiliou V, Song BJ, Fujita M.
2. 発表標題 A novel phenotype of ALDH2 polymorphism: alcohol-induced skin pigmentation.
3. 学会等名 2018 Alcohol and Immunology Research Interest Group (AIRIG) meeting. (国際学会)
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 Akiko Matsumoto	4. 発行年 2018年
2. 出版社 Springer Nature	5. 総ページ数 10
3. 書名 Bidirectional health effect of defective ALDH2 polymorphism and disease prevention. In: Monograph: Aldehyde dehydrogenases: From alcohol metabolism to human health and precision medicine.	

〔産業財産権〕

〔その他〕

飲酒関連癌の新規リスクマーカー：皮膚メラノシスの検討
<https://www.sagasocialmed.org/research/alldh2-polymorphism>
 飲酒によって生じる色素沈着症の研究
<https://www.sagasocialmed.org/>

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	島ノ江 千里 (Shimanoe Chisato) (10734064)	佐賀大学・医学部・特任准教授 (17201)	
研究分担者	杠 岳文 (Yuzuriha Takefumi) (60182672)	独立行政法人国立病院機構肥前精神医療センター（臨床研究部）・臨床研究部・院長 (87204)	
研究分担者	原 俊哉 (Hara Toshiya) (70274602)	独立行政法人国立病院機構肥前精神医療センター（臨床研究部）・臨床研究部・常勤医師 (87204)	
研究分担者	原 めぐみ (Hara Megumi) (90336115)	佐賀大学・医学部・准教授 (17201)	