

令和 5 年 6 月 12 日現在

機関番号：33303

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19K11803

研究課題名(和文)アセトアルデヒド由来終末糖化産物からみたアルコール性肝障害患者の飲酒習慣の再考

研究課題名(英文)Reconsideration of the drinking habit of alcoholic liver disease patients from the viewpoint of acetaldehyde-derived advanced glycation end products

研究代表者

福村 敦 (FUKUMURA, Atsushi)

金沢医科大学・医学部・助教

研究者番号：80367466

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：アルコール(AL)性肝障害(ALD)患者73例を対象に、アセトアルデヒド(AA)由来終末糖化産物(AA-AGEs)産生量がALDの発生・進展に関与するか否か、飲酒量(1日平均または積算飲酒量)とALDH2の遺伝子多型を中心に検討した。積算飲酒量と血清AA-AGEs値に弱い正の相関を認め、AL性肝硬変で他のALDの病型と比べ、血清AA-AGEsが高値を示した。ALDH2の遺伝子型とでは血清、肝組織AA-AGEsに有意差はなかった。以上のことから、AAの増加は必ずしもAA-AGEsの産生に関与することはなく、AA-AGEsがALDの発生・進展に影響する可能性は低いと考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

今回、血清AA-AGEs値が積算飲酒量のマーカーになりうる可能性が示唆された。

慢性AL飼育ラットと異なり、ヒトでは様々な飲食物をその時々に取り取りしており、AA-AGEs以外のAGEsの関連についても検討を要すると思われる。

研究成果の概要(英文)：A total of 73 patients with alcoholic (AL) liver disease (ALD) were investigated to determine whether the amount of acetaldehyde (AA)-derived advanced glycation end-products (AA-AGEs) involved in the development and progression of ALD. We focused on ALDH2 polymorphisms and daily average or cumulative alcohol consumption. A significant weak positive correlation was observed between cumulative alcohol consumption and serum AA-AGEs levels, and serum AA-AGEs levels were higher in patients with alcoholic liver cirrhosis than in other ALD disease types. There was no significant difference in serum and liver tissue AA-AGEs between ALDH2 genotypes. From the above, it was considered that the increase in AA is not necessarily related to the production of AA-AGEs, and the possibility that AA-AGEs affect the development and progression of ALD is low.

研究分野：肝臓病学

キーワード：アルコール性肝障害 アセトアルデヒド由来終末糖化産物 AA-AGEs 終末糖化産物 アセトアルデヒド  
飲酒

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

アルコール (AL) の最初の代謝産物であるアセトアルデヒド (acetaldehyde: AA) は、(1) 肝細胞毒性作用、(2) 肝星細胞刺激作用により、AL 性肝障害 (alcoholic liver disease: ALD) の発生・進展に参与している。AA は、化学構造上非常に反応性の高い物質であり、生体内においてはタンパク質中の遊離のアミノ基と反応し、アセトアルデヒド由来終末糖化産物 (acetaldehyde-derived AGEs: AA-AGEs) が生成される (Takeuchi M, et al. J Neuropathol Exp Neurol 2003, 62: 486)。われわれは、慢性 AL 飼育ラットモデルで、ラット培養肝細胞の生存率が AA-AGEs の添加で低下し、抗 AA-AGEs 抗体の添加で回復傾向を認めたこと、肝の免疫組織化学染色で中心静脈周囲にみられた AA-AGEs および 4-HNE (4-hydroxy-2-nonenal) の染色性が禁酒直後に最も強く発現し、禁酒週数の経過とともに消失したことより、AA-AGEs による肝細胞毒性ならびに、ALD 発生のメカニズムとして、酸化ストレスの関与の可能性を報告した (Hayashi N, Fukumura A, et al. PLoS One 2013, 8: e70034)。また、われわれは、患者血清少数例での検討で、ALD のうち AL 性肝硬変 (alcoholic liver cirrhosis: AL-LC) で血清 AA-AGEs 値が高い傾向にあることを発表した (福村敦, 他. 肝臓 2015, 56 Suppl(1): A313)。

過剰飲酒によりほぼ 100% の患者で AL 性脂肪肝 (alcoholic fatty liver: AL-FL) を発生するが、その後、AL-LC まで進展するのは約 10% である (Crabb DW, et al. Hepatology 2020, 71: 306)。理由の一つに、ミトコンドリアに存在するアルデヒド脱水素酵素 (aldehyde dehydrogenase 2: ALDH2) の遺伝子多型の存在が考えられ、ALDH2\*1/\*2 のヘテロでは、ALDH2\*1/\*1 のホモのヒトに比べ、AA の処理能力が低く、AA さらには AA-AGEs が肝細胞内に蓄積しやすいことが ALD の進展に参与するという仮説のもとで検討を行った。

2. 研究の目的

本研究では、飲酒量 (1 日平均飲酒量または積算飲酒量) と ALDH2 の遺伝子多型に伴う AA-AGEs 産生量が ALD の発生・進展に参与するか否かを明らかにすることとした。

3. 研究の方法

対象は、アルコール性肝障害診断基準 (2011 年度版) により ALD と診断した 73 例 (男性 61 例、女性 12 例) で、平均年齢は、男性 55.2 ± 11.3 歳、女性 50.4 ± 11.3 歳である。非飲酒の非肝疾患患者 9 例と C 型慢性肝炎患者 3 例を対照 (C 群) とした。ALD 群の内訳は、AL 性脂肪肝 (AL-FL) 5 例、AL 性肝線維症 (alcoholic hepatic fibrosis: AL-HF) が 33 例 (軽度線維化 F1: 13 例、中等度線維化 F2: 10 例、高度線維化 F3: 10 例)、AL 性肝硬変 (AL-LC) 35 例である。ALD 群は、非代償性肝硬変の多くを除いてすべて肝生検で診断した。禁酒 1 週間以内に血清 AA-AGEs、AST、ALT、GGT、血小板数を測定するとともに、1 日平均飲酒量と積算飲酒量を聴取した。ALDH2 の遺伝子多型は、飲酒時の顔面紅潮反応 (flushing 反応) の有無で判断し、顔面紅潮のない飲酒者 (non-flusher, ALDH2\*1/\*1 に相当) と、過去ないし現在、顔面紅潮がみられたことのある飲酒者 (flusher, ALDH2\*1/\*2 に相当) に分けた。また、抗 AA-AGEs 抗体を用いて生検肝組織の免疫組織化学染色を行い、NanoZoomer および画像解析ソフト ImageJ Fiji を用いて、AA-AGEs の免疫組織染色強度 (免疫染色強度) を算出した。

統計処理は、StatFlex Ver.7 を用い、カテゴリ変数は 2 乗適合度の検定 (クロス集計表) を行い、連続変数については、2 群比較は Mann-Whitney U 検定を、3 群以上の比較は Kruskal-Wallis 検定および Dunn 検定 (Bonferroni 補正) を行った。

4. 研究成果

(1) 患者背景 (表 1)

血清 ALT が AL-HF (F1) 群で AL-LC 群に比し有意に高値であった ( $P < 0.05$ ) が、ALD の各病型間で 1 日平均飲酒量と積算飲酒量のいずれにおいても有意差は認めなかった。なお、血小板数は AL-LC 群において、C 群、AL-FL 群、AL-HF (F2) 群に比し有意に低値であった (いずれも  $P < 0.01$ )。

	Control (n=12)	AL-FL (n=5)	AL-HF (F1) (n=13)	AL-HF (F2) (n=10)	AL-HF (F3) (n=10)	AL-LC (n=35)	P値*
年齢 (歳)	44 (26-66)	52 (41-60)	51 (37-73)	55 (37-73)	52 (39-79)	52 (35-80)	0.356
性 (男/女)	4/8	2/3	11/2	8/2	9/1	31/4	<0.001
AST (U/L)	16 (14-21)	120 (49-237)	227 (27-1018)	159 (33-4138)	223 (55-682)	111 (35-2735)	<0.001
ALT (U/L)	15 (8-24)	101 (45-143)	82 (23-1326)	60 (41-1991)	112 (36-368)	41 (17-1060)	<0.001
GGT (U/L)	15 (8-67)	434 (206-523)	631 (63-2298)	461 (209-842)	535 (208-1925)	263 (21-3012)	<0.001
血小板数 ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ )	257 (167-370)	271 (234-331)	144 (8.4-38.6)	250 (140-326)	171 (34-402)	99 (18-373)	<0.001
1日平均飲酒量 (g/日)	-	92 (82-124)	73 (61-197)	103 (60-175)	92 (64-161)	104 (60-230)	<0.001
積算飲酒量 (kg)	-	517 (179-1340)	929 (274-1936)	603 (190-1194)	786 (450-2110)	914 (274-2456)	<0.001

連続変数は、中央値 (最小値-最大値)。

\*カテゴリ変数は  $\chi^2$  乗適合度の検定 (クロス集計表)。連続変数は、Kruskal-Wallis 検定。

表1. 患者背景

(2) ALD 患者での血清 AA-AGEs 値 (図 1)

全群間で血清 AA-AGEs 値は、有意差を認めなかったが、肝線維化が進展するほど高値になる傾向を認めた (Kruskal-Wallis 検定:  $P=0.406$ )。C 群の最大値である 4.68U/mL をカットオフ値とすると、AL-FL と AL-HF の全病型 (F1-F3) は、それぞれ約 20% がカットオフ値よりも高値であったのに対して、AL-LC では、42.9% がカットオフ値以上であり、血清 AA-AGEs 値は、AL-LC で高い傾向を認めた。

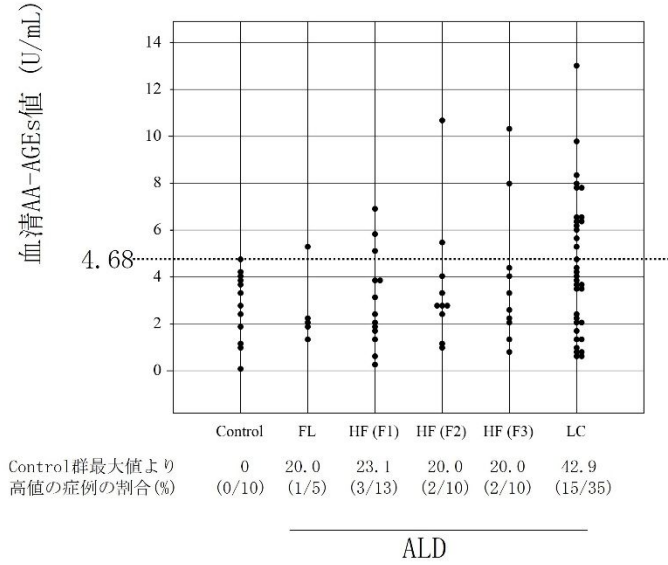


図1. ALD患者における血清AA-AGEs値

(3) ALD 患者における AA-AGEs の免疫組織化学染色 (図 2)

肝組織における AA-AGEs の免疫染色では、ALD 群はいずれの病型においても C 群よりも肝細胞質に強く染色された。また、Zone1-3 の局在性はみられなかった。

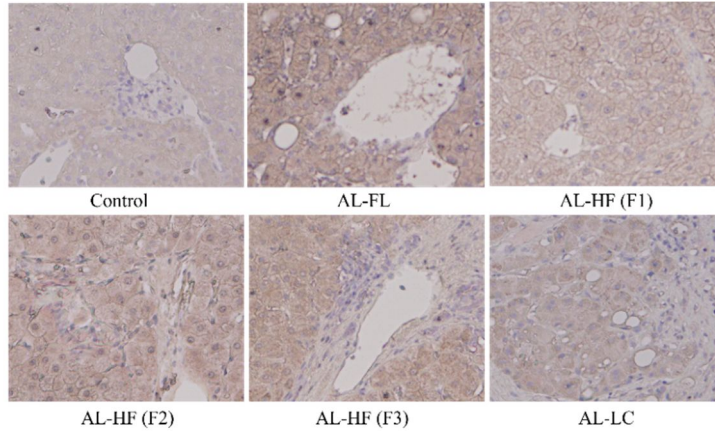


図2. ALD患者におけるAA-AGEsの免疫組織化学染色 (x100)

(4) ALD 病型別 AA-AGEs の免疫組織化学染色強度比 (図 3)

C 群の免疫染色強度を 1 とし、ALD 各群の AA-AGEs の免疫染色強度比を比較すると、ALD ではないずれの群も 2~4 倍の AA-AGEs 染色強度を認めた (図 3A)。血清 AA-AGEs 値と肝組織 AA-AGEs 免疫染色強度比は、有意差はないものの、弱い負の相関傾向が認められた (スピアマン順位相関係数:  $r_s=-0.3169$ ,  $P=0.1616$ , 図 3B)。

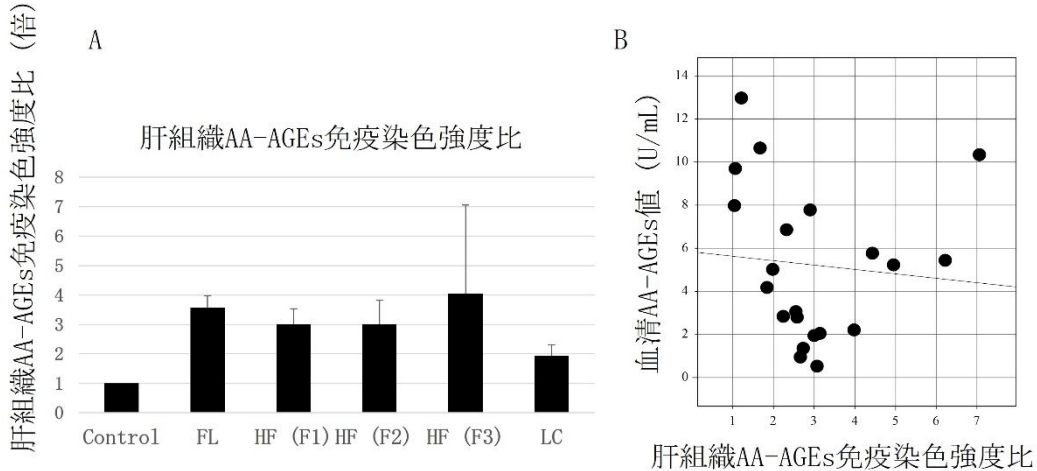


図3. ALD病型別AA-AGEsの免疫組織化学染色強度比と血清AA-AGEs値と肝組織中AA-AGEsとの相関

(5) 血清 AA-AGEs 値と 1 日平均飲酒量ないし積算飲酒量との相関 (図 4)

血清 AA-AGEs 値は、1 日平均飲酒量とは相関は認めなかったが、積算飲酒量と有意な弱い正の相関がみられた。

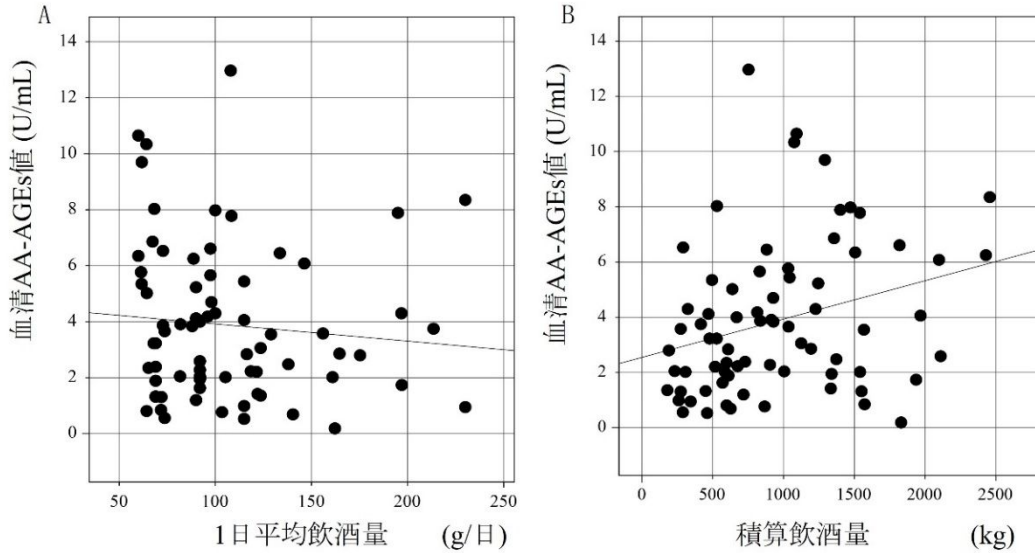


図4. 血清AA-AGEs値と1日平均飲酒量ないし積算飲酒量との相関

血清 AA-AGEs 値は、1 日平均飲酒量とは相関を認めなかった (スピアマン順位相関係数:  $rS = -0.160$ ,  $p = 0.177$ , 図 4A)。一方、積算飲酒量とは、有意な弱い正の相関を認めた (スピアマン順位相関係数:  $rS = 0.317$ ,  $p = 0.006$ , 図 4B)。

(6) ALDH2 の遺伝子多型について

顔面紅潮のない飲酒者 (non-flusher, ALDH2\*1/\*1 に相当) と、顔面紅潮がみられたことのある (flusher, ALDH2\*1/\*2 に相当) 患者に分け、血清 AA-AGEs 値ならびに肝組織 AA-AGEs 免疫染色強度を比較検討した (図 5)。

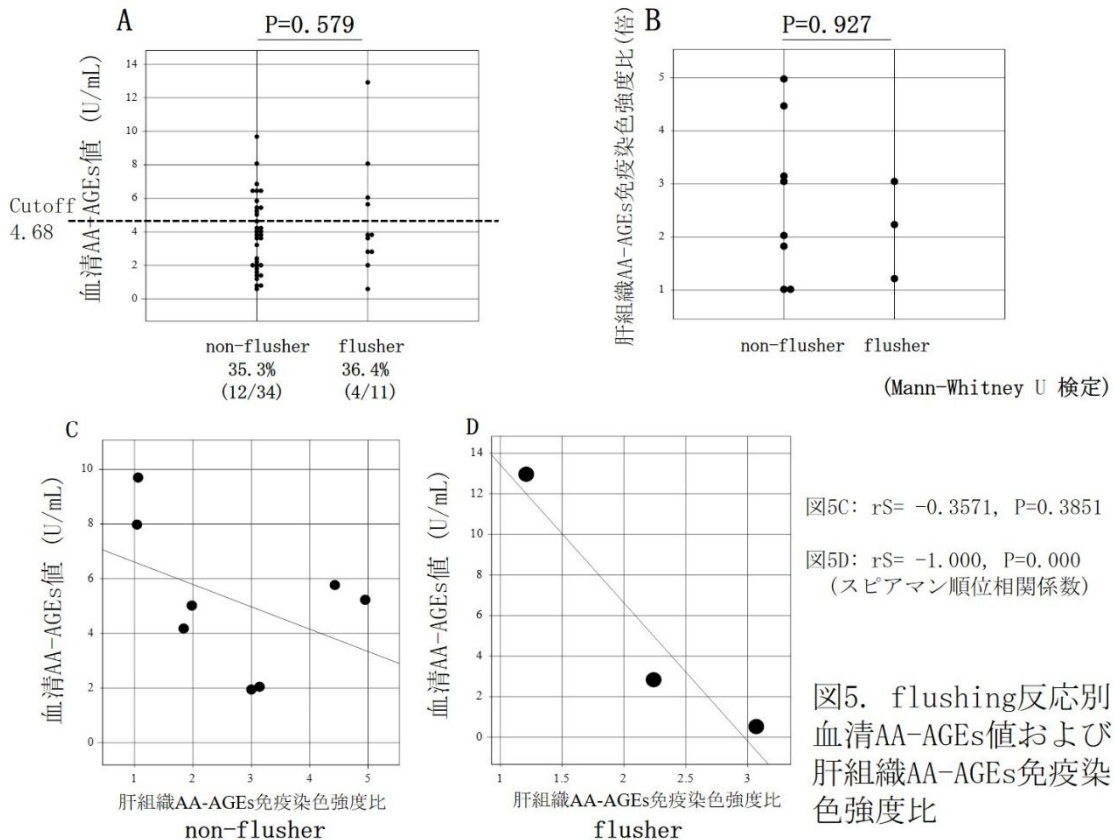


図5C:  $rS = -0.3571$ ,  $P = 0.3851$

図5D:  $rS = -1.000$ ,  $P = 0.000$   
(スピアマン順位相関係数)

図5. flushing反応別血清AA-AGEs値および肝組織AA-AGEs免疫染色強度比

血清 AA-AGEs 値は、non-flusher 群と flusher 群間で有意差を認めず、C 群の最大値 4.68U/mL より高値の症例の割合もほぼ同等であった (35.3% vs 36.4%: 図 5A)。肝組織 AA-AGEs 免疫染色強度においても有意差は認めなかった (図 5B)。血清 AA-AGEs 値と肝組織 AA-AGEs との相関は、non-flusher では弱い負の相関傾向を (図 5C)、flusher 群では有意な負の相関を認めた (図 5D)。

(7) 考察

本研究では、積算飲酒量と血清 AA-AGEs 値は有意な弱い正の相関を認め、AL-LC において、他の ALD の病型と比べて血清 AA-AGEs 量が高値を示した。また、flusher と non-flusher では血清 AA-AGEs および肝組織 AA-AGEs において有意差を認めなかった。

以上より、慢性の過剰飲酒が ALD の発症・進展にある程度関与していることは再認識できたが、AA-AGEs が ALD の発症・進展に及ぼす影響は今回、明らかにできなかった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計16件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 福村敦、橋爪智恵子、久保田龍一、野村匡晃、山形光慶、齊藤隆、堤幹宏、土島睦
2. 発表標題 アセトアルデヒド由来終末糖化産物がアルコール性関連肝疾患の病態進展に及ぼす影響
3. 学会等名 第42回アルコール医学生物学研究会学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 橋爪智恵子、齊藤隆、福村敦、久保田龍一、野村匡晃、山形光慶、堤幹宏、土島睦
2. 発表標題 アルコール性肝障害発生に対する -GTP阻害剤GGsTopの予防効果
3. 学会等名 第42回アルコール医学生物学研究会学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 久保田龍一、橋爪智恵子、福村敦、野村匡晃、湊貴浩、齊藤隆、尾崎一晶、竹内正義、堤幹宏、土島睦
2. 発表標題 高血糖をともなう飲酒者は肝障害を悪化させる
3. 学会等名 第64回日本消化器病学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 土島睦、堤幹宏、森川恵一、松原三郎
2. 発表標題 アルコール依存患者の微量元素の検討
3. 学会等名 2022年度アルコール・薬物依存関連学会合同学術総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 橋爪智恵子、堤幹宏、土島睦
2. 発表標題 終末糖化産物の産生に及ぼす高血糖とアルコール大量摂取の影響
3. 学会等名 第58回日本肝臓学会総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 福村敦、竹内正義、齊藤隆、林伸彦、津村崇、楠野颯樹、山形光慶、野村匡晃、久保田龍一、平川祐希、松江泰弘、湊貴浩、尾崎一晶、利國信行、堤幹宏、土島睦
2. 発表標題 アルコール性および非アルコール性脂肪肝に及ぼす終末糖化産物(AGEs)の影響
3. 学会等名 第57回日本肝臓学会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 竹内正義、福村敦、土島睦、堤幹宏
2. 発表標題 NASHの発症・進展における新たな概念 Toxic AGEs(TAGE)
3. 学会等名 第57回日本肝臓学会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 利國 信行、堤 幹宏、土島 睦
2. 発表標題 飲酒者における肝脂肪化および肝線維化と粥状動脈硬化の関連性
3. 学会等名 第57回日本肝臓学会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 利國信行、堤幹宏、土島睦
2. 発表標題 非アルコール性脂肪性肝疾患の肝線維化進展度と動脈硬化進行度の関連性
3. 学会等名 第63回日本消化器病学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 福村 敦, 齊藤 隆, 林 伸彦, 津村 崇, 楠野 颯樹, 山形 光慶, 野村 匡晃, 久保田 龍一, 平川 祐希, 松江 泰弘, 湊 貴浩, 尾崎 一晶, 利國 信行, 堤 幹宏, 土島 睦
2. 発表標題 境界領域の飲酒量が肝障害に及ぼす影響
3. 学会等名 第107回日本消化器病学会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 福村 敦, 齊藤 隆, 林 伸彦, 湊 貴浩, 平川 祐希, 久保田 龍一, 野村 匡晃, 山形 光慶, 尾崎 一晶, 堤 幹宏, 土島 睦
2. 発表標題 血清%CDT(糖鎖欠損トランスフェリン)値がcut off値以下のアルコール性肝障害患者の特徴
3. 学会等名 第24回日本肝臓学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 利國 信行, 福村 敦, 堤 幹宏, 土島 睦
2. 発表標題 2型糖尿病を合併したNASHの簡便な肝線維化診断法
3. 学会等名 第62回日本消化器病学会大会
4. 発表年 2020年



〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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	堤 幹宏  (TSUTSUMI Mikihiro)  (00155425)	金沢医科大学・医学部・教授   (33303)	
研究 分担者	飯田 安保  (IIDA Yasuo)  (10337173)	金沢医科大学・一般教育機構・准教授   (33303)	
研究 分担者	土島 睦  (TSUCHISHIMA Mutsumi)  (70197705)	金沢医科大学・医学部・教授   (33303)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------