

京都大学	博士（医学）	氏名	廣橋研志郎
論文題目	Protective effects of Alda-1, an ALDH2 activator, on alcohol-derived DNA damage in the esophagus of human ALDH2*2 (Glu504Lys) knock-in mice (ALDH2 活性化剤による変異型 ALDH2 ノックインマウス食道におけるアルコール起因性 DNA 傷害への防御作用)		
<p>(論文内容の要旨)</p> <p>食道扁平上皮の発癌には、アルコール摂取とその代謝産物であるアセトアルデヒドの代謝酵素(ALDH2)の遺伝子多型が深く関与する。変異型 ALDH2 遺伝子保有者は野生型 ALDH2 遺伝子保有者（正常者）と比較し活性が 10%以下に低下している。アセトアルデヒドは遺伝子変異を含む様々な DNA 傷害、染色体異常を引き起こす発癌物質で、ALDH2 機能の低下したヒトの慢性的な多量飲酒は、高アセトアルデヒド血症を呈することとなり、この病態が食道発癌に深く影響していると考えられている。本研究では ALDH2 活性化剤を用いて、アルコール摂取に起因する食道 DNA 傷害への防御作用を検討した。</p> <p>本研究ではヒト ALDH2 遺伝子変異と同一の遺伝子変異をもつ ALDH2 ノックインマウスを作製した。同マウスは、内在性のマウス <i>Aldh2</i> 遺伝子をヒト ALDH2 遺伝子に置換するよう遺伝子組み換えしたマウスで、ヒト変異型 ALDH2 遺伝子 (ALDH2*2) により ALDH 酵素活性が低下している点で、ヒト ALDH2 遺伝子多型の病態を忠実に再現するマウスモデルである。コントロールマウスとして、ヒト野生型 ALDH2 遺伝子 (ALDH2*1) をノックインしたマウスも作製し、これらを交配して ALDH2*1/*1、ALDH2*1/*2、ALDH2*2/*2 マウスを作製した。</p> <p>まず 3 種のマウスの ALDH 活性を、アセトアルデヒドの酸化で生じる NADH 量をモニタリングし測定した。ALDH2*1/*2、ALDH2*2/*2 マウスの肝 ALDH 活性は ALDH2*1/*1 マウスと比較し有意に低下していた。またこれらのマウスに 10%エタノールを 7 日間自由摂取させ、その間のエタノール摂取量、および食道組織内のアセトアルデヒド由来 DNA アダクト (<i>N</i>²-ethylidene-2'-dG) 量を液体クロマトグラフィ質量分析法 (LC/MS/MS) で測定した。ALDH2*1/*2 マウス、ALDH2*2/*2 マウスの飲酒量は、ALDH2*1/*1 マウスと比較し、有意に低下していたが、ALDH2*1/*2、ALDH2*2/*2 マウスの食道組織内 DNA アダクト量は ALDH2*1/*1 マウスと比較し有意に増加していた。</p> <p>次にこれらのマウスに ALDH2 活性化剤として Alda-1 (20mg/kg) を腹腔内投与し、3 時間後に肝 ALDH 活性を測定した。さらに、7 日間 10%エタノールを自由経口飲酒させるとともに、1 日 2 回 Alda-1 (20mg/kg) を腹腔内投与し、その後、食道を採取し、食道組織内 DNA アダクト量を測定した。次に C57BL/6 マウスに ALDH2 活性化阻害剤としてシアナミド(1.5mg/kg)を腹腔内投与し、2 時間後に肝 ALDH 活性を測定した。また同マウスに 7 日間 10%エタノールを自由経口飲酒させるとともに、シアナミド (1.5mg/kg) を 1 日 2 回腹腔内投与し、食道組織内 DNA アダクト量を測定した。</p> <p>Alda-1 投与により ALDH 活性は全てのマウスにおいて有意に増加し、シアナミド投与により ALDH 活性は有意に減少した。また、Alda-1 投与は ALDH2*1/*2 および ALDH2*2/*2 マウスの飲酒量を有意に増加させたが、食道組織内 DNA アダクト量は有意に減少させた。一方、シアナミド投与は飲酒量を有意に減少させたが、DNA ア</p>			

ダクト量は有意に増加させた。

以上の研究により、ALDH2 活性を上昇させることで飲酒に伴う食道組織内 DNA 傷害を軽減させることが明らかとなった。本研究の成果は、アルコールに起因する食道扁平上皮発癌の予防につながる可能性が示唆される。

(論文審査の結果の要旨)

食道扁平上皮発癌には、アルコール摂取とその代謝産物であるアセトアルデヒド代謝酵素 (ALDH2) の遺伝子多型が深く関与する。変異型 *ALDH2* 遺伝子保有者は野生型 *ALDH2* 遺伝子保有者（正常者）と比較し活性が 10%以下に低下している。ALDH2 機能の低下したヒトにおける慢性的な多量飲酒は、発癌物質であるアセトアルデヒドの血中濃度上昇をきたし、この病態が食道発癌に深く影響していると考えられている。本研究では ALDH2 活性化剤 (Alda-1) が、アルコール摂取に起因する食道 DNA 傷害を軽減させるか検討した。

申請者はヒト *ALDH2* 遺伝子多型の病態を再現するマウスモデルとして変異型ヒト *ALDH2* (ALDH2*2/*2) ノックインマウスを作製した。またコントロールマウスとして、野生型ヒト *ALDH2* (ALDH2*1/*1) ノックインしたマウスを作製し、さらにこれらを交配して変異型ヒト *ALDH2* ヘテロ (ALDH2*1/*2) ノックインマウスも作製した。次にこれらマウスに 7 日間 10%エタノールを自由経口飲酒させるとともに、ALDH2 活性化剤として Alda-1 を投与し、飲酒後の食道に生じる DNA 傷害を DNA アダクト量により評価した。Alda-1 投与により *ALDH2**1/*2 および *ALDH2**2/*2 マウスの飲酒量は有意に増加したが、食道 DNA アダクト量は有意に減少した。一方、ALDH2 阻害剤であるシアナミドを 10%エタノールと共に C57BL6 マウスに投与すると、飲酒量は有意に減少したが、食道 DNA アダクト量は有意に増加した。

以上の研究は ALDH2 活性化剤によるアルコール起因性 DNA 傷害への防御作用の解明に貢献し、本研究成果は今後の食道発癌予防の研究に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、令和 2 年 3 月 9 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日： 年 月 日以降