

## 追加関連論文(その2)

### (アセトアルデヒド)

#### 代謝

- 1 Matyslak-Budnik T, Jokelainen K, Karkkainen P, Makisalo H, Ohisalo J, Salaspuro M. Hepatotoxicity and absorption of extrahepatic acetaldehyde in rats. *J.Pathol.* (1996) 178: 469-474. (= 引用文献 6)

アセトアルデヒドは、エタノールの最初の酸化代謝物であり、エタノールによる肝障害の主要な要因となる。本研究は、アセトアルデヒドが消化管から吸収されるかどうか、また継続的な飲水投与によりラットに肝障害を引き起こすかどうかを確認することを目的としたものである。

アセトアルデヒドは、経口で容易に吸収され、初回通過効果によって大部分が肝臓で代謝、若しくは肝細胞膜の表面タンパクとの結合等により除去され、循環血中に入る量は極めて少ない。また一部は、消化管内又は結腸のアルデヒド脱水素酵素により代謝される。外因性のアセトアルデヒドは、エタノールの酸化により肝臓内に生成するものより強い肝毒性を示すものと考えられる。

- 2 Nakao LS, Kadiiska MB, Mason RP, Grijalba MT, Augusto O. Metabolism of acetaldehyde to methyl and acetyl radicals: in vitro and in vivo electron paramagnetic resonance spin-trapping studies. *Free Radic. Biol. Med.* (2000) 29: 721-729.

アルデヒド脱水素酵素によりアセトアルデヒドは、酸化されて酢酸を生成する。この代謝ルート以外にも、例えば、キサンチン酸化酵素による代謝といった別ルートも存在し、フリーラジカルの生成を伴う。

#### (血中濃度)

- 3 Lynch C, Lim CK, Thomas M, Peters TJ. Assay of blood and tissue aldehydes by HPLC analysis of their 2,4-dinitrophenylhydrazine adducts. *Clin. Chim. Acta.* (1983) 130: 117-122.

血液及び組織中のアセトアルデヒドの新しい検出方法に関する研究。4名の健康人の全血から、 $1.30 \pm 0.6 \mu\text{mol/L}$ のアセトアルデヒドが検出されている。

- 4 Fukunaga T, Sillanaukee P, Peter Eriksson CJ. Problems involved in the determination of endogenous acetaldehyde in human blood. *Alcohol Alcohol.* (1993) 28: 535-541. (引用文献 15)

ヒトの血中における内因性のアセトアルデヒドの存在については、ほとんど知られていないことから、3つの異なった前処理によるヘッドスペースガスクロマトグラフ法を用いて測定等を行った研究。健康人の全血中の濃度として0~20  $\mu\text{M}$ 程度のアセトアルデヒドが検出された。

(速度論)

- 5 Ohlin H, Brattstrom L, Israelsson B, Bergqvist D, Jerntorp P. Atherosclerosis and acetaldehyde metabolism in blood. *Biochem. Med. Metab. Biol.* (1991) 46: 317-328.

血中アセトアルデヒドの代謝(排泄)及び赤血球アセトアルデヒド脱水素酵素(ALDH)活性について、60歳未満の64名の外科の患者及び38名の健康者(コントロール)を対象に行った研究。血中アセトアルデヒドの消失は、二相性(0-30分、30-60分)であり、患者における血中半減期は、それぞれ $66 \pm 44$ 分、 $103 \pm 47$ 分であった。また、健康者における血中半減期は、それぞれ $46 \pm 18$ 分、 $198 \pm 93$ 分であった。また、ALDH活性及びアセトアルデヒド消失速度との関連はみられなかった。

(イソ酵素・遺伝多型)

- 6 Yin S-J, Liao C-S, Lee Y-C, W C-W, J S-W. Genetic polymorphism and activities of human colon alcohol and aldehyde dehydrogenases: no gender and age differences. *Alcohol Clin. Exp. Res.* (1994) 18: 1256-1260.

69名(男性47、女性22)の腸粘膜標本から得たアルコール脱水素酵素(ADH)及びアルデヒド脱水素酵素(ALDH)のイソ酵素を同定した。結果として、ヒトの腸粘膜にはかなりのADH及びALDH活性が存在することが示され、その活性に性別、年齢及び腸の部位による差はみられなかった。

- 7 Yao C-T, Liao C-S, Yin S-J. Human hepatic alcohol and aldehyde dehydrogenases: genetic polymorphism and activities. *Proc. Natl. Sci. Counc. Repub. China B.* (1997) 21: 106-111.

肝臓におけるエタノール代謝活性と遺伝子多型の関係を調べるため、計 23 の抽出標本について検討したところ、ADH<sub>2</sub> 及び ALDH<sub>2</sub> 遺伝子座に関連して、ヒトの肝臓におけるエタノール代謝活性にかなりの違いがみられた。

- 8 Yoshida A, Huang I-Y, Ikawa M. Molecular abnormality of an inactive aldehyde dehydrogenase variant commonly found in Orientals. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* (1984) 81: 258-261.

ヒトの肝臓には、2つのアルデヒド脱水素酵素イソ酵素 (ALDH<sub>1</sub> 及び ALDH<sub>2</sub>) があるが、そのうちの ALDH<sub>2</sub> のアミノ酸配列が正常のヒトと異なる変異 ALDH<sub>2</sub> を持つヒトが東洋人に多く、このようなヒトでは ALDH<sub>2</sub> が不活性となっている。しかし、変異 ALDH<sub>2</sub> を持つヒトでも、アルコール摂取時に顔が紅潮し、急性的症状を示す以外には内科学的には何ら異常はみられず、変異 ALDH<sub>2</sub> を持つヒトは、通常の ALDH<sub>1</sub> が活性で ALDH<sub>2</sub> の働きを補完する。

- 9 Agarwal DP, Harada S, Goedde HW. Racial differences in biological sensitivity to ethanol: the role of alcohol dehydrogenase and aldehyde dehydrogenase isozymes. *Alcohol Clin. Exp. Res.* (1981) 5: 12-16.

アルコール脱水素酵素 (ADH) 及びアルデヒド脱水素酵素 (ALDH) の遺伝的多型を有する異なる人種から得た肝臓標本を用いた研究。日本人の肝臓の約 85% が非定型 ADH を、52% がアセトアルデヒドの Km 値の低い非定型 ALDH をもっていたが、ドイツ人ではそれぞれ 13%、0% であった。本研究から、モンゴロイドで非常によくみられるアルコール高感受性は、非定型 ALDH によるアセトアルデヒドの酸化が遅いことによるかもしれないことが示された。

- 10 Novoradovsky A, Tsai SJ, Goldfarb L, Peterson R, Long JC, Goldman D. Mitochondrial aldehyde dehydrogenase polymorphism in Asian and American Indian populations: detection of new ALDH2 alleles. *Alcohol Clin. Exp. Res.* (1995) 19: 1105-1110.

中国在住の台湾人、シベリアのヤクート族及び北米インディアンの5グループについて、ミトコンドリアのアルデヒド脱水素酵素 (ALDH2) の遺伝子配列を調べた。北米インディアンの集団で新たな ALDH2 対立遺伝子である ALDH2<sup>3</sup> が、中国在住の台湾人の集団で ALDH2<sup>2Taiwan</sup> という2個のグルタミン酸がリジンに置換された ALDH2<sup>2</sup> サブタイプが発見された。

(胎児・乳幼児における代謝能)

- 1 1 Zorzano A, Herrera E. Decreased in vivo rate of ethanol metabolism in the suckling rat. *Alcohol Clin. Exp. Res.* (1989) 13: 527-532.

ラットについて、生まれたばかりのラットでは、肝臓のアルデヒド脱水素酵素活性は低く、授乳期間中に親動物と同レベルまで上昇した。幼若ラットへのエタノール (3 g/kg 体重) 投与後にアセトアルデヒドは検出されず、肝臓で生成する全てのアセトアルデヒドを代謝するのに十分な肝アルデヒド脱水素酵素活性があることが示された。

- 1 2 WHO IPCS Environmental Health Criteria 167 (1995) (抜粋)

*In vitro* において、アセトアルデヒドはマウス及びラットの胚で代謝されると報告されている。

アセトアルデヒドは胎盤を非常に早く通過する。低濃度では、胎盤及び胎児の肝臓のアルデヒド脱水素酵素によって代謝され、胎児の血中にアセトアルデヒドは検出されない。アセトアルデヒドの閾値を超えると、胎児 - 胎盤の代謝能を超え、胎児の血中にアセトアルデヒドが検出される。

- 1 3 Pikkarainen PH. Aldehyde-oxidizing capacity during development in human and rat liver. *Ann. Med. Exp. Biol. Fenn.* (1971) 49: 151-156.

Indole-3-acetaldehyde を基質として用いたアルデヒド酸化能の研究。ヒト胎児の肝臓は、成人の約 1/10 ~ 1/5 のアルデヒド酸化能をもっていた。ヒト胎児と成人のアルデヒド脱水素酵素の間に電気泳動度の差はみられず、2本の異なる酵素のバンド (イソ酵素) がみられた。ヒト胎児の腎臓、副腎及び消化管は相当のアルデヒド酸化能をもっており、脳、肺、心臓、大腿筋及び精巣はもっていないと考えられる。

- 1 4 Yoshida A, Shibuya A, Dave V, Nakayama M, Hayashi A. Developmental changes of aldehyde dehydrogenase isozymes in human livers: mitochondrial ALDH<sub>2</sub> isozyme is expressed in fetal livers. *Experientia*. (1990) 46: 747-750.

デンブングル電気泳動後の酵素活性染色及びドットプロット免疫ハイブリッド法を用いた研究。主要な細胞質のアルデヒド脱水素酵素 (ALDH<sub>1</sub>) 及び主要なミトコンドリアのイソ酵素 (ALDH<sub>2</sub>) 遺伝子の両方が胎児及び幼児の肝臓で発現していることが示され、ALDH<sub>4</sub> イソ酵素もみられた。この結果は、非定型の ALDH<sub>1</sub><sup>1</sup>/ALDH<sub>2</sub><sup>2</sup> 型や ALDH<sub>2</sub><sup>1</sup>/ALDH<sub>2</sub><sup>2</sup> 型をもつ胎児を除く、“通常”のホモ接合 ALDH<sub>1</sub><sup>1</sup>/ALDH<sub>1</sub><sup>1</sup> 型をもつ胎児は、母親からくるアセトアルデヒドを解毒することができることを示唆している。

- 1 5 Stewart MJ, Malek K, Crabb DW. Distribution of messenger RNAs for aldehyde dehydrogenase 1, aldehyde dehydrogenase 2, and aldehyde dehydrogenase 5 in human tissues. *J. Investig. Med.* (1996) 44: 42-46.

16の成人の体組織及び5つの胎児の体組織の poly A+ RNA を用いたノーザンブロット法による研究。成人では、最も高濃度のアルデヒドデヒドロゲナーゼ 1 (ALDH1) mRNA が肝臓、腎臓、筋肉及び脾臓にみられ、アルデヒドデヒドロゲナーゼ 2 (ALDH2) 及びアルデヒドデヒドロゲナーゼ 5 (ALDH5) は、肝臓、腎臓、筋肉及び心臓において最も高濃度で、ALDH1 よりも多く発現していた。胎児では、脳、肝臓、肺及び腎臓では ALDH2 及び ALDH5 が発現し、一方、ALDH1 は主に肝臓、腎臓及び肺に存在していた。

#### (発がんとの関連)

- 1 6 Muto M, Nakane M, Hitomi Y, Yoshida S, Sasaki S, Ohtsu A, Yoshida S, Ebihara S, Esumi H. Association between aldehyde dehydrogenase gene polymorphisms and the phenomenon of field cancerization in patients with head and neck cancer. *Carcinogenesis* (2002) 23: 1759-1765.

アルコール脱水素酵素 (ADH) 及びアセトアルデヒド脱水素酵素 (ALDH) の遺伝子多型と頭頸部扁平上皮細胞がん (HNSCC) 患者の“発がん環境要因” (field cancerization) との関連についての研究。HNSCC 患者では、しばしば二次初期食道扁平上皮細胞がん (ESCC) が発生する。ヒトでは、ADH3 と ALDH2 は、2つ

の対立遺伝子を有し(それぞれ ADH3-1 及び ADH3-2、ALDH2-1 及び ALDH2-2)、ADH3-1 は Caucasian で 40～50%の頻度で見られるのに対し、日本人では約 95%を占めている。対照的に、ALDH2-2 は Oriental (東洋人)でのみ約 50%の頻度で見られる。ADH3-1 は活性の高い ADH3 を、ALDH2-2 は活性の低い ALDH2 をコードしている。HNSCC 患者の二次 ESCC の発症につながる多発食道ヨード不染体 (multiple LVL) のリスクには、ALDH2-2、ADH3-2 及び飲酒との遺伝的・環境的相関があることが示された。最終的には、局所的アセトアルデヒド暴露の増加が、“発がん環境要因”の重要な決定因子と考えられる。

- 1 7 横山顕、加藤抱一、羽田達正、武藤学、大森泰、横山徹爾. 食道がん、頭頸部がんのリスクとアルコール代謝酵素の関連に関する研究. *厚生労働省がん研究助成金による研究報告書集* (2002) 2001: 347-352.

多施設症例対照研究により、アルコール代謝酵素と飲酒喫煙食習慣と食道・頭頸部がんのリスクに関して以下の結果を得た。ALDH2 ヘテロ欠損者では、少量の飲酒で正常者の中等量飲酒に匹敵する食道がんリスクが生じ、中等量飲酒で正常者の大量飲酒より高いリスクとなった。非活性型 ADH2 も食道がんリスクを高め、ALDH2 ヘテロ欠損との組み合わせで相乗的リスク上昇を示した。人口寄与危険度割合では飲酒 (91%)、ALDH2 ヘテロ欠損者の飲酒 (67%)、喫煙 (54%)、果物摂取不足 (40%)、濃い酒類の嗜好 (30%)、緑黄色野菜摂取不足 (25%) の順であった。頭頸部がんでも中等量異常の飲酒家では ALDH2 ヘテロ欠損と非活性型 ADH2 が危険因子であった。簡易フラッシング法は高い妥当性で ALDH2 欠損を判別した。ALDH2 欠損は食道・頭頸部がん患者の多発食道ヨード不染帯と 2 次発がん発生の危険因子でもあった。アセトアルデヒド・DNA アダクト量を大酒家の白血球 DNA で測定したが、ALDH2 遺伝子型による差はみられなかった。

- 1 8 大前和幸. アセトアルデヒド代謝と発がん. *産業医学ジャーナル* (2001) 24: 84-87.

アセトアルデヒドはエタノール (酒) の代謝物として、非常に多数の人口が暴露している。近年、分子医学手法の発展により、アセトアルデヒドの主代謝酵素 ALDH2 の多型が明らかとなり、代謝活性の弱い変異型を有する集団の口腔～上部消化管の発がんのオッズ比が、10 前後と非常に高いという症例対照研究結果が発表されている。また、アセトアルデヒド代謝と発がんに関連する最近の文献 (代謝、DNA 傷害性) を紹介している。

- 19 竹下達也、森本兼曩. 遺伝子多型と化学物質感受性 - アルデヒド脱水素酵素多型とアルコール感受性を例として - . *産業衛生学雑誌* (1998) 40: A17.

アルコールへの感受性を決定する因子としてALDH2の変異型を取り上げて解説。東洋人においては、ALDH2活性が低い、もしくは消失しているために、血中アセトアルデヒド濃度が上昇し、大量飲酒が妨げられる。アセトアルデヒドはヒトに対する発がん性が懸念されており、アルコール依存症患者の中から発生した食道がんは、ALDH2活性が低いタイプに多いことが報告されている。産業現場においては、常にこの多型に留意して作業・健康管理を行う必要がある。

#### 遺伝毒性

- 20 Fang JL, Vaca CE. Detection of DNA adducts of acetaldehyde in peripheral white blood cells of alcohol abusers. *Carcinogenesis*. (1997) 18: 627-632.

ヒトにおけるアルコール摂取によるアセトアルデヒドの DNA 付加体形成に対する影響を調べた。付加体レベルには大幅な個人差が認められた。顆粒球及びリンパ球における平均 DNA 付加体レベルは、それぞれ  $3.4 \pm 3.8$  及び  $2.1 \pm 0.8$  付加体/ $10^7$  ヌクレオチドであり、対照群よりそれぞれ 13 倍及び 7 倍高い値であった。アセトアルデヒドの遺伝毒性に関して、これらの結果は、アセトアルデヒドの DNA 付加体の形成が、発がんにおけるアルコール摂取の関わりを説明する妥当なメカニズムであることを示している。

- 21 Hayashi M, Sutou S, Shimada H, Sato S, Sasaki YF, Wakata A. Difference between intraperitoneal and oral gavage application in the micronucleus test. *Mutat. Res.* (1989) 223: 329-344.

小核試験共同研究グループ/日本環境変異原学会・哺乳動物試験研究会 (CSGMT/JEMS・MMS) による第 3 回共同研究で実施された小核試験における投与経路 (腹腔内投与 (i.p.) 及び経口投与 (p.o.)) による違いについての研究。

2 種のマウスを用いて 17 種類の化学物質を投与した小核試験の結果、いずれの投与経路でも陽性が確認された。一般に腹腔内投与では、より低い投与レベルで小核が誘発された。しかしながら、投与量を  $LD_{50}$  のパーセンテージとして表した場合には、この傾向は減少するか、逆転がみられた。