

Title	Protective role of ALDH2 against acetaldehyde-derived DNA damage in oesophageal squamous epithelium(Abstract_要旨)
Author(s)	Amanuma, Yusuke
Citation	Kyoto University (京都大学)
Issue Date	2016-03-23
URL	https://doi.org/10.14989/doctor.k19564
Right	
Type	Thesis or Dissertation
Textversion	ETD

京都大学	博士 (医 学)	氏 名	天 沼 裕 介
論文題目	Protective role of ALDH2 against acetaldehyde-derived DNA damage in oesophageal squamous epithelium (食道扁平上皮におけるアセトアルデヒド由来 DNA 損傷に対する ALDH2 の防御的役割)		
(論文内容の要旨)			
<p><背景>多くの疫学研究により慢性的な飲酒とアルデヒド脱水素酵素 2 型 (ALDH2) の遺伝子多型が食道扁平上皮癌のリスクと密接に関連することが明らかとなり、国際癌研究機関は 2009 年にアルコール摂取に関連するアセトアルデヒドを食道癌の Group1 発癌物質と認定した。低活性型 ALDH2 遺伝子型保有者は、アセトアルデヒド代謝能が低いため、飲酒後に体内のアセトアルデヒド濃度が上昇し、食道へ高濃度のアセトアルデヒドが曝露されると考えられる。一方、ALDH2 は肝臓に強く発現するが、食道上皮における ALDH2 発現については明らかでなく、食道局所における ALDH2 の働きは不明である。本研究では、食道上皮における ALDH2 の発現およびその機能的役割について検討を行った。</p> <p><方法><i>Aldh2</i> ノックアウトマウス及びその野生型マウスに 10%エタノールを 8 週間経口的に自由摂取させ、食道組織中の ALDH2 および γH2AX 発現を免疫組織学的染色法により検討した。また、食道組織から抽出した DNA における <i>N</i>²-ethylidene-2'-deoxyguanosine (<i>N</i>²-ethylidene-dG : アセトアルデヒド特異的な DNA 損傷マーカー)レベルを液体クロマトグラフ-タンデム型質量分析計により測定した。次に、<i>in vitro</i> でヒト正常食道上皮由来細胞にアセトアルデヒドを 0.2~1mM の濃度で直接的に曝露し、<i>N</i>²-ethylidene-dG レベル、及び ALDH2 発現について検討した。ALDH2 の機能的役割を検討するために、①siRNA 法で ALDH2 発現を抑制したヒト食道上皮細胞、②<i>Aldh2</i> ノックアウトマウスの食道から分離培養した食道上皮細胞、③レンチウイルスベクターを用いて ALDH2 を高発現させたヒト食道上皮細胞にアセトアルデヒドを曝露し、アセトアルデヒド由来 DNA 損傷の程度を検討した。</p> <p><結果>野生型マウスのエタノール摂取群では、食道上皮の基底層、傍基底層に ALDH2 発現を認めたが、非摂取群では認められなかった。一方、<i>Aldh2</i> ノックアウトマウスでは野生型マウスと比較し、エタノール摂取後、食道上皮中の γH2AX 陽性細胞が増加した。同様に、<i>N</i>²-ethylidene-dG レベルも有意に上昇し、アセトアルデヒドによる DNA 損傷の亢進が示唆された。</p> <p>次にヒト正常食道上皮由来細胞にアセトアルデヒドを曝露し、細胞生存率、DNA 損傷、ALDH2 発現を検討したところ、アセトアルデヒド濃度依存的に細胞生存率は低下し、逆に <i>N</i>²-ethylidene-dG レベルは上昇した。また、アセトアルデヒド濃度および曝露時間依存的に ALDH2 発現誘導が観察された。</p> <p>さらに、ALDH2 を発現抑制もしくは高発現させた食道上皮細胞にアセトアルデヒドを曝露して <i>N</i>²-ethylidene-dG レベルを調べたところ、ALDH2 発現</p>			

を抑制した細胞ではコントロールに比して有意に上昇し、一方、野生型 ALDH2 を高発現させた細胞では有意に低下した。また、変異型 ALDH2 を高発現させても、*N*²-ethylidene-dG レベルは低下しなかった。

<結論>アセトアルデヒドの曝露に伴い食道上皮細胞に ALDH2 が発現誘導されることが示された。また、細胞中の ALDH2 発現量がアセトアルデヒドによる DNA 損傷の程度を規定したことから、食道上皮に発現誘導される ALDH2 は、アセトアルデヒドにより生じる DNA 損傷に対して細胞保護的に機能することが示唆された。本研究成果は、アルコール発癌メカニズム解明に大きく貢献すると期待できる。

(論文審査の結果の要旨)

食道扁平上皮癌のリスクとしてアルデヒド脱水素酵素 2 型 (ALDH2) の活性低下が知られている。ALDH2 は肝臓に多く発現し、エタノール代謝で産生されるアセトアルデヒドを分解する酵素であるが、これまで食道上皮における ALDH2 の発現や機能的役割は不明であった。

申請者は *Aldh2* ノックアウトマウス及び野生型マウスを用いた 10%エタノール自由摂取実験 (8 週間) において、野生型マウスの食道上皮に ALDH2 発現が誘導されること、*Aldh2* ノックアウトマウスの食道で γ H2AX 発現やアセトアルデヒド由来 DNA 損傷 (*N*²-ethylidene-dG) が増強することを示した。*In vitro* でヒト食道上皮細胞にアセトアルデヒドを曝露すると ALDH2 発現が誘導され、さらに ALDH2 発現を抑制した食道上皮細胞にアセトアルデヒド曝露すると *N*²-ethylidene-dG 値が上昇すること、逆に野生型 ALDH2 の高発現ではそれが低下することを示した。また変異型 ALDH2 の高発現では *N*²-ethylidene-dG は抑制されなかった。以上の結果からアセトアルデヒドにより食道扁平上皮で ALDH2 が発現誘導され、アセトアルデヒド由来 DNA 損傷に対し防御的に機能することが示された。

以上の研究は食道上皮における ALDH2 の発現とその機能的役割の解明に貢献し食道発癌メカニズムおよび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、平成 28 年 1 月 15 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