



# Telomere shortening in alcohol dependence: Roles of alcohol and acetaldehyde

Yamaki, Naruhisa

---

(Degree)

博士 (医学)

(Date of Degree)

2019-03-25

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲第7350号

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1007350>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



(課程博士関係)

## 学 位 論 文 の 内 容 要 旨

### Telomere shortening in alcohol dependence: Roles of alcohol and acetaldehyde

アルコール依存症におけるテロメア長短縮について：  
アルコールとアセトアルデヒドの役割

神戸大学大学院医学研究科医科学専攻  
精 神 医 学  
(指導教員：曾良一郎 教授)

山 木 愛 久

### 研究の背景と意義

これまでの研究で大量飲酒は、様々なタイプのがん、高血圧、脳の灰白質および白質の萎縮、骨粗鬆症のような加齢に関連した疾患の発症を促進することが知られている。しかしその詳細なメカニズムは解明されていない。テロメア長 (TL) の短縮は、いくつかの加齢関連疾患のリスク増加に関連していることから、TLは細胞老化のマーカーとして広く受け入れられている。既に飲酒と末梢血白血球の TL 短縮の関連も報告されている。

アルコールの毒性は、一般にその暴露時間と血中アルコール濃度、およびアルコールの代謝産物であるアセトアルデヒド (AcH) の濃度に依存する。AcH の毒性はよく知られており、上部消化管に発がん作用を有することが報告されている。従ってアルコールに加えて、AcH が大量飲酒者の細胞老化すなわち TL 短縮に寄与している可能性が考えられる。

アルコールは体内においてアルコール脱水素酵素 (ADH) によって AcH へ代謝され、AcH はさらにアルデヒド脱水素酵素 (ALDH) 2 によって酢酸に代謝される。ヒトで同定された 10 を超える ALDH サブタイプのうち、ALDH1A1、ALDH1B1、および ALDH2 のみが AcH 酸化において重要な役割を果たすことが知られている。このうちミトコンドリアに存在する ALDH2 は、AcH に対する親和性が高いため、AcH 代謝にとって最も重要である。ALDH2 遺伝子には多型が存在し、ALDH2 \* 2 アレルを有すると AcH 代謝は不活性形態となる。ALDH2 \* 2 アレルは、中国人、日本人、韓国人、ベトナムを含む東アジアの 16・35% に見られるが、コーカサス人、黒人、アメリカインディアンなどの他の民族ではほとんど見られない。ALDH2 の遺伝子多型は、飲酒後の血中 AcH 濃度を決定する主要な要因である。ALDH2 \* 2 アレルは、ALDH2 の一塩基多型である。不活性型の ALDH2 ではアルコール摂取後の AcH 蓄積がおこり、顔面紅潮、頻脈、頭痛、吐き気などの不快な症状を引き起こす。また血中の AcH の濃度は ADH よりも ALDH2 により依存するという報告がある。

本研究では、アルコールおよび AcH が細胞老化を促進するかどうかを末梢血中の TL を測定することで調べた。その際アルコール依存症 (AD) 患者における ALDH2 \* 2 アレルの有無に焦点を当てた。また TL の短縮が AD 患者の臨床的特徴と関連しているかどうかを調査し、アルコールが加齢に及ぼす影響のメカニズムの解明を目指した。

### 方法

男性の AD 患者 134 名を、国立病院機構久里浜医療センター病院の AD 治療プログラムへの入院患者から募集した。診断は DSM-IV に基づいて行われた。またコントロール群として年齢と性別が一致するボランティア 121 名を用意した。すべての患者に対し、食道のヨード染色を組み合わせた上部消化管内視鏡検査からなる、がんのスクリーニングが内科医師によって実施された。さらに全ての参加者に採血を実施し、末梢血白血球からゲノム DNA を抽出し、TL 測定と ALDH2 遺伝子型判定を行った。なおテロメア長測定は Telo TAGGG Telomere Length Assay kit (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany) を使用したサザンブロット法を行い、Gel-Pro Analyzer (Media Cybernetics, Rockville, MD, USA) にてサイ

ズスタンダードと比較した。

## 結果

AD 群での喫煙者の割合がコントロール群のそれよりも有意に多かった。

AD 群では末梢血中の TL がコントロール群に比べて有意に短縮していた。AD 群において ALDH2 の多型でテロメア長を比較したが、有意差を認めなかった。AD 患者において入院時にビタミン B1 欠乏を有した群で有意にテロメア長の短縮を認めた。

## 考察

一般の集団におけるアルコール摂取と TL の関係を調べた以前の研究では、関連が認められないか、65 歳以上の集団でのみ関連が報告されている。また白人の飲酒運転犯罪者は、末梢血白血球中の TL が一般的な酒飲者よりも短いことが報告されている。この著者らはさらに、ADH1B \* 1 / \* 1 の遺伝子型がアルコール乱用者でより多く見られ、これらの変異を持つ者はよりアルコールの消費量が多く、テロメアが短いことを報告した。食道上皮細胞の TL を比較した研究では、AD 患者群が健常群よりも有意に短い TL を有することを示した。この著者らは、TL の短縮が AD 患者の食道における扁平上皮がんの頻繁な発生と関連している可能性がある」と論じている。

今回の我々の研究では、末梢血中の TL と ALDH2 および ADH1B 遺伝子多型との間の関連に焦点を当てた。前述のように、AcH 代謝に関与する主要な酵素は ALDH2 である。不活性型を示す ALDH2 \* 2 アレルは、飲酒後の高い AcH 濃度の主要な決定因子であるため、このアレルを持つ AD 患者は、TL 短縮における AcH 曝露の因果関係を調べるモデルとしての役割を果たす。ADH1B および ALDH2 遺伝子型の組み合わせは、特に日本人の AD 患者において同様に有用であり得る。ADH1B \* 2 の保有者は、よりエタノールを迅速に代謝するので、ADH1B \* 2 と不活性型 ALDH2 の組み合わせはより一層 AcH の蓄積につながる。既報では ADH1B \* 2 と ALDH2 \* 1 / \* 2 遺伝子型を有する日本人 AD 患者は、より高率に食道がんが発症することが示され、同時に高い血中 AcH 濃度を示していた。AcH は酸化ストレスや炎症を誘発し DNA に対して傷害的に働くことから、我々は当初 AcH の蓄積が TL 短縮の原因となっている可能性がある」と推測していたが、今回の研究結果から AD 患者における ALDH2 \* 2 アレルや、ADH1B の多型も、及びそれらの組み合わせも TL と関連がみられなかったという知見によってその仮説は支持されなかった。

またテロメアは酸化的ストレスにより損傷を受けやすい配列であることが知られている。肝臓におけるアルコール代謝で活性酸素が発生することもよく知られており、生成された活性酸素は、DNA 二本鎖切断を誘導することおよび DNA 複製を妨害することによって TL の短縮を引き起こしている可能性がある。

我々の今回の研究結果では、TL の短縮とビタミン B1 (チアミン) 欠乏の関連性を明らかにした。チアミン欠乏は AD 患者にしばしばみられるものである。チアミン欠乏は

Wernicke-Korsakoff 症候群のように、中枢神経系および末梢神経におけるニューロンの機能障害を引き起こし得る。その詳細なメカニズムは不明であるが、酸化ストレスに起因するニューロン死を伴う可能性が示唆されている。チアミンはミトコンドリアにおけるエネルギー産生に不可欠であり、その欠乏はミトコンドリアの機能障害を引き起こし、細胞の酸化的ストレス増加を生じる可能性がある。実際にビタミン C、B12 および葉酸などの抗酸化特性を有する栄養素の摂取量が TL と正の相関がみられたとする報告がある。我々の知る限りでは、チアミン補給が TL 短縮を有意に改善することを示した報告はこれまでのところないが、チアミン補充が TL に対して良い効果を及ぼす可能性がある。これらのことより、チアミン欠乏がどのようにして TL 短縮に至るかは不明であるが、ミトコンドリアの機能的障害やその結果としての細胞内の酸化ストレスの増大が原因である可能性がある。もちろんチアミン欠乏は、葉酸などの他のビタミンが欠乏していることを単に反映しているだけ、という可能性もある。

我々の今回の研究では、研究デザインが横断的であったため、アルコールと TL 短縮の間の因果関係を証明することまでは出来なかった。また TL 短縮とチアミン欠乏の関係性においても同様のことが言える。もう一つの限界は末梢血のみで TL を測定したことであるが、末梢血白血球においては他の体細胞と同様に年齢依存的に TL 短縮を示すという報告があり、これは我々の結果の妥当性を支持するものである。

結論として今回の我々の研究では、AD 患者において ADH1B および ALDH2 の遺伝子多型にかかわらず、健常群よりも有意に短い TL を有することを示した。これらの事実は AcH ではなくエタノールが AD 患者の TL 短縮とより強く関連していることを示唆している。これらの知見を受けて、長期間の断酒と栄養状態の改善が TL の短縮を抑制できるかどうかを調査することは有用であろう。また TL 短縮と細胞の酸化ストレスやチアミンとの関連にも焦点を当てた研究が行われることが望まれる。

| 論文審査の結果の要旨                          |                                                                                                                               |     |         |
|-------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|---------|
| 受 付 番 号                             | 甲 第 2 8 4 4 号                                                                                                                 | 氏 名 | 山 木 愛 久 |
| 論 文 題 目<br>Title of<br>Dissertation | Telomere shortening in alcohol dependence: Roles of alcohol and acetaldehyde<br><br>アルコール依存症におけるテロメア長短縮について：アルコールとアセトアルデヒドの役割 |     |         |
| 審 査 委 員<br>Examiner                 | 主 査 上野 易子<br>Chief Examiner<br>副 査 橋本 秀樹<br>Vice-examiner<br>副 査 溝渕 知司<br>Vice-examiner                                       |     |         |

神戸大学大学院医学(系)研究科（博士課程）

（要旨は1，000字～2，000字程度）

〔研究の背景〕

大量飲酒は癌・高血圧・脳萎縮・骨粗鬆症等の加齢性疾患の発症を促進する事が知られているが、その詳細な機序は解明されていない。一方、テロメア長（TL）の短縮は加齢関連疾患の発症危険性の上昇に関連しており、飲酒と末梢白血球の TL 短縮の関連も報告されている。

アルコールの毒性は、一般にその暴露時間と血中アルコール濃度、及びアルコール代謝産物であるアセトアルデヒド（AcH）の血中濃度に依存する。AcH は上部消化管に発癌作用を有する事等より、アルコールに加えて AcH が大量飲酒者の細胞老化即ち TL 短縮に寄与している可能性が考えられる。

アルコールはアルコール脱水素酵素（ADH）により AcH に代謝され、次いでアルデヒド脱水素酵素（ALDH）2 によって酢酸に代謝される。複数種類ある ALDH のうちミトコンドリアに存在する ALDH2 が AcH 代謝の主要経路である。ALDH2 遺伝子は多型が存在し、ALDH2 \*2 アレルを有すると AcH 代謝能が低くなり、飲酒後の血中 AcH 濃度が上昇する。

本研究では、アルコール並びに AcH が細胞老化を促進するか否かについて、アルコール依存症（AD）患者を ADH1B 並びに ALDH2 \*2 アレルの有無によって区分し、末梢血の TL を比較して、アルコールが TL に及ぼす影響について調べた。

〔研究方法〕

男性 AD 患者 134 名を、国立病院機構久里浜医療センター病院の AD 治療プログラムへの入院患者から募集した。対照群は年齢と性別が一致する 121 名とした。全ての参加者の末梢白血球からゲノム DNA を抽出し、TL 測定と ALDH2 遺伝子型判定を行った。テロメア長測定は Telo TAGGG Telomere Length Assay kit (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany)を使用したサザンブロット法を行い、Gel-Pro Analyzer (Media Cybernetics, Rockville, MD, USA)にてサイズスタンダードと比較した。

〔研究結果〕

AD 群での喫煙者の割合は対照群のそれよりも有意に高かった。

AD 群では末梢血中 TL が対照群に比べて有意に短縮していた。AD 群において ALDH2 多型でテロメア長を比較したが、有意差を認めなかった。

AD 患者において入院時にビタミン B 1 欠乏を認めた群で有意にテロメア長の短縮を認めた。

本研究では、末梢血中 TL と ALDH2 及び ADH1B 遺伝子多型との間には関連性が認められなかった。従って、飲酒後の AcH の血中蓄積が AD 患者に於ける TL 短縮の原因である事を示唆する結果は得られなかった。

一方、テロメアは酸化的ストレスにより損傷を受け易い配列である。肝臓におけるアルコール代謝で活性酸素が発生する事より、飲酒により生成された活性酸素による DNA 二本鎖切断及び DNA 複製妨害によって TL の短縮が引き起こされている可能性が考えられた。

更に、TL 短縮とビタミン B1（チアミン）欠乏が関連していたが、チアミン欠乏は AD 患者にしばしば認められる病態である事、チアミン欠乏はミトコンドリアの機能障害を引き起こし、細胞の酸化的ストレス増加を生じる可能性がある事より、チアミン欠乏によるミトコンドリア機能障害やその結果生じる細胞内酸化ストレス増大が TL 短縮の原因である可能性が考えられた。

本研究は、AD 患者では ADH1B 並びに ALDH2 の遺伝子多型に係わらず、健常者群よりも有意に短い TL を有する事並びに AD 患者に於ける TL 短縮が AcH ではなくエタノールとより強く関連している事を示し、従来行われなかった AD 患者に於ける TL の短縮並びにその要因について重要な知見を得たものとして価値ある業績と認める。よって、本研究者は博士（医学）の学位を得る資格があると認める。