

氏名(本籍)	木戸亮子(岩手県)		
学位の種類	博士(獣医)		
学位記番号	獣医博甲第206号		
学位授与年月日	平成18年9月15日		
学位授与の要件	学位規則第3条第1項該当		
研究科及び専攻	連合獣医学研究科 獣医学専攻		
研究指導を受けた大学	岩手大学		
学位論文題目	エタノール毒性におけるDNA損傷の役割に関する研究		
審査委員	主査	岩手大学 教授	津田修治
	副査	帯広畜産大学 教授	西村昌数
	副査	岩手大学 教授	谷口和之
	副査	東京農工大学 教授	三森国敏
	副査	岐阜大学 教授	武脇義

論文の内容の要旨

エタノールはアルコール飲料の主成分であり、太古より人々に摂取され、人生に潤いを与え、社会生活を円滑にしている。一方、その有害性に関してはエタノールの慢性的な過剰摂取により口腔、咽喉頭および食道などの上部消化管、さらに肝臓を主な標的としてがんが誘発されることが疫学的調査により示されている。IARC (International Agency for Research on Cancer) はエタノールを Group 1 に分類しており、ヒトに対して発がん性を有するとしている。エタノールはまた、神経毒性を有し、慢性アルコール中毒患者においてアルコール性小脳変性症や大脳の萎縮などを誘発し、特に中枢神経系に影響を及ぼす。妊娠期の過剰なアルコール摂取がヒト胎児アルコール症候群を誘発することが良く知られている。ヒト胎児アルコール症候群では特徴的顔貌や学習障害、発育遅延などがアルコールに子宮内暴露された小児に認められる。妊娠期間中の一時的な多量飲酒でもヒト胎児アルコール症候群が誘発される可能性が示されている。これらのエタノール毒性とDNA損傷の関係を報告した例はほとんどないが、発がん性や催奇形性にはDNA損傷が関与している可能性がある。そこで、本研究ではエタノールにより誘発される臓器特異的DNA損傷を、*in vivo* コメット法を用いて検討した。妊娠7日のICR系マウスにエタノール2、4または8 g/kgを単回経口投与し、4、8、12および24時間後の母動物より脳、肺、肝臓、腎臓、胃粘膜、結腸粘膜、膀胱粘膜および胚子を摘出した。摘出した臓器・組織および胚子にコメット法を用い、各臓器および胚子におけるDNA損傷を検討した。その結果、4および8 g/kgエタノール投与群の脳、肺および胚子においてDNA損傷が有意に増加した。脳および肺におけるDNA損傷はエタノール投与後4時間をピークとしたが、胚子では投与後8時間にDNA損傷のピークが認められた。2 g/kgエタノール投与群ではDNA損傷の増加は認められな

った。8 g/kg エタノール投与群では DNA 損傷が投与後 24 時間まで及んだものの、DNA 損傷の程度は明確には増強されなかった。いずれの用量でもエタノール毒性の標的臓器であると考えられている肝臓において有意な DNA 損傷は認められなかった。エタノールの代謝産物であるアセトアルデヒドが DNA に架橋を形成するとの報告があるため、アセトアルデヒド脱水素酵素阻害薬であるジスルフィラムをその阻害用量で前処置し、エタノール 4 g/kg 投与により認められた DNA 損傷に対する影響について検討した。ジスルフィラムの単回投与では DNA 損傷の増加は認められなかった。また、ジスルフィラム前処置による DNA 損傷の増強効果も認められなかった。以上のことからエタノールにより DNA 損傷が誘発されること、誘発された DNA 損傷が脳および胚子におけるエタノール毒性に何らかの関連があることが示唆された。また、今まで標的とされていない肺においても DNA 損傷が認められたことから、肺における影響について今後検討する必要があると考えられた。また、今回認められた損傷はアセトアルデヒドを介さない別の機序によるものである可能性が示唆された。本研究で用いたコメット法ではこのエタノールによる DNA 損傷がどの程度突然変異として固定されるのか、又その突然変異がどの遺伝子に起こるかは判断出来ない。しかしながら、DNA 損傷は全ての遺伝毒性の元となるものである。本研究は、ヒトの摂取に最も近い条件として、エタノールを哺乳動物に経口投与した時に DNA 損傷が *in vivo* で臓器特異的に誘発されることを明らかにした初めての研究であり、エタノール毒性における DNA 損傷の役割を検討するための足がかりとなるものと思われる。

審 査 結 果 の 要 旨

本研究は、アルコール飲料の主成分であるエタノールの発がん性、肝臓毒性、神経毒性および胎児アルコール症候群等と DNA 損傷の関係を検討する目的で、妊娠マウスにエタノールを投与して、関連諸臓器の DNA 損傷をコメット法を用いて検討したものである。妊娠 7 日目の ICR 系マウスにエタノールを単回経口投与し、4、8、12 および 24 時間後に母動物より脳、肺、肝臓、腎臓、胃粘膜、結腸粘膜、膀胱粘膜および胚子を摘出した。摘出した臓器・組織および胚子にコメット法を用い、臓器特異的 DNA 損傷を検討した。その結果、4 および 8 g/kg エタノール投与群の脳、肺および胚子において DNA 損傷が有意に増加した。脳および肺における DNA 損傷はエタノール投与 4 時間後にピークが認められたが、胚子では投与 8 時間後にピークが認められた。2 g/kg エタノール投与群では DNA 損傷は認められなかった。8 g/kg エタノール投与群では DNA 損傷が投与後 24 時間まで及んだものの、DNA 損傷の程度は増加しなかった。いずれの用量でもエタノール毒性の標的臓器である肝臓において有意な DNA 損傷は認められなかった。エタノールの代謝産物であるアセトアルデヒドが DNA に架橋を形成すると言われているため、アセトアルデヒド脱水素酵素阻害薬であるジスルフィラムをその阻害用量で前処置し、エタノール 4 g/kg 投与により認められた DNA 損傷の増強について検討した。ジスルフィラムの単独投与で DNA 損傷は誘発されず、ジスルフィラム前処置によるエタノール誘発 DNA 損傷の増強効果も認められなかった。以上のことからエタノールにより誘発された DNA 損傷が脳および胚子におけるエタノール毒性に寄与している可能性が考えられた。また、今まで標的臓器とされていない肺において DNA 損傷が認められたことから、肺に対する影響につい

て今後検討する必要があると考えられた。一方、今回認められた DNA 損傷はアセトアルデヒドを介さない別の機序によるものである可能性が示唆された。本研究で用いたコメット法ではこのエタノールによる DNA 損傷がどの程度突然変異として固定されるのか、又その突然変異がどの遺伝子に起こるかは判断出来ない。しかしながら、DNA 損傷は全ての遺伝毒性の元となるものである。本研究は、ヒトの摂取に最も近い条件として、エタノールを哺乳動物に経口投与した時に DNA 損傷が *in vivo* で臓器特異的に誘発されることを明らかにした初めての研究であり、今後エタノール毒性を考察する上で重要な知見を提出したものである。

以上について、審査委員全員一致で本論文が岐阜大学大学院連合獣医学研究科の学位論文として十分価値があると認めた。

基礎となる学術論文

- 1) 題 目 : Detection of *in vivo* DNA damage induced by ethanol in multiple organs of pregnant mice using the alkaline single cell gel electrophoresis (comet) assay
著 者 名 : Kido, R., Sato, I. and Tsuda, S.
学術雑誌名 : The Journal of Veterinary Medical Science
巻・号・頁・発行年 : 68(1): 41-47, 2006