

## 綜 説

## 脳 アル デ ヒ ド 脱 水 素 酵 素

塩 原 ゑ い 子

信州大学医学部薬理学教室

## Brain Aldehyde Dehydrogenases

Eiko SHIOHARA

Department of Pharmacology, Shinshu University School of Medicine

**Key words** : aldehyde dehydrogenases, acetaldehyde, alcohol preference

アルデヒド脱水素酵素, アセトアルデヒド, アルコール嗜好性

## はじめに

生体に投与されたエタノール (EtOH) はその90%以上が肝で代謝される<sup>1)</sup>。EtOH 酸化は段階的に進行し, 第1段階は EtOH → アセトアルデヒド (AcH) であり, 第2段階はアセトアルデヒド → 酢酸への酸化である。大部分は肝において酢酸に酸化されるが, 肝臓中に認められる AcH 量の約1/10量の AcH が血中に認められる<sup>2)</sup>。AcH は EtOH に比して, 非常に強い薬理学的活性をもっている。急性あるいは慢性 EtOH 適用時の中枢作用には EtOH の代謝物 AcH の作用が関わる可能性が考えられている。脳に存在する NAD<sup>+</sup>依存アルデヒド脱水素酵素 (Aldehyde : NAD oxidoreductase, EC 1. 2. 1. 3, ALDH) は AcH の酸化および生体アミン (serotonin, dopamine および norepinephrine) 由来のアルデヒドの酸化に関与することが知られており<sup>3)</sup>, AcH がこれら生体アミン由来のアルデヒドの酸化を拮抗阻害することから, EtOH の中枢作用のうちには AcH のアミン代謝に及ぼす影響によるものがある<sup>4)5)</sup>と推測される。AcH の存在は生体アミン由来のアルデヒドの蓄積を招き, その結果, 代謝経路が還元型に shift する可能性がある。また生体アミン由来のアルデヒドあるいは AcH がカテコールアミンと縮合反応して, アルカロイド様物質を産生する可能性があり, モルフィン・アルカロイド様物質産生と

アルコール嗜好性あるいはアルコール依存という興味ある仮説が提唱されている<sup>6)</sup>。脳 ALDH についての研究は比較的新しく, したがって未だ解決されていない部分も多いが, 以下われわれの研究を含めてまとめてみたい。なお肝 ALDH についての綜説はすでに本誌に記載されているのでそちらを参照して頂きたい<sup>7)</sup>。

## A 脳アルデヒド脱水素酵素の細胞内分布と薬物による影響

この酵素は肝, 脳, 腎, 肺, 心など生体組織に広く分布している<sup>8)10)</sup>。脳 ALDH 活性はウシ<sup>3)</sup>, ラット<sup>11)</sup> および マウス<sup>12)</sup> のいずれの脳においてもすべての部位に認められる (Table 1)。各部位における ALDH の specific activity は研究者により多少異なる。この酵素の細胞内局在についてはラット, マウス, ウシおよびヒトのいずれにおいても, ミトコンドリア画分が大部分を占める。他の画分における存在については研究者により異なる。Erwin と Deitrich<sup>3)</sup> はウシ脳について, ALDH 活性はミトコンドリア画分に全活性の60%, 20,000×g上清に20%認めている。彼らはミトコンドリア画分より DEAE-cellulose カラムクロマトグラフィーにより9倍純化した酵素を分離している。この酵素はサクシニクセミアルデヒド脱水素酵素 (基質  $\gamma$ -aminobutyric acid 由来の succinic semialdehyde) から分離されている。また, 基質特異性は低く, 至適 pH は約10で, Km 値は非常

Table 1 Distribution of aldehyde-oxidizing capacity in various areas of bovine brain<sup>3)</sup>

Area	Mean (range)*
Cerebellum .....	1.8 (1.4-2.1)
Cerebral cortex .....	3.5 (3.2-3.8)
Pons-medulla .....	3.8 (3.2-4.4)
Caudate nucleus .....	4.9 (4.4-5.5)
Thalamus .....	3.4 (3.1-3.8)
Lentiform nucleus .....	2.9 (2.4-3.4)
Midbrain-hypothalamus .....	3.2 (3.1-3.4)
Pineal gland .....	2.0

\* Activity: nmoles of indole-3-acetic acid formed/10min/mg protein.

に小さく、5-hydroxyindoleacetaldehyde, 3,4-dihydroxyphenylacetaldehyde および 3,4-dihydroxyphenylglycolaldehyde に対し、それぞれ  $2.5 \times 10^{-6}M$ ,  $1.0 \times 10^{-6}M$  および  $3.0 \times 10^{-6}M$  である。AcH に対しては2つのKm値,  $3 \times 10^{-5}M$  および  $3 \times 10^{-7}M$  を得ている。

Pettersson と Tottmar<sup>13)</sup> は、ラット脳 ALDH のカイネティクスから数種の ALDH の存在を報告している。ミトコンドリア画分に AcH に対し、低い Km 値 (low Km-ALDH) ならびに高い Km 値をもつ ALDH (high Km-ALDH) が存在している。可溶性画分にも低い Km 値をもつ酵素の存在を認めている (<20%)。小胞体画分には微かであるが低い Km 値をもつ ALDH の存在を認めている (Table 2)。ミトコンドリア画分に存在する ALDH のみかけの Km 値は 0.2 と 2,000  $\mu M$ , 3,4-dihydroxyphenylacetaldehyde に対しては 0.3 と 31  $\mu M$  が得られている (Fig. 1)。ミトコンドリア内ではマトリックスに局在する。AcH および 3,4-dihydroxyphenylacetaldehyde に対する low Km-ALDH は phosphate buffer 中で  $Mg^{++}$  および  $Ca^{++}$  によって影響をうけないが、high Km-ALDH 活性はこれら ions によって顕著に増大する。さらに AcH に対し low Km-ALDH ならびに high Km-ALDH 活性は pyrophosphate buffer 中で至適 pH が異なることが報告されている。Shiohara ら<sup>14)</sup> のラット脳についての研究では ALDH 活性はミトコンドリア画分に Km 値を異にする2つの酵素およびミクロソーム画分に1つの酵素の存在を認めており、各画分のみかけの値は AcH に対し、それぞれ

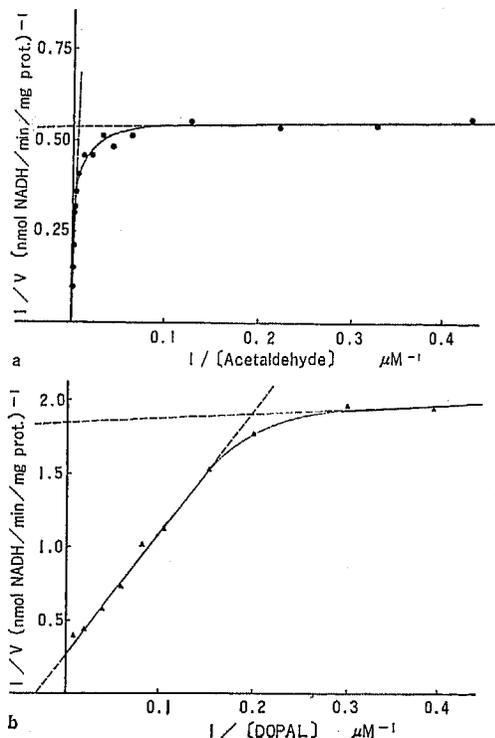


Fig. 1 Lineweaver-Burk plots for the oxidation of acetaldehyde (a) and DOPAL (b) by rat brain ALDHs. A desalted supernatant from sonicated mitochondria was used as sample. The activity was measured at 25°C in 50 mM-sodium-pyrophosphate buffer, pH 8.8, at a fixed concentration of NAD (0.5 mM). Acetaldehyde concentrations were 0.06  $\mu M$ -6.5 mM; DOPAL concentrations were 0.25  $\mu M$ -500  $\mu M$ . Experimental points below a substrate concentration of 2.5  $\mu M$  are not shown in the plots.<sup>13)</sup>

60  $\mu M$ , 3mM および 2.5mM という結果を得ている (Fig. 2)。

Pietruszko ら<sup>15)</sup> は部分精製したヒト脳 ALDH について、澱粉ゲル電気泳動を行い、2つのアイソザイムの存在を認めている。Inoue と Lindros<sup>16)</sup> はヒト脳 ALDH のカイネティクスから aliphatic および aromatic aldehyde を酸化できる数種の ALDH 活性の存在することを報告している。AcH を基質とした場合、彼らはミトコンドリア画分 (シナプトソーム画分を含む) に総活性の50%を、可溶画分、核画分な

Table 2 Subcellular distribution of ALDH in rat brain<sup>13)</sup>

Enzymes	No. of experiments	Relative specific activity				Recovery (%)
		P1	P2	P3	S3	
ALDH						
Acetaldehyde, 15 $\mu$ M	5	0.79 $\pm$ 0.16	1.32 $\pm$ 0.28	0.19 $\pm$ 0.15	1.28 $\pm$ 0.37	114 $\pm$ 11
Acetaldehyde, 4 mM	3	1.05 $\pm$ 0.10	1.58 $\pm$ 0.19	0.78 $\pm$ 0.38	0.16 $\pm$ 0.03	101 $\pm$ 5
Succinate semialdehyde	4	0.92 $\pm$ 0.17	1.90 $\pm$ 0.50	0.59 $\pm$ 0.48	0.09 $\pm$ 0.10	92 $\pm$ 11
Lactate dehydrogenase	5	0.40 $\pm$ 0.04	0.70 $\pm$ 0.05	0.65 $\pm$ 0.31	2.47 $\pm$ 0.35	95 $\pm$ 4
Glutamate dehydrogenase	5	0.90 $\pm$ 0.03	2.02 $\pm$ 0.32	0.17 $\pm$ 0.09	0.05 $\pm$ 0.08	88 $\pm$ 6
MAO	3	0.99 $\pm$ 0.15	1.85 $\pm$ 0.33	0.58 $\pm$ 0.22	0.11 $\pm$ 0.11	87 $\pm$ 8
NADPH-cytochrome reductase	3	0.76 $\pm$ 0.30	0.74 $\pm$ 0.12	1.52 $\pm$ 0.55	1.39 $\pm$ 0.42	101 $\pm$ 23

The relative specific activity in a fraction is given by the percentage of total activity divided by the percentage of total protein in the fraction. Enzyme assays and protein determinations were performed as described in Materials and Methods. P1, Nuclear fraction; P2, crude mitochondrial fraction; P3, microsomal fraction; S3, cytosolic fraction. Means $\pm$ S.D. are given. The proteins in the fractions were P1, 28 $\pm$ 4; P2, 33 $\pm$ 5; P3, 12 $\pm$ 6; and S3, 21 $\pm$ 3 percent of the protein in the homogenate.

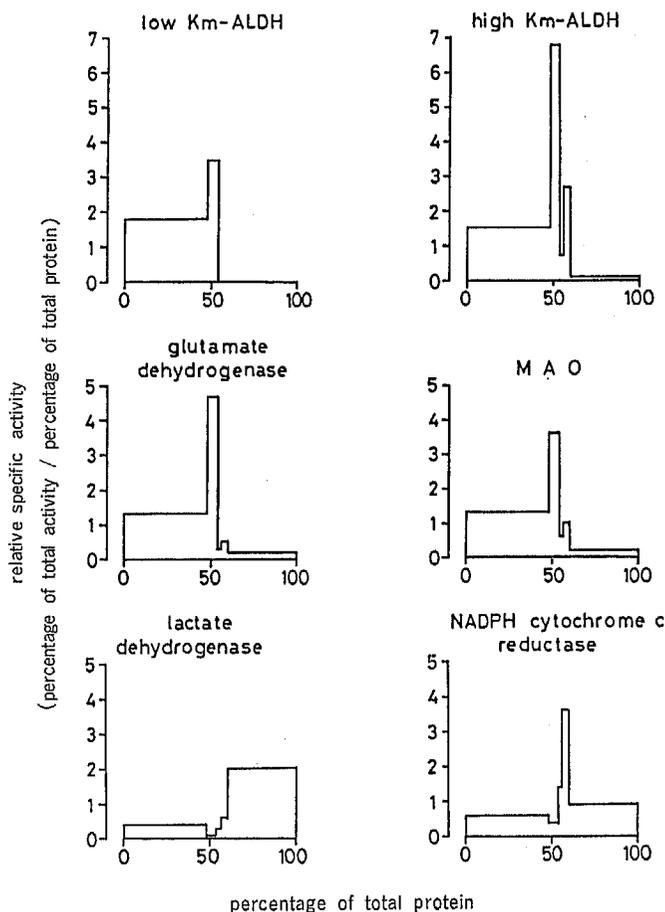


Fig. 2 Distribution patterns of ALDH and some marker enzymes in subcellular fractions of rat brain.

Fractions (left to right) are nuclear, purified mitochondrial, heavy microsomal, light microsomal and soluble fraction.<sup>14)</sup>

らびにミクロソーム画分にわずかな活性を認めている。ミトコンドリア画分にはのみ high-affinity activity を認めている。この酵素はいずれの画分においても AcH よりも, indole-3-acetaldehyde に対してより親和性が高い。

Erwin と Deitrich<sup>3)</sup> は tetraethylthiuram disulfide ならびに p-chloromercuribenzoate がこの酵素の強力な阻害剤であることを報告している。Duncan と Tipton<sup>17)</sup> はブタ全脳ホモジネートより純化して得た ALDH は o-iodosobenzoate および phenylarsenious oxide によって抑制されることから, この酵素の活性部位, あるいはその近位に sulphhydryl groups が2つ並列して存在すると推測している。著者らの実験では<sup>11)18)</sup> cyanamide 処置 (100mg/kg, 腹腔内投与, 1回) により, ラット脳ミトコンドリア画分の low Km-ALDH 活性およびミクロソーム画分の high Km-ALDH 活性は著しく抑制される。ミトコンドリア画分の high km-ALDH 活性は軽度増大する。Cyanamide 200 $\mu$ M の酵素活性測定系への添加は両画分の ALDH 活性にまったく影響しない。Tetraethylthiuram disulfide (disulfiram) 処置 (200mg/kg, 経口投与 3日間) により, ミトコンドリア画分の low Km-ALDH 活性は著しく抑制されるが, high Km-ALDH 活性は影響されない。ミクロソーム画分の high Km-ALDH 活性も影響されない。Tetraethylthiuram disulfide 2 $\mu$ M を酵素活性測定系への添加により, ミトコンドリア画分の low Km-ALDH 活性は抑制されたが, ミトコンドリア画分およびミクロソーム画分の high Km-ALDH 活性は影響されない。すなわち各酵素において, 阻害剤に対する反応を異にする。肝 ALDH 活性に及ぼすこれら阻害剤の影響とはほぼ一致している<sup>19)</sup>。

### B 酵素反応機構

脳 ALDH 反応においては肝 ALDH およびアルコール脱水素酵素と同じく, まず補酵素と結合し, ついで基質と結合する。この反応全体が不可逆性であること, また酸性産物がこの反応を抑制しないことから生成された酸性物質は不可逆的に遊離すると考えられている (Fig. 3)<sup>20)</sup>。

### C 脳アルデヒド脱水素酵素の機能

脳には数種のアルデヒドが存在することは古くから知られており, 1937年頃, これらアルデヒドは脳組織内で生体アミンから酸化的脱アミノ化によって生じたものであることが明らかにされた。その後, これに関

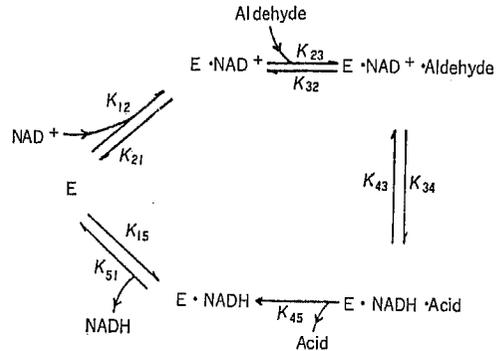


Fig. 3 The kinetic reaction pathway of pig brain aldehyde dehydrogenase.<sup>20)</sup>

与する酵素が monoamine oxidase であり, アミンからアルデヒドを生成する反応を触媒することが確かめられた。さらに, 1960年頃脳組織に生体アミン由来のアルデヒドを酸化する NAD<sup>+</sup> 依存アルデヒド脱水素酵素 (ALDH) が存在することが明らかにされた。

肝 ALDH と同様, 脳 ALDH の基質特異性は低く, その生理的役割は生体アミン由来のアルデヒドの酸化にあると思われる。このものはまた, EtOH 由来の AcH の酸化に関与する。AcH はこの酵素による内因性アルデヒドの酸化を抑制し, これらの脳内濃度を上昇させ, 脳の機能障害および組織障害をおこさせる可能性がある。

### D 血中および脳中アセトアルデヒド濃度

ラットでは EtOH 投与後の脳組織中の AcH 濃度は血中 AcH 濃度に比べ著しく低いことが報告されている。Eriksson と Sippel<sup>21)</sup> によると, ラットに EtOH (0.75-3g/kg) 経口投与後, 肝および血中には AcH が認められるが, 脳には認められない。EtOH 1回投与後, 脳血液中 AcH 濃度が 250nmol/ml 以下では脳には AcH は認められない<sup>22)</sup>。Westcott ら<sup>23)</sup> はラットに EtOH 4.5g/kg を経口投与したさい血中 AcH 濃度は 15-40 $\mu$ M, 脳間質液中の濃度は 5-20 $\mu$ M であるのに対し, 脳細胞中 AcH 濃度は定量限界以下であると報告している。Tetraethylthiuram disulfide *in vivo* 処置後, EtOH を投与したさい, はじめて脳細胞中にも AcH が認められると報告している。これらの事実から, Westcott らは, EtOH 由来の AcH は血中から脳間質液中に入り, ついで脳細胞中ですみやかに酸化されると推測してい

Table 3 Regional distribution of brain ALDH activity of male mice of three strains

Brain region	Strain	N	Acetaldehyde	
			0.1mM	5mM
Cortex	C57BL/6J	13	0.18±0.04	1.15±0.14
	DBA/2	5	0.23±0.06	1.45±0.22*
	F <sub>1</sub>	7	0.20±0.04	1.33±0.10
Midbrain-diencephalon	C57BL/6J	13	0.27±0.05	1.73±0.23
	DBA/2	5	0.32±0.05	1.99±0.35
	F <sub>1</sub>	7	0.25±0.06	1.59±0.41†
Cerebellum	C57BL/6J	10	0.34±0.12	2.09±0.33
	DBA/2	5	0.44±0.11	2.60±0.69**
	F <sub>1</sub>	7	0.32±0.07	2.50±0.51*

The specific activity is expressed as nmol NADH formed/mg protein per min. Values are mean ± SD. \**P*<0.05; \*\**P*<0.01, vs the value of the C57BL/6J strain. †*P*<0.05 vs the value of the DBA/2 strain.

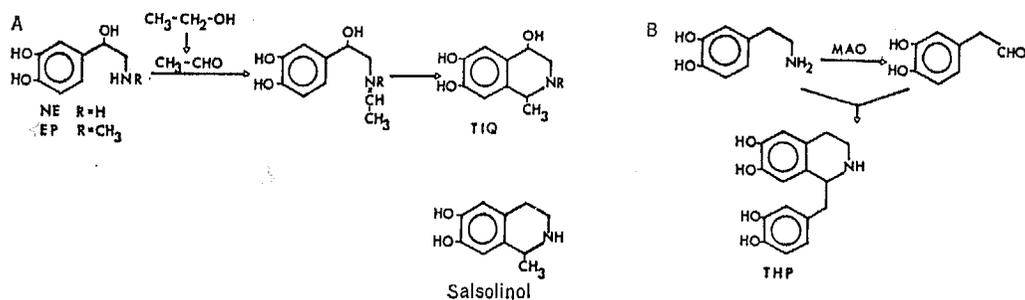
る。すなわち、脳細胞は血中 AcH に対し、効果的な metabolic barrier により保護されていると考えられている。ここで metabolic barrier として機能しているのは、脳細胞中の low Km-ALDH であろうと推測されている<sup>24)-26)</sup>。その根拠として、①脳間質液中の AcH 濃度は 5-20μM であり、これを代謝できる酵素は low Km-ALDH である。② EtOH 投与時の脳中 NAD<sup>+</sup> 濃度は AcH を代謝するためには十分な量である。ラット脳中の NAD<sup>+</sup> 濃度は約 0.35mM である<sup>27)</sup>。③脳の血流を 0.8ml/min/g-脳と仮定すると<sup>28)</sup> AcH は脳中に約 50nmol/mg/g-脳で供給される。④脳組織による AcH 代謝能は 100-180nmol/min/g である<sup>22)</sup>などの理由があげられている。

**E 脳アルデヒド脱水素酵素とアルコール嗜好性**

ALDH 活性には著しい系統差が認められる。最近の研究から EtOH 酸化の第2段階、肝 ALDH による AcH の酸化が嗜好性決定に重要であると推測されている。C57BL/6J 系マウスは生来、水よりも10% EtOH を好む (EtOH 嗜好性)。これに対し、DBA/2J 系マウスは EtOH を避ける (EtOH 非嗜好性) ことが知られている。DBA 系マウスでは C57BL 系マウスに比し、EtOH 投与後の血中 AcH 濃度が著しく高い。AcH は EtOH に比し、薬理学的活性あるいは毒性が高い。DBA 系マウスの肝 ALDH 活性は C57BL 系マウスのそれに比し明らかに低いが、このことが、この系が EtOH を避ける原因となっている

る可能性が考えられ、EtOH を好む、あるいは避けるという形質に対応する ALDH の遺伝子型の存在が想定されている<sup>29)</sup>。EtOH 嗜好性 AA ラットにおいても、肝および血中 AcH 濃度は EtOH 非嗜好性の ANA ラットのそれに比し、有意に低い。AA ラットの肝ミトコンドリアの ALDH 活性は ANA ラットのそれに比し高い<sup>30)</sup>。ラットにおいては EtOH 由来の AcH の酸化は肝細胞ミトコンドリアであり、AcH に対する Km 値が μM オーダーである ALDH (low Km-ALDH) によって触媒されると考えられている。以上の成績は AcH の代謝の差すなわち肝 ALDH 活性の差が自発的な EtOH 摂取を決定している可能性を示している。Harada ら<sup>31)</sup>は日本人50名の死体から得た肝 ALDH を澱粉ゲル電気泳動により研究し、usual ALDH phenotype (48%) と unusual ALDH phenotype (52%) の2つの phenotype の存在することを見出している。前者は移動の速い、AcH に対する Km 値の低い ALDH と移動の遅い、AcH に対する Km 値の高い2つのアイソザイムバンドからなり、後者は AcH に対する Km 値の低い ALDH を欠いており、high Km-ALDH のみからなっている。したがって unusual ALDH phenotype をもつヒトは飲酒時 AcH の酸化が遅延する可能性が推測される。EtOH 嗜好性とこれら2つの phenotype との関係に興味もたれる。

一方、脳 ALDH と EtOH 嗜好性との関連については研究が始まったばかりであり、結論を得るに至っ



Salisolinol : the condensation product of dopamine and acetaldehyde

Fig. 4 Reaction scheme for the formation the tetrahydroisoquinolines (TIQ) from acetaldehyde and catecholamines, A, and the tetrahydropapaveroline (THP) from dopamine and dopaldehyde, B.

ていない。Berger と Weiner<sup>32)</sup> は自発的に EtOH を多量に飲むラットとあまり飲まないラットについて研究し、肝ミトコンドリア画分の ALDH の活性とアイソザイムパターンは双方のラット間で同じであるが、可溶性画分の ALDH のアイソゾームパターンは異なる。さらに脳ALDH のアイソザイムパターンは両者とも同じであると報告している。AA と ANA 系ラットのそれぞれに EtOH 摂取量の違いと脳 ALDH 活性には相関関係が認められない<sup>33)</sup>。

一方、AA ラットを ALDH 阻害剤である cyanamide で 6 日間処置した後、さらにアルコール脱水素酵素阻害剤である 4-methylpyrazole の少用量で 6 日間処置後、EtOH を投与した場合、血中 AcH 濃度は無処置ラットに EtOH を投与した場合に比し低かった。ところが、cyanamide ならびに 4-methylpyrazole を同様に処置したラットの EtOH 自由摂取量は無処置ラットに比べ低下した。この EtOH 自由摂取量はラット脳 ALDH 活性の cyanamide による抑制の程度と高い相関が認められた。すなわち従来 cyanamide 処置後に認められる EtOH 摂取量の低下は、その際生じる AcH の蓄積がおもな原因とされているが、4-methylpyrazole を併用することにより、cyanamide 処置後に EtOH を摂取しても体内に AcH の蓄積をおこさない実験条件が得られ、その実験結果から EtOH 自由摂取量に及ぼす因子は、AcH 蓄積ばかりでなく、脳の ALDH 活性も関与しているものと解釈される<sup>34)</sup>。

最近、Yamazaki ら<sup>35)</sup> は DBA/2J 系マウスの大脳

皮質 ALDH 活性は C57BL/6J 系のそれと比し高いことを示している。さらに C57BL/6J 系マウスと DBA/2J 系間の雑種一代 (F<sub>1</sub>) の大脳皮質 ALDH 活性は両親の系の間値を示している (Table 3)。さらに大脳皮質 ALDH の電気泳動解析の結果、基質として AcH あるいは propionaldehyde のどちらを用いても、pH 7.2 および pH 7.8 の間に認められるアイソザイムパターンに系統差が認められた。彼らは大脳皮質における ALDH 活性が EtOH 嗜好性と関連があるとしている。この点についてはさらに次項においてふれる。

#### F アルコール依存と Tetrahydroisoquinolines 産生

カテコールアミン(CA)由来のアルデヒドあるいは EtOH 由来の AcH が CA と縮合反応して種々のアルカロイドを産生する可能性がある。このことからモルフィン様アルカロイド産生と EtOH 嗜好性、あるいは EtOH 依存という興味ある仮説が提出されている。EtOH 嗜好性あるいは EtOH 依存に関する生化学的ならびに薬理学的背景について、これまでかなりの研究がなされているが、いまだ、定説の確立をみるに至っていない。ここに挙げる仮説はその中の 1 つである。

*In vitro* で AcH は dopamine (DA) あるいは norepinephrine (NE) との非酵素的縮合反応により tetrahydroisoquinoline (TIQ) を産生する (Fig. 4)。AcH と DA の環状縮合物である salisolinol についてとくによく研究されている。AcH はまた serotonin

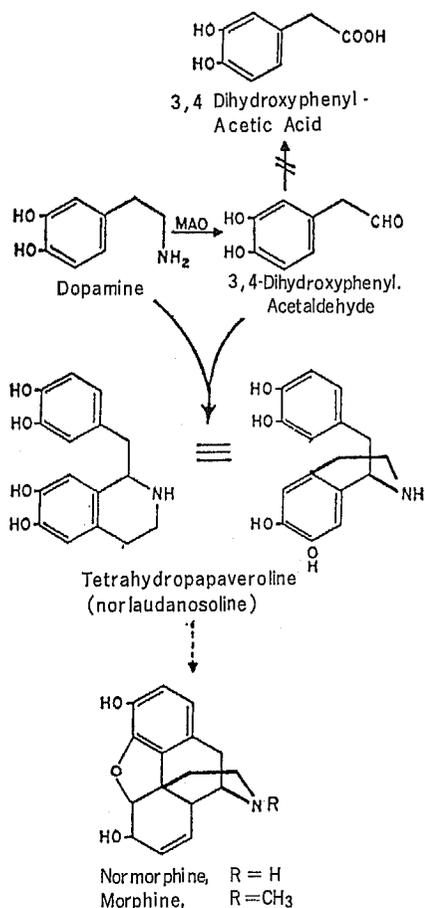


Fig. 5 A representation of a hypothesis depicting the relation of alcohol-induced alteration of the metabolic disposition of the biogenic amine, dopamine, with the postulated resultant formation of morphine-like alkaloids as a biochemical basis for the addiction liability of alcohol. MAO, monoamine oxidase.<sup>6)</sup>

(5-HT) と反応して harmaline alkaloids を産生する。DA の代謝物 3, 4-dihydroxyphenylacetaldehyde (dopaldehyde) は DA と反応して tetrahydropapaveroline (THP) を産生する。THP は papperine の誘導体である。EtOH 摂取により哺乳動物脳細胞内で産生された THP からモルフィン様アルカロイドが産生される可能性が Davis と Walsh<sup>6)</sup> により提出されている (Fig. 5)。THP 産生は DA 由来のアルデヒド dopaldehyde 量に依存する。通常こ

のアルデヒドは ALDH により速やかに酸化され、3, 4-dihydroxyphenylacetic acid になるが、この酸化反応は AcH によって拮抗阻害される。したがって EtOH の代謝物 AcH は一部 CA と縮合し、一部は CA の代謝物 dopaldehyde の酸化を阻害することによって TIQ 産生および THP 産生に関与する。さらに、<sup>14</sup>C-THP をラットに静注するとモルフィン様アルカロイドの産生が認められる。すなわち、<sup>14</sup>C-THP を静注後のラット排泄物から normorphine, morphine, norcodeine および codeine 類似のアルカロイドを分離している。以上から彼らは EtOH 依存はモルフィンタイプのアルカロイドを産生する機構が関与していると結論している。

Myers と Melchior<sup>36)</sup> は THP を EtOH 拒絶性の Sprague-Dawley 系ラットの右側脳室内に注入すると、動物は大量の EtOH を飲み始め、血中 EtOH 濃度は 200mg/dl にも達し、EtOH 中毒症状を示すことをみている。飲用した EtOH 量はこれまで自由一選択法実験ではみられなかったほどの大量であり、動物には EtOH あるいは THP に対する身体依存が発現した。彼らはさらに、THP 処置動物は THP 処置中止後、9 カ月もの長期間に渡って過量の EtOH を摂取し続けることを観察している。このことは、THP 処置は EtOH 摂取に影響するニューロン系に非可逆的変化をおこさせることを推測させる。THP は直接脳内注入でなければ効果は現れず、またある程度長期の処置が必要である。THP 処置を中止すると血中 EtOH 濃度が 100mg/dl ほど高くても禁断症状が発現する。

この仮説で問題になるのは、THP などの縮合物の産生は、*in vivo* の EtOH 摂取時にはみられない濃度の高い AcH 濃度において認められることである。この仮説によると依存形成は高い血中 AcH 濃度、正確には高い脳中 AcH 濃度と密接に関係する。Tabakoff ら<sup>37)</sup> は DBA/2J 系マウスに EtOH 急性投与後、血液中ならびに脳中 AcH 濃度はいずれも C57BL/6J 系マウスのそれより高い値を示した。ところが EtOH 長期投与処置後、EtOH を与えると、DBA/2J 系マウスならびに C57BL/6J 系マウスのいずれも血中 AcH 濃度はそれぞれ対照と変わらないのに対し、脳中の AcH 濃度は C57BL/6J 系マウスにおいてのみ増大した。DBA/2J 系マウスは対照群と変わらなかった。また前述のごとく、C57BL/6J 系マウスの大脳皮質 ALDH 活性は DBA/2J 系マウスに比し低い<sup>35)</sup>。

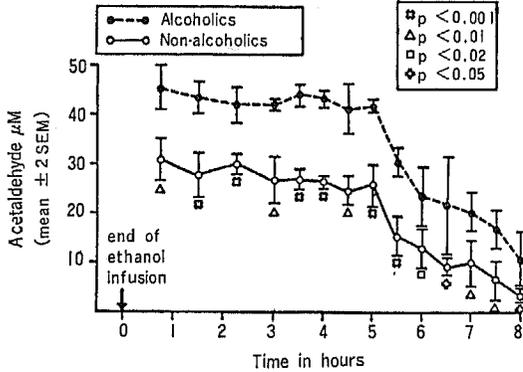


Fig. 6 Comparison of blood acetaldehyde levels of alcoholic and nonalcoholic subjects after intravenous alcohol infusion. 38)

長期 EtOH 飲用者に、EtOH を鎖骨下静脈より持続注入して、血中 EtOH 濃度を一定にしたさい、血中 AcH 濃度が非長期 EtOH 飲用者のそれに比べ高いことを報告している (Fig. 6)<sup>38)</sup>。さらに興味あることは、飲酒時の血中 AcH 濃度が遺伝的に支配されていることである。両親あるいは兄弟に EtOH 依存者をもつ健常な平均年齢23歳のアメリカ白人青年と依存者のいない家系の健常な平均年齢23歳の白人青年とに、EtOH 0.5ml/kg をセブンアップに混ぜて飲用させ、血中 AcH 濃度を測定すると、依存者のいる家系の青年の AcH 濃度は対照群の青年のそれに比し明らかに高い<sup>39)</sup>。

G 脳アルデヒド脱水素酵素に及ぼす長期エタノール連用の効果

EtOH 長期連用のラット脳 ALDH 活性への影響については成績が一致していない。Amir<sup>40)</sup> は 20% (v/v) EtOH を60日間飲用させたラット脳 ALDH 活性は対照のそれに比し、約30%の増加を示し、この活性の増加は EtOH 耐性発現と関連する可能性を示唆している。一方、Raskin と Sokoloff<sup>41)</sup> および Shiohara ら<sup>42)</sup> はこの酵素活性は長期 EtOH 飲用により影響されないことを報告している。Pietruszko ら<sup>43)</sup> は健常人と EtOH 依存者の脳 ALDH 活性を比較した結果、基質として propionaldehyde を用いた際、

low Km-ALDH および high Km-ALDH 活性のいずれも両者の間に差が認められなかったと報告している。

H 酵素誘導

ラット肝 ALDH 活性は phenobarbital など種々のいわゆる enzyme inducing agents によって誘導されることが知られている。Phenobarbital によって誘導される酵素は可溶画分に局在している酵素で、ミトコンドリア画分に局在するこの酵素は誘導されない。またこの酵素誘導は遺伝支配を受けており、single co-dominant autosomal gene の存在が考えられている<sup>44,45)</sup>。

一方、脳 ALDH 活性に及ぼす phenobarbital の影響については、phenobarbital に対し肝 ALDH 活性が誘導されるラットの全脳ホモジネートを用いた実験で、基質として、0.02mM および 5mM AcH を用いた際、脳各部位 (大脳皮質、間脳、脳幹および小脳) の ALDH 活性はいずれも phenobarbital 処置により影響されなかった<sup>46)</sup>。

おわりに

脳の生体アミン由来のアルデヒドの酸化および EtOH 摂取時に生ずる AcH の酸化に関与する脳 ALDH について、1. 細胞内分布と薬物による影響。2. 酵素反応機構。3. 生理的役割。4. 血中および脳中 AcH 濃度。5. EtOH 嗜好性。6. EtOH 依存と TIQ 産生。7. 長期 EtOH 飲用の影響。8. 酵素誘導。について最近の知見をまとめた。脳 ALDH についての研究は始まったばかりであり、EtOH の中枢作用におけるこの酵素の関与については不明の点が多い。これらの解明に、この酵素の生化学的特性ならびに生理学的機能についての詳細な知見が必要とされるので、今後の研究が期待される。

稿を終るに臨み、執筆する機会を与えて頂き、御指導、御校閲を賜りました本学、千葉茂俊教授および終始御指導、御校閲を賜りました富山医科薬科大学、中西颯央教授に深く感謝いたします。また研究に御協力を頂きました塚田美代子氏に心から感謝いたします。

文 献

1) Lundquist, F. : The metabolism of ethanol. In : Israel, Y. and Mardones, J. (eds.), Biological Basis of Alcoholism, pp. 1-52, Wiley-Interscience, New York and London, 1971

- 2) Eriksson, C. J. P. and Sippel, H. W. : The distribution and metabolism of acetaldehyde in rats during ethanol oxidation-I. The distribution of acetaldehyde in liver, brain, blood and breath. *Biochem Pharmacol*, 26 : 241-247, 1977
- 3) Erwin, V. G. and Deitrich, R. A. : Brain aldehyde dehydrogenase. Localization, purification and properties. *J Biol Chem*, 241 : 3533-3539, 1966
- 4) Deitrich, R. A. and Erwin, V. G. : Involvement of biogenic amine metabolism in ethanol addiction. *Fed Proc Symp*, 34 : 1962-1968, 1975
- 5) Deitrich, R. A. : Biochemical aspects of alcoholism. *Psychoneurol Endocrinol*, 1 : 325-346, 1976
- 6) Davis, V. E. and Walsh, M. J. : Alcohol, amines and alkaloids : a possible biochemical basis for alcohol addiction. *Science*, 167 : 1005-1007, 1970
- 7) 中西 頼央 : アルデヒド脱水素酵素. *信州医誌*, 24 : 1-6, 1976
- 8) Büttner, H. : Aldehyde- und Alkoholdehydrogenase-Aktivität in Leber und Niere der Ratte. *Biochem Z*, 341 : 300-314, 1965
- 9) Deitrich, R. A. : Tissue and subcellular distribution of mammalian aldehyde-oxidizing capacity. *Biochem Pharmacol*, 15 : 1911-1922, 1966
- 10) Marjanen, L. : Intracellular localization of aldehyde dehydrogenase in rat liver. *Biochem J*, 127 : 633-639, 1972
- 11) Shiohara, E., Tsukada, M., Yamazaki, H., Nishiguchi, K., Miyamoto, R. and Nakanishi, S. : Effect of phenobarbital in vivo treatment on the acetaldehyde oxidizing activity in rat brain. *Jpn J Alcohol and Drug Dependence*, 17 : 220-225, 1982
- 12) Yamazaki, H., Nishiguchi, K., Miyamoto, R. and Nakanishi, S. : Activity and electrophoretic profiles of brain aldehyde dehydrogenases in mice genetically selected for their ethanol preference. *Int J Biochem*, 16 : 247-252, 1984
- 13) Pettersson, H. and Tottmar, O. : Aldehyde dehydrogenase in rat brain. Subcellular distribution and properties. *J Neurochem*, 38 : 477-487, 1982
- 14) Shiohara, E., Tsukada, M., Yamazaki, H., Nishiguchi, K., Miyamoto, R. and Nakanishi, S. : Effect of disulfiram and cyanamide treatments in vivo on the activity of aldehyde dehydrogenases of subcellular fractions of rat brain. *Jpn J Alcohol and Drug Dependence*, 18 : 117-124, 1983
- 15) Pietruszko, R., Reed, D. M., Vallari, R. C., Major, L. F., Saini, N. and Hawley, R. J. : Brain aldehyde dehydrogenase in human alcoholics and controls. *Alcoholism : Clinical and Experimental Research*, 5 : 78-84, 1981
- 16) Inoue, K. and Lindros, K. O. : Subcellular distribution of human brain aldehyde dehydrogenase. *J Neurochem*, 38 : 884-888, 1982
- 17) Duncan, R. J. S. and Tipton, K. F. : The purification and properties of the NAD-linked aldehyde dehydrogenase from pig brain. *Eur J Biochem*, 22 : 257-262, 1971
- 18) Shiohara, E., Tsukada, M., Yamazaki, H., Nishiguchi, K., Miyamoto, R. and Nakanishi, S. : Effects of disulfiram and cyanamide on in vitro activity of subcellular aldehyde dehydrogenases of rat brain. *Jpn J Alcohol and Drug Dependence*, 18 : 311-315, 1983
- 19) Marchner, H. and Tottmar, O. : A comparative study on the effects of disulfiram, cyanamide and 1-aminocyclopropanol on the acetaldehyde metabolism in rats. *Acta Pharmacol Toxicol (kbb)* 43 : 219-232, 1978
- 20) Duncan, J. S. and Tipton, K. F. : The kinetics of pig brain aldehyde dehydrogenase. *Eur J Biochem*, 22 : 538-543, 1971
- 21) Eriksson, C. J. P. and Sippel, H. W. : The distribution and metabolism of acetaldehyde in rats during ethanol oxidation-I. The distribution of acetaldehyde in liver, brain, blood and breath. *Biochem Pharmacol*, 26 : 241-247, 1977
- 22) Sippel, H. W. : The acetaldehyde content in rat brain during ethanol metabolism. *J Neurochem*,

- 23 : 451-452, 1974
- 23) Westcott, J.Y., Weiner, H., Shultz, J. and Myers, R.D. : In vivo acetaldehyde in the brain of the rat treated with ethanol. *Biochem Pharmacol*, 29 : 411-417, 1979
  - 24) Tabakoff, B., Anderson, R.A. and Ritzmann, R.F. : Brain acetaldehyde after ethanol administration. *Biochem Pharmacol*, 25 : 1305-1309, 1976
  - 25) Shiohara, E., Tsukada, M., Yamazaki, H., Nishiguchi, K., Miyamoto, R. and Nakanishi, S. : Acetaldehyde oxidizing activity in the rat brain. *Jpn J Alcohol and Drug Dependence*, 16 : 341-348, 1981
  - 26) Pettersson, H. and Tottmar, O. : Inhibition of aldehyde dehydrogenases in rat brain and liver by disulfiram and coprine. *J Neurochem*, 39 : 628-634, 1982
  - 27) Schulman, M.P., Gupta, N.K., Omachi, A., Hoffman, G. and Marshall, W.E. : A nicotinamide-adenine dinucleotide assay utilizing liver alcohol dehydrogenase. *Anal Biochem*, 60 : 302-311, 1974
  - 28) Goldman, H. and Sapirstein, L.A. : Brain blood flow in conscious and anesthetized rat. *Am J Physiol*, 224 : 122-126, 1973
  - 29) Sheppard, J.R., Albersheim, P. and McClearn, G.E. : Aldehyde dehydrogenase and ethanol preference in mice. *J Biol Chem*, 245 : 2876-2882, 1970
  - 30) Eriksson, C.J.P. : Ethanol and acetaldehyde metabolism in rat strains genetically selected for their ethanol preference. *Biochem Pharmacol*, 22 : 2283-2292, 1973
  - 31) Harada, S., Misawa, S., Agarwal, D.P. and Goedde, H.W. : Liver alcohol dehydrogenase and aldehyde dehydrogenase in the Japanese : isozyme variation and its possible role in alcohol intoxication. *Am J Hum Genet*, 32 : 8-15, 1980
  - 32) Berger, D. and Weiner, H. : Relationship between alcohol preference and biogenic aldehyde metabolizing enzymes in rats. *Biochem Pharmacol*, 26 : 841-846, 1977
  - 33) Inoue, K., Rusi, M. and Lindros, K.O. : Brain aldehyde dehydrogenase activity in rat strains with high and low ethanol preferences. *Pharmacol Biochem Behav*, 14 : 107-111, 1981
  - 34) Sinclair, J.D. and Lindros, K.O. : Suppression of alcohol drinking with brain aldehyde dehydrogenase inhibition. *Pharmacol Biochem Behav*, 14 : 377-383, 1981
  - 35) Yamazaki, H., Nishiguchi, K., Miyamoto, R. and Nakanishi, S. : Activity and electrophoretic profiles of brain aldehyde dehydrogenases in mice genetically selected for their ethanol preference. *Int J Biochem*, 16 : 247-252, 1984
  - 36) Myers, R.D. and Melchior, C.L. : Alcohol drinking : Abnormal intake caused by tetrahydropapaveroline in brain. *Science*, 196 : 554-556, 1977
  - 37) Tabakoff, B., Anderson, R.A. and Pitzmann, R.F. : Ethanol and acetaldehyde metabolism during ethanol consumption. In : Thurman, R.G., Williamson, J.R., Drott, H.R. and Chance, B. (eds.), *Alcohol and Aldehyde Metabolizing System Vol. III.*, pp. 555-564, Academic Press, New York, San Francisco and London, 1977
  - 38) Korsten, M.A., Matsuzaki, S., Feinman, L. and Lieber, C.S. : High blood acetaldehyde levels after ethanol administration. Difference between alcoholic and nonalcoholic subjects. *N Engl J Med*, 292 : 386-389, 1975
  - 39) Schuckit, M.A. and Rayses, V. : Ethanol ingestion : Differences in blood acetaldehyde concentrations in relatives of alcoholics and controls. *Science*, 203 : 54-55, 1979
  - 40) Amir, S. : Brain aldehyde dehydrogenase : adaptive increase following prolonged ethanol administration in rats. *Neuropharmacology*, 17 : 463-467, 1978
  - 41) Raskin, N.H. and Sokoloff, L. : Ethanol-induced adaptation of alcohol dehydrogenase activity in rat brain. *Nature*, 236 : 138-140, 1972
  - 42) Shiohara, E., Tsukada, M., Chiba, S., Yamazaki, H., Nishiguchi, K., Miyamoto, R. and Nakanishi, S. : Effect of chronic ethanol consumption on acetaldehyde oxidation by isolated mi-

- tochondria and aldehyde dehydrogenase activities of liver and brain from rats. *Jpn J Alcohol and Drug Dependence*, 18 : 415-421, 1983
- 43) Pietruszko, R., Reed, D.M., Vallari, R.C., Major, L.F., Saini, N. and Hawley, R.J. : Brain aldehyde dehydrogenase in human alcoholics and controls. *Alcoholism*, 5 : 78-84, 1981
- 44) Deitrich, R.A., Collins, A.C. and Erwin, V.G. : Genetic influence upon phenobarbital-induced increase in rat liver supernatant aldehyde dehydrogenase activity. *J Biol Chem*, 247 : 7232-7236, 1972
- 45) Nakanishi, S., Shiohara, E. and Tsukada, M. : Rat liver aldehyde dehydrogenases : strain differences in the response of the enzymes to phenobarbital treatment. *Jpn J Pharmacol*, 28 : 653-659, 1978
- 46) Shiohara, E., Tsukada, M., Yamazaki, H., Nishiguchi, K., Miyamoto, R. and Nakanishi, S. : Effect of phenobarbital in vivo treatment on the acetaldehyde oxidizing activity in rat brain. *Jpn J Alcohol and Drug Dependence*, 17 : 220-225, 1982

(59. 4. 7 受稿)

---