

(平成 23 年度研究報告書)

23-B-10 口腔内細菌叢が原因と考えられるアセトアルデヒド産生による
分子的発癌機序および癌の早期発見・予防に関する研究

独立行政法人国立がん研究センター東病院 金子 和弘

研究の分類・属性

内科系

研究の概要

WHOは「アルコール飲料や飲酒に関連したアセトアルデヒドはグループ1の発癌物質である」と認定した。飲酒は頭頸部・食道癌の危険因子の筆頭であり、分子レベルまで踏み込んだ発癌機序解明が必要である。一方、口腔内・食道常在菌のカンジダをはじめとする細菌叢はアルコール暴露後、大量のアセトアルデヒドを産生するが、頭頸部・食道癌患者における口腔内細菌叢とアセトアルデヒドの関連性は検討されておらず、臨床的検討が急務である。

研究経費

5,000 千円

研究班の組織

金子 和弘	東病院、副科長	課題抽出と解決策提示、検体採取およびプロジェクト全体の統括
一瀬 豊日	産業医科大学、准教授	飲酒後の臓器等アセトアルデヒド濃度測定、Aldh2ノックアウトマウスを用いた発癌機序解明
小山 倫浩	兵庫医科大学 先端医学研究所 細胞・遺伝子治療部門 非常勤講師	アセトアルデヒド付加体測定、Aldh2ノックアウトマウスを用いた発癌機序解明
小中原猛雄	東京理科大学、教授	血液、唾液、生体組織内のアセトアルデヒド及び口腔内細菌産生アセトアルデヒドの定量
江坂 幸宏	岐阜薬科大学、准教授	発がん機構に関与する分子の検出及び、その方法の開発
鎌倉高志	東京理科大学、教授	アルデヒド生成微生物の単離／培養と解析

研究の目的と到達目標及び実績要点

全期間

(目的と到達目標) :

口腔内細菌叢とアセトアルデヒド産生の関連性が頭頸部・食道癌発症におよぼす影響について研究する。基礎と臨床医学に加え理学、分子生物学を交えた医学—理学連携システムをとり臨床応用可能な診断システムを構築する。WHOが提唱するgroup 1の発癌物質であるアセトアルデヒドと発癌の関連を明らかにすることは急務である。口腔内細菌叢とアセトアルデヒド産生の関連性を検討することにより、効率よく頭頸部・食道癌の高危険群を設定でき、さらに予防における診断法を確立することが可能である。最終的には、唾液または口腔粘膜におけるアセトアルデヒドの定量およびアセトアルデヒド産生菌の簡易測定法を確立し、頭頸部・食道癌の早期発見・予防に臨床応用することを目的とする。

また、アルデヒド脱水素酵素2 (ALDH2) 遺伝子多型の違いは、頭頸部・食道癌発症においてアセトアルデヒドの体内動態、濃度が異なる可能性がある。特に、口腔内細菌によるアセトアルデヒドの影響を検討する場合、ALDH2欠損型と完全型に分けて検討する必要がある。口腔内細菌によるアセトアルデヒド産生を検討する際に、アルコールの投与経路を変えることにより検討が可能となる。経口的にアルコール摂取した場合と口腔内を経由せずに経胃的に摂取した場合に分けて、血中および唾液中のアセトアルデヒド濃度を測定すれば、口腔内細菌による影響を比較できる。さらに、同時性・異時性多発癌のマーカーであるヨード多発不染帯とアセトアルデヒド産生や口腔内細菌叢の違いを検討することで、2次癌発症に関する機序を明らかにする。ALDH2ノックアウトマウスを用い、被験者(ヒト)から得られた飲酒による食道がん発症に関与する細菌の感染実験を行い、当該細菌の感染により発がんリスクが上昇することをアルコール代謝物、DNA付加体の計測により明らかにする。

口腔内細菌叢の同定には、16S rRNA遺伝子を標的としたクローンライブラリー法を導入する。これにより、菌種、菌数、菌の配分等が詳細に解析できる。当初18検体/年の測定を予定していたが、健常者と癌患者の両者を測定し、アルコールの投与経路の違いによるアセトアルデヒドの動態を検討するには、検体数の増加を余儀なくされる。24年度以降は、健常者・癌患者を対象に30検体の測定を予定している。しかし、1検体あたりの測定費用は高価であり、かつ各分担者での消耗品費がかさむことが予想される。よって、24年度以降の増額を申請したい。

発がん機構に関与する分子の検出及び、その方法の開発を行う。アセトアルデヒドによる発癌は、初動の機構としてDNA上での塩基損傷が発生しているはずである。その損傷はアセトアルデヒドの塩基への付加体形成である可能性が高く、原因を追究するためのツールとして、DNA上の付加体の検出法の確立が必須である。DNA上の損傷塩基は、修復機構も存在するために、定常的には正常塩基10億個に数個の割合で存在する。正常塩基共存下での極少量の損傷体の検出には、高選択性と高感度を両立する方法論が必要である。放射標識法を経て、現在は液体クロマトグラフィー—タンデム質量分析法(LC/MS/MS)を用いた損傷付加体分析が研究されている。しかし、貴重な生体試料の使用量には制約があり、感度の不足から、現在の分析手法では臨床検査的に観測できる損傷体種類は限定的と考えられる。本分担セクションの目的は、微量組織から多種損傷体を検出できる、高性能分離手法結合—タンデム質量分析法を開発し、本プロジェクトの要求に応じた組織DNA分析を行うことである。

到達目標は、分析法の感度を、LC/MS/MS法を用いた現行法から1000倍上げることである。戦略としては、①損傷塩基の効率的抽出と②質量分析の高効率・高感度化に集約される。①としては、前処理チップカラムの開発、分離過程での希釈低減、オンカラム濃縮、②では、イオンスプレーイオン化法の原理に根ざしたイオン化効率、MSへの導入効率の向上を行う。オンカラム濃縮では、LC/MS/MSだけでなくキャピラリー電気泳動法(CE)を導入したCE/MS/MSを用いて、酵素処理による損傷塩基の差別的イオン化を経て、高効率での濃縮を実現する。さらには、CEの導入で飛躍的に必要試料量を低減し、微量組織分析を実現する。これらの総合的なアプローチにより、本プロジェクトで分析ツールの性能として期待される、微量の生検組織からの網羅的な損傷体検出を可能にする方法論の確立を最終目標とする。

第1年次

(到達目標)

- 1 ALDH2 ノックアウトマウス及び野生型マウスを用いて、その血液、臓器中のアセトアルデヒドの簡便かつ高精度の定量法を確立する。
- 2 ALDH2 ノックアウトマウス及び野生型マウスを用いて、アセトアルデヒドの血液、臓器内アセトアルデヒドの定量法を確立するとともに、アルコール投与後の各マウスにおけるアセトアルデヒドの血液、臓器分布を明らかにする。また、ヒト検体(血液・唾液)での測定を行う。

3 アルデヒド生成微生物の最初の候補である *Candida albicans* の本研究に適した培養条件の検討、および *Candida albicans* 培養液内でのアセトアルデヒドの定量性の検証と、アルコール負荷によるアセトアルデヒド産生の確認を行う。

4 LC/MS/MS 法によるグアニンのアセトアルデヒド付加体分析法の感度を向上し、特にターゲットとなるシッフ塩基を対象に、各組織での分布を計測できる定量法を確立する。

(年次評価時点の実績要点)

現在までに、ALDH2 ノックアウトマウスを使い、血中および組織中のアセトアルデヒドを直接定量する方法の開発に成功した。また、この方法をヒト唾液中及びカンジダ・アルビカンス培養液中でのアセトアルデヒドの定量にも応用することに成功した。

現在までに、ALDH2 ノックアウトマウスを用いた、食道を介さないアルコールの腹腔内投与実験におけるアセトアルデヒドの臓器分布は、食道において最も高いことを初めて明らかにした。

グアニンのアセトアルデヒド付加体を対象に、正常塩基をほぼ全て除去し、損傷体のみを抽出、濃縮できるマイクロ固相抽出カラムを開発した。これにより、膨大な未損傷体の除去が可能になり、濃縮時に懸濁成分を除き、限界までの損傷塩基の濃縮が可能になった。また、正常塩基によるカラム負担を解決することで LC のダウンサイジングを可能にし、微量組織中のシッフ塩基定量を可能にする感度を獲得した。

研究成果と考察

第1年次評価時点

1. アセトアルデヒド定量用検量線の作成

本研究で作成した検量線を Figure 1 に示す。Figure 1 から明らかなように、検量線は高濃度側 (1-A; $R^2 = 0.9964$) でも低濃度側 (1-B; $R^2 = 0.9916$) でも直線性に優れていることが示され、検出限界を $1.17 \pm 0.04 \mu\text{M}$ (microM) にまで上げることに成功した。この結果は、本測定分析法が、優れた定量性を有することを示している。また、血液にアセトアルデヒドを添加し、その濃度を定量したところ、その添加濃度は検量線から得られる値とよく一致した (Figure 1. C)。このことは、この方法が血液中のアセトアルデヒドの定量にも適用できることを表している。

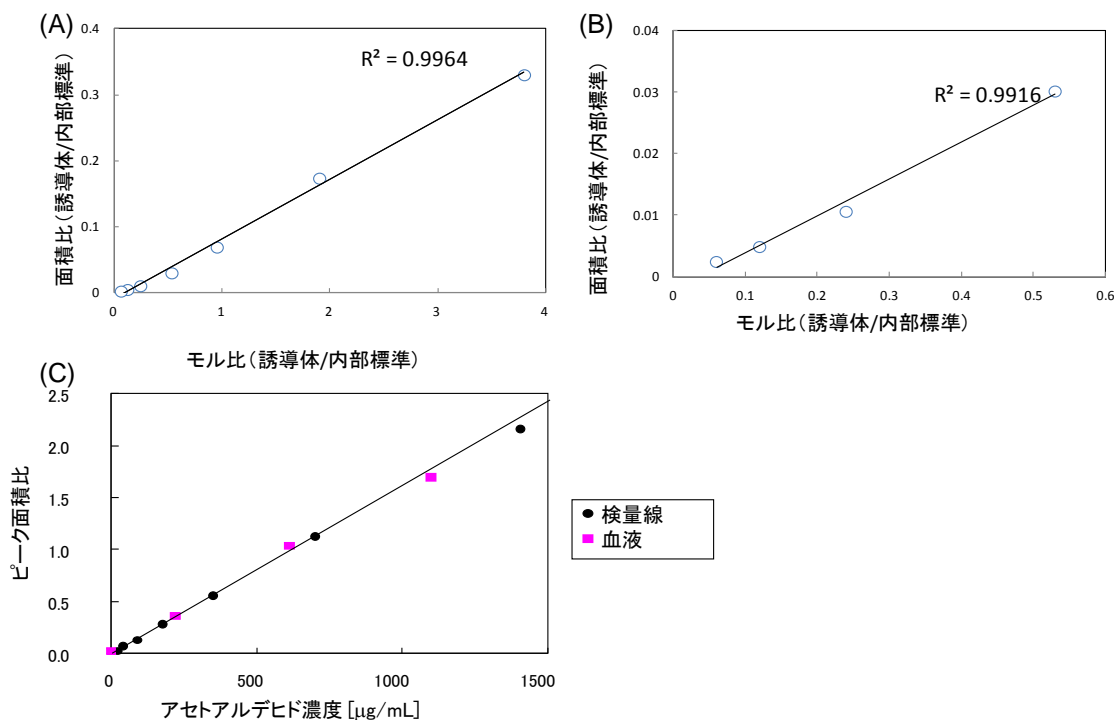


Figure 1 検量線 (A) アセトアルデヒド誘導体の検量線。(B) 低濃度のアセトアルデヒド誘導体の検量線。(C)血液中のアセトアルデヒドの定量性。

2. アルコールを投与した ALDH2 野生型及び欠損型マウスにおけるアセトアルデヒドの臓器分布解析

2-1. 採血及び臓器の摘出

ALDH2 野生型及び欠損型マウスにそれぞれ5%アルコールを1.5 mLを腹腔内投与し、投与直後、15分後、30分後、60分後にそれぞれ採血及び臓器の摘出を行った。摘出した臓器は、脳、舌、唾液腺、食道、胃、肺、肝臓、腎臓、大腸、小腸である。また、アルコールを投与していないマウスについても同様に採血及び臓器の摘出を行った。

2-2. アセトアルデヒド誘導体化反応

採血した血液のうち30 μ Lは10 mM DNPH 塩酸溶液 5 mLにて直ちに誘導体化した。その後、酢酸ナトリウム水溶液 5 mLにてクエンチし、内部標準として一定量のジニトロトルエン (2.84 mM)を添加し、ジクロロメタン 10 mLで抽出し、GC/MS SIM法でアセトアルデヒドを定量した。

臓器は、アセトアルデヒドの揮発を防ぐため摘出後直ちに液体窒素にて凍結した。摘出した臓器 30 mgを、マルチホモジナイザーで粉碎し、RIPA buffer 380 μ Lに溶解させた。過塩素酸 20 μ Lでタンパク質を変性させ遠心分離後の上清 200 μ Lを血液の場合と同様の方法で処理し測定に用いた。

2-3. 血中のアセトアルデヒド濃度

アルコール投与後のALDH2欠損型及び野生型マウスにおける血中のアセトアルデヒド濃度の測定結果をFigure 2に示す。ALDH2欠損型マウスは、投与後30分から1時間でアセトアルデヒド濃度のピークが認められ、その後、緩やかに減少した。一方、野生型マウスでは投与直後にアセトアルデヒド濃度はピークを迎え、その後急激に減少することが明らかとなった。

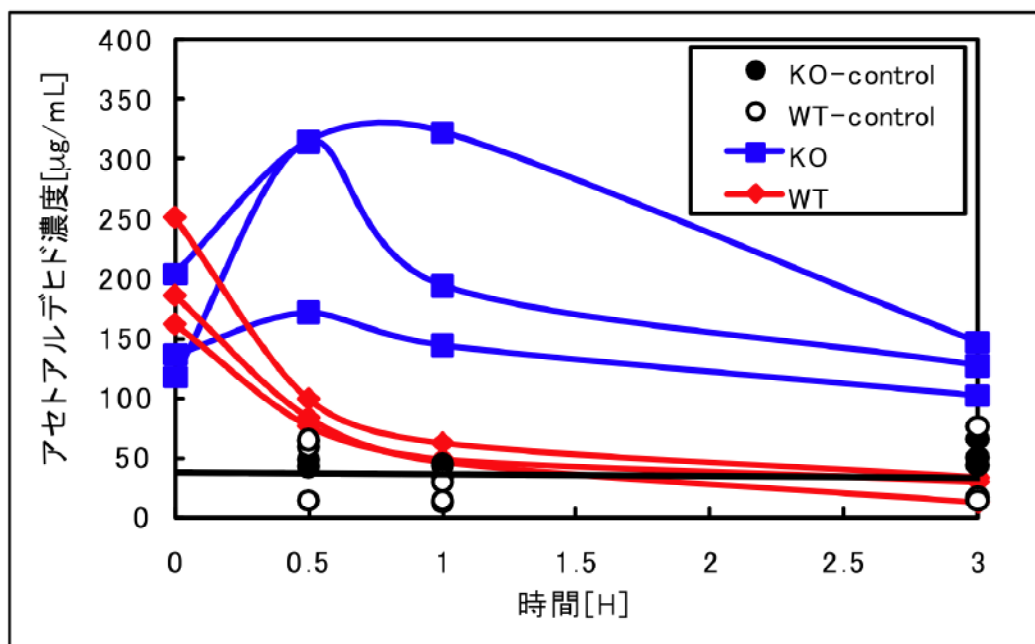


Figure 2. アルコールを投与したALDH2野生型及び欠損型マウスの血中アセトアルデヒド濃度 (n=3)。KO-control: 生理食塩水を投与したALDH2欠損型マウス。WT-control: 生理食塩水を投与したALDH2野生型マウス。KO: アルコールを投与したALDH2欠損型マウス。WT: アルコールを投与したALDH2野生型マウス。

2-4. 臓器におけるアセトアルデヒド濃度

ALDH2欠損マウスにおけるアルコール投与後の各臓器中のアセトアルデヒド濃度の測定結果をFigure 3示す。食道、胃、小腸、肝臓において時間経過に伴うアセトアルデヒドの上昇が観察された。非常に興味深いことに、食道を暴露しない腹腔内にアルコールを投与したにも関わらず、食道で最も高い濃度のアセトアルデヒドが検出された。

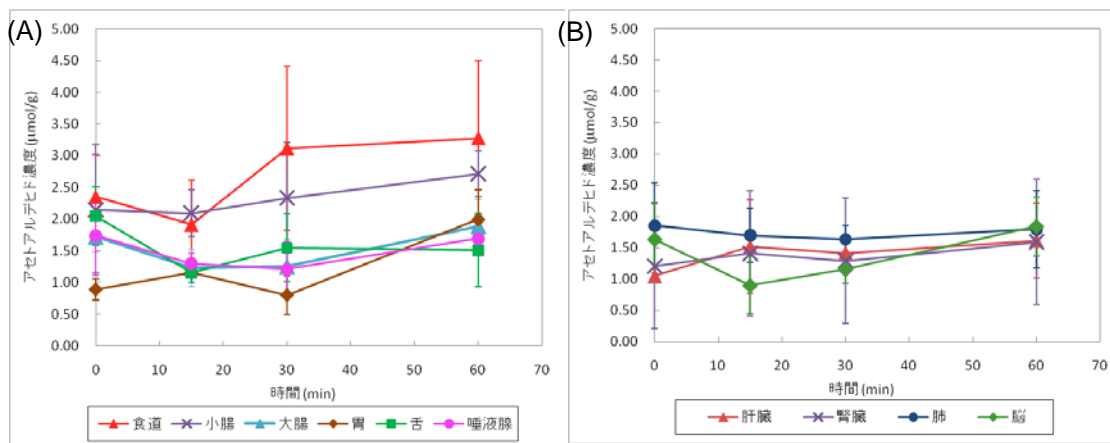


Figure 3. アルコールを投与した ALDH2 野生型マウスの臓器におけるアセトアルデヒド濃度の経時変化。(A)食道、小腸、大腸、胃、舌、唾液腺におけるアセトアルデヒド濃度 (n=3)。(B) 肝臓、腎臓、肺、脳におけるアセトアルデヒド濃度 (n=3)

3. ヒト唾液におけるアセトアルデヒドの定量法の確立

3-1. 唾液の採取

25%アルコールを 50 mL服用し、30分後の唾液 1-2 mLを 50 mLのファルコンチューブで採取した。3,000 rpm / 4°Cの条件下で遠心し、上清 500 μLを定量用唾液サンプルとした。また、アルコール服用前の唾液についても同様に処理した。

3-2. アセトアルデヒド誘導体化反応

唾液サンプル 500 μLを、10 mM DNPH 塩酸溶液 2.5 mLにて直ちに処理した。その後、酢酸ナトリウム水溶液 2.5 mLにてクエンチし、内部標準として一定量のジニトロトルエン (2.84 mM)を 100 μL添加し、ジクロロメタン 5 mLで抽出し、GC/MS SIM法でアセトアルデヒドを定量した。

3-3. 唾液中のアセトアルデヒド濃度

飲酒前と比較すると飲酒後 30分でアセトアルデヒドの上昇が観察された (Figure 4)。

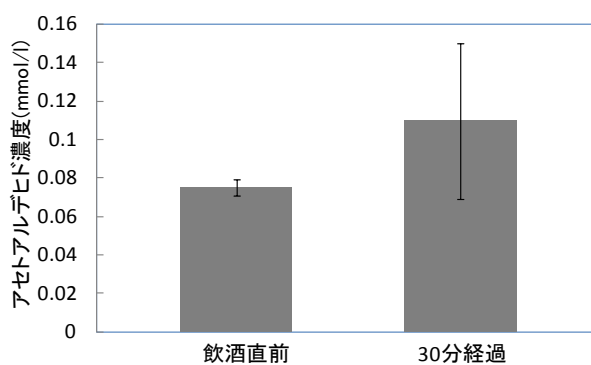


Figure 4. アルコール服用後した唾液におけるアセトアルデヒド濃度。

4. カンジダアルビカンスにより産生されたアセトアルデヒドの誘導体化反応条件の確立

4-1. 用いたカンジダ培養液

サブロー培地 (Glucose 40.0g/L, Peptone 10.0g/L)及び最小培地 (Glucose 5.0g/L, Na₂HPO₄ · 12H₂O 0.26 g/L, KH₂PO₄ 0.66g/L, MgSO₄ · 7H₂O 0.88g/L, NH₄Cl 0.33 g/L, biotin 16.0 g/L)の2種類のカンジダ培養液を用いてアセトアルデヒド誘導体化反応を行った。

表 1. アセトアルデヒド誘導体化反応の条件

	サブロー培地		最小培地		
①-1	Medium	500 μ L	Medium	500 μ L	(A)
①-2	Medium	500 μ L	Medium	500 μ L	(B)
	2.26 mMアセトアルデヒド水溶液	250 μ L	2.26 mMアセトアルデヒド水溶液	250 μ L	
②-1	Medium	500 μ L	Medium	500 μ L	(C)
	カンジダアルビカンス		カンジダアルビカンス		
②-2	Medium	500 μ L	Medium	500 μ L	(D)
	カンジダアルビカンス		カンジダアルビカンス		
	2.26 mMアセトアルデヒド水溶液	250 μ L	2.26 mMアセトアルデヒド水溶液	250 μ L	

4-2. カンジダアルビカンスの培養液中におけるアセトアルデヒドの誘導体化反応

アセトアルデヒドの誘導体化反応に対するカンジダアルビカンス培養液の影響を調べるために、サブロー培地と最小培地中で誘導化効率を比較した。表 1 に示す各サンプル溶液を、10 mM DNPH 塩酸溶液 2.5 mL で処理した。その後、酢酸ナトリウム水溶液 2.5 mL にてクエンチし、内部標準として一定量のジニトロトルエン (2.84 mM) を 100 μ L 添加し、ジクロロメタン 5 mL で抽出した。有機層を GC/MS SIM 法で定量した。

4-3. 各培養液中におけるアセトアルデヒド濃度

Figure 5 の(A)及び(B)の結果から、サブロー培地及び最小培地のどちらもアセトアルデヒド誘導体化反応を阻害しないことが示された。しかしながら、(C)のグラフが示すように、カンジダアルビカンスを 12 時間培養したサブロー培地では、最小培地と比較しておよそ 1.5 倍高いアセトアルデヒド濃度が検出された。尚、カンジダアルビカンスは、サブロー培地で培養する方が最小培地より増殖能が高いことがわかっている。

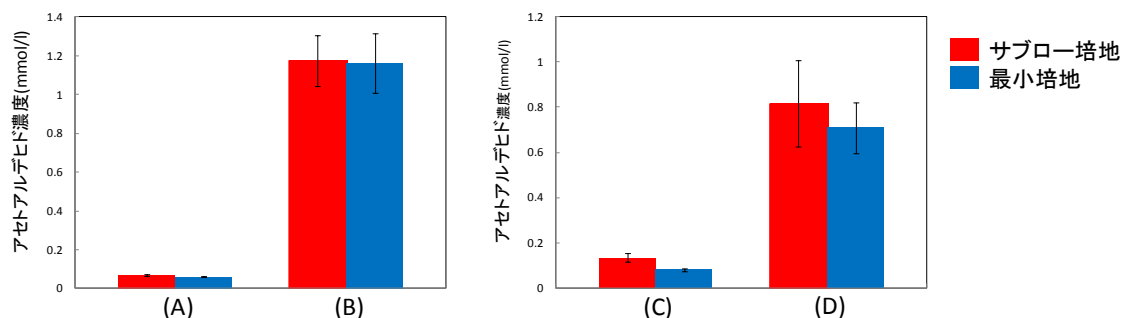


Figure 5. 各培養液中におけるアセトアルデヒド濃度。(A) サブロー培地と最小培地(①-1)。(B) 2.26 mM のアセトアルデヒドを 250 μ L 添加したサブロー培地と最小培地 (①-2)。(C) カンジダ菌を 12 時間培養したサブロー培地と最小培地 (②-1)。(D) カンジダ菌を 12 時間培養したサブロー培地と最小培地にそれぞれ 2.26 mM のアセトアルデヒドを 250 μ L 添加した試料(②-2)。

5. LC/MS/MS 法によるグアニンのアセトアルデヒド付加体分析法の感度を向上し、特にターゲットとなるシッフ塩基を対象に、各組織での分布を計測できる定量法の確立

グアニンのアセトアルデヒド付加体を対象に、正常塩基をほぼ全て除去し、損傷体のみを抽出、濃縮できるマイクロ固相抽出カラムを開発した。これにより、膨大な未損傷体の除去が可能になり、濃縮時に懸濁成分を除き、限界までの損傷塩基の濃縮が可能になった。また、正常塩基によるカラム負担を解決することで LC のダウンサイジングを可能にし、微量組織中のシッフ塩基定量を可能にする感度を獲得した。

倫理面への配慮

本研究で実施する試験に関わるすべての研究者はヘルシンキ宣言に従って本試験を実施し、被験者の人権擁護や不利益・危険性の排除に努める。臨床試験に関しては、説明文を使用し十分に口頭で説明してから、文書をもって同意をえる。「臨床研究に関する倫理指針」、「個人情報保護に関する政令」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」等を遵守して実施する。また、本研究は遺伝子組み換え動物を使用する研究である。このため、平成15年6月18日公布された「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律」を遵守し、平成16年1月29日公布された「研究開発等に係る第二種使用等に当たって執るべき拡散防止措置を定

める省令」によって定められた本研究施設の規定に従って施行する。

本研究に関連する、本研究期間中の主な発表論文等

(雑誌論文)

2011 年

1. Tomonori Yano, Manabu Muto, Keiko Minashi, Junko Iwasaki, Takashi Kojima, Nozomu Fuse, Toshihiko Doi, Kazuhiro Kaneko, Atsushi Ohtsu ;Salvage treatment of photodynamic therapy (PDT) for local failure after chemoradiotherapy (CRT) in patients with esophageal squamous cell carcinoma (ESCC) : A phase II study. Int J Cancer (in press)
2. Tsutomu Saraya, Hiroaki Ikematsu, Kuang I. Fu, Chihiro Tsunoda, Yusuke Yoda, Yasuhiro Oono, Takashi Kojima, MD, Keiko Minashi, Tomonori Yano, Takahiro Horimatsu, Yasushi Sano, Kazuhiro Kaneko. ;Evaluation of Complications Related to Therapeutic Colonoscopy Using Bipolar Snare. Surgical Endosc (in press)
3. Yasumasa Ezoe, Manabu Muto, Noriya Uedo, Yoji Takeuchi, Hisashi Doyama, Yoshibumi Kaneko, Ichiro Oda, Kenshi Yao, Kazuhiro Kaneko, Yoshiro Kawahara, Chizu Yokoi, Yasushi Sugiura, Hideki Ishikawa, Yutaka Saito. ;Magnifying Narrow-band Imaging for Accurate Diagnosis of Gastric Mucosal Cancer. Gastroenterol 141: 2017-2025, 2011
4. H. Bando, T. Yoshino, K. Tsuchihara, N.Ogasawara, N.Fuse, T. Kojima, M. Tahara, M.Kojima, K.Kaneko, T. Doi, A.Ochiai, H. Esumi, A.Ohtsu. ;KRAS mutations detected by Amplification Refractory Mutation System-Scorpion and cetuximab efficacy Brit J Cancer (in press)
5. Eiji Ikeda, Takashi Kojima, Kazuhiro Kaneko, Keiko Minashi, Masakatsu Onozawa, Keiji Nihei, Yasuhiro Oono, Hiroaki Ikematsu, Nozomu Fuse, Tomonori Yano, Takayuki Yoshino, Makoto Tahara, Toshihiko Doi, Atsushi Ohtsu;Efficacy of palliative chemoradiotherapy in incurable stage IVB esophageal cancer patients with dysphagia due to primary lesion. Jpn J Clin Oncol (in press)
6. Tomonori Yano, Manabu Muto, Keiko Minashi, Masakatsu Onozawa, Keiji Nihei, Satoshi Ishikura, Kazuhiro Kaneko, Atsushi Ohtsu. ;Long-term results of salvage photodynamic therapy for patients with local failure after chemoradiotherapy for esophageal squamous cell carcinoma. Endoscopy (in press)
7. Mari Kogo, Manami Watahiki, Tomiko Sunaga, Kazuhiro Kaneko, Keiichiro Yoneyama, Michio Imawari, Yuji Kiuchi. ;Analysis of the Risk Factors for Myelosuppression after Chemoradiotherapy involving 5-Fluorouracil and Platinum for Patients with Esophageal Cancer. Hepato-Gastroenterol (in press)
8. Yuichiro Yano, Kazuo Konishi, Toshiko Yamochi, Atsushi Katagiri, Hisako Nozawa, Hiromu Suzuki, Minoru Toyota, Yutaro Kubota, Takashi Muramoto, Yoshiya Kobayashi, Masayuki Tojo, Kenichi Konda, Reiko Makino, Kazuhiro Kaneko, Nozomi Yoshikawa, Hidekazu Ota, Michio Imawari. ;Clinicopathological and Molecular Features of Colorectal Serrated Neoplasias With Different Mucosal Crypt Patterns. Am J Gastroenterol (in press)
9. K Kaneko, M Nagai, Y Murakami, M Kogo, T Oyama, T Kojima, A Ohtsu, M Imawari. ;TS gene tandem repeats in esophageal cancer patients receiving chemoradiotherapy. Front Biosci 16, 1036-1043, January 1, 2011
10. Reiko Ikeda, Toshie Iwaki, Tomoko Iida, Takazumi Okabayashi, Eishiro Nishi, Masaki Kurosawa, Norio Sakai, Takeo Konakahara, ;3-Benzylamino-b-carboline derivatives induce apoptosis through G2/M arrest in human carcinoma cells HeLa S-3. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2011, 46(2), 636 - 646.

11. Reiko Ikeda, Masaki Kurosawa, Takazumi Okabayashi, Ayako Takei, Masamichi Yoshiwara, Tadashi Kumakura, Norio Sakai, Osamu Funatsu, Akinori Morita, Masahiko Ikekita, Yumi Nakaike, Takeo Konakahara, ;3-(3-Phenoxybenzyl)amino-b-carboline: A novel antitumor drug targeting α -tubulin, *Bioorg. Med. Chem. Lett*, 2011, *21*, 4784-4787.
12. Toshiaki Sasada, Fuminori Kobayashi, Masato Moriuchi, Norio Sakai and Takeo Konakahara, ;An Oxidant-Free Single-Step Synthesis of Tetra- or Di-Substituted Symmetrical Pyridine Derivatives by a Hf(OTf)₄-Catalyzed Annulation, *SynLett*, 2011, 2029-2034.
13. Toshiaki Sasada, Youichi Aoki, Reiko Ikeda, Norio Sakai, and Takeo Konakahara*, ;Synthesis of Tri- or Tetra-Substituted Pyrimidine Derivatives via the [5+1] Annulation of Enamides with either N,N-dimethylformamide Dialkyl Acetals or Orthoesters and its Application to a Ring Transformation of Pyrimidines to Pyrido[2,3-d]pyrimidin-5-one Derivatives, *Chemistry - A European Journal*, 2011, 9385-9394.
14. Hiroya Murakami, Mio Koguchi, Yukihiro Esaka, Bunji Uno, and Yasushi Ishihara. ;Functional Preconcentration Tip of Total Volume Injection for ESI/MS Analysis of DNA Adducts. *Analytical Science*, 2011, *27*, 217
15. Shimizu Y, Sakai A, Menuki K, Mori T, Isse T, Oyama T, Kawamoto T, Nakamura T. ;Reduced bone formation in alcohol-induced osteopenia is associated with elevated p21 expression in bone marrow cells in aldehyde dehydrogenase 2-disrupted mice. *Bone*. 2011 *48*(5):1075-1086.
16. Gu CD, Uramoto H, Onitsuka T, Shimokawa H, Iwanami T, Nakagawa M, Oyama T, Tanaka F ;Molecular diagnosis of MCCC1 status in lung adenocarcinoma by immunohistochemical analysis. *Anticancer Res* 31:1141-1146, 2011
17. Chungong G, Uramoto H, Onitsuka T, Shimokawa H, Iwanami T, Nakagawa M, Oyama T, Tanaka F: Molecular diagnosis of MCCC1 status in lung adenocarcinoma by immunohistochemical analysis. *Anticancer Res* 31:1141-1145, 2011
18. Shimizu Y, Sakai A, Menuki K, Mori T, Isse T, Oyama T, Kawamoto T, Nakamura T;Reduced bone formation in alcohol-induced osteopenia is associated with elevated p21 expression in bone marrow cells in aldehyde dehydrogenase 2-disrupted mice. *Bone* 48(5):1075-86, 2011
19. Kawamoto T, Pham TT, Matsuda T, Oyama T, Tanaka M, Yu HS, Uchiyama I: Historical review on development of environmental quality standards and guideline values for air pollutants in Japan. *Int J Hyg Environ Health* 214: 296-304, 2011
20. Yu H-S, Oyama T, Matsuda T, Isse T, Tanaka M, Kawamoto T ;Formation of N²-ethylidene-dG adduct in aldehyde dehydrogenase 2 knockout mice due to ethanol drinking. *Tox Lett* 205: S83, 2011

(学会発表)

(国際学会)

1. Kazuhiro Kaneko, ; μ -VOIS, a novel three-dimensional microstructure imaging system based on optical coherence tomography. Digestive Disease Week 2010, 1-5/May, 2010, LA, USA.
2. Kazuhiro Kaneko, ;A novel imaging system using near-infrared beams. Annual meeting in Society of Colon and Rectal Surgeons, 11-12/December, 2010, Taipei, Taiwan. (招待講演)

(国内学会)

1. 金子和弘、大野康寛、;頭頸部・食道領域の表在癌に対する新規分光イメージングシステムの検討、JDDW2011、2011年10月、福岡
2. 金子和弘、; μ -VOISによる粘膜内部の微細3次元画像、第81回日本消化器内視鏡学会、2011年8月、名古屋
3. 古口未央、村上博哉、河村理恵子、江坂幸宏、宇野文二、石濱泰 ;ESI/MSによる高感度DNA損傷体分析のためのオンライン濃縮チップ開発に関する研究. 第30回キャピラリー電気泳動シンポジウム、2010/11/13-15、岐阜
4. 河村理恵子、川島静香、古口未央、江坂幸宏、宇野文二、村上博哉、石濱泰 ;網羅的DNA付加体分析を目指した迅速前処理法の開発. 第31回キャピラリー電気泳動シンポジウム、2011/11/9~11、鶴岡
5. 村上博哉、古口未央、河村理恵子、江坂幸宏、宇野文二、石濱泰 ;「ESI/MSによる高感度DNA損傷体分析のためのオンライン濃縮チップ開発に関する研究(2) . 日本薬学会 第131年会、2011/3/28-31、静岡
6. Yu H-S, Oyama T, Matsuda T, Isse T, Tanaka M, Kawamoto T, ;Formation of N²-ethylidene-dG adduct in aldehyde dehydrogenase 2 knockout mice due to ethanol drinking. The 47th Congress of the European Societies of Toxicology 2011-08/28-08/31 Paris, France
7. 小山倫造、余旭勝、辻真弓、田中政幸、松田知成、浦本秀隆、田中文啓、川本俊弘 ;The survivals and body weight variations of aldehyde dehydrogenase 2 knockout mice treated with ethanol. 第70回 日本癌学会学術総会 2011-10/03-05 名古屋
8. 川本俊弘、余 旭勝、小山倫造、松田知成、田中政幸、辻 真弓 : 飲酒による食道、舌、顎下腺のDNA付加体量の増加 第7回 日本予防医学会学術総会 2011-11/19 東京

(知的財産権)

1. 小島 尚人、金子 和弘、画質改善画像生成装置、画像の画質改善方法、及びプログラム、(特願2011-70587) (平成23年3月28日出願)
2. Tamotsu Zako, Kohei Soga, Hidehiko Kishimoto, Masaaki Ito, Kazuhiro Kaneko, BIOIMAGING METHOD USING NEAR-INFRARED (NIR) FLUORESCENT MATERIAL, (23037(PH-4331US)) (平成23年3月23日出願)