

厚生労働科学研究費補助金（循環器疾患・糖尿病等生活習慣病対策総合研究事業）  
WHO 世界戦略を踏まえたアルコールの有害使用対策に関する総合的研究  
（研究代表者 樋口 進）

平成 25 年度分担研究報告書  
わが国の成人の飲酒行動に関する全国調査 2013 年  
2003 年、2008 年全国調査との比較  
研究分担者 尾崎 米厚 鳥取大学医学部環境予防医学分野 教授

研究要旨

2013 年 7 月に成人の飲酒行動に関する全国調査を実施し、その結果を過去 2 回の全国調査の結果と比較した。アルコール依存症は、人口動態統計、患者調査による受療統計をみると男性で減少傾向、女性では横ばい状態にあり、推計受療患者数も 2011 年では 16,700 人と少ない。2013 年の飲酒行動に関する全国調査によると、AUDIT 得点が 16 点以上（潜在的アルコール依存症者）の者は、男性 4.6%、女性 0.7%であった。AUDIT 得点が 20 点以上（アルコール依存症の疑い）の者は、男性 2.1%、女性 0.2%であった。ICD-10 基準のアルコール依存症該当者の割合は、男性 1.0%、女性 0.2%であった。より軽度の問題飲酒者の割合は男性を中心に減少している可能性があるが、重度の者の状況は改善していない。若年者では飲酒行動の男女差がなくなっている。現在アルコール依存症（ICD-10）の推計数は 58 万人、AUDIT20 点以上の者の推計数は 113 万人となる。

研究協力者

神田秀幸：横浜市立大学医学部 社会予防医学教室

A. 研究目的

世界保健機関（WHO）の推計によると、世界の主な健康関連リスク 19 のうち、アルコールは死亡への負荷が 8 番目に大きい健康リスクであるが（2004 年の年間寄与死亡数 230 万人）、死亡以外の有病や障害なども加味した DALY（disability-adjusted life-years; 障害調整生命年）に換算すると 3 番目に大きな健康リスクとなる（2004 年の年間推計 DALY は、6900 万）。特に中等度収入国ではトップの健康リスクである。一般に、精神疾患のように、死亡のみならず、死亡に至らないまでも有病により療養や障害を長期にもたらし、本人にも社会にも多大な疾病負荷をもたらすような疾病の場合、DALY に換算すると大きな疾病負荷を示す。アルコールによる健康被害もこのような特徴を持つ。

アルコールは多くの疾患を発生しやすくしており、多くの疾患に様々な程度の寄与危険度

割合を持っている。すなわち、アルコール依存症以外で死亡、入院、外来に通っている者の、一定割合はアルコールの飲みすぎによるものであると推計できる。わが国の人口動態統計と米国における疾患単位ごとのアルコール寄与率を用いた、アルコールにより死亡したと推定される数は、平成 20 年（2008 年）では、男性 23,583 人、女性 11,405 人と推計された（合計 34,988 人）。推計死亡数の多い疾患は、自殺（6,914 人）、アルコール性肝疾患（4,153 人）、心筋症（3,682 人）、肝硬変（3,574 人）、脳血管疾患（2,801 人）、転倒・転落（2,293 人）、溺水・溺死（2,193 人）と外因によるものと肝疾患が多い。患者調査と米国における疾患ごとのアルコール寄与率を用いた、アルコールによる有病患者数（内因）は、外来では男性で 4.7 万人、女性で 6.4 万人（合計 11.1 万人）、入院では男性 2.1 万人、女性 0.7 万人（合計 2.8 万人）となった<sup>2</sup>）。推計入院患者数が多いのは、アルコール使用＜飲酒＞による精神及び行動の障害（12,700 人）が多いが、推計外来患者数が多いのは、胃炎及び十二指腸炎（65,700 人）、

食道のその他の疾患(10,900人)が多い。外来患者数は高齢者の女性の患者数が多く、アルコールの寄与はやや過大評価されている可能性がある。

主な国々におけるアルコール使用の疾病負荷量(DALY)は、日本では、全DALYの男性6.7%、女性1.3%と推計されている。DALY計算において、アルコールの寄与割合の高い疾患は、肝硬変、外傷、がん、精神神経障害などである。これらは、いずれも、アルコールを使用した本人にもたらされる、身体的、精神的健康被害の量的指標であり、それだけでもかなりの大きな影響であるが、社会的影響を加味するとさらに大きな影響があると考えられる。

アルコールに関連する社会的損失をより妥当な方法で推計するために、利用可能な情報を精査し、推計方法を検討した。1987年データを用いた推計と比較ができるように2008年のデータを用いた推計を行った。アルコールの不適切な使用による社会的損失額は4兆1483億円となった。内訳をみると問題飲酒者の労働効率低下による損失1兆9700億円が最も大きく、次いでアルコールの害による早期死亡者の賃金喪失が、1兆762億円、アルコール起因疾患への医療費が1兆101億円等であった。1987年データを用いた推計よりは値が小さかったが、それでも喫煙による社会的損失に匹敵し、酒税よりも大きな額であったことが重要である。

わが国の飲酒行動については、1986年より飲酒習慣と飲酒量について、国民健康栄養調査の中で毎年調査されている(2013年3月時点で2011年調査の概要と2010年の報告書まで公表)。この調査での飲酒習慣ありは、週に3日以上飲酒し、かつ飲酒日1日あたり1合以上を飲酒すると回答した者と定義されており、1986年には、男性51.8%、女性5.3%であったが、2011年には、男性35.1%、女性7.7%と男性で減少し、女性で増加している。近年の傾向をみると男性では横ばいかゆるやかな減少を、女性では横ば

いかゆるやかな増加を示している。年齢階級別の特徴をみると、1986年では男女とも40歳代の飲酒者率が高く、次いで30歳代、50歳代であったが、2011年では男性では50歳代、60歳代、40歳代の順に高く、女性では3-40歳代、50歳代で高く、男性ではピークが高齢化している。男性では若年層での飲酒者率の減少が顕著で、女性では若年層での飲酒率の増加が顕著である。したがって、飲酒者率の男女接近現象が起きている。飲酒日1日当たりの飲酒量が3合以上の者の割合(この1年間の飲酒者に占める割合)は、男性で12.2%、女性で6.9%である。2010年の調査では、飲酒が原因による肝機能障害の指摘の有無について尋ねており、男性11.7%、女性2.2%が「ある」と答えている。しかしその約半分は「これまでに治療を受けたことがない」者である。自分の飲酒が原因で自分か他の誰かがけがをしたことがあるかという質問に対しては、男性の8.6%、女性の2.8%が、「ある」と答えている。このように飲酒者率は男性の減少傾向と女性の漸増傾向があり、男女接近現象が起こっており、飲酒による健康問題を起こしている人も多いことが推定される。

アルコール関連問題は、多岐にわたり、必ずしも医療に結びついていない者が多いと思われるため人口動態統計や患者調査等の既存の統計や調査では、十分に実態を把握できていないと考えられる。国民健康栄養調査においてもアルコールに関連する項目は少なく、その実態を把握するには不十分である。そのため、わが国では、2003年、2008年、2013年の3回、成人の飲酒実態に関する全国調査が実施された。今回の分析は、2013年に実施された全国調査の結果を2003年、2008年の全国調査の結果と比較することを目的とした。

## B. 研究方法

全国から対象者を無作為に抽出する層化2段無作為抽出を行った。無作為に対象地域を選び、該当する自治体に申請し、住民基本台帳から対

対象者を無作為に選び、調査員が調査の協力の意向を打診し、協力の得られた対象者に訪問面接調査を行った。

調査の回答者数は、2003年調査では、2,547人（回答率 72.8%）、2008年調査では、4,123名（55.0%）、2013年では、4,153人（58.9%）であった。調査方法は、調査員による訪問面接調査であった。

調査内容は、アルコール使用障害同定テスト（Alcohol Use Disorders Identification Test (AUDIT)）、ICD-10の診断方法によるAD、ADの現在治療、過去治療、この1年間に医療機関または健診受診の有無、FTND（Fagerstrom Test for Nicotine Dependence, 1991）、Internet addiction test、ギャンブル依存スクリーニング（修正 SOGS）等であった。AUDITの20点以上をAD疑者、16点以上を潜在的AD者とした。性別、5歳階級別割合と2012年10月1日の日本人口を基準人口として推計数を計算した。

#### （倫理面への配慮）

訪問面接調査であるため、倫理的配慮が必要である。調査に伴う個人情報漏洩のないような十分な配慮を行えるプライバシーマークを取得した調査会社に調査の実施を依頼し研究者には連結不可能匿名化されたデータが提供された。本研究の研究計画は久里浜医療センターの倫理審査を受け承認された。

#### C. 研究結果およびD. 考察

調査前1年間に飲酒した者を飲酒者と定義すれば、2003年の日本人口で年齢調整した値は、2003年では、男性86.0%、女性63.4%であり、2008年では、男性84.1%、女性62.5%であった。2013年では、男性83.6%、女性63.1%であり、年齢階級別の特徴を見ると、若年層ほど飲酒率が高く、一貫して男が女より割合が高いが、若年層では、男女差は小さくなっており、20-24歳では男女差がほとんどみられない（表1）。

健康日本21（二次計画）の目標値では、生活習慣病のリスクを高める飲酒量として、男性40g以上/日、女性20g以上/日を設定している。これに該当する者の割合は、2003, 2008, 2013年では、男性で、19.0%、14.1%、14.3%、女性で6.0%、5.4%、5.9%と男性で減少、女性で横ばいである。年齢階級別の特徴をみると男性の中高年に該当者の割合が高い（表2）。機会大量飲酒者（週1回以上、60g以上のアルコールを飲酒）の割合をみると、男性は、10.8%、9.0%、12.8%、女性は2.5%、1.4%、2.6%と2008年に減少したようにみえたが、2013年では増加した（表3）。

問題飲酒のスクリーニング検査の結果をみると、AUDIT8点以上（アルコールの危険な使用）をカットオフポイントにすると、男性では、28.0%、23.1%、24.5%であり、女性では、4.3%、4.0%、3.7%であった。2003年に比べ、男女ともその後減少した。年齢階級別の特徴をみると、2003年に比べ、2013年で男性の若年層での該当者割合が減少し、中高年の割合が高い傾向に変化した（表4）。

AUDIT得点が16点以上を潜在的アルコール依存症者とする、男性では、5.3%、4.7%、4.6%、女性では、0.6%、0.6%、0.7%と横ばいである（表5）。

AUDIT得点が20点以上の者はアルコール依存症の疑いがあり、専門医に紹介したほうが良いとされている者であるが、男性では1.6%、2.1%、2.1%、女性では0.2%、0.3%、0.2%と横ばいであり、決して減少していない。16点以上の者も、20点以上の者も、男性の中高年で割合が高い傾向にある（表6）。

さらに、今回調査した中で、もっとも厳しいアルコール依存症の基準であるICD-10の基準による該当者の割合は、男性で、1.5%、0.5%、1.0%、女性では、0.2%、0.1%、0.2%と2008年は低い、2013年で前回より増加している。このように、AUDIT得点8点以上のように、より軽度の問題飲酒者の割合は男性を中心に減

少している可能性があるが、より重度のアルコール使用の状態は改善していない。女性ではいずれも横ばいであるので、特に若年者では飲酒行動の男女差がなくなっている。相対的に女性のアルコール問題が重要な問題になりつつある。

アルコール依存症の経験者（2013年で男性1.3%、女性0.3%）の2012年日本人口における推計数は109万人、現在アルコール依存症の基準に当てはまる人（ICD-10）（男性1.0%、女性0.1%）の推計数は58万人となる。AUDIT16点以上の者の推計数は263万人、20点以上の者の推計数は113万人となる。一方、現在アルコール依存症で治療中と回答した者は男性0.2%、女性0（推計数8万人）であるため、ほとんどのアルコール依存症者が治療に結び付いていないと推定される。これは、前述の患者調査による入院、外来推計患者数の値からも推測される。この全国調査では、AUDIT20点以上の者のうち、71.4%がこの1年に何らかの理由で医療機関にかかっており、また同じ割合がこの1年間に健康診断を受けていた。現在アルコール依存症（ICD-10）に該当する者も82.6%が医療機関を、69.6%が健康診断を受診している。あらゆる医療関係者がアルコールが健康に及ぼす影響の重大さを認識し、日常診療のなかでアルコールの使用に問題あるひとを見つけ出し、適切な対応を実施することが望まれる。

日本の全国調査により明らかになったアルコールの有害な使用やアルコール依存症の頻度を海外の研究結果と比較すると、アメリカ合衆国や欧州諸国における結果より低い値であった。しかし、アメリカ合衆国では1990年代初頭にくらべ2000年代初頭では減少傾向にあるが、わが国では依存症者数の減少は確認されていないので、決して楽観できないといえる。

わが国の疾病統計をみると、アルコール関連障害の占める割合は、低く経年変化の動向をみても減少傾向にある。しかし、既存統計の分析においても、高齢者や若い女性の問題飲酒の相

対的重要性が増していることがわかった。一方で、見かけ上の有病者の減少の背後には治療に結びつかない数多くの不適切な飲酒を継続している人々が存在する。したがって、まずは、それらの人々を治療に結びつけるような取組が必要である。そのためには、様々な理由での医療機関への受診の背景に問題飲酒があることを関係者が認識し、一般診療や健康診断のような場面での飲酒問題のスクリーニングと短時間での介入が重要になってくるであろう。

インターネット依存の該当者割合は2008年調査より男女とも増加していた。若年層で頻度が高かった。ギャンブル依存は男性に高く、女性に低かった。2008年調査と比較して有意な増減は認められなかった。

## E. 研究発表

### 1. 論文発表

尾崎米厚. わが国における飲酒行動、アルコール関連問題の現状. *Progress in Medicine*. 2013;33(4):803-807.

尾崎米厚. 物質使用障害の疫学. *精神科治療学* 2013; 28(増刊号): 10-15.

尾崎米厚. 鳥取県の高校生の喫煙・飲酒行動および生活習慣 ～実態調査より～. *鳥取県高P連会報*. 2013; 76:1-2.

### 2. 学会発表

Osaki Y, Kondo Y, Matsushita S, Higuchi S. Alcohol, tobacco use, and other addictive disorders in Japan. Symposium Alcohol and co-morbid substance use disorder: Perspectives on COGA, NESARC and Japanese samples. 36th Annual Scientific Meeting of the Research Society on Alcoholism, June 22-26, 2013, Orlando, Florida, USA

Osaki Y, Ohida T, Kanda H, Kaneita Y, Minowa M, Higuchi S, Kondo Y. Trends in adolescent smoking behavior and its correlates in Japan. Symposium 10 Education, communication, training and public awareness. The 10th Asia Pacific

◆シンポジウム

尾崎米厚. アルコールによる疾病負荷、社会的損失について. シンポジウム6 アルコール関連疾患の医療・社会経済に与える影響. アルコール・薬物依存関連学会合同学術総会 10 月 3-5 日、2013 年、岡山

尾崎米厚. 睡眠と喫煙. シンポジウム7 睡眠公衆衛生の実践 ~睡眠保健活動に向けて~. 日本公衆衛生雑誌 60(10):100, 2013 (第

F. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
特記事項なし

表1 飲酒者(この1年で1度でも飲んだ者)の割合

年齢階級	2003年(n=2547)		2008年(n=4123)		2013年(n=4153)	
	男(n=1184)	女(n=1363)	男(n=1880)	女(n=2243)	男(n=1869)	女(n=2284)
20 ~ 24	90.4%	80.0%	83.5%	90.4%	84.3%	83.9%
25 ~ 29	92.4%	80.0%	89.9%	72.4%	89.2%	73.9%
30 ~ 34	91.3%	79.2%	89.8%	74.2%	86.0%	73.7%
35 ~ 39	91.0%	82.1%	89.8%	75.8%	92.5%	75.8%
40 ~ 44	92.7%	79.7%	86.5%	78.6%	87.4%	73.4%
45 ~ 49	89.3%	70.3%	89.3%	78.4%	88.2%	78.1%
50 ~ 54	87.3%	66.7%	88.3%	67.0%	85.5%	73.2%
55 ~ 59	93.1%	69.8%	82.0%	60.6%	87.1%	66.8%
60 ~ 64	84.9%	57.1%	88.8%	59.5%	79.4%	55.9%
65 ~ 69	84.1%	49.6%	85.5%	49.1%	81.3%	45.6%
70 ~ 74	62.9%	42.7%	74.0%	38.6%	74.9%	46.9%
75 ~ 79	65.7%	33.3%	56.1%	29.7%	67.3%	33.5%
80 ~ 84	57.1%	8.3%	45.3%	20.7%	60.0%	28.3%
85 歳以上	58.3%	18.8%	61.5%	20.8%	46.2%	14.0%
粗率	84.2%	63.6%	82.6%	62.2%	80.8%	59.8%
調整率(2003基準)	86.0%	63.4%	84.1%	62.5%	83.6%	63.1%
検定結果 vs2003			p=0.12	p=0.59	p=0.07	p=0.86
検定結果 vs2008					p=0.72	p=0.68

女性は変らないが、男性は2003年とくらべ、2008年と2013年が低い傾向にある

表2 1日平均男40g以上、女20g以上飲酒する者の割合

年齢階級	2003年(n=2547)		2008年(n=4123)		2013年(n=4153)	
	男(n=1184)	女(n=1363)	男(n=1880)	女(n=2243)	男(n=1869)	女(n=2284)
20 ~ 24	11.5%	6.7%	0.0%	5.3%	1.4%	6.5%
25 ~ 29	19.7%	10.8%	7.1%	7.8%	5.4%	5.0%
30 ~ 34	15.0%	9.9%	12.6%	9.9%	8.6%	6.8%
35 ~ 39	14.6%	10.4%	11.0%	7.0%	10.8%	10.8%
40 ~ 44	15.9%	9.0%	14.9%	6.0%	16.8%	10.9%
45 ~ 49	29.8%	5.5%	17.3%	9.7%	16.4%	6.7%
50 ~ 54	28.7%	4.9%	24.7%	6.0%	26.3%	5.7%
55 ~ 59	23.5%	7.9%	22.8%	5.0%	21.1%	5.6%
60 ~ 64	22.2%	2.0%	21.5%	5.9%	21.1%	7.4%
65 ~ 69	24.6%	2.2%	19.5%	0.9%	17.8%	4.7%
70 ~ 74	8.6%	2.9%	9.2%	2.9%	16.8%	1.3%
75 ~ 79	11.4%	1.6%	10.6%	0.7%	10.5%	1.2%
80 ~ 84	14.3%	2.8%	1.9%	0.0%	8.2%	0.9%
85歳以上	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	5.1%	2.0%
粗率	19.6%	5.8%	15.3%	5.3%	15.6%	5.6%
調整率 (2003基準)	19.0%	6.0%	14.1%	5.4%	14.3%	5.9%
検定結果 vs2003			p<0.01	p=0.43	p<0.01	p=0.85
検定結果 vs2008					p=0.90	p=0.49

女性は変わらないが、男性は2003年から2008年に有意に減少したが、2013年は前回と変わらない

表3 週1日以上60g以上飲酒する者の割合

年齢階級	2003年		2008年		2013年	
	男	女	男	女	男	女
20 ~ 24	7.7%	4.4%	6.3%	2.1%	14.3%	9.7%
25 ~ 29	13.6%	9.2%	11.1%	1.7%	17.6%	2.5%
30 ~ 34	5.0%	4.0%	11.0%	3.3%	16.1%	3.8%
35 ~ 39	7.9%	1.9%	8.7%	1.1%	8.3%	2.5%
40 ~ 44	13.4%	3.8%	7.8%	0.9%	16.8%	3.6%
45 ~ 49	19.0%	0.8%	10.0%	2.2%	16.4%	1.7%
50 ~ 54	15.3%	2.1%	14.3%	1.0%	15.8%	3.6%
55 ~ 59	17.6%	2.9%	11.2%	1.8%	12.9%	2.0%
60 ~ 64	8.7%	0.7%	9.3%	0.5%	10.6%	0.7%
65 ~ 69	10.9%	0.7%	9.0%	0.9%	9.1%	1.4%
70 ~ 74	5.7%	0.0%	2.3%	1.8%	9.9%	0.4%
75 ~ 79	4.3%	0.0%	4.1%	0.7%	3.3%	0.0%
80 ~ 84	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	2.4%	0.0%
85歳以上	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
粗率	10.7%	2.1%	8.6%	1.4%	11.3%	2.0%
調整率 (2003基準)	10.8%	2.5%	9.0%	1.4%	12.8%	2.6%
検定結果 vs2003			p=0.10	p<0.05	p=0.10	p=0.93
検定結果 vs2008					p<0.01	p<0.01

男女とも2008年が低い傾向。2003年と2013年は不変か、男性でやや増加。

## 表4 AUDIT 8点以上の者の割合

年齢階級	2003年(n=2547)		2008年(n=4123)		2013年(n=4153)	
	男(n=1184)	女(n=1363)	男(n=1880)	女(n=2243)	男(n=1869)	女(n=2284)
20 ~ 24	17.3%	8.9%	8.9%	7.4%	18.6%	8.1%
25 ~ 29	34.8%	13.8%	18.2%	7.8%	14.9%	5.9%
30 ~ 34	27.5%	5.9%	26.8%	6.0%	19.4%	5.3%
35 ~ 39	30.3%	3.8%	24.4%	5.9%	24.2%	5.1%
40 ~ 44	35.4%	4.5%	24.1%	2.8%	25.2%	5.2%
45 ~ 49	34.5%	3.9%	32.0%	5.9%	28.3%	3.4%
50 ~ 54	37.3%	4.2%	31.2%	2.5%	39.5%	4.1%
55 ~ 59	34.3%	4.3%	31.1%	4.1%	31.0%	2.6%
60 ~ 64	27.8%	1.4%	27.1%	4.1%	28.9%	2.9%
65 ~ 69	25.4%	0.0%	26.2%	1.3%	25.5%	2.3%
70 ~ 74	12.4%	2.9%	14.5%	1.8%	22.0%	0.4%
75 ~ 79	10.0%	0.0%	11.4%	0.0%	18.3%	0.6%
80 ~ 84	10.7%	0.0%	5.7%	0.0%	9.4%	0.0%
85歳以上	8.3%	0.0%	0.0%	0.0%	5.1%	2.0%
粗率	27.4%	3.7%	23.5%	3.7%	24.6%	3.2%
調整率 (2003基準)	28.0%	4.3%	23.1%	4.0%	24.5%	3.7%
検定結果 vs2003			p<0.01	p=0.60	p<0.05	p=0.36
検定結果 vs2008					p=0.35	p=0.67

女性は変わらないが、男性は2003年から2008年に有意に減少したが、2013年は前回と変わらない

## 表5 AUDIT 16点以上の者の割合

年齢階級	2003年(n=2547)		2008年(n=4123)		2013年(n=4153)	
	男(n=1184)	女(n=1363)	男(n=1880)	女(n=2243)	男(n=1869)	女(n=2284)
20 ~ 24	9.6%	0.0%	0.0%	1.1%	0.0%	0.0%
25 ~ 29	9.1%	1.5%	2.0%	0.9%	2.7%	2.5%
30 ~ 34	3.8%	0.0%	4.7%	0.5%	3.2%	1.5%
35 ~ 39	3.4%	0.9%	8.7%	2.2%	4.2%	2.5%
40 ~ 44	3.7%	1.5%	5.0%	0.9%	5.6%	0.0%
45 ~ 49	8.3%	0.0%	3.3%	1.1%	5.9%	1.1%
50 ~ 54	8.0%	1.4%	8.4%	0.0%	9.9%	0.5%
55 ~ 59	5.9%	1.4%	6.3%	0.5%	8.2%	0.0%
60 ~ 64	1.6%	0.0%	7.5%	0.0%	6.0%	0.4%
65 ~ 69	2.9%	0.0%	5.4%	0.0%	2.9%	0.0%
70 ~ 74	3.8%	0.0%	2.3%	0.6%	3.1%	0.0%
75 ~ 79	2.9%	0.0%	1.6%	0.0%	3.3%	0.0%
80 ~ 84	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
85歳以上	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	2.6%	0.0%
粗率	4.8%	0.6%	4.8%	0.6%	4.7%	0.6%
調整率 (2003基準)	5.3%	0.6%	4.7%	0.6%	4.6%	0.7%
検定結果 vs2003			p=0.49	p=0.98	p=0.47	p=0.68
検定結果 vs2008					p=0.97	p=0.61

男女とも2003, 2008, 2013年調査による割合に有意差はない。

## 表6 AUDIT 20点以上の者の割合

年齢階級	2003年(n=2547)		2008年(n=4123)		2013年(n=4153)	
	男(n=1184)	女(n=1363)	男(n=1880)	女(n=2243)	男(n=1869)	女(n=2284)
20 ~ 24	3.8%	0.0%	0.0%	1.1%	0.0%	0.0%
25 ~ 29	0.0%	0.0%	1.0%	0.0%	1.4%	0.0%
30 ~ 34	0.0%	0.0%	2.4%	0.5%	2.2%	0.8%
35 ~ 39	0.0%	0.0%	5.5%	1.6%	2.5%	1.3%
40 ~ 44	2.4%	0.8%	2.1%	0.0%	1.4%	0.0%
45 ~ 49	3.6%	0.0%	1.3%	0.0%	2.6%	0.6%
50 ~ 54	2.7%	0.7%	4.5%	0.0%	3.3%	0.0%
55 ~ 59	2.0%	0.7%	2.4%	0.0%	5.3%	0.0%
60 ~ 64	0.8%	0.0%	1.9%	0.0%	2.3%	0.0%
65 ~ 69	2.2%	0.0%	1.8%	0.0%	0.5%	0.0%
70 ~ 74	1.0%	0.0%	1.2%	0.6%	1.0%	0.0%
75 ~ 79	1.4%	0.0%	0.0%	0.0%	2.0%	0.0%
80 ~ 84	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
85歳以上	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	2.6%	0.0%
粗率	1.6%	0.2%	2.0%	0.3%	2.0%	0.2%
調整率(2003基準)	1.6%	0.2%	2.1%	0.3%	2.1%	0.2%
検定結果 vs2003			p=0.31	p=0.75	p=0.34	p=1.00
検定結果 vs2008					p=0.93	p=0.58

男女とも2003, 2008, 2013年調査による割合に有意差はない。

## 表7 ICD10によるアルコール依存症の割合

年齢階級	2003年(n=2547)		2008年(n=4123)		2013年(n=4153)	
	男(n=1184)	女(n=1363)	男(n=1880)	女(n=2243)	男(n=1869)	女(n=2284)
20 ~ 24	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
25 ~ 29	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	1.4%	0.0%
30 ~ 34	1.3%	1.0%	0.8%	0.0%	0.0%	1.5%
35 ~ 39	0.0%	0.0%	0.8%	0.0%	1.7%	0.0%
40 ~ 44	2.4%	0.0%	0.7%	0.0%	0.7%	0.0%
45 ~ 49	1.2%	0.0%	0.7%	1.1%	0.7%	0.0%
50 ~ 54	0.7%	0.7%	0.6%	0.0%	2.0%	0.0%
55 ~ 59	2.0%	0.0%	0.0%	0.0%	1.2%	0.0%
60 ~ 64	1.6%	0.0%	0.9%	0.0%	0.9%	0.4%
65 ~ 69	2.2%	0.0%	0.5%	0.0%	1.0%	0.0%
70 ~ 74	5.7%	0.0%	0.6%	0.6%	1.6%	0.0%
75 ~ 79	5.7%	0.0%	0.0%	0.0%	2.0%	0.0%
80 ~ 84	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
85歳以上	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
粗率	1.9%	0.1%	0.5%	0.1%	1.1%	0.1%
調整率(2003基準)	1.5%	0.2%	0.5%	0.1%	1.0%	0.2%
検定結果 vs2003			p<0.01	p=1.00	p=0.11	p=1.00
検定結果 vs2008					p=0.06	p=1.00

女性は変わらないが、男性は2008年に割合が減少し、2013年は横ばいであった。



## 表8 インターネット依存の割合

年齢階級	2008年(n=4123)		2013年(n=4153)	
	男(n=1880)	女(n=2243)	男(n=1869)	女(n=2284)
20 ~ 24	15.2%	9.6%	18.6%	14.5%
25 ~ 29	4.0%	8.6%	14.9%	15.1%
30 ~ 34	7.9%	6.0%	10.8%	9.0%
35 ~ 39	3.9%	2.7%	5.8%	3.2%
40 ~ 44	1.4%	0.5%	2.8%	5.7%
45 ~ 49	2.7%	1.6%	0.7%	1.1%
50 ~ 54	0.0%	0.5%	3.3%	2.6%
55 ~ 59	1.9%	0.5%	1.2%	1.0%
60 ~ 64	0.9%	0.0%	1.4%	0.0%
65 ~ 69	0.0%	0.0%	0.5%	0.0%
70 ~ 74	0.0%	0.0%	0.5%	0.0%
75 ~ 79	0.8%	0.0%	0.7%	0.0%
80 ~ 84	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
85歳以上	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
粗率	2.3%	1.8%	3.2%	2.8%
調整率(2008基準)	3.1%	2.2%	4.9%	3.8%
検定結果 vs2008			p<0.01	p<0.01

男女とも有意に割合が増加した。

## 表9 ギャンブル依存の割合

年齢階級	2008年(n=4123)		2013年(n=4153)	
	男(n=1880)	女(n=2243)	男(n=1869)	女(n=2284)
20 ~ 24	10.1%	1.1%	4.3%	1.6%
25 ~ 29	14.1%	6.0%	10.8%	4.2%
30 ~ 34	12.6%	1.6%	17.2%	5.3%
35 ~ 39	8.7%	4.3%	10.8%	1.9%
40 ~ 44	17.7%	0.5%	14.0%	3.6%
45 ~ 49	12.7%	2.2%	9.2%	0.6%
50 ~ 54	6.5%	1.5%	6.6%	1.0%
55 ~ 59	9.2%	0.9%	7.6%	1.0%
60 ~ 64	9.8%	2.3%	6.9%	1.1%
65 ~ 69	6.3%	0.4%	8.7%	1.9%
70 ~ 74	3.5%	0.6%	4.2%	0.4%
75 ~ 79	3.3%	0.0%	5.9%	0.0%
80 ~ 84	5.7%	0.0%	3.5%	0.0%
85歳以上	0.0%	0.0%	0.0%	2.0%
粗率	9.0%	1.6%	8.0%	1.6%
調整率(2008基準)	9.6%	1.6%	8.8%	1.8%
検定結果 vs2008			p=0.43	p=0.63

男女とも有意な増減が認められなかった。

研究成果の刊行に関する一覧

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書 籍 名	出版社名	出版地	出版年	ページ

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
尾崎米厚	わが国における飲酒行動、アルコール関連問題の現状	Progress in Medicine	33(4)	803-807	2013
尾崎米厚	物質使用障害の疫学	精神科治療学	28(増刊号)	10-15	2013
尾崎米厚	鳥取県の高校生の喫煙・飲酒行動および生活習慣 ～実態調査より～	鳥取県高P連生会報	76	1-2	2013

厚生労働科学研究費補助金（循環器疾患・糖尿病等生活習慣病対策総合研究事業）  
WHO 世界戦略を踏まえたアルコールの有害使用対策に関する総合的研究  
（研究代表者 樋口 進）

平成 25 年度分担研究報告書  
けがと飲酒に関する国際共同研究

分担研究者 松本 博志 大阪大学大学院医学系研究科法医学教室教授

研究要旨

わが国における飲酒と暴力の救急医療との関連や、死因における外傷と飲酒の関係の関連性は  
いまだ不明な点が多い。受診者の飲酒との関連について米国 NIAAA の協力を得て WHO の共同研究  
でのプロトコールに従って実態を解析する。現在国内 3 か所の救命救急センターで臨床研究を  
実施中である。また死亡者と外傷との関係も法医解剖例から解析を行う。2008 年～2011 年の全国 6  
施設における多施設共同研究を実施中である。札幌医大のケースでは法医解剖例において、死亡  
例における外傷と飲酒の関係は有意に飲酒者において外傷受傷が増加することが認められた。

研究協力者

- 石川 和男 大阪府立泉州救命救急センタ  
一副所長
- 片田 竜一 札幌医科大学医学部講師／大  
阪大学大学院医学系研究科講  
師
- 木下 博之 香川大学医学部教授
- 嶋津 岳士 大阪大学大学院医学系研究科  
教授
- 武山 佳明 市立函館病院救命救急センタ  
一長
- 遠山 朋海 久里浜医療センター医師
- 中山 秀紀 久里浜医療センター医員
- 西谷 陽子 熊本大学大学院生命科学部教  
授
- 羽竹 勝彦 奈良県立医科大学医学部教授
- Patricia Chou 米国 National Institute  
on Alcohol Abuse and  
Alcoholism (NIAAA) 研究  
員
- 樋口 進 久里浜医療センター院長
- 藤宮 龍也 山口大学医学部教授
- 真栄里 仁 久里浜医療センター医員
- 松本 博志 大阪大学大学院医学系研究科  
教授
- 喜屋武玲子 札幌医科大学医学部助教

A. 研究目的

外傷と飲酒の関係については、諸外国につい  
てはすべての外傷死の 20%から 30%が飲酒  
に関連していると報告されている<sup>1) 2)</sup>。また、  
故意の損傷では 12.8%が飲酒に関連しており、  
不慮の損傷では 28.3%が飲酒に関連してい  
ると報告されている<sup>3)</sup>。これらから外傷の  
相当数に飲酒が関連していることがわかる。ま  
た、東京都 23 区内の非犯罪死体を取り扱って  
いる東京監察医務院報告では 40%が体内から  
アルコールが検出された<sup>4)</sup>としており、また、  
犯罪あるいは変死体の司法解剖例では 4 分の  
3 からアルコールが検出されたという報  
告<sup>5)</sup>もあり、死因とも関わっていることが予想  
される。一方、WHO の共同研究では、16 カ国の  
救急部での受傷患者解析について受傷 6 時間  
以内に飲酒している割合が 20.9%になること  
を報告し<sup>6)</sup>、Kuendig らも受傷の 6 時間以内の  
飲酒が外傷の 24.7%であることを報告してい  
る<sup>7)</sup>。これらから、欧米において救急医療で受  
診者の 2 割程度が飲酒関連であることが明らか  
となった。しかしながら、諸外国に比べ、アル  
コール代謝酵素多型でアルコール代謝活性が  
諸外国と比較して決して早くないわが国<sup>8)</sup>に  
おいて、外傷死との関連、救急医療での関連に  
ついては未だ明らかではない<sup>9)</sup>。飲酒と暴力の

関係においては、そこで、本分担研究ではわが国の救命救急センターにおける受診者の飲酒との関連について米国NIAAAの協力を得てWHOの共同研究でのプロトコールに従って実態を解析する。また、死亡者と外傷との関係も法医解剖例から解析を行った。

## B. 研究方法

### a. 救急医療における飲酒の影響

#### 1) 対象者

対象は、救命救急センターを外傷が原因で受診し、本研究への参加を同意した20歳以上の者で、受傷してから6時間以内に救急外来を訪れた患者を対象とする。実施場所は市立函館病院救命救急センターと他2施設を予定した。その施設を受診する者を代表するようにサンプリングを行う。外来が混み合い、研究の遂行が困難な場合には、対象者を受診者2名に1名、3名に1名などとすることも可能とする。なお、各施設でのデータ収集は最低500名とし、実施体制は図1のとおりである。現在、北海道の市立函館病院救命救急センターが本プロジェクトへの参加を表明しており、参加病院においては、NIAAAの協力を得て2日～3日のワークショップを開催しプロトコールの内容理解と実践演習を行う。平成23年1月から平成27年12月の5年間で進めている。得られたデータおよび血液、DNA等の検体は研究終了後5年間保存し、以後廃棄する。

#### 2) 研究方法

##### 2-1) 調査員

原則的に2名の調査員（調査員A、調査員B）を研究のために割り当てる。

##### 2-2) 調査票等

調査票はすでに国際共同研究で使用されている英語版調査票を邦訳して使用する（添付文書）。呼気中アルコール濃度測定には、国際共同研究で共通使用されているアルコセンサーIVを使用する。

##### 2-3) 調査手順

① まず、調査員Aが、被験者の選択、研究の説明、患者からの同意取得を行う。同意取得に関しては、研究の説明文書、遺伝子研究の補足説明文書を使用する。また、同意の取得には「けがと飲酒に関する国際共同研究協力同意書」を使用する。

② その後、調査員Bが、まずアルコセンサーで呼気中アルコール濃度の検査を行う。次いで調査票に従って面接調査を行う。その主な内容は以下の通りである。

##### i) 受傷に関する質問

どのように受傷したかについてのいくつかの質問を行う。その際、自傷によるものなら確認する。暴力によるものなら、加害者が誰か、飲酒していたかを質問する。受傷時にどこにいたか、何をしていたかを質問する。

##### ii) けがをする直前の飲酒

受傷、事故の前6時間以内に飲酒したかどうか、もし飲酒していたら、飲酒した時間、何をどれくらい飲んだか、どこで飲んだか、どれくらい酔っていたか、受傷によって飲酒を中止したかどうか、受傷から受診前までに飲酒したかについて尋ねる。

##### iii) いつもの酒の飲み方

最近1年間の飲酒について、思い出してもらい質問をする。普段の飲酒の頻度、量、12ドリンク以上飲酒した日の回数、5-11ドリンク飲酒した日の回数を尋ねる。また、アルコール依存症についての質問、同じ効果を得るために飲酒量を増やす必要があったかどうか、飲酒によって何回怪我をしたか、治療を要する怪我が何回あったかを尋ねる。

##### iv) けがの前日の飲酒

前日のけがをしたのと同じ時刻にどこにいたか、何をしていたか、もし飲酒していたなら何をどれくらい飲んだかを質問する。

##### v) けがのちょうど1週間前の飲酒

1週間前のけがをしたのと同じ時刻にどこにいたか、もし飲酒していたなら何をどれくらい飲んだかを質問する。

#### vi) 飲酒後の反応

飲酒後のフラッシング反応について質問する。

#### vii) 背景情報

教育歴、仕事についているかを尋ねる。患者が嫌がらなければ、収入を尋ねる。

#### 2-4) 採血 (オプション)

遺伝子解析について同意を得られた場合において、ADH (alcohol dehydrogenase)、ALDH2 (aldehyde dehydrogenase-2) 等の遺伝子のタイピングを行うための採血を行う。

3) プロコールについては、添付資料を掲載した。国際共同研究に用いられたプロトコルを久里浜アルコール症センターで翻訳したものを使用する。

4) 以上の研究については、平成 22 年度に久里浜アルコール症センター遺伝子倫理委員会、札幌医科大学倫理委員会の承認を、平成 23 年度には市立函館病院救命救急センター、大阪府立泉州救命救急センターの承認をすでに得た。今後、多施設共同研究を大阪大学医学倫理委員会に申請中である。

### C. 研究結果

実施施設として市立函館病院救命救急センターについては、すでに平成 22 年 9 月 27 日から 3 日間ワークショップを開催済みである。その内容は NIAAA の Chou 博士によるレクチャーとワークショップであり、平成 23 年度からは実施施設として、市立函館病院救命救急センター、大阪府立泉州救命救急センターでの臨床研究が承認され、実施中である。ただ、これらの施設において問題点が浮かび上がってきた。救急外来において最も多い内因性の疾患であること、外傷事例が極めて少ないことである。NIAAA の共同研究基準つまり一施設 500 例を満たすには数年以上かかる可能性が出てきた。そこで、外国と異なり日本においては施設間差違が少ないことからさらなる多施設共同研究を検討中である。

一方、死因における外傷と飲酒の関係につい

ては 2008 年～2011 年の全国 6 施設における多施設共同研究を実施中であり、各大学の倫理委員会の承認を得ている (図 2)。ちなみに、札幌医大のケースを挙げると下記の図 3 に示すように、法医解剖例において、死亡例における外傷と飲酒の関係は有意に飲酒者において外傷受傷が増加することが認められている。

### D. 考察

この研究によって初めてわが国の救急医療の外傷患者における飲酒の実際が明らかになるとともに死亡例における飲酒のおよぼす影響がはじめて明らかになる。このことは WHO にデータ提供等を行えるとともに、諸外国との比較はもとより、医療行政施策における飲酒対策ももちろんのこと、他の行政機関の飲酒対策の施策に役立つものと期待される。

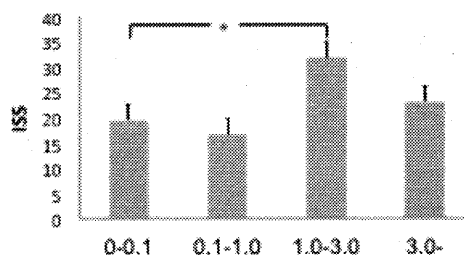


図 3

血中アルコール濃度の外傷スコアの関係。X軸は血中アルコール濃度 (mg/ml)。\*は群間で 5%有意で異なることを示す。

### 参考文献

#### 文献

- 1) Honkanen, R. (1993) Alcohol in home and leisure injuries. *Addiction*, 88, 939-944.
- 2) Cherpitel, C.J. (1993) Alcohol and injuries: a review of international emergencyroom studies. *Addiction*, 88, 923-937.

3) Room, R., Babor, T. & Rehm, J. (2005) Alcohol and public health. Lancet, 365, 519-530.

4) 水上創. 薬毒物と死. 第12回東京都監察医務院公開講座 平成16年10月23日.

<http://www.fukushihoken.metro.tokyo.jp/kansatsu/kouza/files/12-mizukami.pdf>

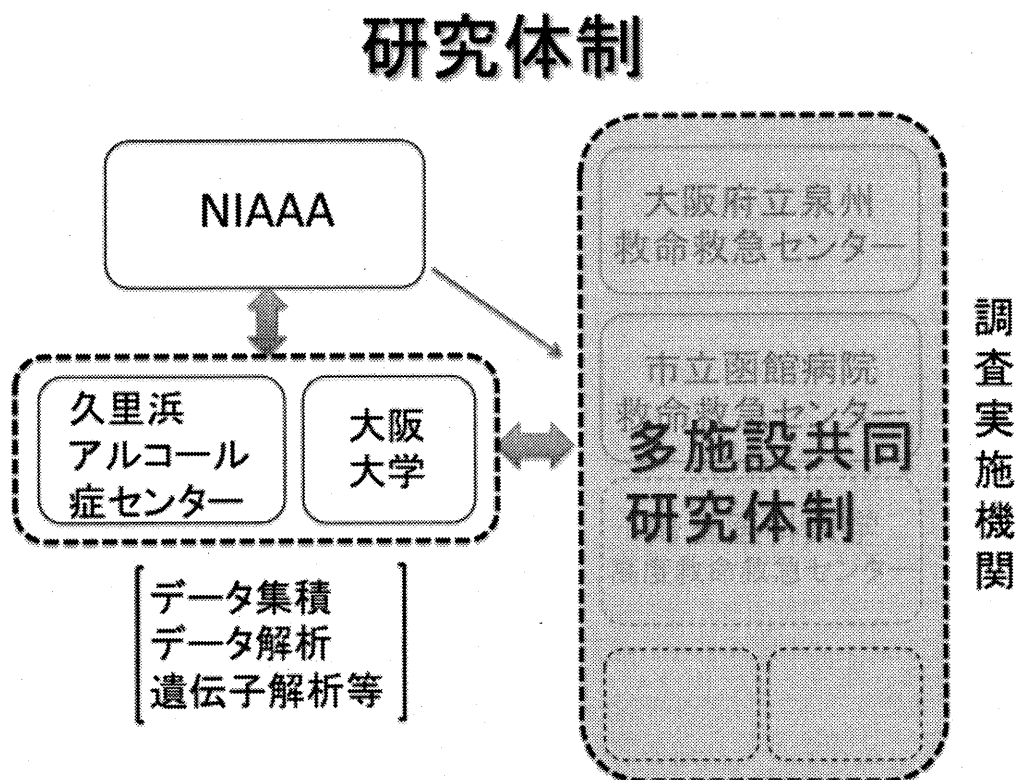
5) Cherpitel, C. J., Bond, J. YeY., Borges, G., Macdonald, S. & Giesbrecht, N. (2003) A cross-national meta-analysis of alcohol and injury: data from the Emergency Room Collaborative Alcohol Analysis Project (ERCAAP). Addiction, 98, 1277-1286.

6) Kuendig, H., Hasselberg, M., Gmel, G., Daepfen, J-B., Laflamme, L. Acute and usual drinking among emergency trauma patients: a study on alcohol consumption and injury pattern. Inj Prev (2009) 15, 270-274.

7) 松本博志. アルコールの基礎知識. 日本アルコール・薬物医学会雑誌 (2011) 46, 146-156.

8) 松本博志. 交通被害者と飲酒. 日本アルコール・薬物医学会雑誌 (2011) 46, 140-145.

図1 研究協力体制



## 外傷者死亡例の分析

### 司法解剖例

血中アルコール濃度  
外傷の程度 ISS分類  
外傷と死因との因果関係  
受傷から死亡までの時間  
受傷時の状況、意識状態  
医療機関受診の有無

2,000例の解析

札幌医科大  
奈良県医大  
大阪大学  
香川大  
山口大  
熊本大

### 3. アルコール代謝酵素多型と飲酒マーカー濃度の関係

札幌医科大学医学部法医学講座

松本 博志 石坂 篤 水尾 圭祐 片田 竜一  
岡崎俊一郎 兵頭 秀樹 渡邊 智

#### 1. はじめに

飲酒の証明については、呼気、血中、尿中のエタノール濃度を測定することで行われてきている。しかしながら、体内エタノール濃度が検出限界以下であった場合、以前の飲酒を証明できない。そこで、20世紀末より、ヨーロッパを中心に直近の飲酒を証明するマーカーの検討がなされてきた。現在のところ、5-ヒドロキシトリプトファン(5-hydroxytryptophol)<sup>1)</sup>、エチルグルクロニド(ethyl glucuronide)<sup>2),3)</sup>、エチルサルフェート(ethyl sulfate)<sup>4)</sup>、脂肪酸エチルエステル(fatty acid ethyl ester)<sup>5)</sup>等が有効なことが報告されており、特に、エチルグルクロニド<sup>6)</sup>、エチルサルフェート<sup>3)</sup>、脂肪酸エチルエステル<sup>7)</sup>については毛髪を用いた解析にも使用されている。これらの内、5-ヒドロキシ5-ヒドロキシトリプトファンはアルコール代謝酵素によるトリプトファンの産物で、エチルグルクロニド、エチルサルフェート、脂肪酸エチルエステルは非酸化的代謝産物である。

一方、アルコール代謝酵素には多型があることが知られており、特に欧米人と日本人とはその頻度等が大きく異なることが知られている。たとえばADH1Bについては、日本人はADH1B2が多いのに対し、欧米系、アフリカ系はADH1B1が多い。また、ADLH2については日本人の40%が

酵素活性の乏しい異型であることが知られている。

以上のことを考慮すると、欧米で使用されているこれらのアルコールマーカーが日本人に適用可能か検討する必要がある。そこで、今回は非酸化的代謝産物の一つであるエチルグルクロニドに着目し、剖検より得られた試料の内、血液、尿等から酵素多型とマーカー濃度について検討した。

#### 2. 材料と方法

##### (1) 材 料

剖検試料についてはランダムに抽出した連結匿名化された9例を対象とし、その右心血、膀胱内尿を試料とした。

##### (2) 方 法

##### 1) アルコール測定

エタノールについては既報<sup>8)</sup>にしたがって、気化平衡GC法で行った。カラムはDB-ALC2(アジレント社)で、キャリアガスはHe、流速40 mL/min、カラム温度50℃、気化平衡オートサンプラーはHS-40(パーキンエルマー社)で55℃で20分平衡化した後、GCに注入した。GCはGC-14A(島津製作所)で、FIDで検出した。注入温度は150℃、検出温度は200℃である。

##### 2) エチルグルクロニド測定

エチルグルクロニドについては既報<sup>2)</sup>にしたがって、LC-MS法で測定した。使用したLCはProminence UFLC(島津製作所)である。使用し

Relationship between urine ethyl glucuronide and alcohol metabolic enzyme polymorphisms

Hiroshi Matsumoto, Atsushi Ishizaka, Keisuke Mizuo, Ryuichi Katada, Shunichiro Okazaki, Hideki Hyodo, Satoshi Watanabe, Department of Legal Medicine and Molecular Alchology Sapporo Medical University School of Medicine.



表1 体内エタノール濃度, 尿中エチルグルクロニド濃度, アルコール酵素多型の一覧

ID	血中エタノール濃度 (mg/mL)	尿中エタノール濃度 (mg/mL)	尿中エチルグルクロニド (mg/L)	代謝酵素多型		
				ADH1B	ADH1C	ALDH2
1	0.183	0.898	0.354	2/2	1/1	1/1
2	1.654	1.245	0.982	2/2	1/1	1/1
3	0.567	1.334	0.856	1/2	1/1	1/1
4	0.034	0.654	0.432	2/2	1/1	1/2
5	2.894	0.234	0.245	1/1	1/1	1/1
6	0.009	0.016	0.226	2/2	1/1	1/2
7	0.008	0.012	0.070	2/2	1/1	1/1
8	0.567	0.456	0.095	2/2	1/1	1/1
9	0.134	0.234	0.889	1/2	1/1	1/2

たカラムは Synergi 4u Polar-RP80A (250x2.0 mm) で, 移動層は 0.1% ホウ酸とアセトニトリルで流速 0.4 ml/min で行った. MS は LC-MS2010 EV (島津製作所) である. 試料については, 標準物質として ethyl glucuronide-d5 (東京化成) を 0.5 mg/L になるように調整して用いた.

### 3) アルコール代謝酵素多型

アルコール代謝酵素多型については, 血液より DNA 抽出キット QiAamp DNA Blood Mini Kit (キアゲン社) で DNA を抽出した. PCR プライマーについては既報<sup>9)</sup>に従って, ADH1B に対して,

Forward 5'-ATTCTTTTCTGAATCTGAACA-3'  
Reverse 5'-GAAGGGGGTCCACAGGTTG-3'

ADH1C に対して,

Forward 5'-GCTTTAAGAGTAAATAATCTGTC  
CCC-3'  
Reverse 5'-AATCTACCTCTTCCAGAGC-3'

を用いて, PCR 増幅後, ADH1B の産物については, 55°C で MaeIII にて, ADH1C に対する産物に対して 37°C で SspI にて溶解させ, アガロースゲルで電気泳動を行って型判定を行った. ALDH2 については, 同様に既報<sup>10)</sup>にしたがって,

Forward 5'-CAAATTACAGGGTCAAGGGCT-3'  
Reverse 5'-CCCACTCACAGTTTTCTCTT-3'

を用いて, PCR 増幅を行って, その産物を 37°C で MboII で溶解した後, アガロースゲルで電気泳動を行って判定した.

以上については, 札幌医科大学倫理委員会の承認を得ている.

### 3. 結果と考察

表1に今回検討した剖検試料についての結果を示す. 血中濃度が 0.1 mg/mL 以上あったケースにおいては1例を除き尿中エチルグルクロニドが 0.2 mg/mL 以上検出された. その1例については ID 番号 8 で, 血中が 0.567 mg/mL, 尿中が 0.456 mg/mL 検出されているが, 他のアルコールのピークも認められ, 死後産生と考えられる. したがって, その場合はアルコール飲料の摂取がなく, エチルグルクロニドが生成されなかったと考えられる. ID 番号 1 および 9 については血中濃度は 0.1 mg/mL 台ではあるが, 一方は尿中エタノール濃度が 0.898 mg/mL と高く, アルコール飲料を摂取して排出期にあると推定されるのに対し, ID 番号 9 では尿中エタノール濃度は 0.234 mg/mL とさほど高くなく明確にアルコール飲料を摂取していたとは言えない. しかしながら, 尿

中エチルグルクロニドは ID 番号 1 が 0.354 mg/L, ID 番号 9 が 0.889 mg/L となっており血中および尿中濃度と矛盾する。尿中エチルグルクロニドは慢性大量飲酒者では高いことが知られている<sup>11)</sup>。それを考慮すると ID 番号 9 は慢性の大量飲酒者である可能性を示唆しているが、実際に資料によれば毎日を大量に飲酒していた記載があり、それが裏付けられたものと考えられる。ID 番号 6 および 7 はいずれも血中および尿中濃度が内因性の産生を示唆させる濃度であったが、ID 番号 6 においては尿中エチルグルクロニドが 0.226 mg/L と比較的高く、死亡の 1 日前後の間に飲酒した可能性を示唆させる。また、血中エタノール濃度と尿中エチルグルクロニド関係では、傾向として相関関係はないのに対し、尿中エタノール濃度とはほぼ正の相関関係にあった。アルコール代謝酵素多型との関係では今回は例数が少ないため統計学的な解析は行えなかった。ADH1B については 1/1 というのが低活性型、2/2 というのが高活性型であることが知られている<sup>12)</sup>。可能性として低活性型においては飲酒後比較的長期にわたって検出されるかも知れない。また、ALDH2 の異型タイプにおいてもアセトアルデヒドが蓄積するためエタノール代謝が進まないことが知られている。このことを考慮すると、ADH1B 1/1 で ALDH2 1/2 タイプの人は飲酒後比較的長く尿中エチルグルクロニドが検出される可能性が推定される。

#### 文 献

- 1) Helander A, von Wachenfeldt J, Hiltunen A, Beck O, Liljeberg P, Borg S. Comparison of urinary 5-hydroxytryptophol, breath ethanol, and self-report for detection of recent alcohol use during outpatient treatment: a study on methadone patients. *Drug Alcohol Depend* 1999;56:33-38.
- 2) Schmitt G, Aderjan R, Keller T, Wu M. Ethyl glucuronide: an unusual ethanol metabolite in humans. Synthesis, analytical data, and determination in serum and urine. *J Anal Toxicol* 1995;19:91-94.
- 3) Morini L, Marchei E, Vagnarelli F, Garcia Algar O, Groppi A, Mastrobattista L, Pichini S. Ethyl glucuronide and ethyl sulfate in meconium and hair: potential biomarkers of intrauterine exposure to ethanol. *Forensic Sci Int* 2010;196:74-77.
- 4) Helander A, Beck O. Ethyl sulfate: a metabolite of ethanol in humans and a potential biomarker of acute alcohol intake. *J Anal Toxicol* 2005;29:270-274.
- 5) Lange LG, Sobel BE. Myocardial metabolites of ethanol. *Circ Res* 1983;52:479-482.
- 6) Agius R, Nadulski T, Kahl HG, Dufaux B. Ethyl glucuronide in hair - A highly effective test for the monitoring of alcohol consumption. *Forensic Sci Int* 2012;218:10-14.
- 7) Pragst F, Yegles M. Determination of fatty acid ethyl esters (FAEE) and ethyl glucuronide (EtG) in hair: a promising way for retrospective detection of alcohol abuse during pregnancy? *Ther Drug Monit* 2008;30:255-263.
- 8) Matsumoto H, Fujimiya T, Fukui Y. Role of alcohol dehydrogenase in rat ethanol elimination kinetics. *Alcohol Alcohol Suppl* 1994;29:15-20.
- 9) Xu YL, Carr LG, Bosron WF, Li TK, Edenberg HJ. Genotyping of human alcohol dehydrogenases at the ADH2 and ADH3 loci following DNA sequence amplification. *Genomics* 1988;2:209-214.
- 10) Harada S, Zhang S. New strategy for detection of ALDH2 mutant. *Alcohol Alcohol Suppl* 1993;1A:11-13.
- 11) Dahl H, Voltaire Carlsson A, Hillgren K, Helander A. Urinary ethyl glucuronide and ethyl sulfate testing for detection of recent drinking in an outpatient treatment program for alcohol and drug dependence. *Alcohol Alcohol* 2011;46:278-282.
- 12) Zakhari S. Overview: how is alcohol metabolized by the body? *Alcohol Res Health* 2006;29:245-254.

## ORIGINAL ARTICLE

## Experimental rat model for alcohol-induced osteonecrosis of the femoral head

Shunichiro Okazaki<sup>\*,†</sup>, Satoshi Nagoya<sup>\*</sup>, Kenji Tateda<sup>†,‡</sup>, Ryuichi Katada<sup>†</sup>, Keisuke Mizuo<sup>†</sup>, Satoshi Watanabe<sup>†</sup>, Toshihiko Yamashita<sup>†</sup> and Hiroshi Matsumoto<sup>†</sup>

<sup>\*</sup>Department of Musculoskeletal Biomechanics and Surgical Development, School of Medicine, Sapporo Medical University, Sapporo, Japan, <sup>†</sup>Department of Legal Medicine and Molecular Alcoholology, School of Medicine, Sapporo Medical University, Sapporo, Japan and <sup>‡</sup>Department of Orthopedic Surgery, School of Medicine, Sapporo Medical University, Sapporo, Japan

INTERNATIONAL  
JOURNAL OF  
EXPERIMENTAL  
PATHOLOGY

### SUMMARY

Alcohol-induced osteonecrosis of the femoral head (ONFH) is observed in alcohol abusers and patients with alcoholic fatty liver disease. It has been reported that Toll-like receptor 4 (TLR4) signalling plays a crucial role in the pathogenesis of alcoholic fatty liver disease. We previously reported a corticosteroid-induced ONFH rat model, and suggested that TLR4 signalling contributes to the pathogenesis of ONFH. Thus, it is thought that the pathogenesis of alcohol-induced ONFH is probably similar to that of corticosteroid-induced ONFH. The aim of this study was to develop a new animal model for alcohol-induced ONFH and to evaluate the relationship between the pro-inflammatory response via TLRs and the development of ONFH in rats. Male Wistar rats were fed a Lieber–DeCarli liquid diet containing 5% ethanol (experimental group) or dextran (control group) for 1–24 weeks. Histopathological and biochemical analyses were performed. Feeding the ethanol-containing liquid diet resulted in the development of ONFH with hepatic steatosis, hepatic dysfunction and hyperlipidaemia, whereas feeding the dextran-containing diet did not cause ONFH. However, we could not recognize any relationship between the pro-inflammatory response via TLR4 and the development of alcohol-induced ONFH. Thus in this study we have developed a new rat model for alcohol-induced ONFH based on the feeding of an ethanol liquid diet. ONFH was observed within seven days from the start of feeding with 5% ethanol-containing liquid diet. Although this was linked to hepatic steatosis, a TLR4 association was not a feature of this model.

doi: 10.1111/iep.12035

This is an open access article under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial License, which permits use, distribution and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited and is not used for commercial purposes.

Received for publication: 19 September 2012  
Accepted for publication: 5 June 2013

#### Correspondence:

Shunichiro Okazaki  
Department of Musculoskeletal Biomechanics and Surgical Development  
Department of Legal Medicine and Molecular Alcoholology  
Sapporo Medical University School of Medicine  
S-1 W-17  
Chuo-ku  
Sapporo 060-8556  
Japan  
Tel.: +81 11 611 2111, ext. 2759  
Fax: +81 11 611 3935  
E-mail: oka@sapmed.ac.jp

#### Keywords

alcohol, animal model, femoral head osteonecrosis, toll-like receptor

Non-traumatic osteonecrosis of the femoral head (ONFH) has been regarded as a complication of corticosteroid therapy with inflammatory disease or alcohol abuse (Abeles *et al.* 1978; Mont *et al.* 2006). However, the pathogenesis of alcohol-induced ONFH has not been clarified apart from epidemiological investigations referring to ONFH. The risk of alcohol-induced ONFH was increased by an alcohol intake dose and drinking period (Hirota *et al.* 1993). Furthermore, most drinkers who develop ONFH also contract

alcoholic fatty liver disease (McClain *et al.* 2004; Lucey *et al.* 2009). The pathogenesis of alcoholic fatty liver disease has been studied using experimental rat and mouse models fed on an alcohol-containing liquid diet, especially the Lieber–DeCarli liquid diet (Lieber *et al.* 1989). Further, it has been reported that the Toll-like receptor 4 (TLR4) signalling pathway plays a crucial role in the pathogenesis of alcoholic fatty liver disease (McClain *et al.* 2004; Hritz *et al.* 2008). On the other hand, Ichiseki *et al.* 2011

© 2013 The Authors.

International Journal of Experimental Pathology published by John Wiley & Sons Ltd.

reported oxidative stress-induced ONFH in a rat model and demonstrated that glutathione level acts as an index of oxidative stress-induced changes in the liver. Further, we previously reported that the disturbance of liver function was observed in patients with corticosteroid-induced ONFH (Okazaki *et al.* 2013) and that corticosteroid treatment after an injection of lipopolysaccharides (LPS), a ligand for TLR4, induced ONFH with fatty liver in rats, suggesting that TLR4 signalling contributes to the pathogenesis of corticosteroid-induced ONFH in rat (Okazaki *et al.* 2009). These reports indicate that any liver damage (fatty liver, liver function, oxidative stress) may contribute to the pathogenesis of non-traumatic ONFH, as Solomon reported that the pathogenesis of alcohol-induced osteonecrosis is probably similar to that of corticosteroid-induced osteonecrosis (Solomon 1985). Therefore, we focused on alcoholic fatty liver disease to develop an alcohol-induced ONFH animal model. We hypothesized that the feeding of this alcohol-containing liquid diet would cause ONFH in rats and that TLR4 signalling may play any role in the development of alcohol-induced ONFH in rats. In this study, to clarify the above hypothesis, we evaluated the relationship between the pro-inflammatory response via TLR4 signalling and the development of ONFH in rats fed with an ethanol-containing liquid diet.

## Materials and methods

### Animals and ethanol feeding

Male Wistar rats (6 weeks of age) were obtained from the Sankyo Labo Service Co., Ltd. (Sapporo, Japan) and housed individually in a temperature- and humidity-controlled room with a 12-h light/dark cycle. Ninety-four rats were divided into two groups. The alcohol group received the Lieber-DeCarli liquid diet (Lieber *et al.* 1989) (ORIENTAL YEAST Co., Ltd., Tokyo, Japan) containing 5.0% (weight/volume) ethanol (35% ethanol-derived calories) for 1, 2, 3, 4, 6 and 24 weeks. Control rats were pair-fed the same liquid diet without ethanol (the ethanol was replaced with dextran-maltose isocalorically) for the same periods as the alcohol group. All rats were fed the control liquid diet *ad libitum* for 1 week prior to the start of experiments. To accustom the alcohol group rats to the alcohol-containing liquid diet, they were fed with the alcohol-containing liquid diet (1.0–4.0% ethanol) *ad libitum* for 1 week prior to the start of experiments. The rats were weighed each day. The rats in the alcohol group were allowed unrestricted access to the alcohol-containing liquid diet. The intake of the pair-fed control rats was strictly limited to the amount ingested on the previous day by the pair-matched ethanol-fed rats to ensure that the calorie intakes of the two groups were the same. After pair feeding, the rats were sacrificed. Blood was collected from the inferior vena cava at the time of sacrifice and immediately centrifuged. The supernatant was stored as platelet-rich plasma (PRP) at  $-84^{\circ}\text{C}$  until analysis. The femur and liver were harvested and fixed with a 10% formalin-0.1 M phosphate buffer (pH 7.4).

### Ethical approval

All experiments were performed in accordance with the guidelines of the Ministry of Sports, Culture, Science and Technology, Japan. They also followed protocols that were approved by the Animal Care and Use Committee, Sapporo Medical University School of Medicine (Approval Number: 09-008).

### Histopathology

Bone specimens of the femur were decalcified with Kalkitox™ (Wako Pure Chemical Industries, Ltd. Osaka, Japan) and then neutralized with sodium sulphate buffer. A small section of the liver or femur was dissected and fixed with a 10% formalin-0.1 M phosphate buffer (pH 7.4). The tissues were then processed for routine haematoxylin and eosin staining. Osteonecrosis was defined as the presence of diffuse empty lacunae or pyknotic osteocytic nuclei in the bone trabeculae accompanied by and surrounding bone marrow cell necrosis, as described previously (Yamamoto *et al.* 1997; Ichiseki 2006; Okazaki *et al.* 2009; Tateda *et al.* 2012).

### Biochemical assay

The PRP concentrations of aspartate aminotransferase (AST), alanine transaminase (ALT), triglyceride (TG), total cholesterol (TC) and high-density lipoprotein (HDL) were measured using a SPOTCHEM® D system (ARKRAY, Inc., Kyoto, Japan) in accordance with the manufacturer's instructions.

### Electrophoretic mobility shift assay

NF- $\kappa$ B, Interferon (IFN) regulatory factor 3 (IRF3) and IRF7 are signal transcription factors related to the pro-inflammatory response via TLR4 signalling. The activation of transcription factors in the liver was assessed by Electrophoretic mobility shift assay (EMSA) as described previously (Matsumoto *et al.* 2002). Briefly, equal amounts of liver nuclear extracts (2 mg of protein) were incubated for 1 h at room temperature with  $^{32}\text{P}$ -labelled NF- $\kappa$ B, IRF3 and IRF7 double-strand consensus oligonucleotide probes (NF- $\kappa$ B: 5'-AGTTGAGGGGACTTTCCCAGGC-3'; IRF3: 5'-GAAAGCGAAACTGAAACTGACT-3'; IRF7: 5'-ACTGATCGGAA CCGAACGATCTATG-3'). The probe labelled with  $^{32}\text{P}$ - $\gamma$ [ATP] [adenosine triphosphate (ATP)] and nuclear protein were mixed in the binding buffer (10 mM HEPES [pH 7.9] [4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazineethanesulfonic acid (HEPES)], 50 mM KCl, 0.2 mM ethylenediaminetetraacetic acid, 2.5 mM dithiothreitol and 10% glycerol, 0.05% NP-40). The DNA-protein complexes were separated on 7% non-denaturing polyacrylamide gels at a constant voltage of 100 V at room temperature. The gels were then exposed to an Image Plate (Fuji Film, Co., Tokyo, Japan) at room temperature. The radioactivity of individual bands on the gel was analysed using an FLA3000 Image Analyzer