

氏名(本籍)	吉原英児(神奈川県)
学位の種類	博士(学術)
学位記番号	乙第1号
学位授与の要件	学位規則第3条第3項該当
学位論文題名	ALDH2 (ALDH2 * 1/2) と CYP2E1 (c1/c2, C/D) の遺伝子多型がアルコール代謝速度におよぼす影響およびアルコール依存症におけるセロトニンレセプターの遺伝子型 (HTR2 Msp I 多型) について
論文審査委員	(主査) 松田基夫 (副査) 山本静雄 佐俣哲郎 岩橋和彦

論文内容の要旨

はじめに

飲酒時の顔面紅潮、頭痛などといった症状はアセトアルデヒドが原因であり、その代謝酵素であるALDH2が関与している。すなわちALDH2の不活性型を示すALDH2 * 2遺伝子をもつフラッシュャーは、この遺伝子をもたないノンフラッシュャーよりアルコール依存症に発展しにくいことが知られている。また、岩橋らはALDH2遺伝子のヘテロ接合体保持者(フラッシュャー)の中でも平均飲酒量や最大飲酒量にかなりの個体差があることに着目し、アルコールによって誘導されアルコールをアセトアルデヒドに代謝する酵素といわれているCYP2E1がこの事実に関連している可能性があることを報告している。しかしながら、CYP2E1の遺伝子多型に関しては、未だに遺伝子を発現させて、この多型が酵素活性に影響することを証明した報告はない。そこで本研究ではALDH2とCYP2E1のc1/c2およびC/D遺伝子多型がアルコール代謝速度に及ぼす影響について検討した。

また一方、アルコール代謝以外にもアルコール依存へのリスクファクターが存在する可能性が指摘され、Lalらはセロトニンレセプター(HTR2)が不安症状やアルコール離脱症状とに関連があることを示唆している。そこでこの研究ではHTR2の遺伝子多型(c1/c2)とアルコール依存症との相関の有無についても検討した。

材料および方法

血中アルコールおよびアセトアルデヒド濃度の測定：CYP2E1遺伝子型が異なる(c1/c2, C/Dとc1/c1, D/D)以外、ADH2、ADH3およびALDH2遺伝子型はすべて同じである組、同様にADH2遺伝子型が異なる(ADH2 * 1/1とADH2 * 1/2)以外はすべて同じ遺伝子型の組、およびALDH2遺伝子

型が異なる ($ALDH2 * 1/1$ と $ALDH2 * 1/2$) 以外はすべて同じ遺伝子型の組、計3組6人のボランティア (飲酒歴10年以上、年齢29-35歳、体重50-65kg) を対象にした。実験開始前24時間の禁酒、3時間前に同じ食事をとった後、エタノール (0.20g/kg) を生理食塩水で20倍希釈して30分間かけて静脈内投与した。投与直前から180分後まで経時的に採血し、ガスクロマトグラフィーにて血中エタノールとアセトアルデヒド濃度を測定した。血中アルコールおよびアセトアルデヒド消失曲線の回帰式より95%信頼限界の曲線を求め、その重なるの有無によって有意差を判定した。

アルコール依存症とセロトニンレセプター遺伝子型：DSM-III-R criteriaでアルコール依存と診断された入院患者の男性73名と健常者の男性55名を対象に、実験の説明を行い同意を得て採血した。所定の方法によりDNAを抽出精製し、PCR法およびRFLP法にてHTR2の遺伝子多型 ($c1/c2$) について分析した。 $c1/c2$ 遺伝子の頻度がアルコール依存症群で有意に高いかどうかをカイ二乗検定により調べた。

結果および考察

CYP2E1の遺伝子型のみが異なる組合せでは、 $c2$ およびC対立遺伝子を持つボランティア ($c1/c2$, C/D) より、これらの遺伝子を持たないボランティア ($c1/c1$, D/D) の方が有意に高い血中エタノールおよびアセトアルデヒド濃度を示した。同様に $ALDH2 * 2$ を持つボランティア ($ALDH2 * 1/ALDH2 * 2$) の血中エタノールおよびアセトアルデヒド濃度は、 $ALDH2 * 2$ を持たないボランティア ($ALDH2 * 1/ALDH2 * 1$) より有意に高かった。しかしながら $ADH2 * 1$ を持たないボランティア ($ADH2 * 2 /ADH2 * 2$) の血中エタノールおよびアセトアルデヒド濃度は、 $ADH2 * 1$ を持つボランティア ($ADH2 * 1/ADH2 * 2$) と有意差がなかった。従ってエタノール代謝モデルに関する統計学的推論から $ALDH2 * 1$ および $c2$ あるいは C 対立遺伝子が、発現タンパク質レベルで、エタノール代謝に有意な影響を持つことが明らかになった。

またHTR2の Msp I多型を調べたところ、 $c1$ および $c2$ 対立遺伝子頻度はアルコール依存症患者群でそれぞれ0.52および0.48であったのに対し、健常者群では同じく0.56および0.44であった。両群において出現頻度に差があるかどうかカイ二乗検定したところ、有意差はなかった ($\chi^2=0.47$, $df=1$, $p>0.05$)。さらに遺伝子型 ($c1/c1$, $c1/c2$ および $c2/c2$) の出現頻度についても同様に検定を行ったが有意差はなかった。HTR2はハロペリドールに反応しにくい精神分裂病に効果を示すクロザピンや、うつ病に効果を示す抗うつ薬のターゲットの一つである。そこでこの遺伝子の Msp I 遺伝子多型が不安という症状を介してアルコール依存の発症または持続に関与しているかどうか検討したが、本研究の結果からは Msp I 遺伝子多型とアルコール依存症との関連は見いだされなかった。

論文審査の結果の要旨

本「博士の学位論文」として提出されている論文は、アルコール代謝酵素がアルコール依存症に及ぼす影響、及び神経伝達物質のセロトニンのレセプター遺伝子の多型がアルコール依存症に発展する脆弱性に影響を及ぼすか否かを解明するために行われた研究に関するものである。

まず、アルコール代謝酵素ADH2（アルコール脱水素酵素、遺伝子多型ADH2 * 1/2）、ALDH2（アルデヒド脱水素酵素、ALDH2 * 1/2）そしてCYP2E1（シトクロムP450、c1/c2）の遺伝子多型のうち、従来よりALDH2のALDH2 * 2遺伝子をヘテロ、ホモのいずれでも持つ者が、飲酒時のフラッシング反応（顔面紅潮）を起こし、この遺伝子を持たないノンフラッシャーよりアルコール依存症に発展しにくいことが指摘されて来た。そこで、今回の生体実験では、ALDH2 * 2遺伝子を持つ検体の場合、体内にエタノールを静注すると、ALDH2 * 1遺伝子しか持たない検体に比べて、血中エタノール及びアルデヒド濃度の消失速度が有為に遅く、ALDH2 * 2遺伝子を持つ者は体内にエタノールやアルデヒドを蓄積しやすいことが*in vivo* で検証された。また、同じALDH2 * 2遺伝子を持つ者でも、CYP2E1のc2遺伝子を持つ者は持たない者に比べて、エタノールやアルデヒドの体内消失速度が早いことも明らかとなった。

この様な結果は、同じフラッシャー（ALDH2 * 2保持者）でもCYP2E1のc2遺伝子を持つ者は持たない者に比べて、多少飲酒が可能であることを示唆している。

実際のアルコール依存症患者においては、大部分がALDH2 * 2を持っていないこと（アルコール依存症のほぼ90%以上がALDH2 * 2を持っていない）、及び今回の研究で、ALDH2 * 2遺伝子を持つ者がエタノール摂取後に血中エタノール及びアルデヒド濃度が下がりにくく、顔面紅潮や不快感を呈したことから、「ALDH2 * 2はフラッシング反応を起こすことにより、アルコール依存症の抑制因子となる」という説が支持されたこととなる。なお、ALDH2 * 1/2遺伝子多型については、血中エタノール及びアルデヒドに影響しないことも確認された。

CYP2E1については、アルコール飲酒によってこの酵素自身が誘導されることも明らかにされており、後天的に飲酒量が増えることもこのCYP2E1c2遺伝子と関連がある可能性が考えられる。

ついで、うつ病などの感情の障害で、その原因の一つと推測されている、神経伝達物質の一つセロトニンのレセプターと、人格障害がその発展に関与しているのではないかという指摘もあるアルコール依存症との関連について検討した。本論文中で明らかにしている様に、セロトニンレセプター2型（ヒトセロトニン受容体、HTR2）のc1/c2遺伝子型の内、どちらかのタイプがアルコール依存症に有為に高頻度で表われれば、その遺伝子型がアルコール依存症への発展（発病）のリスクファクターの一つであると考えられるのだが、結果としては、健常人のコントロールと比較しても、遺伝子頻度に有為差が認められず、本遺伝子型はアルコール依存症のリスクファクターではないと判断された。

この様に、本研究結果から、1) ALDH2 * 2は飲酒後エタノール及びアセトアルデヒドの血中濃度の消失を遅らせ、そのことにより、顔面紅潮や頭痛不快感を増幅させ、このことによりアルコール依存症の予防因子にもなり得ること、2) CYP2E1のc2遺伝子もアルコール代謝に関係し、同じフラッシャーでも飲酒量に差異が出来るのは、この遺伝子の影響であると推測されること、そして3) 感情面から解析した、HTR2レセプターの遺伝子多型とアルコール依存症の間には関連がないこと、が明らかとなった。

以上の様に、分子生物学的及び酵素学的手法を駆使して展開された本研究論文はアルコール依存症

の機序解明のための有力な一助となることは明らかであり、博士（学術）の学位を授与するにふさわしいものと、本博士論文審査員一同判断した。