

氏名(本籍)	成田 心(秋田県)
学位の種類	博士(学術)
学位記番号	甲第 32 号
学位授与年月日	平成 30 年 3 月 15 日
学位授与の要件	学位規則第 3 条第 2 項該当
学位論文題名	The contribution of autism susceptibility candidate 2 and <i>N</i> -methyl-D-aspartate receptor subunit 2B gene polymorphisms to individual differences in alcohol dependence vulnerability and personality traits
論文審査委員	(主査) 岩橋 和彦 (副査) 古畑 勝則 島田 章則

論文内容の要旨

本研究では、テーラーメイド医療の一助となることを目的とし、アルコール依存脆弱性や人格特性の個人差にかかわる遺伝的要因の解明のため、遺伝子多型解析による検討を行った。その概要は以下の通りである。

アルコール依存症はアルコール消費に対する制御喪失を伴う薬物依存の一形態であり、その発症脆弱性には遺伝的関与が認められる。これまでの研究から、不安や快情動に関わる脳内報酬システムの異常がアルコール依存形成に繋がるということが指摘されている。脳神経系の発達に重要な役割を担うとされる autism susceptibility candidate 2 (AUTS2) は自閉症をはじめとする種々の精神疾患に広く関与することが知られている。最近の研究では、AUTS2 遺伝子 (AUTS2) 上に存在する rs6943555 多型が薬物依存症の一種であるヘロイン依存に関与することが報告され、さらにゲノムワイド関連解析のメタ解析において同多型が個人のアルコール消費量にも影響を与えることが明らかとなった。また、グルタミン酸受容体の一種である *N*-methyl-D-aspartate (NMDA) 受容体は脳内におけるエタノールの主要な作用部位の一つとされ、そのサブユニットとして知られる NMDA 受容体サブユニット 2B (GluN2B) は慢性エタノール曝露によりその発現が増加することが報告されている。さらに、他国における研究では GluN2B 遺伝子 (*GRIN2B*) の多型やハプロタイプがアルコール依存症に関与することが確認された。以上の点から、両遺伝子の脳内報酬システムへの寄与が疑われる。本研究では、AUTS2 および *GRIN2B* 上に存在する機能性多型を含む 9 つの一塩基多型 (Single Nucleotide Polymorphisms: SNPs) に着目し、それらの頻度を日本の一地域におけるアルコール依存症患者群と

同一地域の健常者群間で比較解析することで、アルコール依存脆弱性の個人差に対する影響について検討した。

対象は DSM-IV の診断基準においてアルコール依存症と診断されたアルコール依存症患者 64 人(男性 50 人、女性 7 人、不明 7 人、平均年齢 57.34 ± 10.18 歳) およびアルコール依存の経歴のない健常者 75 人(男性 23 人、女性 52 人、平均年齢 35.36 ± 9.06 歳) とし、対象者から同意を得た上で採血を行った。すべての対象者は山形県在住である。また、解析対象となる *AUTS2* (rs6943555、rs9886351) および *GRIN2B* (rs3764028、rs1019385、rs7301328、rs1806201、rs1805247、rs890、rs1805502) 多型の遺伝子型は polymerase chain reaction (PCR) - restriction fragment length polymorphism (RFLP) 法により決定した。

比較解析の結果、アルコール依存症患者群と健常者群の間で *AUTS2* 多型の rs6943555 および rs9886351 の遺伝子型と対立遺伝子の頻度に有意な差異は認められなかった。一方、ハプロタイプ解析の結果、アルコール依存症患者群と健常者群の間で rs6943555 および rs9886351 からなる A-A ハプロタイプの頻度に有意な差異を認め ($p = 0.019$)、健常者群に比べ患者群において高頻度に検出された。また、本解析集団において完全連鎖不平衡の関係にあった *GRIN2B* 多型の rs1805247 および rs1805502 の遺伝子型 ($p = 0.019$) と対立遺伝子 ($p = 0.044$) の頻度にアルコール依存症患者群と健常者群の間で有意な差異を認め、C 対立遺伝子保有者の割合が健常者群に比べ患者群において有意に高かった ($p = 0.007$)。ハプロタイプ解析の結果、本解析集団において検出された *GRIN2B* ハプロタイプブロック (rs1806201-rs1805247-rs1805502) の C-C-C ハプロタイプとアルコール依存症との間に関連傾向を認めた ($p = 0.054$)。その他の *GRIN2B* の多型やハプロタイプについては、アルコール依存症との関連は認められなかった。

以上より、*AUTS2* および *GRIN2B* の多型やハプロタイプがアルコール依存症発症の危険因子の一つとして推測され、それらの分子生物学的機能により脳内報酬システムに少なからず影響を与える可能性が示唆された。飲酒行動は様々な国や人種で異なる環境要因の影響を受けるため、日本人を対象とした初めての研究で得た本知見は重要であり、アルコール依存症の病態解明、早期の予防や治療に繋がることを期待される。今後はさらなるエビデンスの構築を目指し、大規模な他集団において結果の再現性を確認することで、より臨床的意義の高い知見が得られるものと示唆される。

人格特性の形成には環境的要因だけでなく遺伝的要因も関与している。人格特性の形成にかかわる遺伝子はヒトの行動に広く影響を与え、その背景には気分障害や統合失調症、薬物依存症などの発症に寄与する遺伝子多型との関連が報告されている。これまでに *AUTS2* や *GRIN2B* がヒトの様々な精神機能や行動に影響を与えることが示唆されており、人格特性に影響を与える可能性は否定できない。*AUTS2* 多型と人格特性との関連を検討した研究はこれまでに行われておらず、*GRIN2B* 多型との関連についての報告も少ない。本研究では、前述でアルコール依存症との関連を認めた SNPs を含む、ヒトの精神機能や行動への影響が報告されている *AUTS2* および *GRIN2B* 多型に焦点を当て、それら

の多型が人格特性の形成に関与する可能性について検討した。

*AUTS2*多型を解析対象とした研究では、同意を得た若年者 190 人（男性 51 人、女性 139 人、平均年齢 20.46 ± 1.15 歳）を対象とし、人格特性の評価には自己記入式人格検査の Temperament and Character Inventory (TCI) を用いた。また、抑うつ症状を有する対象者による結果への影響を除外するために抑うつ評価尺度の Patient Health Questionnaire-9 (PHQ-9) を実施した。*GRIN2B*多型を解析対象とした研究では、同意を得た若年者 248 人（男性 63 人、女性 185 人、平均年齢 19.55 ± 1.21 歳）を対象とし、人格特性の評価には自己記入式人格検査の NEO-Five Factor Inventory (NEO-FFI) と State-Trait Anxiety Inventory (STAI) を用いた。*AUTS2*(rs6943555、rs9886351) および *GRIN2B* (rs7301328、rs1806201、rs1805247、rs1805502) 多型の遺伝子型は PCR-RFLP 法により決定した。

二元配置分散分析の結果、対象者全員において *AUTS2* 多型 rs6943555 の TCI 気質尺度の報酬依存 ($p = 0.038$) と性格尺度の協調 ($p = 0.031$) に対する有意な主効果を検出したが、Bonferroni 補正によりその関連性は消失した。さらに、PHQ-9 により中等度以上の抑うつ症状を有する対象者を除外して解析を行ったが、*AUTS2* 多型やハプロタイプと TCI 尺度との有意な関連は認められなかった。同様に、二元配置分散分析の結果、*GRIN2B* 多型の NEO-FFI および STAI 尺度に対する有意な効果は検出されなかった。また、女性において本解析集団で検出された *GRIN2B* ハプロタイプブロック (rs1806201-rs1805247-rs1805502) の C-T-T ハプロタイプと NEO-FFI 尺度の外向性 ($p = 0.044$) との間に有意な関連を認めたが、Bonferroni 補正によりその関連性は消失した。

以上より、本研究で解析対象とした *AUTS2* および *GRIN2B* 多型と人格特性との有意な関連を検出することはできなかった。グルタミン酸作動性神経伝達システムはヒトの行動や人格特性に対し、いくつかの役割を担うことが示唆されている。*AUTS2* はグルタミン酸作動性ニューロンに発現していることが報告されており、同遺伝子が *GRIN2B* などのグルタミン酸関連遺伝子との相互作用により人格特性の形成に影響を与えている可能性も考えられる。今後、人格特性との関連を解明するため、異なる特徴を有する他の人格検査を用いて検討することが必要であり、両遺伝子多型の相互作用についての解析も意義があると考えられる。

論文審査の結果の要旨

本研究では、テーラーメイド医療の一助となることを目的とし、アルコール依存脆弱性や人格特性の個人差にかかわる遺伝的要因の解明のため、遺伝子多型解析による検討を行った。その概要は以下の通りである。

アルコール依存症はアルコール消費に対する制御喪失を伴う薬物依存の一形態であり、その発症脆弱性には遺伝的関与が認められる。これまでの研究から、不安や快情動に関わる脳内報酬システムの異常がアルコール依存形成に繋がるということが指摘されている。脳神経系の発達に重要な役割を担うとされる autism susceptibility candidate 2 (AUTS2) は自閉症をはじめとする種々の精神疾患に広く関与することが知られている。最近の研究では、AUTS2 遺伝子 (AUTS2) 上に存在する rs6943555 多型が薬物依存症の一種であるヘロイン依存に関与することが報告され、さらにゲノムワイド関連解析のメタ解析において同多型が個人のアルコール消費量にも影響を与えることが明らかとなった。また、グルタミン酸受容体の一種である *N*-methyl-D-aspartate (NMDA) 受容体は脳内におけるエタノールの主要な作用部位の一つとされ、そのサブユニットとして知られる NMDA 受容体サブユニット 2B (GluN2B) は慢性エタノール曝露によりその発現が増加することが報告されている。さらに、他国における研究では GluN2B 遺伝子 (*GRIN2B*) の多型やハプロタイプがアルコール依存症に関与することが確認された。以上の点から、両遺伝子の脳内報酬システムへの寄与が疑われる。本研究では、AUTS2 および *GRIN2B* 上に存在する機能性多型を含む 9 つの一塩基多型 (Single Nucleotide Polymorphisms: SNPs) に着目し、それらの頻度を日本の一地域におけるアルコール依存症患者群と同一地域の健常者群間で比較解析することで、アルコール依存脆弱性の個人差に対する影響について検討した。

対象は DSM-IV の診断基準においてアルコール依存症と診断されたアルコール依存症患者 64 人 (男性 50 人、女性 7 人、不明 7 人、平均年齢 57.34 ± 10.18 歳) およびアルコール依存の経歴のない健常者 75 人 (男性 23 人、女性 52 人、平均年齢 35.36 ± 9.06 歳) とし、対象者から同意を得た上で採血を行った。すべての対象者は山形県在住である。また、解析対象となる AUTS2 (rs6943555、rs9886351) および *GRIN2B* (rs3764028、rs1019385、rs7301328、rs1806201、rs1805247、rs890、rs1805502) 多型の遺伝子型は polymerase chain reaction (PCR) - restriction fragment length polymorphism (RFLP) 法により決定した。

比較解析の結果、アルコール依存症患者群と健常者群の間で AUTS2 多型の rs6943555 および rs9886351 の遺伝子型と対立遺伝子の頻度に有意な差異は認められなかった。一方、ハプロタイプ解析の結果、アルコール依存症患者群と健常者群の間で rs6943555 および rs9886351 からなる A-A ハプロタイプの頻度に有意な差異を認め ($p = 0.019$)、健常者群に比べ患者群において高頻度に検出された。また、本解析集団において完全連鎖不平衡の関係にあった *GRIN2B* 多型の rs1805247 および rs1805502 の遺伝子型 ($p = 0.019$) と対立遺伝子 ($p = 0.044$) の頻度にアルコール依存症患者群と健常者群の間で有意な差異を認め、C 対立遺伝子保有者の割合が健常者群に比べ患者群において有意に高かった ($p = 0.007$)。ハプロタイプ解析の結果、本解析集団において検出された *GRIN2B* ハプロタイプブロック (rs1806201-rs1805247-rs1805502) の C-C-C ハプロタイプとアルコール依存症との間に関連傾向を認めた ($p = 0.054$)。その他の *GRIN2B* の多型やハプロタイプについては、アルコール依存症との関連は認められなかった。

以上より、*AUTS2* および *GRIN2B* の多型やハプロタイプがアルコール依存症発症の危険因子の一つとして推測され、それらの分子生物学的機能により脳内報酬システムに少なからず影響を与える可能性が示唆された。飲酒行動は様々な国や人種で異なる環境要因の影響を受けるため、日本人を対象とした初めての研究で得た本知見は重要であり、アルコール依存症の病態解明、早期の予防や治療に繋がるのが期待される。今後はさらなるエビデンスの構築を目指し、大規模な他集団において結果の再現性を確認することで、より臨床的意義の高い知見が得られるものと示唆される。

人格特性の形成には環境的要因だけでなく遺伝的要因も関与している。人格特性の形成にかかわる遺伝子はヒトの行動に広く影響を与え、その背景には気分障害や統合失調症、薬物依存症などの発症に寄与する遺伝子多型との関連が報告されている。これまでに *AUTS2* や *GRIN2B* がヒトの様々な精神機能や行動に影響を与えることが示唆されており、人格特性に影響を与える可能性は否定できない。*AUTS2* 多型と人格特性との関連を検討した研究はこれまでに行われておらず、*GRIN2B* 多型との関連についての報告も少ない。本研究では、前述でアルコール依存症との関連を認めた SNPs を含む、ヒトの精神機能や行動への影響が報告されている *AUTS2* および *GRIN2B* 多型に焦点を当て、それらの多型が人格特性の形成に関与する可能性について検討した。

AUTS2 多型を解析対象とした研究では、同意を得た若年者 190 人（男性 51 人、女性 139 人、平均年齢 20.46 ± 1.15 歳）を対象とし、人格特性の評価には自己記入式人格検査の Temperament and Character Inventory (TCI) を用いた。また、抑うつ症状を有する対象者による結果への影響を除外するために抑うつ評価尺度の Patient Health Questionnaire-9 (PHQ-9) を実施した。*GRIN2B* 多型を解析対象とした研究では、同意を得た若年者 248 人（男性 63 人、女性 185 人、平均年齢 19.55 ± 1.21 歳）を対象とし、人格特性の評価には自己記入式人格検査の NEO-Five Factor Inventory (NEO-FFI) と State-Trait Anxiety Inventory (STAI) を用いた。*AUTS2* (rs6943555, rs9886351) および *GRIN2B* (rs7301328, rs1806201, rs1805247, rs1805502) 多型の遺伝子型は PCR-RFLP 法により決定した。

二元配置分散分析の結果、対象者全員において *AUTS2* 多型 rs6943555 の TCI 気質尺度の報酬依存 ($p = 0.038$) と性格尺度の協調 ($p = 0.031$) に対する有意な主効果を検出したが、Bonferroni 補正によりその関連性は消失した。さらに、PHQ-9 により中等度以上の抑うつ症状を有する対象者を除外して解析を行ったが、*AUTS2* 多型やハプロタイプと TCI 尺度との有意な関連は認められなかった。同様に、二元配置分散分析の結果、*GRIN2B* 多型の NEO-FFI および STAI 尺度に対する有意な効果は検出されなかった。また、女性において本解析集団で検出された *GRIN2B* ハプロタイプブロック (rs1806201-rs1805247-rs1805502) の C-T-T ハプロタイプと NEO-FFI 尺度の外向性 ($p = 0.044$) との間に有意な関連を認めたが、Bonferroni 補正によりその関連性は消失した。

以上より、本研究で解析対象とした *AUTS2* および *GRIN2B* 多型と人格特性との有意な関連を検出することはできなかった。グルタミン酸作動性神経伝達システムはヒトの行動や人格特性に対し、い

くつかの役割を担うことが示唆されている。*AUTS2*はグルタミン酸作動性ニューロンに発現していることが報告されており、同遺伝子が *GRIN2B*などのグルタミン酸関連遺伝子との相互作用により人格特性の形成に影響を与えている可能性も考えられる。今後、人格特性との関連を解明するため、異なる特徴を有する他の人格検査を用いて検討することが必要であり、両遺伝子多型の相互作用についての解析も意義があると考えられる。

以上の結果を踏まえ、テーラーメイド医療の一助となることを目的とした、日本人におけるアルコール依存脆弱性の個人差にかかわる遺伝子多型について重要な知見を示し、さらに、人格特性への影響についても検討した本研究は、主査、副査による審査において、麻布大学大学院環境保健学研究科の博士（学術）にふさわしい内容であるという意見で一致した。