

アルコール依存症の成因に関する 分子生態遺伝学的研究

(研究課題番号 08457126)

平成8年－10年度文部省科学研究費補助金
(基盤研究B)

研究成果報告書

平成11年3月

研究代表者 原田 勝二

(研究者番号 60086618)

筑波大学社会医学系

(機関番号 12012)

目 次

	頁
I はしがき	
1) 研究の背景	1
2) 研究目的	1
3) 研究方法	2
4) 研究組織	2
5) 研究経費	2
II 研究成果	
1) 概要	3
2) 研究発表	8
III 主要学術論文	
1) Investigation of genetic risk factors association with alcoholism	1 3
2) Long-term alcohol effects on hepatic phosphoglycomutase activities in relation to posttranslational modification of the protein	1 7
3) Genetic variations of CCKBR, HT1AR and mitochondrial-DNA ATPase deletion	2 1
4) A new genetic variant in the Sp1 binding cis-element of cholecystokinin gene promoter region and relationship to alcoholism	2 6
5) アルコール代謝の遺伝的個人差	3 0
6) アルコール依存症と関連する遺伝子	3 7
7) Personality と関連する遺伝子の検索	4 3
8) A novel polymorphism (-357G/A) of the ALDH2 gene: Linkage disequilibrium and an association with alcoholism	4 9
9) Genetic association between alcohol withdrawal symptoms and polymorphism of CCK gene promoter	6 8
10) Mutations in the exons and exon-intron junction regions of the human CYP2E1 gene and alcoholism	7 4
IV 今後の展望	9 5

Ⅰ はしがき

平成8年度文部省科学研究費補助金(基盤研究B)を表記課題について与えられ、平成8年度から10年度まで3カ年に亘る研究を行った。本研究の背景、目的、方法、研究組織と経費につき述べると共に、研究成果については概要および研究発表に区分してまとめた。更に研究成果に関連した代表的論文も添付し参考に供した。

1) 研究の背景

アルコール依存症の発症および進展にはさまざまな生体要因に加え、ライフスタイルや心理的・社会的因子などの生態・環境要因が関与する。一方、過去20年に及ぶ研究から遺伝的要因が強い疾患であることも判明してきている。しかしながら、先天性代謝異常などに見られるように単一遺伝子が原因となり発症するものと異なり、複数の遺伝因子が関与するのみならず、生態・環境要因が加わって発症する multifactorial disease である。この疾患はアルコールの長期過剰摂取が原因となっていることが最大の特徴となっているため、遺伝的研究は「依存」のメカニズム解明に向けられてきた。すなわち「依存」に陥りやすい病前特徴と関連する遺伝因子を探索することにより、特定の候補遺伝子との相関が明らかになれば第一予防の有力な手段となる。米国では COGA (Collaboration Study On Genetics of Alcoholism) Project が5年前に NIH の支援を得て発足し10年計画で行われているが、このプロジェクトの目的はアルコール依存症患者の家系調査により原因遺伝子の染色体上の位置を特定し、更にポジショナルクローニングにより最終的に遺伝子を究明しようとするところにある。数百家系とその血液試料数千名が集められ、システムティックな研究により幾つかの染色体が候補となっている。6箇所の研究機関が共同で行うため、患者や対照の選択が極めて質の高いものになっていることに特徴がある。

一方、アルコールの長期乱用により発症する中枢神経系の障害、肝臓や膵臓の障害や循環器系の障害があるが、これにも個体差の存在が知られている。つまり個体側の何らかの遺伝的脆弱性が関与していることを示唆する。この原因遺伝子を究明すべく、これまで多くの患者対照研究が行われてきた。これまで臓器障害特有の生化学的マーカーについては成果があがり、臨床の場で診断等に実務応用されてきた。しかしながら、その発症に関わる原因遺伝子の特定には至っていない。

アルコール依存の遺伝的基盤を追求しようとする試みはこれまで国の内外を通じなされてきたが、未だに不明であり、一部にドーパミン受容体(D2, D4)についての報告があるが、各種臨床上の診断マーカーとして耐えられるものは確立していないのが現状である。一方、心理的特性の面からのアプローチはTPQやMMPIを用いた解析がなされているが、脳機能との関連、特にCNSの受容体との対応がなされていない。

2) 研究目的

アルコール依存症の予防的観点から、依存に陥り易い病前特徴と関連する候補遺伝子を探索し疾患の予知・予防や新しい診療プログラムの開発の基礎データを得る、更にアルコール依存の背景に心理的要因の関

与が考えられるので三次元人格分類票のデータと中枢神経系システム関連遺伝子の多型を対応させ、行動科学的側面からのアプローチを試みる。

3) 研究方法

(1) 検体および資料の収集：研究目的を説明し同意を得たアルコール依存症患者および健常人集団を対象に EDTA 採血試料 2~3ml を各個人から採取し、DNA を抽出精製する。これを-20℃に冷凍保存し遺伝子解析に用いる。両群の対象集団の年齢・性別をマッチングさせると共に、健常人集団は非常習飲酒者とする。アルコール依存症の診断は DSM-IV の基準に従って行うものとする。

(2) 遺伝子の分析：ターゲット遺伝子は cholecystokinin (CCK), serotonin 1A (HT1A), Aldehyde dehydrogenase 2 (ALDH2), mitochondria DNA, Cytochrome P450 (CYP)2E1, Dopamine receptor 4 (DR4) の分析を case control 研究により行い、アルコール依存症のリスク因子となる遺伝的変異を見い出す。分析方法としては、遺伝子の promoter ならびに各 exon 部を中心に、PCR 法により増幅し、その産物を SSCP 法で分析する。SSCP 法により検出された変異領域は PCR-direct sequencing 法により塩基配列を決定し、どの部位に塩基置換や deletion / insertion が生じているか調べる。特にアルコール離脱症状については振戦譫妄、幻覚、けいれんの各病型に分け各遺伝子の変異型のどれに対応するかの検討も行う。

(3) 行動科学的分析：対象集団に対し、Cloninger の Tridimensional Personality Questionnaire (TPQ) の質問紙調査を実施し、得られた回答は解析ソフトによるコンピュータ分析を行う。上記(2)で得られた中枢神経系関連遺伝子 (CCK, DR4, HT1A) と対応させて解析することにより、特定の気質と関連する候補遺伝子を見い出す。

4) 研究組織

研究代表者： 原田 勝二 (筑波大学社会医学系)

研究分担者： 野村 文夫 (筑波大学臨床医学系)

佐藤 親次 (筑波大学社会医学系)

森田 展彰 (筑波大学社会医学系)

5) 研究経費

平成8年度 3,500 千円

平成9年度 2,500 千円

平成10年度 1,800 千円

II 研究成果

1) 概要 (和文)

(1) アルコール依存症と関連する遺伝マーカーの検索

アルコール依存症に關与する遺伝要因を究明するため、依存形成に關連するCNS受容体遺伝子の分析を行うほか、アルコール長期大量飲酒者を識別するマーカーとして、DNAの部分的欠失や塩基置換に關する検索を行う。

アルコール依存症患者集団106名および対照健常人集団112名の末梢血から高分子DNAを抽出した。今回、受容体としてはCholecystokinin receptor B (CCKRB)およびSerotonin receptor (HT1A)を対象とし、一般集団およびアルコール依存症患者集団の変異型検索を行った。変異型のスクリーニングにはSSCP法を用い、検出された変異型はPCR-direct sequencing法により塩基配列を決定すると共に、データ確認のため、変異部分を認識する制限酵素によりRFLP分析を行った。更にアルコールや薬物の影響を受けやすいと言われるミトコンドリア(Mt) DNAの配列中、ATPaseをコードする領域を選び欠失の有無を調べた。

CCKRBについてはSSCP分析により3種の変異型の存在の可能性が判明し、各タイプ別にsequencingを行ったところ、アミノ酸置換を伴う変異が129番目アミノ酸 Val(GTG)→Met(ATG)、214番目アミノ酸 Arg(CGC)→His(CAC)で検出されたほか、塩基置換のみの例として、206番目のアミノ酸 His(CAT)→His(CAC)が検出された。HT1Aについては現在のところ16番目のアミノ酸 Pro(CCG)→Leu(CTG)の変異型が1種類のみ検出された。両受容体につきその出現頻度をアルコール依存症と健常者との間で比較検討したが有意差は見られなかった。一方、Mt DNA-ATPaseについては488bpにおよぶ欠失がアルコール長期大量飲酒者全てに検出され、大量飲酒者をDNAにより検出する方法の可能性が示唆された。

CCKRB,HT1Aに新しい変異型が検出されたがアルコール依存と相關するものではなかった。Mt DNA-ATPase中のdeletionは大量飲酒を判別する有力な遺伝マーカーとなりうることが示唆された。

(2) 新たに見出された Cholecystokinin gene promotor cis-element 変異とアルコール依存症との相關

Cholecystokinin (CCK) は8アミノ酸からなるペプチドホルモンで、prepro CCKが endopeptidaseによりプロセッシングを受け生成されたものである。CCKは主として消化管(小腸,胆嚢)のほか、中枢および末梢の神経系に存在する。消化管においては膵酵素の放出や胆嚢の収縮に關与し、中枢神経系においては不安や食欲の機能に重要な役割を演じる一方、ドーパミンと相互作用する。我々は一般集団を対象にprepro CCK promotor gene領域の解析を行った結果、Sp1が結合するcis-elementの変異型とCloningerの人格類型のHarm avoidance(HA)の低得点グループとが相關することを示唆するデータを得ている。またHAはタイプ2のアルコール依存とも相關することが報告されていることもあり、本研究ではこの変異型をマーカーとしてアルコール依存症に關する対照研究を行った。

あらかじめ検査の目的を説明し、同意の得てある男性アルコール症患者80名および健常人男性100名の末梢血からDNAを抽出した。PCR法によりCCKのpromotor領域225bpを増幅し、SSCP法により

変異型のスクリーニングを行った。変異型を示したものは、PCR-direct sequencing 法により塩基置換部位を確認した。更に allele specific primer PCR (ASP-PCR) 法によって再確認した。

promotor 領域内の cis-element GGGCGG は trans-acting factor Sp1 の結合部位であるが、この C が T に塩基置換している変異が、ヘテロあるいはホモ接合型で多型として検出された。C/T の置換を検出する primer を作り、ASP-PCR 法で両集団をスクリーニングした結果、一般集団では CC 型 63%、CT 型 34%、TT 型 3% であったのに対し、アルコール依存症群では CC 型 27%、CT 型 48%、TT 型 25% で、両群の間で表現型および遺伝子頻度ともに有意差が検出された ($p < 0.01$)。また一般集団を対象に TPQ テストと CCK gene の C/T 多型との相関を調べたところ、HA 低得点グループと CCK-T 型との相関を示唆するデータが得られた。

CCK gene の転写促進因子 Sp1 結合部位に塩基置換 (C→T) が多型として一般集団に検出され、アルコール依存症群では一般集団より有意に高い頻度で T 型変異が検出された。この結果は遺伝的要因が強いとされるタイプ 2 のアルコール依存症患者をスクリーニングするための有力な candidate gene となる可能性がある。

(3) アルコール離脱症状と CCK gene promoter 領域の多型との相関

アルコール離脱症状のうち個体差が顕著な振戦譫妄、幻覚、痙攣発作の症状と CCK gene の遺伝子型との対照研究を行った。更に、健常人集団を対象に CCK gene の遺伝子型と末梢血中の CCK peptide の濃度の関連性を調べた。

あらかじめ研究の目的を説明し同意を得たアルコール依存症の男性 174 名と一般健常人 195 名を対象とした。多数検体の分析を正確かつ容易にするため、SSCP-Analysis は DNA Sequencer (ALF express, Pharmacia) を使い、10% native PA gel, 0.5×TBE にて一本鎖 DNA を電気泳動により分画した後、Fragment Manager にて解析した。CCK gene 遺伝子型における血中 CCK 濃度を調べるため、健常人(男性: CC 型 12 名、CT 型 11 名、TT 型 3 名、女性: CC 型 5 名、CT 型 14 名、TT 型 7 名) に対し、食後 30 分に静脈採血した。全血 1 ml に対し 1.2 mg EDTA-Na₂ および 500KIU のトラジロールを含む試験管に移し、直ちに遠心して血漿を分離し、検査まで -20℃ に凍結保存した。CCK ペプチドと特異的に反応する抗体を用いて radioimmunoassay により 0.2ml 血漿中の濃度を測定した。

アルコール離脱症状を示した患者のうち振戦譫妄では CC: 36.5%、CT: 59.6%、TT: 3.9% となり、一般健常人の CC: 33.8%、CT: 38.0%、TT: 8.2% と比較し T 遺伝子をもつ個体が有意に高い頻度を示した ($\chi^2 = 4.91, p < 0.03$)。CC 型と CT、CT 型とで末梢血中 CCK peptide 濃度を測定した結果、男性群では CC 型 (19.9 ± 6.9)、CT 型 (11.1 ± 5.5)、TT 型 (9.1 ± 9.7) となり、女性群では CC 型 (16.1 ± 12.1)、CT 型 (15.1 ± 13.3)、TT 型 (14.6 ± 8.0) となり、男性群では CC 型は CT、TT 型より有意に高い値を示した ($p < 0.001$)。アルコールの長期乱用により発症する離脱症状には個人差が存在することが、従来知られてきたが、その遺伝的背景のひとつとして CCK gene の promoter 領域の多型が関与することが推測される。

アルコール離脱症状を類型別にみた場合、振戦譫妄は CCK gene の C-45T の多型のうち、T 型変異を含

む遺伝子型が high risk の候補のひとつとなることが示唆された。またこの生理的背景には CCK peptide の産生量が遺伝子型と関連している可能性もある。

(4) ALDH 2 gene promoter 領域の novel mutation – アルコール性肝障害の遺伝的リスク因子の可能性

ALDH2 promoter 領域中に、強力な転写活性を示す MAZ が結合する cis-element に新たな多型性変異を見出したので、健常人とアルコール性肝障害との対照研究を行った。アルコール性肝障害の診断基準に基づき診断された男性患者 40 名（肝線維症、肝硬変、肝炎）および健常者 66 名の血液から抽出した DNA 試料を用いた。ALDH 2 gene の 5' 末端上流は約 600bp の塩基配列が Hsu et al. (1988) により報告されている。この領域を約 300bp ずつ上流と下流に分け、PCR 増幅したものを DNA Sequencer (ALF express, Pharmacia) により SSCP 分析した。検出された変異型はすべて Genetic analyzer (ABI, 310) にて塩基配列を決定した。健常者集団では -375G→A の置換が多型として検出されたほか、稀な変異として -530 C→T が検出された。このほか Hsu et al. の報告と異なる配列として -539 G→T の置換および -345 C と -346 C の間の G insertion が全例に見い出された。遺伝子頻度は健常群では GG:39 (59.1%), GA:22 (33.3%), AA:5 (7.6%) であるのに対し、アルコール性肝障害では GG:7 (17.5%), GA:32 (80.0%), AA:1 (2.5%) となり、アルコール性肝障害においては A 型変異が有意に高かった ($\chi^2 = 6.78, p < 0.001$)。この -375G→A 変異は Sp1 より更に強力な転写活性をもつ MAZ が結合する cis-element 中に生じた塩基配列 (GGGGAGG→GGGAAGG) であるので、転写活性に何らかの影響を及ぼし、ひいては ALDH2 活性の低下につながる可能性がある。ALDH 2 gene 転写制御領域中に見い出された変異のうち MAZ binding cis-element 中の -375G→A の変異はアルコール性肝障害に健常人より有意に高い頻度で検出されたが、今後更に精細な検討を重ねることにより、アルコール性肝障害に關与する candidate gene のひとつとなる可能性がある。

1) Summary (English)

(1) Investigation of Genetic Risk Factors Associated with Alcoholism

Alcoholism is multifactorial diseases influenced by gene-environmental interaction. Genetic variation of receptor may be associated with alcohol dependence due to its modified function in behavioral and physiological responses. In the present study, polymorphic alleles of cholecystokinin B receptor (CCKBR), serotonin 1A receptor (HT1AR) genes and mt-DNA were analyzed. DNAs were isolated from the blood samples of 112 healthy controls and 106 alcoholics. Genetic variation was detected by SSCP analysis followed by direct sequencing of PCR product as well as RFLP. Three different mutations were found in the exon 3 sequence of CCKBR: His (CAT) at aa207→His (CAC) (5.4%), Arg (CGC) at aa215→His (CAC) (4.5%), Val (GTG) at aa138→Met (ATG) (0.9%) in controls. Genotypic distribution of alcoholics was not

significantly different with that in controls. A proline (CCG) to leucine (CTG) substitution at amino acid 16 was found in alcoholics (4.5%) and in controls (4.7%). This mutation site of HT1AR was different in comparison with the variants reported by Nakhai et al (1995). Analysis of the mt-DNA showed that a 491 bp deletion in the sequence of ATPase exists as heteroplasmy in 58% of alcoholics but not in controls. The heteroplasmic deletion of mt-DNA may be a useful marker for alcohol abuse. Further study is undergoing to elucidate the cause and significance of this deletion in alcoholics.

(2) A New Genetic Variant in the Sp1 Binding Cis-Element of CCK Gene Promoter Region and Relationship to Alcoholism

Neuropeptide cholecystokinin (CCK) and the CCK receptors in central nervous system mediate actions on increasing firings, anxiety and nociceptions. Furthermore, CCK modulates the release of dopamine and dopamine related behaviors in mesolimbic pathway.

In our study, genetic variation in the promoter and the coding region of the preproCCK gene were analyzed among 66 Japanese, 66 American Whites, 54 Chinese and 41 Colombian Natives. Two nucleotide sequence variants were found; a frequent mutation at nucleotide position -45 C to T involved in core sequence of Sp1 binding cis-element of the promoter region, and a C to T substitution at 1662 position in intron 2. Analysis for the segregation study in 10 families of twins confirmed co-dominant heredity of two alleles.

Distribution of genotypes and gene frequencies of 66 controls and 108 alcoholics in Japan presented that allelic variant T type in alcoholics was found in higher frequencies than that of controls, and distribution of these genotypes was significantly different between the both groups.

(3) Genetic association between alcohol withdrawal symptoms and polymorphism of CCK gene promoter

In the central nervous system, cholecystokinin (CCK) is an important neurotransmitter that gives the influences on fearing, anxiety, nociception and dopamine related behavior. CCK co-exists in the dopaminergic neurons, interacting with dopamine.

In this study, we examined the genetic variant -45 C to T substitution of the CCK gene promoter region among 195 healthy Japanese and 174 patients with alcohol withdrawal syndrome (52 delirium tremens, 39 hallucinosis, 20 convulsions, 92 lack of these symptoms) by using PCR-based SSCP analysis. Patients with delirium tremens showed significantly higher frequency of the variant compared with the controls ($\chi^2 = 4.91$, $p < 0.03$), but the patients with other symptoms did no difference. These data suggested that the individuals possessing allelic mutation (-45T) in

the promoter region of CCK gene might be susceptible to delirium tremens caused by alcohol abuse.

(4) A novel polymorphism (-357 G/A) of the ALDH2 gene: Linkage disequilibrium and an association with alcoholism

Human mitochondrial aldehyde dehydrogenase (ALDH2) is a major enzyme responsible for the oxidation of acetaldehyde derived from ethanol metabolism. The human ALDH2 gene shows genetic polymorphism for the transition from 1510 G to A in exon12, of which mutation leads to protection against alcoholism. As yet, no polymorphism for the 5'untranslated region (5'-UTR) of the ALDH2 gene has been reported. We have analyzed around 600bp nucleotides of the 5'-UTR in addition to exon12 from 571 Japanese, 68 Chinese, 80 Myanmar, 60 Mongolians, and 82 North American Caucasians using Single-Strand Conformational Change Polymorphism (SSCP) analysis and the Polymerase Chain Reaction (PCR). PCR products showing the aberrant banding patterns detected by the SSCP analysis were subjected to PCR-direct sequencing.

A novel polymorphism due to the nucleotide replacement at -357 G to A was found in all the population groups. We noted that this locus was polymorphic in North American Caucasians as well. In addition, the polymorphic status in the promoter and exon12 suggested linkage disequilibrium between the two loci, indicating that among Japanese, the *ALDH2*2* allele links to the G allele, and the *ALDH2*1* allele links to the A allele. Furthermore, 206 healthy controls (male, non habitual drinkers, age; 48.7 ± 4.6) and 185 alcoholic patients (male, age; 50.1 ± 6.2) with *ALDH2*1* homozygous genotype were analyzed for the polymorphism in the promoter. Genotypic frequencies of GG, GA and AA for alcoholics were 54.1%, 44.3% and 1.6%, and those for controls were 52.9%, 40.3% and 6.8%, respectively. The A allelic frequencies for alcoholics and controls were 0.238 and 0.269, respectively. Chi-square test for the entire 3 x 2 table indicated significant variations in the three genotypes ($\chi^2 = 6.40$, $P < 0.05$). However, no significant difference in allelic frequencies between the two groups were observed. Further analysis in other ethnic groups is necessary to establish this as an additional risk factor for alcoholism.

2) 研究発表

(1) 原著論文

原田勝二, 大久保武人, 中村貴子, 三澤章吾: CNS受容体遺伝子の多型とアルコール依存症- CCKBRとHT1ARの変異型検索-, DNA多型, 4, 167-170, 1996

原田 勝二, 大久保 武人, 高瀬 修二郎, 堤 幹宏, 村松 太郎: アルコール依存症と関連する遺伝因子の検索, アルコールと医学生物学 16, 100-105, 1996

Harada, S., Okubo, T., Tsutsumi, M., Takase, S.: Investigation of genetic risk factors associated with alcoholism. *Alcoholism: Clin Exp Res* 20 (9), 293-296, 1996

Iso, H., Harada, S., Shimamoto, T., Folsom, A. R., Koike, K., Sato, S., Iida, M. and Komachi, Y.: Polymorphism of the apolipoprotein B gene and blood lipid concentrations in Japanese and Caucasian population samples. *Atherosclerosis*, 126 (2), 233-241, 1996

Nomura, F., Noda, M., Nakai, T.: Effects of long-term alcohol intake on ADP ribosilation in rat liver plasma membranes. *Alcoholism: Clin Exp Res* 20 (1), 60A-62A, 1996

原田勝二, 大久保武人, 堤幹宏, 高瀬修二郎, 村松太郎: 新たに見出された Cholecystokinin gene promoter 領域の変異とアルコール依存症との相関. アルコールと医学生物学, 17, 104-109, 1997

坂江芳郎, 岩橋和彦, 給野節子, 給野清, 岡田尚子, 中村和彦, 渡辺全朗, 洲脇寛, 井尻巖, 原田勝二: アルコール依存症における CYP2E1 の遺伝子型. 日本アルコール・薬物医学会雑誌, 32 (6), 541-547, 1997

Harada, S., Okubo, T., Tachikawa, H. and Kawanishi, Y. : Genetic variations of CCKBR, HT1AR and mitochondrial-DNA ATPase deletion. In: *Advances in Research on DNA Polymorphisms* (Ed.ISFH Hakone Symposium Program Commitees), pp.153-157, Toyo-shoten, Tokyo, 1997

Ishibashi, T., Harada, S. and Ishii, T.: Genetic polymorphism of ADH2, ALDH2 and CYP2E1, and association with alcohol consumption. In: *Advances in Research on DNA Polymorphisms* (Ed.ISFH Hakone Symposium Program Commitee), pp.445-449, Toyo-shoten, Tokyo, 1997

糸賀栄, 野村文夫, 中井利昭, 原田勝二: CYP2E1 遺伝子のエクソンおよびエクソン-イントロン結合領域で新たに見出した変異. アルコールと医学生物学, 18, 5-9, 1998

大久保武人, 原田勝二, 樋口進, 松下幸夫: アルコール離脱症状と CCK gene promoter 領域の多型との相関. アルコールと医学生物学, 18, 115-118, 1998

Zhiqiang Gong, 原田勝二, MYO-THAIK-OO, 大久保武人: アジア各地域における ALDH2 Exon12 の多型性変異の検索. 日本アルコール・薬物医学会雑誌, 33 (2), 144-150, 1998

糸賀栄, 原田勝二, 野村文夫, 中井利昭: アルコール代謝関連酵素 CYP2E1 の genetic polymorphism : エクソンおよびエクソン-イントロン結合領域で新たに見出された変異. 日本アルコール・薬物医学会雑誌, 33 (1), 56-64, 1998

原田勝二 : Personality と相関する遺伝子-CCK gene 多型との相関. DNA 多型, 6, 24-29, 1998

Fujii, C., Harada, S., Ohkoshi, N., Hayashi, A., Yoshizawa, K.: Study on Perkinson disease and alcohol drinking. Jpn J Alcohol & Drug Dependence, 33 (6), 683-691, 1998

Harada, S., Okubo, T., Tsutsumi, M., Takase, S., Muramatsu, T. : A new genetic variant in the Sp1 binding cis-element of cholecystokinin gene promoter region and relationship to alcoholism. Alcoholism: Clin Exp Res 22 (3), 93S-96S, 1998

Harada, S., Okubo, T., Zhang, S.: A novel genetic polymorphism of human cholecystokinin gene and relationship to alcohol dependency. In: Progress in Forensic Genetics 7 (Eds. Olaisen, B. et al.), pp.442-445, Elsevier Science, Basel, 1998

Iwahashi, K., Ameno, S., Ameno, K., Okada, N., Sakae, Y., Nakamura, K. Watanabe, M., Ijiri, I., Harada, S.: Relationship between alcoholism and CYP2E1 C/D polymorphism. Neuropsychobiology, 38 (4), 218-221, 1998

Takao, A., Shimoda, T., Kohono, S., Asai, S., Harada, S.: Correlation between alcohol-induced asthma and acetaldehyde dehydrogenase-2 genotype. J Allergy Clin Immunol, 101, 576-580, 1998

Harada, S., Okubo, T., Nakamura, T., Fujii, C., Nomura, F., Higuchi, S., Tsutsumi, M.: A novel polymorphism (-357 G/A) of the ALDH2 gene: Linkage disequilibrium and an association with alcoholism. Alcoholism: Clin Exp Res (in press)

Okubo, T., Harada, S., Higuchi, S., Matsushita, Y.: Genetic association between alcohol withdrawal symptoms and polymorphism of CCK gene promoter. Alcoholism: Clin Exp Res (in press)

Itoga, S., Nomura, F., Tsutsumi, M., Takase, S., Nakai, T.: Mutations in the exons and exon-intron junction regions of human CYP2E1 gene and Alcoholism. Alcoholism: Clin Exp Res (in press)

(2) 総説

原田勝二 : アルコール代謝と遺伝. 内科診療 Q&A, 1062-1063, 1996

原田勝二 : アルコール代謝関連酵素の遺伝子変異と臨床応用. 今日の治療, 111-117, 1996

原田勝二 : 飲酒後の血中・呼気中アルコール濃度の経時的変化. 日本医事新報 3754, 120, 1996

原田勝二 : アルコール代謝と遺伝要因. 臨床栄養 89 (5), 595-599, 1996

原田勝二 : アルコール脱水素酵素 (ADH) : アルコール関連障害とアルコール依存症 (アルコール代謝関連酵素の分子生物学) . 日本臨床, 55, 28-34, 1997

原田勝二 : アルデヒド脱水素酵素 (ALDH) : アルコール関連障害とアルコール依存症 (アルコール代謝関連酵素の分子生物学) . 日本臨床, 55, 35-39, 1997

原田勝二：アルコール代謝酵素（主にALDH）遺伝子との関連：アルコール関連障害とアルコール依存症（アルコール依存症の成因論）。日本臨床, 55, 346-350, 1997

原田勝二：アルコール代謝の遺伝的個人差. Jpn J Electroph, 41, 111-116, 1997

原田勝二：アルコール依存症と関連する遺伝子. 脳の科学, 20, 267-274, 1998

(3) 単行本

原田勝二：アルコール代謝の個人差, 分子医科学シリーズ3, 動的な反応の場としての生体（香川靖雄編）, メディカルビュー社, pp147-167, 1996

原田 勝二：アルコール代謝関連酵素遺伝子の変異.（山中学, 亀田治男, 河合忠編）, アルコール（メディコピア-35）, pp.109-118, 富士レビオ株式会社, 東京, 1997

(4) 学会発表

Harada, S., Okubo, T. and Muramatsu, T.: Genetic variations of CCKRB, HT1AR and Mt-DNA deletion in alcoholics. 1996 Joint Scientific Meeting of the Research Society on Alcoholism and the International Society for Biomedical Research on Alcoholism, Supplement to Alcoholism Clinical and Experimental Research, 20(2), 67A, Washington D.C., 1996

Ishibashi, T., Harada, S. and Ishii, T.: Correlations between ADH2 and ALDH2 genotype combinations, alcohol consumption and alcohol sensitivity. 1996 Joint Scientific Meeting of the Research Society on Alcoholism and the International Society for Biomedical Research on Alcoholism, Supplement to Alcoholism Clinical and Experimental Research, 20(2), 36A, Washington D.C., 1996

Harada, S., Okubo, T., Tachikawa, H. and Kawanishi, Y.: Genetic variation of CCKBR, HT1AR and mitochondrial-DNA ATPase deletion. ISFH Hakone Symposium on DNA Polymorphisms, Abstracts, 24, Hakone, 1996

Okubo, T., Harada, S. and Sun, G.: Investigation of the Genetic Risk Factors Associated with Lung Cancer. ISFH Hakone Symposium on DNA Polymorphisms, Abstracts, 67, Hakone, 1996

Ishibashi, T., Harada, S. and Ishii, T.: Genetic polymorphism of ADH2, ALDH2 and CYP2E1, and association with alcohol consumption. ISFH Hakone Symposium on DNA Polymorphisms, Abstracts, 50, Hakone, 1996

原田勝二：アルコール代謝の遺伝的個人差. 第47回日本電気泳動学会総会特別講演, 生物物理化学, 40(5), 5, 秋田, 1996

原田勝二：アルコール問題研究動向の展望；法医学の領域から. 第31回日本アルコール・薬物医学会シンポジウム「アルコール問題研究の動向の展望～基礎と臨床の接点を求めて」, 日本アルコール・薬物医学会雑誌, 31(4), 266-267, 横浜, 1996

石橋徳雄, 原田勝二, 石井照周：アルコール代謝酵素の遺伝子型とアルコール消費量. 第31回日本アルコール・薬物医学会, 日本アルコール・薬物医学会雑誌, 31(4), 374-375, 横浜, 1996

原田勝二, 大久保武人, 高瀬修二郎, 堤幹宏, 村松太郎: アルコール依存症と相關する遺伝因子の検索. 第16回アルコール医生物学研究会要旨集, 25, 京都, 1996

原田勝二, 中村貴子, 三澤章吾: ALDH 2 mutant の頻度—我が国の県別データとその意義. 第 81 次日本法医学会総会, 要旨集, 65, 鹿児島, 1997

原田勝二, 大久保武人, 高瀬修二郎, 堤幹宏, 村松太郎: 新たに見出された Cholecystokinin gene promoter 領域の変異とアルコール依存症との相關. 第 17 回アルコール医生物学研究会, 要旨集, 8, 東京, 1997

原田勝二: アルコール代謝酵素 (ADH2, ALDH2, CYP2E1) の分析, 第 32 回アルコール・薬物医学会総会, 日本アルコール・薬物医学会雑誌, 32(4), 240-241, 東京, 1997

土島陸, 堤幹宏, 上嶋康洋, 川原弘, 高瀬修二郎, 大久保武人, 原田勝二: アルコール性肝障害における mitochondrial DNA 変異の検討. 第 32 回アルコール・薬物医学会総会, 日本アルコール・薬物医学会雑誌, 32(4), 424-425, 東京, 1997

岩橋和彦, 坂江芳郎, 中村和彦, 洲脇寛, 飴野清, 飴野節子, 岡田尚子, 木下博之, 井尻蔵, 折野耕造, 原田勝二: アルコール依存症における CYP2E1 の遺伝子型. 第 32 回アルコール・薬物医学会総会, 日本アルコール・薬物医学会雑誌, 32(4), 428-429, 東京, 1997

原田勝二: Personality と相關する candidate gene の検索: CCK gene 多型との相關. 第 51 回日本人類学会大会シンポジウム「遺伝人類学の新たな展開」, プログラム・抄録集, 89, つくば, 1997

原田勝二: Personality と相關する遺伝因子の検索—CCK gene 多型との相關. DNA 多型学会, 抄録集, 6, 長崎, 1997

Harada, S., Okubo, T., Higuchi, S., Matsushita Y.: A novel genetic variant of cis-element in the promoter region of CCK gene and a possible association with alcohol withdrawal syndrome. The Ninth Congress of the International Society for Biomedical Research on Alcoholism, Alcoholism: Clin Exp Res, 22(3), 162A, Copenhagen, 1998

Ishikawa, Y., Harada, S., Okubo, T., Tsutsumi, M., Takase, S.: A mutation in the promoter region of ALDH2 gene. The Ninth Congress of the International Society for Biomedical Research on Alcoholism, Alcoholism: Clin Exp Res, 22(3), 164A, Copenhagen, 1998

Ameno, S., Okada, N., Ameno, K., Nakamura, K., Zhang, X., Kinoshita, H., Kubota, T., Ijiri, I., Iwahashi, K., Harada, S.: Dral site polymorphism of the human CYP2E1 (Cytochrome P450 2E1) gene and alcoholism. The Ninth Congress of the International Society for Biomedical Research on Alcoholism, Alcoholism: Clin Exp Res, 22(3), 174A, Copenhagen, 1998

Harada, S.: Genetic polymorphism in exon12 and the promoter of ALDH2 gene and their significance in alcoholism. USA/Japan Joint Workshop- Cross Cultural Collaborations in Alcohol-Use Disorder: New Avenues for Research, Program and Abstracts, 18-19, Tokyo, 1998

Okubo, T., Harada, S., Higuchi, S., Matsushita, Y.: Genetic association between alcohol withdrawal symptoms and polymorphism of CCK gene promoter. USA/Japan Joint Workshop- Cross Cultural Collaborations in Alcohol-Use Disorder: New Avenues for Research, Program and Abstracts, 63, Tokyo, 1998

大久保武人, 原田勝二, 樋口進, 松下幸雄: アルコール離脱症状と CCK gene 多型との相関-第2報. 第19回アルコール医学生物学研究会学術集会, プログラム・抄録集, 29, 大阪, 1998

糸賀栄, 野村文夫, 飯塚儀明, 中井利昭, 原田勝二, 田村政紀: 血清 carbohydrate-deficit transferrin (CDT) 値に及ぼす ALDH2 遺伝子型の影響と性差. 第19回アルコール医学生物学研究会学術集会, プログラム・抄録集, 31, 大阪, 1998

以下の頁は著作権者の許諾を得ていない
ため、公表できません。

p. 13 ～ p. 94

p. ～ p.

p. ～ p.

p. ～ p.

p. ～ p.

IV 今後の展望

アルコール依存症の発症および進展にはさまざまな生体要因に加え、ライフスタイルや心理的・社会的因子などが関与する多因子病である。しかしながら過去20年におよぶ研究から遺伝的要因が強い疾患であることも判明している。我々は依存症に対する遺伝的脆弱性に関わる候補遺伝子として幾つかのものを分析した。そのうちアルコール依存症と健常対照者との間で有意差が検出された遺伝子の多型性変異は Cholecystokinin (CCK) gene の promoter 領域の Sp1 binding cis-element の -45C→T の変異のほか、mitochondria DNA の ATPase 領域のヘテロプラスミーおよび ALDH2 promoter 領域の MAZ binding cis-element の -357G→A の変異であった。しかしながら CCK-A および CCK-B 受容体、Serotonin-1A 受容体については新たな多型性変異が見い出されたが、アルコール依存症との相関はなかった。一方、CCK gene の変異型はアルコール離脱症状のうち個人差が顕著な「振戦譫妄」を呈した患者群では健常群より有意に高い頻度で検出された。この原因は変異型をもつ個体の末梢血の CCK ペプチドは正常型よりも低いことと関連することが、Radioimmunoassay の結果から判明した。更に三次元人格分類票 (TPQ) による調査データは CCK gene の変異型をもつ個体は損傷回避性の気質傾向が強く、とりわけ予期懸念や易疲労性が強いことも関連していた。このことはアルコール依存の背景に不安やストレスからの逃避があることを示唆している。

アルコール依存症には polygene が関与し、しかも遺伝因子と環境因子の相互作用 (gene-environmental interaction) が働くことを考慮すると、遺伝子の転写産物であるペプチドの構造的変異より、転写産物の量的違いが影響していることが推定される。事実、アルコール依存症と相関のあった CCK gene および ALDH2 gene はいずれも promoter 領域中、特定の転写因子が結合する部位の変異であった。従ってこれまでの研究成果をふまえ、中枢神経系に発現する遺伝子産物の転写制御に関与する転写因子の変異を指標とした対照研究により候補遺伝子を見い出せば、依存形成のメカニズムの解明も容易になる。また、健康科学分野への応用としても、ハイリスク遺伝子が判明すれば簡単なスクリーニング法を考案することにより早期診断と予防教育という形で貢献できる。

更に、神経伝達物質およびさまざまな受容体産生に関与する遺伝子をターゲットにして、遺伝子ノックアウトマウスを作り、これを実験モデルにアルコール依存症の原因を探ることが可能となる。一方では COGA プロジェクトによる研究成果を通じ、アルコール依存形成に関与する遺伝子の染色体上の特定が可能になればポジショナルクローニング法により原因遺伝子を究明することが可能となる。