研究論文：論文

セロトニン受容体 (5HT_{2A}) 遺伝子多型と体格および食・飲酒習慣との 相関性に関する研究

荻原大祐、竹内彩、藤井敏弘

信州大学繊維学部

STUDY ON THE ASSOCIATION OF SEROTONIN RECEPTOR (5-HT_{2A}) GENE POLYMORPHISM WITH PHYSIQUE, EATING AND DRINKING HABITS.

Daisuke OGIWARA, Aya TAKEUCHI, and Toshihiro FUJII

Shinshu University, 3-15-1, Tokida, Ueda, Nagano 386-8567, Japan

Abstract: Serotonin (5-hydroxytryptamine; 5-HT), a representative neurotransmitter and chemical mediator present in the human brain and body, is closely related to appetite, feeling, hallucination, sleep, and regulation of body temperature. The action of 5-HT is expressed via at least seven kinds of serotonin receptors. Among them, the 5-HT_{2A} serotonin receptor, which is distributed in the thalamus and spinal cord controls the suppression of noradrenaline release. The 5-HT_{2A} gene promoter polymorphism at -1438G/A can lead a significant change of the protein amount synthesized and has an influence on the biological functions. The gene polymorphism of 144 volunteers (44 women, 100 men) was analyzed by polymerase chain reaction (PCR) using allele specific primers. We examined the association of 5-HT_{2A} polymorphism with body mass index (BMI) values and eating-habits. The BMI values of GG (57), GA (44), and AA (43) genotypes were 21.31 ± 3.19 kg/m², 22.62 ± 3.59 kg/m², and 21.41 ± 5.33 kg/m², respectively, indicating a significant difference between GA and AA groups. Although height was almost same among three groups, the weight of AA group whose 5-HT_{2A} synthesis was more than the GG and GA groups was 1.9-4.8 kg less than other groups. Compared with the GG and the GA groups, the AA group had a tendency to extract a meal and to dine out, buy lunch from a convenience store, and daily dish more mostly from the questionnaire on eating habits. The 5-HT_{2A} gene polymorphism was only slightly related to drinking habits and the polymorphism of aldehyde dehydrogenase (ALDH2) gene, a key enzyme of alcohol metabolism and alcohol consumption.

Keywords: Genetic polymorphism of 5HT_{2A} and aldehyde dehydrogenase, Body mass index value (BMI value), Eating-habits custom,

1. はじめに

脳を代表とする生体には様々な化学伝達物質が存在し、その中のひとつにセロトニンがある。生体内においては、アミノ酸の1種であるトリプトファンから生合成され、化学名は5-hydroxytryptamineであるため「5-HT」とも呼ばれる。セロトニンは血管収縮物質としての機能をもつほか、神経伝達物質として、食欲、気分、幻覚、睡眠、体温調節などに関与するといわれてきた。このようなセロトニンの多様な作用を仲介するレセプターには少なくとも7つのタイプがあることが知られている。さらに様々なサブタイプも知られてきており、分布する部位において、特有の機能を有していることが報告されている[1, 2]。

ヒトの5-HT_{2A}遺伝子は13番染色体にあり、その開始コードンからさかのぼったプロモーター領域の1438番目の塩基に1塩基の遺伝子多型 (SNP) をもち、塩基Gが塩基Aに変異した多型が存在することが報告されている[3]。この遺伝子のプロモーター領域の変異は、転写量を変化させ5-HT_{2A}タンパク質合成量の増減をもたらすことが知られている。5-HT_{2A}の表現型は、父方由来の遺伝型と、母方由来の遺伝型の組み合わせによって、GG型、GA型、AA型の3種類が存在する。

変異タイプのGA型、AA型は正常タイプのGG型と比較して、レセプターの発現量がGA型はやや多く、AA型は多いことが知られている。

セロトニンレセプターのひとつである5-HT_{2A}は視床や脊髄などに分布しており、受容したセロトニンの情報はノルアドレナリン遊離やドーパミンの遊離などに関わる生理機能を示すと報告されている[1]。ノルアドレナリンは神経興奮を引き起こす伝達物質のひとつであり、視床下部外側野を興奮させ、摂食行動を促進させることが知られている。このような中枢における調節機能から、5-HT_{2A}は摂食行動などに関わる遺伝子のひとつであると考えられている[4-6]。

そこで、本研究では5-HT_{2A}遺伝子の多型分析とアンケート調査を用いて体格、食・飲酒などの生活習慣について調べ、それらとの相関性を解析した。また、アルコール摂取量とアルコール感受性を決めているアセトアルデヒドデヒドロゲナーゼ遺伝子 (ALDH2) の多型との関係についても調べた。

2. 実験方法

2.1 遺伝子多型の分析

インフォームドコンセントを実施し、承諾が得られた168

人（女性 55 人、男性 113 人）の被験者の血液から、GenTLE くん（Takara）を用いて DNA の抽出を行った。5-HT_{2A} の多型解析には allele specific primer（ASP）を用いた。変異の有無により特異的に結合し伸長する up プライマー G（5'-CTTTG-GATGGAAGTGC GGG-3'）と up プライマー A（5'-CTTTGGA-TGGAAGTGC GAG-3'）と down プライマー（5'-CTCGTTCA-TTTCATCAGA CC-3'）を設計し、合成した。それぞれのプライマーと DNA ポリメラーゼ（Takara）、被験者の血液から調製した DNA をチューブにいれ、35 回 polymerase chain reaction（PCR）反応を繰り返し相補的な DNA の増幅を行った。増幅させた DNA を 2% アガロースゲルを用いて電気泳動にかけ、300 bp 付近に出現するバンドから、GG 型、GA 型、AA 型のいずれかを分析した（図 1）。DNA シークエンス解析を行い、PCR 法により増幅させた 3 種類の DNA が 5-HT_{2A} 遺伝子であることを塩基配列から確認した。また、ALDH2 遺伝子多型についても特異的なプライマーを用いて、同様に ASP 法と PCR 法を組み合わせ分析を行った[7]。

2.2 体格調査・食生活習慣に関するアンケート調査

遺伝子多型を解析した 168 人のうち、144 人（女性 44 人、男性 100 人）の被験者に対し、体格調査及び食生活習慣に関するアンケート調査を実施した。

体格調査は、被験者の体重、身長、体脂肪率を測定した。また、body mass index（BMI）を、体重（kg）÷ 身長²（m）の計算式で求めた。

食生活習慣調査として、食習慣、食物摂取量とアルコール摂取量についてアンケートによる調査を実施した。食習慣については、102 人の被験者に「1 日の中で食事を抜くことがあ

る」、「外食、コンビニ弁当、スーパーの惣菜を利用する」、「ストレスを飲食で発散する」、「食事を勧められると断れない」などの 15 項目において、(1) あてはまらない、(2) あまりあてはまらない、(3) ややあてはまる、(4) よくあてはまるの 4 件法で自己評価を求めた。食物摂取量調査は、30 人の被験者に「ある食物を 1 週間にどれだけ食べるか」という質問項目で構成したアンケートを行い、運動量の生活強度に応じて、エネルギー、糖類、タンパク質、脂肪の項目ごとに現在の摂取量と所要量を算出した。アルコール摂取量は、102 人の被験者に、ビール（350 ml）、日本酒（180 ml）、ワイン（200 ml）など、各種のお酒をそれぞれ 1 回にどれだけ飲むかを回答してもらった。飲酒量×アルコール度数×0.8 の計算式でアルコール量を求め、それぞれのアルコール量をすべて加算した数値を摂取アルコール量とした。アンケートによって得られた結果は一元配置の分散分析により解析を行った。

3. 結果

ASP と PCR 法の組み合わせにより、5-HT_{2A} 遺伝子多型の分析を行った結果、被験者 168 人中、GG 型は 68 人（40.5%）、GA 型は 52 人（31.0%）、AA 型は 48 人（28.6%）であった。被験者グループの GG : GA : AA の比は、およそ 4 : 3 : 3 であった。そのうちの 144 人分（女性 44 人、男性 100 人）は体格調査ができたため、遺伝子多型分析の結果との関連性を分析した（表 1）。BMI 値を比べると 57 人の GG 型（39.6%）は 21.30 kg/m²、43 人の AA 型（29.9%）は 21.14 kg/m² の値となり、44 人の GA 型（30.6%）の 22.61 kg/m² と比べ約 1.5 kg/m² 低い値を示していた。身長は 3 種類の遺伝子多型のグループでほぼ同じ値（1.66-1.68 m）を示していた。このため、BMI 値が異なることは、GA 型の体重が GG 型あるいは AA 型と比べ 2.92-4.80 kg 重いことによっていた。統計処理を行うと GA-AA 間に有意差（P=0.04）が見られた。この傾向は体脂肪率においても見られた。これらの結果、5-HT_{2A} 遺伝子多型は体格の指標である BMI と関わり、特に体重に影響を与えていることが強く示唆された。そこで、食習慣、食物摂取量およびアルコール摂取量を調査し、5-HT_{2A} 遺伝子多型との相関性について調べた。

図 1 5-HT_{2A} 遺伝子多型のアガロース電気泳動図

表 1 5-HT_{2A} 遺伝子型と体格の関係

	遺伝子型 (人数)			有意確率	多重比較 有意確率		
	GG (57)	GA (44)	AA (43)		GG-GA	GG-AA	GA-AA
BMI	21.30±3.19	22.61±3.59	21.14±2.92	0.074	0.834	0.834	0.047
身長 (m)	1.68±0.07	1.67±0.08	1.66±0.07	0.397	0.556	0.164	0.479
体重 (kg)	60.14±11.17	63.06±11.50	58.26±9.90	0.125	0.205	0.390	0.042
体脂肪率 (%)	20.32±6.24	23.08±7.37	21.41±5.33	0.122	0.055	0.374	0.246

食習慣調査はアンケートにより 144 人中 102 人（男性 68 人、女性 34 人）から回答が得られ、その結果を表 2 にまとめた。15 の質問項目の中で、「1 日の中で食事を抜くことがある」の平均回答値が、GG 型は 2.00、GA 型は 2.40、AA 型は 1.77 で、これらの間に有意差 ($P=0.03$) が見られた。また、質問事項「ストレスを飲食で発散する」は GG 型>GA 型>AA 型の傾向を示したが、有意な差ではなかった。しかし、男性回答者のみでは GG 型は 3.52、GA 型は 3.11、AA 型は 2.82 の値となり有意差 ($P=0.02$) が見られた (data not shown)。この項目で女性回答者には遺伝子多型による差は見られなかった。これら以外の食習慣アンケートにおいては明確な有意差は見られる項目はなかったが、多くの質問項目で AA 型は GG 型、GA 型と比較して、規則正しい食生活である傾向が見られた。

次に、食物摂取量との関係を調べた (図 2)。分析できた被験者数は 30 人と少ないが、摂取エネルギー量、摂取タンパク質量、摂取脂肪量、摂取糖質量の全ての項目において GG 型>GA 型>AA 型の傾向を示していた。AA 型の方が GG 型の人よりも摂取エネルギー量が低い傾向は、表 1 で示した 5-HT_{2A} 遺伝子の多型と体型の関係と一致していた。

5-HT_{2A} 遺伝子多型は食物摂取のみならず飲酒行動とも関わっている可能性が報告されている[4, 8]。そこで、アルコール摂取量についてのアンケート調査を行い、5-HT_{2A} 遺伝子多型との関係を分析した (表 3)。調査数は 102 人であるが、男女を合計した全体では有意差は見出せなかった。しかし、男性のビール摂取量が GG 型は 15.81、GA 型は 25.05、AA 型は 22.91 となり、これらの間に有意差 ($P=0.09$) が見られた。これらを多重比較したところ、GG-GA 間の平均値に有意差 ($P=0.05$) が示された。また、女性では、缶チューハイの摂取量が GG 型は 14.00、GA 型は 11.45、AA 型は 3.23 で GG-AA 間と GA-AA 間に差が見られ、ワイン摂取量も GG 型が高い値であった。このため、5-HT_{2A} 遺伝子多型が飲酒量に関わっているとは言い切れなかった。そこで、エチルアルコール代謝に関わる最も重要な遺伝子である ALDH2 遺伝子多型を分析し 5-HT_{2A} 遺伝子多型との関係について調べた。ALDH2 は体内に取り込まれたエチルアルコールが分解されて生じた有害なアセトアルデヒドを酢酸へ酸化させる反応を触媒する酵素であるため、アルコール感受性、つまり、人の飲酒に対する強さ／弱さに関わっている。ALDH2 遺伝子には、強い酵素活性を示す 1 型と弱い酵素活性を示す 2 型のアレルが存在し、

表 2 食習慣アンケート調査と 5-HT_{2A} 遺伝子多型の分析

質問項目	遺伝子型 (人数)			有意確率	多重比較 有意確率		
	GG (37)	GA (30)	AA (35)		GG-GA	GG-AA	GA-AA
・ 1日3食きちんと食べる	2.73±1.20	2.53±1.12	2.51±1.00	0.672	0.501	0.418	0.943
・ 食事の時間は不規則である	2.00±1.01	2.17±0.93	2.11±0.82	0.756	0.497	0.607	0.813
・ 1日の食事量の配分は夕食が多い	2.19±0.80	2.03±0.75	2.17±0.97	0.732	0.425	0.934	0.535
・ 1日の中で食事を抜くことがある	2.00±1.04	2.40±1.02	1.77±0.76	0.034	0.125	0.299	0.007
・ 間食をする	2.27±1.00	2.13±1.12	2.20±0.95	0.865	0.605	0.765	0.799
・ 炭酸飲料, ジュースを飲む	2.46±1.03	2.37±1.02	2.40±1.15	0.938	0.717	0.820	0.904
・ 夕食後に夜食をとる	3.05±0.80	2.90±0.98	3.14±1.07	0.599	0.488	0.695	0.354
・ 外食, コンビニ弁当, スーパーの惣菜を利用する	1.97±1.00	2.33±0.94	1.80±0.82	0.074	0.143	0.433	0.019
・ テレビを見ながらだらだら食べる	2.51±1.00	2.40±0.80	2.60±0.93	0.693	0.622	0.710	0.368
・ おなかいっぱいになるまで食べる	2.16±0.85	2.13±0.81	1.86±0.80	0.246	0.890	0.128	0.178
・ おいしそうなものは満腹でもつい食べてしまう	2.32±0.99	2.23±0.88	2.31±0.89	0.914	0.700	0.965	0.719
・ 食べるのが早い	2.14±0.96	1.93±0.96	2.20±0.86	0.503	0.404	0.767	0.249
・ 食事などを勧められると断れない	2.35±0.91	2.30±0.82	2.00±0.76	0.176	0.814	0.084	0.137
・ ストレスを飲食で発散する	3.16±0.94	2.90±1.01	2.74±0.87	0.176	0.285	0.058	0.511
・ ダイエットを心掛けている	2.95±0.98	2.57±0.80	2.86±0.90	0.228	0.099	0.695	0.184

図2 食物摂取量と 5-HT_{2A} 遺伝子多型の関係表3 5-HT_{2A} 遺伝子多型と飲酒量

質問項目	遺伝子型			有意確率	多重比較 有意確率		
	GG型	GA型	AA型		GG-GA	GG-AA	GA-AA
全体人数	37	30	35				
飲酒頻度	3.54±1.13	3.20±1.17	3.57±1.10	0.364	0.238	0.908	0.131
純アルコール摂取量	54.67±45.81	50.62±48.32	57.35±52.17	0.840	0.932	0.627	0.616
ビール摂取量	15.32±13.49	19.6±16.69	19.4±14.61	0.399	0.250	0.223	0.959
缶チューハイ摂取量	10.59±16.63	7.00±13.13	6.40±11.44	0.395	0.338	0.219	0.844
日本酒摂取量	1.75±7.85	5.40±12.28	2.78±8.82	0.298	0.145	0.603	0.322
ワイン摂取量	6.23±18.69	1.92±7.73	4.94±14.98	0.492	0.242	0.748	0.324
男性人数	27	19	22				
飲酒頻度	3.48±1.23	2.95±1.05	3.59±1.07	0.174	0.139	0.749	0.067
純アルコール摂取量	45.53±44.45	79.9±81.58	62.59±50.18	0.184	0.089	0.229	0.445
ビール摂取量	15.81±13.55	25.05±16.74	22.91±13.71	0.089	0.050	0.082	0.663
缶チューハイ摂取量	9.33±15.71	4.42±10.21	8.27±13.12	0.481	0.248	0.805	0.318
日本酒摂取量	0±0	2.54±6.96	0.98±4.50	0.206	0.067	0.272	0.415
ワイン摂取量	2.84±14.50	1.01±4.29	5.24±17.54	0.627	0.603	0.611	0.324
女性人数	10	11	13				
飲酒頻度	3.7±0.78	3.64±1.23	3.54±1.15	0.942	0.895	0.719	0.849
純アルコール摂取量	68.24±42.96	30.92±23.66	48.88±52.22	0.190	0.035	0.374	0.345
ビール摂取量	14.00±12.52	10.18±10.50	13.46±13.58	0.758	0.479	0.927	0.538
缶チューハイ摂取量	14.00±17.71	11.45±15.59	3.23±5.90	0.174	0.743	0.064	0.106
日本酒摂取量	6.48±13.83	2.95±6.66	5.82±12.43	0.765	0.480	0.909	0.518
ワイン摂取量	15.36±23.98	3.49±11.04	4.43±8.09	0.184	0.176	0.158	0.820

図3 遺伝子多型とアルコール摂取量の関係

1/1 型 > 1/2 型 > 2/2 型の順で酵素活性が変化することが知られている[9]。5-HT_{2A} 遺伝子多型を分析した被験者の中で 85 人の ALDH2 遺伝子を分析し、その 3 種類の多型におけるアルコール摂取量を調べた(図 3A)。その平均値は 1/1 型は 67.46 g、1/2 型は 46.4 g、2/2 型は 17.68 g で、かなり高い有意差 ($P = 0.008$) がみられ、ALDH2 遺伝子がもたらす体質と一致した。このことはアルコール摂取量のデータの信頼度が高いことを裏付けるものと考えられる。次に、各 5-HT_{2A} 遺伝子多型における ALDH2 遺伝子多型の分布とアルコール摂取量の関係について分析した(表 4)。AA 型の集団において、1/1 型を有する人が多く、1/2 型が少ない傾向が見られたが、有意な差ではなかった。次にアルコール摂取量は GG 型と GA 型の集団においてほぼ同じ値となり、AA 型は約 10% 高い値を示した(図 3B)。これは AA 型の集団に 1/1 型の人数が多いことによるものと考えられた。逆に ALDH2 遺伝子多型から見た 5-HT_{2A} 遺伝子多型とアルコール摂取量はともに有意な関係は見られなかった。

表 4 遺伝子多型別の人数

5-HT _{2A} 遺伝子型	ALDH2 遺伝子型			人数
	1/1	1/2	2/2	
GG	14 (47%)	12 (40%)	4 (13%)	30 (100%)
GA	11 (44%)	12 (48%)	2 (8%)	25 (100%)
AA	17 (57%)	9 (30%)	4 (13%)	30 (100%)

4. 考察

本研究では、ASP と PCR 法を組み合わせ、5-HT_{2A} 遺伝子多型分析の方法を確立し、これによって解析した遺伝子多型と体格、食習慣、食物摂取量との関係を 20 代前半の大学生を対象として調べた。遺伝子多型と体型との関係を見ると、体格、特に体重と BMI は GA 型 > GG 型 ≥ AA 型の傾向を示した。このことから、5-HT_{2A} 遺伝子は体格に関わっていることが予想された。GA 型は GG 型と AA 型の中間の特性を示すため、レセプターの発見量では説明できない。また、食物摂取量は GG 型よりも AA 型の方が少ない傾向が示された。しかし、明確な有意差にはいたらず、多少の関わりがあることが考えられるレベルであった。人の食欲のみならず摂取食物の代謝過程には、莫大な情報伝達系、酵素が関与した複雑なシステムである。5-HT_{2A} 遺伝子多型が単独で人の食物摂取量を決定しているとは考えにくい。他の遺伝子、例えば、同じセロトニンレセプターである 5-HT_{2C} は摂食行動に、肥満に関わる遺伝子と言われている β 3-adrenergic receptor, tumor necrosis factor α , uncoupling protein 3 などエネルギー消費に関わっていることが報告されている[1, 10, 11]。

遺伝子解析技術はほぼ確立されてきているため、平均的な人とは異なる食欲、食生活、体格をもつ家系の遺伝子解析が必要である。重要な遺伝子とその多型を割り出し、それらの組み合わせが食習慣、そして体型に影響を与えていることが考えられる。肥満は日本人において増加傾向を示しており、糖尿病、高血圧、高脂血漿のリスクファクターであるため、遺伝子レベルでの説明は重要である。

食事は、「一人で食べる」あるいは「多人数で食べる」などの環境条件や、個人の行動性にも大きく左右され、遺伝子のみで決定されるとは限らないと考えられる。さらに、個人の生活習慣、行動性を含めた環境要因の調査を行えば、遺伝子・環境要因・行動・体型の関係がより明確にできるのではないかと考えられる。しかしながら、ALDH2 遺伝子とアルコール感受性のみならず、5-HT_{2A} 遺伝子と BMI は有意な相関性

を示しており、個人レベルの遺伝子多型データは私達が生活設計をする上で有用な情報を与えてくれるものと思われる。

謝辞

本研究を進めるにあたり、ALDH2 遺伝子多型の分析は、卒業研究の一部として松澤絵美さんに担当していただいた。英文のチェックは Mike Honeywood 氏、論文の作成にあたっては杉浦宏輔さんのご協力を得た。本研究の一部は、文部科学省科学研究費補助金（COE 形成基礎研究費）の助成を受けて行われた。ここに謝意を表する。

参考文献

- 1) 松田敏夫：セロトニンレセプターと薬，ファルマシア，37, 4, 307-311, 2001
- 2) Leysen J.E.: 5-HT₂ Receptors, Curr. Drug Targets CNS Neurol. Disord., 3, 1, 11-26, 2004
- 3) Collier D.A., Arranz J.M., Li T., Mupita D., Brown N., and Treasure J.: Association between 5-HT_{2A} Gene Promoter Polymorphism and Anorexia Nervosa, Lancet, 350, 412, 1997
- 4) Aubert R., Betoulle D., Herbeth B., Siest G., and Fumeron F.: 5-HT_{2A} Receptor Gene Polymorphism is Associated with Food and Alcohol Intake in Obese People, Int. J. Obesity, 24, 920-924, 2000
- 5) Enoch M., Kaye W.H., Rotondo A., Greenberg B.D., Murphy D.L., and Goldman D.: 5-HT_{2A} Promoter Polymorphism -1438G/A, Anorexia Nervosa, and Obsessive-Compulsive Disorder, Lancet, 351, 1785-1786, 1998
- 6) Nishiguchi N., Matsushita S., Suzuki K., Murayama M., Shirakawa O., and Higuchi S.: Association between 5HT_{2A} Receptor Gene Promoter Region Polymorphism and Eating Disorders in Japanese Patients, Biol. Psychiatry, 50, 123-128, 2001
- 7) 石橋徳雄, 原田勝二, 藤井千枝子, 田口文子, 石井照周：アルデヒド脱水素酵素 2 の遺伝子型とアルコール飲料の嗜好性との関連, Jpn. J. Alcohol & Drug Dependence, 34, 2, 117-129, 1999
- 8) Nakamura T., Matsushita S., Nishiguchi N., Kimura M., Yoshino A., and Higuchi S.: Association of a Polymorphism of the 5HT_{2A} Receptor Gene Promoter Region with Alcohol Dependence, Mol. Psychiatry, 4, 85-88, 1999
- 9) Higuchi S, Matsushita S, Muramatsu T, Murayama M., and Hayashida M.: Alcohol and Aldehyde Dehydrogenase Genotypes and Drinking Behavior in Japanese, Alcohol. Clin. Exp. Res. 20, 3, 493-497, 1996
- 10) 蒲原聖可：肥満遺伝子，講談社，1998
- 11) 吉田俊秀：肥満に弱い日本人，日経サイエンス，11, 26-39, 2002