

お酒やコーヒーなど日常的飲み物と日本人の遺伝子

中村 貴子

筑波大学医学系技術室

〒305-8572 茨城県つくば市天王台 1-1-1

概要

歓送迎会や忘年会等で飲むお酒、また仕事の合間に飲むコーヒーやお茶等は、生活に潤いを与えてくれる嗜好品であり、世界中で消費されている。しかしそれらを摂取すると個人個人の作用に差異があることに気づく。お酒に強い弱いやコーヒーの感受性などの個人差はその人の持つ遺伝子の塩基配列の違いに大きく関わっており、その違いによりさまざまな症状が現れるという研究が進んでいる。今回、それらの遺伝子の作用と検出方法やそれらを応用し我々日本人集団の遺伝子型とその頻度を調べた。

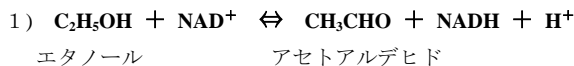
キーワード： Acetaldehyde ALDH, ADORA2A Caffeine

1. Alcohol と代謝酵素

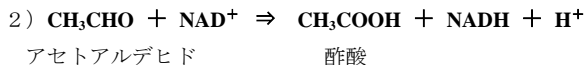
1.1 初めに

アルコール飲料の主成分は水とエタノールである。摂取されたエタノールは消化管で吸収された後、その大部分は肝臓で代謝され、最終的には水と炭酸ガスとなり体外に排出される。これには大きく二段階の酵素反応が関わっており、第一段階は ADH(アルコール脱水素酵素)によりアルコールがアセトアルデヒドに分解される反応、第二段階は ALDH (アセトアルデヒド脱水素酵素)によりアセトアルデヒドが酢酸になるになる反応である^[1]。

ADH の作用



ALDH の作用



アセトアルデヒドは悪酔いの原因物質と言われ、これが体内にたまると顔が赤くなったり、気分が悪くなったりする。この2つの反応のうちアルコールに強い、弱いに関係するのは主に ALDH2 である。遺伝子構造解析の結果、Exon12 のグルタミン酸のコードン (GAA) がリシンのコードン (AAA) へ突然変異していることが分かった^{[2] [3]}。すなわち遺伝子の中のたった一つの塩基が G から A へ塩基置換したことにより、お酒に弱い人が存在することになった。塩基が G の遺伝子をホモに持っている人をノーマルタイプ (NN 型) といいお酒に強い、すなわちアセト

アルデヒドの分解能が高いタイプで、塩基が A に変異している遺伝子をホモに持っている人をデフィシエントタイプ (DD 型) といいお酒に弱い、すなわちアセトアルデヒドの分解能力が低下したタイプである。両方の遺伝子を共有している人をヘテロタイプ (ND 型) といいほどタイプである^[4]。それらの遺伝子型を PCR-SSCP 法で検出し、日本各地の遺伝子頻度の比較検討を行った^[5]。

1.2 方法

1.2.1 PCR 法

血液より抽出した DNA を以下に示すプライマーを用い下記の条件にて PCR 反応を行った。

Primer forward

Cy5-CAA ATT ACA GGG TCA ACT GCT-3'

Primer reverse

Cy5-CCA CAC TAA CAG TTT TCA CTT-3'

| | | | |
|-----------|-------|-------|-----------|
| denature | 97 °C | 30sec | } 35cycle |
| annealing | 58 °C | 30sec | |
| extension | 72 °C | 30sec | |

1.2.2 SSCP 法

一本鎖 DNA は分子内水素結合などにより一本鎖のまま安定しようとするため、その塩基配列に特異的な高次構造をとる。したがって一組の二本鎖 DNA アリルに由来する 4 本の互いに相補的な一本鎖 DNA アリルを電気泳動すると、それぞれの塩基配列が異なるため異なる位置に泳動される。一塩基置換によってもこの一本鎖 DNA の高次構造は変化し、電気泳動の際、易動度に影響を及ぼす。このような多型を一本鎖 DNA 高次構造多型(single-strand conformation polymorphism SSCP) という。(図 1)

1.2.3 Gel 電気泳動

denature により 1 本鎖にした PCR 産物を ALF express DNA sequencer を用い 7 %アクリルアミドゲルにて電気泳動を行った。(図 2)

検出されたパターンは(図 3)のように、G または A の変異により 2 つのピークで表され、その一方または両方のピークの出現により塩基置換箇所(SNP)の塩基が判定された。

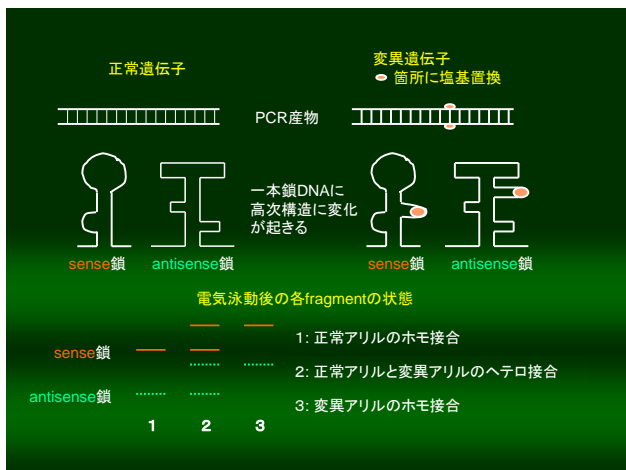


図 1. SSCP 法の原理

二本鎖 DNA は一本鎖になると自ら高次構造をとる。1 塩基変異が生じると異なる高次構造をとることにより、電気泳動の結果、移動度に差異が生じる。それを検出する方法が SSCP 法である。



図 2. PCR 反応と ALF express DNA sequencer を用いた polyacrylamide gel による SSCP 分析法

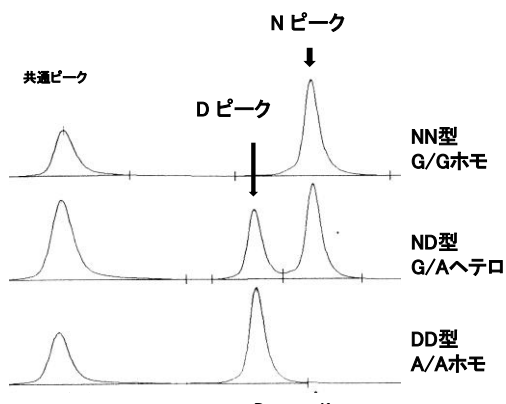


図 3. SSCP 分析により得られた一塩基多型によるピークパターン。NN 型の GG ホモ遺伝子と DD 型の AA ホモ遺伝子のピークが移動度の差で表される。ND 型の G/A のヘテロ遺伝子は 2 つのピークが出現する。

1.2 結果と考察

PCR-SSCP 法により簡便にまた視覚的に明確に遺伝子型を分別することができた。それをうけ筑波大法医学の原田勝二教授らの研究グループは日本全国 47 都道府県についてそれぞれ 100 人の遺伝子型を調べ遺伝子頻度を検出した。本稿は文献（原田勝二；飲酒行動と遺伝子. 公衆衛生, 63:234-237, 1999, および原田勝二；飲酒様態に關与する遺伝子情報, 醸協, 86 卷 4 号, 131-141, 2001) を参考に作成した。

表 1. ALDH2 の表現型頻度と N 遺伝子頻度による酒に強い県、弱い県のベスト 10

| 順位 | 酒に強い県ベスト10 | | | | |
|----|------------|-------|--------|---------|-----------|
| | 都道府県名 | 遺伝子頻度 | 強い NN | ほどほど ND | 全く飲めない DD |
| 1 | 秋田 | 0.876 | 76 (%) | 23 (%) | 1 (%) |
| 2 | 岩手 | 0.845 | 73 | 23 | 4 |
| 2 | 鹿児島 | 0.845 | 76 | 20 | 4 |
| 4 | 福岡 | 0.843 | 70 | 29 | 1 |
| 5 | 栃木 | 0.820 | 70 | 24 | 6 |
| 6 | 埼玉 | 0.813 | 68 | 27 | 5 |
| 7 | 北海道 | 0.805 | 66 | 29 | 5 |
| 7 | 沖縄 | 0.805 | 66 | 29 | 5 |
| 9 | 熊本 | 0.802 | 66 | 28 | 6 |
| 10 | 高知 | 0.800 | 63 | 34 | 3 |

| 順位 | 酒に弱い県ベスト10 | | | | |
|----|------------|-------|--------|---------|-----------|
| | 都道府県名 | 遺伝子頻度 | 強い NN | ほどほど ND | 全く飲めない DD |
| 1 | 三重 | 0.630 | 36 (%) | 54 (%) | 10 (%) |
| 2 | 愛知 | 0.643 | 41 | 47 | 12 |
| 3 | 石川 | 0.673 | 45 | 44 | 11 |
| 4 | 岐阜 | 0.690 | 48 | 42 | 10 |
| 5 | 和歌山 | 0.705 | 52 | 37 | 11 |
| 6 | 大分 | 0.715 | 51 | 41 | 8 |
| 7 | 広島 | 0.727 | 49 | 48 | 3 |
| 8 | 大阪 | 0.728 | 54 | 37 | 9 |
| 9 | 奈良 | 0.730 | 57 | 32 | 11 |
| 10 | 岡山 | 0.737 | 52 | 44 | 4 |

表 1 は N 遺伝子頻度の高い県と反対に低い県の 10 位までを示している。遺伝子頻度というのは対立遺伝子の一方を持っている割合のことで強い型の NN 型はホモで遺伝子の数は 2 本、ほどほど型は ND 型ヘテロなので N 遺伝子は 1 本、として全体の遺伝子の数 $2n$ (n = 人数) の中に占める割合を言う。

お酒に強い人が多い、強い県は東北地方、九州地方と日本列島の南と北の端に位置し、反対に強い人が比較的少ない弱い県は近畿地方を中心に存在していることがわかった。また、日本でお酒に一番弱い県の地帯が三重県から石川県へ近畿、北陸を南北に延びている。(図 4)

日常的な感覚で、お酒に強い県というとき秋田、鹿児島、高知、沖縄などがあげられるが実際に調べたところ、やはりその3県は強い人の割合が非常に多いということが実証できた。

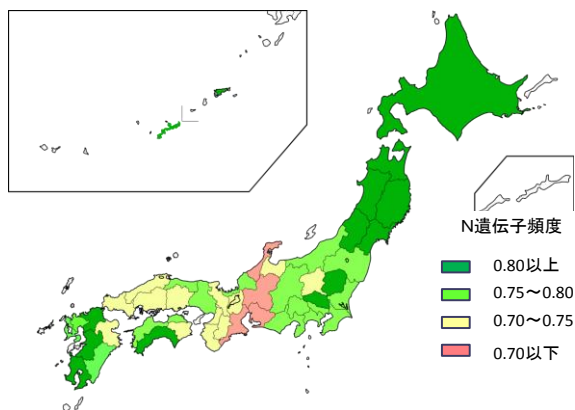


図4. 日本各県別 N 遺伝子頻度
N の遺伝子頻度が高いほどお酒に強い県（お酒に強い人の割合が多い県）である

現世人類の起源は 20~30 万年前のアフリカとされその後 10~12 万年前ほど前に大移動がはじまり 5~7 万年前に現在のヨーロッパやアジアに広まり三大人種が形つくられた。ヨーロッパの白人やアフリカの黒人はすべて NN 型である^[6]。一方 ALDH2 の D 型遺伝子を持っているのはモンゴロイドだけということから、D 遺伝子が誕生したのはそれ以降であり、今から 2.5~3 万年ほど前に中国大陸の南方で酵素欠損型遺伝子が誕生したと考えられている。その遺伝子を持った人類の一部が北方に移動後、朝鮮半島を経由して日本列島へ、渡来した。

現在の日本人は古モンゴロイド系の縄文人と新モンゴロイド系の弥生人の二つの要素を持っていると言われている。縄文人はほとんど N 遺伝子のみで、とても酒に強かったが、そこに縄文末期、主に朝鮮半島から渡来した弥生系の人たちが近畿や中国地方に移り住み、D 遺伝子がもたらされたと考えられている。その後、近畿地方の弥生系住民の地方への進行とともに、D 遺伝子は中央を中心に広がっていったため、日本列島の中央部から混血がすすみ D 遺伝子頻度が高くなったと考えられている^{[7][8]}。

しかし、東へ進んだ D 遺伝子を持った集団も北アルプス、南アルプスや立山連峰など険しい山岳地帯に阻まれ、もともと弥生系の人々は稲作中心であったため、山岳を越えずその手前の平野部に D 遺伝子が蓄積する要因になったのではないかと考える。

2. Caffeine と感受性

2.1 初めに

日常的に多くの人々に飲まれているコーヒーや紅茶等を摂取すると疲労感が薄れ頭がすっきりする、目がさえて不眠になる、利尿作用などの症状が現れ

る。これはコーヒー等に含まれる Caffeine やその代謝物の作用である。Caffeine はもともと成功したドラッグと呼ばれ、数々の中枢神経興奮作用がある。最近この作用はアデノシン受容体 ADORA2A 遺伝子によるものであることがマウスを使った実験で明らかになった^[9]。この A2A 受容体遺伝子の rs5751876 に C>T の遺伝子変異がありそれと Caffeine の感受性に差があるとの報告が出ている。我々はそれらの遺伝子の同定法の確立と、世界各地域の人種差を検出するため、その変異箇所を挟むプライマーを作製し、PCR-SSCP 法を用い、分析を行った。

2.2 Caffeine と Adenosine A2A Receptor (ADORA2A) 遺伝子

アデノシンは生体のほとんどの細胞で産生され DNA の塩基を構成するほか、アデノシン 3 リン酸 (ATP) を介して細胞のエネルギー代謝に関与し、細胞表面の受容体とともに細胞機能の制御、調節をしている。

アデノシン受容体は G タンパク質共役型受容体ファミリーの一員で A1, A2A, A2B, A3 受容体が知られている。このうち大脳基底核のようなドーパミンが豊富な領域多く見られるのは A1 受容体と A2A 受容体である。A2A 受容体遺伝子は 22 番染色体長腕上に位置し長さは約 9kbp, 2 つの Exon で構成されている。アデノシンの antagonist の Caffeine は、化学構造の類似から (図 5) アデノシン A1, A2A 受容体に対して同様の結合親和性を持ち、アデノシンの結合を阻害しドーパミンやノルアドレナリンなどの神経伝達物質の抑制を阻害することにより不眠や興奮などの作用が現れることが知られている。それらの機序を図 6 で説明する。

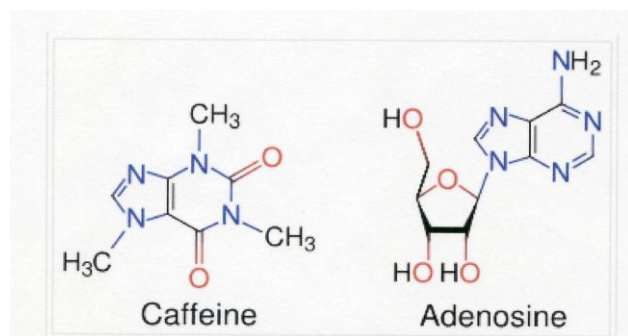


図5. アデノシンと Caffeine の化学構造
プリン基の部分が類似しているため、アデノシン受容体に結合してアデノシンの作用を阻害する。

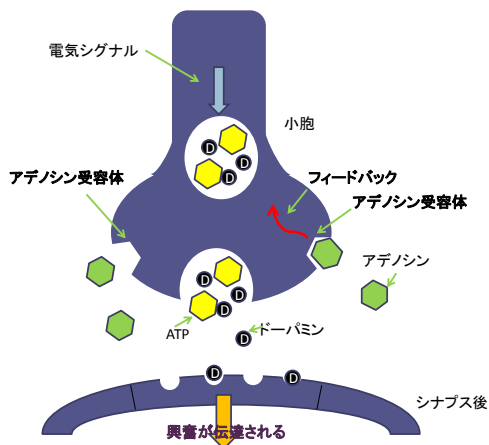


図 6-1. 神経線維の電気シグナルがシナプス小胞に伝えられと小胞はシナプス前膜に移動し興奮性情報伝達物質ドーパミンなどと一緒に ATP を放出。ドーパミンはシナプス後膜のドーパミン受容体に伝わり興奮シグナルを伝える。一方 ATP はリン酸を失いアデノシンへと素早く分解されアデノシン受容体と結合した後、興奮性神経伝達物質の量を抑制するシグナルを出しドーパミン等の放出を抑制し興奮を鎮めるなど伝達物質の量をコントロールしている。

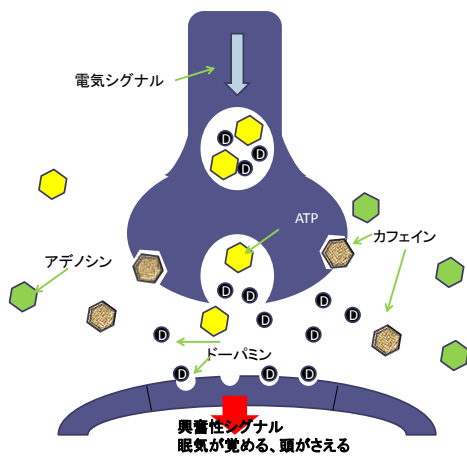


図 6-2. Caffeine はアデノシンの antagonist として、アデノシン受容体に結合してアデノシンの結合を阻害することによりドーパミンやノルアドレナリンなどの神経伝達物質の抑制が効かず、不眠や興奮などの作用が現れる

2.3 方法

血液より抽出した DNA を以下に示すプライマーを用い rs5751876 の C/T の遺伝子変異を検出するため下記の条件にて PCR 反応を行った。

Primer forward
Cy5- TCA TGG CAG TGA CGG AGA GCA-3'
Primer reverse
Cy5- TAA GGA GCT CCA CGT CTG GGA-3'

増幅された PCR 産物を用い7%アクリルアミドゲルにて電気泳動を行い SSCP 分析により遺伝子型

を検出した。さらに sequence 反応にて遺伝子型を確認した。検出されたパターンは(図 7)のように、CまたはTの変異により2つのピークで表された。

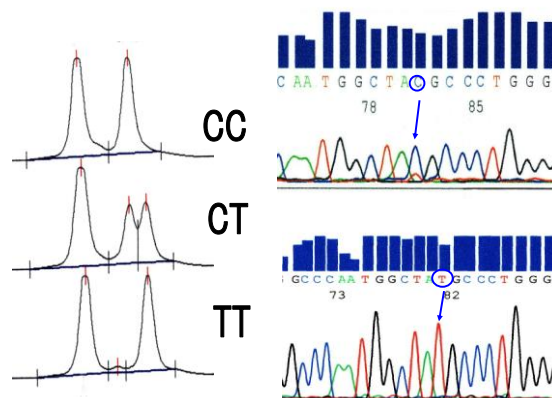


図 7. ADORA2A,rs5751876 部位の SSCP 分析により得られたピークパターン (左) と塩基置換部位を示した sequence 図 (右)

表 2. 世界各地の ADORA2A 表現型の割合
アフリカ、南米の TT 型頻度はアジア地域に比べ低くなっている。

| | n | CC(%) | CT(%) | TT(%) |
|----------|----|--------------|--------------|--------------|
| ミャンマー | 93 | 20 (21.5) | 44 (47.3) | 29 (31.2) |
| 日本(茨城) | 77 | 19 (24.7) | 38 (49.4) | 20 (26.0) |
| モンゴル | 79 | 19 (24.1) | 39 (49.4) | 21 (26.6) |
| 中国(上海) | 95 | 23 (24.2) | 58 (61.1) | 14 (14.7) |
| USA-白人 | 92 | 32 (34.8) | 41 (44.6) | 19 (20.7) |
| コートジボアール | 47 | 20 (42.6) | 22 (46.8) | 5 (10.6) |
| カメルーン | 64 | 33 (51.6) | 24 (37.5) | 7 (10.9) |
| コロンビア | 72 | 34 (47.2) | 33 (45.8) | 5 (6.9) |

2.4 結果と考察

世界各地の人種について A2A 遺伝子タイプ別頻度を表 2 に示す。

ミャンマーはじめ中国を除くアジア地域は TT 型が 20%以上であるのに対しアフリカや南米は 10%以下であり、反対にアフリカや南米、アメリカ白人などでは CC 型が 30~50%と高いのに比べアジアでは 20%前後で低い。

遺伝子頻度を世界地図上に表した図 8 でみるとアジア地域は T と C がほぼ同率、中国は若干 C が多

いが、アフリカと南米はC遺伝子高いことがわかる。それぞれの遺伝子の働きを調べるため文献検索を行った。

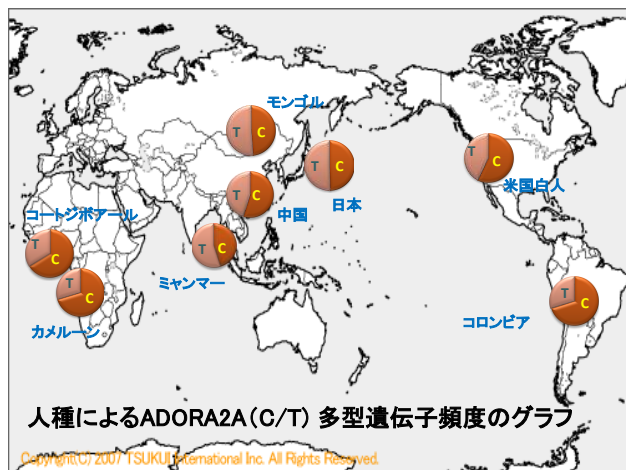


図8. 世界地図上に示した、ADORA2A,rs5751876 C/T 遺伝子頻度。アフリカ、南米のC 遺伝子頻度が高いことがわかる。

M.C Cornelis ら^[10]は 2735 人のボランティアに 1 日の Caffeine 摂取の量を報告させ、TT 遺伝子型が C 遺伝子を持つ CC 型、CT 型より Caffeine 消費量が少なく、また喫煙者においては C 遺伝子を持つ人の Caffeine 消費量が有意に高いという結果を得ている。JV Rety ら^[11]は、プラセボを用い脳波を使った実験で CC 型が Caffeine の影響で睡眠後 β 波が出現するなど、TT 型に比べ覚醒効果が高かったと報告している。これらの結果から言えることは、C 遺伝子を持つタイプはコーヒーなどの Caffeine 消費量が多い。それはすなわち、Caffeine の効果 (覚醒効果や気分が良くなるなど) が高いため多用すると考えられる。タバコを吸いながらコーヒーを多飲するというのはよく見られる光景である。まだはっきりとしたことは解らないが、中枢神経系の他の受容体との働きに関係すると思われる。

反対に TT 型については Childs E^[12] や Alsene K^[13] らは、T 遺伝子を持つ人に 150mg の Caffeine 投与により不安感が現れる人の割合が高いと述べさらに Hohoff C^[14] や Hamilton^[15] らは T 遺伝子はパニック障害のリスク遺伝子であると述べている。つまり T 遺伝子を持つ人は Caffeine の摂取後精神的に不安定な気分や不安感が現れるため Caffeine の摂取量は少なくなるということである。表 2 から日本やミャンマー、モンゴルにおいて 4 人に 1 人はコーヒーが苦手という人がいることになるが、アフリカや南米ではその割合は低くコーヒーが多用されていることになる。

コーヒーの起源はアフリカ、エチオピアと言われ、最初にはアラブ地域のイスラム教指導者が修行中に眠くならないために用いた。C 遺伝子がカフェインによる覚醒効果が高いとしたら、C 遺伝子頻度が高い地域の人たちは Caffeine の恩恵が強いと感じるゆえにカフェインを多用しさらに 16 世紀にやはり C 遺伝子頻度が高いヨーロッパに伝わった後、コーヒー

が爆発的に広がったのではない。ヨーロッパではバツハがコーヒーカンタータを書いてその味わいと効能をたたえている。文豪バルザックはコーヒーの助けを借りながら名作を書き、効き目が薄れるとさらに濃いコーヒーを大量にがぶ飲みし最後は乾燥したコーヒーの粉を食べていたという逸話がある。

オリジナルの遺伝子が C であるためアフリカが C 遺伝子頻度が高いことは納得のいく結果であるが、アジアからアメリカ大陸へ渡ったモンゴロイド系である南米コロンビアのネイティブが高いということは、アジア集団の中から遺伝的浮動などにより T 遺伝子頻度が低い集団となりアメリカに広がったのかもしれない。しかし現在のコーヒー原産国アフリカと南米に C 遺伝子が多いというのは興味深い結果である。

アジアでは中国は他の国に比べ C 遺伝子頻度が高く、同様にお茶の起源は中国雲南省と言われ紀元前から用いられた。唐代の詩人魯全 (ろどう) は茶の効用について語っている。

『1 杯飲むと喉が潤い、2 杯目で一人思い悩むことがなくなり、3 杯目で詩想があふれ出し、4 杯目で不平不満が去り、5 杯めでは全身がすがすがしくさわやかになり 6 杯目で神仙の境地に達し、7 杯目では羽が生えて空を飛ぶ思いであった。』

Caffeine と同様の効果がある antagonist と ADORA2A の関係からパーキンソン病などへの医薬品への応用も始まっている。今後いろいろな疾患と ADORA2A 遺伝子型について調べていきたい。

3. 最後に

お酒もコーヒーやお茶も我々のごく身近な飲み物であるが、それらが好まれる理由は遺伝子の複雑な作用による。反対に遺伝子の作用により好まないあるいは受けつけないという人も存在することになる。さらにそれらの飲料は広い意味で薬物であり、副作用や体への影響も多い。我々はそれを熟知して、楽しくそれらを味わい、けっして他人に無理強いしてはならないのではないかな。

また、その遺伝子の集団での頻度を眺めることによって我々日本人や世界の人々の移住や形態、歴史が推測されることを考えると、遺伝子の突然の変化 (突然変異) が文化をつくると言っても過言ではないような気がする。

4. 謝辞

ALDH2 と日本人の遺伝子についての発表をお許しいただいた、筑波大学社会医学系法医学 前教授、原田勝二先生に深く感謝いたします。

また研究の全般についてご指導いただいた筑波大学社会医学系法医学、本田克也教授に御礼申し上げます。

参考文献

- [1] Ehrig T, Bosron WF, Li TK., Alcohol and aldehyde dehydrogenase., Alcohol Alcohol. 25(2-3) 1990 105-16
- [2] Yoshida A ,Genetics of human alcohol metabolizing enzymes.Prog Nucleic Acid Res Mol Biol 40,1991,225-267
- [3] Enomoto N, Takase S, Yasuhara M, Takada A. Acetaldehyde metabolism in different aldehyde dehydrogenase-2 genotypes. Alcohol Clin Exp Res.;15(1) 1991:141-4.
- [4] Gong Z, Harada S, Myo-Thaik-Oo, Okubo T, [Investigation for polymorphism of ALDH2 exon12 in several Asian areas]. Nihon Arukoru Yakubutsu Igakkai Zasshi. Apr;33(2) 1998:144-50. Japanese.
- [5] 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. Alcohol Clin Exp Res. Jun;23(6)1999:958-62.
- [6] 原田勝二 ; 飲酒行動と遺伝子. 公衆衛生, 831999:324-27
- [7] Harada S. [Classification of alcohol metabolizing enzymes and polymorphisms--specificity in Japanese]. Nihon Arukoru Yakubutsu Igakkai Zasshi. Apr;36(2) 2001:85-106.
- [8] 原田勝二 ; 飲酒様態に關する遺伝子情報, 醸協, 86 卷 4 号 2001, 131-141,
- [9] Huang ZL, Qu WM, Eguchi N, Chen JF, Schwarzschild MA, Fredholm BB, Urade Y, Hayaishi O. Adenosine A2A, but not A1, receptors mediate the arousal effect of caffeine. Nat Neurosci. Jul;8(7) 2005:858-9.
- [10] Cornelis MC, El-Sohemy A, Campos H. Genetic polymorphism of the adenosine A2A receptor is associated with habitual caffeine consumption. Am J Clin Nutr. Jul;86(1) 2007:240-244
- [11] Rétey JV, Adam M, Khatami R, Luhmann UF, Jung HH, Berger W, Landolt HP. A genetic variation in the adenosine A2A receptor gene (ADORA2A) contributes to individual sensitivity to caffeine effects on sleep. Clin Pharmacol Ther. May;81(5) 2007:692-698.
- [12] Childs E, Hohoff C, Deckert J, Xu K, Badner J, de Wit H. Association between ADORA2A and DRD2 polymorphisms and caffeine-induced anxiety. Neuropsychopharmacology. Nov;33(12) 2008:2791-2800.
- [13] Alsene K, Deckert J, Sand P, de Wit H. Association between A2a receptor gene polymorphisms and caffeine-induced anxiety. Neuropsychopharmacology. 2003 Sep;28(9) 2003:1694-702.
- [14] Hohoff C, Mullings EL, Heatherley SV, Freitag CM, Neumann LC, Domschke K, Krakowitzky P, Rothermundt M, Keck ME, Erhardt A, Unschuld PG, Jacob C, Fritze J, Bandelow B, Maier W, Holsboer F, Rogers PJ, Deckert J. Adenosine A(2A) receptor gene: Evidence for association of risk variants with panic disorder and anxious personality. J Psychiatr Res. 2010 Mar 22.
- [15] Hamilton SP, Slager SL, De Leon AB, Heiman GA, Klein DF, Hodge SE, Weissman MM, Fyer AJ, Knowles JA. Evidence for genetic linkage between a polymorphism in the adenosine 2A receptor and panic disorder. Neuropsychopharmacology. Mar;29(3) 2004:558-565.

Genes associated with action following the consumption of alcoholic beverages and coffee, and the frequency of those genes in Japanese

Takako Nakamura

Technical Service Office for Medical Sciences, University of Tsukuba, 1-1-1 Tennodai, Tsukuba, Ibaraki, 305-8572 Japan

Alcoholic beverages are usually consumed at welcome and fare well parties, and at end-of-the- year parties while coffee and tea are consumed during work. However, there are differences among individuals in the action of these beverages after they are ingested.

Differences in the nucleotide sequences of genes lead to differences among individuals such as increased or decreased sensitivity to alcohol and coffee. Many studies of these differences are now underway. The current study describes methods of detecting these genes and this study investigated the genotypes and frequency of these genes in Japanese using these methods of detection.

Keywords: Acetaldehyde ALDH, ADORA2A Caffeine