博士（医学）　　佐 藤 直 美

論文題目

Association between neuropeptide Y receptor 2 polymorphism and the smoking behavior of elderly Japanese

（ニューロペプチド Y レセプター2 遺伝子多型と日本人高齢者の喫煙行動との関連）

論文の内容の要旨

［はじめに］

ニューロペプチド Y(NPY)には 3 つのタイプの受容体(NPYRs)があり、すべて G タンパク質共役受容体でそれらをコードする遺伝子は 4 番染色体上にある。近年、この NPY-NPYR 系といくつかの物質依存との関連が報告されている。NPY の遺伝子多型と様々な身体・精神的病態との関連は広く研究されてきており、とくにアルコール依存やその離脱症状との関連などが報告されている。一方で NPYRs の各タイプの役割はあまり明らかになっていないが、Wetherill らはアルコール依存症者およびコカイン依存者における NPY、NPYR の遺伝子多型について広範に調べた結果を報告している。そのなかで、NPY2R 遺伝子の上流に位置する rs4425326 および rs6857715 を含むいくつかの遺伝子多型がヨーロッパ系白色人種のこれらの患者において関連があったことが示された。そこで、今回この 2 つの多型と日本人高齢者におけるニコチン依存との関連について検討することとした。

［材料ならびに方法］

総合病院外来を受診し採血室を訪れた 60 歳以上の患者 2517 名から文書による同意のうえで研究用の血液を得た。喫煙行動、飲酒、食生活などの生活習慣とがん、糖尿病、高血圧の既往歴を尋ねるアンケートの回答を得た。喫煙行動に関する項目としては、Fagerström Test for Nicotine Dependence (FTND)、ニコチン依存症スクリーニングテスト（Tobacco Dependence Screener, TDS）、一日喫煙本数（cigarettes smoked per day, CPD）、喫煙開始年齢などを尋ねた。

採取された全血から QIAamp DNA Blood Maxi kit を用いて DNA を抽出した。各対象者の DNA 50 ng を Applied Biosystems 社製 StepOnePlus を使用し PCR 増幅した。プライマーには、rs4425326、rs6857715 に対しそれぞれ Custom TaqMan Pre-Designed SNP Genotyping Assay の C_26159385_10、C_29013142_10 を使用した。

統計学的解析には SPSS statistics 17.0 を用いた。本研究は本学ヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理審査委員会の承認を受けて実施した。

［結果］

対象者は男性 1615 名、女性 902 名で、平均年齢はそれぞれ 73.1(±6.2)、73.0(±6.4)歳であっ

た。男性の 1350 名(83.6%)が喫煙経験者であり、348 名(21.5%)が現在も喫煙していた。女性では 83 名が喫煙経験者で 31 名(3.4%)が現在喫煙者であった。喫煙状況別の平均年齢では、男性において、現在喫煙者が最も若い傾向にあった(P=0.002)。また、男性では、CPD が現在喫煙者と比較して過去喫煙者が有意に多く(P<0.001)、TDS は過去喫煙者より現在喫煙者が有意に高かった(P<0.001)。女性においても TDS は現在喫煙者のほうが高値であった(P=0.018)。喫煙開始年齢、FTND は男女ともに現在喫煙者と過去喫煙者間で差は認めなかった。男女ともに TDS と FTND は有意な相関関係にあった(ともに P<0.001)。

多型 rs4425326、rs6857715 の分布はいずれもハーディ・ワインベルグの法則を満たしており、この多型の喫煙状況による分布を比較した。男性において、rs4425326 の C アリルを持つ(CC および CT を持つ)者が現在喫煙者に多い結果となった(P=0.034)。この多型は女性では有意な分布差は見られず、rs6857715 においては男女ともに有意な結果は得られなかった。

CPD、FTND、TDS を遺伝子型で比較した。男性において、rs4425326 の TT 型を持つ者が他と比べて有意に CPD および FTND が高値であった(それぞれ P<0.001、P=0.003)。男性の rs6857715 の TT 型で CPD が高い傾向にあったが有意ではなかった。
男性の TDS については差はみられず、女性ではどの指標もこれらの多型による差はなかった。

［考察］

ニコチンに対する依存は、従来広く研究されてきており、その遺伝的側面も目下広く検討されている。今回、NPY2R 遺伝子多型についてニコチン依存との関連を初めて報告した。

今回の結果では、依存に関するハイリスクアリルと考えられる rs4425326 の C アリルが男性において現在喫煙に関連することが示された。一方で、これらの C アリル保有者は、FTND と CPD について TT の遺伝子型を持つ者より有意に低い値を示していた。すなわち、男性の C アリル保有者は、FTND に基づくニコチン依存の程度は低く、一日喫煙本数も少ないながら、喫煙を継続するという特徴があるといえる。この逆説的な結果は高齢者の喫煙行動についての意思決定の複雑さを反映していることが考えられる。また、今回の結果では、これらの多型と TDS との関連は見られなかった。理由の 1 つとして、FTND と TDS によって示されるニコチン依存の特性が異なることが推測される。これらが遺伝的因子にどのように影響を受けるか、さらに検討が必要である。NPY2R 遺伝子の多型 rs4425326 は、最初のエクソンの 0.2Mb 上流に位置しているが、その機能等詳細はまだ不明であり、これらも合わせさらなる検討が必要である。

［結論］

白人以外の人種を対象とした研究として初めて、NPY2R 遺伝子多型とヒトの依存行動との関連が示された。これはニコチン依存とこの多型との関連を示す初めての報告でもある。

論文審査の結果の要旨

ニューロペプチド Y(NPY)には複数の受容体がある。NPY2R はそのひとつで、NPY2R 遺伝子はアルコール依存やコカイン依存に関係していることがわかっている。特に、NPY2R 遺伝子の上流に位置する rs4425326 や rs6857715 の関与が注目されている。しかし、rs4425326 と rs6857715 とニコチン依存との関連性については不明であった。そこで、申請者は 60 歳以上の日本人サンプル（男性 1615 名、女性 902 名）を用いて、この点について検討した。

その結果、rs4425326 の C アリル (CC および CT) を持つ男性は喫煙している割合が高く、したがって、rs4425326 の C アリルが喫煙行動と関連していると考えられた。しかし、rs4425326 の C アリルを持つ男性のニコチン依存の程度は低く、したがって、rs4425326 の C アリルは必ずしもニコチン依存とは関係していないと考えられた。男性においてみられたこれらの所見は女性では認められなかった。

以上から、日本人男性では rs4425326 の C アリルはニコチン依存とは関係しないものの、喫煙行動に深く関与していることが示唆された。翻って、このことは、少なくとも日本人男性においては、喫煙行動とニコチン依存は別々の遺伝子によって規定されている可能性を示唆している。このような視点は従来にはなかったものであり、今後の研究に寄与するところが大きい。審査委員会はこの点を高く評価した。

以上により、本論文は博士（医学）の学位の授与にふさわしいと審査員全員一致で評価した。

論文審査担当者　主査　　森　則夫

副査　　武井 教使　　副査　　前川 真人