



# Association study of MIF promoter polymorphisms with suicide completers in the Japanese population

Shimmyo, Naofumi

---

(Degree)

博士 (医学)

(Date of Degree)

2018-03-25

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲第7131号

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1007131>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



(課程博士関係)

## 学位論文の内容要旨

### Association study of *MIF* promoter polymorphisms with suicide completers in the Japanese population

日本人自殺既遂者における MIF 遺伝子プロモーター領域機能的多型の関連解析

神戸大学大学院医学研究科医科学専攻

精 神 医 学

(指導教員：曾良一郎 教授)

新名 尚史

## 研究の背景・意義

自殺は毎年100万人の自殺者を有する世界規模での重要な公衆衛生学的課題である。自殺行為における遺伝的要因との関連は家族研究、双生児・養子研究、候補遺伝子解析、ゲノムワイド関連解析 (genome-wide association study: GWAS) により立証されている。様々な研究によって相反する報告が存在するものの、多くの遺伝子 (セロトニン受容体やセロトニン輸送体、脳由来神経栄養因子 (brain derived neurotrophic factors: BDNF)、カテコール-O-メチルトランスフェラーゼ (catechol-O-methyltransferase: COMT)) が自殺行動と関連していることが分かってきた。また最近の研究では、自殺既遂者の血液、脳脊髄液、死後脳において異常なサイトカイン水準値にあることが報告されている。また IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$  の mRNA や蛋白濃度は10代の自殺既遂者の死後脳の前頭前皮質において上昇していたと報告されている。

マクロファージ遊走阻止因子 (Macrophage migration inhibitory factor: MIF) は先天性免疫や適応免疫の調整に関与している多面的なサイトカインである。また MIF は前炎症性のサイトカインであり自己分泌や傍分泌の方法で IL-6 や TNF- $\alpha$  などの炎症性のサイトカインの産生を促す。IL-6 や TNF- $\alpha$  の血中濃度の上昇は希死念慮や自殺企図と関係しているとも言われる。また大うつ病性障害の血清マーカーの網羅的探索研究において MIF は優位に高い分子の一つとして同定されている。しかし現在のところ MIF が自殺既遂において遺伝的な関与があるかどうかを調べた研究はない。今回、我々は MIF 遺伝子のプロモーター領域の SNP 及びマイクロサテライトについて、日本人自殺既遂者サンプル及び健常者対象者サンプルを用いて MIF 遺伝子のプロモーター領域にある2つの多型 (MIF-794CATT<sub>6-8</sub> マイクロサテライトと MIF-173G/C SNP) を調べ、日本人自殺既遂者における MIF 遺伝子の関連を探索したいと考えた。

## 方法

この研究の母集団は602名の自殺既遂者 (408名の男性: 平均年齢 $\pm$ 標準偏差, 51.0 $\pm$ 17.4歳; 194名の女性: 50.7 $\pm$ 18.8歳) と728名の健常者 (340名の男性: 平均年齢 $\pm$ 標準偏差, 53.3 $\pm$ 18.8歳; 388名の女性: 54.5 $\pm$ 18.3歳) から構成されている。対象者はすべて日本人であり、抹消血由来のDNA試料を用いた。先行研究において、MIF 遺伝子の発現や MIF 蛋白の生成に特に影響を与えているとされている MIF 遺伝子のプロモーター領域における2つの多型 (MIF-794CATT<sub>6-8</sub> マイクロサテライトと MIF-173G/C SNP) を選定した。MIF-794CATT<sub>6-8</sub> マイクロサテライトに関してはPCR法によるベースサイズ認識方法を用いて塩基数を決定した (CATT<sub>6</sub> は207bpに相当、CATT<sub>6</sub>=211bp、CATT<sub>7</sub>=215bp)。MIF-173G/C SNP に関しては Taqman Genotyping assays による SNP ジェノタイピング法を用いてそれぞれジェノタイピングを行った。Haploview Software (version4.2) を持ちいることによって Hardy Weinberg 平衡や MIF プロモーター

領域におけるアレル・ハプロタイプのそれぞれの頻度を決定した。アレル、ジェノタイピング、ハプロタイプ頻度に関して自殺既遂者と健常者の各々の割合はカイ二乗検定とフィッシャー正確確立検定により比較検定した。

## 結果

Hardy Weinberg 平衡の傾向は自殺既遂者と健常者における両方の多型において認めなかった。今回の研究で調べられた2つの多型（MIF-794CATT<sub>5-8</sub>マイクロサテライトと MIF-173G/C SNP）のアレル、ジェノタイピングのその頻度に関する解析では自殺既遂者と健常者において有意差を認めなかった。さらに性別や自殺法（violent, non-violent）で分類したサブグループ解析を行ったが有意差は認めなかった。また2つの多型（MIF-794CATT<sub>5-8</sub>マイクロサテライトと MIF-173G/C SNP）のハプロタイプ解析に関しても同自殺既遂者と健常者において有意差を認めなかった。同様に性別や自殺法によるサブグループ解析を行ったが有意差を認めなかった。

## 考察

我々の知る限りにおいて、今回の研究は自殺と MIF 遺伝子のプロモーター領域における二つの機能的な多型（遺伝子の発現や MIF 蛋白濃度に特に影響を与えられている）の関連を調べた初めての研究である。世界中において男性の方が女性よりも自殺率は高い傾向にあるため我々はまた性差を調べるためのサブグループ解析も行った。さらに violent な方法による自殺企図は non-violent によるそれよりも致死率のはるかに高いことから violent と non-violent 方法による自殺既遂者同士の解析及び健常者との比較による解析も行ったが有意差は得られなかった。結果としてどの解析においても有意差を見出すことは出来なかった。このことは MIF-794CATT<sub>5-8</sub> マイクロサテライトと MIF-173G/C SNP は日本人においては自殺のリスクの上昇とは関連していないことを指し示している。最近の大うつ病性障害の患者のメタ解析でも MIF の遺伝的関連を示すことは出来なかった。それゆえに MIF は遺伝的に自殺やうつを起こしうる最重要のものではないのかもしれない。そしてこの研究においては limitation も議論されなければならない。なぜなら 602 名という自殺既遂者のサンプル数はいままで報告されてきたなかでも最も多い内の一つではあるが有意差を得るには依然としてパワー値が低いからである。このため自殺既遂者から試料を得ることは極めて困難ではあるが、より大規模な日本人サンプルを用いた解析が必要である。また我々のサンプルは日本人に限定されているため他の人種においても今後調べられる必要がある。

本研究は神戸大学遺伝子解析研究倫理審査委員会の承認を受けて遂行した。

論文審査の結果の要旨			
受付番号	甲 第2754号	氏 名	新名 尚史
論文題目 Title of Dissertation	Association study of MIF promoter polymorphisms with suicide completers in the Japanese population  日本人自殺既遂者における MIF 遺伝子プロモーター領域機能的多型の関連解析		
審査委員 Examiner	主 査 飯島 一誠 Chief Examiner 副 査 溝渕 知司 Vice-examiner 副 査 平向 健一 Vice-examiner		

(要旨は1,000字～2,000字程度)

自殺は毎年100万人の自殺者を有する世界規模での重要な公衆衛生学的課題である。自殺行為における遺伝的要因の関係は家族研究、双生児・養子研究、候補遺伝子解析、ゲノムワイド関連解析 (genome-wide association study: GWAS) により立証されている。

様々な研究によって多くの遺伝子 (セロトニン受容体やセロトニン輸送体、脳由来神経栄養因子 (brain derived neurotrophic factors: BDNF) やカテコール-O-メチルトランスフェラーゼ (catechol-O-methyltransferase: COMT) が自殺行為と関連していることが分かってきた。また最近の研究では自殺既遂者の血液、脳脊髄液、死後脳における異常なサイトカイン水準値にあることが報告されており、IL-6 や TNF- $\alpha$  の血中濃度の上昇は希死念慮や自殺企図と関係しているとも言われる。

マクロファージ遊走阻止因子 (Macrophage migration inhibitory factor: MIF) は先天性免疫や適応免疫の調整に関与している多面的なサイトカインである。MIF は前炎症性のサイトカインであり自己分泌や傍分泌の方法で IL-6 や TNF- $\alpha$  などの炎症性のサイトカインの産生を促す。多くの研究によって炎症は自殺行動に関係していると言われている。

しかし現在のところ MIF が自殺既遂において遺伝的な関与があるかどうかを調べた研究はない。今回、申請者は、MIF 遺伝子のプロモーター領域の SNP 及びマイクロサテライトについて、日本人自殺既遂者サンプル及び健常者対象者サンプルを用いて MIF 遺伝子のプロモーター領域にある2つの多型 (MIF-794CATT5-8 マイクロサテライトと MIF-173G/C SNP) を調べ、日本人自殺既遂者における MIF 遺伝子の関連を探索した。

解析対象として602名の自殺既遂者と728名の健常者であり、すべての対象者について、末梢血由来の DNA 試料を用いた。MIF 遺伝子のプロモーター領域における2つの多型 (MIF-794CATT5-8 マイクロサテライトと MIF-173G/C SNP) に関しては先行研究において MIF 遺伝子の発現や MIF 蛋白の生成に特に影響を与えている2多型を選定した。MIF-794CATT5-8 マイクロサテライトに関しては PCR 法によるベースサイズ認識方法を用い、MIF-173G/C SNP に関しては Taqman による SNP ジェノタイピング法を用いてそれぞれジェノタイピングを行った。アレル、ジェノタイピング、ハプロタイプ頻度に関して自殺既遂者と健常者の各々の割合はカイニ乗検定とフィッシャー正確確立検定により比較検定した。

本研究で調べられた2つの多型のアレル、ジェノタイピングのその頻度に関する解析では自殺既遂者と健常者において有意差を認めなかった。またハプロタイプ解析に関しても同様に自殺既遂者と健常者において有意差を認めなかった。世界中において男性の方が女性よりも自殺率は高い傾向にあるため、性差を調べるためのサブグループ解析も行った。さらに violent な方法による自殺企図は non-violent によるそれよりも致死率が高くなることから violent と non-violent 方法による自殺既遂者同士の解析及び健常者との比較による解析も行ったが有意差は得られなかった。

これらの結果より、申請者は、MIF-794CATT5-8 マイクロサテライトと MIF-173G/C SNP は日本人においては自殺のリスクの上昇とは関連していないと結論した。

本研究の limitation として、申請者は 1) 602 名という自殺既遂者のサンプル数はいまままで報告されてきたなかでも最も多い内の一つではあるが有意差を得るには依然としてパワー値が低いということ、2) 日本人に限定されているため他の人種においても今後調べられる必要があることをあげている。

以上が本論文の要旨であるが、本研究は、日本人自殺既遂者と MIF 遺伝子のプロモーター領域の 2 つの多型 (MIF-794CATT5-8 マイクロサテライトと MIF-173G/C SNP) との関連解析において、重要な知見を得たものとして価値ある集積であると認める。よって、本研究者は博士 (医学) の学位を得る資格があると認める。