



Nagoya City University Academic Repository

学位の種類	博士 (医学)
報告番号	甲第1553号
学位記番号	第1108号
氏名	松波 加代子
授与年月日	平成 29年 3月 24日
学位論文の題名	<p>Genome-Wide Association Study Identifies ZNF354C Variants Associated with Depression from Interferon-Based Therapy for Chronic Hepatitis C (ゲノムワイド関連解析による、C型慢性肝炎患者におけるインターフェロン惹起性うつ病を規定する ZNF354C 遺伝子多型の同定)</p> <p>PLoS One. 2016 Oct 10; 11(10): e0164418</p>
論文審査担当者	主査： 田中 靖人 副査： 明智 龍男, 城 卓志

論文内容の要旨

【背景・目的】近年、約90万か所のsingle nucleotide polymorphism (SNP) を一括タイピングすることにより全ゲノムを網羅的に解析するゲノムワイド関連解析法genome-wide association study (GWAS) が可能となり、これまでにウイルス性肝炎の領域でも成果が報告されている。抑うつ症状はインターフェロン (IFN) 投与でしばしば起こる副作用 (15~45%) で、時に重篤で治療完遂の妨げとなり得る。近年、IFN惹起性うつ病は海馬の神経幹細胞におけるニューロン新生低下が病因となり得ることが報告されている。今回我々はGWASの手法を用いて、C型慢性肝炎患者におけるIFN惹起性うつ病を規定する遺伝子多型の同定を目的とした。

【方法】2009年から2012年に、全国11施設へ通院中であった日本人のC型慢性肝炎患者384例における多施設共同前向き研究で、抑うつ症状の客観的評価としてBDI-IIスコア(自記式うつ病評価尺度)を用いて、IFN投与開始4、12、24週、終了後12週の抑うつ症状を追跡した。経過中に抑うつ症状が出現したCase群(BDI-II \geq 20)と出現しなかったControl群(BDI-II $<$ 20)の2群に分類した。まず、Case群45例、Control群179例の計224例に対して、Affymetrix Genome-Wide Human SNP Array 6.0を用いてGWASを実施した。続いて独立した160例のコホート(Case群40例、Control群120例)に対して、DigiTag2法を用いてReplication解析を実施した。

【結果】GWASステージの解析はAffymetrix Genome-Wide Human SNP Array 6.0を用いてSNPタイピングを実施した。GWASで $P < 10^{-4}$ であった31個のSNPに加え、以前の報告で疾患関連遺伝子とされている11個のSNPを加えた合計42個のSNPをReplication解析の候補SNPとして選択した。Replication解析では、DigiTag2法を用いて、別の160例のコホートにおける、候補の42SNPsの遺伝子型を決定した。GWASとReplication解析を合わせた結果、第5番染色体に存在するZinc finger 354C (*ZNF354C*) 遺伝子から30kb下流で、ADAM metallopeptidase with thrombospondin type 1 motif 2 (*ADAMTS2*) 遺伝子の3'-UTR(非翻訳領域)に位置するrs1863918 SNPがIFN惹起性うつ病の発症に関連することを発見した(OR=2.55; 95%CI=1.80-3.61、 $P=7.89 \times 10^{-8}$)。すなわち、rs1863918 Tアリル保有患者の方が有意にIFN惹起性うつ病発症に関連しており、その関連性はGWAS有意水準にほぼ達していた。さらに、Tアリル保有患者では、うつ病既往患者の割合が高い傾向であった($P=0.007$)。また、多変量解析において、rs1863918 Tアリルとうつ病既往はIFN惹起性うつ病の有意な独立予測因子であった(OR=3.85、 $P=3.22 \times 10^{-5}$; OR=10.69、 $P=1.27 \times 10^{-8}$)。次に、候補遺伝子である*ZNF354C*や*ADAMTS2*の脳での発現やIFN α による誘導を*in vivo*で確認するために、リアルタイムPCRによるmRNA定量、Western blottingや免疫蛍光法を用いて、マウスにおける機能解析を実施した。脳、特に海馬において*ZNF354C*の高い発現を認めたが、*ADAMTS2*は脳での発現をほとんど認めなかった。また、IFN α を4週間投与したマウスにおいて、脳での*ZNF354C* mRNA発現レベルが上昇する傾向にあった。従って、*ZNF354C*は海馬において高発現で、IFN α 長期投与により脳での発現が誘導される傾向にあり、*ZNF354C*はIFN惹起性うつ病発症に関与している可能性が示唆された。

【結語・考察】C型慢性肝炎患者におけるIFN惹起性うつ病に関連する遺伝子多型であるrs1863918を同定し、その候補遺伝子である*ZNF354C*がうつ病発症に関与している可能性が示唆された。今回の知見はIFN惹起性うつ病を含む薬剤惹起性うつ病の発症メカニズム解明にも有用かもしれない。

論文審査の結果の要旨

【背景・目的】近年、約90万か所のsingle nucleotide polymorphism (SNP) を網羅的に解析する genome-wide association study (GWAS) が可能となり、ウイルス性肝炎の領域でも成果が報告されている。うつ病はインターフェロン (IFN) 投与でしばしば起こる副作用で、海馬の神経幹細胞におけるニューロン新生低下が病因となり得ることが報告されている。申請者らは、GWASの手法を用いて、C型慢性肝炎患者におけるIFN惹起性うつ病発症に関連する遺伝子多型の同定を目的とした。

【方法】2009～2012年に、全国11施設へ通院中であったC型慢性肝炎患者384例における多施設共同前向き研究で、IFN療法中の抑うつ症状をBDI-II (自記式うつ病評価尺度) を用いて評価し、Case群 (BDI-II \geq 20) とControl群 (BDI-II $<$ 20) に分類した。まず、Case群45例、Control群179例の計224例に対して、GWASを実施した。続いて、独立した160例のコホート (Case群40例、Control群120例) に対して、DigiTag2法を用いて、候補SNPのReplication解析を実施した。

【結果】GWASとReplication解析の結果、GWAS有意水準にほぼ達しているrs1863918 SNPを検出し (OR=2.55、 $P=7.89 \times 10^{-8}$)、第5番染色体上のZinc finger 354C (*ZNF354C*) 遺伝子及びADAM metallopeptidase with thrombospondin type 1 motif 2 (*ADAMTS2*) 遺伝子の近傍に位置していた。rs1863918 Tアリル保有患者の方が有意にIFN惹起性うつ病に関連していた。多変量解析では、rs1863918 Tアリル、うつ病既往がIFN惹起性うつ病の有意な独立予測因子であった。次に、*ZNF354C* や *ADAMTS2* の脳での発現やIFN α による誘導を確認するために、マウスにおける機能解析を実施した。*ZNF354C* は脳、特に海馬において高発現であったが、*ADAMTS2* は脳での発現をほとんど認めなかった。また、IFN α を4週間投与したマウスにおいて、脳での*ZNF354C* mRNA発現レベルが上昇する傾向にあった。従って、*ZNF354C*は海馬において高発現で、IFN α 長期投与により脳での発現が誘導される傾向にあり、IFN惹起性うつ病発症に関与している可能性が示唆された。

【考察・結語】C型慢性肝炎患者におけるIFN惹起性うつ病発症に関連する*ZNF354C* 遺伝子多型を同定した。今回の知見により薬剤惹起性うつ病及び大うつ性障害の発症メカニズムの解明が期待される。

審査委員会では、主査の田中より「IFN投与によりうつ病が誘発されるメカニズムについて」、「今回同定したIFN惹起性うつ病の遺伝要因と既報の違いについて」、「大うつ病のGWASにおける最近の報告について」、「他の薬剤惹起性うつ病の遺伝要因について」、「DigiTag2法の特徴について」、「Imputationの方法とその意義について」など論文内容に関する10項目の質問、次に第一副査明智龍男教授より「IFNによる精神神経症状について」、「うつ病の診断方法について」、「うつ病評価尺度としてBDI-IIを用いる問題点について」、「海馬の神経幹細胞のニューロン新生低下に関連するメカニズム、特にコルチゾールとの関連について」、「IFN惹起性うつ病発症時の臨床上的対応について」など研究内容と臨床面との関連に関して10項目の質問があった。また指導教授である第二副査城卓志教授より「IFNによる*ZNF354C*発現誘導のメカニズムについて」など研究内容に関する質問とともに、「肝臓癌の治療について」などの主科目を中心とした質問があったが、いずれも良好な回答が得られ、本論文について十分に理解するとともに、専攻分野 (消化器病学) に関する知識を習得しているものと判断された。本研究結果より、C型慢性肝炎患者におけるIFN惹起性うつ病発症に関連する*ZNF354C* 遺伝子多型が同定され、これにより薬剤惹起性うつ病及び大うつ性障害の発症メカニズムの解明が期待され、臨床的にも意義のある研究であると考えられた。よって本論文の著者には博士 (医学) の学位を授与するに値すると判断した。

論文審査担当者 主査 田中靖人

副査 明智龍男、城卓志