

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 19 日現在

機関番号：32610

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26460892

研究課題名(和文)下垂体の病態は自殺に関与するか? : 自殺例における下垂体の法医病理学的解析

研究課題名(英文) Investigation on the pituitary glands in cases of suicide

研究代表者

王路(OH, RO)

杏林大学・医学部・准教授

研究者番号：60555051

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：この研究では、法医剖検例における自殺群の下垂体疾患について病理組織学的に解析することにより、自殺と下垂体疾患との関連を検討した。自殺群73例と非自殺群224例の下垂体をHE染色及び下垂体前葉ホルモンに対する抗体を用いた免疫組織学的染色を行った。その結果、下垂体疾患が認められたのは自殺群では59%、非自殺群では32%であり、自殺群で大きな割合を占めることが明らかとなった。自殺群において、腺腫が最も多く、以下ラトケ嚢胞等の膿疱性疾患、腺腫以外の腫瘍などが認められた。以上のことから、下垂体の形態学的変化が自殺のリスクファクターとして注目すべきであると考えられる。

研究成果の概要(英文)：In this study, an association between suicide and pituitary disease was examined by assessing pituitary disease in a suicidal group to be subjected to forensic autopsy histopathologically. Hematoxylin and eosin stain and immunohistological staining using antibodies against anterior pituitary gland hormone were performed for pituitary gland obtained from 73 suicidal group and 224 non-suicidal group. As a result, pituitary disease was found in 59% of the suicidal group and 32% of the non-suicidal group, which clearly indicated that pituitary disease constituted a significant proportion in the suicidal group. In the suicidal group, the most common disease was adenoma, followed by pustular disease (e.g., Rathke cysts), and tumor other than adenoma. Given the above, it is noted that morphologic changes of the pituitary gland may be a risk factor of suicide.

研究分野：医歯薬学

キーワード：自殺 下垂体病変 HPA axis 免疫組織化学的染色

1. 研究開始当初の背景

(1) 日本における自殺者数は毎年 3 万人を越え、自殺率は先進国中トップレベルであることから、大きな社会問題となっている。自殺の医学生物的バックグラウンドを明らかにしようとする研究が、精神神経または内分泌分領域の研究者によって行われており、法医学分野においても注目されている。

これまでの研究では、大脳の特定位位におけるセロトニン等の神経伝達物質、間脳・下垂体・副腎系 (HPA axis) 及び神経栄養因子等の変動がうつ状態を引き起こし、自殺に関与する生物学的因子 (バイオマーカー) として注目されている。

(2) 金沢医科大学における、平成 19 年～24 年に施行された法医剖検例の中で、下垂体を採取できた 181 例について解析したところ、自殺は 58 例 (全症例の 43.3%)、非自殺者は 76 例 (全症例の 56.7%) であった。

下垂体前病理学組織学的変化を認められたのは、非自殺群が 9 例 (同群の 11.8%) であるのに対し、自殺群では 17 例 (同群の 29.3%) であり、自殺群において高率に下垂体病変が認められた。自殺群におけるこれらの症例では、生前にうつ病や認知症等と診断されていたが、生前には下垂体病変について指摘されていなかった。これらの病理組織学的検査により、下垂体病変の大部分は下垂体腺腫であり (16 例)、その他には先天性異常が認められた。

(3) これまでに、自殺者群は、コントロール群と比べて下垂体腺腫の割合が有意に上昇していたという報告があり、下垂体の病理形態学的変化が自殺のリスクファクターのひとつである可能性が示唆されている。さらに、大脳において関連する自殺と関連する可能性がある神経伝達物質や HPA axis に関与する遺伝子 (バイオマーカー) 発現が広範囲に検索されており、下垂体における一部の神経伝達物質に関連する遺伝子発現の変化が観察されている。しかしながら、これまでに自殺者の下垂体における前記のバイオマーカーについて解析した研究は少なく、下垂体の病理組織学的変化を考慮に入れたうえで遺伝子発現の分子生物学的解析を行い、自殺と下垂体の病態との関連性について検討し

た研究は見当たらなかった。

2. 研究の目的

(1) 自殺者における下垂体病変の病理組織学的診断

腺腫については、腫瘍産生ホルモン (副腎皮質刺激ホルモン (ACTH)、成長ホルモン (GH)、プロラクチン (PRL)、ゴナドトロピン (Gn)、甲状腺刺激ホルモン (TSH)) について同定し、Ki-67 陽性率により増殖能を判定する。

(2) HPA axis 及び神経伝達物質に関与する遺伝子 (バイオマーカー) 発現の解析

自殺例の中で病変 (腫瘍) 群及び無病変群、さらにコントロール群に分けて、下垂体に発現しており、自殺に関連する可能性がある下記バイオマーカーについて解析を行う。なお、病変 (腫瘍) 群の下垂体では、病変部と正常部とにおいて解析し、バイオマーカーに対する下垂体病変の影響を検討する。

HPA axis 関連因子

下垂体ホルモン: 腫瘍部の他に、各群の非腫瘍細胞についても上記ホルモン産生を評価する。

転写因子 (産生ホルモン): pit-1 (GH、PRL、TSH)、SH-1 (Gn)、NeuroD1 (ACTH)、コルチコトロピン放出ホルモンレセプター (CRHR)、グルココルチコイドレセプター (GR)

(3) 上記のデータに基づいた、自殺と下垂体における病態との関連性の検討。

本研究から得られた成果により、自殺のリスクファクターのひとつとしての下垂体機能異常について解析することを目的とする。

3. 研究の方法

(1) 自殺または他殺の分類、下垂体の採取

これまでの法医剖検例については、死因、警察の捜査による状況などを総合的に判断して、自殺群、非自殺群に分類する。また、新たな法医剖検例については、下垂体を採取、分割してからホルマリン固定及び凍結保存する。自殺群、非自殺 (コントロール) 群については、年齢及び性別をマッチさせる。なお、採取された法医剖検例の下垂体

は、パラフィン包埋ブロックとして保存され、新規の解剖についてもパラフィン包埋ブロックを作製した。

(2) 下垂体の病理組織学的診断

ホルマリン固定された下垂体よりパラフィン包埋ブロックを作製する。厚さ 3 μ m の組織切片を作製し、HE 染色を行う。下垂体腺腫については、腫瘍により産生される前葉ホルモン (ACTH、GH、PRL、Gn、TSH、CK) を ICH により同定する (表 1)。

表 1. 抗体及び条件

抗原	メーカー	希釈	抗原賦活
GH	DAKO	× 500	-
PRL	NeoMakers	× 250	-
TSH	DAKO	× 100	-
GH	DAKO	× 500	-
FSH	Novacastra	× 100	ProtenaseK
LH	NeoMakers	× 400	-
CK	Bectin-Dickinson	× 100	ProtenaseK

以上の病理組織学的診断により、自殺群を病変群と無病変群に分類する。

(3) IHC (酵素抗体法及び蛍光抗体法) によるバイオマーカーの検出

下垂体の厚さ 3 μ m の組織切片を作製する。脱パラ後に、温熱処理による抗原賦活化を行う。

一次抗体として、前記下垂体ホルモン、転写因子 (pit-1 SH-1、NeuroD1) コルチコトロピン放出ホルモンレセプター (CRHR) グルココルチコイドレセプター (GR) Tryptophan hydroxylase (TPH) 及びオピオイドレセプター (OR) に対する抗体を反応させ、酵素抗体法または蛍光抗体法の染色キットにより二次抗体との反応及び発色を行う。

(4) Rathke 嚢胞症例における検討

Rathke 嚢胞を認めた非自殺群 15 例 (男性 5 名、女性 10 名、年齢 25-89 歳)、自殺群 7 例 (男性 3 名、女性 4 名、年齢 33-87 歳。死因; 溺死 4 名、縊死 1 名、多発外傷 1 名、)

において、HE 染色、PAS 染色及び下垂体前葉ホルモンとサイトケラチンに対する抗体を用いた ICH をおこない、嚢胞の上皮、形状、嚢胞内容及び嚢胞の圧迫による下垂体前葉組織細胞の変化を観察した。

4. 研究成果

(1) 自殺または他殺の分類、下垂体の採取
合計 224 例の下垂体を採取し、自殺群 73 例、非自殺群 151 例に分類して、病理組織学的診断を行った。

(2) 下垂体の病理組織学的診断

HE 染色及び下垂体前葉ホルモンに対する抗体を用いた IHC により各群における下垂体の病理組織学的検査の結果は、表 2 及び表 3 に示す。

表 2. 自殺群 (73 例) における下垂体病変

病変の種類	症例数	割合 (%)
腺腫	26	36
その他の腫瘍	6	8
嚢胞性疾患	8	10
炎症	3	4
合計	43	59

表 3. 非自殺群 (151 例) における下垂体病変

病変の種類	症例数	割合 (%)
腺腫	26	17
その他の腫瘍	3	2
嚢胞性疾患	17	11
炎症	2	1
合計	48	32

以上の結果より自殺症例群では、非自殺症例群と比較して、腺腫、その他の良性腫瘍及び炎症を有する症例の割合が高いことが明らかとなった。特に、自殺群での下垂体病変が占める割合は 6 割近くであり、全症例において生前に下垂体病変を指摘された症例はなく、認知症やうつ病等の精神疾患との診断により加療されていた症例が少なくなかった。

この研究における所見は、自殺者群は非自殺群と比べて下垂体腺腫の割合が有意に上昇していたというこれまでの報告と比較的一致していることから、下垂体の形態学的変化が自殺のリスクファクターとして注目すべきであると考えられる。

さらにこの結果は、うつ病等の精神疾患や自殺行動が認められる患者に対しては、画像診断を含めた内分泌機能検査を行うことで、精神症状等とHPA axisとの関連を臨床的に評価する必要性を示唆すると考える。

(3) IHC (酵素抗体法及び蛍光抗体法) によるバイオマーカーの検出

下垂体ホルモンについては、両群間では明らかな差を認めなかった。転写因子 (pit-1 SH-1、NeuroD1) の一部については、自殺群における発現が非自殺群よりも割合が高い傾向が認められた。ただし、その他のCRHR、GR、TPH、ORにおける発現を含め、現在検討中である。

以上のことから、転写因子の一部がバイオマーカーとなりうる可能性が示されたが、さらなる解析が必要と考える。

(4) Rathke 嚢胞症例における検討

自殺群及び非自殺群において、Rathke嚢胞が認められた症例では、この病変が周囲の正常組織を圧迫していた。

ICHでは、両群共にRathke嚢胞周囲における下垂体前葉細胞の減少を認めず、両群間にも明らかな差を認めなかった。

以上の結果から、Rathke嚢胞のICHを用いた病理組織学的解析では、この病態が自殺行動に対して影響を及ぼすことを示唆する所見は見いだされなかった。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計0件)

[学会発表](計3件)

発表者名；王 路、武市敏明、高木徹也、高篠 智、吉田 昌記、山田千歩、氣賀澤秀明、岩楯桜子、高橋かすみ、北村 修

発表表題；自殺剖検例における下垂体の検討：Rathke 嚢胞による前葉細胞の病理学的変化

学会等名；第 100 次日本法医学会学術全国集会

発表年月日；2016 年 6 月 17 日

発表場所；きゅりあん（東京都品川区）

発表者名；王 路、武市敏明、北村 修

発表表題；自殺剖検例における下垂体の検討：

学会等名；第 99 次日本法医学会学術全国集会

発表年月日；2015 年 6 月 12 日

発表場所；高知市文化プラザ（高知市）

発表者名；北村 修

発表表題；自殺例における下垂体疾患

学会等名；金沢医科大学平成 25 年度戦略プロジェクト

発表年月日；2015 年 4 月 25 日

発表場所；金沢医科大学（石川県内灘町）

[図書](計0件)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

王 路 (OH, Ro)

杏林大学・医学部・准教授

研究者番号：60555051

(2) 研究分担者

北村 修 (KITAMURA, Osamu)

杏林大学・医学部・教授

研究者番号：70266609

武市 敏明 (TAKEICHI, Toshiaki)

金沢大学・医学類・助教

研究者番号：90460360