

平成 30 年 6 月 6 日現在

機関番号：13501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K10861

研究課題名(和文) 原発開放隅角緑内障発症メカニズムの解明 - 眼圧上昇メカニズムの遺伝学的検討 -

研究課題名(英文) Investigation of the onset mechanism of primary open-angle glaucoma -Genetic investigation of the mechanism of intraocular pressure elevation-

研究代表者

間渕 文彦 (MABUCHI, Fumihiko)

山梨大学・大学院総合研究部・医学研究員

研究者番号：20322125

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、眼圧に関する遺伝子多型の相加効果と最高眼圧、垂直視神経乳頭陥凹径/視神経乳頭径比(VCDR)、原発開放隅角緑内障(POAG)表現型としての正常眼圧緑内障(NTG)または狭義POAG(HTG)との関係について検討した。眼圧に関する遺伝子多型risk alleleの合計が大きくなるほど最高眼圧、VCDRは大きくなる傾向にあり、POAGにおける眼圧上昇やVCDR拡大は、眼圧に関する遺伝子多型の相加効果によること、POAG表現型(NTGまたはHTG)は、眼圧に関する遺伝子多型risk alleleをどれだけ持っているかに依存していることを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：This study was performed to investigate the association between the additive effects of intraocular pressure (IOP)-related genetic variants and maximum IOP, vertical cup-to-disc ratio (VCDR), and high tension glaucoma (HTG) or normal tension glaucoma (NTG) as phenotypic features of POAG. As the total number of risk alleles of IOP-related genetic variants increased, the maximum IOP and VCDR significantly increased. The IOP and VCDR were increased by the additive effects of IOP-related genetic variants in POAG, and the phenotype (HTG or NTG) in POAG depends on the additive effects of IOP-related genetic variants.

研究分野：眼科学 緑内障 人類遺伝学

キーワード：原発開放隅角緑内障 遺伝子多型 眼圧 POAG IOP NTG HTG VCDR

### 1. 研究開始当初の背景

緑内障は、視神経の脱落により高度の視機能障害を来す疾患であり、臨床的には、特徴的な視神経乳頭の陥凹拡大と視神経線維欠損、視野検査にて視神経線維欠損部位に一致した視野狭窄を認め、末期には視力低下も伴う。緑内障の中で最も頻度が高い原発開放隅角緑内障(POAG)の発症、進行の原因として、高眼圧は重要な因子であるが、眼圧以外にも様々な因子が関与していると思われる。しかし、眼圧上昇メカニズムや他因子の関与については未だ不明な点が多いのが現状である。緑内障家族歴も重要な危険因子のひとつであり、POAG発症に関与する遺伝要因の検索により、これまで約15のPOAG原因遺伝子座位が報告されている。これら遺伝子座位のうち、いくつかの遺伝子変異が同定されているが、これら遺伝子変異による緑内障発症の頻度はPOAG全体の5%以下と少なく、POAGの大半は複数の感受性遺伝子多型による多因子(遺伝子)疾患であると推察される。POAG感受性遺伝子多型は、眼圧上昇に関与するIOP-related遺伝子多型と、眼圧とは別に視神経の脆弱性に関与するnon-IOP-related遺伝子多型の2つに分類されると考えられる。これまで我々は、POAGと遺伝子変異、遺伝子多型との関係を明らかにするため、日本人対象症例から血液サンプルを収集して検索を行い報告してきた。そして我々は、5つのnon-IOP-related遺伝子多型について、各症例におけるrisk alleleの合計(0~10個)と検索遺伝子多型のPOAG発症リスク(相対危険度)の積を算出し、正常眼圧緑内障(NTG)群、眼圧上昇を伴う狭義POAG(HTG)群、非緑内障control群間で比較したところ、NTG群、HTG群におけるrisk allele数、POAG発症リスクの積は、control群と比べ有意に大きく、これは、POAGが複数の遺伝要因からなる多因子疾患であること、HTG発症にはIOP-related遺伝子多型(眼圧上昇)だけでなく、non-IOP-related遺伝子多型(視神経脆弱性)も重要な役割を果たしていることを報告した。また、POAG症例において、risk allele数が増えるにつれて緑内障家族歴を持つ症例の割合も増える傾向があり、これは、緑内障家族歴がPOAG発症の危険因子なのは、緑内障家族歴がPOAG感受性遺伝子の影響を反映しているためであることを示した初めての報告である。これら解析結果より、我々は以下のようなPOAG発症メカニズムの仮説を提唱した。IOP-related遺伝子多型が増えると眼圧は高く、non-IOP-related遺伝子多型が増えると視神経脆弱性は強くなり、IOP-related遺伝子多型が少なく、non-IOP-related遺伝子多型が多い症例はNTG、IOP-related遺伝子多型が多く、non-IOP-related遺伝子多型が少ない症例は高眼圧症(OH)、IOP-related遺伝子多型、non-IOP-related遺伝子多型両方が多い症例はHTGの表現型を呈すると考えられる。しかし、複数のIOP-related遺伝子多型と眼圧上昇の関係については検討されていなかった。

### 2. 研究の目的

新規に報告されたIOP-related遺伝子多型を含むPOAG感受性遺伝子多型の検索を行い、IOP-related遺伝子多型の相加効果と眼圧、表現型との関連について検討、前述した眼圧上昇メカニズム、POAG発症メカニズムの仮説を検証する。

### 3. 研究の方法

#### (対象)

POAG: 典型的緑内障性視神経乳頭陥凹、静的自動視野計にて視神経乳頭変化に一致した緑内障性視野欠損を認め、隅角検査にて開放隅角かつ眼圧上昇の原因となるような他の眼疾患のない症例。最高眼圧が21mmHg以上の症例をHTG、21mmHg以下の症例をNTGと定義

非緑内障コントロール: 40歳以上、眼圧21mmHg以下で、正常視神経乳頭(垂直視神経乳頭陥凹径/視神経乳頭径比:VCDR 0.4以下で、乳頭辺縁rimの非薄化を伴わないもの)を呈し、緑内障家族歴がなく、POAGと関連のある眼疾患や視神経疾患のない症例と定義

#### (方法)

本研究は、すでに山梨大学医学部倫理委員会の承認を得ている。書面によるインフォームドコンセントにて同意の得られた症例より採血を行い、本研究の対象者とする。採取した血液サンプルよりゲノムDNAを抽出し、POAG感受性遺伝子多型の遺伝子型をTaqMan SNP Genotyping Assay 法にて同定する。表現型の評価として、対象症例より、視力、屈折(等価球面度数)、最高眼圧、VCDR、ハンフリー視野検査、緑内障家族歴、診断時年齢などの臨床検査、問診を行う。9つのIOP-related遺伝子多型について、各症例におけるrisk alleleの合計(0~18個)を算出し、NTG群、HTG群、コントロール群間で比較する。また、POAG症例において、risk alleleの合計と最高眼圧、VCDRに相関が認められないか重回帰分析を行う。

### 4. 研究成果

(IOP-related 遺伝子多型と最高眼圧の関係) IOP-related遺伝子多型risk alleleの合計と最高眼圧の間に有意な正の相関が認められ、risk alleleの合計が大きくなるほど最高眼圧が高くなる傾向にあった。(表1)

表1 最高眼圧を従属変数とした重回帰分析の結果

独立変数	標準回帰係数	標準誤差	P値
年齢(才)	-0.079	0.021	0.027
性別(男性)	0.20	0.55	< 0.0001
9つのIOP-related遺伝子多型risk alleleの合計	0.090	0.15	0.012

F値 = 15.8, P < 0.0001.

(IOP-related 遺伝子多型と VCDR の関係)

IOP-related遺伝子多型risk alleleの合計とVCDRの間に有意な正の相関が認められ、risk

alleleの合計が大きくなるほどVCDRが大きくなる傾向にあった。(表2)

表2 VCDRを従属変数とした重回帰分析の結果

独立変数	標準回帰係数	標準誤差	P値
年齢(才)	-0.059	0.001	0.10
性別(男性)	0.11	0.019	0.0019
9つのIOP-related遺伝子多型risk alleleの合計	<b>0.093</b>	0.005	<b>0.010</b>

F値 = 7.2, P < 0.0001.

(IOP-related遺伝子多型とPOAG表現型)  
IOP-related遺伝子多型risk alleleの合計をcontrol群、NTG群、HTG群間で比較したところ、HTG群におけるrisk alleleの合計はcontrol群と比べ有意に多かった。(図1)

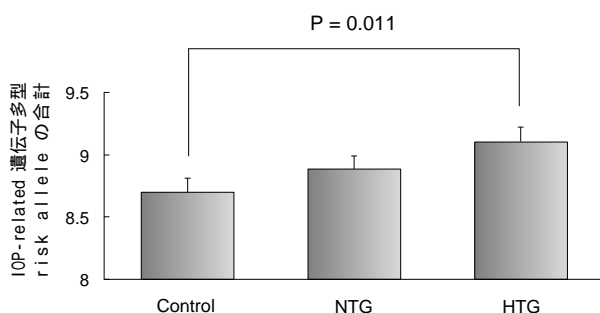


図1 IOP-related 遺伝子多型と POAG 表現型の関係  
9つの IOP-related 遺伝子多型 risk allele の合計を各症例毎に算出し、control 群、NTG 群、HTG 群間で比較したところ、HTG 群における risk allele の合計は control 群と比べ有意 (P=0.040,分散分析)に多かった。

これら結果は、POAGにおける眼圧上昇やVCDR拡大は、IOP-related遺伝子多型の相加効果によること、NTGとHTGは遺伝背景が異なること、POAGがNTGまたはHTGどちらの表現型を呈するかは、IOP-related遺伝子多型をどの程度持っているかに依存していることを示している。

#### <引用文献>

Mabuchi, F., Sakurada, Y., Kashiwagi, K., Yamagata, Z., Iijima, H., Tsukahara, S. (2015). Involvement of genetic variants associated with primary open-angle glaucoma in pathogenic mechanisms and family history of glaucoma. *Am J Ophthalmol*, 159(3), 437-444 e432. doi: 10.1016/j.ajo.2014.11.023

Mabuchi, F., Mabuchi, N., Sakurada, Y., Yoneyama, S., Kashiwagi, K., Iijima, H., Yamagata, Z., Takamoto, M., Aihara, M., Iwata, T., Kawase, K., Shiga, Y., Nishiguchi, K. M., Nakazawa, T., Ozaki, M., Araie, M., for the Japan Glaucoma Society Omics Group. (2017). Additive effects of genetic variants associated with intraocular pressure in primary open-angle glaucoma. *PLoS One*, 12(8), e0183709.

doi: 10.1371/journal.pone.0183709

#### 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13件)

間瀬文彦、(2018)、緑内障感受性遺伝子、眼科、60巻(5)、495-501、<http://www.kanehara-shuppan.co.jp/>、  
査読無

Shiga, Y., Akiyama, M., Nishiguchi, K. M., Sato, K., Shimozawa, N., Takahashi, A., Momozawa, Y., Hirata, M., Matsuda, K., Yamaji, T., Iwasaki, M., Tsugane, S., Oze, I., Mikami, H., Naito, M., Wakai, K., Yoshikawa, M., Miyake, M., Yamashiro, K., Kashiwagi, K., Iwata, T., Mabuchi, F., Takamoto, M., Ozaki, M., Kawase, K., Aihara, M., Araie, M., Yamamoto, T., Kiuchi, Y., Nakamura, M., Ikeda, Y., Sonoda, K. H., Ishibashi, T., Nitta, K., Iwase, A., Shirato, S., Oka, Y., Satoh, M., Sasaki, M., Fuse, N., Suzuki, Y., Cheng, C. Y., Khor, C. C., Baskaran, M., Perera, S., Aung, T., Vithana, E. N., Cooke Bailey, J. N., Kang, J. H., Pasquale, L. R., Haines, J. L., Wiggs, J. L., Burdon, K. P., Gharakhani, P., Hewitt, A. W., Mackey, D. A., MacGregor, S., Craig, J. E., Allingham, R. R., Hauser, M., Ashaye, A., Budenz, D. L., Akafo, S., Williams, S. E. I., Kamatani, Y., Nakazawa, T., Kubo, M., for the Japan Glaucoma Society Omics Group (2018).

Genome-wide association study identifies seven novel susceptibility loci for primary open-angle glaucoma. *Hum Mol Genet*, 27(8), 1486-1496. doi: 10.1093/hmg/ddy053, 査読有

Shiga, Y., Nishiguchi, K. M., Kawai, Y., Kojima, K., Sato, K., Fujita, K., Takahashi, M., Omodaka, K., Araie, M., Kashiwagi, K., Aihara, M., Iwata, T., Mabuchi, F., Takamoto, M., Ozaki, M., Kawase, K., Fuse, N., Yamamoto, M., Yasuda, J., Nagasaki, M., Nakazawa, T., for the Japan Glaucoma Society Omics Group (2017). Genetic analysis of Japanese primary open-angle glaucoma patients and clinical characterization of risk alleles near *CDKN2B-AS1*, *SIX6* and *GAS7*. *PLoS One*, 12(12), e0186678. doi: 10.1371/journal.pone.0186678, 査読有

Kikushima, W., Sakurada, Y., Sugiyama, A., Yoneyama, S., Tanabe, N., Matsubara, M., Mabuchi, F., Iijima, H. (2017). Comparison of two-year outcomes after photodynamic therapy with ranibizumab or aflibercept for polypoidal choroidal vasculopathy. *Sci Rep*, 7(1), 16461. doi: 10.1038/s41598-017-16476-1, 査読有

Mabuchi, F., Mabuchi, N., Takamoto, M., Sakurada, Y., Yoneyama, S., Kashiwagi, K., Iijima, H., Yamagata, Z., Aihara, M., Iwata, T., Araie, M., for the Japan Glaucoma Society Omics Group. (2017). Genetic variant near *PLXDC2* influences the risk of primary open-angle glaucoma by increasing intraocular pressure in the Japanese population. *J Glaucoma*, 26(11), 963-966. doi: 10.1097/IJG.0000000000000790, 査読有

Mabuchi, F., Mabuchi, N., Sakurada, Y., Yoneyama, S., Kashiwagi, K., Iijima, H., Yamagata, Z., Takamoto, M., Aihara, M., Iwata, T., Kawase, K., Shiga, Y., Nishiguchi, K. M., Nakazawa, T., Ozaki, M., Araie, M., for the Japan Glaucoma Society Omics, Group. (2017). Additive effects of genetic variants associated with intraocular pressure in primary open-angle glaucoma. *PLoS One*, 12(8), e0183709. doi: 10.1371/journal.pone.0183709, 査読有

Sakurada, Y., Mabuchi, F. (2017). Genetic risk factors for glaucoma and exfoliation syndrome identified by genome-wide association studies. *Curr Neuropharmacol*. doi: 10.2174/1570159X15666170718142406, 査読有

Kikushima, W., Sakurada, Y., Yoneyama, S., Sugiyama, A., Tanabe, N., Kume, A., Mabuchi, F., Iijima, H. (2017). Incidence and risk factors of retreatment after three-monthly aflibercept therapy for exudative age-related macular degeneration. *Sci Rep*, 7, 44020. doi: 10.1038/srep44020, 査読有

Sakurada, Y., Yoneyama, S., Sugiyama, A., Tanabe, N., Kikushima, W., Mabuchi, F., Kume, A., Kubota, T., Iijima, H. (2016). Prevalence and genetic characteristics of geographic atrophy among elderly Japanese with age-related macular degeneration. *PLoS One*, 11(2),

e0149978. doi: 10.1371/journal.pone.0149978, 査読有

Nishisako, M., Meguro, A., Nomura, E., Yamane, T., Takeuchi, M., Ota, M., Kashiwagi, K., Mabuchi, F., Iijima, H., Kawase, K., Yamamoto, T., Nakamura, M., Negi, A., Sagara, T., Nishida, T., Inatani, M., Tanihara, H., Aihara, M., Araie, M., Fukuchi, T., Abe, H., Higashide, T., Sugiyama, K., Kanamoto, T., Kiuchi, Y., Iwase, A., Chin, S., Ohno, S., Inoko, H., Mizuki, N. (2016). *SLC1A1* gene variants and normal tension glaucoma: An association study. *Ophthalmic Genet*, 37(2), 194-200. doi: 10.3109/13816810.2015.1028649, 査読有

Yoneyama, S., Sakurada, Y., Kikushima, W., Sugiyama, A., Tanabe, N., Mabuchi, F., Kubota, T., Iijima, H. (2016). Genetic factors associated with choroidal vascular hyperpermeability and subfoveal choroidal thickness in polypoidal choroidal vasculopathy. *Retina*, 36(8), 1535-1541. doi: 10.1097/IAE.0000000000000964, 査読有

Tateno, Y., Sakurada, Y., Yoneyama, S., Kikushima, W., Mabuchi, F., Sugiyama, A., Tanabe, N., Kubota, T., Iijima, H. (2016). Risk factors for second eye involvement in eyes with unilateral polypoidal choroidal vasculopathy. *Ophthalmic Genet*, 37(2), 177-182. doi: 10.3109/13816810.2015.1020557, 査読有

Sakurada, Y., Mabuchi, F. (2015). Advances in glaucoma genetics. *Prog Brain Res*, 220, 107-126. doi: 10.1016/bs.pbr.2015.04.006, 査読有

[学会発表](計12件)

Mabuchi, F., Additive effects of genetic variants associated with intraocular pressure in primary open-angle glaucoma, World Glaucoma Congress (WGC), 2017

Mabuchi, F., Additive effects of genetic variants associated with primary open-angle glaucoma, American Society of Human Genetics (ASHG), 2017

間瀬文彦、眼圧上昇に關与する遺伝子多型の原発開放隅角緑内障への關連について、日本眼科学会、2016

間瀬文彦、眼圧上昇に關与する遺伝子多型

と眼圧の関連について、日本臨床眼科学会、2016

Mabuchi, F., Association between *SATB1* genetic variant and phenotypic features of primary open-angle glaucoma, Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO), 2016

Mabuchi, F., Association between *SATB1* genetic variant and phenotypic features of primary open-angle glaucoma, European Glaucoma Society (EGS) Congress, 2016

Mabuchi, F., Association between primary open-angle glaucoma and genetic variants associated with intraocular pressure, American Society of Human Genetics (ASHG), 2016

間瀬文彦、*COL15A1* 遺伝子多型と原発開放隅角緑内障表現型との関連について、日本眼科学会、2015

間瀬文彦、*ZPA*、*PLXDC2*、*TMT2* 遺伝子近傍の多型と原発開放隅角緑内障表現型との関連について、日本臨床眼科学会、2015

Mabuchi, F., Association between *COL15A1* genetic variant and phenotypic features of primary open-angle glaucoma in the Japanese population, Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO), 2015

Mabuchi, F., Association between *COL15A1* genetic variant and phenotypic features of primary open-angle glaucoma in the Japanese population, World Glaucoma Congress (WGC), 2015

Mabuchi, F., Genetic variant near *PLXDC2* gene influences the risk of primary open-angle glaucoma by increasing intraocular pressure, American Society of Human Genetics (ASHG), 2015

#### 〔図書〕(計1件)

間瀬文彦、医学書院、臨床眼科増刊号 緑内障なんでも質問箱 緑内障の疾患関連遺伝子は現在どのくらい見つかっているのですか?、2015、48-53

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

間瀬 文彦 (MABUCHI, Fumihiko)  
山梨大学・大学院総合研究部・医学研究員  
研究者番号：20322125

### (2) 研究分担者

柏木 賢治 (KASHIWAGI, Kenji)  
山梨大学・大学院総合研究部・准教授  
研究者番号：30194723

櫻田 庸一 (SAKURADA, Yoichi)  
山梨大学・大学院総合研究部・講師  
研究者番号：90456476

米山 征吾 (YONEYAMA, Seigo)  
山梨大学・大学院総合研究部・助教  
研究者番号：90751652

### (3) 研究協力者

桑原 亮子 (KUWABARA, Ryoko)

吉澤 聡子 (YOSHIZAWA, Satoko)

間瀬 央子 (MABUCHI, Nakako)

久米 淳貴 (KUME, Atsuki)

飯島 裕幸 (IIJIMA, Hiroyuki)

山縣 然太郎 (YAMAGATA, Zentaro)

高本 光子 (TAKMOTO, Mitsuko)

相原 一 (AIHARA, Makoto)

岩田 岳 (IWATA, Takeshi)

志賀 由己浩 (SHIGA, Yukihiro)

西口 康二 (NISHIGUCHI, Koji)

中澤 徹 (NAKAZAWA, Toru)

川瀬 和秀 (KAWASE, Kazuhiko)

尾崎 峯生 (OZAKI, Mineo)

新家 眞 (ARAIE, Makoto)