

令和元年5月31日現在

機関番号：13301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K11262

研究課題名(和文) 時計遺伝子の遺伝子多型による正常眼圧緑内障の眼圧日内変動の予測

研究課題名(英文) Prediction of diurnal IOP variation by polymorphisms in clock genes in normal tension glaucoma

研究代表者

東出 朋巳 (Higashide, Tomomi)

金沢大学・附属病院・講師

研究者番号：20291370

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)：無治療広義原発開放隅角緑内障 83例83眼に対してコンタクトレンズセンサー(CLS)による眼圧変動測定を施行した。コサイン近似したCLS変動パターンの頂点相が視野感度と負の相関があり、CLSパラメータと前日の眼圧値を組み合わせたことが眼圧日内変動予測に有用であった。CLSと24時間血圧計の同時測定を行った症例では、平均血圧がCLS測定値に有意な正の関連を示した。時計遺伝子群7遺伝子(BMAL1, CLOCK, PER1, PER2, PER3, CRY1, CRY2)の17遺伝子多型について遺伝子型をタイピングし、PER2遺伝子のrs2304672とCLS頂点相が関係することを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究によって広義原発開放隅角緑内障においてコンタクトレンズセンサーによる眼圧日内変動測定は緑内障診療に有用な情報を提供できる可能性があること、コンタクトレンズセンサー測定値の変動パターンに時計遺伝子であるPER2の遺伝子多型が関連していることを明らかにすることができた。これらにより、時計遺伝子が緑内障眼の眼圧日内変動に及ぼす影響についてさらに解明していくことが緑内障診療において非常に重要であることを示すことができた。

研究成果の概要(英文)：Diurnal variation of intraocular pressure (IOP) was evaluated with a contact lens sensor (CLS) in untreated patients with primary open angle glaucoma. The acrophase of cosine-fitted CLS curve was negatively associated with visual field sensitivity. The CLS parameters combined with an IOP value measured the day before CLS measurements were useful for predicting the diurnal IOP variation. The mean arterial pressure was positively correlated with CLS value. Among 17 single nucleotide polymorphisms in 7 clock genes, rs 2304672 in PER2 gene was associated with the acrophase of the cosine-fitted CLS curve.

研究分野：眼科学

キーワード：緑内障 眼圧 日内変動 コンタクトレンズセンサー 時計遺伝子 遺伝子多型

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

眼圧日内変動の臨床的意義として、緑内障では変動幅が大きく、変動幅が大きいほど緑内障発症のリスクが大きく、緑内障性視野障害進行のリスクも大きいと報告されている。特に外来眼圧が低くても視野障害が進行する正常眼圧緑内障では、診療時間外に高眼圧を呈する場合があります。眼圧日内変動測定が有用である。眼圧日内変動を緑内障診療に生かすことが推奨されているが、24 時間にわたる眼圧測定は患者と医療者双方に大きな負担となるため、眼圧日内変動測定は限られた施設で限られた患者に対して行われているのが実情である。さらに、眼圧日内変動は 24 時間持続的に被験者の活動を制限せずに測定することが理想である。この用途には従来の眼圧計は限界があったが、近年開発されたコンタクトレンズセンサー (Triggerfish, CLS) は 24 時間の持続的眼圧日内変動の評価に有用であることが多数報告されている。これは眼圧を直接測定するものではないが、眼圧変化による角膜形状変化を電気信号に変換し、24 時間持続的にモニターするものである。眼圧の絶対値に換算はできないが、眼圧変動パターンを再現性よく解析することが可能である。一方、眼圧日内変動は概日リズムを呈する生体現象の一つであり、我々は概日リズムを発振する時計遺伝子である *Cry1*/*Cry2* が眼圧日内変動形成に不可欠であることを初めて報告した (Maeda et al. IOVS2006)。しかし、時計遺伝子が眼圧日内変動を形成する機序は現在のところ不明である。以上のように、緑内障診療に重要な眼圧日内変動を予測することは“アンメットニーズ”であること、近年コンタクトレンズセンサーによって眼圧日内変動パターンの 24 時間にわたる詳細な検討が可能になったこと、時計遺伝子が眼圧日内変動パターンに何らかの影響を及ぼしている可能性が大きいことを背景として、時計遺伝子の遺伝子多型によって眼圧日内変動パターンを予測できるかどうかを解明するという本研究の着想に至った。

2. 研究の目的

本研究の目的は無治療広義原発開放隅角緑内障 (primary open angle glaucoma, POAG) の眼圧日内変動をコンタクトレンズセンサー (Triggerfish, CLS) によって詳細に検討し、CLS 日内変動パターンについて関連する臨床パラメータの探索と時計遺伝子の遺伝子多型 (single nucleotide polymorphism, SNP) との関連性を調べることである。

3. 研究の方法

1) 緑内障患者 (無治療・正常眼圧緑内障) の CLS 日内変動パターンの解析

研究に同意の得られた無治療・正常眼圧緑内障患者に対して CLS によって 24 時間持続的に眼圧変動を測定する。2 日間の検査入院の初日には従来通りのゴールドマン眼圧計による眼圧日内変動測定 (3 時間毎) を行った。2 日目には片目に CLS を装着した (原則として視野障害の進行側を選択)。他眼は 1 日目と同様にゴールドマン眼圧計による眼圧日内変動測定 (3 時間毎) を行った。CLS の測定データ (5 分毎の計測値) から各種パラメータを決定した。当初、100 例の計測を予定した。

2) CLS 日内変動パターンと 24 時間血圧変動との関連

CLS の測定時に同時に 24 時間血圧計を装着し自由行動下で 6 時から 22 時まで 30 分毎、22 時から 6 時まで 1 時間ごとに血圧測定を行った (Ambulatory Blood Pressure Monitoring, ABPM)。CLS の各パラメータと ABPM の血圧パラメータを比較検討した。

3) 時計遺伝子群の遺伝子多型の解析

過去に疾患関連として報告のある時計遺伝子群の遺伝子多型から解析候補遺伝子多型として、7 遺伝子 (BMAL1, CLOCK, PER1, PER2, PER3, CRY1, CRY2) の 17 SNP (rs2290035, rs6486121, rs3789327, rs969485, rs11022775, rs1801260, rs4580704, rs2735611, rs885747, rs228959, rs2304672, rs7602358, rs934945, rs10462020, rs228697, rs2287161, rs10838524) を選定した。眼圧データの取得後に同意の得られた患者の末梢血を採取し、白血球より DNA を抽出した。候補遺伝子多型について、各遺伝子多型に応じたプライマーを使用し PCR により多型を含む領域を増幅し、ダイレクトシーケンシングにより遺伝子型を決定した。時計遺伝子群の遺伝子多型と CLS による眼圧変動パターンとの関連を統計学的に検討した。

4. 研究成果

1) 緑内障患者 (無治療・正常眼圧緑内障) の CLS 日内変動パターンの解析

研究期間内に無治療広義 POAG 83 例 83 眼に対して CLS 測定を施行した (目標症例数 100 例)。コサイン近似した CLS 変動パターンでは全症例において頂点相が夜間に存在した。頂点相は視野 (ハンフリー 24-2 視野) 平均偏差値と有意な負の相関を示した。CLS パラメータと前日の眼圧測定値を組み合わせることは眼圧日内変動予測に有用であった。これらの結果は既報にない新知見であり、CLS 測定が緑内障の日常臨床において有用な検査である可能性を示すものである。

2) CLS 日内変動パターンと 24 時間血圧変動との関連

CLS と ABPM の同時測定を行った症例において、24 時間での平均血圧は CLS 最大値と有意な正の関連を示した。就寝時の平均血圧は CLS 平均値、最小値、最大値と有意な正の関連を示した。CLS パラメータと関連するその他の因子として、年齢 (24 時間、就寝時: 負の関連)、角膜曲率 (24 時間、就寝時: 負の関連)、中心角膜厚 (覚醒時、就寝時: 負の関連) が同定された。こ

これらの結果は既報にない新知見であり、CLS 測定値の解釈において血圧などの因子を考慮する必要のあることを示すものである。

3) 時計遺伝子群の遺伝子多型の解析

CLSと時計遺伝子群のSNPとも解析可能であった67例において、各SNPのmajor homoとminor allele carrierの2群間でのCLSパラメータの違いを検討した。その結果、PER2遺伝子のrs2304672のminor allele carrier(8例)ではmajor homo(59例)よりもCLS頂点相が有意に遅かった。年齢、性別、視野平均偏差、就寝時間、角膜曲率などの影響を調整した重回帰分析においてもこの有意性は変わらなかった。これらの結果は既報にない新知見であり、眼圧日内変動パターン形成に時計遺伝子の遺伝子多型が関連していることを示すものである。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計6件)

Yamada Y, Higashide T, Udagawa S, (他4名, 2番目), The Relationship Between Interoocular Asymmetry of Visual Field Defects and Optic Nerve Head Blood Flow in Patients With Glaucoma. *J Glaucoma*. 28:231-237, (2019) 査読有, doi: 10.1097/IJG.0000000000001181

Wada Y, Higashide T, Nagata A, (他1名, 2番目), Effects of ripasudil, a rho kinase inhibitor, on blood flow in the optic nerve head of normal rats. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 257:303-311, (2019) 査読有, doi: 10.1007/s00417-018-4191-6.

Takehisa S, Higashide T, Kimura M, (他5名, 2番目), Effects of Trabeculectomy on Waveform Changes of Laser Speckle Flowgraphy in Open Angle Glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 60:677-684, (2019) 査読有, doi: 10.1167/iovs.18-25694.

Sakaguchi K, Higashide T, Udagawa S, (他2名, 2番目), Comparison of sectoral Structure-Function Relationships in Glaucoma: Vessel Density Versus Thickness in the Peripapillary Retinal Nerve Fiber Layer. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 58:5251-5262, (2017) 査読有, doi: 10.1167/iovs.17-21955.

Tsuchiya S, Buhr ED, Higashide T, (他2名, 3番目), Light entrainment of the murine intraocular pressure circadian rhythm utilizes non-local mechanisms. *PLoS One*. 12:e0184790, (2017) 査読有, doi:10.1371/journal.pone.0184790.

Tsuchiya S, Higashide T, Toida K, (他1名, 2番目), The Role of Beta-Adrenergic Receptors in the Regulation of Circadian Intraocular Pressure Rhythm in Mice. *Curr Eye Res*. 42:1013-1017, (2017) 査読有, doi: 10.1080/02713683.2016.1264605.

〔学会発表〕(計5件)

Nakazawa K, Higashide T, Tsuchiya S, (他3名, 2番目), Influence of blood pressure and other factors on 24-hour contact lens sensor measurements in patients with untreated glaucoma. 8th World Glaucoma Congress 2019, May 28, 2019, Melbourne, Australia

中澤和樹, 東出朋巳, 土屋俊輔, (他2名, 2番目), 緑内障患者における眼圧日内変動と24時間血圧の関連. 第29回日本緑内障学会 平成30年9月14日, 新潟市

諸角聡美, 東出朋巳, 土屋俊輔, Sonja Simon-Zoula, (他2名, 2番目), 原発性開放隅角緑内障(狭義)の診断補助としてのTriggerfish®の有用性. 第122回日本眼科学会総会 平成30年4月20日, 大阪市

Morokado S, Higashide T, Simon-Zoula S, (他3名, 2番目), SENSIMED Triggerfish® as adjunct to tonometry to identify primary open angle glaucoma patients with measured intraocular pressure below the diagnostic threshold. 33rd Asia-Pacific Academy of Ophthalmology Congress, February 8-11, 2018, Hong Kong, China

諸角聡美, 東出朋巳, 土屋俊輔, (他1名, 2番目), 無治療緑内障眼の眼圧日内変動に対するコンタクトレンズ型センサーの有用性. 第71回日本臨床眼科学会 平成29年10月14日, 東京都

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究分担者: なし

(2)研究協力者

研究協力者氏名：諸角聡美
ローマ字氏名：Morokado Satomi
研究協力者氏名：中澤和樹
ローマ字氏名：Nakazawa Kazuki
研究協力者氏名：土屋俊輔
ローマ字氏名：Tsuchiya Shunsuke
研究協力者氏名：杉山和久
ローマ字氏名：Sugiyama Kazuhisa

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。