

平成 21 年 6 月 1 日現在

研究種目：若手研究（B）
研究期間：2005～2008
課題番号：17791236
研究課題名（和文）
日本人緑内障患者における optineurin 遺伝子変異と臨床所見との関連
研究課題名（英文）Clinical relevance of optineurin sequence alterations in Japanese glaucoma patients
研究代表者
内藤 知子（NAITO TOMOKO）
岡山大学・医学部・歯学部附属病院・助教
研究者番号：60379740

研究成果の概要：
本研究では緑内障患者における optineurin 遺伝子変異の解析を継続し、臨床所見とのより詳細な関連を確立することを目的とした。optineurin 遺伝子変異の中で、c. 603T>A (Met98Lys) の頻度は健常人に比較して緑内障患者で有意に高く、また、c. 412G>A (Thr34Thr) をもつ患者においては、有意な進行がみられる傾向にあった。中心角膜厚が薄い患者においては、有意に視野狭窄進行速度が速い傾向が見られたが、今回有意差を認めなかった。

交付額

(金額単位：円)			
	直接経費	間接経費	合 計
2005 年度	1,400,000	0	1,400,000
2006 年度	1,400,000	0	1,400,000
2007 年度	1,000,000	0	1,000,000
2008 年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
総 計	4,600,000	2,400,000	4,840,000

研究分野：眼科学
科研費の分科・細目：基礎医学・人類遺伝学
キーワード：緑内障、遺伝子変異

1. 研究開始当初の背景

緑内障は失明の主要な原因であり、緑内障性視神経乳頭陥凹と呼ばれる視神経乳頭変化と、それに伴う視野障害を特徴とする疾患である。緑内障原因遺伝子は緑内障家系の連鎖解析により、現在少なくとも6つの遺伝子座位が確認され、それらはGLC1Aから1Fまで位置づけられている。これらの領域に存在する候補遺伝子の解析により、2002年にはoptineurin遺伝子

がGLC1Eの座位に同定され、その遺伝子変異は成人発症の緑内障患者、特に正常眼圧の患者に多くみられることが分かった。申請者はこれまでにoptineurin遺伝子変異と日本人緑内障患者の臨床所見との関連を研究してきたが、optineurin遺伝子変異の中で、c. 603T>A (Met98Lys) の頻度は健常人に比較して、緑内障患者で有意に高く、また、

c. 412G>A(Thr34Thr)をもつ緑内障患者においては、有意な進行がみられることを明らかにした。

optineurin遺伝子変異が緑内障発症の遺伝的原因である可能性のみでなく、緑内障進行に関連した因子である可能性を証明することは、緑内障患者診療の上で大変意義深いことと考える。その理由として第一に挙げられるのは、我が国の40歳以上の緑内障有病率は5.0%と非常に高率であることが最近の疫学調査で判明したことである。早期発見・早期治療することにより、失明にいたる患者を大幅に減少することが期待できると考える。これまでの報告でも、治療により眼圧が目標値にコントロールされているにも関わらず、視野狭窄・視力低下が進行していく症例は少なくなかった。緑内障進行において眼圧以外の因子としては、視神経の循環障害・脆弱性、アポトーシスによる網膜神経節細胞死などがかかわっているのではないかと一般的に考えられているが、どのような患者が進行しやすいのかを決定する手段はない。optineurin遺伝子変異が緑内障進行に関連した危険因子であることを確立できれば、変異をもつ患者にはより濃厚な治療を行うことで進行を遅らせることが期待できる。最終的にはそれらの臨床所見をふまえ、緑内障発症のメカニズムを多因子に分けて調査することにより、緑内障研究のさらなる発展が見込まれる上に、眼圧下降のみでなく視神経保護治療概念まで含めた緑内障薬開発が期待できると思われる。

2. 研究の目的

本研究では緑内障患者におけるoptineurin遺伝子変異の解析を継続し、臨床所見とのより

詳細な関連を確立することを目的とする。患者の性、診断時年齢、家族歴の有無に加えて、眼圧、視神経乳頭陥凹、視野狭窄の程度を定量的かつ経時的に調査し、それらの所見とoptineurin遺伝子変異の有無との関連を検討する。

3. 研究の方法

患者群は岡山大学附属病院眼科の緑内障外来に通院中の開放隅角緑内障（原発開放隅角緑内障および正常眼圧緑内障）患者とする。遺伝子解析研究に同意の得られた患者より採血を行い、10mlの末梢血より密度勾配遠心によって白血球を分離、フェノール/クロロホルム抽出、エタノール沈澱によりgenomic DNAを精製する。optineurin遺伝子変異解析用の特異的プライマーを17セット使用して、polymerase chain reaction(PCR)法でoptineurin遺伝子変異のcoding regionに相当する13か所の遺伝子断片を増幅、得られたすべてのPCR産物を、ABI PRISM BigDye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction KitとABI PRISM Genetic Analyzer 310(PE Applied Biosystems, Foster City, CA)を用いて、ダイレクトシーケンシング法でforward側とreverse側から塩基配列を決定し、optineurin遺伝子変異の有無を検索する。また患者側の臨床所見につき詳細なデータ収集を行う。調査する臨床所見としては患者の性、診断時年齢、家族歴の有無に加えて、眼圧、視神経乳頭陥凹、視野狭窄の程度である。眼圧測定に関してはpachymeterにて中心角膜厚を測定し、大幅にずれる場合は眼圧値を補正して、より正確な眼圧値を得るようにした。視神経乳頭陥凹に関してはパラロイド眼底写

真による記録のみでなく、Heidelberg Retina Tomographによる陥凹部分の定時的・経時的変化を調査する。視野狭窄の程度はHumphry visual field analyzer中心30-2全点閾値テストにより定量的・経時的変化を追う。以上の所見とoptineurin遺伝子変異の有無との間で検定を行い関連をみる。遺伝子解析については、平成10年に岡山大学倫理委員会での承認を得ており、さらに本人からび書面による同意を得ており、さらに本人からの書面による同意を得た上で採血を行っている。結果の判明した個人情報、知りたいという個人には伝えるが、現在のところ変異と臨床所見の関連性を検討している途中段階であり、個人からの申し出がない場合には知らせないことを基本とする。また緑内障患者の治療については、視野異常を進行させないための目標眼圧をあらかじめ設定して行う。一般的に目標眼圧は、原発開放隅角緑内障では、初期で19mmHg以下、中期で16mmHg以下、末期で14mmHg以下、正常眼圧緑内障では12mmHg以下、とすることを目安に設定されている。ただし、この目標眼圧の設定はあくまでも統計処理から導かれた努力目標であって、個々の緑内障眼にとっての耐えられる眼圧（健常眼圧）を正確に反映しているわけではない。個々の患者において定められた期間のエンドポイント毎に、視神経乳頭、視野を計測し、緑内障病変の進行がないかどうかを検証したうえで、治療を進めていくことが必要である。このことは当然ながらoptineurin遺伝子変異の有無にかかわらず行われるべきことであり、その結果、患者に不利益を生ずることなく、optineurin遺伝子変異と臨床所見との関連がprospectiveに評価出来ると思われる。

4. 研究成果

optineurin遺伝子変異のなかで、
c. 603T>A (Met98Lys) の頻度は健常人に「比較して緑内障患者で有意に高く、また、
c. 412G>A (Thr34Thr) をもつ患者においては有意な進行がみられる傾向にあった。また、中心角膜厚が薄い患者においては、視野狭窄進行速度が速い傾向がみられたが、今回は有意差を認めなかった。今後の課題として、中心角膜厚が薄い患者で進行しやすい傾向を認めたことより、緑内障を眼圧・視神経乳頭側からのアプローチのみならず、眼球硬性全体からみた視点からの検討が必要と思われた。

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）

〔学会発表〕（計10件）

① 第10回岡山前眼部疾患研究会
2008.12.14 岡山市

「前眼部OCTの使用経験 ～隅角生体計測の試み～」内藤知子

② 兵庫県西部勤務医会 2008.11.15
姫路市「当科における緑内障手術の現状」
内藤知子

③ 第62回日本臨床眼科学会アフタヌーン
セミナー 2008.10.24 東京都
「PSDを解剖する！どこまで正常？どこから異常？」内藤知子

④ 第62回日本臨床眼科学会
2008.10.23-10.26 東京都
「Bevacizumab 併用線維柱帯切除術の術後成績」
河田哲弘、金田直子、内藤知子、松下恭子、大月洋、高橋真紀子

⑤ 第 62 回 日 本 臨 床 眼 科 学 会
2008.10.23-10.26 東京都

「円蓋部基底線維柱帯切除術における術後
眼圧定量化の指標」

高橋真紀子、内藤知子、金田直子、松下恭子、
大月洋

⑥ 第 19 回 日 本 緑 内 障 学 会
2008.9.12-9.14 大阪市

「緑内障患者の白内障手術前後におけるハ
ンフリー視野変化の検討」

内藤知子、金田直子、松下恭子、大月洋、高
橋真紀子、杉本敏樹、杉本学

⑦ 第 19 回 日 本 緑 内 障 学 会
2008.9.12-9.14 大阪市

「直立頭位と横向きの頭位における隅角角
度の変化」

金田直子、内藤知子、松下恭子、高橋真紀子、
大月洋、吉川啓司

⑧ 第 19 回 日 本 緑 内 障 学 会
2008.9.12-9.14 大阪市

「円蓋部基底線維柱帯切除術の術後成績と
影響を及ぼす因子」

松下恭子、内藤知子、金田直子、大月洋、高
橋真紀子

⑨ 第 112 回 日 本 眼 科 学 会 総 会
2008.4.17-4.20 横浜市

「前眼部光干渉断層計を用いた隅角の生体
計測」

金田直子、内藤知子、松下恭子、高橋真紀子、
大月洋、吉川啓司

⑩ 第 31 回 日 本 眼 科 手 術 学 会 総 会
2008.2.1-2.3 横浜市

「濾過胞再建術の検討」

松下恭子、内藤知子、金田直子、大月洋、高
橋真紀子

6. 研究組織

(1) 研究代表者

内藤 知子 (NAITO TOMOKO)

岡山大学・医学部・歯学部附属病院・助教

研究者番号：60379740

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし