

平成 21 年 5 月 28 日現在

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2007～2008

課題番号：19791287

研究課題名（和文） 加齢性眼疾患における遺伝子多型

研究課題名（英文） Genetic polymorphisms associated with age-related ophthalmic disease

研究代表者

橋爪 公平 (HASHIZUME KOHEI)

岩手医科大学・医学部・助教

研究者番号：50407095

研究成果の概要：代表的な加齢性眼疾患である加齢黄斑変性患者を対象に酸化ストレスに関するマーカーの検索を行った。その結果、加齢黄斑変性患者群では眼底疾患や緑内障を有さないコントロール群と比べて、酸化損傷マーカーである CoQ10 酸化率の上昇、抗酸化因子である葉酸・リコピンの低下が認められ、本疾患の発症に酸化ストレス・抗酸化因子のバランスが関与していることが示唆された。

また毛髪中のミネラル検索も行った。その結果、加齢黄斑変性患者ではヒ素や水銀などの有害ミネラルが多く、金属毒性が疾患に関連している可能性が示唆された。

なお、酸化ストレスに関連する遺伝子多型の検索に関しては、本研究期間に行うことはできなかった。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006 年度	1,700,000	0	1,700,000
2007 年度	1,600,000	480,000	2,080,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	480,000	3,780,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・眼科学

キーワード：酸化ストレス、加齢性眼疾患、遺伝子多型、加齢黄斑変性

1. 研究開始当初の背景

(1) 加齢性眼疾患は眼科領域で最も多い疾患で、老視、白内障、緑内障、加齢黄斑変性などが含まれる。

なかでも加齢黄斑変性は永続的で高度な視機能障害をきたす代表的な疾患である。加齢黄斑変性は網膜の中心部分である黄斑に加齢に伴って変性をきたす疾患である。脈絡膜から新生血管が浸入してくる滲出型 (wet type) と、新生血管は発生せずに変性のみをきたす萎縮型 (非滲出型, dry type) の2つのタイプに分類することができる。特に滲出型では、黄斑部の出血、滲出性変化、網膜剥離をきたし、変視症や著しい視力低下をきたす。

(2) 1998年に福岡県久山町で50歳以上を対象に行われた調査では滲出型が0.67%、萎縮型が0.2%で、我が国での有病率は1%弱と推定された。一方米国チェサピークベイでの調査で50歳以上の有病率が1.8%、オランダロッテルダムでの調査で55歳以上の有病率が1.7%、オーストラリアブルーマウンテンでの調査で49歳以上の有病率が1.9%と、欧米先進国での有病率は50歳以上で約2%と推定される。ライフスタイルが欧米化している我が国では今後欧米と同程度 (約2%) に増加すると予想されている。

(3) 現在のところ加齢黄斑変性症に対する、根本的な治療法はまだない。かつては外科的治療、経瞳孔温熱療法が行われ、現在では光線力学療法、抗 VEGF 抗体療法などが行われているが、依然として決定的な治療法は存在しない。

(4) 加齢黄斑変性に関しては、様々な研究が行われている。臨床研究や基礎研究によって、酸化ストレスが本疾患の病態に大きく関わっていることが判明してきた。申請者らは、網膜色素上皮細胞で活性酸素のメジャーな消去因子であるSOD1 (Super Oxide Dismutase 1) 遺伝子のノックアウトマウスで、ヒトの加齢黄斑変性と同様の網膜変性および脈絡膜新生血管が生じることを明らかにした。(Imamura Y, Noda S, Hashizume K et al. Proc Natl Acad Sci 2006) また加齢とともに網膜外層に位置する視細胞が減少すること、それによっても網膜機能が低下することを明らかにした。(Hashizume K et al. Am J Path 2008)

(5) 臨床研究では、加齢黄斑変性に対する、ビタミン C、 β カロテン、銅、亜鉛大量サプリメントを用いた臨床試験 (AREDS study) で、これらの抗酸化物質が加齢黄斑変性の進行を抑制することが示された。(Clemons TE, Kurinij N, Sperduto RD et al. Arch Ophthalmol 2004) また酸化ストレスと関連するような、喫煙、高血圧、光損傷が加齢黄斑変性の危険因子になること、また抗酸化因子のひとつである葉酸が加齢黄斑変性患者の血清中で低下していることが報告されている。

2. 研究の目的

(1) 本研究の目的は、加齢黄斑変性と酸化ストレスとの関連を明らかにするために、加齢黄斑変性患者を対象に、酸化損傷・抗酸化因子に関連するマーカーを検索し、疾患に関連するバイオマーカーを検出することである。

(2) さらにこれらをもとに遺伝子多型検索をすることが当初の目的であった。

(3) すでに報告されている他遺伝子の多型と組み合わせることによって、それらの因子と酸化ストレスとの関係を明らかにできる可能性もある。

3. 研究の方法

(1) 岩手医科大学眼科において、加齢黄斑変性症患者を対象に、書面で同意を得られた患者を対象に、酸化ストレスマーカー用および遺伝子解析検体用の採血を行う。また同時にコントロール群として眼底疾患・緑内障を有しない白内障患者を対象に、書面で同意を得て採血を行う。

(2) 対象症例数は加齢黄斑変性患者 120 例、コントロール 80 例となった。このうちビタミン剤などのサプリメントを服用していない患者を今回の検討対象とした。

(3) 酸化ストレスマーカーの検索項目として、CoQ10 酸化率、血清 LPO、尿中 8-OHdG、尿中イソプラスタン、酸化関連金属 (鉄、銅) を検索した。

(4) 抗酸化因子として、水溶性ビタミンであるビタミン C、葉酸、ビタミン B12、脂溶性ビタミンである、ルテイン+ゼアキサンチン、β-クリプトキサンチン、リコピン、カロテン、ビタミン A、ビタミン E を検索した。

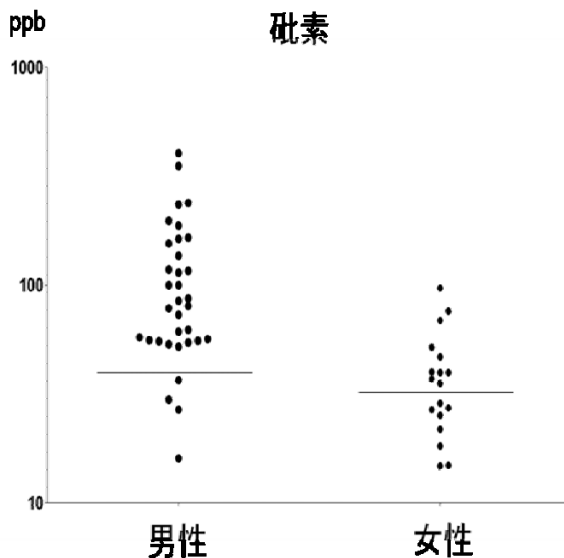
(5) さらに酸化ストレス関連の検索として、毛髪中のミネラルについても検索を行った。有害ミネラルであるベリリウム、アルミニウム、ニッケル、砒素、カドミウム、スズ、水銀、鉛、必須ミネラルであるマグネシウム、リン、カルシウム、クロム、マンガン、鉄、銅、亜鉛、モリブデン、セレンウム、ヨウ素、その他のミネラル（必須が想定される）としてリチウム、バナジウム、コバルト、ゲルマニウム、ナトリウム、カリウム、ストロンチウムについて検索を行った。

(6) ただし遺伝子多型の検索に関しては、期間内での検索はできなかった。

4. 研究成果

加齢黄斑変性群では、酸化ストレスマーカー（CoQ10 酸化率）の上昇、抗酸化因子（葉酸、γ-トコフェロール）の低下が認められた。これらのマーカーの酸化ストレスの病態への関与・バイオマーカーの可能性が示唆された。加齢黄斑変性における葉酸の低下は、Kamburoglu らの過去の報告と一致するものであった。

CoQ10 酸化率に関しては、これまでに他科領域の疾患、肝炎、虚血性心疾患、パーキンソン病、ALS、慢性閉塞性肺疾患で上昇が報告されており、これらの疾患とともに加齢黄斑変性においても酸化ストレスの関与を示



唆するものと考えられた。さらに加齢黄斑変性発症の新たなバイオマーカーとなる可能性が考えられた。

毛髪中のミネラル検索ではヒ素、水銀の含有量が加齢黄斑変性で有意に高値であった。これらの金属の過剰摂取や金属毒性が疾患に影響している可能性が示唆された。

本研究によって、加齢黄斑変性患者において、全身の酸化・抗酸化のバランスが崩れ、酸化ストレスの影響を受けていることが示され、病態に酸化ストレスが関与することが強く裏づけられた。今後、抗酸化因子をノックアウトした動物 (SOD1 ノックアウトマウスやビタミン C ノックアウトマウス) を用いて、負荷実験・レスキュー実験を行うことで、病態の直接的な解明や加齢性眼疾患の治療・予防法の解明が期待される。

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 1 件）

① Retinal Dysfunction and Progressive Retinal Cell Death in SOD1-Deficient Mice. Kouhei Hashizume, Manabu Hirasawa, Yutaka Imamura, Setsuko Noda, Takahiko Shimizu, Kei Shinoda, Toshihide Kurihara, Kosuke Noda, Yoko Ozawa, Susumu Ishida, Yoza Miyake, Takuji Shirasawa, Kazuo Tsubota. *Am J Pathol.* 2008, 27:1325-1331.

〔学会発表〕（計 4 件）

① 加齢黄斑変性 (AMD) の酸化ストレスマーカー検索. 石川陽平、橋爪公平、早川真奈、高橋公美、藤原貴光、町田繁樹、黒坂大次郎、坪田一男、澤登雅一. 2008 年、臨床眼科学会

② Oxidative stress markers in Japanese patients with age-related macular degeneration: a pilot study. Kouhei Hashizume, Yutaka Imamura, Manabu Hirasawa, Masakazu Sawanobori, Susumu Ishida, Daijiro Kurosaka, Kazuo Tsubota. 2008, The Association for Research in Vision and Ophthalmology Meeting

③加齢黄斑変性における酸化ストレスマーカーの評価. 橋爪公平、町田繁樹、黒坂大次郎、平澤学、今村裕、坪田一男、澤登雅一. 2007年、臨床眼科学会

④加齢黄斑変性における酸化ストレスマーカーの評価. 橋爪公平、町田繁樹、黒坂大次郎、今村裕、平澤学、井上真、坪田一男、澤登雅一. 2007年、抗加齢医学会

6. 研究組織

(1) 研究代表者

橋爪 公平 (HASHIZUME KOHEI)
岩手医科大学・医学部・助教
研究者番号：50407095

(2) 研究分担者

(3) 連携研究者