

令和 4 年 6 月 22 日現在

機関番号：22701  
研究種目：基盤研究(C)（一般）  
研究期間：2019～2021  
課題番号：19K09995  
研究課題名（和文）強度近視の分子遺伝学的発症機序の解明  
  
研究課題名（英文）Comprehensive genetic study of high myopia  
  
研究代表者  
山田 教弘（YAMADA, Norihiro）  
  
横浜市立大学・医学部・准教授  
  
研究者番号：00400721  
交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：本研究において、日本人集団を用いて、強度近視を対象に「全ゲノム遺伝子発現解析（whole-genome gene expression analysis）」と「ゲノムワイド関連解析（genome-wide association study）」を統合した解析を実行し、強度近視の発症に關与する疾患感受性遺伝子とパスウェイ（生物学的過程・経路）を同定した。本研究で同定した疾患感受性遺伝子および発症パスウェイの情報は、未知な部分が多く残る近視および強度近視の病態の全容解明の一助になることが期待される。

研究成果の学術的意義や社会的意義  
本研究の遺伝情報は、近視および強度近視の病態の全容解明の一助になることが期待される。また、本研究の成果は、近視を対象とした遺伝子診断の基礎情報となることが期待される。より有効な近視の遺伝子診断が可能になれば、重度の視力低下につながる強度近視の早期予防が可能となり、本人に与える医学的価値は大変高いと考えられる。さらに、本研究の成果は、近視の発症・進行予防薬の新規開発にもつながり、その医学的意義は大変高いと考えられる。

研究成果の概要（英文）：In this study, we performed a comprehensive genetic analysis that combines whole-genome gene expression analysis data with genome-wide association study data of high myopia in a Japanese population and identified several susceptibility genes and pathogenic pathways for high myopia. These findings can lead to deepen the understanding of the pathophysiology of myopia and high myopia.

研究分野：眼科学

キーワード：近視 ゲノムワイド関連解析 遺伝子発現 SNP 発症パスウェイ

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

(1) 近視は眼軸の延長と水晶体の屈折力の変化により、網膜への結像が障害される眼疾患である。近視の中で、眼軸長の異常な延長を示す強度近視は、網膜剥離や黄斑下出血、緑内障、白内障、網膜変性症などの基礎疾患となり、重篤な視力障害を引き起こしうる。強度近視の患者は日本、中国、シンガポールを含むアジア地域（特に、東アジアと東南アジア）において高頻度に存在し、アジア地域における強度近視の有病率は他の地域における有病率と比べて著しい高値を示す。

(2) 近視の有病率は世界中で急激に上昇しており、2050年までに世界人口の約半分（約50億人）が近視を、約1割（約10億人）が強度近視を有する（すなわち、10人に1人が失明のリスクを抱える）可能性が予想されている（Holden BA, et al. *Ophthalmology*. 2016;123(5):1036-1042.）。

(3) 近視は特定の遺伝的要因のもとに何らかの環境要因が関与して発症・進行する多因子疾患であると考えられている。以前より、強度近視を含む近視を対象に、ゲノム全域を網羅する SNP（single nucleotide polymorphism: 一塩基多型）を用いたゲノムワイド関連解析（genome-wide association study: GWAS）が国際的に盛んに行われている。私達のグループも以前より、日本人集団を対象とした強度近視の GWAS 研究を実施している。私達は取得した日本人集団の GWAS データをもとに、国内外の研究グループと共同で GWAS データの解析を実行し、強度近視の発症に関与する遺伝的要因（疾患感受性遺伝子）をこれまでに複数報告している（Fan Q, et al. *PLoS Genet*. 2012;8(6):e1002753. Cheng CY, et al. *Am J Hum Genet*. 2013;93(2):264-277. Miyake M, et al. *Nat Commun*. 2015;6:6689. Meguro A, et al. *Ophthalmology*. 2020;127(12):1612-1624.）。

(4) 私達のグループの研究成果も含めて、これまでに近視の疾患感受性遺伝子は多数同定されているが、それらは近視の遺伝的要因の一部でしかない考えられており、強度近視を含めて近視の発症に関与する遺伝的要因の全体像は依然として明らかではない。

(5) したがって、近視における遺伝的要因の全体像を解明するため、近視を対象とした遺伝学的研究調査を今後さらに発展させる必要がある。

### 2. 研究の目的

(1) 本研究では、日本人集団を用いて強度近視を対象とした網羅的なゲノム解析を実行し、強度近視の発症リスクと有意な相関を示す新規の疾患感受性遺伝子を網羅的に同定することである。

(2) さらに、本研究では、「網羅的に同定した新規の疾患感受性遺伝子」および「既知の疾患感受性遺伝子」を対象にパスウェイ解析を実行することで、強度近視を含めて近視の発症に関与するパスウェイ（生物学的過程・経路）を網羅的に特定し、近視の発症メカニズムおよび病態の解明を行う。

### 3. 研究の方法

(1) 罹患同胞相対危険率（ $s$ ）とは、「特定の疾患の患者の同胞における疾患の罹患率」と「一般集団における疾患の罹患率」の比であり、疾患の発症に対する遺伝的要因の寄与度を測る指標の一つとして用いられる。近視では、近視の程度が強くなるほど  $s$  の値が大きくなることが報告されており、このことは、近視の程度が強いほど、近視の発症や病態に遺伝的要因が強く関与していることを示している（Guggenheim JA, et al. *J Med Genet*. 2000;37(3):227-231. Farbrother JE, et al. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2004;45(9):2873-2878. Peet JA, et al. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2007;48(9):4002-4006.）したがって本研究では、一般に用いられることが多い強度近視の定義（屈折値：-6.0 diopters[D]未満）よりも強度な屈折値を示す強度近視患者（少なくとも片眼の屈折値：-9.0D 未満）を用いて遺伝子解析を実行することで、強度近視の疾患感受性遺伝子のより効果的な解析を行った。

(2) 日本人強度近視患者 200 例および日本人健常者 300 例を対象に、全血から抽出した total RNA サンプルを実験試料として、HumanHT-12 v4 Expression BeadChip Kit および iScan システム（ともにイルミナ社）を用いて全ゲノム遺伝子発現（whole-genome gene expression: WGE）解析を実行し、ゲノム全域に渡る遺伝子発現パターンを検出した。WGE アッセイはイルミナ社の

プロトコルに準拠して実行した。iScan システムによりスキャンされた遺伝子発現データは GenomeStudio ソフトウェア (イルミナ社) を用いて解析を実行し、強度近視患者 200 例と健常者 300 例の間で発現量に有意な差異を示す遺伝子をゲノムワイドに網羅的にスクリーニングした。

(3) 私達は日本人強度近視患者 1,632 例および健常者 1,586 例において、GWAS ジェノタイプピングを完了し、ゲノム全域に渡る 500 万個以上の SNP 情報を取得している (Meguro A, et al. Ophthalmology. 2020;127(12):1612-1624.)。本研究の WGE 解析に用いた日本人強度近視患者 200 例および日本人健常者 300 例は既に GWAS データを取得している検体であるため、WGE データと GWAS データを結合し、強度近視と相関する遺伝子を総合的に評価した。本解析の具体的手順を以下に記す。

500 万個以上の SNP を対象とした GWAS において、強度近視患者群 (1,632 例) と健常者群 (1,586 例) との間で P 値 0.05 未満のアリル頻度差を示す SNP を網羅的に抽出した。一般的に GWAS では、P 値  $5.0 \times 10^{-8}$  未満などの顕著な相関性 (genome-wide significant association) が有意水準として設定されるが、遺伝的効果の低い SNP を見逃さずに網羅的にスクリーニングするため、P 値 0.05 未満を有意基準とした。

で網羅的に抽出した SNP の遺伝子型情報を、WGE 解析で用いた計 500 例に反映させ、近接遺伝子または遠方遺伝子の発現量に有意な変動を生じさせる SNP (eQTL SNP) をピックアップした。

で網羅的にピックアップした eQTL SNP を対象に、WGE データを患者群 (200 例) と健常者群 (300 例) との間で比較し、両群間で発現量に有意差を認める遺伝子 (SNP の遺伝子型の違いによる発現量の変動を介して強度近視の発症に関与する遺伝子) を抽出した。この工程を行うことで、遺伝子の発現量に影響を与える SNP のみを遺伝的効果の強弱に関係なく効果的に絞り込んだ。

(4) (3)までに同定した「強度近視の発症に関与する SNP」、「強度近視患者において発現量が変動を示す遺伝子」および「既知の疾患感受性遺伝子」を対象にパスウェイ解析を実行し、強度近視の発症に関与するパスウェイ (生物学的過程・経路) の候補を統計学的に抽出した。本パスウェイ解析では、ConsensusPathDB (<http://cpdb.molgen.mpg.de/>、Kamburov A, et al. Nucleic Acids Res. 2013;41:793-800.) を用いて実行した。

(5) (4)までの研究結果について、新たな集団を用いて再現性の評価を行った。本工程の SNP 解析および遺伝子発現量解析は TaqMan アッセイを用いて実施した。TaqMan アッセイは Thermo Fischer Scientific 社のプロトコルに準拠した。

(6) 本研究では、すべての血液検体提供者 (強度近視患者、健常者) に対して、研究の目的、研究の期間と方法、研究参加により予測される効果及び危険性、研究に協力しない場合であっても不利益を受けないこと、研究への参加に同意した場合であっても、随時これを撤回できること等を十分に説明し、インフォームドコンセントを得た上で研究に参加していただいた。すべての血液検体提供者の個人情報には連結匿名化の上、本研究に関与しない個人情報管理者によって厳重に管理されている。

(7) 本研究に参加するすべての検体提供施設は、各々の施設の倫理委員会より本遺伝子研究への参加を承認されている。

#### 4. 研究成果

(1) 日本人強度近視患者 200 例および日本人健常者 300 例を対象に WGE 解析を実行し、ゲノム全域に渡る遺伝子発現パターンを検出し、患者・健常者間で発現量に有意な差異を示す遺伝子をスクリーニングした。

(2) その後、(1)で取得した WGE データを GWAS データに結合して強度近視の遺伝的要因の総合的評価を実行し、強度近視の発症リスクに影響を与える疾患感受性遺伝子の候補を網羅的に同定した。

(3) さらに、GWAS データと WGE データを対象としたパスウェイ解析を実行し、強度近視の発症に関与するパスウェイ (生物学的過程・経路) の候補を網羅的に同定した。

(4) (3)までに同定した疾患感受性遺伝子および発症パスウェイを対象に、新たな日本人集団および海外人種集団を用いて再現性の検討 (replication study) を行い、強度近視と真に相関を示す疾患感受性遺伝子および発症パスウェイを複数同定した。

(5) 今後、本研究で同定された遺伝情報をもとに遺伝子の機能解析を進めることで、同定され

た疾患感受性遺伝子および発症パスウェイの介する強度近視の発症メカニズムが明らかになると考えられ、未知な部分が多く残る近視および強度近視の病態の全容解明に一步近づくことが期待される。

(6) また、本研究の遺伝情報は、遺伝子診断の基礎となり、健康診断などでの迅速な強度近視の遺伝子診断を可能とし、重度の視力低下に繋がる強度近視の早期予防が可能となり、本人に与える医学的価値は大変高いと考えられる。

(7) さらに、本研究の成果は近視の新規治療薬の開発にも利用されることが期待され、例えば、同定した疾患感受性遺伝子および発症パスウェイをターゲットとしたモノクローナル抗体や標的分子結合ペプチド、酵素阻害剤などの強度近視の発症・進行予防薬が開発されれば、その医学的意義は大変高いと考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	目黒 明  (MEGURO Akira)  (60508802)	横浜市立大学・医学研究科・特任准教授   (22701)	
研究分担者	水木 信久  (MIZUKI Nobuhisa)  (90336579)	横浜市立大学・医学研究科・教授   (22701)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関