

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 6 月 1 日現在

機関番号：11101

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21592213

研究課題名（和文）網膜色素変性の臨床像におよぼす加齢黄斑変性関連遺伝子多型の影響

研究課題名（英文）EFFECTS OF THE ARMS2 GENE POLYMORPHISM ON CLINICAL FEATURES OF RETINITIS PIGMENTOSA

研究代表者

中澤 満（NAKAZAWA MITSURU）

弘前大学・大学院医学研究科・教授

研究者番号：80180272

研究成果の概要（和文）：網膜色素変性の中心視野狭窄の進行度を修飾する因子として加齢黄斑変性の疾患感受性遺伝子である ARMS2 遺伝子の遺伝子多型 Ala69Ser が機能しているかどうかを研究した。弘前大学医学部附属病院眼科外来にて管理している網膜色素変性患者を対象として弘前大学倫理委員会の承認の下、各患者の ARMS2 遺伝子多型を診断し、ハンフリー10-2プログラムにて計算される中心視野狭窄の進行度と遺伝子多型との関連性を統計学的に解析した。その結果、中心視野の進行度を MD slope で比較すると各遺伝子多型間での進行度の統計学的差異は認められず、ARMS2 遺伝子多型が網膜色素変性の進行度を修飾する可能性は否定された。

研究成果の概要（英文）：I studied the effects of the ARMS2 gene polymorphism, which was known to be related to age-related macular degeneration, on the clinical severities of retinitis pigmentosa to clarify whether this polymorphism also might act as a modifier of retinitis pigmentosa. Under the approval of the committee of ethics for clinical study of Hirosaki University, I analyzed the ARMS2 polymorphism of the patients with retinitis pigmentosa at the Hirosaki University Hospital, and examined the relationship between the types of the ARMS2 polymorphism (Ala69Ser) and progression of visual field constriction evaluated by the MD slope of Humphry's 10-2 program. The results obtained revealed that there was no co-relationship between ARMS2 polymorphisms and MD slopes. These results suggest that the ARMS2 polymorphism (Ala69Ser) may not play as a modifier of the central visual field constriction in patients with retinitis pigmentosa.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2010年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2011年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：外科系臨床医学

科研費の分科・細目：眼科学

キーワード：臨床、眼科学、遺伝性網膜変性、網膜色素変性

1. 研究開始当初の背景

網膜色素変性は遺伝性で視細胞原発性に

発症する進行性網膜変性疾患である。本疾患の原因遺伝子は現在 70 種類以上発見されておりきわめて遺伝的に多様性の高い疾患であることが徐々に判明してきている。また、臨床像も多様性が高く、同じ遺伝子の変異でありながら同一家系内であっても重症度が家族によって異なることが知られている。このような遺伝的および臨床的多様性の原因となる病像の修飾因子については全く知られていない。本研究では加齢黄斑変性の疾患感受性遺伝子として知られる *ARMS2* 遺伝子多型が網膜色素変性の疾患感受性にも関係する可能性を検索したいと考え、研究計画を策定した。

2. 研究の目的

網膜色素変性患者の視野障害の進行度に *ARMS2* 遺伝子の遺伝子多型 (A69S) が関与しているかどうかについて明らかにする。*ARMS2* 遺伝子産物が網膜視細胞のミトコンドリアに特異的に発現するという知見があり、遺伝子多型によって視細胞の脆弱性に影響があると仮定すると加齢黄斑変性ばかりでなく網膜色素変性の視細胞脆弱性にも関与する可能性がある。

3. 研究の方法

(1) 網膜色素変性患者の *ARMS2* 遺伝子多型の診断

ARMS2 遺伝子の加齢黄斑変性疾患感受性を左右する多型は A69S であり、コドン 69 のグアニン塩基 (G) がノンリスクアリルでありチミン塩基 (T) がリスクアリルであることが知られる。弘前大学医学部附属病院眼科外来にて通院中の網膜色素変性患者に強力を依頼し、血液の供与を受け、白血球を分離し、ゲノム DNA を精製した。得られたゲノム DNA から PCR 法により *ARMS2* 遺伝子のエクソン 2 を特異的に増幅し、直接塩基配列決定法にて各患者の *ARMS2* 遺伝子のコドン 69 における遺伝子多型を診断した。本研究の施行に当たっては、弘前大学大学院医学研究科倫理委員会の承認を得た。

(2) 網膜色素変性患者の臨床的重症度の判定

網膜色素変性は進行性疾患であるので、罹患歴の長い患者ほど一般的に重症度は高くなる傾向がある。しかし、視野障害の進行度は一般に各患者毎にほぼ一定と考えられる。その原理を利用して視野検査をハンフリー自動視野計にて複数回行い、各測定時に得られた MD 値の減少度 (回帰係数) を最小自乗法にて計算し、これを各患者毎の重症度 (進行性) と定めた。

4. 研究成果

(1) 遺伝子診断の結果

弘前大学医学部附属病院眼科外来に通院中の網膜色素変性患者 65 名の参加を得た。ノンリスクアリル G とリスクアリル T との組み合わせは G/G, G/T, T/T となるが、それぞれの分布は G/G:G/T:T/T=25:34:6 となった。G アリルと T アリルの出現頻度は G アリルが 0.646 であり、T アリルが 0.354 となり、この頻度は成書に記載されている対照日本人のアリル出現頻度 (G: 0.674, T: 0.326) との間に統計学的な差異は認められなかった。

(2) 網膜色素変性患者の中心視野狭窄の進行度

遺伝子検索に同意の得られた網膜色素変性患者のうち、3 年間の研究期間中に定期的なハンフリー自動視野計 10-2 プログラムを複数回施行し MD slope を計算できた症例は GG 群 16 名、TG 群 27 名、TT 群 4 名であった。それぞれの群での平均 MD slope は GG 群: -1.44 ± 1.56 , TG 群: -1.85 ± 1.27 , TT 群: -1.043 ± 0.42 (平均値±標準偏差) であった。これらの統計量を Shapiro-Wilk 検定によって正規性の有無を確認した後、一元配置分散分析によって群間差を検定したところ有意水準 0.799 によって群間に差がないという結論になった。またノンリスクアリルのホモ接合体 GG とリスクアリルのホモ接合体との間での平均値の比較 (t-検定) でも有意水準 0.698 にて有意差は認められなかった。

(3) 考察

ARMS2 タンパク質は視細胞のミトコンドリアに特異的に発現するとされる。このタンパク質をコードする遺伝子 *ARMS2* 遺伝子には 69 番目のアラニンが点変異によってセリンに置換される多型が存在する。この Ser69 多型は 443 塩基の欠失と 54 塩基の挿入変異と連鎖しており、このアリルから転写されるメッセンジャー RNA は安定性がなくなり分解されることが予想されている。したがって Ser69 多型をホモ接合で持つ人では *ARMS2* タンパク質が発現しないことになる。このことが視細胞の脆弱性に関係し、加齢黄斑変性の疾患感受性に関係することが予想されている。

今回、申請者は *ARMS2* 遺伝子多型が加齢黄斑変性のみならず網膜色素変性患者の中心視野の進行度をも修飾する遺伝子多型にもなっているのではないかと考え、弘前大学医学部附属病院眼科にて管理している網膜色素変性患者において、*ARMS2* 遺伝子多型と網膜色素変性の中心 10-2 視野測定による進行度との関係について検索した。その結果、遺伝子多型の分布においては、これまで報告の

あった一般対照群での多型分布との差は認められなかったが、各多型群には MD slope にて検索した進行度において群間には有意の差異が認められなかった。このことは少なくとも今回の対象患者においては *ARMS2* 遺伝子多型が網膜色素変性の中心視野狭窄の進行度には関与しないことを示唆している。

(4) 結論

加齢黄斑変性疾患感受性遺伝子 *ARMS2* 遺伝子の A69S 多型は網膜色素変性の中心視野狭窄の進行には関与しない。

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 35 件)
英文原著の部

1. Takeuchi K, Nakazawa M, Yamazaki H, Miyagawa Y, Ito T, Ishikawa F, Metoki T.
Solid hyaluronic acid prevents postoperative fibrous scar formation in experimental animal eyes. *Arch Ophthalmol* 127 (4): 460-464 2009 査読有り.
2. Miyagawa Y, Nakazawa M, Kudoh T.
Epidermal nevus syndrome associated with anterior scleral staphyloma and ectopic bone and cartilaginous intraocular tissue. *Jpn J Ophthalmol*. 54: 15-18, 2010 査読有り.
3. Yokoi Y, Nakazawa M, Sato K, Mizukoshi S, Takeuchi K.
Crystal Deposits on the Lens Capsules in Bietti Crystalline Corneoretinal Dystrophy with a mutation in the *CYP4V2* Gene. *Acta Ophthalmol*, 88(5): 607-609, 2010. Epub 2009 Jun 5 査読有り.
4. Suzuki K, Suzuki Y, Matsumoto M, Nakazawa M.
Expression profile of intravitreal cytokines, chemokines and growth factors in patients with Fuchs heterochromic iridocyclitis. *Case*

Rep Ophthalmol. 1: 5-13, 2010 査読有り.

5. Sato K, Nakazawa M, Takeuchi K, Mizukoshi S, Ishiguro S.
S-opsin protein is incompletely modified during N-glycan processing in Rpe65^{-/-} mice. *Exp Eye Res*. 91(1): 54-62, 2010 査読有り.
6. Takeuchi K, Nakazawa M, Ebina Y, Sato K, Metoki T, Miyagawa Y
Inhibitory effects of trehalose on fibroblast proliferation and implications for ocular surgery. *Exp Eye Res*. 91(5): 567-577, 2010 査読有り.
7. Mizukoshi S, Nakazawa M, Sato K, Ozaki T, Metoki T, Ishiguro S.
Activation of mitochondrial calpain and release of apoptosis-inducing factor from mitochondria in RCS rat retinal degeneration. *Exp Eye Res*. 91: 353-361, 2010 査読有り.
8. Matsuo S, Ohguro H, Ohguro I, Nakazawa M.
Clinicopathological roles of aberrantly expressed recoverin in malignant tumor cells. *Ophthalmic Res* 43. 139-144, 2010 査読有り.
9. Ohguro H, Mashima Y, Nakazawa M.
Low levels of plasma endothelin-1 in patients with retinitis pigmentosa. *Clin Ophthalmol* 4: 569-573, 2010 査読有り.
10. Nakazawa M, Ohguro H, Takeuchi K,

Miyagawa Y, Ito T, Metoki T.

Effect of nilvadipine on central visual field in retinitis pigmentosa: a 30-month clinical trial. *Ophthalmologica*, 225: 120-126, 2011 査読有り.

11. Takeuchi K, Nakazawa M, Metoki T, Yamazaki H, Miyagawa Y, Ito T.

Effects of Solid Hyaluronic Acid Film on Postoperative Fibrous Scar Formation after Strabismus Surgery in Animals. *J Pediat Ophth Strab*. 48; 301-304, 2011 査読有り.

12. Suzuki Y, Suzuki K, Metoki T,

Nakazawa M.

Morphological findings of intraocular lens with haptics detached from optics following cataract surgery. *Ophthalmic Surgery, Lasers & Imaging* 2010 Mar 9:1-3. doi: 10.3928/15428877-20100215-7 査読有り

13. Suzuki Y, Nakazawa M, Suzuki K, Yamazaki H, Miyagawa Y.

Expression profiles of cytokines and chemokines in vitreous fluid in diabetic retinopathy and central retinal vein occlusion. *Jpn J Ophthalmol*, 55: 256-263, 2011 査読有り.

14. Takeuchi K, Nakazawa M, Ebina Y.

Effects of trehalose on VEGF-stimulated angiogenesis and myofibroblast proliferation. Implication for glaucoma filtration surgery. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 52(9): 6987-6993, 2011 査読有り.

15. Yokoi Y, Sato K, Aoyagi H, Takahashi Y, Yamagami M, Nakazawa M.

A novel compound heterogenous mutation in the *CYP4V2* gene in a Japanese patient with Bietti's crystalline corneoretinal dystrophy. *Case Reports in Ophthalmology* 2, 296-301, 2011 (DOI: 10.1159/000331885) 査読有り

16. Sato K, Ozaki T, Ishiguro S, Nakazawa M.

M-opsin protein degradation is inhibited by MG-132 in *RPE65*^{-/-} retinal explant. *Mol Vis*. 2012 in press 査読有り.

欧文総説の部

17. Nakazawa M.

Effects of calcium ion, calpains and calcium channel blockers on retinitis pigmentosa. *J. Ophthalmol*. 2011 (2011), Article ID 292040, doi: 10.1150/2011/292040. Online journal 査読有り.

和文原著の部

18. 木村智美、石川 太、山崎仁志、目時友美、伊藤 忠、竹内侯雄、中澤 満 : 各種緑内障手術の成績. *あたらしい眼科* 26 (9)、1279-1285, 2009 査読有り.

19. 大路正人、小椋祐一郎、坂本泰二、白神史雄、平形明人、寺崎浩子、東 範行、飯島裕幸、飯田知弘、池田恒彦、石橋達朗、岸 章治、竹内 忍、中澤 満、根木 昭、堀 貞夫、堀口正之、松村美代、山下英俊、山本修一、湯澤美都子、吉田晃敏、村長久 ; 日本網膜硝子体学会 : 眼内長期滞留ガス (SF₆, C₃F₈) 使用ガイドライン. 日眼会誌

- 114 (2) , 110-115, 2010 査読有り.
20. 山崎仁志、宮川靖博、目時友美、鈴木香、伊藤 忠、横井由美子、木村智美、中澤 満：トラボプロスト点眼液の点状表層角膜症に対する影響。 あたらしい眼科 27(8), 1123-1126, 2010 査読有り.
21. 宮川靖博、山崎仁志、中澤 満：タフルプロスト片眼トリアルによる短期眼圧下降効果。 あたらしい眼科 27(7), 967-969, 2010 査読有り.
22. 鈴木 香、鈴木幸彦、中澤 満：駆逐性出血に対する待機硝子体出血。 臨床眼科 64(9), 1619-1624, 2010 査読有り.
- 和文症例報告の部
23. 鈴木 香、鈴木幸彦、中澤 満：白内障術後に多発性網膜裂孔が見つかったWagner 病の 1 家系。 臨床眼科 63、1673-1676、2009 査読有り.
24. 伊藤 忠、山崎仁志、横井由美子、目時友美、竹内侯雄、木村智美、中澤 満、楠美智己：内境界膜自然剥離を伴った黄斑円孔症例。 あたらしい眼科 26 (12), 1693-1696, 2009 査読有り.
25. 鈴木 香、鈴木幸彦、横井由美子、宮川靖博、目時友美、山崎仁志、中澤 満：真菌性眼窩先端症候群との鑑別に苦慮した肥厚性硬膜炎の 1 例。 日眼会誌 114(8), 687-691, 2010 査読有り.
26. 伊藤 忠、鈴木幸彦、竹内侯雄、横井

由美子、木村智美、山崎仁志、中澤 満、吉田恒一：硝子体手術を行って視神経乳頭マッサージを試みた網膜中心動脈閉塞症の 1 例。 臨床眼科 65 (1): 91-95, 2011 査読有り.

和文総説の部

27. 中澤 満：網膜色素変性診療をめぐる 3つのギャップ。 臨床眼科 63:1051-1055、2009 査読なし.

28. 中澤 満：いま注目される生理活性物質。 眼科医にも分かる生理活性物質と眼疾患の基礎。 臨床眼科 64 : 24-26、2010 査読なし.

29. 中澤 満：臨床から基礎研究へ、そして基礎研究から臨床へ。 基礎研究から難治性眼疾患のブレークスルーをねらえ。 臨床眼科 64 : 1955-1959、2010 査読なし.

30. 竹内侯雄、中澤 満：CNTF。 眼科医にも分かる生理活性物質と眼疾患の基礎 15。 臨床眼科 65 : 276-278、2011 査読なし.

31. 中澤 満：錐体(杆体)ジストロフィ。 あたらしい眼科 28(7): 913-919, 2011 査読なし.

32. 中澤 満：網膜色素変性。 眼科医にも分かる生理活性物質と眼疾患の基礎 21。 臨床眼科 65 (9) : 1394-1397、2011 査読なし.

33. 中澤 満：緑内障濾過手術。 眼科医にも分かる生理活性物質と眼疾患の基礎 22。 臨床眼科 65 (10) : 1572-1575、2011

査読なし.

34. 中澤 満: 涙液. 眼科医にも分かる生理活性物質と眼疾患の基礎 26. 臨床眼科 66 (2) : 156-159、2012 査読なし.

35. 中澤 満: 角膜上皮創傷治癒. 眼科医にも分かる生理活性物質と眼疾患の基礎 26. 臨床眼科 66 (3) : 250-253、2012 査読なし.

[学会発表] (計 10 件)

1. 中澤 満、水越小百合、佐藤孝太、目時友美、石黒誠一 RCS ラット網膜変性に対するミトコンドリアカルパインの関与とその制御の時間効果. 第 113 回日本眼科学会総会. 東京国際フォーラム. 東京 2009. 4. 16.

2. 中澤 満、大黒 浩、山崎仁志、目時友美、伊藤 忠、竹内侯雄、横井由美子 ニルバジピンの網膜色素変性に対する進行遅延効果. 第 63 回日本臨床眼科学会総会. 福岡国際会議場、福岡市 2009. 10. 9.

3. 中澤 満 RPE65 ノックアウトによる錐体オプシンの不安定化. 第 12 回 Japan Macula Club 蒲郡プリンスホテル. 2010.8.23.

4. 中澤 満 網膜色素変性の考え方と最近の進歩. 第 6 回網脈絡膜変性フォーラム. 盛岡市. 2010. 10. 10.

5. 中澤 満、大黒 浩、山崎仁志、目時友美、伊藤 忠、竹内侯雄、横井由美子 ニルバジピンの網膜色素変性の中心視野進行への影響. 第 64 回日本臨床眼科学会総会.

神戸国際会議場. 神戸市、2010. 11. 12.

6. 中澤 満 網膜色素変性の臨床と病態. 第 142 回和歌山眼科学会. ホテルグランビア和歌山、和歌山市、2011. 4. 10.

7. 中澤 満、佐藤孝太、石黒誠一 Rpe65-/-マウスにおける M-オプシンの分解機構と 9-シス-レチナールによる分解抑制. 第 115 回日本眼科学会総会、東京国際フォーラム、東京、2011. 5. 13.

8. 中澤 満 RPE65 遺伝子異常による錐体変性機序. 第 13 回 Japan Macula Club 蒲郡プリンスホテル. 蒲郡市、2011. 8. 21.

9. 中澤 満、尾崎 拓、山下哲郎、石黒誠一 新規ミトコンドリアカルパイン阻害ペプチドによるアポトーシス抑制. 第 31 回日本眼薬理学会. ホテル一畑. 松江市、2011. 9.18.

10. 中澤 満 視細胞保護の分子薬理. 第 31 回日本眼薬理学会ランチョンセミナー. ホテル一畑. 松江市、2011. 9 18.

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 1 件)

名称: トレハロースを用いた血管内皮細胞増殖抑制剤、点眼薬および増殖抑制方法
発明者: 中澤 満、竹内侯雄、蝦名祐一
権利者: 弘前大学、中澤 満、竹内侯雄、蝦名祐一

種類: 発明

番号: 特願 2010-71135、特開 2011-201814

出願年月日: 2010. 3. 25

国内外の別: 国内

○取得状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.med.hirosaki-u.ac.jp/~ophtha1/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

中澤 満 (NAKAZAWA MITSURU)
弘前大学・大学院医学研究科・教授
研究者番号：80180272

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし