様　式　Ｃ－１９、Ｆ－１９－１、Ｚ－１９　（共通）

科研費
KAKENHI

科学研究費助成事業　　研究成果報告書

令和　２ 年　 ６ 月 １８ 日現在

機関番号：２４３０３
研究種目：基盤研究(B)（一般）
研究期間：2017～2019
課題番号：１７Ｈ０４０４６

研究課題名（和文）国際コンソーシアムにおける原発開放隅角緑内障責任遺伝子の同定

研究課題名（英文）Identification of responsible genomic region of Primary Open Angle Glaucoma with International Consortium

研究代表者

田代　啓（Tashiro, Kei）

京都府立医科大学・医学（系）研究科（研究院）・教授

研究者番号：１０２６３０９７

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費）　　13,700,000円

研究成果の概要（和文）：アジア人に特化したゲノムワイドアソシエーション解析用のイルミナ社製ASAアレイを用いて、緑内障症例約1350例、緑内障陰性の対照例約650例をジェノタイピングした。この結果をSingapore National Eye centreの結果と照合して緑内障発症関連解析を行った。特に落屑緑内障発症リスクについて重要なレアバリアントが同定され、現在、染色体13番q12のPOMP、染色体11番23.3のTMEM136、染色体6番p21のAGPAT1、染色体5番q23のSEMA6A、染色体3番p24のRBMS3などの機能的解析を実施中である。

研究成果の学術的意義や社会的意義
緑内障に関するこれらの発見は、国際共同研究が実現できたことによって得られた知見である。これらの重要性は、人種を越えて共通であり、人類の緑内障への理解を深め、対策のための落屑緑内障発症の分子機序解明の糸口となる確かな出発点として分子標的となる発見である。今後、人類は、この成果に基づく緑内障治療法の研究をすすめていくことができる。この成果の重要性は広く認識されるに至っており、本研究代表を共同責任著者に、分担研究者を共同筆頭著者にする論文としてNature Genetics誌に掲載された。

研究成果の概要（英文）：Exfoliation syndrome (XFS) is the commonest known risk factor for secondary glaucoma and a significant cause of blindness. LOXL1 and CACNA1A were known as important variants. To further elucidate the genetics of XFS, Using ASA chip, which is most powerful DNA array for Genome wide Association Study, 1350 glaucoma cases and 650 negative controls were genotyped. Results were analyzed with those in Singapore National Eye Center. For exfoliation syndrome, 5 new important associating loci were identified, namely, 13q12 (POMP), 11q23.3 (TMEM136), 6p21 (AGPAT1), 3p24 (RBMS3) and 5q23 (near SEMA6A). These findings provide biological insights into the pathology of XFS, and highlight a potential role for naturally occurring rare LOXL1variants in glaucoma disease biology.

研究分野：ゲノム医科学

キーワード：緑内障　全ゲノム関連解析　GWAS　多因子疾患　ゲノム　DNAアレイ　DNAチップ

※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。

様　式　Ｃ－１９、Ｆ－１９－１、Ｚ－１９（共通）

１．研究開始当初の背景

過去 10 年に世界中の信頼できる研究による有病率が高い主要多因子疾患の全ゲノム関連解析(GWAS)で得られた疾患関連バリアントの平均オッズ比が低いので、統計学的検出力を上げて rare バリアントを同定することの重要性が認識されている。正常眼圧緑内障(NTG)の GWAS 競争で世界 1 位となった申請者らは、緑内障国際コンソーシアムに参画して、2015, 16 年に 2 年連続(後者は共同筆頭著者と共同責任著者として全体を指導)Nature Genetics 論文の成果をあげているので、今回、rare バリアントが同定可能な次世代コアエキソームアレイを海外と歩調を合わせて実施した上で、その知見を国際的に統合して緑内障ゲノム解析の人類にとっての完成を目指す。

２．研究の目的

本申請課題では、国際コンソーシアムの一員として広義 POAG の大規模エキソーム解析を、疾患に強く関与し得る遺伝子上の従来法では検出できない rare バリアントが同定可能な次世代エキソームアレイで実施した上で、国際的に情報を統合して緑内障ゲノム解析の人類にとっての完成を目指す。平成 29, 30 年度に GWAS データ取得と人種別解析、平成 29, 30 年度に再現性を取得し、広義 POAG に関連する rare バリアントと責任遺伝子を確定する。国際的情報統合により、疾患に強く関与するオッズ比の高い遺伝子上のバリアントの同定が大いに期待できる。

本コンソーシアムでは、人種別解析の成果は各施設に帰属する規定になっており、日本人固有の成果が期待される。また、コンソーシアム内で試料とデータの交換を行うので、関連する倫理と法令を遵守する。本研究を実施することによって、緑内障の発症機序の解明や高オッズ比のバリアントによる高精度な分子診断へ発展が期待される。簡便な血液検査で緑内障の発症が予測できれば、早期診断・治療により失明が予防でき、活力のある長寿社会が実現するだけでなく、視覚障害に伴う医療費や社会福祉関連費の大幅な削減が期待できることから、その意義と波及効果は大きい。

本課題では、国際コンソーシアムの枠組みを利用して日本人の疾患解明に直結する広義 POAGに関連する解析を以下のステップで目指す。

(1)　コアエキソームアレイデータ取得（平成29, 30年度）
(2)　GWASと人種別解析（平成29, 30年度）
(3)　再現性取得（平成29, 30年度）
(4)　rareバリアントと責任遺伝子の同定（平成30年度）
(5)　緑内障患者と健常者の診断情報・検体の蓄積（平成29-31年度）

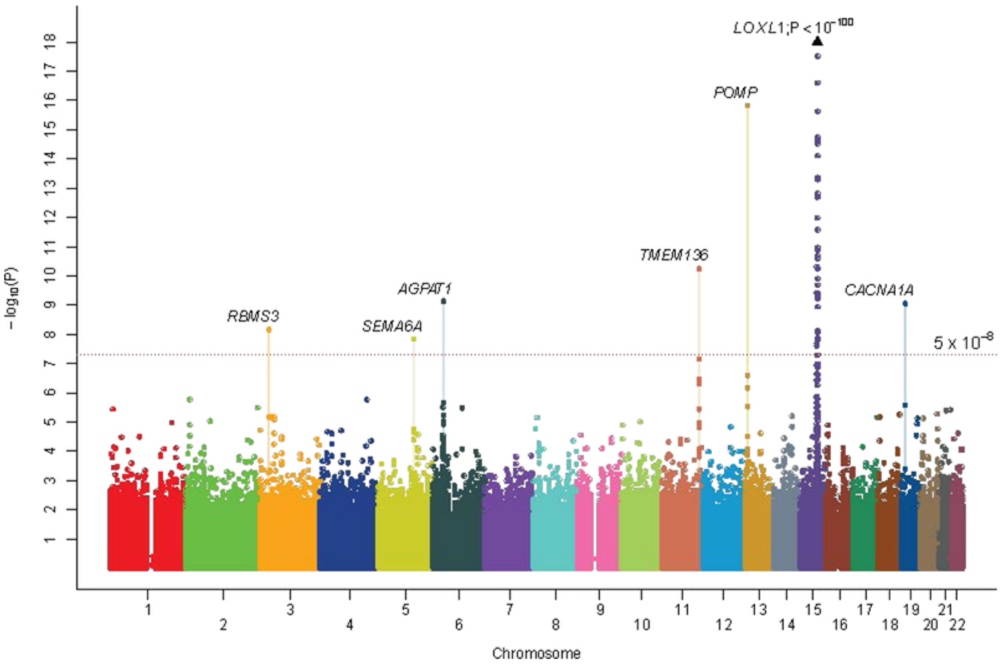
３．研究の方法

国際緑内障遺伝学コンソーシアム（IGGC）のガイドラインに準拠し、本研究の趣旨に同意した者ついて緑内障専門医により前眼部、眼圧、隅角、眼底検査等を行い、視野(静的/動的/FDT)、前房隅角および網膜神経線維層厚の測定(OCT; 光干渉断層計)、視神経乳頭形状解析(HRT)、網膜視神経線維層解析(GDx)、前角膜厚・前眼部形状解析 (Pentacam) データを検討した上で、「緑内障診断および緑内障病型」を厳格に決定した。同じ検査により 40 歳以上の正常ボランティアも厳選する。採血後、連結可能匿名化バーコードを付与しゲノム DNA を抽出すると共に、血漿と全血を保存した。更に、EB ウイルスで細胞株を樹立して保存した。2016 年秋時点で本研究の

目的に最も有用な DNA アレイはイルミナ社コアエキソームアレイであったが、2018 年にアジア人に特化して質の高いゲノム情報を取得できるイルミナ社 ASA チップがアジア各国の共同研究先と歩調を合わせて使用可能になったので、本年度は 2018 年度に引き続いてイルミナ社 HiScaSQ 装置を用いてハイブリダイゼーション実験によりゲノム情報取得を実行した。ジェノタイピングに際しては、イルミナ社が供給しているクラスタリングプロトタイプでは、約 4 割の SNP について本研究のハイブリダイゼーション結果と微妙にずれるため微修正を行って、より正確な結果を得た。高精度シークエンス情報と高精度情報臨床に基づくケース・コントロール相関解析を実施した。アレル頻度比較およびジェノタイプ頻度比較の χ 二乗検定により、ケース群に有意なバリアントを抽出する。マイナーアレル頻度（minor allele frequency, MAF）によるフィルターは設定せずに、領域内の緑内障に関連する全バリアント情報を網羅的に取得した。この結果を Singapore National Eye centre の Aung 博士らの結果と照合して緑内障発症関連解析を行った。共同研究全体の進捗から落屑緑内障に関連する Rare valiant の解析を優先して行った。

４．研究成果

落屑緑内障について共同責任著者として国際共同研究を組織して、症例 13620 例、コントロール 109837 例を比較するゲノムワイドアソシエーション解析（GWAS）を実施して、以前から知られていた LOXL1 と CACNA1A 以外に、5 箇所の領域を同定した。染色体 13 番 q12 の POMP、染色体 11 番 23.3 の TMEM136、染色体 6 番 p21 の AGPAT1、染色体 5 番 q23 の SEMA6A、染色体 3 番 p24 の RBMS3 である。さらに、5 番染色体の LOXL1 には、rare な保護的に働く対立遺伝子（p.Phe407, オッズ比=25, p=2.9x10^14）があることを同定した。



同定した 5 箇所の領域のうち、POMP については、落屑緑内障症例とコントロールでタンパク質量の比較を虹彩組織で実施して、緑内障群では 45%減少していることを見出した。これらの発見は、国際共同研究が実現できたことによって得られた知見である。これらの重要性は、人種

を越えて共通であり、人類の緑内障への理解を深め対策のための落屑緑内障発症の分子機序解明の糸口となる確かな出発点であり、分子標的となる発見である。今後、人類は、この成果に基づく緑内障治療方の研究をすすめていくことができる。この成果は、本研究代表の田代を共同責任著者に、分担研究者の森を共同筆頭著者にする論文としてNature Genetics誌に掲載された。

　計画時には、イルミナ社コアエキソームアレイが国際共同研究に最適なDNAアレイであったが、イルミナ社製 ASA アレイが 2018 年に発売されたのでその時期以降のジェノタイプは ASA チップを用いて実施した。これによる解析は現在進行中である。

＜引用文献＞

Aung T, Mori K, Ikeda Y, Ueno M, Sotozono C, Nakano M, Kinoshita S, Tashiro K**, Khor CC**, et al. Genetic association study of exfoliation syndrome identifies a protective rare variant at LOXL1 and five new susceptibility loci. *Nat. Genet.*, 49: 993-1004, 2017. **Equal contribution.
(**共同責任著者 289 人中 279 番目)

５．主な発表論文等

〔雑誌論文〕　計12件（うち査読付論文　12件／うち国際共著　1件／うちオープンアクセス　0件）

1．著者名	4．巻
Kojima Ken、Nishida Akiko T.、Tashiro Kei、Hirota Kiichi、Nishio Takeshi、Murata Miyahiko、Kato Nobuo、Kawaguchi Saburo、Zine Azel、Ito Juichi、Water Thomas R.	303
2．論文標題	5．発行年
Isolation and Characterization of Mammalian Otic Progenitor Cells that Can Differentiate into Both Sensory Epithelial and Neuronal Cell Lineages	2020年
3．雑誌名	6．最初と最後の頁
The Anatomical Record	451～460
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子）	査読の有無
10.1002/ar.24335	有
オープンアクセス	国際共著
オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	－

1．著者名	4．巻
TSUKAMOTO TAKU、NAKAHATA SHINGO、SATO RYUICHI、KANAI AKINORI、NAKANO MASAKAZU、CHINEN YOSHIAKI、MAEGAWA-MATSUI SAORI、MATSUMURA-KIMOTO YAYOI、TAKIMOTO-SHIMOMURA TOMOKO、MIZUNO YOSHIMI、KUWAHARA-OTA SAEKO、KAWAJI YUKA、TANIWAKI MASAFUMI、INABA TOSHIYA、TASHIRO KEI、MORISHITA KAZUHIRO、KURODA JUNYA	17
2．論文標題	5．発行年
BRD4-Regulated Molecular Targets in Mantle Cell Lymphoma: Insights into Targeted Therapeutic Approach	2019年
3．雑誌名	6．最初と最後の頁
Cancer Genomics - Proteomics	77～89
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子）	査読の有無
10.21873/cgp.20169	有
オープンアクセス	国際共著
オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	－

1．著者名	4．巻
Fuwa Masahiro、Kageyama Masaaki、Ohashi Koji、Sasaoka Masaaki、Sato Ryuichi、Tanaka Masami、Tashiro Kei	9
2．論文標題	5．発行年
Nafamostat and sepimostat identified as novel neuroprotective agents via NR2B N-methyl-D-aspartate receptor antagonism using a rat retinal excitotoxicity model	2019年
3．雑誌名	6．最初と最後の頁
Scientific Reports	-
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子）	査読の有無
10.1038/s41598-019-56905-x	有
オープンアクセス	国際共著
オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	－

1．著者名	4．巻
Yasuda Rei、Nakano Masakazu、Yoshida Tomokatsu、Sato Ryuichi、Adachi Hiroko、Tokuda Yuichi、Mizuta Ikuko、Saito Kozo、Matsuura Jun、Nakagawa Masanori、Tashiro Kei、Mizuno Toshiki	9
2．論文標題	5．発行年
Towards genomic database of Alexander disease to identify variations modifying disease phenotype	2019年
3．雑誌名	6．最初と最後の頁
Scientific Reports	-
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子）	査読の有無
10.1038/s41598-019-51390-8	有
オープンアクセス	国際共著
オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	－

1．著者名 Okumura Naoki、Puangsricharern Vilavun、Jindasak Raina、Koizumi Noriko、Komori Yuya、Ryousuke Hayashi、Nakahara Makiko、Nakano Masakazu、Adachi Hiroko、Tashiro Kei、Yoshii Kengo、Chantaren Patchima、Ittiwut Rungnapa、Shotelersuk Vorasuk、Suphapeetiporn Kanya	4．巻 34
2．論文標題 Trinucleotide repeat expansion in the transcription factor 4 (TCF4) gene in Thai patients with Fuchs endothelial corneal dystrophy	5．発行年 2019年
3．雑誌名 Eye	6．最初と最後の頁 880～885
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41433-019-0595-8	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 －

1．著者名 Takashima Yasuo、Kawaguchi Atsushi、Sato Ryuichi、Yoshida Kenichi、Hayano Azusa、Homma Jumpei、Fukai Junya、Iwadate Yasuo、Kajiwara Koji、Ishizawa Shin、Hondoh Hiroaki、Nakano Masakazu、Ogawa Seishi、Tashiro Kei、Yamanaka Ryuya	4．巻 9
2．論文標題 Differential expression of individual transcript variants of PD-1 and PD-L2 genes on Th-1/Th-2 status is guaranteed for prognosis prediction in PCNSL	5．発行年 2019年
3．雑誌名 Scientific Reports	6．最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-019-46473-5	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 －

1．著者名 Okumura Naoki、Hayashi Ryousuke、Nakano Masakazu、Tashiro Kei、Yoshii Kengo、Aleff Ross、Butz Malinda、Highsmith Edward W.、Wieben Eric D.、Fautsch Michael P.、Baratz Keith H.、Komori Yuya、Ueda Emi、Nakahara Makiko、Weller Julia、Tourtas Theofilos、Schloetzer-Schrehardt Ursula、Kruse Friedrich、Koizumi Noriko	4．巻 38
2．論文標題 Association of rs613872 and Trinucleotide Repeat Expansion in the TCF4 Gene of German Patients With Fuchs Endothelial Corneal Dystrophy	5．発行年 2019年
3．雑誌名 Cornea	6．最初と最後の頁 799～805
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1097/ICO.0000000000001952	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 －

1．著者名 Okumura Naoki、Hayashi Ryosuke、Nakano Masakazu、Yoshii Kengo、Tashiro Kei、Sato Takahiko、Blake Derek J.、Aleff Ross、Butz Malinda、Highsmith Edward W.、Wieben Eric D.、Fautsch Michael P.、Baratz Keith H.、Komori Yuya、Nakahara Makiko、Tourtas Theofilos、Schloetzer-Schrehardt Ursula、Kruse Friedrich、Koizumi Noriko	4．巻 60
2．論文標題 Effect of Trinucleotide Repeat Expansion on the Expression ofTCF4mRNA in Fuchs' Endothelial Corneal Dystrophy	5．発行年 2019年
3．雑誌名 Investigative Opthalmology & Visual Science	6．最初と最後の頁 779～786
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1167/iovs.18-25760	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 －

1．著者名 Saito Kozo、Shigetomi Eiji、Yasuda Rei、Sato Ryuichi、Nakano Masakazu、Tashiro Kei、Tanaka Kenji F.、Ikenaka Kazuhiro、Mikoshiba Katsuhiko、Mizuta Ikuko、Yoshida Tomokatsu、Nakagawa Masanori、Mizuno Toshiki、Koizumi Schuichi	4．巻 66
2．論文標題 Aberrant astrocyte Ca2+ signals “AxCa signals” exacerbate pathological alterations in an Alexander disease model	5．発行年 2018年
3．雑誌名 Glia	6．最初と最後の頁 1053～1067
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/glia.23300	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 －

1．著者名 Tsukamoto Taku、Nakano Masakazu、Sato Ryuichi、Adachi Hiroko、Kiyota Miki、Kawata Eri、Uoshima Nobuhiko、Yasukawa Satoru、Chinen Yoshiaki、Mizutani Shinsuke、Shimura Yuji、Kobayashi Tsutomu、Horiike Shigeo、Yanagisawa Akio、Taniwaki Masafumi、Tashiro Kei、Kuroda Junya	4．巻 7
2．論文標題 High-risk follicular lymphomas harbour more somatic mutations including those in the AID-motif	5．発行年 2017年
3．雑誌名 Scientific Reports	6．最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-017-14150-0	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 －

1．著者名 Yokota A, Hirai H, Sato R, Adachi H, Sato F, Hayashi Y, Sato A, Kamio N, Miura Y, Nakano M, Tenen DG, Kimura S, Tashiro K, Maekawa T.	4．巻 3
2．論文標題 C/EBPβ is a critical mediator of IFN-α-induced exhaustion of chronic myeloid leukemia stem cells.	5．発行年 2019年
3．雑誌名 Blood Adv.	6．最初と最後の頁 476-488
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1182/bloodadvances.2018020503	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 －

1．著者名 Aung T, Mori K, Ikeda Y, Ueno M, Sotozono C, Nakano M, Kinoshita S, Tashiro K, Khor CC, et al.	4．巻 49
2．論文標題 Genetic association study of exfoliation syndrome identifies a protective rare variant at LOXL1 and five new susceptibility loci.	5．発行年 2017年
3．雑誌名 Nat. Genet.	6．最初と最後の頁 993-1004
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/ng.3875	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

〔学会発表〕　計10件（うち招待講演　0件／うち国際学会　0件）

1．発表者名 高島康郎，川口淳，佐藤隆一，吉田健一，早野あづさ，本間順平，深井順也，岩立康男，梶原浩司，石澤伸，本道洋昭，中野正和，小川誠司，田代啓，山中龍也．
2．発表標題 中枢神経系原発悪性リンパ腫におけるTh1/Th2バランスとPD-1およびPD-L2遺伝子発現による予後予測
3．学会等名 第42回日本分子生物学会年会
4．発表年 2019年

1．発表者名 川原勇太，新島瞳，翁由紀子，早瀬朋美，今村俊彦，中野正和，田代啓，森本哲．
2．発表標題 新規遺伝子転座UBAP2L-ABL1を有するT細胞性急性リンパ性白血病
3．学会等名 第81回日本血液学会学術集会
4．発表年 2019年

1．発表者名 徳田雄市，足立博子，富永洋之，丸山悠子，米田一仁，丸山和一，外園千恵，木下茂，中野正和，田代啓．
2．発表標題 新生仔期マウス網膜の遺伝子発現情報のパスウェイ解析，第92回日本生化学会大会
3．学会等名 第92回日本生化学会大会
4．発表年 2019年

1．発表者名 Komori Y, Okumura N, Weller J, Nakano M, Tashiro K, Yoshii K, Aleff R, Butz M, Highsmith EW, Wieben ED, Fautsch MP, Baratz KH, Tourtas T, Kruse FE, Koizumi N et al.
2．発表標題 Association of trinucleotide repeat expansion length in TCF4 with the severity of Fuchs Endothelial Corneal Dystrophy.
3．学会等名 10th EuCornea Congress
4．発表年 2019年

１．発表者名
徳田雄市，足立博子，池田陽子，上野盛夫，外園千恵，木下茂，中野正和，田代啓.

２．発表標題
日本人集団によるフックス角膜内皮変性症関連候補領域のゲノム解析

３．学会等名
第41回日本分子生物学会年会

４．発表年
2018年

１．発表者名
田中雅深，徳田雄市，八木知人，田代啓.

２．発表標題
機能未知遺伝子のデータベースを利用した解析方法の検討

３．学会等名
第41回日本分子生物学会年会

４．発表年
2018年

１．発表者名
Nakano M, Tokuda Y, Adachi H, Ikeda Y, Ueno M, Sotozono C, Kinoshita S, Tashiro K.

２．発表標題
Genetic analyses of Fuchs endothelial corneal dystrophy in a Japanese population.

３．学会等名
68th Annual Meeting of the American Society of Human Genetics

４．発表年
2018年

１．発表者名
徳田雄市，足立博子，富永洋之，丸山悠子，米田一仁，丸山和一，外園千恵，木下茂，中野正和，田代啓.

２．発表標題
マウス新生仔期網膜の発現情報の遺伝子オントロジー解析

３．学会等名
第91回日本生化学会大会

４．発表年
2018年

1．発表者名 田中雅深，徳田雄市，八木知人，田代啓．
2．発表標題 公共データベースを活用した新規遺伝子の機能解析
3．学会等名 生命科学系学会合同年次大会
4．発表年 2017年

1．発表者名 足立博子，富永洋之，丸山悠子，米田一仁，丸山和一，外園千恵，木下茂，中野正和，田代啓．
2．発表標題 発達段階のマウス網膜の網羅的発現解析により同定された血管新生関連遺伝子の機能解析
3．学会等名 生命科学系学会合同年次大会
4．発表年 2017年

〔図書〕　計1件

1．著者名 櫻井晃洋 編（分担執筆）	4．発行年 2018年
2．出版社 メディカルドゥ	5．総ページ数 300
3．書名 遺伝子医学MOOK別冊　第1章総論 3.多因子疾患の遺伝要因探索の歴史と現状	

〔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	木下　茂 (Kinoshita Shigeru) (30116024)	京都府立医科大学・医学（系）研究科（研究院）・教授 (24303)	

６．研究組織（つづき）

	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	外園　千恵 (Sotozono Chie) (30216585)	京都府立医科大学・医学（系）研究科（研究院）・教授 (24303)	
研究分担者	森　和彦 (Mori Kazuhiko) (40252001)	京都府立医科大学・医学（系）研究科（研究院）・講師 (24303)	
研究分担者	池田　陽子 (Ikeda Yoko) (00433243)	京都府立医科大学・医学（系）研究科（研究院）・客員講師 (24303)	
研究分担者	上野　盛夫 (Ueno Morio) (40426531)	京都府立医科大学・医学（系）研究科（研究院）・助教 (24303)	
研究分担者	中野　正和 (Nakano Masakazu) (70381944)	京都府立医科大学・医学（系）研究科（研究院）・准教授 (24303)	
研究分担者	吉井　健悟 (Yoshii Kengo) (90388471)	京都府立医科大学・医学（系）研究科（研究院）・講師 (24303)	