

## 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 25 年 5 月 20 日現在

機関番号：13301

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22591935

研究課題名（和文） 眼圧の日内変動における交感神経系の役割

研究課題名（英文） Role of sympathetic nervous system in diurnal fluctuation of intraocular pressure

研究代表者

桜井 真由美 (SAKURAI MAYUMI)

金沢大学・大学病院・助教

研究者番号：50303269

研究成果の概要（和文）：眼圧は、緑内障において最も重要なリスクファクターであるが、眼圧の日内変動もまた、緑内障の進行に影響を与える因子である。本研究では、アドレナリン受容体の遺伝子多型と、無治療の正常眼圧緑内障患者における日内眼圧との関連を解析した。反復測定分散分析の結果、 $\alpha 2B$  受容体の Del 301-303、 $\alpha 2C$  受容体の Del 322-325、 $\beta 1$  受容体の S49G (A/G) において、遺伝子型によって、日内変動曲線のパターンには変化は見られなかったが、眼圧レベルに有意な差が見られた。

研究成果の概要（英文）：Intraocular pressure (IOP) is the most important identified risk factor of glaucoma and diurnal IOP fluctuations are another risk factor that can influence development of glaucoma. We analyzed the relationship between genetic polymorphisms of the adrenergic receptor (ADR) and diurnal IOP in untreated normal tension glaucoma patients. For Del 301-303 in  $\alpha 2B$ -ADR, Del 322-325 in  $\alpha 2C$ -ADR, and S49G (A/G) in  $\beta 1$ -ADR, results of repeated measures analysis of variance showed that the major allele homozygote and minor allele carrier had parallel diurnal IOP curves but significantly different diurnal IOP levels.

交付決定額

(金額単位：円)

|         | 直接経費      | 間接経費      | 合計        |
|---------|-----------|-----------|-----------|
| 2010 年度 | 1,600,000 | 480,000   | 2,080,000 |
| 2011 年度 | 1,000,000 | 300,000   | 1,300,000 |
| 2012 年度 | 800,000   | 240,000   | 1,040,000 |
| 年度      |           |           |           |
| 年度      |           |           |           |
| 総計      | 3,400,000 | 1,020,000 | 4,420,000 |

研究分野：分子生物学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・眼科学

キーワード：眼圧・日内変動・アドレナリン受容体

## 1. 研究開始当初の背景

わが国の緑内障の有病率は、40 才以上の 5%と報告され、日本人の主な失明原因となっている。緑内障は、患者本人も自覚せずに進行していることが多く、医療機関にかかる

時には、すでに視野障害がかなり進行している場合も多い。最も大きなリスクファクターは眼圧が高いことであるので、眼圧を下げるための多くの薬物治療、手術が行われているが、根治する治療方法はいまだない。日本人

の多くは眼圧が 21mmHg を超えない正常眼圧緑内障であるが、この場合も治療法は眼圧をより下げることである。眼圧は、人では一般に、昼間に高く、夜低い日内変動を示す。また、日内変動以外にも、日々変動、季節変動などもある。眼圧の日内変動には個人差があり、日内変動幅の大きさも緑内障の進行に関与すると報告されている。また、診療時間帯以外の時間帯に眼圧上昇を認める症例もしばしば存在する。このため、個々人の眼圧や、眼圧の日内変動をある程度予測することができれば、臨床上極めて有用と考えられている。

夜行性であるウサギの眼圧は、人とは逆に日中低く夜間高い日内変動を示すが、頸部交感神経節切除により、夜間の眼圧上昇が抑制されることが知られている。また、 $\beta$  遮断薬の点眼は夜間の眼圧を低下させるが、昼間の眼圧は低下させない。この  $\beta$  遮断薬の作用は、房水産生量の減少によることが知られている。これらのことから、眼圧の日内変動には交感神経が関与していると考えられている。

## 2. 研究の目的

アドレナリン受容体遺伝子多型と眼圧に関しては、 $\beta 2$  受容体の Gln27Glu(C/G) や  $\beta 1$  受容体の R389G (C/G) に関して若干報告があるが、眼圧の日内変動と遺伝子多型に関する報告はない。このため、本研究では、正常眼圧緑内障患者においてアドレナリン受容体の遺伝子多型と、眼圧日内変動の関連を解析することを目的とした。

## 3. 研究の方法

この研究は、金沢大学倫理委員会の承認を受け、すべての対象者から同意を得て行われた。眼圧の日内変動を精査する目的で、入院した無治療の正常眼圧緑内障患者の両眼の眼圧を 2 日間、6 時から 24 時まで 3 時間ごとにゴールドマン圧平眼圧計により測定し、この際、血圧、心拍数も測定した。ペンタカムによる中心角膜厚とハンフリーによる視野も測定した。より視野障害の進行した眼の眼圧について、2 日間の同一時刻の眼圧値を平均し、各時刻の眼圧値とした。7 回の測定時刻の平均 (日内平均眼圧)、最高、最低眼圧、

と眼圧変動幅を算出した。

対象者の末梢血を採取し、遺伝子 DNA を抽出した。解析した遺伝子多型は、既知の 17 ヶ所の多型で、 $\alpha 1A$  の R347C、 $\alpha 2A$  の G-1297C、R365R、 $\alpha 2B$  の Del 301-303、G391G、 $\alpha 2C$  の A311A、Del 322-325、A332A、 $\beta 1$  の S49G、R389G、 $\beta 2$  の T-47C、T-20C、R16G、Q27E、L84L、R175R、 $\beta 3$  の W64R である。 $\beta 1$  の S49G、R389G のタイピングには、TaqMan<sup>®</sup> SNP Genotyping Assays を用い、他は多型を含む領域を PCR により増幅し、ダイレクトシーケンスにより、タイピングした。

各遺伝子多型の遺伝子型と日内平均眼圧、最高眼圧、最低眼圧については Student t 検定、眼圧変動幅については Mann-Whitney U 検定で解析した。また、眼圧の日内変動曲線の解析は、反復測定分散分析により解析した。

## 4. 研究成果

対象者は 92 人で、日内平均眼圧は  $14.8 \pm 2.1$  mmHg (平均  $\pm$  標準偏差) だった (表 1)。84 人は正常眼圧緑内障だったが、日内変動測定の結果、8 人は眼圧が 21mmHg を超えることがあり、狭義開放隅角緑内障 (POAG) であった。 $\alpha 2B$  の Del 301-303 と G391G、 $\beta 2$  の T-47C と T-20C については、遺伝子型が一致していたため同一の多型として解析した。 $\alpha 2C$  の A311A は Hardy-Weinberg の法則に従わなかったため、解析しなかった。

各多型の遺伝子型と、日内平均眼圧、最高眼圧、最低眼圧、眼圧変動幅について解析した (表 2)。 $\alpha 2B$  の Del 301-303 では、Insertion/Insertion (I/I) の日内平均眼圧

表1 対象の背景

| 特徴                                      | 値                                |
|---|----------------------------------|
| 年齢 (才)                                  | 49.4 $\pm$ 12.9 (22 ~ 79)        |
| 性別 (男性/女性)                              | 53/39                            |
| 対象眼 (右/左)                               | 39/53                            |
| 平均眼圧 (mmHg)                             | 14.8 $\pm$ 2.1 (10.8 ~ 20.3)     |
| 最高眼圧 (mmHg)                             | 16.7 $\pm$ 2.4 (12.0 ~ 22.0)     |
| 最低眼圧 (mmHg)                             | 12.9 $\pm$ 2.2 (8.5 ~ 18.5)      |
| 眼圧変動幅 (mmHg)                            | 3.8 $\pm$ 1.5 (1.5 ~ 10.0)       |
| MD値 (dB)                                | -9.0 $\pm$ 6.2 (-29.18 ~ 1.15)   |
| 角膜厚 ( $\mu$ m)                          | 540.5 $\pm$ 30.5 (464.0 ~ 616.0) |
| 眼灌流圧 (mmHg)                             | 44.1 $\pm$ 6.9 (33.2 ~ 69.5)     |
| 収縮期血圧 (mmHg)                            | 120.0 $\pm$ 14.3 (91.7 ~ 173.3)  |
| 拡張期血圧 (mmHg)                            | 72.8 $\pm$ 8.9 (55.2 ~ 106.2)    |
| 心拍数                                     | 69.0 $\pm$ 8.4 (49.2 ~ 94.3)     |
| 平均 $\pm$ 標準偏差                           |                                  |
| 1人は角膜厚、5人は眼灌流圧、収縮期血圧、拡張期血圧、心拍数の値を欠いている。 |                                  |

表2 アドレナリン受容体遺伝子多型と日内眼圧

| 遺伝子 | 多型                           | 遺伝子型       | 人数<br>n=92(8) | 平均眼圧     | P値 <sup>†</sup> | 最高眼圧     | P値 <sup>†</sup> | 最低眼圧     | P値 <sup>†</sup> | 眼圧変動幅   | P値 <sup>‡</sup> |
|-----|------------------------------|------------|---------------|----------|-----------------|----------|-----------------|----------|-----------------|---------|-----------------|
| α1A | R347C (C/T)                  | C/C        | 75(6)         | 14.8±2.1 | 0.856           | 16.7±2.4 | 0.873           | 12.8±2.1 | 0.903           | 3.9±1.4 | 0.411           |
|     |                              | T carriers | 17(2)         | 14.7±2.4 |                 | 16.6±2.3 |                 | 12.9±2.6 |                 | 3.7±1.9 |                 |
| α2A | G-1297C (G/C)                | G/G        | 49(5)         | 15.1±2.2 | 0.165           | 17.0±2.4 | 0.166           | 13.0±2.4 | 0.379           | 4.0±1.8 | 0.825           |
|     |                              | C carriers | 43(3)         | 14.5±2.0 |                 | 16.3±2.2 |                 | 12.6±1.8 |                 | 3.7±1.1 |                 |
|     | R365R (C/A)                  | C/C        | 40(2)         | 14.8±2.2 | 0.990           | 16.8±2.3 | 0.760           | 12.7±2.4 | 0.588           | 4.1±1.7 | 0.321           |
|     |                              | A carriers | 52(6)         | 14.8±2.1 |                 | 16.6±2.4 |                 | 13.0±2.0 |                 | 3.7±1.4 |                 |
| α2B | Del 301-303 (I/D)<br>(G391G) | I/I        | 33(5)         | 15.5±2.4 | 0.017*          | 17.4±2.6 | 0.038*          | 13.5±2.5 | 0.046*          | 3.9±1.7 | 0.928           |
|     |                              | D carriers | 59(3)         | 14.4±1.9 |                 | 16.3±2.1 |                 | 12.5±1.9 |                 | 3.8±1.4 |                 |
| α2C | Del 322-325 (I/D)            | I/I        | 78(6)         | 14.6±2.1 | 0.037*          | 17.1±2.3 | 0.029*          | 12.7±2.1 | 0.093           | 3.8±1.3 | 0.943           |
|     |                              | D carriers | 14(2)         | 15.9±2.2 |                 | 18.0±2.2 |                 | 13.8±2.5 |                 | 4.2±2.4 |                 |
|     | A332A (G/A)                  | G/G        | 68(4)         | 14.8±2.0 | 0.859           | 16.6±2.3 | 0.713           | 12.8±2.0 | 0.662           | 3.9±1.7 | 0.490           |
|     |                              | A carriers | 24(4)         | 14.9±2.5 |                 | 16.9±2.5 |                 | 13.0±2.6 |                 | 3.8±1.0 |                 |
| β1  | S49G (A/G)                   | A/A        | 65(6)         | 15.1±2.2 | 0.023*          | 17.1±2.4 | 0.019*          | 13.2±2.3 | 0.014*          | 3.9±1.6 | 0.726           |
|     |                              | G carriers | 27(2)         | 14.0±1.8 |                 | 15.8±2.2 |                 | 12.1±1.5 |                 | 3.7±1.4 |                 |
|     | R389G (C/G)                  | C/C        | 54(3)         | 14.7±2.0 | 0.395           | 16.5±2.3 | 0.332           | 12.6±1.9 | 0.142           | 3.9±1.7 | 0.952           |
|     |                              | G carriers | 38(5)         | 15.0±2.3 |                 | 17.0±2.5 |                 | 13.3±2.5 |                 | 3.7±1.3 |                 |
| β2  | T-47C (T/C)<br>(T-20C)       | T/T        | 72(6)         | 14.9±2.0 | 0.611           | 16.7±2.3 | 0.871           | 13.0±2.1 | 0.381           | 3.8±1.5 | 0.198           |
|     |                              | C carriers | 20(2)         | 14.6±2.5 |                 | 16.6±2.5 |                 | 12.5±2.5 |                 | 4.2±1.5 |                 |
|     | R16G (A/G)                   | A/A        | 23(2)         | 14.9±1.8 | 0.908           | 16.6±2.2 | 0.751           | 12.8±2.0 | 0.815           | 3.8±1.6 | 0.627           |
|     |                              | G carriers | 69(6)         | 14.8±2.2 |                 | 16.7±2.4 |                 | 12.9±2.2 |                 | 3.9±1.5 |                 |
|     | Q27E (C/G)                   | C/C        | 77(6)         | 14.8±2.1 | 0.591           | 16.6±2.4 | 0.440           | 12.9±2.1 | 0.979           | 3.8±1.5 | 0.207           |
|     |                              | G carriers | 15(2)         | 15.1±2.4 |                 | 17.1±2.4 |                 | 12.9±2.5 |                 | 4.3±1.6 |                 |
|     | L84L (G/A)                   | G/G        | 36(3)         | 14.7±2.1 | 0.658           | 16.5±2.3 | 0.486           | 12.6±2.3 | 0.317           | 3.9±1.6 | 0.866           |
|     |                              | A carriers | 56(5)         | 14.9±2.1 |                 | 16.8±2.4 |                 | 13.0±2.1 |                 | 3.8±1.5 |                 |
|     | R175R (C/A)                  | C/C        | 36(3)         | 14.7±2.1 | 0.658           | 16.5±2.3 | 0.486           | 12.6±2.3 | 0.317           | 3.9±1.6 | 0.866           |
|     |                              | A carriers | 56(5)         | 14.9±2.1 |                 | 16.8±2.4 |                 | 13.0±2.1 |                 | 3.8±1.5 |                 |
| β3  | W64R (T/C)                   | T/T        | 63(6)         | 14.7±2.2 | 0.402           | 16.7±2.5 | 0.765           | 12.7±2.3 | 0.341           | 3.9±1.6 | 0.576           |
|     |                              | C carriers | 29(2)         | 15.1±2.0 |                 | 16.8±2.1 |                 | 13.2±2.0 |                 | 3.6±1.3 |                 |

平均 ± 標準偏差、カッコ内は一度でも21mmHgを超えた患者の人数を表す。

<sup>†</sup> Student's t-test. <sup>‡</sup> Mann-Whitney U test. \* P<0.05.

(15.5 ± 2.4 mmHg) はDeletion (D) キャリアー (14.4 ± 1.9 mmHg) より有意に高く ( $P = 0.017$ )、最高眼圧や最低眼圧も有意に高かった ( $P = 0.038$ ,  $P = 0.046$ )。α2Cの Del1322-325では、I/Iの日内平均眼圧(14.6 ± 2.1 mmHg) はDキャリアー (15.9 ± 2.2 mmHg) より有意に低く ( $P = 0.037$ )、最高眼圧も有意に低かった ( $P = 0.029$ )。β1の S49Gでは、A/Aの日内平均眼圧(15.1 ± 2.2 mmHg) はGキャリアー (14.0 ± 1.8 mmHg) より有意に高く ( $P = 0.023$ )、最高眼圧や最低眼圧も有意に高かった ( $P = 0.019$ ,  $P = 0.014$ )。各多型の遺伝子型と一日の眼圧変動幅については、有意な差はなかった。

次に、眼圧の日内変動曲線について解析した。全対象における眼圧の日内変動曲線 (図1A) は、12時に最高眼圧、24時に最低眼圧を示し、反復測定分散分析により、有意な日内変動がみられた。この変動は、従来の報告によく合致していた。各多型の遺伝子型において日内変動曲線について反復測定分散分析を行うと、α2Bの Del 301-303 ( $P = 0.017$ )、β1の S49G ( $P = 0.024$ ) のメジャーホモとα2Cの Del 322-325 ( $P = 0.040$ ) のマ

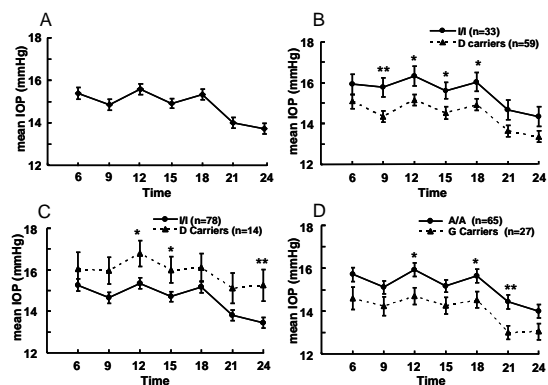


図1 アドレナリン受容体遺伝子多型と眼圧の日内変動曲線

全対象(A)、α2B-ADRのDel 301-303(B)、α2C-ADRのDel 322-325(C)、β1-ADRのS49G(D)。カッコ内に対象の人数を示した。各時刻における検定にはStudent t検定を用いた。グラフは平均±標準誤差で示す。I = insertion, D = deletion。\*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ 。

イナーキャリアーは、それぞれ他の遺伝子型に比べて、眼圧変動パターンは同じだったが、眼圧レベルが有意に高かった(図1B~D)。他の多型では有意な差は見られなかった。この3つの多型について、各時刻における眼圧を

遺伝子型により Student t 検定を行うと、いくつかの時刻で有意な差が認められた。

以上のように、正常眼圧緑内障患者において、 $\alpha 2B$  受容体遺伝子の Del 301-303、 $\alpha 2C$  の Del322-325、 $\beta 1$  の S49G において、遺伝子型と日内変動の平均、最高、最低眼圧の間に有意な関連が認められた。しかし眼圧変動幅においては関連が見られなかった。また、眼圧日内変動曲線の解析から、正常眼圧緑内障患者においてアドレナリン受容体遺伝子の多型は、日内変動のパターンには影響しないが、眼圧レベルに影響を与える可能性が示唆された。

#### 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)

[雑誌論文] (計 4 件)

1. 杉山和久 原発解放隅角緑内障(広義)への挑戦 — 臨床的諸問題とその科学的解決 — 緑内障研究の進歩 第 115 回日本眼科学会総会 評議員会指名講演 I 日本眼科学会雑誌 116(3):233-267, 2012 (査読無)  
<http://journal.nichigan.or.jp/Disp?style=full&vol=116&year=2012&mag=0&number=3&start=233>
  2. 桜井真由美、東出朋巳、杉山和久 眼圧日内変動と緑内障薬物治療への反応性の分子レベルでの解明 金沢大学十全医学会雑誌 第 120 巻 第 4 号 166-170 2011 (査読無)  
<http://hdl.handle.net/2297/30244>
  3. Takahira M, Sakurai M, Sakurada N, Sugiyama K. Swelling-activated potassium channel in porcine pigmented ciliary epithelial cells. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2011 Jul 29;52(8):5928-32. (査読有)  
doi: 10.1167/iovs.11-7173.
  4. Gao Y, Sakurai M, Takeda H, Higashide T, Kawase K, Sugiyama K. Association between genetic polymorphisms of adrenergic receptor and diurnal intraocular pressure in Japanese normal-tension glaucoma. Ophthalmology. 2010 Dec;117(12):2359-2364. e1-2. (査読有)  
doi:10.1016/j.ophtha.2010.04.005.
- [学会発表] (計 8 件)
1. Tomomi Higashide, Kengo Furuichi, Mayumi Sakurai, Shinji Ohkubo, Takashi Wada, Kazuhisa Sugiyama, PAX2 Mutations in Japanese Patients With Renal Coloboma Syndrome, AAO/APAO, 2012. 11.11, McCormick Place Chicago (USA)
  2. 東出朋巳, 古市賢吾, 桜井真由美, 大久保真司, 和田隆志, 杉山和久, 日本人の腎コロボーマ症候群における PAX2 遺伝子異常の検討、第 66 回日本臨床眼科学会、2012 年 10 月 26 日、京都国際会議場 (京都府)
  3. Kazuhisa Sugiyama, Adrenergic Receptor Polymorphisms and Diurnal IOP in NTG Patients, APAO/SOE, 2012. 4. 15, BEXCO, Busan (Korea)
  4. 室谷英治, 東出朋巳、桜井真由美、杉山和久、広義開放隅角緑内障における眼圧日内変動の再現性・左右対称性に及ぼす日々変動の影響、第 22 回日本緑内障学会、2011 年 9 月 24 日、秋田ビューホテル (秋田県)
  5. Murotani E, Higashide T, Sakurai M, Sugiyama K. Reproducibility of diurnal intraocular pressure patterns evaluated by two consecutive day measurements. WGA, 2011. 6. 29 - 7. 1, Palais des Congrès de Paris (France)
  6. 室谷英治, 東出朋巳、桜井真由美、杉山和久 2 日連続測定における眼圧日内変動再現性の検討、第 115 回日本眼科学会総会、2011 年 5 月 12 日、東京国際フォーラム (東京都)
  7. Murotani E, Gao Y, Sakurai M, Takeda H, Higashide T, Toida K, Sugiyama K. Effects of Elimination of  $\beta 1/\beta 2$ -Adrenergic Receptors on Circadian Intraocular Pressure Rhythm. The Association for Research in Vision and Ophthalmology, 2010. 5. 2, Greater Fort Lauderdale/Broward County Convention Center (USA)
  8. 桜井真由美、武田久、高延琳、東出朋巳、

大久保真司、齋藤代志明、杉山和久 ラタ  
ノプロストによる眼圧下降作用とプロス  
タグランジンFP受容体遺伝子多型の検討、  
第114回日本眼科学会総会、2010年4月  
15日、名古屋国際会議場（愛知県）

[その他]

ホームページ等

[http://ganka.w3.kanazawa-u.ac.jp/contz1  
/pages/glcm\\_gr.html](http://ganka.w3.kanazawa-u.ac.jp/contz1/pages/glcm_gr.html)

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

桜井 真由美 (SAKURAI MAYUMI)  
金沢大学・大学病院・助教  
研究者番号：50303269

### (2) 研究分担者

なし

### (3) 連携研究者

杉山 和久 (SUGIYAMA KAZUHISA)  
金沢大学・医学系・教授  
研究者番号：80179168

東出 朋巳 (HIGASHIDE TOMOMI)  
金沢大学・大学病院・講師  
研究者番号：20291370

武田 久 (TAKEDA HISASHI)  
金沢大学・大学病院・助教  
研究者番号：40436811  
(平成22年度)

### (4) 研究協力者

高 延琳 (GAO YANLIN)  
金沢大学・医学系研究科・大学院生  
(平成22年度)