

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 3 年 6 月 1 日現在

機関番号：13501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K09400

研究課題名(和文) 原発開放隅角緑内障発症進行メカニズムの解明 - 感受性遺伝子多型の表現型への関与 -

研究課題名(英文) Investigation of the onset and progression mechanisms of primary open-angle glaucoma - Involvement of genetic variants associated with primary open-angle glaucoma in phenotypic features -

研究代表者

間淵 文彦 (Mabuchi, Fumihiko)

山梨大学・大学院総合研究部・医学研究員

研究者番号：20322125

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：原発開放隅角緑内障(POAG)感受性遺伝子多型は、眼圧(IOP)上昇に関与する IOP-related 遺伝子多型と、眼圧とは別に視神経脆弱性に関与する non-IOP-related 遺伝子多型の2つに分類される。

本研究では、POAG発症リスクの指標として緑内障家族歴、進行リスクの指標として緑内障診断時年齢を用い、IOP-/non-IOP-related 遺伝子多型との関係について検討したところ、POAG発症(緑内障家族歴)には non-IOP-related 遺伝子多型(視神経脆弱性)、進行(緑内障診断時年齢)には IOP-related 遺伝子多型(眼圧上昇)が重要な役割を果たしていることを見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、POAGの発症進行メカニズムが遺伝学的により明らかとなった。これら遺伝情報の積み重ねから、将来的には緑内障になりやすい症例の発症前診断、緑内障進行リスクを遺伝学的に評価することが可能となり、早期発見治療が重要と考えられている緑内障診療の一助となるだけでなく、進行リスクに合わせた目標眼圧設定、治療法選択が可能となるかもしれない。また、個々の症例の臨床像(表現型)と遺伝背景に合わせて、最適かつ有効な治療の選択といった、いわゆるオーダーメイド医療を行える可能性もあり、より質の高い医療を提供できると共に医療経済的にも有益であると考えられ、今後の緑内障治療発展の足掛かりとなった。

研究成果の概要(英文)：Genetic variants predisposing to primary open-angle glaucoma (POAG) can be classified into 2 types: 1 type involves genetic variants associated with IOP elevation (IOP-related genetic variants) and the other type involves genetic variants associated with vulnerability of the optic nerve, independent of IOP (non-IOP-related genetic variants).

In the present study, the associations between the IOP-/non-IOP-related genetic variants and family history of glaucoma as an indicator of POAG onset and age at the diagnosis of glaucoma as an indicator of POAG progression were evaluated. It was found that non-IOP-related (optic nerve vulnerability) rather than IOP-related (IOP elevation) genetic variants may play an important role in the onset of POAG (family history of glaucoma) and that IOP-related rather than non-IOP-related genetic variants may play an important role in its progression (age at the diagnosis of glaucoma).

研究分野：眼科学 緑内障 人類遺伝学

キーワード：原発開放隅角緑内障 遺伝子多型 眼圧 genetic risk score 緑内障家族歴 緑内障診断時年齢 POAG IOP

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

緑内障は、視神経乳頭の陥凹拡大と視神経線維欠損、視野検査にて視神経線維欠損部位に一致した視野狭窄を認め、後期には視力低下も伴う。我が国の失明原因の第1位に位置し、推定患者人口は400万人、有病率は40歳以上で5.0%と報告されている。緑内障の中で最も頻度が高い原発開放隅角緑内障(POAG)の発症、進行の原因として、高眼圧は重要な因子であるが、眼圧以外にも様々な因子が関与していると思われる。しかし、眼圧上昇メカニズムや他因子の関与については未だ不明な点が多いのが現状である。緑内障家族歴も重要な危険因子のひとつであり、POAGに關する遺伝要因の検索により、これまで約15のPOAG原因遺伝子座位が報告されている。これら遺伝子座位のうちMYOC, OPTN, WDR36遺伝子変異が同定されているが、これら遺伝子変異による緑内障の頻度はPOAG全体の5%以下と少なく、POAGの大半は複数の感受性遺伝子多型による多因子(遺伝子)疾患であると推察される。POAG感受性遺伝子多型としては、これまで約70の報告がなされているが、これら以外にも未知の感受性遺伝子が存在していると思われる。また、日本人は他人種と比べ、正常眼圧緑内障(NTG)の頻度が高いという特徴があり、未だ同定されていない日本人特有のPOAG感受性遺伝子多型もあると推察されるが、充分な解析が行われていないのが現状である。POAG感受性遺伝子多型は、眼圧上昇に關するIOP-related遺伝子多型と、近視、循環障害、網膜神経節細胞(RGC)のアポトーシスなど、眼圧とは別に視神経やRGCの脆弱性に關するnon-IOP-related遺伝子多型の2つに分類されると考えられる。これまで我々は、POAGと遺伝子変異、遺伝子多型との関係を明らかにするため、日本人対象症例から血液サンプルを収集して検索を行い報告してきた。そして我々は、複数のnon-IOP-related遺伝子多型について、各症例におけるrisk alleleの合計を算出し、NTG群、狭義POAG(HTG)群、非緑内障control群間で比較したところ、NTG群、HTG群におけるrisk allele数は、control群と比べ有意に大きく、これは、POAGが複数の遺伝要因からなる多因子疾患であること、HTG発症にはIOP-related遺伝子多型(眼圧上昇)だけでなく、non-IOP-related遺伝子多型(視神経脆弱性)も重要な役割を果たしていることを報告した。さらに、IOP-related遺伝子多型についても同様の解析を行った結果、HTG群におけるrisk allele数のみが、control群と比べ有意に大きく、これは、POAGがNTGまたはHTGどちらを呈するかはIOP-related遺伝子多型をどれだけ持っているのかに依存していること、POAGにおける眼圧上昇が複数のIOP-related遺伝子多型の相加効果により起こっていることを示した初めての報告である。これら解析結果より、POAGにおける遺伝学的メカニズムは以下のようなと思われる。IOP-related遺伝子多型が増えると眼圧は高く、non-IOP-related遺伝子多型が増えると視神経脆弱性は強くなり、IOP-related遺伝子多型が少なく、non-IOP-related遺伝子多型が多い症例はNTG、IOP-related遺伝子多型が多く、non-IOP-related遺伝子多型が少ない症例は高眼圧症、IOP-related遺伝子多型、non-IOP-related遺伝子多型両方が多い症例はHTGを呈すると考えられる。また、POAG発症にはnon-IOP-related遺伝子多型(視神経脆弱性)、POAG進行にはIOP-related遺伝子多型(眼圧上昇)が主に重要な役割を果たしているのではないかと推察される。しかし、本仮説については未だ検証されていない。

### 2. 研究の目的

POAG発症リスクの指標として緑内障家族歴、POAG進行リスクの指標として緑内障診断時年齢を用い、non-IOP-related、IOP-related遺伝子多型を含むPOAG感受性遺伝子多型との関係について検討し、POAG発症進行メカニズムの仮説を検証する。

### 3. 研究の方法

#### (対象)

POAG：典型的緑内障性視神経乳頭陥凹、静的自動視野計にて視神経乳頭変化に一致した緑内障性視野欠損を認め、隅角検査にて開放隅角かつ眼圧上昇の原因となるような他の眼疾患のない症例。最高眼圧が21mmHg以上の症例をHTG、21mmHg以下の症例をNTGと定義。

非緑内障コントロール：40歳以上、眼圧21mmHg以下で、正常視神経乳頭(視神経乳頭陥凹比0.4以下で、乳頭辺縁rimの非薄化を伴わないもの)を呈し、緑内障家族歴がなく、POAGと関連のある眼疾患や視神経疾患のない症例と定義。

#### (方法)

本研究は、山梨大学倫理委員会の承認を得ている。書面によるインフォームドコンセントにて同意の得られた対象症例より採血し、本研究の対象者とした。表現型の評価として、視力、屈折、最高眼圧、視野、視神経乳頭陥凹比、緑内障家族歴、緑内障診断時年齢などの臨床データを収集。採取したサンプルよりゲノムDNAを抽出し、Genome wide association studyにより報告された17のIOP-related遺伝子多型、5のnon-IOP-related遺伝子多型の遺伝子型を、TaqMan SNP genotyping assay法にて同定した。解析にはSAS statistical softwareを用い、POAG感受性遺伝子多型の相加効果を評価するため、検索したIOP-related/non-IOP-related遺伝子多型のrisk allele数の合計(それぞれ0-34個/0-10個)をgenetic risk score (GRS)として各症例毎に算出。緑内障家族歴をPOAG発症リスク、診断時年齢をPOAG進行リスクの指標として用い、GRSと緑内障家族歴の関係をロジスティック解析、GRSと診断時年齢の関係を重回帰分析を用いて評価した。

### 4. 研究成果

#### (POAG感受性遺伝子多型と緑内障家族歴の関係)

Non-IOP-related遺伝子多型のGRSと緑内障家族歴の間に有意な相関( $P=0.014$ , オッズ比1.26)が認められ、GRSが大きくなるほど緑内障家族歴を持つ傾向にあった。(表1)

表1 緑内障家族歴を従属変数としたロジスティック解析の結果

独立変数	P値	オッズ比 (95%信頼区間)
non-IOP-related 遺伝子多型 GRS	0.014	1.26 (1.04 to 1.53)
IOP-related 遺伝子多型 GRS	0.1	1.07 (0.99 to 1.17)

IOP: intraocular pressure (眼圧), GRS: genetic risk score

(POAG感受性遺伝子多型と診断時年齢の関係)

IOP-related遺伝子多型のGRSと診断時年齢間に有意な相関( $P=0.0014$ ,  $\beta=-0.14$ )が認められ、GRSが大きくなるほど診断時年齢は若くなる傾向にあった。(表2)

表2 診断時年齢を従属変数とした重回帰分析の結果

独立変数	標準偏回帰係数	P値
non-IOP-related 遺伝子多型 GRS	0.0082	0.85
IOP-related 遺伝子多型 GRS	-0.14	0.0014

IOP: intraocular pressure (眼圧), GRS: genetic risk score

これら結果は、POAGを発症するかどうかは視神経脆弱性(に關与する遺伝子多型)が、POAGがどのくらいの速度で進行していくかは眼圧上昇(に關与する遺伝子多型)が重要な役割を果たしていることを示しており、POAGの病態を解明し、POAG発症進行メカニズムを理解する上で有用な知見である。

#### <引用文献>

Mabuchi F, Sakurada Y, Kashiwagi K, Yamagata Z, Iijima H, Tsukahara S. (2015). Involvement of genetic variants associated with primary open-angle glaucoma in pathogenic mechanisms and family history of glaucoma. *Am J Ophthalmol*, 159(3), 437-444 e432. doi:10.1016/j.ajo.2014.11.023

Mabuchi F, Mabuchi N, Sakurada Y, Yoneyama S, Kashiwagi K, Iijima H, Yamagata Z, Takamoto M, Aihara M, Iwata T, Kawase K, Shiga Y, Nishiguchi KM, Nakazawa T, Ozaki M, Araie M, for the Japan Glaucoma Society Omics Group. (2017). Additive effects of genetic variants associated with intraocular pressure in primary open-angle glaucoma. *PLoS One*, 12(8), e0183709. doi:10.1371/journal.pone.0183709

Mabuchi F, Mabuchi N, Sakurada Y, Yoneyama S, Kashiwagi K, Iijima H, Yamagata Z, Takamoto M, Aihara M, Iwata T, Hashimoto K, Sato K, Shiga Y, Nishiguchi KM, Nakazawa T, Akiyama M, Kawase K, Ozaki M, Araie M, for the Japan Glaucoma Society Omics Group (JGS-OG). (2020). Genetic variants associated with the onset and progression of primary open-angle glaucoma. *Am J Ophthalmol*, 215(7), 135-140. doi:10.1016/j.ajo.2020.03.014.

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Mabuchi F, Mabuchi N, Sakurada Y, Yoneyama S, Kashiwagi K, Iijima H, Yamagata Z, Takamoto M, Aihara M, Iwata T, Hashimoto K, Sato K, Shiga Y, Nishiguchi KM, Nakazawa T, Akiyama M, Kawase K, Ozaki M, Araie M, for the Japan Glaucoma Society Omics Group (JGS-OG)	4. 巻 215
2. 論文標題 Genetic Variants Associated With the Onset and Progression of Primary Open-Angle Glaucoma	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 American Journal of Ophthalmology	6. 最初と最後の頁 135 ~ 140
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ajo.2020.03.014	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 Sakurada Y, Mabuchi F, Kashiwagi K	4. 巻 256
2. 論文標題 Genetics of primary open-angle glaucoma and its endophenotypes	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Progress in Brain Research	6. 最初と最後の頁 31 ~ 47
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/bs.pbr.2020.06.001	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 Yoneyama S, Sakurada Y, Kikushima W, Sugiyama A, Matsubara M, Fukuda Y, Tanabe N, Parikh R, Mabuchi F, Kashiwagi K, Iijima H	4. 巻 10
2. 論文標題 Genetic factors associated with response to as-needed aflibercept therapy for typical neovascular age-related macular degeneration and polypoidal choroidal vasculopathy	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 7188
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-64301-z	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Shijo T, Sakurada Y, Yoneyama S, Kikushima W, Sugiyama A, Matsubara M, Fukuda Y, Mabuchi F, Kashiwagi K	4. 巻 13
2. 論文標題 Association between Polygenic Risk Score and One-Year Outcomes Following As-Needed Aflibercept Therapy for Exudative Age-Related Macular Degeneration	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Pharmaceuticals	6. 最初と最後の頁 257
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ph13090257	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Shiga Y, Akiyama M, Nishiguchi KM, Sato K, Shimozawa N, Takahashi A, Momozawa Y, Kashiwagi K, Iwata T, Mabuchi F, Takamoto M, Ozaki M, Kawase K, Aihara M, Araie M, Kamatani Y, Nakazawa T, Kubo M, Japan Glaucoma Society Omics Group (JGS-OG)、NEIGHBORHOOD Consortium	4. 巻 27
2. 論文標題 Genome-wide association study identifies seven novel susceptibility loci for primary open-angle glaucoma	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Human Molecular Genetics	6. 最初と最後の頁 1486 ~ 1496
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/hmg/ddy053	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Sakurada Y, Mabuchi F	4. 巻 16
2. 論文標題 Genetic Risk Factors for Glaucoma and Exfoliation Syndrome Identified by Genome-wide Association Studies	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Current Neuropharmacology	6. 最初と最後の頁 933 ~ 941
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2174/1570159x15666170718142406	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 -

[学会発表] 計6件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 5件)

1. 発表者名 Mabuchi F, Mabuchi N, Sakurada Y, Yoneyama S, Kashiwagi K, Iijima H, Yamagata Z, Takamoto M, Aihara M, Iwata T, Kawase K, Hashimoto K, Sato K, Shiga Y, Nishiguchi KM, Nakazawa T, Ozaki M, Araie M, for the Japan Glaucoma Society Omics Group (JGS-OG)
2. 発表標題 Genetic variants associated with progression of visual field defect in primary open-angle glaucoma
3. 学会等名 World Glaucoma Congress (WGC) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Mabuchi F, Mabuchi N, Sakurada Y, Yoneyama S, Kashiwagi K, Iijima H, Yamagata Z, Takamoto M, Aihara M, Iwata T, Hashimoto K, Sato K, Shiga Y, Nishiguchi KM, Nakazawa T, Akiyama M, Kawase K, Ozaki M, Araie M, for the Japan Glaucoma Society Omics Group (JGS-OG)
2. 発表標題 Prediction of glaucomatous visual field progression by genetic variants associated with primary open-angle glaucoma
3. 学会等名 Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Mabuchi F, Mabuchi N, Sakurada Y, Yoneyama S, Kashiwagi K, Yamagata Z, Iijima H, for the Japan Glaucoma Society Omics Group (JGS-OG)
2. 発表標題 Method for predicting disease onset risk by genetic variants associated with primary open-angle glaucoma
3. 学会等名 American Society of Human Genetics (ASHG) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Mabuchi F, Mabuchi N, Sakurada Y, Yoneyama S, Kashiwagi K, Yamagata Z, Iijima H, for the Japan Glaucoma Society Omics Group (JGS-OG)
2. 発表標題 Association between additive effects of genetic variants associated with primary open-angle glaucoma and family history of glaucoma
3. 学会等名 European Glaucoma Society (EGS) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Mabuchi F, Mabuchi N, Sakurada Y, Yoneyama S, Kashiwagi K, Iijima H, Yamagata Z, Takamoto M, Aihara M, Iwata T, Kawase K, Shiga Y, Nishiguchi KM, Nakazawa T, Ozaki M, Araie M, for the Japan Glaucoma Society Omics Group (JGS-OG)
2. 発表標題 Association between additive effects of genetic variants associated with primary open-angle glaucoma and age at diagnosis of glaucoma
3. 学会等名 American Society of Human Genetics (ASHG) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 間淵文彦
2. 発表標題 多型解析によるPOAG発症進行メカニズム解明とリスク予測 スクリーニングチップ臨床応用にむけて
3. 学会等名 日本緑内障学会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 間淵文彦	4. 発行年 2018年
2. 出版社 金原出版	5. 総ページ数 7
3. 書名 眼科 緑内障感受性遺伝子	

〔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	柏木 賢治 (Kashiwagi Kenji)  (30194723)	山梨大学・大学院総合研究部・教授  (13501)	
研究分担者	櫻田 庸一 (Sakurada Yoichi)  (90456476)	山梨大学・大学院総合研究部・准教授  (13501)	
研究分担者	米山 征吾 (Yoneyama Seigo)  (90751652)	山梨大学・大学院総合研究部・助教  (13501)	

	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
研究協力者	桑原 亮子 (Kuwabara Ryoko)		
研究協力者	吉澤 聡子 (Yoshizawa Satoko)		



## 6. 研究組織（つづき）

	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
研究協力者	間渕 央子  (Mabuchi Nakako)		
研究協力者	飯島 裕幸  (Iijima Hiroyuki)		
研究協力者	山縣 然太郎  (Yamagata Zentaro)		
研究協力者	高本 光子  (Takamoto Mitsuko)		
研究協力者	相原 一  (Aihara Makoto)		
研究協力者	岩田 岳  (Iwata Takeshi)		
研究協力者	橋本 和軌  (Hashimoto Kazuki)		
研究協力者	佐藤 孝太  (Sato Kota)		

## 6. 研究組織（つづき）

	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
研究協力者	志賀 由己浩  (Shiga Yukihiro)		
研究協力者	中澤 徹  (Nakazawa Toru)		
研究協力者	西口 康仁  (Nishiguchi Koji)		
研究協力者	秋山 雅人  (Akiyama Masato)		
研究協力者	川瀬 和秀  (Kawase Kazuhide)		
研究協力者	尾崎 峯生  (Ozaki Mineo)		
研究協力者	新家 眞  (Araie Makoto)		

## 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			
シンガポール	Singapore National Eye Center	Duke-NUS Medical School	National University of Singapore	他1機関
米国	Harvard Medical School	Duke University	Case Western Reserve University	他3機関
オーストラリア	Flinders University	University of Melbourne	University of Tasmania	他3機関
ナイジェリア	University of Ibadan			
ガーナ	University of Ghana			