

令和 2 年 9 月 13 日現在

機関番号：11301

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2018～2019

課題番号：18H06249・19K21344

研究課題名(和文) 開放隅角緑内障におけるLMX1B遺伝子の希少変異探索

研究課題名(英文) Rare variant sequences in LMX1B in primary open-angle glaucoma

研究代表者

志賀 由己浩 (Shiga, Yukihiro)

東北大学・医学系研究科・大学院非常勤講師

研究者番号：10623415

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,300,000円

研究成果の概要(和文)：原発開放隅角緑内障患者を対象とした希少変異探索の結果、既知の原因遺伝子であるオプティニューリン遺伝子、ミオシリン遺伝子のエクソン内に希少変異が認められた。特にオプティニューリン遺伝子のエクソン内に認められた変異のひとつはこれまで報告のないものであり、原因遺伝子変異と判定される極めて重要な遺伝子変異が同定された。

また、LMX1B遺伝子における希少変異探索の結果、エクソン内に2つの多型が認められた(rs2277158, rs13295990)。しかしながら、一般集団の頻度との相違は認められず、LMX1B遺伝子内に希少変異は認められなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、原発開放隅角緑内障(POAG)患者において、既知の原因遺伝子内に病因の可能性が極めて高い希少変異を同定することに成功した。POAG希少変異を探索することで、変異を有するキャリアの早期診断や変異に応じた治療選択の実現が期待される。

研究成果の概要(英文)：As a result of the rare variant sequences in the known causative genes, rare variants were found in the exons of Optineurin gene and Myocilin gene in POAG patients. In particular, we found a novel causative gene mutation coded Optineurin. Furthermore, we identified two polymorphisms in the exons of LMX1B gene in POAG patients (rs2277158, rs13295990). However, there were no rare mutations within the gene.

研究分野：緑内障

キーワード：原発開放隅角緑内障 LMX1B遺伝子 希少変異

# 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

日本人における緑内障の有病率は 5.0% であり、開放隅角緑内障は最多の 3.9% を占め (文献 1) 日本人の失明原因の第一位となっている。緑内障の主要な病型である開放隅角緑内障は多因子疾患であり、遺伝的要因と環境的要因が発症に関わることが分かっている。しかしながら、アジア系人種における遺伝的要因の大部分は解明されていなかった。そこで研究責任者らのグループは、日本人開放隅角緑内障患者の遺伝的要因を明らかにするために、アジア最大のゲノムワイド関連解析 (GWAS) を理化学研究所と共同で実施し、発症に関わる 7 カ所の感受性遺伝子領域を新たに同定した (図 1、文献 2)。しかし、検出された各新規緑内障関連遺伝子座近傍の責任遺伝子および真のリスクアレルは明らかにされていない。

GWAS 解析結果で得られた候補遺伝子領域の遺伝子多型と希少変異がどのように関連し開放隅角緑内障発症につながっているかを明らかにすることは日本人開放隅角緑内障の遺伝的要因のさらなる解明と開放隅角緑内障に対する個別化医療の実現に貢献することが期待される。

## 2. 研究の目的

LMX1B 遺伝子の変異はネイルパテラ症候群 (爪膝蓋骨症候群) の原因であり、若年発症の緑内障や高眼圧症が一般集団より高頻度に発症する (文献 3) ことが報告されているが、これまで遺伝子の希少変異と開放隅角緑内障の関連性の報告はない。

本研究では、我々の先行研究にて同定された新規開放隅角緑内障関連遺伝子座の一つである LIM Homeobox Transcription Factor 1 Beta (LMX1B) 遺伝子および既知の原因遺伝子に着目し、そのエクソン内にある希少変異と開放隅角緑内障の関連を検証することを目的とする。

## 3. 研究の方法

2 親等内に緑内障家族歴を有する、あるいは発症年齢が 60 歳未満の日本人開放隅角緑内障患者を対象とした。東北大学関連病院および緑内障遺伝子研究班より DNA サンプルを収集し本研究に使用した。LMX1B 遺伝子解析に先立ち、既知の緑内障原因遺伝子であるミオシリン遺伝子、オプティニューリン遺伝子、TBK1 遺伝子の希少変異の有無についてダイレクトシーケンス法を用いてスクリーニングを行った。上記遺伝子スクリーニングで病因となる変異が検出されなかったサンプルに対して、LMX1B 遺伝子の全 8 エクソンのダイレクトシーケンスを行い、希少変異を探索した。

検出された変異の一般人におけるアレル頻度を、東北大学東北メディカルメガバンク機構が保有する「日本人ヒト全ゲノム解析に基づく高精度の住民ゲノム参照パネル」の 3500 人分の全ゲノム情報 (文献 4) と Human Genetic Variation Database に登録されている変異情報を用いて検証する。検出された変異については、米国臨床遺伝・ゲノム学会 (ACMG) のガイドラインに従って病因変異の判定を行った (文献 5)。

図 1 日本人開放隅角緑内障患者の遺伝解析結果

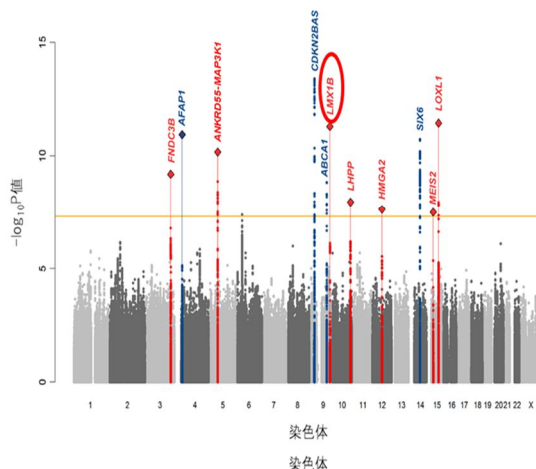
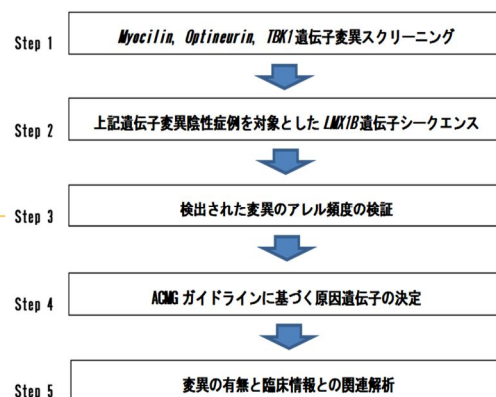


図 2 本研究のフローチャート



#### 4. 研究成果

原発開放隅角緑内障患者(POAG)において、既知の原因遺伝子および LMX1B 遺伝子のエクソン内に希少変異を有する症例が存在するとの仮説を検証するために、既知の原因遺伝子であるミオシリン、オプティニューリン、TBK-1 遺伝子および新規の候補遺伝子である LMX1B 遺伝子についてシーケンスを行い、POAG との関連を検証した。

上記の条件を満たす POAG 患者 190 名の DNA を用いた。既知の原因遺伝子であるミオシリン、オプティニューリンの全てのエクソン領域について、サンガー法を用いてシーケンスを実施した。また TBK1 遺伝子については PCR 法を用いて CNV のコピー数を解析した。LMX1B 遺伝子の全 8 エクソンを含むコーディング領域について、ダイレクトシーケンスを実施した。検出された変異の頻度についてデータベースを参照して検証し、認められた変異が原因遺伝子であるかを、アメリカの遺伝学会が定める ACMG ガイドラインに基づいて決定した。

既知の原因遺伝子における希少変異探索の結果、オプティニューリン遺伝子、ミオシリン遺伝子のエクソン内に希少変異が認められた。TBK1 遺伝子 CNV のコピー数の変異を有する症例は認められなかった。特にオプティニューリン遺伝子のエクソン内に認められた変異のひとつはこれまで世界でも報告のないものであり、ACMG ガイドライン上も原因遺伝子変異と判定される極めて重要な遺伝子変異が同定された。

LMX1B 遺伝子における希少変異探索の結果、エクソン内に 2 つの多型が認められた(rs2277158, rs13295990)。しかしながら、一般集団の頻度との相違は認められず、LMX1B 遺伝子内に希少変異を認める症例は認められなかった。

POAG 希少変異を探索することは、変異を有するキャリアの早期診断や変異に応じた治療選択の実現という大きな可能性を秘めており、オプティニューリン内に希少変異が認められた症例の家族解析および、変異の機能解析、変異と臨床情報との関連解析などさらなる検証を行う予定である。

#### < 引用文献 >

- 1) Iwase A et al. The prevalence of primary open-angle glaucoma in Japanese: the Tajimi Study. *Ophthalmology*, 2004.
- 2) Shiga Y et al. Genome-wide association study identifies seven novel susceptibility loci for primary open-angle glaucoma. *Human Molecular Genetics*, 2018.
- 3) Miniwati Z et al. Nail-patella syndrome and its association with glaucoma: a review of eight families. *British Journal of Ophthalmology*, 2006.
- 4) <https://ijgvd.megabank.tohoku.ac.jp/>
- 5) Richards S et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American college of Medical Genetics and genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genetics in Medicine*, 2015.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 中澤 徹
2. 発表標題 緑内障関連遺伝子研究班の活動報告
3. 学会等名 日本緑内障学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 志賀 由己浩
2. 発表標題 Genome-wide association analysis of glaucoma for personalized medicine
3. 学会等名 日本緑内障学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 志賀 由己浩
2. 発表標題 Genetics of Primary Open-Angle Glaucoma
3. 学会等名 Korean Glaucoma Society Meeting (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 前川重人
2. 発表標題 開放隅角緑内障1家系におけるOPTN遺伝子の新規N51Tの同定
3. 学会等名 日本緑内障学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 志賀 由己浩
2. 発表標題 研究プロジェクト支援事業：開放隅角緑内障におけるLMX1B遺伝子の希少変異探索
3. 学会等名 日本緑内障学会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 志賀 由己浩	4. 発行年 2019年
2. 出版社 メディカルレビュー社	5. 総ページ数 80
3. 書名 Frontiers in Glaucoma	

〔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
研究協力者	橋本 和軌  (Hashimoto Kazuki)	東北大学医学系研究科・眼科学分野・大学院生  (11301)	
研究協力者	前川 重人  (Maekawa Shigeto)	東北大学医学系研究科・眼科学分野・助教  (11301)	
研究協力者	藤田 幸輔  (Fujita Kosuke)	東北大学医学系研究科・眼科学分野・助教  (11301)	

## 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
研究協力者	佐藤 孝太  (Sato Kota)	東北大学医学系研究科・眼科学分野・助教  (11301)	
研究協力者	西口 康二  (Nishiguchi Koji)	東北大学医学系研究科・視覚先端医療学寄付講座・准教授  (11301)	
研究協力者	中澤 徹  (Nakazawa Toru)	東北大学医学系研究科・眼科学分野・教授  (11301)	