

令和 5 年 5 月 1 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20H03841

研究課題名(和文) 多角的アプローチによる加齢黄斑変性とパキコロイド新生血管の病態解明

研究課題名(英文) Pathogenesis of age-related macular degeneration and pachychoroid neovascularopathy

研究代表者

三宅 正裕 (Miyake, Masahiro)

京都大学・医学研究科・特定講師

研究者番号：90812793

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,600,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、中心性漿液性脈絡網膜症(CSC)とパキコロイド新生血管(PNV)のゲノム・オミクスの解析を行った。(1) CSC患者を対象として、PNV発症までの期間に対する生存解析を行った結果、加齢黄斑変性の疾患感受性遺伝子ARMS2が有意に関連することが示された。パスウェイ解析ではイオン輸送に関連するパスウェイがenrichしていたことが分かった。(2) CSCの疾患感受性遺伝子を探索する国際共同研究においては、血中コルチゾール濃度と関連する一つの変異が有意な関連を示した。(3) その他、PNVの自然経過や脈絡膜厚の分布、脈絡膜パラメータとゲノムの関連についても論文化された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

加齢黄斑変性は本邦の失明原因の上位に位置する疾患である。パキコロイド新生血管は、日本人でこれまで加齢黄斑変性と診断されてきたもののうち半数程度を占める病態であり、その病態解明は極めて重要である。また、パキコロイド新生血管は中心性漿液性脈絡網膜症を母体として発症することから、中心性漿液性脈絡網膜症の病態を解明することも同様に重要である。本研究によってこれらの病態の一端を解明することができ、本邦における加齢黄斑変性治療戦略に大きく貢献することが期待される。

研究成果の概要(英文)：This study analyzed the genomics and omics of central serous chorioretinopathy (CSC) and pachychoroid neovascularopathy (PNV). (1) Survival analysis was performed on CSC patients for the time to onset of PNV, revealing a significant association with the susceptibility gene for age-related macular degeneration, ARMS2, at the genome-wide level. Pathway analysis showed enrichment of ion transport-related pathways. (2) An international collaborative study exploring the susceptibility genes for CSC found a significant association with one variant related to cortisol levels in the blood. (3) Additionally, the natural progression of PNV, distribution of choroidal thickness, and the relationship between choroidal parameters and the genome were also discussed in the paper.

研究分野：眼科

キーワード：中心性漿液性脈絡網膜症 パキコロイド新生血管 加齢黄斑変性 ゲノムワイド関連解析

## 1. 研究開始当初の背景

加齢黄斑変性 (AMD) は先進国の主要な失明原因の一つで、網膜色素上皮の脂質代謝を初めとする加齢性変化がその発生に関与するとされるが、アジア人と欧米人との間での表現型の違いが大きく、疫学的にも臨床的にも強い関心を持って研究が進められてきた。例えば、アジア人の AMD では、網膜色素上皮の加齢性変化を示す所見とされるドルーゼンの頻度が低い、ポリープ状の病巣を伴う頻度が高い、萎縮型 AMD の頻度が圧倒的に低いなどの特徴をもつ。AMD の中でも、脈絡膜新生血管を伴うものは滲出型 AMD と呼ばれ、高額薬剤の一つである抗 VEGF 剤の定期的な硝子体注射により治療される。

一方、2013 年に、米国の研究グループよりパキコロイド新生血管 (PNV) という概念が提唱された。これは、中心性漿液性網脈絡膜症 (CSC) もしくはそれに類似した病態から生じたと考えられる脈絡膜新生血管の一群を指すが、それまでは一般に CSC から脈絡膜新生血管は生じず予後が良いとされてきたため、驚きを持って迎えられた。ただし、この報告では客観的な診断基準は示されておらず、疾患概念の提唱に留まっていた。

滲出型 AMD の病態上の定義は、" 明らかな原因がなく高齢者を中心に特発性に生じる脈絡膜新生血管 " であったため、我々は、それまで滲出型 AMD として診断していた一部が PNV に該当するのではないかと考え、2015 年に世界で初めて PNV の診断基準を提唱した。これを AMD の連続症例に当てはめた結果、PNV の暫定的診断基準に合致したものとそうでないものとの間で、主要な AMD 疾患感受性一塩基多型の遺伝子型から算定する遺伝的リスクスコアに、大きな差 (統計学的にも有意) が見られた。このことから、これまで滲出型 AMD として診断されていた症例には、PNV と、本来の意味での AMD の両者が混在し、遺伝的背景が異なるということが世界で初めて示され (Miyake et al, *Scientific Reports*, 2015;5:16204.)。その他の phenotype の解析から、この事実が、日本人と欧米人との間の AMD の表現型の違いに影響を与えていた可能性が高いことを指摘した。

このように PNV は本邦の AMD を理解する上で極めて重要であるが、その遺伝的・分子生物学的背景は十分に解明されていない。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、PNV と AMD の関連について、臨床ゲノム・ビッグデータ・コホートといった多角的なアプローチにより解析を行い、その病態や分子生物学的機序を評価する事である。

## 3. 研究の方法

本研究においては様々なアプローチを用いて AMD, PNV そして CSC の関連に迫った。論文化に至った成果として、中心性漿液性脈絡膜症 (CSC) の疫学を評価し、CSC における黄斑新生血管 (MNV) の発症に対する感受性遺伝子の同定を試みた。また、大規模な日本人コホート (長浜スタディ) において、CSC 感受性遺伝子と脈絡膜パラメーターの関連性を調べた。さらに、脈絡膜パラメーターの基本的な疫学データを報告し、年齢、性別、全身のパラメーター、その他の眼のパラメーターとの相関を評価した。詳細は各論文に譲るが本研究成果報告書においても簡潔に記載する。

- (1) CSC における MNV 発症の感受性遺伝子を同定するため、京都 CSC コホートと神戸 CSC データセットを用いたゲノムワイド生存解析を実施した。京都 CSC コホートからは、初診時に黄斑新生血管 (MNV) がない CSC 患者 402 名、神戸 CSC データセットからは同 137 名を対象とした。これら患者は、眼底自発蛍光、スペクトラルドメイン光干渉断層計 (OCT)、細隙灯顕微鏡、フルオレセイン・インドシアニンググリーン蛍光眼底造影、OCT 血管撮影 (OCT-A) などのマルチモーダルイメージングにより評価されている。MNV 発症までの期間に対しての生存解析を、Cox 比例ハザードモデルを用いて年齢、性別、および第一主成分を調整して実施した。P 値が  $1.0 \times 10^{-5}$  未満の一塩基多型 (SNP) について、神戸 CSC データセットでの再現性を行った。また、既に報告されている AMD 感受性遺伝子がどの程度関連しているのかについても評価した。更には FUMA および ToppFun を用いてエンリッチメント解析を実施した。
- (2) CSC の疫学的背景を明らかにするために、日本厚生労働省の国民健康保険請求データベースであるレセプト情報・特定健診等情報データベース (NDB) を用いた、人口ベースの縦断コホート研究を実施した。厚生労働省からの許可のもと、オンサイトリサーチセンター京都にて解析を行った。30 歳以上の全人口を追跡し、2011 年 1 月から 2018 年 12 月までに CSC を発症した集団を特定した。CSC の症例は、年齢と性別によって年ごとに分類し、発症率を計算した。また、CSC の主要治療法を特定して、本邦における初期治療パターンを評価した。
- (3) CSC 感受性遺伝子と脈絡膜パラメーターの関連性を評価するため、長浜スタディを用いた後

る向きコホート研究を実施した。ここでは、同スタディの第二期に参加した 9,850 人のうち、OCT 画像での強調深度イメージング (EDI-OCT) 眼軸長、ゲノムワイドの遺伝子型データを持つ者を解析した。EDI-OCT からは、中心窩下脈絡膜厚 (SFCT) 脈絡膜血管指数 (CVI)、正規化脈絡膜強度 (NCI) および脈絡膜厚の垂直非対称性を算出した。これらのパラメータに対してゲノムワイド関連解析が実施され、その結果から、CSC 感受性遺伝子のうち、CFH rs800292、TNFRSF10A rs13278062、GATA5 rs6061548、VIPR2 rs3793217 の 4 つの SNP をスクリーニングした。

- (4) 日本人における脈絡膜厚や CVI など、脈絡膜の基本的な疫学データを評価し、これらが年齢、性別、全身のパラメータ、および他の眼のパラメータとどのように関連するかを評価するため、長浜スタディを用いた人口ベースのコホート研究を行った。全参加者は、上述の通り、EDI-OCT を含む標準的な眼科検査を受けた。我々は脈絡膜強膜界面を手動でセグメンテーションを行い、SFCT、NCI、CVI を計算した。年齢・性別別に SFCT、NCI、CVI の分布を評価した後、年齢、性別、軸長 (AL) 球面等価 (SE) との関連を、線形回帰分析を用いて可能性のある交絡因子を調整して評価した。
- (5) 日本人における加齢黄斑変性症 (AMD) の原因遺伝子についてより詳しく知るため、理研や日本全国の研究者と連携し、ゲノムワイド関連解析を行った。まず 2 つの独立した GWAS のメタ解析を実施した。この 2 つの GWAS には、計 2,663 名の AMD 患者と 9,471 名の対照群が含まれていた。全ゲノム遺伝子型推定には、日本人特定の遺伝子情報のための遺伝子型推定参照パネル (n=3,541) が使用された。再現性解析は、1,109 名の AMD 患者と 7,299 名の対照群で実施された。特定された新規 AMD 感受性遺伝子は、京都大学の CSC コホートを用いて CSC との関連が評価された。

#### 4. 研究成果

本研究では、CSC における MNV の発症に関する複数の感受性遺伝子を同定し、CSC の詳細な疫学的背景を提供しました。また、CSC 感受性遺伝子と眼底脈絡膜のパラメータとの関連を大規模な日本人コホートで調査し、眼底脈絡膜のパラメータの基礎的な疫学データおよび年齢、性別、全身のパラメータ、その他の眼のパラメータとの相関を報告した。

- (1) MNV の発症に関する感受性遺伝子の同定では、テイスカバリーデータセットと再現性確認データセットのメタ解析で、ARMS2 の近傍の rs370974631 がゲノムワイドに有意な関連を示した (ハザード比 [HR]、3.63;  $P=5.76 \times 10^{-9}$ )。以前に報告された AMD の感受性遺伝子座のうち、CFH rs800292 (HR、0.39、 $P=2.55 \times 10^{-4}$ )、COL4A3 rs4276018 (HR、0.26、 $P=1.56 \times 10^{-3}$ )、および B3GALTL rs9564692 (HR、0.56、 $P=8.30 \times 10^{-3}$ ) が CSC における MNV の感受性遺伝子座として同定された。エンリッチメント解析により、イオン輸送に関連する 8 つの経路が有意に豊富であることが明らかになった。
- (2) CSC の疫学的背景に関しては、8 年間で、247,930 件の CSC 発生が特定され、そのうち 75.9% は男性であった。30 歳以上の一般人口における粗発生率は 34.0 (95%CI 33.9~34.2) 男性では 54.2 (95%CI 53.9~54.4) 女性では 15.7 (95%CI 15.5~15.8) であった。発症年齢の平均は、男性よりも女性の方が高かった (50.5±12.5 歳 vs 54.7±13.5 歳)。新たに診断された CSC 患者のほとんど (86.8%) は、主要な治療を受けていなかった。
- (3) CSC の感受性遺伝子と脈絡膜のパラメータとの関連について、CFH rs800292 が SFCT ( $P < 0.001$ ) 及び CVI ( $P < 0.001$ ) との間に有意な関連があることがわかった。VIPR2 rs3793217 は、CVI とは有意に関連がなかったものの、SFCT と有意に関連していた ( $P < 0.001$ )。TNFRSF10A rs13254617 および GATA5 rs6061548 は、いずれも SFCT または CVI と有意に関連していなかった。これらの SNP のいずれも、NCI や脈絡膜厚の非対称性と関連していなかった。遺伝子によって CSC に対する発症の機序が異なることが明らかとなった。
- (4) 脈絡膜パラメータの基本的な流行病学データについて、年齢・性別標準化された SFCT、NCI、および CVI はそれぞれ、291.2 $\mu$ m、0.653、および 66.88% であることがわかった。男性と女性の両方において、SFCT は年齢と負の相関 ( $P < 0.001$ )、NCI は年齢と正の相関がある ( $P < 0.001$ ) ことが判明した。全体としては、男女間で SFCT と NCI には有意な差がなかった (それぞれ、 $P=0.87$  および  $P=0.21$ ) が、若い参加者 (35-50 歳) の中では、男性の方が女性よりも有意に大きな SFCT を示した ( $P < 0.001$ )。CVI は男性でのみ年齢と正の相関があった ( $P < 0.001$ )。多変量解析では、SFCT は年齢、性別、軸長、球面等価度、および年齢と性別の交互作用の項目と有意に関連していた ( $P < 0.001$ )。NCI と CVI はともに SFCT とは独立して年齢と有意に関連していた ( $P < 0.001$ )。

- (5) 2つのGWASのメタ解析により、AMDと有意に関連する6つの遺伝子座がゲノムワイドに有意な関連を示した。これらの遺伝子座のうち、4つは既知（CFH、C2/FB、TNFRSF10A、ARMS2）、2つは新規であった（WBP1L近傍のrs4147157とGATA5近傍のrs76228488）。新たに同定された2つは、再現性が確認され（ $P < 0.01$ ）、メタ解析後、強い関連性が示された（rs4147157とrs76228488のメタ解析のP値はそれぞれ $1.88 \times 10^{-12}$ と $1.35 \times 10^{-9}$ ）。日本人集団で行われた中心性漿液性脈絡膜症（CSC）のGWASで関連性を調べたところ、両遺伝子座がCSCと有意に関連していたことが確認された（rs4147157とrs76228488のP値はそれぞれ $4.86 \times 10^{-3}$ と $4.28 \times 10^{-3}$ ）。

今回の我々の研究は、CSCやPNVの発症機序やメカニズムに関する重要な知見を示した。CSCにおけるMNV発症の感受性遺伝子を同定したことは、将来の治療の標的となる可能性がある。また、CSCの発生率や治療パターンに関する疫学データは、CSCの管理やリソース配分の改善に役立つ可能性がある。さらに、CSC感受性遺伝子AMD感受性遺伝子のオーバーラップや脈絡膜パラメータとの関連についての調査は、CSCの発症における遺伝子の役割についての理解を深め、今後の研究の基盤を提供した。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 2件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Yuki Mori, Masahiro Miyake, Yoshikatsu Hosoda, Akiko Miki, Ayako Takahashi, Yuki Muraoka, Manabu Miyata, Takehiro Sato, Hiroshi Tamura, Sotaro Ooto, Ryo Yamada, Kenji Yamashiro, Makoto Nakamura, Atsushi Tajima, Masao Nagasaki, Shigeru Honda, Akitaka Tsujikawa	4. 巻 129
2. 論文標題 Genome-wide Survival Analysis for Macular Neovascularization Development in Central Serous Choroidopathy Revealed Shared Genetic Susceptibility with Polypoidal Choroidal Vasculopathy	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Ophthalmology	6. 最初と最後の頁 1034-1042
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.opthta.2022.04.018	査読の有無 無
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 Masato Akiyama, Masahiro Miyake, Yukihide Momozawa, Satoshi Arakawa, Maiko Maruyama-Inoue, Mikiko Endo, Yusuke Iwasaki, Kazuyoshi Ishigaki, Nana Matoba, Yukinori Okada, Miho Yasuda, Yuji Oshima, Shigeo Yoshida, Shin-Ya Nakao, Kazuya Morino, Yuki Mori, Ai Kido, et al	4. 巻 130
2. 論文標題 Genome-Wide Association Study of Age-Related Macular Degeneration Reveals 2 New Loci Implying Shared Genetic Components with Central Serous Choroidopathy	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Ophthalmology	6. 最初と最後の頁 361-372
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.opthta.2022.10.034	査読の有無 無
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 Mariko Yagi, Masahiro Miyake, Yuki Mori, Yoshikatsu Hosoda, Ayako Takahashi, Yuki Muraoka, Naoko Ueda-Arakawa, Manabu Miyata, Kenji Yamashiro, Hiroshi Tamura, Sotaro Ooto, Akitaka Tsujikawa	4. 巻 2
2. 論文標題 Natural Course of Pachychoroid Pigment Epitheliopathy	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Ophthalmology Science	6. 最初と最後の頁 100201
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.xops.2022.100201	査読の有無 無
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 Kazuya Morino , Masahiro Miyake , Takuro Kamei , Takahisa Kawaguchi , Yuki Mori , Yoshikatsu Hosoda , Akihito Uji , Kenji Yamashiro , Fumihiko Matsuda , Akitaka Tsujikawa	4. 巻 66
2. 論文標題 Association between central serous chorioretinopathy susceptibility genes and choroidal parameters	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Japanese Journal of Ophthalmology	6. 最初と最後の頁 504-510
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10384-022-00945-w	査読の有無 無
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 Mori Yuki, Miyake Masahiro, Hosoda Yoshikatsu, Uji Akihito, Nakano Eri, Takahashi Ayako, Muraoka Yuki, Miyata Manabu, Tamura Hiroshi, Ooto Sotaro, Tabara Yasuharu, Yamashiro Kenji, Matsuda Fumihiko, Tsujikawa Akitaka, Nakayama Takeo, Sekine Akihiro, Kosugi Shinji, Tabara Yasuharu, Matsuda Fumihiko	4. 巻 1
2. 論文標題 Distribution of Choroidal Thickness and Choroidal Vessel Dilation in Healthy Japanese Individuals	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Ophthalmology Science	6. 最初と最後の頁 100033 ~ 100033
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.xops.2021.100033	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 Kido Ai, Miyake Masahiro, Tamura Hiroshi, Hiragi Shusuke, Kimura Takeshi, Ohtera Shosuke, Takahashi Ayako, Ooto Sotaro, Kawakami Koji, Kuroda Tomohiro, Tsujikawa Akitaka	4. 巻 NA
2. 論文標題 Incidence of central serous chorioretinopathy (2011?2018): a nationwide population-based cohort study of Japan	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 British Journal of Ophthalmology	6. 最初と最後の頁 2021-319403
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1136/bjophthalmol-2021-319403	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8件 (うち招待講演 3件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 三宅正裕
2. 発表標題 ゲノムから迫るパキコロイドと近視
3. 学会等名 日本網膜硝子体学会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 森雄貴、三宅正裕、ほか
2. 発表標題 中心性漿液性脈絡網膜症の発症に関するゲノムワイドメタ関連解析
3. 学会等名 日本臨床眼科学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Masahiro Miyake
2. 発表標題 Exploration of pachychoroid disease
3. 学会等名 日本眼循環学会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Masahiro Miyake
2. 発表標題 Genetic and Epidemiological Background of Choroid and Pachychoroid Diseases
3. 学会等名 EURETINA（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 八木真利子、三宅正裕、ほか
2. 発表標題 中心性漿液性脈絡網膜症僚眼に見られるパキコロイド色素上皮症の自然経過
3. 学会等名 日本眼科学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Akitaka Tsujikawa, Ai Kido, Masahiro Miyake, Hiroshi Tamura
2. 発表標題 Incidence of Central Serous Chorioretinopathy in Japan: A Nationwide Population-Based Cohort Study
3. 学会等名 Macula Society (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yuki Mori1), Masahiro Miyake1), Yoshikatsu Hosoda1), Ayako Takahashi1), Yuki Muraoka1), Akihito Uji1), Manabu Miyata1), Akio Oishi1), Kenji Yamashiro2), Hiroshi Tamura1), Sotaro Ooto1), Akitaka Tsujikawa1)
2. 発表標題 Genome-wide Survival Analysis Identifies Genes associated with Occurrence of Choroidal Neovascularization in Central Serous Chorioretinopathy
3. 学会等名 EURETINA2020 (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Yuki Mori1), Masahiro Miyake1), Yoshikatsu Hosoda1), Ayako Takahashi1), Yuki Muraoka1), Akihito Uji1), Manabu Miyata1), Akio Oishi1), Kenji Yamashiro2), Hiroshi Tamura1), Sotaro Ooto1), Akitaka Tsujikawa1)
2. 発表標題 Genes Associated with Occurrence of Choroidal Neovascularization in Central Serous Chorioretinopathy
3. 学会等名 第124回日本眼科学会総会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔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	辻川 明孝  (Tsujikawa Akitaka)  (40402846)	京都大学・医学研究科・教授    (14301)	



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
研究分担者	杉山 治  (Sugiyama Osamu)  (40586038)	近畿大学・情報学部・准教授    (34419)	
研究分担者	長崎 正朗  (Nagasaki Msao)  (90396862)	京都大学・スーパーグローバルコース医学生命系ユニット・特定教授    (14301)	
研究分担者	山田 亮  (Yamada Ryo)  (50301106)	京都大学・医学研究科・教授    (14301)	

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			
オランダ	Radbout University			