

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24年4月17日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究（A）

研究期間：2009～2011

課題番号：21249084

研究課題名（和文） 加齢黄斑変性に対するテーラーメイド医療の実現

研究課題名（英文） Personalized medicine for age-related macular degeneration

研究代表者

吉村 長久（YOSHIMURA NAGAHISA）

京都大学・医学研究科・教授

研究者番号：70211662

研究成果の概要（和文）：ARMS2 遺伝子 A69S の迅速検出キットを作成した。A69S 多型は滲出型加齢黄斑変性に対する光線力学療法後の視力予後に相関し、抗 VEGF 治療の後の視力予後には相関しなかったことから、このキットを用いることによって、個別化医療が実現できると考えられた。さらに他の候補として、VEGF 遺伝子、PEDF 遺伝子が治療後反応を予測し、精度の高い個別化医療の実現が可能であることが分かった。

研究成果の概要（英文）：We successfully made quick detection kit for ARMS2 A69S single nucleotide polymorphism. We used this kit for our out-patients and made sure that it is practically usable for clinic. Since A69S genotype was associated with the visual outcome after photodynamic therapy but not with the visual outcome after anti-VEGF therapy, A69S genotype would determine which patients should be treated with photodynamic therapy, and which patients should be treated with anti-VEGF drug. In addition to ARMS2, we found that VEGF gene and PEDF gene were associated with the response to treatment for age-related macular degeneration.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	15,900,000	4,770,000	20,670,000
2010年度	11,800,000	3,540,000	15,340,000
2011年度	6,900,000	2,070,000	8,970,000
年度			
年度			
総計	34,600,000	10,380,000	44,980,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・眼科学

キーワード：眼細胞生物学

1. 研究開始当初の背景

近年、加齢黄斑変性の発症・進展に関与する因子として、遺伝子多型の研究がさかんに行われている。これまでに加齢黄斑変性と関連する遺伝子多型としては、様々なものが報告されている。特に、CFH 遺伝子と ARMS2 遺伝子に関しては臨床経過との相関も解明さ

れつつあり、加齢黄斑変性の進行や病変サイズ、経過観察中の硝子体出血の頻度、両眼性、治療に対する反応性に関与することが知られている。つまり、治療前に遺伝子多型を検出することによって、予後や治療に対する反応性が予測できる可能性が示唆されている。われわれはすでに 1,000 検体以上の加齢黄斑変性患者からの血液サンプルを保有して

おり、これまでに様々な遺伝子解析を行ってきた。発症に対する関与については、日本人の加齢黄斑変性には ApoE、CFH の関与は小さく、ARMS2 の関与が大きいことを証明した。治療に対する反応性については、十分な治療効果が得られるまでに必要な治療回数が遺伝子多型によって異なることを発表した。また、様々な治療薬/方法による治療効果が遺伝子多型によって異なることや、最終的に得られる治療結果が遺伝子多型によって異なることを示すデータも蓄積している。昨年、遺伝子単一塩基多型の迅速診断方法が確立された。この技術は、独立行政法人理化学研究所が開発した世界最速遺伝子変異検出法であり、簡便な操作で30分以内という短時間で遺伝子変異を正確に調べることができるものである。われわれはこの技術を利用することによって、受診したその日のうちに遺伝子多型を検出し、加齢黄斑変性に対する治療方針の決定に役立てたいと考え、準備を始めた。

2. 研究の目的

まず最初に ARMS2 遺伝子の rs10490924 部位の A69S 多型を即日検出できる系の確立を目的とする。次に、この多型検出によって治療方針を決定していくことの意義を証明するために、臨床経過を2年間観察して検証していく。また、より最適なターゲット遺伝子を探っていくために他の遺伝子の多型と治療反応性との相関研究を続けていき、有用であると判断した遺伝子多型についても即日検出キットを作成し、テーラーメイド医療の精度向上につなげていく。

3. 研究の方法

ARMS2 遺伝子の rs10490924 部位の A69S 多型を検出するためにプライマー、条件等を設計・設定し、A69S 多型を短時間で検出できるキットを完成させ、その感度を検証する。臨床での使用が可能になった段階で、京都大学黄斑疾患治療センターで初診患者に対してキットを用い、その結果を検証する。

さらに ARMS2 遺伝子 A69S 多型が滲出型加齢黄斑変性の治療反応性と相関があることを検証するために、前向き、後ろ向きに様々な治療を行った後の経過との相関を検証する。

また、ARMS2 遺伝子以外にも治療反応性と相関する遺伝子を見つけることによって、治療反応性の予測精度を向上させて、より精度の高い個別化医療を実現する。

4. 研究成果

ARMS2 遺伝子 A69S 多型の迅速診断キットを作成し、実際の臨床現場で使用した。既に200例以上の症例に対して、使用経験があり、タイピングの正確性にも問題がないことを確認している。

A69S 多型については滲出型加齢黄斑変性に対して光線力学療法 (PDT) を施行した際の視力予後と相関を認めることを報告した。同様の報告は国内3施設からなされており、十分に再現性のある結果であると考えている。

一方、抗 VEGF 治療施行後の視力変化には A69S 多型の genotype 間に有意な差は無く、A69S 多型を調べることによって各患者に PDT を施行すべきか、抗 VEGF 治療を行うべきかが判断できると考えている。

この A69S 多型を用いた滲出型加齢黄斑変性に対する個別化医療だけではなく、我々は VEGF 遺伝子および PEDF 遺伝子も治療反応性に影響することを発見した。これらの結果については再現性を確認したのちに迅速診断キットを作成し、より精度の高い個別化医療を実現したいと考えている。

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30件)

1. Nakata I, Yamashiro K, Yamada R, Gotoh N, Nakanishi H, Hayashi H, Akagi-Kurashige Y, Tsujikawa A, Otani A, Saito M, Iida T, Oishi A, Matsuo K, Tajima K, Matsuda F, Yoshimura N. Significance of C2/CFB variants in age-related macular degeneration and polypoidal choroidal vasculopathy in a Japanese population. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2012;53:794-8.

2. Ellabban AA, Tsujikawa A, Matsumoto A, Ogino K, Hangai M, Ooto S, Yamashiro K, Akiba M, Yoshimura N. Macular Choroidal Thickness and Volume in Eyes With Angioid Streaks Measured by Swept Source Optical Coherence Tomography. Am J Ophthalmol. 2012.

3. Akagi-Kurashige Y, Tsujikawa A, Oishi A, Ooto S, Yamashiro K, Tamura H, Nakata I, Ueda-Arakawa N, Yoshimura N. Relationship between retinal morphological findings and visual function in age-related macular degeneration. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol. 2012.

4. Akagi-Kurashige Y, Kumagai K, Yamashiro K, Nakanishi H, Nakata I, Miyake M, Tsujikawa A, Moriyama M, Ohno-Matsui K, Mochizuki M, Yamada R, Matsuda F, Yoshimura N. Vascular endothelial growth factor gene polymorphisms and choroidal neovascularization in highly myopic eyes. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2012.
5. Yamashiro K, Mori K, Nakata I, Tsuchihashi T, Horie-Inoue K, Nakanishi H, Tsujikawa A, Saito M, Iida T, Yamada R, Matsuda F, Inoue S, Awata T, Yoneya S, Yoshimura N. Association of elastin gene polymorphism to age-related macular degeneration and polypoidal choroidal vasculopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2011;52:8780-4.
6. Tsujikawa A, Ojima Y, Yamashiro K, Ooto S, Tamura H, Nakata I, Yoshimura N. Development of polypoidal lesions in age-related macular degeneration. *Eye (Lond)*. 2011;25:481-8.
7. Tsujikawa A, Ojima Y, Yamashiro K, Nakata I, Ooto S, Tamura H, Nakanishi H, Hayashi H, Otani A, Yoshimura N. Association of lesion size and visual prognosis to polypoidal choroidal vasculopathy. *Am J Ophthalmol*. 2011;151:961-972 e1.
8. Ooto S, Tsujikawa A, Mori S, Tamura H, Yamashiro K, Otani A, Yoshimura N. Retinal microstructural abnormalities in central serous chorioretinopathy and polypoidal choroidal vasculopathy. *Retina*. 2011;31:527-34.
9. Nakata I, Yamashiro K, Yamada R, Gotoh N, Nakanishi H, Hayashi H, Tsujikawa A, Otani A, Saito M, Iida T, Oishi A, Matsuo K, Tajima K, Matsuda F, Yoshimura N. Association between the SERPING1 gene and age-related macular degeneration and polypoidal choroidal vasculopathy in Japanese. *PLoS One*. 2011;6:e19108.
10. Nakata I, Yamashiro K, Yamada R, Gotoh N, Nakanishi H, Hayashi H, Tsujikawa A, Otani A, Ooto S, Tamura H, Saito M, Saito K, Iida T, Oishi A, Kurimoto Y, Matsuda F, Yoshimura N. Genetic variants in pigment epithelium-derived factor influence response of polypoidal choroidal vasculopathy to photodynamic therapy. *Ophthalmology*. 2011;118:1408-15.
11. Nakata I, Yamashiro K, Nakanishi H, Tsujikawa A, Otani A, Yoshimura N. VEGF gene polymorphism and response to intravitreal bevacizumab and triple therapy in age-related macular degeneration. *Jpn J Ophthalmol*. 2011;55:435-43.
12. Nakanishi H, Tsujikawa A, Yodoi Y, Ojima Y, Otani A, Tamura H, Yamashiro K, Ooto S, Yoshimura N. Prognostic factors for visual outcomes 2-years after intravitreal bevacizumab for myopic choroidal neovascularization. *Eye (Lond)*. 2011;25:375-81.
13. Hirata M, Tsujikawa A, Matsumoto A, Hangai M, Ooto S, Yamashiro K, Akiba M, Yoshimura N. Macular choroidal thickness and volume in normal subjects measured by swept-source optical coherence tomography. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2011;52:4971-8.
14. Hayashi H, Yamashiro K, Nakanishi H, Nakata I, Kurashige Y, Tsujikawa A, Moriyama M, Ohno-Matsui K, Mochizuki M, Ozaki M, Yamada R, Matsuda F, Yoshimura N. Association of 15q14 and 15q25 with high myopia in Japanese. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2011;52:4853-8.
15. Yamashiro K, Tsujikawa A, Miyamoto K, Oh H, Otani A, Tamura H, Ooto S, Sasahara M, Iwama D, Yoshimura N. Sterile endophthalmitis after intravitreal injection of bevacizumab obtained from a single batch. *Retina*. 2010;30:485-90.
16. Tsujikawa A, Ooto S, Yamashiro K, Tamura H, Otani A, Yoshimura N. Treatment of polypoidal choroidal vasculopathy by intravitreal injection of bevacizumab. *Jpn J Ophthalmol*. 2010;54:310-9.
17. Tsujikawa A, Ojima Y, Yamashiro K, Ooto S, Tamura H, Nakagawa S, Yoshimura N. Punctate hyperfluorescent spots associated with central serous chorioretinopathy as seen on indocyanine green angiography. *Retina*. 2010;30:801-9.
18. Takayama K, Ooto S, Tamura H, Yamashiro K, Otani A, Tsujikawa A,

Yoshimura N. Intravitreal bevacizumab for type 1 idiopathic macular telangiectasia. *Eye (Lond)*. 2010;24:1492-7.

19. Ooto S, Tsujikawa A, Mori S, Tamura H, Yamashiro K, Yoshimura N. Thickness of photoreceptor layers in polypoidal choroidal vasculopathy and central serous chorioretinopathy. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2010;248:1077-86.

20. Ooto S, Hangai M, Sakamoto A, Tsujikawa A, Yamashiro K, Ojima Y, Yamada Y, Mukai H, Oshima S, Inoue T, Yoshimura N. High-resolution imaging of resolved central serous chorioretinopathy using adaptive optics scanning laser ophthalmoscopy. *Ophthalmology*. 2010;117:1800-9, 1809 e1-2.

21. Ojima Y, Tsujikawa A, Yamashiro K, Ooto S, Tamura H, Yoshimura N. Restoration of outer segments of foveal photoreceptors after resolution of central serous chorioretinopathy. *Jpn J Ophthalmol*. 2010;54:55-60.

22. Nakanishi H, Yamashiro K, Yamada R, Gotoh N, Hayashi H, Nakata I, Saito M, Iida T, Oishi A, Kurimoto Y, Matsuo K, Tajima K, Matsuda F, Yoshimura N. Joint effect of cigarette smoking and CFH and LOC387715/HTRA1 polymorphisms on polypoidal choroidal vasculopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2010;51:6183-7.

23. Nakanishi H, Hayashi H, Yamada R, Yamashiro K, Nakata I, Shimada N, Ohno-Matsui K, Mochizuki M, Ozaki M, Yoshitake S, Kuriyama S, Saito M, Iida T, Matsuo K, Matsuda F, Yoshimura N. Single-nucleotide polymorphisms in the promoter region of matrix metalloproteinase-1, -2, and -3 in Japanese with high myopia. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2010;51:4432-6.

24. Nakanishi H, Gotoh N, Yamada R, Yamashiro K, Otani A, Hayashi H, Tsujikawa A, Shimada N, Ohno-Matsui K, Mochizuki M, Saito M, Saito K, Iida T, Matsuda F, Yoshimura N. ARMS2/HTRA1 and CFH polymorphisms are not associated with choroidal neovascularization in highly myopic eyes of the elderly Japanese population. *Eye (Lond)*. 2010;24:1078-84.

25. Iwama D, Tsujikawa A, Ojima Y, Nakanishi H, Yamashiro K, Tamura H, Ooto S, Yoshimura N. Relationship between retinal sensitivity and morphologic changes in eyes with confluent soft drusen. *Clin Experiment Ophthalmol*. 2010;38:483-8.

26. Iwama D, Ooto S, Tsujikawa A, Yamashiro K, Yoshimura N. Macular hole formation following photodynamic therapy combined with intravitreal injection of bevacizumab and triamcinolone acetonide. *Jpn J Ophthalmol*. 2010;54:364-6.

27. Hayashi H, Yamashiro K, Gotoh N, Nakanishi H, Nakata I, Tsujikawa A, Otani A, Saito M, Iida T, Matsuo K, Tajima K, Yamada R, Yoshimura N. CFH and ARMS2 variations in age-related macular degeneration, polypoidal choroidal vasculopathy, and retinal angiomatous proliferation. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2010;51:5914-9.

28. Hasegawa T, Otani A, Sasahara M, Gotoh N, Ooto S, Tamura H, Yamashiro K, Tsujikawa A, Yoshimura N. Prognostic factors of vitreous hemorrhage secondary to exudative age-related macular degeneration. *Am J Ophthalmol*. 2010;149:322-329 e1.

29. Gotoh N, Yamashiro K, Nakanishi H, Saito M, Iida T, Yoshimura N. Haplotype analysis of the ARMS2/HTRA1 region in Japanese patients with typical neovascular age-related macular degeneration or polypoidal choroidal vasculopathy. *Jpn J Ophthalmol*. 2010;54:609-14.

30. Chen W, Stambolian D, Edwards AO, Branham KE, Othman M, Jakobsdottir J, Tosakulwong N, Pericak-Vance MA, Campochiaro PA, Klein ML, Tan PL, Conley YP, Kanda A, Kopplin L, Li Y, Augustaitis KJ, Karoukis AJ, Scott WK, Agarwal A, Kovach JL, Schwartz SG, Postel EA, Brooks M, Baratz KH, Brown WL, Brucker AJ, Orlin A, Brown G, Ho A, Regillo C, Donoso L, Tian L, Kaderli B, Hadley D, Hagstrom SA, Peachey NS, Klein R, Klein BE, Gotoh N, Yamashiro K, Ferris Iii F, Fagerness JA, Reynolds R, Farrer LA, Kim IK, Miller JW, Corton M, Carracedo A, Sanchez-Salorio M,

Pugh EW, Doheny KF, Brion M, Deangelis MM, Weeks DE, Zack DJ, Chew EY, Heckenlively JR, Yoshimura N, Iyengar SK, Francis PJ, Katsanis N, Seddon JM, Haines JL, Gorin MB, Abecasis GR, Swaroop A. Genetic variants near TIMP3 and high-density lipoprotein-associated loci influence susceptibility to age-related macular degeneration. Proc Natl Acad Sci U S A. 2010;107:7401-6.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

吉村長久 (YOSHIMURA NAGAHISA)
京都大学・医学研究科・教授
研究者番号：70211662

(2) 研究分担者

大谷篤史 (OTANI ATSUSHI)
京都大学・医学研究科・講師
研究者番号：30314222

山城健児 (YAMASHIRO KENJI)
京都大学・医学研究科・助教
研究者番号：80399617

山田亮 (YAMADA RYO)
京都大学・医学研究科・教授
研究者番号：50301106