

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3月5日現在

機関番号：17102
 研究種目：基盤研究（B）
 研究期間：2009～2011
 課題番号：21390468
 研究課題名（和文） 加齢黄斑変性の危険因子の解明と予防に関する大規模ゲノム疫学研究
 研究課題名（英文） Genome-wide association study identifies two susceptibility loci for age-related macular degeneration in the Japanese population
 研究代表者
 石橋 達朗（ISHIBASHI TATSURO）
 九州大学・医学研究院・ 教授
 研究者番号：30150428

研究成果の概要（和文）：

日本人における滲出性AMDの遺伝的背景を明らかにするため、ゲノムワイドに関連を調べた結果、8番染色体短腕上のrs13278062および4番染色体長腕のrs1713985の2つのSNPに有意差を認めた。今回の研究により、8番染色体上のTNFRSF10A-LOC389641遺伝子および4番染色体上のREST-C4orf14-POLR2B-IGFBP7遺伝子は滲出性AMDに対する新たな疾患感受性遺伝子として考えられる。

研究成果の概要（英文）：

Our data showed that *TNFRSF10A-LOC389641* on chromosome 8p21 and *REST-C4orf14-POLR2B-IGFBP7* on chromosome 4q12 are new susceptibility loci for exudative AMD in the Japanese population. Further functional studies are necessary to clarify the mechanisms of these loci on the susceptibility to exudative AMD.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	6,000,000	1,800,000	7,800,000
2010年度	4,000,000	1,200,000	5,200,000
2011年度	2,100,000	630,000	2,730,000
年度			
年度			
総計	12,100,000	3,630,000	15,730,000

研究分野：医学

科研費の分科・細目：眼科学

キーワード：(1)加齢黄斑変性 (2)遺伝子解析 (3)ゲノムワイドアプローチ

1. 研究開始当初の背景
 高齢者の黄斑に生じる加齢黄斑変性

age-related macular degeneration (AMD)は、高齢化社会が進行中の我が国をはじめとした

先進国において、成人の失明や視力低下の主因となっているが、現在 AMD に対する根本的な治療はなく、その病因解明は社会的急務である。その発症には、遺伝的素因(体質)や環境因子など様々な因子が関与していると考えられている。

2. 研究の目的

本研究は AMD のゲノムワイド疫学研究によって AMD の遺伝的危険因子を同定しその病因を解明することを目的とする。

3. 研究の方法

AMD 罹患者および久山町健診受診者の健常者から採取した血液より DNA を抽出し、加齢黄斑変性の発症および進展に影響を及ぼす SNP を体系的、網羅的なゲノムワイドアプローチにより解析する。

4. 研究成果

過去のゲノムワイド関連解析（以下 GWAS）では、AMD のリスクとして多くの共通する変異が見つかっている。ランドマーク的な GWAS では、CFH および ARMS2 が AMD の関連遺伝子として同定されており、これまで計 8 つの候補遺伝子が報告されている。しかし、これまでの GWAS の多くは欧米での報告であり、病型の異なるアジアでの報告は少ない。

日本人における滲出性AMDの遺伝的背景を明らかにするため、827人の滲出性AMD患者と3323人のコントロールを用い、GWASを行った。解析に用いた一塩基多型（以下SNP）は常染色体上の457,489個のSNPを用いた。

GWASの結果、P値が 5×10^{-8} 以下のSNPは ARMS2 (rs3750847, $P = 8.67 \times 10^{-29}$) および CFH (rs800292, $P = 4.23 \times 10^{-15}$)の2領域認められ、既報の領域であるCFI,C2およびCFBは有意な関連を認めたが、TIMP3,LIPCについては、統計学的検出力の不足により、有意差は認めなかった。滲出性AMDは欧米と比べ、アジアでは主要な病型であり、この結果から示唆される事は、AMD発症のメカニズムは欧米と大差はなく、遺伝的因子や環境因子が後期AMDの病型の違いに表れていることが考えられた。

さらに関連のある遺伝子座を同定するため、GWASで用いた集団と独立した709名の滲出性AMD患者および、15,571名のコントロールを用い、反復実験を行った。GWASの結果で、P値が 1×10^{-4} 以下の146個のSNPのうち、連鎖不平衡の強い47SNPおよび既報の22SNPを除いた77SNPを反復実験に用いた。GWASおよび反復実験の結果を統合した結果、8番染色体短腕上のrs13278062 (統合P値 1.03×10^{-12} , オッズ比 0.73, 95%信頼区間 0.67 - 0.80)および4番染色体長腕のrs1713985 (統合P値 2.34×10^{-8} , オッズ比 1.30, 95%信頼区間 1.19 - 1.42)の2つのSNPがゲノムワイド ($< 5 \times 10^{-8}$) に有意差を認めた。滲出性AMDには典型的AMDとポリープ状脈絡膜血管症の亜型があるが、両SNPとも両亜型に対し、同様の関連を認めた。

候補領域を縮小し、滲出性AMDとの関連遺伝子を明らかにするため、微細マッピングおよびシーケンスを行ったが、rs13278062よりも関連の強いSNPは検出されず、また、ハ

プロタイプ解析においても、rs13278062よりも強い関連は見られなかった。

rs13278062はLOC389641遺伝子上に位置し、腫瘍壊死因子受容体スーパーファミリー10A (TNFRSF10A) 遺伝子の397塩基対上流に位置する。GEOデータベースによると、ヒト網膜色素上皮およびマウスでの桿体細胞でのTNFRSF10Aの発現は認められているが、LOC389641の発現は認められていない。TNFRSF10Aに対するリガンドであるTRAILがその受容体であるTNFRSF10Aに結合すると、カスパーゼ8の活性化により、アポトーシスが誘導される。さらに、この結合体は別の経路として、非アポトーシス経路を持ち、転写因子であるNF-KBを通じ、炎症性サイトカインの産生を促し、炎症を誘導する。rs13278062の近傍に転写因子 (AP-1) 結合部位があり、TNFRSF10Aの発現を調整すると過去の報告で言われている。さらにrs13278062のGアレルはTアレルに比べ、1.2-1.5倍、転写活性を増強すると言われている。さらなる機能解析が必要であるが、TNFRSF10A遺伝子は滲出性AMDに関連があり、rs13278062はその機能に関連がある可能性がある。

2番目に有意であったrs1713985は4番染色体長腕に位置し、このSNPがカバーする領域内に4つの遺伝子 (REST, C4orf14, POLR2B, IGFBP7) が存在する。同様に微細マッピングを行ったが、連鎖不平衡が保たれているブロック (LDブロック) が広範囲のため、特定の領域には絞り込む事が出来なかった。REST遺伝子は転写抑制

因子であり、神経発生に対する負の調整に働いており、また、C4orf14遺伝子の過剰発現は、ミトコンドリアの一酸化窒素やカルシウムを調整することにより、アポトーシスを誘導する。IGFBP7の遺伝子産物であるアンジオモジュリンはケモカインや血管内皮細胞増殖因子を含めた成長因子と結合し、AMDでの網膜色素上皮の高発現している。

今回の検討により、8番染色体上のTNFRSF10A-LOC389641 遺伝子および4番染色体上のREST-C4orf14-POLR2B-IGFBP7 遺伝子は滲出性AMDに対する新たな疾患感受性遺伝子として考えられ、さらなる機能解析が疾患機構を解明するため必要である。

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1件)

1. Arakawa S, Kiyohara Y, Kubo M, Ishibashi T, et al. Genome-wide association study identifies two susceptibility loci for exudative age-related macular degeneration in the Japanese population. Nature genetics. 査読有、43巻、2011、10001-1004

[学会発表] (計2件)

1. 石橋達朗 眼科領域における抗VEGF治療、第36回日本微小循環学会総会、2011、名古屋市
2. 石橋達朗 網膜の包括的神経保護～臨床応用への挑戦～、第115回日本眼科学会特別

講演、2011、東京都

〔図書〕（計 0 件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計 0 件）

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

出願年月日：

国内外の別：

○取得状況（計 0 件）

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年月日：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

(1) 研究代表者

石橋達朗 (ISHIBASHI TATSURO)

九州大学・大学院医学研究院・教授

研究者番号：30150428

(2) 研究分担者

清原裕 (KIYOHARA YUTAKA)

九州大学・大学院医学研究院・教授

研究者番号：80161602

久保充明 (KUBO MITSUAKI)

独立法人理化学研究所・チームリーダー

研究者番号：30442958

(3) 連携研究者

なし