

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 5 月 5 日現在

機関番号：17301

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21590596

研究課題名（和文） 狭隅角緑内障の疾患感受性遺伝子解析

研究課題名（英文） Association Study of Closed-angle Glaucoma

研究代表者

近藤 新二（KONDO SHINJI）

長崎大学・大学院医歯薬学総合研究科・准教授

研究者番号：90398149

研究成果の概要（和文）：狭隅角緑内障患者群 41 名、正常対照群 100 名を対象に、16 個の候補遺伝子を選び出し、それらの遺伝子領域に存在する SNP（single nucleotide polymorphism）と呼ばれる一塩基多型をタイピングして、患者対照間でその出現頻度に有意な差が存在するかを統計的に検討した。その結果、調べた遺伝子間ではいずれの SNP の出現頻度にも有意な差を認めず、新たな疾患感受性遺伝子の発見には至らなかった。

研究成果の概要（英文）：We performed a Single Nucleotide Polymorphism-based association study in 41 closed-angle glaucoma cases and 100 healthy controls. Although 16 genes were investigated to see whether these genes are responsible for this disease or not, we were unable to detect any novel variants for closed-angle glaucoma risk in these genes.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2010 年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2011 年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：境界医学・応用薬理学

キーワード：ファーマコゲノミクス

1. 研究開始当初の背景

緑内障は世界的に見ても中途失明の原因第 2 位を占めている疾患である。我が国に於いては 40 歳以上の約 20 人に 1 人が緑内障に罹患していると考えられている。典型的には、緑内障では眼圧の上昇により視神経が徐々に

変性欠落して、その結果視野が欠損していき、最後には失明に至るコースをたどる。緑内障は一度視神経が障害され視野が狭窄すると二度と回復することはない。また視野狭窄は初期に自覚されることは無く、気づいたときには症状が進行していることが多いため早

期発見が重要と考えられている。この病気は視神経乳頭が変形、陥没していくことにより症状が生じるが、その変形の原因は多様で眼圧説、自己免疫説、遺伝子異常説など環境因、遺伝因それぞれの複合遺伝性疾患であると考えられており、いくつかの研究が行われていたが、その全容は明らかにはなっていない。

2. 研究の目的

本研究の全体構想は、分子遺伝学手法をもちいて、緑内障の疾患感受性遺伝子を同定することにより、将来の発症予防や薬物治療に向けての医学的基礎を確立することであった。その中での具体的なこの研究の目標は、緑内障のモデルとして鹿児島県の離島に高頻度に見られる狭隅角緑内障に着目し、その疾患感受性遺伝子を調査、発見することであった。

3. 研究の方法

(1) 検体の採取

インフォームド・コンセントを得た上で、狭隅角緑内障患者より採血を行い、DNAを抽出した。同様に対照群からの血液採取及びDNA抽出を行う。また採血に困難がある場合は爪からのDNA採取を考慮した。

(2) 候補遺伝子アプローチ法による患者対照相関解析

疾患との関連性や遺伝子発現情報、モデル動物などからの知見から選択した候補遺伝子を対象に患者対照相関解析を行う。

対象とした遺伝子からデータベース情報

(HapMap)などを利用してタグSNPを選出しタイピングを行う。得られたデータを統計解析する。

4. 研究成果

(1) 研究の主な成果

鹿児島県のある離島に多く見られる狭隅角緑内障患者群 41名を対象に、候補遺伝子アプローチ法によりに疾患感受性遺伝子の探索をおこなった。これまでに緑内障に関連していることが報告されている遺伝子を含め、発現情報やモデル動物の知見より候補として次の16遺伝子を選んだ(表1)。

これらの遺伝子の多型情報を元に相関解析(対立遺伝子頻度、遺伝子型頻度、ハプロタイプ解析、ディプロタイプ解析)を行ったが、いずれの遺伝子にも疾患との有意な差を認めず、新たな疾患感受性遺伝子の発見には至

らなかった。

表 1

CYP1B1 (2p22.2)	LOXL1 (15q22)
SMAD4 (18q21.1)	WDR36 (5q22.1)
FOXC1 (6p25)	CYP2D6 (22q13.1)
MTHFR (1p36.3)	MYOC (1q23-q24)
OPTN(10p13)	IRF6 (1q32.3-q41)
Otx2(14q22.3)	PITX2 (4q25)
PAX6 (11p13)	OPTC(1q32.1)
LMX1B (9q33.3)	FUT3 (19p13.3)

(2) 国内外での成果の位置づけ

緑内障は隅角所見、眼圧、発症機転などから原発緑内障(原発開放隅角緑内障、正常眼圧緑内障、原発閉塞隅角緑内障)、続発緑内障、発達緑内障などに分類されるが、90%以上が開放隅角緑内障である。高眼圧、視神経軸索異常をはじめとする種々の要因が関与すると考えられているが、家族集積性が見られることや発症率に民族差があること(アジア人、アフリカ系アメリカ人に多い)などにより遺伝要因の関与する多因子疾患であると考えられている。実際これまでの分子遺伝学的研究により約20以上の疾患遺伝子座が報告されているが、これらはすべて頻度の高い開放隅角緑内障のものである。

当研究はこれまであまり注目されて来なかった閉塞隅角緑内障の一型である狭隅角緑内障に焦点を当てた点がユニークな点であった。今回の実験では調べた範囲では遺伝子多型頻度に有意な差はみられなかったが、頻度の少ない疾患に注目した研究には重要性があると考えている。

(3) 研究遂行上の問題点と有益点

本研究は、疾患の異質性を回避するために、患者の集中する離島からサンプルを収集することとしたが、研究期間途中で研究協力者が離島に駐在していた医師が転勤するなどの事情があり、当初計画通りのサンプルの収集がうまくいかなかった点が問題点と考えられる。

また候補遺伝子解析に研究費の大半が費やされたため、コストのかかる全ゲノム関連解析を行う十分な余裕が無かった。

ただ本研究の手法は他の同様の実験に応用することは可能であり、その点で有益であった。

(3) 今後の課題・展望

全ゲノム解析はとても強力な方法であり、大変優れているがコストが非常にかかる。しかしながら日々の技術革新により、将来的には低価格で行えるようになることが期待でき

る。またこの種の研究を行うには、適切で十分量のサンプル数の確保が重要であるので、それに努める必要がある。

緑内障は一度視神経が障害され視野が狭窄すると二度と回復することはない。また視野狭窄は初期に自覚されることは無く、気づいたときには症状が進行していることが多い。従って早期発見が重要であるが、感受性遺伝子が同定されれば発症機序の解明や治療・予防に対する一助になると考えられる

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 8 件)

① Inamine T, Nakamura M, Kawauchi A, Shirakawa Y, Hashiguchi H, Aiba Y, Taketomi A, Shirabe K, Nakamuta M, Hayashi S, Saoshiro T, Komori A, Yatsuhashi H, Kondo S, Omagari K, Maehara Y, Ishibashi H, Tsukamoto K; PBC Study Group in NHOSLJ. A polymorphism in the integrin αV subunit gene affects the progression of primary biliary cirrhosis in Japanese patients. *J Gastroenterol.* 査読有り 2011 May;46(5):676-86. 76

② Fukae A et al (10人中6番目)
The evidence of polymorphisms of the liver X receptor gene as a DNA-based biomarker for susceptibility to coronary artery disease in a Japanese population. *Acta Medica Nagasakiensia*
査読有り 2011 55(2) 69-76

③ Matsuzawa N, Kondo S, Shimozato K, Nagao T, Nakano M, Tsuda M, Hirano A, Niikawa N, Yoshiura K. Two missense mutations of the IRF6 gene in two Japanese families with popliteal pterygium syndrome. *Am J Med Genet A.* 査読有り 2010 Sep;152A(9):2262-7.

④ de Lima RL, Hoper SA, Ghassibe M, Cooper ME, Rorick NK, Kondo S, Katz L, Marazita ML, Compton J, Bale S, Hehr U, Dixon MJ, Daack-Hirsch S, Boute O, Bayet B, Revencu N, Verellen-Dumoulin C, Vikkula M, Richieri-Costa A, Moretti-Ferreira D, Murray JC, Schutte BC. Prevalence and nonrandom distribution of exonic mutations in interferon regulatory factor

6 in 307 families with Van der Woude syndrome and 37 families with popliteal pterygium syndrome. *Genet Med.* 査読有り 2009 Apr;11(4):241-7.

⑤ Narumi Y, Isomoto H, Shiota M, Sato K, Kondo S, Machida H, Yanagihara K, Mizuta Y, Kohno S, Tsukamoto K. Polymorphisms of *PTPN11* coding SHP-2 as biomarkers for ulcerative colitis susceptibility in the Japanese population. *J Clin Immunol.* 査読有り 2009 May;29(3):303-10

⑥ Miyazaki K, Mapendano CK, Fuchigami T, Kondo S, Ohta T, Kinoshita A, Tsukamoto K, Yoshiura K, Niikawa N, Kishino T: Developmentally dynamic changes of DNA methylation in the mouse *Snurf/Snrpn* gene. *Gene* 432(1-2):97-101, 2009. 査読有り

⑦ Sato K, Shiota M, Fukuda S, Iwamoto E, Machida H, Inamine T, Kondo S, Yanagihara K, Isomoto H, Mizuta Y, Kohno S, Tsukamoto K: Strong evidence of a combination polymorphism of the tyrosine kinase 2 gene and the signal transducer and activator of transcription 3 gene as a DNA-based biomarker for susceptibility to Crohn's disease in the Japanese population. *J Clin Immunol* 29(6):815-825, 2009. 査読有り

⑧ Oshima K, Fujii H, Eguchi K, Otani M, Matsuo T, Kondo S, Yoshiura K, Yamamoto T: A further insight into the origin of human T-lymphotropic virus type 1 (HTLV-1) in Japan, based on the genotyping of ABCC11. *Tropical Medicine and Health* 37(3):121-123, 2009. 査読有り

[学会発表] (計 10 件)

① K Sato: A polymorphism in the proliferation-inducing ligand gene is associated with susceptibility to ulcerative colitis in the Japanese population, 18th United European Gastroenterology Week (UEGW) 2010, 10/23-27 (in Barcelona, Spain).

② 岩村 直矢, Van der Woude Syndrome, Popliteal Pterygium Syndrome 患者に由来する IRF6 遺伝子変異はその転写活性能を低下

させる, 日本薬学会第130 回年会, 2010,
3/28-30 (岡山)

③ 岩村 直矢, VWS, PPS患者でみられる転写
因子IRF6 変異は転写活性を低下させる,
第27 回日本薬学会九州支部大会
2010, 12/11-12 (長崎)

④ Tatsuo Inamine, : Diplotype
polymorphisms of the salt export pump
gene are associated with susceptibility to
the progression of primary biliary
cirrhosis in Japanese patients, 59th
American Society of Human
Genetics Annual Meeting 2009, 10/20-24 (in
Honolulu, USA).

⑤ Risa Uemura, : A haplotype polymorphism
of FUT1 is associated with susceptibility
to pulmonary emphysema in the Japanese
population, 59th American Society of
Human Genetics Annual Meeting 2009,
10/20-24 (in Honolulu, USA).

⑥ Shingo Higa, : The cholesterol 7
alpha-hydroxylase gene susceptible to the
severe progression of primary biliary
cirrhosis in Japanese patients, 59th
American Society of Human Genetics Annual
Meeting 2009, 10/20-24 (in Honolulu, USA).

⑦ Tsutomu Mawatari: Evidence of
polymorphisms of Xpo1 as a biomarker for
susceptibility to anti-tuberculosis
drug-induced hepatotoxicity in Japanese
patients with tuberculosis, 59th
American Society of Human Genetics Annual
Meeting 2009, 10/20-24 (in Honolulu, USA).

⑧ 比嘉辰伍: CYP7A1遺伝子は原発性胆汁性
肝硬変の重症化感受性遺伝子である, 日本薬
学会第129年会 2009, 3/26-28 (京都)

⑨ 松尾敏明 イジュ (Schima wallichii ssp.
noronhae) 樹皮主成分分析結果 第50回日本熱
帯医学会大会 総会 2009, 10/22-23 (沖縄)

⑩ Tatsuo Inamine: Polymorphisms of the
genes encoding hepatobiliary transporters
are associated with susceptibility to the
severe progression of primary biliary
cirrhosis in Japanese patients, 第3回次

世代を担う若手医療薬科学シンポジウム
2009, 11/14-15 (福岡)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

近藤 新二 (KONDO SHINJI)

長崎大学・医歯薬学総合研究科・准教授
研究者番号: 90398149