

令和 6 年 6 月 2 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21H03092

研究課題名（和文）ビッグデータによる近視の総合的病態解明

研究課題名（英文）Comprehensive elucidation of the pathophysiology of myopia by big data analysis

研究代表者

辻川 明孝（Tsujikawa, Akitaka）

京都大学・医学研究科・教授

研究者番号：40402846

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,400,000円

研究成果の概要（和文）：本研究課題では、ゲノムを含むビッグデータを駆使して近視の機序・病態解明を進めた。合計で274例の最強度近視症例についての全ゲノム解析、1500名を超える強度近視症例についてのゲノムスクランデータ、オンサイトリサーチセンターによる本邦のレセプトデータベース（NDB）の全データなどを対象として解析を行った。

この結果、本邦の小児の近視の疫学については論文投稿中、強度近視症例のゲノムワイド関連解析は2023年度の米国眼科学会でbest paperに選ばれて論文作成中、最強度近視に関連するrare variant解析については動物実験を進めているところである。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年、世界的に近視が急増している。中でも、強度な近視の5-10%程度は脈絡膜新生血管や眼球変形により網脈絡膜萎縮を引き起こし失明に至るため、本邦の視覚障害原因の4位、視力のみで評価した場合には失明原因の1位となっている。強度近視からの失明には遺伝的素因も大きいことが指摘されているが、その機序は特定されていない。本研究で強度近視、最強度近視の遺伝的背景及び分子生物学的機序を解明することで、近視による失明の防止に繋がる可能性がある。

研究成果の概要（英文）：This research project utilized big data, including genomes, to advance the understanding of the mechanisms and pathogenesis of myopia. We conducted whole-genome analysis on a total of 274 cases of high myopia, genome-wide association studies on over 1500 cases of high myopia, and analysis of the entire dataset from the National Database (NDB) by an on-site research center.

As a result, a manuscript on the epidemiology of myopia in Japanese children is currently under review for publication. Our genome-wide association analysis of high myopia cases was selected as the best paper at the 2023 American Academy of Ophthalmology meeting and is currently being prepared for publication. Additionally, we are progressing with animal experiments for rare variant analysis related to extreme high myopia.

研究分野：眼科学

キーワード：近視

1. 研究開始当初の背景

近視は世界的に増加している疾患で、特にアジア人において罹患率が高い。中でも強度近視は、近視性脈絡膜新生血管 (mCNV) や、眼球の病的変形による近視性視神経症や近視性網脈絡膜萎縮 (CRA) などの合併症を引き起こし失明に至る疾患であり、実際に本邦でも視覚障害原因の4位となっている。従って、それら合併症の予防法・治療法の確立がアジアを中心として世界的に望まれているが、現時点では眼球の病的変形の機序自体が明らかになっておらず、CRAを防ぐ術はない。

強度近視やその合併症発症の機序を特定するための方法として、これまでは現象論的なアプローチが主流であり、本邦を中心に、3D MRI や広範囲光干渉断層計 (OCT) などの画像を含む様々な画像解析結果から、多くの知見 (現象) が報告されてきた。これにより強度近視に対する理解は深まり、強膜の脆弱性などが機序として推測されたことから現象を物理的に防ぐ治療法として強膜クロスリンク等が研究されているが、実用化には至っていない。このような中、申請者らは、OCT 画像におけるブルッフ膜カーブの局所曲率を用いて眼球形状を数値化する評価手法を確立してきた (Miyake et al, *PLoS One*, 2014; Wakazono et al, *Ophthalmology*, 2016)。これにより、2017年度から2020年度の我々の基盤研究 B の成果として、眼圧が 15mmHg より高い群とそれ以下の群で眼球形状経年変化の程度が有意に異なることを発見し、今後再現性の確認が必要である。また同様に、近視化に伴う眼軸伸長は、眼球の能動的な伸長ではなく、*WNT7B* 遺伝子等による眼球の正円状の成長時に、*GJD2* 遺伝子等によって赤道部方向の成長が阻害される事による受動的な伸長である可能性を指摘し (Nakao et al, *Ophthalmology*, 2020)、このような視点からの遺伝子解析が今後重要であると考えている。

近視の71%は遺伝的素因により説明出来るとされている (Sanfilippo et al, *Surv Ophthalmol.*, 2010) ことや、成人以降に病的近視による失明を来す患者では、小児期に、すでに通常の学童近視と異なる特徴的な眼底所見が見られる (Yokoi et al. *Ophthalmology*, 2016) こと、更に、2017年度から2020年度の申請者らの基盤研究 B の成果である、最強強度近視には遺伝的関与が大きい可能性を指摘した論文 (Nakao et al, *Ophthalmology*, 2020) 等から、本質的に強度近視発症の分子生物学的機序を特定するきっかけとして有力と考えられるのはゲノム研究である。申請者らはこれまで、世の中に先んじて強度近視発症に関与する遺伝子を複数特定しており (Meguro et al, *Ophthalmology*, 2020; Miyake et al, *Nature Communications*, 2015; Khor, Miyake et al, *Hum Mol Genet.*, 2014 ほか)、更に2017年度から2020年度の我々の基盤研究 B では、これまでの知見を進展させる形で、最強強度近視 125 名に全ゲノム解析 (WGS) を行い、京都大学が保有する全ゲノムパネル 3,489 例と比較した。これにより、*HAUS5* 遺伝子のスプライシングサイトの希少変異が統計学的に有意に最強強度近視に関連 ($P=7.8 \times 10^{-8}$) していることを同定したほか、計 66 個の遺伝子において、遺伝子コピー数に統計学的に有意な偏りがあることを同定している。このように、特定の遺伝子群の関与を強く示唆する結果を得ているため、今後この独自の知見を更に発展させ、強度近視の病態に迫る必要がある。

2. 研究の目的

2017年度から2020年度の基盤研究 B の成果をさらに発展させ、ビッグデータ解析による、

近視・強度近視・最強度近視の病態解明を目指す。

3. 研究の方法

①強度近視及び近視性黄斑新生血管に対するゲノムワイド関連解析

強度近視及び近視性黄斑新生血管に対して大規模なゲノムワイド関連解析を行った。前者は強度近視 3,747 例と対照 5,815 例が対象となった。後者は 2,460 例の強度近視を対象とし、うち黄斑新生血管が 596 例であった。これらに対して、genotyping に用いられたマイクロアレイ種別に年齢性別及び主成分を調整した上でゲノムワイド関連解析を行い、それらのメタ解析を行った。

②最強度近視の全ゲノム解析

274 例の最強度近視 (少なくとも片眼の眼軸長が 29mm 以上) に対して全ゲノム解析を行い、約 38000 例の日本人全ゲノム解析データとの joint call を行った。また、30 歳で眼軸長が 33mm を超える常染色体顕性遺伝の最強度近視家系のうち、症例 3 例に長鎖シーケンスによる全ゲノム解析を実施した。これらを、日本人 89 例の長鎖シーケンスデータと統合解析を行い、一塩基変異、short tandem repeat、構造多型について検討を行った。

③空間トランスクリプトーム解析

空間トランスクリプトーム解析は、2020 年度の *Nature Methods* 誌において Method of the year に選ばれた画期的な解析手法で、簡単に説明すると、位置情報を保持したまま、シングルセルレベルで網羅的にオミクス解析を行う手法である。広範囲だが 1000 程度の transcript しか見られない seqFISH という手法と、範囲は狭いがほとんどの transcript を評価できる PhotoIsolation Chemistry (PIC)の手法がある。これらを用いて、人眼でのトランスクリプトームの局在を観察する。

④強膜オミクス解析

当科ではトラベクトミーを実施した患者の強膜サンプルを保管しており、最強度近視・強度近視のサンプルも多数含まれている。これらについてトランスクリプトーム解析を実施する。

⑤レセプトデータを用いた疫学研究

私のチームは、オンサイトリサーチセンター京都で全レセプトデータにアクセスして解析を実施することが厚生労働省より許可されている。15 歳未満の小児の全データを用いて、近視の疫学を調査する。

4. 研究成果

①ゲノムワイド関連解析

強度近視及び近視性黄斑新生血管に対して大規模なゲノムワイド関連解析を進めて複数のシグナルを得ている。前者の 3,747 例 vs 5,815 例のサンプルを用いた強度近視のゲノムワイド関連解析は現時点で世界最大であり、2023 年の米国眼科学会で発表して best paper を受賞した。今後、東北メディカルメガバンクのデータで再現性確認の上で論文投稿予定であ

る。後者の近視性黄斑新生血管のゲノムワイド関連解析では一つのシグナルが同定された。

②最強度近視の全ゲノム解析

症例群に有意に病的バリエーションが enrich している遺伝子が複数同定され、複数の候補遺伝子が検出された。これらについて再現性の確認やモデル動物による確認を進めている。

③空間トランスクリプトーム解析

病理学教室を含めて調整を行い、研究計画の倫理承認も得られ、死後 6 時間以内の病理解剖検体から眼球を入手できる下地が整った。タイミングが合わずまだ実際の人眼入手には至っていない。

④強膜オミクス解析

サンプルは小さくコラーゲンの多い組織であるため RNA の抽出段階で試行錯誤を要し、得られた RNA も微量であるため RNA seq についても条件検討を要したが、現在は軌道に乗っており、順調に検体数が増加している。

⑤レセプトデータを用いた疫学研究

8 歳が近視発症のピークで、同じく 8 歳を境に発症に男女差がでてくることが分かった。また、8 歳頃までは年々近視の人口あたり罹患数が増加しているが、そより上では人口あたり罹患数が減少しており、近視の若年化が数字でも明らかとなった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Musolf AM, Haarman AEG, Luben RN, Ong JS, Patasova K, Trapero RH, Marsh J, Jain I, Jain R, Wang PZ, Lewis DD, Tedja MS, Iglesias AI, Li H, Cowan CS; Consortium for Refractive Error and Myopia (CREAM); Biino G, Klein AP, Duggal P, Mackey DA, Hayward C, Haller T, Metspalu A, et al.	4. 巻 6
2. 論文標題 Rare variant analyses across multiethnic cohorts identify novel genes for refractive error	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Commun Biol .	6. 最初と最後の頁 6
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s42003-022-04323-7	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 該当する

1. 著者名 Yasuhara S, Miyata M, Ooto S, Tamura H, Ueda-Arakawa N, Uji A, Muraoka Y, Miyake M, Takahashi A, Wakazono T, Yamashiro K, Tsujikawa A.	4. 巻 42
2. 論文標題 PREDICTORS OF RETINAL PIGMENT EPITHELIUM TEAR DEVELOPMENT AFTER TREATMENT FOR NEOVASCULAR AGE-RELATED MACULAR DEGENERATION USING SWEEP SOURCE OPTICAL COHERENCE TOMOGRAPHY ANGIOGRAPHY	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Retina	6. 最初と最後の頁 1020-1027
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/IAE.0000000000003426	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 -

1. 著者名 Shin-Ya Nakao, Masahiro Miyake, Yoshikatsu Hosoda, Eri Nakano, Yuki Mori, Ayako Takahashi, Sotaro Ooto, Hiroshi Tamura, Yasuharu Tabara, Kenji Yamashiro, Fumihiko Matsuda, Akitaka Tsujikawa, of the Nagahama Study Group	4. 巻 128
2. 論文標題 Myopia Prevalence and Ocular Biometry Features in a General Japanese Population: The Nagahama Study	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Ophthalmology	6. 最初と最後の頁 522-531
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.opthta.2020.08.023.	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0件

〔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	池田 華子 (0-Ikeda Hanako) (20372162)	京都大学・医学研究科・特定准教授 (14301)	
研究分担者	田村 寛 (Tamura Hiroshi) (40418760)	京都大学・国際高等教育院・教授 (14301)	
研究分担者	長崎 正朗 (Nagasaki Masao) (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	三宅 正裕 (Miyake Masahiro) (90812793)	京都大学・医学研究科・特定講師 (14301)	
研究分担者	若園 知尊 (Tomotaka Wakazono) (90884635)	京都大学・医学研究科・特定病院助教 (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
---------	---------