

平成 26 年 6 月 19 日現在

機関番号：14501

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23592567

研究課題名(和文) 加齢黄斑変性の病態特異的な遺伝子多型の同定と個別化治療への応用

研究課題名(英文) Identification and the use of phenotype specific polymorphism for personalized medicine in age-related macular degeneration

研究代表者

本田 茂 (HONDA, Shigeru)

神戸大学・医学(系)研究科(研究院)・講師

研究者番号：60283892

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円、(間接経費) 1,200,000円

研究成果の概要(和文)：日本人加齢黄斑変性(AMD)に関連する遺伝子研究を行い、ARMS2/HTRA1、CFH、CD36などの遺伝子多型と典型AMDやポリプ状脈絡膜血管症(PCV)との関連性の有無を証明。特にエラスチンやCD36遺伝子多型において典型AMDとPCV間で関連性が異なることを明らかにした。また、AMDへの治療、特に光線力学療法(PDT)と抗血管内皮増殖因子(VEGF)療法の治療経過をまとめ、その有効性に関わる因子の統計学的解析を行った。さらにPDTや抗VEGF療法の効果とAMDサブタイプやARMS2/HTRA1、CFH、CD36の遺伝子多型間に有意な関連性があることを証明した。

研究成果の概要(英文)：We investigate the association of ARMS2/HTRA1, CFH, CD36, elastin gene polymorphism with typical age-related macular degeneration (tAMD) and polypoidal choroidal vasculopathy (PCV). We found different associations of elastin and CD36 variants between tAMD and PCV. We evaluated the factors responsible for the effect of photodynamic therapy (PDT) and anti-vascular endothelial growth factor (VEGF) therapy on AMD, and found that AMD subtypes as well as the genetic variants of ARMS2/HTRA1, CFH, CD36 influence the outcome of therapies.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：眼科学

キーワード：加齢黄斑変性 遺伝子多型 個別化医療

1. 研究開始当初の背景

加齢黄斑変性 (AMD) はわが国を含む先進国における中途失明原因の代表疾患である。滲出型 AMD はその臨床像を基にさらに典型加齢黄斑変性 (tAMD)、ポリープ状脈絡膜血管症 (PCV)、網膜血管腫状増殖 (RAP) の 3 型に細分類されるが、これらを病因学的に裏付ける科学的な証拠はない。ただ各病型の自然経過や治療に対する反応性には差があり、光線力学療法 (PDT) における治療効果は tAMD と PCV 間で異なる。ところが同一病型内でも PDT の効果に差があることも多く見られ、それが何に起因するのかは未だ不明である。これを解明する手掛かりはやはり疾患の分子レベルでの解析にあると考えられる。病因論的に AMD と関連が盛んに研究されている遺伝子として補体 H 因子 (Complement factor H: CFH) や age-related maculopathy susceptibility 2 (ARMS2) および high-temperature requirement factor A1 (HTRA1) などが挙げられるが、これらの遺伝子型には人種差があることも知られており、それが臨床的にみられる AMD の病型分布の人種差と関連しているかは不明である。例えば我々が日本人における ARMS2/HTRA1 の遺伝子多型を tAMD と PCV の臨床的病型分類に基づいて検討したところ、両病型ともに対照群との間に強い有意差を認めたと、tAMD と PCV 間にも有意差を認めた。つまり両疾患の遺伝的背景は必ずしも同一でないことが示唆された事になる。

2. 研究の目的

tAMD、PCV、RAP など各 AMD 病型に特異的に関連する遺伝子多型を探索し、それらの遺伝子多型が当該遺伝子の構造や発現量に変化をもたらすかどうかを検証する。

また、現在の各種 AMD 治療法に対して各病型間で、また同一病型内でも反応が良いものと悪いものがあることに関して、我々はその要因として実際には病型(表現型)よりも遺伝

的素因の相違(特定の遺伝子多型の有無など)に基づいた治療効果の違いが現れている可能性を考えており、関連する遺伝子型に基づいた個別化医療が優れた効果をもたらすことを証明する。

3. 研究の方法

(1) 臨床的分類である tAMD、PCV、RAP の各病型間で関連性が異なる、あるいはその可能性のある遺伝子群の遺伝子多型を詳細に調べ、最も関連の強い領域を同定する。また、その領域が蛋白の発現調整、構造安定、他分子との結合等に関与するかを明らかにすることによって各臨床型の病態を解明する手掛かりを得る。

(2) 上記遺伝子群の関連領域が各病型の自然経過や治療への反応性の違いなどを反映しているかを調べ、治療効果関連遺伝子の情報を元に疾患予後を予測する重回帰モデルを試作する。

(3) 上記モデルを使用して実際の AMD 治療を行い、遺伝型に基づいた個別化医療の効果(自然経過予後の予測および各種治療の効果)を判定する。

4. 研究成果

(1) 我々の発表に続く ARMS2 遺伝子多型の報告をまとめてメタ解析を行い、ARMS2 遺伝子多型との関連における典型 AMD と PCV 間の有意差を証明した。

(2) CFH 遺伝子 Y402H 多型とアジア人 AMD の有意な関連をメタ解析で明らかにした。

(3) 網膜周辺部に比べて黄斑により多く存在し、酸化 LDL など脂質酸化に関与する CD36 のイントロン遺伝子多型において典型 AMD と PCV 間で関連性に有意な違いがあることを証明した。

(4) 典型 AMD と PCV における PDT の長期(5年間)の治療効果をまとめ、経過における両者の特徴を示した。また治療前における予後予測因子の多変量解析を行った。

(5) PDT の効果と AMD の表現型や遺伝子多型間の関連を調べ、PDT の効果と CD36 遺伝子多型間に有意な関連性があることを証明した。[図 1]

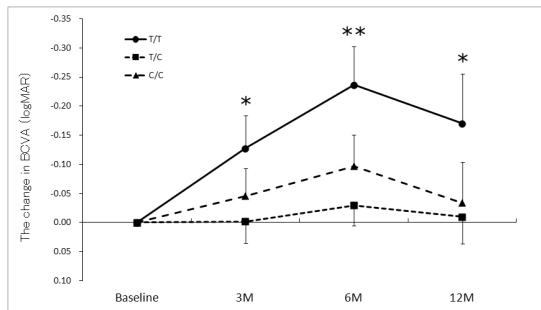


図 1 CD36 rs3173798 多型と PDT 後視力経過
* $P < 0.05$, ** $p < 0.005$ (ベースラインとの比較 対応のある t -test)

(6) 抗 VEGF 療法に対する典型 AMD と PCV の反応性の違いを明らかにし、また抗 VEGF 療法の治療効果に関わる遺伝子の同定を行った。

(7) 臨床分類的に PCV とされる症例群を蛍光眼底造影検査における異常血管網の所見に基づき更に 2 種類 (type 1 と type 2) [図 2] に分類して ARMS2、CFH 遺伝子多型との関連を調べた結果、ARMS2 多型において上記 2 種類の PCV 表現型間で有意な関連の違いが検出された。[表 1]

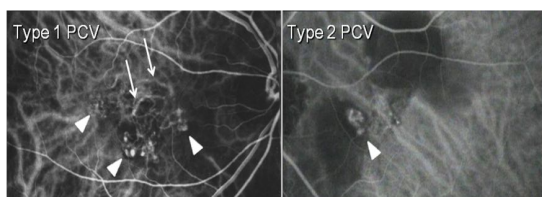


図 2 Type 1 PCV と Type 2 PCV
Type 1 PCV ではポリープ状病巣(矢頭)に加えて明瞭な栄養血管網(矢印)が見られるが、Type 2 PCV では栄養血管網は殆ど描出されない。

これは、それまで一つの疾患群として扱われていた PCV が、異なる遺伝的感受性を持つ少なくとも二つ以上の病態の集まりである可能

性を示唆しており、今までに観察された臨床

| Gene | Coding variant | Major /Minor allele | Minor Allele Frequency | | Allelic nominal P-value |
|-------|----------------|---------------------|------------------------|------------|-------------------------|
| | | | Type 1 PCV | Type 2 PCV | Type 1 vs Type 2 |
| ARMS2 | A69S | G/T | 0.7 | 0.45 | <0.0001 |
| CFH | I62V | G/A | 0.24 | 0.24 | 0.93 |
| CFH | Y402H | T/C | 0.10 | 0.10 | 0.77 |

表 1 Type 1 PCV と Type 2 PCV における遺伝子多型関連の比較

的疾患群としての PCV と典型 AMD 間の遺伝的感受性の違いを説明する極めて重要な発見であった。また、これは今後の同疾患群に対する様々な治療の効果判定などにおける評価方法を大きく見直す必要があることを意味している。

(8) 上記の発見を受けて Type 1 PCV と Type 2 PCV における PDT 後の視力経過を比較し、両者に有意差があることを明らかにした。[図 3]

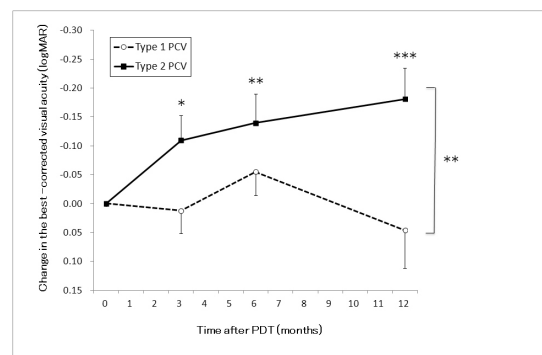


図 3 Type 1 PCV と Type 2 PCV における PDT 後の視力経過 * $P < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.005$ (時系列はベースラインとの比較 対応のある t -test、群間比較は repeated measures ANOVA)

(9) AMD における ranibizumab 硝子体注射の初期反応性に関連する臨床的、遺伝的因子を探索し、CFH 162V 多型と Y402H 多型の組み合わせが ranibizumab 硝子体注射後の滲出性病変の消退と関連することを明らかにした。[図 4]

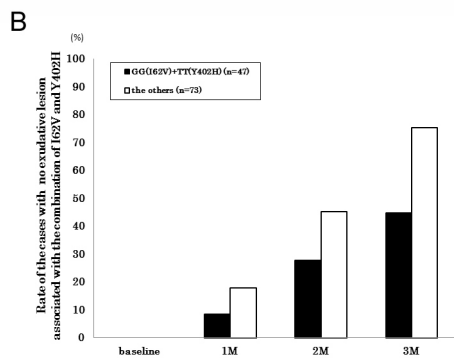
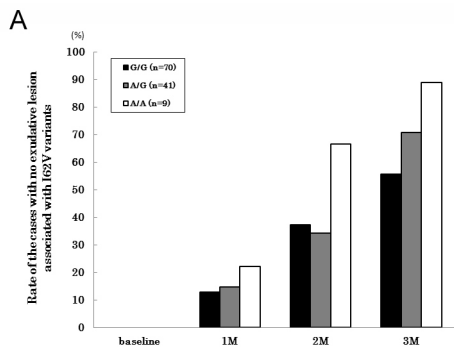


図4 Ranibizumab 硝子体注射による滲出性病変消退率とCFH 遺伝子多型 (A) CFH I62V の遺伝子型による比較、(B) CFH I62V とY402H の遺伝子型による比較

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 29 件)

1. Honda S, Miki A, Yanagisawa S, Matsumiya W, Nagai T, Tsukahara Y. Comparison of the outcomes of photodynamic therapy between two angiographic subtypes of polypoidal choroidal vasculopathy. *Ophthalmologica* in press. (査読有)
2. Matsumiya W, Honda S, Yanagisawa S, Miki A, Nagai T, Tsukahara Y. Evaluation of clinical and genetic indicators for the early response to intravitreal ranibizumab in exudative age-related macular degeneration. *Pharmacogenomics* 15:833-43, 2014. (査読有)
3. Oishi A, Miyamoto N, Mandai M, Honda S, Matsuoka T, Oh H, Kita M, Nagai T, Bessho N, Uenishi M, Kurimoto Y, Negi A. LAPTOS Study: A 24-Month Trial of Verteporfin Versus Ranibizumab for Polypoidal Choroidal Vasculopathy. *Ophthalmology*. 121:1151-2, 2014. (査読有)
4. Miki A, Kondo N, Yanagisawa S, Bessho

H, Honda S, Negi A. Common Variants in the Complement Factor H Gene Confer Genetic Susceptibility to Central Serous Chorioretinopathy. *Ophthalmology*. 121:1067-72, 2014. (査読有)

5. Oishi A, Kojima H, Mandai M, Honda S, Matsuoka T, Oh H, Kita M, Nagai T, Fujihara M, Bessho N, Uenishi M, Kurimoto Y, Negi A. Comparison of the Effect of Ranibizumab and Verteporfin for Polypoidal Choroidal Vasculopathy: 12-Month LAPTOS Study Results. *Am J Ophthalmol*. 156:644-51, 2013. (査読有)
6. Fujioka K, Morioka I, Honda S, Tsukahara Y, Miwa A, Shibata A, Tanimura K, Yokoyama N, Yamada H, Iijima K. Severe retinopathy of prematurity with retinal detachment in monozygotic twins. *Pediatr Int*. 55:366-8, 2013. (査読有)
7. Miki A, Honda S, Nagai T, Tsukahara Y, Negi A. The effects of oral bisphosphonates on myopic choroidal neovascularization over 2 years of follow-up: a pilot study comparing with anti-VEGF therapy and photodynamic therapy. *Br J Ophthalmol*. 97:770-4, 2013. (査読有)
8. Matsumiya W, Honda S, Kusahara S, Tsukahara Y, Negi A. Effectiveness of intravitreal ranibizumab in exudative age-related macular degeneration (AMD): comparison between typical neovascular AMD and polypoidal choroidal vasculopathy over a 1 year follow-up. *BMC Ophthalmol*. 13:10, 2013. (査読有)
9. Miki A, Honda S, Kojima H, Nishizaki M, Nagai T, Fujihara M, Uenishi M, Kita M, Negi A. The visual outcome of photodynamic therapy for typical neovascular age-related macular degeneration and polypoidal choroidal vasculopathy over 5 years of follow-up. *Jpn J Ophthalmol*. 57:301-7, 2013. (査読有)
10. Matsumiya W, Kusahara S, Shimoyama T, Honda S, Tsukahara Y, Negi A. Predictive value of preoperative optical coherence tomography for visual outcome following macular hole surgery: effects of imaging alignment. *Jpn J Ophthalmol*. 57:308-15, 2013. (査読有)
11. Miki A, Honda S, Kondo N, Negi A. The association of age-related maculopathy susceptibility 2

- (ARMS2) and complement factor H (CFH) variants with two angiographic subtypes of polypoidal choroidal vasculopathy. *Ophthalmic Genet.* 34:146-50, 2013. (査読有)
12. Honda S, Bessho H, Kondo N, Kusuhara S, Tsukahara Y, Negi A. Positive association of CD36 gene variants with the visual outcome of photodynamic therapy in polypoidal choroidal vasculopathy. *Mol Vis.* 18: 2796-804, 2012. (査読有)
 13. Otsuka K, Imai H, Shimoyama T, Nagai T, Honda S, Azumi A. Recurrence of macular hole retinal detachment after intravitreal ranibizumab injection for the treatment of choroidal neovascularization from the remaining macular hole edge. *Case Report Ophthalmol.* 3:424-7, 2012. (査読有)
 14. Nishimura Y, Taguchi M, Nagai T, Fujihara M, Honda S, Uenishi M. Comparison of the effect between pegaptanib and ranibizumab on exudative age-related macular degeneration with small lesion size. *Clin Ophthalmol.* 6:365-8, 2012. (査読有)
 15. Nakano S, Honda S, Oh H, Kita M, Negi A. Effect of photodynamic therapy (PDT), posterior subtenon injection of triamcinolone acetonide with PDT, and intravitreal injection of ranibizumab with PDT for retinal angiomatous proliferation. *Clin Ophthalmol.* 6:277-82, 2012. (査読有)
 16. Bessho H, Honda S, Kondo N, Kusuhara S, Tsukahara Y, Negi A. The association of CD36 variants with polypoidal choroidal vasculopathy compared to typical neovascular age-related macular degeneration. *Mol Vis.* 18:121-7, 2012. (査読有)
 17. Yanagisawa S, Kondo N, Miki A, Matsumiya W, Kusuhara S, Tsukahara Y, Honda S, Negi A. Difference between age-related macular degeneration and polypoidal choroidal vasculopathy in the hereditary contribution of the A69S variant of the age-related maculopathy susceptibility 2 gene (ARMS2). *Mol Vis.* 17:3574-82, 2011. (査読有)
 18. Yanagisawa S, Kondo N, Miki A, Matsumiya W, Kusuhara S, Tsukahara Y, Honda S, Negi A. A Common Complement C3 Variant Is Associated with Protection against Wet Age-Related Macular Degeneration in a Japanese Population. *PLoS One.* 6:e28847, 2011. (査読有)
 19. Imai H, Honda S, Tsukahara Y, Negi A. Macular edema formation and deterioration of retinal function after intravitreal bevacizumab injection for proliferative diabetic retinopathy. *Case Report Ophthalmol.* 2:314-8, 2011. (査読有)
 20. Arakawa S, Takahashi A, Ashikawa K, Hosono N, Aoi T, Yasuda M, Oshima Y, Yoshida S, Enaida H, Tsuchihashi T, Mori K, Honda S, Negi A, Arakawa A, Kadonosono K, Kiyohara Y, Kamatani N, Nakamura Y, Ishibashi T, Kubo M. Genome-wide association study identifies two susceptibility loci for exudative age-related macular degeneration in the Japanese population. *Nat Genet.* 43:1001-4, 2011. (査読有)
 21. Fujioka K, Morioka I, Nozu K, Nishimoto M, Amano M, Tagami M, Honda S, Yokoyama N, Yamada H, Iijima K, Matsuo M. A surviving case of papillorenal syndrome with the phenotype of Potter sequence. *Pediatr Int.* 53:406-8, 2011. (査読有)
 22. Matsumiya W, Honda S, Bessho H, Kusuhara S, Tsukahara Y, Negi A. Early responses to intravitreal ranibizumab in typical neovascular age-related macular degeneration and polypoidal choroidal vasculopathy. *J Ophthalmol.* ID 742020, 2011. (査読有)
 23. Tagami M, Kusuhara S, Imai H, Honda S, Tsukahara Y, Negi A. Impact of Intravitreal Injection of Tissue Plasminogen Activator on Full-Field Electroretinogram in Patients with Macular Oedema Secondary to Retinal Vein Occlusion. *Ophthalmologica.* 226:81-86, 2011. (査読有)
 24. Bessho H, Honda S, Kondo N, Negi A. The association of ARMS2 polymorphisms with phenotype in typical neovascular age-related macular degeneration and polypoidal choroidal vasculopathy. *Mol Vis.* 17:977-982, 2011. (査読有)
 25. Matsuo M, Honda S, Matsumiya W, Kusuhara S, Tsukahara Y, Negi A. Comparison between anti-vascular endothelial growth factor therapy and photodynamic therapy for myopic choroidal neovascularization. *Eur J Ophthalmol.* 22:210-5, 2012. (査読有)
 26. Yagi M, Yamamori M, Morioka I,

- Yokoyama N, Honda S, Negi A, Nakamura T, Okamura N, Okumura K, Sakaeda T, Matsuo M. *VEGF 936C>T is predictive of threshold retinopathy of prematurity in Japanese infants with a 30-week gestational age or less. Research and Reports in Neonatology* 1: 5-11, 2011. (査読有)
27. Bessho H, Honda S, Kondo N, et al. Positive association of complement factor H gene variants with the effect of photodynamic therapy in polypoidal choroidal vasculopathy. *J Clin Exp Ophthalmol.* 2:122, 2011. (査読有)
28. Bessho H, Honda S, Imai H, Negi A. Natural course and fundusoscopic findings of polypoidal choroidal vasculopathy in a Japanese population over one year of follow-up. *Retina*: 31:1598-602, 2011. (査読有)
29. Kondo N, Bessho H, Honda S, Negi A. Complement Factor H Y402H Variant and Risk of Age-Related Macular Degeneration in Asians: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Ophthalmology.* 118: 339-44, 2011. (査読有)

〔学会発表〕(計 6件)

1. Shigeru Honda, Wataru Matsumiya, Suiho Yanagisawa, Akiko Miki, Takayuki Nagai, Yasutomo Tsukahara The Short Term Outcomes of a Single Intravitreal Injection of Aflibercept Combined With Photodynamic Therapy for Polypoidal Choroidal Vasculopathy APRVS 2013.12.6-8, Nagoya.
2. Wataru Matsumiya, Shigeru Honda, Suiho Yanagisawa, Akiko Miki, Takayuki Nagai, Yasutomo Tsukahara The early response to aflibercept in the recurrent neovascular age-related macular degeneration after ranibizumab treatment APRVS 2013.12.6-8, Nagoya.
3. Akiko Miki, Shigeru Honda, Suiho Yanagisawa, Wataru Matsumiya, Takayuki Nagai, Yasutomo Tsukahara The natural course and response to treatments in the cases with peripapillary polypoidal choroidal vasculopathy APRVS 2013.12.6-8, Nagoya.
4. Shigeru Honda, Suiho Yanagisawa, Akiko Miki, Wataru Matsumiya, Akira Negi The association of elastin gene variants with two angiographic subtypes of polypoidal choroidal vasculopathy. ARVO 2013.5.5-9, Seattle.
5. Wataru Matsumiya, Shigeru Honda,

Hiroaki Bessho, Sentaro Kusahara, Yasutomo Tsukahara, Akira Negi. Early Responses to Intravitreal Ranibizumab in Typical Neovascular Age-related Macular Degeneration and Polypoidal Choroidal Vasculopathy. ARVO, 2011.5.1-5, Fort Lauderdale.

6. 本田茂、別所弘明、松宮亘、近藤直土、楠原仙太郎、塚原康友、根木昭：日本人加齢黄斑変性に対する遺伝情報を利用した光線力学療法の検討、第115回日本眼科学会総会 2011.5.12-15, 東京

〔図書〕(計 2件)

1. 本田茂 AGEs と加齢黄斑変性：AGEs と老化 糖化制御からみたウェルエイジング、メディカルレビュー社 197-204, 2013.
2. 本田茂 網膜の機能：眼科学(第2版), 編：丸尾敏夫ら 文光堂 367-369, 2011

〔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

6. 研究組織

(1) 研究代表者

本田 茂 (HONDA, Shigeru)
神戸大学・医学部附属病院・講師
研究者番号：60283892

(2) 研究分担者

なし ()
研究者番号：

(3) 連携研究者

なし ()
研究者番号：