

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 27 年 9 月 21 日現在

機関番号：32409

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25861647

研究課題名(和文) 網膜血管腫様増殖の遺伝子解析

研究課題名(英文) genetic analysis with retinal angiomatous proliferation

## 研究代表者

土橋 尊志 (Tsuchihashi, Takashi)

埼玉医科大学・医学部・講師

研究者番号：90337577

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 1,500,000円

研究成果の概要(和文)：加齢黄斑変性でHTRA1遺伝子とCFH遺伝子の一塩基多型(SNP)の重要性が報告されている。この2つのSNPと網膜血管腫様増殖(RAP)の表現型との関連を解析した。HTRA1多型は各病型と有意に関連し、特にRAPにおいてリスクホモ型の頻度が多かった( $P<0.05$ )。CFH 162V多型は、各AMD病型間に有意差は認められなかった( $P>0.05$ )。RAPにおいて、HTRA1多型はCSDとRPDに( $P<0.01$ )、CFH 162V多型はRPDに( $P<0.05$ )、有意に関連した。HTRA1とCFH 162V多型はRAPのRPD発症に関与する可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Complement factor H (CFH) and high-temperature requirement A-1 (HTRA1) have been demonstrated as major age-related macular degeneration (AMD) susceptibility genes.

We analyzed whether pathological single nucleotide polymorphisms (SNPs) in the vicinity of the 2 genes associates with prototypic clinical phenotypes that are often observed among retinal angiomatous proliferation (RAP) patients. The HTRA1 promoter SNP (rs11200638) was associated with all 3 subtypes. The association was strongest with RAP ( $P<0.05$ ). In terms of CFH 162V variant, no significant difference was observed among 3 subtypes ( $P>0.05$ ). Among RAP subgroup, HTRA1 polymorphism significantly associated with CSD and RPD ( $P<0.01$ ), while CFH 162V mildly associated only with RPD ( $P<0.05$ ). Both HTRA1 promoter and CFH 162V risk alleles as well as RPD could be susceptibility factors for RAP among Japanese population.

研究分野：眼科 遺伝学

キーワード：網膜血管腫様増殖 加齢黄斑変性 遺伝子多型 HTRA1 CFH 162V

## 1. 研究開始当初の背景

脈絡膜新生血管(CNV)を来す狭義加齢黄斑変性症(AMD)は欧米では中途失明原因の第一位を占める重篤な眼疾患であり、近年本邦でも急速に増加している。原因は多くの疾患同様に遺伝因子に環境因子が加わり発症すると考えられている。AMD に対する治療にはレーザー光凝固、光線力学療法(PDT)、分子標的治療薬(抗 VEGF 抗体)の硝子体注射、ステロイド製剤のテノン嚢下注射などがあり、その有効性はある程度臨床的に証明されているが、いずれの治療法も視力を改善させるには十分でなくその限界も指摘されている。特に AMD の類縁疾患である網膜血管腫状増殖 (retinal angiomatous proliferation:RAP) は、2001 年 Yannuzzi らにより報告された疾患概念であり (Yannuzzi LA et al, Retina 21: 416, 2001)、網膜血管由来の新生血管を有し、網膜内に異常血管増殖をきたし、網膜下に進展し、最終的に脈絡膜新生血管と吻合を形成する疾患である。RAP の特徴として、比較的高齢の女性に多く、両眼発症がほとんどであり、検眼鏡的に AMD の前駆病変であるドルーゼンを伴うことが多いことが挙げられる。特に本邦では比較的まれな病態とされ (Maruko I et al, Am J Ophthalmol 144: 15, 2007)、その多くは AMD に比べどの治療法に対しても難治性であることが多く、視力予後は不良である (Bottoni F et al, Arch Ophthalmol 123:1644, 2005)。AMD や RAP は患者の自覚症状が出現したときにはすでに、眼内新生血管が網膜 (黄斑部) に非可逆性の障害を引き起こしていることが多いために、病状の安定化は得られるものの、視力を改善させることを困難にさせている。従って AMD も同様であるが特に RAP において最良の治療法としては疾患発症を予防することであり、このために病態の原因遺伝子を

明確にし、将来的に発症のリスクを予測し、発症リスクの高い患者に対し、原因遺伝子をコントロールする治療法が望まれる。AMD の感受性遺伝子については様々な候補遺伝子との関連が全世界で検討され、特に米国の Caucasian を対象とした研究においては、網羅的遺伝子多型の解析により補体 H 因子 (Y402H) と Caucasian での AMD 発症との強い関連が示されており (Klein RJ et al, Science 308: 419, 2005)、また HTRA1 も二番目の原因遺伝子として報告されている (Dewan A et al, Science 314: 989, 2006)。しかし日本人と Caucasian では AMD の phenotype に大きな差異がみられ、特に Y402H に関しては欧米の報告と全く異なる結果が本邦の複数のグループから報告されており (Mori K et al, Invest Ophthalmol Vis Sci 48: 5315, 2007)、日本人固有の疾患感受性遺伝子を検索することは極めて重要であると考えられる。既に申請者のグループは AMD に関しては多型解析を行い、CFH 多型および HTRA1, ARMS2 多型が AMD 発症に強く相関する事を明らかにしてきた (Mori K et al, Ophthalmology 117: 928, 2010)。特に HTRA1 型については、NCBI のヒト遺伝データベースにも引用されている (Mori K et al, J Hum Genet 52: 636, 2007; <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim/602194>)。また、遺伝子多型を組み合わせ解析することで、AMD 罹患リスクを高率で予測できることも見出し、光線力学療法や抗 VEGF 療法の効果予測にも有効であることを明らかにした (Tsuchihashi T, Mori K, et al, Ophthalmology 118: 93, 2011)。一方 RAP に関しては患者数の少なさもありその関連の報告は多くないが、AMD 同様その発症への関与の報告が散見されてきている。サブタイプである、狭義 AMD、ポリープ状脈絡膜血管症(PCV)、

RAP と SNP との関連について、AMD の疾患感受性遺伝子である CFH 遺伝子 (Y402H と I62V) と HTRA1/ARMS2 遺伝子を対象とした解析で、RAP は AMD、PCV と比較し HTRA1/ARMS2 において特に強い関連があること (RAP vs AMD:  $p=4.38 \times 10^{-5}$ 、RAP vs PCV:  $6.26 \times 10^{-8}$ ) が示され、HTRA1/ARMS2 遺伝子は RAP において AMD や PCV よりも重要な遺伝子であるとされる (Hayashi H et al, Invest Ophthalmol Vis Sci 51: 5914, 2010)。Premature な Data であるが、我々のデータでも同様に、RAP は HTRA1/ARMS2 のリスクホモがかなり高い確率であり、特に強い関連が推察される。これは、AMD や PCV よりも HTRA1/ARMS2 は RAP の遺伝因子の特異性が高い可能性がある。(Hayashi H et al, Invest Ophthalmol Vis Sci 51: 5914, 2010; Tanaka K et al, Mol Vis 17:2751, 2011; Beate J et al, Ophthalmology 114: 738, 2007)。

## 2. 研究の目的

RAP の遺伝的素因の関連 (特に HTRA1/ARMS2 遺伝子) を調査し、病態解明、治療への反応性等についても研究すること

## 3. 研究の方法

現時点までで申請者の施設で集められたサンプルの総数はコントロールも含め 1,200 例以上で、そのうち、RAP 症例に関しては 20 例ほどがすでに収集できている。さらにサンプルを収集し、遺伝子解析を行う。古くは、Fisher RA より報告された相加的ポリジーンモデル(1918)等を参考に、各因子に関して、発症リスク (オッズ比、相対危険度、population attributable risk 等) を算出する。AMD だけでなく RAP に

おいても既に関連が報告されている CFH Y402H や CFH I62V、HTRA1/ARMS2 A69S 遺伝子などについて多数例で再解析検討し、AMD との差異 (疾患の発症や、治療効果など) があるか否かについても遺伝因子が関連するかについても解析していくつもりである。

## 4. 研究成果

加齢黄斑変性で HTRA1 遺伝子と CFH 遺伝子の一塩基多型 (SNP) の重要性が報告されている。この 2 つの SNP と網膜血管腫様増殖 (RAP) の表現型との関連を解析した。HTRA1 多型は各病型と有意に関連し、特に RAP においてリスクホモ型の頻度が多かった ( $P < 0.05$ )。CFH I62V 多型は、各 AMD 病型間に有意差は認められなかった ( $P > 0.05$ )。RAP において、HTRA1 多型は CSD と RPD に ( $P < 0.01$ )、CFH I62V 多型は RPD に ( $P < 0.05$ )、有意に関連した。HTRA1 と CFH I62V 多型は RAP の RPD 発症に関与する可能性が示唆された。

## 5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 1 件)

1) Tsuchihashi T, Mori K, Horie-Inoue K, Okazaki Y, Awata T, Inoue S, Yoneya S: Prognostic phenotypic and genotypic factors associated with photodynamic therapy response in patients with age-related macular degeneration. Clin Ophthalmol.;8:2471-8. 2014

[学会発表] (計 3 件)

1. 土橋尊志、森圭介、堀江公仁子、井上聡、栗田卓也、米谷新: 網膜血管腫様増殖の表現型と HTRA1 遺伝子との関係. 第 118 回日本眼科学会, 2014 年

2. Takashi Tsuchihashi, Keisuke Mori, Kuniko Horie-Inoue, Satoshi Inou

e, Takuya Awata, Masanori Hangai, Shin Yoneya : Subtype- and phenotype-specific associations with major susceptibility genes for age-related macular degeneration. 第 12 回 RC GM フロンティアシンポジウム,2014

研究者番号：

3. 土橋尊志、森圭介、堀江公仁子、井上聡、栗田卓也、板谷正紀、米谷新：網膜血管腫様増殖(RAP)と AMD 感受性遺伝子多型の関連性. 第 53 回日本網膜硝子体学会総会,2014 年

〔図書〕(計 2 件)

1. 土橋尊志, 森圭介：加齢黄斑変性と遺伝子：黄斑疾患診断のための最新の検査法. Pharma Medica(メディカルレビュー社)31 巻 7 号 :29-32,2013

2. 土橋尊志, 森圭介：ケムと網膜関連疾患の関与を探る：糖尿病網膜症. RETINA Medicine(先端医学社)vol.3 no.1 春号,16-20,2014

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

土橋 尊志 ( TAKASHI  
TSUTIHASHI ) 埼玉医科大学・医学部・講師

研究者番号：90337577

(2)研究分担者

( )

研究者番号：

(3)連携研究者

( )