

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 18 日現在

機関番号：12601
研究種目：基盤研究(C) (一般)
研究期間：2014～2016
課題番号：26462658
研究課題名(和文) 本態性眼瞼痙攣の疾患感受性遺伝子の研究

研究課題名(英文) Susceptible genes for essential blepharospasmus

研究代表者
蕪城 俊克 (Kaburaki, Toshikatsu)
東京大学・医学部附属病院・准教授

研究者番号：00280941
交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：眼瞼痙攣患者584人からDNAサンプルを収集した。臨床データの解析が終了した331症例(男性:95例、女性:236例、 63.0 ± 12.9 歳)の臨床病型の内訳は、本態性眼瞼痙攣238例、薬剤性眼瞼痙攣90例、症候性3例であった。そのうちの191サンプルを用いて、正常人コントロール419例を対象としてDNAマイクロアレイ(Axiom Genome-Wide ASI 1 Array Plate)によるゲノムワイド関連解析を施行した。眼瞼痙攣患者と正常人の間のアレール頻度の比較で、差が大きかった($P < 10^{-8}$)疾患感受性の候補領域が数十箇所絞り込まれた。残ったサンプルについても解析を継続する。

研究成果の概要(英文)：We collected DNA samples from 584 blepharospasm patients. The subtypes of 331 blepharospasm cases (a man: 95, a woman: 236, 63.0 ± 12.9 years old) that the analysis of the clinical data finished was 238 cases with essential blepharospasm, 90 cases with drug-induced blepharospasm, and 3 cases of systematic blepharospasmus. Using 191 samples of those and 419 samples from healthy volunteers as a control, the genome-wide association study with DNA microarray (Axiom Genome-Wide ASI 1 Array Plate) has been performed. By a comparison of the allele frequencies between blepharospasm patients and healthy volunteers, dozens of candidate genomic regions that have a large difference ($P < 10^{-8}$) in the allele frequencies and have a possibility of susceptible genes for blepharospasmus have been determined. We will continue the analysis using remaining samples.

研究分野：眼科学

キーワード：本態性眼瞼痙攣 Meige症候群 疾患感受性遺伝子 ゲノムワイド解析 家族歴

1. 研究開始当初の背景

眼瞼痙攣は、両眼の眼輪筋の不随意的収縮が持続性・反復性に起こり、開瞼困難となる原因不明の疾患である。不随意的持続性筋緊張により捻転性または反復性の運動や姿勢を来す疾患であるジストニアのうち、両眼の周囲におこるものと考えられ、局所性ジストニアの一種と考えられている。口輪筋、顎部にまで異常運動がおよぶものはMeige症候群と呼ばれる。眼瞼痙攣は、原因が不明の本態性眼瞼痙攣、パーキンソン病などに続発する症候性眼瞼痙攣、抗不安薬の副作用として起こる薬剤性眼瞼痙攣の3つに大別され、本態性が多い。本態性眼瞼痙攣は女性に多く(男性の2.5~4倍)、40歳以上の発症が多い。我が国での眼瞼痙攣の有病率は10万人あたり10.4人との報告がある(Sugawara M, Movement Disorders 2006)が、診断に至らない例も多く、実数はもっと多いと推測されている。ポジトロンCTの研究から、大脳基底核、視床、脳幹部との関連が推測されている。対症療法としてボツリヌスの局所注射治療が行われるが、薬効は2~6か月程度で失われ、反復して投与し続ける必要があり、またボツリヌス毒素を用いた治療に抵抗する眼瞼痙攣も多数存在する。平成17年2月までに我が国で眼瞼痙攣に対しボツリヌス治療を受けた患者数は16330人となっている。本症は表情に大きな影響を与える為、患者の精神的苦痛が大きいのみならず、開瞼が上手にできないため機能的失明になる場合もあり、その病態解明・治療法の確立は急務である。

局所性ジストニアは家族性がみられる患者が多く、海外の報告では家族歴が13-30%あり、常染色体優性遺伝が予想されていた(Waddy HM, Ann Neurol. 1991;29:320-4)。近年、若年発症の遺伝性ジストニアの原因遺伝子の研究が進んだ。これまでに顔面の局所dystoniaに関連する遺伝子としてDopamine receptor DRD5(Misbahuddin A, Neurology.

2002;58:124-6.)、DYT1(TORA1)(Kramer PL, Am J Hum Genet. 1994;55:468-75.)、DYT6(THAP1)(Bressman SB, Lancet Neurol. 2009;8:441-6)、DYT13(Valente EM, Ann Neurol. 2001;49:362-6.)遺伝子が報告されている。しかし、これらの遺伝子異常はいずれも常染色体優性遺伝の形態をとる単一遺伝子型の遺伝病であり、ほとんどの症例が若年発症例であり、臨床像も眼瞼痙攣のみならず体幹や四肢にもdystoniaを起こすものである。つまり、眼瞼痙攣患者の大部分を占める高齢発症で全身症状を伴わない本態性眼瞼痙攣についての疾患感受性遺伝子は未だ判明しておらず、特にゲノムワイド関連解析の研究は未だ報告されていない。また日本人における単一遺伝子型ジストニアにおける遺伝子異常頻度の検討の報告はある(ジストニア患者178名中DYT1遺伝子のGAG塩基欠損は3.4%、Matsumoto S, Neuroreport. 2001;12:793-5.)が、顔面のジストニア(眼瞼痙攣やMeige症候群)に限って検討した報告はない。すなわち眼瞼痙攣やMeige症候群の遺伝子研究や家族内集積性の調査は我が国では殆ど行われていない状態にある。

2. 研究の目的

本研究は我が国における本態性眼瞼痙攣、Meige症候群の家族内発生率を調査するとともに、本態性眼瞼痙攣、Meige症候群の疾患感受性遺伝子の同定を目指すものである。

3. 研究の方法

東京大学附属病院眼科および研究協力施設(井上眼科病院、清澤眼科)に通院中の眼瞼痙攣、Meige症候群患者について、病型分類(本態性眼瞼痙攣、症候性眼瞼痙攣、薬剤性眼瞼痙攣、Meige症候群)を行う。次にそれぞれの患者について臨床像、全身疾患合併の有無、家族歴、発症年齢、抗不安薬内服歴、全身のジストニアの合併などの病歴を調査する。眼瞼痙攣、Meige症候群患者では、通

常頭蓋内病変の鑑別のために頭部 MRI 検査を行っており、その検査結果も採取する。我が国の眼瞼痙攣患者における家族集積性、発症年齢、顔面以外のジストニアの合併率などについて明らかにする。

本態性眼瞼痙攣または Meige 症候群と診断された症例 200 例の DNA サンプルを使い、人類遺伝学教室で保有する検診受診者（様々な疾患遺伝子研究への利用の承諾済み）の血液由来の遺伝子多型データ約 600 例をコントロールとして、DNA マイクロアレイを用いたゲノムワイド関連解析を行う。両群間で allele 頻度の違いが大きい遺伝子領域に対してさらに解析を行い、本態性眼瞼痙攣の疾患感受性遺伝子の同定を試みる。

4. 研究成果

2017 年 3 月 30 日までに眼瞼痙攣の患者 584 人から DNA サンプルを収集した。今回の研究の対象症例は、若倉法（10 点満点）で 3 点以上の眼瞼痙攣症例とした。眼瞼痙攣の症状の左右差が大きい症例は、頭部 MRI を施行して Vascular compression（片側顔面痙攣でみられる顔面神経の圧迫）の疑われる症例は本研究から除外した。

これまでに DNA サンプルを収集した 584 例のうち、臨床データの解析が終了した 331 症例（男性:95 例、女性:236 例、 63.0 ± 12.9 歳）の臨床病型の内訳は、本態性眼瞼痙攣 238 例、薬剤性眼瞼痙攣 90 例、症候性 3 例であった。昨年度（H27 年度）に、そのうちの 191 サンプルを用いて、正常人コントロール 419 例の SNP データを対象として DNA マイクロアレイ（Axiom® Genome-Wide ASI 1 Array Plate）によるゲノムワイド関連解析（Genome wide association study:GWAS）を施行した。その検討の結果、ケース・コントロール間のアレール頻度の比較では、 $P < 10^{-6}$ となった候補領域が数十箇所絞り込まれた。それらの中には神経疾患の疾患感受性遺伝子として報告されているものも含まれ、様々な染色体上の多

様な機能を持つ蛋白が含まれていた。今年度はさらに眼瞼痙攣患者 96 サンプルについてゲノムワイド関連解析を施行し、現在その結果の解析中である。これまでの GWAS の結果から推測される疾患感受性遺伝子の候補 SNP（ $p < 1.0 \times 10^{-7}$ ）に関して、TaqMan 法によりリタイピングおよびリプリケーションを実施していく予定である。最終的に P 値が GWAS の有意差水準（ $p < 5.0 \times 10^{-7}$ ）を超える候補 SNP を特定することを目標とする。

今後、サンプル数を 600 例にまで増やし、候補領域に対する解析を進める予定である。

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 15 件）

1) Nakahara H, Kaburaki T, Tanaka R, Takamoto M, Ohtomo K, Karakawa A, Komae K, Okinaga K, Matsuda J, Fujino Y. Frequency of Uveitis in the Central Tokyo Area (2010-2012). *Ocul Immunol Inflamm*. 2016 Mar 8;1-7. doi: 10.3109/09273948.2015.1133840.

2) Tan X, Fujiu K, Manabe I, Nishida J, Yamagishi R, Terashima Y, Matsushima K, Kaburaki T, Nagai R, Yanagi Y. Choroidal Neovascularization Is Inhibited in Splenic-Denervated or Splenectomized Mice with a Concomitant Decrease in Intraocular Macrophage. *PLoS One*. 2016 Aug 17;11(8):e0160985. doi: 10.1371/journal.pone.0160985. eCollection 2016.

3) Horie Y, Kitaichi N, Hijioka K, Sonoda KH, Saishin Y, Kezuka T, Goto H, Takeuchi M, Nakamura S, Kimoto T, Shimakawa M, Kita M, Sugita S, Mochizuki M, Horii J, Iwata M, Shoji J, Fukuda M, Kaburaki T, Numaga J, Kawashima H, Fukushima A, Joko T, Takai N, Ozawa Y, Meguro A, Mizuki N, Namba K,

- Ishida S, Ohno S. Ocular Behçet's disease is less complicated with allergic disorders. A nationwide survey in Japan. *Clin Exp Rheumatol*. 2016;34 Suppl 102(6):111-114.
- 4) Igarashi N, Sawamura H, Kaburaki T, Aihara M. Anti-Collapsing Response-Mediating Protein-5 Antibody-Positive Paraneoplastic Periopic Neuritis without Typical Neurological Symptoms. *Neuroophthalmology*. 2016 27;41(1):24-29. doi: 10.1080/01658107.2016.1241283.
- 5) Kaburaki T. Ocular Involvement. In: Ishigatsubo Y eds. *Behçet's Disease -From Genetics to Therapies-*. Springer Japan, Tokyo, Japan. 2015;p55-78.
- 6) Kaburaki T. Eye Involvement. In: Hirohata S eds. *Behçet's Disease: Progress in recent years and unmet needs for the future*. Nova Science, New York, USA. 2015; p89-104
- 7) Tanaka R, Takamoto M, Komae K, Ohtomo K, Fujino Y, Kaburaki T. Clinical features of psoriatic uveitis in Japanese patients. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2015;253(7):1175-80 doi: 10.1007/s00417-015-2968-4.
- 8) Takada S, Tanaka R, Kurita N, Ishii K, Kaburaki T. Vogt-Koyanagi-Harada disease in three-year-old boy. *Clin Experiment Ophthalmol*. 2015;43(6):593-4. doi: 10.1111/ceo.12512.
- 9) Namba K, Goto H, Kaburaki T, Kitaichi N, Mizuki N, Asukata Y, Fujino Y, Meguro A, Sakamoto S, Shibuya E, Yokoi K, Ohno S. A Major Review: Current Aspects of Ocular Behçet's Disease in Japan. *Ocul Immunol Inflamm*. 2015;23 Suppl 1:S1-S23. doi: 10.3109/09273948.2014.981547.
- 10) Kongkaew S, Yotmanee P, Rungrotmongkol T, Kaiyawet N, Meeprasert A, Kaburaki T, Noguchi H, Takeuchi F, Kungwan N, Hannongbua S. Molecular Dynamics Simulation Reveals the Selective Binding of Human Leukocyte Antigen Alleles Associated with Behçet's Disease. *PLoS One*. 2015 Sep 2;10(9):e0135575. doi: 10.1371/journal.pone.0135575. eCollection 2015.
- 11) Tanaka R, Murata H, Takamoto M, Ohtomo K, Okinaga K, Yoshida A, Kawashima H, Nakahara H, Fujino Y, Kaburaki T. Behçet's disease ocular attack score 24 and visual outcome in patients with Behçet's disease. *Br J Ophthalmol*. 2015, Nov 9. pii: bjophthalmol-2015-307362. doi: 10.1136/bjophthalmol-2015-307362.
- 12) Nakahara H, Kaburaki T, Takamoto M, Okinaga K, Matsuda J, Konno Y, Kawashima H, Numaga J, Fujino Y, Amano S. Statistical analyses of Endogenous Uveitis Patients (2007-2009) in central Tokyo area and Comparison with Previous Studies (1963-2006). *Ocul Immunol Inflamm*. 2014 Aug 25:1-6. [Epub ahead of print] PMID: 25154003
- 13) Tanaka R, Obata R, Sawamura H, Ohtomo K, Kaburaki T. Temporal changes in a giant macular hole formed secondary to toxoplasmic retinochoroiditis. *Can J Ophthalmol*. 2014;49(5):e115-8. doi: 10.1016/j.jcjo.2014.06.006.
- 14) Takeuchi M, Kezuka T, Sugita S, Keino H, Namba K, Kaburaki T, Maruyama K, Nakai K, Hijioka K, Shibuya E, Komae K, Hori J, Ohguro N, Sonoda KH, Mizuki N, Okada AA, Ishibashi T, Goto H, Mochizuki M. Evaluation of the Long-Term Efficacy and Safety of Infliximab Treatment for Uveitis

in Behçet's Disease: A Multicenter Study. *Ophthalmology*. 2014 Oct;121(10):1877-84 doi: 10.1016/j.ophtha.2014.04.042. Epub 2014 Jun 18.

15) Kaburaki T, Namba K, Sonoda KH, Kezuka T, Keino H, Fukuhara T, Kamoi K, Nakai K, Mizuki N, Ohguro N; Ocular Behçet Disease Research Group of Japan. Behçet's disease ocular attack score 24: evaluation of ocular disease activity before and after initiation of infliximab. *Jpn J Ophthalmol*. 2014 Mar;58(2):120-30. doi: 10.1007/s10384-013-0294-0. Epub 2014 Jan 31.

〔学会発表〕(計 15 件)

1. 新井隆浩、田中理恵、蕪城俊克、高本光子、冲永貴美子、小前恵子、藤野雄次郎。「リウマチ性多発筋痛症に眼炎症性疾患を合併した 5 例 9 眼」。第 120 回日本眼科学会総会。2016.4.7、仙台

2. Rie Tanaka, Kazuyoshi Ootomo, Mitsuko Takamoto, Keiko Komae, Jiro Numaga, Yujiro Fujino, Makoto Aihara, Toshikatsu Kaburaki. "Clinical characteristics of Japanese patients with scleritis." ARVO2016, 2016.5.3, Seattle, USA

3. Junko Matsuda, Toshikatsu Kaburaki, Rie Tanaka, Hisae Nakahara, Mitsuko Takamoto, Kimiko Okinaga, Kazuyoshi Ootomo, Keiko Komae, Makoto Aihara. "Combined intravitreal methotrexate and immunochemotherapy followed by reduced-dose whole-brain radiotherapy for newly diagnosed primary B-cell intraocular lymphoma." ARVO2016, 2016.5.3, Seattle, USA

4. 根本穂高、蕪城俊克、田中理恵、大友一義、高本光子、川島秀俊、藤野雄次郎、相原一「梅毒性ぶどう膜炎 7 例の臨床像の検討」第 50 回日本眼炎症学会。2016.7.1、東

京

5. 田中理恵、蕪城俊克、大友一義、高本光子、冲永貴美子、中原久恵、藤野雄次郎、相原一。「再発性多発軟骨炎に伴う強膜炎 7 例の臨床像」第 50 回日本眼炎症学会。2016.7.2、東京

6. 白濱新多朗、蕪城俊克、田中理恵、中原久恵、大友一義、高本光子、冲永貴美子、藤野雄次郎、相原一。「近年の東京大学医学部附属病院におけるぶどう膜炎初診患者の疫学的検討」第 70 回日本臨床眼科学会総会 2016.11.5、京都。

7. 日下部茉莉、蕪城俊克、田中理恵、大友一義、高本光子、中原久恵、冲永貴美子、白濱新多朗、沼賀二郎、藤野雄次郎、相原一。「トキシプラズマ網脈絡膜炎 11 例の臨床像の検討」第 70 回日本臨床眼科学会総会 2016.11.5、京都。

8. Toshikatsu Kaburaki. Behçet's Disease Assessment and Prognosis: Imaging Approaches. The 30st Asia-Pacific Academy of Ophthalmology Congress. 2015.4.1-4. Guangzhou, China

9. 白濱新多朗、蕪城俊克、澤村裕正、田中理恵、山上明子、清澤源弘、若倉雅登。「視神経炎の病型と臨床像の検討」第 119 回日本眼科学会総会。2015.4.16-19、東京

10. Toshikatsu Kaburaki, Kimiko Okinaga, Rie Tanaka, Mitsuko Takamoto, Kazuyoshi Ohtom, Atsushi Yoshida, Hidetoshi Kawashima, Keiko Komae, Yujiro Fujino. "Relationship of ocular disease activities before and after starting infliximab using Behçet's disease ocular attack score 24". European Association for Vision and Eye Research (EVER) 2015 Congress, 2015.10.7-10, Nice, France.

11. 田中理恵、大友一義、高本光子、冲永貴美子、中原久恵、藤野雄次郎、蕪城俊克。

「過去12年間の強膜炎111症例の臨床像の検討」. 第69回日本臨床眼科学会総会 2015.10.22-25、名古屋.

12. Toshikatsu Kaburaki, Shinji Harihara, Rie Tanaka, Hiromasa Sawamura, Ai Nishi, Atsushi Hatamochi, Jun Shimizu, Masumi Takeuchi, Shoji Kuwata, Hidetoshi Kawashima, Fujio Takeuchi. "Possible Contribution of HLA-A0207, B5201 and IL-23 Receptor Polymorphism in Ocular Behçet Disease." 2015.11.6-11、San Francisco, USA.

13. 田中理恵、蕪城俊克、大友一義、中原久恵、高本光子、小前恵子、沖永貴美子、松田順子、沼賀二郎、藤野雄次郎. ベーチェット病ぶどう膜炎における視力予後とBOS24の相関性. 第118回日本眼科学会総会. 2014.4、東京

14. 田中 理恵、蕪城 俊克、大友 一義、小前 恵子、高本 光子、松田 順子、沖永 貴美子、沼賀 二郎、藤野 雄次郎. 乾癬性ぶどう膜炎の臨床像の検討. 第48回日本眼炎症学会. 2014.7、東京

15. 沖永貴美子、蕪城俊克、田中理恵、大友一義、高本光子、小前恵子、松田順子、中原久恵、沼賀二郎、藤野雄次郎、吉田淳、川島秀俊. ベーチェット病ぶどう膜炎におけるインフリキシマブ導入前後の活動性の相関. 第68回日本臨床眼科学会、2014.11、神戸

〔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

6. 研究組織

(1) 研究代表者

蕪城 俊克 (KABURAKI, Toshikatsu)
東京大学・医学部附属病院・准教授
研究者番号：00280941

(2) 研究分担者

澤村 裕正 (SAWAMURA, Hiromasa)
東京大学・医学部附属病院・講師
研究者番号：70444081

馬淵 昭彦 (MABUCHI, Akihiko)
東京大学・大学院医学系研究科・准教授
研究者番号：70444081

田中 理恵 (TANAKA, Rie)
東京大学・医学部附属病院・助教
研究者番号：70746388

(3) 連携研究者

徳永 勝士 (TOKUNAGA, Katsushi)
東京大学・大学院医学系研究科・教授
研究者番号：40163977

寺尾 安生 (TERAO Yasuo)
東京大学・医学部附属病院・講師
研究者番号：20343139

花島 律子 (HANASHIMA Ritsuko)
東京大学・医学部附属病院・助教
研究者番号：80396738

(4) 研究協力者

()