

厚生労働科学研究費補助金（感覚器障害研究事業）  
分担研究報告書

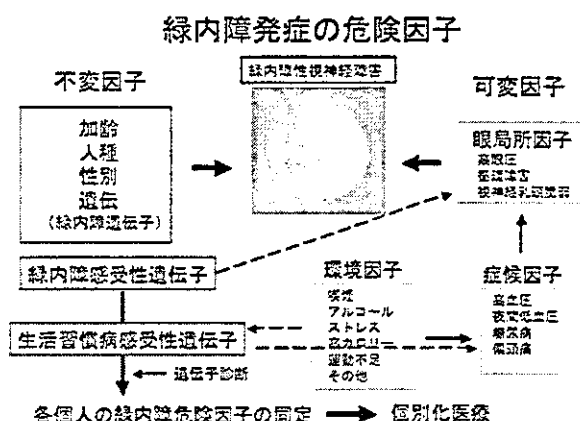
日本人開放隅角緑内障患者における緑内障感受性遺伝子の検索  
—酸化ストレス関連遺伝子多型—

主任研究者 真島 行彦 慶應義塾大学医学部 助教授  
分担研究者 大竹雄一郎 慶應義塾大学医学部 講師  
研究協力者 石川 果林 慶應義塾大学医学部

研究要旨：アポトーシスおよび酸化ストレスに関する遺伝子多型と緑内障の関連を、Case-control study により検討した。対象は、正常対照 284 例、NTG312 例、POAG243 例である。アポトーシスに関するものとして、TP53、p21、CD95、また酸化ストレスに関するものとして SOD2、GST、EPHX1、p22PHOX、NQO1 の遺伝子多型を選択した。GSTT1 については、positive の人が特に POAG に有意に多かった。臨床型は、p21 コドン 31 の遺伝子多型では OAG においても診断時年齢に有意差がみられた。CD95 の A-670G 多型では NTG において診断時視野に有意差がみられた。GSTM1 多型では POAG において診断時年齢に有意差がみられた。CD95/A-670G 多型、p21/WAF-1 多型および GSTT1 多型、GSTM1 多型が緑内障に関与している可能性が示唆された。

A. 研究目的

緑内障は多因子（多遺伝子）疾患であり、その発症には加齢、環境因子、遺伝的素因等いろいろな因子が関与している。現在、緑内障発症の危険因子として、高眼圧、加齢、人種、近視、糖尿病、心血管障害が考えられている。



緑内障発症の危険因子としては、眼圧が主体であるが、その他に循環障害が多く報告されている。今回我々は、アポトーシスおよび酸化ストレスに関する遺伝子多型と緑内障の関連解析を行ったので報告する。

B. 研究方法

開放隅角緑内障(POAG)患者 243 名、正常眼圧

緑内障(NTG)患者 312 名、正常人 284 名である。PON1 の Leu55Met 多型と Gln192Arg 多型、PON2 の Cys311Ser 多型の遺伝子型を PCR-RFLP 法またはインベーター法にて同定し、case-control 関連解析を行った ( $\chi^2$  検定、有意水準は 5% 未満)。また遺伝子多型が臨床型(診断時年齢、視野)に影響を及ぼすかどうかを検討した。

検討した遺伝子多型は、TP53(Arg72Pro)、p21/WAF-1(Ser31Arg)、CD95(A-670G, G-1377A)、SOD2(Val16Ala)、GSTT1(positive/null)、GSTM1(positive/null)、GSTP1(Ile105Val)、GSTZ1(Lys32Glu, Arg42Gly)、EPHX1(Tyr113His, Lys119Lys)、p22PHOX(His72Tyr)、NQO1(Pro187Ser)である。

遺伝子解析に関しては倫理委員会の承認を得た。緑内障患者からの血液検体は、本研究の目的、研究対象者に対する人権保護上の配慮、研究方法による研究対象者に対する不利益、危険性の排除を説明し、理解を求めた。その後、患者の同意を得て同意書にサインした後血液を採取し、DNA を抽出した。

## 検体提供施設

施設名	NTG	POAG	CONTROL	総合計	割合(%)
慶應義塾大学	137	70	213	420	45.8
東北大学	64	67	60	191	20.8
東京聖霊病院	50	49	0	99	10.8
出田眼科	21	38	27	86	9.4
新潟大学	19	19	0	38	4.1
順天堂大学	22	8	0	30	3.3
浜松医科大学	15	9	0	24	2.6
熊本大学	9	9	0	18	2.0
広島大学	3	9	0	12	1.3
疾患別合計	340	278	300	918	100.0

### C. 研究結果

CD95 遺伝子の A-670G 多型において G/G 型が正常対照と比較して POAG で有意に少なく ( $p=0.029$ )、G-1377A 多型において A/A 型が POAG で少ない傾向があった ( $p=0.054$ )。CD95 の A-670G 多型では NTG において G アリルを持つ患者は持たない患者よりも診断時視野スコアが高く、視野障害が進行していた。

GSTM1 遺伝子の positive/null 多型において POAG で positive が有意に多かった ( $p=0.015$ )。GSTM1 多型では POAG において診断時年齢が positive 群では 60.1 歳であったのに対し、null 群では 56.2 歳と有意に低かった。

臨床型に関して、p21 コドン 31 の遺伝子多型では OAG において Arg/Arg 型の方がそれ以外の genotype よりも診断時年齢が有意に早く、57.4 歳に対して 54.8 歳となっており、最高眼圧も高値を示した。

他の遺伝子多型は POAG、NTG とも関連はなかった。

### D. 考察

CD95 は細胞膜上に存在する Fas を司る遺伝子で、Fas はアポトーシスシグナルを細胞内に伝える受容体の 1 つである。Fas はヒト線維柱帯細胞に発現していることが分かっており、in vivo で Fas を介する刺激によりアポトーシスが起こる可能性が報告されている。今回調べた G-1377A 多型は silencer region に、A-670G 多型は enhancer region にあり、それぞれ転写活性の違いなどにより遺伝子の発現レベルに影響を及ぼすことが示唆された。

今回 NTG 患者において、A-670G 多型の G アリルを持つ患者は持たない患者より、診断時の視野障害が進行しており、アポトーシスの起こりやすさが関与している可能性が考えられた。

次に p21 は、これは p53 の effector protein である。今回我々が調べたコドン 31 の多型に関して、中国人では POAG 群で有意に Arg/Arg 型が多かったとの報告されているが、我々の対象とした日本人では case-control study にて有意差はなかった。また、臨床型では OAG において Arg/Arg 型の方がそれ以外の genotype よりも診断時年齢が有意に早く、最高眼圧値も高かったことから、Arg/Arg 型が緑内障の危険因子である可能性が示唆された。

### E. 結論

CD95(A-670G, G-1377A) 多型 および GSTT1(positive/null) 多型が POAG に関与している可能性が示唆された。

### F. 健康危険情報

特になし

### G. 研究発表

石川果林、船山智代、吉田和秀、木村至、大竹雄一郎、谷野富彦、黒坂大次郎、真島行彦、緑内障遺伝子解析研究会：緑内障とアポトーシスおよび酸化ストレスに関する遺伝子多型の検討第 109 回日本眼科学会総会 平成 17 年 3 月 25 日 (東京)

## 検討した遺伝子多型

- TP53 (Arg72Pro)
- p21/WAF-1 (Ser31Arg)
- CD95 (A-670G, G-1377A)
- SOD2 (Val116Ala)
- GSTT1 (positive/null)
- GSTM1 (positive/null)
- GSTP1 (Ile105Val)
- GSTZ1 (Lys32Glu, Arg42Gly)
- EPHX1 (Tyr113His, Lys119Lys)
- p22PHOX (His72Tyr)
- NQO1 (Pro187Ser)

### CD95遺伝子多型と緑内障 (case-control study)

遺伝子多型	Genotype frequency n(%)		p	p(年齢補正)	
CD95/A-670G	AA+AG	GG			
	CONTROL (n=241)	173 (71.8)	68 (28.2)		
	OAG (n=501)	394 (78.6)	117 (23.4)	0.152	0.239
	POAG (n=211)	170 (80.6)	41 (19.4)	0.029*	0.055
NTG (n=290)	214 (73.8)	76 (26.2)	0.604	0.732	
CD95/G-1377A	GG+GA	AA			
	CONTROL (n=224)	186 (83.0)	38 (17.0)		
	OAG (n=426)	362 (85.0)	64 (15.0)	0.518	0.948
	POAG (n=176)	158 (89.8)	18 (10.2)	0.054	0.203
NTG (n=250)	204 (81.6)	46 (18.4)	0.683	0.229	

\* p < 0.05 (χ<sup>2</sup>検定)

OAG: 開放隅角緑内障, POAG: 原発開放隅角緑内障, NTG: 正常眼圧緑内障

### CD95/A-670G遺伝子多型と NTGの臨床型

臨床型	Genotype		p*	p**
	AA	AG+GG		
診断時年齢(歳)	53.6 ± 13.1 (n=69)	56.5 ± 13.0 (n=218)	0.082	0.096
最高眼圧(mmHg)	16.6 ± 2.4 (n=67)	17.0 ± 2.2 (n=208)	0.315	0.220
診断時視野スコア	2.7 ± 0.7 (n=69)	2.8 ± 0.7 (n=220)	0.024*	0.036**

平均値 ± 標準偏差

\* p < 0.05 (Mann-Whitney U 検定)

\*\* p < 0.05 (ロジスティック回帰分析)

### GSTT1遺伝子多型と緑内障 (case-control study)

	Genotype frequency n(%)		p	p(年齢補正)
	positive	null		
CONTROL (n=241)	114 (47.3)	127 (52.7)		
OAG (n=501)	273 (54.5)	228 (45.5)	0.066	0.030**
POAG (n=211)	124 (58.8)	87 (41.2)	0.015*	0.016**
NTG (n=290)	149 (51.4)	141 (48.6)	0.350	0.085

\* p < 0.05 (χ<sup>2</sup>検定)

\*\* p < 0.05 (ロジスティック回帰分析)

### GSTM1遺伝子多型と POAGの臨床型

臨床型	Genotype		p*	p**
	positive	null		
診断時年齢(歳)	60.1 ± 12.2 (n=101)	56.2 ± 11.8 (n=108)	0.019*	0.007**
最高眼圧(mmHg)	26.7 ± 6.0 (n=90)	26.4 ± 6.0 (n=97)	0.281	0.818
診断時視野スコア	3.1 ± 0.9 (n=101)	3.0 ± 0.9 (n=108)	0.517	0.428

平均値 ± 標準偏差

\* p < 0.05 (Mann-Whitney U 検定)

\*\* p < 0.05 (ロジスティック回帰分析)

### p21/WAF-1遺伝子多型と OAGの臨床型

臨床型	Genotype		p*	p**
	Ser/Ser/Ser/Arg	Arg/Arg		
診断時年齢(歳)	57.4 ± 12.7 (n=384)	54.8 ± 12.4 (n=112)	0.040*	0.040**
最高眼圧(mmHg)	20.4 ± 5.8 (n=358)	22.1 ± 7.8 (n=104)	0.091	0.014**
診断時視野スコア	2.9 ± 0.8 (n=386)	2.9 ± 0.8 (n=112)	0.908	0.862

平均値 ± 標準偏差

\* p < 0.05 (Mann-Whitney U 検定)

\*\* p < 0.05 (ロジスティック回帰分析)



厚生労働科学研究費補助金（感覚器障害研究事業）  
 分担研究報告書

日本人開放隅角緑内障患者における緑内障感受性遺伝子の検索  
 —緑内障遺伝子 Optineurin と TNF- $\alpha$ 多型の相互関係—

主任研究者 真島 行彦 慶應義塾大学医学部 助教授  
 分担研究者 大竹雄一郎 慶應義塾大学医学部 講師  
 研究協力者 船山 智代 慶應義塾大学医学部

研究要旨：緑内障遺伝子多型と感受性遺伝子多型との関連を統計学的に解析し、緑内障発症のリスクを検討した。POAG 患者において、TNFA-857T 単独ではオッズ比は 0.85、OPTN412A 単独ではオッズ比は 1.75 であった。一方、緑内障遺伝子 OPTN412A と TNFA-857T の多型の組み合わせを持った人はオッズ比が 2.86 となり緑内障発症の危険度が高まった。

A. 研究目的

緑内障遺伝子 Optineurin (OPTN) は 2002 年に正常眼圧緑内障の原因遺伝子として報告され、アメリカでは開放隅角緑内障患者の約 10% に変異がみられる。日本人患者においては His26Asp 変異が 433 家系中 1 家系 (0.5%) に確認されたにすぎない。しかし、Thr34Thr (412G>A) 多型は、開放隅角緑内障患者と有意な関連があった。

Optineurin と TNF- $\alpha$  が互いに生物学的な相互作用があることは報告されているが、今回緑内障患者において、遺伝子多型間に相関があるか統計学的に検討した。

研究方法による研究対象者に対する不利益、危険性の排除を説明し、理解を求めた。その後、患者の同意を得て同意書にサインした後血液を採取し、DNA を抽出した。

C. 研究結果

OPTN 遺伝子の 412G>A 多型に関して、case-control 関連研究を行った結果、POAG および NTG の発症に強く関連していることが明らかになった (表 1)。すなわち、A を持つ人は緑内障を発症するリスクがあることを意味している (オッズ比は POAG は 1.75、NTG は 1.50)。

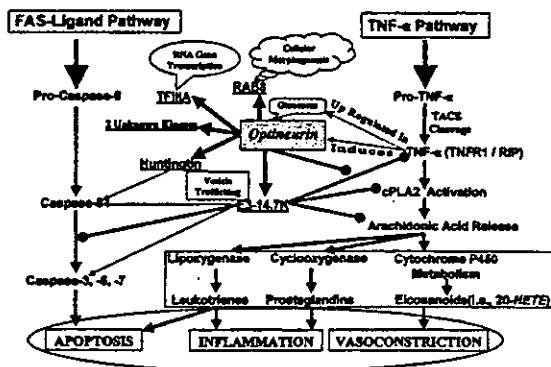


表 1 Optineurin 412G>A (Thr34Thr)多型頻度

臨床型	n	アレル頻度 (%)		P value	オッズ比
		G	A		
POAG	194	311 (80.2)	77 (19.8)	0.005	1.75 (1.20-2.56)
NTG	217	358 (82.5)	76 (17.5)	0.043	1.50 (1.03-2.19)
Control	218	382 (87.6)	54 (12.4)		

P value for  $\chi^2$  test.

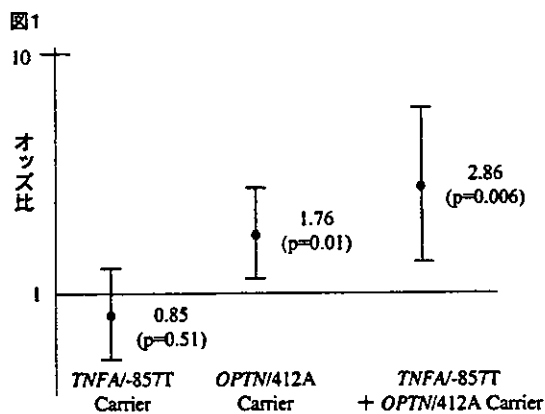
B. 研究方法

OPTN 遺伝子の 412G>A 多型、TNF- $\alpha$  遺伝子プロモーターの -308G>A 多型および -857C>T 多型に注目し、case-control 関連研究を行った。

遺伝子解析に関しては倫理委員会の承認を得た。緑内障患者からの血液検体は、本研究の目的、研究対象者に対する人権保護上の配慮、

- 308G>A 多型および -857C>T 多型に関して case-control 関連研究を行ったが、POAG、NTG ともに関連は無かった。しかしながら、-857C>T 多型に関して、POAG において OPTN 遺伝子の 412G>A 単独の場合のオッズ比 1.76 に比べ、-857C>T 多型と組み合わせた場合にはオッズ

比はさらに高くなり 2.86 となった (図 1)。



#### D. 考察

Optineurin は腫瘍壊死遺伝子 $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) 誘導蛋白質であり、アポトーシスを阻害し、TNF- $\alpha$  シグナル回路を通じて視神経保護作用に関連することが提唱されている。

今回の結果からは、TNF- $\alpha$  遺伝子プロモーターの-857T アレルと Optineurin 遺伝子の 412A アレルの両者を持つと緑内障発症の危険度が増すことを表している。-857C>T 多型において、TNF 活性は T allele の方が高いことが報告されている。臨床型では、TNF- $\alpha$  遺伝子プロモーターの-857T を持つ患者の内、Optineurin 遺伝子の 412A を持つ患者 (modified Aulhon-Greve classification による視野障害の平均値 $\pm$ 標準偏差は  $3.2 \pm 1.3$ ) は持たない患者 ( $2.7 \pm 1.3$ ) に比べ、視野がより進行していた ( $p=0.024$ , Mann-Whitney U test)。

Optineurin と TNF- $\alpha$  が互いに直接影響して緑内障を発症、悪化させるということを示しているのではなく、危険因子のマーカーとしてこの遺伝子型を有するとより、危険度が増すという意味である。Optineurin と TNF- $\alpha$  が互いに生物学的な相互作用があることは証明されているが、これらの多型が持つ蛋白質の生物学的な相互作用は証明されていない。今後それが証明されれば、緑内障の発症機序が解明されると考えられる。

#### E. 結論

緑内障発症のリスクに関して、OPTN 遺伝子の 412G>A 多型と TNF- $\alpha$  遺伝子プロモーターの -857C>T 多型との間に関連があった。

#### F. 健康危険情報 特になし

#### G. 研究発表

船山智代、真島行彦、石川果林、大竹雄一郎、谷野富彦、木村至、黒坂大次郎、小口芳久、緑内障遺伝子解析研究会：日本人緑内障患者における Optineurin (OPTN)、Myociline (MYOC) 遺伝子解析 第 108 回日本眼科学会総会 2004 年 4 月

Funayama T, Ishikawa K, Ohtake Y, Tanino T, Kurosaka D, Kimura I, Suzuki K, Ideta H, Nakemoto K, Yasuda N, Fujimaki T, Murakami A, Asaoka R, Hotta Y, Tanihara H, Kanemoto T, Mishima H, Fukuchi T, Abe H, Iwata T, Shimada N, Jun Kudoh, Shimizu N, Mashima Y. Variants in Optineurin Gene and their Association with Tumor Necrosis Factor- $\alpha$  Polymorphisms in Japanese Patients with Glaucoma. Invest Ophthalmol Vis Sci 2004;45(12):4359-4367.

厚生労働科学研究費補助金（感覚器障害研究事業）  
 分担研究報告書

日本人開放隅角緑内障患者における緑内障感受性遺伝子の検索  
 —緑内障遺伝子 Optineurin と Fas/CD95 多型の相互関係—

主任研究者 真島 行彦 慶應義塾大学医学部 助教授  
 分担研究者 大竹雄一郎 慶應義塾大学医学部 講師  
 研究協力者 船山 智代 慶應義塾大学医学部

研究要旨：緑内障遺伝子多型（OPTN 遺伝子多型 T34T(412G>A)、M98K(603T>A)）と感受性遺伝子多型（Fas プロモーター多型-670A>G）との関連を統計学的に解析し、緑内障発症のリスクを検討した。Fas プロモーター多型-670 と OPTN 遺伝子多型 (T34T, M98K) の間には、NTG で統計学的に有意な相互作用が存在した。Fas と OPTN 多型間 (T34T, M98K) の組み合わせは、OPTN の M98K との組み合わせの場合、視野進行度に相乗効果を示した。

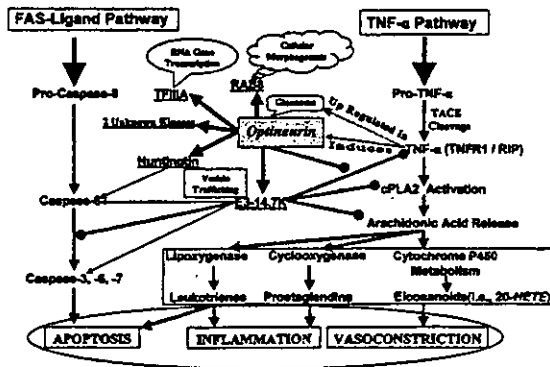
A. 研究目的

緑内障遺伝子 Optineurin (OPTN) は 2002 年に正常眼圧緑内障の原因遺伝子として報告され、アメリカでは開放隅角緑内障患者の約 10% に変異がみられる。日本人患者においては His26Asp 変異が 433 家系中 1 家系 (0.5%) に確認されたにすぎない。しかし、Thr34Thr (412G>A) 多型は、開放隅角緑内障患者と有意な関連があった。

Optineurin (OPTN) が関わるアポトーシスに至る経路には Fas 由来と TNF- $\alpha$  由来の 2 経路あるとされている。TNF- $\alpha$  プロモーター多型と OPTN 遺伝子多型の間には、相乗効果があった。今回、Fas 遺伝子のプロモーター領域-670 多型と OPTN 遺伝子の多型とを組み合わせ、緑内障発症との相関を検討した。

た DNA を用いて、各個人の OPTN 遺伝子多型 T34T(412G>A)、M98K(603T>A)、および Fas プロモーター多型-670A>G の遺伝子型を決定した。1) ケースコントロールスタディは  $\chi^2$  乗検定で、2) 遺伝子多型間の相互作用の検討は、ロジスティック回帰分析で、3) OPTN と Fas 遺伝子の多型同士を組み合わせた 4 群の間の臨床型の比較は一元配置の分散分析で、4) 一元配置の分散分析で有意差が出た場合、さらに多重比較で 具体的にどの群間に違いがあったか検討した。有意水準は 5% 未満とした。

遺伝子解析に関しては倫理委員会の承認を得た。緑内障患者からの血液検体は、本研究の目的、研究対象者に対する人権保護上の配慮、研究方法による研究対象者に対する不利益、危険性の排除を説明し、理解を求めた。その後、患者の同意を得て同意書にサインした後血液を採取し、DNA を抽出した。



B. 研究方法

POAG 患者 192 名、NTG 患者 218 名、正常人 215 名から本研究の同意を取得後、採血・抽出し

C. 研究結果

1) Fas 遺伝子の-670 番多型単独での遺伝子型の頻度とアレル頻度には正常人と緑内障では有意差は無かった。NTG のドミナントモデルでは、診断時視野スコアに有意差があった。

2) Fas と OPTN 遺伝子の T34T, M98K の 2 多型を個々に組み合わせを、dominant model, recessive model の 2 モデルで計算した結果、dominant model において 412 型との組み合わせで  $P=0.034$  となり Fas との間に統計学的に有意な相互作用があった (図 1)。603 多型との組み合わせでは  $P=0.057$  となり、有意な傾向があり、相互作用の存在が示唆された。

図 1

Fas遺伝子とOPTN遺伝子のSNPs間の相互作用の検討

Phenotype	Model	Fas	OPTN	P value*
NTG	Dominant	-	vs. -	0.034
		670A>G	412G>A	0.057
	Recessive	-	vs. -	0.547
		-670A>G	603T>A	0.462

\* P value by logistic regression analysis.  
vs. -412G>A  
vs. -603T>A

recessive model では、いずれの組み合わせでも有意差は無かった。

3) OPTN c. 412 との組み合わせでは、NTG の視野進行度は、P=0.023 で有意差があり、4 群間には有意な差があった。412 でG保持者の間で、670Gキャリア群とノンキャリア群に有意差がありました。Fas 単独のGキャリア、ノンキャリア群のP値と比較すると、P値に差はなく、この場合は、相互作用の効果は低いと考えられた。

4) 603T/T 保持者で、670Gキャリア群とノンキャリア群間のP値は0.002 となり、有意差があった (図 2)。Fas 単独のGキャリア、ノンキャリア群のP値は0.022 であることより、多型の組み合わせでP値は約 1/10 になり、両多型を組み合わせたことで、臨床型に相乗効果があった。また、-670A キャリアの場合、-670A キャリアとノンキャリア群間に p=0.012 の有意差があった。

図 2

遺伝子多型(c.603T>A, Fas)と臨床型

	(OPTN c.603T>A genotypes)		P value	(Fas -670A>G genotypes)	
	T/T	T/A+A/A		A/A	A/G+G/G
NTG	Visual field score at diagnosis	2.6 ± 0.8 (n = 97)	0.002	2.8 ± 0.7 (n = 132)	3.1 ± 0.5 (n = 13) / 2.7 ± 0.8 (n = 85)

\* P value by Tukey's method. P < 0.05.

	(Fas -670A>G genotypes)	A/A	A/G+G/G	P value**
NTG	Visual field score at diagnosis	2.6 ± 0.8 (n = 80)	2.8 ± 0.7 (n = 187)	0.022

\*\* P value by logistic regression analysis. P < 0.05.

#### D. 考察

Optineurin は腫瘍壊死遺伝子α (TNF-α) 誘導蛋白質であり、アポトーシスを阻害し、TNF-αシグナル回路またはFas 由来経路を通じて視神経保護作用に関連することが提唱され

ている。

今回の結果からは、Fas 遺伝子のプロモーター領域-670 多型と OPTN 遺伝子の多型 T34T、M98K との間には、dominant model で、NTG において Fas と T34T との間には統計学的に有意な相互作用が存在し、M98K に対しては相互作用する傾向があった。Dominant model で相互作用が存在した、OPTN T34T 多型と M98K 多型を Fas と組み合わせた 4 群間の臨床型の比較では、T34T の場合は GG 保持者、M98K の場合は TT 保持者で 670G キャリア群とノンキャリア群間の視野進行度に有意差があった。特に、603 多型と 670 多型の両多型を組み合わせることで、臨床型に相乗効果があった。

Optineurin と Fas が互いに直接影響して緑内障を発症、悪化させるということの意味しているのではなく、危険因子のマーカースとしてこの遺伝子型を有するとより、危険度が増すという意味である。

#### E. 結論

Fas プロモーター多型-670 と OPTN 遺伝子多型 (T34T, M98K) の間には、NTG で統計学的に有意な相互作用が存在した。Fas と OPTN 多型間 (T34T, M98K) の組み合わせは、OPTN の M98K との組み合わせの場合、視野進行度に相乗効果を示した。

#### F. 健康危険情報

特になし

#### G. 研究発表

船山智代、石川果林、吉田和秀、木村至、大竹雄一郎、谷野富彦、黒坂大次郎、真島行彦、緑内障遺伝子解析研究会：緑内障患者における Fas (APO-1/CD95) プロモーター多型と Optineurin (OPTN) との関連。第 109 回日本眼科学会総会 平成 17 年 3 月 25 日 (東京)



厚生労働科学研究費補助金（感覚器障害研究事業）  
分担研究報告書

日本人開放隅角緑内障患者における緑内障感受性遺伝子の検索  
—レニン・アンジオテンシン系における ACE と AT2 多型の相互関係—

主任研究者 真島 行彦 慶應義塾大学医学部 助教授  
分担研究者 大竹雄一郎 慶應義塾大学医学部 講師  
研究協力者 船山 智代 慶應義塾大学医学部

研究要旨：緑内障感受性遺伝子多型間との関連を統計学的に解析し、緑内障進行のリスクを検討した。レニン・アンジオテンシン系の ACE ID 多型と AT2/3123C>A 多型の組み合わせにおいて、女性 NTG 患者で臨床型で有意の差がみられた。ACE の ID+DD の患者は、AT2CC を持った方が（視野障害スコア-3.13）、CA+AA（視野障害スコア-2.65）よりも視野欠損が進行していた。AT2 多型による視野障害による影響は、ACE 多型の影響を受けることが考えられる。

A. 研究目的

緑内障は多遺伝子疾患であり、その発症には加齢、環境因子、遺伝的素因等いろいろな因子が関与している。現在、緑内障発症の危険因子として、高眼圧、加齢、人種、近視、糖尿病、心血管障害が考えられている。レニン・アンジオテンシン系（RA 系）は、腎および血中を中心とした循環血中 RA 系に加え、脳、心、血管壁、脂肪組織、眼組織など多くの組織において RA 系の構成要素の存在が確認され、それらの組織特異的な発現調節機構や、組織 RA 系の動態と種々の循環器疾患との関連が注目されている。

眼組織においても重要な役割をしていることが報告されている。昨年度に RA 系における 7 遺伝子 10 多型に関して緑内障との関連を、Case-control study により検討した。今回は、臨床型と多型との関連を検討した。

B. 研究方法

RA 系の ACE insertion/deletion 多型と AT2 3123C>A 多型に注目し、臨床型（診断時年齢、未治療時最高眼圧、診断時視野障害）と関連を統計解析した。

遺伝子解析に関しては倫理委員会の承認を得た。緑内障患者からの血液検体は、本研究の目的、研究対象者に対する人権保護上の配慮、研究方法による研究対象者に対する不利益、危険性の排除を説明し、理解を求めた。その後、患者の同意を得て同意書にサインした後血液

を採取し、DNA を抽出した。

C. 研究結果

1) ACE insertion/deletion 多型 (表 1)

表 1 ACE/D と臨床型

Phenotype	Phenotype Variable	II	ID+DD	P value**
POAG	Age at diagnosis (yr)	53.6±15.4 (n=71)	55.4±16.6 (n=90)	0.4781
	IOP at diagnosis (mm Hg)	26.5±8.0 (n=72)	26.4±7.7 (n=90)	0.9074
	Visual field score at diagnosis	3.2±0.9 (n=72)	3.1±1.0 (n=92)	0.5398
NTG	Age at diagnosis (yr)	56.6±13.3 (n=76)	55.8±13.2 (n=125)	0.6605
	IOP at diagnosis (mm Hg)	16.6±2.3 (n=77)	16.3±2.3 (n=125)	0.5154
	Visual field score at diagnosis	2.7±0.6 (n=76)	2.3±0.7 (n=124)	0.4443
HNTG**	Age at diagnosis (yr)	59.1±12.9 (n=52)	56.6±12.7 (n=89)	0.2713
	IOP at diagnosis (mm Hg)	17.9±1.5 (n=53)	18.0±1.6 (n=89)	0.8550
	Visual field score at diagnosis	2.7±0.6 (n=53)	2.7±0.7 (n=88)	0.9817
L-NTG**	Age at diagnosis (yr)	51.5±13.1 (n=23)	53.7±14.4 (n=36)	0.5568
	IOP at diagnosis (mm Hg)	13.7±1.3 (n=24)	14.0±1.1 (n=36)	0.3285
	Visual field score at diagnosis	2.6±0.5 (n=23)	2.9±0.8 (n=36)	0.1652

\* P value for student's t test.

\*\* H means high-tension NTG. Maximum IOP ≥ 16 mmHg.

臨床型と多型との間に関連はみられなかった。

2) AT2/3123C>A 多型 (表 2、3)

表 2 Female

Phenotype	Phenotype Variable	C/C	C/A+A/A	P*
POAG	Age at diagnosis (yr)	59.2±11.6 (n=38)	61.3±11.1 (n=42)	0.378
	IOP at diagnosis (mm Hg)	25.3±4.3 (n=35)	26.6±5.9 (n=39)	0.821
	Visual field score at diagnosis	3.15±0.96 (n=39)	2.93±0.89 (n=43)	0.382
NTG	Age at diagnosis (yr)	59.1±13.3 (n=38)	57.6±11.8 (n=38)	0.565
	IOP at diagnosis (mm Hg)	16.0±2.5 (n=36)	16.5±2.4 (n=32)	0.273
	Visual field score at diagnosis	2.85±0.74 (n=40)	2.84±0.56 (n=36)	0.185

\* P value for Mann-Whitney U test.

表 3 Male

Phenotype	Phenotype Variable	C	A	P value**
POAG	Age at diagnosis (yr)	57.0±10.9 (n=62)	56.9±14.0 (n=46)	0.910
	IOP at diagnosis (mm Hg)	26.8±5.7 (n=55)	27.5±6.7 (n=43)	0.831
	Visual field score at diagnosis	3.27±0.96 (n=52)	2.89±0.74 (n=48)	0.04
NTG	Age at diagnosis (yr)	53.7±14.2 (n=81)	54.0±13.3 (n=47)	0.945
	IOP at diagnosis (mm Hg)	16.6±2.6 (n=72)	16.6±2.8 (n=42)	0.845
	Visual field score at diagnosis	2.89±0.73 (n=80)	2.88±0.77 (n=47)	0.905

女性では臨床型と多型とで関連はみられなかった。男性では、POAG 患者において診断時視野障害と関連があり、Cを持っている患者はAよりも障害の程度が強かった。

### 3) ACE I/D 多型と AT2/3123C>A 多型の組み合わせ

表 4

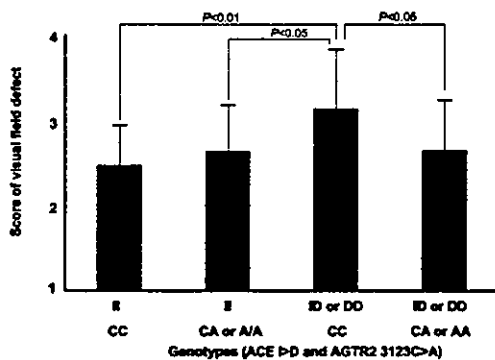
Clinical characteristics	ACE		I/I	I/D+D/D		P
	AT2R	C/C	C/A + A/A	C/C	C/A + A/A	
Age at diagnosis (ys)	63.6 ± 10.9 (n=15)	57.0 ± 11.2 (n=47)	56.2 ± 14.1 (n=23)	58.5 ± 12.0 (n=51)	0.313	
IOP at diagnosis (mm Hg)	16.0 ± 2.2 (n=16)	16.5 ± 2.6 (n=43)	16.1 ± 2.7 (n=20)	16.5 ± 2.2 (n=49)	0.75	
Visual field score at diagnosis	2.47 ± 0.51 (n=17)	2.64 ± 0.53 (n=47)	3.13 ± 0.76 (n=23)	2.65 ± 0.59 (n=52)	0.012†	

\* P value tested by Kruskal-Wallis test

† P<0.05

2つの多型を組み合わせる臨床型を検討した結果、女性患者において、診断時視野障害に多型との関連がみられた(表4)。AT2でCCを持ち、ACEではID+DDの患者は視野欠損が進行していた(図1)。男性患者ではこの関連はみられなかった。

図1



### D. 考察

今回の検討で、女性患者においてAT2多型では臨床型では差が見られなかった。しかし、正常眼圧緑内障患者では、ACE多型でDを持った患者で、更にAT2/3123C>A多型で、CC患者はCA+AA患者よりも視野障害の程度が強いことが分かった。従って、AT2多型による視野障害による影響は、ACE多型の影響を受けることが考えられる。

ACEのI/D多型において、Dアレルの方が血清中のACE濃度が高く、従ってアンギオテンシンIIの濃度が高いことが考えられる。

### E. 結論

遺伝的相関により、緑内障を発症しやすいことが判明した。

### F. 健康危険情報

特になし

### G. 研究発表

船山智代、真島行彦、石川果林、大竹雄一郎、谷野富彦、木村至、黒坂大次郎、小口芳久、緑内障遺伝子解析研究会：日本人緑内障患者におけるOptineurin (OPTN)、Myociline (MYOC) 遺伝子解析 第108回日本眼科学会総会 2004年4月

Funayama T, Ishikawa K, Ohtake Y, Tanino T, Kurosaka D, Kimura I, Suzuki K, Ideta H, Nakemoto K, Yasuda N, Fujimaki T, Murakami A, Asaoka R, Hotta Y, Tanihara H, Kanemoto T, Mishima H, Fukuchi T, Abe H, Iwata T, Shimada N, Jun Kudoh, Shimizu N, Mashima Y. Variants in Optineurin Gene and their Association with Tumor Necrosis Factor- $\alpha$  Polymorphisms in Japanese Patients with Glaucoma. Invest Ophthalmol Vis Sci 2004;45(12):4359-4367.

厚生労働科学研究費補助金（感覚器障害研究事業）  
分担研究報告書

アンギオテンシン II 受容体 1 型拮抗薬の眼圧下降作用と遺伝子多型

主任研究者 真島 行彦 慶應義塾大学医学部 助教授  
研究協力者 木村 至 慶應義塾大学医学部  
橋爪 公平 慶應義塾大学医学部

研究要旨：レニン・アンギオテンシン系は、眼組織の毛様体において構成要素の発現が確認されており眼圧動態に重要な役割をしているとされている。アンギオテンシン II 受容体 1 型阻害薬（ARB）は高血圧の治療薬として多くの患者に使用されているが、同時に眼圧も下降させる作用を持つ。今回、正常人 20 名において、カンデサルタン（12mg）内服後経時的に眼圧の変化を検討した。AT2 遺伝子の 3123C>A 多型において、男性では A を持つと C を持っているよりも眼圧下降効果は有意に少なかった。

A. 研究目的

レニン・アンギオテンシン系（RAR 系）は、腎および血中を中心とした循環血中 RA 系に加え、脳、心、血管壁、脂肪組織、眼組織（Wheeler-Schilling TH, et al. Euro J Neuroscience 1999;11:3387）など多くの組織において RA 系の構成要素の存在が確認され、それらの組織特異的な発現調節機構や、組織 RA 系の動態と種々の循環器疾患との関連が注目されている。眼組織においても眼圧動態に重要な役割をしていることが報告されている。

昨年度に我々は、アンギオテンシン II 受容体 1 型阻害薬（ARB）による日本人正常人における眼圧下降作用を検討した。今年度は、眼圧下降効果と遺伝子多型との関連を検討した。

B. 研究方法

対象は、正常人 20 名である。カンデサルタン（12mg）またはプラセボ（グルコース錠）を内服した。内服前、1 時間後、2 時間後、3 時間後、4 時間後、5 時間後、6 時間後、24 時間後に眼圧、収縮期圧、拡張期圧、脈拍数を経時的に測定した。

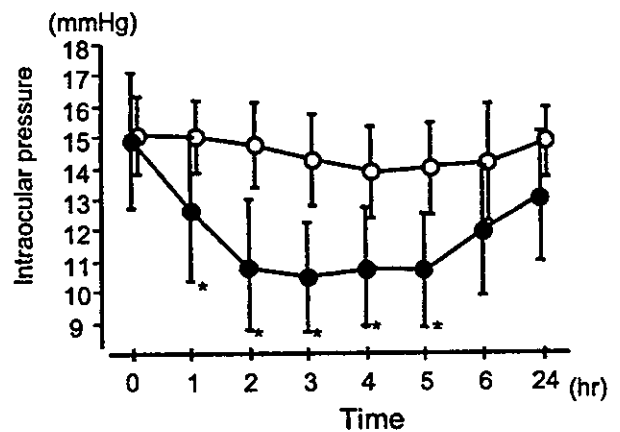
適応外使用に関する内服実験に対して倫理委員会の承認を得た。

C. 研究結果

1) 眼圧下降効果（図 1）

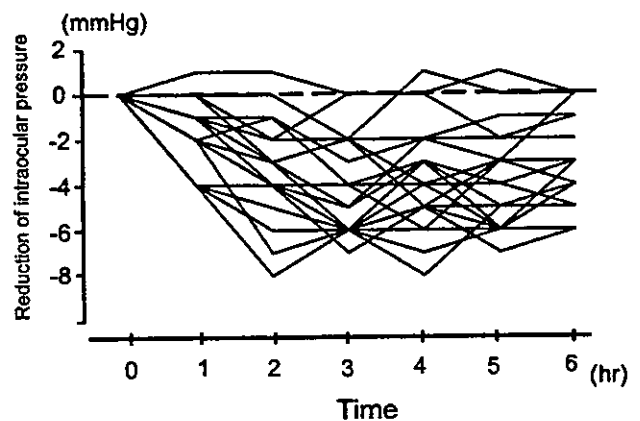
白丸がプラセボで、黒丸がカンデサルタン内服による眼圧下降効果である。プラセボとの比較において、内服 1 時間後より有意に眼圧は下降し、5 時間までその効果は持続した。

（図 1）



2) 20 名の各個人の眼圧下降効果（図 2）

眼圧が十分に下降する人としらない人が観察される。一番眼圧の下降した例は高眼圧症で内服前 28mmHg から 16mmHg まで下降した。

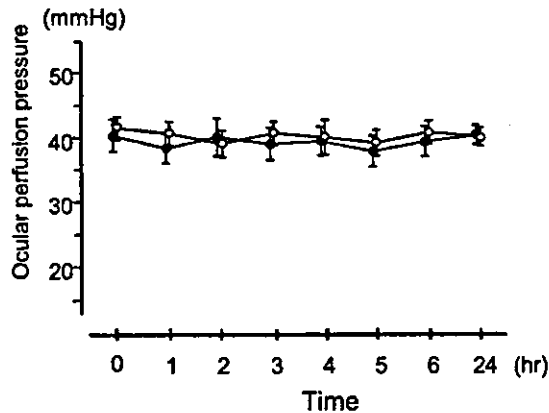


### 3) 20名の眼還流量の検討 (図3)

(図3)

眼還流量は以下の式により計算される。

$$OPP = 2/3 \times BPm - IOP, \text{ where } BPm = DBP + 1/3 \times (SBP - DBP).$$



今回の結果からは、ARB内服によってM眼還流量が低下しないことを示している。

また、収縮期圧血圧と拡張期圧血圧には有意の変動はなかった。

### 4) 眼圧下降効果と遺伝子多型の検討

今回、3つのAT1多型と1つのAT2多型と眼圧下降効果を検討した(表1)。AT2遺伝子の3123C>A多型において、男性ではAを持つとCを持っているよりも眼圧下降効果は有意に少なかった。

表1 Effects of angiotensin II receptor blocker on intraocular pressure in association with genotypes of the angiotensin II receptor genes

Polymorphisms	Genotype	Number (eyes)	Maximum reduction of IOP (mmHg)	P*
AGTR1 -713T>G	TT	18	4.9 ± 1.8	P=0.898
	TG	2	5.0 ± 4.2	
	GG	0	0	
AGTR1 -521C>T	CC	18	4.9 ± 1.8	P†=0.117
	CT	1	2	
	TT	1	8	
AGTR1 1166A>C	AA	18	5.1 ± 2.0	P=0.405
	AC	2	5.2 ± 1.6	
	CC	0	0	
AGTR2 3123C>A	C (male)	9	5.0 ± 1.1	P=0.014 ‡
	A (male)	4	2.3 ± 0.5	
	CC (female)	3	7.0 ± 1.0	P=0.354
	CA (female)	4	6.0 ± 1.6	
	AA (female)	0	0	

\* P value for Mann-Whitney U test

† P value for Kruskal-Wallis test

‡ P < 0.05

### D. 考察

AT1は毛様体の無色素上皮の表面(luminal side)に染色される。房水産生の25%は限外濾過、75%は能動輸送によるが、AT1拮抗薬の投与により眼圧は下降するので、AT1は房水産生または分泌に関与していることが考えられる。

眼の還流圧を計算するとほぼ一定なことから、眼圧の変化は血圧の変化に依存していないことが分かる。

今回、AT2遺伝子の3123C>A多型と眼圧下降効果の関連が見られたが、この多型と関連する機能的多型の解明が重要である。

### E. 結論

ARB(カンデサルタン)は新たな眼圧下降剤として期待できる。男性ではAT2遺伝子の3123A多型を持つと、眼圧下降効果は低かった。

### F. 健康危険情報

特になし

### G. 研究発表

なし

田邊佐智子、木村 至、谷野富彦、大竹雄一郎、石川果林、宮島有穂、真島行彦：正常人におけるカンデサルタンシレキセチル内服による眼圧下降効果。第15回日本緑内障学会 2004年9月

厚生労働科学研究費補助金（感覚器障害研究事業）  
分担研究報告書

開放隅角緑内障におけるノエリン2遺伝子変異

主任研究者 真島行彦 慶應義塾大学医学部 助教授  
分担研究者 大竹雄一郎 慶應義塾大学医学部 講師  
研究協力者 船山智代 慶應義塾大学医学部

研究要旨：緑内障発症の危険因子を明らかにすることは、早期発見、早期治療に有用である。Molecular Vision 2004;10:304-314 にミオシリンに関連した遺伝子で Noelin 1, Noelin 2, Noelin 3 が報告され、構造上最もミオシリンに似ている Noelin 2 遺伝子に注目した。我々は、平成14年度に構築したミオシリン遺伝子変異検出システム (WAVE@ 核酸フラグメント解析システム) を臨床応用し、日本人のノエリン2遺伝子頻度を検討した。対象は POAG376 名, NTG340 名, Control300 名においてスクリーニングした結果、家系の異なる2名に、144番アミノ酸の Arg(CGG)が Gln(CAG)に変異していることを確認した。

A. 研究目的

若年発症の開放隅角緑内障患者 (JPOAG) では8-36%、成人発症患者では3-5%にミオシリン変異を有する (Wiggs JL, et al. Am J Hum Genet 1998;63:1549; Fingert JH, et al. Hum Mol Genet 1999;8:899)。家族性および非家族性を含めた POAG 患者全体では約3-5%がミオシリン遺伝子変異をもつことが考えられる (Alward WL, et al. N Engl J Med 1998;338:1022; Fingert JH, et al. Hum Mol Genet 1999;8:899)。日本人の POAG 患者ではミオシリン変異は約3%に認められた (Fingert JH, et al. Hum Mol Genet 1999;8:899; Kubota R, et al. Hum Mutat 2000;16:270. Online Citation: Human Mutation, Mutation in Breif #355)。

最近、Molecular Vision 2004;10:304-314 にミオシリンとホモロジーの高い遺伝子として Noelin 1, Noelin 2, Noelin 3 が報告された。我々は、ミオシリンと構造上最も近い Noelin 2 遺伝子に注目し、緑内障患者において、遺伝子変異のスクリーニングを行った。

B. 研究方法

Denaturing high performance liquid chromatography (DHPLC) を利用した、WAVE@ 核酸フラグメント解析システム (TRANSGENOMIC 社) を用いてスクリーニングを行った。PCR 法の条件と DHPLC 法の条件は表1に示す。

対象は、開放隅角緑内障 376 名, 正常眼圧緑内障 340 名, 正常人 300 名である。

緑内障患者716名分の検体をスクリーニングするに当たり、3人分の検体を混ぜて DHPLC 法でスクリーニングし、移動度に変化がみられた場合は、3検体各々解析する。

Table 1 Primer sequences, PCR product sizes, and PCR annealing and DHPLC analysis temperatures

Exon	Primer Sequences (5' to 3')	PCR product size (bp)	PCR Tm (°C)	DHPLC Tm (°C)
1	F R			
2	F GCGAGACCCCTCACTGGGATT R GCCTGGAGAGGAGCTGGATT	344	67	62.0, 63.0, 64.0
3	F GGTGGGATTTGGGGAAGGA R CCAGACATGACTCCATTGTAGGAA	284	67	60.3, 62.3, 64.3
4	F GAGTCAGAGGTTGGAGTCATGT A R CCGTTGCTGCAGGTCCCTCATA	249	65	62.7, 63.2, 63.7
4	F CAGACACGCGGACCAATTGTA B R GGGTGTGGCAGTCAGAGATCA	208	65	63.1, 64.1, 65.1
5	F CCCAAGCTTGATCACAGCACTT R CTAGGCACCTATGGCCAGTCAA	269	65	61.7, 63.7, 64.7
6	F CTAATGGCTGTAGCTGGTGCT A R GTAGGGGAAGGTGTGTTGTAA	336	65	62.5, 63.5, 64.5
6	F CCAGAGCAACGTTGGTGCA B R GGTAGCCGTTGCCAGGA	248	67	
6	F GGCTGTGTACACCAACCAACA C R CTGTAAGTGGACGTGTTGGT	214	67	
8	F CATGATCTGCGGTGTGCTCTA D R GCAGCCCGAGCCACAGCATT	267	67	61.5, 62.0

PCR 産物のシーケンス反応は、Applied Biosystems 社の BigDye Terminator Ver. 3.0 を使用して、ABI PRISM 310 Genetic Analyzer にて行った。

遺伝子解析に関しては倫理委員会の承認を得た。緑内障患者からの血液検体は、本研究の目的、研究対象者に対する人権保護上の配慮、研究方法による研究対象者に対する不利益、危険性の排除を説明し、理解を求めた。その後、患者の同意を得て同意書にサインした後血液を採取し、DNA を抽出した。

## C. 研究結果

表 2 Noelin 2 Variants observed in glaucoma patients and control subjects

Location	Sequence Changes	Codon Changes	Frequency in Subjects (%)		
			POAG	NTS	Control
Exon 4	c.462G>A	Arg144Gln	1 / 276 (0.4)	1 / 340 (0.3)	0 / 300 (0)
Exon 3	c.348G>A	Arg106Gln	111 / 211 (52.6)	135 / 276 (48.9)	115 / 241 (47.7)
Exon 3	c.289G>A	Thr86Thr	1 / 211 (0.5)	0 / 276 (0)	0 / 241 (0)
Exon 3	c.346G>A	Ala105Ala	1 / 211 (0.5)	0 / 276 (0)	0 / 241 (0)
Exon 4	c.451G>A	Lys140Lys	1 / 276 (0.4)	0 / 340 (0)	0 / 300 (0)
Exon 4	c.487G>A	Glu152Glu	2 / 276 (0.7)	0 / 340 (0)	0 / 300 (0)
Exon 5	c.628G>T	Thr199Thr	0 / 211 (0)	1 / 274 (0.4)	0 / 241 (0)
Exon 5	c.709G>A	Ala226Ala	15 / 211 (7.1)	27 / 274 (9.9)	23 / 241 (11.6)
Exon 6	c.1312C>T	Arg427Arg	34 / 211 (16.1)	45 / 270 (16.7)	30 / 240 (12.5)
Intron 6	c.1393+42>G	-1721G (55.7)	N/C	N/C	N/C

\* Sequence variation was found by direct sequencing analysis.

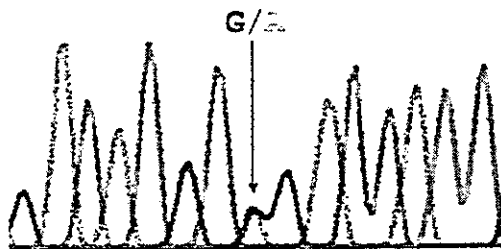
今回、POAG 患者 716 名中 2 名 (0.3%) に、エキソン 4 の 144 番アミノ酸の Arg(CGG) が Gln(CAG) に変異遺伝子変異が検出された (表 2)。1 名は開放隅角緑内障で、も 1 名は正常眼圧緑内障であった。300 名の正常人には検出されなかった。

頻度の高い多型として Arg106Gln が、開放隅角緑内障、正常眼圧緑内障および正常人にそれぞれ 53%、49%、および 48% にみられた。他にアミノ酸変化を伴わない多型として、Ala226Ala、Arg427Arg がみられた。

図 1 にエキソン 4 領域の直接塩基配列決定法により確認された Arg144Gln 変異の塩基配列を示す。アルギニン (CGG) からグルタミン (CAG) に変化している。

(図 1)

144  
G A C A C G C N G A C C A T T



## D. 考察

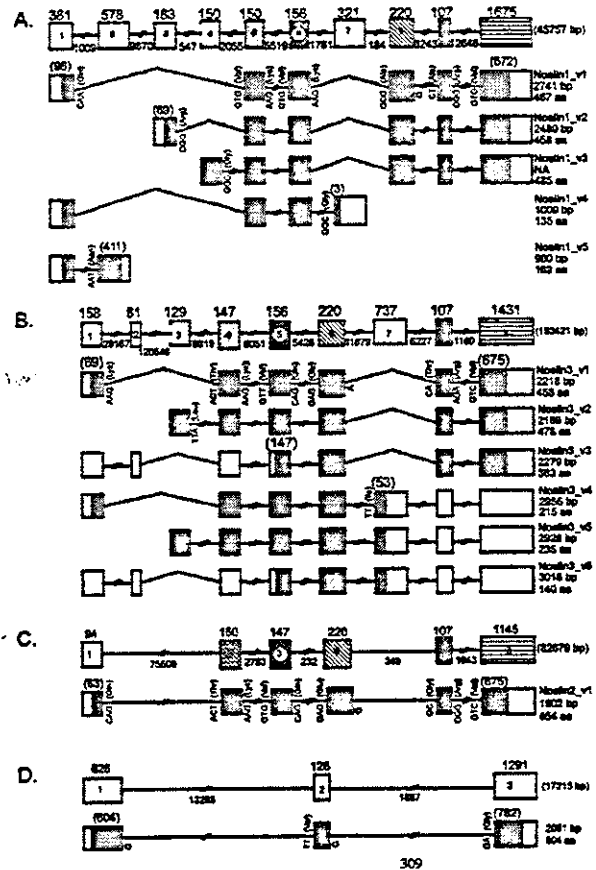
ノエリン 2 は染色体 19p13.2 に存在する。図 2 にノエリン 1 (A), 2 (C), 3 (B) とミオシリン (D) の遺伝子構造のシエマを示す。構造上、ノエリン 2 がミオシリンと最も似た構造を示す。

今回見出した Arg144Gln 変異は正常人 300 名には存在しなかったため、変異の可能性はあるが、今回の結果からは、明らかな緑内障遺伝

子と結論はできない。

変異をもつ 2 家系はいずれも明らかな家族歴はなかった。

(図 2)



## E. 結論

日本人の緑内障患者 716 名におけるノエリン遺伝子変異の頻度は 0.3% であった。本遺伝子が緑内障の発症と関連するかどうかは、より多くの症例で検討する必要がある。

## F. 健康危険情報

特になし

## G. 研究発表

なし

## H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 申請中
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

厚生労働科学研究費補助金（感覚器障害研究事業）  
分担研究報告書

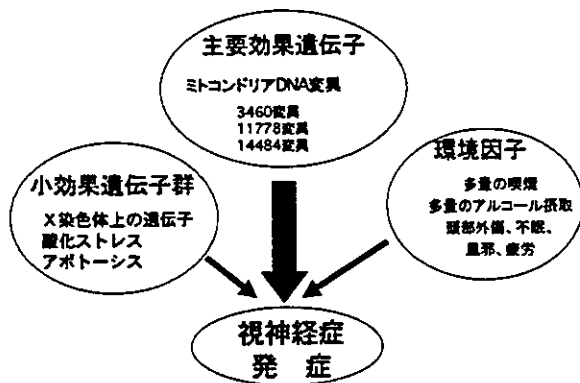
日本人レーベル病患者における受性遺伝子の検索

主任研究者 真島 行彦 慶應義塾大学医学部 助教授  
 分担研究者 大竹雄一郎 慶應義塾大学医学部 講師  
 研究協力者 石川 果林 慶應義塾大学医学部

研究要旨：Paraoxonase 1 (PON1) および PON2 の多型と緑内障との関連を、Case-control study により検討した。対象は、正常対照 284 例、NTG312 例、POAG243 例である。NTG では PON1 の Leu55Met 多型で、Leu/Leu を持つ患者の頻度が有意に高かった ( $p=0.010$ )。Leu/Leu を持つ患者の平均診断時年齢は、それ以外の遺伝子型の患者に比べが有意に低かった。Gln192Arg 多型で、Gln / Gln を持つ患者の初診時平均眼圧は、それ以外の遺伝子型の患者に比べが有意に低かった。PON1 遺伝子多型により臨床型が影響された。

A. 研究目的

レーベル病は、主として 10 歳から 20 歳代にかけて両眼性に急性あるいは亜急性の視力低下で発症し、通常 1 年以内に高度の視神経萎縮に至る予後不良の遺伝性疾患である。レーベル病は発症年齢、視力予後、性差等臨床経過が多彩である。レーベル病発症にはミトコンドリア DNA 変異は必須であるが、発症にはその他二次的な因子、すなわち環境因子や遺伝因子が関与しているとされている。

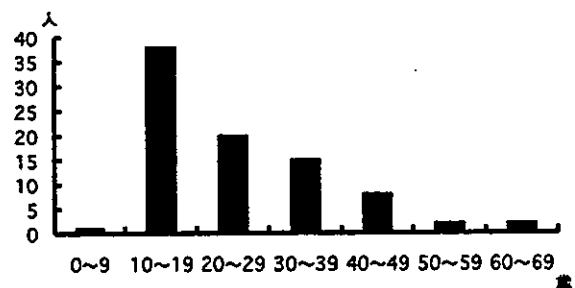


今回、レーベル病患者において、酸化ストレス、アポトーシスに関連する遺伝子多型と多彩な臨床所見の内、発症年齢および最終視力との関連を検討した。

B. 研究方法

11778 変異を有するレーベル病患者 87 例 (男性 79 例、女性 8 例) を対象とした。発症年齢は 3~65 歳 (平均  $25.0 \pm 13.0$  歳) で、10 代をピークとして 30 代までが 8 割以上を占めてい

た (図 1)。



酸化ストレスに関連する遺伝子多型として、*SOD2* (Val16Ala)、*GSTT1* (positive or null)、*GSTM1* (positive or null)、*EPHX1* (Tyr113His と His138Arg)、*NQO1* (Pro187Ser)、*p22PHOX* (His72Tyr)、*NOS3* (-786T>C と Glu298Asp)、アポトーシスに関連する遺伝子多型として *TP53* (Arg72Pro) および *CD95* (-670A>G) 遺伝子多型を検討した。これらの遺伝子多型の検出には PCR-RFLP法を用い、各遺伝子型とレーベル病患者の発症年齢および最終視力 (logMAR 視力に換算) との関連を解析した。統計学的解析には Mann-Whitney の U 検定を用い、有意水準は 5% 未満とした。

遺伝子解析に関しては倫理委員会の承認を得た。緑内障患者からの血液検体は、本研究の目的、研究対象者に対する人権保護上の配慮、研究方法による研究対象者に対する不利益、危険性の排除を説明し、理解を求めた。その後、患者の同意を得て同意書にサインした後血液

表1 レーベル病発症年齢と遺伝子多型

遺伝子多型	遺伝型		P*
	Arg/Arg	それ以外	
TP53 (Arg72Pro)	Arg/Arg	それ以外	0.007
発症年齢 (歳)	20.5 ± 10.5 (n=36)	28.1 ± 13.8 (n=51)	
EPHX1 (Tyr113His)	His/His	それ以外	0.026
発症年齢 (歳)	21.9 ± 11.3 (n=42)	27.9 ± 13.9 (n=45)	

(\* Mann-Whitney)

を採取し、DNA を抽出した。

### C. 研究結果

11 種類の遺伝子多型と発症年齢および最終視力との関連において、統計学的に有意差がみられたのは、TP53 (Arg72Pro) 多型と発症年齢、および EPHX1 (Tyr113His) 多型と発症年齢であった (表 1)。

TP53Arg/Arg 型かつ EPHX1His/His 型を持つ患者 (A 群) の発症年齢は 17.5 ± 9.1 歳、TP53Arg/Arg 以外の型かつ EPHX1His/His 以外の型を持つ患者 (C 群) の発症年齢は 29.8 ± 15.1 歳、それ以外の型を持つ患者 (B 群) の発症年齢は 25.3 ± 11.3 歳であった (図 2)。A 群は C 群より有意に発症年齢が低く (p = 0.011)、TP53(Arg72Pro) 多型と EPHX1(Tyr113His) 多型に相加作用があった。今回調べた遺伝子多型と最終視力に関連はなかった。

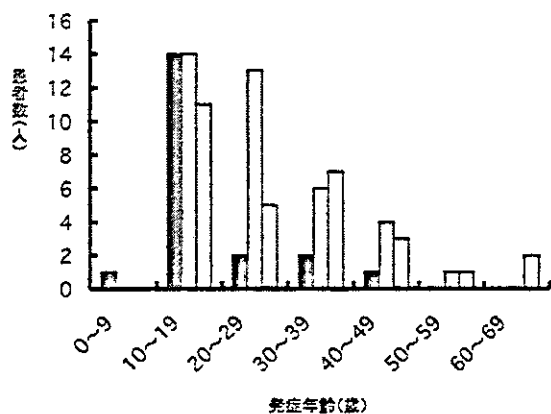


図 2 : レーベル病患者 87 名の発症年齢分布と遺伝子多型 : 黒 : A 群 (TP53Arg/Arg 型かつ EPHX1His/His 型を持つ患者で平均発症年齢は 17.5 ± 9.1 歳) 白 : B 群 (A 群、C 群以外の型を持つ患者で発症年齢は 25.3 ± 11.3 歳)、グレー : C 群 (TP53Arg/Arg 以外の型かつ EPHX1His/His 以外の型を持つ患者で平均発症年齢は 29.8 ± 15.1 歳)

### D. 考察

TP53 に存在する Arg72Pro 多型について、Arg/Arg 型の方が Arg/Pro 型よりもアポトーシスを起こしやすく、また、Arg72 の方がより多くミトコンドリアに局在することなどにより Pro72 よりも数倍アポトーシスを誘導しやすいことが報告されている。レーベル病患者のうち Arg/Arg 型を持つ患者は、ミトコンドリア DNA 変異による視神経障害をより助長し、発症年齢を早める可能性が示唆された。

レーベル病患者に喫煙者が多く、喫煙自体が危険因子であることを考慮すると、His アリルの方は EPHX1 の酵素活性が低いため酸化ストレスに対する防御作用が Tyr アリルの人よりも弱く、レーベル病への進行を促進する可能性が示唆された。

TP53(Arg72Pro) 多型と EPHX1(Tyr113His) 多型の組み合わせにおいて、TP53Arg/Arg 型かつ EPHX1His/His 型の患者の発症年齢が、それ以外の型どうしの患者の発症年齢よりも有意に低かったのは興味深い結果であり、これら 2 つの遺伝子多型が相加的に作用してレーベル病の発症年齢を修飾している可能性が示唆された。

### E. 結論

酸化ストレスやアポトーシスがレーベル病の発症年齢に影響を及ぼしていることが推定された。

### F. 健康危険情報

特になし

### G. 研究発表

石川果林、船山智代、大出尚郎、小口芳久、真島行彦 : レーベル遺伝性視神経症 (レーベル病) における臨床型と遺伝子多型の検討 第 108 回日本眼科学会総会 2004 年 4 月

Ishikawa K, Funayama T, Ohde H, Ocushi Y, Mashima Y. Polymorphic Variants of genes associated with apoptosis and oxidative stress in Leber's hereditary optic neuropathy. Jpn J Ophthalmol 2005 inpress



## 研究成果の刊行に関する一覧表

### 雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
真島行彦	緑内障遺伝子 緑内障セミナー	あたらしい眼科	21	1493-1494	2004
真島行彦	代替え医療品による緑内障治療 アンギオテンシンII受容体拮抗薬	Frontiers in Glaucoma	5	52-53	2004
真島行彦	個別化医療の時代にむけての遺伝子診断	日本眼科学会雑誌	108	863-886	2004
相馬久実子、大竹雄一郎、石川果林、木村至、谷野富彦、真島行彦、小口芳久	広義の開放隅角緑内障の受診機転および家族歴	あたらしい眼科		印刷中	2005
Obazawa M, Mashima Y, Sanuki N, Noda S, Kudoh J, Shimizu N, Oguchi Y, Tanaka Y, Iwata T.	Analysis of porcine optineurin and myocilin expression in trabecular meshwork cells and astrocytes from optic nerve head	Invest Ophthalmol Vis Sci	45	2652-2659	2004

Ishikawa K, Funayama T, Ohtake Y, Tanino T, Kurosaka D, Suzuki K, Ideta H, Fujimaki T, Tanihara H, Asaoka R, Naoi N, Yasuda N, Iwata T, Mashima Y.	Novel MYOC gene mutation, Phe369Leu, in Japanese patients with primary open-angle glaucoma detected by denaturing high-performance liquid chromatography.	J Glaucoma	13	466-471	2 0 0 4
Funayama T, Ishikawa K, Ohtake Y, Tanino T, Kurosaka D, Kimura I, Suzuki K, Ideta H, Nakemoto K, Yasuda N, Fujimaki T, Murakami A, Asaoka R, Hotta Y, Tanihara H, Kanemoto T, Mishima H, Fukuchi T, Abe H, Iwata T, Shimada N, Jun Kudoh, Shimizu N, Mashima Y.	Variants in Optineurin Gene and their Association with Tumor Necrosis Factor- $\alpha$ Polymorphisms in Japanese Patients with Glaucoma	Invest Ophthalmol Vis Sci	45	4359-4367	2 0 0 4
Ishikawa K, Funayama T, Ohde H, Ocushi Y, Mashima Y	Polymorphic Variants of genes associated with apoptosis and oxidative stress in Leber's hereditary optic neuropathy	Jpn J Ophthalmol	49	In press	2005
Kouhei Hashizume, Tomoyo Funayama, Yuichiro Ohtake, Itaru Kimura, Kazuhide Yoshida, Karin Ishikawa, Koichi Miyaki, Yukihiro Mashima, for The Glaucoma Gene Research Group.	Genetic Polymorphisms in Angiotensin II Receptor Gene and Their Association with Open-angle Glaucoma in Japanese Population	Invest Ophthalmol Vis Sci	46	In press	2005

## 53. 緑内障遺伝子

真島行彦  
慶應義塾大学医学部眼科

緑内障において家族歴(+)は危険因子の1つであり、常染色体優性遺伝する開放隅角緑内障の疾患遺伝子座位は現在7カ所が報告され、そのうち *myocilin* と *optineurin* の2つが明らかにされた。

## ■緑内障は多因子疾患

最近、わが国では開放隅角緑内障の90%が正常眼圧緑内障(最高眼圧が21 mmHg以下)と報告された<sup>1)</sup>。正常眼圧緑内障がこれだけ多いことは、眼圧に対して、欧米人とは異なる日本人特有な遺伝的背景の存在、たとえば視神経乳頭の脆弱性(篩状板やアストロサイトの脆弱性)に関連する遺伝的因子の存在、が疑われる。すなわち緑内障は多因子または多遺伝子疾患であり、その発症には図1に示すごとく種々の因子の関与が考えられる。発症・進行には眼圧因子が主として関与しているが、眼圧因子とともに視神経乳頭の脆弱性や血管機能障害など非眼圧因子の関与も考えられる。これら非眼圧因子は、緑内障感受性遺伝子とよばれる遺伝的因子の存在が考えられるが、現在明らかになったものはない。

## ■緑内障と家族歴

以前から、緑内障患者のなかには家族性のものがあることが広く知られていた。欧米では、緑内障全体のなか

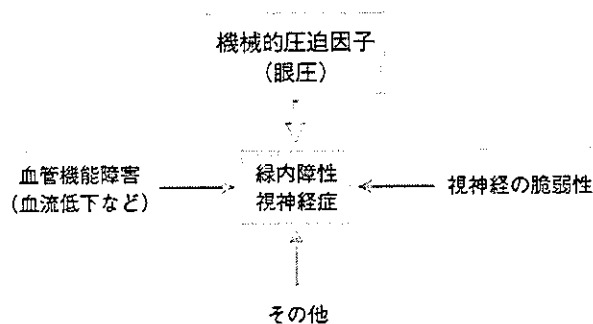


図1 緑内障の危険因子  
緑内障は多因子疾患である。

で家族性緑内障が占める割合にはさまざまな報告があり、低いもので緑内障全体の十数%、高いもので約50%となっている。慶應義塾大学病院眼科では開放隅角緑内障患者の約30%に家族歴がみられた。外国では、緑内障発症の相対危険度は、家族歴があると2.85倍(1.82~4.46)であるが、特に、同胞に家族歴があると3.69倍(2.10~6.48, 95% CI)、両親では2.17倍(1.07~4.41)、子供では1.12倍(0.28~4.86)と報告されて

表1 緑内障遺伝子と染色体マッピング

遺伝子座	染色体部位	遺伝子	緑内障の型	遺伝形式	診断年齢(歳)
GLC1A	1q23-25	<i>MYOC</i>	JPOAG	常染色体優性	5~77
GLC1B	2cen-q13	不明	POAG	常染色体優性	>40
GLC1C	3q21-24	不明	POAG	常染色体優性	>40
GLC1D	8q23	不明	POAG	常染色体優性	
GLC1E	10p15-14	<i>OPTN</i>	NTG	常染色体優性	23~65
GLC1F	7q35-36	不明	POAG	常染色体優性	25~70
GLC1G	5q21-22	不明	POAG	常染色体優性	
GLC3A	2p21	<i>CYP11B1</i>	PCG	常染色体劣性	<3
GLC3B	1p36	不明	PCG	常染色体劣性	<3

GLC1: 開放隅角緑内障, GLC2: 閉塞隅角緑内障, GLC3: 先天緑内障. JPOAG: 若年発症原発開放隅角緑内障, POAG: 原発開放隅角緑内障, NTG: 正常眼圧緑内障, PCG: 先天緑内障.

現在、開放隅角緑内障の原因遺伝子の染色体座として7カ所明らかになったが、そのうち2つの遺伝子、*myocilin* (*MYOC*) と *optineurin* (*OPTN*) が同定された。

(Human Genome Organization/Genome Database Nomenclature Committee による GLC 分類)

いる<sup>2)</sup>。すなわち、家族内に緑内障の患者がいるということは、緑内障発症の危険因子の1つである。これらの事実は緑内障遺伝子の存在が考えられるが、特に、親子よりも同胞に緑内障があると発症しやすいことから、遺伝的要素以外にも環境的因子の双方が関係している多因子疾患であることも示している。

## Ⅱ 緑内障遺伝子

表1に現在までに判明している原発緑内障遺伝子座を示す。開放隅角緑内障の疾患遺伝子座位は報告された年代順にGLC1AからGLC1Gまで7カ所が報告され、先天緑内障ではGLC3AとGLC3Bの2カ所が報告されている。そのうち遺伝子が同定されたのは、GLC1Aのmyocilin (MYOC)<sup>3)</sup>とGLC1Eのoptineurin (optic neuropathy inducing protein: OPTN)<sup>4)</sup>、そしてGLC3AのチトクロームP450 1B1 (CYP1B1)<sup>5)</sup>の3つである。

Myocilin 遺伝子の異常は3~4%の患者にみられ、若年発症で、眼圧がかなり高くなることが特徴である。Optineurin 遺伝子の異常をもつ患者は少なく、また、optineurin は神経保護に関連するとされている。開放隅角緑内障における7つの緑内障遺伝子は、常染色体優性

遺伝するため遺伝子に異常があれば、将来発症する確率が高いことを示す。したがって、遺伝子診断を行えば、将来発症する危険性の有無がわかる。しかしながら、現時点で同定された緑内障遺伝子は2つだけなので、遺伝子診断はコストを考えれば、臨床的にスクリーニングする意味は少ない。

## 文 献

- 1) Iwase A, Suzuki Y, Araie M et al : The prevalence of primary open-angle glaucoma in Japanese : the Tajimi Study. *Ophthalmology* 111 : 1641-1648, 2004
- 2) Tielsch JM, Katz J, Sommer A et al : Family history and risk of primary open angle glaucoma. The Baltimore Eye Survey. *Arch Ophthalmol* 112 : 69-73, 1994
- 3) Stone EM, Fingert JH, Alward WLM et al : Identification of a gene that causes primary open angle glaucoma. *Science* 275 : 668-670, 1997
- 4) Rezaie T, Child A, Hitchings R et al : Adult-onset primary open-angle glaucoma caused by mutations in optineurin. *Science* 295 : 1077-1079, 2002
- 5) Stoilov I, Akarsu AN, Sarfarazi M : Identification of three different truncating mutations in cytochrome P4501B1 (CYP1B1) as the principal cause of primary congenital glaucoma (Buphthalmos) in families linked to the GLC3A locus on chromosome 2p21. *Hum Mol Genet* 6 : 641-647, 1997

☆

☆

☆