

テオミクスの現状と今後の展開～ノンラベル定量法による疾患関連タンパク質の探索
(2005.7.13) 東京 (東京大学山上会館)

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

III. 研究成果

我が国の先端的眼科研究の現場から
失明を防ぐための多面的なアプローチ

岩 田 岳

我が国の先端的眼科研究の現場から 失明を防ぐための多面的なアプローチ

岩田 岳



ヒトが受信する情報の8割は視覚情報が占めると考えられており、眼は感覚器官の中でもとくに重要である。視覚障害は生活の質に著しく影響し、社会的・経済的にも大きな負担を強いる。世界中で失明予防の研究が盛んに行われているが、今回はとくに研究成果が著しい加齢黄斑変性と緑内障について筆者らの研究を中心に紹介したい。

キーワード：眼、加齢黄斑変性、緑内障、予防医学、疾患動物モデル

はじめに

ヒトは情報の8割を視覚に依存すると考えられており、眼は最も重要な感覚器官である。視覚障害は生活の質に著しく影響し、社会的・経済的にも大きな影響を及ぼす。世界保健機構(World Health Organization、<http://www.who.int/en/>)によると、2002年には世界中で1億6100万人の視覚障害者が存在したと報告されており、そのうち1億2400万人が中度の視覚障害、3700万人が失明していたと推定している。視覚障害となる原因については外傷、感染、糖尿病などがあるが、人種や経済状態によって各国で異なっている。疾患別に世界的規模でみると、670万人が白内障(Cataract)、緑内障(Glaucoma)および加齢黄斑変性(AMD)によって失明しており、その他に角膜白濁(Corneal opacities)、糖尿病網膜症(Diabetic retinopathy)などが続く(図1)。先進国においては白内障手術の目覚ましい進歩によって失明率が急激に低下しており、日本では緑内障が最も多いのに対して、アメリカやヨーロッパでは白人を中心に加齢性黄斑変性の患者が多い。緑内障や加

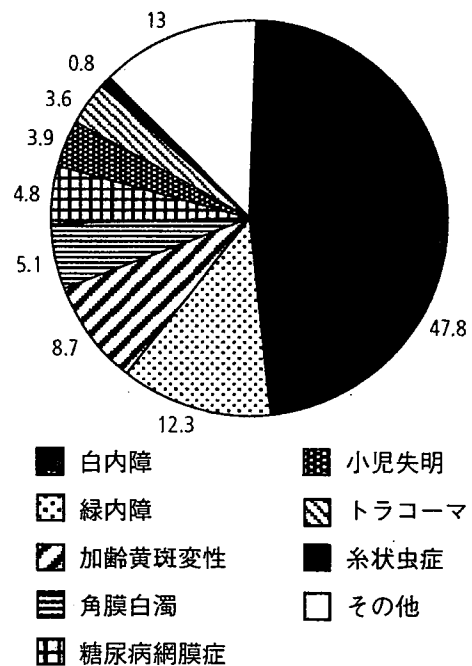


図1 世界の視覚障害の割合 (世界保健機構 2002)

Current progress of eye research

筆者紹介：いわた・たけし(IWATA, Takeshi) (独)国立病院機構東京医療センター 臨床研究センター(感覚器センター)視覚研究部門 細胞・分子生物学研究室(Natl. Hospital Organization Tokyo Med. Cent. Natl. Inst. of Sensory Organs Div. of Vision Res. Lab. of Cellular & Molecular Biol.) 細胞・分子生物学研究室長 農学博士 専門：細胞分子生物学 連絡先：〒152-8902 東京都目黒区東ヶ丘2-5-1 E-mail iwatatakeshi@kankakuki.go.jp (勤務先)

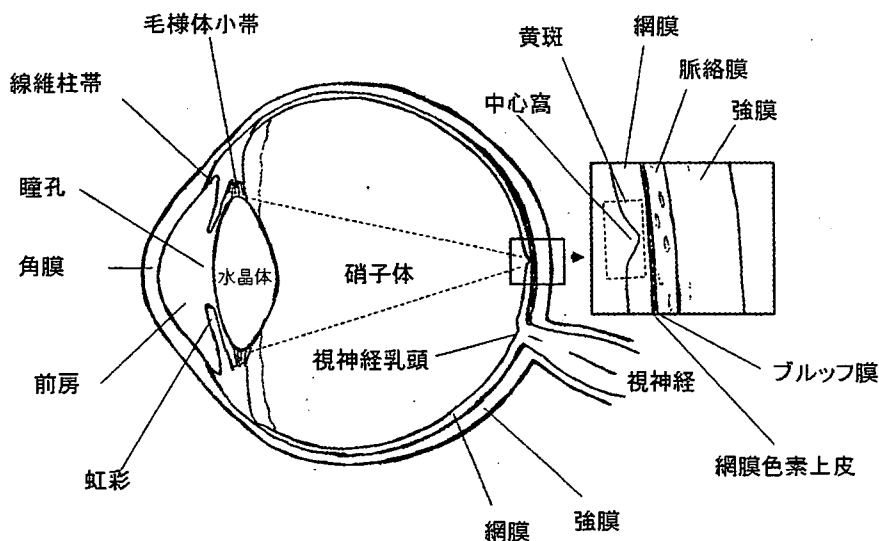


図2 眼の基本構造

加齢黄斑変性は遺伝、環境そして生活習慣がリスク因子となって発症すると考えられている。加齢黄斑変性や緑内障の発症によって網膜での細胞死が起こると、これを移植によって補ったり、神経細胞を増殖させたりすることが困難であるため、国内外で視神経の再生医療や人工網膜の開発が行われている。筆者らは病気に至る前の段階でこれを察知し、患者予備軍を選別し、発症する前に予防法によって食い止める、「予防医学」の観点からこれまで研究を行ってきた。

1. 眼の基本構造と検体収集の難しさ

眼は組織学的に高度に分化しており、角膜や水晶体からなる前眼部と網膜、視神経からなる後眼部から構成されている(図2)。角膜および水晶体で収束した光は黄斑を中心に像を結び、光情報は電気信号に変換されて脳に伝えられる。このいずれの過程においても障害が発生した場合には視覚障害につながる可能性がある。眼研究の難しさは、病気の患者から組織の一部を切り出し、研究に利用することが極めて困難なことである。また法律上、死者の眼球を実験に利用することも、アメリカとは異なって、日本では禁じられている。予防医学的観点からも、早期診断に利用できる検体が涙液、血液、尿に限られるために、必然的に研究対象は白血球から抽出されるDNAを用いた遺伝子解析と血漿プロテオーム解析に落ち着くことになる。白内障や網膜疾患の手術中に捨てられる房水、硝子体の一部

については、患者の同意を得れば倫理的に研究対象として承認されている。

2. 感覚器ネットワーク構築による症例情報収集システムとDNA・血漿バンクの設立

2004年、国立病院機構および厚生労働省の支援を受けて、オンラインによる症例情報の収集とDNA・血漿バンクの設立を目的とした「感覚器ネットワーク」を感覚器センターに構築した(図3)。関連施設の国立病院および大学病院から緑内障と加齢黄斑変性の症例情報をウェブ画面上から登録し、同時に血液検体を発送する仕組みである。症例情報には個人情報を除く患者の臨床所見が詳細に登録できるようになっており、眼底写真の添付も可能である。遺伝子およびプロテオミクスの解析結果は症例情報と一体化され、個々の患者について総合的なデータベースが構築されることにより、眼科分野におけるテーラーメイド医療の可能性を模索する。インターネットを介した症例情報の送受信に対しては計画当初より倫理的観点からの反対意見もあったが、認証技術と暗号化技術の進歩によって信頼できるシステムが構築されている。

3. ハプロタイプを利用した加齢黄斑変性のリスク遺伝子の探索

加齢黄斑変性は黄斑周辺において網膜色素上皮細胞とブルッフ膜の間にドルーゼン(網膜下に蓄積する

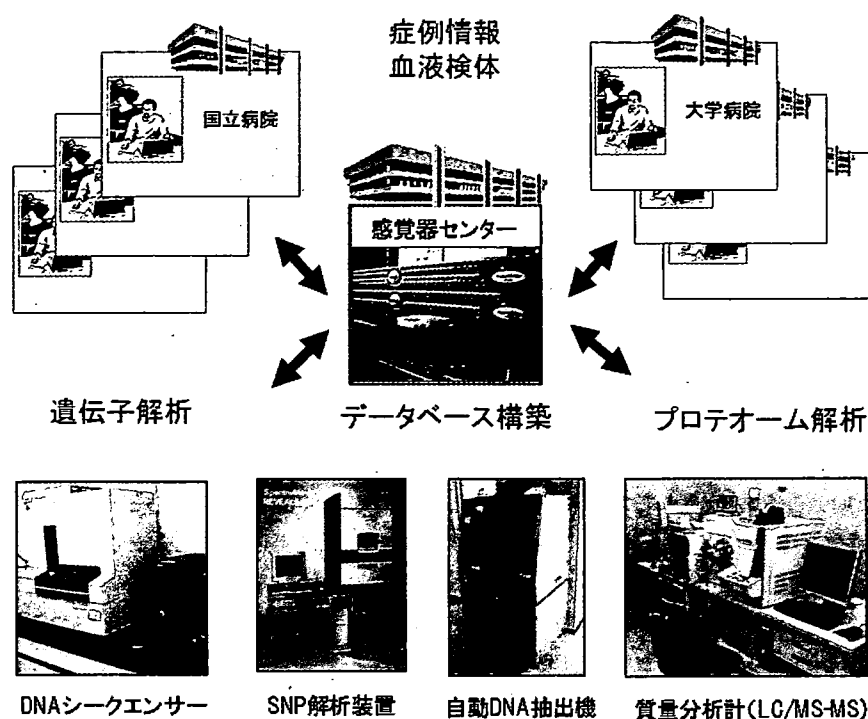


図3 感覚器センターの遺伝子解析システムとデータベースシステム

黄・白色の物質)が蓄積することから始まり、網膜色素上皮細胞死から視細胞死、そして脈絡膜から神経網膜に向って血管新生が起こることによって失明する病気である(図2)。これまでの研究から加齢黄斑変性は多因子疾患であると考えられ、加齢、遺伝、喫煙、肥満、青い光などがリスク因子として報告されている。加齢黄斑変性を発症しやすい体質があるとすれば、それはヒトの設計図であるゲノム配列と深く関係しており、2万2000遺伝子中のいくつかが関係していることになる。近年、ヒトゲノムプロジェクトによる全ゲノム配列が解読された結果、ゲノム上には平均で1000塩基に1つの割合で異なる配列が存在することが明らかになった。この遺伝子多型(Single Nucleotide Polymorphism : SNP)を複数組み合わせることでブロックにして利用することにより、疾患遺伝子の位置を特定することが可能になってきた。SNPの組合せをハプロタイプと呼ぶが、複数の国が参加して、すべてのハプロタイプを明らかにする国際ハップマッププロジェクト(International HapMap Project, <http://www.1hapmap.org/>)が進行中である。ゲノムには1千万個のSNPが存在すると計算されるが、これだけのSNPを安価に解析することは技術的に困難であった。しかし、最近、SNP-DNAチップの開発が進み、複数の

SNPを同時に検出することができるようになってきた。Affymetrix社が販売するGENECHIP™を利用すれば50万個のSNPを一度に解析することができる。このチップを利用しても全SNPの5%しかカバーできないが、計算によって有用な情報が豊富に得られる。疾患に関するSNPの発見は加齢黄斑変性の早期診断装置の開発につながる。加齢性の疾患であることから、早期発見ができれば予防に努めることができるし、人生設計の修正が発症前に可能になる。SNPによってアミノ酸配列に変異が生じる場合はタンパク質の機能解析によって、発症機序の解明と発症を未然に防止する有効な予防薬の開発も可能になる。このような理由から、加齢黄斑変性のリスク因子の1つである遺伝子解析について積極的に研究が進められている。

4. 眼疾患のためのプロテオミクスとバイオマーカーの探索

SNP解析によってリスク遺伝子が明らかになり、発症前遺伝子診断が確立されても個々の患者について予防を始めるタイミングを決めるのは難しい。あまり早期に始めると医療費がかさみ、遅すぎると発症してしまう可能性がある。発症前の兆候を察知して予防の

タイミングを計る方法として、血漿や尿に含まれる微量タンパク質の濃度変化をとらえる方法が考えられる。網膜の裏側に位置する脈絡膜(図2参照)の血流循環速度は毎分1~2Lと極めて早いことが知られている。視細胞への酸素とグルコースの供給、老廃物の除去、さらに網膜の温度上昇を防ぐためのラジエーターとしての働きも推測されている。脈絡膜の関与が予想される加齢黄斑変性については脈絡膜や網膜成分が血中に漏れてくることも予想され、疾患バイオマーカーの探索に期待がかかる。

網羅的な血漿プロテオーム解析には質量分析計が用いられるが、この分野においても技術革新は目覚しく、毎年、より感度の高い製品が販売されるようになった。質量分析計の高感度化と並行して進められているのが試料の前処理である。血漿の場合、20種類のタンパク質が重量換算で99%を占めるために微量タンパク質がなかなか検出されにくい。この20種類のタンパク質について、残り1%のタンパク質濃度を変化させずにいかに除去できるかという課題が残っている。最近、20種類のタンパク質に対するモノクローナル抗体を用いたアフィニティーカラムの販売が始まった。

5. 疾患動物モデルの開発とその意義

患者の病理組織を得ることが難しいことから、疾患による細胞や分子レベルでの変化をとらえることが極めて困難であった。このために古くからヒトの眼疾患に類似する動物の探索や、遺伝子操作によるDNA組換え動物の作製が行われてきた。疾患動物モデルは動物種にもよるが、発症機序の解明だけでなく、新薬開発のバイオアッセイ系や診断装置の開発など、幅広く利用できることが特色である。これまでにマウス、ラット、モルモット、イヌ、ネコ、ブタ、ニワトリ、ゼブラフィッシュなど、多岐にわたる動物モデルが発見または作製されてきた。霊長類の眼の特徴としてはそのサイズと網膜の中心に存在する黄斑の存在である(図2、4参照)。

黄斑は外側に向かって中心窩がくびれた構造になっており、光を感じる錐体細胞が露出した構造になっている。また網膜の20%の錐体細胞(92万個の細胞)が直径6mmの黄斑に集中しており、高い解像度の視覚を獲得している。このような構造は霊長類(ヒト、サル)、一部の鳥類など限られた種でしか発達しておらず、一般的に実験に用いるマウスやラットには黄斑は存在し

ない。黄斑が傷害される加齢黄斑変性の霊長類モデルは1970年代から世界中で探し続けられてきたが、(独)医薬基盤研究所霊長類医科学研究センターにおいて生後2年でドルーゼンを発症するカニクイザルを鈴木通弘等が発見した。筆者らは厚生労働省の支援を受けて、この1頭の疾患個体から交配実験を繰り返し、300頭から成る大家系の作製に成功した。交配実験から疾患が常染色体優性遺伝していることが明らかになり、原因遺伝子の染色体上での位置を探索中である(図5)。

平成15年からは厚生労働科学研究・難治性疾患克服研究事業として、研究班を組織して疾患カニクイザルの本格的な研究が始まった。加齢黄斑変性の霊長類モデルが稀であることと、アメリカやヨーロッパの白人において有病率が高いことから、筆者らの研究成果は欧米の眼科学会で広く知られることになった。疾患カニクイザルの遺伝形式から考えて、おそらく単一遺伝子の変異によって網膜・脈絡膜の代謝に異常が発生すると考えている。

おわりに

眼科研究でとくに今日注目されている加齢黄斑変性について筆者らの研究を中心に紹介させていただいた。日本の眼科は長い歴史があるにもかかわらず、基礎研究においては欧米に比べて基盤の整備が遅れている。中心的研究機関(国立眼研究所)もなく、政府の十分な認識が得られない状態が続いてきた。日本では急

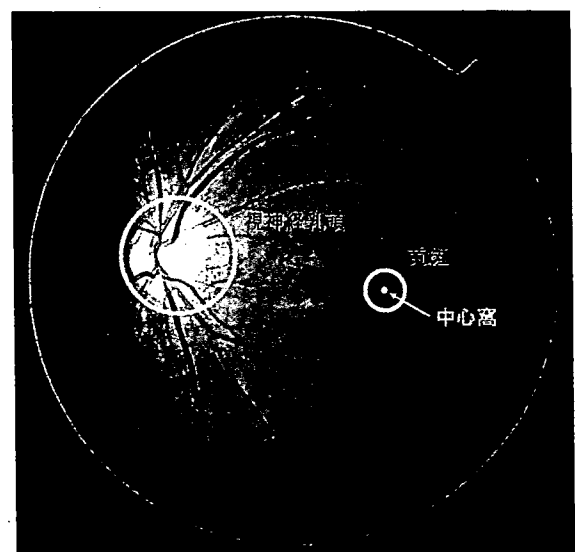


図4 ヒトの眼底写真

速な高齢化によって視覚障害者はすでに増加しており、加齢性眼疾患の早急な対策が求められている。米国ではNational Eye Instituteが大学を束ねて国家戦略として、次々と新しい基礎研究者を眼分野に招き入れて活性化を図り、同時に政府の十分な認識が得られるように努力している。

日本でも眼科と耳鼻科を統合した「感覚器センター」構想が15年ほど前から検討され、2004年から国立病院機構東京医療センター臨床研究センターとして「感覚器センター」が発足した。また、2006年6月には厚生労働省厚生科学審議会科学技術部会によって、2007年度から5年間の戦略研究課題として「感覚器戦略研究」が承認された。少しずつではあるが、日本でも認識が得られるようになってきた。アジアに目を向けるとシンガポール、韓国、中国でも眼研究所が整備されつつある。日本人と欧米人とは遺伝的背景が異なることから、診断基準や薬効に

ついて違いがあることが指摘されてきた。より日本人と体質が近いアジアの人々と連携しながら、遺伝子やプロテオーム解析が進めば、日本人向けの薬がアジアでも十分な効果を発揮する可能性がある。今後、日本に眼科の中心的な研究機関が設立され、これを日本の表玄関として、アジアの中心的研究機関と共同研究プロジェクトを組み、日本人を含むアジア人のための製品造りに進む流れが期待される。

参考文献

- 1) 岩田 岳：加齢黄斑変性の遺伝子研究の最前線，特集：網膜脈絡膜変性疾患のアップデート，あたらしい眼科，(株)メディカル薬出版，23，1125～1131 (2006)
- 2) James, F. H. *et al.* : Models of age related vision problems, p.812～828. Handbook of Models for Human Aging, Academic Press, Elsevier Inc (2006)

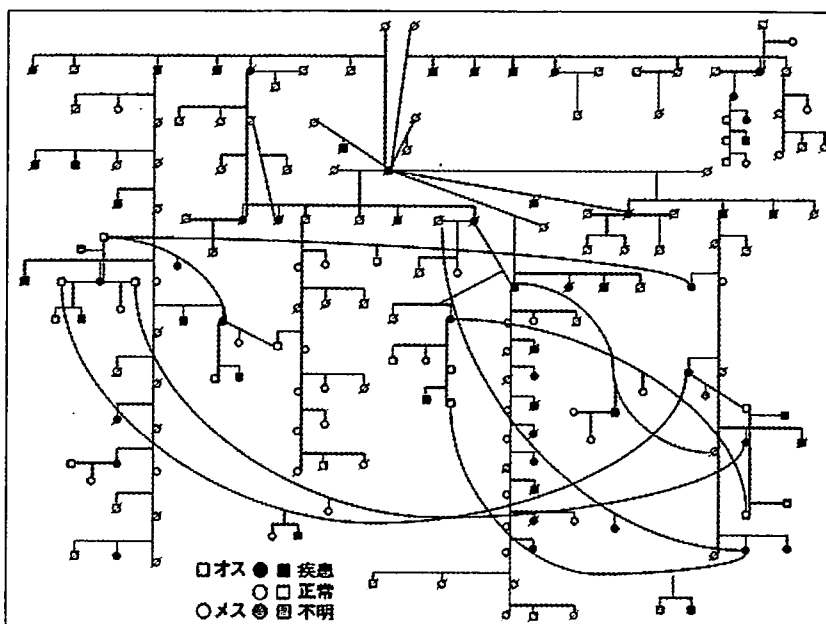


図5 上：遺伝性の黄斑変性カニクイザルの家系⁶⁾
左下：眼底写真と黄斑に観察されるドルーゼン
右下：霊長類医科学研究センターでの実験

- 3) Okamoto, H. *et al.* : Complement factor H polymorphisms in Japanese population with age-related macular degeneration, *Mol. Vis.*, 12, 156～158 (2006)
- 4) 岩田 岳：遺伝子解析の現状、またその行方は？、打倒！加齢黄斑変性，眼科インストラクションコース，(株)メディカルビュー，20～23 (2005)
- 5) Umeda, S. *et al.* : Molecular composition of drusen and possible involvement of anti-retinal autoimmunity in two different forms of macular degeneration in cynomolgus monkey (*Macaca fascicularis*), *FASEB J.*, 19, 1683～1685 (2005)
- 6) Umeda, S. *et al.* : Early onset macular degeneration with drusen in a cynomolgus monkey (*Macaca fascicularis*) pedigree caused by a novel gene mutation, *Invest Ophthalmol Vis. Sci.*, 46, 683～691 (2005)

加齢黄斑変性の遺伝子研究の最前線

Recent Progress in Genetic Analysis of Age-Related Macular Degeneration

岩田 岳

あたらしい眼科 *Atarashii Ganka (J. Eye)*
Vol. 23 No. 9 2006 別刷

(株) メディカル葵出版

加齢黄斑変性の遺伝子研究の最前線

Recent Progress in Genetic Analysis of Age-Related Macular Degeneration

岩田 岳*

はじめに

加齢黄斑変性は多因子疾患であると考えられ、加齢、遺伝そして環境などのリスク因子が作用して時間をかけて発症する¹⁾(表1)。加齢黄斑変性を発症しやすい体質があるとすれば、それはヒトの設計図であるゲノム配列と深く関係している。今日の遺伝子解読技術を用いれば、特定の遺伝子配列を解読することは比較的簡単であるが、問題はヒトゲノムには22,000ほどの遺伝子が存在し、どの遺伝子が加齢黄斑変性に関係するかわからないことである。最近になって、ようやく候補となる遺伝子が複数明らかになってきた。疾患に関係する遺伝子配列の発見は加齢黄斑変性の早期診断につながり、また発症までに時間があることから、有効な予防法による発症の遅延や人生設計の変更が可能になる。リスク遺伝子の機能解析によって、発症を防止する有効な薬の開発の可能性もある。このような理由から、加齢黄斑変性のリスク因子の1つである遺伝子についての研究が進められている。本稿では、加齢黄斑変性のリスク因子としての遺伝子解析について最新の状況をお伝えしたい。

I 加齢黄斑変性の候補となる遺伝子の探索

加齢黄斑変性のリスク遺伝子を探索するにあたって、最も可能性の高い候補は、類似の症状が観察される黄斑ジストロフィの原因遺伝子である。先天性の黄斑ジストロフィは単一遺伝子の変異によって発症するものが多く、大家系を使った連鎖解析法によって原因遺伝子の染

表1 加齢黄斑変性のリスク因子

(1) 加 齢	高齢化：米国では65歳以上の失明率が最も高い疾患。
(2) 遺 伝	家族歴：親族のなかに加齢黄斑変性の患者がいる場合により高いリスクが生じる。 人 種：白人は黒人に比べて加齢黄斑変性を発症しやすい。日本人はその中間に位置する。 性 別：白人では女性に優位に発症するが、日本人では男性に優位に発症する。
(3) 環 境	喫 煙：喫煙は複数の疫学調査によって高いリスク因子として報告されている。 肥 満：肥満は加齢黄斑変性の進行に関係してると考えられている。

表2 これまでに報告されている加齢黄斑変性のリスク遺伝子

- (1) ATP-binding cassette transporter (*ABCA4*)
- (2) Fibulin 6 (*Hemicentin 1*)
- (3) Complement component 2
- (4) Complement factor B
- (5) Complement factor H
- (6) Fibulin 5 (*FBLN5*)
- (7) Hypothetical Protein LOC387715
- (8) Toll-like receptor 4

色体上での位置を絞り込み、その周辺の遺伝子を網羅的に調べるポジショナルクローニング法によって、14の候補遺伝子の7つがすでに発見されている。発見された7つの遺伝子と加齢黄斑変性との関係については複数の研究グループが解析を行ったが、常染色体劣性遺伝の

* Takeshi Iwata : 独立行政法人国立病院機構東京医療センター臨床研究センター(感覚器センター)視覚研究部門 細胞・分子生物学研究室 [別刷請求先] 岩田 岳 : 〒152-8902 東京都目黒区東が丘 2-5-1 独立行政法人国立病院機構東京医療センター臨床研究センター(感覚器センター)視覚研究部門 細胞・分子生物学研究室



国際 HapMap 計画

[Home](#) | [プロジェクトについて](#) | [データ](#) | [文献](#) | [Tutorial](#)

[中文](#) | [English](#) | [Français](#) | [日本語](#) | [Yoruba](#)

国際 HapMap 計画は、ヒトの病気や薬に対する反応性に関わる遺伝子を発見するための基盤を整備するプロジェクトです。この計画は、カナダ、中国、日本、ナイジェリア、英国、米国の科学者と各国政府、財団などの協力により行われています。詳細は [国際 HapMap 計画](#) についてをご覧ください。

プロジェクトの情報

[プロジェクトについて](#)

[HapMap 文献](#)

[HapMap Tutorial](#)

[HapMap News メーリングリスト](#)

[参加施設, 参加者](#)

[HapMap 日本のミラーサイト](#)

データ

[Generic Genome Browser](#)

[データ全体のダウンロード](#)

[論文準備のため、データを固定します](#)

[ENCODE Project](#)

[データ使用に関するガイドライン](#)

リンク

[プレスリリース](#)

[NHGRI HapMap Page](#)

[NCBI Variation Database \(dbSNP\)](#)

[Japanese SNP Database \(JSNP\)](#)

News

- 2005年10月24日:第19回目のデータリリース
Phase I と Phase II の genotype, frequency, assay データが利用可能です。一括ダウンロードは[こちら](#)。Phase I と Phase II のデータが統合されています。

Populations	CEU	CHB	JPT	YRI
Total QC+ SNPs	3,901,408	3,903,524	3,902,623	3,806,920
Total Genotyped SNPs	5,894,684	5,812,990	5,812,990	5,857,466

- 2005年9月28日:第18回目のデータリリース
第2, 6, 11, 14, 15, 21染色体の genotype, frequency, assay データのアップデート分が利用可能です。一括ダウンロードは[こちら](#)。これらには CEU 及び YRI サンプルについての Phase II の完全なデータが含まれており、Phase I と Phase II のデータが統合されています。今回のリリースのサマリーは以下のとおりです。

Populations	CEU	CHB	JPT	YRI
Chr 2	527,434	354,069	354,069	527,707
Chr 6	385,351	124,729	124,729	386,208
Chr 11	295,079	52,669	52,669	293,444
Chr 14	173,577	65,117	65,117	170,624
Chr 15	149,378	41,399	41,399	147,373
Chr 21	86,213	37,932	37,932	85,417
Total	1,617,032	675,915	675,915	1,610,773

- 2005年8月17日: HapMap Phase II の初回データ公開
Phase II の初回公開分のデータが、[こちらから bulk download](#) ダウンロードできます。このリリースは、パイロットスタディである第2染色体短腕のデータです。以前の Phase I のデータ (16c.1) を補充するもので、両者のデータファイルを結合することで完全なデータとなります。新しく600, 180についてタイピングが行われ、総計54, 016, 200のデータポイント情報が公開されています

- [これまでの News](#)

参加施設

Baylor College of Medicine (USA)
Beijing Genomics Institute (China)
Beijing Normal University (China)
Broad Institute of Harvard and MIT (USA)
Center for Statistical Genetics, University of Michigan (USA)
Chinese National Human Genome Center at Beijing (China)
Chinese National Human Genome Center at Shanghai (China)
Cold Spring Harbor Laboratory (USA)
Eubios Ethics Institute (Japan)
北海道医療大学 (Japan)
Hong Kong University of Science and Technology (China)
Howard University (USA)
Illumina (USA)

Johns Hopkins School of Medicine (USA)
McGill University & Génome Québec Innovation Centre (Canada)
ParAllele BioScience (USA)
Perlegen Sciences (USA)
理化学研究所 (Japan)
The Chinese University of Hong Kong (China)
The University of Hong Kong (China)
University of California, San Francisco (USA)
University of Ibadan (Nigeria)
University of Oxford (UK)
University of Oxford / Wellcome Trust Centre for Human Genetics (UK)
東京大学 (Japan)
University of Utah (USA)
Washington University, St. Louis (USA)
Wellcome Trust Sanger Institute (UK)

政府、財団等

Chinese Academy of Sciences
Chinese Ministry of Science and Technology
Delores Dore Eccles Foundation
Genome Canada
Génome Québec
Hong Kong Innovation and Technology Commission
文部科学省
Natural Science Foundation of China
The SNP Consortium
U.S. National Institutes of Health (NIH)
University Grants Committee of Hong Kong
Wellcome Trust
W.M. Keck Foundation

Last updated: index.html.ja,v 1.50 2005/11/02 00:15:49 krishnan Exp fc

[Home](#) | [プロジェクトについて](#) | [データ](#) | [文献](#) | [Tutorial](#)
このウェブサイトに関する質問やコメントは help@hapmap.org までお願いします。

図 1 国際 HapMap プロジェクトのホームページ

Stargardt 病の原因遺伝子である ATP-binding cassette transporter 遺伝子 (*ABCA4*) を除いて相関は見つかっていない²⁾。現在までに加齢黄斑変性との相関が報告されている遺伝子を表 2 にまとめた。

これまで未知遺伝子の探索で利用されてきた連鎖解析法を用いて地道に連鎖解析マーカーと疾患との相関を調べる作業が今日も続いている。連鎖解析とはヒトゲノム中にある塩基配列の反復とその反復回数に個人差があることを利用して、あるゲノム上の反復配列とその反復回数が疾患といっしょに遺伝しているか調べることによって原因遺伝子の染色体上での位置を絞り込む方法である。加齢黄斑変性は複数の遺伝子が関与していることから、複雑に遺伝するが、多数の家系を調べた結果、統計的に候補となる遺伝子は染色体 1, 2, 4, 5, 9, 10, 12, 15, 16, 18, 20 の 13 の位置に存在すると予測されている^{3,4)}。

II ハプロタイプを利用した加齢黄斑変性のリスク遺伝子の探索

近年、ヒトゲノムプロジェクトによる全ゲノム配列が解読された結果、ゲノム上には平均で 1,000 塩基に 1 つの割合で異なる配列が存在することが明らかになった。この遺伝子多型 (single nucleotide polymorphism :

SNP) の生体への影響についてはまだ明らかになっていないが、その利用方法については注目されている。ゲノム上の単一の SNP、たとえばアデニン (A) からグアニン (G) の変化を疾患に結びつけることは困難であるが、SNP を複数組み合わせることでブロックにして利用することにより、連鎖解析マーカーと同様な利用方法ができる。SNP の組み合わせをハプロタイプとよぶが、複数の国が参加して、すべてのハプロタイプを明らかにする国際ハップマッププロジェクト (International HapMap Project, <http://www.hapmap.org/>) が進行中である (図 1)。

ゲノムの大きさが 3×10^9 塩基であることから 1 千万個の SNP が存在すると計算されるが、これだけの SNP 数を安価に効率よく解析することは技術的に困難であった。しかし、最近、シリコンをベースにした DNA チップの開発が進み、複数の SNP を同時に検出することができるようになってきた (図 2)。Affymetrix 社が販売する GENECHIPTM を利用すれば最大 50 万個の SNP を同時に解析することができる。このチップを利用しても全 SNP の 5% しかカバーできないが、今後測定できる SNP 数は増加していくと思われる。

III 補体の活性化と加齢黄斑変性

加齢黄斑変性の前兆として網膜色素上皮細胞と Bruch

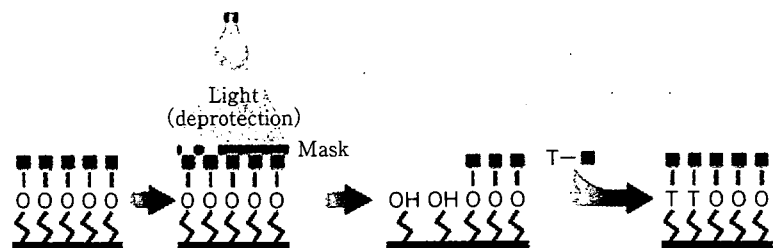
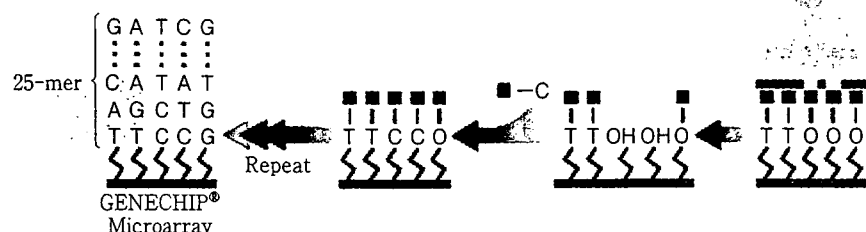


図 2 GENECHIPTM の製造工程



膜の間にドルーゼンの蓄積が観察される。ドルーゼンの蓄積とドライ型やウエット型の加齢黄斑変性への進行との関係は不明のままであるが、最近の研究によってドルーゼンを構成する分子は明らかになってきた。Hageman や Anderson らは糸球体腎炎の患者でドルーゼンに類似する眼底所見が得られることから、糸球体の炎症に関わる補体の活性化が網膜下でも起こっていることを免疫染色法によって発見した⁵⁻⁷⁾。さらに、Hollyfield らもドルーゼンを抽出してその蛋白質組成について質量分析計を使って分析したところ、補体の活性分子の存在を確認した⁸⁾。ドルーゼン内で発見された分子のなかにはアミロイドβ関連分子や酸化ストレス関連分子など、補体活性化の原因になりうる分子も確認されている。

このような研究が進むなかで2005年に補体H因子(complement factor H)のハプロタイプと加齢黄斑変性との相関を示す5つの論文が報告された⁹⁻¹³⁾。この遺伝子は自然免疫の補体活性化を抑制する蛋白質で補体の2次経路およびレクチン経路を抑制する(図3)。いずれの論文もアミノ酸402番のヒスチジンからトリプトファンの置換が加齢黄斑変性と強く連鎖することを報告した。しかしこの多型が患者および健常者に現れる頻度については論文によって異なっている。Haines らの論文

ではY402Tは健常者(185人)で46%、患者(495人)では96%の頻度で現れると報告している¹⁰⁾が、Zareparsi らの論文では健常者(275人)で34%、患者(616人)で61%と異なっている¹³⁾。筆者らは日本人における補体H因子と加齢黄斑変性の関わりについて、独自の解析を行うことにした。DNA検体は患者や健常者の承諾を得て、国立病院機構東京医療センター、国立病院機構大阪医療センター、国立病院機構九州医療センター、順天堂大学浦安病院眼科から健常者89検体と患者96検体を集めて行われた。その結果、健常者(89人)4.3%、そして患者(96人)で3.8%とアメリカの解析結果と大きく異なることが明らかにされた¹⁴⁾。2005年のアメリカ眼研究学会(ARVO)でも補体H因子のY402変異の生体機能への影響について議論されたが、筆者らの報告によってY402H変異と加齢黄斑変性との関係が絶対的なものではないことから、さらに詳細な検討が必要であるとセッションが締めくくられた(図4)。最近、Gotoh らによっても筆者らと類似する報告がなされている¹⁵⁾。

補体活性経路に関する遺伝子と加齢黄斑変性との関係はAllikmets らの最近の論文によってさらに強固なものになりつつある¹⁶⁾(図5)。この報告では補体古典経路のC2と2次経路を抑制する補体B因子のハプロタイプ

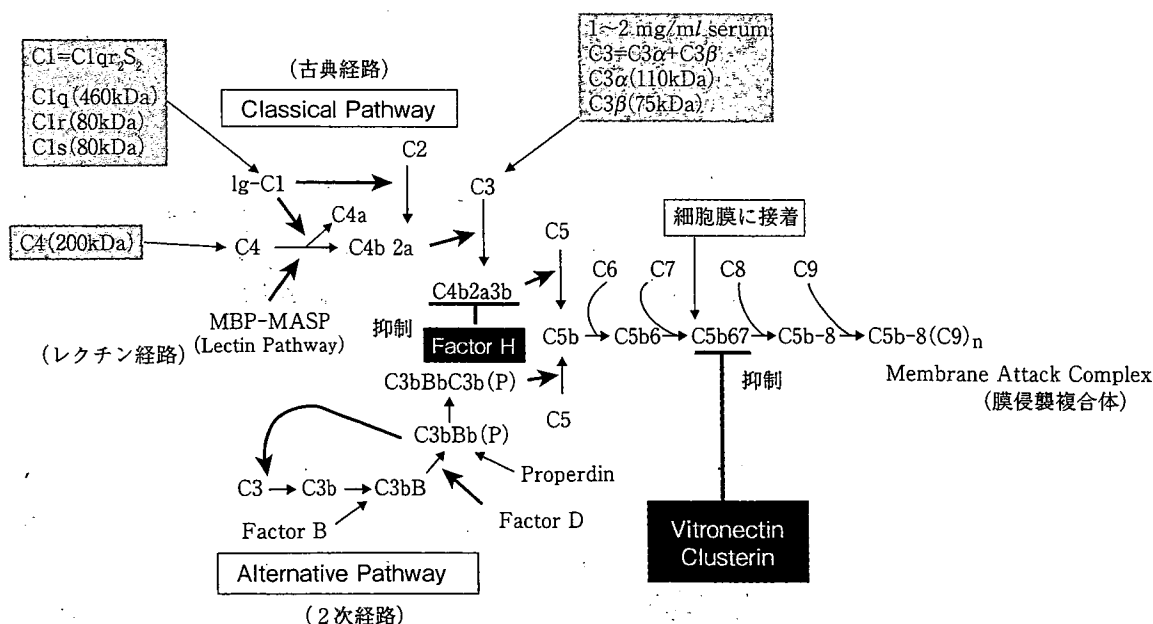
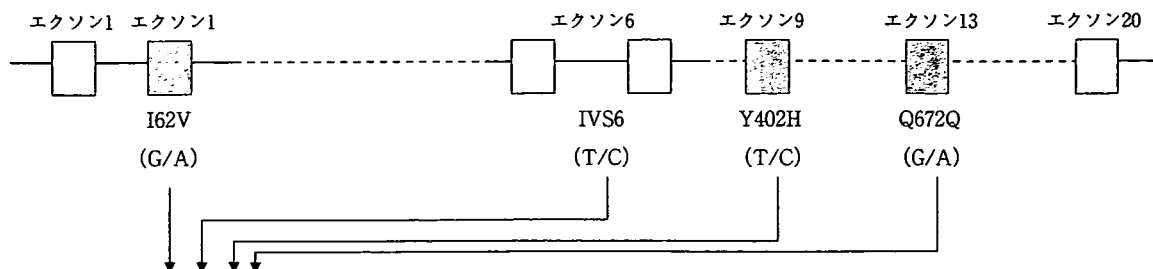


図3 補体活性化経路



	ハプロタイプ (米国)	OR	95% CI	p	患者 (%) 日本/米国	健常者 (%) 日本/米国	リスクとプロテクティブ 日本/米国
ハプロタイプ 1	G-T-T-G (3)	NS	—	0.973	3.8/NS	3.8/NS	—/—
ハプロタイプ 2	A-T-T-A (2)	0.42	0.26~0.67	0.001	18/12	35/21	(プ) 1.6/1.7
ハプロタイプ 3	G-T-T-A (5)	2.03	1.12~3.69	0.028	19/NS	10/NS	(リ) 1.9/—
ハプロタイプ 4	A-T-T-G	3.00	1.42~6.38	0.004	15/NS	6/NS	(リ) 2.5/—
ハプロタイプ 5	G-T-C-A (1)	NS	—	0.744	3.8/50	4.3/29	(リ) —/1.7

図4 日本人における加齢黄斑変性と補体 H 因子のハプロタイプ

	E318D	Int10	L9H	R32Q	R150R	K565E	Int17	OR	p	CAS	CON
H1	G	G	T	G	G	A	G	1.32	0.0013	0.59	0.53
H2	G	G	T	G	G	A	A				
H5	G	G	T	G	A	A	A				
H7	G	T	T	A	G	A	A	0.45	<0.0001	0.050	0.11
H10	C	G	A	G	G	A	G	0.36	<0.0001	0.020	0.055

図5 アメリカ人における加齢黄斑変性と補体 C2 と B 因子のハプロタイプ (文献 16 より)

がプロテクティブ (予防) に働くことが明らかにされている。日本人におけるハプロタイプの解析は現在筆者らの研究室で進行中である。

IV ドルーゼンが観察される霊長類モデルの遺伝子解析

加齢黄斑変性の動物モデルとして黄斑が発達している霊長類モデルが長年探し続けられてきたが、独立法人医薬基盤研究所霊長類医学科学研究センターにおいて生後2年でドルーゼンを発症するカニクイザルが Suzuki らによって発見された¹⁷⁾。この1頭の疾患個体から交配によって大型の家系を作ること成功し、この過程で疾患が常染色体優性遺伝していることも明らかになった (図6)。

筆者らは厚生労働省科学研究難治性疾患克服研究事業として研究班を組織して平成15年度からこのカニクイザルの病理学および遺伝子解析を行ってきた¹⁸⁻²⁰⁾。これまでの研究からこの疾患個体で観察されるドルーゼンの蛋白質組成は患者や加齢性の黄斑変性カニクイザルと類似していることが明らかになっている。遺伝形式からおそらく単一遺伝子の変異によって網膜下の代謝に異常をきたし、ヒトが50年以上かけて蓄積するドルーゼンと同様なドルーゼンをわずか2年で生成すると予測される。この遺伝子の発見はドルーゼン生成のメカニズムを解き明かす重要な情報をもたらす可能性もあり、その結果に注目している。

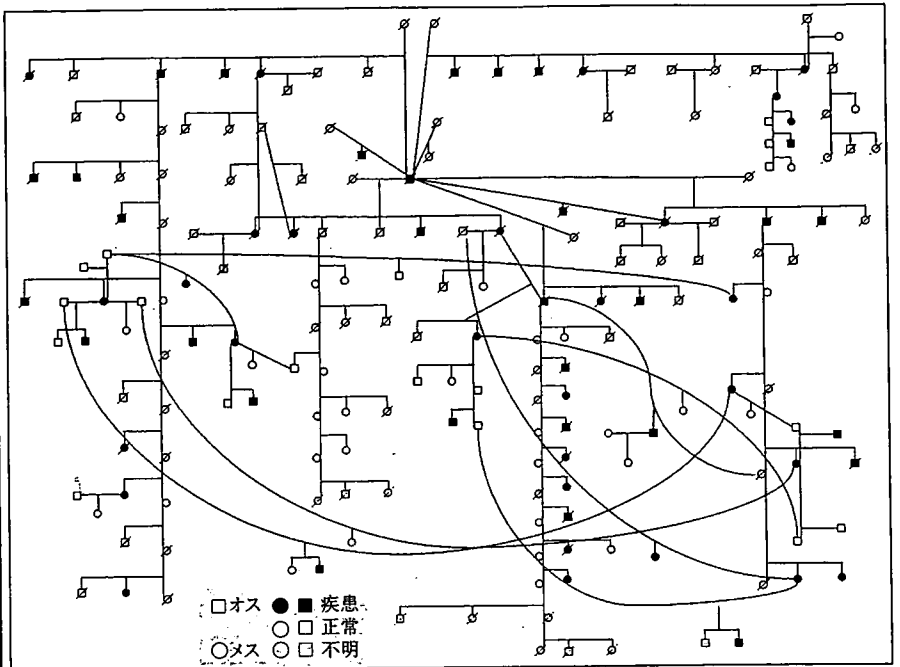
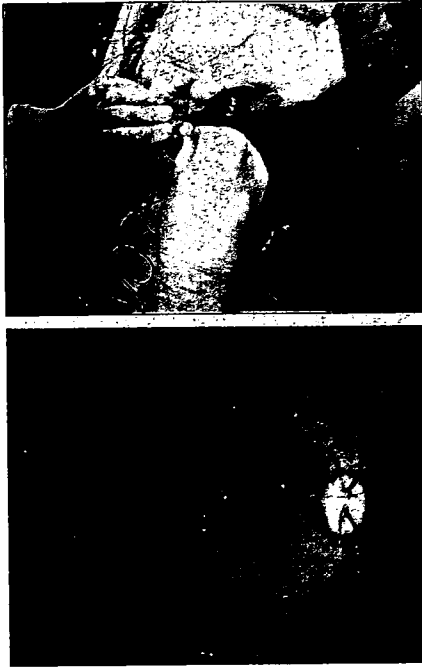


図6 若年性黄斑変性カニクイザルの家系

V 今後の加齢黄斑変性の遺伝子解析

加齢黄斑変性の遺伝子研究については候補となる遺伝子がすでに黄斑ジストロフィや網膜色素変性症から補体関連遺伝子に移行しており、今後加速すると考えられる。補体関連分子は図3に示してあるように、補体活性系および抑制系は多数の遺伝子から構成されているので、これをすべて調べるまでには時間がかかることが予想される。また加齢黄斑変性が多遺伝子疾患であることから、多数のSNPを組み合わせたハプロタイプの計算がより複雑になっていくと予想される。DNAチップの解析に必要なバイオインフォマティクに詳しい人材が眼科の分野でも必要になってきた。

Affymetrix社のGENECHIP™をはじめ、DNAチップで解析できるSNP数も50万個から100万個、さらに200万個と毎年倍々で増加していくことが予想される。これらの測定結果をDNAチップ以外の方法で追試するには膨大な時間と労力が必要であり、単一の眼科施設だけでは将来にわたって解析を継続することは困難である。感覚器センターでは関連施設との共同でオンライン症例情報収集ネットワークを構築し、自動DNA抽出

機を用いて各施設から送られてきた血液からDNAを抽出し、3台のキャピラリーDNA解析装置を使って遺伝子解析までを行う。眼科疾患遺伝子解析センターの準備がほぼ整った。解析結果は参加施設にそのまま報告し、論文として報告していただくことになる。まずは加齢黄斑変性、緑内障、網膜色素変性の疾患を対象に遺伝子解析を開始する予定である。

VI 今後の課題

今後の課題としては日本における加齢黄斑変性の遺伝情報を充実させることである。今回の補体H因子の解析結果からもわかるように、欧米の遺伝子情報だけでは日本人の遺伝的診断は困難であることは明白である。日本人と欧米人のリスク遺伝子には種類や内容が異なるものが多数存在する可能性があり、アメリカ主導の遺伝子解析研究の結果をそのまま日本人に当てはめることは危険である。感覚器センターを中心とした遺伝子解析サービスは全国の眼科遺伝子研究の起爆剤になればと期待している。2006年6月、厚生労働省厚生科学審議会科学技術部会は、2007年度から5年間の戦略研究課題として「感覚器戦略研究」を承認した。このなかには加齢黄

斑変性の遺伝子解析による早期診断法の確立なども達成目標として盛り込まれており、今後の遺伝子研究には追い風になることが予想される。ヒトが得る情報の8割は視覚によると考えられ、高齢化が進行する日本において quality of life を維持するためにも加齢黄斑変性の遺伝子研究はますます重要になってきている。

文 献

- 1) Evans JR : Risk factors for age-related macular degeneration. *Prog Retin Eye Res* 20 : 227-253, 2001
- 2) Allikmets R, Shroyer NF, Singh N et al : Mutation of the Stargardt disease gene (ABCR) in age-related macular degeneration. *Science* 277 : 1805-1807, 1997
- 3) Iyengar SK, Song D, Klein BE et al : Dissection of genomewide-scan data in extended families reveals a major locus and oligogenic susceptibility for age-related macular degeneration. *Am J Hum Genet* 74 : 20-39, 2004
- 4) Abecasis GR, Yashar BM, Zhao Y et al : Age-related macular degeneration : a high-resolution genome scan for susceptibility loci in a population enriched for late-stage disease. *Am J Hum Genet* 74 : 482-494, 2004
- 5) Hageman GS, Mullins RF, Russell SR et al : Vitronectin is a constituent of ocular drusen and the vitronectin gene is expressed in human retinal pigmented epithelial cells. *FASEB J* 13 : 477-484, 1999
- 6) Mullins RF, Russell SR, Anderson DH et al : Drusen associated with aging and age-related macular degeneration contain proteins common to extracellular deposits associated with atherosclerosis, elastosis, amyloidosis, and dense deposit disease. *FASEB J* 14 : 835-846, 2000
- 7) Anderson DH, Mullins RF, Hageman GS et al : A role for local inflammation in the formation of drusen in the aging eye. *Am J Ophthalmol* 134 : 411-431, 2002
- 8) Crabb JW, Miyagi M, Gu X et al : Drusen proteome analysis : an approach to the etiology of age-related macular degeneration. *Proc Natl Acad Sci USA* 99 : 14682-14687, 2002
- 9) Klein RJ, Zeiss C, Chew EY et al : Complement factor H polymorphism in age-related macular degeneration. *Science* 308 : 385-389, 2005
- 10) Haines JL, Hauser MA, Schmidt S et al : Complement factor H variant increases the risk of age-related macular degeneration. *Science* 308 : 419-421, 2005
- 11) Edwards AO, Ritter R 3rd, Abel KJ et al : Complement factor H polymorphism and age-related macular degeneration. *Science* 308 : 421-424, 2005
- 12) Hageman GS, Anderson DH, Johnson LV et al : A common haplotype in the complement regulatory gene factor H (HF1/CFH) predisposes individuals to age-related macular degeneration. *Proc Natl Acad Sci USA* 102 : 7227-7232, 2005
- 13) Zarepari S, Branham KE, Li M et al : Strong association of the Y402H variant in complement factor H at 1q32 with susceptibility to age-related macular degeneration. *Am J Hum Genet* 77 : 149-153, 2005
- 14) Okamoto H, Umeda S, Obazawa M et al : Complement factor H polymorphisms in Japanese population with age-related macular degeneration. *Mol Vis* 12 : 156-158, 2006
- 15) Gotoh N, Yamada R, Hiratani H et al : No association between complement factor H gene polymorphism and exudative age-related macular degeneration in Japanese. *Hum Genet* (in press)
- 16) Gold B, Merriam JE, Zernant J et al : Variation in factor B (BF) and complement component 2 (C2) genes is associated with age-related macular degeneration. *Nat Genet* 38 : 458-462, 2006
- 17) Suzuki MT, Terao K, Yoshikawa Y : Familial early onset macular degeneration in cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*). *Primates* 44 : 291-294, 2003
- 18) Umeda S, Ayyagari R, Suzuki MT et al : Molecular cloning of ELOVL4 gene from cynomolgus monkey (*Macaca fascicularis*). *Exp Anim* 52 : 129-135, 2003
- 19) Umeda S, Ayyagari R, Allikmets R et al : Early-onset macular degeneration with drusen in a cynomolgus monkey (*Macaca fascicularis*) pedigree : exclusion of 13 candidate genes and loci. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 46 : 683-691, 2005
- 20) Umeda S, Suzuki MT, Okamoto H et al : Molecular composition of drusen and possible involvement of anti-retinal autoimmunity in two different forms of macular degeneration in cynomolgus monkey (*Macaca fascicularis*). *FASEB J* 19 : 1683-1685, 2005

■担当編集委員

白神史雄

香川大学医学部眼科学教授

前田直之

大阪大学大学院医学系研究科
視覚情報制御学専攻附講座教授

■編集委員

白神史雄

香川大学医学部眼科学教授

前田直之

大阪大学大学院医学系研究科
視覚情報制御学専攻附講座教授

谷原秀信

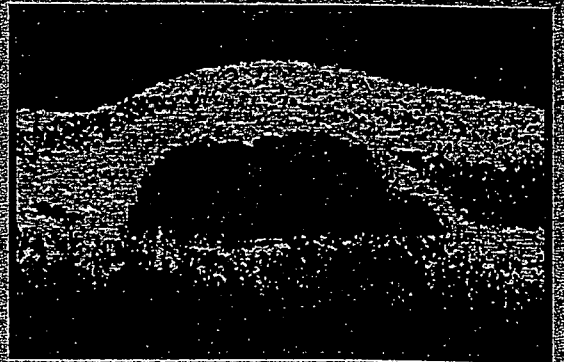
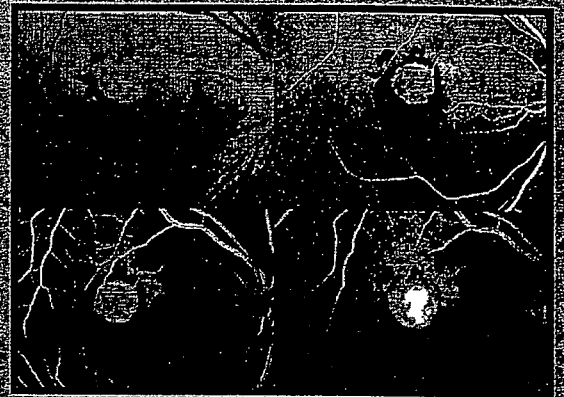
熊本大学大学院医学系研究部
視機能病態学教授

黒坂大次郎

岩手医科大学医学部眼科学教授

打倒！加齢黄斑変性

速報—眼科クリニックIT化の現状



CONTENTS

特集—打倒！加齢黄斑変性（編集：白神史雄）

Abstract	10
まず敵をよく知ろう	
疫学：高齢社会で増加傾向に	安田美穂 16
[My Opinion] 遺伝子解析の現状、またその行方は？	岩田 岳 20
病態：非滲出型と滲出型	野田佳宏, 吉田綾子, 石橋達朗 24
HRAやOCT画像を読んでみよう	佐藤 拓, 岸 章治 30
治療と直結した脈絡膜新生血管の分類	高橋寛二 36
特殊な病態 ポリープ状脈絡膜血管症と網膜内血管腫状増殖	飯島裕幸 46
さあ 打倒するぞ！	
非滲出型に対する治療	
進行をいかにストップさせるか	松本容子 50
[Focus] サプリメント 推進派	今村 裕, 坪田一男 54
[Focus] サプリメント 慎重派	本田 茂 56
滲出型に対する治療	
加齢黄斑変性に対する熱レーザー光凝固（光凝固）の 適応と実際	張野正誉 58
[My Opinion] Macular Photocoagulation Studyよ さようなら。	白神史雄 64
光線力学的療法	
光化学反応ってなに？	寺田佳子 66
実際の方法	白神千恵子 72
過去の臨床試験の概要	石川浩平 78
ベネフィットとリスク	五味 文 84

[Focus] PDTの適応 視力向上を狙う！	野田佳宏, 石橋達朗	88
[Focus] PDTの適応 視力維持を狙う！	湯沢美都子	92
[Focus] PDT再治療 疑わしきは治療する	沢 美喜	94
[Focus] PDT再治療 疑わしきは様子を見る	永井由巳	98
[Focus] 米国におけるAMD治療の現状	沢 美喜	100
抗新生血管薬治療	石田 晋	102
[My Opinion] 新しい抗新生血管薬の登場で 今後どう変わる？	大路正人	108
黄斑下血腫を黄斑部から取り除こう	坂口裕和, 大路正人	110
[My Opinion] 新生血管抜去術の行方は？	小椋祐一郎	116
PCVから視機能を守ろう！	大谷篤史, 吉村長久	118
網膜内血管腫状増殖 (RAP) の攻略	飯田知弘	124
[My Opinion] 専門医への紹介 手遅れにならないために	竹田宗泰	132
両眼癒痕期に対するケア		
読書に対するロービジョンケアでQOLを向上させよう！	藤田京子	136
精神面からのケア	安藤伸朗	138
速報—眼科クリニックIT化の現状 (編集：前田直之)		
眼科クリニックIT化	永田 啓	142
岐阜大学の場合	川上秀昭	146
福井赤十字病院の場合	小堀 朗	150
海谷眼科の場合	海谷忠良	154
ハマダ眼科の場合	濱田恒一	156
ささもと眼科の場合	佐々本研二	158
Appendix		
眼科用電子カルテシステムについてのあり方		160
索引		164



No.5 打倒！加齢黄斑変性

執筆者一覧

■特集 担当編集委員

白神史雄 香川大学医学部眼科学教授

■速報 担当編集委員

前田直之 大阪大学大学院医学系研究科視覚情報制御学寄附講座教授

■特集 執筆者（掲載順）

安田美穂	九州大学大学院医学研究院眼科学
岩田 岳	国立病院機構東京医療センター感覚器センター細胞・分子生物学研究室長
野田佳宏	九州大学大学院医学研究院眼科学
吉田綾子	九州大学大学院医学研究院眼科学
石橋達朗	九州大学大学院医学研究院眼科学教授
佐藤 拓	群馬大学大学院医学系研究科視覚病態学
岸 章治	群馬大学大学院医学系研究科視覚病態学教授
高橋寛二	関西医科大学眼科学助教授
飯島裕幸	山梨大学大学院医学工学総合研究部眼科学教授
松本容子	駿河台日本大学病院眼科
今村 裕	慶應義塾大学医学部眼科学
坪田一男	慶應義塾大学医学部眼科学教授
本田 茂	神戸大学大学院医学系研究科眼科学
張野正誉	淀川キリスト教病院眼科部長
白神史雄	香川大学医学部眼科学教授
寺田佳子	岡山大学大学院医歯薬学総合研究科眼科学
白神千恵子	香川大学医学部眼科学
石川浩平	名古屋大学大学院医学系研究科眼科学
五味 文	大阪大学大学院医学系研究科眼科学講師
湯沢美都子	日本大学医学部眼科学教授
沢 美喜	大阪大学大学院医学系研究科眼科学
永井由巳	関西医科大学眼科学
石田 晋	慶應義塾大学医学部眼科学講師
大路正人	滋賀医科大学眼科学教授
坂口裕和	大阪大学大学院医学系研究科眼科学
小椋祐一郎	名古屋市立大学大学院医学研究科視覚科学教授
大谷篤史	京都大学大学院医学研究科眼科学
吉村長久	京都大学大学院医学研究科眼科学教授
飯田知弘	福島県立医科大学医学部眼科学教授
竹田宗泰	市立札幌病院眼科部長
藤田京子	駿河台日本大学病院眼科
安藤伸朗	済生会新潟第二病院眼科部長

■速報 執筆者（掲載順）

永田 啓	滋賀医科大学医療情報部教授
川上秀昭	岐阜大学大学院医学系研究科神経統御学
小堀 朗	福井赤十字病院眼科部長
海谷忠良	海谷眼科院長
濱田恒一	ハマダ眼科院長
佐々本研二	ささもと眼科院長