

201224034A

厚生労働科学研究費補助金障害者対策総合研究事業

緑内障の multiple rare variants の発見と病態機序の解明による  
予防・治療法の開発

平成24年度 総括研究報告書

平成25年5月

主任研究者 岩田 岳

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

厚生労働科学研究費補助金 障害者対策総合研究事業

緑内障の multiple rare variants の発見と病態機序の解明による

予防・治療法の開発

(H22-感覚-一般-002)

平成24年度 総括研究報告書

平成25年5月

主任研究者 岩田 岳

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）

<http://www.kankakuki.go.jp>

緑内障の multiple rare variants の発見と病態機序の解明による予防・治療法の開発

班員名簿（平成24年5月現在）

区 分	氏 名	所 属 等	職 名
主任研究者	岩田 岳	国立病院機構東京医療センター臨床研究センター	部長
分担研究者	溝田 淳 木村 至 谷戸正樹 渡辺すみ子 原 英彰	帝京大学医学部眼科 順天堂大学医学部浦安病院眼科 島根大学医学部眼科 東京大学医科学研究所再生基礎医科学寄付研究部門 岐阜薬科大学薬効解析学研究室	教授 准教授 講師 特任教授 教授
事務局	能見けいこ	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） 分子細胞生物学研究部 〒152-8902 東京都目黒区東が丘2-5-1 TEL (03)3411-0111 (内 8659) FAX (03) 3411-1026 E-Mail: nomikeiko@kankakuki.go.jp	秘書
経理事務担当	小林正昭	独立行政法人国立病院機構東京医療センター 事務部 企画課 〒152-8902 東京都目黒区東が丘2-5-1 TEL : 03-3411-0111 (内 2122) FAX : 03-3411-0366 E-Mail : masaakikobayashi@ntmc.hosp.go.jp	事務員

# 目 次

## I. 総括研究報告

緑内障の **multiple rare variants** の発見と病態機序の解明による予防・治療法の開発

岩田 岳	国立病院機構東京医療センター臨床研究センター
溝田 淳	帝京大学医学部眼科
木村 至	順天堂大学医学部眼科
谷戸 正樹	島根大学医学部眼科
渡辺すみ子	東京大学医科学研究所
原 英彰	岐阜薬科大学薬効解析学研究室

## II. 研究成果の刊行物・別刷

# I. 総括研究報告

平成24年度 厚生省科学研究費補助金 (障害者対策総合研究事業)  
総括研究報告書

緑内障のmultiple rare variantsの発見と病態機序の解明による予防・治療法の開発

研究代表者 岩田 岳 国立病院機構東京医療センター臨床研究センター部長

研究要旨：緑内障は40歳以上で約5.0%、70歳以上では14%と日本人では高い有病率で発症する疾患である。本研究は common disease rare variants 仮説にもとづき、日本人における家族性の緑内障家系を複数収集し、原因遺伝子を次世代シーケンサーを用いたエクソーム配列解析によって解明する。解明された遺伝子群の遺伝子多型について一般的な緑内障患者に対して解析を行い、疾患との相関を解析する。

分担研究者：溝田淳・帝京大学医学部眼科教授、木村至・順天堂大学眼科准教授、谷戸正樹・島根大学眼科講師、渡辺すみ子・東京大学医科学研究所特任教授、原英彰・岐阜薬科大学薬効解析学研究室教授

#### A. 研究目的

緑内障の有病率は40歳以上で約5.0%、70歳以上では14%と高い割合である(多治見スタディー)。障緑内障による失明率も眼疾患全体で男性が24.5%、女性が31.1% (日本における視覚障害の社会的コスト、日本の眼科疾患の中では最も高い割合となっている)。緑内障の早期診断法として遺伝子診断は不可欠な方法の一つであり、これまでにミオシリン(MYOC)、オプチニューリン(OPTN)、WDR36の緑内障遺伝子が報告されたが、日本人では少数の患者で遺伝子変異が発見されている。また common disease common variants仮説にもとづいて全ゲノム相関解析がアイスランド、米国、豪国、印度、日本で合計数千人の規模で行われたが、オッズ比の高い遺伝子多型は報告されていない。

このような解析結果は緑内障に限らず他の疾患でも報告されており、その対応として近年世界的にcommon variantsを追求するのではなく、rare variantsの組み合わせでcommon diseaseを説明する方法が実践されている(Huyghe, Eur J Hum Genet 2009, Schork, Curr Opin Genet Dev 2009, Kallio, Hum Mol Genet 2009 etc)。本研究はこれまでの遺伝子解析の方法を改め、multiple rare variants仮説にもとづいて、家族歴の強い緑内障を対象に、最新の連鎖解析法(SNP HiTLink法)や患者個々のゲノム中の全エクソンを解読するエクソーム配列解析によって、原因遺伝子を解明し、これらの遺伝子変異の組み合わせで大多数の緑内障患者の発症機序を解明し、細胞、動物

実験によって阻害薬を選別して、根本的な予防・治療法を実現することを目的とする。各家系は異なる遺伝子変異によって発症していると考えられ、各遺伝子変異について網膜細胞、ノックアウト・ゼブラフィッシュ、ノックイン・マウス、トランスジェニック・マーマセットを作製して薬効試験を行う。

#### B. 研究方法

##### 1) 緑内障家系の症例情報及び血液試料の収集

家族歴の強い緑内障(正常眼圧、開放隅角)の7家系(健常家族を含めて10名)について、家族構成員を検査し、症例情報と血液試料の収集を行った。6家系で検体が集まり、既知の緑内障遺伝子(MYOC, OPTN, WDR36など)の遺伝子解析を行い、これらに遺伝子変異がないことを確認した。

##### 2) 緑内障家系における multiple rare variants の探索

収集されたDNA検体からゲノム中の全エクソンを抽出するために最も効率の良いエクソン抽出キットを選別するためにIllumina TruSeq, Agilent SureSelect, Roche NimbleGen SeqCapのそれぞれのキットをためした。その結果、SureSelectを用いることになった。次世代シーケンサーはIllumina HiSeq 2000を用いて塩基配列を解読した。各エクソンのDNAシーケンスは平均リード数を100回まで行い、配列はレファレンスゲノム配列にマッピングされて全エクソン配列が決定された。エクソン配列は1,000人ゲノムプロジェクトのdbSNPデータベースや健常者のエクソン配列に対して比較された。

##### 3) 緑内障 rare variants による発症機序の解明と創薬開発

各家系で発見された遺伝子変異(rare

variant)は他家系とは異なると予測される。個々の rare variant は患者間の浸透率 (遺伝性) が高く、生体機能への影響も強いと考えられる。遺伝子の種類によってのアプローチが異なるが、網膜視神経細胞、網膜グリア細胞での遺伝子変異体の強制発現や遺伝子ノックダウンを行い、質量分析計を用いた細胞のプロテオーム (細胞全タンパク質) 解析や遺伝子発現 DNA チップを用いたトランスクリプトーム (mRNA) 解析によって、発症経路を予測する。その経路を阻害する薬を選別し、細胞実験によって遺伝子変異の影響を改善できるか検討を行う。この細胞実験の結果を踏まえ、モデル動物を用いた薬効試験を行う。

#### 4) 緑内障 multiple rare variants を強制発現するマウス、カンクイザルの作製と網膜生理機能解析

我々はこれまでに緑内障遺伝子変異 optineurin および WDR36 について、網膜神経節細胞やマウスでの強制発現によって網膜細胞に特異的な障害を発生させ病態機序を解明した経験がある (Chi et al, Hum Mol Genet 2010)。今回同様な方法を用いて個々の rare variant を同時に強制発現するトランスジェニック・マウス、あるいはノックイン・マウスを作製し、日本人の緑内障をマウスで再現する。また、予算的な余裕があれば、(財) 実験動物中央研究において、トランスジェニック・カンクイザルを作製したいと考えている (Sasaki et al, Nature 2009)。カンクイザルは旧世界サルに属し、その網膜構造は神経乳頭、黄斑にいたるまで、きわめてヒトに類似している。

#### 5) PET (陽電子放射断層撮影装置) による網膜、視神経、視覚路 (外側膝状体、上丘) および視覚野の形態学的な変化の検討

PET (トレーサー: 18F-deoxyglucose (18FDG)) を用いて脳代謝イメージングを行い、脳神経細胞の活動レベルを経時的に可視化する。また、Diffusion MRI (Magnetic Resonance Imaging: 磁気共鳴画像診断法) を用いて視神経線維層の変動を経時的に可視化する。遺伝子変異によって脳の視覚路及び視覚野がどのような影響を受けるかについて明らかにする。また、電気生理学的な視機能測定、共焦点レーザー走査型眼底検査装置とスペクトラルドメイン光干渉断層計 (ハイデルベルグ社スペクトラリス) を用いて神経乳頭の3次元構造、神経線維や血管、神経網膜細胞の状態を

詳しく解析し、ヒト緑内障患者の早期診断の基礎データとする。

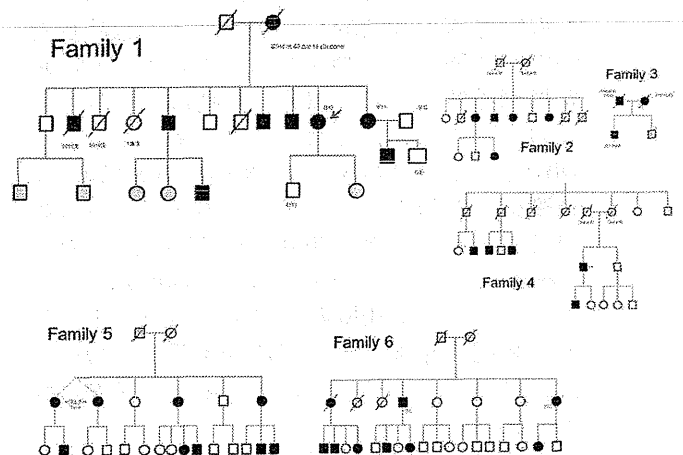
#### 6) 早期発見と発症機序の解明による予防・治療法の開発

(3) の研究によって明らかにされる阻害薬を動物モデルに投与して、改善あるいは発症の遅延が可能か検討を行う。薬効が確認された場合はとだちに特許出願を行い、国内製薬会社との共同研究を開始する。

### C. 研究結果

#### 1) 緑内障家系の症例情報及び血液試料の収集

家族歴の強い緑内障 (正常眼圧、開放隅角) の7家系 (健常家族を含めて10名) について、家族員を検査し、症例情報と血液試料の収集を行っている。すでに6家系から検体を集め、少なくとも各家系より1名はエクソーム解析が終了している。各家系は既知の緑内障遺伝子には変異がないことを確認した MYOC、OPTN、WDR36 など)。



#### 2) 緑内障家系における multiple rare variants の探索

収集された DNA 検体からゲノム中の全エクソンを抽出し (Agilent SureSelect V4, V4+UTR)、次世代シーケンサー (HiSeq2000, Illumina) によって塩基破綻を解読し、レファレンスゲノム配列に対してマッピングした。エクソンのリード数は平均で100に達しており、エクソン配列を決定した。家系1についてはエクソン配列は dbSNP データベースなどと比較し、健常者に現れない遺伝子変異が1つに絞り込まれ、日本人のコントロール500人および1,000ゲノムプロジェクトの配

列からはこの変異が検出されていない。また、一般的な正常眼圧緑内障患者については350人を解析した結果、約10%の患者にこの遺伝子の多型が強く相関することが明らかとなった。

### 3) 緑内障 rare variants による発症機序の解明と創薬開発

家系1で発見された遺伝子変異(rare variant)は他家系では検出されず、他家系は家系1とは異なる遺伝子により発症していると考えられる。個々のrare variantは患者間の浸透率(遺伝性)が高く、生体機能への影響も強いと考えられる。遺伝子の種類によっての研究のアプローチが異なるが、網膜視神経細胞、網膜グリア細胞での遺伝子変異体の強制発現や遺伝子ノックダウンを行い、質量分析計を用いた細胞のプロテオーム(細胞全タンパク質)解析や遺伝子発現DNAチップを用いたトランスクリプトーム(mRNA)解析によって、発症経路を予測する。その経路を阻害する薬を選別し、細胞実験によって遺伝子変異の影響を改善できるか検討を行う。この細胞実験の結果を踏まえ、モデル動物を用いた薬効試験を行う。

### 4) 緑内障 multiple rare variants を強制発現するマウス、カニクイザルの作製と網膜生理機能解析

我々はこれまでに緑内障遺伝子変異 optineurin (E50K 変異)および WDR36 (D658G 変異)について、網膜神経節細胞やマウスでの強制発現によって網膜細胞に特異的な障害を発生させ病態機序を解明した(Chi et al, Hum Mol Genet 2010)。今回同様な方法を用いて個々の rare variant を強制発現するトランスジェニック・マウスを作製中であり、この遺伝子を発現しないノックアウト・マウスについてはすでに作製されており、これを譲渡していただくことによって緑内障との関係をさらに in vivo で詳しく研究する予定である。カニクイザルの作製については予備試験を霊長類センターと共同で開始した。

### 5) PET による網膜、視神経、視覚路および視覚野の形態学的な変化の検討

マウスモデル動物作成後、PET (トレーサー: 18F-deoxyglucose (18FDG)) を用いて脳代謝イメージングを行い、脳神経細胞の活動レベルを経時的に可視化する。また、Diffusion MRI (Magnetic Resonance Imaging:

磁気共鳴画像診断法)を用いて視神経線維層の変動を経時的に可視化する。遺伝子変異によって脳の視覚路及び視覚野がどのような影響を受けるかについて明らかにする。また、電気生理学的な視機能測定、共焦点レーザー走査型眼底検査装置とスペクトラルドメイン光干渉断層計(ハイデルベルグ社スペクトラリス)を用いて神経乳頭の3次元構造、神経線維や血管、神経網膜細胞の状態を詳しく解析し、ヒト緑内障患者の早期診断の基礎データとする。

### 6) 早期発見と発症機序の解明による予防・治療法の開発

本研究によって明らかにされる阻害薬を動物モデルに投与して、予防あるいは改善の可能性を検討する。

## D. 考察

緑内障は視覚障害者の約25%を占める眼疾患であり、日本では失明率が最も高い眼疾患である。緑内障は複数の病態に分類されが、何れについても根本的な治療法はまだ存在しない。緑内障は複数の遺伝因子と環境因子によって発症する多因子疾患と考えられるが、早期診断を目的とした遺伝子探索が世界中で行われてきた。common disease common variants 仮説にもとづく従来の相関解析では、頻度は高いものの、遺伝性に乏しく、機能障害はきわめて小さいと考えられる。そこで common disease multiple rare variants 仮説にしたがって、家族性の緑内障に注目し、この原因遺伝子を解明してから、この遺伝子を入れるにおける一般的な緑内障患者との関係を解析した。その結果、家系1の遺伝子を解明し、この遺伝子に含まれるエクソン4~6付近にある遺伝子多型がきわめて強く一般的な開放隅角緑内障の患者と相関することが明らかとなった。一般的な開放隅角緑内障患者の約10%がこの多型を持っており、この多型の付近のイントロンかプロモーター領域に疾患を引き起こす遺伝子配列があると探索中である。今回の解析結果は、common disease multiple rare variants 仮説を実証するものであり、相関しなかった患者についても探索を続ける予定である。

## E. 結論

本研究が目的とする緑内障の multiple rare variants の探索によって個々の緑内障



患者の発症原因となりうる遺伝子変異が発見された。これらの rare variants は common variants とは異なり、機能障害をもたらす可能性が高く、細胞や動物実験によってこれを検証することができる。緑内障は複数の rare variant が異なる組み合わせで発症していると考えられ、個々の患者の rare variant の種類を確定することによって、障害の種類や程度を予測できると期待される。我々は optineurin と WDR36 の rare variants をマウスで強制発現したところ、網膜特異的な機能障害が観察されており、common variant のように統計学的な優位性にとどまらず、発症機序や創薬にも利用できる具体性のある情報が得られると期待している。

#### F. 健康危険情報 なし

#### G. 研究発表

##### 論文発表

Minegishi Y, Iejima D, Kobayashi H, Chi Z-L, Kawase K, Yamamoto T, Seki T, Yuasa S, Fukuda K, Iwata T. Enhanced optineurin E50K-TBK1 interaction evokes protein insolubility and initiates familial primary open-angle glaucoma. *Human Molecular Genetics* 2013; Advance online publication

Thakkinstian A, McEvoy M, McKay GJ, Chakravarthy U, Chakrabati S, Kaur I, Silvetri G, Francis P, Iwata T, Akahori M, Farwick A, Euijung R, Edward A, Seddon JM, Attia J. The association between complement component 2/complement factor B polymorphisms and age-related macular degeneration: A HuGE review and meta-analysis. *American Journal of Epidemiology* 2012;10.1093/aje/kws03

Kabuto T, Takahashi H, Goto-Fukuura Y, Igarashi T, Akahori M, Kameya S, Iwata T, Mizota A, Yamaki K, Miyake Y, Takahashi H. A new mutation in the RP1L1 gene in a patient with occult macular dystrophy associated with a depolarizing pattern of focal macular electroretinograms. *Molecular Vision* 2012;18:1031-9

Tsunoda K, Usui T, Hatase T, Yamai S, Fujinami K, Hanazono G, Shinoda K, Ohde H, Akahori M, Iwata T, Miyake Y. Clinical characteristics of occult macular dystrophy in a large family with mutation of RP1L1 gene. *Retina* 2012; Mar 29 epub

##### 書籍

岩田岳、Optineurin と正常眼圧緑内障、Digest シリーズ (企画:本庶佑)、Medical Science Digest、ニューサイエンス社 2013;39:2-4 学会発表

岩田岳、古野正朗、池尾一穂、全エクソーム解析による遺伝性網脈絡膜疾患の原因遺伝子探索、エクソーム解析 -成果と将来- (企画:松本直道)、医学のあゆみ、医歯薬出版株式会社 2013;245:401-407

岩田岳、眼疾患をきたす遺伝子変化、第117回日眼評議員会指名講演:「眼疾患と遺伝子」をより理解するために、日本の眼科、公益社団法人日本眼科医会 2013;84:265-269

##### 学会発表

岩田岳、次世代シーケンサーを用いた眼疾患の原因遺伝子の探索、116回日本眼科学会、2012年4月、東京

岩田岳、補体抑制による加齢黄斑変性発症抑制の試み、第49回補体シンポジウム、2012年8月、大阪

Takeshi Iwata, Disease and Biology of the Macula, 第1回銀川国際眼科フォーラム、2012年8月、中国銀川市

峯岸ゆり子、小林宏明、家島大輔、岩田岳、オブチニューリン E50K 変異体による正常眼圧緑内障の病態機序の解明、2012年12月、東京

Yuriko Minegishi, Hiroaki Kobayashi, Takeshi Iwata. Comparative functional analysis of optineurin and its glaucoma-related mutant E50K by mammalian cell-based LC-MS/MS proteomics. 2012

Biennial Meeting International Society for  
Eye Research. August 2012, Berlin, Germany

中山真央、亀井淳三、溝田淳、岩田岳、加齢  
黄斑変性感受性遺伝子HtrA1のトランス  
ジェニックマウスモデルを用いた習慣危険因  
子（喫煙）の影響に関する研究、喫煙科学研  
究財団平成23年度助成研究発表会。201  
2年7月、東京

田邊和彦、木村至、岡本はる、村上晶、海老  
原伸行、岩田岳、毛様体における Rab8 および  
ERM family の発現変化の検討、第23回日本  
緑内障学会、2012年9月、奈良

#### 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（平成20－21年度）  
なし
3. その他  
なし

## II. 研究成果の刊行物・別刷

# 高齢者の視覚障害とそのケア

Advances in Aging and Health Research 2011



公益財団法人 長寿科学振興財団

# 目次

## 高齢者の視覚障害とそのケア

発刊にあたり	1
● 祖父江 逸郎 (公財)長寿科学振興財団理事長	
1. 序文	5
高齢者の視覚障害とそのケア	
～疾病予防からロービジョン対策まで	7
● 小口 芳久 慶應義塾大学 名誉教授	
2. 序論	11
1) 高齢者のQOVの重要性	13
● 宇治 幸隆 東京医療センター臨床研究センター 感覚器センター センター長	
2) 我が国における視覚障害者の実態	23
● 田淵 昭雄 川崎医療福祉大学医療技術学部 感覚矯正学科 学科長	
3) 高齢社会における視覚障害とその予防	37
● 山田 昌和 国立病院機構東京医療センター感覚器センター 部長	
4) 高齢社会における視覚障害者の特徴と対応	47
● 溝田 淳 帝京大学医学部眼科学講座 教授	
3. 高齢者の視機能の特性と病態	53
1) 高齢者の視器の特性	55
● 敷島 敬悟 東京慈恵会医科大学 眼科 教授	
2) 高齢者の視機能の特性	63
● 村山 耕一郎 埼玉医科大学病院眼科 客員教授	
3) 高齢者にみられる加齢性眼疾患とその検査法	
● 近藤 峰生	69
三重大学大学院医学系研究科眼科学 教授	

4) 高齢者の眼科検診の重要性 .....	77
●杉田 直 東京医科歯科大学医歯学総合研究科視覚応答調節学分野 講師	
5) 加齢黄斑変性の病態と疫学 .....	83
●石橋 達朗 九州大学大学院医学研究院眼科学分野 教授	
●安田 美穂 九州大学病院眼科 助教	
●大島 裕司 九州大学病院眼科 講師	
6) 緑内障の病態と疫学	
(1) 多治見スタディ .....	91
●山本 哲也 岐阜大学大学院医学系研究科眼科学 教授	
(2) 病態と治療の進歩 .....	99
●谷原 秀信 熊本大学大学院生命科学研究部視機能病態学分野 教授	
(3) 緑内障の遺伝子とその機能解析 .....	107
●岩田 岳 国立病院機構東京医療センター臨床研究センター 分子細胞生物学研究部 部長	
4. 高齢視覚障害者の治療とその対策 .....	119
1) 加齢白内障治療の進歩と患者のQOV .....	121
●根岸 一乃 慶應義塾大学医学部眼科学教室 准教授	
2) 加齢黄斑変性の診断と治療の進歩 .....	127
●飯田 知弘 福島県立医科大学医学部眼科学講座 教授	
3) 緑内障早期診断の重要性とその治療 .....	137
●新家 眞 公立学校共済組合関東中央病院 病院長	

# 緑内障の病態と疫学

## (3) 緑内障の遺伝子とその機能解析

国立病院機構東京医療センター臨床研究センター  
分子細胞生物学研究部 部長

岩田 岳



### はじめに

緑内障は複数のリスク因子によって発症する多因子疾患と考えられており、遺伝因子も重要な因子の一つである。緑内障は病理学的に開放隅角緑内障、閉塞隅角緑内障、そして発達緑内障に分類されているが、遺伝学的な分類についてはまだ研究が進行中である。緑内障の発症頻度は歳を重ねることによって上昇し、日本人では視覚障害の原因として最も多い眼疾患である。これまでに家族性で発症年齢の若い緑内障について、その原因の一部が解明されてきたが、最近の研究によって一般的な緑内障についても感受性遺伝子が一部明らかにされている。これらの感受性遺伝子と環境因子が複雑に関係して緑内障は発症すると考えられる。これらの遺伝子がコードす

るタンパク質の機能と遺伝子変異や遺伝子多型によってそれが損なわれ、緑内障へと進行するメカニズムが明らかにされようとしている。

### 1) 家族性（遺伝性）の緑内障

緑内障の遺伝子研究は家族性のものが最も進んでいる。これらの家族性の緑内障は遺伝子の関与がきわめて強いものであり、家系の連鎖解析（原因遺伝子が染色体上のどこにあるか調べる方法）によって原因遺伝子の遺伝子座が探索される。家族性のものには若年性と加齢性の緑内障があり、すでに29の遺伝子座が明らかにされ、12の遺伝子が発表されている（表1）。

プロフィール  
Takeshi Iwata

最終学歴 1988年 名城大学大学院農学研究科卒 主な職歴 1988年 米国国立眼研究所 (National Eye Institute, NIH) 研究員 1989年 バスコンバルマー眼研究所 (Bascom Palmer Eye Institute) 研究員 1991年 米国国立眼研究所研究員 1999年 国立病院東京医療センター主任研究員 2004年 独立行政法人国立病院機構東京医療センター室長 2007年 同・臨床研究センター分子細胞生物学研究部部長 現在に至る 専門分野 眼科分子細胞生物学

a) チトクロムP4501B1 (CYP1B1)

発達緑内障 (Primary congenital glaucoma) は眼球形成の異常により、生後3年ほどで眼圧が上昇し、その多くはメンデル型式の劣性遺伝によって発症する。複数の遺伝子座が明らかにされているが、その中でもチトクロムP4501B1 (CYP1B1) やLTBP2 遺伝子については精力的に研究されてきた。CYP1B1は遺伝子座GLC3AとしSarfaraziらによって1995

にトルコ人の17家系から発見された<sup>1)</sup>。トルコ人以外でのこの遺伝子の関与は人種によって異なる。CYP1B1は543アミノ酸からなるタンパク質で、ステロイド、レチノール、レチナル、アラキドン酸などの代謝に関係しており、この遺伝子を欠損させたマウスでは隅角の線維柱帯細胞を含む房水流出経路の形成異常が観察される。さらにCYP1B1と他の緑内障原因遺伝子との二遺伝子に変異が発生する

表1 緑内障を発症させる遺伝子群 連鎖解析により発見される

Chromosome location	Locus	Gene	Condition	Inheritance pattern
1q24.3-q25.2	GLC1A	MYOC	JOAG and adult-onset POAG	JOAG, AD Adult-onset POAG, complex
1p36.2-p36.1	GLC3B		Congenital glaucoma	AR
2p15-p16	GLC1H		Adult-onset POAG	AD
2p22-p21	GLC3A	CYP1B1	Congenital glaucoma	AR
2cen-q13	GLC1B		Adult-onset POAG	AD
2q11-q14	NNO3		Nanophthalmos	AD
3p22-p21	GLC1L		Adult-onset POAG; NTG	AD
3q21-q24	GLC1C		Adult-onset POAG	AD
4q25-q26	RIEG1; IRID2	PITX2	Axentfeld-Rieger syndrome; Iridogoniodysgenesis	AD
5q21.3-q22.1	GLC1G	WDR36	Adult-onset POAG	AD; complex
5q22.1-q32	GLC1M		JOAG	AD
6p25	RIEG3; IRID1	FOXC1	Axentfeld-Rieger syndrome; Iridogoniodysgenesis	AD
7q35-q36	GLC1F		Adult-onset POAG	AD
7q35-q36	GPDS1		Pigment dispersion syndrome	AD
8q23	GLC1D		Adult-onset POAG	AD
9q22	GLC1J		JOAG	AD
9q34.1	NPS	LMX1B	Nail-patella syndrome	AD
10p15-p14	GLC1E	OPTN	Adult-onset POAG; NTG	AD
11p	NNO1		Nanophthalmos	AD
11p13	AN	PAX6	Aniridia	AD
11q23	NNO2	MFRP	Nanophthalmos	AR
13q14	RIEG2		Axentfeld-Rieger syndrome	AD
14q24.3	GLC3C		Congenital glaucoma	AR
14q24	GLC3D	LTBP2	Congenital glaucoma	AR
15q11-q13	GLC1I		Adult-onset POAG	Complex
15q22	XFS	LOXL1	Exfoliation glaucoma	Complex
15q22-q24	GLC1N		JOAG	AD
19q13.3	GLC1O	NTF4	Adult-onset POAG; NTG	Complex
20p12	GLC1K		JOAG	AD

Fan BJ and Wiggs JL, J Clin Invest 2010;120:3064-72 より抜粋。AD:優性遺伝、AR:劣性遺伝



ことによって発症することが報告されている<sup>2)</sup>。開放隅角緑内障の中には若年で発症する (Juvenile open-angle glaucoma) もがあり、その多くはメンデル型式の優性遺伝で発症する。家族性で出現頻度の高いこの種の緑内障は遺伝子解析の歴史が最も古く、多数の論文が発表されている (表2)。

b) ミオシリン

若年性の原発開放隅角緑内障のドイツ人家系の連鎖解析によって遺伝子座が染色体1q21-q31 (GLC1A) であることが明らかにされ、後にミオシリン (Myocilin, MYOC) が発見された<sup>3)</sup>。この遺伝子がコードする504アミノ酸のタンパク質は線維柱帯細胞での発現がきわめて高く、さらにステロイドによって発現量が増加する。これまでにミオシリン遺伝子に約72の遺伝子変異が報告され、若年性の原発開放隅角緑内障患者の約2-5%を占める。その中でも世界的に最も頻度の高いものが

Gln368Stopであるが、日本人では異なる<sup>4)</sup>。遺伝子変異と病態との関係はある程度確立されており、Q368Xは約50-60歳代で、T377Mは約40歳代で、P370LとY437Hは20歳代でそれぞれ発症が確認されている。いずれも高眼圧で視神経乳頭の障害が顕著である。ミオシリンタンパク質はN-末端付近に細胞内外のタンパク質と結合するための領域とタンパク質の機能を制御するロイシンジッパーモチーフ (leucine-zipper motif) がある。さらに後部にオルファクトメディン様ドメイン (olfactomedin-like domain) が存在する。緑内障を発症する遺伝子変異の約9割がこの領域に集中することから、その領域はミオシリンの機能にきわめて重要であると考えられる<sup>5)</sup>。隅角における正常なミオシリンの機能については詳細には解明されていないが、この遺伝子を欠損したマウスでは緑内障を発症せず、内在的に発現する正常なミオシリンに加えて、外来遺伝子として変異体を発現させた場合に

表2 緑内障を発症させる遺伝子群  
ケースコントロールスタディーによる候補遺伝子の探索により発見される

Gene symbol	Gene name	Chromosome location	Condition
ADRB1	β1-adrenergic receptor	10q24-q26	NTG
ADRB2	β2-adrenergic receptor	5q32-q34	Adult-onset POAG
APOE	Apolipoprotein E	19q13.2	NTG
CYP46A1	Cytochrome P450, family 46, subfamily A, polypeptide 1	14q32.1	Adult-onset POAG
EDNRA	Endothelin receptor, type A	4q31.2	NTG
HSPA1A	Heat-shock 70-kD protein 1A	6p21.3	Adult-onset POAG; NTG
IGF2	Insulin-like growth factor II	11p15.5	Adult-onset POAG
MTHFR	5,10-methylenetetrahydrofolate reductase	1p36.3	Adult-onset POAG; NTG
MFN1	Mitofusin 1	3q25-q26	NTG
MFN2	Mitofusin 2	1p36.2	NTG
NOS3	Nitric oxide synthase 3	7q36	Adult-onset POAG
OLFM2	Olfactomedin 2	19p13.2	Adult-onset POAG
OPA1	Optic atrophy 1	3q28-q29	NTG
PARL	Presenilin-associated, rhomboid-like protein	3q27	NTG
PON1	Paraoxonase 1	7q21.3	NTG
TAP1	Transporter, ATP-binding cassette, major histocompatibility complex, 1	6p21.3	Adult-onset POAG
TLR4	Toll-like receptor 4	9q32-q33	NTG
TNF	Tumor necrosis factor	6p21.3	Adult-onset POAG
TP53	Tumor protein p53	17p13.1	Adult-onset POAG

のみ緑内障を発症する。すなわち変異体は新たな機能を獲得して (gain of function) 緑内障を発症している可能性がある。これまでの研究からミオシリンは細胞外基質 (extracellular matrix, ECM) との相互作用によってその構造を制御していると考えられている<sup>6)</sup>。ミオシリンは分泌機能があることから、遺伝子変異によって分泌されず、安定性が低下して、線維柱帯細胞内に蓄積して細胞機能が障害され、細胞死に至ると考えられる。またミオシリンの分泌量の低下か、線維柱帯細胞への障害が原因で眼圧の調整機能が失われ、緑内障に至ると考えられている<sup>7)</sup>。さらにミオシリンはミトコンドリアとの関係も報告されており、P370L変異体を発現すると活性酸素 (reactive oxygen species, ROS) が増加して細胞に障害をもたらす。

### c) オプチニューリン

正常眼圧緑内障の家系の連鎖解析によって

染色体10p15-p14 (GLC1E) に原因遺伝子が存在することが明らかになり<sup>8)</sup>、後にOptic Neuropathy Inducing Proteinとして、オプチニューリン (Optineurin, OPTN) が発見された<sup>9)</sup>。この論文では調査された開放隅角緑内障の家系においての約16%が正常眼圧であることが報告された。しかしながら世界中の研究者がこの報告を追試した結果、その多くは遺伝子変異として検出されず、現在ではE50Kなど、わずかな遺伝子変異のみが緑内障を発症させると考えられている。日本では船山、布施らによってH26D、池らによってE50Kの変異が報告されている (図1)。オプチニューリタンパク質は577アミノ酸から構成され、眼以外の組織でも発現している。オプチニューリンは複数のタンパク質と相互作用することが知られており、Rab8、ハンチントン、ミオシンVIなど、細胞内のゴルジ体から細胞膜外への分泌機能に関わっている。E50Kが位置するタンパク質のN-末端よりの部分はbZIP構造にな

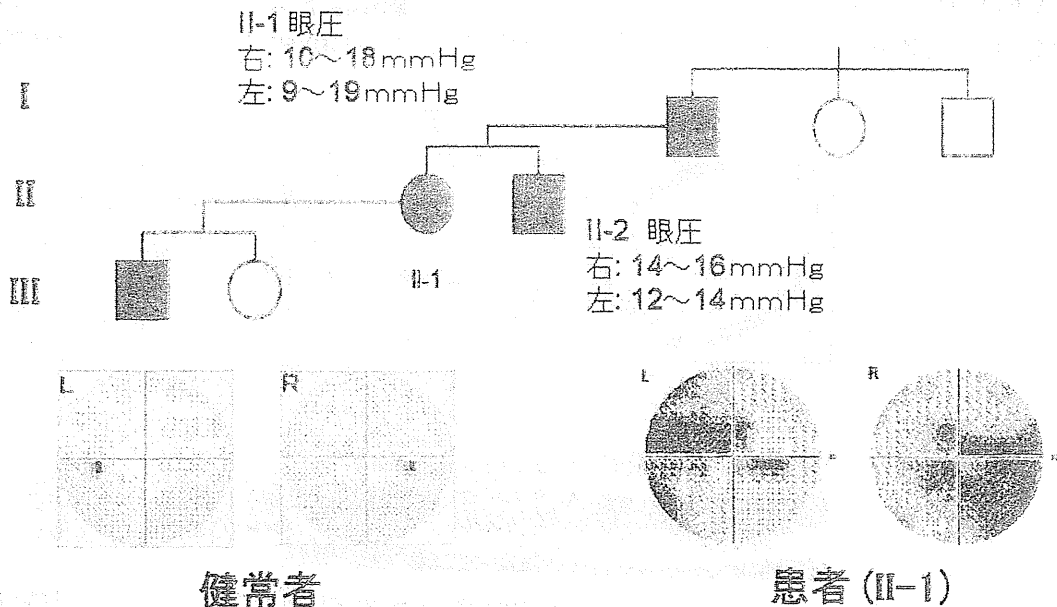


図1 オプチニューリンE50Kの変異体が発見された正常眼圧緑内障の家系と視野検査

家系図: 黒塗り患者、白塗り健常者

(岐阜大学医学部眼科教室 山本哲也教授、川瀬和秀准教授より情報提供<sup>10)</sup>)

っており、変異体を神経節細胞で発現すると細胞死を起こすことや、マウスの全身で発現させると網膜が障害されることから<sup>10)</sup>(図2)、この領域はタンパク質機能にきわめて重要であると考えられる。オプチニューリンはCYP11Bと同様にミオシリンと相互作用すると報告されている。

#### d) WDR36

WDR36は染色体5q22.1 (GLC1G)に存在する開放隅角緑内障の遺伝子としてSarfaraziらによって報告された<sup>11)</sup>。この論文では4つの変異が親戚関係のない17人の患者で発見され、200人のコントロールでは検出されなかった。しかしながらその後の世界的な追試によってこの研究結果は再現されず、遺伝学的には緑内障と直接関係しないとの複数の論文が報告された。その後、最初の論文で発表された遺伝子変異を発現するゼブラフィッシュやマウスが作製された結果、眼球組織に重篤な障害をもたらすことが明らかになり、改めてWDR36が注目されている。WDR36は1つの遺伝子から2.5Kbと5.9kbの2つのmRNAが

発現され、951アミノ酸からなる2つの樽(バレル)構造が連結した構造をとっている。樽構造は7枚の羽根が扇状に連結した構造になっており(図3)、リボゾームRNAの合成に

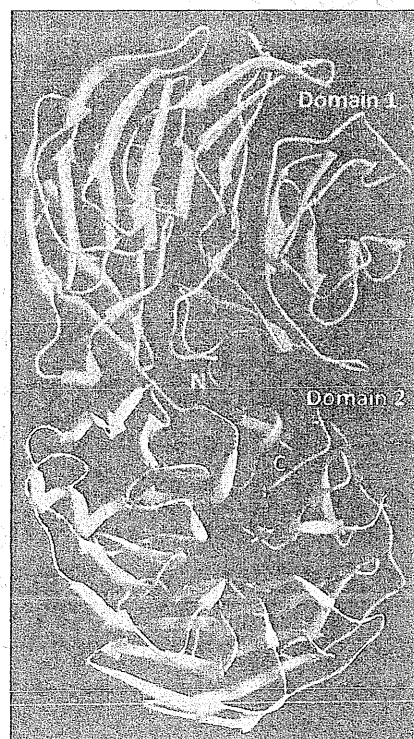


図3 WDR36タンパク質の立体構造  
2つの樽構造が連結している。緑内障を発症する変異体はドメイン2の末端にアミノ酸置換が発見された。[Chi et al., Hum Mol Genet, 2010;19:3806-15]。

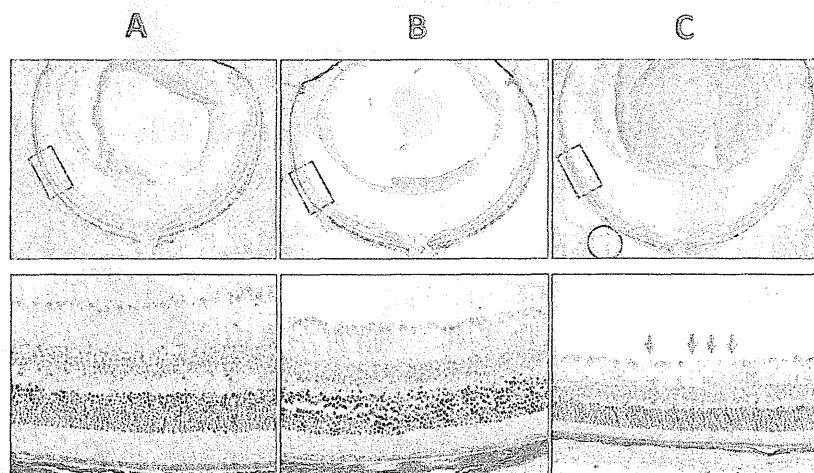


図2 オプチニューリンE50K変異体を発現するマウスの眼球切片  
網膜の周辺域で視神経の委縮が観察された。A: 正常マウス、B: 野生型オプチニューリントランスジェニックマウス、C: E50K変異体オプチニューリントランスジェニックマウス<sup>10)</sup>

必要なタンパク質であることが明らかになっている<sup>12)</sup>。WDR36のアミノ酸配列が種をこえて保存されており、これが欠損したマウスでは胎生致死に至ることからWDR36のリボソームRNA合成機能は生命維持に不可欠であると考えられる。

## 2) 緑内障の感受性遺伝子

緑内障を含む一般的な多因子疾患については近年まで有効な解析手段が存在しなかった。家族性の疾患を探索するための連鎖解析法は十分に機能せず、一般的な疾患 (Common disease) については手つかずの状態であった。しかしヒトゲノム配列の解読が終了し、個々のゲノム配列が比較されることにより、ゲノム中には遺伝子多型といわれる一塩基多型 (Single nucleotide polymorphisms, SNP) が多数存在することが明らかになった。このゲノム中に存在するSNPの頻度を表現型との関係で計算すると、その表現型に関係するSNPが明らかになってくる。さらに、親から孫へ遺伝するゲノム上の連続したゲノム配列を連鎖不平衡 (Linkage disequilibrium, LD) というが、この大きさは人種間で異なり、人類発祥の源流であるアフリカの黒人では短く、アフリカから遠く離れた日本人では長い。SNPとLDの情報をつかって多因子疾患を調べていくと疾患に関係する感受性遺伝子がゲノム上のどの範囲に存在するかの確に予測することができるようになった。同一LDに含まれるSNPを間引きして、全ゲノムをカバーするには数十万単位のSNPを解析する必要があり、これを個々に調べることは事実上不可能であった。この技術的な問題はやがてシリコン上に接着させたオリゴDNAとの反応によって

克服され、さらに高密度化が進むことによってスライドガラス上に集積された100万SNPを調べることによって全ゲノムを対象とする全ゲノム相関解析 (Genome wide association study, GWAS、ジューズ) が緑内障に応用されるようになった。

### a) Lysyl oxidase-like protein 1 (LOXL1)

アイスランド人を対象とした全ゲノム相関解析によって落屑症候群 (落屑緑内障) の感受性遺伝子として染色体15q24.1に存在する lysyl oxidase-like protein 1 (LOXL1) が発見された<sup>13)</sup>。落屑緑内障は落屑物質の線維柱帯への沈着によって眼圧が上昇する緑内障である。

### b) カベオリン1,2 (CAV1, CAV2)

さらに同グループは原発開放隅角緑内障の患者1,263人、コントロール34,877人を対象とした解析によって、感受性遺伝子としてカベオリン1 (CAV1) とカベオリン2 (CAV2) を報告している<sup>14)</sup>。両遺伝子の間にあるSNP rs4236601 ( $p$ 値=5.0 x 10<sup>-10</sup>, オッズ比 (OR) =1.36) が強く相関したが、2次解析ではスウェーデン人、イギリス人、オーストラリア人の合算では $p$ =0.0015, OR=1.18、中国人の合算では $p$ =0.0021, OR=5.42が報告されている。この研究結果はアメリカ人を対象にした追試によって確認されている。カベオリンは細胞膜の中に局所的に存在するコレステロールや糖脂質が集中する場所 (カベオラ) の骨格を形成する膜タンパク質であり、細胞シグナル伝達や細胞内へのコレステロールの取り込み、輸送、排出などにかかわることが明らかにされている。緑内障と相関するSNPがCAV1とCAV2の両遺伝子の間に存在することから、