

精神神経疾患における グルタミン酸トランスポーターの役割

Role of Glutamate Transporters in the Pathophysiology of Neuropsychiatric Diseases

田中光一

Kohichi Tanaka

グルタミン酸は、中枢神経系において主要な興奮性神経伝達物質であり、記憶・学習などの脳高次機能に重要な役割を果たしている。しかし、その機能的な重要性の反面、興奮毒性という概念で表されるように、過剰なグルタミン酸は神経細胞障害作用を持ち、様々な精神神経疾患に関与すると考えられている。筆者らは、グルタミン酸の細胞外濃度を制御するグリア型グルタミン酸トランスポーターの機能を阻害したマウスを作製し、そのマウスに神経細胞変性や社会性行動の障害・強迫性行動・統合失調症様の行動異常が起こることを発見した。グリア型グルタミン酸トランスポーターを活性化する化合物は、新しい抗精神神経疾患薬として有用であると期待される。



グルタミン酸、トランスポーター、精神神経疾患

はじめに

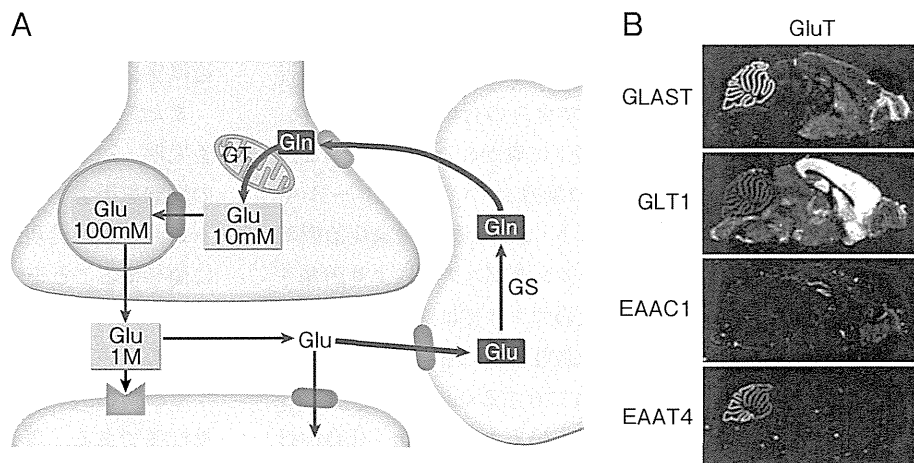
グルタミン酸は哺乳類の中枢神経系において記憶・学習などの高次機能を調節する主要な興奮性神経伝達物質として知られている¹⁾。一方で、細胞外グルタミン酸の上昇は、グルタミン酸受容体 (GluR) の過剰な活性化によりグルタミン酸興奮毒性と呼ばれる神経細胞障害作用を持ち、多くの精神神経疾患に関与している。このためシナプス間隙におけるグルタミン酸濃度は厳密に制御される必要があり、グルタミン酸トランスポーター (GluT) がその役割を担う。これまで哺乳類の中枢神経系において、5種類のGluTサブタイプ、EAAT1 (GLAST), EAAT2 (GLT1), EAAT3 (EAAC1), EAAT4, EAAT5がクローニングされている。GLAST, GLT1は主にアストロサイトに、EAAC1とEAAT4は神経細胞に、EAAT5は網膜に発現している。シナプス間隙におけるグルタミン酸の除去は、主にアストロサイトに存在する2種類のGluTであるGLAST, GLT1の活性により制御されている (図1)。本稿では、GLAST, GLT1の機能障害に着目し、その機能障害がどのような精神神経疾患の発

症に関与するかを概説する。

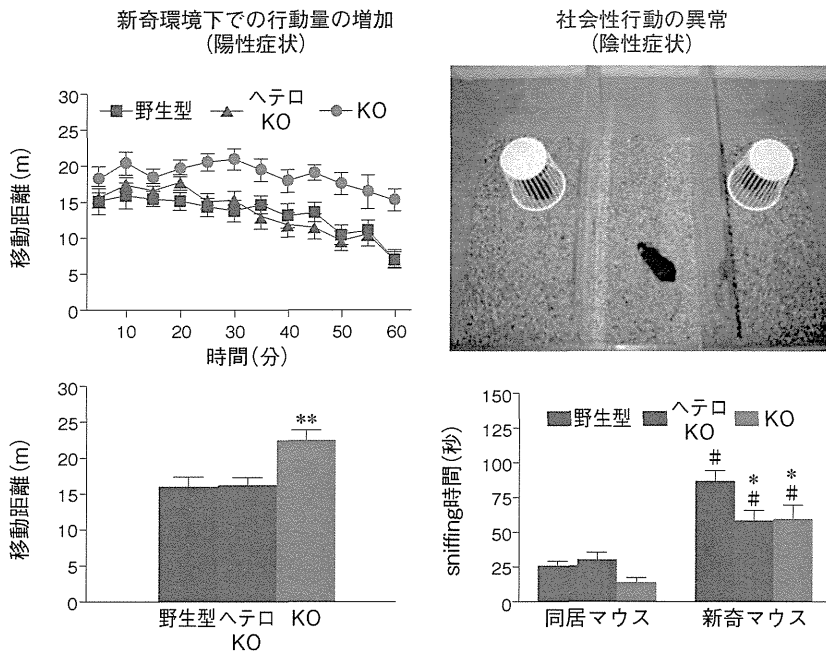
I GluTと精神疾患

1. 統合失調症におけるGLASTの関与

統合失調症は、幻覚・妄想などの陽性症状と、無為自閉、感情鈍麻、意欲の減退などの陰性症状を示し、世界中でおよそ100人に1人が発症する精神疾患である。NMDA (N-methyl-D-aspartic acid) 型GluR (NMDAR) 欠損マウスやNMDAR



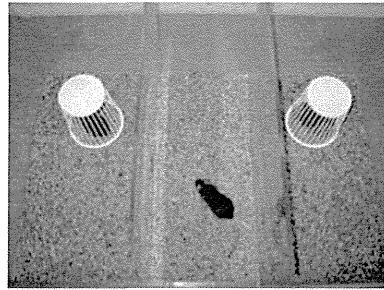
■図1 シナプスのグルタミン酸動態 (A) と GluT mRNA の脳内局在 (B)
Glu; グルタミン酸, Gln; グルタミン, GS; グルタミン合成酵素, GT; グルタミナーゼ. Bはマウス脳の矢状断面像。



■図2 GLAST欠損マウスは統合失調症に似た行動異常を示す
* ; P<0.05, ** ; P<0.01 (vs. 野生型), # ; P<0.05 (vs. 同居マウス)。

阻害剤を投与された動物が統合失調症様の症状を示すことから、グルタミン酸神経伝達の低下が統合失調症の有力な病態であると考えられている。しかし、最近の臨床試験結果から、グルタミン酸放出を抑制する代謝型GluRであるmGluR2/3アゴニストが統合失調症の治療薬として有望であることが報告された²⁾。この報告は、統合失調症では細胞外グルタミン酸濃度が上昇し、脳全体として興奮性優位となっている可能性を示唆している。さらに、統合失調症患者のゲノムワイドな遺伝子解析から、GLAST遺伝子座に染色体欠失がある症例が報告された³⁾。そこでGLAST欠損マウスの行動解析を行った。GLAST欠損マウスは、新規環境下に置かれると、野生型と比べ行動量が増加し(図2)、その増加はハロペリドールやLY379268(mGluR2/3アゴニスト)などの統合失調症治療薬で改善される⁴⁾。さらに、GluRアンタゴニストにより誘発される行動量の増加が、GLAST欠損マウスでは悪化する⁵⁾。これらの行動異常は統合失調症の陽性症状に相当する。また、GLAST欠損マウスは新奇マウスに対するsniffing(嗅ぐ)などの行動時間が減少し、巣作り行動も障害されており、社会性行動に障害が見られる⁶⁾(図2)。これらの行動異常は統合失調症の陰性症状に相当する。さらに、GLAST欠損マウスはpairwise discrimination task^{注1)}が障害され、統合失調症の認知障害に類似した症状を示す⁶⁾。つまり、GLAST欠損マウ

社会性行動の異常
(陰性症状)



スは統合失調症のモデル動物としての要件をすべて満たしており、“アストロサイトに発現するGluTであるGLASTの機能異常によるグルタミン酸機能亢進”が統合失調症の発症に重要な役割を果たすと考えられる。

統合失調症の主要な仮説の1つとして、“神経発達障害仮説”がある。統合失調症患者では、海馬・扁桃体の細胞構築の異常や萎縮、側脳室・第三脳室の拡大が認められること、死後脳においてグリオシス(アストロサイトの増生)が認められないことから、その発症には神経発達障害が関与すると考えられている。そこで筆者は、GluTの機能障害が統合失調症に似た神経発達障害を引き起こすのではないかと考えた。GLASTおよびGLT1の両者を欠損させたダブル欠損マウス(DKマウス)を作製し、脳形成期におけるグルタミン酸機能亢進状態を再現した⁷⁾。DKマウスは胎生17日以降に死亡し、大脳皮質・海馬の層形成障害、扁桃体の核形成障害、側脳室・第三脳室の

拡大など統合失調症に似た神経発達障害を示した。これらの脳発達障害は、GluR阻害剤により正常化された⁷⁾。詳細な解析により、DKマウスの脳形成異常は、神経細胞の法線移動(脳表方向への移動)と突起伸長の障害によることがわかった⁷⁾。さらに、DKマウスの脳では視床で神経細胞死が見られた。なお、統合失調症患者では、視床の体積減少、課題遂行中の血流低下、代謝異常が報告されている。以上の結果は、胎児期のGluTの機能障害は統合失調症に似た神経発達障害を起こすことを示している。

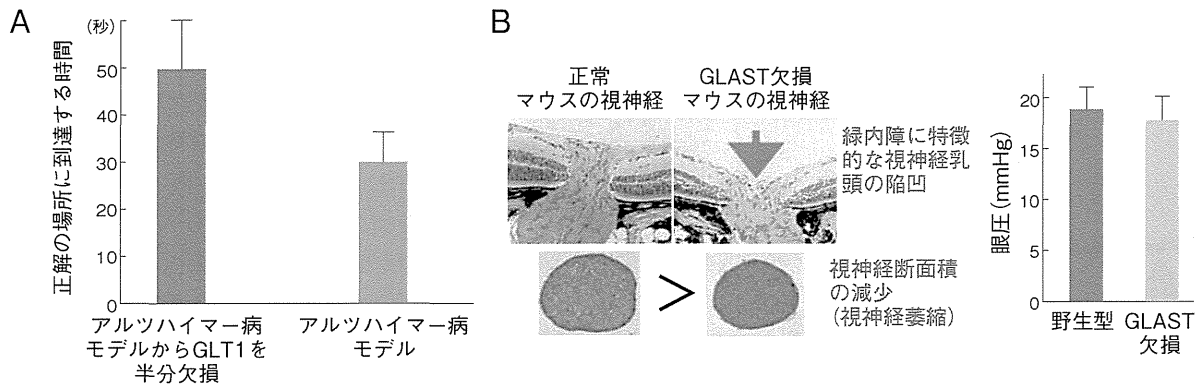
また、疫学的に統合失調症発症との関連性が示されている胎児期・周産期の栄養障害・脳虚血・ウイルス感染はGluTの機能を阻害することが知られている。これらのことはアストロサイトに発現するGluTの機能障害が統合失調症の発症に関与することを示している。

2. うつ病におけるGLAST, GLT1の関与

うつ病は、抑うつ気分と興味・喜びの喪失を特徴とする精神疾患である。現在、うつ病の病態にはモノアミン系のシナ

注1 pairwise discrimination task

対図形弁別学習課題のことで、タッチパネルに一对の図形を提示し、正解の図形に鼻を触れると、報酬がもらえる。マウスやラットの認知機能を調べる課題の1つである。



■図3 神経疾患におけるGLT1およびGLASTの関与
 A: GLT1欠損はアルツハイマー病モデルの学習障害を悪化させる。
 B: GLAST欠損マウスは正常眼圧緑内障のモデルである。

プス伝達障害が関与すると考えられており、選択的セロトニン再取り込み阻害剤をはじめ、セロトニン・ノルアドレナリン再取り込み阻害剤が広く使用されている。しかし、これらの抗うつ薬の有効率は70%であり、30%の患者には薬剤抵抗性が見られた。さらに、従来の抗うつ薬は治療効果が得られるまでに多くの時間を必要とし、たとえ効果があっても再発の頻度が高く、モノアミン系のシナプス伝達障害だけでは、うつ病の病態を説明できないことが明らかになりつつある⁸⁾。近年、うつ病においてもグルタミン酸神経伝達系の亢進を示唆する以下のような証拠が蓄積し、1つの仮説を形成しつつある⁹⁾。

- ①NMDAR阻害剤であるケタミンがうつ病患者および動物モデルにおいて即効性の抗うつ作用を持つ⁹⁾。
- ②うつ病患者の血中・脳脊髄液中・脳内のグルタミン酸濃度が上昇している^{10), 11)}。
- ③うつ病患者の脳ではGLAST, GLT1が減少している¹²⁾。
- ④GLT1の発現を増強するβ-ラクタム系抗生物質(セフトリアキソン)が、マウスの強制水泳や尾懸垂テストの無動時間を減少させる¹³⁾。
- ⑤GLAST・GLT1を活性化するリゾールは治療抵抗性うつ病に効果がある¹⁴⁾。

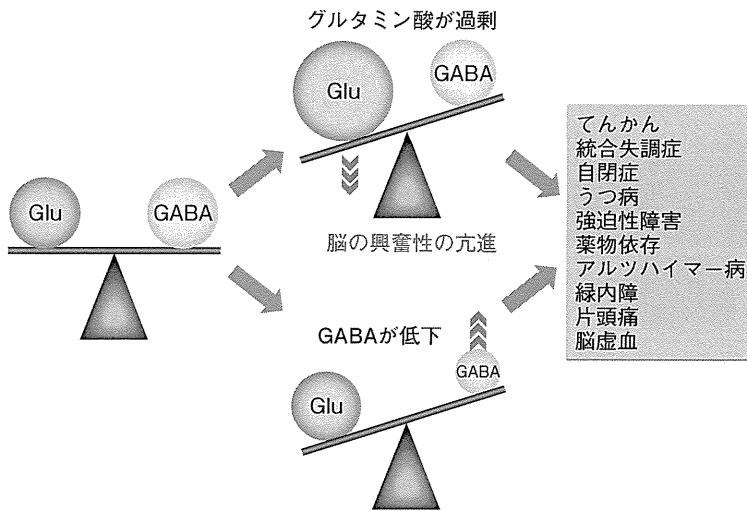
GLASTおよびGLT1の発現が半分に減少しているダブルヘテロ欠損マウスを用い、強制水泳や尾懸垂テストなどのうつ病様行動異常を解析中である。これまでに、セフトリアキソンおよびリゾールの抗うつ作用はGLTヘテロ欠損マウスで減少していることがわかった。また、GLT1阻害剤であ

るジヒドロカイニン酸を前頭前野皮質に注入すると、リゾールの抗うつ作用が阻害された。さらに、うつ病の発症に重要な役割を果たすストレスがGLT1, GLASTの機能を阻害することも報告されている。これらの知見から、GluTの機能不全によるグルタミン酸神経伝達系の過剰な活性化がうつ病の発症にも関与している可能性がある。現在筆者らは、GluTの脳部位特異的欠損マウスを作製し、新しいうつ病モデルを作製中である。

3. 強迫性障害におけるGLT1の関与

強迫性障害は、従来、強迫神経症と呼ばれていた、強迫観念・強迫行為を特徴とする不安障害である。その多くが思春期過ぎから発症し、人口の2~3%が罹患歴を持つ。以前は、脳内のセロトニン神経伝達の減少が強迫性障害の原因と考えられてきた。しかし、セロトニン神経伝達を上昇させる抗うつ薬などの治療では、完全に症状が消失する患者はごく一部であり、セロトニン神経伝達の減少だけではこの疾患の原因は説明しきれない。他にも、ドーパミン神経伝達の変化や自己免疫障害などが仮説として挙げられているものの、強迫性障害の詳しい病態はいまだによくわかっていない。最近の研究報告は、グルタミン酸神経伝達の亢進が強迫性障害を起こす可能性を示唆しており、新たに注目を集めている。主なものに、①強迫性障害患者の中枢神経内ではグルタミン酸量が増加し、これによる神経伝達が亢進している、②グルタミン酸神経伝達に関わる遺伝子の1塩基多型頻度が強迫性障害患者では増加している、③グルタミン酸神経伝達を抑制する薬剤に強迫性障害の治療効果がある、といったことが挙げられる¹⁴⁾。

誘導型Cre-loxPシステムを使って生後3週齢にGLT1遺



■図4 グルタミン酸伝達の亢進およびGABA伝達の低下による興奮と抑制のアンバランスが様々な精神神経疾患を引き起こす

伝子欠損を誘導すると、マウスの思春期に相当する7週齢の時点で、GLT1タンパク質の量は対照群と比べて最大約30%にまで減少した。このマウスは過度な毛繕い行動を示すようになり、顔面には激しい裂傷が生じた。だが、痛覚や皮膚に異常が見られないことから、過度な毛繕い行動は中枢神経系の異常に起因すると考えられる。この行動異常は強迫性障害に見られる過度な手洗いや入浴といった強迫行為に相当し、強迫性障害の新しいモデル動物になると考えられる。このモデルでは、不安の亢進や見られず、純粋な強迫性行動のみを再現したモデルと考えられる。現在、このモデルを用いて、強迫性障害の病態解明や新規治療薬の開発を行っている。

4. 自閉症におけるGLAST, GLT1の関与

自閉症は、社会性行動の喪失や言語発達の遅延を特徴とする脳高次機能の発達障害である。グルタミン酸神経伝達系の異常は自閉症の重要なリスクであり、脳の形成にきわめて重要な役割を持つ。自閉症様の行動を示す脆弱X症候群や結節性硬化症の患者ではグルタミン酸神経伝達の異常が報告されている。最近の大規模な自閉症のゲノムワイドな連鎖解析により、11番染色体の11p12-13が自閉症に関連があることが明らかになった¹⁵⁾。この領域はGLT1の遺伝子座である。さらに、コロンビア大学のグループによる別の解析結果からは、5番染色体の5p12-13が自閉症に関連する遺伝子座であることが明らかになっている。この領域はGLASTの遺伝子座である。最近、筆者らはGLT1およびGLASTヘテロ欠損

マウスの一部が、社会性行動の異常・不安の亢進・触覚過敏・てんかん発作・海馬・扁桃体の肥大などの自閉症に似た行動異常・脳の形態異常を示すことを見つけた。また、これらの異常を示すマウスの数には性差があり、雄雌比は5対1で、ヒト自閉症の男女比4対1と同様である。これらの知見を総合すると、GluTの機能不全によるグルタミン酸神経伝達系の過剰な活性化が自閉症の発症に関与する可能性がある。

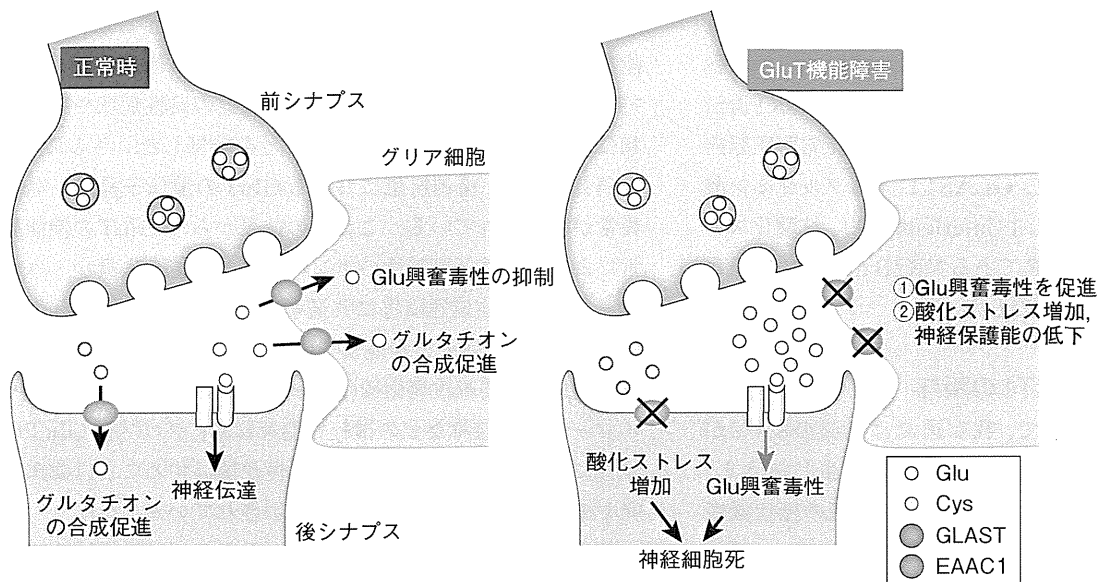
5. 薬物依存におけるGLT1の関与

最近、薬物依存に関しても、モノアミン系の障害だけでなく、グルタミン酸シナプス伝達の障害が関与することが示された¹⁶⁾。モデル動物を用いた研究から、モルヒネ依存時に側座核におけるGLT1の減少、GLT1阻害剤によるモルヒネ精神依存および禁断症状の増悪、GLT1活性化薬および遺伝子導入による過剰発現によるモルヒネ・メタンフェタミンの身体依存および精神依存の減弱などが報告されており、モルヒネ、コカイン、覚醒剤などの依存薬物による精神・身体依存形成にはグリア型GluTであるGLT1の機能障害が関与している。

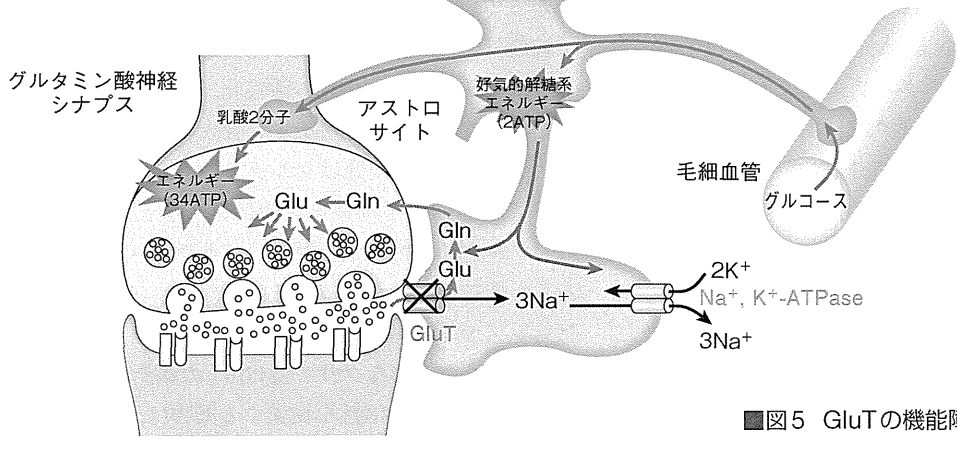
II GluTと神経疾患

1. アルツハイマー病におけるGLT1の関与

アルツハイマー病は、神経変性により起こる認知症で、我が国には約100万人の患者がいると推定されている。また、高齢化により患者数は増加し、超高齢化社会を迎える日本にとって根本的な治療法の確立が望まれている。アルツハイマー病の病態に過剰なGluRの活性化が関与することは、GluR阻害剤であるメマンチンが治療薬として用いられていることから明らかである。GluTの障害がアルツハイマー病の発症に関与することを示す証拠として、①アルツハイマー病患者の脳ではGLAST, GLT1, EAAC1の発現量が減少している¹⁷⁾、②アルツハイマー病モデルマウスのGLT1発現量を低下させると空間学習の障害が促進される¹⁸⁾(図3A)、③アルツハイマー病における神経変性の原因物質と考えられているβアミロイドタンパク質によりGLT1の機能が障害される、などがある。GLT1の活性化薬が新規アルツハイマー病の治療薬として有効かどうか、モデル動物による評価が期待される。



③神経活動亢進に伴うエネルギー補給の障害



■図5 GluTの機能障害が神経機能に及ぼす影響

2. 正常眼圧緑内障におけるGLAST, EAAC1の関与

緑内障は“眼の成人病”と言われ、40歳以上では約5%が潜在的に罹患していると考えられており、日本人の中途失明原因の第1位となっている。さらに、社会の高齢化に伴い、緑内障の患者数は増加することが予想され、その治療は活力ある高齢化社会を作るためには必要不可欠である。日本における緑内障の約70%は正常眼圧緑内障であるが、その病態は不明であり、有効な治療法の開発が期待されている。正常眼圧緑内障は遺伝的要因の関与が大きいことが知られているが、多因子疾患であり、従来の連鎖解析法では疾患関連遺伝子の同定は困難である。このような手詰まりの状況において、正常眼圧緑内障の病態解明・治療法の開発を進めるためにはモ

デル動物を用いた研究が大きな役割を果たす。筆者らは、GLAST, EAAC1欠損マウスでは眼圧が正常であるにもかかわらず、網膜神経節細胞が加齢に伴い選択的に変性し、視神経乳頭陥凹が起こることを発見した。これらの表現型は、ヒト正常眼圧緑内障の病態に酷似しており、世界で初めての正常眼圧緑内障のモデル動物である¹⁹⁾(図3B)。筆者らは、このモデル動物から得られた知見をもとに、緑内障患者におけるGLASTとEAAC1の全エクソンリシーケンスを行った。その結果、緑内障患者特異的にアミノ酸置換を伴うGLASTのミスセンス変異4種類を見つけた。4種類のミスセンス変異体のグルタミン酸取り込み活性を測定したところ、2種類の変異で取り込み活性の低下を確認した。この結果は、GLASTの遺伝子異常によるグルタミン酸輸送活性の低下が、緑内障の発症に関与していることを示している。

EAAC1に関しては緑内障に特異的な1塩基多型・変異は見つからなかった。また、モデル動物における網膜神経節細胞の変性に、酸化ストレスにより細胞死を誘導するASK1遺伝子が関与することを明らかにした²⁰⁾。さらに、正常眼圧緑内障の新規治療薬の候補として、GLASTによるグルタミン酸の取り込み量を増大させるIL-1 (interleukin-1), 抗酸化ストレス活性を持つ水素水, GluRであるNR2Bを選択的に阻害する化合物HON0001を見いだした。

3. 片頭痛におけるGLT1の関与

片頭痛はありふれた疾患で、我が国では人口の8.4%が罹患している。発作の間は日常生活に支障が生じるうえ、発作の予防・治療が難しい病気である。片頭痛の発症機序の詳細は不明であるが、最近では“CSD (cortical spreading depression, 大脳皮質の拡張性抑制)”による神経細胞の過剰な興奮が主な原因であると考えられている。これまでに同定された原因遺伝子5個 (CACNA1A, SCN1A, ATP1A2, NBCe1, MTDH)のうち3つは、グリア細胞におけるGluTの活性を制御する遺伝子ATP1A2 (アストロサイトに発現するNa⁺ポンプのサブユニット), NBCe1 (アストロサイトに発現するNa⁺/HCO₃⁻共輸送体), MTDH (アストロサイトに発現するGLT1の発現を抑制する遺伝子)であり、片頭痛の共通の発症機序にグリア型GluTの機能異常が関与すると考えられている²¹⁾。筆者らは、GLT1欠損マウスを用い、グリア型GluTの片頭痛発症における病態生理学的役割を明らかにしようとしている。

おわりに

統合失調症、うつ病、自閉症、強迫性障害は代表的な精神疾患であり、独立した疾患単位として考えられている。しかし、分類が難しい境界例が存在すること、統合失調症や重症のうつ病が同一家系に集積すること、社会性の低下や不安の亢進など共通の症状が存在することから、すべての精神疾患は単一の精神病の異なった段階・表現型であるという単一精神病仮説が提唱されている。これらの疾患の共通の病態として、神経伝達の障害および神経発達障害が示唆されている。グルタミン酸は統合失調症に関与する神経伝達物質として知られているが、最近になり、うつ病にも関与していることが示された。筆者らは、グルタミン酸シナプス伝達の過剰な活性化が、脳の発達障害をもたらすことを明らかにした。また、

筆者らは、グルタミン酸の細胞外濃度を制御するGluTの機能を阻害したマウスを作製し、そのマウスに社会性行動の障害・不安亢進・強迫性行動・統合失調症の陰性症状や陽性症状に相当する行動異常が起こることを発見した。さらに、臨床研究からも、精神疾患におけるGluTの遺伝子異常・発現異常が報告されている。これらの結果から、“GluTの機能異常による興奮性と抑制性のアンバランスが統合失調症・うつ病・自閉症・強迫性障害に共通する病態である”という作業仮説を立てて、研究を推進している (図4)。

脳虚血・筋萎縮性側索硬化症・ハンチントン病・アルツハイマー病・緑内障などの神経細胞死にも、グリア型GluTの障害によるグルタミン酸の興奮毒性が関与することは臨床研究やモデル動物を用いた研究から示されている (図4)。

グリア型GluTの機能障害はどのようにして神経細胞死および神経細胞の形成・機能障害をもたらすのか？ 現在までわかっている機序としては、以下の3つが考えられる (図5)。
①細胞外グルタミン酸濃度の上昇によるシナプス外GluRおよび隣接シナプスGluRの活性化、②グリア内グルタミン酸の枯渇をもたらすグルタチオン合成の減少による酸化ストレスの亢進 (グリア細胞はグルタミン合成酵素を持っており、グリア細胞内のグルタミン酸はグルタミンに変換されている。グルタミン酸の供給源としてトランスポーターは重要である)、③神経活動が亢進している部位への選択的エネルギー補給システムの障害。

このような多彩なグリア型GluTの機能を考えると、GluTの転写や取り込み活性を促進する薬物は、新しい抗精神神経疾患薬として有用であると期待される²²⁾。

PROFILE 田中光一

- 東京医科歯科大学 難治疾患研究所 分子神経科学
- E-mail : tanaka.aud@mri.tmd.ac.jp

1983年新潟大学医学部卒業。佐賀医科大学生理学助手、理化学研究所基礎科学特別研究員、国立精神・神経センター神経研究所疾病研究第4部長を経て、1998年より東京医科歯科大学難治疾患研究所分子神経科学教授。研究テーマは精神神経疾患とグルタミン酸。

文献

- 1) Nakanishi S, et al: Brain Res Brain Res Rev (1998) 26: 230-235
- 2) Ting JT, et al: Curr Chem Genomics (2008) 2: 62-75
- 3) Walsh T, et al: Science (2008) 320: 539-543
- 4) Patil ST, et al: Nat Med (2007) 13: 1102-1107
- 5) Karlsson RM, et al: Biol Psychiatry (2008) 64: 810-814
- 6) Karlsson RM, et al: Neuropsychopharmacology (2009) 34: 1578-1589
- 7) Matsugami TR, et al: Proc Natl Acad Sci USA (2006) 103: 12161-12166
- 8) Kugaya A, et al: CNS Spectr (2005) 10: 808-819
- 9) Sanacora G, et al: Nat Rev Drug Discov (2008) 7: 426-437
- 10) Hashimoto K, et al: Biol Psychiatry (2007) 62: 1310-1316
- 11) Mitani H, et al: Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry (2006) 30: 1155-1158
- 12) Choudary PV, et al: Proc Natl Acad Sci USA (2005) 102: 15653-15658
- 13) Mineur YS, et al: Biol Psychiatry (2007) 61: 250-252
- 14) Sanacora G, et al: Biol Psychiatry (2007) 61: 822-825
- 15) The Autism Genome Project Consortium: Nat Genet (2007) 39: 319-328
- 16) Kalivas PW: Nat Rev Neurosci (2009) 10: 561-572
- 17) Chen KH, et al: J Alzheimers Dis (2011) 26: 755-766
- 18) Mookherjee P, et al: J Alzheimers Dis (2011) 26: 447-455
- 19) Harada T, et al: J Clin Invest (2007) 117: 1763-1770
- 20) Harada C, et al: Cell Death Differ (2010) 17: 1751-1759
- 21) Anttila V, et al: Genome Med (2011) 3: 17
- 22) Tanaka K: Trends Mol Med (2005) 11: 259-262

V. 線維柱帯切開術 [トラベクトミー] /C. その他の流出路再建術

7. 隅角癒着解離術

森 和彦

[京都府立医科大学眼科]

はじめに

隅角癒着解離術 goniosynechialysis (GSL) は周辺虹彩前癒着 (PAS) をはずして生理的房水流出路を再建する手術である¹⁾。手術の際には手術用隅角鏡と隅角癒着解離針が必要である。ここでは主としてダブルミラー型隅角鏡²⁾ (図1) を用いた隅角癒着解離術の基本的な手技に関して解説する。なお、従来型の手術用隅角鏡を用いる場合には、視軸方向から隅角を観察・操作することが困難であるため、顕微鏡・眼球・患者の頭部を目的とする方向へ傾斜もしくは回旋させる必要がある (図2)。

1. 適応と禁忌

適応はPASを伴う原発閉塞隅角症/緑内障とプラトー虹彩による慢性閉塞隅角緑内障である。有水晶体眼では白内障手術併用により効果が大きい。術前のPASが広範囲なほど眼圧下降効果が大きい。癒着期間が長いと効果が少なく、線維柱帯切開術併用か線維柱帯切除術へ術式変更が必要。一般に続発閉塞隅角緑内障には無効である。

●ポイント

- ・適応決定には術前の圧迫隅角検査が必須
- ・続発閉塞隅角緑内障には無効

2. 術前処置

術前には圧迫隅角検査を行い、機能的閉塞と器質的閉塞の鑑別を行うとともに、癒着の部位

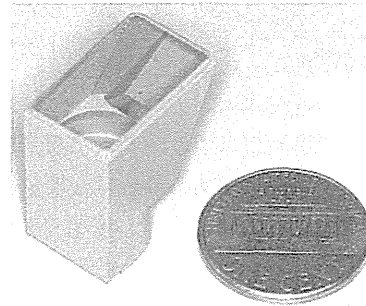
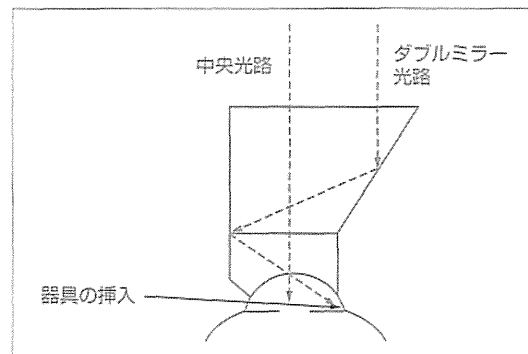


図1 ダブルミラー型手術用隅角鏡

と範囲をよく同定しておく。術前の角膜内皮スペキュラ検査を行い、内皮が少ない場合にはより慎重な適応決定が必要である。術前の瞳孔管理として白内障同時手術の際には散瞳、GSL単独手術の際には縮瞳を行う。その他、術前の感染予防処置などは白内障手術に準じる。

●ポイント

- ・術前処置は基本的には白内障手術に準じる
- ・瞳孔管理は白内障手術併施時には散瞳、それ以外は縮瞳

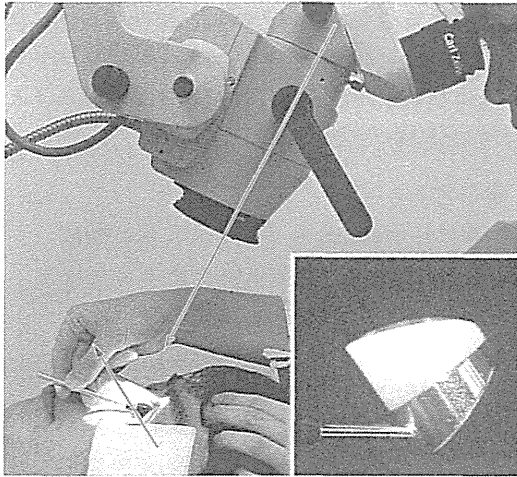


図2 従来型隅角鏡の場合のセッティング
顕微鏡を傾げるか頭部や眼球を目的とする方向へ調整する必要がある。

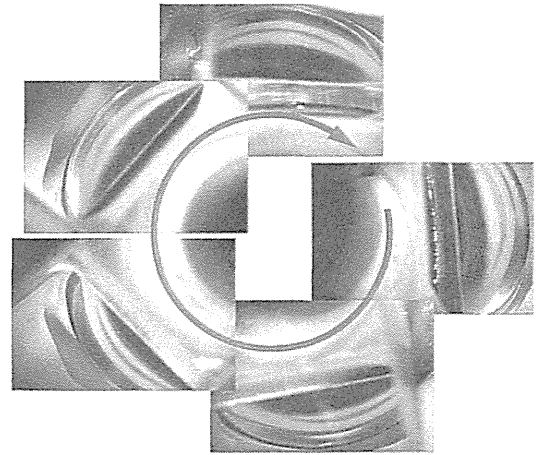


図3 隅角鏡の回転による全周の隅角の確認

3. 手技の実際

1. 粘弾性物質による前房形成

サイドポート作成後、癒着解離操作中の房水流出に伴う浅前房化を防ぐため、可能な限り前・後房水を抜去し前房を完全に粘弾性物質で置換する。粘弾性物質を十分に充填することで隅角を広げ、前房内のワーキングスペースを確保することができる。また軽い程度の癒着ならば粘弾性物質のみで解離させることもできる。

●ポイント

- ・可能な限り房水を除去し、粘弾性物質に完全に置換

2. 隅角の確認

ダブルミラー型手術用隅角鏡を角膜上に載せ、360°回転させて全周にわたって隅角の癒着範囲を確認する(図3)。また非癒着部位で強膜岬の位置を確認し、解離目標となる高さを設定する。従来型隅角鏡では全周にわたって隅角を観察するために顕微鏡・眼球・頭部を目的とする方向へ傾斜もしくは回旋させる必要がある。

●ポイント

- ・ダブルミラー型は回転のみで全周の隅角

が確認可能

- ・従来型では顕微鏡・眼球・頭部を目的とする方向に調整

3. ポート作成

癒着部位対側に隅角癒着解離針挿入用のポートを作成する。通常は1ポートで約120°の領域をカバーできるので、3ポートあればほぼ全周のPASに対応可能である。

●ポイント

- ・癒着部位の対側にポートを作成
- ・1ポートで約120°の領域をカバー可能

One Point Advice

耳側の癒着に対しては鼻側からアプローチする必要があるが、鼻が邪魔となって挿入できない場合がある。ポートの位置を上下いずれかの方向へずらし、眼球を外転させて鼻を避ける。

4. 癒着解離

サイドポートより隅角癒着解離針を挿入する(図4,5)。癒着部位に先端を当て、線維柱帯表面をなでるように虹彩根部を後方へ押し下げて癒着を解離する(図6)。虹彩を押しすぎると隅

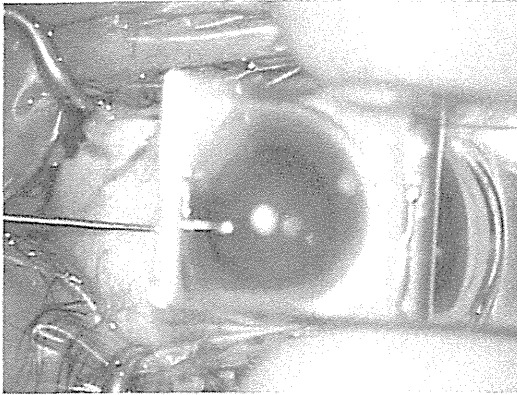


図4 サイドポートからの癒着解離針の挿入(ダブルミラー型)

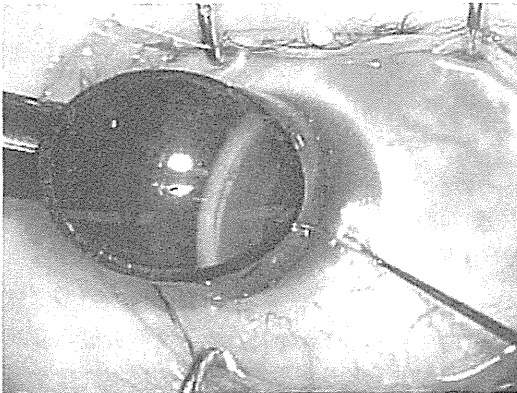


図5 サイドポートからの癒着解離針の挿入(従来型)

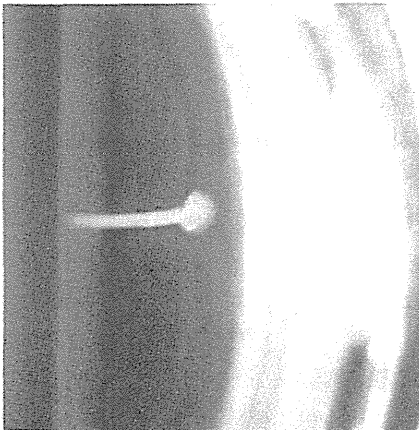


図6 癒着解離の実際

角損傷をきたし、血管が破綻して出血する。少量では継続可能であるが、多量では視認性不良となるため粘弾性物質で押し流すか、ボスミン入りBSS液で洗浄する。

●ポイント

- ・線維柱帯表面をなでるように癒着解離
- ・押しすぎると医原性隅角損傷を起し、出血する

Advanced Techniques

隅角癒着解離針としては永田式、上野式などがあるが、いずれもへら部分と針穴の位置により右用と左用があり、癒着部分と挿入ポートの位置と角度によって使い分ける(図7)。筆者らは白内障用の核分割スパーテルの先端形状を修飾して、独自の隅角癒着解離スパーテル(はんだや)を作成し、癒着解離に用いている(図8)。

5. 全周の癒着解離

隅角癒着が広範囲にある場合、従来型手術用隅角鏡では部位に応じて顕微鏡・眼球・頭部を調整し、2から4を反復する。ダブルミラー型隅角鏡は隅角鏡の回転のみで他の部位の癒着解離が可能である。

●ポイント

- ・広範囲の癒着ではその都度向きを調整する
- ・ダブルミラー型では回転させて別ポートから癒着解離

6. 白内障手術の併施

白内障同時手術ではGSL後に白内障手術を施行する。先に白内障手術を施行した方が前房が深く確保できるため安全であるとの意見もあるが、明らかに視認性が低下するため、筆者は推奨しない。GSL単独では前房内粘弾性物質を吸引除去する。

●ポイント

- ・白内障手術の前にGSLを行う(異論あり)

7. 術終了時の処置

オビソート®(アセチルコリン)を前房内に注入して縮瞳させる。

4. 術後管理

術後の安静度は白内障手術に準じる。通常の白内障手術術後よりも炎症が強くなる可能性があるため、術後のステロイドならびに非ステロイド点眼は通常よりも投与期間を長めに設定する。また術後しばらくは縮瞳薬で再癒着防止を図るとともに、プラトー虹彩や有水晶体眼ではレーザー隅角形成術(LGP)を施行する(全例に行うべきであるとの意見もある)。

●ポイント

- ・通常の白内障手術よりは炎症が強くなる
- ・やすい

5. 合併症と対策

合併症には無理な隅角操作による角膜内皮障害と炎症に伴う隅角再癒着がある。本来の虹彩附着部を超えて過剰な癒着解離を行った場合には前房出血が必発のみならず医原性毛様体解離から高度の炎症を惹起する。このような合併症は隅角を盲目的に癒着解離した場合に生じやすく、術後には意外と眼圧が良く下がるので術者にフィードバックがかけにくい。通常、GSLのみで眼圧10mmHg以下に下降することはきわめてまれであり、そのような症例が続くときには手術手技をよく見直す必要がある。

合併症予防のポイントは視認性の確保である。隅角構造をしっかりと視認し、十分に拡大して操作を行うことにより隅角損傷防止のみならず、器具接触による角膜内皮障害も防止可能である。また白内障同時手術例では白内障手術前に隅角操作を行った方が術創の影響を受けないために視認性に優れる。

●ポイント

- ・GSLのみで10mmHg以下に下降すること

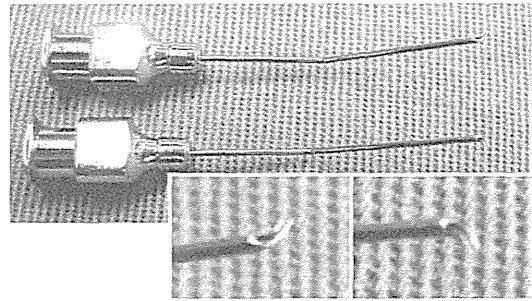


図7 隅角癒着解離針(永田式)

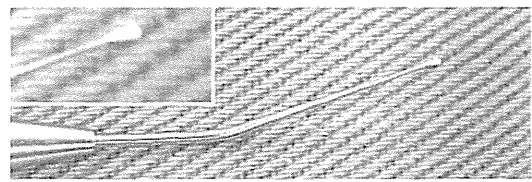


図8 専用の隅角癒着解離スパテル

はまれ、医原性毛様体解離の可能性あり

- ・合併症予防のためには視認性の確保が重要

6. 術後成績

眼圧上昇機序がPASに伴う閉塞隅角のみによるものであれば、術後眼圧は正常化する。PAS形成が長期にわたって線維柱帯機能が低下している場合には、眼圧下降が不良であり追加手術が必要となる。

おわりに

GSLは隅角鏡の把持と癒着解離針の繊細な操作に習熟することが必要であり、初心者にとっては難易度の高い手術の一つであるが、濾過胞を作らない安全な手術としてマスターしておいて損はない。ただし適応の選択には術前の隅角評価が重要であり、常日頃から隅角検査に慣れ親しんでおく必要がある。

文献

- 1) Tanihara H. et al : Surgical results and complications of goniosynechialysis. Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol 230 : 309-313. 1991
- 2) Mori K. et al : Double-mirror gonioscopes with dual viewing system for goniosurgery. Am J Ophthalmol 143 : 154-155. 2007

IV. 線維柱帯切除術 [トラベクトミー] / C. 濾過手術応用編

5. 角膜移植後

池田陽子・森 和彦

[京都府立医科大学眼科]

はじめに

かつて治療が困難であった難治角結膜疾患は近年の眼表面再建術を含む移植の進歩により治療可能になってきた(図1)。角膜移植後にはさまざまな合併症が発症するが、重篤な合併症の1つに緑内障があげられる。角膜移植後続発緑内障は移植全体の9~35%の症例で発症してくると報告^{1~3)}されている。これら続発緑内障の眼圧上昇機転は多岐にわたる。また術後の経過観察期間によって異なるだけではなく(表1)、基礎疾患や移植術式によっても異なるため(図2)非常に複雑である。しばしば難治性であることが多く、移植角膜片機能不全になる最も重大な要因の1つとなっている。また免疫抑制薬の使用により易感染性という特殊な環境下に生じるのも特徴の1つである。このような角膜移植後続発緑内障に対し、保存的療法で眼圧コントロールが得られない場合には緑内障手術が必要となるが、その術前評価や周術期管理には通常の緑内障手術とは異なる点が多々ある。本項では全層角膜移植後の続発緑内障に限定して解説を行う。

◎ポイント：移植後緑内障の発症/増悪リスク

- ・移植前から存在する緑内障の既往
- ・無水晶体眼/無硝子体眼
- ・眼内レンズ摘出併用例

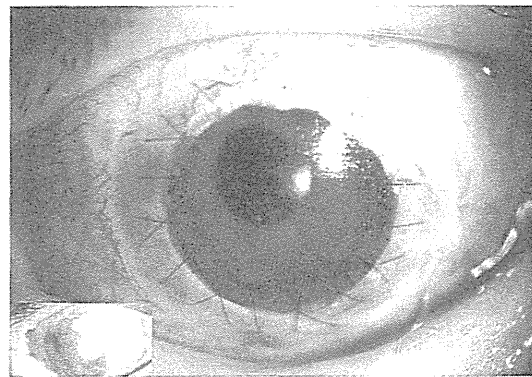


図1 角膜移植による眼表面の再建例

表1 術後経過時期別眼圧上昇機序

早期：前房内残留粘弾性物質 出血 炎症 角膜浮腫/浅前房による周辺虹彩前癒着 瞳孔ブロック 悪性緑内障など
中~晩期：ステロイド緑内障 拒絶反応に伴う炎症/虹彩前癒着の進行 悪性緑内障など

1. 術前評価

1. 前眼部/隅角状態の確認

術式を決定するために隅角検査、前眼部光干渉断層計(OCT)、超音波生体顕微鏡(UBM)での評価は非常に大切である。角膜が混濁している場合でも、隅角は観察可能で(図3)あるので、最初から見えないはずと思わずに試みる必要がある。隅角が透見不能の場合にはOCTま

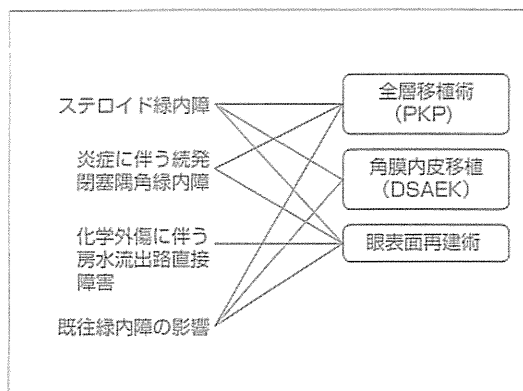


図2 基礎疾患 / 移植術式による眼圧上昇機序

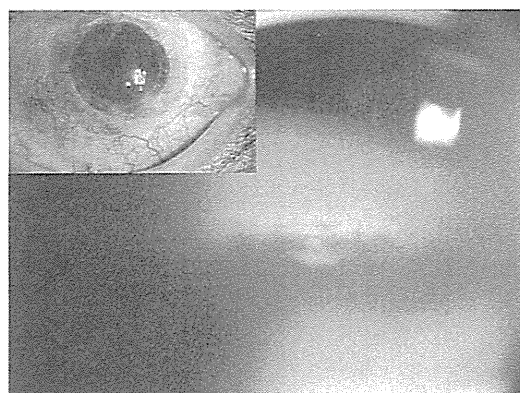


図3 移植後眼における隅角鏡観察所見

たはUBMのどちらかは必須となるが、隅角が透見できた症例であっても、可能であれば非接触 / 非侵襲で簡便に行える OCT は、前眼部の客観的な形状の経過を記録できるため測定しておくことが望ましい。

2. 緑内障の重症度の確認

視神経乳頭所見および視野検査を行う。角膜の状態が悪い場合でも Goldmann 動的視野検査を行っておく。細かな内部イソプタが測定できなくても、V-4-eのみでも大いに参考になる。

3. 眼圧の評価

角膜移植後眼は術後角膜の状態からしばしば Goldmann 圧平眼圧計での測定がむずかしい。Goldmann 圧平眼圧計では多少歪んでも中心の輪が内側で接触し、脈波が出ればおおよそ正しい眼圧と考えられる。また Goldmann 圧平眼圧計での測定が困難な場合でもアイケア眼圧計、トノペンなどを駆使して測定する。測定可能であれば、1種類の眼圧測定だけでなく、できれば複数種類の眼圧計で測定し、記録しておくことが望ましい。測定された眼圧が臨床的な印象と異なる場合やどの眼圧計でも測定不能であった場合は触診で眼圧を確認し記録しておくことが大切である。

●ポイント：角膜移植後眼の隅角観察

- ・光量を落とす
- ・範囲を絞る
- ・乱反射を防ぐ

2. 術式の選択

開放隅角もしくはステロイド緑内障の関与が疑われる場合は線維柱帯切開術を選択し、閉塞隅角もしくは炎症の関与が強い場合は線維柱帯切除術を選択する。部分的な閉塞隅角かつ隅角の透見性のある症例には線維柱帯切開術に隅角癒着解離術を併用する。よって術前の隅角評価は非常に重要となる。

3. 手技の実際

線維柱帯切開術 / 線維柱帯切除術において、基本は非角膜移植後眼と変わらない。主に線維柱帯切除術に関して、角膜移植後眼に施行する場合のポイントをあげる。

1. 結膜切開

化学外傷後や複数回の手術を繰り返した症例においては、結膜が強固に癒着している場合があり、結膜剝離の際、裂けたりピンホールを開けたりしないような注意が必要である。このような症例の結膜剝離に際しては、スプリング剪刀や鑷子での剝離は行わず、ゴルフメスを使用



図4 ゴルフメスでの癒着結膜剥離

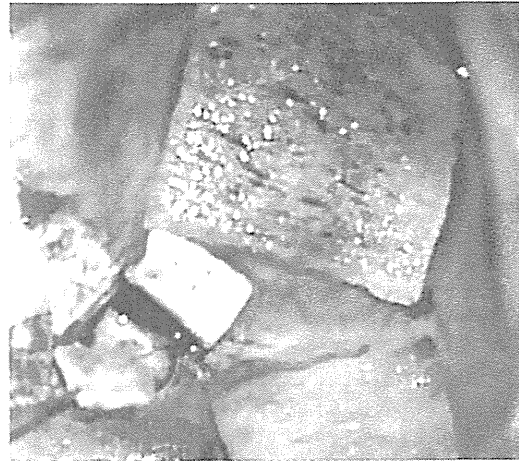


図5 線維柱帯切除部の開窓
角膜側に大きめに切り込んで、線維柱帯は大きく切除する。

し、場合によっては強膜の一部を結膜ごと剝離していく(図4)。

2. 強膜弁作成

出血が多く予想される場合には事前に強膜の止血凝固を丁寧に行っておく。術後の過剰濾過による浅前房を避けるために、浅層強膜の1/2層を目指した十分かつ均一な厚みでの強膜弁を作成する。

3. 線維柱帯切除

術後の炎症によってPASを起しやすいため、線維柱帯切除の際には開窓部の閉塞を避ける目的で角膜側に大きめに切り込み(図5)、周辺虹彩切除は慎重に丁寧に施行する。

4. 強膜弁縫合

強膜弁はタイトに素早く縫合する。線維柱帯切除後の前房虚脱の時間は短いことが望ましい。場合によっては前房内に粘弾性物質を注入したり、前房メンテナーなどを併用する必要がある。縫合針は強膜弁下に貫通しないよう強膜弁の3/4層を目指して通糸し(図6a)、強膜弁が一方に引きつれたり歪んだりしないよう心がける(図6b)。強膜弁には不用意に穿通部を作成しないように、最低限(縫い直しのない)の通糸/縫合数での縫合を心がける。

5. 前房洗浄

過度な水流による前房洗浄は内皮細胞脱落の可能性があるため、避けるべきである。

6. 結膜縫合

免疫抑制薬使用による易感染性という特殊な環境下にあるため、結膜の薄い濾過胞にならないよう、Tenon嚢を奥から引き出して結膜の裏打ち(図7)をしておくことが望ましい。

Advanced Techniques

マイトマイシンC使用後の洗浄の際に、十分 Tenon 嚢に水分を含ませ膨化させておく(図8)と、結膜縫合の際に扱いやすくなる。

●ポイント：角膜移植後眼の線維柱帯切除術のポイント

- ・強膜弁の厚みは十分厚く、薄くならないように作成
- ・線維柱帯切除の開窓部は大きめに作成
- ・周辺虹彩切除は慎重に丁寧に施行
- ・強膜弁はタイトに縫合
- ・結膜縫合時は Tenon 嚢で裏打ち

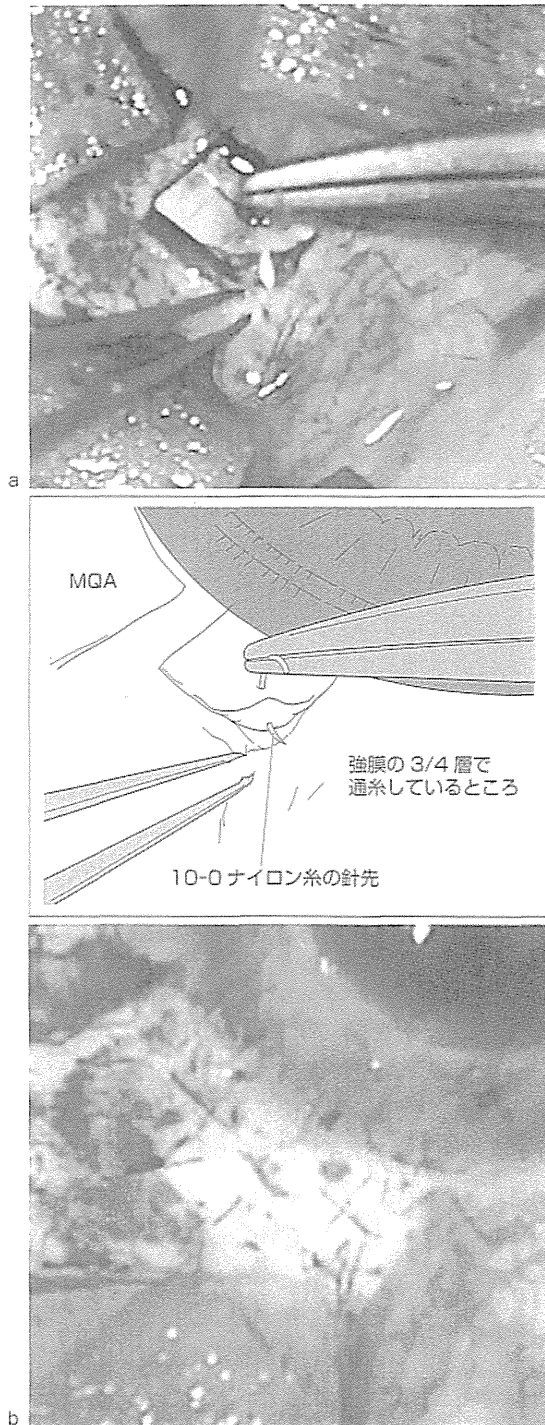


図6 強膜弁縫合

a 縫合針は強膜弁下に貫通せず、強膜弁の3/4層を目指して通糸

b 強膜弁が一方に引きつれたり歪んだりしないよう心がける。

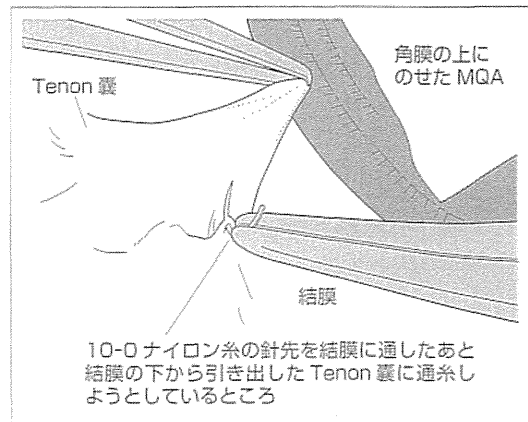
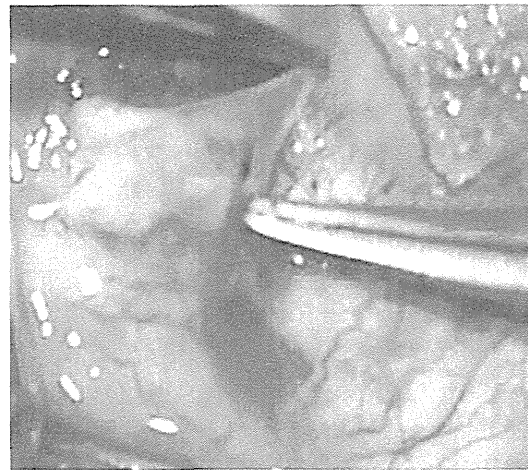


図7 Tenon嚢の結膜裏打ち

Tenon嚢を引き出して結膜に裏打ちして縫合する。

4. 周術期管理

線維柱帯切開術/線維柱帯切除術のどちらの術式を行う場合でも、角膜移植片の拒絶反応抑制と消炎維持が重要となる。

1. ステロイド薬の使用

手術直前からベタメタゾン1mg/day 内服開始、炎症の程度をみながら術後3~7日使用したのち中止する。また移植原疾患がレーザー虹彩切開術後の水疱性角膜症のように炎症が非常に強く起こると予想される症例(高リスク症例)では術前にコハク酸メチルプレドニゾロンナトリウム(ソル・メドロール®)125mg 点滴静注を行う。ソル・メドロール®使用により、術中の

フィブリン析出や術後の眼圧上昇や周辺虹彩前癒着などが抑制される。

ステロイド点眼は翌日からベタメタゾン点眼を基本4回/日、前房内炎症が強い症例には6回/日で行う。

2. 免疫抑制薬の使用

シクロスポリン(ネオーラル[®])内服(1~2mg/kg/day)を2~4週内服させる。炎症が強いと予想される症例には術前日から開始しておくことが望ましい。ただし内服中は2週おきにシクロスポリンのトラフ値での血中濃度と腎機能をチェックしなければならない。

- ポイント：移植後眼に対する緑内障手術
周術期管理のポイント
- ・ステロイド薬の内服
- ・免疫抑制薬の内服
- ・免疫抑制薬使用中の血中濃度管理および腎機能チェック

●ポイント

- ・ソル・メドロール[®]の選択理由：強力な消炎効果があり、即効性があることと、リンデロン[®]に比較して半減期が短く、作用が長引かないため使いやすい

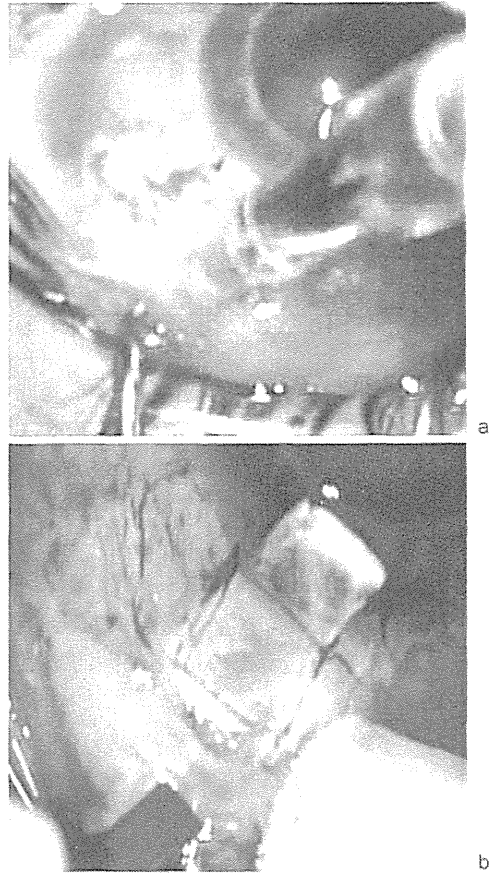


図8 Tenon 嚢の膨化
水分を含ませて膨化させると扱いやすい。

5. 術後合併症と対策

基本的には通常の線維柱帯切開/線維柱帯切除術と同じである。角膜移植後の特殊な術後合併症としては角膜移植片拒絶反応である。拒絶反応が起きた場合には、まず角膜内皮後面に沈着物が連なったラインが観察される。拒絶反応でなくとも炎症で角膜後面沈着物が付着する可能性があるが、拒絶反応との鑑別は宿主側にも角膜後面沈着物があれば炎症、グラフトのみに存在する場合は拒絶反応の可能性が高いため、慎重に観察する。まずはこれらの徴候を見逃さないことが大切で、拒絶反応を疑った場合の対処は成書に譲る。ただし、近年は免疫抑制薬の使用により、拒絶反応がかなり抑えられるよう

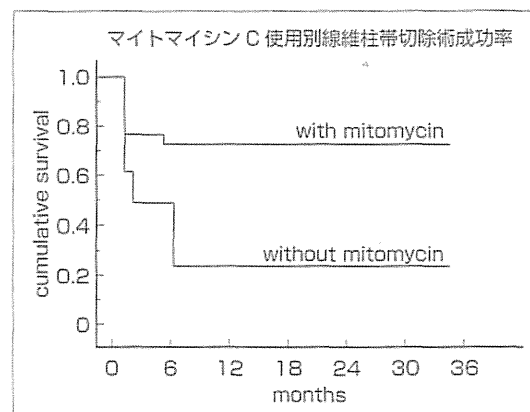


図9 角膜移植後線維柱帯切除術の手術成績
ミトマイシンC使用線維柱帯切除術のほうが不使用の線維柱帯切除術よりも手術成績が良い。

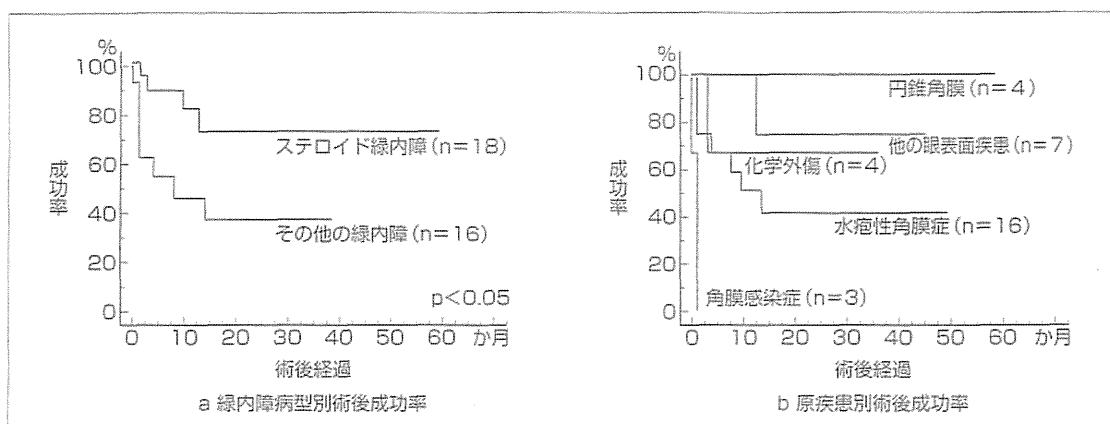


図10 当科における角膜移植後緑内障手術成績

aは病型別, bは原疾患別であるが, このaの病型別のステロイド緑内障が線維柱帯切開術, その他の緑内障が線維柱帯切除術を行っているため, 術式別と一致している。

になっている。当科における33例34眼(平均年齢 60.1 ± 17.8 歳, 平均経過観察期間 29.6 ± 24.1 か月)の角膜移植後の緑内障手術成績の報告⁴⁾においても, 拒絶反応を起こした症例は存在しなかった。

●ポイント: 術後合併症対策のポイント

- ・角膜移植片拒絶反応の初期徴候を見逃さない

6. 手術成績

角膜移植後の線維柱帯切除術の手術成績としてIshioka⁴⁾は32例34眼の角膜移植後眼におけるマイトマイシンC使用の線維柱帯切除術で73.0%, マイトマイシンC使用せずの線維柱帯切除術で25.0%と報告している(平均経過観察期間 22.3 ± 10.3 か月)(図9)。当科における33例34眼の角膜移植後の緑内障手術成績⁵⁾を図10a, bに示した。aは病型別, bは原疾患別である。全症例の3年での成功率は55%であった。術式別では線維柱帯切開術66%, 線維柱帯切除術39%と線維柱帯切除術の成功率が低かったが, 2つの術式で有意差は認めなかった。よって角膜移植後眼では全例に線維柱帯切除術を行うのではなく, 隅角観察および眼圧上昇機転を明らかにした上で, 線維柱帯切開術の適応

がある症例に関しては線維柱帯切開術を行うほうが術後成績は良い傾向にあり望ましいと考えられる。

おわりに

角膜移植前にはしっかりと眼圧をコントロールしておくことが大切で, すでに抗緑内障薬が多剤使用されている場合は, 移植前に緑内障手術を施行すべきである。角膜移植後, 緑内障手術が必要になった場合の手術術式としては, 移植片透明性維持の面から線維柱帯切開術が推奨される。また術期には拒絶反応抑制のためにステロイドやシクロスポリン内服などの免疫抑制薬を併用することが大切である。^{*}

文献

- 1) Foulks GN: Glaucoma associated with penetrating keratoplasty. *Ophthalmology* 94: 871-874, 1987
- 2) Chien AM, et al: Glaucoma in the immediate postoperative period after penetrating keratoplasty. *Am J Ophthalmol* 115: 711-714, 1993
- 3) Jeffrey JL, et al: Ten-year postoperative results of penetrating keratoplasty. *Ophthalmology* 105: 1855-1865, 1998
- 4) Ishioka M, et al: Trabeculectomy with mitomycin for postkeratoplasty glaucoma. *Br J Ophthalmol* 84: 714-717, 2000
- 5) 荒木やよいほか: 角膜移植後緑内障に対する緑内障手術成績の検討. *眼科手術* 19: 229-232, 2006

140. 緑内障 Genome-Wide Association Study 最新の知見：1. どう見て、どう考えるか

池田陽子*1 中野正和*2 森 和彦*1

京都府立医科大学大学院医学研究科
*1 視覚機能再生外科学 *2 同 ゲノム医科学

疾患の原因遺伝子を発見するためには、かつては家系から割り出す連鎖解析が行われていたが、2002年開始の国際HapMap計画を契機にマイクロアレイを用いるGenome-Wide Association Study (GWAS)の時代となった。本稿では、GWASの歴史と同定された緑内障遺伝子について解説する。

●緑内障関連 GWAS の歴史

ヒトゲノム上の300万箇所にあぶ一塩基多型 (single nucleotide polymorphism : SNP) をすべて列挙することを目的とした国際HapMap計画により、マイクロアレイの飛躍的な技術革新と解析費用の価格崩壊が起こり、Genome-Wide Association Study (GWAS) は急速な進歩を遂げた。緑内障関連では落屑緑内障 (exfoliation glaucoma : XFG) に対する *LOXLI* (2007年 : 300K)¹⁾ の発見や、その後引き続いて筆者らの広義原発開放隅角緑内障 (POAG) の報告 (2009年 : 500K)²⁾ を経て、現在は1,000Kアレイによる研究が進んでいる。GWASのまとめを図1に、主要2社のマイクロアレイを図2に示す。

● GWAS で同定された緑内障遺伝子

1. *LOXLI* (XFG)

北欧グループが報告したXFGの *LOXLI*¹⁾ は弾性線

維であるエラスチンの重合を触媒する。人種を超えて幅広く再現性が認められたが、*LOXLI*の1つのSNP (rs1048661) ではアジア人と白人とでリスクアレルが逆転、つまり危険と保護の正反対の作用を有していることが判明したため、今後のさらなる解明が待たれる。

2. *ZP4*, *PLXDC2*, *TMTC2* (POAG)

筆者らが同定したPOAGに関連するSNP²⁾の近傍に位置する遺伝子であり、機能は不明である。いずれも相対危険度が1.3前後と小さいため、POAGが多因子疾患であることを浮き彫りにした結果となった。現在のところ他人種では再現性が認められていないが、少ないサンプル数による検出力不足のためか、人種差のためかは今後の解析が待たれる。

3. *CAVI*, *CAV2* (POAG)

アイスランドの白人で報告されたSNP³⁾の近傍遺伝子で、細胞膜内在構造体の主要構成成分であるカベオリンをコードする。このSNPは日本人においてはバリエーションではなく、人種差が存在している。また、相対危険度

図1 GWASの時代背景と同定された緑内障遺伝子

GWASに至るまでは、遺伝子解析の手法は連鎖解析および候補遺伝子解析が主であった。しかしながら、1990年からのヒトゲノム計画が終了し、2003年に国際HapMap計画が始まってからGWAS解析手法が著しく進歩し、アレイの価格崩壊が起こったため、国家プロジェクトでなくとも参入が可能となりGWASの時代となった。

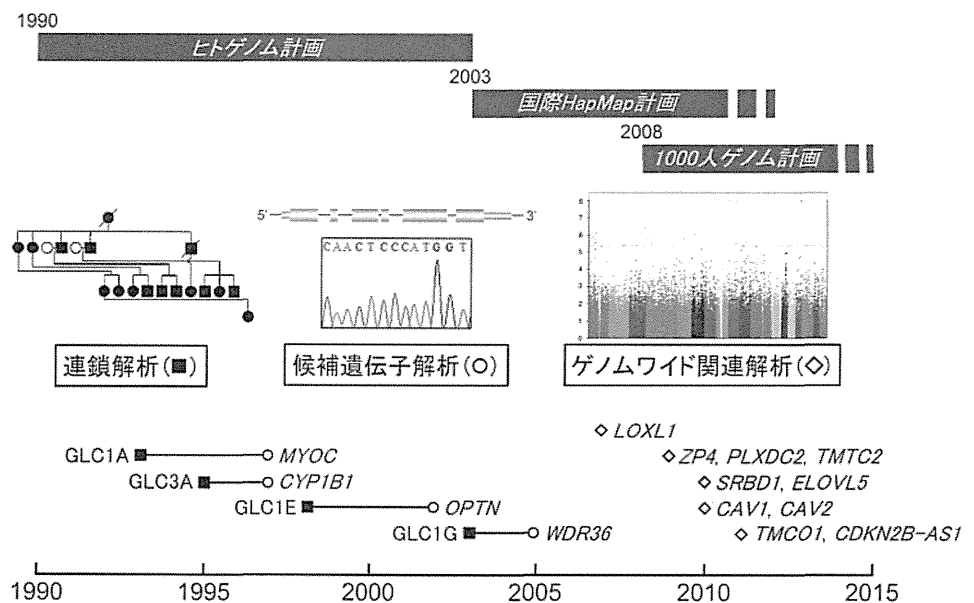


表 1 GWAS で同定された緑内障関連領域と近傍遺伝子

病 型	人 種	染色体領域	遺伝子	報告年	文献
落屑緑内障	白人 (アイスランド人)	15q24	<i>LOXL1</i>	2007	1)
原発開放隅角緑内障 (広義)	アジア人 (日本人)	1q43	<i>ZP4</i>	2009	2)
		10p12	<i>PLXDC2</i>		
		12q21	<i>TMTC2</i>		
正常眼圧緑内障	アジア人 (日本人)	2p21	<i>SRBD1</i>	2010	5)
		6p12	<i>ELOVL5</i>		
原発開放隅角緑内障	白人 (アイスランド人)	7q31	<i>CAV1</i>	2010	3)
			<i>CAV2</i>		
原発開放隅角緑内障	白人 (オーストラリア人)	1q24	<i>TMCO1</i>	2011	4)
		9p21	<i>CDKN2B-AS1</i>		

アフィメトリクス

イルミナ

GeneChip Human Mapping
250K Nsp/Sty Array

HumanHap300

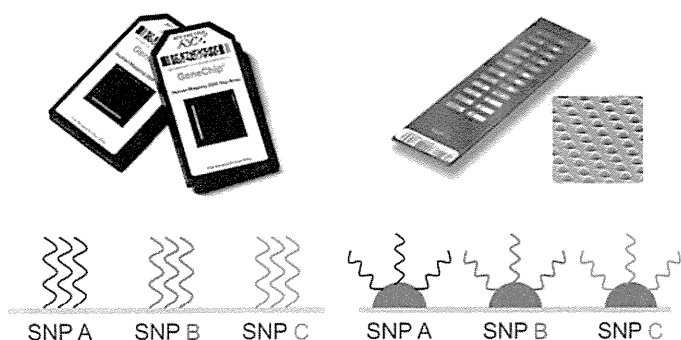


図 2 GWAS に用いるマイクロアレイ

GWAS に用いるマイクロアレイは米国企業のアフィメトリクス社 (左) とイルミナ社 (右) の 2 つのアレイが主流となっている。前者はプローブが基盤に直接固着化されているのに対して、後者はビーズ上に固着化されているのが特徴である。

が 1.36 であり、白人においても POAG が多因子疾患であることを示した。

4. *CDKN2B-AS1*, *TMCO1* (POAG)

オーストラリア人で報告された遺伝子⁴⁾で、SNP の相対危険度はそれぞれ 1.50 および 1.68 であった。*CDKN2B-AS1* が存在する 9p21 領域は心疾患・糖尿病など、多種多様な疾患の発症にかかわる領域であることが報告され、イギリス白人健常人での視神経乳頭サイズおよび垂直陥凹にかかわる遺伝子である *CDKN2B* もこの領域に存在する。

5. *SRBD1*, *ELOVL5* (NTG)

日本人正常眼圧緑内障 (NTG) で報告され⁵⁾、細胞増殖抑制やアポトーシスにかかわることが示唆されている。同じ日本人で NTG のみならず狭義 POAG での再

現性も報告されている。

●ま と め

GWAS にて同定された緑内障関連領域と近傍遺伝子を表 1 にまとめた。大規模 GWAS を行えば統計学的に関連する SNP は同定できるが、多因子疾患の場合には相対危険度が高くアミノ酸置換を伴う遺伝子上の機能的 SNP よりも、相対危険度が低く遺伝子の発現調節にかかわる遺伝子外の SNP が同定されることが多い。今後はこれらの結果を「遺伝子砂漠」に埋もれさせるのではなく、次世代シーケンサーを用いたさらなる解析にてその意義を明らかにしてゆく必要がある。

文 献

- 1) Thorleifsson G, Magnusson KP, Sulem P et al : Common sequence variants in the *LOXL1* gene confer susceptibility to exfoliation glaucoma. *Science* **317** : 1397-1400, 2007
- 2) Nakano M, Ikeda Y, Taniguchi T et al : Three susceptible loci associated with primary open-angle glaucoma identified by genome-wide association study in a Japanese population. *Proc Natl Acad Sci USA* **106** : 12838-12842, 2009
- 3) Thorleifsson G, Walters GB, Hewitt AW et al : Common variants near *CAV1* and *CAV2* are associated with primary open-angle glaucoma. *Nat Genet* **42** : 906-909, 2010
- 4) Burdon KP, Macgregor S, Hewitt AW et al : Genome-wide association study identifies susceptibility loci for open angle glaucoma at *TMCO1* and *CDKN2B-AS1*. *Nat Genet* **43** : 574-578, 2011
- 5) The Normal Tension Glaucoma Genetic Study Group of Japan Glaucoma Society : Genome-wide association study of normal tension glaucoma : common variants in *SRBD1* and *ELOVL5* contribute to disease susceptibility. *Ophthalmology* **117** : 1331-1338, 2010

141. 緑内障 Genome-Wide Association Study 中野正和*1 池田陽子*2 森 和彦*2

最新の知見： 2. 次世代シーケンサーをいかに活用するか

京都府立医科大学大学院医学研究科
*1 ゲノム医科学 *2 同 視覚機能再生外科学

最近、緑内障に関連する塩基配列の違い（バリエーション）がゲノムワイド関連解析（Genome-Wide Association Study: GWAS）によりつぎつぎに同定されている。統計学的に関連付けられたバリエーションと緑内障の病態とをつなぐ分子機序の解明がつぎの課題であり、次世代シーケンサーの有効活用が期待される。

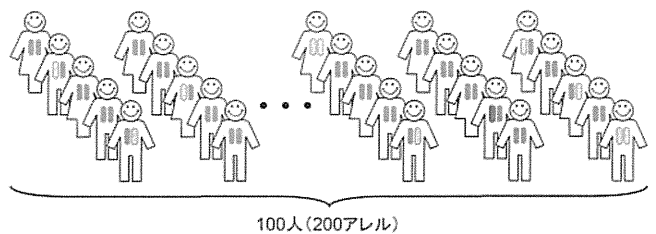
● 遺伝子砂漠の生物学的役割

DNA マイクロアレイを用いた Genome-Wide Association Study (GWAS) によって、現在までにさまざまな多因子疾患に関連する何千ものバリエーションが同定されている。当初その勢いは“gold rush”といわれた¹⁾。しかし、筆者らが報告した原発開放隅角緑内障²⁾をはじめ大多数の疾患では、オッズ比の低い (1.2~1.5) バリエーションが近傍に遺伝子の存在しない“gene desert (遺伝子砂漠)”から発見された。すなわち、統計学的に疾患に関連付けられたバリエーションがどのように疾患の病態にかかわっているのか、その分子機序を解明する難問は今もなお残されている。

つい最近までヒトゲノムの3%未満しか占めていない遺伝子をコードする配列から蛋白質が翻訳されることが生命現象の根幹であるとされ、それ以外のゲノム配列は“ジャンク (がらくた)”とさえよばれていた。しかし、ゲノム全体にわたるトランスクリプトーム (ある瞬間に発現している一次転写産物の総体) 解析³⁾によって、現在では蛋白質に翻訳されない配列も遺伝子の発現調節などの重要な役割を担っていることが知られている。したがって、GWASで報告された遺伝子砂漠にも生物学的に何らかの意味のある配列が潜在し、その配列上のバリエーションが疾患の病態に関与している可能性が高い。現在、遺伝子砂漠の生物学的役割として、1) rare (まれな) バリエーション、2) 調節配列/マイクロRNA、3) エピジェネティックマーク、のいずれかによる遠隔遺伝子の発現調節機構の存在が示唆されている (図1)。そして、いずれの仮説を検証するためにも領域全体にわたる高精度な塩基配列情報の取得が必須となる。

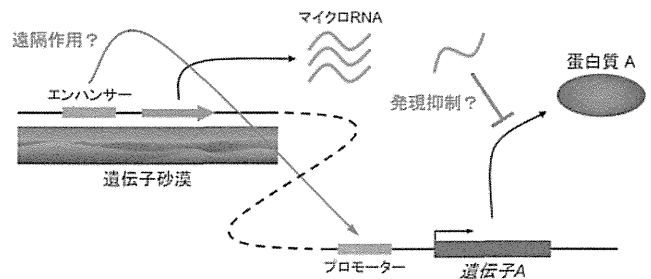
1. rare バリエーション

○: common バリエーション (アレール頻度 > 1%; 下図の場合、10/200アレール = 5%)
●: rare バリエーション (0.1% < アレール頻度 < 1%; 下図の場合、1/200アレール = 0.5%)



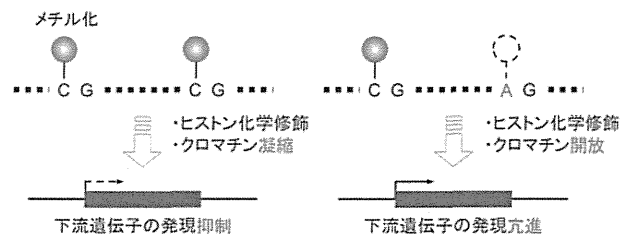
DNA マイクロアレイによる GWAS では、対象母集団でのアレール頻度が 1% 以上で認められる common (ありふれた) バリエーションが検出できるように至適化されている。一般的にオッズ比が高いアレール頻度が 1% 未満の rare (まれな) バリエーションの検出にはシーケンサーによる検証が必要である。

2. 調節配列/マイクロRNA



遺伝子砂漠には、未知のエンハンサーやマイクロRNAをコードする配列が存在し、遠隔遺伝子の発現を調節している可能性がある。

3. エピジェネティックマーク



遺伝子砂漠には、特定の塩基配列 (目印、マーク) に対する化学修飾 (たとえば CG と並んだ塩基配列の C へのメチル化) による機構 (エピジェネティクス) が存在し、周辺のクロマチン (DNA を巻き付けているヒストン蛋白質と DNA の複合体) の構造変化を誘導することによって遺伝子の発現を制御している可能性がある。

図1 遺伝子砂漠領域の生物学的役割

1) rare バリエーション、2) 調節配列/マイクロRNA 配列、3) エピジェネティックマーク、が潜在している可能性が高い。