

図 13 チューブの固定②

強膜に 10-0 ナイロンにて 3 カ所チューブを固定する。

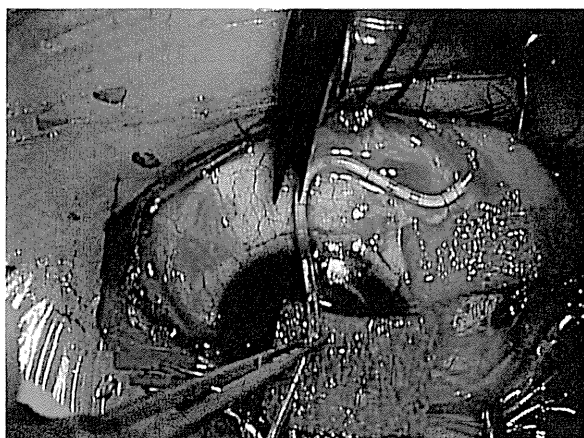


図 14 チューブの挿入①

チューブを挿入予定位置に合わせてみて、余分な長さのチューブを切除する。

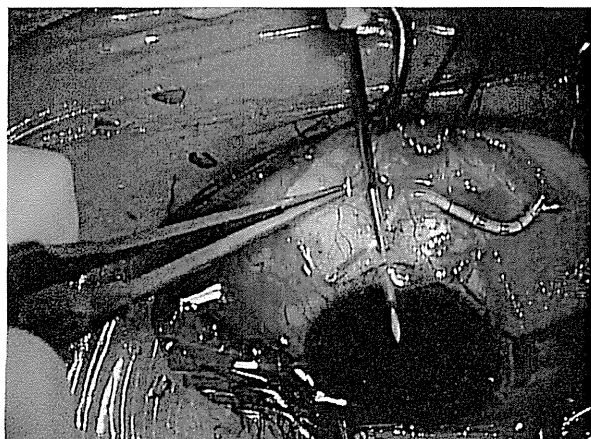


図 15 チューブの挿入②

挿入位置から前房に向けて虹彩前方になるようにチューブの挿入の道を作る。

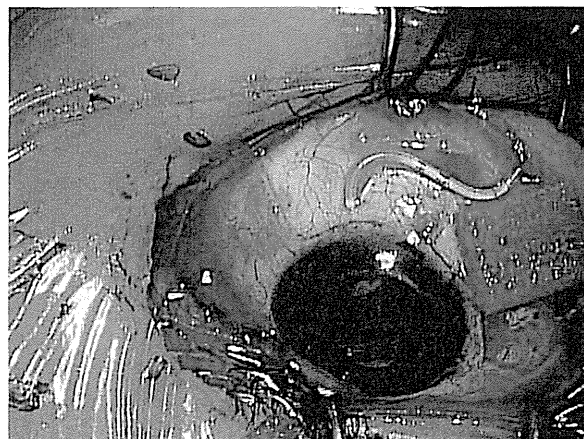


図 16 チューブの挿入③

ベベルアップにしてチューブを挿入する。

13). いちばん挿入部に近い糸のみは仮止めにしておく。

6) チューブの挿入

チューブの挿入位置の確認のため角膜輪部からキャリパーにて 1.25 ~ 1.5mm 測定する。チューブを挿入予定位置に合わせてみて、余分な長さのチューブを切除する (図 14)。1cc シリンジにて 27G の針を付けて、挿入位置から前房に向けて虹

彩前方に穿刺する (図 15)。27G で作られたガイドを通して 23G の針で再穿刺をする。チューブはベベルアップにして前房内に挿入する (図 16)。穿刺の針の太さとしては 23G がちょうどよく、これより小さいと狭くてチューブが挿入できず、これよりも太いとチューブは入るが周りに余裕があって房水漏出しやすくなる。挿入できたら 10-0 ナイロンの縫合部分を再度しっかり固定する (図 17)。

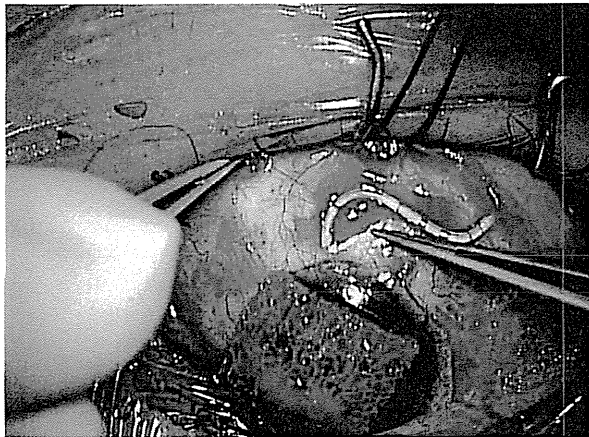


図 17 チューブの挿入④
10-0 ナイロンにてチューブをしっかりと固定する。



図 18 シャーウッドスリットの作製
8-0 バイクリルの針でチューブの直線部分に2～3カ所穴をあける。

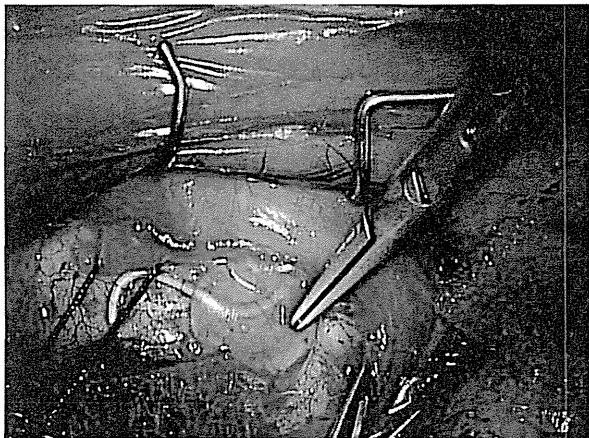


図 19 強角膜片でチューブを被覆①
チューブ部分に強角膜片をおいて10-0 ナイロンで固定する。

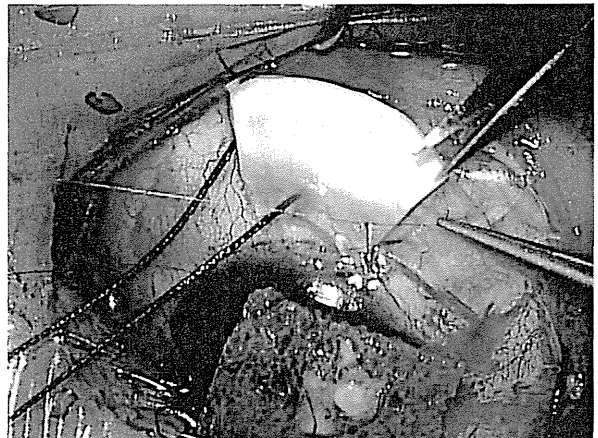


図 20 強角膜片でチューブを被覆②
強角膜片の余分な部分は切除して適するサイズにする。

7) シャーウッドスリットの作製

8-0 バイクリルの針で、チューブ部分に2～3カ所穴をあける。作製位置としてチューブが曲がる場所は避けて、直線部分に作製する。チューブの固定よりも前にこれを行うとシャーウッドスリット部分から漏れ出す房水によって術野が水浸しになり術野の確保がしにくくなるので注意する。チューブの一部を強角膜片で被覆してから行

ってもよい(図18)。

8) 強角膜片でチューブを被覆

BSSが入ったシャーレで強角膜片を洗う。ソープなどを使ってできるだけきれいにして、不必要な組織は除去し、必要な部分だけ切り取る。チューブ部分の上に強角膜片を置き、余分な部分を切除しながら10-0 ナイロンにて4～6カ所縫合する(図19, 20)。

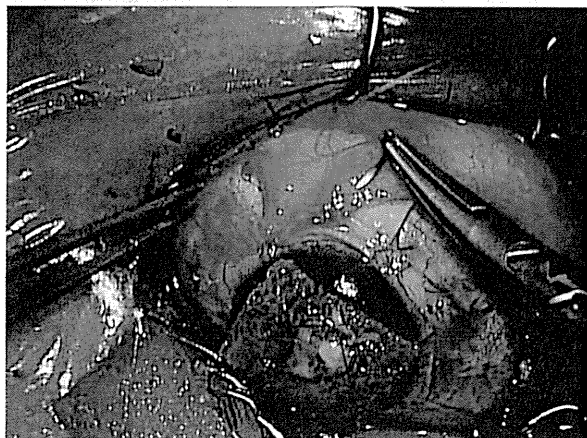


図 21 結膜縫合
8-0 バイクリルで結膜を縫合する。

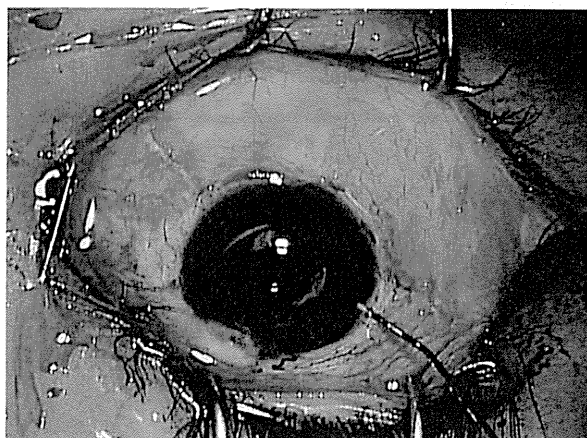


図 22 チューブの流れを確認
サイドポートから BSS を流してチューブの流れを確認する。

9) 結膜縫合, チューブの流れを確認

8-0 バイクリルにて結膜縫合を行う (図 21).
V ランスにてサイドポートを作製し, サイドポートから BSS を流し込みチューブの流れを確認する (図 22).

トラベクレクトミーとの比較とまとめ

前房挿入タイプのバルベルト緑内障インプラントとマイトマイシン C 併用トラベクレクトミーの比較をした臨床研究として TVT study (the Tube Versus Trabeculectomy study) がある. 5 年での手術成功率はバルベルトインプラントで有意に良好な結果であった³⁾. ただ, この研究で比較とされているトラベクレクトミーの手術成績は従来の報告よりも不良であり, この研究でトラベ

クレクトミーよりもバルベルトインプラントのほうがいい手術であるとはいえない. バルベルトインプラントは術後眼圧がトラベクレクトミーほど下がらないという報告や術後早期の高眼圧期の問題があり, 十分に症例を検討して手術を行うべきである.

文 献

- 1) Heuer DK, et al. Which is better? One or two? A randomized clinical trial of single-plate versus double-plate Molteno implantation for glaucomas in aphakia and pseudophakia. *Ophthalmology*. 99, 1992, 1512-9.
- 2) Seah SK, et al. Intermediate-term outcome of Baerveldt glaucoma implants in Asian eyes. *Ophthalmology*. 110, 2003, 888-94.
- 3) Gedde SJ, et al. Postoperative complications in the Tube Versus Trabeculectomy (TVT) study during five years of follow-up. *Am J Ophthalmol*. 153, 2012, 804-14.

落屑症候群の白内障手術および緑内障手術の周術期管理の問題点

京都府立医科大学眼科学教室

荒木 やよい, 森 和彦

1. 落屑緑内障の特徴

落屑症候群は高齢者に多くみられ、全身の結合組織に落屑物質が沈着する疾患として知られている。眼内にも落屑物質が沈着し、細隙灯検査では瞳孔縁と水晶体前面に白いフケ様の落屑物質を観察することができる^{1, 2)} (図1)。線維柱帯にも落屑物質が沈着し、房水流出抵抗が増加することによって続発性の開放隅角緑内障を呈する。一般に落屑緑内障では原発開放隅角緑内障 (以下 POAG) と比較して眼圧が

高いことが多いだけでなく、その変動幅も大きく、視神経障害の進行が速いことが知られている¹⁾。診察時の測定ではコントロール良好にみえる症例でも眼圧変動が大きく、実際には平均眼圧が高くなっている可能性もあり、日々の管理において留意しておく必要がある。

また、チン小帯に落屑物質が沈着することにより

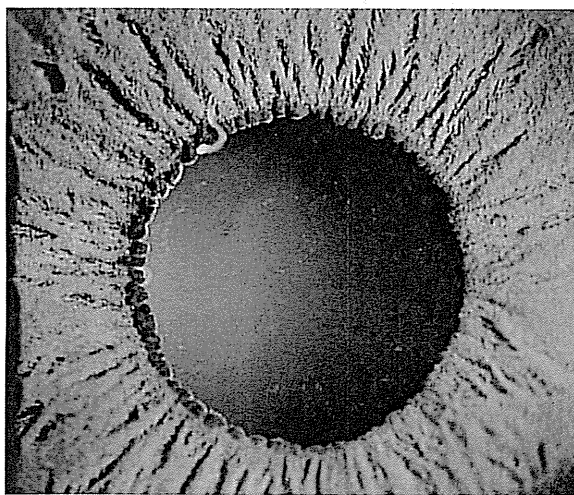


図1 落屑緑内障の典型例前眼部所見
瞳孔縁と水晶体前面にフケ様の白い落屑物質の沈着を認める。

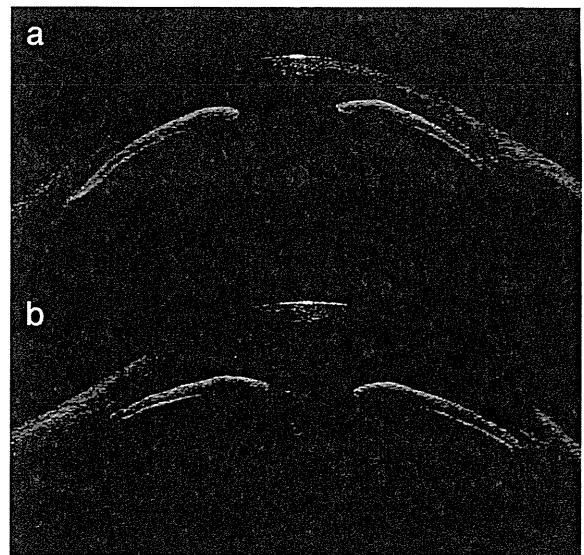


図2 水晶体亜脱臼合併偽落屑 (PE) (前眼部光干渉断層計 (OCT))
両眼ともに瞳孔縁に落屑物質を認めるが、前眼部OCTでは右眼のみ高度の水晶体前方移動を認め、前房深度は非常に浅い。右眼は40mmHgと眼圧上昇を認めた。
a: 右眼, b: 左眼

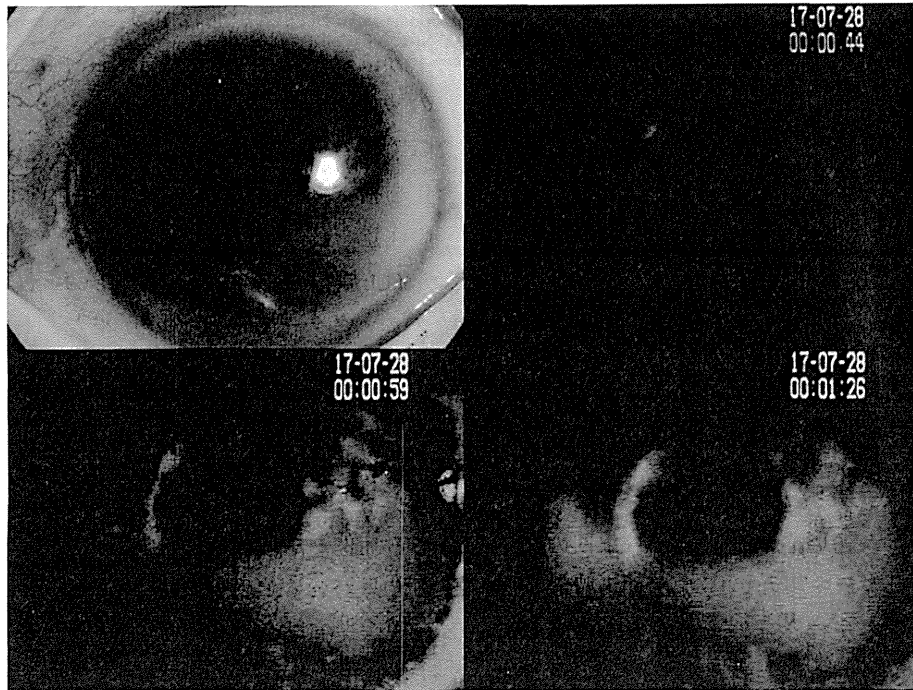


図3 虹彩透過性亢進（前眼部写真と前眼部蛍光撮影）
瞳孔縁に落屑物質を認め、虹彩フルオレセイン血管造影では虹彩血管から造影剤の漏出を認める。

チン小帯が脆弱となる^{1, 2)}ため、狭隅角になりやすく慢性閉塞隅角緑内障を発症することがある。また、チン小帯断裂から水晶体亜脱臼が起り、続発閉塞隅角緑内障を発症することもある¹⁾ (図2)。

更にもう一つの特徴として虹彩血管の透過性亢進が挙げられる。落屑症候群では、虹彩の血管壁に落屑物質が沈着することにより血管の脱落と血流低下を生じ、慢性的な低酸素状態から、虹彩に微小新生血管が出現する。過去の報告では、虹彩インドシアニングリーン血管造影で低灌流と吻合血管を認め、虹彩フルオレセイン血管造影で虹彩血管の脱落と造影剤の漏出を認めた。落屑症候群では、結果的にblood-aqueous barrier (以下 BAB) が破綻し、虹彩血管の透過性が亢進していると考えられる¹⁻³⁾ (図3)。緑内障手術を行う際には、術後炎症が眼圧コントロールに影響するので、虹彩血管の透過性亢進に留意し、術後は十分な消炎に努めなければならない。

2. 落屑緑内障に対する緑内障手術適応

現時点では原因となっている落屑物質に対する根本的な治療法は存在しないため、高眼圧型POAGに

準じた治療を行う。しかし、点眼治療のみでの効果が不十分な症例では観血的治療へと切り替えることが必要になる。また、眼圧の変動幅が大きいため、診察時に一見コントロール良好と思われる症例でも、視野変化が進行する症例には観血的治療が必要になる。

3. 緑内障術式の決定

落屑緑内障では様々な機序によって眼圧が上昇するため、眼圧上昇の機序を解明し、目標眼圧、緑内障の病期、水晶体の混濁程度やチン小帯の状態などを総合的に判断し、適切な手術選択を行うことが重要である。

3. 1. 線維柱帯切開術 (以下 TLO) vs 線維柱帯切除術 (以下 TLE)

落屑緑内障に対する観血的治療としては大きく分けてTLOとTLEの二つの術式があり、それぞれの術式の特徴を考えて治療を選択する必要がある。

線維柱帯を切開するTLOは、落屑物質によって増加した流出抵抗を軽減するという効果があり、理にかなった治療法であるといえる。目標眼圧を低く設

定できないというデメリットはあるものの、術後早期から眼圧が安定するという点とTLEと比較して重篤な合併症がないという点にメリットがあり、目標眼圧がそれほど低くない初期症例ではよい適応となる⁴⁾。将来のTLEに備えて上方結膜は温存しておく必要があり、可能な限り下方で施行することが望ましい。

一方、TLEは目標眼圧を低く設定できるという非常に大きなメリットがあるが、術後しばらくは嚴重な眼圧管理が必要であること、合併症として駆逐性出血、遅発性眼内炎、低眼圧黄斑症など重篤なものがあることなど、デメリットも大きい。しかしながら、高眼圧で進行が速い症例、中期から末期の症例ではTLEを選択せざるを得ない。また、落屑緑内障のなかでも隅角癒着を伴う症例ではTLOが奏効しにくいいため、TLEを選択するかTLOに隅角癒着解離術を併施する必要がある。

3. 2. TLE単独手術 vs 白内障同時手術（以下 TLEトリプル）

落屑緑内障に限らず緑内障手術においては、術後炎症が濾過胞の限局化を招いて手術成績を左右するため、手術侵襲は小さい方がよく、可能な限り緑内障単独手術が望ましい。しかしながら、白内障による視力障害が軽微で水晶体を温存した場合、緑内障

手術後に白内障が進行することがある。TLE施行後、十分に期間が経過してからの白内障手術は、濾過胞の機能を損なわないという報告^{5, 6)}があるが、白内障手術の術後炎症によって強膜弁癒着や濾過胞縮小化を招く恐れがあり、白内障手術を行う際には細心の注意を払って行う必要がある。

TLE施行後1年以内の白内障手術は高眼圧のリスクファクターであるという報告⁵⁾（図4）や、TLE施行後6カ月以内の白内障手術は緑内障再手術と有意に相関するという報告⁷⁾があり、濾過胞機能低下を招くTLE後早期の白内障手術は可能な限り避ける必要がある。よって、白内障による視力障害が高度である症例、緑内障術後早期に白内障手術が必要になると思われる症例には同時手術を行う。また、狭隅角眼、閉塞隅角例では白内障手術を行うことによって隅角開大が見込めるため、同時手術が必要となる。

一方、眼圧コントロールという観点からすると白内障同時手術は必ずしも満足のいく結果をもたらすわけではない。TLE単独手術とTLEトリプルの術後成績を1年間にわたり比較検討したOgataら⁸⁾の報告では、TLEトリプル群の生存率は有意に悪かった（図5）。白内障手術を併用することで術後視力は改善するが、眼圧コントロールは不十分であると報告している。

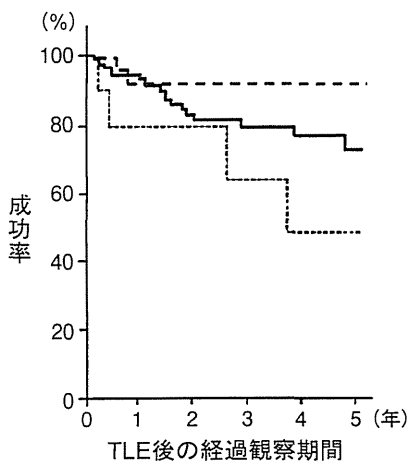


図4 眼圧18mmHgを基準とした線維柱帯切除術（TLE）後の白内障手術時期による成績比較
TLE後1年以内の超音波水晶体乳化吸引術（PEA）+ 眼内レンズ（IOL）は有意に成功率が悪かった（ $p=0.04$ ）。（文献5より改変引用）
---：TLE後1年後以降にPEA+IOL，—：TLE単独，
.....：TLE後1年以内にPEA+IOL

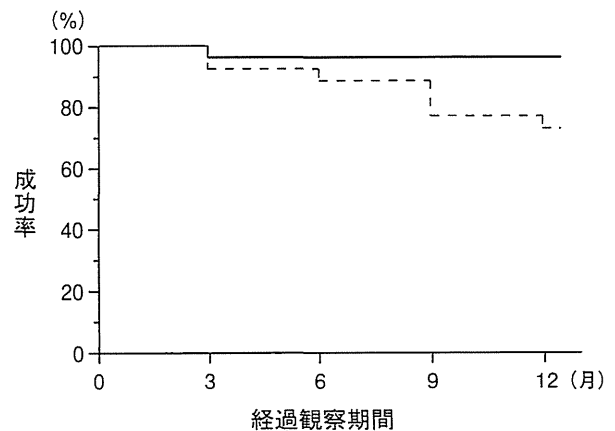


図5 眼圧21mmHgを基準としたTLEとTLEトリプルの手術成績比較
術後1年では、生存率はTLE96.2%で、TLEトリプルの72.9%に比べて有意によかった（ $p=0.024$ ）。（文献8より改変引用）
—：TLE，---：TLEトリプル

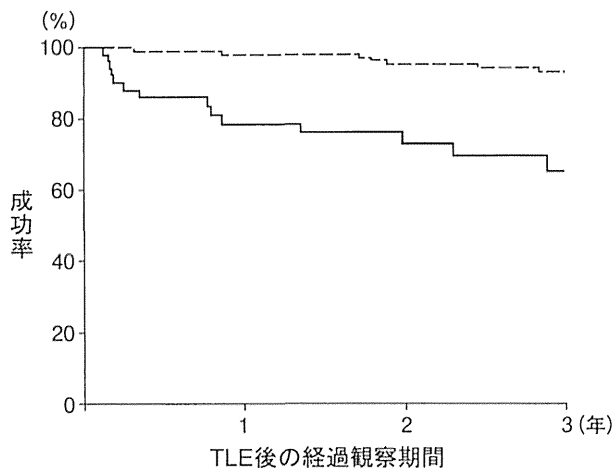


図6 眼圧21mmHgを基準とした有水晶体眼とIOL眼に対するTLEの手術成績比較
術後3年では、生存率は有水晶体群92.6%で、IOL眼の65.1%に比べて有意によかった ($p < 0.01$)。(文献9より改変引用)
--- : 有水晶体眼群, — : IOL眼群

すでに白内障手術が施行されている眼内レンズ (以下 IOL) 挿入眼でも、TLEの術後成績が悪いという報告⁹⁾ (図6) があり、IOL挿入眼は緑内障手術の眼圧コントロールにおいてリスクファクターとなる。過去の手術に比べて侵襲が小さくなった小切開白内障手術であっても、白内障手術時にBABが破綻し、前房中のサイトカインが活性化しているためにTLE後の濾過胞の線維化が進行するという説¹⁰⁾がある。近年、白内障手術後長期間にわたり、水晶体嚢に残存する水晶体上皮細胞からmonocyte chemoattractant protein-1 (以下 MCP-1) が持続的に産生され、前房中に存在するMCP-1が濾過胞の線維化を促すということが報告^{11, 12)}され、白内障手術後に産生される前房内サイトカインの存在によってTLEの術後成績が不良となっている可能性がある。

もともとBABが破綻して虹彩血管の透過性が亢進している落屑緑内障においては、TLEトリプル後に前房内のサイトカインレベルが更に上昇している可能性があり、濾過胞の維持が通常のTLEよりも困難となることが予想される。

3. 3. PEに対するTLOと白内障同時手術 (以下 TLOトリプル)

一般的に落屑緑内障にはTLOとTLOトリプルが奏効するとされている^{4, 13)}。Taniharaら⁴⁾が行ったPOAG

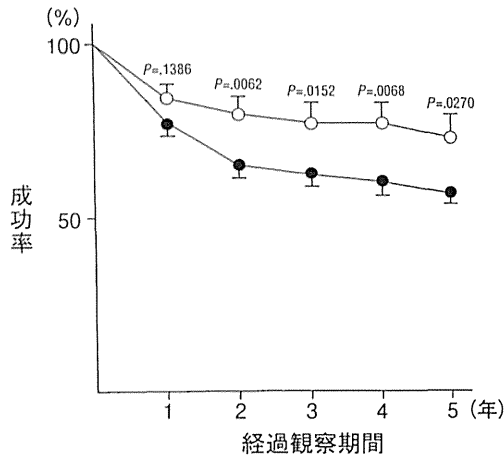


図7 眼圧20mmHgを基準とした原発開放隅角緑内障 (POAG) と落屑緑内障に対する線維柱帯切開術 (TLO) の手術成績比較
術後5年では、生存率は落屑緑内障が73.5%で、POAGの58.0%に比べて有意によかった。(文献4より改変引用)
○ : 落屑緑内障, ● : POAG

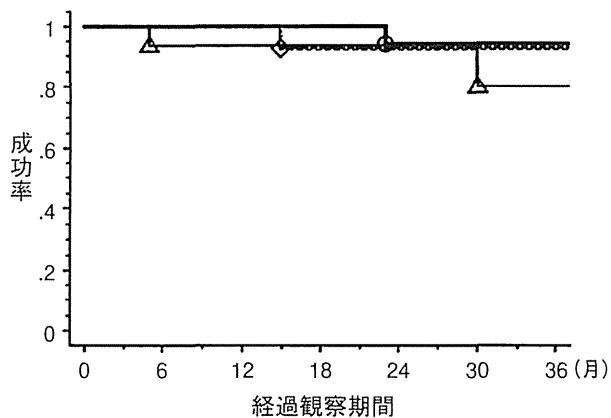


図8 眼圧21mmHgを基準とした落屑緑内障に対するTLOトリプル、TLEトリプル、TLEの手術成績比較
3群の生存率には有意差を認めなかった。(文献13より改変引用)
○ : TLOトリプル, △ : TLEトリプル, ◇ : TLE

と落屑緑内障に対するTLOの手術効果の比較では、術前眼圧が平均31.8mmHgであった症例が術後5年間20mmHg未満に維持できる成功率はPOAG 357眼中58.0%、落屑緑内障82眼中73.5%で、TLOは落屑緑内障において有意に良好な成績であった (図7)。また、Fukuchiら¹³⁾は、落屑緑内障の初回手術としてTLOトリプル群、TLEトリプル群、マイトマイシンC併用TLE単独手術群を術後36カ月間比較し、術後3カ月以降はいずれの群も術後眼圧に有意差がなかったと報告した (図8)。また、術後最高視力に達する

までの期間は、TLOトリプル群が有意に早かった。これらのことから、TLEトリプルと同等の眼圧下降効果があるTLOトリプルを落屑緑内障の初回手術として勧めている。

しかしながら、TLOまたはTLOトリプルのみで完全に眼圧コントロールが可能かといわれると、必ずしもそうではない。Taniharaら¹⁾の報告では、20mmHg未満という目標眼圧は達成したものの視野障害が進行した症例が存在し、術後緑内障点眼を併用せずに上記を達成できているのは、成功例のなかでもPOAGでは19.2%、落屑緑内障では19.4%であった。術式の特性上、術後眼圧はhigh teenに落ち着く傾向にあるとし、目標眼圧を達成するためには術後も緑内障点眼継続を考慮しなければならない。また、Fukuchiら¹³⁾の報告では、TLOトリプル群33眼中2眼はTLEの追加手術が必要となり、目標眼圧が10mmHg以下を要する視野重度障害例ではマイトマイシンC併用TLEかTLEトリプルを検討すべきとしている。線維柱帯切開という手技は落屑物質によって増加した流出抵抗を軽減するという効果を発揮するが、狭隅角、閉塞隅角による眼圧上昇の機序を解除できるわけではない。

3. 4. 最終的に何がよいのか、現在のエビデンスからみた術式選択

これらの報告を踏まえて術式を考慮するならば、初期落屑緑内障症例や初回手術にはTLOまたはTLOトリプルを検討する。中期から末期症例には可能な限り水晶体を温存して、TLEを先行施行、十分に時間をおいてから白内障手術を施行する方法が眼圧コントロールの面からはエビデンス的に推奨される。しかしながら実地臨床においては、眼圧は点眼でコントロールされていて白内障のみが進行する例や、IOL挿入後に眼圧コントロールが悪化する例、二期的手術計画自体が負担となる例もあり、全症例をエビデンス的に最善な治療にあてはめることは不可能である。よって、TLEトリプルやIOL眼のTLE術後成績が不良であるというエビデンスを念頭におきつつ、きめ細やかな術後管理で対応することで術後成績を改善させることも重要である。

4. 周術期ならびに術中管理

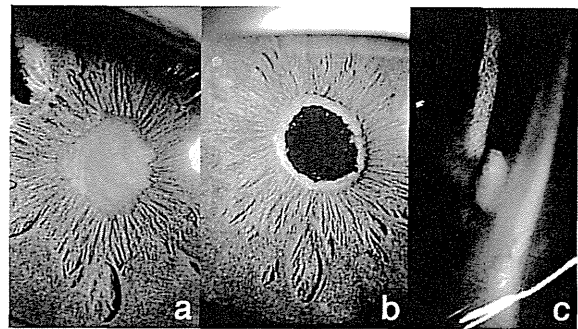


図9 術後炎症性瞳孔膜形成

両眼TLE施行後1週間ごろから炎症性瞳孔膜を形成。徐々に分厚くなり、視力は右眼(0.3)、左眼(0.2)まで低下した。十分に炎症が鎮静化するのを待って、術5カ月後にYAGレーザーによる瞳孔膜切開術を施行。術中、切開した瞳孔膜から少量の出血を生じ、円形に切開した瞳孔膜は前房中に落下、その後消失した。眼圧上昇は認めず、視力は両眼とも(1.0)に回復した。

a: 右眼 炎症性瞳孔膜を認める。切除した周辺虹彩の部位には膜を認めない。

b: 左眼 瞳孔膜切開術施行後。

c: YAGレーザーで円形に切開され、前房中に落下した瞳孔膜。

4. 1. 消炎の重要性

術後炎症が緑内障手術成績を左右するため、周術期には消炎に努めることが非常に重要である。落屑緑内障では虹彩血管の透過性が亢進しているという報告¹⁻³⁾や、TLE施行から2週間後でも偽落屑(PE)ではPOAGと比較して前房フレア値が上昇していたという報告¹⁴⁾があり、通常よりも意識的に強力な消炎を行うことが必要である。実際的には、緑内障手術後、前房中に高度のフィブリン析出を認めること(図9)も多く、副腎皮質ステロイド薬(以下ステロイド)(0.1%リンデロン[®]点眼液6回/日点眼、リンデロンA[®]眼軟膏眼前点入)やNSAIDs(プロナック[®]2回)による消炎を行う。それでも炎症コントロールが不十分な例ではステロイド内服を考慮することも必要である。

4. 2. 瞳孔管理

落屑緑内障では虹彩の剛性が低下して散瞳不良となることが広く知られているが、虹彩血管の萎縮から虹彩自体も脆弱となるため、同時に縮瞳不良も来しやすい¹⁾(図10)。白内障手術時には散瞳不良が問題になるため、八重式虹彩剪刀[®]、虹彩フック[®](push and pull hook)、ペーラー瞳孔拡張器[®]、Malyugin ring[®]、iris retractor[®]などの様々な補助器具を使用し

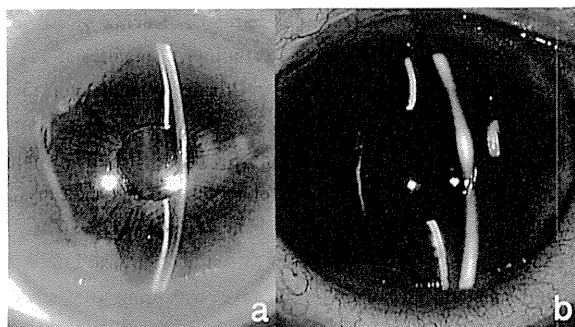


図10 術前後の瞳孔縁の写真
術前から散瞳不良あり (a), 術中, 虹彩フック® (push and pull hook) を用いて瞳孔を拡張しPEAを施行。チン小帯が脆弱であったため, 嚢を摘出後, IOLを強膜内固定し, TLEを併用した。術中操作のため, 術後も瞳孔は軽度散瞳, 不整なままである (b)。

て瞳孔を拡大した後に手術が行われる。一方, 緑内障手術時には過大な虹彩切除を防ぐために縮瞳させて手術が行われるため, 白内障同時手術では白内障手術後にオピソート®を用いて縮瞳させてから緑内障手術を行う。しかし, もともと縮瞳不良である上に, 瞳孔拡大により, 更にオピソートに対する反応が悪く, 縮瞳不良のまま虹彩切除をせざるを得ないこともしばしば経験する (図10)。縮瞳不良状態で周辺虹彩を切除すると大きく切除しすぎることがあるので注意を要する。またTLO術後には, 切開した線維柱帯の癒着を予防する目的で, 術後に縮瞳薬 (2%サンピロ®4回/日) を併用する。

5. 術後長期経過後の問題点

落屑緑内障では前述のようにチン小帯が脆弱となるため, 狭隅角や閉塞隅角緑内障, 更には水晶体亜脱臼から続発閉塞隅角緑内障を発症することもある¹⁾。チン小帯脆弱例の白内障手術時に種々の補助器具 (capsule expanderやcapsular tension ringなど) を使用してIOLを挿入できたとしても, 長期経過後にIOL亜脱臼から緑内障が悪化することもある (図11)。このような場合には亜脱臼したIOLの処理だけでなく緑内障の管理を同時に行なわねばならない。術後は普段から注意深く瞳孔径と前房深度, ならびにIOLの位置と振盪の有無を観察し経過をみていく必要がある。

亜脱臼の程度によっては既存IOLをそのまま用い



図11 IOL亜脱臼例
チン小帯脆弱のため, 術後長期経過してからIOLが嚢ごと下方に偏位している。

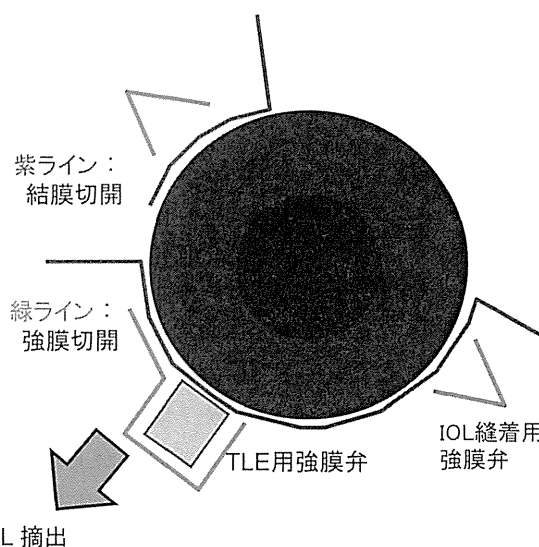


図12 IOL摘出+IOL縫着+TLEの術式シエマ

たループ縫着のみでIOL整復が可能である場合もある。しかし, IOL全摘出の必要がある場合には, 素材により眼内分割可能で3~4mm程度の小切開で済むこともあれば, 広範囲にわたる結膜/強角膜切開が必要になる場合もある。更にIOL縫着の際にはループ縫着もしくは強膜内固定する部分の結膜/強膜切開が必要である (図12)。このような症例に後に緑内障手術が必要となった場合には, 先行手術で大きく切開された癒着結膜を用いてTLEを行うことを余儀なくされ, 強膜弁作製時にIOL縫着糸を切断する可能性すらある。先に述べたように残存水晶体上皮細胞が産生するMCP-1が濾過胞維持に悪影響を及ぼしているならば, 水晶体上皮細胞が付着した水

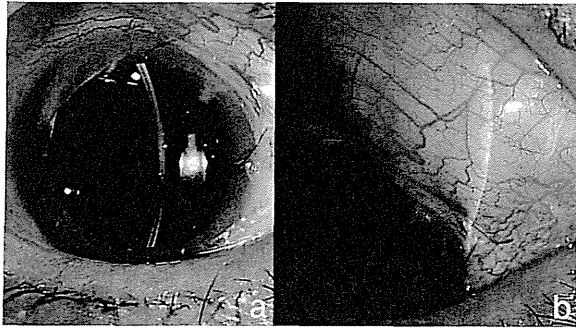


図13 IOL摘出+IOL縫着+TLE後の前眼部 (a) ならびに濾過胞写真 (b)

晶体嚢を温存せず、亜脱臼IOLとともに摘出した方が濾過胞が維持される可能性がある。したがって、IOL全摘出+IOL縫着+TLEの同時手術はその後の濾過胞維持の観点からもIOL亜脱臼眼の修復の選択肢となり得る (図13)。

6. まとめ

落屑緑内障は高齢者によくみられる緑内障病型ではあるが、落屑物質の単なる沈着のみで眼圧上昇を来さない軽症例から、眼圧変動が大きく視野障害が進行しやすい重症例まで幅広い重症度を示す。更に落屑物質の線維柱帯への沈着やチン小帯脆弱による狭隅角など異なる機序が複合して眼圧が上昇しており、その治療にあたっては種々のポイントを熟知する必要がある。虹彩血管透過性亢進のため炎症が惹起されやすいこと、虹彩萎縮から散瞳縮瞳ともに不良であることは、白内障手術/緑内障手術両方の難易度をあげている。白内障手術を無事にきりぬけても、長期的にはその後のIOL亜脱臼や緑内障手術後の眼圧コントロールで苦しむこともある。本疾患の様々なバリエーションを認識しつつ治療にあたることで、視野障害進行予防、緑内障治療の鍵であり、患者のquality of vision (QOV) に寄与すると考えられる。

■文献

1) Ritch R, Schlotzer-Schrehardt U & Konstas AG : Why is glaucoma associated with exfoliation syndrome? *Prog Retin Eye Res*, **22** : 253-275, 2003.

2) Conwey RM, Schlotzer-Schrehardt U, Kuchle M, et al : Pseudoexfoliation syndrome : Pathological manifestations of relevance to intraocular surgery. *Clin Exp Ophthalmol*, **32** : 199-210, 2004.

3) Parpdi MB, Bondel E, Saviano S, et al : Iris indocyanine green angiography in pseudoexfoliation syndrome and capsular glaucoma. *Acta Ophthalmol Scand*, **78** : 437-442, 2000.

4) Tanihara H, Negi A, Akimoto M, et al : Surgical effects of trabeculotomy ab externo on adult eyes with primary open angle glaucoma and pseudoexfoliation syndrome. *Arch Ophthalmol*, **111** : 1653-1661, 1993.

5) Awai-Kasaoka N, Inoue T, Takihara Y, et al : Impact of phacoemulsification on failure of trabeculectomy with mitomycin-C. *J Cataract Refract Surg*, **38** : 419-424, 2012.

6) Manoj B, Chako D & Khan MY : Effect of extracapsular cataract extraction and phacoemulsification performed after trabeculectomy on intraocular pressure. *J Cataract Refract Surg*, **26** : 75-78, 2000.

7) Chen PP, Weaver YK, Budenz DL, et al : Trabeculectomy function after cataract extraction. *Ophthalmology*, **105** : 1928-1935, 1998.

8) Ogata-Iwao M, Inatani M, Takihara Y, et al : A prospective comparison between trabeculectomy with mitomycin C and phacotrabeculectomy with mitomycin C. *Acta Ophthalmologica*, **91** : e500-501, 2013.

9) Takihara Y, Inatani M, Seto T, et al : Trabeculectomy with mitomycin for open-angle glaucoma in phakic vs pseudophakic eyes after phacoemulsification. *Arch Ophthalmol*, **129** : 152-157, 2011.

10) Joseph JP, Grierson I & Hitchings RA : Chemotactic activity of aqueous humor : A cause of failure of trabeculectomies. *Arch Ophthalmol*, **107** : 69-74, 1989.

11) Inoue T, Kawaji T, Inatani M, et al : Simultaneous increases in multiple proinflammatory cytokines in the aqueous humor in pseudophakic glaucomatous eyes. *J Cataract Refract Surg*, **38** : 1389-1397, 2012.

12) Kawai M, Inoue T, Inatani M, et al : Elevated levels of monocyte chemoattractant protein-1 in the aqueous humor after phacoemulsification. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, **53** : 7951-7960, 2012.

13) Fukuchi T, Ueda J, Nakatsue T, et al : Trabeculectomy combined with phacoemulsification, intraocular lens implantation and sinusotomy for exfoliation glaucoma. *Jpn J Ophthalmol*, **55** : 205-212, 2011.

14) 稲谷 大, 岩尾美奈子, 瀧原祐史, 他 : 線維柱帯切除術における術後前房フレア値の前向き臨床試験—単独手術と超音波乳化吸引術同時手術との比較. *日眼会誌*, **116** : 856-861, 2012.

総 説

多因子疾患のゲノム医科学研究の動向

中 野 正 和*

京都府立医科大学大学院医学研究科ゲノム医科学

Recent Advances in the Genetics Research of Common Diseases

Masakazu Nakano

*Department of Genomic Medical Sciences,
Kyoto Prefectural University of Medicine Graduate School of Medical Science*

抄 録

ヒトゲノムの全塩基配列が決定されたことを契機に、従来の遺伝子領域を中心として発展した分子生物学に加えて、ゲノム全体を俯瞰してその生物学的意義を追究するゲノム研究が重要視されている。ヒトの疾患の遺伝要因（バリエント）を解析する人類遺伝学の分野においても、単一遺伝子上の変異に起因するメンデル遺伝病の責任遺伝子の同定から、遺伝要因と環境要因とが複合的に相互作用することで発症する多因子疾患に関連するバリエントの探索へと研究対象が広がっている。この動向は、新たにスタートした国際プロジェクトの後押しで目覚ましい進歩を遂げたDNAマイクロアレイや次世代シーケンサーなどのゲノム解析技術と、それらの技術がもたらした新しい遺伝学的解析手法とに密接に関連している。本稿では、多因子疾患を対象とするゲノム医科学研究を取り巻く現状と今後の方向性について概説する。

キーワード：人類遺伝学，多因子疾患，バリエント，ゲノムワイド関連解析，次世代シーケンサー。

Abstract

Since the complete sequence of human genome has been released by the Human Genome Project, it has become apparent to be important to overview the whole genome, instead of just focusing on the gene regions, in order to elucidate the biological phenomena. In the field of human genetics, the research trend has also evolved from identifying causative mutation on the single gene responsible for Mendelian diseases into discovering the variants associated with common diseases, which are the complex diseases develop through multiple interactions between genetic and environmental factors. In fact, the enrichment of public database derived from newly initiated international projects have facilitated this movement by bringing in some technological breakthroughs, such as DNA microarrays and next-generation sequencers, and enabled us to perform new methods of genetic analysis. This review describes the current topics of genetics/genomics researches for common diseases and discusses about the future prospects of the research area.

Key Words: Human genetics, Common disease, Variant, Genome-wide association study, Next-generation sequencer.

平成25年10月9日受付

*連絡先 中野正和 〒602-8566 京都市上京区河原町通広小路ル梶井町465番地
manakano@koto.kpu-m.ac.jp

はじめに

2003年、ワトソンとクリックによるDNAの二重らせん構造の発見から50周年にあたるこの年に合わせてヒトゲノム計画の完了が宣言された。10年以上もの歳月と莫大な労力をかけて遂行された本プロジェクトの結果、人類は約33億塩基対から成る人体の設計図を手に入れたことになる¹⁾。一方、21世紀初頭のこの時期は生命科学史における重要な転換期、すなわち遺伝子至上主義からのパラダイムシフトが生じた時期として回想されることになるであろう。

DNAの分子構造の解明からヒト全塩基配列決定に至る半世紀はまさに「DNA=遺伝子」の時代(図1)であり、遺伝子をコードする配列からタンパク質が翻訳されること(セントラルドグマ)が生命現象の根幹であるとされてきた。事実、遺伝子以外の配列は“ジャンク(がらくた)DNA”とさえ呼ばれていた²⁾。この間、ノックアウトマウスに代表される遺伝子工学を駆使しながら個々の遺伝子の機能を丹念に解析し、それらの遺伝子がコードするタンパク質分子どうしのネットワークをシグナル伝達系として深化させていく分子生物学が隆盛を極めた。しかし、我々はヒトゲノム計画の過程でヒトの遺伝子の総数(約30,000個)が他の生物種に比べて決して多くないこと⁴⁾、また、ゲノム全体に占める遺伝子領域の割合がわずか1~2%に過ぎないこと²⁾を再認識させられた。加えて、全ゲノム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全一次転写産物)解析によって、現在ではゲノム配列の実に約70%がRNAに転写され、その内の過半数がタンパク質には翻訳されずにRNAとして何らかの機能を担っていることが示唆されている⁵⁾。従って、ヒト生命の本質(疾病状態を含む)を理解するためには、セントラルドグマで完結させてきた従来の概念に留まらず、ゲノム全体を俯瞰してその機能を追究するゲノム研究が不可欠であり、人類は更なる技術革新をもたらしながら広大なゲノムに挑戦していく新しい生命科学の時代(ポストゲノム時代)へと既に一步踏み出している(図1)。

生命科学におけるこのような劇的な情勢変化の中、ヒトの疾患の遺伝要因を追究する研究環境も大きく変遷している。従来の人類遺伝学では単一遺伝子上の変異に起因するメンデル遺伝病の責任遺伝子の同定を得意としてきたが、最近では“common disease(ありふれた疾患)”(遺伝要因と環境要因とが複合的に相互作用することで発症する多因子疾患、癌や糖尿病などの生活習慣病が該当する)を対象とする研究が盛んに行われている。この動向は、まさしくポストゲノム時代に新たにスタートした国際プロジェクトの進展とそれに後押しされて進歩したマイクロレイや次世代シーケンサーなどのゲノム解析技術と密接に関連している⁶⁾(図1)。本稿では、まず遺伝学的な用語の定義を確認した上で、多因子疾患を対象とするゲノム医学研究を取り巻く現状と今後の方向性について概説する。

ヒトの個性を規定するゲノム配列の違い(バリエント)

ヒトゲノム計画の結果、ヒトどうしの塩基配列の相同性は99~99.5%であることが示され¹⁾、ヒトのゲノム配列は感覚的には「非常に良く似ている」という印象を受ける。しかし、ヒトどうしを見比べると人種の違いによる見た目の差はもちろん、同じ人種であっても個々人の形質は(一卵性双生児を除いて)十人十色である。では、遺伝要因としてのヒトの個人差はどのように決定されているのだろうか? その答えは明解で、配列の相同性から逆算した0.5~1%の違いがその差を規定している。一見、割合としてはごくわずかに感じるが、塩基数に換算すると全ゲノムが約33億塩基対であることから実に数千万塩基対に相当する。そして、この数千万塩基の配列には、疾患に対する感受性も含めたヒトそれぞれの形質を決定付けるあらゆる遺伝情報が刻まれているはずである。

最近では、ヒトの個性を規定するゲノム配列の違いのことを総称して“バリエント”と呼んでいる⁷⁾。バリエントには、その構成(図2)と集団における頻度(表1)の違いからいくつか

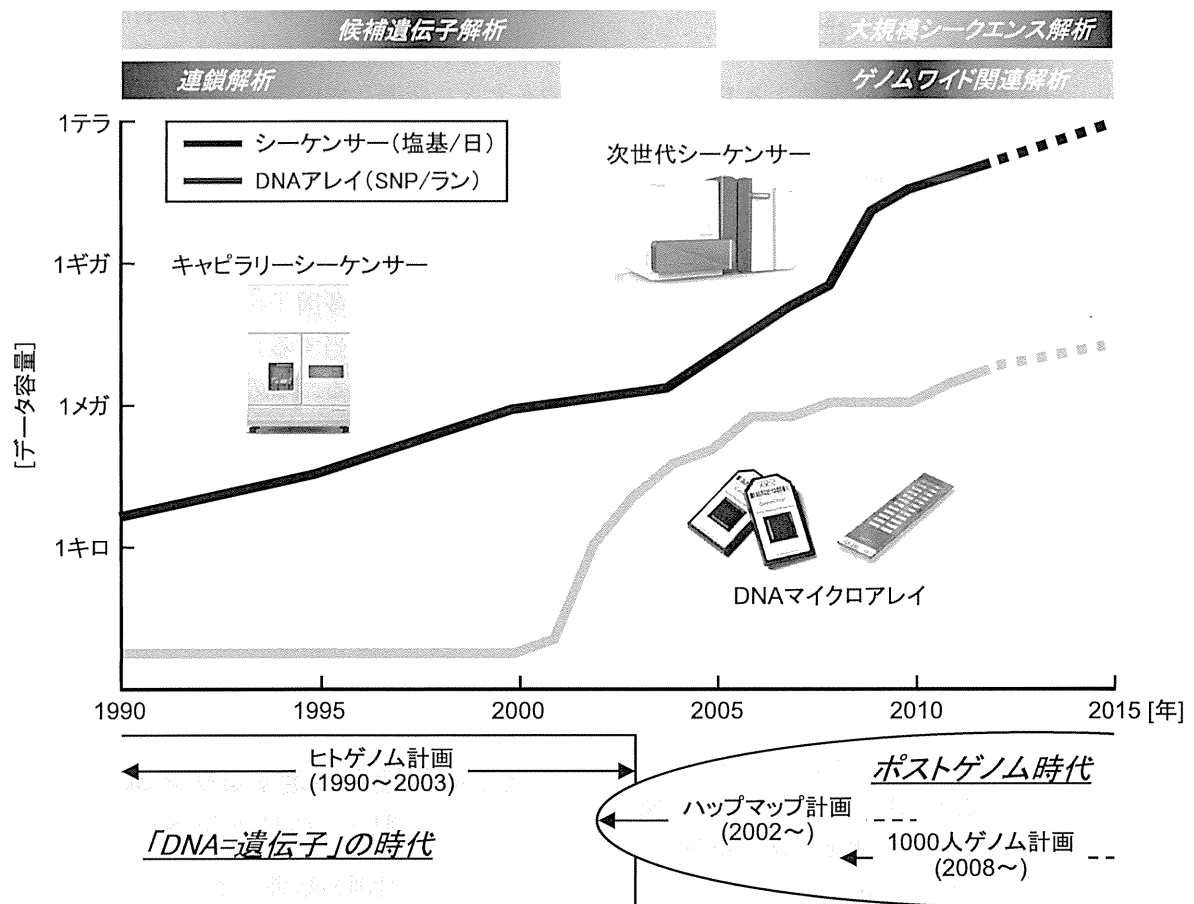


図1 マイクロアレイ/シーケンサーによるデータ産生量と遺伝学的解析手法の変遷
 国際プロジェクトの進展がこれらの技術革新を後押ししていることがみてとれる。(文献6より許可を得て
 改変のうえ転載)

の分類がある。また、疾患を形質として考えた場合、集団においてそのバリエーションのアレル(対立遺伝子)を保有している割合(アレル頻度)の違いによって、関連する疾患やバリエーションの性質も異なる(表1)。例えば、メンデル遺伝病の原因バリエーション(privateバリエーション)の場合、集団におけるアレル頻度は非常に稀であるが、一個の遺伝子のエクソン上から疾患への影響力(指標としてオッズ比などがある)が大きいバリエーションが同定されることが多い(表1)。一方、多因子疾患のバリエーション(主としてcommonバリエーション)は集団におけるアレル頻度が高い反面、関連するバリエーションは数十~数百個にもおよび個々のバリエーションが疾患におよぼす影響力は微小である(表1)。例えば、遺伝要因の影響

が強いとされている1型糖尿病ですら、現在までに40箇所以上の染色体領域が関連することが報告されている⁸⁾。従って、疾患の原因バリエーションを同定するためには、それぞれの疾患を規定するバリエーションの特徴に従った研究手法を選択することが重要である。

遺伝マーカーと解析手法

疾患の遺伝要因を探索する研究には、広大なゲノム上に点在する特徴的な配列を遺伝標識(マーカー)として活用してきた(図2)。例えば、メンデル遺伝病の原因遺伝子探索では、疾患に罹患している血縁者を多く含む大家系の検体を準備して、反復配列であるマイクロサテライトなどの遺伝マーカーと連鎖して代々継承されて

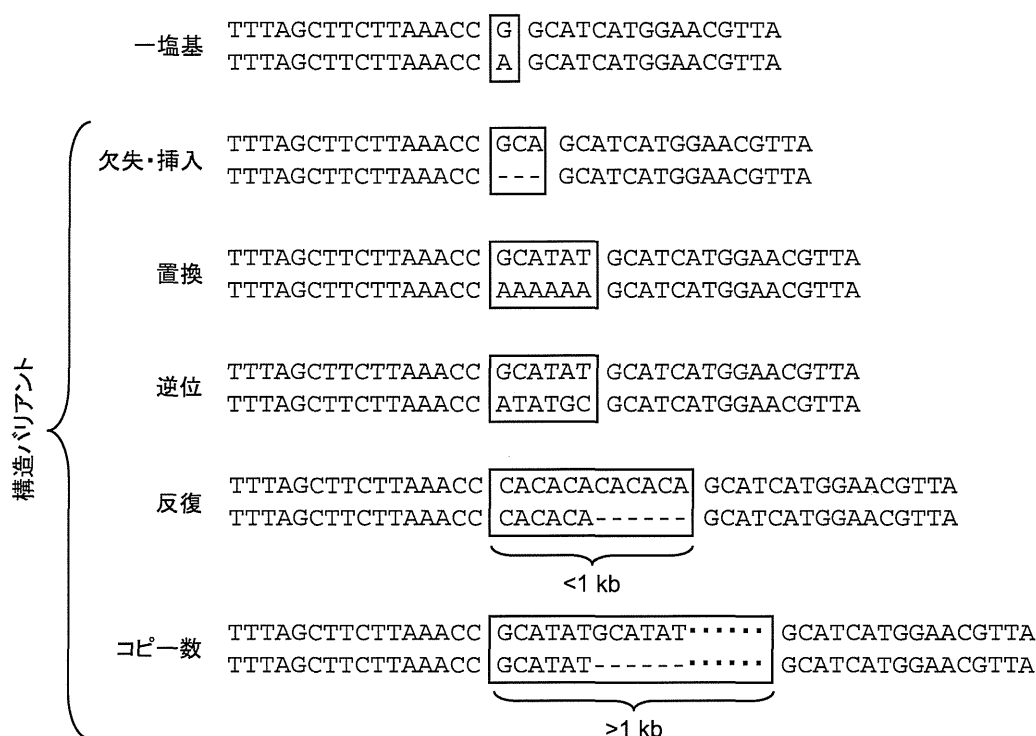


図2 バリエントの構成による分類

一塩基のみが異なる一塩基バリエントとそれ以外の構造バリエントに大別される。いずれも疾患の遺伝的要因をゲノム上から探索する際に用いる遺伝マーカーとして利用されている。

表1 集団におけるバリエントの頻度による分類と疾患との関連性

バリエントの種類	集団におけるアレル頻度	関連疾患(有病率)	バリエントの個数(ゲノム上の主な位置)	個々のバリエントの疾患への影響力	影響の種類
common (ありふれた)	≥1%*	多因子疾患 (高)	数十〜数百個 (遺伝子外)	小	発現調節
rare (稀な)	0.1%<頻度<1%	多因子疾患 (中)	数個〜数十個 (遺伝子外、遺伝子上)	中	発現調節 アミノ酸置換
private (極端にまれな)	<0.1%	メンデル遺伝病 (低)	単一 (エクソン上)	大	アミノ酸置換

*アレル頻度が1%以上のバリエントをかつては“多型”と呼んでいた。

いるゲノム領域を絞り込んでいく連鎖解析の手法が用いられてきた⁹⁾。この方法では、特定されたゲノム領域に存在する多数の遺伝子の一つ一つを入念に解析することによって、最終的に疾患の責任遺伝子に存在するエクソン上のバリエント(表1)に辿り着くことも多い。1980年代後半からは、連鎖解析によって数々のメンデル遺伝病に関連するバリエントが同定されていった(図1)。また、かつてはある種の連鎖解

析を多因子疾患に関連するゲノム領域を探索する方法としても応用することがあった。しかし、有病率などに偏りのあることが予想される家系を用いた解析結果と一般集団における多因子疾患の罹患者を対象とした解析結果とでは必ずしも結果が一致しないことが最近明らかにされている⁹⁾。

一方、家系を用いずに一般集団から形質の異なる2群を抽出して両群で頻度に差のあるバリ

アントを検出する遺伝学的解析手法をケース・コントロール関連解析（相関解析）という。相関解析の一つに、遺伝マーカーを用いることなく従来の医学・生物学的知識から疾患の病態との関係が推測される遺伝子（候補遺伝子）を選択して解析する候補遺伝子解析がある¹⁰（図1）。候補遺伝子解析では、サンガー法によるダイレクトシーケンスなどによって取得した遺伝子のエキソンの配列情報をもとに相関解析を実施し、疾患に関連するバリエーションを同定する。しかし、多因子疾患を対象としたこれまでの研究では、統計学的な検出力が不足している小規模集団での解析例が多く、再現性の高い結果が得られていない。これは、解析したい遺伝子の数が多かったり、活性中心などの興味深いドメインをコードしているエキソンが長かったりすることで、コストや労力の許容量に応じて検体数を減らさなければならないことに起因している。また、多因子疾患のバリエーションは疾患に対する個々の影響力が小さいため、真に関連しているバリエーションを同定するためには検体数を増やす必要がある上に、そもそも多くのバリエーションはエキソン上からは同定されない（表1）。従って、多因子疾患のバリエーション探索には候補遺伝子解析では限界があり、遺伝子のエキソン以外のイントロンや上流に存在する転写調節配列だけでなく、遺伝子外のゲノム配列も含めた網羅的な解析を可能にする技術や遺伝マーカーの開発が以前から期待されていた。

候補遺伝子から全ゲノムへ

ヒトゲノム計画の後継の国際プロジェクトとして、2002年から国際ハップマップ計画がスタートした（図1）。本プロジェクトは、白人とアフリカ人それぞれ30組のトリオ（父、母、子）とアジア人として非血縁者の日本人と中国人それぞれ45人ずつ、総計3人種・270人分について人種ごとのゲノム全体のハプロタイプ（遺伝的に連鎖していることが統計学的に算出された複数のバリエーションの組み合わせ）の地図を構築するために発足した¹¹。ハプロタイプ情報を得るためには、人種ごとにゲノム上の一塩基多型

（single-nucleotide polymorphism, SNP；一塩基バリエーション（表1）の内、アレル頻度が1%以上のバリエーションを特にSNPと呼ぶ）を高密度に決定（ジェノタイピング）し、個々のSNPのアレル頻度情報を取得する必要がある。そのためには、網羅的なジェノタイピング技術の開発が必須であり、本プロジェクトが原動力となりDNAマイクロアレイの技術が急速に進歩した（図1）。

マイクロアレイの基盤（チップ）もしくはビーズ上には、配列の中央にSNPが配置されている何十万個ものオリゴヌクレオチドプローブが固層化されており、その一つ一つと相補鎖を形成（ハイブリダイズ）するヒトゲノム由来のDNA断片を検出する。これは、1検体あたり十万レーン以上のサンプロッティング解析が3日程度で完結してしまうことに相当する画期的な技術である。莫大な資金と労力を投じたハップマップ計画では、膨大なジェノタイプデータの取得を通じて各SNPの人種別頻度情報および近傍SNPどうしのハプロタイプ情報を学術的成果として取得することができた¹²。加えて、技術的成果としてアレイ上のプローブの高密度化およびハプロタイプ情報に基づく“タグSNP（領域を代表するSNP）”の選別によるプローブの質の向上が達成できた¹²。その結果、アレイあたりの解析コストの劇的な低下がもたらされると共に、これらの成果は全ゲノム上にまんべんなく配置されたSNPを遺伝マーカーとして活用する相関解析、いわゆるゲノムワイド関連解析（genome-wide association study, GWAS）へと発展した（図1）。

GWAS がもたらしたもの

GWASが確立されて以来、現在までに様々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¹³。2007年にはサイエンス誌の“Breakthrough of the Year”にも選ばれ、当初その勢いは人類遺伝学における“gold rush”とさえ言われた¹⁴。では、我々は果たして黄金の山を得ることができたのだろうか？

GWASの成功例の先駆けとして、2005年に

報告された加齢黄斑変性 (age-related macular degeneration, AMD) が挙げられる¹⁵⁾。加齢黄斑変性は、網膜中央の黄斑が加齢とともに変性する多因子疾患であり、米国では失明原因の第1位の疾患である。この報告では、約10万個のプロローブが搭載されている初期のアレイ (現在は100万~250万プロローブのアレイが主流; 図1) を用いて、白人のケース96例とコントロール50例という現在では桁違いに小規模な検体群を用いたGWASが実施された。その結果、ケース群に有意なマーカーSNPの同定を足掛かりに、補体系の調節因子の一つであるH因子遺伝子 (complement factor H, *CFH*) のエキソン上からアミノ酸置換を伴うSNPを発見することに成功した。その後、*CFH*とは異なる複数の補体系因子上のSNPもAMDと関連していることが次々に明らかにされた¹⁶⁾¹⁷⁾ ことから、網膜における補体系と加齢黄斑変性の発症との関連性を解明する興味深い課題が残されている。また、これらのSNPはいずれもオッズ比が高い (>2.0) ことから、複数のSNPのリスクアレルの有無の情報を組み合わせることによって、AMDの発症リスクを予測するゲノム診断への応用が検討されている¹⁸⁾。このように、多因子疾患のGWASによって遺伝子上からオッズ比の高いバリエントが同定された場合、疾患の発症機序を解明する基礎研究が進化するだけでなく、疾患の発症を予測する新しい診断法の開発へと発展する可能性を秘めている。

しかし、GWASに寄せられた過度な期待に反して、現在までに同定されているバリエントの大多数は個々の疾患の発症機序の解明やゲノム診断の実現に直結していない。同定されたマーカーSNPやそれと連鎖しているSNPの疾患に対する影響力が小さい (オッズ比1.2~1.5程度) 上に、そもそも多くのSNPが近傍に遺伝子の存在しない“gene desert (遺伝子砂漠)”から同定されたからである⁷⁾。例えば、冠動脈疾患¹⁹⁾と2型糖尿病²⁰⁾の両者に関連することで注目された染色体領域 (9p21.3) には *CDKN2A* や *CDKN2B* などの遺伝子が存在するものの、バリエントが同定された領域はこれらの遺伝子から130 kb以上

離れている遺伝子砂漠である。一部のバリエントは *CDKN2B* の下流に位置する *CDKN2B-AS1* 上から同定されたが、*CDKN2B-AS1* は非コード遺伝子 (RNAには転写されるもののタンパク質には翻訳されない遺伝子。RNAとして何らかの機能を果たしていると考えられている) であり、その機能は不明である。興味深いことに、本領域は冠動脈疾患と2型糖尿病の他にも虚血性脳卒中、大動脈瘤、神経膠腫、悪性黒色腫など複数の多因子疾患と関連することが明らかにされている²¹⁾。加えて、我々が実施した原発開放隅角緑内障 (primary open-angle glaucoma, POAG) のGWAS²²⁾²³⁾ においても、POAG患者に特有なバリエントが9p21.3の *CDKN2B-AS1* 上から同定された。これらのバリエントは、他施設での検証や複数施設のデータを統合したメタ解析によって確かにそれぞれの疾患に関連することが証明されている。従って、GWASによって少なくとも多因子疾患に関連する染色体領域は絞り込めたものの、統計学的に疾患に関連付けられたこれらのバリエントが個々の疾患の病態にどのように関わっているのか、その分子機序を解明する難題は今もなお残されているのが現状である。

遺伝子砂漠の生物学的意義

遺伝子砂漠には統計学的に疾患に関連付けられるバリエントが存在する以上、生物学的に何らかの意味のある塩基配列が潜在し、その配列上のバリエントの有無が疾患の病態に関与していることが推測される²⁴⁾ (図3)。現時点での生物学的知識から我々が考慮すべきゲノム配列は、遠隔遺伝子の発現を調節しているエンハンサーやタンパク質に結合してその活性を制御する各種RNAをコードする配列 (図3A) あるいはメチル化などのエピジェネティックマーク (図3B) が挙げられる。そして、これらの配列の有無とバリエントとの関連性を検証するためには、GWASで同定された染色体領域全体にわたる高精度な塩基配列情報の取得が不可欠である。

一度に大量かつカバー率の高い (= 高精度な)

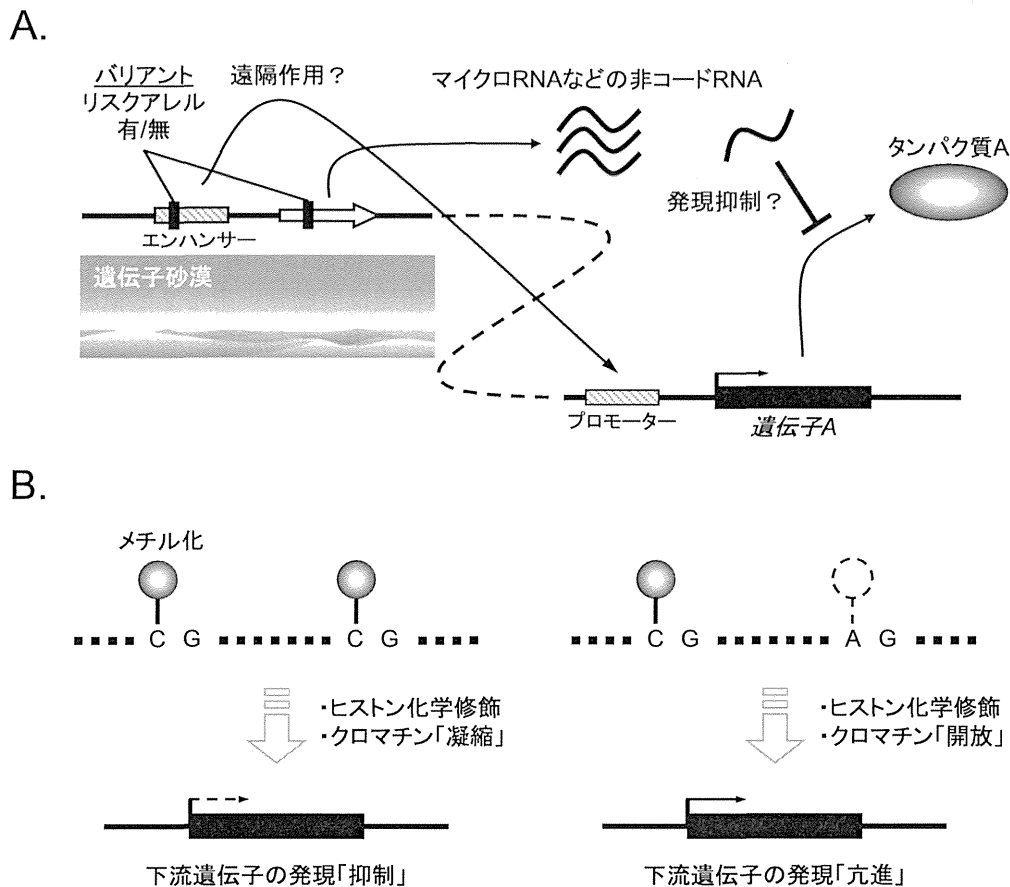


図3 遺伝子砂漠のバリエントの機能
 (A) エンハンサーなどの調節配列や非コードRNA配列上にあるバリエントのリスクアレルの有無によって、遠隔遺伝子やタンパク質の発現量が変化している可能性がある。(B) エピジェネティックな修飾を受ける塩基がバリエントであった場合、下流遺伝子の発現量に影響をおよぼす可能性がある。(文献24より許可を得て改変のうえ転載)

シーケンズデータを産生することが可能な次世代シーケンサー (next-generation sequencer, NGS) が開発された (図1) ことによって、広範囲にわたるゲノム領域を詳細に解析することが可能になってきた。NGSでは、バリエントだけでなくその前後も含めた配列情報をこれ以上無い解像度 (塩基配列) で取得できるので、理論的には遺伝マーカーを用いることなくヒトゲノム上の全バリエントを検出することが可能である。現在、国際プロジェクトとして1000人ゲノム計画²⁵⁾ が進行しており (図1)、1000人分のヒトゲノムシーケンズデータの取得を目指している。その過程で、ハップマップ計画でアレイにより取得したバリエントのジェノタイプ

データの誤りを指摘したり、NGSのデータ産生量や解析能力の更なる進歩に貢献したりする波及効果もたらされている。しかし、NGSといえども一般施設においてヒト全ゲノムの高精度なシーケンズデータを多検体から取得することは検体処理能力およびコストの両面から依然難しい。そこで、シーケンサーに供するゲノムDNAの前処理として、染色体領域や構成成分 (遺伝子のエクソンなど) をあらかじめ特異的かつ効率的に捕獲する技術 (標的配列濃縮法) の開発と改良が盛んに行われている²⁶⁾。現在世界中のGWAS研究者は、同定された疾患関連領域を適切な標的配列濃縮法によって捕獲し、NGSを用いて領域全体の高精度な塩基配列情報を取

得ることによって、GWASでは明かされなかった多因子疾患の分子機序の本質に迫ろうと試行錯誤している。

最近、GWASを起点とする多因子疾患の分子機序の解明に向けた展開として、上述した冠動脈疾患に関連する9p21.3領域をNGSによって精査した例が報告された²⁷⁾。本研究では、バリエーションのリスクアレル保有者／非保有者（総計50人分）について当該領域の塩基配列をNGSで決定後、1) 領域内の全バリエーションの抽出、2) 配列予測プログラムによるエンハンサーの推定、3) NGSを用いたChromosome conformation capture (3C) 法（核内でエンハンサーとプロモーターが調節タンパク質を介して物理的に会合している位置を塩基配列として捉える方法）によるエンハンサーの標的配列の同定、を実施した。

まず、配列予測の結果から9p21.3は全ゲノム中の遺伝子砂漠の中でもエンハンサーが2番目に高密度に存在することが判明した。従って、本領域が多数の遠隔遺伝子の発現を調節するハブ（中継地点）の役割を担っていることが示唆された。この結果は、GWASによってまったく異なる病態を示す複数の多因子疾患に関連するバリエーションが、実は同一領域の異なるエンハンサー上に位置している可能性を示した重要な知見である。加えて、*CDKN2B*のアンチセンスRNAが転写産物として検出される*CDKN2B-ASI*の配列中にもエンハンサーがコードされていることから、同一配列がRNAとDNAの異なる次元における機能をコードしていることを示唆する興味深い知見でもある。

次に、本研究では血管内皮細胞株を用いた*in vitro*の実験系で冠動脈疾患に関連するバリエーションを含むエンハンサー配列と転写因子（STAT1）との結合活性がリスクアレルの有無によって異なることを示した。更には、このエンハンサーが約950 kbも離れた*IFNA21*領域を始め、複数の遺伝子領域と会合していることを3C法で明らかにした。以上の結果は、統計学的に疾患と関連付けられたバリエーションの生物学的意義を初めて分子レベルで説明することができた画期的

な成果である。今後、本研究例のようにNGSを活用しながらGWASで同定された多数のバリエーションと疾患の発症機序との関連性を解明する糸口が得られることが期待される。

おわりに

数百個にもおよぶことが想定されている多因子疾患に関連する遺伝要因（バリエーション）（表1）をすべて洗い出すことは、精密な臨床診断により明確にケース群とコントロール群に分配された検体を多数（時に数万検体）準備することさえできれば可能になってきている。これまでGWASで汎用されてきた50万～100万プローブのアレイでは、ハップマップ計画の情報をもとに白人集団におけるアレル頻度が5%以上のcommonバリエーションが搭載されていたため、日本人にとってはそもそもバリエーションでない約3～4割に相当するジェノタイプデータを破棄していた²²⁾²³⁾²⁸⁾。しかし、最近主流の250万プローブのアレイでは、アジア人固有のバリエーションも搭載可能であり、commonバリエーションだけでなく1000人ゲノム計画の情報が反映されたアレル頻度が1%未満のエキソン上のrareバリエーションも搭載されている。加えて、NGSによるエキソーム解析が普及してきたことから、メンデル遺伝病に限らず多因子疾患に関連する未知のバリエーションがエキソン上から同定される例も増えてきている。従って、多因子疾患に特有なバリエーションを人種やアレル頻度によらず網羅的に検出する技術的な環境は整ってきている。

一方、最近では疾患群をいくつかのグループに亜分類し、それぞれに固有なバリエーションを同定する試みも盛んに行われている²⁹⁾。例えば、我々が実施したPOAGのGWASにおいても、POAG群を眼圧の高い群と低い群（正常眼圧緑内障）の病型別に分類して解析したところ、*CDKN2B-ASI*上のバリエーションは正常眼圧緑内障患者にのみ関連するバリエーションであることが明らかになった²³⁾。すなわち、解析対象疾患を特徴的な形質によって細分化することで、疾患の発症に関連する遺伝要因だけでなく、疾患の病型、進行の速度や方向性などを規定する因子

が同定できる可能性がある。今後は、GWASを起点とした疾患の発症に関連する遺伝要因の探索から原因バリエーションの生化学的な機能解析に至る横軸方向への広がりだけでなく、疾患それ自体を構成する複雑な遺伝的背景を追究する縦軸方向への深化の両方が推進されることで、多因子疾患の本質を理解するゲノム医学研究が急速に発展していくことが予想される。

多因子疾患に関連するバリエーションが同定され尽くした後は、遺伝子を中心とした従来のシグナル伝達系に加えて、ゲノム上の全バリエーションとそれらの機能を加味したネットワークが描けるであろう。そして、9p21.3領域のように複

数の多因子疾患が共有しているハブとなるような領域が整理されて浮かび上がってくるに違いない。しかし、多因子疾患の真の病態を理解するためには、遺伝要因を統合的に理解するだけでは不十分である。環境要因との長期間にわたる（＝加齢に伴う）微弱な相互作用が疾患に与えるエピジェネティックな影響を解明するためには従来の分子生物学的手法では限界があり、多因子疾患の病態を反映したモデル生物の開発などの更なる技術革新が今後の大きな課題である。

開示すべき利益相反状態はない。

文 献

- 1) Lander ES, et al. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature* 2001; 409: 860-921.
- 2) Venter JC, et al. The sequence of the human genome. *Science* 2001; 291: 1304-1351.
- 3) Gardiner K. Human genome organization. *Curr Opin Genet Dev* 1995; 5: 315-322.
- 4) Claverie JM. Gene number. What if there are only 30,000 human genes? *Science* 2001; 291: 1255-1257.
- 5) Carninci P, et al. The transcriptional landscape of the mammalian genome. *Science* 2005; 309: 1559-1563.
- 6) 池田陽子, 中野正和, 森 和彦. 緑内障の遺伝子. *臨床眼科* 2012; 29: 355-357.
- 7) Frazer KA, Murray SS, Schork NJ, Topol EJ. Human genetic variation and its contribution to complex traits. *Nat Rev Genet* 2009; 10: 241-251.
- 8) Bradfield JP, Qu HQ, Wang K, Zhang H, Sleiman PM, Kim CE, Mentch FD, Qiu H, Glessner JT, Thomas KA, Frackelton EC, Chiavacci RM, Imielinski M, Monos DS, Pandey R, Bakay M, Grant SF, Polychronakos C, Hakonarson H. A genome-wide meta-analysis of six type 1 diabetes cohorts identifies multiple associated loci. *PLoS Genet* 2011; 7: e1002293.
- 9) 池田陽子, 中野正和, 田代 啓, 森 和彦, 木下 茂. 緑内障の検査診断学 3. 遺伝子診断 2011; 53: 207-220.
- 10) Singer JB. Candidate gene association analysis. *Methods Mol Biol* 2009; 573: 223-230.
- 11) The International HapMap Project. *Nature* 2003; 426: 789-796.
- 12) Frazer KA, et al. A second generation human haplotype map of over 3.1 million SNPs. *Nature* 2007; 449: 851-861.
- 13) Ku CS, Loy EY, Pawitan Y, Chia KS. The pursuit of genome-wide association studies: where are we now? *J Hum Genet* 2010; 55: 195-206.
- 14) Topol EJ, Murray SS, Frazer KA. The genomics gold rush. *JAMA* 2007; 298: 218-221.
- 15) Klein RJ, Zeiss C, Chew EY, Tsai JY, Sackler RS, Haynes C, Henning AK, SanGiovanni JP, Mane SM, Mayne ST, Bracken MB, Ferris FL, Ott J, Barnstable C, Hoh J. Complement factor H polymorphism in age-related macular degeneration. *Science* 2005; 308: 385-389.
- 16) Gold B, Merriam JE, Zernant J, Hancox LS, Taiber AJ, Gehrs K, Cramer K, Neel J, Bergeron J, Barile GR, Smith RT; AMD Genetics Clinical Study Group, Hageman GS, Dean M, Allikmets R. Variation in factor B (BF) and complement component 2 (C2) genes is associated with age-related macular degeneration. *Nat Genet* 2006; 38: 458-462.
- 17) Yates JR, Sepp T, Matharu BK, Khan JC, Thurlby DA, Shahid H, Clayton DG, Hayward C, Morgan J, Wright AF, Armbrecht AM, Dhillon B, Deary IJ, Redmond E, Bird AC, Moore AT; Genetic Factors in AMD Study Group. Complement C3 variant and the risk of age-related macular degeneration. *N Engl J Med* 2007; 357: 553-561.
- 18) Maller J, George S, Purcell S, Fagerness J, Altshuler

- D, Daly MJ, Seddon JM. Common variation in three genes, including a noncoding variant in CFH, strongly influences risk of age-related macular degeneration. *Nat Genet* 2006; 38: 1055-1059.
- 19) Samani NJ, et al. Genomewide association analysis of coronary artery disease. *N Engl J Med* 2007; 357: 443-453.
- 20) Scott LJ, et al. A genome-wide association study of type 2 diabetes in Finns detects multiple susceptibility variants. *Science* 2007; 316: 1341-1345.
- 21) Cunnington MS, Santibanez Koref M, Mayosi BM, Burn J, Keavney B. Chromosome 9p21 SNPs Associated with Multiple Disease Phenotypes Correlate with ANRIL Expression. *PLoS Genet* 2010; 6: e1000899.
- 22) Nakano M, Ikeda Y, Taniguchi T, Yagi T, Fuwa M, Omi N, Tokuda Y, Tanaka M, Yoshii K, Kageyama M, Naruse S, Matsuda A, Mori K, Kinoshita S, Tashiro K. Three susceptible loci associated with primary open-angle glaucoma identified by genome-wide association study in a Japanese population. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009; 106: 12838-12842.
- 23) Nakano M, Ikeda Y, Tokuda Y, Fuwa M, Omi N, Ueno M, Imai K, Adachi H, Kageyama M, Mori K, Kinoshita S, Tashiro K. Common variants in CDKN2B-AS1 associated with optic-nerve vulnerability of glaucoma identified by genome-wide association studies in Japanese. *PLoS One* 2012; 7: e33389.
- 24) 中野正和, 池田陽子, 森 和彦. 緑内障 Genome-Wide Association Study 最新の知見 : 2. 次世代シーケンサーをいかに活用するか. *あたらしい眼科* 2012; 29: 355-357.
- 25) Kuehn BM. 1000 Genomes Project promises closer look at variation in human genome. *JAMA* 2008; 300: 2715.
- 26) 中野正和, 田代 啓. 大規模シーケンサー解析用ヒトゲノム標的配列濃縮法. *実験医学* 2010; 28: 3147-3153.
- 27) Harismendy O, Notani D, Song X, Rahim NG, Tanasa B, Heintzman N, Ren B, Fu XD, Topol EJ, Rosenfeld MG, Frazer KA. 9p21 DNA variants associated with coronary artery disease impair interferon-gamma signalling response. *Nature* 2011; 470: 264-268.
- 28) Ueta M, Sotozono C, Nakano M, Taniguchi T, Yagi T, Tokuda Y, Fuwa M, Inatomi T, Yokoi N, Tashiro K, Kinoshita S. Association between prostaglandin E receptor 3 polymorphisms and Stevens-Johnson syndrome identified by means of a genome-wide association study. *J Allergy Clin Immunol* 2010; 126: 1218-1225 e10.
- 29) Nakano M, and Tashiro K. Association studies getting broader: a commentary on 'A polymorphism of the POLG2 gene is genetically associated with the invasiveness of urinary bladder cancer in Japanese males'. *J Hum Genet* 2011; 56: 550-551.