最強度近視・病的近視の遺伝子診断法の確立



京都大学大学院医学研究科眼科学・特定講師 三宅 正裕

失明に至る極端な近視(最強度近視、病的近視)は家族性に発症することが多く、疫学的にも、1) 京都大学のコホート研究であるながはまスタディでは、通常の近視は若い世代ほど増加するのに対し、 最強度近視は年代によらずほぼ一定の割合で存在する事から、最強度近視では環境因子の影響がほと んどない(ほとんどが遺伝因子である)可能性が高いという知見を得ている(Ophthalmology, 2020) ほか、2)東京医科歯科大学の解析により、成人以降に病的近視を発症した患者の83%では、小児期に すでに網膜萎縮がみられ、通常の学童近視と異なることが示されている。一方で、これまで少数の強 度近視家系で全エキソン解析が行われているが、強度近視家系に共通するような単一の原因遺伝子は 見つかっていない。上記のことから、申請者は、最強度近視は、網膜色素変性症などと同様に、「表現 型に基づいて同一疾患として括られた、異なる原因遺伝子を持つメンデル遺伝性疾患の集合」ではな いかと考え (=最強度近視は遺伝的異質性を持つ疾患だと考え)、京都大学眼科の強度近視専門外来に 通院する最強度近視患者の全ゲノムシークエンスを進めた。家系データを十分に揃えることは難しい ため、short tandem repeat (STR) やcopy number variant (CNV) を含むレアバリアント解析を行った。 我々は、CNVに関して、最強度近視125名の全ゲノム解析(WGS)結果を、京都大学が保有する全 ゲノムパネル3,489例と比較した。5,000bp以上の長さを持つ遺伝子20,392個を対象として検定を行った。 ゲノムワイド有意水準をP=0.05/20392にセットしたところ、計13個の遺伝子において、遺伝子コピー 数に統計学的にゲノムワイドに有意な偏りがあることが同定された (preliminary data, 表1)。非常に

興味深いことに、ムチンファミリーのうちMUC1, MUC3A, MUC12, MUC6, MUC4が上位に集積していることが分かる。更に、パスウェイ解析を行ったところ、O-グリカンパスウェイなどが統計学的に有意に関連していることが分かった。ムチンには膜型と分泌型があるが、主に膜型ムチンの関連が強く、このコピー数多型によって、形成されるムチンが短くなる。

gene	detail	id	type	pvalue +1	minus_log10_pvalue	odds
TMEM242	TMEM242 (transmembrane	729515				
	protein 242)		cnv_increase	5.57E-15	14.3	0.236
MUC1	MUC1 (mucin 1, cell surface	4582				
	associated)		complete_del_or_het_del	9.70E-15	14.0	0.128
MUC3A	MUC3A (mucin 3A, cell	4584				
	surface associated)		cnv_high_increase	7.61E-12	11.1	0.275
MUC12	MUC12 (mucin 12, cell	10071				
	surface associated)		cnv_increase	1.82E-10	9.7	0.313
MUC6	MUC6 (mucin 6, oligomeric	4588				
	mucus/gel-forming)		cnv_increase	2.01E-09	8.7	0.000
TTC34	TTC34 (tetratricopeptide	100287898				
	repeat domain 34)		cnv_high_increase	2.50E-08	7.6	0.000
LINC01043	LINC01043 (long intergenic	101928752				
	non-protein coding RNA					
	1043)		cnv_increase	3.99E-08	7.4	0.000
KCNJ12	KCNJ12 (potassium inwardly	3768				
	rectifying channel subfamily J					
	member 12)		cnv_increase	5.44E-08	7.3	2.690
GOLGA8G	GOLGA8G (golgin A8 family	283768				
	member G)		cnv_increase	1.47E-07	6.8	3.336
MUC4	MUC4 (mucin 4, cell surface	4585				
	associated)		cnv_increase	1.57E-07	6.8	0.000
GTPBP6	GTPBP6 (GTP binding	8225				
	protein 6 (putative))		cnv_increase	3.65E-07	6.4	0.082
TRPM2-AS	TRPM2-AS (TRPM2	101928607				
	antisense RNA)		cnv_increase	3.96E-07	6.4	0.000
FSCN2	FSCN2 (fascin actin-bundling	25794				
	protein 2, retinal)		cnv_increase	1.98E-06	5.7	0.283

表1:近視のエクストリームフェノタイプとコピー数多型の関連

ムチンにコピー数多型がよく見られ、特定の表現型と強く関連することは最近、UKバイオバンクの41万人のデータを用いた研究で報告されている。その報告によると、UKバイオバンクのデータを用いてあらゆるコピー数多型とあらゆる表現型との間連を網羅的に調べた中で、MUC1と尿素の関連が上位3位に入るほど強かったと報告されており、同じ傾向は我々のながはまスタディのデータでも確認された。現在、この再現性を確認するため、追加で行った最強度近視の全ゲノム解析149例の解析を進めている。ムチンファミリーと最強度近視との関係についてはこれまで報告はなく、再現性が確認されれば世界初の知見となる。

この他、STRの解析も進めている。我々が行った短鎖シーケンサーによるシークエンス結果からはリピート数の推定に限界があり、適切にリピート数を推定できないSTRが存在する。このため我々は、京都大学附属ゲノム医学センターが構築している、同一検体における短鎖シーケンサーと長鎖シーケンサー解析結果(日本人70検体分)のデータを用いることで、「短鎖シーケンサーによるシークエンス結果であっても適切にリピート数を推定可能なSTR」をリスト化し、対象とするSTRを絞る戦略を取った。具体的には、長鎖シーケンサーのシークエンス結果から推定されたリピート数と0.8以上の相関係数を示したSTRに絞ることで、295,536個のSTRのうち109,622個を評価対象のSTRとして選定した。これらについて最強度近視症例と対象で比較したところ、表2に示すように、STRワイドに有意なSTR

が12個同定され、このうち 5つはprotein-coding領域内 のSTRであった。現在、こ れらの結果を更に確度の高 いものとするために、国立 国際医療研究センターの徳 永先生とのコントロールパ ネル解析の共同研究を開始 し、症例数を大幅に増加さ せて再解析を行っていると ころである。

genes	regionname	gttype	pvalue
RNF150:protein_coding	chr4-141158288-141158327-CAAAAA	repsum	2.54E-0
RP11-260O18.1:lincRNA	chr3-81986760-81986788-T	repmax	7.59E-0
	chr3-88680115-88680177-TTTC	repmax	7.29E-0
AC007040.11:protein_coding ATP6 V1B1:protein_coding ATP6V1B1-			
AS1:antisense	chr2-70940886-70940931-T	repmax	3.79E-0
ZMYM4:protein_coding	chr1-35380294-35380341-TTTA	repmax	2.87E-0
AL163953.3:processed_transcript	chr14-53665945-53666071-ATCT	repmax	2.28E-0
MGAT5:protein_coding	chr2-134225077-134225102-A	repsum	7.67E-0
DNAJC7:protein_coding	chr17-42010142-42010189-AAAG	repsum	4.93E-0
Intergenic	chr2-142590592-142590633-AC	repsum	2.35E-0
Intergenic	chr2-142590592-142590633-AC	repmax	1.06E-0
Intergenic	chr6-151649652-151649684-TTTCTT	repsum	1.25E-1
Intergenic	chr14-88801753-88801793-AC	repmax	4.51E-1

表2:近視のエクストリームフェノタイプとSTRの関連

このように、最強度近視に着目し全ゲノム解析を行うことで、これまでのゲノムワイド関連解析では見えてこなかった構造多型についての評価が進んでおり、近視の病態解明に大きく近づいている。