



TITLE:

Identification of myopia-associated WNT7B polymorphisms provides insights into the mechanism underlying the development of myopia.(Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

Miyake, Masahiro

CITATION:

Miyake, Masahiro. Identification of myopia-associated WNT7B polymorphisms provides insights into the mechanism underlying the development of myopia.. 京都大学, 2015, 博士(医学)

ISSUE DATE:

2015-09-24

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k19266>

RIGHT:

許諾条件により本文は2015-11-01に公開; 許諾条件により要旨は2015-10-01に公開

京都大学	博士（医学）	氏名	三宅正裕
論文題目	Identification of myopia-associated WNT7B polymorphisms provides insights into the mechanism underlying the development of myopia. （近視に関連する WNT7B 変異の同定により近視発症機序への洞察が得られた）		
（論文内容の要旨） 近視は失明原因として重要であるために多くの国で公衆衛生上の重要な問題と考えられている。近視（屈折異常）は、眼軸長・角膜曲率・前房深度などの要素のバランスによって決まる。近年、各表現型に対して大規模なゲノムワイド関連解析（GWAS）が複数行われ、多数の疾患感受性遺伝子が同定された。眼軸長と屈折異常双方に関与する遺伝子がある一方、眼軸長と角膜曲率に関連しているが屈折異常には関与していない遺伝子もあり、種々の補償的な働きが考えられる。近視発症の機序は解明されていないが、網膜への遠視性の刺激に対するフィードバックとして生じるのではないかという説がある。サルを用いた研究からは、黄斑部への遠視性刺激よりも網膜周辺部の遠視性刺激が近視発症のトリガーになっている可能性が指摘された（peripheral defocus theory）。また、これらピントずれを関知するのは網膜アマクリン細胞であるという報告がある。 本報告では、大規模ゲノム疫学コホートである「長浜スタディ」のデータを用い、近視に関連する遺伝子異常が網羅的に調査された。本研究は、3段階デザインを持つ。第1段階では、「長浜スタディ」に参加しゲノムスキャンが施行された 3,248 名を用い、屈折・眼軸長・角膜曲率半径の3つの表現型に対して GWAS が施行された。ここで関連が示唆された変異につき、第2段階として別の 3,460 名を用いて検討された。再現性が確認された変異は、第3段階として中国人 2,674 人と欧米人 2,690 人を用いて更に再現性確認が行われた。この結果、WNT7B 遺伝子中の rs200329677 が眼軸長と角膜曲率半径に非常に強く相関していたほか、過去に近視との関連が再現性をもって確認されてきた GJD2 遺伝子中の rs11073058 が眼軸長と屈折に強く相関していることも確認できた。WNT7B 遺伝子変異と眼軸長・角膜曲率半径との相関は、中国人・欧米人で共に確認され、メタアナリシスの結果、眼軸長とは $P=3.9 \times 10^{-13}$ 、角膜曲率半径とは $P=2.7 \times 10^{-40}$ の相関を認めた。 生後 21 日齢の雄マウスの角膜と網膜を免疫染色したところ、角膜内皮・網膜神経節細胞層にそれぞれ WNT7B の発現が確認された。また、実験近視モデルマウスの角膜および網膜組織で mRNA の発現をリアルタイム PCR で測定したところ、実験近視導入前後で、角膜では WNT7B 発現が低下し、網膜では逆に上昇していた。我々はこれまで、WNT7B を直接コントロールする PAX6 や、同じく WNT 経路に関連する CTNND2 が強度近視に関連することを示してきた。また、大規模 GWAS で、WNT 受容体である RSPO1 と ZNRF3 が眼軸長と相関していることも示されている。このことから、WNT7B が近視化の鍵となっているという今回の結果は合理的である。 GJD2 遺伝子変異と WNT7B 遺伝子変異の統計学的交互作用を評価したところ、アジア人でのみ、WNT7B rs200329677 の遺伝子型によって GJD2 rs11073058 の近視化作用が増強されるという交互作用を認めた（ $P=0.024$ ）。これまで、GJD2 ノックアウトマウスでは、アマクリン細胞と $\alpha 2$ 網膜神経節細胞間の GJD2 が劇的に減少することが報告されている。WNT7B が網膜神経節細胞に発現していること、網膜のピントずれがアマクリン細胞で感知されること、 $\alpha 2$ 網膜神経節細胞は網膜周辺部に存在すること、などを考えると、peripheral defocus theory を分子生物学的見地から説明出来るかもしれない。			

（論文審査の結果の要旨）

本報告では、ゲノム疫学コホートである「長浜スタディ」のデータを用い、近視に関連する遺伝子異常が網羅的に調査された。本研究は、3段階デザインを持つ。第1段階では「長浜スタディ」に参加しゲノムスキャンが施行された 3,248 名を用い、屈折・眼軸長・角膜曲率半径の3つの表現型に対して GWAS が施行された。ここで関連が示唆された変異につき、第2段階として別の 3,460 名を用いて検討された。再現性が確認された変異は第3段階として中国人 2,674 人と欧米人 2,690 人を用いて更に再現性確認が行われた。この結果、WNT7B 遺伝子中の rs200329677 が眼軸長と角膜曲率半径に非常に強く相関していたほか、過去に近視との関連が再現性をもって確認されてきた GJD2 遺伝子中の rs11073058 が眼軸長と屈折に強く相関していることも確認できた。WNT7B 遺伝子変異と眼軸長・角膜曲率半径との相関は、中国人・欧米人で共に確認され、メタアナリシスの結果、眼軸長とは $P=3.9 \times 10^{-13}$ 、角膜曲率半径とは $P=2.7 \times 10^{-40}$ の相関を認めた。GJD2 遺伝子変異と WNT7B 遺伝子変異の統計学的交互作用を評価したところ、アジア人で、WNT7B rs200329677 の遺伝子型により GJD2 rs11073058 の近視化作用が増強されるという交互作用を認めた。

生後 21 日齢雄マウスの角膜と網膜を免疫染色した結果、角膜内皮・網膜神経節細胞層にそれぞれ WNT7B の発現が確認され、実験近視モデルマウスの角膜および網膜組織で mRNA の発現をリアルタイム PCR で測定した結果、実験近視導入前後で、角膜では WNT7B 発現が低下し、網膜では逆に上昇していた。

以上の研究は近視発症の機序の解明に貢献し、今後の近視研究に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成 27 年 7 月 24 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日： 2015 年 10 月 1 日 以降