



原発閉塞隅角緑内障の新たな発症メカニズムの解明

～原発閉塞隅角緑内障患者のレアバリエントがもたらすユビキチン化酵素(UBOX5)活性の低下～

本研究成果のポイント

- 国際共同研究のもと、原発閉塞隅角緑内障¹⁾ 患者4,667検体、非緑内障健常者5,473検体を収集し、大規模なエキソーム解析²⁾ を実施した
- さらに原発閉塞隅角緑内障患者2,519検体、非緑内障健常者471,724検体を用いた再現性取得実験を実施した
- 原発閉塞隅角緑内障に関連するアミノ酸置換を伴うレアバリエント³⁾ がユビキチン化酵素⁴⁾ をコードする遺伝子「UBOX5」のエキソン²⁾ 上から同定された
- UBOX5はBIPをユビキチン化していることが明らかになり、レアバリエントを有するUBOX5ではBIPに対するユビキチン化反応の酵素活性が低下していることが判明した

京都府立医科大学大学院医学研究科 ゲノム医科学 准教授 中野正和、同 教授 田代啓、視覚機能再生外科学 教授 外園千恵、京都府立医科大学 寄附講座 感覚器未来医療学講座 教授 木下 茂らの研究グループは原発閉塞隅角緑内障の新たな発症メカニズムを解明し、本件に関する論文が科学雑誌『Nature Communications』に2025年 8 月 15 日付で掲載されました。

本研究では、国際共同研究のもとに収集された原発閉塞隅角緑内障患者と非緑内障健常者の血液検体から抽出したゲノムDNAを用いて大規模なエキソーム解析を実施しました。その結果、原発閉塞隅角緑内障患者に関連するアミノ酸置換を伴うレアバリエントがユビキチン化酵素をコードする遺伝子「UBOX5」から同定され、UBOX5の機能欠損が原発閉塞隅角緑内障を発症する一因となっていることが分子生物学的な解析によって示唆されました。

本研究成果は、原発閉塞隅角緑内障の発症メカニズムのさらなる解明や本バリエントを有する症例に対するUBOX5の機能回復による発症予防や進行遅延につながることを期待されます。

【論文基礎情報】

掲載誌情報	雑誌名 Nature Communications 発表媒体 ☒ オンライン速報版 ☐ ペーパー発行 ☐ その他 雑誌の発行元国 英国 掲載日 2025年 8月15日 URL https://www.nature.com/articles/s41467-025-62775-x
論文情報	<u>論文タイトル</u> 英語: Functionally deficient UBOX5 variants and primary angle-closure glaucoma (日本語: 原発閉塞隅角緑内障におけるUBOX5の機能欠損バリエント) <u>共筆頭著者</u> 京都府立医科大学大学院医学研究科 ゲノム医科学 中野正和 <u>共同著者</u> 京都府立医科大学 寄附講座 感覚器未来医療学講座 木下 茂 京都府立医科大学大学院医学研究科 視覚機能再生医科学 外園千恵 京都府立医科大学大学院医学研究科 視覚機能再生医科学 森 和彦 京都府立医科大学大学院医学研究科 視覚機能再生医科学 上野盛夫 京都府立医科大学大学院医学研究科 視覚機能再生医科学 池田陽子 京都府立医科大学大学院医学研究科 ゲノム医科学 大見奈津江 京都府立医科大学大学院医学研究科 ゲノム医科学 田中雅深 京都府立医科大学大学院医学研究科 ゲノム医科学 徳田雄市 他 国際共同研究メンバー 43施設103名 <u>共責任著者</u> 京都府立医科大学大学院医学研究科 ゲノム医科学 田代 啓

【論文概要】

1 研究分野の背景や問題点

緑内障は目の内部の圧力（眼圧）が主要な要因として網膜の神経節細胞が傷害され、視機能障害が不可逆的に進行するため最終的には失明に至る疾患で、我が国における中途失明原因の第1位である。緑内障の標準的な治療法は眼圧降下薬の点眼治療である。しかし、眼圧下降により緑内障の病期の進行の抑制はできるものの、緑内障を治癒させる治療法は存在しない。日本人の大規模な疫学調査（多治見スタディ）によると、40歳以上の有病率は約5%（病型別にみると原発開放隅角緑内障が3.9%、原発閉塞隅角緑内障は0.6%を占める）と高く、70歳台では有病率が10%にも上昇することから、少子高齢化社会を迎えている我が国にとっては深刻な疾患である。従って、緑内障の発症メカニズムの解明を起点とした分子標的薬の創生による根治療法の開発が切望されている。

我々はこれまでに緑内障の主要な病型（原発開放隅角緑内障、原発閉塞隅角緑内障および落屑緑内障）に対するゲノムワイド関連解析⁵⁾を実施し、緑内障の発症に関連する多数のコモンバリエント³⁾を同定することによって遺伝的要因の解明を進めてきた。さらには、落屑緑内障のエキソーム解析によって、シトクロムP450⁶⁾の一つであるCYP39A1遺伝子から落屑緑内障に関連するレアバリエントを同定することに成功し、CYP39A1の

レアバリエントに起因する酵素活性の低下が落屑緑内障の発症の要因になっている可能性を示した。

そこで本研究では、原発閉塞隅角緑内障のエキソーム解析を実施することによって原発閉塞隅角緑内障患者に関連するタンパク質の機能変化をもたらすエキソン上のレアバリエントの同定を試みた。

2 研究内容・成果の要点

本研究では、国際共同研究のもと、各国各施設での倫理委員会の承認とインフォームドコンセントを取得し収集した原発閉塞隅角緑内障患者（ケース）および非緑内障健康者（コントロール）の血液検体由来のゲノムDNAを用いて大規模なエキソーム解析およびその再現性取得実験を実施した（表1）。さらには、同定されたバリエントがタンパク質の機能にもたらす影響を明らかにするために分子生物学的な解析を加えた。

表1. 国際共同研究のもとに収集した血液検体

検体集団	ケース	コントロール
<u>エキソーム解析</u>		
シンガポール	2,287	1,302
香港	575	552
日本	576	2,125
ベトナム	1,229	1,494
計	4,667	5,473
<u>再現性取得実験</u>		
マレー	45	709
ミャンマー	103	109
ペルー	77	67
フィリピン	69	40
中国系マレーシア	113	2,136
ブラジル	120	95
サウジアラビア	162	55
ギリシャ	36	581
メキシコ	35	52
英国バイオバンク	1,759	467,880
計	2,519	471,724

エキソーム解析では、次世代シーケンサーを用いてケース・4,667検体およびコントロール・5,473検体のエキソームデータを取得し、ケース・コントロール相関解析を実施した。その結果、有意水準（ $P < 2.5 \times 10^{-6}$ ）を超すアミノ酸置換を伴うレアバリエントがユビキチン化反応を触媒する酵素であるu-box domain containing 5 (UBOX5) 遺伝子のエキソン上から同定された。同定されたバリエントについてはケース・2,519検体およびコントロール・471,724検体を用いた再現性取得実験において関連性が再現された。エキソーム解析と再現性取得実験とのメタ解析⁷⁾（総計ケース・7,186検体およびコント

ロール・477, 197検体)の結果、UBOX5のバリエントは有意に ($P < 1.25 \times 10^{-10}$) 原発閉塞隅角緑内障に関連しており、発症リスクを2.13倍高めることが明らかになった。

UBOX5は、原発閉塞隅角緑内障の病因や病態に関連していることが示唆されている虹彩の瞳孔括約筋や視神経乳頭、網膜神経節細胞などのヒトの眼組織において発現が認められた。また、UBOX5がユビキチン化する標的タンパク質を免疫沈降法⁸⁾により探索した結果、binding immunoglobulin protein (BIP)が同定された。さらに、本研究で同定された42種類のレアバリエントを有するUBOX5についてBIPに対するユビキチン化の割合を測定したところ、24種類のバリエントを有する酵素でユビキチン化反応の触媒活性が低下していることが判明した (図1)。

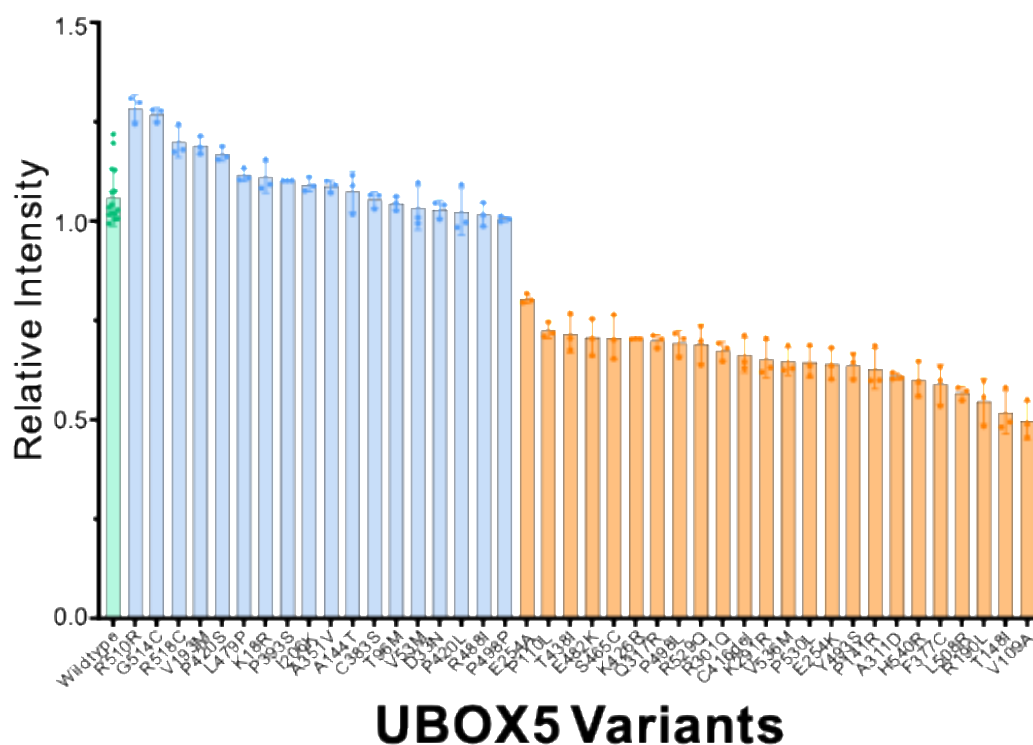


図1. 原発閉塞隅角緑内障に関連するレアバリエントを有するUBOX5の標的タンパク質 (BIP) に対するユビキチン化活性。野生型のUBOX5活性 (緑) に対して80%未満の活性を示した変異型UBOX5 (オレンジ) を機能欠失型と判定した。

3 今後の展開と社会へのアピールポイント

国際共同研究のもと、大規模エクソーム解析を実施した結果、原発閉塞隅角緑内障に関連するレアバリエントがユビキチン化酵素UBOX5から同定された。さらには分子生物学的な解析の結果、UBOX5の標的遺伝子がBIPであることが判明し、レアバリエントを有するUBOX5ではBIPのユビキチン化の割合が低下していることが明らかになった。UBOX5が原発閉塞隅角緑内障の病因・病態に関連する眼組織において発現していることから、UBOX5の活性の低下が原発閉塞隅角緑内障の発症に関与していることが強く示唆された。

本研究成果は原発閉塞隅角緑内障の発症メカニズムのさらなる解明や本バリエントを有する症例に対するUBOX5の機能回復による発症予防や進行遅延につながる

待される。

4 用語解説

1) 原発閉塞隅角緑内障

目の内部を循環している房水の排水溝である隅角が、他の明らかな要因なく遺伝的背景や加齢により閉塞し、房水の排水が悪くなる結果、眼圧が上昇し発症する緑内障。

2) エキソーム解析

ヒトの全塩基配列（ゲノム）から遺伝子のタンパク質をコードする領域（エキソン）の全配列（エキソーム）だけを濃縮し、次世代シーケンサーによって各検体のエキソームデータを網羅的に取得する。その後、ケース・コントロール相関解析を実施し、統計学的にケース（疾患）群に関連するバリエント（用語解説3参照）を同定する一連の手法をエキソーム解析という。エキソンはゲノム全体の約1～2%しか占めないが、エキソン上からはタンパク質の機能を変化させ得るアミノ酸置換を伴うバリエントが同定できる可能性がある。

3) バリエント

生物どうしの個体差を規定する遺伝的な塩基配列の違いの総称をバリエントと呼ぶ。この内、集団における頻度が高いもの（1%以上）をコモンバリエント、稀なもの（0.1～1%）をレアバリエントと定義している。バリエントには、一塩基だけ異なるもの（本研究の解析対象）や数塩基から数千塩基にもおよぶ挿入や欠失、同じ配列が繰り返される回数の違いなどの種類がある。

4) ユビキチン化酵素

タンパク質が翻訳された後に受ける修飾の一つであるユビキチンの付加（ユビキチン化）に関与する酵素。ユビキチン活性化酵素（E1）、ユビキチン結合酵素（E2）、ユビキチンリガーゼ（E3；UBX5がこれに該当する）の3種類のユビキチン化酵素が標的タンパク質にユビキチンを付加する。ユビキチン化されたタンパク質が選択的に分解されることによって、細胞のタンパク質の恒常性が維持されている。

5) ゲノムワイド関連解析

何十万個ものオリゴヌクレオチドプローブ（20-30塩基から成るDNA断片）が基盤（チップ）やビーズ上に固相化されたDNAマイクロアレイを用いる。ヒトのバリエント（用語解説3参照）を検出する場合には、プローブ中にバリエントの配列の相補鎖を配置し、ヒトゲノム由来のDNA断片とプローブとの相補鎖形成の有無を検出することによって、その検体が有するバリエントを決定（ジェノタイプピング）できる。このようにして網羅的に取得したジェノタイプデータをを用いてケース・コントロール相関解析を実施することによって統計学的にケース（疾患）群に関連するバリエントを同定する一連の手法をゲノムワイド関連解析という。

6) シトクロムP450

生体内（主に肝臓）における薬物や毒物をはじめとする様々な化合物の代謝に関わる酵素のファミリー。基質特異性の異なる多くの分子で構成されており、遺伝子レベルで分類されている。

7) メタ解析

複数の独立した研究結果を統合し、より大きな検体数での効果を推定したり、研究間の結果のばらつきを分析したりする統計学的解析手法。個々の研究だけでは得られない、より信頼性の高い結論を導き出すことが可能になる。

8) 免疫沈降法

可溶性の抗原と抗体が特異的に反応する親和性を利用して溶液中から抗原を特異的に検出・分離・精製する実験手法。

5 問い合わせ先

＜広報に関すること＞

事務局 企画課 企画広報係

電話：075-251-5804

E-mail：kouhou@koto.kpu-m.ac.jp