

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2010 年 4 月 22 日(22.04.2010)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 2010/044459 A1

- (51) 国際特許分類:
C12N 15/09 (2006.01) C12Q 1/68 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2009/067900
- (22) 国際出願日: 2009 年 10 月 16 日(16.10.2009)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
特願 2008-267716 2008 年 10 月 16 日(16.10.2008) JP
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 独立行政法人国立病院機構(National Hospital Organization) [JP/JP]; 〒1528621 東京都目黒区東が丘二丁目 5 番 2 1 号 Tokyo (JP). 参天製薬株式会社 (SANTEN PHARMACEUTICAL CO., LTD.) [JP/JP]; 〒5338651 大阪府大阪市東淀川区下新庄三丁目 9 番 1 9 号 Osaka (JP).
- (72) 発明者; および
- (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 岩田 岳 (IWATA, Takeshi). 松野 聖(MATSUNO, Kiyoshi).
- (74) 代理人: 細田 芳徳(HOSODA, Yoshinori); 〒5406591 大阪府大阪市中央区大手前一丁目 7 番 3 1 号 OMMビル 5 階 私書箱 2 6 号 細田国際特許事務所内 Osaka (JP).
- (81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.
- (84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- 添付公開書類:
- 国際調査報告 (条約第 21 条(3))
 - 明細書の別個の部分として表した配列リスト (規則 5.2(a))

(54) Title: METHOD FOR PREDICTING RISK OF GLAUCOMA

(54) 発明の名称: 緑内障のリスクの予測方法

(57) Abstract: Disclosed is a method for predicting the risk of glaucoma, which comprises the steps of: detecting *in vitro* alleles of a single nucleotide polymorphism occurring at position-26 in at least one nucleotide sequence selected from the group consisting of the nucleotide sequences depicted in SEQ ID NO:1 to SEQ ID NO:82 or a sequence complementary to the nucleotide sequence in a nucleic acid molecule contained in a sample derived from a subject (a detection step); and determining as to whether or not at least one of the alleles detected in the preceding step is a risk allele (a determination step). According to the method, it becomes possible to determine as to whether the potential risk of glaucoma is present or absent and/or whether the degree of the risk of glaucoma is high or low in a sample supplier by analyzing the alleles or genotypes of the single nucleotide polymorphism in the sample. Based on the risk, the sample supplier can take measures against glaucoma, and/or can be examined for glaucoma periodically to be diagnosed as having glaucoma and start a medical therapy for glaucoma at an earlier stage. For a sample supplier who has the risk allele of the single nucleotide polymorphism or a genotype from which the risk of glaucoma is suspected in the genome and is therefore suspected to have glaucoma, the probability of being diagnosed as having glaucoma is high. Therefore, the method is useful for the sample supplier, because the therapy for the sample supplier can be initiated at an earlier stage.

(57) 要約: 被験者由来のサンプル中の核酸分子について、配列番号 1~82 で示される塩基配列からなる群より選択される少なくとも 1 つの塩基配列又はその相補的配列において、前記塩基配列の 26 番目に存在する一塩基多型のアレルを *in vitro* で検出する工程(検出工程)、及び前記検出されたアレルの少なくとも 1 つがリスクアレルであるか否かを判定する工程(判定工程)を含む、緑内障のリスクを予測する方法。本発明の方法により、サンプル中の本発明の一塩基多型のアレル又は遺伝子型を分析することにより、サンプル提供者が将来的に緑内障のリスクの有無及び／又は高低を判定することができる。このリスクに基づきサンプル提供者は緑内障の予防措置を講じ、及び／又は定期的に緑内障の検査を受けることによって早期に緑内障の診断を受け、治療を開始することができる。また、本発明の一塩基多型のリスクアレル又は緑内障のリスクあると考えられる遺伝子型をゲノムに持つ、緑内障が疑われるサンプル提供者は、緑内障と診断されるべき蓋然性が高く、早期に治療を開始することができるため、有用である。

WO 2010/044459 A1

明 細 書

発明の名称：緑内障のリスクの予測方法

技術分野

- [0001] 本発明は、緑内障のリスクの予測方法に関する。さらに詳しくは、緑内障に関連する一塩基多型を検出することによる、緑内障のリスクの予測方法、及び該予測方法に用いるキットに関する。

背景技術

- [0002] 緑内障は、網膜神経節細胞死により特徴的な視神経乳頭陥凹と視野障害をきたす疾患である。眼圧の上昇が緑内障における乳頭陥凹と視野障害の主要な原因であるとされる。一方、眼圧が統計的に算出された正常範囲にとどまる緑内障も存在するが、この場合もその個体にとって視野障害を生じるに十分な高い眼圧であるため緑内障を発症すると考えられている。
- [0003] 緑内障の治療の基本は眼圧を低く保つことであり、眼圧を低く保つためには高眼圧を来す原因を考慮する必要がある。このため、緑内障の診断には、眼圧の高低及びその原因によって緑内障のタイプを分類することが重要とされる。眼圧上昇を来す原因としては、眼内を充たす房水の主要な排出経路である隅角の閉塞の有無が重要である。これらの観点から原発性の緑内障は、隅角の閉塞を伴う閉塞隅角緑内障、隅角の閉塞を伴わない開放隅角緑内障に大きく二分され、このうち開放隅角緑内障は、眼圧上昇を伴う狭義の開放隅角緑内障、すなわち、原発開放隅角緑内障と眼圧が正常範囲にある正常眼圧緑内障に分類される。
- [0004] 緑内障に遺伝が関係することは古くから知られており、開放隅角緑内障では5～50%に家族歴があるとの報告もある。このような報告に基づき、緑内障の原因遺伝子を探索する研究が行われており、その成果としてミオシリン(MYO) 遺伝子の変異が開放隅角緑内障に関連すること(特許文献1参照)、オプティニューリン遺伝子(OPTN)の変異が正常眼圧緑内障に関連することが報告された(非特許文献1参照)。しかしながら、これらの遺伝子のみでは緑内障の

遺伝的要因を全て説明することはできず、なお未知の緑内障関連遺伝子の存在が予想される。

- [0005] 一方、一塩基多型とは、個体のゲノムの塩基配列において、一つの塩基が別の塩基に変化する置換変異が見られ、当該変異がその生物種の集団においてある程度の頻度、一般的には約1%以上の頻度で存在するものである。一塩基多型は遺伝子上のイントロン、エクソン、あるいはこれら以外のゲノムの領域のいずれにも存在する。

先行技術文献

特許文献

- [0006] 特許文献1：特開2002-306165号公報

非特許文献

- [0007] 非特許文献1：Rezaie T 他11名、Science, 2002年, Vol.295, No.5557, p1077-1079.

発明の概要

発明が解決しようとする課題

- [0008] 一般に、緑内障の検査として、眼圧測定や眼底検査が用いられるが、必ずしもこれらの検査では緑内障の確定診断に至らない。また、これらに加えて視野検査が行われるが、検査が長時間で患者に負担が大きいこと、検査に慣れが必要であるため検査結果の信頼性が必ずしも高くないなどの問題がある。緑内障の治療において早期診断は重要であり、より早い時期に緑内障の診断を受け、又は、緑内障を将来発症する危険性を知ることは重要な未解決課題である。

- [0009] 一方、前述のように、緑内障の発症には遺伝的要因の関与が疑われているが、緑内障の支配的な原因遺伝子は未だ知られていない。一方、単一の遺伝子の変異又は多型による疾患への関与が説明できなくとも、緑内障への関与が比較的穏やかな遺伝子の変異又は多型が多数存在し、それぞれが組み合わせられて作用することによって緑内障の発症への遺伝的要因の関与が説明で

きると考えられる。

[0010] 本発明者らは、緑内障に関連する遺伝子を見出すため、ゲノム上の多型、なかでも一塩基多型に着目した。

[0011] 緑内障に関連する多型を見出すことにより、当該多型を有するか否かで緑内障のリスクの判断が可能となり、該多型を有するものは、発症前であっても将来的に緑内障のリスクがあることを知り、又は、初期の緑内障の診断の補助に用いることが可能となる。また、眼圧測定や眼底写真のような方法では検出が困難であり、視野検査を行って初めて診断されるような初期の緑内障の、視野検査の要否のスクリーニングに応用することができる。即ち、緑内障のリスクを知ることによりサンプル提供者は緑内障の発症予防措置を講ずることが可能となり、また、早期の確定診断により、早期の治療を開始することができるため、緑内障に関与する多型を見出すことは、意義深い。

[0012] 本発明の課題は、緑内障に関連する一塩基多型を検出することにより、緑内障のリスクを予測する方法、及び該検出方法に用いるキットを提供することにある。

課題を解決するための手段

[0013] 本発明者らは、緑内障患者と緑内障患者でない者（非緑内障患者）のゲノム（なかでも、常染色体）上に存在する公知の多型部位を網羅的に解析し、緑内障に関連する一塩基多型を見出し、さらに、当該一塩基多型においてリスクアレルとその対立アレルである非リスクアレルを見出し、本発明を完成した。

[0014] 即ち、本発明は、

〔１〕 被験者由来のサンプル中の核酸分子について、配列番号1～82で示される塩基配列からなる群より選択される少なくとも1つの塩基配列又はその相補的配列において、前記塩基配列の26番目に存在する一塩基多型のアレルをin vitroで検出する工程（検出工程）、及び
前記検出されたアレルの少なくとも1つがリスクアレルであるか否かを判定する工程（判定工程）

を含む、緑内障のリスクを予測する方法、ならびに

〔2〕 被験者由来のサンプル中の核酸分子について、配列番号1～82で示される塩基配列からなる群より選択される少なくとも1つの塩基配列又はその相補的配列において、前記塩基配列の26番目に存在する一塩基多型のアレルをin vitroで検出するための、緑内障のリスクの予測キットに関する。

発明の効果

[0015] 本発明の方法により、サンプル中に存在するゲノム由来の核酸分子に含まれる本発明の一塩基多型のアレルを分析することにより、サンプル提供者の緑内障リスクの有無及び／又はリスクの大小を予測することができる。このリスクに基づきサンプル提供者は緑内障の予防措置を講じ、又は定期的に診察を受けることにより早期の診断を受け、病状が進行しない早期に適切な治療を開始することができる。また、本発明の方法により、緑内障が疑われるサンプル提供者は、緑内障と診断されるべき蓋然性が高いことと判断されることができ、早期に治療を開始することができる。

図面の簡単な説明

[0016] [図1] 図1は、本発明の一塩基多型が属するLDブロック構造を示す図の一例である。

[図2] 図2は、本発明の一塩基多型が属するLDブロック構造を示す図の一例である。

発明を実施するための形態

[0017] 本発明は、遺伝子の一塩基多型(以下、SNPと記載することもある)に基づいて、緑内障のリスクを予測する方法において、被験者由来のサンプル中の核酸分子について、特定の塩基配列からなる群より選択される少なくとも1つの塩基配列又はその相補的配列における、前記塩基配列の26番目に存在する一塩基多型のアレルをin vitroで検出する工程(検出工程)、及び前記検出されたアレルがリスクアレルであるか否かを判定する工程(判定工程)を含む、緑内障のリスクの予測方法である。本発明は緑内障に関連する一塩基多型(本

発明の一塩基多型ともいう)を見出し、さらに、当該一塩基多型においてリスクアレルとその対立アレルを見出し、これらを用いることに大きな特徴を有する。従って、前記リスクアレルを用い、及び／又は、前記リスクアレルとその対立アレルの存在頻度に基づき計算されたオッズ比を指標とすることにより、このような緑内障発症の予測を行うことも可能であり、前記予測方法は、緑内障発症因子の測定方法、又は決定方法、あるいは緑内障へのかかり易さを試験する方法としても使用可能である。なお、本明細書において多型とは、ある生物種におけるゲノムの特定の位置の配列に多様性が存在することを言い、多型が存在する部位(以下、多型部位ともいう)とは、一塩基多型が存在するゲノム上の部位を言う。

[0018] また、本明細書においてアレルとは、ある多型部位において取りうる、互いに異なる塩基を有するそれぞれの型を言う。本明細書において遺伝子型とは、ある多型部位において、特定のアレル(一方のアレルともいう)と、前記アレルに対立するアレル(他方のアレルともいう)との任意の組み合わせを言う。さらに、ある多型部位において、前記組み合わせである遺伝子型には3つの型があり、同じアレルの組み合わせをホモ型とよび、異なるアレルの組み合わせをヘテロ型とよぶ。

[0019] 本明細書において、対立するアレル(対立アレルともいう)とは、ある一塩基多型を構成するアレルのうち、特定されたものに対応する他のアレルを言う。

[0020] 本明細書において、緑内障に関連する一塩基多型とは、緑内障患者と非緑内障患者の間で、当該一塩基多型におけるそれぞれのアレルの頻度の比が統計学的にあるp値で有意に異なる一塩基多型をいう。

[0021] 本発明において、緑内障のリスクとは、緑内障に関するリスクを言う。本発明における緑内障のリスクには、将来的に緑内障を発症する可能性が含まれる。本発明において、リスクの予測とは、将来のリスクの有無を現時点で判定し、又は、将来のリスクの大小を現時点で判定することを言う。

[0022] 詳細は後述するが、本発明において、リスクアレルとは、前記緑内障に関

連する一塩基多型の各アレルのうち、前記各アレルについて求めたオッズ比が1より大となるようなアレルを言う。また、非リスクアレルは、リスクアレルの対立アレルであることから、前記オッズ比が1以下となるようなアレルを言う。ここで、各アレルについて求めたオッズ比、即ち、一方のアレルについて求めたオッズ比とは、緑内障患者群における一方のアレルの頻度と他方のアレル(対立アレル)の頻度の比を、非緑内障患者群における前記一方のアレルの頻度と前記他方のアレルの頻度の比で除したものである。即ち、一方のアレルについて求めたオッズ比は他方のアレルについて求めたオッズ比の逆数である。尚、オッズ比についての詳細は後述する。また、本明細書においてアレルの頻度(アレル頻度)とは、ある集団において、特定のアレルが全体に占める割合を意味し、例えば実施例に記載した方法によって一定集団に属する各個体のアレルを決定することにより求めることができる。その他、本明細書に記載のない事項は、遺伝統計学入門(鎌谷直之; 岩波書店 2007)又はバイオインフォマティクス第2版(Mount DW著、岡崎康司ら監訳; メディカル・サイエンス・インターナショナル、2005)等の成書を参考にすることができる。

[0023] 以下に、緑内障に関連する一塩基多型の同定方法を説明する。

[0024] 緑内障に関連する一塩基多型は、緑内障と診断された患者、より具体的には、原発開放隅角緑内障(以下、POAGともいう)と診断された患者、及び、緑内障ではないと診断された非緑内障患者それぞれの血液から総DNAを抽出し、ヒトゲノム上の公知の一塩基多型約50万個を指標として、個々の一塩基多型のアレルが緑内障患者又は非緑内障患者に特異的に、より具体的には、統計学的に有意に存在するか否かを解析することにより見出した。ここで、対照となる非緑内障患者は緑内障でない者であれば良い。例えば、緑内障ではないと診断され、かつ、他の疾患、例えば滲出型加齢黄斑変性及び／又は白内障であると診断された患者を対照として用いても良い。この場合、緑内障に特異的に関連する一塩基多型を見出すために、対照として用いられる他の疾患の患者(群)と緑内障の患者(群)との比較を複数の疾患について行い、

共通して、ある p 値で有意な差があると判定されるような一塩基多型を用いることが好ましい。かかる一塩基多型のアレルを用いることにより、緑内障のリスクの予測が可能となる。詳細は実施例の項にて説明するが、以下のような方法により、本発明で開示された緑内障に関連する一塩基多型を同定することができる。

[0025] (緑内障に関連する一塩基多型の同定)

まず、緑内障と診断された緑内障患者、及び、緑内障ではないと診断された非緑内障患者それぞれの血液から総DNAを抽出する。血液中の総DNAは公知の任意の方法によって抽出することができるが、例えばフェノール抽出法 (Methods in Enzymology、152巻、181ページ、1987年) などの公知の方法によって抽出することができる。

[0026] 抽出したDNAサンプル中の一塩基多型における塩基の種類、すなわち各多型部位におけるアレルの同定は、例えば後述の固層化プローブ (マイクロアレイ) を用いる方法、TaqMan (登録商標) 法などのPCRを応用する方法など、任意の方法で行うことができる。その際、検出に用いるプローブは、目的とする一塩基多型及びその周辺の配列情報を元に設計することができる。設計に当たっては、例えば米国の国立バイオテクノロジー情報センター (NCBI) が提供するdbSNPもしくはHapMapプロジェクトが提供するSNP情報のデータベースのような公知の一塩基多型のデータベース又はNCBIが提供するGenbankのような公知の配列情報のデータベースを用い、これらのデータベースから得られる配列等の情報を参考にすることもできる。一塩基多型の検出に用いるプローブは、ゲノムのセンス鎖に相補的なプローブであっても、アンチセンス鎖に相補的なプローブであっても、いずれによっても検出できる。ヒトのゲノム上に存在する一塩基多型を検出できるプローブを大量に固層化し、同一操作で多数の一塩基多型のアレルを検出可能なキットも市販されており、このようなキットを用いて効率よくサンプル中のアレルを検出することも可能である。また、このようなキットの多くは、一つのサンプルに含まれる対立する各々のアレルを同一操作で検出する構成になっており、遺伝子

型を決定することができる。このようなキットの市販品の好適例としては、マイクロアレイ型の一塩基多型分析キット〔アフィメトリックス社、ジーンチップ ヒューマンマッピング 250K Nsp/Sty アレイ (GeneChip(登録商標) Human Mapping 250K Nsp/ Sty Array)〕が挙げられる。

[0027] 緑内障に関連する一塩基多型は、前述のような方法で緑内障患者及び非緑内障患者由来のDNAに存在するアレルを同定しておき、各アレルの頻度を緑内障患者と非緑内障患者で統計学的に比較し、アレル頻度が後述の p 値で有意な差が生じるか否かをもって判定することができる。

[0028] 統計学的な解析には、例えばFisherの正確確率検定又はカイ二乗検定を用いることができる。また、比較を繰り返し行うことに起因する第一種の過誤の発生リスクの増大を補正する必要がある場合は公知の方法、例えばボンフェローニ、ホルム、又はベンジャミニとホフバーグ(False Discovery Rate; FDR)などの方法によって補正することができる。ボンフェローニの補正に基づく場合を例示すると、所望の有意水準、例えば 5×10^{-2} の有意水準を繰り返し回数、即ち、解析に用いる多型部位の個数で割って緑内障に関連するSNPの選択に用いる有意水準とすることにより、第一種の過誤を最大に考慮しても高々 5×10^{-2} の危険率で緑内障に関連する一塩基多型を判定することができる。このようにして設定した有意水準を下回る一塩基多型をより好ましい一塩基多型として選択することができる。但し、本発明のような全ゲノムに亘る一塩基多型の解析において、ボンフェローニの補正は過剰補正であり、著しく p 値が低下することから疾患に関連する一塩基多型を見落とす可能性が高まるとの報告もなされている(Schymick J C et al., Lancet Neurology. 2007: 6: 322-8, Van Steen K et al., Nature Genetics. 2005: 37: 683-691)。学術的に望ましい多重性の補正方法は未だ確立されていないが、これらの方法で多重性の補正を行うと過剰補正になる場合には、当該補正方法によって調整される有意水準を下回らない範囲の任意の適切な水準に有意水準を設定することができる。任意の適切な水準を設定する場合、例えば50万個の一塩基多型を繰り返し解析する場合の有意水準は、 1×10^{-2} が好ましく、 1×10^{-3}

がより好ましく、 1×10^{-4} がさらに好ましく、 1×10^{-5} がさらに好ましく、 3×10^{-6} がさらに好ましく、 1×10^{-6} がさらに好ましく、 3×10^{-7} がさらに好ましく、 1×10^{-7} がさらに好ましい。また、一般に、第一種の過誤と統計学的な検出力は反比例することが知られている。第一種の過誤を低下させつつ検出力を保つ方法としては、一塩基多型の解析を二段階に分割して実施することが挙げられる (Skol A. D. et al., Nature Genetics. 2006 : 38 : 209-213)。例えば、まず、一次解析として、全ゲノムに亘る多数の一塩基多型解析を行い、次いで、二次解析として、一次解析である程度絞り込んだ一塩基多型を用いて解析を行う。この場合、いずれの解析においても比較的低い p 値となるような一塩基多型を選択すればよく、好ましくは、最初の解析において候補となる一塩基多型を所望の p 値、例えば 0.001~0.05 を下回るものを選択し、当該選択された一塩基多型について、多重性を考慮してさらに解析すればよい。

[0029] また、ゲノム上の一定の領域に、比較的低い p 値で疾患との関連を持つ SNP が連続して存在する領域が見出される場合がある。このような領域に属する SNP は疾患との関連が高い。一方、このように疾患との関連を持つ一塩基多型が連続して存在する領域は、当該領域においてゲノム DNA の組み換え率が 0 であるか又は著しく低い、いわゆる連鎖不平衡の状態にある可能性が高い。連鎖不平衡状態にあるゲノム上の領域を LD ブロックという。当該領域が連鎖不平衡状態にあるか否かは当該領域の解析結果に基づき公知の方法によって、又は、連鎖不平衡のデータベース、例えば HapMap プロジェクトによって提供される公知の LD ブロック構造のデータベースを参照することにより確認することができる。連鎖不平衡状態にある一塩基多型は同じ挙動を示す蓋然性が極めて高いため、連鎖不平衡状態にある複数の一塩基多型について、任意の一つの一塩基多型、好適には pairwise tagging 法による絞り込み等を行い決定した一塩基多型、いわゆるタグ SNP を用いて前記連鎖不平衡状態にある複数の一塩基多型を代表することができる。さらに、本発明の緑内障に関連する一塩基多型の周辺を再解析、例えば、TaqMan (登録商標) SNP Genotyping Assays (Applied Biosystems) を用いて再解析することにより、当該一塩基多

型と連鎖不平衡状態にある新たな疾患関連一塩基多型が見出される場合がある。

[0030] 本発明においては、常染色体上の緑内障に関連する一塩基多型の解析において、一次解析として、個々の一塩基多型における遺伝子型の組合せ、即ち、一方のアレルのホモ型、ヘテロ型、他方のアレルのホモ型である遺伝子型について、一方のアレルのホモ型＋ヘテロ型対他方のアレルのホモ型、一方のアレルのホモ型対ヘテロ型＋他方のアレルのホモ型、及び、一方のアレルのホモ型対ヘテロ型対他方のアレルのホモ型の3通りの統計モデルについて、緑内障患者群対白内障患者群(以下、比較Aと呼ぶ)、及び、緑内障患者群対滲出型加齢黄斑変性患者群(以下、比較Bと呼ぶ)のそれぞれにFisherの正確確率検定を適用して、3通りの統計モデルを適用した場合のp値を求めた。次に、緑内障以外の疾患に特異的に関連する一塩基多型を排除し緑内障に特異的に関連する一塩基多型を選択するため、比較A及び比較Bの両者において、前述のように求めた3通りの統計モデルのp値のうち最小となるp値が比較A及び比較Bで共通して 0.01 を下回る一塩基多型482個を緑内障に関連する一塩基多型の候補として選択した。さらに、二次解析として白内障患者と滲出型加齢黄斑変性患者を纏めて対照群とし、前述の緑内障に関連する一塩基多型の候補について、再度同様に緑内障患者群と対照群についてp値を求め、3通りの統計モデルを適用して求めたp値のうち最小のものを当該一塩基多型を代表するp値とした。緑内障に関連するアレル又は遺伝子型の検出に用いられる一塩基多型は、ボンフェローニ補正によって多重性の調整を行う場合には、前述の緑内障に関連する一塩基多型の候補とされた一塩基多型の個数についてボンフェローニ補正を行い、好適な一塩基多型を選択するための有意水準を設定することができる。具体的には、所望の有意水準 5×10^{-2} を繰り返し回数482回で除算し、 1.04×10^{-4} を下回るp値の一塩基多型を緑内障に関連する一塩基多型のうち、より好ましい一塩基多型とした。しかしながら、前述のように、ボンフェローニ補正は過剰補正であることが知られているため、上記有意水準より概ね1～2桁高い水準、例えば、p値が

1×10^{-3} を下回る一塩基多型は緑内障に関連すると考えることができる。

- [0031] 解析にあたり、信頼性の高い結果を得るためには、解析に用いる一塩基多型に対し、予め、検出結果の品質の確認を行い、妥当な品質で検出されている一塩基多型を解析に供することが望ましい。このような品質の確認に用いられる要素としては、コールレート、ハーディー・ワインバーグ平衡及びマイナーアレル頻度がある。
- [0032] 全サンプルに対する各一塩基多型の判定率、すなわちコールレートが低い多型部位はタイピングエラーが発生している率が高く、信頼性が高くない。このため、コールレートが十分に高い一塩基多型部位を用いて解析することが望ましい。一塩基多型の採否の基準とするコールレートとしては、例えば70%、好ましくは75%、より好ましくは80%、さらに好ましくは85%、さらに好ましくは90%以上のコールレートを示す一塩基多型を採用することが望ましい。
- [0033] ハーディー・ワインバーグ平衡とは、変異や淘汰圧がなく、任意交配により形成された十分な個体数を持つ遺伝的に均一な集団においては、ある遺伝子座における各対立遺伝子の分布頻度は世代を重ねても一定であることを言う。ハーディー・ワインバーグ平衡が成立しているか否かは、いくつかの公知の方法、例えばカイ二乗検定やフィッシャーの正確確率検定によって統計学的に検定することができる。十分な数のヒト集団では、通常ハーディー・ワインバーグ平衡は成立していることから、一般的には、母集団におけるハーディー・ワインバーグ平衡の成立を前提に、標本の遺伝子型判定のエラーを検出する目的でハーディー・ワインバーグ平衡の検討が用いられる。ハーディー・ワインバーグ平衡の成立を統計学的に検定する場合、有意水準としては例えば0.001が用いられる。
- [0034] マイナーアレル頻度とは、2つのアレルに含まれる一塩基多型の場合では、2つのアレルの頻度の内、頻度が低い方のアレルの頻度のことを言う。閾値は任意に設定することが可能である。前述のように一塩基多型の概念は、マイナーアレル頻度が約1%を上回るものであるから、マイナーアレル頻度が

1%を下回る一塩基多型は棄却することが望ましい。また、本発明のような多因子疾患の原因となる多型の探索においては、疾患への相対的な関与が比較的低い多型が複数個関与していると考えられるため、マイナーアレル頻度が一定頻度、例えば5%を下回る一塩基多型を棄却することが望ましい。

[0035] このようにして得た緑内障に関連する一塩基多型は、NCBIが提供するGenbankのような公知配列のデータベース、あるいは、NCBIが提供するdbSNP又はHapMapプロジェクトのデータベースのような公知一塩基多型のデータベースを参照することにより、データベース上のSNP ID(特に、dbSNP ID)、その一塩基多型が存在するゲノム上の物理的位置、一塩基多型の周辺の配列情報、一塩基多型が存在する遺伝子又は一塩基多型の近傍に存在する遺伝子、遺伝子上に存在する場合には一塩基多型の存在する位置がイントロン又はエクソンのいずれであるかの区別、遺伝子の機能、相同遺伝子などの情報を得ることができ、これらの情報を元に本発明において用いる核酸分子を取得し、本発明に用いるプローブなどを設計することができる。これらの情報をデータベースで検索する際の一塩基多型を特定するための情報としては、これらデータベースに収録された情報の1つ又は複数を使用することができる。

[0036] このようにして決定された緑内障と関連する一塩基多型において、一方のアレルと緑内障発症の有無との間にどの程度強い関連が存在するかの指標として、オッズ比を求めることができる。オッズとは、ある群においてある事象が起こる確率を当該事象が起こらない確率で割った値であり、オッズ比とは、2つの異なる群におけるオッズの比である。アレルについてオッズ比を求める場合、あるアレルを持つ場合に疾患であるオッズ比、即ち、緑内障患者群における、一方のアレルの頻度と、前記一方のアレルに対立する、他方のアレルの頻度との比を、非緑内障患者群における一方のアレルの頻度と他方の頻度との比で除したものである。このとき、求められたオッズ比を本発明では前記「一方のアレル」について求めたオッズ比と呼ぶ。

[0037] アレルのオッズ比を求める際に、ある頻度が0になり、よってオッズ比が無限大となるような場合には、当該0の代わりに適当な数を用いてオッズ比を近

似計算することができる。0の代わりに用いる適当な数としては、例えば、0.5や0.1などの0を超える実数を用いることができる。

[0038] さらに、本発明においては、前記アレルについて求めたオッズ比を用いてリスクアレルが決定される。前述の定義から明らかなように、一方のアレルについて求めたオッズ比は他方のアレルについて求めたオッズ比の逆数となっている。アレルについて求めたオッズ比が1より大となるようなアレルを本発明ではリスクアレルと呼び、リスクアレルに対立するアレルを非リスクアレルと呼ぶ。なお、本発明において「アレルのオッズ比」と称する場合、リスクアレルについて求めたオッズ比、即ち、リスクアレルを持つ場合に緑内障であることのオッズ比を意味する。

[0039] 本発明においては、これらの指標により、緑内障のリスクを予測することができる。ある一塩基多型のリスクアレルは緑内障患者群において非緑内障患者群よりも高頻度に認められるアレルであり、即ち、緑内障のリスクに關与するアレルである。アレルを用いて緑内障リスクを予測する場合、当該一塩基多型のリスクアレルを少なくとも1つ持つことにより緑内障のリスクがあると予測される。この場合、オッズ比が大きいほどリスクアレルを有するサンプル提供者の緑内障のリスクは高い。一方、オッズ比の定義から明らかなように、本発明においてはアレルのオッズ比の逆数を使用することにより、非リスクアレルを持つものの疾患リスクを予測することができる。即ち、アレルのオッズ比の逆数が1より小さいほど、非リスクアレルを持つものの疾患リスクが低いことの予測に用いることができる。

[0040] 本発明においては、アレルに加え、又は、アレルの代わりに遺伝子型、即ち、一方のアレルとその対立アレルとの組合せである遺伝子型を用いて緑内障のリスクを予測することができる。この場合にも、アレルの場合と同様にリスクアレルを基準とすればよく、緑内障のリスクがあると考えられる遺伝子型は、オッズ比を考慮して決定することができる。

[0041] 遺伝子型のオッズ比を求めて緑内障のリスクを判定する場合、まず、リスクアレルを基準にdominant型オッズ比とrecessive型オッズ比の2通りのオッ

ズ比を求める。

- [0042] 本発明において、dominant型オッズ比は、リスクアレルを少なくとも1つ持つ場合(即ち、リスクアレルホモ型又はヘテロ型である場合)に緑内障であることのオッズ比、即ち、緑内障患者群におけるリスクアレルホモ型頻度とヘテロ型頻度の和と、非リスクアレルホモ型の頻度との比を、非緑内障患者群におけるリスクアレルホモ型頻度とヘテロ型頻度の和と、非リスクアレルホモ型の頻度との比で除したものであり、recessive型オッズ比はリスクアレルをホモに持つ場合に緑内障であるオッズ比、即ち、緑内障患者群におけるリスクアレルホモ型の頻度と、非リスクアレルホモ型頻度とヘテロ型頻度の和との比を、非緑内障患者群におけるリスクアレルホモ型の頻度と、非リスクアレルホモ型頻度とヘテロ型頻度の和との比で除したものである。
- [0043] 次に、緑内障のリスクがあると考えられる遺伝子型を決定する場合、上記のようにして求められたdominant型オッズ比及びrecessive型オッズ比を考慮して以下のように決定することができる。
- [0044] 緑内障に関連する各一塩基多型において、dominant型オッズ比がrecessive型オッズ比より大である場合、当該一塩基多型のリスクアレルはdominant型オッズ比に関連する。一方、同様にrecessive型オッズ比がdominant型オッズ比より大である場合、当該一塩基多型のリスクアレルはrecessive型オッズ比に関連する。リスクアレルがdominant型オッズ比に関連する場合、当該一塩基多型における緑内障のリスクがあると考えられる遺伝子型は、リスクアレルのホモ型及びヘテロ型であり、リスクアレルがrecessive型オッズ比に関連する場合、当該一塩基多型における緑内障のリスクがあると考えられる遺伝子型は、リスクアレルのホモ型である。
- [0045] 尚、遺伝子型のオッズ比を求める際に、いずれかの遺伝子型の頻度が0となり、オッズ比が無限大となり、よって、算出不能となってしまうことがある。このような場合、アレルのオッズ比の場合と同様に、当該0の代わりに適当な数を用いてオッズ比を近似計算することができる。0の代わりに用いる適当な数としては、例えば、0.5や0.1などの0を超える実数を用いることができ

る。

[0046] このようにして決定された緑内障のリスクがあると考えられる遺伝子型がサンプル中に検出された場合、当該サンプル提供者は緑内障のリスクがある
と予測されることができる。いずれの場合もオッズ比が大である程緑内障の
リスクは高いと予測される。

[0047] さらに、本発明の一塩基多型の組み合わせによって緑内障のリスクを予測
する場合にも、オッズ比の大小を用いてその予測精度を向上することができる。
即ち、リスクアレルもしくは緑内障のリスクがあると考えられる遺伝子
型を多数持ち、及び／又は、非リスクアレルもしくは緑内障のリスクがある
と考えられる遺伝子型でない遺伝子型を少数しか持たないサンプル提供者の
緑内障のリスクは、そうでないサンプル提供者のリスクより高く、この場合
において、オッズ比がより大きいアレル又は遺伝子型をより多く持つ場合に
、緑内障のリスクはより高いと予測される。

[0048] 好ましくは、アレル又は遺伝子型と疾患の程度の関連性を表す指標となる
オッズ比又は緑内障のリスク予測に用いるオッズ比は、統計学的に有意であ
ると判定された一塩基多型について算出されたオッズ比である、

[0049] 後述のように、本発明の一塩基多型はゲノム上のイントロンやエクソンな
どの遺伝子領域に存在する場合、又は、ゲノム上の遺伝子でない領域のいず
れにも存在する場合がある。イントロンやエクソンに存在する場合は当該遺
伝子は緑内障の原因遺伝子の一つである可能性がある。また、本発明の一塩
基多型がゲノム上の遺伝子でない領域に存在する場合は、当該一塩基多型の
近傍にある遺伝子と当該一塩基多型が連鎖しており、当該近傍に存在する遺
伝子が緑内障の原因遺伝子の一つである可能性があり、あるいは、当該一塩
基多型を含む領域又はその近傍がmRNAなどに転写され、RNA干渉などの現象を
介して他の遺伝子の発現に関与している可能性がある。即ち、ゲノム上で本
発明の一塩基多型が属する遺伝子、又は、ゲノム上で本発明の一塩基多型の
近傍に存在する遺伝子は本発明の範囲に含まれる。

[0050] 本発明において、イントロン型一塩基多型(iSNP)とはイントロンに一塩基

多型が存在することをいう。翻訳領域型一塩基多型 (cSNP) とは、タンパクに翻訳される領域に一塩基多型が存在するもののうち、当該一塩基多型を含むコドンが他のアミノ酸をコードするコドンや終止コドンに変異するなど、アミノ酸配列に変化を伴うものをいう。サイレント型一塩基多型 (sSNP) とは、翻訳領域に一塩基多型が存在するもののうち、アミノ酸配列の変化を伴わないものをいう。ゲノム型一塩基多型 (gSNP) とは、ゲノム上の遺伝子をコードしない領域に一塩基多型が存在することをいう。転写調節型多型 (rSNP) とは、エクソン上の転写調節に関与すると考えられる部位に存在する一塩基多型をいう。

- [0051] このように、一塩基多型はゲノム上のどのような位置にも存在することがあり、いずれの場合も疾患との関連を有し得る。イントロンあるいは非翻訳領域に一塩基多型が存在する場合は、遺伝子発現制御に影響する場合や、遺伝子の転写後に起こるスプライシングやmRNAの安定性に影響することがある。翻訳領域に一塩基多型が存在する場合は、その塩基の置換によってあるアミノ酸に対応するコドンが別のアミノ酸に対応するコドンに変化する、あるいは、終止コドンに変化するなどの変化が生じ、これによってコードされるタンパク質の構造に変化が生じることがある。これらの変化によって遺伝子の発現量や機能、ひいては当該遺伝子がコードするタンパクの発現量又は機能に変化が生じ、種々の疾患の原因になり得る。ゲノム型一塩基多型が疾患と関連する場合は、当該多型部位を含む領域が実際には翻訳され、他の遺伝子の発現に何らかの影響を及ぼしている可能性がある。サイレント型一塩基多型が疾患と関連している場合、その一塩基多型の周辺に疾患と関連する別の多型が存在し、当該多型とサイレント型一塩基多型が連鎖不平衡状態にある場合に疾患との関連が認められることが考えられる。同様に、サイレント型一塩基多型以外の一塩基多型であっても、当該一塩基多型自体は直接的な緑内障の原因ではなく、周辺に存在する緑内障の真の原因である多型と連鎖不平衡状態にある場合にも、これらの一塩基多型と緑内障の関連が認められることがある。

[0052] (緑内障に関連するアレルを含む核酸分子)

本発明の別の態様では、緑内障と関連する一塩基多型を含む核酸分子、及び、緑内障と関連する一塩基多型を含む核酸分子に相補的な配列を有する核酸分子が提供される。

[0053] 後述の表 1 ～ 7 に記載された一塩基多型を含む核酸配列を含む核酸分子及び／又は当該配列の相補的な配列を含む核酸分子は、本発明でアレル検出に使用される核酸分子である。本発明でアレル検出に使用される核酸分子は、好ましくは表 1 ～ 7 に記載された一塩基多型を含む核酸分子又はその断片であって、少なくともいずれか 1 つの前記核酸分子もしくは当該核酸分子に相補的な核酸分子又はこれらの断片であり、より好ましくは表 1、又は表 2 ～ 3 に記載された一塩基多型を含む核酸分子又はその断片であって、少なくともいずれか 1 つの前記核酸分子もしくは当該核酸分子に相補的な核酸分子又はこれらの断片であり、さらに好ましくは表 1 に記載された一塩基多型を含む核酸分子又はその断片であって、少なくともいずれか 1 つの前記核酸分子もしくは当該核酸分子に相補的な核酸分子又はこれらの断片である。また、これらの表 1 ～ 7 に記載された一塩基多型を含む核酸分子又は当該核酸分子に相補的な核酸分子のうち、リスクアレルを含む核酸分子又は当該核酸分子に相補的な核酸分子であることが望ましい。

[0054] これらの緑内障と関連する一塩基多型を含む核酸分子又は当該核酸分子に相補的な配列を有する核酸分子は緑内障リスクの高低を判定するマーカーとして用いることができる。さらにこれらの核酸分子は、当該一塩基多型における、リスクアレルもしくはその対立アレルを検出し、又は、遺伝子型を決定するためのプローブとして用いることができる。また、当該一塩基多型がエクソン上に存在する場合には、これらの核酸分子は遺伝子の転写物の検出に用いることができる。

[0055] 本発明において、より好ましい核酸分子は、緑内障と関連する一塩基多型の同定の項で説明したのと同様の方法で選択することができる。

[0056] 真核生物のゲノムを構成する核酸分子はセンス鎖と、センス鎖に相補的な

アンチセンス鎖の二重鎖で構成されている。即ち、一塩基多型もセンス鎖とアンチセンス鎖から構成されており、いずれの鎖の一塩基多型を検出することも同じ意味を持つから、本発明の核酸分子はこれらのいずれをも含む。

[0057] 本発明における核酸分子は、デオキシリボ核酸であるかリボ核酸であるかを問わず、これらの両方を同一の核酸分子中に持つ核酸分子もまた本発明に含まれる。尚、リボ核酸を含む核酸分子を用いる場合には、本発明の配列においてチミジン(T)で定義されたヌクレオシドはウリジン'(U)と読み替えることができる。相補鎖のヌクレオシドがチミジンとなる場合についても同様である。また、これらの核酸分子に本発明に用いるための機能を損なわない範囲で、必要に応じ化学修飾を施すことができる。この場合の機能とは、核酸分子を使用する目的を達成する機能を言う。

[0058] 本発明における核酸分子は、本明細書に開示された配列情報、又は、本明細書に開示されたデータベースID等の情報をdbSNP、HapMap又はGenbank等のデータベースで検索して得られる配列情報に基づき、公知の方法、例えばホスホロアミダイト法を用いて合成することができる。市販のDNA合成機を用いて合成することも可能である。また、本発明における核酸分子はヒト由来のDNAを含むサンプルから、PCR法などの公知の方法により、又は、一部の核酸分子についてはヒト由来のRNAを含むサンプルから、RT-PCR法などの公知の方法により取得することができる。取得に必要なプライマーは当業者であれば本明細書に開示された配列情報、又は、本明細書に開示されたデータベースのID等の情報から検索可能な配列情報に基づき設計することができる。例えばPCR法を用いる場合には、目的とする核酸分子の一部の配列と相同な配列を有するような約10～30塩基のプライマーが使用可能であり、RT-PCR法を用いる場合には、オリゴdTプライマー、又はランダムヘキサマーなどを用い、逆転写反応を行って相補DNA(cDNA)を作成し、当該cDNA中の目的の配列を前述のPCR法で増幅することによって得ることができる。

[0059] 核酸分子は、好ましくは16～50塩基、より好ましくは23～27塩基、さらに好ましくは25塩基の長さを有し、かつ、前述の多型部位とその周辺の配列、

又はこれに相補的な配列を含む核酸分子であることが望ましい。なお、核酸分子には、その機能を損なわない範囲で、任意の化学修飾を施すことができる。この場合の機能とは、核酸分子を使用する目的を達成する機能を言う。

[0060] 本発明の緑内障に関連する一塩基多型の検出方法及び緑内障のリスクの予測方法において、アレル検出に用いられる核酸分子は、配列番号1～82で示される塩基配列からなる群(それぞれ、奇数番目と偶数番目の塩基配列の組で1つの一塩基多型に対応する)より選択される少なくとも1つの塩基配列もしくはその相補的配列、又はこれらの部分配列において、前記配列番号1～82で示される塩基配列の26番目に相当するアレルを有する配列を含有する核酸分子であり、

より好ましくは、配列番号1～14で示される塩基配列からなる群より選択される少なくとも1つの塩基配列もしくはその相補的配列、又はこれらの部分配列において、前記配列番号1～14で示される塩基配列の26番目に相当するアレルを有する配列を含有する核酸分子であり、

さらに好ましくは、以下の、a～gの一塩基多型を含む塩基配列の組からなる群より選択される少なくとも1つの塩基配列もしくはその相補的配列、又はこれらの部分配列において、前記a～gの組に含まれる塩基配列の26番目に相当するアレルを有する配列を含有する核酸分子である。(ここで、前述のように、a～gで示される配列番号の組において、それぞれの塩基配列の組は1つの一塩基多型の互いに対立するアレルを26番目の塩基に含む塩基配列である)

a: 配列番号1及び／又は配列番号2、

b: 配列番号3及び／又は配列番号4、

c: 配列番号5及び／又は配列番号6、

d: 配列番号7及び／又は配列番号8、

e: 配列番号9及び／又は配列番号10、

f: 配列番号11及び／又は配列番号12、ならびに、

g: 配列番号13及び／又は配列番号14

なお、本明細書において、部分配列とは、核酸配列の断片のことを意味し、

前記配列の17番目に相当するアレルを有するものであれば配列長には限定はないが、例えば、好ましくは16～50塩基、より好ましくは23～27塩基、さらに好ましくは25塩基の長さを有する断片である。本発明の一塩基多型をdbSNP等の公知一塩基多型のデータベース又は公知配列情報のデータベースで検索して得られる、本発明の一塩基多型を含む核酸配列の断片も本発明の部分配列に含まれる。

[0061] 上記のいずれかの一塩基多型を含む核酸分子を用いる場合、中でも、それぞれの一塩基多型を含む配列の組のうち、奇数番目の配列番号で示される配列もしくはその相補的配列、又はこれらの部分配列からなる塩基配列において、前記選択される塩基配列の26番目に存在する一塩基多型のアレルを含む核酸分子を用いることが好ましい。また、上記核酸分子は、上記アレルを含む配列からなるものが好ましい。なお、これらはそれぞれの多型部位において、リスクアレルを含む塩基配列である。

[0062] (緑内障に関連するアレルを検出可能なプローブ)

本発明の別の態様では、緑内障に関連するアレルを検出可能なプローブが提供される。本発明におけるプローブは、前述の本発明の核酸分子と同様の方法で作ることができる。

[0063] プローブは、後述の表1～7に記載された一塩基多型の各アレルを含む核酸配列又はその相補的配列とストリンジェントな条件(高ストリンジェンシーな条件ともいう)でハイブリダイズし得るものであればいかなるものでも用いられる。好ましくは、本発明のプローブは、表1～7に記載された少なくともいずれか1つの一塩基多型に含まれるリスクアレル及び／又は非リスクアレルを検出可能なプローブであり、より好ましくは表1～3に記載された少なくともいずれか1つの一塩基多型に含まれるリスクアレル及び／又は非リスクアレルを検出可能なプローブであり、さらに好ましくは表1に記載された少なくともいずれか1つの一塩基多型に含まれるリスクアレル及び／又は非リスクアレルを検出可能なプローブである。また、これらの表1～7に記載されたいずれか1つの一塩基多型に含まれるリスクアレル及び／又は非リ

スクアレルを検出可能なプローブにおいて、好ましい態様の1つとしてリスクアレルを検出可能なプローブが挙げられる。一方、1つの一塩基多型においてリスクアレルを検出可能なプローブと非リスクアレルを検出可能なプローブの両方を用いることにより、当該一塩基多型の遺伝子型を決定することができる。

[0064] 本明細書において、ハイブリダイズとは、ある配列を有する核酸分子と、その核酸分子の少なくとも一部分に対し相補的な核酸分子が互いに相補的な塩基配列に基づき水素結合を介して会合することを意味する。元の核酸分子と会合する相補的な核酸分子の種類は同じでも異なっても良く、これらの核酸分子を構成する核酸分子の種類はデオキシリボ核酸であってもリボ核酸であっても、又は同一核酸分子内にその両方を持つものであっても良い。

[0065] 本明細書においてストリンジントな条件又は高ストリンジエンシーな条件とは、ある配列を有する核酸分子に、前記核酸分子の部分配列と相補的な配列を有する核酸分子が特異的にハイブリダイズする条件を意味する(Fred M. Ausuble et al., Current Protocols in Molecular Biology p. 2.10.1-2.10.16; John Wiley and Sons, Inc.)。25塩基長のDNA分子からなる固層化プローブを用いる場合の具体例としては、例えば、0.056M 2-(N-Morpholino)ethanesulfonic acid、5% DMSO、2.5×デンハルド液、5.77mM EDTA、0.0115% Tween-20、2.69M Tetramethyl Ammonium Chlorideの存在下、95°Cで10分変性後49°Cでハイブリダイズするような条件が例示される。このような条件はプローブとして用いる核酸分子の配列長や化学修飾の程度によって異なる場合があることが知られており、特異的にハイブリダイズが可能となるようなハイブリダイズ及び／又は洗浄条件の最適化は当業者の通常の創作能力で可能である。

[0066] 本発明においてアレル特異的(又は、アレルに特異的)とは、当該多型部位を含む核酸分子において当該アレルを含むこと、又は、ある核酸分子が当該多型部位において、当該アレルを含む配列を有する核酸分子にストリンジントな条件下で特異的に、即ち、当該アレルと対立するアレルを識別可能な

ようにハイブリダイズすることを言う。

[0067] 多型部位のアレルの決定は、ゲノムのセンス鎖、アンチセンス鎖のいずれの多型部位を検出することによっても行うことができるため、本発明におけるプローブはセンス鎖のアレルに特異的な配列の相補的配列、すなわちアンチセンス鎖のアレルに特異的な配列、ならびにアンチセンス鎖のアレルに特異的な配列に相補的な配列、すなわちセンス鎖のアレルに特異的な配列を持つ核酸分子のいずれも含まれる。本発明のプローブは本発明の一塩基多型を含むcDNA又はmRNAの検出に用いることもできる。cDNA又はmRNAの検出に用いる場合、当該一塩基多型はエクソン又はその近傍に存在するものが好適に用いられる。

[0068] 本発明におけるプローブは、後述の表 1～7に記載されたアレル特異的な配列もしくはその相補鎖又はこれらの部分配列を含む核酸分子からなる。

[0069] 本発明におけるプローブには、アレル特異的な配列又はその相補鎖とストリンジントな条件でハイブリダイズし得る範囲において、末端にスペーサー又は安定化等に供する目的で当該配列に由来しない任意の数塩基の配列を付加することができる。好ましくは、本発明におけるプローブにおいてアレルに特異的なハイブリダイズに寄与する配列はアレル特異的な配列又はその相補鎖のみからなる。

[0070] プローブには検出に用いるための任意の標識を施すことができる。プローブに施す標識は通常用いられるいかなるものでも用いるが、一般的には例えばFITCやCy3などの蛍光標識、ビオチン、又は、アルカリホスホターゼや西洋ワサビペルオキシダーゼなどの酵素標識などが用いられる。ビオチン標識を用いる場合には、ビオチンに特異的に結合するストレプトアビジン又はアビジンにさらに検出可能な標識を施しておき、当該標識ストレプトアビジン等を二次標識として使用する。標識ストレプトアビジン等の代わりに標識抗ビオチン抗体を使用することもできる。ビオチンに結合したストレプトアビジンに対し、さらに標識抗ストレプトアビジン抗体を三次標識として使用することにより、検出感度を向上することも可能である。プローブに標識を

施す方法は公知の如何なる方法でも用いられ、その方法は当業者にとって周知である。プローブに前述のスペーサーとなる任意の配列を付加し、スペーサーに標識を施すこともできる。プローブの標識化用の試薬、標識ストレプトアビジン、標識抗ビオチン抗体などは試薬として市販されており、購入して使用することもできる。

[0071] 本発明におけるプローブは、目的とするアレルを有する核酸分子に特異的にハイブリダイズし得るかぎり、デオキシリボ核酸であるかリボ核酸であるかを問わず、これらの両方を同一の核酸分子中に持つ核酸分子からなるプローブもまた本発明に含まれる。また、リボ核酸を含む核酸分子をプローブとして用いる場合には、本発明の配列においてチミジン(T)で定義されたヌクレオシドはウリジン'(U)と読み替えることができる。前記本発明の配列の相補鎖のヌクレオシドがチミジンとなる場合、又は、mRNAの検出のために本発明のプローブを用いる場合についても同様である。また、本発明におけるプローブには、目的とするアレルを有する核酸分子にストリンジェントな条件下で特異的にハイブリダイズし得る限り、必要に応じ化学修飾を施すこともできる。化学標識を施す方法は公知のいかなる方法も用いられる。

[0072] 検出用のプローブは、溶液状態でサンプルと反応させ公知の方法で検出することも、あらかじめ担体上に固層化しておくことも可能である。数個乃至数十万個の異なる一塩基多型のそれぞれのアレルに対応するプローブを、一つの一塩基多型あたり一個乃至十数個ずつあらかじめ固体の担体上の定められた位置に固層化しておき、サンプルをこれに反応させ、ハイブリダイズしたプローブから生じるシグナルをスキャンしコンピューターを用いて解析する固層化プローブ、いわゆるマイクロアレイの形態を取ることも可能である。固層化プローブの形態を取る場合には、固層化するプローブの最大数はプローブの固層化密度と固層化部位の面積によって制限される。

[0073] このような固層化プローブの形態を取る場合、サンプル中の核酸分子を公知の方法で標識化しておき、固層化された本発明の非標識プローブと結合させることにより、又は、検出すべきアレルを持つ核酸分子を固層化された本

発明の非標識プローブと結合させた後に公知の方法で標識化することにより、標識された、前記検出すべきアレルを持つ核酸分子由来の固層上のシグナルを検出することができる。

[0074] 固層化は公知のいかなる方法によっても行うことができるが、例えば合成オリゴプリント、スポッティングフォトリソグラフなどの方法を用いることができる。また、担体の材質には制限がなく、一般的に用いられる材質、例えばポリカーボネートやポリスチレンなどの高分子、ガラス、シリコン結晶等が用いられる。また、核酸の接着力を高めるために、固層化の前に担体にあらかじめ陽イオン化などのコーティングを施しても良い。また、非特異的な核酸の担体への吸着を防ぐため、固層化を行った後に公知のブロッキング剤によりブロッキングを行うこともできる。このようなブロッキング剤には、非特異的な核酸の担体への吸着を抑制できるものであれば何でも用いられるが、例えばサケ精子DNA、デンハルト溶液、胎盤から抽出したCot-1 DNA、ドデシル硫酸ナトリウムなどの陰イオン性界面活性剤、ポリオキシエチレンソルビタンモノラウレートなどの非イオン性界面活性剤などを用いることができる。

[0075] また、プローブを固層化する場合には、同一担体上に対立する各々のアレルに特異的なプローブを固層化することにより、一つのサンプル中に含まれる対立する各々のアレルを同一操作で検出する構成とすることもできる。このような構成では、同一の操作によってサンプルのアレルのみならず遺伝子型を決定することも可能である。

[0076] 検出用のプローブの好適な配列長は検出方法によって異なるが、本発明の緑内障に関連する一塩基多型のアレル又は遺伝子型を特異的に検出可能なものであればよい。例えば、アレルの検出に固層化プローブを用いる場合のプローブは、好ましくは16～50塩基、より好ましくは23～27塩基、さらに好ましくは25塩基の長さを有し、かつ、前述の多型部位とその周辺の配列、又はこれに相補的な配列を含む核酸分子からなるプローブであり、アレルの検出を溶液状態で行う場合のプローブは、好ましくは16～50塩基、より好ましく

は23～27塩基、さらに好ましくは25塩基の長さを有し、かつ、前述の多型部位とその周辺の配列、又はこれに相補的な配列を含む核酸分子からなるプローブである。

[0077] 本発明の緑内障に関連する一塩基多型の検出方法及び緑内障のリスクの予測方法において、アレル検出に用いられるプローブは、配列番号1～82で示される塩基配列からなる群(それぞれ、奇数番目と偶数番目の塩基配列の組で1つの一塩基多型に対応する)より選択される少なくとも1つの塩基配列もしくはその相補的配列、又はこれらの部分配列からなる塩基配列において、前記配列番号1～82で示される塩基配列の26番目に相当するアレルを有する塩基配列を含有するプローブであり、
好ましくは、配列番号1～14で示される塩基配列からなる群より選択される少なくとも1つの塩基配列もしくはその相補的配列、又はこれらの部分配列からなる塩基配列において、前記配列番号1～14で示される塩基配列の26番目に相当するアレルを有する塩基配列を含有するプローブであり、
より好ましくは、以下の、a～gの一塩基多型を含む塩基配列の組からなる群より選択される少なくとも1つの塩基配列もしくはその相補的配列、又はこれらの部分配列からなる塩基配列において、前記a～gの組に含まれる塩基配列の26番目に相当するアレルを有する塩基配列を含有するプローブである。(ここで、前述のように、a～gで示される配列番号の組において、それぞれの塩基配列の組は1つの一塩基多型の互いに対立するアレルを26番目の塩基に含む塩基配列である)

- a: 配列番号1及び／又は配列番号2、
- b: 配列番号3及び／又は配列番号4、
- c: 配列番号5及び／又は配列番号6、
- d: 配列番号7及び／又は配列番号8、
- e: 配列番号9及び／又は配列番号10、
- f: 配列番号11及び／又は配列番号12、ならびに、
- g: 配列番号13及び／又は配列番号14

[0078] 上記のいずれかの一塩基多型を含むプローブを用いる場合、中でも、それぞれの一塩基多型を含む配列の組のうち、奇数番目の配列番号で示される配列もしくはその相補的配列、又はこれらの部分配列からなる塩基配列において、前記選択される塩基配列の26番目に存在する一塩基多型のアレルを含むプローブを用いることが好ましい。なお、これらはそれぞれの多型部位において、リスクアレルを含む塩基配列である。

[0079] (サンプル中の緑内障に関連する一塩基多型の検出方法及び緑内障のリスクの予測方法)

本発明のある態様では、核酸分子を含むサンプル中に、緑内障患者において頻度が高いアレル又は遺伝子型を有するか否かの検出方法が提供される。サンプルとしては、核酸分子を含むもの、即ち、ゲノム由来の核酸分子(DNA及び／又はRNA)を抽出可能なもの、又は、本発明の一塩基多型の近傍に存在する遺伝子を含むmRNA又はcDNAを抽出可能なものであれば何でも良いが、例えば、血液、白血球、毛根、毛髪、唾液、口腔粘膜細胞、鼻腔粘膜細胞、皮膚、又は、生検によって得た筋肉もしくは臓器などの組織が用いられる。

[0080] 前述のように、真核生物のゲノムを構成する核酸分子は互いに相補的なセンス鎖とアンチセンス鎖で構成されており、サンプルに含まれる核酸分子における本発明の一塩基多型のアレルの検出は、当該多型部位のセンス鎖、アンチセンス鎖のいずれの塩基を検出することによっても行うことができる。

[0081] 本発明で開示された、緑内障に関連する一塩基多型を含む51塩基長の核酸配列は、その中央(即ち、26番目)の塩基のみが異なる2つの塩基配列からなる塩基配列の組(即ち、配列番号が奇数と偶数の組)からなり、当該26番目の塩基が多型部位である。多型部位におけるリスクアレルを含む塩基配列は、前記の塩基配列の組のうち先の(即ち、奇数番目の)配列である。また、リスクアレルは後述の表1～7に記載されている。これらの一塩基多型の少なくとも1つについて、サンプルに含まれる核酸分子中のリスクアレルを検出することにより、サンプル提供者の緑内障リスクを予測することができる。即ち、サンプル中の核酸分子に当該一塩基多型におけるリスクアレルが少なくと

も一つ存在する場合に、緑内障のリスクがあると予測すればよい。

[0082] また、上記で同定した緑内障に関連する一塩基多型について、一つのサンプルに含まれる特定のアレルに対立する各々のアレルを検出し、遺伝子型を決定することができる。即ち、あるアレルのみが検出された場合は当該アレルをホモに有するホモ型であり、2つのアレルが検出された場合には当該2つのアレルをヘテロに有するヘテロ型である。これらの一塩基多型の少なくとも1つについて、サンプル中の核酸分子に含まれる当該一塩基多型の遺伝子型を決定し、後述の表1～7に記載された緑内障患者群及び対照群の遺伝子型頻度データを基に、前述の方法によって緑内障のリスクがあると考えられる遺伝子型を決定し、これらを比較することにより、同様にリスク予測を行えばよい。尚、サンプル中の核酸分子に含まれる一塩基多型の遺伝子型の決定には、リスクアレルの特定は必ずしも必要でないことから、遺伝子型の決定は、サンプル中の核酸分子に当該一塩基多型のリスクアレルが少なくとも1つ存在するか否かを判定する前後のいずれにも行うことができ、該決定された遺伝子型と、リスクアレルに基づいて決定された緑内障のリスクがあると考えられる遺伝子型との比較を行って、緑内障のリスクの予測を行うことができる。

[0083] 核酸分子を含むサンプル中にこれらのアレルの存在を検出するには、如何なる方法でも用いるが、前述のそれぞれのアレルに特異的なプローブを用いてハイブリダイズし、そのシグナルを検出することによりそれぞれのアレルを検出することができる。検出されたアレルと本発明で開示された当該一塩基多型におけるリスクアレルを比較することにより、サンプル中の核酸分子に当該一塩基多型におけるリスクアレルが存在するか否かを決定できる。例えば、前述の本発明の核酸分子及び／又は前述の本発明のプローブは、本発明の緑内障に関連する一塩基多型の検出方法及び緑内障のリスク予測方法におけるリスクアレル又は緑内障のリスクがあると考えられる遺伝子型の決定に好適に用いることができる。

[0084] また、対立する各々のアレル、即ち、ある一塩基多型に含まれるリスクア

レル及び非リスクアレル、に対応するプローブにそれぞれ異なる標識を施し、又は、対立する各々のアレルを固層化したマイクロアレイなどの固層化プローブを用いることにより、同一サンプルに含まれる対立する各々のアレルを検出することができる。このような構成では、サンプルのアレルのみならず遺伝子型を決定することも可能である。また、対立する各々のアレルを同一担体上に固層化したマイクロアレイなどの固層化プローブを用いる場合には、同一操作でハイブリダイズを行い、同一操作で検出する構成とすることもできる。

[0085] 本発明の一塩基多型を検出する方法としては、上述の方法以外に公知のいかなる方法も用いられるが、例えば、次のようなものが利用可能である。プローブを用いてハイブリダイズする方法の例としてはTaqMan（登録商標）法、インベダー（Invader（登録商標））法などがあり、これらのいずれも用い得る。同一のアレルを検出するためのプローブであっても、検出に用いる方法によってより好ましいプローブが異なる場合がある。本発明の一塩基多型のアレル又は遺伝子型の判定は検出方法に依存しないが、検出方法に応じて適するプローブを使用することが望ましい。また、プローブによるハイブリダイズを行わない方法としては、直接塩基配列を決定するダイレクトシーケンス法などが挙げられる。

[0086] なお、前述のように、本明細書において「アレル特異的」又は「アレルに特異的」とは、当該多型部位を含む核酸分子又は塩基配列において当該アレルを含むこと、又は、ある核酸分子が当該多型部位において、当該アレルを含む配列を有する核酸分子にストリンジェントな条件下で特異的に、即ち、当該アレルと対立するアレルを識別可能なようにハイブリダイズすることが可能であることを言う。

[0087] このようにしてサンプルの分析を行い、サンプル中にリスクアレル又は緑内障のリスクがあると考えられる遺伝子型が存在する場合、当該サンプルを提供した非緑内障患者は緑内障のリスクが高いと予測され、当該サンプルを提供した緑内障が疑われる者は緑内障と診断されるべき蓋然性が高い。緑内

障のリスクの大小はオッズ比の大小を用いて予測することができる。

[0088] さらに、一つのサンプルを用いて、本発明の緑内障に関連する一塩基多型の、リスクアレル又は遺伝子型の二つ以上を検出することにより、将来的な緑内障のリスクの判定の精度を向上することもできる。この場合、サンプル中に検出されるリスクアレルもしくは緑内障のリスクがあると考えられる遺伝子型の数又はこれらのオッズ比の大小を指標にリスクの大小を予測することができる。当該リスクアレルもしくは緑内障のリスクがあると考えられる遺伝子型の数又はこれらのオッズ比が大であるほど、あるいは、これらの数値がある閾値を超えた場合にリスクがより高いと判定することができる。

[0089] 前述のように、本発明の緑内障に関連する一塩基多型の検出方法及び緑内障のリスク予測方法には、サンプル中の核酸分子に後述の表 1～7 に記載されたいずれかの一塩基多型のアレル及び／又は遺伝子型の決定を行うこと、当該サンプル中の一塩基多型のアレル及び／又は遺伝子型と本発明で開示された当該一塩基多型のリスクアレル及び／又は本発明で開示された緑内障のリスクがあると考えられる遺伝子型の比較を行うこと、の少なくとも 1 つを含むものであれば全て含まれる。

[0090] 好ましくは本発明の緑内障のリスク予測方法は表 1～3 に記載された少なくともいずれか 1 つの一塩基多型のアレル及び／又は遺伝子型を決定すること、当該サンプル中の一塩基多型のアレル及び／又は遺伝子型と本発明で開示された当該一塩基多型のリスクアレル及び／又は本発明で開示された緑内障のリスクがあると考えられる遺伝子型の比較を行うこと、の少なくとも 1 つを含むものであり、さらに好ましくは表 1 に記載された少なくともいずれか 1 つの一塩基多型のアレル及び／又は遺伝子型を決定すること、当該サンプル中の一塩基多型のアレル及び／又は遺伝子型と本発明で開示された当該一塩基多型のリスクアレル及び／又は本発明で開示された緑内障のリスクがあると考えられる遺伝子型の比較を行うこと、の少なくとも 1 つを含むものである。

[0091] 本発明の緑内障に関連する一塩基多型の検出方法及び緑内障のリスクの予

測方法において、検出に用いられる一塩基多型は、配列番号1～82で示される塩基配列からなる群(それぞれ、奇数番目と偶数番目の塩基配列の組で1つの一塩基多型に対応する)より選択される少なくとも1つの塩基配列又はその相補的配列において、各塩基配列の26番目に存在する一塩基多型であり、より好ましくは、配列番号1～14で示される塩基配列からなる群より選択される少なくとも1つの塩基配列又はその相補的配列において、各塩基配列の26番目に存在する一塩基多型であり、

さらに好ましくは、以下の、a～gの一塩基多型を含む塩基配列の組からなる群より選択される少なくとも1つの塩基配列又はその相補的配列において、各塩基配列の26番目に存在する一塩基多型である。(ここで、前述のように、a～gで示される配列番号の組において、それぞれの塩基配列の組は1つの一塩基多型の互いに対立するアレルを26番目の塩基に含む塩基配列である)

- a: 配列番号1及び／又は配列番号2、
- b: 配列番号3及び／又は配列番号4、
- c: 配列番号5及び／又は配列番号6、
- d: 配列番号7及び／又は配列番号8、
- e: 配列番号9及び／又は配列番号10、
- f: 配列番号11及び／又は配列番号12、ならびに、
- g: 配列番号13及び／又は配列番号14

[0092] 上記のいずれかの一塩基多型を用いる場合、中でも、それぞれの一塩基多型を含む配列の組のうち、奇数番目の配列番号で示される配列又はその相補的配列において、各塩基配列の26番目に存在する一塩基多型のアレルを用いることが好ましい。なお、これらはそれぞれの多型部位において、リスクアレルを含む塩基配列である。

[0093] サンプル中のこれらの一塩基多型の検出を行うに当たり、上記いずれか1つの一塩基多型に加えて、該一塩基多型以外に、さらに表1～7に記載された少なくともいずれか1つの一塩基多型のアレル又は遺伝子型を決定することを組み合わせることにより疾患判定の精度を向上させることができる。組

み合わせに用いる一塩基多型は、好ましくは表 1～3 に記載された一塩基多型であり、より好ましくは表 1 に記載された一塩基多型である。

[0094] (緑内障に関連するアレルを検出するためのキット)

本発明の別の態様では、緑内障に関連する一塩基多型を検出するためのキットが提供される。

[0095] 本発明のキットには、サンプル中の核酸分子に後述の表 1～7 に記載されたいずれかの一塩基多型のリスクアレルを検出することができるものであれば全て含まれる。好ましくは、本発明のキットは、表 1～7 に記載された少なくともいずれか 1 つの一塩基多型のリスクアレル及び／又は非リスクアレルの検出が可能なキットであり、より好ましくは表 1～3 に記載された少なくともいずれか 1 つの一塩基多型のリスクアレル及び／又は非リスクアレルの検出が可能なキットであり、さらに好ましくは表 1 に記載された少なくともいずれか 1 つの一塩基多型のリスクアレル及び／又は非リスクアレルの検出が可能なキットである。1 つの一塩基多型に含まれるリスクアレル及び非リスクアレルの両方を検出可能なキットを用いることにより当該一塩基多型の遺伝子型を決定することができる。

[0096] 本発明のキットにおいて、上記いずれか 1 つの一塩基多型に加えて、該一塩基多型以外に、さらに表 1～7 に記載された少なくともいずれか 1 つの一塩基多型のリスクアレル及び／又は非リスクアレルの検出あるいは遺伝子型の決定が可能なキットも本発明の態様の一つである。複数の一塩基多型のアレル又は遺伝子型の決定を行うキットの場合、上記いずれか 1 つの一塩基多型に加えて、好ましくはさらに表 1～7 に記載された一塩基多型のリスクアレル及び／又は非リスクアレルの検出あるいは遺伝子型の決定が可能なキットであり、より好ましくはさらに表 1～3 に記載された一塩基多型のリスクアレル及び／又は非リスクアレルの検出あるいは遺伝子型の決定が可能なキットであり、さらに好ましくはさらに表 1 に記載された一塩基多型のリスクアレル及び／又は非リスクアレルの検出あるいは遺伝子型の決定が可能なキットである。

- [0097] これらの表 1～7 の少なくとも 1 つの一塩基多型のリスクアレル及び／又は非リスクアレルの検出あるいは遺伝子型の決定が可能なキットのうち、好ましい態様の一つに、前記一塩基多型のリスクアレルの検出が可能なキットが挙げられる。
- [0098] プローブの項で説明したように、本発明のキットは一塩基多型のセンス鎖、アンチセンス鎖のいずれの塩基を検出するものであっても良く、これらの両者を検出するものであっても良い。一塩基多型の検出方法にも制限はなく、例えばプローブの項で例示した検出方法が用いられる。
- [0099] 前述の本発明の核酸分子及び／又は前述の本発明のプローブを用いて緑内障に関連する一塩基多型を検出するためのキットは、本発明に含まれる。即ち、本発明のキットは、緑内障に関連する一塩基多型のアレル又は遺伝子型の決定が可能なように、本発明の核酸分子及び／又は本発明のプローブを含有するものである。
- [0100] 前述のリスクアレルと、非リスクアレルの両方を検出するキットも本発明の好ましい実施態様の一つである。このようなキットを用い、既に説明したように各アレルの遺伝子型を決定することも可能である。
- [0101] 本発明のキットを用いて、サンプル中にリスクアレル又は緑内障のリスクがあると考えられる遺伝子型が存在することを検出することにより、非緑内障患者の将来的な緑内障のリスクを予測し又は緑内障の疑いがある者の緑内障の診断又は診断の補助を行うことができる。
- [0102] また、前述のように、対立するアレルにそれぞれ特異的なプローブを用い、かつ、プローブの標識を異なるものとすることにより、又は、前述の固層化プローブ（マイクロアレイ）の形態とすることにより、対立するアレルを同一操作で測定するキットとすることもできる。
- [0103] 一つのサンプルを用いてこれらのアレル又は遺伝子座の複数を検出する構成のキットとすることにより、将来的な緑内障のリスク予測や診断の精度を向上させることもできる。このような構成においても、異なる標識を施したプローブや前述のマイクロアレイの形態とすることにより、検出を同一操作

で行う構成とすることもできる。

- [0104] 本発明の緑内障に関連する一塩基多型の検出方法及び緑内障のリスクの予測方法において、検出又はリスク予測に用いられるキットは、配列番号1～82で示される塩基配列からなる群(それぞれ、奇数番目と偶数番目の塩基配列の組で1つの一塩基多型に対応する)より選択される少なくとも1つの塩基配列もしくはその相補的配列、又はこれらの部分配列からなる塩基配列において、前記配列番号1～82で示される各塩基配列の26番目に相当する一塩基多型のアレル又は遺伝子型の決定が可能なキットであり、
- 好ましくは、配列番号1～14で示される塩基配列からなる群より選択される少なくとも1つの塩基配列もしくはその相補的配列、又はこれらの部分配列からなる塩基配列において、前記配列番号1～82で示される各塩基配列の26番目に相当する一塩基多型のアレル又は遺伝子型の決定が可能なキットであり、
- より好ましくは、以下の、a～gの一塩基多型を含む塩基配列の組からなる群より選択される少なくとも1つの塩基配列もしくはその相補的配列、又はこれらの部分配列からなる塩基配列において、前記配列番号1～82で示される各塩基配列の26番目に相当する一塩基多型のアレル又は遺伝子型の決定が可能なキットである。(ここで、前述のように、a～gで示される配列番号の組において、それぞれの塩基配列の組は1つの一塩基多型の互いに対立するアレルを26番目の塩基に含む塩基配列である)
- a: 配列番号1及び／又は配列番号2、
 - b: 配列番号3及び／又は配列番号4、
 - c: 配列番号5及び／又は配列番号6、
 - d: 配列番号7及び／又は配列番号8、
 - e: 配列番号9及び／又は配列番号10、
 - f: 配列番号11及び／又は配列番号12、ならびに、
 - g: 配列番号13及び／又は配列番号14

- [0105] 上記のいずれかの一塩基多型のアレル又は遺伝子型の決定が可能なキット

において、中でも、それぞれの一塩基多型を含む配列の組のうち、奇数番目の配列番号で示される配列もしくはその相補的配列、又はこれらの部分配列からなる塩基配列において、前記配列番号1～82で示される各塩基配列の26番目に相当する一塩基多型のアレルの決定が可能なキットであることが好ましい。なお、これらはそれぞれの多型部位において、リスクアレルを含む塩基配列である。

[0106] (好ましい人種)

本発明で用いられる緑内障に関連する一塩基多型は、当該多型を有する限りいかなる人種においても用いられるが、好ましい人種はモンゴロイドであり、より好ましくは東アジア人であり、さらに好ましくは日本人又は日本人を祖先にもつ人である。

[0107] 本発明の方法により、本発明で開示されたリスクアレル又は緑内障のリスクがあると考えられる遺伝子型をゲノム上に持つ者は、将来的に緑内障を発症する危険性が高く、リスクアレル又は緑内障のリスクがあると考えられる遺伝子型を持たない者は、将来的に緑内障を発症する危険性が低いと判定することが出来る。

[0108] また、本発明で開示されたリスクアレル又は緑内障のリスクあると考えられる遺伝子型をゲノム上に持つ、初期の緑内障の疑いがある者は、検出が困難な初期の緑内障を発症している恐れがあるため、本発明の一塩基多型の検出を行うことにより、緑内障の診断又は診断の補助に用いることができる。

実施例

[0109] 以下に実施例を挙げて本発明を説明するが、実施例は本発明をより良く理解するために例示するものであって、本発明の範囲がこれらの実施例に限定されることを意図するものではない。なお、以下の実施例では、特に詳細な説明がない一般的な分子生物学的手法については、モレキュラークローニング (Joseph Sambrook et al., Molecular Cloning - A Laboratory Manual, 3rd Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2001) などの成書に記載された方法及び条件が用いられ、試薬としては分子生物学グレードのものが

用いられる。

[0110] 本発明では、緑内障と診断された患者、滲出型加齢黄斑変性であると診断された患者、及び、白内障と診断された患者それぞれの血液から総DNAを抽出し、ヒトゲノム上の公知の一塩基多型約50万個を指標として疾患に関連する遺伝子座を解析し、緑内障に特異的に関連すると考えられる一塩基多型の検討を行った。

[0111] 実施例 1 検体からのDNAの抽出

検体からのDNAの抽出は、フェノール抽出法 (Methods in Enzymology、152巻、181ページ、1987年) に準じて実施した。クエン酸を加えた血液サンプルにアンモニウム塩及びEDTAを含む低張な溶血バッファーを十分量加えて白血球を精製した。数回の洗浄の後、Proteinase KとSDSを含む溶解バッファーで細胞を溶解させた。懸濁されていた細胞が溶解して透明になったのを確認した後、フェノールを加え、室温で1~3時間振盪した。フェノール層を廃棄し、水層のみを遠心分離してさらに不純物を分離した。水層をTE緩衝液(10mM Tris pH8.0、0.1mM EDTA, Teknova)で透析した後にエタノール沈殿法にてDNAを回収し、TE緩衝液に溶解した。このようにして得たゲノムDNA溶液20 μ Lに7.5M NH_4OAc 10 μ L、20mg/mL Glycogen 0.5 μ Lと100% 氷冷エタノール50 μ Lを加え-20°Cで1時間静置した。12,000 $\times$ gで20分遠心後、上清を除いた。80%氷冷エタノール 500 μ Lを加え12,000xgで5分遠心後、上清を除き沈殿を乾燥させた。沈殿をTE緩衝液に溶かし、濃度が50ng/ μ Lになるよう調整した。尚、DNA濃度は分光光度計 (Biophotometer, Eppendorf) を用い、260nmの吸光度により測定した。また、一部のサンプルについては、自動核酸抽出装置 (Magtration System 8Lx、プレシジョン・システム・サイエンス株式会社) を用い、装置の説明書に従ってDNAを抽出した。

[0112] 実施例 2 一塩基多型の分析

一塩基多型の分析は、ヒトゲノム上の公知の一塩基多型約50万個の分析が可能な市販のマイクロアレイ型の一塩基多型分析キット(アフィメトリックス社、ジーンチップ ヒューマンマッピング 250K Nsp/Sty アレイ (GeneChip(

登録商標) Human Mapping 250K Nsp/ Sty Array)) (以下、マイクロアレイと記載)を使用した。

[0113] 実施例 1 にて抽出した総DNA (ゲノムDNA) をキット及び機器の説明書に従って処理し、マイクロアレイ上に適用して検体から抽出したDNAに存在する一塩基多型を解析する。具体的には、以下の操作を行う。

[0114] (制限酵素処理)

250ngずつのゲノムDNAを以下の手順によりそれぞれSty I (New England Biolabs) 又はNsp I (New England Biolabs) 制限酵素で切断する。即ち、ゲノムDNA溶液5 μ Lに、市販の分子生物学グレードの超純水 (AccuGENE (登録商標) molecular biology-grade water, Cambrex) 11.5 μ L、それぞれの制限酵素に添付された緩衝液 2 μ L、10mg/mL BSA 0.2 μ L、10U/mL 制限酵素 1 μ Lを加え制限酵素処理を行った。反応は37°Cで2時間反応させた後、65°Cで20分インキュベートして制限酵素を失活させた。

[0115] (アダプター配列の付加)

制限酵素処理が終了したサンプルに、以下の手順でアダプター配列を付加する。制限酵素処理サンプルに、切断した制限酵素に対応する50 μ M のAdaptor Nsp I 又はAdaptor Sty I (New England Biolabs) 0.75 μ L、T4 DNA ligase 緩衝液 (New England Biolabs) 2.5 μ LとT4 DNA ligase (New England Biolabs) 2 μ Lを加え、16°Cで3時間反応させてアダプター配列を付加させた後に、70°Cで20分反応させてT4 DNA ligaseを失活させた。アダプター付加終了したサンプルには、冷却したAccuGENE water 75 μ Lを加え希釈した。

[0116] (遺伝子断片の増幅と精製)

以下の手順により、アダプター配列を付加した遺伝子をTITANIUM™ (登録商標) DNA Amplification kit (Clontech) を用いてPCR法で増幅する。即ち、希釈したサンプル5 μ LにAccuGENE water 39.5 μ L、TITANIUM™ (登録商標) taq PCR buffer 10 μ L、5M GC-Melt (Clontech) 20 μ L、2.5mM dNTP (タカラバイオ) 4.5 μ L、100 μ M PCR primer002 (Affymetrix, GeneChip (登録商標) Mapping 250K Nsp/ Sty Assay Kitに含まれる) 4.5 μ L及びTITANIUM™ (登録商標)

) taq DNA polymerase 2 μ Lを加えて反応させた。反応温度と時間は次の通りである。まず、94°Cで3分放置後、94°C30秒→60°C30秒→68°C15秒を1サイクルとして30サイクル反応させ、68°Cで7分放置した。これを1連の反応操作として、1つのサンプルにつき同じPCR反応操作を3回行った。PCR産物は2%アガロースゲル電気泳動を行い、200bpから1000bpの遺伝子断片が増幅されていることを確認した。3回分のPCR産物をひとつにまとめ、DNA amplification Clean-Up kit (Clontech)を用い精製した。精製したPCR産物は45 μ L RB buffer (Clontech)に溶かし回収した。尚、PCR反応のプライマーとして用いたPCR primer002の配列は以下の通りである；5' -attatgagcacgacagacgcctgatct-3' (配列番号83)。

[0117] (増幅遺伝子の断片化)

GeneChip(登録商標) Mapping 250K Nsp / Sty Assay Kit (Affymetrix) 試薬を用いて以下の手順により増幅遺伝子を断片化する。即ち、精製したPCR産物の260nmにおける吸光度を分光光度計 (Biophotometer、Eppendorf)を用いて測定し、90 μ gのPCR産物を総容量45 μ LになるようにRB buffer (Clontech)で希釈した。希釈したサンプルにキットに含まれるfragmentation buffer 5 μ L及び0.05U/ μ L Fragmentation Reagent 5 μ Lを加え、37°Cで35分反応させた後に95°Cで15分放置してFragmentation reagentを失活させた。尚、Fragmentation Reagentは10×fragmentation bufferとAccuGENE waterによって、最終濃度が0.05U/ μ L Fragmentation Reagent、1×fragmentation bufferとなるよう希釈して用いた。断片化産物は4%アガロースゲル電気泳動を行い、遺伝子が断片化されていることを確認した。

[0118] (断片化遺伝子へのビオチンラベルの付加)

断片化した遺伝子にGeneChip(登録商標) Mapping 250K Assay Kit (Affymetrix)を用いて以下の手順によりビオチンラベルを付加する。断片化サンプル50.5 μ Lにキットに含まれるTerminal Deoxynucleotidyl Transferase buffer 14 μ L、30mM GeneChip DNA Labeling Reagent 2 μ L及び30U/ μ L Terminal Deoxynucleotidyl Transferase enzyme 3.5 μ Lを加え、37°Cで4時間反応させ

た後に、95°Cで15分放置して酵素を失活させ、ハイブリダイゼーション用のサンプルとした。

[0119] (ハイブリダイゼーション)

ビオチンラベルを付加したサンプル70 μ Lにhybridization cocktail master mix (組成は以下の通り ; 0.056M 2-(N-Morpholino)ethanesulfonic acid、5% DMSO、2.5 $\times$ Denhardt's solution (Sigma)、5.77mM EDTA pH8.0、0.115mg/mL Herring Sperm DNA(Promega)、1 $\times$ Oligo Control Reagent 0100 (Affymetrix)、11.5 μ g/mL Human Cot-1 DNA (Invitrogen)、0.0115% Tween-20、2.69M Tetramethyl Ammonium Chloride(Sigma)) 190 μ Lを加え、95°Cで10分変性後、49°Cで保持した。GeneChip(登録商標) Human Mapping 250K Nsp/ Sty Array (以下、マイクロアレイともいう) に200 μ Lのサンプルを適用し、温度49°C、回転数60r/minに設定されたハイブリオーブン (GeneChip Hybridization Oven 640, Affymetrix) で16時間から18時間ハイブリダイズさせた。サンプルをマイクロアレイから取り出し、Array Holding Buffer(1mM MES、1M NaCl、0.01% Tween-20)をマイクロアレイ内部に充填させた。

[0120] (染色及び検出)

ハイブリダイゼーションが終了したマイクロアレイの染色をAffymetrix社のGeneChip(登録商標) Operating Software 1.4(以下GCOS)、protocol: MAP500Kv1_450により、同社のGeneChip Fluidics Station 450を用いて行った。一次及び三次染色はそれぞれStain Bufferで調製した10 μ g/mL Streptavidin-Phycoerythrin (Invitrogen)、二次染色は5 μ g/mL biotinylated Anti-Streptavidin Antibody (Vector Lab.)で行った。検出はGCOSを用いてGeneChip(登録商標) Scanner 3000 7Gで行った。尚、具体的な染色・洗浄工程のプロトコールと洗浄液等の組成は以下の通りである。

[染色・洗浄工程プロトコール(FS-450 Fluidics Protocol - Mapping 500Kv1_450)]

- Post Hyb Wash #1: 6 cycles of 5 mixes/cycle with Wash Buffer A at 25°C

- Post Hyb Wash #2: 24 cycles of 5 mixes/cycle with Wash Buffer B at 45°C
- Stain: Stain the probe array for 10 minutes in SAPE solution at 25°C
- Post Stain: Wash 6 cycles of 5 mixes/cycle with Wash Buffer A at 25°C
- 2nd Stain: Stain the probe array for 10 minutes in Antibody Stain Solution at 25°C
- 3rd Stain: Stain the probe array for 10 minutes in SAPE solution at 25°C
- Final Wash: 10 cycles of 6 mixes/cycle with Wash Buffer A at 30°C
The final holding temperature is 25°C

〔溶液の組成〕

- Wash A: Non-Stringent Wash Buffer (6X SSPE, 0.01% Tween 20)

For 1000 mL:

300 mL of 20X SSPE, 1.0 mL of 10% Tween-20, 699 mL of water

Filter through a 0.2 μ m filter. Store at room temperature.

- Wash B: Stringent Wash Buffer (0.6X SSPE, 0.01% Tween 20)

For 1000 mL:

30 mL of 20X SSPE, 1.0 mL of 10% Tween-20, 969 mL of water

Filter through a 0.2 μ m filter. Store at room temperature.

The pH should be 8.

- Stain Buffer: (6X SSPE, 0.01% Tween 20, 1X Denhardt's solution)

For 1188 μ L:

360 μ L of 20X SSPE, 3.6 μ L of 3% Tween-20, 24 μ L 50X Denhardt's solution, 800.04 μ L of water

[0121] (Genotyping解析)

Affymetrix社のAffymerix Power Tools ver.1.10.0を用いてSNP Genotypin

g解析を行った。解析には同梱されているBRLMM genotype calling algorithmを用いた。

[0122] 実施例3 常染色体上の緑内障患者と非緑内障患者の一塩基多型の対比

疾患関連一塩基多型の比較は、クラインらの方法(Science 308巻、385ページ、2005年)に準じて以下のように行った。

[0123] (試験群の設定)

[0124] (一塩基多型の分析)

参加者の自由意志で得た同意の下に提供された血液を検体とし、実施例1に記載の方法で総DNAを抽出し、実施例2に記載の方法で一塩基多型の分析を行った。統計解析言語 R ver. 2.7.0を用いて、以下に述べる解析を行った。即ち、コールレートが90%未満の一塩基多型、マイナーアレル頻度が5%未満の一塩基多型、及び、有意水準0.0001でハーディー・ワインバーグ平衡が成立していないと判定される一塩基多型をいずれも棄却し、さらに、目視によって正しくコールされていることを確認することにより、実験的な信頼性が高いと考えられる一塩基多型を選択した。なお、ハーディー・ワインバーグ平衡の成立の検定はカイ二乗検定を用いて行った。

[0125] (緑内障に関連する一塩基多型の一次解析)

このようにして選択された一塩基多型について、緑内障に関連する一塩基多型の候補を抽出するため、(1)緑内障患者群対AMD患者群、(2)緑内障患者群対白内障患者群の2通りの比較解析を行った。緑内障に特異的に関連する一塩基多型の候補を抽出するために、(1)及び(2)で共通して、3種の遺伝子型(一方のアレルのホモ、ヘテロ、他方のアレルのホモ)ごとに比較した際のp値の最小値が0.01を下回る一塩基多型482個を抽出し、これらを緑内障に関連する一塩基多型の候補とした。尚、遺伝子型のp値の算出にはFisherの正確確率検定を用いた。

[0126] (緑内障に関連する一塩基多型の二次解析)

このように選択された緑内障に関連する一塩基多型の候補について、さらに詳細に解析を行った。即ち、AMD患者群に採用された患者及び白内障患

者群に採用された患者をまとめて対照群とし、以下の通り緑内障患者群と対照群の比較解析を行った。

[0127] (アレルのオッズ比)

リスクアレルの有無と緑内障の有無の間にどの程度強い関連が存在するかの指標として、アレルのオッズ比を以下の式によって求めた。

[0128] [数1]

$$\text{アレルのオッズ比} = \frac{[(\text{疾患群における、リスクアレルの検出数}) / (\text{対照群における、リスクアレルの検出数})]}{[(\text{疾患群における、非リスクアレルの検出数}) / (\text{対照群における、非リスクアレルの検出数})]}$$

[0129] ここで、リスクアレルは、当該一塩基多型を構成する2つのアレルの検出数を上記数式に代入してアレルのオッズ比を求める際に、当該オッズ比が1より大になるように設定した。尚、一方のアレルと他方のアレルを入れ替えて計算するとオッズ比は互いに逆数の関係となる、即ち、一方のオッズ比が1より小であれば他方のオッズ比は1より大であることは前記定義式より明らかである。

[0130] (遺伝子型 p 値の算出)

各SNPの遺伝子型 p 値の算出は、緑内障患者群対対照群についてFisherの正確確率法によって行った。その際、Genotypeモデル(リスクアレルホモ型対ヘテロ型対非リスクアレルホモ型)、Dominantモデル(リスクアレルホモ型+ヘテロ型対非リスクアレルホモ型)、Recessiveモデル(リスクアレルホモ型対非リスクアレルホモ型+ヘテロ型)の3種類の統計モデルについて p 値の算出を行い、最も低い p 値となるものを当該一塩基多型を代表する p 値とした。

[0131] 以上のように解析を行い、ボンフェローニ補正、即ち、全体の有意水準を0.05とし、繰り返し回数482回で有意水準0.05を除して得た補正有意水準 (1.04×10^{-4}) 以下の p 値 (前記一塩基多型を代表する p 値) で遺伝子型が緑内障との関連を示す一塩基多型を抽出した。

[0132] (遺伝子型のオッズ比)

さらに、これらの一塩基多型について、前述のように決定されたリスクア

レルに基づき、以下の式によりDominant型オッズ比及びRecessive型オッズ比を求めた。ここで、ある一塩基多型について、いずれかの遺伝子型頻度が0であり、よっていずれかのオッズ比が無限大になってしまう場合には、当該遺伝子型頻度を0.5とおいて近似計算を行った。前述のように、本発明において、dominant型オッズ比は、リスクアレルを少なくとも1つ持つ場合(即ち、リスクアレルホモ型又はヘテロ型である場合)に緑内障であることのオッズ比であり、recessive型オッズ比はリスクアレルをホモに持つ場合に緑内障であることのオッズ比である。

[0133] [数2]

$$\text{ORD} = \frac{[(adD + bdD) / (cdD)]}{[(acD + bcD) / (ccD)]}$$

ORD: Dominant 型オッズ比

adD: 緑内障患者群におけるリスクアレルホモ型の検出数

bdD: 緑内障患者群におけるヘテロ型の検出数

cdD: 緑内障患者群における、非リスクアレルホモ型の検出数

acD: 対照群におけるリスクアレルホモ型の検出数

bcD: 対照群におけるヘテロ型の検出数

ccD: 対照群における、非リスクアレルホモ型の検出数

[0134]

[数3]

$$\text{ORR} = \frac{[(\text{adR}) / (\text{bdR} + \text{cdR})]}{[(\text{acR}) / (\text{bcR} + \text{ccR})]}$$

ORR: Recessive 型オッズ比

adR: 緑内障患者群におけるリスクアレルホモ型の検出数

bdR: 緑内障患者群におけるヘテロ型の検出数

cdR: 緑内障患者群における、非リスクアレルホモ型の検出数

acR: 対照群におけるリスクアレルホモ型の検出数

bcR: 対照群におけるヘテロ型の検出数

ccR: 対照群における、非リスクアレルホモ型の検出数

[0135] (結果)

このようにして得た緑内障に関連する一塩基多型のうち、表 1 には $p < 1.0 \times 10^{-5}$ の一塩基多型について、表 2 ~ 3 には $1.0 \times 10^{-5} \leq p < 1.04 \times 10^{-4}$ の一塩基多型について、それぞれ SNP ID、一塩基多型が存在する染色体番号及び物理的位置、当該一塩基多型が所属する遺伝子又は当該一塩基多型の近傍に存在する遺伝子名、相対位置(当該一塩基多型が前記遺伝子名で表示された遺伝子のイントロン上に存在する場合はその旨を示し、一塩基多型が遺伝子前記遺伝子のイントロン上に存在しない場合は、最も近い位置に存在する遺伝子及び当該遺伝子と当該一塩基多型の間の距離を示す)、リスクアレルの塩基、非リスクアレルの塩基、遺伝子型の p 値を算出するのに用いた統計モデル、遺伝子型の p 値、アレルのオッズ比、ならびに、リスクアレルとその前後各 25 塩基ずつからなる 51 塩基長の配列に対応する配列番号(リスクアレルを含む配列 1)及び、非リスクアレルとその前後各 25 塩基ずつからなる 51 塩基長の配列に対応する配列番号(非リスクアレルを含む配列 2)を記載する。尚、SNP ID には dbSNP データベースの ID を記載した。これらの情報のうち染色体番号及び物理的位置、遺伝子名と相対位置、各アレルを含む配列情報はアフィメトリ

ックス社が提供する技術資料ならびにNCBI SNP及びNCBI Nucleotideなどの公共データベースからdbSNP ID等をキーとして抽出した。また、p値欄において、それぞれのp値は10を底とする指数形式で表示される。ここで、符号Eの前後に記載された数値はそれぞれp値を指数形式で表示した際の仮数部と指数部を示す（以下、実施例中の表について同じ）。

[0136] 同様に、 $1.04 \times 10^{-4} \leq p < 1.0 \times 10^{-3}$ である一塩基多型を表4～7に示す。

[0137] さらに、これらの一塩基多型について、緑内障患者群及び対照群それぞれについて、表8～13にリスクアレル頻度、非リスクアレル頻度、リスクアレルホモ型頻度、ヘテロ型頻度、非リスクアレルホモ型頻度を記載する。また、表14～20に、それぞれの一塩基多型の遺伝子型オッズ比、関連する遺伝子型オッズ比、及び、リスクとなる遺伝子型を記載する。ここで、遺伝子型オッズ比は、当該一塩基多型について求めたDominant型オッズ比及びRecessive型オッズ比のうち、その値が大であるもの（すなわち、当該一塩基多型に関連する遺伝子型のオッズ比）の値を記載し、関連するオッズ比は、前記一塩基多型に関連する遺伝子型のオッズ比がDominant型オッズ比であるか、Recessive型オッズ比であるかを示す。

[0138]

[表1]

表 1

番号	SNP ID	染色体	物理的位置	Gene Info	リスク アレル	非 リスク アレル	SNP TYPE	遺伝子型 統計モデル	遺伝子型 p値	アレル オッズ比	リスクアレル を含む配列	非リスクアレル を含む配列
1	rs9896078	17	17086944	COP3 +3922bp (NM_003653.2)	T	C	gSNP	Genotype	1.310E-06	3.511	配列番号1	配列番号2
2	rs12600635	17	17083621	BHD -2400bp (NM_144997.3)	G	A	gSNP	Genotype	1.670E-06	3.592	配列番号3	配列番号4
3	rs282357	5	70959114	MCC2 Intron7 (NM_022132.3)	G	A	iSNP	Dominant	3.170E-06	2.312	配列番号5	配列番号6
4	rs4703987	5	70800637	BDP1 Intron6 (NM_018429.1)	A	T	iSNP	Recessive	3.850E-06	2.172	配列番号7	配列番号8
5	rs10057258	5	70807449	BDP1 Intron7 (NM_018429.1)	A	G	iSNP	Recessive	6.660E-06	2.144	配列番号9	配列番号10
6	rs156756	5	70867397	BDP1 Intron26 (NM_018429.1)	G	C	iSNP	Dominant	6.660E-06	2.144	配列番号11	配列番号12
7	rs277990	5	70954659	MCC2 Intron6 (NM_022132.3)	T	C	iSNP	Dominant	6.660E-06	2.204	配列番号13	配列番号14

[表2]

表 2

番号	SNP ID	染色体	物理的位置	Gene Info	リスク アレル	非 リスク アレル	SNP TYPE	遺伝子型 統計モデル	遺伝子型 p値	アレル オッズ比	リスクアレルを含む配列	非リスクアレルを含む配列
8	rs41347850	11	70778541	LOC401700 Intron6 (XM_497308)	T	C	iSNP	Recessive	1.080E-05	2.421	配列番号15	配列番号16
9	rs421128	5	70842829	BDP1 Intron17 (NM_018429.1)	G	A	iSNP	Dominant	1.180E-05	2.121	配列番号17	配列番号18
10	rs3761966	5	70836231	BDP1 Exon16 (NM_018429.1)	G	A	cSNP	Dominant	1.190E-05	2.150	配列番号19	配列番号20
11	rs1228412	10	125392451	GPR26 -23410bp (NM_153442.1)	T	G	gSNP	Dominant	1.270E-05	1.893	配列番号21	配列番号22
12	rs10821967	10	63611945	PLEKHK1 +11016bp (NM_145307.2)	A	G	gSNP	Genotype	1.360E-05	2.610	配列番号23	配列番号24
13	rs11779914	8	105894058	LRP12 -223714bp (NM_013437.2)	G	T	gSNP	Recessive	1.770E-05	2.160	配列番号25	配列番号26
14	rs9807525	18	40290282	LOC4040492 -148522bp (XM_498697)	G	C	gSNP	Genotype	1.930E-05	2.076	配列番号27	配列番号28
15	rs7975892	12	30387886	IPO8 +287115bp (NM_006390.1)	A	G	gSNP	Genotype	2.810E-05	2.580	配列番号29	配列番号30
16	rs1547247	6	135432529	HBS1L -14814bp (NM_006620.2)	T	C	gSNP	Dominant	3.050E-05	2.890	配列番号31	配列番号32
17	rs17137310	7	16973025	AHR -138461bp (NM_001621.2)	A	G	gSNP	Genotype	3.320E-05	2.978	配列番号33	配列番号34
18	rs4075533	7	70380123	WBSR17 Intron5 (NM_022479.1)	G	C	iSNP	Recessive	4.000E-05	1.813	配列番号35	配列番号36
19	rs6828840	4	186184792	ACSL1 -62428bp (NM_001995.2)	C	A	gSNP	Dominant	4.190E-05	2.391	配列番号37	配列番号38
20	rs16905508	8	137183088	KHDRBS3 +454057bp (NM_006558.1)	C	G	gSNP	Dominant	4.250E-05	1.897	配列番号39	配列番号40
21	rs10261379	7	70380344	WBSR17 Intron5 (NM_022479.1)	C	T	iSNP	Dominant	4.560E-05	1.865	配列番号41	配列番号42
22	rs1978305	9	110914066	EDG2 -34146bp (NM_001401.3)	T	C	gSNP	Recessive	4.770E-05	1.884	配列番号43	配列番号44
23	rs6453529	5	70739833	PMCHL2 +22541bp (NM_153381.1), PMCHL2 +22257bp (NM_031888.1)	C	T	gSNP	Recessive	5.060E-05	1.986	配列番号45	配列番号46

[0140]

[表3]

表 3

番号	SNP ID	染色体	物理的位置	Gene Info	リスク アレル	非 リスク アレル	SNP TYPE	遺伝子型 統計モデル	遺伝子型 p値	アレル オッズ比	リスクアレ ルを含む配 列	非リスクア レルを含む 配列
24	rs6583904	10	95478341	C10orf4 -26022bp (NM_145246.2)	T	C	gSNP	Recessive	5.620E-05	1.872	配列番号47	配列番号48
25	rs11716192	3	172404756	TNIK Intron4 (XM_039796)	C	T	iSNP	Dominant	5.640E-05	2.373	配列番号49	配列番号50
26	rs6137975	20	23409778	CST8 -9988bp (NM_005492.2)	A	G	gSNP	Dominant	5.800E-05	2.083	配列番号51	配列番号52
27	rs6114142	20	23409082	CST8 -10684bp (NM_005492.2)	G	A	gSNP	Recessive	6.540E-05	2.042	配列番号53	配列番号54
28	rs4333513	7	134979802	MTPN +88962bp (NM_145808.1)	T	C	gSNP	Dominant	6.970E-05	1.791	配列番号55	配列番号56
29	rs17137304	7	16970097	AHR -141389bp (NM_001621.2)	T	C	gSNP	Genotype	7.020E-05	2.697	配列番号57	配列番号58
30	rs4685910	3	5375238	EDEM1 +138596bp (XM_376201)	G	C	gSNP	Recessive	7.180E-05	1.950	配列番号59	配列番号60
31	rs6036424	20	23407976	CST8 -11790bp (NM_005492.2)	A	C	gSNP	Dominant	7.300E-05	2.010	配列番号61	配列番号62
32	rs6114144	20	23410022	CST8 -9744bp (NM_005492.2)	T	A	gSNP	Recessive	7.300E-05	2.050	配列番号63	配列番号64
33	rs3739554	9	127020199	ANGPTL2 -55601bp (NM_012098.2)	C	T	gSNP	Genotype	7.380E-05	2.662	配列番号65	配列番号66
34	rs10493635	1	80129237	ELTD1 -910699bp (XM_371262)	C	T	gSNP	Genotype	7.400E-05	3.351	配列番号67	配列番号68
35	rs7748388	6	37172586	MDGA1 Exon17 (NM_153487.2)	G	T	uSNP	Dominant	7.880E-05	2.200	配列番号69	配列番号70
36	rs1352416	3	174963409	NLGN1 Intron2 (NM_014932.2)	C	G	iSNP	Recessive	8.930E-05	1.853	配列番号71	配列番号72
37	rs10817137	9	110913653	EDG2 -33733bp (NM_001401.3)	T	C	gSNP	Recessive	9.140E-05	1.849	配列番号73	配列番号74
38	rs2582332	12	60631743	TAF4Z Intron1 (NM_178539.2)	C	G	iSNP	Recessive	9.550E-05	2.957	配列番号75	配列番号76
39	rs4683698	3	140968154	NMNA13 -88616bp (NM_178177.2)	G	A	gSNP	Dominant	9.810E-05	2.142	配列番号77	配列番号78
40	rs12224304	11	22961446	LOC440033 -126239bp (XM_498512)	C	T	gSNP	Recessive	1.026E-04	1.894	配列番号79	配列番号80
41	rs1445018	5	84398999	LOC391807 -62548bp (XM_373092)	A	C	gSNP	Genotype	1.027E-04	1.366	配列番号81	配列番号82

[0141]

[表4]

表 4

番号	SNP ID	染色体	物理的位置	Gene Info	リスク アレル	非 リスク アレル	SNP TYPE	遺伝子型 統計モデル	遺伝子型 p値	アレル オッズ比
42	rs11846884	14	42955552	C14orf155 +1087746bp (NM_032135.2)	T	A	gSNP	Genotype	1.045E-04	1.706
43	rs11786067	8	105833963	LRP12 -223619bp (NM_013437.2)	C	G	gSNP	Recessive	1.087E-04	1.951
44	rs3815081	6	30222053	TRIM40 Intron2 (NM_138700.2)	C	T	iSNP	Dominant	1.104E-04	1.590
45	rs1861785	12	13591859	GRIN2B Intron2 (NM_000834.2)	G	A	iSNP	Recessive	1.226E-04	1.966
46	rs290227	9	90716219	SYK Intron8 (NM_003177.3)	T	C	iSNP	Dominant	1.283E-04	2.216
47	rs7636269	3	140873866	NMNAT3 Intron1 (NM_178177.2)	G	A	iSNP	Dominant	1.363E-04	2.298
48	rs10050855	5	105313534	LOC391817 -940688bp (XM_373094)	C	T	gSNP	Dominant	1.365E-04	2.165
49	rs12021553	1	63524290	ALG8 -21029bp (NM_013339.2)	T	C	gSNP	Recessive	1.397E-04	1.723
50	rs2122775	11	102897552	DNCH2 +42361bp (XM_370652)	G	A	gSNP	Dominant	1.464E-04	1.773
51	rs1339579	10	95475155	C10orf4 -22836bp (NM_145246.2)	A	C	gSNP	Dominant	1.480E-04	1.800
52	rs2598575	10	36803878	LOC439954 +576868bp (XM_495801)	A	G	gSNP	Dominant	1.521E-04	1.761
53	rs4527907	8	137159127	KHDRBS3 +430096bp (NM_006558.1)	C	T	gSNP	Dominant	1.535E-04	1.691
54	rs169579	6	164512719	LOC442275 Intron1 (XM_498160)	G	A	iSNP	Recessive	1.545E-04	2.100
55	rs6485416	11	12030094	LOC399867 Intron1 (XM_378273)	G	A	iSNP	Recessive	1.545E-04	1.881
56	rs10107930	8	137150157	KHDRBS3 +421126bp (NM_006558.1)	A	G	gSNP	Dominant	1.548E-04	1.668
57	rs7089172	10	95463746	C10orf4 -11427bp (NM_145246.2)	A	T	gSNP	Dominant	1.587E-04	1.778
58	rs1473001	12	114118671	LOC440112 Intron4 (XM_498548)	G	A	iSNP	Genotype	1.591E-04	2.339
59	rs2998367	6	76228233	FILIP1 Intron1 (NM_015687.2)	A	G	iSNP	Genotype	1.596E-04	1.446
60	rs6008717	22	47193170	LOC284933 +66482bp (XM_498883)	T	C	gSNP	Genotype	1.600E-04	1.151
61	rs4425091	2	165316732	GRB14 -12665bp (NM_004490.1)	C	T	gSNP	Recessive	1.625E-04	1.853
62	rs11022637	1	13060970	LOC440030 -73354bp (XM_498510)	C	G	gSNP	Recessive	1.659E-04	2.283
63	rs10104531	8	139771875	COL22A1 Intron36 (NM_152888.1)	C	T	iSNP	Dominant	1.662E-04	2.891
				SLC8A3 +5665bp (NM_182936.1), SLC8A3 +5665bp (NM_033262.3), SLC8A3 +5665bp (NM_058240.2), SLC8A3 +5665bp (NM_182932.1), SLC8A3 +5665bp (NM_182933.1), SLC8A3 +5665bp (NM_183002.1), SLC8A3 +5912bp (NM_182936.1), SLC8A3 +5912bp (NM_033262.3), SLC8A3 +5912bp (NM_058240.2), SLC8A3 +5912bp (NM_182932.1), SLC8A3 +5912bp (NM_182933.1), SLC8A3 +5912bp (NM_183002.1)	G	A	gSNP, gSNP, gSNP, gSNP, gSNP, gSNP, gSNP, gSNP, gSNP, gSNP, gSNP, gSNP	Dominant	1.675E-04	1.836
64	rs1156447	14	69575022							
65	rs1380429	14	69574775		A	C	gSNP, gSNP, gSNP, gSNP	Recessive	1.675E-04	1.836
66	rs741195	22	19318320	LOC343839 Intron2 (XM_497792)	G	C	iSNP	Recessive	1.709E-04	2.465
67	rs4132213	5	31199571	CDH6 -29662bp (NM_004932.2)	G	C	gSNP	Dominant	1.712E-04	1.771
68	rs6114094	20	23382267	CST11 -785bp (NM_080830.2), CST11 -785bp (NM_130794.1)	G	A	gSNP, gSNP	Recessive	1.740E-04	2.046
69	rs6114100	20	23393597	CST11 -12115bp (NM_080830.2), CST11 -12115bp (NM_130794.1)	T	C	gSNP, gSNP	Recessive	1.740E-04	2.046
70	rs13280432	8	81229209	TPD52 Intron1 (NM_005079.1)	A	T	iSNP	Dominant	1.754E-04	2.343
71	rs3120946	1	184382537	LOC339478 +37988bp (XM_378923)	G	A	gSNP	Genotype	1.785E-04	1.363
72	rs585452	1	60281586	MGC34837 -30139bp (NM_152377.1)	G	C	gSNP	Genotype	1.806E-04	1.046
73	rs12542042	8	63919059	FLJ39630 Intron4 (NM_173688.1)	G	A	iSNP	Genotype	1.881E-04	2.476
74	rs2059572	3	141117053	OLSTN2 19852bp (NM_022131.1)	T	C	gSNP	Dominant	1.888E-04	2.666
75	rs41522	7	93327058	BET1 -48717bp (NM_005868.3)	C	T	gSNP	Dominant	2.111E-04	4.607
76	rs913232	9	124642527	OLFML2A -180bp (NM_182407.1)	A	G	gSNP	Recessive	2.140E-04	2.103
77	rs9667066	11	133193133	SPAS1 +22594bp (NM_174927.1)	G	A	gSNP	Recessive	2.146E-04	2.794
78	rs17096719	10	119484630	EMX2 +185587bp (NM_004098.2)	C	G	gSNP	Genotype	2.164E-04	1.028
79	rs3124665	1	209497491	FLJ12505 -14881bp (NM_024749.2)	G	A	gSNP	Genotype	2.200E-04	2.248
80	rs2701392	15	85393087	FLJ31481 -528077bp (NM_152454.1)	G	C	gSNP	Dominant	2.228E-04	1.485
81	rs1336043	6	76249718	FILIP1 Intron1 (NM_015687.2)	G	A	iSNP	Genotype	2.238E-04	1.410
82	rs2951920	6	76222395	FILIP1 Intron1 (NM_015687.2)	G	A	iSNP	Genotype	2.238E-04	1.410
83	rs4551951	14	42828344	C14orf155 +1214954bp (NM_032135.2)	T	C	gSNP	Genotype	2.246E-04	1.636
84	rs12772131	10	95461814	C10orf4 -9495bp (NM_145246.2)	G	A	gSNP	Recessive	2.293E-04	1.615
85	rs7919319	10	95462014	C10orf4 -9695bp (NM_145246.2)	C	T	gSNP	Dominant	2.293E-04	1.615
86	rs7230183	18	69714886	FBXO15 +176700bp (NM_152676.1)	C	G	gSNP	Dominant	2.366E-04	6.511
87	rs11691352	2	59861146	LOC130839 -472688bp (XM_059473)	C	T	gSNP	Recessive	2.401E-04	2.167
88	rs2814064	1	223996368	MGC42493 -144612bp (NM_178549.2)	C	T	gSNP	Recessive	2.447E-04	1.592
89	rs2703367	12	30346112	IP08 +328889bp (NM_006390.1)	G	A	gSNP	Dominant	2.504E-04	2.016

[0142]

[表5]

表 5

番号	SNP ID	染色体	物理的位置	Gene Info	リスク アレル	非 リスク アレル	SNP TYPE	遺伝子型 統計モデル	遺伝子型 p値	アレル オッズ比
90	rs12224290	11	22951333	LOC440033 -126352bp (XM_498512)	C	T	gSNP	Recessive	2.549E-04	1.850
91	rs1978500	15	32006789	AVEN Intron2 (NM_020371.1)	A	G	iSNP	Genotype	2.563E-04	1.598
92	rs2173366	13	75927852	KCTD12 +424461bp (NM_138444.2)	A	G	gSNP	Recessive	2.566E-04	2.523
93	rs1002905	8	64020514	FLJ39630 Intron5 (NM_173688.1)	C	A	iSNP	Genotype	2.588E-04	2.391
94	rs729316	15	98441228	ADAMTS17 Intron15 (NM_139057.1)	A	C	iSNP	Genotype	2.621E-04	2.254
95	rs16849303	3	140876180	NMNAT3 Intron1 (NM_178177.2)	T	A	iSNP	Dominant	2.655E-04	2.163
96	rs1613702	12	30352518	IPO8 +322483bp (NM_006390.1)	G	C	gSNP	Dominant	2.712E-04	2.084
97	rs10777020	12	85955843	HGNT-IV-H -220730bp	T	C	gSNP	Recessive	2.774E-04	1.817
98	rs3922940	3	140880793	NMNAT3 -1255bp (NM_178177.2)	C	G	gSNP	Recessive	2.830E-04	2.140
99	rs9289581	3	140888540	NMNAT3 -9002bp (NM_178177.2)	T	G	gSNP	Dominant	2.830E-04	2.140
100	rs9815708	3	140877269	NMNAT3 Intron1 (NM_178177.2)	C	T	iSNP	Recessive	2.830E-04	2.140
101	rs868827	14	80771482	TMEM30B +42670bp (XM_090844)	C	T	gSNP	Dominant	2.833E-04	1.446
102	rs5758009	22	21043189	LOC96610 +55547bp (NM_080926.1)	G	A	gSNP	Recessive	2.888E-04	2.619
103	rs16849309	3	140876851	NMNAT3 Intron1 (NM_178177.2)	A	G	iSNP	Recessive	2.908E-04	2.125
104	rs16648112	1	224241485	IMAGE3451454 Intron1 (NM_053052.2), LOC440725 Exon1 (XM_498834)	G	A	iSNP, uSNP	Dominant	2.933E-04	2.042
105	rs1370562	10	80495455	LOC283050 Intron3 (XM_378238)	C	T	iSNP	Dominant	2.943E-04	1.824
106	rs2117018	12	85932677	HGNT-IV-H -197564bp	T	G	gSNP	Recessive	2.943E-04	1.722
107	rs12359419	10	9261064	LOC389936 -216944bp (XM_372303)	C	T	gSNP	Genotype	2.947E-04	1.640
108	rs12976706	19	48629080	MGC4766 +14481bp (NM_031451.3)	G	A	gSNP	Dominant	2.959E-04	1.944
109	rs12349446	9	18761506	ADAMTSL1 +90025bp (NM_139264.1), ADAMTSL1 +48244bp (NM_139238.1)	G	C	gSNP, gSNP	Recessive	2.965E-04	2.347
110	rs3924164	18	72578871	LOC441824 Intron7 (XM_497595)	G	A	iSNP	Recessive	3.016E-04	1.751
111	rs10197088	2	193549649	TMEFF2 -664499bp (NM_016192.2)	C	G	gSNP	Recessive	3.024E-04	1.799
112	rs10744682	12	5425301	LOC440075 +39195bp (XM_498533)	T	C	gSNP	Genotype	3.027E-04	1.328
113	rs1705202	5	10199995	LOC389271 +8687bp (XM_374113)	C	T	gSNP	Recessive	3.044E-04	2.131
114	rs10520960	5	31180188	CDH6 -49365bp (NM_004832.2)	C	A	gSNP	Dominant	3.044E-04	1.805
115	rs4457095	5	31191511	GDH6 -38042bp (NM_004932.2)	G	A	gSNP	Dominant	3.044E-04	1.805
116	rs17147255	10	10200562	LOC441547 -147584bp (XM_499191)	C	G	gSNP	Genotype	3.050E-04	2.184
117	rs11218568	11	121550021	LOC399959 -173145bp (XM_378316)	A	C	gSNP	Genotype	3.051E-04	1.097
118	rs1863451	9	127151798	GARNL3 Intron2 (NM_032293.3)	A	G	iSNP	Genotype	3.061E-04	2.455
119	rs12855373	18	69726488	FBXO15 +165098bp (NM_152676.1)	T	C	gSNP	Recessive	3.092E-04	2.678
120	rs9322964	14	38229061	SLOC25A21 Intron7 (NM_030631.1)	A	G	iSNP	Recessive	3.130E-04	2.077
121	rs206735	6	164474525	LOC442275 +14910bp (XM_498160)	T	C	gSNP	Recessive	3.157E-04	2.447
122	rs569943	11	58529200	LOC440042 Intron3 (XM_498516)	C	T	iSNP	Recessive	3.159E-04	1.820
123	rs42265	5	128432125	GGI-111 -26214bp (NM_016048.1)	C	T	gSNP	Dominant	3.173E-04	1.908
124	rs12064596	1	224250694	IMAGE3451454 Intron2 (NM_053052.2)	T	C	iSNP	Dominant	3.205E-04	2.032
125	rs10786133	10	95476777	C10orf4 -24458bp (NM_145246.2)	G	A	gSNP	Recessive	3.228E-04	1.742
126	rs2508492	11	119562390	NS5ATP13TP2 -24567bp (NM_178507.2)	G	A	gSNP	Genotype	3.246E-04	2.534
127	rs2053092	12	86019618	HGNT-IV-H -284505bp	A	G	gSNP	Dominant	3.346E-04	1.781
128	rs7900868	10	118445593	HSPA12A Intron11 (XM_040868)	C	G	iSNP	Recessive	3.383E-04	1.939
129	rs16862858	3	152012650	SLAH2 -49008bp (NM_005067.4)	T	C	gSNP	Recessive	3.393E-04	2.273
130	rs1447715	3	140966629	NMNAT3 -87091bp (NM_178177.2)	T	C	gSNP	Dominant	3.403E-04	2.018
131	rs6440142	3	144345089	CHST2 +20591bp (NM_004267.2)	T	G	gSNP	Dominant	3.448E-04	2.375
132	rs6074960	17	69555465	RPL38 -155947bp (NM_000999.2)	G	A	gSNP	Dominant	3.506E-04	2.163
133	rs1900994	3	144345917	CHST2 +21419bp (NM_004267.2)	A	G	gSNP	Recessive	3.510E-04	2.289
134	rs13299570	9	86229893	LOC392358 -9718bp (XM_497064)	A	C	gSNP	Recessive	3.519E-04	1.724
135	rs2247798	19	48646755	C4A +10024bp (NM_014400.1)	A	C	gSNP	Genotype	3.570E-04	2.177
136	rs6877822	5	87433316	MGC33214 +93465bp (NM_153354.2)	T	C	gSNP	Genotype	3.579E-04	1.601
137	rs11749986	5	175134670	CPLX2 -21546bp (NM_006650.2)	T	C	gSNP	Dominant	3.599E-04	2.302
138	rs6464884	7	147542106	CNTNAP2 Intron22 (NM_014141.3)	C	T	iSNP	Dominant	3.651E-04	2.125
139	rs2870412	4	11366587	HS3ST1 -288579bp (NM_005114.1)	A	G	gSNP	Recessive	3.694E-04	1.943
140	rs454187	6	164442235	LOC442275 +47200bp (XM_498160)	G	A	gSNP	Recessive	3.742E-04	2.252
141	rs4709819	6	164433766	LOC442275 +55669bp (XM_498160)	C	T	gSNP	Dominant	3.742E-04	2.252
142	rs4709820	6	164433983	LOC442275 +55452bp (XM_498160)	T	C	gSNP	Recessive	3.742E-04	2.223
143	rs2005806	4	11379653	HS3ST1 -301645bp (NM_005114.1)	T	C	gSNP	Dominant	3.775E-04	1.872

[0143]

[表6]

表 6

番号	SNP ID	染色体	物理的位置	Gene Info	リスク アレル	非 リスク アレル	SNP TYPE	遺伝子型 統計モデル	遺伝子型 p値	アレル オッズ比
196	rs587945	12	123142408	DKFZ6761B128 +117559bp (NM_152437.1)	G	T	gSNP	Dominant	5.629E-04	1.690
197	rs7571233	2	59149648	LOC400955 Intron3 (XM_379096)	C	A	iSNP	Recessive	5.891E-04	1.904
198	rs1156082	6	77557859	HTR1B +670808bp (NM_000863.1)	A	G	gSNP	Genotype	5.756E-04	1.030
199	rs7517274	1	37071094	GRIK3 Intron1 (NM_000831.2)	A	G	iSNP	Dominant	5.768E-04	2.474
200	rs1868172	3	140976399	NMNAT3 -96861bp (NM_178177.2)	T	C	gSNP	Dominant	5.769E-04	2.506
201	rs10935355	3	141026424	CLSTN2 -110481bp (NM_022131.1)	T	A	gSNP	Dominant	5.787E-04	2.585
202	rs1363405	5	176589488	NSD1 Exon5 (NM_022455.3), NSD1 Exon5 (NM_172349.1)	A	G	sSNP, sS NP	Dominant	5.787E-04	1.987
203	rs9313749	5	176530300	NSD1 Intron2 (NM_022455.3), NSD1 Intron2 (NM_172349.1)	T	G	iSNP, iSN P	Recessive	5.787E-04	1.987
204	rs4971024	1	148037393	PIP5K1A +2315bp (NM_003557.1)	G	A	gSNP	Genotype	5.808E-04	1.567
205	rs1935369	6	113507380	LOC442250 -141495bp (XM_498134)	C	A	gSNP	Genotype	5.812E-04	1.507
206	rs11104293	12	86012640	HGNT-IV-H -277527bp	A	T	gSNP	Dominant	5.819E-04	1.701
207	rs7487188	12	85993521	HGNT-IV-H -258408bp	C	T	gSNP	Dominant	5.819E-04	1.701
208	rs7370640	2	230930775	SP140 Intron3 (NM_007237.2)	I	A	iSNP	Genotype	5.853E-04	1.253
209	rs10037055	5	176623885	NSD1 Intron14 (NM_022455.3), NSD1 Intron14 (NM_172349.1)	T	G	iSNP, iSN P	Recessive	5.908E-04	2.022
210	rs2137475	17	48429522	LOC339209 -9511bp (XM_294854)	G	A	gSNP	Recessive	6.133E-04	2.345
211	rs4794409	17	48439542	LOC339209 +19531bp (XM_294854)	T	G	gSNP	Recessive	6.133E-04	2.345
212	rs1554137	12	100331391	ARL1 -27351bp (NM_001177.3)	C	T	gSNP	Recessive	6.146E-04	1.928
213	rs792772	17	48463838	LOC339209 +43827bp (XM_294854)	C	G	gSNP	Dominant	6.231E-04	2.313
214	rs13109827	4	138001537	LOC391701 -725334bp (XM_373033)	T	C	gSNP	Dominant	6.488E-04	2.666
215	rs2382121	5	175176888	CPLX2 Intron2 (NM_006650.2)	A	G	iSNP	Dominant	6.503E-04	7.727
216	rs11141358	9	96220923	LOC392358 -748bp (XM_497064)	A	C	gSNP	Recessive	6.686E-04	1.644
217	rs3818943	1	200111249	FMOD -62189bp (NM_002023.2)	G	A	gSNP	Dominant	6.698E-04	1.726
218	rs3120955	1	18439830	LOC339476 +45181bp (XM_378923)	G	A	gSNP	Genotype	6.705E-04	1.470
219	rs2383565	1	184398408	LOC339476 +53759bp (XM_378923)	A	G	gSNP	Genotype	6.705E-04	1.470
220	rs3120958	1	184393967	LOC339476 +49318bp (XM_378923)	T	C	gSNP	Genotype	6.705E-04	1.470
221	rs3120971	1	184408438	LOC339476 +63789bp (XM_378923)	G	A	gSNP	Genotype	6.705E-04	1.470
222	rs3127502	1	184393460	LOC339476 +48811bp (XM_378923)	G	A	gSNP	Genotype	6.705E-04	1.470
223	rs3127503	1	184393687	LOC339476 +49038bp (XM_378923)	C	T	gSNP	Genotype	6.705E-04	1.470
224	rs1870590	6	105892857	LRP12 -222513bp (NM_013437.2)	G	T	gSNP	Recessive	6.708E-04	1.952
225	rs10975268	9	5728056	KIAA1432 Intron11 (XM_039698)	G	A	iSNP	Genotype	6.723E-04	1.333
226	rs1045942	5	148361390	KIAA1985 +2987bp (NM_024577.2)	T	C	gSNP	Dominant	6.803E-04	1.940
227	rs3739028	2	135741578	ZRANB3 Intron13 (NM_032143.1)	T	C	iSNP	Genotype	6.825E-04	1.230
228	rs3971318	4	11366853	HS3ST1 -288845bp (NM_005114.1)	C	A	gSNP	Dominant	6.956E-04	1.927
229	rs11141357	9	86220894	LOC392358 -719bp (XM_497064)	A	G	gSNP	Recessive	6.967E-04	1.626
230	rs11682779	2	171133667	MYO3B Intron23 (NM_138995.1)	T	C	iSNP	Dominant	7.001E-04	1.768
231	rs17043838	3	17461647	TBC1D5 Intron3 (NM_014744.1)	C	T	iSNP	Recessive	7.003E-04	1.802
232	rs504915	11	64220661	NRXN2 Intron2 (NM_138732.1), NRXN2 -53298bp (NM_138734.1)	T	A	iSNP, iSN P, gSNP	Recessive	7.015E-04	2.425
233	rs2016302	18	11084849	FLJ34907 -222249bp (XM_290817)	A	G	gSNP	Dominant	7.019E-04	1.772
234	rs965055	9	77617102	GNAQ Intron5 (NM_002072.2)	T	G	iSNP	Dominant	7.027E-04	1.911
235	rs7602191	2	193557987	TMEFF2 -672837bp (NM_016192.2)	A	G	gSNP	Recessive	7.104E-04	1.752
236	rs12465720	2	193566767	TMEFF2 -681617bp (NM_016192.2)	C	A	gSNP	Dominant	7.105E-04	1.751
237	rs2102714	2	11236411	FLJ25143 Exon3 (NM_182500.1)	G	C	uSNP	Genotype	7.168E-04	5.509
238	rs6713478	2	11235013	FLJ25143 Exon3 (NM_182500.1)	T	C	uSNP	Genotype	7.168E-04	5.509
239	rs16830790	2	135146340	DKFZP566N034 Intron2	G	A	iSNP	Dominant	7.168E-04	1.461
240	rs12539298	7	92522468	FLJ20097 Intron2 (NM_024553.2)	T	C	iSNP	Dominant	7.168E-04	1.556
241	rs17165196	7	92512136	FLJ20097 Intron1 (NM_024553.2)	C	G	iSNP	Recessive	7.168E-04	1.556
242	rs3802061	7	92558456	FLJ20097 +8065bp (NM_024553.2)	T	A	gSNP	Dominant	7.168E-04	1.556
243	rs6865840	5	105348986	LOC391817 -905236bp (XM_373094)	A	G	gSNP	Dominant	7.171E-04	1.779
244	rs11145565	9	77640067	GNAQ Intron4 (NM_002072.2)	G	C	iSNP	Dominant	7.188E-04	1.849
245	rs907311	4	37992623	PTTG2 +207426bp (NM_006607.1)	T	C	gSNP	Dominant	7.227E-04	2.089
246	rs17462091	4	36221621	LOC401124 +53809bp (XM_379282)	A	G	gSNP	Dominant	7.328E-04	2.920
247	rs12102760	16	82974266	KIAA0703 Intron1 (XM_375376)	C	G	iSNP	Recessive	7.328E-04	1.629
248	rs2137036	4	37994362	PTTG2 +209165bp (NM_006607.1)	A	G	gSNP	Recessive	7.415E-04	2.072
249	rs12160956	22	44063779	SMO1L2 Intron22 (NM_148674.1)	G	A	iSNP	Genotype	7.474E-04	2.184
250	rs11573106	4	57751213	IGFBP7 Intron1 (NM_001553.1)	G	A	iSNP	Dominant	7.512E-04	1.696
251	rs4705303	5	148347838	KIAA1985 +16541bp (NM_024577.2)	G	A	gSNP	Dominant	7.892E-04	1.958

[0144]

[表7]

表 7

番号	SNP ID	染色体	物理的位置	Gene Info	リスク アレル	非 リスク アレル	SNP TYPE	遺伝子型 統計モデル	遺伝子型 p値	アレル オッズ比
252	rs6728347	2	14740867	LOC400944 +504bp (XM_379077)	A	G	gSNP	Genotype	7.978E-04	1.428
253	rs11921758	3	81278559	LOC440968 +51394bp (XM_498941)	A	G	gSNP	Dominant	7.997E-04	2.462
254	rs11929405	3	81278693	LOC440968 +51528bp (XM_498941)	G	A	gSNP	Recessive	7.997E-04	2.462
255	rs4906282	14	102689266	TNFAIP2 +15737bp (NM_006291.2)	A	G	gSNP	Dominant	8.299E-04	2.067
256	rs6001967	22	21044438	LOC96610 +56796bp (NM_080926.1)	G	C	gSNP	Genotype	8.357E-04	2.040
257	rs6818363	4	5697442	EVC2 Intron17 (NM_147127.2)	C	A	iSNP	Dominant	8.378E-04	2.585
258	rs447901	12	123144055	DKFZp761B128 +119206bp (NM_152437.1)	A	C	gSNP	Dominant	8.413E-04	1.686
259	rs4143559	2	230939844	SP140 Intron9 (NM_007237.2)	G	A	iSNP	Dominant	8.455E-04	1.443
260	rs16870420	5	2831396	CEI +22885bp (NM_178569.2)	C	G	gSNP	Dominant	8.474E-04	4.259
261	rs9291424	4	20899135	KCNIP4 Intron1 (NM_147183.2), KCNIP4 -370576bp (NM_147182.2), KCNIP4 -370575bp (NM_147181.2), KCNIP4 -338534bp (NM_025221.4)	T	C	iSNP,gS NP,gSN P,gSNP	Recessive	8.498E-04	2.300
262	rs206734	6	164474368	LOC442275 +15067bp (XM_498160)	T	C	gSNP	Recessive	8.507E-04	2.306
263	rs12674962	8	139777590	COL22A1 Intron32 (NM_152888.1)	T	C	iSNP	Recessive	8.528E-04	2.498
264	rs11165650	1	96705582	LOC440595 +79382bp (XM_496374)	A	C	gSNP	Genotype	8.565E-04	1.192
265	rs4877974	9	86219060	LOC392358 +375bp (XM_497064)	C	A	gSNP	Dominant	8.615E-04	1.690
266	rs678591	5	175045644	HRH2 +1480bp (NM_022304.1)	G	T	gSNP	Genotype	8.668E-04	1.875
267	rs1835374	3	170585887	MDS1 Intron1 (NM_004991.1)	C	A	iSNP	Genotype	8.888E-04	2.221
268	rs12125857	1	209306375	DC8 Intron4 (NM_015471.2)	G	A	iSNP	Recessive	9.022E-04	3.053
269	rs12716330	5	176531108	NSD1 Intron2 (NM_022455.3), NSD1 Intron2 (NM_172349.1)	G	A	iSNP,iSN P	Recessive	9.060E-04	1.964
270	rs1170101	13	41674055	DGKH Intron20 (NM_152910.3), DGKH Intron20 (NM_178009.2)	T	C	iSNP,iSN P	Genotype	9.159E-04	1.374
271	rs13335801	16	77439941	LOC441776 Intron1 (XM_497520)	C	G	iSNP	Dominant	9.173E-04	2.757
272	rs10014337	4	6106308	FLJ46481 Intron1 (NM_207405.1)	A	G	iSNP	Recessive	9.217E-04	2.528
273	rs17700606	2	77603386	LRR1M4 +52061bp (NM_024993.3)	G	A	gSNP	Dominant	9.237E-04	2.238
274	rs6454649	6	88560026	C6orf166 -91383bp (NM_018064.2)	A	C	gSNP	Dominant	9.281E-04	3.534
275	rs7300605	12	114120489	LOC440112 Intron4 (XM_498548)	G	A	iSNP	Dominant	9.285E-04	2.222
276	rs12034417	1	106399794	LOC126967 -62389bp (XM_060278)	C	T	gSNP	Genotype	9.297E-04	1.400
277	rs7187570	16	25662483	HS3ST4 Intron1 (XM_056254)	T	C	iSNP	Recessive	9.310E-04	1.943
278	rs6730854	2	193428436	TMEFF2 -54328bp (NM_016192.2)	C	G	gSNP	Recessive	9.448E-04	1.761
279	rs10800901	1	199842961	ADORA1 Intron5 (NM_000674.1)	C	T	iSNP	Genotype	9.512E-04	1.134
280	rs1077700	16	86244236	JPH3 Intron2 (NM_020655.2)	G	A	iSNP	Dominant	9.522E-04	1.628
281	rs7078145	10	8603386	GATA3 +446527bp (NM_002051.1)	A	G	gSNP	Recessive	9.565E-04	2.054
282	rs2295041	6	152865308	SYNE1 Intron25 (NM_182961.1), SYNE1 -272593bp (NM_133650.1), SYNE1 -133715bp (NM_015293.1)	A	T	iSNP,iSN P,gSNP, gSNP	Genotype	9.718E-04	1.024
283	rs12433069	14	90663339	C14orf159 Intron1 (NM_024952.4)	G	A	iSNP	Genotype	9.762E-04	3.129
284	rs7146008	14	90663054	C14orf159 Intron1 (NM_024952.4)	C	T	iSNP	Genotype	9.762E-04	3.129
285	rs2456842	15	47891504	ATP8B4 +46224bp (XM_370863)	C	A	gSNP	Recessive	9.909E-04	1.996
286	rs735639	5	79133045	CMYA5 +1240bp (NM_153610.2)	T	C	gSNP	Dominant	9.972E-04	1.547

[0145]

[表8]

表 8

番号	SNP ID	緑内障患者群		対照群		緑内障患者群		対照群		非 リスク アレル ホモ型 頻度	
		リスク アレル 頻度	非 リスク アレル 頻度	リスク アレル 頻度	非 リスク アレル 頻度	リスク アレル ホモ型 頻度	ヘテロ 型頻度	リスク アレル ホモ型 頻度	ヘテロ 型頻度		
1	rs9896078	44	112	32	286	7	30	41	0	32	127
2	rs12600635	42	106	31	281	6	30	38	0	31	125
3	rs282357	95	61	128	190	23	49	6	24	80	55
4	rs4703987	97	59	137	181	24	49	5	29	79	51
5	rs10057258	97	59	138	180	24	49	5	29	80	50
6	rs156756	97	59	138	180	24	49	5	29	80	50
7	rs277990	98	58	138	180	25	48	5	29	80	50
8	rs41347850	71	81	84	232	13	45	18	12	60	86
9	rs421128	97	59	138	178	24	49	5	29	80	49
10	rs3761966	95	57	138	178	24	47	5	30	78	50
11	rs1228412	116	40	190	124	38	40	0	60	70	27
12	rs10821967	31	123	28	290	1	29	47	5	18	136
13	rs11779914	81	75	106	212	18	45	15	23	60	76
14	rs9807525	30	116	35	281	0	30	43	6	23	129
15	rs7975892	61	77	70	228	11	39	19	6	58	85
16	rs1547247	43	113	37	281	6	31	41	5	27	127
17	rs17137310	132	24	205	111	55	22	1	67	71	20
18	rs4075533	101	55	158	156	35	31	12	29	100	28
19	rs6828840	55	101	59	259	7	41	30	7	45	107
20	rs16905508	45	111	56	262	12	21	45	2	52	105
21	rs10261379	102	54	160	158	35	32	11	30	100	29
22	rs1978305	74	82	103	215	22	30	26	12	79	68
23	rs6453529	96	60	141	175	25	46	7	34	73	51
24	rs6583904	50	106	64	254	13	24	41	3	58	98
25	rs11716192	95	61	126	192	30	35	13	23	80	56
26	rs6137975	53	101	64	254	14	25	38	4	56	99
27	rs6114142	53	103	64	254	14	25	39	4	56	99
28	rs4333513	76	64	118	178	13	50	7	22	74	52
29	rs17137304	128	28	200	118	51	26	1	64	72	23
30	rs4685910	100	56	152	166	34	32	12	29	94	36
31	rs6036424	53	103	64	250	14	25	39	4	56	97
32	rs6114144	53	103	63	251	14	25	39	4	55	98
33	rs3739554	55	101	54	264	11	33	34	4	46	109
34	rs10493635	33	119	24	290	6	21	49	0	24	133
35	rs7748388	90	64	124	194	27	36	14	19	86	54
36	rs1352416	82	74	119	199	18	46	14	29	61	69
37	rs10817137	71	81	101	213	21	29	26	12	77	68
38	rs2582332	40	116	33	283	6	28	44	3	27	128
39	rs4683698	46	110	49	251	2	42	34	5	39	106
40	rs12224304	99	55	154	162	28	43	6	43	68	47
41	rs7445018	67	89	113	205	6	55	17	24	65	70
42	rs11846884	43	113	58	260	1	41	36	9	40	110
43	rs11786067	75	65	110	186	16	43	11	24	62	62
44	rs3815081	72	82	111	201	21	30	26	12	87	57
45	rs1861788	51	105	63	255	11	29	38	2	59	98
46	rs290227	106	42	164	144	36	34	4	50	64	40
47	rs7636269	43	111	45	267	2	39	36	3	39	114
48	rs10050885	118	38	185	129	46	26	6	51	83	23
49	rs12021563	51	103	71	247	12	27	38	3	65	91

[0146]

[表9]

表 9

番号	SNP ID	緑内障患者群		対照群		緑内障患者群		対照群		非 リスク アレル ホモ型 頻度
		リスク アレル 頻度	非 リスク アレル 頻度	リスク アレル 頻度	非 リスク アレル 頻度	リスク アレル ホモ型 頻度	ヘテロ 型頻度	リスク アレル ホモ型 頻度	ヘテロ 型頻度	
50	rs2122776	84	64	131	177	17	50	7	26	49
51	rs1339579	57	95	79	237	15	27	34	6	85
52	rs2598575	68	88	97	221	18	32	28	9	71
53	rs4527907	42	112	57	257	12	18	47	3	103
54	rs169579	81	75	108	210	24	33	21	16	67
55	rs6485416	81	75	116	202	24	33	21	16	59
56	rs10107930	41	115	56	262	12	17	49	3	106
57	rs7089172	57	97	79	239	15	27	35	6	86
58	rs1473001	33	121	33	283	0	33	44	2	127
59	rs2998367	76	76	130	188	25	26	25	19	48
60	rs6008717	43	113	79	239	1	41	36	17	97
61	rs4425091	114	42	189	129	37	40	1	57	27
62	rs11022637	48	98	53	247	4	40	29	3	100
63	rs10104531	133	23	212	106	57	19	2	75	22
64	rs1156447	79	77	114	204	16	47	15	25	70
65	rs1380429	79	77	114	204	16	47	15	25	70
66	rs741195	130	26	213	105	54	22	2	68	14
67	rs4132213	110	40	191	123	36	38	1	61	27
68	rs6114094	51	105	61	257	13	25	40	4	102
69	rs6114100	51	105	61	257	13	25	40	4	102
70	rs13280432	132	24	223	95	56	20	2	73	9
71	rs3120946	139	15	272	40	66	7	4	116	0
72	rs585452	49	91	106	206	2	45	23	24	74
73	rs12542042	57	99	60	258	11	35	32	5	104
74	rs2059572	34	110	32	276	3	28	41	3	125
75	rs41522	147	5	268	42	71	5	0	114	1
76	rs913232	120	36	195	123	44	32	2	87	31
77	rs9667066	139	17	237	81	61	17	0	85	7
78	rs17096719	42	114	84	234	0	42	36	16	91
79	rs3124665	82	74	105	213	20	42	16	16	70
80	rs2701392	90	56	158	146	20	50	3	41	35
81	rs1336043	77	79	130	188	25	27	26	19	48
82	rs2951920	77	79	130	188	25	27	26	19	48
83	rs4551951	43	113	60	258	1	41	36	9	108
84	rs12772131	59	97	87	231	16	27	35	7	79
85	rs7919319	59	97	87	231	16	27	35	7	79
86	rs7230183	153	3	282	36	75	3	0	125	2
87	rs11691352	53	101	62	256	7	39	31	8	105
88	rs2814064	77	79	120	196	13	51	14	28	66
89	rs2703367	71	85	92	222	13	45	20	15	80
90	rs12224290	99	57	154	164	28	43	7	43	48
91	rs1978500	111	45	193	125	46	19	13	56	22
92	rs2173366	38	118	36	282	3	32	43	2	125
93	rs1002905	55	101	59	259	11	33	34	4	104
94	rs729316	88	68	116	202	25	38	15	21	64
95	rs16849303	43	111	48	268	2	39	36	4	114
96	rs1613702	71	85	91	227	14	43	21	15	83
97	rs10777020	95	55	154	162	30	35	10	27	31
98	rs3922940	43	113	48	270	2	39	37	4	115
99	rs9289581	43	113	48	270	2	39	37	4	115
100	rs9815708	43	113	48	270	2	39	37	4	115

[0147]

[表10]

表 10

番号 SNP ID	緑内障患者群		対照群		緑内障患者群		対照群		非 リスク アレル 頻度
	リスク アレル 頻度	非 リスク アレル 頻度	リスク アレル 頻度	非 リスク アレル 頻度	リスク アレル ホモ型 頻度	ヘテロ 型頻度	リスク アレル ホモ型 頻度	ヘテロ 型頻度	
101 rs668827	33	115	52	262	7	19	48	0	52
102 rs5758009	140	14	252	66	65	10	2	97	58
103 rs16849309	43	113	48	268	2	39	37	4	40
104 rs16843112	63	91	80	236	9	45	23	9	62
105 rs1370562	88	68	132	186	30	28	20	26	80
106 rs2117018	95	61	151	167	30	35	13	26	99
107 rs12359419	144	12	278	38	69	6	3	120	38
108 rs12976706	92	54	142	162	25	42	6	34	74
109 rs12349446	125	31	201	117	52	21	5	65	71
110 rs3924164	97	59	154	164	36	25	17	36	82
111 rs10197088	92	58	147	161	24	44	6	37	73
112 rs10744682	137	17	273	45	64	9	4	114	45
113 rs7705202	120	36	194	124	43	34	1	60	74
114 rs10520960	116	40	196	122	39	38	1	62	72
115 rs4457095	116	40	196	122	39	38	1	62	72
116 rs17147255	44	96	51	243	3	38	29	0	51
117 rs11218568	36	120	67	245	9	18	51	2	63
118 rs7863451	55	101	57	257	13	29	36	5	47
119 rs12955373	142	14	250	66	66	10	2	98	54
120 rs9322964	55	87	70	230	9	37	25	12	46
121 rs206735	127	29	204	114	52	23	3	66	72
122 rs569943	123	31	218	100	46	31	0	80	58
123 rs42265	50	104	64	254	10	30	37	2	60
124 rs12064596	63	93	79	237	9	45	24	9	61
125 rs10786133	57	99	79	239	15	27	36	6	67
126 rs2508492	135	11	247	51	64	7	2	100	47
127 rs2053092	95	59	151	167	30	35	12	27	97
128 rs7900668	68	68	98	190	12	44	12	16	66
129 rs16862858	117	29	197	111	47	23	3	59	79
130 rs1447715	45	109	54	264	2	41	34	5	44
131 rs6440142	51	105	54	264	8	35	35	6	42
132 rs8074960	41	115	45	273	3	35	40	6	33
133 rs1900994	50	106	54	262	7	36	35	6	42
134 rs13299570	76	68	118	182	15	46	11	26	66
135 rs2247798	97	57	136	174	29	39	9	27	82
136 rs6877822	121	35	216	100	52	17	9	70	76
137 rs11749986	58	88	69	241	11	36	26	9	51
138 rs6464884	70	82	90	224	18	34	24	10	70
139 rs2870412	119	37	197	119	43	33	2	68	61
140 rs454187	116	40	179	139	44	28	6	50	79
141 rs4709819	116	40	179	139	44	28	6	50	79
142 rs4709820	116	40	180	138	44	28	6	50	80
143 rs2005806	119	37	201	117	43	33	2	71	59
144 rs6848440	119	37	199	119	43	33	2	69	61
145 rs4832261	50	106	84	234	14	22	42	6	72
146 rs4683699	45	111	54	264	2	41	35	5	44
147 rs4613415	34	122	31	285	3	28	47	3	25
148 rs3127494	135	13	275	41	64	7	3	117	41
149 rs7222497	95	55	174	140	37	21	17	44	86
150 rs1003688	152	4	280	38	74	4	0	122	36

[0148]

[表11]

表 11

		緑内障患者群		対照群		緑内障患者群		対照群		
番号	SNP ID	リスク アレル 頻度	非 リスク アレル 頻度	リスク アレル 頻度	非 リスク アレル 頻度	リスク アレル ホモ型 頻度	ヘテロ 型頻度	リスク アレル ホモ型 頻度	ヘテロ 型頻度	非 リスク アレル ホモ型 頻度
151	rs290254	111	45	171	147	37	37	4	49	73
152	rs11190882	106	48	182	136	42	22	13	48	86
153	rs227402	73	71	111	199	16	41	15	26	59
154	rs2096182	137	19	231	85	60	17	1	84	63
155	rs10957248	55	99	60	256	10	35	32	5	50
156	rs17109030	62	80	82	208	9	44	18	11	60
157	rs11141389	85	71	132	186	18	49	11	31	70
158	rs3105796	142	14	244	74	64	14	0	94	56
159	rs10843724	62	90	73	241	12	38	26	7	59
160	rs2874705	116	40	181	137	44	28	6	51	79
161	rs6901582	116	40	181	137	44	28	6	51	79
162	rs17770565	116	40	185	133	44	28	6	51	83
163	rs953404	101	55	150	162	30	41	7	39	72
164	rs6801989	29	127	25	293	1	27	50	1	23
165	rs4850795	97	59	153	165	26	45	7	40	73
166	rs1156081	67	89	134	184	6	55	17	32	70
167	rs6789124	34	114	32	278	3	28	43	2	28
168	rs4832262	47	89	83	225	13	21	34	6	71
169	rs7557545	38	114	33	277	6	26	44	3	27
170	rs4705167	70	86	103	215	12	46	20	23	57
171	rs10902239	64	80	89	203	10	44	18	16	57
172	rs2920191	98	58	140	178	29	40	9	30	80
173	rs12741494	49	107	73	241	11	27	40	3	67
174	rs2583523	47	101	55	261	6	35	33	7	41
175	rs265983	53	103	95	223	3	47	28	20	55
176	rs11104245	93	61	151	167	29	35	13	26	99
177	rs327095	74	82	96	222	18	38	22	20	56
178	rs327101	74	82	96	222	18	38	22	20	56
179	rs160380	63	93	81	237	9	45	24	10	61
180	rs1474990	68	90	85	233	12	42	24	14	57
181	rs868450	101	47	173	123	27	47	0	44	85
182	rs979117	57	99	80	238	15	27	36	7	66
183	rs1991578	58	98	97	219	5	48	25	21	55
184	rs12716586	108	50	195	121	29	48	1	61	73
185	rs12072874	65	91	75	241	14	37	27	10	55
186	rs9638992	95	61	178	140	24	47	7	60	58
187	rs10963752	41	115	41	277	5	31	42	4	33
188	rs11141370	84	68	133	179	18	48	10	31	71
189	rs2145027	136	20	241	77	62	12	4	90	61
190	rs8533163	88	66	119	191	24	40	13	21	77
191	rs7776874	122	32	193	119	47	28	2	58	77
192	rs1342514	46	110	48	270	5	36	37	2	44
193	rs6789472	50	104	54	264	8	34	35	6	42
194	rs12211380	136	18	225	77	59	18	0	80	65
195	rs11174225	93	61	145	173	26	41	10	40	65
196	rs587945	69	79	107	207	20	29	25	14	79
197	rs7571233	125	31	216	102	52	21	5	68	80
198	rs1156082	66	88	134	184	6	54	17	32	70
199	rs7517274	139	15	251	67	64	11	2	97	57
200	rs1868172	36	120	34	284	3	30	45	2	30

[0149]

[表12]

表 1 2

		緑内障患者群		対照群		緑内障患者群		対照群		
番号	SNP ID	リスク アレル 頻度	非 リスク アレル 頻度	リスク アレル 頻度	非 リスク アレル 頻度	リスク アレル ホモ型 頻度	ヘテロ 型頻度	リスク アレル ホモ型 頻度	ヘテロ 型頻度	非 リスク アレル ホモ型 頻度
201	rs10935355	35	121	32	286	3	29	46	1	30
202	rs1363405	97	59	144	174	32	33	13	31	82
203	rs9313749	97	59	144	174	32	33	13	31	82
204	rs4971024	140	16	268	48	65	10	3	110	48
205	rs1935369	115	19	237	59	55	5	7	97	43
206	rs11104293	95	61	152	166	30	35	13	27	98
207	rs7487188	95	61	152	166	30	35	13	27	98
208	rs7370640	93	63	172	146	20	53	5	50	72
209	rs10037055	99	55	146	164	33	33	11	32	82
210	rs2137475	135	21	233	85	60	15	3	85	63
211	rs4794409	135	21	233	85	60	15	3	85	63
212	rs1554137	69	83	94	218	12	45	19	14	66
213	rs792772	133	21	230	84	59	15	3	84	62
214	rs13109827	34	110	32	276	4	26	42	2	28
215	rs2382121	154	2	289	29	76	2	0	131	27
216	rs11141358	85	71	134	184	18	49	11	31	72
217	rs3818943	105	51	173	145	31	43	4	49	75
218	rs3120955	141	15	275	43	67	7	4	117	41
219	rs2383666	141	15	275	43	67	7	4	117	41
220	rs3120958	141	15	275	43	67	7	4	117	41
221	rs3120971	141	15	275	43	67	7	4	117	41
222	rs3127502	141	15	275	43	67	7	4	117	41
223	rs3127503	141	15	275	43	67	7	4	117	41
224	rs1870590	87	69	124	192	23	41	14	29	66
225	rs10975268	92	64	165	153	33	26	19	36	93
226	rs1045942	66	86	89	225	11	44	21	13	63
227	rs3739028	134	20	267	49	62	10	5	110	47
228	rs3971318	116	36	199	119	42	32	2	69	61
229	rs11141357	85	71	134	182	18	49	11	31	72
230	rs11682779	107	47	179	139	33	41	3	52	75
231	rs17043638	56	94	79	239	9	38	28	18	43
232	rs504915	127	17	228	74	56	15	1	82	84
233	rs2016302	80	76	117	197	25	30	23	20	77
234	rs965065	95	61	141	173	26	43	9	34	73
235	rs7602191	97	59	153	163	26	45	7	40	73
236	rs12465720	97	59	154	164	26	45	7	40	74
237	rs2102714	153	3	287	31	75	3	0	128	31
238	rs6713473	153	3	287	31	75	3	0	128	31
239	rs16830790	105	51	186	132	30	45	3	58	70
240	rs12539298	108	48	188	130	33	42	3	60	68
241	rs17165196	108	48	188	130	33	42	3	60	68
242	rs3802061	108	48	188	130	33	42	3	60	68
243	rs6866840	105	47	167	133	40	25	11	43	81
244	rs11145565	96	56	153	165	27	42	7	40	73
245	rs907311	51	105	60	258	6	39	33	6	48
246	rs17462091	146	10	265	53	69	8	1	109	47
247	rs12102760	91	65	147	171	22	47	9	38	71
248	rs2137036	51	105	60	256	6	39	33	6	48
249	rs12160956	99	49	148	160	32	35	7	37	74
250	rs11573106	66	90	96	222	9	48	21	17	62

[0150]

[表13]

表 1 3

		緑内障患者群		対照群		緑内障患者群		対照群			
番号	SNP ID	リスク アレル 頻度	非 リスク アレル 頻度	リスク アレル 頻度	非 リスク アレル 頻度	リスク アレル ホモ型 頻度	ヘテロ 型頻度	非 リスク アレル ホモ型 頻度	リスク アレル ホモ型 頻度	ヘテロ 型頻度	非 リスク アレル ホモ型 頻度
251	rs4705303	68	88	90	228	12	44	22	13	64	82
252	rs6728347	77	79	129	189	12	53	13	30	69	60
253	rs11921758	141	15	252	66	66	9	3	101	50	8
254	rs11929405	141	15	252	66	66	9	3	101	50	8
255	rs4906232	121	35	199	119	49	23	6	62	75	22
256	rs6001967	136	16	250	60	62	12	2	96	58	1
257	rs6818363	35	121	32	286	4	27	47	2	28	129
258	rs447901	73	83	109	209	21	31	26	15	79	65
259	rs4143559	90	60	159	153	21	48	6	45	69	42
260	rs16870420	150	6	270	46	72	6	0	117	36	5
261	rs9291424	131	25	221	97	54	23	1	73	75	11
262	rs206734	126	30	204	112	51	24	3	66	72	20
263	rs12674962	131	25	214	102	55	21	2	75	64	19
264	rs11165660	74	82	137	181	23	28	27	21	95	43
265	rs4877974	70	70	116	196	13	44	13	24	68	64
266	rs678591	142	14	265	49	66	10	2	108	49	0
267	rs1835374	94	62	129	189	31	32	15	31	67	61
268	rs12125867	146	10	263	55	68	10	0	106	51	2
269	rs12716330	97	59	144	172	32	33	13	31	82	45
270	rs1170101	63	93	105	213	21	21	36	16	73	70
271	rs13335801	145	11	263	55	68	9	1	107	49	3
272	rs10014397	26	126	24	294	1	24	51	2	20	137
273	rs17700606	38	118	40	278	3	32	43	3	34	122
274	rs6454649	148	8	267	51	70	8	0	112	43	4
275	rs7300605	48	108	53	265	7	34	37	6	41	112
276	rs12034417	144	10	288	28	70	4	3	130	28	0
277	rs7187570	114	42	176	126	41	32	5	45	86	20
278	rs6730654	76	74	112	192	15	46	14	22	68	62
279	rs10800901	77	79	147	171	12	53	13	40	67	52
280	rs1077700	74	72	113	179	12	50	11	20	73	53
281	rs7078146	51	97	64	250	8	35	31	10	44	103
282	rs2295041	65	91	129	185	21	23	34	22	85	50
283	rs12433069	148	8	272	46	70	8	0	113	46	0
284	rs7146008	148	8	272	46	70	8	0	113	46	0
285	rs2456842	102	36	176	124	39	24	6	48	80	22
286	rs735639	127	29	235	83	49	29	0	94	47	18

[0151]

[表14]

表14

番号	SNP ID	遺伝子型 オッズ比	関連する オッズ比	リスクとな る遺伝子 型
1	rs9896078	31.352	Recessive	TT
2	rs12600635	27.529	Recessive	GG
3	rs282357	6.346	Dominant	GG, GA
4	rs4703987	6.894	Dominant	AA, AT
5	rs10057258	6.697	Dominant	AA, AG
6	rs156756	6.697	Dominant	GG, GC
7	rs277990	6.697	Dominant	TT, TC
8	rs41347850	3.849	Dominant	TT, TC
9	rs421128	6.563	Dominant	GG, GA
10	rs3761966	6.574	Dominant	GG, GA
11	rs1228412	32.400	Dominant	TT, TG
12	rs10821967	3.774	Dominant	AA, AG
13	rs11779914	3.846	Dominant	GG, GT
14	rs9807525	3.155	Dominant	GG, GC
15	rs7975892	4.520	Recessive	AA
16	rs1547247	3.582	Dominant	TT, TC
17	rs17137310	11.159	Dominant	AA, AG
18	rs4075533	3.593	Recessive	GG
19	rs6828840	3.292	Dominant	GG, GA
20	rs16905508	14.273	Recessive	CC
21	rs10261379	3.500	Recessive	CC
22	rs1978305	4.813	Recessive	TT
23	rs6453529	4.834	Dominant	CC, CT
24	rs6583904	10.400	Recessive	TT
25	rs11716192	3.696	Recessive	CC
26	rs6137975	8.611	Recessive	AA
27	rs6114142	8.477	Recessive	GG
28	rs4333513	4.875	Dominant	TT, TC
29	rs17137304	13.022	Dominant	TT, TC
30	rs4685910	3.464	Recessive	GG
31	rs6036424	8.367	Recessive	AA
32	rs6114144	8.367	Recessive	TT
33	rs3739554	6.362	Recessive	CC
34	rs10493635	26.914	Recessive	CC
35	rs7748388	3.979	Recessive	GG
36	rs1352416	3.505	Dominant	CC, CG
37	rs10817137	4.614	Recessive	TT
38	rs2582332	4.306	Recessive	CC
39	rs4683698	3.118	Dominant	GG, GA
40	rs12224304	5.011	Dominant	CC, CT

[表15]

表15

番号	SNP ID	遺伝子型 オッズ比	関連する オッズ比	リスクとな る遺伝子 型
41	rs7445018	2.822	Dominant	AA, AC
42	rs11846884	2.619	Dominant	TT, TA
43	rs11786067	3.867	Dominant	CC, CG
44	rs3815081	4.500	Recessive	CC
45	rs1861788	12.888	Recessive	GG
46	rs290227	6.140	Dominant	TT, TC
47	rs7636269	3.091	Dominant	GG, GA
48	rs10050885	2.988	Recessive	CC
49	rs12021563	9.600	Recessive	TT
50	rs2122776	4.467	Dominant	GG, GA
51	rs1339579	6.230	Recessive	AA
52	rs2598575	5.000	Recessive	AA
53	rs4527907	9.477	Recessive	CC
54	rs169579	3.972	Recessive	GG
55	rs6485416	3.972	Recessive	GG
56	rs10107930	9.455	Recessive	AA
57	rs7089172	6.169	Recessive	AA
58	rs1473001	3.119	Dominant	GG, GA
59	rs2998367	3.612	Recessive	AA
60	rs6008717	1.825	Dominant	TT, TC
61	rs4425091	15.750	Dominant	CC, CT
62	rs11022637	3.034	Dominant	CC, CG
63	rs10104531	6.102	Dominant	CC, CT
64	rs1156447	3.303	Dominant	CC, CA
65	rs1380429	3.303	Dominant	AA, AC
66	rs741195	3.669	Dominant	GG, GC
67	rs4132213	15.369	Dominant	GG, GC
68	rs6114094	7.750	Recessive	GG
69	rs6114100	7.750	Recessive	TT
70	rs13280432	2.999	Recessive	AA
71	rs3120946	2.095	Recessive	GG
72	rs585452	1.844	Dominant	GG, GC
73	rs12542042	5.057	Recessive	GG
74	rs2059572	3.259	Dominant	TT, TC
75	rs41522	4.643	Recessive	CC
76	rs913232	9.203	Dominant	AA, AG
77	rs9667066	7.184	Dominant	GG, GA
78	rs17096719	1.580	Dominant	CC, CG
79	rs3124665	3.082	Recessive	GG
80	rs2701392	6.980	Dominant	GG, GC

[表16]

表16

番号	SNP ID	遺伝子型 オッズ比	関連する オッズ比	リスクとな る遺伝子 型
81	rs1336043	3.476	Recessive	GG
82	rs2951920	3.476	Recessive	GG
83	rs4551951	2.471	Dominant	TT, TC
84	rs12772131	5.604	Recessive	GG
85	rs7919319	5.604	Recessive	CC
86	rs7230183	5.829	Recessive	CC
87	rs11691352	2.885	Dominant	CC, CT
88	rs2814064	3.280	Dominant	CC, CT
89	rs2703367	3.013	Dominant	GG, GA
90	rs12224290	4.386	Dominant	CC, CT
91	rs1978500	2.644	Recessive	AA
92	rs2173366	3.140	Recessive	AA
93	rs1002905	6.362	Recessive	CC
94	rs729316	3.100	Recessive	AA
95	rs16849303	2.951	Dominant	TT, TA
96	rs1613702	2.964	Dominant	GG, GC
97	rs10777020	3.235	Recessive	TT
98	rs3922940	2.896	Dominant	CC, CG
99	rs9289581	2.896	Dominant	TT, TG
100	rs9815708	2.896	Dominant	CC, CT
101	rs868827	32.806	Recessive	CC
102	rs5758009	3.462	Recessive	GG
103	rs16849309	2.871	Dominant	AA, AG
104	rs16848112	2.877	Dominant	GG, GA
105	rs1370562	3.197	Recessive	CC
106	rs2117018	3.197	Recessive	TT
107	rs12359419	2.460	Recessive	CC
108	rs12976706	4.549	Dominant	GG, GA
109	rs12349446	2.892	Recessive	GG
110	rs3924164	2.929	Recessive	GG
111	rs10197088	4.533	Dominant	CC, CG
112	rs10744682	1.965	Recessive	TT
113	rs7705202	14.366	Dominant	CC, CT
114	rs10520960	14.366	Dominant	CC, CA
115	rs4457095	14.366	Dominant	GG, GA
116	rs17147255	13.164	Recessive	CC
117	rs11218568	10.043	Recessive	AA
118	rs7863451	6.080	Recessive	AA
119	rs12955373	3.367	Recessive	TT
120	rs9322964	2.919	Dominant	AA, AG

[表17]

表17

番号	SNP ID	遺伝子型 オッズ比	関連する オッズ比	リスクとな る遺伝子 型
121	rs206735	3.804	Dominant	TT, TC
122	rs569943	23.435	Dominant	CC, CT
123	rs42265	11.716	Recessive	CC
124	rs12064596	2.829	Dominant	TT, TC
125	rs10786133	6.071	Recessive	GG
126	rs2508492	3.484	Recessive	GG
127	rs2053092	3.121	Recessive	AA
128	rs7900668	3.528	Dominant	CC, CG
129	rs16862858	2.911	Recessive	TT
130	rs1447715	2.839	Dominant	TT, TC
131	rs6440142	2.914	Recessive	TT
132	rs8074960	2.923	Dominant	GG, GA
133	rs1900994	2.815	Dominant	AA, AG
134	rs13299570	3.496	Dominant	AA, AC
135	rs2247798	3.189	Dominant	AA, AC
136	rs6877822	2.514	Recessive	TT
137	rs11749986	2.878	Recessive	TT
138	rs6464884	4.562	Recessive	CC
139	rs2870412	8.543	Dominant	AA, AG
140	rs454187	2.821	Recessive	GG
141	rs4709819	2.821	Recessive	CC
142	rs4709820	2.821	Recessive	TT
143	rs2005806	8.477	Dominant	TT, TC
144	rs6848440	8.477	Dominant	AA, AG
145	rs4832261	5.578	Recessive	GG
146	rs4683699	2.758	Dominant	GG, GA
147	rs4613415	3.062	Dominant	GG, GA
148	rs3127494	2.270	Recessive	GG
149	rs7222497	2.501	Recessive	CC
150	rs1003688	4.987	Recessive	CC
151	rs290254	5.611	Dominant	GG, GC
152	rs11190882	2.775	Recessive	AA
153	rs227402	3.129	Dominant	GG, GA
154	rs2096182	5.762	Dominant	CC, CG
155	rs10957248	4.567	Recessive	TT
156	rs17109030	3.069	Dominant	CC, CT
157	rs11141369	3.498	Dominant	TT, TC
158	rs3105796	9.360	Dominant	AA, AG
159	rs10843724	4.018	Recessive	CC
160	rs2874705	2.740	Recessive	GG

[表18]

表18

番号	SNP ID	遺伝子型 オッズ比	関連する オッズ比	リスクとな る遺伝子 型
161	rs6901582	2.740	Recessive	GG
162	rs17770565	2.740	Recessive	AA
163	rs953404	4.112	Dominant	TT, TC
164	rs6801989	3.150	Dominant	TT, TC
165	rs4850795	4.129	Dominant	GG, GA
166	rs1156081	2.005	Dominant	TT, TC
167	rs6789124	3.232	Recessive	CC
168	rs4832262	5.830	Recessive	CC
169	rs7557545	4.343	Recessive	TT
170	rs4705167	2.864	Dominant	GG, GA
171	rs10902239	3.000	Dominant	AA, AG
172	rs2920191	3.415	Dominant	TT, TC
173	rs12741494	8.428	Recessive	GG
174	rs2583523	2.847	Dominant	AA, AG
175	rs265983	2.000	Dominant	TT, TA
176	rs11104245	3.091	Recessive	AA
177	rs327095	2.780	Dominant	AA, AC
178	rs327101	2.780	Dominant	AA, AC
179	rs160380	2.789	Dominant	AA, AG
180	rs1474990	2.789	Dominant	CC, CT
181	rs868450	21.798	Dominant	GG, GA
182	rs979117	5.170	Recessive	TT
183	rs1991578	2.287	Dominant	GG, GC
184	rs12716586	13.791	Dominant	AA, AG
185	rs12072874	3.238	Recessive	AA
186	rs9638992	3.524	Dominant	CC, CA
187	rs10963752	2.826	Dominant	TT, TA
188	rs11141370	3.494	Dominant	CC, CT
189	rs2145027	2.971	Recessive	CC
190	rs6533163	2.889	Recessive	CC
191	rs7776874	5.833	Dominant	TT, TA
192	rs1342514	5.377	Recessive	CC
193	rs6789472	2.957	Recessive	TT
194	rs12211380	6.372	Dominant	GG, GA
195	rs11174225	3.446	Dominant	AA, AG
196	rs587945	3.783	Recessive	GG
197	rs7571233	2.676	Recessive	CC
198	rs1156082	1.972	Dominant	AA, AG
199	rs7517274	3.147	Recessive	AA
200	rs1868172	3.140	Recessive	TT

[表19]

表19

番号	SNP ID	遺伝子型 オッズ比	関連する オッズ比	リスクとな る遺伝子 型
201	rs10935355	6.320	Recessive	TT
202	rs1363405	2.872	Recessive	AA
203	rs9313749	2.872	Recessive	TT
204	rs4971024	2.205	Recessive	GG
205	rs1935369	2.410	Recessive	CC
206	rs11104293	3.056	Recessive	AA
207	rs7487188	3.056	Recessive	CC
208	rs7370640	4.428	Dominant	TT, TA
209	rs10037055	2.883	Recessive	TT
210	rs2137475	2.902	Recessive	GG
211	rs4794409	2.902	Recessive	TT
212	rs1554137	2.850	Dominant	CC, CT
213	rs792772	2.849	Recessive	CC
214	rs13109827	4.471	Recessive	TT
215	rs2382121	6.498	Recessive	AA
216	rs11141358	3.312	Dominant	AA, AC
217	rs3818943	5.222	Dominant	GG, GA
218	rs3120955	2.186	Recessive	GG
219	rs2383666	2.186	Recessive	AA
220	rs3120958	2.186	Recessive	TT
221	rs3120971	2.186	Recessive	GG
222	rs3127502	2.186	Recessive	GG
223	rs3127503	2.186	Recessive	CC
224	rs1870590	3.032	Dominant	GG, GT
225	rs10975268	2.506	Recessive	GG
226	rs1045942	2.791	Dominant	TT, TC
227	rs3739028	1.804	Recessive	TT
228	rs3971318	8.254	Dominant	CC, CA
229	rs11141357	3.252	Dominant	AA, AG
230	rs11682779	6.215	Dominant	TT, TC
231	rs17043638	2.697	Dominant	CC, CT
232	rs504915	2.945	Recessive	TT
233	rs2016302	3.231	Recessive	AA
234	rs965065	3.583	Dominant	TT, TG
235	rs7602191	4.039	Dominant	AA, AG
236	rs12465720	4.004	Dominant	CC, CA
237	rs2102714	5.273	Recessive	GG
238	rs6713473	5.273	Recessive	TT
239	rs16830790	6.055	Dominant	GG, GA
240	rs12539298	6.055	Dominant	TT, TC

[表20]

表20

番号	SNP ID	遺伝子型 オッズ比	関連する オッズ比	リスクとなる 遺伝子 型
241	rs17165196	6.055	Dominant	CC, CG
242	rs3802061	6.055	Dominant	TT, TA
243	rs6866840	2.765	Recessive	AA
244	rs11145565	4.013	Dominant	GG, GC
245	rs907311	2.652	Dominant	TT, TC
246	rs17462091	3.517	Recessive	AA
247	rs12102760	3.517	Dominant	CC, CG
248	rs2137036	2.626	Dominant	AA, AG
249	rs12160956	3.708	Dominant	GG, GA
250	rs11573106	2.749	Dominant	GG, GA
251	rs4705303	2.711	Dominant	GG, GA
252	rs6728347	3.030	Dominant	AA, AG
253	rs11921758	3.158	Recessive	AA
254	rs11929405	3.158	Recessive	GG
255	rs4906282	2.643	Recessive	AA
256	rs6001967	2.722	Recessive	GG
257	rs6818363	4.243	Recessive	CC
258	rs447901	3.537	Recessive	AA
259	rs4143559	4.237	Dominant	GG, GA
260	rs16870420	5.098	Dominant	CC, CG
261	rs9291424	5.723	Dominant	TT, TC
262	rs206734	3.623	Dominant	TT, TC
263	rs12674962	5.194	Dominant	TT, TC
264	rs11165660	2.748	Recessive	AA
265	rs4877974	3.050	Dominant	CC, CA
266	rs678591	2.521	Recessive	GG
267	rs1835374	2.723	Recessive	CC
268	rs12125867	3.238	Recessive	GG
269	rs12716330	2.850	Recessive	GG
270	rs1170101	3.293	Recessive	TT
271	rs13335801	3.305	Recessive	CC
272	rs10014397	3.053	Dominant	AA, AG
273	rs17700606	2.684	Dominant	GG, GA
274	rs6454649	4.026	Dominant	AA, AC
275	rs7300605	2.641	Dominant	GG, GA
276	rs12034417	2.192	Recessive	CC
277	rs7187570	2.610	Recessive	TT
278	rs6730654	3.002	Dominant	CC, CG
279	rs10800901	2.430	Dominant	CC, CT
280	rs1077700	3.212	Dominant	GG, GA
281	rs7078146	2.646	Dominant	AA, AG
282	rs2295041	2.261	Recessive	AA
283	rs12433069	3.389	Recessive	GG
284	rs7146008	3.389	Recessive	CC
285	rs2456842	2.763	Recessive	CC
286	rs735639	19.915	Dominant	TT, TC

[0158] 実施例 4 LDブロック構造の推定

本発明の一塩基多型が属するLDブロック構造を推定した。実施例 3 にて決

定した緑内障に関連する一塩基多型を含む周辺の一塩基多型のうちマイナーアレル頻度が0.05未満の一塩基多型について、Gabrielらの方法(Science 21 June 2002:Vol. 296. no. 5576, pp. 2225 - 2229)を参酌して、LD測定としてのD' 値の信頼区間を用いてLDブロック構造を推定した。図1～2には、当該LDブロックに含まれる一塩基多型を太字で記載し、さらに、本発明の一塩基多型と連鎖不平衡状態にあると考えられる領域を枠つきで示す。また、LDブロック上又はその近傍に存在する遺伝子も併せて表示する。

[0159] 実施例5 LDブロック上の一塩基多型の再解析

実施例4で推定したLDブロックに所属する任意の一塩基多型について、以下のように再解析を行うことができる。本実施例ではTaqMan(登録商標) SNP Genotyping Assays (Applied Biosystems) を用いる再解析法を例示する。

[0160] 患者群及び対照群は、実施例3の患者群及び対照群と同じであっても全く異なるものであっても良い。これらの参加者より提供された血液を検体とし、例えば実施例1に記載の方法で総DNAを抽出し、Applied Biosystems社のプロトコールに従って上記LDブロックに含まれる一塩基多型について、患者群と対照群の比較解析を行う。リアルタイムPCR反応の試薬、サーマルサイクラー及び検出器はそれぞれApplied Biosystems社によって指定されたものを用いることができる。サーマルサイクラー及び検出器にStepOnePlus リアルタイムPCRシステムを用いる場合、PCR産物中の一塩基多型のアレルの検出には、StepOne Software V2.0.1を使用することができる。

[0161] 得られた一塩基多型の検出結果を用い、実施例3と同様にアレルのオッズ比を計算してリスクアレルを決定し、遺伝子型p値の算出を行う。

[0162] このようにして当該LDブロック内の任意の一塩基多型について疾患との関連を確認し、リスクアレル及び疾患のリスクとなる遺伝子型を決定することができる。

[0163] 実施例6 ゲノムDNAを含むサンプルを用いる緑内障に関連する一塩基多型の分析

本発明で開示された緑内障に関連する一塩基多型において、表1～7に記

載したアレルの頻度は、緑内障患者群と対照群の間で統計学的に差がある。ゲノムDNAを含むサンプルに含まれるこれらの一塩基多型の少なくともいずれか一つについて、そのアレルを決定することにより、リスクアレルが存在するか否かを判定できる。サンプル中のゲノムDNAに本発明の一塩基多型の少なくとも1つについてリスクアレルが検出される場合、当該サンプル中に緑内障に関連する一塩基多型のリスクアレルが含まれると判定される。アレルの代わりに、前述の緑内障のリスクがあると考えられる遺伝子型の決定を行うことも可能である。さらに、一つのサンプルを用いて、本発明の緑内障に関連する一塩基多型の、疾患で高頻度に認められるアレル又は遺伝子型の二つ以上を検出することも可能である。

[0164] 実施例 7 非緑内障患者の緑内障のリスクの判定及び緑内障が疑われる者の診断補助

実施例 3 と同様にして、非緑内障患者によって提供されたゲノムDNAを含むサンプルを用い、サンプル提供者の緑内障のリスクを精度よく判定することができる。本発明で開示された疾患に関連する一塩基多型について、サンプル中にリスクアレル又は緑内障のリスクがあると考えられる遺伝子型の少なくとも1つが検出された場合、緑内障のリスクがあると判定される。疾患に関連する一塩基多型を検出するプローブを複数組み合わせる本発明の一塩基多型の2つ以上を組み合わせることで検出することにより、緑内障のリスクの予測精度を向上することができる。この場合、サンプル中に検出されたリスクアレルもしくは緑内障のリスクがあると考えられる遺伝子型の数の和、又は、これらのオッズ比を指標にリスクを予測する。これらの数値の大小により、緑内障のリスクの大小が予測され、又は、ある閾値を超える場合は、緑内障のリスクが高いと判定される。

[0165] さらに、同様に、緑内障が疑われる者の診断補助を行うことができる。緑内障が疑われる者によって提供されたサンプルを用い、サンプル中にリスクアレル又は緑内障のリスクがあると考えられる遺伝子型の少なくとも1つが検出された場合、緑内障と判断されるべき蓋然性が高い。また、疾患に関連

する一塩基多型を検出するプローブを複数組み合わせることで本発明の一塩基多型の2つ以上を組み合わせることで検出することにより、サンプル中に検出されるリスクアレルもしくは緑内障のリスクがあると考えられる遺伝子型の数の和、又は、これらのオッズ比を指標に緑内障と判断されるべき蓋然性がどの程度増加するかを評価する。ある閾値を超える場合は、緑内障であると診断することができる。

産業上の利用可能性

[0166] 本発明の方法により、サンプル中の本発明の一塩基多型のアレル又は遺伝子型を分析することにより、サンプル提供者が将来的に緑内障のリスクの有無及び／又は高低を判定することができる。このリスクに基づきサンプル提供者は緑内障の予防措置を講じ、及び／又は定期的に緑内障の検査を受けることによって早期に緑内障の診断を受け、治療を開始することができる。また、本発明の一塩基多型のリスクアレル又は緑内障のリスクあると考えられる遺伝子型をゲノムに持つ、緑内障が疑われるサンプル提供者は、緑内障と診断されるべき蓋然性が高く、早期に治療を開始することができるため、有用である。

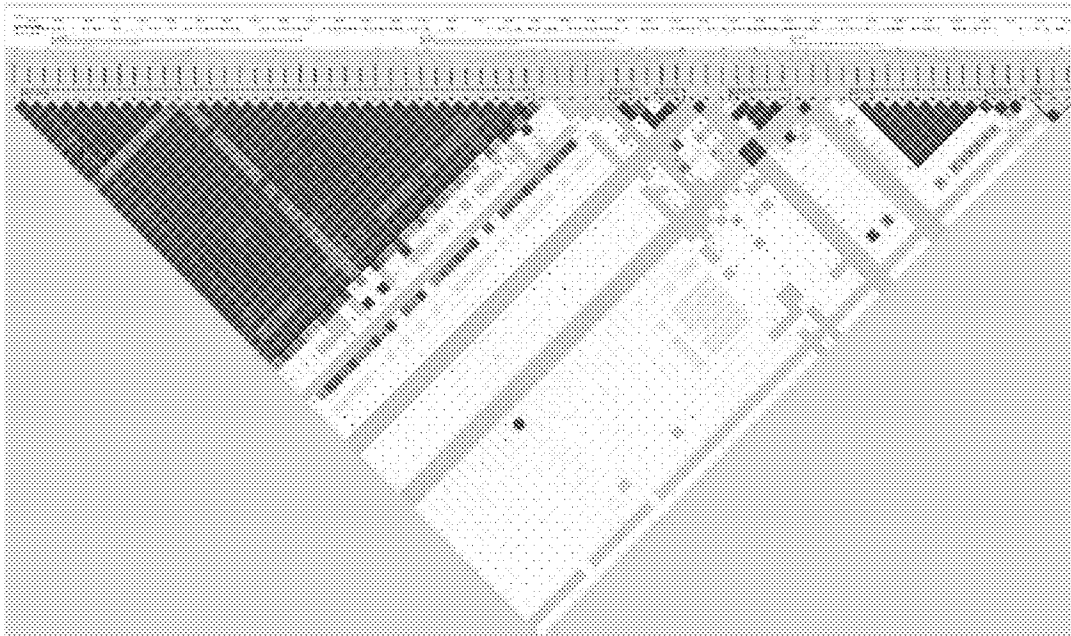
請求の範囲

- [請求項1] 被験者由来のサンプル中の核酸分子について、配列番号1～82で示される塩基配列からなる群より選択される少なくとも1つの塩基配列又はその相補的配列において、前記塩基配列の26番目に存在する一塩基多型のアレルをin vitroで検出する工程(検出工程)、及び前記検出されたアレルの少なくとも1つがリスクアレルであるか否かを判定する工程(判定工程)を含む、緑内障のリスクを予測する方法。
- [請求項2] さらに、検出工程において検出されたアレルに基づき遺伝子型を決定する工程を含む、請求項1記載の緑内障のリスクを予測する方法。
- [請求項3] 配列番号1～82で示される塩基配列からなる群より選択される少なくとも1つの塩基配列もしくはその相補的配列、又はこれらの部分配列において、前記配列番号1～82で示される塩基配列の26番目に相当するアレルを有する配列を含有する核酸分子を用いて検出工程を行う、請求項1又は2記載の緑内障のリスクを予測する方法。
- [請求項4] 核酸分子をプローブとして用いる、請求項3記載の緑内障のリスクを予測する方法。
- [請求項5] プローブが23～27塩基の長さである、請求項4記載の緑内障のリスクを予測する方法。
- [請求項6] プローブが固層化されてなる、請求項4又は5記載の緑内障のリスクを予測する方法。
- [請求項7] 緑内障が原発開放隅角緑内障である、請求項1～6いずれか記載の緑内障のリスクを予測する方法。
- [請求項8] 被験者由来のサンプル中の核酸分子について、配列番号1～82で示される塩基配列からなる群より選択される少なくとも1つの塩基配列又はその相補的配列において、前記塩基配列の26番目に存在する一塩基多型のアレルをin vitroで検出するための核酸分子を含有してなる緑内障のリスクの予測キット。

- [請求項9] 核酸分子が、配列番号 1～82で示される塩基配列からなる群より選択される少なくとも 1つの塩基配列もしくはその相補的配列、又はこれらの部分配列において、前記配列番号 1～82で示される塩基配列の 26番目に相当するアレルを有する配列を含有する核酸分子である、請求項 8 記載の緑内障のリスクの予測キット。
- [請求項10] 核酸分子が、配列番号 1～82で示される塩基配列からなる群より選択される少なくとも 1つの塩基配列もしくはその相補的配列、又はこれらの部分配列である、請求項 9 記載の緑内障のリスクの予測キット。
- [請求項11] 核酸分子をプローブとして用いる、請求項 8～10いずれか記載の緑内障のリスクの予測キット。
- [請求項12] プローブが23～27塩基の長さである、請求項 11 記載の緑内障のリスクの予測キット。
- [請求項13] プローブが固層化されてなる、請求項 11 又は 12 記載の緑内障のリスクの予測キット。
- [請求項14] 緑内障が原発開放隅角緑内障である、請求項 8～13いずれか記載の緑内障のリスクの予測キット。

[図1]

図1



[図2]

図2



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2009/067900

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C12N15/09(2006.01) i, C12Q1/68(2006.01) i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C12N15/09, C12Q1/68

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamII), BIOSIS/MEDLINE (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	JP 2007-529218 A (Sucampo AG.), 25 October 2007 (25.10.2007), claim 1; examples & US 2008/0221050 A1 & WO 2005/090602 A2	1-14
Y	Toshihiro TANAKA et al., "Tahomen kara no Kaiseki Approach ni yoru Koju Jintai Kokkasho no Kanjusei Idenshi Dotei o Mezashite", Journal of Musculoskeletal System, 2007, vol.20, no.9, pages 875 to 885, page 876, left column, 1.6 to page 878, left column, 1.15	1-14

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
29 October, 2009 (29.10.09)

Date of mailing of the international search report
10 November, 2009 (10.11.09)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2009/067900

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	TANAKA T. ET AL, Genomewide linkage and linkage disequilibrium analyses identify COL6A1, on chromosome 21, as the locus for ossification of the posterior longitudinal ligament of the spine., Am. J. Hum. Genet., 2003 Vol.73, No.4, p.812-822, particularly, Subjects and Methods	1-14
Y	Takeshi IWATA, "Momyaku Rakumaku Hensei Shikkan no Update Karei Ohan Hensei no Idenshi Kenkyu no Saizensen", The Journal of the Eye, 2006, vol.23, no.9, pages 1125 to 1131, entire text	1-14

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2009/067900

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

The common matter among the methods for predicting the risk of glaucoma, each of which comprises detecting any one of 41 single nucleotide polymorphisms as claimed in claim 1 is "a method for predicting the risk of glaucoma, which comprises detecting a single nucleotide polymorphism". However, "a method for predicting the risk of glaucoma, which comprises detecting a single nucleotide polymorphism" is publicly known (JP 2007-529218 A). Therefore, it cannot be considered that there is any common "special technical feature" among the methods for predicting the risk of glaucoma as claimed in claim 1.

(continued to extra sheet)

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☒ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2009/067900

Continuation of Box No.III of continuation of first sheet (2)

Therefore, claims 1-7 include 41 inventions.

Further, the production of a kit for commercializing the method for predicting the risk of glaucoma which comprises detecting a single nucleotide polymorphism is a common technical knowledge among the persons skilled in the art. Therefore, claims 8-14 also include 41 inventions for the reasons as stated above.

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（I P C））

Int.Cl. C12N15/09(2006.01)i, C12Q1/68(2006.01)i

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料（国際特許分類（I P C））

Int.Cl. C12N15/09, C12Q1/68

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語）

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamII), BIOSIS/MEDLINE(STN)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
Y	JP 2007-529218 A（スキャンボ・アーゲー）2007.10.25, 請求項1, 実施例参照 & US 2008/0221050 A1 & WO 2005/090602 A2	1-14
Y	田中利弘、外，多方面からの解析アプローチによる後縦靱帯骨化症の感受性遺伝子同定をめざして，骨・関節・靱帯，2007, Vol. 20, No. 9, p. 875-885, p. 876 左欄 1.6-p. 878 左欄 1.15 参照	1-14

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す）

「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

2 9 . 1 0 . 2 0 0 9

国際調査報告の発送日

1 0 . 1 1 . 2 0 0 9

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁（I S A / J P）

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官（権限のある職員）

柴原 直司

4 B

3 5 3 4

電話番号 03-3581-1101 内線 3448

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
Y	TANAKA T. ET AL, Genomewide linkage and linkage disequilibrium analyses identify COL6A1, on chromosome 21, as the locus for ossification of the posterior longitudinal ligament of the spine., Am. J. Hum. Genet., 2003 Vol.73, No.4, p.812-822, 特に Subjects and Methods 参照	1-14
Y	岩田岳, 網脈絡膜変性疾患のアップデート 加齢黄斑変性の遺伝子研究の最前線, あたらしい眼科, 2006, Vol.23, No.9, p.1125-1131, 全文参照	1-14

第 I 欄 ヌクレオチド又はアミノ酸配列 (第 1 ページの 1. c の続き)

1. この国際出願で開示されたヌクレオチド又はアミノ酸配列に関して、以下に基づき国際調査を行った。

a. タイプ

☒ 配列表

☐ 配列表に関連するテーブル

b. フォーマット

☐ 紙形式

☒ 電子形式

c. 提出時期

☒ 出願時の国際出願に含まれていたもの

☐ この国際出願と共に電子形式により提出されたもの

☐ 出願後に、調査のために、この国際調査機関に提出されたもの

2. ☐ さらに、配列表又は配列表に関連するテーブルを提出した場合に、出願後に提出した配列若しくは追加して提出した配列が出願時に提出した配列と同一である旨、又は、出願時の開示を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった。

3. 補足意見：

第Ⅱ欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見（第1ページの2の続き）

法第8条第3項（PCT17条(2)(a)）の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. ☐ 請求項 _____ は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。
つまり、
2. ☐ 請求項 _____ は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
3. ☐ 請求項 _____ は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

第Ⅲ欄 発明の単一性が欠如しているときの意見（第1ページの3の続き）

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるところの国際調査機関は認めた。

請求項1に記載された41種類の一塩基多系を検出する緑内障のリスクを予測する方法に共通する事項は、「一塩基多系を検出する緑内障のリスクを予測する方法」であるが、「一塩基多系を検出する緑内障のリスクを予測する方法」は公知(JP 2007-529218 A)であるから、請求項1に記載された緑内障のリスクを予測する方法に共通する「特別な技術的特徴」は存在しないといえる。

したがって、請求項1-7には、41個の発明が包含されている。

また、一塩基多系を検出する緑内障のリスクを予測する方法を商業化するためのキットを作成することは当業者の技術常識であるから、請求項8-14にも同様に上述した理由により41個の発明が包含されている。

1. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求項について作成した。
2. ☒ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求項について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求項のみについて作成した。
4. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求項について作成した。

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- ☐ 追加調査手数料及び、該当する場合には、異議申立手数料の納付と共に、出願人から異議申立てがあった。
- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあったが、異議申立手数料が納付命令書に示した期間内に支払われなかった。
- ☐ 追加調査手数料の納付はあったが、異議申立てはなかった。