

令和元年6月19日現在

機関番号：17601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K10842

研究課題名(和文) X連鎖性網膜色素変性症の治療の試みと原因の解明

研究課題名(英文) Elucidation of the cause, and treatment of X-linked retinitis pigmentosa

研究代表者

直井 信久 (Nao-i, Nobuhisa)

宮崎大学・医学部・教授

研究者番号：50211412

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：われわれは、宮崎県山間部において黄斑変性および周辺部網膜変性を伴う新規の疾患を見いだした。まず、発症者9名について家系調査を行った。家系調査は8世代におよび、大きく2家系に分けられることを明らかにした。次に、種々の眼科的検査を行った。本疾患は遅発性で、網膜下沈着物を有する黄斑部および周辺部網膜の変性を特徴とする疾患であることを明らかにした。最後に、原因遺伝子の特定を試みた。本疾患と同様の表現型を呈する4つの既知の遺伝子について検討したが、発症者に共通する遺伝子変異は検出されなかった。そのため、ホールエクソームシーケンスを行った。その結果、原因遺伝子と考えられる新規の遺伝子を特定した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本疾患の特徴である網膜下沈着物は、他の疾患においても遭遇する所見である。網膜下沈着物の発生機序は明らかにされていない。本研究で明らかとなった、新規遺伝子の機能解析を進めることで、網膜下沈着物の発生機序および、網膜変性疾患の機序解明の一助となる可能性が示唆される。また、本疾患は、一部の患者において脈絡膜新生血管を伴う症例があることや、網膜下沈着物を伴うことから、加齢黄斑変性として診断・治療されている場合が存在する。本疾患が明らかになることで、適切な診断、さらには治療に繋がる可能性が示唆される。

研究成果の概要(英文)：We have found novel retinal degeneration disease in mountainous area of Miyazaki prefecture. Firstly, we have investigated of familial history with the novel disease, as a result, we detected two big pedigrees. Secondly, we have examined to various ophthalmologic examinations. As a result, features of the novel disease were late onset, and macular and peripheral retina degeneration with deposit. In the last, we have tried to detect of cause gene. We have examined to four gene, those gene have similar phenotype to the novel disease. As a consequence, we could not detect cause gene. For that reason, we have examined hole exome sequencing, as a result, we have detected cause gene.

研究分野：網膜変性疾患

キーワード：網膜変性

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

われわれは、日常診療において加齢黄斑変性症に類似するが、加齢黄斑変性とは異なり網膜周辺部の変性も伴う疾患があることに気づき、調査を開始した。平成 26 年度に宮崎県山間部地域、およびその出身者に見られる黄斑変性症を見いだした。臨床的には 50 歳代から黄斑変性を発症し、緩徐に進行し、最終的には周辺部まで変性が進むのが特徴である。

2. 研究の目的

われわれが見いだした、宮崎県山間部地域、およびその出身者に見られる黄斑変性症について、創始者を特定し、臨床的特徴を解明すること。さらに、遺伝子解析を行うことによりその原因遺伝子を見だし、原因を明らかにするとともに、治療法を模索することである。

3. 研究の方法

(1)家系調査

発症者およびその家族や、宮崎県山間部地域の住民から、可能な限り遡った家系情報および眼疾患に関する情報を取得した。次に、聞き取り可能な家系情報に限界があったため、対象家族の同意を得た後に、宮崎地方法務局へ【学術研究等のための戸籍(除籍)に記載した事項に係る情報の提供】を申請した。各市町村より提供された除籍から聞き取りでは得られなかった家系情報を取得した。また、当該地域の歴史に関する文献から、創始者および本疾患の地域的特徴についても検討した。

(2)臨床的特徴の検討

まず、問診において発症年齢、夜盲の有無、自覚症状を取得した。次に、視力、屈折、検眼鏡的眼底検査、眼底写真、光干渉断層計(OCT)、動的視野検査(Goldmann 視野)、網膜電図(全視野網膜電図、黄斑局所網膜電図、他局所網膜電図)等の眼科的検査を実施した。

(3)遺伝子解析

Sorsby fundus dystrophy (SFD)、Doyle-Hancom retinal degeneration/Malattia Leontines (DHRD/ML)、late-onset retinal degeneration (LORD)などの、遺伝性網膜黄斑変性疾患は、ドルーゼン形成、細胞外マトリクスタンパクの蓄積、ブルッフ膜の肥厚、網膜色素上皮萎縮、最終的な視力喪失などを成人で発症する。これらの疾患は単一遺伝子疾患であり、tissue inhibitor of metalloproteinase 3 (TIMP3)、EGF-containing fibulin-like extracellular matrix protein 1 (EFEMP1)、C1q and tumor necrosis factor related protein 5 (C1QTNF5)が原因遺伝子として特定されている。ダイレクトサンガーシーケンスは、表現型の類似する SFD、DHRD/ML、LORD の原因遺伝子である TIMP3、EFEMP1、C1QTNF5 および、多様な表現型の網膜変性疾患を呈する peripherin-2/retinal degeneration slow (PRPH2/RDS)の 4 遺伝子について実施した。ダイレクトサンガーシーケンスおよび、次世代シーケンサーを用いたホールエクソームシーケンスは、発症者および家族より提供いただいた血液から、抽出キットを用いて抽出した DNA を用いて実施した。

4. 研究成果

(1)家系調査

8 名の発端者について詳細な家系調査を実施し、40 名の発症者を特定した。全ての発症者は、宮崎県山間部地域、またはその出身者であることが確認された。また、全ての家系を遡って調査したところ、3 家系に大別されることが明らかとなったが、明治 4 年(1871 年)の戸籍法制定以前の家系情報については戸籍の管理が十分でなかったため、更に遡ることはできなかった。また、眼疾患についての情報収集にも限界があり、創始者の特定には至らなかった。しかし、当該地域の歴史や、戸籍(除籍)情報から、限定的な地域であったと考えられ、当該地域に創始者が存在し、そこから本疾患が広まったと推定された。家系調査から、本疾患は常染色体優性遺伝であると考えられた。

(2)臨床的特徴の検討

本疾患は、すべての症例が両眼発症で、平均発症年齢 59 歳(発症者の多くは 60 代)と遅発性であり、初発症状としては視力低下が多く、夜盲を自覚する症例が多かった。平均視力は 0.7logMAR(小数視力 0.2)で、平均の等価球度数は+1.25D であった。視力と罹患期間において、弱い負の相関を認め、罹患期間が 8 年以上の症例は 0.7logMAR 以上の重篤な視力低下を示した。特徴的な眼底所見は、黄白色の網膜下沈着物を伴う黄斑部および周辺網膜の進行性の変性であり、網膜変性部位では視野異常を認め、中心暗点を呈する症例が多く認められた。OCT では、黄白色の網膜下沈着物が網膜色素上皮とブルッフ膜の間に位置することが確認され、広汎な網膜外層の萎縮を認めた。全視野網膜電図の Flash ERG と視力には負の相関があった。また、いくつかの症例において、脈絡膜新生血管の発生およびそれに伴う視力の低下を認めた。加齢黄斑変性との鑑別も含め、経過観察において注意を要する所見であると考えられた。

(3)遺伝子解析

われわれはまず、表現型の類似する 3 遺伝子(C1QTNF5、EFEMP1、TIMP3)と、多様な表現型を示す PRPH2/RDS について、サンガーダイレクトシーケンスを実施した。C1QTNF5 と EFEMP1 は発症者 6 例、TIMP3 と PRPH2/RDS は発症者 7 例について解析を行った。全ての症例においてヌル突然変異は認めず、発症者に共通した遺伝子変異も検出されなかった。そのため、新規遺伝子の関与を念頭に、次に発症者 12 例および眼科的検査を行い正常者と確認できた 7 例についてホ

ールエクソームシーケンスを実施した。発症者に共通して変異を認め、かつ正常者において変異のない遺伝子を2つ特定した。2つの遺伝子はこれまでに網膜変性疾患との関連について報告のない遺伝子であった。われわれは原因遺伝子特定のため、ノックアウトマウスを作成し表現型を観察した。一方の遺伝子ノックアウトマウスにおいて、ヒトと同様の網膜下沈着物を観察し、本疾患の原因遺伝子であると考えられた。当該遺伝子については、引き続き機能解析を進めていく予定である。

(なお本変性症の研究についてはまだ遺伝子解析の最終結果が出ていないために公表できず、これ以上の詳細を記載することは差し控えたい)

<引用文献>

Hayward C, Shu X, Cideciyan AV, Lennon A, Barran P, Zareparsy S, Sawyer L, Hendry G, Dhillon B, Milam AH, Luthert PJ, Swaroop A, Hastie N, Jacobson SG, Wright AF. Mutation in a short-chain collagen gene, CTRP5, results in extracellular deposit formation in late-onset retinal degeneration: a genetic model for age-related macular degeneration. *Hum Molec Genet* 12; 2657-2667, 2003.

Evans K, Gregory CY, Wijesuriya SD, Kermani S, Jay MR, Plant C, Bird AC. Assessment of the phenotypic range seen in Doyme honeycomb retinal dystrophy. *Arch Ophthalmol* 115(7); 904-910: 1997.

Wijesuriya SD, Evans K, Jay MR, Davison C, Weber BHF, Bird AC, Bhattacharya SS, Gregory CY. Sorsby's fundus dystrophy in the British Isles: demonstration of a striking founder effect by microsatellite-generated haplotypes. *Genome Res* 6; 92-101: 1996.

Stuck MW, Conley SM, Naash MI. PRPH2/RDS and ROM-1: Historical context, current views and future considerations. *Prog Retin Eye Res* 52; 47-63: 2016.

5. 主な発表論文等

~~〔雑誌論文〕(計——件)~~

〔学会発表〕(計 2件)

直井信久、世界を視野に地域から始めよう-網膜変性を考える-、第89回九州眼科学会基調講演、2019

直井信久、網膜変性の電気生理と長期経過、Japan Macula Club 第19回学術講演会、2017

直井信久、宮崎県にみられる黄斑変性症について、Japan Macula Club 第17回学術講演会、2015

~~〔図書〕(計——件)~~

~~〔産業財産権〕~~

~~—出願状況(計——件)—~~

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年:

国内外の別:

~~—取得状況(計——件)—~~

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年：
国内外の別：—

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：中馬 秀樹

ローマ字氏名：Hideki Chuman

所属研究機関名：宮崎大学

部局名：医学部

職名：准教授

研究者番号(8桁)：20244204

研究分担者氏名：杉本 貴子

ローマ字氏名：Takako Sugimoto

所属研究機関名：宮崎大学

部局名：医学部

職名：助教

研究者番号(8桁)：40381074

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。