

平成22年 5月28日現在

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2007～2009

課題番号：19592042

研究課題名（和文）網膜ジストロフィにおける遺伝子異常と疾患表現型の相関研究

研究課題名（英文）Relationship between genotypes and phenotypes in patients with retinal dystrophies

研究代表者

林 孝彰 (Hayashi Takaaki)

東京慈恵会医科大学・医学部・講師

研究者番号：10297418

研究成果の概要（和文）：

網膜ジストロフィとは、体質的(遺伝的)なことが原因で進行性に見にくくなる病気です。現時点で有効な治療がないだけでなく、原因となる遺伝子の異常ですら多くの疾患で突き止められていない現状があります。今回、網膜ジストロフィの病態と原因(遺伝子異常)を探索したところ、日本人では、欧米人でみられる原因と異なることが明らかになりました。さらに多くの疾患でその原因が明らかにされれば将来の治療法に向けた研究に貢献できる可能性があります。

研究成果の概要（英文）：

Retinal dystrophies cause genetically and progressively visual disturbances. To date, any effective treatments have never been available. In addition, pathological gene mutations have not been found in most of retinal dystrophies. We investigated the disease features and the causative genes in the Japanese patients with retinal dystrophies. It was demonstrated that the gene mutations we identified were different from those identified in other ethnic populations. We believe that identification of gene mutations holds promise for treatment of retinal dystrophies.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2008年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2009年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研ひの分科・細目：外科系臨床医学・眼科学

キーワード：分子遺伝学、遺伝子診断、遺伝性網脈絡膜疾患

1. 研究開始当初の背景

網膜ジストロフィの大部分は、遺伝性で多種の疾患が含まれる。病初期における網膜視細胞もしくは網膜色素上皮細胞の機能障害

が共通の特徴である。

近年の分子生物学および分子遺伝学の進歩に伴い、疾患発症のメカニズムが遺伝子レベル、蛋白質レベルで明らかになってきてい

る。

一方、治療に関しては、決定的なものはないが、遺伝子治療、再生治療などの研究が、盛んになり将来、ヒトへの応用が期待されている。しかしながら、病気の首座が眼球に制限されているという特殊上、このような治療のヒトへの応用は、全身的合併症を十分検討する必要があり、慎重にならざるを得ない状況にある。

現時点では、網膜ジストロフィに対する根本治療が存在しない中で、原因遺伝子の構造異常や変異遺伝子の発現を調べることは、病態解明につながるだけでなく、分子レベルでの予防法・治療法開発の発展へ向け重要であると考えられる。

2. 研究の目的

本研究は、網膜ジストロフィのなかで、単一遺伝子疾患によると考えられている遺伝性網膜疾患について、候補遺伝子の分子遺伝学的アプローチにより、日本人特有の遺伝子変異を検出し、表現型である眼科的臨床所見と遺伝子型の関連性について明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

- (1) 遺伝子解析に対し、インフォームド・コンセントを得た後、末梢静脈血を採取し、白血球分離後、高分子ゲノム DNA を抽出
- (2) 網膜ジストロフィのなかで白点状眼底 (*RDH5*)、小口病 (*SAG*, *RHOR*)、家族性ドルーゼンに対し (*EFEMP1*)、Enhanced S-cone syndrome (*NR2E3*) に対し、各エクソンの塩基配列を決定
- (3) 正常型と比較検討し、遺伝子変異が疑われた際、データベースサーチを行い、遺伝子変異を同定
- (4) 家族からの DNA を採取し、ハプロタイプ解析を施行、海外で報告されたハプロタイプと比較検討

4. 研究成果

- (1) 白点状眼底に増殖糖尿病網膜症と錐体ジストロフィを合併した症例で、*RDH5* 遺伝子に、複合ヘテロ接合変異 (R280H, L310delinsEV) が検出された。白点状眼底にみられた小白点が、増殖糖尿病網膜症への進展によって消退傾向を示した可能性が考えられ、遺伝子診断が有用であることを明らかにした。
- (2) 小口病は非進行性と考えられている。両眼進行性視野異常と錐体機能障害を合併した小口病症例で、*SAG* 遺伝子にホモ接合変異 (1147delA) が検出された。1147delA 変異陽性小口病では、錐体機能低下や進行性の視野障害をきたす可能性が明らかにされた。
- (3) 家族性ドルーゼンとして知られている

Malattia Leventinese (ML)/ Doyne honeycomb retinal dystrophy (DHRD) は、常染色体優性遺伝の黄斑ジストロフィである。その原因として *EFEMP1* 遺伝子のミスセンス変異 (R345W) が唯一の遺伝子変異として報告 (欧米症例のみ) されていたが、本邦で遺伝子変異の報告はなかった。家族性ドルーゼンと診断された日本人 1 家系について、海外で報告された ML/DHRD 家系と疾患ハプロタイプについて比較検討したところ、発端者を含む 4 症例すべてに R345W 変異をヘテロ接合で認めた。疾患ハプロタイプについては、遺伝子変異周辺 (3.4 Mb) の 1 塩基多型 (SNPs) およびマイクロサテライトマーカを用い、インド人家系・米人家系と比較した結果、R345W 変異周辺のマーカ配列はインド人・欧米人のものと明らかに異なっていた。このように日本人家系では、過去の報告と異なるハプロタイプを有しており、日本人家系の祖先で R345W 遺伝子変異が独立に発生した可能性が明らかにされた。

(4) Enhanced S-cone syndrome (ESCS) は、常染色体劣性遺伝のまれな網膜ジストロフィである。ESCS 症例で、新規の *NR2E3* 遺伝子変異 (C83Y) が同定された。その臨床像は、若年性の視力障害、視野障害をきたし、網膜電図の特徴から、非常に重症度が高いことが明らかにされた。

(5) 本研究から、過去に停在性 (非進行性) 疾患と考えられていた疾患が、進行性の視機能障害をきたす可能性があること、日本人特有の遺伝子変異があること、日本人には存在しないと考えられていた疾患が実際には存在していたこと、欧米症例と同一遺伝子変異であっても、ハプロタイプが異なることなどを明らかにした。しかし、網膜ジストロフィ遺伝子変異と病態の関連性については、さらなる検討が必要と考えられる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 11 件)

(1) 並木祐子, 林孝彰ほか. 黄斑部錐体機能低下による後天青黄色覚異常を合併した小口病. 日本視能訓練士協会誌 (印刷中)

(2) 高杉麻希, 林孝彰ほか. *OPAI* 遺伝子変異を有する常染色体優性視神経萎縮の黄斑機能. 日本視能訓練士協会誌 (印刷中)

(3) Takeuchi T., Hayashi T., Bedell M. et al.: A novel haplotype with the R345W mutation in the *EFEMP1* gene associated with autosomal dominant drusen in a Japanese family. Invest Ophthalmol Vis Sci

(4) 林孝彰, 月花環, 根岸裕也ほか. 増殖糖尿病網膜症および錐体ジストロフィを合併し *RDH5* 遺伝子変異を認めた白点状眼底. 臨床眼科 2010 ; 64 : 495-502.

(5) Goto A, Akahori M, Okamoto H, Minami M, Terauchi N, Haruhata Y, Obazawa M, Noda T, Honda M, Mizota A, Tanaka M, Hayashi T et al: Genetic analysis of typical wet-type age-related macular degeneration and polypoidal choroidal vasculopathy in Japanese population. J Ocul Biol Dis Infor 2009 ; 2 : 164-175.

(6) 葛西梢, 林孝彰, 竹内智一ほか. 先天赤緑色覚異常と錐体ジストロフィに伴う後天色覚異常の合併を遺伝子解析により診断した1例. 臨床眼科 2009 ; 63 : 1809-1816.

(7) 林孝彰, 竹内智一, 月花環ほか. 63歳時に輪状暗点を契機に診断され *SAG* 遺伝子変異 (1147delA) が認められた小口病. 臨床眼科 2009 ; 63 : 315-321.

(8) 林孝彰, 竹内智一, 久保朗子ほか. 男性先天赤緑色覚異常者における遺伝子診断の有用性. 臨床眼科 2008 ; 62 : 1589-1594.

(9) 林孝彰, 竹内智一, 常岡寛. 2型3色覚と診断された女性先天赤緑色覚異常者に対する遺伝子診断の試み. 臨床眼科 2008 ; 62 : 1763-1767.

(10) Hayashi T, Gekka T, Takeuchi T et al: A novel homozygous *GRK1* mutation (P391H) in two siblings with Oguchi disease with markedly reduced cone responses. Ophthalmology 2007 ; 114 : 134-141.

(11) Hayashi T, Takeuchi T, Gekka T et al: Dominant optic atrophy in a Japanese family with *OPAI* frameshift mutation (V942fsX966). Eur J Ophthalmol 2007 ; 17 : 253-258.

[学会発表] (計13件)

(1) 林孝彰 ほか. 新規 *PRPH2* (*RDS/Peripherin*) 遺伝子変異を認めた常染色体優性網膜色素変性症の1家系. 第114回日本眼科学会総会 2010年4月名古屋

(2) 近藤寛之, 林孝彰 ほか. わが国の Stickler 症候群にみられた *COL2A1* 遺伝子異常とその臨床像. 第114回日本眼科学会総会 2010年4月名古屋

(3) Hayashi T. Clinical and molecular genetic analysis of Malattia Leventinese/Doyne honeycomb retinal dystrophy. 2009 Korea-Japan Joint Symposium of Clinical Electrophysiology of Vision. 第57回日本臨床視覚電気生理学学会学術集会, 2009年10月千葉

(4) 林孝彰 ほか. 増殖糖尿病網膜症および錐体ジストロフィを合併した白点状眼底. 第63回日本臨床眼科学会, 2009年10月福岡

(5) 高杉麻希, 林孝彰 ほか. *OPA1* 遺伝子変異が原因による常染色体優性視神経萎縮の黄斑機能. 第50回日本視能矯正学会, 2009年10月東京

(6) 並木祐子, 林孝彰 ほか. 黄斑部錐体機能低下による後天青黄色覚異常を合併した小口病. 第50回日本視能矯正学会, 2009年10月東京

(7) 林孝彰. シンポジウム 12: 色覚を科学する. 遺伝性網脈絡膜・視神経疾患と色覚. 第45回日本眼光学学会総会, 2009年6月東京

(8) 関麻子, (林孝彰) ほか. 日本人における滲出型AMDのゲノムワイド相関解析. 第113回日本眼科学会総会 2009年4月東京

(9) 林孝彰 ほか. 新規 *FZD4* 遺伝子変異 (p. G530E) を認めた家族性滲出性硝子体網膜症. 第47回日本網膜硝子体学会, 2008年11月京都

(10) 林孝彰 ほか. 63歳時に輪状暗点を契機に診断され *SAG* 遺伝子変異 (1147delA) が認められた小口病. 第62回日本臨床眼科学会, 2008年10月東京

(11) 林孝彰 ほか. 新規 *REP-1* (*CHM*) 遺伝子変異 (IVS6-2A>T) を認めたコロイデレミアの1家系. 第112回日本眼科学会総会 2008年4月横浜

(12) Hayashi T et al. Improvement of S-cone mediated visual fields and rod function after correction of vitamin A deficiency. European Association for Vision and Eye Research (Portoroz, Slovenia) 2007 Oct

(13) 林孝彰. シンポジウム: 遺伝情報の眼科臨床応用への展望. 色覚異常における遺伝情報の眼科臨床応用. 第111回日本眼科学会総会 2007年4月大阪

6. 研究組織

(1) 研究代表者

林 孝彰 (Hayashi Takaaki)

東京慈恵会医科大学・医学部・講師

研究者番号：10297418