

令和 5 年 6 月 7 日現在

機関番号：14202

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2022

課題番号：19K18842

研究課題名（和文）先天赤緑色覚異常における遺伝子アレーの研究

研究課題名（英文）Research of gene arrays in congenital red-green color blindness

研究代表者

岩佐 真紀（Iwasa, Maki）

滋賀医科大学・医学部・助教

研究者番号：70792844

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 1,200,000円

研究成果の概要（和文）：日本人先天赤緑色覚異常の視物質遺伝子解析を行った。対象はアノマロスコープで診断された1型2色覚2例、1型3色覚4例、2型2色覚9例、2型3色覚11例。77%(20/26)で表現型と遺伝子型が一致したが、6症例はアノマロスコープの診断と遺伝子型が異なった。6症例については遺伝子解析で色覚異常の原因が明らかにならず、新規の遺伝子変異は見つからなかった。視物質遺伝子の多様性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

先天赤緑色覚異常はX連鎖性潜性遺伝で日本人男性の20人に1人の割合で認められる。現在有用な治療法はなく、色覚特性も個人差が大きく眼科診療のなかでは正確な指導を行うことが難しい疾患である。臨床ではアノマロスコープによる確定診断が確率されているが、色覚異常のメカニズムを遺伝的観点から解明することは、重要である。本研究で解析された日本人先天色覚異常の遺伝的多様性が、将来治療につながる可能性がある。

研究成果の概要（英文）：We performed a visual substance gene analysis of Japanese congenital red-green color blindness. The subjects were 2 patients with protanopia, 4 patients with protanomaly, 9 patients with deuteranopia, and 11 patients with deuteranomaly diagnosed with anomaloscope. Phenotype and genotype matched in 77% (20/26), but 6 cases had different anomaloscope diagnoses and genotypes. In six cases, genetic analysis did not reveal the cause of color blindness, and no new genetic mutations were found. The diversity of a visual substance genes was suggested.

研究分野：眼科

キーワード：先天赤緑色覚異常

1. 研究開始当初の背景

先天赤緑色覚異常は X 連鎖性遺伝であり、L,M,S 錐体いずれかの視物質が欠損すると色覚異常となる。日本人男性の 20 人に 1 人と頻度が高い疾患であり、色覚異常の程度によって就業などに影響を及ぼす。視物質の欠損は遺伝子異常が原因と考えられているが、遺伝子配列から色覚異常の病因説明がなされない症例も存在している。さらに日本人先天色覚異常では 10%以上が L-M の正常遺伝子アレーをもつと報告されている。

2. 研究の目的

本研究の目的は先天赤緑色覚異常の視物質遺伝子の解析を行い、新たな遺伝子変異を発見することである。特に正常遺伝子アレーをもつ症例について LCR, プロモーター領域を含めた解析を行い色覚異常の原因を解明する。また先天色覚異常の確定診断ができる唯一の検査はアノマロスコープであるが、近年 L,M,S 錐体別色コントラストで錐体機能を定量化する ColorDx[®] CCT-HD[®](以下 CCT)(Konan 社)が臨床で用いられている。型判定はアノマロスコープと一致するが、遺伝子解析の結果と比較検討した報告はない。今回小数例であるが、先天色覚異常の遺伝子型と CCT の結果を検証し、CCT から遺伝子型が予測できるか検討する。

3. 研究の方法

滋賀医科大学色覚外来を受診した先天色覚異常の方で、インフォームドコンセントを得られた方から採血を行った(滋賀医科大学倫理委員会承認、承認番号 13-7)。静脈血からゲノム DNA を抽出した。L/M 視物質遺伝子は相同性が高いため、ゲノム DNA を直接鋳型としてエキソン増幅のため PCR を行うと、どちらの遺伝子からも同時に増幅されるため、ロング PCR で先頭の遺伝子(通常 L 遺伝子)と後続の遺伝子(通常 M 遺伝子)を別々に PCR 増幅し、その産物を鋳型にした二次 PCR で各エキソンを増幅した。その後各エキソンのシーケンシングを行った。ロング PCR で後続遺伝子が増幅されなければ、視物質遺伝子アレーには 1 個の遺伝子しかない。1 遺伝子であるかは、2 回以上ロング PCR をかけて確認した。また、先頭遺伝子後続遺伝子とも、L か M かはエキソン 5 で判定した。

正常の並び(L-M)をもった例について、先頭プロモーターの PCR 増幅を行い塩基置換がないか解析をおこなった。後続遺伝子のプロモーターの 21(G/A)と 71(A/C)については全例解析をおこなった。

遺伝子解析が行われた症例でかつ色覚外来で CCT を施行した症例について、遺伝子解析の結果と CCT とアノマロスコープの結果について関係を調べた。

4. 研究成果

本研究ではアノマロスコープで先天赤緑色覚異常と診断された日本人男性 26 症例について遺伝子解析を行った。平均年齢 17.4±11 歳。全例、両眼とも矯正視力 1.0 以上であり、前眼部・中間透光体・眼底に異常を認めなかった。

➤ 1 型 2 色覚 (2 例)

• 「M」アレー (1 例: #1162)

- 「L-M」アレー (1例: #1184)

「M」アレーは1型2色覚の遺伝子型であり、#1162は表現型と遺伝子型が一致した。「L-M」アレーは正常の遺伝子の並びである。#1184は先頭後続遺伝子とも変異をみとめず、プロモーター、LCRに変異を認めなかった。

➤ 1型3色覚(4例)

- 「M-M」アレー (3例: #1189、#1198、#1201)
- 「M-L」アレー (1例: #1172)

「M-M」アレーは1型3色覚の遺伝子型であり、#1189、#1198、#1201は表現型と遺伝子型が一致した。「M-L」アレーは通常どの表現型にもあてはまらない。#1172の後続L遺伝子は変異を認めず、プロモーターも変異をみとめず、確定不能であった。

➤ 2型2色覚(9例)

- 「L」アレー (4例: #1140、#1161、#1165、#1171)
- 「L-L」アレー (4例: #1155、#1161、#1163、#1164)
- 「L-M」アレー (1例: #1159)

「L」アレー、「L-L」アレーは2型2色覚の遺伝子型である。上記8症例は表現型と遺伝子型が一致した。「L-M」アレーは正常遺伝子の並びである。#1159は後続M遺伝子含む全領域に変異を認めず正常遺伝子であった。

➤ 2型3色覚(9例):

- 「L-L」アレー (1例: #1202)
- 「L-L」アレー (4例: #1149、#1180、#1190、#1192)
- 「L-M」アレー (3例: #1141、#1142、#1179)
- 「M-M」アレー (1例: #1183)

「L-L」アレーは2型2色覚の遺伝子型である。#1202はアノマロスコープの等色幅が10-25と狭く典型的な2型3色覚であった。先頭後続L遺伝子とも変異を認めず先頭L遺伝子と後続L遺伝子産物の吸収特性に差はないと推測される。「L-L」アレーは2型3色覚の遺伝子型である。#1149、#1180、#1190、#1192は表現型と遺伝子型が一致した。「L-M」アレーは正常遺伝子の並びであるが、#1141、#1142はM遺伝子に71A Cの塩基置換が存在し後続M遺伝子の発現低下が推測された。そのため2型3色覚の遺伝子型と一致する。#1179は先頭L遺伝子のエキソン3にL,M遺伝子配列が混在していたが、それ以外の変異は認めず表現型と遺伝子型が一致しない。#1183は「M-M」遺伝子アレーとなり1型2色覚で認められる遺伝子型である。各エキソンに変異を認めず。表現型と遺伝子型一致しない。

➤ Pigment color defect : PCD (2例)

- 「L-M」アレー (2例: #1166、#1188)

PCDはアノマロスコープの等色中央値が30-50で、等色幅が15を超えない2型3色覚である。今回は2症例が該当し、いずれも「L-M」アレーであった。1166、#1188ともM遺伝子に71A Cの塩基置換が存在し後続M遺伝子の発現低下が推測された。

今回解析した26症例で表現型と遺伝子型が一致する症例は16症例、正常遺伝子アレーであ

が、M 遺伝子に 71A C の塩基置換が存在し表現型と遺伝子型が一致した症例が 4 例。77% (20/26) で一致した。6 症例はアノマロスコープでは典型的な表現型を呈しているが、遺伝子型を一致させるような新たな変異を認めなかった。先天赤緑色覚異常のすべてが L-M 遺伝子の変異で説明できるわけではないことが示唆される。

追加研究として、CCT を測定した 9 症例の遺伝子解析との結果を検証した。CCT スコアは L,M,S それぞれの錐体色コントラストを測定している。1 型色覚では L-CCT スコアが低下し、2 型色覚では M - CCT スコアが低下する (Fig1)。1 型 2 色覚と 1 型 3 色覚の判別診断、2 型 2 色覚と 2 型 3 色覚の判別診断は難しいが、1 型か 2 型かの型判定はアノマロスコープと一致する (Table2)。

Figure 1. RCCT results for each cone are compared between the CVD groups and the control group.

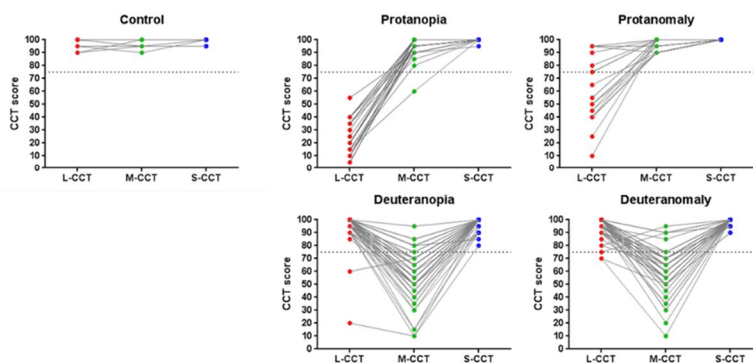


Table2. Results of color vision test

	Examination with anomaloscope	
	Protan(n=45)	Deutan(n=116)
Ishihara test		
Protan	18(40%)	0
Deutan	14(31.1%)	113(97.4%)
Unknown	12(26.7%)	2(1.7%)
Normal	1(2.2%)	1(0.9%)
RCCT test		
Protan	43(95.6%)	3(2.6%)
Deutan	1(2.2%)	113(97.4%)
Unknown	1(2.2%)	0

ARVO,2020 iwasa

遺伝子解析を行った 9 症例の CCT スコア、アノマロスコープの等色域を表に示す。

	CCT score			Rayleigh match ranges (アノマロスコープ)	診断	遺伝子解析
	L-CCT	M-CCT	S-CCT			
#1184	-25	85	113	0 - 73.0	P	L-M
#1201	31	77	115	65.0 - 67.5	PA	M-M'
#1140	90	26	132	0 - 73.0	D	L
#1159	84	24	120	0 - 73.0	D	L-M
#1163	83	36	109	0 - 73.0	D	L-L
#1141	56	32	69	13.0 - 30.0	DA	L-M and-71A>C in the M gene
#1142	84	20	98	25.0 - 42.0	DA	L-M and-71A>C in the M gene
#1180	110	102	111	35.0 - 42.0	DA	L-L'
#1179	102	29	128	13.0 - 17.0	DA	L/M-M

#1184、#1159 のような表現型が 1 型、2 型色覚異常であるが、遺伝子型が正常遺伝子では CCT スコアの低下が認めない可能性も考えられたが、アノマロスコープの結果同様、遺伝子型が正常でも CCT の表現型は典型的な 1 型、2 型色覚異常となっている。#1184、#1159、#1179 の 3 例は CCT の型と遺伝子型が一致しなかった。CCT スコアから遺伝子型を予測することは困難であると考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 0件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 竹本俊旭 岩佐真紀 多賀崇 大路正人	4. 巻 14
2. 論文標題 重症血友病A患者に対し斜視手術を行った一例	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 眼科臨床紀要	6. 最初と最後の頁 838-842
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 袖川智大 柿木雅志 岩佐真紀 大路正人	4. 巻 15
2. 論文標題 網膜剥離手術後32年経過してマイラゲルを除去した1例	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 眼科臨床紀要	6. 最初と最後の頁 743 - 748
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 岡本庄一郎 岩佐真紀 柿木雅志 多賀崇 大路正人	4. 巻 15
2. 論文標題 眼底出血を呈した小児再生不良性貧血の1例	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 眼科臨床紀要	6. 最初と最後の頁 727 - 731
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計8件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 岩佐真紀
2. 発表標題 色覚異常の診断と指導 「先天色覚異常の遺伝」
3. 学会等名 第75回日本臨床眼科学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 岩佐真紀 室谷沙希 大路正人
2. 発表標題 滋賀医科大学におけるplication法を施行した外斜視手術症例の術後成績
3. 学会等名 第77回日本弱視斜視学会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 岩佐真紀、多賀崇、大路正人
2. 発表標題 血友病A患者に対し、外斜視手術を行った経験
3. 学会等名 斜視弱視学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 岩佐真紀
2. 発表標題 色覚異常の診断と指導「先天性覚異常の遺伝」
3. 学会等名 第74回日本臨床眼科学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Maki Iwasa, Sanae Muraki, Shinichi Yamade, Masahito Ohji
2. 発表標題 Evaluation of congenital color vision deficiency using the Rabin cone contrast test.
3. 学会等名 ARVO (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 岩佐真紀
2. 発表標題 色覚異常の診断と指導 「先天性色覚異常の遺伝」
3. 学会等名 第73回日本臨床眼科学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 岩佐真紀 上山久雄 扇田久和 大路正人
2. 発表標題 先天赤緑色覚異常における視色素遺伝子解析とCone contrast test
3. 学会等名 第68回日本生化学学会近畿支部例会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 岩佐真紀 上山久雄 扇田久和 大路正人
2. 発表標題 先天赤緑色覚異常における視色素遺伝子解析とCone contrast test
3. 学会等名 第76回日本臨床眼科学会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計3件

1. 著者名 岩佐真紀、村木早苗	4. 発行年 2020年
2. 出版社 メディカル葵出版	5. 総ページ数 8
3. 書名 あたらしい眼科9、色覚異常の診断に必要な検査と対応方法	

1. 著者名 仁科幸子 林思音編集	4. 発行年 2022年
2. 出版社 株式会社 全日本病院出版会	5. 総ページ数 318
3. 書名 ファーストステップ！子どもの視機能をみる わたしの色覚診療	

1. 著者名 大路正人 他 編集	4. 発行年 2022年
2. 出版社 医学書院	5. 総ページ数 1143
3. 書名 今日の眼疾患治療指針 検査総論「色覚異常と色覚検査」「光覚検査」「転換性障害」	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------