

retinitis pigmentosa, study of the rate of progressive in different genetic forms. Trans AM Ophthalmol Soc. 77:643-56, 1979.

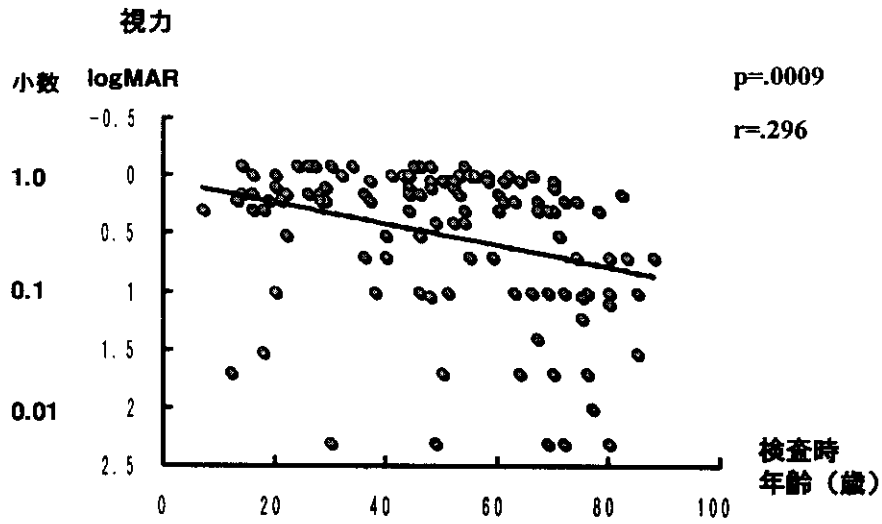


図1：検査時年齢と検査時視力の関係。 $P=0.0009$, $r=0.296$ と両群間に有意な相関関係を認めた。

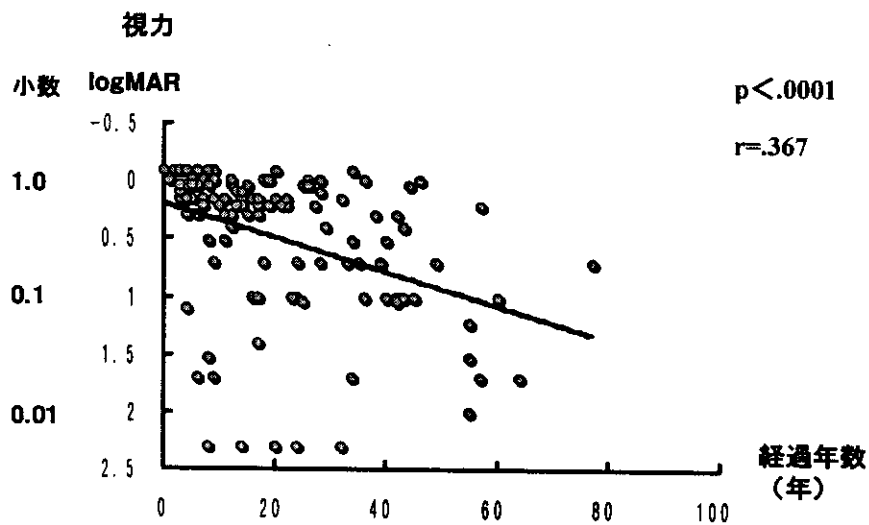


図2：経過年数と検査時視力の関係。 $P<0.0001$, $r=0.367$ と両群間に有意な相関関係を認めた。

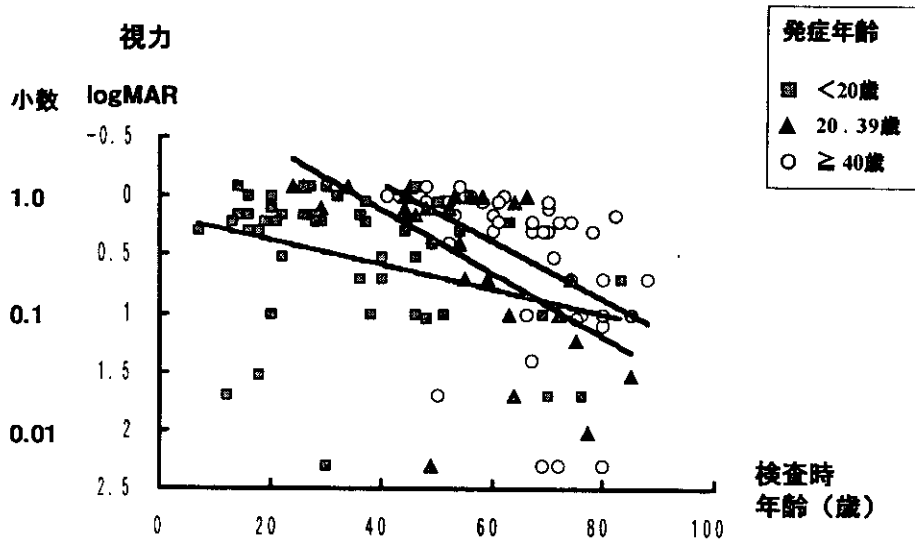


図3：発症年齢別の検査時年齢と視力の関係。灰色の四角：発症年齢20歳未満，黒三角：20歳以上40歳未満，白丸：40歳以上。それぞれ $p \leq 0.05$ と有意に相関した。

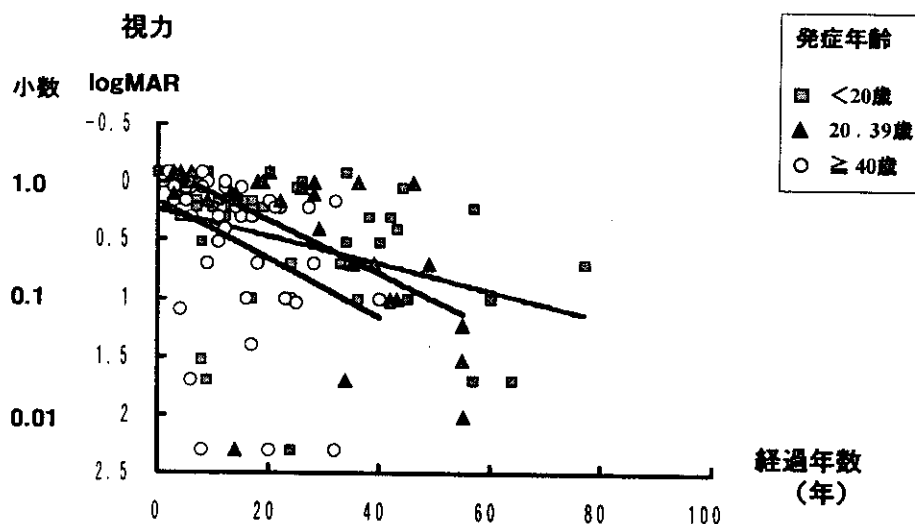


図4：発症年齢別の経過年数と視力の関係。灰色の四角：発症年齢20歳未満，黒三角：20歳以上40歳未満，白丸：40歳以上。いずれも $p \leq 0.05$ と有意に相関した。

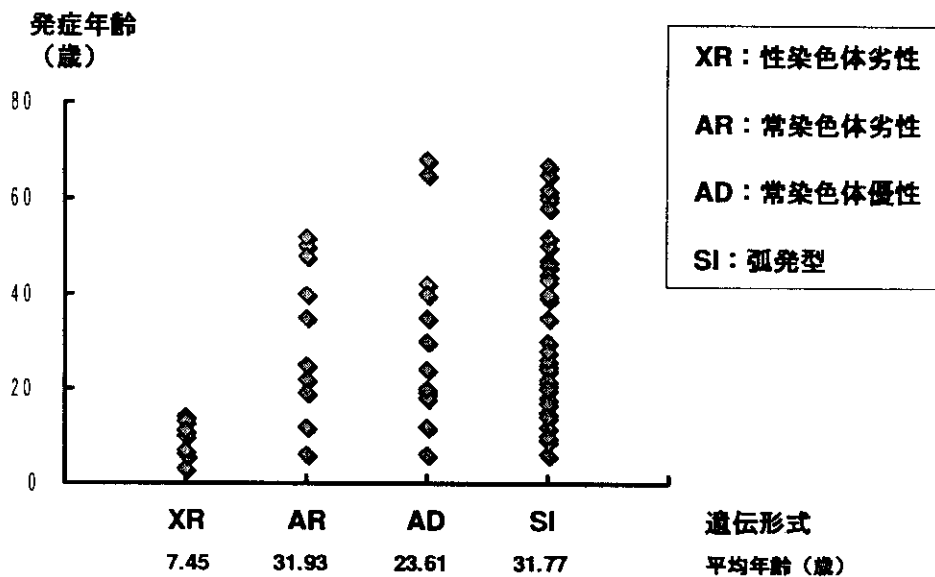


図5：遺伝形式別の発症年齢分布。

白点状眼底の遺伝子異常の解析

Analysis of genotype in patients with Fundus Albipunctatus

関谷恵悟 中沢満 (弘前大眼科)、臼井知聡 谷本直之 長谷川茂 阿部春樹 (新潟大眼科)

Keigo Sekiyai, Mitsuru Nakazawa, Tomoaki Usui², Naoyuki Tanimoto²,

Shigeru Hasegawa², Haruki Abe²

1: Department of Ophthalmology, Hirosaki University School of Medicine

2: Department of Ophthalmology, Niigata University School of Medicine

【抄録】

目的 白点状眼底の症例におけるRDH5遺伝子異常の検索。白点状眼底に類似した疾患におけるRDH5遺伝子異常の有無の検索。

対象 臨床的に明らかに白点状眼底の2家系2例と、臨床的に白点状眼底類似の白点を示した2症例。

方法 RDH5遺伝子の全翻訳領域をPCR法にて増幅し、direct sequence法にて塩基配列を決定した。

結果 臨床的に白点状眼底と診断された2家系2例にRDH5遺伝子の新規変異を含む2種類の変異が検出された。白点状眼底類似の眼底像を示しながら、夜盲のなかった2症例にはRDH5遺伝子異常は見られなかった。

結論 白点状眼底におけるRDH5遺伝子変異には多様性がみられた。現在のところ白点状眼底以外の病型にRDH5遺伝子異常は見つかっていない。

Purpose. To identify the variability of a mutation of the RDH5 gene in patients with fundus albipunctatus. And to search for a mutation in the RDH5 gene in patients with flecked retina syndrome other than fundus albipunctatus.

Object. Two patients from 2 unrelated families with fundus albipunctatus and 2 patients from 2 unrelated families with other flecked retina syndrome.

Methods. Genomic DNA was isolated from leukocytes of each patient's blood. The sequence from exon 2 to exon 5 of the RDH5 gene was amplified by polymerase chain reaction (PCR). The DNA fragment was directly sequenced to identify the mutation in the RDH5 gene.

Results. Two kinds of mutations in the RDH5 gene were identified in patients with fundus albipunctatus. No abnormality in the RDH5 gene was identified in patients with many white dots same as fundus albipunctatus scattered in the retina.

Conclusions. The variability of mutation in the RDH5 gene was identified in patients with fundus albipunctatus. No abnormality in the RDH5 gene was identified in patients with another disease except for fundus albipunctatus.

キーワード: 白点状眼底 夜盲 ネガティブERG RDH5遺伝子 新規変異

Key words: fundus albipunctatus, night blindness, negative ERG, RDH5 gene, novel mutation

緒言

白点状眼底は先天性停止性夜盲の一疾患であり、夜盲を自覚する。本症の典型的な眼底所見としては、多数の境界明瞭な白点を網膜色素上皮レベルに認め、最近白点状眼底に黄斑病変を合併した例も報告されている。網膜電図(ERG)上の特徴としては波の振幅低下が典型的だが、長時間の暗順応で回復することが知られている。遺伝形式は常染色体劣性遺伝であり、臨床的にはこれらの所見、症状、家族歴から総合的に診断される。遺伝学的には、1999年にRDH5 (11-cis retinal dehydrogenase) 遺伝子異常が白点

状眼底を引き起こすことが報告¹⁾されて以降、幾つかの新しい異常の報告^{2), 3)}や類似疾患でのRDH5遺伝子異常が検討されている。今回我々は、長期間経過観察を行なった白点状眼底の症例の臨床所見を検討するとともに、RDH5遺伝子変異を検索したので報告する。また、白点状眼底に類似した白点を示す症例におけるRDH5遺伝子変異の有無を検索した。

症例と方法

症例1は19歳、女性。6歳時に眼底の白点を偶然指摘され、眼底白点症と診断された。以後、弘前大眼

科にて経過観察を受けていて、夜盲の自覚がある。視力右(1.2) 左(1.2)であり、視野は正常だった。眼底は初診時より無数の白点が見られ、13年間の経過観察中、白点の密度の増加が見られたが、黄斑部には異常が見られなかった。30分暗順応後のflash ERGではa波、b波の振幅低下が見られ、全体としてnegative ERGを呈していた。眼底所見とERG、自覚症状から白点状眼底と診断した。症例2は19歳、女性。姉が白点状眼底と診断されていたため10歳時に眼底検査を受けたところ、同様の所見が見つかった。視力右1.5 左1.5であり、眼底に無数の白点が見られた。眼底所見と家族歴、夜盲を自覚していたことより白点状眼底と診断した。症例3は50歳、女性。閃輝性暗点を主訴に新潟大眼科を受診したところ、眼底に白点が見られ、flecked retina syndromeと診断された。夜盲の自覚はなかった。視力右0.15(0.5) 左0.2(0.6)であり、眼底には、眼底白点症類似の網膜色素上皮レベルでの白点を認めた。暗順応下ERGにてb波、op波の振幅低下が見られた。症例4は54歳男性。検診にて眼底異常を指摘され当科を受診した。夜盲はない。視力右(1.2) 左(1.0)眼底に無数の白点、骨小体様色素沈着、周辺部網膜萎縮を認めた。血管狭細化はなかった。30Hz flicker ERGにて振幅の軽度低下が見られた。症例3、4は臨床的には白点状眼底とは考えにくい症例であったが、このような症例にもRDH5遺伝子異常が見られる可能性があると思い、RDH5遺伝子を解析した。

遺伝子診断は以下の要領で行った。各人より遺伝子診断のインフォームド・コンセントを得た後、静脈血を10ml採血した。この血液よりまず白血球を分離し、ゲノムDNAを精製した。このゲノムDNAを用いてRDH5遺伝子の全翻訳領域をPCR法にて増幅した。ひき続き各PCR断片を精製した後、塩基配列を自動シーケンサーを用いて直接塩基配列決定法により決定し、遺伝子変異を同定した。

結果

RDH5遺伝子解析の結果、症例1のexon3に新規変異である167 CGC (Arg)→CAC/CGC (His/Arg)と、exon5 の1085 del C/ins GAAGの複合ヘテロ接合変異が検出された。症例2では症例1と同じ位置であるexon5の 1085 del C/ins GAAGのホモ接合変異が見られた。症例3と症例4ではRDH5遺伝子の全翻訳領域に変異がみられなかった。

考察

今回の遺伝子解析の結果、RDH5遺伝子でこれまで報告のない167 CGC(Arg)→CAC/CGC (His/Arg)と、exon5 の1085 del C/ins GAAGの複合ヘテロ接合変異とこれまでに報告されている1085 del C/

ins GAAGのホモ接合変異が検出された。RDH5遺伝子異常には多様性が見られた。臨床像との比較では、症例1と症例2では眼底に典型的な白点状眼底の所見が見られたのに対して、症例3と症例4では典型的な白点状眼底の所見ではなかった。このような白点状眼底に類似した白点を示す疾患にも、RDH5遺伝子異常がみられる可能性があると思い検索してみたが異常は認められなかった。今までのところ白点状眼底以外にRDH5遺伝子変異は見つかっておらず、RDH5遺伝子変異は白点状眼底に特徴的な所見であると言える。

文献

- 1) Yamamoto H, Simon A, Eriksson U, Harris E, Berson EL, Dryja TP. Mutations in the gene encoding 11-cis retinol dehydrogenase cause delayed dark adaptation and fundus albipunctatus. *Nature Genet* 22: 188-191, 1999.
- 2) Gonzalez-Fernandez F, Kurz D, Bao Y, et al. 11-cis retinol dehydrogenase mutations as a major cause of the congenital night-blindness disorder known as fundus albipunctatus. *Mol Vis* 5: 41-46 1999.
- 3) Wada Y, Abe T, Fuse N, Tamai M. A frequent 1085delC/insGAAG mutation in the RDH5 gene in Japanese patients with fundus albipunctatus. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 41: 1894-1897, 2000.

2000630

以降P.159-161は雑誌に掲載された論文となりますので、
下記の資料をご参照ください。

Mizuo phenomenon observed by scanning laser ophthalmoscopy in a patient with Oguchi disease.

Usui T, Ichibe M, Ueki S, Takagi M, Hasegawa S, Abe H, Sekiya K, Nakazawa M.

Am J Ophthalmol. 2000 Sep;130(3):359-61.

不全型先天停止性夜盲 7 家系 9 症例のCACNA1F遺伝子異常と臨床像

Novel CACNA1F Mutations and Clinical Phenotype in Japanese

Patients with Incomplete Type of Congenital Stationary Night Blindness.

中村 誠、伊藤 正、寺崎浩子、三宅養三 (名古屋大)

Makoto Nakamura, Sei Ito, Hiroko Terasaki, Yozo Miyake

Department of Ophthalmology, Nagoya University School of Medicine

【要約】

我々は以前にSchubert-Bornschein型の先天停止性夜盲は、杆体機能が完全に欠如した完全型と、減弱はしているが消失はしていない不全型に分類でき、両者は異なった疾患であることを報告した。不全型では、軽度の近視あるいは遠視を伴い矯正視力はやや不良であり、眼底には基本的に異常が認められないことが特徴とされる。最近原因としてL-typeカルシウムチャンネルの $\alpha 1$ サブユニット(CACNA1F)遺伝子の異常が報告された。我々も臨床所見から典型的な不全型先天停止性夜盲と診断された5家系7症例のCACNA1F遺伝子の検索を行ったところ、全ての家系に新規の5種類の変異が検出され、不全型先天停止性夜盲はCACNA1F遺伝子の異常により生じることが確認された。さらに、眼底に異常所見があることなどから不全型先天停止性夜盲とは診断し得なかった4家系4症例中2症例にこれら5種類のうちのいずれかの変異が検出され、CACNA1F遺伝子の異常には、網膜や視神経の萎縮変性を伴う場合があると考えられた。

We first reported that the Schubert-Bornschein type of congenital stationary night blindness (CSNB) could be divided into two subtypes clinically; the complete type and the incomplete type. The clinical characteristics of incomplete CSNB include essentially normal fundus, mildly depressed visual acuity, slightly myopic or hyperopic refraction, and ERG abnormalities. Electrophysiologically, the mixed rod-cone ERG showed a negative configuration with recordable oscillatory potentials. Recently the $\alpha 1$ -subunit of L-type calcium channel gene (CACNA1F) was identified as the mutated gene in incomplete CSNB. We examined the CACNA1F gene in 7 patients from 5 Japanese families with typical clinical features of incomplete CSNB, and identified 5 novel mutations in the gene in all of the patients. We also examined the gene in 4 patients, who could not be diagnosed as having incomplete CSNB because of their fundus abnormality, and detected one of the five mutations in the gene in 2 patients. These results indicate that most Japanese patients with incomplete CSNB are caused by a CACNA1F gene mutation, and that the CACNA1F gene mutation may cause not only incomplete CSNB but also atrophic fundus change.

キーワード：不全型先天停止性夜盲、CACNA1F遺伝子、ネガティブERG、遺伝子診断

Key words: incomplete congenital stationary night blindness, CACNA1F gene, negative ERG, DNA diagnosis

目的

我々は以前にSchubert-Bornschein型の先天停止性夜盲は、杆体機能が完全に欠如した完全型と、減弱はしているが消失はしていない不全型に分類でき、普遍的にみられる両者の臨床所見の違いより両者は異なった疾患であることを報告した¹⁾。不全型先天停止性夜盲では性染色体劣性遺伝形式を呈し、軽度の近視あるいは遠視を伴い矯正視力はやや不良であり、眼底には基本的に異常が認められないことが特徴とされる。最近原因として網膜に発現しているL-typeカルシウムチャンネルの $\alpha 1$ サブユニット(CACNA1F)遺伝子の異常が報告された^{2,3)}。我々も臨床所見から不全型先天停止性夜盲と診断された5家系7症例のCACNA1F遺伝子の検索を行った。また、

眼底に異常が認められるなどの臨床所見からは不全型先天停止性夜盲とは診断し得なかったが、ERGがnegative typeを示すなどの点で先天停止性夜盲と類似している4家系4症例のCACNA1F遺伝子の検討も行った。

方法

インフォームドコンセントを得たうえで、眼底に特に異常を認めず、電気生理学的にも典型的な不全型先天停止性夜盲の患者5家系7名の末梢血白血球から染色体DNAを抽出し、CACNA1F遺伝子のエクソン1~48をDNA Thermal Cycler 9700 (Perkin Elmer Corporation) を用いてPCR法で増幅した。プライマーはStromらの報告³⁾に従ってLIFE

TECHNOLOGIES ORIENTAL, Inc. より購入した。PCRをHigh Pure PCR Purification Kit (Boehringer Mannheim, GmbH)を用いて精製し、Dye terminator 法を用いてABI373オートシーケンサーで直接塩基配列を決定した。また異常が認められたエクソンについては、コントロールとして正常100アレル (男性34名、女性33名) についても同様に塩基配列を決定した。また、視力、視野、色覚、眼底検査、ERG等臨床像の検討を行った。さらに、眼底に異常が認められるなどの臨床所見からは不全型先天停止性夜盲とは診断し得なかったが、ERGがnegative typeを示すなどの点で先天停止性夜盲と類似している4家系4症例のCACNA1F遺伝子についても、ダイレクトシーケンスで異常の有無を検討した。

結果

眼底に特に異常の認められない不全型先天停止性夜盲の典型例5家系 (図1) 全てに、5種類のCACNA1F遺伝子の変異が検出された。すなわち1826番のG→A (Gly609Asp)、709番のG挿入 (フレームシフト)、2571番+1のスプライスドナーサイトのG→C変異、2737番のC→T (Arg913stop)、271-274番の4bp欠失/34bp挿入である (図2、表1)。これらは全て新規の変異で、正常100アレルには認められなかった。3家系では性染色体劣性遺伝形式が認められ、2家系では孤発例だった (図1)。臨床所見では検査的に眼底後極部には特に異常が認められず (図3)、矯正視力は0.2?0.8と中等度の視力障害があり、屈折は乱視を伴う軽度の近視または遠視の傾向にあった。視野は特に異常なかった (表1)。ERGでは杆体系は振幅の減弱は認められるものの明らかなb波が認められ、錐体系はb波の振幅が著しく小さいかまたは記録不能だった (図4)。白色閃光によるBright flash ERGではa波の振幅よりもb波の振幅が小さいnegative typeを呈し、観察可能な律動様小波が認められた (図4)。これらの結果はすべて既報した不全型のCSNBの特徴に合致するものであり、完全型CSNBとは異なる所見である。

また眼底に異常が認められERGがnegative typeを示した4症例のうち2症例に、上記5種類のうちのいずれかの変異が検出された。1例は33歳の男性で、矯正視力は両眼共0.5で、両眼眼底には下方の血管アーケード付近に網膜の変性が認められ (図5)、同部位にほぼ一致してゴールドマン視野では比較暗点が検出されたが、CACNA1F遺伝子にはArg913stopの変異が認められた。もう1例は78歳の男性で、右眼には視神経萎縮、左眼には視神経萎縮および広範な網脈絡膜変性が認められ (図6)、右眼の視力は0.01、左眼は失明していた。この症例のCACNA

1F遺伝子には271-274番の4bp欠失/34bp挿入の変異が認められた。

考察

我々は以前に先天停止性夜盲が完全型と不全型に分類できることを報告したが、これらが本当に異なる疾患なのかどうかについては論争の的となってきた。そして近年の分子遺伝学的研究により不全型がCACNA1F遺伝子の異常により生じることが明らかにされ^{2,3)}、またつい最近完全型がleucine-rich proteoglycan nyctalopinの異常によることが明らかにされるに至り^{4,5)}、やはり異なる疾患であることが判明した。しかしながら不全型先天停止性夜盲の分子遺伝学的検討は最初の2つの報告^{2,3)}以来追加報告はなかった。本研究ではこの疾患の発見の端緒となった日本人の不全型先天停止性夜盲の患者について検討したところ、調べた症例すべてにCACNA1F遺伝子の異常が認められたことにより、この疾患がCACNA1F遺伝子の異常に起因することが確認された。これらのCACNA1F遺伝子に異常の認められた症例の臨床像には、これまで我々の提唱してきた不全型停止性夜盲の臨床的特徴がほぼすべてに認められ、我々の提唱した疾患の特徴に誤りはなかったことが分子遺伝的裏付けを持って確認された。また今回の結果から、CACNA1F遺伝子の異常による不全型先天停止性夜盲では、眼底が正常な場合だけではなく、網膜の萎縮、変性を伴ったり、視機能が障害される場合があると考えられた。

文献

- 1) Miyake Y, Yagasaki K, Horiguchi M, Kawase Y, Kanda T. Congenital stationary night blindness with negative electroretinogram. A new classification. Arch Ophthalmol. 1986;104:1013-20.
- 2) Strom TM, Nyakatura G, Apfelstedt-Sylla E, et al. An L-type calcium-channel gene mutated in incomplete X-linked congenital stationary night blindness. Nat Genet. 1998;19:260-3.
- 3) Bech-Hansen NT, Naylor MJ, Maybaum TA, et al. Loss-of-function mutations in a calcium-channel alpha1-subunit gene in Xp11.23 cause incomplete X-linked congenital stationary night blindness. Nat Genet. 1998;19:264-7.
- 4) Bech-Hansen NT, Naylor MJ, Maybaum TA, et al. Mutations in NYX, encoding the leucine-rich proteoglycan nyctalopin, cause X-linked complete congenital stationary night blindness. Nat Genet. 2000;26:319-323.
- 5) Pusch CM, Zeitz C, Brandau O, et al. The

complete form of X-linked congenital stationary night blindness is caused by mutations in a gene encoding a leucine-rich repeat protein.
 Nat Genet. 2000;26:324-327.

表 1 Clinical Characteristics and CACNA1F gene mutations in incomplete CSNB patients

Family	Patient (y)	Age (y)	Sex	Corrected Visual Acuity	Refraction	Color Vision	Fundus Appearance	Visual field	Night Blindness Symptoms	Nystagmus	Strabismus	Genotype
A	III:5	39	M	0.3 OD 0.4 OS	OD -2.50-1.50 X 180 OS -1.5-1.75 X 180	N	Myopic Tilted disc	ND	-	-	Orthophoria	Gly609Asp
A	IV:6	14	M	0.4 OD 0.5 OS	OD +1.00-4.00 X 180 OS +1.00-4.00 X 180	N	N	N	-	-	Orthophoria	Gly609Asp
A	IV:7	9	M	0.2 OD 0.2 OS	OD -1.00-4.00 X 170 OS plano -5.50 X 5	N	Myopic Tilted disc Goldish metallic reflex	N	-	+	Orthophoria	Gly609Asp
B	III:3	8	M	0.4 OD 0.3 OS	OD plano -2.00 X 5 OS +1.00-1.75 X 170	N	Tilted disc	N	-	+	Exotropia	c.709 ins G
C	III:1	27	M	0.06 OD 0.06 OS	OD -7.00-2.50 X 180 OS -7.50-3.00 X 180	N	Myopic Tilted disc	N	-	-	Orthophoria	Arg107stop
D	III:4	35	M	0.2 OD 0.1 OS	OD +2.50-5.00 X 180 OS +5.00-3.50 X 180	N	Goldish metallic reflex	N	-	+	Orthophoria	c.2571+1 G to C
E	III:1	12	M	0.8 OD 0.8 OS	OD -0.50-2.00 X 180 OS +1.50-1.75 X 180	ND	N	ND	-	+	Exotropia	c.271-274 del /ins 34 bp

N, normal; ND, not determined.

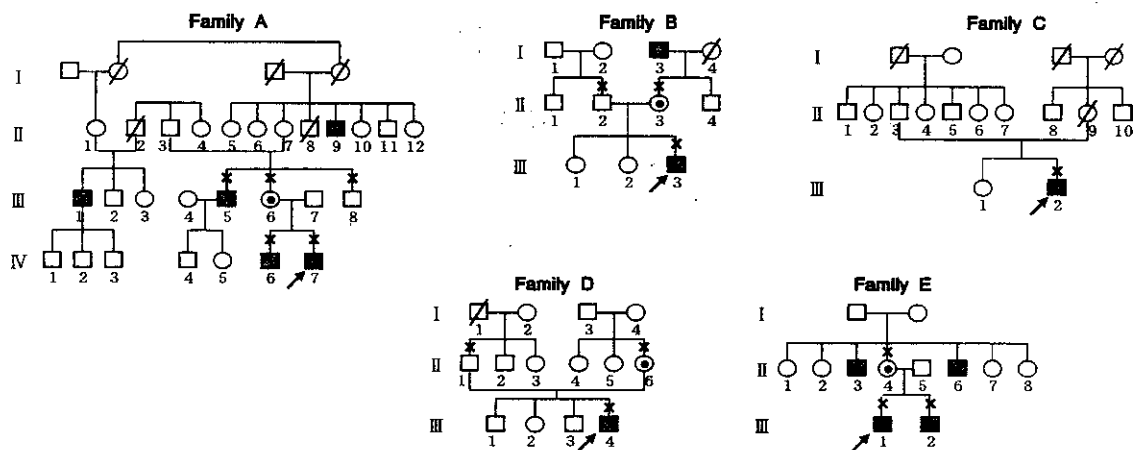


図 1 典型的な臨床像を呈する不全型先天静止性夜盲 5 家系の家系図。3 家系では性染色体劣性遺伝形式が認められる。

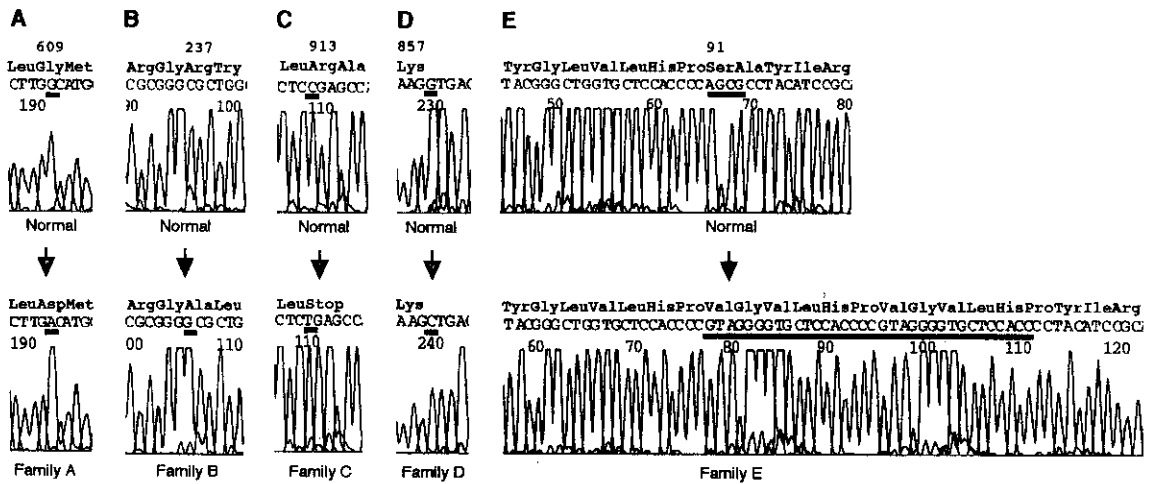


図2 センスプライマーを用いたオートシーケンサーによる塩基配列の結果。バーは変異の認められる位置を示す。5種類のCACNA1F遺伝子の変異が認められた。

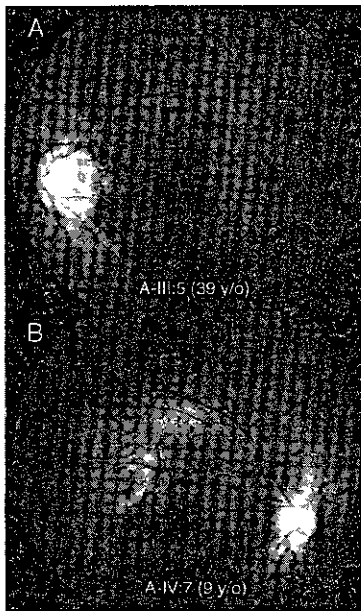


図3 不全型先天停止性夜盲典型例2症例の眼底写真。特に異常は認められない。

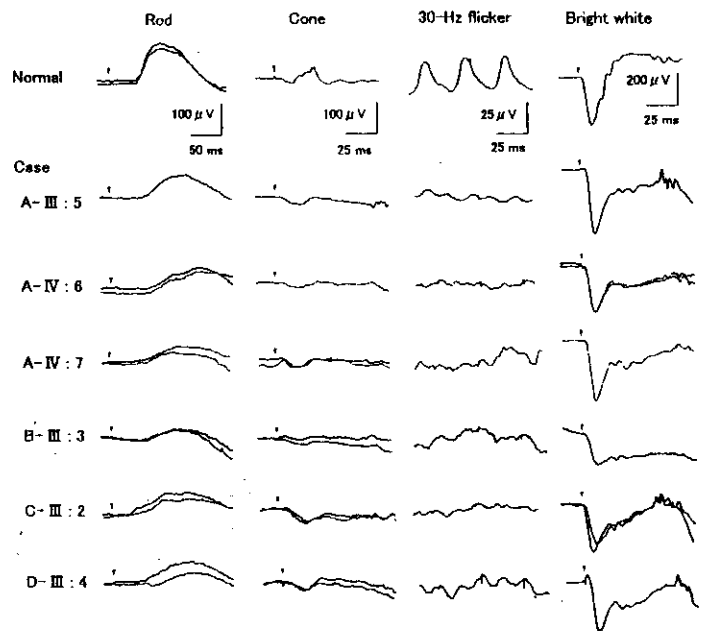


図4 不全型先天停止性夜盲典型例4家系6症例の全視野ERGの結果。Bright flash ERGではnegative typeを呈し、杆体ERGでは振幅の減弱は認められるものの明らかなb波が認められ、錐体ERGではb波の振幅が著しく減弱している。

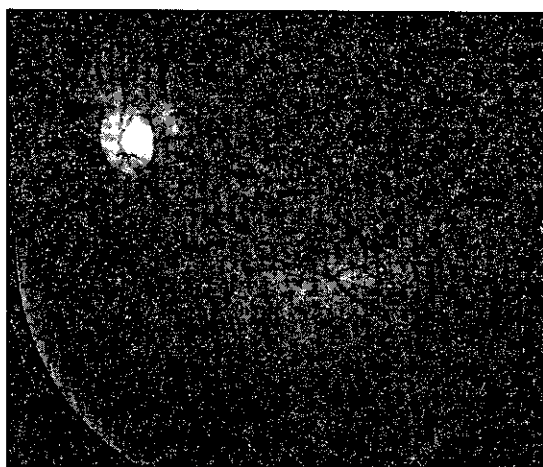


図5 眼底の血管アーケード付近に網膜の変性が認められ、CACNA1F遺伝子にArg913stopの変異が認められた症例の眼底写真。

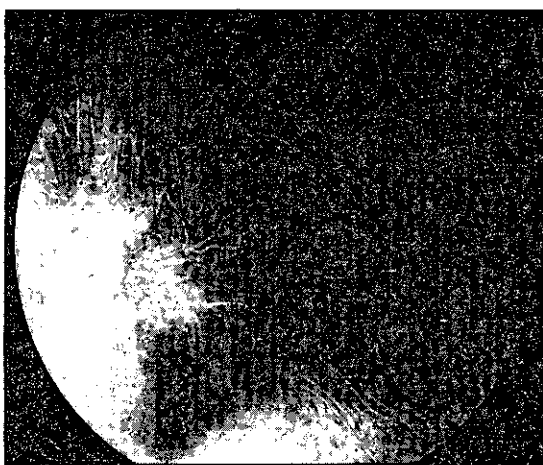


図6 眼底に視神経萎縮および広範な網脈絡膜変性が認められ、CACNA1F遺伝子に271-274番の4bp欠失/34bp挿入の変異が認められたAsp65Hisが検出された症例の眼底写真。

CRX遺伝子異常による網膜ジストロフィー3家系の臨床像

Japanese Retinal Dystrophies Caused by CRX Mutations

伊藤 正、中村 誠、鈴木 聡、寺崎浩子、三宅養三（名古屋大）

Sei Ito, Makoto Nakamura, Satoshi Suzuki, Hiroko Terasaki, Yozo Miyake

Department of Ophthalmology, Nagoya University School of Medicine

【要約】

錐体杆体ジストロフィーは色覚異常や中心視力低下で発症し、中心暗点を伴うことが多く、ERGでは錐体系反応が杆体系反応よりも強く障害される。1997年、CRX(Cone Rod Homeobox)遺伝子の変異が一部の欧米人の常染色体優性錐体杆体ジストロフィーの原因となることが示された。我々は27家系の錐体杆体ジストロフィーのCRX遺伝子を検討したところ、2家系にArg41Trp及び新規のGly122Aspの2種類のミスセンス変異が確認され、日本人においても錐体杆体ジストロフィーの一部はCRXの異常により生じることが確認された。また21家系の網膜色素変性症の症例についてもこの遺伝子を検討したところ、典型的なII型の網膜色素変性症の1症例からも新規のAsp65Hisの変異が検出され、CRXの異常により網膜色素変性症も発症し得ると考えられた。

Cone(-rod) dystrophy (CRD), a group of inherited retinal dystrophy showing clinical and genetic heterogeneity, causes progressive impairment of central vision with the appearance of atrophic retinal changes in the macula. The electrophysiological data shows reduced amplitudes of cone electroretinograms (ERGs), which are more apparent than those in rod ERGs. In 1997, the CRX (cone-rod homeobox) gene was identified as the mutated gene in some autosomal dominant CRD families. We screened CRX gene in 27 families with CRD, and found 2 heterozygous mutations, Arg41Trp and Gly122Asp, in 2 unrelated CRD families, indicating that some of Japanese patients with CRD are caused by a CRX gene mutation. We also examined the gene in 23 families with retinitis pigmentosa (RP), and found a novel Asp65His mutation in a patient with typical type II RP, indicating that the CRX gene mutation is a possible cause of RP.

キーワード：錐体杆体ジストロフィー、CRX遺伝子、網膜色素変性症、遺伝子診断

Key words: cone-rod dystrophy, CRX gene, retinitis pigmentosa, DNA diagnosis

目的

錐体杆体ジストロフィーは色覚異常や中心視力低下で発症し、中心暗点を伴うことが多く、ERGでは錐体系反応が杆体系反応よりも強く障害される。一方網膜色素変性症では、多くが夜盲を自覚し輪状暗点から中心性視野狭窄を呈する 경우가多く、ERGでは杆体系反応が錐体系反応より早期から著しく障害される。しかし錐体杆体ジストロフィーも晩期には網膜色素変性症との鑑別が困難となることもある。1997年、網膜視細胞の発生に極めて重要で、また成体の網膜でも多くの視細胞特異的遺伝子の発現を調節しているCRX(Cone Rod Homeobox)遺伝子がクローニングされた^{1, 2)}。この遺伝子は染色体上で錐体杆体ジストロフィーII (CRDII) の遺伝子座と同じ19q13にマップされ、欧米人ではこの遺伝子の変異が一部の常染色体優性錐体杆体ジストロフィーの原因となることが示された^{3, 4)}。今回我々は日本人でも錐体杆体ジストロフィーの原因がCRX遺伝子の異常によるのかどうかを調べるため、27家系の錐体

杆体ジストロフィーの症例のCRX遺伝子を検討した。さらに、この遺伝子の異常により網膜色素変性症が発症することがあるかどうかを調べるため、21家系の網膜色素変性症が疑われた症例についても検討した。

方法

インフォームドコンセントを得たうえで、錐体杆体ジストロフィーの27家系の患者の末梢血白血球から染色体DNAを抽出し、CRX遺伝子のエクソン1～3をDNA Thermal Cycler 9700 (Perkin Elmer Corporation) を用いてPCR法で増幅した。プライマーはSohockiらの報告⁵⁾に従ってLIFE TECHNOLOGIES ORIENTAL, Inc. より購入した。PCRをHigh Pure PCR Purification Kit (Boehringer Mannheim, GmbH)を用いて精製し、Dye terminator 法を用いてABI373オートシーケンサーで直接塩基配列を決定した。また異常が認められたエクソンについては、コントロールとして正

常100アレル（男性34名、女性33名）についても同様に塩基配列を決定した。さらに、21家系の網膜色素変性症が疑われた症例のCRX遺伝子を同様に検討した。CRX遺伝子に異常が認められた症例については、視力、視野、色覚、眼底検査、ERG等、臨床像についての検討を行った。

結果

錐体杆体ジストロフィー2家系及び網膜色素変性症の1症例から3種類のCRX遺伝子のミスセンス変異が確認された(図1)。

典型的な常染色体優性遺伝形式を示す錐体杆体ジストロフィーの1家系からは既に欧米の錐体杆体ジストロフィーの家系に報告されているものと同じArg41Trpの変異が検出された。この家系の発端者は47歳の女性で、25歳頃から矯正視力が低下し始め、現在視力は右0.1左0.08(矯正不能)で、色覚検査では第3色覚異常を示した。両眼の黄斑部に網脈絡膜の変性が認められ(図2A)、ゴールドマン視野では、約10度~15度の中心暗点が認められた(図3A)。全視野ERGでは錐体系杆体系共に明らかな振幅の減弱が認められた(図4A)。発端者の母親は78歳の女性で、25歳頃から両眼の視力低下を自覚し、現在視力は矯正で右0.4、左0.01。両眼の眼底には後局部を中心として広い範囲で網脈絡膜の変性が認められ(図2B)、ゴールドマン視野では発端者よりも大きな中心暗点が検出された(図3B)。全視野ERGでは錐体系杆体系共に発端者よりも著しい振幅の減弱が認められた(図4B)。

錐体杆体ジストロフィーのもう1家系には新規のGly122Aspの変異が認められた。発端者は63歳の男性で、41歳の時検診で初めて両眼の網脈絡膜萎縮を指摘されたが、57歳の時でも矯正視力は右0.9、左0.8と比較的良好に保たれていた。その後徐々に視力が低下し、現在視力は矯正右0.06、左0.08となっている。眼底には両眼黄斑部に網脈絡膜萎縮が認められ(図2C)、ゴールドマン視野では両眼に中心暗点が認められた(図3C)。色覚検査では第3色覚異常だった。全視野ERGでは錐体系は振幅の低下が認められたが、杆体系は正常だった(図4C)。

また網膜色素変性症の1症例からは新規のAsp65Hisが検出された。この症例は、52歳の男性で、視力は両眼とも矯正1.0と未だ良好である。眼底は両眼とも血管の狭細と、後極部を除いて眼底に網膜の変性が認められ(図2D)、ゴールドマン視野では両眼共耳側から上方を中心に大きな視野視野欠損が検出された(図3D)。全視野ERGでは杆体系錐体系共に振幅の減弱が著しかった(図4D)。2-color perimetryでは中心部の錐体系の感度は良好で、杆体系の感度も比較的良く保たれていた(図5)ことから、

この症例は典型的なタイプIIの網膜色素変性症と診断された。

考察

今回2家系の錐体杆体ジストロフィーの患者からCRX遺伝子の変異が検出されたことから、日本人においても一部の錐体杆体ジストロフィーはCRX遺伝子の変異により生じることが確認された。また本研究では、日本人ではCRX遺伝子の変異により網膜色素変性症も生じることが示された。以前からPeripherin/RDSの変異が網膜色素変性症や、錐体杆体ジストロフィーを引き起こすように、CRX遺伝子の変異も複数の種類の網膜変性を起こすことが予想されており、実際CRX遺伝子の変異が錐体杆体ジストロフィーの他に、レーバー先天盲の原因となることも示されている(5,6,7,8)。またSohockiらはCRX遺伝子のArg41Hisの変異による当初網膜色素変性症と診断された症例を報告したが(5)、彼等の症例は網膜色素変性症としては非典型的で、家系内調査により、晩期発症型の錐体杆体ジストロフィーの症例とも診断された(9)。これに対し、今回我々が経験したAsp65Hisの症例は、臨床像が典型的なtype IIの網膜色素変性症であり、CRXの異常により典型的な網膜色素変性症も発症し得ると考えられた。

文献

- 1) Furukawa T, Morrow EM, Cepko CL. Crx, a novel otx-like homeobox gene, shows photoreceptor-specific expression and regulates photoreceptor differentiation. *Cell*. 1997;91:531-541.
- 2) Chen S, Wang QL, Nie Z, Sun H, Lennon G, Copeland NG, Gilbert DJ, Jenkins NA, Zack DJ. Crx, a novel Otx-like paired-homeodomain protein, binds to and transactivates photoreceptor cell-specific genes. *Neuron*. 1997;19:1017-30.
- 3) Freund CL, Gregory-Evans CY, Furukawa T, Papaioannou M, Looser J, Ploder L, Bellingham J, Ng D, Herbrick JA, Duncan A, Scherer SW, Tsui LC, Loutradis-Anagnostou A, Jacobson SG, Cepko CL, Bhattacharya SS, McInnes RR. Cone-rod dystrophy due to mutations in a novel photoreceptor-specific homeobox gene (CRX) essential for maintenance of the photoreceptor. *Cell*. 1997;91:543-53.
- 4) Swain PK, Chen S, Wang QL, Affatigato LM, Coats CL, Brady KD, Fishman GA, Jacobson SG, Swaroop A, Stone E, Sieving PA, Zack DJ. Mutations in the cone-rod homeobox

gene are associated with the cone-rod dystrophy photoreceptor degeneration. *Neuron*. 1997;19:1329-36.

5) Socko MM, Sullivan LS, Mintz-Hittner HA, Birch D, Heckenlively JR, Freund CL, McInnes RR, Daiger SP. A range of clinical phenotypes associated with mutations in CRX, a photoreceptor transcription-factor gene. *Am J Hum Genet*. 1998;63:1307-15.

6) Freund CL, Wang QL, Chen S, Muskat BL, Wiles CD, Sheffield VC, Jacobson SG, McInnes RR, Zack DJ, Stone EM. De novo mutations in the CRX homeobox gene associated with Leber congenital amaurosis. *Nat Genet*. 1998;18:311-2.

7) Swaroop A, Wang QL, Wu W, Cook J, Coats C, Xu S, Chen S, Zack DJ, Sieving PA. Leber

congenital amaurosis caused by a homozygous mutation (R90W) in the homeodomain of the retinal transcription factor CRX: direct evidence for the involvement of CRX in the development of photoreceptor function. *Hum Mol Genet*. 1999;8:299-305.

8) Silva E, Yang JM, Li Y, Dharmaraj S, Sundin OH, Maumenee IH. A CRX null mutation is associated with both Leber congenital amaurosis and a normal ocular phenotype. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2000;41:2076-9.

9) Tzekov RT, Socko MM, Daiger SP, Birch DG. Visual phenotype in patients with Arg41Gln and ala196+1bp mutations in the CRX gene. *Ophthalmic Genet*. 2000;21:89-99.

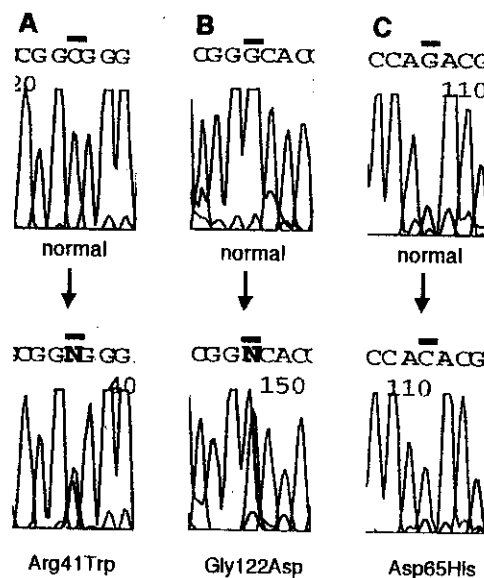


図1 センスプライマーを用いたオートシーケンサーによる塩基配列の結果。バーは変異の認められる位置を示す。CRX遺伝子のミスセンス変異がヘテロ接合体で認められた。A. 錐体杆体ジストロフィーの1家系に認められたArg41Trpの変異。B. 錐体杆体ジストロフィーの1家系に認められたGly122Aspの変異。C. 網膜色素変性症の1症例から検出されたAsp65Hisの変異。

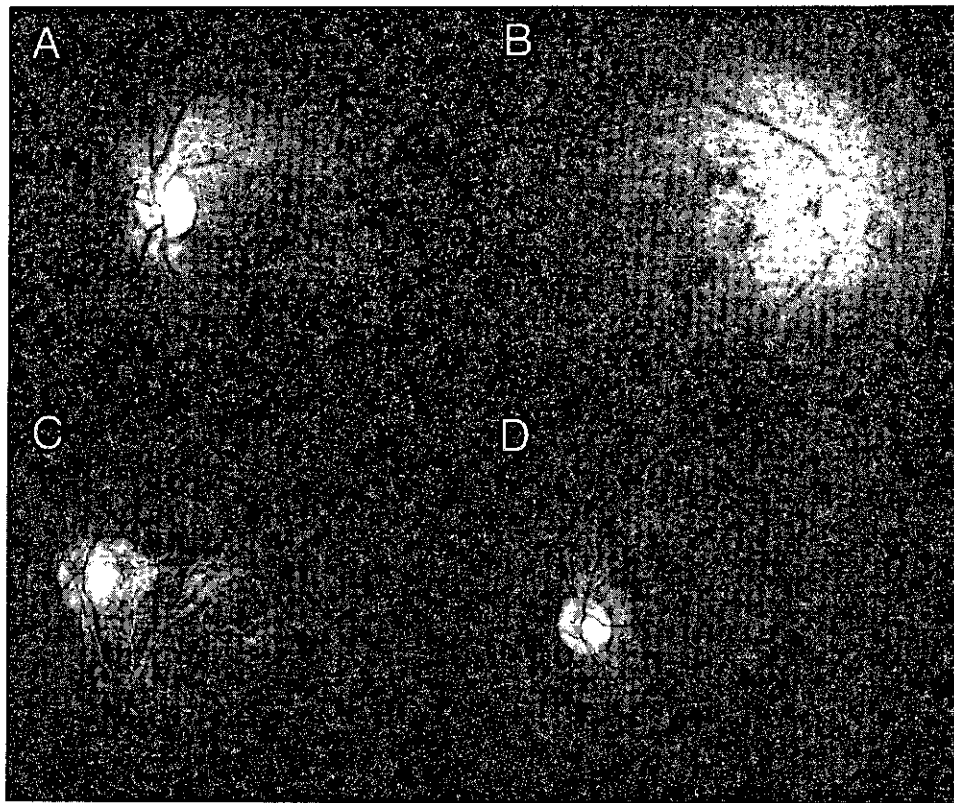


図2 各症例の眼底写真。

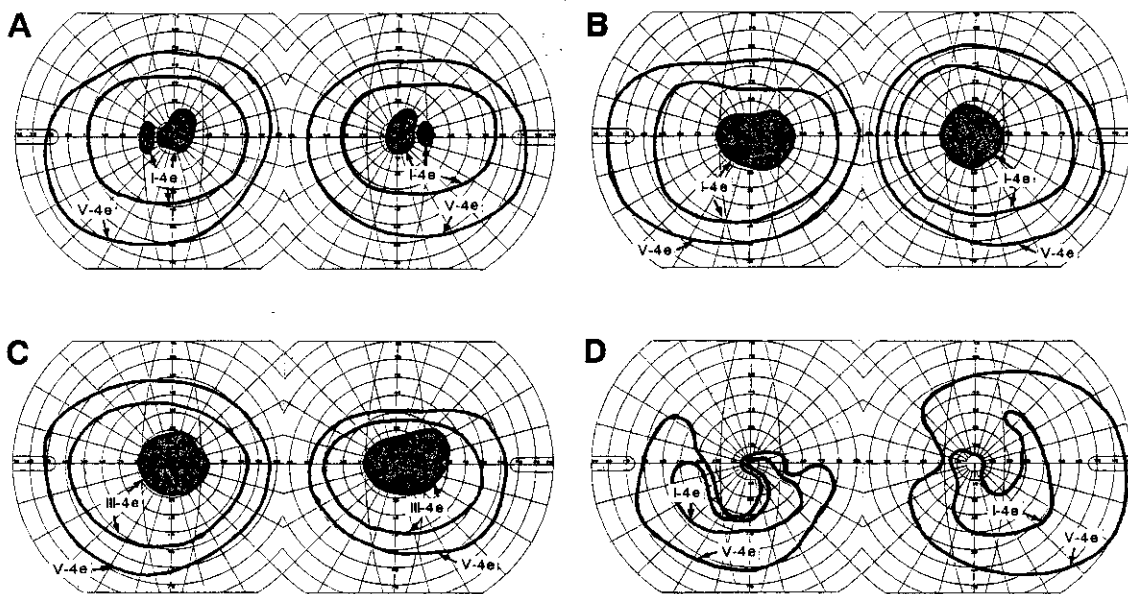


図3 各症例のゴールドマン視野。

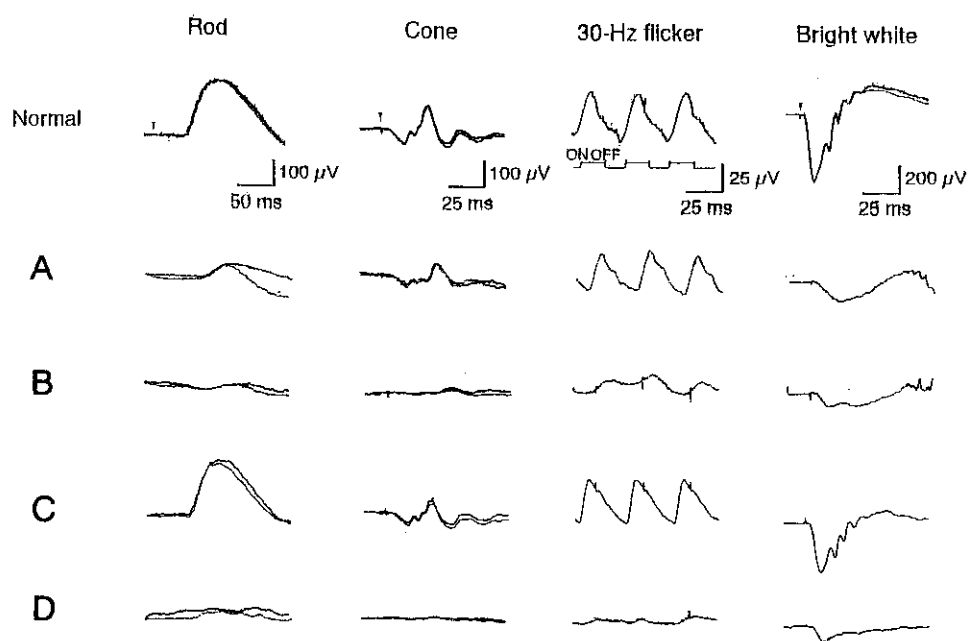


図4 各症例の全視野 ERGの結果。

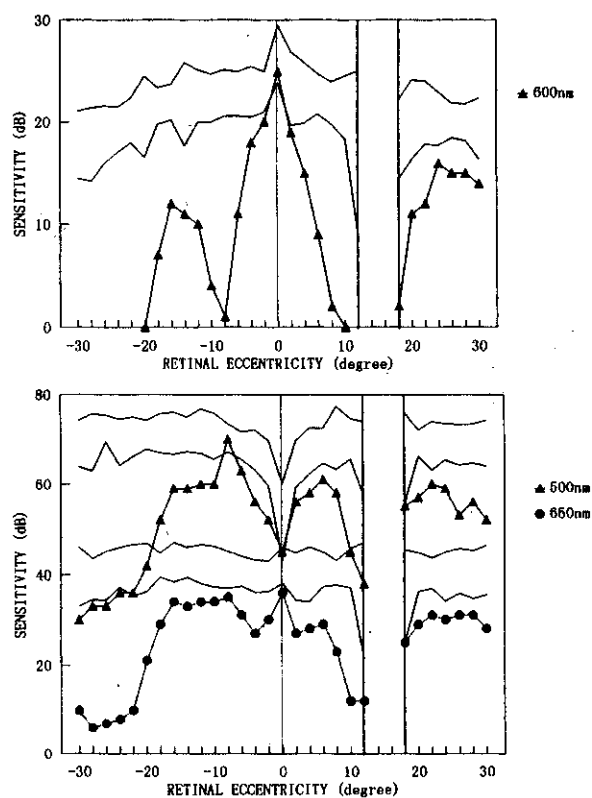


図5 Asp65Hisが検出された網膜色素変性症の患者の2-color perimetryの結果。

RP2遺伝子異常のX染色体伴性遺伝網膜色素変性症の2家系

Two pedigrees with X-linked retinitis pigmentosa associated with the RP2 gene mutations

佐賀正道、真島行彦、小口芳久（慶應義塾大学医学部眼科）

Masamichi Saga, Yukihiko Mashima, Yoshihisa Oguchi

(Department of Ophthalmology, Keio University School of Medicine)

【抄録】

家系1の19歳の長男は強い網脈絡膜変性、黄斑変性、および視神経萎縮を呈し、視力は手動弁である。13歳までは0.1の視力であったが、その後突然視力が低下した。17歳の次男は網脈絡膜変性がみられ、視力は0.1である。2人とも幼少時より視力低下、夜盲があった。母方の祖父が網膜色素変性と診断されていた。一方、母方の家族に視神経萎縮患者が3人いた。PR2遺伝子のエクソン3に2塩基の挿入および11778変異がみられた。従って臨床的に長男は網膜色素変性およびレーベル病、次男は網膜色素変性と診断した。家系2の発端者は26歳男性で、7歳頃から夜盲を自覚した。視力は両眼とも0.08である。後極部には変性がみられた。母方の兄弟が網膜色素変性と診断されていた。この家系ではPR2遺伝子のエクソン2にArg120stop変異がみられた。遺伝子診断は疾患の確定診断には有用である。しかし、家系1では兄弟の臨床重症度の違いは、遺伝的背景が同じであったので今回の解析では説明できなかった。PR2遺伝子変異は早期発症の重症型で、後極部の網脈絡膜変性が強いことが特徴と思われた。

The older brother (aged 19) in Pedigree 1 had a severe form of RP associated with macular degeneration and total optic atrophy, while the younger brother (aged 17) exhibited typical X-linked RP. Each patient exhibited a novel 2-bp insertion at codon 278 in exon 3 of the RP2 gene as well as a 11778 mutation in mitochondrial DNA. This suggests that the older brother may have developed Leber's hereditary optic neuropathy (LHON) as well as RP. A 26-year-old proband in Pedigree 2 presented at age 7 with a 2-year history of night blindness. Visual disability worsened with increasing age. Visual acuity was 0.08 in both eyes. Degeneration showed the pattern of central areolar sclerosis, and the macula was involved in both eyes. He had a nonsense mutation, R120X, in the RP2 gene. Molecular testing confirmed the clinical diagnosis in each case. However, such testing did not explain the differences in the severity of the ophthalmoscopic findings between the two brothers of Pedigree 1. The phenotype of our patient with the RP2 mutation was considered severe posterior chorioretinal degeneration.

キーワード：X染色体伴性網膜色素変性、黄斑部変性、レーベル病、RP2遺伝子、11778変異

Key words: X-linked retinitis pigmentosa, macular degeneration, Leber's hereditary neuropathy, RP2 gene, 11778 mutation

緒言

X染色体伴性網膜色素変性は、重症型の網膜色素変性を来すことが知られているが、10歳頃（遅くとも10歳代）までに発症する。進行性に視野狭窄が進行し、40歳までに高度の視機能障害に至る。これまでに、X染色体伴性網膜色素変性の疾患遺伝子として、RP2遺伝子1)とRP3遺伝子の2つがクローニングされている。RP2遺伝子はX染色体短腕のXp11.3に位置している。これまでに、欧米ではX染色体伴性網膜色素変性患者の約12%にこの変異が報告されている。1, 2, 3)今回我々は、RP2遺伝子変異をもつ2家系の変異型と臨床型を報告する。

方法と対象

(家系1) 当科初診時、14歳の長男は強い網脈絡膜変性、黄斑変性、および視神経萎縮を呈し、視力は手動弁であった(図1右)。動脈血管は狭細化が著明であった。13歳までは0.1程度の視力であったが、その後突然視力が低下した。視野検査は施行不可能であった。12歳の次男は網脈絡膜変性がみられ、視力は0.1であった(図1左)。動脈血管は狭細化が著明であった。視野は周辺が狭窄していた。兄弟の臨床重症度が大きく異なっていた。2人とも-7Dから-8Dの近視がみられた。問診上2人とも幼少時より視力低下、夜盲があり、また母方の祖父が網膜色素変性と診断されていた。一方、母方の家族に視神経萎縮患者が3人いた。5年間の観察で長男の黄斑変

性は進行したが、次男の変性の進行は軽度であった。臨床重症度が大きく異なるX染色体伴性網膜色素変性の2人の兄弟においてその原因を明らかにするために、この家系においてPR2遺伝子およびミトコンドリアDNAを検索した。

(家系2) 発端者は26歳男性で、7歳頃から夜盲を自覚した。視力は両眼とも0.08で、-2D程度の近視がみられた。後極部には変性がみられた(図2)。動脈血管は狭細化が著明であった。視野は中心10度と一部周辺に島状に残っていた。母方の兄弟が網膜色素変性と診断されていた。この家系においてPR2遺伝子を検索した。

遺伝子解析は、PR2遺伝子の5つのエキソン領域を8個の領域にわけ、PCR法にて増幅した断片の直接塩基配列を決定した。ミトコンドリアDNAの11778変異は制限酵素SfaN1(認識部位消失)とMaeIII(認識部位獲得)により、変異の存在の有無を確認した。

結果

(家系1) PR2遺伝子およびミトコンドリアDNAを検索した結果、兄弟ともPR2遺伝子のエキソン3のコドン278に2塩基の挿入(TC)がみられ(図3)、そのためにフレームシフト変異を生じ、コドン293で翻訳停止コドンとなった。更に、母方の家系において、視神経萎縮の症例には全員、11778変異が確認された。従って臨床的に長男は網膜色素変性およびレーベル病、次男は網膜色素変性と診断した。母親は保因者と診断した

(家系2) PR2遺伝子のエキソン2にArg120stop変異がみられた。

考案

遺伝子診断は疾患の確定診断には有用である。しかし、家系1では兄弟の臨床重症度の違いは、遺伝的背景が同じであったので今回の解析では説明できなかった。しかし、網膜色素変性の重篤な長男は、レーベル病の発症により視神経萎縮だけでなく、更に網脈絡膜変性、黄斑変性が助長されたと考えられた。これまでに、PR2遺伝子をもつ網膜色素変性は、平均発症年齢が 3.5 ± 0.5 歳で、高度近視(平均-5.75D)を来し、黄斑部変性も約30%にみられると報告されている。4、5) また、錐体機能が先に障害され、その後杆体機能が障害されるとも報告されている。6) 今回の2症例においても、発症年齢は10歳以前であり、視力障害、視野障害が強いことが特徴であった。PR2遺伝子変異はその殆どがいわゆるtruncated proteinを生じる翻訳終了変異を来す変異で、今回の2家系でも同様であった。また、家系2でみられたArg120stop変異は、イギリスと北米

でも報告された変異であり、頻度の高い変異と考えられたが、その臨床報告はされておらず、この変異の特徴は確認できない。

PR2遺伝子変異は早期発症の重症型で、後極部の網脈絡膜変性が強いことが特徴と思われた。

文献

- 1) Schwahn U, et al. Positional cloning of the gene for X-linked retinitis pigmentosa 2. *Nat Genet* 1998;19:327-332.
- 2) Mears AJ, Gieser L, Yan D, et al. Protein-truncation mutations in the RP2 gene in a North American cohort of families with X-linked retinitis pigmentosa. *Am J Hum Genet* 1999;64:897-900.
- 3) Hardcastle AJ, Thiselton DL, Van Maldergem L, et al. Mutations in the RP2 gene cause disease in 10% of families with familial X-linked retinitis pigmentosa assessed in this study. *Am J Hum Genet* 1999;64:1210-1215.
- 4) Bird AC, Heckenlively JR. X-linked recessive retinitis pigmentosa (X-linked pigmentary retinopathies). In: Heckenlively JR, editors. *Retinitis Pigmentosa*. Philadelphia: Lippincott Co, 1988;162-187.
- 5) Kaplan J, Pelet A, Martin C, et al. Phenotype-genotype correlations in X linked retinitis pigmentosa. *J Med Genet* 1992;29:615-623.
- 6) Jacobson SG, Roman AJ, Cideciyan AV, Robey MG, Iwata T, Inana G. X-linked retinitis pigmentosa: Functional phenotype of an RP2 genotype. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1992;33: 3481-3492.

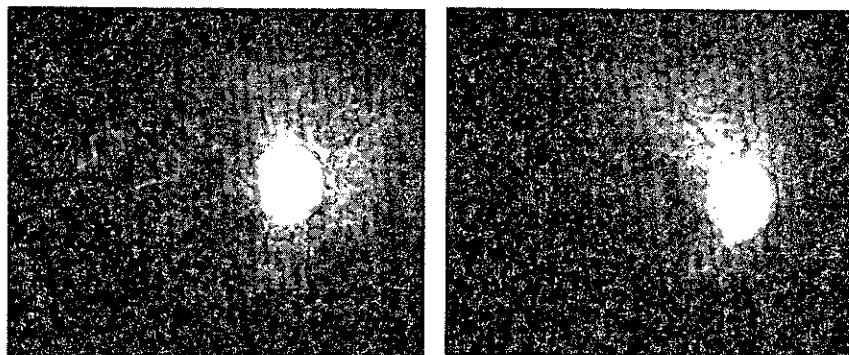


图 1. 眼底写真 (家系 1) 右: 兄、左: 弟

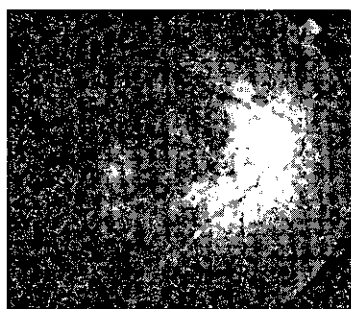


图 2. 眼底写真 (家系 1)

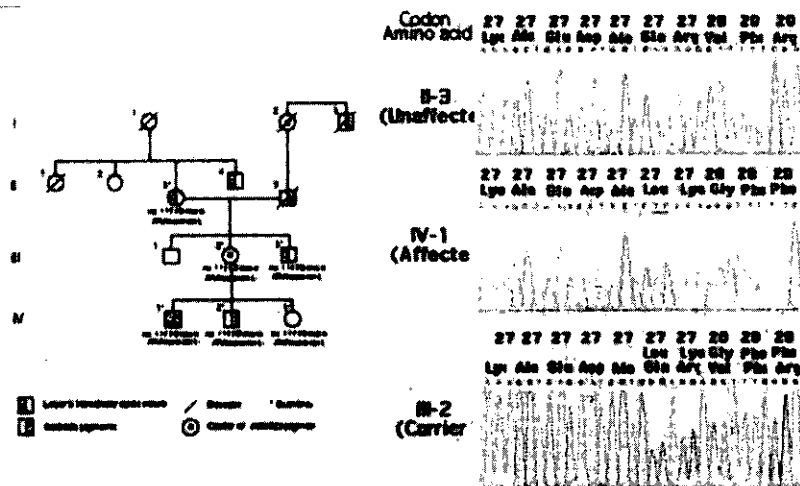


図3. 家系1の家系図とコドン278変異の塩基配列

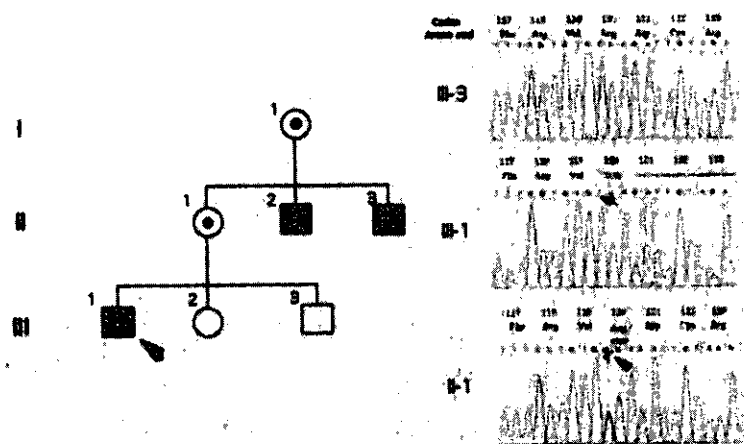


図4. 家系2の家系図とコドン120変異の塩基配列

日本人常染色体優性網膜色素変性の新規原因遺伝子の解明

New candidate genes for Japanese patients with autosomal dominant retinitis pigmentosa

東北大学眼科 和田裕子、竹下孝之、佐藤肇、阿部俊明、玉井 信

Yuko Wada, Takayuki Takeshita, Hajime Sato, Toshiaki Abe, Makoto Tamai

Department of ophthalmology, tohoku university school of medicine

【要約】

現在まで、常染色体優性網膜色素変性の原因遺伝子は5種類報告されているが、その原因遺伝子異常の種類、頻度には人種差が認められる。我々は、日本人に高頻度に認められる原因遺伝子を検索することを目的とし、視細胞特異的遺伝子FSCN2遺伝子を用いてスクリーニングを施行した。

常染色体優性網膜色素変性症120家系中、4家系14名(3.3%)にFSCN2遺伝子208delG変異を認めた。変異と臨床像は、完全に連鎖が認められた。FSCN2遺伝子208delG変異は、日本人常染色体優性網膜色素変性症の高頻度変異である可能性が示唆された。

It has been well established that mutations of photoreceptor specific genes cause retinal dystrophies. Because retinal fascin gene is expressed exclusively in photoreceptors, it might be expected that mutations of the fascin gene will lead to some type of retinal dystrophy. To test whether FSCN2 is related to some type of retinal dystrophy, we screened genomic DNA samples isolated from 120 unrelated patients with autosomal dominant retinitis pigmentosa (adRP) and 200 unrelated patients with autosomal recessive retinitis pigmentosa (arRP). In addition, 200 patients with simplex RP and 100 normal controls were also screened for mutations in the FSCN2 gene. The analysis of exon 1 of the FSCN2 gene showed abnormal band shifts in 14 unrelated patients with adRP. The subsequent nucleotide sequencing analysis disclosed an identical deletion of nucleotide G at cDNA position 208, and was designated as 208delG mutation of the FSCN2 gene. We confirmed that the 208delG mutation co-segregated with the phenotype in the 4 pedigrees of Japanese families with adRP and was not detected in the 200 control chromosomes. We hypothesize that the 208delG mutation in the FSCN2 gene may be relatively common in Japanese patients with adRP, because we found this mutation in 3.3% of unrelated patients with adRP in Japan.

キーワード：FSCN2遺伝子、常染色体優性網膜色素変性症、208delG変異

Key words : FSCN2 gene, autosomal dominant retinitis pigmentosa, 208delG mutation

緒言

1990年に、rhodopsin遺伝子が常染色体優性網膜色素変性の原因遺伝子であることが報告されて以来、現在までに、常染色体優性網膜色素変性の原因遺伝子はrhodopsinを含め、peripherin/RDS, NRL, R P1, の4種類が報告されている。現在までの報告により原因遺伝子異常の種類、頻度には人種差が存在し、さらに海外の報告をあわせても、その原因遺伝子異常のごく一部が解明されたに過ぎない。今回我々は、日本人網膜色素変性特有の新規原因遺伝子を解明することを目的とした。

対象及び方法

遺伝子解析に同意が得られた120家系常染色体優性網膜色素変性、200家系常染色体劣性網膜色素変

性、200人の単発例を対象とした。100人の正常コントロールで比較した。

網膜特異的に発現している遺伝子、FSCN2を候補遺伝子としスクリーニングを開始した。FSCN2遺伝子に対しては9個のプライマーをデザインし、全ての翻訳領域をPCRにて増幅しSSCPで変異の有無を確認した。SSCPにて異常が認められた症例に対してdirect sequence法で塩基配列の決定を行った。

眼科的検査として、矯正視力、精密細隙灯、ゴールドマン動的量的視野、眼底検査、蛍光眼底撮影、色覚および網膜電図を行った。ゴールドマン動的量的視野はsteradian解析を行い、定量化した。

結果

日本人常染色体優性網膜色素変性4家系14人にFSCN2遺伝子の208番目のGが欠失(208delG)する変異