

参考文献

1. Hirakawa H, Iijima H, Gohdo T, Imai M, Tsukahara S. Progression of defects in the central 10-degree visual field of patients with retinitis pigmentosa and choroideremia. *Am J Ophthalmol* 1999; 127 : 436~42
2. Holopigian K, Greenstein V, Seiple W, Carr RE. Rates of change differ among measures of visual function in patients with retinitis pigmentosa. *Ophthalmology* 1996 ; 103 : 398-405.
3. Berson EL, Sandberg MA, Rosner B, Birch DG, Hanson AH. Natural course of retinitis pigmentosa over a three-year interval. *Am J Ophthalmol* 1985 ; 99 : 240-251.
4. Grover S, Fishman GA, Anderson RJ, Alexander KR, Derlacki DJ. Rate of visual field loss in retinitis pigmentosa. *Ophthalmology* 1997;104 : 460-465.
5. Pearlman JT. Mathematical models of retinitis pigmentosa : a study of the rate of progress in the different genetic forms. *Trans Am Ophthalmol Soc* 1979 ; 77 : 643-656.

表：対象症例のデータ

症例	初回視野 検査年齢	検査回数	検査期間	初回MD	最終MD	進行速度 (dB/year)
1 R	50	7	8年5ヶ月	-16.92	-21.49	-0.5
1 L	50	7	8年5ヶ月	-17.55	-19.79	
2 R	51	6	11年7ヶ月	-19.21	-24.43	-0.44
2 L	51	5	10年6ヶ月	-20.61	-24.67	-0.38
3 R	69	5	4年9ヶ月	-13.21	-15.62	
3 L	70	5	4年9ヶ月	-12.99	-13.67	
4 R	50	5	6年9ヶ月	-20.67	-22.32	
4 L	50	5	6年9ヶ月	-20.78	-23.63	-0.45
5 R	53	13	12年4ヶ月	-11.26	-9.82	
5 L	53	11	12年4ヶ月	-7.64	-8.25	
6 R	48	7	11年	-8.06	-8.1	
6 L	48	12	11年	-7.68	-9.81	
7 R	47	6	7年10ヶ月	-17.31	-18.08	
7 L	47	6	7年10ヶ月	-12.76	-14.28	
8 R	49	9	6年8ヶ月	-5.28	-6.62	
8 L	49	9	6年8ヶ月	-7.74	-7.06	
9 R	38	5	11年11ヶ月	-11.45	-18.32	-0.57
9 L	38	5	10年11ヶ月	-11.67	-19.73	-0.68
10L	45	5	4年3ヶ月	-2.01	-1.49	
11L	55	10	12年	-7.78	-13.61	-0.32
12R	48	6	5年	-9.5	-12.33	-0.49
13L	64	5	5年9ヶ月	-18.49	-21.87	-0.57
14R	61	5	6年5ヶ月	-20.7	-23.93	

正常者と視野異常患者における多局所瞳孔視野

Multifocal pupillary response field in normal subjects and patients with visual field defects.

近藤峰生、 譚 麗、 佐藤美保、 近藤永子、 三宅養三
(名古屋大学医学部眼科)

Mineo Kondo, Lei Tan, Miho Sato, Nagako Kondo, Yozo Miyake
(Ophthalmology, Nagoya University School of Medicine)

【抄 録】

多局所刺激法を用いて瞳孔の対光反応を記録するための至適記録条件を設定し、この手法を正常対象者と視野異常を有する患者に応用した。一定の背景光で散乱光の影響を除去した状態で、40度の視角内に37個の刺激エレメントをTVモニター上に提示した。4.7Hzの比較的遅い m-sequence を用い、各局所から信頼できる瞳孔反応が正常者と患者から記録できた。瞳孔視野と通常の視野は網膜疾患ではよく相関したが、相関は視神経疾患ではそれほど強くなかった。瞳孔反応は後頭葉に障害を有する患者の半盲部位でも減弱していた。以上の結果より多局所瞳孔反応装置は他覚的に視野を計測する手段の一つとして臨床に有用であると考えられた。

Abstract

The optimal conditions for recording focal pupillary light responses with multifocal stimulation technique were determined, and the technique was applied to normal subjects and patients with visual field defects. Thirty-seven hexagonal stimuli were presented on a TV monitor with a visual field of 40° diameter under a constant background illumination. Using a slow (4.7 Hz) m-sequence, reliable focal responses were obtained in both normal subjects and patients. The pupillary field and visual field were well correlated in patients with retinal diseases, but the correlation was not strong in patients with optic nerve diseases. Pupillary light responses were reduced in the blind hemifield in patients with post-geniculate lesions. These results indicate that the multifocal stimulation technique can be used clinically to obtain pupillary field for objective visual field testing.

キーワード：多局所、他覚的視野、視野、瞳孔対光反応、視野

Key words : multifocal, objective perimetry, pupillary light response, visual field testing.

目的

多局所刺激法 (multifocal stimulation system) は Sutter⁽¹⁾ によって開発され、現在眼科領域においては主に網膜電図 (electroretinogram, ERG) の記録に用いられている。この手法を使うと、網膜の多数の部位を同時に刺激しながら各網膜部位刺激による反応を独立して抽出し、微弱な局所反応を非常に高い S/N 比で記録することができる。この装置の利点は、正確な他覚的視野を短時間で作成できるという点にあり、種々の網脈絡膜疾患や視神経萎縮症の病態解明や治療トライアルの評価、さらに比較的大きな動物を用いた場合実験の効果判定に有用な手段となりうる。

しかしながら、現在主に使われている多局所 ERG では網膜機能を他覚的に評価することはできても、ERG の起源に含まれない神経節細胞より中枢の機能を評価することができない。この欠点を補うために、多局所システムで VEP を記録する試みが行われているが、電極装着の煩わしさや反応のばらつきの大きさなどの問題もあり、定量的に視神経・中枢機能を評価するまでには至っていない。

今回我々は多局所刺激法と瞳孔反応記録システムを組み合わせて、多局所瞳孔反応視野の作成を試みた。このアイデアは最初に Sutter らが試み⁽²⁾、次いで Wilhelm ら⁽³⁾ 追試したものであるが、今回我々は至適記録条件について十分な検討を

行ったうえで多数の正常者と視野異常患者で記録を行った。

方法

今回我々が作成した多局所瞳孔反応視野のシステムを図1Aに示す。刺激にはVERIS (Mayo)のCRTモニター (frame rate, 75Hz)を使用した。被検者には刺激モニターから40 cm離れた顎台に頭部のせて、画面中央の固視点 (図1B)を見るように指示した。被検者の目とTVモニターの途中にhalf mirrorを置き、前眼部の画像を被検者の上方に置いたCCDカメラで撮影してその画像をTVモニターに映し出した。このモニターを用いて瞳孔の最大横径を測定し、その値をVERISの解析装置に送った。

結果

1. 至適記録条件の決定

まず最初に刺激のm-sequenceの速さが瞳孔反応に与える影響について検討した (図2A)。最も遅いm-sequence (2.3 Hz)で瞳孔反応は最大となり、m-sequenceが速くなるほど瞳孔反応は徐々に小さくなった。2.3 Hzと4.7 Hzで比較したところ、4.7 Hzの刺激を用いた方が局所反応の安定性が優れているようであったため、4.7 Hz (16 frame)を標準刺激として採用した。

続いて刺激の長さを検討した (図2B)。4.7 Hzのm-sequenceを用いた場合の刺激の長さは、4 frameを用いた時に瞳孔反応が最大となり、これより長くても短くても反応は減少した。

最後に、背景光の強さを検討した。正確な局所瞳孔反応を得るためには、適切な刺激と背景の光の強さの組み合わせが重要である。刺激の強さとしては最も明るい80cd/m²を用い、その場合の背景光は12cd/m²以上でなければ局所反応が得られないことがわかった (図2C)。以上の予備実験より、m-sequenceの刺激頻度4.7 Hz、刺激長4 frame、刺激光80cd/m²、背景光12cd/m²を標準記録条件として採用した。

2. 正常者における結果

視力、視野、および眼底が正常な被検者20名より、上記の標準記録条件で多局所瞳孔反応を記録した。正常者の右眼から記録した代表波形を図3Aに示す。各局所エレメントの刺激によって得られた瞳孔反応が記録されている。この同じ正常者から、日を変えて3回記録を行った結果を図3Bに示す。3回の反応を重ね合わせて示してあるが、再現性は比較的良好であることがわかった。

3. 視野異常患者における結果

最後に視野異常を有する患者より多局所瞳孔反

応を記録し、この結果を従来の静的視野の結果と比較した。全体的には、網膜疾患では瞳孔視野と静的視野の結果は比較的よい相関を示した。網膜色素変性症患者の結果を図4に示す。この患者では求心性視野狭窄が進行しており、自覚的な視野検査では視野は5度以内まで狭窄しているが、中心視力はまだ1.0に保たれている。この患者の多局所瞳孔反応の結果では、中心部の瞳孔反応だけ振幅がよく保たれていて、周辺部ではほとんど反応が記録されず、自覚的な視野と瞳孔視野の結果がよく一致していた。しかしながら、瞳孔視野計の中心部の振幅は正常であったが、頂点までの時間は著しくおくれしており、この2つのparameterが異なった機能指標として使われる可能性があることを示していた。

図5に示した患者は視交叉部の下垂体腫瘍による圧迫性視神経症の症例である。この症例では自覚的視野と瞳孔視野の結果の相関が低かった。例えば上耳側視野では自覚的視野では感度が極めて低いにも関わらず瞳孔視野の振幅は比較的保たれており、逆に上鼻側視野では自覚的視野では感度が比較的保たれているにもかかわらず、瞳孔視野の振幅は極めて低くなっている。全体的に視神経疾患ではこのように両視野の相関は低い傾向にあり、それは緑内障の症例にも共通していた。視神経疾患における両視野の相関の低い理由の一つとして、瞳孔反応に関与する神経節細胞と視覚に関与する神経節細胞は異なっており、疾患によってそれぞれの神経節細胞の脆弱度に差があるという可能性が考えられた。

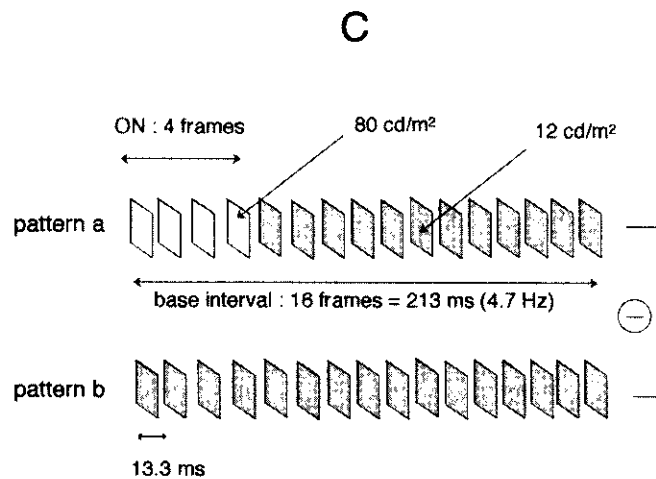
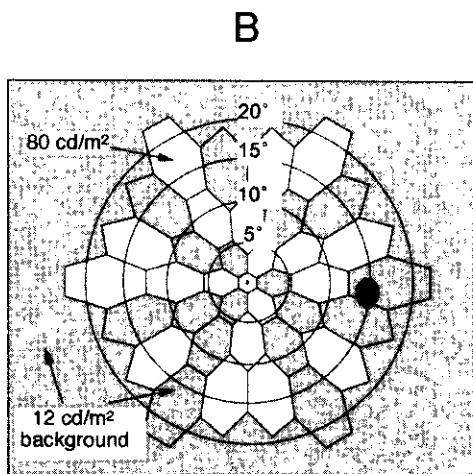
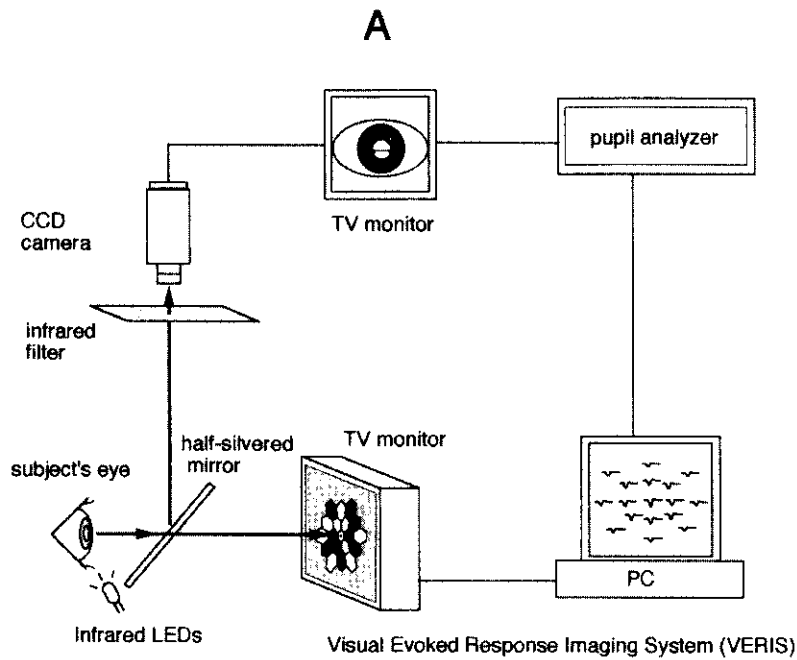
図6に示した患者は後頭葉の脳腫瘍による同名半盲の症例である。この症例に示したように、後頭葉部の障害による同名半盲の症例では両視野の相関はよく、半盲が瞳孔視野によっても検出できた。後頭葉病変によって瞳孔反応に異常がでる正確な機序は不明であるが、この現象は古くより知られており、後頭葉から瞳孔反応ループへのneural connectionの存在の可能性が考えられている。

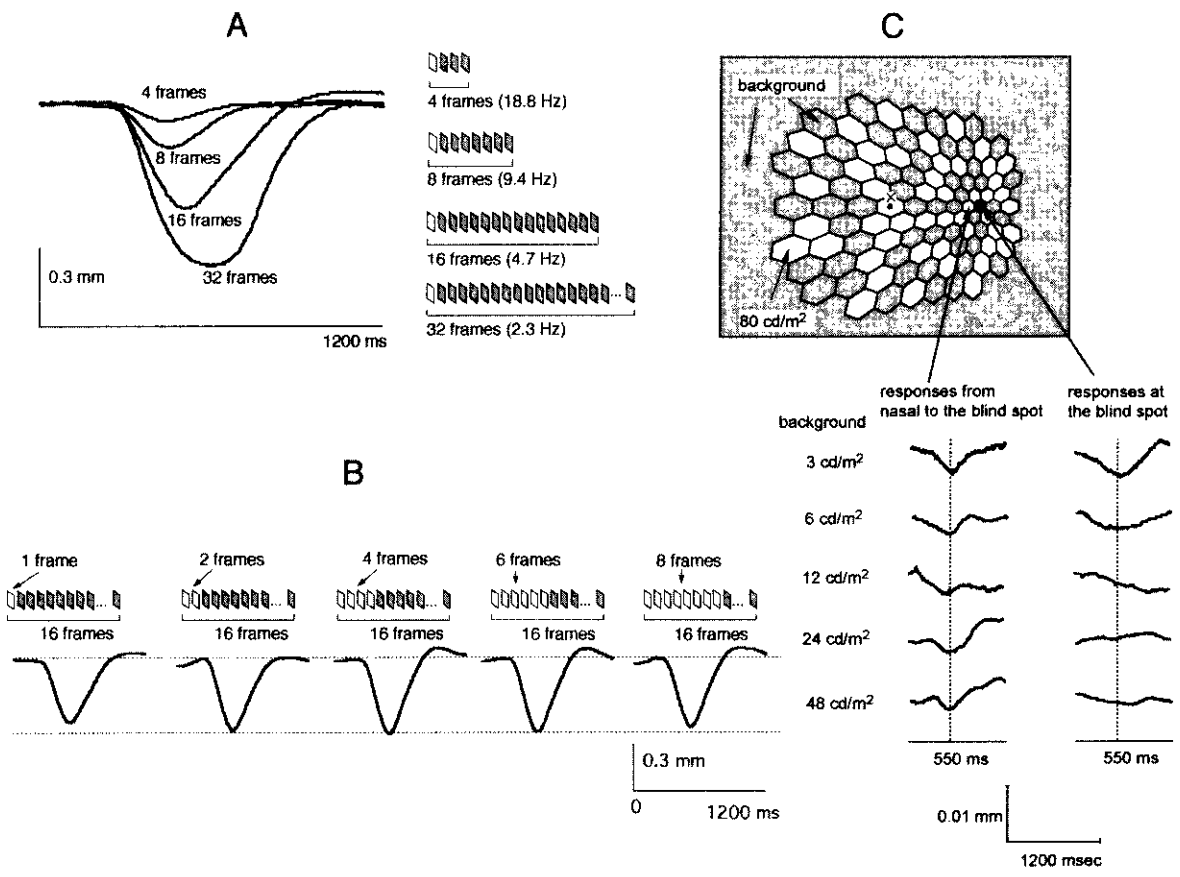
結論

多局所瞳孔反応は視神経より中枢の機能を他覚的に評価する手段として有用な方法であると考えられた。また本手法は比較的大きな実験動物を用いて網脈絡膜視神経萎縮疾患の治療トライアルを行う際にも使用できると考えられた。

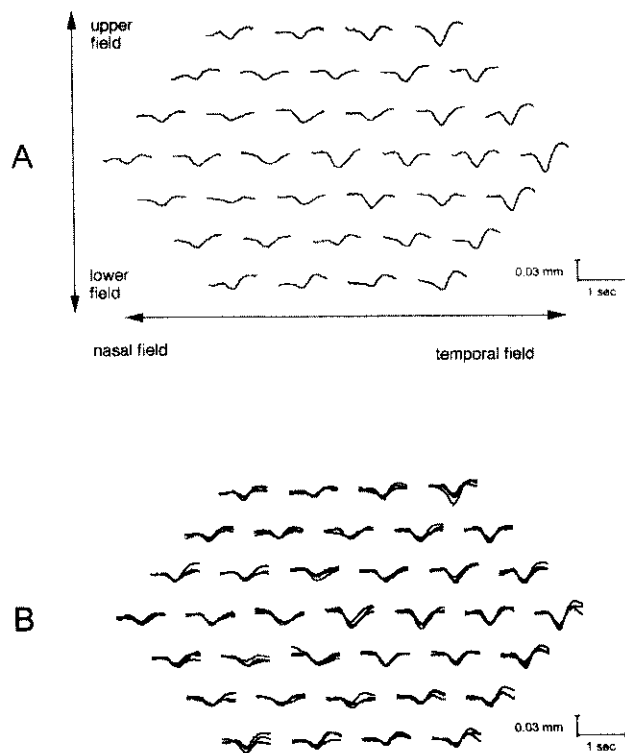
参考文献

1. Sutter, E. E & Tran, D. (1992). The field topography of ERG components in man. I. The photopic luminance response. *Vision Research*, 32, 433-446.
2. Sutter, E.E. (1996). The field topography of the pupillary response : Rod and cone inputs. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 37 (Suppl), S691.
3. Wilhelm, H., Neitzel, J., Wilhelm, B., Beuel, S., Ludtke, H., Kretschmann, U., & Zrenner E. (2000). Pupil perimetry using m-sequence stimulation technique. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, 41, 1229-1238.



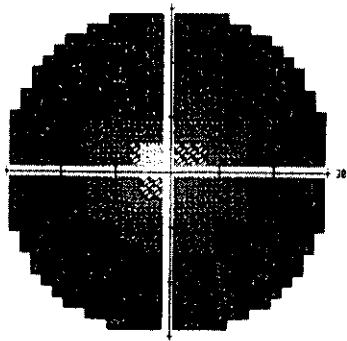


⊗ 2

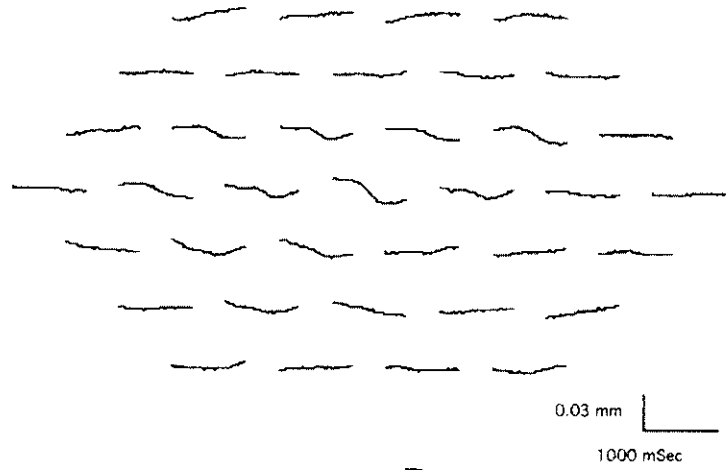


⊗ 3

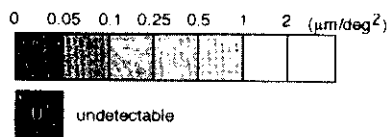
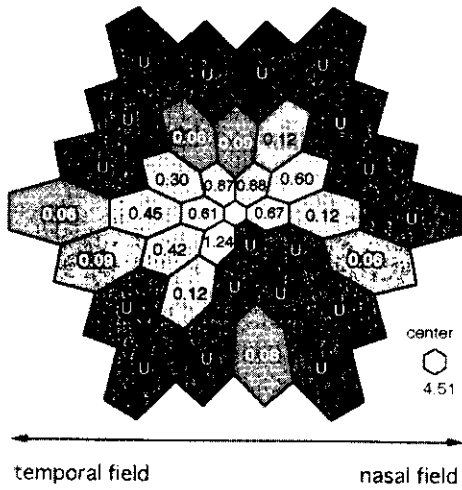
A
Humphrey Visual Field (30-2)
(Left Eye)



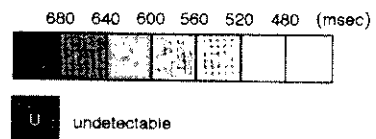
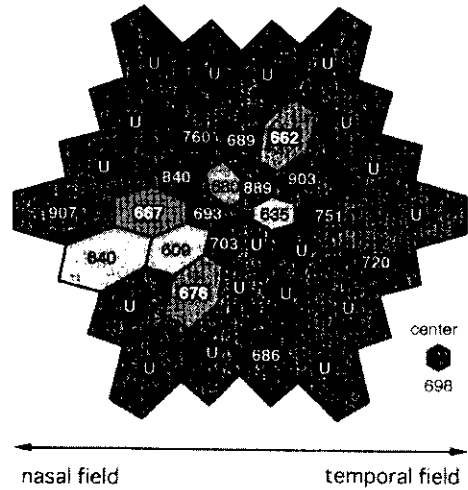
B
Multifocal Pupillary Light Response
(Left Eye)



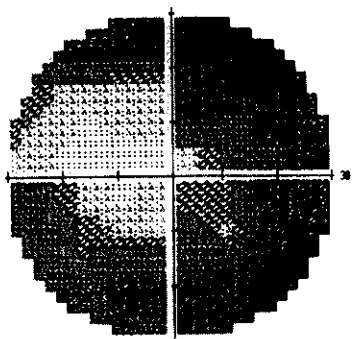
C
Constriction Amplitude
(Left Eye)



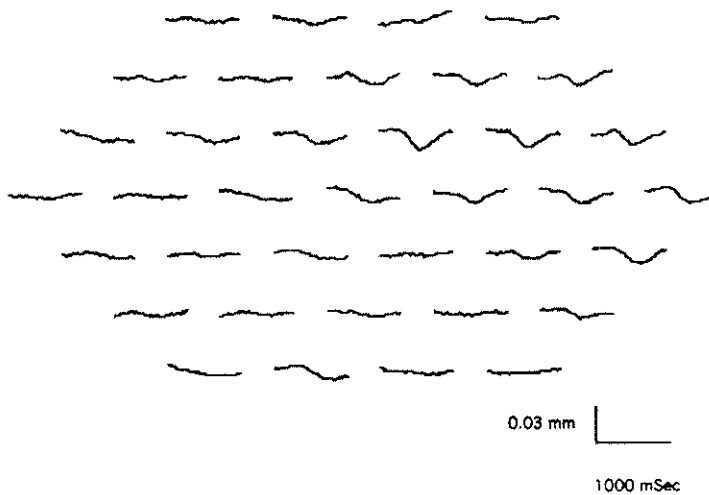
D
Time to Peak
(Left Eye)



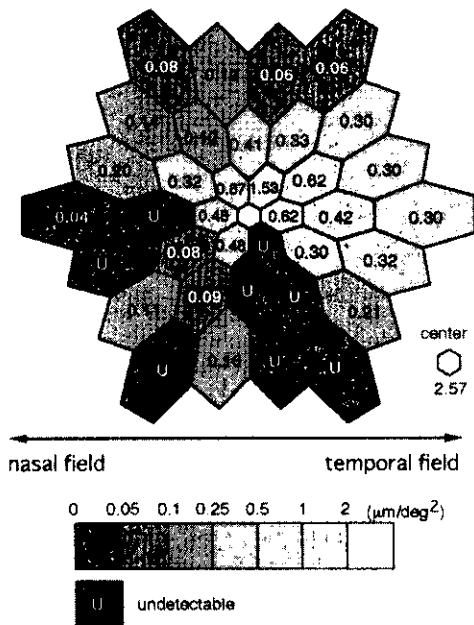
A
Humphrey Visual Field (30-2)
(Right Eye)



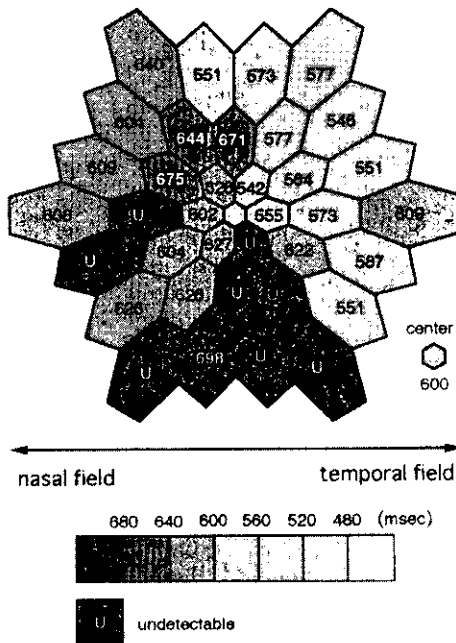
B
Multifocal Pupillary Light Response
(Right Eye)



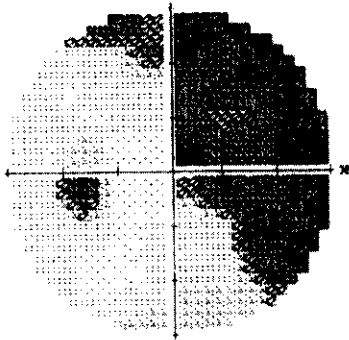
C
Constriction Amplitude
(Right Eye)



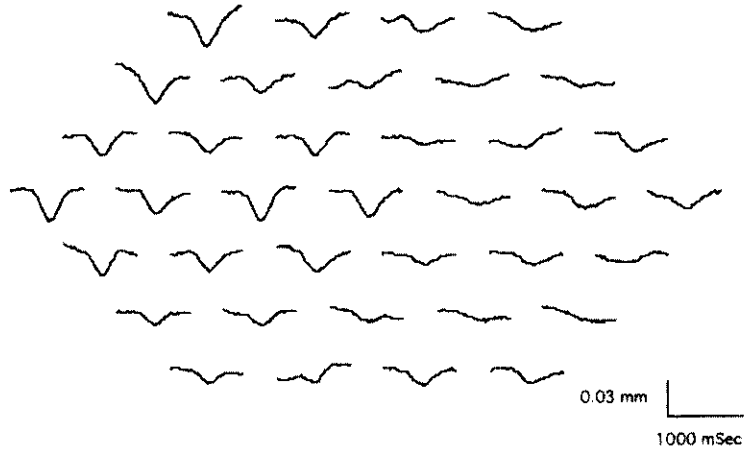
D
Time to Peak
(Right Eye)



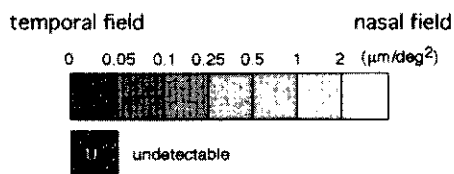
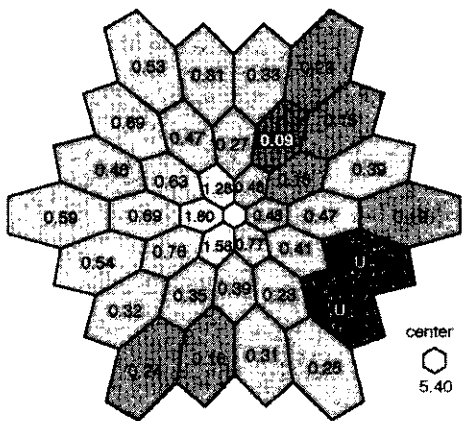
A
Humphrey Visual Field (30-2)
(Left Eye)



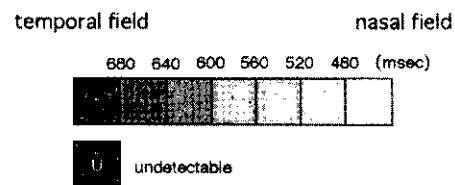
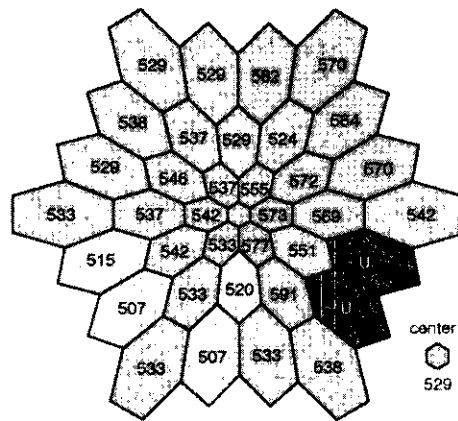
B
Multifocal Pupillary Light Response
(Left Eye)



C
Constriction Amplitude
(Left Eye)



D
Time to Peak
(Left Eye)



20010828

P. 94-105 は雑誌/図書等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。

資料

Multifocal pupillary light response fields in normal subjects and patients with visual field defects

Lei Tan, Mineo Kondo, Miho Sato, Nagako Kondo, Yozo Miyake

Vision Research 41 2001 P.1073-1084

CRX 遺伝子 Arg41Trp 変異を認めた錐体ジストロフィーの 1 家系

Ocular Findings in a Japanese Family with an Arg41Trp Mutation of CRX gene

板橋俊隆、 和田裕子、 佐藤 肇、 川村后幸、 國方彦志、 玉井 信
(東北大学医学部眼科)

T. Itabashi, Y. Nakagawa, Y. Wada, H. Sato, M. Kawamura, H. Kunikata,
and M. Tamai

(Department of Ophthalmology, Tohoku University School of Medicine, Sendai, Japan)

【抄 録】

目的：1997年に、Freundらより cone-rod homeobox (CRX) 遺伝子変異を伴った常染色体優性錐体杆体ジストロフィーが報告された。今回我々はCRX 遺伝子を用いてスクリーニングを行い、常染色体優性錐体ジストロフィーの 1 家系 2 例に Arg41Trp 変異を認めた。

方法：錐体杆体ジストロフィー及び錐体ジストロフィーの症例に対して CRX 遺伝子を用いてダイレクト・シーケンス法によりスクリーニングを施行した。異常が認められた症例に対して眼科的検査を施行し、遺伝子異常と表現型の連鎖を確認した。

結果：CRX 遺伝子のスクリーニングの結果、1 家系 2 例に Arg41Trp 変異を確認し、表現型とも連鎖を認めた。

結論：日本人の錐体ジストロフィーの 1 家系に CRX 遺伝子 Arg41Trp 変異を認め、CRX 遺伝子変異は日本人常染色体優性錐体ジストロフィーにも関与する事が考えられた。

Abstract

PURPOSE : To characterize the ophthalmological features and course of autosomal dominant cone-rod dystrophy (ADCRD) in a Japanese family with an Arg41Trp mutation in the CRX gene.

METHODS : Mutation screening by direct sequencing was performed on 42 patients with cone-rod dystrophy. The clinical features of the patients were characterized by the visual acuity, slit-lamp biomicroscopy, electroretinography, fluorescein angiography, and kinetic visual field testing.

RESULTS : An Arg41Trp mutation in the CRX gene was identified in two members of one family with cone-rod dystrophy. These members were from two generations and fundus examination demonstrated that the cone dystrophy worsened with increasing age.

CONCLUSIONS : A heterozygous Arg41Trp mutation in the CRX gene produces cone-rod dystrophy in Japanese patients. Clinical examination of patients of different ages demonstrated that there was a rapid progression of the disease with increasing age.

キーワード：遺伝子変異、錐体杆体ジストロフィー、錐体ジストロフィー

Key Words : cone-rod homeobox, CRX, mutation, cone rod dystrophy, cone dystrophy

緒言

cone-rod homeobox (CRX) は、初めて視細胞に特異的な homeodomain 転写因子として確認された。19番染色体長腕に位置し、300個のアミノ酸をコードしている。そのうち homeodomain に相当するものは、codon39~98の180bpである。1997年、

FreundらによりCRX遺伝子変異を伴った常染色体優性錐体杆体ジストロフィーが報告され¹⁾、同年、Swainらからも報告された²⁾。今回我々は、日本人の常染色体優性錐体杆体ジストロフィーに対してCRX 遺伝子解析を施行し、臨床像との関連を研究した。

対象と方法

常染色体優性錐体杆体ジストロフィー及び錐体ジストロフィー43家系を対象とした。患者の末梢白血球よりDNAを抽出し、PCR法を用いてCRX遺伝子exon1～3を増幅した。その後、ダイレクト・シーケンス法(ABI3100)を用いて塩基配列を決定し、解析した。遺伝子変異を認めた症例については、眼科的検査(視力、ゴールドマン動的量的視野、細隙灯顕微鏡検査、眼底検査、蛍光眼底造影、網膜電図)を施行し、遺伝子異常と表現型との連鎖を確認した。

結果：常染色体優性錐体ジストロフィー1家系2例にArg41Trp変異をヘテロ接合体で認めた。2例の臨床像を検討した結果、眼底所見、蛍光眼底造影所見、視野所見は年齢に依存して進行を認めた。

症例1：52才、女性。40才頃より両眼の中心視力低下を自覚していた。初診時視力はRV=0.4(0.5x-0.75D)、LV=0.2(0.3x+0.25D)で、両眼底は中心窩を閉むように網膜が粗雑になっており左眼では黄白色沈着物も認められた。視野では両眼に中心暗点を認めた。

症例2：27才、男性(症例1の息子)。23才時より左眼の中心暗点を自覚していた。初診時視力は、RV=1.2(n.c.)、LV=1.0(n.c.)で、眼底は、初診時には黄斑部網膜の色調が不良で、3年間に徐々に萎縮の進行を認め、2001年8月1日には視力はRV=0.1(n.c.)、LV=0.1(n.c.)と低下、視野では両眼に中心暗点を認めた。

考案：CRXは視細胞に特異的なhomeobox転写因子で、視細胞の分化と維持に重要な役割になっている。その遺伝子変異は、一部は錐体杆体ジストロフィーを引き起こし、その他Leber先天盲に関与する事も知られている。錐体杆体ジストロフィーにおけるCRX遺伝子変異は、現在まで8種類が報告されており^{1)~7)}、今回認めたArg41Trp変異も1997年のSwainらを初め、既に報告されているものであった²⁾。日本人におけるArg41Trp変異は、2001年にItoらから報告されており⁸⁾、今回の我々の症例も含め、日本人の常染色体優性錐体杆体ジストロフィーにも関与すると考えられた。

References

1. Freund CL, Gregory-Evans CY, Furukawa T, Papaioannou M, Looser J, et al. Cone-rod dystrophy due to mutations in a novel photoreceptor-specific homeobox gene(CRX) essential for maintenance of the photoreceptor. *Cell* 1997; 91: 543-553.

- Swain PK, Chen S, Wang QL, Affatigato LM, Coats CL, Brady et al. Mutations in the cone-rod homeobox gene are associated with the cone-rod dystrophy photoreceptor degeneration. *Neuron*. 1997; 19: 1329-1336.
- Freund CL, Wang QL, Chen S, Muskat BL, Wiles CD, et al. De novo mutations in the CRX homeobox gene associated with Leber congenital amaurosis. *Nat Genet*. 1998; 18: 311-312.
- Tzekov RT, Sohocki MM, Daiger SP, Birch DG. Visual phenotype in patients with Arg41 Gln and ala196+1bp mutations in the CRX gene. *Ophthalmic Genet*. 2000; 21: 89-99.
- Sankila EM, Joensuu TH, Hamalainen RH, Raitanen N, Valle O, Ignatius J, Cormand B. A CRX mutation in a Finnish family with dominant cone-rod retinal dystrophy. *Hum Mutat*. 2000; 16: 94.
- Jacobson SG, Cideciyan AV, Huang Y, Hanna DB, Freund CL, et al. Retinal degenerations with truncation mutations in the cone-rod homeobox (CRX) gene. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1998; 39: 2417-2426.
- Sohocki MM, Sullivan LS, Mintz-Hittner HA, Birch D, Heckenlively JR, et al. A range of clinical phenotypes associated with mutations in CRX, a photoreceptor transcription-factor gene. *Am J Hum Genet*. 1998; 63: 1307-1315.
- Ito S, Nakamura M, Suzuki S, Terasaki H, Miyake Y. CRX Mutations and Clinical Phenotype in Japanese Patients with Cone(-Rod) Dystrophy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001; 42 (supp): 3438.

ペリフェリン/RDS 遺伝子の新規変異 (Arg195Leu) をともなった常染色体優性 中心性輪紋状脈絡膜ジストロフィ家系の臨床像と遺伝子変異の連関

Autosomal dominant central areolar choroidal dystrophy
and a novel Arg195Leu mutation in the peripherin/RDS gene

柳橋さつき、 中沢 満、 佐藤元哉、 宮川靖博、 大黒 浩
(弘前大学医学部眼科学教室)
黒滝淳二 (黒滝眼科)

Satsuki Yanagihashi, Mitsuru Nakazawa, Motoya Sato, Yasuhiro Miyakawa, Hiroshi Ohguro
(Department of Ophthalmology, Hirosaki University School of Medicine)
Junji Kurotaki (Kurotaki eye clinic)

【要 旨】

われわれは、常染色体優性網膜変性患者を対象にペリフェリン/RDS 遺伝子診断スクリーニングを行い、日本人の中心性輪紋状脈絡膜ジストロフィの1家系で新規のペリフェリン/RDS 遺伝子変異 (Arg195Leu) を検出した。また、既報の方法にしたがい、臨床的重症度は網膜電図によってスコア化し、分子構造の変化度は変異遺伝子から転写されると想定される変異蛋白質の二次構造の変化度を推定した。その結果、両者の間には相関が見られ、この変化度の大小が変異ペリフェリン/RDS 遺伝子のミスセンス変異によって引き起こされる表現型の重症度を説明する要因のひとつになる可能性が示唆された。

Abstract

In this study, we identified a novel heterozygous transversion mutation in a codon 195 of the peripherin/RDS gene that results in an amino acid substitution of leucin for arginine (Arg195Leu) in a Japanese family with autosomal dominant central areolar choroidal dystrophy (ad CACD). We further analyzed the relationship between clinical severity and degree of molecular changes caused by mutations. The clinical severity was scored according to electroretinograms and molecular changes was estimated by the changes of secondary structure of putative mutated protein translated by the mutated gene. We found a significant correlation between clinical severity and score of molecular changes. We conclude that degree of change in the secondary structure may be one factor which defines the severity of the phenotype caused by a missense mutation of the peripherin/RDS gene.

キーワード：常染色体優性、ペリフェリン/RDS遺伝子、中心性輪紋状脈絡膜ジストロフィ、
新規変異、二次構造

目的

本研究はペリフェリン/RDS 遺伝子変異の網膜変性に及ぼす影響を探る研究の一端として、新規のペリフェリン/RDS 遺伝子変異を同定するとともに、その遺伝子変異のよって引き起こされる網膜変性症の臨床像の特徴を明らかにすることを目的とした。さらに遺伝子変異と表現型の関連を明らかにすることを目的として、既報のペリフェリン/RDS 遺伝子変異と表現型との異同を変異蛋白質の二次構造の解析を加えて比較検討した。

方法

1) 対象

常染色体優性遺伝形式を疑わせる遺伝性網膜変性症46例を対象とした。対象家系の疾患別内訳は中心性輪紋状脈絡膜ジストロフィ2家系、その他の黄斑ジストロフィ2家系、網膜色素変性42家系であった。また、眼疾患を持たない正常者50例をコントロールとした。

2) 遺伝子診断

患者末梢血から白血球を分離し、遺伝子 DNA を調整し、ペリフェリン/RDS 遺伝子の2つのエ

クソンを300bp以下の6つのDNA断片としてポリメラーゼ連鎖反応 (polymerase chain reaction; PCR) 法にて増幅した。増幅したPCR産物は、銀染色を用いた非ラジオアイソトープによる一本鎖DNA高次構造多型解析 (non-radioisotopic single strand conformation polymorphism: SSCP) 法を原則として、電気泳動と銀染色を行った。その結果、突然変異によると思われる異常なDNAバンドが検出されたものに関して直接塩基配列を決定した。

3) 遺伝子異常と表現型の関連

SSCP法で異常の認められた患者の家系についてその表現型の特徴を明らかにするため、矯正視力、眼底所見、蛍光眼底造影、静的視野、網膜電図の所見を解析した。

4) 変異蛋白質の二次構造の解析

既報¹⁾の方法にしたがい、ミスセンス変異によって変化すると推定される変異蛋白質の二次構造の変化度をスコア化した。

結果

1) 遺伝子スクリーニングおよびDNA塩基配列

46例中同一家系の2例に突然変異と思われる異常なバンドが認められた。これらの患者について塩基配列を決定したところ、コドン195がCGA (アルギニン) からCTA (ロイシン) への変異がヘテロ結合にて認められた (図1)。他のエクソンの翻訳領域には異常は認められなかった。またコントロールについてSSCP法によるスクリーニングを行ったが同一の異常バンドは検出されなかった。

2) 遺伝子異常と表現型の関連

この遺伝子異常によって引き起こされる臨床像の特徴をまとめると以下ようになる。視力低下の自覚は40代後半以降に始まる。年齢とともに、眼底は黄斑部を中心とした境界鮮明な進行性の網脈絡膜萎縮巣 (図2) となり、蛍光眼底造影では後極部の境界鮮明な萎縮巣に一致した背景蛍光の減弱を認めた。網膜電図では桿体および錐体ともに反応の軽度減弱がみられた。視野は中心暗点を認めた。以上の所見よりこの家系の臨床像は中心性輪紋状脈絡膜ジストロフィであり、本家系の重症度は同様の変性を示す既報¹⁾のArg172GlnとArg172Trpのはほぼ中間に位置すると考えられた。

3) 変異蛋白質の二次構造の解析

Arg195Leuによる二次構造の変化度はスコア2であり、Arg172GlnおよびArg142Trpのスコア1、Arg172Trpのスコア3の中間の値となった。

考察

ペリフェリン/RDSは346個のアミノ酸から成り、桿体視細胞だけでなく錐体視細胞にも存在し、外節円盤膜の構造維持に寄与していると考えられている糖蛋白である。この遺伝子の変異の部位と種類によっては網膜色素変性、錐体桿体ジストロフィ、中心性輪紋状脈絡膜ジストロフィ、卵黄様黄斑ジストロフィなどこれまで異なる範疇に分類されてきたさまざまな疾患が起こることが明らかにされてきている。今回の検索によりペリフェリン/RDS遺伝子の新規変異Arg195Leuが発見され、その臨床像の特徴は中心性輪紋状脈絡膜ジストロフィであることが判明した。その臨床像の重症度はArg142Trpによる同症の報告より重症でArg172Trpより軽症であった^{2,3,4)}。これは変異蛋白質の二次構造の変化度のスコアの結果とも類似しており、この変化の程度がペリフェリン/RDS変異による網膜変性症の臨床的重症度を説明する要因のひとつになる可能性が示唆された。

参考文献

1. Nakazawa M, Wada Y, Chida Y, Tamai M. A correlation between computer-predicted changes in secondary structure and the phenotype of retinal degeneration associated with mutations in peripherin/RDS. *Curr Eye Res.* 1997; 16: 1134-1141.
2. Nakazawa M, Wada Y, Tamai M. Macular dystrophy associated with monogenic Arg172Trp mutation of the peripherin/RDS gene in a Japanese family. *Retina*, 1995; 15: 518-523.
3. Piguet B, Heon E, Munier FL, et al. Full characterization of the maculopathy associated with Arg-172-Trp mutation in the RDS/peripherin gene. *Ophthalmic Genet.* 1996; 17: 175-186.
4. Hoyng CB, Heutink P, Testers L, et al. Autosomal dominant central areolar choroidal dystrophy caused by a mutation in codon 142 in the peripherin/RDS gene. *Am J Ophthalmol.* 1996; 121: 623-629.

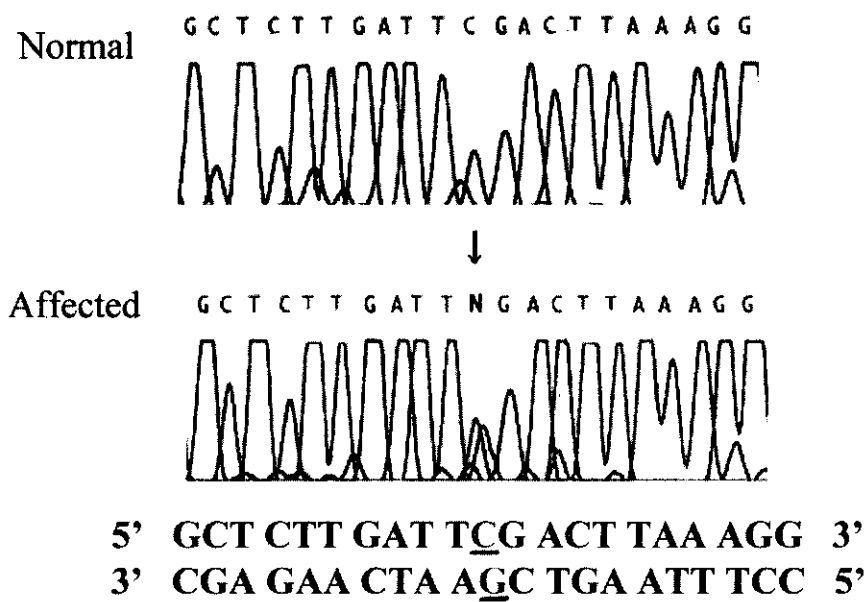


図1 コドン195が CGA(アルギニン) から CTA (ロイシン) への変異がヘテロ結合にて認められた。

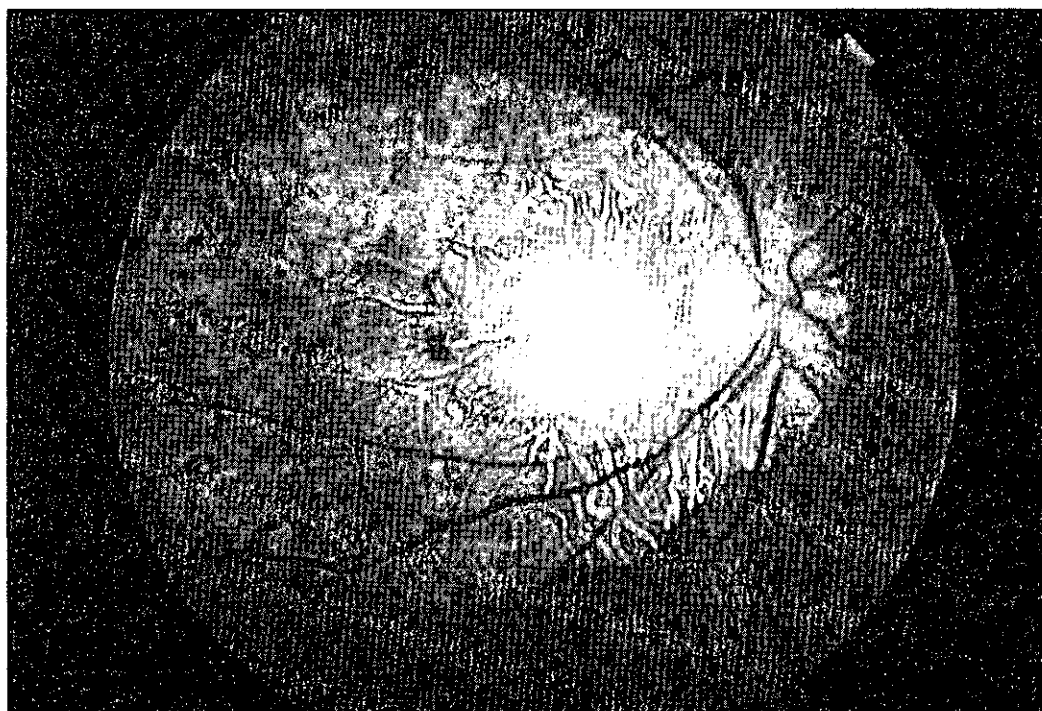


図2 黄斑部を中心とした境界鮮明な網脈絡膜萎縮巣があり、脈絡膜血管も透見できる。

20010828

P. 111-118は雑誌/図書等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。

資料

1. Nakazawa M, Wada Y, Chida Y, Tamai M.
A correlation between computer-predicted changes in secondary structure and the phenotype of retinal degeneration associated with mutations in peripherin/RDS. *Curr Eye Res.* 1997; 16 : 1134 - 1141.

GUCY 2 D 遺伝子に変異が認められた錐体杆体ジストロフィー 4 家系とその臨床像

GUCY 2 D Mutations and Clinical Phenotype in Japanese Patients with cone-rod dystrophy

中村 誠、 伊藤 正、 三宅養三 (名古屋大学医学部眼科)
布 佳久 (山口大学医学部眼科)
大西克尚 (和歌山県立医科大学眼科)

Makoto Nakamura, Sei Ito, Yozo Miyake (Department of Ophthalmology, Nagoya University School of Medicine)
Yoshihisa Nuno (Department of Ophthalmology, Yamaguchi University School of Medicine)
Yoshitaka Oonishi (Department of Ophthalmology, Wakayama Medical College)

【要 約】

錐体杆体ジストロフィー (CORD) は視力低下や色覚異常で発症し、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。これまで、*peripherin / RDS*、*CRX*、*ABCR*、*GUCA 1 A*、*GUCY 2 D (RETGC-1)* 等の遺伝子の異常が常染色体優性 CORD の原因として報告されている。今回我々は27家系の CORD の *GUCY 2 D* 遺伝子を検討した結果、常染色体優性遺伝形式の11家系中4家系に変異が検出され、日本人の常染色体優性 CORD は比較的高頻度で *GUCY 2 D* の異常により生じると考えられた。2家系には既に欧米で報告のある各々 R838C と R838H の変異が、1家系には新規の I915T+G917R の変異が検出され、家系内での segregation が確認された。もう1家系には新規の変異の可能性のある G542S が検出された。これらの症例では、眼底には著明な異常は認められず、強度近視を伴うことが多く、ERG では錐体系の反応が著しく障害され、また杆体錐体視野では杆体の感度が比較的良好に保たれているなどの共通性が認められた。

Abstract

Cone(-rod) dystrophy (CORD), 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. The typical symptoms of onset include loss of color discrimination and central visual disturbance. To date, several genes including *peripherin / RDS*, *CRX*, *ABCR*, *GUCA 1 A* and *GUCY 2 D (RETGC-1)* have been identified as the causing genes of autosomal dominant CORD. We screened *GUCY 2 D* gene in 27 families with CORD including 11 families with autosomal dominant inheritance, and found 4 heterozygous missense mutations in 4 families with autosomal dominant inheritance, indicating that Japanese families with autosomal dominant CORD are caused by a *GUCY 2 D* gene mutation with a relatively high frequency. The identified mutations included two known mutations, R838C and R838H, a novel complex mutation, I915T + G917R, and a putative novel mutation, G542S. The clinical features in the patients with the mutations resembled in several points: they showed minimal fundus abnormality with high myopia, and the photopic responses in electroretinogram were significantly reduced, and the rod sensitivity determined by dark-adapted perimetry was relatively well preserved.

キーワード：錐体杆体ジストロフィー、*GUCY 2 D* 遺伝子、遺伝子診断

Key words : cone-rod dystrophy, *GUCY 2 D* gene, DNA diagnosis

目的

錐体杆体ジストロフィーは網膜ジストロフィーの一種で、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、網膜電図では錐体系が杆体系よりも強く障害される。これまでに常染色体優性遺伝錐体杆体ジストロフィーの原因として、*peripherin/RDS*、*CRX*、*ABCR*、*GUCA1A*、*GUCY2D*等の遺伝子の異常が報告されている。*GUCY2D*遺伝子はretinal guanylyl cyclaseをコードしている遺伝子で*RetGC-1*とも呼ばれ、構造的には細胞外ドメイン、トランスメンブレンドメイン、kinase homology domain, dimerization domain, cyclase catalytic domainにより構成されている。¹⁾ これまで欧米ではいくつかの常染色体優性錐体杆体ジストロフィーの家系でこの遺伝子の変異が報告されているが、それらはすべてdimerization domain内にあるコドン838番の変異を含むものである。²⁻⁸⁾ 今回我々は錐体杆体ジストロフィー27家系の*GUCY2D*遺伝子の異常の有無を検討した。家族歴から常染色体優性遺伝形式と考えられた家系は11家系だったが、それらのうち4家系に、この遺伝子の変異を検出した。変異が認められた症例については臨床像の検討を行った。

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27家系の患者の末梢白血球から染色体DNAを抽出し、*GUCY2D*遺伝子のエクソン2~19をPCR法で増幅し、ABI373または3100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アレルについても同様に塩基配列を決定した。異常が認められた症例については、視力、視野、色覚、ERG、杆体錐体視野等の機能的検討を行った。

結果

錐体杆体ジストロフィー27家系の*GUCY2D*遺伝子を検討したところ、常染色体優性遺伝形式の4家系にミスセンス変異を検出した(図1)。家系1の症例1からはすでに欧米で報告されているArg838Cysの変異が検出され、家系2の症例2とその母親である症例3からは、これも既に欧米で報告のあるコドン838番の変異、Arg838Hisが検出された(図2)。また家系3の症例4では、コドン915番(Ile915Thr)と917番(Gly917Arg)に2つの近接したミスセンス変異がヘテロ接合で認められた(図2)。これは今までに報告のない変異で、この家系内で調べた罹患者5人全員にこの2つの変異が認められ、非罹患者5人には全く認められなかった。

家系4の症例5でも新しい変異と思われる塩基変化(Gly542Ser)が認められたが、これに関しては家系内でのセグリゲーションの確認はまだされていない(図1、2)。

臨床像では、全症例で20歳台から30歳台で視力低下が始まったものが多く、殆どの罹患者で最終視力は矯正0.1以下だった(表1)。また強度近視を伴うものが多く(表1)、さらに症例1や症例4の家系内の罹患者は全員が強い近視だった。

眼底には全症例において近視様変化以外明らかな異常は検眼鏡的に認められなかったが(図3)、症例2、3、4で施行された蛍光眼底撮影写真では、黄斑部に多少の過蛍光が認められた(図4)。ただし症例4については父親や祖母等同一家系内の高齢な罹患者に著明な黄斑変性が認められた。ゴールドマン視野では、症例1、2、5では中心暗点、症例3では盲点拡大が認められ、症例4ではほぼ正常だった。色覚検査では殆どの症例で強度の異常が認められた(表1)。

Full-field ERGでは、全症例で錐体反応は殆ど記録されず、30ヘルツフリッカーERGの反応も著しく低下しており、錐体系の著明な機能障害が示唆された。杆体反応はやや減弱しているものの明らかに認められた(図5)。また10度のスポットサイズを用いた黄斑部局所の錐体系ERGでは、全症例で殆ど振幅は記録されず、黄斑部の網膜の機能が著しく低下していることが示唆された。杆体錐体視野では、全症例で特に黄斑部を中心に、錐体系の著しい感度低下が認められた。一方杆体系の感度は黄斑部を含めて全視野にて比較的良好に保たれていた。

考察

今回4家系の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患者から*GUCY2D*遺伝子のミスセンス変異がヘテロ接合で検出された。このことから、日本人においても一部の常染色体優性錐体杆体ジストロフィーは*GUCY2D*遺伝子の異常により生じることが確認された。これまで欧米において常染色体優性錐体杆体ジストロフィーの原因として同定されている*GUCY2D*遺伝子の変異は、R838S(6家系)、R838H(2家系)、E837D+R838S(1家系)及びE837D+R838C+T839M(1家系)で、すべてコドン838番を含んだ単一の変異または、これを含む2つあるいは3つの隣接したコドンに複数のヘテロ接合の変異が見い出されている。²⁻⁸⁾ 今回検出された4種類の変異のうち、2種類はこれら既に報告されているR838SとR838Hと同一のものであり、コドン838番は人種を越えて変異のホットスポットであると考えられた。*GUCY2D*遺伝子の変異はレーバー先天盲も引き起こすことが知られ

ているが、これまでの報告では、*GUCY2D* 遺伝子のコドン838番に変異があった場合のみヘテロ接合で錐体杆体ジストロフィーを引き起こし、dimerization domain 以外のドメインに変異があった場合はヘテロ接合では病気は生じず、ホモ接合あるいは複合ヘテロ接合でレーバー先天盲を発症すると考えられていた。これに対し我々の家系3で認められたI915T+G917Rの変異は cyclase catalytic domain 内にあり、*GUCY2D* 遺伝子の変異は dimerization domain 以外の変異でもヘテロ接合で錐体杆体ジストロフィーを生じることが明らかとなった。このI915T+G917Rの変異は、どちらかが疾患の原因であり、どちらかは疾患と関係のないポリモルフィズムである可能性もあるが、この二つのアミノ酸は両方とも生物種差を越えて良く保存されており、両方ともが疾患に関係している可能性もあると考えられる。

今回 *GUCY2D* 遺伝子に変異が認められた症例では、眼底には著明な異常は認められず、強度近視を伴い、ERG では錐体系の反応が著しく障害されており、また杆体錐体視野では杆体の感度が比較的良好に保たれているなどの共通性が認められ、*GUCY2D* 遺伝子の異常による錐体杆体ジストロフィーでは比較的臨床像が類似していると考えられた。

文献

1) Laura RP, Dizhoor AM, Hurley JB. The membrane guanylyl cyclase, retinal guanylyl cyclase-1, is activated through its intracellular domain. *J Biol Chem*. 1996;271:11646-11651.
 2) Perrault I, Rozet JM, Gerber S, Kelsell RE, Souied E, Cabot A, Hunt DM, Munnich A, Kaplan J. A retGC-1 Mutation in autosomal dominant cone-rod dystrophy. *Am J Hum Genet*. 1998;63:651-654.

3) Kelsell RE, Gregory-Evans K, Payne AM, Perrault I, Kaplan J, Yang RB, Garbers DL, Bird AC, Moore AT, Hunt DM. Mutations in the retinal guanylate cyclase (*RETGC-1*) gene in dominant cone-rod dystrophy. *Human Molecular Genetics*. 1998;7:1179-1184.
 4) Weigell-Weber M, Fokstuen S, Torok B, Niemeyer G, Schinzel A, Hergersberg M. Codons 837 and 838 in the retinal guanylate cyclase gene on chromosome 17p: ot spots for mutations in autosomal dominant cone-rod dystrophy? *Arch Ophthalmol*. 2000;118:300.
 5) Van Ghelue M, Eriksen HL, Ponjavic V, Fagerheim T, Andreasson S, Forsman-Semb K, Sandgren O, Holmgren G, Tranebjaerg L. Autosomal dominant cone-rod dystrophy due to a missense mutation (R838C) in the guanylate cyclase 2 D gene (*GUCY2D*) with preserved rod function in one branch of the family. *Ophthalmic Genetics*. 2000;21:197-209.
 6) Gregory-Evans K, Kelsell RE, Gregory-Evans CY, Downes SM, Fitzke FW, Holder GE, Simunovic M, Mollon JD, Taylor R, Hunt DM, Bird AC, Moore AT. Autosomal dominant cone-rod retinal dystrophy (CORD6) from heterozygous mutation of *GUCY2D*, which encodes retinal guanylate cyclase. *Ophthalmology*. 2000;107:55-61.
 7) Payne AM, Morris AG, Downes SM, Johnson S, Bird AC, Moore AT, Bhattacharya SS, Hunt DM. Clustering and frequency of mutations in the retinal guanylate cyclase (*GUCY2D*) gene in patients with dominant cone-rod dystrophies. *J Med Genet*. 2001;38:611-614.

	年齢 (年)	性別	視力	発症 年齢	眼底	視野	色覚	<i>GUCY2D</i> の変異
症例 1	34	女	右 (0.03 x -13.0 D) 左 (0.08 x -12.0 D)	幼少 時	近視 様	中心 暗点	青黄 異常	Arg838Cys
症例 2	27	男	右 (0.03 x -12.0 D) 左 (0.06 x -11.0 D = cyl -1.5 D A130°)	22歳 頃	近視 様	中心 暗点	強度赤 緑異常	Arg838His
症例 3	53	女	右 (0.03 x -5.0 D = cyl -1.75 D A180°) 左 (0.02 x -5.0 D = cyl -1.75 D A175°)	35歳 頃	近視 様	盲点 拡大	強度 異常	Arg838His
症例 4	25	男	右 (0.1 x -9.5 D = cyl -0.5 D A180°) 左 (0.1 x -9.5 D = cyl -1.0 D A155°)	20歳 頃	近視 様	正常	青黄 異常	Ile915Thr Gly917Arg
症例 5	42	男	右 (0.2 x cyl -1.75 D A40°) 左 0.1 (矯正不能)	35歳 頃	血管 狭窄	中心 暗点	強度青 黄異常	Gly542Ser

8) Downes SM, Payne AM, Kelsell RE, Fitzke FW, Holder GE, Hunt DM, Moore AT, Bird AC. Autosomal dominant cone-rod dystrophy with mutations in the guanylate cyclase 2D gene

encoding retinal guanylate cyclase-1. Arch Ophthalmol. 2001 ; 119 : 1667-1673.

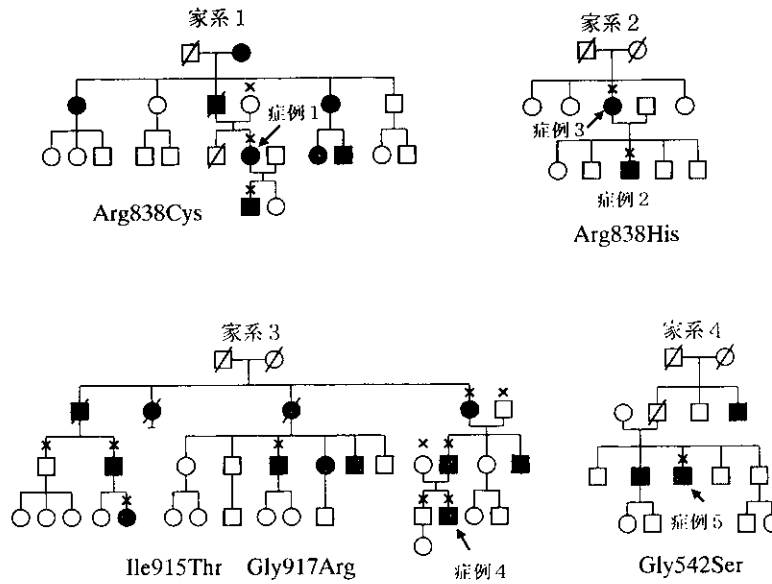


図1 *GUCY2D* 遺伝子に変異が検出された錐体杆体ジストロフィー4家系の家系図。全家系で常染色体優性遺伝形式が認められる。

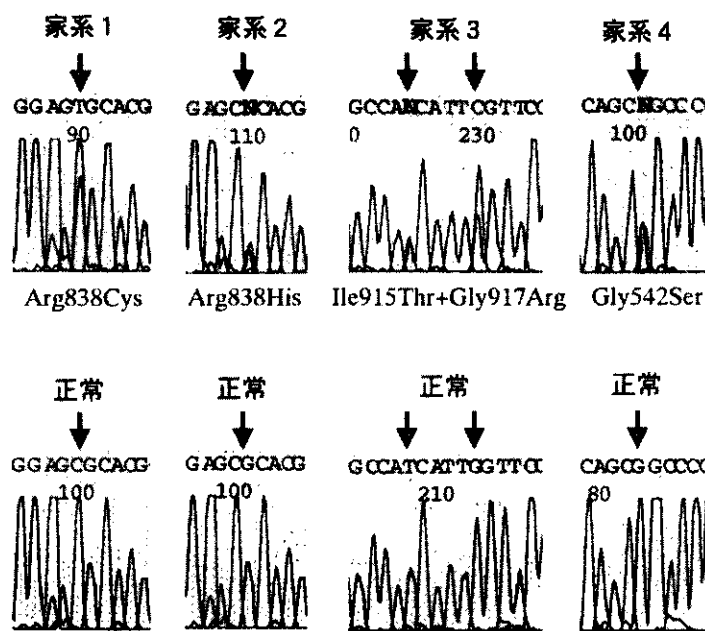


図2 センスプライマーを用いたオートシーケンサーによる塩基配列の結果。矢印は変異の位置を示す。各家系に *GUCY2D* 遺伝子のミスセンス変異がヘテロ接合で認められた。

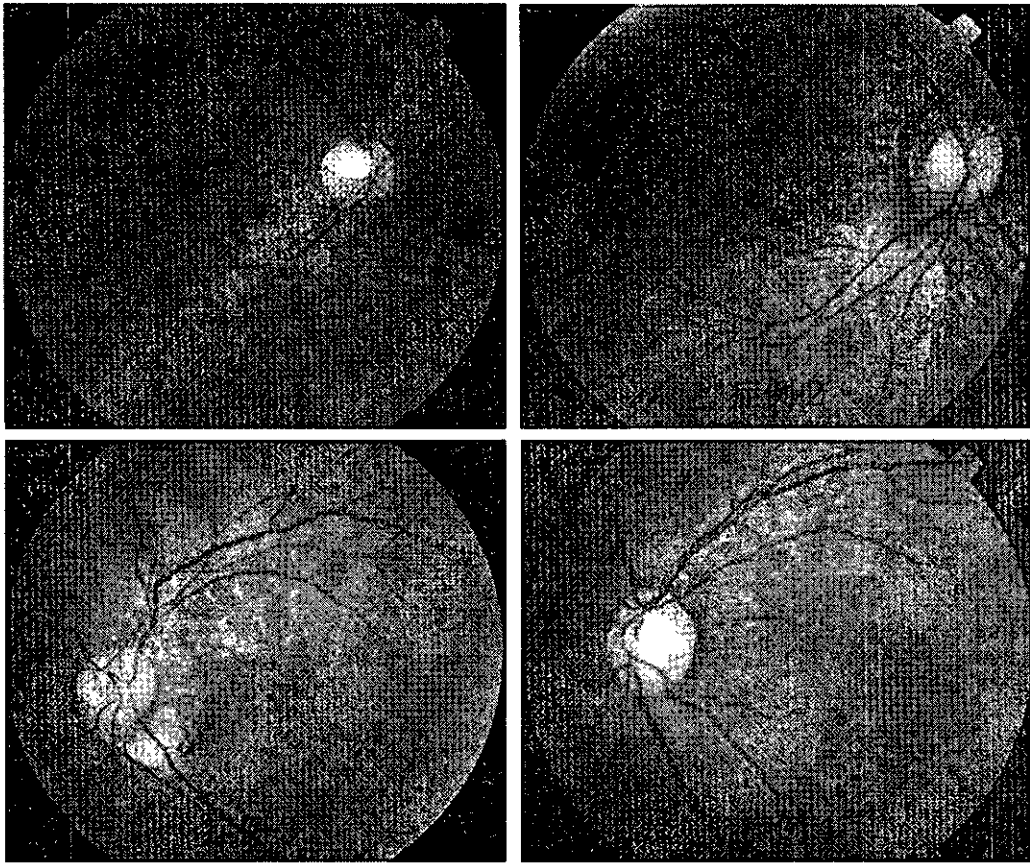


図3 *GUCY2D* 遺伝子に変異が検出された錐体杆体ジストロフィー4症例の眼底写真。近視様変化以外に著明な異常は認められない。

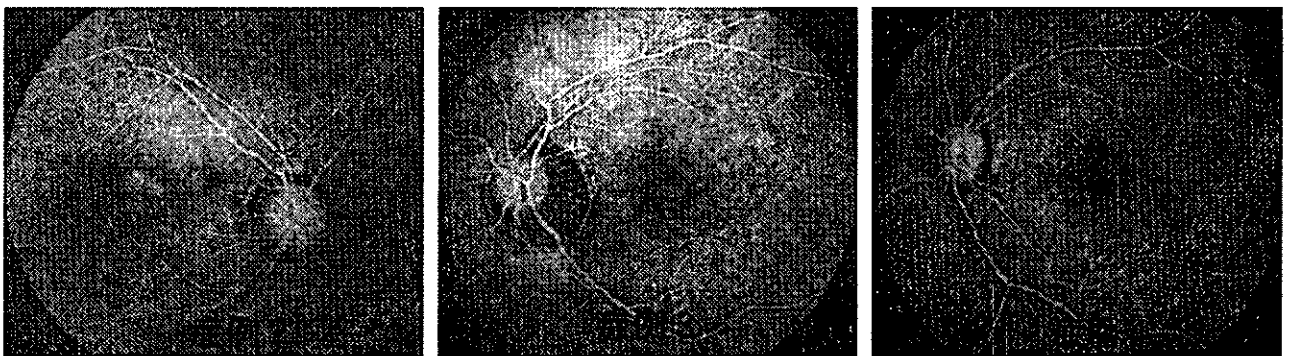


図4 *GUCY2D* 遺伝子に変異が検出された錐体杆体ジストロフィー3症例の蛍光眼底撮影写真。黄斑部に過蛍光が認められる。