

(別添1)

厚生労働科学研究費補助金総括研究報告書概要版

研究費の名称＝厚生労働科学研究費補助金

研究事業名＝感覚器障害研究事業

研究課題名＝網膜色素変性症の原因遺伝子の探索に関する研究（総括研究報告書）

国庫補助金精算所要額（円）＝14,000,000（うち間接経費 0円）

研究期間（西暦）＝2002-2004

研究年度（西暦）＝2003

主任研究者名＝加藤誠志（国立身体障害者リハビリテーションセンター研究所）

分担研究者名＝築島謙次（国立身体障害者リハビリテーションセンター病院）

研究目的＝視覚障害の主要因である網膜色素変性症の多くは遺伝子の変異に起因する疾患であり、診断・治療のためには原因遺伝子の特定が不可欠である。本研究は、網膜色素変性症の原因となる新しい遺伝子を見つけることを目的として行う。網膜色素変性症を引き起こす原因遺伝子は多様であることが知られており、これまでにすでに40種類以上の原因遺伝子が報告されている。本研究では、これまであまり注目されてこなかった網膜色素上皮細胞で発現している遺伝子の中から網膜色素変性症の原因遺伝子を見つけることを目標とする。

研究方法＝ヒト網膜色素上皮細胞株ARPE-19から単離した全RNAを鋳型にして新しく開発した完全長cDNA合成法「G-キャッピング法」を用いて、完全長cDNAライブラリーを作製した。このライブラリーから任意に選択したcDNAクローンの5'末端の部分配列を決定し、得られた配列をデータベースに登録されているヒト遺伝子の配列と比較することによって、新規遺伝子候補を選別した。これらのcDNAクローンの全長配列決定並びに発現プロファイル解析により、網膜色素上皮細胞に特異的に発現している遺伝子を同定した。また、当センター病院眼

(別添2)

厚生労働科学研究費補助金

感覚器障害研究事業

網膜色素変性症の原因遺伝子の探索に関する研究

平成15年度 総括・分担研究報告

主任研究者 加藤 誠志

平成16(2004)年4月

(別添3)

## 目次

### I. 総括研究報告

網膜色素変性症の原因遺伝子の探索に関する研究 ----- 1  
加藤誠志

### II. 分担研究報告

1. 網膜色素変性症の原因遺伝子の探索に関する研究 ----- 7  
築島謙次

(別添4)

厚生労働科学研究費補助金 (感覚器障害研究事業)  
総括研究報告書

網膜色素変性症の原因遺伝子の探索に関する研究

主任研究者 加藤 誠志

国立身体障害者リハビリテーションセンター研究所障害工学研究部長

研究要旨 本研究は、視覚障害の主要因である網膜色素変性症の原因となる新しい遺伝子を見つけることを目的とする。これまで少数の原因遺伝子しか見つかっていない網膜色素上皮細胞由来の遺伝子を対象とする。新しく開発した完全長 cDNA 合成法「G-キャッピング法」を用いてヒト網膜色素上皮細胞株 ARPE-19 の全 RNA から完全長 cDNA ライブラリーを作製した。このライブラリーに含まれる 4,084 クローンの部分塩基配列を解析した結果、95.5%にあたる 3,902 クローンがキャップ部位からポリ A テールまでを含む完全長 cDNA を有しており、1,663 種類の遺伝子に分類できた。この中にはデータベースに遺伝子として登録されていない新規なものが 30 個含まれていた。昨年度同定したものを含め 50 個の候補遺伝子について、全長配列を決定し、RT-PCR による発現プロファイル解析を行なった。その結果、網膜色素上皮細胞に特異的に発現している遺伝子を 2 個同定できた。また、新たに 21 名の網膜色素変性症患者と 8 名の健常者のゲノム DNA を収集することができた。昨年度分を含め 68 名の患者のゲノム DNA を用いて、既知原因遺伝子の一つであるロドプシン遺伝子について変異の有無を調べた。その結果、ロドプシン蛋白質のアミノ酸変異を引き起こす変異は見い出されなかったが、新しい一塩基多型、欠失、CA リピート数の変異が見つかった。今後、新しく同定された網膜色素上皮細胞特異的遺伝子の変異解析を行ない、原因遺伝子であるかどうかを検討する予定である。

分担研究者 築島謙次 国立身体障害者リハビリテーションセンター病院第三機能回復訓練部部长

A. 研究目的

視覚障害の主要因である網膜色素変性症の多くは遺伝性の疾患であり、診断・治療のためには原因遺伝子の特定が不可欠である。本研究は、網膜色素変性症の原因となる新しい遺伝子を見つけることを目的として行う。網膜色素変性症を引き起こす原因遺伝子は多様であることが知られており、これまでにすでに 40 種類以上の原因遺伝子が報告されている。本研究では、これまであまり注目されてこなかった網膜色素上皮細胞で発現している遺伝子の中から網膜色素変性症の原因遺伝子を見つけることを目標とする。

B. 研究方法

(1) 網膜色素上皮細胞で特異的に発現している遺伝子の同定と解析

ヒト網膜色素上皮細胞株 ARPE-19 から単離した全 RNA を鋳型にして、新しく開発した完全長 cDNA 合成法「G-キャッピング法」を用いて完全長 cDNA ライブラリーを作製した。ライブラリーから任意に選択した cDNA クローンの 5'端の部分配列を決定し、この配列をデータベースに登録されているヒト遺伝子の配列と比較することによって、網膜色素上皮細胞に特異的に発現している遺伝子を同定した。同定された遺伝子の全長配列を決定し、RT-PCR 法を用いて、5 種類の細胞内 (ARPE-19、Y79、NT2/D1、HeLa、HT-1080) におけるこれらの遺伝子の発現量を比較し、発現プロファイル解析を行なっ

た。

## (2) 網膜色素変性症患者のゲノム解析

当センター病院眼科外来に来院した視覚障害者の中から網膜色素変性症を発症していると思われる患者を選び、この中でインフォームド・コンセントを得ることができた患者から14mlの血液を採取した(分担研究者)。また、対照として健常者からの血液の提供も受けた。血液サンプルからゲノムDNAを抽出し、ロドプシン遺伝子領域をPCRにより増幅後、その全長配列を決定し塩基多型(SNP)を調べた。

### (倫理面への配慮)

網膜色素変性症患者のゲノム解析は、ヒトゲノム・遺伝子解析研究に相当する。そこで、ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針(平成13年3月29日文科科学省・厚生労働省・経済産業省告示第1号)を遵守し、下記の点に留意して研究を進めた。研究計画については、国立身体障害者リハビリテーションセンター遺伝子解析研究倫理審査委員会において審査を受け承認を得た。視覚障害者の方々に遺伝子試料(血液)を提供してもらうにあたっては十分なインフォームド・コンセントを得た。血液サンプルは個人識別情報管理者によって連結可能匿名化を行なった後、研究に使用した。

## C. 研究結果

### (1) 網膜色素上皮細胞完全長 cDNA ライブラリーの作製

昨年度開発した完全長 cDNA 合成法「G-キャッピング法」を用いると、数 $\mu$ gの全RNAから完全長 cDNA ライブラリーを作製できることを見出した。この方法を用いて、ヒト網膜色素上皮細胞株 ARPE-19 から単離した5 $\mu$ gの全RNAを鋳型にして、完全長 cDNA 含有率95%という高品質の完全長 cDNA ライブラリーが作製できた。そのほとんどは、cDNAの5'端にキャップ依存性付加によるGを一個有しており、完全長であることが保証された cDNA であった。

### (2) 網膜色素上皮細胞完全長 cDNA ライブラリーの5'端部分配列解析

上記の完全長 cDNA ライブラリーから無作為に約10,000個の cDNA クローンを選択し、

それらの5'端の部分配列を決定した。約半分にあたる4,800個の cDNA クローンは5'端部分配列を用いて GenBank の BLAST 検索を行なったところ、配列が読み取れたものの中で4,084クローンが cDNA インサートを有しており、その95.5%にあたる3,902クローンが、完全長 cDNA であった。

クラスタリングによってクローンの種類を行なったところ、1,662種類の完全長 cDNA クローンを含んでいた。発現頻度が高い遺伝子は、順にグリセルアルデヒド3-リン酸デヒドロゲナーゼ(55クローン)、アクチン- $\gamma$ 1(42)、アクチン- $\beta$ (42)、フェリチン重鎖1(39)、リボソーム蛋白質L41(33)、リボソーム蛋白質P1(33)、延長因子1 $\alpha$ 1(31)、リボソーム蛋白質S3(28)、インシュリン様成長因子結合蛋白質7(27)、メタロチオネイン2A(27)であった。もっとも多く含まれているグリセルアルデヒド3-リン酸デヒドロゲナーゼの発現頻度は全体の1.4%であり、0.1%以上の頻度で含まれているものは196種類であった。その内訳を見ると、リボソーム蛋白質、代謝系酵素、細胞骨格などがほとんどを占めている。ただし、この中に網膜色素上皮細胞に特異的な遺伝子は含まれていなかった。すなわち、網膜色素上皮細胞は、肝細胞等と違って著しく多い含有量の細胞特異的遺伝子はないようである。

cDNA サイズ分布を見てみると、最短は0.2kbpから最長9.5kbpまでと様々なサイズの cDNA インサートが入っていることが分かった。平均鎖長は1.5kbpであり、4kbp以上のクローンも132個(3.4%)含まれており、長いサイズの cDNA も8.4kbp、7.3kbp、6.9kbpのクローンがそれぞれ2個づつとれている。数千クローンのリブラリーの解析でこのように多くの長鎖クローンがとれてくることから、ライブラリーに対するサイズによるバイアスはそれほどかかかっていないと考えられる。7kbp以上のクローンを長い順にあげると、フィラミンB(9.5kbp)、Diaphanous homolog 2(9.4kbp)、フィラミンA(8.4kbp)、フィブロネクチン1(8.1kbp)、ラミニン $\gamma$ 1(8.0kbp)、スペクトリン $\alpha$ 1(7.8kbp)、ミオシン重鎖9(7.3kbp)、アグリン(7.3kbp)、インシュリンレセプター基質2(7.0kbp)となり、細胞骨格や細胞

外マトリックスが目立つ。

### (3) 網膜色素上皮細胞特異的発現遺伝子候補の選別

今回得られた 1,662 種類の完全長 cDNA クローンから、網膜色素上皮細胞で特異的に発現している新規遺伝子候補の選別を行なった。選別基準は、GenBank に RefSeq として登録されていないものである。その結果、新たに 30 種類の新規遺伝子候補を同定した。そのほとんどは EST データベースとはヒットしたが、50 個以下と発現頻度の低いと考えられるものであった。まったく EST にヒットしない物も 3 種類含まれていた。これらはゲノム上にマッピングできることから、発現産物であることは確かである。

### (4) 網膜色素上皮細胞特異的発現遺伝子の構造

網膜色素上皮細胞で特異的に発現していると思われる遺伝子候補、昨年度分 20 クローンと合わせて、計 50 クローンについて、プライマーウォーキング法により全長配列を決定した。

ポリ A テールを除いた cDNA のサイズは、最小が 66bp、最長のものが 6,954bp であった。3kbp 以上の cDNA を有するものも 7 クローンあった。100 アミノ酸残基以上の蛋白質をコードしている ORF を有するものは、13 クローン含まれていたが、ORF を有していないものもあった。

全長配列を用いて再度 GenBank の BLAST 検索を行なったところ、5 クローンは既知遺伝子と 3'側領域で一致することが分かった。具体的な遺伝子の名前をあげると、PRP31 pre-mRNA processing factor 31 homolog、Calcium/calmodulin-dependent protein kinase II、Tigger transposable element derived 2、Centaurin delta2 である。このような結果になったのは、今回得られたクローンが、既知遺伝子に比べ 5'領域が長い異なるため、5'端部分配列を用いた検索ではヒットしなかったからである。ただ、一致すると言っても完全な一致ではなく、選択スプライシングによる変異体と思われる配列を有しているものもあった。したがって、既知遺伝子と同じ遺伝子座由来であるが、この細胞で特異的に発現している変異体である可能性も否定できない。

全長配列の中の制限酵素 NlaIII 部位でポ

リ A テールに最も近い配列に続く 10bp の配列を用いて、遺伝子発現データベース SAGE を検索したところ、23 種類のクローンは、網膜および網膜色素上皮細胞で多く発現していることがわかった。これらは、網膜色素上皮細胞特異的な発現遺伝子である可能性が高い。

全長配列をゲノム配列と比較することにより、染色体上へのマッピングができ、エキソン/イントロン構造並びにプロモータ領域を決定できた。既知遺伝子と同じであってもプロモータ領域が異なるものも含まれており、これは網膜色素上皮細胞特異的なプロモータである可能性がある。

### (5) 網膜色素上皮細胞特異的発現遺伝子の発現解析

これまでに得られた 50 種類の新規遺伝子候補の中から、ORF を有している 10 クローンについて、RT-PCR を用いて 5 種類の細胞株について mRNA の発現量を定量した。その結果、2 個のクローンが ARPE-19 に特異的に発現していることが分かった。その一つ HP10847 は、3,159bp からなり、569 アミノ酸残基の蛋白質をコードしていた。この蛋白質はヒトアシルスルファターゼ B と 54% の相同性を有していた。このクローンは SAGE のデータベースでも網膜および網膜色素上皮細胞で高頻度で発現しており、網膜色素上皮細胞で発現量の多い特異的な遺伝子である可能性が高い。しかし、もう一つのクローン HP10835 は、SAGE のデータベースにヒットするものがなく、特異的ではあるが発現量は低いものと思われる。

### (6) 網膜色素変性症患者のゲノム DNA 収集

当センター病院眼科外来に来院した視覚障害者の中から網膜色素変性症を発症していると思われる患者を選び、この中でインフォームド・コンセントを得ることができた 21 名の患者から 14ml の血液を採取した。連結可能匿名化された血液サンプルから、平均 300  $\mu$ g のゲノム DNA を精製できた。昨年度分と合わせて、68 検体のゲノム DNA が調製できた。また、対照として健常人 8 名の血液サンプルからもゲノム DNA を調製した。

### (7) 網膜色素変性症患者のロドプシン遺伝子の SNP 解析

欧米の研究によれば、常染色体優性遺伝の網膜色素変性症患者の3割がロドプシン遺伝子の変異によると報告されている。そこでまず今回収集した患者 DNA サンプルを用いて、ロドプシン遺伝子の変異の有無を調べることにした。網膜色素変性症患者 68 名、健常者 8 名のゲノム DNA を鋳型にして、7kbp のロドプシン遺伝子を PCR によって増幅し、全長の塩基配列を決定した。その結果、32 個の SNP が同定された。この中の 11 個はデータベース dbSNP にすでに登録されていたが、残り 21 個は新規の SNP であった。解析した 68 検体にみられる SNP の対立遺伝子頻度解析の結果、高頻度 (20-50%) が 8 個、中頻度 (5-10%) が 7 個、低頻度 (2%以下) が 17 個の SNP であった。ほとんどはイントロン内であったが、エキソン内に 3 個所の SNP が見られた。しかし、これらの塩基置換はアミノ酸配列の置換を引き起こすものではなかった。これらの SNP 以外に、10bp の欠失と CA リピートの数の変異も同定された。欠失は、患者の 27 検体 (40%) 中に認められたが、現時点では健常者には認められていない。

#### D. 考察

##### (1) 完全長 cDNA の新規合成法

新しく開発した完全長 cDNA 合成法「G-キャッピング法」の各工程の最適化を検討した結果、数  $\mu\text{g}$  の全 RNA から完全長 cDNA ライブラリーを作製できることを見出した。従来法では全 RNA から精製した poly(A)<sup>+</sup>RNA を鋳型にしていた。この精製プロセスをなくすことにより、mRNA の分解を極力抑えられるというメリットがある。しかも、出発材料として従来必要としていた量の 100 分の 1 程度の全 RNA ですむるので、微量の細胞や組織から単離した RNA から完全長 cDNA ライブラリーを作製することができるようになった。cDNA 合成技術は、ポストゲノムシークン時代の最も重要な基盤技術であるので、今後、本技術はヒト細胞のみならず動植物などあらゆる真核生物の遺伝子研究に威力を発揮することが期待できる。

##### (2) 網膜色素上皮細胞完全長 cDNA ライブラリーの解析

5'端の部分塩基配列決定は約 10,000 クローンについて行なったが、実際に配列解析

まで持っていたのは、約半分の 4,800 クローンであった。今回作製したライブラリーも完全長 cDNA 含有率 95%と高品質であることが示された。しかも 100bp から 10kbp までの長さの cDNA を含んでおり、かつ発現頻度 1 個のクローンが多く複雑度が高いことから、cDNA 合成時のバイアスが少なく mRNA の発現量を忠実に反映している可能性が高い。したがって、G-キャッピング法で作製したライブラリーの 5'端部分塩基配列決定によって発現頻度を評価できる可能性が示唆された。解析した約 5,000 クローンの中に、含量が 0.1%以上のクローンはすべて含まれているので、これらのクローンをサブトラクション法によって除去できれば、さらに効率良く含有量の少ない遺伝子をクローン化できることになる。本研究の目的である網膜色素上皮細胞に特異的に発現している遺伝子は発現量が少なく、すべて同定するには多数のクローンの解析を行なわなければならないので、今後サブトラクション法の開発も行なう必要がある。

##### (3) 網膜色素上皮細胞特異的発現遺伝子の同定

GenBank の BLAST 検索の結果、50 種類の新規遺伝子候補を選別した。これらはいずれもヒットする EST データも少ないので、網膜色素上皮細胞に特異的なものか、あるいは細胞特異性はないが発現量の著しく低いものであると考えられる。ただし、500bp 以下のものは、従来法ではサイズ分画などによって除去されているため EST データが少ない可能性もある。100 アミノ酸残基以上をコードする ORF を有するものを選び RT-PCR によって発現量を定量したところ、網膜色素上皮細胞に特異的といえるものは、2 クローンしか同定でなかった。他のクローンは、網膜色素上皮細胞以外の細胞でも発現していたが、その発現量は予想通り少ないことが示された。

一つの候補遺伝子 HP10847 は、アリルスルファターゼ B と相同性を有する蛋白質をコードしていた。アリルスルファターゼ B はリソソームにおいてムコ多糖の分解に関わっており、この遺伝子異常により網膜色素変性症が起こることも知られている。したがって、今回とれたものも、変異や欠損によりムコ多糖の分解が行われなくなり、

それが原因で網膜色素上皮細胞の変性を引き起こすことが十分考えられ、網膜色素変性症の有力な原因遺伝子候補である。

#### (4) 網膜色素変性症患者のゲノム DNA 収集

今年度は、昨年度に比べ収集数は少なかったが、これは患者の同意が得られなかったためではなく、血液サンプルからゲノム DNA を精製する側の人手の問題のためである。ただ、健常者のサンプルも得られたので、今後対照として解析できることになった点は大きい。いずれにしても、統計処理をするためには、もう少し多くのサンプルを必要とするので、今後も収集を続ける。

これまでに採血に応じてくれた患者は、性染色体性劣性遺伝、常染色体性優性遺伝、常染色体性劣性遺伝、聴覚障害を合併する Usher 症候群の患者など広範囲の症候群の患者が含まれており、新しい原因遺伝子を見つけるには適している検体群である。ただ、個々の患者の臨床データが全てそろっているわけではないので、新しい原因遺伝子が見つかった段階で、不足するデータを集める必要がある。

#### (5) 網膜色素変性症患者のロドプシン遺伝子の SNP 解析

既知原因遺伝子としてロドプシン遺伝子を選び、その変異の有無を調べた結果、ロドプシン蛋白質のアミノ酸配列に影響を及ぼす塩基の置換は見いだせなかった。今回の血液提供者には常染色体優性遺伝であることがわかっている患者もいるが、そうではない患者も多く含まれていることや、日本人の網膜色素変性症患者でもロドプシンの変異が数例報告されているので、今回の結果だけから、日本人ではロドプシンの変異に由来する網膜色素変性症が少ないといった結論は出せない。

ロドプシン遺伝子領域にデータベースに登録されていない 21 個の新規 SNP を含む 32 個の SNP を同定した。さらに 1 カ所の欠失部位と CA リピート数の変異を見いだした。これらの SNP や欠失が網膜色素変性症と関連があるかどうかは、もう少し多数の検体、特に健常者のデータを集めて検討する必要がある。これらと合わせて、今後は、新たに同定した網膜色素上皮細胞に特異的に発現している 2 個の遺伝子について、変異の

有無を検討していく予定である。

#### E. 結論

ヒト網膜色素上皮細胞株 ARPE-19 から完全長含有率 95%という高品質の完全長 cDNA ライブラリーを作製でき、この中から網膜色素上皮細胞に特異的に発現していると考えられる候補遺伝子を新たに 30 個選別することができた。

昨年度収集した分を含め合計 50 個の候補遺伝子について、全長配列決定ならびに発現プロファイル解析を行ない、網膜色素上皮細胞に特異的に発現している 2 個の遺伝子を同定することが出来た。

網膜色素変性症患者 68 名、健常者 8 名の血液からゲノム DNA を精製した。これを用いてロドプシン遺伝子座の全長配列を決定した結果、ロドプシン蛋白質のアミノ酸配列に変異を引き起こす塩基の変異は見出せなかったが、21 個の新規 SNP を含む 32 個の SNP と、欠失、CA リピート数変異を同定できた。

このように当初設定した今年度の二つの大きな目標が達成され、今後これらの材料を用いることによって、網膜色素変性症の新規原因遺伝子探索への道が開かれた。

#### F. 健康危険情報 なし。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- Ohtake, H., Ohtoko, K., Ishimaru, Y., and Kato, S. "Determination of the capped site sequence of mRNA based on the detection of cap-dependent nucleotide addition using an anchor ligation method", DNA Res. (投稿中)
- Kato, S., Ohtoko, K., Ohtake, H., and Kimura, T. "G-capping: a simple method for preparing a high-quality full-length cDNA library" (投稿準備中)
- Ohtoko, K., Ando, Y., Ohtake, H., Usami, R., Hata, H., Yanashima, K., and Kato, S. "SNP analysis of rhodopsin gene in Japanese retinitis pigmentosa patients" (投稿準備中)
- Ohtoko, K., Oshikawa, M., Tsutsui, C.,



Usami, R., Kimura, T. and Kato, S. "cDNA cloning of human retinal pigment epithelium cell line ARPE-19-specific genes" (投稿準備中)

## 2. 学会発表

1) 大床国世, 押川未央, 安藤祐一郎, 筒井千尋, 宇佐美論, 木村知子, 加藤誠志. "完全長 cDNA ライブラリーを用いたヒト網膜株化細胞の発現プロフィール解析". 第 26 回日本分子生物学会年会講演要旨集. 神戸市, 2003-12-10/12-13, 第 26 回日本分子生物学会年会, , 2003, p. 670.

2) 押川未央, 大床国世, 宇佐美論, 加藤誠志. "ヒト網膜上皮細胞株 ARPE-19 由来の新規発現遺伝子の解析". 第 26 回日本分子生物学会年会講演要旨集. 神戸市, 2003-12-10/12-13, 第 26 回日本分子生物学会年会, , 2003, p. 670.

3) Kato, S. and Ohtoko, K. "Retinal pigment epithelium-derived full-length cDNA collection". HGM2003 Human Genome Meeting Program and Abstract book. Cancun, Mexico, 2003-04-27/04-30, HGM2003 Human Genome Meeting, , 2003, p. 106.

## H. 知的財産権の出願・登録状況

### 1. 特許出願

1) 国立身体障害者リハビリテーションセンター, 日立計測器サービス(株), 加藤誠志, 加藤誠志, 大床国世, 木村知子. cDNA 合成方法. PCT/JP2004/004458. 2004-03-29.

(別添5)

厚生労働科学研究費補助金（感覚器障害研究事業）  
分担研究報告書

網膜色素変性症の原因遺伝子の探索に関する研究

分担研究者 築島 謙次

国立身体障害者リハビリテーションセンター病院第三機能回復訓練部部长

研究要旨 日本における視覚障害の主要原因は網膜色素変性症である。特に更生授護施設や視覚障害者の訓練施設に入所する人たちの4人～5人に一人は網膜色素変性症である。我が国において視覚障害者の問題を考えるときに網膜色素変性症は最も重要な疾患である。最近の遺伝子工学の進歩により、多くの原因遺伝子が見つかってはいるが将来の遺伝子治療を考えると十分ではなく、さらなる原因遺伝子の究明が不可欠である。国立身体障害者リハビリテーションセンター病院眼科には、全国から網膜色素変性症の患者がロービジョンケアを求めて来院するため、多数の網膜色素変性症患者が来院する。それらの患者さんの協力のもと原因遺伝子の究明を行なう。

A. 研究目的

網膜色素上皮細胞で発現している遺伝子の中から網膜色素変性症の原因遺伝子の究明を目的としている。

B. 研究方法

1. 対象

国立身体障害者リハビリテーションセンター病院眼科通院中の網膜色素変性症患者を対象とし平成15年度は患者21名と、コントロールとして当該研究に十分な理解が得られ、自主的に協力を申し出ていた研究所職員8名が採血が行われた。

2. 方 法

受け持ち医ではない医師が研究に対する協力をお願いし、協力をお願いいただける場合に、網膜色素変性症の遺伝子究明のための研究協力の説明及び同意書を渡し、同意いただけた場合には、本人が署名できる場合には本人に、視覚障害のために署名不可能な場合には説明者が患者の同意のもと代理署名をした。その後説明を行った医師が7mlの試験管二本に採血を行った。採血した試験管にはプライバシー保護のためにコード化された番号の書かれたテープが貼られ、個人識別情報管理者によって連結可能匿名化を行なった後、研究所に運ばれた。サンプルはその間4℃で保存された。

採血を行なった患者の臨床データとして、視力検査、視野検査はもちろんのこと、無散瞳眼底撮影や蛍光造影撮影、網膜電図の記録が行われた。しかし必ずしも全ての患者で、全ての臨床データが得られたわけではなく、遺伝子の研究で必要となったときに足りない部分のデータを集めることとし、採血の段階では全ての臨床データ収集を強要しなかった。

C. 研究結果

現時点までに68名の網膜色素変性症患者から採血をすることが出来た。今回新たに採血した21人には明らかに、性染色体性劣性遺伝、常染色体性優性遺伝、常染色体性劣性遺伝の患者が含まれ、聴覚障害を合併するUsher症候群の患者も含まれている。今年度はさらにコントロール群として、この研究に関わる研究所の8名にも協力をお願いした。

D. 考察

今年度も採血に集中していたので特別な問題には遭遇しなかった。しかしながら患者は自分の原因遺伝子について知りたいが、散瞳して検査したり、蛍光造影検査等にはかなりの拒否反応があった。従来から眼科

医療における検査は、検査のための検査で、患者にとって何のメリットもなく、特に国立身体障害者リハビリテーションセンター病院のロービジョン外来を受診するまでは、眼科医に対する不信感が強く、今回もまた同じように検査のための検査をやられるのではないかとの不安から臨床検査データをとることに問題があった。そのため今回も採血の段階で全ての臨床データの収集は強要しなかった。

#### E. 結論

平成16年3月31日現在68名の網膜色素変性症患者から採血し、サンプル収集を行なった。さらにコントロール群として研究所の8名の職員から協力を得て採血を行った。

#### F. 健康危険情報

なし。

#### G. 研究発表

なし。

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

なし。