

図3 視覚サイクルと疾患原因遺伝子

る。RDSの変異は網膜色素変性の直接原因となり得る^{26) 27)}が、その他にもさまざまな黄斑パターンジストロフィの原因でもある。また、RDSとROM1 (digenic RP)^{28) 29)}の両方でのコンパウンドヘテロ接合体が原因となる網膜色素変性も発見された。しかし、RDSの変異がなくても³⁰⁾それらの標的蛋白で視細胞外節に集中しているprominin-1 (PROM-1)の変異が原因の常染色体劣性の網膜変性³¹⁾も報告されている。

④ 視細胞転写調節因子

視細胞の分化発生にかかわる転写調節因子のNRLとCRXが網膜色素変性の原因となること^{32) 33)}が知られている。これら遺伝子は視細胞に特有の遺伝子の発現を制御し、網膜の発生期に働く³⁴⁾が、不思議なことにレーベル先天黒内障だけでなく、晩発性の網膜色素変性の原因ともなる。また、enhanced S-cone syndromeの原因として視細胞特有の核内受容体NR2E3³⁵⁾をコードする遺伝子の変異が報告さ

れている。

⑤ ミトコンドリア遺伝子

網膜色素変性の既知遺伝子にはミトコンドリア代謝にかかわる遺伝子も含まれる。これらの疾患にはsyndromicなタイプであるアッシャー症候群³⁶⁾と、同様の聴覚障害と関連してキーンズ・セイアー症候群がある。

⑥ 未知の機能の遺伝子

特定された原因遺伝子の中にはまだまだ機能の不明な蛋白をコードするものがあり、この中にはRP1, RP2, RP3 (RPGR), RP12 および RP14 (TULP1) などがある。Best病の原因遺伝子VMD2, Doyne網膜ジストロフィのEFEMP1, およびレーベル先天黒内障タイプ4のAIPL1など。そしてまた、アッシャー症候群では、タイプ2A (USH2A) 遺伝子の機能は不明である。RP2 およびそれらの標的蛋白RPGR, CRB1, TULP1, および AIPL1 は、特異蛋白の細胞内移送に関連すると考えられる。アッシャー症候群タイプ1B (特有のミオシンMYO7A) 遺伝子

産物は柔毛の運動で機能している可能性がある。細胞外マトリックスの代謝の観点からもこれらの機能不明な蛋白を分類できる。RPI 系列には、hyaluronan 結合部位があり、そして、EFEMP1 と USH2A 蛋白質には、細胞外基質蛋白質に共通のモチーフが存在する。

III. 遺伝子診断研究の現在

① 遺伝子診断の問題点

前記のように数多くの原因遺伝子が報告されているが、それでも網膜色素変性患者のうちの20%弱が診断されるにすぎない³⁷⁾。ほとんどの症例では原因遺伝子が不明のままである。我々は、2004年時点で報告されていた原因遺伝子変異の存在するエクソンを約400名の網膜色素変性患者について検索した³⁸⁾。優性遺伝の遺伝子変異については家族歴のない患者や、家族歴からは遺伝形式不明の患者だけを調べても約15%の割合で判明させることができたが、常染色体劣性遺伝形式を示す遺伝子変異については既報の遺伝子(正確には既報のエクソン)をすべて調べてもほとんど変異を検出することができなかった。すなわち、常染色体劣性遺伝の原因遺伝子はある家系のみには絞られるなど、個々の遺伝子変異の頻度が非常に低いことが考えられる。

また、優性遺伝でも20%しか検出できない。これらの点については、まず原因遺伝子をさらに発見する必要があるが、それには現在の手法では限界があるだろう。ヒトのゲノムが全部判明した現在、マイクロチップシーケンスなどが安価にでき、一挙に変異を検出できるような時代がくれば、多くの患者の原因遺伝子が判明することになるであろう。

② 診断としての遺伝子診断

このようにまだ手法についても、原因遺伝子の種類についても、さらに研究が必要で臨床検

査としての遺伝子診断が可能となるためにはブレークスルーを必要としていることは確かである。そのような環境のなかで、それでも後で述べる理由によって、網膜色素変性の遺伝子診断について研究としてではなく、臨床的な検査としてのニーズも出てきており、今後さらなる重要性が増すと考えられる。

ただし、臨床検査としての遺伝子診断となると、最先端の技術を使うと費用が莫大となるので、簡便に多くの原因遺伝子や変異を検出できしかも安価な方法を採用することが肝要である。そこで我々は、各症例のDNAについてシーケンスする前にWAVEと呼ばれるdHPLC法によるスクリーニングを施行している。2ないし3症例のDNAを混在させて検索すると変異を持つ症例が混じっている場合には波形が異なってくるので、かんたんにそのエクソンに変異があるかどうかを確認できる。その後、変異(SNPsも含む)の存在する症例のエクソンをダイレクトシーケンスすれば変異かSNPsかの判定ができる。このように2段階で検査することにより、シーケンスの量は5分の1に、費用も3分の1に、労力は計り知れず削減することができた。

現在、各地の大学等(先進医療として申請可能な網膜色素変性の遺伝子診断経験がある施設)からの検体を受け付けて検査できる体制を準備しており、将来先進医療として各地の大学からの検体を検査できるようなシステムを構築したいと考えている。

③ 企業

遺伝子検査における技術的な進歩が急速に網膜疾患遺伝子診断の効率を高めており、海外ではこれらの遺伝子検索を受注する企業が出現している。まずはじめに、マイクロアレイ「DNAチップ」が、遺伝子診断を格段に容易にした。この技術を用いると何百もの既知の遺伝子変異がないかどうかひとつのテストで検出でき

る³⁹⁾。これらのチップは、発見されたすべての遺伝子変異部位を加えることで変更できるものである。この技術は商業的に、Asper Biotech (タルトゥ, エストニア; <http://www.asperbio.com>) で利用可能である。この方法は網膜疾患に関連している一般的な変異を特定するための経済的なスクリーニング手段である。

2番目の進歩は点変異に関する「ハイスループットリシーケンシングのテクニック」である⁴⁰⁾。各候補遺伝子あたり4人の単一塩基多型マーカー (SNPs) を選ぶことによって、疾患と無関係な遺伝子多型は棄却される。このテクニックで、研究者は高効率で新しい原因遺伝子変異を特定できる。2006年に、National Eye Institute (NEI) は、網膜疾患の原因となる遺伝子変異に関するデータベースを集積するとともに臨床医と患者の臨床ケアを支援するシステム eyeGENE (<http://www.nei.nih.gov/resources/eyegene.asp>) を開始した。登録された医療機関には、無料で遺伝子解析結果が提供される。遺伝子診断を古くから行っている米国の他の研究所でもかなりのバラエティーの遺伝子検査を提供している。アイオワ大学の The John and Marcia Carver Nonprofit Genetic Testing 研究所やミシガン大学ケロッグアイセンターなどがある。さらに最近ではアメリカの GeneDx 社 (<http://www.genedx.com/index.php>) が網膜変性疾患の遺伝子解析サービスを提供しているが、ここはエストニアの Asper Biotech 社に比べはるかに高額である。

IV. 遺伝子診断の未来

① 遺伝子治療へ

これらの遺伝子診断はついに2008年遺伝子治療へとつながった。遺伝子診断が将来検査として必要になるひとつの例である。イギリスの Ali らのグループ⁴¹⁾ とアメリカの Bennet らの

グループ⁴²⁾ が RPE65 の遺伝子変異のレーベル先天黒内障に対し、アデノ随伴ウイルスベクターを用いて遺伝子治療を行い、夜盲の改善などの効果を得たのである。

RPE65 は、視細胞で使用ずみの all-trans レチノールが網膜色素上皮細胞で回収され、11-cis レチノールにリサイクルされる途中で働く酵素である (図3)。RPE65 の遺伝子異常がホモの場合、正常な RPE65 酵素がないために 11-cis レチノールを再生することができず、杆体の中でロドプシンとして光シグナルを神経シグナルに変換することができない。そして、視細胞が変性する。上記の疾患は常染色体劣性遺伝であるので、正常な遺伝子をウイルスベクターで導入すれば酵素が産生され、視覚サイクルが動き出し夜盲が回復する (ただし、変性した視細胞が回復するわけではない。残存している視細胞の機能が回復するのである)。

しかし、ひとつひとつの遺伝子について数年以上の研究の末、遺伝子を補っても視細胞変性を阻止できない遺伝子もあり、すべての原因遺伝子を治療できるようになるのはまだ望み薄である。また、原因遺伝子の治療の場合は当然遺伝子変異が検出されていなければならないが、現在の遺伝子診断の検出頻度が低いので技術進歩が必要である。そこで、原因遺伝子の治療ではなく、神経栄養因子の遺伝子を導入して視細胞の変性を抑制したり⁴³⁾、チャネルオプシンという遺伝子を神経節細胞に導入して視細胞の代わりに光シグナルを変換させるという方法⁴⁴⁾ も研究されている。これらの場合は遺伝子診断なしに治療できる。

② 再生医療へ

もうひとつの遺伝子診断の必要性は細胞治療が可能になった場合に出現すると考えられる。現在、網膜色素変性についての移植細胞として候補に挙がるのは、網膜色素上皮細胞と視細胞があるが、網膜色素変性では網膜色素上皮細胞

が原因の場合と視細胞が原因の場合がある。これらは臨床的には区別できないため、遺伝子診断でどちらの細胞の遺伝子変異が原因かを検出する必要が出てくる可能性がある。なぜなら、もちろん視細胞が変性消失する疾患であるが、網膜色素上皮が原因で視細胞が変性している場合、視細胞をいくら移植しても、原因は解決されていないので、移植した視細胞も変性してしまう。この場合はむしろ網膜色素上皮細胞を移植するべきなのである。このように、将来は遺伝子診断によって移植する細胞の種類が決定されるというようなことも起こってくる可能性がある。

③ iPS 細胞と遺伝子診断

次に、遺伝子診断が有用であった実例として最近話題の iPS 細胞について触れる。我々はヒト iPS 細胞からの視細胞と網膜色素上皮細胞の分化誘導を報告した⁴⁵⁾が、それを応用して網膜色素変性の患者由来 iPS 細胞を作成し、それぞれの遺伝子変異による視細胞変性の特徴を検討している。このことにより将来、前記のような遺伝子の機能別に視細胞変性の機序や有効な神経保護効果物質を明らかにすることができるであろう。そのためには、まず原因遺伝子変異の判明している症例から iPS 細胞を得なければ、網膜色素変性の患者というだけでは、変異の原因も治療薬も詳細を検討することができない。たとえば原因遺伝子不明のまま網膜色素変性患者からの iPS 細胞を視細胞に分化誘導しても、たまたま網膜色素上皮細胞の遺伝子異常が原因の場合は視細胞を調べても視細胞変性の機序はわからない。

これは 1 例であるが、このように今後、網膜色素変性の病態や本当にその症例に有効な治療法を考える際には原因遺伝子が判明している必要があり、そのための遺伝子診断が重要となってくる。

おわりに

今後、網膜変性疾患遺伝子診断の重要性は増すが、現在の方法では限界がある。チップシークエンスなどの簡便に変異を検出できる方法が一般の臨床検査に使えるほど安価となるなどの進歩が必要であろう。

網膜色素変性のモデルマウスは数多くあるが、視細胞の光に対する脆弱性は原因の遺伝子によって、さらには同じロドプシン遺伝子でも変異の箇所によっても異なる。また、ビタミン A による保護効果も有効な場合と却って変性を促進する場合もある。上記の患者 iPS 細胞由来視細胞を検討することによって、実際にその患者に対して、遮光を厳重にすべきかほとんどいらぬのか、ビタミン A が効くのか効かないのかが判明してくる。これらを明らかにするためには遺伝子診断が必要である。そして、将来は遺伝子診断をすることによって、治療法のセットが考えられるというような時代がくることであろう。

文献

- 1) Weleber RG : Retinitis pigmentosa and allied disorders. In ; Ryan SJ ed. : Retina, 2nd ed. 335-466, Mosby, St. Louis, 1994
- 2) Dryja TP, McGee TL, Reichel E et al : A point mutation of the rhodopsin gene in one form of retinitis pigmentosa. *Nature* 343 : 364-366, 1990
- 3) Dryja TP, McGee TL, Hahn LB et al : Mutations within the rhodopsin gene in patients with autosomal dominant retinitis pigmentosa. *N Engl J Med* 323 : 1302-1307, 1990
- 4) RetNet <http://www.sph.uth.tmc.edu/retnet/>
- 5) Huang SH, Pittler SJ, Huang X et al : Autosomal recessive retinitis pigmentosa caused by mutations in the α subunit of rod cGMP phosphodiesterase. *Nat Genet* 11 : 468-471, 1995
- 6) McLaughlin ME, Sandberg MA, Berson EL

- et al : Recessive mutations in the gene encoding the β -subunit of rod phosphodiesterase in patients with retinitis pigmentosa. *Nat Genet* 4 : 130-134, 1993
- 7) Danciger M, Blaney J, Gao YQ et al : Mutations in the PDE6B gene in autosomal recessive retinitis pigmentosa. *Genomics* 30 : 1-7, 1995
 - 8) McLaughlin ME, Ehrhart TL, Berson EL, Dryja TP : Mutation spectrum of the gene encoding the β subunit of rod phosphodiesterase among patients with autosomal recessive retinitis pigmentosa. *Proc Natl Acad Sci U S A* 92 : 3249-3253, 1995
 - 9) Dryja TP, Finn JT, Peng YW et al : Mutations in the gene encoding the alpha subunit of the rod cGMP-gated channel in autosomal recessive retinitis pigmentosa. *Proc Natl Acad Sci U S A* 92 : 10177-10181, 1995
 - 10) Nakamachi Y, Nakamura M, Fujii S et al : Oguchi disease with sectoral retinitis pigmentosa harboring adenine deletion at position 1147 in the arrestin gene. *Am J Ophthalmol* 125 : 249-251, 1998
 - 11) Nakazawa M, Wada Y, Tamai M : Arrestin gene mutations in autosomal recessive retinitis pigmentosa. *Arch Ophthalmol* 116 : 498-501, 1998
 - 12) Yoshii M, Murakami A, Akeo K et al : Visual function and gene analysis in a family with Oguchi's disease. *Ophthalmic Res* 30 : 394-401, 1998
 - 13) Morimura H, Fishman GA, Grover SA et al : Mutations in the RPE65 gene in patients with autosomal recessive retinitis pigmentosa or Leber congenital amaurosis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95 : 3088-3093, 1998
 - 14) Maw MA, Kennedy B, Knight A et al : Mutation of the gene encoding cellular retinaldehyde-binding protein in autosomal recessive retinitis pigmentosa. *Nat Genet* 17 : 198-200, 1997
 - 15) Martínez-Mir A, Paloma E, Allikmets R et al : Retinitis pigmentosa caused by a homozygous mutation in the Stargardt disease gene ABCR. *Nat Genet* 18 : 11-12, 1998
 - 16) Cremers FP, van de Pol DJ, van Driel M et al : Autosomal recessive retinitis pigmentosa and cone-rod dystrophy caused by splice site mutations in the Stargardt's disease gene ABCR. *Hum Mol Genet* 7 : 355-362, 1998
 - 17) Gu SM, Thompson DA, Srikumari CR et al : Mutations in RPE65 cause autosomal recessive childhood-onset severe retinal dystrophy. *Nat Genet* 17 : 194-197, 1997
 - 18) Marlhens F, Bareil C, Griffoin JM et al : Mutations in RPE65 cause Leber's congenital amaurosis. *Nat Genet* 7 : 139-141, 1997
 - 19) Seeliger MW, Biesalski HK, Wissinger B et al : Phenotype in retinol deficiency due to a hereditary defect in retinol binding protein synthesis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 40 : 3-11, 1999
 - 20) Yamamoto H, Simon A, Eriksson U et al : Mutations in the gene encoding 11-*cis* retinol dehydrogenase cause delayed dark adaptation and fundus albipunctatus. *Nat Genet* 22 : 188-191, 1999
 - 21) 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, 1999
 - 22) Allikmets R, Singh N, Sun H et al : A photoreceptor cell-specific ATP-binding transporter gene (ABCR) is mutated in recessive Stargardt macular dystrophy [published erratum appears in *Nat Genet* 17 : 122, 1997]. *Nat Genet* 15 : 236-246, 1997
 - 23) Rozet JM, Gerber S, Souied E et al : The ABCR gene : a major disease gene in macular and peripheral retinal degenerations with onset from early childhood to the elderly. *Mol Genet Metab* 68 : 310-315, 1999
 - 24) Allikmets R, Shroyer NF, Singh N et al : Mutation of the Stargardt disease gene (ABCR) in age-related macular degeneration. *Science* 277 : 1805-1807, 1997
 - 25) Morimura H, Saindelle-Ribeau F, Berson EL et al : Mutations in RGR, encoding a light-sensitive opsin homologue, in patients with retinitis pigmentosa. *Nat Genet* 23 : 393-394, 1999
 - 26) Farrar GJ, Kenna P, Jordan SA et al : A three-base-pair deletion in the peripheral-RDS gene in one form of retinitis pigmentosa. *Nature* 354 : 478-480, 1991
 - 27) Kajiwaru K, Hahn LB, Mukai S et al : Mutations in the human retinal degeneration slow gene in autosomal dominant retinitis pigmentosa. *Nature* 354 : 480-483, 1991
 - 28) Kajiwaru K, Berson EL, Dryja TP : Digenic

- retinitis pigmentosa due to mutations at the unlinked peripherin/RDS and ROM1 loci. *Science* 264 : 1604-1608, 1994
- 29) Dryja TP, Hahn LB, Kajiwaru K et al : Dominant and digenic mutations in the peripherin/RDS and ROM1 genes in retinitis pigmentosa. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 38 : 1972-1982, 1997
- 30) Sakuma H, Inana G, Murakami A et al : A heterozygous putative null mutation in ROM1 without a mutation in peripherin/RDS in a family with retinitis pigmentosa. *Genomics* 27 : 384-386, 1995
- 31) Maw MA, Corbeil D, Koch J et al : A frameshift mutation in prominin (mouse)-like 1 causes human retinal degeneration. *Hum Mol Genet* 9 : 27-34, 2000
- 32) Freund CL, Gregory-Evans CY, Furukawa T et al : Cone-rod dystrophy due to mutations in a novel photoreceptor-specific homeobox gene (CRX) essential for maintenance of the photoreceptor. *Cell* 91 : 543-553, 1997
- 33) Bessant DA, Payne AM, Mitton KP et al : A mutation in NRL is associated with autosomal dominant retinitis pigmentosa. *Nat Genet* 21 : 355-356, 1999
- 34) Furukawa T, Morrow EM, Cepko CL : Crx, a novel otx-like homeobox gene, shows photoreceptor-specific expression and regulates photoreceptor differentiation. *Cell* 91 : 531-541, 1997
- 35) Haider NB, Jacobson SG, Cideciyan AV et al : Mutation of a nuclear receptor gene, NR2E3, causes enhanced S cone syndrome, a disorder of retinal cell fate. *Nat Genet* 24 : 127-131, 2000
- 36) Lightowers RN, Chinnery PF, Turnbull DM et al : Mammalian mitochondrial genetics : heredity, heteroplasmy and disease. *Trends Genet* 13 : 450-455, 1997
- 37) 和田裕子, 玉井 信 : 日本人常染色体優性網膜色素変性の分子遺伝学的検討. *日眼会誌* 107 : 687-694, 2003
- 38) Jin ZB, Mandai M, Yokota T et al : Identifying pathogenic genetic background of simplex or multiplex retinitis pigmentosa patients : a large scale mutation screening study. *J Med Genet* 45 : 465-472, 2008
- 39) Koenekoop RK, Lopez I, den Hollander AI et al : Genetic testing for retinal dystrophies and dysfunctions : benefits, dilemmas and solutions. *Clin Experiment Ophthalmol* 35 : 473-485, 2007
- 40) Pomares E, Marfany G, Brión MJ et al : Novel high-throughput SNP genotyping cosegregation analysis for genetic diagnosis of autosomal recessive retinitis pigmentosa and Leber congenital amaurosis. *Hum Mutat* 28 : 511-516, 2007
- 41) Bainbridge JW, Smith AJ, Barker SS et al : Effect of gene therapy on visual function in Leber's congenital amaurosis. *N Engl J Med* 358 : 2231-2239, 2008
- 42) Maguire AM, Simonelli F, Pierce EA et al : Safety and efficacy of gene transfer for Leber's congenital amaurosis. *N Engl J Med* 358 : 2240-2248, 2008
- 43) Miyazaki M, Ikeda Y, Yonemitsu Y et al : Synergistic neuroprotective effect via simian lentiviral vector-mediated simultaneous gene transfer of human pigment epithelium-derived factor and human fibroblast growth factor-2 in rodent models of retinitis pigmentosa. *J Gene Med* 10 : 1273-1281, 2008
- 44) Tomita H, Sugano E, Fukazawa Y et al : Visual properties of transgenic rats harboring the channelrhodopsin-2 gene regulated by the thy-1.2 promoter. *PLoS One* 4 : e7679, 2009
- 45) Hiram Y, Osakada F, Takahashi K et al : Generation of retinal cells from mouse and human induced pluripotent stem cells. *Neurosci Lett* 458 : 126-131, 2009

*

*

遺伝子診断プロトコル

(内容非公開のため項目のみ抜粋)

網膜変性疾患の遺伝子診断研究

Prospective study of genetic susceptibility in retinal degenerative disease

主任研究者 独立行政法人理化学研究所 発生・再生科学総合研究センター
網膜再生医療研究チーム 高橋 政代

秘密保持に関する供述：

本研究実施計画書は、本研究に直接係わる者及び倫理審査委員会以外の者に情報を開示してはならない。また、本情報は事前の書面による主任研究者 高橋政代 の承諾なしに本研究の実施あるいは評価以外の目的に利用してはならない。

本研究に関与するすべての者は「世界医師会ヘルシンキ宣言」、「ヒトゲノムと人権に関する世界宣言（国際連合教育科学文化機関（ユネスコ）」および「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」に従う。

<目次>

| | |
|----------------------------------|----|
| 0. 概要 | 1 |
| 0.1 シェーマ | 1 |
| 0.2 目的 | 2 |
| 0.3 主な適格規準 | 2 |
| 0.4 選択規準 | 2 |
| 0.5 目標症例数 | 2 |
| 0.6 研究期間 | 2 |
| 0.7 研究デザイン | 2 |
| 0.8 連絡先 | 3 |
| 1. 目的 | 4 |
| 1.1 主要エンドポイント | 4 |
| 1.2 副次エンドポイント | 4 |
| 2. 背景と根拠 | 4 |
| 3. 診断基準と病期・病型分類 | 5 |
| 3.1 診断基準 | 5 |
| 3.2 病型分類 | 6 |
| 3.3 病期分類 | 7 |
| 3.4 鑑別すべき疾患 | 7 |
| 3.5 鑑別すべき遺伝子のタイプ | 7 |
| 3.6 診断・検査方法及び検査所見 | 8 |
| 3.7 標準治療 | 9 |
| 4. 適格規準 | 10 |
| 4.1 選択規準 | 10 |
| 4.2 除外規準 | 10 |
| 5. 説明と同意 | 10 |
| 6. 登録 | 12 |
| 6.1 倫理審査委員会の承認 | 12 |
| 6.2 登録の手順 | 12 |
| 6.3 検体の送付・抽出・データおよび検体の保管管理 | 13 |
| 7. 観察・検査・報告項目とスケジュール | 14 |
| 7.1 観察・検査項目および報告すべき治療情報 | 14 |
| 7.2 観察・検査・報告スケジュール | 15 |
| 8. 目標症例数と研究期間 | 15 |
| 8.1 目標症例数 | 15 |
| 8.2 研究期間 | 15 |
| 9. エンドポイントの定義 | 15 |

| | |
|---|----|
| 9.1 主要エンドポイント..... | 15 |
| 9.2 副次エンドポイント..... | 16 |
| 10. 統計学的考察..... | 16 |
| 10.1 目標症例数の設定根拠..... | 16 |
| 10.2 統計解析..... | 16 |
| 10.3 解析項目・方法..... | 16 |
| 10.4 中間解析..... | 18 |
| 11. 症例報告書の記入と提出..... | 19 |
| 11.1 様式と提出期限..... | 19 |
| 11.2 入力方法（以下は Web の場合）..... | 19 |
| 11.3 症例報告書内容の確認と問い合わせ..... | 19 |
| 12. モニタリング..... | 19 |
| 12.1 進捗管理..... | 19 |
| 12.2 研究モニタリング..... | 20 |
| 13. 各種委員会..... | 20 |
| 13.1 独立データモニタリング委員会..... | 20 |
| 14. 倫理的事項..... | 22 |
| 14.1 遵守すべき諸規則..... | 22 |
| 14.2 施設の倫理審査委員会（Institutional Review Board :IRB）での承認..... | 22 |
| 14.3 説明文書・同意書（様式）の作成と改訂..... | 22 |
| 14.4 個人情報保護..... | 23 |
| 15. 研究の費用負担..... | 24 |
| 15.1 資金源および財政上の関係..... | 24 |
| 15.2 研究治療に関する費用..... | 24 |
| 15.3 健康被害に対する補償..... | 24 |
| 16. プロトコルの改訂..... | 24 |
| 17. 研究の終了と早期中止..... | 25 |
| 17.1 研究の終了..... | 25 |
| 17.2 研究の早期中止..... | 25 |
| 18. 記録の保存..... | 27 |
| 19. 研究結果の帰属と公表..... | 27 |
| 20. 研究組織..... | 28 |
| 20.1 主任研究者..... | 28 |
| 20.2 副主任研究者..... | 28 |
| 20.3 研究事務局および担当者..... | 28 |
| 20.4 プロトコル作成委員..... | 28 |
| 20.5 統計解析責任者..... | 28 |
| 20.6 データセンター..... | 28 |

20.7 独立データモニタリング委員..... 29

20.8 研究協力者 <担当者の住所、役職、連絡先（E-mail）を追記する> 29

21. 文献..... 30

22. 付録..... 30

付録 1 施設登録依頼書..... 31

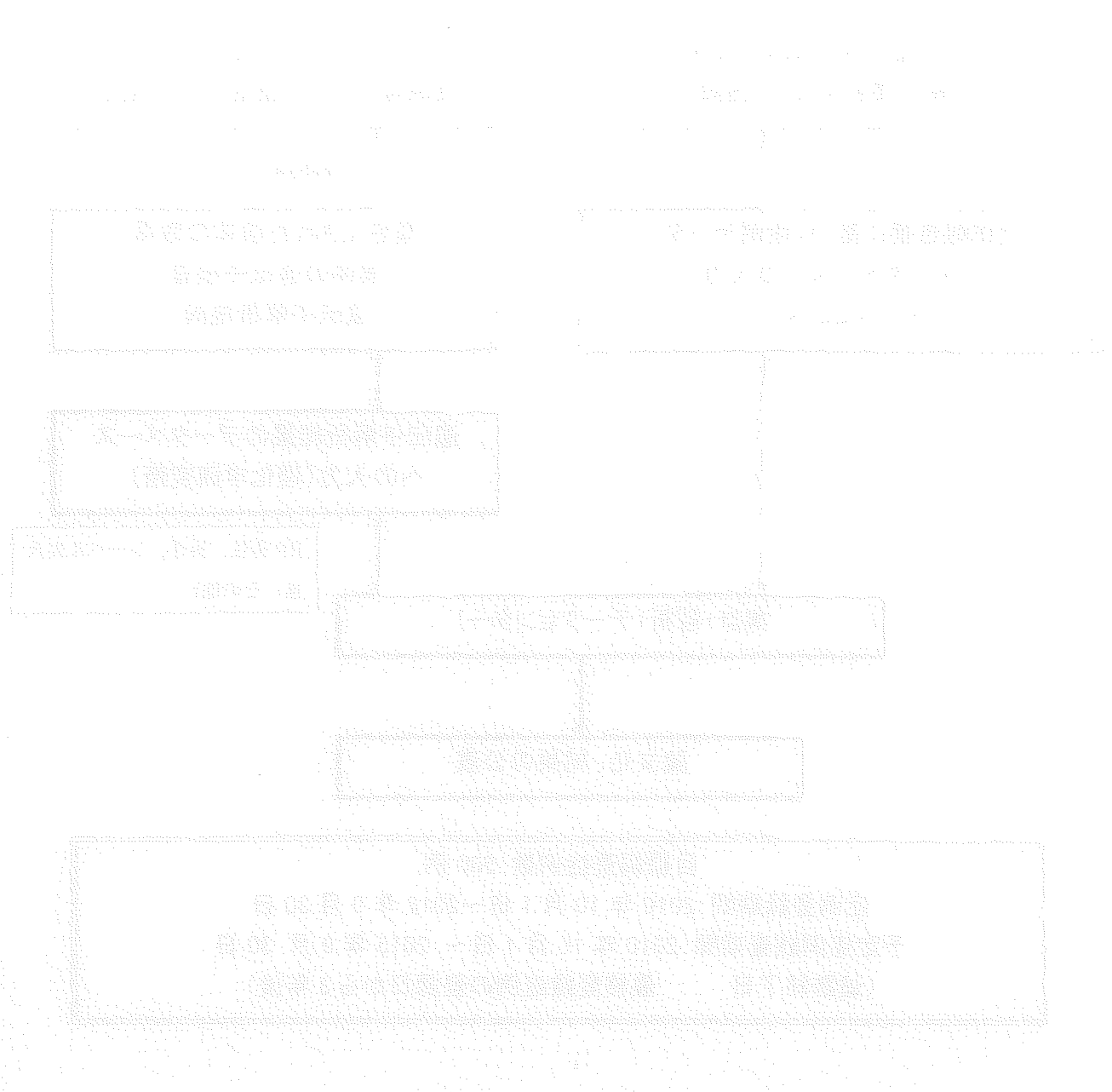
付録 2 新規ユーザー登録依頼書 32

付録 4 症例登録票..... 33

付録 4 匿名化番号対照表..... 35

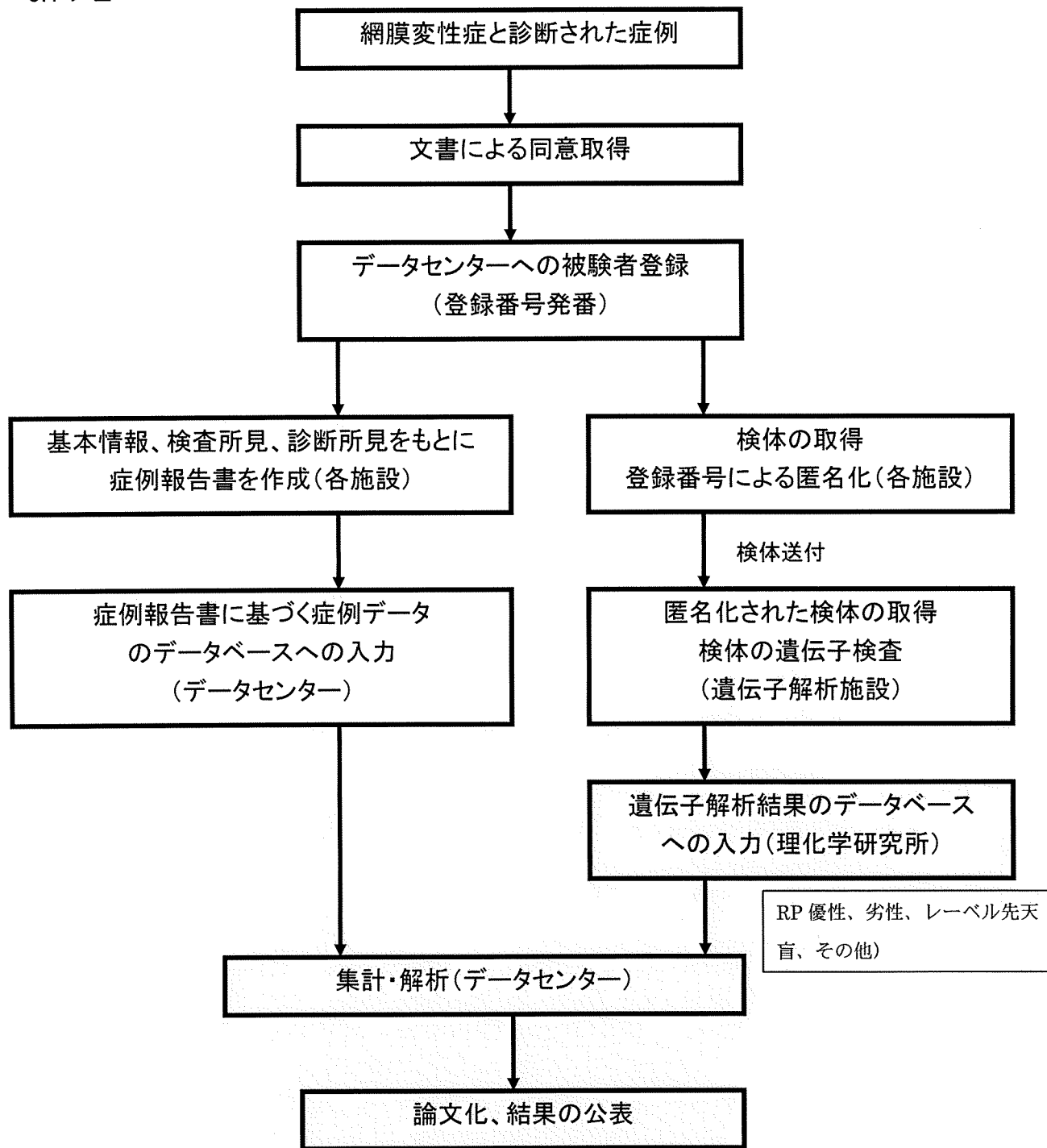
付録 5 説明文書・同意書（様式） 37

奥付..... 38



0. 概要

0.1 シェーマ



目標調査症例数:500 例
症例登録期間:2010年10月1日~2012年9月30日
予定症例調査期間:2010年10月1日~2015年9月30日
(追跡終了日 : 最終登録症例の登録日から3年後)

説明・同意文書

(本試験に参加する意思をお持ちの方に対する本試験の説明・同意文書)

研究参加のお願い

高橋 政代（理化学研究所・先端医療センター病院眼科）

説明した日付： 年 月 日

1. 目的

網膜変性や角膜変性の多くは遺伝子の変化が原因と考えられており、現在まで多数の原因遺伝子が報告されています。

この研究では、現在までに報告されているどの遺伝子に変化があるのかを調べ、診断に役立てたり、原因遺伝子別の頻度や症状の差、遺伝子診断法の確立、さらには今後の治療の研究に役立てることを目指しています。

※「網膜色素変性」と「遺伝子」についての
詳しい説明は最終ページ

●網膜変性や角膜変性の遺伝形式

網膜変性や角膜変性の遺伝形式は「常染色体優性遺伝」「常染色体劣性遺伝」「X連鎖優性遺伝」「X連鎖劣性遺伝」が考えられています。

常染色体優性遺伝では子どもに伝わる可能性が50%であるのに対し、常染色体劣性遺伝では血族結婚でない限り1%、X連鎖の遺伝では性別で発症の可能性が変わるなど、遺伝形式によって幅があります。家族歴（親族内の同じ病気の発症パターン）から遺伝形式を推定し、遺伝の確率を考えることは可能ですが、家族歴がない患

者さん（孤発例といいます）の場合、遺伝形式は不明で、経験的に5～10%と言われています。

※遺伝形式の詳細い説明は別紙

●網膜変性の今後の治療の可能性

常染色体劣性遺伝のタイプの網膜色素変性症では、網膜の光信号を伝達するどこかの段階が欠落していることにより発症すると考えられています。これに対して、欠損している遺伝子を局所注射して補う遺伝子治療により進行が抑えられることが動物実験では証明されています。遺伝子治療のヒトへの応用が期待されている分野です。

2. 方法

■ 対象となる方々

この研究では以下の方々にご協力をお願いしています。

- 網膜色素変性、その他の網膜変性、角膜変性と診断された患者さん
- 疾患を疑われている方
- 遺伝子の変化が確定した患者さんの血縁者の方

■ 遺伝子検査の方法～採血（20ml）を行います～

この研究では、網膜色素変性の場合には原因と報告されている17～33種類の遺伝子を順に調べます（調べる遺伝子を追加することもあります）。その他の網膜変性や角膜変性はそれぞれに応じた数種類の

遺伝子を調べます。

遺伝子の情報はからだのどの細胞も持っていますので、血液をとることで遺伝子診断ができます。血液 20ml は通常と同じように採血しますので、危険性はほとんどありません。

網膜色素変性と診断された患者さんの中には、自己免疫性の要因により発症したと思われる方が含まれている可能性があります。よって、血液中の抗網膜抗体や場合によって T 細胞と呼ばれるリンパ球の活性も測定します。

3. 参加したときと参加しなかったときに予想されること

A. 診断が確定している方・疾患を疑われている方

結果について

確実な結果がでた段階でお知らせいたします

- 多数の遺伝子を順に調べていくので、比較的早く結果をお知らせできることもあれば、解析までに何年もの時間がかかることもあります。
- この研究では、原因遺伝子が明確に特定された場合にご連絡いたします。原因遺伝子が特定される可能性は高くないと予想されており、結果が確実にでるとは限りません。また、結果が出るまでの時間もお約束できませんのでご了承ください。

■ 遺伝子の変化が判明したとき

診断に関して

診断が確定している方については、遺伝子の変化からも診断

が裏付けられます。一方、疾患が疑われていた方は、診断が確実なものになり、今後おこる可能性のある症状について事前に知ることができる場合もあります。

将来、遺伝子治療や再生医療が発達した場合には、原因遺伝子が特定されていることで有効な治療を受けやすくなる可能性もあります。

遺伝に関して

遺伝の形式がわからなかった場合は、遺伝子の変化がわかることで遺伝形式が明らかとなり、家族が同様の疾患になる確率が推定できます。(常染色体優性遺伝であれば子どもへ遺伝する可能性は50%、上染色体劣性遺伝なら血族結婚でないかぎり遺伝の可能性は1%以下など)

血縁者の診断に関して

病気の原因となる遺伝子の変化が明らかとなり、それが常染色体優性遺伝の場合、血縁者が遺伝子の変化を受け継いでいるかどうかを調べることができます。常染色体劣性遺伝の場合には、発症の可能性のある兄弟も検査が可能です。それぞれ子どもや兄弟の健康管理に貢献できる可能性があります。(個々のケースで診断できる血縁者が異なることもあります)

一方で、病気のことをご家族と話し合う必要があったり、兄弟や子どもたちの間で結果が異なる場合など、新たな問題がおこる可能性もあります。

■遺伝子の変化が見つからず、お知らせできないとき

診断に関して

基本的に遺伝子を調べる前と同じ状況です。遺伝子の変化が

見つからない状態であっても、診断が変わるわけではありません。

遺伝に関して

遺伝子の変化が見つからない状況でも、患者さんの診断は網膜変性あるいは角膜変性であると考えられるため、血縁者の方も発症する可能性があります。家族歴から遺伝の確率を推定できる場合もありますが、孤発例などで遺伝の形式がわからない場合には、子どもへの遺伝の可能性は一般的に5~10%と考えられています。

血縁者の診断に関して

遺伝子を調べることによる血縁者の診断はできませんが、網膜電図（ERG）などによって、早期診断（発症前診断）が可能な場合があります。

■自己免疫性であると考えられた場合

血液中の自己抗体やリンパ球の活性を測定した結果、自己免疫性と考えられた場合には、血縁者の方々へ遺伝する可能性は低くなると考えられます。

■参加しなかったとき

今後の治療など

今後も同じ治療を続けていくこととなります。参加しなくても、主治医との関係が悪くなったり不利益を受けることはありません。定期健診によるフォローアップ、ロービジョンケア、視覚補助具などによる残存視力の有効な活用、患者会の活動に

参加するなどの対応が可能です。

遺伝に関して

遺伝形式については、家族歴から推定可能な場合もあります。家族歴から推定できない場合は経験的な遺伝の確率 5~10%が考えられます。

血縁者の診断に関して

遺伝子を調べることによる血縁者の診断はできませんが、網膜電図（ERG）などによって、早期診断（発症前診断）が可能な場合があります。一方で遺伝子診断を受けることによって起きたかもしれない問題は避けることができます。

B. 遺伝子の変化が確定した患者さんの血縁者の方々

結果について

患者さんの遺伝子の変化が確定している場合、血縁者の方は受け継いでいるかどうか確実に診断することができます。一方で、血縁者間で結果が異なった場合など、新たな問題が起こることもあります。

■ 遺伝子の変化を受け継いでいたとき

原因となる遺伝子を受け継いでいた場合、発病の可能性が予測でき、より積極的に病気の早期診断へ取り組むための心構えをすることができます。一方で、自分の将来を予測する検査となるため、検査結果に対して精神的な重圧があるかもしれません。しかし、遺伝子の変化を受け継いでいたとしても、確実に発症するかは現時点ではわかっていません。