

over a 10-year period, compared to 100% of those with an initial rod system ERG abnormality. These data assist the counseling of the patient in relation to visual prognosis

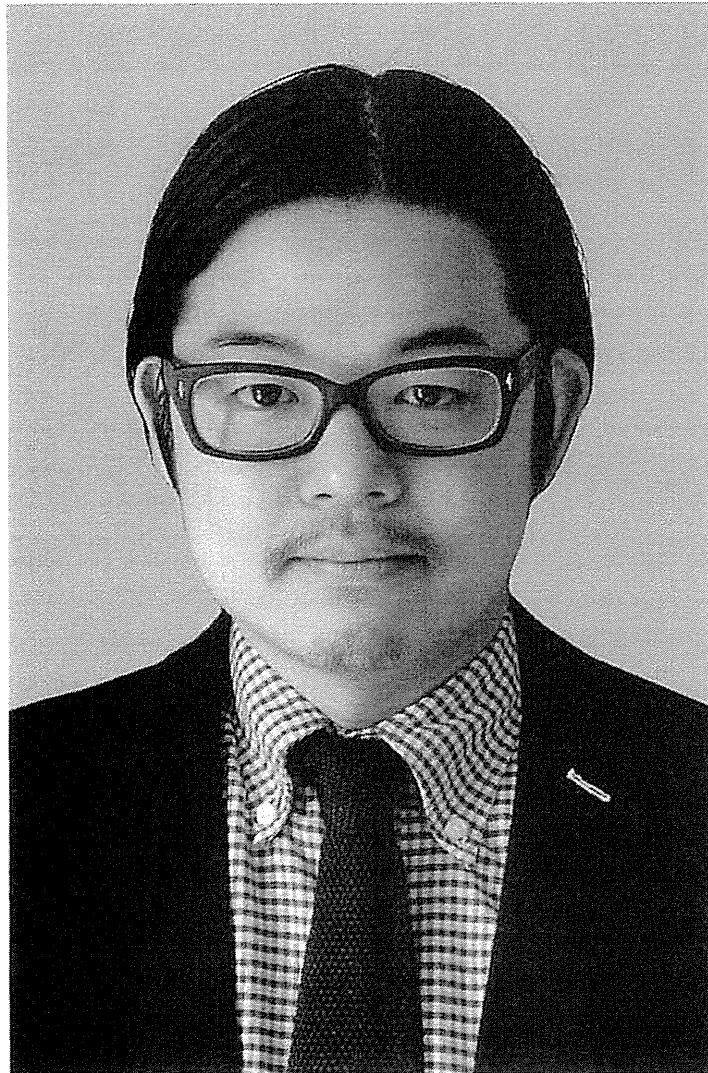
and may inform the design, patient selection, and monitoring of current and future clinical trials for ABCA4-related retinopathy.

ALL AUTHORS HAVE COMPLETED AND SUBMITTED THE ICMJE FORM FOR DISCLOSURE OF POTENTIAL CONFLICTS OF INTEREST and none were reported. Publication of this article was supported by grants from the National Institute for Health Research Biomedical Research Centre at Moorfields Eye Hospital NHS Foundation Trust and University College London, Institute of Ophthalmology (UK), Fight For Sight (UK), Moorfields Eye Hospital Special Trustees (UK), Macular Disease Society (UK), the Foundation Fighting Blindness (USA), Suzuken Memorial Foundation (Japan), Mitsu-koshi Health and Welfare Foundation (Japan), and Daiwa Anglo-Japanese Foundation (Japan). M.M. is supported by an FFB Career Development Award (USA). Contributions of authors: conception and design (K.F., N.L., A.D., A.W., G.H., M.M.); analysis and interpretation (K.F., N.L., A.D., D.M., C.H., E.S., K. Tsunoda., C.B., A.R., A.M., A.W., G.H., M.M.); writing the article (K.F., A.D., A.R., A.W., K. Tsubota., C.B., G.H., M.M.); critical revision of the article (K.F., N.L., A.D., E.S., K. Tsunoda., K. Tsubota., C.B., A.W., G.H., M.M.); final approval of the article (K.F., K. Tsunoda., C.B., A.T., A.W., G.H., M.M.); data collection (K.F., A.D., D.M., C.H., E.S., A.R., A.M., A.W., G.H., M.M.); provision of materials, patients, or resources (K.F., A.R., A.M., A.W., G.H., M.M.); statistical expertise (K.F., K. Tsubota., C.B., M.M.); obtaining funding (K.F., D.M., K. Tsunoda., A.M., A.W., M.M.); literature search (K.F., A.D., D.M., K. Tsunoda., A.R., M.M.); and administrative, technical, or logistic support (K.F., C.H., A.R., M.M.). The authors are grateful to those who contributed to the assembly of the ABCA4 panel, particularly Naashun Waseem, Bey Scott, Genevieve Wright, Sophie Devery, and Ravinder Chana (University College London, Institute of Ophthalmology, London, United Kingdom). The authors thank Professor Yozo Miyake (Aichi Medical University, Aichi, Japan), Panagiotis Sergoumiotis, Rajarshi Mukhopadhyay, Arundhati Dev Borman, Eva Lenassi (University College London, Institute of Ophthalmology, London, United Kingdom), and Jean Andorf (University of Iowa Institute for Vision Research, Howard Hughes Medical Institute, Iowa City, Iowa, USA) for their insightful comments.

REFERENCES

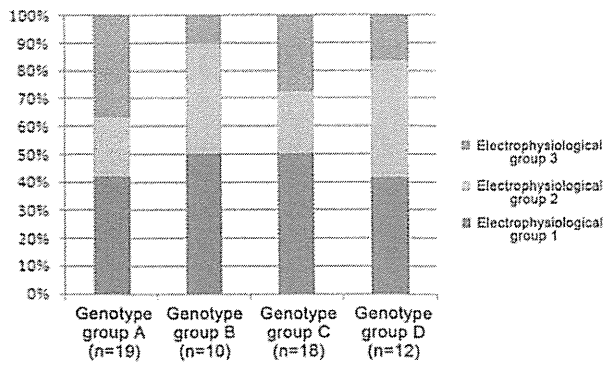
- Stargardt K. Uber familiare progressive degeneration in der makulagegend des auges. *Albrecht von Graefes Arch Klin Ophthalmol* 1909;71:534-550.
- Franceschetti A, Francois J. Fundus flavimaculatus. *Arch Ophthalmol* 1965;25(6):505-530.
- Michaelides M, Hunt DM, Moore AT. The genetics of inherited macular dystrophies. *J Med Genet* 2003;40(9):641-650.
- Lois N, Halfyard AS, Bird AC, Holder GE, Fitzke FW. Fundus autofluorescence in Stargardt macular dystrophy-fundus flavimaculatus. *Am J Ophthalmol* 2004;138(1):55-63.
- McBain VA, Townend J, Lois N. Progression of retinal pigment epithelial atrophy in stargardt disease. *Am J Ophthalmol* 2012;154(1):146-154.
- Jayasundera T, Rhoades W, Branham K, Niziol LM, Musch DC, Heckenlively JR. Peripapillary dark choroid ring as a helpful diagnostic sign in advanced stargardt disease. *Am J Ophthalmol* 2010;149(4):656-660.
- Rotenstreich Y, Fishman GA, Anderson RJ. Visual acuity loss and clinical observations in a large series of patients with Stargardt disease. *Ophthalmology* 2003;110(6):1151-1158.
- von Ruckmann A, Fitzke FW, Bird AC. In vivo fundus autofluorescence in macular dystrophies. *Arch Ophthalmol* 1997;115(5):609-615.
- Walia S, Fishman GA. Natural history of phenotypic changes in Stargardt macular dystrophy. *Ophthalmic Genet* 2009;30(2):63-68.
- Allikmets R, Singh N, Sun H, et al. A photoreceptor cell-specific ATP-binding transporter gene (ABCR) is mutated in recessive Stargardt macular dystrophy. *Nat Genet* 1997;15(3):236-246.
- Allikmets R, Shroyer NF, Singh N, et al. Mutation of the Stargardt disease gene (ABCR) in age-related macular degeneration. *Science* 1997;277(5333):1805-1807.
- Burke TR, Tsang SH. Allelic and phenotypic heterogeneity in ABCA4 mutations. *Ophthalmic Genet* 2011;32(3):162-174.
- 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* 1998;7(3):355-362.
- Fishman GA, Stone EM, Eliason DA, Taylor CM, Lindeman M, Derlacki DJ. ABCA4 gene sequence variations in patients with autosomal recessive cone-rod dystrophy. *Arch Ophthalmol* 2003;121(6):851-855.
- Klevering BJ, Deutman AF, Maugeri A, Cremers FP, Hoyng CB. The spectrum of retinal phenotypes caused by mutations in the ABCA4 gene. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2005;243(2):90-100.
- Lois N, Holder GE, Fitzke FW, Plant C, Bird AC. Intrafamilial variation of phenotype in Stargardt macular dystrophy-fundus flavimaculatus. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1999;40(11):2668-2675.
- Michaelides M, Chen LL, Brantley MA Jr, et al. ABCA4 mutations and discordant ABCA4 alleles in patients and siblings with bull's-eye maculopathy. *Br J Ophthalmol* 2007;91(12):1650-1655.
- van Driel MA, Maugeri A, Klevering BJ, Hoyng CB, Cremers FP. ABCR unites what ophthalmologists divide(s). *Ophthalmic Genet* 1998;19(3):117-122.
- Fujinami K, Akahori M, Fukui M, Tsunoda K, Iwata T, Miyake Y. Stargardt disease with preserved central vision: identification of a putative novel mutation in ATP-binding cassette transporter gene. *Acta Ophthalmol* 2011;89(3):e297-e298.
- Briggs CE, Rucinski D, Rosenfeld PJ, Hirose T, Berson EL, Dryja TP. Mutations in ABCR (ABCA4) in patients with Stargardt macular degeneration or cone-rod degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001;42(10):2229-2236.
- Fishman GA, Stone EM, Grover S, Derlacki DJ, Haines HL, Hockey RR. Variation of clinical expression in patients with Stargardt dystrophy and sequence variations in the ABCR gene. *Arch Ophthalmol* 1999;117(4):504-510.
- Fumagalli A, Ferrari M, Soriani N, et al. Mutational scanning of the ABCR gene with double-gradient denaturing-gradient gel electrophoresis (DG-DGGE) in Italian Stargardt disease patients. *Hum Genet* 2001;109(3):326-338.

23. Jaakson K, Zernant J, Kulm M, et al. Genotyping microarray (gene chip) for the ABCR (ABCA4) gene. *Hum Mutat* 2003; 22(5):395–403.
24. Klevering BJ, Blankenagel A, Maugeri A, Cremers FP, Hoyng CB, Rohrschneider K. Phenotypic spectrum of autosomal recessive cone-rod dystrophies caused by mutations in the ABCA4 (ABCR) gene. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2002;43(6):1980–1985.
25. Lewis RA, Shroyer NF, Singh N, et al. Genotype/phenotype analysis of a photoreceptor-specific ATP-binding cassette transporter gene, ABCR, in Stargardt disease. *Am J Hum Genet* 1999;64(2):422–434.
26. Papaioannou M, Ocaka L, Bessant D, et al. An analysis of ABCR mutations in British patients with recessive retinal dystrophies. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000;41(1):16–19.
27. Rivera A, White K, Stohr H, et al. A comprehensive survey of sequence variation in the ABCA4 (ABCR) gene in Stargardt disease and age-related macular degeneration. *Am J Hum Genet* 2000;67(4):800–813.
28. Rozet JM, Gerber S, Souied E, et al. Spectrum of ABCR gene mutations in autosomal recessive macular dystrophies. *Eur J Hum Genet* 1998;6(3):291–295.
29. Webster AR, Heon E, Lotery AJ, et al. An analysis of allelic variation in the ABCA4 gene. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001; 42(6):1179–1189.
30. Zernant J, Schubert C, Im KM, et al. Analysis of the ABCA4 gene by next-generation sequencing. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011;52(11):8479–8487.
31. Lois N, Holder GE, Bunce C, Fitzke FW, Bird AC. Phenotypic subtypes of Stargardt macular dystrophy-fundus flavimaculatus. *Arch Ophthalmol* 2001;119(3):359–369.
32. Holder GE, Brigell MG, Hawlina M, Meigen T, Vaegan, Bach M. ISCEV standard for clinical pattern electroretinography—2007 update. *Doc Ophthalmol* 2007;114(3):111–116.
33. Marmor MF, Fulton AB, Holder GE, Miyake Y, Brigell M, Bach M. ISCEV Standard for full-field clinical electroretinography (2008 update). *Doc Ophthalmol* 2009;118(1):69–77.
34. Robson AG, Webster AR, Michaelides MM, et al. "Cone dystrophy with supernormal rod electroretinogram": a comprehensive genotype/phenotype study including fundus autofluorescence and extensive electrophysiology. *Retina* 2010;30(1):51–62.
35. Lenassi E, Robson AG, Hawlina M, Holder GE. The value of two-field pattern electroretinogram in routine clinical electrophysiologic practice. *Retina* 2012;32(3):589–599.
36. Orita M, Iwahana H, Kanazawa H, Hayashi K, Sekiya T. Detection of polymorphisms of human DNA by gel electrophoresis as single-strand conformation polymorphisms. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1989;86(8):2766–2770.
37. Ng PC, Henikoff S. SIFT: predicting amino acid changes that affect protein function. *Nucleic Acids Res* 2003;31(13): 3812–3814.
38. Adzhubei IA, Schmidt S, Peshkin L, et al. A method and server for predicting damaging missense mutations. *Nat Methods* 2010;7(4):248–249.
39. Weleber RG. The effect of age on human cone and rod Ganzfeld electroretinograms. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1981;20(3): 392–399.
40. Cella W, Greenstein VC, Zernant-Rajang J, et al. G1961E mutant allele in the Stargardt disease gene ABCA4 causes bull's eye maculopathy. *Exp Eye Res* 2009;89(1):16–24.
41. Martinez-Mir A, Paloma E, Allikmets R, et al. Retinitis pigmentosa caused by a homozygous mutation in the Stargardt disease gene ABCR. *Nat Genet* 1998;18(1):11–12.
42. Schindler EI, Nylén EL, Ko AC, et al. Deducing the pathogenic contribution of recessive ABCA4 alleles in an outbred population. *Hum Mol Genet* 2010;19(19):3693–3701.
43. Simonelli F, Testa F, Zernant J, et al. Genotype-phenotype correlation in Italian families with Stargardt disease. *Ophthalmic Res* 2005;37(3):159–167.
44. Klevering BJ, Yzer S, Rohrschneider K, et al. Microarray-based mutation analysis of the ABCA4 (ABCR) gene in autosomal recessive cone-rod dystrophy and retinitis pigmentosa. *Eur J Hum Genet* 2004;12(12):1024–1032.
45. Maugeri A, van Driel MA, van de Pol DJ, et al. The 2588G->C mutation in the ABCR gene is a mild frequent founder mutation in the Western European population and allows the classification of ABCR mutations in patients with Stargardt disease. *Am J Hum Genet* 1999;64(4): 1024–1035.

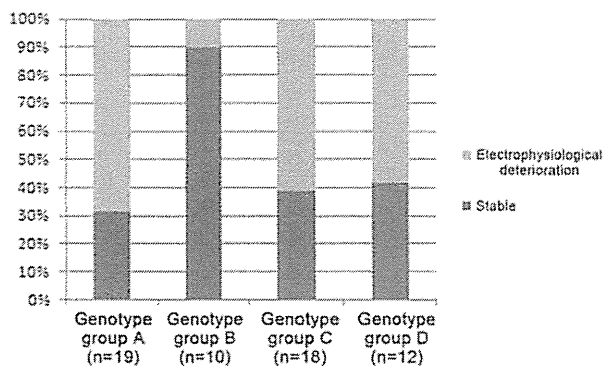


Biosketch

Kaoru Fujinami, MD, is a clinical research fellow in the Departments of Inherited Eye Disease at Moorfields Eye Hospital and Genetics at University College London, Institute of Ophthalmology, United Kingdom. He graduated from Nagoya University and completed ophthalmology clinical training under Professor Miyake at the National Institute of Sensory Organs, Tokyo, Japan. His research interests include clinical electrophysiology and ophthalmic genetics, with his current projects relating to genotype-phenotype correlations in inherited retinal disease.



SUPPLEMENTAL FIGURE 1. The association between genotype group and electrophysiologic group at baseline in 59 patients with Stargardt disease, showing that patients with 2 or more null variants (genotype group A) more frequently had generalized rod involvement (electrophysiologic group 3).



SUPPLEMENTAL FIGURE 2. The association between genotype group and presence or absence of clinically significant electrophysiologic deterioration, showing that patients with Stargardt disease harboring 2 or more non-null variants (genotype group B) more frequently have stable electrophysiologic function over time compared with those with more severe mutations (genotype group A).

SUPPLEMENTAL TABLE 1. Normal Ranges for Each Component of International Standard Full-field Electroretinography in Young Adults

	Dark-Adapted 0.01		Dark-Adapted 11.0				Light-Adapted 30 Hz		Light-Adapted 3.0			
			A-wave		B-wave				A-wave		B-wave	
	Amplitude (μ V)	Peak Time (ms)	Amplitude (μ V)	Peak Time (ms)	Amplitude (μ V)	Peak Time (ms)	Amplitude (μ V)	Peak Time (ms)	Amplitude (μ V)	Peak Time (ms)	Amplitude (μ V)	Peak Time (ms)
Age group ($<$ 50 years old)	135-455	84-107	250-470	7-14	320-755	39-56	70-200	23-27	30-80	12-15	95-295	27-32

Dark-adapted 0.01 = dark-adapted dim flash electroretinogram with flash intensity 0.01 candela second ($\text{cd}\cdot\text{s}/\text{m}^2$); Dark-adapted 11.0 = dark-adapted bright flash electroretinogram with flash intensity 11.0 $\text{cd}\cdot\text{s}/\text{m}^2$; Light-adapted 30 Hz = light-adapted 30 Hz flicker electroretinogram with flash intensity 3.0 $\text{cd}\cdot\text{s}/\text{m}^2$; Light-adapted 3.0 = light-adapted 2 Hz electroretinogram with flash intensity 3.0 $\text{cd}\cdot\text{s}/\text{m}^2$.

SUPPLEMENTAL TABLE 2. Normal Ranges for Full-field Electroretinography in Older Adults

	Dark-Adapted 0.01		Dark-Adapted 11.0				Light-Adapted 30 Hz		Light-Adapted 3.0			
			A-wave		B-wave				A-wave		B-wave	
	Amplitude	Peak Time	Amplitude	Peak Time	Amplitude	Peak Time	Amplitude	Peak Time	Amplitude	Peak Time	Amplitude	Peak Time
Age group (≥50 years old)	30-320	76-117	105-495	10-16	235-665	36-57	50-145	22-29	15-60	12-16	90-220	25-32

Dark-adapted 0.01 = dark-adapted dim flash electroretinogram with flash intensity 0.01 candela second (cd·s)/m²; Dark-adapted 11.0 = dark-adapted bright flash electroretinogram with flash intensity 11.0 cd·s/m²; Light-adapted 30 Hz = light-adapted 30 Hz flicker electroretinogram with flash intensity 3.0 cd·s/m²; Light-adapted 3.0 = light-adapted 2 Hz electroretinogram with flash intensity 3.0 cd·s/m².

SUPPLEMENTAL TABLE 3. Primer Sequences and Annealing Temperatures for ABCA4 Gene Screening

Primer	Sequence (5'-3')	Annealing Temperature (C)
Exon 2 forward	GTGTCTGCTCTGGTTACGTTTTC	61
Exon 2 reverse	CCTTTTGTCTAGAAAGATCTTGGG	
Exon 5 forward	TCCAATCGACTCTGGCTGTT	64
Exon 5 reverse	AGAGATCATGGGGCACAACC	
Exon 9 forward	CCAGCATGGAGTTGAATGAGAC	63
Exon 9 reverse	TAAGTGGACTCTTGCGTTTCCTC	
Exon 10 forward	TTAGATTCTGTCAGCCAGGAAG	63
Exon 10 reverse	ACCAAGTGGGGTCACTGACTTT	
Exon 15 forward	AGAGAGCCCTTTAGGGCAGAAT	63
Exon 15 reverse	GTTTCCTTGGAAGGGTCCGTAG	
Exon 17 forward	AACTGCGGTAAGGTAGGATAGGG	63
Exon 17 reverse	GACCACCTTTCACAAGTTGCTG	
Exon 30 forward	GCCTAGGGATTTGTCAGCAACT	63
Exon 30 reverse	ACTAAACCAAACCTCCCTGCACC	
Exon 38 forward	CCAGTTCACACACATCACCTCAG	63
Exon 38 reverse	ATGAGTGCCACTTTCCTCCTCC	
Exon 39 forward	GTGCTGCTCCTGTGAGAGCATCTG	64
Exon 39 reverse	GAGGATTAGGGTGCCTCTGTTTC	
Exon 43 forward	CCCCTGTCAACTGGGACTTAG	63
Exon 43 reverse	ATAGTAGGGTGGCTCTGAGGCC	
Exon 44 forward	GCATTTCTGAAGCCAAATAGGAGA	63
Exon 44 reverse	GTGCATTCTCTTGGAGATGAGAAA	
Exon 46-47 forward	TCTTTACTCTTGGATCCACCTCCT	63
Exon 46-47 reverse	GTGTTCTCCATTGACACTTGGAAG	

SUPPLEMENTAL TABLE 4. Detailed Electrophysiologic Findings of 59 Patients With Stargardt Disease: Electrophysiologic Group, Electrophysiologic Deterioration, and Assessment of Each Component of Full-field Electroretinography

Pt	Selected Eye for Data Analysis	Electrophysiologic Group		Electrophysiologic Deterioration			Dark-Adapted 0.01 (R/L)		Dark-Adapted 11.0 (R/L)		Light-Adapted 30 Hz (R/L)		Light-Adapted 3.0 (R/L)	
		BL	FU	Yes/No	Amplitude Reduction	Peak Time Shift	BL	FU	BL	FU	BL	FU	BL	FU
1	R	1	1	--	--	--	N/N	N/N	N/N	N/N	N/N	N/N	N/N	N/N
2	L	1	1	--	--	--	N/N	N/N	N/N	N/N	N/N	N/N	N/N	N/N
3	L	1	1	--	--	--	N/N	N/N	N/N	N/N	N/N	N/N	N/N	N/N
4	R	1	1	--	--	--	N/N	N/N	N/N	N/N	N/N	N/N	N/N	N/N
5	L	1	1	--	--	--	N/N	N/N	N/N	N/N	N/N	N/N	N/N	N/N
6	R	1	1	--	--	--	N/N	N/N	N/N	N/N	N/N	N/N	N/N	N/N
7	L	1	1	--	--	--	N/N	N/N	N/N	N/N	N/N	N/N	N/N	N/N
8	L	1	1	--	--	--	N/N	N/N	N/N	N/N	N/N	N/N	N/N	N/N
9	R	1	1	--	--	--	N/N	N/N	N/N	N/N	N/N	N/N	N/N	N/NA
10	R	1	1	--	--	--	N/N	N/N	N/N	N/N	N/N	N/N	N/N	N/N
11	R	1	1	--	--	--	N/N	N/N	N/N	N/N	N/N	N/N	N/N	N/N
12	L	1	1	--	--	--	N/N	N/N	N/N	N/N	N/N	N/N	N/N	N/N
13	L	1	1	--	--	--	N/N	N/N	N/N	N/N	NA/N	NA/N	N/N	N/N
14	L	1	1	--	--	--	N/N	N/N	N/N	N/N	N/N	N/N	N/N	N/N
15	R	1	1	--	--	--	N/N	N/N	N/N	N/N	N/N	N/N	N/N	N/N
16	R	1	1	--	--	--	N/N	N/N	N/N	N/N	N/N	N/N	N/N	N/N
17	L	1	1	--	--	--	N/N	N/N	N/N	N/N	N/N	N/N	N/N	N/N
18	L	1	1	--	--	--	N/N	N/N	N/N	N/N	N/N	N/N	NA/N	NA/N
19	L	1	1	--	--	--	N/N	N/N	N/N	N/N	N/N	N/N	N/N	N/N
20	R	1	1	--	--	--	N/N	N/N	N/N	N/N	N/N	N/N	N/N	N/N
21	L	1	1	--	--	--	NA/NA	N/N	N/N	N/N	N/N	N/N	N/N	N/N
22	R	1	2	✓	--	✓	N/N	N/N	N/N	N/N	N/N	A/A	N/N	A/A
23	L	1	2	✓	--	✓	N/N	N/N	N/N	N/N	N/N	A/A	N/N	N/N
24	R	1	2	✓	--	✓	N/N	N/N	N/N	N/N	N/N	A/A	N/N	N/N
25	R	1	3	✓	✓	✓	N/N	N/A	N/N	N/A	N/N	A/A	N/N	A/A
26	L	1	3	✓	--	✓	N/N	N/N	N/N	A/A	N/N	A/A	N/N	A/A
27	L	1	3	✓	✓	✓	N/N	A/A	N/N	N/N	N/N	A/A	N/N	A/A
28	R	2	2	--	--	--	N/N	N/N	N/N	N/N	A/A	A/A	N/N	A/A
29	R	2	2	✓	✓	✓	N/N	N/N	N/N	N/N	N/N	A/A	A/A	A/A
30	L	2	2	--	--	--	N/N	N/N	N/N	N/N	A/A	A/A	N/N	A/A
31	L	2	2	--	--	--	N/N	N/N	N/N	N/N	A/A	A/A	A/A	A/A
32	R	2	2	--	--	--	NA/NA	N/N	N/N	N/N	N/N	A/A	A/A	A/A
33	L	2	2	✓	--	✓	N/N	N/N	N/N	N/N	A/A	A/A	NA/NA	A/A
34	R	2	2	--	--	--	N/N	N/N	N/N	N/N	A/A	A/A	A/A	A/A
35	R	2	2	--	--	--	N/N	N/N	N/N	N/N	A/A	A/A	A/A	A/A
36	L	2	2	✓	✓	--	N/N	N/N	N/N	N/N	A/A	A/A	A/A	A/A

Continued on next page

SUPPLEMENTAL TABLE 4. Detailed Electrophysiologic Findings of 59 Patients With Stargardt Disease: Electrophysiologic Group, Electrophysiologic Deterioration, and Assessment of Each Component of Full-field Electroretinography (*Continued*)

Pt	Selected Eye for Data Analysis	Electrophysiologic Group		Electrophysiologic Deterioration			Dark-Adapted 0.01 (R/L)		Dark-Adapted 11.0 (R/L)		Light-Adapted 30 Hz (R/L)		Light-Adapted 3.0 (R/L)	
		BL	FU	Yes/No	Amplitude Reduction	Peak Time Shift	BL	FU	BL	FU	BL	FU	BL	FU
37	L	2	3	✓	✓	✓	N/N	N/N	N/N	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A
38	L	2	3	✓	✓	✓	N/N	A/A	N/N	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A
39	R	2	3	✓	—	✓	N/N	NA/NA	N/N	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A
40	L	2	3	✓	✓	✓	N/N	A/A	N/N	A/A	N/N	A/A	A/A	A/A
41	R	2	3	✓	—	✓	N/N	A/A	N/N	A/A	N/N	A/A	N/A	A/A
42	L	2	3	✓	✓	—	N/N	A/A	N/N	A/A	A/A	A/A	N/N	A/A
43	L	2	3	✓	✓	—	N/N	A/A	N/N	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A
44	R	2	3	✓	✓	✓	N/N	A/A	N/N	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A
45	R	3	3	✓	✓	✓	NA/NA	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A
46	L	3	3	✓	—	✓	NA/NA	N/N	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A
47	R	3	3	✓	—	✓	NA/NA	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A
48	R	3	3	✓	✓	—	N/N	A/A	N/A	A/A	A/A	A/A	N/N	A/A
49	L	3	3	✓	✓	✓	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A
50	R	3	3	✓	✓	✓	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A
51	R	3	3	✓	—	✓	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A
52	L	3	3	✓	✓	✓	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/ND
53	L	3	3	✓	✓	✓	A/A	ND/ND	A/A	A/A	ND/ND	ND/ND	ND/ND	ND/ND
54	R	3	3	✓	✓	✓	A/A	ND/ND	A/A	A/A	ND/ND	ND/ND	ND/ND	ND/ND
55	L	3	3	✓	✓	—	A/A	ND/ND	A/A	A/A	A/A	ND/ND	A/A	ND/ND
56	R	3	3	✓	✓	—	A/A	ND/ND	A/A	ND/ND	ND/ND	ND/ND	ND/ND	ND/ND
57	L	3	3	✓	✓	✓	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A
58	L	3	3	✓	—	✓	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A
59	L	3	3	✓	✓	✓	A/A	A/A	N/A	A/A	N/A	A/A	N/A	A/A

✓ = yes; — = no; A = Abnormal; BL = baseline; Dark-adapted 0.01 = dark-adapted dim flash electroretinogram with flash intensity 0.01 candela second (cd · s)/m²; Dark-adapted 11.0 = dark-adapted bright flash electroretinogram with flash intensity 11.0 cd · s/m²; FU = follow-up; L = left; Light-adapted 30 Hz = light-adapted 30 Hz flicker electroretinogram with flash intensity 3.0 cd · s/m²; Light-adapted 3.0 = light-adapted 2 Hz electroretinogram with flash intensity 3.0 cd · s/m²; N = normal; NA = not available; ND = not-detectable; Pt = patient; R = right; VA = visual acuity.

SUPPLEMENTAL TABLE 6. Electrophysiologic Group Transition and ABCA4 Variants^a Identified in 59 Patients With Stargardt Disease

Pt	Electrophysiologic Group (BL / FU)	Genotype Group	Number of Variants	Exon	Nucleotide Substitution	Amino Acid Change	Screening Method (Yes/No)		
							SSCP	APEX	DS
1	I/I	A	3	6	c.768 G>T	p.Val256Val/ Splice site	✓	✓	—
				17	c.2588 G>C	p.Gly863Ala	✓	✓	—
				19	c.2828 G>A	p.Arg943Gln	—	✓	—
2	I/I	C	1	29	c.4328 G>A	p.Arg1443His	—	✓	—
3	I/I	A	3	10	c.1317 G>A	p.Trp439*	—	✓	✓
				17	c.2588 G>C	p.Gly863Ala	—	✓	✓
4	I/I	C	1	43	c.5908 C>T	p.Leu1970Phe	—	✓	✓
				44	c.6079 C>T	p.Leu2027Phe	—	✓	—
5	I/I	A	3	17	c.2588 G>C	p.Gly863Ala	—	✓	—
				19	c.2828 G>A	p.Arg943Gln	—	✓	—
6	I/I	C	1	Int. 38	c.5461-10 T>C	Splice site	—	✓	—
				28	c.4139 G>T	p.Pro1380Leu	—	✓	—
7	I/I	D	0				✓	—	—
8	I/I	B	2	10	c.1253 T>C	p.Phe418Ser	✓	—	✓
				44	c.6079 C>T	p.Leu2027Phe	✓	—	✓
9	I/I	A	2	Int. 28	c.4253+5 G>T	Splice site	✓	✓	—
				30	c.4519 G>A	p.Gly1507Arg	✓	—	✓
10	I/I	B	2	30	c.4469 G>A	p.Cys1490Tyr	—	✓	✓
				44	c.6089 G>A	p.Arg2030Gln	—	✓	✓
11	I/I	D	0				✓	—	—
12	I/I	C	1	3	c.286 A>C	p.Asn96His	✓	—	—
13	I/I	A	1	30	c.4537_4538insC	p.Gly1513Profs*1554	—	✓	—
14	I/I	D	0				✓	—	—
15	I/I	C	1	46	c.6320 G>A	p.Arg2107His	✓	—	—
16	I/I	D	0				—	✓	—
17	I/I	C	1	3	c.161 G>A	p.Cys54Tyr	✓	—	—
18	I/I	B	2	28	c.4139 C>T	p.Pro1380Leu	—	✓	—
				42	c.5882 G>A	p.Gly1961Glu	—	✓	—
19	I/I	C	1	22	c.3322 C>T	p.Arg1108Cys	✓	—	—
20	I/I	A	2	10	c.1317 G>A	p.Trp439*	—	✓	✓
				17	c.2588 G>C	p.Gly863Ala	—	✓	✓
21	I/I	B	3	5	c.466 A>G	p.Ile156Val	✓	—	✓
				30	c.4363 C>T	p.Cys1455Arg	✓	—	✓
				39	c.5516 T>C	p.Phe1839Ser	✓	—	✓
22	I/II	C	1	46	c.6320 G>A	p.Arg2107His	—	✓	—
23	I/II	C	1	17	c.2588 G>C	p.Gly863Ala	—	✓	—
24	I/II	A	1	35	c.4956 T>G	p.Tyr1652*	—	✓	—
25	I/III	A	1	Int. 38	c.5461-10 T>C	Splice site	—	✓	—
26	I/III	D	0				✓	—	—
27	I/III	A	1	22	c.3211_3212insGT	p.Ser1071Cysfs*1084	—	✓	—
28	II/II	A	2	9	c.1222 C>T	p.Arg408*	✓	—	✓
				14	c.2023 G>A	p.Val675Ile	✓	—	✓
29	II/II	C	1	47	c.6449 G>A	p.Cys2150Tyr	—	—	✓
30	II/II	D	0				—	✓	—
31	II/II	B	3	17	c.2588G>C	p.Gly863Ala	✓	—	—
				22	c.3322 C>T	p.Arg1108Cys	✓	—	—
				19	c.2828 G>A	p.Arg943Gln	✓	—	—
32	II/II	B	2	14	c.1957 C>A	p.Arg653Cys	—	✓	—
				44	c.6089 G>A	p.Arg2030Gln	—	✓	—
33	II/II	D	0				✓	—	—
34	II/II	B	2	17	c.2588 G>C	p.Gly863Ala	✓	—	—
				22	c.3259 G>A	p.Glu1087Lys	✓	—	—

Continued on next page

SUPPLEMENTAL TABLE 6. Electrophysiologic Group Transition and ABCA4 Variants Identified in 59 Patients With Stargardt Disease (Continued)

Pt	Electrophysiologic Group (BL / FU)	Genotype Group	Number of Variants	Exon	Nucleotide Substitution	Amino Acid Change	Screening Method (Yes/No)		
							SSCP	APEX	DS
35	II / II	B	2	3	c.161 G>A	p.Cys54Tyr	✓	—	—
				17	c.2588 G>C	p.Gly863Ala	✓	—	—
36	II / II	A	2	19	c.2791 G>A	p.Val931Met	—	✓	—
				Int. 38	c.5461-10 T>C	Splice site	—	✓	—
37	II / III	C	1	28	c.4139 C>T	p.Pro1380Leu	—	✓	—
38	II / III	A	2	22	c.3211_3212insGT	p.Ser1071Cysfs*1084	—	✓	—
				28	c.4139 C>T	p. Pro1380Leu	—	✓	—
39	II / III	A	2	Int. 38	c.5461-10 T>C	Splice site	—	✓	—
				Int. 40	c.5714+5 G>A	Splice site	—	✓	—
40	II / III	D	0				✓	—	—
41	II / III	D	0				✓	—	—
42	II / III	C	1	3	c.161 G>A	p.Cys54Tyr	✓	—	—
43	II / III	D	0				✓	—	—
44	II / III	C	1	19	c.2894 A>G	p.Asn965Ser	✓	—	—
45	III / III	C	1	21	c.3056 C>T	p.Thr1019Met	✓	—	—
46	III / III	C	1	21	c.3056 C>T	p.Thr1019Met	✓	—	—
47	III / III	C	1	47	c.6449 G>A	p.Cys2150Tyr	✓	—	✓
48	III / III	A	2	Int. 38	c.5461-10 T>C	Splice site	—	✓	—
				44	c.6079 C>T	p.Leu2027Phe	—	✓	—
49	III / III	A	1	12	c.1721delAC	p.Asp574Aspfs*582	✓	—	—
50	III / III	A	1	Int. 38	c.5461-10 T>C	Splice site	—	✓	—
51	III / III	B	2	35	c.4918 C>T	p.Arg1640Trp	✓	—	—
				44	c.6079 C>T	p.Leu2027Phe	✓	—	—
52	III / III	C	1	22	c.3323 G>A	p.Arg1108His	✓	—	—
53	III / III	A	2	Int. 38	c.5461-10 T>C	Splice site	—	—	✓
				47	c.6449 G>A	p.Cys2150Tyr	✓	—	✓
54	III / III	A	2	Int. 38	c.5461-10 T>C	Splice site	—	—	✓
				47	c.6449 G>A	p.Cys2150Tyr	✓	—	✓
55	III / III	A	2	Int. 38	c.5461-10 T>C	Splice site	—	✓	✓
				47	c.6449 G>A	p.Cys2150Tyr	—	✓	✓
56	III / III	D	0				✓	—	—
57	III / III	A	1	15	c.2239delC	p.Leu747Cysfs*787	✓	—	✓
58	III / III	D	0				✓	—	—
59	III / III	C	1	5	c.466 A>G	p.Ile156 Val	✓	—	—

✓ = yes; — = no; APEX = arrayed primer extension microarray; BL = baseline; DS = Sanger direct sequencing; FU = follow-up; Int. = intron; SSCP = single-strand conformation polymorphism.

^aPutative novel changes are in bold. All the variants are heterogeneous.

SUPPLEMENTAL TABLE 7. Investigation of the Pathogenicity of Identified ABCA4 Variants

Exon	Nucleotide Substitution and Amino Acid Change	Number of Alleles		SIFT ^a			PolyPhen 2 ^b		HSF Matrix ^c			Allelic Frequency Observed by EVS ^d	Reference
				Pred.	Index (0-1)	Pred.	Hum Var Score (0-1)	Site Affected	Wt CV	Mt CV	CV % Variation		
3	c.161 G>A, p.Cys54Tyr	3	Lewis ²⁵	Tol.	0.11	PRD	0.994				No change	1/10 758	db SNP (rs150774447)
3	c.286 A>C, p.Asn96His	1	Papaioannou ²⁶	Tol.	0.14	PRD	0.994				No change	1/10 758	db SNP (rs61748529)
5	c.466 A>G, p.Ile156 Val	2	Papaioannou ²⁶	Tol.	0.46	Benign	0.003				No change	11/10 758	db SNP (rs112467008)
6	c.768 G>T, p.Val256Val/Splice site	1	Klevering ²⁴	Tol.	0.56	NA		Don.	70.4	58	Site broken (-17.51)	ND	
9	c.1222 C>T, p.Arg408*	1	Webster ²⁹	NA		NA							
10	c.1253 T>C, p.Phe418Ser	1	Zernant ³⁰	Intol.	0	PRD	0.99				No change	ND	
10	c.1317 G>A, p.Trp439*	2	This study	NA		NA						ND	
12	c.1721delAC, p.Asp574Aspfs*582	1	Briggs ²⁰	NA		NA		Acc.	47.2	68.3	New site (44,5)	ND	
14	c.1957 C>T, p.Arg653Cys	1	Rivera ²⁷	Tol.	0.1	PRD	0.999				No change	1/10 758	db SNP (rs141823837)
14	c.2023 G>A, p.Val675Ile	1	This study	Tol.	0.07	PRD	0.989				NA	ND	
15	c.2239delC, p.Leu747Cysfs*787	1	This study	NA		NA		Don.	34.7	77	New site (-122)	ND	
17	c.2588 G>C, p.Gly863Ala	8	Allikmets ¹¹	Intol.	0.01	PRD	0.996				No change	53/10 758	db SNP (rs76157638)
19	c.2791 G>A, p.Val931Met	1	Allikmets ¹⁰	Tol.	0.12	PRD	0.716				No change	18/10 758	db SNP (rs58331765)
19	c.2828 G>A, p.Arg943Gln	3	Webster ²⁹	Intol.	0.03	Benign	0.449	Acc.	52.2	81.1	New site (-55.48)	340/10 758	db SNP (rs1801581)
19	c.2894 A>G, p.Asn965Ser	1	Lewis ²⁵	Intol.	0	PRD	0.981	Acc.	53.4	82.3	New site (-54.26)	ND	
21	c.3056 C>T, p.Thr1019Met	2	Rozet ²⁸	Intol.	0	PRD	0.999				No change	ND	
22	c.3211_3212insGT, p.Ser1071Cysfs*1084	2	Allikmets ¹⁰	NA		NA		Don.	69.3	28	Site broken (-59.55)	ND	
22	c.3259 G>A, p.Glu1087Lys	1	Lewis ²⁵	Intol.	0	PRD	0.997				No change	ND	
22	c.3322 C>T, p.Arg1108Cys	2	Rozet ²⁸	Intol.	0	PRD	0.986				No change	1/10 758	db SNP (rs61750120)
22	c.3323 G>A, p.Arg1108His	1	Webster ²⁹	Intol.	0	PRD	0.986				No change	ND	
28	c.4139 C>T, p.Pro1360Leu	4	Lewis ²⁵	Intol.	0.01	Benign	0.377				No change	2/10 758	db SNP (rs61750130)
Int. 28	c.4253+5 G>T, Splice site	1	Lewis ²⁵	NA		NA		Don.	87.9	75.6	Site broken (-14.02)	1/10 758	
29	c.4328 G>A, p.Arg1443His	1	Jaakson ²³	Tol.	0.19	PRD	0.996				No change	ND	
30	c.4363 C>T, p.Cys1455Arg	1	This study	Tol.	0.34	PRD	0.994				NA	ND	
30	c.4469 G>A, p.Cys1490Tyr	1	Webster ²⁹	Intol.	0.03	PRD	0.994				No change	ND	
30	c.4519 G>A, p.Gly1507Arg	1	This study	Tol.	0.48	PRD	0.996	Acc.	78.9	76.9	New site (-58.11)	ND	
30	c.4537_4538insC, p.Gly1513Profs*1554	1	Briggs ²⁰	NA		NA		Acc.	91.7	33.3	Site broken (-63.76)	ND	
35	c.4918 C>T, p.Arg1640Trp	1	Rozet ²⁸	Intol.	0	PRD	1				No change	ND	
35	c.4956 T>G, p.Tyr1652*	1	Fumagalli ²²	NA		NA							
Int. 38	c.5461-10 T>C	9	Briggs ²⁰	NA		NA						3/10 758	db SNP (rs1800728)
39	c.5516 T>C, p.Phe1839Ser	1	This study	Intol.	0	PRD	0.988				No change	ND	
Int. 40	c.5714+5 G>A, Splice site	1	Creemers ¹³	NA		NA		Donor	85.5	73.3	Wild-type site broken (-14.23)	ND	
42	c.5882 G>A, p.Gly1961Glu	1	Allikmets ¹¹	Tol.	0.18	PRD	1				No change	29/10 758	db SNP (rs1800553)

Continued on next page

SUPPLEMENTAL TABLE 7. Investigation of the Pathogenicity of Identified ABCA4 Variants (Continued)

Exon	Nucleotide Substitution and Amino Acid Change	Number of Alleles	Previous Report	SIFT ^a		PolyPhen-2 ^a		HSF Matrix ^a			Allelic Frequency Observed by EVS ^a	Reference	
				Pred.	Index (0-1)	Pred.	Hum Var Score (0-1)	Site Affected	Wt CV	Mt CV			CV % Variation
43	c.5908 C>T, p.Leu1970Phe	1	Lewis ²⁵	Tol.	0.14	PRD	0.997				No change	ND	
44	c.6079 C>T, p.Leu2027Phe	4	Allikmets ¹¹	Intol.	0.02	PRD	0.999				No change	3/10 758	db SNP (rs61751408)
44	c.6089 G>A, p.Arg2030Gln	2	Lewis ²⁵	Tol.	0.1	PRD	0.999				No change	6/10 758	db SNP (rs61750641)
46	c.6320 G>A, p.Arg2107His	2	Fishman ²¹	Intol.	0	PRD	0.996				NA	83/10 758	db SNP (rs62642564)
47	c.6449 G>A, p.Cys2150Tyr	5	Fishman ²¹	Intol.	0	PRD	0.995	Don.	76.6	49.8	Site broken (-35.02)	1/10 758	db SNP (rs61751384)

Acc. = acceptor site; Don. = donor site; EVS = Exome Variant Server; HSF = Human Splicing Finder program; Hum Var = Human Var score; Int. = intron; Intol. = intolerant; Mt CV = mutant consensus value; NA = not applicable; ND = not detected; PRD = probably damaging; Pred. = prediction; SIFT = Sorting Intolerant from Tolerance program; Tol. = tolerant; Wt CV = wild-type consensus value.

^aSIFT (version 4.0.4) results are reported to be tolerant if tolerance index ≥ 0.05 or intolerant if tolerance index < 0.05 . PolyPhen-2 (version 2.1) appraises mutations qualitatively as Benign, Possibly Damaging, or Probably Damaging based on the model's false-positive rate. The cDNA is numbered according to Ensembl transcript ID ENST00000370225, in which +1 is the A of the translation start codon. Human Splicing Finder (HSF, version 2.4.1) reports the results from the HSF matrix: the higher the consensus value (CV), the stronger the predicted splice site. The values for the wild-type and mutant sequences are shown; the larger the difference between these values, the greater the chance that the variant can affect splicing. EVS denotes variants in the Exome Variant Server, NHLBI Exome Sequencing Project, Seattle, WA, USA (accessed January 12, 2012; <http://snp.gs.washington.edu/EVS/>).

連載第1回

今さら聞けない



本連載は、眼科臨床または研究における素朴な疑問・初歩的な質問に、眼科専門医がわかりやすい解説を交えてお答えするコーナーです。また、本連載では質問案を随時受け付けております。巻末の読者アンケート用紙に聞いてみたい質問をご記入いただき、編集部までふるってご応募ください。

Q1 OCTの「コストライン」について教えてください

Answer

角田 和繁

TSUNODA Kazushige

東京医療センター臨床研究センター（感覚器センター）視覚生理学研究室

1. COSTラインとは？

スペクトラルドメイン光干渉層計（spectral domain optical coherence tomography：SD-OCT）において後極部で観察される、視細胞層のIS/OSラインと網膜色素上皮層（retinal pigment epithelium：RPE）のあいだの高輝度の反射帯をcone outer segment tip（COST）ラインとよびます（図1A）。錐体視細胞外節の先端部は、RPEのmicrovilliによって包み込まれるような形態をしています。COSTラインに相当する解剖学的構造は外節の先端部（tip）であることが、Srinivasanら¹⁾の高解像度OCTによる観察によって示されています。一方、SpaideとCurcio²⁾は過去の文献的データをもとにした解析により、錐体外節がmicrovilliによって包まれている領域全体（contact cylinder）がCOSTラインに相当すると強調しており、詳細な解剖学的位置関係についてはまだ議論の余地があるように思えます。

通常、COSTラインは中心窩ではRPEに接する位置にみられ、周辺部に行くほどその位置はIS/OSライン側（硝子体側）に移行していきます。これは錐体外節の長さが、中心窩から離れるほど短くなるためです。

COSTラインは健常人において年齢にかかわらず確認することができますが³⁾、後述するように測定上のさまざまな問題によって“false negative”となるので注意が必要です。

なお、杆体視細胞にも同様の構造は存在しており、固視の良好な被験者の黄斑部周囲にはrod outer segment tip（ROST）ラインとよばれる高輝度のラインが、COSTラインとRPEのあいだに観察されます¹⁾。

2. COSTラインが診断に役立つのはどのようなときか？

網膜外層疾患において、視細胞の機能的異常は細胞微細構造の変化と密接に結びついています。このため、COSTラインを観察することで、錐体視細胞の機能的異常を早期から検出することができます。この変化は通常IS/OSラインの変化に先行して生じるため、とくに視細胞の異常を検出するための鋭敏な視標として注目されているわけです^{4)~6)}。

実際には、検眼鏡の所見や蛍光眼底造影所見が正常にもかかわらず視力が低下している患者さんにおいて、とくに威力を発揮します。その病態が網膜性であるか、あ

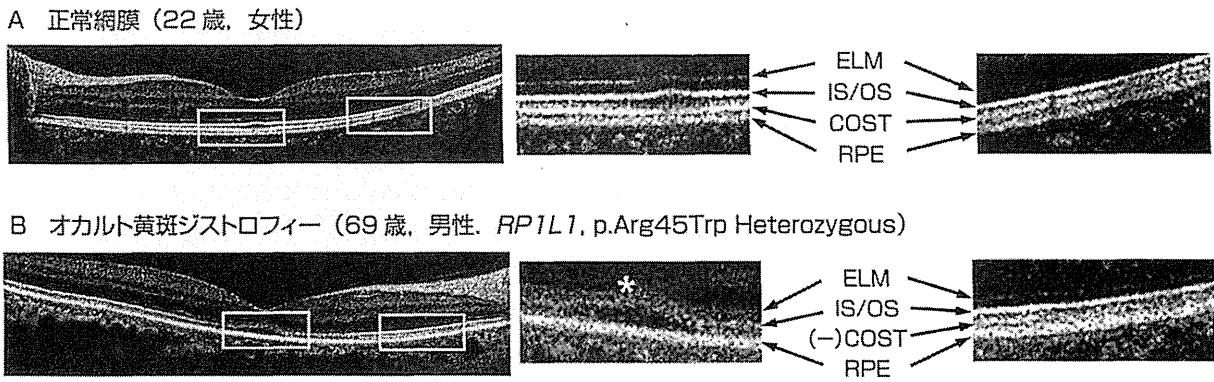


図1 正常網膜 (A), およびオカルト黄斑ジストロフィー (三宅病, *RP1L1* ヘテロ変異: p.Arg45Trp) (B) のOCT所見

右に中心窩および周辺部の拡大図を示す。

オカルト黄斑ジストロフィーでは, COSTラインが中心窩において消失しているが, 視機能の正常な鼻側網膜では正常に観察されている。また, 中心窩のIS/OSラインは著しく不明瞭化している。

(Tsunoda K *et al.*, 2012⁵⁾より改変引用)

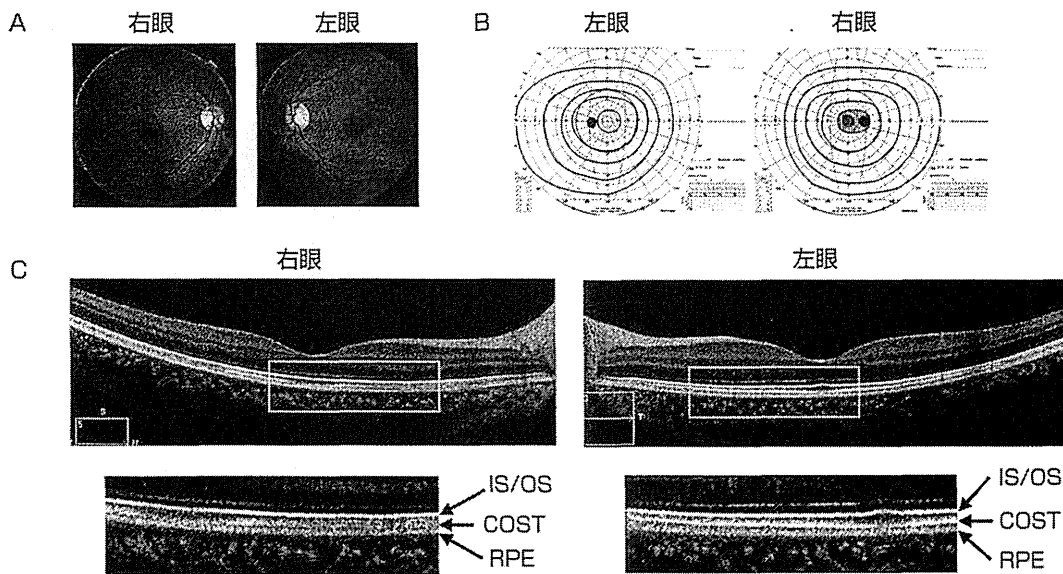


図2 右眼AZOORの28歳女性。矯正視力, 右(0.15), 左(1.5)

A: 検眼鏡の所見は, 左右ともに異常がみられない。

B: ゴールドマン視野にて, 右眼にマリョット盲点の拡大および中心暗点を認める。

C: OCTでは, 右眼の視野異常部位においてCOSTラインが不明瞭化している。一方, 同部位のIS/OSラインは罹患眼でもほぼ正常に観察されている。

るいは視神経疾患, 中枢性疾患によるものかを即座に鑑別できるばかりでなく, 視細胞機能の低下している領域を二次元的に把握することもできます⁴⁾⁵⁾。網膜機能を評価するという意味では網膜電図 (electroretinography: ERG) ほどの信頼性はありませんが, ERGに不慣れな眼科医が多い現在では, 網膜外層疾患のスクリーニングとして大変重要です。

図1Bはオカルト黄斑ジストロフィー (三宅病, *RP1L1*

ヘテロ変異: p.Arg45Trp) において, 矯正視力が (0.1) まで低下した症例で, 検眼鏡の所見, 蛍光眼底造影所見はいずれも正常です。全視野ERGは正常ですが, 黄斑部において局所的にERG反応が消失しています。OCTで観察すると, COSTラインが中心窩において消失しているものの, 視機能の正常な鼻側網膜では正常に観察されることがわかります。また, 中心窩のIS/OSラインは著しく不明瞭化しています。

表 1 視細胞機能が正常にもかかわらず COST ラインが消失, あるいは不明瞭化するケース

A) レーザー観察光が十分に網膜に届いていない場合
・小瞳孔, 角膜混濁, 白内障, 後発白内障, 硝子体出血など.
B) レーザー観察光と視細胞層が垂直でない場合
・視線と光軸とのズレ (α 角) が大きいことによる眼球の光学的特性, 網膜色素上皮剥離, 網膜下出血, ドルーゼンなどによる網膜外層の局所的隆起, 強膜・脈絡膜の肥厚, 高度近視などによる後極部全体の形態変化.
C) 網膜表層, あるいは網膜内に高反射部位が存在する場合
・厚い黄斑前膜, 網膜出血, 硬性白斑など.
D) 網膜内に著しい形態変化が生じている場合
・黄斑円孔, 網膜浮腫および嚢胞, 黄斑前膜による網膜厚の増加, 網膜分離など.
E) 固視不良, 眼球運動などのため, 加算において画像のズレが生じている場合

図2は acute zonal occult outer retinopathy (AZOOR) によって矯正視力が (0.15) まで低下した症例で, 検眼鏡的所見, 蛍光眼底造影所見はいずれも正常です. 中心窩において, 局所的に ERG 反応が消失しています. OCT で観察すると, 視野の異常部位において COST ラインが不明瞭化しています. なお, AZOOR では視野障害部位で IS/OS ラインの異常がみられるのが一般的ですが, この症例では同部位の IS/OS ラインはほぼ正常に観察されています. このことは, COST ラインが IS/OS ラインにくらべてより鋭敏な視標であることを示しています.

また, 網膜外層疾患のほかに黄斑円孔や黄斑前膜などにおいても, COST ラインと視力との関係が指摘されており, 術後視機能の評価などに応用されています⁷⁾.

3. COST ライン読影についての注意点

COST ラインは, たとえ視細胞機能が正常であってもさまざまな理由で描出されないことがあります. いわば「光学的に脆弱」な部位であり, 診断にあたっては “false negative” の可能性をつねに念頭におく必要があります.

最も頻繁に問題となるのは, 光量不足によって COST ラインが消失するケースです. たとえば Zeiss 社製の HD-OCT においては取得画像のレーザー光量が「1 から 10」までのスケールで表示されますが, スケールが「8」を下回る場合には信頼性が低いいため, 筆者は COST ラインの判定をおこなわないようにしています.

また, “false negative” の原因として見過ごされやすいのが, 網膜面と光軸が垂直でないことによる信号の減衰です. COST ラインは外顆粒層のヘンレ層と同様,

レーザー光の入射角に対する指向性が非常に高く, 光が垂直に当たるときに最も輝度が高くなります⁸⁾. 実際には, 描出画像において網膜面が水平から 30 度以上かたむいていると, COST ラインはほぼ消失してしまいます. これはレーザー光を瞳孔中心から左右にずらすことによって修正可能ですが, その分, 網膜に届く光量自体が減少してしまうという問題が生じます.

その他, さまざまな光学的な問題点によって COST ラインが消失, あるいは不明瞭化するケースを表 1 にあげました. このようなケースでは, たとえ COST ラインが明瞭に観察されなくても視細胞外節に異常があるとは断定できません.

4. IS/OS 接合部の生理的機能について

最後に IS/OS 接合部についてお答えします. 当初は, 視細胞内節と外節の境界部が強い干渉信号を出すことが OCT における IS/OS ラインの成因と考えられていました. 近年, 補償光学を組み合わせた高解像度 OCT による観察により, 従来 IS/OS ラインとよばれていた部位は, 視細胞内節の ellipsoid (内節先端部の紡錘形の領域で, ミトコンドリアを多く含む) に相当することが確認されました⁹⁾.

IS/OS ラインが内節の ellipsoid に相当すると考えると, 臨床病態をよりうまく説明できる例を紹介しましょう. オカルト黄斑ジストロフィーでは, 早期から IS/OS ラインの不明瞭化 (膨潤化) が観察されます⁵⁾. 本疾患の原因となる *RP11* 遺伝子は視細胞の構造維持に重要とされており, おもに視細胞内節に発現しています. このため中心窩付近の IS/OS ラインに特徴的な膨潤化がみ

られると考えられます。

今後は、すでに一般化している「IS/OS ライン」という呼称にかわって、たとえば「IS ellipsoid ライン」などというよび方が一般化する可能性もあります。その点を網膜解剖学の権威である Curcio 教授に個人的にお聞

きしたところ、彼女の意見は「もう少しみんなでデータを集めてから検討しましょう」というものでした。フーリエドメイン OCT における各所見の解剖学的、病理学的対応関係は、技術の進歩によって今後さらに塗りかえられていく可能性があるかもしれません。

文献

- 1) Srinivasan VJ *et al*: Characterization of outer retinal morphology with high-speed, ultrahigh-resolution optical coherence tomography. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 49: 1571-1579, 2008
- 2) Spaide RF *et al*: Anatomical correlates to the bands seen in the outer retina by optical coherence tomography: literature review and model. *Retina* 31: 1609-1619, 2011
- 3) Rii T *et al*: Foveal cone outer segment tips line and disruption artifacts in spectral-domain optical coherence tomographic images of normal eyes. *Am J Ophthalmol* 153: 524-529, 2012
- 4) Tsunoda K *et al*: Selective abnormality of cone outer segment tip line in acute zonal occult outer retinopathy as observed by spectral-domain optical coherence tomography. *Arch Ophthalmol* 129: 1099-1101, 2011
- 5) Tsunoda K *et al*: Clinical characteristics of occult macular dystrophy in family with mutation of RP111 gene. *Retina* 32: 1135-1147, 2012
- 6) Watanabe K *et al*: Outer retinal morphology and visual function in patients with idiopathic epiretinal membrane. *Arch Ophthalmol*, 2012 (in press)
- 7) Itoh Y *et al*: Correlation between length of foveal cone outer segment tips line defect and visual acuity after macular hole closure. *Ophthalmology* 119: 1438-1446, 2012
- 8) Lujan BJ *et al*: Revealing Henle's fiber layer using spectral domain optical coherence tomography. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 52: 1486-1492, 2011
- 9) Fernandez EJ *et al*: Ultrahigh resolution optical coherence tomography and pancorrection for cellular imaging of the living human retina. *Opt Express* 16: 11083-11094, 2008

Q2

SNP 解析の SNP とは何ですか？

Answer

SNPとは一塩基多型 (single nucleotide polymorphism) のことで、遺伝的変化 (遺伝子変異) の一種であり、一般的に DNA 配列上の1つの塩基が異なる塩基に置きかわる塩基置換を指します。遺伝子変異には単一の DNA 配列で起こる単純な突然変異や配列交換などさまざまなものが含まれますが、1人の個人に新たな変異が生じる確率は非常に低い (一塩基あたり約 2.5×10^{-8})¹⁾といわれています。しかし、これらの変異が生殖細胞系列に起こり、そのまま子孫に伝達された場合、その変異が集団中の個体に広がり、結果的に同様の変異をもった集団が出現する場合があります。そして、ヒト集団のある遺伝

子座に1%以上の頻度で生じている変異を“多型”とよび、一般的な遺伝子変異と区別してよべれます。近年における遺伝子型決定技術とその解析方法の発展はめざましいものがあり、多数のヒトに対して、遺伝子全体の網羅的な SNP 解析 (数十万~数百万 SNP の同時解析) が全世界的に数多くおこなわれています。それに伴って新たな SNP も発見されつづけており、その総数は増えつづける一方です。たとえば、NCBI (The National Center for Biotechnology Information) の提供する dbSNP (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/>) というデータベースでは、新たな実験・研究により発見された SNP が

仲田 勇夫, 山城 健児

NAKATA Isao, YAMASHIRO Kenji

京都大学大学院医学研究科感覚運動系外科学 (眼科学)

日々報告され、登録・更新されていますが、その数は2002年当初281万個だったものが、現在は435万個になっています。よくSNPをあらわすのにrs10490924などのrsナンバーが用いられることがありますが、これらは新たに報告されたSNP(ss#と名づけられます)の中で、公共データベース上で確認がとれたものに対して割りふられたIDであり(rsはreference SNPの略)、その多型に固有のIDです。「わざわざそんなIDをふらなくても、場所がわかっているのだから何番染色体の何番目の塩基の多型といえばそれで済むじゃないか」と思われる方もいらっしゃるかもしれませんが、そのおおもとなる全遺伝子情報自体が更新されつづけているため(Genome Buildとよばれます。最新のもののは2011年10月にリリースされたBuild 37.3)、更新されても同じ多型を示すことを確実にするためにこのようなIDを使用しています。ただ、実際に一昔前まではc.205G>Tなどと特定の遺伝子座位から数えて何番目の変異という表記がSNPに対してもおこなわれていましたし、現在でもまれな変異や新たな変異などをあらわす際にはこのように表記する場合があります。ちなみに、塩基置換によって転写・翻訳を経た最終的な蛋白質のアミノ酸変化に注目してSNPを表記する場合もあり、その場合はA69S(69番目のアラニンがセリンに置換)などとあらわされ

ます。

少し込み入った話になってしまいましたが、SNPを解析することにより、集団の遺伝的背景を知ることが容易になります。日本人の先祖はどこから来たかなど民俗学的な研究にも使用されたりするほかにも²⁾、ある疾患の人たちにかたよって存在する多型を解析することによって病気の原因や本質を探ることに活用されています。加齢黄斑変性(age-related macular degeneration: AMD)は複数の遺伝子多型が発症に強く関与する疾患として有名ですが、遺伝子検査の結果を含めたさまざまな情報を組み合わせることにより、発症前からその危険予測ができる可能性が示唆されており、実際に欧米では遺伝子検査キットがすでに発売・実用化されています。一般にAMDなどの多因子疾患において発症に関与する遺伝子を“感受性遺伝子”とよび、メンデル遺伝病における“原因遺伝子”とは区別してよばれます。これは感受性遺伝子領域のSNPの頻度が疾患の頻度よりも非常に高く、あくまでも発症の危険度を上げるという役割のみをもっている、という意味で名づけられています。ただ、いまだ多くの多因子疾患においては、強い影響をもつSNPの発見は困難をきわめており、今後はSNP以外の他のさまざまな遺伝子変異にも注目が集まることになりそうです。

文 献

1) Nachman MW *et al* : Estimate of the mutation rate per nucleotide in humans. *Genetics* 156 : 297-304, 2000

2) Abdulla MA *et al* : Mapping human genetic diversity in Asia. *Science* 326 : 1541-1545, 2009