

Ex26-15	26-4F	Exon 26	-	c.4929A>G	p.Ser1643=	0.0011	0.0000	-	
Ex26-16	26-4F/5F	Exon 26	rs527236065	c.4957dupA	p.Ser1653Lysfs*2	0.0966	0.0000	NA	M1
Ex26-17	26-4F	Exon 26	rs527236074	c.5014C>T	p.Gln1672*	0.0011	0.0000	NA	
Ex26-18	26-3F	Exon 26	rs527236071	c.5202_5203del1GT	p.Phe1735Glnfs*6	0.0011	0.0000	NA	
Ex26-19	26-3F	Exon 26	rs57312007	c.5244A>C	p.Leu1748Phe	0.0397	0.0550	C=0.0727/364	
Ex26-20	26-3F	Exon 26	-	c.5263G>A	p.Asp1755Lys	0.0011	0.0000	-	
Ex26-21	26-3F	Exon 26	rs16895517	c.5617C>G	p.Leu1873Val	0.2296	0.1150	G=0.0913/457	
Ex27-1	27	Exon 27	rs9353806	c.5705A>T	p.Asn1902Ile	0.3863		T=0.2913/1459	
In27-1	27	Intron 27	rs3904083	c.5835+155T>C		0.3673		C=0.2863/1434	
In27-2	28	Intron 27	-	c.5836-98_5836-87del1ATinsCATTGCTCTCCAAAGTGA		0.0030	0.0000	-	
In28-1	28	Intron 28	rs112848046	c.5927+116T>C		0.0193	0.0505	C=0.0296/148	
In28-2	28	Intron 28	rs1338831	c.5927+392T>G		0.4096	0.4899	G=0.2913/1459	
In28-3	29	Intron 28	rs587278	c.5928-35T>C		0.3738		T=0.2919/1462	
In29-1	29	Intron 29	rs36133910	c.6078+68A>G		0.3738		G=0.2919/1462	
In29-2	29	Intron 29	rs140892533	c.6078+100G>A		0.0095		A=0.0018/9	
In29-3	29	Intron 29	rs36179168	c.6078+335A>G		0.3726		G=0.3946/1976	
In29-4	29	Intron 29	rs36127403	c.6078+451T>G		0.3707		G=0.3944/1975	
In29-5	30F	Intron 29	rs115236489	c.6079-85A>G		0.0290		G=0.0134/67	
In29-6	30F	Intron 29	rs149568304	c.6079-23C>A		0.0145		A=0.0260/130	
In30-1	30R	Intron 30	rs9362694	c.6191+132G>A		0.4879		G=0.2518/1261	
In30-2	30R	Intron 30	rs79945794	c.6191+210A>T		0.1452		T=0.0497/249	
In31-1	31R	Intron 31	rs149522181	c.6192-250_6192-249del1CA		0.0837		=0.0523/262	
In31-2	31R	Intron 31	-	c.6192-145A>G		0.0072		-	
In31-3	31R	Intron 31	rs190537633	c.6424+37A>G		0.0048		G=0.0040/20	
Ex32-1	32	Exon 32	-	c.6474G>T	p.Leu2158=	0.0011	0.0000	-	
Ex32-2	32	Exon 32	rs527236068	c.6557G>A	p.Gly2186Glu	0.0117	0.0000	NA	M4
Ex32-3	32	Exon 32	-	c.6563T>C	p.Ile2188Thr	0.0064	0.0000	-	M5
In32-1	32	Intron 32	-	c.6571+6T>A		0.0011	0.0000	-	
In33-1	33	Intron 33	-	c.6725+20G>A		0.0034		-	
In34-1	34	Intron 34	rs66502009	c.6834+61T>G		0.3870		G=0.2698/1350	
In34-2	34	Intron 34	rs76633698	c.6834+268A>T		0.3870		T=0.2919/1462	
In34-3	35	Intron 34	rs1482457	c.6835-64C>T		0.4401	0.3538	T=0.3484/1745	
Ex35-1	35	Exon 35	rs180912436	c.6844G>A	p.Glu2282Lys	0.0015	0.0000	A=0.0002/1	
Ex35-2	35	Exon 35	rs4710457	c.6977G>A	p.Arg2326Gln	0.4389	0.3538	A=0.3496/1751	
Ex35-3	35	Exon 35	-	c.7028_7029del1TGinsATCGT	p.Cys2339*	0.0016	0.0000	-	
In35-1	35	Intron 35	rs118052257	c.7055+271C>T		0.0376	0.0231	T=0.0038/19	
In35-2	36	Intron 35	rs374537625	c.7056-145A>G		0.3318	0.2279	NA	
In35-3	36	Intron 35	rs139056492	c.7056-15T>A		0.0071	0.0217	A=0.0034/17	

Ex37-1	37	Exon 37	-	c.7283C>A	p.Ser2428*	0.0011	0.0000	-	
Ex37-2	37	Exon 37	rs145184183	c.7394C>G	p.Thr2465Ser	0.0330	0.0202	G=0.0006/3	M7
In37-1	37	Intron 37	rs138375660	c.7411+95_7411+96insA		0.0000	0.0051	A=0.0164/82	
In37-2	37	Intron 37	-	c.7411+141T>A		0.0011	0.0000	-	
In37-3	37	Intron 37	-	c.7411+142G>A		0.0021	0.0051	-	
In37-4	37	Intron 37	-	c.7411+154C>A		0.0032	0.0000	-	
In37-5	37	Intron 37	-	c.7411+332G>A		0.0022	0.0000	-	
In37-6	37	Intron 37	rs117410463	c.7411+380C>A		0.0512	0.0404	A=0.0052/26	
In37-7	37	Intron 37	rs2008452	c.7411+411T>G		0.2620	0.2172	G=0.1761/882	
Ex39-1	39	Exon 39	rs189406424	c.7609G>A	p.Ala2537Thr	0.0032	0.0150	A=0.0018/9	
Ex39-2	39	Exon 39	-	c.7616delG	p.Gly2539Glufs*14	0.0011	0.0000	-	
Ex39-3	39	Exon 39	-	c.7665_7666delCA	p.Tyr2555*	0.0011	0.0051	-	
Ex39-4	39	Exon 39	rs66462731	c.7666A>T	p.Ser2556Cys	0.2719	0.2245	T=0.0899/450	
Ex39-5	39	Exon 39	-	c.7713A>T	p.Asn2571Lys	0.0011	0.0000	-	
In39-1	40	Intron 39	rs144282503	c.7724-12C>T		0.0021	0.0000	T=0.0010/5	
Ex40-1	40	Exon 40	rs527236064	c.7793G>A	p.Gly2598Asp	0.0021	0.0000	NA	
In40-1	41	Intron 40	rs190814750	c.7899-202G>A		0.0021	0.0000	A=0.0006/3	
Ex41-1	41	Exon 41	rs527236066	c.7919G>A	p.Trp2640*	0.0064	0.0000	NA	
Ex41-2	41	Exon 41	rs527236076	c.8012T>A	p.Leu2671*	0.0011	0.0000	NA	
In41-1	41	Intron 41	rs4710257	c.8071+84T>G		0.2240	0.2000	G=0.2883/1444	
In41.5-1	41.5	Intron 41.5	rs182430037	c.8072-15221T>G		0.0024		G=0.0002/1	
In41.5-2	41.5	Intron 41.5	rs7764184	c.8072-14866T>A		0.2536		T=0.3832/1919	
In42-1	43R4	Intron 42	-	c.8234-95T>C		0.0011	0.0000	-	
In42-2	43R4	Intron 42	-	c.8234-88A>C		0.0021	0.0000	-	
Ex43-1	43R4	Exon 43	-	c.8268delC	p.Val2757Phefs*14	0.0011	0.0000	-	
Ex43-2	43R4	Exon 43	rs527236070	c.8379_8380insTGCA	p.Glu2794Cysfs*19	0.0011	0.0000	NA	
Ex43-3	43DF2/R4	Exon 43	-	c.8633C>G	p.Ala2878Gly	0.0011	0.0000	-	
Ex43-4	43DF2/R4	Exon 43	-	c.8696G>C	p.Cys2899Ser	0.0011	0.0000	-	
Ex43-5	43DF2	Exon 43	rs527236067	c.8805C>A	p.Tyr2935*	0.0510	0.0000	NA	M2
Ex43-6	43DF2	Exon 43	-	c.9019G>T	p.Asp3007Tyr	0.0011	0.0000	-	
Ex43-7	43DF4	Exon 43	-	c.9031A>G	p.Ile3011Val	0.0011	0.0000	-	
Ex43-8	43DF4	Exon 43	-	c.9101A>G	p.Tyr3034Cys	0.0011	0.0000	-	
Ex43-9	43DF4	Exon 43	rs183589498	c.9209T>C	p.Ile3070Thr	0.0021	0.0050	C=0.0004/2	
Ex43-10	43DF4	Exon 43	rs139944387	c.9237A>G	p.Leu3079=	0.0053	0.0100	G=0.0046/10	
Ex43-11	43DF4	Exon 43	rs374161234	c.9414T>G	p.Asp3138Glu	0.0011	0.0000	G=0.0004/2	
Ex43-12	43R2	Exon 43	-	c.*183A>C		0.0513	0.0000	-	
Ex43-13	43R2	Exon 43	rs193035948	c.*529A>C		0.0023	0.0000	C=0.0016/8	

Table 2 Subjects carrying sequence variations in EYS gene locus.

Subject	Mutation	MX	Mutation Allele
RP004	M1/M1		Homo
RP012	M1/M1	p.Asp643=, c.6192-145A>G	Homo
RP037	M1/M1		Homo
RP038	M1/M1		Homo
RP057	M1/M1		Homo
RP063	M1/M1	Homozygote	Homo
RP106	M1/M1		Homo
RP131	M1/M1	M6	Homo
RP156	M1/M1		Homo
RP172	M1/M1	Homozygote	Homo
RP176	M1/M1		Homo
RP237	M1/M1		Homo
KRP014	M1/M1		Homo
KRP021	M1/M1		Homo
KRP037	M1/M1	Homozygote	Homo
KRP121	M1/M1		Homo
RP044	M1/M2	M3	Compound hetero
RP061	M1/M2		Compound hetero
RP174	M1/M2	p.Glu335Asp	Compound hetero
RP195	M1/M2		Compound hetero
RP279	M1/M2		Compound hetero
KRP038	M1/M2	p.Arg1485=	Compound hetero
KRP055	M1/M2		Compound hetero
KRP116	M1/M2		Compound hetero
KRP150	M1/M2		Compound hetero
KRP152	M1/M2		Compound hetero
KRP183	M1/M2	M6	Compound hetero
RP008	M1/M3		Compound hetero
RP028	M1/M3		Compound hetero
RP043	M1/M3		Compound hetero
RP055	M1/M3	p.Cys211Tyr	Compound hetero
RP062	M1/M3		Compound hetero
RP122	M1/M3		Compound hetero
RP151	M1/M3	c.749-132C>T	Compound hetero
RP167	M1/M3	c.7411+141T>A	Compound hetero

RP185	M1/M3		Compound hetero
RP206	M1/M3		Compound hetero
RP211	M1/M3		Compound hetero
RP262	M1/M3		Compound hetero
KRP019	M1/M3		Compound hetero
KRP056	M1/M3		Compound hetero
KRP143	M1/M3		Compound hetero
RP069	M1/M4		Compound hetero
RP188	M1/M4		Compound hetero
RP272	M1/M4		Compound hetero
KRP157	M1/M5		Compound hetero
RP016	M1/MX	p.Asn404Lysfs*3	Compound hetero
RP165	M1/MX	p.Asn404Lysfs*3	Compound hetero
RP184	M1/MX	p.Trp2640*	Compound hetero
RP239	M1/MX	Exon 31 del	Compound hetero
RP241	M1/MX	c.6424+37A>G, Exon 1-Intron 1 del	Compound hetero
KRP005	M1/MX	p.Val1270Gly, p.Ser2756Serfs*15	Compound hetero
KRP033	M1/MX	p.Glu584*; p.Ile3070Thr	Compound hetero
KRP077	M1/MX	Exon 33 del	Compound hetero
KRP190	M1/MX	Exon 39-42 dup	Compound hetero
RP178	M1/MX	p.Asp3007Tyr	Compound hetero?
RP288	M1/MX	p.Glu176del, c.3684+93G>T	Compound hetero?
KRP007	M1/MX	p.Gly2598Asp	Compound hetero?
KRP044	M1/MX	p.Glu176del	Compound hetero?
KRP085	M1/MX	p.Ala2878Gly, c.6725+20G>A	Compound hetero?
RP003	M1/MX		Single hetero
RP150	M1/MX		Single hetero
RP161	M1/MX		Single hetero
RP203	M1/MX		Single hetero
RP263	M1/MX		Single hetero
RP291	M1/MX	M7?	Single hetero
KRP006	M1/MX	p.Leu2158=	Single hetero
KRP012	M1/MX	M7	Single hetero
KRP049	M1/MX	M6, c.6571+6T>A	Single hetero
KRP072	M1/MX	c.2137+320A>G	Single hetero
KRP088	M1/MX		Single hetero
KRP133	M1/MX	p.Asp643=	Single hetero
KRP141	M1/MX		Single hetero

KRP178	M1/MX		Single hetero
KRP180	M1/MX		Single hetero
RP049	M2/M2	M3/M3	Homo
RP140	M2/M2		Homo
RP164	M2/M2		Homo
KRP207	M2/M2		Homo
RP134	M2/M3		Compound hetero
RP212	M2/M3	p.Glu335Asp	Compound hetero
RP244	M2/M3		Compound hetero
KRP066	M2/M3		Compound hetero
KRP102	M2/M3		Compound hetero
KRP109	M2/M3		Compound hetero
KRP161	M2/M3		Compound hetero
RP210	M2/M4		Compound hetero
KRP080	M2/M5		Compound hetero
RP029	M2/MX	p.Tyr2555*	Compound hetero
RP250	M2/MX	p.Glu335Asp, Exon 33 del	Compound hetero
KRP090	M2/MX	p.Asp1468Valfs*13	Compound hetero
KRP135	M2/MX	p.Gln1672*	Compound hetero
KRP170	M2/MX	p.Leu2671*	Compound hetero
RP177	M2/MX	Exon 1 del	Compound hetero?
KRP008	M2/MX	p.Glu176del	Compound hetero?
RP026	M2/MX		Single hetero
RP045	M2/MX		Single hetero
RP145	M2/MX	p.Glu335Asp	Single hetero
RP162	M2/MX		Single hetero
RP216	M2/MX		Single hetero
RP280	M2/MX	M6, M7	Single hetero
KRP048	M2/MX	M6	Single hetero
KRP057	M2/MX	M6	Single hetero
KRP064	M2/MX	M6	Single hetero
KRP078	M2/MX	p.Glu335Asp, c.8072-15221T>G	Single hetero
KRP084	M2/MX		Single hetero
KRP202	M2/MX		Single hetero
RP193	M3/M3		Homo
RP213	M3/M3	p.Cys211Tyr	Homo
RP219	M3/M3	M7 (?)	Homo
RP249	M3/M3	M2	Homo

KRP074	M3/M3	p.Cys211Tyr, p.Tyr3034Cys	Homo
KRP185	M3/M3		Homo
KRP128	M3/M4		Compound hetero
RP171	M3/M5		Compound hetero
RP233	M3/M5	p.Asp1755Lys	Compound hetero
KRP204	M3/M5		Compound hetero
RP050	M3/MX	p.Ser2428*	Compound hetero
RP196	M3/MX	p.Ala315Leufs*24	Compound hetero
KRP050	M3/MX	p.Glu584*	Compound hetero
KRP188	M3/MX	p.Trp2640*, p.Val112Leu, c.3444-149A>G, c.7411+154C>A	Compound hetero
RP232	M3/MX	p.Glu176del	Compound hetero?
RP021	M3/MX		Single hetero
RP066	M3/MX		Single hetero
RP125	M3/MX		Single hetero
RP127	M3/MX	M7	Single hetero
RP137	M3/MX	M7	Single hetero
RP141	M3/MX		Single hetero
RP166	M3/MX	M7, c.3164+296G>A, c.3164+360G>A	Single hetero
RP264	M3/MX		Single hetero
RP290	M3/MX		Single hetero
KRP009	M3/MX		Single hetero
KRP042	M3/MX	M7	Single hetero
KRP079	M3/MX		Single hetero
KRP082	M3/MX		Single hetero
KRP083	M3/MX		Single hetero
KRP112	M3/MX		Single hetero
KRP134	M3/MX		Single hetero
KRP144	M3/MX		Single hetero
KRP162	M3/MX		Single hetero
KRP168	M3/MX	p.Val1270Gly	Single hetero
KRP186	M3/MX	c.6424+37A>G	Single hetero
RP020	M4/M4		Homo
KRP036	M4/M4	Homozygote	Homo
RP146	M4/MX		Single hetero
KRP054	M4/MX	Exon 6-8 del	Compound hetero
KRP169	M5/MX		Single hetero
RP054	MX/MX'	p.Val496Glufs*13, p.Cys2339*, p.Leu753=	Compound hetero
KRP058	MX/MX'	p.Phe1735Glnfs*6, p.Glu2794Cysfs*19	Compound hetero

RP169	MX/MX'	M6, p.Cys2899Ser, c.3164+296G>A, c.3164+360G>A, Exon 31-36 del	Compound hetero?
RP198	MX/MX'	p.Gly2539Glu*14, M6, M7	Single hetero
RP270	MX/MX'	M6, M7, Exon 20 del	Single hetero
RP285	MX/MX'	p.Asn404Lys*3, p.Glu335Asp, indel(Int28)	Single hetero
KRP022	MX/MX'	p.Trp2640*(homo), p.Val112Leu, c.3444-149A>G(homo), c.7411+154C>A	Single hetero
KRP031	MX/MX'	p.Trp2640*(homo), p.Val112Leu(homo), c.3444-149A>G(homo), homozygote	Single hetero
KRP155	MX/MX'	p.Arg1463Gly*15	Single hetero
RP252		p.Asn1163Lys, c.3685-94T>C	
RP010		p.Asn1163Lys, c.3685-94T>C, c.6078+100G>A	
RP242		p.Asn2571Lys	
RP247		p.Asp3138Glu	
KRP140		p.Glu176del	
RP191		p.Glu2282Lys	
RP227		p.Gly1152Arg, c.7411+142G>A, p.Leu3079=	
RP243		p.Gly2598Asp (?), c.5927+116T>C, homozygous?	
RP030		p.Ile3011Val	
RP112		p.Ile3070Thr	
RP274		p.Leu3079=	
KRP101		p.Leu3079=	
RP180		p.Leu753=	
RP187		p.Leu753=	
RP294		p.Lys1633Glu, c.2641+205G>A	
RP182		p.Lys1633Glu, c.2641+205G>A, c.6078+100G>A, p.Ala2537Thr	
KRP034		p.Lys1633Glu, p.Ala2537Thr, c.2641+205G>A, c.3164+360G>A, c.6078+100G>A	
RP283		p.Pro830=	
KRP093		p.Pro830=	
RP214		p.Pro994Ala, c.3444-274C>A	
RP109		p.Pro994Ala, c.863-94A>G, c.3444-274C>A	
KRP099		p.Val112Leu	
RP014		p.Val1270Gly, c.3444-149A>G	
RP011		M6	
RP047		M6	
RP058		M6	

RP065		M6	
RP225		M6	
KRP040		M6	
KRP098		M6	
KRP127		M6	
KRP196		M6	
KRP210		M6	
RP111		M6, c.5836-88_5836-87delATinsCATGTCTCTCCAAAGTGA	
RP015		M6, M7	
RP255		M6, M7	
KRP004		M6, M7	
KRP030		M6, M7	
KRP068		M6, M7	
KRP194		M6, M7	
KRP003		M6, M7 (homo)	
RP022		M7	
RP053		M7	
RP234		M7	
KRP011		M7	
KRP013		M7	
KRP026		M7	
KRP029		M7	
KRP126		M7	
KRP131		M7	
KRP179		M7	
RP119		c.*529A>C	
RP248		c.1460-5dupT, c.2739-42T>C	
RP113		c.1600-126T>C	
KRP115		c.1600-126T>C	
KRP153		c.1600-126T>C	
KRP199		c.1600-126T>C	
RP036		c.1766+61A>G	
RP246		c.1766+61A>G	
KRP065		c.1766+61A>G	
RP143		c.1766+61A>G, c.3878-95G>A	
RP199		c.1766+95G>A	
RP200		c.1766+95G>A	
RP281		c.2137+320A>G	

RP051		c.3164+360G>A	
RP018		c.3684+101T>C	
RP048		c.3878-31C>T	
RP115		c.3878-31C>T	
RP136		c.3878-31C>T	
RP034		c.3878-31C>T, c.5927+116T>C	
RP041		c.3878-95G>A	
RP019		c.4929A>G (p.Ser1643=)	
RP265		c.6192-145A>G, Homozygote	
KRP025		c.7411+142G>A	
RP259		c.749-132C>T	
RP153		c.749-136T>A, c.1184+261T>C, c.1600-126T>C	
RP208		c.7724-12C>T	
KRP171		c.7724-12C>T	
RP135		c.7899-202G>A	
RP159		c.7899-202G>A	
RP013		c.8234-88A>C	
KRP139		c.8234-88A>C	
KRP181		c.8234-95T>C	
CT014	M3	M3	
CT158	M3	M3	
CT162	M3	M3	
CT035	M3	M3, c.1767-49C>A	
CT170	MX	p.Tyr2555*, c.1600-126T>C	
CT028		p.Glu335Asp	
CT037		p.Glu335Asp	
CT164		p.Glu335Asp	
CT030		p.Ile3070Thr	
CT016		p.Leu3079=	
CT149		M6	
CT166		M6, M7	
CT029		M6, M7	
CT002		M7	
CT159		M7	
CT151		c.1300-108T>C	
CT067		c.1600-126T>C	
CT041		c.1766+61A>G	

CT173		c.2641+205G>A, p.Lys1633Glu, p.Ala2537Thr	
CT056		c.3444-141C>T	
CT039		c.5927+116T>C	
CT008		c.7411+142G>A, p.Leu3079=	

厚生労働科学研究費補助金（障害者対策総合研究事業 感覚器障害分野）  
分担研究報告書

*EYS* 遺伝子診断におけるスクリーニング法に関する研究

分担研究者 岩波将輝 国立障害者リハビリテーションセンター病院  
第二診療部 眼科医師

## 研究要旨

[背景] *Eyes shut homolog* (以下, *EYS*) 遺伝子は、2008年に常染色体劣性 (以下, ar) の網膜色素変性症 (以下, RP) の原因遺伝子として同定された。我々は先行研究より日本人 arRP の約30%を占めることを報告した (Iwanami et al. IOVS, 2012)。海外に比べて日本人における頻度が高い理由として、複数家系における各変異の近傍遺伝子座に対するハプロタイプ解析より、日本人に特異な3つの創始者変異、①c.4957dupA, p.S1653Kfs\*2 (以下, *EYS*-JM1)、②c.8805C>A, p.Y2935\* (以下, *EYS*-JM2)、そして③c.2528G>A, p.G843E (以下, *EYS*-JM3) の存在を同定した。[目的] 本研究では、これらの高頻度に検出される3つの *EYS* 遺伝子変異に着目し、これら変異の検出を用いた一次スクリーニング法の有用性について検討を行った。[対象] 対象は当施設 arRP 患者193名 (東日本)、京都大学 arRP 患者209名 (西日本) であり、*EYS*-JM1、*EYS*-JM2、そして *EYS*-JM3 におけるそれぞれのエクソン26、エクソン43、エクソン16とそのエクソンイントロン部を含む領域の直接的塩基配列決定をサンガー法で行った。そして、これら変異の遺伝疫学について東日本と西日本における比較検討を行った。[結果と考察] ① 当施設 RP 患者193名のうち3割において陽性の結果を得た (感度30%、特異度98.5%)。これら陽性患者のうち、約6割については両側アレルからの変異検出となり、診断が可能であった。残る4割の片側アレルでの検出にとどまる患者について、つづいての全エクソン検索が必要とされた。② 東日本と西日本における遺伝疫学の比較において、アレル頻度に着目した場合、*EYS*-JM1 変異については、東日本に多く、西日本において少ない傾向が観察された。*EYS*-JM2 変異、*EYS*-JM3 変異については、大きなアレル頻度の差は観察されなかった。しかしながら、両側アレルからの変異検出頻度の割合について比較をすると、東日本では58.3%であるのに対して、西日本では24.6%と、*EYS*-JM1、*EYS*-JM2 および *EYS*-JM3 の構成内容には大きな違いが観察された。これらデータより西日本における *EYS* 遺伝子変異型の構成は、東日本の内容とは一部異なる可能性が示唆された。[結論] *EYS* 遺伝子診断法における一次スクリーニング法の有効性が示されたと同時に、東日本と西日本地域での遺伝疫学における構成の異質性が示唆された。今後、この一次スクリーニング法の活用と *EYS* 遺伝子変異の診断率の向上を目的とする効率的な解析プロトコルの作成が必要と考えられた。

## A. 研究目的

本研究は、日本人の網膜色素変性症 (以下, RP) の主要な原因である *EYS* 遺伝子における有用な遺伝子診断法を確立することを目的とする。最近我々が同定した日本人の *EYS* 遺伝子における3つの創始者変異に着目し、新たに収集した RP 患者の DNA を用いて、一次スクリーニング法の有用性

について検討を行う。

## B. 研究背景

RP は、幼少から成人期における両眼の夜盲にはじまり、進行性の視野狭窄、視力低下を特徴とする遺伝性網膜変性疾患と考えられており、難病指定に含まれる。通常4,000人から5,000人に1人程度の発症と推定され、全体の約50%

を家族に発症を認めない孤発例が占める。家族歴を認める残りの約半数のうち、約35%が常染色体劣性（以下、ar）、約10%は常染色体優性（以下、ad）、約5%がX染色体連鎖性劣性遺伝（以下、X-linked）である（図1、難病情報センター、網膜色素変性症の記載にもとづく）。孤発例の多くは、arRPの原因遺伝子によるものと考えられ、家族歴のあるarRP(35%)に加えて、これら孤発例(50%)を含めた約80%程度がarRPの原因遺伝子によるものと推定されている。従って、日本全国におけるarRPの遺伝疫学を明らかにすることが急務と考えられる。

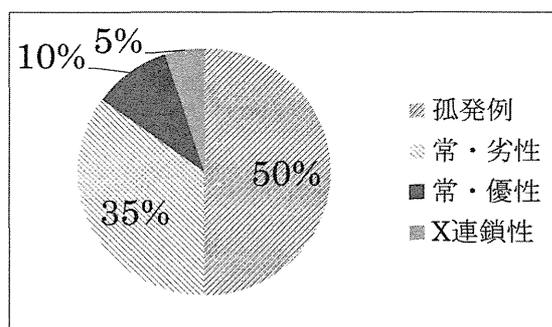


図1. 網膜色素変性症における遺伝形式の概略

*EYS* 遺伝子は2008年にarRPの原因遺伝子として同定され、arRPの約5-15%を占めることが海外で報告された。我々は、先行研究として日本人RP患者68名における遺伝学的解析を行い、複数の新規変異を同定した。そして、これら変異を保有する患者はarRPの約30%を占める高い頻度であった(Iwanami et al. IOVS, 2012)。この結果は、日本人民族の抱える遺伝学的背景の特殊性を示唆しているものと推測された。

海外に比べて日本人における頻度が高い理由として、複数家系における各変異の近傍遺伝子座に対するハプロタイプ解析より、日本人に特異な3つの創始者変異、①c.4957dupA, p.S1653Kfs\*2、②c.8805C>A, p.Y2935\*、そして③c.2528G>A, p.G843Eの存在を同定した(Iwanami et al. IOVS, 2012)。これらを日本人*EYS* 遺伝子における主要な変異(EYS-Japanese major mutation、以下、

EYS-JM)として、①~③を以下、それぞれEYS-JM1、EYS-JM2、そしてEYS-JM3と呼称する(表1)。これら3つの変異はそれぞれ独立した複数の家系から同定されたが、それぞれの変異に創始者となる個体が存在し、日本人民族のなかで脈々と世代を越えて拡散し、受け継がれてきたことが示唆された。したがって、これらEYS-JM1、EYS-JM2、EYS-JM3の各変異は、日本人において比較的頻度の高いことが想定され、これらを用いてスクリーニング法の有用性を検討することは、*EYS* 遺伝子診断の効率化を図る上で必須と考えられた。

表1. *EYS* 遺伝子における日本人で同定された3つの創始者変異

変異	エクソン	塩基配列	アミノ酸変異	蛋白ドメイン	変異タイプ
JM1	26	c.4957dupA	p.Ser1653Lysfs*2	Close to coiled-coil	Frameshift
JM2	43	c.8805C>A	p.Tyr2935*	EGF	Nonsense
JM3	16	c.2528G>A	p.Gly843Glu	EGF	Missense

参考文献、Iwanami et al. IOVS, 2012

## C. 対象と方法

1. 当院眼科を受診したRP患者200名および健康者168名を対象に*EYS* 遺伝子の遺伝学的解析を行った。RP患者200名のうち家系解析から7名が常染色体優性、arRPは孤発例を含め193名という内訳であった。*EYS* 遺伝子のスクリーニング検査法として、EYS-JM1、EYS-JM2、そしてEYS-JM3におけるそれぞれのエクソン26、エクソン43、エクソン16とそのエクソンイントロン部を含む領域の直接的塩基配列決定をサンガー法で行った。

2. 京都大学を受診したarRP患者209名について、上記と同様の解析を行った。国立障害者リハビリテーションセンター病院の患者を東日本地域の患者集団、京都大学病院の患者を西日本地域の患者集団とし、上記スクリーニング法の再現性を確認すると共に、両者の遺伝疫学について、比較検討を行った。研究協力者(京都大学; 荻野、大石、吉村)。

(倫理面への配慮)

すべての本研究計画は、当施設のヒトゲノム・遺

伝子解析研究倫理委員会の承認を得て、その指針を順守して行われた。京都大学との共同研究については、研究の施行と患者検体の移譲に際して京都大学の倫理委員会の承認を得た上で、当施設での解析を行った。

#### D. 研究結果

当施設RP患者200名(arRP患者193名を含む)、健常者168名におけるEYS-JM1~JM3の各変異の遺伝学的な解析結果を表2にまとめた。EYS遺伝子のEYS-JM1、EYS-JM2、そしてEYS-JM3変異は、それぞれRP患者37名、14名、27名から同定された。各変異のアレル頻度は、それぞれ11.5%、4.0%、7.7%であった。EYS-JM3変異のみ、健常者より0.9%の割合で同定された。EYS-JM1、EYS-JM2、EYS-JM3の各変異は合わせて60名のRP患者より同定され、その出現率は30.0% (60/200)であった。以上から、本スクリーニング法の感度は30.0% (60/200)、特異度は98.2% (165/168)であった(表3)。

また、これらEYS遺伝子変異を同定された60名のRP患者のうち、両側アレルからの変異の検出された患者は35名(58.3%)であり、これらについてはarRPの原因診断が可能と考えられた。残る25名(41.7%)については片側アレルからの変異の検出であった(図2)。

同様の解析を京都大学のarRP患者209名(西日本地域)について行った。EYS-JM1、EYS-JM2、そしてEYS-JM3変異は、それぞれRP患者37名、14名、27名から同定された。各変異のアレル頻度は、それぞれ8.1%、3.6%、6.4%であった(表4)。本スクリーニング法の感度は29.1% (61/209)であった。また、これらEYS遺伝子変異を同定された61名の患者のうち、両側アレルからの変異の検出された患者は15名(24.6%)、片側アレルからの患者は46名(75.4%)であった。

表2. EYS 遺伝子における各変異のアレル頻度

変異	RP 患者 †	健常者 ‡
JM1	46 (11.5%)	0
JM2	16 (4.0%)	0
JM3	31 (7.7%)	3 (0.9%)

† RP患者200名の総染色体数n=400における変異アレルの観察数とその割合(%)、‡ 健常者168名の総染色体数n=336における変異アレルの観察数とその割合(%)を示す。

表3. EYS遺伝子スクリーニング診断法の結果 (人数)

	RP 患者 n=200	健常者 n=168
陽性	60	3
陰性	140	165

感度は30.0% (60/200)、特異度は98.2% (165/168)

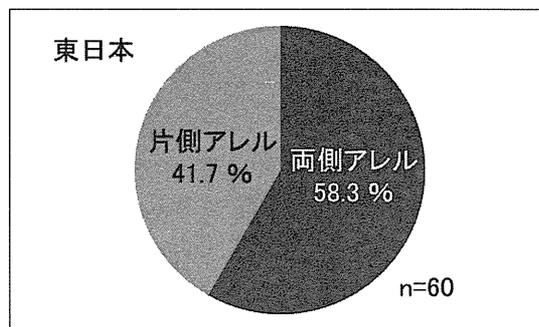


図2. 東日本地域における両側、片側アレルからの変異診断の割合

表4. 各地域における各変異のアレル頻度

変異	西日本 RP 患者 †	東日本 RP 患者 ‡
JM1	34 (8.1%)	46 (11.9%)
JM2	15 (3.6%)	16 (4.1%)
JM3	25 (6.0%)	31 (8.0%)

† 西日本 arRP患者209名の総染色体数n=418における変異アレルの観察数とその割合(%)、‡ 東日本 arRP患者193名の総染色体数n=386における変異アレルの観察数とその割合(%)を示す。

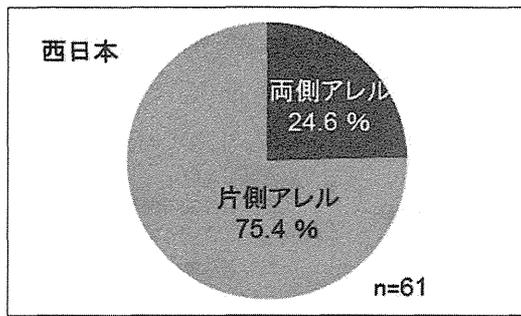


図 3. 西日本地域における両側、片側アレルからの変異診断の割合

## E. 考察

### 1. EYS 遺伝子診断における一次スクリーニング法の有用性

当施設 RP 患者 200 名における解析結果より、高頻度に検出される 3 つの創始者変異、EYS-JM1、EYS-JM2、そして EYS-JM3 は、計 60 名 (30.0%) の患者で検出された。本検査法の感度は 30.0%、特異度は 98.2% であり、十分な有用性が示された。京都大学を受診した 209 名の arRP 患者においても、感度は 29.1% であり、その再現性についても確認された。

過去に報告された *rhodopsin*、*ABCA4* の各遺伝子で 2~3% 程度の推定頻度であったことから、日本人 RP 患者の原因を調べる上では、現在最も有効な方法であることが示された。そして、EYS 遺伝子のこれら 3 つの変異を用いた一次スクリーニング法は、RP 診断法として、簡便でかつ十分な実用性があるものと考えられた。

### 2. スクリーニング後の EYS 遺伝子診断法の検討

本スクリーニング検査の結果から、片側アレルからのみの変異の検出にとどまる個体については、続いての全エクソンの検索を行うことで、他の変異の有無がすみやかに確認できる。これら対象患者について、現在解析が進行中である。しかしながら、最終的に全エクソン領域の直接的塩基配列決定でも検出が困難である欠失・重複変異については、これらの検出に適した Multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA) 法を用いた検索が必要となる。全エクソン解析結

果より両側アレルからの変異が検出されない場合は、MLPA 法の解析を進めている。以下に、EYS 遺伝子診断を効率的に行うためのワークフローを示す。しかしながら、本研究の対象患者すべてについて、未知の変異の検出を見逃さないために、最終的には EYS 遺伝子の全エクソンの解析を遂行する予定である。

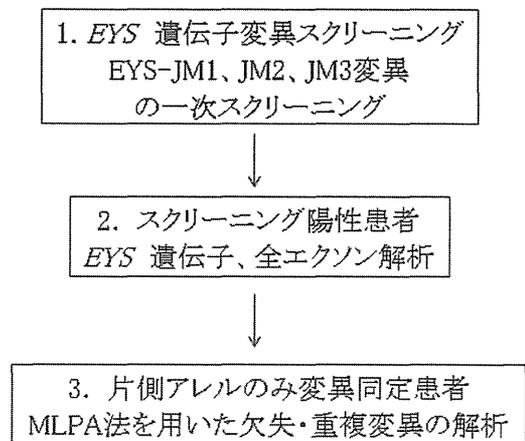


図 4. EYS 遺伝子診断のワークフロー

### 3. EYS 遺伝子変異の保因者に関する遺伝疫学

EYS 遺伝子において、日本人に特異な 3 つの創始者変異 (EYS-JM1、EYS-JM2、EYS-JM3) の同定は、海外における RP の遺伝疫学とはその内容が大きく異なることを示唆している。過去の海外報告において RP 原因遺伝子における創始者変異の報告はあるものの、その頻度と規模は日本人と比較すると小さい。一方、我々の EYS 遺伝子における解析結果から、日本人では RP 患者 200 名のうち 60 名と 3 割の出現率となり、明らかに頻度の高い結果であった。

これら遺伝学的背景には、常染色体劣性の遺伝疾患における保因者の存在が大きく関与していることが推測された。そして、特に 3 つの創始者変異それぞれの保因者の頻度の推定が、疾患の頻度を考える上で重要となる。我々の健常者 168 名における解析結果から、EYS-JM1 および EYS-JM2 変異の保因者は認められなかった。しかしながら、EYS-JM3 変異のみ 3 名から検出され、健常者の 1.8% の割合で保因者が同定された。以上、EYS-JM3 変異の頻度から推定した場合、100 人に 1

～2人程度の保因者が推定され、1万～4万人に1人程度の有病率が推定されたが、今後、その他のEYS-JM1およびEYS-JM2変異の保因者についても、その頻度の詳細を把握することが重要と考えられた。

EYS-JM3変異は、他のEYS-JM1およびEYS-JM2変異の短縮変異とは異なるミスセンス変異であり、その病原性について、詳細な家系解析が報告されていない。このため、EYS-JM3変異をもつ患者家系10家系において変異と表現型についての分離解析を行った。いずれの家系においても、EYS-JM3変異とRP表現型は矛盾なくRP患者のみに分離されることから、EYS-JM3変異はarRPとしての病原性をもつことが示唆された。

### 3. EYS遺伝子の全国における遺伝疫学

今回、当施設における東日本地域在住のRP患者200名(arRP193名)について、EYS遺伝子の遺伝学的解析を行った。本スクリーニング法の有効性を確かめるため、京都大学を受診した西日本におけるarRP患者209名においても同様に解析を行った。アレル頻度に着目した場合(表4)、EYS-JM1変異については、東日本に多く、西日本において少ない傾向が観察された。EYS-JM2変異、EYS-JM3変異については、大きなアレル頻度の差は観察されなかった。しかしながら、両側アレルからの変異検出頻度の割合について比較をすると、東日本では58.3%であるのに対して、西日本では24.6%と、EYS-JM1、EYS-JM2およびEYS-JM3の構成内容には大きな違いが観察された(図2、図3)。現在、西日本における片側アレルから変異の検出された患者群の全エクソン解析を遂行中である。これらデータより西日本におけるEYS遺伝子変異型の構成は、東日本の内容とは一部で異なる可能性が示唆された。

### 4. EYS遺伝子における遺伝子型-表現型関連の解析

遺伝子型-表現型による病態の理解は、臨床で遭遇する個体間における病気の進行の差異を理解する上での一助になることが期待される。また、遺伝子診断後の遺伝子カウンセリングにおいて

も必須の情報となる。EYS遺伝子変異が同定された23名(平均年齢52.0歳、経過観察期間平均7.3年)について夜盲の自覚年齢、診断時年齢、視力、視野などの臨床所見に基づいた解析を行った。EYS遺伝子変異をもつ患者臨床像は、夜盲の自覚が20歳代に最も多く、診断時年齢は平均39.0歳と中年期に進行を認める典型的な遅発型RPをもつことが示唆された(岩波ら、2013年、臨床眼科)。遺伝子型-表現型における解析では、短縮型変異をホモまたは複合ヘテロ接合で2つ有する個体群と、短縮型変異を1つ有し他方にアミノ酸置換を伴うミスセンス変異を複合ヘテロ接合でもつ個体群の比較において、前者で重症化する傾向が確認された。引き続き、本研究において遺伝子型が明らかとなった対象患者についても、これら臨床データを蓄積し、詳細な遺伝子型-表現型の解析を行う予定である。

### F. 結論

1. 網膜色素変性症における簡便かつ有効性の高いEYS遺伝子診断法における一次スクリーニング法の検討を行った。日本人に特異な3つの創始者変異を調べることで、RP患者200名うち3割において陽性の結果を得た(感度30%、特異度98.5%)。これら陽性患者のうち、約6割については両側アレルがらの変異検出となり、診断が可能であった。残る4割の片側アレルでの検出にとどまる患者について、つづいての全エクソンの検索が必要であった。以上の結果から、EYS遺伝子診断法における一次スクリーニング法の有効性が示された。

2. 全国規模のarRP患者における解析を行った。東日本のarRP患者193名、西日本arRP患者209名を対象にEYS遺伝子診断のスクリーニング法による解析を行った結果から、両者の遺伝疫学における相違を示唆する結果が得られた。今後これらの詳細を解析する予定である。

### G. 研究発表

## 1. 論文発表

1) 岩波将輝, 西田朋美, 三輪まり枝, 山田明子, 西脇友紀, 小松真由美, 世古裕子, 加藤誠志, 仲泊聡. 日本人網膜色素変性症における *EYS* 遺伝子変異とその臨床像. 臨床眼科 67 (3), 2013, p. 275-279.

## 2. 学会発表

1) 岩波将輝, 西田朋美, 中嶋明子, 世古裕子, 仲泊聡, 加藤誠志. 日本人網膜色素変性症の *EYS* 遺伝子診断. 第117回日本眼科学会総会. 東京国際フォーラム, 東京, 2013-4-4/4-7.

2) 岩波将輝. *EYS* 遺伝子変異における遺伝子型表現型関連の検討. 第17回眼科分子生物学研究会. 焼津松風閣, 静岡, 2013-2-23.

3) 岩波将輝. 日本人網膜色素変性症における *EYS* 遺伝子変異とその臨床像. 第5回網膜・リサーチ・ミーティング (RRM). 国立病院機構東京医療センター, 東京, 2012-12-8.

4) 岩波将輝. 網膜色素変性症における遺伝子診断とその展望. 第57回日本人類遺伝学会総会. 京王プラザホテル, 東京, 2012-10-24/10-27.

5) 岩波将輝, 西田朋美, 三輪まり枝, 山田明子, 西脇友紀, 小松真由美, 世古裕子, 加藤誠志, 仲泊聡. 日本人網膜色素変性症における *EYS* 遺伝子変異とその臨床像. 第66回日本臨床眼科学会総会. 京都国際会館・グランドプリンスホテル京都, 京都, 2012-10-25/10-28.

厚生労働科学研究費補助金（障害者対策総合研究事業 感覚器障害分野）  
分担研究報告書

*EYS* 遺伝子による網膜色素変性の遺伝疫学に関する研究

分担研究者 岩波将輝

国立障害者リハビリテーションセンター病院 第二診療部 眼科医師

## 研究要旨

〔目的〕本研究の目的は、*EYS* 遺伝子変異を原因にもつ日本人常染色体劣性網膜色素変性症(arRP)患者(*EYS*-RP)の遺伝疫学を明らかにするため、大規模な患者サンプルを用いて、*EYS* 遺伝子の変異スペクトル解析および保因者数の推定を行うことである。〔対象と方法〕当施設（東日本域）230名および京都大学（西日本域）210名のarRP患者440名について、血液または唾液よりゲノムDNA精製を行い、*EYS* 遺伝子の全エクソンおよびエクソン-イントロン部を含む領域の直接的塩基配列の決定、並びに Multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA)法を用いた欠失・重複変異の検出を行った。〔結果〕*EYS* 遺伝子変異を有する患者の出現率は32.3% (142/440)であった。合計21種類の*EYS* 遺伝子変異を同定し、このうち10種類は新規変異であった。*EYS* 遺伝子変異が片側アレルから検出される患者58名においてMLPA法による解析を行い、8名(13.7%)より欠失・重複変異を同定した。これらの結果から、*EYS* 遺伝子変異の両側アレルからの検出にもとづく*EYS*-RP患者は全体の20.9% (92/440)であった。そして、これら*EYS*-RP患者における3つの創始者変異(*EYS*-JM1、*EYS*-JM2、そして*EYS*-JM3)を有する割合は94.6% (87/92)であった。健常者において保因者が観察される*EYS*-JM3の遺伝子型頻度から推定される*EYS* 遺伝子変異の保因者率は1/25、疾患の発症頻度は1/2500であった。遺伝子型-表現型における解析では、短縮型変異をホモまたは複合ヘテロ接合で2つ有する個体群(n=15)と、短縮型変異を1つ有し他方にアミノ酸置換を伴うミスセンス変異を複合ヘテロ接合でもつ個体群(n=14)の比較において、前者で重症化する傾向が観察された。〔結論〕日本人arRP患者440名における解析結果から、*EYS* 遺伝子変異を有する患者の出現率は全体の約3割であり、主要な原因遺伝子であることが再確認された。また、サンガー法とMLPA法によって*EYS*-RPの診断に至ったのは92名(20.9%)であった。これらarRP患者の大規模コホートに基づく遺伝疫学および変異スペクトル解析は、遺伝子診断方法の確立と各変異における病態解析において有用であり、治療法開発の戦略上も役立つものと考えられる。

## 研究協力者

吉村長久 京都大学医学部眼科学 教授  
大石明生 京都大学医学部眼科学 助教  
荻野 颯 京都大学医学部眼科学 助教

とである。

## A. 研究目的

本研究の目的は、日本人の網膜色素変性症（以下、RP）の主要な原因である *Eyes shut homolog* (*EYS*) 遺伝子における遺伝疫学を明らかにするこ

## B. 研究背景

RPは、幼少から成人期における両眼の夜盲にはじまり、進行性の視野狭窄、視力低下を特徴とする遺伝性網膜変性疾患と考えられており、難病指定に含まれる。通常4,000人から5,000人に1人程度の発症と推定され、全体の約50%を家族に発症を認めない孤発例が占める。

家族歴を認める残りの約半数のうち、約35%が常染色体劣性（以下、ar）、約10%は常染色体優性（以下、ad）、X染色体連鎖性劣性遺伝（以下、X連鎖性）が約5%程度を占める（図1、難病情報センター、網膜色素変性症の記載にもとづく）。孤発例の多くは、arRPの原因遺伝子によるものと考えられ、家族歴のあるarRP(35%)に加えて、これら孤発例(50%)を含めた約85%程度がarRPの原因遺伝子によるものと推定されている。従って、日本全国におけるarRPの遺伝疫学を明らかにすることが急務と考えられる。

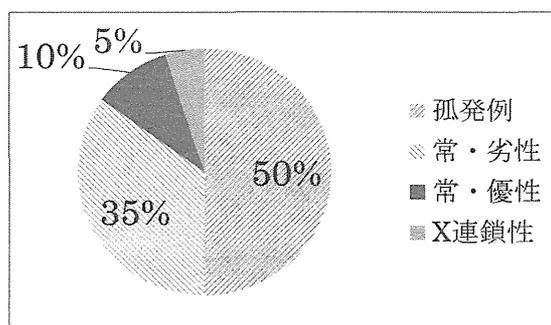


図1. 網膜色素変性症における遺伝形式の概略

*EYS* 遺伝子は2008年にarRPの原因遺伝子として同定され、arRPの約5-15%を占めることが海外で報告された。我々は、先行研究として日本人RP患者68名における遺伝学的解析を行い、複数の新規変異を同定した。そして、これらの変異を保有する患者はarRPの約30%を占める高い頻度であった(Iwanami et al. IOVS, 2012)。この結果は、日本民族の抱える遺伝学的背景の特殊性を示唆しているものと推測された。

海外に比べて日本人における*EYS* 遺伝子変異の頻度が高い理由として、複数家系における各変異の近傍遺伝子座に対するハプロタイプ解析より、日本人に特異な3つの創始者変異、①c.4957dupA (p.S1653Kfs\*2)、②c.8805C>A (p.Y2935\*)、そして③c.2528G>A (p.G843E)の存在を同定した(Iwanami et al. IOVS, 2012)。これらを日本

人*EYS* 遺伝子における主要な変異 (*EYS*-Japanese major mutation、以下、*EYS*-JM) として、①~③を以下、それぞれ *EYS*-JM1、*EYS*-JM2、そして *EYS*-JM3 と呼称する(表1)。これら3つの変異はそれぞれ独立した複数の家系から同定されたが、それぞれの変異に創始者となる個体が存在し、日本人民族のなかで脈々と世代を越えて伝播し、受け継がれてきたことが示唆された。

表1. *EYS* 遺伝子における日本人で同定された3つの創始者変異

変異	エクソン	塩基記列	アミノ酸変異	蛋白ドメイン	変異タイプ
JM1	26	c.4957dupA	p.S1653Kfs*2	Close to coiled-coil	Frameshift
JM2	43	c.8805C>A	p.Y2935*	EGF	Nonsense
JM3	16	c.2528G>A	p.G843E	EGF	Missense

参考文献、Iwanami et al. IOVS, 2012

昨年度までの解析結果から、日本人におけるこれら *EYS*-JM1、*EYS*-JM2、*EYS*-JM3 の各変異は、日本人において比較的頻度の高いことが確認され、これらを用いてスクリーニング法の有用性を検討することは、*EYS* 遺伝子診断の効率化を図る上で必須と考えられた(平成24年度報告)。しかし、このスクリーニング法を検討するにあたっては、より多くの対象患者における *EYS* 遺伝子変異の同定を行うことで、正確なスクリーニング法の診断率を検討する必要がある。

そこで今年度は、東日本域230名、西日本域210名の計440名の全国的な患者サンプルにおける *EYS* 遺伝子の解析を網羅的に行うことによって、日本人における *EYS* 遺伝子の遺伝疫学を明らかにすることを目的とした。

## C. 対象と方法

### 1. 対象と遺伝子解析方法

当センター病院眼科を受診した230名のarRP患者(東日本域)、京都大学を受診したarRP患者210名(西日本域)、および健常者200名を対象に遺伝子解析を行った。患者440名および健常

者 200 名の血液または唾液からゲノム DNA の精製を行い、*EYS* 遺伝子の全エクソンおよびそのエクソン-イントロン部を含む領域の直接的塩基配列決定をサンガー法で行った。

## 2. 欠失・重複変異の同定方法

サンガー法によって検出が困難である欠失・重複変異について、これらの検出に適した Multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA) 法を用いた検索を行った。対象は、全 43 エクソン領域の直接的塩基配列決定の結果において、片側アレルからのみ *EYS* 遺伝子変異が検出された arRP 患者 58 名とした。

## 3. 遺伝子変異の病原性解析

遺伝子変異は、主に短縮型変異（機能欠失変異）、欠失・重複変異（機能欠失変異）、およびミスセンス変異に分類される。特にミスセンス変異におけるアミノ酸置換では、その病原性を検討するため、一般的な方法である以下の 4 点を検討した。

- 蛋白ドメインにおける変異アミノ酸部位の保存性
- 生物種間での変異アミノ酸部位の保存性
- 予測ソフトウェアツールを用いた変異アミノ酸部位の病原性
- 家系解析

(c) の解析ツールとしては、以下のものを用いた。SIFT (<http://sift.jcvi.org/>)、PolyPhen-2 (<http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2/>)、PMut (<http://mmb.pcb.ub.es/PMut/>)、SNAP (<https://www.rostlab.org/services/snap/submit>)。

(d) の家系解析においては、変異の同定された患者の血縁家族から協力の同意を得られた場合、家族の血液または唾液からゲノム DNA の精製を行い、*EYS* 遺伝子の解析と問診を行った。

## 4. 遺伝子変異における保因者率の推定

当施設における健常者 200 名の遺伝学的な解析結果に加えて、日本人の健常者のデータベースである Human Genetic Variation Browser (HGVB) (<http://www.genome.med.kyoto-u.ac.jp/SnpDB/>)

を参照して、変異アレルの観測値をもとに、健常者（頻度  $p$ ）、保因者（ヘテロ接合）、ホモ接合（頻度  $q$ ）の頻度を集計した ( $q=1-p$ )。任意交配が成立しているメンデル集団において、遺伝子型 AA:Aa:aa の存在頻度比が  $p^2:2pq:q^2$  となるハーディ・ワインベルグ (Hardy-Weinberg) 則の仮定にもとづき、 $p$ 、 $q$  の値を観測値から近似計算し、保因者率 ( $2pq$ ) および疾患発症率 ( $q^2$ ) を推定した。

### (倫理面への配慮)

すべての本研究計画は、当施設のヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理委員会の承認を得て、その指針を順守して行われた。京都大学との共同研究については、研究の施行と患者検体の移譲に際して京都大学の倫理委員会の承認を得た上で、当施設での解析を行った。

## D. 研究結果

### 1. *EYS* 遺伝子変異を有する患者の出現率の検討

arRP 患者 440 名のうち、サンガー法によって *EYS* 遺伝子のエクソン領域に病原性変異が同定された患者は 142 名、変異を有する患者の出現率は 32.3% (142/440) であった (図 2)。

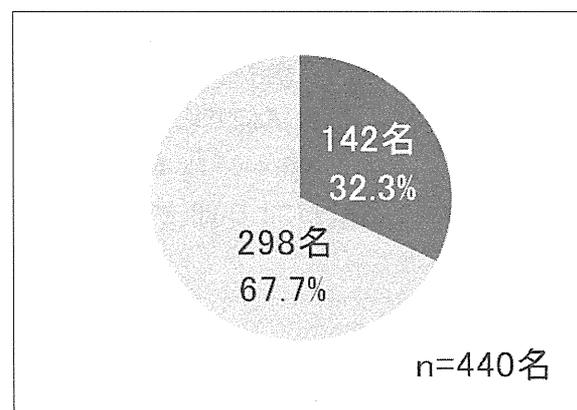


図 2. *EYS* 遺伝子変異を有する患者の割合

### 2. *EYS* 遺伝子変異による RP 診断率の検討

*EYS* 遺伝子の病原性変異を有する 142 名のうち 84 名 (59.2%) において、*EYS* 遺伝子変異の両側アレルからの同定に至った。一方で残る 58 名は片側アレルからのみの変異同定に留まったが、こ

これら患者を対象に MLPA 法を用いた欠失・重複変異の解析を行った結果、8名（欠失変異を7名、重複変異を1名）の患者からこれら変異を同定し、検出率は13.8%（8/58）であった。従って、両側アレルからの変異同定に至った患者は計92名（92/142、64.8%）となった（図3）。MLPA法により欠失・重複変異の同定された8名を除いた残る50名（50/142、35.2%）については、片側アレルのみ変異を検出する結果となった。

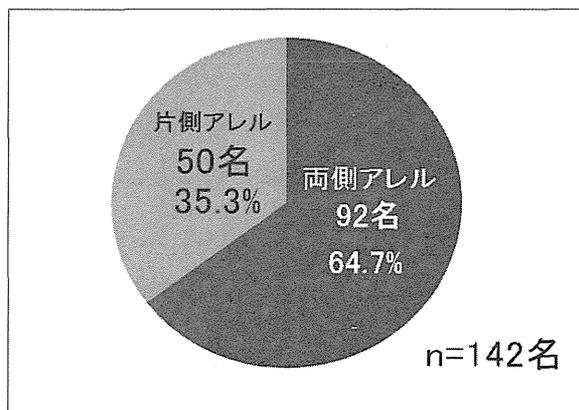


図3. *EYS*遺伝子変異を両側アレルに有する患者の割合

以上の結果から、両側アレルからの *EYS* 遺伝子変異の同定により RP 診断に至った症例（以下、*EYS*-RP）は92名であり、全体の20.9%（92/440）であった（図4）。また、片側アレルのみ変異同定に至った患者は50名（50/440、11.4%）であり、これら患者は *EYS* 遺伝子による RP との診断には至らなかった。

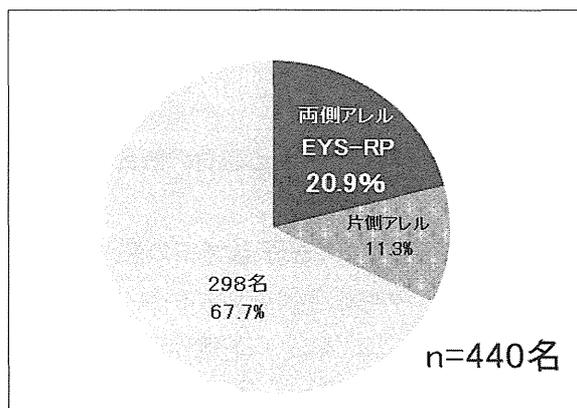


図4. *EYS*遺伝子変異による RP 診断率

### 3. *EYS*-RP 患者における3つの創始者変異を有する割合の検討

これら診断に至った *EYS*-RP 患者92名のうち、94.6%を占める87名は *EYS*-JM1、*EYS*-JM2、そして *EYS*-JM3 の創始者変異を少なくとも1つ有する患者であり、これら3つの創始者変異は高頻度に観察された（図5）。

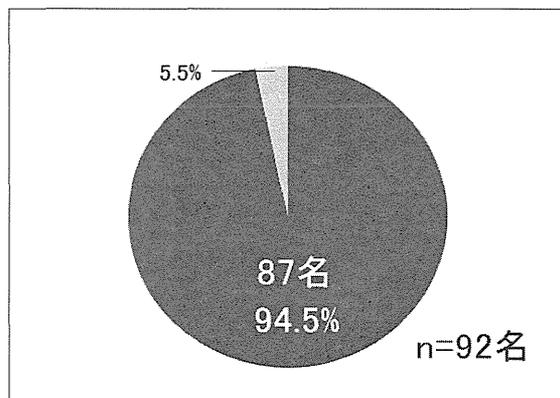


図5. *EYS*-RP 患者における3つの創始者変異を有する割合

また、*EYS* 遺伝子変異を少なくとも一つ以上有する患者142名のうち、*EYS*-JM1、*EYS*-JM2、そして *EYS*-JM3 の創始者変異をもつ割合は、93.0%（132/142）、創始者変異をもたないものは7.0%（10/142）であった（図6）。

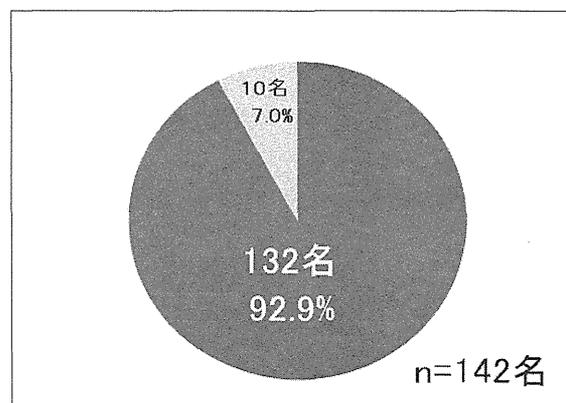


図6. *EYS*遺伝子変異を有する患者における3つの創始者変異を有する割合

### 4. *EYS*-JM1、*EYS*-JM2、および *EYS*-JM3 の創始者