

Title	Mutations in the RPE65 gene in patients with autosomal recessive retinitis pigmentosa or Leber congenital amaurosis
Author(s)	森村, 浩之
Citation	大阪大学, 1998, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/41615">https://hdl.handle.net/11094/41615</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏 名	もり 森 村 浩 之
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 4 1 4 8 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 10 年 9 月 30 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学研究科 外科系専攻
学 位 論 文 名	Mutations in the RPE65 gene in patients with autosomal recessive retinitis pigmentosa or Leber congenital amaurosis (常染色体劣性遺伝型網膜色素変性症および Leber 先天性盲患者での RPE65 遺伝子上での変異)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 田 野 保 雄 (副査) 教 授 遠 山 正 彌 教 授 中 村 祐 輔

## 論 文 内 容 の 要 旨

### [目的]

RPE65は網膜色素上皮特異的に発現している分子量約65 kDa の蛋白である。機能については現在までに明らかにされていない。網膜色素変性症の原因遺伝子はこれまで Rhodopsin など光受容体細胞に特異的に発現しているものが同定されている。しかし、光受容体細胞に隣接し、その機能の維持に重要な役割を果たしている網膜色素上皮が原因と考えられる網膜色素変性症は分子生物学的に未だ同定されていない。そこで今回我々は、この網膜色素上皮に特異的に発現している RPE65 を網膜色素変性症の有力な候補遺伝子と考え、網膜色素変性症患者、Leber 先天性盲患者を対象として候補遺伝子アプローチを行った。

### [方法]

公表されている RPE65 cDNA の塩基配列を基に369 bp の genome fragment を作製し、human genome library を screening して、RPE65 遺伝子を含む65 kbp の genome fragment を単離した。これを使用して exon に隣接した intron の塩基配列を決定した。これを基に各 exon を増幅するための PCR 用 primer を作製し、147例の劣性遺伝型網膜色素変性症患者、15例の孤発型網膜色素変性症患者、45例の Leber 先天性盲患者を対象とし、各患者より同意の上、静脈血を採取し、その白血球から genome DNA を精製した。これを使用して SSCP 法により RPE65 遺伝子各 exon における変異をスクリーニングした。SSCP 法により変異の認められた DNA は cycle-sequence 法により塩基配列を決定した。アミノ酸配列に変化を与えるか蛋白の発現に影響を与えると考えられる変異を持った患者についてはその家族構成員についても検討を行った。

### [成績]

RPE65 遺伝子の genome sequence の結果は AF039855-AF039868 として Genome Database に登録した。疾患の原因と考えられる変異が 3 例の劣性遺伝型網膜色素変性症患者、7 例の Leber 先天性盲患者で認められた。Leber 先天性盲患者の内一例は両親の片方に変異を認めない germ line mutation と考えられるものであった。検査可能であった患者家族の遺伝子の検討では、疾患罹患家族は同一の病因変異遺伝子ホモ接合体かあるいは異なる病因変異遺伝子の

ヘテロ接合体であり、健常家族構成員は唯ひとつの病因変異遺伝子の carrier かあるいは wild type のホモ接合体であった。網膜色素変性症例でみられた変異は、Arg91Trp, Ala132Thr, Leu341Ser, Glu404(4-bp ins), Val452Gly で、Leber 先天性盲でみられた変異は Met1Thr, Gly40Ser, Arg91Trp, Glu102Lys, Arg124End, His182Tyr, IVS6-2A->T, Asn321(1-bp ins), Val473Asp であった。Arg91Trp 変異は両疾患に認められた。

#### [総括]

網膜色素変性症例162例, Leber 先天性盲例45例を対象に RPE65遺伝子の候補遺伝子アプローチを行った。網膜色素変性症例3例(約2%), Leber 先天性盲例7例(約16%)において, RPE65遺伝子に病因と考えられる変異を認めた。この結果は, 網膜色素上皮の異常が, 網膜色素変性症の原因となることを分子遺伝学的に証明した最初の報告である。また, 網膜色素変性症と Leber 先天性盲という臨床診断に新しい概念を与えることとなった。網膜色素変性症という診断は10歳頃までは良好な中心視力を有する光受容体変性疾患に下される。一方, Leber 先天性盲は生下時より盲かあるいは, 生後数カ月で視力を失う疾患に下される。両疾患とも狭細化した網膜血管, 網膜色素沈着, 網膜電位図の異常という特徴は同一である。両疾患とも遺伝学的には不均一である。つまり, Leber 先天性盲の一部は, 網膜色素変性症の最も重症型の範疇に入ることになり, 両疾患に本質的な相違点はないということである。

### 論文審査の結果の要旨

申請者, 森村浩之氏の論文の内容は, 網膜色素上皮特異的に発現している RPE65蛋白をコードしている遺伝子上に変異が起こると網膜色素変性症及び, Leber 先天性盲の原因になるということを他の2つのグループとほぼ同時に世界で初めて発見したものである。これまで, 非症候群性網膜色素変性症の原因遺伝子としては Rhodopsin, RDS,  $\alpha$  and  $\beta$ -subunit of rod cGMP phosphodiesterase, ROM1,  $\alpha$ -subunit of the rod cGMP-gated channel など photoreceptor cell 特異的に発現しているものであった。しかし, 臨床的にみて網膜色素変性症では最終的に網膜色素上皮が障害されるので, 網膜色素上皮自身に原因のある網膜色素変性症が存在することは推測されていた。このことが本論文において証明されたわけである。また, 臨床的に以前より早期発症型網膜色素変性症と生後一年以内に盲となる Leber 先天性盲との間には本質的な相違点はないといわれていたが, このことも RPE65遺伝子異常の観点からみると一連のスペクトルに含まれることが世界で初めて証明されたことになる。また, 網膜色素上皮が原因である網膜色素変性症が同定されたことは, 網膜色素上皮は体外での培養が可能かつ, 移植も可能なことより, Leber 先天性盲などの重症例では網膜色素上皮への遺伝子導入や網膜色素上皮移植による治療の可能性を開いたという点でも重要である。これらのことより, 網膜色素上皮特異的に発現する遺伝子 RPE65上の変異が網膜色素変性症および Leber 先天性盲を引き起こすことを発見した本論文は学位に値するものと考えられる。