

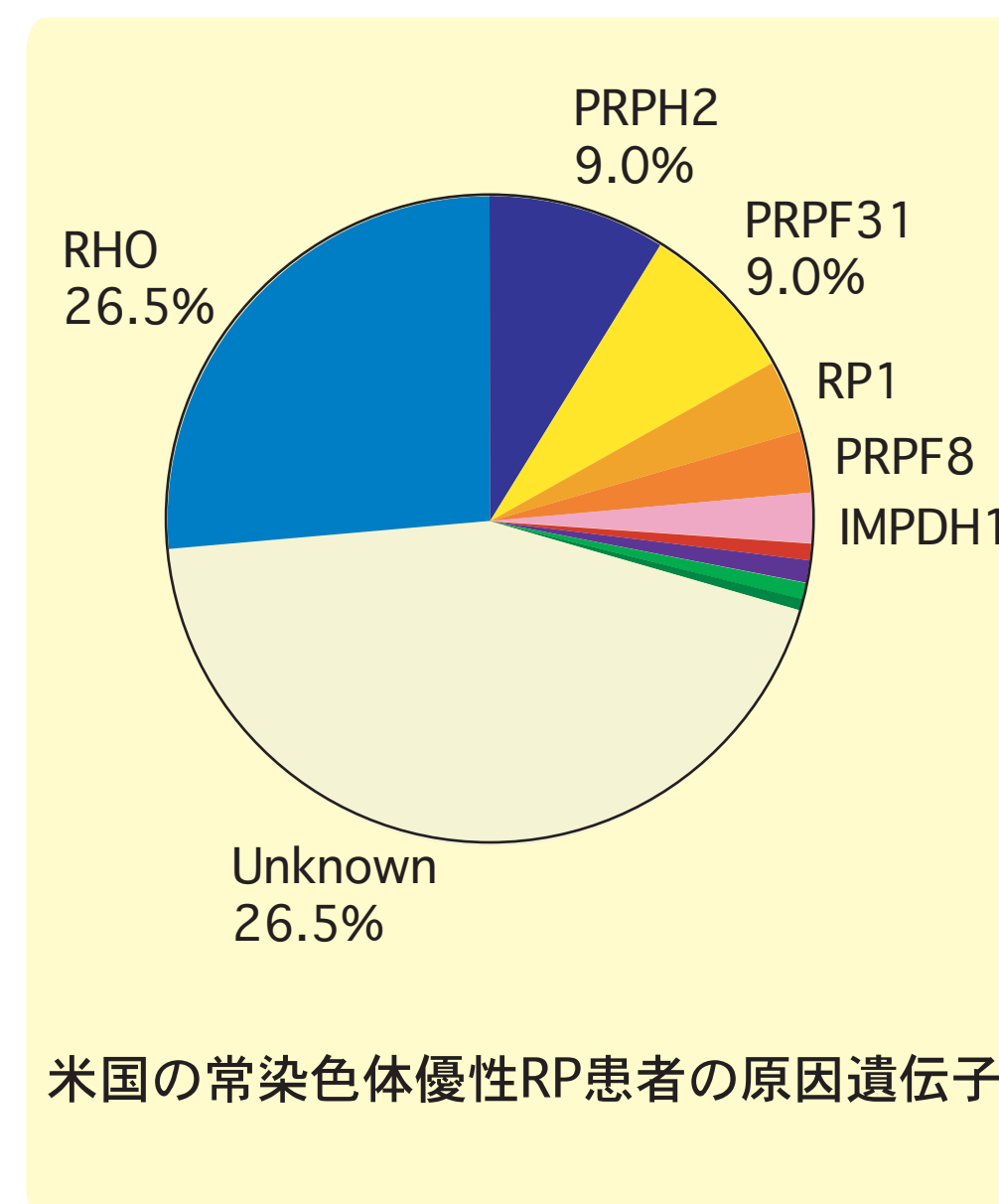
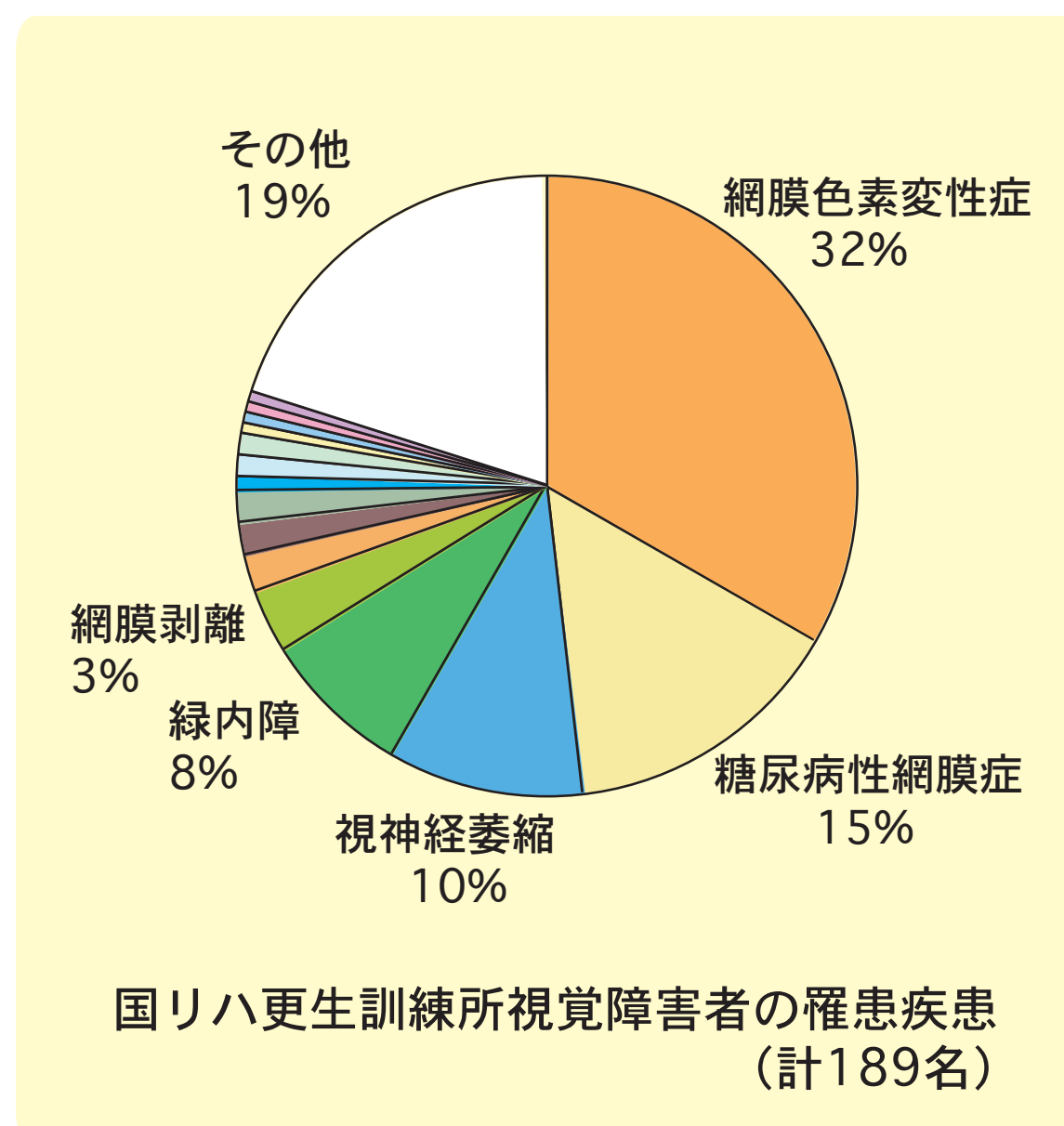
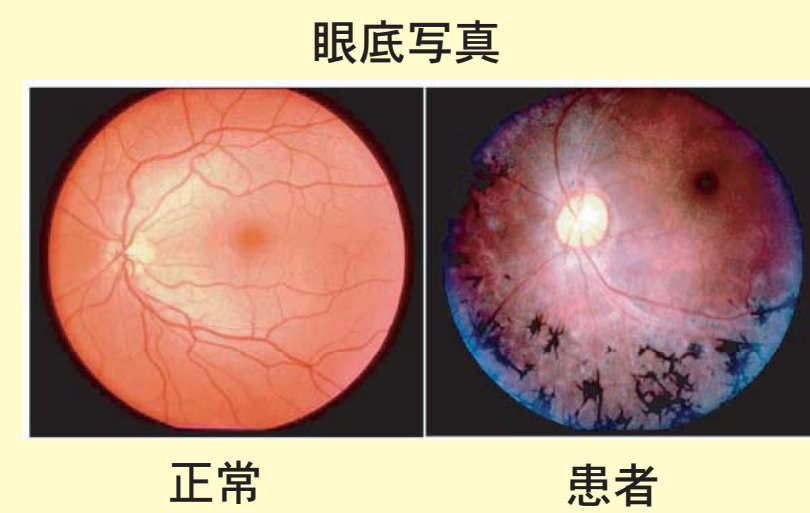
網膜の変性と再生に関する研究

網膜色素変性症の遺伝子診断・治療を目指して

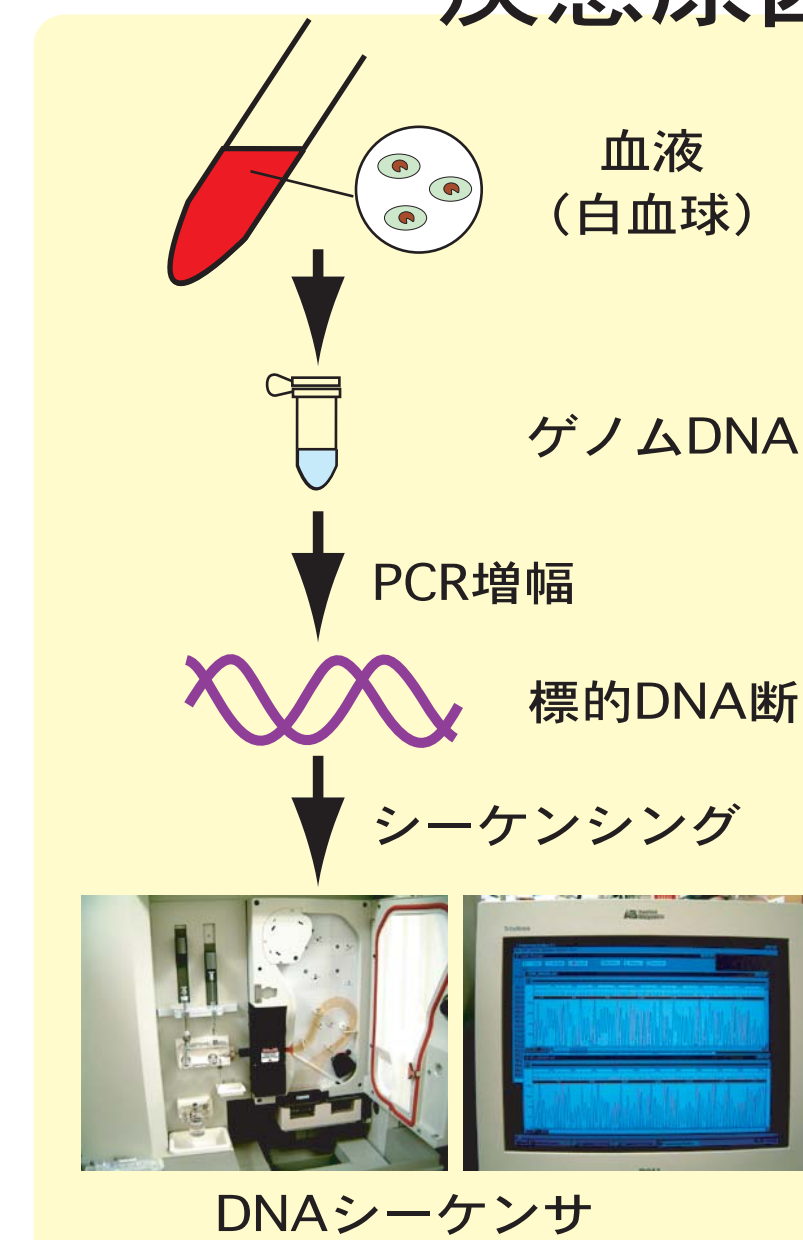
サブテーマ1 網膜色素変性症の原因遺伝子探索

網膜色素変性症とは？

網膜色素変性症とは、夜盲の自覚から始まり、次第に視野狭窄が起こり、最後に失明に至る遺伝性の網膜変性疾患です。当センターを含め全国の障害者施設に入所している視覚障害者の中で最も多いのが網膜色素変性症の患者さんです。米国では、この疾患を引き起こす原因遺伝子がすでに数十種類報告されています。このように多様な遺伝子が原因となりうる疾患であるため、まだ多くの未発見の原因遺伝子が残されていると考えられています。一方、日本人患者の原因遺伝子は、まだほとんどわかっていません。そこで当センター病院眼科外来に来院された網膜色素変性症患者の方々の協力を得て、日本人患者の原因遺伝子探索を実施しています。原因遺伝子分かれば、診断法が確立されれば、病気の進行の程度が予測できるようになり、ロービジョンケアの現場でのリハビリテーションに活かすことが出来ます。また将来的には遺伝子治療法の開発につながることを期待されます。



疾患原因遺伝子のSNP解析

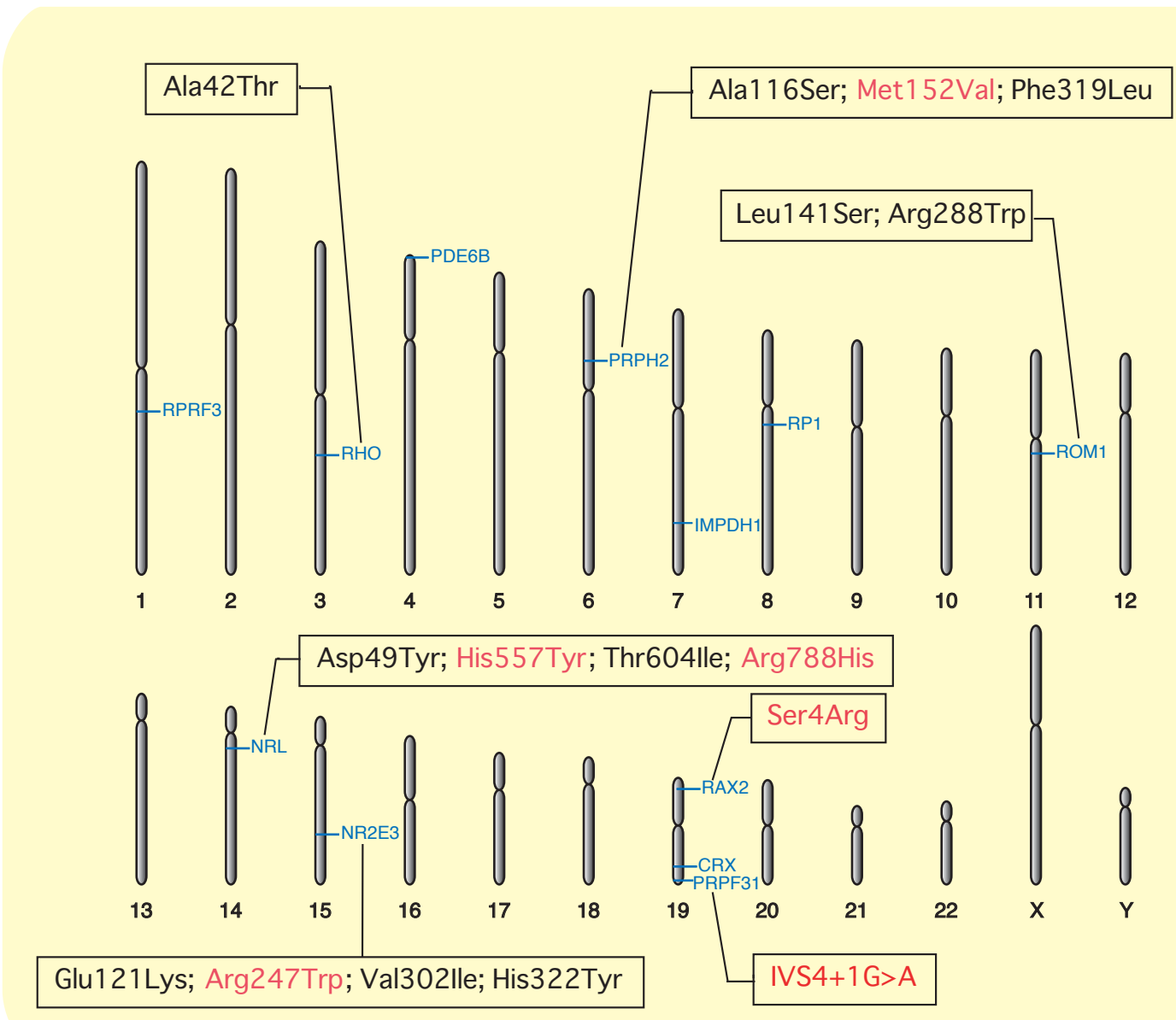


網膜色素変性症患者68名と対照眼者68名から血液の提供を受け、これからゲノムDNAを抽出しました。既知原因遺伝子および新規原因遺伝子候補の遺伝子座の塩基配列を決定し、変異の有無を調べました。さらに塩基多型(SNP)を求め、この領域のハプロタイプを推定しました。

変異の例（ロドプシン遺伝子）

正常: -CGCAGCCCCCTTCGAG-
-ArgSerProGluTyr-
網膜色素変性症: -CGCAGCCACTTCGAG-
-ArgSerHisGluTyr-

患者の既知原因遺伝子上に見出された変異



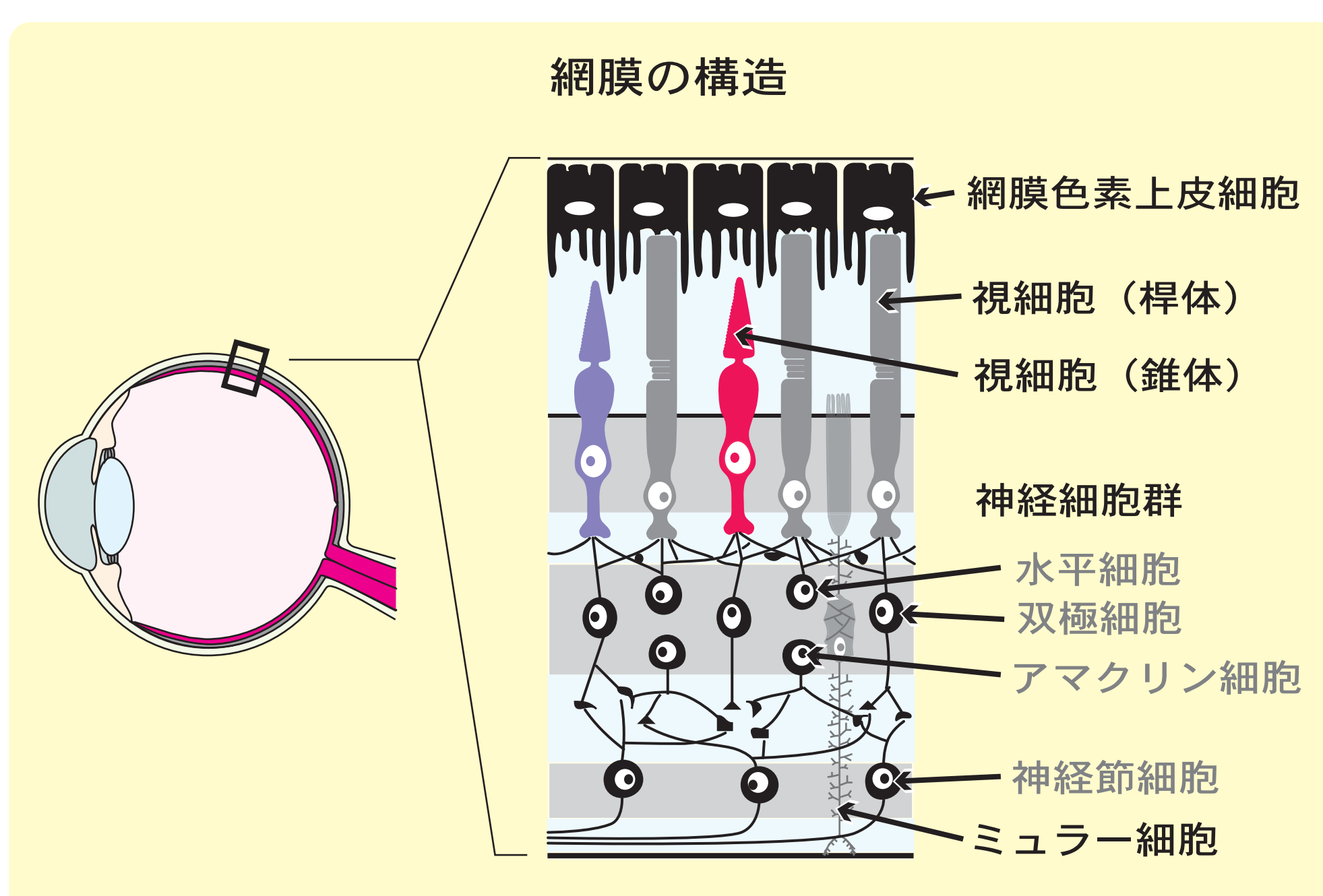
変異スクリーニングを行った結果見出されたアミノ酸変異を引き起こす塩基変異の位置を染色体上に示しました。赤で記した変異は、患者でのみ見出されたもので、病変変異である可能性があります。PRPF31の変異はエクソン-イントロンの境界部にあるため、正常なスプライシングが起こらなくなります。

サブテーマ2 網膜細胞で発現している遺伝子の網羅的解析

研究目的

眼の網膜は外界からの光を電気化学的信号に変換して脳に送るセンサの役割を果たしています。網膜は光を受容する視細胞、これを支える網膜色素上皮細胞、脳に信号を伝達する各種神経細胞から構成されています。これらの細胞に異常が起きると視覚障害を引き起こします。本研究は、網膜の生化学的、分子生物学的、遺伝学的研究を行うために必須となる遺伝子をすべてそろえることを目的としています。具体的な目標は、次の2点です。

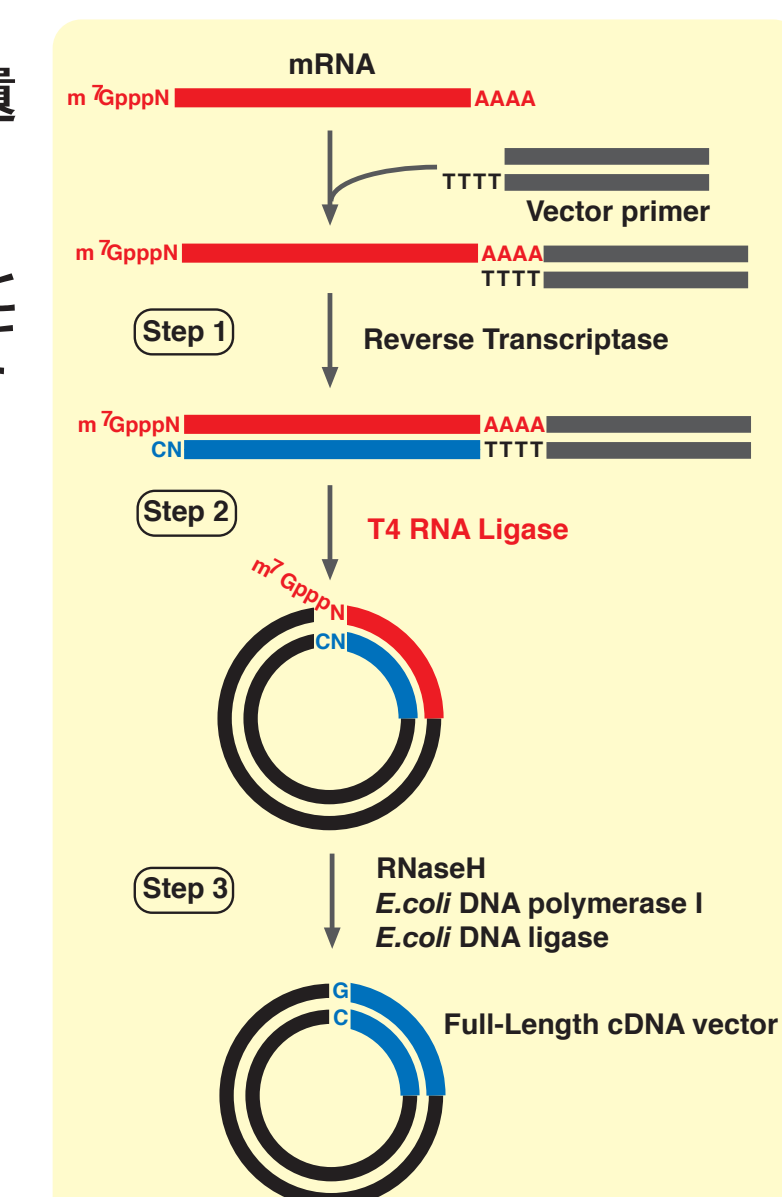
- (1) 網膜細胞で発現しているすべての遺伝子を完全長cDNAの形で収集する。
 - (2) 網膜変性を引き起こす原因遺伝子候補として、網膜細胞で特異的に発現している遺伝子群を同定する。
- 得られた遺伝子コレクションは、網膜細胞の変性や再生のメカニズムを明らかにすること、並びに遺伝性網膜変性疾患の原因解明に役立ちます。



完全長cDNAライブラリー作製法の開発

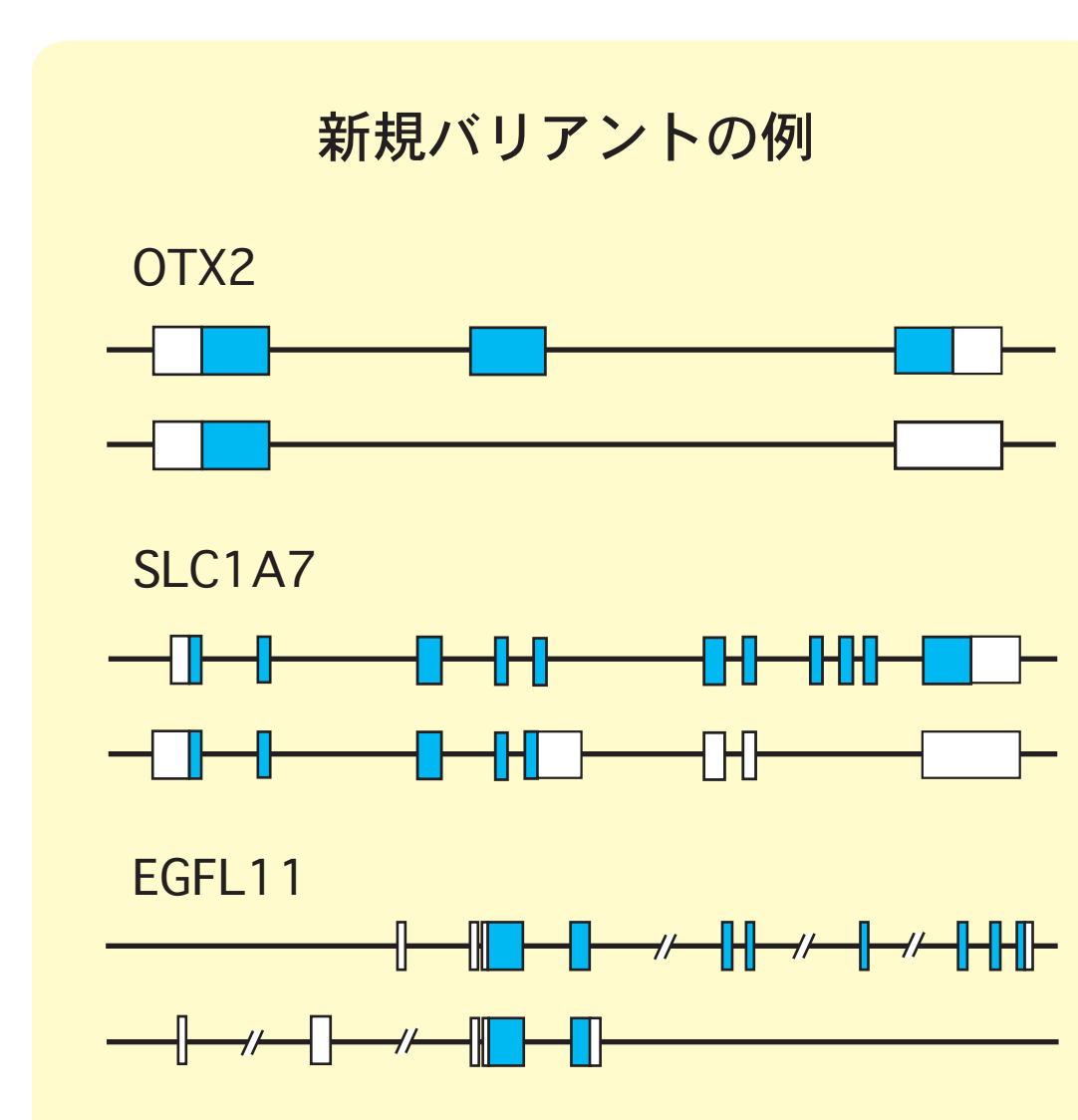
網膜細胞内で発現しているすべての遺伝子を取得するために、新規の完全長cDNA合成法を開発しました。ベクターキャッピング法（V-キャッピング法）と命名したこの方法は、次の特徴を有しています。

- (1) わずか3工程からなる。
- (2) PCR工程を含まないので、人工的な変異が入らない。
- (3) 数μgの全RNAから10⁶の独立クローンからなるライブラリーを作製できる。
- (4) 5'端に付加する余分なGの存在により、完全長cDNAかどうかを判定できる。
- (5) 完全長cDNAクローンの含有率が95%以上のライブラリーを作



網膜細胞特異的遺伝子のクローン化

V-キャッピング法を用いて視細胞由来細胞株Y79と網膜色素上皮細胞株ARPE-19から完全長cDNAライブラリーを作製しました。それぞれのライブラリーから数万個のクローンを拾い、解析を進めています。これまでに、それぞれの細胞で特異的あるいは優先的に発現している遺伝子を同定しました。この中には転写開始点やスプライシングが既知のものとは異なる新規バリエーションが多く含まれていました。今後、これらを網膜変性疾患の原因遺伝子候補として、患者のゲノム解析を行っていく予定です。



研究代表者 国立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
加藤誠志 kato-seishi@rehab.go.jp

