

Retinol dehydrogenase 5 遺伝子変異が検出された 白点状眼底を有する小児の 1 例

宮崎 幸治¹⁾, 村上 晶²⁾, 今村 周²⁾, 吉井 大¹⁾
石田 政弘¹⁾, 鷲尾 紀章¹⁾, 沖坂 重邦¹⁾

¹⁾防衛医科大学校眼科学教室, ²⁾順天堂大学医学部眼科学教室

要 約

背 景 : 白点状眼底が疑われ retinol dehydrogenase 5 (RDH 5) 遺伝子解析を行った 8 歳女児の 1 例について報告する。

症 例 : 8 歳, 女児。症例は良好な視力を有しており, 黄斑を除く眼底に直径 100~200 μ m の白斑がびまん性に存在していた。網膜電図の振幅は低下していたが, 3 時間の暗順応で振幅が増大した。杆体暗順応の最終閾値の上昇があったが, 視野狭窄はなかった。末梢血 DNA から増幅した RDH 5 遺伝子エクソン 5 にコドン

280 のアルギニンがヒスチジンに変化する点変異 (Arg 280 His) がホモ接合で存在した。眼底に異常のない母親は同じ変異をヘテロで保有していた。

結 論 : 本症例は RDH 5 遺伝子の変異による白点状眼底であると診断した。(日眼会誌 105 : 530-534, 2001)

キーワード : 白点状眼底, RDH 5 遺伝子, 11-cis retinol dehydrogenase, Arg 280 His 変異

A Case of Fundus Albipunctatus with a Retinol Dehydrogenase 5 Gene Mutation in a Child

Koji Miyazaki¹⁾, Akira Murakami²⁾, Syu Imamura²⁾, Masaru Yoshii¹⁾
Masahiro Ishida¹⁾, Noriaki Washio¹⁾ and Shigekuni Okisaka¹⁾

¹⁾Department of Ophthalmology, National Defense Medical College

²⁾Department of Ophthalmology, Juntendo University School of Medicine

Abstract

Background : We examined a family with fundus albipunctatus in which mutation of the retinol dehydrogenase 5 (RDH 5) gene was suspected to be the cause of this disease.

Case : An 8-year-old girl had diffuse multiple white dots in her fundus except for the macula. She had good central vision. The amplitude of her electroretinogram wave was low, but it recovered after three hours of dark adaptation. Dark adaptation showed an elevated threshold for rod adaptation. No visual field loss was observed. A homozygous missense mutation was found in exon 5 of the

RDH 5 gene that substituted histidine for arginine at codon 280 (Arg 280 His). Her mother had a normal fundus but was heterozygous for the same mutation.

Conclusion : A missense mutation of RDH 5 (Arg 280 His) was found in a Japanese family with fundus albipunctatus. (J Jpn Ophthalmol Soc 105 : 530-534, 2001)

Key words : Fundus albipunctatus, RDH 5 gene, 11-cis retinol dehydrogenase, Missense mutation Arg 280 His

I 緒 言

黄斑部以外の眼底にびまん性に白色点状もしくは黄色点状の沈着物が存在する斑状網膜症候群 (flecked retina syndrome) には, 白点状眼底 (あるいは眼底白点症), 白

点網膜症, 黄色斑眼底, 家族性ドルーゼンなどが含まれる。しかし, それぞれの予後は大きく異なるため, これらの疾患の鑑別は重要である¹⁾。このうち白点状眼底と白点網膜症は, 前者は停止性夜盲と考えられており, 後者は進行性夜盲である網膜色素変性の亜型に位置づけら

別冊請求先 : 359-8513 所沢市並木 3-2 防衛医科大学校眼科学教室 宮崎 幸治
(平成 12 年 10 月 31 日受付, 平成 13 年 2 月 21 日改訂受理)

Reprint requests to : Koji Miyazaki, M.D. Department of Ophthalmology, National Defense Medical College,
3-2 Namiki, Tokorozawa 359-8513, Japan

(Received October 31, 2000 and accepted in revised from February 21, 2001)

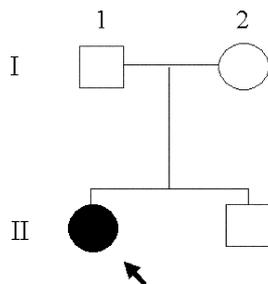


図 1 家系図。

血縁関係のない両親の 2 人兄弟の 1 人が患者である。

れているが、類似した眼底所見をとるため、しばしば病初期には鑑別が困難である。白点状眼底ではロドプシンの再生遅延が観察されており、ビタミン A の輸送や代謝に関連した異常が原因であると推定されていた²⁾。近年、11-cis retinol dehydrogenase 活性を有する retinol dehydrogenase 5 (RDH 5) の cDNA が、網膜色素上皮からクローンされヒトの遺伝子構造が明らかにされた^{3)~5)}。さらに、白点状眼底の家系にこの遺伝子の変異が報告⁶⁾された。その後の解析で白点状眼底の大部分は RDH 5 遺伝子の変異によると考えられている^{7)~9)}。我々は 4 歳から斑状網膜症候群として経過観察が行われていた 8 歳女兒に、網膜機能検査と RDH 5 遺伝子解析を行い、白点状眼底と診断したので報告する。

II 対象と実験方法

1. 症 例

症例は 8 歳、女兒。4 歳時に視力不良のため他院で精査を受け、遠視、調節性内斜視と両眼の眼底に斑状沈着物があることを指摘された。遠視、調節性内斜視に対しては、眼鏡による屈折矯正を受け経過観察が行われていたが、矯正視力は 0.9 前後にとどまり、斑状眼底症候群による視力障害が疑われていた。夜盲の自覚は特に認識していない。転居に伴い当科を紹介され受診となった。

家系内に近親婚はなく、夜盲を有するものはない。弟は遠視であるが良好な矯正視力を得ており、その眼底には異常はない(図 1)。既往歴には特記すべきことはない。当科初診時視力は右眼 0.2 (1.2 × +2.75 D ⊂ cyl -3.00 D Ax 180°)、左眼 0.4 (1.2 × +3.00 D ⊂ cyl -3.50 D Ax 180°) である。眼位は矯正眼鏡使用時には正位。前眼部、中間透光体に異常はなかった。両眼の眼底には黄斑部を除いた網膜全体に、直径 100~200 μm の融合傾向のある白斑がびまん性に存在していた(図 2)。Goldmann 視野計による視野検査では異常はなく、パネル D-15 による色覚検査も正常であった。暗順応曲線は杆体暗順応の最終閾値が上昇した(図 3)。20 J の白色閃光刺激によるフラッシュ網膜電図(ERG)は、両眼ともに暗順応前は a 波が約 240 μV、b 波が約 150 μV を示したが、3 時間の暗順応後には a 波が約 370 μV、b 波が約 475 μV と著し

く改善した(図 4)。光干渉断層計(OCT)による観察では、白点に対応した部位に特異的な変化はなかったが、僅かに網膜色素上皮から Bruch 膜のレベルで反射が増強していた(図 5)。

2. 遺伝子解析

症例の両親からインフォームド・コンセントを得て、症例と症例の母親の RDH 5 遺伝子解析を行った。

1) RDH 5 遺伝子シーケンス

症例と症例の母親の白血球から DNA を分離した。RDH 5 遺伝子のコード領域エクソン 2~5 のプライマーを合成し、polymerase chain reaction (PCR) で増幅、直接シーケンス法を用いて解析した⁶⁾。正常対照 1 例の DNA も同様の解析を行った。

2) 制限酵素 *Aci I* による消化

制限酵素 *Aci I* は 5'CCGC 3' の塩基配列を認識する。変異のないコドン 280 (CGC) は *Aci I* により切断されるが、グアニンがアデニンへ変異すると (CGC → CAC)、この制限酵素の感受性を失う。これを利用し、症例の変異の確認と、対照 60 例の DNA スクリーニングを行った。すなわち、エクソン 5 の PCR 増幅産物を制限酵素 *Aci I* で消化反応を行い、3% アガロースゲル電気泳動を行い、エチジウムブロマイド染色で DNA 断片の変化を観察した。

IV 結 果

RDH 5 遺伝子エクソン 5 のシーケンスでは、患者である症例 II-1 に Arg 280 His (CGC → CAC) の変異がホモ接合で検出された。眼底に異常のないこの症例の母親 I-2 は、同じ変異をヘテロで有していた(図 6)。他のエクソンには変異は検出されなかった。

制限酵素 *Aci I* 消化試験では、正常対照の 60 例ではエクソン 5 の PCR 産物はすべて 150 bp と 160 bp の 2 つに切断された。しかし、患者である症例 II-1 の PCR 産物はこの制限酵素で切断されなかった。一方、母親である I-2 では正常と異常のバンドがともに観察された(図 7)。

V 考 按

臨床的に白点状眼底と白点網膜症との厳密な鑑別は必ずしも容易ではない。両者とも黄白色の斑点が黄斑部以外の網膜全体に存在する。白点網膜症では、白点状眼底に比べ白点はより大きく境界が不鮮明であるとする記載があるが¹⁰⁾、眼底所見からの区別は困難である。本症例の眼底にみられる黄白色の斑点は、白点状眼底の典型例あるいは他の報告例に比べて大きく、形も融合し境界が不鮮明であった。眼底所見からは白点網膜症の疑いが残ったが、視機能的には杆体暗順応の最終閾値の上昇があり、減弱したフラッシュ ERG 波形が長時間暗順応後に正常化する点、視野に異常がないことから白点状眼底の特徴を有していると考えられた。



図 2 患者の右眼底写真。
黄斑部を除く網膜全体に、黄白色の白点が存在する。

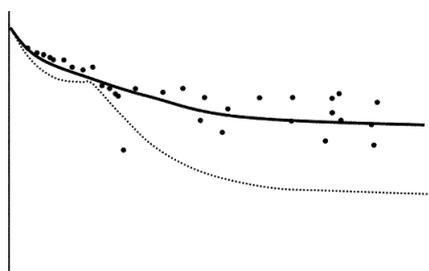


図 3 暗順応曲線。
杆体暗順応の最終閾値が上昇した。

白点状眼底と関連した RDH 5 遺伝子の変異の報告は、最初の報告である Yamamoto らの Ser 73 Phe(ホモ接合)と Ser 73 Phe/Gly 238 Trp⁶⁾の他に Arg 280 His/Ala 294 Pro⁸⁾、複数の日本人に検出された 1085 delC/insGAAG の変異⁷⁾が報告されている。一方、白点網膜症は進行性

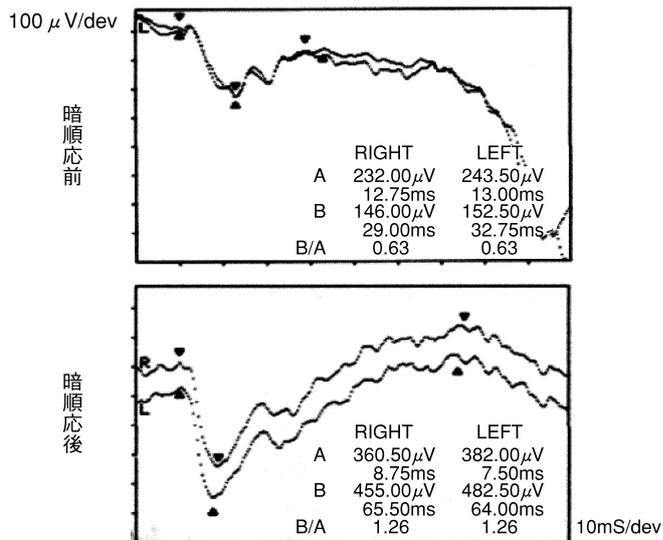


図 4 暗順応前後の網膜電図。
暗順応前の波形の振幅は小さいが、約 6 時間の暗順応後ではほぼ正常の波形に回復した。

の夜盲で視野狭窄を来し、網膜色素変性の亜型とされている。白点網膜症の原因としてロドプシン遺伝子の変異¹¹⁾や、網膜色素上皮内で 11 シスレチノールを運搬する細胞内レチナル結合蛋白質(CRALBP)の遺伝子の変異も発見されている¹²⁾¹³⁾。我々の今回の症例では、RDH 5 遺伝子解析を行ったところ、患者にはコドン 280 のアルギニンがヒスチジンに変化する変異(Arg 280 His)がホモ接合で存在し、保因者と考えられる母親は同じ変異をヘテロで有していた。我々が検出した Arg 280 His の変異は、すでに上述したように Ala 294 Pro 変異と組み合わせられたヘテロ接合の形で報告⁸⁾⁹⁾されている。現時点ではホモ接合を有する症例は他に報告はないが、コド

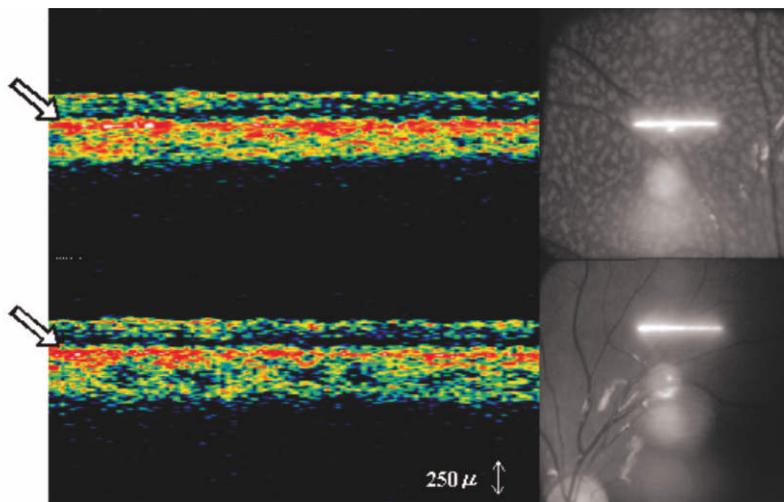


図 5 患者と正常小児の光干渉断層計像。
患者の光干渉断層計像は、白点に対応した部位の変化は明らかではないが、同年代の正常眼底者に比べ、僅かに色素上皮—Bruch 膜のレベル(矢印)での反射が充進している。

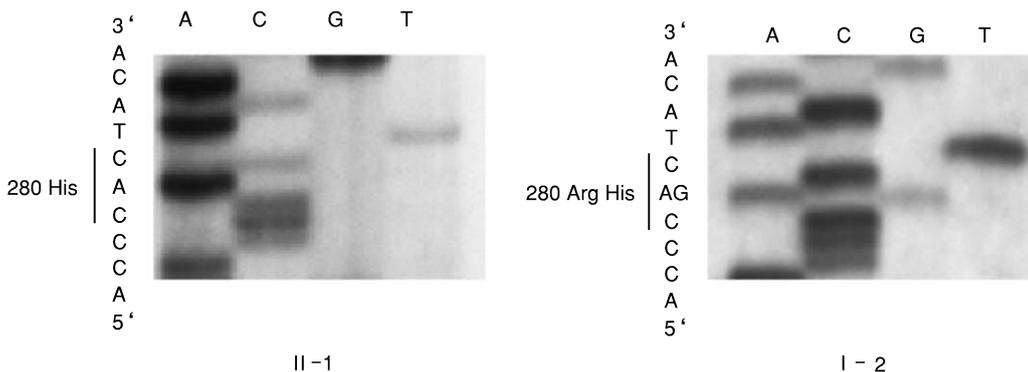


図 6 Retinol dehydrogenase 5 遺伝子シーケンス.

患者 (II-1) ではコドン 280 のグアニンがアデニンに変異している (CGC → CAC). 患者の母親 (I-2) はこの変異をヘテロで有している.

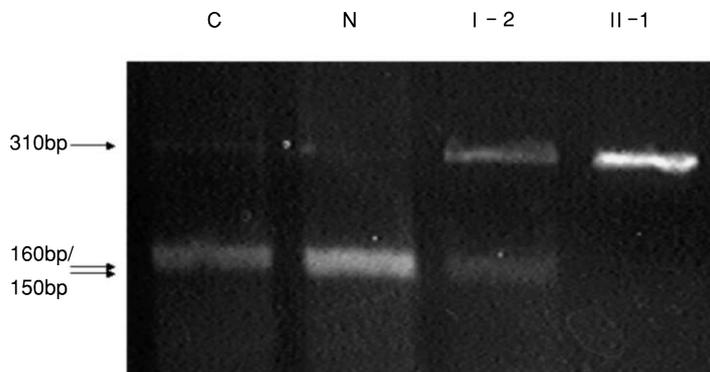


図 7 Retinol dehydrogenase 5 エクソン 5 の制限酵素 *Aci I* による消化反応.

対照 (C) およびシーケンスで異常が検出されなかった例 (N) では polymerase chain reaction 産物は制限酵素で切断され, 150 bp と 160 bp のバンドが重なって存在する (160 bp/150 bp). 患者 (II-1) では切断されず, 310 bp のバンドのみが検出された. 患者の母親 (I-2) には 310 bp, 160 bp/150 bp のバンドすべてが検出された.

ン 280 のアルギニン他他の retinol dehydrogenase においてもよく保存されており, Arg 280 His 変異は 11-cis retinol dehydrogenase の著しい酵素活性の低下を惹き起こすことが推定される. これらのことから, 本症は常染色体劣性遺伝を示す白点状眼底であると考えられる. 本症にみられる白斑あるいは白点の生化学的な組成は明らかにされていないが, 網膜内あるいは網膜色素上皮に存在すると考えられている. また, 白点は時間とともに大きさが変化したり, 時に高齢になると消失したりすることが知られている. 今回の症例の白斑を有する眼底を OCT を用いて観察したところ, 明らかな白点に対応した部位に特異的な変化を見出すことはできなかった. しかし, 同年代の小児の正常眼底に比べ, 網膜色素上皮—Bruch 膜の層の反射が若干増強していた. 現在我々が OCT で観察できた白点状眼底はこの 1 例のみであるが, 今後も症例を重ね検討を続けたい.

白点状眼底は停在性夜盲を来すが, 視力予後は通常良好とされており, その多くは常染色体劣性遺伝をすと

いわれている¹⁾. 時に錐体ジストロフィの合併例も存在し, 他にも錐体機能の低下を示す例が我が国では少なからず観察されている^{14)~16)}. 錐体ジストロフィの合併例でも RDH 5 遺伝子の変異が検出されており⁹⁾, 基本的には同じ疾患と考えられるようになりつつある. しかし, どのような病態で一部の症例に著しい錐体の障害を招くかは明らかではない. 今後, 光障害などの危険因子を回避する努力を続けながら, 錐体機能の変化を注意深く観察することが重要と考えている.

文 献

- 1) 中沢 満: 白点状眼底. 田野保雄(監修): 新家 真, 他(編): 新図説臨床眼科講座 5 巻 網膜硝子体疾患. メジカルビュー社, 東京, 142—143, 2000.
- 2) Carr RE: Congenital stationary night blindness. Trans Am Ophthalmol Soc 72: 448—487, 1974.
- 3) Haeseleer F, Huang J, Lebioda L, Saari JC, Palczewski K: Molecular characterization of a novel short-chain dehydrogenase/reductase that

- reduces all-trans-retinal. *J Biol Chem* 273 : 21790—21799, 1998.
- 4) **Ruiz A, Winston A, Lim YH, Gilbert BA, Rando RR, Bok D** : Molecular and biochemical characterization of lecithin retinol acyltransferase. *J Biol Chem* 274 : 3834—3841, 1999.
 - 5) **Simon A, Lagercrantz J, Bajalica-Lagercrantz S, Eriksson U** : Primary structure of human 11-cis retinol dehydrogenase and organization and chromosomal localization of the corresponding gene. *Genomics* 36 : 424—430, 1996.
 - 6) **Yamamoto H, Simon A, Eriksson U, Harris E, Berson EL, Dryja TP** : Mutations in the gene encoding 11-cis retinol dehydrogenase cause delayed dark adaptation and fundus albipunctatus. *Nat Genet* 22 : 188—191, 1999.
 - 7) **Wada Y, Abe T, Fuse N, Tamai M** : A frequent 1085 delC/insGAAG mutation in the RDH 5 gene in Japanese patients with fundus albipunctatus. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 41 : 1894—1897, 2000.
 - 8) **Gonzalez-Fernandez F, Kurz D, Bao Y, Newman S, Conway BP, Young JE, 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.
 - 9) **Nakamura M, Hotta Y, Tanikawa A, Terasaki H, Miyake Y** : A high association with cone dystrophy in fundus albipunctatus caused by mutations of the RDH 5 gene. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 41 : 3925—32, 2000.
 - 10) 堀口正之 : 網膜白点症, 本田孔士(監修) : 網膜. メジカルビュー社, 東京, 244—246, 1999.
 - 11) **Dryja TP, McGee TL, Reichel E, Hahn LB, Cowley GS, Yandell DW, et al** : A point mutation of the rhodopsin gene in one form of retinitis pigmentosa. *Nature* 343 : 364—366, 1990.
 - 12) **Maw MA, Kennedy B, Knight A, Bridges R, Roth KE, Mani EJ, et al** : Mutation of the gene encoding cellular retinaldehyde-binding protein in autosomal recessive retinitis pigmentosa. *Nat Genet* 17 : 198—200, 1997.
 - 13) **Morimura H, Berson EL, Dryja TP** : Recessive mutations in the RLBP 1 gene encoding cellular retinaldehyde-binding protein in a form of retinitis punctata albescens. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 40 : 1000—1004, 1999.
 - 14) **Miyake Y, Shiroyama N, Sugita S, Horiguchi M, Yagasaki K** : Fundus albipunctatus associated with cone dystrophy. *Br J Ophthalmol* 76 : 375—379, 1992.
 - 15) 貞松良成, 早川むつ子, 河北万祐美 : 非定型的眼底白点症の一例. 厚生省特定疾患網脈絡膜萎縮症調査研究班平成6年度研究報告書 : 152—153, 1995.
 - 16) 片岡晶子, 早川むつ子, 貞松良成, 高橋康造, 邱慧, 藤木慶子, 他 : 異なる眼底所見を呈した眼底白点症の3症例. *臨眼* 50 : 963—967, 1996.