

膠様滴状角膜ジストロフィ患者における *membrane component, chromosome 1, surface marker 1* 遺伝子変異の解析

矢島 寿広, 藤木 慶子, 村上 晶, 中安 清夫

順天堂大学医学部眼科学教室

要 約

目的: 膠様滴状角膜ジストロフィの患者, およびその家系内の正常者の *membrane component, chromosome 1, surface marker 1 (MIS1)* 遺伝子について遺伝子解析を行った。

対象と方法: 順天堂大学眼科および聖路加国際病院眼科で経過観察中の 7 家系 11 名の患者と, 家系内の正常者 18 名を解析した。

結果: 1 家系を除き, すべての患者に *MIS1* 遺伝子のコドン 118 の 1 番目の塩基の C が T に変わる一塩基置換によりグルタミンがストップコドンに変わる変異をホモに持つ Q118X ホモ接合体, 15 名の家系内正常者はヘテロ接合体であることが確認できた。残る 1 家系に

は, *MIS1* 遺伝子のアミノ酸コード領域とプロモータ領域には変異が検出されなかった。

結論: 変異を確認した 6 家系 10 名の患者の家系内の検索では, Q118X 変異の遺伝子型と表現型は疾患と連鎖していた。変異を検出し得なかった 1 家系の患者の臨床像と角膜の病理組織学的所見には他の膠様滴状角膜ジストロフィとの差はなかった。(日眼会誌 106: 265-272, 2002)

キーワード: 膠様滴状角膜ジストロフィ, *MIS1* 遺伝子, 遺伝子解析, Q118X 変異, ホモ接合体

Gelatinous Drop-like Corneal Dystrophy: Mutation Analysis of *Membrane Component, Chromosome 1, Surface Marker 1*

Toshihiro Yajima, Keiko Fujiki, Akira Murakami and Kiyoo Nakayasu

Department of Ophthalmology, Juntendo University School of Medicine

Abstract

Purpose: To investigate mutation in *membrane component, chromosome 1, surface marker 1 (MIS1)* gene for patients and unaffected relatives of gelatinous drop-like corneal dystrophy (GDLD).

Materials and Methods: We performed mutation analysis for 11 patients and 18 unaffected relatives from 7 unrelated families with GDLD. They were followed at the Department of Ophthalmology, Juntendo University, Tokyo, and St. Luke's International Hospital, Tokyo.

Results: Ten patients including the affected members of 6 families were detected to be homozygotes by transition of a C to T at nucleotide position 352, replacing a glutamine at codon 118 with a stop codon (Q118X), and unaffected relatives were hetero-

ozygous for the mutation. One patient and his parents and brother from one family have had no mutation in open reading frame of the *MIS1* gene.

Conclusions: In these 6 families the genotypes of Q118X mutation on *MIS1* gene were co-segregated with the phenotype. For the patients who have had no mutation, we need further investigation of the 5' upper site, and it is possible that there is another candidate gene for GDLD. (J Jpn Ophthalmol Soc 106: 265-272, 2002)

Key words: Gelatinous drop-like corneal dystrophy, *MIS1* gene, Q118X mutation, homozygote

別刷請求先: 150-8935 東京都渋谷区広尾 4-1-22 日本赤十字社医療センター眼科 矢島 寿広
(平成 13 年 9 月 7 日受付, 平成 13 年 12 月 27 日改訂受理)

Reprint requests to: Toshihiro Yajima, M. D. Department of Ophthalmology, Japanese Red Cross Medical Center.
4-1-22 Hiroo, Shibuya-ku, Tokyo 150-8935, Japan

(Received September 7, 2001 and accepted in revised form December 27, 2001)

I 緒 言

膠様滴状角膜ジストロフィは角膜上皮下, および実質浅層へのアミロイドの沈着を本態とする常染色体劣性の遺伝性角膜疾患であり, 1914 年に中泉¹⁾により初めて報告された疾患である. その後, 久保木²⁾が兄弟で同様な角膜変化を示した症例を報告し, 1932 年に膠様滴状角膜変性症の名称で清沢³⁾が初めて報告した. その多くは幼少時から角膜表面に小さな乳白色調の隆起物が出現し, 羞明, 異物感など刺激症状が強く徐々に視力低下を来す. しかし, 角膜の病巣に特徴的である膠様乳白色調の隆起物が出現するまでに, 角膜びらんが上皮下に混濁や時には血管侵入がみられ, また, 角膜の変化が左右相同性をほとんど示さないために, しばしば診断を誤ることがあると眞鍋⁴⁾や金井⁵⁾, Kanai⁶⁾は報告している. 本症の報告はほとんどが我が国からで, これまでの報告例と順天堂大学眼科での自験例を加えて, Fujiki⁷⁾はその発症頻度を 31,500 人に 1 人と推測している. その後, 河野⁸⁾は全国調査を行い, 木村⁹⁾の式を用いて近親婚率から発症頻度を 33,000 人に 1 人と推測した.

近年, Tsujikawa^ら¹⁰⁾による連鎖解析により本症の原因遺伝子が 1 番染色体短腕(1p)にマップされ, さらに, ポジショナルクローニング法により *membrane component, chromosome 1, surface marker 1(MISI)* 遺伝子がクローニングされ¹¹⁾, Q 118 X, 632 delA, Q 207 X, S 170 X の 4 種類の変異が確認された¹¹⁾. *MISI* 遺伝子は gastrointestinal tumor-associated antigen をコードする 323 個のアミノ酸から成る単エクソンの遺伝子で¹²⁾, 角膜のみならず, 腎臓, 肺, 胎盤, 脾臓, 前立腺などでも発現しているが¹¹⁾, その機能は未だ不明である.

今回, 我々は順天堂大学眼科および聖路加国際病院眼科で経過観察中の 7 家系 11 名の患者と, 家系内の正常者 18 名を解析した.

II 対象と方法

インフォームド・コンセントを得た上で, Ha^ら¹³⁾により報告された 1 家系を含む, 典型的な臨床所見を有する膠様滴状角膜ジストロフィ 7 家系の患者 11 名, 家系内正常者 18 名の末梢血を採取し白血球から Nucleic Acid Extraction Kit (ORCA Research Inc, WA, 米国)を用いて DNA を抽出した. アミノ酸コード領域には *MISI* 特異的プライマー¹¹⁾を用いて, プロモータ領域は GenBank アクセス番号 X 77753 の配列から新たにプライマー (M1S1P1F: 5'-CGGCTTTCGGTCCGGAGGAG-3', M1S1P1R: 5'-GGCGGATGAGGCGCGGG-3') を作製し, polymerase chain reaction (PCR) 法により *MISI* 遺伝子断片を増幅した. PCR 産物を High Pure PCR Product Purification Kit (Roche Diagnostics Corp. Mannheim, ドイツ)を用いて精製後, Dye Terminator

Cycle Sequencing, Ready Reaction (Applied Biosystems, CA, 米国)で terminator 反応を行い蛍光ラベルし, 自動シーケンサー (ABI 373 A Sequencer, Parkin Elmer Applied Biosystems, 米国)を用いて直接塩基配列を決定した. また, Q118X 変異の確認については, PCR 産物を制限酵素 *Bsr I* (New England Biolabs Inc, MA, 米国)で消化後, アガロースゲル電気泳動により確認を行った. 一部の症例は Fujiki^ら¹⁴⁾の報告した方法で, 常染色体優性角膜ジストロフィの原因遺伝子である *TGFBI* (別名 *BIGH3*) 遺伝子についても, 全エクソンを PCR で増幅し, 直接塩基配列から変異の有無を調べた.

患者 11 名中 9 名は角膜移植を行い, 得られた被移植角膜組織を半分に分け, 一つは光学顕微鏡用に切片を作製し, ヘマトキシリン・エオジン (HE) 染色, Congo red 染色, ならびに過マンガン酸カリウム処理後 Congo red 染色を行い観察した. また, 残りの半分は透過電子顕微鏡 (TEM) 用として, 2.5% グルタルアルデヒド溶液 (リン酸緩衝液 pH 7.4) で固定し, その後 2% オスミウム酸溶液 (リン酸緩衝液 pH 7.4) で後固定した. 次に, エタノール系列で脱水後 epon 樹脂で包埋し超薄切片を作製した. さらに, 酢酸ウラン・クエン酸鉛による二重染色後, 日立 H-7100 型 TEM で検鏡した. また, 一部の症例は抗ラクトフェリン抗体による染色も行った. これは光学顕微鏡用に作製した切片を脱パラフィンし, 抗ラクトフェリン抗体 (ダコ, ジャパン) を 1,000 倍希釈したもので 4°C で 1 晩反応させ, さらに, アビジン・ビオチン・ペルオキシダーゼ法であるダコ LSAB 2 キットで染色したものを検鏡した.

III 結 果

1. 遺伝子解析

今回検索を行った 7 家系 (図 1) 中 6 家系 10 名の患者は, *MISI* 遺伝子のコドン 118 の 1 番目の塩基の C が T に変わる一塩基置換 (CAG → TAG) により, グルタミンがストップコドンに変わる変異をホモに持つ Q118X ホモ接合体 (図 2 上段) であった. さらに, この患者の家系内で検索できた両親および正常者はヘテロ接合体 (図 2 下段) で, Q118X 変異の遺伝子型と表現型は疾患と連鎖していた. PCR 産物を制限酵素 *Bsr I* で消化後, アガロースゲル電気泳動を行うと Q118X 変異をホモにもつ患者は認識部位を失い切断されず 236 bp のまま残り, 正常野生型は 189 bp と 47 bp に切断される. ヘテロ保因者は 236 bp と 189 bp の 2 本のバンドとして確認される (図 3). 家系 No. 2 の患者は膠様滴状角膜ジストロフィが強く疑われたが, 本人および両親, 弟に Q118X の変異はなく, *MISI* 遺伝子のアミノ酸コード領域と, プロモータ領域を含む 5' 側 273 塩基にも異常はなかった. また *TGFBI* 遺伝子のアミノ酸コード領域に

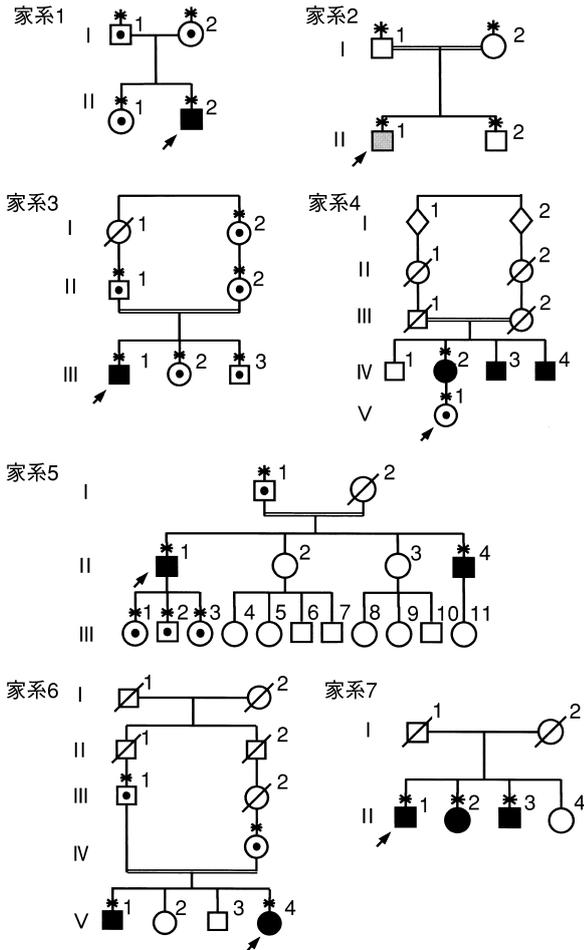


図 1 遺伝子検索を行った 7 家系の家系図。

- ：本症患者，*membrane component, chromosome 1, surface marker 1 (MISI)* 遺伝子 Q118X のホモ接合体。
- ：MISI 遺伝子のみられなかった本症疑いの患者。
- ◎：MISI 遺伝子の Q118X のヘテロ接合体。＊：臨床検査および分子生物学的検査済み。∅：死亡 M：100 bp DNA マーカー。C：正常者

も変異は検出されなかった。

2. 病理組織学的検索

1) 光学顕微鏡所見

9 例の病理組織学的検索の HE 染色では上皮下から角膜実質浅層にかけて、均一無構造の変性物質の沈着がある。Congo red 染色ではこの変性物質が陽性を示し、偏光顕微鏡下で緑色偏光を示した。また、過マンガン酸カリウム処理後の Congo red 染色でも抵抗性を持ち偏光を示した(図 4)。この変性物質により角膜上皮は圧迫され数層に菲薄化し、ポウマン膜は消失していた。抗ラクトフェリン抗体による染色は、遺伝子検索で *MISI* 遺伝子に変異のなかった家系 No. 2 の患者と *MISI* 遺伝子に Q118X の変異のあった患者 2 例に対して行った。どちらもアミロイド物質が陽性に染色された(図 5)。

2) 透過電子顕微鏡所見

角膜上皮突出部は上皮下から実質浅層までアミロイド物質が占めている。アミロイド物質は直径約 10 nm の

方向性を持たない直線状の細線維の集合体として存在し(図 6)、これにより圧迫され隣接する角膜上皮細胞層は数層となり菲薄化している。基底細胞に接したヘミデスマゾームや基底膜、さらにポウマン膜は消失していた。

IV 考 按

MISI 遺伝子は thyroglobulin type I repeat unit に相同性を示す部位をもっている。この repeat は 3 種類あり、type I はその中でも 10 回の repeat がみられているが、*MISI* 遺伝子はその中でも *thyroglobulin* 遺伝子の exon-8 にある 4 番目の repeat と高い相同性を示している。また、インターロイキン 2(IL-2) 成長因子受容体の α subunit に相同性を示す部位がある。このような遺伝子間のエクソンのシャプリングは、その遺伝子の進化の過程で起こってくるものと考えられている¹¹⁾¹²⁾¹⁵⁾。

MISI の C 末端部は phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate(PIP 2)-binding sequence を持っている。このことから、*MISI* の C 末端部にある serine 303 が protein kinase C によってリン酸化されることにより何らかのシグナルの導入に役割を果たしていると考えられている¹⁶⁾。今回、我々の遺伝子解析により得られた Q118X 変異は、グルタミンがストップコドンに変化している。この変異により *MISI* は全く構成されないか、あるいは短い異常なペプチドのみしか存在しないために *MISI* の機能不全となり、アミロイドの沈着が起こっている可能性が高いと考えられるが、その病態は明らかにされていない。

Tsujikawa ら¹⁰⁾¹¹⁾¹⁷⁾によれば、我が国における本症患者の Q118X 変異は alleles の 90% である。さらに、多型マーカーを使つての haplotype 分析の結果から、患者と特定マーカーとの間に連鎖不均衡があること、本症は日本人に多くみられ、外国では稀であることから、Q118X 変異は創始者効果によるものであることを報告した。今回の我々の解析でも 7 家系中 6 家系に *MISI* 遺伝子の変異があり、全員が Q118X 変異のホモ接合体であった。Tsujikawa ら¹¹⁾の報告した 632 delA, Q 207-X, S 170 X の変異は今回の解析ではなかった。また、Q118X 変異のあった 6 家系中 4 家系が血族結婚であった。

膠様滴状角膜ジストロフィは角膜上皮下、および実質浅層へのアミロイドの沈着を本態とする疾患である。膠様滴状角膜ジストロフィ以外の原発性の角膜アミロイドーシスとしては、*TGFBI* 遺伝子異常による格子状角膜ジストロフィ I 型や IIIA 型が原疾患として考えられている。一部の非典型例や *TGFBI* 変異のホモ接合体では、臨床的に膠様滴状角膜ジストロフィとの鑑別が難しくなる可能性もある^{18)~20)}。続発性の角膜アミロイドーシスは、1966 年に Stafford ら²¹⁾が未熟児網膜症の水晶体後部線維増殖症にみられた症例を初めて報告した。

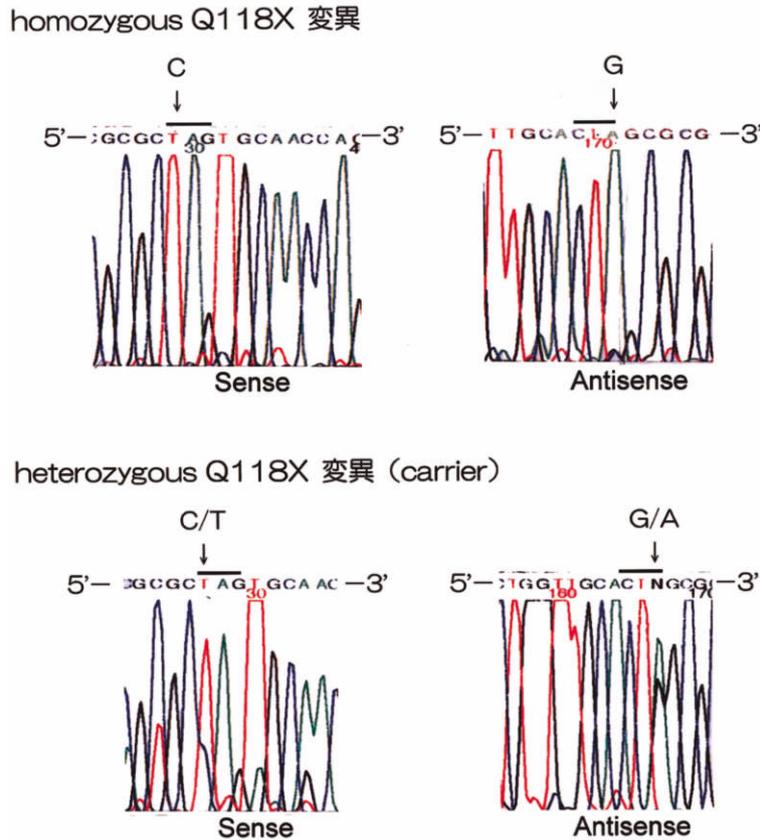


図 2 自動シーケンサーによる Q118X 変異(家系 No. 1).

Q118X の変異をホモにもつ患者はコドン 118 の 1 番目の塩基の C が T に変わる一塩基置換(CAG → TAG)によりグルタミンがストップコドンに変わる変異を示す(上段)。ヘテロ保因者の結果を下段に示す。

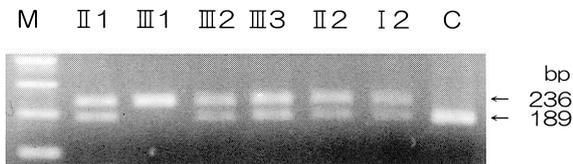


図 3

Q118X の変異の確認のために PCR 産物を制限酵素 *Bsr* I で消化後、アガロースゲル電気泳動した家系 No. 3 の結果を示す。変異をホモにもつ患者は認識部位を失い切断されず 236 bp のまま残る。正常野生型は 189 bp と 47 bp に切断される。ヘテロ保因者は 236 bp と 189 bp の 2 本のバンドとして確認される。

以来、続発性に角膜アミロイドーシスを発症するものはいくつか原疾患の報告があり、睫毛乱生によるもの^{22)~27)}、外傷²⁸⁾、梅毒²⁹⁾、円錐角膜³⁰⁾などがある。

アミロイドーシスの病型分類は、近年アミロイド蛋白の種類を基準にして行われるようになった。内野ら³¹⁾によれば、① 原発性アミロイドーシスと多発性骨髄腫に伴うアミロイドーシス：免疫グロブリン L 鎖由来の AL 蛋白が沈着するもの、② 続発性アミロイドーシス：アミロイドーシスの線維蛋白が AA 蛋白であるもの、③ 遺伝性(家族性)アミロイドーシス：prealbumin 由来のアミロイド蛋白が沈着するもの、④ 局所性アミロイド

ーシス：内分泌臓器に沈着するもの・AE アミロイド：老人性心アミロイドーシス・Asc アミロイド：皮膚に沈着するアミロイド・AD アミロイド、などがあげられる。AA 蛋白は過マンガン酸カリウム処理後に Congo red 染色を行うと、その染色性を失う³²⁾。この方法を用いれば AA 蛋白か、その他の蛋白かを区別することができる。

膠様滴状角膜ジストロフィに沈着したアミロイドの検索を行った報告は過去に 2 つある。Mondino ら³³⁾の報告では蛍光抗体法で AA 蛋白でも AL 蛋白でもなく、protein AP を確認している。Akiya ら³⁴⁾は過マンガン酸カリウムの抵抗性のみを検索し抵抗性を示したため、AA 蛋白であることを否定している。続発性の角膜アミロイドーシスでアミロイド蛋白の同定を試みた報告のうち、特定のアミロイド蛋白を同定できたものは少なく、1999 年に阿曾ら²⁷⁾の報告した睫毛乱生症の 2 例で AL 蛋白が同定されている。前述したように AL 蛋白は原発性アミロイドーシスの大部分、多発性骨髄腫に伴うアミロイドーシスに現れるアミロイド蛋白で、これが睫毛乱生症の角膜に続発性に沈着した原因は明らかにされていない。

Q118X 変異の検出されなかった、家系 2 の患者は両親がいとこ結婚で、細隙灯顕微鏡所見では、右眼は角膜中央部の直径 3 mm 内に上皮下の軽度混濁と小さい半

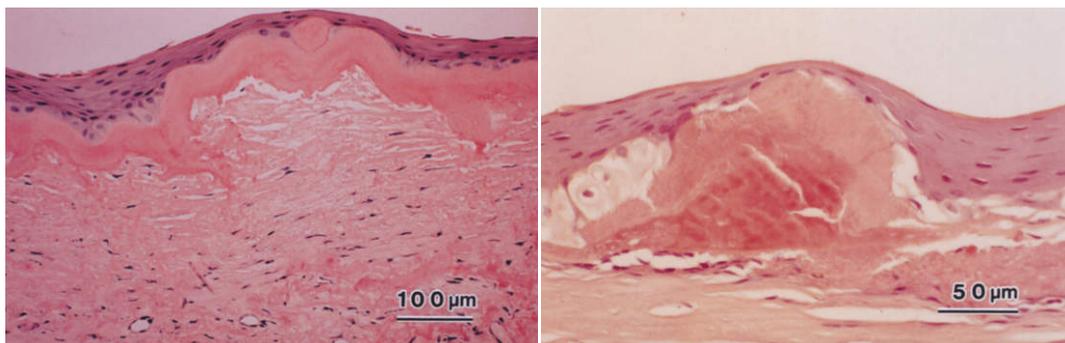


図 4 過マンガン酸カリウム処理後 Congo red 染色.

左：角膜光学顕微鏡写真(Q118X 変異のあった患者)($\times 100$)，右：角膜光学顕微鏡写真(家系 No 2 の患者)($\times 50$)

左右の写真ともに角膜上皮から角膜前層にかけて，均一無構造の変性物質が Congo red 染色に陽性に染色している。

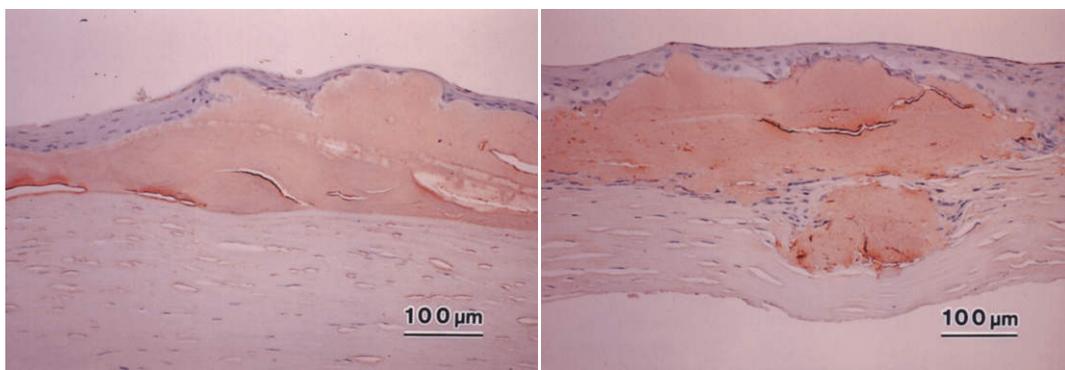


図 5 抗ラクトフェリン抗体染色.

左：Q118X 変異のあった患者($\times 50$)，右：家系 No 2 の患者($\times 50$)

Q118X 変異のあった患者，家系 No 2 の患者ともに角膜上皮から角膜前層にかけて，均一無構造の変性物質が抗ラクトフェリン抗体に陽性に染色している。

球状の凹凸不正の沈着物が存在した。左眼は角膜中央部のやや下方直径 4 mm 内に，小さい半球状で乳白色調の上皮下沈着物が散在し，実質前層に薄いびまん性の混濁が存在していた(図 7)。続発性の角膜アミロイドーシスの原疾患である外傷，梅毒，円錐角膜，あるいは睫毛乱生症は臨床的に否定されている。また，*TGFBI* の変異も検出されていないので，格子状角膜ジストロフィ，アベリノ型ジストロフィあるいはそれら亜型は否定的である。

沈着したアミロイドは Q118X 変異のあった患者と同様，過マンガン酸カリウム抵抗性を示し(図 4)，抗ラクトフェリン抗体に陽性に染色された(図 5)。これまでのアミロイドーシスの同定を試みた角膜のアミロイドーシスの報告から考えると，過マンガン酸カリウムに抵抗性を示しても，Mondino ら³³⁾の報告のように AL 蛋白が同定されないこともある。また，睫毛乱生症に続発した角膜のアミロイドーシスでも AL 蛋白が同定される²⁷⁾こともある。ラクトフェリンは涙腺由来の蛋白質³⁵⁾で涙液中に，大量に含まれる蛋白質である。その働きには鉄イ

オンを吸着することによる非特異的な静菌作用や，細胞増殖の促進作用，DNA 合成などがあげられる^{36)~38)}。Klintworth ら³⁹⁾は膠様滴状ジストロフィの沈着物がラクトフェリンであることを報告した。また，2001 年には Haraoka らが睫毛乱生による続発性の角膜アミロイドーシスの角膜沈着物質がラクトフェリンであることを発表(IXth International Symposium on amyloidosis. July 15~21, 2001. Budapest Hungary, Abstract Book p 224)している。したがって，過マンガン酸カリウム抵抗性や，抗ラクトフェリン抗体の染色からでは原発性疾患，続発性疾患を区別することはできない。

TEM 写真(図 6)からでは，家系 No. 2 の症例は膠様滴状角膜ジストロフィに特徴的な所見が得られ，臨床的，病理組織学的には Q118X 変異のあった患者と，Q118X 変異のなかった家系 No 2 の患者に差はなく，膠様滴状角膜ジストロフィが強く疑われている。家系 No. 2 の患者ならびにその家族は *MISI* 遺伝子のアミノ酸のコード領域と，プロモータ領域を含む 5' 側非コード領域の 273 塩基対についてシークエンス法により解析を

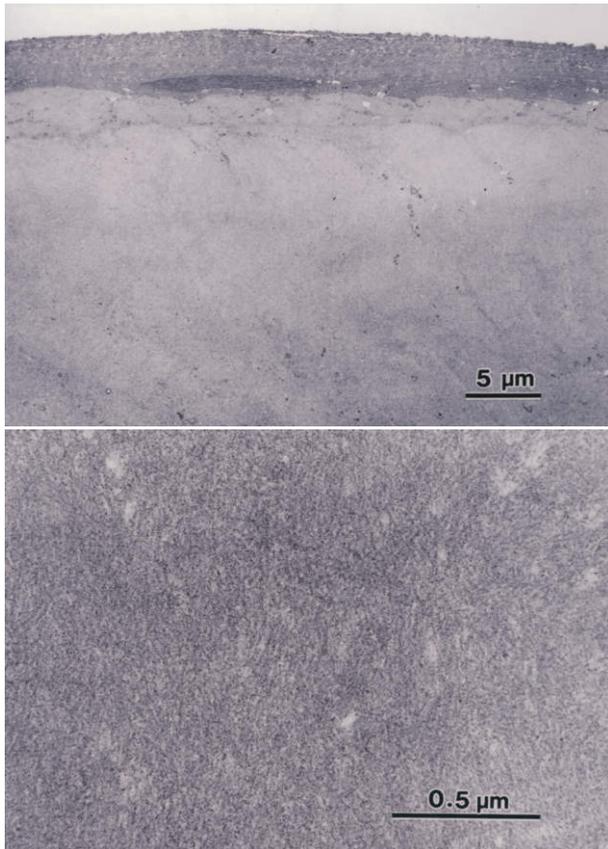


図 6 透過電子顕微鏡(TEM)写真(家系 No 2 の患者)。
上：角膜上皮下アミロイド層の弱拡大。上皮下から実質前層までアミロイド物質がほとんど占めている。アミロイド物質に圧迫され隣接する上皮細胞は扁平化し、基底細胞層から基底膜さらにポウマン氏膜は消失している。
下：アミロイド線維の強拡大。方向性はなく、ほぼ直線状の直径約 10 nm の線維の集合体が錯綜しているのがみられる。

行ったが、明らかな変化は検出できなかった。5'側非コード領域のさらに上流に、異常のある可能性はあるが、現時点ではその領域についての構造は不明である。

現時点では本症で検出されている変異はすべて異常な位置に停止コドンができる変異であり、この家系での角膜混濁への *MISI* の関与の有無を明確にするには、Tsuji-kawa ら¹⁷⁾の用いている protein truncation test (PTT) による解析を用いた蛋白コード領域の変異の再確認や、組織での *MISI* mRNA 発現の解析が有用であると思われる。

また、頻度は少ないが、*MISI* 遺伝子以外の遺伝子異常が関与している可能性もあり、今後の検討が必要である。

V 結 語

膠様滴状角膜ジストロフィの 7 家系 11 名の患者と、家系内の正常者 18 名を解析した。その結果、6 家系 10 名の患者は *MISI* 遺伝子の Q118X 変異のホモ接合体であった。この家系内の正常者 15 名はヘテロ接合体であった。また、これら患者の家系内検索では Q118X 変異の遺伝子型と表現型は疾患と連鎖していた。しかし、患者 1 名については今回の解析で *MISI* 遺伝子のプロモータ領域とアミノ酸コード領域に異常はなかった。

稿を終えるに当たりご校閲をいただきました順天堂大学医学部眼科学教室の金井 淳教授、また実験にご協力いただいた、順天堂大学医学部臨床病理学教室の山田俊幸助教授、鳥取大学医学部眼科学教室の長田正夫助教授、聖路加国際病院眼科の山口達夫先生、順天堂大学医学部眼科学教室研究室の皆様様に深謝いたします。

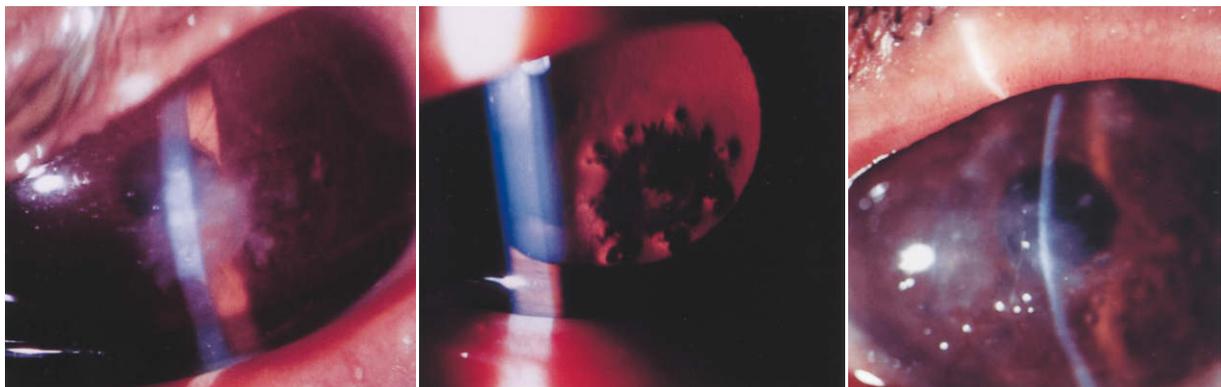


図 7

左：(家系 No 2 の患者)・細隙灯顕微鏡写真。中央部のやや下方に実質前層の薄い混濁と、その周囲に小さい半球状で乳白色調の上皮下沈着物がある。
中央：(家系 No 2 の患者)・角膜徹照写真。細隙灯顕微鏡写真に一致した部位の徹照写真。細隙灯顕微鏡写真に比べ凹凸が明瞭である。中央部に直径 4 mm の薄い膨隆とその周囲に小さい半球状の凹凸が存在する。
右：(Q118X 変異のあった患者)・細隙灯顕微鏡写真。中央部からやや下方に直径 5 mm ほどの実質前層の混濁と、その周囲に小さい半球状で乳白色調の上皮下沈着物が存在する。

文 献

- 1) 中泉行徳：稀有ナル角膜変状ニ就テ。日眼会誌 18 : 949—950, 1914.
- 2) 久保木保涛：一種の角膜変性症。日眼会誌 23 : 871—879, 1919.
- 3) 清沢又四郎：一種の家族性角膜変性(膠様滴状角膜変性)に就きて。日眼会誌 36 : 1634—1645, 1932.
- 4) 眞鍋礼三, 村井保一, 小山直子：膠様滴状角膜変性症。眼紀 25 : 771—775, 1974.
- 5) 金井 淳：膠様滴状角膜ジストロフィの臨床像。あたらしい眼科 4 : 1669—1675, 1987.
- 6) Kanai A, Kaufman H : Electron microscopic studies of primary band-shaped keratopathy and gelatinous, drop-like corneal dystrophy in two brothers. *Ann Ophthalmol* 14 : 535—539, 1982.
- 7) Fujiki K, Kanai A, Nakajima A : Frequency of gelatinous drop-like corneal dystrophy in Japanese population. (Abstract) 7th Int Cong Hum Genet, Berlin 248—249, 1986.
- 8) 河野博之, 藤木慶子, 金井 淳：膠様滴状角膜ジストロフィの発症頻度。あたらしい眼科 9 : 1879—1882, 1992.
- 9) 木村資生：近親婚についての集団遺伝学的理論。人遺誌。33 : 51—70, 1958.
- 10) Tsujikawa M, Kurahashi H, Tanaka T, Okada M, Yamamoto S, Maeda N, et al : Homozygosity mapping of a gene responsible for gelatinous drop-like corneal dystrophy to chromosome 1 p. *Am J Hum Genet* 63 : 1073—1077, 1998.
- 11) Tsujikawa M, Kurahashi H, Tanaka T, Nishida K, Shimomura Y, Tano Y, et al : Identification of the gene responsible for gelatinous drop-like corneal dystrophy. *Nat Genet* 21 : 420—423, 1999.
- 12) Linnenbach AJ, Wojcierowski J, Wu S, Pyrc JJ, Ross AH, Dietzschold B, et al : Sequence investigation of the major gastrointestinal tumor-associated antigen gene family, GA 733. *Proc Natl Acad Sci USA* 86 : 27—31, 1989.
- 13) Ha NT, Fujiki K, Hotta Y, Nakayasu K, Kanai A : Q118X mutation of *MISI* gene caused gelatinous drop-like corneal dystrophy : The P501T of *BIGH3* gene found in a family with gelatinous drop-like corneal dystrophy. *Am J Ophthalmol* 130 : 119—120, 2000.
- 14) Fujiki K, Hotta Y, Nakayasu K, Yamaguchi T, Kato T, Uesugi Y, et al : Six different mutations of *TGFBI* (β ig-h 3, Keratoepithelin) gene found in Japanese corneal dystrophies. *Cornea* 19 : 842—845, 2000.
- 15) Malthiery Y, Lissitzky S : Primary structure of human thyroglobulin deduced from the sequence of its 8448-base complementary DNA. *Eur J Biochem* 165 : 491—498, 1987.
- 16) El-Sewedy T, Fornaro M, Alberti S : Cloning of the murine *TROP2* gene : Conservation of a PIP₂-binding sequence in the cytoplasmic domain of TROP-2. *Int J Cancer* 75 : 324—330, 1998.
- 17) Tsujikawa M, Tsujikawa K, Maeda N, Watanabe H, Inoue Y, Mashima Y, et al : Rapid detection of *MISI* mutations by the protein truncation test. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 41 : 2466—2468, 2000.
- 18) 西村三恵子, 江本一郎, 藤木慶子, 金井 淳, 中島 章：膠様滴状角膜変性症の臨床像。あたらしい眼科 1 : 415—417, 1984.
- 19) 眞島行彦：分子遺伝学からみた角膜実質ジストロフィ(最近の知見)。日本の眼科 70 : 1145—1148, 1999.
- 20) Mashima Y, Konishi M, Nakamura Yu, Imamura Y, Yamada M, Ogata T, et al : Severe form of juvenile corneal stromal dystrophy with homozygous R124H mutation in the keratoepithelin gene in five Japanese patients. *Br J Ophthalmol* 82 : 1280—1284, 1998.
- 21) Stafford WR, Fine BS : Amyloidosis of the cornea. *Arch Ophthalmol* 75 : 53—56, 1966.
- 22) Takahashi T, Kondo T, Isobe T, Okada S : A case of corneal amyloidosis. *Acta Ophthalmol* 61 : 150—156, 1983.
- 23) Hayasaka S, Setogawa T, Ohmura M : Secondary localized amyloidosis of the cornea caused by trichiasis. *Ophthalmologica* 194 : 77—81, 1987.
- 24) 眞島行彦, 明尾 潔, 気賀沢一輝, 秋谷 忍：睫毛乱生症による角膜アミロイドーシス。臨眼 41 : 366—367, 1987.
- 25) 気賀沢一輝, 眞島行彦, 尾形徹也, 田代征夫：睫毛乱生症に続発した角膜アミロイドーシスの病理組織学的検討。日眼会誌 100 : 394—400, 1996.
- 26) 清水敬一郎, 谷 瑞子, 野田 徹, 尾山直子, 秦誠一郎, 中村真理子, 他：興味ある病型を示した睫毛乱生による続発性角膜アミロイドーシスの2症例。眼紀 47 : 1314—1318, 1996.
- 27) 阿曾香子, 若倉雅登：睫毛乱生症に続発した角膜アミロイドーシス—第1報 凍結切片によるアミロイド L 鎖蛋白の検出—。日眼会誌 103 : 754—760, 1999.
- 28) Collyer RT : Amyloidosis of the cornea. *Can J Ophthalmol* 3 : 35—38, 1968.
- 29) Hill JC, Maske R, Bowen RM : Secondary localized amyloidosis of the cornea associated with tertiary syphilis. *Cornea* 9 : 98—101, 1990.
- 30) Stern GA, Knapp A, Hood CI : Corneal amyloidosis associated with keratoconus. *Ophthalmology* 95 : 52—55, 1988.
- 31) 内野文彌, 亀井敏昭：アミロイドーシスの概念。大橋 勝(編)：アミロイドーシス—皮膚と全身—。名古屋大学出版会, 名古屋, 1—11, 1987.
- 32) Wright JR, Calkins E., Humphrey RL, : Potassium permanganate reaction in amyloidosis. *Lab Invest* 36 : 274—281, 1977.
- 33) Mondino BJ, Rabb MF, Sugar J, Sundar Raj CV, Brown SI : Primary familial amyloidosis of the cornea. *Am J Ophthalmol* 92 : 732—736, 1981.
- 34) Akiya S, Furukawa H, Sakamoto H, Takahashi

- H, Sakka Y** : Histopathologic and immunohistochemical findings in gelatinous drop-like corneal dystrophy. *Ophthalmic Res* 22 : 371—376, 1990.
- 35) **Janssen PT, van Bijsterveld OP** : Origin and biosynthesis of human tear fluid proteins. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 24 : 623—630, 1983.
- 36) **Cox TM, Mazurier J, Spik G, Montreuil J, Peters TJ** : Iron binding proteins and influx of iron across the duodenal brush border. *Biochim Biophys Acta* 588 : 120—128, 1979.
- 37) **Hashizume S, Kuroda K, Murakami H** : Identification of lactoferrin as an essential growth factor for human lymphocytic cell lines in serum-free medium. *Biochim Biophys Acta* 763 : 377—382, 1983.
- 38) **Nichols BI, McKee KS, Henry JF, Putaman M** : Iron is not required in the lactoferrin stimulation of thymidine incorporation into the DNA of rat crypt enterocytes. *Pediatr Res* 21 : 563—567, 1987.
- 39) **Klintworth GK, Valnickova Z, Kielar RA, Baratz KH, Campbell RJ, Enghild JJ** : Familial subepithelial corneal amyloidosis—a lactoferrin-related amyloidosis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 38 : 2756—2763, 1997.
-