

家系調査から可能であった第 1 色弱女児の赤・緑視物質遺伝子型の同定

林 孝彰, 尾本 聡, 久保 朗子, 西尾 佳晃, 北原 健二

東京慈恵会医科大学眼科学教室

要 約

目 的：発端者である第 1 色弱の女児における赤・緑視物質遺伝子の遺伝子型について検討した。

対象と方法：対象は、発端者およびその弟と両親である。色覚異常の程度判定に panel D-15 を用い、強度と軽度に分類した。異常 3 色型色覚と 2 色型色覚の診断にはアノマロスコープを用いた。定量的 polymerase chain reaction-single-strand conformation polymorphism 法を用い、赤・緑視物質遺伝子の遺伝子型を決定した。

結 果：色覚検査の結果、発端者は軽度第 1 色弱、弟は第 1 色盲(強度)、父親は強度第 1 色弱、母親は色覚正常と診断された。遺伝子解析で、弟は 3 つの緑視物質遺伝子に加え赤緑融合遺伝子(R1G2, セリン 180)を有し、

父親は 1 つの緑視物質遺伝子に加え赤緑融合遺伝子(R4G5, セリン 180)を有していた。

結 論：女性の赤・緑視物質遺伝子の遺伝子型を直接分離し同定することは不可能である。本研究で、発端者の遺伝子型が、吸収波長特性の異なる 2 種類(R1G2 と R4G5)の複合ヘテロ接合体から成り立っていることを両親と弟の遺伝子解析により証明した。(日眼会誌 108 : 489—495, 2004)

キーワード：女性色覚異常, 第 1 異常, 赤・緑視物質遺伝子, 複合ヘテロ接合体, X 連鎖性劣性遺伝

A Protanomalous Female whose Genotype of Red/green Visual Pigment Genes was Determined by Molecular Analysis of Her Family Members

Takaaki Hayashi, Satoshi Omoto, Akiko Kubo, Yoshiteru Nishio and Kenji Kitahara

Department of Ophthalmology, Jikei University School of Medicine

Abstract

Purpose : To determine X-linked red/green visual pigment gene arrays of a female proband with protan deficiency.

Methods : We examined a brother and both parents as well as the proband. Severity, severe or mild form, of color vision deficiency was estimated with either failure or passing of the Farnsworth Panel D-15 test. Diagnosis of either anomalous trichromacy or dichromacy was performed using a Nagel Type I anomaloscope. Genotypes of red/green visual pigment genes were determined by quantitative polymerase chain reaction-single strand conformation polymorphism analysis.

Results : Color vision tests revealed that the proband, her brother, her father, and her mother had protanomaly(mild form), protanopia, protanomaly(severe form), and normal color vision, respectively. In analysis of gene arrays, the brother

had a red-green hybrid gene(R1G2, Ser 180) and three green visual pigment genes, while the father had a red-green hybrid gene(R4G5, Ser 180) and a green visual pigment gene.

Conclusions : It is impossible to directly determine each paternal or maternal X-linked red/green pigment gene array in the female proband. Molecular analysis of the family members revealed that the proband was a compound heterozygote for two R1G2 and R4G5 hybrid genes encoding photopigments with different absorption maxima.

Nippon Ganka Gakkai Zasshi(J Jpn Ophthalmol Soc 108 : 489—495, 2004)

Key words : Female color vision defects, Protan, Red/green visual pigment genes, Compound heterozygote, X-linked recessive inheritance

別刷請求先：105-8461 東京都港区西新橋 3-25-8 東京慈恵会医科大学眼科学教室 林 孝彰
(平成 15 年 12 月 12 日受付, 平成 16 年 3 月 4 日改訂受理)

Reprint requests to : Takaaki Hayashi, M. D. Department of Ophthalmology, Jikei University School of Medicine, 3-25-8, Nishi-shinbashi, Minato-ku, Tokyo 105-8461, Japan

(Received December 12, 2003 and accepted in revised form March 4, 2004)

I 緒 言

1986年, Nathansら¹⁾は色覚に関する3つの遺伝子, すなわち赤, 緑, 青視物質遺伝子をクローニングし, その塩基配列を決定した. 赤・緑視物質遺伝子(以下, 赤・緑遺伝子)は, X染色体上(Xq 28)に存在し, 赤遺伝子の下流に1つもしくは複数の緑遺伝子が配列している^{1)~3)}. 赤・緑遺伝子は, それぞれ6つのエクソンと5つのイントロンから構成され, 364アミノ酸残基から成る膜蛋白質をコードしており¹⁾, 両者の塩基配列の相同性は98%と極めて高く, アミノ酸レベルで15アミノ酸残基の違いしかない. この中で特に, 180, 277, 285番の3つのアミノ酸残基が赤, 緑視物質の吸収スペクトル特性の違いに影響を与えていると考えられ, 277番と285番のアミノ酸残基はエクソン5に存在し, 赤もしくは緑視物質の特性を決定していることがわかっていく^{4)~7)}.

先天色覚異常の中で最も頻度の高い先天赤緑異常は, 正常赤または緑遺伝子の欠失と赤緑もしくは緑赤融合遺伝子の発現が原因とされ, 融合遺伝子は赤と緑遺伝子の高い相同性のため, 不均等相同組み換えにより生じたものと推察されている⁸⁾. 現在, 第1異常では正常赤遺伝子の代わりに赤緑融合遺伝子の形成⁴⁾⁸⁾が原因であり, 第2異常では緑赤融合遺伝子形成⁴⁾⁸⁾もしくは緑遺伝子の欠失⁴⁾が原因であると考えられている.

先天赤緑異常は, X連鎖性劣性遺伝の形式をとり, 日本における先天赤緑異常の発生頻度は, 男子の場合5%, そして女子は0.2%以下とされている. 本邦における類型別頻度の報告は少ないが, 市川ら⁹⁾が調査した先天赤緑異常の男子5,062例の報告では, 最も少ない第1色盲を1.0とした場合, 第1色弱は2, 第2色盲は2.5, 第2色弱は5であった. 欧米に比べ, 第1色弱と第2色盲の頻度が高い. 一方, 女子の類型別頻度に関して, 1981年, 市川ら¹⁰⁾は名古屋市内の32,948名の小学4年生を対象とした研究で, 先天赤緑異常と診断された女子25名(全体の0.08%)のうち, 1名(4%)が第1色弱, 3名が第2色盲(12%)で, 残り21名(84%)が第2色弱であったと報告している. このように女子の場合, 第2異常が大部分を占め第1異常の頻度は低い.

今回, 我々は第1色弱の女兒を含む1家系について, 赤・緑視物質遺伝子の遺伝子型を定量的 polymerase chain reaction-single-strand conformation polymorphism (PCR-SSCP)法により決定し, 表現型との関係について検討した.

II 対象と方法

1. 対 象

対象は, 発端者である第1色弱の女兒およびその弟と両親である. 全対象者の視力は両眼とも1.2であった.

分子生物学的解析については, 東京慈恵会医科大学ヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理審査会で受理された内容に従いインフォームド・コンセントを得た上で行った.

2. 色 覚 検 査

仮性同色表として, 石原色覚検査表国際版38表(石原表), American Optical-Hardy Rand Ritter test (AO-HRR test), 標準色覚検査表第1部先天異常用 (SPP-1), 東京医大式色覚検査表 (TMC) を用い, 他の色覚検査として The City University test 2nd Edition (TCU test), 市川式ランタンテストを施行した. 色覚異常の程度判定に The Farnsworth panel D-15 (panel D-15) 検査を用い pass したものを軽度, fail したものを強度に分類し, 2色型色覚もしくは異常3色型色覚の診断には Nagel アノマロスコープ I 型 (Schmidt & Haensch 社製) を用いた. アノマロスコープを除く色覚検査は, 習熟した視能訓練士が行い, アノマロスコープについては熟練した眼科医によってなされた.

3. DNA 抽出

ヘパリン添加シリンジに末梢静脈血5~10 ml を採取した. Stratagene 社の DNA Extraction Kit[®] を用い, ゲノム DNA を抽出後, 最終濃度 0.1 μg/μl になるよう Tris-EDTA (pH 8.0) バッファーで希釈し, polymerase chain reaction (PCR) の鋳型 DNA として用いた.

4. PCR-SSCP 解析

PCR-SSCP に用いたプライマーは Yamaguchi ら¹¹⁾, Deeb ら¹²⁾の方法に従い, 赤および緑遺伝子の両者を増幅可能な領域に設定した(表1). 転写開始点を+1としてプライマーの位置を示した. 赤と緑遺伝子に由来する反応産物を分離する目的で, プロモータ, エクソン2, 4, 5の領域については1つのプライマーの5'末端をアイソトープ標識し, 定量的 PCR-SSCP を行った. プライマーの5'末端標識は, プライマー (10 pmol), [γ -³²P]ATP (90 μCi), 15 ユニットの T4 polynucleotide kinase (Gibco BRL 社), 5 X 添付キナーゼ緩衝液, 滅菌蒸留水を加え合計 15 μl の反応液を調製し 37°C で 45 分間反応後, 65°C で 10 分間酵素の不活化反応を行った. エクソン 2, 4, 5 の PCR 反応液は, 100 ng のゲノム DNA, 標識に使用しなかったプライマー (5 pmol), 標識プライマー (5 pmol のうち 0.67 pmol の標識プライマーを含む), dNTPs (200 μM), 0.5 ユニットの Taq DNA ポリメラーゼ (Gibco BRL 社), 10 X 添付緩衝液, 滅菌蒸留水を加え合計 10 μl に調製した. プロモータの PCR 反応液は, 同様の反応液にグリセロールが最終 10% になるように加え調製した. PCR 反応は, 94°C で 5 分後に, 94°C (30 秒), 64°C (1 分) を 25 サイクル繰り返し最後に 72°C で 4 分反応させた. SSCP は, 尿素などの変性剤を含まない 6% ポリアクリルアミドゲルに, 熱変性させた PCR 反応産物を載せ扇風機で冷却しながらゲル板の温度を 34°C~36°C に設定し約 4 時間の電気泳

表 1 PCR-SSCP に利用したプライマー塩基配列と増幅領域

増幅領域	塩基数	位置	塩基配列	プライマー名称	方向
プロモータ	232 bp	-190	*5'-CCAGCAAATCCCTCTGAGCCG-3'	CV 80	センス
		+41	5'-GGCTATGGAAAGCCCTGTCCC-3'	CV 81	アンチセンス
エクソン 1	103 bp	+30	5'-CTTTCCATAGCCATGGCCCAG-3'	CV 39	センス
		+132	5'-TCTGGTGGAGTTGCTGTTGGT-3'	CV 32	アンチセンス
エクソン 2	164 bp	+286	*5'-AGAAGCTGCGCCACCCGCT-3'	CV 55	センス
		+449	5'-ACACAGGGAGACGGGTAGC-3'	CV 24 B	アンチセンス
エクソン 3	93 bp	+507	5'-TGCAAGCCCTTGGCAATGTG-3'	CV 43	センス
		+599	5'-CTGCTCCAACCAAGATGGGC-3'	CV 2 Z	アンチセンス
エクソン 4	165 bp	+621	*5'-TACTGGCCCCACGGCCTGAAG-3'	CV 30	センス
		+785	5'-CGCTCGGATGGCCAGCCACAC-3'	CV 2 B	アンチセンス
エクソン 5	137 bp	+786	5'-GTGGCAAAGCAGCAGAAAGAG-3'	CV 3 C	センス
		+922	*5'-TTGGCAGCAGCAAAGCATGCG-3'	CV 78	アンチセンス
エクソン 6	221 bp	+1026	5'-TTTCGAAACTGCATCTTGCAG-3'	CV 33	センス
		+1246	5'-GCAGTGAAAGCCTCTGTGACT-3'	CV 34	アンチセンス

*: 5'末端がアイソトープ標識されたプライマー PCR-SSCP: polymerase chain reaction-single-strand conformation polymorphism

動を行った。乾燥ゲルを富士写真フィルム社のイメージングプレート™に感光させ、富士写真フィルム社の画像解析装置 BAS 2000™を用い赤、緑遺伝子由来するバンドの放射能活性を定量した。プロモータ領域については、赤遺伝子のプロモータが1つであることから、緑遺伝子由来のバンドの放射能活性を赤のもので割った値(緑/赤)を、赤に対する緑遺伝子数として決定した。エクソン 2, 4, 5 についても同様に定量的 PCR-SSCP 法により、緑遺伝子由来のバンドの放射能活性を赤のもので割った値(緑/赤)について 3 回の実験から得られた平均値を算出した。赤遺伝子と緑遺伝子のエクソン 1 および 6 の塩基配列は同一であるため、それぞれを分離することはできない。エクソン 1 と 6 については、遺伝子変異の有無を確認する目的で非定量的 PCR-SSCP を行った。PCR 反応液は、100 ng のゲノム DNA、各プライマー (5 pmol), [α -³²P]dCTP (1 μ Ci), dNTPs (200 μ M), 0.5 ユニットの *Taq* DNA ポリメラーゼ (Gibco BRL 社), 10 X 添付緩衝液, 滅菌蒸留水を加え合計 10 μ l に調製した。PCR 反応は、94°C で 1 分後に、92°C (30 秒), 64°C (1 分) を 35 サイクル繰り返し最後に 72°C で 4 分反応させた。SSCP は、6% ポリアクリルアミドゲルを用い、ゲル板の温度を約 40°C に設定し約 4 時間の電気泳動を行った。乾燥ゲルをイメージングプレート™に感光させ、塩基配列が既知の正常色覚者を対照として同一ゲルに載せバンドパターンを比較検討した。エクソン 3 に関しては、赤遺伝子と緑遺伝子を分離する目的で、エクソン 4 の赤遺伝子に特異的なプライマー (C-V 61 R: 5'-GCATGATGATAGCGAGTGGGA-3') もしくは緑遺伝子に特異的なプライマー (CV 61 G: 5'-G-CACGATGATGCTGAGTGGGG-3') とエクソン 3 の赤・緑遺伝子に共通のプライマー (CV 2 A: 5'-ATCAC-AGGTCTCTGGTCTCTG-3') で 1 段階目の PCR を

行った。反応液は、エクソン 1 の組成にアイソトープを除いたものと同様に調製した。PCR 反応は、94°C (2 分) 後、92°C (45 秒), 62°C (1 分), 72°C (3 分) を 32 サイクル繰り返し最後に 72°C で 4 分反応させた。この反応産物の 0.5 μ l を鋳型 DNA として用い、PCR-SSCP を行った。PCR 反応液の組成と反応条件は、プライマーを除きエクソン 1 のものと同じである。SSCP は、6% ポリアクリルアミドゲルを用い、ゲル板の温度を約 28°C に設定し約 4 時間の電気泳動を行った。乾燥ゲルをイメージングプレート™に感光させ、180 番目のアミノ酸残基がセリン (S) かアラニン (A) を同定されているものを対照として同一ゲルに載せバンドパターンを比較検討した。

III 結 果

対象者の色覚検査の結果を表 2 に示す。父親 (I-1) の panel D-15 検査は fail であり、色相環を横切る混同線が 4 本みられた。アノマロスコープ検査で、混色目盛り 50~62 (A. Q. 異常比 0.60~0.23), 単色目盛り値 10.5~6 で等色が成立したことから強度第 1 色弱と診断した。弟 (II-2) は、panel D-15 検査を fail し色相環を横切る混同線が第 1 異常の等色線に一致していた。アノマロスコープで混色目盛り 0~73 まで等色が成立したことから第 1 色盲と診断した。母親 (I-2) は正常色覚であることから第 1 色盲の保因者と診断した。発端者 (II-1) は、panel D-15 検査を pass し、アノマロスコープで混色目盛り 60 (A. Q. 異常比 0.28), 単色目盛り 7.5 で等色が成立したことから軽度第 1 色弱と診断した。仮性同色表検査において、父親と弟は石原表の誤答数がそれぞれ 17 表中 16, 15 表であり、AO-HRR test および SP-P-1 で第 1 異常のパターンを示した。TCU test では、父親は全表正答したが、弟は第 1 異常のパターンを示し

表 2 色覚検査結果

症例	年齢	診断	Panel D-15	アノマロスコープ(等色値)	仮性同色表			TCU test	ランタンテスト(誤答数)	
					石原表(誤答数)	AO-HRR test	SPP-1			TMC
I-1(父)	50	第1色弱(強度)	Fail	50-62	16/17	第1異常(強度)	第1異常	全表判読不能	全表正答	5/9
I-2(母)	47	正常色覚	Pass	39.5	0/17	全表正答	全表正答	全表正答	全表正答	0/9
II-1(発端者)	10	第1色弱(軽度)	Pass	60	11/17	第2異常(軽度)	第1異常	第2異常(1度)	全表正答	2/9
II-2(弟)	8	第1色盲	Fail	0-73	15/17	第1異常(強度)	第1異常	第1異常(3度)	第1異常	未施行

AO-HRR test: American Optical-Hardy Rand Ritter test SPP-1: 標準色覚検査表第1部先天異常用 TMC: 東京医大式色覚検査表 TCU test: The City University test 2nd Edition

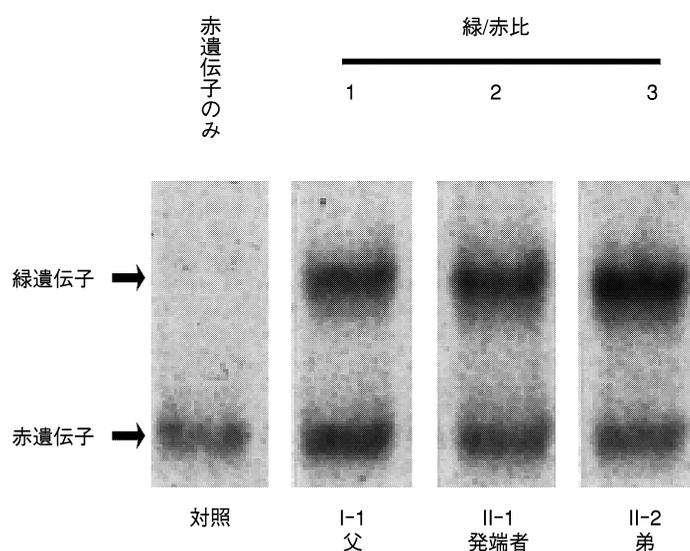


図 1 プロモータ領域における PCR-SSCP 法による赤・緑遺伝子数の比の解析。

I-1(父), 発端者(II-1), 弟(II-2)で赤遺伝子に対する緑遺伝子の比は, それぞれ約 1, 2, 3 である。赤遺伝子のみを有するものを対照として用いている。PCR-SSCP: polymerase chain reaction-single strand conformation polymorphism

た。父親のランタンテストの誤答数は 5/9 であった。発端者は, 石原表の誤答数が 17 表中 11 表あり, SPP-1 で第 1 異常, AO-HRR test で軽度第 2 異常, TMC で第 2 異常(1度)のパターンを示したが, TCU test を全表正答した。また, ランタンテストの誤答数は 2/9 であった。

遺伝子解析の結果, プロモータ領域の解析結果を図 1 に示す。父親(I-1), 発端者(II-1), 弟(II-2)の赤遺伝子に対する緑遺伝子の比は, およそ 1, 2, 3 となり遺伝子総数がそれぞれ 2, 6(2つの X 染色体を有するため), 4 であることが確認された。エクソン 2, 3, 4, 5 の PCR-SSCP の結果を表 3 に示す。父親の遺伝子型(Xp)は, エクソン 2~4 までの緑/赤遺伝子比がおよそ 1 で, エクソン 5 が緑遺伝子のみであることから, 1つの正常緑視物質遺伝子に加え赤緑融合遺伝子(R4G5: プロモータからエクソン 4 まで赤遺伝子でエクソン 5 と 6 が緑遺伝子)から成立し, 弟の遺伝子型(Xm1)は, エクソン

2~5 まで緑遺伝子のみとなり, 3個の正常緑視物質遺伝子に加え赤緑融合遺伝子(R1G2: プロモータからエクソン 1 まで赤遺伝子でエクソン 2~6 まで緑遺伝子)から成立していると考えられた。また, 弟のエクソン 3 は Ser 180 と Ala 180 をもつ緑遺伝子が検出されたが, Jagla ら¹³⁾が報告した第 1 色盲の遺伝子型の中で, 緑遺伝子プロモータに続くエクソン 3 に Ser 180 をもつ緑遺伝子を有する症例がないことから, 弟の Ser 180 をもつエクソン 3 は, 赤遺伝子プロモータをもつ 5'端の赤緑融合遺伝子(R1G2)に存在しているものと推察された。本実験法では, 発端者と母親の遺伝子型を単独で決定することはできないが, 発端者の遺伝子型は, 父親と弟の両者の遺伝子型を複合ヘテロ接合体(Xm1 と Xp)で有していることが考えられた。母親のもう一方の遺伝子型(Xm2)は決定できなかった。家系図および決定した遺伝子型を図 2 に示す。全対象者で, 赤・緑遺伝子のエクソン 1 と 6 に変異はなかった。

表 3 赤・緑視物質遺伝子解析

症例	診断	プロモータ (緑/赤比)	遺伝子総数	エクソン 2 (緑/赤比)	エクソン 3 (近位側)	エクソン 3 (遠位側)	エクソン 4 (緑/赤比)	エクソン 5 (緑/赤比)
I-1(父)	第 1 色弱(強度)	0.9	2	0.8	赤(S 180)	緑(S 180)	1.1	緑のみ
I-2(母)	正常色覚	2.0	6	緑のみ	赤+緑(S 180+S 180)		3.9	2.8
II-1(発端者)	第 1 色弱(軽度)	2.2	6	4.5	赤+緑(S 180+S 180)		4	緑のみ
II-2(弟)	第 1 色盲	3.3	4	緑のみ	緑(S 180)	緑(A 180)	緑のみ	緑のみ

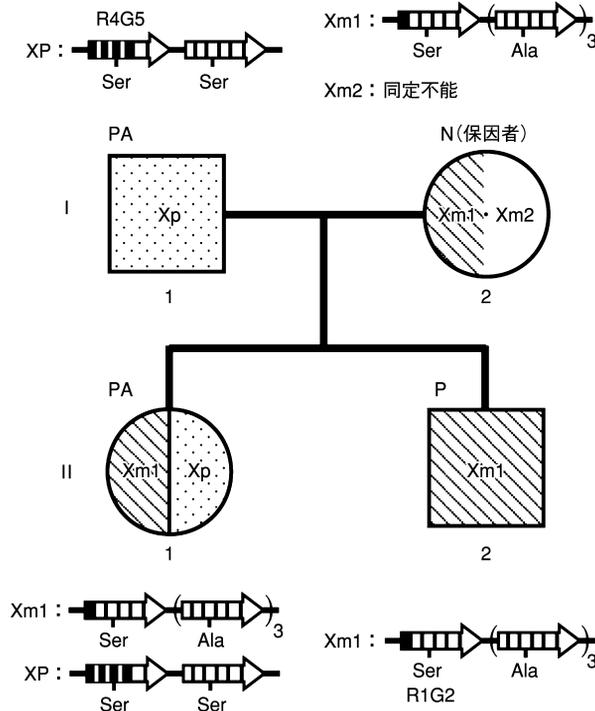


図 2 家系図と対象者の遺伝子型の決定.

I-1(父)および I-2(母)の遺伝子型を上側に、発端者(II-1)および弟(II-2)の遺伝子型を下側に示している。遺伝子配列の黒塗りは赤遺伝子を示し、白抜きは緑遺伝子を示している。R4G5(赤緑融合遺伝子)はプロモータとエクソン 1~4 までが赤遺伝子で、エクソン 5 と 6 が緑遺伝子を指し、R1G2(赤緑融合遺伝子)はプロモータとエクソン 1 が赤遺伝子でエクソン 2~6 が緑遺伝子を指している。遺伝子配列のエクソン 3 に位置する 180 番目のアミノ酸残基がセリン(Ser)もしくはアラニン(Ala)を示している。PA: 第 1 色弱, P: 第 1 色盲, N: 正常色覚

IV 考 按

現時点で、先天赤緑異常である女性の 2 つの X 染色体それぞれを分離して解析できないことから、赤・緑視物質遺伝子の遺伝子型を単独で決定することは単純な遺伝型を除き不可能である。色覚検査で、父親が強度第 1 色弱、弟が第 1 色盲、そして母親が正常色覚(第 1 色盲の保因者)と診断されたことから、発端者は父親と弟の両者の遺伝子型を有すると考えられた。先天赤緑異常の女性が、2 色型色覚と異常 3 色型色覚を呈する遺伝子型を複合ヘテロ接合体でみられた場合、表現型は異常 3 色

型を呈することが知られている¹⁴⁾¹⁵⁾。すなわち、正常色覚に近い類型ほど優性と考えられている。色覚検査結果から発端者の診断は、軽度第 1 色弱であった。表現型の原理から発端者は、第 1 色盲である弟に比べ程度の軽い父親と同じ強度第 1 色弱を呈することが予測されたが、panel D-15 を pass し軽度第 1 色弱を呈した。父親は、panel D-15 およびランタンテストに fail しており、両検査に pass した発端者より強度という結果になった。一方、発端者と父親はともに TCU テストを全表正答している。TCU テストは、元来 panel D-15 に由来したもので、主として色覚異常の分類に用いられている。Birch¹⁶⁾は先天赤緑異常 222 症例について、TCU の結果を報告している。第 1 色弱 15 例中 11 例(73%)が TCU を pass したこと、第 1 異常が第 2 異常に比べ正答率が高かった結果を導き出している。論文の結論として、第 1 異常の場合、TCU の結果は panel D-15 の結果と必ずしも相関しないことを指摘している。Honson ら¹⁷⁾も 2 色型色覚でありながら TCU を pass する症例を報告していることから、TCU の成績は色覚異常の程度と必ずしも相関しないと考えられる。次に、小学 3 年生(8 歳)男児である弟のアノマロスコープ検査結果の信頼性について検討した。馬嶋ら¹⁸⁾は小学 1 年から 5 年生の学童 81 名にアノマロスコープの検査を施行し、異常 3 色型色覚と 2 色型色覚を診断した。報告の討論で小学 1 年生であっても被験者に検査内容を十分に説明し、学童に飽きさせないように行うことによって正確、かつ再現性の得られる結果を導き出せると結論している。また、Verriest¹⁹⁾も 5~11 歳を対象とした研究で、アノマロスコープ検査に関しては、7 歳から満足できる結果が得られたことを導き出している。本症例(弟)の場合、アノマロスコープ検査は、熟練した眼科医が十分説明し、検査内容の理解を確認したうえで施行され、検査を飽きさせないよう配慮しており第 1 色盲診断の信頼性は高いと考えている。しかし、強度異常の場合、異常 3 色型色覚と 2 色型色覚の鑑別は難しい場合がある²⁰⁾。

遺伝子型について検討してみると、父親は Ser 180 をもつ緑遺伝子と Ser 180 をもつ赤緑融合遺伝子(R4G5)を有し、両視物質の吸収最大波長の差は約 4 nm²¹⁾となり第 1 色弱の表現型と矛盾はない。一方、第 1 色盲を呈した弟では Ala 180 をもつ緑遺伝子と Ser 180 をもつ赤緑融合遺伝子(R1G2)を有し、両視物質の吸収最大波長

の差は約 2 nm²¹⁾あり、第 1 色弱になり得る表現型であった。しかし、我々¹³⁾²²⁾は最近、男性 23 例の第 1 色盲の遺伝子型と表現型について詳細に検討した結果、発端者の弟と同様に緑遺伝子と赤緑融合遺伝子間の吸収最大波長の差が約 2 nm 存在した 2 例を経験した。このように表現型が、遺伝子型から予測するものと一致しない症例が存在する理由として、2 色型色覚と異常 3 色型色覚の診断がアノマロスコープに依存していることがあげられる²⁰⁾。特に 2 色型色覚と極度異常 3 色型色覚の鑑別が困難な症例では、両者が逆に判定される可能性は十分にある。発端者の弟でみられた吸収波長差 2 nm 以内は、アノマロスコープで測定される色弁別能の限界である可能性も考えられる。アノマロスコープで 2 色型色覚を呈した被検者が、等色試験野 8° もしくは 9° の大視野アノマロスコープ検査では、均等幅が狭くなり異常 3 色型色覚を呈することを示した報告^{23)~26)}は、アノマロスコープ限界説を支持するものである。また、これまでに赤および緑視物質・融合視物質の吸収波長特性は、*in vitro* や *in vivo* の実験で得られてきた⁶⁾²¹⁾²⁷⁾が、測定値間で若干の変動があることから吸収波長差 2 nm 以内は、実験間の誤差範囲である可能性もある。

女性色覚異常の遺伝子型についての報告例は非常に少ない。Oda ら²⁸⁾は女性第 1 異常の 2 例(第 1 色弱と第 1 色盲それぞれ 1 例)に対し long-range PCR 法を用い、直接 2 つの X 染色体上の赤・緑視物質遺伝子を増幅し遺伝子型を検討した。第 1 色弱では、2 つの X 染色体上に赤遺伝子が増幅されなかったことから、それぞれの X 染色体上に赤緑融合遺伝子が存在していることが推定された。一方、第 1 色盲では赤遺伝子が増幅されており、遺伝子型から表現型の解釈が困難であった。この方法は、融合遺伝子の存在の有無について有用である一方、それぞれの X 染色体における赤緑融合遺伝子の融合部位とそれに続く緑遺伝子の関連性については詳細な情報は得られない。これまでに調べた限り、女性第 1 異常の遺伝子型について 2 つの X 染色体を分離・同定した上で、詳細に調べた報告例はない。本研究で、発端者の遺伝子型が、正常緑視物質遺伝子に加え吸収波長特性の異なる視物質を規定する 2 種類の赤緑融合遺伝子(R1G2 と R4G5)の複合ヘテロ接合体から成り立っていることを家系調査から証明した。発端者の錐体では、正常緑視物質および吸収波長特性の異なる 2 種類の赤緑融合視物質(R1G2 と R4G5)が発現しているため、軽度第 1 色弱を呈したものと考えられた。女性の先天赤緑異常の遺伝子型と表現型の関連性については、症例を重ねさらなる検討が必要と考えられた。

本論文の要旨は第 57 回日本臨床眼科学会で発表した。

本研究の一部は文部科学研究費補助金(課題番号 14770979)の助成を受けた。

文 献

- 1) **Nathans J, Thomas D, Hogness DS** : Molecular genetics of human color vision : The genes encoding blue, green and red pigments. *Science* 232 : 193—202, 1986.
- 2) **Vollrath D, Nathans J, Davis RW** : Tandem array of human visual pigment genes at Xq28. *Science* 240 : 1669—1672, 1988.
- 3) **Feil R, Aubourg P, Heilig R, Mendel JL** : A 195-kb cosmid walk encompassing the human Xq28 color vision pigment genes. *Genomics* 6 : 367—373, 1990.
- 4) **Deeb SS, Lindsey DT, Hibiya Y, Sanocki E, Winderickx J, Teller DY, et al** : Genotype-phenotype relationships in human red/green color-vision defects : Molecular and psychophysical studies. *Am J Hum Genet* 51 : 687—700, 1992.
- 5) **Neitz J, Neitz M, Jacobs GH** : Analysis of fusion gene and encoded photopigment of colour-blind humans. *Nature* 342 : 679—682, 1989.
- 6) **Merbs SL, Nathans J** : Absorption spectra of the hybrid pigments responsible for anomalous color vision. *Science* 258 : 464—466, 1992.
- 7) **Neitz M, Neitz J, Jacobs GH** : Spectral tuning of pigments underlying red-green color vision. *Science* 252 : 971—974, 1991.
- 8) **Nathans J, Piantanida TP, Eddy RL, Shows TB, Hogness DS** : Molecular genetics of inherited variation in human color vision. *Science* 232 : 203—210, 1986.
- 9) 市川一夫, 田辺詔子, 深見嘉一郎 : 先天色覚異常の遺伝と発生頻度について. *眼科* 39 : 1531—1535, 1997.
- 10) 市川一夫, 鳥井文恵, 安間哲史, 田辺詔子, 上崎博, 高柳泰世, 他 : 名古屋学童の集団検診による先天性色覚異常の頻度. *眼臨* 74 : 959—962, 1980.
- 11) **Yamaguchi T, Motulsky AG, Deeb SS** : Visual pigment gene structure and expression in human retinae. *Hum Mol Genet* 6 : 981—990, 1997.
- 12) **Deeb SS, Hayashi T, Winderickx J, Yamaguchi T** : Molecular analysis of human red/green visual pigment gene locus : Relationship to color vision. *Methods Enzymol* 316 : 651—670, 2000.
- 13) **Jagla WM, Jägle H, Hayashi T, Sharpe LT, Deeb SS** : The molecular basis of dichromatic color vision in males with multiple red and green visual pigment genes. *Hum Mol Genet* 11 : 23—32, 2002.
- 14) 根本裕樹, 村尾幹男 : 色盲の遺伝学的研究. *人類遺伝学雑誌* 6 : 165—173, 1961.
- 15) **Birch J** : Congenital protan and deutan defects in women. In : Drum B, et al(Eds) : *Color vision deficiencies, Vol. IX*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Netherlands, 101—106, 1989.
- 16) **Birch J** : Clinical use of the City University Test (2nd Edition). *Ophthalmic Physiol Opt* 17 : 466—472, 1997.

- 17) **Honson V, Dain SJ** : Analysis of the Mark II Edition of The City University Colour Vision Test. *Am J Optom Physiol* 64 : 277—283, 1987.
 - 18) 馬嶋昭生, 中島 章, 市川 宏 : 学童を対象とする色覚検査の検討. *日眼会誌* 63 : 313—327, 1959.
 - 19) **Verriest G** : Colour vision in childhood. *Bull Soc Belge Ophthalmol* 202 : 71—95, 1982.
 - 20) **Alpern M, Wake T** : Cone pigments in human deutan colour vision defects. *J Physiol* 266 : 595—612, 1977.
 - 21) **Asenjo AB, Rim J, Oprian DD** : Molecular determinants of human red/green color discrimination. *Neuron* 12 : 1131—1138, 1994.
 - 22) **Deeb SS, Jagla WM, Jägle H, Hayashi T, Sharpe LT** : Genotypic variation in multi-gene dichromats. In : Mollon JD, et al(Eds) : Normal and defective colour vision, Chapter 31. Oxford University Press, Oxford, 299—306, 2003.
 - 23) **Smith VC, Pokorny J** : Large-field trichromacy in protanopes and deuteranopes. *J Opt Soc Am* 67 : 213—220, 1977.
 - 24) **Nagy AL** : Large-field substitution Rayleigh matches of dichromats. *J Opt Soc Am* 70 : 778—784, 1980.
 - 25) **Breton M, Cowan W** : Deuteranomalous color matching in the deuteranopic eye. *J Opt Soc Am* 71 : 1220—1223, 1981.
 - 26) **Sanocki E, Teller DY, Deeb SS** : Rayleigh match ranges of red/green color-deficient observers : psychophysical and molecular studies. *Vision Res* 37 : 1897—1907, 1997.
 - 27) **Sharpe LT, Stockman A, Jägle H, Knau H, Klausen G, Reitner A**, et al : Red, green, and red-green hybrid pigments in the human retina. *J Neurosci* 18 : 10053—10069, 1998.
 - 28) **Oda S, Ueyama H, Nishida Y, Tanabe S, Yamada S** : Analysis of L-cone/M-cone visual pigment gene arrays in females by long-range PCR. *Vision Res* 43 : 489—495, 2003.
-