
総 説

レーベル遺伝性視神経症の発症分子メカニズムの展望

中村 誠

神戸大学大学院医学系研究科器官治療医学(眼科学)

要 約

背景：レーベル遺伝性視神経症(LHON)は、母系遺伝形式をとる両眼性視神経症である。ミトコンドリア遺伝子(mtDNA)変異の母系遺伝との関連は知られているものの、どのようにして視神経障害を惹き起こすかを解説した総説は数少ない。また、mtDNA 変異率に比し、浸透率は低く、男女比の差が顕著であり、遺伝因子のみでは説明できない。

方法：細胞分子生物学的研究から推定されている mtDNA 変異が LHON を惹き起こす分子メカニズムを解説した。家系調査の報告をもとに、LHON 発症に関わる環境因子を検証した。

結果：病理組織学的には、LHON は網膜神経節細胞のアポトーシスと球後視神経の慢性炎症が併存する病態である。Transmitochondrial cybrid の研究から、

mtDNA 変異は、ミトコンドリアにおける反応性酸素分子種の産生を増加させていることが示されている。この半世紀の間で、日本人家系でも欧米家系でも女性における浸透率は大幅に減少した。飲酒・喫煙・性ホルモンが発症に関わっているらしい。また、自然治癒症例の報告も増加している。

結論：LHON は、単一遺伝病ではなく、疾病の素因が遺伝され、その形質発現には何らかの誘因が存在する。遺伝子治療を含めた治療方法についても検討されるべきである。(日眼会誌 109：189-196, 2005)

キーワード：レーベル遺伝性視神経症、ミトコンドリア遺伝子、網膜神経節細胞、アポトーシス、浸透率

A Review

A Review of the Molecular Mechanism of Development of Leber Hereditary Optic Neuropathy

Makoto Nakamura

Department of Organ Therapeutics, Division of Ophthalmology, Kobe University Graduate School of Medicine

Abstract

Background : Leber hereditary optic neuropathy (LHON) is a maternally transmitted, bilateral optic neuropathy. Although mitochondrial (mt) DNA mutations are known to be associated with the maternal inheritance, there are few reviews on how they lead to optic neuropathy. In addition, low penetrance and male preponderance cannot be accounted for by mtDNA mutations alone.

Methods : Presumable molecular mechanisms of LHON due to mtDNA mutations were reviewed based on cellular and molecular studies. Environmental factors regulating LHON expression were also extracted from pedigree analyses.

Result : Histopathologically, LHON comprises apoptosis of retinal ganglion cells and chronic inflammation of the retrobulbar optic nerve. Trans-mitochondrial cybrid studies demonstrated that mtDNA mutations cause an increase in the production of reactive oxygen species. Over the last 50 years, the penetrance in females has been greatly reduced in both Japanese and Caucasian pedigrees. Smoking, over-consumption of alcohol, and sex hormones may control LHON expression.

Conclusions : These findings indicate that LHON is not a monogenetic disease, but that LHON transmits a predisposition to develop optic neuropathy

別刷請求先：650-0017 神戸市中央区楠町 7-5-2 神戸大学大学院医学系研究科器官治療医学(眼科学) 中村 誠
(平成 16 年 3 月 29 日受付, 平成 16 年 10 月 15 日改訂受理)

Reprint requests to : Makoto Nakamura, M.D. Department of Organ Therapeutics, Division of Ophthalmology
Kobe University Graduate School of Medicine. 7-5-2 Kusunoki-cho, Chuo-ku, Kobe 650-0017, Japan

(Received March 29, 2004 and accepted in revised form October 15, 2004)

and requires additional factors triggering phenotypic expression. Therapeutic intervention including gene therapy should be further investigated.

Nippon Ganka Gakkai Zasshi (J Jpn Ophthalmol Soc 109 : 189-196, 2005)

Key words : Leber hereditary optic neuropathy, Mitochondrial DNA, Retinal ganglion cells, Apoptosis, Penetrance

I 緒 言

レーベル遺伝性視神経症 (Leber hereditary optic neuropathy : 以下, LHON) は, 母系遺伝する両眼性視神経症であり, 通常片眼の視力低下・中心暗点で発症し, 数日から数週を経て, 他眼も発症することが多い^{1)~3)}. 若年男性に好発し, 急性期には視神経乳頭は発赤腫脹するが蛍光色素漏出をみない³⁾. 慢性期にはびまん性視神経萎縮となるが, 対光反応は良好に保たれることが多い⁴⁾⁵⁾. また, 視神経乳頭陥凹拡大が生じることが多く⁶⁾⁷⁾, 時に正常眼圧緑内障との鑑別が問題となることがある.

そのユニークな母系遺伝形式がミトコンドリア遺伝子 (mtDNA) 変異と関連することが明らかとなって 15 年以上経った⁸⁾. 近年の細胞分子生物学の進歩により, mtDNA 変異がどのような機序で網膜神経節細胞の変性・脱落を来すのか, 部分的にはあるが説明がつくようになった. その一方で, LHON 発症機序は未だ多くの謎に包まれている. 本稿では, 現時点で推定されている LHON 発症の分子メカニズムを概観し, 治療の可能性についても触れてみたい.

II mtDNA 変異が惹き起こす分子異常 (図 1)

mtDNA の 3460, 11778, 14484 番塩基対に生じる LHON 特異的 3 変異は, いずれもミトコンドリア呼吸鎖 complex I のサブユニットをコードする遺伝子内に存在する⁹⁾⁸⁾. 当初, これらの変異により, complex I の機能が障害を受け, ミトコンドリアにおける ATP 合成能が低下するのではないかと考えられた. しかし, 3460 変異を除けばその低下は軽度であり⁹⁾¹⁰⁾, mtDNA 変異でもたらされるより重大な影響は, 反応性酸素分子種 (reactive oxygen species : 以下, ROS) の増加であると考えられるようになった³⁾¹¹⁾.

電子伝達の過程で complex I と III から主に漏出した電子は, 分子酸素と反応して, superoxide anion となる. これは, Mn superoxide dismutase (SOD) により, 過酸化水素となり, 次いで glutathione peroxidase により水となる. 過酸化水素は遷移金属の存在下で, Fenton 反応により hydroxy radical になる一方, superoxide anion は一酸化窒素 (NO) と反応して, ペルオキシ亜硝酸になる³⁾. NO は, mitochondrial 一酸化窒素合成酵素 (NOS) によりミトコンドリア内で内因性に作られ得る¹²⁾.

このようにして過剰に産生された ROS は, 直接的・間接的にミトコンドリア膜透過遷移小孔を開口させる. 間接的に述べたのは, ROS は, complex I, III の鉄-硫黄中心を傷害したり¹³⁾, ペルオキシ亜硝酸が, complex I や Mn SOD のチロシン残基をニトロ化してこれを不活化させ¹⁴⁾¹⁵⁾, 悪循環的に ROS の増加を惹き起こすからである. ミトコンドリア膜透過遷移小孔が開くと, cytochrome c や apoptosis inducing factor (AIF) の細胞質への遊出につながる¹⁶⁾. Cytochrome c は, 内膜にあれば電子伝達を担っているが, 細胞質に出ると apoptosome を形成する¹⁷⁾. また, 酸化還元酵素である AIF も, 内膜にあれば free radical scavenger なのであるが, 核へ転移されると, DNA 断片化を惹き起こす¹⁸⁾. すなわち, これらは, 病的な状態ではカスパー非依存性のアポトーシス因子となる.

病理組織学的に, LHON 患者の網膜は, 網膜神経節細胞とその軸索, ならびに内顆粒層が選択的に消失しており, 外層はほとんど障害を受けておらず, かつ, 網膜内に何ら炎症細胞浸潤がない²⁾¹⁹⁾. これは, ヒトおよび動物の緑内障や, 虚血再還流ないしグルタミン酸障害眼でみられる, 網膜内層のアポトーシス変化と全く同じ病理変化である. これらの証拠を踏まえて, LHON の視神経障害は, 一次的には網膜神経節細胞のアポトーシスであろうと推論されるようになった³⁾¹⁹⁾. そして, そのメカニズムとして, 上記のごとく, mtDNA 変異に由来するミトコンドリアでの ROS 過剰産生に伴う, 酸化ストレスが考えられるようになったのである.

III LHON における酸化ストレス誘導網膜神経節細胞アポトーシスモデルの実験的エビデンス (表 1)

前項で述べた理論を支持する実験的データが出ている. それは主に transmitochondrial cybrid を利用したデータである. Transmitochondrial cybrid とは, ある細胞株から元々のミトコンドリアのみを取り除き, 代わりに, LHON 患者の細胞 (例えば線維芽細胞) から取り出したミトコンドリアを移入した細胞のことをいう. このようにすることで, 核遺伝子の影響を可能な限り排除して, mtDNA 変異の細胞に及ぼす影響をより選択的に検討できるように工夫したのである.

Wong ら²⁰⁾は cybrid 細胞の方が, 親細胞に比べ, 過酸化水素に対する脆弱性が高く, 有意に死滅することを示した. 次に, NT-2 という, 未分化な神経前駆細胞を

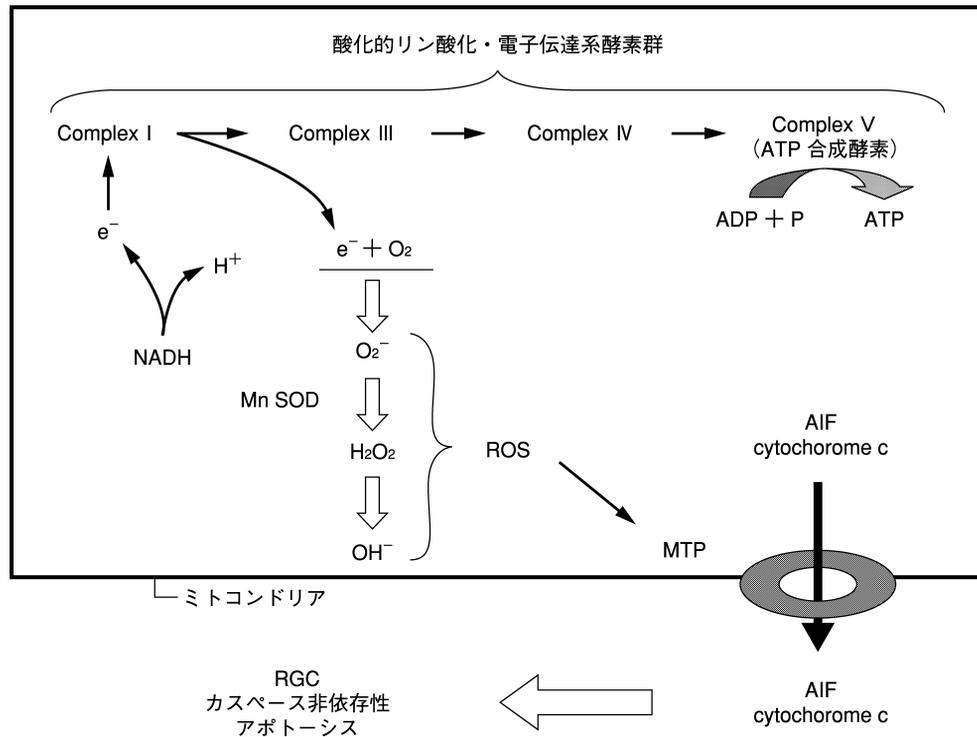


図 1 ミトコンドリア DNA 変異が網膜神経節細胞死を誘導する推定メカニズム。

ミトコンドリア内膜にある酸化的リン酸化・電子伝達系酵素複合体内を電子(e⁻)が伝達される過程で、遺伝子変異により complex I から漏出された電子は、酸素と反応して superoxide anion(O₂⁻)となる。次に Mn superoxide dismutase(Mn SOD)により過酸化水素(H₂O₂)、さらに hydroxy radical(OH⁻)となる。このようにして産生された反応性酸素分子種(ROS)は、ミトコンドリア膜透過遷移小孔(MTP)を開口させる。その結果ミトコンドリア内から細胞質へ、apoptosis inducing factor(AIF)や cytochrome c が流出する。これらが網膜神経節細胞(RGC)のカスパーゼ非依存性アポトーシスを惹き起こすと推定される。

ADP: アデノシン 2 リン酸 ATP: アデノシン 3 リン酸 NADH: 還元型ニコチンアミド・アデニン・ジヌクレオチド H⁺: 水素イオン(陽子) P: リン酸

表 1 ミトコンドリア変異が細胞死誘導していることを示す trans-mitochondrial cybrid 研究のまとめ

著者	報告年	文献	報告内容
Wong ら	1997	20	過酸化水素への脆弱性の増加
Wong ら	2002	21	過酸化水素に対する神経細胞特異的な脆弱性の増加
Danielson ら	2002	22	Fas 誘導アポトーシスの増加
Gheli ら	2003	23	ガラクトース培地でのアポトーシスの増加

上記の手法で cybrid にしたところ、未分化なままであれば、親細胞と ROS に対する脆弱性は変わらないのに対して、レチノイン酸で神経細胞に分化させた場合は、親細胞に比べ、有意に脆弱になることが示された²¹⁾。LHON において、分化神経細胞がより選択的に傷害される一つの証拠と考えられる。アポトーシスは、酸化ストレス以外に Fas と呼ばれる ligand によっても誘導されるが、LHON cybrid はその誘導が顕著となることも報告²²⁾された。さらに、細胞を培養する medium からグルコースを除き、ガラクトースに置換すると、細胞は強制的に酸化的リン酸化により ATP を合成してエネルギー

を産生しなければならなくなり、解糖系に依存できなくなるが、LHON cybrid は親細胞に比べ、この培養条件下でのアポトーシスが有意に高くなる²³⁾。これは、網膜神経節細胞のように酸化的リン酸化による ATP 合成を機能維持に必要とする細胞で、いかに LHON 特異的 mtDNA 変異が致命的な影響を引き起こすかを示したものと見える。

一方、先のペルオキシ亜硝酸によるチロシン残基のニトロ化を裏付けるように、LHON 患者の視神経はニトロ化されたチロシンの免疫染色性が亢進している preliminary data も報告²⁴⁾されている。

表 2 レーベル遺伝性視神経症発症に環境因子が関与していると思われる理由

著しい性差 ^{1)~3)}
低浸透率 ^{1)~3)}
急性発症 ^{1)~3)}
自然寛解例の存在 ^{2)31)~36)}
世代間による発症率の変化 ²⁾³⁷⁾⁴⁴⁾
大家系における飲酒・喫煙歴と発症の正の相関 ³⁷⁾
球後視神経の炎症性変化 ²⁾³⁾¹⁹⁾⁴⁴⁾⁴⁵⁾

IV LHON における 5 つの疑問(表 2)

このように, mtDNA 変異は, 過剰な ROS 産生を介して, 網膜神経節細胞のアポトーシスを惹き起こす可能性があることは示されるようになった。しかしながら, このような分子生物学的進歩にも拘わらず, LHON 発症のメカニズムには依然数多くの疑問が残っている。

第 1 は, 浸透率の問題である。mtDNA 変異は, 同じ家系内で, 発症者にも保因者にも同様に存在するのに, 発症する個人は限られている³⁾²⁵⁾。mtDNA は一つの細胞に多数存在するので, 正常対変異 mtDNA 数比が, 発症者と非発症者間で異なる可能性も検討されたが, 大多数の個人で, 症状の有無に拘わらず, 変異型 mtDNA のみで構成されていることがわかってきた³⁾⁷⁾²⁵⁾。したがって, mtDNA 変異の存在だけでは, LHON にみられる低い浸透率は説明できない。

第 2 に, 性差の問題である。LHON 発症者は圧倒的に男性が多い¹⁾³⁾。しかし, 同じ母系血縁者であれば, 性別に拘わらず, mtDNA は同様に分配されている。それなのに, なぜ男性患者が多数を占めるのか。この問いの答えとして two locus 説が提唱された²⁶⁾²⁷⁾。これは, X 染色体劣性遺伝する核遺伝子が責任遺伝子として存在し, mtDNA 変異に加えて, その劣性遺伝子を同時に持った男性のみ発症し, 正常な対立遺伝子を持った男性は発症しないという説である。そして, X 染色体を 2 本持つ女性では, どちらかの対立遺伝子しか働かないように他方の対立遺伝子は不活化されているので, 偶然責任遺伝子の対立遺伝子が不活化された女性のみが発症すると考える。分離比解析によれば, この two locus モデルは欧米家系²⁶⁾でも, 日本家系²⁷⁾においても矛盾しなかった。しかしながら, その後の連鎖解析²⁸⁾, 候補遺伝子アプローチ²⁹⁾, 最近では, LHON 女性患者の網膜・視神経における X 染色体不活化状態の研究³⁰⁾のいずれも, この仮説を実証することはできず, X 染色体劣性遺伝子の関与は薄いと見なされるようになった。しかも性差は, 保有する mtDNA 変異によって異なる。14484 変異例では男性:女性=8:1, 11778 例では 4~6:1, 3460 例では 3:1 とされる¹⁹⁾。このような, mtDNA 変異型による性差のばらつきからも, 核遺伝子の影響は低

いようである。

第 3 に, なぜ, 視神経に局限した病変となるかである。この点については, 井野²⁾は LHON は視交叉および広範囲の中樞神経系にクモ膜炎が生じていると主張しており, また, 心電図や骨格筋生検でも, 軽度ながら異常を認める報告もあるので, 必ずしも視神経に局限しているとはいえない。しかし, 症状の重篤性という点で明らかな偏りがみられ, mtDNA 変異の組織分布は, 他のミトコンドリア脳筋症と異なり, LHON に関していえば差がないので, 不思議である。

第 4 は, mtDNA 変異のみが原因ならば, なぜ, ある一定年齢までは全く無症状であるにも拘わらず, 突然発症し, しかも急速に進行してしまうのか。例えば, 同じ遺伝性視神経症の範疇に加えられる常染色体優性遺伝性視神経萎縮では, 明らかな発症時期は不明なことが多く, より低年齢から視機能は低下するが軽度で, その進行は緩徐である²⁾。代表的な眼の遺伝性疾患である網膜色素変性では, 自覚症状の発現時期は不明確で, 進行も慢性経過をとるのは衆知の通りである。

第 5 は, LHON には, 発症後長期経過してからもなお, 自然寛解する例が存在することである(図 2)^{2)31)~36)}。mtDNA 変異との関連でいえば, 14484 変異患者が最も回復しやすく, 日本人患者の約 90% を占める 11778 変異患者が最も回復しにくいといった差はあるものの³³⁾³⁶⁾, 遺伝病が, たとえ稀ではあっても, どうして回復することがあるのか。先ほどの常染色体優性遺伝性視神経萎縮や網膜色素変性, さらにには遺伝的要因の関与が推定されている正常眼圧緑内障にしても, 自然回復することなどあり得ない。

以上の点は, LHON 発症には, 遺伝的要因に加えて, 環境因子を含めた epigenetic な要因が深く関与していること, したがって, その要因を解明することにより, 発症を予防ないし治療できる可能性を示唆している。

V 低浸透率と性差解明への糸口

Sadun ら³⁷⁾は 2003 年, イタリア移民の女性を共通の先祖に持つ 7 世代 360 名の子孫に及ぶ大家系の mtDNA 変異と haplogroup, ならびに臨床所見を詳細に調査して報告した。Haplogroup とは, mtDNA の進化の過程で, 変化の足跡として残る polymorphism すなわちマーカーのようなものである³⁸⁾。いかなる haplogroup を有するかで, 進化的により近い, ないし遠い関係にあるかがわかる。すでに 11778 変異と 14484 変異は, haplogroup J を有する mtDNA に高頻度に見られることが報告³⁹⁾されていた。これは, haplogroup J が呼吸鎖機能に何か深刻な影響を与える polymorphism であるか, あるいは, 11778 や 14484 変異を持つ LHON 家系には共通の先祖がいた可能性を示している³⁸⁾。Sadun ら³⁷⁾の家系も 11778 変異家系で, この haplogroup を持つこと

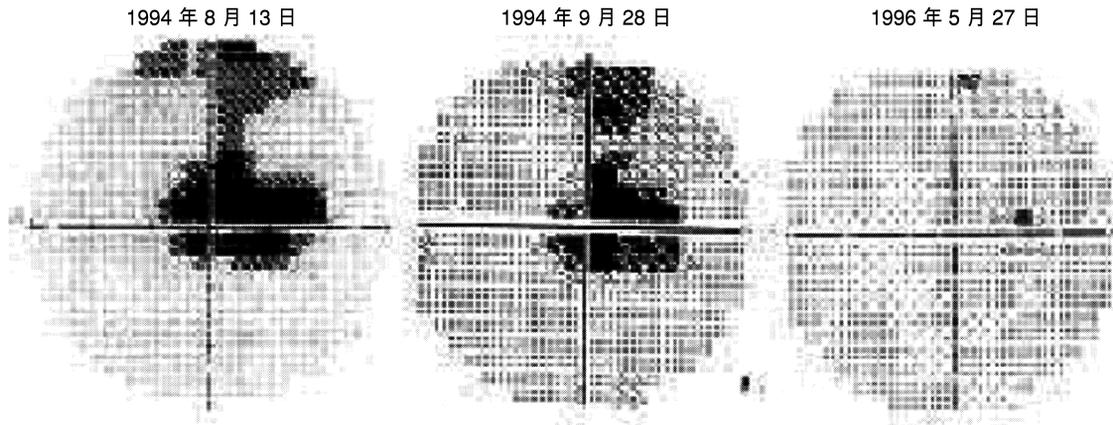


図 2 ミトコンドリア DNA 11778 塩基対変異をもつレーベル遺伝性視神経症の自然回復例。

15 歳右眼の Humphrey 30-2 グレースケールの変化。発症時(1994 年 8 月 13 日)の中心暗点が消退している。

文献 35 (Br J Ophthalmol 84 : 534-535, 2000, Figure 1) から出版者 (the BMJ Publishing Group) の許可を得て改変引用。

が浸透率を上げる一つの要因である可能性を示した。一方で、この家系の母系血縁者の中には、離婚再婚し、父系の異なる子孫を残すものもいるが、このような核遺伝子の違いにも拘わらず、発症の性差は同じ浸透率を持って子孫に現れた。このことは、LHON 発症の性差には、核遺伝子より何らかの代謝因子・環境因子の関与の方が深いことを意味する。彼らは、その候補の一つとして、estrogen を推定している³⁾³⁰⁾³⁷⁾。

Estrogen は、女性 hormone としての作用に加え、近年、中枢神経系では神経栄養因子として働くことが知られるようになった⁴⁰⁾。網膜には estrogen receptor が網膜神経節細胞を含めて発現しており⁴¹⁾、動物モデルでは、酸化ストレスに対して神経保護効果のあることも報告⁴²⁾されている。さらに、神経芽細胞腫由来の細胞を用いた培養実験系で、呼吸鎖抑制酸化ストレスを与えた状態で、17 β -estradiol がミトコンドリア機能不全を改善させたという報告⁴³⁾も出された。LHON 患者の多くが、思春期前後に発症することと併せ、性ホルモンの LHON 発症への関与が推定される。井街²⁾は授乳が女性 LHON 患者の発症のトリガーになることを指摘したが、これは、妊娠から出産・授乳という、ダイナミックな体内ホルモン環境の変化と関連しているのかもしれない。

Sadun ら³⁷⁾のデータでは、さらに興味深いことに、世代が下がるにつれ、浸透率が 70% から 20% へ減少した。井街²⁾によれば、保因者の生んだ男性の発症率は保因者の加齢とともに上昇し、60 歳を超えると 100% 近く発症するとしているので、Sadun らの示す後世代の低浸透率は、加齢の影響という意味で若干過小評価されている可能性はあるものの、何らかの環境因子により LHON の発症率が減少している可能性を推定している。一方で、発症の男女比は、2, 3 世代では 50~70% が男

性患者なのに対し、5~7 世代では 100% 男性患者となっていた(表 2)。性差に関していえば、井街²⁾は男性が 68.1% を占めるに過ぎず、欧米に比べ女性罹患者が多いことを報告した。その後、1995 年に我が国で行われた多施設アンケート調査によれば、79 家系 89 例中 82 例(92.1%)が男性であった⁴⁴⁾。後者は mtDNA 11778 変異を LHON の診断根拠としているので、家系図による診断を行った井街とは、必ずしも同じ患者集団を扱っていない可能性もあるが、Sadun らの報告と併せると、過去に比べ、白人家系でも³⁷⁾、日本人家系でも²⁾⁴⁴⁾、女性発症者が減少してきていることが推定される。すなわち、改めて、何らかの環境因子が LHON 発症をコントロールしている可能性が浮き彫りになってきたのである。

Sadun ら³⁷⁾の家系では、喫煙・飲酒の嗜好歴は、同じ 11778 変異を持つこの家系構成員の中で、有意に発症の有無と関連していた。しかし、これら嗜好歴の男女比に差はなかったため、発症の性差への影響は少ないと思われる。

VI LHON における球後視神経病変

最近になって、従来考えられてきた以上に LHON 患者では myelin 鞘の障害が強く、脱髄が顕著で視神経軸索が裸になっていたり、再 myelin 化の像を伴う視神経線維の存在が剖検例で報告⁴⁵⁾⁴⁶⁾された。さらに、篩状板後部の有髄神経内に腫大したミトコンドリアの斑状集積や、視神経軸索を包んで myelin 形成を行う oligodendrocyte の構造異常がみられた¹⁹⁾⁴⁵⁾⁴⁶⁾。これらの所見は、ミトコンドリアの代謝を阻害する毒物(cuprizone や ethidium bromide)を用いた実験的脱髄モデルと酷似していた¹⁹⁾。LHON 視神経では myelin の障害と再構築および軸索輸送障害を伴う、軽度であるが、活動性の変性

過程が視機能障害発症後何十年経っても生じ続けている可能性が推定されている³⁾¹⁹⁾。すなわち、LHON は、アポトーシスによる死という点では、緑内障のような一次性的網膜神経節細胞障害の様式をとるが、その一方で、炎症や脱髄性疾患類似の視神経病理変化をも併せ持つ疾患であることが認知されつつある。

VII LHON 発症のシナリオと治療の可能性

以上から、LHON とは、mtDNA 変異が、神経節細胞特異的に ROS によるアポトーシスを惹き起こす素因を母系遺伝形式で子孫に伝えるが、何らかの生体内外的環境因子がないと発症しないし、発症すれば球後視神経にも炎症・脱髄性病変を来すものの、陳旧例であっても自然治癒し得る疾患であるとまとめることができる。

現在のところ、evidence-based medicine に則って有効な治療方法は確立されていないが、その方向性はある程度示されつつある。Carelli ら³⁾は LHON 治療のアプローチとして、3つの方法があると述べている。

① ミトコンドリアの呼吸鎖機能を高め、ATP 合成を増加させる。

② 過剰な酸化ストレスを希釈させる。

③ 網膜神経節細胞のアポトーシスカスケードを停止ないし抑制させる。

そして、これらの治療方法が有効かどうかの検討は、症例数の少ない LHON においては、無作為前向き試験は困難であり、片眼が発症した症例に対するこれらの神経保護治療を適用したとき、他眼の発症を阻止するかどうかをもって評価すべきであると述べている³⁾。

具体的な治療方法の候補として挙げられるのが遺伝子治療である。Vitro の研究段階ではあるが、Guy ら⁴⁷⁾はその可能性を示している。彼らは、まず osteosarcoma 細胞株を用いて、前述の 11778 変異を有する *transmitochondria cybird* を作製し、ガラクトース培地で培養することで ATP 合成を低下させ、細胞死を誘導した。次にアデノ随伴ウイルスベクターを用いて、正常な ND 4 遺伝子(11778 番塩基は前述のミトコンドリア電子伝達系複合体 complex I のサブユニット 4 に位置し、このサブユニットを ND 4 と呼ぶ)を導入することで、ATP 合成の回復の有無と細胞死の抑制効果を検討した。核遺伝子の導入と異なり、ミトコンドリア遺伝子を導入する際には以下の点が問題となるが、彼らはそれを巧みな方法を用いて回避している。問題というのは、まず、ミトコンドリア遺伝子のコドンは、核遺伝子のコドンと必ずしも同じでないことである。コドンとは、塩基配列三つで一つのアミノ酸を決定する暗号の基本単位であるが、その暗号が核とミトコンドリア遺伝子のそれでは異なるものがある。そこで、彼らは結果的に転写・翻訳されたアミノ酸配列が同じになるように、ミトコンドリアの遺伝子配列から核の遺伝子配列に置き換えたものを、

cybrid に導入したのである。しかし、それだけでは作られた蛋白は細胞質に留まり、肝心のミトコンドリア内には入らない。そこで、彼らは *mitochondria targeting* 配列を導入する遺伝子に付加した。この配列を持つ産物は、ミトコンドリア内へ輸送されるので、結果として異常 mtDNA の産物をミトコンドリア内で代償することが可能となるのである。この手法を *allotopic* 補正と呼ぶ。さて、*allotopic* 補正により、正常な ND 4 遺伝子産物を導入された *cybrid* は、対照に比べて ATP 合成能は 3 倍増加し、細胞死は有意に抑制された。アデノ随伴ウイルスによる網膜神経節細胞への遺伝子導入はすでに *in vivo* でも成功している⁴⁸⁾から、理論上はヒト LHON の ND 4 機能障害を補正することも不可能ではなくなった。

VIII 結 語

LHON の最初の系統的報告から 130 年の歳月が流れた¹⁾。mtDNA 変異の同定という大きな breakthrough を経て、しかしなお、LHON 病態の全容は明らかになっていない。その一方で、分子生物学・生化学・病理学的知見の集積は、近い将来 LHON 治療の臨床応用が可能になることを期待させる。

ご校閲いただきました根木 昭教授に感謝いたします。また、本総説を神戸大学・兵庫医科大学名誉教授井街 讓先生に捧げます。

文 献

- 1) **Leber T** : Uber hereditare und congenital-angeborene Sehnervenleiden. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol 17 : 249—291, 1871.
- 2) **井街 讓** : レーベル氏病. 附 優性型幼児性視神経萎縮症. 日眼会誌 77 : 1685—1735, 1973.
- 3) **Carelli V, Ross-Cisneros FN, Sadun AA** : Mitochondrial dysfunction as a cause of optic neuropathies. Prog Retin Eye Res 23 : 53—89, 2004.
- 4) **Wakakura M, Yokoe J** : Evidence for preserved direct pupillary light response in Leber's hereditary optic neuropathy. Br J Ophthalmol 79 : 442—446, 1995.
- 5) **Nakamura M, Sekiya Y, Yamamoto M** : Preservation of photic blink reflex in Leber's hereditary optic neuropathy. Invest Ophthalmol Vis Sci 37 : 2736—2743, 1996.
- 6) **Mashima Y, Kimura I, Yamamoto Y, Ohde H, Ohtake Y, Tanino T, et al** : Optic disc excavation in the atrophic stage of Leber's hereditary optic neuropathy : Comparison with normal tension glaucoma. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol 241 : 75—80, 2003.
- 7) **Sadun F, de Negri AM, Carelli V, Salomao SR, Berezovsky A, Andrade R, et al** : Ophthalmologic findings in a large pedigree of 11778/

- haplogroup J Leber hereditary optic neuropathy. *Am J Ophthalmol* 137 : 271–277, 2004.
- 8) **Wallace DC, Singh G, Lott MT, Hodge JA, Schurr TG, Lezza AM, et al** : Mitochondrial DNA mutation associated with Leber's hereditary optic neuropathy. *Science* 242 : 1427–1430, 1988.
 - 9) **Majander A, Finel M, Savontaus ML, Nikoskelainen E, Wikstrom M** : Catalytic activity of complex I in cell lines that possess replacement mutations in the ND genes in Leber's hereditary optic neuropathy. *Eur J Biochem* 239 : 201–207, 1996.
 - 10) **Carelli V, Gjelli A, Ratta M, Bacchilega E, Sangiorgi S, Mancini R, et al** : Leber's hereditary optic neuropathy : Biochemical effect of the 11778/ND 4 and 3460/ND 1 mutations and correlation with the mitochondrial genotype. *Neurology* 48 : 1623–1632, 1997.
 - 11) **Howell N** : Leber hereditary optic neuropathy : Mitochondrial mutations and degeneration of the optic nerve. *Vision Res* 37 : 3495–3507, 1997.
 - 12) **Giulivi C** : Characterization and function of mitochondrial nitric-oxide synthase. *Free Radic Biol Med* 34 : 397–408, 2003.
 - 13) **Rotig A, de Lonlay P, Chretien D, Foury F, Koenig M, Sidi D, et al** : Aconitase and mitochondrial iron-sulphur protein deficiency in Friedrich ataxia. *Nat Genet* 17 : 215–217, 1997.
 - 14) **Clementi E, Brown GC, Feelisch M, Moncada S** : Persistent inhibition of cell respiration by nitric oxide : Crucial role of S-nitrosylation of mitochondrial complex I and protective action of glutathione. *Proc Natl Acad Sci USA* 95 : 7631–7636, 1998.
 - 15) **Yamakura F, Taka H, Fujimura T, Murayama K** : Inactivation of human manganese-superoxide dismutase by peroxynitrite is caused by exclusive nitration of tyrosine 34 to 3-nitrotyrosine. *J Biol Chem* 273 : 14085–14089, 1998.
 - 16) **Zoratti M, Szabo I** : The mitochondrial permeability transition. *Biochim Biophys Acta* 1241 : 139–176, 1995.
 - 17) **Liu X, Kim CN, Yang J, Jemmerson R, Wang X** : Induction of apoptotic program in cell-free extracts : Requirement for dATP and cytochrome c. *Cell* 86 : 147–157, 1996.
 - 18) **Miramar MD, Costantini P, Ravagnan L, Saravia LM, Hauzi D, Brothers G, et al** : NADH-oxidase activity of mitochondrial apoptosis-inducing factor. *J Biol Chem* 276 : 16391–16398, 2001.
 - 19) **Carelli V, Ross-Cisneros FN, Sadun AA** : Optic nerve degeneration and mitochondrial dysfunction : Genetic and acquired optic neuropathies. *Neurochem Int* 40 : 573–584, 2002.
 - 20) **Wong A, Cortopassi G** : mtDNA mutations confer cellular sensitivity to oxidant stress that is partially rescued by calcium depletion and cyclosporin A. *Biochem Biophys Res Commun* 239 : 139–145, 1997.
 - 21) **Wong A, Yang J, Cavalier L, Collins-Scramm HE, Seldin MF, McGrogan M, et al** : Differentiation-specific effects of LHON mutations introduced into neuronal NT 2 cells. *Hum Mol Genet* 11 : 431–438, 2002.
 - 22) **Danielson SR, Wong A, Carelli V, Martinuzzi A, Schapira AH, Cortopassi GA** : Cells bearing mutations causing Leber's hereditary optic neuropathy are sensitized to Fas-induced apoptosis. *J Biol Chem* 277 : 5810–5815, 2002.
 - 23) **Ghelli A, Zanna C, Porcelli AM, Scharpira AH, Martinuzzi A, Carelli V, et al** : Leber's hereditary optic neuropathy (LHON) pathologic mutations induce mitochondrial-dependent apoptotic death in transmitochondrial cells incubated with galactose medium. *J Biol Chem* 278 : 4145–4150, 2003.
 - 24) **Carelli V, Sadun AA, Ross-Cisneros F, Rao N, Qi X, Guy J** : Reactive oxygen species in the pathogenesis of Leber's hereditary optic neuropathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 41 : 1650–B1025, 2000.
 - 25) **Nakamura M, Fujiwara Y, Yamamoto M** : Homoplasmic and exclusive ND 4 gene mutation in Japanese pedigrees with Leber's disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 34 : 488–495, 1993.
 - 26) **Bu X, Rotter JI** : X chromosome-linked and mitochondrial gene control of Leber hereditary optic neuropathy : Evidence from segregation analysis for dependence on X chromosome inactivation. *Proc Natl Acad Sci USA* 88 : 8198–8202, 1991.
 - 27) **Nakamura M, Fujiwara Y, Yamamoto M** : The two locus control of Leber hereditary optic neuropathy and a high penetrance in Japanese pedigrees. *Hum Genet* 91 : 339–341, 1993.
 - 28) **Chalmers RM, Harding AE** : A case-control study of Leber's hereditary optic neuropathy. *Brain* 119 : 1481–1486, 1996.
 - 29) **Man PY, Brown DT, Wehnert MS, Zeviani M, Carrara F, Turnbull DM, et al** : NDUFA-1 is not a nuclear modifier gene in Leber hereditary optic neuropathy. *Neurology* 58 : 1861–1862, 2002.
 - 30) **Pegoraro E, Vettori A, Valentino ML, Molon A, Mostacciolo ML, Howell N, et al** : X-inactivation pattern in multiple tissues from two Leber's hereditary optic neuropathy (LHON) patients. *Am J Med Genet* 119 : 37–40, 2003.
 - 31) **Stone EM, Newman NJ, Miller NR, Johns DR, Lott MT, Wallace DC** : Visual recovery in patients with Leber's hereditary optic neuropathy and the 11778 mutation. *J Clin Neuroophthalmol* 12 : 10–14, 1992.
 - 32) **Mackey D, Howell N** : A variant of Leber heredi-

- tary optic neuropathy characterized by recovery of vision and by an unusual mitochondrial genetic etiology. *Am J Hum Genet* 51 : 1218—1228, 1992.
- 33) **Riordan-Eva P, Sanders MD, Govan GG, Sweeney MG, Da Costa J, Harding AE** : The clinical features of Leber's hereditary optic neuropathy defined by the presence of a pathogenic mitochondrial DNA mutation. *Brain* 118 : 319—337, 1995.
- 34) **Pezzi PP, De Negri AM, Sadun F, Carelli V, Leuzzi V** : Childhood Leber's hereditary optic neuropathy (ND 1/3460) with visual recovery. *Pediatr Neurol* 19 : 308—312, 1998.
- 35) **Nakamura M, Yamamoto M** : Variable pattern of visual recovery of Leber's hereditary optic neuropathy. *Br J Ophthalmol* 84 : 534—535, 2000.
- 36) 小口芳久 : レーベル遺伝性視神経症の過去, 現在, 未来. *日眼会誌* 105 : 809—827, 2001.
- 37) **Sadun AA, Carelli V, Salomao SR, Berezovsky A, Quiros PA, Sadun F, et al** : Extensive investigation of a large Brazilian pedigree of 11778/haplogroup J Leber hereditary optic neuropathy. *Am J Ophthalmol* 136 : 231—238, 2003.
- 38) **Mroczek-Tonska K, Kisiel B, Piechota J, Bartnik E** : Leber hereditary optic neuropathy : A disease with a known molecular basis but a mysterious mechanism of pathology. *J Appl Genet* 44 : 529—538, 2003.
- 39) **Torroni A, Petrozzi M, D'Urbano L, Sellitto D, Zeviani M, Carrara F, et al** : Haplotype and phylogenetic analyses suggest that one European-specific mtDNA background plays a role in the expression of Leber hereditary optic neuropathy by increasing the penetrance of the primary mutations 11778 and 14484. *Am J Hum Genet* 60 : 1107—1121, 1997.
- 40) **McCullough LD, Hurn PD** : Estrogen and ischemic neuroprotection : An integrated view. *Trends Endocrinol Metab* 14 : 228—235, 2003.
- 41) **Munaut C, Lambert V, Noel A, Frankenne F, Deprez M, Foidart JM** : Presence of oestrogen receptor type β in human retina. *Br J Ophthalmol* 85 : 877—882, 2001.
- 42) **Ramirez AD, Liu X, Menniti FS** : Repeated estradiol treatment prevents MPTP-induced dopamine depletion in male mice. *Neuroendocrinology* 77 : 223—231, 2003.
- 43) **Wang J, Green PS, Simpkins JW** : Estradiol protects against ATP depletion, mitochondrial membrane potential decline and the generation of reactive oxygen species induced by 3-nitropropionic acid in SK-N-SH human neuroblastoma cells. *J Neurochem* 77 : 804—811, 2001.
- 44) 堀田喜裕, 藤木慶子, 早川むつ子, 中島 章, 金井 淳, 真島行彦, 他 : ミトコンドリア遺伝子の 11778 番塩基対変異をもつ日本人のレーベル病の臨床像. *日眼会誌* 99 : 721—727, 1995.
- 45) **Sadun AA, Kashima Y, Wurdeman AE, Dao J, Heller K, Sherman J** : Morphological findings in the visual system in a case of Leber's hereditary optic neuropathy. *Clin Neurosci* 2 : 165—172, 1994.
- 46) **Carelli V, Ghelli A, Bucchi L, Montagna P, DeNegri A, Leuzzi V, et al** : Biochemical features of mtDNA 14484(ND 6/M 64 V) point mutation associated with Leber's hereditary optic neuropathy. *Ann Neurol* 45 : 320—328, 1999.
- 47) **Guy J, Qi X, Pallotti F, Schon EA, Manfredi G, Carelli V, et al** : Rescue of a mitochondrial deficiency causing Leber hereditary optic neuropathy. *Ann Neurol* 52 : 534—542, 2002.
- 48) **Guy J, Qi X, Hauawirth WW** : Adeno-associated viral-mediated catalase expression suppresses optic neuritis in experimental allergic encephalomyelitis. *Proc Natl Acad Sci USA* 95 : 13847—13852, 1998.