

低浸透率を示した Optineurin 遺伝子 His26Asp 変異を持つ 正常眼圧緑内障の 1 家系

安田 典子¹⁾, 中元 兼二¹⁾, 船山 智代²⁾, 真島 行彦²⁾

¹⁾東京警察病院眼科, ²⁾慶應義塾大学医学部眼科

要 約

目 的：現在、緑内障遺伝子は 3 つ同定されているが、今回、東京警察病院眼科通院加療中の開放隅角緑内障患者において 2 つの緑内障遺伝子を解析し、遺伝子変異の頻度と臨床所見を明らかにする。

対象と方法：東京警察病院眼科の緑内障外来に通院加療中の開放隅角緑内障患者の内、99 家系 (正常眼圧緑内障 50 家系, 原発開放隅角緑内障 49 家系) について、遺伝子解析に同意を得た上で myocilin 遺伝子および optineurin 遺伝子を解析した。変異を認めた家系については、同意と協力が得られた家族に対し遺伝子検査と緑内障諸検査を施行した。

結 果：99 家系中 1 家系に optineurin 遺伝子 His26Asp 変異がみられた。正常人 240 名にはこの変異はみ

られなかった。発端者は 37 歳、男性で正常眼圧緑内障と診断された。発端者の父も同様の変異が確認されたが、臨床所見は正常であった。母には変異が無かったが高眼圧症であった。optineurin 遺伝子の多型を検査した結果、Thr34Thr 多型のみ検出され、両親はヘテロ変異であったが、発端者は野生型であった。Myocilin 変異は、Asp208Glu 変異のみが母親に検出された。

結 論：日本人開放隅角緑内障患者において、optineurin 遺伝子の His26Asp 変異は浸透率が低いことが考えられる。(日眼会誌 110 : 594—600, 2006)

キーワード：正常眼圧緑内障, オプチニューリン, ミオシリン, 低浸透率

Low Penetrance of His26Asp Mutation in the Optineurin Gene in a Japanese Family with Normal-tension Glaucoma

Noriko Yasuda¹⁾, Kenji Nakamoto¹⁾, Tomoyo Funayama²⁾ and Yukihiro Mashima²⁾

¹⁾Department of Ophthalmology, Tokyo Metropolitan Police Hospital

²⁾Department of Ophthalmology, School of Medicine Keio University

Abstract

Purpose : Three glaucoma genes have been identified in open-angle glaucoma (OAG). In this study, two of these genes were analyzed in Japanese patients with OAG.

Subjects and Methods : After informed consent was obtained, the myocilin gene and the optineurin gene were analyzed in 99 Japanese patients with OAG, including 49 cases of primary open-angle glaucoma (POAG) and 50 cases of normal-tension glaucoma (NTG). The patients were outpatients at the Tokyo Metropolitan Police Hospital. Family members were examined for the genes and clinical features if the proband had a mutation.

Results : One of the 99 patients had His26Asp mutation in the optineurin gene. None of the 240 subjects serving as controls had this mutation. The

proband was a 37-year-old man diagnosed as having NTG. His father had the same mutation, but had normal clinical findings. His mother did not have the mutation, but had ocular hypertension. Polymorphism of Thr34Thr was observed in a wild type for the proband, and heterozygous change was found in his parents. For the myocilin gene, only the Asp208Glu mutation was found in his mother.

Conclusion : His26Asp mutation in the optineurin gene showed low penetrance in a Japanese family with NTG.

Nippon Ganka Gakkai Zasshi (J Jpn Ophthalmol Soc 110 : 594—600, 2006)

Key words : Normal-tension glaucoma, Optineurin, Myocilin, Low penetrance

別刷請求先：102-0071 東京都千代田区富士見 2-10-41 東京警察病院眼科 安田 典子

(平成 17 年 9 月 12 日受付, 平成 18 年 1 月 10 日改訂受理)

Reprint requests to : Noriko Yasuda, M. D. Department of Ophthalmology, Tokyo Metropolitan Police Hospital, 2-10-41 Fujimi, Chiyoda-ku, Tokyo 102-0071, Japan.

(Received September 12, 2005 and accepted in revised form January 10, 2006)

I 緒 言

開放隅角緑内障の原因遺伝子として、現在染色体上に 7 か所マッピングされ、その内、3 か所の緑内障遺伝子が明らかになっている。myocilin(遺伝子シンボル: *MYOC*) は 1997 年に TIGR(trabecular meshwork induced glucocorticoid response) 遺伝子として最初に報告され、若年発症の開放隅角緑内障の疾患遺伝子で、染色体 1q21-q31(遺伝子座 *GLC1A*) に存在する¹⁾²⁾。日本人開放隅角緑内障患者の約 3% がこの遺伝子異常を持っている³⁾。2002 年に 2 番目の緑内障遺伝子 *optineurin*(*OPTN*) が同定され、主に正常眼圧緑内障に関連すると報告された⁴⁾。*optineurin* 遺伝子は 3 個の非コードエキソンと、577 アミノ酸をコードする 13 個のエキソンから成り、視神経の脆弱性やアポトーシスなどに関連することが考えられている。この遺伝子は *GLC1E* 座位(染色体 10p15-p14) に存在し、正常眼圧緑内障だけでなく開放隅角緑内障にも関連する^{5)~8)}。しかしながら、遺伝子変異を持つ欧米の緑内障患者の頻度は低く^{9)~11)}、また日本人開放隅角緑内障患者でも約 0.25% にしかこの遺伝子異常はみられず¹²⁾、原因遺伝子としては非常に希な緑内障遺伝子である。

日本人患者において、これまで *optineurin* 遺伝子変異は His26Asp 変異を持つ 2 家系が報告されている¹²⁾¹³⁾。今回、新たに His26Asp 変異 1 家系を見出したが、本遺伝子変異は低浸透率を示すことが考えられたので、ここに報告する。

II 対象と方法

東京警察病院眼科の緑内障外来に通院加療中の開放隅角緑内障患者の内、99 家系(正常眼圧緑内障 50 家系、原発開放隅角緑内障 49 家系)について、遺伝子解析に同意を得た上で末梢血を採取し、DNA を抽出した。遺伝子解析は慶應義塾大学医学部眼科で行った。*Myocilin* 遺伝子および *optineurin* 遺伝子解析用の特異的プライマーを使用して、PCR(polymerase chain reaction)法にてエキソン領域の遺伝子断片を増幅した。得られた PCR 産物を DHPLC 法(WAVE)にて解析し、波形に差がみられた PCR 産物をダイレクトシーケンス法にて塩基配列を決定した。使用した PCR 用のプライマーは既報で報告した³⁾¹²⁾。

変異を認めた家系については、同意と協力が得られた家族に対し遺伝子検査と緑内障諸検査を施行した。検査項目は屈折、視力、細隙灯顕微鏡、眼圧、隅角、眼底、ゴールドマン動的視野およびハンプリー静的視野(中心 30-2 プログラム、中心 10-2 プログラム)、頭部 CT または MRI である。

正常眼圧緑内障の診断基準は、眼圧日内変動を含めた無治療時の眼圧がいずれも 21 mmHg 以下であること、

正常開放隅角であること、緑内障性視神経乳頭変化と対応する緑内障性視野変化があること、視神経乳頭の緑内障様変化を来しうる他の疾患がないこととした。

遺伝子解析を行うにあたり、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」の概要を元に、説明書と同意書を作成し、東京警察病院および慶應義塾大学医学部の倫理委員会で承認されている。

III 結 果

1. 遺伝子解析結果

発端者の *optineurin* 遺伝子を検索した結果、コドン 26 の CAC が GAC に変化し、アミノ酸はヒスチジンからアスパラギン酸へ変化していた(His26Asp 変異)(図 1)。発端者の両親には遺伝子検査の承諾が得られたが、その他の親族は遠方などの理由から承諾が得られなかった。両親の遺伝子検査の結果、父も同様の変異が確認されたが、母にはなかった(図 2)。His26Asp 変異は正常者 240 名にはみられなかった。*optineurin* 遺伝子の多型を検査した結果、Thr34Thr 多型のみ検出され、両親はヘテロ変異であったが、発端者は野生型であった。

Myocilin 変異は、Asp208Glu 変異のみが母親に検出された。

2. 症 例

症例(発端者): 37 歳、男性。

主 訴: 眼底検査希望。

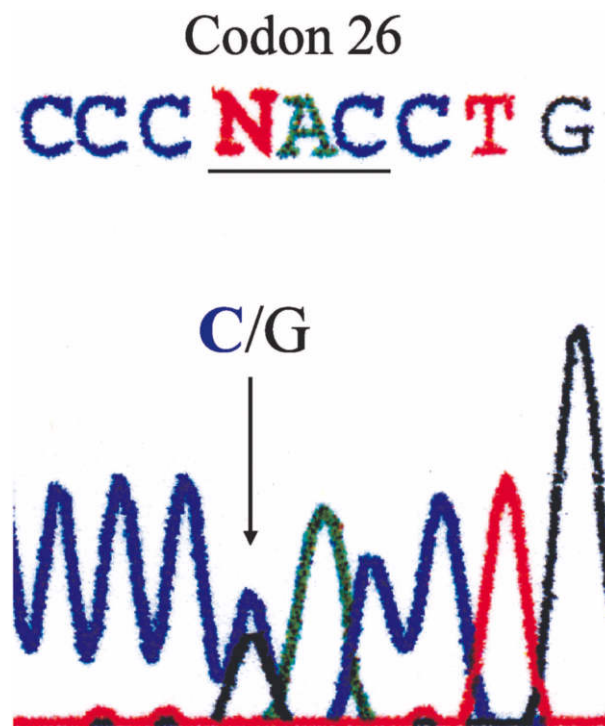


図 1 *Optineurin* 遺伝子エキソン 4 のシーケンス結果。コドン 26 の最初の塩基が C から G へ変異(ヘテロ変異)している。

現病歴：職場検診にて左眼の視神経乳頭出血を指摘され、2003年12月26日に精査のため東京警察病院眼科を受診した。

初診時所見：視力は、右眼 0.05 (1.2×-7.00 D<cyl-0.50 D Ax 50°), 左眼 0.05 (1.2×-7.00 D) で、眼圧は右眼 16 mmHg, 左眼 14 mmHg であった。前眼部、中間透光体には異常なく、眼底検査にて左眼の視神経乳頭耳下側辺縁部の局所的狭細化とその部位に一致した網膜神経線維層欠損を認めた(図3)。隅角所見は Shaffer 4 で、形成異常はなかった。ハンフリー視野検査では中心 30-2 プログラム、中心 10-2 プログラムいずれに

おいても、右眼は正常、左眼は上方視野に網膜神経線維層欠損と一致した比較暗点を認めた(図4)。ゴールドマン視野検査でも、ハンフリー視野検査結果と同様に、右眼は正常、左眼は上方視野に、マリ奥特盲点と連結した絶対暗点があった(図5)。正常眼圧緑内障を疑い、入院検査を行った。

経過および治療：入院検査の結果、眼圧日内変動は、右眼 12~16 mmHg, 左眼 11~14 mmHg であり、頭部 CT 検査にて頭蓋内、副鼻腔などの疾患はなく、また大量出血や外傷などの既往もないことから、正常眼圧緑内障と診断した。ラタノプロスト点眼(1日1回)を使用して、午前中の眼圧は両眼とも 12~13 mmHg に低下した。2004年7月13日、右眼にも視神経乳頭出血が出現した(図6)。現在、ラタノプロスト点眼にて経過観察中である。

症例(父)：63歳、男性。

長男(発端者)が、正常眼圧緑内障と診断されたため、2004年7月30日、精査のため当院を受診した。現在のところ眼圧は右 15 mmHg, 左 16 mmHg で、眼底検査および視野検査に、緑内障性変化はなかった(図7, 8)。

症例(母)：62歳、女性。

52歳の時、飛蚊症にて近医を受診した。左眼下方に網膜裂孔を認め、レーザー光凝固術を受けた。その時、眼圧は右 23 mmHg, 左 23 mmHg であったが、眼底に緑内障性変化はなく、経過観察されていた。61歳の時、眼圧は右 27 mmHg, 左 27 mmHg に上昇したため、高眼圧症の診断にて両眼ラタノプロスト点眼を開始された。長男(発端者)が、正常眼圧緑内障と診断されたため、2004年7月13日精査のため当院を受診した。

初診時所見：視力は、右眼 0.02 (0.3×-10.00 D<cyl-0.75 D Ax 180°), 左眼 0.1 (1.2×-7.00 D<cyl-0.50

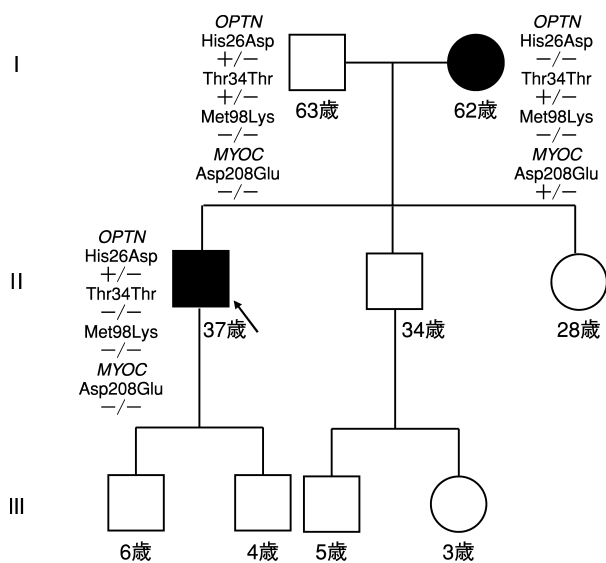


図2 Optineurin 遺伝子 His26Asp 変異を有する家系。

OPTN : optineurin 遺伝子, MYOC : myocilin 遺伝子
+ : 変異型, - : 野生型

□ : 正常, ■ : 正常眼圧緑内障, ● : 高眼圧症



図3 発端者の初診時の眼底写真。

左眼視神経乳頭耳下側辺縁部の局所的狭細化とその部位に一致した網膜神経線維層欠損を認めた(矢印)。

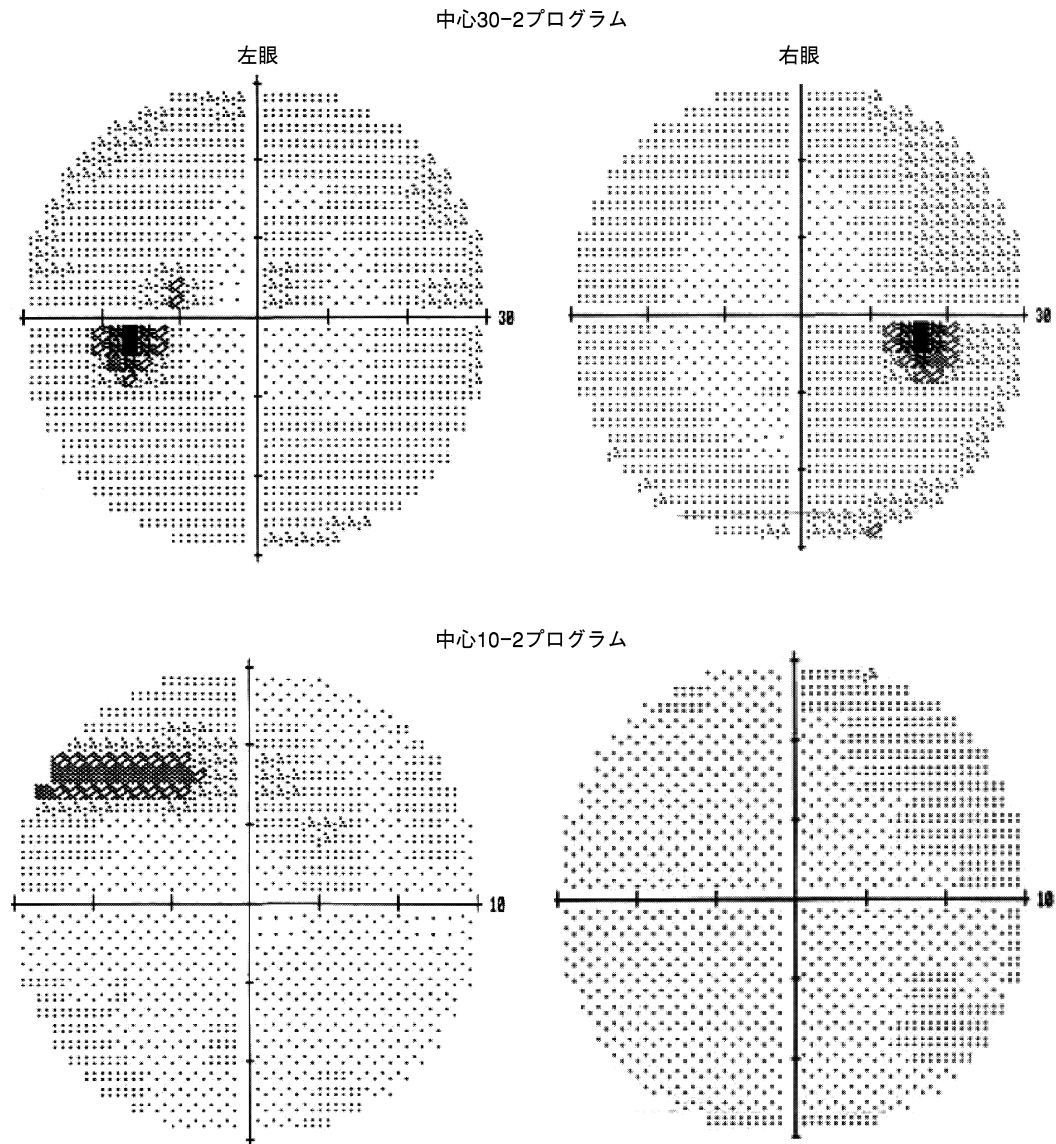


図 4 発端者の Humphrey 視野検査結果.

ハンフリー視野検査では中心 30-2 プログラム, 中心 10-2 プログラムいずれにおいても, 右眼は正常, 左眼は上方視野に網膜神経線維層欠損と一致した比較暗点を認めた。

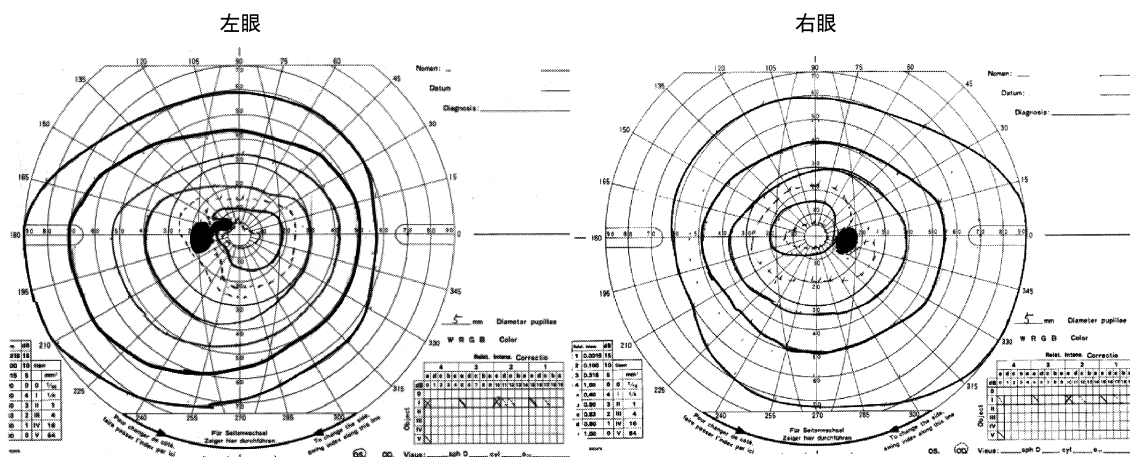


図 5 発端者の Goldmann 視野検査結果.

ゴールドマン視野検査では, 右眼は正常, 左眼は上方視野にマリ奥特盲点と連結した絶対暗点があった。



図 6 発端者の経過観察中に右眼に出現した視神経乳頭出血。
2004 年 7 月 13 日，右眼に視神経乳頭出血が出現した。

右眼

左眼

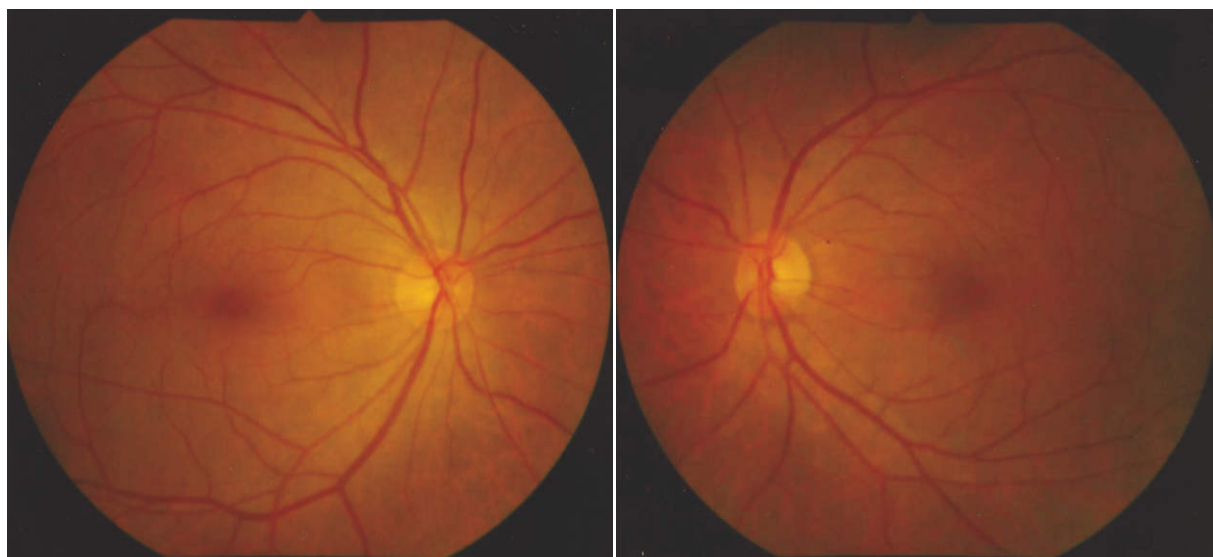


図 7 発端者の父の初診時の眼底写真。
眼底検査で，視神経乳頭に緑内障性変化はなかった。

D Ax 170°)で，眼圧は右眼 15 mmHg，左眼 14 mmHgであった。前眼部，中間透光体には異常なく，眼底検査にて，両眼ともにコーヌスを伴った近視乳頭を認め，緑内障性変化はなかった。右眼の視力不良は幼少時からのものであった。隅角所見は Shaffer 4 で，形成異常はなかった。ハンフリー視野検査にて両眼ともに緑内障性視野変化はなかった。眼圧，眼底，視野所見より，高眼圧症と診断した。

現在，近医にてラタノプロスト点眼で経過観察中である。

IV 考 按

緑内障遺伝子 *OPTN* は 2002 年に Rezaie ら⁴⁾により

報告された正常眼圧緑内障の原因遺伝子であり，アメリカ人患者において *OPTN* 遺伝子のアミノ酸変異は 3 か所 (Glu50Lys, 691_692insAG, Arg545Gln) が報告されている。約 17% (54 家系中 9 家系) の患者に *OPTN* 遺伝子変異が報告された。その後の報告⁷⁾では遺伝子変異は正常眼圧緑内障患者だけでなく，開放隅角緑内障患者にも報告されている。しかしながら，*OPTN* 遺伝子変異の頻度は，1048 症例を調べた Alward ら⁸⁾のグループは開放隅角緑内障患者の中では 0.1% 以下としており，イギリスの Aung ら⁹⁾のグループは正常眼圧緑内障患者の 1.5% (132 家系中 2 家系) に変異がみられたと報告している。両グループが報告した変異は，最初に Rezaie らの報告した Glu50Lys 変異であり，したがって，この

中心30-2プログラム

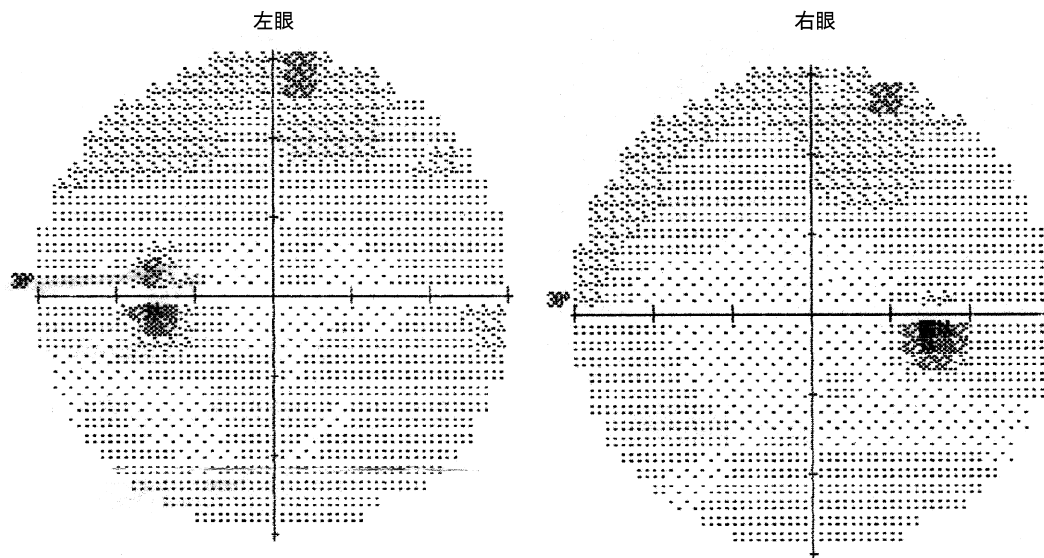


図 8 発端者の父の Humphrey 視野検査結果.

ハンフリー視野検査の中心 30-2 プログラムでは緑内障性変化はなかった。

変異は正常眼圧緑内障を発症する遺伝子変異と考えられる⁸⁾。いずれにしても、本邦では *OPTN* 遺伝子変異の頻度は 0.25% であり¹²⁾、外国でもこの遺伝子変異は稀であるという報告が他にもある⁹⁾¹¹⁾。

日本人開放隅角緑内障患者において、これまで *OPTN* 遺伝子変異は His26Asp 変異を持つ 2 家系が報告されている¹²⁾¹³⁾。東北大からの症例は開放隅角緑内障であるが、診断時年齢、家族歴の記載は無い¹³⁾。もう 1 症例は慶應義塾大学からの報告で、開放隅角緑内障患者である¹²⁾。変異を持った発端者の兄(55 歳)は正常眼圧緑内障と診断されている。その長女(23 歳)も変異を持っており、眼圧と視野検査では異常所見はみられなかったが、視神経乳頭陥凹(C/D 比 0.7)がみられた。今回、新たに正常眼圧緑内障患者において His26Asp 変異を持つ 1 家系を見出した。しかしながら、同変異を持った発端者の父親は緑内障を発症していない。したがって、His 26 Asp 変異が緑内障発症の原因となる変異(disease-causing mutation)か否かが問題となる。*MYOC* 遺伝子変異や *OPTN* 遺伝子変異を多数報告している Iowa 大学の Stone らのグループは disease-causing mutation の定義として以下の 4 つを満たすものとしている¹⁴⁾。すなわち、1)アミノ酸が変化している、2)1 人以上の緑内障患者に存在する、3)一般人の 1% 以下に存在する、4)正常人には存在しない。His26Asp 変異に関しては、これらの 4 つを満たしているのので、disease-causing mutation と考えられる。

His26Asp 変異を持った発端者の父親は緑内障を発症していないが、遺伝子異常を持っているにもかかわらず 63 歳時点では発症していない理由として、1)今後発症する可能性、2)この変異は浸透率が低い、3)他の修飾

因子が関与して発症する、の 3 つが考えられる。

浸透率の低い変異として *MYOC* 遺伝子の Gln368 stop 変異がある¹⁵⁾。*MYOC* 遺伝子変異は若年発症の患者に多くみられるが、Gln368stop 変異を持つ患者の発症年齢は 40 歳以降が多い。*MYOC* 遺伝子変異の浸透率は年齢に関係するが、Gln368stop 変異の場合、緑内障を発症する患者は 30 歳では 0%、31~40 歳で 27%、51~60 歳で 50%、61~70 歳で 73% と報告され、浸透率は低い¹⁵⁾。一方、浸透率の高い Cys433Arg 変異では、30 歳では 40%、31~40 歳で 75%、41~59 歳で 100% である¹⁶⁾。したがって、*OPTN* 遺伝子の His26Asp 変異は浸透率が低いことが考えられるが、今後この変異に関する臨床報告が待たれる。常染色体優性遺伝疾患では、浸透率の違いはよくみられる現象で、浸透率の低い変異としては、角膜ジストロフィの原因遺伝子である *TGFBI* 遺伝子の Lys527Arg 変異がある¹⁷⁾。この変異では発症年齢が 50 歳以降であり、家族歴がほとんどみられず、以前に常染色体劣性遺伝と考えられた家系もある。

今回報告した家系では緑内障発症に *OPTN* 遺伝子変異以外に他の修飾因子が関与している可能性を検討するために *MYOC* 遺伝子を調べたが、説明できる様な結果は得られなかった。発端者の母親は高眼圧症であったが、*MYOC* 遺伝子の Asp208Glu 変異を持っていた。この変異は正常人にもみられるので、多型の可能性もあるが³⁾、disease-causing mutation と考えている報告もある¹⁸⁾。この *MYOC* 遺伝子変異による高眼圧なのか、偶然発症したのか判定はできない。

以上から、His26Asp 変異は日本人特有の disease-causing mutation であるが、浸透率の低い変異と考え

られた。今後、多施設からの His26Asp 変異の家系の報告が待たれる。

文 献

- 1) Stone EM, Fingert JH, Alward WL, Nguyen TD, Polansky JR, Sunden SL, et al : Identification of a gene that causes primary open angle glaucoma. *Science* 275 : 668—670, 1997.
- 2) Kubota R, Noda S, Wang Y, Minoshima S, Asakawa S, Kudoh J, et al : A novel myosin-like protein(myocilin) expressed in the connecting cilium of the photoreceptor : molecular cloning, tissue expression, and chromosomal mapping. *Genomics* 41 : 360—369, 1997.
- 3) Ishikawa K, Funayama T, Ohtake Y, Tanino T, Kurosaka D, Suzuki K, et al : Novel MYOC gene mutation, Phe369Leu, in Japanese patients with primary open-angle glaucoma detected by denaturing high-performance liquid chromatography. *J Glaucoma* 13 : 466—471, 2004.
- 4) Rezaie T, Child A, Hitchings R, Brice G, Miller L, Coca-Prados M, et al : Adult-onset primary open-angle glaucoma caused by mutations in optineurin. *Science* 295 : 1077—1079, 2002.
- 5) Leung YF, Fan BJ, Lam DS, Lee WS, Tam PO, Chua JK, et al : Different optineurin mutation pattern in primary open-angle glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 44 : 3880—3884, 2003.
- 6) Alward WL, Kwon YH, Kawase K, Craig JE, Hayreh SS, Johnson AT, et al : Evaluation of optineurin sequence variations in 1,048 patients with open-angle glaucoma. *Am J Ophthalmol* 136 : 904—910, 2003.
- 7) Willoughby CE, Chan LL, Herd S, Billingsley G, Noordeh N, Levin AV, et al : Defining the pathogenicity of optineurin in juvenile open-angle glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 45 : 3122—3130, 2004.
- 8) Aung T, Rezaie T, Okada K, Viswanathan AC, Child AH, Brice G, et al : Clinical Features and Course of Patients with Glaucoma with the E50K Mutation in the Optineurin Gene. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 46 : 2816—22, 2005.
- 9) Wiggs JL, Augustine J, Allingham RR, Flor JD, Pericak-Vance MA, Rogers K, et al : Lack of association of mutations in optineurin with disease in patients with adult-onset primary open-angle glaucoma. *Arch Ophthalmol* 121 : 1181—1183, 2003.
- 10) Aung T, Ebenezer ND, Brice G, Child AH, Prescott Q, Lehmann OJ, et al : Prevalence of optineurin sequence variants in adult primary open angle glaucoma : Implications for diagnostic testing. *J Med Genet* 40 : e101, 2003.
- 11) Weisschuh N, Neumann D, Wolf C, Wissinger B, Gramer E : Prevalence of myocilin and optineurin sequence variants in German normal tension glaucoma patients. *Mol Vis* 11 : 284—287, 2005.
- 12) Funayama T, Ishikawa K, Ohtake Y, Tanino T, Kurosaka D, Kimura I, et al : Variants in optineurin gene and their association with tumor necrosis factor-alpha polymorphisms in Japanese patients with glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 45 : 4359—4367, 2004.
- 13) Fuse N, Takahashi K, Akiyama H, Nakazawa T, Seimiya M, Kuwahara S, et al : Molecular genetic analysis of optineurin gene for primary open-angle and normal tension glaucoma in the Japanese population. *J Glaucoma* 13 : 299—303, 2004.
- 14) Fingert JH, Heon E, Liebmman JM, Yamamoto T, Craig JE, Rait J, et al : Analysis of myocilin mutations in 1703 glaucoma patients from five different populations. *Hum Mol Genet* 8 : 899—905, 1999.
- 15) Angius A, Spinelli P, Ghilotti G, Casu G, Sole G, Loi A, et al : Myocilin Gln368stop mutation and advanced age as risk factors for late-onset primary open-angle glaucoma. *Arch Ophthalmol* 118 : 674—679, 2000.
- 16) de Vasconcellos JP, de Melo MB, Schimitti R, Costa FF, Costa VP : Penetrance and phenotype of the Cys433Arg myocilin mutation in a family pedigree with primary open-angle glaucoma. *J Glaucoma* 12 : 104—107, 2003.
- 17) 川島素子, 山田昌和, 船山智代, 真島行彦 : Transforming growth factor beta induced 遺伝子変異による晩期発症の格子状角膜ジストロフィ6例. *日眼会誌* 109 : 93—100, 2005.
- 18) Gong G, Kosoko-Lasaki O, Haynatzki GR, Wilson MR : Genetic dissection of myocilin glaucoma. *Hum Mol Genet* 13 : R 91—102, 2004.