

第95回 日本眼科学会総会 宿題報告

眼先天異常と遺伝子

色覚異常の分子機構

三木直正

大阪大学医学部第一薬理学教室

要約

J. Nathansら(1985)により、3種類の色覚色素蛋白質の構造が明らかにされた。正常では、赤遺伝子の1コピーと緑遺伝子の1~3コピーがX染色体上に並んでいる。しかし、両遺伝子が互によく似ている(96%)ため、交叉を起しやすく、進化の途中で減数分裂時に、赤と緑遺伝子が一部ずつ結合したハイブリッド遺伝子ができた。ハイブリッド遺伝子から生じる色覚色素の機能は、当然、正常とは異なった波長吸収スペクトルを示す。色覚遺伝子の5'側はどの錐体細胞に発現するかを決め、3'側はスペクトルタイプを決める。後者に含まれるエクソン4は小さなスペクトル移動に関係し、エクソン5は大きなスペクトル移動に関係している。例えば、5'側が赤遺伝子で、3'側が緑遺伝子のハイブリッドの場合、色覚色素は赤錐体に発現し、そのスペクトルは緑の性質を示す。赤および緑遺伝子がどのような割合で混ざるかにより、赤緑色盲から色弱までの広い範囲の色覚異常が生じる。(日眼会誌 95:1196-1205, 1991)

キーワード: 色覚遺伝子, 色盲, 色弱, 遺伝子解析, ハイブリッド遺伝子

The Molecular Genetics of Color Blindness

Naomasa Miki

Department of Pharmacology, Osaka University School of Medicine

Abstract

The gene structures of three color pigments have been reported by Nathans et al. in 1985. One copy of red gene and 1 to 3 copies of green genes are tandemly repeated on X chromosome. As the structures of red and green genes are highly homologous (96%) and tandemly repeated, they cross-overed on chromosome during meiosis and hybrid genes were produced. The function of these hybrid genes exhibits abnormal spectrum for red and green light. The 5' portion of the gene determines which cone cell type express the gene and the 3' portion of the gene determines the type of spectrum. In the 3' portion, exon 4 are associated with a small shift of spectrum and exon 5 determines a large shift of spectrum. For example, a hybrid gene with 5' region of red and 3' region of green is expressed in the red cones and exhibits green spectrum. Abnormality of color perception depends on the hybrid ratio of red and green genes. (*Acta Soc Ophthalmol Jpn* 95:1196-1205, 1991)

Key words: Color genes, Anomalous trichromatism, Dichromatism, Genetic analysis, Hybrid genes

別刷請求先: 565 吹田市山田丘2-2 大阪大学医学部第一薬理学教室 三木直正

(平成3年8月2日受付, 受理)

Reprint requests to: Naomasa Miki, M.D. Department of Pharmacology, Osaka University School of Medicine.

2-2 Yamadaoka, Suita 565, Japan

(Received and accepted August 2, 1991)

I はじめに

宿題報告として、色覚異常のタイトルを頂戴したが、私は臨床医でないし、色覚異常に興味があるわけではありません。そこで、私の義務は分かりやすく色覚異常の分子機構を説明することであると考えました。実験をすることも考えましたが、Jeremy Nathans が色覚異常の遺伝子解析をあそこまで解析したものを、私が眼科医の協力で少々の実験をしても、新しい知見が得られるはずがないと考え、無駄なことはしないことにしました。従って、私自身の実験データは全然ないことをまずお断りしておきます。以下、色覚遺伝子とその異常についての分子機構を解説したいと思います。

II 色 覚

いわゆる色盲および色弱と呼ばれる色覚異常は、日本人男子では約5%、女子では0.2~0.3%にみられます。青遺伝子に障害のあるヒトは、2~3万人に1人位です。青遺伝子の障害については、まだよくわかっていませんので、今回は述べません。色を感じる、いわゆる色覚は、光の波長400nmから800nmの可視光を認識する機能です。色覚は網膜の錐体細胞が担当しています。一方、明暗を感じるのは、桿体細胞が担当しています。色覚をもつと思われる動物として、ヒト、サル、ネコ、コイ、ニワトリ、リスなどがあげられます。一方、色覚のない（錐体細胞がない）と考えられる動物は、ウシ、イヌ、マウス、ラットなどがあげられます。ではどのようにして、我々の網膜は色を感じるのでしょうか？このことに関しては、ヤングーヘルムホルツの三要素説というのがあります。色の三要素とは、赤、緑、青のことで、これらの光を適当に混合することにより、すべての色を作ることができます。従って、網膜錐体細胞には、色の三要素をそれぞれ受容する、3種類の錐体細胞が存在するはずだと言うのが、ヤングーヘルムホルツの説です。この説によると、ヒト網膜には、赤視物質、緑視物質、青視物質を含む錐体細胞が存在しなければなりません。1963年 Brownらは、顕微分光光度計を用いて、ヒト網膜黄斑部の差吸収スペクトルを測定したところ、赤、緑、青色に反応する3種類の錐体細胞視物質の存在を確認しました。1967年我が国の富田らも、コイ網膜を用いて、赤、緑、青の波長域に対応して、極大を示す3種類の錐体細胞が存在することを示しました。一方、生化学的に、赤、

緑、青視物質を蛋白質として、抽出し、その構造を明らかにしようとする多くの試みがなされましたが、失敗しております。これは、色覚物質が不安定であることによると考えられています。話の流れから、まず研究のよく進んでいる桿体細胞の視物質であるロドプシンの話をしたいと思います。

III ロドプシン

ロドプシンは桿体細胞外節に存在する視物質で、オプシンとよばれる分子量約3万8千の糖蛋白質に、ビタミンAの誘導体であるレチナールが結合したものです。1986年にソ連のオフチニコフにより、ウシロドプシンのアミノ配列が明らかにされました。続いて米国のJ. Nathansら¹⁾²⁾により、遺伝子工学の手法を用いて、ウシとヒトのロドプシンの構造が明らかにされました。ヒトとウシロドプシン²⁾³⁾はほぼ同じ構造をしています。ロドプシンは、348個のアミノ酸からなるポリペプチドで、外節円板膜を、ミシンの縫糸のように7回貫らぬいています(図1)。なおロドプシン遺伝子は第3染色体上にあることが明らかになっています。また、ロドプシンが光を受容してから、ナトリウムチャンネル閉鎖までの一連の分子機構については、網膜視細胞に特異的な多くの蛋白質が関係していることが明らかとなっています^{4)~6)}。

IV 色覚遺伝子

色覚視物質は、ロドプシンと同じく、蛋白質部分にビタミンAが結合した形をしています。蛋白質部分の構造は、1986年、米国のJeremy Nathansら⁷⁾⁸⁾により、遺伝子工学の手法を用いて明らかにされました。ある目的とする蛋白質の遺伝子をクローニングする時には、普通、その蛋白質のアミノ酸配列の一部が、明らかになっていることが必須条件であります。ところが、色覚物質の場合、蛋白質の情報が全然ありません。そこでNathansらはある工夫をしました。彼らは、赤、緑、青の視物質は、光を受容する機能という点では、ロドプシンと同じであるので、その構造の一部はロドプシンと類似しているだろうと考えたわけです。そこで、すでにクローニングされているロドプシン遺伝子を用いて、ヒトゲノムDNAから、色覚物質の遺伝子を釣り上げようとする方法を取り、成功したのです。この仕事は大変すばらしいもので、このことについて、以下少し詳しくお話したいと思います。Nathansらは、最終的にヒトゲノムから、ロドプシンと類似して

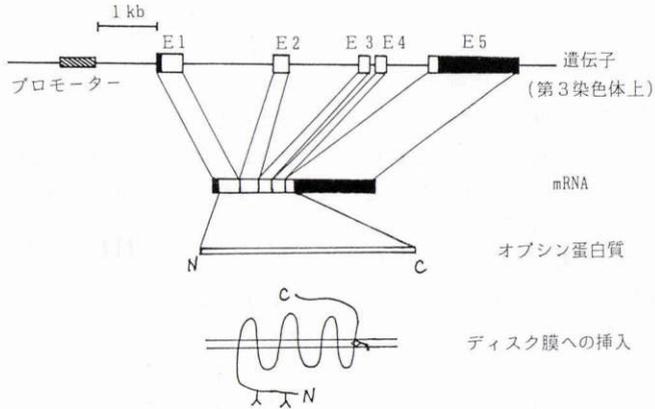


図1 ロドプシンの遺伝子構造と蛋白質。オプシン遺伝子は5個のエクソンからなり、これからオプシン mRNA 転写され、次にオプシン蛋白質が翻訳され、円板膜に組み込まれる。

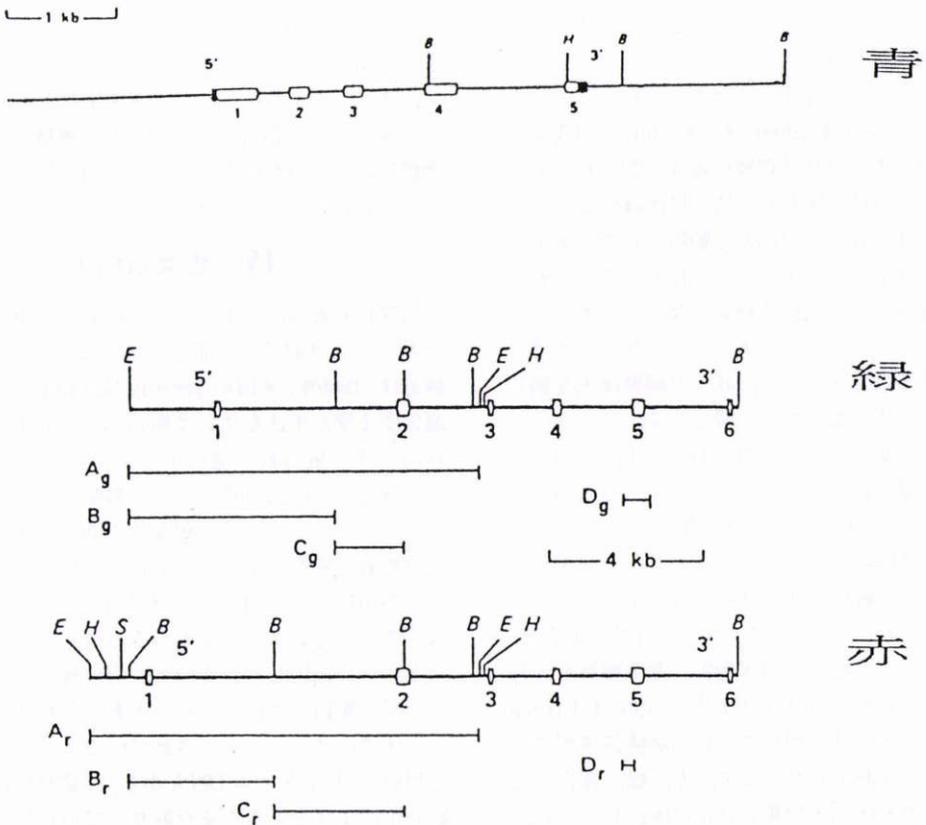


図2 色覚遺伝子の構造。青、赤、緑遺伝子の構造を示す。□はエクソンを示す。文献7を改変した。Ag, Bg, Cg, Dg はプローブとして用いた緑遺伝子の DNA 断片, Ar, Br, Cr, Dr はプローブとして用いた赤遺伝子の DNA 断片。

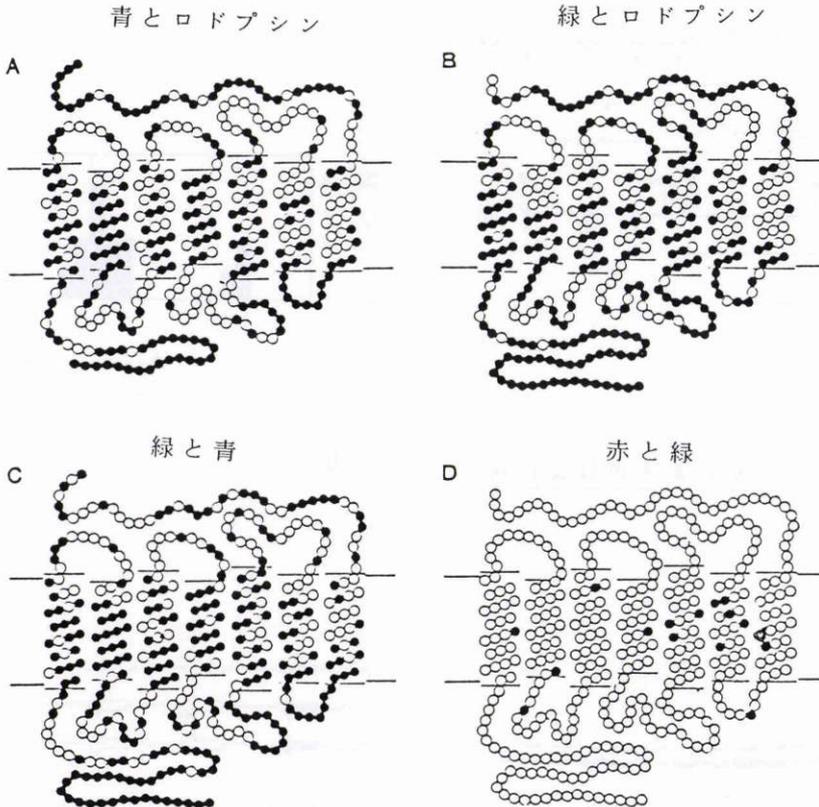


図3 視物質のアミノ酸配列の同源性比較. Aは青とロドプシン, Bは緑とロドプシン, Cは緑と青, Dは赤と緑の比較. ○は同一アミノ酸, ●は異なるアミノ酸を示す. 文献7を改変した.

いる4つの遺伝子をクローニングしました. そのうちの1つはロドプシンそのものでした. 他の1つは, 青遺伝子で, 残りの2つは赤と緑遺伝子であることがわかりました. このことにより, ヤングーヘルムホルツの説が遺伝子のレベルで立証されたわけです. 4つ内の1つが, 青遺伝子であることをどのようにして決めたのでしょうか. まず, 青は, 赤や緑とは構造がかけはなれていると考えられること, さらに, 青は第7染色体上に存在することなどの点から, まず青遺伝子が同定されました. 次に赤と緑遺伝子の区別ですが, 赤と緑遺伝子はその構造が96%類似していますので, 構造だけからは区別することはできません. そこで, 赤および緑色盲者の白血球からDNAを抽出して, これらのヒトのDNA中に赤又は緑の遺伝子が存在するかどうかを調べることにより, 赤と緑の遺伝子の同定がなされました(図2).

V 赤, 青, 緑色覚蛋白質

赤と緑は視物質は約350個のアミノ酸のうち12コが異なっているだけで, 96%のホモロジーがあります(図3). その他, 青, ロドプシン, 赤(緑)との間は約40%位のホモロジーがあります⁷⁾⁸⁾. 赤と緑遺伝子は, 共にX染色体の長腕にあり, q22~q28にあります. 赤と緑遺伝子の距離は約39kbです. すぐ近くにグルコース6-リン酸デヒドロゲナーゼ遺伝子が存在しています. 赤と緑がこのようによく似ている事より, 進化をさかのぼれば, 赤と緑の先祖は共通の遺伝子, おそらく赤遺伝子から進化の途中で, 重複が生じ, 緑遺伝子が生じたと考えられます. 新大陸のサルは1つの視物質, 赤物質しか持っていないことに対し, 旧大陸のサルは赤緑の両視物質をもつことから, 新旧大陸が分離した, 体から3~4千年前に, 赤から緑遺伝子が分離したと考えられます. 次に赤と緑遺伝子がヒトゲノム上で何

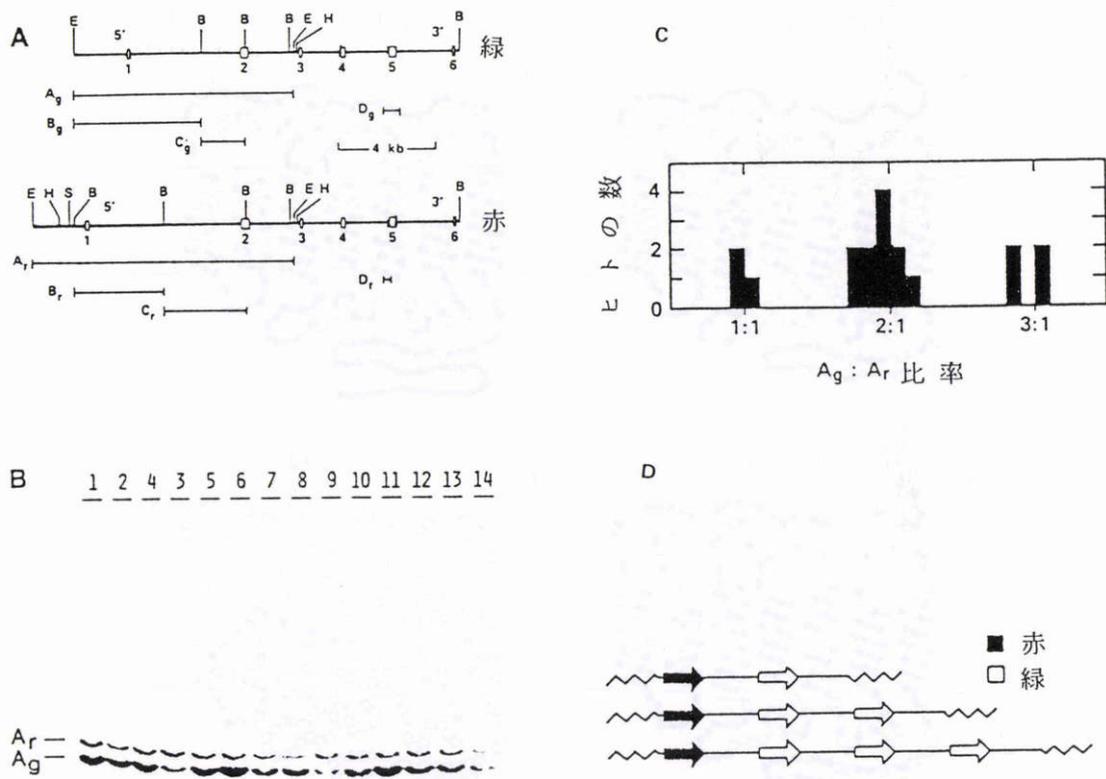


図4 赤と緑遺伝子のX染色体上のコピー数。Aは赤と緑遺伝子，および使用したプローブ(A_r, A_g, B_r, B_g, C_r, C_g, D_r, D_g)の部分を示す。Bは正常色覚者のDNAプローブA_rとA_gを用いたサザンプロットを示す。CはBのバンドの濃さを，人数との関係で定量化したもの。DはX染色体上での赤と青遺伝子の配列を示す。文献7を改変した。

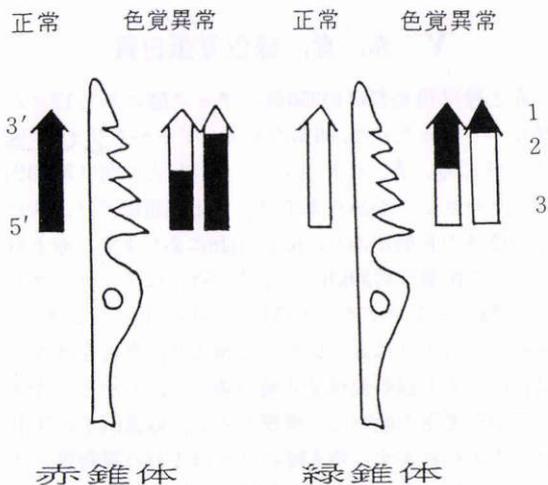


図5 色覚異常遺伝子の錐体細胞での発現とスペクトル。色覚遺伝子の1の部分は大きなスペクトル移動を決める。2の部分は小さなスペクトル移動を決める。3の部分は発現する細胞を決める。

個存在するかについて述べてみたいと思います。これを決めるには、赤のA_r, B_r, C_r, D_rおよび緑のA_g, B_g, C_g, D_gの部分の遺伝子断片(図2)をプローブとして、正常色覚のヒト白血球からDNAを抽出し、サザンプロットを行うことにより決めることができます(図4)。図4Bのバンドの濃さより判断して、赤遺伝子は全ゲノム中に1個存在するだけですが、緑遺伝子の数はヒトにより異なり、1から3個存在することが分かります⁶⁾。2個の緑遺伝子を持つ人の割合が一番多いのです(図4C, D)。このことより緑遺伝子は進化の途中で、さらにいくつかコピーされたものと推察されます。よく調べてみますと、緑遺伝子は、緑1と緑2というように、わずかに構造の異なるものが存在しています。以上、まとめてみますと、青遺伝子は、第7染色体上にあります。従って遺伝様式は常染色体遺伝です。赤や緑遺伝子に対する青遺伝子の類似性は約40%です。一方、赤と緑遺伝子はX染色体上にあり、

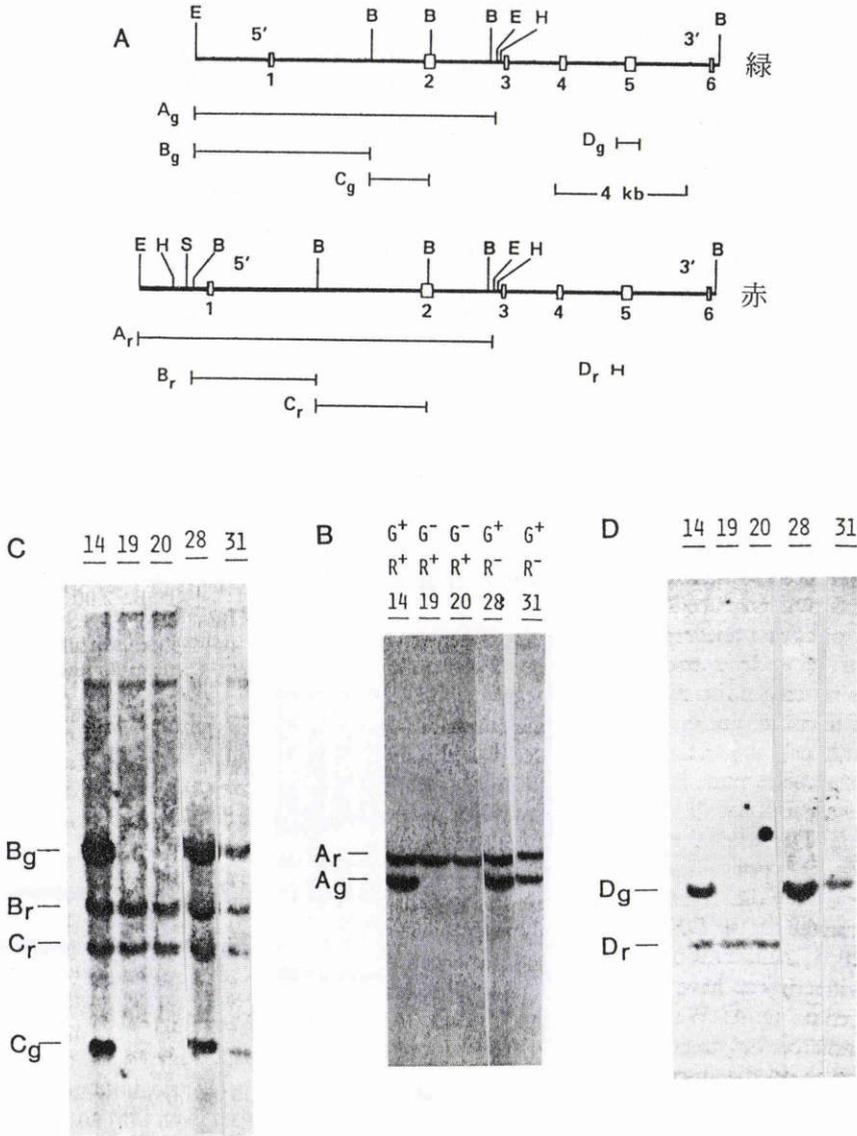


図6 赤緑色盲の遺伝子診断。Aは赤と緑遺伝子、および使用したプローブ(A_r, B_g, B_r, B_g, C_r, C_g, D_r, D_g)の部分を示す。Bの上に遺伝子発現型を示す。Rは赤、Gは緑遺伝子を示し、+は正常、-は欠損を示す。14は正常、19、20は緑色盲、28、31は赤色盲のヒト。D_g, D_rが赤と緑で最も異なる部分。文献10を改変した。

伴性遺伝をします。進化の元をたどると、おそらく赤遺伝子がまず1個存在し、次に緑遺伝子が、赤から重複してできたと考えられます。従ってX染色体上で、赤のすぐ隣りに緑遺伝子が存在しています。また、緑遺伝子は、さらに進化の途中で、2から3個のコピーが出来たと考えられます。

VI 赤緑色盲の遺伝子構造

次に色覚異常がどうして生じるのかについて染色体上の遺伝子の構造から説明したいと思います。まず、正常の遺伝子の配列をみますと、1つの赤と2つの緑が、赤-緑-緑と規則正しい距離でなっています⁹⁾。それでは、赤色盲ではどうなっているのでしょうか？

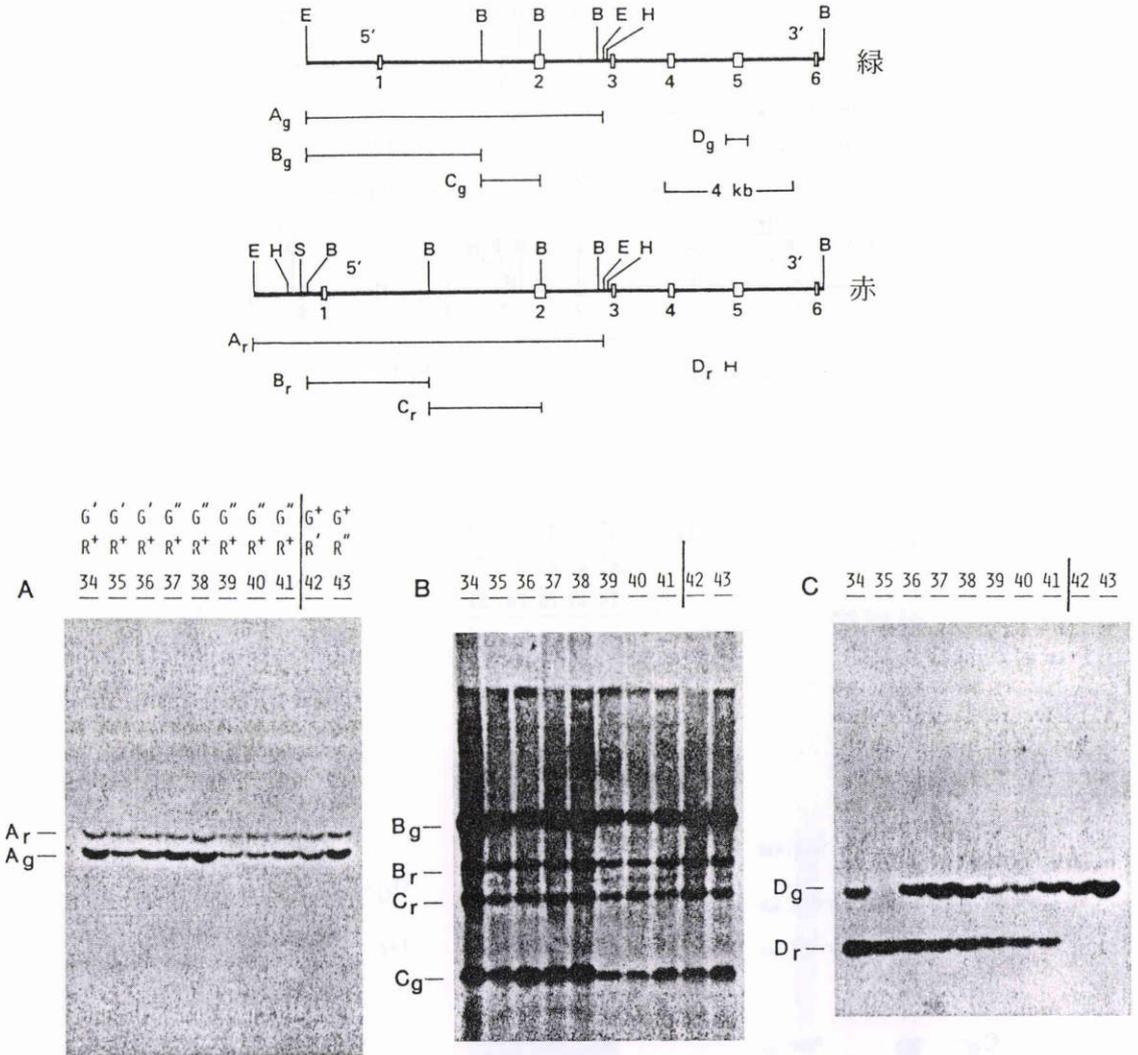


図7 赤緑色弱の遺伝子診断。上段パネルは赤と緑遺伝子、および使用したプローブ(Ar, Ag, Br, Bg, Cr, Cg, Dr, Dg)の部分を示す。AのパネルのGとRの肩についている'および"は異常遺伝子の発現型を示す"の方が'より異常度が強い。34から41までは緑色弱と診断されたヒト、42、43は赤色弱と診断されたヒト。文献10を改変した。

結論を先に述べますと、図5のようになります。5'の部分がどの錐体細胞に発現するかを決め、3'の部分がスペクトルを決めます。従って、矢じりの部分が赤か緑かのスペクトル特性を決めるのです。例えば、5'側が赤遺伝子で、3'側が緑遺伝子のハイブリッドの場合、色覚色素は赤錐体に発現し、そのスペクトルは緑の性質を示すことになります。図6は赤および緑色盲のサザンプロットからの結果を示しています¹⁰。緑の遺伝子は正常ですが、1個しかない赤遺伝子の方は、5'部分が緑

遺伝子に置換っています。これをハイブリッド(あいの子)の遺伝子と呼びます。従って、このハイブリッド遺伝子から出来る視物質は、赤を感じる機能がありませんので、赤色盲となります。緑色盲では、赤遺伝子は正常ですが、緑遺伝子は全く存在しないか、あっても、3'部分が、赤遺伝子に置換していますので、緑色を感じる事ができないのです。

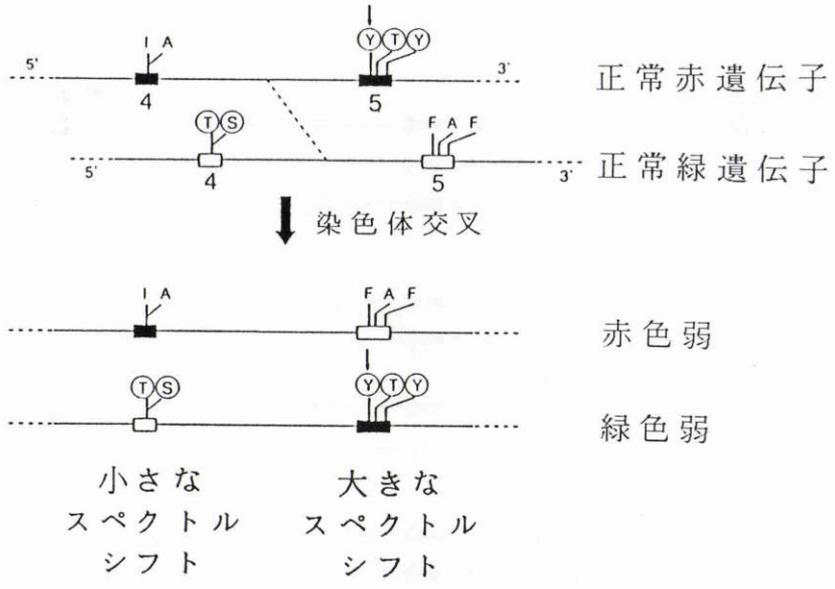
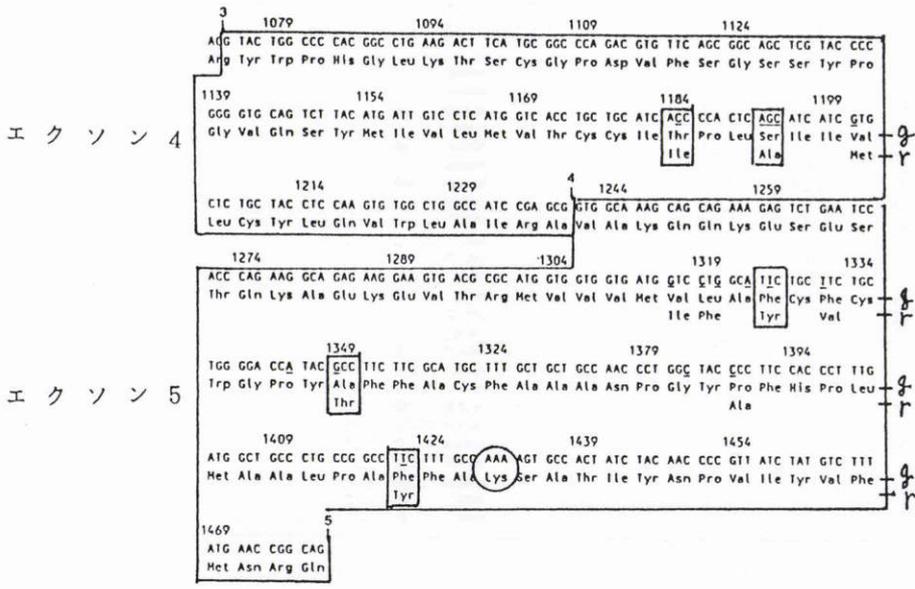


図8 エクソン4と5の組換による色弱の遺伝子構造。上段のパネルはエクソン4（上のかっこ）とエクソン5（下のかっこ）の塩基配列とアミノ酸配列を示す。小さな長方形は赤（r）と緑（g）でアミノ酸の異なる所を示す。丸で囲んだアミノ酸（リジン）にレチナルがつく。下段のパネルは正常色覚遺伝子から、エクソン4とエクソン5の間に組換が起こり、赤あるいは緑色弱遺伝子ができる模色図を示す。文献11を改変した。

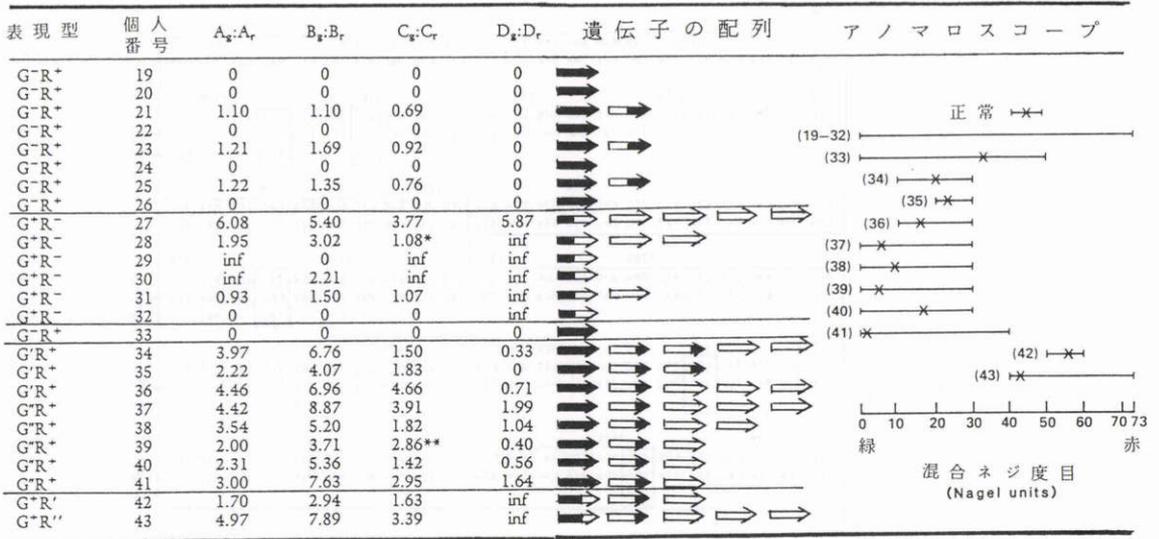


図9 色覚異常の遺伝子診断の結果とそのハイブリッド配列の模式図. Nathans らのデータをもとに, 遺伝子配列を模式的に書いてみた. 番号は図6と図7にすでに使用された検者の番号である. 右にアノマロスコープの結果を示す. 文献10を改変した.

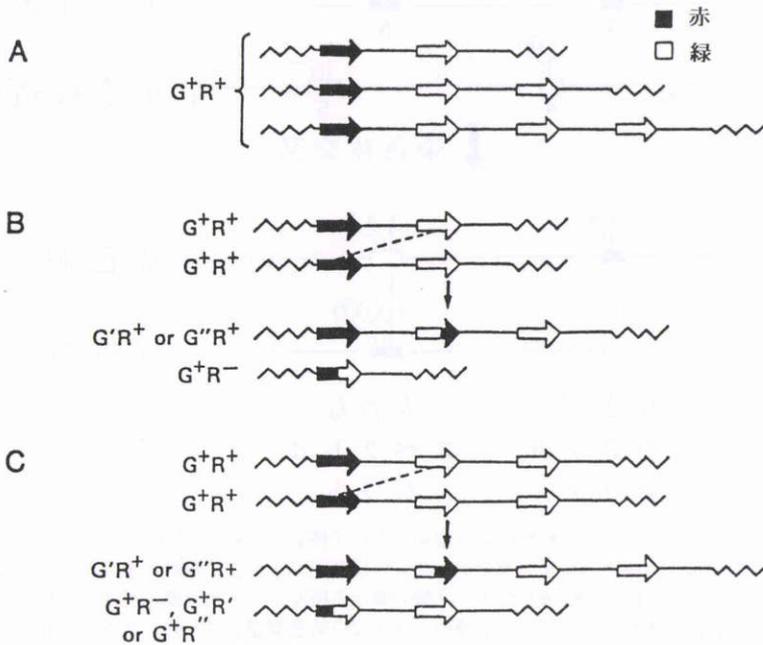


図10 染色体の交差による異常色覚遺伝子の形成. Nathans ら(文献10)が推定する, 染色体組換え時に生じたハイブリッド遺伝子の成立の模式図である. Rは赤, Gは緑遺伝子の発現型で記号は図6と図7と同じ.

VII 赤緑色弱の分子機構

色弱の遺伝子診断は図7のサザンプロットに示すように正確には診断できません¹⁰⁾。すでに述べたように、色覚遺伝子の3'側はスペクトルタイプを決めますが、3'の部分に含まれるエクソン4は小さなスペクトル移動に関係し、エクソン5は大きなスペクトル移動に関係しています¹¹⁾。今、エクソン4とエクソン5の間で遺伝子の組換えが起こった場合を考えてみたいと思います。エクソン5は緑遺伝子で、エクソン4が赤である場合、赤色弱になります(図8)。しかし、赤と緑遺伝子がどのような割合で混ざるかにより、赤緑色盲から色弱まで広い範囲の色覚異常が生じるわけです。緑色弱については、緑遺伝子の3'の部分か、赤遺伝子に置換されています。従って緑を正常に感じる事ができないのです。

VIII 色覚異常の成立

以上、Nathansらの色覚異常のデータをまとめてみました(図9)。大変複雑であることが分かります。特に、色弱の遺伝子構造の解析は今後に残された問題です。では、なぜハイブリッド遺伝子が出来たのでしょうか。それは、赤と緑遺伝子の構造が96%同じであること、赤と緑の遺伝子がすぐとなり合って存在することにより、進化の途中で、染色体組換えの時に、赤と緑の遺伝子の間で、不均等交叉がおこったためとNathansら¹⁰⁾は推察しています(図10)。

この総説を書くにあたり、多くの資料を提供していただいたJohns Hopkins大学医学部のJeremy Nathans博士に感謝いたします。

文 献

- 1) **Nathans J, Hogness DS**: Isolation, sequence analysis, and intron-exon arrangement of the gene encoding bovine rhodopsin. *Cell* 34: 807-814, 1983.
- 2) **Nathans J, Hogness DS**: Isolation and nucleotide sequence of the gene encoding human rhodopsin. *Proc Natl Acad Sci USA* 81: 4851-4855, 1984.
- 3) **Kuo C-H, Yamagata K, Moyzis RK, et al**: Multiple opsin mRNA species in bovine retina. *Molec Brain Res* 1: 257-260, 1986.
- 4) **Watanabe Y, Kawasaki K, Miki N, et al**: Isolation and analysis of a human MEKA gene encoding a retina-specific protein. *Biochem Biophys Res Commun* 70: 951-956, 1990.
- 5) **Yamagata K, Goto K, Kuo C-H, et al**: Visinin: A novel calcium binding protein expressed in retinal cone cells. *Neuron* 2: 469-476, 1990.
- 6) **Nathans J**: Molecular biology of visual pigments. *Ann Rev Neurosci* 10: 163-169, 1987.
- 7) **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.
- 8) **Nathans J**: The genes for color vision. *Sci Amer* 260: 28-35, 1989.
- 9) **Vollrath D, Nathans J, Davis RW**: Tandem array of human visual pigment gene at Xq28. *Science* 240: 1669-1671, 1988.
- 10) **Nathans J, Piantanida TP, Eddy RL, et al**: Molecular genetics of inherited variation in human color vision. *Science* 232: 203-210, 1986.
- 11) **Neitz J, Neitz M, Jacobs GH**: Analysis of fusion gene and encoded photopigment of colour-blind humans. *Nature* 34 2: 679-682, 1989.