
 総 説

日本人家系のレーベル病の遺伝的特徴

中村 誠 山本 節

神戸大学医学部眼科学教室

要 約

レーベル遺伝性視神経症 (LHON) とミトコンドリア DNA (mtDNA) 11778 番塩基対の点突然変異 (11778 変異) との関連は深いですが、同変異が存在するだけでは必ずしも発症するとは限らない。しかし、欧米で示唆されている、変異 mtDNA 分子数の多寡や二義的な mtDNA 変異の相乗効果の関与は、少なくとも我々の調査し得た日本人 10 家系においては否定的であった。分離比解析の結果、LHON 発症には mtDNA 変異と異常な X 染色体上遺伝子 (X-linked gene) の両者が必要であること (two locus control)、女性子孫の発症には X 染色体の不活化 (lyonization) も関与することが示された。異常

X-linked gene の集団内頻度は約 0.1、浸透率は約 0.2 であり、後者は欧米に比べ約 2 倍高かった。以上から、本邦の LHON 家系は欧米家系に比べ、mtDNA 変異に関しては均一である一方、異常 X-linked gene に関わる母性血縁女性子孫の発病閾値が低いことが示唆された。(日眼会誌 98 : 319—326, 1994)

キーワード：レーベル遺伝性視神経症、ミトコンドリア DNA 11778 番塩基対変異、X 染色体上劣性遺伝子、二座位支配、高浸透率

 A Review

Genetic Characteristics of Japanese Pedigrees with Leber's Hereditary Optic Neuropathy

Makoto Nakamura and Misao Yamamoto

Department of Ophthalmology, Kobe University School of Medicine

Abstract

Although point mutation at nucleotide position 11778 of mitochondrial (mt) DNA is associated with Leber's hereditary optic neuropathy (LHON), the existence of the mutation alone is not sufficient for LHON expression. Whether the mutation is homo- or heteroplasmic, or whether secondary mutations additionally exist did not explain intra- or inter-familial phenotypic variations in at least 10 Japanese pedigrees tested. Segregation analysis showed that both mtDNA mutation and abnormal X-linked gene (XLG) are necessary for development of optic atrophy, and that an unfortunate X-inactivation is involved. The frequency of the

presumed abnormal XLG and its penetrance are estimated to be about 0.1 and 0.2, respectively. The latter value is about twice as high as the value for Caucasian pedigrees. This evidence suggests a relatively homogeneous mtDNA abnormality and a low disease threshold derived from the XLG abnormality in female offsprings in Japanese LHON maternal lines. (J Jpn Ophthalmol Soc 98 : 319—326, 1994)

Key words: Leber's hereditary optic neuropathy, Mitochondrial DNA nt 11778 mutation, X-chromosome linked gene, Two locus control, High penetrance

 別刷請求先：650 兵庫県神戸市中央区楠町7-5-1 神戸大学医学部眼科学教室 中村 誠

(平成5年7月3日受付、平成5年11月17日改訂受理)

Reprint requests to: Makoto Nakamura, M.D. Department of Ophthalmology, Kobe University School of Medicine, 7-5-1 Kusunoki-cho, Chuo-ku, Kobe-shi, Hyogo-ken 650, Japan

(Received July 3, 1993 and accepted in revised form November 17, 1993)

表1 既報のレーベル病特異的および二義的ミトコンドリア DNA 変異¹²⁾²⁶⁾

変異部位	アミノ酸置換	全レーベル病家系中の割合(%)	11778 変異陽性家系中の割合(%)	正常者中の割合(%)	
A群	ND 1 3460	A→T	8-25	0	0
	ND 1 4160	L→P	1家系	0	0
	ND 4 11778	R→H	40-90	100	0
	ND 6 14484	M→V	10	0	0
	CytB 15257	D→N	7-9	0	0.3
B群	ND 1 3394	Y→H	4	7	1-2
	ND 1 4216	Y→H	38	21	7-13
	ND 2 4917	D→N	17	3	3-4
	ND 2 5244	G→S	1家系	0	0
	CDI 7444	ter→K	2家系	0	1
	ND 5 13708	A→T	31	23	5-6
	CytB 15812	V→M	4	0	0.1

A群：レーベル病特異的 mtDNA 変異，B群：二義的 mtDNA 変異。

ND：還元型 NADH 脱水素酵素サブユニット，CytB：cytochrome b，COI：cytochrome c 酸化酵素，A：alanine，T：threonine，L：leucine，P：proline，R：arginine，H：histidine，M：methionine，V：valine，D：asparagine，N：asparagine，G：glycine，S：serine，ter：終始コドン，K：lysine，Y：tyrosine，C：cysteine

I 緒言

レーベル遺伝性視神経症 (Leber's hereditary optic neuropathy, 以下 LHON と略す) は、母性遺伝形式をとり、若年男子の両眼を侵す視神経症である¹⁾。古くから本疾患は細胞質遺伝することが推察されていた²⁾が、1988年、LHON 家系において、ミトコンドリア DNA (以下 mtDNA と略す) の 11778 番塩基対の点突然変異が発見された³⁾。この変異により、電子伝達系酵素群の一つ NADH 脱水素酵素のサブユニット 4 (以下 ND 4 と略す) の 340 番目のアミノ酸がアルギニンからヒスチジンに置換される³⁾。現在、欧米家系の 50~80%^{3)~5)}、日本家系の 80~90%⁶⁾⁷⁾にこの変異がみられることが知られている。また、LHON 特異的な別の mtDNA 変異の存在も報告されている^{7)~12)} (表 1)。

しかしながら、LHON 特異的 mtDNA 変異があっても発病しない例は少なくない。また、上述の如く、男性が主に罹患する一方、女性の罹患年齢は総じて男性に比べて高く、ばらつきが多い²⁾¹³⁾。さらに、本疾患が全身病である可能性を示唆する骨格筋¹⁴⁾¹⁵⁾や心電図¹⁶⁾¹⁷⁾の異常が報告されているものの、明らかな異常は眼に局限するなど、11778 変異の存在だけでは LHON の発症は説明できない。そのため、以下の 3つの説が挙げられるようになった。すなわち、発症者に比べ非発症者では、あるいは眼組織に比べ他組織では、11778 変異を持つ mtDNA 分子数が少ないとする説 (mitochondrial heteroplasmy)¹⁸⁾¹⁹⁾、二義的な、他部位の mtDNA 変異の相乗効果が LHON 発症に関与するという説 (synergistic and/or antagonistic effect of simultaneous, multiple mtDNA mutations)⁹⁾²⁰⁾、および LHON は mtDNA 変異

だけでなく、劣性遺伝する X 染色体上の遺伝子の関与が加わって初めて発症するという説 (two locus control) である²¹⁾²²⁾。

本稿では、我々が行った研究を中心に、これらの説と LHON 発症との関わり、ならびに日本人家系の LHON の遺伝的特徴をまとめた。mtDNA 変異が引き起こすと推察される生化学的影響^{3)8)~10)23)}、mtDNA 変異と臨床症状との関連⁴⁾²⁴⁾²⁵⁾などについては、各文献を参照されたい²⁶⁾。

II Mitochondrial heteroplasmy

一つの細胞には数千個の mtDNA ゲノムが含まれる。このうちの一つないし少数に起きた LHON 特異的変異は細胞分裂中にその数を増すとともに、娘細胞に不均等に分配される。したがって、同一個体においては各臓器ごとに、また、子孫においても子孫ごとに、分け与えられる異常 mtDNA 数は異なる²³⁾。眼組織において、異常対正常 mtDNA 数比が一定の閾値を越えた細胞を一定数以上持った個人のみが発症し、正常な mtDNA ゲノムが多く存在する個人は保因者になっても発症しない、という mitochondrial heteroplasmy 説を支持する家系が内外で数家系報告されている¹⁸⁾¹⁹⁾²⁷⁾。

Mitochondrial heteroplasmy の検索は、白血球(クモ膜などを用いている施設もある²⁸⁾)から抽出した mtDNA の塩基配列を決定するのが確実である。しかし、煩雑なため、多くの場合は、目的とする変異部位前後の塩基配列と特異的に結合するオリゴヌクレオチド・プローブ (sequence-specific oligonucleotide probe, 以下 SSO probe と略す) を用いた Southern hybridization を行う。この際、あらかじめ同部位を含む短い DNA 領域を

表 2 分子生物学的検索を行った 7 家系の家系員
(文献 30 から著作権所有者の許可を得て改変転載)

家系	患者	性別	年齢*	血縁関係	臨床症状	発症年齢	右視力	左視力*
A	1	男性	16	発端者	視神経萎縮	16	0.04	0.02
	2	男性	18	兄	拡張性毛細血管症	—	—	—
	3	女性	42	母	無症状	—	—	—
B	1	男性	52	発端者	視神経萎縮	18	0.01	HM
	2	女性	46	妹	無症状	—	—	—
C	1	男性	60	発端者	視神経萎縮	18	0.02	0.02
	2	女性	56	妹	無症状	—	—	—
D	1	男性	69	D 2 の兄	視神経萎縮	16	HM	0.01
	2	女性	67	祖母	無症状	—	—	—
	3	男性	60	D 2 の弟	視神経萎縮	17	0.01	0.1
	4	女性	43	母	無症状	—	—	—
	5	男性	18	発端者	視神経萎縮	18	0.01	0.01
	6 [§]	男性	42	D 1 の息子	無症状	—	—	—
E	1	男性	19	発端者	視神経萎縮	17	0.03	0.02
	2	女性	21	姉	無症状	—	—	—
	3	女性	45	母	無症状	—	—	—
F	1	男性	52	発端者	視神経萎縮	17	0.05	0.05
G	1	男性	42	発端者	視神経萎縮	15	0.04	0.02

* : 検査時の年齢.

※ : 検査時の視力. HM は手動弁の略. 無症候者の矯正視力は全例 1.0 であった.

§ : 家系内対照.



図 1 レーベル病 7 家系におけるミトコンドリア DNA 11778 番塩基変異解析.

(A) Polymerase chain reaction (PCR) 産物のアガロース泳動写真. レーン番号は表 2 に対応する. N : 正常対照, M : サイズ・マーカー, (B) および (C). 正常および変異塩基配列特異的オリゴヌクレオチド (SSO) プロブとの Southern hybridization 結果, 患者 D 1 の息子 D 6 を除き, レーベル病母性血縁者は全例, (C) でのみバンドがみられ, (B) ではバンドがみられず, 11778 変異は homoplasmic な状態である. (D) *Sfa*NI 切断後の通常の hybridization 結果, 上記の結果が PCR のバイアスであるが, 真の homoplasmic であるかを検討するために行った. 11778 変異により, *Sfa*NI の認識部位が消失すれば, 1595 塩基対長のバンドが得られる. レーベル病母性血縁者のレーンには, 916 および 679 塩基対長のバンドはなく, 真の homoplasmic であることが確かめられた. (文献 30 から著作権所有者の許可を得て転載).

polymerase chain reaction (以下 PCR と略す) 法を用いて増幅し, 検出感度を高めるのが普通で, これらの組み合わせから, PCR-SSO Southern hybridization と呼ばれている²⁹⁾. 表 2 および図 1 に, この方法で我々が調査し得た LHON 7 家系 18 名の内訳と検査結果を示す³⁰⁾. 図 1 A は, 11778 部位を含む領域を PCR で増幅した電気泳動写真, 1 B は正常な mtDNA 配列とのみ結合する SSO probe を用いた hybridization 結果, 1 C は異常な mtDNA 配列とのみ結合する SSO probe を用いた結果である. 表 2 に示す家系員のうち, LHON 患者 D 1 の息子 D 6 と, 正常対照の N だけが 1 B でバンドがみられる一方, その他の LHON 患者およびその母性血縁者は全員 1 C でのみバンドがみられた. すなわち, 前者は正常型の mtDNA のみを, 後者は異常型のもののみを有する状態, すなわち, どちらか一方の型の homoplasmcy であることが判明した³⁰⁾.

これまで, 11778 変異の検索は発端者のみを対象とすることが多く, Newman ら⁴⁾が指摘しているように, heteroplasmcy 家系の数を過小評価してきた可能性は否定できない. しかしながら, その数が homoplasmcy 家系の数に比べはるかに少ないことは事実であり, 変異 mtDNA の多寡のみで LHON 発症を説明することは困難といわざるを得ない²⁶⁾³⁰⁾.

III 二義的な mtDNA 変異の相乗効果

次に考慮されるのは, Johns と Berman²⁰⁾が最初に報告した mtDNA 多変異重複説である. 彼らの報告²⁰⁾によれば, LOHN 64 家系の約 3 分の 1 は, NADH 脱水素酵

素遺伝子の幾つかに同時に複数の変異を有している. このうち, 11778 変異をもつ家系では約 20% に ND 1 4216, ND 2 4917, ND 5 13708 変異のいずれかを認めている (表 1). 中でも ND 1 4216 と ND 5 13708 変異は他のグループからも 11778 変異との合併が報告され¹¹⁾¹²⁾³¹⁾, 併せると外国では 11778 変異陽性の LHON 家系の 21% (=14/66) に ND 1 4216 変異が, 23% (=22/95) に ND 5 13708 変異が認められることになる¹²⁾ (表 1). さらに最近になって, ND 1 と ND 2 の他の部位や, ND 5, cytochrome b および cytochrome c 酸化酵素遺伝子にも変異がみつかった^{11)12)31)~33)} (表 1). これらの変異は, 正常者の数%にもみられ, 単独では LHON を発症させ得ないが, 11778 変異のような LHON 特異的 mtDNA 変異と重複して存在することにより, 発症に向かわせる^{9)20)31)~33)}, ないし逆に症状を軽減させると考えられている⁹⁾. 表 2 に示した家系員について, これらの変異の有無を検索した結果の一部を示す (図 2)³⁰⁾. 図 2 A, C と PCR で DNA を増幅後, 図 2 A は *Nsp* 7524 I で図 2 C は *Bst*NI で切断した電気泳動写真である. 前者は ND 1 4216 変異があれば PCR 産物が切断されるのに対し, 後者は ND 5 13708 変異が生じれば切断されなくなるが, とともにすべての家系員で逆の結果, すなわち, 全例当該変異は存在しないことが示された. その他の二義的変異についても検索を行ったが, いずれも存在しなかった (文献 30 および未発表データ). その後, 新たに受診した 3 家系 4 患者にも二義的変異はいずれもなかった. 合計 13 人と患者数が少なく, バイアスが掛かっている可能性は否定できないが, 少なくとも ND 5 13708 変

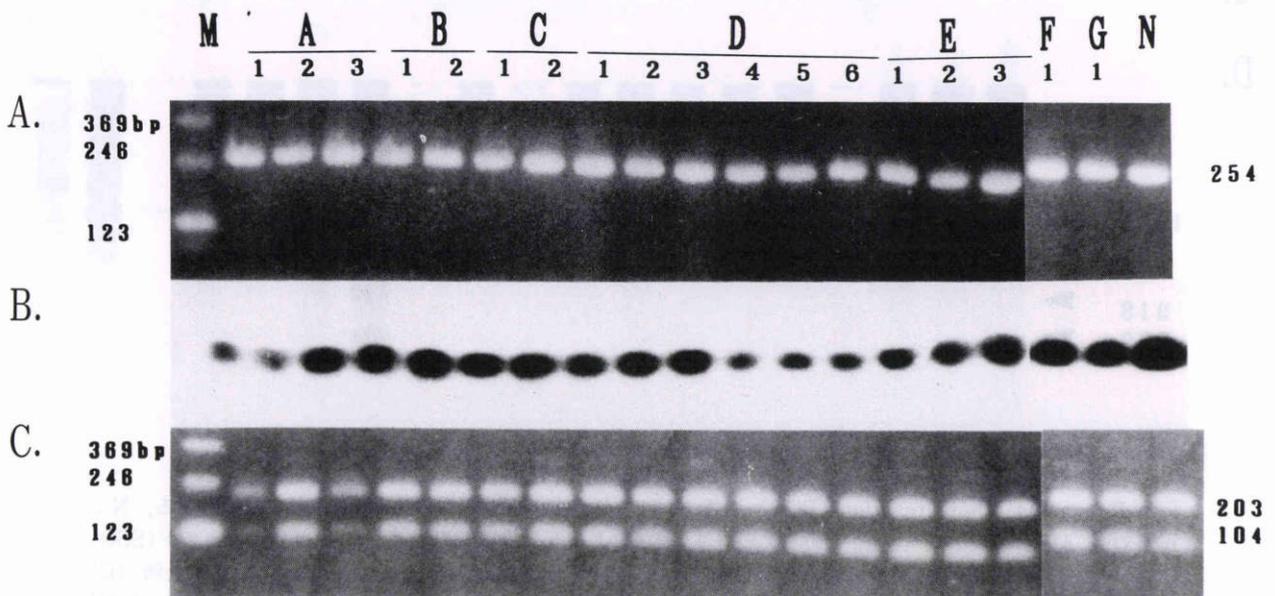


図 2 NADH 脱水素酵素遺伝子群のその他のミトコンドリア DNA 変異の検索.

(A) 還元型 NADH 脱水素酵素サブユニット 1 4216 部位を含む PCR 産物の *Nsp* 74251 処理後の泳動写真. (B) ND 1 4160 部位特異的的正常 SSO プローブとの hybridization 結果. (C) ND 5 13708 部位を含む PCR 産物の *Bst*NI 処理後の泳動写真. いずれの部位も, 調査員全員正常塩基配列を示している. (文献 30 から版権所有者の許可を得て転載).

異に関しては、Fisher の直接確率テスト上、この保有率の低さは既報と比べ (0/13 vs 22/95) 統計学的に有意であった ($p=0.042$; 未発表データ)。また、11778 変異以外の LHON 特異的な変異もすべて陰性であった³⁰⁾(図 2 B および未発表データ)。

以上、少なくとも現在当科で調査した 10 家系では、mtDNA 変異は homoplasmic な 11778 変異のみであり、他の変異の重複もみられない。症例数に問題はあるが、11778 変異の高保有率と併せ、本邦の LHON 患者の mtDNA 異常は均一である可能性が示唆された³⁰⁾。

IV X 染色体遺伝子の関与の検討

LHON 患者は男性が多く、X 染色体遺伝子(X-linked gene) の関与は当然考えられるが、単独では本疾患の特徴的な母性遺伝形式は説明できない²⁾。逆に、上述の如く mtDNA 異常だけでは男性好発性を説明できない。したがって、LHON は mtDNA 異常と X-linked gene 異常の両者が組み合わさって初めて発症する可能性がある²¹⁾²²⁾。Vilkki ら²¹⁾のグループは、既に X 染色体短腕の近位に LHON と連鎖する領域の存在することを示した。同領域は Norrie 病、先天停止性夜盲、網膜色素変性の一部とも連鎖しており、眼機能と密接に関連すると推察される。しかし、遺伝的異質性を考慮すると、すべての LHON 家系が同領域に連鎖しているかどうかは不明であり、同部位との連鎖の認められない家系も報告されている³⁴⁾。したがって、まず、LHON 家系が mtDNA と X-linked gene の二座位支配 (two locus control) を受けるのか、理論的に検証する必要があった。Bu と Rotter²²⁾は、これを意図して分離比解析 (segregation analysis) を行い、欧米家系において、この二座位支配仮説を実証した。我々³⁵⁾は、本邦の LHON 家系に対して同様に分離比解析を試み、興味ある結果を得た。以下にその概要を述べる。

二座位支配説が正しいと仮定した場合、異常な X 染色体を一つだけもつ母 (ヘテロ接合体) から生まれた男子が発病する確率は、異常遺伝子の出現頻度とは無関係に 50% の筈である。ここでヘテロ接合体は、少なくとも一人は罹患男児をもつ無症候の女性か、または少なくとも一人は健康な男児をもつ罹患女性と定義できる²²⁾³⁵⁾。LHON 家系の母性血縁者の中から、ヘテロな母とその男児を調べ、各男児数から、二項分布に従って罹患男児の期待値を計算し、実際の罹患男児数との間で χ^2 適合度検定を行った。表 3 はその結果である³⁵⁾。Data set I は、11778 変異陽性 24 家系、II は mtDNA 変異検索の成されていない 55 家系である³⁵⁾。LHON の診断基準は原則として Vilkki ら³⁶⁾に従ったが、近親婚のある家系や最年少世代に罹患男子のいない家系などは Bu と Rotter²²⁾に準じて対象から除いた。結果は表 3 の如く、両 data set とともに観察値は期待値と良く一致し、また、両 data set 間で

表 3 レーベル病 79 家系母性血縁者中の男性子孫に対する推定 X 染色体上遺伝子の分離比解析 (文献 35 から著作権所見者の許可を得て改変転載)

Data set	s	n _s	罹患患者数		分散	χ^2*	P
			観察値	期待値			
I	1	11	11	11.0	0.00	1.90	>0.15
	2	18	24	24.0	4.00		
	3	9	11	15.4	4.41		
	4	5	10	10.7	3.91		
	5	2	5	5.2	2.16		
総数		45	61	66.2	14.48		
II	1	23	23	23.0	0.00	1.86	>0.15
	2	28	36	37.3	6.21		
	3	17	28	29.1	8.33		
	4	8	14	17.1	6.26		
	5	2	4	5.2	2.16		
	6	1	3	3.0	1.38		
総数		79	108	114.7	24.34		

s: 保育男児数

n_s: 該当する男児数を持つヘテロ接合体母の数

*: $\chi^2 = (\sum \text{観察値} - \sum \text{期待値})^2 / \sum \text{分散}^{22,35)}$

罹患男児の比率に差はなく、欧米家系と同様、本邦の LHON 家系においても二座位支配説が正しいことが示された³⁵⁾。

一方、伴性劣性遺伝を示す疾患では、通常、女性は異常な X 染色体を 2 本持って (ホモ接合体) 初めて発病する。しかし、女性はホモ接合体でなければ発病しないなら、罹患女性から生まれた男児は例外なく発病する筈である。しかし、実際には自らは罹患しているにも関わらず、一人の罹患男児も持たない女性も少なくない。それ故、Bu と Rotter²²⁾は X 染色体の不活化現象 (lyonization) を考慮に入れた。Lyonization とは、女性の体細胞に二組存在する X 染色体の各対立遺伝子のどちらか一方は、発現されないよう卵形成期にアト・ランダムに不活化されている現象である。現在、その実体は DNA のメチル化や X 染色体を構成する蛋白の一つクロマチンの高度凝集に関連するとされている³⁷⁾。Lyonization を考慮に入れば、LHON 家系の母性血縁女性は異常な X-linked gene に関してホモ接合体であるか、またはヘテロ接合体だが、正常 X-linked gene が“運悪く (unfortunate)”不活化されているか、のどちらであっても発症し得ることになる²²⁾³⁵⁾。ここで、女性子孫の発症する割合を S、このうちヘテロ接合体が lyonization のため発症する率 (すなわち浸透率) を Pe、異常な X-linked gene の集団存在頻度 (遺伝子頻度) を q とすると、以下の等式が成り立つ。

$$S = q/2 + Pe/2 \dots\dots\dots (1)^{22)35)}$$

なぜなら、先の家系群においては、対象を母性血縁者に絞っているので、罹患女性子孫は異常 X-linked gene を少なくとも一つは持っている筈である。もう一方の対立

表4 X染色体上遺伝子に関する比率の差の検定
(文献35から著作権所有者の許可を得て作製)

	欧米家系 ²²⁾	日本家系 ³⁵⁾	有意差*
分離比(S)	0.093	0.150	—
浸透率(P)	0.111	0.196	+
遺伝子頻度(q)	0.076	0.104	不明

*:有意水準5%

遺伝子が異常であればホモ接合体であり、その頻度は q に一致する。もう一方が正常であれば、ヘテロ接合体であり、その女性が発病する率は Pe に一致する。もう一方の遺伝子が正常であるか異常であるかはランダムなので各々2で割る必要があり、(1)が得られる²²⁾³⁵⁾。したがって、右辺の第一項はホモ接合体の発病する割合、第二項はヘテロ接合体の発病する割合といえる。Sは母性血縁者の女性子孫全体の発症率で、 Pe は先に定義したヘテロ接合体全体の発症率で近似した。その結果、S、 Pe はそれぞれ 0.150 ± 0.028 (95%信頼区間は $0.095 \sim 0.205$) および 0.196 ± 0.039 (95%信頼区間は $0.119 \sim 0.273$) となり、各平均値を(1)に代入すると、 q は0.104という高値を得た³⁵⁾。また、罹患女性の約35%がホモ接合体、65%が lyonization で発病したヘテロ接合体と推定された。さらに Pe 、すなわちヘテロ接合体の発症する浸透率はBuとRotter²²⁾の報告値0.111に比べ、有意水準5%で有意に高かった³⁵⁾ (表4)。日本人家系における高浸透率は、mtDNA 11778 変異の極めて高い保有率と同様、強い民族差を示している。彼我の浸透率の差異は、主に疾患の発症閾値に由来するので、日本人のヘテロな女性が発病する閾値は欧米に比べ低いと思われる。mtDNA 11778 変異の高保有率が疾患閾値に影響を与えているかどうかは今後の検討課題である³⁵⁾。

いずれにせよ、日本人家系においても LHON 発症には mtDNA 変異と X-linked gene の二座位が関与している可能性は高く、当該遺伝子の検索が望まれる。

V ま と め

このように、永らく謎とされてきた LHON の遺伝様式も、徐々にではあるが、窺い知れるようになってきた。そして mtDNA 11778 変異の検索は、日本人家系においては取り分け重要で、LHON の診断に欠かせない検査となった^{38)~42)}。しかし、上で述べたように、本疾患は mtDNA 変異だけでは発症しないため、カウンセリングが困難な状況に変わりはない³⁹⁾⁴³⁾。また、近い将来 X-linked gene が単離されたとしても、当該遺伝子と mtDNA がどのように関わって特有の視神経症を引き起こすのか、主たる病変が眼に限局するのはなぜか、急性期 LHON の特徴とされる視神経乳頭近傍拡張性毛細血管症の存在はどのように説明するのかなど、解決すべき課題は山積している²⁶⁾³⁰⁾³⁵⁾。内外の研究者が協力して、こ

れらの難問の解決に当たらなければいけないように思われる。

本研究の一部は、日本失明予防協会から援助を受けた。本研究に御協力、御指導頂いた神戸大学医学部眼科学教室坂井讓先生、放射線基礎医学藤原美定教授、兵庫医科大学眼科宮崎茂雄先生、下奥 仁教授に感謝いたします。また、御校閲、御助言を賜りました、神戸大学、兵庫医科大学名誉教授井街 讓先生に深謝いたします。

文 献

- 1) Nikoskelainen EK, Savontaus M-L, Wanne OP, Katila MJ, Nummelin KU: Leber's hereditary optic neuropathy, a maternally inherited disease. Arch Ophthalmol 105: 665-671, 1987.
- 2) 井街 讓: レーベル氏病. 日眼会誌 77: 1658-1735, 1973.
- 3) Wallace DC, Singh G, Lott MT, Hodge JA, Schurr TG, Lezza AMS, et al: Mitochondrial DNA mutation associated with Leber's hereditary optic neuropathy. Science 242: 1427-1430, 1988.
- 4) Newman NJ, Lott MT, Wallace DC: The clinical characteristics of pedigrees of Leber's hereditary optic neuropathy with the 11778 mutation. Am J Ophthalmol 111: 750-762, 1991.
- 5) Labalette P, Hache J-C, Hemery B, Puech B, François P, Dumur V, et al: Diagnosis of Leber's hereditary optic neuropathy without neurological abnormalities. Lancet 340: 368, 1992.
- 6) Nakamura M, Ara F, Yamada M, Hotta Y, Hayasaka M, Fujiki K, et al: High frequency of mitochondrial ND4 gene mutation in Japanese pedigrees with Leber hereditary optic neuropathy. Jpn J Ophthalmol 36: 56-61, 1992.
- 7) Shinoda K, Mashima Y, Hiida Y, Oguchi Y, Wakakura M, Kawasaki T: High prevalence of the nt 11778 mutation in mitochondrial DNA in Japanese Leber's hereditary optic neuropathy with clinical heterogeneity. Invest Ophthalmol Vis Sci 34: 1123, 1993.
- 8) Huoponen K, Vilkkki J, Aula P, Nikoskelainen EK, Savontaus ML: A new mtDNA mutation associated with Leber hereditary optic neuropathy. Am J Hum Genet 48: 1147-1153, 1991.
- 9) Howell N, Kubacka I, Xu M, McCullough DA: Leber hereditary optic neuropathy: Involvement of the mitochondrial ND1 gene and evidence for an intragenic suppressor mutation. Am J Hum Genet 48: 935-942, 1991.
- 10) Howell N, Bindoff LA, McCullough DA, Kubacka I, Poulton J, Mackey D, et al: Leber hereditary optic neuropathy: Identification of the same mitochondrial ND1 mutation in six pedigrees. Am J Hum Genet 49: 939-950, 1991.

- 11) **Johns DR, Neufeld MJ, Park RD**: An ND-6 mitochondrial DNA mutation associated with Leber hereditary optic neuropathy. *Biochem Biophys Res Comm* 187: 1551-1557, 1992.
- 12) **Brown MD, Vojavec AS, Lott MT, MacDonald I, Wallace DC**: Leber's hereditary optic neuropathy: A model for mitochondrial neurodegenerative diseases. *FASEB J* 6: 2791-2799, 1992.
- 13) **Seedorf T**: The inheritance of Leber's disease: A genealogical follow-up study. *Acta Ophthalmol* 63: 135-145, 1985.
- 14) **Uemura A, Osame M, Nakagawa M, Nakahara K, Sameshima M, Ohba N**: Leber's hereditary optic neuropathy: Mitochondrial and biochemical studies on muscle biopsies. *Br J Ophthalmol* 71: 531-536, 1987.
- 15) **Larsson N-G, Andersen O, Holme E, Oldfors A, Wahlström J**: Leber's hereditary optic neuropathy and complex I deficiency in muscle. *Ann Neurol* 30: 701-708, 1991.
- 16) **Ortiz RG, Newman NJ, Manoukian SV, Dieneshouse MC, Lott MT, Wallace DC**: Optic disk cupping and electrocardiographic abnormalities in an American pedigree with Leber's hereditary optic neuropathy. *Am J Ophthalmol* 113: 561-566, 1992.
- 17) **Bower SPC, Hawley I, Mackey DA**: Cardiac arrhythmia and Leber's hereditary optic neuropathy. *Lancet* 339: 1427-1428, 1992.
- 18) **Lott MT, Voljavec AS, Wallace DC**: Variable genotype of Leber's hereditary optic neuropathy patients. *Am J Ophthalmol* 109: 625-631, 1990.
- 19) **Vilkki J, Ott J, Savontaus M-L, Aula P, Nikoskelainen EK**: Segregation of mitochondrial genomes in a heteroplasmic lineages with Leber hereditary optic neuroretinopathy. *Am J Hum Genet* 47: 95-100, 1990.
- 20) **Johns DR, Berman J**: Alternative, simultaneous complex I mitochondrial DNA mutations in Leber's hereditary optic neuropathy. *Biochem Biophys Res Commun* 174: 1324-1330, 1991.
- 21) **Vilkki J, Ott J, Savontaus M-L, Aula P, Nikoskelainen EK**: Optic atrophy in Leber hereditary optic neuroretinopathy is probably determined by an X-chromosomal gene closely linked to DXS7. *Am J Hum Genet* 48: 486-491, 1991.
- 22) **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.
- 23) **Majander A, Huoponen K, Savontaus M-L, Nikoskelainen E, Wikstroem M**: Electron transfer properties of NADH: Ubiquinone reductase in the ND1/3460 and the ND4/11778 mutations of the Leber hereditary optic neuroretinopathy (LHON). *FEBS Lett* 292: 289-292, 1991.
- 24) **Johns DR, Smith KH, Miller NR**: Leber's hereditary optic neuropathy. Clinical manifestations of the 3460 mutation. *Arch Ophthalmol* 110: 1577-1581, 1992.
- 25) **Mackey D, Howell N**: A variant of Leber hereditary optic neuropathy characterized by recovery of vision and by an unusual mitochondrial genetic etiology. *Am J Hum Genet* 51: 1218-1228, 1992.
- 26) **Newman NJ**: Leber's hereditary optic neuropathy. New genetic considerations. *Arch Neurol* 50: 540-548, 1993.
- 27) **Isashiki Y, Nakagawa M**: Clinical correlation of mitochondrial DNA heteroplasmy and Leber's hereditary optic neuropathy. *Jpn J Ophthalmol* 35: 259-267, 1991.
- 28) 林 公子, 宮崎茂雄, 下奥 仁, 橋本知子, 古山順一: レーベル病の遺伝子診断. *神経眼科* 9: 31-37, 1992.
- 29) **Saiki RK, Bugawan TI, Horn GT, Mullis KB, Erlich HA**: Analysis of enzymatically amplified β -globin and HLA-DQ α DNA with allele-specific oligonucleotide probes. *Nature* 324: 163-166, 1986.
- 30) **Nakamura M, Fujiwara Y, Yamamoto M**: Homoplasmic and exclusive ND4 gene mutation in Japanese pedigrees with Leber's disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 34: 488-495, 1993.
- 31) **Brown MD, Voljavec AS, Lott MT, Torroni A, Yang C-C, Wallace DC**: Mitochondrial DNA complex I and III mutations associated with Leber's hereditary optic neuropathy. *Genetics* 130: 163-173, 1992.
- 32) **Brown MD, Yang C-C, Trounce I, Torroni A, Lott MT, Wallace DC**: A mitochondrial DNA variant, identified in Leber hereditary optic neuropathy patients, which extends the amino acid sequence of cytochrome c oxidase subunit I. *Am J Hum Genet* 51: 378-385, 1992.
- 33) **Howell N, Kubacka I, Halvorson S, Mackey D**: Leber's hereditary optic neuropathy: The etiological role of a mutation in the mitochondrial cytochrome b gene. *Genetics* 133: 133-136, 1993.
- 34) **Sweeney MG, Davis MB, Lashwood A, Brockington M, Toscano A, Harding AE**: Evidence against an X-linked locus close to DXS7 determin-

- ing visual loss susceptibility in British and Italian families with Leber hereditary optic neuropathy. *Am J Hum Genet* 51: 741—748, 1992.
- 35) **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.
- 36) **Vilkkil J, Savontaus ML, Nikoskelainen EK**: Genetic heterogeneity in Leber hereditary optic neuroretinopathy revealed by mitochondrial DNA polymorphism. *Am J Hum Genet* 45: 206—211, 1989.
- 37) 今村 孝: 遺伝子発現の調節. 古庄敏行, 他(編): 臨床遺伝医学 I. 診断と治療社, 東京, 126—127, 1992.
- 38) **Hotta Y, Hayakawa M, Saito K, Kanai A, Nakajima A, Fujiki K**: Diagnosis of Leber's hereditary optic neuropathy by means of polymerase chain reaction amplification. *Am J Ophthalmol* 108: 601—602, 1989.
- 39) 荒 文乃, 堀田喜裕, 早川むつ子, 梁島謙次, 金井淳, 藤木慶子: レーベル病の遺伝子診断の試み. *日眼会誌* 95: 715—720, 1991.
- 40) **Borruat F-X, Green WT, Graham EM, Sweeney MG, Morgan-Hughes JA, Sanders MD**: Late onset Leber's hereditary optic neuropathy: A case confused with ischaemic optic neuropathy. *Br J Ophthalmol* 76: 571—573, 1992.
- 41) 梶浦祐子, 中村 誠, 伊藤美樹, 関谷善文: 経過中に網膜有髄線維の減少を認めたレーベル病の1例. *神経眼科* 10: 157—162, 1993.
- 42) **Weiner NC, Newman NJ, Lessell S, Johns DR, Lott MT, Wallace DC**: Atypical Leber's hereditary optic neuropathy with molecularly confirmation. *Arch Neurol* 50: 470—473, 1993.
- 43) 坂井 譲, 中村 誠, 山本 節: レーベル病への対応. *神経眼科* 9: 9—13, 1992.