

Title	Variants of Myocilin Gene in Japanese Patients with Normal-Tension Glaucoma.
Sub Title	日本人正常眼圧緑内障患者における緑内陳遺伝子ミオシリンの遺伝子変異
Author	泉, 香奈子
Publisher	慶應医学会
Publication year	2005
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.82, No.2 (2005. 6) ,p.13-
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	号外
Genre	Journal Article
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20050602-0013

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

Variants of Myocilin Gene in Japanese Patients with Normal-Tension Glaucoma.

(日本人正常眼圧緑内障患者における緑内障遺伝子ミオシリンの遺伝子変異)

泉 香 奈 子

内容の要旨

論文審査の要旨

(序) わが国の緑内障患者は推定約200万人に達し失明原因第2位の疾患である。緑内障は視神経萎縮を来し視野欠損を生じ、進行すると失明に至る疾患である。緑内障は多因子疾患で、遺伝的要素と環境的因子の双方が関係している。原発開放隅角緑内障 (POAG) の決定因子ともいべき緑内障遺伝子は現在少なくとも6種類存在が確認され、その内の1つが我々のグループが見出したミオシリン (MYOC) である。現在までに世界中で確認されているMYOCのアミノ酸変異は50種類以上に及ぶ。MYOC変異による緑内障の機序として、2つの仮説が提唱されている。1つは変性したMYOCが線維柱帯からシュレム氏管への房水流出経路を障害することにより眼圧が上昇するというもの、もう1つは変異MYOCにより線維柱帯細胞が障害され細胞外への分泌機構が障害され細胞内に蓄積するという仮説である。しかし、変異MYOCによる緑内障の正確な発症機序は未だ明らかにされていない。

(目的) MYOC変異は若年発症および晩期発症型開放隅角緑内障で認められるが、正常眼圧緑内障 (NTG) との関連性は明らかにされていない。今回我々はMYOCとNTGの関連性を、NTG患者のスクリーニング検査およびMYOC蛋白の細胞外分泌能を調べることにより検討した。

(方法) 日本人のNTG患者80人と正常人コントロール100人を対象にMYOC遺伝子変異についてスクリーニング検査を行った。更に、MYOCの5種類の変異をCOS-1細胞へ遺伝子導入し、MYOCの培養細胞での発現変化、及び細胞外への分泌能をWestern Blotting法により解析した。

(結果) 80人のNTG患者で6種類の塩基置換 (R46Stop, R76K, R158Q, D208E, A488A, 3'non-coding region) が認められた。R46Stop, R158Q及びA488Aは正常人コントロールでは認められなかった。NTG患者で認められた他の塩基置換 (R76K, D208E, 3'non-coding) は正常人コントロールとの間に統計学的有意差は認められなかった。正常型、R158Q, D208EのベクターをCOS-1細胞へ遺伝子導入させるとMYOC蛋白の細胞外分泌を認めた。一方、POAGの遺伝子変異として同定されたI360N, A363T, I477Sの変異MYOCをCOS-1細胞へ遺伝子導入したところMYOC蛋白の細胞外分泌量は有意に減少した。またI360Nと正常型を混合してCOS-1細胞へ遺伝子導入したところMYOC蛋白の細胞内発現、細胞外分泌能ともに著明に低下し、変異MYOCが正常なMYOCの機能も障害することが明らかとなった。

(結論) NTGではMYOC蛋白の細胞外分泌能の異常は認められず、分泌能以外の機能異常でNTGと関与している可能性が考えられた。

正常眼圧緑内障 (NTG) は日本人の開放隅角緑内障 (OAG) の大半を占める病型でNTG患者の多くが家族歴を有することが知られている。ミオシリン (MYOC) 遺伝子はOAGで初めて同定された遺伝子であるが変異MYOCによる緑内障発症機序は未だ解明されていない。またNTGとの関係も明らかにされていない。本研究では、NTG患者に対するMYOC変異のスクリーニング検査を行ない、またMYOC蛋白の細胞への発現実験を行なった。スクリーニング検査によりMYOC遺伝子の6種類の塩基置換が検出された。MYOC蛋白の細胞への発現実験の結果、NTGで認められたアミノ酸置換を含むMYOCでは、正常型と同程度の細胞内での蛋白発現、細胞外への蛋白分泌が認められた。一方原発開放隅角緑内障 (POAG) で認められたアミノ酸置換を含むMYOCでは細胞内での蛋白発現が抑制され、細胞外分泌は認められなかった。また正常型とPOAGで認められたアミノ酸置換を含むMYOCを混合して発現させると、細胞内発現、細胞外分泌ともに抑制された。以上の結果からMYOCはPOAGで認められた細胞外分泌能低下とは異なる機序でNTG発症に関与していることが明らかとなった。

審査では、まずWestern blotの結果において細胞外へ分泌されたMYOC蛋白のバンドが2本検出されている理由を質問され、MYOCにはATGサイトが2箇所存在し1.7KDaの差があるためか、細胞外への分泌時糖鎖が付加され2本のバンドが認められたのではないかと回答された。正常型と変異型を1:1に混合して発現させた実験では、遺伝子導入するDNA量ではなくmRNAの発現量を1:1になるよう混合すべきではないかとの指摘がなされた。次にMYOCの異なるドメインに存在する変異MYOC同士で分泌能を比較すればMYOCの何らかの機能が明らかになるのではとの質問がなされ、今回のNTGで検出されたアミノ酸置換はミオシン様ドメイン、POAGで認められるアミノ酸置換はオルファクトメジン様ドメインに存在しており、今回の実験で両者間に分泌能の差が認められたことから、MYOC蛋白のN末側は細胞骨格系蛋白、C末側は分泌性蛋白としての機能に関与している可能性があるかと回答された。また今回の培養液中のMYOC蛋白量の差は分泌能の差ではなくプロテアーゼへの感受性の差によるのではないかとの指摘を受けdegradationの実験を行なうと更なる機能の解明につながると助言された。MYOCのknockout mouseについて質問されphenotypeに変化がないという報告があるとの回答がなされた。最後にNTGで検出されたD208Eは正常人にも認められSNPではないかとの指摘を受けR158Qに関しては正常人では検出されず変異の可能性が高いとの回答がなされた。

以上のように、本研究はいくつかの検討課題を残しているものの、NTG患者でのMYOC変異の存在を明らかにしMYOCがPOAGとは異なる機序でNTGの発症に関与していることが明らかになった点で、意義のある研究と評価された。

論文審査担当者 主査 眼科学 坪田 一男
分子生物学 清水 信義 医化学 末松 誠
病理学 岡田 保典
学力確認担当者:
審査委員長: 清水 信義

試問日: 平成17年 3月 5日