

氏名(本籍)	小田 早苗(兵庫県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	博士(論)第279号
学位授与の要件	学位規則第4号第2項該当
学位授与年月日	平成13年6月6日
学位論文題目	Detection of female carriers of congenital color-vision deficiencies by visual pigment gene analysis (視色素遺伝子解析による先天色覚異常保因者の検出)

審査委員	主査 教授	大久保 岩 男
	副査 教授	佐藤 浩
	副査 教授	可児 一 孝

論文内容の要旨

【緒言】

赤・緑視色素遺伝子はX染色体上に並んで存在し、遺伝子アレーを構成している。正常のアレーでは先頭に赤遺伝子があり、2番目以降に緑遺伝子が1個から数個存在する。しかし発現するのは最初の2つだけである。赤緑先天色覚異常はこのアレーの構成異常により起こり、第一異常は赤遺伝子の欠損、第二異常は緑遺伝子の欠損あるいは最初の2つがともに赤遺伝子であることが原因である。女子はX染色体を2本持つため色覚異常はまれであるが、保因者である可能性は高い(日本人で8%強)、しかしこれを表現型(色覚特性)から検出することは困難である。遺伝子からの検討では第一異常の保因者に関するKainzらの報告があるが、保因者であることがすでに明らかな3例だけの解析であり、一般女性は調べていない。また、第二異常の保因者に関する遺伝子解析については今まで報告がない。本研究では、第一異常、第二異常にかかわらず色覚異常保因者の推定が遺伝子解析から行えるかどうかを検討した。

【対象】

陽性対象群として赤緑先天色覚異常の男児の母親(=家系的保因者)29名、およびスクリーニング群として無作為に選んだ日本人女性117名を対象とした。

【方法】

赤・緑視色素遺伝子は6個のエキソンからなるが、その産物の分光吸収特性はエキソン5で決まる。そこで、アレーの最上流の遺伝子(=先頭遺伝子)、2番目以降の遺伝子(=下流遺伝子)、最下流の遺伝子(=最後尾遺伝子)をそれぞれ特異的なプライマーを用いてPCR法で増幅し、増幅産物に含まれるエキソン5が赤型か緑型かあるいは両方かをPCR-SSCP法で判定した。

赤緑先天色覚異常の保因者は、正常な構成のアレーと、構成が異常なアレーを併せ持っている。先頭遺伝子に緑型のエキソン5が検出された場合、片方のアレーにおける赤遺伝子の欠損が示唆され、第一異常の保因者であると推定される。下流遺伝子に赤型のエキソン5が検出された場合、先頭も2番目も赤遺伝子であるアレーを持つことが示唆され、第二異常の保因者であると推定される。下流遺伝子に赤型のエキソン5が検出されないにもかかわらず最後尾遺伝子に赤型のエキソン5が検出された場合、片方のアレーが1個の赤遺伝子だけで構成されていること、すなわち先頭遺伝子が最後尾遺伝子でもあることが示唆され、第二異常それも2色型色覚の保因者であると推定される。

【結果】

家系的保因者29名のうち26名は、それぞれの子の表現型分類と一致した保因者診断ができた。残りの3名のうち1名は緑遺伝子しか持たず、いずれのアレーも赤遺伝子を欠損している、すなわち、極めてめずらしい女性の第一異常であると推定された。他の2名は第一異常の保因者であると同時に第二異常の保因者でもあり、複合保因者であると推定された。内1名については配偶者や長女の遺伝子解析も行い複合保因者であることを確認した。

スクリーニング群117名では、第一異常の保因者と推定されたのは5名(4.3%)、第二異常の保因者と推定されたのは10名(8.5%)であった。

【考 按】

家系的保因者29例については全例、今回の方法によって異常な構成のアレーの存在を検出できた。しかし著者らの最近の研究では、正常な構成のアレーを持つが色覚異常である例が見出されており、その母親は今回の方法では陰性に出ると考えられた。

第一異常の保因者と推定されたのは4.3%であった。日本人男性における第一異常の頻度は1.13%であるので、同異常の保因者の頻度は約2%と見積もられる。著者らが得た値はこれよりかなり高い。正常のアレーとして先頭が緑遺伝子で2番目が赤遺伝子の構成を持つものが多ければ今回の方法では陽性に出るわけであるが、先に著者らが行った正常色覚日本人男子230名の遺伝子解析ではこのようなアレーは全く認められなかった。従って高い値が得られたのは偽陽性が含まれるためではない。

第二異常の保因者と推定されたのは8.5%であった。日本人男性における第二異常の頻度は3.60%であるので、同異常の保因者の頻度は約7%と見積もられる。著者らが得た値はこれよりやや高い。白人では赤遺伝子-緑遺伝子-赤遺伝子という構成のアレーが4-8%存在し、白人に今回の方法を適用するとかなりの偽陽性が出ると考えられる。しかし先に著者らが行った正常色覚日本人男子230名の遺伝子解析ではこのようなアレーを持つ者は1名(0.4%)であった。従って、保因者と推定された10名のうち1名はこのようなアレーによる偽陽性の可能性がある。一方、1個の赤遺伝子だけで構成されるアレーを持つと推定された例では偽陽性はあり得ず、真の保因者であると考えられた。

家系的保因者において全例異常なアレーを検出できたことから、今回の方法は保因者診断に有用と考えられた。しかし偽陰性や偽陽性を含む可能性があり、また第一異常保因者では異常アレーを構成する緑遺伝子の数が不明で、表現型(2色型か異常3色型か)を推定できないのも不十分な点であるので、他の方法を組み合わせるなどさらなる検討が必要と考えられる。

論文審査の結果の要旨

心理物理学的な検査法を用いての先天赤緑色覚異常保因者検出が試みられてきたが、正常値との重なりのため判定は非常に困難であった。本論文は、日本人の視色素遺伝子の解析により先天赤緑色覚異常保因者の診断が可能かどうかを検討したものである。本研究により得られた結果は以下のとおりである。

- 1) 赤および緑視色素遺伝子の有無の判定にSSCP解析が極めて有効であった。
- 2) 色覚異常男子の母親である陽性対象群29例では全例に異常な遺伝子アレー(赤異常では先頭遺伝子に緑遺伝子、緑異常では緑遺伝子の欠損または下流に赤遺伝子)を検出し保因者と確定できた。
- 3) 無作為に抽出した女性であるスクリーニング群117例で保因者と診断されたのは、赤異常5例、緑異常10例であった。

遺伝子解析による保因者診断に関するこれまでの報告は、赤異常の保因者についてのものだけであり、一般女性に適用可能かどうかの検討がなされていなかった。また、緑異常についての報告は皆無であった。本研究は、遺伝子解析による赤異常および緑異常保因者両方の明確な診断法を確立したものである。本研究の成果は色覚異常の理解に有用と考えられる。よって、博士(医学)の学位に値するものと認める。