

本研究の目的は常染色体優性遺伝を示す日本人網膜色素変性症 (RP) 1 家系の表現型と遺伝子型を調査して原因遺伝子を同定し、かつ原因遺伝子の変異が網膜光受容体の形態と機能維持にどのように関わっているかを研究することである。

1 家系に対して視覚電気生理学的検査を含む眼科検査で表現型解析を行い、遺伝子解析にて原因遺伝子同定を試みた。これにより *HK1* 遺伝子に c.2539G>A、p.E847K の missense 変異を認め、既報と比較調査することで原因遺伝子と特定した。*HK1* 遺伝子は hexokinase1 をコードし、全身に遍在的に発現している。p.E847K 変異はこれまで全世界で白人 10 家系、中国人 1 家系、日本人 1 家系と報告が少ないため、1 家系の網膜光受容体を補償光学眼底カメラ(AO)にて詳細にイメージング解析し、p.E847K 変異の視細胞形態と機能維持の役割を推測した。

眼科検査は矯正視力検査、ゴールドマン動的視野計(GP)、細隙灯顕微鏡、眼底カメラ、眼底自発蛍光(FAF)、光干渉断層法(OCT)、全視野網膜電図(ff-ERG)及び多局所網膜電図(m-ERG)を用いて多角的に評価した。

遺伝子解析は informed consent を得た 1 家系血液サンプルの DNA 分離を行い、Whole exome sequence(WES)を施行した。得られた SNVs や INDELS を RetNet で照合し、変異頻度を Human Genetic Variation Data(HGVD)、integrative Japanese Genome Database(iJGD)、gnomAD Database を用いて比較調査した。病原性は American College of Medical Genetics and Genomics(ACMG)で評価し、polymerase chain reaction(PCR)を用いた Sanger direct sequence で確認した。

AO 解析は rtx1(Imagine Eyes 社)を用いて錐体細胞密度を評価した。中心窩を 0 度とし、網膜耳側の水平方向へ 1 度毎に撮像してボロノイ図を作成後、錐体細胞密度を測定した。当院で調査した 34 人の健常人 (男性 27 名及び女性 7 名、平均年齢 37.4±9.1 歳、範囲 24-55 歳) をコントロール群とした。

対象者は発端者 (49 歳女性)、発端者の母 (80 歳)、長女 (20 歳)、次女 (18 歳)。発端者は夜盲を自覚するも矯正視力は両眼共に 1.0、傍中心窩から周辺網膜にかけて網脈絡膜萎縮を両眼に認め、FAF で萎縮部位に一致した低蛍光を示した。OCT で傍中心窩から周辺網膜にかけて Ellipsoid Zone 及び Interdigitation Zone の消失、外顆粒層の菲薄化、GP で輪状暗点、ff-ERG で杆体及び錐体応答の軽度減弱、m-ERG で黄斑周囲の軽度感度低下を認める一方、黄斑中心の感度は良好であった。異常所見は発端者、発端者の母、長女で認め、次女のみ正常所見を呈した。世代を遡るごとに増悪傾向にあったが、FAF や OCT に比べて網膜機能低下は軽微であり、特に長女の ERG は正常であった。

遺伝子調査対象者は発端者、長女、次女であり、WES 解析で発端者と長女の *HK1* 遺伝子にヘテロ接合型変異体 p.E847K を同定した。この変異体は RetNet に該当、snpeff high score、アレル頻度 0.1%未満を呈する唯一の遺伝子変異であり、direct sequence で実際に確認した。HGVD や iJGD、gnomAD database 上で確認されず、ACMG で Likely Pathogenic 判定となり、今回の原因遺伝子であることが考えられた。

AO解析で発端者、長女の錐体細胞密度がコントロール群と比べて2標準偏差以上減少し、特に発端者で優位な減少を認めた。次女はコントロール群と同等であった。

上記研究により p.E847K 変異を認める常染色体優性 RP の臨床像が明らかとなった。傍中心窩から周辺網膜にかけて変性を認めたが、20代で網膜機能低下がみられず、中心窩の機能は40代まで保たれていた。しかし、AO解析で20代の時点で傍中心窩の錐体細胞密度は著しく低下しており、形態学的異常は早期から発現していた。また *HK1* 遺伝子変異に関連する4つの表現型報告のうち、p.E847K 変異以外はいずれも眼外症状を有し（全6家系）、p.E847K 変異は全て眼症状（網膜色素変性）のみであった。比較的緩徐な臨床経過も共通の特徴であった。生化学的研究で p.E847K が hexokinase 活性や安定性に影響を与えないことが示されており、今回の遺伝子変異による機能獲得が、網膜に特異的な病原性を与える可能性が示唆された。従って、アミノ酸 E847 は視細胞の形態と機能維持において重要な役割を果たす可能性がある。