

## 審 査 の 結 果 の 要 旨

中 島 ( 谷 口 ) 富 美 子

本研究は原発開放隅角緑内障(primary open angle glaucoma、以下 POAG)の原因遺伝子として初めて同定された遺伝子 myocilin (*MYOC*) の特徴を明らかにするため、多数の患者の調査により本邦における遺伝子変異発現頻度とその表現型の特徴を調べ、また牛線維柱帯細胞を用いて myocilin の機能解析に供する実験系の構築を試みたものであり、下記の結果を得ている。

I . 本邦の緑内障患者及び正常人計 277 人の遺伝子解析の結果、原発開放隅角緑内障患者の多発している 3 家系から 2 種類の遺伝子変異 Pro370Leu 及び Gly367Arg を発見した。この遺伝子変異の出現頻度は、家族歴のある POAG 患者の 5.2%、POAG 患者全体の 1.9%であった。

II . 遺伝子変異を認める 3 家系の患者の表現型を調査したところ、非常に高い眼圧 (40～50mmHg) で発症すること、保存的治療が無効で観血的治療を必要としたことが特徴的であった。また、従来 *MYOC* の突然変異は 10～20 代で発症する若年発症原発開放隅角緑内障の家系に出現すると考えられていたが、Pro370Leu の 2 家系では平均発症年齢が 13 才、21 才と従来の報告どおり若年発症型であったのに対し、Gly367Arg の家系では、平均発症年齢は 36.7 歳で、成人発症型であることが示された。

III . 牛眼より線維柱帯細胞を採取して培養細胞系を作成し、牛 *MYOC* のクローニングを行ったところ、牛 *MYOC* はヒト *MYOC* より N 末端側が 14 アミノ酸残基短い 490 のアミノ酸で構成されるこ

と、牛とヒトの相同性は 81.6%であること、exon3 の相同性が高いこと、ヒトと同様に leucin zipper motif を有することなどが示された。牛とヒトのアミノ酸配列は exon3 で最も相同性が高く、また緑内障患者で報告されている点突然変異は exon3 に集中していることから、exon3 が MYOC の機能発現に重要な役割を果たしている可能性が高いと推測された。

IV. in situ hybridization 法を用いた検討で、牛眼球においては線維柱帯、虹彩、網膜(神経節細胞層、内顆粒層)、強膜、毛様体に MYOC の発現を認めた。房水流出路に myocilin の発現が多く認められ、また抗 myocilin 抗体を用いた免疫組織染色においても、myocilin 蛋白が線維柱帯やシュレム氏管に発現していることから、myocilin 蛋白が房水流出抵抗の増大に関与している可能性は非常に高いと推測された。また網膜においては網膜内の第2ニューロンである神経節細胞や、網膜内の第1ニューロンである双極細胞や水平細胞、Müller 細胞が存在する内顆粒層に牛 MYOC の発現がみられたことから myocilin が網膜内において情報伝達あるいは神経の栄養に関与している可能性も示唆された。

V. 牛線維柱帯細胞にステロイドを負荷して MYOC の発現誘導を行った。定量的 RT-PCR 法により、MYOC の mRNA 量は、デキサメサゾンの 50nM 負荷で約 7 倍 ( $7.1 \pm 2.5$  倍, mean  $\pm$  SEM)、500nM 負荷で約 14 倍 ( $14.1 \pm 5.1$  倍)増幅した。この定量的 RT-PCR の系を用いることにより、MYOC の発現量に影響する様々な物理的、化学的条件について検討することが可能であると考えられた。

以上、本論文は MYOC 遺伝子変異に関する臨床的特長を明らかにするとともに、その機能解析に供する実験系の構築を試みたものであり、主要先進国の失明原因の上位を占める緑内障の発症原因の解明に貢献すると考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。