

201128143A

厚生労働科学研究費補助金(難治性疾患克服研究事業)

小眼球による視覚障害の原因を特定するための  
疫学調査と診断・治療基準の創成

(課題番号H22-難治-一般-184)

平成23年度 総括・分担報告書

平成24年(2012年)3月

研究代表者 仁科 幸子  
(国立成育医療研究センター眼科医員)

厚生労働科学研究費補助金(難治性疾患克服研究事業)

# 小眼球による視覚障害の原因を特定するための 疫学調査と診断・治療基準の創成

(課題番号H22-難治-一般-184)

平成23年度 総括・分担報告書

平成24年(2012年)3月

研究代表者 仁科 幸子  
(国立成育医療研究センター眼科医員)

## 目 次

### I. 総括研究報告書

小眼球による視覚障害の原因を特定するための疫学調査と診断・治療基準の創成 仁科 幸子 国立成育医療研究センター 眼科	1
---	---

### II. 分担研究報告書

1. 小眼球症の手術に関する全国調査 仁科 幸子 国立成育医療研究センター 眼科 東 範行 国立成育医療研究センター 眼科 伊藤 牧子 国立成育医療研究センター 眼科	6
2. 小眼球の原因究明：次世代シーケンス技術による遺伝子解析 近藤 寛之 産業医科大学 眼科学教室	13
3. 我が国の網膜色素変性患者の遺伝子変異と病因解明 堀田 喜裕 浜松医科大学 眼科学講座 細野 克博 浜松医科大学 眼科学講座	15
4. 小眼球症例の眼窩内の外眼筋評価に関する研究 西田 保裕 滋賀医科大学医学部 眼科	19
5. 安全な小眼球症の白内障手術治療の開発に関する研究 黒坂 大次郎 岩手医科大学 眼科学講座	21

III. 研究成果の刊行に関する一覧表	24
---------------------	----

IV. 研究成果の刊行物、別刷	29
-----------------	----

小眼球による視覚障害の原因を特定するための疫学調査と診断・治療基準の創成

研究代表者 仁科 幸子 国立成育医療研究センター眼科医員

研究要旨：小眼球（症）患者の実態に関する全国疫学調査の結果を基盤として、小眼球症の原因究明のための研究、遺伝子解析、小眼球症・合併異常・眼窩の発育に関する画像評価法、小眼球症・合併異常・併発症に対する管理・治療法の実施し、よりよい診断・治療基準の作成に結びつけることを目的とした。本研究の成果として、1）小眼球症に高頻度に併発する白内障、緑内障、網膜剥離の手術に関する全国調査を実施した結果、小児期やより若年期において併発症に対する手術治療が必要になり、白内障の術前には狭隅角・閉塞隅角緑内障を高率に合併することが示された。いずれの手術法も難易度が高く、様々な術中・術後合併症が起こり、ときに視力予後に重篤な影響を与えることが示された。より安全な手術法と術後管理について全国へ情報発信を行っている。2）小眼球症の原因究明のため、次世代シーケンス技術による遺伝子解析を行い、全ゲノム連鎖解析と全遺伝子塩基配列決定（エクソーム・シーケンス）によって常染色体優性遺伝の小眼球家系の原因遺伝子を同定した。3）我が国の網膜色素変性患者の病因解明のため、日本人の常染色体劣性遺伝(ar)網膜色素変性(RP)患者を対象としてEYS遺伝子解析を行った結果、EYSの寄与は18%と大きく、原因変異は我が国のarRP患者において突出して頻度の高い遺伝子変異であることがわかった。早期診断が可能となり、遺伝カウンセリングを行う上で極めて有用な情報となる。4）小眼球症の眼窩内組織の評価法として、MRIは外眼筋の形態評価、炎症評価に有用である。STIR法を用い、大脳白質を基準組織として、信号強度比による定量評価の基準値を検討した。信号強度比が少なくとも2.0以上の場合、外眼筋に何らかの炎症と浮腫が存在する指標になる。5）小眼球例の白内障手術に関し2000年以降に報告された文献調査にて、ほぼ全例で浅前房または閉塞隅角緑内障を合併し、術中・後合併症を1～4割に認め、一部には悪性緑内障などの重篤な障害を来していた。閉塞隅角緑内障を予防する観点から比較的早期での白内障手術を今後検討する必要がある。本研究成果を国内外に発信し、よりよい管理・治療法の普及につとめている。

研究分担者

近藤 寛之 産業医科大学眼科学教室  
准教授  
堀田 喜裕 浜松医科大学眼科学講座  
教授  
西田 保裕 滋賀医科大学医学部眼科  
准教授、病院教授  
黒坂 大次郎 岩手医科大学眼科学講座  
教授

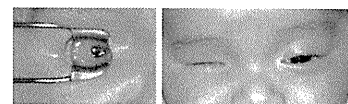
膜硝子体などの異常を合併するものも多く、その程度はさまざまである。一部で原因遺伝子が発見されているものもあるが、多くは原因が十分に明らかにされていない。また視覚障害の効果的な治療法も確立していない。

A. 研究目的

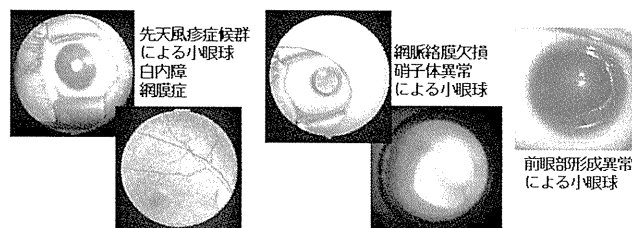
小眼球（症）は小児期より生涯にわたり重篤な視力障害を起こす疾患で、全身疾患に伴う例のみならず、単独の眼疾患であっても、生活面で長期に支障をきたす。小眼球に関する調査研究は欧米でもきわめて少ないが、その頻度は出生数10万人に10～19人と推測され、我が国においても同等と考えられる希少な疾患である。小眼球症には眼球全体が小さいもの以外に、角膜、水晶体、網

小眼球症

- ・様々な全身、眼異常に合併
- ・病因は様々、発症機序不明
- ・推定1万人に1人
- ・重篤な視覚障害をきたす
- ・診断・治療基準、治療法は確立していない



極小眼球



小眼球症は原因や病態を早期に明らかにし、適切な治療や訓練を行えば、保有視機能の発達が期待できるものもある。一方、視力が望めない場合は早期からリハビリ（ロービジョンケア）を開始し社会参画を促す必要がある。しかし乳幼児期には眼科検診が行われないため、十分な診察が受けられず、適切な対応が得られていないものが多い。

平成22年度には、小眼球症に関する全国疫学調査の結果を解析し、臨床上の問題点と課題を抽出した。これを基盤として、小眼球症の原因究明のための研究、病因・病態及び保有視機能の早期診断法、小眼球症・合併異常・眼窩の発育に関する画像評価法、小眼球症の白内障手術法に関する研究を実施した。

本年度の研究目的は、引き続き遺伝子解析を進め、小眼球症の原因究明のための研究を推進すること、画像評価法を研究すること、小眼球症及び併発症に対する管理と手術治療に関する詳細な調査研究を行い、より安全な手術法と術後管理について研究し、全国へ情報発信を行うことである。

## B. 研究方法

### 1) 小眼球の手術に関する全国調査

平成21年度に全国の日本眼科学会専門医制度研修施設他1151病院に対し、2008.1.~2009.12.に診療した小眼球患者の実態について、書面にて例・眼数を調査した（一次調査）。今回は、一次調査において、白内障・緑内障・網膜剥離手術例あり（3例以上）と回答した施設（32施設）に対し、二次調査への協力を依頼した。

対象は過去3年間（2008.1月~2010年12月）の小眼球症の白内障・緑内障・網膜剥離手術例とし、手術年齢、性別、患側、術式、術前合併症、術前視力、術中・術後早期合併症、術後合併症、再手術、再手術年齢、最終年齢、術後最終視力につき書面にて調査した。

### 2) 小眼球症の原因究明：次世代シーケンス技術による遺伝子解析

小瞳孔・小角膜・白内障を伴う小眼球症の1家系（常染色体優性遺伝）、5名の罹患者を含む9名を対象とした。全ゲノム連鎖解析、全遺伝子（エクソーム）解析のためのライブラリー作成、次世代シーケンサによるシーケンスを行い、塩基配列決定とバイオインフォマティクス解析を行った。

### 3) 網膜色素変性患者の遺伝子変異と病因解明

100名の日本人の常染色体劣性遺伝(ar)網膜色素変性(RP)患者を遺伝子解析の対象とした。倫理規定に基づき遺伝子検査について十分な説明を行い、インフォームドコンセントが得られた患者に対し、詳細な問診と眼科的検査を行った。確定

診断された患者の末梢血よりDNAを抽出し、EYSの全44エクソンをPCRダイレクトシーケンス法にて解析した。

### 4) 小眼球症例の眼窩内の外眼筋評価

小眼球に伴う眼窩内組織の変化として外眼筋の評価を行うため、short TI inversion recovery (STIR) 法を用いたMRI画像上での信号強度計測を行うと、形態のみならず炎症の程度の定量化も可能である。斜視、眼球運動障害を有さない正常被検者13名（13眼）を対象とし、外眼筋信号強度計測を行い、外眼筋炎症の有無や程度を判断する基準値を検討した。

計測筋は上・下・内・外直筋と上斜筋とし、MRI装置の付属ソフトで得られた眼窩冠状断画像上の測定筋をカーソルで囲み、その平均信号強度計測を求めた。各被検者の同一スライスでの大脳白質を基準組織として、(外眼筋信号強度) / (大脳白質信号強度) 比を算出した。

### 5) 安全な小眼球症の白内障手術治療の開発

小眼球症への白内障手術の問題点などを調べる目的で、医学中央雑誌またはPubmedにおいて、小眼球症と白内障手術、nanophthalmos and cataract surgeryを検索語として2000年以降の文献を調べた。このうち小眼球症に対する白内障手術成績が記述されていた7論文につき、術前合併症、術式、術中・後合併症、視力予後につき調べた。

## C. 研究結果および考察

### 1) 小眼球の手術に関する全国調査

総計16施設（50.0%）から回答を得て、総数107症例188眼の調査結果を得た。内訳は、白内障手術90例147眼（うち緑内障同時手術1眼、網膜剥離同時手術7眼）、緑内障手術20例29眼（うち白内障同時手術1眼）、網膜剥離手術15例20眼（うち白内障同時手術7眼）、のべ手術眼数は196眼であった。

手術年齢を併発症別に検討すると、白内障では0~9歳が36.1%を占め、次いで60歳代の比率が24.5%と比較的高かった。これに対し、緑内障では0~9歳34.5%に次いで40歳代、50歳代の比率が20.7%、17.2%と比較的高かった。また網膜剥離でも0~9歳と同等に40歳代の比率が25.0%と高い。小眼球症では、小児期やより若年期において、併発症に対する手術治療が必要になる可能性があることが示された。特に緑内障は、自覚症状がないままに進行して恒久的な視機能障害を及ぼすことが危惧される。適切な手術治療時期を逃さないために、小児期からの継続した眼科管理を推進・普及させることが重要である。

術式は、白内障では超音波乳化吸引術+眼内レンズ挿入術が53.7%であり、眼内レンズ挿入困難な例の比率が高い。術前に狭隅角・閉塞隅角緑内

障を高率に伴っており、緑内障の治療のために白内障手術が必要となる症例が多い。他にもチン小帯の脆弱例、コロボーマを伴う例など手術の難易度の高い症例が多い。緑内障では線維柱帯切除術、線維柱帯切開術、隅角癒着解離術、レーザー虹彩切開術、(周辺)虹彩切除術など、病態によって、さまざまな術式が選択されている。残存視機能を保持するために、早期発見と適切な病態診断が重要であり、しばしば早期に手術適応の決定が必要と考えられる。網膜剥離では硝子体手術、強膜開窓術、白内障同時手術が多い。とくに小眼球症に対する硝子体手術、白内障同時手術は非常に難易度が高いため、網膜剥離発症のリスクを高める眼球打撲や目押しの防御につとめる必要がある。

術中・術後早期合併症は、いずれも高頻度に起こっていることがわかった。白内障手術では高眼圧、角膜浮腫、浅前房、後囊破損、チン小帯断裂のほか後眼部の合併症もみられ、視機能の予後に重大な影響を及ぼす合併症も少なくない。緑内障手術では術後低眼圧をきたしやすいことが問題である。手術の難易度が高く、合併症を起こしやすいことをあらかじめ念頭に置き、十分な術前の準備と対策が必要である。術後合併症として、白内障手術では、緑内障が高率(10.9%)に合併することが問題である。術後管理において緑内障の早期発見治療が重要な課題である。

再手術は、白内障は24.5%、緑内障は31.0%、網膜剥離は35.0%、全体で52眼(26.5%)であった。小眼球症では併発症に対する再手術率が高く、難治性であることが示された。

視力に関し、全体として術前は視力不明例の比率が多い。0.3<の視力良好群の比率が術前22.4%から術後31.6%へ増加し、0.1-0.3の視力群の比率が術前15.8%から術後24.5%へ増加しているが、一方、<0.02の視力不良群の比率も、術前15.3%から術後19.4%へ増加している。白内障手術によって視力の向上する例がある一方で、緑内障、網膜剥離手術の難治例や重篤な合併症を生じた例では、術後に高度の視力障害をきたすと考えられる。

## 2) 小眼球症の原因究明：次世代シーケンス技術による遺伝子解析

先天白内障の原因遺伝子であるGJA8遺伝子の異常を検出し、Sanger法によってこの遺伝子変異が家系内での罹患の有無に一致することを確認した。今回みつかった新規の変異が小眼球、小瞳孔などの異常を併発するものと考察した。本法は小眼球症のルーチンの解析には不向きであるが、本症例のように小眼球症を含む特異な臨床像によって新規の遺伝子が推定される症例には、原因の究明に有用な方法である。

## 3) 網膜色素変性患者の遺伝子変異と病因解明

EYS遺伝子解析の結果、日本人18人のarRP患者から7種の疾患原因変異を同定した。今回の遺伝子解析により、日本人arRP患者におけるEYSの寄与は18%と大きく、原因変異c.4957\_4958insAとc.8868C>Aは我が国のarRP患者において突出して頻度の高い遺伝子変異である可能性が高いことがわかった。早期診断が可能となり、遺伝カウンセリングを行う上で極めて有用な情報となる。

## 4) 小眼球症例の眼窩内の外眼筋評価

対象とした正常被験者の各外眼筋の平均信号強度比とその標準偏差は、上直筋で1.07±0.27、下直筋で1.38±0.27、外直筋で1.32±0.18、内直筋で1.46±0.25、上斜筋で1.29±0.25であった。また各筋の信号強度比の分布は上直筋で0.59から1.53、下直筋で1.01から1.91、外直筋で1.04から1.59、内直筋で1.12から1.94、上斜筋で0.91から1.81で、正常ではいずれの外眼筋も信号強度比が2.0を超えることはなかった。この結果から、信号強度比が少なくとも2.0以上の場合、外眼筋に何らかの炎症と浮腫が存在する指標になると考えられた。

## 5) 安全な小眼球症の白内障手術治療の開発

ほぼ全例で浅前房または閉塞隅角緑内障を合併し、術中・後合併症を1~4割に認めていた。術後の視力回復は6~7割で、3~2割は改善が得られていなかった。多くの例で白内障手術により、前房が深くなり眼圧のコントロールが良好となったが、一部には悪性緑内障などの重篤な障害を来していた。極端に浅前房になる前に、閉塞隅角緑内障を予防する観点から比較的早期での白内障手術を今後検討する必要がある。

## D. 結論

小眼球症に高頻度に併発する白内障、緑内障、網膜剥離の手術に関する全国調査を実施した結果、小眼球症では小児期やより若年期において併発症に対する手術治療が必要になり、白内障の術前には狭隅角・閉塞隅角緑内障を高率に合併することが示された。白内障では眼内レンズ挿入困難例が多いこと、緑内障では病態に応じたさまざまな術式が選択されること、網膜剥離では硝子体手術、強膜開窓術、白内障同時手術が多いことがわかり、いずれの手術法も正常眼に比して難易度が高い。様々な術中・術後合併症が起こり、ときに視力予後に重篤な影響を与えることが示された。残存視機能を保持するために、併発症の発症防止、継続した眼科管理、早期発見と適切な病態診断に基づいた早期手術適応の決定、より安全な手術法の普及、術後管理の重要性について全国へ情報発信を行っている。

小眼球症の原因究明のため、次世代シーケンス技術による遺伝子解析を行い、全ゲノム連鎖解析と全遺伝子塩基配列決定（エクソーム・シーケンス）によって常染色体優性遺伝の小眼球家系の原因遺伝子を同定した。

100名の日本人arRP患者を対象としてEYS遺伝子解析を行った結果、EYSの寄与は18%と大きく、原因変異は我が国のarRP患者において突出して頻度の高い遺伝子変異であることがわかった。早期診断が可能となり、遺伝カウンセリングを行う上で極めて有用な情報となる。

小眼球症の眼窩内組織の評価法として、MRIは外眼筋の形態評価、炎症評価に有用である。STIR法を用い、大脳白質を基準組織として、信号強度比による定量評価の基準値を検討した。

小眼球例の白内障手術に関する文献調査にて、ほぼ全例で浅前房または閉塞隅角緑内障を合併し、術中・後合併症を1～4割に認め、一部には悪性緑内障などの重篤な障害を来していた。閉塞隅角緑内障を予防する観点から比較的早期での白内障手術を今後検討する必要がある。

#### E. 健康危険情報

なし

#### F. 研究発表

- 論文発表
1. Nishina S, Kurosaka D, Nishida Y, Kondo H, Kobayashi Y, Azuma N. Survey of microphthalmia in Japan. *Jpn J Ophthalmol*, 2012, Feb 23.[Epub ahead of print].
2. Nishina S, Kosaki R, Yagihashi T, Azuma N, Okamoto N, Hatsukawa Y, Kurosawa K, Yamane T, Mizuno S, Tsuzuki K, Kosaki K. Ophthalmic Features of CHARGE Syndrome with CHD7 Mutations. *Am J Med Genet A*. 2012, Feb 2.[Epub ahead of print].
3. Hosono K, Ishigami C, Takahashi M, Park DH, Hirami Y, Nakanishi H, Ueno S, Yokoi T, Hikoya A, Fujita T, Zhao Y, Nishina S, Shin JP, Kim IT, Yamamoto S, Azuma N, Terasaki H, Sato M, Kondo M, Minoshim S, Hotta Y. Two novel mutations in the *EYS* Gene are possible major causes of autosomal recessive retinitis pigmentosa in the Japanese population. *PLoS ONE*, 7(2). e31036, 2012
4. Shigeyasu C, Yamada M, Mizuno Y, Yokoi T, Nishina S, Azuma N. Clinical features of anterior segment dysgenesis associated with congenital corneal opacities. *Cornea*, 31 (3): 293-8, 2012
5. Nishina S, Suzuki Y, Yokoi T, Kobayashi Y, Noda E, Azuma N. Clinical features of congenital retinal folds. *Am J Ophthalmol*, 153 (1): 81-87, 2012
6. Nishina S, Tanaka M, Yokoi T, Kobayashi Y, Azuma N. Stereopsis after early surgery for bilateral congenital cataracts. *Transaction book of XIth ISA meeting*, in press
7. Yamasaki T, Kawasaki H, Arakawa S, Shimizu K, Shimizu S, Reiner O, Okano H, Nishina S, Azuma N, Penninger JM, Katada T, Nishina H. Stress-activated protein kinase MKK7 regulates axon elongation in the developing cerebral cortex. *J. Neurosci*, 31(46): 16872-16883, 2011
8. Suzuki S, Kim O-H, Makita Y, Saito T, Lim G-Y, Cho T-J, Al-Swaid A, Alrashees S, Sadoon E, Miyazaki O, Nishina S, Superti-Furga A, Unger S, Fujieda K, Ikegawa S, Nishimura G. Axial Spondylometaphyseal Dysplasia: Additional Reports. *Am J Med Genet A*, 155A(10): 2521-2528, 2011
9. Tanaka M, Nishina S, Ogonuki S, Akaike S, Azuma N. Nishida's procedure combined with medial rectus recession for large-angle esotropia in Duane syndrome. *Jpn J Ophthalmol*, 55(3): 264-267, 2011
10. Kobayashi Y, Yokoi T, Yokoi T, Hiraoka H, Nishina S, Azuma N. Fluorescein staining of the vitreous during vitrectomy for retinopathy of prematurity. *Retina*, 31(8): 1717-1719, 2011
11. Hiraki Y, Nishimura A, Hayashidani M, Terada Y, Nishimura G, Okamoto N, Nishina S, Tsurusaki Y, Doi H, Saito H, Miyake N, Matsumoto N. A de novo deletion of 20q11.2-q12 in a boy presenting with abnormal hands and feet, retinal dysplasia, and intractable feeding difficulty. *Am J Med Genet A*, 155: 409-414, 2011
12. 仁科幸子、中山百合、横井匡、東範行、近藤寛之、西田保裕。小眼球症に伴う眼窩發育異常の画像評価。眼科臨床紀要 印刷中。
13. 仁科幸子、東 範行。小児の緑内障治療。あたらしい眼科 29: 7-12, 2012
14. 伊藤牧子、仁科幸子。視力障害、斜視、弱視。小児科診療 75: 189-194, 2012
15. 仁科幸子。乳児の眼鏡。あたらしい眼科 28: 38-40, 2011
16. 仁科幸子。視力障害のフォローアップ。周産期医学 41: 1396-1398, 2011.
17. 初川嘉一、仁科幸子、菅澤淳、木村亜紀子、矢ヶ崎悌司、不二門尚、平野慎也。小児の間欠性外斜視に対する後転短縮術の治療成績：多施設共同研究。日本眼科学会雑誌 115: 440-446, 2011
18. Kondo H, Kusaka S, Yoshinaga A, Uchio E, et al : Mutations in TSPAN12 gene in Japanese patients with familial exudative vitreoretinopathy. *Am J Ophthalmol* 2011;151:1095-1100.
19. Miyamoto N, Izumi H, Miyamoto R, Kondo H. et al.: Quercetin induces the expression of peroxiredoxin 3 and 5 through Nrf2/NRF1

- transcription pathway. Invest Ophthalmol Vis Sci 2011;52:1055-1063.
20. Miyamoto N, Izumi H, Miyamoto R, Bin H, Kondo H, et al: Transcriptional regulation of activating transcription factor 4 (ATF4) under oxidative stress in retinal pigment epithelial ARPE-19 cells. Invest Ophthalmol Vis Sci 2011;52:1226-1234.
  21. 近藤寛之: 家族性滲出性硝子体網膜症 (特集・遺伝性網膜・黄斑ジストロフィアアップデート). あたらしい眼科 2011; 28: 963-968.
  22. 渡辺晃久, 近藤寛之, 松下五佳, 森田啓文, 田原昭彦: 未熟児網膜症に対する抗VEGF療法の効果の検討. 眼科手術 2011; 25: 115-117.
  23. 有田直子, 林英之, 内尾英一, 近藤寛之: 重症未熟児網膜症に対しベバシズマブ硝子体内投与を行った症例の検討. 臨眼 2011; 65: 1225-1229.
  24. Nakanishi H, Ohtsubo M, Iwasaki S, Hotta Y, Usami S, Mizuta K, Mineta H, Minoshima S. Novel USH2A mutations in Japanese Usher syndrome type 2 patients: marked differences in the mutation spectrum between the Japanese and other populations. *J.Hum.Genet.* 56(7), 2011.
  25. Hosono K, Ishigami C, Takahashi M, Park DH, Hirami Y, Nakanishi H, Ueno S, Yokoi T, Hikoyama A, Fujita T, Zhao Y, Nishina S, Shin JP, Kim IT, Yamamoto S, Azuma N, Terasaki H, Sato M, Kondo M, Minoshim S, Hotta Y. Two novel mutations in the *EYS* Gene are possible major causes of autosomal recessive retinitis pigmentosa in the Japanese population. PLoS ONE, 7(2). e31036. 2012.
  26. Higashiyama T, Nishida Y, Ugi S, Ishida M, Nishio Y, Ohji M. A case of extraocular muscle swelling due to IgG4-related sclerosing disease. *Jpn J Ophthalmol* 55(3): 315-317, 2011.
  27. 伊藤友香, 西田保裕, 村木早苗, 柿木雅志, 大路人: 上転障害以外に眼所見が乏しかった甲状腺眼症の2例. 臨床眼科 65 (9): 1425-1429, 2011.
  28. Ishikawa Y, Hashizume K, Kishimoto S, Tezuka Y, Nishigori H, Yamamoto N, Kondo Y, Maruyama N, Ishigami A, Kurosaka D. Effect of vitamin C depletion on UVR-B induced cataract in SMP30/GNL knockout mice. *Exp Eye Res.* 94:85-89, 2012.
  29. 田中三知子, 黒坂大次郎: 眼内レンズにまつわるトラブル 5.小児の場合. 眼科. 53: 667-671: 2011.
  30. 黒坂大次郎: 特集 若年者の白内障手術のポイント アトピー白内障手術のポイント. IOL&RS. 25: 328-331: 2011.
- G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)
1. 特許取得  
細野克博, 堀田喜裕・EYS 遺伝子の変異を検出するためのプライマー、プローブ、マイクロアレイ、及び、これらを備える検出キット、並びに網膜色素変性症原因遺伝子変異の検査方法、網膜色素変性症への遺伝的感受性の検査方法・特願 2010-294236・2010
  2. 実用新案登録  
なし
  3. その他  
なし



## 小眼球症の手術に関する全国調査

研究分担者 仁科 幸子 国立成育医療研究センター眼科医員  
研究協力者 東 範行 国立成育医療研究センター眼科医長  
伊藤 牧子 国立成育医療研究センター眼科レジデント

研究要旨：小眼球症の患者では併発症に対する手術頻度が高く、手術治療の適応と管理が生涯にわたる視機能の保持に多大な影響を与える。我々は小眼球症の手術に関する全国調査を行って、現状の問題点とよりよい治療について検討した。対象は平成 21 年度に実施した小眼球症の実態に関する全国疫学調査（一次調査）において白内障・緑内障・網膜剥離手術例あり（3 例以上）と回答した 32 施設である。平成 20 年 1 月～平成 22 年 12 月の 3 年間の手術例に対し、手術年齢、術式、合併症、視力に関するアンケート調査を実施し、結果を集計・分析した。小眼球症では小児期やより若年期において併発症に対する手術治療が必要になることが示された。白内障の術前には狭隅角・閉塞隅角緑内障を高率に合併した。術式として、白内障では眼内レンズ挿入困難例が多いこと、緑内障では病態に応じたさまざまな術式が選択されること、網膜剥離では硝子体手術、強膜開窓術、白内障同時手術が多いことがわかり、いずれの手術法も正常眼に比して難易度が高い。様々な術中・術後合併症が起り、ときに視力予後に重篤な影響を与えることが示された。これらの結果を公表し、より安全な手術法と術後管理について全国へ情報発信を行っている。

### A. 研究目的

小眼球症は小児期より生涯にわたり重篤な視力障害を起こす疾患で、眼疾患単独であっても生活面で長期に支障をきたす。しかし 10 万人出生に 10～19 人という頻度の稀な疾患で、病態は十分に解明されておらず、根本的な治療法は確立していない。

我々は、本邦における小眼球症の実態を調べるため、平成 21 年度に全国の主要眼科施設に対し、小眼球症患者数、手術例数、合併症、併発症の数についてアンケート調査（一次調査）を行った。その結果、454 施設から総数 851 例 1254 眼の回答を得て、手術治療例は 182 例（21.4%）を占め、併発症である白内障、緑内障、網膜剥離に対する手術頻度が高いことが明らかになった。しかしこれらの併発症はいずれも難治性であり、小眼球患者の残存視機能の保持のためには、よりよい手術法、手術適応基準、術後管理が必要である。

本調査研究（二次調査）の目的は、小眼球症の白内障、緑内障、網膜剥離に対する手術治療と合併症の現状について調べ、よりよい治療を検討することである。

### B. 研究方法

平成 21 年度に全国の日本眼科学会専門医制度研修施設他 1151 病院に対し、2008.1.～2009.12. に診療した小眼球患者の実態について、書面にて

例・眼数を調査した（一次調査）。今回は、一次調査において、白内障・緑内障・網膜剥離手術例あり（3 例以上）と回答した施設（32 施設）に対し、書面にて調査目的を説明し、二次調査への協力を依頼した。

対象は過去 3 年間（2008.1 月～2010 年 12 月）の小眼球症の白内障・緑内障・網膜剥離手術例とし、手術年齢、性別、患側、術式、術前合併症、術前視力、術中・術後早期合併症、術後合併症、再手術、再手術年齢、最終年齢、術後最終視力を調査した。

調査項目に関する患者の診療情報については、主治医がカルテから後ろ向きに調べて調査用紙に記載し、施設内の通し番号（研究 ID）をつけた。匿名化した調査用紙を代表研究者に回収し、集計を行った。

（倫理面への配慮）

本調査研究は、国立成育医療研究センター倫理委員会の承認を得て実施した。

調査には各施設が自由意思で参加とし、不参加によって不利益を被らない。調査用紙の撤回は、患者識別対応表を作成する当センターでは要請することができる。しかし患者識別対応表のない協力施設においては、集計後の撤回はできない。本研究の実施についての情報は、当センターおよび協力施設においてポスターを掲示し公開した。

プライバシーの保護には十分配慮し、調査用紙

の回収、成果を公表する場合には匿名化を行い、個人情報保護に努めた。

### C. 研究結果 及び D. 考察

今回の調査で総計16施設（50.0%）から回答を得て、総数107症例188眼の調査結果を得た。性別は女性66例(61.7%)、男性41例（38.3%）であった。

内訳は、白内障手術90例147眼（うち緑内障同時手術1眼、網膜剥離同時手術7眼）、緑内障手術20例29眼（うち白内障同時手術1眼）、網膜剥離手術15例20眼（うち白内障同時手術7眼）、のべ手術眼数は196眼であった。

三つの併発症（白内障、緑内障、網膜剥離）の手術ごとに分類して、手術年齢、術式、術前視力、術中・術後早期合併症、術後合併症、再手術、術後最終視力について検討し、小眼球症の併発症に対する手術の現状と問題点、課題を抽出した。

#### (1) 手術年齢

手術年齢の分布を図1に示す。（図1 a. 全体、b. 白内障、c. 緑内障、d. 網膜剥離の手術年齢である。） 全体（n=196眼）では0～9歳が34.7%を占め、次いで60歳代の比率が20.4%と比較的高く、50歳代12.2%、40歳代11.7%、70歳代10.2%であり、それ以外の年齢層の比率は低かった。

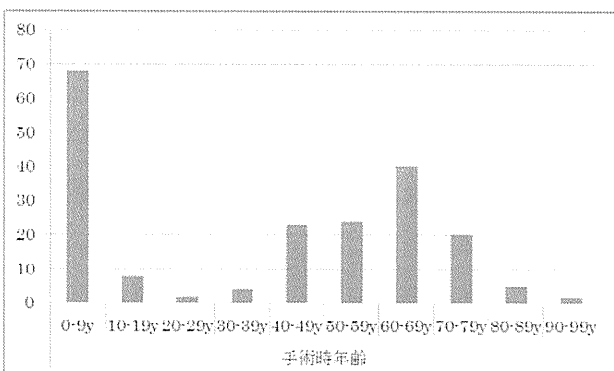


図1 a. 手術年齢分布 (全体)

併発症別に検討すると、白内障（n=147眼）では0～9歳が36.1%を占め、次いで60歳代の比率が24.5%と比較的高かった。これに対し、緑内障

（n=29眼）では0～9歳34.5%に次いで40歳代、50歳代の比率が20.7%、17.2%と比較的高かった。また網膜剥離（n=20眼）でも0～9歳と同等に40歳代の比率が25.0%と高い。

正常眼の白内障・緑内障手術は60歳代以降の高齢者に多く、網膜剥離は一般に20歳代～50歳代にピークがある。小眼球症では0～9歳の小児期の手術が多いこと、緑内障、網膜剥離の2つ目のピークも正常眼よりも若年期の40歳代中年層に多いことが特徴である。

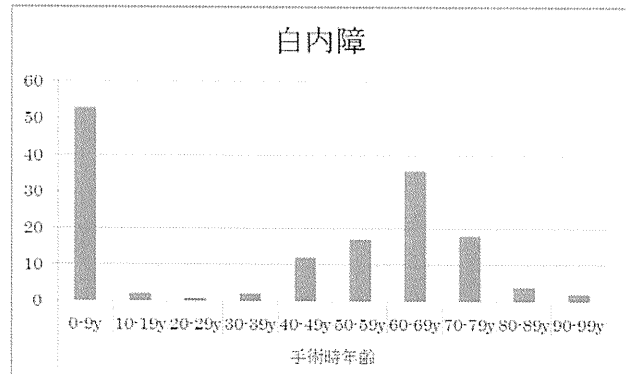


図1 b. 手術年齢分布 (白内障)

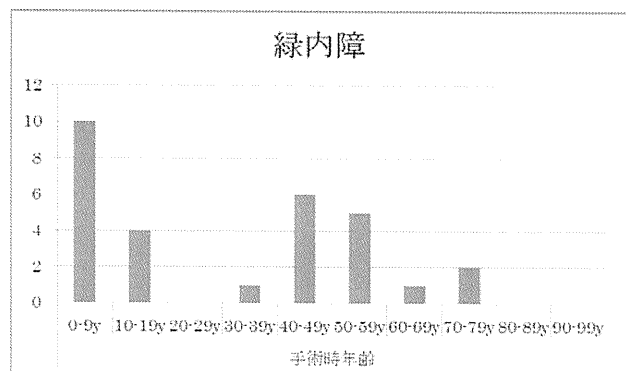


図1 c. 手術年齢分布 (緑内障)

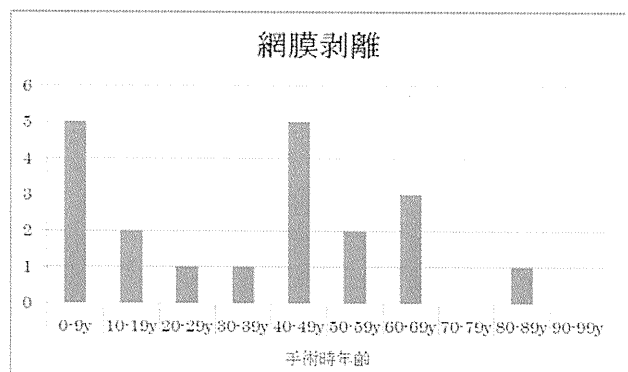


図1 d. 手術年齢分布 (網膜剥離)

小眼球症では、小児期やより若年期において、併発症に対する手術治療が必要になる可能性があることが示された。特に緑内障は、自覚症状がないままに進行して恒久的な視機能障害を及ぼすことが危惧される。適切な手術治療時期を逃さないために、小児期からの継続した眼科管理を推進・普及させることが重要な課題である。

#### (2) 術式

白内障、緑内障、網膜剥離に対する術式を検討した。のべ術式数は白内障147、緑内障33、網膜剥離20、合計200であった。

白内障に対しては、成人正常眼に対する標準的な術式である超音波乳化吸引術+眼内レンズ挿入術が79(53.7%)であった。一方、乳幼児や高度の小眼球症に適応となる水晶体切除術が46(31.3%)

にのぼり、眼内レンズ挿入困難な例の比率が高い。また白内障の術前には特に狭隅角・閉塞隅角緑内障を23眼(15.6%)と高率に伴っており、緑内障の治療のために白内障手術が必要となる症例が多い。他の術式として、水晶体囊外摘出術9(6.1%)、超音波乳化吸引術のみ8(5.4%)、水晶体囊内摘出術3(2.0%)がみられ、チン小帯の脆弱例、閉塞隅角例、コロボーマを伴う例など手術の難易度の高い症例が多いことに起因すると考えられる。

緑内障に対しては、線維柱帯切除術（レクトミー）10(30.3%)、線維柱帯切開術（ロトミー）7(21.2%)が多く、次いで隅角癒着解離術5(15.2%)、レーザー虹彩切開術5(15.2%)、(周辺)虹彩切除術3(9.1%)が施行されていた。他の術式として毛様体冷凍凝固術1、瞳孔形成術1、超音波水晶体乳化吸引+眼内レンズ挿入術1がみられた。小眼球症では、隅角形成異常に起因して小児期に発症する発達緑内障、水晶体の容積が眼球に比して大きいため年齢とともに前房が浅くなり瞳孔ブロックを起こす続発閉塞隅角緑内障など、病態によって、さまざまな術式が選択されると考えられる。手術法はいずれも正常眼に比して難易度が高い。しかし、残存視機能を保持するために、早期発見と適切な病態診断が重要であり、しばしば早期に手術適応の決定が必要と考えられる。

網膜剥離に対しては、硝子体手術11(55.0%)、強膜開窓術9(45.0%)で、前者は裂孔原性もしくは牽引性網膜剥離、後者は滲出性網膜剥離（uveal effusion）に適応となる。白内障同時手術が7眼にのぼった。とくに小眼球症に対する硝子体手術、白内障同時手術は非常に難易度が高い。網膜剥離発症のリスクを高める眼球打撲や目押しの防御に注意を払うように本人、保護者、周囲へ説明し、十分な配慮を求めることが重要である。

### (3) 術中・術後早期合併症

併発症別に術中・術後早期の合併症を集計し、表1に示す。(表1 a. 白内障、b. 緑内障、c. 網膜剥離の術中・術後早期合併症)

いずれも正常眼に比して、さまざまな術中・術後早期合併症が高頻度に起こっていることが示された。白内障手術では高眼圧、角膜浮腫、浅前房、後囊破損、チン小帯断裂のほか後眼部の合併症もみられ、視機能の予後に重大な影響を及ぼす合併症も少なくない。緑内障手術では術後低眼圧をきたしやすいことが問題である。手術の難易度が高く、合併症を起こしやすいことをあらかじめ念頭に置き、十分な術前の準備と対策が必要である。とくに頻度の高い白内障手術において、正常眼では予測もできないような合併症が多々起こっていることに注意を要する。

表1 a. 術中・術後早期合併症（白内障）

	眼数	%
高眼圧	9	6.1
角膜浮腫	8	5.4
角膜混濁	6	4.1
浅前房・前房消失	5	3.4
後囊破損	5	3.4
チン小帯断裂	4	2.7
前房内フィブリン析出	4	2.7
uveal effusion	3	2.0
増殖硝子体網膜症	2	1.4
虹彩脱出	2	1.4
点状表層角膜炎	2	1.4
デスメ膜皺襞	2	1.4
虹彩欠損	2	1.4
脈絡膜出血	2	1.4
脈絡膜剥離	1	0.7
網膜出血	1	0.7
網膜裂孔	1	0.7
水晶体落下	1	0.7

表1 b. 術中・術後早期合併症（緑内障）

	眼数	%
低眼圧	4	13.8
脈絡膜剥離	3	10.3
前房出血	3	10.3
前房内フィブリン析出	1	3.4

表1 c. 術中・術後早期合併症（網膜剥離）

	眼数	%
高眼圧	2	10.0
浅前房・前房消失	2	10.0
前房内フィブリン析出	2	10.0
脈絡膜出血	1	5.0
uveal effusion	1	5.0

### (4) 術後合併症

併発症別に術後合併症を集計し、表2に示す。(表2 a. 白内障、b. 緑内障、c. 網膜剥離の術後合併症) 同一眼に複数の併発症に対する手術が施行されていることがあるため、重複がみられる。白内障手術では、術後緑内障が高率（10.9%）に合併することが問題である。経過観察期間が長くなると更に頻度が上がる可能性があり、術後管理において緑内障の早期発見治療が重要な課題である。その他、滲出性網膜剥離などの重篤な合併症が起こりうることに注意を要する。緑内障、網膜剥離手術においても、正常眼に比して重篤な術後合併症をきたしやすいことが問題である。

表 2 a. 術後合併症（白内障）

	眼数	%
後発白内障	22	15.0
緑内障	16	10.9
滲出性網膜剥離	6	4.1
虹彩癒着・虹彩変形	5	3.4
網膜剥離	4	2.7
2枚挿入した IOL 間に沈着物	2	1.4
狭隅角	2	1.4
脈絡膜剥離	2	1.4
高眼圧	1	0.7
角膜混濁	1	0.7
角膜炎	1	0.7
脈絡膜出血	1	0.7
PVR	1	0.7
IOL 偏位	1	0.7
uveal effusion	1	0.7
角膜内皮減少	1	0.7

表 2 b. 術後合併症（緑内障）

	眼数	%
後発白内障	4	13.8
虹彩癒着・虹彩変形	4	13.8
緑内障	3	10.3
高眼圧	3	10.3
前房出血	2	6.9
浅前房	2	6.9
滲出性網膜剥離	1	3.4
角膜混濁	1	3.4
硝子体出血	1	3.4
低眼圧	1	3.4
外斜視	1	3.4
白内障	1	3.4

表 2 c. 術後合併症（網膜剥離）

	眼数	%
滲出性網膜剥離	3	15.0
緑内障	3	15.0
虹彩癒着・虹彩変形	2	10.0
眼球ろう	2	10.0
後発白内障	1	5.0
網膜剥離	1	5.0
水晶体脱臼	1	5.0
増殖硝子体網膜症	1	5.0
狭隅角	1	5.0
脈絡膜剥離	1	5.0

(5) 再手術

併発症別に再手術数（再手術率）を集計すると、白内障は36眼(24.5%)、緑内障は9眼(31.0%)、網膜剥離は7眼(35%)、全体で52眼(26.5%)であった。小眼球症では併発症に対する再手術率が高く、難治性であることが示された。

(6) 術前視力と術後視力

併発症別および全体の術前視力と術後最終視力の分布を図 2 に示す。(図 2 a. 全体、b. 白内障、c. 緑内障、d. 網膜剥離の術前・術後視力である。)

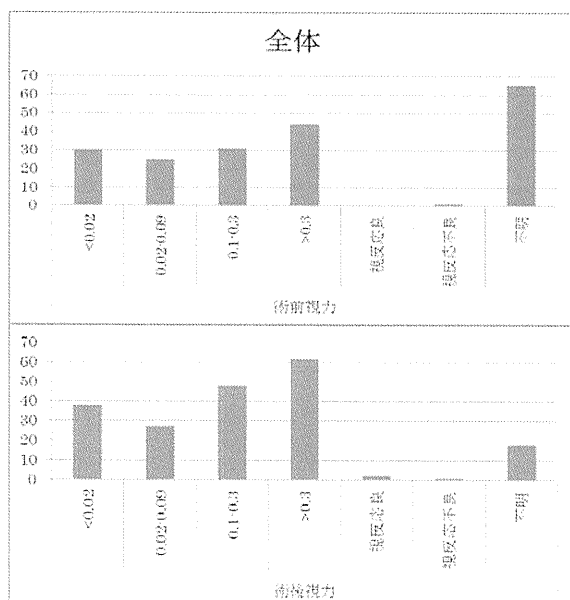


図 2 a. 術前・術後視力（全体）

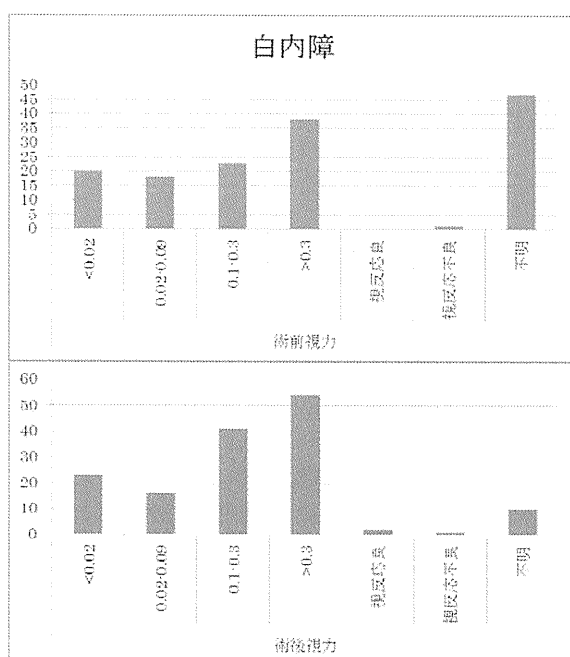


図 2 b. 術前・術後視力（白内障）

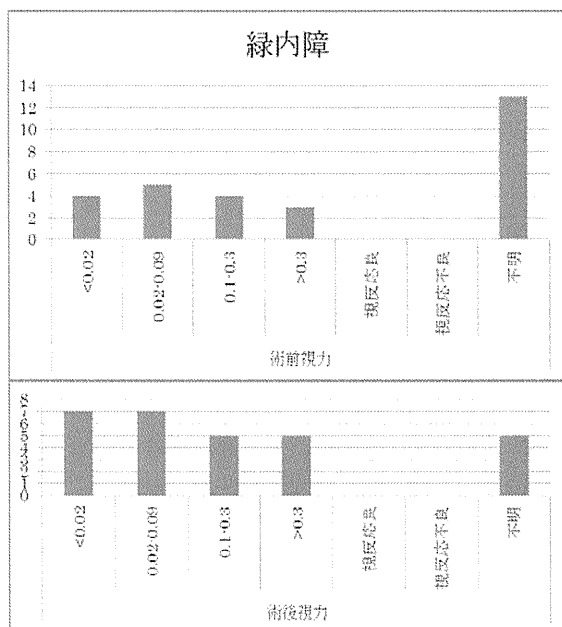


図 2 c. 術前・術後視力 (緑内障)

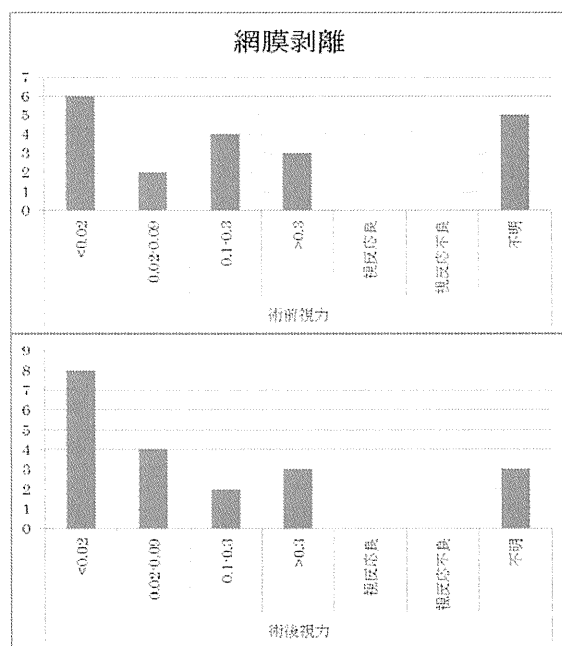


図 2 d. 術前・術後視力 (網膜剥離)

全体として、術前は視力不明例の比率が多い。0.3<の視力良好群の比率が術前44眼(22.4%)から術後62眼(31.6%)へ増加し、0.1-0.3の視力群の比率が術前31眼(15.8%)から術後48眼(24.5%)へ増加しているが、一方、<math><0.02</math>の視力不良群の比率も、術前30眼(15.3%)から術後38眼(19.4%)へ増加している。白内障手術によって視力の向上する例がある一方で、緑内障、網膜剥離手術の難治例や重篤な合併症を生じた例では、術後に高度の視力障害をきたすと考えられる。

併発症別にみると、白内障では0.3<の視力良好群の比率が術前38眼(25.9%)から術後54眼(36.7%)へ増加し、0.1-0.3の視力群の比率が術前23眼

(15.6%)から術後41眼(27.9%)へ増加しているが、一方、<math><0.02</math>の視力不良群の比率も、術前20眼(13.6%)から術後23眼(15.6%)へ増加している。少数ではあるが、白内障術後に重篤な合併症を生じ、高度の視力障害をきたした例があることに注意すべきである。小眼球症において最も頻度の高い白内障手術に関し、本研究班で研究開発を行ったより安全な手術法の普及につとめることが課題である。

緑内障では、<math><0.02</math>の視力不良群の比率が術前4眼(13.8%)から術後7眼(24.1%)へ増加し、0.02-0.09の視力群の比率も術前5眼(17.2%)から術後7眼(24.1%)へ増加している。小眼球症に併発する緑内障は難治例が多く、視力予後不良であることが示された。残存視機能の保持のために、継続した眼科管理の重要性、早期発見と適切な病態診断に基づいて早期に手術適応の決定を行う必要性を、全国へ普及すべく情報発信につとめている。

網膜剥離では、緑内障よりもさらに視力良好群は減少し、<math><0.02</math>の視力不良群の比率が術前6眼(30.0%)から術後8眼(40.0%)へ増加し、0.02-0.09の視力群の比率も術前2眼(10.0%)から術後4眼(20.0%)へ増加している。緑内障以上に難治例や、重篤な合併症を生じる例が多く、高度の視力障害をきたす比率が高い。手術は非常に難易度が高く、予後がきわめて不良であることを強調し、網膜剥離発症のリスクを高める眼球打撲の防御など、安全管理に十分配慮するよう情報発信している。

## E. 結論

小眼球症に高頻度に併発する白内障、緑内障、網膜剥離の手術に関する全国調査を実施し、集計結果を分析した。小眼球症では小児期やより若年期において併発症に対する手術治療が必要になる。白内障の術前には狭隅角・閉塞隅角緑内障を高率に合併した。術式として、白内障では眼内レンズ挿入困難例が多いこと、緑内障では病態に応じたさまざまな術式が選択されること、網膜剥離では硝子体手術、強膜開窓術、白内障同時手術が多いことがわかり、いずれの手術法も正常眼に比して難易度が高い。様々な術中・術後合併症が起り、ときに視力予後に重篤な影響を与えることが示された。残存視機能を保持するために、併発症の発症防止、継続した眼科管理、早期発見と適切な病態診断に基づいた早期手術適応の決定、より安全な手術法の普及、術後管理の重要性について全国へ情報発信を行っている。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Nishina S, Kurosaka D, Nishida Y, Kondo H, Kobayashi Y, Azuma N. Survey of microphthalmia in Japan. *Jpn J Ophthalmol*, 2012, Feb 23.[Epub ahead of print].
  2. Nishina S, Kosaki R, Yagihashi T, Azuma N, Okamoto N, Hatsukawa Y, Kurosawa K, Yamane T, Mizuno S, Tsuzuki K, Kosaki K. Ophthalmic Features of CHARGE Syndrome with CHD7 Mutations. *Am J Med Genet A*. 2012, Feb 2.[Epub ahead of print].
  3. Hosono K, Ishigami C, Takahashi M, Park DH, Hirami Y, Nakanishi H, Ueno S, Yokoi T, Hikoya A, Fujita T, Zhao Y, Nishina S, Shin JP, Kim IT, Yamamoto S, Azuma N, Terasaki H, Sato M, Kondo M, Minoshim S, Hotta Y. Two novel mutations in the *EYS* Gene are possible major causes of autosomal recessive retinitis pigmentosa in the Japanese population. *PLoS ONE*, 7(2). e31036, 2012
  4. Shigeyasu C, Yamada M, Mizuno Y, Yokoi T, Nishina S, Azuma N. Clinical features of anterior segment dysgenesis associated with congenital corneal opacities. *Cornea*, 31 (3): 293-8, 2012
  5. Nishina S, Suzuki Y, Yokoi T, Kobayashi Y, Noda E, Azuma N. Clinical features of congenital retinal folds. *Am J Ophthalmol*, 153 (1): 81-87, 2012
  6. Nishina S, Tanaka M, Yokoi T, Kobayashi Y, Azuma N. Stereopsis after early surgery for bilateral congenital cataracts. *Transaction book of XIth ISA meeting*, in press
  7. Yamasaki T, Kawasaki H, Arakawa S, Shimizu K, Shimizu S, Reiner O, Okano H, Nishina S, Azuma N, Penninger JM, Katada T, Nishina H. Stress-activated protein kinase MKK7 regulates axon elongation in the developing cerebral cortex. *J. Neurosci*, 31(46): 16872-16883, 2011
  8. Suzuki S, Kim O-H, Makita Y, Saito T, Lim G-Y, Cho T-J, Al-Swaid A, Alrashees S, Sadoon E, Miyazaki O, Nishina S, Superti-Furga A, Unger S, Fujieda K, Ikegawa S, Nishimura G. Axial Spondylometaphyseal Dysplasia: Additional Reports. *Am J Med Genet A*, 155A(10): 2521-2528, 2011
  9. Tanaka M, Nishina S, Ogonuki S, Akaike S, Azuma N. Nishida's procedure combined with medial rectus recession for large-angle esotropia in Duane syndrome. *Jpn J Ophthalmol*, 55(3): 264-267, 2011
  10. Kobayashi Y, Yokoi T, Yokoi T, Hiraoka H, Nishina S, Azuma N. Fluorescein staining of the vitreous during vitrectomy for retinopathy of prematurity. *Retina*, 31(8): 1717-1719, 2011
  11. Hiraki Y, Nishimura A, Hayashidani M, Terada Y, Nishimura G, Okamoto N, Nishina S, Tsurusaki Y, Doi H, Saitsu H, Miyake N, Matsumoto N. A de novo deletion of 20q11.2-q12 in a boy presenting with abnormal hands and feet, retinal dysplasia, and intractable feeding difficulty. *Am J Med Genet A*, 155: 409-414, 2011
  12. 仁科幸子、中山百合、横井匡、東範行、近藤寛之、西田保裕. 小眼球症に伴う眼窩発育異常の画像評価. *眼科臨床紀要* 印刷中.
  13. 仁科幸子、東 範行. 小児の緑内障治療. *あたらしい眼科* 29: 7-12, 2012
  14. 伊藤牧子、仁科幸子. 視力障害、斜視、弱視. *小児科診療* 75: 189-194, 2012
  15. 仁科幸子. 乳児の眼鏡. *あたらしい眼科* 28: 38-40, 2011
  16. 仁科幸子. 視力障害のフォローアップ. *周産期医学* 41: 1396-1398, 2011.
  17. 初川嘉一、仁科幸子、菅澤淳、木村亜紀子、矢ヶ崎悌司、不二門尚、平野慎也. 小児の間欠性外斜視に対する後短縮術の治療成績：多施設共同研究. *日本眼科学会雑誌* 115: 440-446, 2011
- ### 2. 学会発表
1. 仁科幸子、小林百合、横井匡、東範行、近藤寛之、西田保裕. 小眼球症に伴う眼窩発育異常の画像評価. 第36回日本小児眼科学会総会, 京都, 2011.7
  2. 伊藤牧子、横井匡、小林百合、仁科幸子、東範行、小川学、杉田直. 乳児にみられたカンジダ眼内炎の1例. 第36回日本小児眼科学会総会, 京都, 2011.7
  3. 小林百合、伊藤牧子、横井匡、仁科幸子、東範行、田中三知子. 強膜内陥術の網膜牽引軽減によって視力が向上した網膜ひだの1症例. 第36回日本小児眼科学会総会, 京都, 2011.7
  4. 仁科幸子. 小児の屈折・視力検査の実際. 第27回日本弱視斜視学会講習会, 京都, 2011.7
  5. 仁科幸子. 小眼球症の診断と管理. 第34回獨協医科大学眼科・栃木県眼科医会合同講演会, 宇都宮, 2011.7
  6. 仁科幸子、小林百合、伊藤牧子、横井匡、東範行. 小眼球症における黄斑の形態と機能. 第65回日本臨床眼科学会, 東京, 2011.10
  7. 仁科幸子. 小児の屈折矯正-遠視の屈折矯正. 第65回日本臨床眼科学会, 東京, 2011.10
  8. 仁科幸子. 小児の斜視. 第21回東邦大学第二眼科と世田谷区・渋谷区・目黒区眼科医会合同勉強会, 渋谷, 2011.10
  9. 仁科幸子. 小児眼疾患ケーススタディ. 第13回西東京眼科フォーラム, 吉祥寺, 2011.11
  10. 仁科幸子、小崎里華、柳橋達彦、東範行、岡本伸彦、初川嘉一、黒澤健司、山根敬浩、水

野誠司、都築欣一、小崎健次郎. CHD7 遺伝子変異による CHARGE 症候群の眼合併症.

第 56 回日本人類遺伝学会, 幕張, 2011.11

11. 仁科幸子. 斜視と弱視. 東京都眼科医会卒後研修会, 東京, 2011.11
12. 仁科幸子. もう一度学ぼう! 小児眼科の ABC. 第 15 回千駄木フォーラム, 上野, 2011.12
13. 宇井理人、東範行、仁科幸子、小林百合、横井匡、伊藤牧子. 家族性滲出性硝子体網膜症に対するバックリング手術. 第 50 回日本網膜硝子体学会, 東京, 2011.12
14. Yokoi T, Ui R, Ito M, Nakayama Y, Nishina S, Azuma N. Analysis of retinal structure and function in eyes with foveal hypoplasia. 第 50 回日本網膜硝子体学会, 東京, 2011.12
15. 仁科幸子. 小児白内障手術の術後管理. 第 35 回日本眼科手術学会, 京都, 2012.1
16. 仁科幸子. 小眼球症の診断と管理. 第 146 回宮崎県眼科医会講演会, 宮崎, 2012.2
17. 仁科幸子. 乳幼児の眼科疾患と検査. 宮崎県眼科医会眼科職員上級者講演会, 宮崎, 2012.2
18. 仁科幸子. 小眼球症の診断と管理. 第 14 回静岡県小児眼科研究会, 浜松, 2012.3
19. 仁科幸子. 小眼眼疾患・ケーススタディ. 第 17 回北陸眼疾患シンポジウム, 金沢, 2012.3

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
なし

## 小眼球症の原因究明：次世代シーケンス技術による遺伝子解析

研究分担者 近藤 寛之 産業医科大学眼科学教室 准教授

研究要旨：小眼球は環境要因とともに、単一または複数の遺伝素因（遺伝子異常）によって生じると考えられている。原因となる遺伝子の同定は、原因の究明や将来の治療に向けた研究に寄与するだけでなく、遺伝カウンセリングを行うためにも重要な情報となる。一方で、小眼球はきわめて多様な疾患群であり、多くの症例では原因となる遺伝子の診断は困難である。本研究ではさまざまな遺伝学的な手法を駆使して原因の診断を行うことを目的とする。本年度は次世代シーケンス技術によって小眼球遺伝子の同定を行った。

### A. 研究目的

小眼球は環境要因とともに、単一または複数の遺伝素因（遺伝子異常）によって生じると考えられている。本症はきわめて多様な疾患群であり、多くの症例では原因となる遺伝子の診断は困難である。本研究ではさまざまな遺伝学的な手法を用いて原因の診断を行うことを目的とする。本年度は次世代シーケンス技術による遺伝子の同定を行った。

### B. 研究方法

①対象となる小眼球症家系の選定：小瞳孔・小角膜・白内障を伴う小眼球症の1家系（常染色体優性遺伝）、5名の罹患者を含む9名を対象とした。症例は産業医科大学倫理委員会の承認のもと、文書でインフォームドコンセントを得た。ヒトゲノム・遺伝子解析に関する倫理指針（平成13年3月29日文科科学省・厚生労働省・経済産業省告示第1号）を遵守した。

②全ゲノム連鎖解析：9名中8名のDNAを用い、全ゲノム single nucleotide polymorphism (SNP)マーカーによる連鎖解析を行い、候補領域を狭めた。解析には easyLINKAGE Plus (<http://compbio.charite.de/genetik/hoffmann/easyLINKAGE/>) 及び GeneHunter v2.1r5 (<http://www.broad.mit.edu/ftp/distribution/software/genchunter/>)を用いた。

③全遺伝子（エクソーム）解析のための、ライブラリー作成：罹患者2名にDNAに SureSelect all-exon kit を用いて全遺伝子のキャプチャー・ライブラリーを作成した。

④次世代シーケンスによるシーケンス：ライブラリーはクラスター形成後に100-bp paired-end のシーケンスを行った。

⑤塩基配列決定とバイオインフォマティ

クス解析：シーケンス・リードはヒトゲノム HG19-coordinate を用い、Burrows-Wheeler Aligner (BWA, <http://bio-bwa.sourceforge.net/>)によって配列をアラインした。多型・変異配列は SAMtools(<http://samtools.sourceforge.net/>) で抽出し、ANNOVAR(<http://www.openbioinformatics.org/annovar/>)で正常配列の除外、nonsynonymous配列の有意さを評価した。

### C. 研究結果

全ゲノム連鎖解析では1, 3, 5, 8, 10, 11, 17番染色体中の9領域が候補となった。Multipoint LODスコアの最大値は1.2であった。

エクソームによる全遺伝子の塩基配列の決定では、2症例それぞれ、13及び10Gbの配列が得られた。97%の配列はPhred-qualityスコアが20以上の値を得た。閾値をリード8以上かつヘテロ分画0.15以上としたところ、いずれも12万以上の多型・変異配列を得た。

このうちエクソンとスプライス配列に絞り込み、既知のSNPを除外し、優性遺伝（ヘテロ接合性）を満たす配列を選出した。2症例に共通の候補配列は39（ミスセンス・ナンセンス配列26、塩基挿入・欠失13）であった。ミスセンス配列のうち、機能的に有意な配列が11あり、このうち先天白内障の原因遺伝子であるGJA8遺伝子の異常を検出した。Sanger法によってこの遺伝子変異が家系内での罹患者の有無に一致することを確認した。

### D. 考察

GJA8遺伝子変異はヒトの白内障（及び小角膜症）の原因となるが、常染色体劣性遺



伝の1例を除き小眼球症の報告はない。一方、マウスでは同遺伝子の変異で小眼球となることが知られている。水晶体の発生異常は虹彩の形成に影響を及ぼすことから、今回みつかった新規の変異が小眼球、小瞳孔などの異常を併発するものと考察した。

全遺伝子塩基配列決定（エクソーム・シークエンス）は、全遺伝子の配列を網羅的に決定するきわめて有用な方法である。同時に既知の遺伝子の異常の有無を一度に判定できるため、信頼性の高い結論を得ることができる。ただし、全ゲノムに内在するさまざまな異常配列が同時に検出されるために、連鎖解析やバイオインフォマティクスによる解析などを組み合わせて結論を導く必要がある。また、解析に多大な労力と費用を要するため、小眼球症のルーチンの解析には不向きである。一方、本症例のように小眼球症を含む特異な臨床像によって新規の遺伝子が推定される症例には、原因の究明に有用な方法である。

#### E. 結論

全ゲノム連鎖解析と全遺伝子塩基配列決定（エクソーム・シークエンス）によって常染色体優性遺伝の小眼球家系の原因遺伝子を同定した。

#### F. 健康危険情報 なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1) Kondo H, Kusaka S, Yoshinaga A, Uchio E, et al: Mutations in TSPAN12 gene in Japanese patients with familial exudative vitreoretinopathy. *Am J Ophthalmol* 2011;151:1095-1100.

2) Miyamoto N, Izumi H, Miyamoto R, Kondo H, et al.: Quercetin induces the expression of peroxiredoxin 3 and 5 through Nrf2/NRF1 transcription pathway. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011;52:1055-1063.

3) Miyamoto N, Izumi H, Miyamoto R, Bin H, Kondo H, et al: Transcriptional regulation of activating transcription factor 4 (ATF4) under oxidative stress in retinal pigment epithelial ARPE-19 cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011;52:1226-1234

4) Nishina S, Kurosaka D, Nishida Y, Kondo H, Kobayashi Y, Azuma N: *Jpn J Ophthalmol* in press.

5) 近藤寛之: 家族性滲出性硝子体網膜症 (特集・遺伝性網膜・黄斑ジストロフィアアップデート). *あたらしい眼科* 2011; 28: 963-968.

6) 渡辺晃久、近藤寛之、松下五佳、森田啓文、田原昭彦: 未熟児網膜症に対する抗VEGF療法の効果の検討. *眼科手術* 2011; 25: 115-117

7) 有田直子、林英之、内尾英一、近藤寛之: 重症未熟児網膜症に対しベバシズマブ硝子体内投与を行った症例の検討. *臨眼* 2011; 65: 1225-1229

#### 2. 学会発表

1) 近藤寛之、堀田喜裕、近藤峰生、高橋政代: 眼科診療に必要な遺伝性網膜硝子体疾患—診療スタンダード2011— (インストラクションコース7). 第65回日本臨床眼科学会、東京フォーラム、2011

2) 近藤寛之、日下俊次、遠藤亜有子、外尾恒一、森本壮、内尾英一、近藤峰生: X連鎖性網膜分離症にみられたRS1遺伝子異常と臨床像. 第115回日本眼科学会総会、東京フォーラム、2011

3) 近藤寛之: 教育セミナー5 未熟児網膜症の診断と治療 硝子体手術. 第34回日本眼科手術学会総会、京都・国立京都国際会館、2011

4) Kondo H, Tawara A, Uchio E, Hayashi K, Tahira T: Search for SOX17 Gene Mutations In Patients With Familial Exudative Vitreoretinopathy. Annual meeting of the Association for Research in Vision and Ophthalmology, Fort Lauderdale, Florida, 2011  
5) Kondo, H: Glaucoma after early vitrectomy for aggressive posterior retinopathy of prematurity. Association of Pediatric Retinal Surgeons Meeting. Duck Key, Florida, 2011

#### H. 知的財産権の出願・登録状況 特許取得、実用新案登録、その他 いずれもなし

#### I. 参考文献

1) Ng SB, et al: Exome sequencing identifies the cause of a mendelian disorder. *Nat Genet* 2010;42:30-35.

2) Li H, et al: The sequence alignment/map format and SAMtools. *Bioinformatics* 2009;26:589-595.

3) Wang K, et al: ANNOVAR: functional annotation of genetic variants from high-throughput sequencing data. *Nucleic Acids Res* 2009;38:e164

## 我が国の網膜色素変性患者の遺伝子変異と病因解明

研究分担者 堀田 喜裕 浜松医科大学 眼科学講座 教授  
研究協力者 細野 克博 浜松医科大学 眼科学講座 助教

研究要旨：【目的】網膜色素変性(RP)は、失明に至る進行性、遺伝性の疾患群で、眼科領域で最も重篤な疾患の1つである。RPは、常染色体優性遺伝(ad)、常染色体劣性遺伝(ar)、X連鎖性遺伝形式が知られる。これまでに53個の原因遺伝子が同定され、遺伝的異質性が知られている。本疾患に対して有効な治療法が開発されるためには、遺伝子レベルでの病因解明が必要である。本研究は、日本の基幹施設から収集したarRP患者に対して、近年他国のarRP家系で頻度が高いと報告されているEYS遺伝子のスクリーニングを行い、疾患原因変異を同定したので報告する。【対象と方法】本研究では100名の日本人arRP患者を遺伝子解析の対象とした。各施設の眼科外来では倫理規定に基づき遺伝子検査について十分な説明を行い、インフォームドコンセントが得られた患者に対し、詳細な問診と眼科的検査を行った。確定診断された患者の末梢血よりDNAを抽出し、EYSの全44エキソンをPCRダイレクトシーケンス法にて解析した。【結果】遺伝子解析の結果、18人のarRP患者から7種の疾患原因変異を同定した。18人中9人は片側アレルの原因変異のみ同定できた。18人中12人にc.4957\_4958insA、18人中4人にc.8868C>Aの変異を同定した。また、レーバー先天性黒内障の日本人患者28人には上記2変異は見つからなかった。【結論】日本人arRP患者におけるEYSの寄与は18%と大きく、c.4957\_4958insAとc.8868C>Aは我が国のarRP患者において突出して頻度の高い遺伝子変異である可能性が高い。

### A. 研究目的

網膜色素変性(Retinitis Pigmentosa; RP)は、臨床的にも遺伝的にも異質性の高い疾患であり、臨床的重症度や症状、進行の速さは症例や家系により多彩である。本疾患は、夜盲が初期症状であることが多く、進行すると周辺部視野障害・視力低下へつながり、最終的に失明に至る可能性が高い眼科領域で最も重篤な疾患の1つである。

RPは我が国において4000~8000人に1人と言われており、遺伝性が認められるうち、常染色体優性遺伝(ad)が16.9%、常染色体劣性遺伝(ar)が25.2%、X連鎖性遺伝が1.6%と報告されている。また、家系内に他に患者が見られず遺伝形式が明らかでない孤発例が多く存在している(56.3%)。我が国では以前、近親婚率が諸外国に比べて比較的高かったためarRPの相対頻度が高かったが、近年の近親婚率の低下によりその相対頻度が減少しつつある。また少子化に伴ってarRPが孤発例となっている可能性がある。視力、視野の予後を遺伝形式別に比較するとX連鎖性が最も不良で、adRPが比較的良好な傾向を示す。

欧米や英国ではRPの特殊型であるレーバー先天性黒内障(Leber's Congenital Amaurosis; LCA)の遺伝子治療が実験動物の治験結果を基に実際のLCA患者に対して既に行われている。2009年には、LCA患者12名を対象にして、疾患原因遺伝子RPE65を組み込んだアデノウイルスベクター(AAV2.hRPE65v2)の網膜下注射の効果を調べた第一相試験結果が行われ、視機能の改善例が報告された。この論文の治験結果は、将来の網膜色素変性疾患の遺伝子治療のアプローチを示すものであり、そのためにもRPの原因遺伝子の特定が必須である。本研究では、(1)日本の基幹施設から収集した100人のarRP患者を用いて、近年他国のarRP家系で頻度が高いと報告されている原因遺伝子EYS(Eyes Shut Homolog)の大規模スクリーニングを行い、その結果、(2)日本人RP患者におけるEYS変異の寄与と高頻度に認められる遺伝子変異のデータを蓄積してデータベースを構築し、日本人におけるRP患者のEYSの変異と病態の対応関係の基礎データを創出することを目的とする。

RPは成人の3大失明原因の1つであり、1996

年に厚生省から難病指定を受けている。将来的に欧米や英国のように遺伝子治療を行い視機能の改善を得るには、発症初期から治療に取りかかる必要があり、我が国でも RP 患者における原因遺伝子変異の寄与と日本人特有の変異の有無を明らかにする必要がある。しかしながら、これまで日本人 RP 患者における原因遺伝子のスクリーニングは一部の adRP、arRP 患者で行われている以外はほとんど行われていなかった。我が国の RP 患者の遺伝子変異と病態の関連研究は厚生科学研究として重要な位置を占めると考える。

## B. 研究方法

### 1. RP患者の診断

本研究は日本の基幹施設から収集した100人のRP患者を遺伝子解析の対象とした。各施設の眼科外来では倫理規定に基づき遺伝子検査について十分な説明を行い、インフォームドコンセントが得られた患者に対し、詳細な問診と眼科的検査（視野検査、視力検査、眼底検査、網膜電図）を行った。

### 2. DNAの調整、細胞の株化

確定診断された患者より末梢血を収集し、EYS変異解析を行った。また同患者の末梢血より可能な限りBリンパ芽球様細胞株の樹立を行った。実験方法を下記に示す。

#### a. EYSの変異解析

患者の末梢血よりDNAを抽出し、EYSの44エキソンと周囲のイントロン配列をPCR法により増幅する。PCR産物を精製後、ダイレクトシーケンス法で塩基配列を決定する。

#### b. Bリンパ芽球様細胞株の樹立

患者の末梢血よりリンパ球を抽出し、EBウィルス(Epstein-Barr virus)に感染させる。その後、活発に増殖するBリンパ芽球様細胞が得られるまで培養と継代を続ける。

#### 【倫理面への配慮】

当該研究に関する遺伝子及び末梢血の収集にあたり、浜松医科大学の倫理委員会（ヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理委員会承認番号第23-43号：平成23年6月）の承認を受けた。末梢血は、同意を得た患者または保護者より提供を受けた。採血前に本研究の研究内容、協力の任意性と撤回の自由、研究計画書等の開示、個人情報

報の保護、提供者の利益および不利益、解析結果の通知、研究成果の公表、研究終了後の試料等の取扱いの方針、知的財産権、費用、遺伝カウンセリング等について詳しく説明し、インフォームドコンセントを書面で得られたもののみを対象とした。本研究は、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」（文部科学省、厚生労働省、経済産業省）及び、「疫学研究に関する倫理指針」（文部科学省、厚生労働省）を遵守して行った。

## C. 研究結果

遺伝子解析の結果、100人の日本人 arRP 患者において18人の患者から7種(c.4957\_4958insA, c.8868C>A, c.2522\_2523insA, Deletion exon 32, c.6557G>A, c.7793G>A, c.8351T>G)の疾患原因変異を同定した。18人中9人は片側アレルの原因変異のみ同定できた。また上記18人の患者以外の8人から6種のミスセンス変異(c.77G>A, c.2923T>C, c.5404C>T, c.5884A>G, c.8875C>A, c.9272T>C)を同定した。今回同定した13種の変異のうちc.6557G>A以外の12種は新規変異であった。c.4957\_4958insAは12人の患者から、c.8868C>Aは4人の患者から同定した。これら2種類の変異は日本人 arRP 患者において突出して頻度の高い遺伝子変異である可能性が高い(表)。

同様に日本人 LCA 患者 28 人に対してc.4957\_4958insA と c.8868C>A のスクリーニングを行ったが、上記2変異は見つからなかった。これら解析結果は2012年2月17日に *PLoS ONE* 誌に掲載された。

## E. 結論

EYS が arRP の原因遺伝子として同定されるまで、RP 全症例に対する個々の原因遺伝子の寄与は1%にも満たない極めて低い頻度であり(*USH2A* のみ例外で7%と比較的高い頻度の報告がある)、これら遺伝子で説明できる RP は約60%であった。このことは過去に同定された原因遺伝子が RP の原因のごく一部でしかなく、未同定の原因遺伝子が多数残っているということの意味していた。そのため既知の原因遺伝子を解析しても異常が見つからないことが多く、遺伝子検査は有効な手段とは言えなかった。

今回の遺伝子解析により、日本人 arRP 患者における EYS の寄与は18%と大きく、原因変異 c.4957\_4958insA と c.8868C>A は我が国の arRP

患者において突出して頻度の高い遺伝子変異である可能性が高いことがわかった。この情報は網膜色素変性疾患を研究する研究者、患者をケアする臨床医にとって重要なデータである。実際に c.4957\_4958insA や c.8868C>A を患者血液から簡便に検出できる試薬キットや c.4957\_4958insA を含む 12 種類の新規変異とこれまで報告のある変異を組み合わせたマイクロアレイを開発することで日本人 RP 患者を効率良くスクリーニングできる遺伝子診断システムを構築できると考えている。日本人 RP の遺伝形式のうち孤発例と常染色体劣性遺伝が最も多く、その内 18% の原因であることは、全 RP 症例の 14% に EYS の異常が存在することになる。これ程の頻度で見つかるのであれば、通常の遺伝子検査によって十分に検出でき、日本人 RP 患者の早期診断が可能となり、遺伝カウンセリングを行う上で極めて有用な情報となる。

現在は、今回の解析により検出した日本人 RP 患者の EYS の変異と臨床像の関係のデータを作成している。その内容は近日中に論文投稿予定である。

表. 100 人の日本人 arRP 患者において同定された EYS の原因変異

Family ID	Nucleotide change	Predicted effect	Domain	Location in gene	Type of change	Reference
Families with very likely pathogenic mutations and both alleles affected						
RP3H	c.4957_4958insA	p.S1653KfsX2	Close to coiled-coil	Exon 26	Homozygous	This study
RP48K	c.4957_4958insA	p.S1653KfsX2	Close to coiled-coil	Exon 26	Homozygous	This study
RP54K	c.4957_4958insA	p.S1653KfsX2	Close to coiled-coil	Exon 26	Homozygous	This study
RP44K	c.4957_4958insA	p.S1653KfsX2	Close to coiled-coil	Exon 26	Heterozygous	This study
	c.6557G>A	p.G2186E	Laminin G	Exon 32	Heterozygous	<i>Abu El-Asar et al., 2010</i> <i>Liswak RW et al., 2010</i> <i>This study</i>
RP56K	c.4957_4958insA	p.S1653KfsX2	Close to coiled-coil	Exon 26	Compound Heterozygous	This study
	c.8351T>G	p.L2784R	Laminin G	Exon 44	Heterozygous	This study
RP87N	c.4957_4958insA	p.S1653KfsX2	Close to coiled-coil	Exon 26	Heterozygous	This study
	c.7793G>A	p.G2598D	Close to Laminin G	Exon 40	Heterozygous	This study
RP81K	c.2522_2523insA	p.Y841X	EGF	Exon 16	Compound Heterozygous	This study
	c.6557G>A	p.G2186E	Laminin G	Exon 32	Heterozygous	<i>Abu El-Asar et al., 2010</i> <i>Liswak RW et al., 2010</i> <i>This study</i>
RP21H	deletion exon32	p.D2142_S2191delinsG	Laminin G	Exon 32	Homozygous	This study
RP35K	c.8868C>A	p.Y2956X	EGF	Exon 44	Homozygous	This study
Families with single very likely pathogenic mutations						
RP1H	c.4957_4958insA	p.S1653KfsX2	Close to coiled-coil	Exon 26	Heterozygous	This study
RP6H	c.4957_4958insA	p.S1653KfsX2	Close to coiled-coil	Exon 26	Heterozygous	This study
RP12H	c.4957_4958insA	p.S1653KfsX2	Close to coiled-coil	Exon 26	Heterozygous	This study
RP51K	c.4957_4958insA	p.S1653KfsX2	Close to coiled-coil	Exon 26	Heterozygous	This study
RP66H	c.4957_4958insA	p.S1653KfsX2	Close to coiled-coil	Exon 26	Heterozygous	This study
RP100N	c.4957_4958insA	p.S1653KfsX2	Close to coiled-coil	Exon 26	Heterozygous	This study
RP8H	c.8868C>A	p.Y2956X	EGF	Exon 44	Heterozygous	This study
RP25H	c.8868C>A	p.Y2956X	EGF	Exon 44	Heterozygous	This study
RP80K	c.8868C>A	p.Y2956X	EGF	Exon 44	Heterozygous	This study
Families with single possible pathogenic mutations						
RP4H	c.9272T>C	p.I3091T	Laminin G	Exon 44	Heterozygous	This study
RP9H	c.8875C>A	p.L2959M	EGF	Exon 44	Heterozygous	This study
RP49K	c.9272T>C	p.I3091T	Laminin G	Exon 44	Heterozygous	This study
RP53K	c.5884A>G	p.T1962A	Laminin G	Exon 28	Heterozygous	This study
RP55K	c.9272T>C	p.I3091T	Laminin G	Exon 44	Heterozygous	This study
RP74K	c.5404C>T	p.L1802F	Close to Laminin G	Exon 26	Heterozygous	This study
RP79K	c.77G>A	p.R26Q	Close to signal peptide cleavage site	Exon 4	Heterozygous	This study
RP83K	c.2923T>C	p.C975R	EGF	Exon 19	Heterozygous	This study

c.4957\_4958insA は 12 人 (RP1H, RP3H, RP6H, RP12H,

RP48K, RP54K, RP51K, RP44K, RP56K, RP87N, RP96H, RP100N)、c.8868C>A は 4 人 (RP8H, RP25H, RP35K, RP80K) の患者から同定された (太字で表記)。

## F. 健康危険情報

該当する危険なし。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

Nakanishi H, Ohtsubo M, Iwasaki S, Hotta Y, Usami S, Mizuta K, Mineta H, Minoshima S. Novel USH2A mutations in Japanese Usher syndrome type 2 patients: marked differences in the mutation spectrum between the Japanese and other populations. *J.Hum.Genet.* 56(7), 2011.

Hosono K, Ishigami C, Takahashi M, Park DH, Hirami Y, Nakanishi H, Ueno S, Yokoi T, Hikoya A, Fujita T, Zhao Y, Nishina S, Shin JP, Kim IT, Yamamoto S, Azuma N, Terasaki H, Sato M, Kondo M, Minoshim S, Hotta Y. Two novel mutations in the EYS Gene are possible major causes of autosomal recessive retinitis pigmentosa in the Japanese population. *PLoS ONE*, 7(2). e31036. 2012.

### 2. 学会発表

Hosono K, Ohishi K, Yamamoto S, Nakanishi H, Yamaguchi Y, Kudoh J, Shimizu N, Hotta Y, Minoshima S. Establishing a mouse cell line from a brain tumor developed with SV40 Large T antigen driven by a photoreceptor-specific gene promoter. ARVO, 2011, Fort Lauderdale. (平成 23 年 5 月 2 日)

Nojima K, Hosono K, Zhao Y, Toshiba T, Asai T, Kato M, Minoshima S, Hotta Y. Clinical features of a Japanese patient with Bothnia dystrophy. ARVO, 2011, Fort Lauderdale. (平成 23 年 5 月 5 日)

細野克博、大石健太郎、山口良考、工藤純、清水信義、堀田喜裕、蓑島伸生・視細胞特異的プロモーターと SV40LargeT 抗原によるマウス培養細胞株の樹立・第 115 回日本眼科学会総会・2011 年・東京

堀田喜裕、細野克博、野嶋計寿、趙洋、彦谷明子、近藤峰生、蓑島伸生・日本人の Bothnia ジストロフィの 1 例・第 18 回日本遺伝子診療学会・2011 年・京都

鳥居薫子、根岸貴志、細野克博、澤田麻友、彦