

手術治療が行われた症例が 18 眼あったが、このうち 13 眼は角膜穿孔または切迫穿孔のため眼球内容除去術を余儀なくされたもので視力回復を目的としたものではなかった。症例は全例が前眼部ぶどう腫であった。視力回復目的で角膜移植を行った症例は 5 眼あり、疾患の内訳は Peters 異常 4 眼、強膜化角膜 1 眼であった。このうち 1 例だけが移植片透明治癒が得られていた。

前眼部形成異常にどの程度の割合で後眼部（眼底）異常を伴うかを検討した。眼底透視不能で詳細不明の例が 137 眼（62%）と多かったが、70 眼（32%）では眼底は正常と考えられた。13 眼（6%）で眼底疾患を伴っており、コロボーマ 3 眼、網脈絡膜萎縮 3 眼、第一次硝子体過形成遺残 3 眼などであった。

全身的な合併症を伴っている症例は 25% あり、その内訳では多発奇形 16 例が最も多く、以下、心疾患 5 例、甲状腺疾患 2 例、泌尿器疾患 2 例などであった。また、家族歴を有する例は 4% で、残りの 96% は明確な家族歴はなかった。

以上の検討結果を基に前眼部形成異常の診断基準と重症度分類（案）を作成した。

前眼部形成異常の診断基準と重症度分類（案）

1. 診断基準

本診断基準は前眼部形成異常のうち、重度の視覚障害を生じる Peters 異常と強膜化角膜を対象にしたもので、後部胎生環や Rieger 異常は含まない。診断に特に有用な検査は、細隙灯顕微鏡検査、前眼部超音波検査、前眼部光干渉断層計（OCT）検査である。

診断基準項目

- 1) 生下時からみられる両眼性または片眼性の角膜混濁
- 2) 角膜中央部または角膜全面の角膜混濁
- 3) 角膜後面から虹彩に連続する索状物や角膜後部欠損。
- 4) 角膜と水晶体の分離不全または水晶体混濁

診断基準

疑い例：1) と 2) を満たし、以下に掲げる鑑別除外診断に該当しないもの

確実例：1) と 2) を満たし、3) または 4) のいずれかを満たすもの

鑑別除外診断

以下の疾患を全身所見、病歴、眼所見から除外する

胎内感染に伴うもの

分娩時外傷（主に鉗子分娩）

全身の先天性代謝異常症に伴うもの

先天角膜ジストロフィ

先天緑内障（牛眼）

先天無虹彩症

2. 重症度分類

I 度：片眼性で、僚眼が健常なもの

II 度：両眼性で良好な方の眼の矯正視力 0.5 以上

III 度：両眼性で良好な方の眼の矯正視力 0.1 以上、0.5 未満

IV 度：両眼性で良好な方の眼の矯正視力 0.1 未満

（視力が測定できない例、乳幼児については眼検査所見や視反応から視力を推定する場合がある）

付記

発症者数について

前眼部形成異常は出生 12,000-15,000 人に 1 名の頻度と推定され、本邦での年間の発症者数は 70-90 例程度と推測される。

罹患眼と眼障害の程度

これまでの検討で、前眼部形成異常の罹患眼は両眼性が 74%、片眼性が 26%であり、両眼性が 3/4 程度である。

罹患眼の視力は 6 割以上が 0.1 未満と重度の視覚障害を呈する。両眼性の症例では、ロービジョンが 41%、社会的失明が 35%となり、小児の視覚障害の原因として重要であることが確認されている。

D. 考按

今回作成した前眼部形成異常データベースには 139 例 220 眼の症例が登録されている。本邦でのこれまでの臨床統計としては、先天性前眼部形成異常 48 例（国立成育医療センター，1998 年）、輪部デルモイド 21 例（京都府立医大，2003 年）が報告されている程度であり、本データベースは非常に大規模なものともみなすことができる。

前眼部形成異常では Peters 異常が 73%と圧倒的に多かった。これは Peters 異常の疾患スペクトルが広いために、軽症の Rieger 異常と重症の前眼部ぶどう腫、強膜化角膜以外のほとんどの症例が含まれるためと考えられた。Peters 異常には重症度に差があり、混濁の程度や視力予後にはかなりの幅があるものと考えられた。罹患眼は両眼性が 81 例（74%）、片眼性が 58 例（26%）であった。診断は細隙灯顕微鏡で判定できる典型例もあるが、眼内の所見が透見できな

い症例では前眼部超音波検査や前眼部 OCT 検査が有用と考えられた。

前眼部形成異常の視力予後に関しては、眼数ベースで見ると 6 割以上が 0.1 未満、4 割以上が 0.01 未満と重度の視覚障害を呈していた。視力予後を症例ベースで良い方の目の視力で検討した場合には片眼性の例では視覚障害に該当しないが、両眼性の例では 76%の症例が視覚障害基準に該当した。研究分担者が以前に施行した全国調査と前眼部形成異常データベース、年間出生数から推計すると、前眼部形成異常発症者数は年間 70-90 例程度、出生 12,000-15,000 に 1 名となった。両眼発症の割合や視力予後を考慮すると、このうち 30 例が視覚障害児になると推定された。これは視覚障害児全体の 10%を占め、小児の視覚障害の原因として重要であることが確認された。

前眼部形成異常では成人後など長期の視力予後は不明であり、本疾患が思春期以降に続発性緑内障や併発白内障など晚期合併症を伴いやすく、更に視機能が低下する可能性があることを考慮すると、長期間の定期的な医学的管理が必要と考えられた。

本年度はこれらの臨床所見を基に診断基準と重症度分類(案)を作成した。視覚障害や重症度の観点から、診断基準は前眼部形成異常のうち、重度の視覚障害を生じる Peters 異常と強膜化角膜を対象にしたものとして、後部胎生環や Rieger 異常は含まないものとした。本診断基準でどのくらいの症例が正しく診断できるか、除外診断を含めて妥当性を検討していく予定である。

E. 結論

先天性角膜混濁のうち頻度が高い前眼部

形成異常について前眼部形成異常データベースを作成した。症例データベースの臨床像を検討し、診断基準、重症度分類を作成した。

前眼部形成異常は小児の視覚障害の原因として重要であり、晩期合併症の発症も少なくないので、長期にわたる医学的管理が必要と考えられた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Hiratsuka Y, Yamada M, Akune Y, Murakami A, Okada AA, Yamashita H, Ohashi Y, Yamagishi N, Tamura H, Fukuhara S, Takura T. Assessment of vision-related quality of life among patients with cataracts and the outcomes of cataract surgery using a newly developed visual function questionnaire: the VFQ-J11. *Jpn J Ophthalmol.* 2014;58:415-422.

2. Shigeyasu C, Hirano S, Akune Y, Yamada M. Diquafosol tetrasodium increases the concentration of mucin-like substances in tears of healthy human subjects. *Curr Eye Res*, early online, 1-6, 2014

3. Fukui M, Yamada M, Akune Y, Shigeyasu C, Tsubota K. Fluorophotometric Analysis of The Ocular Surface Glycocalyx in Soft Contact Lens Wearers. *Curr Eye Res*, early online, 1-6, 2015

4. Kawasaki R, Akune Y, Hiratsuka Y, Fukuhara S, Yamada M. Cost-utility Analysis of Screening for Diabetic Retinopathy in Japan: A Probabilistic Markov Modeling Study. *Ophthalmic Epidemiology* 2015;22:4-12

5. 山田昌和. 3歳児眼健診の有効性. 眼科診療クオリファイ 22. 弱視・斜視診療のスタンダード. 不二門尚編、82-85、中山書店、2014. 6

2. 学会発表

なし

H. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案特許

なし

3. その他

なし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等政策研究事業
（難治性疾患政策研究事業）
「希少難治性角膜疾患の疫学調査」

分担研究報告書
「角膜形状異常症に関する研究」

研究分担者	前田 直之	大阪大学 視覚情報制御学寄附講座	教授
研究分担者	島崎 潤	東京歯科大学 歯学部	教授
研究分担者	宮田 和典	宮田眼科病院 眼科	院長
研究協力者	稗田 牧	京都府立医科大学 眼科	医員
研究協力者	東原 尚代	京都府立医科大学 眼科	医員
研究協力者	中谷 智	順天堂大学 眼科学講座	准教授
研究協力者	舟木 俊成	順天堂大学 眼科学講座	准教授
研究協力者	山口 昌大	順天堂大学 眼科学講座	助教
研究協力者	愛新覚羅 維	東京大学 眼科・視覚矯正科	大学院生
研究協力者	坂根 由梨	愛媛大学 眼科学	助教
研究協力者	子島 良平	宮田眼科病院 眼科	医師
研究協力者	森 洋斉	宮田眼科病院 眼科	医師
研究協力者	重安 千花	杏林大学医学部 眼科学教室	助教
研究協力者	中島 史絵	杏林大学医学部 眼科学教室	助教

【研究要旨】

角膜形状異常症の代表的疾患である円錐角膜に関して、その診断基準、重症度、およびガイドライン作製のための予備調査を行い、現況を調査した。さらに、Delphi 法によるグローバルコンセンサス確立のための会議に出席し、円錐角膜の診断と治療に関するコンセンサスの原案を作成した。

A. 研究目的

円錐角膜は、角膜中央が菲薄化し、角膜実質の脆弱化に伴い角膜中央が前方突出する疾患である。この角膜変形によって不正乱視が生じ、視機能が低下する。

本疾患の原因が不明であるため、従来は細隙灯顕微鏡検査、プラチド型角膜形状解析装置および視力測定によって疾患の診断と重症度判定が行われてきたが、近年、さまざまな前眼部画像解析装置が開発され円錐

角膜がより早期に診断、あるいはより詳細に解析できる可能性がある。

また、治療においても、従来は眼鏡矯正で視力が不十分な症例にハードコンタクトレンズを処方し、視力が十分でない場合に、全層角膜移植が施行されていたが、近年、ハードコンタクトレンズと全層角膜移植の間の治療として、角膜内リング挿入術や深部層状角膜移植が普及しつつある。さらに、円錐角膜の進行予防のために角膜クロスリンキ

ングが開発された。

このように、円錐角膜の診断と治療は近年めまぐるしく変化している。

そこで、本研究では、今日の診療レベルに応じた円錐角膜の診断基準、重症度、診療ガイドラインを作成することを目的とした。

B. 研究方法

1) 過去の文献、成書から円錐角膜の診断基準、重症度分類、診療ガイドラインに関する記述を渉猟し、現状を把握する。

2) 円錐角膜および角膜拡張症の定義、診断、および治療に関する会議に出席し、Delphi法によるグローバルコンセンサスを確立させる。

(倫理面への配慮)

すべての研究はヘルシンキ宣言の趣旨を尊重し、関連する法令や指針を遵守し、大阪大学および東京歯科大学の倫理審査委員会の承認を得たうえで行うこととする。また個人情報漏洩防止、患者への研究参加への説明と同意の取得を徹底する。

C. 研究結果

角膜形状解析における円錐角膜とペルーシド角膜変性の特徴を比較し、両者の特徴的所見を明らかにするとともに、共通の所見を有する症例が多いことが判明し、両者は共通のカテゴリーに含まれる疾患であることが示唆された。OCTを用いて円錐角膜の角膜上皮および実質の厚みを測定したところ、角膜実質が菲薄化している部分に一致して角膜上皮が菲薄化していた。これは実質が菲薄化によって脆弱化したことによって実質が前方突出している部分で、上皮がその前方突出を抑制する代償機能を担っていることが示された。

LASIK後の角膜拡張症であるkeratectasiaと円錐角膜の高次収差を比較したところ、両者は似通っており、keratectasiaの原因としてレーザーの過剰照射よりむしろ円錐角膜の素因をもつ症例がLASIKでその進行が加速された可能性があることが示された。

円錐角膜の治療に関しては、円錐角膜が高度で白内障手術が必要な場合に、前房内の視認性が不正乱視によって劣化するが、術中にハードコンタクトレンズを装用させて手術を行うと、視認性が向上し、手術の安全性に有用であることを示した。

さらに、現在の円錐角膜の診断の現況を調査し、総説として記述した。

また、円錐角膜および角膜拡張症の定義、診断、および治療に関する会議に出席し、Delphi法によるグローバルコンセンサスを確立させるための会議、及びインターネットによるアンケートに参加し、意見を交換した。その結果、診断、内科的治療、および外科的治療において大まかなコンセンサスが得られるとともに、未解決な事項が明らかとなった。

D. 考按

新しい前眼部画像解析装置の登場により、円錐角膜の診断はより詳細に施行できるようになった。これにより、以前より比較的容易に行えた重症な症例に加え、より軽症例まで診断が可能となっている。さらに、各検査における特徴的所見が明らかになったことにより、治療の適応を決定するための素地は整いつつあると考えられる。

その一方、円錐角膜の重症度は重症から正常までの間で連続的に存在するため、その重症度分類として現在適当なものがないこと、軽症例の診断基準、および円錐角膜の進行の定義に関しては、また十分がコンセ

ンサスが得られていないことが判明した。

よって、今後は、円錐角膜の軽症例の定義を確立させ、新たな重症度分類を構築し、それに基づくガイドラインを作製することが重要と考えられる。

E. 結論

円錐角膜に対して、新たな疫学的調査を開始することは、軽症例の診断基準が決まっていないことから、現時点では時期尚早と考えられる。そのため円錐角膜の定義、診断基準を明確にし、重症度別のガイドラインを確立させるため、引き続き調査が必要である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Mutsumi Fuchihata, Naoyuki Maeda, Ryotaro Toda, Shizuka Koh, Takashi Fujikado, Kohji Nishida. Characteristics of corneal topographic and pachymetric patterns in patients with pellucid marginal corneal degeneration. *Jpn J Ophthalmol.* 58:131-138, 2014.
2. Naoyuki Maeda, Tomoya Nakagawa, Ritsuko Higashiura, Mutsumi Fuchihata, Shizuka Koh, Kohji Nishida: Evaluation of corneal epithelial and stromal thickness in keratoconus using spectral-domain optical coherence tomography. *Jpn J Ophthalmol.* 58: 389-395, 2014.
3. Naoyuki Maeda, Tomoya Nakagawa, Ryo Kosaki, Shizuka Koh, Makoto

Saika, Takasih Fujikado, Kohji Nishida. Higher-order aberrations of anterior and posterior corneal surfaces in patients with keratectasia after LASIK. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 55: 3905-3911, 2014.

4. Yoshinori Oie, Motohiro Kamei, Nagakazu Matsumura, Hisataka Fujimoto, Takeshi Soma, Shizuka Koh, Motokazu Tsujikawa, Naoyuki Maeda, Kohji Nishida: Rigid gas-permeable contact lens-assisted cataract surgery in patients with severe keratoconus. *J Cataract Refract Surg.* 40:345-8, 2014.

5. 前田 直之:円錐角膜 診断. *眼科* 55:1277-1283, 2014.

2. 学会発表

Naoyuki Maeda, Hisataka Fujimoto, Hayato Mitamura, Yoshinori Oie, Takeshi Soma, Shizuka Koh, Motokazu Tsujikawa, Sataoshi Kawasaki, Kohji Nishida: Quantitative evaluation of natural progression in keratoconus with 3D anterior segment OCT. The annual meeting of the International Society of Refractive Surgery, Chicago, U.S.A., 2014.10.18.

H. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案特許
なし
3. その他
なし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等政策研究事業
（難治性疾患政策研究事業）
「希少難治性角膜疾患の疫学調査」

分担研究報告書
「先天性角膜混濁の診断基準と重症度分類」

研究分担者	宮田 和典	医療法人明和会	宮田眼科病院	眼科	院長
研究協力者	子島 良平	医療法人明和会	宮田眼科病院	眼科	医師
研究協力者	森 洋斉	医療法人明和会	宮田眼科病院	眼科	医師

【研究要旨】

先天性角膜混濁のうち頻度が高い前眼部形成異常の臨床像を把握するための前眼部形成異常データベースの作成に協力した。登録された症例は 139 例 220 眼で、性差はなく、罹患眼は両眼性 74%、片眼性 26%であった。疾患別に分類すると、Peters 異常が 73%と圧倒的に多く、前眼部ぶどう腫 11%、Rieger 異常 8%、強膜化角膜 6% などであった。視力予後は 0.1 未満が 6 割以上、0.01 未満が 4 割と不良であり、先天性角膜混濁は、小児の視覚障害の原因として無視できないことが確認された。視覚リハビリテーションとともに、晩期合併症も少なくないので長期にわたる医学的管理が必要と考えられた。

臨床像の検討結果から前眼部形成異常の診断基準、重症度分類の作成に協力した。作成した診断基準でどのくらいの症例が正しく診断できるか、除外診断を含めて妥当性を検証に参加する予定である。

A. 研究目的

先天性角膜混濁は稀であるものの、視力予後が不良であることから小児の視覚障害の原因として重要である。その原因は単一ではなく、先天性角膜ジストロフィなどの遺伝性角膜疾患、Peters 異常や強膜化角膜などの前眼部形成異常、輪部デルモイドなど様々な疾患が含まれている。個々の施設では症例の経験が少なく、臨床経験、臨床データを集積することが難しいため、その診断方法、治療方針が施設により異なっているのが現状である。

研究分担者の山田は平成 21 年度厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究

事業）において、先天性角膜混濁の実態と臨床像を把握し、的確な診断方法や医学的管理方法について検討している。全国の大学病院、小児医療センターを対象とした先天性角膜混濁の症例登録調査を行い、先天性角膜混濁の原因疾患として、前眼部形成異常と輪部デルモイドが主要なものであり、特に両眼性の症例では前眼部形成異常の割合が多いことが報告されている。

本研究は、先天性角膜混濁の診断基準と重症度分類の作成、検証を目的としており、本年度は先天性角膜混濁の大部分を占める疾患である前眼部形成異常について検討を行った。

B. 研究方法

以前の難治性疾患克服研究事業で作成した国立成育医療センターの電子カルテ・病名データベースから抽出した前眼部形成異常の症例調査録を用いた。各々の症例について初診時年齢、性別、罹患眼、罹患眼の眼所見、視力予後などの情報が収集されている。診療録調査では、姓名や生年月日、診療録IDは調査対象に含まないようにし、個人情報保護に努めた。本症例調査録(前眼部形成異常データベース)には139例220眼の症例情報が含まれている。

山田らが作成した前眼部形成異常データベースの内容を検証し、予後や合併症、継続的な医学的管理の必要性の観点から前眼部形成異常の診断基準と重症度分類を作成した。

(倫理面への配慮)

本研究の実施にあたっては、厚生労働省による臨床研究に関する倫理指針および疫学研究に関する倫理指針に従い、宮田眼科病院の倫理審査委員会の承認を得て行った。(申請番号CS-228、承認番号033)

C. 研究結果

前眼部形成異常データベースに登録された139例220眼の検討結果の概要を示す。患児の性別は男児68例109眼、女児71例111眼であり、性差はなかった。初診時の年齢は生後2日から25歳まで、平均1歳2ヵ月であった。罹患眼は両眼性が81例(74%)、片眼性が58例(26%)であった。

前眼部形成異常220眼を疾患別に分類すると、Peters異常が160眼(73%)と圧倒的に多く、以下、前眼部ぶどう腫25眼(11%)、Rieger異常17眼(8%)、強膜化

角膜14眼(6%)となり、分類不能が4眼(2%)あった。

視力が測定できた症例は61例98眼あり、測定時の年齢は 9.0 ± 4.4 歳であった。視力を眼数ベースで、両眼性と片眼性に分けて検討すると、両眼性は37例74眼、片眼性は24例24眼であり、両群とも6割以上が0.1未満で、4割以上が0.01未満と重度の視覚障害を呈していた。視力予後を症例ベースで、良い方の目の視力で検討した。日常生活機能や就学を考えるうえでは症例ベースの視力が重要と考えられるためである。片眼性24例では正常眼の視力が良好なため全例で0.5以上の視力があつたが、両眼性37例では、視力0.5未満のロービジョン(米国基準)が15例(41%)、0.1未満の社会的失明(米国基準)が13例(35%)となり、小児の視覚障害の原因として無視できないことが確認された。

角膜混濁の自然経過については、経過を追うことのできた170眼について検討した。その結果、不変が142眼(84%)、軽減が28眼(16%)であった。混濁の軽減がみられた28眼のうち25眼はPeters異常であった。

手術治療が行われた症例が18眼あつたが、このうち13眼は角膜穿孔または切迫穿孔のため眼球内容除去術を余儀なくされたもので視力回復を目的としたものではなかった。症例は全例が前眼部ぶどう腫であった。視力回復目的で角膜移植を行った症例は5眼あり、疾患の内訳はPeters異常4眼、強膜化角膜1眼であった。このうち1例だけが移植片透明治癒が得られていた。

前眼部形成異常にどの程度の割合で後眼部(眼底)異常を伴うかを検討した。眼底

透視不能で詳細不明の例が 137 眼 (62%) と多かったが、70 眼 (32%) では眼底は正常と考えられた。13 眼 (6%) で眼底疾患を伴っており、コロボーマ 3 眼、網脈絡膜萎縮 3 眼、第一次硝子体過形成遺残 3 眼などであった。

全身的な合併症を伴っている症例は 25% あり、その内訳では多発奇形 16 例が最も多く、以下、心疾患 5 例、甲状腺疾患 2 例、泌尿器疾患 2 例などであった。また、家族歴を有する例は 4% で、残りの 96% は明確な家族歴はなかった。

以上の検討結果を基に前眼部形成異常の診断基準と重症度分類 (案) を山田らと討議して作成した。

前眼部形成異常の診断基準と重症度分類 (案)

1. 診断基準

本診断基準は前眼部形成異常のうち、重度の視覚障害を生じる Peters 異常と強膜化角膜を対象にしたもので、後部胎生環や Rieger 異常は含まない。診断に特に有用な検査は、細隙灯顕微鏡検査、前眼部超音波検査、前眼部光干渉断層計 (OCT) 検査である。

診断基準項目

- 1) 生下時からみられる両眼性または片眼性の角膜混濁
- 2) 角膜中央部または角膜全面の角膜混濁
- 3) 角膜後面から虹彩に連続する索状物や角膜後部欠損。
- 4) 角膜と水晶体の分離不全または水晶体混濁

診断基準

疑い例: 1) と 2) を満たし、以下に掲げる鑑別除外診断に該当しないもの

確実例: 1) と 2) を満たし、3) または 4) のいずれかを満たすもの

鑑別除外診断

以下の疾患を全身所見、病歴、眼所見から除外する

胎内感染に伴うもの

分娩時外傷 (主に鉗子分娩)

全身の先天性代謝異常症に伴うもの

先天角膜ジストロフィ

先天緑内障 (牛眼)

先天無虹彩症

2. 重症度分類

I 度: 片眼性で、僚眼が健常なもの

II 度: 両眼性で良好な方の眼の矯正視力 0.5 以上

III 度: 両眼性で良好な方の眼の矯正視力 0.1 以上、0.5 未満

IV 度: 両眼性で良好な方の眼の矯正視力 0.1 未満

(視力が測定できない例、乳幼児については眼検査所見や視反応から視力を推定する場合がある)

D. 考按

今回作成した前眼部形成異常データベースには 139 例 220 眼の症例が登録されている。本邦でのこれまでの臨床統計としては、先天性前眼部形成異常 48 例 (国立成育医療センター, 1998 年)、輪部デルモイド 21 例 (京都府立医大, 2003 年) が報告されている程度であり、本データベースは非常に大規模なものともみなすことができる。

前眼部形成異常では Peters 異常が 73% と圧倒的に多かった。これは Peters 異常の疾患スペクトルが広いために、軽症の Rieger 異常と重症の前眼部ぶどう腫、強膜化角膜以外のほとんどの症例が含まれるためと考えられた。診断は細隙灯顕微鏡で判定できる典型例もあるが、眼内の所見が透見できない症例では前眼部超音波検査や前眼部 OCT 検査が有用と考えられた。

前眼部形成異常では成人後など長期の視力予後は不明であり、本疾患が思春期以降に続発性緑内障や併発白内障など晚期合併症を伴いやすく、更に視機能が低下する可能性があることを考慮すると、長期間の定期的な医学的管理が必要と考えられた。

本年度はこれらの臨床所見を基に診断基準と重症度分類(案)を作成した。視覚障害や重症度の観点から、診断基準は前眼部形成異常のうち、重度の視覚障害を生じる Peters 異常と強膜化角膜を対象にしたものとして、後部胎生環や Rieger 異常は含まないものとした。本診断基準でどのくらいの症例が正しく診断できるか、除外診断を含めて妥当性を検討していく予定である。

E. 結論

先天性角膜混濁のうち頻度が高い前眼部形成異常についてデータベースの内容を検証した。症例データベースの臨床像を検討し、診断基準、重症度分類を山田らと作成した。

前眼部形成異常は小児の視覚障害の原因として重要であり、晚期合併症の発症も少なくないので、長期にわたる医学的管理が必要と考えられた。

F. 健康危険情報
なし

G. 研究発表
1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし

H. 知的所有権の取得状況
1. 特許取得
なし
2. 実用新案特許
なし
3. その他
なし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等政策研究事業
（難治性疾患政策研究事業）
「希少難治性角膜疾患の疫学調査」

分担研究報告書

「疫学調査のためのデータベース構築に向けた取り組み」

研究分担者	新谷 歩	大阪大学 臨床統計疫学寄附講座	教授
研究協力者	山田 知美	大阪大学 臨床統計疫学寄附講座	准教授
研究協力者	山本 紘司	大阪大学 臨床統計疫学寄附講座	准教授
研究協力者	関 季子	大阪大学医学部附属病院 未来医療開発部	特任研究員

【研究要旨】

難治性角膜疾患の医療水準向上、予後改善に向けた質の高い診断基準や治療ガイドライン作成のため、まずは疾患毎の調査項目の絞り込みが必要であり、さらにそれら調査項目を電子的に保管・管理するデータベースが必須である。このデータベースは、各項目データを適切に収集し、後に行われる統計解析に供することができるよう管理されなければならない。本事業では疾患領域を6つに区分し、データも疾患毎に収集しなければならないため、web ベースのデータ収集システムを利用するのが効率がよいと考え、米国 Vanderbilt 大学で開発され、世界中で広く利用されている REDCap システムを用いることとした。REDCap システムを用いるにあたり、本研究ではまずセキュリティを強化した。さらに、1つの疾患領域におけるデータベース構築を行い、他の疾患領域も含め来年度以降の実際のデータ収集の基盤とした。

A. 研究目的

本事業の調査項目のデータベース構築のため利用する REDCap システムは、インターネットを介して利用するため、世界中の悪意を持ったサイバー攻撃者の攻撃対象となる可能性がある。本研究ではこれを防ぐためのセキュリティ強化を行う。また、来年度以降の実際のデータ収集にあたり、問題点等を抽出するため、まずは1つの疾患領域を対象としてデータベース構築を行う。

B. 研究方法

REDCap システムのセキュリティ強化にあたっては、アプリケーションレベルでの

統合型サーバセキュリティ対策システムを導入する。また、角膜ジストロフィ領域に対して、実際に REDCap システムを用いてデータベース構築を行う。

(倫理面への配慮)

すべての研究はヘルシンキ宣言の趣旨を尊重し、関連する法令や指針を遵守し、大阪大学倫理審査委員会の承認を得たうえで行うこととする。また遺伝子検査については、ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する指針を遵守することとする。また個人情報の漏洩防止、患者への研究参加への説明と同意の取得を徹底する。

C. 研究結果

セキュリティ対策システムを導入した。ただし実際の運用段階には入っていない。また実際の角膜ジストロフィ領域のデータベース構築を行ったが、現時点で特筆すべき問題点は抽出されなかった。

D. 考按

上述のようにセキュリティ対策システムの導入は行ったが、実際の運用段階には入っていないため、その評価は今後継続的に行っていく必要がある。しかし、このシステムの導入により、システムが取り扱う情報の不正流出やデータの改竄などのリスクが軽減され、安定したシステム運用と、臨床研究データの安全性を保つことができると考えられる。

E. 結論

セキュリティ対策における評価は現時点ではできないため、実際にデータ収集が始まる時点から継続的に評価を行う必要があると考える。データベース構築については、今後他領域に対しても行っていく。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし

H. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案特許
なし
3. その他
なし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等政策研究事業
 （難治性疾患政策研究事業）
 「希少難治性角膜疾患の疫学調査」

分担研究報告書

「膠様滴状角膜ジストロフィの診断基準、重症度分類および治療指針の確立と
 その啓蒙による予後の改善」

研究分担者	川崎 諭	大阪大学 眼免疫再生医学共同研究講座	特任准教授
研究分担者	村上 晶	順天堂大学 眼科学教室	教授
研究協力者	松田 彰	順天堂大学 眼科学教室	准教授
研究協力者	舟木 俊成	順天堂大学 眼科学教室	准教授
研究協力者	中司 美奈	京都府立医科大学 眼科	医員
研究協力者	中川 紘子	京都府立医科大学 眼科	医員
研究分担者	新谷 歩	大阪大学 臨床統計疫学寄付講座	教授
研究協力者	山本 紘司	大阪大学 臨床統計疫学寄付講座	准教授
研究協力者	関 季子	大阪大学医学部附属病院 未来医療開発部	特任研究員
研究協力者	繁田 龍二郎	大阪大学 脳神経感覚器外科学（眼科）	医員

【研究要旨】

膠様滴状角膜ジストロフィは 10 歳代に角膜にアミロイド沈着が生じて著しい視力低下を来す疾患である。本疾患は 1914 年に中泉によって初めて報告され、その後も日本人研究者によって疾患本態の究明がなされ続けられた。本疾患は 3 万人に 1 人と稀であるとはいえ、現時点の治療法をもってしても視機能を生涯にわたって維持することが困難な疾患であり、多くの患者は慢性的な低視機能状態とそれを維持するために繰り返し行われる外科的治療を受け入れざるを得ないのが現状である。本研究課題は、本疾患の診断基準、重症度分類、診療ガイドラインを確立して、本疾患の予後を改善することを目的としている。今年度は診断基準、重症度分類、治療指針の暫定版を作成し、また疫学調査のデータを収集して保管するシステムとして REDCap にてデータベースを構築しデータ入力を開始した。また膠様滴状角膜ジストロフィは遺伝性疾患であり、また臨床表現型の多様性が見られるため、診断確定のために遺伝子検査のシステムを構築し実際の解析に着手した。

A. 研究目的

膠様滴状角膜ジストロフィ（Gelatinous Drop-Like Dystrophy）は 10 歳代に角膜にアミロイド沈着が生じて著名な視力低下をもたらす疾患である。本疾患は 1914 年に中

泉によって世界で初めて報告され、その後 1999 年には辻川によって責任遺伝子が発見され、さらに 2010 年には中司らによって分子病態が解明された。日本人研究者はこの疾患の謎の解明において世界で最も貢献し

ていると言っても過言ではない。

本疾患は稀であるとはいえ、現時点の治療法をもってしても視機能を維持することが困難な疾患であり、多くの患者は慢性的な低視機能状態とそれを維持するために繰り返し行われる外科的治療を受け入れざるを得ないのが現状である。平成22年度に厚生労働省の難治性疾患克服研究事業に採択されてから、本疾患の標準的治療レジメンの確立と新規治療法の創出という課題で平成24年度までの3年間の研究期間の間に、分子病態の解明に成功し、患者由来の不活化細胞を樹立することに成功した。また不活化細胞を用いて、遺伝子治療の可能性についてレンチウイルスとプラスミドの両面から検討し、生化学的レベルではあるものの遺伝子治療の有効性を示すことに成功した。本疾患は両アリの機能喪失性変異が原因であることから、遺伝子治療が根治的治療となることは早くから予想されていた。遺伝子治療が実際の臨床の場に出るまでにはまだまだかなりの年数が必要であることから現在の技術水準において患者の予後を改善する方策を考えなくてはならない。

今年度から本研究課題（希少難治性角膜疾患の疫学調査）が厚生労働省の難治性疾患等政策研究事業として採択された。本疾患は本研究課題で対象とされる6つの疾患領域のうちの一つ、角膜ジストロフィにおいて対象とする疾患である。本研究課題では本疾患の疫学調査、学会主導で全国共通の診断基準や重症度分類、診療ガイドラインの確立や改正およびそれらの普及・啓蒙を行うことを目的とする。これらにより、本疾患における診療の均てん化が図れ、患者は国内の広い範囲で均一な診療を受けることが可能となり、巨視的な視点で我が国における本疾患の予後改善が期待できるものと

考えている。

B. 研究方法

本研究課題の目的は希少難治性角膜疾患において、学会承認レベルの診断基準、重症度分類、診療ガイドラインを確立し、さらにそれらを眼科医や患者に広く啓蒙して希少難治性角膜疾患の予後を改善することにある。今年度はそのための疫学調査を開始し、診断基準、重症度分類、診療ガイドラインの暫定版を研究班で作成することとした。また疫学調査のデータを収集して保管するシステムとしてREDCapにてデータベースを構築することとした。また膠様滴状角膜ジストロフィは遺伝性疾患であり、また臨床表現型の多様性が見られるため、角膜専門の眼科医であっても時に診断を誤ることがあるため、診断確定のために遺伝子検査を実施することとした。

（倫理面への配慮）

すべての研究はヘルシンキ宣言の趣旨を尊重し、関連する法令や指針を遵守し、大阪大学および各施設の倫理審査委員会の承認を得たうえで行うこととする。また遺伝子検査については、ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する指針を遵守することとする。また個人情報漏洩防止、患者への研究参加への説明と同意の取得を徹底する。

C. 研究結果

疫学調査のためのデータベース構築は大阪大学臨床統計疫学寄附講座と共同で行った。調査項目を過去の厚生労働省研究を参考に研究班内で議論して決定し、入力時には簡便に入力できるように、プルダウンメニューとするなどの工夫を凝らした。遺伝子検査については、大阪大学のゲノム審査に申請して2015.2.25に承認された。（承認

番号：548) 遺伝子検査に関し、研究員に対しゲノム DNA 抽出、PCR、シーケンス反応の教育を行った。また解析ソフトウェアとしては Variant reporter を用い、情報漏えい防止のため、インターネットから隔絶された PC を用意して解析専用とした。Variant reporter から出力されるデータはそのままでは解釈しにくく、また既知の遺伝子変異や既知の SNPs との一致についても検討する必要がある。そのため、Variant reporter からの出力ファイルを読み込んで、既知の遺伝子変異や既知の SNPs との一致について検討して病的変異の有無を自動的に解析するソフトを perl スクリプトを用いて自前で作成した。(参考資料-1 を参照) さらにそこから出力されるテキストファイルを読み込んで自動的に遺伝子解析結果を整形するエクセルマクロについても自前で作成した。(図を参照) これらのデータは匿名化され個人情報情報が伏された状態で(連結可能匿名化ではある)大阪大学ネットワーク内でセキュリティを担保したうえで REDCap データベースとして蓄積される予定である。遺伝子検査全体の流れについて標準手順書(SOP)を作成した。(参考資料-2 を参照)。

D. 考按

本疾患は表現系が多様であるため臨床診断のみでは確実とはいえない。これまで調査した本疾患患者のなかにはおそらく本疾患ではないものも含まれていると推測している。遺伝子診断は遺伝性疾患の診断において極めて有用であるにもかかわらず、現在のところ遺伝子診断が可能な疾患は限られている。今年度、我々が確立した遺伝子診断システムを用いて、本疾患の確定診断が可能となるが、本研究期間の3年間の後にも継続して行い、日本全国の症例の診断に

役立てたいと考えている。

今年度、診断基準、重症度分類、治療指針について暫定版を作成した。今年度から来年度にかけて行う疫学調査の結果を踏まえ、さらなる改良を継続して行っていきたいと考えている。

E. 結論

今年度の予定であった疫学調査についてはデータベースの構築、遺伝子検査のシステム構築、ソフトウェア開発などの枠組みをほぼ完了した。データについては現在入力中であり、来年度初めには大半のデータ入力が終了するものと予想している。今年度の達成度としては年度開始時に想定したものをほぼ達成できていると考える。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Nakamura T, Hamuro J, Takaishi M, Simmons S, Maruyama K, Zaffalon A, Bentley AJ, Kawasaki S, Nagata-Takaoka M, Fullwood NJ, Itami S, Sano S, Ishii M, Barrandon Y, Kinoshita S: LRIG1 inhibits STAT3-dependent inflammation to maintain corneal homeostasis. *J Clin Invest* 124: 385-97, 2014
2. Koh S, Maeda N, Ikeda C, Asonuma S, Mitamura H, Oie Y, Soma T, Tsujikawa M, Kawasaki S, Nishida K: Ocular forward light scattering and corneal backward light scattering in patients with dry eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 55: 6601-6, 2014

2. 学会発表

川崎諭 日々の実験におけるちょっとしたコツ~PCR から遺伝子クローニング、不死化細胞の樹立まで~眼科基礎研究スキルトランスファー ~続・基本戦術とスキルを身につけよう~, 第118回日本眼科学会総会 2014年4月4日(金), 帝国ホテル, 東京

H. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案特許
なし
3. その他
なし

(参考資料-1) Perl スクリプト および エクセルマクロ (図)

```
#VR_report_exchanger.pl
#Variant reporter で export したテキストファイルを読み込み、臨床の先生が理解しやすい形に変えます。
#解析者は以下の$labworker、$analyser 変数で定義できます。
#川崎 諭によって作成された。

$default_labworker = "Nishida .N";
opendir(DIR, "/perl64/Variant_reporter/Report/Exported") || die "no such dir. Yn";
while($file = readdir(DIR)){
    if(($file eq ".") or ($file eq "..") or ($file eq "Analysed")){
        next;
    }
    $loop1 = 1;
    while($loop1 < 3){
        $file=~ /([YwYw-]+)_(Yw+)YsGenotypeYsExportY.txt/;
        $project = $1;
        $specimen = $2;
        $outfile = $specimen."_out.txt";
        if($loop1 == 1){
            open(OUT, ">/perl64/Variant_reporter/Report/For_clinician/$outfile") || die "No
out file. Yn";
        }else{
            open(OUT, ">/perl64/Variant_reporter/Report/For_print/print.txt") || die "No out
file. Yn";
        }
        open(IN, "/perl64/Variant_reporter/Report/Exported/$file") || die "No infile. Yn";
        <IN>;
        $firstline = <IN>;
        chomp($firstline);
        @elements = split(/Yt/, $firstline);
        $date = $elements[1];
        $project =~ /([YdYw]+)-.+/;
        $GeneSymbol = $1;
        close IN;

        ($patient_name_E, $patient's_ID, $hospital, $attending_doctor, $clinical_diagnosis, $blood_drawing, $
coverage, $labworker) = &patient_info($specimen, $labworker, $GeneSymbol);
        print OUT "YtYtYtYtReport of Gene Mutation AnalysisYn";
        print OUT "Yn";
        print OUT "YtYtProject NameYtYt$projectYtYtHospitalYtYt$hospitalYn";
        print OUT "YtYtLab WorkerYtYt$default_labworkerYtYtPatient's IDYtYt$patient's_IDYn";
        print OUT "YtYtDate of AnalysisYtYt$dateYtYtDate of Blood
CollectionYtYt$blood_drawingYn";
        print OUT "YtYtPatient's NameYtYt$patient_name_EYtYtGene of InterestYtYt$GeneSymbolYn";
        print OUT "YtYtAttending DoctorYtYt$attending_doctorYtYtCoverageYtYt$coverageYn";
        print OUT "Yn";
        if($loop1 == 1){
            print OUT "YtNo. YtGenome_position (same as Variant reporter)YtGenome_position
(not same as Variant reporter)YtFeatureYtPosition in CDSYtNucleotide ChangeYtZygosityYtType of
MutationYtEffects on Amino acidYtProtein ChangeYtCheckYtKnown Mutation?YtKnown
SNP?YtPathological?YtComment from softwareYn";
        }else{
            print OUT "YtNo. YtFeatureYtNucleotide ChangeYtZygosityYtType of
MutationYtEffects on Amino acidYtProtein ChangeYtKnown Mutation?YtKnown SNP?YtPathological?Yn";
        }
        open(IN, "/perl64/Variant_reporter/Report/Exported/$file") || die "No infile. Yn";
        <IN>;
        $row_number= 1;
        $hit_P = 0;
        $hit_mut = 0;
        @disease = ();
        @references = ();
        @total_ref = ();
        while($line = <IN>){
            chomp($line);
            $mutated_base = "";
            $zygosity = "";
            @elements = split(/Yt/, $line);
            $base_position = $elements[4];
            $Genotype = $elements[5];
            $type_mutation = $elements[12];
            $effect = $elements[13];
            $AA_change = $elements[14];
```

```

$Genotype =~ /Yd+([YwY>]+)/;
$change = $1;
if($change =~ /del(Yw+)/) {
    $del_change = $1;
    $del_change =~ tr/[atcg]/[ATCG]/;
    $change = "del".$del_change;
}elsif($change =~ /ins(Yw+)/){
    $ins_change = $1;
    $ins_change =~ tr/[atcg]/[ATCG]/;
    $change = "ins".$ins_change;
}
($change,$zygosity) = &zygosity($change);
($feature,$genome_position,$exon_number,$genome_start) =
&refer_to_genome($GeneSymbol,$base_position);
($feature,$CDS_position,$nucleotide_change) =
&CDS_position($feature,$exon_number,$base_position,$genome_start,$CDS_start,$change,$genome_position);
$type_mutation = &type_mutation_changer($type_mutation);
if(($effect =~ /silent/) and $AA_change ne "") {
    $remark = "Note!! Amino acid change seems to be unreliable.";
} else {
    $remark = "";
}
if($effect =~ /silent/) {
    $effect = "silent";
} elsif($effect =~ /non-coding/) {
    $effect = "silent";
} elsif($effect =~ /frameshift/) {
    $effect = "frameshift";
} elsif($effect =~ /missense/) {
    $effect = "missense";
}
$match_mut = &known_mutation($GeneSymbol,$nucleotide_change);
($disease,$references) = &disease_identifier($nucleotide_change,$GeneSymbol);
if($loop1 == 1) {
    if($disease ne undef) {
        @disease = (@disease,$disease);
        @references = (@references,$references);
    }
}
$match_SNP = &known_SNP($GeneSymbol,$nucleotide_change);
$decision = &decision($effect,$match_mut,$match_SNP);
$check = &check($GeneSymbol,$nucleotide_change,$effect);
if($AA_change =~ /(Yw)(Yd+)Y[(Yw)Y,(Yw)Y]/) {
    $ref_AA = $1;
    $AA_number = $2;
    $mutated_AA = $3;
    $AA_change = "p.". $AA_number. $ref_AA. ">". $mutated_AA;
} elsif(($type_mutation eq "substitution") and ($AA_change eq "")) {
    $AA_change = "-";
} else {
    $AA_change = "$analyser san!!";
}
if($loop1 == 1) {
    print
    "Yt". $row_number. "Yt". $base_position. "Yt". $genome_position. "Yt". $feature. "Yt". $CDS_position. "Yt". $nucleo
    tide_change. "Yt". $zygosity. "Yt". $type_mutation. "Yt". $effect. "Yt". $AA_change. "Yt". $check. "Yt". $match_mut.
    "Yt". $match_SNP. "Yt". $decision. "Yt". $remark. "Yn";
    } else {
        $feature = &word_shorter($feature);
        $zygosity = &word_shorter($zygosity);
        $type_mutation = &word_shorter($type_mutation);
        $effect = &word_shorter($effect);
        print
        "Yt". $row_number. "Yt". $feature. "Yt". $nucleotide_change. "Yt". $zygosity. "Yt". $type_mutation. "Yt". $effect.
        "Yt". $check. "Yt". $match_mut. "Yt". $match_SNP. "Yt". $decision. "Yn";
    }
    ++$row_number;
}
foreach (@references) {
    @splitted_ref = split(/, /);
    @total_ref = (@total_ref,@splitted_ref);
}
sort {$a <=> $b} @total_ref;
$all_references = join(", ",@total_ref);
if($loop1 == 1) {
    open(COMMENT,">/perl64/Variant_reporter/Report/For_print/comment.txt");
}

```

```

    $comment = &comment_maker($hit_P,$hit_mut,$all_references);
    print COMMENT $comment;
    close COMMENT;
    open(REF, ">/perl64/Variant_reporter/Report/For_print/ref.txt");
    @reference_data = &reference_list_maker(@total_ref);
    $loop120 = 0;
    foreach (@reference_data){
        if($loop120 < 5){
            print REF $_;
            print REF "\n";
        }
        ++$loop120;
    }
    if(@reference_data < 1){
        print REF "No references\n";
    }
    close REF;
}
++$loop1;
close IN;
close OUT;
}
while(1){
    print "Process of mutation data for $specimen has been completed. Please open Excel
template (Mutation_report.xls) to import the print.txt data by executing the Macro (VR_report_importer)
and then print the printer-friendly formatted report. If you ok, enter y. The print.txt will be overwritten
by new data.\n";
    $decision = <STDIN>;
    chomp($decision);
    if($decision eq "y"){
        last;
    }
}
}
print "All of the Variant reporter exported files have been processed. Otsukaresandesu.\n";
closedir(DIR);

#####
sub refer_to_genome{
    local($GeneSymbol,$base_position) = @_;
    $genomefile = $GeneSymbol.".genome";
    open(IN2,"/perl64/Variant_reporter/genome/$genomefile")|| die "No genome
file.\n";
    <IN2>;
    <IN2>;
    $loop = 1;
    $feature = "";
    $pre_genome_start = "";
    $pre_genome_end = "";
    while($line2 = <IN2>){
        chomp($line2);
        @elements2 = split(/Yt/, $line2);
        $CDS_start = $elements2[1];
        $genome_start = $elements2[4];
        $genome_end = $elements2[5];
        $exon = $elements2[0];
        $exon =~ /exon(Yd+)/;
        $exon_number = $1;
        if($loop == 1){
            $genome_position_CDS_start = $genome_start;
        }
        if(($base_position >= $genome_start) and ($base_position <=
$genome_end)){
            $feature = "exon";
            last;
        }elseif(($base_position > $pre_genome_end) and ($base_position <
$genome_start)){
            $feature = "intron";
            last;
        }elseif(($loop == 1) and ($base_position < $genome_start)){
            $feature = "5' upstream";
            last;
        }
        $pre_genome_start = $genome_start;
        $pre_genome_end = $genome_end;
        ++$loop;
    }
}

```

```

    }
    close IN2;
    $genome_position = $base_position - $genome_position_CDS_start + 1;
    return($feature, $genome_position, $exon_number, $genome_start);
}
#####
sub known_mutation{
    local($GeneSymbol, $nucleotide_change) = @_;
    $infile = $GeneSymbol.".mut";
    open(IN3, "/perl64/Variant_reporter/mut/$infile");
    <IN3>;
    $match_mut = "No";
    while($line = <IN3>){
        chomp($line);
        @elements = split(/Yt/, $line);
        $HGVS_mut = $elements[2];
        if($HGVS_mut eq $nucleotide_change){
            $match_mut = "Yes";
            ++$hit_mut;
        }
    }
    close IN3;
    return($match_mut);
}
#####
sub known_SNP{
    local($GeneSymbol, $nucleotide_change) = @_;
    $infile = $GeneSymbol.".snp";
    open(IN4, "/perl64/Variant_reporter/snp/$infile") || die "No total_out file.Yn";
    <IN4>;
    $match_SNP = "No";
    while($line = <IN4>){
        chomp($line);
        @elements = split(/Yt/, $line);
        $position = $elements[1];
        $SNP_ID = $elements[3];
        $HGVS_SNP = $elements[14];
        if($HGVS_SNP eq ""){
            next;
        }
        if($HGVS_SNP eq $nucleotide_change){
            $match_SNP = $SNP_ID;
            last;
        }
    }
    if($match_SNP eq "No"){
    }else{
    }
    return($match_SNP);
}
#####
sub CDS_position{
    local($feature, $exon_number, $base_position, $genome_start, $CDS_start, $change, $genome_position) =
    @_;
    if($feature eq "exon"){
        $feature = $feature.$exon_number;
        $CDS_position = $base_position - $genome_start + $CDS_start;
        $nucleotide_change = "c.". $CDS_position.$change;
    }elseif($feature eq ""){
        $feature = "3' downstream";
        $CDS_position = "-";
        $nucleotide_change = "g.". $genome_position.$change;
    }elseif($feature eq "intron"){
        $feature = $feature. ($exon_number - 1);
        $CDS_position = "-";
        $nucleotide_change = "g.". $genome_position.$change;
    }elseif($feature eq "5' upstream"){
        $CDS_position = "-";
        $nucleotide_change = "g.". $genome_position.$change;
    }
    return($feature, $CDS_position, $nucleotide_change);
}
#####
sub type_mutation_changer{
    local($type_mutation) = @_;
    if($type_mutation eq "sub"){

```