

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患政策研究事業）  
分担研究報告書

「前眼部形成異常の診療ガイドライン作成に関する研究」

研究分担者 東範行 東京医科歯科大学難治疾患研究所 発生再生生物学分野 講師

**【研究要旨】**

前眼部形成異常は、前眼部の発生異常により先天的に角膜混濁を来し、視力障害、視機能発達異常を来す疾患である。希少難治性の疾患であり、平成 29 年 4 月 1 日より無虹彩症とともに難病医療費等助成の対象となった。本研究ではこれらの疾患について診療ガイドラインを作成し、広く医師、国民に普及・啓発した。今年度は、指定難病である前眼部形成異常についてガイドラインの適切性を検討するとともに、前眼部形成異常の遺伝子異常を検討した。

**A. 研究目的**

指定難病である前眼部形成異常および無虹彩症について、診療ガイドラインの作成を行い、広く医師、国民に普及・啓発した。これにより希少難治性角膜疾患に対する診療の均てん化が図れ、予後の大幅な改善が期待できる。これらの臨床および遺伝子異常を検討する。

**B. 研究方法**

診療ガイドラインを公開した。前眼部形成異常の臨床および遺伝子解析を国立成育医療研究センターにおいて行った。

（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、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。臨床検討および遺伝子検査は国立成育医療研究センターの倫理委員会において承認を得た（受

付番号 518 平成 24 年 8 月承認）。

変異が多く認められた exon 5 および exon 5a に関しては、P19 cell を用いて luciferase assay を行った。

**C. 研究結果**

前眼部形成異常の診療ガイドラインは日本眼科学会雑誌 第 125 巻 1 号に掲載されたほか、日本眼科学会 HP において公開されている。

国立成育医療研究センターでは、139 例 220 眼の前眼部形成異常を集積し、症例検討を行い（Cornea 2012;31:293-298）、これが診療ガイドラインに寄与した。この中から 54 例で PAX6 遺伝子その他の遺伝子解析を行い、昨年度は 7 例の変異を同定した。本年度はさらに遺伝子解析を進めた。

その結果、新たに 5 例の変異を同定し、計 12 例となった。まとめて図 1 に示す。

図1 前眼部形成異常の *PAX6* 遺伝子変異

症例	exon/ intron	塩基 置換	変異型	表現型
1	exon 5	insG527	frameshift	(両) 角膜中央混濁
2	intron 10	3' C-7 intron T	splicing error	(両) 角膜下方周辺混濁
3	exon 12	T1504C	Ser363Leu	(右) 後部胎生環 (左) 角膜全体混濁
4	exon 13	A1628G	Gln422Arg	(両) 後部胎生環
5	exon 5	A509C	Glu31Ala	(両) 角膜全体混濁
6	exon 5	insG888	frameshift	(両) 角膜全体混濁
7	exon 5	3' intron ins10bp	splicing error	(右) 前眼部ぶどう腫 (左) 角膜全体混濁
8	exon 11	5' C- 7intronT	splicing error	(両) 角膜全体混濁
9	exon 5a	T20A	Val17Asp	(両) 角膜全体混濁
10	exon 5a	T20A	Val17Asp	(右) 後部胎生環 (左) 角膜全体混濁
11	exon 5a	T20A	Val17Asp	(両) 角膜下方周辺混濁
12	exon 5a	T20A	Val17Asp	(両) 後部胎生環

このうち、exon 5 と exon 5a の変異が高頻度であった。ことに exon 5a の変異があった4例は同一変異で hot spot と思われた。

Exon 5 および exon 5a の変異では、1例は顕性遺伝の家系、他は孤発例であった。いずれも角膜混濁の程度や他の前眼部の表現型についてはさまざまであった。Luciferase assay では、いずれの変異でも低下が認められた。

Exon 5 は *PAX6* 蛋白が転写因子として働く DNA binding domain である pair domain の N-terminal 側半分の部位であり、exon 5a は選択的スプライスでこの部位が挿入されると pair domain の C-terminal 側半分が働く。

したがって、前眼部の形成には pair domain の N-terminal と C-terminal の両方が必要であることが示唆された。

## D. 考察

前眼部形成異常は希少疾患であることから信頼できるエビデンスは限られており、科学的根拠に基づく診療ガイドラインの作成は困難であった。Minds に準拠した方法や過程を経て作成された診療ガイドラインは大きな意義がある。

本年度は昨年度に続き、前眼部形成異常について自施設の症例でガイドラインの適切性を遺伝子解析について検討した。

無虹彩症はほぼ全ての症例で11番染色体短腕の異常ないしはその座位にある *PAX6* 遺伝子の変異によって起こると考えられている。しかし遺伝子解析が一般的でないことから、今回の無虹彩症のガイドラインでは必須項目として取り上げられていない。自験例でも無虹彩症で遺伝子解析を希望したのは約1/3の症例に過ぎず、検出率は50%に過ぎなかった。

今回、前眼部形成異常においても *PAX6* 遺伝子変異が見いだされた。その大部分はミスセンス変異であったが、frameshift や splicing error も見られた。*PAX6* 遺伝子は dose dependent であり、ナンセンス変異では眼球全体に症状が出る無虹彩症が起こり、ミスセンス変異では眼球の部分的症状すなわち前眼部形成異常や黄斑低形成が起こると考えられている。しかし、臨床的には両疾患でオーバーラップがあることが示唆されている。

今回の検討では、遺伝子型と症例ごとの変異型に相関はなかった。表現型は多彩であり、顕性遺伝の患者間で差が見られた。しかし、大部分で同一症例の左右眼の表現型はほぼ同一であった。以上から、個人ごとに特有の co-factor が存在

することが考えられる。

*PAX6* 蛋白は転写因子として眼の形態形成に働くが、今回 DNA binding domain である pair domain に変異が多く見つかった。Pair domain は N-terminal 側半分と C-terminal 側半分で働きが異なる。Exon 5a は選択的スプライスであり、この部位が無いと N-terminal 側半分が働き、挿入されると C-terminal 側半分が働く、スイッチの機能がある。N-terminal 側半分は進化的に古く、C-terminal 側半分は新しい。Exon 5 は N-terminal 側半分内にあり、この進化的に古い部位の変異で前眼部形成異常が起こることは十分に想定できる。しかし、exon 5a の変異は C-terminal 側半分の機能障害を意味するので、前眼部の形成には pair domain の N-terminal と C-terminal の両方が必要であると考えられる。C-terminal 側半分は進化的に新しい高度な前眼部の構造に関わっている可能性がある。

前眼部形成異常と無虹彩症の診断基準と重症ガイドラインは、当該疾患の診断の上で、きわめて有用である。しかし、遺伝子解析が一般的になりつつあるので、診断基準および重症度分類を含めて、検討・改訂を行っていく必要がある。

## E. 結論

前眼部形成異常について遺伝子解析を行った。無虹彩症と前眼部形成両疾患にオーバーラップがあることが示唆された。前眼部形成には *PAX6* の paired domain 全体が働いていると思われる。遺伝子解析が一般的になりつつある現在、さらに検討・改訂を行っていく必要がある。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

1. **Azuma N**, Yokoi T, Tanaka T, Matsuzaka E, Saida Y, Nishina S, Terao M, Takada S, Fukami M, Okamura K, Maehara K, Yamasaki T, Hirayama J, Nishina H, Handa H, Yamaguchi Y. Integrator complex subunit 15 controls mRNA splicing and is critical for eye development. *Hum Mol Genet.* 2023 Jun 5;32(12):2032-2045. doi: 10.1093/hmg/ddad034.
2. Morikawa H, Nishina S, Torii K, Hosono K, Yokoi T, Shigeyasu C, Yamada M, Kosuga M, Fukami M, Saitsu H, **Azuma N**, Hori Y, Hotta Y. A pediatric case of congenital stromal corneal dystrophy caused by the novel variant c.953del of the DCN gene. *Hum Genome Var.* 2023 Mar 24;10(1):9. doi: 10.1038/s41439-023-00239-8
3. Torii K, Nishina S, Morikawa H, Mizobuchi K, Takayama M, Tachibana N, Kurata K, Hikoya A, Sato M, Nakano T, Fukami M, **Azuma N**, Hayashi T, Saitsu H, Hotta Y. The Structural Abnormalities Are Deeply Involved in the Cause of RPGRIP1-Related Retinal Dystrophy in Japanese Patients. *Int J Mol Sci.* 2023 Sep 5;24(18):13678. doi: 10.3390/ijms241813678. PMID: 37761981

4. Shindo M, Terao M, Takada S, Ichinose M, Matsuzaka E, Yokoi T, Azuma N, Mizuno S, Tsumura H. Establishment and visual analysis of CBA/J-Pde6bY347Y/Y347X and C3H/HeJ-Pde6bY347Y/Y347X mice. *Exp Anim*. 2023 Dec 28. doi: 10.1538/expanim.23-0142. Online ahead of print.
  5. Stahl A, Azuma N, Wu WC, Lepore D, Sukgen E, Nakanishi H, Mazela J, Leal S, Pieper A, Schlieff S, Eissing T, Turner KC, Zhao A, Winkler J, Höchel J, Köföncü E, Zimmermann T; FIREFLEYE Study Group. Systemic exposure to aflibercept after intravitreal injection in premature neonates with retinopathy of prematurity: results from the FIREFLEYE randomized phase 3 study. *Eye (Lond)*. 2024 Jan 10. doi: 10.1038/s41433-023-02919-9. Online ahead of print. PMID: 38200320
  6. Azuma N, Yoshida T, Yokoi T, Nishina S, Uematsu S, Miyasaka M. Retinal hemorrhages and damages from tractional forces associated with infantile abusive head trauma evaluated by wide-field fundus photography. *Sci Rep*. 2024;14:5246. DOI: 10.1038/s41598-024-54664-y
  7. Yoshida T, Yokoi T, Tanaka T, Matsuzaka E, Saida Y, Nishina S, Takada S, Shimizu S, Azuma N. Modeling of Retina and Optic Nerve Ischemia-Reperfusion Injury through Hypoxia-Reoxygenation in Human Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Retinal Ganglion Cells. *Cells*. 2024 Jan 11;13(2):130. doi: 10.3390/cells13020130.
2. 学会発表  
なし
- G. 知的財産権の出願・登録状況
1. 特許取得  
該当なし
  2. 実用新案登録  
該当なし
  3. その他  
該当なし