様　式　Ｃ－１９、Ｆ－１９－１、Ｚ－１９　（共通）

科学研究費助成事業　　研究成果報告書

令和　　元 年　　６ 月 １０ 日現在

機関番号：８２６１２
研究種目：基盤研究(C)（一般）
研究期間：2016～2018
課題番号：１６Ｋ１１３０９

研究課題名（和文）周期性斜視原因遺伝子同定の試み

研究課題名（英文）Trial to identify the causative gene of periodic strabismus

研究代表者
仁科　幸子（Nishina, Sachiko）

国立研究開発法人国立成育医療研究センター・感覚器・形態外科部・医長

研究者番号：４０２３７９５４

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費）　　3,600,000円

研究成果の概要（和文）：斜視は、両眼の視線が正しく目標に合致していない状態である。斜視は両眼視機能の異常によって生涯にわたるQOL低下をきたす難治性疾患である。しかしながら、原因は不明のままである。
我々は、特殊な斜視である周期性斜視の遺伝的要因の同定の研究に着手した。これまでに、周期性外斜視２例のゲノム解析を行った。興味深いことに、エクソン領域に点変異を見出している。また、周期性斜視との関連が示唆される「概日リズム」の制御機構について、モデル生物であるゼブラフィッシュを用いて検討した。その結果、光誘導性の時計遺伝子が細胞時計の同調を介して行動リズムを制御していることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義
斜視は、両眼の視線が正しく目標に合致していない状態である。視覚刺激に対する感受性の高い乳幼児期に斜視が起こると、斜視眼の抑制、弱視、対応異常をきたし、正常な両眼視機能が発達しない。一方、学童期以降に斜視が起こると複視をきたす。斜視は両眼視機能の異常によって生涯にわたるQOL低下をきたす難治性疾患である。斜視の頻度は、人種差はあるものの国内外で２～４％と高い。しかしながら、斜視の原因に関しては、遺伝的要因と環境要因の双方が提唱されているが、不明のままである。それ故、斜視の原因解明は、科学的にも社会的にも重要である。本研究生は、その糸口になり研究成果と考えられる。

研究成果の概要（英文）：In strabismus, the eyes are not properly aligned with the target. Strabismus is an intractable disease that causes lifelong QOL decline due to abnormalities in binocular function. However, the cause remains unknown.
We have been trying to identify genetic factors in the special strabismus, periodic strabismus. So far, genome analysis of 2 cases of periodic exotropia has been performed. Interestingly, point mutations have been found in the exon regions. We also examined the molecular mechanism of " circadian rhythm", which is suggested to be related to periodic strabismus, using a model organism zebrafish. As a result, it was revealed that the light-induced clock gene regulates the behavioral rhythm through the synchronization of the cellular clocks.

研究分野：眼科学

キーワード：斜視　周期性斜視　エクソン解析　概日リズム　ゼブラフィッシュ　時計遺伝子

様　式　Ｃ－１９、Ｆ－１９－１、Ｚ－１９、ＣＫ－１９（共通）

１．研究開始当初の背景

斜視は、両眼の視線が正しく目標に合致していない状態であり、眼位ずれの方向によって水平斜視（内･外斜視）、上下斜視、回旋斜視に分類される。視覚刺激に対する感受性の高**い乳幼児期に起こると、斜視眼の抑制、弱視、対応異常をきたし、正常な両眼視機能（立体視）が発達しない。しかしながら、斜視の原因に関しては、遺伝的要因と環境要因の双方が提唱されているが、不明のままである。**

２．研究の目的

特殊な斜視である「周期性斜視」の遺伝的要因の同定を研究目的にした。

３．研究の方法

周期性斜視の患者から血液を採取し、エクソン領域を中心にゲノムの解析を行った。候補遺伝子については、モルフォリノを用いた遺伝子ノックダウン法で、ゼブラフィッシュにおいてもヒトと同様の表現型が再現されるかを検討した。

４．研究成果

ゲノム解析の結果、エクソン領域に点変異と考えられる複数の候補を見出している。現在、この変異が表現型の原因であるか否かを、ゼブラフィッシュを用いて検討中である。
ゼブラフィッシュの「概日リズム」の制御機構について検討した結果、光誘導性の時計遺伝子が細胞時計の同調を介して行動リズムを制御していることを明らかにした。本概日リズムの異常が周期性斜視を発症するかを検討中である。

５．主な発表論文等

〔雑誌論文〕（計２６件）

1. Kurata K, Hosono K, Hayashi T, Mizobuchi K, Katagiri S, Miyamichi D, **Nishina S**, Sato M, Azuma N, Nakano T, Hotta Y. X-linked retinitis pigmentosa in Japan: Clinical and genetic findings in male patients and female carriers. Int J Mol Sci. 2019, 20, 1518; doi:10.3390/ ijms20061518
2. Yoshida T, Katagiri S, Yokoi T, **Nishina S**, Azuma N. Optical coherence tomography and video recording of a case of bilateral contractile peripapillary staphyloma. Am J Ophthalmol Case Rep 2019, 13: 66-69.
3. Hirayama1 J, Alifu Y, Hamabe R, Yamaguchi S, Tomita J, Maruyama Y, Asaoka Y, Nakahama K, Tamaru T, Takamatsu K, Takamatsu N, Hattori A, **Nishina S**, Azuma N, Kawahara A, Kume K, Nishina H.
The clock components Period2, Cryptochrome1a, and Cryptochrome2a function in establishing light-dependent behavioral rhythms and/or total activity levels in zebrafish. Sci Rep. 2019 Jan 9:196. doi: 10.1038/s41598-018-37879-8.
4. Hosono K, **Nishina S**, Yokoi T, Katagiri S, Saitsu H, Kurata K, Miyamichi D, Hikoya A, Mizobuchi K, Nakano T, Minoshima S, Fukami M, Kondo H, Sato M, Hayashi T, Azuma N, Hotta Y. Molecular diagnosis of 34 Japanese families with Leber congenital amaurosis using targeted next generation sequencing. Sci Rep. 2018 May 29;8(1):8279. doi: 10.1038/s41598-018-26524-z.
5. Wakayama A, **Nishina, S**, Miki A, Utsumi T, Sugasawa J, Hayashi T, Sato M, Kimura A, Fujikado T. Incidence of side effects of topical atropine sulfate and cyclopentolate hydrochloride for cycloplegia in Japanese children:a multicenter study. Jpn J Ophthalmol, 2018 DOI 10.1007/s10384-018-0612-7
6. Takahashi M, Yokoi T, Katagigi S, Yoshida-Uemura T, **Nishina, S**, Azuma N. Surgical treatments for fibrous tissue extending to the posterior retina in eyes with familial exudative vitreoretinopathy. Jpn J Ophthalmol, 2018 Jan; 62(1): 63-67.
7. Katagiri S, Yokoi T, Yoshida-Uemura T, **Nishina S**, Azuma N. Characteristics of retinal breaks

and surgical outcomes in rhegmatogenous retinal detachment in familial exudative vitreoretinopathy. Ophthalmology Retina, 2017, DOI: http://dx.doi.org/10.1016/j.oret.2017.11.003

8. Yokoi T, Tanaka T, Matsuzaka E, Tamalu F, Watanabe SI, **Nishina S**, Azuma N. Effects of neuroactive agents on axonal growth and pathfinding of retinal ganglion cells generated from human stem cells. Sci Rep. 2017 Dec 1; 7(1): 16757. doi: 10.1038/s41598-017-16727-1.
9. Katagiri S, **Nishina S**, Yokoi T, Mikami M, Nakayama Y, Tanaka M, Azuma N. Retinal structure and function in eyes with optic nerve hypoplasia. Sci Rep. 2017 Feb 16;7:42480. doi: 10.1038/srep42480.
10. Seko Y, Azuma N, Yokoi T, Kami D, Ishii R, **Nishina S**, Toyoda M, Shimokawa H, Umezawa A. Anteroposterior Patterning of Gene Expression in the Human Infant Sclera: Chondrogenic Potential and Wnt Signaling. Curr Eye Res 2017, 42 (1): 145-154.
11. Yoshida-Uemura T, Katagiri S, Yokoi T, **Nishina S**, Azuma N. Different foveal schisis patterns in each retinal layer in eyes with hereditary juvenile retinoschisis evaluated by en-face optical coherence tomography. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol. 2017, 255 (4): 719-723.
12. Katagiri S, Tanaka S, Yokoi T, Hayashi T, Matsuzaka E, Ueda K, Yoshida-Uemura T, Arakawa A, **Nishina S**, Kadonosono K, Azuma N. Clinical features of a toddler with bilateral bullous retinoschisis with a novel *RS1* mutation. Am J Ophthalmol Case Rep 2017, 5: 76-80.
13. **Nishina S**, Katagiri S, Nakazawa A, Kiyotani C, Yokoi T, Azuma N. Atypical intravitreal growth of retinoblastoma with a multi-branching configuration. Am J Ophthalmol Case Rep 2017, 7: 4-8.
14. Yokoi T, Katagiri S, Hiraoka M, Nakayama Y, Hosono K, Hotta Y, **Nishina S**, Azuma N. ATYPICAL FORM OF RETINOPATHY OF PREMATURITY WITH SEVERE FIBROVASCULAR PROLIFERATION ON THE OPTIC DISC REGION. Retina, 2017 Aug 9. doi: 10.1097/IAE.0000000000001779. [Epub ahead of print]
15. Ozawa H, Yamane M, Inoue E, Yoshida-Uemura T, Katagiri S, Yokoi T, **Nishina S,** Azuma N. Long-term surgical outcome of conventional trabeculotomy for childhood glaucoma. Jpn J Ophthalmol, 2017 May; 61(3): 237-244.
16. Okamoto-Uchida Y, Yu R, Miyamura N, Arima N, Ishigami-Yuasa M, Kagechika H, Yoshida S, Hosoya T, Nawa M, Kasama T, Asaoka Y, Alois RW, Elling U, Penninger JM, **Nishina S,** Azuma N, Nishina H. The mevalonate pathway regulates primitive streak formation via protein farnesylation. Sci Rep. 2016 Nov 24;6:37697. doi: 10.1038/srep37697.
17. Katagiri S, Yokoi T, Mikami M, **Nishina S**, Azuma N. Outer retinal deformity detected by optical coherence tomography in eyes with foveal hypoplasia. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol. 254 (11): 2197-2201, 2016.
18. Nakayama Y, Katagiri S, Yokoi T, Ui M, **Nishina S**, Azuma N. Successful scleral buckling of late-onset visual decrease in eye with retinal folds. Doc Ophthalmol. 133 (2): 145-149, 2016.
19. Yaguchi Y, Katagiri S, Fukushima Y, Yokoi T, **Nishina S,** Kondo M, Azuma N. Electroretinographic effects of retinal dragging and retinal folds in eyes with familial exudative vitreoretinopathy. Sci Rep. 2016 Jul 26;6:30523. doi: 10.1038/srep30523.
20. Tanaka T, Yokoi T, Tamalu F, Watanabe S, **Nishina S**, Azuma N. Generation of retinal ganglion cells with functional axons from mouse embryonic stem cells and induced pluripotent stem

cells. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2016 Jun 1;57(7):3348-59. doi: 10.1167/iovs.16-19166.

21. Yokoi T, **Nishina S**, Fukami M, Ogata T, Hosono K, Hotta Y, Azuma N.Genotype-Phenotype Correlation of the PAX6 Gene Mutations in Aniridia. Human Genome Variation, 2016, 3: 15052
22. Katagiri S, Yokoi T, **Nishina S**, Azuma N. Structure and morphology of radial retinal folds with familial exudative vitreoretinopathy. Ophthalmology. 123(3): 666-668, 2016.
23. Sarafino M, Trivedi RH, Levin AV, Wilson ME, Nucci P, Lambert SR, Nischal KK, Plager DA, Bremond-Gignac D, Kekunnaya R, **Nishina S**, Tehrani NN, Ventura MC. Use of the Delphi process in paediatric cataract management. Br J Ophthalmol, 100(5): 611-615, 2016.
24. Yokoi T, Nakayama Y, **Nishina S**, Azuma N. Abnormal traction of the vitreous detected by swept-source optical coherence tomography is related to the maculopathy associated with optic disc pits. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol. 254: 675-682, 2016.
25. **Nishina S,** Miki A, Wakayama A, Yagasaki T, Fujikado T. Survey of strabismus surgeries in Japan. Advances in Strabismus. Update on Strabismology, Proceeding of the XIIth meeting of the International Strabismological Association in Kyoto, Japan, Dec. 1-4, 2014, 474-478, 2016.
26. Uemura T, **Nishina S**, Yokoi T, Nakayama Y, Yagihashi M, Manzoku K, Akaike S, Ogonuki S, Azuma N. Surgical outcomes of strabismus with microphthalmia. Update on Strabismology, Proceeding of the XIIth meeting of the International Strabismological Association in Kyoto, Japan, Dec. 1-4, 2014, 619-623, 2016.

〔学会発表〕（計９０件）

1. **Nishina S**, Yokoi T, Yoshida T, Fukami M, Hosono K, Kurata K, Hotta Y, Azuma N. OCT and ERG initial findings in Leber congenital amaurosis and genetic analysis. 44rd Annual Meeting, American Association for Pediatric Ophthalmology and Strabismus, Washington DC, USA, 2018.3
2. Yoshida T, **Nishina S**, Matsuoka M, Akaike S, Ogonuki S, Yokoi T, Azuma N. Pediatric strabismus cases possibly related to excessive use of information and communication technology devices. XIIIed meeting of the ISA , Washington DC, USA, 2018.3
3. **Nishina S**. Early detection and management of deprivation amblyopia. Invited speaker of the APSPOS Symposium “Common Problems in Pediatric Ophthalmology”. 31th APAO Congress, Taipei, Taiwan, 2016.3
4. Kondo H, Uchio E, Hayashi T, **Nishina S**, Azuma N, Kusaka S. Roles of Genes in Phenotypic Diversity and Interocular Asymmetry in Patients with Familial Exudative Vitreoretinopathy. 2016 Annual Meeting, Association for Research in Vision and Ophthalmology, Seattle, 2016.5.
5. **Nishina S**. Effectiveness of the Spot Vision Screener for Detecting Amblyopia Risk Factors in Young Children. Invited speaker of the Breakfast Symposia. 32th APAO Congress, Singapore, 2017.3
6. **Nishina S.** Intraocular Lens Implants in Young Infants with Congenital Cataract Should Be Avoided.

[招待講演]

1. **仁科幸子．小児眼科医からのアドバイス．乳幼児健診を中心とする小児科医のための研修会** Part**Ⅳ～乳幼児健診マニュアルにもとづく診察と対応～，東京**, 2019.3.10

2. 仁科幸子. 乳幼児期から注意すべき小児眼疾患について. 第 32 回京都府眼科学校医研修会, 京都, 2019.3.9
3. 仁科幸子・三井田千春: 子どもの目. NHK E テレ すくすく子育て 2019.2.23
4. 仁科幸子. 乳幼児健診アップデートー小児科医と眼科医の連携のためにー. 第 13 回東北眼科フォーラム, 仙台, 2019.2
5. 仁科幸子. 乳幼児健診において小児科医が知っておくべき眼疾患とその対応. 大阪小児科医会 第 7 回成育医療研修会, 大阪, 2018.4
6. 仁科幸子. 見逃しに注意；小児眼科医からのアドバイス. 乳幼児健診を中心とする小児科医のための研修会 PartⅢ〜一歩進んだ乳幼児健診を目指して〜, 東京, 2018.6
7. 仁科幸子. 乳幼児の気をつけたい目の病気. 母子保健相談員研修会, 東京, 2018.6
8. 仁科幸子. 視機能の発達・小児によくみられる眼疾患. 母子愛育会 地域母子保健 3 乳幼児期に見られる諸問題, 東京, 2018.7
9. 仁科幸子. 乳幼児に対するスポットビジョンスクリーナー:小児科と眼科のよりよい連携のために. 第 28 回日本外来小児科学会 学術集会 LS11, 東京, 2018.10
10. 仁科幸子. 乳幼児健診アップデートー小児科医と眼科医の連携のためにー. 第 8 回静岡県眼科アップデートセミナー, 静岡, 2018.10
11. 仁科幸子. 0 歳から見つけたい！小児眼疾患. Tokyo Ophthalmology Club, 東京, 2018.10
12. 仁科幸子. 0 歳から見つけたい！小児眼科疾患. 第 28 回青森眼科セミナー, 青森, 2018.11
13. 仁科幸子. 先天眼底疾患：病診連携 よくある眼底疾患—診断と治療のコンセンサス. 日本眼科医会第 72 回生涯教育講座, 福岡, 2017.4
14. 仁科幸子. 0 歳から見つけたい！先天眼底疾患と斜視. 第 12 回秋田眼科フォーラム, 秋田, 2017.5
15. 仁科幸子. 見逃しに注意；小児眼科医からのアドバイス. 乳幼児健診を中心とする小児科医のための研修会 PartⅢ〜一歩進んだ乳幼児健診を目指して〜, 東京, 2017.6
16. 仁科幸子. 三歳児健康診査の責務と検査の有効性. 第 16 回日本視能訓練士協会研修会「三歳児健康診査の使命」, 東京, 2017.6
17. 仁科幸子. 小児の視機能と斜視弱視. 第 130 回神奈川県眼科集談会, 横浜, 2017.6
18. 仁科幸子. 小児の視機能管理：屈折矯正のコツ—眼科診療の基本を深めよう. 日本眼科医会第 73 回生涯教育講座, 神戸, 2017.7
19. 仁科幸子. 小児の視機能管理：屈折矯正のコツ—眼科診療の基本を深めよう. 日本眼科医会第 73 回生涯教育講座, 東京, 2017.7
20. 仁科幸子. 視機能の発達・小児によくみられる眼疾患. 母子愛育会 地域母子保健 2 乳幼児期に見られる諸問題, 東京, 2017.7
21. 仁科幸子. 小児の視機能管理：屈折矯正のコツ—眼科診療の基本を深めよう. 日本眼科医会第 73 回生涯教育講座, 名古屋, 2017.7
22. 仁科幸子. 小児の視機能管理：屈折矯正のコツ—眼科診療の基本を深めよう. 日本眼科医会第 73 回生涯教育講座, 福岡, 2017.8
23. 仁科幸子. 0 歳から見つけたい！小児の眼疾患と弱視. 第 436 回日本小児科学会京都地方会, 京都, 2017.9
24. 仁科幸子. 小児の視機能管理：屈折矯正のコツ—眼科診療の基本を深めよう. 日本眼科医会 生涯教育講座 札幌講座, 札幌, 2017.10

25. 仁科幸子. 乳幼児に対するスポットビジョンスクリーナー. 第 17 回眼科臨床機器研究会，神奈川，2017.10
26. 仁科幸子. 見逃しに注意；小児眼科医からのアドバイス. 乳幼児健診を中心とする小児科医のための研修会 PartIII～一歩進んだ乳幼児健診を目指して～，大阪，2017.10
27. 仁科幸子. 乳幼児健診における視覚スクリーニング. 東京都眼科医会学校保健学術講演会，東京，2017.11
28. 仁科幸子. 0 歳から見つけたい！先天眼底疾患と斜視. 第 34 回さざなみ眼科研究会, 滋賀，2017.11
29. 仁科幸子. 早期発見！小児の弱視・斜視. 東京都眼科医会卒後研修会，東京，2017.11
30. 仁科幸子. 視覚障害のある小児へのロービジョンケア. 第 37 回神奈川ロービジョンネットワーク研修会，神奈川，2017.12
31. 仁科幸子. 0 歳から見つけたい！小児眼疾患―視覚スクリーニングの話題も交えて―. 三鷹市医師会 小児科医会 学術講演会, 三鷹市, 2018.1
32. 仁科幸子. 0 歳から見つけたい！小児眼科疾患. 第１回　Ribbon MCEast, 東京, 2018.2
33. 仁科幸子. こどもの眼の成長教室. 渋谷・東急本店, 2018.2
34. 仁科幸子. 小児の斜視ケーススタディ～診断から手術まで. 第 13 回眼科手術の寺小屋, 東京, 2016.2
35. 仁科幸子. 子どもの眼疾患. 第 31 回ひとみすこやか研修会, 東京, 2016.3
36. 仁科幸子: 子どもの近視 NHK 教育テレビ きょうの健康　2016.3.23.

など

〔図書〕（計０件）

〔産業財産権〕
○出願状況（計０件）

○取得状況（計０件）

〔その他〕
ホームページ等
なし

６．研究組織
(1)研究分担者
なし
(2)研究協力者
研究協力者氏名：東　範行
ローマ字氏名：AZUMA, Noriyuki
所属研究機関名：国立成育医療研究センター

研究協力者氏名：深見　真紀
ローマ字氏名：FUKAMI, Maki
所属研究機関名：国立成育医療研究センター

研究協力者氏名：仁科　博史
ローマ字氏名：NISHINA, Hiroshi
所属研究機関名：東京医科歯科大学

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。