

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 24 日現在

機関番号：37116

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25462743

研究課題名(和文) 遺伝子変異の機能評価による家族性滲出性硝子体網膜症の多様性の解析

研究課題名(英文) Genetic variations and functions in familial exudative vitreoretinopathy

研究代表者

近藤 寛之 (KONDO, Hiroyuki)

産業医科大学・医学部・教授

研究者番号：40268991

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：家族性滲出性硝子体網膜症は網膜の血管形成の異常を特徴とする遺伝性の眼疾患である。原因となる遺伝子とその異常の多様性によって、臨床像も多様である。これまで4つの遺伝子が知られているが、これは全症例の約4割を占めるにすぎない。我々は家族性滲出性硝子体網膜症の新規の原因遺伝子ZNF408を同定し、その機能評価を行った。新規にその関与が報告された遺伝子(ATOH7, KIF11)についてその臨床像を確立し、家族性滲出性硝子体網膜症の臨床像と遺伝子型の相関を明らかにした。

研究成果の概要(英文)：Familial exudative vitreoretinopathy is a hereditary ocular disorder that is characterized by insufficient development of retinal vessels. The disease has high clinical and genetic heterogeneity. Four genes are known to cause the disease so far. We identified a new gene ZNF408 to be causative for this disease and investigated the gene function. In addition, we established the roles of another newly reported genes, ATOH7 and KIF11 in relation to this disease. This study has conducted the better understanding of genotype phenotype relationship of this disease.

研究分野：眼科学、網膜、遺伝性眼疾患

キーワード：家族性滲出性硝子体網膜症 遺伝子 ZNF408 ATOH7 KIF11 Stickler症候群 小瞳孔 GPR180

1. 研究開始当初の背景

家族性滲出性硝子体網膜症は網膜の血管形成の異常を特徴とする遺伝性の眼疾患であり、重症例では乳児期に失明にいたる。本疾患は遺伝学的に多様な疾患であり、多様な遺伝形式や多彩な臨床像を示すことが知られている。本症は小児に重篤な視機能障害をおこすだけでなく、日本人の網膜剥離の1割近くを占める主要な原因と考えられている。

家族性滲出性硝子体網膜症はメンデルの法則に従う遺伝病であるが、重症度が症例により大きく異なる特徴がある。家族性だけでなく孤発例が多いことも特徴の一つである。

我々は3つの原因遺伝子(FZD4, LRP5, NDP)に加えTSPAN12遺伝子が本症の原因となることを明らかにした(Poulter et al. *Am J Hum Genet* 2010)。これら4つの遺伝子により200種類以上の変異が報告されているが、これらの遺伝子が家族性滲出性硝子体網膜症に占めるのは約4割であり、未同定の遺伝子のあることが指摘されている。また、家族性滲出性硝子体網膜症の臨床的多様性は遺伝子の多様性によるとされるがその全体像は明らかとなっていない。

2. 研究の目的

家族性滲出性硝子体網膜症の全体像を明らかにすれば、予防と治療方法を創出するために役立つだけでなく、適切な遺伝カウンセリングを実施するためにも有用である。そのためには原因となる未知の遺伝子の解明が必要である。また、既知の遺伝子についてもその臨床的多様性への関与を明らかにするためには、それぞれの遺伝子変異や多型の機能を評価し、臨床像・遺伝性との関連を研究することが必要である。

3. 研究の方法

家族性滲出性硝子体網膜症症例に対して詳細な眼科的な検査を行い、臨床像を明らかにし臨床的多様性を評価した。末梢血よりDNAを採取し、既知の遺伝子に対してPCR及びシーケンス法により原因となる遺伝子異常の有無を同定した。さらに、新たな原因遺伝子を探求し、その遺伝的な特徴や臨床像との相関を明らかにした。本研究により新たに同定できた遺伝子異常と、これまで我々が同定してきた既知の遺伝子による変異を加え、日本人の家族性滲出性硝子体網膜症の遺伝子異常(変異・多型)を網羅的に評価した。培養細胞を用いたレポーターアッセイにより遺伝子異常と機能の関連を定量的に評価した。

さらに家族性滲出性硝子体網膜症に関連する遺伝性疾患に対して原因となる遺伝子異常の精査を行い、本症との関連性や臨床像の差異について検討を行った。

4. 研究成果

家族性滲出性硝子体網膜症の既知の4遺伝子に加えて、新たにZNF408遺伝子を日本人1家系及びオランダの1家系から同定した。どちらも常染色体優性遺伝の家系であり、ZNF408のミスセンス変異により家族性滲出性硝子体網膜症を呈することを明らかにした。ZNF408遺伝子変異を導入した培養細胞では遺伝子の局在が核から細胞質に移動し、この変異では優性ネガティブ効果を生じるものと思われた。Morpholinoを導入したゼブラフィッシュのノックダウンモデルでは、網膜血管の形成に障害をきたすことが分かった。日本人の家族性滲出性硝子体網膜症におけるZNF408遺伝子異常の頻度は極めて低く、既知の遺伝子異常を有さない55家系の中で1家系であり、既知の遺伝子を含む集団ではその寄与は1%未満と推定した(Collin et al. *Proc Natl Acad Soc USA* 2013)。

家族性滲出性硝子体網膜症に類似するがより重症の病態である網膜偽膠腫のうち、常染色体劣性遺伝の原因遺伝子としてATOH7遺伝子が報告された。家族性滲出性硝子体網膜症との関連性について調査を行ったところ、孤発例の重症家族性滲出性硝子体網膜症症例からATOH7遺伝子異常が同定された。その遺伝子頻度は1%未満であり、既報と合わせ、家族性滲出性硝子体網膜症の疾患スペクトルの中で重症例に限りATOH7遺伝子異常が含まれることが明らかとなった(Kondo et al. *Ophthalmic Genet* 2016)。

家族性滲出性硝子体網膜症に類似するが小頭症や精神発達障害・学習障害、下腿浮腫などの全身症状を伴う常染色体優性遺伝の症候群をきたすKIF11遺伝子について、家族性滲出性硝子体網膜症との関連がカナダの研究グループによって示された。日本人の家族性滲出性硝子体網膜症との関連性について調査したところ、全体の6%を占める比較的高頻度の遺伝子であることが分かった。多くは小頭症を伴い、家族性滲出性硝子体網膜症のなかに全身症状を伴う症例が含まれるが見逃されやすいことが分かった。家族性滲出性硝子体網膜症は多様な疾患スペクトルを有する疾患であることを報告した(Kondo et al. 2015, 2016 会議録)。

家族性滲出性硝子体網膜症と同様に小児に網膜剥離をきたす全身性疾患であるStickler症候群について23家系40名に対してその臨床像を評価した(Kondo et al. *Hum Genome Var* 2016 in press)。

家族性の眼疾患である小瞳孔の原因遺伝子GRP180を同定した。家族性滲出性硝子体網膜症との臨床像・遺伝子異常発生機構の差異について検討した(Fares-Taie et al. *Am J Hum Genet* 2015)。

培養細胞を用いたレポーターアッセイによって、家族性滲出性硝子体網膜症の遺伝子異常と機能との関連を定量的に評価し推進した。

5. 主な発表論文等
(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 11 件)

Kondo H, Uchio E, et al (9 名中 1、6 番目): Novel mutations in COL2A1 gene in Japanese patients with Stickler syndrome. Hum Genome Var 2016 in press 査読有

Kondo H, Uchio E, et al (5 名中 1、4 番目): Mutations in ATOH7 gene in patients with nonsyndromic congenital retinal nonattachment and familial exudative vitreoretinopathy. Ophthalmic Genet 2016 Epub ahead of print 査読有

Kondo H: Complex genetics of familial exudative vitreoretinopathy and related pediatric retinal detachment. Taiwan J Ophthalmol 2015(5)56-62 査読有

Fares-Taie L, Kondo H, et al (29 名中 9 番目): Submicroscopic deletions at 13q32.1 cause congenital microcoria. Am J Hum Genet 2015(96) 631-639 査読有

近藤寛之: 未熟児網膜症 (ROP)、大規模臨床試験一挙紹介. Retina Medicine 2015(2)145-149 査読無

近藤寛之: 遺伝性網膜疾患に対する外科治療 (遺伝性網膜疾患に対するトータルケア). 臨床眼科 2015(69) 1624-1629 査読無

近藤寛之: これだけは押さえない遺伝性網膜硝子体疾患「知っておきたい小児眼科の最新知識 3」. 臨床眼科 2015(69) 278-283 査読無

近藤寛之: 家族性滲出性硝子体網膜症 (FEVR) 特集発生物学からみた眼の先天奇形. 眼科 2015(57) 133-141 査読無

渡部晃久、近藤寛之、他 (5 名中 2 番目): 混合型第一次硝子体過形成遺残に対する水晶体温存硝子体茎切断術. 眼科手術 2014(27) 253-256 査読有

Kondo H, Tahira T, et al (4 名中 1、2 番目): Familial acorea, microphthalmia and cataract syndrome. Br J Ophthalmol 2013(97) 1155-1160 査読有

Collin R, Kondo H, Tahira T, Uchio E, et al (26 名中 8、11、21 番目): ZNF408 is mutated in familial exudative vitreoretinopathy and is crucial for the development of zebrafish retinal vasculature. Proc Natl Acad Soc USA 2013(110) 9856-9861 査読有

[学会発表](計 13 件)

近藤寛之: 網膜分離症の遺伝型と臨床型シンポジウム 20. 遺伝性網脈絡膜疾患の遺伝型と臨床型 (招待講演). 第 120 回日

本眼科学会総会 2016. 4.9 東北大学百周年記念会館 (宮城県・仙台市)

近藤寛之: 未熟児網膜症 シンポジウム 13. 小児眼科診療の今日の基準と将来の展望. 遺伝性網脈絡膜疾患の遺伝型と臨床型 (招待講演). 第 120 回日本眼科学会総会 2016. 4.8 東北大学百周年記念会館 (宮城県・仙台市)

Kondo H: Phenotypic diversity of FEVR with mutations in KIF11 gene. Association of Pediatric Retinal Surgeons Meeting. 2016.3.31 Cabo San Lucas, Mexico (Sheraton Hacienda del Mar Los Cabos)

近藤寛之: 遺伝性網膜硝子体疾患のトータルケア. 第 68 回日本臨床眼科学会 2015.10.23 国際会議場 (愛知県・名古屋市)

Kondo H: Novel mutations in KIF11 gene in Japanese patients with FEVR and MLCRD. Meeting of the international society of genetic eye disease & retinoblastoma ISGEDR 2015.8.6 Halifax, Nova Scotia, Canada (Faculty of Medicine's auditoriums, Dalhousie University)

Kondo H, Tahira T, Uchio E, et al: Mutations in ATOH7 gene in patients with congenital retinal detachment and familial exudative vitreoretinopathy. Annual meeting of the Association for Research in Vision and Ophthalmology 2015.5.5 Denver, Colorado, USA (Colorado Convention Center)

近藤寛之: 小児眼科疾患のフォローのコツ (招待講演). 第 114 回九州医師会総会医学会眼科分科会 2014.11.23 全労済ソレイユ (大分県・大分市)

近藤寛之: 遺伝子診断のための検査法の実際 (シンポジウム 1 遺伝性網膜疾患、最新の genotyping) (招待講演). 第 62 回日本臨床視覚電気生理学学会 2014.10.3 両国 KCF ビル (東京都・墨田区)

近藤寛之: 家族性滲出性硝子体網膜症. 第 84 回九州眼科学会 (招待講演) 2014.6.28 久留米大学筑水会館 (福岡県・久留米市)

近藤寛之: 網膜疾患の苦手克服 遺伝性網膜疾患の説明 (招待講演) 第 52 回日本網膜硝子体学会 2013.12.8 国際会議場 (愛知県・名古屋市)

近藤寛之、田平知子、他: 先天小瞳孔の遺伝子解析 第 117 回日本眼科学会総会 2013.4.4 東京国際フォーラム (東京都・千代田区)

Kondo H: Recent advances in genetics of pediatric retinal detachment. 2nd Annual Meeting of Taiwan Retina Society 2013.11.10 Taipei (International Conventional Hall)

Kondo H, et al: Occurrence of retinal

detachment in Japanese patients with Stickler syndrome. Annual meeting of the American Academy of Ophthalmology 2013.11.17 New Orleans, Louisiana (Convention Center)

〔図書〕(計6件)

近藤寛之、メジカルビュー社、一目でわかる眼疾患の見分け方 ぶどう膜疾患、網膜・硝子体疾患、2016、61(84、168-9、171-172)

近藤寛之、医学書院、今日の治療指針 私はこう治療している 2016、2016、1078-1079

近藤寛之、三輪書店、小児眼科学、2015、265-273(283-287、300-301、32-318)

近藤寛之、医学書院、網膜剥離と極小切開硝子体手術 眼科臨床エキスパート、2015、68-75

近藤寛之、メジカルビュー社、どうとる? どう読む? ERG、2015、114-115(116-117)

近藤寛之、中山書店、専門医のための眼科臨床クオリファイ 17 巻、2013、17-20(102-105)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

近藤 寛之 (KONDO, Hiroyuki)

産業医科大学・医学部・教授

研究者番号: 40268991

(2) 研究分担者

田平 知子 (TAHIRA, Tomoko)

九州大学・先端融合医療レドックスナビ研究拠点・研究員

研究者番号: 50155230

内尾 英一 (UCHIO, Eiichi)

福岡大学・医学部・教授

研究者番号: 70232840