

(48)

# Powstawanie wad wrodzonych w przebiegu rozwoju narządu wzroku. Część II. Podłoże genetyczne okulogenezy a wrodzone wady rozwojowe

## Formation of congenital defects in the course of development of organ of vision. Part II. Genetic background of oculogenesis and developmental birth defects

**Maciej R. Krawczyński**

Z Pracowni Poradnictwa Genetycznego w Chorobach Narządu Wzroku Katedry i Zakładu Genetyki Medycznej Akademii Medycznej w Poznaniu  
Kierownik: prof. dr hab. n. med. Anna Latos-Bieleńska

**Summary:** The course of oculogenesis is genetically controlled by genes, that are selectively expressed in the developing eye. Many of them, first recognized in studies on model animals, such as fruit fly (*Drosophila melanogaster*) proved, that they play similar roles in humans. The crucial role in cascade of genetic control of oculogenesis plays a system of genes PAX6 - EYA1/SIX3 - DACH1. In this work there are described also other genes, that form a network of interactions and regulations, such as: BMP4, BMP7, OPTX2, SOX1, PAX2, PITX2, PAX3, CHX10 and other genes. Describing function of each gene, author presented simultaneously all known congenital defects and syndromes, that are caused by mutations of above mentioned genes, such as: aniridia, anophthalmia, Peters anomaly and others.

**Słowa kluczowe:** oko, wady wrodzone, genetyka.

**Key words:** eye, congenital defects, genetics.

Podobnie jak wszystkie inne procesy rozwojowe, także rozwój narządu wzroku podlegać musi kontroli genetycznej kaskady genów ulegających ekspresji w odpowiednim czasie i odpowiedniej tkance. Organizmem modelowym, na którym najdokładniej poznano czynniki genetyczne uczestniczące w powstawaniu narządu wzroku, jest muszka owocowa (*Drosophila melanogaster*). W miarę poznawania tego procesu u ludzi i innych kręgowców okazuje się, że mimo skrajnych różnic w budowie oka istnieje wiele analogii, świadczących o znacznym utrwaleniu ewolucyjnym genetycznej determinacji okulogenezy (29).

Chociaż podstawowe etapy embriogenezy narządu wzroku znane są od kilkudziesięciu lat, to dopiero na początku lat 90. XX wieku zidentyfikowano pierwszy gen, jednoznacznie uczestniczący w kontroli okulogenezy, a mianowicie gen PAX6 położony w regionie 11p13, ulegający wybiórczo ekspresji w rozwijającym się oku (27). Wkrótce stwierdzono (9,25), że mutacje genu PAX6 u ludzi prowadzą do rozwoju autosomalnej dominującej choroby zwanej wrodzoną beztęczówkowością (*aniridia*), stanowiącej wbrew swej nazwie zaburzenie rozwojowe całej gałki ocznej z hipoplazją tęczówki i plamki, a często z zaćmą wrodzoną, zmętnieniami rogówki i jaskrą wrodzoną. Mutacje genu PAX6 występujące w układzie homozygotycznym prowadzą do bezocza (*anophthalmia*), hipoplazji

nosa i wad ośrodkowego układu nerwowego (10). Inni autorzy wykazali, że mutacje genu PAX6 mogą prowadzić również do powstania anomalii Petersa, zaćmy wrodzonej z późną dystrofią rogówki, autosomalnego dominującego zapalenia rogówki, izolowanej hipoplazji plamki, izolowanego przemieszczenia żrenicy lub mnogich wad oczu bez aniridii (2).

Przed rozpoczęciem różnicowania płyty soczewkowej gen PAX6 ulega ekspresji w dużej części ektodermy głowowej, również w pęcherzykach ocznych, jednak z czasem ekspresja ta zostaje zawężona do płyty soczewkowej (później pęcherzyka soczewkowego) i pęcherzyka ocznego. Zawężenie ekspresji do płyty soczewkowej następuje przed pogrubieniem ektodermy w tym obszarze, co sugeruje, że ekspresja genu PAX6 jest regulowana przez indukującą ją sygnały z pęcherzyka ocznego (29). Brak rozwoju płyty soczewkowej, a tym samym całej gałki ocznej, w przypadku homozygotycznych mutacji genu PAX6 potwierdza wczesną i niezbędną rolę tego genu w rozwoju oka. Wiadomo jednak o jego istotnej roli również w późniejszym rozwoju siatkówki, w której ulega ekspresji przed różnicowaniem komórek, a później tylko w komórkach amakrynowych i zwojowych (4,19). Co ciekawe, gen PAX6 wykazuje u kręgowców autoregulację swojej własnej ekspresji (18). Badania homologów genu PAX6 u różnych organizmów wykazały, że są one

niezbędne w rozwoju oka lub innych struktur światłoczułych nawet u bardzo odległych ewolucyjnie gatunków: począwszy od robaka *Caenorhabditis elegans* (5), przez muszkę owocową (*Drosophila melanogaster*) (20), aż po różne gatunki kręgowców (np. 13). Gen PAX6 koduje białko pełniące funkcję regulatora transkrypcji, które dzięki alternatywnemu splicingowi (składaniu RNA) posiada dwie izoformy, mogące mieć różne geny docelowe, których transkrypcję reguluje (2).

W kolejnych latach seria badań prowadzonych na muszce owocowej pozwoliła zidentyfikować poza dwoma homologami genu PAX6 („ey” i „toy”) przynajmniej cztery inne geny tworzące kaskadę regulacyjną okulogenezy (29). Mając na względzie ewolucyjnie konserwatywną funkcję genu PAX6, rozpoczęto poszukiwania homologicznych genów u kręgowców, w tym również u ludzi.

Najpierw u myszy, a następnie u ludzi sklonowano 4 homologu genu „eyes absent” (eya) muszki owocowej. Okazało się, że tylko jeden z nich – EYA1 (położony w regionie 8q13.3) ulega ekspresji w obrębie rozwijającego się oka, a dokładniej w obrębie płyty soczewkowej. Jego ekspresja jest znacznie osłabiona w przypadku braku funkcjonalnego genu PAX6, co sugeruje, że znajduje się on poniżej genu PAX6 w genetycznej kaskadzie kontroli okulogenezy. Wykazano też, że produkt genu razem z innymi białkami wiążącymi DNA uczestniczy w regulacji transkrypcji (30). U ludzi mutacje genu EYA1 prowadzą zwykle do zespołu wad wrodzonych bez objawów ocznych, określanego mianem zespołu BOR (branchio-oto-renal syndrome) (1), jednak pewna grupa mutacji prowadzi do wystąpienia zaćmy wrodzonej i zaburzeń rozwojowych przedniego odcinka oka, takich jak anomalia Petersa, wady tęczęwki lub przetrwała błona żreniczna (3).

Kolejne sklonowane u kręgowców homologu genu niezbędnego w okulogenezie u muszki owocowej – tzw. genu „sine oculis” (so) – to rodzina sześciu genów SIX, kodujących również czynniki transkrypcyjne, z których dwa – SIX3 i SIX6 (znany obecnie jako OPTX2) – ulegają ekspresji w rozwijającym się oku. Geny SIX ulegają ekspresji w przedniej części cewy nerwowej, także w rozwijającej się siatkówce, gen zaś SIX3 (położony w regionie 2p21) – również we wpuklającym się pęcherzyku soczewkowym (16). W rozwiniętym oku nadal utrzymuje się ekspresja genu SIX3 w komórkach zwojowych i komórkach warstwy jądrazstej wewnętrznej siatkówki. Mutacje genu SIX3 u ludzi prowadzą do powstania holoprosencefalii z różnymi ciężkimi wadami oczu (od cyklopii, przez małococzność do znacznego hipoteloryzmu), co tym bardziej potwierdza kluczową rolę tego genu w rozwoju przedniej części cewy nerwowej i oczu (17,26).

Drugim genem z rodziny genów SIX, sklonowanym u kręgowców i uczestniczącym w rozwoju oka, jest gen SIX6, opisywany często jako OPTX2, zlokalizowany w regionie 14q23. Ulega on ekspresji w pęcherzyku ocznym, jednak nie w obrębie płyty soczewkowej, ekspresja zaś rozpoczyna się około 12. -14. tygodnia wieku ciążowego. Szczególne nasilenie ekspresji ma miejsce w rozwijającej się siatkówce sensorycznej oraz brzusznej części szypuły ocznej, poza okiem zaś – w obrębie płyt węchowych, podwzgórze i przysadki mózgowej (8). Wydaje się, że gen OPTX2 reguluje ostateczne przeznaczenie komórek siatkówki – brak jego ekspresji powoduje powstanie komórek nabłonka barwnikowego siatkówki, silna zaś ekspresja – różnicowanie w kierunku komórek siatkówki sensorycznej (22). Gen OPTX2 wydaje się niezbędny do prawidłowego rozwoju ludzkiego oka, gdyż interstycjalne mikrodelecje regionu chro-

mosomowego 14q22.3-q23 prowadzą do obustronnego bezocza (8).

Sklonowano również dwa homologu genu „dac” muszki owocowej, z których w rozwoju oczu kręgowców uczestniczy prawdopodobnie gen DACH1, zlokalizowany u człowieka w regionie 13q22. Badania ekspresji sugerują jego szczególną rolę we wczesnym rozwoju siatkówki (6). Badania na myszach wykazały, że gen DACH1 współreguluje z genem OPTX2 (SIX6) wczesną proliferację komórek prekursorowych retinogenezy poprzez hamowanie cykliczno-zależnych inhibitorów kinazy (14). Istnieją nawet sugestie, że jest to ogólny mechanizm molekularny, poprzez który kompleks tkankowo-specyficznych czynników transkrypcyjnych może zapewnić narządowo-specyficzną ekspansję populacji komórek prekursorowych.

W ostatnich latach okazało się także, że gen PAX6 nie działa samodzielnie nawet we wczesnych etapach rozwoju oka. Wymaga on współpracy przynajmniej dwóch genów: BMP4 i BMP7 (ang. bone morphogenetic protein – białko morfogenezy kości), kodujących białkowe czynniki wzrostu i znanych z udziału w rozwoju kości, zębów, kończyn i tkanek steroidogennych. Bez ich udziału nie dojdzie również do powstania płyty soczewkowej (7,28). Należy więc uznać, że we wczesnych stadiach rozwoju oka niezbędna jest kooperacja genów PAX6, BMP4 i BMP7 w regulacji okulogenezy, poprzez podtrzymanie rozwoju płyty soczewkowej po jego indukcji. Gen BMP4 uczestniczy też w grzbietowo-brzusznym zorientowaniu pęcherzyka ocznego (12), gen BMP7 zaś ulega ekspresji nie tylko w soczewce, ale również w rozwijającej się siatkówce sensorycznej i rogówce (21). Wydaje się on niezbędny również do utrzymania ekspresji genów SIX3 i OPTX2 (SIX6) w pęcherzyku ocznym (29). U myszy homozygotyczne mutacje genu BMP7 powodują bezocze lub małococzność oraz agenezję nerek. Nie są jednak dotąd znane mutacje genów BMP prowadzące do znanych zaburzeń rozwojowych narządu wzroku u ludzi.

Udział w rozwoju oka, ucha i nerki wykazuje również gen PAX2, zmapowany w regionie 10q24.1-q25.1 i ulegający ekspresji początkowo w obrębie kielicha ocznego i szypuły ocznej, a następnie w obrębie siatkówki, tarczy nerwu wzrokowego i samego nerwu wzrokowego (23,24). Mutacje genu PAX2 prowadzą u człowieka do powstania zespołu wad wrodzonych obejmujących różne wady tarczy nerwu wzrokowego (dołki, szczeliny, hipoplazję lub aplazję) i pozostałej części dna oka (szczeliny, garbiaki, hipoplazję) oraz różne zaburzenia czynnościowe i morfologiczne nerek.

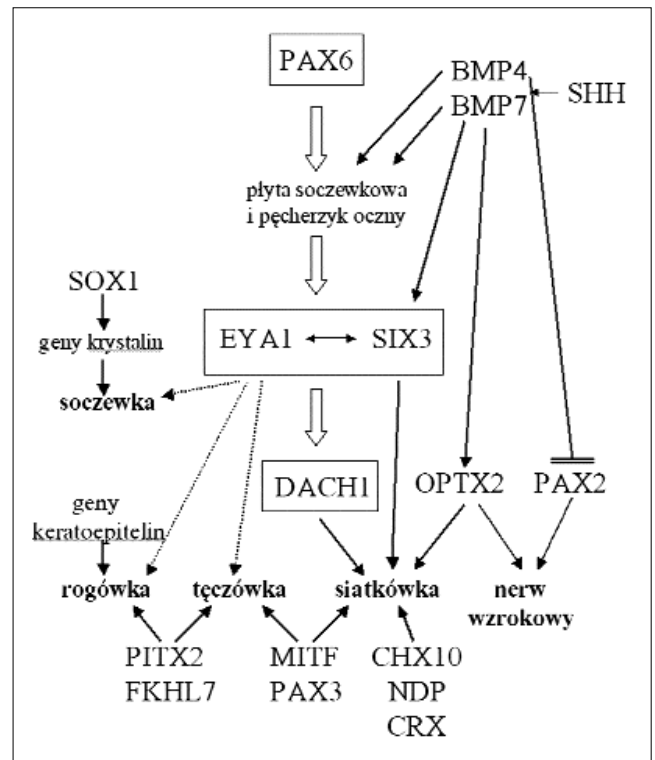
Kolejny gen z rodziny PAX – gen PAX3 (położony w regionie 2q35) – poza wpływem na rozwój układu nerwowego silnie aktywuje gen MITF odpowiadający za aktywację genu tyrozyminy – kluczowego enzymu melanogenezy – oraz za różnicowanie melanocytów. Tym samym oba geny pośrednio uczestniczą w znaczący sposób w powstawaniu i różnicowaniu struktur oka zawierających melaninę, takich jak nabłonek barwnikowy siatkówki i tęczęwka. Mutacje obydwu genów prowadzą u ludzi do powstania zespołu Waardenburg (różnobarwność tęczęwek, *telecanthus*, biały lok nad czołem, głuchota, opóźnienie rozwoju) odpowiednio typu I lub II, a wyjątkowo do albinizmu związanego z głuchotą.

Na dalszych etapach rozwoju ekspresji ulega wiele genów specyficznych dla poszczególnych struktur oka. Na przykład gen CHX10 (którego mutacje homozygotyczne prowadzą u ludzi do autosomalnego recesywnego małococzności z zaćmą wrodzoną i wadami tęczęwki), gen NDP (którego mutacje powodują chorobę Norriego lub

sprzężoną z chromosomem X witreoretinopatię wysiękową) oraz gen CRX (którego mutacje prowadzą do wrodzonej ślepoty Lebera, dystrofii czopkowo-pręcikowej lub *retinitis pigmentosa*) ulegają ekspresji w tylnym odcinku oka. Natomiast geny PITX2 i FKHL7, kodujące również czynniki transkrypcyjne, ulegają ekspresji w odcinku przednim oka. Ich mutacje powodują różne formy dysgenезji odcinka przedniego, takie jak zespół Axenfelda-Riegera lub irydogoniodysgenезje typu I lub II. Wreszcie gen SOX1 oraz geny  $\alpha$ ,  $\beta$  i  $\gamma$  krystalin ulegają ekspresji w soczewce, a geny keratocypelin – w rogówce, ich mutacje zaś prowadzą odpowiednio do rozwoju zaćm wrodzonych lub dziedzicznych dystrofii rogówki (29). W efekcie prosta kaskada genetycznej regulacji okulogenезy zamienia się w coraz bardziej skomplikowaną sieć zależności wielu genów, która jednak wobec niezwykle rzadkości wrodzonych wad rozwojowych oczu funkcjonuje niezwykle sprawnie. Na ryc. 1 podjęto próbę graficznego przedstawienia opisanych powyżej mechanizmów genetycznej kontroli okulogenезy.

W podsumowaniu należy stwierdzić, że podstawową oś kaskady genetycznej regulacji okulogenезy stanowi układ genów PAX6 – EYA1/SIX3 – DACH1 przy współdziałaniu szeregu dodatkowych genów, wspomagających proces regulacji w określonych strukturach oka i wybranych okresach rozwoju narządu wzroku. Co ciekawe, wiele z tych genów uczestniczy w regulacji rozwoju ucha (EYA1, PAX2, NDP) i nerek (BMP7, EYA1, PAX2), sugerując wykorzystanie wspólnych mechanizmów regulacyjnych w wielu procesach organogenезy. Dodatkowym poparciem tej hipotezy jest wykazanie, że analogiczne geny PAX3 – EYA2/SIX1 – DACH2 stanowią oś kaskady genetycznej regulacji miogenезy u kręgowców (Heanue, 1999). Tak więc można uznać, że kaskada genów PAX – EYA/SIX – DACH (lub ich homologów) pełni dość uniwersalnie funkcję regulacyjną w embriogenезie, nie tylko w odniesieniu do znacznego dystansu ewolucyjnego gatunków, ale i szerokiego spektrum powstających narządów. Taka uniwersalność i ewolucyjna konserwatywność procesów regulacji genetycznej świadczy o precyzyjnym i zazwyczaj bezbłędnym pełnieniu pożądanych funkcji, dzięki czemu wrodzone wady rozwojowe narządu wzroku, pomimo komplikacji jego budowy, występują stosunkowo rzadko.

**PIŚMIENNICTWO:** 1. Abdelhak S., Kalatzis V., Heilig R., Compain S., Samson D., Vincent C., Weil D., Cruaud C., Sahly I., Leibovici M., Bitner-Glindzicz M., Francis M., Lacombe D., Vigneron J., Charachon R., Boven K., Bedbeter P., Van Regemorter N., Weissenbach J., Petit C.: *A human homologue of the Drosophila eyes absent gene underlies branchio-oto-renal (BOR) syndrome and identifies a novel gene family.* Nature Genet., 1997, 15, 157-164. 2. Azuma N., Yamaguchi Y., Handa H., Hakayawa M., Kanai A., Yamada M.: *Missense mutation in the alternative splice region of the PAX6 gene in eye anomalies.* Am. J. Hum. Genet., 1999, 65, 656-663. 3. Azuma N., Hirakiyama A., Inoue T., Asaka A., Yamada M.: *Mutations of human homologue of the Drosophila eyes absent gene (EYA1) detected in patients with congenital cataracts and ocular anterior segment anomalies.* Hum. Molec. Genet., 2000, 9, 363-366. 4. Belecky-Adams T., Tomarev S., Li H. -S., Ploder L., McInnes R., Sundin O., Adler R.: *Prox-1, Pax-6 and CHX10 homeobox gene expression correlate with phenotypic fate of retinal precursor cells.* Invest. Ophthalmol. Vis. Sci., 1997, 38, 1293-1303. 5. Chisholm A. D., Horvitz H. R.: *Patterning of the Caenorhabditis elegans head region by the Pax-6 family*



Ryc. 1. Schematyczne przedstawienie kaskady genetycznej kontroli okulogenезy (według 30 – zmodyfikowane i uzupełnione).

Fig. 1. Scheme of oculogenetic cascade control (modification after 30).

*member vab-3.* Nature, 1995, 377, 52-55. 6. Davis R. J., Shen W., Heanue T. A., Mardon G.: *Mouse Dach, a homologue of Drosophila dachshund, is expressed in the developing retina, brain, and limbs.* Dev. Genes Evol., 1999, 209, 526-536. 7. Furuta Y., Piston D. W., Hogan B. L. M.: *BMP4 is essential for lens induction in the mouse embryo.* Genes Dev., 1998, 12, 3764-3775. 8. Gallardo M. E., Lopez-Rios J., Feraud-Espinosa I., Granadino B., Sanz R., Ramos C., Ayuso C., Seller M. J., Brunner H. G., Bovolenta P., Rodriguez de Cordoba S.: *Genomic cloning and characterization of the human homeobox gene SIX6 reveals a cluster of SIX genes in chromosome 14 and associates SIX6 hemizygoty with bilateral anophthalmia and pituitary anomalies.* Genomics, 1999, 61, 82-91. 9. Glaser T., Walton D. S., Maas R. L.: *Genomic structure, evolutionary conservation and aniridia mutations in the human PAX6 gene.* Nature Genet., 1992, 2, 232-238. 10. Glaser T., Jepeal L., Edwards J. G., Young S. R., Favor J., Maas R. L.: *PAX6 gene dosage effect in a family with congenital cataracts, aniridia, anophthalmia and central nervous system defects.* Nature Genet., 1994, 7, 463-471. 11. Heanue T. A., Reshef R., Davis R. J., Mardon G., Oliver G., Tomar A. S., Lassar A. B., Tabin C. J.: *Synergistic regulation of vertebrate muscle development by Dach2, Eya2 and Six1, homologues of genes required for Drosophila eye formation.* Genes Dev., 1999, 13, 3231-3243. 12. Koshihara-Takeuchi K., Takeuchi J. K., Matsumoto K., Momose T., Uno K., Hoepker V., Ogura K., Takahashi N., Nakamura H., Yasuda K., Ogura T.: *Tbx5 and the retinectum projection.* Science, 2000, 287, 134-137. 13. Krauss S., Johansen T., Korzh V., Fjose A.: *Expression pattern of zebrafish pax genes suggests a role in early brain regionalisation.* Nature, 1991, 353, 267-270. 14. Li X., Perissi V., Liu F., Rose D. W., Rosenfeld M. G.: *Tissue-specific regula-*

- tion of retinal and pituitary precursor cell proliferation. *Science*, 2002, 297, 1180-1183. **15.** Nischiguchi S., Wood H., Knodoh H., Lovell-Badge R., Episkopou V.: *Sox1 directly regulates the gamma-crystallin genes and is essential for lens development in mice*. *Genes Dev.*, 1998, 12, 776-781. **16.** Ohto H., Takizawa T., Saito T., Kobayashi M., Ikeda K., Kawakami K.: *Tissue and developmental distribution of Six family gene products*. *Int. J. Dev. Biol.*, 1998, 42, 667-677. **17.** Pasquier L., Dubourg C., Blayau M., Lazaro L., Le Marec B., David V., Odent S.: *A new mutation in the six-domain of SIX3 gene causes holoprosencephaly*. *Europ. J. Hum. Genet.*, 2000, 8, 797-800. **18.** Plaza S., Dozier C., Saule S.: *Quail PAX-6 (PAX-QNR) encodes a transcription factor able to bind and trans-activate its own promoter*. *Cell Growth Differ.*, 1993, 4, 1041-1050. **19.** Quinn J. C., West J. D., Hill R. E.: *Multiple functions for Pax6 gene in mouse eye and nasal development*. *Genes Dev.*, 1996, 10, 435-446. **20.** Quiring R., Waldorf U., Kloter U., Gehring W. J.: *Homology of the eyeless gene of Drosophila to the Small eye gene in mice and Aniridia in humans*. *Science*, 1994, 265, 785-789. **21.** Solursh M., Langille R. M., Wood J., Sampath T. K.: *Osteogenic protein-1 is required for mammalian eye development*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1996, 218, 438-443. **22.** Sundin O. H., Silva E. D., Yang J. -M., Leppert G. S., Toy J., Maumenee I. H.: *The Optx2/OPTX2 (Six6/SIX6) homeobox gene in mouse eye development and human anophthalmia*. International EU Meeting 'Developmental genetic disorders in childhood involving the eye', Vilnius, Lithuania, 24-26.06.1999, Abstracts p. 12. **23.** Tellier A. -L., Amiel J., Delezoide A. -L., Audollent S., Auge J., Esnault D., Encha-Razavi F., Munnich A., Lyonnet S., Vekemans M., Attie-Bitach T.: *Expression of the PAX2 gene in human embryos and exclusion in the CHARGE syndrome*. *Am. J. Med. Genet.*, 2000, 93, 85-88. **24.** Terzic J.: *PAX2, PAX3 and PAX6 expression patterns in early human development*. International EU Meeting 'Developmental genetic disorders in childhood involving the eye', Vilnius, Lithuania, 24-26.06.1999, Abstracts p. 16. **25.** Ton C. C. T., Hirovenen H., Miwa H., Weil M. W., Monaghan P., Jordan T., van Heyningen V., Hastie N. D., Meijers-Heijboer H., Drechsler M., Royer-Pokora B., Collins F., Swaroop A., Strong L. C., Saunders G. F.: *Positional cloning and characterization of a paired box- and homeobox-containing gene from the aniridia region*. *Cell*, 1991, 67, 1059-1074. **26.** Wallis D. E., Roessler E., Hehr U., Nanni L., Wiltshire T., Richieri-Costa A., Gillissen-Kaesbach G., Zackai E. H., Rommens J., Muenke M.: *Mutations in the homeodomain of the human SIX3 gene causes holoprosencephaly*. *Nature Genet.*, 1999, 22, 196-198. **27.** Walther C., Gruss P.: *Pax-6 a murine paired box gene is expressed in the developing CNS*. *Development*, 1991, 113, 1435-1449. **28.** Wawersik S., Purcell P., Rauchman M., Dudley A. T., Robertson E. J., Maas R.: *BMP7 acts in murine lens placode development*. *Dev. Biol.*, 1999, 207, 176-188. **29.** Wawersik S., Maas R. L.: *Vertebrate eye development as modeled in Drosophila*. *Hum. Mol. Genet.*, 2000, 9, 917-925. **30.** Xu P. -X., Woo I., Her H., Beier D. R., Maas R. L.: *Mouse homologues of the Drosophila eyes absent gene require Pax6 for expression in lens and nasal placode*. *Development*, 1997, 124, 219-231.

Praca wpłynęła do Redakcji 13.03.2003 r. (219).

Adres do korespondencji (Reprint requests to):  
 dr n. med. Maciej R. Krawczyński  
 Katedra Genetyki Medycznej Akademii Medycznej  
 w Poznaniu  
 ul. Szpitalna 27/33  
 60-572 Poznań