

図8 上輪部角結膜炎

上方球結膜の充血と肥厚(A), 上方角結膜の生体染色所見(B)を特徴とする。

とを示唆するものと考えられる。瞼裂斑が翼状片の発生母地かどうかは議論があるが、紫外線暴露との関連が深いことはよく知られている。

加齢あるいは慢性の紫外線障害による眼表面疾患の代表と考えられている瞼裂斑、翼状片も、その母地は小児期から始まっている可能性がある。瞼裂斑、翼状片の存在は光障害による眼疾患の代表である白内障や黄斑変性ともlinkしている可能性があり¹⁰⁾、眼の慢性紫外線障害の早期 indicator としても注目される。

IV. 上皮、上皮下組織の退行性変化

皮膚の加齢性変化の代表として、しわ、しみ、たるみが挙げられる。眼瞼では、皮膚、皮下結合織のたるみは眼瞼皮膚弛緩症、加齢性眼瞼下垂、眼瞼内反症などの原因となるが、眼表面上皮のしわ、たるみが原因となって生じる疾患は結膜弛緩症や上輪部角結膜炎であろうと思われる。

結膜弛緩症は、下方球結膜が弛緩する状態を指し、主に加齢性変化によって生じる(図7)。結膜弛緩症は、決して新しい疾患概念ではなく、高齢者における有病率が高い疾患であるが、長い間、過小評価されてきた疾患のひとつである¹¹⁾。しかし米国で1990年代から流涙あるいは

ドライアイの原因疾患のひとつとして再認識され、本邦でも多彩な自覚症状を呈する高齢者の不定愁訴の原因疾患として注目されるようになってきている¹²⁾¹³⁾。結膜弛緩症の病理所見として、多くの例では異常所見がないとする報告¹⁴⁾もあるが、弾性線維の断裂やコラーゲン線維の減少、リンパ管拡張などの変性変化が特徴であるとする報告¹⁵⁾もある。

上輪部角結膜炎は中高年の女性に多い疾患で、慢性の異物感を主症状とし、上方球結膜の充血、肥厚、上方角結膜の生体染色所見を特徴とする疾患である(図8)。長い間、原因不明の疾患であったが、上方の球結膜の弛緩と、弛緩した球結膜への瞬目時の摩擦が病態の根本であることが明らかとなってきている¹⁶⁾。球結膜と上眼瞼との摩擦抵抗が増大する要因として、上方球結膜の弛緩、涙液の減少による潤滑油効果の減少、眼瞼の形態の変化などが組み合わさって上輪部角結膜炎を生じるものと考えられる。

おわりに

加齢に伴う眼表面の変化を、I. 腺組織の萎縮、機能低下、II. 老廃物、異常物質の眼表面への蓄積、III. 慢性の光(紫外線)障害、IV. 上皮、上皮下組織の退行性変化、の4つに分けて

概説した。

高齢者の眼表面の変化は、必ずしも病的でないもの、病的変化の前段階として捉えられるもの、病的な意義を有するものなどさまざまであるが、これらの変化を把握したうえで診療にあたることは、日常診療の診断や治療のなかでも重要であると思われる。

文 献

- 1) Mathers WD, Lane JA : Meibomian gland lipids, evaporation, and tear film stability. *Adv Exp Med Biol* 438 : 349-360, 1998
- 2) Hom MM, Martinson JR, Knapp LL et al : Paugh JR. Prevalence of meibomian gland dysfunction. *Optom Vis Sci* 67 : 710-712, 1990
- 3) Bron AJ, Tiffany JM : The contribution of meibomian disease to dry eye. *Ocul Surf* 2 : 149-165, 2004
- 4) Sugar A : Corneal and conjunctival degeneration. In : Kaufman HE et al eds : *The Cornea*. 2nd Ed. 477-496. Butterworth-Heinemann, Boston, 1998
- 5) 河合正孝, 山田昌和, 蕪城晃子ほか : 日本人の角膜の加齢性変化. *日眼紀* 53 : 874-877, 2002
- 6) 山田昌和 : 紫外線による角膜障害. 田野保雄ほか(編) : *眼科学 Year Book vol.3*. 23-40. 診断と治療社, 1995
- 7) Dolezalová V : Is the occurrence of a temporal pterygium really so rare? *Ophthalmologica* 174 : 88-91, 1977
- 8) Maloof AJ, Ho A, Coroneo MT : Influence of corneal shape on limbal light focusing. *Invest Ophthalmol Vi Sci* 35 : 2592-2598, 1994
- 9) Ooi JL, Sharma NS, Sharma S et al : Ultra-violet fluorescence photography : patterns in established pterygia. *Am J Ophthalmol* 143 : 97-101, 2007
- 10) Pham TQ, Wang JJ, Rochtchina E et al : Pterygium/pinguecula and the five-year incidence of age-related maculopathy. *Am J Ophthalmol* 139 : 536-537, 2005
- 11) Meller D, Tseng SC : Conjunctivochalasis : literature review and possible pathophysiology. *Surv Ophthalmol* 43 : 225-232, 1998
- 12) 山崎太三, 井出 醇, 三戸秀哲ほか : 結膜弛緩症. *眼科* 47 : 1536-1542, 2005
- 13) 山田昌和 : 結膜弛緩症の考え方. *東京都眼科医会報* 194 : 2-5, 2006
- 14) Francis IC, Chan DG, Kim P et al : Case-controlled clinical and histopathological study of conjunctivochalasis. *Br J Ophthalmol* 89 : 302-305, 2005
- 15) Watanabe A, Yokoi N, Kinoshita S et al : Clinicopathologic study of conjunctivochalasis. *Cornea* 23 : 294-298, 2004
- 16) Yokoi N, Komuro A, Maruyama K et al : New surgical treatment for superior limbic keratoconjunctivitis and its association with conjunctivochalasis. *Am J Ophthalmol* 135 : 303-308, 2003

*

*



角膜内皮機能不全の治療

羽藤 晋, 山田 昌和

IRYO Vol. 62 No. 8 (451-457) 2008

角膜内皮細胞はNa-K ATPaseによるポンプ機能と細胞間接着分子によるバリア機能により角膜の透過性の維持に寄与している。角膜内皮機能不全は角膜に浮腫性の混濁をもたらす、視力低下をきたす(水疱性角膜症)。角膜内皮機能不全の治療は従来から全層角膜移植手術が行われていたが、近年の手術技術の発達にともない、DSEKを主とする角膜内皮移植が開発されてきている。DSEKは全層角膜移植に比較し術後の乱視が少なく、より低侵襲であることなどでメリットが大きい。現在のところ、角膜内皮機能不全に対する薬物治療は確立されていないが、最近の基礎研究から、角膜内皮細胞のNa-K ATPaseはデキサメサゾンやインスリンにより活性が上昇することがわかってきている。こうした角膜内皮の活性化機構が解明されれば、角膜内皮機能不全を角膜移植によらずに治療できる新しい治療法となる可能性がある。

キーワード：角膜内皮, 水疱性角膜症, 角膜移植, Na-K ATPase

はじめに

角膜内皮は角膜の最後面に位置する1層の細胞層であり、実質側から前房側への能動輸送に関わる内皮細胞のポンプ機能と、細胞間接着分子を介した受動輸送に関わるバリア機能により角膜実質の含水率を制御し、角膜の透明性の維持に寄与している(図1A, B)¹⁾。角膜内皮細胞はヒトでは生後は再生能力がなく、その細胞数は加齢と共に低下し、コンタクトレンズの長期装用や眼手術によっても低下することが知られている(図2A)²⁾。細胞数の減少がある段階に達すると内皮機能不全となり、角膜浮腫、水疱性角膜症により視力低下をきたす(図2B)。現在のところ内皮機能不全の治療は角膜移植による

ほかはなく、角膜移植の最も主要な適応疾患となっているが、本邦の角膜移植の待機患者が約6,000名であるのに対し、提供眼球数は年間1,500眼程度であり、手術までの長い待機期間があるのが現状である。

本図説では角膜内皮機能不全に対する現在の治療と、最近の基礎実験から期待される今後の展望について述べる。

角膜内皮機能不全に対する手術的治療

1905年、Zirmにより初めてヒトの全層角膜移植術が成功した³⁾。この成功以降、つい最近に至るまで水疱性角膜症に対する唯一の治療は全層角膜移植術:penetrating keratoplasty (PKP)であった。こ

国立病院機構東京医療センター 感覚器センター
別刷請求先:羽藤 晋 国立病院機構東京医療センター 感覚器センター
〒152-8902 東京都目黒区東が丘2-5-1
(平成20年6月13日受付)

Series of Articles on Sensory Disorders No. 8
Treatment of Corneal Endothelial Dysfunction
Shin Hato and Masakazu Yamada

Key Words: corneal endothelium, bullous keratopathy, keratoplasty, Na-K ATPase

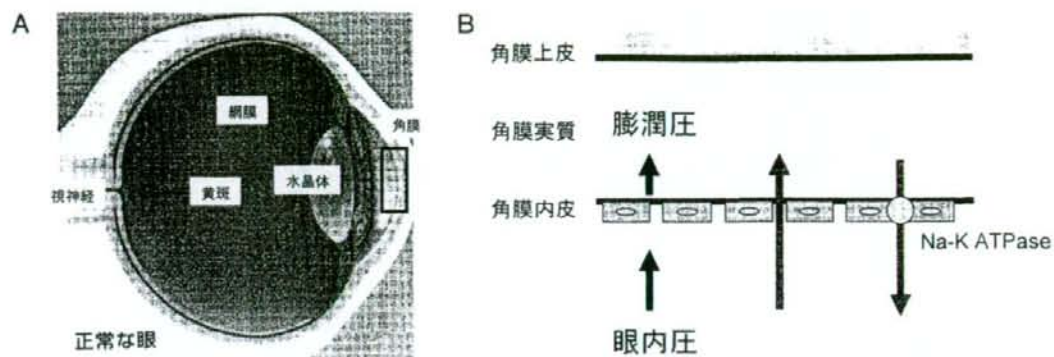


図1 眼球と角膜の構造

(A) 眼球の解剖。□で囲んだ部分が角膜。(B) 角膜の構造。角膜内皮細胞 Na-K ATPase によるポンプ機能を示す。

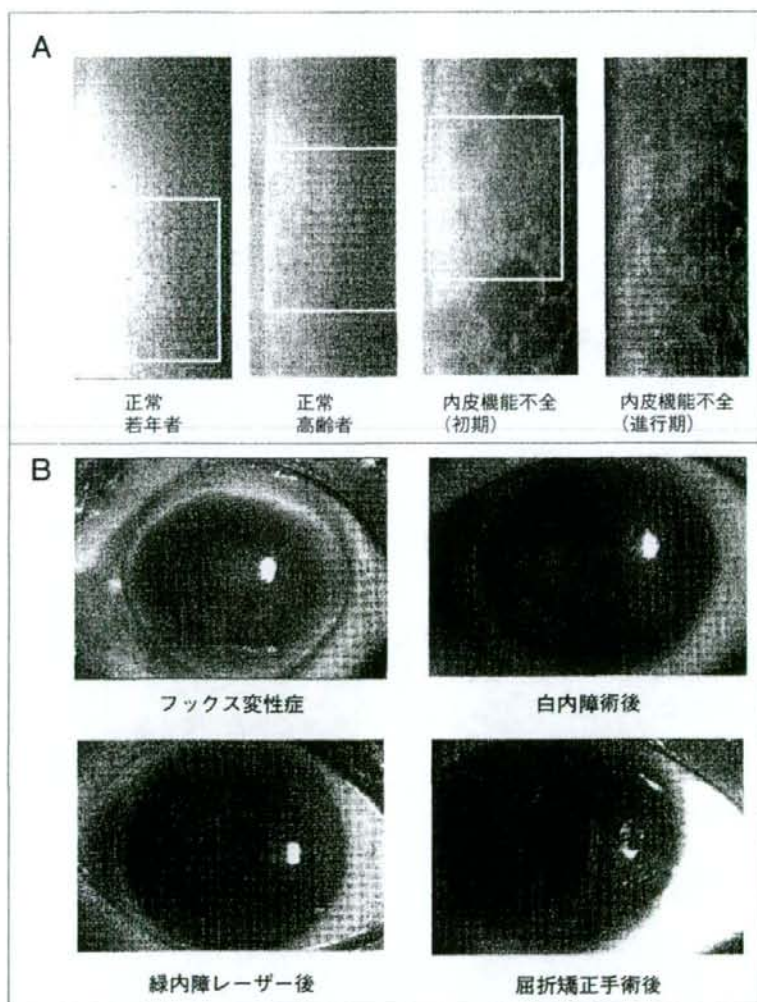


図2

(A) スペキュラーマイクロスコープで撮影した角膜内皮細胞の経年変化と病的変化。
 (B) さまざまな原因によって発症した水腫性角膜症による角膜の混濁。

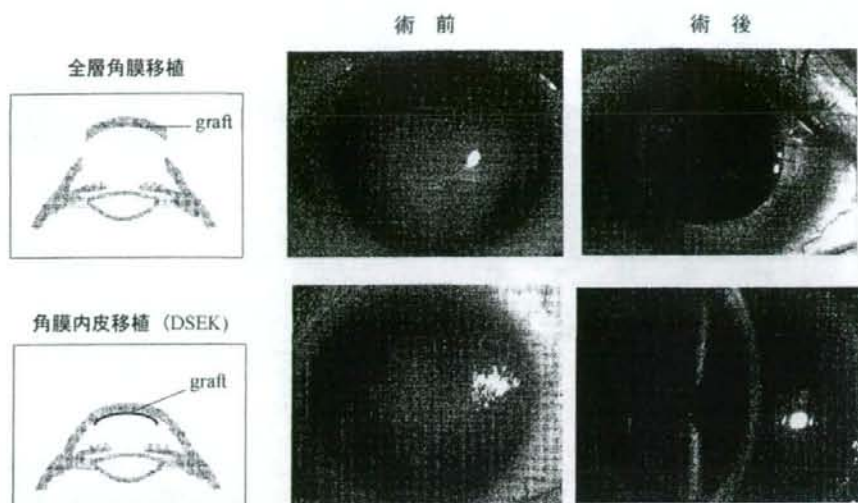


図3 全層角膜移植と角膜内皮移植 (DSEK) の術式の比較

全層角膜移植 (上段) では縫合が必要だが (上段右写真), DSEK (下段) では基本的に無縫合で手術が可能 (下段右写真)。

これは内皮細胞が角膜最後面に位置するという解剖学的理由から、正常な内皮細胞を移植するには角膜全層を切除せざるを得なかったためである。

近年、手術技術や手術器具の発達、とくにマイクロケラトームの登場により、移植片や host 角膜を flap 状に切開することが可能となり、これが角膜内皮機能不全の新たな手術的治療の開発につながった。1998年から endothelial lamellar keratoplasty (ELK), deep lamellar endothelial keratoplasty (DLEK), Descemet's membrane stripping endothelial keratoplasty (DSEK) といった角膜内皮移植が次々と登場してきており、現在は DSEK が主流になりつつある⁴⁾。DSEK は、host 側角膜の内皮側を、前房内からの操作でデスメ膜の層で剥離するように切除し、この切除面に、マイクロケラトームで作成した内皮 graft を生着させる手術方法である (図3)。PKP では角膜を全層切開するため、graft を縫合する必要があるが、DSEK は基本的に無縫合で生着させることができる。そのため PKP で問題となる縫合にともなう術後の角膜乱視が、DSEK では問題にならないことが大きなメリットである。また、PKP は角膜を大きく切開せざるを得ないが、DSEK は PKP に比べ創孔が非常に小さくて済み、手術中の安全面でもメリットが大きい。術後の拒絶反応も DSEK は PKP より少ない可能性がある。ただし、DSEK の現時点での最も大きな問題点は手術中の操作による graft 内皮細胞の減少であり、術

後に PKP と遜色ない内皮細胞数と透明治癒率が得られるかが今後の課題である。

● 角膜内皮機能不全に対する新しい薬物治療の開発

従来の角膜内皮機能不全の治療法としては、前述のとおり、いずれも手術による外科的治療であり、薬物治療を考慮したものではない。薬物治療により、内皮機能不全のいくつかの症例が治療できるようになり、手術を回避できるとすればその医学的、社会的意義は大きいものと考えられる。眼球提供数が多く角膜移植を行うことが比較的容易である米国に比べ、本邦では提供眼が常に不足している状態であり、角膜移植手術によらない内皮機能不全の治療法の確立はとくに本邦では意義が高いと考えられる。

内皮細胞のポンプ機能は主として Na-K ATPase により発揮されるが、内皮機能不全の初期では内皮細胞の細胞膜に存在する Na-K ATPase はむしろ増加し、逆に末期では著明に減少することが報告されている⁵⁾。初期の Na-K ATPase の増加は細胞数の減少に対する代償機転と考えられるが、その機序は明らかではない。三叉神経麻痺や交感神経麻痺患者では角膜浮腫が誘発されやすいことも報告されており、内皮機能は何らかの神経性因子により調節されていることが示唆されるが、その機序も不明である。他の臓器、たとえば腎の尿管や骨格筋などの Na-K ATPase は、ステロイドや甲状腺ホルモン、バソプレッシンなどのホルモン類や神経ペプチド、蛋白

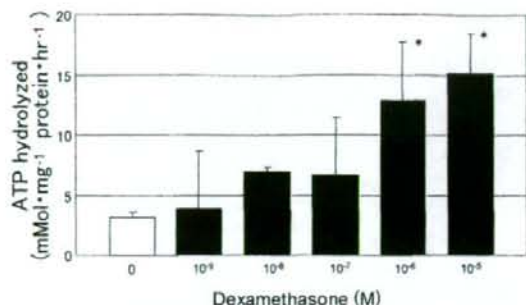


図4 デキサメサゾン濃度がNa-K ATPase 酵素活性に及ぼす影響

分解酵素, 蛋白リン酸化酵素, プロスタグランジンなどの脂質メディエーターなどさまざまな因子によりその活性の調節を受けていることが報告されている³¹⁾。角膜内皮のNa-K ATPase もこれに類似した調節機構が作用している可能性があるが, その詳細には不明の点が多い。国立病院機構東京医療センター臨床研究センターではデキサメサゾン, インスリン, 蛋白リン酸化酵素である protein kinase C が角膜内皮のNa-K ATPase 活性を上昇させることを見出し⁷⁾。現在その機序を検討中である。

1. デキサメサゾンの角膜内皮 Na-K ATPase に及ぼす影響

デキサメサゾン濃度がNa-K ATPase 酵素活性に及ぼす影響を図4に示す。Na-K ATPase の酵素活性測定は, 培養液中にアデノシン3リン酸(ATP)を加えて, ATPaseにより生成される無機リン酸量を測定することで行った。10⁻⁸Mから10⁻⁵Mのデキサメサゾン投与48時間後に測定した。Na-K ATPase の酵素活性が濃度依存的に増加するのがみられた(*: $p < 0.05$, Student t-test)。

さらに, デキサメサゾンがNa-K ATPase α 1-subunit 発現量に及ぼす影響を図5に示す。10⁻⁸Mから10⁻⁵Mのデキサメサゾン投与48時間後のNa-K ATPase α 1-subunit 発現量をWestern blotting法により測定した。デキサメサゾンの濃度依存的にNa-K ATPase α 1-subunit 発現量が増加するのがみられた。これらの結果から, デキサメサゾンによるNa-K ATPase 活性化は, 蛋白合成によるNa-K ATPase の発現量増加を介していると考えられる。

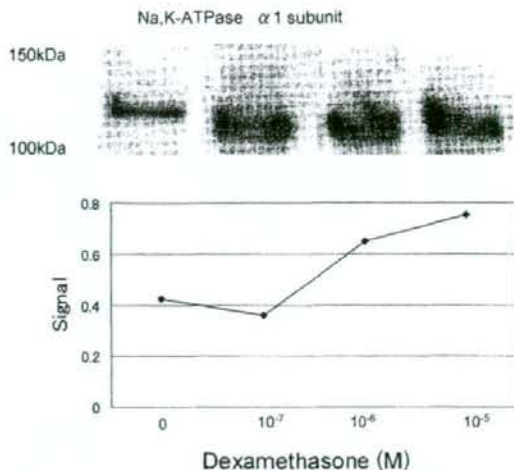


図5 デキサメサゾン濃度がNa-K ATPase α -subunit の発現量に及ぼす影響 (Western blotting法)

2. PKCの角膜内皮 Na-K ATPase に及ぼす影響

プロテインキナーゼC (PKC) 活性化薬の phorbol dibutyrate (PDBu) を用い, PKC 活性化がNa-K ATPase 酵素活性に及ぼす影響を図6Aに示す。10⁻⁸Mから10⁻⁵MのPDBuを投与し30分後に測定した。PDBu濃度が10⁻⁶Mで, bell shape型の用量反応曲線となった(*: $p < 0.05$, †: $p < 0.01$, **: $p < 0.001$, Student t-test)。

また, cyclooxygenase 阻害剤の indomethacin, cytochrome P₄₅₀阻害剤の resorufin の存在下でPDBu濃度がNa-K ATPase 酵素活性に及ぼす影響も検討した。PDBu単独に比較し indomethacin, resorufin, indomethacin + resorufin 存在下のほうがNa-K ATPase 活性が有意に増強され, とくに indomethacin + resorufin 存在下で最もNa-K ATPase 活性が増強された。代表例として indomethacin + resorufin 存在下でPDBu濃度がNa-K ATPase 酵素活性に及ぼす影響を図6Bに示す。一方, protein phosphatase 阻害剤の okadaic acid 存在下ではNa-K ATPase 酵素活性が抑制された(図6C) (*: $p < 0.05$, **: $p < 0.001$, Two-way factorial ANOVA)。PKCの下流では, protein phosphatase 群, とくに protein phosphatase 1 および protein phosphatase 2A を介しNa-K ATPase の α -subunit を脱リン酸化してNa-K ATPase の活性を上昇させる経路が指摘されている。一方でPKCの下流では cyclooxygenase や, cytochrome P₄₅₀ を介して endocytosis によりNa-K ATPase 活性を抑制

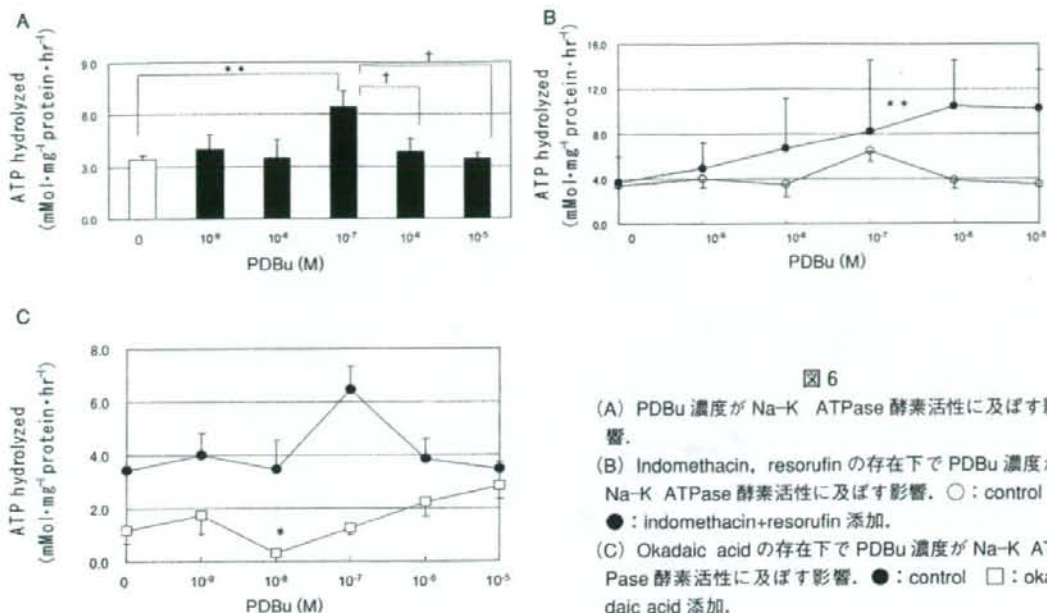


図 6

(A) PDBu 濃度が Na-K ATPase 酵素活性に及ぼす影響。
 (B) Indomethacin, resorufin の存在下で PDBu 濃度が Na-K ATPase 酵素活性に及ぼす影響。○ : control ● : indomethacin+resorufin 添加。
 (C) Okadaic acid の存在下で PDBu 濃度が Na-K ATPase 酵素活性に及ぼす影響。● : control □ : okadaic acid 添加。

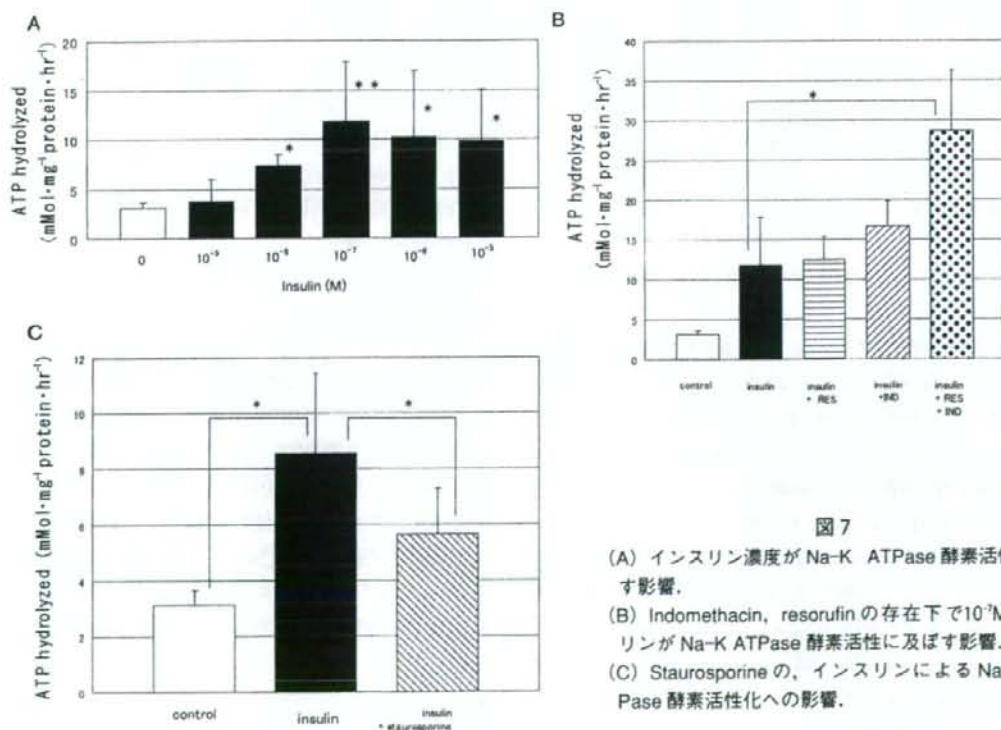


図 7

(A) インスリン濃度が Na-K ATPase 酵素活性に及ぼす影響。
 (B) Indomethacin, resorufin の存在下で 10⁻⁷M インスリンが Na-K ATPase 酵素活性に及ぼす影響。
 (C) Staurosporine の、インスリンによる Na-K ATPase 酵素活性化への影響。

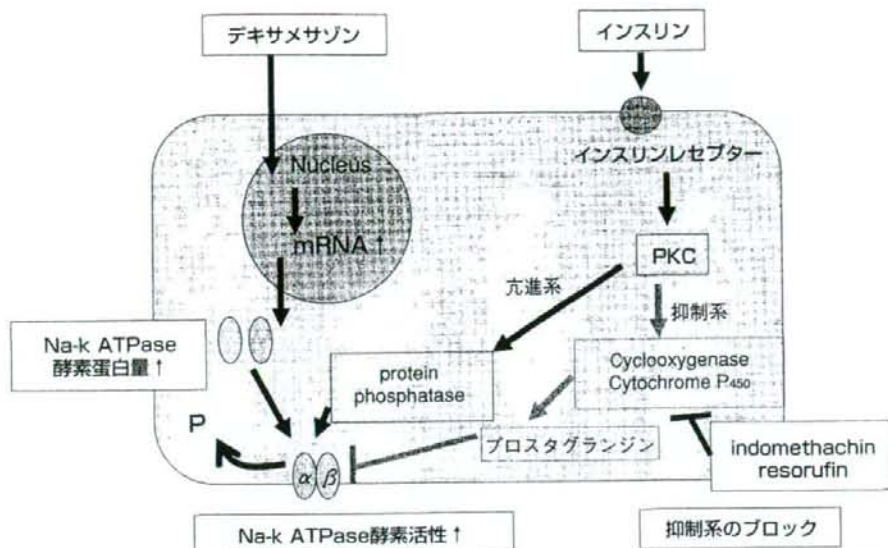


図8 デキサメサゾン、インスリンおよびPKCが角膜内皮Na-K ATPase活性に及ぼす影響
 デキサメサゾンはNa-K ATPase発現量を増加させることで活性を増加させる。インスリンによるNa-K ATPase活性増加はPKCを介していると考えられる。PKCはNa-K ATPase活性を亢進させる系と抑制させる系があり、indomethacinやresorufinは抑制系のblockによりNa-K ATPase活性をさらに増加させる。

させる経路も指摘されている。今回の結果でも、protein phosphatase 1 および 2A の阻害剤である okadaic acid の存在下では、PKC を活性化することにより Na-K ATPase の活性はほぼ完全に抑制され、一方で indomethacin や resorufin の存在下では PKC を活性化することにより Na-K ATPase の活性が増強されることが示された。

3. インスリンの角膜内皮 Na-K ATPase に及ぼす影響

インスリン濃度が Na-K ATPase 活性に及ぼす影響を図7Aに示した。 10^{-8} M から 10^{-5} M のインスリンを投与し6時間後に測定した。Na-K ATPase 活性はインスリン濃度が 10^{-6} M において頂点に達し bell shape 型の用量反応曲線となった (* : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$, Student t-test)。

Indomethacin, resorufin の存在下で 10^{-6} M インスリンが Na-K ATPase 酵素活性に及ぼす影響を図7Bに示した。PDBuの結果と同様に、インスリンによる Na-K ATPase 酵素活性化に関しても、indomethacin, resorufin の存在下で活性化が増強され、とくに indomethacin +resorufin 存在下で最も活性が増加することが示された (* : $p < 0.05$, Stu-

dent t-test)。また、PKC 活性阻害剤である Staurosporine の、インスリンによる Na-K ATPase 酵素活性化への影響を図7Cに示した。 10^{-6} M インスリンによる Na-K ATPase 酵素活性化は 10^{-6} M Staurosporine 存在下では阻害された (* : $p < 0.05$, Student t-test)。インスリンによる Na-K ATPase 酵素活性化は PKC 活性化が関与していることが示唆された。

4. まとめ

デキサメサゾン、インスリンおよびPKCが角膜内皮Na-K ATPase活性に及ぼす影響のモデルを図8に示す。Na-K ATPase活性は、蛋白発現レベルでの調節、リン酸化による活性調節、細胞膜への動員や細胞膜での相互作用による活性の調節などさまざまな段階での制御を受けており、これらのさまざまな段階で角膜内皮のNa-K ATPase活性を上昇させることができれば、角膜内皮機能不全を角膜移植によらずに治療できる新しい治療法となる可能性がある。

おわりに

角膜内皮機能不全に対する手術的治療と、最近の

基礎研究の現況について述べた。角膜内皮の基礎的研究には、このほかにもヒト角膜内皮細胞培養の研究やそれを用いた培養角膜内皮移植の研究が進行しつつあり、近年劇的に変革しつつあるDSEKなどの新しい角膜移植の術式がそれに活用される可能性がある。むろん、角膜内皮機能不全に対する予防および治療、角膜移植術後の管理に対し、角膜内皮Na-K ATPase活性を上昇させる薬理学的研究が重要な意義をもつことはいままでもない。

[文献]

- 1) Nishida T. Cornea. In: Krachmer JH, Mannis MJ, Holland EJ, eds, Cornea. 2nd ed. London: Elsevier Mosby; 2005: p3-26.
- 2) Feiz V. Corneal edema. In: Krachmer JH, Mannis MJ, Holland EJ, eds, Cornea. 2nd ed. London: Elsevier Mosby; 2005: p359-63.
- 3) Verdier DD. Penetrating keratoplasty. In: Krachmer JH, Mannis MJ, Holland EJ, eds, Cornea. 2nd ed. London: Elsevier Mosby; 2005: p1441-52.
- 4) Terry MA. Endothelial replacement. In: Krachmer JH, Mannis MJ, Holland EJ, eds, Cornea. 2nd ed. London: Elsevier Mosby; 2005: p1441-52.
- 5) McCartney MD, Wood OT, McLaughlin BJ. Moderate Fuchs' endothelial dystrophy ATPase pump site density. Invest Ophthalmol Vis Sci. 1989; 30: 1560-4.
- 6) Ewart NS, Klip A. Hormonal regulation of the Na⁺, K⁺-ATPase: mechanisms underlying rapid and sustained changes in pump activity. Am. J. Physiol. 1995; 269: C295-C311.
- 7) 羽藤晋, 望月弘嗣, 山田昌和. Phorbol dibutyrate と indomethacin による角膜内皮 Na-K ATPase の活性化. 日眼会誌 2006; 110 (臨増): 159.
- 8) 羽藤晋, 望月弘嗣, 山田昌和. Ussing chamber を用いた Protein Kinase C による角膜内皮ポンプ機能活性化の評価. 日眼会誌 2007; 111 (臨増): 191.



眼科領域の臨床疫学，效用研究

山田 昌和

IRYO Vol. 62 No. 12 (695-700) 2008

キーワード：臨床疫学，效用値，日常生活機能，視覚障害，眼疾患

高齢化社会と眼科の疾患構造の変化

疾患構造は時代や地域によって変化することはよく知られており，その主な要因として，衛生，労働，栄養など種々の環境要因や人種，人口構成が挙げられる。本邦では近年，少子化と高齢化により人口構成が大きく変化している。総務省の統計によれば，昭和25年には全人口の5%程度であった65歳以上の高齢者は，20年前には10%を超え，現在は約20%となっており，さらに20年後には30%近くまで増加する見込みである。

こうした社会の変化は視覚器領域の疾患構造にも大きな影響を与えている。筆者らは，種々の統計資料や疫学調査研究の結果を基に，本邦における視覚障害者の有病率を主要原因別，年齢別に推定した¹⁾。視覚障害の定義には，国際的には両眼のうち良い方の目の矯正視力が用いられており，日本の身体障害者福祉法に基づく視覚障害者の認定基準（両眼の視力の和が基本であり，視野障害も加味されている）はやや特殊な位置づけとなっている。本稿で用いる視覚障害の基準は米国のものであり，良い方の目の矯正視力が0.5未満を視覚障害（ロービジョン），0.1以下を社会的失明とした。

種々の資料²⁾⁻⁴⁾の有病率をわが国の人口構成に当てはめて計算した結果，2007年の時点での本邦の視覚障害者は男性85万人，女性78万7千人，合計163万7千人程度，このうち社会的失明者は男性9万8千人，女性9万人，合計18万8千人程度と推定された。この数字は，Nakaeら²⁾の視覚障害者認定者を基にした報告よりかなり多いが，視覚障害者の手帳交付率が必ずしも高くはないこと，本稿とは異なる視覚障害の基準を用いていることなどから実態とかけ離れた推定ではないと考えている。

年齢別の視覚障害の有病率を図1に示す。視覚障害者の有病率は70歳以上で急激に高くなり，性別では男性に多いことがわかる。視覚障害の原因疾患の内訳では，緑内障，糖尿病網膜症が多く，次いで高度近視（変性近視），加齢黄斑変性，白内障と続いた（図2）。世界的には成人の失明原因の第1位はいまだに白内障であるが，日本を含めた先進諸国では白内障の手術治療が確立，普及しているために視覚障害の主要な原因とは見なされなくなってきている。しかし，白内障を含めて視覚障害の主要原因疾患は加齢性の眼疾患ばかりであり，視覚障害者は高齢者に非常に多いことに留意したい²⁾⁻⁴⁾。今後の人口構成の変化を考慮すると，当分は高齢者が増加す

国立病院機構東京医療センター 臨床研究センター視覚研究部
別刷請求先：山田 昌和 国立病院機構東京医療センター 臨床研究センター視覚研究部
〒152-8902 東京都目黒区東が丘2-5-1
(平成20年10月22日受付)

Clinical Epidemiology and Utility Analysis in Ophthalmology
Masakazu Yamada, National Institute of Sensory Organs, National Tokyo Medical Center
Key Words: clinical epidemiology, utility value, quality of life, visual impairment, ocular disease

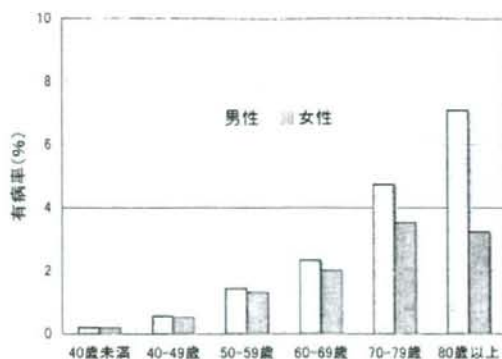


図1 本邦の視覚障害の有病率
視覚障害の有病率は70歳以上で急激に高くなり、性別では男性に多いことがわかる。

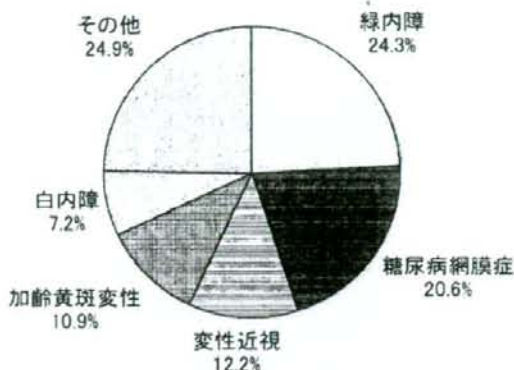


図2 視覚障害の原因疾患の内訳
緑内障、糖尿病網膜症が多く、変性近視、加齢黄斑変性、白内障と続く。主要な原因疾患はすべて加齢性疾患である。白内障の割合が小さいのは、罹患率や有病率が低いだけでなく、手術治療の普及によるものである。

るために、視覚障害者の数も増加し、2020年には200万人程度となり、2050年ごろまでは同じくらいの数で推移するものと推測される。

以上のように、視覚障害の主要原因は加齢性眼疾患であり、視覚障害者の有病率は高齢者で高いのが本邦の特徴と考えられる。今後当分の間、社会の高齢化は進むために、眼科医療の水準が現状のままであれば、視覚障害を有する高齢者の数は増加していくことが推定される。

視覚器疾患による日常生活機能の低下

高齢化社会と視覚器疾患を考える場合に、眼科医療には一般に延命効果はなく、寿命は延長しない。

しかし、外界からの情報の8割は目から入るといわれるように、高齢者の日常生活機能：quality of life (QOL) の維持には非常に重要な要素となる。また欧米では、視覚障害があると高齢者の転倒のリスクは2倍、大腿骨頭骨折のリスクが8倍に上昇するという報告があり、うつ病のリスクが3倍になって、自殺の率が上昇するという報告もみられる⁷⁸⁾。視覚障害者では介護施設の入所が3年早くなり、生活保護を受ける率が2倍になるという報告もあり、視覚障害による疾病負担が社会や経済に及ぼす影響も少なくないことが示唆される⁷⁹⁾。

このような背景から、国立病院機構の感覚器ネットワークでは白内障とドライアイを対象にした2つのコホート研究を行っている。この2つの研究では、疾患の評価項目に患者に立脚したアウトカム、つまり「疾病による生活上の困難、見にくさ、痛みがどのぐらいで、それが治療によってどのぐらい改善されるのか」という視点を取り入れており、このために日常生活機能、健康関連QOLの評価を行っている。以下、本稿では視覚障害に直結する疾患である白内障のコホート研究の概略について述べる⁸⁾。

白内障コホート研究では、60歳以上の白内障患者で、まだ白内障手術を計画していない、換言すればまだそれほど白内障が進んでいない患者を対象とした。対象とした症例は、3年間の追跡調査を行い、この期間中の眼科的検査所見の変化を調査するとともに、年に1回、対象に調査票を配布して、健康関連QOLと転倒、交通事故など健康イベントの調査を行うこととした。健康関連QOLを評価する尺度としては、SF-36の短縮版であるSF-8と視覚関連QOLの標準的評価票であるVFQ-25を用いた。これらはプロフィール型の尺度であり、いずれも日本語版が開発され、その妥当性、信頼性が検証されている¹⁰⁾⁻¹²⁾。

この研究は現在も進行中であるが、初回登録時のベースラインデータの概略を紹介した。登録された白内障症例は521例であったが、眼科的検査所見とQOL情報の両方が揃ったのは451例で、性別は男性158例、女性293例、年齢は60-92歳(平均73±7.9歳)であった。対象としたのは、まだ白内障手術を計画していない症例であるため、良い方の目の視力では1.0以上が70.1%、0.7以上が93.2%となり、ほとんどの症例で比較的良好な視力が保たれていた。

VFQ-25のスコアはサブスケールごとに0-100のスコアで表され、0が最低、100が最高である。対

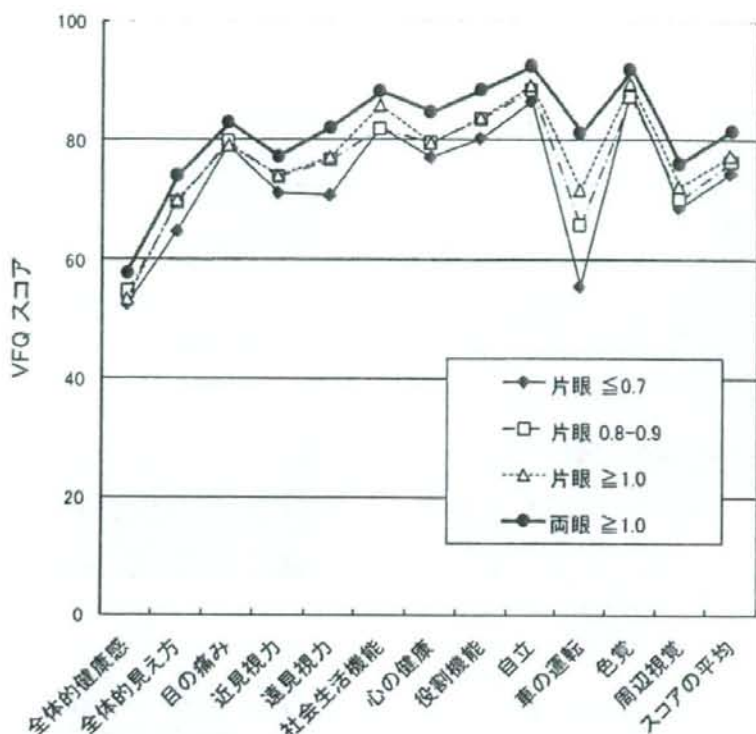


図3 白内障患者のVFQ-25スコア

VFQ-25のスコアを視力別に、良い方の目の視力が0.7以下、0.8-0.9、1.0以上、両眼とも視力が1.0以上の4つの群に分けて示す。ほとんどのサブスケールで視力の低下に応じてスコアが低下している。

象のVFQ-25スコアの平均値は一般的健康感 (general health) 以外は70から90の間で比較的良好と考えられた。しかし、VFQ-25のスコアを視力別に、良い方の目の視力が0.7以下、0.8-0.9、1.0以上、両眼とも視力が1.0以上の4つの群に分けて検討してみると、ほとんどのサブスケールで視力の低下に応じてスコアが低下することが示された(図3)。視覚関連QOLに最も影響が大きい因子は良い方の目の視力であることが報告されており、今回の結果はこのことを裏付けるものと解釈された。SF-8のスコアは、偏差値であり、日本人の標準値が50となる。今回の対象のSF-8スコアは各サブスケール、サマリスコアのいずれも45から50の間であり、著明な低下を示さなかった。

このように調査票によるQOL評価では、比較的良好な結果であったが、日常生活での不自由は決して少なくないようである。対象が高齢であることもあり、342例(77.9%)は併存全身疾患(範囲0-4、平均 1.22 ± 1.00)のために通院治療を受けており、

表1 白内障患者の併存全身疾患

342例(77.9%)は併存全身疾患があり、その数は平均 1.22 ± 1.00 であった。このうち81例(23.7%)は「目のために通院や治療に支障がある」と回答した。

高血圧	189 (43.1%)
糖尿病	103 (23.5%)
整形外科的疾患	59 (13.4%)
内分泌疾患	37 (8.4%)
消化器疾患	35 (8.0%)
心疾患(高血圧を除く)	33 (7.5%)
膠原病	21 (4.8%)
腎臓疾患	12 (2.7%)
呼吸器疾患	12 (2.7%)
その他	33 (7.5%)
併存全身疾患なし	97 (22.1%)

このうち81例(23.7%)は、「目のために通院や治療に支障がある」と回答した(表1)。また、過去1年間の転倒については、74例(16.9%)が転倒を

経験しており、このうち32例(43.2%)が転倒の誘因として目が関係していると回答した。これらの結果からは、手術をするほど進行していない白内障であっても、患者の健康状態や日常生活機能に与える影響は少ないことが示された。

本研究は、3年間の前向きコホート研究であり、経過観察中に白内障が進行してQOLスコアが下がる症例や、白内障の手術を受けてQOLスコアが向上する症例が出てくると予想される。このような症例の追跡調査をしていくことで、白内障の自然予後や医療介入の効果を検討していく予定である。

効用分析による眼科医療の評価

前述したSF-8やVFQ-25はプロフィール型と呼ばれる多次元の尺度であるが、単一の数字で疾患の重症度を表す指標として効用値がある。効用値は0から1の値をとり、1は完全な健康、0は死亡である。WHOで用いられているdisability weightsはほぼ同一の概念であるが、こちらは0が疾病負担ゼロ、1が死亡である。効用値の代表例を表2に示すが、視覚障害では、良い方の目の視力が0.05から0.3の視覚障害で0.75、白内障による両眼失明で0.51、緑内障による両眼失明で0.40という効用値が報告されている¹³⁾¹⁴⁾。

効用値は単一の指標であり、大雑把という批判もあるが、さまざまな疾患の疾病負担を領域を超えて比較でき、一目で理解しやすいという点で優れている。また、効用値を使うとQALY(quality adjusted life years)が計算できる。QALYは、効用値に生存年数(これからの余命)を掛けたものであり、医

表2 慢性全身疾患と視覚障害の効用値。

効用値は0-1で、1は完全な健康、0は死亡を表す。文献13、14を基に著者が作表。

疾患または健康状態	効用値
リウマチ	0.83-0.89
喘息(軽症)	0.94
糖尿病	0.87-0.97
脳卒中	0.74
狭心症(軽症)	0.90
心筋梗塞	0.60
視覚障害(視力0.05-0.3)	0.75
両眼失明(白内障)	0.51
両眼失明(緑内障)	0.40

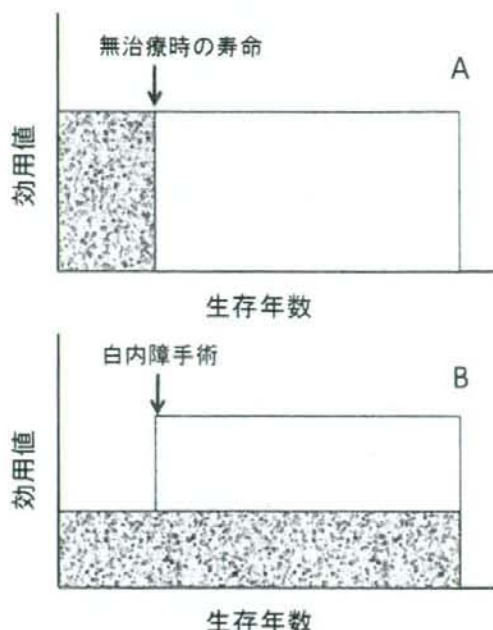


図4 寿命を延長する治療とQOLを上げる治療をQALYで比較した模式図

QALYは効用値と生存年数を積分して得られる。Aでは、寿命を延長する治療(悪性腫瘍の手術など)により生存年数が増加することでQALYが増加する。Bの白内障手術など眼科的医療介入では、効用値の増加によりQALYが増加する。

療介入の効果を評価する単位となる。たとえば、白内障で全盲状態の70歳の人(効用値0.51)が、そのまま10年生きるとすると、5.1QALYとなる(簡単のためdiscount rateは0として計算)。ところが、もしこの人が白内障手術を受けて視力が完全に回復して、効用値が1になって、10年生きるとすると10QALYになり、増加分4.9QALYが白内障手術の効用ということになる。QALYを用いると、「寿命を延長する治療」と「寿命は延長しないが、QOLを上げる治療」の比較が可能になる(図4)。

「1QALYを得るのに要するコスト」である\$/QALYという指標を用いると、医療の経済効率や費用対効果を評価することができる。\$/QALYは効用分析の主要な方法論となっており、欧米ではさまざまな領域の医療介入の\$/QALYが盛んに報告されている。\$/QALYは、費用の安い医療介入、予後の良い医療介入、小児や若年者を対象とした医療介入が有利であり、その評価にはさまざまな異論もあるが、一般的には、5万\$/QALY以内なら医療として合格点とされている。

表3 代表的な眼科的医療介入の\$/QALY

欧米で報告されている値を著者が作表、\$/QALYは医療介入の費用対効果を表す指標であり、一般的には5万\$/QALY以内なら合格点とされる。

医療介入の内容	\$/Q
未熟児網膜症 レーザー治療	688
小児の弱視治療	3032
白内障手術 1眼目	2023
白内障手術 2眼目	2727
糖尿病網膜症 定期的眼底検査	1382
糖尿病網膜症 早期硝子体手術	1910
糖尿病網膜症 レーザー治療	3655
加齢黄斑変性 サプリメント内服	40527
加齢黄斑変性 光化学療法	31103

代表的な眼疾患の医療介入の\$/QALYがどのくらいか、欧米で報告されている値を表3に示す¹⁵⁾¹⁶⁾。白内障手術あるいは糖尿病網膜症に対する治療は非常に高く評価されることがわかる。一方、加齢黄斑変性では、疾患の予後が不良であることもあって、現状では少し高い値となっている。ただし、これらも5万\$/QALY以内であり、全般的には眼科医療は\$/QALYという指標でみた場合に優等生が多いといえそうである。

本邦では、\$/QALY(円で示す場合には、円/QALYとなる)のような効用分析のデータは眼科領域で発表されていないが、現在、日本眼科学会と日本眼科医会の共同事業として白内障手術の効用分析研究が進行中である。この研究では東京医療センターをはじめとする国立病院機構感覚器ネットワークが主導的な役割を果たしており、2008年11月から12施設の実験共同研究として開始されている。

以上、本邦の眼科領域の臨床疫学、効用研究の現状について概説した。高齢化社会によって眼科領域の疾患構造の変化が生じており、加齢性眼疾患とこれによる視覚障害者は増加している。視機能の維持は、日常生活機能の維持に重要で、全身の健康維持にも関与するので、今後、眼科医療の位置は重要性が増すと考えられる。このような眼科医療の重要性を示すには、効用値や\$/QALYなど他の領域の医療介入とも比較可能な指標を用いた効用分析が必要と考えている。

【文献】

1) Roberts CB, Hiratsuka Y, Yamada M et al. The

economic cost of visual impairment in Japan. *Br J Ophthalmol* (in press)

- 2) Nakae K, Masuda K, Senoo T et al. Ageing society and Eye disease: A recent epidemiological study on underlying diseases responsible for visual impairment. *Geriatr Med* 2006; 44: 1221-4.
- 3) Iwano M, Nomura H, Ando F et al. Visual acuity in a community-dwelling Japanese population and factors associated with visual impairment. *Jpn J Ophthalmol* 2003; 48: 37-43.
- 4) Iwase A, Araie M, Tomidokoro A et al. Prevalence and causes of low vision and blindness in a Japanese adult population: the Tajimi Study. *Ophthalmology* 2006; 113: 1354-62.
- 5) Shimizu N, Nomura H, Ando F et al. Refractive errors and factors associated with myopia in an adult Japanese population. *Jpn J Ophthalmol* 2003; 47: 6-12.
- 6) Yuzawa M, Tamakoshi A, Kawamura T et al. Report on the nationwide epidemiological survey of exudative age-related macular degeneration in Japan. *Int Ophthalmol* 1997; 21: 1-3.
- 7) Taylor HR, Pezzullo ML, Keeffe JE. The economic impact and cost of visual impairment in Australia. *Br J Ophthalmol* 2006; 90: 272-5.
- 8) Taylor HR, Pezzullo ML, Nesbitt SJ et al. Costs of interventions for visual impairment. *Am J Ophthalmol* 2007; 143: 561-5.
- 9) Yamada M, Mizuno Y, Miyake Y et al. A multi-center study on health-related quality of life of cataract patients: Baseline data. *Jpn J Ophthalmol* (in press)
- 10) Fukuhara S, Bito S, Green J et al. Translation, adaptation, and validation of the SF-36 health survey for use in Japan. *J Clin Epidemiol* 1998; 51: 1037-44.
- 11) Mangione CM, Lee PP, Gutierrez PR et al. National Eye Institute visual function questionnaire field test investigators. Development of the 25-item National Eye Institute visual function questionnaire. *Arch Ophthalmol* 2001; 119: 1050-8.
- 12) Tatematsu-Ogawa Y, Yamada M, Kawashima M et al. The disease burden of keratoconus in patients' lives: comparisons to a Japanese normative sample. *Eye Contact Lens* 2008; 34: 13-6.
- 13) Brown GC. Vision and quality of life. *Trans Am*

Ophthalmol Soc 97 : 473-511.

- 14) Chia E-M, Wang JJ, Rochtchina E et al. Impact of bilateral visual impairment on health-related quality of life: the Blue Mountain eye study. Invest Ophthalmol Vis Sci 2004 ; 45 : 71- 6 .
- 15) Busbee BG, Brown MM, Brown GC et al. Cost-utility analysis of cataract surgery in the second eye. Ophthalmology 2003 ; 110 : 2310- 7 .
- 16) Ferris FL, Tielsch JM. Blindness and visual impairment : A public health issue for the future as well as today. Arch Ophthalmol 2004 ; 122 : 451- 2 .

第 111 回 日本眼科学会総会 宿題報告 II

眼の感染と免疫

拒絶反応のない理想的な角膜移植手術を目指して
—全層角膜移植から内皮細胞移植へ—

山上 聡

東京大学大学院医学系研究科角膜組織再生医療寄附講座(アルプラスト株式会社)

共同研究者

新家 眞, 天野 史郎, 臼井 智彦, 三村 達哉(東京大学大学院医学系研究科眼科・視覚矯正科)

横尾 誠一, 青山 佳世, 大沢 稔也(東京大学大学院医学系研究科角膜組織再生医療寄附講座)

上羽 信史, 松島 綱治(東京大学大学院医学系研究科分子予防医学)

林 孝彦, 田中 香純, 水木 信久(横浜市立大学医学部眼科)

海老原伸行, 村上 晶(順天堂大学医学部眼科)

諸星 計, 宮崎 大, 井上 幸次(鳥取大学医学部眼科学)

Hamrah P, Liu Y, Dana MR (Harvard Medical School)

中野 英樹(東邦大学医学部免疫学)

羽藤 晋, 山田 昌和(東京医療センター眼科)

羽室 淳爾(慶應義塾大学医学部微生物学免疫学)

山田 潤(明治鍼灸大学眼科)

後藤 晋(後藤眼科医院)

研究協力者

小杉 正明, 鈴木 洋(HOYA 株式会社)

北川 全(アルプラスト株式会社)

要 約

角膜移植術後に拒絶反応を回避することは、良好な手術結果を得るために最も重要なことである。そこで術後に拒絶反応のない角膜移植手術を目指した検討結果を、ヒト角膜に関する知見も含めて報告する。マウス全層角膜移植モデルにおける拒絶反応発生メカニズムから白血球の移動に注目し、拒絶反応発生に機能的に関与するCCR1 および CCR7 という2つのケモカインレセプターを見出した。これらは全層角膜移植後拒絶反応抑制法につながる可能性のある新しいターゲットである。正常ヒト角膜には樹状細胞、単球系細胞などの骨髄由来の白血球が構造的に存在し、これらが直接ホストのT細胞に提示されることにより抗原の直接認識にかかわる可

能性が示唆された。水疱性角膜症のホスト角膜に培養アロ角膜内皮を移植するモデルをマウスで確立した。経過観察期間中に拒絶反応は発生せず、その理由として免疫抑制や不応答ではなく、抗原の存在が認識されない免疫無視によるものと考えられた。このことは培養アロ角膜内皮移植術を臨床の場で実現すること自体が拒絶反応のない理想的な角膜移植手術により近づくことを意味すると考えられた。(日眼会誌 112: 266-278, 2008)

キーワード: 角膜移植, 拒絶反応, ケモカイン, 骨髄由来細胞, 培養アロ角膜内皮細胞移植

別刷請求先: 113-8655 東京都文京区本郷7-3-1 東京大学大学院医学系研究科角膜組織再生医療寄附講座 山上 聡
(平成19年11月15日受付, 平成19年12月21日改訂受理)

Reprint requests to: Satoru Yamagami, M.D., Ph.D. Department of Corneal Tissue Regeneration, Tokyo University Graduate School of Medicine, 7-3-1 Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8655, Japan.

(Received November 15, 2007 and accepted in revised form December 21, 2007)

A Review

Treatment Strategy for Rejection-free Corneal Transplantation
—Transition from Full-thickness Corneal Transplantation to
Corneal Endothelium Transplantation—

Satoru Yamagami

Department of Corneal Tissue Regeneration, Tokyo University Graduate School of Medicine

Abstract

The avoidance of allograft rejection is the most critical factor for favorable surgical outcome after corneal transplantation. We report experimental data including distribution of white blood cells in human corneas for rejection-free corneal transplantation. We focused on leukocyte trafficking based on the immunological mechanism leading to allograft rejection in a mouse full-thickness corneal transplantation model.

We identified two chemokine-receptors, CCR1 and CCR7 which are functionally relevant to the occurrence of allograft rejection. These chemokine receptors can be new targets for the suppression of allograft rejection after full-thickness corneal transplantation. In the human corneas, bone marrow-derived dendritic cells and monocyte-lineage cells reside constitutively in the normal epithelium and stroma, and may be associated with direct recognition of allo-antigen after corneal transplantation. We

established a mouse model in which cultured allo-corneal endothelium was transplanted onto a bullous keratopathy recipient cornea. During the follow-up period, the transplanted cultured allo-corneal endothelium did not show any sign of allograft rejection.

Our findings demonstrated that a rejection-free mechanism is due not to suppression of immunity or to lack of response, but to failure to recognize the existence of resistance. Realization of the clinical application of cultured allo-corneal endothelium transplantation may be a shortcut to ideal rejection-free corneal transplantation.

Nippon Ganka Gakkai Zasshi (J Jpn Ophthalmol Soc 112 : 266—278, 2008)

Key words : Corneal transplantation, Allograft rejection, Chemokine, Bone marrow-derived cells, Cultured allo-corneal endothelium transplantation

I 緒 言

全層角膜移植手術は約 100 年の歴史をもつ組織移植¹⁾、他の臓器、組織移植に比べ最も多く行われている移植手術である。米国で年間 45,000 件、我が国においても 2,000 件以上施行されている。米国における移植用ドナー角膜は、概ね充足しているが、それ以外の世界中の国々では深刻なドナー角膜供給不足の状態にある。移植した角膜が手術後に混濁する原因としては、術後の拒絶反応の発生による内皮細胞数の減少が最も多い²⁾。したがって、移植角膜の透明性を維持するためには拒絶反応の発生を予防することが最も重要な術後管理となる。全層角膜移植後の拒絶反応発生機序の解明は主としてマウスモデルを用いて検討されてきている^{3)~5)}。その結果として正常マウス角膜に免疫担当細胞が常に存在していること、これらの細胞が角膜移植後の免疫反応にも関与している可能性などが報告されている^{6)~8)}。しかし、ヒト角膜に関しては免疫担当細胞の存在を体系的に示す報告はなく、角膜由来の免疫担当細胞が角膜移植後拒絶反

応にかかわる可能性があるのかについても未知である。また、研究の進んでいるマウスにおいても移植後の拒絶反応抑制の決め手になる治療法は開発されていない。

全層角膜移植手術は混濁した角膜を治療する切り札として今後も広く行われる術式であることは間違いないが、臨床の場では内皮細胞数減少眼に対する全層角膜移植手術に代わる術式として、深層角膜移植手術が行われるようになってきている^{9)~12)}。この術式は内皮細胞だけが障害されている角膜に対して全層角膜移植手術を行うことで生じる術後の屈折異常の問題を大きく改善するため注目されている。しかし、乱視の大幅な軽減はなされるものの術後の矯正視力は必ずしも十分ではなく、また一眼に一つの角膜を使用するためドナー角膜の供給不足を補うものではない。これに対し実験的には、培養ヒト角膜内皮細胞を家兎の水疱性角膜症の治療などに用いる方法が報告されている^{13)~16)}。この培養ヒト角膜内皮細胞移植は、世界中のドナー角膜不足を一気に解決する可能性をもつもので、近い将来実用化するものと考えられる。しかし、角膜内皮細胞だけを移植するという新しい

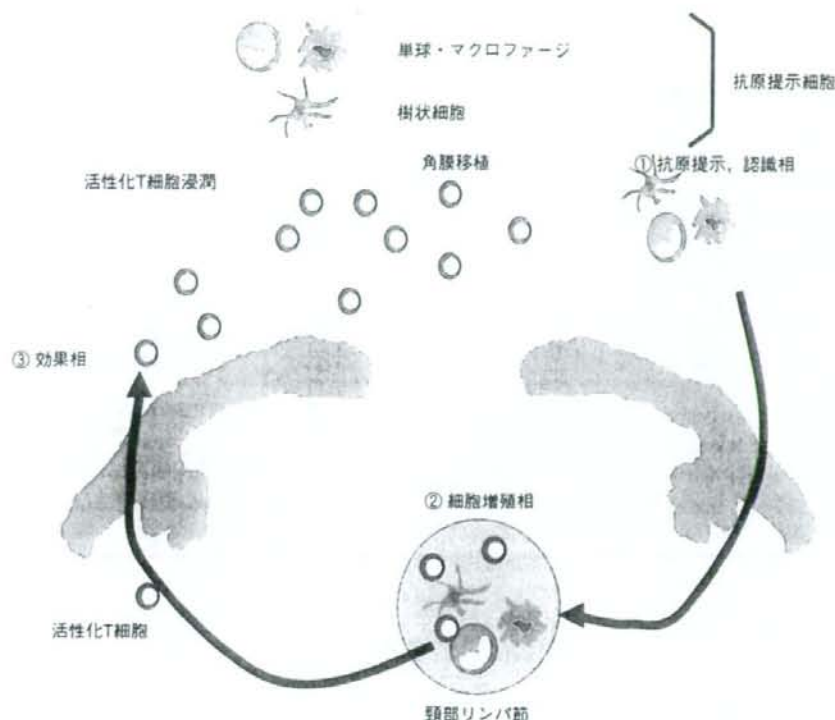


図1 拒絶反応の発生プロセス。

① 抗原提示能をもった細胞が抗原情報を頸部リンパ節に運び抗原の提示、認識が行われる抗原提示・認識相、② 抗原特異的なT細胞の増殖活性化が起きる細胞増殖相、③ 活性化したT細胞が角膜局所に浸潤して拒絶反応に導く効果相、に分けて考えることができる。

手術に伴う免疫反応についてはこれまで検討されていない。

このような状況を背景に、マウス全層角膜移植後の拒絶反応抑制法、ヒト角膜に存在する免疫担当細胞の存在と角膜移植後免疫反応にかかわる可能性、およびマウス培養アロ角膜内皮細胞移植の免疫反応の特徴について検討した。

II マウス全層角膜移植後の拒絶反応抑制法

1. 拒絶反応の発生プロセス

拒絶反応の発生プロセスは、抗原提示・認識相、細胞増殖相、効果相という3つの相に大きく分けられる(図1)。抗原提示・認識相は、樹状細胞などの抗原提示能をもつ細胞が、移植された角膜のもつ外来抗原をホストのT細胞に提示し、認識を促す過程である。抗原提示を受けて活性化した成熟樹状細胞は遊走能を獲得し、リンパ管を経てリンパ節に到達する。したがってこの反応は、一般に各所属リンパ節で行われると考えられている。細胞増殖相は、体に入った抗原にだけ反応する細胞を増やす過程である。つまり抗原の提示を受けたT細胞は、2番目のステップとして、Interleukin(IL)-2やInterferon-gamma(IFN- γ)といういわゆるヘルパーT

(Th)細胞の出すTh1サイトカインを分泌しながら、角膜移植では主として頸部リンパ節で、T細胞自身のみならず他のT細胞も活性化し、移植されたアロ抗原特異的なT細胞が増殖すると考えられる。効果相とは、ヒトの角膜移植後の拒絶反応が起き、角膜浮腫、豚脂様角膜後面沈着物、前房内細胞浸潤が起きている状態を意味する。つまり移植された角膜抗原に特異的なT細胞は、移植片局所に移動し、拒絶反応を引き起こすと考えられる。このとき角膜や前房水でも拒絶反応において重要な役割を果たしているのは、Th細胞の中のTh1と呼ばれる細胞群であり、未分化なTh0からIL-12やIFN- γ の誘導により分化し、IL-2やIFN- γ などのサイトカインを分泌し、移植された角膜を拒絶に導くと考えられる¹⁹⁾²⁰⁾。これらの反応には、角膜や前房内局所の細胞移動、角膜とリンパ節間の細胞移動、さらに全身の細胞移動が必須であると考えられるため、我々は一連の細胞移動にかかわる因子としてケモカインに着目した。

2. ケモカイン

ケモカインは、種々の原因によって引き起こされる炎症反応において、局所臓器への特異的白血球浸潤を惹起する主要決定因子である²¹⁾。そもそも白血球の浸潤なくして炎症反応は起きないことから、このケモカインの重

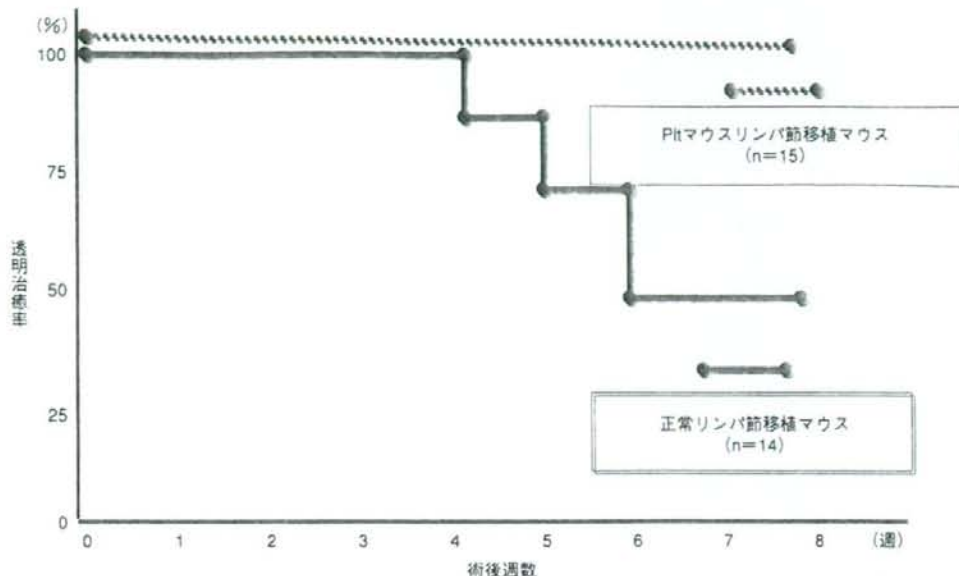


図 2 頸部リンパ節再建マウスの角膜移植後透明治癒率。

正常頸部リンパ節移植マウスをホストとしたマウスでは、通常のBALB/cマウスと同様に50%のC57BL/6マウスの角膜を拒絶したが、CCL21、CCL19機能不全のPltマウスのリンパ節移植マウスでは、拒絶反応は起きなかった。

要性は容易に理解できる。またケモカインの白血球遊走特異性が、各白血球表面上のケモカイン受容体発現レベルで決定されていることも明らかにされてきており、多くの免疫現象との密接なかかわりが検討されてきている。一方、治療という観点からは、特異的白血球浸潤を抑制する安全な方法を提供できれば、従来の薬剤とは異なる方法で多くの疾患治療が可能になると考えられる。

3. 角膜移植後の抗原提示・認識相とケモカイン

正常リンパ節にはCCL21/secondary lymphoid-tissue chemokine (SLC)やCCL19/EB11 ligand chemokine (ELC)というケモカインが発現しており、成熟樹状細胞やナイーブT細胞が発現するCCR7というレセプターをもった細胞に対する遊走因子である²²⁾。そこでこのケモカイン、ケモカインレセプターの関係が角膜移植後の抗原提示、認識相に関与しているとの仮説を立てた。過去に我々は、マウスから予め頸部リンパ節を切除するとマウス全層角膜移植モデルでは全く拒絶反応が起きなくなることを、そのマウスと同種同系マウスのリンパ節を切除直後に移植しておくこと、そのマウスは正常に拒絶反応を起こすことを報告した²⁴⁾²⁵⁾。また、Plt/pltマウス(BALB/cバックグラウンド)はCCL21/SLCやCCL19/ELCの機能不全マウスでリンパ節のホーミングや樹状細胞の局在の異常をもつマウスであることが知られていた²⁶⁾。そこでこのリンパ節移植モデルに全身のCCL21/SLCやCCL19/ELCの機能不全Plt/pltマウスのリンパ節を移植した後、全層角膜移植術を行った。結果として

対照として行った群での50%の拒絶反応発生率に対して、CCL21/SLCやCCL19/ELCの機能不全Plt/pltマウスのリンパ節を移植した群では拒絶反応が発生しなかった(図2)。このことは頸部リンパ節のCCL21/SLCやCCL19/ELCが拒絶反応発生に重要な役割を果たしていることを意味していた。

次に治療応用を目的として抗体によるブロッキングを行った。まず結膜下注射による抗体投与が頸部リンパ節へのCCR7陽性細胞の流入をブロックできるか否かの検討を行うために、全層角膜移植後0, 1, 3, 5日目に抗CCL21/SLC+CCL19/ELC抗体4 μ gまたは対照IgG4 μ gをマウスの結膜下に注射し、移植後6日目に頸部リンパ節でのCCR7 mRNAの発現量およびCCR7陽性成熟樹状細胞(CD11c⁺MHCクラスII⁺CCR7⁺細胞)数をフローサイトメーターにて比較した。図3A, Bに示すように抗体の結膜下注射により、CCR7 mRNAの発現量およびCCR7陽性成熟樹状細胞数は有意に減少していた(図3)。そこで移植後0, 1, 3, 7, 10, 14日目に抗体を結膜下注射により投与し臨床経過を比較した。術後8週目に対照抗体投与群で40%(n=15)であった拒絶反応非発生率は、抗CCL21+CCL19抗体投与群で83%(n=18)に有意に上昇した。これらの結果は、CCL21/SLCやCCL19/ELCが角膜移植後拒絶反応発生に重要な役割を果たしており、新たな治療のターゲットとなる可能性があることを示している。さらに、ブロッキング抗体の結膜下注射で頸部リンパ節のCCR7陽性

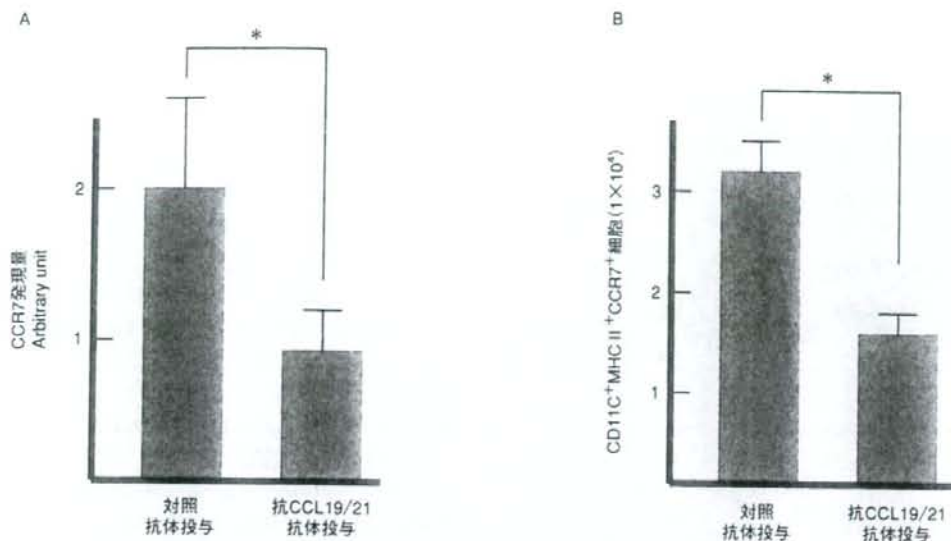


図3 頸部リンパ節のCCR7 mRNA発現量とCCR7陽性成熟樹状細胞数。

全層角膜移植後に抗CCL21+CCL19抗体投与群、対照抗体投与群での頸部リンパ節のCCR7 mRNA発現量とCCR7陽性成熟樹状細胞数を比較した。A:半定量的polymerase chain reaction(PCR)法で比較した。頸部リンパ節におけるCCR7 mRNA発現量は、抗CCL21+CCL19抗体投与群で対照抗体投与群に比し有意に減少した。B:フローサイトメーターによりCCR7陽性成熟樹状細胞(CD11c⁺MHCクラスII⁺CCR7⁺細胞)数を比較した。頸部リンパ節におけるCCR7陽性成熟樹状細胞数は、抗CCL21+CCL19抗体投与群で対照抗体投与群に比し有意に減少した。*: $p < 0.01$ 。

細胞数を減少させ、拒絶反応を抑制できたという事実は、結膜下注射という投与方法が頸部リンパ節に対する薬剤投与方法として治療効果をもつということも意味している。頸部リンパ節の切除で角膜移植後の拒絶反応が全く起きないことから明らかなように^{19),20)}、所属リンパ節である頸部リンパ節が拒絶に導く中心的な役割を果たしていることは間違いない。これまで一般に結膜下注射という投与方法は眼局所の薬剤濃度を上げるために用いられているが、所属リンパ節に対する薬剤投与方法としても有用であると考えられた。

4. 角膜移植後の効果相とケモカイン

次に拒絶反応発生の効果相、すなわち拒絶反応発生時に着目した検討を行った。まず効果相において重要なケモカインレセプターを決定するため、以下の4群の眼球で発現量の多いケモカインレセプターを決定した。ホストはC57BL/6、グラフトはBALB/cを用いて、手術後は同種異系移植群で約半数が拒絶される術後3.5週目に摘出した。

- ① 正常マウス眼
- ② 同種同系角膜移植後マウス眼
- ③ 同種異系角膜移植後の移植片生着眼
- ④ 同種異系角膜移植後の移植片拒絶眼

結果として図4に示すように同種異系角膜移植後の移植片拒絶眼においてのみ、CCR1 mRNA、CCR2 mRNAおよびCCR5 mRNAが過剰発現していた²⁷⁾。そこで機

能的に重要なケモカインレセプターを決定するためにCCR1、CCR2およびCCR5ノックアウトマウスをホストとする全層角膜移植術を行った。結果としてCCR1ノックアウトマウスをホストとした全層角膜移植の生着率は、60%($n=10$)で対照の20%($n=10$)に比し有意に高かった²⁷⁾。このCCR1ノックアウトマウスでは対照マウスに比べて、CD3陽性T細胞の浸潤が少なく(術後12日目)、角膜におけるTh1サイトカイン(IL-2、IFN- γ)のmRNA発現レベルが低かった。角膜移植後の細胞性免疫反応では、細胞障害性T細胞反応より遅延型過敏反応が重要であるため²⁸⁾遅延型過敏反応を検討したところ低値を示した²⁷⁾。以上のことからCCR1というケモカインレセプターは、全層角膜移植後拒絶反応発生に機能的にかかわることが明らかとなった。

次に治療応用が可能かどうかを検討するためにCCR1アンタゴニスト(A4B7、Novartis社)の経口投与(30mg/kg 術後毎日1日2回投与)を行って移植角膜の生着率を検討した(ホスト:C57BL/6マウス、グラフト: BALB/cマウス)。基剤投与群で17%($n=6$)であった生着率が、CCR1アンタゴニスト投与によって52%($n=27$)と有意に高い生着率であった(未発表データ)。この結果からCCR1が全層角膜移植術後拒絶反応抑制の治療のターゲットとなりうるものと考えられた。本研究は効果相に発現するケモカインレセプターから重要な因子の絞り込みを行ったものであるが、CCR1陽性樹状細胞