

201024237A

厚生労働科学研究費補助金
難治性疾患克服研究事業

Fuchs 角膜内皮変性症および
関連疾患に関する調査研究

平成22年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 坪田 一男

平成 23(2011)年 3 月

目 次

I. 総括研究報告書	
Fuchs角膜内皮変性症および関連疾患に関する調査研究	1
坪田一男	
II. 分担研究報告書	
1. 東京歯科大学市川総合病院眼科における	
Fuchs角膜内皮変性症および関連疾患に関する研究	11
島崎潤	
2. Fuchs角膜内皮変性症における	
角膜内皮密度および角膜厚の調査	14
天野史郎	
3. 偽落屑症候群関連角膜内皮障害の研究	16
大橋裕一	
4. Fuchs角膜内皮変性症および関連疾患に対する	
角膜内皮移植の有効性の検討	18
稲富勉	
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	21
IV. 研究成果の刊行物・別刷	29

厚生労働科学研究費補助金(難治性疾患克服研究事業)

総括研究報告書

Fuchs 角膜内皮変性症および関連疾患に関する調査研究

研究代表者 坪田一男 慶應義塾大学医学部眼科学教室教授

研究要旨：Fuchs 角膜内皮変性症（以下 F 症）は滴状角膜という特徴的所見を呈し、進行性に内皮細胞数の減少をきたし、加齢とともに水疱性角膜症に進行する失明原因疾患である。現在のところ F 症の原因は特定されておらず、視力を回復するには角膜移植手術以外に方法はない。F 症の実態把握と診断基準の作定を目的として、平成 21 年度から行っている本研究参加施設によるレトロスペクティブな臨床調査から得た結果を、数理的モデルを用いて統計的に解析することで、滴状角膜を有する症例の年齢と角膜内皮細胞数のデータから F 症発症の予後を予測できる新たな重症度判定基準の作成を達成できた。F 症を含めた内皮細胞減少症例の臨床調査により、F 症新分類のうち pre-FCD の白内障手術ストレスに対する内皮細胞減少率は、他の内皮細胞減少症例と比較すると、むしろ水疱性角膜症への移行率が低く、眼圧、眼軸長、糖尿病等の因子が内皮細胞減少症例の白内障術後内皮細胞減少率と相関することを見出した。

研究分担者氏名・所属研究機関名
及び所属研究機関における職名

坪田一男	慶應義塾大学医学部眼科	教授
榛村重人	慶應義塾大学医学部眼科	准教授
西脇祐司	慶應義塾大学医学部衛生学 学公衆衛生学	専任講師
稲富 勉	京都府立医科大学眼科	専任講師
島崎 潤	東京歯科大学眼科	教授
大橋裕一	愛媛大学医学部眼科	教授
杉山和久	金沢大学医学部眼科	教授
天野史郎	東京大学医学部付属病院 角膜移植部	教授

A. 研究目的

Fuchs 角膜内皮変性症（以下 F 症）は滴状角膜という特徴的所見を有し、原発性に角膜内皮が障害され、進行性に内皮細胞数の減少をきたす疾患である。正常人でも角膜内皮は老化とともに

に漸減していき、ヒトの老化を反映する数少ない指標の一つと考えられるが、F 症では内皮細胞数の異常減少とともに細胞の形態異常も伴い、進行すると水疱性角膜症となり視力は手動弁ないし光覚弁にまで低下する。現在のところ F 症の原因は特定されておらず、その根本的な治療は開発されておらず、進行をくいとする治療や予防法も開発されていない。水疱性角膜症に進行すると視力回復には角膜移植以外に方法はなく、水疱性角膜症は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。F 症には民族差があり、白人に多く日本では稀とされるが、現在でも本邦の実態はまだよくわかっておらず、本邦でも欧米でも明確な診断基準が定まっていない。角膜移植適応例の約半数を角膜内皮代償不全による水疱性角膜症が占めるが、

そのうちにはF症と診断されず見過ごされている症例が含まれている可能性がある。平成21年度から本研究班は、本邦でのF症の実態把握と診断基準の作定を目標として、本研究参加施設によるレトロスペクティブな臨床調査を行っている。昨年度までに本研究班はF症のhospital baseでの有病率、角膜移植適応症例のうちF症の占める割合、角膜内皮移植によるF症の治療成績、F症の診断基準についての成果を報告した。本年度はさらに臨床研究をすすめる、数理的・統計的解析から滴状角膜を有する症例の重症度分類を作成し、その新分類におけるpre-FCD症例の白内障手術ストレス耐性についての臨床研究を行ったので報告する。また、角膜内皮細胞のストレスに対する代償機構についての基礎研究の成果についても報告する。

B. 研究方法

①重症度分類作成法

平成21年度から、参加施設においてF症のおおよその有病率と実態把握のための臨床調査を開始した。各施設の眼科外来で角膜内皮細胞検査を受けた全症例のデータを集計し、角膜内皮細胞所見と臨床所見を関連付けた以下の重症度分類を設け、抽出した症例を分類した。

重症度分類

stage 0: 滴状角膜なし (正常群)。

Stage 1: 角膜内皮検査で滴状角膜があるが、角膜浮腫がないもの。

Stage 2: 滴状角膜があり、角膜浮腫が軽度～中等度認められるもの。

Stage 3: 滴状角膜があり、角膜浮腫が高度に認められるもの。

この分類で角膜内皮細胞数と年齢との散布図を作成し、これをノンパラメトリック密度解析することで分布を視覚化した。これに以下でも

とめられる内皮細胞減少曲線をあてはめた。

<数理的角膜内皮細胞減少曲線モデル>

ヒトの角膜内皮細胞密度は出生～2歳ごろまでは、内皮細胞の自然減よりもむしろ眼球の急激な発育の影響で急激に減少していくが、5歳ごろ以降は発育の影響はほとんどなくなる。5歳以降の内皮細胞の自然減による減少率を定数-Mと仮定し、5歳時の内皮細胞数をNucciらの報告から3,600 cells/mm²と仮定すると次の微分方程式が成立する。

(t: 5歳～現在までの年数、N_(t): 年数tでの内皮細胞数)

$$dN_{(t)}/dt = -M \cdot N_{(t)}$$

$$N_{(0)} = 3600$$

この微分方程式の解より、

$$N_{(t)} = 3600e^{(-M \cdot t)}$$

が成立する。このモデルを用いれば、年齢と現在の内皮細胞密度から理論上の内皮細胞数減少率が逆算できる。

②内皮細胞減少症例に対する白内障手術の影響についての臨床研究

東京歯科大学市川総合病院で白内障手術を施行した、術前角膜内皮細胞密度が1000 cells/mm²未満であった50例62眼(後述する新重症度分類におけるpre-FCD症例20眼を含む)について、白内障手術による手術前後の角膜内皮細胞密度減少率と水疱性角膜症の発症率を調査した。

③角膜内皮細胞ポンプ機能のインスリンホルモンによる影響の基礎研究

F症のように内皮細胞が減少していく局面では、その代償として角膜内皮Na, K-ATPase活性が亢進し角膜浮腫への移行を抑制していると考えられる。その代償機転のひとつとして、インスリンホルモンによる作用に注目し、マウス角膜

内皮細胞を用いたインスリンによるNa, K-ATPase活性への影響を検討した。

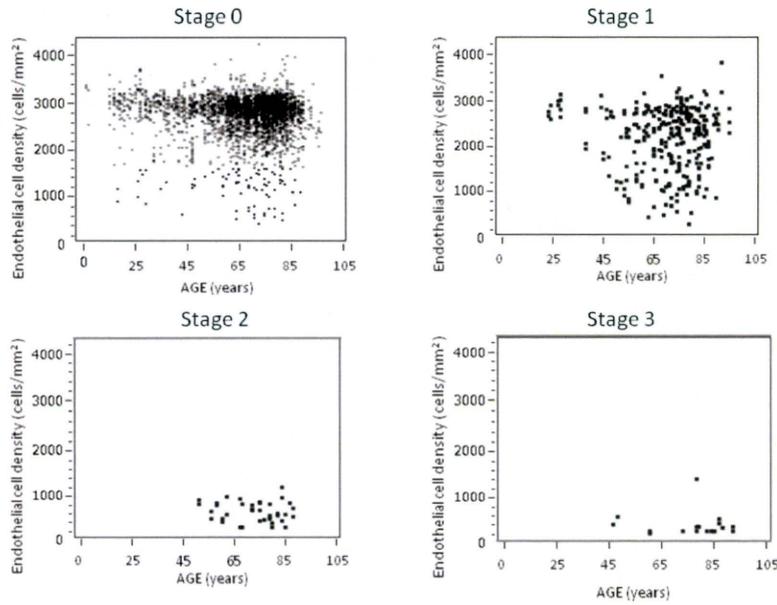
(倫理面への配慮)

本研究はヘルシンキ宣言(2000年改訂)の趣旨を尊重し、医の倫理に十分に配慮して行った。また、厚生労働省による臨床研究に関する倫理指針(2003年)および疫学研究に関する倫理指針(2007年)にもとづいて研究計画は慶應義塾大学倫理委員会の承認を得た。また、個人を識別できる直接的、間接的な情報については、学会発表、論文を含め一切公表しない。個人情報管理者は研究分担者以外の大学専任教員を任命した。

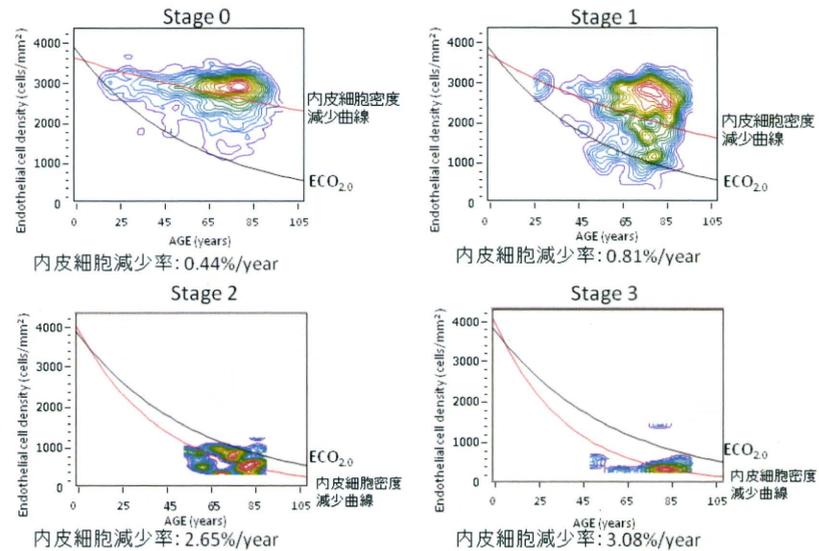
C. 研究結果

①計1971症例3281眼につき解析を行った。stage 0-3の症例の年齢と角膜内皮細胞密度(Endothelial cell density; ECD)との関係を図1に示す。図1Aは散布図、図1Bは散布図にノンパラメトリック密度解析を加えた密度分布線である。この図に我々の内皮細胞減少曲線モデルを

図1 各Stageにおける年齢と角膜内皮細胞密度との関係
A: 散布図



B: ノンパラメトリック密度分布と内皮細胞密度減少曲線—



減少率2.0%のカーブ($ECO_{2.0}$: ECD cut off 2.0%)はstage 0, 1とstage 2, 3との間の、密度分布の谷を通る境界線になる。

あてはめると、各stageの内皮細胞減少率は、stage 0: 0.44%、stage 1: 0.81%、stage 2: 2.65%、stage 3: 3.08%であった。これまで報告された正常人の内皮細胞減少率は0.3-1.0%であり、Stage 0の内皮細胞減少率は正常人と同等とみなせると考えられる。このことは我々の数理モデルの妥当性を示唆するものといえるが、さらに統計的に妥当性を検討した結果を

表1に示す。Stage 0-4の各群において導出した内皮細胞減少曲線に関する分散分析を行ったところ、各stage全てで有意な回帰効果 (regression effect) を示した。すなわち導出した内皮細胞減少曲線は年齢から内皮細胞密度を予測するのに有効な正確性を持つことが示された。

表1 各stageにおける内皮細胞減少曲線の回帰効果 (分散分析)

stage	F rate	Prob > F
stage 0	4180.83	<0.0001
stage 1	486.19	<0.0001
stage 2	561.17	<0.0001
stage 3	423.97	<0.0001

内皮細胞減少率2.0%の減少曲線 (ECD cut off; $ECO_{2.0}$)をひくと、stage 0、1はこの曲線の上側に、stage 2、3は下側に位置し、この減少曲線 $ECO_{2.0}$ はstage 0、1とstage 2、3を区別する、すなわち角膜浮腫のある症例とない症例を区別する診断曲線となることがわかる。この新たな診断曲線を用いて、角膜浮腫を認めない症例と、角膜浮腫を認める症例とで分類した臨床上的分類と、新たな基準線による判定結果との関係を表2に示す。この基準線による判定は感度93.75%、特異度96.21%であり、診断基準として妥当であることが示された。

表2 角膜浮腫なし(stage 0+1)と有り(stage 2+3)による臨床分類と、基準線 $ECO_{2.0}$ による分類の判定結果

clinical stage	classification based on $ECO_{2.0}$		total
	below $ECO_{2.0}$	above $ECO_{2.0}$	
stage 2+3	60	4	64
stage 0+1	122	3095	3217
total	182	3099	3281

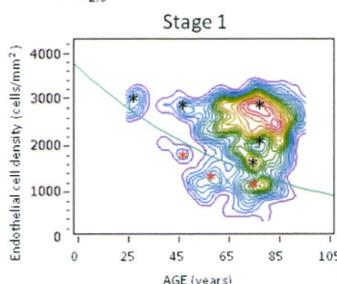
sensitivity (%)	93.75
specificity (%)	96.21

Stage 1の分布はいくつかのピーク群から構成されていることが分かるが、内皮細胞減少率1.4%の減少曲線 ($ECO_{1.4}$)をひくと、ちょうどこのピーク群の谷間を通過することがわかる (図2)。すなわちstage 1の症例群は $ECO_{1.4}$ の上に位置するグループと下に位置するグループに新たに分けることができる。この $ECO_{1.4}$ より上側に位置するグループでの内皮細胞

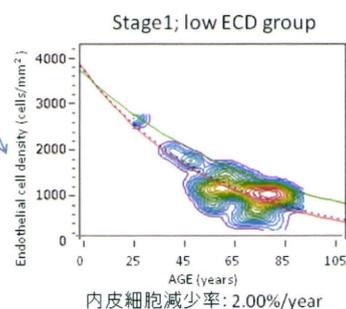
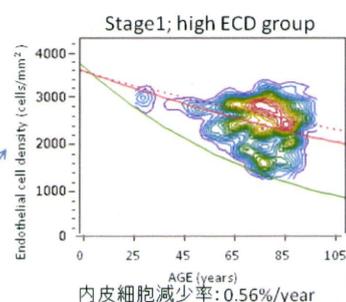
図2

Stage 1における年齢と角膜内皮細胞密度のノンパラメトリック密度分布

- $ECO_{1.4}$
- 各群の内皮細胞減少曲線
- Stage 0の内皮細胞減少曲線
- $ECO_{2.0}$



密度分布のピークは減少率1.4%のカーブ ($ECO_{1.4}$; ECD cut off 1.4%)により上部と下部に分けられる。



胞減少率は0.56%で、これはstage0の減少率0.44%にかなり近い値となっており、この群の減少率はほぼ正常とみなすことができる。一方、緑線より下の群は減少率がちょうど2.0%で、さきほどの分類で用いたECO_{2.0}とちょうど一致した。この2.0%より下の部分はstage2や3と同程度の内皮細胞減少率であるため、この区域の群は将来的に角膜浮腫がきてもおかしくないといえる。

以上より、ECO_{1.4}とECO_{2.0}の減少曲線を持ちいて、guttataの症例を3群にわけると分類法を新たに提唱することができる(図3)。上から

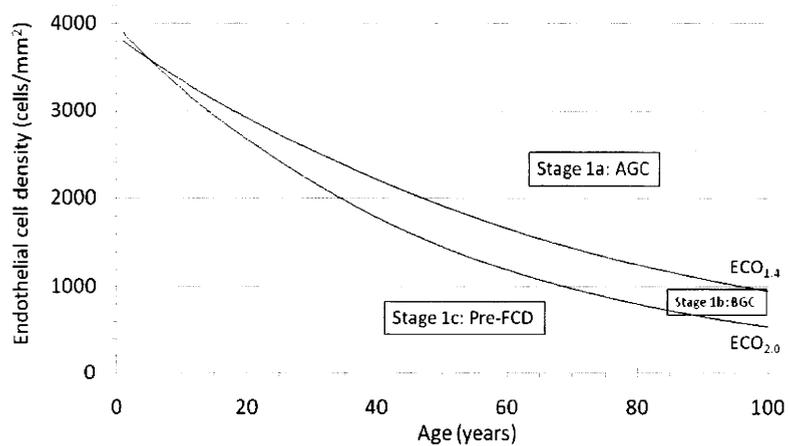
stage 1a: asymptomatic guttata cornea (AGC),

stage 1b: borderline guttata cornea (BGC),

stage 1c: pre-Fuchs corneal dystrophy (pre-FCD)

と命名した。AGCでは1.4%減少曲線より上方に位置し、stage0と同程度に低い内皮細胞減少率で、将来角膜浮腫をきたす可能性は低い、一方pre-FCDは2.0%減少曲線より下方に位置し、stage2, 3と同程度に高い減少率で、将来角膜浮腫をきたす可能性は高い。BGCはその境界域といえることができる。これら各stageにおける減少率の差が何の要素に起因するかはまだ解明されていないが、F症の病態をさぐるうえでは、従来のように正常眼とF症眼とを比較検討するだけでなく、この分類でAGCとpre-FCDを比較検討

図3 ECO_{1.4}とECO_{2.0}を基準とした、新たな診断基準



Age (years)	20	30	40	50	60	70	80	90
ECO _{1.4}	2918	2537	2205	1917	1667	1449	1260	1095
ECO _{2.0}	2667	2184	1788	1464	1198	981	803	658

することが病態解明の手掛かりになると考えられる。

②あらたに作成した上記の重症度分類のうち、pre-FCDは自然経過では将来角膜浮腫に至る可能性があることを示した。それでは、F症とは別の原因で内皮細胞が減少した症例と、pre-FCDとでは、手術などの外的なストレスが加わったときにどちらが悪化しやすく角膜浮腫に至りやすいであろうか。そこで、白内障手術による手術前後の角膜内皮細胞密度減少率と水疱性角膜症の発症率を調査した。表3にその結果を示す。興味深いことに、pre-FCDは、他の内皮細胞減少症例と比較すると、白内障術後の内

表3 Pre-FCDと、その他の内皮細胞減少症例における、白内障術後の内皮細胞減少率と、水疱性角膜症移行率*

	Pre-Fuchs Dystrophy	After laser iridotomy	After keratoplasty
Patients	20	17	10
Age	73.4±8.1	66.8±6.1	72.3±13.2
DM present	0	3	2
HT present	12	2	2
Mean Percentage of endothelial Cell Loss	13.5±14.3	13.4±33.2	3.1±25.0
Patients with Bullous Keratopathy	0	3	2

Pre-FCDは他の内皮細胞減少症例と比較し、白内障術後の内皮細胞減少率は同程度で、術後の水疱性角膜症への移行率はむしろ低い傾向にある。

*東京歯科大・山添先生が発表されたデータから作成したもの。

皮細胞減少率は同程度で、術後の水疱性角膜症への移行率はむしろ低い傾向にあった。この結果は、F症では角膜内皮細胞減少に対し、なんらかの代償作用が働いている可能性を示唆すると考えられる。

③角膜内皮減少に対する代償機転の一つとして、インスリンによる角膜内皮Na, K-ATPase

活性への影響を、マウス角膜内皮細胞に対する基礎実験により検討した。インスリン投与により角膜内皮Na, K-ATPase酵素活性およびポンプ機能により生じるshort circuit currentは亢進する(図4)。この代償作用はインスリン刺激による細胞内PKC活性上昇を介していると思われ、PKC阻害剤によりこのa, K-ATPase活性亢進は抑制された。角膜内皮Na, K-ATPaseの細胞膜での発現を免疫染色で確認すると、インスリンを投与することで

細胞膜でのNa, K-ATPase発現が増え、PKC阻害剤を加えるとこれが抑制されることが示された(図5)。研究協力施設の東京歯科大学眼科学教室も、眼圧、眼軸長とともに、糖尿病が内皮細胞減少症例の白内障術後内皮細胞減少率と相関すること(山添克弥ら.2010.臨床眼科学会)を報告しており、われわれが基礎研究で明らかにしたインスリンによる効果との関連性が考えられた。

図4 インスリンの濃度と角膜内皮Na,K-ATPase活性の関係

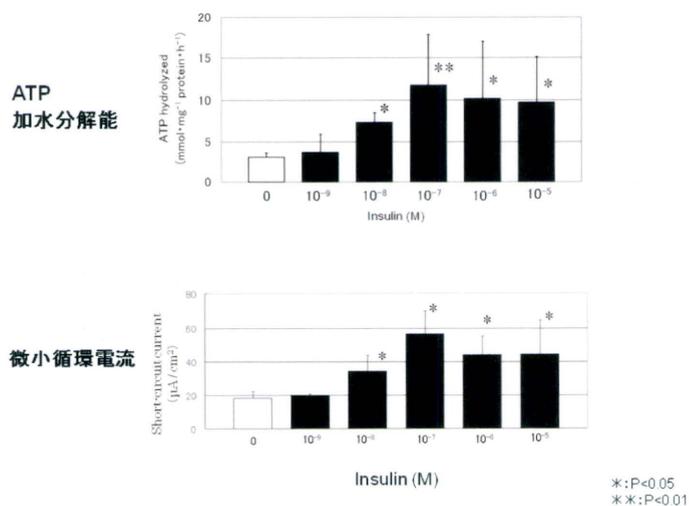
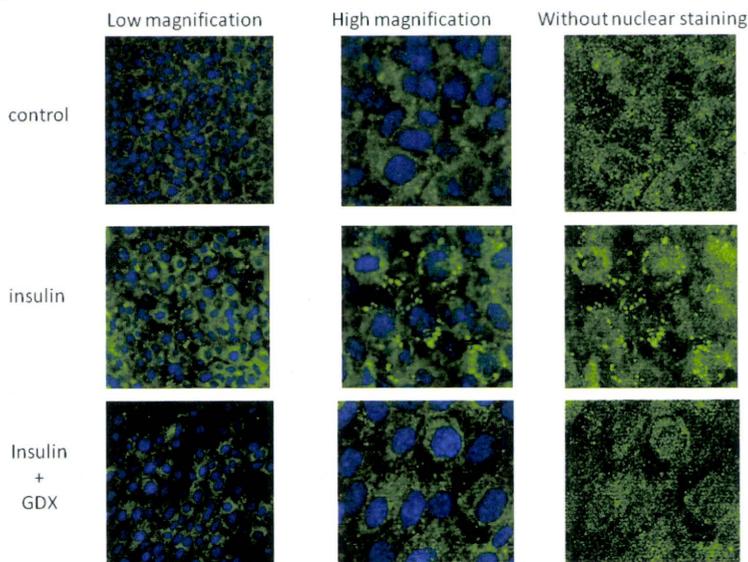


図5 インスリンによるNa,K ATPase α₁-subunitの角膜内皮細胞膜での発現増加



D. 考察

本年度の成果として、昨年度の診断基準作成にひきつづき、今年度は新たに、F症に特徴的な滴状角膜のみられる症例を、AGC、BGC、pre-FCDの3群に分ける新規重症度分類を作成し、研究計画の一番の目標であった「重症度分類の作成」をほぼ達成することができた。F症の重症度判定基準を明確に作成できたことは学術的・国際的に非常に意義のある結果であるだけでなく、この重症度判定を用いれば滴状角膜症例の予後予測に有用な情報が得られる

ことが期待され、患者にとっても有意義な成果であると考えられる。今後はまず第一に学会発表や論文発表を通じて、この重症度判定の学術的認知度を高め、医療機関での普及につとめる努力が必要となる。

厚生労働省社会援護局発表の平成18年身体障害児・者実態調査結果によると、本邦の角膜疾患による身体障害者は19,000人である(厚生労働省ホームページより)。一方、本邦の提供眼球数は年間約1500眼程度で全く不足していることを考えると、少ない供給の角膜をいかに適切に患者に提供し、患者の角膜移植治療のニーズに対し答えていくかが喫緊の課題であり、そのためにF症に限らず全ての角膜疾患において重症度分類は大きな社会的意義をもっている。その意味で今回の成果は大きな社会的意義を達成し、また達成しつつあるといえる。F症の治療については本研究により角膜内皮移植の有効性が示されており、今後は角膜内皮移植適応および全層角膜移植適応と、今回定めた重症度分類との相関を臨床調査し、この重症度診断が予後予測だけでなく治療適応の決定にまで有用であるかどうかを検討しておく必要がある。

F症新重症度分類のうちpre-FCDの白内障手術ストレスに対する内皮細胞減少率は、他の内皮細胞減少症例と比較すると、むしろ水疱性角膜症への移行率が低く、眼圧、眼軸長、糖尿病等の因子が内皮細胞減少症例の白内障術後内皮細胞減少率と相関することも明らかとなった。本研究班の、「各危険因子とF症との相関、新たに定めた重症度分類との相関について統計学的手法を用いて解析する」目標も順調に解明を進めてきた。この成果は、F症では角膜内皮細胞減少に対し、なんらかの代償作用が働いている可能性を示唆する。平成23年度は、新分類のうちAGC、BGCについても疫学調査を進め、ひきつづき疫学的病態解明を行っていく

予定である。

F症の内皮細胞機能の代償作用として可能性のあるのは角膜内皮細胞ポンプ機能活性化機序であり、過去にもごく初期の滴状角膜症例では、角膜内皮ポンプ機能を司るNa,K-ATPaseの細胞壁での局在量が増えていることが報告されている(Georski D, et al. *Ophthalmology*. 1985)。この代償作用の具体的な機序については解明されていなかったが、本研究班の基礎部門ではinsulin signalはNa,K-ATPaseの細胞壁での局在量を増加させ、角膜内皮ポンプ機能を短期的に活性化させる効果があることを解明した(Hatou, S. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2010)。疫学的研究成果と基礎的研究成果を相補的に関連させF症を解明するという目標を順調に達成しており、今後はこの成果をF症の内皮ポンプ機能代償作用の解明に生かし、代償作用を利用した治療法・予防法の開発に応用させる予定である。

E. 結論

平成22年度に計1971症例3281眼の角膜内皮細胞検査結果から集計した年齢とF症の各病期の角膜内皮細胞数の関係から、滴状角膜のみられる症例を、AGC、BGC、pre-FCDの3群に分ける新規重症度分類を作成した。今後は角膜内皮移植適応および全層角膜移植適応と新重症度分類との相関を検証し、重症度分類が手術術式の決定にも有用であるか検討する必要がある。角膜内皮減少のリスクファクターとして、眼圧、眼軸長、糖尿病等が関与している可能性が示唆された。Insulinによる角膜内皮Na,K-ATPase活性化に関する基礎研究の成果は、リスクファクターとしての糖尿病の基礎的裏付けになりうる可能性がある。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Hatou S, Yamada M, Akune Y, Mochizuki H, Shiraishi A, Joko T, Nishida T, Tsubota K. Role of insulin in Regulation of Na⁺/K⁺-Dependent ATPase Activity and Pump Function in Corneal Endothelial Cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2010 Aug;51(8):3935-42.
2. Mochizuki H, Fukui M, Hatou S, Yamada M, Tsubota K. Evaluation of ocular surface glycocalyx using lectin-conjugated fluorescein. *Clin Ophthalmol*. 2010 Aug; 19;4:925-30.
3. Yamaguchi T, Negishi K, Yamaguchi K, Dogru M, Uchino Y, Shimmura S, Tsubota K. Comparison of anterior and posterior corneal surface irregularity in Descemet's stripping automated endothelial keratoplasty and penetrating keratoplasty. *Cornea*. 2010 Oct;29(10):1086-90
4. Kubota M, Shimmura S, Miyashita H, Kawashima M, Kawakita T, Tsubota K. The anti-oxidative role of ABCG2 in corneal epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010 Nov;51:5617-5622.
5. Omoto M, Shimmura S, Hatou S, Ichihashi Y, Kawakita T, Tsubota K. Simultaneous deep anterior lamellar keratoplasty and limbal allograft in bilateral limbal stem cell deficiency. *Jpn J Ophthalmol* 2010;54:537-543.
6. Kawashima M, Kawakita T, Higa K, Satake Y, Omoto M, Tsubota K,

- Shimmura S, Shimazaki J. Subepithelial corneal fibrosis partially due to epithelial-mesenchymal transition of ocular surface epithelium. *Molecular Vision* 2010; 16:2727-2732.
 7. Tsubota K. Anti-aging in ophthalmology. *Ophthalmic Res*. 2010;44(3):145.
 8. 榛村重人. 眼科医のための先端医療 眼表面疾患と上皮間葉系移行の関与. あたらしい眼科 27:63-64,2010.
 9. 坪田一男, 羽藤 晋. 角膜の障害と角膜の再生医療. 学術の動向 15(7),2010.
 10. 羽藤 晋, 坪田一男. 再生医学シリーズ [44]. 角膜再生の現状と課題 2010.17 (1):51-60.
 11. 羽藤 晋, 川北哲也. スペキュラーマイクロコピー 眼科画像診断—最近の進歩—. 眼科.52 臨(10):1292-1296,2010.
 12. 山口剛史. 角膜移植後の白内障手術. IOL &RS 24:385-390, 2010.
 13. 結城賢弥, 坪田一男. 酸化ストレスと老化. BIO Clinica25:106-108, 2010.
 14. 井手 武, 坪田一男. 各種疾患のアンチエイジング療法 白内障. 臨牀と研究 87(4)41-44, 2010.
2. 学会発表
- World Cornea Congress VI. Boston, MA, USA, 2010/4/7-4/9
1. Yamaguchi T, Satake Y, Den S, Konomi K, Shimazaki J. Alteration in disc diameter after descemet-stripping automated endothelial keratoplasty. Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO) Annual Meeting. Fort Lauderdale, FL, USA, 2010/5/2-5/6

2. Kawakita T, Shimmura S, Okada N, Yoshida S, Kawasaki S, Tsubota K. Epigenetic regulation of cytokeratin 12 and pax6 expression in mouse corneal epithelial cells.
3. Kubota M, Kurihara T, Kubota S, Usui T, Ishida S, Kawakita T, Tsubota K, Shimmura S. Superoxide dismutase-1 regulates corneal neovascularization in mice.
4. Miyashita H, Shimmura S, Tsubota K. Effect of hypoxia inducible factor 2 alpha on the proliferation of human corneal epithelial cells in vitro.

**International Society for Eye Research.
Montreal, Canada, 2010/7/18-7/23**

5. Hatou S, Dogru M, Sato E, Ibrahim O, Wakamatsu T, Matsumoto Y, Kawakita T, Shimmura S, Negishi K, Tsubota K. The application of in vivo confocal scanning laser microscopy in the diagnosis and evaluation of treatment responses in Mooren's ulcer.

**The 2nd Asia Cornea Society Biennial Scientific Meeting. Kyoto, Japan
2010/12/1-12/3**

6. Shin Hatou, Shigeto Shimmura, Jun Shimazaki, Tomohiko Usui, Shiro Amano, Hideaki Yokogawa, Akira Kobayashi, Atsushi Shiraishi, Yuichi Ohashi, Tsutomu Inatomi, Shigeru Kinoshita, Kazuo Tsubota. Asymptomatic guttata cornea (AGC) may not develop to Fuchs' corneal dystrophy.
7. Kubota M, Shimmura S, Kubota S,

Miyashita H, Tsubota K. Hydrogen rescues oxidative stress-induced angiogenesis in a mouse corneal alkali-burn model.

8. Miyashita H, Shimmura S, Kubota M, Tsubota K. HIF2A/EPAS1 mediates cell cycle progression of human corneal epithelial cells independent of oxygen concentration.
9. Yamaguchi T, Ichihashi Y, Omoto M, Shimmura M, Den S, Konomi K, Satake Y, Tsubota K, Shimazaki J. Early surgical results of Descemet's stripping automated endothelial keratoplasty in cases of atypical causes of bullous keratopathy.

**The 15th Annual Meeting of Kyoto Cornea Club. Kyoto Japan,
2010/12/3-12/4**

10. Shin Hatou. Hormonal Regulation of Na⁺/K⁺-Dependent ATPase Activity and Pump Function in Corneal Endothelial Cells.

**第 64 回日本臨床眼科学会. 神戸市.
2010. 11. 12.**

11. 羽藤 晋、榛村重人、白井智彦、天野史郎、島崎潤、横川英明、小林顕、稲富勉、木下茂、白石敦、大橋裕一、坪田一男. Fuchs 角膜内皮変性症と非症候性滴状角膜との診断基準の作成.

**第 35 回日本角膜学会総会. 東京都.
2011.2.19.**

12. 羽藤 晋、吉田悟、比嘉一成、宮下英之、坪田一男、榛村重人. 角膜実質幹細胞から角膜内皮細胞への分化誘導.

角膜内皮細胞への分化誘導.

第 10 回日本再生医療学会総会. 東京都.

2011.3.2.

13. 羽藤 晋、吉田悟、比嘉一成、宮下英之、
坪田一男、榛村重人. 角膜実質幹細胞から

H. 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む。)

特になし。

分担研究報告書

<分担研究報告書>

厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業
Fuchs 角膜内皮変性症および関連疾患に関する調査研究
分担研究報告書

東京歯科大学市川総合病院眼科における Fuchs 角膜内皮変性症
および関連疾患に関する研究

研究分担者 島崎 潤 東京歯科大学市川総合病院眼科 教授

研究要旨：Fuchs 角膜変性症（F 症）は進行性に加齢とともに内皮細胞数が減少し、水疱性角膜症（BK）を発症する原因不明の疾患である。F 症の実態把握ならびに診断基準の作成のため、昨年度においてけるレトロスペクティブな臨床調査により新たに診断基準が作成された。この作成された診断基準に従って当施設において F 症の疫学的調査を行ったところ、本年度角膜移植を行った症例数は 245 件うち F 症は 6 件（2.4%）であった。当施設においても新たな診断基準は臨床診断と高い整合性がみられた。また、白内障手術を行った症例のうち、内皮細胞数の少ない症例の原疾患では F 症が 20 例で一番多かったが、術後の BK 発症は少ないことがわかった。

A. 研究目的

Fuchs 角膜内皮変性症（F 症）および関連疾患において、治療指針となる重症度分類の作成と疫学的研究のため、当施設における Fuchs 角膜内皮変性症および関連疾患の疫学的調査を行った。また、F 症を始めとする内皮の少ない症例に対し、白内障手術を行うと BK を起こすことが懸念されるが、その実態は明らかにされていない。そこで、白内障手術による内皮細胞密度（ECD）に対する影響と BK 発症に影響を与える因子についても調査を行った。

B. 研究方法

本年度、当施設において角膜移植適応になった F 症症例の年齢、性別、角膜内皮細胞密度、角膜厚などの臨床情報を登録し、角膜移植の際得られた生体試料の角膜および防水は慶応義塾大学医学部クリニカルリサーチセンターへ輸送した。また、昨年度作成された新しい診断基準線による判定もおこなった。

さらに、白内障手術における影響を検討するため、術前 ECD が 1000 cells/mm² 未満であった症例の術後の変化を観察し、解析した。

対象は 2006 年 1 月～2010 年 5 月に東京歯科大学市川総合病院で白内障手術を施行した 3558 眼のうち、術前 ECD が 1000cells/mm² 未満であった 50 例 62 眼で、男性 12 眼、女性 50 眼（平均年齢 72.3±9.8 歳）である。術式は超音波乳化吸引術が 61 眼、水晶体囊外摘出術が 1 眼で全例ソフトシェル法を使用した。術前に BK を認めた症例、他の手術との同時手術例は除外した。平均観察期間は 13.1±12.1 カ月だった。評価項目は ECD（術前後）、BK 発症について、術後 ECD 減少率・BK 発症率を原疾患別、術前 ECD 別に比較検討した。

（倫理面への配慮）

本研究はヘルシンキ宣言（2000 年改訂）の趣旨を尊重し、医の倫理に十分に配慮して行った。また、厚生労働省による臨床研究に関する倫理指針（2003 年）および疫学研究に関する倫理指針（2007 年）に基づいて研究は当病院

のり胃入り委員会の承認を得ている。

C. 研究結果

本年度当施設における 2010 年 4 月から 2011 年 2 月まで角膜移植を行った症例数は 245 件でそのうち水疱性角膜症が 42.4%、次いで角膜混濁が 16.7%であった（表 1、図 1）。

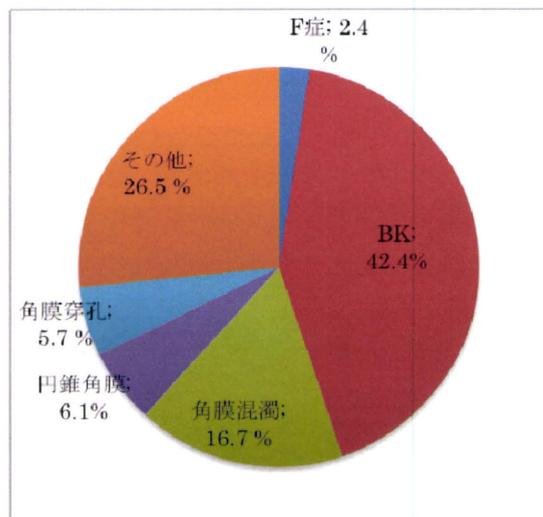


図 1 本年度等施設における角膜移植適応症例の内訳

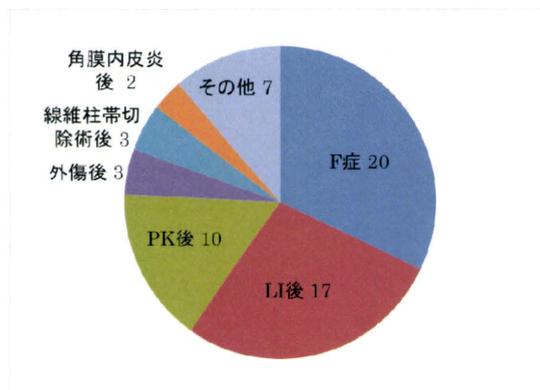
表 1 本年度等施設における F 症

症例	年齢	性別	角膜内皮密度 (cells/mm ²)	角膜厚 (μm)	臨床診断 (重症度)	判定
1	46	女	1094	604	II	+
2	59	女	873	548	III	+
3	76	男	697	473	III	+
4	55	男	922	630	II	+
5	70	女	422	676	II	+
6	71	女	793	-	II	+

F 症と臨床診断された症例は 6 症例経験し、2.4%であった。水疱性角膜症のほとんどは角膜内皮移植を行うが、F 症は他の BK と同様に良好な視力回復を達成していた。この F 症 6 例は臨床診断で重症度 II または III として診断されたが、BK を呈さず F 症の重症度 I と診断された症例はなかった。昨年度確立した新たな診断基準線による判定では 6 例すべてが F 症 (+) あり、F 症 (-) と判定された症例は存在しなかった。

白内障手術前 ECD が 1000 cells/mm² 未満であった原疾患において F 症が 20 症例、レザ

ー光彩切開術後が 17 例、角膜移植後が 10 例で、ここまでで全体の 3/4 を占めていた（図 2）。



術前術後における ECD 減少率は 11.5 ± 23.4% 出 BK 発症率は 16.1% であった。F 症、レーザー虹彩切開術 (LI) 後、角膜移植 (KP) 後で原疾患別に比較してみると ECD 減少率に差は認められなかったものの、F 症は BK 発症率において認められなかった（図 3）。

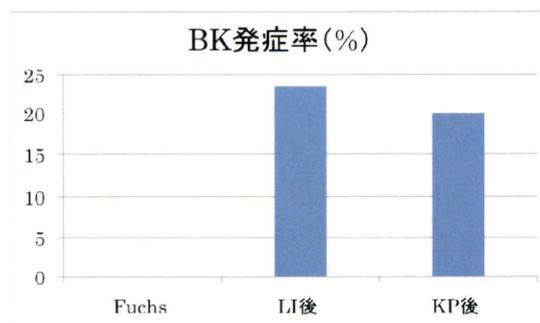


図 3 原疾患別 BK 発症率。

D. 考察

本年度の成果として当施設における角膜移植症例数をレトロスペクティブに調査することによって、本年度の F 症の割合を算出することができた。昨年度報告された他施設における F 症の割合は 4.92% であり、それと比較すると約 2.5% 低いことになる。これはおそらく施設間による違いであると考えられる。また、臨床上的分類と新たな基準線による判定結果とは相関して結果が得られているので、診断基準として妥当であると改めて示すことができた。

ECD 減少例 (<1000/mm²) において、白内障術後 80%以上で透明な角膜が維持されるが、KP 後、LI 後において BK が発症していた。原疾患で最も多かった F 症において術後 BK が発症しなかった一つの理由として、周辺部の内皮が比較的保たれている可能性がある。しかし、進行性の病態であり、引き続き経過観察が必要である。

E. 結論

図 2 原疾患の内訳

平成 22 年度当施設における F 症の症例は 6 例で、角膜移植適応症例の 2.4%であった。今回 F 症と臨床で診断された症例は新しい診断基準においても F 症と判定された。本年度当施設で行った手術術式は全て角膜内皮移植をおこなったが、全層角膜移植との適応の判定が出来る様な分類についても確立することが望ましいと考えられる。また、白内障手術において、内皮細胞数の少ない症例では原疾患として F 症が一番多かったが、術後の BK 発症は少ないことがわかった。

F. 参考文献

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

Shimazaki J. Double-bubble technique to facilitate descemet membrane exposure in deep anterior lamellar keratoplasty. J Cataract Refract Surg. 2010; 36(2):193-19.

Yamaguchi T, Shimizu T, Yamaguchi K, Dogru M, Negishi K, Tsubota K. Comparison of anterior and posterior corneal surface irregularity in Descemet stripping

automated endothelial keratoplasty and penetrating keratoplasty. Cornea. 2010; 29(10): 1086-90.

2. 学会発表

Yamaguchi T, Satake Y, Konomi K, Den S, Shimazaki J. Alteration in disc diameter after descemet stripping automated endothelial keratoplasty. World Cornea Congress IV, Boston, U.S.A., 2010/4/7-9.

Higa K, Shimmura S, Uchino Y, Shimazaki J, Tsubota K. Accelerated epithelial turn over in rabbit model of bullous keratopathy. The Association for Research in Vision and Ophthalmology 2010 Annual Meeting, Fort Lauderdale, Florida, U.S.A., 2010/5/2-6.

Yamaguchi T, Ichihashi Y, Omoto M, shimmura M, Den S, Konomi K, Satake Y, Tsubota K, shimazaki J. Early surgical results of descemet's stripping automated endothelial keratoplasty in cases of atypical causes of bullous keratopathy. 2nd Biennial Asia Cornea Conference, Kyoto, Japan, 2010/12/1-3.

山添克弥、山口剛史、田聖花、堀田一樹、島崎 潤。角膜内皮細胞減少例に対する白内障手術。第 64 回日本臨床眼科学会、神戸市、2010/11/11-14。

H. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

特になし。

2. 実用新案登録

特になし。

3. その他

特になし。

厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業
Fuchs 角膜内皮変性症および関連疾患に関する調査研究
分担研究報告書

Fuchs 角膜内皮変性症における角膜内皮密度および角膜厚の調査

研究分担者 氏名 天野史郎 所属施設 東京大学眼科 役職 教授

研究要旨：東大病院で角膜内皮細胞のスペキュラーマイクロスコープ検査を行った 459 眼について、男女、年齢、角膜内皮密度、角膜中央厚、滴状角膜頻度の調査を行った。その結果、滴状角膜の頻度は 2.4%であった。

A. 研究目的

Fuchs 角膜内皮変性症は進行性に内皮細胞数の減少をきたし、加齢とともに水疱性角膜症に進行する失明原因疾患である。現在のところ Fuchs 角膜内皮変性症の原因は特定されておらず、視力を回復するには角膜移植手術以外に方法はない。Fuchs 角膜内皮変性症及び関連する角膜内皮障害は角膜移植の約半数を占める最も主要な適応疾患である。本疾患には民族差があり、日本では少ないとされているが、現在でも本邦での実態はまだよくわかっていない。本研究の目的は、Fuchs 角膜内皮変性症を多因子疾患ととらえ、その実態把握と診断基準の作成、および危険因子を解明する点にある。本施設では角膜内皮細胞のスペキュラーマイクロスコープ検査を受けた 459 眼における、年齢、角膜内皮密度、角膜厚、Fuchs 内皮変性症の所見である滴状角膜頻度の調査を行った。

B. 研究方法

東大病院で角膜内皮細胞のスペキュラーマイクロスコープ検査を行った 459 眼について、男女、年齢、角膜内皮密度、角膜中央厚、滴状角膜頻度の調査を行った。

(倫理面への配慮)

被験者には研究の意義、検査内容、危険性などについて書面ならびに口頭で説明したのちに同意を得られた場合に限り検査を行った。全ての結果は研究担当者(天野史郎)が居室のインターネットに接続していないパソコン内に責任をもって管理した。患者名、ID番号は用いず、全てナンバリングにより保管し、ナンバリングデータの照合はパスワードによってファイルを管理した。

C. 研究結果

459 眼のうち男 226 眼、女 233 眼であった。年齢は 70.4 ± 11.4 (平均 \pm 標準偏差) であった。角膜内皮細胞密度は 2456 ± 477 cells/mm² であった。角膜中央厚は 525.8 ± 48.5 μ m であった。Fuchs 分類 (0:gutta なし、1:pre Fuchs、2:Fuchs 軽度、3:Fuchs 重度) は、0 が 377 眼、1 が 71 眼、2 が 10 眼、3 が 1 眼であった。Fuchs 軽度および重度を合わせた頻度は、2.4%であった。

D. 考察

我々が population-based study である久米島スタディで検討した結果では 40 歳以上の人口における滴状角膜の頻度は 4.1%であった。今回は病院来院者を対象とした hospital-based

studyであったが、滴状角膜の頻度は2.4%と、久米島スタディの結果と大体同じオーダーの数字であった。これらのうち角膜浮腫が生じるようなFuchs角膜内皮変性症まで進行する眼の割合については今後の検討が必要である。

E. 結論

Fuchs内皮変性症の前駆段階ともいえる滴状角膜の頻度は2.4%であった。

F. 参考文献

なし

G. 健康危険情報

なし

H. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

I. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業
Fuchs 角膜内皮変性症および関連疾患に関する調査研究
分担研究報告書

偽落屑症候群関連角膜内皮障害の研究

研究分担者 氏名 大橋 裕一 所属施設 愛媛大 役職 教授

研究要旨：偽落屑症候群（PEX）における角膜障害を検討するため、レーザー共焦点顕微鏡（HRTII-RCM）を用いて角膜上皮、実質、内皮の各層の形態を観察しPEX患眼、僚眼及び正常コントロール眼の三群間を比較検討する。

共同研究者

鄭 曉東、白石 敦など

所属

愛媛大学 眼科

A. 研究目的

偽落屑症候群（PEX）に関連する角膜障害における形態変化を検討する。

B. 研究方法

27 例片眼性 PEX 症例、PEX 眼、PEX 僚眼及び正常眼の三群に分け、レーザー共焦点顕微鏡（HRTII-RCM）を用いて角膜上皮（表層、基底）、基底細胞下神経線維層、実質（浅層、中間層および深層）、内皮層の形態観察を行い、細胞密度を測定した。また、角膜知覚（Cochet-Bonnet 法）を測定し、基底細胞密度、神経線維密度との相関性について解析した。

（倫理面への配慮）

PEX 症例及び正常者に研究の目的、方法、検査内容などについて十分説明し、書面同意を得てから研究を行った。

C. 研究結果

PEX 眼は正常コントロール眼より有意に角膜上皮基底細胞、実質、内皮細胞の密度は減少した。基底細胞下神経線維叢の密度低下、蛇行率増大も有意に認めた。PEX 僚眼にも類似所見が見られた。PEX 物質は基底細胞下層、内皮細胞層に見られた。PEX 眼における基底細胞密度減少、神経線維叢密度減少は角膜知覚低下と有意に正の相関をした。

D. 考察

PEX 症候群は両眼発症する疾患であり、角膜知覚低下は基底細胞、基底細胞下神経線維叢の形態変化によるものと考えられた。

E. 結論

PEX 眼合併症は、角膜内皮以外、上皮、実質、神経線維叢にも障害が及ぼす。

F. 参考文献

Naumann GOH, Schlotzter-Schrehardt U. Keratopathy in pseudoexfoliation syndrome as a cause of corneal endothelial decompensation— a clinicopathologic study. *Ophthalmology*. 2000;107:1111-1124.

G. 健康危険情報

本研究中健康障害がある症例は見られなかった。

H. 研究発表

1. 論文発表

Zheng X, Shiraishi A, Okuma S, et al. In vivo confocal microscopic evidence of keratopathy in patients with pseudoexfoliation syndrome. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2011 (Jan 6. [Epub ahead of print]

2. 学会発表

1. Zheng X et al. In vivo confocal microscopy study in patients with pseudoexfoliation syndrome. The 25th Asia-Pacific Association of Ophthalmology Meeting. Beijing 2011;9:16-20.

2. 鄭 暁東 他. 生体共焦点顕微鏡 Rostock Cornea Module による偽落屑症候群の観察. 第 64 回臨床眼科学会 2010.11 神戸

3. Zheng et al. In vivo confocal microscopic evidence of keratopathy in patients with pseudoexfoliation syndrome. The 2nd Asia Cornea Society Biennial Scientific Meeting. Kyoto 2010 Dec 1-3.

I. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし