

201128141B

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 ～ 平成23年度 総合研究報告書

研究代表者 坪田 一男

平成 24(2012)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. 研究成果の刊行に関する一覧表 .....	15
III. 研究成果の刊行物・別刷 .....	17



厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

総合研究報告書

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成を目的として、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いこと、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。また、内皮機能不全の関連疾患としてサイトメガロウイルス内皮炎や偽落屑症候群といった疾患の鑑別診断におけるレーザー共焦点顕微鏡の有用性についても明らかにした。

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

研究分担者	榛村重人	慶應義塾大学医学部眼科学教室	准教授
	西脇祐司	東邦大学医学部衛生学教室	教授
	稲富勉	京都府立医科大学眼科学教室	学内講師
	島崎潤	東京歯科大学市川総合病院眼科	教授
	大橋裕一	愛媛大学医学部眼科学教室	教授
	杉山和久	金沢大学医薬保健研究域医学系視覚科学	教授
	天野史郎	東京大学大学院医学系研究科眼科学講座	教授
研究協力者	羽藤晋	慶應義塾大学医学部眼科学教室	大学院生

## 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、進行をくいどめ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や、診断がつかず原因不明で片付けら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。平成 21 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 (DSAEK : Descemet' s Stripping Automated Endothelial Keratoplasty) 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。平成 22 年度から平成 23 年度にかけて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、角膜内皮機能不全に対する鑑別診断において、レーザー生体共焦点顕微鏡検査の有用性を検証したので報告する。治療部門では、DSAEK よりさらに次世代の、Descemet 膜を剥離しない角膜内皮移植術 (nDSAEK: non-Descemet' s Stripping Automated Endothelial Keratoplasty) の治療成績を検討したので報告する。最後に、基礎部門では、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（スペキュラーマイクロスコープ）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。

### <数理的な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/mm<sup>2</sup>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<sub>(t)</sub>: 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

研究分担施設の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/mm<sup>2</sup>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-FC D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レーザー共焦点顕微鏡検査による角膜内皮機能不全症例の鑑別診断

角膜内皮機能不全には、典型的なF症のようにスペキュラーマイクロスコープと細隙灯顕微鏡検査で診断可能な例もあるが、診断が困難で原因不明としてかたづけられている場合もある。偽後屑症候群にともなう内皮機能障害や、サイトメガロウイルス角膜内皮炎はこうした診断が困難な角膜内皮機能不全疾患であるが、診断がつけば適切な対処や治療が可能な疾患でもあるので、これらの鑑別診断が重要である。近年臨床適応されたレーザー共焦点顕微鏡検査はこれらの疾患の診断に有用である可能性がある。研究分担施設の愛媛大学において、偽後屑症候群患者のレーザー共焦点顕微鏡検査所見について調査した。また、研究分担施設の金沢大学において6例のサイトメガロウイルス角膜炎患者のレーザー共焦点顕微鏡検査所見について調査した。

### ④nDSAEKの治療効果の検討

本研究班は平成21年度までに、DSAEKによるF症の治療成績について報告した(市橋ら、日眼会誌.113(7).2009.)。近年、F症を鑑別除外した上での水疱性角膜症に対する本邦発の次世代の角膜内皮移植として、Descemet膜を剥離しない角膜内皮移植術(nDSAEK)が試みられている。研究分担施設の金沢大

学においてnDSAEK施行例の検討を行った。

⑤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

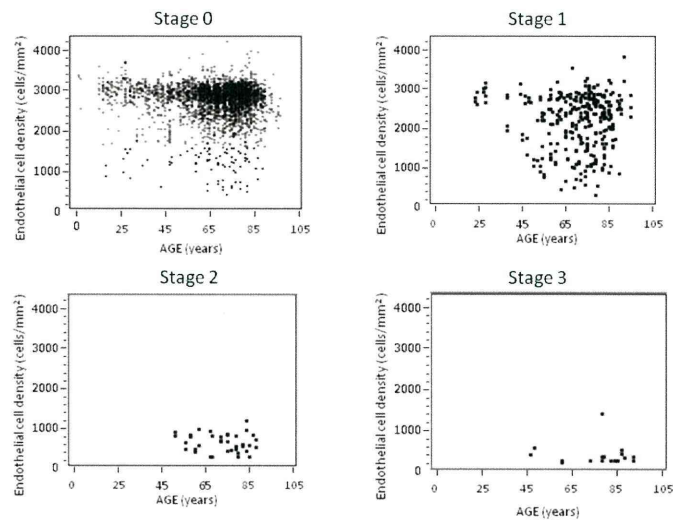
F症のように内皮細胞が減少していく局面では、その代償として角膜内皮Na, K-ATPase活性が亢進し角膜浮腫への移行を抑制していると考えられる。その代償機転のひとつとして、インスリンホルモンによる作用に注目し、マウス角膜内皮細胞を用いたインスリンによるNa, K-ATPase活性への影響を検討した。

C. 研究結果

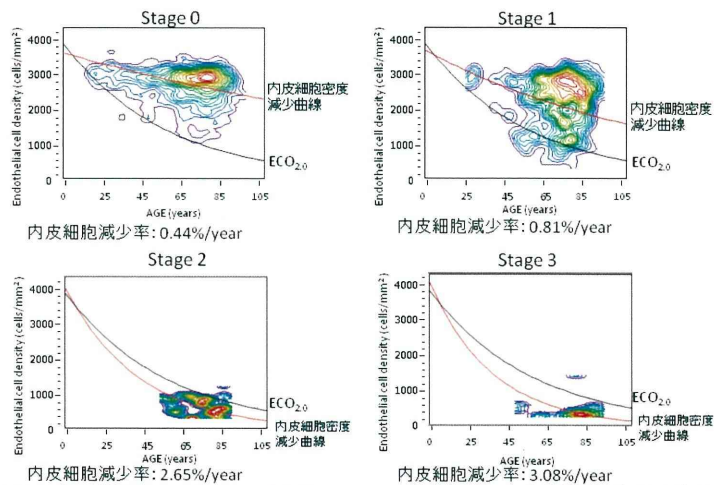
①計1971症例3281眼につき解析を行った。stage 0-3の症例の年齢と角膜内皮細胞密度 (Endothelial cell density; ECD) との関係を図1に示す。図1Aは散布図、図1Bは散布図にノンパラメトリック密度解析を加えた密度分布線である。この図に我々の内皮細胞減少曲線モデルをあてはめると、各stageの内皮細胞減少率は、stage 0: 0.44%、stage 1: 0.81%、stage 2: 2.65%、stage 3: 3.08%) であった。これまで報告された正常人

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<sub>2.0</sub>: ECD cutt 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。

(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。

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。

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

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

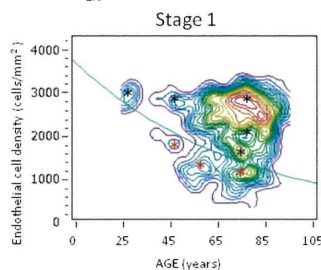
  

sensitivity (%)	93.75
specificity (%)	96.21

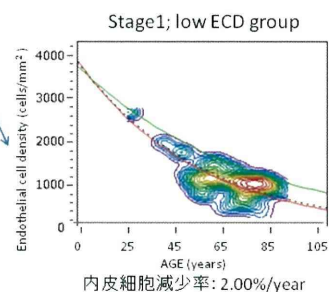
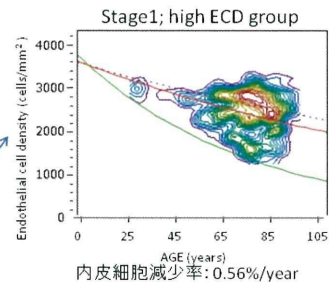
図2

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。





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<sub>1.4</sub>) 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<sub>1.4</sub>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

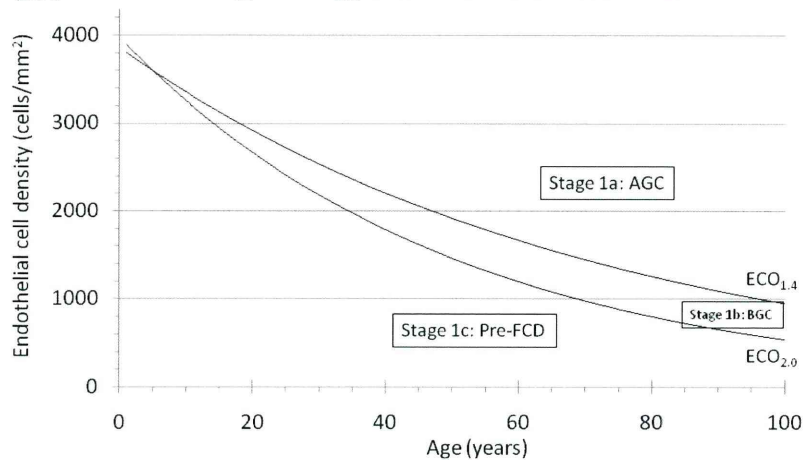
分けることができる。このECO<sub>1.4</sub>より上側に位置するグループでの内皮細胞減少率は0.56%で、これはstage0の減少率0.44%にかなり近い値となっており、この群の減少率はほぼ正常とみなすことができる。一方、緑線より下の群は減少率がちょうど2.0%で、さきほどの分類で用いたECO<sub>2.0</sub>とちょうど一致した。この2.0%より下の部分はstage2や3と同程度の内皮細胞減少率であるため、この区域の群は将来的に角膜浮腫がきてもおかしくないといえる。

以上より、ECO<sub>1.4</sub>とECO<sub>2.0</sub>の減少曲線をもちいて、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),

図3 ECO<sub>1.4</sub>とECO<sub>2.0</sub>を基準とした、新たな診断基準



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

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。

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(1)27例の偽後屑症候群患者のレーザー共焦点顕微鏡検査所見について調査した。

レーザー共焦点顕微鏡検査を用いた、正常者、偽落屑症候群症例の患眼と僚眼の角膜内皮細胞所見の比較を図4に示す。偽落屑症

図4 レーザー共焦点顕微鏡検査を用いた、正常者(A)、偽落屑症候群症例の患眼(B)と僚眼(C)の角膜内皮細胞所見の比較。(B)だけでなく(C)でも内皮形体の異常、内皮細胞密度の減少と、偽落屑物質と思われる輝度の高い沈着物が見られる。

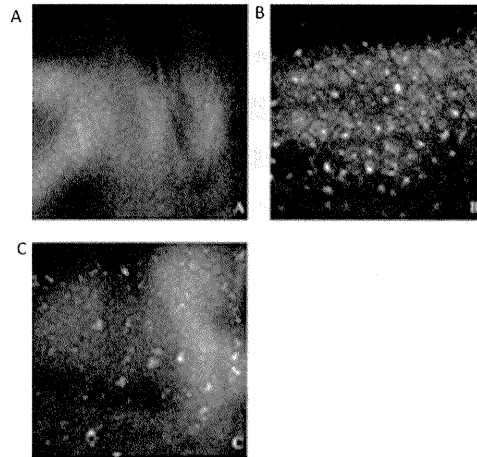
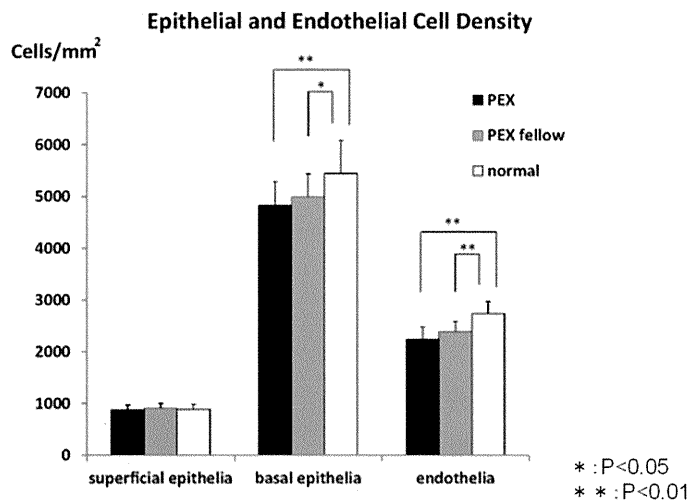


図5 偽落屑症候群症例と正常者との角膜上皮および内皮細胞密度の比較。偽落屑症候群症例で基底部上皮および内皮の細胞密度が有意に低下している。



候群では患眼だけでなく僚眼でも内皮形体の異常、内皮細胞密度の減少と、偽落屑物質と思われる輝度の高い沈着物が見られることが明らかとなった。レーザー共焦点顕微鏡検査を用いた、偽落屑症候群症例と正常者との角膜上皮および内皮細胞密度の比較を図5に示す。偽落屑症候群症例で上皮基底部および内皮の細胞密度が有意に低下していることが示された。

(2) 前房水PCRでサイトメガロウイルスが検出された6例のサイトメガロウイルス角膜炎患者の、レーザー共焦点顕微鏡検査所見

について調査した。これらの症例は全例で角膜浮腫と眼圧上昇を認めたが、細隙灯顕微鏡検査では1例に角膜のコイン状病変を認めるのみで、角膜における特徴的所見を欠いていた。レーザー共焦点顕微鏡検査を用いると、図6に示すような細胞内封入体を伴う巨細胞の所見 (いわゆるowl's eye morphology) を全例に認め、また、全例で角膜内皮細胞密度の低下を認めた。サイトメガロウイルスに対する適切な治療の後には、このようなowl's eye morphologyの所見は消失した。

(1)、(2)にみられるように、角膜内皮機能不全にはF症のほかにも鑑別を要する複数の疾患がある。サイトメガロウイルス角膜炎のように疾患によっては適切な治療が可

能なものもあるので、鑑別診断をきちんとつけることが大変重要である。レーザー共焦点顕微鏡検査は非侵襲的であり、かつこれらの疾患の鑑別診断に非常に有用であることが示唆された。

④19例のnDSEAK施行例に対する術後推移の検討を行った。術前の矯正logMAR視力は平均0.80だったが、術後1年で平均0.08まで改善が見られた。術後1年での内皮細胞減少率は29.0%であった

(図7)。これは従来のDSEAKと比較し遜色ない治療効果であった。

ただし、この調査において、nDSEAKを施行した水疱性角

膜症例にはF症によるものは含まれていない。Descemet膜に異常のみられるF症にnDSEAKを適応すべきかは議論の分かれるところである。逆に言えば、F症をきちんと鑑別することがnDSEAKの適応を決定する上で重要であるといえる。

⑤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8)。この代償作用はインスリン刺激による細胞内PKC

図6 レーザー共焦点顕微鏡検査を用いた、サイトメガロウイルス角膜炎症例の角膜内皮所見。矢印に示すようなowl's eye morphologyを全例に認めた。

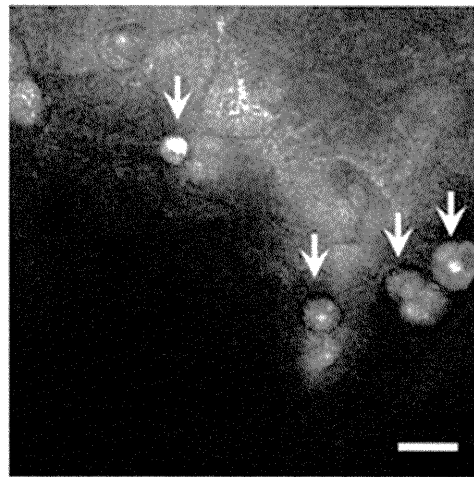
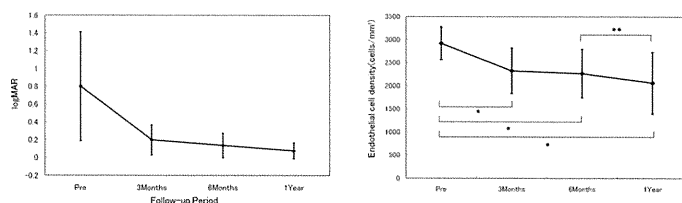


図7 nDSEAK施行例の、logMAR視力(左図)と内皮細胞密度(右図)の術後1年間の推移。



活性上昇を介していると思われる、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9)。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(Yamazoe K et al. J Cataract Refract Surg. 2011. 37(12))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。

#### D. 考察

平成22~23年度の成果として、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、Invest Ophthalmol Vis Sci誌に発表する成果を上げ、研究計画の一番の目標であった「重症度分類の作成」を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。今後はこの重症度判定の学術的認知度を高め、医療機関間での普及につとめる努力が必要となる。

本研究班は先にあげたF症の重症度分類のみならず、これまで診断の難しかったサイトメガロウイルス内皮炎や偽落屑症候群といった角膜内皮機能不全疾患の鑑別診断におけるレーザー共焦点顕微鏡の有用性についても明らかにした。本研究班の作成した、患者年齢とスペキュラーマイクロコピー

図8 インスリンの濃度と角膜内皮Na,K-ATPase活性の関係

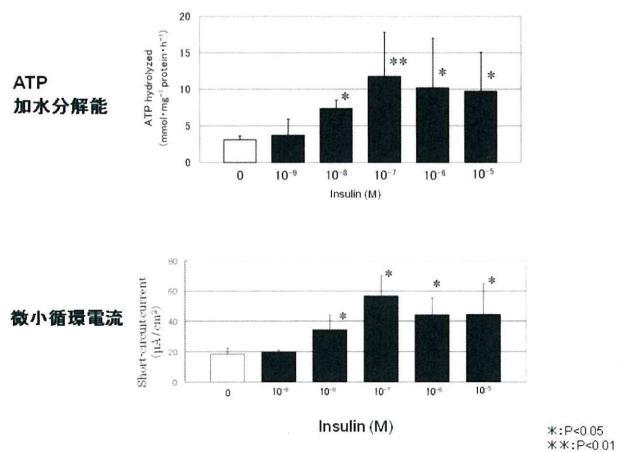
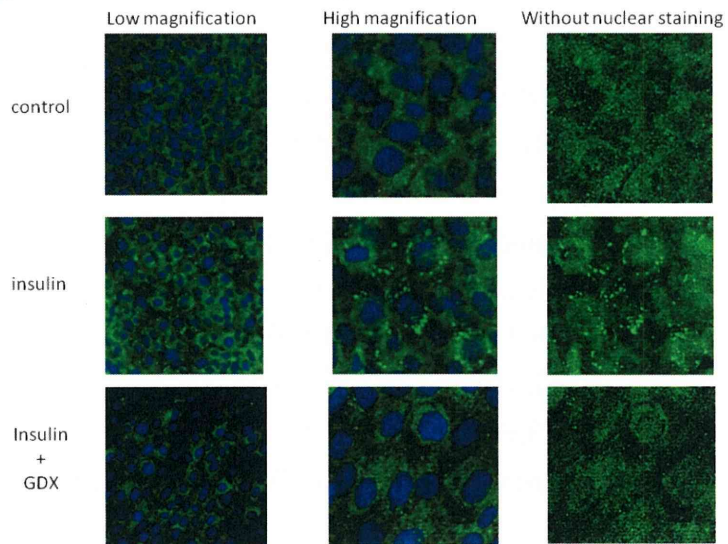


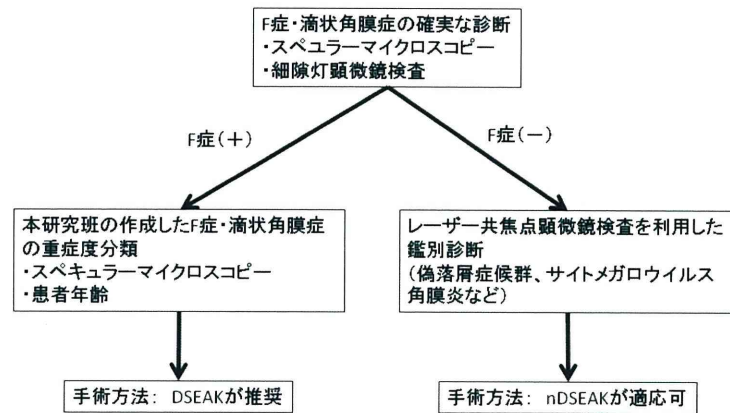
図9 インスリンによるNa,K ATPase α<sub>1</sub>-subunitの角膜内皮細胞膜での発現増加





のデータを基にしたF症の重症度分類法とレーザー共焦点顕微鏡検査を用いた角膜内皮機能不全疾患の鑑別診断を組み合わせることで、F症およびその関連疾患に関する診断手順を明確にすることができる。そのシェーマを図10に示す。

図10 Fuchs角膜内皮変性症およびその関連疾患に関する診断のイメージ図



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図3や図10に示すような重症度分類と鑑別診断は大きな社会的意義をもっている。その意味で本研究班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（DSEAK）の有効性が示されており、今後は今回定めた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いく必要がある。また、F症を除外診断すれば、nDSEAKは水疱性角膜症に対する新しい内皮移植として有効であることが本研究班によって明らかとなり、治療の適応を決める上でもF症の診断基準は重要であることが示された。

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」目標も解明を進めてきた。今後は新分類のAGC、BGC、pre-FCDについてプロスペクティブな疫学調査を進め、ひきつづき疫学的病態解明を行っていく必要がある。また、pre-FCDの白内障手術ストレスに対する内皮細胞減少率の結果は、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。

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22-23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。今後は新分類のAGC、BGC、pre-FCDについてプロスペクティブな疫学調査を進めていく必要がある。また、内皮機能不全の関連疾患としてサイトメガロウイルス内皮炎や偽落屑症候群といった疾患の鑑別診断におけるレーザー共焦点顕微鏡の有用性についても明らかにし、それぞれAm J Ophthalmol. 誌、Invest Ophthalmol Vis Sci. 誌に発表した。F症の確実な鑑別診断が、従来型のDSEAKを行うか、新しいnDSEAKを行うかの手術方法の選択に重要であると考えられた。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. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Hatou S, Shimmura S, Shimazaki J, Usui T, Amano S, Yokogawa H, Kobayashi A, Zheng X, Shiraishi A, Ohashi Y, Inatomi T, Tsubota K. Mathematical projection model of visual loss due to Fuchs corneal dystrophy. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2011 Oct 7;52(11):7888-93.
2. Kobayashi A. Yokogawa H. Higashide T. Nitta K. Sugiyama K. Clinical Significance of Owl's Eye Morphology by In Vivo Laser Confocal Microscopy in Patients with Cytomegalovirus Corneal endotheliitis *Am. J. Ophthalmol.* 2011. in printing
3. Yokogawa H. Kobayashi A. Sugiyama K. Usefulness of the Tan EndoGlide: A New Donor Inserter for Descemet's Stripping Automated Endothelial Keratoplasty. *Ophthalmic Surg Lasers Imaging*. 2011 in printing
4. Mawatari Y. Kobayashi A. Yokogawa H. Sugiyama K. Intraocular Pressure after Descemet Stripping and non-Descemet Stripping Automated Endothelial Keratoplasty. *Jpn J Ophthalmol*. 2011.in printing
5. Masaki T. Kobayashi A. Yokogawa H. Saito Y. Sugiyama K. Clinical Evaluation of non-Descemet's Stripping Automated Endothelial Keratoplasty (nDSAEK). *Jpn J Ophthalmol*. 2011.in printing
6. Hatou S. Hormonal regulation of

Na<sup>+</sup>-/K<sup>+</sup>-Dependent ATPase Activity and Pump Function in Corneal Endothelial Cells. *Cornea*. 2011 Oct;30 Suppl 1:S60-6.

7. Zheng X, Shiraishi A, Okuma S, Mizoue S, Goto T, Kawasaki S, Uno T, Miyoshi T, Ruggeri A, Ohashi Y. In vivo confocal microscopic evidence of keratopathy in patients with pseudoexfoliation syndrome. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2011 Mar 28;52(3):1755-61.

8. Yamazoe K, Yamaguchi T, Hotta K, Satake Y, Konomi K, Den S, Shimazaki J. Outcomes of cataract surgery in eyes with a low corneal endothelial cell density. *J Cataract Refract Surg*. 2011 Dec;37(12):2130-6.

9. Hatou S, Yamada M, Akune Y, Mochizuki H, Shiraishi A, Joko T, Nishida T, Tsubota K. Role of insulin in regulation of Na<sup>+</sup>-/K<sup>+</sup>-dependent ATPase activity and pump function in corneal endothelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2010 Aug;51(8):3935-42.

10. 羽藤晋 川北哲也. スペキュラーマイクروسコピー. 澤充、谷原委秀信、坪田一男、他編.眼科画像診断—最近の進歩—. 眼科 .52 臨 (10) 金原出版 東京 . 2010.1292-1296.

## 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**

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

2. 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.
3. 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 15<sup>th</sup> Annual Meeting of Kyoto Cornea Club. Kyoto Japan, 2010/12/3-12/4**

4. Shin Hatou. Hormonal Regulation of Na<sup>+</sup>-/K<sup>+</sup>-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.**

5. 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.

G. 知的財産権の出願・登録状況  
(予定を含む。)

特になし。

## 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Hatou S, Shimmura S, Shimazaki J, Usui T, Amano S, Yokogawa H, Kobayashi A, Zheng X, Shiraishi A, Ohashi Y,	Mathematical projection model of visual loss due to Fuchs corneal dystrophy.	Invest Ophthalmol Vis Sci.	52(11)	7888-93	2011
Hatou S.	Hormonal regulation of Na <sup>+</sup> -/K <sup>+</sup> -Dependent ATPase Activity and Pump Function in Corneal Endothelial Cells.	Cornea.	30 Suppl 1	S60-6.	2011
Zheng X, Shiraishi A, Okuma S, Mizoue S, Goto T, Kawasaki S, Uno T, Miyoshi T, Ruggeri A, Ohashi Y.	In vivo confocal microscopic evidence of keratopathy in patients with pseudoexfoliation syndrome.	Invest Ophthalmol Vis Sci.	52(3)	1755-61.	2011
Yamazoe K, Yamaguchi T, Hotta K, Satake Y, Konomi K, Den S, Shimazaki J.	Outcomes of cataract surgery in eyes with a low corneal endothelial cell density.	J Cataract Refract Surg.	37(12)	2130-6	2011
Hirayama M, Yamaguchi T, Satake Y, Shimazaki J.	Surgical outcome of Descemet's stripping automated endothelial keratoplasty for bullous keratopathy secondary to argon laser iridotomy.	Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.	Jan 28. [Epub ahead of print]		2012



Yoshiro Mawatari, Akira Kobayashi, Hideaki Yokogawa, and Kazuhisa Sugiyama	Intraocular Pressure After Descemet's Stripping and Non-Descemet's Stripping Automated Endothelial Keratoplasty	Japanese Journal of Ophthalmology	55	98-102	2011
Akira Kobayashi, Hideaki Yokogawa, and Kazuhisa Sugiyama	In vivo laser confocal microscopy findings of Thygeson superficial punctate keratitis.	Cornea	30	675-680	2011
Akira Kobayashi, Hideaki Yokogawa, Tomomi Higashide, Koji Nitta, and Kazuhisa	Clinical Significance of Owl Eye Morphologic Features by In Vivo Laser Confocal Microscopy in Patients with Cytomegalovirus Corneal Endotheliitis	American Journal of Ophthalmology	In printing	In printing	2011
Hatou S, Yamada M, Akune Y, Mochizuki H, Shiraiishi A, Joko T, Nishida T, Tsubota K.	Role of insulin in regulation of Na <sup>+</sup> -/K <sup>+</sup> -dependent ATPase activity and pump function in corneal endothelial cells.	Invest Ophthalmol Vis Sci.	51(8)	3935-42.	2010
羽藤晋、川北哲也	スペキュラーマイクロスコープ	眼科画像診断 —最近の進歩— 眼科. 金原出版	52臨(10)	1292-1296.	2010

## 研究成果の刊行物・別刷

# Mathematical Projection Model of Visual Loss Due to Fuchs Corneal Dystrophy

Shin Hatou,<sup>1</sup> Shigeto Shimmura,<sup>1</sup> Jun Shimazaki,<sup>2</sup> Tomohiko Usui,<sup>3</sup> Shiro Amano,<sup>3</sup> Hideaki Yokogawa,<sup>4</sup> Akira Kobayashi,<sup>4</sup> Xiaodong Zheng,<sup>5</sup> Atsushi Shiraiishi,<sup>5</sup> Yuichi Ohashi,<sup>5</sup> Tsutomu Inatomi,<sup>6</sup> and Kazuo Tsubota<sup>1</sup>

**PURPOSE.** To devise a mathematical disease classification model for eyes with primary guttata cornea, on the bases of endothelial loss trajectory and probability of advanced disease.

**METHODS.** A series of 1971 patients (3281 eyes), some with and some without guttata corneas, undergoing specular microscopy were retrospectively reviewed. The eyes were classified into four stages; stage 0, without guttae; 1, guttata cornea without edema; 2, mild Fuchs' corneal dystrophy (FCD); and 3, severe FCD, according to clinical records, and patient age and corneal endothelial cell density (ECD) were plotted. Nonparametric density smoothing was used to create a contour map, and a best-fit curve for ECD loss was calculated. The relation between ECD decrease rate and the stages were evaluated.

**RESULTS.** Endothelial decrease rate in stage 0 was 0.44%/year, which was compatible with that of normal eyes reported in previous studies. Decrease rates of stages 1, 2, and 3 were 0.81%, 2.65%, and 3.08%/year, respectively. The age-ECD loss curves of 1.40%/year ( $ECO_{1.4}$ ) and 2.00%/year ( $ECO_{2.0}$ ) further divided stage 1 into three subgroups; stage 1a, asymptomatic guttata cornea; 1b, borderline guttata cornea; and 1c, pre-FCD. The  $ECO_{2.0}$  cutoff line differentiated eyes with FCD from those without edema with a sensitivity and specificity of >90%. Stage 1c eyes were below  $ECO_{2.0}$  and had a decrease rate as high as FCD.

**CONCLUSIONS.** This mathematical model can be used to predict the prognosis of patients with primary guttata cornea. (*Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2011;52:7888-7893) DOI:10.1167/iovs.11-8040

From the <sup>1</sup>Department of Ophthalmology, Keio University School of Medicine, Shinjuku, Japan; the <sup>2</sup>Department of Ophthalmology, Tokyo Dental College Ichikawa General Hospital, Tokyo, Japan; the <sup>3</sup>Department of Ophthalmology, Tokyo University School of Medicine, Tokyo, Japan; the <sup>4</sup>Department of Ophthalmology, Kanazawa University School of Medicine, Kanazawa, Japan; the <sup>5</sup>Department of Ophthalmology, Ehime University School of Medicine, Matsuyama, Japan; and the <sup>6</sup>Department of Ophthalmology, Kyoto Prefectural University of Medicine, Kyoto, Japan.

Supported by a grant from the Ministry of Health, Labor and Welfare, Japan. The sponsor or funding organization had no role in the design or conduct of this research.

Submitted for publication June 14, 2011; revised August 8, 2011; accepted August 12, 2011.

Disclosure: S. Hatou, None; S. Shimmura, None; J. Shimazaki, None; T. Usui, None; S. Amano, None; H. Yokogawa, None; A. Kobayashi, None; X. Zheng, None; A. Shiraiishi, None; Y. Ohashi, None; T. Inatomi, None; K. Tsubota, None

Corresponding author: Shigeto Shimmura, Department of Ophthalmology, Keio University School of Medicine, 35 Shinanomachi, Shinjuku, Tokyo 160-8582, Japan; shige@sc.itc.keio.ac.jp.

Fuchs' corneal dystrophy (FCD) is a progressive, bilateral corneal dystrophy.<sup>1</sup> There is a progressive loss of corneal endothelial cells with secretion of an abnormally thickened basement membrane, leading to corneal guttae formation.<sup>1</sup> On specular microscopy, these corneal guttae are observed as dark areas.<sup>1,2</sup> As endothelial function deteriorates, corneal edema increases and visual acuity declines,<sup>2</sup> and FCD is a major indication for keratoplasty (corneal transplants) in the United States.<sup>3-5</sup> Although FCD is recognized as a dominantly inherited disorder, females are predisposed to it and develop corneal guttae 2.5 times more frequently than do males, progressing to corneal edema 5.7 times more often than do males.<sup>6</sup> The prevalence of primary guttata cornea and FCD are lower in Japan than in the United States.<sup>7,8</sup> This difference in prevalence is thought to be mainly attributable to the racial difference.<sup>7</sup>

Primary guttata cornea is believed to be a preliminary stage of FCD. Krachmer et al.<sup>6</sup> graded guttata cornea and FCD according to a spread of guttae and reported that there was a positive correlation between age and grade of guttae. However, the exact natural course of guttata cornea, or whether all cases of guttata cornea progress to FCD remains to be determined. A prospective study that follows the decline in endothelial cells density (ECD) with age would be ideal for predicting the natural course of guttata cornea; however, a very long follow-up would be required, and recruiting asymptomatic potential patients is practically impossible, especially in Japan. A retrospective study with a large database and an adequate mathematical model can be used in a similar way to predict the prognosis of patients with guttata cornea. In this report, we retrospectively reviewed age and ECD in a large group of hospital-based patients and evaluated the prevalence of guttae, male:female ratio, and distribution of age and ECD. In addition, we propose a new classification of guttata cornea based on a mathematical model that adequately predicts the prognosis of disease.

## METHODS

### Subjects

Clinical records of outpatients who underwent specular microscopy for corneal endothelial cell counts from January through December 2009 in six hospitals affiliated with the Fuchs' Corneal Dystrophy Study Group of Japan were retrospectively reviewed. The purpose of specular microscopy for those patients were routine examination before ocular surgery, follow-up for corneal diseases that were thought to have little effect on endothelium (such as keratoconus or lattice corneal dystrophy), or follow-up for diagnosed Fuchs' corneal dystrophy. Patients who had a history of trauma, corneal infection, intraocular inflammation, intraocular surgery, or laser iridotomy were excluded from the study. Endothelial photographs were taken at the center of the pupillary area with a noncontact specular microscope (Nonkon Robo F & A; Konan Medical, Nishinomiya, Japan, or EM-3000; Tomey,