

角膜疾患に合併する緑内障での注意点

- 免疫抑制状態にあることが多い（特に角膜移植後）。
- 治療によるステロイド緑内障の関与の可能性がある。
- 化学外傷に伴う房水流出路直接障害がないかどうか気をつける。
- 炎症に伴う続発閉塞隅角緑内障（SACG）に注意が必要。
- 眼圧が正確に測定しにくい（もしくはきちんと測定できないこともある）。種々の眼圧計を駆使する必要があるが、最終的には触診も参考にする。

治療

- 基本的には他の緑内障治療と同じだが、角膜移植症例に関しては移植前に手術加療を含めて眼圧コントロールをしっかりと行っておく必要がある。
- 角膜疾患に関連する緑内障では、術前から角膜内皮細胞数の少ない症例も多く認めるため、角膜移植と同時手術を行うか、眼圧コントロールをしてから角膜移植を行うかあらかじめ角膜専門医と相談しておく必要がある。

点眼

- 他の緑内障での点眼治療に準じる。
- ただし炭酸脱水酵素阻害薬の点眼は角膜内皮細胞にダメージを加える可能性が指摘されており使用に注意が必要。

手術

- **トラベクトミー**：開放隅角もしくはステロイド緑内障の関与が疑われる場合に行う。
- **MMC併用トラベクトミー**：閉塞隅角もしくは炎症の関与が強い場合に行う。結膜瘢痕に注意が必要。
- **チューブシャント手術**：可能であれば硝子体腔に挿入する。

◎文献

- 1) 丸尾敬夫, ほか監修: 眼科学 第2版, 文光堂, 2011.
- 2) 眞鍋禮三, ほか監修: 角膜クリニック 第2版, 医学書院, 2003.

続発緑内障の画像診断

現在の動向

緑内障診療においては、治療方針を決定するうえでも緑内障病型を知ることが非常に重要であり、そのためには隅角鏡による隅角検査が必須となる。しかし、続発緑内障の場合には角膜や中間透光体の混濁によって隅角や眼底の評価ができないことも少なくなく、また隅角鏡では隅角の定量的評価や虹彩後方で生じている病態を評価することは困難である。近年、技術的に性能が著しく向上した前眼部画像診断機器を活用することにより、続発緑内障の診断や病態のより正確な理解が可能となってきている。本項では、続発緑内障の画像診断機器として有用性の高い超音波生体顕微鏡 (ultrasound biomicroscope ; UBM), 前眼部 OCT (anterior segment optical coherence tomography ; AS-OCT) を中心に、続発緑内障の診療における画像診断の活用を実際の症例をもとに解説する。

症例 (1) 虹彩色素散布症候群

24歳, 男性. カナダからの留学生. LASIK (laser *in situ* keratomileusis) 目的で近医受診したが, 右眼 = 20 mmHg, 左眼 = 40 mmHg と左眼圧高値のため京都府立医科大学附属病院眼科紹介. 前医にてラタノプロスト点眼液, チモロールマレイン酸塩点眼液およびアセタゾラミド内服が処方されていたが, 四肢知覚異常のため内服できず. 初診時眼圧は右眼 = 18 mmHg, 左眼 = 8 mmHg. 左眼角膜後面に色素沈着 (図 1a) および帯状・小水疱様病変 (図 1b) があり, 後部多形性角膜ジストロフィ^{*1}を認めた. 前房深度は深く炎症細胞なし. 隅角検査にて左眼虹彩高位付着と強い色素沈着を認めた (図 1c). 色素緑内障を疑い, UBM を施行したところ, 後方に屈曲した虹彩が観察され逆瞳孔ブロック (reverse pupillary block) を生じていた (図 1d). 自動視野正常, 視神経乳頭陥凹なく, 虹彩色素散布症候群 (pigment dispersion syndrome) と隅角低形成の合併による眼圧上昇と診断し, チモロールマレイン酸塩点眼液のみで経過観察中.

文献は p.402 参照.

***1** 後部多形性角膜ジストロフィ

分化異常により角膜内皮細胞が組織学的に上皮様変化をきたす疾患. 10% 程度に高眼圧を伴う. 発症機序として, 異常組織の隅角部への進展による閉塞隅角機序と虹彩高位付着による開放隅角機序が報告されている.

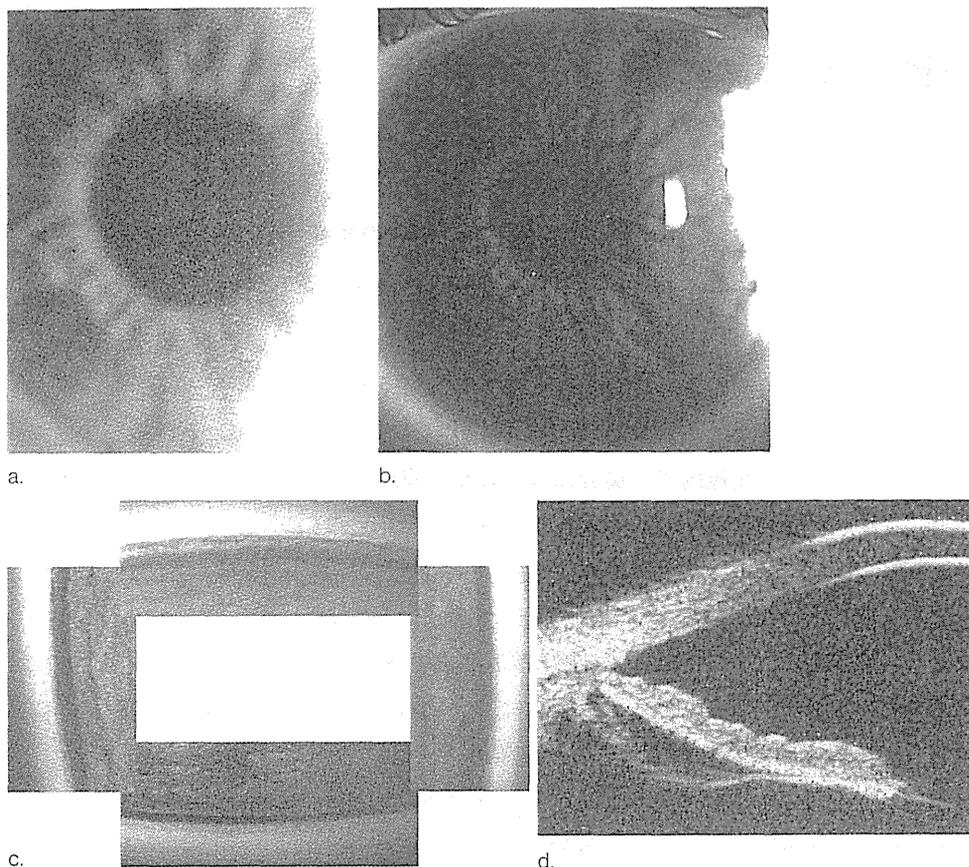


図1 虹彩色素散布症候群 (24歳, 男性)

- a. 前眼部所見. 角膜後面中央部に色素沈着を認める.
- b. 後部多形性角膜ジストロフィ. 角膜後面に帯状の小水泡様異常所見 (vesicle) を認める.
- c. 隅角所見. 線維柱帯全周に色素沈着を認めるが, 特に下方隅角に強くみられる (使用機材: Sussman For Mirror Held Gonioscope 隅角鏡).
- d. 逆瞳孔ブロック (reverse pupillary block). UBM で後方に屈曲した虹彩が観察される. (使用機材: UD-6000, トーメーコーポレーション)

症例 (2) 虹彩膨隆

79歳, 男性. 9年前に全層角膜移植 (penetrating keratoplasty ; PKP) および瞳孔形成術, 6年前に白内障手術を受け眼内レンズ挿入眼. 経過観察中に徐々に眼圧上昇を認め (右眼 = 26mmHg), カルテオロール塩酸塩持続性点眼液 2% を開始, 眼圧下降傾向を認めずピマトプロスト点眼液を追加処方されるが, 右眼 = 38mmHg と高値であるため紹介. 左眼前房は周辺で浅く, 隅角検査にて全周狭隅角. プリンゾラミド混濁液 1% の追加投与で右眼 = 14mmHg まで下降したが, 膨隆虹彩 (iris bombé) を形成 (図 2a), AS-OCT で虹彩の前弯を確認 (図 2b). 瞳孔縁での前囊との癒着による完全瞳孔ブロック (iris bombé) が強く疑われたため, レーザー虹彩切

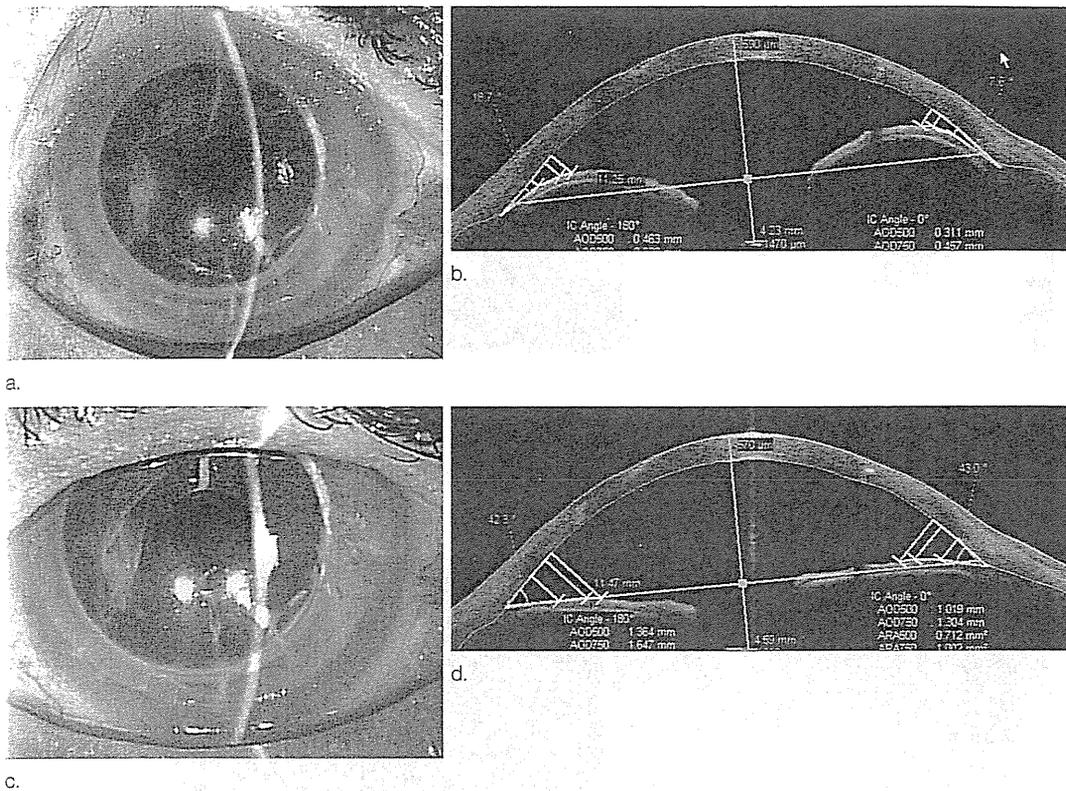


図2 膨隆虹彩 (79歳, 男性)

初診時の前眼部所見 (a) と AS-OCT 像 (b). 膨隆した虹彩 (iris bombé) を認める. (使用機材: Visante™ OCT 3.0, Carl Zeiss Meditec)

レーザー虹彩切開術後の前眼部所見 (c) と AS-OCT 像 (d). 6時方向の周辺部虹彩に LI hole が確認できる. 瞳孔ブロックは解除.

開術 (laser iridotomy ; LI) を施行. 右眼 = 7 mmHg まで下降し, ブロックは解除 (図 2c, d).

症例 (3) プラトー虹彩と膨化残留皮質による圧迫

74歳, 男性. 11年前に左眼網膜剥離に対し硝子体手術および水晶体再建術を施行. その後も網膜剥離を2回発症し計3回硝子体手術の既往あり. 近医にて散瞳検査後, 左眼圧上昇し京都府立医科大学附属病院眼科を救急紹介受診. 初診時, 左眼上方に軽度毛様充血と角膜浮腫を認め (図 3a), 眼圧は右眼 = 10 mmHg, 左眼 = 60 mmHg. 眼内レンズは嚢内固定されており隅角検査にて左眼は全周性に隅角底が確認できなかった. UBM にて全周性にプラトー虹彩形状を認め, 一部では残留水晶体皮質の膨化により虹彩が前方へ圧排されていることが確認された (図 3b). レーザー隅角形成術 (laser gonio-plasty ; LGP) を施行したところ, 耳側ならびに鼻側隅角は閉塞が開放され, 眼圧は 25 mmHg まで下降. 0.1% ベタメタゾン, 0.5%

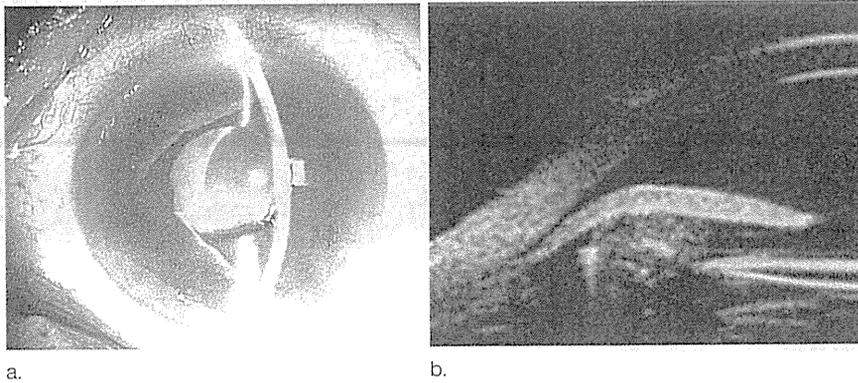


図3 プラトー虹彩と膨化残留皮質 (74歳, 男性)

- a. 初診時前眼部所見. 上方に軽度毛様充血と角膜浮腫, 後発白内障を認める.
 b. UBM 所見. プラトー虹彩ならびに残留皮質の膨化による虹彩の前方偏位を認める. (使用機材: UD-6000, トーメーコーポレーション)

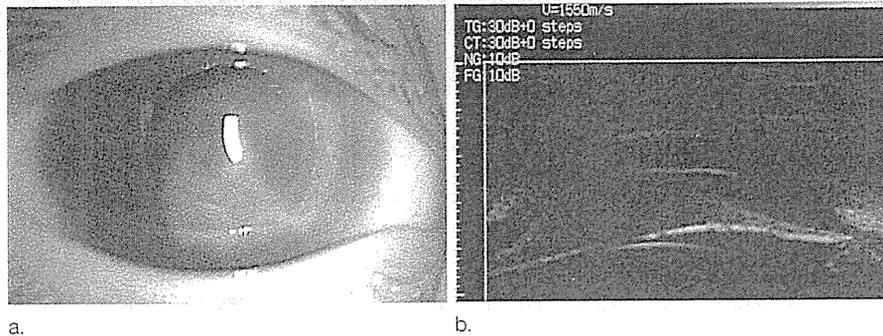


図4 Peters 異常 (5歳, 女児)

- a. 前眼部所見. 角膜中央部に円板状の白色混濁を認める. (使用機材: メディカルニッコール, ニコン)
 b. UBM 所見. 未熟な虹彩と角膜内皮面の癒着ならびに角膜厚の不整を認める. (使用機材: UD-6000, トーメーコーポレーション)

チモロールマレイン酸塩, 1% ドルゾラミド点眼, アセタゾラミド内服により, 治療開始3日目には眼圧は10mmHg. その後, 保存的経過観察にて眼圧は安定.

症例 (4) Peters 異常

5歳, 女児. 出生時より両眼角膜混濁を認め, 生後3か月で近医眼科より京都府立医科大学附属病院眼科紹介. 両眼角膜中央に円板状の白色混濁を認め (図4a), 右眼では虹彩前癒着 (図4b) を伴っていた. 眼圧はicareで測定するも角膜厚が部位によって異なるため, 測定値にばらつきが大きかった. 4歳時より眼圧上昇傾向を認め, ラタノプロスト, カルテオロールの点眼を開始. 角膜中央部における測定で20~30mmHg台を示すも, 視神経乳頭陥凹, 角膜浮腫を伴わないため保存的加療で経過観察中.

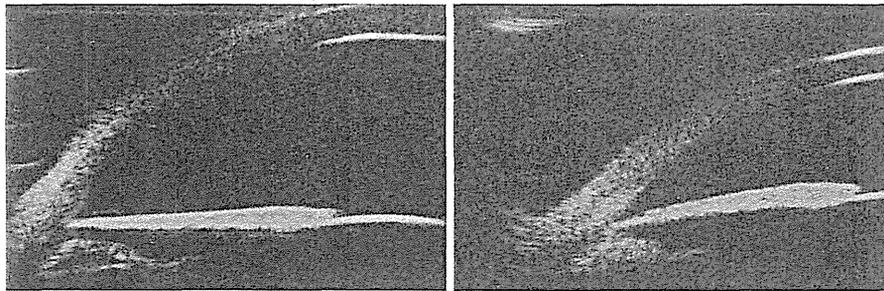
まとめ

種々の病因が関与する続発緑内障においては、隅角鏡検査のみならず UBM や AS-OCT などの前眼部画像解析装置を併用することによって、ようやく説明可能な病態が存在する。しかしながら、これらの画像診断のみによって診断が可能なのではなく、隅角鏡検査を完全に置換してしまうものではない。緑内障の病態理解においては、必ず細隙灯顕微鏡検査や隅角鏡検査で得られた所見と対比させながら、総合的に病態を把握することが大切である。

カゴモン読解 第24回 臨床実地問題 35

生後2か月の Sturge-Weber 症候群患児の超音波生体顕微鏡 (UBM) 像を図に示す。正しいのはどれか。2つ選べ。

- a 左眼の角膜径が大きい。 b 右眼の眼圧上昇を認める。 c 左眼の眼圧上昇を認める。
d 眼軸長の左右差は認めない。 e 右側顔面にイチゴ状血管腫を認める。



右眼

左眼

解説 生後2か月の Sturge-Weber 症候群^{*2}患児の UBM 画像を見ると、右眼においては Schwalbe 線が同定困難であるが、虹彩が直線的に隅角に向かっており、隅角角度の左右差を認める。前房深度も右眼で著しく深くなっており、隅角陥凹の形成が不良である。

- a, b, c. 3歳以前の眼球壁が軟らかい時期に高眼圧が持続すると、角膜径が拡大する。この症例では右眼の眼圧上昇、角膜径の拡大を認める。
d. 通常、眼軸長の左右差は認めない。
e. Sturge-Weber 症候群では出生時より、顔面の片側、三叉神経領域に赤ぶどう酒 (ポートワイン) 様母斑と称される特徴的な血管病変が認められる。イチゴ状血管腫とは異なる。

模範解答 b, d

(多田香織, 森 和彦)

***2** Sturge-Weber 症候群は顔面と同側性の脳軟膜および眼部の血管病変を三主徴とする母斑症である。眼科的には緑内障、脈絡膜血管病変の治療、ならびに弱視に対する治療が経過観察における中心となる。血管病変による上強膜静脈圧の上昇が高眼圧の機序とされる一方、線維柱帯の形態異常や線維柱層板間におけるコラーゲンの異常集積などが指摘されており、隅角の発達異常の存在も眼圧上昇に関与している。

■ 点眼剤を実践活用するためのポイント ― ②

複数の点眼剤投与時の注意点

Key Points

成瀬 繁太 森 和彦*

京都府立医科大学視覚機能再生外科学 *講師

- Ⓔ 点眼剤は眼科薬物治療の基本であり、2種類以上を併用している患者は少ない。
- Ⓕ 点眼剤それぞれの薬効が十分に期待できるよう、適切な点眼指導が必要である。
- Ⓖ 点眼剤の性質上、その指導に特別な注意を払わなくてはならない薬剤がある。
- Ⓗ 点眼方法実態調査によると、複数処方の際、その適切な使用が行われているとは言い難い。

はじめに

眼科薬物治療の基本である点眼剤を2種類以上併用している患者は決して少なくなく、その適切な使用が治療の成否に直結する。例えば、白内障手術をはじめとする術直後の患者では複数の点眼剤が処方されるのが一般であるが、不適切な使用は感染性の眼内炎や術後炎症の遷延といった合併症につながる。また、緑内障の治療を受けている患者では、単剤で有効な眼圧下降が得られない場合、2種類以上の点眼剤を併用しなくてはならないが、その投与間隔や順番によって眼圧下降の結果に差が生じる。このように、2種類以上の点眼剤を併用している場合、薬剤師は薬の性質と必要性を理解した上で、その効果が十分に期待できるよう点眼指導を行うことが求められる。

点眼の投与間隔と順番について

複数の点眼剤が処方されている場合の投与間隔は最も重要な指導項目であり、患者にその意義を十分に理解してもらう必要がある。具体的には、添付文書に特別な記載がない場合は、先に使用した薬剤の洗い流し効果が生じないように、少なくとも5分間の間隔を空けるよう指導する。この5分間という数字は過去の報告に基づくものである。図1はニュージーランドウサギに1剤目の放射性テクネチウム-99m 硫黄コロイド懸濁液を点眼した後、2剤目の生理食塩水を点眼し、残存しているアイソトープ濃度および含量を測定した結果である。1剤目の点眼が洗い流される割合は、1剤目と2剤目の点眼間隔が30秒ではほぼ半分であるのに対して、5分の間隔を空けることで0となる¹⁾。また、図2は白色ウサギにピロカルピン点眼を行い、その後規定の間

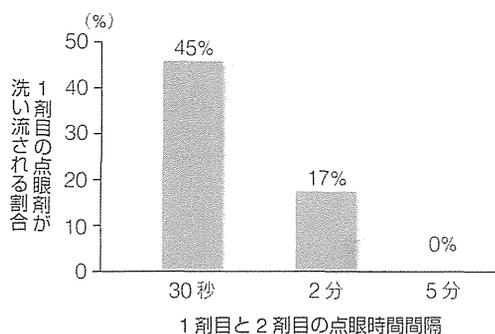


図1 放射性テクネチウム-99m硫黄コロイド懸濁液が生理食塩水点眼により洗い流される割合

対象：無麻酔のニュージールランドウサギ(オス)4眼
 方法：1剤目の放射性テクネチウム-99m硫黄コロイド懸濁液を点眼した後、2剤目の生理食塩水を点眼し、残存しているアイソトープ濃度および含量を測定した。
 (文献1より引用、アルコン株式会社により一部改変)

隔を空けて生理食塩水を点眼し、房水内ピロカルピンの濃度を測定した結果である。2分までに生理食塩水を点眼した場合は房水内のピロカルピン濃度が薄くなるが、5分の間隔を空けると影響をほとんど受けないことが分かる²⁾。これらの結果が、薬剤を確実に作用させるための点眼間隔が5分間以上としていることの根拠になっている。

次に、点眼剤を使用する順番であるが、処方されている点眼剤が全て水溶性の場合はさす順番に決まりはないとされている。例えば、白内障の手術を受けた患者に当院では抗菌薬、副腎皮質ステロイド薬、非ステロイド性抗炎症薬の3種類を術翌日から投与しているが、これらの投与間隔が適切でさえあれば、使用順序が変わっても治療結果に影響はないと思われる。ただし、複数の点眼剤を使用する際は、どの点眼をさしてどれをさしていないのか、患者が混乱することもあるため、便宜上の使用順序を示すことが望ましい。先の例では、抗菌薬を1番、副腎皮質ステロイド薬を2番、非ステロイド性抗炎症薬を3番と番号を振り、当院ではその順番通りに使用するよう指導を行っている。その際に、薬の名

前ではなく、点眼瓶のキャップの色や瓶の形状で説明を行うと患者がより理解しやすいと思われる。

指導に特別な注意を要する点眼剤

先に点眼剤をさす順番については特に決まったものはないと述べたが、これは使用している点眼剤が全て水溶性製剤の場合である。点眼剤の性状によっては、後でさしたものの吸収を妨げてしまうため、順番を指導する必要がある。具体的には、水溶性製剤、懸濁製剤、ゲル化製剤、眼軟膏の順が推奨されている。懸濁製剤、ゲル化製剤の主なものを表に示す。

特に緑内障治療薬のゲル化製剤や粘性を高めて滞留性を向上させた点眼剤においては、投与間隔を10分以上空ける必要があると添付文書に記載されている。これらはアドヒアランスを良好に維持するために、一日の点眼回数を減らしても十分な眼圧下降が得られる薬剤である。それぞれの点眼剤の特徴について以下に述べる。

チモプトール[®]XE点眼液：ゲル化剤として、イオン応答ゲル基材であるジェランガムが配合されており、涙液中のNa⁺イオンと反応して瞬時にゲル化し、その後徐々に細くなって涙点より排出される。ゲル化した点眼剤が他の点眼剤の吸収を抑制するおそれがあるので、併用剤がある場合は本剤投与前に少なくとも10分間の間隔を空けること、また本剤は最後に点眼するように指導しなければならない。

リズモン[®]TG点眼液：ゲル化剤として、可逆的熱応答ゲル基材であるメチルセルロースが配合されており、さらにクエン酸ナトリウムが加わっていることにより眼表面温度でゲル化する。先のチモプトール[®]XEと同じ理由で、少なくとも10分間の点眼間隔と本剤を最後

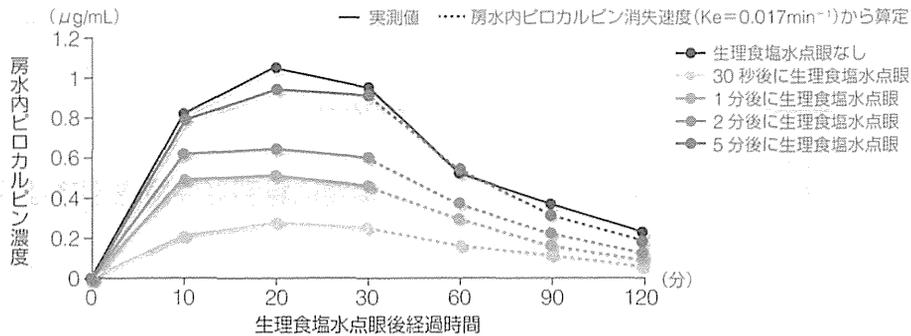


図2 ビロカルピンに続いて生理食塩水を点眼した際の房水内ピロカルピン濃度推移

試験方法：白色家兎(n=10)を用いて、ピロカルピン点眼後、規定の間隔を空け生理食塩水を点眼し、房水内ピロカルピン濃度推移を測定

(文献2より引用)

表 主な懸濁製剤、ゲル化製剤

	販売名	
懸濁点眼剤	エイゾプト®懸濁性点眼液 1%	緑内障・高眼圧症治療薬
	アゾルガ®配合懸濁性点眼液	緑内障・高眼圧症治療薬
	タリムス®点眼液 0.1%	春季カタル治療薬
	カリーユニ®点眼液 0.005%	老人性白内障治療薬
	ピマリシン点眼液 5%「センジュ®」	抗真菌薬
	フルメトロン®点眼液 0.1%	抗炎症ステロイド水性懸濁点眼剤
	リボスチン®点眼液 0.025%	H ₁ ブロッカー点眼剤
ゲル化製剤	チモフトール®XE点眼液 0.25%、0.5%	緑内障・高眼圧症治療薬
	リズモン®TG点眼液 0.25%、0.5%	緑内障・高眼圧症治療薬
	オフロキサシンゲル化点眼液 0.3%「わかもと」	広範囲抗菌薬

に点眼することの指導が必要とされている。
ミケラン®LA点眼液：眼表面での滞留性向上および持続性発揮のためアルギン酸が添加されており、他の点眼剤との併用時には、本剤が他の点眼剤の吸収性に、あるいは他剤が本剤の持続性に影響を及ぼす可能性がある。少なくとも10分間の間隔を空けて、本剤を最後に点眼するように指導する必要がある。

複数の点眼剤使用における実態は？

ほとんどはここまで述べた内容の点眼指導

を患者本人に行うことで十分と思われるが、中には指導通りに点眼を行っていないケースも存在する。図3は外来受診患者を対象とした点眼剤使用実態調査の結果であるが、点眼間隔を5分空けることを守れていない患者が過半数を超えていることが分かる³⁾。また、図4はインターネットを用いた40～60代の1,200例を対象としたアンケート調査の結果であるが、約4割の患者が5分の点眼間隔を空けていない。この調査では、点眼間隔を空けるのが面倒であるとの回答が90%を超えており、複数の点眼剤を指導通りにさしてないことが現実には少なくないということが分

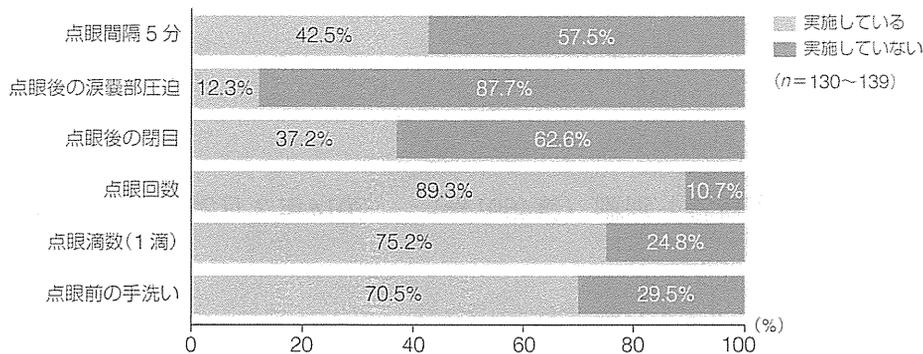


図3 多剤併用治療患者における点眼使用実態調査

対象：東京大学医学部附属病院外来患者 158 例(緑内障 49.0%，白内障 16.8%，緑内障・白内障併発 9.1%，眼炎 9.1%，その他 16.1%)

試験方法：患者に指導する前後に点眼液の使用実態調査を行い，指導の効果を検討するとともに，指導法を評価した。(文献 3 より引用)

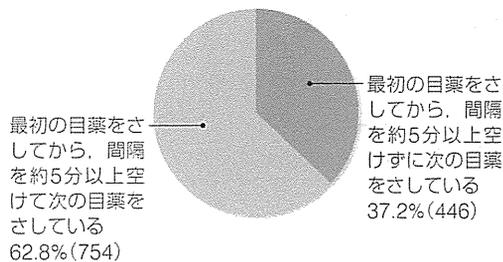


図4 複数点眼の際，2 剤目の点眼間隔を約5分以上空けている割合

n = 1,200

(「点眼方法に関する実態調査(ファイザー株式会社調べ)」より引用)

かる(図5)。

また，眼科は高齢の患者が多く，認知症の進行や指先の動きが不自由になると，自分ではうまく点眼をさせないこともある。こういった場合は家人，もしくは点眼を代わりに行える医療従事者(介護老人保健施設の看護職員など)に点眼指導を行い，協力してもらうことが求められる。患者本人が自分でさす場合に比べて，より点眼剤の重要さと使用法を丁寧に指導することが必要である。こういったケースでは，点眼の洗い流し効果を少しでもやわらげるために，より重要な点眼を最後にさすように指導する。もしくは異なる薬効を持った成分を1つの薬の中に配合した

複数の目薬をさす場合，5分以上間隔を空けなくてはならないことに対して，どのように思いますか？ 最もあてはまるものを1つ選んでください。[SA]

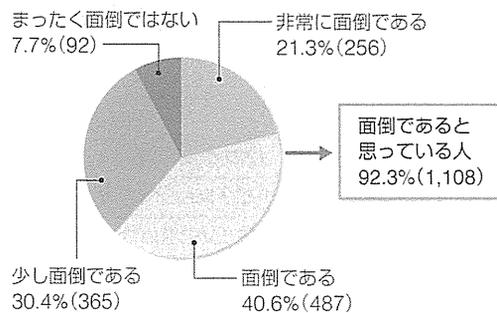


図5 点眼間隔を約5分以上空けることに対する感想

n = 1,200 (全回答者)

(「点眼方法に関する実態調査(ファイザー株式会社調べ)」より引用)

配合点眼剤の使用を医師の指示のもとに勧めるといった個別の指導が望まれる。

引用文献

- 1) Chrai SS, et al : Drop size and initial dosing frequency problems of topically applied ophthalmic drugs. J Pharm Sci, 63 : 333-338, 1974.
- 2) Sieg JW, et al : Mechanistic studies on transcorneal permeation of pilocarpine. J Pharm Sci, 65 : 1816-1822, 1976.
- 3) 大塚亮子ほか：医薬品の適正使用とその実践 V；点眼液の服薬指導の効果と指導方法の評価。病院薬学，23：269-277，1997。

「日本医事新報」別刷（第4691号） 2014年3月22日発行

【臨床医学の展望 2014】
眼科学
Ophthalmology

京都府立医科大学副学長／眼科学教室
教授 木 下 茂

眼科学

Ophthalmology

木下 茂 (きのした しげる)

京都府立医科大学副学長/眼科学教室教授

眼科の未来医療として再生医療研究が活気づく

2011年に始まった文部科学省・厚生労働省による再生医療の実現化ハイウェイに端を発し、12年の「成熟細胞が初期化され多能性をもつことの発見」によりノーベル医学・生理学賞を山中伸弥京都大学教授が受賞したことを起爆剤として、日本の再生医療は異次元の世界に踏み込もうとしている。再生医療関連2法が成立し、14年にはいくつかの大型再生医療プロジェクトが臨床研究として試行されようとしている。このような状況において、眼科関連の3課題の再生医療プロジェクトが橋渡し研究として臨床に応用されようとしていることは特筆すべきことである。

また、これらのアイデアと技術がすべて日本独自のものであり、日本の眼科再生医療研究レベルが非常に高度であることを示している。特に、iPS細胞から誘導した網膜色素上皮細胞を用いて加齢黄斑変性 (age-related

macular degeneration ; AMD) を治療しようという試みは他領域からも注目されている。また、培養がほとんど不可能とされていたヒト角膜内皮細胞を十分に細胞機能を保持した状態で培養し、前房という閉鎖空間に注入する培養角膜内皮細胞注入治療法は、眼科領域のみならず他領域にも大いなる示唆を与えるであろう。さらに、iPS細胞から角膜上皮細胞、角膜内皮細胞を分化誘導し、臨床に用いようとするアイデアは、中・長期的に重症角膜疾患患者に福音をもたらすものと思われる。以上のような橋渡し研究が急進展したのが13年である。14年には、現実的な臨床結果が世界に発信されるものと思われる。

さて、眼表面疾患であるドライアイ、中途失明が最も多い疾患である緑内障、中高齢者で急増しているAMDや網膜血管閉塞系の疾患などの治療薬が大きく変化している。いず

最も注目される
TOPICとその
臨床的意義

TOPIC 1

眼科の再生医療研究が活気づく

社会との関わりが大きい話題としては、眼科の再生医療、特にiPS細胞を用いた加齢黄斑変性(AMD)への治療の準備がほぼできあがったことである。再生医療の実現化という視点でも、AMDという難治性疾患に対する新しい治療法の登場という意味でも注目される。さらに角膜再生医療を含めた展開では、高度技術汎用展開による科学技術立国をめざすという国の方針とも一致する。

この1年間の
主なTOPICS

- 1 眼科の再生医療研究が活気づく
- 2 日本のドライアイ治療が世界をリードする
- 3 白内障手術がより精緻化する
- 4 緑内障治療が多様性を示す
- 5 網脈絡膜疾患に抗VEGF抗体が幅広く使用される

れも、薬効薬理を十分に考慮して開発された、その効用は大きい。このため、かつては失明の危機にあった患者の多くの視力は保たれるようになってきた。

2013年、特に、ジクアス[®]、ムコスタ[®]などのドライアイ治療点眼薬、ザラカム[®]、デュオトラバ[®]、コンプト[®]、アゾルガ[®]などの抗緑内障配合点眼薬、ルセンティス[®]、アイリーア[®]などの抗VEGF(血管内皮増殖因子)薬硝子体内注射が臨床にしっかりと定着することにより、眼科診療が明らかに変化したことは間違いがない。

さらに、角膜移植法におけるDSAEK(descemet's stripping automated endothelial keratoplasty)、DMEK(descemet membrane endothelial keratoplasty)と呼ばれる角膜内皮移植、緑内障手術における緑内障チューブシャントの使用、網膜硝子体手術における硝子体手術機器の精緻化、角膜移植や白

内障手術におけるフェムトセカンドレーザーの応用など、外科的アプローチにも大きな改善が見られた。

最後に、眼科における先制医療の試みとして疾患特異的SNPsを解析したいくつかの報告がなされている。その中で重要なものを紹介すると、代表的なものは原発緑内障、特に正常眼圧緑内障(normal tension glaucoma; NTG)で*CDKN2B-AS1*に関連するSNPsが同定されたことである。このSNPsは世界のすべての人種のNTGに共通してみられることが示された。さらに、AMDの感受性遺伝子が同定され、日本人の眼疾患を伴うスティーブンス・ジョンソン症候群(Stevens-Johnson syndrome; SJS)では、*HLA-A0206*遺伝子とともに*TLR3*や*EP3*のSNPsを併せ持つことが疾患発症に関与しているという報告がなされ、これらの発見により13年は眼科の先制医療の幕開けとなった。

TOPIC 1 ▶ 眼科の再生医療研究が活気づく

眼科から発信しつつある再生医療プロジェクトが注目を集めている。その代表となるのが、国家基幹研究開発推進事業「再生医療の実現化プロジェクト 再生医療の実現化ハイウェイ」に採択された3課題である。このプロジェクトは2011年秋にスタートしたが、当初の採択8課題中、3課題が眼科の再生医療研究である。特に高橋政代氏（理化学研究所）らのグループが自家iPS細胞由来の網膜色素上皮（retinal pigmented epithelium；RPE）細胞を用いて行おうとしている加齢黄斑変性（AMD）治療は、ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する審査委員会でも承認され、13年、マスメディアでも大きな注目を集めた¹⁾。14年中には1例目の臨床例が施行されるはずである。これはiPS細胞のヒトへの応用や、AMDへの再生医療の応用という意味でも大きな第一歩である。

iPS細胞の網膜への応用は、網膜色素変性症（retinitis pigmentosa）などの変性網膜に対する視細胞移植も視野に入れ、いくつかの大きなプレ

ークスルーを経て現実味を増している。また、そのほかの2課題として、当科、同志社大学そして滋賀医科大学が共同研究として行っている角膜内皮障害への体性幹細胞を用いた培養角膜内皮細胞注入治療法²⁾、そして、大阪大学と慶應義塾大学が共同で行っているiPS細胞を用いた角膜再生医療は、日本が発信する世界初の臨床研究（first in man study）に結びつくものである。これら研究の発想、それを支える技術はすべて日本独自のものであり、世界をリードして世界標準化に向けて動いている。このように、2013年は日本の眼科再生医療における記念すべき年であった。

さらに、スティーブンス・ジョンソン症候群（SJS）や化学腐食などの重症眼表面疾患をターゲットにした培養口腔粘膜上皮シート移植については、2つの方法が先進医療Bとして承認されており、臨床現場で最終の評価データを蓄積しつつある。この方法は、2003年頃から日本発の技術として発表されてきたものであり、今まで治療が困

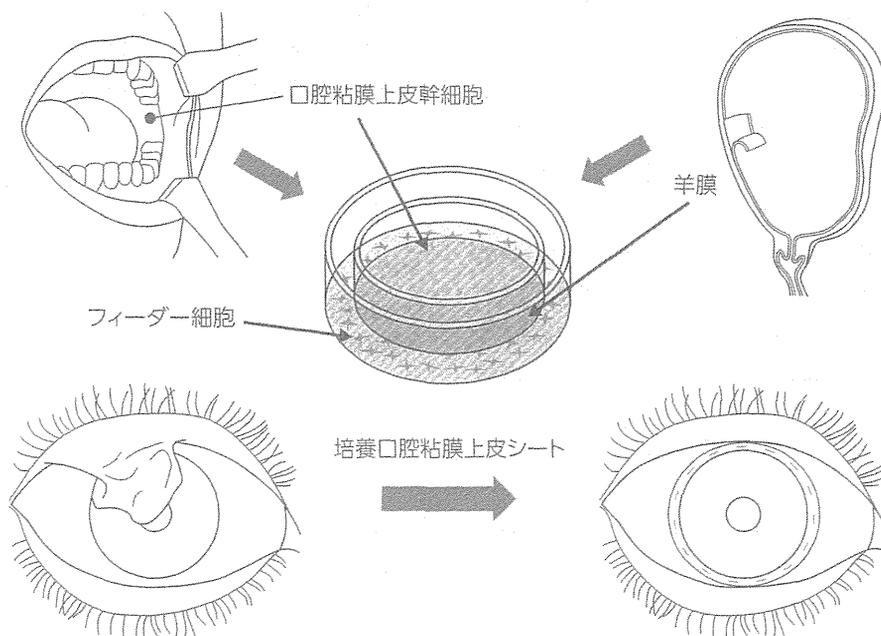


図1 培養口腔粘膜上皮シート移植による眼表面再建法

難と考えられていた重症眼表面疾患の眼表面を、口腔粘膜上皮を培養して作製した粘膜上皮シートを用いて再建するものである(図1)³⁾。

●文献

1) Kamao H, et al: Stem Cell Reports. 2014;

2(2):205-18.

2) Okumura N, et al: PloS One. 2013;8(2): e58000.

3) Sotozono C, et al: Ophthalmology. 2013; 120(1):193-200.

TOPIC 2 ▶ 日本のドライアイ治療が世界をリードする

ドライアイは、眼の不快感に視機能異常を伴う慢性疾患であり、その代表はシェーグレン症候群(Sjögren's syndrome)である。しかし、近年、VDT (visual display terminals) 作業の増加、エアコンなどによる室内の相対湿度の低下、コンタクトレンズ装用による眼表面からの蒸発亢進などにより、涙液が不安定になる軽症から中等症のドライアイ患者が増えており、日本にはおおむね2000万人の患者がいると推定されている。

従来ドライアイは、涙液の異常により引き起こされる角結膜上皮障害と定義されていたが、最近になって、涙液と眼表面上皮には密接な関係があり、その障害として様々なリスクファクターも関与していることが日本発の臨床研究で明らかになってきた。ドライアイの病態生理が明らかになるにつれて、これに対応した新しい作用機序を示す点眼薬が開発され、治療選択肢が広がることが期待されている。

ドライアイ治療には、これまで、ヒアレイン[®]点眼液(ヒアルロン酸ナトリウム, 参天製薬)や人工涙液が使用され、重症例には涙点プラグが、炎症例には低濃度ステロイド点眼液が使用されてきた。しかし、2010年12月には、ジクアス点眼液3%(ジクアホルナトリウム, 参天製薬)、また12年1月には、ムコスタ点眼液UD2%(レバミピド, 大塚

製薬)が保険収載され臨床現場に登場し、処方される点眼薬の選択が大きく変化した。ジクアス点眼液3%は、角結膜上皮に存在するP2Y2受容体のアゴニストであり、細胞内カルシウムイオン濃度を上昇させ、結膜上皮からの水分とムチンの分泌を促進する¹⁾。ムコスタ点眼液UD2%は同名の胃潰瘍予防薬と同様に眼表面のムチン分泌を促進させ、抗酸化、抗アレルギー作用を併せ持つムチン産生促進薬である。いずれも日本独自に開発された新しいタイプの治療薬であり、世界的にも注目されている²⁾。

2013年、Tear Film Oriented Therapy (TFOT) という考え方がドライアイ研究会から提唱され、涙液の水層、ムチン層、油層のそれぞれをターゲットとする治療概念が定着した。これに伴い、ジクアス点眼液3%とムコスタ点眼液UD2%の有用性がさらに明確に認識され、両者がドライアイへの第一選択の点眼薬として使用されるようになってきた。

●文献

1) Takamura E, et al: Br J Ophthalmol. 2012; 96(10):1310-5.

2) Kinoshita S, et al: Ophthalmology. 2013; 120(6):1158-65.

TOPIC 3 ▶ 白内障手術がより精緻化する

白内障手術は、加齢などにより混濁した水晶体を超音波破砕装置で破砕・吸引し、代わりに人工的に作製した眼内レンズ(intraocular lens: IOL)を挿入する手術である。この手術において、IOLの飛躍的な進歩および水晶体前囊と水晶体核を正

確に切開するフェムトセカンドレーザーが注目されている。

IOLには単焦点レンズ(monofocal-IOL)と多焦点レンズ(multifocal-IOL)があり、さらに乱視矯正能力を兼ね備えたトーリックレンズがある¹⁾。

単焦点レンズは焦点が1箇所であるが、多焦点レンズは遠近両方に焦点があり老視矯正が可能となっている。現在用いられている多焦点レンズは、光を遠方と近方の半分に振り分ける回折型が主流である。トーリックレンズは、半円柱状の球面屈折率を応用した乱視矯正用レンズである。いずれのIOLもアクリル素材の改良などにより、小切開で挿入可能なソフトレンズとして開発されている。白内障手術において、患者の状況に応じてこれらIOLを用いて、乱視や老視も同時に矯正するという考え方がしだいに定着してきたのが2013年の大きな動向である。ただし、多焦点レンズは先進医療あるいは自費診療でないと使用できないという状況に変化はない。

一方、欧米では、フェムトセカンドレーザーを用いて水晶体前囊と水晶体核を正確に切開する機器が普及しはじめており²⁾、その流れは国内にも徐々に浸透しつつある。このフェムトセカンドレーザーを白内障手術に用いるというコンセプトの

一番のポイントは、手術の安全性と精緻性をさらに向上させるところにある。フェムトセカンドレーザーは、数フェムト秒から数百フェムト秒の短いパルスにエネルギーを圧縮して発振するレーザーであり、角膜や水晶体を精度高く切開することができる。実際、フェムトセカンドレーザーを用いた角膜移植は保険承認されている。

このように、白内障手術は光学的な精緻性がさらに求められる時代に向かっており、IOLの手術前度数決定法の精度向上も求められており、光干渉式眼軸長測定器と光線追跡法(レイトレーシング)を用いたOKULIX™という新しいIOL度数計測ソフトなどが開発されている。

◎文献

- 1) Yoshino M, et al: Jpn J Ophthalmol. 2013; Sep 28. [Epub ahead of print]
- 2) Roberts TV, et al: Ophthalmology. 2013; 120(2): 227-33.

TOPIC 4 ▶ 緑内障治療が多様性を示す

日本では40歳以上の約5%が緑内障に罹患している。緑内障では高眼圧やそのほかの原因により視神経が障害され、視野狭窄などの症状が生じる。眼圧が正常でも視野障害が生じる緑内障を正常眼圧緑内障(NTG)と称するが、日本人ではこのタイプの緑内障が最も多く、その9割は未診断状態にある。緑内障では視野障害が慢性かつ進行性に生じ、その障害が回復することはない。

緑内障の治療は薬物療法が基本であるが、プロスタグランジン(prostaglandin; PG)製剤、β受容体遮断薬(beta-adrenergic blocking agent)、炭酸脱水酵素阻害薬(carbonic anhydrase inhibitor; CAI)など、様々な薬理作用を示す点眼薬があり、緑内障病型、視野進行度、眼圧、全身への影響などに応じて処方される。欧米では異なる作用機序の点眼薬を混合させる配合点眼薬が使用されてきたが、最近になって、日本でも2種類の点眼薬が1つになった抗緑内障配合点眼薬が承認された。2010年からザラカム(キサラタン® + 0.5%

チモプトール®)、デュオトラバ(トラバタンズ® + 0.5%チモプトール)、コンソプト(1%トルソプト® + 0.5%チモプトール)が認可され、13年にアゾルガ(1%エイゾプト® + 0.5%チモプトール)が承認され、このような配合点眼薬が日常臨床で頻繁に処方されるようになった。ただし、たとえば、チモプトールに代表されるβ遮断系薬剤は全身性の副作用を生じる可能性があり、配合点眼薬の処方では副作用出現に特に注意する必要がある。配合点眼薬の利点としては、2種類を点眼するより点眼回数が減少し、安価なため、患者のアドヒアランスが上がることである。

緑内障治療では、点眼薬による眼圧コントロールが不十分な場合には手術を行う。手術としてはレーザーで周辺虹彩部や隅角部に孔を開けたり、外科的に前房から結膜下に向かう排水路(バイパス)を作成する。従来の手術法では、作成した排水路が術後の癒着などで詰まってしまうことがあった。そこで考案されたのが、チューブを埋め込

んで排水路を確保するチューブシャント手術である¹⁾。この緑内障チューブシャントは、欧米では以前から使用されてきたが、日本では未承認状態が続いていた。しかし、2011年にバルベルト[®]緑内障インプラント(AMO社)とアルコンエクスプレス[™]緑内障フィルトレーションデバイス(日本アルコン社)が承認され、13年になってこれらのデバイスが頻繁に使用されるようになった。チュ

ーブシャントは、眼内の水(房水)を眼外へ排出させる手術(濾過手術)に用いる排水チューブであり、プレートを持つ長いタイプ(バルベルト)と短いタイプ(エクスプレス)の2種類がある。

◎文献

- 1) Gedde SJ, et al: Am J Ophthalmol. 2012; 153(5):789-803.

TOPIC 5 ▶ 網脈絡膜疾患に抗VEGF抗体が幅広く使用される

高齢化社会の到来とともに、眼の疾病の中でもAMDが注目されている。AMDは、網膜の中でも中心視力を担っている黄斑部が加齢とともに病的変化を起こす疾患であり、大きく滲出型と萎縮型に分類される。症状が比較的緩やかに進行する萎縮型に比べ、滲出型は、脈絡膜から新生血管が生じることで黄斑部に出血や網膜剝離を起こし、時に急激に視力が低下するため早急な治療が必要である。

この滲出型AMDに対し、2009年にはマクジェン[®](ベガブタニブナトリウム, ファイザー)とルセンチス(ラニビズマブ, ノバルティス ファーマ)といった抗VEGF薬の硝子体内注射という新しい概念の治療が認可された。この薬剤は、新生血管の成長を促すVEGFを抑えることで新生血管の増殖・成長を妨げ、結果として網脈絡膜出血や滲出性網膜剝離などの病変を改善する。抗VEGF療法の登場により、滲出型AMDの治療目標が視力維持から視力改善へと変化した。

世界各国において滲出型AMD治療の主流となっている抗VEGF療法は、アイリーア(アフリベル

セプト, バイエル薬品)という新薬が2012年11月に認可されたことにより、さらに確固たる治療法となった。なお、ルセンチスは13年8月に網膜中心静脈閉塞症(central retinal vein occlusion: CRVO)に伴う黄斑浮腫¹⁾、病的近視における脈絡膜新生血管²⁾にも適応が拡大された。

このように、黄斑疾患にはすべて抗VEGF療法を行うと言っても過言ではない状況になってきた。これも近年、光干渉断層法(optical coherence tomography: OCT)を用いて黄斑部の詳細な断層像を撮影することが可能となり、また黄斑部の自家蛍光像³⁾などから、黄斑疾患の診断がより精緻に行えるようになったことも一因になっていると思われる。

◎文献

- 1) Huang P, et al: PLoS One. 2013;8(12): e82454.
- 2) Miyake M, et al: Ophthalmology. 2014;121(1):225-33.
- 3) Yamagishi T, et al: Ophthalmology. 2012; 119(8):1621-7.

The ROCK Inhibitor Eye Drop Accelerates Corneal Endothelium Wound Healing

Naoki Okumura,^{1,2} Noriko Koizumi,² EunDuck P. Kay,² Morio Ueno,¹ Yuji Sakamoto,² Shinichiro Nakamura,³ Junji Hamuro,¹ and Shigeru Kinoshita¹

¹Department of Ophthalmology, Kyoto Prefectural University of Medicine, Kyoto, Japan

²Department of Biomedical Engineering, Faculty of Life and Medical Sciences, Doshisha University, Kyotanabe, Japan

³Research Center for Animal Life Science, Shiga University of Medical Science, Otsu, Japan

Correspondence: Noriko Koizumi, Department of Biomedical Engineering, Faculty of Life and Medical Sciences, Doshisha University, Kyotanabe 610-0321, Japan; nkoizumi@mail.doshisha.ac.jp.

Submitted: November 16, 2012
Accepted: February 26, 2013

Citation: Okumura N, Koizumi N, Kay EP, et al. The ROCK inhibitor eye drop accelerates corneal endothelium wound healing. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2013;54:2439–2502. DOI:10.1167/iovs.12-11320

PURPOSE. To evaluate the effect of Rho kinase (ROCK)-inhibitor eye drops on a corneal endothelial dysfunction primate model and human clinical case series of corneal endothelial dysfunction.

METHODS. As a corneal-endothelial partially injured model, the corneal endothelium of seven cynomolgus monkeys was damaged by transcorneal freezing; 10 mM of ROCK inhibitor Y-27632 was then applied topically 6 times daily. The phenotype of the reconstructed corneal endothelium was evaluated by immunohistochemical analysis and noncontact specular microscopy. For clinical study, the effect of Y-27632 eye drops after transcorneal freezing was evaluated in eight corneal endothelial dysfunction patients: four central corneal edema patients and four diffuse corneal edema patients.

RESULTS. Slit-lamp microscopy revealed that both Y-27632-treated and -nontreated corneas became hazy after transcorneal freezing, and then recovered their transparency within 4 weeks. ROCK inhibitor Y-27632 promoted recovery of corneal endothelial cell density and wound healing in terms of both morphology and function. The percentage of ZO-1 and Na⁺/K⁺-ATPase positive cells in the regenerated area in the Y-27632 group was significantly higher than in the controls. Noncontact specular microscopy revealed that corneal endothelial cell density was significantly higher in the Y-27632 group compared with the controls at 4 weeks; cell density reached approximately 3000 cells/mm², as opposed to 1500 cells/mm² in the control group. In addition to the animal study findings, the clinical study findings showed that Y-27632 eye drops effectively improved corneal edema of corneal endothelial dysfunction patients with central edema.

CONCLUSIONS. These findings show that ROCK inhibitor Y-27632 eye drops promote corneal endothelial wound healing in a primate animal model and suggest the possibility of Y-27632 as a novel therapeutic modality for certain forms of corneal endothelial dysfunction. (<http://www.umin.ac.jp/ctr/number/UMIN000003625>.)

Keywords: corneal endothelial cells, rho kinase, ROCK inhibitor, wound healing

The corneal endothelium is critical in maintaining homeostatic corneal transparency. Human corneal endothelial cells (HCECs) show severely limited proliferative ability *in vivo*. As a result, pathological corneal endothelial cell (CEC) loss causes a concurrent compensatory migration and enlargement of the remaining endothelial cells to achieve the functional contact-inhibited monolayer. In corneal endothelial disorders such as Fuchs' corneal dystrophy, pseudophakic bullous keratopathy, or trauma-related injuries, severe impairments of the relevant functions of CECs, namely Na⁺/K⁺-ATPase pump and barrier functions, cause irreversible corneal haziness. In the United States, 42,642 corneal transplantations were performed in 2011.¹ Since corneal endothelial dysfunction is the major indication for performing corneal transplantations, endothelial keratoplasty represented over 40% of all corneal grafts performed in both 2009 and 2010.² However, several severe problems can arise associated with corneal transplantation, including allograft rejection, primary graft failure, and severe loss of cell density. To the best of our knowledge, no clinically

practical medical therapy has been developed to effectively treat corneal endothelial dysfunction.

As an alternative to corneal transplantation, regenerative medical procedures might be a plausible path of therapy for treating severe corneal endothelial dysfunction. Several research groups, including ours, have reported transplantations of cultivated CECs in an animal model to establish a new clinical intervention for corneal endothelial dysfunction.^{3–9} We recently reported the use of cell therapy to successfully achieve the recovery of corneal transparency in both rabbit and primate corneal endothelial dysfunction models.⁹ However, in cases of early-stage corneal endothelial dysfunction, in which stem cells or progenitor cells are still maintained in the tissue, drug therapy may provide a less-invasive or antiproliferation treatment. Our group, as well as several other groups, reported that pharmaceutical agents such as epidermal growth factor, platelet-derived growth factor, FGF-2, and small interfering RNA of connexin 43 showed the potent effect of enhancing the promotion of corneal endothelial cells, both *in vitro* and *in*

vivo.¹⁰⁻¹² However, a pharmaceutical agent has yet to be introduced into the clinical setting.^{1,13} In a previous study, we demonstrated that a specific Rho kinase (ROCK)-inhibitor, Y-27632, increased the proliferative potential of cultivated primate CECs in vitro.¹⁴ Previous studies have reported that the RhoA/ROCK pathway is involved in regulating the actin cytoskeleton, as well as cell migration, apoptosis, and proliferation.¹⁵⁻¹⁹ In addition, Rho GTPases reportedly suppress cell-cycle progression in several cell systems.^{15,19} We also reported that the topical administration of ROCK inhibitor Y-27632 enhanced corneal endothelial wound healing in an in vivo rabbit model in which the corneal endothelium was partially damaged.^{13,20,21}

In the present study, the feasibility of using topically administered ROCK inhibitor Y27632 eye drops for clinical application was evaluated using a primate corneal endothelial dysfunction model. Our findings demonstrated that the use of ROCK inhibitor Y27632 in eye drop form promotes corneal endothelial wound healing of the primate CECs with respect to both endothelial morphology and endothelial functions. Furthermore, CEC density, which is the most crucial indicator in the context of the clinical setting, was found to be recovered to the normal level after administration of the ROCK inhibitor Y27632 eye drops. Of importance, we performed a pilot clinical study and demonstrated the feasibility of ROCK inhibitor Y27632 eye-drop treatment as a therapeutic modality for corneal endothelial dysfunction. These findings provide new insights that ROCK inhibitor eye drops can be developed and employed as a new pharmaceutical agent for the treatment or antiproliferation therapy of corneal endothelial dysfunction.

MATERIALS AND METHODS

Primate Corneal Endothelial Wound Model

The corneal endothelium of seven cynomolgus monkeys (3-5 years of age; estimated equivalent human age: 5-20 years) was damaged under general anesthesia by transcorneal freezing with a 7-mm-diameter probe for 15 seconds (Fig. 1A); the stainless-steel probe was immersed in liquid nitrogen for 3 minutes to stabilize its temperature at approximately -196°C . We confirmed that the transcorneal cryogenic injury damaged the central corneal endothelium in a round shape reproducibly. In all experiments, animals were housed and treated in accordance with the ARVO Statement for the Use of Animals in Ophthalmic and Vision Research. The monkey experiments were performed at the Research Center for Animal Life Science at Shiga University of Medical Science according to the protocol approved by the Animal Care and Use Committee of Shiga University of Medical Science (Approval No. 2008-10-5).

Histological Examination

To evaluate the effect of ROCK inhibitor Y27632 (Wako Pure Chemical Industries, Ltd., Osaka, Japan) on the morphological wound healing process, corneas obtained from one monkey euthanized 48 hours after the transcorneal freeze injury were examined by DAPI (Vector Laboratories, Burlingame, CA) staining. A 10-mM amount of Y27632 was topically applied to one eye of each animal 6 times daily for the first 48 hours. PBS was applied to the fellow eye of each animal as a control. The wound area was then evaluated and calculated by use of Java-based image processing software (Image J; National Institutes of Health, Bethesda, MD).

To investigate the phenotype of reconstructed corneal endothelium obtained from four monkeys euthanized 4 weeks

after transcorneal freezing in the presence or absence of Y-27632 treatment, immunohistochemical analyses of actin, Ki67, ZO-1, and Na^+/K^+ -ATPase were performed. Actin staining was performed with 1:400 diluted AlexaFluor 488-conjugated phalloidin (Life Technologies Corporation, Carlsbad, CA). ZO-1 or Na^+/K^+ -ATPase staining was performed with 1:200 diluted ZO-1 polyclonal antibody (Zymed Laboratories, South San Francisco, CA), or Na^+/K^+ -ATPase monoclonal antibody (Upstate Biotechnology, Inc., Lake Placid, NY). Ki67 staining was performed using 1:400-dilution antimouse Ki67 antibody (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO). AlexaFluor 488-conjugated goat antimouse IgG (1:2000; Life Technologies Corporation) was used as a secondary antibody. Each nucleus was stained with DAPI and examined under a confocal microscope (Leica TCS SPE; Leica Microsystems, Wetzlar, Germany).

Scanning Electron Microscopy

To evaluate the effect of Y27632 on functional wound healing, corneal specimens were obtained from four monkeys at 4 weeks after the treatment. Excised corneas were fixed in 2.5% glutaraldehyde and 2% paraformaldehyde in 0.1 M Sørensen buffer (pH 7.2 to 7.4) for at least 3 hours at room temperature. Following several washes in the buffer and postfixation with 1% aqueous osmium tetroxide, the corneas were dehydrated through an ascending ethanol series and transferred to hexamethyldisilazane (Agar Scientific, Stansted, UK), which was allowed to sublimate off. The samples were then mounted on stubs and sputter-coated with gold before being examined under a scanning electron microscope (model 5600; JEOL Ltd., Tokyo, Japan).

Evaluation of Corneal Appearance and Examination by Specular Microscopy

The corneal endothelium of seven cynomolgus monkeys was injured by transcorneal freezing as described above. Next, 10 mM of ROCK inhibitor Y27632 diluted in PBS (50 μL) was topically applied in one eye of each animal 6 times daily for 2 days, while PBS was applied in the animal's fellow eye as a control. One animal was euthanized at 48 hours after cryoinjury to determine the morphological wound healing process, while the in vivo corneal endothelium of the surviving animals was examined by use of a noncontact specular microscope (Noncon ROBO SP-8800; Konan Medical, Nishinomiya, Japan). Four weeks after transcorneal injury, four animals were euthanized and processed for immunohistological analysis and electron microscopy. The other two animals were kept alive for long-term observation.

Clinical Trial of ROCK Inhibitor Eye Drops

The clinical trial performed in this study was conducted in accordance with the tenets set forth in the Declaration of Helsinki. This study was performed according to a protocol approved by the Institutional Review Board of Kyoto Prefectural University of Medicine (approval number: C-626-2). Prior to this, a phase 1 clinical study of ROCK inhibitor Y-27632 eye drops involving 10 healthy volunteers was conducted (approval number: C-626-1), which confirmed that 10 mM of Y27632 applied 6 times daily for 7 days caused no systemic or local side effects. Clinical trial registration was obtained from the Japanese Infrastructure for Academic Activities, University hospital Medical Information Network (UMIN) (No. UMIN000003625; in the public domain at <http://www.umin.ac.jp/english/>). After proper informed consent was obtained from all subjects, eight eyes of 8 patients scheduled for Descemet's Stripping Automated Endothelial

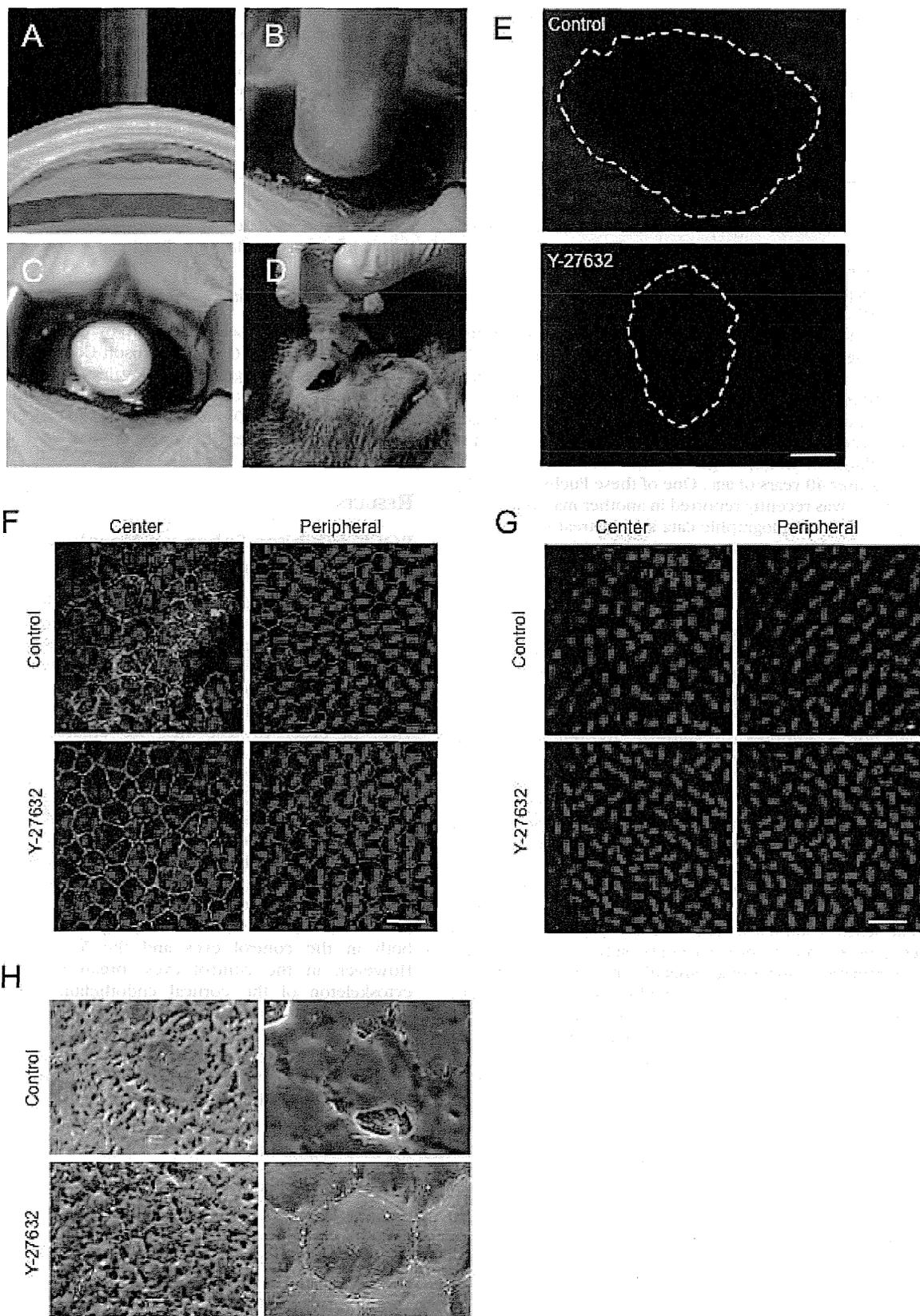


FIGURE 1. Promotion of wound healing by ROCK inhibitor Y27632 in a primate model. (A–C) Central corneal endothelium was partially damaged by transcorneal cryogenic injury. (D) A 10-mM amount of Y27632 (50 μ L) was topically applied in one eye of each animal six times daily for 2 days. (E) DAPI staining shows the corneal endothelial wound. The wound area of the Y27632-treated eye was smaller than that of the control eye after 48 hours. The *white dotted line* indicates the wound area. *Scale bar*: 500 μ m. (F) Flatmount examination of the posterior side of the corneal tissue 4 weeks after Y27632 treatment. *Green* fluorescein indicates F-actin staining (phalloidin) and *blue* indicates nuclear staining (DAPI). In the central area of the corneal endothelium, the actin cytoskeleton is organized at the cortex of the hexagonal cells in the Y27632-treated eyes and exhibits a