

平成 30 年 6 月 6 日現在

機関番号：32650

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K10906

研究課題名(和文) 角膜移植後の角膜内皮細胞減少と前房因子の関連解析

研究課題名(英文) Microenvironment in the aqueous humor have a pivotal role in the survival of the corneal endothelial cells after corneal transplantation

研究代表者

山口 剛史 (Takefumi, Yamaguchi)

東京歯科大学・歯学部・講師

研究者番号：20383771

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,700,000円

研究成果の概要(和文)：主要な失明原因のひとつである角膜疾患は角膜移植で治療するが、他の臓器移植と同様に術後に移植片機能不全となり視力を失うことが少なくない。この原因のほとんどが角膜内皮細胞減少である。これまでの我々の臨床研究から、角膜内皮細胞減少の原因に虹彩と前房環境の病的変化があることを示した。我々の研究から、虹彩・前房水・角膜内皮・角膜実質・涙液と様々な組織を横断した相互作用と恒常性維持機構があり、角膜疾患、特に角膜移植の予後の悪い患者では、そのどれかが病的状態となり、周りの組織に悪影響をし、失明にいたることがわかってきた。今後は病的な前房水の変化をどのように診断し、どのように治療するかをさらに追及したい。

研究成果の概要(英文)：We characterized the cytokine elevation patterns in the aqueous humor (AqH) of various kinds of corneal diseases in different patterns, suggesting the disease-specific pathological inflammatory responses in different corneal diseases, such as pseudophakic bullous keratopathy (PBK), laser iridotomy and Fuchs endothelial dystrophy (FED). Furthermore, we demonstrated that preoperative specific cytokine levels were associated with the rapid reduction of corneal endothelial cell density (CECD) after corneal transplantation. Collectively, our results suggested that the chronic inflammatory response in the AqH leads to CECD loss. In future studies, we will develop the diagnostic and therapeutic system based on the AqH condition, which we believe will improve the prognosis of corneal transplantation.

研究分野：眼科学

キーワード：角膜移植 慢性炎症 サイトカイン バイオマーカー

1. 研究開始当初の背景

角膜内皮細胞機能不全は、角膜疾患および角膜移植後の移植片機能不全の最も多い原因でもある。なぜ角膜移植後に急速に角膜内皮細胞密度が低下するのか？ドナー側や患者側の要因の臨床研究がこれまで多方面からおこなわれてきたが、その原因は不明であった。我々は角膜移植後の角膜内皮細胞密度減少に虹彩損傷が関与することを証明した (Sci Rep 2016)。本研究では、前房環境の変化と角膜内皮細胞の減少の関連を解析した。

2. 研究の目的

角膜移植後の角膜内皮細胞減少の病態を前房水サイトカインから解析する。

3. 研究の方法

角膜疾患での前房水のサイトカイン濃度を Multiplex beads immunoassay で測定し、角膜内皮細胞との関連解析を行った。

4. 研究成果

解剖学的に角膜内皮細胞と虹彩の間には「前房水」が存在する。そこで、前房水の病的炎症性変化が角膜内皮細胞密度減少を引き起こすという仮説で、以下を証明した。

- ①水疱性角膜症など様々な病態で前房水サイトカイン濃度が上昇 (IOVS2016, AJO2017)
- ②虹彩損傷が重症であるほど前房水サイトカイン濃度が上昇 (IOVS2017)
- ③角膜内皮細胞密度と前房水サイトカイン濃度が相関 (Sci Rep 2017)
- ④術前の前房水サイトカインが高いと全層角膜移植術後の内皮細胞が減少する (AJO2017)
- ⑤術前の前房水サイトカインが高いと角膜内皮移植術後の内皮細胞が減少する (IOVS in press)
- ①同じ「水疱性角膜症」と考えられてきた疾患群に病態が違うサブタイプが存在する。

水疱性角膜症が角膜内皮細胞減少により起こるが、角膜内皮細胞減少の理由はわかっていない。内皮細胞減少の治療にどのタイプの水疱性角膜症でも同様に角膜移植が行われるが、一部の患者で予後が悪い。我々は、水疱性角膜症の患者で、疾患によってサイトカインの上昇パターンが異なる、すなわち、同じ水疱性角膜症と考えられてきた疾患に、病態のことなるサブタイプが存在することを示唆する。根本的治療をしないと長期予後の改善はない。逆にいえば、前房水のサイトカインプロファイルによって、水疱性角膜症をサブタイプに分類することが可能であることが示唆する。

②虹彩損傷が重症であるほど前房水サイトカイン濃度が上昇 (IOVS2017)

虹彩色素上皮が炎症制御因子を分泌することは Streilein JW らが 1990 年代にした研究で明らかになっている。本研究は臨床的に虹彩損傷をスコア化し、その重症度と前房水タンパク質とサイトカイン濃度が相関することを明らかにした。しかも、単純な線形相関ではない。本論文は IOVS の Biomarker の Special issue として掲載された。

③角膜内皮細胞密度と前房水サイトカイン濃度が相関 (Sci Rep 2017)

前房内サイトカイン濃度と角膜内皮細胞密度の相関を臨床的に証明した。この論文で、前房水サイトカイン濃度の上昇による角膜内皮細胞の減少には前房内の「慢性炎症」が関与するという概念を提唱した。

①-③は Cross sectional study であるため、相関関係の証明にすぎない、すなわち、前房内サイトカイン濃度上昇が、角膜内皮細胞減少の結果で起きたのか、その原因であるか、分からない。そこで、④-⑤の前向き研究を行った。④術前の前房水サイトカインが高いと全層角膜移植術後の内皮細胞が減少する (AJO2017)。術前の前房水の MCP-1, IL-10, IFN- γ 濃度が高い症例で、角膜移植後に内皮

細胞の急激な減少をきたし、逆にこれらのサイトカイン濃度が低い症例では術後の角膜内皮細胞は減らないことが分かった。術前サイトカインが術後の角膜移植の内皮細胞密度減少の指標になる、すなわちバイオマーカーとなる可能性があることが示唆された。

⑤術前の前房水サイトカインが高いと角膜内皮移植術後の内皮細胞が減少する (IOVS in press)

④と同様のことが角膜内皮移植術後でも証明された。さらに、角膜内皮移植の原因疾患別に検討する、つまり Fuchs 角膜内皮ジストロフィを除外した、内眼手術—緑内障手術 (虹彩損傷が共通点) の群で検討すると、より相関係数が強く IL-17A ($r=-0.635$, 95% CI: -0.819 to -0.319 , $P=0.0004$), MCP-1 ($r=-0.605$, 95% CI: -0.779 to -0.345 , $P<0.0001$), IFN- γ ($r=-0.633$, $P<0.0001$, 95% CI: -0.796 to -0.385) の強い相関があることが分かった。すなわち①で証明したように、同じ水疱性角膜症でも内眼手術後と Fuchs 角膜内皮ジストロフィでは、異なる機序で内皮細胞減少をきたすことが示唆された。

⑥その他の重症角膜疾患の病態に前房水サイトカインが関与する (AJO 2017 など)

Stevens-Johnson 症候群など重症「眼表面疾患」と思われてきた疾患群で、白内障や緑内障の頻度が高いことや角膜内皮細胞減少をきたすことが知られていたがその原因は分かっていなかった。我々は重症眼表面疾患の前房水で炎症性サイトカインの上昇があることを証明した (AJO2017)。また初期移植片内皮機能不全をきたした症例の術前の前房水サイトカイン濃度(IL-6, IL-17A, IFN- γ)が正常眼と比較して 1000 倍以上の高値であることが分かった (Submitted)。

一連の研究成果から、水疱性角膜症とは「角膜内皮細胞が減少することによる角膜浮腫」という概念から、「前房水の病的変化による

角膜内皮細胞の変性疾患である」という新しい疾患概念を提唱することができる。現在の角膜移植は角膜内皮細胞の移植を主眼に置くが、それではどうしても長期的な予後が悪く助けられない患者がいるが、前房水の病的変化をきたさないようにする工夫、例えば、虹彩損傷を最小限にする、治療標的を前房水に見据え、Proteomics 解析 (すでに研究に着手している) などのオミクス技術の応用で、病的な前房水の包括的な病態解明をするという新たな方向性がでてくるだろう。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 7 件)

1. Yamaguchi T, Higa K, Suzuki T, Yagi-Yaguchi Y, Nakayama N, et al. Elevated Cytokine Levels in the Aqueous Humor of Eyes with Bullous Keratopathy and Low Endothelial Cell Density. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 57: 5954-5962, 2016.
2. Ishii N, Yamaguchi T, Yazu H, Satake Y, Yoshida A, et al. Factors associated with graft survival and endothelial cell density after Descemet's stripping automated endothelial keratoplasty. *Scientific Reports* 28; 6: 25276, 2016.
3. Aketa N, Yamaguchi T, Higa K, Suzuki T, Yagi-Yaguchi Y, Satake Y, et al. Iris damage is associated with elevated cytokine levels in aqueous humor. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 58 (5); BIO42-51, 2017.
4. Yagi-Yaguchi Y, Yamaguchi T, Higa K, Suzuki T, Aketa N, et al. Preoperative aqueous cytokine levels are associated with a rapid reduction of endothelial cell density after penetrating keratoplasty. *Am J Ophthalmol*. 181: 166-173, 2017
5. Yazu H, Yamaguchi T, Aketa N, Suzuki T, Higa K, et al. Preoperative aqueous cytokine levels are associated with endothelial cell

loss after Descemet's stripping automated endothelial keratoplasty. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* in press

6. Aketa N, Yamaguchi T, Asato T, Yagi-Yaguchi Y, Suzuki T, Higa K, Kurihara T, et al. Elevated aqueous cytokine levels in eyes with ocular surface diseases. *Am J Ophthalmol.* 184; 42-51, 2017.
7. . Yagi-Yaguchi Y, Yamaguchi T, Higa K, Suzuki T, Aketa N, Murat D, et al. Association between corneal endothelial cell densities and elevated cytokine levels in the aqueous humor. *Scientific Reports.* 7(1); 13603, 2017.

[学会発表] (計 4 件)

1. Preoperative aqueous cytokine levels are associated with a rapid reduction of endothelial cell density after penetrating keratoplasty.

山口剛史

ARVO 2017年5月

2. Primary graft failure をきたした角膜移植眼の前房水サイトカイン

山口剛史

71回臨床眼科学会 2017年10月12日

3. 角膜移植後の短期的に急激に角膜内皮減少をきたした症例の前房水サイトカイン濃度

山口剛史

日本眼科学会総会 2017年4月

4. 前房水サイトカイン濃度の測定

山口剛史

日本臨床眼科学会 2016年11月3日

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 1 件)

出願中

名称：前房水を用いた角膜移植予後の術前診断法

発明者：山口剛史

権利者：山口剛史 東京歯科大学

種類：

番号：特願 2018-098492

出願年月日：2018年5月23日

国内外の別：

○取得状況 (計 0 件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年月日：

国内外の別：

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者山口剛史(Yamaguchi Takefumi)

東京歯科大学・歯学部・講師

研究者番号：20383771

(2)研究分担者 栗原俊英 (Kurihara Toshihide)

慶應義塾大学・医学部・講師

研究者番号：50365342

(3)連携研究者

()

研究者番号：

(4)研究協力者

()