

令和 6 年 6 月 6 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K09718

研究課題名(和文) フックス角膜内皮ジストロフィの発症メカニズムおよびリスクの解析

研究課題名(英文) Analysis on pathogenesis and risk factors of Fuchs endothelial corneal dystrophy

研究代表者

大家 義則(Oie, Yoshinori)

大阪大学・大学院医学系研究科・講師

研究者番号：20599881

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：フックス角膜内皮ジストロフィ(FECD)患者75例中16例(21%)が50以上のTCF4遺伝子のCTGリピート(TNR)異常伸長を示した。伸長群と非伸長群で性別、年齢、角膜移植歴、中心角膜厚、角膜後方散乱、前房形態は有意差がなく、臨床表現型の差はないと考えられた。FECD患者69名を対象に、TNR伸長の不安定性をsmall pool PCRで評価した。白血球由来ゲノムDNAでは15例に50以上の異常伸長が確認され、平均最大TNR数は 1602 ± 1258 、バリエーション数は 19 ± 15 であり、両者は有意に相関していた($R=0.84$, $p<0.05$)。TNR数は末梢血より角膜内皮で大きかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

今回我々は、FECD患者の中でリピート伸長と非伸長患者を比較して角膜後方散乱や前眼部光干渉断層計による前房形態について網羅的に表現型比較を行ったところ、両群に差を認めなかった。リピート非伸長患者において、隅角による角膜虹彩接触が発症要因となっているのではないかと仮説は支持されなかった。さらにリピート異常伸長を合併しているFECD患者での体細胞のリピート不安定性を証明することができた。これらの知見によってFECDの発症メカニズムやリスクの解析が進んだことは学術的に価値が高い。これらの知見を参考にして、現在角膜内皮移植に限られる治療法が開発されれば、その社会的意義は高い。

研究成果の概要(英文)：Sixteen out of 75 patients (21%) with Fuchs endothelial corneal dystrophy (FECD) were complicated with abnormal CTG repeat (TNR) expansion of more than 50 in TCF4 gene. There were no significant differences in gender, age, a history of keratoplasty, central corneal thickness, corneal densitometry, and anterior chamber morphology between the patients with and without TNR expansion, suggesting no differences in clinical phenotype. We assessed the instability of TNR expansion using small pool PCR in 69 patients with FECD. Abnormal TNR expansions of more than 50 in the TCF4 gene were detected in leukocyte-derived genomic DNA from 15 patients. The average maximum TNR number was 1602 ± 1258 , with an average variation of 19 ± 15 . There was a significant association between the TNR number and variation ($R=0.84$, $p<0.05$). TNR expansion was greater in corneal endothelium-derived DNA compared to peripheral blood-derived DNA.

研究分野：眼科学

キーワード：フックス角膜内皮ジストロフィ

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

フックス角膜内皮ジストロフィ (Fuchs endothelial corneal dystrophy: FECD) は加齢とともに両眼性に角膜内皮機能障害をきたす疾患である。中年以降の女性に多く、短眼軸、狭隅角眼が多いことが知られている。本疾患患者の角膜内皮においては異常な細胞外マトリックスが細胞の基底膜側に沈着して滴状角膜と言われる状態となり、スペキュラマイクロスコープではダークエリアと呼ばれる内皮が映らない領域ができる。角膜内皮細胞がアポトーシスを起こして減少するが、この細胞は霊長類の生体内で増殖しないことが知られており、細胞密度が 500cells/mm² 以下になると内皮細胞機能不全によって角膜浮腫をきたして水疱性角膜症と呼ばれる状態となり、角膜が混濁するために視力低下する。米国での有病率は 40 歳以上で 4~5% と非常に高く、日本ではやや少ないと考えられていたが、population based study である久米島研究では滴状角膜の有病率が 4.1% であると報告されたことから、日本でも多く認められる疾患と認識されている。FECD の進行による水疱性角膜症に対する治療は角膜移植が唯一のものであるが、2012 年の global survey では角膜移植を行った 18,576 例の原因疾患のうち 39% が FECD で最多であり医療行政上も極めて重要な疾患である。(Gain P JAMA Ophthalmology 2016) FECD の発症メカニズムとして、現在までのところ酸化ストレス、小胞体ストレス、CTG リピートによるスプライシング異常などが想定されているがいずれも仮説の段階にある。また FECD 患者のうち大多数を占める late-onset type FECD 患者のうち米国で 79%、日本でも 26% は TCF4 遺伝子の第 3 インtron における CTG リピートが 50 以上に延長していることが報告されているが、リピート伸長と FECD 発症の関係は不明である(Wiben ED 2016, Nakano M IOVS 2015)。

2. 研究の目的

本研究の目的は FECD 患者において TCF4 遺伝子の CTG リピートが発症に果たすメカニズムの解明である。トリプレットリピート病である myotonic dystrophy 患者において、原因遺伝子である DMPK 遺伝子は白血球と障害組織である骨格筋でのリピート伸長回数に乖離があることが知られている。しかしながら FECD 患者における白血球と角膜内皮のリピート伸長回数を比較した報告は無い。表現型解析については、本研究においては我が国が世界をリードする立場にある前眼部光干渉断層計(OCT)技術をもちいて角膜の形状や散乱および収差、隅角形状について検討を行う。

3. 研究の方法

(1)FECD 患者の白血球と角膜内皮細胞における TCF4 遺伝子の CTG リピート伸長の違い

FECD 患者の白血球から DNA を抽出し、TCF4 遺伝子の第 3 インtron における CTG リピート伸長を PCR 法、Triplet repeat primed PCR (TR-PCR) 法、サザンブロット法によって検出する。角膜内皮移植を行う FECD 患者においては、手術の際に摘出し通常破棄する角膜組織から内皮細胞を単離して DNA を抽出して検討を行う。

(2)FECD 患者のリピート伸長と角膜表現型の相関解析

角膜内皮移植の対象となった FECD 患者から摘出された角膜組織から内皮細胞を単離して RNA を抽出し、定量 PCR や RNAseq によって発現解析を行う。角膜表現型として、細隙灯顕微鏡検査による modified Krachmer 重症度分類、スペキュラマイクロスコープによるダークエリアの面積比およびその形状、前眼部 OCT (CASIA2) による中心角膜厚、前房深度、隅角パラメーター (AOD500、TIA500 等)、lens vault、ペンタカムによるデンシトメトリー値を評価する。これらの角膜内皮の発現及び表現型解析結果と患者白血球及び角膜内皮における CTG リピート伸長との相関について解析を行う。

4. 研究成果

(1)FECD 患者の白血球と角膜内皮細胞における TCF4 遺伝子の CTG リピート伸長の違い

フックス角膜内皮ジストロフィ (FECD) 患者の体細胞における、TCF4 遺伝子の CTG リピート異常 (TNR) 伸長の不安定性を評価した。69 名の FECD 患者に対して short tandem repeat (STR) assay と triplet repeat primed PCR で評価したところ、白血球由来ゲノム DNA では 69 例中 15 例に 50 以上の異常伸長が認められた。異常伸長が見られた症例の白血球由来ゲノム DNA を用いて small pool PCR によって計測された平均最大 TNR 数は 1602 ± 1258 、バリエーション数は 19 ± 15 であ

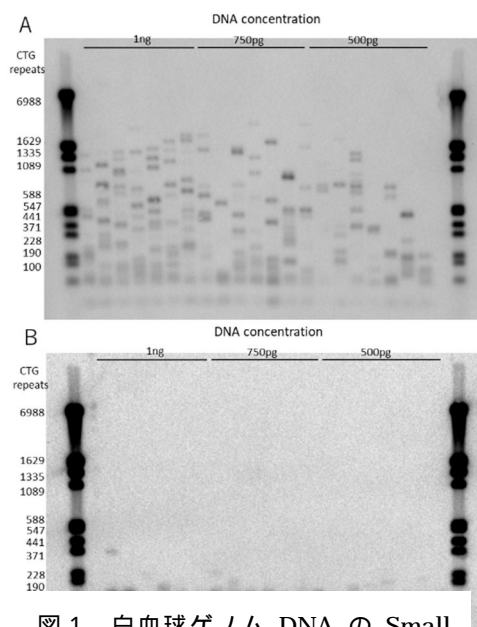


図 1. 白血球ゲノム DNA の Small Pool PCR (A:リピート異常伸長例、B:リピート非伸長例)

り、これら有意に相関していた。(R=0.84, p<0.05)。(図1)角膜内皮移植を施行した患者2例の白血球と角膜内皮におけるTNRの最大値は、それぞれ3199、1285および101、26であった。(図2)FECD患者の白血球においてTNR伸長が不安定であること、白血球に比べて角膜内皮においてTNRがさらに伸長していることが示唆された。

(2)FECD患者のリピート伸長と角膜表現型の相関解析

次にFECD患者におけるTNR異常伸長と角膜臨床表現型との関連を検討した。75例150眼を対象として白血球由来ゲノムDNAのTNR伸長を解析し、Scheimpflugによる角膜後方散乱値、前眼部光干渉断層計による角膜および前眼部の形態学的パラメータをTNRが50以上の異常伸長患者と50未満の患者の間で比較した。75例中16例(21%)が50以上の異常伸長を示した。性別、年齢、角膜移植歴、modified Krachmer grading、角膜後方散乱、前房形態(前房深度、隅角開大度など)は2群間に有意差は認められなかった。前房形態については、単変量混合モデルを用いても、中心角膜厚(P=0.047)を除いて有意差は認められなかった。(下表)さらに多変量混合モデルでは、TNR異常伸長は中心角膜厚とは有意に関連していなかった(P=0.27)。日本人のFECD患者において、TNR異常伸長の有無による臨床表現型の差は認められなかった。

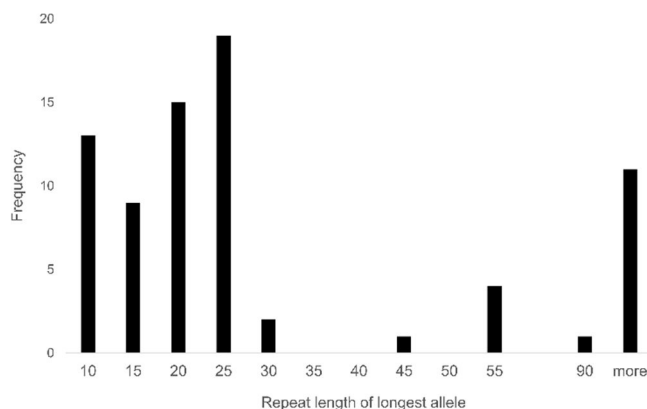


図2. 白血球ゲノムDNAのTCFリピート数

	Expansion group	Non-expansion group	P-value
Central corneal thickness (μm)	592.7 ± 48.4	563.6 ± 46.9	0.047
Thinnest corneal thickness (μm)	576.0 ± 40.8	550.7 ± 41.6	0.06
ACD (mm)	2.4 ± 0.5	2.5 ± 0.4	0.56
AOD_T500um (mm)	0.4 ± 0.3	0.3 ± 0.2	0.35
AOD_T750um (mm)	0.5 ± 0.4	0.4 ± 0.2	0.22
AOD_N500um (mm)	0.4 ± 0.3	0.3 ± 0.2	0.52
AOD_N750um (mm)	0.5 ± 0.4	0.4 ± 0.3	0.42
ARA_T500um (mm ²)	0.1 ± 0.1	0.1 ± 0.1	0.49
ARA_T750um (mm ²)	0.3 ± 0.2	0.2 ± 0.1	0.37
ARA_N500um (mm ²)	0.2 ± 0.1	0.1 ± 0.1	0.50
ARA_N750um (mm ²)	0.3 ± 0.2	0.2 ± 0.1	0.44
TISA_T500um (mm ²)	0.1 ± 0.1	0.1 ± 0.1	0.52
TISA_T750um (mm ²)	0.2 ± 0.2	0.2 ± 0.1	0.37
TISA_N500um (mm ²)	0.1 ± 0.1	0.1 ± 0.1	0.54
TISA_N750um (mm ²)	0.3 ± 0.2	0.2 ± 0.1	0.46
TIA_T500um (°)	32.2 ± 17.2	28.1 ± 13.1	0.44
TIA_T750um (°)	31.1 ± 16.2	25.5 ± 12.3	0.28
TIA_N500um (°)	31.2 ± 17.0	29.4 ± 12.2	0.72
TIA_N750um (°)	28.9 ± 16.2	25.5 ± 12.5	0.51
LV (mm)	0.4 ± 0.3	0.5 ± 0.3	0.76
ACW (mm)	11.3 ± 0.5	11.4 ± 0.4	0.59

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計11件（うち査読付論文 5件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Yoshinori Oie, Seiichiro Sugita, Shunji Yokokura, Toru Nakazawa, Daisuke Tomida, Yoshiyuki Satake, Jun Shimazaki, Yuko Hara, Atsushi Shiraiishi, Andrew J Quantock, Takahiro Ogasawara, Masukazu Inoie, Kohji Nishida	4. 巻 130
2. 論文標題 Clinical Trial of Autologous Cultivated Limbal Epithelial Cell Sheet Transplantation for Patients with Limbal Stem Cell Deficiency	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Ophthalmology	6. 最初と最後の頁 608-614
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.opthta.2023.01.016	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Akira Tanikawa, Takeshi Soma, Atsuya Miki, Shizuka Koh, Yoshiyuki Kitaguchi, Naoyuki Maeda, Yoshinori Oie, Satoshi Kawasaki, Kohji Nishida	4. 巻 261
2. 論文標題 Assessment of the corneal biomechanical features of granular corneal dystrophy type 2 using dynamic ultra-high-speed Scheimpflug imaging	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol .	6. 最初と最後の頁 761-767
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00417-022-05847-8	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Sayo Maeno, Shizuka Koh, Ryota Inoue, Yoshinori Oie, Naoyuki Maeda, Vishal Jhanji, Kohji Nishida	4. 巻 243
2. 論文標題 Fourier Analysis on Irregular Corneal Astigmatism Using Optical Coherence Tomography in Various Severity Stages of Keratoconus	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Am J Ophthalmol .	6. 最初と最後の頁 55-65
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ajo.2022.07.002	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Yuki Hamano, Kazuichi Maruyama, Yoshinori Oie, Naoyuki Maeda, Shizuka Koh, Noriyasu Hashida, Kohji Nishida	4. 巻 66
2. 論文標題 Novel corneal morphological alterations in Vogt-Koyanagi-Harada disease	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Jpn J Ophthalmol .	6. 最初と最後の頁 358-364
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10384-022-00914-3	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Shigeyasu Chika, Yamada Masakazu, Fukuda Masahiko, Koh Shizuka, Suzuki Takashi, Toshida Hiroshi, Oie Yoshinori, Nejima Ryohei, Eguchi Hiroshi, Kawasaki Ryo, Nishida Kohji, for the Research Group of Severe Contact Lens-associated Ocular Complications	4. 巻 48
2. 論文標題 Severe Ocular Complications Associated With Wearing of Contact Lens in Japan	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Eye & Contact Lens	6. 最初と最後の頁 63~68
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/ICL.0000000000000870	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 稲富 勉, 臼井 智彦, 大家 義則, 小林 顕, 崎元 暢, 山口 剛史	4. 巻 126
2. 論文標題 ヒト羊膜基質使用ヒト(自己)口腔粘膜由来上皮細胞シート使用要件等基準	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 日本眼科学会雑誌	6. 最初と最後の頁 388-394
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 大家 義則, 相馬 剛至, 西田 幸二	4. 巻 39
2. 論文標題 特集 再生医療への期待~各疾患領域における現況と展望~ 眼科領域の再生医療	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Pharma Medica	6. 最初と最後の頁 41~44
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.34449/J0001.39.12_0041-0044	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 大家 義則	4. 巻 75
2. 論文標題 増刊号 この症例このまま診ていて大丈夫? 病診連携にもとづく疾患別眼科診療ガイド 2 角膜 角膜化学腐食・熱腐食	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 臨床眼科	6. 最初と最後の頁 119~124
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.11477/mf.1410214158	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 稲富 勉, 白井 智彦, 大家 義則, 小林 顕, 崎元 暢, 山口 剛史	4. 巻 126
2. 論文標題 ヒト(自己)口腔粘膜由来上皮細胞シート使用要件等基準(改訂第2版)	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 日本眼科学会雑誌	6. 最初と最後の頁 43-51
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 大家 義則	4. 巻 75
2. 論文標題 連載 今月の話題 眼科領域初の再生医療製品としてのヒト(自己)角膜輪部由来角膜上皮細胞シート	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 臨床眼科	6. 最初と最後の頁 1287~1292
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子) 10.11477/mf.1410214114	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 西田 幸二, 村上 晶, 東 範行, 島崎 潤, 宮田 和典, 山田 昌和, 外園 千恵, 白石 敦, 榛村 重人, 白井 智彦, 大家 義則, 池田 陽子, 内野 裕一, 大本 美紀, 倉上 弘幸, 重安 千花, 子島 良平, 三田村 浩人, 森 洋斉, 山田 知美, 堀 裕一, 尾島 俊之, 赤井 規晃, 西田 希	4. 巻 125
2. 論文標題 前眼部形成異常の診療ガイドライン	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 日本眼科学会雑誌	6. 最初と最後の頁 605-629
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計8件(うち招待講演 3件/うち国際学会 2件)

1. 発表者名 大家義則
2. 発表標題 DMEKスタートアップ、DSAEKtriple
3. 学会等名 第76回日本臨床眼科学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Yoshinori Oie
2. 発表標題 Fuchs Endothelial Corneal Dystrophy When to Perform Endothelial Keratoplasty
3. 学会等名 The 38th Asia-Pacific Academy of Ophthalmology Congress 2023 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 4. 大家義則、前野紗代、相馬剛至、高静花、川崎良、前田直之、西田幸二
2. 発表標題 フックス角膜内皮ジストロフィ患者の白内障術後角膜内皮代償不全の術前因子による予測
3. 学会等名 角膜カンファランス2023
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 大家義則
2. 発表標題 角膜ジストロフィ、結膜疾患
3. 学会等名 第75回日本臨床眼科学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yoshinori Oie
2. 発表標題 What affects visual function in FECD patients?
3. 学会等名 Asia cornea society 7th Biannual meeting Symposium 8 Fuchs endothelial corneal dystrophy and genetics (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 大家義則、西田希、前田鈴香、藤元智穂美、阿曾沼早苗、高静花、川崎良、前田直之、西田幸二
2. 発表標題 フックス角膜内皮ジストロフィ患者における視機能と散乱および収差の相関解析
3. 学会等名 第125回日本眼科学科総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 大家義則、山口剛史、西田希、川崎良、島崎潤、西田幸二
2. 発表標題 フックス角膜内皮ジストロフィ の診断基準と重症度分類のシステムティックレビュー
3. 学会等名 角膜カンファランス2022
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 2. 大家義則
2. 発表標題 フックス角膜内皮ジストロフィ のレジストリ構築
3. 学会等名 角膜カンファランス2022 (招待講演)
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------