

表 題 角膜内皮移植後の嚢胞様黄斑浮腫および内皮細胞損失に関連する因子について

論文の区分 論文博士

著 者 名 伊野田 悟

所 属 自治医科大学 眼科学部門

2020年 8月 15日申請の学位論文

紹介教員 地域医療学系 専攻 眼科学 専攻科  
職名・氏名 教授 川島 秀俊

## 目次

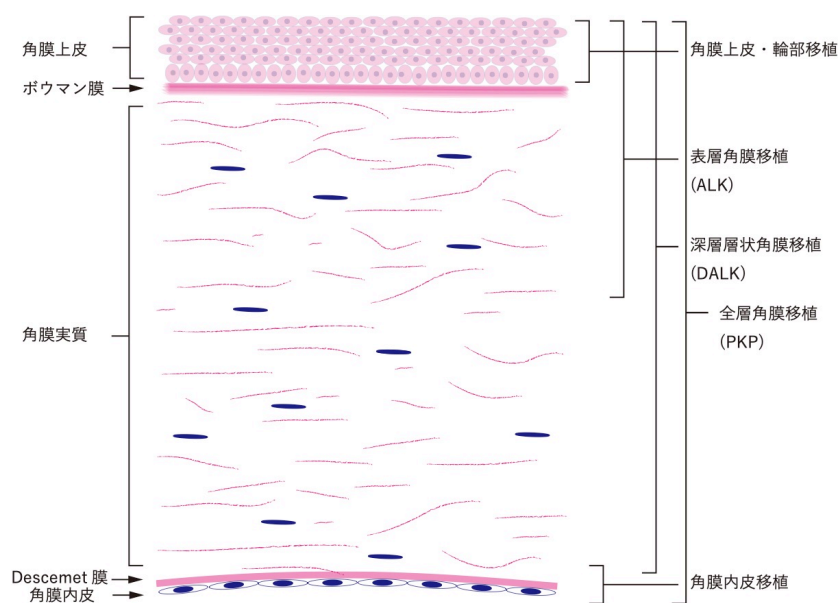
1. 緒言
2. 角膜
3. 角膜障害
4. 角膜移植
  - 4.1 角膜パーツ移植
  - 4.2 DMEK 術後合併症
  - 4.3 嚢胞様黄斑浮腫 (Cystoid macular edema, CME)
  - 4.4 角膜内皮細胞の術後残存率
  - 4.5 黄色人種 (日本人) での DMEK
5. 本邦における DMEK 術後 CME の発症頻度とその危険因子について
  - 5.1 研究デザイン
  - 5.2 手術手技及び術後治療
  - 5.3 術後眼科検査
  - 5.4 虹彩損傷
  - 5.5 統計解析
  - 5.6 結果
    - 5.6.1 患者背景
    - 5.6.2 嚢胞様黄斑浮腫 (Cystoid macular edema, CME)
  - 5.7 考案
  - 5.8 小括
6. 本邦における DMEK 術後内皮細胞密度とその関連因子について
  - 6.1 研究デザイン
  - 6.2 手術手技
  - 6.3 統計解析
  - 6.4 結果
    - 6.4.1 患者背景
    - 6.4.2 術後 ECD と関連する因子について
  - 6.5 考案
  - 6.6 小括
7. 結論
8. 参考文献

## 1. 緒言

角膜は強膜とともに眼球壁の一部を構成する無血管・透明臓器である。眼表面に存在するため微生物や低分子物質の侵入を防ぐバリアの役割を担う。また、角膜には屈折率を有するレンズとしての役割があり、その屈折力は約 43 diopter と眼球全体の屈折率のおよそ 2/3 を占める。角膜のレンズとしての透明性が失われれば、眼球内への光路の入口が障害され、視機能は低下する。角膜はこの眼球表面に存在する壁として強固な組織構造を保ちながら、レンズとしてその透明性を維持する必要がある。

## 2. 角膜

角膜はドーム状の形態をし、曲率半径の異なる前面(外表)・後面(内面)を有し、屈折率は約 1.3 である。組織学的には、外表の上皮、ボウマン膜、実質、Descemet 膜、内皮の 5 層で構成される。



**図1 角膜層構造とパーツ移植**

角膜は5層で構成され、実質が9割の厚みを占める。異常部位を見極めて、適応術式を検討する。

このうち、角膜上皮は5～6層からなる非角化型重層扁平上皮であり、最表層の細胞間隙に存在するタイトジャンクションによって角膜の機械的バリア機能を担う。そして、常に新しい細胞が角膜周辺部(角膜輪部)に存在する角膜上皮

幹細胞から供給される[1]。外傷などによって角膜上皮細胞が損傷すれば、角膜上皮幹細胞が増殖し、角膜輪部から中央に向かう細胞移動が生じる。

角膜実質は、角膜厚の 90%を占め、角膜実質細胞や細胞外マトリックスのコラーゲンやプロテオグリカンなどで構成される。コラーゲンは主に I 型コラーゲンで構成され、直径の小さなコラーゲンが近接して等間隔に格子状に配列し、角膜の透見性を維持している[2, 3]。プロテオグリカンは、角膜実質の水分保持とコラーゲン繊維の構造維持に重要である。成体の角膜実質細胞は通常は静止状態にあり、実質のターンオーバーを 2-3 年かけて行なっているとされる。このコラーゲンの格子構造が外傷や感染などで破綻されると、その部位の実質細胞はアポトーシスを起こす。そして、創傷周囲の実質細胞は活性化し、損傷した細胞外マトリックスを産生し、一部は線維芽細胞に分化・収縮を起こし創傷治癒を図る[4, 5]。この際に産生される細胞外マトリックスは無秩序に産生されるため、外傷や感染から治癒後に、角膜実質が混濁し[6, 7]、視力低下の原因となる。

角膜内皮細胞には Na-K ATPase が存在し、能動輸送によって角膜実質から水分を汲み出す役割をもつ。出生時には内皮細胞は  $6000\text{cell}/\text{mm}^2$ 、成人時には  $3500\text{cell}/\text{mm}^2$  ほどになる。角膜内皮細胞は発生学的には神経堤細胞由来とされ[8]、再生能には乏しくヒト生体内では再生・分裂しない。生理的に 0.6%/年ずつ減少し、85 歳頃には  $2500\text{cell}/\text{mm}^2$  ほどまで減少する[9]。内眼手術・外傷・コンタクトレンズの長期使用などのストレスによって、内皮細胞は障害を受け、内皮細胞密度(endothelial cell density, ECD)は低下する。ECD 低下が進行すれば、ポンプ機能のバランスが追いつかず、水疱性角膜症(Bullous keratopathy, BK)という不可逆的な不透明状態になる。

### 3. 角膜障害

角膜障害は、視機能低下や感染の原因となる。外傷・自己免疫の機能異常、その他の疾患などが主な角膜障害の原因である。

角膜障害には、ドライアイなどで生じる上皮点状障害などの軽症な場合でも視力障害となる。角膜上皮障害であれば、点眼加療や涙液層を維持するための涙点プラグなどによって治療を行う。しかし、外傷による穿孔などの重症な場合には、特に創口が大きい場合は角膜縫合が必要となる。角膜組織に欠損があ

る場合には、穿孔創は挫滅していることが多く、全層角膜移植術 (penetrating keratoplasty, PKP) の適応となる。また、上皮障害が点眼加療などに反応せずに感染を生ずれば角膜潰瘍となる。角膜潰瘍は抗生剤点眼加療が中心となるが、治癒後には瘢痕病巣として白斑を残すことがある。視機能に影響を与える場合、角膜実質浅層までの白斑であれば表層角膜移植 (anterior lamellar keratoplasty, ALK) が、全層にわたる混濁であれば PKP が適応となる [10]。

正常角膜では中央部付近には血管がなく血球が入り込まないが、角膜周辺部には豊富な毛細血管が存在しており、自己免疫異常から非感染性の潰瘍を形成することがある [11]。関節リウマチなどの膠原病を患う場合に発症しやすく、角膜輪部に角膜潰瘍を形成する。免疫反応が異常に強い場合には角膜菲薄化が進行し穿孔するため、角膜移植が必要となる事がある。

視力障害となる疾患の中には、角膜ジストロフィーや円錐角膜といった先天疾患や、帯状角膜変性・角膜内皮障害に伴う BK などが含まれる。角膜ジストロフィーは、両眼性・進行性の特有の病理像を示す非炎症性角膜疾患で、遺伝や家族歴があり、角膜以外に全身症状を伴わないものを指す。本邦では顆粒状角膜ジストロフィー、膠様滴状角膜ジストロフィー、格子状角膜ジストロフィーなどの頻度が多く [12]、ヒアリンやアミロイドなどのタンパク質が沈着し混濁の原因となる。沈着部位が表層のみであればレーザー加療によって、切開・除去できる [13]。格子状角膜ジストロフィーではデスメ膜直上まで沈着が及ぶため、PKP や深層角膜移植 (deep anterior lamellar keratoplasty, DALK) が適応となる [14]。円錐角膜は角膜の物理的剛性が徐々に低下し、中央部が進行性に菲薄化し前方に突出する疾患である。乱視によって生じ進行性の視力低下が問題となる。重症な場合では矯正不能となる。乱視が進む前に角膜クロスリンクという角膜実質の剛性を強くする治療法が有用である [15]。進行してしまった場合には、DALK や PKP が必要となる [16]。

帯状角膜は、カルシウムリン酸塩が沈着し混濁が生ずる。添加剤としてリン酸緩衝液を含む点眼が原因となることもあるが、慢性ぶどう膜炎、緑内障、網膜剥離などの術後にシリコンオイルが充填される場合などが原因となる。レーザーで除去する場合やエチレンジアミン四酢酸によってカルシウムリン酸塩を融解、除去する方法が有用である [17]。

感染はその原因微生物に応じて薬剤加療を行う。上皮での感染では、感染巣を擦過し塗抹標本を作成し、顕微鏡的に観察することや、角膜擦過部から微生物培養を行い、原因微生物の同定することが重要である。感染がコントロールできない場合、角膜が菲薄化し穿孔する。穿孔する恐れがある場合には、穿孔前に感染部位を切除し、DALK を行うことがある[18]。薬剤加療が奏功し、感染がコントロールできた場合でも瘢痕化病巣を残し透明性が低下する場合や、菲薄化などの形態異常によって強い乱視を残す場合があり、ALK・DALK・PKP などの適応を検討する必要がある。

BK は、ECD の低下によって生じる角膜実質の浮腫が病態であり、視力低下の原因となる。角膜実質の構成成分の 1 つであるプロテオグリカンには、吸水性が高い特徴をもつ。正常な角膜では、この吸水能によって前房水を角膜実質内に汲み上げ、吸い上げられた前房水が角膜実質を栄養する。角膜実質の老廃物は角膜内皮細胞に存在する Na-K ATPase によって、能動的に前房側へ排出される。角膜内皮細胞は再生能乏しいため、一度 ECD が低下すれば、排水能が低下し、実質内に貯留した水分が排出できず、不可逆性の角膜実質浮腫を生ずる。原発性の代表疾患がフックス角膜ジストロフィー (Fuchs endothelial corneal dystrophy, FECD) であり欧米で頻度が多い疾患である。詳細は後述する。続発性に角膜内皮細胞障害をきたす疾患としては、落屑症候群、サイトメガロウイルス角膜内皮炎、コンタクトレンズ長期装用、アルゴンレーザー虹彩切開術後、白内障術後、緑内障術後、角膜移植後などに起因するものが多い[19]。BK は進行すると、角膜実質浮腫から上皮浮腫も併発するようになり、角膜上皮が瞬目によって容易に剥離・障害を受け、疼痛の原因となる。一度 BK になると、薬剤加療は奏功せず外科的に新しい内皮細胞を供給するしか治療法がない。内皮細胞とあわせて正常な他の角膜層も供給する PKP が唯一の治療方法であったが、最近になり角膜内皮細胞のみを移植する角膜内皮細胞移植が主流となった[20]。

#### 4. 角膜移植

角膜移植手術は、1905 年に Edward Zirm によりヒトからヒトへの PKP の成功が初めて報告されて以来、歴史の長い手術である[21]。本術式は、角膜中央部

の角膜上皮から内皮細胞層までの5層を一塊として交換する術式である。その後1950年代には、ステロイド剤の登場やその後の眼科器具の発展から、PKPの移植角膜片残存率や視力予後が改善し、最も普及し一般的な臓器移植の一つとなった。全層を入れ替えるため、どの角膜細胞層の障害に対しても対応が可能であり、現在も必要とされる術式の1つである。

#### 4.1 角膜パーツ移植 (図1)

しかし、PKPにもいくつかの欠点がある。まず、拒絶反応である。角膜は、血管やリンパ管がなく拒絶反応が起きにくい(これを、免疫特権を持つ組織であると呼ぶ)。しかし、免疫特権を持つ角膜であっても、血管侵入を有する炎症眼や、虹彩前癒着を有するハイリスク症例においては拒絶が生ずるリスクが高くなる。また、炎症のない低リスク症例においても、拒絶反応の可能性は10%以上あるとされ、副腎皮質ステロイドの長期使用は不可欠である[22, 23]。次に、大きな切開創による問題点〔術中の駆逐性出血、眼球強度の低下〕や、縫合糸に伴う術後感染症などの合併症がある。PKP術中には一時的にホスト角膜を除去するため、一部の眼球壁がなくなる。その状態をオープンスカイと呼ぶが、眼内容物の圧力に対する壁がないため、駆逐性出血という失明に至る可能性が高い重症な眼深部からの出血リスクが伴う。更にPKPではグラフトをマニュアルで360度縫合するため、高度の不正乱視が発生しやすく、切開範囲・縫合範囲が多いため、眼球の強度低下も伴う。術後の眼球破裂は時に致命的な合併症となり、5.8%との報告もある[24]。

術後の虹彩癒着や、ステロイドの長期使用による緑内障の合併も高率16-19(%)であり[22]、PKPに伴う合併症は多彩である。

角膜障害では、部分的な障害により視力障害をきたすことが多い。そこで、健常な組織を最大限残し、PKPの欠点を持ち込まないことをコンセプトとし、角膜パーツ移植が考え出された。角膜パーツ移植は、角膜上皮・実質・内皮細胞層をパーツに分け、移植する方法である。(図1)

パーツ移植のメリットは、病的部位のみを移植片と交換するためホストの健常組織を最大限残せる点である。使用するドナー組織を最小限に局限することで、本来の組織抗原性や抗原提示細胞を最小限にすることができる。拒絶反応

の発症率は低下し、最低限度の局所的な抗免疫療法で長期的に角膜透明性が維持できるようになった。

角膜パーツ移植は 1997 年、角膜表面から実質深層を移植する DALK が始まりである[25]。DALK では、再性能のないホスト角膜内皮細胞を温存することで、拒絶反応が生じにくく、長期に亘り良好な ECD 維持が可能となった。

また、内眼手術や FECD で障害されやすく再生能がない内皮細胞の治療法として、角膜内皮移植が開発された。内皮移植の先駆けとして Melles らによって、1998 年に後部層状角膜移植[26]、2004 年にホスト角膜実質後部を除去せず Descemet 膜のみ除去する Descemet stripping endothelial keratoplasty (DSEK) [27]、Gorovoy らによって移植片をマイクロケラトームで作成する Descemet stripping automated endothelial keratoplasty (DSAEK) [28] が報告された。Melles が発案当初のグラフト作成は、特殊器具を用いた手作業での層状剥離であったため、グラフト厚が不均一となりやすく高次収差が生じやすかった。しかしこれも、マイクロケラトームでのグラフト作成によって安定したグラフト作成が可能となり、術後視力が向上し、広く普及するに至った。

角膜内皮機能不全に対する治療法であるこれらの角膜内皮移植術では、ホスト角膜実質を切除せずに Descemet 膜・内皮を含む内層側のみを除去する。その後、グラフトを眼球前房内に挿入し、術後仰臥位を維持してもらい空気・ガスタンポナーデ効果によって無縫合でホスト実質裏面に接着させる手技である。現在は、DSAEK および Descemet membrane endothelial keratoplasty (DMEK) の 2 つの術式が主流であり、それぞれドナーからホストに持ち込む角膜層・厚みが異なる。DSAEK では、ドナー角膜実質を含むおよそ 150 $\mu$ m、直径 8.0mm 程度のグラフトを挿入するのに対して、DMEK では Descemet 膜と内皮のみの非常に薄い(15-20 $\mu$ m)グラフトを挿入する(図 2、図 3)。DSAEK で移植される薄い実質を含むグラフトは、グラフト・ホスト間の混濁や光学的な不均一性、角膜厚が厚くなるため術後に遠視になりやすいといった術後視機能に問題が生じやすい[29, 30]。この問題を解決するべく Melles らは眼内に持ち込むグラフトを最小限にした DMEK を提唱した[31]。DMEK は非常に薄い移植片を用いるため、光学的に DSAEK と比較しても術後早期から非常に良好な視力が得られる可能性が高い優れた術式である[32]。



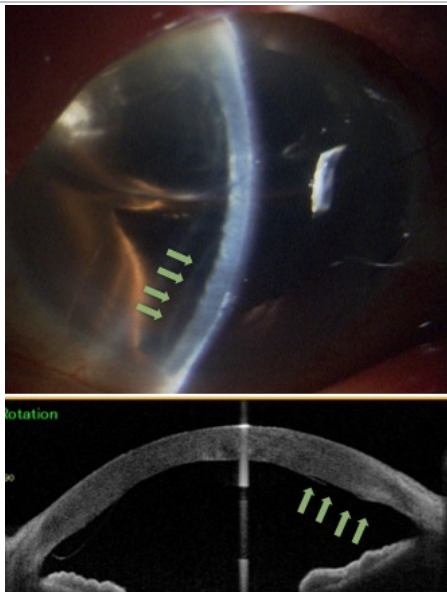
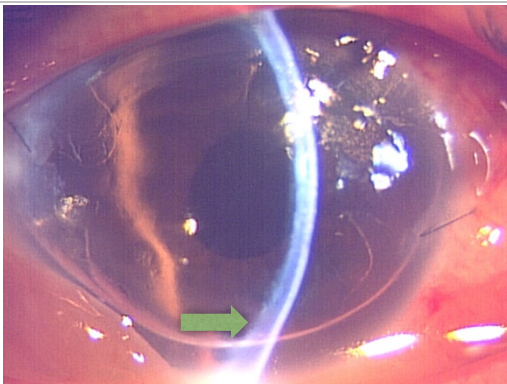
	
<p><b>図 2 DSAEK 術後前眼部 OCT</b></p> <p>厚みのあるグラフトがホスト角膜下に接着している。</p>	<p><b>図 3 DMEK 術後前眼部 OCT</b></p> <p>非常に薄い高輝度の薄い膜一枚のグラフトが接着している。</p>

角膜内皮移植では、角膜表層が温存され、縫合が必要最低限となり、縫合糸関連の感染症リスクが低減された。また、免疫反応だけでなく、機能面からも有効性が高い。ホスト角膜実質を温存するため、角膜形状が維持され、術後惹起乱視が最小限に抑えることができる。そして、PKPのようにホスト角膜全体を取る必要がなくなり、オープンスカイに起因する駆逐性出血などの術中リスクを回避できる。

#### 4.2 DMEK 術後合併症

DMEK 術後合併症として重要なものとして、原発性移植片不全、移植片剥離、眼圧上昇、拒絶反応、角膜内皮細胞損失、嚢胞様黄斑浮腫（Cystoid Macular Edema, CME）などがある。本邦を含まない 47 施設からの報告レビューでは、原発性移植片不全は約 1.9%(0-12.5%)、移植片剥離に対する空気の再吸入(リバブリング)は約 28.8%(2.4-82%)、眼圧上昇は 0-24%に、拒絶反応は 1.9%(0-5.9%)に、術後半年での平均内皮損失率は約 33%（25-47%）と報告された[33]。

術後合併症のうち早期に認められる合併症が、移植片剥離(図 4)であり、ECD 低下の原因となり、グラフト機能不全のリスク因子である[34]。DMEK での移植片剥離の多くは末梢の小さな範囲での分離であり、その多くが前房内残存ガスや接着部から徐々に接着する[35]。しかし、移植片の 1/3 以上が剥離する場合にはリバブリングが必要となる。このリバブリング率を下げるために、前房内貯留時間が 100%空気よりも長い六フッ化硫黄ガス(SF6)をタンポナーデとして利用することが有効とされる[36, 37]。

	
<p><b>図 4 部分的移植片剥離</b></p> <p>細隙灯顕微鏡で下方のグラフト剥離(緑矢印)を認め、一致する前眼部 OCT で同部位のグラフト剥離と、剥離範囲でホスト角膜の肥厚を認める。</p>	<p><b>図 5 虹彩切開</b></p> <p>瞳孔ブロック予防に、術中に虹彩切除部位(緑矢印)を作成。</p>

また、術後の眼圧上昇は内眼手術には一般的であるが、DMEK では前房内に注入した空気・ガスによって、瞳孔ブロックが生じる急性・一過性眼圧上昇が特徴である[36]。著しい眼圧上昇では、網膜動脈閉塞症による網膜障害や視神経障害による不可逆性の視力低下を引き起こす。この瞳孔ブロックの予防のため、術前・術中に末梢虹彩切開を切開(図 5)し[38]、前房内充填物の量を調整することが有効である。

原発性移植片不全は、グラフトが適切に接着したものの角膜浮腫が改善せず透明にならないことをいう。グラフトの術前または術中操作による機能低下が原因とされるが、既報にはグラフトを表裏逆さまに貼り付けたケースも含まれる。グラフトが透明なため、術中に位置を見失いやすく、表裏の判別が困難なためである。解決策として、トリパンプルーやブリリアントブルーGを染色液として用いることや[39]、グラフト辺縁に非対称性に2組の円形マーキングを作成し、表裏の区別をつけやすくするテクニックが有効である[40]。

拒絶反応は、レシピエント免疫が移植されたグラフトを抗原と認識して生じる。DMEK では、1%程度とされるが、持ち込む移植片内の抗原が DMEK と比較し

て多い PKP ではおよそ 18%、DSAEK で 5-12%と明らかに DMEK よりも発症率が高い[41, 42]。

#### 4.3 嚢胞様黄斑浮腫 (Cystoid macular edema, CME)

CME は角膜内皮移植術にのみ特徴的な合併症ではなく、内眼手術や多くの疾患の合併症である。CME は、網膜中心部・視機能にとって重要な錐体細胞が密に存在する黄斑部に生じる網膜内浮腫である。正常な視細胞・軸索配列を乱し、視力障害の原因となる重要な合併症である。古くは視力低下を伴い、検眼鏡に黄斑部肥厚がある場合に、臨床的 CME と診断された。また、フルオレサイトを用了血管造影検査での造影剤の漏出所見は大切な所見である。2000 年前後からは、網膜断層像を非侵襲的に光学顕微鏡で観察される切片のように描出できる光干渉断層計(optical coherent tomography, OCT)の登場によってより簡便・正確に診断ができるようになった。

CME の詳細な成因はわかっていないが、血液網膜関門の破綻、血管透過性の亢進、血液内外の静水圧勾配の変化、硝子体の牽引などによって生じると考えられている。特に術後 CME は、術中侵襲によってホスホリパーゼ A2 活性が上昇し、炎症性メディエーターであるプロスタグランジン(prostaglandin, PG)が合成・促進されることが原因と考えられている。増加した PG によって血液網膜関門が破綻し[43]、血管透過性の亢進が生じ、網膜浮腫へと至る[44, 45]。

術後 CME のうち、白内障術後 CME は Irvine-Gass syndrome として知られ、1953 年に Gass や Norton らによって白内障術後の視力不良となる合併症として報告された[46, 47]。CME の急性期症状は 6 ヶ月以内に回復する事が多いが[48]、糖尿病、ぶどう膜炎、網膜静脈閉塞症を合併している場合や高齢者、また緑内障治療薬である PG 関連薬の使用によって発症リスクが高くなる[49]。

PKP、DSAEK、DMEK などの角膜移植においても、術後 CME の発症が報告されるようになった[50-52]。特に近年では、欧米諸国から DMEK 術後 CME の発症率や危険因子について報告され、その発症率は 7-13.8%程度とされる[53-56]。これらの報告から、CME 発症は術後 6 ヶ月以内に多く、術後早期のルーティンでの OCT による CME 検査が推奨された[53]。また、術後早期のステロイド性消炎薬点眼頻回点眼によって、DMEK 術後の CME 発症率を抑えたという報告もあるが[54]、明らかな危険因子や決定的な治療法は同定されていない。

#### 4.4 角膜内皮細胞の術後残存率

ECD の維持は、角膜移植においてグラフト生存期間に直接かかわる重要な因子である[57]。正常な角膜内皮細胞においても加齢に伴って ECD はゆっくりと低下するが、移植後はその低下速度が著しく早くなる[58]。

DMEK は優れた術式だが、PKP 同様、術後 ECD の比較的大幅な減少が問題となる[58-62]。特に、白内障術後・アルゴンレーザー虹彩切開などによる BK に対する DMEK、緑内障手術の既往、拒絶反応が生じた場合、そして虹彩損傷が多い場合には、術後 ECD の減少は顕著とされる[63-68]。

#### 4.5 黄色人種(日本人)での DMEK

DMEK 術後合併症に関するこれまでの報告はすべて西欧諸国からであり、対象患者は白人である。しかし、DMEK に関して西欧諸国とアジアでは大きな相違点が 2 点ある。

まず適応疾患が異なる。DMEK の適応疾患として、FECD が 米国では 49%、オランダ 85%、ドイツ 80%、BK が米国 17%、オランダ 10%、ドイツ 11%などである [53, 69-71]。その一方で、本邦を含むアジアでは BK が適応疾患の主要因である[72, 73]。BK と FECD では、FECD において DMEK 術後の内皮残存率が良いとされ[74, 75]、適応疾患が異なることでサブクリニカルな術後経過が異なることを示唆する。

FECD は、緩徐に進行する両眼性の角膜内皮ジストロフィーで、徐々に肥厚するデスメ膜と、デスメ膜・角膜内皮細胞下に肥厚した増殖物(滴状角膜；Guttae)が特徴であり、多くは先天性である。Guttae は FECD 患者での異常な角膜内皮が産生するフィブロネクチンや I 型コラーゲンなどの細胞外マトリックスが、角膜内皮の直下に蓄積することが原因である[76]。徐々に進行すると、Guttae による不整な角膜後面が原因となり角膜後面収差・散乱が増え、光学的機能が低下し、視力障害の原因となる。更に進行すると角膜全体の内皮機能が低下し、角膜実質浮腫・上皮浮腫を惹起し、不可逆的な視力低下をきたす慢性疾患である。また、FECD は加齢に伴って重症度が増加し、早期には自覚症状がないため早期の診断が困難である。そのため、正確な有病率はわかっていないが、女性・白人に多く[77, 78]、アジア人では少ない[79]。Guttae の発症率

は、男性で 1.5-7%、女性では 5.5-11%[79-81]と報告され、欧米においては最も頻度の高い遺伝性角膜疾患である。

一方で、アジア・本邦で DMEK の主要な術後 BK やアルゴンレーザー後 BK では、医原性の侵襲が加わった結果、内皮細胞が減少し、結果的に BK に至る。そのため、DMEK 術前よりサブクリニカルな炎症の関与が考えられ、本邦の BK 患者における前房水を調べた研究では、炎症性サイトカイン濃度が高かったことも報告されている[82]。

この DMEK への適応疾患の違いに加えて、人種的・解剖学的特徴もまた異なる。アジア黄色人種ではメラニン色素が濃く、虹彩色調が白人と異なる。また小眼球であることが多く、浅前房で眼軸が短く、瞼裂が狭く、術中の硝子体圧が高い。

これらの違いにより、黄色人種に対する DMEK の難易度は高いとされる[83]。本邦での DMEK 適応疾患の多くが BK であるため、ホスト角膜はびまん性に浮腫性混濁を来し、前房内の視認性が著しく低下している。更に、虹彩の色調が濃いために前房内におけるグラフトの視認性は更に悪い。また浅前房・短眼軸であるため、非常にうすく小さなグラフトの前房内操作が難しくなる。硝子体圧が高いため、前房内にグラフトを挿入した後に、眼外へ出やすい[75]。一度挿入したグラフトが出てくると、グラフトが傷つき原発性移植不全の原因になるか、ECD の低下によるグラフト寿命が短くなってしまう。

このように背景が異なることから、西欧諸国からの DMEK に関する報告を本邦に単純に当てはめることができない。そこで今回我々は、いまだ研究報告がされていない黄色人種・日本人における DMEK 術後において次に述べる点について詳細に検討を行った。

1. DMEK 術後 CME 発症率とその危険因子の同定
2. BK に対する DMEK 術後角膜内皮細胞密度とその関連因子についての検討

## 5. 本邦における DMEK 術後 CME の発症頻度とその危険因子について

### 5.1 研究デザイン

対象は、2015 年 1 月から 2017 年 3 月までに角膜内皮移植術 DMEK を横浜南共済病院、金沢大学附属病院、ハートライフ病院で施行した 77 眼 65 例。後ろ向き多施設共同観察研究である。全例に DMEK・白内障手術が施行されており、白内障手術時期により 2 群に分けられる。53 例は白内障手術 1 ヶ月後に DMEK を施行した段階的 DMEK 手術、24 例は白内障手術を DMEK 施行 6 ヶ月以前に施行された単独 DMEK 手術である。CME は白内障術後 6 ヶ月以内に発生することが最も多いことから、カットオフ値を 6 ヶ月と設定した[43]。組み入れ基準は、内皮機能不全による水疱性角膜症のため DMEK が行われ、6 ヶ月以上経過観察できた症例である。角膜手術の既往または CME の既往がある場合は除外とした。

### 5.2 手術手技および術後治療

段階的 DMEK 群では、白内障術後から DMEK まで術後点眼として標準的なレボフロキサシン 1.5%点眼(クラビット；参天製薬、大阪、日本)・ベタメタゾン 1.0%点眼(サンベタゾン；参天製薬)を 4 回/日、ブロムフェナク(ブロナック；千寿製薬、大阪、日本)を 2 回/日の投与を行った。白内障手術においては、虹彩切開をせずに超音波乳化吸引術を施行した。

DMEK の手技に関しては標準的な術式で行った[75, 84]。すなわち、ドナーグラフトを、手術開始前に無菌状態で準備し、真空角膜パンチで固定させ、0.1%ブリリアントブルーGを用い染色を行った。その後、Descemet 膜付きの内皮細胞層を角膜実質より剥離させ、グラフト挿入時の表裏判別のために 4 つの非対称性半円形マークをグラフト端に作成した。グラフトの準備後に、ホスト(レシピエント)に対する手術を開始した。まず角膜輪部に、2 箇所 2 時、10 時の方向に幅 1.0mm 程度のサイドポートと 12 時方向に幅 2.8mm の強膜切開創を作成した。5 時方向にサイドポートを作り、前房メンテナーを挿入し、前房を安定させた。10 時方向のサイドポートから 25 ゲージの硝子体カッターを使用して、6 時方向の虹彩周辺部に全例で虹彩切開を行った。前房内を空気置換したのち、逆シンスキーフックを使用して、ホスト(レシピエント)Descemet 膜および内皮を円形に剥離を行った。前房内を再び液空気置換し、サイドポートを 10-0 ナイロンで縫合を行った。メインポートに仮糸をかけた後、DMEK ドナーグラフトを人工レンズ挿入時に用いるインジェクターにセットし挿入した。メインポートを 10-0 ナイロンで縫合を行った。挿入したグラフトの表裏や位置を、角膜上皮側を軽く叩き・撫でることで調整した。接着に適したと判断できた後に、空気・ガスをグラフト下に注入し、約 20-30mmHg の圧力でホスト角膜実質に付着させ、接着が良好なことを確認した。術後体位は仰臥位安静とし、

術 2-3 時間後に細隙灯顕微鏡検査をおよび眼圧を評価した。問題がなければ、前房内空気がなくなるまでの数日間は仰臥位が必要であった。術後点眼として、レボフロキサシン 1.5%点眼(クラビット；参天製薬)・ベタメタゾン 1.0%点眼(サンベタゾン；参天製薬)を 4 回/日投与とし、その後 3 ヶ月をかけて漸減投与とした。DMEK 手術は、3 施設の熟練した角膜移植術者が行った(T. H, A. K, H. Y, I. O)。

術後 CME が認められた場合には、トリアムシノロンアセトニド(マキュエイド；わかもと製薬、東京、日本)のテノン嚢下注射を行い、ブロムフェナク点眼(ブロナック；千寿製薬)を 2 回/日で開始した。

### 5.3 術後眼科検査

術翌日に前房内空気の割合を評価した。退院後の標準的な術後診察として、外来では最高矯正視力(Best Corrected Visual Acuity, BCVA)、眼圧、中心角膜厚(Central Corneal thickness, CCT)、ECD、中心網膜厚(Central Retinal Thickness, CRT)を術 1、3、6 ヶ月後時に評価を行った。白内障手術後に DMEK を行った群では CME の有無について、白内障術後 1、3 週間後に OCT(OCT RS3000, ニデック、愛知、日本)にて評価を行なった。

また、虹彩損傷スコア、年齢、性別、術前視力、リバブリング(術後の空気再注入)、糖尿病の既往、術 6 ヶ月後の角膜内皮消失率、眼軸長について診療録をもとに確認した。なお、虹彩損傷については術前、術後の前眼部写真を比較し、術前後の虹彩損傷スコア差を確認した。

BCVA は少数視力で評価を行い、CCT は前眼部 OCT(SS1000; トーメーコーポレーション、愛知、日本)を用い測定した。ECD はスペキュラーマイクロスコープ(FA3509; コーナンメディカル、兵庫、日本)を、眼軸長は光学式バイオメトリー(IOL マスター500; Carl Zeiss Meditec, Oberkochen, Germany)を、CRT は網膜内層からブルッフ膜までの厚みとして、OCT(RS3000, ニデック)の測定機能を利用して測定を行った。

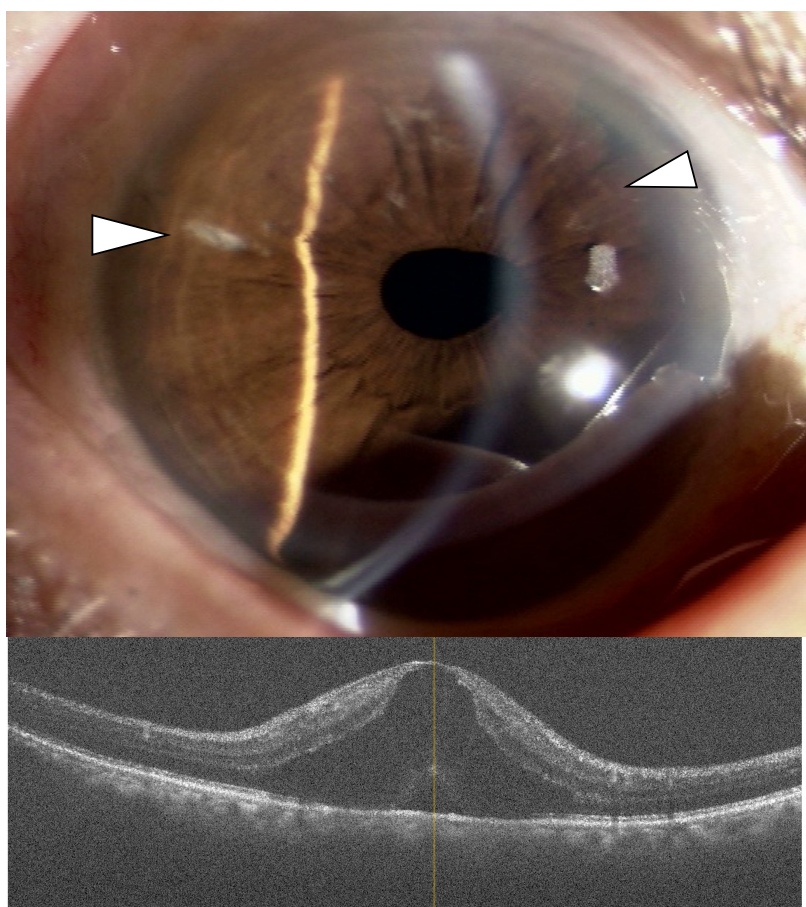
### 5.4 血液網膜関門と虹彩損傷

血液中に存在するタンパク質は、血液房水関門および血液網膜関門によって制限されている。血液房水関門は、虹彩中の血管内皮細胞のタイトジャンクション、毛様体上皮細胞間のタイトジャンクションが大きな役割を果たす[85]。このタイトジャンクションにより、血液房水関門が正常であれば、前房水中には血漿タンパク質の移行が制限される。そのため、術前、術中の虹彩損傷は、血液房水関門の破綻を引き起こし、前房内炎症を惹起・増悪させる。



虹彩損傷スコアは既報に則って、虹彩の部位別に損傷箇所を評価し、5段階でスコア化した[67, 86]。細隙灯検査による前眼部撮影写真を利用し、スコア0；損傷なし、スコア1；損傷が1/4象限に限定される、スコア2；2/4象限に損傷を認める、スコア3；3/4象限に損傷を認める、スコア4；4/4象限に損傷を認める、の5段階とした。DMEK術前、術後のスコアを比較し、DMEK術中で生じた虹彩損傷スコアを用いた。

図6に代表症例を提示するが、白矢頭が虹彩損傷であり、この症例では虹彩損傷スコアは2となる。



**図6 虹彩損傷とCME**

上図：虹彩損傷(白矢頭)が2領域に存在し、スコア2。

下図：同患者の後眼部OCT。網膜下液・網膜内浮腫を含む黄斑部浮腫を認める



## 5.5 統計解析

解析には、JMP Pro 13.2.0 (SAS Institute, Cary, NC) を用いた。

CME の発症率について、単独 DMEK と段階的 DMEK においてピアソンのカイ二乗検定を用いた。また、線形回帰分析による多変量解析によって、CME 発症率を目的変数、リスク因子として BCVA, CCT, ECD, CRT, 術翌日の前房内空気量、眼軸長、虹彩損傷スコア差、年齢、性別、術前視力、リバブリングの有無、糖尿病の既往、術後 6 ヶ月での ECD 消失率を説明変数として検討を行った。また、術後 1 ヶ月での CRT ( $\mu\text{m}$ ) を目的変数、関連因子 (性別、年齢、眼軸長 (mm)、術前視力、術翌日の前房内空気量、糖尿病の既往、術後 6 ヶ月での ECD 消失率、術前虹彩ダメージ、虹彩損傷スコア差) を説明変数としてステップワイズ変数選択をしたのちに、線形回帰分析により検討を行った。また、 $P < 0.05$  を統計的有意とした。

## 5.6 結果

### 5.6.1 患者背景

本研究の患者背景を表 1 に示す。

平均年齢は 72.4 歳 (48-85 歳)、男性は 65 例中 22 例 (30.1%)、平均眼軸長は  $23.0 \pm 1.61\text{mm}$  であった。BCVA は術前  $0.81 \pm 0.53$  (LogMAR)、術 6 ヶ月後で  $0.080 \pm 0.15$  (LogMAR) となり有意に改善した。術 6 ヶ月での ECD は  $1493 \pm 492 \text{ cells/mm}^2$  であり、消失率は  $44.6 \pm 17.1\%$  であった。術翌日の前房内空気量は前房全体の容積に対して 75.8% (40-100%) であった。

瞳孔ブロック、細菌・真菌感染や内皮拒絶反応は認められなかった。前房内にリバブリングを必要とした部分的なグラフト剥離は術後 7 日以内に 13 眼で認められたが、リバブリング後、完全に生着した。また原発性移植片不全は 1 例も認められなかった。

原因疾患は、FECD が 25 眼 32%、アルゴンレーザー虹彩切開術後水疱性角膜症が 28 眼 36%、白内障術後水疱性角膜症が 9 眼 12%、偽落屑症候群が 8 眼 10%、その他として PKP 後の BK が 2 眼、後部多形成ジストロフィーが 1 眼、角膜内皮炎 1 眼、虹彩角膜症候群が 1 眼、原因不明が 1 眼であった。

### 5.6.2 嚢胞様黄斑浮腫 (Cystoid macular edema, CME)

12 眼で CME が認められ、発症率は 15.6% であった。すべての CME が術後 1 ヶ月以内に認められた。フルオレセインナトリウムを用いた血管造影検査では、OCT で確認できない黄斑部での血管透過性亢進が評価できるが、造影検査は侵襲が大きい。そのため、本研究では OCT で網膜内に液性成分が貯留した場合に、CME 発生と判断した。

DMEK 単独群では 24 眼中 6 眼 (25%)、段階的 DMEK 群では 53 眼中 6 眼 (11.3%) であったが、両群間に統計的有意差は認められなかった ( $P = 0.13$ )。CME 発症眼での CRT 中央値は、 $542.40 \pm 23.1 \mu\text{m}$ 、CME 非発症眼での CRT 中央値は  $244.7 \pm 9.90 \mu\text{m}$  であり、両群間の有意差は明らかであった ( $P < 0.001$ )。段階的 DMEK 群では、白内障術後から DMEK 施行までの間に CME 発症は認められなかった。CME 治療として、トリアムシノロンアセトニド (マキュエイド、わかもと製薬) のテノン嚢下注射を第一に行い、CME は改善し再発は認められなかった。図 6 に代表症例を提示する。

水疱性角膜症となった原因疾患ごとでの CME 発症率に有意差は認められなかった ( $P = 0.72$ 、表 1)。

CME 発症に関する多変量解析の結果、DMEK 術前後での虹彩損傷スコア差 ( $P < 0.001$ 、オッズ比 = 16)、前房内空気量 ( $P = 0.012$ 、オッズ比 =  $2.3 \times 10^{-4}$ )、DMEK 単独 ( $P = 0.020$ 、オッズ比 = 14)、リバブリング ( $P = 0.036$ 、オッズ比 = 18) に統計的有意な相関が認められた (表 2)。CME 発症率と関連のあった虹彩損傷スコア差は、リバブリング ( $P = 0.72$ ) や DMEK 単独 ( $P = 0.16$ ) との関連は認められなかったが、前房内空気量と弱い関連性が認められた ( $P = 0.041$ )。

また、ステップワイズ変数選択後の多変量解析の結果、虹彩損傷スコア差が CME 発症に最も重要な危険因子であった ( $P < 0.001$ )。また同様に、虹彩損傷スコア差は CRT とも統計的有意に相関していることが分かった (多変量解析;  $P < 0.001$ 、ステップワイズ変数選択後;  $P < 0.001$ )。

表 1. 患者背景

		CME 発症群	CME 非発症群	全眼	P 値
N		12	65	77	
年齢		70.6	72.8	72.4	0.40
性別	男性 (眼)	6	20	26 (34%)	0.20
	女性 (眼)	6	45	51 (66%)	
術前 最高矯正視力 (LogMAR)		0.76	0.82	0.81	0.68
術後 最高矯正視力 (LogMAR)		0.12	0.072	0.08	0.28
眼軸長 (mm)		23.4	23	23.0	0.40
リバブリング	+	4	9	13 (17%)	0.098
	-	8	56	64 (83%)	
	FECD	4 (16%)	21	25 (32%)	0.72
	ALI	3 (11%)	25	28 (36%)	
原因疾患	PBK	1 (11%)	8	9 (12%)	
	PEX	2 (25%)	6	8 (10%)	
	Others	2 (29%)	5	7 (9%)	
CRT (μm)		542	245	291	< 0.001
虹彩ダメージ		0.92	0.32	0.42	< 0.001
内皮細胞損失率		41.0%	45.0%	44.6%	0.37
DMEK	段階的群	6	47	53 (68%)	0.13
	単独群	6	18	24 (32%)	

CME, cystoid macular edema. FECD, Fuchs endothelial dystrophy. ALI, bullous keratopathy by argon laser iridotomy. PBK, pseudophakic bullous keratopathy. PEX, pseudoexfoliation corneal endotheliopathy. “Others” includes failed penetrating keratoplasty (2 eyes), posterior polymorphous dystrophy (1 eye), corneal endotheliitis (2 eye), iridocorneal endothelial syndrome (1 eye) and unknown (1 eye). CRT, central retinal thickness, DMEK, Descemet’s membrane endothelial keratoplasty.

表 2. 多変量解析による CME 発症リスク因子の結果

臨床的因子	オッズ	95% 信頼区間	P-Value
年齢	0.97	0.85-1.1	0.62
眼軸長	1.4	0.74-2.8	0.27
前房内空気量	$2.3 \times 10^{-4}$	$1.5 \times 10^{-7}$ -0.34	0.012
術前最高矯正視力 (LogMAR)	0.39	0.051-3.0	0.34
虹彩ダメージ	16	2.4-110	<0.001
ECD 損失率	0.30	$1.9 \times 10^{-3}$ -44	0.63
男性			
+	3.1	0.35-27	0.29
DMEK 単独術			
+	14	1.0-200	0.020
リバブリング			
+	18	0.91-360	0.036
糖尿病の既往			
+	0.35	0.031-3.8	0.28

CME, cystoid macular edema

DMEK, Descemet's membrane endothelial keratoplasty.

ECD, endothelial cell density.

## 5.7 考按

本研究結果より、黄色人種・日本人での DMEK 術後 CME 発症率が初めて確認され、15.6%であった。多変量解析の結果、CME 発症は DMEK 術中の虹彩損傷や、術翌日の前房内空気量、単独 DMEK、そしてリバブリングの必要性和有意な関係があった。統計的に術翌日の前房内空気量との関連性が示された。しかし、前房内空気量は虹彩損傷と弱い相関関係があり、CRT と前房内空気量に相関性が認められなかったことから、CME 発症とは関連性が低く交絡因子である可能性が疑われた。そのため、ステップワイズ変数選択を行った結果、虹彩損傷が CME 発症の主要な危険・増悪因子であることが示された。

今回の CME 発症率は、既報の西欧諸国の 7-13.8%と比較するとやや高い。この発症率の違いは、DMEK の適応疾患の違いにあると推察される。黄色人種における DMEK について述べたとおり、本邦での DMEK 適応疾患は、アルゴンレーザー虹彩切開術後、白内障術後、トラベクトミー後などの術後水疱性角膜症が半数を超えている。一方で、西欧での主要な適応となる FECD は 1 割から 2 割程度である[72, 87]。また、角膜内皮移植である DSAEK において、原発性閉塞隅角緑内障術後の水疱性角膜症に対する内皮移植は CME 発症と高く、同既報においても虹彩ダメージと関連があるとされた[88]。本邦の水疱性角膜症患者における前房水炎症性サイトカイン濃度は高く[82]、ベースにある術前炎症が、DMEK 術後の CME 発症を惹起している可能性がある。

DMEK 術前後の虹彩損傷が CME 発生の危険・増悪因子であり、リバブリング、単独 DMEK が CME 発生のリスク因子であることが判明した。リバブリングは、DMEK 術後にグラフト剥離が生じた際に空気を注入するため処置である。そのため眼内への機械的ストレスから炎症を惹起し、CME 発生に関与した可能性がある。

DMEK 術後の炎症抑制に関する既報はすくないが、Hoerster らは術後頻回なステロイド剤頻回点眼の有効性を示した[54]。その報告によると、DMEK 術後 1 週間での酢酸プレドニゾン 1%点眼を 5 回投与した 75 眼群、毎時点眼した 75 眼群との 2 群間比較を行った。毎時点眼した群では CME 発症が認めず、5 回／日の群では 7 眼 9%で CME が認められ、徹底した消炎点眼による CME 発症予防効果を報告している。本研究結果からも、DMEK 術後 CME 予防策が提唱できる。白内障手術に続く段階的な DMEK 手術よりも DMEK 単独手術の方が CME の発症率が高かったことだ。この 2 群の差は、DMEK 術前の非ステロイド性消炎鎮痛 (Nonsteroidal anti-inflammatory drugs; NSAIDs) 点眼の有無である。白内障手術後は、NSAIDs 点眼が DMEK 術前まで投与されていた。NSAIDs 点眼はシクロオキシゲナーゼ酵素の活性およびプロスタグランジン活性カスケードを抑制する。2014 年に発表された白内障術後のメタアナリシスにおいても、NSAIDs 点眼はステロイド点眼と比べ、術後の CME 発生を抑制した[89]。また、同様に本邦から DSAEK 術後 CME に対する NSAIDs 点眼の有効性も報告されており[90]、NSAIDs 点眼は CME 発症を惹起する炎症を抑える有効手段である可能性が高い。また、本研究において CME 発症後にはステロイド剤のテノン嚢下注射を行い、良好な反応を得られた。虹彩損傷が多い症例においては、術中に行うことで CME 抑制効果が期待できる可能性がある。

本研究により、DMEK 術後 CME 発症の危険因子として、術翌日の前房内空気量、単独 DMEK、リバブリング、虹彩損傷が危険・増悪因子であることが同定され、特に虹彩損傷が一番影響を与える因子であった。厳密かつルーティンに行った OCT 検査により、CME 発症と CRT は見逃しがなく、77 眼というサンプルサイズはアジアでの DMEK ケースシリーズでは最大の報告である。

本研究の問題点は、本研究として、後ろ向き観察研究であったことと、前房内サイトカイン濃度についてのエビデンスが欠けている点である。また、術中侵襲は手術時間によっても左右されるため、検討項目に加える必要があった。前向き研究として行うならば、フルオロセイン蛍光眼底検査を含むプロトコールにより、CME を発生させる他の網膜疾患の除外も有効であった可能性がある。

## 5.8 小括

本研究により、DMEK 術後 CME は 77 眼中 15.8%認められ、虹彩ダメージが主要な危険因子であることが同定された。DMEK 術者は、虹彩への損傷を最小に努力することが推奨される。また、術後早期の NSAIDs 点眼は術後 CME の発症を抑えられる可能性がある。NSAIDs 点眼は術後の角膜上皮治癒には悪影響を与えることもあるため、標準的に使用されていないが、今後標準的な術後点眼に加える検討が必要である。そして、DMEK 術後 6 ヶ月間の定期的な OCT 検査を行い、CME が発生した場合には NSAIDs 点眼は必要となる。

## 6. 本邦における DMEK 術後内皮細胞密度とその関連因子について

### 6.1 研究デザイン

対象は、2016 年 1 月から 2018 年 3 月までに角膜内皮移植術 DMEK を横浜南共済病院、金沢大学附属病院、ハートライフ病院で施行した 72 眼 72 例。診療録をもとにした後ろ向き多施設共同観察研究である。白内障を有する患者では、DMEK 術前 1 ヶ月まえに超音波乳化吸引術を施行した。対象は白内障術後の水疱性角膜症に DMEK を行った、12 ヶ月以上フォローできた患者とした。除外基準を角膜手術の既往、緑内障手術の既往、または FECD 眼に対する DMEK とした。硝子体手術の既往・人工レンズ強膜内固定眼は除外していない。

### 6.2 手術手技

内皮移植術は、内皮接着を促すために眼内・特に前房内をガスまたは空気でタンポナーデを行った。今回は、タンポナーデとして 100%空気と 20%六フッカ硫黄(SF<sub>6</sub>)ガスを用いた。2016 年以後に施行された症例が全例 SF<sub>6</sub>とした。また、DMEK の術式に関しては、標準的な術式で行なった[75, 84]。内皮移植術では、ホスト角膜のデスメ膜を剥離する必要がある、グラフトサイズよりも 0.25-0.5mm 大きく剥離した。ほとんどのグラフトサイズは、標準的な 7.75-8.25mm である。DMEK 手術は、3 施設の熟練した角膜移植術者が行った(T. H, A. K, H. Y, I. O)。

ドナーグラフトは、Cornea Gen (<https://corneagen.com/>)から同社でグラフト作成を行なった状態で提供された。Optisol (Chiron Ophthalmics, Irvine, California)で保存され、輸送の関係上グラフト作成後、約 7 日後に手術を行なった。

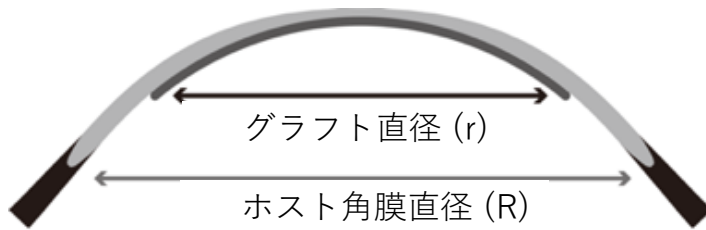
術翌日には前房内ガス量を確認し、退院後は術後の標準的なプロトコール通りに外来診察を行なった。術 1、3、6、12 ヶ月後の検査として、BCVA、眼圧、CCT、ECD、CRT を評価した。

また、DMEK 術前の虹彩損傷スコア、年齢、性別、術前 BCVA、リバブリング（術後の前房内ガス再充填）の有無、術後 12 ヶ月時点での ECD 損失率を評価した。BCVA は少数視力で評価を行い、統計処理のために対数変換を行なった。虹彩損傷の評価については、5.4 と同様に評価を行なった。

CCT は、前眼部光干渉断層計(SS1000, トーメイコーポレーション)を用い測定し、ECD 測定にはスペキュラーマイクロスコープ(FA3509, コーナンメディカル)を用いた。眼軸長は光学式バイオメトリー(IOL マスター, Carl Zeiss)を用いて評価した。

### 6.3 グラフトーホスト角膜面積比

ホスト角膜の水平、垂直の角膜輪部外側から対側角膜輪部外側までの直径を測定し、平均化し、角膜の面積をこの平均値を用いて算出した。実際には、角膜は 3 次元構造物なので縦横の直径からは正確な面積は算出できない。しかし、DSAEK での既報より弧長と角膜直径との強い相関が示されている[91]。図 7 は、グラフト直径(r)とホスト角膜直径(R)の関係を示し、グラフトーホスト角膜面積比は  $r^2/R^2$  として得た。



**図7 グラフトーホスト角膜面積比**

面積比は、グラフト直径・ホスト直径の2乗として計算した

#### 6.4 統計解析

統計解析ソフトには、JMP Pro 14.0.0 (SAS Institute, Cary, NC) を用いた。

術前因子と DMEK 術後 12 ヶ月での ECD 損失率について単変量および多変量線形回帰分析を行った。多変量解析には、DMEK 術後 12 ヶ月での ECD 損失率を従属変数、年齢、眼軸長、DMEK 術前虹彩損傷スコア、前房内充填ガスの種類、リバブリングの有無、術前 BCVA、ドナーECD、術前 CCT、術翌日の前房内ガス量、そしてグラフトーホスト角膜面積比を説明変数とした。また、 $P < 0.05$  を統計的有意とした。



## 6.5 結果

### 6.5.1 患者背景

表 3 に今回の DMEK 術後患者の背景を示す。多くの患者が高齢で、およそ 3 割が男性であった。前房内充填に 100% 空気が使用された患者が 50 人、SF<sub>6</sub> が使用された患者が 22 人であった。前房内充填物の種類による術後 BCVA、術後 12 ヶ月での ECD 損失率、そしてリバブリングの必要性について統計的有意差は認められなかった。（それぞれ、 $P = 0.52$ ,  $0.29$ ,  $0.85$ ）

術後に瞳孔ブロックが生じた症例はなく、感染、内皮拒絶、グラフトの折りたたみや重なりも同様に認められなかった。リバブリングが必要となるグラフト剥離は、術後 7 日以内に 9 症例で認められたが、リバブリングにより全て接着した。原発性移植片機能不全は認められなかった。

BCVA は、術前  $0.90 \pm 0.47$  から術後 12 ヶ月  $0.073 \pm 0.13$  と有意に改善を認めた。（ $P < 0.001$ ）

表 3. 患者背景

レシピエント背景	眼	
症例	72	
年齢（歳），平均 $\pm$ SD [範囲]	$74.5 \pm 8.2$	[44 - 89]
男性，数（%）	19 (26.4%)	
術前最高矯正視力 (LogMAR)，平均 $\pm$ SD [範囲]	$0.90 \pm 0.47$	[0.0458 - 2]
術後最高矯正視力 (LogMAR)，平均 $\pm$ SD [範囲]	$0.073 \pm 0.13$	[-0.0792 - 0.523]
ドナー ECD (cells/mm <sup>2</sup> )，平均 $\pm$ SD [範囲]	$2715 \pm 231$	[2020 - 3313]
術後 12 ヶ月 ECD (cells/mm <sup>2</sup> )，平均 $\pm$ SD [範囲]	$1246 \pm 478$	[363 - 2519]
ECD 損失率（%），平均 $\pm$ SD [範囲]	$54.4 \pm 16.1$	[15.1 - 86.1]
眼軸長（mm），平均 $\pm$ SD [範囲]	$23.2 \pm 1.69$	[21 - 31.6]
角膜直径（mm），平均 $\pm$ SD [範囲]	$11.0 \pm 0.58$	[10 - 13]
グラフトサイズ（mm），平均 $\pm$ SD [範囲]	$7.87 \pm 0.49$	[5 - 8.5]
グラフトーホスト角膜面積比，平均 $\pm$ SD [範囲]	$0.514 \pm 0.067$	[0.207 - 0.625]
空気，n（%）	50 (69.4%)	
リバブリング（+，[%]）	9 (12.5%)	
術前 CCT ( $\mu$ m)，平均 $\pm$ SD [範囲]	$712 \pm 94.0$	[501 - 956]
DMEK 術前虹彩損傷スコア，平均 $\pm$ SD [範囲]	$1.44 \pm 0.82$	[0 - 4]

ECD, endothelial cell density; CCT, central corneal thickness; DMEK, Descemet's membrane endothelial keratoplasty.

### 6.5.2 術後 ECD と関連する因子

ドナーECD と DMEK 術後 12 ヶ月での ECD 平均はそれぞれ、 $2715 \pm 231 \text{ cells/mm}^2$  と  $1246 \pm 478 \text{ cells/mm}^2$  であった。DMEK 術後 12 ヶ月での ECD 損失率は、 $54.4 \pm 16.1\%$  である。単変量線形回帰分析によって、グラフトサイズ ( $P = 0.0053$ ) およびグラフトホスト角膜面積比 ( $P < 0.001$ ) が ECD 損失率と有意な関連を認めた。(表 4) また、多変量解析によって、グラフトホスト角膜面積比 ( $P = 0.0061$ ) が大きく、ドナーECD ( $P = 0.0042$ ) がより多いほうが、ECD 残存率が高かった (表 5、図 8、図 9)。

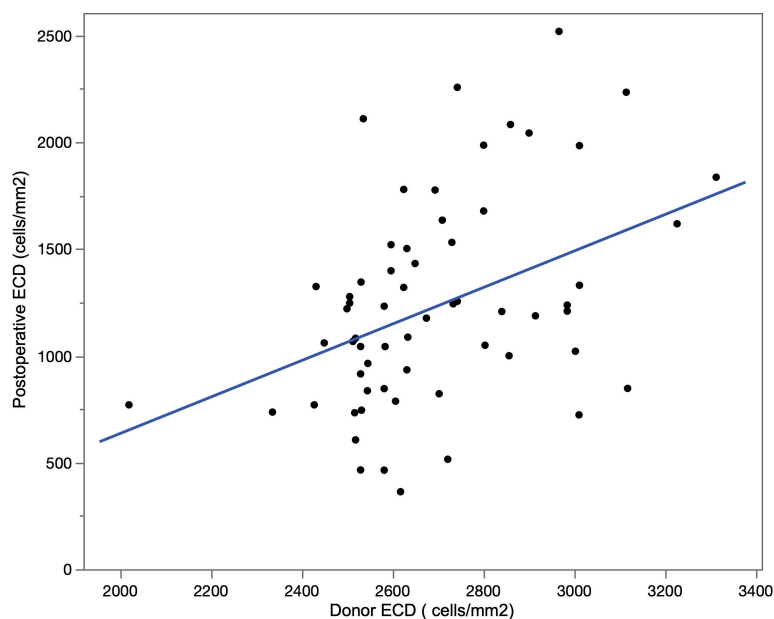


図 8 ECD 損失率とドナーECD 散布図

ドナーECD が多いほど、術後 ECD が多い ( $P < 0.001$ )。

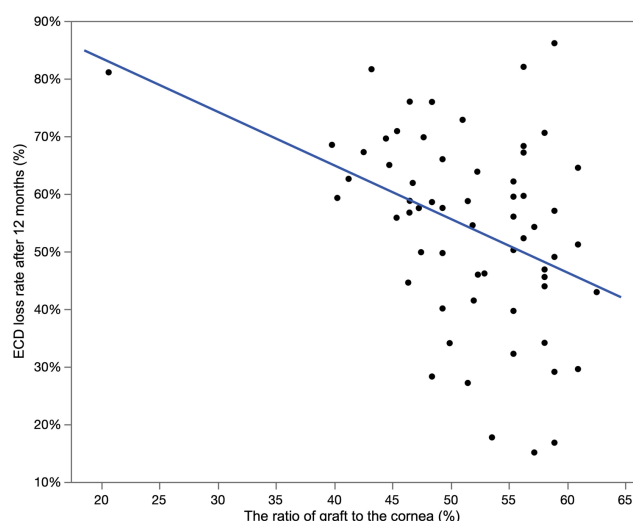


図 9 ECD 損失率とグラフトホスト角膜面積比 散布図

グラフトホスト角膜面積比が大きいほど、術後 ECD 損失率が少ない ( $P < 0.001$ )。

表 4. ECD 損失率に対する関連因子の単変量解析結果

線形回帰分析	推定値	95% 信頼区間	P 値
年齢	-0.0030	[-0.0076, 0.0017]	0.20
眼軸長 (mm)	0.011	[-0.015, 0.030]	0.51
術前 CCT ( $\mu\text{m}$ )	0.00026	[-0.00014, 0.00067]	0.20
術前最高矯正視力 (LogMAR)	0.054	[-0.27, 0.13]	0.18
ドナー ECD ( $/\text{mm}^2$ )	-0.00015	[-0.00031, 0.000015]	0.075
グラフトサイズ (mm)	-0.11	[-0.18, -0.033]	0.0053
前房内充填ガス量	-0.18	[-0.50, 0.13]	0.24
虹彩損傷スコア	0.046	[-0.0000096, 0.091]	0.051
グラフトホスト角膜面積比	-0.931	[-1.47, -0.400]	0.0009
分散分析	平均平方	F 値	P 値
性別 (女性)	0.018	0.69	0.41
空気またはガス (空気)	0.029	1.1	0.29
リバブリング (+)	0.0061	0.22	0.63

ECD, endothelial cell density; CCT, central corneal thickness.

表 5. ECD 損失率に対する関連因子の多変量解析結果

	推定値	95% 信頼区間	P 値	VIF
年齢 (歳)	-0.00023	[-0.0052, 0.0047]	0.93	1.33
性別 (女性)	0.032	[-0.013, 0.076]	0.16	1.25
眼軸長 (mm)	0.014	[-0.013, 0.040]	0.30	1.60
術前 CCT ( $\mu\text{m}$ )	0.00013	[-0.00035, 0.00060]	0.60	1.59
術前最高矯正視力 (LogMAR)	-0.014	[-0.11, 0.083]	0.77	1.69
ドナー ECD ( $\text{cells}/\text{mm}^2$ )	-0.00017	[-0.00034, -0.0000064]	0.042	1.17
空気またはガス (空気)	0.011	[-0.036, 0.058]	0.63	1.53
前房内充填ガス量	-0.059	[-0.38, 0.26]	0.71	1.22
リバブリング (+)	0.022	[-0.034, 0.077]	0.44	1.11
虹彩損傷スコア	0.026	[-0.021, 0.074]	0.28	1.22
グラフトホスト角膜面積比	-0.929	[-1.59, -0.276]	0.0061	1.51

ECD, endothelial cell density; CCT, central corneal thickness.

## 6.6 考按

今回の研究により、黄色人種での BK に対する DMEK 術後の臨床成績が示された。術後 BCVA は、特に深刻な合併症なく、術前 BCVA よりも有意に改善した。また多変量解析結果より、ホスト角膜に対して比較的大きめなグラフトサイズを選択することが、術後の ECD 生存に重要な因子であることが示された。

本研究結果での DMEK 術後 12 ヶ月での ECD 損失率  $54.4 \pm 16.1\%$  は、既報と比べると比較的大きい。既報では多くの研究で優れた ECD 損失率を示しているが (20—40%)、これらほとんどの対象が FECD の患者であり、BK 単独に対する DMEK 術後 ECD の報告はない。今回の研究結果は BK に限っていえば、オランダの NIIOS (Netherlands Institute for Innovative Ocular Surgery) の報告と同程度である [92]。

DSEAK に関しては、グラフト直径と術後 ECD 残存率に関する既報がいくつかある。その中には、グラフト直径が大きいほど術後 ECD 残存率が有意に良好であるとする報告がある [66, 93]。ただその一方で、FECD を対象とした研究ではあるが、Schrittenlocher らはグラフト直径 8 mm と 10 mm とで術後 ECD 残存率の評価を行い、有意差はないと報告した [94]。このように、いくつかの先行研究でグラフトサイズと ECD についての検討はなされているが、ホスト角膜との面積比で検討を行なっている報告はない。角膜直径は個々人で異なるため、移植術においてグラフトとホスト角膜の面積比での検討が本質的に重要であると考えられる。本研究の多変量解析によって、ホスト角膜よりも比較的大きめなグラフトサイズを選択することが、BK の黄色人種に対する DMEK 術後の ECD 生存に重要な因子であることが示された。論理的には、大きいグラフトのほうがより多くの角膜内皮細胞を有するため、術後 ECD が多くなるのであろう。

しかし、本研究結果は、大きいグラフトが ECD 生存に重要であるということを示す一方で、「大きければ大きいほどよい」か、という点に関しては検討する必要がある。PKP では、より大きなグラフトを選択することで、多くの“抗原”を移植することになり、拒絶率が高くなる [95]。また、内皮移植術において大きなグラフトを選択すると、グラフトとホストデスメ膜との重なりが増え、リバブリングが必要なる可能性が増える。さらに、大きなグラフトは、狭い眼内・前房内での操作、特にグラフトの挿入や展開が困難にさせる。今回の研究では、ホスト角膜に対して比較して大きなグラフトが ECD 生存に重要であると示されたが、その面積比はある一定のところではプラトーに達すると予想され、すなわち理想的な面積比が存在し、その比率を超えると ECD 残存率が悪くなる可能性がある。本研究において、術後 ECD 損失率とグラフトホスト角膜面積比の散布図において、二次回帰曲線を当てはめることでそのプラトーに達するかどうか検討を行なった (図 10)。しかし、統計的有意差検定まではできなかった。本当にグラフトホスト角膜面積比が「大きければ大きいほどよい」のかどうか、それとも理想的な面積比が存在するかどうかは今後の検討が必要である。実際に大きすぎるグラフトは技術的に移植が不可能である。

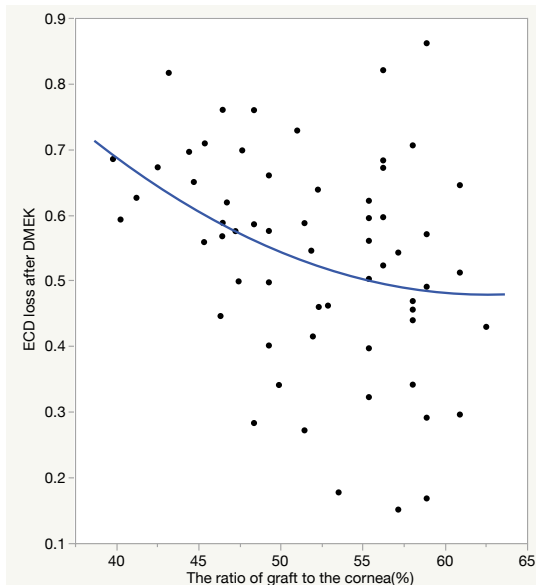


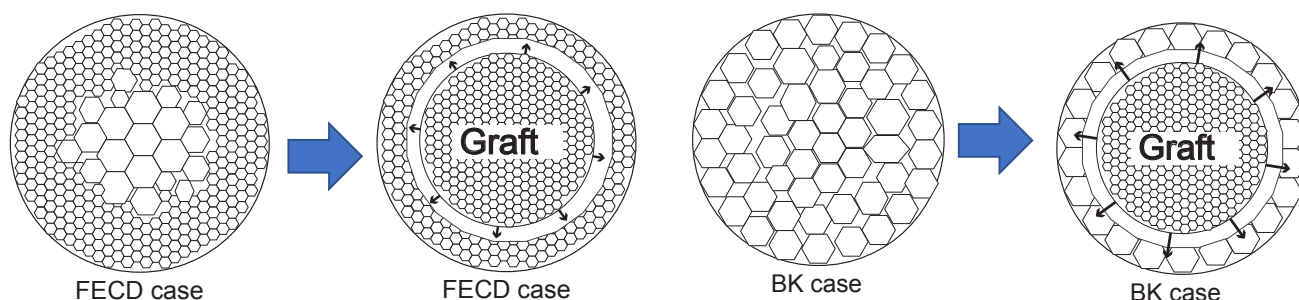
図 10 グラフト・ホスト角膜面積比と ECD 損失率について

二次曲線を当てはめ、一定の面積比で損失率がプラトーになるか検定を行ったが、統計的有意検定はできなかった。

すでに前房深度と眼軸長については強い相関があることが示されており[72]、今回の統計解析では前房深度を用いずに眼軸長を用いた。実際に術中の物理的な角膜内皮細胞に対する障害は、狭い前房で生じやすいとされるが[96]、本研究では軸長と ECD 損失率との関係は認められなかった。Varadaraj らは、開放隅角眼と未治療の閉塞隅角眼とで ECD について検討を行ない[97]、primary closure suspects においては、浅前房眼では開放隅角眼と比較して ECD が低いと報告した。さらに、今回の 12 ヶ月の観察期間においては、ECD 残存率は眼軸が短い、すなわち前房が狭い眼と比較すると ECD 残存率が高かった。前房深度と眼軸長の相関、そして眼軸長と DMEK 術後の ECD との関連のさらなる検討が必要である。

本研究の重要な点は、FECD が対象から外れている点である。BK では角膜周辺部において正常な角膜内皮が少ないが、FECD では角膜中央部の角膜内皮細胞から傷害され、周辺部には正常な角膜内皮細胞が存在する[98]。この BK と FECD とでの正常角膜内皮細胞の分布の違いが、本研究結果と Schrittenlocher ら[94]の研究結果と異なった理由であると考えられる。内皮細胞の移動についての詳細な知見はないが、主に内皮細胞は遊走と細胞拡散の増加を介して、創傷部を補っていると考えられている[99]。角膜内皮細胞に損傷ができると、創傷部近位に細胞運動性を惹起するサイトカインが放出され、創傷部位に向かう牽引力が生み出される[100, 101]。周辺角膜に正常な内皮細胞を有する FECD 眼において、これらの正常な内皮細胞が移動、または増殖のいずれかによって、中央部の変性内皮細胞を再増殖させるために利用できることが報告されている[102]。また、グラフト挿入を行わない単純なデスメ膜剥離のみで、内皮疾患の治療となる可能性についても報告されている[103]。これらの研究は、ホスト角膜由来の周辺部の正常な角膜内皮細胞は移動することが可能であり、再度内皮として増殖能がある可能性を示している。また成人角膜内皮細胞は

ヒトの眼内で移動することができたとする興味深い既報もあり、この報告もドナー内皮細胞が周辺部の宿主角膜に移動できる可能性を示唆した[104, 105]。移植した内皮細胞は、周辺領域に移動することにより、デスメ膜剥離された領域を覆うことになる(図10)[105, 106]。すなわち、DMEK 術後の ECD 減少は周辺部への移動の結果生じた可能性がある。他の因子も原因としてある可能性はあるが、特に BK では、周辺部に正常な角膜内皮細胞が少ない分、今回の研究結果で比較的 ECD 損失率が高くなった一因と考えられる。そのため、宿主角膜に対して比較的大きめのグラフトサイズを選択することが、BK に対する DMEK では重要となる。



**図11 BKとFECDでの角膜内皮分布と移植後角膜内皮の遊走の違い**

FECDは周辺部に正常角膜内皮細胞が多いため、移植後の角膜内皮細胞の遊走は限定的。しかし、BKでは全体的に角膜内皮細胞が障害を受けているため、周辺部への遊走が起こり、内皮細胞密度が低下しやすい。

本研究の限界は、対象が比較的少ない後ろ向き研究ではあったことである。また、術後ECDは術中操作による侵襲によっても左右されるため、手術時間も検討項目に加える必要があった。しかし、72眼という症例数は多くないが、BKに限定したDMEKにおいてこれ以上のサンプル数が大きい報告は世界的にもない。

## 6.7 小括

BKに対するDMEK術後の良好なECD残存率のためには、宿主角膜と比較して大きめのグラフトを選択することが重要である。ドナーECDがより多いことも大切な因子であった。術者はBKに対するDMEKを行う際には、グラフトサイズ決定に関して、宿主角膜を確認し、可能な範囲で大きいグラフトサイズを選択する必要がある。今研究では統計的有意検定は行えなかったが、面積比60%から65%程度でECD生存率がプラトーに達する可能性が示唆されたことから、宿主角膜直径に対して80%程度のグラフト直径を目指すことが望ましいと考える。

## 7. 結論

黄色人種・日本人におけるDMEKに関する研究を行なった。

DMEKは西欧諸国での報告通り、角膜内皮機能不全症に対して有効な術式である。しかし、適応疾患および人種的・解剖学的違いがある。そのため、本研究では特に1. 術中の不必要な虹彩への侵襲を避け、術後も消炎を図ること、2. 適応疾患によりグラフトサイズを検討する、特にBKでは大きなグラフトを移植する必要がある、などの点を明らかにした。

## 8. 謝辞

本研究の機会を与えてくださり、終始御懇篤なる御指導、御鞭撻を賜った横浜市立大学大学院医学研究科眼科学教室 林孝彦臨床准教授に心より感謝申し上げます。

また、共同研究を快く引き受けてくださった金沢大学大学院医学系医学科脳医学専攻脳病態医学講座眼視覚科学 小林顕病院臨床准教授ならびに横川英明助教、社会医療法人かりゆし会 ハートライフ病院 眼科部長親川格先生に深謝いたします。また、輸入角膜のコーディネートに尽力頂いております東京歯科大学市川総合角膜センター 福田朋子様にも深謝いたします。

最後に、本研究に際して数々のご助言、ご協力を頂きました自治医科大学臨床医学部門眼科学 川島秀俊教授、高橋秀徳准教授、慶應義塾大学医学部眼科学教室 加藤直子非常勤講師を初めてご指導をくださいました皆様に厚く御礼申し上げます。

本研究では、財団・企業などからの研究助成金はありませんでした。

## 8. 参考文献

1. Thoft RA, Friend J. The X, Y, Z hypothesis of corneal epithelial maintenance. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 24(10):1442-1443, 1983
2. Morishige N, Takagi Y, Chikama T, Takahara A, Nisida T. Three-dimensional analysis of collagen lamellae in the anterior stroma of the human cornea visualized by second harmonic generation imaging microscopy. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 52(2):911-915, 2011
3. Morishige N, Nishida T, Jester JV. Second harmonic generation for visualizing 3-dimensional structure of corneal collagen lamellae. *Cornea* 28 (11):S46-S53, 2009
4. Jester, JV, Haung J, Baryy-Lane PA, Kao WW, Petroll WM, Cavanagh HD. Transforming growth factor(beta)-mediated corneal myofibroblast differentiation requires actin and fibronectin assembly. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 40(9):1959-1967, 1999
5. Blalock, TD, Duncan MR, Varela JC, Goldstein MH, Tuli S, Grotendorst GR, Schultz GS. Connective tissue growth factor expression and action in human corneal fibroblast cultures and rat corneas after photorefractive keratectomy. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 44(5):1879-1887, 2003
6. Moller-Pedersen T, Cavanagh HD, Petroll WM, Jester JV. Corneal haze development after PRK is regulated by volume of stromal tissue removal. *Cornea* 17(6):627-639, 1998
7. Moller-Pedersen T, Cavanagh HD, Petroll WM, Jester JV. Stromal wound healing explains refractive instability and haze development after photorefractive keratectomy: A 1-year confocal microscopic study. *Ophthalmology* 107(7):1235-1245, 2000
8. Lwigale PY. Corneal development: different cells from a common progenitor. *Prog Mol Biol Transi Sci.* 134:43-59, 2015
9. Yee RW, Matsuda M, Shultz RO, Edelhauser HF. Changes in the normal corneal endothelial cellular pattern as a function of age. *Curr Eye Res.* 4(6): 671-678, 1985
10. Ang M, Mehta JS, Sng CCA, Htoon HM, Tan DTH. Indications, outcomes, and risk factors for failure in tectonic keratoplasty. *Ophthalmology* 119(7):1311-1309, 2012
11. Cao Y, Zhang W, Wu J, Zhang H, Zhou H. Peripheral Ulcerative keratitis associated with autoimmune disease: pathogenesis and treatment *J Ophtalmol.* 2017:7298026, 2017
12. Santo RM, Yamaguchi T, Kanai A, Nakajima A. Clinical and histopathologic features of corneal dystrophies in Japan. *Ophthalmology* 102(4):557-567, 1995



13. Rathi VM, Taneja M, Murthy SI, Bagga B, Vaddavalli PK, Sangwan VS. Phototherapeutic keratectomy for recurrent granular dystrophy in postpenetrating keratoplasty eyes. *Indian J Ophthalmol* 64(2):140-144, 2016
14. Mohamed A, Chaurasia S, Ramappa M, Murthy SI, Garg P. Outcomes of keratoplasty in lattice corneal dystrophy in a large cohort of Indian eyes. *Indian J Ophthalmol* 66(5):666-672, 2018
15. G. Wollensak, E. Spoerl, T. Seiler. Riboflavin/ultraviolet-A-induced collagen crosslinking for the treatment of keratoconus. *Am J Ophthalmol*, 135(5):620-627, 2003
16. Liu H, Chen Y, Wang P, Li B, Wang W, Su Y, Sheng M. Efficacy and safety of deep anterior lamellar keratoplasty vs. penetrating keratoplasty for keratoconus: a meta-analysis *PLoS One* 10(1):e0113332, 2015
17. Jhanji V, Rapuano CJ, Vajpayee RB. *Curr Opin Ophthalmol* 22(4):283-289, 2011
18. Sabatino F, Sarnicola E, Sarnicola C, Tosi GM, Perri P, Sarnicola V. Early deep anterior lamellar keratoplasty for fungal keratitis poorly responsive to medical treatment. *Eye (Lond)* 31(12):1639-1646, 2017
19. Shimazaki J, Amano S, Uno T, Maeda N, Yokoi N, Japan Bullous Keratoplasty Study Group. *Cornea* 26(3):274-278, 2007
20. Price MO, Gupta P, Lass J, Price FW Jr. EK (DLEK, DSEK, DMEK): New frontier in cornea surgery. *Annu Res Vis Sci* 3:69-90, 2017
21. Zirm EK. Eine erfolgreiche total keratoplastik (A successful total keratoplasty). 1906. *Refract Corneal Surg.* 5(4):258-261, 1989
22. Williams KA, Keane MC, Coffey NE, Joses VJ, Mills RA, Coster DJ. The Australian Corneal Graft Registry 2018 Report. <https://dspace.flinders.edu.au/xmlui/bitstream/handle/2328/37917/ACGR%202018%20Report.pdf?sequence=3&isAllowed=y>
23. Robert WT, Marianne OP, Patrick JB, Francis WP. Long-term Graft Survival After Penetrating Keratoplasty *Ophthalmology* 110(7):1396-1402, 2003
24. Elder MJ, Stack RR. Globe Rupture Following Penetrating Keratoplasty: How Often, Why, and What Can We Do to Prevent It? *Cornea* 23(8):776-780, 2004
25. Sugita J, Kondo J. Deep lamellar keratoplasty with complete removal of pathological stroma for vision improvement. *Br J ophthalmol.* 81(3):184-188, 1997
26. Melles GR, Eggink FA, Lander F, Pels E, Rietveld FJ, Beekhuis WH, Binder PS. A surgical technique for posterior lamellar keratoplasty. *Cornea* 17(6):618- 626, 1998
27. Melles GR, Wijdh RH, Nieuwendaal CP. A technique to excise the descemet membrane

- from a recipient cornea (descemetorhexis). *Cornea*. 23(3):286-288, 2004
28. Gorovoy MS. Descemet-stripping automated endothelial keratoplasty. *Cornea* 25(8):886- 889, 2006.
  29. Uchino Y, Shimmura S, Yamaguchi T, Kawakita T, Matsumoto Y, Negishi K, Tsubota K. Comparison of corneal thickness and haze in DSAEK and penetrating keratoplasty. *Cornea*. 30(3):287-90, 2011
  30. Stuart AJ, Virgili G, Shortt AJ. Descemet's membrane endothelial keratoplasty versus Descemet's stripping automated endothelial keratoplasty for corneal endothelial failure. *Cochrane Database Syst Rev*. 6(6):CD012097, 2018
  31. Melles GR, Lander F, Rietveld FJ. 2002. Transplantation of Descemet's membrane carrying viable endothelium through a small scleral incision. *Cornea* 21(4):415-18, 2002
  32. Pavlivic I, Shajari M, Herrmann E, Schmack I, Lancova A, Kohnen T. Meta-analysis of postoperative outcome parameters comparing Descemet membrane endothelial keratoplasty versus Descemet stripping automated keratoplasty. *Cornea* 36(12):1445-1451, 2017
  33. Deng SX, Lee WB, Hammersmith KM, Kuo AN, Li JY, Shen JF, Wikert MP, Shtein RM. Descemet membrane endothelial keratoplasty: safety and outcomes: A report by the American Academy of Ophthalmology. *Ophthalmology* 125 (2), 295-310, 2018
  34. Baydoun L, Ham L, Borderie V, Depena I, Hou J, Frank LE, Oellerich S, Melles GRJ. Endothelial survival after Descemet membrane endothelial keratoplasty: Effect surgical indication graft adherence status. *JAMA Ophthalmol*. 133(11):1277-1285, 2015
  35. Maier AKB, Gundlach E, Schroeter J, Klamann MK, Gonnermann J, Riechard AI, Bertelmann E, Joussen AM, Torun N. Influence of the difficulty of graft unfolding and attachment on the outcome in Descemet membrane endothelial keratoplasty. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 253(6) :895-900, 2015
  36. Gonzalez A, Price FW, Price MO, Feng MT. Prevention and management of pupil block after Descemet membrane endothelial keratoplasty. *Cornea*. 35(11):1391-5, 2016
  37. Maques RE, Guerra PS, Sousa DC, Ferreira NP, Gonçalves AI, Quintas AM, Rordrigues W. Sulfur hexafluoride 20% versus air 100% for anterior chamber tamponade in DMEK: A meta-analysis. *Cornea* 37(6):691-697, 2018
  38. Schaub F, Enders P, Snijders K, Schrittenlocher S, Siebelmann S, Heindl LM, Bachmann B, Cursiefen C. One-year outcome after Descemet membrane endothelial keratoplasty (DMEK) comparing sulfur hexafluoride (SF6) 20% versus 100% air for anterior chamber tamponade. *Br J Ophthalmol*. 101(7):902-8, 2017
  39. Hayashi T, Yuda K, Oyakawa I, Kato N, Use of Brilliant Blue G in Descemet's

- membrane endothelial keratoplasty. *Biomed Res Int.* 2017:9720389, 2017
40. Matsuzawa A, Hayashi T, Oyakawa I, Yuda K, Shimizu T, Mizuki N, Yamada N, Kato N. Use of four asymmetric marks to orient the donor graft during Descemet's membrane endothelial keratoplasty. *BMJ Open Ophthalmol.* 1(1): e000080, 2017
  41. Anshu A, Price MO, Price FW Jr. Risk of corneal transplant rejection significantly reduced with Descemet's membrane endothelial keratoplasty. *Ophthalmology* 119(3):536-540, 2012
  42. Hjortdal J, Pedersen IB, Bak-Nielsen S, Ivarsen A. Graft rejection and graft failure after penetrating keratoplasty or posterior lamellar keratoplasty for Fuchs endothelial dystrophy. *Cornea* 32(5):e60-e63, 2013
  43. Miyake K, Ibaraki N. Prostaglandins and Cystoid Macular Edema. *Surv Ophthalmol.* 47:S203-218, 2002
  44. Smith RT, Campbell CJ, Koester CJ, Trokel S, Anderson A. The barrier function in extracapsular cataract surgery. *Ophthalmology.* 97(1):90-95, 1990
  45. Xu H, Chen M, Forrester JV, Lois N. Cataract surgery induces retinal pro-inflammatory gene expression and protein secretion. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 52(1):249-255, 2011
  46. Irvine SR. A newly defined vitreous syndrome following cataract surgery. *Am J Ophthalmol.* 36(5): 599-619, 1953
  47. Gass JDM, Norton EWD. Cystoid macular edema and papilledema following cataract extraction. *Arch Ophthalmol.* 76(5): 646-661, 1966
  48. Spade RF, Yannuzzi LA. Cystoid macular edema after cataract surgery. *Semin Ophthalmol.* 8;121-129, 1993
  49. Henderson B, Yong Kim J, Ament C, Ferrufino-Ponce Z, Gabowska A, Cremers S. Clinical pseudophakic macular edema; Risk factors for development and duration after treatment. *J Cataract Refract Surg.* 33(9):1550-1558, 2007
  50. Nirankari VS, Karesh JW. Cystoid macular edema following penetrating keratoplasty: incidence and prognosis. *Ophthalmic Surg.* 17(7): 404-407, 1986
  51. Suh LH, Yoo SH, Deobhakta A, Donaldson KE, Aldonso EC, Culbertson WW, O'Brien TP. Complications of Descemet's stripping with automated endothelial keratoplasty: survey of 118 eyes at One Institute. *Ophthalmology.* 115(9):1517-1524, 2008
  52. Dapena I, Ham L, Droutsas K, Dijk Kv, Moutsouris K, Mells GRJ. Learning curve in Descemet's membrane endothelial keratoplasty: first series of 135 consecutive cases. *Ophthalmology.* 118(11):2147-2154, 2011
  53. Heinzlmann S, Maier P, Böhringer D, Hüther S, Eberwein P, Reinhard T. Cystoid macular oedema following Descemet membrane endothelial keratoplasty. *Br J Ophthalmol.* 99(1):98-102, 2015

54. Hoerster R, Stanzel TP, Olvbachmann B, Siebelmann S, Felsch M, Cursiefen C. Intensified topical steroids as prophylaxis for macular edema after posterior lamellar keratoplasty combined with cataract surgery. *Am J Ophthalmol* 163:174-179.e2, 2016
55. Flanary WE, Vislisel JM, Wagoner MD, Raecker ME, Aldrich BT, Zimmerman MB, Goins KM, Greiner MA. Incidence of cystoid macular edema after Descemet membrane endothelial keratoplasty as a staged and solitary procedure. *Cornea* 35(8):1040-1044, 2016
56. Kocaba V, Mouchel R, Fleury J, Marty AS, Janin – Manificat H, Maucourt-Boulch D, Burillon C. Incidence of cystoid macular edema after Descemet membrane endothelial keratoplasty. *Cornea* 37(3):277-282, 2018
57. Price MO, Thompson RW, Price Jr FW. Risk factors for various cases of failure in initial corneal grafts. *Arch Ophthalmol*. 121(8):1087-1092, 2013
58. Bourne WM. Cellular changes in transplanted human corneas *Cornea* 20(6):560-569, 2001
59. Heinzelmann S, Bohringer D, Eberwein P, Reinhard T, Maier P. Outcomes of Descemet membrane endothelial keratoplasty, Descemet stripping automated endothelial keratoplasty and penetrating keratoplasty from a single centre study. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 254(3): 515-522, 2016
60. Hos D, Tuac O, Schaub F, Stanzel TP, Schrittenlocher S, Hellmich M, Bachmann BO, Cursiefen C. Incidence and clinical course of immune reactions after Descemet membrane endothelial keratoplasty: Retrospective analysis of 1000 consecutive eyes. *Ophthalmology*. 124(4):512-518, 2017
61. Eghrari AO and Gottsch JD. Fuchs corneal dystrophy. *Expert Rev Ophthalmol*. 5(2):147-159, 2010
62. Ezon I, Shih CY, Rosen LM, Suthar T, Udell IJ. Immunologic graft rejection in Descemet's stripping endothelial keratoplasty and penetrating keratoplasty for endothelial disease. *Ophthalmology* 120(7): 1360-1365, 2013
63. Aldave AJ, Chen JL, Zaman AS, Deng SX, Yu F. Outcomes after DSEK in 101 eyes with previous trabeculectomy and tube shunt implantation. *Cornea* 33(3): 223-229, 2014
64. Kang JJ, Ritterband DC, Lai K, Liebmann JM, Seedor JA. Descemet stripping endothelial keratoplasty in eyes with previous glaucoma surgery. *Cornea* 35 (12): 1520-1525, 2016
65. Anshu A, Price MO, Price FW. Descemet's stripping endothelial keratoplasty: long-term graft survival and risk factors for failure in eyes with preexisting glaucoma. *Ophthalmology* 119(10): 1982-1987, 2012
66. Nahum Y, Mimouni M, Busin M. Risk factors predicting the need for graft exchange

- after Descemet stripping automated endothelial keratoplasty. *Cornea* 34(8): 876-879, 2015
67. Ishii N, Yamaguchi T, Yazu H, Satake Y, Yoshida A, Shimazaki J. Factors associated with graft survival and endothelial cell density after Descemet's stripping automated endothelial keratoplasty. *Sci Rep.* 6: 25276, 2016
  68. Birbal RS, Baydon L, Ham L, Miron A, Dijk Kv, Dapena, Jager MJ, Bohringer S, Oellerich S, Melles GRJ. Effect of surgical indication and preoperative lens status on Descemet membrane endothelial keratoplasty outcomes. *Am J Ophthalmol.* 212: 79-87, 2020
  69. Eye bank Association of America. 2016 Eye Banking statistical report. Available from: [http://restoresight.org/wp-content/uploads/2017/04/2016\\_Statistical\\_Report-Final-040717.pdf](http://restoresight.org/wp-content/uploads/2017/04/2016_Statistical_Report-Final-040717.pdf)
  70. Birbal RS, Baydon L, Ham L, Miron A, Dijk Kv, Dapena, Jager MJ, Bohringer S, Oellerich S, Melles GRJ. Effect of surgical indication and preoperative lens status on Descemet membrane endothelial keratoplasty outcomes. *Am J Ophthalmol.* 212: 79-87, 2020
  71. Eye bank Association of America. 2018 Eye Banking statistical report. Available from: <https://restoresight.org/what-we-do/publications/statistical-report/>
  72. Shimizu T, Hayashi T, Yuda K, Takahashi H, Oyakawa I, Yamazaki K, Mizuki N, Kato N. Short axial length and iris damage are associated with iris posterior synechiae after Descemet membrane endothelial keratoplasty in Asian eyes. *Cornea* 37(11): 1355-1359, 2018
  73. Ang M, Soh Y, Htoon HM, Mehta JS, Tan D. Five-years graft survival comparing Descemet stripping automated endothelial keratoplasty and penetrating keratoplasty. *Ophthalmology* 123(8): 1646-1652, 2016
  74. Baydoun L, Ham L, Borderie V, Dapena I, Hou J, Frank LE, Oellerich S, Melles GR. Endothelial survival after Descemet membrane endothelial keratoplasty. Effect of surgical indication and graft adherence status. *JAMA Ophthalmol.* 133(11):1277-1285, 2015
  75. Hayashi T, Oyakawa I, Kato N. Techniques for learning Descemet membrane endothelial keratoplasty for eyes of Asian patients with shallow anterior chamber. *Cornea* 36:390-393, 2017
  76. Kenney MC, Labermeier U, Hinds D, Warning GO 3rd. Characterization of the descemet's membrane/posterior collagenous layer isolated from fuchs' endothelial dystrophy corneas. *Exp Eye Res.* 39(3):267-277, 1984
  77. Krachmer JH, Purcell JJ Jr, Young CW, Bucher KD. Corneal endothelial dystrophy. A study of 64 families. *Arch Ophthalmol.* 96(11) : 2036-2039, 1978
  78. Adamis AP, Filatov V, Tripathi BJ, Tripathi RC. Fuchs' endothelial dystrophy

- for the cornea. *Surv Ophthalmol.* 38 (2) :149-168, 1993
79. Kitagawa K, Kojima M, Sasaki H, Shui YB, Chew SJ, Cheng HM, Ono M, Morikawa Y, Sasaki K. Prevalence of primary cornea guttata and morphology of corneal endothelium in aging Japanese and Singaporean subjects. *Ophthalmic Res.* 34(3):135-138, 2002
  80. Eghrari AO and Gottsch JD. Fuchs corneal dystrophy. *Expert Rev Ophthalmol.* 5(2):147-159, 2010
  81. Zoega GM, Fujizawa A, Sasaki H, Kubota A, Sasaki K, Kitagawa K, Jonasson F. Prevalence and risk factors for cornea guttata in the Reykjavik. Eye Study. *Ophthalmology* 113(4):565-569, 2006
  82. Yamaguchi T, Higa K, Suzuki T, Nakayama N, Yagi-Yaguchi Y, Dogru M, Satake Y, Shimazaki J. Elevated cytokine levels in the aqueous humor of eyes with bullous keratopathy and low endothelial cell density. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 57(14):5954-5962, 2016
  83. Kobayashi A, Yokogawa H, Yamazaki N, Masaki T, Sugiyama K. The use of endoillumination probe-assisted Descemet membrane endothelial keratoplasty for bullous keratopathy secondary to argon laser iridotomy. *Clin Ophthalmol.* 8:91-93, 2015
  84. Kruse FE, Laaser K, Cursiefen C, Heindl LM, Schlötzer-Schrehardt, U, Riss S, Bachmann BO. A stepwise approach to donor preparation and insertion increases safety and outcome of Descemet membrane endothelial keratoplasty. *Cornea* 30(5): 580-587, 2011
  85. Bill A. The blood-aqueous barrier. *Trans Ophthalmol Soc UK.* 105(Pt2): 149-155, 1986
  86. Aketa N, Yamaguchi T, Suzuki T, Higa K, Yagi-Yaguchi Y, Satake Y, Tsubota K, Shimazaki J. Iris damage is associated with elevated cytokine levels in aqueous humor. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 58:42-51, 2017
  87. Nishino T, Kobayashi A, Yokogawa H, Mori N, Masaki T, Sugiyama K. A 10-year review of underlying diseases for endothelial keratoplasty (DSAEK/DMEK) in a tertiary referral hospital in Japan. *Clin Ophthalmol.* 12: 1359-1365, 2018
  88. Kitazawa K, Kayukawa K, Wakimasu K, Yokota I, Inatomi T, Hieda O, Mori K, Sotozono C, Kinoshita S. Predictive clinical factors of cystoid macular edema in patients with Descemet's stripping automated endothelial keratoplasty. *Sci Rep.* 7(1):7412, 2017
  89. Kessel L, Tendal B, Jørgensen KJ, Erngaard D, Flesner P, Andresen JL, Hjortdal J. Post-cataract prevention of inflammation and macular edema by steroid and nonsteroidal anti-inflammatory eye drops: a systematic review. *Ophthalmology.* 121(10):1915-1924, 2014

90. Kitazawa K, Kayukawa K, Walimasu K, Inatomi T, Heda O, Mori K, Sotozono C, Kinoshita S. Topical non-steroidal anti-inflammatory drugs for the treatment of cystoid macular edema post Descemet's stripping automated endothelial keratoplasty. *Jpn J Ophthalmol*. 62(6):615-620, 2018
91. Tan GS, He M, Tan DT, Mehta JS. Correlation of anterior segment optical coherence tomography measurements with graft trephine diameter following Descemet stripping automated endothelial keratoplasty. *BMC Med Imaging*. 12:19, 2012
92. Baydoun L, Ham L, Borderie V, Dapena I, Hou J, Frank LE, Oellerich S, Melles GRJ. Endothelial survival after Descemet membrane endothelial keratoplasty: Effect of surgical indication and graft adherence status. *JAMA Ophthalmol*. 133(11): 1277-1285, 2015
93. Romano V, Tey A, Hill NME, Ahmad S, Britten C, Batterbury M, Willoughby C, Kaye SB. Influence of graft size on graft survival following Descemet stripping automated endothelial keratoplasty. *Br J Ophthalmol*. 99(6):784-788, 2015
94. Schrittenlocher S, Bachman B, Cursiefen C. Impact of donor tissue diameter on postoperative central endothelial cell density in Descemet membrane endothelial keratoplasty. *Acta Ophthalmol*. 97(4): e618-e622, 2019
95. Patel HY, Ormonde S, Brookes NH, Moffatt SL, Sherwin T, Pendergrast DGC, McGhee CNJ. The New Zealand national eye bank: Survival and visual outcome 1 year after penetrating keratoplasty. *Cornea* 30(7): 760-764, 2011
96. Siggel R, Heindl LM, Cursiefen C. Descemet membrane endothelial keratoplasty (DMEK) in phakic eyes with shallow anterior chamber. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 3(5): 817-819, 2015
97. Varadaraj V, Senguota S, Palaniswamy K, Srinivasan K, Kader MA, Raman G, Reddy S, Ramlu PY, Venkatesh RL. Evaluation of angle closure as a risk factor for reduced corneal endothelial cell density. *J Glaucoma*. 26(6): 566-570, 2017
98. Giasson CJ, Solomon LD, Polse KA. Morphometry of corneal endothelium in patients with corneal guttata. *Ophthalmology* 114(8): 1469-75, 2007
99. Hoppenreijs VP, Pels E, Vrensen GF, Treffers WF. Corneal endothelium and growth factors. *Surv Ophthalmol*. 41(2): 155-164, 1996
100. Gov N. Cell mechanics: Moving under peer pressure. *Nat Mater*. 10(6): 412-414, 2011
101. Tambe DT, Hardin CC, Angelini TE, Rajendran K, Park CY, Serra-Picamal X, Zhou EH, Zaman MH, Butler JP, Weitz DA, Fredberg JJ, Treppe X. Collective cell guidance by cooperative intercellular forces. *Nat Mater* 10(6): 469-475, 2011
102. Koizumi N, Okumura N, Ueno M, Kinoshita S. New therapeutic modality for corneal endothelial disease using Rho-associated kinase inhibitor eye drops. *Cornea* 33(suppl 11): S25-S31, 2014

103. Borkar DS, Veldman P, Colby KA. Treatment of Fuchs endothelial dystrophy by Descemet stripping without endothelial keratoplasty. *Cornea* 35(10): 1267–1273, 2016
104. Jacobi C, Zhivov A, Korbmacher J, Falke K, Guthoff R, Schlötzer-Schrehardt U, Cursiefen C, Kruse FE. Evidence of endothelial cell migration after Descemet membrane endothelial keratoplasty. *Am J Ophthalmol.* 152(4):537–542.e2, 2011
105. Dirisamer M, Dapena I, Ham L, Dijk Kv, Oganer O, Frank LE, Wees Jvd, Mells GRJ. Patterns of corneal endothelialization and corneal clearance after Descemet membrane endothelial keratoplasty for Fuchs endothelial dystrophy. *Am J Ophthalmol.* 152(4): 543–555.e1, 2011
106. Inoue T, Hara Y, Kobayashi T, Zheng X, Suzuki T, Shiraishi A, Ohashi Y. Corona Sign: Manifestation of peripheral corneal epithelial edema as a possible marker of the progression of corneal endothelial dysfunction. *Jpn J Ophthalmol.* 60(5): 349–356, 2016