

Title	日本人のケラトエピセリン関連角膜ジストロフィの分子遺伝学のおよび免疫組織学的解析
Sub Title	
Author	小西, 美奈子(Konishi, Minako) 小口, 芳久(Oguchi, Yoshihisa)
Publisher	慶應医学会
Publication year	2003
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.80, No.1 (2003. 3) ,p.T13- T24
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	学位論文
Genre	Journal Article
URL	<a href="https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20030301-0013">https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20030301-0013</a>

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

学位論文

日本人のケラトエピセリン関連角膜ジストロフィの分子遺伝学的  
および免疫組織学的解析

慶應義塾大学医学部眼科学教室

(指導：小口芳久教授)

小西美奈子

(平成 14 年 6 月 3 日受付)

Key words : granular corneal dystrophy, lattice corneal dystrophy, avellino corneal dystrophy, *TGFBI* gene, kerato-epithelin

常染色体優性遺伝角膜ジストロフィは、進行性に角膜各層に変性物質が沈着し、角膜混濁のために年齢とともに視力低下をきたす疾患で、これまで細隙灯検査による角膜所見（混濁の形態および混濁の部位）および病理所見で分類されてきた<sup>1)</sup>。その代表的な疾患が、角膜実質ジストロフィである顆粒状角膜ジストロフィ、格子状角膜ジストロフィ、ライス・ビュックラース角膜ジストロフィ、シュナイダー角膜ジストロフィであり、それらは視力低下をきたした場合、角膜移植の適応となる。顆粒状角膜ジストロフィは角膜実質浅層にマッソントリクローム染色にて赤く染色される顆粒状の沈着物を認めることが特徴であるが、沈着物の本体は不明である。格子状角膜ジストロフィは3つの型に分類され、角膜実質に線状、格子状の混濁を生じ、その格子状混濁はアミロイドの沈着によって生じる。格子状の混濁が細く、角膜中央部にびまん性の淡い混濁を10代から生じるものをI型といい、中年以降の発症で、太い線状混濁を示すものはIIIA型と呼ばれている<sup>2,3)</sup>。一方、全身的に家族性アミロイドポリニューロパチー4型に伴う角膜の格子状混濁

はII型に分類され、日本では数家系報告がある<sup>4)</sup>。

1988年に顆粒状の混濁と角膜実質深層に線状もしくは針状混濁の両方が存在する、すなわち顆粒状角膜ジストロフィと格子状角膜ジストロフィの両方の特徴を有する角膜ジストロフィが新たに報告された<sup>5)</sup>。この角膜ジストロフィは、実質浅層にはマッソン・トリクローム染色で赤染する沈着物、および深層にはコンゴレッド染色において偏光顕微鏡下で複屈折を呈するアミロイドの沈着が認められた。この角膜ジストロフィはイタリアのアベリノ(Avellino)地方に集中していたことから<sup>6-9)</sup>、当初はアベリノ地方に限られた遺伝性の角膜ジストロフィと考えられ、アベリノ角膜ジストロフィと呼ばれた<sup>6)</sup>。しかし、その後この角膜ジストロフィはイタリアのアベリノ地方だけでないことが、ドイツ出身の家系例<sup>7)</sup>や日本人3例の報告から明らかとなった<sup>10)</sup>。

一方、分子遺伝学的には、1994年頃より顆粒状角膜ジストロフィ、格子状角膜ジストロフィI型、アベリノ角膜ジストロフィなどの常染色体優性遺伝角膜ジストロフィの疾患遺伝子が、連鎖解析により5番染色体の長

本論文は、Konishi M, Mashima Y, Nakamura Y, Yamada M, Sugiura H : Granular-lattice (Avellino) corneal dystrophy in Japanese patients. *Cornea* 16 : 635-638, 1997 の一部、Konishi M, Mashima Y, Yamada M, Kudoh J, Shimizu N : The classic form of granular corneal dystrophy associated with R555W mutation in the *BIGH3* gene is rare in Japanese patients. *Am J Ophthalmol* 126 : 450-452, 1998 の一部、Mashima Y, Nakamura Y, Noda K, Konishi M, Yamada M, Kudoh J, Shimizu N : A novel mutation at codon 124 (R124L) in the *BIGH3* gene is associated with a superficial variant of granular corneal dystrophy. *Arch Ophthalmol* 117 : 90-93, 1999 の一部、Konishi M, Yamada M, Nakamura Y, Mashima Y : Varied appearance of cornea of patients with corneal dystrophy associated with R124H mutation in the *BIGH3* gene. *Cornea* 18 : 424-429, 1999 の一部、および Konishi M, Yamada M, Nakamura Y, Mashima Y : Immunohistology of kerato-epithelin in corneal stromal dystrophies associated with R124 mutations of the *BIGH3* gene. *Curr Eye Res* 21 : 891-896, 2000 の一部を含む。

腕 (5q) に位置することが報告されたが、3つの疾患が1つの遺伝子の異常により発症するのか、または異なる3つの疾患遺伝子が、この領域に存在するのかは不明であった<sup>11-14</sup>。その後1997年に、Munierらは顆粒状角膜ジストロフィ、アベリノ角膜ジストロフィ、格子状角膜ジストロフィI型、ライス・ビュックラース角膜ジストロフィが共通の遺伝子の異常により発症することを報告した<sup>15</sup>。すなわち、5番染色体長腕に位置する *TGFBI* (transforming growth factor beta-induced) 遺伝子 (*BIGH3* 遺伝子, OMIM Number 601692) 内において、顆粒状角膜ジストロフィは R555W 変異、アベリノ角膜ジストロフィは R124H 変異、格子状角膜ジストロフィI型は R124C 変異、ライス・ビュックラース角膜ジストロフィは R555Q 変異が確認された<sup>15</sup>。

*TGFBI* 遺伝子は肺の腺癌の細胞において TGF- $\beta$  によって発現が誘発される 683 個のアミノ酸をコードする遺伝子である。このタンパクは  $\beta$ ig-h3 と呼ばれ、ヒトの心臓、精巣、卵巣、副腎、皮膚など多くの組織に存在する<sup>16</sup>。Munier らは、角膜の *TGFBI* 遺伝子産物をケラトエピセリン (kerato-epithelin) と命名した<sup>15</sup>。ウサギの角膜上皮、角膜実質、角膜内皮に存在し<sup>17,18</sup>、ヒト角膜では主に角膜上皮に発現がみられる<sup>17</sup>。角膜における働きは解明されていないが、細胞の接着やインテグリンのリガンドとしての作用や、コラーゲンタイプ VI とともに検出されることから細胞外マトリクスの構成に関与していることが示唆されている<sup>19</sup>。

本研究では慶應義塾大学病院眼科において臨床所見から顆粒状角膜ジストロフィ、ライス・ビュックラース角膜ジストロフィ、格子状角膜ジストロフィI型と診断されていた症例に対し、インフォームドコンセントを得た後、まず *TGFBI* 遺伝子を解析した。顆粒状角膜ジストロフィは1家系を除き他はすべて R124H 変異をもち、日本でこれまで顆粒状角膜ジストロフィと診断していた疾患はほとんどがアベリノ角膜ジストロフィであることを分子遺伝学的<sup>19</sup>および病理組織学的<sup>20</sup>にも明らかにした。残りの1家系は R555W 変異の顆粒状角膜ジストロフィであった<sup>21</sup>。一方、日本人の格子状角膜ジストロフィI型はすべて R124C 変異を持ち、Munier らの報告と同じであった<sup>15</sup>。さらに、臨床的にライス・ビュックラース角膜ジストロフィと診断された家系において、1999年に新規の R124L 変異を報告した<sup>22</sup>。次に、遺伝子変異と臨床所見および臨床経過の関連を検討し、遺伝子変異と臨床像はよく対応していること、また R124H 変異を呈するアベリノ角膜ジストロフィの細隙灯所見は多彩であり、病理組織所見と合わせ細隙灯所見

を2つのタイプに分類できることを報告した<sup>23</sup>。

上述の角膜実質ジストロフィが *TGFBI* 遺伝子の変異で発症することは判明したが、角膜沈着物がケラトエピセリンか否かの証明はなされていなかった。そこで本研究ではさらに、124番アミノ酸残基アルギニンの変異により発症する3つの角膜ジストロフィ、すなわちアベリノ角膜ジストロフィ (R124H)、表在型顆粒状角膜ジストロフィ (R124L)、格子状角膜ジストロフィI型 (R124C) において、免疫組織化学的に沈着物の検討を行い、沈着物がケラトエピセリンを含むことを明らかにした<sup>24</sup>。これらの分子遺伝学的新知見から、顆粒状角膜ジストロフィ、ライス・ビュックラース角膜ジストロフィの新しい臨床分類を提唱した。

## 対 象

慶應義塾大学病院眼科角膜外来通院中で臨床症状、臨床所見からこれまでの分類により、顆粒状角膜ジストロフィ、ライス・ビュックラース角膜ジストロフィ、格子状角膜ジストロフィI型と診断されていた32家系39例 (顆粒状角膜ジストロフィ27例、ライス・ビュックラース角膜ジストロフィ1例、格子状角膜ジストロフィI型11例) を対象とした (第1表)。臨床診断は細隙灯所見に基づいて行われた。年齢は角膜移植手術時の年齢を示し、顆粒状角膜ジストロフィで手術未施行例は細隙灯写真撮影時の年齢とした。顆粒状角膜ジストロフィの症例は男性7例、女性20例で、平均年齢  $61.0 \pm 15.2$  (平均±標準偏差) 歳、ライス・ビュックラース角膜ジストロフィは62歳女性、格子状角膜ジストロフィI型の症例は男性10例、女性1例で、平均年齢は  $49.7 \pm 11.1$  歳であった。症例4と5、症例29と30、症例31と32、症例33から37は同じ家系の症例である。また症例8の両親は血族結婚であった。

## 方 法

### 1. *TGFBI* 遺伝子変異の検出

第1表の顆粒状角膜ジストロフィ27例、ライス・ビュックラース角膜ジストロフィ1例、格子状角膜ジストロフィI型11例の合計39例に対して、インフォームドコンセントを得た後、患者白血球からDNAを抽出し、*TGFBI* 遺伝子のエクソン4と12を polymerase chain reaction (PCR) 法により増幅した。PCR用のプライマーは、Munier ら<sup>15</sup> の論文に基づき、エクソン4では EXON4F (5'-CCCCAGAGGCCATCCCTCCT-3') と

角膜実質ジストロフィの解析

第1表 ケラトエピセリン関連角膜ジストロフィの症例。§1, §2, §3, §4: 同一家系。\*1GCD: 顆粒状角膜ジストロフィ。\*2RBCD: ライス・ビュックラース角膜ジストロフィ。\*3LCD1: 格子状角膜ジストロフィI型。\*4LKP: 表層角膜移植術。\*5PKP: 全層角膜移植術。\*6type1a: 円形の顆粒状混濁が主なもの。\*7type1b: 円形の混濁より星芒状混濁が多いもの。\*8type2: 角膜実質浅層の細かい混濁が主なもの。\*9陽性: マッソントリクローム染色においては赤く染まるものを陽性, コンゴレッド染色においては偏光顕微鏡下で複屈折を呈するものを陽性とする。\*10陰性: 陽性所見以外を陰性とする。※: ホモ変異。

症例	臨床診断	性別	年齢	手術	顆粒状混濁	びまん性上皮混濁	遺伝子変異	マッソントリクローム染色	コンゴレッド染色(偏光)	ケラトエピセリン免疫染色
1	GCD <sup>*1</sup>	女	80	LKP <sup>*4</sup>	type 1 a <sup>*6</sup>	有	R124H	陽性 <sup>*9</sup>	陽性	KE-2,KE-15ともに陽性
2	GCD	女	79	LKP	type 1 a	有	R124H	陽性	陽性	KE-2,KE-15ともに陽性
3	GCD	女	86	PKP <sup>*5</sup>	type 1 a	有	R124H	陽性	陽性	施行せず
4 <sup>*1</sup>	GCD	男	69	LKP	type 2 <sup>*8</sup>	有	R124H	陽性	陽性	KE-2,KE-15ともに陽性
5 <sup>*1</sup>	GCD	女	71	LKP	type 2	有	R124H	陽性	陽性	KE-2,KE-15ともに陽性
6	GCD	女	72	PKP	type 1 a	有	R124H	陽性	陽性	KE-2,KE-15ともに陽性
7	GCD	女	65	LKP			R124H	陽性	陽性	施行せず
8	GCD	女	10	LKP			R124H <sup>※</sup>	陽性	陰性	KE-2,KE-15ともに陽性
9	GCD	男	52	施行せず	type 1 a	無	R124H			
10	GCD	女	52	施行せず	type 1 a	無	R124H			
11	GCD	男	72	施行せず	type 1 a	有	R124H			
12	GCD	男	54	施行せず	type 1 a	無	R124H			
13	GCD	女	60	施行せず	type 1 a	無	R124H			
14	GCD	男	61	施行せず	type 1 a	無	R124H			
15	GCD	女	50	施行せず	type 1 a	無	R124H			
16	GCD	女	51	施行せず	type 1 a	無	R124H			
17	GCD	女	53	施行せず	type 1 a	無	R124H			
18	GCD	男	61	施行せず	type 1 a	無	R124H			
19	GCD	女	50	施行せず	type 1 a	無	R124H			
20	GCD	女	63	施行せず	type 1 a	無	R124H			
21	GCD	女	74	施行せず	type 1 b <sup>*7</sup>	無	R124H			
22	GCD	女	63	施行せず	type 1 b	有	R124H			
23	GCD	女	68	施行せず	type 1 b	有	R124H			
24	GCD	女	71	施行せず	type 1 a	無	R124H			
25	GCD	男	50	施行せず	type 2	有	R124H			
26	GCD	女	72	施行せず	type 2	有	R124H			
27	GCD	女	39	施行せず			R555W			
28	RBCD <sup>*2</sup>	女	62	PKP			R124L	陽性	陰性	KE-2,KE-15ともに陽性
29 <sup>*2</sup>	LCD1 <sup>*3</sup>	男	63	PKP			R124C	陽性	陽性	KE-2,KE-15ともに陽性
30 <sup>*2</sup>	LCD1	男	44	LKP			R124C	陰性 <sup>*10</sup>	陽性	KE-2陽性,KE-15陰性
31 <sup>*3</sup>	LCD1	男	48	PKP			R124C	陽性	陽性	KE-2,KE-15ともに陽性
32 <sup>*3</sup>	LCD1	女	46	LKP			R124C	陽性	陽性	KE-2,KE-15ともに陽性
33 <sup>*4</sup>	LCD1	男	61	PKP			R124C	施行せず	陽性	施行せず
34 <sup>*4</sup>	LCD1	男	55	PKP			R124C	施行せず	陽性	施行せず
35 <sup>*4</sup>	LCD1	男	55	PKP			R124C	陽性	陽性	KE-2,KE-15ともに陽性
36 <sup>*4</sup>	LCD1	男	25	LKP			R124C	陽性	陽性	KE-2陽性,KE-15陰性
37 <sup>*4</sup>	LCD1	男	61	PKP			R124C	施行せず	陽性	施行せず
38	LCD1	男	49	PKP			R124C	陰性	陽性	KE-2,KE-15ともに陽性
39	LCD1	男	40	PKP			R124C	施行せず	陽性	施行せず

EXON4R (5'-CCGGGCAGACGGAGGTCATC-3'), エクソン12ではEXON12F (5'-GTTGACAGGTGACATTTTCT-3')とEXON12R (5'-TATCAAAAAGGATCACTACT-3')を使用し, 以下のプロトコールで行った。94°Cで5分の後, 94°Cで1分, 55°Cで1分, 72°C

で1分を35サイクル, その後72°Cで7分とした。次にダイターミネーター法 (PRISM Dye Deoxy Terminator cycle sequencing kit; Applied Biosystems) で自動DNAシーケンサー (ABI PRISM 377; Applied Biosystems, Foster City, CA, USA)を用いて, 増幅さ

れた PCR 産物の塩基配列を決定した<sup>19,21,22)</sup>。

## 2. TGFBI 遺伝子変異と臨床所見の関連に関する検討

方法1で TGFBI 遺伝子変異を調べた症例 39 例に対して、角膜の細隙灯写真より、角膜混濁の特徴を検討し、その臨床的特徴と遺伝子変異の関連について検討した。撮影した角膜の細隙灯写真 (角膜移植手術を施行された症例は術前の写真) を基に、遺伝子変異別に角膜の混濁の形状、程度、臨床経過を検討した。

## 3. ケラトエピセリン関連角膜ジストロフィにおける病理所見

第1表で角膜移植手術 (全層角膜移植手術、表層角膜移植手術) を施行された 14 例において病理組織学的検討を行った。症例の内訳は遺伝子診断でアベリノ角膜ジストロフィと診断された 6 例 (症例 1, 2, 4, 5, 6, 8)、表在型顆粒状角膜ジストロフィと診断された 1 例 (症例 28)、格子状角膜ジストロフィ I 型と診断された 7 例 (症例 29~32, 35, 36, 38) である。

手術時に得られた角膜をリン酸バッファー添加ホルマリン固定、パラフィン包埋し、切片を作成した後、H-E 染色、マッソントリクローム染色もしくはマロリー染色、コンゴレッド染色、ケラトエピセリンの抗体による免疫組織染色を行った。抗ケラトエピセリン抗体は Schorderet らのグループにより提供された KE-2、KE-15<sup>25)</sup> を用いた。これらはウサギで作成されたポリクロナール抗体で、KE-2 はケラトエピセリンの C 末端側 426 番目から 682 番目のアミノ酸に対して作られ、KE-15 は N 末端側 69 番目から 364 番目のアミノ酸に対して作られたものである。それぞれウエスタンブロットでヒトのケラトエピセリンを認識することが示されている<sup>25)</sup>。

免疫組織染色の方法としては ABC 法を用いた。パラフィン包埋された切片をキシレンに通した後、100%エチルアルコールに通した。内因性ペルオキシダーゼの阻止のため、0.3%過酸化水素水とメタノールを 1:9 に混合した溶液内に 45 分間浸透させた。その後 100%エチルアルコールから 70%エチルアルコールで親水させ、PBS (0.01mol/L リン酸緩衝食塩水) で洗浄した。次に 0.05% Pronase (Dako 社製; Glostrup, Denmark) を 15 分間作用させた。PBS で洗浄後、正常ヤギ血清、正常ウシ血清を各 10 分間作用させ、非特異的反応を抑制した。次に上記の抗ケラトエピセリン抗体を 10 倍希釈したものを 1 次抗体として 30 分間作用させた。陰性対照として正常ウサギ血清を 10 倍希釈したものをを用いた。

2 次抗体としてビオチン化抗ウサギ抗体を 30 分間反応させ、ついでストレプトアビジン-ペルオキシダーゼを 30 分間反応させた。各段階での洗浄は 1M の食塩を含む PBS で行った。発色はジアミノベンチジン (DAB) を用い、ヘマトキシリンで対比染色を行った<sup>26)</sup>。以上の過程は室温で行った。

染色された各標本は光学顕微鏡下で観察した。コンゴレッド染色された切片は偏光レンズを使用し、アミロイドの有無を偏光顕微鏡下の複屈折の有無で観察した。マッソントリクローム染色もしくはマロリー染色は赤く染色された場合を陽性所見とした。なお病理組織学的検査を行った症例は初回手術例のみである。

## 結 果

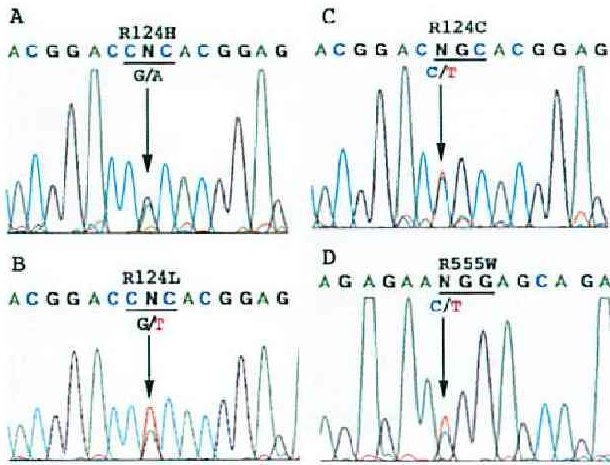
### 1. 常染色体優性角膜実質ジストロフィにおける TGFBI 遺伝子変異の検出

今まで顆粒状角膜ジストロフィと臨床的に診断されていた症例 1 から 27 において、124 番目のアミノ酸においてアルギニンがヒスチジンに変異する R124H 変異を症例 1 から 26 に認めた (第 1 図 A)<sup>19,23)</sup>。そのうち症例 8 はホモ変異で、ほかの症例はヘテロ変異であった。症例 27 は 555 番目のアミノ酸においてアルギニンがトリプトファンへ変異する R555W 変異<sup>24)</sup>であった (第 1 図 D)。症例 28 は今まで報告されていなかった新たな変異で、124 番目のアミノ酸においてアルギニンがロイシンへ変異する R124L 変異<sup>22)</sup>であった (第 1 図 B)。格子状角膜ジストロフィ I 型と臨床的に診断された症例 29 から 39 は全例 124 番目のアミノ酸においてアルギニンがシステインに変異する R124C 変異であった (第 1 図 C)<sup>19)</sup>。

### 2. TGFBI 遺伝子変異と臨床所見の関連

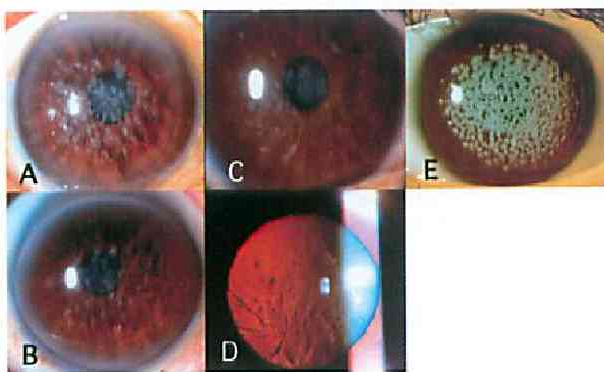
TGFBI 遺伝子において R124H 変異を認めたアベリノ角膜ジストロフィ 26 例のうち、症例 7, 8 を除く 24 例は角膜実質浅層の灰白色の円形、顆粒状混濁が特徴で、さらに実質深層には金平糖もしくは星芒状の混濁が認められた。これらの症例は角膜混濁による視力低下は中年以降に始まり、徐々に進行したが、角膜移植手術を必要とするほどの視力低下は 60 歳代以降が多かった。また経過中に角膜上皮びらんによる羞明、異物感、疼痛などを自覚した症例はなかった。

さらに詳しく角膜所見を検討したところ、この 24 例の症例の角膜所見は 2 つのタイプに分けられた。もっとも多かったのは典型的な円形の顆粒状混濁もしくは星



第1図 ケラトエビセリン関連角膜ジストロフィのDNAシーケンス。A：R124H 変異のDNA シーケンス、アルギニンがヒスチジン (CGC→CAC) に変異している。B：R124L 変異のDNA シーケンス、アルギニンがロイシン (CGC→CTC) に変異している。C：R124C 変異のDNA シーケンス、アルギニンがシステイン (CGC→TGC) に変異している。D：R555W 変異のDNA シーケンス、アルギニンがトリプトファン (CGG→TGG) に変異している。

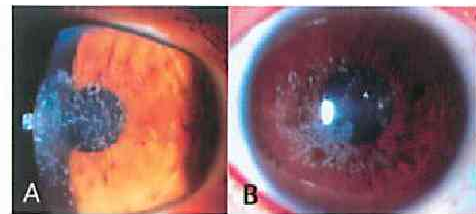
芒状混濁を主に認めるもので (第1表の type 1a および type 1b), 20 例がこれに属した。混濁の形状は円形、顆粒状のものが多いもの (type 1a, 第2図 A) とより深層にみられる星芒状混濁が多いもの (type 1b, 第2図 B) があったが、両者とも角膜上皮下混濁はびまん性でなく、円形と星芒状の両者の形状の混濁が混在してい



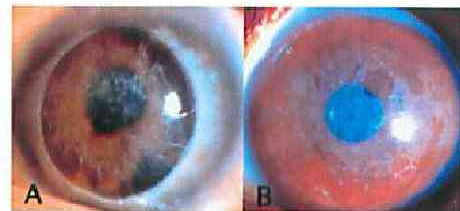
第2図 R124H 変異角膜ジストロフィの細隙灯所見。A：79 歳女性 (症例 2)、顆粒状の混濁が主にみられ、星芒状混濁はわずかである。B：68 歳女性 (症例 23)、星芒状混濁が主にみられる。C：69 歳男性 (症例 4)、混濁は A、B より細かく、角膜の表層に限局している。D：症例 4 の微照法による撮影。中央のびまん性角膜上皮下混濁が顕著である。E：10 歳女児 (症例 8)、ホモ変異の症例で、濃く密な角膜実質浅層の混濁を認める。

た。このタイプに属する症例の平均年齢は  $63.6 \pm 11.1$  (平均  $\pm$  標準偏差) 歳であった。角膜中央部の上皮下混濁は、顆粒状混濁の周囲に限局してみられる程度で、上皮下混濁のない症例もあった。上皮下混濁のみられた症例の平均年齢は  $74.3 \pm 7.8$  歳で、みられなかった症例の平均年齢は  $57.8 \pm 8.0$  歳であった。両者の年齢は有意差があり ( $p < 0.05$ , Mann-Whitney's U test にて)、年齢が高くなるほど上皮下混濁は増加する傾向を示した。2 番目のタイプはびまん性の角膜上皮下の混濁が特徴的で、顆粒状混濁は type 1 より細かく、線状の混濁も認めた (第1表の type 2, 第2図 C,D)。このタイプは4例あり、平均年齢は  $65.5 \pm 10.4$  歳であった。混濁は主に角膜上皮下から実質浅層に限局しており、type 1 にみられたような実質深層の沈着物は認めなかった。症例 8 は R124H のホモ変異を持つ症例で、角膜実質浅層の顆粒状混濁はヘテロの症例より、濃く、密で、視力低下も幼少時より生じていた (第2図 E)。角膜上皮びらんの既往はヘテロ変異の症例同様認めなかった<sup>20</sup>。

症例 27 の R555W 変異を持つ症例は、欧米でよくみられる顆粒状角膜ジストロフィ (Groenouw type 1) と診断された。20 歳代より角膜上皮障害を繰り返しており、細隙灯顕微鏡下で角膜の表層部に細かい、一部輪状の表在性の灰白色沈着物がみられ (第3図 A)、R124H 変異のアベリノ角膜ジストロフィとは臨床経過



第3図 R555W 変異角膜ジストロフィの細隙灯顕微鏡写真。A：発端者の 39 歳女性 (症例 27)。角膜に細かい、一部輪状の表在性の灰白色沈着物を認める。B：A の子の角膜所見。A と同様の細かい沈着物を認める。



第4図 R124L 変異角膜ジストロフィの細隙灯顕微鏡写真。A：発端者の 62 歳女性 (症例 28)。角膜移植術後の角膜混濁の再発で、びまん性に角膜表層に混濁を認める。B：A の孫。地図状の角膜混濁を認める。

も角膜所見も異なっていた。子(22歳)も同様な角膜所見と再発性の角膜上皮障害の既往があった(第3図B)<sup>21)</sup>。

症例28はR124L変異が新たに同定されたが、角膜上皮下がびまん性に白色に混濁していた(第4図A)、10歳代より再発性角膜上皮びらんの既往があり、20歳代より視力が低下し、他院にて表層角膜移植術を施行されていた。当科受診時は角膜移植片に角膜混濁が再発していたが、角膜移植後であったため、診断が確定しなかった。しかし症例28の子、孫の角膜所見を検査し、孫に地図状の角膜上皮混濁(第4図B)がみられたことから、臨床的にライス・ビュックラース角膜ジストロフィと診断された<sup>22)</sup>。症例28の子、孫ともに幼少時よりの角膜上皮びらんによる眼痛を繰り返し、視力低下も10歳代から生じた。

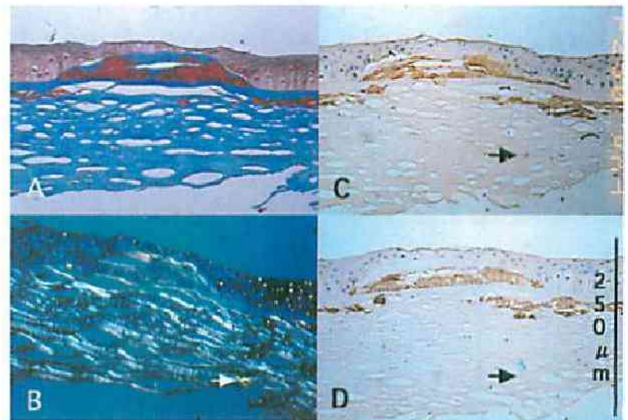
症例29から39の格子状角膜ジストロフィI型はR124C変異を持ち、角膜の格子状混濁が特徴である。幼少時より再発性角膜上皮びらんを生じ、20代から角膜中央部にびまん性、表在性の混濁が出現し、その後徐々に視力が低下し、平均51.5±11.0歳で角膜移植手術を受けた。

### 3. ケラトエピセリン関連角膜ジストロフィにおける病理所見

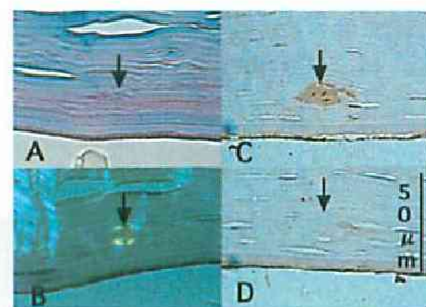
#### 1) アベリノ角膜ジストロフィ

H-E染色にて各症例とも好酸性の無構造の沈着物が角膜上皮から実質にかけて存在した。角膜上皮は菲薄化し、ボーマン層が好酸性の沈着物によって破壊されている部分があった。これらの沈着物はマッソントリクローム染色もしくはマロリー染色で赤く染まり、従来の顆粒状角膜ジストロフィに特徴的とされる所見を示した(第5図A)。コンゴレッド染色では6例中5例が偏光顕微鏡下でapple core greenの複屈折を示し、アミロイドの沈着が証明された。このアミロイドの沈着はマッソントリクローム染色陽性の沈着部位と一致していることが多かったが、実質深層ではマッソントリクローム染色で陰性の沈着物にも認められた(第5図B、第6図A、B)。症例8は複屈折を認めなかった。

ケラトエピセリンの免疫染色の結果は、KE-2、KE-15ともに陽性で、角膜上皮とボーマン層の間と実質内に陽性の沈着物がみられた。角膜上皮とボーマン層の間および実質浅層において、KE-2、KE-15の陽性部位はマッソントリクローム染色陽性部位と一致していた(第5図C、D)。実質深層にアミロイドの沈着を認めた症例では、その部位はマッソントリクローム染色で陰性、



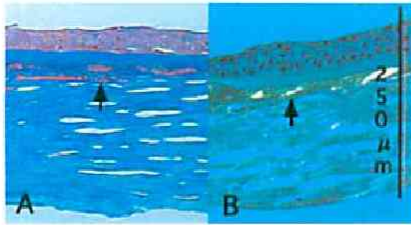
第5図 R124H変異角膜ジストロフィの病理写真(71歳女性、症例5)。バーは250μmを示す。A:マッソントリクローム染色。沈着物は赤く染色されている。B:偏光顕微鏡下でのコンゴレッド染色。マッソントリクローム染色で陽性部位と別の部位に複屈折を認める(白矢印)。C:KE-2による免疫染色。マッソントリクローム染色で陽性部位と一致して陽性所見を認める。D:KE-15による免疫染色。KE-2やマッソントリクローム染色で陽性部位と同部位が陽性に染色されている。黒矢印で示した沈着物はコンゴレッド染色とKE-2で陽性だが、KE-15は陰性である。(Konishi M et al: Curr Eye Res 21: 891-896, 2000の第1図を、許可を得て転載)



第6図 R124H変異角膜ジストロフィの72歳女性の病理写真。バーは50μmを示す。A:マッソントリクローム染色。実質深層の沈着物は染まらない(矢印)。B:コンゴレッド染色。沈着物は偏光顕微鏡下で複屈折を呈する(矢印)。C:KE-2による免疫染色。角膜実質深層の沈着物は陽性所見を示す(矢印)。D:KE-15による免疫染色。6B、6Cで陽性であった沈着物はKE-15による染色は陰性である(矢印)。(Konishi M et al: Curr Eye Res 21: 891-896, 2000の第2図を、許可を得て転載)

KE-2陽性であったが、KE-15で陰性であった(第6図C、D)。

症例4、5(第1表のtype2の細隙灯所見の症例)は実質浅層に帯状のアミロイドが沈着していた(第7図)。

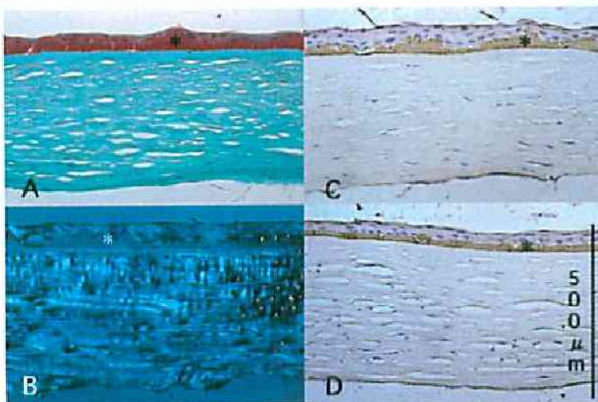


第7図 R124H 変異角膜ジストロフィの病理写真 (69歳男性, 症例4). バーは250 $\mu$ mを示す. A:マッソントリクローム染色. 実質浅層に帯状の赤い染色を認める (矢印). B:偏光顕微鏡下でのコンゴレッド染色. Aでマッソントリクローム染色陽性部位と一致して複屈折を認める (矢印).

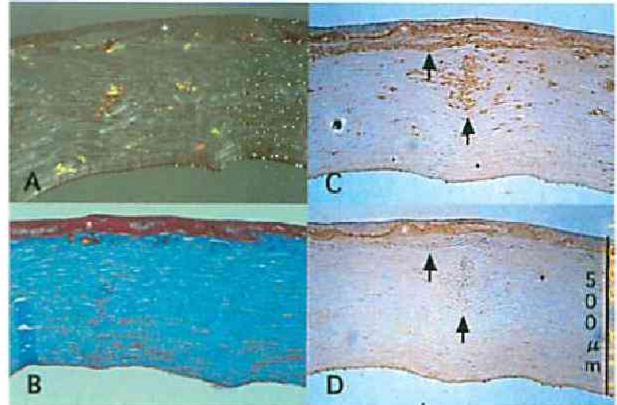
この部位はマッソントリクローム染色陽性, KE-2, KE-15 陽性であった. 実質深層には沈着物は存在しなかった.

2) 表在型顆粒状角膜ジストロフィ

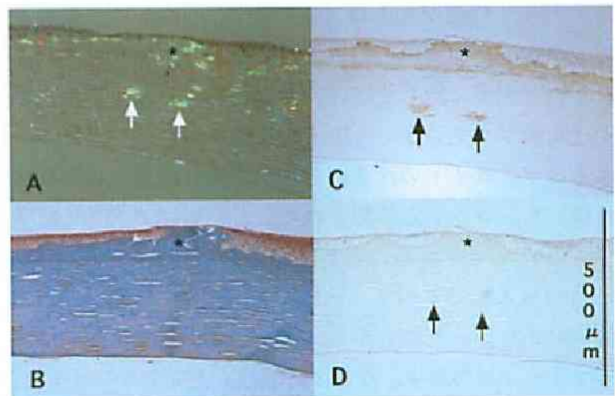
沈着物は角膜上皮とボーマン層の間に局限してみられ, 実質内には存在しなかった. この沈着物はマッソントリクローム染色陽性であったが, コンゴレッド染色で複屈折を認めず, KE-2, KE-15 はともに陽性であった (第8図, 症例28).



第8図 表在型顆粒状角膜ジストロフィの病理写真. バーは500 $\mu$ mを示す. A:マッソントリクローム染色. 角膜上皮下の沈着物が赤く染色されている (\*). B:コンゴレッド染色. 沈着物は複屈折を示さない (\*). C:KE-2による免疫染色. マッソントリクローム染色で赤染した部位と同じ部分が陽性である (\*). D:KE-15による免疫染色. 8A, 8Cで陽性であった部位に一致して陽性所見を認める (\*). (Konishi M et al: Curr Eye Res 21: 891-896, 2000の第3図を, 許可を得て転載)



第9図 格子状角膜ジストロフィ1型 (63歳男性, 症例29)の病理写真. バーは500 $\mu$ mを示す. A:コンゴレッド染色. 角膜実質浅層と深層の沈着物が複屈折を呈する. 角膜上皮とボーマン層の間の沈着物は複屈折を示さない (\*). B:マッソントリクローム染色. 角膜上皮とボーマン層の間の沈着物が赤く染色されている (\*). この沈着物の層は9Aでコンゴレッド染色陽性であった層よりも表層である. C:KE-2による免疫染色. 角膜実質内の沈着物および角膜上皮とボーマン層の間の沈着物の両者とも陽性である (\*, 矢印). D:KE-15による免疫染色. 上皮とボーマン層の間の沈着物は陽性 (\*) だが, 実質内の沈着物は陰性である (矢印). (Konishi M et al: Curr Eye Res 21: 891-896, 2000の第4図を, 許可を得て転載)



第10図 格子状角膜ジストロフィ1型 (49歳男性, 症例38)の病理写真. バーは500 $\mu$ mを示す. A:コンゴレッド染色. 角膜実質浅層と深層の沈着物に複屈折を認める (\*, 矢印). B:マッソントリクローム染色. 角膜実質内の沈着物および角膜上皮とボーマン層の間の沈着物の両者とも陰性である (\*). C:KE-2による免疫染色. 角膜実質内の沈着物および角膜上皮とボーマン層の間の沈着物の両者とも陽性である (\*, 矢印). D:KE-15による免疫染色. KE-2で陽性となる沈着物はすべて陰性である (\*, 矢印). (Konishi M et al: Curr Eye Res 21: 891-896, 2000の第5図を, 許可を得て転載)



### 3) 格子状角膜ジストロフィ I 型

アミロイドの沈着は全例実質浅層から深層全層にみられた。マッソントリクローム染色は7例中5例(症例29, 31, 32, 35, 36)に陽性であったが、その染色部位は角膜上皮とボーマン層との間のごく表層であった。この5例においては、コンゴレッド染色で陽性のアミロイドの沈着部位はボーマン層より深層で、マッソントリクローム染色で陽性になる層より深いことが特徴であった。(第9図A, B)。KE-2はボーマン層より表層の沈着物も実質内の沈着物も陽性であったが(第9図C)、KE-15はボーマン層より表層の非アミロイド性沈着物にのみ陽性で、アミロイドの沈着部位は陰性であった(第9図D)。

マッソントリクローム染色が陰性の2例(症例30, 38)は角膜上皮とボーマン層との間においてもアミロイドの沈着を認めた(第10図A, B)。すべての沈着物においてKE-2は陽性であったが、KE-15は陰性であった(第10図C, D)。

## 考 察

### 1. 遺伝子変異型と臨床表現型の関連

従来日本では、家族性に角膜に類円形や金平糖様の灰白色の顆粒状混濁がみられる症例は顆粒状角膜ジストロフィと臨床的に診断されていた。しかし、1988年以降のアベリノ角膜ジストロフィの報告<sup>8-9)</sup>を基に、慶應義塾大学病院に通院中の顆粒状角膜ジストロフィと診断されていた症例に関して病理所見を再検討したところ、顆粒状角膜ジストロフィと臨床的に診断されていた症例の多くはアミロイドの沈着があり、細隙灯所見上は顆粒状角膜ジストロフィと診断されていた症例はアベリノ角膜ジストロフィであることが推測された。しかし、1997年当時日本人のアベリノ角膜ジストロフィの報告<sup>10)</sup>は3症例しかなかったことから、当初はこの結果は加齢に伴うアミロイドの産生、沈着の可能性も否定できなかった。一方、1997年にMunierらは、*TGFBI* 遺伝子において、顆粒状角膜ジストロフィはR555W変異、アベリノ角膜ジストロフィはR124H変異、格子状角膜ジストロフィ I 型はR124C変異、ライス・ビュックラース角膜ジストロフィはR555Q変異を報告した<sup>15)</sup>。当教室で行った遺伝子検索で従来顆粒状角膜ジストロフィと臨床診断されていた症例のほとんどがR124H変異を示し<sup>19)</sup>、R555W変異は1家系のみであった<sup>21)</sup>ことから、分子遺伝学的にもほとんどがアベリノ角膜ジストロフィであることが判明した。先の病理結果もアミロイドの沈着は加

齢によるものでなく、遺伝子変異によるものであることが推定された。また、血族結婚の家系である10歳の症例(症例8)はR124H変異のホモ変異で、臨床上是重症型であったが、手術時に摘出された角膜組織片ではアミロイドの沈着はなかった<sup>20)</sup>。したがって、アベリノ角膜ジストロフィにおいてアミロイドの沈着は顆粒状混濁より遅れて出現することが考えられた。同様の病理所見が欧米人患者でも報告されている<sup>6,7)</sup>。

関西地区でも同様に従来顆粒状角膜ジストロフィと診断されていた日本人症例の大多数がアベリノ角膜ジストロフィであることが明らかとなった<sup>22)</sup>。欧米ではアベリノ角膜ジストロフィ(R124H変異)の報告例は少なく、むしろ古典的な顆粒状角膜ジストロフィ(R555W変異)の方がより多く、日本人はその逆であることも判明し、今までの概念を覆す結果となった。R555W変異の顆粒状角膜ジストロフィは日本では、非典型的顆粒状角膜ジストロフィとして報告<sup>20)</sup>されているので稀と考えられる。

いわゆるライス・ビュックラース角膜ジストロフィは、臨床所見から二つの型がある<sup>29)</sup>。一つはhoney-comb type と呼ばれR555Q変異を呈するもの<sup>16)</sup>で、欧米では一般にこの型をライス・ビュックラース角膜ジストロフィと呼んでいた。もう一つは角膜のごく表層に地図状の混濁が認められ、ライスとビュックラースが報告したオリジナルのライス・ビュックラース角膜ジストロフィである。その混濁がマッソントリクローム染色で赤染し、電顕所見も高密度の杆体様物質がみられ顆粒状ジストロフィと同じ所見を示す。Küchleは後者をI型、前者をII型と分類した<sup>29)</sup>。これまでにこの2つの型をあわせて、ライス・ビュックラース角膜ジストロフィと呼んでいるので、臨床的には混乱があった。症例28は臨床経過、細隙灯所見からはオリジナルのライス・ビュックラース角膜ジストロフィと診断したが、病理学的所見からは表在型顆粒状角膜ジストロフィと診断した。分子遺伝学的にはR124L変異<sup>22)</sup>を示し、我々はライス・ビュックラース角膜ジストロフィと表在型顆粒状角膜ジストロフィは同じ疾患であると提唱した。最近同様の意見も欧米から報告された<sup>30)</sup>。したがって、本来のライス・ビュックラース角膜ジストロフィはR124L変異をもち、1997年にMunierらにより報告されたR555Q変異は、欧米でこれまでに临床上混同されたThiel-Behnke(テイル・ベンケ)角膜ジストロフィであることが明らかとなった<sup>22)</sup>。

したがって、従来の遺伝性角膜実質ジストロフィの分類では診断名に混乱を生じる可能性がある。遺伝子変

第2表 ケラトエピセリン関連角膜ジストロフィの分類 (提唱)。従来の分類では診断名に混乱をきたすため、遺伝子変異に基づく分類が必要であり、遺伝子変異に基づく分類は臨床所見や臨床経過によく対応している。

従来の分類	遺伝子変異に基づく分類
顆粒状角膜ジストロフィ	古典的顆粒状角膜ジストロフィ (R555W 変異) : 1 型
	アベリノ角膜ジストロフィ (R124H 変異) : 2 型
	表在型顆粒状角膜ジストロフィ (R124L 変異) : 3 型 (=オリジナルのライス・ビュックラース角膜ジストロフィ)
ライス・ビュックラース 角膜ジストロフィ	ティール・ベンケ角膜ジストロフィ (R555Q 変異)
格子状角膜ジストロフィ I 型	格子状角膜ジストロフィ I 型 (R124C 変異)

異型と臨床表現型は良く対応しているのので、今後は遺伝子変異型による分類が必要と思われる (第2表)。たとえば、顆粒状角膜ジストロフィは少なくとも3つの型に分類し、顆粒状角膜ジストロフィ1型はいわゆる古典的顆粒状角膜ジストロフィで、R555W 変異の遺伝子型を持ち、幼少時より角膜上皮びらんを呈し、角膜混濁は微細な顆粒状で表層に限局し、深層には沈着物は認めない。欧米で顆粒状角膜ジストロフィと呼ばれているものはこのタイプである。顆粒状角膜ジストロフィ2型はアベリノ角膜ジストロフィで、R124H 変異の遺伝子型を持ち、実質浅層の灰白状の円形顆粒状混濁とさらにその深層に認められる星芒状混濁が特徴で、角膜上皮びらを生じず、比較的高齢になってから視力低下を生じる。深層の星芒状混濁はアミロイドで、顆粒状混濁より遅れて出現する。日本人の顆粒状角膜ジストロフィはほとんどがこのタイプである。顆粒状角膜ジストロフィ3型は病理所見からは表在型顆粒状角膜ジストロフィで、R124L 変異の遺伝子型を持ち、上皮下に地図状の混濁がみられ幼少時より再発性角膜上皮びらんがあり、早期に視力低下を生じる。

R124H 変異のアベリノ角膜ジストロフィにおいて、実質浅層の灰白状の円形顆粒状混濁は共通にみられる所見であるが、主に顆粒状混濁、星芒状混濁が中心のタイプとびまん性の角膜表層の混濁が中心のタイプにさらに分けられる。原因として、アミロイドの沈着の仕方の違いがあると思われる。最初のタイプも高齢になると顆粒状混濁間に表層のびまん性に近い混濁を呈するが、顆粒状混濁や深層の星芒状混濁ははっきりと残っている。後者は角膜深層の沈着物はなく、年齢がより若いにも関わ

らず、顆粒状混濁は淡く、びまん性の混濁が主体である。病理組織において後者の場合、角膜実質浅層に帯状にマッソントリクローム染色で赤く染まる沈着物があり、同じ部位がコンゴレッド染色において偏光顕微鏡下で複屈折を呈した。一方前者はマッソントリクローム染色が実質浅層でも陽性であるが、コンゴレッド染色での複屈折は主に実質深層に認められた。アミロイドの沈着部位の違いによって混濁の深さが変わり、角膜所見の違いとなってくるのが推測される。実質中層から深層の星芒状混濁はアミロイドが主体と考えられ、浅層の顆粒状混濁はマッソントリクローム染色で赤染する沈着物が主体と思われる。

格子状角膜ジストロフィ I 型に関しては、慶應義塾大学病院通院中の患者で調べたところ全例 R124C 変異を持っていた<sup>19)</sup>。日本においては他施設からの報告も同様であった<sup>27)</sup>。R124C 変異の格子状角膜ジストロフィ I 型は臨床的には幼少時より再発性角膜上皮びらを生じ、格子状角膜混濁以外にびまん性の角膜表層混濁を生じて視力が低下する。角膜の混濁の形状である程度の診断は可能であるものの、びまん性に角膜混濁が強くなってしまった場合や角膜移植術後の症例では混濁の形状のみでの診断は困難であり、遺伝子診断が有用となると思われる。

2. ケラトエピセリン関連角膜ジストロフィ患者の角膜におけるケラトエピセリンならびにアミロイドの沈着  
免疫組織染色の結果から、TGFB1 遺伝子関連の角膜ジストロフィは沈着物にはケラトエピセリンそのものか、それを含むものであることが示唆されたが、各角膜ジス

トロフィによって染色結果は多少異なっていた。アベリノ角膜ジストロフィでは実質浅層から中層にかけてマッソントリクローム染色にて赤く染まる顆粒状の沈着物が存在し、KE-2、KE-15ともに陽性であった。しかし実質中層から深層のアミロイドの沈着物は沈着物はKE-2で陽性だが、KE-15で陰性で、マッソントリクローム染色で陰性であった。一方、R124L変異の表在型顆粒状角膜ジストロフィでは角膜表層のみに沈着物が存在し、マッソントリクローム染色陽性、KE-2およびKE-15陽性、コンゴレッド染色陰性で、アベリノ角膜ジストロフィの顆粒状の沈着物と同じ結果であり、ほぼ全長のケラトエピセリンが存在すると考えられる。

格子状角膜ジストロフィI型はボーマン層より表層の沈着物と実質の沈着物とでは染色結果が違っており、2つの染色パターンが観察された。ボーマン層より表層では、KE-2もKE-15も陽性であったのは7例中5例、KE-2は陽性だがKE-15は陰性のものが2例あった。両者とも実質の染色パターンは共通であった(KE-2陽性、KE-15陰性)。前者はマッソントリクローム染色でもボーマン層より表層では染色陽性を示し、コンゴレッド染色において複屈折はみられず、沈着物はアミロイドではないことが示唆された。一方、後者においては同部位はマッソントリクローム染色陰性で、コンゴレッド染色にて複屈折を呈し、沈着物はアミロイドであることが考えられた。Korvatskaらも格子状角膜ジストロフィI型で角膜上皮下にKE-15で染色される非アミロイド性の沈着物を観察しており<sup>29)</sup>、TakacsらもN末端側の抗体を用いて角膜上皮下の陽性所見と実質内の沈着物における陰性所見を報告している<sup>31)</sup>。Takacsらは格子状角膜ジストロフィI型では再発性角膜上皮障害があることから、この所見を角膜ジストロフィの特徴に由来するというより、角膜上皮障害の創傷治癒に由来するとし<sup>31)</sup>、創傷治癒により正常のケラトエピセリンの産生が増加した結果、角膜表層はケラトエピセリン全長が沈着した可能性は否定できない。

以上より、アベリノ角膜ジストロフィや格子状角膜ジストロフィI型において、マッソントリクローム染色陽性である部位はKE-2もKE-15も陽性であり、ケラトエピセリンの全長もしくは切断や変形をしてもC末端側、N末端側の両方が沈着していると考えられた。同部位はコンゴレッド染色において偏光顕微鏡下で複屈折は認めず、非アミロイド性の物質が沈着していることが考えられる。一方、アミロイドはマッソントリクローム染色陰性で、KE-2は陽性だがKE-15は陰性であったことから、今回使用した抗ケラトエピセリン抗体から

はケラトエピセリンのN末端が消失した形で、アミロイドが沈着したことが考えられた。しかしながら、Korvatskaらは格子状角膜ジストロフィI型の角膜移植片から抽出された蛋白の一次元および二次元電気泳動後のウェスタンブロット解析し、結果は、予想に反して免疫染色結果とは一致せず、ケラトエピセリンのN末端の断片が存在していた<sup>32)</sup>。おそらく、アミロイドに転換する時に大きく構造が異なり、抗体で反応し難いことが考えられた。

同じ124番目のアミノ酸の1塩基の違いによりアミノ酸が異なり、それによりアミロイドの沈着のある角膜ジストロフィ(R124H変異、R124C変異)と沈着のない角膜ジストロフィ(R124L変異)があることは興味深く、ケラトエピセリンN末端側の有無や同部位の構造の変化がアミロイドの形成に関与している可能性があると考えられた。

## 総括

1. 慶應義塾大学病院眼科通院中の常染色体優性遺伝角膜実質ジストロフィの患者39例に対して、*TGFBI*遺伝子の遺伝子変異検索を行った。従来顆粒状角膜ジストロフィと診断されていた症例の多くは分子遺伝学的にR124H変異を持ち、欧米でいわれていたアベリノ角膜ジストロフィであった。欧米に多いR555W変異を持つ顆粒状角膜ジストロフィは1家系だけであった。格子状角膜ジストロフィI型と診断されていた症例はすべてR124C変異を持ち、欧米の報告と一致した。当初ライス・ビュックラース角膜ジストロフィと臨床診断された症例は新規R124L変異を持ち、病理学的所見から表在型顆粒状角膜ジストロフィと考えられた。

2. *TGFBI*遺伝子変異と臨床所見の関連に関する検討を行った。R124H変異のアベリノ角膜ジストロフィは、灰白状の円形顆粒状混濁と星芒状混濁が特徴で、角膜上皮びらんを生じず、R555W変異の顆粒状角膜ジストロフィは角膜表層の微細な顆粒状混濁が特徴で角膜上皮びらんと呈する。R124L変異の表在型顆粒状角膜ジストロフィは幼少時より再発性角膜上皮びらんと認め、早期に視力低下を生じる。R124C変異の格子状角膜ジストロフィI型は格子状角膜混濁、びまん性の角膜表層混濁が特徴である。遺伝子変異と臨床所見はよく対応していた。

3. R124H変異の角膜ジストロフィにおいて角膜所見は主に2つに分類された。第一は顆粒状、星芒状の混濁が主体で、その個々の混濁間に高齢になるほど角膜

表層のびまん性の混濁がみられた。第二は角膜表層のびまん性の混濁が主体で、角膜表層の顆粒状の混濁は存在したが、角膜深層には混濁を認めなかった。

4. アベリノ角膜ジストロフィ、表在型顆粒状角膜ジストロフィ、格子状角膜ジストロフィ I 型の症例に対して、抗ケラトエピセリン抗体による免疫組織染色を含む患者角膜の病理組織学的検討を行った。アベリノ角膜ジストロフィの症例の多くにおいては、角膜表層の沈着物はコンゴレッド染色の偏光顕微鏡下にて複屈折を呈することから沈着物はアミロイドを含み、また KE-2 (C 末端側の抗体)、KE-15 (N 末端側の抗体) はともに陽性であった。角膜実質深層のアミロイドの沈着物は KE-2 陽性、KE-15 陰性であった。表在型顆粒状角膜ジストロフィはアミロイドの沈着はなく、KE-2、KE-15 はともに陽性であった。格子状角膜ジストロフィ I 型はアミロイドの沈着部位はマッソントリクローム染色陰性、KE-2 陽性、KE-15 陰性であり、角膜表層の非アミロイド性の沈着物はマッソントリクローム染色陽性、KE-2、KE-15 ともに陽性であった。

5. 抗ケラトエピセリン抗体による免疫組織染色の結果からマッソントリクローム染色で赤く染まる沈着物はケラトエピセリンの全長もしくは切断や変形をしているも C 末端側、N 末端側の両方が沈着していると考えられた。アミロイドの沈着部分は KE-15 が陰性で、ケラトエピセリンの N 末端側が変形もしくは切断により認識できない状態で沈着していることが示唆され、ケラトエピセリンの N 末端側の有無や構造の変化がアミロイドの形成に関与している可能性があると考えられた。

6. 従来の角膜ジストロフィの分類では混乱を生じる可能性があり、遺伝子変異は臨床表現型によく対応していることから、遺伝子変異に基づいた角膜ジストロフィの新しい臨床分類を提唱した。

稿を終えるにあたり、御指導、御校閲を賜りました慶應義塾大学医学部眼科学教室小口芳久教授に深謝いたします。また、直接の御指導を賜りました慶應義塾大学医学部眼科学教室真島行彦助教授、同山田昌和講師、中村眼科中村裕院長に深甚なる謝意を表します。またご指導、ご助言を頂きました慶應義塾大学医学部分子生物学教室清水信義教授、同工藤純講師、国立成育医療センター生殖医療研究部梅澤明弘部長、川崎市立川崎病院検査科杉浦仁部長に心より感謝申し上げます。

## 文 献

- 1) Mannis MJ, De Sousa LB, Gross RH : The stromal dystrophies. *Cornea : cornea and external disease : clinical diagnosis and management*. Vol II, (Ed) Krachmer JH, Mannis MJ, Holland EJ, Mosby Inc, St. Louis, p. 1043-1062, 1997
- 2) Stock EL, Feder RS, O'Grady RB, Sugar J, Roth SI : Lattice corneal dystrophy type IIIA. *Arch Ophthalmol* 109 : 354-358, 1991
- 3) Yamamoto S, Okada M, Tsujikawa M, Shimomura Y, Nishida K, Inoue Y, Watanabe H, Maeda N, Kurahashi H, Kinoshita S, Nakamura Y, Tano Y : A kerato-epithelin ( $\beta$ -h3) mutation in lattice corneal dystrophy type IIIA. *Am J Hum Genet* 62 : 719-722, 1998
- 4) Akiya S, Nishio Y, Ibi K, Uozumi H, Takahashi H, Hamada T, Onishi A, Ishiguchi H, Hoshii Y, Nakazato M : Lattice corneal dystrophy type II associated with familial amyloid polyneuropathy type IV. *Ophthalmology* 103 : 1106-1110, 1996
- 5) Folberg R, Alfonso E, Croxatto O, Driezen NG, Panjwani N, Laibson PR, Boruchoff SA, Baum J, Malbran ES, Fernandez-Meijide R, Morrison JA, Bernardino VB, Arbizo VV, Albert DM : Clinically atypical granular corneal dystrophy with pathological features of lattice-like amyloid deposits : a study of three families. *Ophthalmology* 95 : 46-51, 1988
- 6) Holland EJ, Daya SM, Stone EM, Folberg R, Dobler AA, Cameron D, Doughman DJ : Avellino corneal dystrophy : Clinical manifestations and natural history. *Ophthalmology* 99 : 1564-1568, 1992
- 7) Rosenwasser GOD, Sucheski BM, Rosa N, Pastena B, Sebastiani A, Sassani JW, Perry HD : Phenotypic variation in combined granular-lattice (Avellino) corneal dystrophy. *Arch Ophthalmol* 111 : 1546-1552, 1993
- 8) Lucarelli MJ, Adamis AP : Avellino corneal dystrophy. *Arch Ophthalmol* 112 : 418-419, 1994
- 9) Folberg R, Stone EM, Sheffield VC, Mathers WD : The relationship between granular, lattice type I, and Avellino corneal dystrophies : a histopathologic study. *Arch Ophthalmol* 112 : 1080-1085, 1994
- 10) Santo RM, Yamaguchi T, Kanai A, Okisaka S, Nakajima A : Clinical histopathologic features of corneal dystrophies in Japan. *Ophthalmology* 102 : 557-567, 1995
- 11) Eiberg H, Møller HU, Berendt I, Mohr J : Assignment of granular corneal dystrophy Groenouw type 1 (CDGG1) to chromosome 5q. *Eur J Hum Genet* 2 : 132-138, 1994
- 12) Stone EM, Mathers WD, Rosenwasser G, Holland EJ, Folberg R, Krachmer JH, Nichols BE, Gorevic PD, Taylor CM, Streb LM, Fishbaugh JA, Daley TE, Sucheski BM, Scheffield VC : Three autosomal domi-

- nant corneal dystrophies map to chromosome 5q. *Nature Genet* 6 : 47-51, 1994
- 13) Gregory CY, Evans K, Bhattacharya SS : Genetic refinement of the chromosome 5q lattice corneal dystrophy type I locus to within a 2 cM interval. *J Med Genet* 32 : 224-226, 1995
  - 14) Small KW, Mullen L, Barletta J, Graham B, Stern G, Yee R : Mapping of Reis-Bücklers' corneal dystrophy to chromosome 5q. *Am J Ophthalmol* 121 : 384-390, 1996
  - 15) Munier FL, Korvatska E, Djemai A, Paslier DL, Zografos L, Pescia G, Schorderet DF : Kerato-epithelin mutations in four 5q31-linked corneal dystrophies. *Nat Genet* 15 : 247-251, 1997
  - 16) Skonier J, Neubauer M, Madisen L, Bennet K, Plowman GD, Purchio AF : cDNA cloning and sequence analysis of  $\beta$ ig-h3, a novel gene induced in a human adenocarcinoma cell line after treatment with transforming growth factor- $\beta$ . *DNA Cell Biol* 11 : 511-522, 1992
  - 17) Escabrino J, Hernando N, Ghosh S, Crabb J, Coca-prados M : cDNA from human ocular ciliary epithelium homologous to  $\beta$ ig-h3 is preferentially expressed as an extracellular protein in the corneal epithelium. *J Cell Physiol* 160 : 511-521, 1994
  - 18) Rawe IM, Zhan Q, Burrows R, Bennet K, Cintron C : Beta-ig. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 38 : 893-900, 1997
  - 19) Mashima Y, Imamura Y, Konishi M, Nagasawa A, Yamada M, Oguchi Y, Kudoh J, Shimizu N : Homogeneity of kerato-epithelin codon 124 mutations in Japanese patients with either of two types of corneal stromal dystrophy. *Am J Hum Genet* 61 : 1448-1450, 1997
  - 20) Konishi M, Mashima Y, Nakamura Y, Yamada M, Sugiura H : Granular-lattice (Avellino) corneal dystrophy in Japanese patients. *Cornea* 16 : 635-638, 1997
  - 21) Konishi M, Mashima Y, Yamada M, Kudoh J, Shimizu N : The classic form of granular corneal dystrophy associated with R555W mutation in the *BIGH3* gene is rare in Japanese patients. *Am J Ophthalmol* 126 : 450-452, 1998
  - 22) Mashima Y, Nakamura Y, Noda K, Konishi M, Yamada M, Kudoh J, Shimizu N : A novel mutation at codon 124 (R124L) in the *BIGH3* gene is associated with a superficial variant of granular corneal dystrophy. *Arch Ophthalmol* 117 : 90-93, 1999
  - 23) Konishi M, Yamada M, Nakamura Y, Mashima Y : Varied appearance of cornea of patients with corneal dystrophy associated with R124H mutation in the *BIGH3* gene. *Cornea* 18 : 424-429, 1999
  - 24) Konishi M, Yamada M, Nakamura Y, Mashima Y : Immunohistology of kerato-epithelin in corneal stromal dystrophies associated with R124 mutations of the *BIGH3* gene. *Curr Eye Res* 21 : 891-896, 2000
  - 25) Korvatska E, Munier FL, Chaubert P, Wang MX, Mashima Y, Yamada M, Uffer S, Zografos L, Schorderet DF : On the role of kerato-epithelin in the pathogenesis of 5q31-linked corneal dystrophies. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 40 : 2213-2219, 1999
  - 26) Mashima Y, Konishi M, Nakamura Y, Imamura Y, Yamada M, Ogata T, Kudoh J, Shimizu N : Severe form of juvenile corneal stromal dystrophy with homozygous R124H mutation in the keratoepithelin gene in five Japanese patients. *Br J Ophthalmol* 82 : 1280-1284, 1998
  - 27) Mashima Y, Yamamoto S, Inoue K, Yamada M, Konishi M, Watanabe H, Maeda N, Shimomura Y, Kinoshita S : Association of autosomal dominantly inherited corneal dystrophies with *BIGH3* gene mutations in Japan. *Am J Ophthalmol* 130 : 516-517, 2000
  - 28) Kumagai S, Kondo T, Tazawa Y, Takayama K : Histologic features of an atypical case of granular corneal dystrophy. *Folia Ophthalmol Jpn* 32 : 1595-1602, 1981
  - 29) Kühle M, Green WR, Völcker HE, Barraquer J : Reevaluation of corneal dystrophies of Bowman's layer and the anterior stroma (Reis-Bücklers and Thiel-Behnke Types) : a light and electron microscopic study of eight corneas and a review of the literature. *Cornea* 14 : 333-354, 1995
  - 30) Ridgway AEA, Akhtar S, Munier FL, Schorderet DF, Stewart H, Perveen R, Bonshek RE, Odenthal MT, Dixon M, Barraquer R, Escoto R, Black GC : Ultrastructural and molecular analysis of Bowman's layer corneal dystrophies : an epithelial origin? *Invest Ophthalmol Vis Sci* 41 : 3286-3292, 2000
  - 31) Takacs L, Boross P, Tözser J, Modis L, Toth G, Berta A : Transforming growth factor- $\beta$  induced protein,  $\beta$ IG-H3, is present in degraded form and altered localization in lattice corneal dystrophy type I. *Exp Eye Res* 66 : 739-745, 1998
  - 32) Korvatska E, Henry H, Mashima Y, Yamada M, Bachmann C, Munier F, Schorderet DF : Amyloid and non-amyloid forms of 5q31-linked corneal dystrophy resulting from kerato-epithelin mutations at Arg-124 are associated with abnormal turnover of the protein. *J Biol Chem* 275 : 11465-11469, 2000