

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 3 月 31 日現在

機関番号：12102

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2010～2012

課題番号：22360074

研究課題名（和文） 白内障手術における角膜内皮損傷機構の解明およびその制御

研究課題名（英文） Endothelial cell damage due to the impingement of fragments of crystalline lens under cataract surgery

研究代表者

榊原 潤 (SAKAKIBARA JUN)

筑波大学・システム情報系・准教授

研究者番号：10292533

研究成果の概要（和文）：

白内障手術として最も普及している術式である超音波乳化吸引術は、白濁した水晶体を超音波により破砕しながら吸引し、人工の眼内レンズと置換する方法である。この時、眼球内の圧力保持のため噴出される灌流液により、水晶体の破片が眼球前房内を飛散するとされている。飛散した水晶体片は角膜に衝突し、細胞を傷つけ、細胞数を低下させる恐れがある。細胞の減少は重篤な術後症に繋がるため、水晶体片と角膜内皮との接触の事実を検証する必要がある。そこで本研究では、超音波乳化吸引術施術中の前房内における水晶体片の運動を捉えると共に、水晶体片衝突に伴う角膜内皮細胞の損傷過程を明らかにすることを目的とし、実験を行った。豚から摘出した眼球に対して眼科医が施術し、前房内を飛散する水晶体片の挙動を高速度カメラにより撮影した。吸引流量や灌流圧力などは実際の手術時の設定と同様とした。水晶体片の三次元位置を算出した所、手術中に水晶体片が角膜内皮と衝突している可能性が示唆された。また、水晶体片の速度を算出した所、約 100[mm/s]で前房内を飛散し、角膜内皮に接触する可能性があることが分かった。

水晶体片の衝突が角膜内皮細胞に与える影響を調べるため、豚眼から摘出された角膜内皮に水晶体片を衝突させ、角膜内皮細胞をスペキュラーマイクロスコープで実時間観察した。水晶体片の衝突に伴って細胞が剥離する様子が観察された。剥離率の最大値は噴出口流速 150[mm/s]、暴露時間 10 分間の条件において 8%であった。水晶体片の無い場合に比べて有る場合のほうがより多くの細胞が剥離することが確認された。

研究成果の概要（英文）：

Phacoemulsification is most popular surgical method of cataract surgery. During operation, crystalline lens is fragmented and aspirated before insertion of the artificial lens is into intraocular. Here the fragments of crystalline lens are scattered in the posterior chamber and might impinge onto the endothelial surface of the cornea. This is a possible cause of the loss of the endothelial cell during the cataract surgery, although it was not clarified in detail so far. We measured the three-dimensional trajectory of the fragments while phacoemulsification in porcine eye by use of stereo image analysis, and clarified the process of cell damage by the impingement of the fragments. Trajectory of the fragments revealed sudden increase of the speed of the fragments which is entrained into the irrigation flow. The impingement of the fragments on the endothelial surface of the cornea was evident in the image, and the maximum speed of the fragments was about 100 mm/s.

In order to clarify the influence of impingement of the fragments on the cells of corneal endothelium, corneal endothelium extracted from porcine eye was exposed to jet of physiological saline which contains the fragment, and observed by specular microscope. Maximum damage rate of the cell was 8% in the case with fragments, which was substantially larger than the case without fragments. Damage rate tends to become higher so that velocity of jet becomes larger.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
平成 22 年度	6,800,000	2,040,000	8,840,000
平成 23 年度	2,300,000	690,000	2,990,000
平成 24 年度	3,100,000	930,000	4,030,000
年度			
年度			
総計	12,200,000	3,660,000	15,860,000

研究分野：工学

科研費の分科・細目：機械工学・流体工学

キーワード：バイオ流体力学

1. 研究開始当初の背景

白内障は、眼球のレンズに相当する水晶体が白濁する疾患である。白内障の治療方法として、水晶体を吸引除去し人口レンズに置き換える外科手術が普及している。ここで、水晶体を吸引除去するには超音波ハンドピースを水晶体内に挿入し、ハンドピース先端で水晶体を破碎しながら吸引する（超音波水晶体乳化吸引術）。このとき、前房（角膜と水晶体のあいだの水で満たされた空間）の圧力を維持するためにハンドピース先端から水が高速で噴射されるが、この水噴流により前房内の水（房水）が激しく攪拌される。この激しい水流が角膜に悪影響を及ぼすことが危惧されている。白内障手術後に角膜内皮細胞数が減少して角膜が白濁し、視力が低下する症例が全症例中 4～15%発生する^[1]。その原因として、破碎された水晶体片の角膜内皮への接触による内皮細胞の損傷が挙げられる^[2]。これは、吸引された水晶体が堅いほど角膜内皮細胞数減少割合が高いとの調査結果に基づいている。しかし、それは間接的な根拠であり、実際に水晶体片が角膜内皮に接触するのか、接触したとしても細胞を損傷するほどの接触応力が発生するのか、などは諸外国を含め全く明らかになっていない。一方、臨床医らは水晶体片の飛散を日々の施術において目撃している。流体力学的にも、水晶体片流動を分散二相流と考えれば、水よりも密度の高い水晶体片は流れに追従できずに角膜内皮に接触することは十分考えられる上に、水晶体片の回転および流体の相対速度に起因した力が水晶体片に働くことによって角膜内皮方向へ押しやられることも予想される。

[1]O'Brien PD, Fitzpatrick P, Kilmartin DJ, Beatty S, 2004, *J. Cataract Refract Surg.*, **30**, 839–843.

[2]Hayashi K, Hayashi H, Nakao F, Hayashi F. 1996, *J. Cataract Refract Surg.*, **22**, 1079–1084.

2. 研究の目的

本研究では、白内障手術中の眼球前房内を飛散する水晶体片の 3 次元的軌跡を捉えて接触状況を明らかにすると共に、接触と細胞破壊の因果関係に関する知見を得ることを目的とする。

3. 研究の方法

(1) 水晶体片の 3 次元的軌跡の計測

白内障手術時における水晶体片の挙動を撮影するために、豚眼を用いた模擬手術を行い、その様子を 2 台の高速度カメラで撮影した。豚眼を発泡スチロールブロックに上向きに固定した上で、生理食塩水に満たされたアクリル製の水槽内に沈めた。白内障手術用ハンドピース先端部分を前房内に挿入すると共に、白内障手術装置（CV-8000, NIDEK）に接続した。これにより、装置内部のチューブポンプによりハンドピース先端部の Aspiration Port から吸引を行うと共に、装置上部に設置された灌流ボトルから水頭差によって灌流液を供給した。灌流液はチップとスリーブの隙間を流れ、二つの灌流口より噴出した。2 台の高速度 C-MOS カメラによって眼球前房内を撮影し、得られた画像から水晶体片の三次元位置を算出した。

(2) 水晶体片衝突による角膜内皮細胞損傷率の測定

実験装置の模式図を Fig.1 に示す。豚眼から摘出した角膜（Fig.2）をアクリル製容器に固定した。この豚眼は屠殺後 12 時間以内のものを用い、生理食塩水につけ、乾燥して角膜内皮細胞がなるべく損傷することのないようにした。アクリル製容器は上部タンク、ポンプ、下部タンク、フィルターにシリコンチューブを介して接続されており、生理食塩水を作動流体とする循環系を形成した。生理食塩水には水晶体片を混入した。上部タンクとアクリル製容器の高度差によりアクリル製容器内の圧力を調整するとともに、上・下部タンクによって流路内に還流する気泡を

除去した。アクリル製容器には内径 5mm のステンレス製円管が取り付けられており、そこから角膜中心に向けて噴流を形成した。円管の先端と角膜内皮との間隔は 5mm とした。角膜内皮の観察に広く用いられている眼科用スペキュラーマイクروسコープによって角膜外皮側から角膜内皮細胞の様子を観察した。

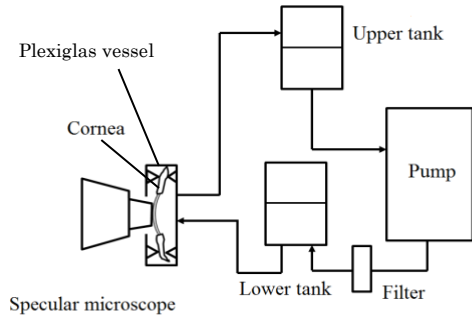


Fig.1 角膜内皮細胞に水晶体片を衝突させるための実験装置

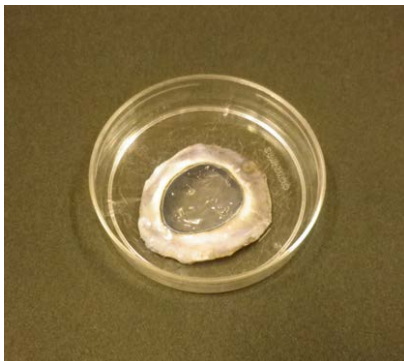


Fig.2 豚眼から摘出した角膜

4. 研究成果

(1) 水晶体片の 3 次元的軌跡

眼科医が豚眼に対して水晶体乳化吸引術を実施した際の前房内映像を Fig. 3 に示す。図中の赤色の印をつけた部分が飛散する水晶体片である。この水晶体片の画像における位置を各フレームごとに取得し、予め得られた画像と実座標の関係に基づいて三次元位置を算出した。

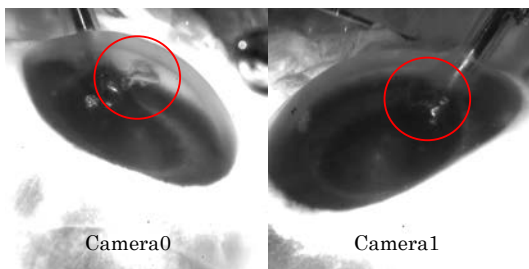


Fig.3 白内障手術（模擬）時において前房内を飛散する水晶体片の画像

水晶体片の軌跡を Fig. 4 に示す。水晶体片が不規則的に前房内を移動する様子が分かる。数カ所急激に進行方向が変わる所があるが、灌流流れと吸引流れによる前房内の流動や、角膜内皮に衝突した事などが原因と考えられる。

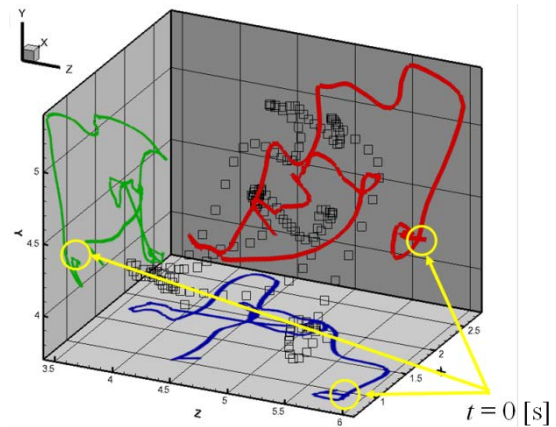


Fig.4 水晶体片の三次元的軌跡 (□)。色付き実線は軌跡の各平面への射影。

得られた位置情報より、水晶体片の速度を算出した (Fig. 5)。ピークが存在する①および③では、撮影画像において、水晶体片が角膜付近を移動していたことと、画像 1 フレーム後 (0.002 [s] 後) には、進行方向に変化があったことから、角膜内皮に衝突したことで速度が小さくなったと考えられる。水晶体片は約 100 [mm/s] の速度を有しており、これと同等の速度で角膜に衝突したと思われる。②で示した部分でも同程度の大きな速度を有しているが、こちらはその後の水晶体片の挙動から、①において灌流により加速され角膜に向い移動した水晶体片が、進行方向を変えたことにより、ハンドピースの吸引流れの影響を受け、ハンドピース先端部に向かい加速されたと考えられる。水晶体片はハンドピース先端部に向かい移動した後、しばらく先端部付近を漂った後に④で吸引口に吸引されたため再び速度が大きくなっている。

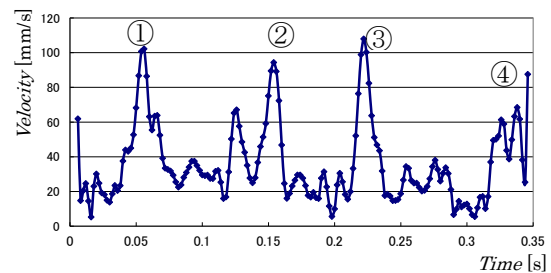


Fig.5 水晶体片の速度の時間的変化

(2) 水晶体片衝突による角膜内皮細胞損傷率

スペキュラーマイクロスコープによって撮影した角膜内皮細胞の画像を Fig. 6 に示す。噴流流速 $v=150\text{mm/s}$ 、撮影場所は噴流中心から半径 $r=2\text{mm}$ の円内のいずれかの位置である。水晶体片衝突前である $t=0$ において細胞が全体に見られるが、衝突開始後 $t=10\text{min}$ においては全体的に霧がかかったようになっており、赤で囲まれた領域に見られるような細胞が剥離している箇所が確認される。動画を観察したところ、この部分では一瞬にして細胞が潰れたようになり、見えなくなる範囲が広がった。水晶体片が角膜に衝突したことで細胞を剥離していると考えられる。

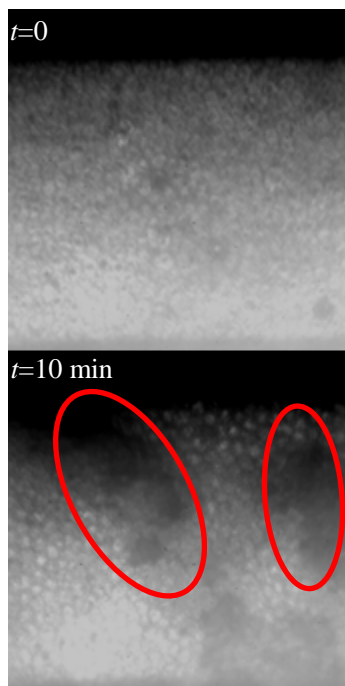


Fig. 6 スペキュラーマイクロスコープによって観察された角膜内皮細胞（水晶体片衝突有りの場合）

計測開始時 ($t=0$) に細胞のあった面積を S 、噴流暴露後 ($t=10\text{min}$) で細胞が損傷した面積を S_d として、細胞損傷率 D を式 (1) のように定義した。

$$D = \frac{S_d}{S} \quad (1)$$

各面積は、それぞれの画像から、画像解析ソフトを用いて手作業にて測定した。各条件における細胞損傷率を Fig. 7 に示す。図に示されたエラーバーは標本標準偏差を標本数の平方根で除したものをを用いている。

噴流流速 $v=50\text{mm/s}$ においては、水晶体片の有無にかかわらず、損傷は確認されなかったが、 $v=100\text{mm/s}$ 以上の条件では v の増加に

伴い損傷率も増加している。これは、せん断応力およびよどみ点圧力の上昇に伴うものと考えられる。さらに、水晶体片混入時のほうが、非混入時に比べて高い損傷率となっており、水晶体片の衝突が損傷率の増加をもたらしていることが明らかとなった。

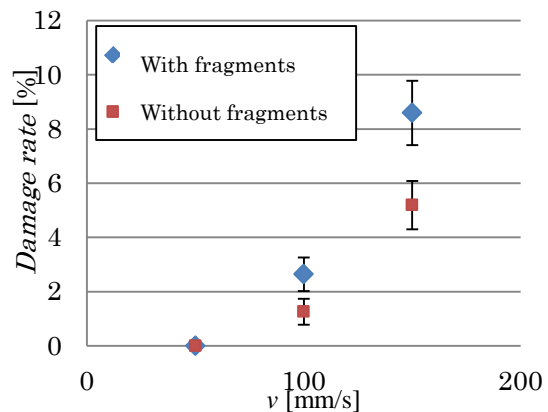


Fig. 7 細胞損傷率

次に、水晶体片が角膜内皮細胞に 1 回衝突することで細胞損傷にどれほどの影響を与えるかを計算する。水晶体片の有無による損傷率の差 D_d を以下のように定義する。

$$D_d = D_c - D_n \quad (3)$$

ここに、 D_c を水晶体片有りの場合の細胞損傷率、 D_n を水晶体片無しの場合の細胞損傷率とした。

水晶体片が内皮細胞に 1 回衝突することで増加する細胞損傷率 D_1 は

$$D_1 = \frac{D_d}{C} \quad (4)$$

ただし、 C は撮影面に水晶体片が衝突する回数で式 (5) で定義した。

$$C = \frac{v \cdot A_p \cdot T}{V} \cdot \frac{A_s}{A_p} \quad (5)$$

ここに、 V を流路内体積 [mm^3]、 A_p を噴出口断面積 [mm^2]、 A_s を撮影範囲面積 [mm^2] とする。以上に基づき、水晶体片が内皮細胞に 1 回衝突することにより損傷する細胞の面積 A_d は

$$A_d = D_1 \cdot A_s \quad (6)$$

と表せる。

Fig. 8 に水晶体片が内皮細胞に 1 回衝突することで増加する細胞損傷率を、Fig. 9 に水晶体片が内皮細胞に 1 回衝突することにより損傷する細胞の面積を示す。水晶体片の速度が大きいかほど角膜内皮細胞が損傷する面積も大きくなっていることがわかる。

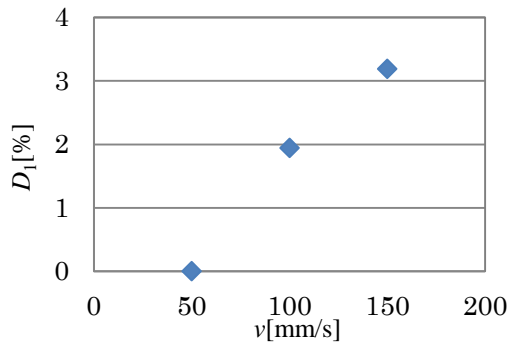


Fig.8 水晶体片が内皮細胞に1回衝突することで増加する細胞損傷率

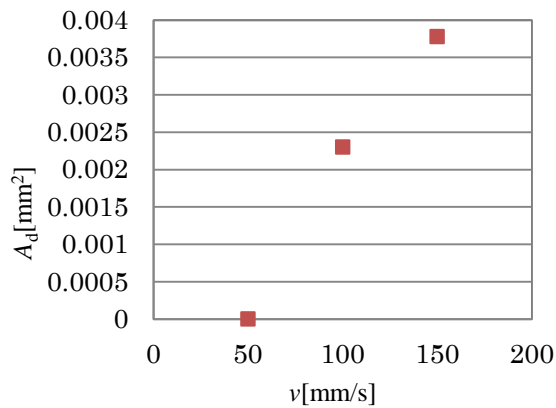


Fig.9 水晶体片が内皮細胞に1回衝突することで損傷する細胞の面積

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[学会発表] (計1件)

① 上村 諒、小林 竜也、榊原 潤、加治 優一、大鹿 哲郎、2012/9/11、”白内障手術時の水晶体片衝突による角膜内皮細胞損傷に関する研究”、日本機械学会 2012 年度年次大会 CD-ROM 講演論文集、講演番号 J022012、金沢大学。

6. 研究組織

(1) 研究代表者

榊原 潤 (SAKAKIBARA JUN)
筑波大学・システム情報系・准教授
研究者番号：10292533

(2) 研究分担者

加治 優一 (KAJI YUICHI)
筑波大学・医学医療系・准教授
研究者番号：50361332
大鹿 哲郎 (OSHIKA TETSURO)
筑波大学・医学医療系・教授
研究者番号：90194133