

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 5 日現在

機関番号：15101

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2014

課題番号：24659761

研究課題名(和文)血管移植併用緑内障手術の開発

研究課題名(英文)Development of vascular graft combination glaucoma surgery

研究代表者

金田 周三 (KANEDA, SHUZO)

鳥取大学・医学部・助教

研究者番号：20548747

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：難治性緑内障に対する新たな眼圧コントロールの手術法の確立と、合併症の頻度をさげることのできる生体適合性の高い房水排出のためのインプラントの開発を目的として研究を行った。白色家兔の耳介動脈を自家移植して行う緑内障濾過手術を行い、結果は、術後6カ月以上有意な眼圧下降が得られた。移植血管の前房内固定法などに問題は残ったが、手術施行家兔から得られた移植血管の組織において血管内腔構造が比較的保たれており、移植血管が排出路として機能していたと思われる。本研究の結果、自家移植血管を用いての新たな緑内障手術法の可能性を見いだした。

研究成果の概要(英文)：Establishment of surgical technique of a new intraocular pressure control for refractory glaucoma, the research for the purpose of implant development for biocompatible highly drainage of aqueous fluid which is capable of reducing the frequency of complications were conducted. The auricular artery of Japanese white rabbits was subjected to glaucoma filtration surgery performed by autologous transplantation. The result, significant intraocular pressure lowering or more postoperative 6 months was obtained. Problems such as the anterior chamber fixing method of graft vessel remained. Result from surgery white rabbits of histological examination of the excised graft vessel, the vessel lumen structure is kept, it is believed that the graft vessel was functioning as a drainage path. The results of this study, we have found the possibility of a new glaucoma surgery procedures using autologous blood vessels.

研究分野：緑内障・網膜疾患

キーワード：血管移植併用緑内障手術

1. 研究開始当初の背景

ぶどう膜炎や糖尿病網膜症などから生じる続発緑内障においては、手術加療に抵抗性の難治性緑内障に進展することがあり、その眼圧管理には困難を来す。適正レベルまでの眼圧下降には濾過手術が必要となるが、手術を繰り返すと手術部位の制限及び癒着の進行を生じてくることを考えれば、手術の回数も限られてくるため、より効果的な手術手技の確立が必要となる。とくに濾過手術においては、線維芽細胞の増殖による濾過胞の閉塞があり、流出路の確保及び濾過の長期的維持の効果的な手術法の開発が重要課題となってくる。また、難治性緑内障に対し、人工バルブによるセトン手術も開発されたが、フィブリンによる流出路の閉塞、内皮障害、インプラントの露出など、さまざまな重篤合併症がおりその頻度も低くない。また、長期的な眼圧コントロール率も十分ではなく、満足できるものではない。そこで、難治症例に対しても術後も長期に閉塞を生じにくく、かつ、合併症の頻度をさげることのできる手術法あるいは生体適合性の高いインプラントの開発が望まれる。

2. 研究の目的

血管バイパスや、血管の構築などは、他科では通常おこなわれており、一般的な技術であり、その応用範囲も広い。今回我々は眼科領域に血管を利用する手術が可能ではないかと考え、自己動静脈を利用して前房から結膜下への流出路を確保しようと考えた。動静脈バイパスを使用することで、血管内壁の組織構造の利点から、フィブリン析出の防止、また、良好な生体適合性、グラフトの露出、再閉塞、器質化の防止が可能となり、長期的な流出路の維持に役立てることができると考えている。もう一つのメリットは、本グラフトは、採取後 *in vitro* に持ち込めるため、種々の遺伝子操作など再閉塞あるいは適合性上昇のための生体工学的操作を加えることができるというメリットがある。良好な眼圧、より長期にわたる濾過路の維持をめざし、生体適合性向上のための *ex vivo* modification 法の開発を目指す。流出路の閉塞を防止し、長期的な流出路の維持のために、動静脈あるいは再生血管をバイパスとする緑内障手術の開発を行う。血管を用いる濾過手術方法は、難治症例に対する手術法のパラダイムシフトとなる可能性があり、本研究により手術法の確立を目的とする。

3. 研究の方法

対象：日本白色家兔(メス)3-4 kgを用いた。
予め1日12時間の明暗サイクル下で飼育し環境に適應させた。

麻酔：

(注射麻酔)飼育室内で鎮静のため、塩酸ケ

タミン 25~50mg/kg を筋肉内注射する。手術眼に 0.1%ジクロフェナク点眼液を 50 μ l 点眼する。
塩酸ケタミン 10mg/kg と塩酸キシラジン 3mg/kg 静脈内投与を行い、全身麻酔し手術を施行した。

(吸入麻酔)

吸入麻酔薬にはイソフルランを使用した。吸入マスクを循環式の麻酔器に接続し、鼻口部に当てて行った。(気管挿管は行わなかった。)
マスクで導入し、導入濃度：3~5% 維持濃度：1.5~3%で麻酔した。

上記全身麻酔下にて白色家兔を用い、まず初めに、従来の方法での線維柱帯切除術を行い、手術効果を濾過胞の形態や眼圧の検討を行った。

次に血管/インプラントの移植に先立ち、エラストマー針などの人工物を使用しての手術効果を濾過胞の形態や眼圧測定より検討を行った。

従来術式の変化術式及び血管/インプラント自体のデザインを検討するため、下記の手術法での比較を行った。

1) 従来線維柱帯切除術と同様の 3x3mm の強膜弁あるいは自己閉鎖創を作成し、それに沿って、血管移植を併用する方法(前房へ血管を移植する)。

2) 強膜に移植血管の直径と同じ径の円い空洞を前房まであけ、その部位に血管を移植する方法。

3) pars plana から移植血管を後房へ移植する方法。

さらに移植術前に移植血管径のサイズ、縫合方法、移植血管の断端の処理方法、valve 構造の作製方法を検討した。

上記で確立したデザインでの術式での生体のける眼圧コントロール効果の検討を行った。

術後評価として

診察

プレブの観察を手持ちスリットで行った。

術後(1日、3日、7日、10日、14日、28日、

3か月): 午後 眼圧測定ともに行った。

前房深度測定 深い 浅い 扁平 で評価。

プレブの幅・深さを測定 高さ (high, formed, flat) で評価。

プレブ消失条件：血管新生・扁平・癒着化したプレブ、深い前房 とした。

眼圧測定

トノベット手持ち眼圧計®(アイケアフィンランド社製)で測定。

術前：午後に測定。

術後(1日、3日、7日、10日、14日、28日、

3か月): 午後に測定。

術後処置：

術後術眼に対し、術後3日までは1.5%レボフロキサシン点眼液および0.1%ジクロフェナク点眼液、リン酸ベタメタゾン点眼液をそれぞれ1日2~3回点眼し、術後4~7日は0.1%ジクロフェナク点眼液を1日2~3回点眼した。
術後疼痛緩和には家兔の行動観察の上、適宜インドメタシン(10mg/kg)を腹腔内投与する。

標本の作製

イソフルランの大量投与により屠殺し、眼球を摘出。濾過部強膜弁部分を採取し、4% Paraformaldehyde (PFA) で48時間固定した後、型通りパラフィン包埋し4 μ m切片を作製し、ヘマトキシリン-エオジン染色を行った。

4. 研究成果

術式及び血管/implant デザインの確立を目的とし、当初は、1) 従来線の線維柱帯切除術と同様の4x4mmの強膜弁を作成し、それに沿って、血管移植を併用する方法。2) 強膜に移植血管の直径と同じ径の円い空洞を前房まであけ、その部位に血管を移植する方法。3) pars plana から移植血管を後房へ移植する方法での白色家兔モデルによる眼圧コントロール効果の比較検討を予定したのであるが、3)の術式においては後房の確認が困難であり血管先端の位置確認ができず、術式としては確立できなかった。手術デザインとして感染や前房形成不全などの合併症を考慮し1)と2)の術式を合わせて行う方法を術式とした。すなわち、結膜と結膜下組織を角膜輪部で切開し、十分はく離れた後、3x3mmの強膜弁を作成し、マイトマイシンCをMQA®の小さい短冊状に切ったものも含ませ3分間強膜弁上下に接触させ、生食で十分洗浄。その後、強角膜切除窓の作成は行わずに24G留置針にて前房へのトンネルをあけ、耳動脈を移植、10-0ナイロン糸にて強膜弁を3針縫合する方法である。

(1)術前眼圧測定

正常白色家兔の眼圧をトノベツト手持ち眼圧計(アイケアフィンランド社製)で測定した結果、10~15.6mmHg 12.9 \pm 0.4 mmHg(平均値 \pm 標準誤差)最低値10mmHg 最高値15.6mmHgの測定結果であった。これまでの報告より最高値が低い傾向にあるが、点眼麻酔をする必要がなく、特殊な前処置をすることなく比較的簡易に測定が可能であった。

(2)24G留置針のスリーブを使用するの線維柱帯切除術

術後よりflatな濾過胞を認めるも、約2週間で消失。
眼圧は術後9mmHg(n=1)。2週間で術前と同レベルになった。

(3)マイトマイシンC(MMC)3分使用の従来線の線維柱帯切除術

術直後より大きな濾過胞が認められ、1週間後よりformedな濾過胞へと変化。術後3か月で消失。

眼圧は、術直後より低い値となり平均6.5mmHg(n=2)術後3か月の時点で平均5.1mmHg(n=2)であった。

(4)自家血管移植併用線維柱帯切除術(n=3)

術後大きくhighな濾過胞を認め、術後3か月目には限局しflatな濾過胞を認めるも一部結膜の菲薄を認め、1眼は3か月の時点で穿孔を起こした。1眼は濾過胞形成良好であったが2か月目で組織検査のため眼球摘出。1眼は6か月間flatな濾過胞が確認できた。眼圧は、術後1週間で平均10.2mmHg(n=3)。1か月後10.5mmHg(n=3)。1眼は、術後6か月平均5.5mmHgであった。

従来術式の線維柱帯切除術においても術後眼圧降下を十分に得ることができ($P<0.05$)、長期間の眼圧降下効果が得られた。

本来の目的である実験的手術である血管の自家移植による線維柱帯切除術は、術後6か月以上眼圧降下を得られ、眼圧の値(術前平均15.17 \pm 0.75mmHg、術後6.62 \pm 2.98mmHg)は有意($P<0.01$)に低い値であった。濾過胞形成の状態や眼圧の降下効果あるものの、正常眼圧の白色家兔を使用するの手術でもMMC使用しての結果のためか従来術式との有意な差は確認できなかった。再生血管によるインプラント作製を試み、サイズ・採取の簡便さ(白色家兔の場合)により耳動脈を採取・留置を行った。結果、採取後の収縮や内腔構造の維持を考慮し、動脈を使用するの手術となった。サイズの点では問題ないのだが、前房内の血管端の固定方法の解決法がなく、留置することで偶然にも癒着にて固定が得られたのであるが、癒着の状態によっては前房内のグラフト端が閉塞する可能性もあり、今後の課題として前房内固定の方法の確立が残った。移植血管が機能しているかどうかの確認法が外部からの観察のみでは確認が難しく、前房内への染色液の投与により濾過部への染色液の拡大の有無を試みたが明確な結果は得られず、濾過胞部の組織学的検査、血管内皮染色を試みるも、移植血管が組織固定や切片作製の際に消失し染色できず、6か月の眼圧降下・濾過法の維持が得られた比較的良好な経過を示した家兔の移植血管のみを濾過部より摘出して、移植血管の組織検査にて器質性変化など認めず血管内腔構造(Figure 1)が比較的保たれた状態を確認でき、移植血管が機能していたと推測された。

この研究により自家血管をインプラントとして使用するの緑内障手術の可能性が確認できた。

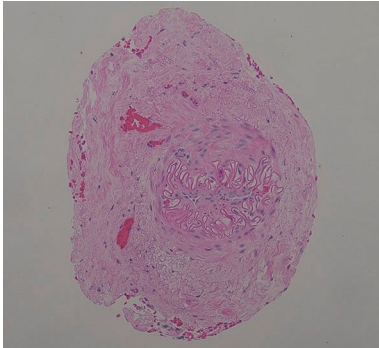


Figure 1

<引用文献>

赤石 貴浩、島崎 敦ら、自動眼圧測定系を用いた家兎眼圧日内変動に対する各種眼圧下降剤の評価、日眼会誌、107 巻、2003、513-518

5．主な発表論文等なし

6．研究組織

(1)研究代表者

金田 周三 (KANEDA, Shuzo)

鳥取大学・医学部・助教

研究者番号：20548747

(2)研究分担者

宮崎 大 (MIYAZAKI, Dai)

鳥取大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：30346358

(3)研究分担者

井上 幸次 (INOUE, Yoshitugu)

鳥取大学・医学部・教授

研究者番号：10213183

(4)研究分担者

池田 欣史 (IKEDA, Yoshifumi)

鳥取大学・医学部・助教

研究者番号：10444639