

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 12 日現在

機関番号：12102

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25861615

研究課題名(和文)トレハロースによる結膜癒着防止効果の検討

研究課題名(英文)Effect of intraoperative trehalose in trabeculectomy using rabbit eyes

研究代表者

岡本 芳史 (OKAMOTO, YOSHIFUMI)

筑波大学・医学医療系・講師

研究者番号：00537219

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)：トレハロースを使用した家兎眼の緑内障手術において、術後に有意な炎症や感染兆候はみられなかった。偏光網膜光干渉計の検査でもトレハロースを使用した緑内障手術では経過観察中に明らかな輝度の上昇を認めなかった。この結果から、緑内障手術においてトレハロースは結膜下の維性増殖を抑え、組織癒着を軽減できる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：This study was conducted to examine the effect of trehalose for anti-fibrosis in rabbit eyes undergoing trabeculectomy. No significant inflammation and infection were observed in both trehalose and control group with slit-lamp examination. With anterior segment polarization-sensitive optical coherence tomography, increase of phase retardation was shown around the bleb in trehalose group. The present result indicates that intraoperative use of trehalose may inhibit the formation of postoperative adhesion around the conjunctiva and sclera.

研究分野：緑内障手術、硝子体手術

キーワード：トレハロース 癒着防止 緑内障 眼科

1. 研究開始当初の背景

開腹手術において術後の臓器癒着はさまざまな合併症の原因となる。眼科手術の広い領域(緑内障、網膜剥離など)においても、組織癒着は術後成績を悪化させる重要な合併症の原因である。近年、開腹手術において、トレハロースによる乾燥防止効果や細胞保護効果によって術後臓器癒着が予防できることが示唆されている。

2. 研究の目的

開腹手術における術後の臓器癒着は、イレウスや疼痛、不妊などの合併症や再手術が必要となった時に操作が困難となるなど様々な問題を引き起こす。術後に癒着が形成される原因として、手術の侵襲による臓器表面の損傷、感染や縫合糸等に対する異物反応などが挙げられているが、術中の臓器表面の乾燥も一つの要因となっている。癒着はこうした組織傷害の結果生じる炎症反応やフリーラジカルによる組織傷害を修復する過程でフィブリンが析出するために形成される。

トレハロース (α -D-glucopyranosyl- β -D-glucopyranoside) は、グルコース 2 分子が結合した非還元性の二糖類であり、細菌類、真菌類、酵母、昆虫、無脊椎動物など自然界に広く存在している。昆虫のように血液中に存在しエネルギー源として利用される場合もあるが、多くは生物が外界から過酷なストレスを受けた時に大量に細胞内に産生され、たんぱく質や細胞膜などの生体構成成分を破壊から護る役割を果たしている。たとえば、酵母を乾燥、凍結、高温、高浸透圧、低 pH、エタノールを含む

環境や酸化的環境に置くと、ヒートショックたんぱく質やグリコゲンとともにトレハロースが大量に産生される。乾燥や凍結ストレスに対しては、トレハロースは水に換わる適合溶質として働き、たんぱく質や細胞質の高次構造を保持すると考えられる。こうしたトレハロースの特性を利用した医学分野での応用を例にあげると、ハンチントン病に対する抑制効果が発見されたこと、線維芽細胞増殖因子や VEGF を抑制することが確認されたこと、眼科領域については角膜保護作用が発見されたこと^{4,5}、などがあるがいまだ臨床的に有用であると報告されたものはない。

緑内障手術は数種類の眼圧降下薬(緑内障点眼薬)を使用しても眼圧が目標値まで下降しない場合に行われる。緑内障手術には種々の術式がありそれぞれ適応疾患や効果が違うが、その中でも最も眼圧降下作用が強力で長期間持続しやすいものとして線維柱帯切除術(トラベクレクトミー)がある。トラベクレクトミーは眼圧を下降させる目的で角膜輪部付近の強膜に創口(人工弁)を作成し、眼球内の房水を眼外(結膜下)へ一定量漏出させる手術である。この手術の最大の問題点は術後の創口(人工弁)閉鎖による眼圧の再上昇であったため、近年では線維芽細胞抑制剤であるマイトマイシンCを創口および結膜下に数分間暴露させることで創口(人工弁)の創傷治癒を抑制し癒着を防止することが一般的な手技となっている。マイトマイシンCの使用により飛躍的に緑内障の手術成績は向上したが、同時に強膜や結膜の健常細胞の正常な増殖も抑制するために、結膜穿孔による眼内炎

や強膜軟化症による眼球穿孔など、失明に至るような重篤な合併症も報告されるようになった。このため今日まで、新しい安全な緑内障手術方式の開発は緑内障治療における大きなテーマであるといえる。

本研究の目的はトレハロースを用いて術野の乾燥を防止することによって、線維芽細胞増殖因子や VEGF の産生を抑制、またフリーラジカルによる組織傷害を修復する過程で産生されるフィブリンを抑制し、結合組織の増殖、結膜癒着および強膜創口（人工弁）癒着が抑制されることを確認すること、および従来のマイトマイシンCを用いた緑内障手術と眼圧降下作用は同等でかつさらに安全な術式を確立することである。

3. 研究の方法

実験的緑内障手術モデルの作成

Long Evans ラットに緑内障手術（トラベクトミー）を施行し緑内障手術モデルを作成する。全身麻酔下で術野の消毒処置後、耳側上方の角膜輪部より結膜切開を施行する。その後、定法に基づきトラベクトミーを施行する。手術中、術野に 5%トレハロース溶液を 15 分おきに噴霧したものをトレハロース群、マイトマイシンCを術野に暴露したものをマイトマイシンC群、薬剤などを投与しなかったもの（生理食塩水噴霧をしたもの）を正常対照群とした。手術時間は 45 分と定め、噴霧時間は 0、15、30、45 分の計 4 回とする。5%トレハロース溶液は、トレハロース原末 12.5g を滅菌蒸留水 250ml に溶解させたのち、0.22 μ m のフィルターを用いてろ過滅菌し使用する。

結合組織の増殖、結膜癒着および強膜創口弁癒着の評価

術後はラットの健康状態や創口を観察し感染や炎症の有無を定性的に評価する。術後 7 日、1、2 ヶ月において、結合組織の増殖の程度、結膜の可動性および強膜創口弁の癒着の程度、感染症など合併症の有無、眼圧について評価する。

4. 研究成果

トレハロース群および対照群では、細隙灯顕微鏡検査で全ての家兎眼において有意な炎症や感染兆候はみられなかった。眼圧はトレハロース群で低下傾向であったが対照群と比較して経過観察中に有意差はみられなかった（トレハロース群 vs 対照群, 術前 11.6mmHg vs 11.5mmHg, 術後 7 日 7.6mmHg vs 8.1mmHg, 術後 1 ヶ月 7.9mmHg vs 10.3mmHg, 術後 2 ヶ月 6.9mmHg vs 8.6mmHg; P 値はそれぞれ 0.96, 0.59, 0.44, 0.24, Unpaired t-test）。前眼部光干渉断層計（OCT）で、術後 7 日でトレハロース群、コントロール群ともにブレブ（結膜下の水隙）を認め、術後 1 ヶ月では、トレハロース群でびまん性のブレブ、コントロール群ではフラップ上にわずかな水隙を認めた。術後 2 ヶ月では、両群ともブレブは認めなかったが、フラップ横に水隙を認めた。術後ブレブがなくなっても濾過胞機能はこれにより保たれている可能性が示唆された。前眼部偏光 OCT では、術後 7 日までは両群ともに結膜が水色で癒着痕化が軽度だったが、コントロール群では術後 1 ヶ月から徐々に赤～黄色の部分が増え、術後 2 ヶ月では前眼部 OCT でみられた水隙周囲が赤～黄色となり癒着痕化がすすんでいることが考えられた。一方、トレハロース群では術後 2 ヶ月でも、ブレブは認めなかったがフラップ横の水隙は水色で癒

痕化はすすんでいないものと考えられた。
このことからトレハロース群は、今後長期的にみると濾過胞の瘢痕化が抑制され、眼圧下降効果が維持できる可能性がある。

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)

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 2 件)

岡本芳史、家兎眼の線維柱帯切開術に対するトレハロース術中塗布の効果、日本眼科学会総会、2015年4月18日、札幌

岡本芳史、Effect of intraoperative trehalose in trabeculectomy using rabbit eyes、EURETINA 2015 (European Society of Retina Specialists)、2015年9月17~20日、Nice

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

取得状況(計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

取得年月日:

国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

岡本芳史 (OKAMOTO Yoshifumi)

筑波大学医学医療系眼科・講師

研究者番号: 00537219

(2) 研究分担者

()

研究者番号:

(3) 連携研究者

()

研究者番号:

(4) 研究協力者

星崇仁 (HOSHI Sujin)