

氏 名	はねもと づかき 塙 本 宰
学位の種類	博士（医学）
学位記番号	乙第794号
学位授与の日付	令和1年10月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項
学位論文題目	Intrascleral fixation of intraocular lens haptics : histological advantages in a comparison with scleral suture fixation in rabbits  （眼内レンズ支持部の強膜内固定：ウサギにおける強膜縫着固定と比較した組織学的利点）
論文審査委員	（主査）教授 町 田 繁 樹 （副査）教授 上 田 秀 一 教授 矢 澤 卓 也

## 論 文 内 容 の 要 旨

### 【背 景】

白内障手術において、チン小帯断裂や後囊破損などで水晶体囊の支持がない眼の場合に眼内レンズ（Intraocular lens : IOL）を固定する方法として、IOL支持部の強膜内固定術と強膜縫着術の二つの術式が一般的となり始めている。強膜内固定術は10年程度と歴史が浅く、強膜縫着術は従来から行われて30年くらいの歴史がある。それぞれの術式で合併症として強膜内固定ではIOL支持部が強膜外に露出して結膜下脱出を起こすことが、強膜縫着では強膜縫合糸の結膜外露出がそれぞれ頻度は高いものの問題となっている。これらは炎症が原因で発生することが考えられており、炎症は術後の嚢胞様黄斑浮腫や支持部を固定した部位が強膜びらんになる潜在的リスクにもなり視力低下を招くこともある。しかし、IOL支持部の強膜内固定と強膜縫着術の炎症に関する組織学的な比較検討がなされた報告はない。

### 【目 的】

IOL支持部の強膜内固定と強膜縫着の炎症に関する組織学的な比較を白色家兎を用いて分析し、比較的新しい術式である強膜内固定の有用性を評価した。

### 【対象と方法】

本研究は獨協医科大学動物実験委員会の承認を得て、指針にしたがって行った。

10匹の生後10週の日本白色家兎（体重2.3-2.5Kg）を用いた。全身麻酔下にて、片眼に水晶体除去

と前部硝子体切除を行い、IOLの支持部の強膜内固定と強膜縫着を5眼ずつ行った。IOL支持部の固定位置は耳側上方の強膜とした。IOL支持部は全てNX-70（参天：大阪）のpolyvinylidene difluoride（PVDF）性のものを使用した。手術は同一術者（T.H.）が行った。水晶体除去は強角膜一面切開を行い白内障手術と同様に水晶体を超音波乳化吸引した後に水晶体嚢を鑷子で除去した。前部硝子体切除はその後、角膜から灌流しながら25ゲージ硝子体カッターを硝子体手術器械（コンステレーション：アルコン社）にて行った。強膜内固定は、強膜外側の輪部から経線方向後極よりの2mmの位置に27ゲージ針を接線方向に貫通させて眼内に針の先端を出した内部に、白内障手術を行った創口からIOLの支持部のみを挿入し、針を引き抜きながら支持部を強膜内へ留置した。強膜縫着は27ゲージ針を角膜輪部から2mmの強膜外部から毛様溝に向けて眼内に刺入し、その針の先端内に、あらかじめIOL支持部に9-0ポリプロピレン糸に結紮された縫着用の直針を、白内障手術を行った創口から挿入し、眼内で連結させたあと27ゲージ針を引き抜きながら支持部を毛様溝に誘導留置し、眼外に出た9-0ポリプロピレン糸は強膜上部を、縫着用の直針で数針すくい強膜弁なしで結紮固定した。最後に白内障手術を行った強角膜創は前房水の漏出を防ぐために10-0ナイロン糸で1針で縫合した。

術後1週間で強膜内固定と強膜縫着の各群から2匹、8週間目で各群から残り3匹の眼球摘出を行った。摘出眼球は10%ホルマリン0.2%リン酸緩衝固定液で一晩固定後、70%、80%、90%、無水エタノールに順次置換して完全脱水し、キシレンに透徹後、パラフィンで包埋した。強膜とIOL支持部と縫合糸が含まれた部分を同定し、そこから厚さ4 $\mu$ mの薄層切片を作製した。染色はヘマトキシリンエオジン（HE）と、免疫染色としてheat shock protein70（Enzo Life Science, Inc、フィブロネクチン（Santa Cruz Biotechnology, Inc）をstreptavidin biotinylated antibody（SAB）法を用いて染色した。発色基質はDiaminobenzidin（DAB）を用いた。これらを光学顕微鏡にて組織を観察した。Heat shock protein70は細胞障害因子により誘導される組織の再生促進作用や、細胞の増殖、分化に関与する熱ショック蛋白質で、フィブロネクチンは創傷による遊走する線維芽細胞により産生される細胞外基質でマクロファージ、血管内皮細胞、上皮細胞、線維芽細胞の遊走を促進するため、この2つを炎症反応の観察に適する免疫染色として用いた。

さらに炎症の程度を数値化するために、HE染色による組織画像のIOL支持部と縫合糸近くの白血球を数えて評価した。画像は強膜の中間よりも表層側の群と中間よりも深い深層群にわけて検討した。HE染色20倍拡大写真を400 $\times$ 400ピクセルの正方形の画像でそれぞれ10箇所抽出し、その画像のIOL支持部と縫合糸近くの白血球を数えて評価した。両群間の比較はMann-Whitney U-test、またはKruskal-Wallis 検定を用い、 $p < 0.05$ を有意とした。

## 【結 果】

強膜内固定の支持部周囲は強膜縫着よりもコラーゲン線維の乱れが少なく、線維芽細胞や巨細胞、リンパ球、新生血管、好中球や好酸球も少なく、免疫染色でも組織修復を示すフィブロネクチンや細胞障害を示すheat shock protein70で染色が少なかった。

術後1週目における白血球浸潤は、強膜浅層では強膜内固定の方が強膜縫着よりも少ない傾向で（ $p=0.06$ ）、強膜深層でも強膜内固定の方が強膜縫着よりも少なかった（ $p=0.002$ ）。

強膜浅層の白血球数は強膜深層よりも、強膜内固定 ( $p=0.002$ ) と強膜縫着 ( $p=0.001$ ) の両方で多かった。

術後8週目における白血球浸潤は強膜浅層では強膜内固定の方が強膜縫着よりも少なく ( $p=0.001$ )、強膜深層でも強膜内固定の方が強膜縫着よりも少なかった ( $p=0.002$ )。

強膜浅層の白血球数は強膜深層よりも、強膜内固定 ( $p=0.001$ ) と強膜縫着 ( $p=0.05$ ) の両方で多かった。

#### 【考 察】

IOL支持部の強膜内固定が強膜縫着よりも炎症が軽い理由は、強膜内固定が術式がシンプルなためと考えた。また縫合糸の結び目内部に浸出液や組織の予期せぬ嵌頓と細胞増殖が発生することも影響しうると考えた。強膜の深層と浅層では炎症は深層が少なかったが、その理由は強膜浅層には上強膜血管が近く血流が豊富なため炎症反応が強いと考察した。これらは強膜縫着を行う際に深い強膜部分へ行くと炎症が軽く、縫合部の強膜びらんを予防できる可能性を示していた。免疫染色にて、強膜内固定の方がフィブロネクチンや細胞障害を示すheat shock protein70で染色が少なかった理由は、強膜内固定の方が術後の組織修復反応が小さく炎症が少ないことにより、細胞障害性因子が少なかったためと考えた。強膜内固定は炎症性変化が強膜縫着より少ないため、今後も続けられてよい術式と考えられた。

#### 【結 論】

今回の組織の結果から、IOL支持部の強膜内固定は強膜縫着よりも線維芽細胞の遊走や細胞障害性因子が少なく、炎症性変化が軽いことが分かった。

### 論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

#### 【論文概要】

白内障手術において、チン小帯断裂や後囊破損などで水晶体囊の支持がない眼に対する眼内レンズ (IOL) の代表的な固定法として、IOL支持部の強膜内固定術 (歴史が10年くらいの比較的新しい術式) と強膜縫着術がある。本研究では、白色家兎を用い、2術式における組織学的な比較検討を行っている。具体的には、白色家兎の片眼に水晶体除去と前部硝子体切除を行った後、いずれかの術式を行い、術後1週間、8週間目の組織検体を作成し、ヘマトキシリンエオジン (HE) 染色像、およびheat shock protein70 (HSP70) とフィブロネクチン免疫染色像を用い、炎症所見の量的質的な比較を行っている。炎症の程度についてはHE染色での同一面積内の白血球数の計測、およびHSP70、フィブロネクチンの染色強度により評価している。

結果：強膜内固定の支持部周囲は強膜縫着よりもコラーゲン線維の乱れが小さく、線維芽細胞や巨細胞、リンパ球、新生血管、好中球や好酸球も少なく、免疫染色でも組織修復を示すフィブロネクチンや細胞障害を示すHSP70の染色強度が低かった。

術後1週目における白血球浸潤は、強膜浅層では強膜内固定の方が強膜縫着よりも少ない傾向があり ( $p=0.06$ )、特に強膜深層では強膜内固定の方が強膜縫着よりも有意に少なかった ( $p=0.002$ )。

術後8週目における白血球浸潤は強膜浅層 ( $p=0.001$ )、強膜深層 ( $p=0.002$ ) とともに強膜内固定の方が強膜縫着よりも少なかった。

強膜浅層と強膜深層の比較においては、強膜内固定 (1週 $p=0.002$ 、8週 $p=0.001$ )、強膜縫着 (1週 $p=0.001$ 、8週 $p=0.05$ ) いずれにおいても、強膜浅層において白血球数が多かった。

IOL支持部の強膜内固定が強膜縫着よりも炎症が軽い理由として、強膜縫着では縫合糸結び目の内部に浸出性変化や組織の予期せぬ嵌頓、細胞増殖が発生することが挙げられている。また両術式ともに、炎症は強膜浅層に比較して強膜深層で弱かったが、その理由として、強膜浅層では上強膜血管が近く血流が豊富なため、炎症反応が強くなるのではないかと考察されている。

本研究の結果から、強膜内固定は炎症性変化が少ない有用な術式であることが結論づけられた。

#### **【研究方法の妥当性】**

申請論文では、白色家兎を用いて眼内レンズ支持部の強膜内固定術と強膜縫着術の二つの術式の炎症反応を、組織学的な比較検討により評価している。本研究方法は当院動物実験倫理審査と学長承認(承諾番号478)のもと、妥当に行われたものである。

家兎は人の生体反応評価モデルとしては細胞代謝活動が早く、同一条件で二つの術式の炎症を比較し、炎症を評価する免疫染色としてHSP70とフィブロネクチン用いており、炎症の程度はHE染色での同一面積内の白血球を数えて評価しているため、ヒトでの評価モデルとして適切な炎症をしめすと考えられ、本研究方法は妥当である。

#### **【研究結果の新奇性・独創性】**

眼内レンズ支持部の強膜内固定の歴史は10年程度、従来から行われている強膜縫着術の歴史は30年程度であるが、両術式の組織学的な比較検討の報告はない。申請論文では、白色家兎を用いて、臨床合併症の原因になる炎症を中心に、その組織所見と免疫染色所見を比較解析し、強膜内固定の方が強膜縫着よりも炎症が少なく、両術式とも強膜深層に支持部や糸が固定されている状態の方が、浅層に固定されている状態よりも炎症が弱いことを明らかにした。この点において本研究は新奇性・独創性に優れた研究と評価できる。

#### **【結論の妥当性】**

申請論文では、家兎の組織所見から眼内レンズ強膜内固定術と強膜縫着術の優劣関係を論じている。そこから導き出された結論は、論理的に矛盾するものではなく、また、組織学、病理学など関連領域における知見を踏まえても妥当なものである。

#### **【当該分野における位置付け】**

申請論文では、新しい術式で標準化しつつある強膜内固定術および従来から行われている強膜縫着術により惹起される病理組織学的所見の違いを評価しようと試み、その結果、強膜内固定の方が強膜縫着よりも炎症が弱く、また両術式とも強膜深層に支持部や糸が固定されている方が、浅層に固定されているよりも炎症が弱いことを明らかにしている。これは、眼内レンズの強膜固定の進歩にも大いに役立つ大変意義深い研究と評価できる。

**【申請者の研究能力】**

申請者は、臨床眼科学や病理組織学の理論を学び実践した上で、作業仮説を立て、実験計画を立案した後、適切に本研究を遂行し、貴重な知見を得ている。その研究成果は当該領域の国際誌に掲載が承認されており、申請者の研究能力は高いと評価できる。

**【学位授与の可否】**

本論文は独創的で質の高い研究内容を有しており、当該分野における貢献度も高い。よって、博士(医学)の学位授与に相応しいと判定した。

**(主論文公表誌)**

Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology

(257 : 456-472, 2019)