

## 【32】

氏 名	あお せ まさ もと 青 瀬 雅 資
学位の種類	博士（医学）
学位記番号	乙第741号
学位授与の日付	平成27年2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	<b>Influence of intraocular lens implantation on anterior capsule contraction and posterior capsule opacification</b> (眼内レンズ挿入の前嚢収縮および後発白内障への影響)
論文審査委員	(主査) 教授 麻 生 好 正 (副査) 教授 上 田 秀 一 教授 杉 本 博 之

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### 【背 景】

近年、白内障手術は手術器具の向上、インジェクターによる眼内レンズ（IOL）の挿入等により、小さい切開創から安全に手術を施行できるようになった。また、乱視矯正IOL、多焦点IOLが使用可能となり、白内障術後のQuality of Visionは著しい向上を遂げてきている。しかし、白内障術後に残存した水晶体上皮細胞（LEC）が増殖することで発生する前嚢収縮、後発白内障は術後視機能に影響することが解っているが、完全な対処方法は見つかっていない。

#### 【目 的】

過去に、房水に着目した研究があり、房水はLECの増殖・分化抑制作用に深く関与していることが報告されている。今回我々は、in vivoで実験的に白内障手術手技を工夫することで、房水がLECに暴露しやすいようにし、前嚢収縮、後発白内障の発生が異なるか検討した。また、房水のLEC増殖抑制効果もin vitroで実験的に評価した。

#### 【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、実験指針に従って行った。8週令の白色家兎（n = 8）に超音波乳化吸引術を施行し、片眼に眼内レンズ（YA-60BBR, HOYA）を挿入し（IOL群）、他眼にはIOLを挿入しなかった（without IOL (w/o IOL) 群）。術後1, 2, 4週に前眼部を撮影（EAS-1000, NIDEK）して前嚢収縮を観察し、画像解析ソフトにて前嚢切開面積を測定した。また、術後4週に眼

球を摘出しパラフィン切片を作製後、ヘマトキシリン・エオジン (HE) 染色をし、光学顕微鏡 (BX51, OLYMPUS) でIOL群とw/o IOL群を観察し、後嚢下中央部に増殖した水晶体細胞層の厚さを計測することで後発白内障の程度を検討した。

次に、房水のLECへの影響を検討するため、細胞密度を一定に調整した白色家兎LECを、50%房水を含む培養液(房水群: n=8)または50%生理食塩水を含む培養液(コントロール群: n=8)で培養し、LEC増殖程度をテトラゾリウム塩法 (MTS法) と直接細胞数カウント法で比較検討した。

### 【結 果】

IOL群では、術後1週より前嚢切開面に線維性変化を認め、術後4週までに前嚢収縮、後発白内障を認めたと、w/o IOL群ではIOL群に比べて線維性変化が軽度であり、前嚢収縮、後発白内障の進行は軽度であった。前嚢切開面積を解析すると、IOL群では次第に前嚢が収縮したのに対し、w/o IOL群では前嚢収縮の進行は軽度で、術後2週と4週で統計学的有意差を認めた。後発白内障の解析では、術後4週の後嚢中央部LECの厚さがIOL群で $40.9 \pm 17.7 \mu\text{m}$ であるのに対し、w/o IOL群で $10.1 \pm 2.9 \mu\text{m}$ であり、統計学的有意差を認めた。

MTS法による房水の解析では、コントロール群で $106925.0 \pm 64465.9$  cells/well房水群で $14565.7 \pm 5939.1$  cells/wellであり、房水群でLECの増殖が有意に抑制されていた。また、細胞数を直接測定すると、コントロール群で $318.0 \pm 7.9$  cells/ $100 \mu\text{m}^2$ 、房水群で $45.0 \pm 1.6$  cells/ $100 \mu\text{m}^2$ で、房水群はコントロール群に比べ有意にLECの増殖が抑制されていた。

### 【考 察】

過去の報告で、房水は水晶体線維芽細胞の増殖・分化抑制作用を有し、房水中に高濃度に存在するtransforming growth factor- $\beta$ 2 (TGF- $\beta$ 2) はLECの増殖抑制機能やアポトーシス誘導作用があるといわれている。

仮に、房水にLEC増殖抑制効果があるのであれば、白内障術後にIOLを挿入しない方が、房水がLECに直接暴露するため、IOL挿入眼より前嚢収縮、後発白内障が発生しにくいはずである。しかしながら、IOLを挿入しないと視機能の改善が得られないために、白内障手術術後はIOL挿入をすることが定例とされているため、これまで臨床的にIOL挿入眼とIOL非挿入眼の比較をすることは行われていなかった。そこで今回、IOL挿入の有無が前嚢収縮と後発白内障の発生状態に影響するか白色家兎を使用して実験的に解析を行った。その結果、IOLを挿入しない方が前嚢収縮と後発白内障を抑制できることを実験的に証明することができた。さらに機序を明確にするためにin vitroで、房水にLEC増殖抑制効果があるか実験を行ったところ、房水がLECの増殖を抑制していることが明らかになった。

### 【結 論】

IOL非挿入眼はIOL挿入眼に比べ、前嚢収縮、後発白内障が発生しにくく、その発生予防メカニズムに房水の細胞増殖抑制効果に関係している。今後、房水のLEC増殖抑制効果をIOL挿入状態でも応用できれば、前嚢収縮と後発白内障を完全に抑制できる可能性がある。

## 論文審査の結果の要旨

### 【論文概要】

白内障術後の合併症である前嚢収縮、後発白内障は術後視機能に影響することが解っているが、完全な対処方法は見つかっていない。これまでは一般的にエッジ形状がシャープな眼内レンズ (IOL) を挿入することで、後発白内障の発生が抑制されると考えられていた。一方で、房水が水晶体上皮細胞 (LEC) の増殖抑制作用に深く関与していることが報告されている。

申請者らは、房水の細胞増殖抑制効果に着目し、白色家兎に白内障手術を行い、眼内レンズ挿入した眼 (IOL群) とLECが房水に暴露するよう故意にIOLを挿入しなかった (w/o IOL群) を用意し、in vivoで前嚢収縮、後発白内障の発生について比較解析した。さらに、房水とLECの関係を解明するために、in vitroで房水を使用したLEC培養実験を行った。結果、1) w/o IOL群はIOL群に比べて前嚢収縮と後発白内障を発症し難いこと、2) 房水にはLECの増殖抑制作用があることが明らかになった。

### 【研究方法の妥当性】

申請論文では、IOL群とw/o IOL群の前嚢切開部を、前眼部解析装置 (EAS-1000, NIDEK) を用いて撮影し、画像解析ソフトにて前嚢切開面積を経時的に測定することにより、前嚢収縮を検討している。後発白内障の解析には、術後4週で各群の組織切片を作製し、後嚢下中央部に増殖した水晶体細胞層の厚さを計測することで解析している。さらに、房水のLECへの影響を検討するため、細胞密度を一定に調整した白色家兎LECを、50%房水を含有した培養液 (房水群) または50%生理食塩水を含有した培養液 (コントロール群) で培養し、LEC増殖程度をテトラゾリウム塩法 (MTS法) と直接細胞数カウント法で比較検討している。適切な対照群の設定と客観的な統計解析を行っており、本研究方法は妥当なものである。

### 【研究結果の新奇性・独創性】

過去の報告で、シャープエッジ形状を有するIOL挿入によって後発白内障が抑制されると考えられていたが、本論文では、房水の細胞増殖抑制作用に注目している。房水は水晶体線維芽細胞の増殖・分化抑制作用を有し、房水中に高濃度に存在するtransforming growth factor- $\beta$ 2 (TGF- $\beta$ 2) はLECの増殖抑制機能やアポトーシス誘導作用があるといわれている。房水にLEC増殖抑制効果があるのであれば、白内障術後に眼内レンズ (IOL) を挿入しない方が、房水がLECに直接暴露するため、IOL挿入眼より前嚢収縮、後発白内障が発生しにくいはずと考え、新しい発想を展開している。これまでは、IOLを挿入しないと視機能の改善が得られないために、白内障手術後はIOL挿入をすることが定例とされているため、これまで臨床的にIOL挿入眼とIOL非挿入眼の比較をすることは行われていなかった。そこで今回房水の細胞増殖抑制作用に着目し、IOL挿入の有無が前嚢収縮と後発白内障の発生状態に影響するか白色家兎を使用して実験的に解析を行い、IOL非挿入眼がIOL挿入眼より前嚢収縮と後発白内障を抑制できることを実験的に証明した。さらに抑制理由を明確にするためにin vitroで、房水を含有した培養液と含有していない培養液にLECを播種、培養することで、房水がLECの増殖を抑制していることを証明した。以上これら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、in vivoでIOL挿入群とIOL非挿入群に分類し、確立された実験手法と統計解析を用いて、前嚢収縮、後発白内障の発生を比較検討している。また作用機序を明確にするために追加実験として、in vitroで房水群とコントロール群に分類し、房水のLECへの影響を比較検討している。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妥当なものである。

### 【当該分野における位置付け】

本研究により、房水のLEC細胞増殖抑制効果による前嚢収縮と後発白内障抑制効果を明らかにしている。近年の眼科領域では調節IOLの開発が進んでいるが、術後の前嚢収縮と後発白内障が開発の妨げとなっている。本理論を応用することで、前嚢収縮と後発白内障を完全に抑制することができれば、調節IOLの開発が躍進する可能性があり、今後の臨床、研究の進歩に役立つ、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、臨床眼科学は勿論、前嚢収縮、後発白内障の発生メカニズム、房水とLECの関係を学び、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学会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)

Journal of Cataract & Refractive Surgery

40 : 2128-2133, 2014