

学位論文の要旨

学位の種類	博士	氏名	花田 一 臣
-------	----	----	--------

学位論文題目

Clinical Study of Amniotic Membrane Transplantation for Ocular Surface Reconstruction

(眼表面再建に対する羊膜移植術に関する臨床研究)

【原著引用構成論文】

1. Hanada K, Shimazaki J, Shimmura S, Tsubota K
Multilayered amniotic membrane transplantation for severe ulceration of the cornea and sclera.
American Journal of Ophthalmology, 131 (3) (324-331), 2001. (平成13年3月掲載)
2. Hanada K, Igarashi S, Muramatsu O, Yoshida A
Therapeutic keratoplasty for corneal perforation: clinical results and complications.
Cornea, 27 (2) (156-160), 2008. (平成20年2月掲載)
3. Hanada K, Nishikawa N, Miyokawa N, Yoshida A.
Long-term outcome of amniotic membrane transplantation combined with mitomycin C for
conjunctival reconstruction after ocular surface squamous neoplasia excision.
The International Journal of Clinical Ophthalmology and Visual Sciences, 2016.
(On-line journal) DOI: 10.1007/s10792-016-0231-6 (平成28年4月掲載)

研究目的

羊膜移植の眼科疾患領域への応用は1940年のDe Rötthによる化学傷後の瞼球癒着に対する術式が最初の報告とされる。当時は羊膜と絨毛膜の区別が明確でなく、現在の羊膜移植の基礎となるのはKimとTsengによる家兎眼を用いた角膜障害モデルを用いた研究報告で、ヒト眼への臨床応用としてTsubotaらの眼類天疱瘡への有効性の報告やShimazakiらの化学傷と熱傷に対する有効性の報告などによって広く術式として注目されるようになった。

羊膜移植は癒痕収縮を残さない創傷治癒と良好な上皮を獲得できることが特徴で眼表面再建において大きな利点である。これは羊膜が結膜下や翼状片体部線維芽細胞のtransforming growth factor-beta (TGF- β)とそのレセプターの発現を抑制することや、羊膜自体にepidermal growth factor (EGF)やhepatocyte growth factor (HGF)が発現していることから、角結膜上皮の再生を促進する効果を有することによるとされる。また、移植抗原として拒絶されにくい特徴について羊膜そのものに同種移植にともなう免疫反応を抑制する効果があるとされる。また、羊膜組織がI・IV・V型コラーゲンを多く含む厚い基底膜であることで障壁として癒痕組織形成やリンパ球浸潤を防いでいることも羊膜移植の効用の理由と考えられている。

羊膜はそのユニークな特性と応用性の高さから種々の眼表面疾患に用いられ、それぞれ有効性が報告されている。本研究では、新しい術式の開発、長期経過の追跡、そして羊膜移植を用途別に分類してそれぞれの効果を検討した。

1. 角膜と強膜の重症潰瘍に対する多層羊膜移植の術式を確立し、治療成績を検討する。
2. 眼表面扁平上皮性新生物（ocular surface squamous neoplasia; OSSN）切除後の結膜再建に対するマイトマイシンC術中塗付と羊膜移植を組み合わせた術式を確立し、長期成績を追跡する。
3. 旭川医科大学病院で施行した羊膜移植について、用途別に分類して治療効果の検討を行う。

材 料 ・ 方 法

羊膜の採取・保存と羊膜移植は、旭川医科大学および東京歯科大学の倫理委員会の承認を受けて行った。羊膜は、文書による説明の上で承諾を得られた全身合併症のない健康な妊婦から提供を受けた。羊膜採取は計画的帝王切開術時に行い、採取から保存までの一連の工程は無菌的に行った。角結膜疾患症例の眼表面再建に対する羊膜移植について以下の検討を行った。

1. 角膜と強膜の重症潰瘍の11眼に施行した多層羊膜移植について、治療成績を検討した。
2. OSSN切除後の結膜再建を目的として8眼に施行したマイトマイシンCの術中塗付を併用した羊膜移植について、長期間追跡して治療成績を検討した。
3. 旭川医科大学病院で施行した角結膜の再建に羊膜移植を施行した95眼を用途別に分類して治療効果の検討を行った。

成 績

1. 多層羊膜移植を施行した角膜強膜の重症潰瘍の11眼のうち8眼が羊膜スタッフで補填された部分に上皮化して治癒した。眼表面化学傷に対する角膜輪部移植の既往眼に生じた角膜潰瘍の1眼と慢性関節リウマチに合併した周辺部角膜潰瘍の2眼は上皮欠損が遷延化した。
2. マイトマイシンCの術中塗付を併用した羊膜移植でOSSN切除後の結膜再建を施行した8眼すべてが上皮化し、平均観察期間60.9±14.6ヶ月の間、安定した眼表面を得た。マイトマイシンC点眼を用いた局所療法の既往があるOSSN再発の1例で角膜輪部疲弊を生じて治療用ソフトコンタクトレンズ装用を要した。翼状片切除の既往があるOSSNの1例で瞼球癒着を生じて羊膜移植の再施行で治療した。腫瘍再発は2例にみられ羊膜移植を再施行して治療した。
3. 95眼の羊膜移植症例は用途別に3つに分類できた。①角膜上皮化を促進する羊膜パッチは14眼の遷延性角膜上皮欠損に施行され、13眼で治癒を得た。スチーブンス・ジョンソン症候群に生じた上皮欠損には奏功せず、穿孔を生じて角膜移植が施行された。②角結膜上皮基底膜を供給する羊膜グラフトは72眼に施行された。48眼の翼状片のうち35眼で1年以上の経過観察がなされ27眼で再発が無く5眼で再発を生じた。20眼の結膜腫瘍はすべて良好な上皮化を獲得し、悪性腫瘍の3眼で再発を生じるも羊膜グラフトの繰り返しで治療した。また緑内障手術後の濾過胞再建や線維化による結膜嚢短縮に対しても羊膜グラフトは有効に働いた。③角膜実質を補填する羊膜スタッフは角膜穿孔の9眼の角膜潰瘍穿孔に施行され、全例で房水漏出の停止を得た。

考 案

1. 多層羊膜移植は角膜および強膜の重症潰瘍に有効であった。ただし、角膜輪部疲弊を基礎にする角膜上皮障害や、自己免疫疾患を基礎にする角膜実質融解には羊膜移植では十分な効果を得られなかった。
2. マイトマイシンCの術中塗付と羊膜移植の併用はOSSN切除後の結膜再建に有効であった。腫瘍再発についても羊膜移植の再施行で腫瘍の治療と良好な眼表面再建を両立することが出来た。羊膜移植は腫瘍切除時に生じる広汎な結膜欠損に対する眼表面再建に有効な術式であり、長期間の安定性や再発時の対応手段としての効果が示された。ただし羊膜には腫瘍増生を抑制する効果はないので再発について慎重な経過観察が必須である。
3. 羊膜移植は用途別に3つの術式に分類され、それぞれの特徴と効果について検討できた。また、観察期間中全例で羊膜移植に起因する感染症や拒絶反応といった合併症を認めなかったことから、それぞれの術式で羊膜は有効に機能して安全な角結膜の再建に貢献できることがわかった。
 - ①羊膜カバーは角膜上皮欠損の上皮再生の保護に有効である。各種上皮に対する成長因子を羊膜が含むことと眼表面を羊膜が柔らかく湿潤を保ちながら覆うことが上皮進展を促進すると考えられた
 - ②羊膜グラフトは眼表面再建時の基底膜供給に有効である。われわれの検討した症例では羊膜グラフトにマイトマイシンCが線維芽細胞活性化の抑制を目的として併用されており、羊膜の持つ瘢痕抑制効果との相乗効果で良好な結果が得られたと考えられた。
 - ③羊膜スタッフは喪失した基質供給に有効である。多層羊膜移植として穿孔部分に詰め込んだ羊膜を代用実質、敷き詰めた羊膜を基底膜として眼表面が再建され、穿孔に対する根治術としての治療的角膜移植までの待機期間に安定した経過を得ることができた。羊膜スタッフの長期効果については一部の症例で恒久的な基質補填が成立することが確認出来た。

結 論

羊膜はそのユニークな特性と応用性の高さから種々の眼表面疾患に対する外科的アプローチに役立つ事がわかった。

1. 新しい術式として発想した多層羊膜移植は角膜と強膜の重症潰瘍の治療に有効であった。
2. OSSN切除後の結膜再建としての羊膜移植の経過追跡では長期安定性とともに関節再発や術後合併症の管理上の利点も明らかになった。
3. 羊膜移植を用途別に3つの術式に分類してそれぞれの適応と効果を検討した。羊膜パッチは上皮再生保護を目的とした術式であり遷延性角膜上皮欠損に用いること、羊膜グラフトは角結膜の基底膜供給を目的とした術式であり結膜切除後や癒着解離後の眼表面再建と瘢痕形成防止に用いること、羊膜スタッフはより深層への基質供給を目的とした術式であり穿孔創の一時的または恒久的な補填に用いること、とすると難治な眼表面疾患への治療方策を立てやすい。

今回の一連の検討で羊膜移植の高い有効性と安全性が示され、汎用性が高く確立された眼表面再建の手法として採用できると考えられた。ところで羊膜自体には角結膜上皮幹細胞に相当する作用はないので、極端な角結膜上皮疲弊症や上皮幹細胞喪失については上皮幹細胞移植の併用が必要である。また羊膜には腫瘍増生を抑制する効果はないので結膜腫瘍後の眼表面再建については慎重な経過観察が必須である。羊膜移植は個々の症例について眼表面環境を十分に考慮した上で術式を選択するのが良いと考えられる。




引用文献

1. Kim JC, Tseng SCG. Transplantation of preserved human amniotic membrane for surface reconstruction in severely damaged rabbit corneas. *Cornea*, 14(5) (472-484), 1995.
2. Tsubota K, Satake Y, Ohyama M, Toda I, Takano Y, Ono M, Shinozaki N, Shimazaki J. Surgical reconstruction of the ocular surface in advanced ocular cicatricial pemphigoid and Stevens-Johnson syndrome. *Am J Ophthalmol*, 12(1) (38-52), 1996.
3. Shimazaki J, Yang H-Y, Tsubota K. Amniotic membrane transplantation for ocular surface reconstruction in patients with chemical and thermal burns. *Ophthalmology*, 104(12) (2068-2076), 1997.

参考文献

1. 花田一臣, 西川典子, 三代川齊之, 石居信人, 宇都宮嗣了, 吉田晃敏. 角結膜の再建に羊膜移植を施行した95眼-用途の分類と効果の検討- 日本眼科学会雑誌 (2016, in press)
2. 花田一臣, 上原治朗, 三代川齊之, 西川典子, 栗山周子, 吉田晃敏. 羊膜移植による眼表面再建とインターフェロン療法で加療した眼瞼結膜悪性黒色腫の1例 眼科 58(5) (575-580), 2016.
3. Utsunomiya T, Hanada K, Muramatsu O, Ishibazawa A, Nishikawa N, Yoshida A. The wound healing process after corneal stromal thinning observed with anterior segment optical coherence tomography. *Cornea*, 33 (10) (1056-1060), 2014.
4. Nishikawa N, Hanada K, Miyokawa N, Tokusashi Y, Yoshida A. Pigmented squamous cell carcinoma in situ of the conjunctiva. *Jpn J Ophthalmol*, 55(5) (583-584), 2011.
5. 花田一臣, 五十嵐羊羽, 石子智士, 加藤祐司, 小川俊彰, 長岡泰司, 川井基史, 石羽澤明弘, 吉田晃敏. 前眼部光干渉断層計を用いて観察した糖尿病角膜症 あたらしい眼科, 26 (4) (247-253), 2009.

学位論文の審査結果の要旨

報告番号	第 号		
学位の種類	博士(医学)	氏名	花田 一 臣
<p>審査委員長 廣川 博之 </p> <p>審査委員 柏柳 誠 </p> <p>審査委員 西川 祐司 </p>			
<p>学 位 論 文 題 目</p> <p>Clinical Study of Amniotic Membrane Transplantation for Ocular Surface Reconstruction (眼表面再建に対する羊膜移植術に関する臨床研究)</p>			
<p>眼類天疱瘡や眼球の化学傷と熱傷に対する羊膜移植の有効性が報告され、羊膜移植術が注目される様になった。羊膜が結膜下や翼状片体部線維芽細胞の transforming growth factor-beta (TGF-β) とそのレセプターの発現を抑制し、角結膜上皮の再生促進効果を有することなどによって、羊膜移植は瘢痕収縮を残さない創傷治癒と良好な上皮化をもたらすと考えられている。</p> <p>学位論文提出者は、1) 角膜と強膜の重症潰瘍に対する羊膜移植の新しい術式の確立、2) 眼表面扁平上皮性新生物切除時の結膜表面に対する新しい術式の確立、3) 旭川医科大学病院で行った羊膜移植術 (95 眼) の用途別分類とその効果に関する検討を行った。</p>			

角膜・強膜の重症潰瘍に対しては、深い病変部に羊膜を詰め込み充填基質とし、さらにそれを覆う羊膜を移植する多層羊膜移植術を考案した。この術式で重症潰瘍は角膜輪部疲弊を基礎にする角膜上皮障害や自己免疫疾患を基礎にする角膜実質融解を除き、治癒することが示された。

眼表面扁平上皮性新生物切除に際しては、術中マイトマイシン C の塗布と結膜欠損部に対する羊膜移植を考案した。この術式は眼表面の長期安定と術後管理にきわめて有効であることが明らかとなった。

羊膜移植は用途別に、①羊膜パッチ、②羊膜グラフト、③羊膜スタッフに分類できた。①は角膜上皮再生を保護する、②は眼表面再建時に角結膜上皮基底膜を供給する、③は深く欠損した角膜実質を多層で充填することを目的とした。術後はきわめて良好な眼表面を高率に獲得でき、羊膜移植に起因する合併症は認められなかった。この結果は羊膜移植が重篤な眼表面疾患に対する治療法として、汎用性と有効性が高いことを示すものである。

以上の研究成果は、眼表面疾患に対する羊膜移植術の適応を拡大し、治療成績向上に繋がるものであり、臨床的意義がきわめて大きいと言える。

論文内容と関連領域についての各審査委員による査問に対しても適切な回答が得られ、提出者はこの領域において十分な知識を有することが示された。

以上から、本審査委員会は本論文が博士（医学）の学位に値するものであると判定した。