

氏名(本籍)	工藤 莊六 (北海道)
学位の種類	博士(獣医学)
学位記番号	乙第364号
学位授与の要件	学位規則第3条第3項該当
学位論文題名	イヌおよびネコの表層角膜移植に関する研究
論文審査委員	(主査) 松浦 健二 (副査) 鈴木 立雄 赤堀 文昭 印牧 信行

論文内容の要旨

小動物臨床における角膜の外科療法は、角膜病巣部の被膜処理により眼球を保全することに加えて、病巣角膜の透明性を回復し、視力を回復させるための処理として応用することが望まれている。

筆者は、この要望に応じてイヌおよびネコに対して同種の表層角膜移植を行った。しかし、近年、動物愛護の観点からイヌおよびネコの角膜採取には多くの制約があり、その入手は容易ではない。そこで、その代替えとして食用動物であるブタの角膜のイヌへの移植を検討した。試験に先立って、角膜病巣部の切除、移植片の作成、治療経過の観察などに必要な角膜の厚さ、および術後の局所保護に用いるコンタクトレンズの装着に必要な角膜曲率半径の測定を行った後、異種移植の試験を行った。

1.同種の表層角膜移植

イヌおよびネコに対してグリセリン保存した同種の角膜を用いて表層角膜移植を試みた。まず、基礎試験として健康なイヌ3頭3眼、ネコ2頭2眼に移植を試み、次いで臨床試験として角膜混濁を呈するイヌ8頭8眼、ネコ13頭13眼の臨床例に移植を実施し、角膜病巣の処置法としての臨床上の有用性を検討した。

移植に用いる保存角膜の作成は、飼い主から眼球提供の承諾を得た死後のイヌおよびネコの眼球を摘出し、抗菌剤溶液(2%アミノベンジルペニシリン溶液)で洗浄後、角膜周囲に強膜を2mm程度附着させて切除し、再度同抗菌剤溶液で洗浄し、滅菌したグリセリンに浸漬したまま4~6℃で6カ月~2年半冷蔵保存した。

角膜の使用に際して、グリセリンから取り出した強角膜片を100mℓの生理食塩液に浸し、20分ごとに3回生理食塩液を取り替え、グリセリンを洗浄した。

移植片の作成は、ガーゼで角膜表面を擦過して角膜上皮を除去し、トレパンを用いて移植床と同じ大きさ、深さに切開し、ゴルフ刀で円周に沿って水平に切り込み、デスメ膜と内皮を残し、固有層のみを採取して移植片とした。

手術は、全身麻酔の後、手術用顕微鏡下で行った。まず、開眼器を装着し、眼球結膜に2~4本の支持糸をかけ、眼球を固定した。必要な直径のトレパンを選び、切除する深さを設定し、トレパンの刃にフルオレセインを少量(約0.02mℓ)附着させ、角膜の円形切開を行った。フルオレセインで染色された切開部の一部を鑷子でつまみ上げ、ここからゴルフ刀で円周に沿って切除し、移植床とした。

切り出した移植片を移植床の上に載せ、4ヵ所を仮縫合した後、全周を連続縫合した。4本の仮縫合糸を取り除き、抗菌剤（リンコマイシン300mg/ml、0.3ml）の結膜下注射を行い、治療用コンタクトレンズの装着、あるいは眼瞼縫合によって眼球を被覆し手術を終えた。

術後はエリザベスカラーを装着し、広域スペクトルの抗菌剤の内服（オフロキサシン5mg/kg、1日2回）と点眼（0.3%オフロキサシン点眼液、1日3回）、およびコルチコステロイド（プレドニゾロン0.5mg/kg）の皮下注射、または経口投与を10～14日間行い、角膜上皮が移植片上を覆った後はコルチコステロイド（0.02%フルオロメトロン点眼液、1日3回）の点眼を2週間続けた。

眼瞼縫合は1～2週で解除し、角膜の縫合糸は2～6ヵ月で抜糸した。

その結果、基礎試験として正常な角膜への移植を行った5例では、角膜混濁、血管新生が見られたが、ほぼ1ヵ月で角膜移植片、母角膜共に透明となり全例生着した。

以上の基礎試験の成績に基づいて臨床試験を行った。すなわち、イヌ表層性角膜変性および表在性癬瘻、ネコ角膜分離症などの臨床例21例に本術式を応用した移植では、角膜中央部に及んだ病巣への移植片は、ほとんどの症例で初診時より透明度を増し、非常に良好11例、良好7例、不良2例、不明1例の好成績を得、臨床的に有用性の高いことを確認した。

2.角膜厚の測定

移植術を実施して、移植床の深さは個々の症例により差のあること、また、治癒の過程でその厚さに大きな経時変化のあることが観察され、角膜の厚さの測定は、手術時に必要な検査の一つと思われた。そこで、正常な角膜の厚さを知るために、健康なイヌ53頭106眼の角膜厚を超音波法によるパキメーターを用いて測定した。

その結果、イヌの生体では、角膜辺縁部の背側が $0.636 \pm 0.59\text{mm}$ で最も厚く、外側および腹側、次いで内側の順で薄く、中心部の厚さが $0.583 \pm 0.05\text{mm}$ で最も薄いことが観察された。

3.角膜曲率半径の測定

術後の角膜の庇護処置として、ヒトのコンタクトレンズ装着を試みたが、いずれも短時日で脱落し装着できず、角膜曲率半径を調査することが必要であった。そこで、健康なイヌ45頭90眼の角膜曲率半径の測定をオフサルモメーターを用いて行った。

その結果、角膜曲率半径は左右の差がなく、垂直方向で $8.49 \pm 0.19\text{mm}$ 、水平方向で $8.58 \pm 0.18\text{mm}$ であった。そして、体重と角膜曲率半径の間には、垂直方向、水平方向ともに $r=0.58$ の有意相関（ $P<0.01$ ）が見られた。これを応用して、動物用コンタクトレンズの各サイズに臨床的に使用可能な体重を設定することができた。

4.異種の表層角膜移植

同種角膜の代替えとして、グリセリンに保存したブタ角膜を用い、表層角膜移植を健康なイヌ6頭6眼に試み、臨床応用への問題点と有用性を検討した。

まず、第一試験として、3頭3眼に異種移植を試みた。保存角膜（第一試験75日、第二試験150日、4℃保存）の作成、術式は前述の同種移植と同様に行った。ただし、問題点を指摘するために、術後はコルチコステロイドによる消炎処置を行わず、同種移植例と同様の抗菌剤の点眼と内服のみを行い3週間観察した。日数の経過と共に移植片の膨化・白濁、母角膜の肥厚・混濁・血管新生、さらには肉芽の形成が見られた。

そこで、3週から8週目までコルチコステロイド（0.02%フルオロメトロン点眼液、1日3回、3週間、その後

0.25%酢酸プレドニゾロン眼軟膏、1日2回、2週間)の点眼を行った。

その結果、症状の改善が見られ移植片は生着した。しかし、1例は5週に入っても肉芽の形成が著しく消退しないので、外科的に肉芽の切除を行った。6週に入って母角膜は3例共に透明になったが、血管は1例のみゴースト血管となり、2例では消退せず、移植片は1例のみ透明、1例は半透明、1例は白濁で、後者の2例は十分な透明度を得ることが出来なかった。

次いで、第二試験として3頭3眼に異種移植を試みた。第一試験の経過を参考にして第二試験ではコルチコステロイドの使用を1週早め、2週から8週目まで点眼(0.02%フルオロメトロン点眼液、1日3回、4週間、その後0.25%酢酸プレドニゾロン眼軟膏、1日2回、2週間)を行った。その結果、移植片の生着・新生血管のゴースト化・肉芽の消退・母角膜の透明化は全例に見られ、移植片は1例で半透明(部分的)、2例で透明となり、全例に視力の回復が認められた。

これら両試験6例の術後1週における移植片周囲の角膜厚は、いずれも術前に比べ1.3~1.5倍に増加したが、術後3週以降、角膜厚は漸減することが確認された。母角膜厚の増加と共に血管新生が起こり、血管の周囲に混濁が生じ、これにともなって肉芽が発生するという一連の過程を観察することができた。これは、コルチコステロイドの投与時期、投与方法を考慮する上で参考となった。

また、フォトケラトスコープによる角膜投影像(マイヤー像)は、術後1~3週で移植片上の投影同心円は非常に乱れ、角膜の歪みが認められたが、術後8週では第一試験の3例中1例および、第二試験の3例の全例に移植片上の同心円が明確に観察され、角膜の歪みが改善された。

以上の同種移植および異種移植の成績から、表層移植における問題点に対する解決法を導出した。すなわち、①移植片の作成に際しては、外層の角膜上皮および内層のデスメ膜、内皮を除き、角膜固有層のみを用いることにより、内皮型の拒絶反応を回避すること②移植床と移植片の周囲を確実に接着させ、角膜上皮の再生を促進させること③術後は直ちに抗菌剤ならびにコルチコステロイドの全身投与を継続し、角膜厚の増加と血管新生を防止すること④角膜上皮が移植片を被覆した後は、コルチコステロイドの点眼を継続し、移植片の透明度の増進をはかることなどである。

この様に本研究の成果は、イヌにおけるブタ角膜を用いた異種表層角膜移植が臨床に応用し得る新しい技術として期待できることを確認した。

論文審査の結果の要旨

小動物臨床における角膜の外科治療では、眼球の保全を目的として、結膜などの自己組織を用いた角膜病巣部の被覆処置が行われてきた。しかし、最近では眼球の保全に加えて、病巣角膜の透明性を回復し、視力を回復させることが望まれている。

著者は、この要望に応じてイヌおよびネコに対しての同種の表層角膜移植を試みた。しかし、近年、動物愛護の観点からイヌおよびネコの角膜採取には多くの制約があり、その入手は容易ではない。そこで、その代替えとして、食用動物であるブタの角膜のイヌへの移植を検討した。試験に先立って、治療経過の観察に必要な角膜厚の測定と、術後の局所保護にコンタクトレンズの装着を行うための角膜曲率半径の測定を行った後、異種移植の試験を行った。

1 同種の表層角膜移植

イヌおよびネコに対してグリセリン保存した同種の角膜を用いて、表層角膜移植を試みた。移植角膜片は、外層の上皮および内層のデスメ膜、内皮を除き固有層のみを用いた。

まず、基礎試験として健康なイヌ3頭3眼、ネコ2頭2眼に移植を試み、手術後は直ちに抗菌剤、コルチコステロイド剤を投与して経過を観察した。この正常な角膜への移植では、角膜の肥厚・混濁血管新生がみられたが、ほぼ1ヵ月で角膜移植片、母角膜共に透明となり全例生着し、良好な結果が得られた。

次いで基礎試験の成績に基づき、臨床試験として角膜混濁を呈するイヌ8頭8眼、ネコ13頭13眼計21症例に移植を実施し、角膜病巣の処置法としての臨床上の有用性を検討した。

すなわち、イヌの表層性角膜変性および表在性角膜癬痕、ネコの角膜分離症などに適用した移植では、角膜中央部に及んだ病巣への移植片は、ほとんどの症例で初診時よりも透明度を増し、極めて良好11例、良好7例、不良2例、不明1例の良好な成績を得、臨床的に有用性の高いことを確認した。

2 角膜厚の測定

移植術を実施した結果、移植床の深さは個々の症例により差のあること、また、角膜損傷の軽重および治癒の過程でその厚さが大きな経時的変化のあることが観察され、角膜の厚さの測定は、手術時に必要な検査のひとつと思われた。そこで、正常な角膜の厚さを知るために、健康なイヌ53頭106眼の角膜厚を超音波法によるパキメータを用いて測定した。その結果、イヌの生体では、角膜の辺縁部の背側が $0.636 \pm 0.59 \text{mm}$ で最も厚く、外側、腹側、内側の順で薄く、中心部の厚さが $0.583 \pm 0.05 \text{mm}$ で最も薄いことが明らかとなった。

3 角膜曲率半径の測定

術後の角膜の庇護処置として、ヒトのコンタクトレンズの装着を試みた結果、いずれも装着できず、角膜曲率半径を調査することが必要であった。そこで、健康なイヌ45頭90眼の角膜曲率半径の測定をオフサルモメータを用いて行った。

その結果、角膜曲率半径は左右の差がなく、垂直方向で $8.49 \pm 0.19 \text{mm}$ 、水平方向で $8.58 \pm 0.18 \text{mm}$ であった。そして、体重と角膜曲率半径の間には、垂直方向、水平方向ともに $r=0.58$ とやや高い相関が見られた。これを応用して、動物用コンタクトレンズの各サイズに臨床的に適用可能な体重を設定することができた。

4 異種の表層角膜移植

同種角膜の代替えとして、グリセリンに保存したブタの角膜を用い、表層角膜移植を健康なイヌ6頭6眼に試み、臨床適用への問題点と有用性を検討した。移植片は角膜固有層のみを使用した。

まず、第一試験として3頭3眼に異種移植を試みた。手術後の問題点を指摘するために、術後直ちに行うべきコルチコステロイドによる消炎処置を行わず、感染防止を目的とした抗菌剤のみの点眼と内服を行い3週間観察した。日数の経過と共に移植片の膨化・白濁、母角膜の肥厚・混濁・血管新生、さらには肉芽の形成が見られた。そこで、3週目(21日)から8週目(56日)までコルチコステロイドの点眼を行った。その結果、症状の改善が見られ、移植片は脱落することなく全例生着した。しかし、1例は5週に入っても肉芽の形成が著しく消退しないので、外科的に肉芽の削除を行った。6週に入って母角膜は3例共に透明になったが、血管は1例のみゴースト血管となり、2例では消退せず、移植片は1例のみ透明となり、1例は半透明、1例は白濁し、後者の2例は十分な透明度を得ることが出来なかった。

次いで、第二試験として3頭3眼に異種移植を試みた。第一試験の経過を参考にして、コルチコステロイド

の使用を1週早め、2週目（14日）から8週目（56日）までコルチコステロイドの点眼を行った。その結果、移植片の生着・新生血管のゴースト化・肉芽の消退・母角膜の透明化は全例に見られ、移植片は1例で部分的な半透明、2例で透明となり、全例に視力の回復が認められ、移植術の目的をおおむね達成した。

本研究は、グリセリン保存角膜による表層角膜移植を実施し、その手術後の問題点として、移植片・母角膜の膨化・肥厚・混濁、血管新生、肉芽形成などを指摘した。そして、手術後直ちにコルチコステロイド剤の早期全身投与を行い、次いで、移植片を角膜上皮が被覆した後は、点眼による局所投与を行うことにより、問題点に対応して治癒に導き得ることを、同種移植および異種移植の試験の結果から明らかにした。また、角膜固有層のみを移植片として使用することにより、内皮型拒絶反応を回避し、同種移植はもとより異種移植にも共に適用可能な新しい臨床技術として、表層角膜移植を位置付けた。よって、本研究は眼科臨床の分野に大きく貢献し、獣医学上有意義なものであり、博士（獣医学）の学位を授与するに相応しいものと評価した。