

第 92 回麻布獣医学会 一般学術演題 3

角膜治療用自己フィブリン糊の調製フィブリノゲン濃度と 高齢犬慢性表層性角膜炎への効果

○稲庭 瑞穂¹, 神保 祐弘¹, 今井 達彦¹, 印牧 信行²

¹いなにわ動物クリニック, ²麻布大学附属動物病院

【目的】 フィブリン糊は組織接着剤の1つとして無縫合角膜移植や角膜穿孔に用いられた報告が人医である。我々はフィブリン糊の角膜修復・保護効果に着目し、自己血漿よりフィブリノゲンを濃縮し角膜疾患への適用を試みた。しかし、通常、その濃縮には凍結融解を2日間にわけて濃縮するため、迅速な適用ができなかった。そこで、今回、我々は2時間以内に濃縮させるマイクロ急速法を見出し、従来法のフィブリノゲン濃度との比較を行った。また、自己フィブリン糊における高齢犬慢性表層性角膜炎への効果を調べた。

【方法】 マイクロ急速法と従来法との濃縮フィブリノゲン濃度の比較は、健常成犬より採血した血液20mlを用いてクエン酸加血漿を供した。マイクロ急速法は、-80℃から15℃までの凍結融解を4回、総計40分かけて行い、4℃、12000g、15分遠心しその上清9/10を除去し、その残存1/10を濃縮フィブリノゲン液とした。従来法は-80℃で凍結した後、1昼夜かけて4℃まで保温・融解し遠心分離して濃縮フィブリノゲンを精製した。フィブリノゲン濃度はサンドウィッチ酵素免疫測定法で測定した。第1抗体としてモノクローナル抗フィブリノゲン抗体Clone 85D4 (Sigma社)を用いて固相し、標識第2抗体としてHRP標識抗イヌ・フィブリノゲン抗体GAD/Fbg/PO (Nordic-MUbio社)を用いた。フィブリン糊は、自己濃縮フィブリノゲン液25 μ lとカルシウム-トロンビン溶液5 μ lとを角膜上に混合することによって作製した。自己血液を用いたフィブリン糊適用症例は、慢性表層角膜潰瘍 (n=6) および慢性非潰瘍性角膜炎 (n=4) を含

む10歳以上の成犬10頭を用いた。角膜所見のうち、フルオレセイン角膜潰瘍所見、角膜血管新生、角膜色素沈着、角膜脂質沈着、角膜混濁、角膜光沢の程度をスコア化して評価した。臨床所見の統計処置は分割表の検定を用いた。

【成績】 マイクロ急速法による濃縮フィブリノゲン濃度 (930.8 \pm 106.2 mg/dl) は、従来法の濃度 (968.0 \pm 99.6 mg/dl) に匹敵し、精製に供した血漿濃度 (670.3 \pm 22.8 mg/dl) よりも1.39倍高かった。採血量1.8mlに3.2%クエン酸ナトリウム0.2mlを加えて分離して得た血漿から約60 μ lの濃縮フィブリノゲン液を作製することができた。細隙灯生体顕微鏡および眼底カメラの写真画像で示された所見から、慢性表層角膜潰瘍7眼および慢性非潰瘍性角膜炎7眼における角膜表面の粗さはフィブリン糊の施術によって改善された (P<0.005)。また角膜潰瘍眼症例で潰瘍の改善がみられた (P=0.040)。しかしフィブリン糊の施術回数および効果判定期間は一樣ではなく、1~8回および7~210日であった。他の注目すべき所見は認められなかった。

【結論および考察】 マイクロ急速法は採血量1.8mlで角膜被覆に十分な濃縮フィブリノゲン液を作製でき、またその濃縮濃度は従来法に匹敵するものであった。また自己フィブリン糊は、角膜治癒力の低下がみられる高齢慢性角膜疾患を治療するのに有用である所見が今回、得られた。しかし、角膜治療用自己フィブリン糊のさらなる臨床適用には、適用症例数の集積と適切な臨床試験計画に基づいた評価が今後、必須である。