

| | |
|------------------|---|
| Title | 角膜パーツ移植 |
| Sub Title | |
| Author | 榛村, 重人(Shinmura, Shigeto) 坪田, 一男(Tsubota, Kazuo) |
| Publisher | 慶應医学会 |
| Publication year | 2005 |
| Jtitle | 慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.82, No.1 (2005. 3) ,p.9- 14 |
| JaLC DOI | |
| Abstract | |
| Notes | 綜説 |
| Genre | Journal Article |
| URL | https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20050300-0009 |

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

綜 説

角膜パーツ移植

¹東京歯科大学眼科学教室, ²慶應義塾大学眼科学教室

しんむら しげと つばた かずお
篠村重人・坪田一男

Shigeto Shimmura and Kazuo Tsubota

Key Words : 角膜移植, 角膜上皮, マイクロケラトーム, 粘弾性手術補助剤, アイバンク

角膜は眼表面を構成する無色透明な組織であり, 上皮, 実質と内皮の3層構造を形成している(第1図), 直径は約11ミリで, 厚みは周辺部が約1ミリで中心部では約500 μ mである。全体の厚みのうち, 実質がほとんどを占めており, 上皮は5~6層に重層化し, 内皮はデスメ膜と呼ばれる基底膜を持つ単細胞層である。角膜各層は固有の機能を有し, いずれが傷害されても角膜の透明性が損なわれてしまう。角膜上皮は, 頑強なバリアーを形成しており, その円滑な表面は良好な屈折を得るために必要不可欠である。実質は均一な厚みと透明性を維持することで, 角膜全体のレンズとしての性質を保っている。角膜実質細胞の生理的機能にはまだ解明されていない点が多く, 間葉系細胞以外にも抗原提示細胞の存在が示唆されている。一方で, 角膜内皮はNaKポンプの作用で実質中の水分を前房(眼内)側に排出する重要な機能を担っている。角膜実質が静水圧によって浮腫が生じると, 全体の透明性が不可逆的に損なわれる水疱性角膜症の状態となる(第2図)。

角膜の疾病には様々な病態が存在するが, 感染症と免疫反応が絡む炎症によるものが多い。抗菌剤, 抗ウイルス剤やステロイド剤の点眼が多く存在し, 高濃度で直接投与できることより, 多くの疾患は保存的に治療することが可能である。しかし, 病態が進行し, 瘢痕形成や角膜内皮障害によって角膜が混濁すると, 視力を回復するには角膜移植が必要となる。角膜移植の術式としては, 上皮, 実質および内皮の全てを移植する全層角膜移植(penetrating keratoplasty, PKP)が一般的である(第3図)。すなわち, ドナー角膜の全層をそのまま移植する方法である。しかし, 角膜の3層全てが傷害される疾患はむしろ少なく, 特定の層に限局されている場合が多い。この際, 健全な組織をも移植することは理論的に

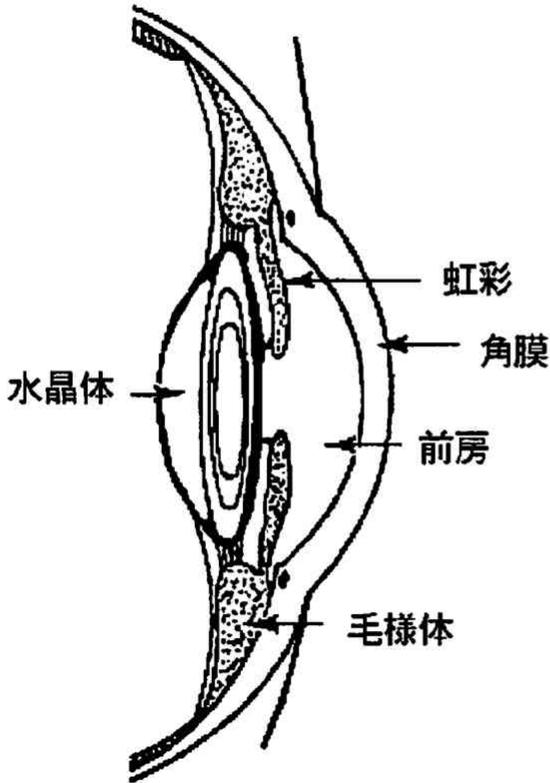
不要であるばかりか, 拒絶反応のリスクを増加させる。とくに角膜内皮細胞は免疫応答の対象となりやすく, ヒト角膜では増殖しないためにドナー角膜不全を来す。移植されたドナー角膜上皮も, 術后感作の抗原になるとも言われている。

理想的な角膜手術は, 疾病によって傷害された組織のみを移植する方法である。理論的には, 水疱性角膜症に対しては角膜内皮のみを移植できれば済むことであり, 角膜全層を縫合することに伴う屈折の変化や乱視を防ぐことが可能となる。実質のみが傷害される円錐角膜や様々な遺伝性の変性症では実質を移植する方法があれば理想である。スティーブンスジョンソン症候群や眼類天疱瘡など, 眼表面の疾患に対してはすでに角膜上皮移植という術式が臨床応用されている^{1,2)}。

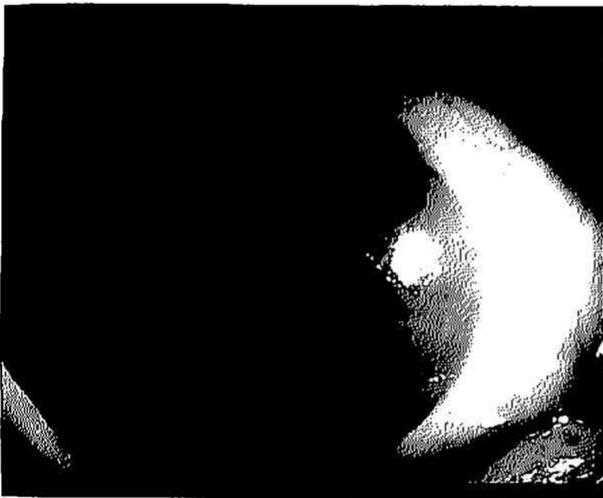
角膜の各層(パーツ)を別々に移植することは, 今までの医療技術では難しかった。透明性という, 角膜にとっては必要不可欠の状態が手術によって損なわれてまでパーツ移植をする価値がないためである。しかし, 器具の改良や, 術式の工夫によって新しい術式がここ数年の間だけでも飛躍的に増えた。その多くは角膜各層を層間でスムーズに切除する工夫を取り入れている。本稿では最新の角膜移植で見られるトレンドについて紹介する。

角膜上皮

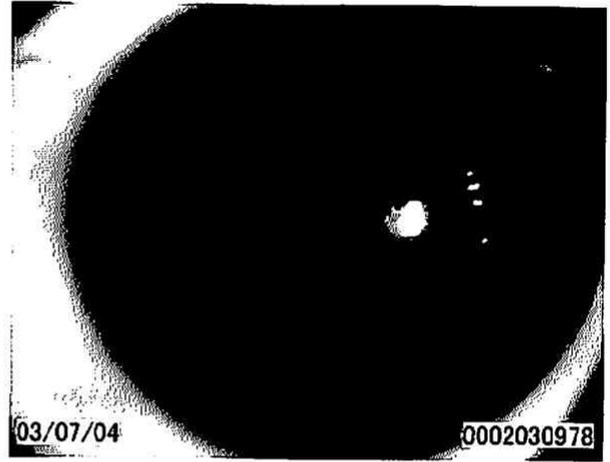
角膜上皮の幹細胞は, 角膜周辺部の輪部に存在する^{3,4)}。角膜中央の上皮が剥離しても, 通常は速やかに周辺より上皮が遊走して欠損部は修復される。しかし, 幹細胞を含む角膜輪部の上皮が角膜全周にわたって傷害されると, 角膜表面は結膜上皮によって被覆される。結膜上皮は, 角膜上皮と比較してタイトジャンクションの



第1図 前眼部の構造。角膜は中心で約500 μ mで、表層に角膜上皮細胞が5~6層を形成し、眼内は単層の内皮細胞によって構成される。厚み全体の9割以上を実質が占めており、コラーゲン繊維、グリコサミノグリカンと角膜実質細胞が規則正しく配列している。



第2図 水疱性角膜炎の症例。ヒトでは増殖しない角膜内皮細胞が傷害され、角膜の透明性が維持できなくなった状態。通常は全層角膜移植が適応となる。



第3図 全層角膜移植術後、混濁した角膜を除去し、上皮、実質および内皮の全層を含むドナー片を移植した。

形成が不十分であり、また血管新生を伴うために透明性も損なわれる。角膜上皮幹細胞の疲弊を来す代表的な病態にスティーブンスジョンソン症候群、眼類天疱瘡と角膜熱傷・化学傷が挙げられる(第4図)。通常のPKPは幹細胞を供給することはできず、これらの疾患では禁忌とされている。幹細胞を移植するには、角膜輪部を移植する必要があるが、一定の成績が上げられている。我々も、重症症例を対象に施行したドナー輪部移植の成功率が約50%であることを報告した⁹⁾。

角膜輪部移植の数年後、組織工学技術を応用した培養角膜上皮シートが登場した。本法はまず *in vitro* で重層化した角膜上皮シートを作成するが、キャリアーとしてヒト胎盤由来の羊膜⁶⁾、フィブリン⁷⁾が報告されており、最近ではキャリアーを用いない方法も紹介された⁸⁾。培養上皮シートのメリットとして、数少ない細胞より角膜全体を覆う大きな移植シートが作成できることが挙げられる。健眼の幹細胞を用いる場合や、親族よりの生体移植を行う場合にドナー眼の負担を大幅に軽減することができる。培養方法も様々であるが、移植シート内に上皮細胞の前駆細胞、あるいは幹細胞が含まれているかがポイントとなる。幹細胞の特異的なマーカーがない中、p63発現や分化マーカーの欠如を根拠に上皮シートの品質管理が検討されている。

培養上皮シート移植の長期予後は今後の術後成績によって判明すると思われる。現在までの症例を検討する限り、角膜上皮を再生する手段としては角膜輪部移植と遜色ない。しかし、重症症例では未だ長期予後は不良である傾向が見られ、今後の課題である。培養上皮シートに幹細胞



第4図 眼類天疱瘡、慢性炎症と癍痕化によって角膜上皮幹細胞が疲弊し、周辺より結膜上皮が角膜上に侵入、通常の角膜移植では幹細胞が移植されず、本症例のような患者では禁忌である。

胞が当初は含まれていても、長期にわたって維持できなければ移植片の寿命は限られてしまう。我々を含め、多くの施設で幹細胞ニッチについて研究を進めており、近い将来には名実共に幹細胞移植が実現する可能性は高い。

角膜実質

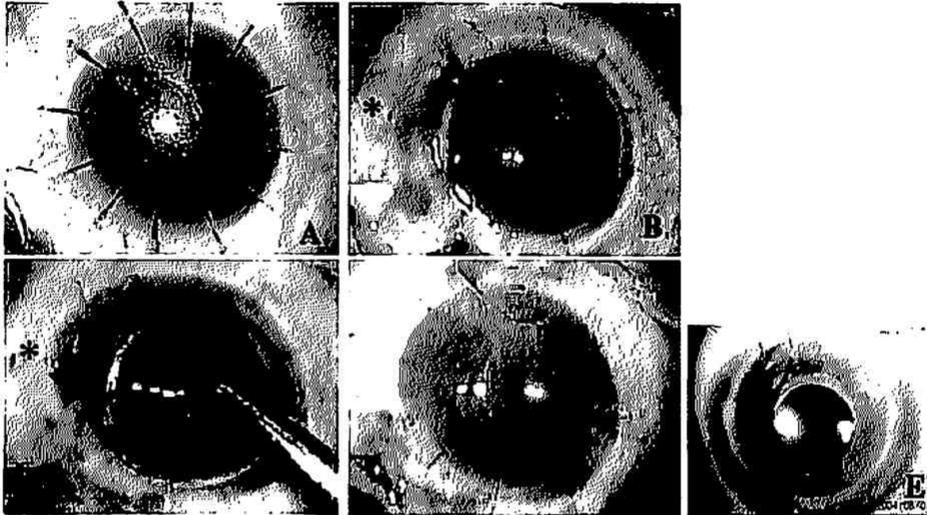
質量では角膜全体の90%以上を占める実質は、I型コラーゲン繊維にケラタン硫酸、コンドロイチン硫酸などのグリコサミノグリカンを中心とした細胞外基質と

経堤由来の実質細胞が秩序良く配列している。コラーゲン繊維間の間隙が均一であることが実質を透明にしている最大の要素であり、浮腫や癍痕化によって秩序が乱れることで角膜は混濁する。角膜移植の適応となる疾患はこの実質の混濁が主病因であることが多い。若年者に多い円錐角膜や、感染症、遺伝子変異が代表的であり、今まではPKPによる移植が行われてきた。しかし、理論的には抗原性の高い上皮や、拒絶反応の標的となる内皮まで移植する必要はない。ドナー角膜の上皮は約半年でホスト細胞に入れ替わるためさほど問題にならないが、ドナー角膜の内皮は恒久的に機能しなければならない。そこで開発されたのが、ホスト側の内皮を温存して、ドナーの上皮と実質のみを移植する深層表層角膜移植 Deep lamellar keratoplasty (DLKP) である⁹⁾。

角膜内皮の基底膜であるデスメ膜は非常に脆弱であり、手術中に温存することは難しいとされてきた。従来の方法では、実質の組織を徐々に切除して、最終的にデスメ膜を露出する手順で行われていた。しかし、Mellesらが提唱した革新的な方法では、デスメ膜を鈍的に剥離して手術時間を大幅に短縮した¹⁰⁾。その後筆者らは、デスメ膜をさらに安全かつ確実に分離する方法へと改良を重ね、現在では熟練した術者でなくても安全に施行できるようになった¹¹⁾。DLKPの術後成績は良好であり、屈折面ではPKPと遜色はない(第5図)。一方で、DLKPを施行した症例では今のところ明らかな拒絶反応は認められず、拒絶反応のハイリスクでもDLKPによる実質移植は可能となる。また、上皮幹細胞移植との同時手術



第5図 深層表層角膜移植術。(A) 前房を空気置換し、鏡面反射を参考にスパーテルを角膜内皮と実質の層間に挿入する。(B) 手術用粘弾性物質を用いて、角膜内皮のみを広範囲に渡って剥離する。上皮と実質はトレパンにて切除して、患者自身の内皮を温存した角膜移植が可能である。(Shimmura S, Shimazaki J, Omoto M, Teruya A, Ishioka M, Tsubota K: Deep lamellar keratoplasty (DLKP) using viscoadaptive viscoelastics in keratoconus patients. Cornea, in press を、許可を得て転載。)



第6図 深層角膜内皮移植：(A) 角膜内皮障害による水疱性角膜症。(B) マイクロケラトームにて、表層実質と上皮を約250 μ mの厚みで切除し、一部残った組織を機転としてフラップ上に反転した(*)。(C) レシビエント角膜を直径7.5 mmで切除し、深層組織のみのドナー角膜を固定。(D) 反転したフラップをドナー上に戻して縫合。(E) 術後一ヶ月の所見。ドナーを移植した部分は全体が透明治癒している。本症例は白内障手術を同時に施行したため、眼内レンズが挿入されている。

も可能であり、重症眼表面疾患の治療にとっては大きな武器である。

角膜内皮

角膜内皮が傷害され、角膜全体が浮腫状になる水疱性角膜症は全層角膜移植の代表的な適応例である。内皮を温存するDLKPの適応はなく、今までは内皮を移植する手段としてPKPしなかった。しかし、最近のパーツ移植への傾向をうけて、角膜内皮だけを移植する技術がいくつか報告されている。現在普及しつつある方法は、やはりMellesらが提唱したdeep lamellar endothelial keratoplasty (DLEK)である¹²⁾。幾度かの改良を重ね、現在では角膜内皮と深層実質の一部をドナー片として移植する方法が定着しつつある。創口が小さく、屈折への影響が小さいのが最大のメリットと言える。一方で、深層実質をサージカル・ナイフでマニュアル切除するため、術者の経験によっては層間に混濁を来す場合がある。一度瘢痕化を起こした実質組織が透明に戻ることはないため、手術中は最新の配慮が必要となる。

角膜内皮を移植する別の術式として、Azarらがマイクロケラトームを使う手技Endothelial lamellar keratoplasty (ELK)を報告した¹³⁾。マイクロケラト-

ムは近視矯正手術のために開発された全自動の表層角膜切除装置であり、鉋(かんな)に似た構造で表層角膜を一定の厚みで切除する。完全に切除せず、一部の組織を蝶番(ちょうつがい)状に残すことで一時的なフラップを作成することが可能である。近視矯正手術ではフラップの下にある実質組織をレーザーで切除するが、ELKではフラップの下で実質と内皮を切除し、ドナー角膜より採取した同様の組織を移植する。本法のメリットは、機械的に表層切除することで非常に円滑な切除面が得られることである。一方で、マイクロケラトーム装置が高価であることが最大のデメリットであり、手術手技も習得するのに時間を要する。我々は現時点でELKを10例ほど経験しているが、術後成績は全層角膜移植と比較して遜色ない(第6図)。一方でPKPの約2割で見られる拒絶反応も、現時点では経験していない。しかし、一部症例で矯正が困難な乱視を呈していることもあり、さらなる詳細な検討が必要である。

角膜再生医療

角膜のパーツ移植技術が最終的に役立つのは、組織工学の成果によって今後開発が予想される様々なバイオ角膜関連の臨床応用であろう。角膜上皮、実質および内皮

の全層を備えた人工角膜を開発するのは困難なことと思われる。それぞれを組み合わせたくらいであれば、胚性幹細胞から眼球そのものを再生した方が早い可能性すらある。しかし、角膜各層を自己細胞や幹細胞バンクからのマテリアルを用いて作成することは近い将来可能になる。個々の症例に対して傷害された組織を評価し、必要最低限の移植をする、テーラーメイド医療が今後の主流になると予想される。すでに羊膜をキャリアーとした培養上皮移植はこの領域の技術と言える。最近では患者本人の口腔粘膜上皮細胞を培養して、眼表面に移植する方法が行われるようになった¹⁴⁾。培養口腔粘膜上皮細胞は *in vitro* で培養することによって、ケラチンの発現や重層化像が角膜上皮に類似した所見を示すようになる。

各種細胞を支持するためのキャリアー、あるいは、scaffold (足場) の開発も進められている¹⁵⁾。角膜実質は巧妙な scaffold であり、角膜実質細胞や上皮、内皮をそれぞれ支持しながらも透明であり続ける。角膜実質の代替物質を開発することが一番難しいと考えられており、長期にわたってドナー実質と成り代わるものはなかなか見だされていない。現在では合成ポリマー、天然ポリマーなどを組み合わせる (hybrid) ことで生体適合性の高い、透明な scaffold が完成することが期待されている。

おわりに

角膜移植は歴史が古いわりに、進歩が長い間見られなかった。ところがここ数年を見るだけで一気に様々な新しい術式が登場し、角膜手術のビッグバンが到来したと言っても過言ではない。多くの技術改良と組織工学の研究結果が発表されていることも、その背景に存在する。もちろん全ては角膜疾患によって失明状態を強いられている患者の社会復帰が目的であり、ドナー不足の現状も、再生医療の発展と新しい角膜移植技術の開発によって打開されようとしている。

文 献

- 1) Koizumi N, Inatomi T, Suzuki T, Sotozono C, Kinoshita S : Cultivated corneal epithelial transplantation for ocular surface reconstruction in acute phase of Stevens-Johnson syndrome. *Arch Ophthalmol* 119 : 298-300, 2001
- 2) Shimazaki J, Aiba M, Goto E, Kato N, Shimmura S, Tsubota K : Transplantation of human limbal epithelium cultivated on amniotic membrane for the treatment of severe ocular surface disorders.

- Ophthalmology* 109 : 1285-90, 2002
- 3) Cotsarelis G, Cheng S-Z, Dong G, Sun T-T, Lavker R M : Existence of slow-cycling limbal epithelial basal cells that can be preferentially stimulated to proliferate : Implications on epithelial stem cells. *Cell* 57 : 201-209, 1989
- 4) Pellegrini G, Golisano O, Paterna P, Lambiase A, Bonini S, Rama P, De Luca M : Location and clonal analysis of stem cells and their differentiated progeny in the human ocular surface. *J Cell Biol* 145 : 769-82, 1999
- 5) Tsubota K, Satake Y, Kaido M, Shinozaki N, Shimmura S, Bissen-Miyajima H, Shimazaki J : Treatment of severe ocular-surface disorders with corneal epithelial stem-cell transplantation. *N Engl J Med* 340 : 1697-703, 1999
- 6) Koizumi N, Inatomi T, Quantock AJ, Fullwood NJ, Dota A, Kinoshita S : Amniotic membrane as a substrate for cultivating limbal corneal epithelial cells for autologous transplantation in rabbits. *Cornea* 19 : 65-71 2000
- 7) Pellegrini G, Traverso CE, Franzi AT, Zingirian M, Cancedda R, De Luca M : Long-term restoration of damaged corneal surfaces with autologous cultivated corneal epithelium. *Lancet* 349 : 990-993, 1997
- 8) Nishida K, Yamato M, Hayashida Y, Watanabe K, Maeda N, Watanabe H, Yamamoto K, Nagai S, Kikuchi A, Tano Y, Okano T : Functional bio-engineered corneal epithelial sheet grafts from corneal stem cells expanded ex vivo on a temperature-responsive cell culture surface. *Transplantation* 77 : 379-85, 2004
- 9) Sugita J, Kondo J : Deep lamellar keratoplasty with complete removal of pathological stroma for vision improvement. *Br J Ophthalmol* 81 : 184-8, 1997
- 10) Melles GR, Lander F, Rietveld FJ, Remeijer L, Beekhuis WH, Binder PS : A new surgical technique for deep stromal, anterior lamellar keratoplasty. *Br J Ophthalmol* 83 : 327-33, 1999
- 11) Shimmura S, Shimazaki J, Omoto M, Teruya A, Ishioka M, Tsubota K : Deep lamellar keratoplasty (DLKP) using viscoadaptive viscoelastics in keratoconus patients. *Cornea*, 2004
- 12) Melles GR, Lander F, van Dooren BT, Pels E, Beekhuis WH : Preliminary clinical results of posterior lamellar keratoplasty through a sclerocorneal pocket incision. *Ophthalmology* 107 : 1850 6 ; discussion 1857, 2000
- 13) Azar DT, Jain S, Sambursky R : A new surgical technique of microkeratome-assisted deep lamellar keratoplasty with a hinged flap. *Arch Ophthalmol* 118 : 1112-5, 2000
- 14) Nakamura T, Endo K, Cooper LJ, Fullwood NJ, Tanifuji N, Tsuzuki M, Koizumi N, Inatomi T, Sano Y, Kinoshita S : The successful culture and

- autologous transplantation of rabbit oral mucosal epithelial cells on amniotic membrane. Invest Ophthalmol Vis Sci 44 : 106-16, 2003
- 15) Shimmura S, Doillon CJ, Griffith M, Nakamura M, Gagnon E, Usui A, Shinozaki N, Tsubota K : Collagen-poly(N-isopropylacrylamide)-based membranes for corneal stroma scaffolds. Cornea 22 : S81-8, 2003
-