

線維柱帯切除術におけるマイトマイシンCの応用
基礎的・臨床的研究

原 岳

①

線維柱帯切除術におけるマイトマイシンCの応用 基礎的・臨床的研究

原 岳

目次

I. 研究の目的.	2
II. 研究の背景.	2
III. 研究方法.	5
IV. 検討項目	
1. 基礎実験(投与条件、並びに組織毒性の検討)	
1) 組織移行濃度の検討.	7
2) 投与条件と手術成績の関係の検討.	12
3) 毛様体に対する組織毒性の検討.	18
4) 小括	27
2. 臨床研究	
1) 線維柱帯切除術の成績	
A. 難治緑内障に対する手術成績.	30
B. 原発開放隅角緑内障初回手術での成績.	39
2) 術後低眼圧症軽減を目的とした眼圧目標値の検討.	46
3) 濾過胞再建術の手術成績.	53
4) 小括.	58
V. 総括.	60

I 研究の目的

本研究は失明原因の代表的な疾患である緑内障の代表的手術療法である線維柱帯切除術の成績向上のために使用されている代謝拮抗薬マイトマイシンC併用の安全性、ならびに臨床上の有用性を検討することを目的とする。

注: 本論文では、マイトマイシンC(マイトマイシン協和S^{*}、協和発酵工業、東京)を以下、MMC と省略して表記することとする。

II 研究の背景

緑内障は進行性の視神経線維の萎縮によって視野障害をきたし、放置すれば失明に至る重篤な疾患であり、先進諸国の失明原因の 1~3 位を占める。疫学調査によれば、わが国の緑内障の有病率は40歳以上の人口中 3.5%と高く、国内に約 200 万人の患者が存在すると推計されている¹⁾。緑内障の真の病因は不明であるが、緑内障性視神経障害は眼球内圧(以下眼圧)と強い関連を有し、眼圧の上昇、もしくは眼圧に対する視神経の脆弱性が最も大きな原因として挙げられている。従って、現在の緑内障治療は薬物、もしくは手術療法によって眼圧を下降させ視神経障害の進行を阻止することを目的としている。

緑内障治療の対象となる眼圧は眼内の房水動態により決定され、毛様体上皮による房水産生と隅角線維柱帯を主経路とする房水流出の均衡によって正常人では 10~20mmHg に保たれている。従って、眼圧を下降させる手段としては房水産生抑制、房水流出促進のいずれか、あるいはその両者による治療が可能であり、薬物療法においては、それらの機序を利用した各種眼圧下降薬が使用されている。手術療法においても房水産生抑制を目的とした術式と房水流出促進を目的とした術式があるが、前者は白内障、低眼圧、あるいは眼球瘻などの合併症が多く、眼圧下降の最終手段としてとらえられており²³⁾、緑内障手術療法の中で現在最も多く行われている術式は房水

流出促進を目的とする濾過手術と呼ばれる術式である。この術式は房水流出路である隅角線維柱帯の一部を切除し、結膜下への房水流出路を形成する術式であり、中でも最も広く行われている術式は1968年に英国の Cairns によって開発された線維柱帯切除術である⁴⁾。この術式は、それ以前に行われた隅角から結膜下に直接房水流出路を形成する Trephination⁵⁾、Thermalscrelostomy⁶⁾などの術式と異なり、強膜弁を作成し、その下で線維柱帯を切除する術式であり、結膜下への直接濾過に比べて強膜弁を縫合することで過剰な濾過を制限することが可能で、また結膜下に存在する強膜弁によって眼外からの感染の危険を減らすことができる利点を有する。

しかし、逆に強膜弁が存在するため術後創傷治癒機転により強膜弁の癒着をきたした場合、濾過効果が失われる可能性がある点が問題となっていた^{7,8)}。事実、我が国での線維柱帯切除術の成績をみると、緑内障病型の中で最多である原発開放隅角緑内障を対象として、術5年後に眼圧が正常化(21mmHg未満)される確率は60%に過ぎない。更にその多くが術後も眼圧下降薬の併用を必要とするばかりでなく、眼圧の正常平均値である16mmHg未満となる例は皆無であったことが報告されている⁹⁾。この線維柱帯切除術における術後創傷治癒機転による濾過胞消失という問題を克服する目的で、1980年代に入り、線維柱帯切除術後の瘢痕化過程に関する研究が行われはじめ、結膜下線維芽細胞の増殖は手術約2週間で完成することが明らかとなった¹⁰⁾。その後、線維芽細胞の増殖を抑制する薬剤についての研究が盛んに行われた。研究の対象は放射線、 β ペニシラミン、コラーゲン架橋形成阻害、代謝拮抗薬などであり、*in vitro*を中心に研究が行われてきたが、この中から5-fluorouracil(以下5-FU)の術後結膜下注射がまず実用化された¹¹⁻¹³⁾。臨床に於ける術後5年の眼圧正常化率は眼圧下降薬併用で90%へと向上し、さらに75%の例では眼圧が16mmHg未満に保たれるようになった¹⁴⁾。しかし、成績向上の一方で5-FU併用の合併症も問題となり、結膜下に注射された5-FUが注射部位から眼外へ漏出し角膜に接触し角膜上皮障害をきたす例が頻発した^{12,15)}。5-FU注射後結膜嚢内を洗浄する方法をとっても

その頻度は 50%と報告されている。また臨床上有効な創傷治癒機転抑制を得るためには 5-FU 結膜下注射を 1~2 週間連日行う必要があり、患者の負担が大きい点も問題となり、頻回注射自体が 5-FU 漏出による角膜上皮傷害の機会を増加させていることが指摘された。このことから 5-FU 併用の有効性は認められたものの、頻回の結膜下注射を必要としないより強力な代謝拮抗薬が求められ、その一つとして MMC の手術併用への試みが 1980 年代半ばから開始された。

1987 年に Chen らが MMC, 0.1~0.4mg/ml を術中に強膜弁状に 1 回塗布するだけで、線維柱帯切除術の術後創傷治癒機転が抑制され、従来の 5-FU 結膜下頻回注射よりも形状の良好な濾過膜が得られることを最初に報告した¹⁶⁾。しかし、この報告は注目されることなく、世界的には 5-FU 併用線維柱帯切除術が緑内障手術の標準術式として定着した。1990 年に入り 5-FU の代替薬剤の研究が盛んであった米国において Yamamoto らが MMC を 5-FU の約 300 倍の線維芽細胞増殖抑制効果を有する有望な薬剤として報告したことによって¹⁷⁾、Chen らの報告が再評価され、以来、MMC の線維芽細胞増殖抑制効果がウシ、家兎、およびヒト培養細胞で追試、確認された¹⁸⁾⁻²⁰⁾。MMC はアルキル化剤として DNA の構造にグアニンとシトシン含量に比例して直接作用し、DNA の cross link を起こすことにより合成を阻害する。その効果は細胞分裂の課程において後期 G1 および早期 S 期において最も著明であるが、更に還元された MMC は DNA の一本鎖を直接切断する作用があることが報告されており²¹⁾、この効果は G1、S 以外のどのサイクルにおける細胞でも効果を発揮しうと考えられる。ヒト結膜下線維芽細胞に臨床使用濃度を 5 分間接触させた場合、0.04%MMC では 90%以上の DNA 合成阻害を来すのに比べて 5-FU は通常使用濃度である 4%では 64%の DNA 合成阻害に過ぎなかった²¹⁾。また、家兎眼に濾過手術を行って術中に 5%5-FU または 0.04%MMC を投与し、当該部の線維芽細胞培養を行った実験によれば、5-FU の増殖抑制効果は 1 週間であったのに対し MMC の効果は 30 日以上観察された²²⁾。同様の実験はヒト結膜下線維芽細胞でも観察されており²³⁾、これら

の事実は 5-FU が創傷治癒機転を抑制するのに 1~2 週間にわたる投与が必要であるのに対して MMC は術中 1 回のみの投与で臨床上有効であることを説明するものと思われる。

これらの基礎実験と同時にいくつかの予備的臨床試験も行われ、MMC を結膜弁下に術中塗布するだけで、従来の 5-FU と同等以上の良好な眼圧調整成績が得られることが報告された^{24)・26)}。しかし、同時に、5-FU は線維芽細胞増殖抑制濃度では血管内皮細胞には影響を及ぼさないのに対して、MMC は線維芽細胞増殖抑制濃度で血管内皮細胞も障害することから²⁰⁾、その毒性も懸念され、臨床応用には MMC の投与条件だけでなく MMC 投与による眼組織変化^{27)・33)}、機能変化^{33)・34)}を検討し、さらに 5-FU との比較試験を行うことが必要とされた。特に我が国の眼科領域においては 1963 年に国友、森らによって翼状片の切除後の再発防止に使用され³⁵⁾、虹彩毛様体炎、続発白内障、続発緑内障、胸膜壊死等の重篤な合併症を引き起こした歴史があったことから^{36)・37)}、眼科臨床応用には慎重な意見が多かった。この歴史的事実は MMC の臨床応用を進める米国にもすぐに知られ、MMC の基礎的研究を促すこととなった。

MMC の初期の臨床報告に接し、その有効性については認めたものの、MMC による眼組織障害の歴史を有する我が国においてはその応用には慎重であるべきであると考え、本研究では海外研究結果を踏まえながら独自に眼組織毒性、眼機能に及ぼす影響を検討し、有効使用濃度の決定などの基礎的研究を行い、さらにその結果に基づいた臨床応用を行った。

Ⅲ. 研究方法

本研究では、まず動物実験として家兎を用い、MMC を強膜上に投与し、角膜、結膜、強膜、虹彩・毛様体への MMC の組織移行を測定し、MMC 投与濃度および留置時間と組織移行濃度の関係について検討した³⁸⁾。また、MMC 投与が眼圧および房水動態に与える影響について調べるために、家兎眼を対象として眼圧測定、

fluorophotometryによる房水動態検査、並びに電子顕微鏡を用いた組織観察を行い、特に毛様体に与える細胞毒性について検討した³⁹⁾。さらに家兎に濾過手術を行い、MMC投与条件と眼圧下降成績との関係について検討した⁴⁰⁾。臨床では、MMCの瘢痕抑制効果の有効性を確認するため、難治性緑内障を対象としてMMC併用線維柱帯切除術の手術成績を検討し、ついで手術既往のない原発開放隅角緑内障を対象としてMMC併用線維柱帯切除術を行い、眼圧下降成績および合併症について検討しその有用性を確認した⁴¹⁾。さらに、術直後に得られた眼所見と長期眼圧下降成績との間で重回帰分析を行い、長期眼圧下降を得るための眼圧調整の基準を検討した⁴²⁾。

IV. 検討項目

1. 動物実験

1) 組織移行濃度の検討

目的

MMC の投与濃度と留置時間を変化させ、組織内濃度との関係を検討する。

対象と方法

実験には有色家兎(体重 2500~3000kg)を用いた。ウレタン 1.0g/kg を耳静脈から注射し、十分な麻酔が成されていることを確認した上で以下の実験を行った。MMC 投与に際しては人眼に対する手術手技に準じて結膜下にあらかじめ定められた量の MMC を吸収させた手術用スポンジを種々の時間留置し実験を行った。

実験 1: 投与濃度ならびに留置時間と組織内濃度の検討

MMC を蒸留水で希釈し、0.02% (0.1mg、0.5ml)、0.04% (0.2mg、0.5ml)、0.08% (0.4mg、0.5ml) MMC を吸収した手術用スポンジ片 (MQA[®]、イナミ、東京) を用意した。耳側上部で輪部から 3mm 離れた部位で結膜を切開し、輪部基底結膜弁を作成し、結膜下に各濃度の MMC を含んだスポンジ片を 1、3 あるいは 5 分間留置した後、スポンジ片を除去し生理食塩水 250ml で洗浄した。MMC 投与濃度及び留置時間は 0.02%:3、5 分、0.04%:1、3、5 分、0.08%:1、3 分の計 7 通りとし、おのおの家兎 10 羽を用いた。結膜下洗浄直後に可能な限り結膜をつけた状態で眼球を摘出して凍結保存した。眼球前部を 4 分割し、MMC 投与部象現の強膜、角膜、結膜を採取し、これを微小粉碎した状態で高速液体クロマトグラフィー (HPLC 法) にかき、MMC の組織内濃度を測定した^{27),43)}。

各条件で得られた組織内濃度と投与濃度、留置時間の関係を調べるために重回帰分析を行った。解析では、組織内濃度を反応変数とし、MMC 投与濃度(%)、留置時

間(分)を説明変数とし、 $P < 0.05$ を有意と判定した。

実験2:象限別の組織内濃度の検討

実験1とは別の家兎を用いて 0.04% (0.2mg、0.5ml)の MMC 投与後の、投与部、隣側、対側の組織内 MMC 濃度を測定した。結膜弁作成、MMC 投与、洗浄は実験1と同様とし、留置時間 1、3、5 分の3種について各々 5 匹の家兎を用いた。眼球前半分を角膜頂点を中心に 4 分割し、各象限の強膜、結膜、角膜、虹彩を採取し、これを微少粉碎した状態で HPLC 法によって MMC の組織内濃度を測定した。各組織別に MMC 投与部、投与部の両側、対側部の4カ所で留置時間別に組織内 MMC 濃度を比較した。比較検定は対応のない t-test を用い、 $P < 0.05$ を有意と判定した。また、本実験の MMC 投与部組織内濃度については実験1の一部と同条件であるため、MMC 濃度測定精度の再現性の確認に用いた。

結果

実験1:投与濃度ならびに留置時間と組織内濃度の検討

結膜内濃度:0.02%、3 分投与で $6.2 \pm 3.3 \mu\text{g/g}$ と最も低く、0.08%、5 分で $31.7 \pm 10.6 \mu\text{g/g}$ と最も高かった(表 1)。

表1. MMC 投与濃度・留置時間と結膜、強膜、角膜の MMC 各組織内濃度($\mu\text{g/g}$)

	結膜	強膜	角膜
0.02%-3分	6.2 ± 3.3	3.3 ± 2.2	0.4 ± 0.3
0.02%-5分	8.2 ± 2.4	4.9 ± 1.1	0.6 ± 0.3
0.04%-1分	9.7 ± 2.3	8.7 ± 2.0	1.3 ± 1.0
0.04%-3分	12.6 ± 1.3	10.3 ± 1.3	1.3 ± 0.9
0.04%-5分	14.9 ± 5.0	11.3 ± 1.1	1.7 ± 1.1
0.08%-1分	23.0 ± 9.5	12.6 ± 4.3	2.4 ± 1.8
0.08%-3分	31.7 ± 10.6	17.4 ± 3.4	3.3 ± 1.1

(平均値±標準偏差)

0.04%では、投与時間が1、3、5分と延長するに従って、組織内濃度は9.7、12.6、14.9 $\mu\text{g/g}$ と高い値を示し、0.02%、0.08%でも同様に留置時間増加に従って組織内濃度は高い値を示した。また、留置時間3分での組織内MMC濃度は、投与濃度が0.02%、0.04%、0.08%と増加するに従って6.2、12.6、31.7 $\mu\text{g/g}$ と高い値を示した。重回帰分析の結果、結膜組織内濃度は投与濃度 ($P < 0.01$) および留置時間 ($P < 0.05$) の両者と高い容量反応関係を示し、三者間には

「結膜内濃度 ($\mu\text{g/g}$) = $-6.73 + 337 \times \text{投与濃度}(\%) + 1.66 \times \text{留置時間}(\text{分})$ 」の関係が成立していた(表2)。

表2. MMC 投与濃度・留置時間と結膜、強膜、角膜のMMC組織内濃度の相関係数

	投与濃度 (%)		留置時間 (分)		寄与度
	係数	P-value	係数	P-value	
結膜	337	$P < 0.001^{**}$	1.66	$P = 0.013^{*}$	0.65
強膜	191	$P < 0.001^{**}$	0.927	$P = 0.030^{*}$	0.63
角膜	42.2	$P < 0.001^{**}$	0.139	$P = 0.291$	0.46

** $P < 0.01$, * $P < 0.05$.

強膜内濃度: 0.02%、3分投与で $3.3 \pm 2.2 \mu\text{g/g}$ と最も低く、0.08%、5分で $17.4 \pm 3.4 \mu\text{g/g}$ と最も高かった(表1)。0.04%投与では、留置時間が1、3、5分と増加するに従って、組織内濃度は8.7、10.3、11.3 $\mu\text{g/g}$ と増加し、0.02%、0.08%でも同様に留置時間増加に従って組織内濃度は高い値を示した。また、留置時間3分では、投与濃度が0.02%、0.04%、0.08%と増加するに従って組織内濃度も3.3、10.3、17.4 $\mu\text{g/g}$ と高い値を示した。重回帰分析の結果、強膜組織内濃度は投与濃度 ($P < 0.01$) および留

置時間 ($P < 0.05$) の両者と高い容量反応関係を示し、三者間には

「強膜内濃度 ($\mu\text{g/g}$) = $-1.85 + 191 \times \text{投与濃度}(\%) + 0.927 \times \text{留置時間}(\text{分})$ 」の関係が成立していた(表 2)。

角膜内濃度: 0.02%、3 分投与で $0.4 \pm 0.3 \mu\text{g/g}$ と最も低く、0.08%、5 分で $3.3 \pm 1.1 \mu\text{g/g}$ と最も高かった(表 1)。0.04%投与では、留置時間が 1 分から 5 分と延長するに従って、組織内濃度は $1.3 \mu\text{g/g}$ から $1.7 \mu\text{g/g}$ と増加し、0.02%、0.08%でも留置時間延長に従って組織内濃度は増加した。また、留置時間 3 分では、投与濃度が 0.02%、0.04%、0.08%と増加するに従って組織内濃度も 0.4、1.5、 $3.3 \mu\text{g/g}$ と高い値を示した。重回帰分析の結果、モデル全体の寄与度が 46%と低く、角膜組織内濃度は投与濃度 ($P < 0.01$) とは高い相関を示したが、留置時間とは有意な関係を示さず、

「角膜内濃度 ($\mu\text{g/g}$) = $-0.727 + 42.2 \times \text{投与濃度}(\%)$ 」

の関係があった(表 2)。

実験2:象限別組織内 MMC 濃度の検討

0.04%、1、3、5 分の結果を表に示す(表 3)。

表 3. 0.04%投与後の各象限における MMC 濃度 ($\mu\text{g/g}$)

組織	象現	1 min	3 min	5 min
結膜	塗布部	9.6 \pm 6.9	11.8 \pm 3.7	14.4 \pm 7.2
	隣側(NS)	3.3 \pm 3.6	3.5 \pm 1.8	3.8 \pm 1.6
	隣側(TI)	3.6 \pm 2.2	4.1 \pm 2.6	4.4 \pm 2.9
	対側	1.4 \pm 0.9	1.9 \pm 1.4	2.1 \pm 1.6
強膜	塗布部	7.3 \pm 4.2	9.1 \pm 3.7	10.8 \pm 2.9
	隣側(NS)	2.0 \pm 2.6	2.5 \pm 1.0	3.3 \pm 1.1
	隣側(TI)	2.1 \pm 1.2	2.7 \pm 1.3	3.4 \pm 1.4
	対側	0.8 \pm 0.3	1.1 \pm 0.8	1.3 \pm 0.6
角膜	塗布部	1.1 \pm 0.5	1.3 \pm 1.0	1.8 \pm 1.3
	隣側(NS)	0.3 \pm 0.1	0.4 \pm 0.2	0.6 \pm 0.3
	隣側(TI)	0.4 \pm 0.2	0.5 \pm 0.2	0.7 \pm 0.4
	対側	0.4 \pm 0.2	0.5 \pm 0.3	0.6 \pm 0.1
虹彩一 毛様体	塗布部	0.53 \pm 0.11	0.61 \pm 0.3	0.93 \pm 0.1
	隣側(NS)	0.26 \pm 0.17	0.34 \pm 0.2	0.35 \pm 0.1
	隣側(TI)	0.24 \pm 0.16	0.31 \pm 0.18	0.38 \pm 0.1
	対側	0.10 \pm 0.04	0.10 \pm 0.05	0.14 \pm 0.10

NS: 鼻側上方、TI: 耳側下方 (平均値 \pm 標準偏差)

MMC 投与部の各組織内濃度は、実験1で同様の投与条件で得られた濃度と差を認めなかった。結膜、角膜、強膜、虹彩ともに投与部の濃度は隣側耳側および鼻側($P < 0.01$)、あるいは対側($P < 0.01$)の濃度と比較して有意に高濃度であった。また、投与隣側の耳側と鼻側との各組織内濃度に統計学的有意差はみられなかった。隣側と対側との濃度比較では結膜、強膜、虹彩・毛様体での MMC 濃度は隣側に対側に比して有意に高かったが、角膜では差がなかった。結膜濃度は留置時間 1 分では、投与部の濃度は $9.6 \pm 6.9 \mu\text{g/g}$ で、隣側の約 3 倍、対側の約 5 倍の濃度であった。留置

時間 3 分、5 分でも隣側、対側との濃度比はほぼ同様であった。強膜濃度は 1 分留置の投与部で $7.3 \pm 4.2 \mu\text{g/g}$ と隣側の約 3 倍、対側の 8 倍以上であった。3 分、5 分留置でも隣側、対側との濃度比はほぼ同様であった。角膜濃度は留置時間 1 分の投与部では $1.1 \pm 1.5 \mu\text{g/g}$ であり、隣側、対側の約 3 倍で、3 分、5 分では約 2.5 倍であった。虹彩・毛様体での組織内濃度は留置時間 1 分では投与部では $0.33 \pm 0.7 \mu\text{g/g}$ で、隣側の約 3 倍、対側の約 4 倍であった。3 分、5 分では隣側との濃度比は約 2 倍、対側と比較すると約 5 倍の濃度であった。

2) 投与条件と手術成績の関係の検討

目的

線維柱帯切除術における MMC 投与条件と手術成績との関係を検討する

対象と方法

実験には有色家兎(体重2500~3000kg)を用いた。ウレタン1.0g/kgを耳静脈から注射し、十分な麻酔が成されていることを確認した上で以下の実験を行った。

片眼を手術眼、他眼を対照眼とした。手術眼では人眼での術式に準じて、耳側上方で輪部から約5mm離れた部位の結膜を切開し、輪部基底結膜弁を作成した後に半層強膜弁を作成し、0.04%MMC0.5mlを、あるいは蒸留水0.5mlを含んだ手術用スポンジ片(MQA®、イナミ、東京)を結膜下に留置した。スポンジ片を除去した後、生理食塩水約150mlで洗浄した。MMC留置時間は1、3、5分、蒸留水投与群では留置時間を5分とし、各10眼を対象とした。隅角部強膜全層切除を行った後、房水の流出を確認し、虹彩切除はせず、結膜弁を10-0ナイロン糸で縫合した。濾過胞の形成を確認した後、オフロキサシン(タリビッド®、参天、大阪)およびフルオロメトロン(フルメロン®、参天、大阪)を点眼し、手術を終了した。

眼圧測定および前眼部検査を術前および術後 1~14 日は毎日、その後は 1 週毎に行った。眼圧測定には空気式圧平眼圧計 (PTG[®]、Alcon、USA)を用いた。経過中、

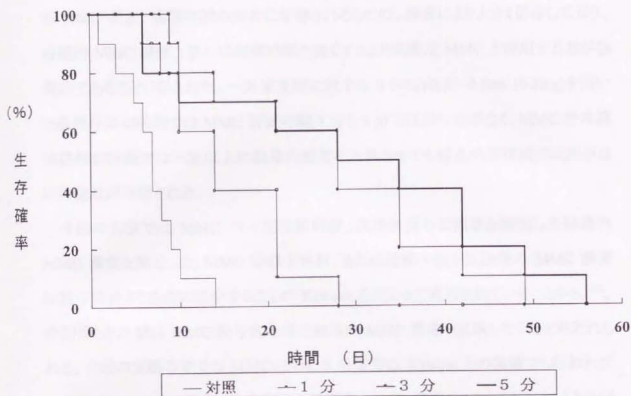
術眼と対照眼との眼圧差がなくなった、もしくは細隙灯顕微鏡下で濾過胞が消失した時点を手術効果消失と判定した。眼圧差については術後14日以内は3回連続して、14日以降は2回連続して差がなくなった場合の最初の時点で効果消失と判定した。手術効果持続日数を蒸留水投与群、MMC投与1分群、3分群、5分群の4群で比較検討した。手術効果持続日数の検討にはKaplan-Meier生命表法を用い、log rank testで各群の手術効果持続確率の比較を有意水準 $P<0.05$ で行った。

結果

全例で術直後に一象現を超える範囲の濾過胞が形成された。結膜縫合創からの房水の漏出は全例で認められなかった。蒸留水群の手術効果持続日数は1～14日(平均±標準偏差: 7 ± 3.7)、MMC1分群は6～28日(平均±標準偏差: 15 ± 7.1)、3分群は9～49日(平均±標準偏差: 27 ± 14.3)、5分群は10～63日(平均±標準偏差: 29 ± 18.6)であった。観察期間中、対照眼と手術眼とで眼圧差がありながら濾過胞消失によって効果消失と判定されたのは蒸留水群で1眼、MMC1分群で2眼、3分群で3眼、5分群で3眼であった。それ以外の例では眼圧差の消失時期と濾過胞消失の時期がほぼ一致していた。各群の効果持続日数を表に示し、Kaplan-Meier生命表法で得られた生存確率を図に示す(図1)。

各群での生存確率を比較した結果、蒸留水群とMMCの1分、3分、5分の各群との間にはいずれも有意差(各々 $P=0.007$ 、 $P=0.002$ 、 $P=0.008$)が認められた。またMMCの1分群と3分群、5分群との間にも有意差(各々 $P=0.033$ 、 $P=0.046$)が認められた。MMCの3分群と5分群($P=0.49$)の間には有意差が認められなかった。結膜縫合部からの房水漏出、明らかな前眼部感染症、角膜新生血管などの合併症は各群全例で認められなかった。

図1. 家兔における線維柱帯切除術の効果持続期間



Y: 生存確率 (%), X: 経過観察期間 (日)。

実線 (細) は対象群、

実線 (○) は0.04%MMC留置時間1分群、

実線 (●) は0.04%MMC留置時間3分群、

実線 (太) は0.04%MMC留置時間5分群を示す。

MMC群と対照群間には有意差が見られ、MMC1分群と3、5分群間にも有意差が見られたが、3分群と5分群間には差はみられなかった。

考按

今回の実験の結果、家兎眼に対する MMC 結膜下投与後の組織内濃度は使用する MMC 濃度、留置時間の両者に影響されるものの、前者により大きく依存しており、組織内 MMC 濃度上昇には留置時間を長くするより高濃度 MMC を使用の方が効果的であることが示された。一方家兎眼に対する 0.04%MMC 0.5ml (0.2mg)を用いた線維柱帯切除術では MMC 留置時間 3 分と 5 分で成績に差がなく、MMC 併用線維柱帯切除術では一定以上に組織内濃度を上昇させても濾過効果持続には差がない可能性が示唆された。

今回の実験では MMC の一定時間留置、洗浄後直ちに眼球を摘出し各組織内 MMC 濃度を測定した。MMC 結膜下注射、または結膜下塗布洗浄後の MMC 濃度は投与直後より急速に減少することが Kawase らによって報告されていることから²⁷⁾、今回得られた値は MMC 投与後の最大組織内 MMC 濃度を反映していると考えられる。今回の実験の中での MMC0.04%、5 分留置は Kawase らの実験でも行われているが、Kawase らの塗布、洗浄直後の結膜内 MMC 濃度 ($12.3 \pm 6.4 \mu\text{g/g}$) と今回の実験結果 (実験1: $14.9 \pm 5.0 \mu\text{g/g}$ 、実験2: $14.4 \pm 7.2 \mu\text{g/g}$) は近似しており、このことも今回得られた値が MMC 投与後の最大組織内濃度を反映していることを支持している。また今回の実験では MMC 0.04%投与 1、3、5 分について実験 1 と実験 2 で異なる家兎を用いて組織内濃度測定を行い、実験再現性の確認を行った。その結果、両実験での結膜、強膜、角膜内の MMC 濃度に差がなかったことから、実験結果の再現性は良好と考えられた。さらに MMC の投与濃度が使用するスポンジにより変化することが報告されているため⁴⁰⁾、今回の実験では MMC 投与全例で当科において MMC 併用線維柱帯切除術に使用している手術用スポンジ(MQA[®]、イナミ、東京)を使用し、スポンジの相違による組織内濃度の変化を最小限にするようにした。今回の家兎を用いて得られた結果がそのまま人眼に当てはまるわけではないが、Kawase らの報告²⁷⁾では、人眼線維柱帯切除術に際して MMC0.04%、5 分間留置洗浄後に切

除された線維柱帯 MMC 濃度が、家兎眼で同様の投与条件で得られた強角膜片から検出された MMC 濃度に近似する事が示されており、今回の測定値は臨床上の参考値として有用性があると考えられる。

組織内 MMC 濃度に関しての MMC 留置時間と投与濃度を用いた回帰式によれば、結膜では投与濃度 0.02% の増加で組織濃度が $6.7 \mu\text{g/g}$ 上昇するのに対して、留置時間の1分間延長は組織内 MMC 濃度を $1.7 \mu\text{g/g}$ 上昇させる。このことは、例えば、MMC の投与濃度が 0.04% (0.2mg, 0.5ml) から 0.08% (0.4mg, 0.5ml) に増加すると、組織濃度は $13 \mu\text{g/g}$ 上昇するのに対して、留置時間を 3 分から 5 分に延長しても、組織濃度の上昇は $3.3 \mu\text{g/g}$ に留まることを示している。また強膜では MMC 投与濃度を 0.04% (0.2mg, 0.5ml) から 0.08% (0.4mg, 0.5ml) に増加すると、強膜内 MMC 濃度は $7.6 \mu\text{g/g}$ 上昇するのに対して、留置時間を 3 分から 5 分に延長しても、濃度上昇は $1.9 \mu\text{g/g}$ の上昇に留まるに過ぎないことを示している。したがって、組織内 MMC 濃度を高くすることを目的とすれば同濃度の MMC を長時間留置するよりも、同じ留置時間で投与する MMC 濃度を増やした方が優れていることになる。

しかし、Khaw らの家兎に対する濾過手術実験では 0.02% (0.2mg/ml)-5 分留置にくらべて 0.04% (0.4mg/ml)-5 分留置の方が眼圧調整成績に優れているものの、後者においてのみ眼内炎、角膜血管新生、結膜からの房水漏出の合併症が観察されたと報告されている⁴⁵⁾。また人眼における報告でも Kitazawa らが手術既往のない原発開放隅角緑内障患者を対象とした線維柱帯切除術における、術中の MMC 0.004% 投与例と 0.04% 投与例を比較した結果、0.04% 投与例で眼圧調整成績が良好であったものの、0.04% 投与例にのみ白内障の進行、低眼圧黄斑症、処置の必要な前房消失などの合併症がみられたと報告している⁴⁶⁾。また、Mietz らは 0.02% MMC の留置時間 2 分と 5 分では眼圧調整成績に差はなく、5 分投与の方が合併症の頻度が高かったと報告している⁴⁷⁾。従って、MMC の投与濃度が高く、留置時間が長いほど、すなわち組織内 MMC 濃度が増加するほど合併症も増加すると考えられ、不必要な MMC の

投与が危険であることは明らかである。

また、今回行われた 0.04%MMC 投与後の部位別組織内 MMC 濃度測定実験の結果では、MMC 投与部のみならず対側の結膜、角膜、強膜、虹彩毛様体においても MMC が検出された。いずれの組織内 MMC 濃度も留置時間依存性であったが、対側での MMC 濃度は留置時間に関係せず、投与部濃度を 100%として対側結膜で 15～20%、強膜で 10～15%、角膜で 30～40%、虹彩毛様体で 15～20%程度であったことから、MMC 投与濃度の増加によって投与部組織内濃度が上昇した場合には対側の組織内濃度も著しく上昇すると考えられる。Mietz らの報告では、0.05mg/ml、0.1mg/ml、1.0mg/ml の MMC を家兎の結膜下に留置した結果、投与直下の毛様体上皮に浮腫、空胞形成、ミトコンドリアの変性が観察されたのみならず、対側にも投与濃度依存性の変化がみられたことが示され、高濃度投与例では1ヶ月後も組織傷害が持続したと報告されている³²⁾。また MMC (0.5mg/ml) を輪部周囲結膜下全周に投与すると房水産生が抑制されることも報告されており³⁴⁾、MMC 投与濃度の増加は全体の細胞毒性を強め、合併症の発生の一因となりうることが明らかである。従って、合併症軽減のためには出来る限り低濃度の MMC を短時間用いることが望ましいと考えられる。

今回の家兎眼に対する線維柱帯切除術実験の結果、0.04%MMC—1 分留置に比べて 3 あるいは 5 分留置が濾過胞維持、眼圧下降効果維持に優れているものの、3 分留置と 5 分留置の間に成績の差がないことが示された。このことは MMC 濃度を一定以上に高めても手術成績向上に貢献しないことを示唆している。一方、組織内濃度測定実験での MMC0.02%—5 分留置での結膜、強膜内 MMC 濃度は 0.04%—1 分留置に及ばなかったことから、0.02%投与では濾過効果の持続が得られないことも推察された。また 0.04%投与時の結膜、強膜の MMC 濃度が留置時間 1, 3, 5 分の間で時間依存性があるとはいえ、その差が数 μ g/g 程度にすぎないことから、MMC の濾過効果持続に関わる至適条件はきわめて狭い範囲の組織内 MMC 濃度に限定され

ていると考えられる。従って濾過効果持続を目的として MMC 濃度を単に増加させることは、例えば 0.08%—1 分留置での結膜 MMC 濃度 ($23.0 \mu\text{g/g}$) が 0.04%—5 分留置での値 ($14.9 \mu\text{g/g}$) をはるかに上回ることを考えると、多量の不要な MMC を投与することになり、手術成績向上に寄与しないばかりでなく、合併症増加につながると考えられる。従って手術に際して MMC の組織内濃度を高める場合には、投与する MMC 濃度を上げるのではなく、留置時間を長くすることの方が安全性に優れていると考えられた。

3) 毛様体に対する組織毒性の検討

目的

MMC 投与の毛様体への影響を房水動態機能検査ならびに組織学的検査によって検討する。

対象と方法

実験 1. 眼圧および房水産生、血液房水柵機能

実験には有色家兎(体重 2000g~3000g)を用いた。片眼を MMC 投与眼、他眼を対照眼とし、Urethan 1.0g/kg を静脈注射し、十分な麻酔効果が得られたことを確認して手術を行った。投与眼では結膜を角膜輪部より 3mm 離れた部位で切開し、結膜弁を形成した後、4種類の濃度の MMC 0.5ml を吸収させた手術用スポンジ片(MQA®, イナミ、東京)を結膜下に 5 分間留置した。5 分後にスポンジを除去し、生理食塩水約 100ml で結膜下を洗浄した。MMC は蒸留水に溶解し、濃度は 0%、0.04% ($0.2\text{mg}/0.5\text{ml}$)、0.1% ($1.0\text{mg}/0.5\text{ml}$)、0.4% ($2.0\text{mg}/0.5\text{ml}$) を使用した。対照眼には手術操作を加えなかった。

1) 眼圧測定: 毛様体の障害による眼圧低下の程度を調べるために行った。

空気式圧平眼圧計 (PTG®, Alcon, USA) を使用して術前、術後 1、2、3、7、14、21、28 日後に行った。実験は家兎 56 羽を 14 羽ずつ各濃度に分けて行った。各濃度群

で術前に測定された眼圧と術後測定された各眼圧の間の比較した。検定は対応のある t -test で行い、 $P < 0.05$ を有意差ありと判定した。

2) 房水産生:

両眼に 2%フルオレセイン点眼 12 時間後から 1 時間毎に 17 時間後まで、fluorophotometer (トプコン®、東京) を使用して、角膜および前房内濃度を測定し、房水流量を算出した。実験は家兎 28 羽を 7 羽ずつ各濃度 4 群に分けて行い、房水流量の測定は術前、術 3、7、14、28 日後に行った。各濃度群で術前に測定された房水流量と術後測定された各房水流量の比較した。房水流量の算出には Jones-Maurice II 法⁴⁰⁾を用いた。時間 t における房水流量を $f(t)$ 、角膜実質体積を V_c 、前房容積を V_a 、時刻 t における角膜濃度および前房内のフルオレセイン濃度をそれぞれ $C_c(t)$ 、 $C_a(t)$ とし、

$$f(t) = 0.9 \{ V_c C_c(t) / dt + V_a C_a(t) / dt \} / C_a(t)$$

このうち、 $C_c(t) / dt$ および $C_a(t) / dt$ は、各測定時刻と 1 時間後のフルオレセイン濃度の変化量を 60 で除し、それをその中間時刻における 1 分間当たりの濃度の変化量として求めた⁴¹⁾。 $C_a(t)$ は、各測定時刻とその 1 時間後のフルオレセイン濃度の平均を求め、中間時刻におけるフルオレセイン濃度とした。各時刻で求められた $f(t)$ を平均し、実験時間内の平均房水流量を求めた。検定には対応のある t -test を用い、 $P < 0.05$ を有意差ありと判定した。

3) フルオレセイン前房移行度: 血液房水嚢への影響を調べる目的で行った。

0.1 ml/Kg の 2%フルオレセインを静脈注射し、Fluorophotometer を使用して、30 分後に前房内濃度を測定した⁴²⁾。実験は家兎 28 羽を 7 羽ずつ各濃度 4 群に分けて行かない、測定は術前、術 3、7、14、28 日後に行った。測定結果を投与眼と対照眼の比で表し、術前値と術後各測定各値の比較を対応のある t -test を用いて行った。 $P < 0.05$ を有意差ありと判定した。

実験2. 組織学的検索

有色家兎(体重 2500~3000g) 12羽を用いた。片眼を MMC 投与眼、他眼を対照眼とした。Urethan 1.0g/kg を静脈注射し、十分な麻酔効果が得られたことを確認して投与眼に手術を行った。投与眼の結膜を角膜輪部より 3mm 離れた部位で切開し、結膜弁を形成した後、強膜弁形成は行わずに、MMC 0.5ml を吸収させた手術用スポンジ片(MQA®, イナミ、東京)を結膜下に 5 分間留置した。スポンジを除去後、生理食塩水約 100ml で結膜下を洗浄した。MMC は蒸留水に溶解し、濃度は 0.04% (0.2mg/0.5ml)、0.4% (2.0mg/0.5ml) の2群とした。投与 3 日後と 4 週後の投与眼と対照眼をそれぞれ各濃度について3眼ずつ摘出し、MMC 投与眼では投与直下部と、投与 180° 対側の毛様体を切り出し、対照眼では任意の部で毛様体を2カ所切り出し、2.5%グルタルアルデヒド・リン酸緩衝液 (0.1M, pH 7.4) に 4°C で、24 時間固定した。リン酸緩衝液にて洗浄後、1%オスミウム酸で 1 時間固定を行い、上昇エタノール系列で脱水後、プロピレン・オキサイドにて置換し、エポキシ樹脂にて包埋した。

光学顕微鏡による観察は 1 μ m 薄切標本を作成し、トルイジン・ブルー染色下で行った。またダイヤモンドナイフにて超薄切片を作成し、酢酸ウラニール染色とクエン酸鉛染色による二重染色を施し、透過型電子顕微鏡 (JEM-1200EX、日本電子、東京) で観察を行った。

結果

実験1. 眼圧および房水産生、血液房水柵機能

1) 眼圧:

測定結果を表に示す(表 4)。

表 4. 眼圧(mmHg)

	術前	1	2	3	7	14	21	28
0.4%	18.7±2.5	18.0±4.6	17.9±2.9	18.0±3.6	19.5±5.1	20.7±3.3	20.2±2.3	18.8±2.9
0.1%	20.1±2.5	18.6±4.6	19.1±3.2	18.6±2.9	20.1±2.5	21.1±2.0	19.8±2.1	19.3±2.9
0.04%	19.3±2.7	20.5±3.9	20.2±2.5	19.7±2.4	20.5±4.3	19.5±2.0	20.2±2.3	20.5±2.8
0%	18.4±2.4	19.5±3.7	19.0±2.3	19.2±3.6	20.0±4.7	20.1±2.3	20.2±1.8	20.5±1.8

(平均値±標準偏差)

MMC 濃度 0%、0.04%、0.1%、0.4%各群の術前眼圧値は各々 18.4±2.0mmHg、19.3±3.4mmHg、20.1±2.5mmHg、18.7±4.5mmHg で各群の間に差はなく、また各群内でも MMC 投与眼と対照眼との間で眼圧の差はなかった。術前値と術後各観察日で記録された眼圧値にも有意な変化はみられなかった。

2) 房水流量:

測定結果を表に示す。各群の術前房水流量は、0%群 : $2.58 \pm 0.33 \mu\text{l} / \text{min}$ 、0.04%群 : $2.63 \pm 0.21 \mu\text{l} / \text{min}$ 、0.1%群 : $2.56 \pm 0.26 \mu\text{l} / \text{min}$ 、0.4%群 : $2.55 \pm 0.21 \mu\text{l} / \text{min}$ 、で各群の間に有意差はなかった。各濃度群で MMC 投与前の房水流量と投与後各測定日の房水流量に有意差はなく、また各群内でも MMC 投与眼と対照眼との間に有意差はなかった。(表 5)

表 5. 房水流量 ($\mu\text{l} / \text{min}$)

	術前	3	7	14	28
0.4%	2.55 ± 0.21	2.63 ± 0.47	2.53 ± 0.35	2.66 ± 0.35	2.60 ± 0.35
0.1%	2.56 ± 0.26	2.50 ± 0.33	2.51 ± 0.29	2.50 ± 0.27	2.61 ± 0.27
0.04%	2.63 ± 0.21	2.64 ± 0.34	2.42 ± 0.18	2.59 ± 0.15	2.68 ± 0.23
0%	2.58 ± 0.23	2.51 ± 0.26	2.56 ± 0.20	2.48 ± 0.19	2.53 ± 0.16

(平均値 \pm 標準偏差)

3) フルオレセイン前房移行度:

各眼の「投与眼前房濃度/対照眼前房濃度」を表に示す。各群のフルオレセイン前房移行度は、0% : 0.98 ± 0.1 、0.04% : 0.98 ± 0.1 、0.1% : 0.96 ± 0.1 、0.4% : 0.95 ± 0.1 、で、各群の間に有意差はなかった(表 6)。

表 6. 前房移行度(投与眼/対照眼)

	術前	3	7	14	28
0.4%	0.95 ± 0.1	0.76 ± 0.4	0.87 ± 0.3	0.96 ± 0.2	0.95 ± 0.2
0.1%	0.96 ± 0.1	1.18 ± 0.3	1.11 ± 0.2	0.96 ± 0.2	1.08 ± 0.1
0.04%	0.98 ± 0.1	0.92 ± 0.4	0.96 ± 0.2	0.91 ± 0.2	0.93 ± 0.2
0%	0.98 ± 0.1	1.19 ± 0.3	0.80 ± 0.1	1.01 ± 0.1	1.02 ± 0.1

(平均値 \pm 標準偏差)

各濃度群で前房内濃度の変化は認められなかった。

実験2. 組織学的変化

1. 0.04%投与、3 日後:電子顕微鏡で観察された投与直下の毛様体突起では、無色素上皮細胞の基底陥入はほぼ正常に保たれていたが、無色素上皮層、および色素上皮層に所々でミトコンドリアの空胞変性がみられた(図 2)。投与対側では、無色素上皮細胞の基底陥入が明瞭に観察され、無色素上皮層、色素上皮層に空胞の形成はなく、ミトコンドリアも正常に保たれていた(図 3)。

2. 0.04%投与、28 日後:投与直下の電顕では、無色素上皮層、および色素上皮層に変性したミトコンドリアと、空胞変性がみられた(図 4)。投与対側では投与側ほどではないが、無色素上皮層に所々、空胞の形成が観察された。

3. 0.4%投与、3 日後:投与直下の毛様体突起では、光学顕微鏡下で毛様体実質が浮腫状で、無色素上皮層も肥厚している箇所が散在していた。投与直下の組織では、色素上皮細胞間の空胞形成が増大していた(図 5)。無色素上皮は基底陥入が減少しており、ミエリン様の電子密度の高い構造物を持つ変性したミトコンドリアが多数観察され(図 6)た。毛様体実質は、浮腫が目立つが、血管内皮細胞の tight junction は保たれており、血管壁の障害を示す所見はみられなかった(図 7)。投与対側では、色素上皮細胞間に空胞形成がみられ、無色素上皮細胞の基底陥入が減少し、変性したミトコンドリアも観察されたが、その頻度は投与直下と比べて少なかった。毛様体実質は投与側においても浮腫状であった。

4. 0.4%投与、28 日後:投与直下の無色素上皮細胞層および色素上皮細胞層に所々ミトコンドリアの空胞変性が観察された。色素上皮上皮層の基底陥入の消失している部位が観察された。色素上皮層の間隙や実質の浮腫は、3 日後より明らかに減少していた。投与対側では投与側ほどではないが色素上皮、無色素上皮層において軽度の組織間隙がみられるのみであった。

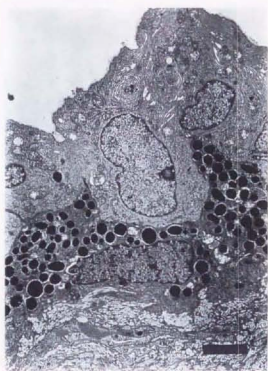


図2 0.04% 投与後3日の投与直下側電子顕微鏡写真。
無色素上皮、色素上皮細胞層にミトコンドリアの空胞変
性がみられる。バーは2 μ m

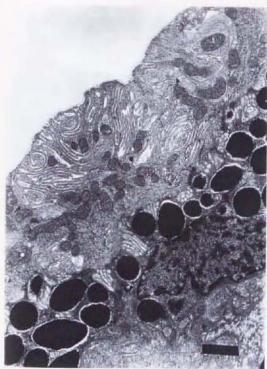


図3 0.04% 投与後3日の投与対側の電子顕微鏡写真。
ミトコンドリアは正常な構造を保っている。バーは1 μ m

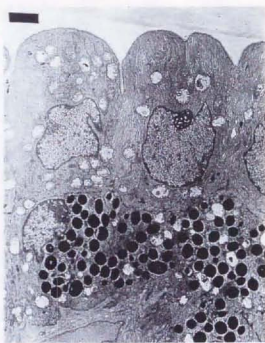


図4 0.04%投与後28日の投与直下側の電子顕微鏡写真
無色素上皮、色素上皮細胞層にミトコンドリアの空胞変
成がみられる。バーは1 μ m。

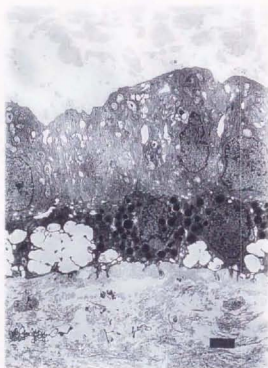


図5 0.4% 投与後3日の投与直下側の電子顕微鏡写真。
バーは2 μ m



図6 0.4% 投与後3日の投与直下側の電子顕微鏡写真。
ミトコンドリア内にミエリン様変性が観察される。
バーは500 nm



図7 0.4% 投与後3日の投与直下側の電子顕微鏡写真。
血管壁の tight junction が保たれている。バーは500 nm

考按

今回の実験結果より、0.04～0.4%の MMC 結膜下投与は眼機能的には眼圧および房水流量に影響を与えず、また、明らかな血液房水嚢破綻をきたさないことが示された。しかし、組織学的には毛様体に細胞傷害を示す所見が観察され、その組織変化は濃度依存性であり、また投与側のみならず、投与対側にも軽度ではあるが組織変化を生じることが確認された。

MMC 投与の眼機能に与える影響について Gandolfi らは、MMC (0.2%、0.5ml) を難治性緑内障性眼に対して結膜下注射し、60 日後に約 5mmHg の眼圧下降が得られたことを報告している⁵⁰⁾。毛様体での房水産生は実質内の血管からの限外濾過と無色素上皮細胞からの能動的な分泌によるもので⁵¹⁾、分泌には無色素上皮細胞の皺襞部が関与していると考えられているが⁵²⁾、MMC (0.5mg/ml) 併用線維柱帯切除術後患者の MMC 投与直下の毛様体上皮で細胞傷害が観察されていることから⁵³⁾、MMC 投与による眼圧下降、あるいは術後低眼圧は房水産生低下によることが示唆されている²⁹⁾³⁴⁾⁵⁰⁾⁵³⁾。家兎を用いた実験でも、MMC 反復大量投与 (0.4mg/ml、1ml、1～4 週間毎日結膜下注射) によって毛様体に無色素上皮細胞の浮腫、ミトコンドリアの変性などの組織変化が生じることが報告され⁵⁴⁾、また、1 回のみの投与 (0.1mg/ml、0.2mg/ml、0.4mg/ml) でも上皮細胞層の浮腫や空隙形成などの組織障害が観察されており²⁹⁾³³⁾、この変化は濃度依存性で、長期に渡って観察されることが知られている。従って、MMC 結膜下投与が房水産生低下、眼圧下降を生じる可能性は高いと考えられるが、現在まで実験的に房水産生能を検討した報告はなかった。今回の実験の結果、家兎眼では日常臨床で使用される 0.4% までの MMC 投与量では眼圧に有意な変化はなく、また房水産生量にも変化がないことが示された。しかし、組織学的には 0.4%、0.04% 投与のいずれでも投与側のみならず対側にも組織変化がみられた。傷害は投与側に強く、また 0.4% 投与で 0.04% 投与よりも高度であったが、この 0.4% 投与での組織学的変化は臨床了眼圧下降手段として行われる毛様体破壊術での変化

³⁵⁾に比べて軽度であった。毛様体破壊術での眼圧下降には通常毛様体組織の半周以上の破壊を必要とすること³⁶⁾を考慮すると、今回の実験で房水産生低下、あるいは眼圧下降が認められなかったことは MMC 投与直下の毛様体の限局的組織障害による機能低下は MMC 投与部以外の傷害の軽度な毛様体によって代償されている可能性を示している。しかし実験1)で行った組織内 MMC 濃度の検討では、MMC は投与直下の虹彩、毛様体のみならず、対側の毛様体にも投与直下の約 1/5 の濃度が検出されている。さらに今回の実験で毛様体の組織変化が濃度依存性であったことを考慮すると、高濃度の MMC 投与は、広範囲の毛様体傷害を生じ、房水産生低下を惹起し得ることを示しており、臨床上 MMC の過剰投与が著しい眼機能低下をきたすことを示唆している。このことは Kee らが猿眼に対して MMC (0.5mg/ml) を輪部周囲結膜下全周に塗布した結果、房水産生が抑制されたとする報告³⁷⁾からも支持される。

4) 小括

家兎結膜下への MMC 投与の結果、組織内 MMC 濃度は使用する MMC 濃度、留置時間の両者に影響されるものの、前者に大きく依存しており、組織内 MMC 濃度を上昇させるには留置時間を長くするより MMC の濃度を高くする方が効果的であることが示された。一方、家兎眼に対する 0.04% (0.2mg/0.5ml) MMC 併用線維柱帯切除術では MMC 留置時間 3 分と 5 分で成績に差がなく、MMC 併用線維柱帯切除術では一定以上に MMC 組織内濃度を上昇させても濾過効果持続には貢献しないことが示された。さらに毛様体での組織毒性を検討した結果、0.04% MMC は房水動態に影響を与えず、且つ組織障害も軽度であるのに対して、0.4% MMC では、全体としての毛様体機能には影響がみられなかったものの、毛様体組織で毛様体上皮の空胞形成、ミトコンドリアの変性、萎縮などの強い組織変化が生じることが明らかとなった。従って、濾過手術においては MMC 組織内濃度を必要以上に高めることが成績向上に

つながらないだけでなく合併症を増加させると考えられた。家兎眼での手術実験で、0.04% (0.2mg/0.5ml) - 3 分留置と 5 分留置ではいずれも 1 分留置より成績良好であったが両者の成績に差がなかったこと、また 0.08% - 1 分間留置での結膜 MMC 濃度 ($23.0 \mu\text{g/g}$) が 0.04% - 5 分留置での値 ($14.9 \mu\text{g/g}$) をはるかに上回ると考えると、実際の手術に際しては MMC 投与濃度を上昇させるよりも留置時間の調整によって組織内 MMC 濃度の調整を計ることがより安全であると考えられた。

2. 臨床研究

動物実験から得た結果より、線維柱帯切除術中の MMC の投与条件を 0.04% (0.2mg/0.5ml) 3 分留置とした。1993 年 1 月から 1996 年 1 月の間に東大病院で線維柱帯切除術を行い、12 月以上の経過観察が可能であった 121 眼(難治性緑内障 41 眼および原発開放隅角緑内障初回手術例 80 眼)を対象として手術を施行し、術後の眼圧調整成績および合併症の頻度を検討した。

手術に先立ち手術内容の説明が主治医、ならびに執刀者から患者に行われ、自由意志による文書での同意を得た。

眼圧調整成績の評価は Kaplan-Meier 生命表法を用いて行った。基準となる眼圧値を設定し、この眼圧値を越えた場合を手術不成功(生命表法では死亡に相当)と判定し、眼圧が基準値未満に調整される確率(%)を眼圧調整成績とした。判定基準値として眼圧の正常値の上限であり、大多数の報告で眼圧調整の指標とされている 21mmHg^{14),24)28)}および正常眼圧の平均値であり、視野障害進行阻止の確率が高い 16mmHg¹⁴⁾²⁷⁾の2つを設定し、解析を行った。

また、過去に当科で行った 5-FU 併用線維柱帯切除術、ならびに代謝拮抗薬非投与線維柱帯切除術の眼圧調整成績¹⁴⁾を同じ基準で解析算出し、今回得られた眼圧調整成績と比較、検討した。眼圧調整成績の比較は log rank test を用いて行い、 $P<0.05$ を有意水準として設定した。

これらの症例は 1985 年 11 月から 1990 年 4 月の間に東大病院で線維柱帯切除術を行い、12 月以上の経過観察が可能であった症例で 5-FU 群が 175 眼(原発開放隅角緑内障初回手術 115 眼、難治性緑内障 60 眼)、非投与群が 68 眼(原発開放隅角緑内障初回手術 46 眼、難治性緑内障 22 眼)であった。

MMC、5-FU、非投与各群の患者背景については、年齢は 12~83 (50.9 \pm 18.0) 歳、7~75 (46.4 \pm 15.9) 歳、10~59 (41.2 \pm 12.7) 歳で三者間に統計学的有意差はな

く、術前眼圧については、 $21 \sim 48 (24.6 \pm 4.3) \text{ mmHg}$ 、 $21 \sim 50 (24.4 \pm 3.3) \text{ mmHg}$ 、 $21 \sim 46 (25.1 \pm 4.9) \text{ mmHg}$ と、三者間に統計学的有意差はなかった。

症例は全例同一術者による手術であるが、手術施行時期が今回とは異なることや術者の手技習熟の影響など同一条件ではない点もあるため、これらの症例の眼圧調整成績との比較は参考として考按の中で行うこととした。

1) 線維柱帯切除術の成績

A: 難治性緑内障に対する手術成績

目的

MMC 併用線維柱帯切除術の有用性について、従来の線維柱帯切除術では十分な眼圧下降成績を得ることが困難とされる難治性緑内障患者を対象として検討する。

対象と方法

対象は、濾過手術既往 3 回以上、または結膜切開による白内障手術既往や網膜硝子体手術既往を有する症例、あるいは血管新生緑内障など、いわゆる難治性の緑内障 37 例 41 眼である。最大忍容薬物療法で眼圧調整不良のため MMC 併用線維柱帯切除術を行い、最低 12 か月以上 (12～40 か月) の観察を行った。年齢は 12～85 (46.0 ± 18.0) 歳、術前眼圧は $27.6 \pm 7.8 \text{ mmHg}$ であった。

手術手技は通常の線維柱帯切除術に従い 1. 輪部基底の結膜弁作成、2. 角膜輪部にサイドポート作成、3. 底辺 3mm、高さ 3mm の二等辺三角形の強膜半層弁を作成、4. 線維柱帯切除、5. 虹彩切除、6. 強膜弁縫合、7. 結膜弁連続縫合の順に行った。MMC の投与は強膜半層弁作成後に 0.04%、0.5cc (MMC 0.2mg) を手術用スポンジ (MQA[®]、イナモ、東京) 小片に含ませ、結膜弁下で強膜上に留置する方法で行った。留置時間は 3 分間とした。スポンジ片留置後、直ちに結膜弁切開部を鑷子で閉鎖

し、200ml のリンゲル液で眼球表面を洗浄した。またスポンジ除去後も 150ml のリンゲル液で結膜下、ならびに強角膜表面を洗浄した。強膜弁の縫合は眼内灌流液 (BSS Plus[®], Alcon Co., 米国) をサイドポートから前房内に注入し強膜弁から漏出がわずかに認められる程度に 10-0 ナイロンで 5~7 針縫合した。手術は全例同一の術者が行った。術後療法として、通常の線維柱帯切除術と同様に 0.1% リン酸ベタメサゾンナトリウム (リンデロン[®], 塩野義製薬、大阪)、0.3% オフロキサシン (タリビット[®], 参天製薬、大阪)、1% 硫酸アトロピン (アトロピン[®], 参天製薬、大阪) を点眼した。術後浅前房、脈絡膜剥離などの早期合併症の生じた症例では必要に応じて圧迫眼帯あるいは粘弾性物質の前房内注入を行った。術翌日以後濾過胞の形成が不良であったり、眼圧下降効果が不十分と判断された症例では Krypton laser を用いて強膜弁縫合糸切断術 (SRP) を施行し濾過量の増加を図った。術後は原則として1週間の入院とし、その間は毎日、術後1カ月以内は1週毎、その後は1月毎に経過観察を行い Goldmann 平圧眼圧計による眼圧測定、細隙灯顕微鏡検査、眼底検査を施行した。

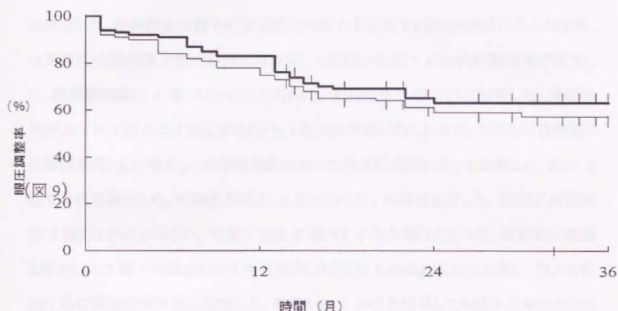
眼圧調整成績の解析には Kaplan-Meier 生命表法を用いた⁶⁰⁾。眼圧の調整基準として無治療時眼圧 21mmHg、16mmHg の2種類を設け、「術後の眼圧 \geq 基準値」が3回連続した最初の時点を調整不良とした。なお、各々の基準値での成績算出に際しては、強膜弁縫合糸切断術による眼圧調整を行った症例では術後1カ月以内の眼圧は計算から除外した。

視力は視力表で2段階以上の改善を改善、2段階以上の低下を低下、1段階以内の変化を不変とした。浅前房は細隙灯顕微鏡検査で術後前房深度が術前深度の1/2以下となった場合とし、白内障の判定基準は、2段階以上の視力低下がみられ、細隙灯顕微鏡で白内障がみられたものとした。また、5mmHg以下の眼圧が2か月以上持続した状態を長期低眼圧と定義し、これに2段階以上の視力低下を伴う黄斑部皺裂を合併したものを低眼圧黄斑症と判定した。

結果

術前眼圧(平均±標準偏差) $27.6 \pm 7.8 \text{ mmHg}$ に対して、術後 1、2、3 年の眼圧は 21 mmHg 未満良好例で 12.2 ± 4.6 、 12.8 ± 3.4 、 12.9 ± 5.8 で、いずれの時点でも術前と比較して有意に低下していた($P < 0.01$, paired t test)。Kaplan-Meier 生命表法で解析された術 36 か月後の眼圧調整成績は眼圧調整基準 21 mmHg 未満で $62.2 \pm 9.2\%$ 、 16 mmHg 未満では $57.2 \pm 9.0\%$ であったであった(図 9)。

図9. 眼圧調整成績



太線は眼圧調整基準: 21 mmHg 、細線は眼圧調整基準: 16 mmHg の眼圧調整成績を示す。
術後36月の眼圧調整成績は、
判定基準 21 mmHg で 62.2% 、判定基準 16 mmHg では 57.2% と解析された。

合併症として角膜上皮障害 3 眼(7%)、前房消失を含む浅前房 5 眼(12%)、前房出血 8 眼(20%)、脈絡膜剥離 6 眼(15%)、結膜創解離 2 眼(5%)、低眼圧黄斑症 5 眼(12%)、白内障 3 眼(7%)が観察された。

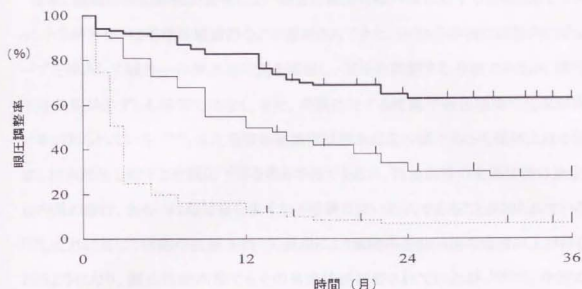
角膜上皮障害は 3 眼ともに術直後に観察されたが、角膜表面面積 1/2 以下の範囲に限局しており、全例 1 週間以内に無治療で治癒した。前房消失は 5 眼(12.2%)にみられた。そのうち 4 眼で圧迫眼帯を行い 1 眼では前房が形成されたが、遷延した 3 眼では粘弾性物質を用いた前房形成術⁶¹⁾が行われ、改善した。それ以外の症例では自然緩解した。前房出血は術中虹彩切除時の出血を含めて 8 眼(19.5%)にみられたが、血管新生性緑内障 1 眼で前房洗浄を要した以外は全例 3 日以内に無治療で消失した。脈絡膜剥離は 6 眼(14.6%)にみられた。全例術後 2 週以内に発症した。浅前房をともなった 4 眼では圧迫眼帯を行い、1 眼では改善が得られたが、3 眼では浅前房、脈絡膜剥離ともに遷延し、粘弾性物質を用いた前房形成術によって改善した。他の 2 眼では自然消失した。結膜創解離が 2 眼にみられ、再縫合を要した。低眼圧黄斑症は 5 眼(12.2%)にみられ、発症は術後 2 週～8 か月の間に起こった。保存的に経過を観察した 2 眼では発症から 3 か月以内に眼圧は 5mmHg 以上に上昇し、視力も低眼圧黄斑症発症前の値に回復した。発症から 1 か月を経過しても眼圧上昇のなかった 3 眼で濾過腔内に自己血液注入⁶²⁾を行った。このうち 1 眼では眼圧が 5mmHg 以上に上昇し、視力も回復した。1 眼は眼圧が 4～6mmHg で推移し、視力は低眼圧黄斑症発症前の値に回復した。残る 1 眼は浅前房、脈絡膜剥離を伴っており、複数回の自己血液注入によって前房は形成され、脈絡膜剥離も消失したが、眼圧は 5mmHg 以下のままで、視力は一時期発症前の値に回復したものの、白内障を合併したため再び低下し、現在経過観察中である。白内障の進行は 3 眼でみられ、2 眼で白内障手術を施行、他の 1 眼は経過観察中である。手術を行った 2 眼ではいずれも視力の向上が得られた。術後眼内炎が 1 眼で観察された。この症例は無水晶体眼で、線維柱帯切除術後 1 週目に眼内炎を発症し、硝子体手術が行われた。術後、視力は線維

柱帯切除術前値を維持し、眼圧は無治療で 21mmHg 未満に調整されていた。今回の対象で強膜壊死、晩発の感染症などの長期の重篤な合併症は 5-FU 群、非投与群ともに観察されなかった。

考按

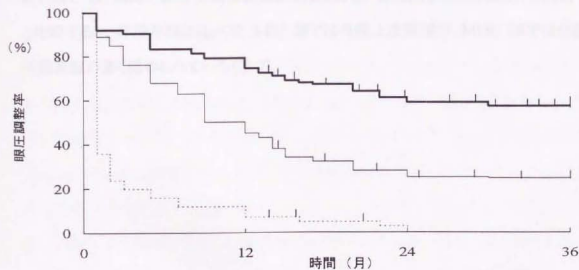
MMC 併用線維柱帯切除術の有効性の評価には、代謝拮抗剤非投与、あるいは 5-FU 併用線維柱帯切除術との比較が必要であるが、現在までにこれらの成績を比較した報告はない。今回行った難治性緑内障に対する MMC 併用線維柱帯切除術(以下、MMC 群)の眼圧調整成績は無治療時術後眼圧 21mmHg 未満を成功の定義として、術後 3 年で $62.2 \pm 9.2\%$ であった。この成績は以前当科で行った同じ術者による 5-FU 併用線維柱帯切除術(以下、5-FU 群)の成績 $27.8 \pm 6.6\%$ 、代謝拮抗剤非投与線維柱帯切除術(以下、非投与群)の $6.9 \pm 4.5\%$ と¹⁴⁾比べていずれも有意に良好であった(各々 $P < 0.01$: log-rank test、図 10)。また、術後眼圧 16mmHg 未満を基準としての調整成績も MMC 群で $57.2 \pm 9.0\%$ であるのに対し、5-FU 群では $24.5 \pm 6.4\%$ 、非投与群では 0% であり、MMC 群が有意に優れていた(各々 $P < 0.01$: log-rank test、図 11)。

図10. 眼圧調整基準:21mmHgの調整成績の比較



太線はMMC群、細線は5-FU群、点線は非投与群を示す。
MMC群の調整成績は62.2%、5-FU群は27.8%、非投与群は6.9%であった。

図11. 眼圧調整基準:16mmHgの調整成績の比較



太線はMMC群、細線は5-FU群、点線は非投与群を示す。
MMC群の調整成績は57.2%、5-FU群は24.5%、非投与群は0%であった。

従来、線維柱帯切除術が奏功しない場合の難治性緑内障に対する治療法としてシヤント手術あるいは毛様体破壊術などが選択されてきた。シヤント手術は前房内にチューブを挿入して眼外への房水流出路を確保し、眼圧を調整する方法であるが、眼圧下降効果が必ずしも確実ではなく、また、角膜に対する侵襲や術後感染の危険が高い事が知られている⁶³⁾⁶⁴⁾。また毛様体破壊術は房水産生の場合である毛様体上皮を破壊し房水産生を低下させ眼圧下降を得る手技であるが、術後高度の毛様体炎の発症、白内障の進行、あるいは眼球瘻を来すなど侵襲の強い術式であることが知られている⁵⁵⁾⁵⁶⁾。これに対して代謝拮抗剤 5-FU の使用により線維柱帯切除術の成績向上が得られるようになり、難治性緑内障でもその有効性が報告されていたが¹⁴⁾⁶⁵⁾⁶⁶⁾、今回の MMC 群での眼圧調整成績は 5-FU 併用線維柱帯切除術よりも明らかに優れており、今回の検討結果、MMC 併用線維柱帯切除術が、従来はシヤント手術あるいは毛様体破壊術を行わざるを得なかった難治性緑内障症例に対する新しい手技として有効であることが示された。

MMC 群の合併症として現在までに、角膜上皮障害、浅前房、脈絡膜剥離、低眼圧黄斑症、白内障の進行が報告されている²⁴⁾²⁵⁾²⁷⁾。現在までに合併症の頻度を非投与群、5-FU 群、MMC 群の 3 群で比較した報告はないが、前述の当科における成績でと比較すると、非投与群に比べて 5-FU 群では角膜上皮障害が、MMC 群では低眼圧黄斑症が多く認められている(表 7)。

表 7. 合併症の比較

	非投与群(%)	5-FU群(%)	MMC群(%)
角膜上皮障害	0	38.8	7.3
前房出血	21.3	9.1	20.0
浅前房	39.4	29.3	12.0
脈絡膜剥離	30.9	24.7	15.0
低眼圧黄斑症	1.1	2.4	12.0
白内障	7.1	8.2	7.0

角膜上皮障害は従来の5-FU併用線維柱帯切除術では約40～60%とされていたが、MMC群で約7.3%へと減少しており、これもMMC併用線維柱帯切除術の利点と考えられた。さらに5-FU併用の場合には術後一定期間の結膜下注射が必要で、角膜上皮障害の程度によっては5-FU結膜下注射を中止せざるを得ず、結果として必要量の5-FUを投与できず、眼圧調整不良となった症例が多くみられたことを考慮すると、MMC併用線維柱帯切除術の患者に与える恩恵は大きいと考えられた。また濾過手術に不可避とされる浅前房の頻度が今回は12.2%に見られたが、5-FU群で29.3%、非投与群で39.4%と、MMC群の方が低い頻度であり、脈絡膜剥離もMMC群14.6%に対して、5-FU群24.7%、非投与群で30.9%と、MMC群の方が低い頻度であった。一方術後低眼圧黄斑症の発症率はMMC群にのみ12.2%と高率に観察され、MMC併用線維柱帯切除術の施行に当たって最も注意すべき合併症と考えられた(表7)。

低眼圧黄斑症の発症は過剰濾過、あるいはそれに伴う浅前房、脈絡膜剥離の他に房水の産成低下が原因として考えられているが、今回の検討では、MMC群での浅前房発症率、脈絡膜剥離発症率はともに5-FU群、非投与群と比して低いものであり、房水産生低下を原因として考慮しなければならない。本研究で既に行った家兎への実験(実験1—3毛様体に対する組織毒性の検討)では今回のMMC投与量での房水産生低下は認められなかったが、房水産生の場合である毛様体の組織傷害は認められており、またMMCの結膜下投与は濃度依存性に毛様体組織障害による房水産生低

下をきたすとの動物実験報告²⁹⁾³⁴⁾⁵⁰⁾⁵³⁾もあることから、毛様体毒性については種による相違のほか、個体差が大きい可能性があり、臨床上 MMC の投与量の調整が、MMC 併用線維柱帯切除術の今後の課題と考えられた。

また、術後眼内炎が1例に見られたが、入院中の術1週間後の発症であり、感染時期として術中あるいは術直後の可能性が高く、本例は従来の濾過手術合併症としての晩発感染症とは区別する必要があると思われる。

今回の検討の結果、MMC 線維柱帯切除術は低眼圧黄斑症の増加が問題となるとしても従来、手術成績の極めて不良であった難治性緑内障に対する手術療法として有用な方法であると考えられた。

B:原発開放隅角緑内障初回手術例での成績

目的

臨床上、線維柱帯切除術の手術対象として最も高頻度である原発開放隅角緑内障の初回手術例に MMC を併用し、その有効性、安全性を検討する。

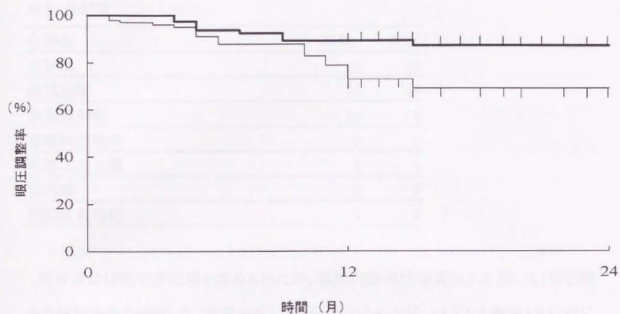
対象と方法

対象は原発開放隅角緑内障と診断された患者の内、最大忍容薬物療法で眼圧調整が不良で、かつ、内眼手術既往のない70例80眼であった。対象の性別は男性が38例46眼、女性が32例34眼であった。手術時の年齢は28～83歳 (57 ± 14.6 : 平均値 \pm 標準偏差)、術前眼圧は21～32 (24.6 ± 4.3) mmHgであった。術後経過観察期間は12～28カ月 (18.6 ± 4.0) であった。手術手技ならびに術後療法、術後の経過観察方法、合併症の判定は「2. 臨床研究 1) MMC併用線維柱帯切除術の成績、A難治性緑内障に対する手術成績」と同様に行った。

結果

術後80眼中50眼(63%)で強膜弁縫合糸切断術が行われた。前述した2つの眼圧調整基準に沿って解析された生存曲線を図に示す(図12)。術後24カ月の最終観察時における眼圧調整成績は判定基準21mmHg未満で $86.8 \pm 4.2\%$ 、判定基準16mmHg未満で $68.3 \pm 6.6\%$ と解析された。対象の平均観察期間である12カ月後の時点での判定基準21mmHg未満における眼圧調整良好例 34眼の眼圧は3～17mmHgの間に分布し、平均眼圧は 10.2 ± 5.2 mmHgであった。

図12. 眼圧調整成績



太線は眼圧調整基準:21mmHg、細線は眼圧調整基準:16mmHgにおける眼圧調整成績(%)を示す。
術後24月の眼圧調整成績は、
判定基準21mmHgで86.8%、判定基準16mmHgで68.3%と解析された。

術後合併症を表に示す(表8)。

表8. 合併症

合併症	眼数	%
浅前房	18	23
前房出血	10	13
脈絡膜剥離	14	18
結膜創部離解	0	0
角膜上皮欠損	1	1
白内障	5	7
低眼圧黄斑症	7	9

術直後に18眼で浅前房が認められたが、前房内粘弾性物質注入を要した1眼を除き全例無治療で回復した。前房出血は10眼に認められたが、いずれも術後3日以内に自然消失した。脈絡膜剥離は14眼に認められたが、浅前房で前房内粘弾性物質注入を要した1眼を除き全例無治療で回復した。長期低眼圧は20眼で観察され、低眼圧黄斑症は7眼に認められた。うち3眼は強膜弁縫合糸切断術後に発症した例で、切糸翌日より眼圧 0 - 5mmHgとなり、2か月以上経過して黄斑症を発症したが、発症後、8週以内に全例無治療で眼圧が6 - 13mmHgに上昇し黄斑部皺襞が消失し視力も回復した。残り4眼中2眼では濾過胞への自己血注入により眼圧が、各々1mmHg、4mmHgから4週以内に9mmHg、12mmHgへと上昇し、黄斑部皺襞消失と視力改善が認められた。他の2眼は眼圧が各々 3、4mmHg前後であったため経過観察したが、8週以上経過しても眼圧は変化なく、黄斑部皺襞が固定化し視力改善は得られなかった。

考按

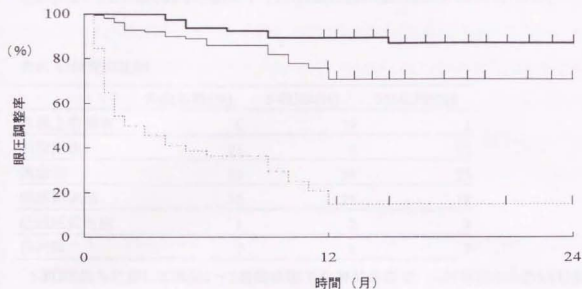
手術既往のない原発開放隅角緑内障70例80眼にMMC併用線維柱帯切除術を行った結果、術2年後の無治療での眼圧調整成績は判定基準21mmHg未満で86.8±

4.2%、判定基準16mmHg未満で $68.3 \pm 6.6\%$ と解析された。合併症として、浅前房18眼(23%)、脈絡膜剥離14眼(18%)、角膜上皮障害1眼(1%)、白内障5眼(7%)、低眼圧黄斑症7眼(9%)を認めた。

これまでのMMC併用線維柱帯切除術の報告の中で、原発開放隅角緑内障の初回手術例を対象としたKitazawaらの報告では22眼を対象として術後17ヶ月目の眼圧調整成績は81.8%と算出されている²⁴⁾。また35眼を対象としたChiharaらの報告でも、眼圧調整成績は13カ月で84.3%と報告されており⁶⁷⁾、これらの報告での眼圧判定基準は本研究と多少異なるが、基準眼圧値は21mmHgであり、その成績は本研究と近似した値である。

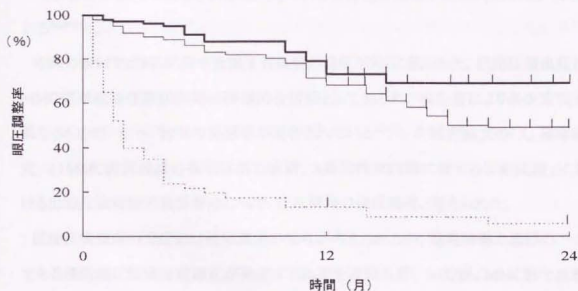
今回の初回MMC併用線維柱帯切除術の成績を評価するに当たって、過去に当科で報告した原発開放隅角緑内障に対する初回線維柱帯切除術での代謝拮抗薬非投与による線維柱帯切除術(以下、非投与群)ならびに5-FU併用線維柱帯切除術(以下、5-FU群)の成績と比較すると、術後24カ月の時点での無治療眼圧調整成績は眼圧調整基準21mmHg未満で、非投与群で15.5%、5-FU群で71.8%であったのに対し、今回のMMC使用線維柱帯切除術では、86.8%であり、MMC群は非投与群($P < 0.01$:log rank test)に比し、有意に優れた成績であったが、5-FU投与群($P = 0.23$:log rank test)とは有意な差はなかった。(図13)。また、眼圧調整基準16mmHg未満では、非投与群で5.8%、5-FU群で49.6%であったのに対し、今回のMMC使用線維柱帯切除術では、68.3%であり、MMC群は、非投与群($P < 0.01$:log rank test)、5-FU投与群($P < 0.05$:log rank test)に比し、いずれも有意に優れた成績を示した(図14)。

図13. 眼圧調整基準: 21mmHgの調整成績の比較



太線はMMC群、細線は5-FU群、点線は非投与群を示す。
MMC群の調整成績は86.8%、5-FU群は71.8%、非投与群は15.5%であった。

図14. 眼圧調整基準: 16mmHgの調整成績の比較



太線はMMC群、細線は5-FU群、点線は非投与群を示す。
MMC群の調整成績は68.3%、5-FU群は49.6%、非投与群は5.8%であった。

術後合併症に関して、角膜上皮障害についてはMMC群では5-FU群に比して有意に少ないことが知られているが²⁴⁾、今回も1眼に認められたのみであった(表9)。

表9. 合併症の比較

	非投与群(%)	5-FU群(%)	MMC群(%)
角膜上皮障害	0	39	1
前房出血	21	9	13
浅前房	39	29	23
脈絡膜剥離	30	25	18
低眼圧黄斑症	1	2	9
白内障	7	8	7

5-FUは投与に際して術後1～2週間結膜下注射が必要で、注射部位からの5-FUが角膜上皮を障害する可能性が高いのに対して、MMCは術中1回のみの投与で、且つ投与後すぐ洗浄しているため角膜表面にMMCが接触する機会が少なく、このため角膜上皮障害の発生率が低いと考えられる。浅前房、脈絡膜剥離は非投与群、5-FU群、MMC群ともに高率に認められたが、MMC群では他に比べて発症率が低く、今回のMMC群では術後のレーザー切糸術を前提として手術が行われ、従来の術式に比べて強膜弁が強めに縫合されたことが、これら合併症の発症予防に貢献したと考えられる⁵⁸⁾⁽⁵⁹⁾⁽⁶³⁾。

今回の検討ではMMC群で低眼圧黄斑症の発症が9%に見られた。低眼圧黄斑症はMMC併用線維柱帯切除術の特徴的合併症として知られ、報告者により多少定義が異なるものの8～22%の発症率が報告されている⁽⁶⁰⁾⁻⁽⁷³⁾。本研究論文の「2. 臨床研究 1) MMC併用線維柱帯切除術の成績、A難治性緑内障に対する手術成績」における低眼圧黄斑症の発症率は12%で、ほぼ同様の発症頻度と考えられた。

低眼圧黄斑症の発症には過剰濾過の関与が考えられるが、過剰濾過の指標の一つである浅前房に低眼圧黄斑症が発症する比率を非投与群、5-FU群、MMC群で比較すると各々0.25%、6.7%、50%であり、浅前房自体の発症頻度は3群で同等もしくは

MMC群で低いにも関わらず、MMC群で低眼圧黄斑症の発症が明らかに高く、このことから過剰濾過が直接的にMMC群での低眼圧黄斑症発症に寄与しているとは考えがたい。報告されているMMC併用線維柱帯切除術における低眼圧黄斑症の発生時期が術後2～26カ月と術後長期にわたっていることから⁷³⁾、MMCの細胞増殖抑制効果が強力で長期的に過剰濾過を来している可能性もあるが、MMC投与による毛様体組織の破壊³⁰⁾³³⁾、あるいは房水産低下³⁴⁾を示唆する報告もあり、MMC使用による低眼圧黄斑症の発症に関しては結膜下への過剰濾過のみならず房水産生低下あるいは強膜ぶどう膜流の増加などが関与している可能性がある。

低眼圧黄斑症の治療として、強膜弁再縫合、自己血液注入⁶²⁾、トリクロ酢酸の塗布⁷³⁾などが報告されているが確実な治療法は不明である。今回認められた7眼の低眼圧黄斑症のうち、4眼は特別な処置なしに眼圧調整良好なまま発症後8週以内に自然治癒、2例は濾過胞への自己血注入により注入後4週以内に回復したが、残り2眼は眼圧が3～4mmHgで経過観察したところ、8週以上経過しても眼圧が変化無く、皺襞が固定化し視力回復が得られなかった。低眼圧黄斑症の発症原因、ならびに予防法の研究と併せて、発症した低眼圧黄斑症をいつ、どの方法で治療するかについて今後の検討が重要と考えられる。

今回の検討は術後観察期間が7～24か月と比較的短く、眼圧下降による視野障害の進行停止について論ずるには不十分であるが、今回の検討によってMMC併用線維柱帯切除術は原発開放隅角緑内障の初回手術においても、代謝拮抗剤を使用しない線維柱帯切除術に比べて格段に優れた眼圧調整成績を有し、また5-FU併用線維柱帯切除術に比べても、術後結膜下注射なしに優れた成績の得られる術式であることが明らかとなった。また合併症に関しても、晩期併発症の可能性などについては、なお慎重な観察が必要とされるものの、術中1回の投与ですむ簡便性、角膜障害の発症率の低下などを考慮すると、MMCを併用する線維柱帯切除術は緑内障手術療法として従来の手技に優る治療法であると考えられた。

2) 術後低眼圧症軽減を目的とした眼圧目標値の検討

目的

これまでの臨床研究の結果、MMC 併用線維柱帯切除術が良好な眼圧調整手段であり、合併症の点でも従来の 5-FU 併用線維柱帯切除術に比べて角膜上皮障害が少ない等、遜色のない術式であることが確認された。しかし MMC 併用線維柱帯切除術の合併症として術後低眼圧黄斑症の発症が高頻度であることも明らかとなった。本研究では、低眼圧黄斑症の発症要因を患者背景および術直後の所見から検討し、長期的眼圧調整成績を低下させずに低眼圧黄斑症を減じる可能性を検討する。

対象と方法

対象は本研究論文の「2. 臨床研究 1) MMC 併用線維柱帯切除術の成績、B 原発開放隅角緑内障初回手術例での成績」で対象となった初回 MMC 併用線維柱帯切除術例 70 例 80 眼のうち、強膜弁縫合糸切断術などの術直後眼圧調整手段が術後1週以内に講じられ、且つ、その後さらに1週間、毎日眼圧測定が行われた症例で、術後最低2週間にわたって眼圧値、細隙灯顕微鏡所見、眼底検査所見が揃っている 59 例 59 眼である。対象の年齢は 28~83 (平均±標準偏差: 56.9±14.1) 歳、観察期間は 12~28 (平均±標準偏差: 16.6±4.0) 月で、術前眼圧の分布は最大認容薬物療法下で 21~50 (平均±標準偏差: 22.7±5.8) mmHg であった。検討に際しては1症例1眼を対象とし、両眼手術例では先に手術を施行した眼を対象眼とした。

術後眼圧調整良好の判定基準を正常人眼圧平均値である 16mmHg¹⁾⁴⁹⁾ならびに長期低眼圧を低眼圧症の一般的定義である 5mmHg^{60)~63)}と定め、術後眼圧が無治療で 16mmHg 以上を 3 回連続もしくは 5mmHg 以下を 2 回連続記録した最初の時点を死亡として各々の生存確率を求め、各々の生死を予測しうる臨床因子について Cox proportional hazards model⁷⁴⁾を用いて解析した。解析に用いた臨床因子は年齢、術後 2 週以内の浅前房の有無、術後 2 週以内の脈絡膜剥離の有無、術後 2 週以内の眼

圧値である。浅前房は、細隙灯顕微鏡所見で前房深度が術前の 1/2 以下であった場合と定義した。術後 2 週以内の眼圧値については、術後 1~2 日 (以下、 $IOP_{1,2}$)、3~8 日 (以下、 $IOP_{3,8}$)、9~14 日 (以下、 $IOP_{9,14}$) の 3 期間に分類し各期間の平均眼圧をその期間の眼圧値とした。さらに Kalbfleisch and Prentice の方法⁷³⁾に基づき、Cox 回帰の結果による相関因子の値から予測される生存曲線を求め、眼圧調整成績および長期低眼圧の発症率を予測した。なお、低眼圧黄斑症は術後眼圧 5mmHg 以下が 2 ヶ月以上継続し、かつ黄斑部に皺襞が形成され視力が 2 段階以上低下した例と定義した。

結果

術後 59 眼中 34 眼で強膜弁縫合糸切断術が行われ、平均切糸数は 1.6 ± 0.8 本、施行時期は平均 4.0 ± 1.5 日であった。術後早期の合併症 (表 10) として、浅前房 7 眼、脈絡膜剥離 9 眼、低眼圧黄斑症 4 眼が観察された。

表10. 術後早期合併症

合併症	眼数	%
浅前房	7	12
脈絡膜剥離	9	15
低眼圧黄斑症	4	8

対象の眼圧調整成績 (無治療 16mmHg 未満) は 24 か月で $65.0 \pm 6.3\%$ (Kaplan-Meier 生命表法) であった。また経過良好眼での平均眼圧は、6 か月で 10.1 ± 3.9 mmHg (51 眼)、12 か月で 12.6 ± 5.4 mmHg (37 眼)、24 か月で 13.4 ± 1.3 mmHg (14 眼) で、これらの値は初回 MMC 併用線維柱帯切除術例全 80 眼 (「2. 臨床研究 1) MMC 併用線維柱帯切除術の成績、B 原発開放隅角緑初回手術での手術成績」) での結果と差はなく、今回の対象選択に偏りはないと考えられた。また、長期低眼圧の発症率は 24 ヶ

月で $27.9 \pm 6.3\%$ であった (Kaplan-Meier 生命表法) が、この値も初回 MMC 併用線維柱帯切除術例全 80 眼での長期低眼圧発症率、 25% と差はなかった。術後の眼圧平均値は 1～2 日が $2.5 \sim 47.5$ (平均 $17.4 \pm 8.6 \text{ mmHg}$)、3～8 日が $3.3 \sim 24.5$ (平均 $12.5 \pm 4.7 \text{ mmHg}$)、9～14 日が $2.5 \sim 19.0$ (平均 $10.1 \pm 3.8 \text{ mmHg}$) であった。Cox proportional hazards model による解析の結果、 IOP_{9-14} が眼圧調整成績、長期低眼圧発症率の両者と有意 (各々 $P=0.019$ 、 $P=0.011$) に相関し、眼圧調整成績でのハザード比は 1.21、長期低眼圧発症率でのハザード比は 0.80 であり、術後2週目の眼圧が高いほど眼圧調整成績は低くなり、長期低眼圧発症率も低くなること示された (表 11、12)。

表 11. 眼圧調整良好における Cox proportional hazards model の結果

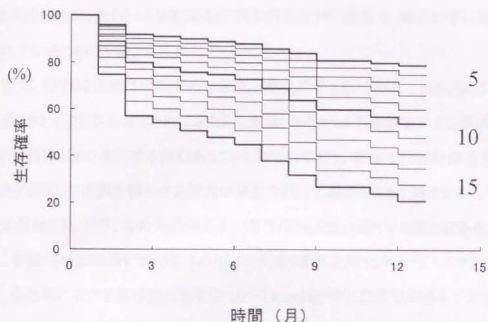
因子	ハザード比	P-値
$\text{IOP}_{\text{mean}(1-2)}$	1.06	0.080
$\text{IOP}_{\text{mean}(3-8)}$	1.03	0.414
$\text{IOP}_{\text{mean}(9-14)}$	1.21	0.019
脈絡膜剥離	0.64	0.562
浅前房	0.71	0.643
年齢	0.98	0.415

表 12. 長期低眼圧における Cox proportional hazards model の結果

因子	ハザード比	P-値
$\text{IOP}_{\text{mean}(1-2)}$	0.93	0.112
$\text{IOP}_{\text{mean}(3-8)}$	0.88	0.062
$\text{IOP}_{\text{mean}(9-14)}$	0.80	0.011
脈絡膜剥離	3.00	0.091
浅前房	2.46	0.152
年齢	0.96	0.066

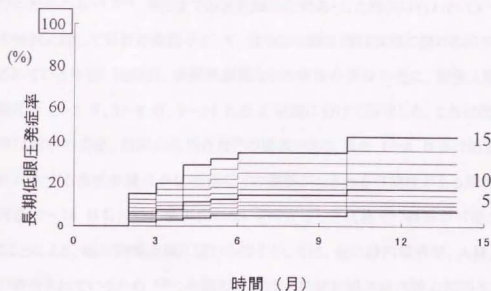
Kalbfleish and Prentice の方法に基づき、Cox回帰の結果を用いて予測した各々の生存曲線を示す(図15、16)。

図15. 術後9-14日の眼圧平均値から予測される眼圧調整成績



ハザード比からシミュレーションされた長期眼圧成績
9～14日の眼圧平均値が低いほど長期眼圧調整成績は良好となる

図16. 術後9-14日の眼圧平均値から予測される長期低眼圧発症率



ハザード比からシミュレーションされた長期眼圧成績
9～14日の眼圧平均値が高いほど長期眼圧調整成績は良好となる

考按

今回の検討の結果、MMC 併用線維柱帯切除術後の特徴的合併症である低眼圧黄斑症の発症、あるいは長期的眼圧調整成績維持と術後 2 週目の平均眼圧値が関連していることが示唆された。

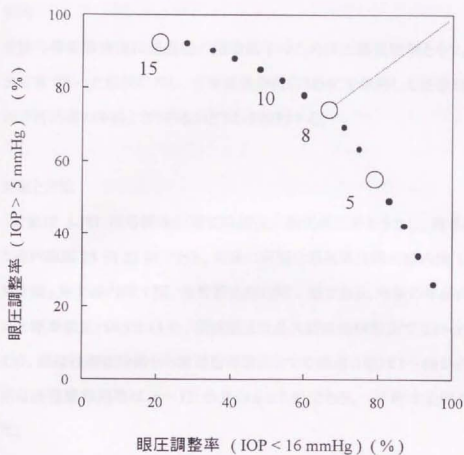
従来、緑内障治療には眼圧の正常化、即ち正常上限である 21mmHg 未満に眼圧を保持することが必要とされてきたが、薬物、あるいは手術療法による眼圧正常化の後も視野障害の進行する例があることも知られており、近年では視野障害程度と治療後眼圧値との関係の検討から障害が高度な例ほど眼圧をより下降させる必要があることが指摘され^{76)~78)}、緑内障治療における目標眼圧値は低くなる傾向にある。これに対し、線維柱帯切除術における MMC の併用は眼圧正常化率を向上させたばかりでなく、成功例における術後眼圧も平均 10~13mmHg⁴¹⁾⁴⁰⁾と正常平均値を下回る値が得られ、現代の緑内障治療の要求に応えられる手技となったといえる。しかし、成績の向上、術後眼圧レベルの下降は一方で、過剰濾過あるいは房水産生機能障害による低眼圧黄斑症発症というあらたな合併症をもたらすこととなった⁶⁹⁾⁷⁰⁾⁷⁹⁾。これに対して、これまでの緑内障手術成績の検討は術後眼圧正常化に関わる因子についてのみ解析が行われたのみで⁸⁾⁷⁶⁾、現在まで術後低眼圧を対象とした解析は行われていない。今回の検討に際して解析対象因子として、従来から眼圧調整成績に関わる因子として指摘されている年齢、浅前房、脈絡膜剥離などの術後合併症の他に、術後入院期間中の眼圧を 1~2 日、3~8 日、9~14 日の 3 期間に分けて採用した。これは術後 1~2 日目は術中の炎症、前房出血残存などの要素があり、また 3~8 日目は術後の眼圧変化に対する強膜弁縫合糸切断術などの調整がなされる可能性がある期間で、さらに術後 9~14 日目は特に合併症のない限り安定した状態での観察が可能な期間であることによる。眼圧調整成績に関わる因子としては、他に緑内障病型、人種、手術既往が報告されているため⁸⁾⁷⁶⁾、今回の対象は原発開放隅角緑内障の初回手術例とした。その結果、MMC 併用線維柱帯切除術の眼圧調整成績および長期低眼圧発症

率ともに、術後 9～14 日の眼圧平均値と有意の相関を示した。

本研究で得られたハザード比から IOP_{9-14} で眼圧調整成績と長期低眼圧発症率を予測すると、 IOP_{9-14} が 5mmHg の時の眼圧調整成績は 78.7%、長期低眼圧は 43.6%であり、10mmHg の時の眼圧調整成績は 54.4%、長期低眼圧は 18.2%となった。また IOP_{9-14} が 15mmHg の時は眼圧調整成績 21.4%、長期低眼圧 6.8%となり、Receiver operating characteristic plot (以下 ROC) では、 IOP_{9-14} が 8mmHg の時に、最も両者の均衡がとれることを示した (図 17)。

この結果より、術後早期に行われる強膜弁縫合糸切断術の目標は 8mmHg が適当であることが示唆された。一方 IOP_{9-14} が 5mmHg に低下している場合には、この期間での強膜弁縫合糸切断術施行には注意が必要であると考えられた。

図17. 眼圧調整良好と長期低眼圧のROC



術後9-14日の眼圧平均値(1~15mmHg)から予測される
 長期眼圧調整(IOP < 16 mmHg)の成績を横軸に
 長期眼圧調整(IOP > 5 mmHg)の成績を縦軸に示す。
 ROCから、8mmHgが最もバランスのとれた眼圧値であることが示された。

3) 濾過胞再建術の手術成績

目的

線維柱帯切除術後に濾過胞の機能低下のため眼圧調整困難となり、従来は再手術が必須であった症例に対し、手術既往部位にMMCを併用した濾過胞再建術を行い、再手術回避の手技となり得るかどうかを検討する。

対象と方法

対象は 5-FU 併用線維柱帯切除術後に眼圧再上昇をきたし、再手術が必要とされた緑内障 25 例 25 眼である。対象の病型は原発開放隅角緑内障 16 眼、続発緑内障 7 眼、先天緑内障 1 眼、血管新生緑内障 1 眼である。対象の年齢は 18～75 歳(平均±標準偏差: 54.5±15.8)、術前眼圧は最大認容薬物療法で 21～35mmHg (23.8±4.3)、線維柱帯切除術から濾過胞再建術までの経過日数は 1～88 か月 (19.7±20.3)、術後経過観察期間は 6～12 か月 (8.6±1.9) である。手術は全例外来通院で行った。

手術に際しては癒着化した濾過胞形態が、結膜下に濾過胞が全く観察されない濾過胞消失例(以下、消失例)と、限局した濾過胞が存在する濾過胞限局例(以下、限局例)に分かれることから、術式の一部を濾過胞形態に応じて変更した。

両群共通の術式として線維柱帯切除術切除時に作成した強膜弁輪部から 5～7mm 離れた部位に、約 2mm の結膜切開を加え、バナス剪刀を用いて癒着した結膜およびテノン組織を、強膜弁上を中心に、範囲 1 象現を目安として剥離した。その後濾過胞消失例では線維柱帯切除術で作成された強膜弁が露出するまで、また濾過胞限局例では濾過胞を破らないぎりぎりの所まで結膜-テノン囊を剥離し、この時点で、0.04% MMC 0.5 ml を吸収させた手術用スポンジを結膜下に留置した。結膜切開部位を鉗子で閉鎖し、200ml のリンゲル液で眼球表面を洗浄した。5 分間留置した後スポンジ

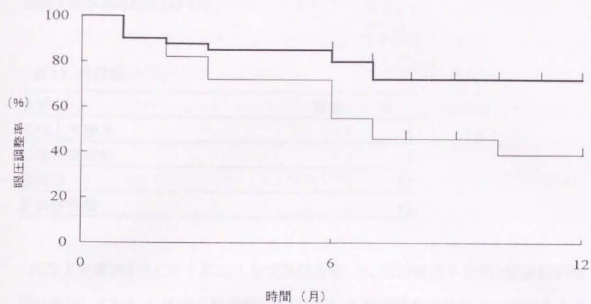
を除去し、150ml のリンゲル液で結膜下、ならびに強角膜表面を洗浄した。次に、濾過胞消失例では癒着している強膜弁の輪部に垂直な一辺に沿ってバナス剪刀で切開を加えた後、強膜弁下に剪刀を挿入し癒着を剥離した。限局例では濾過胞壁と強膜の癒着部を全周切開した。次いで、前房からの房水の流出を確認した後、10-0 ナイロン糸で結膜を連続縫合し、房水の漏れていないことを確認し手術を終了した。

術翌日、1 週後、1 か月後より毎月、細隙灯顕微鏡検査および眼圧測定を行った。眼圧調整成績の判定基準値を投薬の有無に関係なく 21mmHg、16mmHg とし、Kaplan-Meier 生命表法を用い、眼圧下降薬の併用の有無に関わらず、眼圧が判定基準値を 3 回連続して超える最初の月を死亡と定義して解析を行った。

結果

Kaplan-Meier 生命表法による解析で求められた MMC 併用濾過胞再建術(以下 MMC 群)の眼圧調整成績は、判定基準 21mmHg では術後 12 か月で $72.0 \pm 9.0\%$ であり、判定基準 16mmHg では術後 12 か月で $38.3 \pm 8.5\%$ であった。(図 18)

図18. MMC併用濾過胞再建術の眼圧調整成績



太線は判定基準21mmHgでの成績、細線は判定基準16mmHgでの成績を示す。
 眼圧調整成績は判定基準21mmHgで72.0%
 判定基準16mmHgで38.3%であった。

術後合併症として、角膜上皮障害が 1 眼、結膜創解離 1 眼、浅前房が 3 眼、脈絡膜剥離 3 眼がみられた(表 13)。

表 13. 合併症

合併症	眼数	%
角膜上皮障害	1	4
結膜創部離解	1	4
浅前房	3	12
脈絡膜剥離	3	12

角膜上皮障害を生じた 1 眼は 3 日で自然治癒した。前房形成不全例と脈絡膜剥離例は重複しており、1 眼は自然治癒したが、残る 2 眼では粘弾性物質の前房注入を行った結果、前房が形成され、その後の再発はみられなかった。

また、MMC 群の消失例(10 眼)と限局例(15 眼)では、判定基準 21mmHg(消失例: $68.8 \pm 6.0\%$ 、限局例: $74.4 \pm 5.5\%$)ならびに判定基準 16mmHg(消失例: $33.8 \pm 4.8\%$ 、限局例: $40.6 \pm 5.1\%$)のいずれにおいても有意な差はみられなかった。

考按

線維柱帯切除術後に一旦は良好な眼圧調整が得られながら、結膜の瘢痕化や強膜との癒着が生じたために、濾過胞機能不全となり眼圧が再上昇した症例に対し、手術既往部位の結膜を再剥離し、MMC を併用して房水流出路を再形成する手術を行った結果、判定基準 21mmHg では 72.0%、16mmHg では 38.3%の眼圧調整成績が得られた。この成績は過去に当科で過去に行われた 5-FU 併用濾過胞再建術の成績(各々 17.3%、4.9%)に比して高く、合併症も同等であり、MMC 併用濾過胞再建術の有用性が確認された⁸¹⁾。従来、線維柱帯切除術後に濾過胞の機能が低下して眼圧の再上昇を来した場合、別の場所に全く同様の手術が繰り返され、最終的には再手術の場所がなくなってしまう点が問題とされていた。この問題は代謝拮抗薬である 5-FU 併用線維柱帯切除術が開発され初回手術成功率が向上し改善を見たが、再手術例は皆無となったわけではなく、手術不成功の際の問題点として残されていた。

これに対して機能低下した濾過胞を再建して眼圧を再び調整する方法が試みられ、特に近年、5-FU によって、その眼圧調整成績も向上してきたが、結膜癒着の強い症例には不適応とされていた。Shin らは針を用いた濾過胞再建術に 5-FU を併用することによって、1 年の観察期間で 80%が良好な調整を得た(判定基準:投薬の有無に関係なく 21mmHg 未満)と報告しているが⁸²⁾、これは複数回手術を行った成績であり、初回再手術のみでの成績は 30 例中 9 眼(33%)で、我々の成績と比較して低い数値である。また Durcan らは外科的に結膜を切開剥離する再建術に 5-FU を併用し、2 年の観察期間で 20 眼中 15 眼(75%)で良好な調整が得られ、14 眼では無治療であったと報告している⁸³⁾。しかし、対象症例に濾過胞が消失または限局し周囲の結膜可動性のない症例は含まれておらず、本研究に於ける結果と比較は出来ない。本研究では、本術式の対象に結膜瘢痕癒着の強い濾過胞消失型の症例を含んでおり、濾過胞限局型と消失型での成績に差がなかったことから、本術式は従来濾過胞再建術の対象とされなかった濾過胞消失型の症例に対しても眼圧調整の期待ができる術式と考え

られた。

合併症はShinらの成績と比較すると角膜障害はShinらの33%に比し今回は4%と少なく、術後結膜下注射を繰り返す5-FUと術中1回投与であるMMCの相違が現れていると考えられる。

今回のMMC併用濾過胞再建術の合併症を既に報告したMMC併用線維柱帯切除術の合併症⁴¹⁾と比較すると浅前房、脈絡膜剥離、低眼圧黄斑症などいずれも発生率は低く、濾過胞再建術の手術侵襲が線維柱帯切除術に比較して強くないことを示唆する。しかし、今回の濾過胞再建術では結膜縫合創の解離が多く、これは対象となる症例の結膜が癒着収縮しているためと考えられ、手術時には結膜切開を最小限に留め、より密な縫合が必要であると考えられた。

今回の検討の結果 MMC 併用濾過胞再建術は、対象症例の濾過胞の状態に関わりなく術後1年で72%の症例で眼圧調整成績が期待でき、しかもMMC併用線維柱帯切除術と比較しても合併症が少ない術式であることが判明した。この眼圧調整成績はMMC併用線維柱帯切除術に比較すると劣るが、一度または複数回の濾過手術の既往のある症例では新たに線維柱帯切除術を行う部位には限りがあり、また下方に線維柱帯切除術を行うことは眼内炎のような重篤な感染症を起こす危険が高いことから⁸⁴⁾⁸⁵⁾、別の部位に再度の濾過手術を行う前に、本術式を試みる価値があると考えられた。

4) 小括

線維柱帯切除術において、MMC0.04% (0.2mg/0.5ml)を術中 1 回、結膜下に 3 分間留置することにより、従来の 5-FU 併用線維柱帯切除術に比べて、難治性緑内障のみならず、原発開放隅角緑内障初回手術でも有意に優れた眼圧調整成績を得られる事が証明された。さらに MMC 併用線維柱帯切除術では従来の手術法に比べ術後眼圧が 10~12mmHg と低く、近年、緑内障性視野障害進行阻止に有効とされる目標眼圧 16mmHg 未満を達成できる術式であることが証明された。術後合併症に関しては、強力な眼圧下降にともなう低眼圧黄斑症が 5-FU 併用線維柱帯切除術、あるいは代謝拮抗剤非投与線維柱帯切除術に比して高頻度であるものの、他の浅前房、脈絡膜剥離は頻度が減少することが確認され、5-FU 併用線維柱帯切除術に高頻度みられ術後疼痛、視力障害の原因であった角膜上皮障害は激減した。さらに術後低眼圧黄斑症を来さず、且つ良好な眼圧調整成績が得られる条件を検討した結果、術 2 週目の眼圧平均値が重要であることが示され、術 2 週目の平均眼圧を 8mmHg 付近に維持するべく、強膜弁縫合系切断術、眼球マッサージなどの努力を行うことが望ましいと考えられた。また、過去に線維柱帯切除術を行いながら、結膜瘢痕化によって濾過胞の機能低下を来し、眼圧調整困難となり、従来は全く新しい部位での再手術が必要であった症例に対して、MMC を併用して濾過胞を再建する術式を行い従来の 5-FU 併用手術と比較した結果、MMC 併用濾過胞再建術が眼圧調整成績に優れていることが示された。この MMC 併用濾過胞再建術は MMC 併用線維柱帯切除術よりも合併症の発症率が低いことから、手術不成功例に対して新たに線維柱帯切除術を行う前に試みるべき術式であると考えられた。

V. 総括

緑内障は進行性の視神経線維萎縮によって視野障害をきたし、放置すれば失明に至る不可逆性の重篤な疾患である。その最も大きな病因は眼圧であり、疾患の進行を阻止するためには十分な眼圧調整が必要とされ、点眼、内服などの薬物療法でも十分な眼圧下降が得られない症例には手術療法が適応される。緑内障に対する種々の術式の中で線維柱帯切除術は最も代表的な術式であるが、その手術成績は不満足なものであった。その後線維柱帯切除術不成功の原因究明から術後の創傷治癒機転の抑制が手術成績向上につながることが示され、代謝拮抗薬である 5-フルオロウラシル(以下 5-FU)を術後した。しかし 5-FU の使用に当たって術後長期に渡る結膜下注射を要することの他創傷部に結膜下注射する方法が考案され、手術成績はそれ以前に比べて飛躍的に向上に、創傷治癒機転抑制効果が不十分であるなどが問題となり、より強力で使用に簡便な代謝拮抗薬が望まれ、5-FU 以上の線維芽細胞増殖抑制効果を有するマイトマイシンC(以下、MMC)が注目され、欧米で数例の臨床報告がなされた。我が国においても既に 5-FU 併用線維柱帯切除術は一般的術式となっていたが、その成績が十分でないことから MMC を応用することが望まれたが、海外文献では臨床成績報告が散見されるのみで、MMC の毒性、至適投与条件など臨床応用に当たって必要不可欠な知識が不足のままであった。我々は本邦において MMC 併用線維柱帯切除術を施行するに当たって、まず動物眼を用いて MMC の眼組織毒性、眼機能に及ぼす影響を検討し、投与された MMC の眼内濃度と手術成績の関係を検討した。さらにその結果に基づいて、はじめに従来の 5-FU 併用線維柱帯切除術では眼圧下降が困難と考えられた難治性緑内障を対象とした臨床応用を行い、その有効性と問題点を確認した後に通常の緑内障手術へ適応を拡大し、長期経過観察を行った。

家兎を用いた動物実験では、MMC は臨床報告に記載されている使用量(0.04%、

0.5ml、3 分)でも毛様体への組織毒性を有し、その変化は濃度依存性であったが、眼機能の指標である房水産生能、血液房水嚢機能への影響は少なく、通常の使用量では機能的影響は少なく、非傷害部位の毛様体がその機能を代償していることが示唆された。しかし、組織内 MMC 濃度の検討では、MMC は投与部のみならず眼球対側へも移行することが確認され、高濃度の MMC を使用した場合には眼球全体の毛様体組織傷害を来す可能性が示され、MMC 使用に当たっては可能な限り低濃度である必要があることが示された。また MMC の組織内移行は使用する MMC 濃度と使用時間によって決定され、特に使用する MMC 濃度の増加は使用時間の延長を上回って組織内濃度に影響することから、MMC 投与に際して使用する MMC 濃度を上げて使用時間を短縮することは危険であることが示された。一方家兎眼を対象とした手術実験では MMC の使用量と投与時間を変化させ手術成績を検討した結果、人眼臨床報告にある 0.04%MMC 0.5ml (0.2mg)併用濾過手術では MMC 使用時間 1 分と 3、5 分では成績に差があるものの、3 分と 5 分では成績に差がなく、一定以上に MMC 組織内濃度を上昇させても濾過効果持続には貢献しないことが示され、過剰な MMC 投与を避ける意味でも MMC の使用条件として 0.04%MMC 0.5ml (0.2mg)、3 分が指標となると考えられた。

臨床研究では、はじめに従来の 5-FU 併用線維柱帯切除術では眼圧下降が得られがたいと考えられた難治性緑内障 41 眼を対象として 0.04%MMC 0.5ml (0.2mg)、3 分を使用した MMC 併用線維柱帯切除術を行った。その結果、術後 3 年で 62.2%の例で眼圧の正常化(21mmHg 未満)を得ることが出来、この成績は以前当科で行った同術者による 5-FU 併用線維柱帯切除術あるいは代謝拮抗剤非投与線維柱帯切除術の成績(各々 27.8%、6.9%)と比べて格段に優れていた。合併症については 5-FU 併用線維柱帯手術の問題点で約 50%に認められた角膜上皮障害が 7.3%へと激変した。また濾過手術に不可避とされる浅前房、脈絡膜剥離の頻度も MMC 併用線維柱帯切除術では減少していた。しかし、従来の手術法では見ることの少なかった低眼圧

黄斑症の発症率が MMC 併用線維柱帯切除術例の 12.2%に認められ、眼圧下降の結果として不可避とは考えられたものの MMC 併用線維柱帯切除術の最も注意すべき合併症であることが明らかとなった。

手術既往のない原発開放隅角緑内障 70 例 80 眼に対する MMC 併用線維柱帯切除術でも同様に 0.04%MMC 0.5ml (0.2mg)、3 分を使用した結果、術 2 年後の無治療での眼圧正常化率(21mmHg 未満)は $86.8 \pm 4.2\%$ であり、この値も難治性緑内障を対象としたときと同様、当科での同一術者による 5-FU 併用線維柱帯切除術あるいは代謝拮抗剤非投与線維柱帯切除術の成績(各々 71.8%、15.5%)と比べて優れていた。さらに、近年、緑内障性視野障害進行阻止により有効とされる、正常人平均眼圧 16mmHg 未満を基準とした評価でも MMC 併用線維柱帯切除術の成績は 68.3%と従来の 5-FU 併用線維柱帯切除術あるいは代謝拮抗剤非投与線維柱帯切除術の成績(各々 49.6%、6.9%)と比して有意に優れており、MMC 併用線維柱帯切除術は単なる眼圧正常化のための手段ではなく、緑内障治療の最大の目的である視野障害進行阻止を可能とする有力な手段となる可能性が示された。しかし、合併症に関しては難治性緑内障を対象としたときと同様、角膜上皮傷害の激減が得られ、他の合併症頻度は普遍もしくは減少したものの、低眼圧黄斑症が7%に認められた。この頻度は難治性緑内障に対する手術経験から、強膜縫合を強くするなどの工夫によって、減少したものの眼圧下降効果と眼圧下降過剰との矛盾として今後の課題として残された。対象となった初回原発開放隅角緑内障手術例の経過中眼圧、年齢、術後早期合併症などを用いて多変量解析を行った結果では、術後2週目の眼圧値が視野障害進行阻止に有効な眼圧値を得、且つ低眼圧黄斑症を生じない条件として抽出されており、術中強膜を強く縫合して低眼圧を予防し、術後経過中2週間目の眼圧が 8mmHg 前後となるように強膜縫合糸切断を行うなどの工夫が有効であることが示唆されているが今後の臨床検討が必要である。

本研究ではさらに、MMC の緑内障手術に対する応用に関して、従来の 5-FU 併用線

維柱帯切除術後、結膜濾過胞が癒着により機能低下し眼圧再上昇をきたし、従来であれば新たな部位に再手術を必要とする症例に対し、癒着化した濾過胞を MMC を使用することにより再建する濾過胞再建術についても検討した。その結果、従来から濾過胞再建が可能とされた結膜稼動性のある限局性濾過胞例だけでなく、再建術の対象とならなかった濾過胞完全消失例でも術後 1 年で 72% の例で濾過胞が再建され眼圧正常化が得られた。この結果は当科での 5-FU 濾過胞再建術の成績 12.9% をしのいでおり、眼圧 16mmHg 未満を判定基準としても各々 38.3%、4.9% で MMC 併用濾過胞再建術が明らかに優れていた。さらに合併症に関しても難治性緑内障、あるいは原発開放隅角緑内障初回手術例を対象とした MMC 併用線維柱帯切除術に比べて低頻度であり、この術式は再手術を必要とする患者にとって極めて価値の高い術式であることが示された。

以上、本研究の動物実験の結果、0.04%MMC 0.5ml、3 分投与は眼機能に影響を与えず良好な眼圧をうる至適条件であることが示され、臨床研究の結果、MMC 併用線維柱帯切除術は従来の単なる線維柱帯切除術あるいは 5-FU 併用線維柱帯切除術に比べて、眼圧正常化率が高いばかりでなく緑内障治療の最大の目的である視野障害進行阻止に推奨される正常平均眼圧を得られる優れた術式であることが証明された。

おわりに

線維柱帯切除術の目的は緑内障性の視機能障害の進行を阻止するレベルへの眼圧調整である。MMC は線維柱帯切除術直後に起こる創傷治癒機転を障害することにより手術による眼圧調整効果を長期にわたり維持することを可能にし、従来用いられていた 5-FU より良好な成績を示すことによってこれに取って代わり、現在では術中最も広く併用される薬剤となった。MMC あるいは 5-FU 以外にも、術直後の創傷治癒機転を障害するためにこれまでに放射線や β ペニシラミン、コラーゲン架橋形成阻害薬、

代謝拮抗薬などの応用が研究されてきたが、臨床での実用化に至った薬剤はなかった。5-FU が実用化されて 15 年以上が経過したが、現時点で 5-FU、MMC の線維柱帯切除術併用による眼球組織の壊死性変化の報告はないが、未だに 5-FU や MMC などの抗腫瘍薬の併用による組織壊死を危惧する意見もある。近年では、Gel 化した MMC の開発や、抗腫瘍薬であるプレオマイシン、あるいは Tissue plasminogen activator (TPA) 等の薬剤の応用研究が In vitro を中心に行われている。動物、臨床においてこれらの薬剤が MMC よりも優れた効果を示したという報告は、筆者の知る限り、現時点ではみられない。これら以外にも近年注目されている TGF- β などの増殖抑制因子の研究によって、将来的には現時点での MMC の作用を更に上回る薬剤あるいは投与方法が開発される可能性は十分考えられ、今後の発展が期待される。

まとめ

- 1) 家兎を用いた実験結果から MMC の使用条件として 0.04% (0.2mg/0.5ml)、3 分塗布投与が最適な条件と考えられた。
- 2) MMC0.04% (0.2mg/0.5ml)、3 分塗布投与を併用した線維柱帯切除術は臨床において難治性緑内障、原発開放隅角緑内障を対象とし、術後の良好な眼圧調整成績を得た。
- 3) MMC0.04% (0.2mg/0.5ml)、3 分塗布投与を併用した線維柱帯切除術後の良好な長期眼圧調整を得るための術後早期の眼圧調整の指標として術後 9~14 日の眼圧が 8mmHg であることが示された。

謝辞

稿を終えるにあたり、長年にわたりご指導を賜りました、東京大学医学部眼科学教室の新家 眞教授、白土 城照助教授に深甚なる謝意を表します。

引用文献

1. Shiose Y, Kitazawa Y, Tsukahara S, Akamatsu T : Epidemiology of glaucoma in Japan. *Jpn J Ophthalmol* 35: 133-155, 1991
2. Kupin T, Mitchell KB, Becker B : Cycrocryo therapy in neovascular glaucoma. *Am J ophthalmol* 86:24,1978
3. Bellows AR, Grant WM : Cycrocryo therapy in advanced inadequately controlled glaucoma. *Am J Ophthalmol* 75:679, 1973
4. Cairns JE : Trabeculectomy with fistula formation in the African. *Br J Ophthalmol* 56:32,1972
5. Elliot RH : A preliminary note on a new operative procedure for the establishment of a filtering cicatrix in the treatment of glaucoma. *Ophthalmoscope* 7:804,1909
6. Scieie HG : Peripheral iridectomy with scleral cautery for glaucoma. *Arch Ophthalmol* 61:291, 1959
7. Yamashita H, Eguchi S, Yamamoto T : Trabeculectomy; a prospective study of complications and results of long-term follow up. *Jpn J Ophthalmol* 29:250-262, 1985
8. Shirato S, Kitazawa Y, Mishima S : A critical analysis of the trabeculectomy results by a prospective follow up design *Jpn J Ophthalmol* 26:468-480, 1982
9. Inaba Z : Long term results of trabeculectomy in the Japanese *Jpn J Ophthalmol* 26:361-373, 1982
10. Blumenkranz MS : 5-fluorouracil : New applications in complicated retinal detachment for an established antimetabolite *Ophthalmology* 91:120-130, 1984
11. Heuer DK : 5-Fluorouracil and glaucoma filtering surgery. *Ophthalmology* 91:318-394, 1984
12. Kitazawa Y, Taniguchi T : 5-Fluorouracil for trabeculectomy in glaucoma. *Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol* 225: 403-405, 1987.
13. 中野 豊、白土 城照、新家 真 : 緑内障手術と 5-fluorouracil. *臨眼* 43:1929-1933,1989.
14. 庄司 信行、新家 真、白土 城照、中野 豊:5-fluorouracil 結膜下注射併用による線維柱帯切除術の5年眼圧コントロール. *日眼会誌* 97:239-246,1993.
15. Knapp A : Serious corneal complication of glaucoma filtering surgery with post operative 5-Fluorouracil. *Am J Ophthalmol* 103:183-187, 1987
16. Chen CW, Huang HT, Sheu MM : Enhansment of IOP control effect of trabeculectomy by local application od anti cancer drug *Proceeding of the XXV th ICO Rome, MAY 4-10, 1487-1491, Kulglar & Chedini, Milano, 1987*
17. Yamamoto T, Varani J, Soong HK : Effects of 5-fluorouracil and mitomycin C on cultured rabbit subconjunctival fibroblasts. *Ophthalmology* 97:1204-1210, 1990
18. Lee DA, Shapourifar TS, Kitada S : The effect of 5-FU and Cytarabine on human fibroblasts from Tenon's capsule. *Investigative Ophthalmol vis sci* 31:1848-1855, 1990
19. Lee DA, Lee TC, Corres AE : Effects of mitomycin daunorubicin, bleomycin on human subconjunctival fibroblast attachment and proliferation. *Investigative Ophthalmol vis sci* 31:2136-2144, 1990
20. Smith S, Amore PA, Drayer PB : Comparative tocity of mitomycin C and 5-fluorouracil in vitro. *Am J Ophthalmol* 118:332-337, 1994

21. Jampel HD : Effect of brief exposure to mitomycin C on viability and proliferation of cultured human Tenon's capsule fibroblasts. *Ophthalmology*. 99: 1471-1476, 1992
22. Khaw PT, Doyle JW, Sherwood MB : Prolonged localized tissue effects from 5-minute exposure to fluorouracil and mitomycin C. *Arch Ophthalmol* 111 : 263-267, 1993
23. Khaw PT, Sherwood MB, Mackay SLD : Five-minute treatment with fluorouracil, fluoruridine and mitomycin C have long-term effects on human Tenon's capsule fibroblasts. *Arch Ophthalmol* 110 : 1150-1154, 1992
24. Kitazawa Y, Kawase K, Matsushita H, Minobe M : Trabeculectomy with Mitomycin C. *Arch Ophthalmol* 109:1693-1698, 1991.
25. Skuta GL, Beeson CC, Higginbotham EJ et al : Intraoperative mitomycin versus postoperative 5-fluorouracil in high-risk glaucoma filtering surgery. *Ophthalmology* 99: 438-44, 1992
26. Kawase K, Nishimura K, Yamamoto T, Jikihara S, Kitazawa Y : Anterior chamber reaction after mitomycin and 5-fluorouracil trabeculectomy: a comparative study. *Ophthalmic Surg* 24: 24-7, 1993
27. Kawase K, Matsushita H, Yamamoto T, Kitazawa Y : Mitomycin concentration in rabbit and human ocular tissues after topical administration. *Ophthalmology* 99: 203-207, 1992.
28. 川瀬 和秀、松下 映美、山本 哲也、直原 修一、北澤 克明 : マイトマイシン C を併用する線維柱帯切除術。眼科手術 5:291 - 297, 1992.
29. Mietz H, Addicks K, Diestelhorst M, Krieglstein GK : Intraocular toxicity to ciliary nerves after extraocular application of mitomycin C in rabbits. *Int Ophthalmol* 19: 89-93, 1995
30. Hollo G, Suveges I : The effect of brief intrascleral or episcleral application of mitomycin C on the ciliary epithelium and pressure in the rabbit eye. *Acta-Ophthalmol Copenh* 72 : 739-42, 1994
31. Gupta S, Basti S : Corneoscleral, ciliary body, and vitreoretinal toxicity after excessive instillation of mitomycin C. *Am J Ophthalmol* 114: 503-4, 1992
32. Mietz H, Addicks K, Diestelhorst M, Krieglstein GK. Extraocular application of mitomycin C in a rabbit model : cytotoxic effects on the ciliary body and epithelium. *Ophthalmic Surg* 25: 240 - 244, 1994.
33. Mietz H, Addicks K, Bloch W, Krieglstein GK : Long-term intraocular toxic effect of topical mitomycin C in rabbits. *J Glaucoma* 5 : 325 - 333, 1996
34. Kee C, Pelzek CD, Kaufman PL : Mitomycin C suppresses aqueous humor flow in cynomolgus monkeys. *Arch Ophthalmol* 113 : 239 - 242, 1995.
35. 国友 昇、森 茂 : 翼状片の研究 マイトマイシン C 点眼による翼状片の治療法。日眼会誌 67:601-607, 1984
36. 山之内 卯一、三島 恵一郎 : 翼状片手術後マイトマイシン C 点眼における眼障害について 眼紀 18:854-861, 1967
37. 日比野 由子、水沢 勝子 : 翼状片手術後のマイトマイシン C 点眼による強膜障害の 1 例。臨眼 69:1406-1409, 1976
38. Hara T, Shirato S, Suzuki Y : Ocular tissue concentrations and mitomycin C with variable dose and duration of application time in rabbits. *Jpn J Ophthalmol* 42 : 193-198, 1998

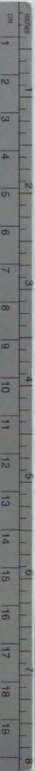
39. 原 岳、小幡 博人、白土 城照、新家 眞：マイトマイシンCの家兎毛様体への細胞毒性。日眼会誌 102: 88-94, 1998
40. 原 岳、白土 城照、鈴木 葉子：家兎に於けるマイトマイシンC結膜下投与後の眼内濃度と濾過手術成績。日眼会誌 102: 425-430, 1998
41. 原 岳、白土 城照、高田 美貴子：マイトマイシンCを用いた初回線維柱帯切除術。日眼会誌 99: 1283-1287, 1995
42. Hara T, Araie M, Shirato S, Yamamoto S: Conditions for balance between lower normal pressure control and hypotony in mitomycin trabeculectomy. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol 236: 420-425, 1998
43. 増池 健年、大嶽 純一、小野 栄吉、武本 宣教：血漿および組織中のマイトマイシンCのクロマトグラフィによる分析法と安全性。医学の歩み 157: 383-384, 1991.
44. William JF, Dean WC, Sandra LB. Mitomycin trabeculectomy: The microsurgical sponge difference. J Glaucoma 4: 86-90, 1995.
45. Khaw PT, Doyle JW, Sherwood MB, Smith MF, McGorray S: Effects of intraoperative 5-fluorouracil or mitomycin C on glaucoma filtration surgery in the rabbit. Ophthalmology 100: 367-372, 1993.
46. Kitazawa Y, Suemori MH, Yamamoto T, Kawase K: Low-dose and high-dose mitomycin trabeculectomy as an initial surgery in primary open-angle glaucoma. Ophthalmology 100: 1624-1628, 1993.
47. Mietz H, Krieglstein GK: Short term clinical results and complication of trabeculectomy performed with mitomycin C using different concentrations. Int Ophthalmol 19: 51-56, 1995
48. Jones RF, Maurice DM: New methods of measuring the rate of aqueous flow in man with fluorescein. Exp Eye Res 5: 208 - 220, 1966.
49. Araie M, Sawa M, Nagataki S, Mishima S: Aqueous humor dynamics in man as studied by oral fluorescein. Jpn J Ophthalmol 24: 346 - 362, 1980.
50. Gandolfi SA, Vecchi M, Braccio L: Decrease of intraocular pressure after subconjunctival injection of mitomycin in human glaucoma. Arch Ophthalmol 113: 582 - 585, 1995.
51. Mitchel PG, Blair NP, Deutsch TA: Prolonged monitoring of the blood-aqueous barrier with fluorescein-labeled albumin. Invest Ophthalmol Vis Sci 27: 415 - 418, 1986.
52. Caprioli J: The ciliary epithelia and aqueous humor: Adler's Physiology of the Eye. William MH. Mosby Year Book, St Louis: 228-247, 1992
53. Nuits RM, Felten PC, Pels E, Langerhorst CT, Geijssen HC, Grossniklaus HE: Histopathologic effect of mitomycin C after trabeculectomy in human glaucomatous eyes with persistent hypotony. Am J Ophthalmol 118: 225 - 237, 1994.
54. 石丸 裕晃：マイトマイシンCの眼毒性に関する研究。日眼会誌 93: 54-63, 1989.
55. Nasisse MP, McGahan MC, Shields MB: Inflammatory effects of continuous wave neodymium: yttrium aluminium garnet laser cyclophotocoagulation. Invest Ophthalmol Vis Sci 33: 2216-2213, 1992
56. Brown SV, Deppermann SR, Thomas JV: Cyclocryosurgery. Glaucoma Surgery. John VT, Mosby Year Book St. Louis: 149 - 155, 1992.
57. 岩田 和雄：低眼圧緑内障と原発開放隅角緑内障の病態と視神経障害

機構 日眼会誌 96:1501-1531, 1992

58. Savage JA, Condon GP : Laser suture lysis after trabeculectomy. *Ophthalmology* 96 : 1631 - 1638, 1988
59. Melamed S, Ashkenazi I : Tight scleral flap trabeculectomy with postoperative suture lysis. *Am J Ophthalmol* 109 : 303 - 309, 1990
60. 富永 祐民:治療効果判定のための実用統計学, 蟹書房、東京、84-89 1991
61. Blondeau P: Sodium hyaluronate in trabeculectomy. *Can J Ophthalmol* 19:306-309, 1984.
62. Wese JB: Treatment of chronic postfiltration by intrableb injection of autologous blood. *Arch Ophthalmol* 111:827-830, 1993.
63. Molteno ACB : new implant for drainage in glaucoma. *Br J Ophthalmol* 53:606-609, 1969
64. Shocket SS, Lankhanpal V : Anterior chamber tube shunt to encircling band in the treatment of neovascular glaucoma. *Ophthalmology* 89:1188-1120, 1982
65. Goldenfield M, Krupin T, Ruderman JM : 5-Fluorouracil in initial trabeculectomy. *Ophthalmology* 101: 1024-1029, 1994
66. Micheal JW, Liberman JM, Ritch R : Initial 5-Fluorouracil trabeculectomy in young patients. *Ophthalmology* 99:7-13, 1992
67. Chihara E, Nishida A, Kodai M, Yoshimura N, Matsusita M, Yamamoto M et al: Trabeculectomy ab Externo: an alternative treatment in adult patients with primary angle glaucoma. *Ophthalmic surg* 24:735-739, 1993.
68. Pappo KS, Derick RJ, Weber PA, Kapetansky FM, Baker ND, Lehmann DM: Late laser suturlysis after mitomycin C trabeculectomy. *Ophthalmology* 100:1268-1271, 1993.
69. Burney EN, Quigley HA, Robin AL: Hypotony and choroidal detachment as late complications of trabeculectomy. *Am J Ophthalmol* 103:685-688, 1987.
70. Geijssen HC, Greve EL: Prevention of hypotony after trabeculectomies with MitomycinC. *Doc Ophthalmol* 85:45-49, 1993.
71. Shields MB, Scroggs MW, Sloop CM, Simmons RB: Clinical and histopathologic observations concerning hypotony after trabeculectomy with mitomycin C. *Am J Ophthalmol* 116:673-683, 1993
72. Zacharia PT, Deppermann SR, Schuman JS: ocular hypotony after trabeculectomy with mitomycinC. *Am J Ophthalmol* 116:314-316, 1993.
73. 山本 哲也、一園 三恵子、末森 央美、北沢 克明: 正常眼圧緑内障の対する線維柱帯切除術の成績. 日眼会誌 98:579-583, 1994.
74. Cox D: Regression models and life tables. *J Royal Stat Soc Series B* 34:187-220, 1972
75. Kalbfleish JD, Prentice RL : The Statistical Analysis of Failure Time Data. Wiley, New York, 1980
76. Grant WM, Burke JF : Why do some people go blind from glaucoma? *Ophthalmology* 89:991-998, 1982
77. Odberg T Visual field prognosis in advanced glaucoma. *Acta Ophthalmol* 65(Suppl)182:27-29, 1987
78. Costa VP, Smith M, Spaeth GL et : Loss of visual acuity after trabeculectomy. *Ophthalmology* 100:599-612, 1993
79. Costa VP, Wilson RP, Moster MR, Schmidt CM, Gandham S: Hypotony maculopathy following the use of topical mitomycin C in glaucoma filtration surgery.

- Ophthalmic Surg 24:389-94, 1993
80. Skuta GL, Beenson CC, Higginbotham EJ : wound healing in glaucoma filtering surgery. *Surv Ophthalmol* 32:149-170, 1987
 81. 本郷 由紀子、原 岳、白土 城照 : マイトマイシンCを併用した濾過胞再建術. *臨眼* 63 : 874-865, 1995
 82. Shin DH, Juzych MS, Khatana AK, Swendris RP, Parrow KA : Needling revision of failed filtering blebs with adjunctive 5-Fluorouracil. *Ophthalmic Surg* 24:242-247, 1993
 83. Durcan FJ, Cioffi GA, Van Buskirk EM : Same-site revision of failed filtering blebs. *J Glaucoma* 1:2-6, 1992
 84. Higginbotham EJ, Stevens RK, Musch DC, Karp KO, Lichter PR, Bergstorm TJ, Skuta GL : Bleb-related endophthalmitis after trabeculectomy with mitomycin C. *Ophthalmology* 103 : 650 - 656, 1996
 85. Caronia RM, Liebmann JM, Friedman R, Cohen H, Ritch R : Trabeculectomy at the inferior limbus. *Arch Ophthalmol* 114 : 387-391, 1996





Kodak Color Control Patches

© Kodak, 2007 TM Kodak

Blue Cyan Green Yellow Red Magenta White 3/Color Black



Kodak Gray Scale



© Kodak, 2007 TM Kodak

A 1 2 3 4 5 6 M 8 9 10 11 12 13 14 15 B 17 18 19

