

口粘膜から 角膜上皮再生

口の粘膜を培養して角膜上皮の代わりに目に移植する治療法を、京都府立医科大学医学部眼科教室の木下茂教授、中村隆宏医師らが開発し、2003年3月の第2回日本再生医療学会で発表した。角膜上皮再生術の中でのこの治療法の特徴とその後の臨床研究の成果について木下氏と中村氏にお話を伺った。(構成・取材 橋本皆子)

同 教室では、幹細胞を含む角膜細胞を羊膜上で培養して目に移植する角膜再生法を1999年の7月から臨床応用し、成果を取ってきた。一方で、他家細胞移植の問題を解決するための開発として、患者本人の口の粘膜を培養して角膜上皮の代わりに移植する自己培養口腔粘膜上皮移植を2002年6月より開始した。この治療法を9人に適用した結果、03年3月時点で、別の病気を併発していた1人を除き全員の視力が回復した。日本眼病銀行協会によると、当時約5000人が角膜移植を待っているが、うち2割が角膜上皮移植の対象者だという。

幹細胞損傷疾患の 治療に向けて

角膜(黒目)は上皮、実質、内皮の三つの細胞層から成り、上皮は5~6層の細胞である。この上皮に損傷が起こると普通の角膜移植手術では治すことが難しい。例えばヘルペスなどで起こる濁りは、全層角膜移植で角膜を交換すれば治る。しかし、Stevens-Johnson症候群や眼類天疱瘡、あるいは熱化学的外傷による角膜の損傷を受けた患者さんなどの角膜上皮幹細胞疲弊症では、角膜上皮の元になる幹細胞が存在する部位が損傷されるため、角膜の周りにある白目の結膜上皮細胞が癒痕形成や血管を伴って角膜を覆い、重度の視力障害が生じる。これらの幹細胞疲弊症は、従来の全層角膜移植を行っても治らず、基本的に角膜上皮細胞の幹細胞を補わないと治療できないことが分かっている。したがって、幹細胞疲弊症に対して角膜上皮幹細胞を含んだ培養角膜上皮移植をする方向で研究が進められてきた。

これにはいくつかの方法があるが、当施設では培養の基質に羊膜を使う方法を選択した。羊膜は子宮内の最も内側で胎児を包み、生体内で最も厚い基底膜を持つ薄い半透明な膜である。羊膜には胎児を守るために拒絶反応を起こしにくく、癒痕形成や炎症を抑制するという作用があり、さらに培養・移植で扱いやすいという特徴もある。



木下茂教授(左)と中村隆宏医師

他家移植のリスクを 克服するには

幹細胞を含んだ角膜上皮の細胞をバラバラにして羊膜の上に置き、2~3週間培養して角膜上皮シートを作る。そして、急性、あるいは癒痕期の損傷した角膜上皮を取り除いて、培養上皮を移植する方法によって良好な成績を収めてきた。

ただし、この方法は自分の組織ではなく、他の人の細胞を使用するため、長期的予後に問題が生じる。片方の目だけの損傷の場合、自分のもう一方の目の組織を少量採取して使用すれば、自家(オート)による角膜上皮移植が可能となり安全である。しかし角膜上皮幹細胞疲弊症の大部分の人は両眼とも損傷を受けているので、他家(アロ)の角膜上皮移植を選択することになる。深刻な問題は、アロ移植では術後拒絶反応を起こしたり、その抑制のために多量の免疫抑制剤を長期間投与することによって感染症を起こす可能性があるという点である。

そこでアロからオート移植への転換という観点から、培養角膜上皮の代わりに自分の口の中の細胞を培養・移植する自己培養口腔粘膜上皮移植という方法(図1)を開発した。

口腔粘膜からできた培養上皮は角膜上皮と同様の透明性を持つが、免疫組織化学検査で比較すると、角膜のマーカであるケラチン3は発現しているがケラチン12は発現していないので、全く同一のものではないことが分かる。しかし、臨床応用の可能性が認められて研究を進めてきた。

8割で成功、視力は 0.1前後に回復

2004年12月に半年から3年弱の経

図1 培養口腔粘膜上皮シート作成・移植の方法

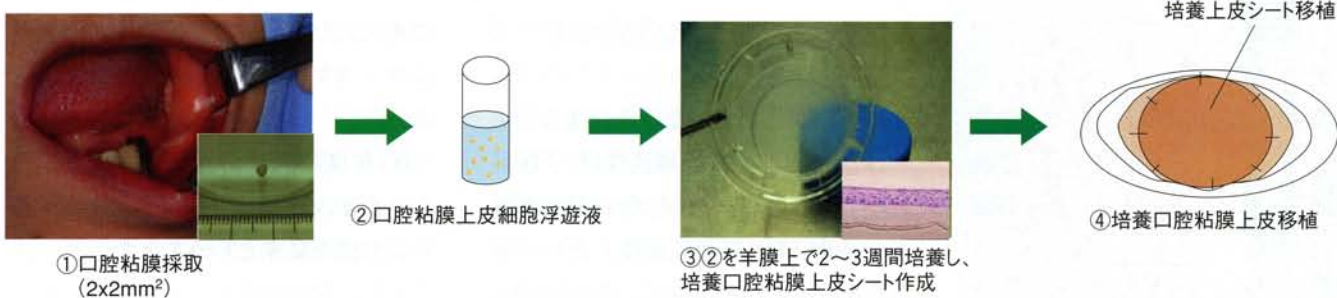
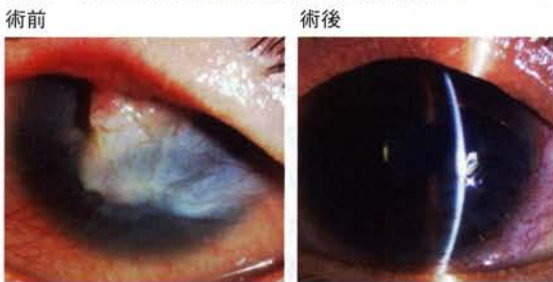


図2 14歳Stevens-Johnson症候群患者



術前、眼表面は睑球癒着、瘢痕を伴った結膜侵入により著しい視力障害を来している。術後2年、長期にわたる免疫抑制剤の使用も不要で、眼表面は自己の培養口腔粘膜上皮シートで上皮欠損なく再建され、安定している。

過を見た15眼の中で、移植片がしっかり生着した例は80%であった。これは移植した粘膜上皮がそのまま全く壊れることがなかった、という厳しく評価した数字で、途中で部分的に上皮の状態が悪くなったが臨床的に成功した例は87%であった。全体的に見て、Stevens-Johnson症候群の一部以外の症例は、ほとんどで成功している。この症候群では、口の中の粘膜も健康な状態ではないために、成功しない場合があるのではないかと思われる。

視力は、手術前に目の前で手を動かしたら分かるという程度の視力が、手術後に0.3、0.06などと、おおよそ0.1前後となる。角膜上皮移植の場合は1.0近くまで上がることがあるが、この手術方法では1.0にはならない。

05年3月下旬までに、自己培養口腔粘膜上皮移植を24人の方で26眼行った。この中には前述の角膜上皮の濁

っている所を取り替えた15眼、角膜と結膜の癒着を治した7眼と、さらに最近の症例も含んでいる。この26眼でも約8割の人で成功が確認された。残り約2割の人は、手術前と同じくらいの状態ということで、手術前より悪くなることはな

い。移植の成功には年齢も関係していると考えている。

我々の方法とは違って、羊膜などの基質を使わずに口腔粘膜上皮細胞を培養し移植する方法を大阪大学のグループが行っている。どちらの方法でも、口腔粘膜上皮による上皮細胞の移植が一つの治療法となりうるが完璧ではないので、角膜上皮と口腔粘膜上皮のどこに差があるのか、そして角膜上皮により近付けるためにはどうしたらよいか、という課題の検討を行っている。

多施設臨床試験を計画

移植・培養の技術の改善が進められてきて、移植後早期の生着という段階では、ほぼ100%成功するようになった。また、安全性や倫理的課題を考えて、ウシの血清を使っていたものを、患者さんの自己血清を使う、などの多

くの改良を施している。

重要な技術改善の一つとして、凍結乾燥した羊膜の開発が挙げられる。以前は感染症フリー（A、B、C型肝炎やHIVが陰性）の妊婦さんから、帝王切開時に無菌操作下で羊膜を採取し、我々の研究室にて清潔操作下で扱って保存使用していた。しかし、羊膜は非常に柔らかいデリケートな組織なので滅菌操作ができず、また、-80℃という特殊な冷凍庫内でしか保存できないという問題がある。当施設のような特殊な施設ではなく、広く一般の先生方にも利用可能とするため、凍結乾燥処理をして滅菌し、常温保存可能な羊膜を開発し、臨床応用を始めている。

また、当施設で作った角膜上皮シートを愛媛大学、慶應義塾大学、東京歯科大学へ送り、他施設で移植して評価するという多施設臨床試験が始まっており、口腔粘膜上皮シートについても行う計画がある。

移植後5年、10年の期間の経過観察が必要と考えているが、少なくとも3年弱の間、眼表面が再建できている患者さんがいる。つまり、移植した上皮に幹細胞が含まれており、しっかりとそこに根付いていることの確認は、大きな前進だ。自己培養口腔粘膜上皮移植は完璧な治療法ではないが、従来の手術の拒絶反応を回避できる手術として大変有望な方法と考えている。（談）