

遠視に対する hyperopic photorefractive keratectomy 後の家兎角膜形状変化と組織変化

森 秀 樹

東京医科大学眼科学教室
(指導: 臼井正彦主任教授)

【要旨】 目的: 遠視に対する HPRK 後の角膜形状変化と角膜組織変化を明らかにすること。

方法: 白色家兎角膜に照射径 7.0 mm で, 矯正度数 +8.0 D の HPRK を施行した。術後は, 角膜形状解析装置, パキメーター, 細隙灯顕微鏡で 6ヶ月間観察した。また各時期に眼球摘出し, 光学的顕微鏡, 透過型電子顕微鏡による観察を行った。

結果: 照射部の角膜形状はステープ化が得られた。しかし 2 週目以降, ステープな領域は徐々にフラット化し 6ヶ月間持続した。組織学的には照射周辺部に角膜上皮の過形成と実質の瘢痕形成が 6ヶ月目においても観察された。角膜形状のフラット化と照射周辺部の角膜厚の増加との間に統計学的に有意な相関関係が見られた。

結論: HPRK 後の角膜形状の安定には 6ヶ月以上を要する。創傷治癒は速やかで組織障害は軽度であった。矯正効果の戻りには照射周辺部の角膜上皮の過形成と実質の瘢痕形成が関係していると考えられた。

はじめに

遠視は屈折異常の一つで, 近見障害や眼精疲労の原因になるだけでなく, 小児では内斜視や弱視の原因になる。そのため矯正を必要とするが, 通常その矯正には眼鏡やコンタクトレンズが使用されている。近年, 屈折矯正手術の発達が目覚しく, 遠視に対しても多様な手術方法が報告されるようになってきた。

Hyperopic photorefractive keratectomy (HPRK) はエキシマレーザーによる遠視に対する角膜屈折矯正手術の一つである。HPRK は欧米ではすでに臨床応用されており, 特に軽度遠視に対して有用性が報告されている^{1)~7)}。

一方, 問題点として矯正範囲が狭いこと⁵⁾, 矯正効果の不安定性⁸⁾ 矯正効果の戻りが生じやすいこと⁹⁾ などが報告されている。これらの問題点は, 創傷治癒過程

に原因があると考えられるが, HPRK に対する実験的な研究は少なく⁹⁾, 矯正効果と創傷治癒過程の関係は不明である。本研究では, 家兎に対して HPRK を施行し, その矯正効果と創傷治癒過程を検討した。

研究材料および方法

1. 実験動物

実験動物には 12 週令の白色家兎 (3 Kg) を 28 羽使用した。動物実験に際し, 「東京医科大学動物実験指針」を遵守し, 「動物の保護及び保管に関する基準 (法令第 105 号)」 「実験動物及び保管に関する基準 (総理府告示第 6 号)」に基づいて行った。

2. 手術方法

麻酔は, キシラジン塩酸塩 (セラクター[®]) と塩酸ケタミン (ケタラール[®]) の 1:3 混合液を 4 ml 筋

2001 年 6 月 25 日受付, 2001 年 10 月 23 日受理

キーワード: 遠視, エキシマレーザー, HPRK, PRK, 家兎角膜

(別刷請求先: 〒 160-0023 東京都新宿区西新宿 6-1-1 東京医科大学眼科学教室 森 秀樹)

肉内注射し、全身麻酔を行いさらに塩酸オキシプロカイン (ベノキシール®) で点眼麻酔を行った。

レーザー装置には Aescrap Meditec 社製エキシマレーザー装置 (Mel60) を用いた。瞳孔中心をマーキングし、角膜中央の 7.5 mm 径の範囲をゴルフ刀で機械的角膜上皮剝離を行った。レーザー照射の際には、遠視矯正用マスクを使用し、矯正度数 +8.0 D のレーザー照射を行った。遠視矯正マスクを使用すると角膜中央に径 7.0 mm の円形の表層切除ができ、照射周辺は深く照射中央は浅く切除されることで照射部がステープ化する。

3. 術後検査

術後は直後、3日、1週、2週、1か月、3ヶ月、6ヶ月に検査を行った。矯正効果を評価するため角膜形状解析を行い、創傷治癒過程の評価のために細隙灯検査、角膜厚測定、光学顕微鏡検査および電子顕微鏡検査を行った。

角膜形状解析は TMS-1 (Tomey 社) を使用し、術後角膜形状変化をカラーコードマップで観察し、角膜前面屈折力には Simulated keratometric power を用いた。また角膜変形指数として Surface asymmetric index (SAI) と Surface regularity index (SRI) を用いた。

術後の前眼部所見は細隙灯顕微鏡で観察し、創傷治癒過程を評価した。

角膜厚の測定には DGH2000 (DGH Technology 社) を使用した。照射中央部の測定の際には、角膜中央を4回測定しその平均値を算出した。照射周辺部の測定には、角膜中央から 3 mm の部位を4ヶ所測定し、測定値の平均を照射周辺の角膜厚とした。

4. 組織学的検査

光学的顕微鏡による観察のために、術後観察した各時期において、ケタラールの致死量を心臓内注射し安楽死させた後、眼球摘出を行い、摘出した眼球から角膜片を作成した。角膜片は半割し、一方はホルマリンで固定した後、ヘマトキシリン-エオジン染色を行い、光学的顕微鏡で観察した。

電子顕微鏡による観察は、残りの角膜片を用い、2% グルタルアルデヒドにより固定し、通常の方法によるアルコール脱水の後エポキシ樹脂包埋を行い、超薄切片を作成した。さらに酢酸ウラン、クエン酸鉛による通常の電子染色とタンニン酸による染色した後、透過型電子顕微鏡で観察した。

5. 統計学的検討

相関の分析は Pearson の相関係数をもとに相関係数の有意性の検討を行い、平均値の比較には t 検定を行った。有意水準 5% 以下をもって有意差ありと判定した。

結 果

1. 角膜形状解析

トポグラフィーにおいては、3日目には不正乱視を呈していたが、1週目には角膜中央に円形のステープな領域が出現した。2週目以降はステープな領域は徐々にフラット化が見られた。(Fig. 1)

角膜前面屈折力 (Simulated keratometric power) は照射前が 45.1 ± 1.2 D で、照射後は2週目に最も減少し 40.6 ± 3.6 D となった。その後徐々に増加し照射6ヶ月目では 42.0 ± 1.6 D となり、6ヶ月目にける矯正効果は 3.1 D であった。(Fig. 2)

SRI, SAI はともに術後3日目にピークを示し、その後徐々に低下したが、6ヶ月目で両者はともに術前に近い値となった。術前と6ヶ月目の値を比較すると、両者ともに有意差は認めなかった。(Fig. 3)

2. 角膜厚

角膜厚は照射中央部および照射周辺部ともに、照射3日目で一過性に増加が見られた。1週目以降は照射中央部では安定化し、照射周辺部では徐々に増加が見られ6ヶ月目でも観察された。(Fig. 4)

3. 角膜厚と角膜前面屈折力の相関

照射周辺部の角膜厚と角膜前面屈折力には有意な相関が見られた。相関係数 0.87 ($p=0.04$)。しかし照射中央部の角膜厚と角膜前面屈折力との間には有意な相関はなかった。相関係数 -0.53 ($p=0.41$)。(Fig. 5)

4. 細隙灯顕微鏡検査の結果

角膜上皮については、3日目では軽度の角膜上皮欠損が見られたが、1週目で、全例に角膜上皮の再生が得られた。上皮欠損が遷延した例はなかった。

角膜上皮下混濁 (Haze) は、照射後2週目より出現し、1ヶ月目で最も増強した。1ヶ月目の Haze は照射周辺で強く照射中央で淡い混濁を呈していた。Haze はその後徐々に軽減し6ヶ月目には観察されなくなった。角膜周辺部の血管侵入はいずれの時期においても観察されなかった。

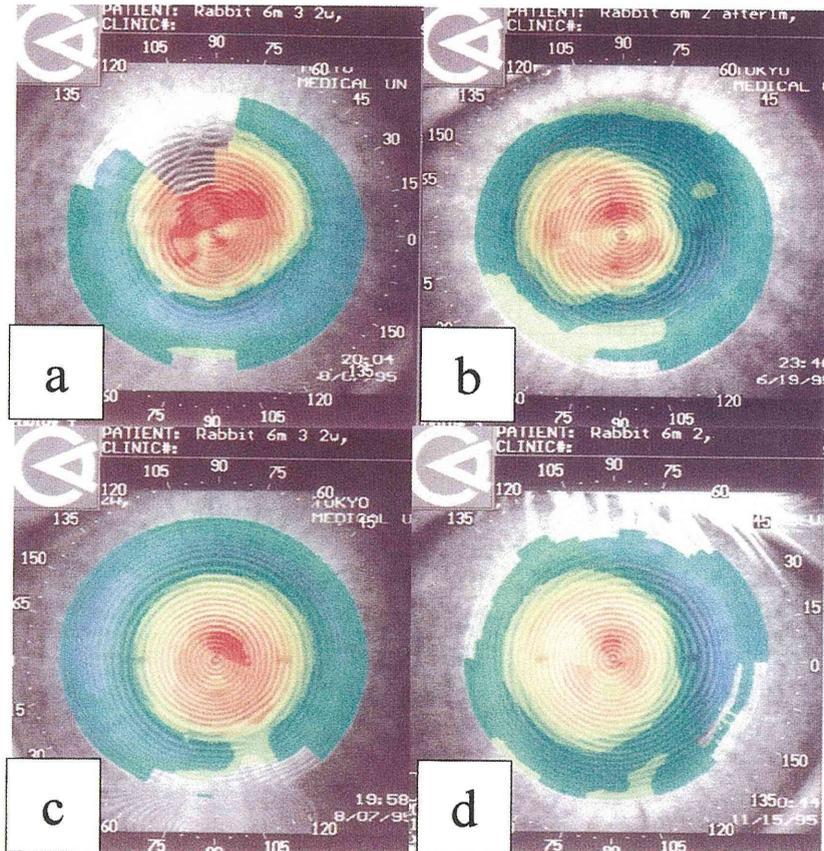


Fig. 1 Topographic changes.
 a) 2 weeks, b) 1 month, c) 3 months, d) 6 months
 The ablation area is shown in color (red and yellow). The area of steep ablation gradually became flat.
 Color map: red (steep) > yellow > green > blue (flat)

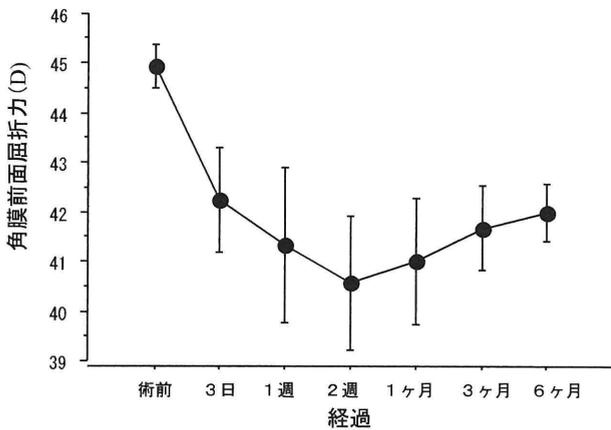


Fig. 2 Change of simulated keratometric power.
 Error bars indicate standard error. Refractive regression was found until 6 months.

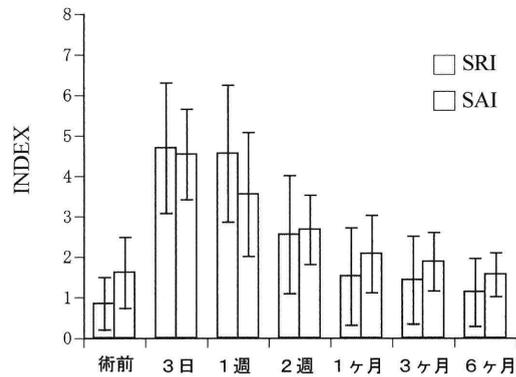


Fig. 3 Change of SRI and SAI.
 SRI and SAI returned to preoperative levels at 6 months.
 SRI values preoperatively and at 6 months were 0.85 ± 0.64 and 1.12 ± 0.83 ($p=0.47$). Correspondent values for SAI were 1.56 ± 0.56 and 1.61 ± 0.83 ($p=0.89$).

5. 光学的顕微鏡検査

照射直後の切除面は、周辺部から中央部にかけて平滑であった。実質表層では実質細胞は減少していた。照射1週目では上皮層は完全に再生していた。

照射1ヶ月の照射周辺部は照射中央と比較して上皮

の過形成が見られ、実質表層に活性化した実質細胞が多数観察された。(Fig. 6a, b)

照射3ヶ月後には、照射周辺部の活性化した実質細胞の密度は減少し、実質表層の不整も軽減した。

照射6ヶ月後の照射周辺部にも上皮の過形成が観察

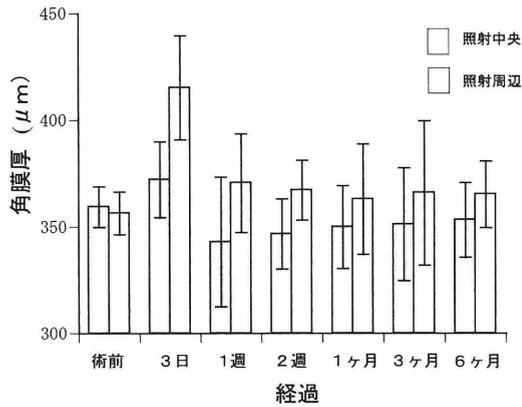


Fig. 4 Change of corneal thickness. Corneal thickness increased gradually at the periphery of ablation area.

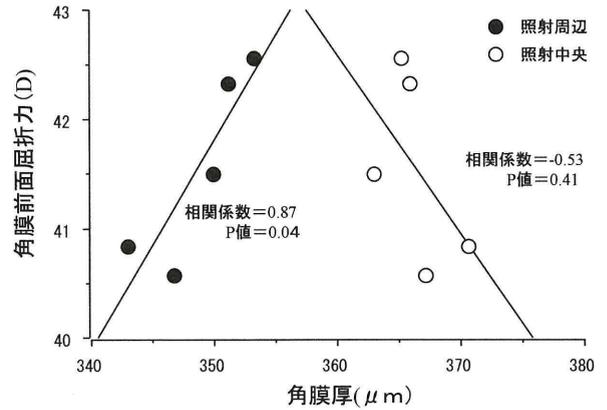


Fig. 5 Correlation of corneal thickness and keratometric power.

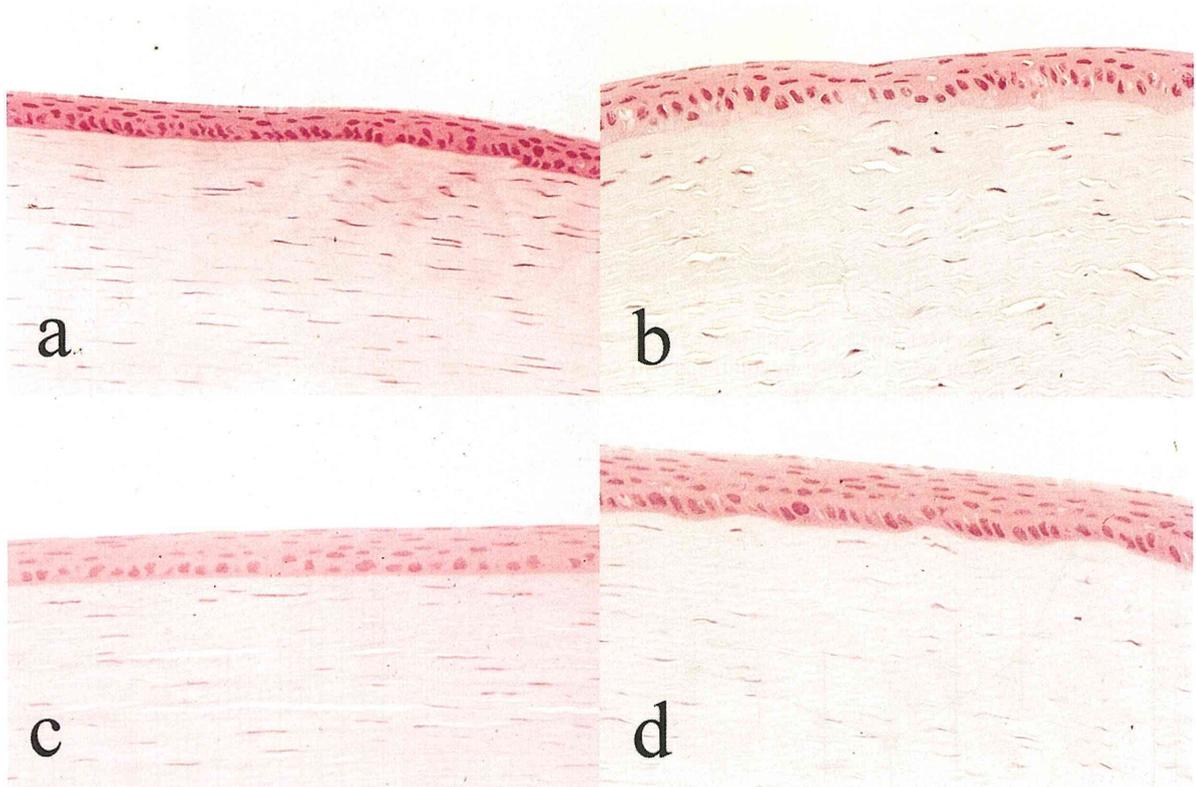


Fig. 6 H-E stain.

- a) Center of ablation area at 1 month
- b) Periphery of ablation area at 1 month
- c) Center of ablation area at 6 months
- d) Periphery of ablation area at 6 months

Epithelial hyperplasia was found up to 6 months at the periphery of the ablation area.

された。上皮基底細胞の配列は規則的になっており、実質表層の明らかな不整は見られなかった。(Fig. 6c. d)

6. 透過型電子顕微鏡検査

照射3日後のデスメ膜内には電子密度の高い無構造物質の沈着が照射周辺部に認められたが、照射中央部には観察されなかった。(Fig. 7a. b)

照射1週後にはデスメ膜内の電子密度の高い無構

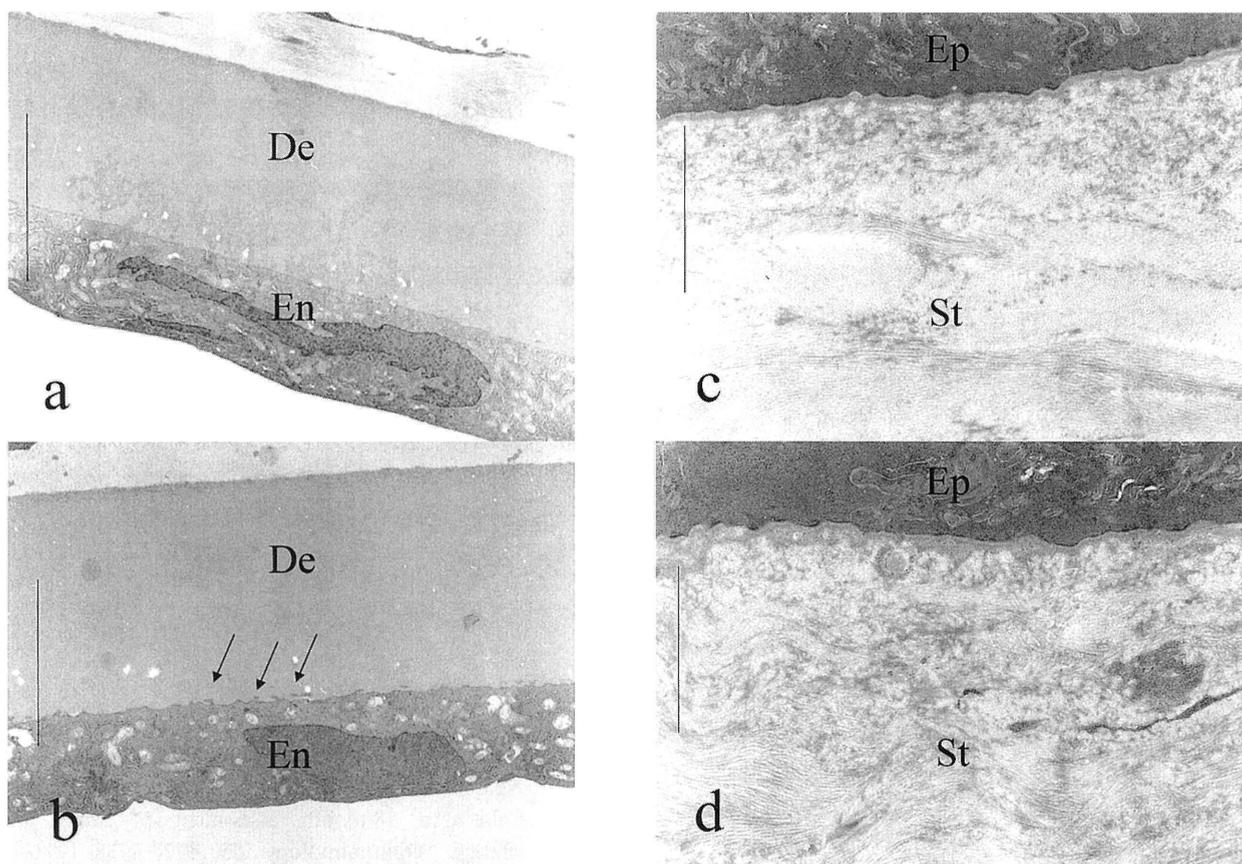


Fig. 7 Transmission electron microscopy.

- a) Center of the ablation area at 3 days
- b) Periphery of the ablation area at 3 days
- c) Center of the ablation area at 6 months
- d) Periphery of the ablation area at 6 months

At 3 days, highly dense materials were found in Desmet's membrane of the periphery of the ablation area (arrow). At 6 months, irregularity of the superficial stroma was less at the center of the ablation area than at the periphery of ablation area.

Bars indicate 5 μ m. Ep: Epithelial cell. St: Stroma. De: Desmet's membrane. En: Endothelial cell.

造物質の沈着は照射周辺部でも照射中央部でも観察されなかった。

照射1ヶ月目の照射周辺部では照射中央部と比較して実質表層のコラーゲン線維は不整となり、線維芽細胞に類似した実質細胞が多数出現していた。実質細胞の周囲には空胞変性がみられ、粗造なコラーゲン線維も散見された。

照射3ヶ月目には線維芽細胞様の実質細胞は減少し、実質表層のコラーゲン線維の不整も減少した。

照射6ヶ月後には照射周辺部でも線維芽細胞様の実質細胞はほとんど観察されなくなった。コラーゲン線維の不整は、照射周辺部と比較して、照射中央部では軽度であった。(Fig. 7c, d)

考 察

HPRK 施行後における家兎角膜の形状は、照射部で明らかなスティープ化が観察され、遠視矯正効果が確認された。しかし2週目以降には照射部のフラット化や、角膜屈折力の増加を認めた。これは矯正効果の戻りが生じていることを意味している。また SRI, SAI の回復に6ヶ月を要したことは、HPRK 施行後に角膜形状変化が長期持続し、屈折変化は安定しにくいことを示している。実際にヒトに対する HPRK では屈折変化の安定に+6D以下の矯正では3ヶ月、+6D以上の矯正では6ヶ月を要すると報告されている⁷⁾。屈折変化が安定しにくいことや矯正効果の戻りが生じることは、矯正精度の低下につながる。ヒトに対する HPRK の矯正精度は、+6D以下の矯正で誤差が±1

D以内であったのは40%であり、+6D以上の矯正では±1D以内がわずか17%と低い⁷⁾。本研究は家兎に対する実験であるが、特に+8Dと大きな矯正量なので、矯正効果の戻りは大きく屈折変化が安定するまでに6ヶ月以上を要したと考えられた。

術後の創傷治癒反応は、過去の報告⁹⁾とほぼ一致しており、概観すると創傷治癒過程は速やかで、角膜障害は軽度であると考えられた。照射中央部と照射周辺部とを比較してみると、やはり周辺部に組織変化が強く中央部ではわずかであった。特に、周辺部の角膜上皮は6ヶ月目においても光学顕微鏡で過形成が見られたが、照射中央部にはなかったこと、電子顕微鏡で周辺部の実質においては癒痕形成が見られたが、中央部では軽度であったこと、デスメ膜においては、顆粒状物質の出現が周辺部のみ観察され、中央部にはなかったことなどからは、光学的に重要な照射中央部には組織侵襲がより少ないことが示された。角膜厚の変化でも角膜中央は照射後にほとんど変化はなかったが、周辺部では徐々に増加していた。照射周辺部の角膜厚の増加に関する組織変化として、角膜上皮の過形成と角膜実質の癒痕形成が考えられた。

矯正効果の戻りと照射周辺部の角膜厚の変化は有意に相関していた。言いかえると矯正効果の戻りは、角膜厚の変化すなわち角膜上皮の過形成や角膜実質の癒痕形成と関係していると考えられる。過去の報告では近視矯正を目的としたphotorefractive keratectomy (PRK) 後、矯正効果の戻りが大きい例の組織学的検討で角膜上皮の過形成が見られたこと¹⁰⁾、家兎に対するPRK後の角膜上皮厚と戻りの程度に相関があること¹¹⁾や、PRK後の上皮下混濁の強い例に矯正効果の戻りが生じやすい¹²⁾ことなどが示されている。HPRK後における矯正効果の戻りの成因においてもPRKと同様、角膜上皮の過形成と実質の癒痕形成が深く関係していると考えられる。矯正効果の戻りを軽減できれば、矯正効果の早期安定や矯正精度の向上につながるため、そのためには角膜上皮の過形成や実質の癒痕化を制御する必要があると考えられる。

最近Laser in situ keratomileusis (LASIK) による遠視矯正が開発され、臨床応用されているが、LASIKでは、角膜上皮やデスメ膜の切除を行わずに遠視の矯正が可能である。また術後の組織変化において、上皮過形成や実質の癒痕形成が生じにくいとされている。このような観点からはHPRKよりLASIKのほうが有利であると考えられる。

結 論

1. HPRK後の角膜形状の安定には6ヶ月以上を要する。
2. 創傷治癒は速やかで組織障害は軽度であった。
3. 矯正効果の戻りには照射周辺部の角膜上皮の過形成と実質の癒痕形成が関係していると考えられた。

謝 辞

稿を終えるにあたり、御指導、御校閲を賜りました白井正彦教授に深謝いたします。また本研究の機会を与えて頂き、長年ご指導賜りました村松隆次客員教授に心から感謝いたします。

本文の要旨は第100回日本眼科学会総会で報告した。

文 献

- 1) Jackson WB, Casson E, Hodge WG, Mintsoulis G, Agapitos PJ: Laser vision correction for low hyperopia. An 18-month assessment of safety and efficacy. *Ophthalmology* **105**: 1727-1738, 1998
- 2) Jackson WB, Mintsoulis G, Agapitos PJ, Casson EJ: Excimer laser photorefractive keratectomy for low hyperopia: safety and efficacy. *J Cataract Refract Surg* **23**: 480-487, 1997
- 3) Dierick HG, Missotten L: Corneal ablation profiles for correction of hyperopia with the excimer laser. *J Refract Surg* **12**: 767-773, 1996
- 4) Dausch D, Klein R, Schrder E: Excimer laser photorefractive keratectomy for hyperopia. *Refract Corneal Surg* **9**: 20-28, 1993
- 5) Dausch D, Smecka Z, Klein R, Schrder E, Kirchner S: Excimer laser photorefractive keratectomy for hyperopia. *J Cataract Refract Surg* **23**: 169-176, 1997
- 6) Danjoux JP, Kalski RS, Cohen P, Lawless MA, Rogers C: Excimer laser photorefractive keratectomy for hyperopia. *J Refract Surg* **13**: 349-355, 1997
- 7) Juhani P, Petri M, Seppo P, Hannu U: Excimer laser photorefractive keratectomy for hyperopia. *J Refract Surg* **13**: 504-510, 1997
- 8) Nagy ZZ, Suveges I, Nemeth J, Fust A: Refractive results after photorefractive excimer laser treatment in mild myopic and in mild hyperopic eyes. *Acta chir Hung* **35**: 315-324, 1995
- 9) 細谷裕治, 中安清夫: 遠視矯正 photorefractive keratectomy 後家兎角膜の共焦点顕微鏡による観察と組織学的検討. *日眼会誌* **103**: 243-251, 1999
- 10) Lohmann CP, Patmore A, O'Brart D, Reischl U, Winkler Mohrenfels C, Marshall J: Regression and

- wound healing after excimer laser PRK : a histopathological study on human corneas. *Eur J Ophthalmol* **7** : 130-138, 1997
- 11) Lohmann CP, Patmore A, Reischl U, Marshall J : The importance of the corneal epithelium in excimer-laser photorefractive keratectomy. *Ger J Ophthalmol* **5** : 368-372, 1996
- 12) Ramirez FS, Maurice DM : Inflammatory cells, refractive regression, and haze after excimer laser PRK. *J Refract Surg* **12** : 676-681, 1996

Corneal topographic and histological change on rabbit corneas after hyperopic photorefractive keratectomy

Hideki MORI

Department of Ophthalmology, Tokyo Medical University
(Director : Prof. Masahiko USUI)

Aim : The purpose of this study was to elucidate the corneal topographic and histological changes of rabbit cornea after hyperopic photorefractive keratectomy (HPRK).

Materials and Methods : We performed 7.0 mm-diameter HPRK on rabbit corneas for a correction of +8.0 diopters. The corneas were studied by topography, pachymetry, and slitlamp examination for 6 months after HPRK. Simultaneously, corneal samples were examined by light microscopy and transmission electron microscopy.

Results : Corneal topography became steep in the ablation area. However, the steep area gradually became flat and refractive regression was observed up to 6 months. At 6 months, histological examination revealed epithelial hyperplasia and scar formation in the superficial stroma. Statistically, there was a significant correlation between refractive regression and corneal thickness in the peripheral ablation area.

Conclusion : A period of over 6 months was required for the cornea to stabilize after HPRK. Histological examination revealed that wound healing was prompt and tissue damage was mild. We suggest that refractive regression is caused by epithelial hyperplasia and scar formation in the superficial stroma in the peripheral ablation area.

〈**Key words**〉 Hypertropia, Excimerlaser, Hyperopic photorefractive keratectomy, Photorefractive keratectomy, Rabbit cornea
