

エキシマレーザー角膜表層切除後上皮下混濁のグリコサミノグリカン

中安 清夫, 後藤 淑子, 石川 隆, 金井 淳

順天堂大学医学部眼科学教室

要 約

家兎角膜にエキシマレーザー表層切除術を施行し、術後の上皮下混濁部分のグリコサミノグリカン、プロテオグリカンについて組織化学的に検索した。また、機械的角膜表層切除術後の角膜についても同様の検索を行った。エキシマレーザー表層切除術後 20 日目の角膜の上皮下混濁部分は、トルイジン青、アルシアン青、コロイド鉄で濃染された。しかし、コンドロイチナーゼ ABC およびコンドロイチナーゼ AC で酵素処理した角膜片の上皮下混濁部分のアルシアン青の染色性は著明に低下していた。また、上皮下混濁部分では、抗ラージプロテオグリカン抗体に対し、強い陽性所見を認めた。これらの結果は、機械的角膜表層切除術後の上皮下混濁部分においても同様に観察された。以上の結果から、2 つの異なった方法で施行

された角膜表層切除術後の上皮下混濁部分には、いずれもコンドロイチン硫酸を側鎖にもつ分子量の大きな巨大プロテオグリカンが局在しているものと考えられた。したがって、組織化学的および免疫組織化学的観察結果から、エキシマレーザー角膜表層切除術後の上皮下混濁はレーザーに対する特異的な反応ではなく、角膜実質切除後のごく一般的な癒痕組織であると推測された。(日眼会誌 100 : 350-357, 1996)

キーワード：エキシマレーザー、角膜表層切除術、上皮下混濁、グリコサミノグリカン、プロテオグリカン

Glycosaminoglycans in Subepithelial Opacity after Excimer Laser Keratectomy

Kiyoo Nakayasu, Toshiko Gotoh, Takashi Ishikawa
and Atsushi Kanai

Department of Ophthalmology, Juntendo University School of Medicine

Abstract

We evaluated histochemically the characteristics of glycosaminoglycans and proteoglycans in the corneal subepithelial opacity after excimer laser keratectomy on rabbit corneas. We also performed the same evaluations on the cornea after mechanical keratectomy. Twenty days after the operations, the area immediately subjacent to the epithelium showed strong staining with toluidine blue, alcian blue, and colloidal iron. However, after treatment with chondroitinase ABC or chondroitinase AC, alcian blue staining in this area decreased dramatically. Antilarge proteoglycan antibody also reacted strongly in this area. Histochemical and immunohistochemical examination of the cornea where mechanical keratectomy was done showed basically

similar findings with the cornea of excimer laser keratectomy. These results suggest that large-molecular proteoglycans with chondroitine sulfate side chains become localized in the subepithelial area after two different kinds of keratectomies. We presume from histochemical and immunohistochemical observations that the subepithelial opacity observed after excimer laser keratectomy is not a special reaction to excimer laser but simply a corneal scar formed after stromal resection. (J Jpn Ophthalmol Soc 100 : 350-357, 1996)

Key words: Excimer laser, Keratectomy, Subepithelial opacity, Glycosaminoglycan, Proteoglycan

別刷請求先：113 東京都文京区本郷3-1-3 順天堂大学医学部眼科学教室 中安 清夫
(平成7年8月15日受付, 平成7年12月25日改訂受理)

Reprint requests to: Kiyoo Nakayasu, M.D. Department of Ophthalmology, Juntendo University School of Medicine, 3-1-3 Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo 113, Japan.

(Received August 15, 1995 and accepted in revised form December 25, 1995)

I 緒 言

1983年, Trokel¹⁾によって波長193nmのエキシマレーザーが角膜手術に初めて応用されて以来,すでに欧米を中心とした諸外国では, photorefractive keratectomy (PRK), または phototherapeutic keratectomy (PTK)として多数の症例に対し臨床応用され, その有効性が報告²⁾³⁾されている. 我が国においても近年, (株)ニデックによって国産のエキシマレーザー角膜手術装置EC-5000が開発された. 本装置のレーザーデリバリーシステムはスキャンニング方式を取っており, しかもスキャンの方向を回転させながら照射するため, より平滑で, かつ均一性のある切除面が得られるとされている. 現在, この装置に対して我々の大学を含め全国5大学で臨床治験(エキシマレーザー角膜手術装置EC-5000治験委員会: 増田寛次郎委員長)が行われており, 本装置を用いた基礎的・臨床的研究が発表されつつある.

一方, エキシマレーザーによる角膜表層切除術後の合併症の一つとして, 上皮下混濁の出現が注目されている⁴⁾⁵⁾. 混濁の出現が視力障害, グレア, コントラスト感度の低下, 矯正値のもどりなどの原因となり得るからである. この混濁の成因として, エキシマレーザー照射中に発生する熱作用によるものであろうとする考え方³⁾がある. しかし, その成因についての詳細は未だ不明である. また, 上皮下混濁の組織化学的な組成に関し, 線維芽細胞様に変化した実質細胞やマイクロフィブリルの出現, 無構造物質の沈着などが報告⁴⁾⁵⁾されている. Fitzsimmons⁶⁾は, 家兎角膜を用いた実験でグリコサミノグリカン(以下, GAGs)に注目し, 混濁部分に一致してヒアルロン酸が多くなっていると報告している. また, Malley⁷⁾は, 上皮下混濁部分のGAGsの変化としてケラタン硫酸の減少を指摘している. さらに, Rawe⁸⁾はエキシマレーザー表層切除術後の家兎角膜を電子顕微鏡で観察し, 術後の上皮下混濁部分には正常よりも大きなプロテオグリカン(以下, PGs)が局在していると報告している. 我々も今回, 家兎角膜にエキシマレーザー表層切除術を施行し, 術後の上皮下混濁部分のGAGsおよびPGsについて組織化学的あるいは免疫組織化学的に検索し, その組成について若干の知見を得た. さらに, スパーテルを用いた機械的な方法で角膜表層切除術を施行し, GAGs, PGsに関する同様の検索を行い, 両者を比較することによりエキシマレーザー後の上皮下混濁の成因について考察を加えたので, ここに報告する.

II 対象および方法

1. 角膜表層切除術

実験には, 体重2.5kgの白色家兎15匹の眼球30眼を使用した. エキシマレーザーによる角膜表層切除術(20眼)には, ニデック社製EC-5000を使用した. 白色家兎を

塩酸ケタミン(ケタラール[®])の筋肉注射により全身麻酔した後, 角膜表面の水分をMQA[®]で可能な限り吸収した. エキシマレーザーの設定は, PTKmodeとし, 切除領域: 直径6mm, 切除深度: 100 μ m, レーザーパルスエネルギー: 130mJ/pulse, 繰り返し周波数: 30Hzとして角膜表層切除術を施行した. 機械的角膜表層切除術(10眼)は, 直径7mmのトレパンで角膜中央を約1/3層切開した後, スパーテルおよびゴルフ氏刃を用いて表層切除した. いずれの術式においても術直後はオフロキサシン眼軟膏を点入し, その後, 手術5日目までオフロキサシン点眼薬を1日3回投与した. その際, 術後感染や上皮再被覆遅延に注意して, 肉眼的あるいは必要に応じてフルオセイン染色して観察した. 術後20日目, 細隙灯顕微鏡で角膜を観察した後, 家兎をペントバルビタールナトリウム(ネンプタール[®])の致死量静注によって屠殺し, 眼球を摘出した.

2. 組織学的検索

エキシマレーザーまたは機械的な角膜表層切除術を施行した眼球は, 4%ホルマリン液または2%グルタルアルデヒド液で固定した後, 角膜片とした. ホルマリン固定された角膜片はパラフィン包埋し, グルタルアルデヒド固定の角膜片はメサクリレートに包埋した. また, 一部の眼球は無固定のまま角膜片を切り出し, OCT compound(マイルズ社)で包埋し凍結切片用とした. 組織化学的検索として, メサクリレート包埋から得られた角膜切片はトルイジン青で染色した. パラフィン包埋角膜切片はアルシアン青(pH 2.5), コロイド鉄, PAS(periodic acid Schiff staining)で染色した. また, パラフィン包埋角膜切片はkeratanase 0.1 U/ml 0.1 M リン酸塩緩衝液(pH 6.0, 37°C)(生化学工業), chondroitinase ABC 5 U/ml 0.2 M トリス塩酸緩衝液(pH 8.0, 37°C)(生化学工業), chondroitinase AC 0.5 U/ml 0.4 M リン酸緩衝液(pH 6.0, 37°C)(生化学工業), 放線菌hyaluronidase 100 TRU/ml 0.1 M リン酸塩緩衝液(pH 6.0, 60°C)(生化学工業)によりそれぞれ1時間酵素処理した後, アルシアン青で染色し処理前の染色性と比較した. 免疫組織化学的検索としては, 抗ヒトケタラン硫酸抗体(生化学工業)および抗ヒトラージプロテオグリカン抗体(生化学工業)を一次抗体として用い, 凍結角膜切片を酵素抗体法(アビジン・ビオチン法)で反応させた後, diaminobenzidineで発色させた. また, chondroitinase ABC(前述)で37°C, 1時間酵素処理した凍結角膜切片についても抗ラージプロテオグリカン抗体を用いた同様の検索を行った.

III 結 果

エキシマレーザーおよびスパーテルによる機械的表層切除術を施行した角膜は, いずれも術後5日目まで術後感染, 上皮の再被覆遅延を認めなかった. さらに, 術後20日目に細隙灯顕微鏡で観察すると, 両者ともに上皮細胞

はすでに表層切除部分を完全に再被覆しており、上皮下実質前層には個体差はあるものの、すべての表層切除角膜で上皮下混濁が認められた。ただし、エキシマレーザーによる表層切除後の上皮下混濁は、細かい顆粒状または格子状のものが多かったのに対し、機械的表層切除後では切除部分一様に均一な混濁を認めるものが多かった。

メサクリレート包埋から得られたエキシマレーザー表層切除術後の角膜切片をトルイジン青で染色して光学顕微鏡で観察すると、再被覆された上皮細胞は軽度から中等度の過形成(hyperplasia)を示しており、その直下にトルイジン青で濃染する領域を認め、この領域が上皮下混濁と一致する部位と考えられた。また、この部分にはトルイジン青で赤色に染色される metachromasia も観察された(図1)。パラフィン包埋された組織から切り出された角膜片は、いずれも上皮下部分で、固定・包埋・染色の過程で人工的に生じたと考えられる組織の断裂が認められた。パラフィン切片では、アルシアン青、コロイド鉄(図2)でエキシマレーザーによる表層切除領域の上皮下実質浅層、すなわち上皮下混濁部分が濃染した。PAS染色(図3)では、組織断裂部分は濃染されなかったが、その周辺では正常実質とほぼ同程度の染色性を示した。スパーテルを用いた機械的角膜表層切除後の角膜上皮下混濁の組織学的所見も上述の所見と全く同様であった。また、keratanase, chondroitinase ABC, chondroitinase AC および hyaluronidase によって酵素処理した前後のパラフィン角膜切片をそれぞれアルシアン青で染色すると、keratanase 処理(図4)では、その前後で上皮下混濁部分のアルシアン青の染色性にほとんど変化が認められなかった。一方、chondroitinase ABC(図5)および AC(図6)で処理した角膜片の上皮下混濁部分の染色性は、処理前に比べ著しく低下していた。また、hyaluronidase(図7)を用いて酵素処理すると、上皮下混濁部分のアルシアン青の染色性はわずかながら低下した。これらの所見は、エキシマレーザーおよび機械的角膜表層切除術後の角膜上皮下混濁部分において全く同様であった。

免疫組織化学的検索の結果を表1に示す。抗ケタラン硫酸抗体を用いてエキシマレーザーおよび機械的角膜表層切除後の角膜を観察すると、いずれの角膜においても上皮下混濁部分も正常角膜実質もほぼ同程度に染色されていた(図8)。一方、抗ラージプロテオグリカン抗体を一次抗体として用いた場合、上皮下混濁部分が著明に染色され、明らかな陽性所見を示していた。一方、上皮細胞および上皮下混濁周囲の角膜実質にはほとんど陽性所見は認められなかった(図9)。この観察結果も、エキシマレーザーおよび機械的角膜表層切除後の角膜切片において全く同様であった。また、chondroitinase ABC 処理後の凍結角膜切片に抗ラージプロテオグリカン抗体を反応させた場合でも、エキシマレーザー、機械的表層切除術(図10)のいずれの角膜でも上皮下混濁部分が陽性であった。

IV 考 按

エキシマレーザー角膜表層切除後の上皮細胞層の再被覆は、通常3日から1週間ほどで終了する。上皮細胞の再被覆が遅延した場合、その後の上皮下混濁の出現を助長する可能性がある。このため、今回の実験で組織学的検索に用いた角膜には、術後5日目まで上皮再被覆遅延や術後感染が全く認められなかったことを確認している。さらに、再被覆した上皮細胞は、その後重層化しその厚さを増してゆくが、しばしば正常上皮層の厚さよりもさらに肥厚することがある⁴⁾。今回の実験でも術後20日目の上皮細胞層は7~9層ほどに達しており、軽度の過形成(hyperplasia)を示していた。肥厚した上皮直下の実質浅層には、実質細胞が多数集合していた。そして、これらの実質細胞が細胞間物質を盛んに産生・分泌して上皮下混濁を形成しているものと考えられた。このような混濁は臨床的に subepithelial haze と呼ばれるもので、ニデック社製のエキシマレーザーに限らず、どの機種を用いても観察される。また、本実験に先立って行われた予備実験において、スキヤニング方式のニデック社製 EC-5000 の角膜実質の切除面は極めて平滑であることを確認している。分泌された物質を組織学的に同定するためにいくつかの染色法を用いたところ、上皮下混濁に一致した部分ではトルイジン青で濃染され、さらに、赤色に染色される metachromasia が認められた。アルシアン青、コロイド鉄でも正常角膜実質に比べより強く染色されていた。このような染色性を示す物質として最も考えられる物質は GAGs である。一方、パラフィン包埋された組織から切り出された角膜片は、いずれも上皮下混濁部分で、組織切片作製の過程で形成されたと思われる人工的断裂が認められた。これは、この部位には正常角膜実質で認められる I 型コラーゲンのような直径の太い線維成分が消失し無構成成分が多く、本来の物質の構造が失われているために生じたと考えられた。これらの所見から、上皮下混濁部分には、恐らく GAGs, PGs が正常実質に比べより多く存在しているものと考えられた。通常、ヒアルロン酸以外の GAGs は蛋白質(コア蛋白質)と共有結合して PGs の側鎖として生体内に存在している。角膜内における PGs は、膠原線維の直径や配列、実質内含水量の調節、実質の透明性・創傷治癒などに重要な役割を果たしていると考えられている⁹⁾。

さらに、GAGs を分解する種々の酵素を用いて、その種類の同定を試みた。今回用いた各酵素は、各々特異的に分解される GAGs の種類が決まっている。すなわち、keratanase はケラタン硫酸を、chondroitinase ABC はコンドロイチン硫酸、デルマタン硫酸、ヒアルロン酸を分解する。また、chondroitinase AC はコンドロイチン硫酸、ヒアルロン酸を分解する。さらに、hyaluronidase はヒアルロン酸のみを分解すると考えられている。上記4種類の

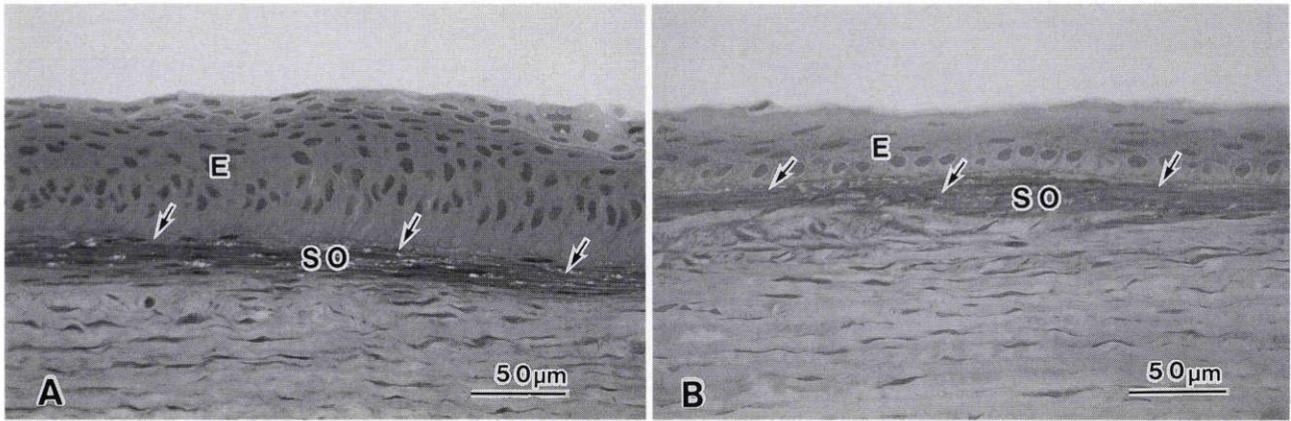


図 1 A: エキシマレーザー表層角膜切除術後 20 日目. B: 機械的表層角膜切除術後 20 日目.
メサクリレート包埋, トルイジン青染色. A, B ともに上皮(E)直下にトルイジン青に濃染する上皮下混濁(SO)が観察される. また, 赤色調の metachromasia (矢印)も認められる. さらに, A では上皮細胞(E)の過形成を認める. 機械的表層角膜切除術においても, 上皮の過形成を認めることがしばしばある.

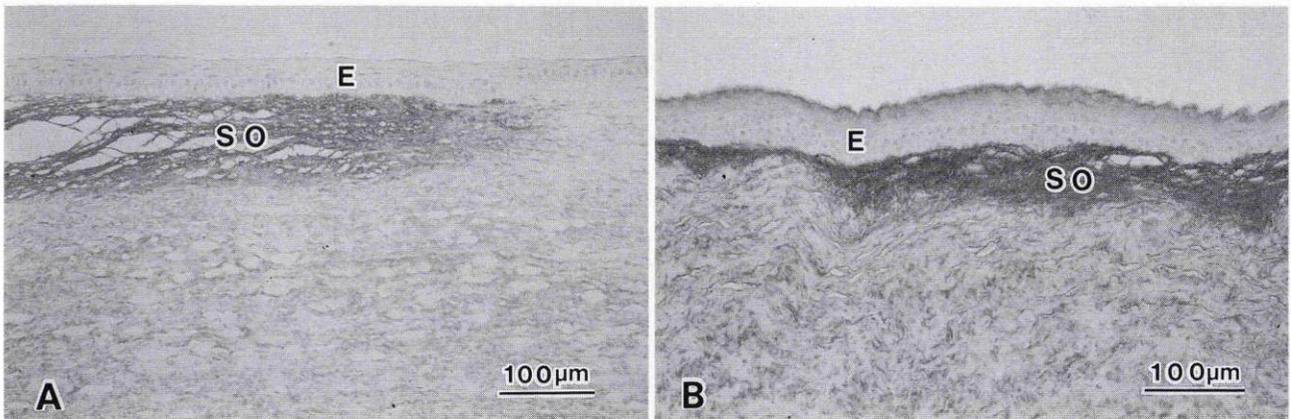


図 2 A: エキシマレーザー表層角膜切除術後 20 日目. B: 機械的表層角膜切除術後 20 日目.
パラフィン包埋, コロイド鉄染色. 上皮(E)下に人工産物と思われる組織断裂を認めるものの, コロイド鉄染色は, 上皮下混濁部分(SO)で陽性である.

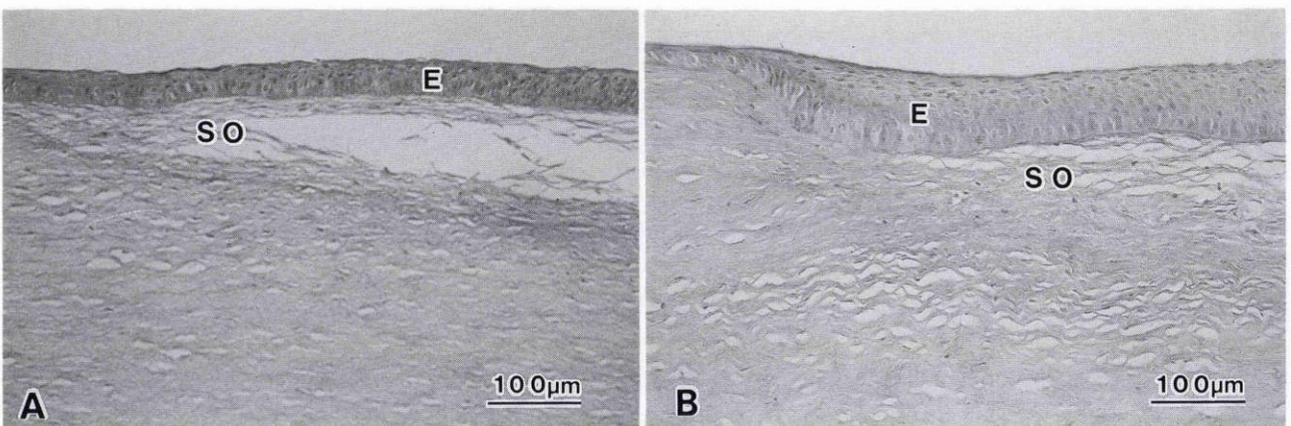


図 3 A: エキシマレーザー表層角膜切除術後 20 日目. B: 機械的表層角膜切除術後 20 日目.
パラフィン包埋, PAS 染色. A, B とも上皮(E)下に組織断裂を認める. 両者ともに上皮下混濁部分(SO)の染色性は正常角膜実質とほぼ同程度である.

酵素のうち, 処理後にアルシアン青の染色性が著明に低下したものは chondroitinase ABC と AC であった. このことから, 酵素処理前に上皮下混濁部分に含まれてい

た GAGs の種類は, コンドロイチン硫酸またはヒアルロン酸と考えられる. 一方, ヒアルロン酸のみを消化する hyaluronidase を用いた処理では, 上皮下混濁部分の

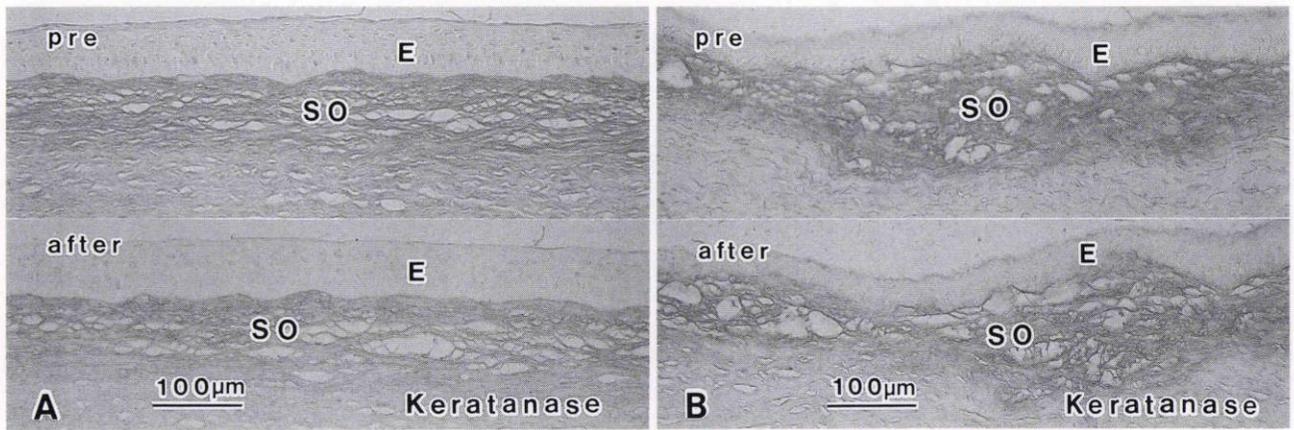


図4 A:エキシマレーザー表層角膜切除術後20日目, B:機械的表層角膜切除術後20日目。パラフィン包埋,アルシアン青染色。A, Bともに上段(pre)はkeratanase 処理前, 下段(after)は処理後, A, B いずれも keratanase 処理前の上皮(E)直下の混濁部分(SO)は濃染されている。またA, Bともに keratanase 処理後も染色性にほとんど変化を認めない。

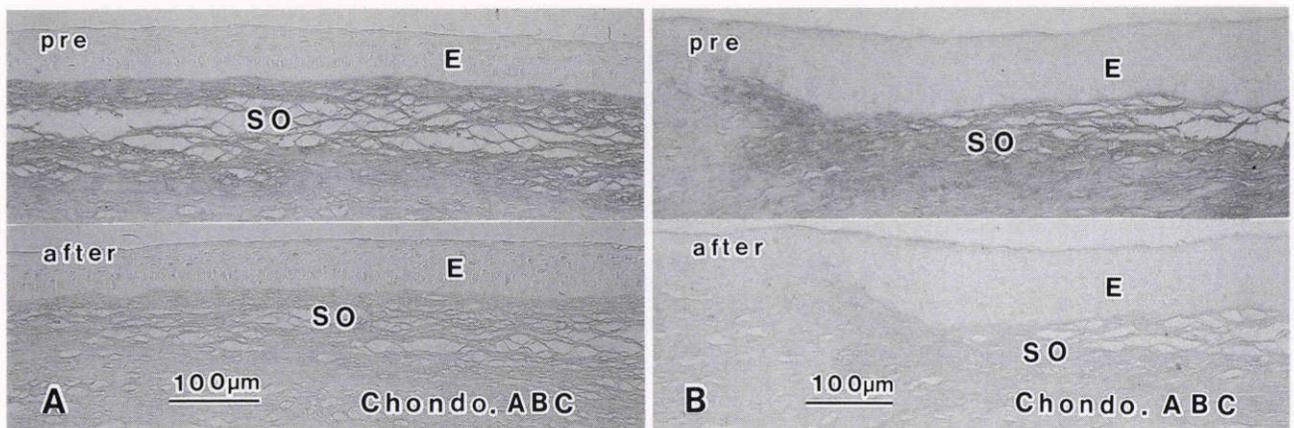


図5 A:エキシマレーザー表層角膜切除術後20日目, B:機械的表層角膜切除術後20日目。パラフィン包埋,アルシアン青染色, Chondroitinase ABC 処理前後の写真, A, Bともに上段(pre)は chondroitinase ABC 処理前, 下段(after)は処理後, A, B のいずれも上皮(E)直下の混濁部分(SO)の染色性は処理後著明に低下している。

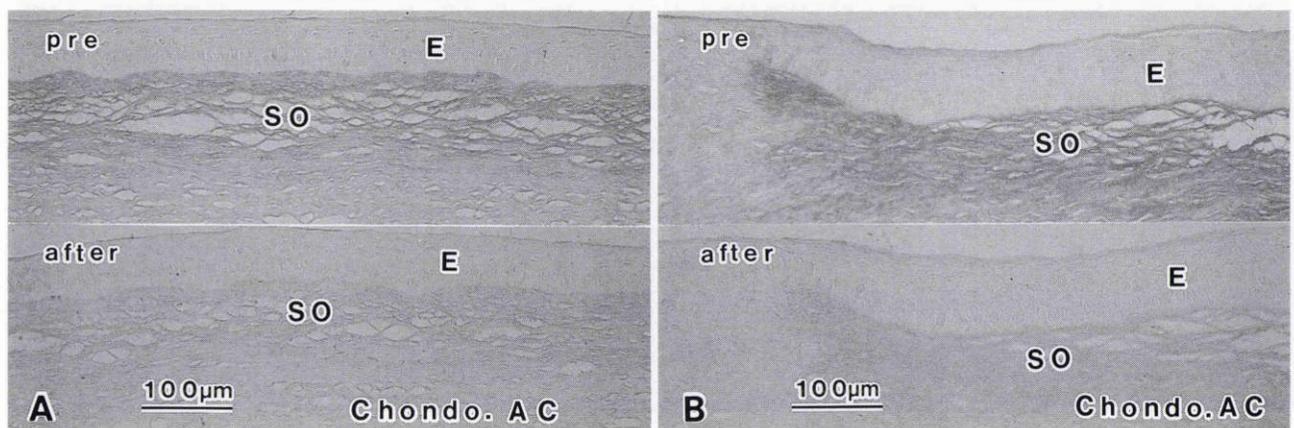


図6 A:エキシマレーザー表層角膜切除術後20日目, B:機械的表層角膜切除術後20日目。パラフィン包埋,アルシアン青染色, Chondroitinase AC 処理前後の写真, A, Bともに上段(pre)は chondroitinase AC 処理前, 下段(after)は処理後, A, B のいずれも上皮(E)直下の混濁部分(SO)の染色性は処理後, 著明に低下している。

ルシアン青の染色性はごく軽度の低下に留まっていた。以上の結果から, 上皮下混濁部分のGAGsは正常角膜実

質に比べ, コンドロイチン硫酸が非常に多く含まれていると結論された。また, ヒアルロン酸も正常角膜実質に比

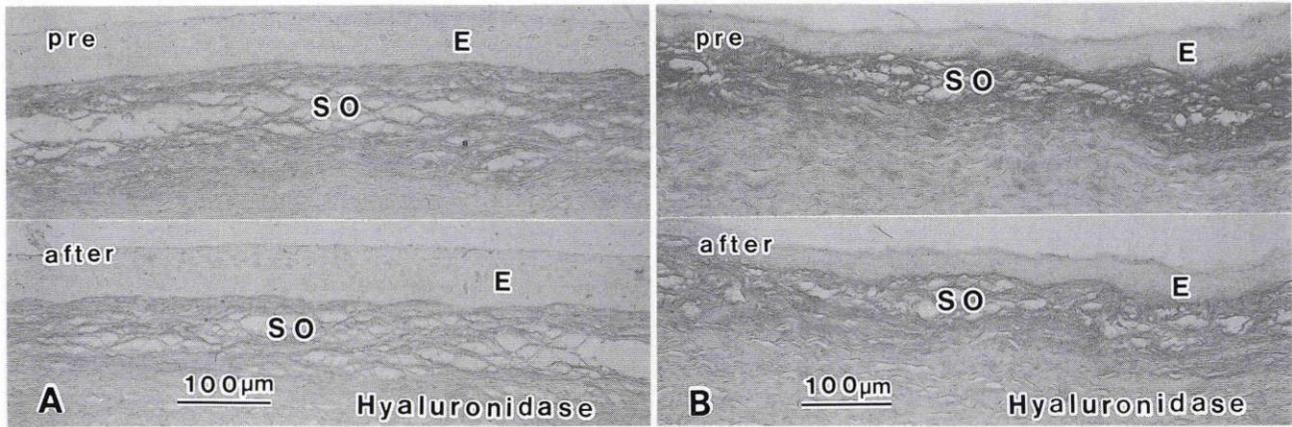


図7 A:エキシマレーザー表層角膜切除術後 20 日目. B: 機械的表層角膜切除後 20 日目. パラフィン包埋,アルシアン青染色. Hyaluronidase 処理前後の写真. A, Bともに上段(pre)は hyaluronidase 処理前. 下段(after)は処理後. A, Bのいずれも上皮(E)直下の混濁部分(SO)の染色性は処理後,わずかに低下している.

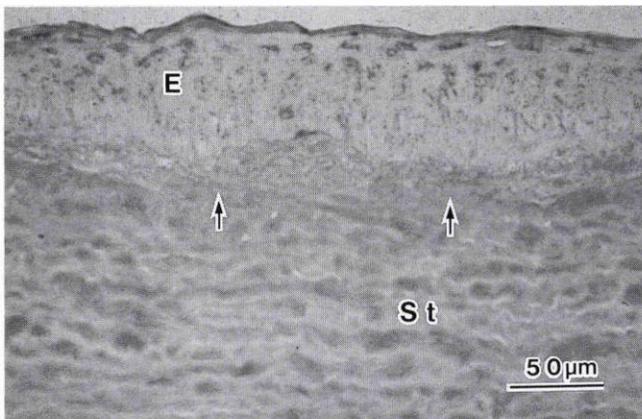


図8 エキシマレーザー表層切除後 20 日目の角膜. 抗ケラタン硫酸抗体を一次抗体とした酵素抗体法(アビジン・ビオチン法). 上皮(E)下混濁部分(矢印)と正常実質(St)で染色性に変わりはない.

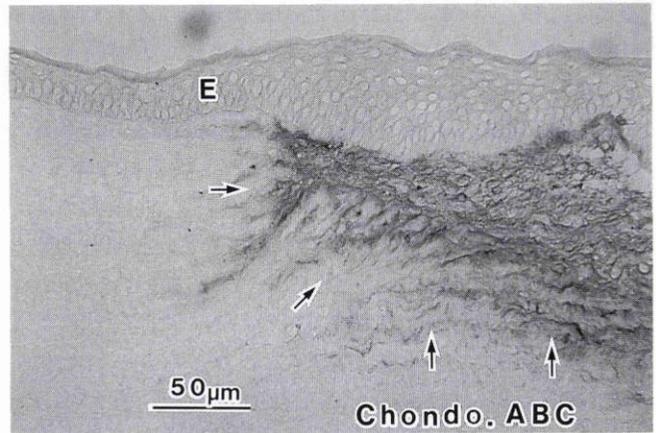


図10 機械的表層角膜切除術後 20 日目の角膜. Chondroininase ABC 処理後,抗ラージプロテオグリカン抗体を用いた酵素抗体法(アビジン・ビオチン法). 上皮(E)下混濁部分(矢印)が著明に染色されている. 図9とほぼ同様の所見である.

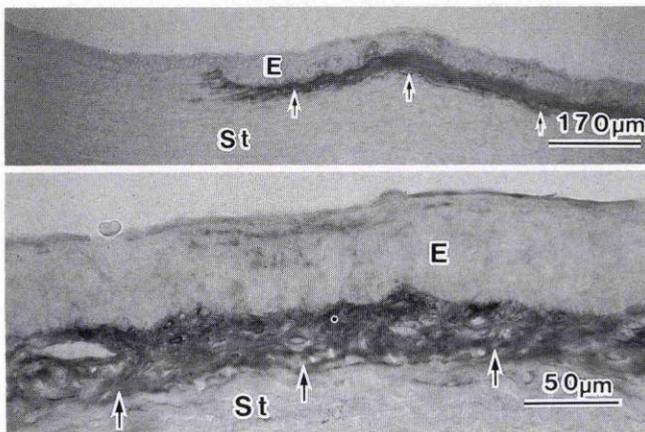


図9 エキシマレーザー表層切除後 20 日目の角膜. 抗ラージプロテオグリカン抗体を一次抗体とした酵素抗体法(アビジン・ビオチン法). 上段:弱拡大写真. 下段:強拡大写真. 上皮(E)下混濁部分(矢印)が著明に染色されている. 一方,正常実質(St)はほとんど陰性である.

べ,上皮下混濁部分では多少増加しているものと考えられた.さらに,ケラタン硫酸に対する抗体を用いた免疫組織化学的検索では,角膜表層切除後の上皮下混濁部分と正常角膜実質との染色性はほとんど変わらなかった.今回使用したもう一つの抗体,抗ラージプロテオグリカン抗体は,コンドロイチン硫酸を主な糖鎖として持つアグリカンと呼ばれる巨大な軟骨型プロテオグリカンのコア蛋白質や,同じくコンドロイチン硫酸を糖鎖とする巨大プロテオグリカンである“PG-M”のコア蛋白質と特異的に反応すると考えられている¹⁰⁾.このようなラージプロテオグリカンは,ヒト成人生体内では軟骨組織の他,大動脈の中・内膜,臍,強膜や多くの癌組織の間質部分に分布していると考えられている¹⁰⁾.一方,胎児ではほとんどすべての組織の間質に分布している¹⁰⁾.それに対し,正常角膜にはルミカン¹¹⁾¹²⁾,デコリン¹³⁾¹⁴⁾など分子量の小さなPGsが局在しているものの,ラージプロテオグリカンの

表1 免疫組織化学的検索(エキシマレーザーおよび機械的角膜表層切除術後 20日目の角膜)

一次抗体	エキシマレーザー表層切除後		機械的表層切除後	
	上皮下混濁部分	周辺実質	上皮下混濁部分	周辺実質
抗ケラタン硫酸	+	+	+	+
抗ラージプロテオグリカン				
コンドロイチナーゼ ABC 処理前	++	-	++	-
コンドロイチナーゼ ABC 処理後	++	-	++	-

局在は証明されていない。しかし、エキシマレーザーおよび機械的な方法による角膜の表層切除後の上皮下混濁部分には、この抗ラージプロテオグリカン抗体に対する強い陽性所見が観察された。すなわち、この上皮下混濁部分には、アグリカンまたはPG-Mなどのような巨大な分子量のコア蛋白質を持つPGsが産生・分泌されていることが示唆された。これらのPGsはコンドロイチン硫酸を糖鎖として持つため、chondroitinase ABCによって糖鎖を酵素処理し、コア蛋白質をむき出しにした方が抗ラージプロテオグリカン抗体に対しより強い陽性所見を得られると考えられている¹⁰⁾¹⁵⁾。しかし、今回の結果では酵素処理前においても処理後と同様の強い陽性所見を得た。このことは、上皮下混濁部分のPGsの中には、糖鎖の比較的少ないコア蛋白質がむき出しになっている部分の多いPG-MタイプのPGsが存在しているのではないかと思われた¹⁶⁾¹⁷⁾。さらに、これらのPGsのコア蛋白質にはヒアルロン酸結合部位も存在していると考えられている¹⁸⁾。酵素を用いた組織化学的検索で、上皮下混濁部分にはコンドロイチン硫酸の他、ヒアルロン酸と正常角膜実質に比べ多少増加していたことを示したが、これらのGAGsは上述の巨大PGsの糖鎖であるコンドロイチン硫酸とコア蛋白質に結合していたヒアルロン酸であると推測された。しかも、以上の所見はエキシマレーザーによる角膜表層切除後の上皮下混濁のみならず、レーザー自身や熱の影響を全く受けない機械的表層切除後の上皮下混濁部分にも全く同様に観察されていた。Hassallら¹⁰⁾は、家兎角膜の中央部分をトレパンで円形に全層切除したのちの角膜を生化学的に検索し、角膜瘢痕組織にはコンドロイチン硫酸を含んだ非常にサイズの大きなPGsが出現し、さらにヒアルロン酸が局在している一方、ケラタン硫酸はほとんど認められなかったと報告しており、我々の今回の角膜表層切除術後の結果とよく一致していた。また、今回使用した2つの抗体は、いずれも抗ヒトPGs(GAGs)に対する抗体であった。免疫学的検索は行っていないものの、ウサギ角膜組織に対して極めて特異的な陽性所見を示したことから、これらの抗体はウサギ角膜組織に対しても交差すると考えてよいと思われた。

今回は、エキシマレーザー表層切除術および機械的角膜表層切除術の術後上皮下混濁部分についてPGs

(GAGs)を対象をしぼって記述し、両者の比較検討を行った。また、我々はすでにコラーゲン線維の発現についても、上記2つの角膜表層切除後の上皮下混濁部分にIII型およびIV型のコラーゲンが全く同様のパターンで発現されていることを見出している¹⁸⁾¹⁹⁾。さらに、機械的角膜表層切除術直後に約60°Cに熱した金属棒を切除面に60秒間当てて加熱した角膜と、機械的表層切除術のみの角膜のそれぞれの術後上皮下混濁部分を組織学的に比較したが、両者の間に何ら特別な違いは見出せなかった(未発表データ)。

以上のことから、少なくとも組織化学あるいは免疫組織化学的所見から推測すると、エキシマレーザーによる角膜表層切除術後に観察される上皮下混濁は、レーザー照射時に発生する熱などによる特異な副作用とは考えにくく、どんな方法であれ、角膜実質を切除した際に起こる非特異的な瘢痕組織であると考えられた。

文 献

- 1) Trokel LS, Srinivasan R, Braren B: Excimer laser surgery of the cornea. *Am J Ophthalmol* 96: 710-715, 1983.
- 2) Salz JJ, Maguen E, Nesburn AB, Warren C, Macy JI, Hofbauer JD, et al: A two-year experience with excimer laser photorefractive keratectomy for myopia. *Ophthalmology* 100: 873-882, 1993.
- 3) Sher NA, Bowers RA, Zabel RW, Frantz JM, Eiferman RA, Brown DC, et al: Clinical use of the 193-nm excimer laser in the treatment of corneal scars. *Arch Ophthalmol* 109: 491-498, 1991.
- 4) Taylor MD, L'Esperance AF Jr, Del Pero AR, Roberts DA, Gigstad EJ, Klintworth G, et al: Human excimer laser lamellar keratectomy. A Clinical Study. *Ophthalmology* 96: 654-664, 1989.
- 5) Marshall J, Trokel LS, Rothery S, Krueger RR: Long-term healing of the central cornea after photorefractive keratectomy using an excimer laser. *Ophthalmology* 95: 1411-1421, 1988.
- 6) Fitzsimmons DT, Fagerholm P, Harfstrand A, Schenholm M: Hyaluronic acid in the rabbit cornea after excimer laser superficial keratectomy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 33: 3011-3016, 1992.

- 7) **Malley D, Steinert R, Puliafito C, Dobi E**: Immunofluorescence study of corneal wound healing after excimer laser anterior keratectomy in the monkey eye. *Arch Ophthalmol* 108: 1316—1322, 1990.
- 8) **Rawe IM, Zabel RW, Tuft SJ, Chen V, Meek KM**: A morphological study of rabbit corneas after excimer laser keratectomy. *Eye* 6: 637—642, 1992.
- 9) **Hassell JR, Cintron C, Kublin C, Newsome DA**: Proteoglycan changes during restoration of transparency in corneal scars. *Arch Biochem Biophys* 222: 362—369, 1983.
- 10) **Sobue M, Nakashima N, Fukatsu T, Nagasaka T, Fukata S, Ohiwa N, et al**: Production and immunohistochemical characterization of a monoclonal antibody raised to proteoglycan purified from a human yolk sac tumor. *Histochem J* 21: 455—459, 1989.
- 11) **Blochberger TC, Vergnes J-P, Hempel J, Hassell JR**: cDNA to chick lumican (corneal keratan sulfate proteoglycan) reveals homology to the small interstitial proteoglycan gene family and expression in muscle and intestine. *J Biol Chem* 267: 347—352, 1992.
- 12) **Funderburgh J, Funderburgh ML, Brown SJ, Vergnes JP, Hassell JR, Mann MM, et al**: Sequence and structural implications of a bovine corneal keratan sulfate proteoglycan core protein. *J Bio Chem* 268: 11874—11880, 1993.
- 13) **Vergner LW J-P, Cornuet PK, Hassell JR**: cDNA clone to chick corneal chondroitin/dermatan sulfate proteoglycan reveals identity to decorin. *Arch Biochem Biophys* 296: 190—197, 1992.
- 14) **Zhan Q, Burrows R, Cintron C**: Cloning and in situ hybridization of rabbit decorin in corneal tissues. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 36: 206—215, 1995.
- 15) **Asari A, Miyauchi S, Miyazaki K, Hamai A, Horie K, Takahashi T, et al**: Intra- and extracellular localization of hyaluronic acid and proteoglycan constituents (chondroitin sulfate, keratan sulfate, and protein core) in articular cartilage of rabbit tibia. *J Histochem Cytochem* 40: 1693—1703, 1992.
- 16) **Hardingham TE, Fosang AJ**: Proteoglycans: Many forms and many functions. *FASEB J* 6: 861—870, 1992.
- 17) **Shinomura T, Nishida Y, Ito K, Kimata K**: cDNA cloning of PG-M, a large chondroitin sulfate proteoglycan expressed during chondrogenesis in chick limb buds. *J Biol Chem* 19: 14461—14469, 1993.
- 18) **中安清夫, 石川 隆, 金井 淳**: エキシマレーザーの眼科的应用. 角膜への影響. *眼科* 36: 1387—1396, 1994.
- 19) **Nakayasu K, Gotoh T, Ishikawa T, Watanabe Y, Kanai A**: Corneal subepithelial haze following excimer laser keratectomy. The 7th Korea-Japan joint meeting of Ophthalmology abstracts p 53, 1994.