

エキシマレーザー角膜切除術後の上皮下混濁に 対するステロイド点眼の効果 — 一定量の散乱光強度測定法を用いて —

征矢 耕一¹⁾, 小幡 博人²⁾, 天野 史郎²⁾, 宮田 和典²⁾, 水流 忠彦³⁾

¹⁾関東通信病院眼科, ²⁾東京大学医学部眼科学教室, ³⁾東京大学附属病院角膜移植部

要 約

Scheimpflug の角膜撮影像に対する定量的な混濁測定法を用いて, エキシマレーザー角膜切除術後の家兎角膜におけるステロイド点眼の上皮下混濁抑制効果を検討した. 対象には白色家兎角膜を用い, スキャニング照射方式のエキシマレーザー治療的角膜切除術を施行した. 術後点眼として0.1% デキサメタゾンを用いる群(ステロイド群)と非使用群(対照群)において術前後の細隙灯顕微鏡検査ならびに撮影, 上皮下混濁が発する散乱光の強度測定および組織学的検査を行った. 散乱光強度は両群ともに術後4週まで増加し, その後減少した. しかし, 測定値は常にステロイド群で小さく, 12週値は術前値に近い値を示し両群間で有意差を認めた. 組織所見では, 術後2週で対照群は上皮の過形成と, 活性型実質細胞および上皮下の著明な線維性組織の増生を認めたが, ステロイド群は上皮の過形成像をほとんど認めず, また, 上皮下の

線維性組織の増生も軽度であった. 術後12週の対照群は, 上皮の過形成は改善したものの, 活性型実質細胞および線維性組織の増生は少ないながらも持続していたが, ステロイド群ではほぼ正常像を示した. 今回の実験結果から, エキシマレーザー角膜切除術後の家兎眼における0.1% デキサメタゾン点眼は, 散乱光所見からは術後4週以内, 一方, 組織所見からは2週程度の短期間の投与を行えば, 十分な上皮下混濁の抑制効果が得られると推察された. 今後, 人眼での薬剤による上皮下混濁治療法の確立のために, 今回用いた定量的混濁測定法は有用であると考えられた. (日眼会誌 101: 152—157, 1997)

キーワード: エキシマレーザー, 角膜上皮下混濁, ステロイド点眼, 散乱光強度測定

Effects of Topical Corticosteroids on Subepithelial Haze after Excimer Laser Corneal Surgery —Objective and Quantitative Method for Evaluating Haze—

Koichi Soya¹⁾, Hiroto Obata²⁾, Shiro Amano²⁾,
Kazunori Miyata²⁾ and Tadahiko Tsuru³⁾

¹⁾Department of Ophthalmology, Kanto Teishin Hospital

²⁾Department of Ophthalmology, University of Tokyo School of Medicine

³⁾Section of Corneal Transplantation, University of Tokyo School of Medicine

Abstract

To examine the effectiveness of topical corticosteroids in decreasing subepithelial haze induced by excimer laser keratectomy, we performed excimer laser keratectomy on 24 eyes of 12 albino rabbits using a scanning excimer laser system (EC-5000, NIDEK, Japan). Topical dexamethasone 0.1% was applied topically to 8 corneas after surgery (steroid group), but not to the others (control group). Slit-lamp biomicroscopic examination and objective

measurement of scattered light from subepithelial haze were performed before and 2, 4, 8 and 12 weeks after surgery, the rabbits were killed after 2 or 12 weeks and the eyes were examined histologically. In both groups, densitometric values of scattered light intensity increased up to 4 weeks after surgery, and then decreased gradually. However, the values of the steroid group were larger than those of the control group at all stages, and the values of the

別刷請求先: 113 東京都文京区本郷7-3-1 東京大学医学部眼科学教室 征矢 耕一
(平成8年3月13日受付, 平成8年8月19日改訂受理)

Reprint requests to: Koichi Soya, M.D. Department of Ophthalmology, University of Tokyo School of Medicine,
7-3-1 Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo 113, Japan

(Received March 13, 1996 and accepted in revised form August 19, 1996)

steroid group at 12 weeks after surgery were similar to preoperative values. There was statistically significant difference in scattered light intensity between the two groups ($p < 0.005$). Two weeks after surgery, the corneas of the control group showed epithelial hyperplasia and a remarkable increase in activated keratocytes and subepithelial fibrous tissues. However, in the steroid group these light microscopic findings could not be observed. At 12 weeks after surgery, the corneas of the control group retained a small amount of activated ker-

atocytes and fibrous tissues, and those of the steroid group were normal. This study suggests that a short course of topical corticosteroids may be very effective in decreasing subepithelial haze after excimer laser corneal surgery. (J Jpn Ophthalmol Soc 101: 152-157, 1997)

Key words: Excimer laser, Subepithelial haze, Topical corticosteroid, Scattered light intensity

I 緒 言

エキシマレーザー角膜切除術後の問題点である上皮下混濁の発生は、非常に軽度な症例も散見するものの、この術式には必ず合併する現象であり、術後視機能の異常、特にコントラスト感度の低下やグレア発生の原因になると考えられている¹⁾。このため、エキシマレーザー角膜切除術後の術後合併症の中でも活発な研究報告が行われてきた^{1)~12)}。上皮下混濁の抑制法は2つに大別される。つまり、術式における発生の原因を追求し、術式およびレーザー装置の改良を試みるものと、術後薬剤投与による発生抑制および治療である。後者では、ステロイドの効果^{4)~6)}が早くから注目を集め、また、マイトマイシン^{C9)}や非ステロイド消炎剤(NSAID)^{7)~10)}など混濁抑制剤の模索が続けられている。しかしながら、現在のところ、薬剤による上皮下混濁の発生抑制は、ステロイド剤でさえも未だ研究の段階を越えておらず、効果的な投与法は確立されていない。研究が遅れている原因の1つに、混濁の評価が再現性や絶対性に疑問が残る定性的・主観的方法で行われてきたことが挙げられる。動物実験では、薬剤投与による組織学的な変化を観察することによって、その薬理効果を検討することは可能である。しかし、細隙灯所見において我々が「混濁」として捕える散乱光の発生部位が、果たして角膜組織の何に相当するのかは厳密には確定できない。したがって、薬剤による混濁の発生予防および治療を検討するためには、生体眼の発する散乱光を定量的・客観的に、しかも可能な限り非侵襲的に評価する必要がある。

今回我々は、すでにその有効性を報告した Scheimpflugの角膜撮影像¹³⁾に対する定量的・客観的な混濁測定法¹⁴⁾を用いて、家兎におけるステロイド点眼の上皮下混濁抑制効果を検討した。

II 実験方法

対象には、1.5~2.0 kgの白色家兎12匹24眼を用いた。全麻下にスキヤニング照射方式のエキシマレーザー装置 EC-5000(NIDEK社)を使用して、治療的角膜切除

術(PTKモード)を施行した。照射は上皮剥離をせずに、照射条件は直径5.0 mm、繰り返し周波数30 Hz、エネルギー密度66.4 mJ/cm²、照射数136 スキャンとした。照射直後にコリスチンメタンスルホン酸眼軟膏を点入し、さらに術翌日から7日まで同点眼液を1日4回点眼して術後感染症を予防した。また、24眼中4匹8眼は術翌日から4週間まで0.1% デキサメタゾン点眼1日6回、その後、さらに4週間は1日4回点眼し(以下、ステロイド群)、残り16眼はステロイド点眼を行わなかった(以下、対照群)。

術前および術後1, 3, 7日, 2, 4, 8, 12週に細隙灯顕微鏡検査ならびに撮影、上皮下混濁が発する散乱光の強度測定(EAS-1000®, NIDEK社)および病理組織学的検査を行い、ステロイド点眼の有無による各変化を経時的に比較検討した。

1. 細隙灯顕微鏡検査および撮影

フルオレセイン点眼検査を含め、術前および術後1, 3, 7日, 2, 4, 8, 12週に施行した。

2. 上皮下混濁の定量的測定

暗室内で前眼部解析装置 EAS-1000®を用いて Scheimpflugの原理に基づく角膜撮影と、この撮影像の散乱光をデジタル化する散乱光強度測定を術前および術後2, 4, 8, 12週に施行した。本実験では投影スリット長8.0 mm、スリット幅0.08 mm、フラッシュ光量50 Wで撮影を行った。散乱光強度測定は角膜撮影像のレーザー照射部5 mm上0.52 mm等間隔の9点において行い、9点の平均値を各角膜の測定値とした。両群間の有意差検定にはt検定を用いた。なお、散乱光強度は単位「CCT」で表される。この単位は散乱光輝度のデジタル値を通常 CCT(computer compatible tape)と呼ばれる磁気テープに記録するために用いられるもので、256段階値で示される。

3. 組織学的検査

組織学的検査のため、術後2週と12週に両群とも2眼ずつ、計8眼の眼球摘出を行った。摘出した眼球は、速やかに2%パラホルムアルデヒド・2.5%グルタルアルデヒド(0.1 Mリン酸緩衝液, pH 7.4)に10分間固定後、

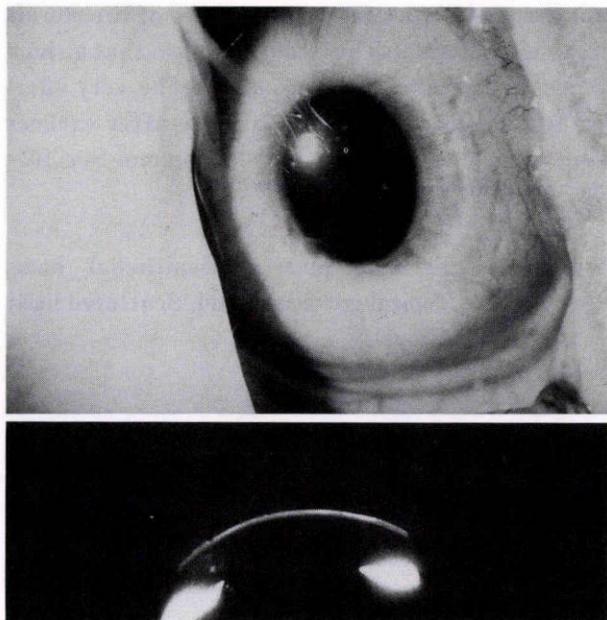


図1 ステロイド群の細隙灯写真および Scheimpflug (シャインブルーク) 撮影像 (術後4週).

レーザー照射を行った角膜中央部の透明性は良好に保たれている. シャインブルーク撮影像では右側前方に軽度の散乱光増加を認める. 本眼の散乱光強度は 82.3 CCT (computer compatible tape) であった.

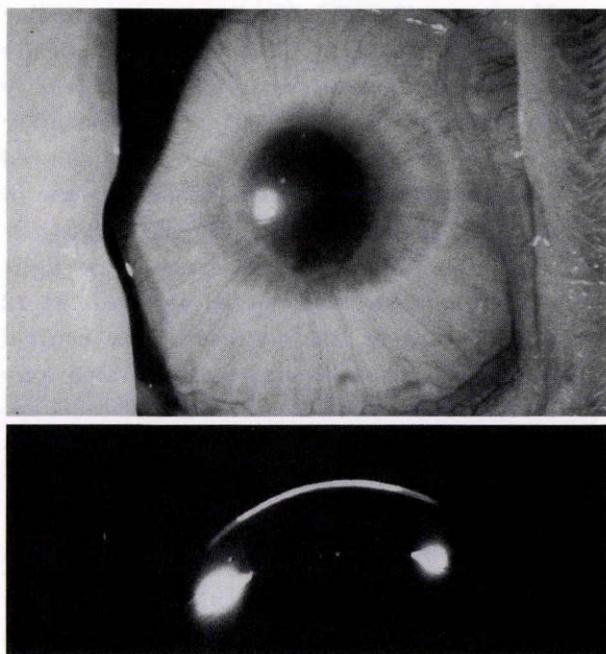


図2 対照群の細隙灯写真およびシャインブルーク撮影像 (術後4週).

レーザー照射部の混濁を認める. シャインブルーク撮影像ではレーザー照射部全体の前方を中心に散乱光の強い増加を認める. 本眼の散乱光強度は 151.1 CCT であった.

強角膜片を作製し, さらに同固定液で室温一晚固定した. 強角膜片は, 中央で半割後, 型通りパラフィン包埋し, 薄切後ヘマトキシリン・エオジン (以下, HE) 染色を行った.

III 結 果

1. 細隙灯顕微鏡検査

フルオレセイン点眼検査による術後早期の上皮の観察では, 術後3日ではほとんどの角膜中央部で軽度の上皮欠損が認められたが, 術後1週では全眼でフルオレセインの染色はなく, 両群間での差を認めなかった. しかし, 細隙灯検査において, 非ステロイド群では上皮下に白色の散乱光を発する混濁を強く認めたのに対し, ステロイド群は術後早期からレーザー照射の痕跡をほとんど認めず, 両群のレーザー照射部は透明性に明らかな差を示した. 1例として, 術後4週の両群の細隙灯顕微鏡撮影像と同一眼の散乱光強度測定結果を図1, 2に示す. 図1がステロイド群で散乱光強度は 82.3 CCT, 図2は対照群で 151.1 CCT であった.

2. 上皮混濁の定量的測定 (図3)

両群ともに術後4週まで増加し, その後減少する同様の傾向を示した. 測定値は常にステロイド群で小さく, 12週値は術前値に近い値を示し, 2, 4, 8週では両群間に統計学的に有意差を認めた. 術後同時期における両群の差を観察すると, まず術後2週で両群間の差が大きくな

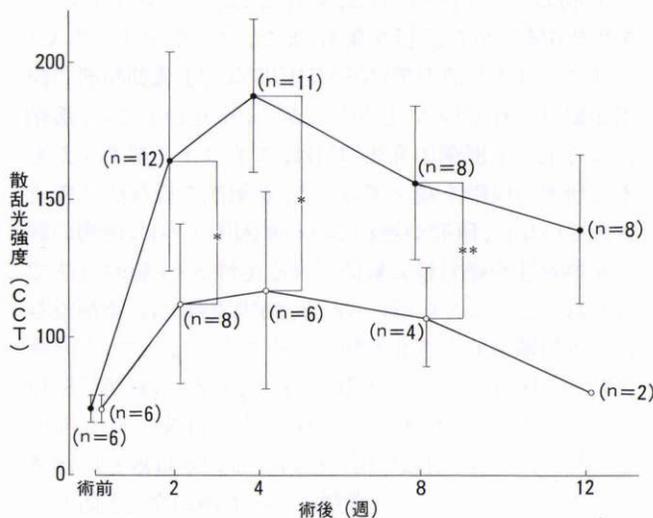


図3 散乱光強度の術後経時変化 (平均値±標準偏差).

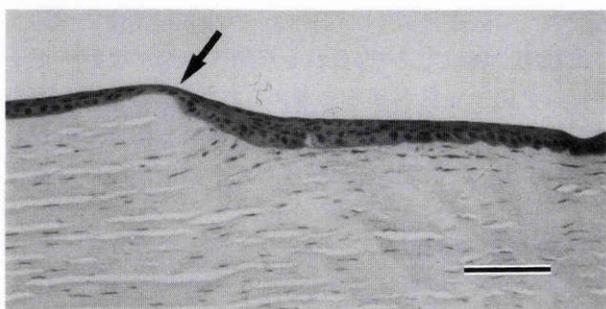
○はステロイド群, ●は対照群をそれぞれ示す.

* : t-検定, $p < 0.005$, ** : 同, $p < 0.01$, 括弧: 眼数

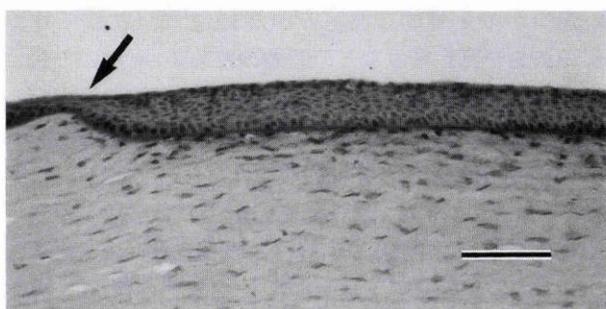
り, さらに術後4週で増大していた. しかし, この両群間差は8週でやや小さくなり, さらに8週以降は両群とも同程度の減少傾向を示した. このため, 8週以降の両群の差には明らかな変化を認めなかった.

3. 組織学的所見 (図4~6)

術後2週では, 両群ともレーザー照射境界部の上皮の過形成と上皮下の活性型実質細胞を含む線維性組織の増

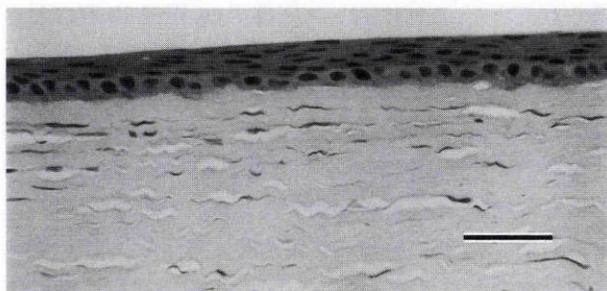


A

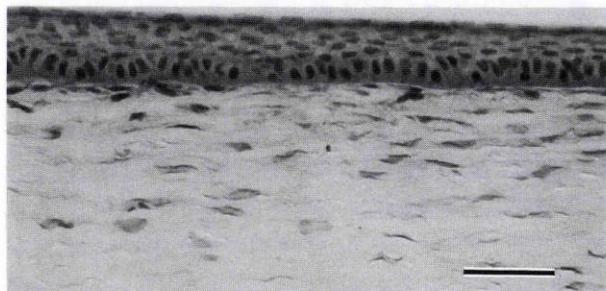


B

図4 術後2週のレーザー照射境界部の低倍像—ステロイド群(A)および対照群(B).
レーザー照射境界部(矢印)を境に照射部での上皮の過形成を認め、また上皮下に活性型実質細胞を認める。この傾向は対照群で著明に認められる(B)。バーは100 μ m

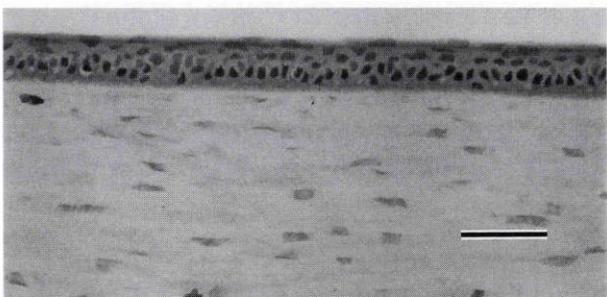


A

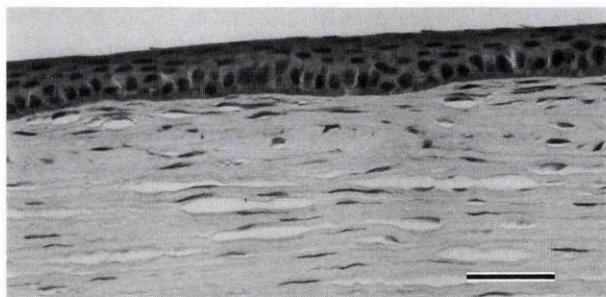


B

図5 術後2週のレーザー照射中央部の高倍像—ステロイド群(A)および対照群(B).
ステロイド群の上皮はほぼ正常像を示し、上皮下の線維性組織の増生も軽度である(A)。対照群では上皮の過形成、上皮下の線維性組織の増生ともに強く認める(B)。バーは50 μ m



A



B

図6 術後12週のレーザー照射中央部の高倍像—ステロイド像(A)および対照群(B).
対照群の上皮の過形成はほぼ消失したが、上皮下の線維性組織はなお存続している。一方、ステロイド群では上皮下の線維性組織もほとんど認められない。バーは50 μ m

生を認めた。これらの所見は、ステロイド群に比べ対照群で強く現れた(図4)。同時期のレーザー照射中央部の高倍率像を図5に示す。対照群は上皮の過形成と、活性型実質細胞および上皮下の著明な線維性組織の増生を認めたが、ステロイド群の上皮の過形成像をほとんど認めず、また、上皮下の線維性組織の増生も軽度であった。

術後12週では、非ステロイド群の上皮過形成は軽減し、両群ともほぼ正常な上皮像を示した。しかし対照群では、活性型実質細胞および線維性組織の増生が存続している所見を示した(図6)。

IV 考 按

エキシマレーザー角膜切除術における重大な問題点の1つに、術後の角膜上皮下混濁の発生があり、本術式の合併症の中でも比較的早くから指摘されていた。しかし、その後の多くの研究にもかかわらず、現在までその原因、成因および予防法について十分な結論は得られていない。上皮下混濁の研究が遅れている原因として、Fantèsらの分類²⁾で知られるように、混濁が発する散乱光の評価法が定性的、かつ主観的であったことが挙げられる。その

後、幾つかの定量的な測定方法が報告^{15)~17)}されてきたが、方法論や測定精度などの問題のためか、未だに一般には普及していない。そこで我々は、撮影面全体で焦点合わせが可能で、かつ広い撮影像が得られる Scheimpflug 原理¹³⁾の角膜撮影と散乱光強度測定を行う、定量的、かつ客観的な *in vivo* での上皮下混濁測定法の有用性を報告¹⁴⁾した。今回は、この散乱光強度測定装置を用いて、術後ステロイド点眼が上皮下混濁の発生に与える影響を観察し、さらに、組織像の変化も含めてエキシマレーザー角膜切除術におけるステロイド点眼の影響について検討を行った。

1. 散乱光強度変化

今回の家兎眼では、散乱光強度変化は両群ともに術後4週でピークを示した。人眼では上皮下混濁が2~6か月にピークを迎えると報告されており、家兎角膜では創傷治癒の速さが人眼と異なることが示された。散乱光強度の術前後での変化は有意差をもってステロイド群で小さく、同群の術後12週値はほぼ術前値と等しかった。一方、両群間の詳細な観察において、術後4週以降の変化はほぼ同傾向を示すことから、今回の投薬法では、混濁がピークに達する術後4週までのステロイド投与は混濁発生の予防に著効を示すものの、4週以降は効果は得られにくいことを示唆するものと考えられた。ステロイドの混濁抑制効果については、過去の報告でもほとんどがその有効性を指摘している。しかし、Lohmann, O'Brart, Gartry を中心とするグループは、我々とは別法の定量的な混濁測定¹⁷⁾を行って、人眼において0.1%フルオロメトロン¹⁸⁾および0.1%デキサメタゾン¹⁹⁾の点眼は混濁抑制効果を認めなかったと報告している。彼らはこの結果について、ステロイドの効果は家兎角膜で評価しているものが多く、家兎ではボーマン膜がなく、また、実質を構成するコラーゲンのタイプが人眼とは異なることが評価の違いを生んだのではないかと推察している。しかし、我々の行っている臨床治験例の細隙灯所見からは、少なくとも日本人では0.1%ベタメサゾン²⁰⁾は勿論のこと、0.1%フルオロメトロンでも混濁抑制効果を認めており、彼らの定量的測定結果は細隙灯所見とは必ずしも一致しない可能性があると考えられた。

ステロイド点眼の十分な混濁抑制効果は示された。しかし、今回の観察は12週までしか行っておらず、対照群の術後動向からは、同群においてもさらに2~3か月の経過で術前値に匹敵する値を示す、つまり、術後長期的には両群間の有意差は認められない可能性は否定できない。また、0.1%デキサメタゾン1日6回点眼という強い治療を行ったステロイド群においても、程度の差こそあれ、術後4週をピークに散乱光強度は増加を示したことから、ステロイド点眼は混濁の発生速度を変化させるのではなく、創傷治癒反応の強さを低下させる効果を持っていると考えられる。つまり、散乱光強度の増加は本術

式のように実質を切除した後の正常な創傷治癒に付随する生理的な現象であり、これを修飾する様々な因子がそのピーク値を変化させると考えられる。仮に完全な混濁の抑制が可能であるとするならば、その方法の1つとして、術前からの薬剤投与が挙げられるのではないだろうか。

2. 病理組織変化

エキシマレーザー角膜切除術後の組織学的変化のポイントとしては、上皮の過形成および活性型実質細胞の出現、そして、これに伴う上皮下の線維性組織の増生の3点が挙げられる。ステロイド群では、照射中央部の上皮細胞は術後2週ですでにほぼ正常な重層性を示し、また実質細胞の活動性も極めて弱く、術後早期に角膜の安定化が得られていた。これに対し対照群では、術後12週においても活性型実質細胞および上皮下の線維性組織は軽微ながら存続していた。以上の結果は、0.1%デキサメタゾンの明らかな消炎効果を示しており、この効果は術後2週においてすでに創傷治癒をほぼ完了するほど顕著なものであった。散乱光強度の経時変化と比較することにより、術後の創傷部、特に実質の創傷治癒に際して、細胞の過剰な活動性をステロイド剤によって抑制すれば、混濁発生はある程度抑制できることがわかる。そして、ステロイド群の術後12週では散乱光強度が術前値に回復するとともに、上皮下の線維性組織の増生がほぼ消失していることから、上皮下混濁として捕えられる散乱光の発生部位は、組織学的にこの線維性組織ではないかと推察される。ところで、ステロイド群において散乱光強度のピーク値は低下させることができたが、ピークを示す時期は対照群と全く同様に術後4週であることを前述した。一方、組織像からは、ステロイド群は術後2週で細胞形態はほぼ正常像を示し、対照群の12週像と比較しても明らかに早い細胞の安定化が確認された。この両所見は、細胞成分と細胞外成分の変化には時間的な隔たりが存在し、しかも正常な創傷治癒過程においては、細胞外成分は薬剤投与を含む環境の差異に左右されずに術後4週でピークに達することを示している。つまり、角膜実質は損傷を受けた瞬間に、その損傷の大きさに応じて混濁のピーク期が決定され、この時期はステロイド剤では変化させることはできないことを意味するのではないかと、Fitzsimmonsら²⁰⁾は、エキシマレーザー角膜切除術後の創傷治癒過程において、マクロファージおよび実質細胞がヒアルロン酸を産出し、これが引き金となりコラーゲンの新生や配列の乱れが発現する結果、上皮下混濁が発生すると推察している。今後は、これら生化学的な解析と散乱光強度との関係を検討する必要があり、混濁の発生に携わる細胞成分と細胞外成分および両者の関係を究明することによって、効果的な混濁抑制は達成されることになるであろう。

今回の実験結果から、エキシマレーザー角膜切除術後

の家兎眼における0.1% デキサメタゾン点眼は、散乱光所見からは術後4週以内、一方、組織所見からは2週程度の投与、いずれにしても短期投与を行えば、十分な混濁の発生抑制効果が得られることが示唆された。定量的な角膜の散乱光強度測定は、エキシマレーザー角膜切除術に限らず、角膜実質の創傷治癒に伴う混濁発生の機構および薬剤による効果的、かつ安全な混濁の抑制を研究するうえで極めて有用であり、将来的に、臨床の場において欠くことのできない指標になり得ると考えられた。

文 献

- 1) **Lohmann CP, Fitzke F, O'Brart D, Muir MK, Timberlake G, Marshall J**: Corneal light scattering and visual performance in myopic individuals with spectacles, contact lenses, or excimer laser photorefractive keratectomy. *Am J Ophthalmol* 115: 444-453, 1993.
- 2) **Fantes FE, Hanna KD, Waring GO, Pouliquen Y, Thompson KP, Savoldelli M**: Wound healing after Excimer laser keratomileusis (photorefractive keratectomy) in monkeys. *Arch Ophthalmol* 108: 665-675, 1990.
- 3) **Fitzsimmons TD, 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.
- 4) **Tuft SJ, Zabel RW, Marshall J**: Corneal repair following keratectomy. A comparison between conventional surgery and laser photoablation. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 30: 1769-1777, 1989.
- 5) **Seiler T, Wollensak J**: Myopic photorefractive keratectomy with the excimer laser: One-year follow up. *Ophthalmology* 98: 1156-1163, 1991.
- 6) **Sher NA, Barak M, Daya S, DeMarchi J, Tucci A, Hardten D, et al**: Excimer laser photorefractive keratectomy in high myopia: A multicenter study. *Arch Ophthalmol* 110: 935-943, 1992.
- 7) **Phillips AF, Szerenyi K, Campos M, Krueger RP, McDonell PJ**: Arachidonic acid metabolites after excimer laser corneal surgery. *Arch Ophthalmol* 111: 1273-1278, 1993.
- 8) **Campos M, Abed HM, McDonell PJ**: Topical fluorometholone reduces stromal inflammation after photorefractive keratectomy. *Ophthalmic Surg* 24: 654-657, 1993.
- 9) **Talamo JH, Gollamudi S, Green WR, de la Cruz Z, Filatov V, Stark WJ**: Modulation of corneal wound healing after excimer laser keratomileusis using topical mitomycin C and steroids. *Arch Ophthalmol* 109: 1141-1146, 1991.
- 10) **Nassaralla BA, Szerenyi K, Wang XW, Reaves TA, McDonnell PJ**: Effect of diclofenac on corneal haze after photorefractive keratectomy in rabbits. *Ophthalmology* 102: 469-474, 1995.
- 11) **Seiler T, Derse M, Pham T**: Repeated excimer laser treatment after photorefractive keratectomy. *Arch Ophthalmol* 110: 1230-1233, 1992.
- 12) **Caubet E**: Cause of subepithelial corneal haze over 18 months after photo-refractive keratectomy for myopia. *Refract Corneal Surg* 9 (Suppl): 65-70, 1993.
- 13) **Scheimpflug T**: Der Photoperspektrograph und seine Anwendung. *Photogr. Korr* 43: 516-531, 1906.
- 14) **征矢耕一, 小幡博人, 天野史郎, 宮田和典, 水流忠彦**: エキシマレーザー角膜切除術後上皮下混濁の定量化の試み. *臨眼* 49: 1524-1528, 1995.
- 15) **Andrade HA, McDonald MB, Liu JC, Abdelmegeed M, Varnell R, Sunderland G**: Evaluation of an opacity lensometer for determining corneal clarity following excimer laser photoablation. *Refract Corneal Surg* 6: 346-351, 1990.
- 16) **Allemann N, Chamon W, Silverman R, Azar D, Reinstein D, Stark W, et al**: High-frequency ultrasound quantitative analyses of corneal scarring following excimer laser keratectomy. *Arch Ophthalmol* 111: 968-973, 1993.
- 17) **Lohmann CP, Timberlake G, Fitzke F, Gartry DS, Muir MK, Marshall J**: Corneal light scattering after excimer laser photorefractive keratectomy: The objective measurements of haze. *Refract Corneal Surg* 8: 114-121, 1992.
- 18) **O'Brart D, Lohmann CP, Klonos G, Corbett MC, Pollock WST, Muir MK, Marshall J**: The effect of topical corticosteroids and plasmin inhibitors on refractive outcome, haze, and visual performance after photorefractive keratectomy. *Ophthalmology* 101: 1565-1574, 1994.
- 19) **Gartry DS, Muir MK, Lohmann CP, Marshall J**: The effect of topical corticosteroids on refractive outcome and corneal haze after photorefractive keratectomy. A prospective, randomized, double-blind trial. *Arch Ophthalmol* 110: 944-952, 1992.
- 20) **Fitzsimmons T, Fagerholm P, Harfstrand A, Schenholm M**: Hyaluronic acid in the rabbit cornea after laser superficial keratectomy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 33: 3011-3016, 1992.