

β 遮断剤の点眼が眼表面に及ぼす影響

大槻 勝紀, 横井 則彦, 森 和彦, 松本 康宏, 足立和加子
石橋 健, 佐藤 昌昭, 木下 茂

京都府立医科大学眼科学教室

要 約

目的: β 遮断剤の点眼が涙液および眼表面上皮に及ぼす影響について検討した。

対象と方法: 対象は当科緑内障外来で経過観察されている緑内障患者のうち, β 遮断剤の単剤を少なくとも 3 か月以上点眼している 23 例 23 眼 [男性 10 例, 女性 13 例, 年齢 53.8±12.2 (平均値±標準偏差)] および健常ボランティア 32 例 32 眼 (男性 16 例, 女性 16 例, 年齢 50.4±10.9) とした。両群の左眼に対して, ① 涙液メニスカスの曲率半径測定, ② 涙液の油層の Grade 分類, ③ 涙液の non-invasive breakup time (N-BUT) の測定, ④ 綿糸法, ⑤ フルオレセイン染色スコアの評価, ⑥ フルオレセイン breakup time (F-BUT) 測定, ⑦ ローズベンガル染色スコアの評価, ⑧ シルマテスト I 法を順に行い, 両群で比較検討した。

結果: メニスカス曲率半径 ($p=0.0007$), 油層の Grade ($p=0.0270$), 角膜のフルオレセイン染色スコア

(Area, Density とともに $p<0.0001$), F-BUT ($p=0.0050$), 角結膜のローズベンガル染色スコア ($p=0.0010$), シルマテスト I 法 ($p=0.0042$) で両群に有意な差があった。一方, N-BUT, 綿糸法では有意差はなかった。

結論: β 遮断剤の点眼薬を長期使用している患者において, 涙液メニスカスの曲率半径の減少, シルマテストの低値があり, BUT の短縮があったことから, 涙液貯留量の低下, 分泌量の減少および涙液の安定性の低下が生じていると考えられた。さらに, 角膜上皮の障害やローズベンガル染色が陽性であったことから, ドライアイの状態になっていることが示された。(日眼会誌 105: 149—154, 2001)

キーワード: β 遮断剤, 涙液, 眼表面上皮, 副作用, ドライアイ

Adverse Effects of β-blocker Eye Drops on the Ocular Surface

Masanori Ohtsuki, Norihiko Yokoi, Kazuhiko Mori, Yasuhiro Matsumoto,

Wakako Adachi, Ken Ishibashi, Masaaki Sato and Shigeru Kinoshita

Department of Ophthalmology, Kyoto Prefectural University of Medicine

Abstract

Purpose: We investigated the adverse effects of β-blocker eye drops on tears and ocular surface epithelium.

Methods: We studied twenty-three eyes of twenty three glaucoma patients [10 males, 13 females: 53.8±12.2 (yrs; mean±standard deviation)] treated with β-blocker eye drops for more than three months and thirty two control subjects (16 males, 16 females: 50.4±10.9). The parameters described below were compared between the groups: ① the radius of tear meniscus curvature, ② grades for tear lipid layer interference patterns, ③ non-invasive breakup time (N-BUT), ④ cotton thread value, ⑤ scores of fluorescein staining, ⑥ fluorescein breakup time (F-BUT), ⑦ scores of rose bengal staining, ⑧ and Schirmer I value.

Results: The glaucoma group showed a significant decrease in the radius of tear meniscus curva-

ture ($p=0.0007$), a significantly lower distribution in the grades for tear lipid layer interference patterns ($p=0.0270$), a significant difference in the scores of fluorescein staining ($p<0.0001$), a significant shortening in F-BUT ($p=0.0050$), a significantly higher distribution in the scores of rose Bengal staining ($p=0.0010$), and a significantly smaller value in Schirmer I value ($p=0.0042$). However, there was no significant difference in N-BUT and cotton thread value.

Conclusions: These results clearly demonstrate that the ocular surface in glaucoma patients treated with β-blocker eye drops show dry-eye-like changes in terms of tears and ocular surface epithelium. (J Jpn Ophthalmol Soc 105: 149—154, 2001)

Key words: β-blocker, Tears, Ocular surface epithelium, Adverse effects, Dry-eye

別刷請求先: 602-0841 京都市上京区河原町広小路上ル梶井町 465 京都府立医科大学眼科学教室 横井 則彦
(平成 11 年 10 月 25 日受付, 平成 12 年 8 月 15 日改訂受理)

Reprint requests to: Norihiko Yokoi, M.D. Department of Ophthalmology, Kyoto Prefectural University of Medicine, 465 Kajii-cho, Hirokoji-agaru, Kawaramachi-dori, Kamigyō-ku, Kyoto 602-0841, Japan

(Received October 25, 1999 and accepted in revised form August 15, 2000)

I 緒 言

β 遮断剤は緑内障に対する点眼治療として広く普及しており、近年その長期連用によって涙液および眼表面上皮にもたらされるさまざまな副作用が注目をあびている。 β 遮断剤点眼薬の副作用は、涙液ムチン層の破壊¹⁾、角膜上皮のバリア機能の低下²⁾³⁾、涙液分泌量の減少¹⁾、涙液貯留量の減少⁴⁾、角膜知覚の低下⁵⁾および結膜組織における結膜上皮の扁平上皮化生⁶⁾、炎症細胞と線維芽細胞の増加および杯細胞の減少⁷⁾⁸⁾といった比較的サブクリニカルなレベルの障害から、偽類天疱瘡⁹⁾といった重篤な障害まで数多く報告されている。今回、我々は β 遮断剤点眼薬の比較的長期連用者に対して各種の涙液および角結膜上皮の検査を行い、 β 遮断剤の点眼が涙液および眼表面に与える影響を検討し、若干の知見を得たので報告する。

II 対象および方法

1. 対 象

当科緑内障外来で経過観察されている緑内障患者のうち、一種類の β 遮断剤を少なくとも3か月以上点眼し、かつ β 遮断剤以外の点眼剤を全く点眼していない緑内障群 23 例 23 眼〔男性 10 例、女性 13 例、年齢 53.8 ± 12.2 (平均値 \pm 標準偏差) 歳〕および点眼剤を全く使用していない健常ボランティア群 32 例 32 眼 (男性 16 例、女性 16 例、年齢 50.4 ± 10.9 歳) を対象とした。この二群のいずれにもコンタクトレンズ装着者、眼科手術の既往のある者は含まれておらず、健常群には細隙灯顕微鏡検査で眼表面や導涙系に異常のある者は含まれていない。

緑内障群の点眼内容としては、timolol malate (0.5% チモプトール[®]、萬有製薬) 9 例 9 眼、carteolol hydrochloride (1% ミケラン[®]、大塚製薬) 1 例 1 眼、carteolol hydrochloride (2% ミケラン[®]、大塚製薬) 6 例 6 眼、betaxolol hydrochloride (0.5% ベトプティック[®]、日本アルコン) 7 例 7 眼である。

2. 方 法

各群の左眼のみに対して、① 涙液メニスカスの曲率半径測定¹⁰⁾、② 涙液油層の Grade 分類¹¹⁾、③ 涙液の Non-invasive breakup time (N-BUT) の測定¹²⁾、④ 綿糸法¹³⁾、⑤ 角膜のフルオレセイン染色スコアの評価¹⁴⁾、⑥ 涙液の breakup time (F-BUT) 測定¹⁵⁾、⑦ 角結膜のローズベンガル染色スコアの評価¹⁶⁾を順に行い、また、別の日に⑧ シルマテスト I 法¹⁷⁾を行って、両群の比較を行った。

1) 涙液メニスカスの曲率半径測定¹⁰⁾

今回、涙液メニスカスの曲率半径測定のために、新しく開発中のメニスコメトリーの新しいビデオシステムを用いた¹⁰⁾。メニスコメトリーとは、涙液メニスカスを凹面鏡とみなし、その表面に水平の格子縞 (新しい装置では 4 mm 幅) を投影し、メニスカスに形成される格子縞のスペ

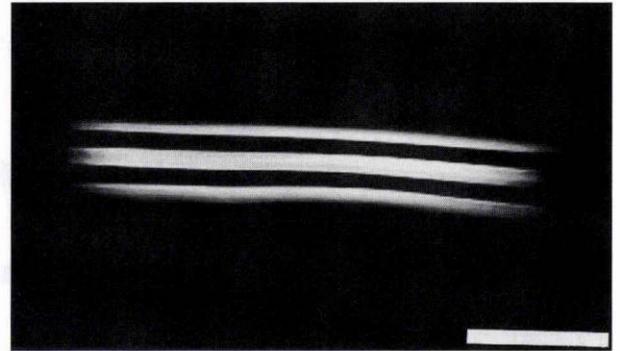


図1 ビデオメニスコメータで得られた下眼瞼涙液メニスカスにおける水平格子のビデオプリント像。

中央の黒縞2本の垂直中点間距離(I)を凹面鏡の光学式($R=2 \times W \times I / T$; W: システムのワーキング長=24 mm; T: 格子の白-黒の1サイクルの長さ(8 mm))に代入することにより、涙液メニスカス曲率半径(R)が計算できる。バーは 300 μ m

キュラ像を拡大して、凹面鏡の光学式に基づいて涙液メニスカスの曲率半径を計測する方法である。涙液メニスカスの曲率半径は、涙液貯留量を反映して変化すると考えられ¹⁰⁾¹⁸⁾、涙液貯留程度を評価し得る新しいパラメータと考えられている。実際のメニスコメトリーでは、被検者の下眼瞼涙液メニスカスの中央に対して本装置を適用し、10秒間、涙液メニスカスの画像を録画し、ビデオプリンターでビデオイメージを印刷し、イメージの中央の黒線の中点間の距離をパラメータとして、光学式 [$R=2 \times W \times I / T$; W: システムのワーキング長=24 mm; T: 格子の白-黒の1サイクルの長さ(8 mm); I: イメージ中央の黒-白-黒の3本の帯のうち黒-黒2本の中点間の距離(図1)] に当てはめてメニスカス曲率半径(R)を計算した。

2) 涙液油層の Grade 分類

涙液スペキュラ観察装置 DR-1 (興和) は非侵襲的に角膜上の涙液層を観察することができる。涙液スペキュラ観察装置 DR-1 (興和) で、既報¹¹⁾に従い油層の Grade 分類を行った。

3) N-BUT の測定¹²⁾

N-BUT は、いったん軽く閉眼させた後、開眼を維持させ、DR-1 低倍モードを用いて涙液層に break up が観察されるまでの時間を電子メトロノームを用いて測定した。N-BUT は3回測定し、10秒以内に2回以上測定される場合を陽性として、その平均値を記録した。

4) 綿糸法¹³⁾

測定には、市販のフェノールレッド糸 (昭和薬品化工) を用いた。検査糸を被検者の下眼瞼外側 1/3 の所に刺激を加えないように挿入し、自然瞬目下で15秒間の綿糸の濡れの長さをその先端から測定した。

5) 角膜のフルオレセイン染色スコアの評価

フローレス試験紙 (昭和薬品化工) に生理食塩水を1滴

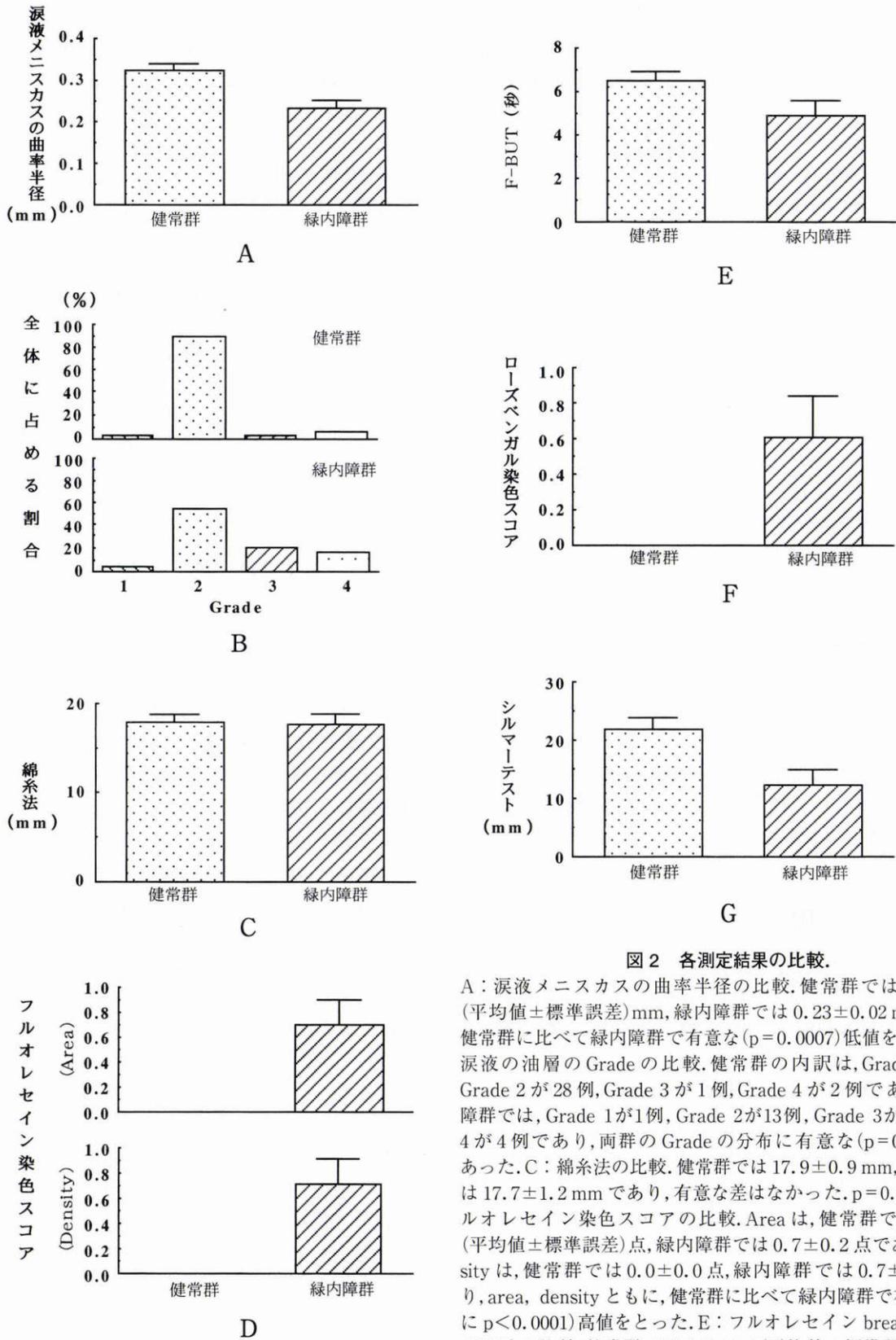


図 2 各測定結果の比較.

A: 涙液メニスカスの曲率半径の比較. 健常群では 0.32 ± 0.02 (平均値 ± 標準誤差) mm, 緑内障群では 0.23 ± 0.02 mm であり, 健常群に比べて緑内障群で有意な ($p=0.0007$) 低値をとった. B: 涙液の油層の Grade の比較. 健常群の内訳は, Grade 1 が 1 例, Grade 2 が 28 例, Grade 3 が 1 例, Grade 4 が 2 例であった. 緑内障群では, Grade 1 が 1 例, Grade 2 が 13 例, Grade 3 が 5 例, Grade 4 が 4 例であり, 両群の Grade の分布に有意な ($p=0.0270$) 差があった. C: 綿糸法の比較. 健常群では 17.9 ± 0.9 mm, 緑内障群では 17.7 ± 1.2 mm であり, 有意な差はなかった. $p=0.9454$. D: フルオレセイン染色スコアの比較. Area は, 健常群では 0.0 ± 0.0 (平均値 ± 標準誤差) 点, 緑内障群では 0.7 ± 0.2 点であった. Density は, 健常群では 0.0 ± 0.0 点, 緑内障群では 0.7 ± 0.2 点であり, area, density とともに, 健常群に比べて緑内障群で有意な (ともに $p < 0.0001$) 高値をとった. E: フルオレセイン breakup time (F-BUT) の比較. 健常群では 6.5 ± 0.4 (平均値 ± 標準誤差) 秒, 緑内障群では 4.9 ± 0.7 秒であり, 健常群に比べて緑内障群で有意な ($p=0.0050$) 低値をとった. F: ローゼンガル染色スコアの比較. 健常群では 0.0 ± 0.0 点, 緑内障群では 0.6 ± 0.2 点であり, 健常群に比べて緑内障群で有意な ($p=0.0010$) 高値をとった. G: シルマーテストの比較. 健常群では 21.8 ± 2.0 mm, 緑内障群では 12.3 ± 2.6 mm であり, 健常群に比べて緑内障群で有意な ($p=0.0042$) 低値をとった.

滴下し、余分な水分を振りきった後、下眼瞼縁に1回接触させて、2~3回瞬目を指示し、角膜を染色した。染色スコアの評価は、AD分類¹⁴⁾に基づいてA(area),D(density)に分けて行った。

6) F-BUT 測定¹⁵⁾

F-BUTの測定は、いったん軽く閉瞼させた後、開瞼を維持させ、涙液層にdark spotが出現するまでの時間を測定した。BUTは3回測定し、その平均値を記録した。

7) 角結膜のローズベンガル染色スコアの評価

塩酸オキシプロカイン(ペノキシール®0.4%液,参天製薬)を1滴点眼して点眼麻酔をした後、1%ローズベンガル染色液を2μlマイクロピペットを用いて点眼し、耳側結膜、鼻側結膜および角膜における染色の程度をvan Biesterveld分類¹⁶⁾でスコア化(各0~3点,合計9点満点)し、各部での合計で評価した。

8) シルマテストI法¹⁷⁾

測定にはシルメル試験紙(昭和薬品化工)を用いた。試験紙を5mmの所で折り曲げ、下眼瞼外側1/3の位置に刺激を加えないように挿入し、自然瞬目下で、5分間の試験紙の濡れの長さを折れ目から測定した。

3. 統計学的検討

健常群、緑内障群における各検査の結果を統計学的に比較した。涙液メニスカス曲率半径、涙液油層のGrade、綿糸法、フルオレセイン染色スコア、F-BUT、ローズベンガル染色スコア、シルマ値についてはMann-WhitneyのU検定を用いて行い比較し、N-BUTの頻度の比較にはFisher直接確率検定を用いた。また、危険率は $p < 0.05$ を有意とした。

III 結 果

1. 涙液メニスカスの曲率半径の比較(図2A)

健常群では 0.32 ± 0.02 (平均値±標準誤差)mm、緑内障群では 0.23 ± 0.02 mmであり、健常群に比べて緑内障群で有意な低値をとった($p = 0.0007$)。

2. 涙液の油層のGradeの比較(図2B)

健常群での内訳は、Grade 1が1例、Grade 2が28例、Grade 3が1例、Grade 4が2例であった。緑内障群では、Grade 1が1例、Grade 2が13例、Grade 3が5例、Grade 4が4例であり、両群のGradeの分布に有意な差があった($p = 0.0270$)。

3. N-BUTの比較

健常群では陽性16例、陰性16例で、緑内障群では陽性16例、陰性7例であり、2群間に有意差はなかった($p = 0.1468$)。

4. 綿糸法の比較(図2C)

健常群では 17.9 ± 0.9 mm、緑内障群では 17.7 ± 1.2 mmであり、有意な差はなかった($p = 0.9454$)。

5. フルオレセイン染色スコアの比較(図2D)

フルオレセイン染色スコアのareaは、健常群では 0.0

± 0.0 (平均値±標準誤差)点、緑内障群では 0.7 ± 0.2 点であった。またdensityは、健常群では 0.0 ± 0.0 点、緑内障群では 0.7 ± 0.2 点であり、area, densityともに、健常群に比べて緑内障群で有意な高値をとった(ともに $p < 0.0001$)。

6. F-BUTの比較(図2E)

健常群では 6.5 ± 0.4 (平均値±標準誤差)秒、緑内障群では 4.9 ± 0.7 秒であり、健常群に比べて緑内障群で有意な低値をとった($p = 0.0050$)。

7. ローズベンガル染色スコアの比較(図2F)

健常群では 0.0 ± 0.0 点、緑内障群では 0.6 ± 0.2 点であり、健常群に比べて緑内障群で有意な高値をとった($p = 0.0010$)。

8. シルマテストの比較(図2G)

健常群では 21.8 ± 2.0 mm、緑内障群では 12.3 ± 2.6 mmであり、健常群に比べて緑内障群で有意な低値をとった($p = 0.0042$)。

IV 考 按

β遮断剤の長期使用により、涙液や眼表面上皮にさまざまな影響を生じることが知られている^{11~9)}。そこで、今回の検討ではその影響をさらに詳しく調べるために、各種のドライアイの検査をβ遮断剤点眼群と健常群のそれぞれの群に対して施行し、比較検討を行った。

まず、β遮断剤が涙液貯留量に与える影響については、今回検討した項目の中では、涙液メニスカスの曲率半径、綿糸法、シルマテストI法の結果から検討を加えた。今回用いた涙液メニスカス曲率半径のパラメータは、メニスカスにおける涙液貯留の情報を非接触性に得ようとするものであり¹⁰⁾¹⁸⁾、緑内障群では健常群に比べて涙液メニスカスの曲率半径が有意に低値をとったことから、緑内障群では涙液の貯留量が低下していると推察され、この結果はフルオロフォトメトリーで得られた従来の報告⁴⁾と一致している。一方、綿糸法は結膜囊の涙液の貯留量を反映するといわれているが、今回の検討では緑内障群と健常群の間に有意な差はなかった。しかし、本検査は、我々の検討ではメニスカスにおける涙液量を反映していないというデータも最近得られており¹⁹⁾、また、侵襲性の低い検査法であるとはいえ、接触性の検査であることが影響している可能性もあり、今後さらに症例を増やして検討してみる必要があると思われる。一方、シルマテストI法は結膜の刺激により分泌される反射性の涙液分泌量を調べる検査であり、その測定値には眼表面の知覚と反射性の涙液分泌機能の2つの要因が関係している。これまでβ遮断剤によりシルマテストI法の値が低下すること¹⁾や、涙液貯留量が減少すること⁴⁾などが報告されている。今回の結果でもシルマ値は健常群に比べ緑内障群で有意な減少があり、緑内障群では反射性涙液分泌量が低下していると考えられた。この結果を涙液メニスカスの

曲率半径の測定結果と併せて考えると、涙液の分泌量の低下が涙液貯留量の減少を招き、その結果、涙液メニスカスの曲率半径が減少したものと推察される。しかし、健常群と緑内障群を合わせて、シルマ値と涙液メニスカス曲率半径との間の関係を調べても有意な相関は得られなかった ($r=0.163, p=0.276$) ことから、β 遮断剤点眼におけるシルマ値の低下は、実際の涙液分泌機能の低下だけではなく、眼表面の知覚低下そのものの影響も関与している可能性があると考えられる。

涙液の質的な異常の有無を検討するために、今回は涙液の油層の Grade 分類、N-BUT、および F-BUT の測定を行った。まず、涙液の油層の Grade 分類では、健常群と比べて緑内障群で有意に Grade の高いものが多かった。ドライアイで、Grade の高いものが多い理由として、ドライアイでは涙液の水分量の減少により涙液油層のターンオーバーが低下して涙液上に残りやすくなり、その厚みが増加することが推察されている¹¹⁾。したがって、緑内障群においても、涙液メニスカスにおける涙液貯留量の減少が角膜上の涙液水層の厚みの減少を招き、それが油層像に厚みの増加を惹き起こしているのではないかと考えられた。

N-BUT および F-BUT は、涙液の安定性あるいは上皮の水濡れ性に関するパラメータと考えられるが、今回の検討では、予想に反して両者の結果に解離があった。すなわち、N-BUT では健常群と緑内障群との間に有意な差がなかったのに対して、F-BUT では過去の報告と同様¹⁾、緑内障群で有意に低値をとった。この理由は以下のように考えられる。すなわち、今回の検討における N-BUT は、角膜のより中央の領域における涙液全層の安定性をみていることになるが、今回検討した緑内障群では、この観察領域において Grade の高いもの、いかにいえば涙液油層の厚いものが健常群に比べて有意に多かったため、結果として油層が涙液の安定性を高めることになったのではないかと考えられる²⁰⁾。一方、F-BUT は、角膜の全領域で、涙液の各層のうち水層の安定性を評価している²¹⁾と考えられるため、今回の緑内障群では、後に述べるように角膜下方に上皮障害があった例が多く、β 遮断剤は、家兎角膜上皮において微絨毛消失やムチン層への影響^{1) 22) 23)}も知られていることから、上皮の障害部位で涙液が破綻しやすくなったことを反映しているのではないかと考えられる。

眼表面上皮の検査については、フルオレセイン染色による角膜上皮障害の評価とローズベンガル染色による眼表面上皮のムチン層の被覆の状態²⁴⁾について調べた。両染色とも健常群と緑内障群の間で過去の報告¹⁾と同様に有意な差があった。また、染色陽性例の染色部位については、フルオレセイン染色ではほとんどの例で、角膜中央から下方にかけて、ローズベンガル染色では全例で瞼裂間の球結膜に点状の染色があった。つまり、緑内障群におい

ては、眼表面上皮にドライアイと類似の状態が生じていることが示された。しかし、β 遮断剤の角膜上皮障害については、偽眼類天疱瘡⁹⁾といった細胞毒性と免疫反応が同時に生じる病態も報告されているため、その発症機序にはβ 遮断剤そのものだけでなく、同時に含まれる防腐剤の影響なども考慮に入れる必要があると考えられる。

以上をまとめると、長期にβ 遮断剤を使用している患者においては、涙液の貯留量、分泌量の減少および涙液の安定性の低下があり、また眼表面の障害が生じてドライアイの状態になっていることが明確に推定された。

なお、今後、これらの障害が防腐剤によるものか、点眼剤の中のβ 遮断薬の影響によるものか、あるいはそれらの両方によるものかを検査する必要があることやβ 遮断薬の違いによる涙液、眼表面への影響についても検討する必要がある、さらに検討を重ねる予定である。

文 献

- Herreras JM, Pastor JC, Calonge M, Asensio VM: Ocular surface alteration after long-term treatment with an antiglaucomatous drug. *Ophthalmology* 99: 1082—1088, 1992.
- 新谷明子, 横井則彦, 松本康宏, 石橋 健, 木下 茂: β 遮断薬点眼の角膜上皮バリアー機能に対する影響. *臨眼* 49: 395—397, 1995.
- 俊野敦子, 岡本茂樹, 島村一郎, 宮本二美, 原 祐子, 児玉俊夫, 他: プロスタグランディン F_{2α} イソプロピルウノプロストン点眼薬による角膜上皮障害の発症メカニズム. *日眼会誌* 102: 101—105, 1998.
- Kuppens EVM, Stolwijk TR, de Keizer RJW, van Best JA: Basal tear turnover and topical timolol in glaucoma patients and healthy controls by fluorophotometry. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 33: 3442—3448, 1992.
- Weissman SS, Asbell PA: Effects of topical timolol (0.5%) and betaxolol (0.5%) on corneal sensitivity. *Br J Ophthalmol* 74: 409—412, 1990.
- Brandt JD, Wittpenn JR, Katz LJ, Steinmann WN, Spaeth GL: Conjunctival impression cytology in patients with glaucoma using long-term topical medication. *Am J Ophthalmol* 112: 297—301, 1991.
- Broadway DC, Grierson I, O'Brien C, Hitchings RA: Adverse effects of topical antiglaucoma medication. I. The conjunctival cell profile. *Arch Ophthalmol* 112: 1437—1445, 1994.
- Sherwood MB, Grierson I, Millar L, Hitchings RA: Long-term morphologic effects of antiglaucoma drugs on the conjunctiva and tenon's capsule in glaucomatous patients. *Ophthalmology* 96: 327—335, 1989.
- Tauber J, Melamed S, Foster CS: Glaucoma in patients with ocular cicatricial pemphigoid. *Ophthalmology* 96: 33—37, 1989.
- Yokoi N, Bron A, Tiffany J, Brown N, Hsuan J, Fowler C: Reflective meniscometry: A non-inva-

- sive method to measure tear meniscus curvature. *Br J Ophthalmol* 83:92—97, 1999.
- 11) **Yokoi N, Takehisa Y, Kinoshita S**: Correlation of tear lipid layer interference patterns with the diagnosis and severity of dry eye. *Am J Ophthalmol* 122:818—824, 1996.
 - 12) **Yokoi N, Komuro A, Takehisa Y, Kinoshita S**: Clinical assessment of conjunctival damage and tear film stability in drug-induced epithelial keratopathy. In: Lass JH (Eds): *Advances in corneal research: Selected transaction of the world cornea congress*. Plenum Press, New York, 57—63, 1998.
 - 13) **Hamano H, Hori M, Hamano T, Mitsunaga S, Maeshima J, Kojima S, et al**: A new method for measuring tears. *CLAO J* 9:281—289, 1983.
 - 14) **宮田和典, 澤 充, 西田輝夫, 三嶋 弘, 宮本裕子, 大鳥利文**: びまん性表層角膜炎の重症度の分類. *臨眼* 48:183—188, 1994.
 - 15) **Lemp MA, Hamill JR**: Factors affecting tear film breakup in normal eyes. *Arch Ophthalmol* 89:103—105, 1973.
 - 16) **van Bijsterveld OP**: Diagnostic tests in the sicca syndrome. *Arch Ophthalmol* 82:10—14, 1969.
 - 17) **Schirmer O**: Studien zur Physiologie und Pathologie der Traneabsonderung und Tranenabfuhr. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 56:197—291, 1903.
 - 18) **Mainstone JC, Bruce AS, Golding TR**: Tear meniscus measurement in the diagnosis of dry eye. *Curr Eye Res* 15:653—661, 1996.
 - 19) **Yokoi N, Sugita J, Inatomi T, Kinoshita S, Bron AJ, Tiffany JM**: Tear meniscus change during cotton thread and Schirmer testing. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 40:S980, 1999.
 - 20) **Holly FJ**: Formation and rupture of the tear film. *Exp Eye Res* 15:515—525, 1973.
 - 21) **Fatt I**: Observations of tear film break up on model eyes. *CLAOJ* 17:267—281, 1991.
 - 22) **Segawa K, Nagai T, Tanaka N, Nishiyama K**: Effects of three beta-blocker eye drops on the rabbit cornea: An electron microscope study. *Clin Ther* 8:263—268, 1986.
 - 23) **佐々本研二, 赤木好男, 糸井素一**: β 遮断剤の点眼による家兎角膜上皮障害について. *眼紀* 31:867—871, 1980.
 - 24) **Feenstra RPG, Tseng SCG**: Comparison of fluorescein and rose bengal staining. *Ophthalmology* 99:605—617, 1992.