

家兎表層角膜切除後の創傷治癒に及ぼす各種点眼薬の影響

谷 恵美子¹⁾²⁾, 片上千加子¹⁾, 根木 昭¹⁾

¹⁾神戸大学大学院医学系研究科医科学専攻器官治療医学講座(眼科学), ²⁾谷眼科医院

要 約

目的: 表層角膜切除後の治癒過程に及ぼす各種点眼薬の影響について, 上皮下混濁に焦点を当てて組織学的に検討した。

対象と方法: 家兎に機械的表層角膜切除を行い, 術直後からトラニラスト(T群), リン酸ベタメサゾン(B群), ヒアルロン酸(H群), ジクロフェナク(D群), または対照として生理食塩水(C群)の点眼を行った。術後1, 2, 3, 4週目に角膜を摘出し, ³H-チミジンまたは³H-プロリンで標識しオートラジオグラフィに供した。

結果: C群とD群では術後3週目までに創部の混濁がみられたのに対し, T群, B群, H群では混濁が抑制された。組織学的には, C群では上皮下への角膜実質細胞の集簇と活発なコラーゲン産生が観察されたが,

T群とB群では実質細胞の増殖抑制とコラーゲン産生抑制所見があった。H群では実質細胞の増殖はC群に比し亢進していたが, 上皮下への実質細胞の異常な集簇はなかった。

結論: 家兎表層角膜切除後の創傷治癒過程において, トラニラスト, リン酸ベタメサゾンは実質細胞の増殖およびコラーゲン産生を抑制することにより, また, ヒアルロン酸は生理的な創傷治癒過程を促進することにより上皮下混濁を抑制するものと推察された。(日眼会誌 106: 135-142, 2002)

キーワード: 表層角膜切除, 角膜創傷治癒, 上皮下混濁, トラニラスト, ヒアルロン酸

Effects of Various Eye Drops on Corneal Wound Healing after Superficial Keratectomy in Rabbits

Emiko Tani¹⁾²⁾, Chikako Katakami¹⁾ and Akira Negi¹⁾

¹⁾Division of Organ Therapeutics, Department of Ophthalmology, Kobe University Graduate School of Medicine

²⁾Tani Eye Clinic

Abstract

Purpose: The effects of various eye drops on corneal wound healing, particularly in the subepithelial haze area, investigated histologically following superficial keratectomy in rabbits.

Material and Methods: Mechanical superficial keratectomy was performed in rabbit eyes. Tranilast, betamethasone, hyaluronic acid and diclofenac eye drops were administered after the procedure. Physiological saline was used as a control. Corneas were excised 1, 2, 3, and 4 weeks after keratectomy, labeled with ³H-thymidine or ³H-proline, and subjected to autoradiography.

Results: In the control and diclofenac groups, corneal haze occurred three weeks after keratectomy. Histological examination revealed accumulation of proliferating keratocytes and active synthesis of collagen in the subepithelial area. In the tranilast and betamethasone groups, formation of corneal haze was reduced compared to the con-

trols. The proliferation of keratocytes and the production of collagen in the corneal stroma were inhibited by these drugs. In the hyaluronic acid groups, corneal haze was decreased. In this group, although the proliferation of keratocytes was activated compared to the controls, abnormal accumulation of keratocytes in the subepithelial area was not detected.

Conclusion: Tranilast and betamethasone decrease the formation of subepithelial haze by inhibiting keratocyte proliferation and synthesis of extracellular matrix in the corneal stroma. Hyaluronic acid, on the other hand, inhibits subepithelial haze by promoting physiologic wound healing.(J Jpn Ophthalmol Soc 106: 135-142, 2002)

Key words: Superficial keratectomy, Corneal wound healing, Subepithelial haze, Tranilast, Hyaluronic acid

別冊請求先: 650-0017 神戸市中央区楠町7-5-2 神戸大学医学部眼科学教室 片上千加子
(平成13年5月10日受付, 平成13年9月5日改訂受理)

Reprint requests to: Chikako Katakami, M. D. Department of Ophthalmology, Kobe University School of Medicine,
7-5-2 Kusunoki-cho, Chuo-ku, Kobe 650-0017, Japan

(Received May 10, 2001 and accepted in revised form September 5, 2001)

I 緒 言

近年普及しつつあるエキシマレーザー表層角膜切除術後には上皮下混濁がほぼ必発し、軽度の場合は消退するが重篤な例では恒久的な視力障害が残存する¹⁾。その病態は、メスによる機械的な表層角膜切除後に現れるのと同様の非特異的变化であるとされている²⁾³⁾。角膜の透明性の維持は、角膜実質の構成成分と含水量が一定に保たれることと、実質コラーゲン線維の規則正しい配列に基づいている。実質の構成成分が変化すると、含水量が変化しコラーゲン線維の配列の乱れを生じ、角膜の透明性が失われ混濁すると考えられている。すなわち、角膜創傷治癒後に生じる角膜混濁の原因は、無秩序に過剰増殖した角膜実質細胞が産生するコラーゲンなどの細胞外基質の異常な蓄積によるものとされている^{4)~6)}。表層角膜切除後の上皮下混濁も、組織学的に異常な細胞外基質の蓄積が原因であると報告⁷⁾⁸⁾されている。

表層角膜切除後には、消炎、疼痛軽減、上皮再生促進などの目的で、ステロイド、非ステロイド性消炎薬、ヒアルロン酸などの種々の点眼薬が用いられる。また最近、トラニラストがエキシマレーザー表層角膜切除術後の上皮下混濁の発生を抑制するとの報告⁹⁾¹⁰⁾がある。しかし、これらの点眼薬の角膜創傷治癒に及ぼす作用を組織学的に詳細に検討した報告は少ない。今回、我々は家兎を用いてこれら点眼薬の表層角膜切除後の創傷治癒に及ぼす影響について、特に上皮下混濁の発生に関与する実質細胞の増殖とコラーゲン産生に及ぼす作用に焦点を当て、組織学的に検討した。

II 実験方法

本研究は、神戸大学医学部において動物実験に関する倫理審査委員会の承認を得て行われた。実験には日本白色家兎、体重 2.5 kg、雌 20 匹 40 眼を用いた。まず、家兎を塩酸ケタミン(ケタラル®)の筋注(30 mg/kg)で麻酔し、さらに、0.4% 塩酸オキシプロカイン(ベノキシール®)で点眼麻酔の後、円靱刃(フェザー替え刃メス No. 15)を用いて角膜中央部に直径 6 mm の表層角膜切除を行った。家兎を 5 群に分け、術直後から次の点眼を 1 日 3 回行った。T 群は 0.5% トラニラスト(リザベン®, キッセイ薬品)、B 群は 0.1% リン酸ベタメサゾンナトリウム(リンデロン®, 塩野義製薬)、H 群は 0.1% ヒアルロン酸ナトリウム(ヒアレイン®, 参天製薬)、D 群は 0.1% ジクロフェナクナトリウム(ジクロード®, わかもと製薬)、C 群は生理食塩水(対照)。抗生剤の点眼、眼軟膏は用いなかった。

術後 1, 2, 3, 4 週後に前眼部所見を観察し、メチレンブルー染色により上皮欠損の有無を確認後、前眼部写真を撮影し、家兎を致死量のペントバルビタールナトリウム(ネンブタール®)で安楽死させ角膜を摘出した。角

膜を中央部で半割し、直ちに一方の角膜片は³H-チミジン(Amersham, 10 μ Ci/ml)、もう一方の角膜片は³H-プロリン(Amersham, 10 μ Ci/ml)を含む Dulbecco's Minimum Essential Medium(GIBCO BRL)中で 37°C、4 時間標識した後、10% ホルマリンで固定し、パラフィン切片を作製し、オートラジオグラフィに供した。すなわち、既報¹¹⁾に準じて暗室内で乳剤(50% Konica NR-M 2, Konica)に浸した後乾燥させ、シリカゲル入りの暗箱の中で 4°C で³H-チミジン標識は 3 週間、³H-プロリン標識は 5 週間露出させた。レンドール/レンフィクス(フジフィルム)で現像/定着し、ヘマトキシリン・エオジン(HE)染色後、光学顕微鏡で観察した。

各薬剤の角膜実質細胞の増殖に及ぼす作用を検討するため、³H-チミジンオートラジオグラフィにおいて、各群 5 切片について 1 切片当たりの³H-チミジン取り込み実質細胞の総数を計測した。その細胞数を各切片の長さによって補正し、組織片 10 mm 当たりの³H-チミジン取り込み細胞数を求め、5 切片の平均値を算出した。対照群と各群との有意差検定は Dunnett の方法¹²⁾により行い、 $p < 0.05$ を有意とした。

角膜実質細胞によるコラーゲン産生に及ぼす作用については、³H-プロリンオートラジオグラフィの光学顕微鏡写真を撮影し、³H-プロリン取り込み実質細胞の細胞質における銀粒子の密度を写真の上で肉眼的に比較検討した。

また、一部の C 群の切片は、トルイジンブルーで染色した。

III 結 果

1. 前眼部肉眼所見(図 1)

表層角膜切除術後 1 週目の時点では C, T, H 群において上皮はメチレンブルーに染色されず、上皮が再生していたが、D 群と B 群では上皮は完全には再生していなかった。術後 2 週目の時点ではいずれの点眼群でも上皮は再生されていた。

創部の混濁は、C 群と D 群において術後 3 週目頃から肉眼的に混濁が顕著となり、4 週目には高度の混濁が生じた。T, H 群でも 4 週目に軽度の創部混濁をみた。その程度は対照群に比して抑制されていた。B 群では 4 週目でも創部混濁は極めて僅かであった。

2. 組織学的所見

1) C 群(対照)(図 2)

術後 2 週目の³H-チミジンオートラジオグラフィ所見を図 2 A に示す。創部の上皮は 2~3 層に再生されていた。実質には表層角膜切除によって出現した無細胞領域に周囲の角膜実質細胞の浸潤による repopulation が進行しつつあり、³H-チミジン陽性の細胞が多数みられた(図 2 A)。術後 3 週目の³H-プロリンオートラジオグラフィを図 2 B, C に示す。上皮下に実質細胞が集簇して

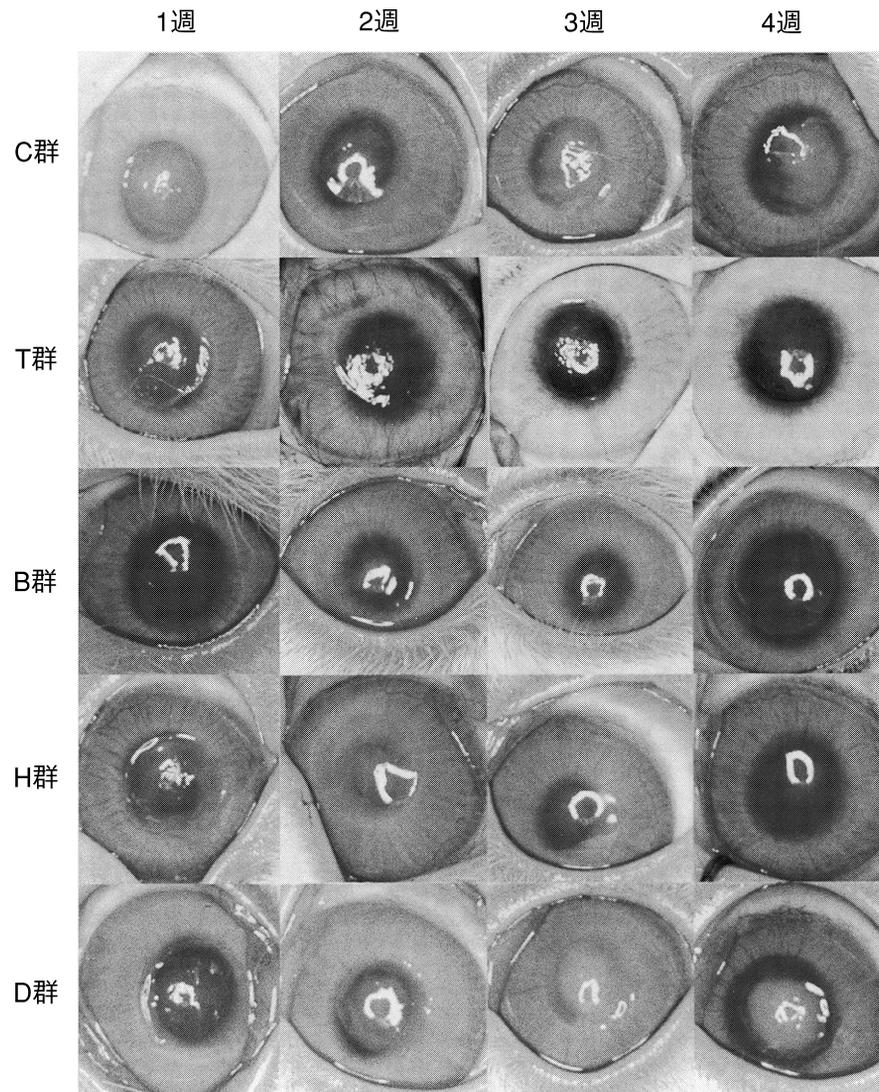


図 1 家兎表層角膜切除後の治療過程の前眼部肉眼的所見。

家兎角膜に表層角膜切除を行い、家兎を 5 群に分け、術直後から、生理食塩水[対照(C)群]、トラニラスト(T 群)、リン酸ベタメサゾン(B 群)、ジクロフェナク(D 群)、ヒアルロン酸ナトリウム(H 群)を各々 1 日 3 回点眼した。各群の術後 1, 2, 3, 4 週目における前眼部所見を示す。術後 4 週目において、C, D 群では強い角膜混濁が生じているが、T, B, H 群では対照群に比して混濁が抑制されている。

いた(図 2 B)。実質細胞による ^3H -プロリンの取り込みが著明で、活発なコラーゲン産生が推定された(図 2 C)。実質細胞の集簇部位はトルイジンブルーで濃染され(図 2 D)、上皮下混濁を形成する瘢痕組織を示す所見と考えられた。

2) T 群(トラニラスト)(図 3)

術後 2 週目では、創部の上皮は 2~3 層に再生されていた。上皮下の無細胞領域への角膜実質細胞の repopulation は遅延しており、実質細胞による ^3H -チミジンの取り込みも抑制されていた(図 3 A)。術後 3 週目では、角膜実質細胞の repopulation はかなり進行していたが、C 群のように上皮下に実質細胞が集簇しておらず、実質細胞による ^3H -プロリンの取り込みも C 群に比し抑制されていた(図 3 B, C)。

3) B 群(リン酸ベタメサゾン)(図 4)

術後 2 週目では上皮は再生されていたが、C 群に比べやや菲薄化していた。上皮下無細胞領域への角膜実質細胞の repopulation は遅延しており、 ^3H -チミジンの取り込み実質細胞数も C 群に比し減少していた(図 4 A)。術後 3 週目では、実質細胞の repopulation は進行しつつあったが、C 群に比べ実質細胞の集簇が抑制され、実質細胞による ^3H -プロリンの取り込みも抑制されていた(図 4 B, C)。

4) H 群(ヒアルロン酸)(図 5)

術後 2 週目では上皮は 2~3 層に再生され、上皮下の角膜実質細胞の repopulation が進行するとともに、 ^3H -チミジンを取り込んだ細胞が多く、細胞増殖が活発であることが推定された(図 5 A)。術後 3 週目では、上皮下

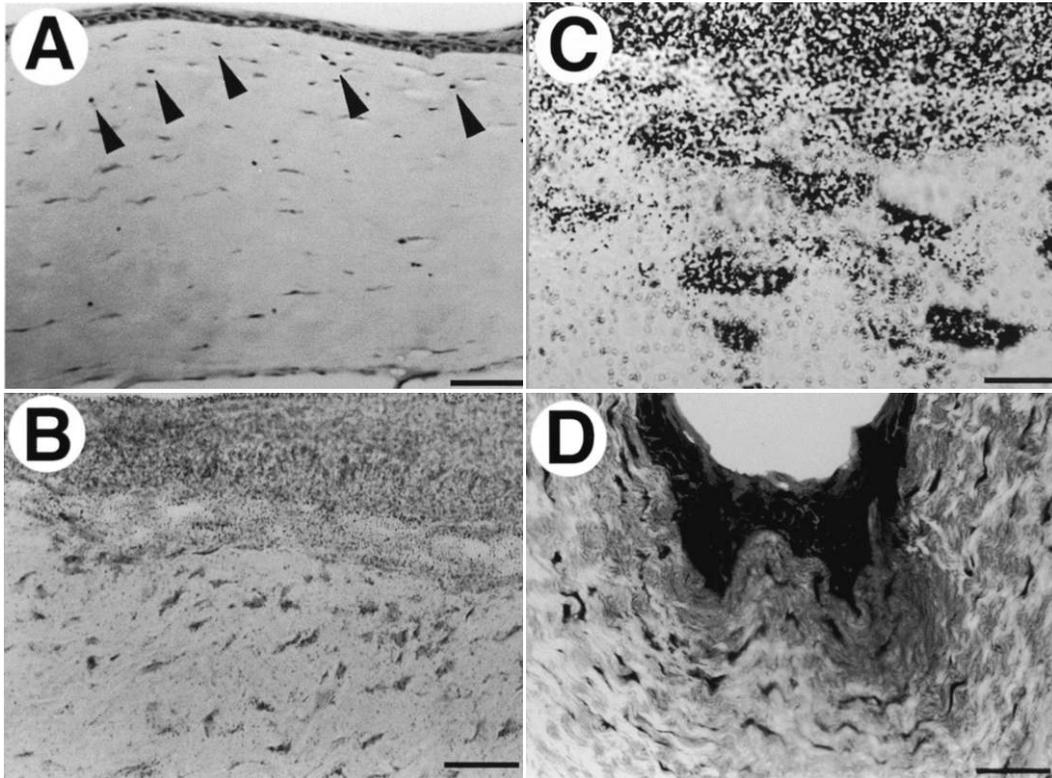


図 2 対照群の治癒過程の組織学的所見.

A: 術後2週の ^3H -チミジンオートラジオグラフィ. 創部の上皮は2~3層に再生されている. 実質には創部に周囲の実質細胞の浸潤が進行しつつあり, ^3H -チミジン陽性の細胞が多数みられる(矢じり). B, C: 術後3週の ^3H -プロリンオートラジオグラフィ. 上皮下に実質細胞が集簇し, 実質細胞により ^3H -プロリンが著明に取り込まれており, コラーゲン産生が推定される. D: 術後3週目トルイジンブルー染色. 実質細胞の集簇部位はトルイジンブルーに濃染し上皮下混濁を形成する瘢痕組織であることが推定される. バーはA~Cが60 μm , Dが20 μm

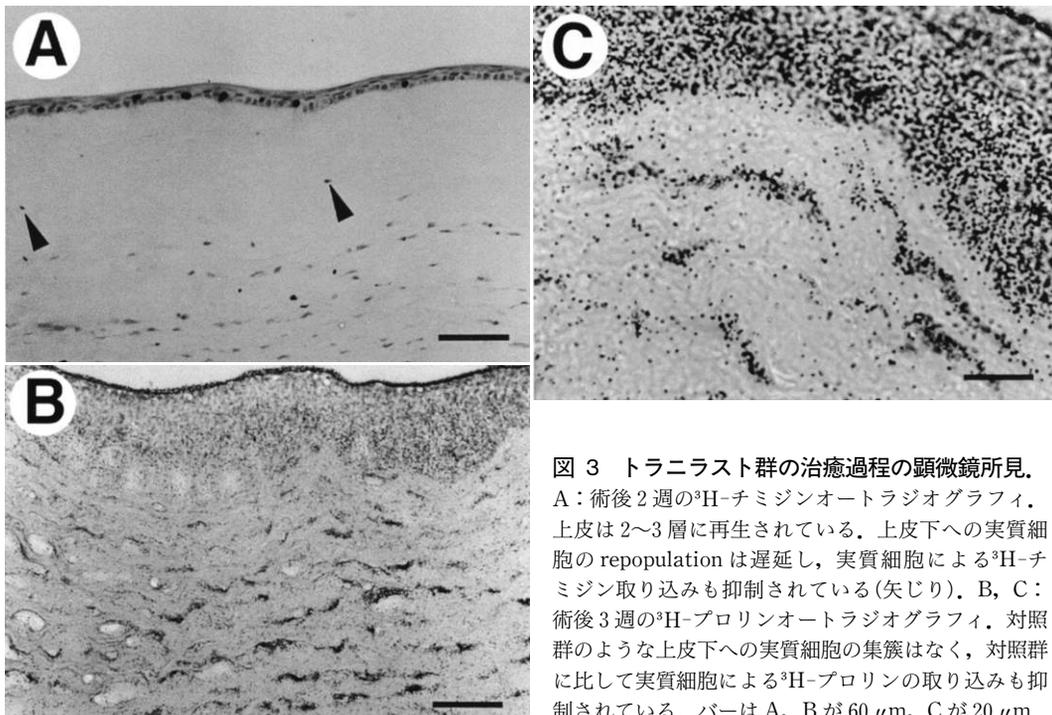


図 3 トランララスト群の治癒過程の顕微鏡所見.

A: 術後2週の ^3H -チミジンオートラジオグラフィ. 上皮は2~3層に再生されている. 上皮下への実質細胞の repopulation は遅延し, 実質細胞による ^3H -チミジン取り込みも抑制されている(矢じり). B, C: 術後3週の ^3H -プロリンオートラジオグラフィ. 対照群のような上皮下への実質細胞の集簇はなく, 対照群に比して実質細胞による ^3H -プロリンの取り込みも抑制されている. バーはA, Bが60 μm , Cが20 μm

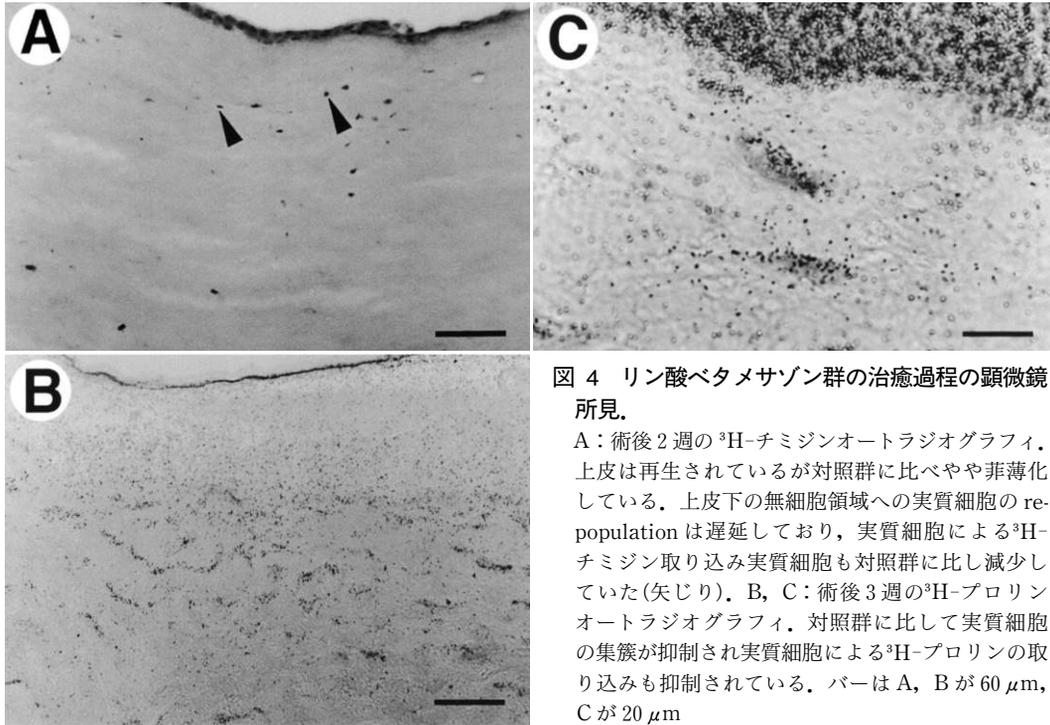


図 4 リン酸ベタメサゾン群の治癒過程の顕微鏡所見.

A: 術後 2 週の ^3H -チミジンオートラジオグラフィ. 上皮は再生されているが対照群に比べやや菲薄化している. 上皮下の無細胞領域への実質細胞の repopulation は遅延しており, 実質細胞による ^3H -チミジン取り込み実質細胞も対照群に比し減少していた(矢じり). B, C: 術後 3 週の ^3H -プロリンオートラジオグラフィ. 対照群に比して実質細胞の集簇が抑制され実質細胞による ^3H -プロリンの取り込みも抑制されている. バーは A, B が $60\ \mu\text{m}$, C が $20\ \mu\text{m}$

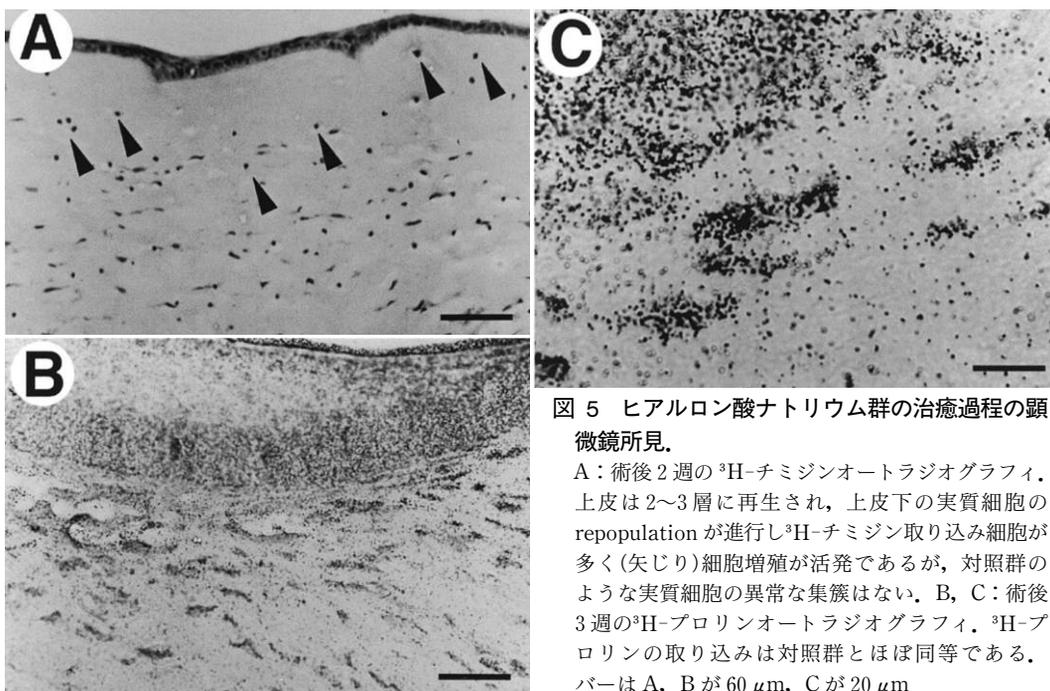


図 5 ヒアルロン酸ナトリウム群の治癒過程の顕微鏡所見.

A: 術後 2 週の ^3H -チミジンオートラジオグラフィ. 上皮は 2~3 層に再生され, 上皮下の実質細胞の repopulation が進行し ^3H -チミジン取り込み細胞が多く(矢じり)細胞増殖が活発であるが, 対照群のような実質細胞の異常な集簇はない. B, C: 術後 3 週の ^3H -プロリンオートラジオグラフィ. ^3H -プロリンの取り込みは対照群とほぼ同等である. バーは A, B が $60\ \mu\text{m}$, C が $20\ \mu\text{m}$

の実質細胞の細胞密度は高かったが, C 群のような異常な集簇はなかった. ^3H -プロリンの取り込みは C 群とほぼ同等であった(図 5 B, C).

5) D 群(ジクロフェナク)(図 6)

術後 2 週目では上皮は 1~2 層で他の群に比較して菲薄化していた. 実質は浮腫状に肥厚し, 実質内には炎症細胞の浸潤が著明で, 新生血管の形成がみられ, また, 内皮後面に retrocorneal membrane の形成もみられた

(図 6 A). ^3H -プロリンの取り込みは C 群とほぼ同等であった(図 6 B, C).

組織片 10 mm 当たりの ^3H -チミジン取り込み細胞数は, C 群が 92.0 ± 3.4 , T 群が 26.2 ± 1.3 , B 群が 45.4 ± 1.6 , H 群が 170.2 ± 4.8 , D 群が 72.2 ± 4.1 (数値は平均値 \pm 標準誤差)であった. C 群を 100% とした各群の比率を図 7 に示す. H 群では C 群に比して有意に ^3H -チミジンの取り込み細胞数が増加していた. 一方, T,

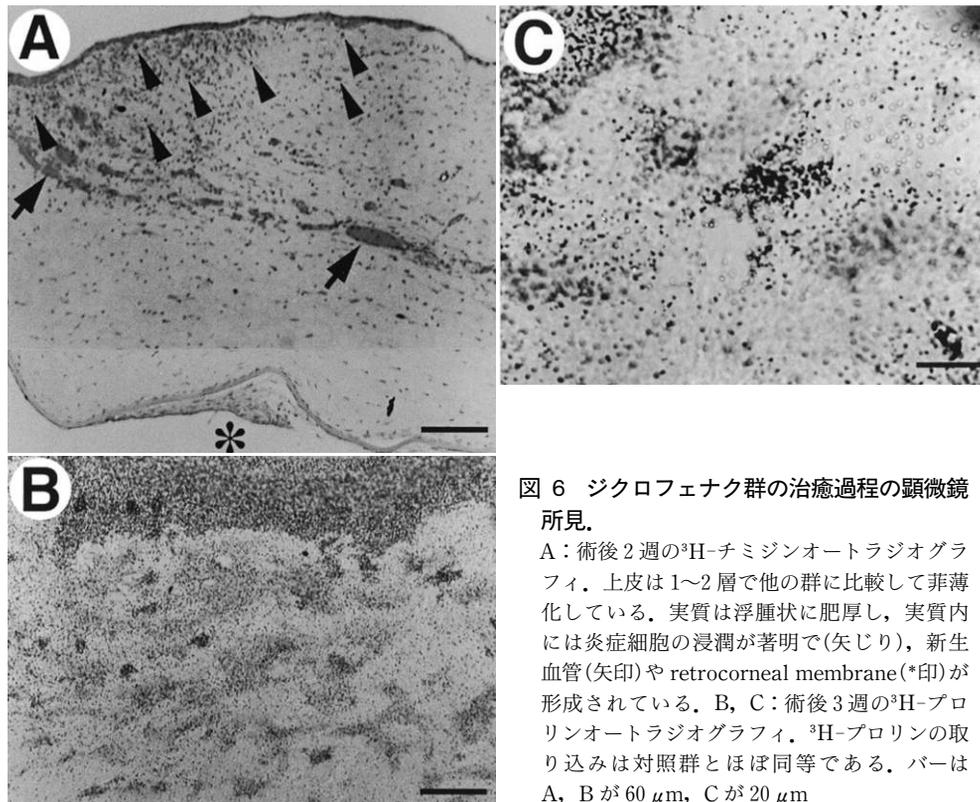


図 6 ジクロフェナク群の治癒過程の顕微鏡所見。

A: 術後2週の ^3H -チミジンオートラジオグラフィ。上皮は1~2層で他の群に比較して菲薄化している。実質は浮腫状に肥厚し、実質内には炎症細胞の浸潤が著明で(矢じり)、新生血管(矢印)や retrocorneal membrane(*印)が形成されている。B, C: 術後3週の ^3H -プロリンオートラジオグラフィ。 ^3H -プロリンの取り込みは対照群とほぼ同等である。バーはA, Bが60 μm , Cが20 μm

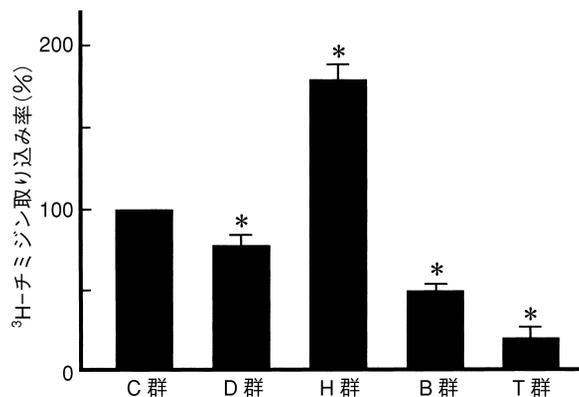


図 7 各群における ^3H -チミジン取り込み実質細胞数の比率。

各群5切片について、1切片当たりの ^3H -チミジン取り込み実質細胞数を計測した。その細胞数を切片の長さで補正し、組織片10mm当たりの ^3H -チミジン取り込み細胞数を求め、5切片の平均値を算出し、C群を100%とした各群の比率を示した(数値は平均値 \pm 標準誤差, *: $p < 0.01$ vs C群)。H群では、C群に比して ^3H -チミジンの取り込み細胞数が有意に増加している。T群, D群およびB群では、C群に比して ^3H -チミジンの取り込み細胞数が有意に減少している。

B群およびD群では、C群に比して有意に ^3H -チミジンの取り込み細胞数が減少していた。

IV 考 按

Phototherapeutic keratectomy (PTK) や photorefractive keratectomy (PRK) を含む表層角膜切除後には、

上皮再生促進、疼痛軽減、消炎の目的で種々の点眼薬が用いられる。今回、我々は、トラニラスト(T群)、リン酸ベタメサゾン(B群)、ヒアルロン酸ナトリウム(H群)、ジクロフェナク(D群)点眼薬の家兎表層角膜切除後の創傷治癒に及ぼす影響について、特に上皮下混濁発生に焦点を当て、組織学的に検討した。その結果、C群(対照群)およびD群では術後3~4週目に創部の混濁がみられたのに対し、B, T, H群では混濁抑制効果があった。組織学的には、C群では上皮下への角膜実質細胞の集簇所見および活発なコラーゲン産生を推定する所見があったが、B, T群では実質細胞の増殖抑制、コラーゲン産生抑制所見があり、これらの作用により上皮下混濁が抑制されたと考えられた。一方、H群では角膜実質細胞の増殖はC群に比し促進されていたが、上皮下への実質細胞の異常な集簇所見はなく、生理的な創傷治癒過程を促進することにより上皮下混濁を軽減することが推測された。D群では炎症所見が強く、創部の浮腫と炎症細胞浸潤が著明で、それによって角膜混濁を生じたと考えられた。

トラニラストは、肥満細胞や好塩基球からのヒスタミン放出を抑制したり、血管透過性の亢進を抑制することにより抗アレルギー作用を示すが、近年、種々のサイトカインの反応抑制作用や産生阻害作用を介して水晶体後囊、結膜、テノン囊や翼状片などにおける線維芽細胞の過剰増殖ならびにコラーゲンの過剰蓄積を抑制することが明らかにされている。角膜創傷治癒過程では、角膜実質において transforming growth factor- β (TGF- β) な

どのサイトカインが産生され、特に TGF- β が角膜実質細胞の筋線維芽細胞への形質転換と細胞外基質の産生に重要な役割を果たすことが明らかになってきている¹³⁾。トラニラストは TGF- β の細胞外基質の産生作用を抑制するといわれており¹⁴⁾、今回の結果から、トラニラストの上皮下混濁抑制作用の機序として、角膜実質細胞の増殖を抑制するとともに、TGF- β を介する角膜実質細胞の形質転換および細胞外基質の産生を抑制することが考えられる。一方、PTK や PRK 後の上皮下混濁は機械的表層角膜切除後にもみられる非特異的な癒痕組織であるとされ²⁾³⁾⁶⁾、その病態は、III, IV型コラーゲン線維および分子量の大きなプロテオグリカンなどの細胞外基質が主な構成成分であると考えられている⁶⁾¹⁵⁾¹⁶⁾。したがって、今回の結果から、トラニラストが機械的角膜切除後の混濁のみならず、PTK や PRK 後の上皮下混濁の抑制にも有効であることが推察される。実際に臨床的あるいは動物実験において、トラニラストが PRK 後の上皮下混濁の抑制に有効であることが報告⁹⁾¹⁰⁾されているが、組織学的検討は今までほとんどなされていなかった。今回の実験結果から、トラニラストが角膜実質細胞増殖抑制作用およびコラーゲン産生抑制作用を有することが組織学的に明らかとなった。

ステロイドは、一般に DNA および蛋白合成を抑制することにより実質組織の再生を抑制する。実際にヒトの PRK 後の角膜混濁にステロイドが有効であるという報告¹⁷⁾¹⁸⁾がある。今回の検討においては、ベタメサゾンは強い消炎効果と創傷治癒過程の遅延化により実質細胞の増殖およびコラーゲン産生を抑制したと思われる。しかし、ステロイドは動物実験では有効であっても、ヒトでの有効性については疑問視する報告¹⁹⁾²⁰⁾が多いことから、その作用についてはさらに詳細な検討が必要であろう。

ヒアルロン酸ナトリウムは、優れた保水作用と粘弾性を有するのみならず、生物学的作用として角膜上皮創傷治癒を促進することが報告²¹⁾²²⁾されている。今回の実験でも、H 群では肉眼的にも組織学的にも上皮再生は良好であった。また、ヒアルロン酸は角膜実質細胞の増殖促進作用を有することが報告²³⁾されている。今回の実験でも同様の結果が得られたが、上皮への異常な角膜実質細胞の集簇所見はみられなかった。すなわち、ヒアルロン酸は角膜実質における生理的な創傷治癒過程を促進するものと考えられ、これにはヒアルロン酸の上皮再生促進作用による早期の上皮再生が関与している可能性がある。臨床的にも上皮欠損の生じる PRK よりも、上皮欠損のない laser *in situ* keratomileusis (LASIK) の方が術後の上皮下混濁の発生が少ないとされ²⁴⁾、実際に上皮の存在の有無が実質の創傷治癒に影響を及ぼすと報告²⁵⁾されている。このように、術後早期の上皮再生が実質混濁に及ぼす作用についてはさらなる検討を要する。

ジクロフェナクは、シクロオキシゲナーゼを阻害することにより抗炎症作用を呈し、角膜手術後の消炎と疼痛軽減目的などに用いられている。ジクロフェナクはステロイドと並んで *in vitro* において角膜実質細胞の増殖を抑制する。しかし、今回の実験では、D 群では角膜創傷治癒が遅延しており、炎症細胞浸潤が著しく、血管新生と一部に retrocorneal membrane がみられた。Retrocorneal membrane の起源²⁶⁾としては、角膜内皮細胞、実質細胞、隅角部からの線維芽細胞などが考えられることから、D 群では組織障害がかなり重篤で遅延化しており、治癒機転として惹起された障害部周辺の細胞の遊走増殖が著しかったことが推定される。ジクロフェナクは角膜実質におけるプロスタグランジン E₂ の産生を抑制することにより術後の疼痛軽減には有効であると報告²⁷⁾されているが、多核白血球の浸潤は抑制せず、創傷治癒を遅らせ上皮下混濁には有効性がないとの報告²⁸⁾がある。今回の実験結果では、実質浅層を中心に多数の炎症細胞が浸潤しており深層にもその浸潤みられることから、炎症は内皮にまで波及していたことが推測される。さらに近年、多核白血球から産生された basic fibroblast growth factor が角膜内皮細胞を線維芽細胞様に形質転換し、retrocorneal membrane を形成するという機序が報告²⁹⁾されていることから、D 群では実質の多数の炎症細胞浸潤によって retrocorneal membrane の形成が惹起されたことが推察される。また、ジクロフェナクには上皮再生を抑制するという副作用の報告があるが、今回の実験結果では D 群では上皮再生が遅延していたことから、上皮再生の遅延が実質における炎症の遅延化の要因である可能性も考えられる。ステロイドも、上皮再生を抑制するとされているが、強い抗炎症作用を有するため、B 群では D 群と異なり炎症が抑制されたものと推察される。

以上の結果から、家兎表層角膜切除後の創傷治癒過程において、トラニラスト、リン酸ベタメサゾンは、実質細胞の増殖およびコラーゲン産生を抑制することにより上皮下混濁を抑制すると考えられた。また、ヒアルロン酸ナトリウムは、早期に上皮を再生させることにより実質における生理的な創傷治癒過程を促進し、上皮下混濁を抑制するものと推察された。

文 献

- 1) Seiler T, Derse M, Plam T: Repeated excimer laser treated after photorefractive keratectomy. Arch Ophthalmol 110: 1230—1233, 1992.
- 2) Malley DS, Steinert RF, Puliafito CA, Dobi ET: Immunofluorescence study of corneal wound healing after excimer laser anterior keratectomy in the monkey eye. Arch Ophthalmol 108: 1316—1322, 1990.
- 3) Rawe IM, Zabel RW, Tuft SJ, Chen V, Meek

- KM** : A morphological study of rabbit corneas after laser keratectomy. *Eye* 6 : 637—642, 1992.
- 4) **Maurice DM** : The structure and transparency of the corneal stroma. *J Physiol* 136 : 263—286, 1957.
 - 5) **Benedek G** : Theory of the transparency of the eye. *Appl Optics* 10 : 459—473, 1971.
 - 6) 中安清夫, 後藤淑子, 石川 隆, 金井 淳 : 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. *日眼会誌* 100 : 350—357, 1996.
 - 7) **Assil KK, Quantock AJ** : Wound healing in response to keratorefractive surgery. *Surv Ophthalmol* 38 : 289—302, 1993.
 - 8) **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.
 - 9) **Furukawa H, Nakayasu K, Gotoh T, Watanabe Y, Takano T, Ishikawa T, et al.** : Effect of topical tranilast and corticosteroids on subepithelial haze after photorefractive keratectomy in rabbits. *J Refract Surg* 13 : S 457—458, 1997.
 - 10) **Okamoto S, Sakai T, Iwaki Y, Tobari I, Hamano S** : Effects of tranilast on cultured rabbit corneal keratocytes and corneal haze after photorefractive keratectomy. *Jpn J Ophthalmol* 43 : 355—362, 1999.
 - 11) **Katakami C, Sahori A, Kazusa R, Yamamoto M** : Keratocyte activity in wound healing after epikeratophakia in rabbits. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 32 : 1837—1845, 1991.
 - 12) **Dunnnett CW** : A multiple comparison procedure for comparing several treatments with a control. *J Am Stat Assoc* 50 : 1096—1121, 1955.
 - 13) **Jester JV, Petroll WM, Cavanagh HD** : Corneal stromal wound healing in refractive surgery : The role of myofibroblasts. *Prog Retin Eye Res* 18 : 311—356, 1999.
 - 14) **Ikeda H, Inao M, Fujiwara K** : Inhibitory effect of tranilast on activation and transforming growth factor β 1 expression in cultured rat stellate cells. *Biochem Biophys Res Comm* 227 : 322—327, 1996.
 - 15) **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.
 - 16) 中安清夫 : エキシマレーザー角膜表層切除後の上皮下混濁. *日コレ誌* 39 : 補遺 9—15, 1997.
 - 17) **Sher NA, Chen V, Bowen RA, Frantz JM, Brown DC, Eiferman R, et al.** : The use of the 193 nm excimer laser for myopic photorefractive keratectomy in sighted eyes. A multicenter study. *Arch Ophthalmol* 109 : 1525—1530, 1991.
 - 18) **Carones F, Brancato R, Venturi E, Scialdone A, Bertuzzi A, Tavola A** : Efficacy of corticosteroids in reversing regression after myopic photorefractive keratectomy. *Refract Corneal Surg* 9 : S 52—56, 1993.
 - 19) **Corbett MC, O'Brart DP, Marshall J** : Do topical corticosteroids have a role following excimer laser photorefractive keratectomy? *J Refract Surg* 11 : 380—387, 1995.
 - 20) **Aras C, Ozdamar A, Aktunc R, Ercikan C** : The effects of topical steroids on refractive outcome and corneal haze, thickness, and curvature after photorefractive keratectomy with a 6.0-mm ablation diameter. *Ophthalmic Surg Lasers* 29 : 621—627, 1998.
 - 21) **Nishida T, Nakamura M, Mishima H, Otori T** : Hyaluronan stimulates corneal epithelial migration. *Exp Eye Res* 53 : 753—758, 1991.
 - 22) **Inoue M, Katakami C** : The effect of hyaluronic acid on corneal epithelial cell proliferation. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 34 : 2313—2315, 1993.
 - 23) 細見雅美, 片上千加子, 山本 節 : ヒアルロン酸の角膜実質細胞増殖能に及ぼす影響. *日眼会誌* 100 : 448—452, 1996.
 - 24) **Gimbel HV, Levy SG** : Indications, results, and complications of LASIK. *Curr Opin Ophthalmol* 9 : 3—8, 1998.
 - 25) **Nakamura K, Kurosaka D, Bissen-Miyajima H, Tsubota T** : Intact corneal epithelium is essential for the prevention of stromal haze after laser assisted *in situ* keratomileusis. *Br J Ophthalmol* 85 : 209—213, 2001.
 - 26) **Silbert AM, Baum JL** : Origin of the retrocorneal membrane in the rabbit. *Arch Ophthalmol* 97 : 1141—1143, 1979.
 - 27) **Forster W, Ratkay I, Krueger R, Busse H** : Topical diclofenac sodium after excimer laser phototherapeutic keratectomy. *J Refract Surg* 13 : 311—313, 1997.
 - 28) **Assouline M, Renard G, Arne JL, David T, Lasmolles C, Malecaze F, et al.** : A prospective randomized trial of topical soluble 0.1% indomethacin versus 0.1% diclofenac versus placebo for the control of pain following excimer laser photorefractive keratectomy. *Ophthalmic Surg Lasers* 29 : 365—374, 1998.
 - 29) **Kay EP, Gu X, Ninomiya Y, Smith RE** : Corneal endothelial modulation : A factor released by leukocytes induces basic fibroblast growth factor that modulates cell shape and collagen. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 34 : 663—672, 1993.