

ヒアルロン酸ナトリウムの安定性に関する研究 (図10)

宮田 和典・石田 耕一
村尾 元成・谷島 輝雄 (東京大学医学部眼科学教室)

Effects of Sodium Hyaluronate on Monkey Eyes

Kazunori Miyata, Kouichi Ishida, Motonari Murao and Teruo Tanishima

Department of Ophthalmology, University of Tokyo School of Medicine

要 約

新しく開発されたヒアルロン酸ナトリウム(HA-Na) (分子量約200万, 粘度約40000センチポアズ)の眼圧, 角膜厚, 炎症反応, 角膜内皮に対する影響を猿眼を用いて検討した. カニクイ猿14頭の前房内を, HA-Na(0.2 ml)で置換し, 術前および術後を経時的に観察しその影響を検討した. 対照としてオベガード®-MAを使用した. HA-Na群においては, 浮遊細胞の前房からの消失に遅延が見られたが, フィブリンの析出を抑制した. 眼圧は術後2時間目から上昇を認め4時間目で最高眼圧 44.0 ± 1.4 mmHg (平均値 $\pm$ 標準誤差)に達したが, 24時間目には正常値に復した. 角膜厚は一過性に軽度増加したが, 術後3日目にはほぼ術前値に復した. HA-Na置換眼の角膜内皮細胞は, スペキュラーマイクロスコープでの形態観察及び平均細胞面積の算出では影響が認められず, 透過電子顕微鏡による組織学的検索においても異常所見を認めなかった. HA-Naの猿眼に対する影響は軽度であると推察された. (日眼 92: 1705—1711, 1988)

キーワード: ヒアルロン酸ナトリウム, 眼圧, フィブリン, 角膜厚, 角膜内皮細胞

Abstract

The effects of newly developed sodium hyaluronate (HA-Na) on intraocular pressure (IOP), corneal thickness, postoperative inflammation, and corneal endothelial cells were evaluated. HA-Na (0.2ml) with molecular weights of 2.0×10^6 and viscosity of 40,000cp was used to replace the aqueous humor of one eye in cynomolgus monkeys. The contralateral eye was replaced with Opegurad® MA (0.2ml) and served as control. Postoperative inflammation observed with slit lamp microscopy, IOP and corneal thickness were measured at 2, 4, 6 and 12 hours, and 1, 2, 3, 7, 14, 30, 60 and 90 days after the replacement. The peak IOP was 44.0 ± 1.4 mmHg (mean $\pm$ S.E.) 4 hours after replacement of aqueous humor with HA-Na. The IOP decreased to a normal level within 24 hours. There were no changes in the mean endothelial cell size or structure of the corneal endothelium. These results suggest that HA-Na might cause transient elevation of IOP but no functional nor structural changes in the corneal endothelium. (Acta Soc Ophthalmol Jpn 92: 1705—1711, 1988)

Key words: Sodium hyluronate, Intraocular pressure, Fibrin, Corneal thickness, Corneal endothelium)

I 緒 言

ヒアルロン酸ナトリウム (以下 HA-Na と略す) は,

1934年に Meyer¹⁾らによって牛硝子体より初めて分離された N-アセチルグルコサミンとグルクロン酸からなる高分子ムコ多糖であり, 生体内組織に広く分布し

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 宮田 和典 (昭和63年 7月12日受付)

Reprint requests to: Kazumori Miyata, M.D. Dept. of Ophthalmol., School of Med., Univ. of Tokyo

7-3-1 Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo 113, Japan

(Accepted for Publication July 12, 1988)

ていることが知られている²⁾。結合組織や硝子体中に存在し、高い粘性を有して各組織を物理的衝撃から保護すると共に、水分保持に役だっている³⁾。眼科領域においては、臨床的に、白内障手術⁴⁾、人工水晶体挿入^{5)~7)}、角膜移植術⁸⁾⁹⁾等の際に、手術空間の維持、角膜内皮等の眼内組織保護を目的として広く利用されており、その有用性は、既に認められている。実験動物を用いた研究では、HA-Naの眼圧、角膜厚、角膜内皮細胞数、眼内各組織への影響^{10)~12)}(角膜内皮細胞、隅角線維柱帯)、眼内および眼組織からの消失^{13)~15)}等について詳細に検討されており、HA-Naが角膜内皮細胞の保護に有効であり、更に眼内組織に毒性を示さないことが証明されている。HA-Naの前眼部手術におけるShock Absorberとしての役割、手術空間の維持効果および術後の眼圧上昇は、分子量および濃度に関係なく、その粘性に依存することが報告されている¹⁶⁾¹⁷⁾。特に術後眼圧に関しては、カニクイ猿を用いた報告で、粘度72000センチポアズのHA-Naを用いた場合、術後90分で最高眼圧67mmHgに達し、粘度1000センチポアズのHA-Naでは、術後4時間目に、最高眼圧29mmHgに上昇することが報告されている¹¹⁾。これらのことから、我々は臨床応用において、術後の眼圧上昇が比較的少なく且つ、手術空間の維持に優れていると思われる粘度約40000センチポアズのHA-Na溶液を開発した。今回は、この新しく開発したHA-Naの安全性を確かめるために、カニクイ猿を用い、術後の炎症反応、眼圧、角膜厚、角膜内皮細胞に対する影響について生理学および組織学的見地から検討したので報告する。

II 実験方法

被検物質として、HA-Na(平均極限粘度:約31.3, 推定分子量:約200万, 濃度:1%, 溶媒:リン酸緩衝液 pH7.3, HOYA 株式会社)を用い、対照物質には、家兎角膜内皮細胞に障害を与えることが少なく、また臨床的にも安全性の確認されているオベガード®MA(O-MA 千寿製薬)¹⁸⁾¹⁹⁾を用いた。実験動物にはカニクイ猿(*cynomolgus monkey*, 3.5~5.0kg)雄14頭を用い、片眼の前房をHA-Na(0.2ml)で置換し、対照として他眼をO-MA(0.2ml)で置換し、術後、炎症反応、眼圧、角膜厚、角膜内皮細胞に対する影響について経時的に検討した。14頭の猿は2頭ずつ7群に分け、それぞれ術後1, 3, 7, 14, 30, 60, 90日目に眼球を摘出した。

塩酸ケタミン(30mg/kg)の筋肉内投与により猿を全身麻酔し、術中、麻酔の状態に応じて、適量の塩酸ケタミンを追加投与した。前房置換には2本の27G注射針付ディスポーザブルシリンジを用い、一方のシリンジを注入用とし、他方のシリンジは前房水採取用とした。猿眼に表面麻酔液(0.4%塩酸オキシプロカイン, 参天製薬)を1滴点眼し、手術顕微鏡下に注入用注射針を2時方向の角膜輪部より、また前房水採取用の注射針を10時方向より前房内に挿入した。その後ただちに前房水を徐々に採取しつつ、前房深度がほぼ正常に保持されるように被検物質(0.2ml)を注入し前房置換を終了した。前房置換時には前房内に挿入された2本の注射針が角膜内皮、虹彩および水晶体に接触しないように注意した。

術後の細隙燈顕微鏡による前眼部の観察、角膜厚および眼圧の測定は、前房置換前日、置換後は眼球摘出まで2, 4, 6, 12時間目1, 2, 3, 7, 14, 30, 60, 90日目に行なった。前房内フレアーあるいは遊出細胞の程度は、Delinger and Balazsの基準²⁰⁾に準拠して評価し、フィブリンはその析出眼数とした。角膜厚の測定には、三島・Hedbys²¹⁾らの改良型のパキメーター(Haarg-Streit社)を用い角膜中央部を5回測定し、その算術平均値を用いた。眼圧の測定は、空気圧平式電子眼圧計(Alcon社)を用いた。各々の猿の正常眼圧値は、置換前日の午前中4回眼圧を測定し、その平均値とした。角膜中央部の内皮細胞の形態の観察は、接触型広視野スペキュラーマイクロスコープ(甲南キラー社)²²⁾を用いて行なった。撮影後フィルム面上に40倍に拡大された内皮細胞を印画紙上に400倍に拡大プリントした後、印画紙上の内皮細胞を径0.6mmの製図用ペンでトレースし、イメージアナライザー(浜松テレビ社)を用いて、各々の内皮細胞面積および平均細胞面積を算出し、その後トレース線分の補正を行なった²³⁾。測定は、前房置換前日および置換後眼球摘出までそれぞれ1, 3, 7, 14, 30, 60, 90日目になった。なお、置換後1, 3日目は、スペキュラーマイクロスコープのコーンレンズ接触による角膜上皮に対する影響を軽減するため、眼球摘出日にあたる猿のみを測定し、それ以外の観察日についてはすべての猿について測定を行なった。以上の検査はすべて麻酔下でおこないT検定による有意差判定をおこなった。

組織学的検索は、術後1, 3, 7, 14, 30, 60, 90日目に適量のペントバルビタールナトリウムの静脈内投与により、猿を屠殺したのち眼球を摘出し行なった。

摘出眼球は、4℃で2.5%グルタルアルデヒド、2.0%ホルマリン溶液固定後、角膜輪部より全周切開し、角膜片とした後、角膜中央部で半割し、一方を光学顕微鏡標本に他方を透過電子顕微鏡標本とした。光学顕微鏡標本はヘマトキシリン・エオジン染色をおこない観察した。透過電子顕微鏡標本は、1%四酸化オスミウムによる後固定を行ない、アルコール系列により脱水し、Quetol-812に包埋した。その後、Reihert OmU-3にて超薄切片を作製し、酢酸ウラン・硝酸塩の二重染色をおこない、日立 H300電子顕微鏡にて観察、写真撮影した。

III 結 果

1 前房置換後の炎症

細隙燈顕微鏡による観察で前房内のフレアーは、術後2時間目では両群とも観察眼すべてに認められたが、時間経過とともに徐々に減少し術後3日目には両群ともに観察されなかった。遊出細胞は、術後12時間までは両群に大きな差はみられなかったが、術後24時間目に、HA-Na 群の方がO-MA 群に比較して多くみられた。術後3日目には両群間の差はなくなり、術後7日目には両群とも遊出細胞を認めなかった。フィブリンの析出は、O-MA 群では、術後2時間目に9眼(n=13) 術後12時間目で4眼(n=13) 術後24時間で1眼に析出を認めたが、HA-Na 群においては、術後24時間目に1眼(n=14)のみ析出を認めたのみで明かに少なかった(図1)。

2 角膜厚の変化

角膜中央部の厚さは、前房置換前日の値は、0.38±0.02mm(平均値±標準誤差)(n=14)であった。術後12時間後よりHA-Na 群の角膜厚がO-MA 群に比べ若干増加する傾向が見られた。術後1日後にはHA-Na 群は0.43±0.03mm(n=13)であり、O-MA 群は0.40±0.03mm(n=13)を示したが以後徐々に減少し、3日後には、HA-Na 群は0.40±0.02mm(n=13)、O-MA 群は0.39±0.02mm(n=13)となり両者ともにほぼ置換前値に回復した。しかし、全観察期間を通して両群間に有意差はみられなかった(図2)。

3 眼圧の変化

両群ともに術前値は、18.6±1.3mmHg(平均値±標準誤差)(n=14)と有意差を認めなかった。HA-Na 群の眼圧は術後2時間目には40.9±2.2mmHg(n=14)であり、O-MA 群の値20.9±0.6mmHg(n=13)との間に有意差がみられた(p<0.01)。HA-Na 群では術後

		術後2時間				術後12時間				術後48時間				術後72時間			
		—	+	++	+++	—	+	++	+++	—	+	++	+++	—	+	++	+++
フレアー	HA-Na	1	5	8	0	1	9	4	0	7	7	0	0	12	0	0	0
	O-MA	0	13	0	0	2	9	2	0	9	4	0	0	11	0	0	0
遊出細胞	HA-Na	6	8	0	0	8	5	1	0	3	10	1	0	9	3	0	0
	O-MA	4	9	0	0	8	3	2	0	8	4	1	0	9	2	0	0
フィブリン	HA-Na	14	0	0	0	14	0	0	0	13	1	0	0	12	0	0	0
	O-MA	4	9	0	0	9	2	1	1	12	1	0	0	11	0	0	0

図1 HA-Na およびO-MA 置換後の前房内フレアー、遊出細胞、フィブリンの程度の経時的変化
—：なし，+：軽度，++：中程度，+++：強度

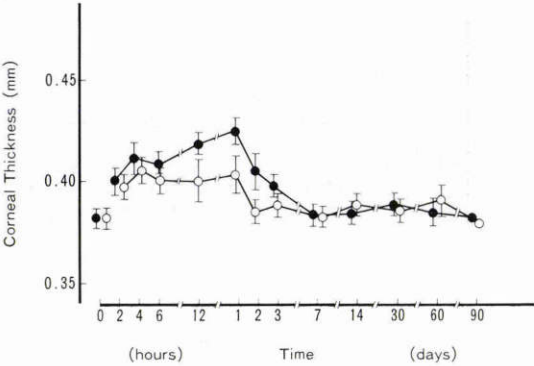


図2 HA-Na およびO-MA 置換後の角膜中央部の厚さの経時的変化
●：HA-Na，○：O-MA

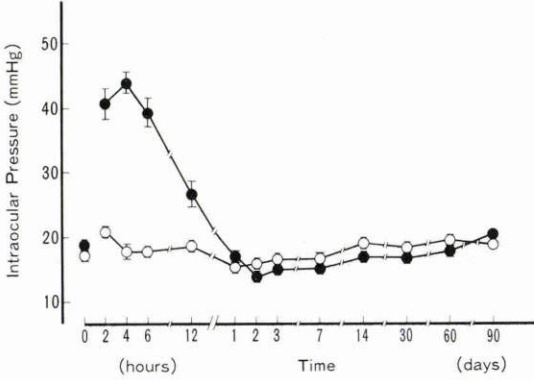


図3 HA-Na およびO-MA 置換後の眼圧の経時的変化
●：HA-Na，○：O-MA

4時間目に最大眼圧44.0±1.4mmHg(n=14)となった後、以後徐々に低下し術後24時間目には17.2±1.0

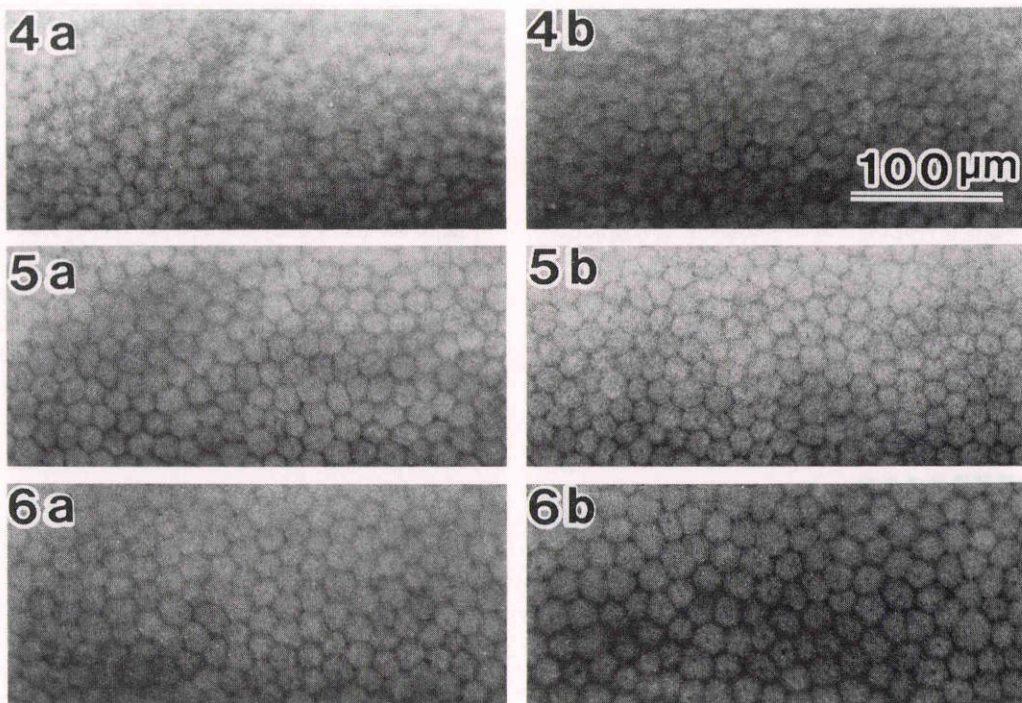


図 4a, 図 5a, 図 6a HA-Na 置換前のスペキュラーマイクロスコープによる角膜内皮細胞写真. $\times 40$

図 4b, 図 5b, 図 6b HA-Na 置換後 1, 7, 90 日目のスペキュラーマイクロスコープによる角膜内皮細胞写真. $\times 40$

mmHg となり O-MA 群の 16.3 ± 1.0 mmHg との間に有意差を認めなかった。それ以降は両群とも同様の眼圧を示した(図 3)。なお O-MA 置換眼の内、前房水の漏れを確認した 1 眼の結果は除外した。

4 角膜内皮細胞の形態

スペキュラーマイクロスコープによる角膜内皮細胞の観察の結果、両群の内皮細胞の形態には特に異常は認められず、術前の観察としても変化は認められなかった(図 4a, b, 5a, b, 6a, b)。HA-Na 群の平均内皮細胞面積は、術前 $296 \pm 10 \mu\text{mm}^2$ (平均値 $\pm$ 標準誤差) ($n=14$)、置換後 1 日目では $301 \mu\text{mm}^2$ ($n=2$)、7 日目では $291 \pm 8 \mu\text{mm}^2$ ($n=10$)、90 日目では $283 \mu\text{mm}^2$ ($n=2$) であり術前値と統計処理可能な術後各観察日との間に有意差は認められなかった。O-MA 群の平均内皮細胞面積は、術前値 $300 \pm 9 \mu\text{mm}^2$ ($n=14$)、術後 1 日目、 $291 \mu\text{mm}^2$ ($n=2$)、術後 7 日目 $292 \pm 11 \mu\text{mm}^2$ ($n=9$)、術後 90 日目では $282 \mu\text{mm}^2$ ($n=2$) であり術前値との間に有意差は認められなかった(図 7)。

5 組織学的検索

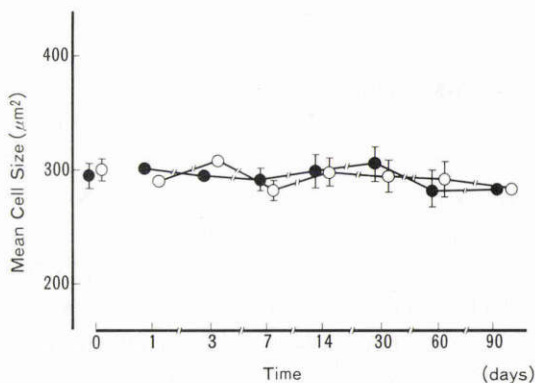


図 7 HA-Na および O-MA 置換後の角膜内皮細胞の平均細胞面積

● : HA-Na, ○ : O-MA

電子顕微鏡写真による観察において、術後 1 日目では、両群ともに角膜内皮細胞質内のミトコンドリアの膨潤が認められた(図 8a, b)。しかし術後 7 日目にはミトコンドリアの膨潤はほぼ正常に回復し(図 9a, b)

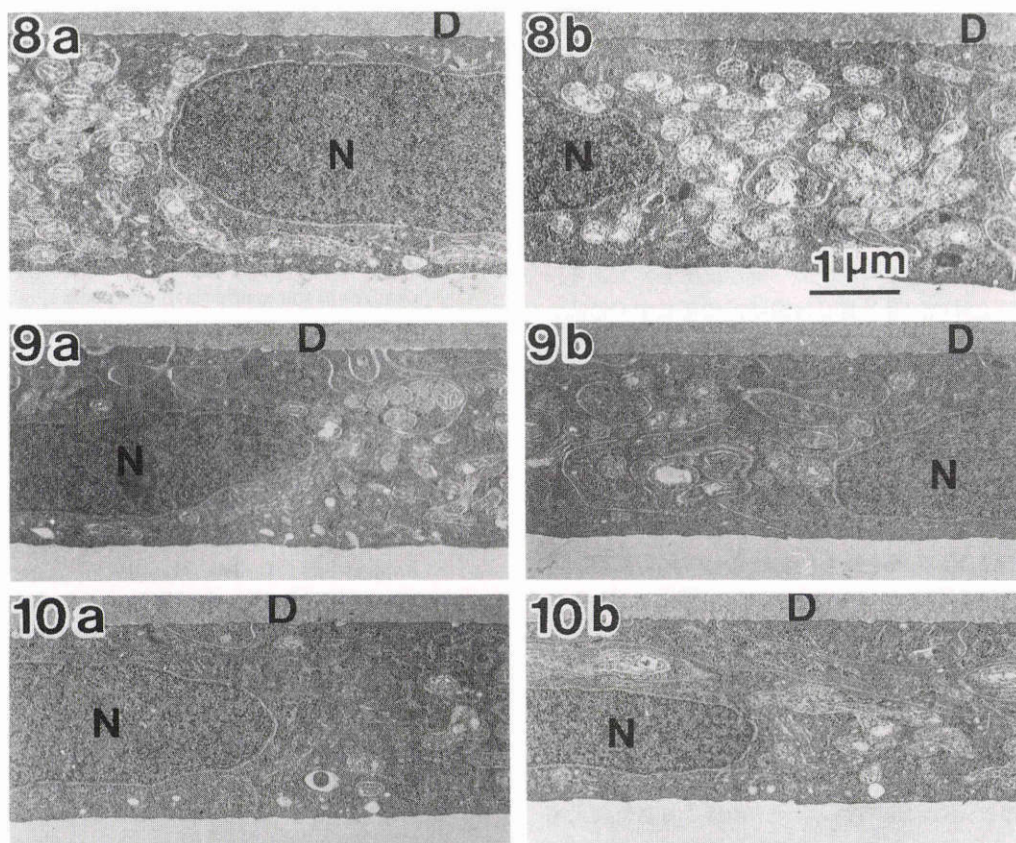


図 8a, 9a, 10a HA-Na 置換後 1, 7, 90 日目の角膜内皮細胞の透過電子顕微鏡写真

D: デスメ膜, N: 細胞核

図 8b, 9b, 10b O-MA 置換後 1, 7, 90 日目の角膜内皮細胞の透過電子顕微鏡写真

D: デスメ膜, N: 細胞核

また、術後14日目以降、術後90日目においては異常所見を認めなかった(図10a, b)。また両群間に形態学的に差は認められなかった。細胞膜、核、またミトコンドリア以外の細胞内小器官、デスメ膜などについては、全観察期間を通じて異常所見を認めなかった。

IV 考 按

前眼部の観察において前房浮細胞の遊出眼数は、HA-Na 群が O-MA 群に比べ、術後24時間目に多く観察された。岩田らは、分子量80万の HA-Na は24時間以内に、分子量164万の HA-Na は、48時間以内に家兎前房より消失することを報告している²⁴⁾。谷島らは、分子量約82万の HA-Na を用いたカニクイ猿の実験より、乳酸リンゲル液と比較した場合、前房内浮遊細胞の消失が遅れる傾向を示すと報告している¹¹⁾。また増田ら

も、Healon[®]の臨床試験において術後の前房内浮遊細胞は対照と比較して Healon[®]群に多く観察されるが、この傾向は術後数日間のみ認められるものであり、HA-Na の前房からの消失にともない房水の流れがスムーズになることにより消失するため特に問題にならないと報告している²⁵⁾。本実験において前房内浮遊細胞が対照より長期間観察されたのも、粘度の高い HA-Na の前房内貯留に伴う浮遊細胞の消失遅延によるものと推察される。またフィブリンの析出した眼数は、HA-Na 群が O-MA 群に比べて有意に少なかった。フィブリンの前房内析出は血液房水柵破壊により Prostaglandin 系が関与しその結果引き起こされるアレルギー反応がフィブリンの生成を促進することが報告されているが²⁶⁾²⁷⁾、HA-Na は粘度約40000センチポアズの高粘性溶液であるためフィブリンの前房への流

出が抑制されることと前房置換時にO-M群に比して前房形態の変化が少ないため、血液房水柵破壊が少ないことが推察される。更に、谷島らは、前房内に注入されたHA-Naがフィブリン凝固系の何らかの因子と結合することにより、前房内でのフィブリノーゲンからフィブリンへの変換を抑制すると推察している¹¹⁾。

HA-Naを前眼部手術など臨床的に応用する際、現在最も問題となるのは術後の一過性眼圧上昇である。この眼圧上昇は、分子量又は濃度に依存せずその高い粘弾性による房水流出率の低下に起因すると報告されている²⁸⁾。しかし粘度を下げすぎると手術空間の維持性が劣るなど本来の使用目的に支障を来してくる。Mac Raeらのカニクイ猿をもちいた同様の報告では、粘度72000センチポアズのHA-Na溶液では術後最高眼圧は67mmHg ($n=3$)であり¹²⁾、粘度1000センチポアズのHA-Na溶液をもちいた谷島らの報告では、最高眼圧29mmHg ($n=7$)である¹¹⁾。本研究にもちいたHA-Naの粘度は40000センチポアズで、術後眼圧は4時間目に最高眼圧 44.0 ± 1.4 mmHgと対照の 17.7 ± 4.4 mmHgに比べ有意に増加した。このことから術後眼圧上昇の程度はその粘性に依存すると考えられる。

角膜厚は、HA-Na群において、術後1日目に最も増加したが、術後3日目には術前値とほぼ同様まで回復した。この傾向は、対照群においても認められ、観察期間を通じて、対照群との間に有意差を認めず、HA-Naによる角膜厚の変化は、一過性のものであり、角膜内皮の機能障害はほとんど無いものと考えられる。

電子顕微鏡による組織的検索において観察された角膜内皮細胞のミトコンドリアの膨潤は、術後1日目において両群ともに観察され、術後7日目には両者とも軽度になり、術後14日目以降術後90日目まで観察されないことから、HA-Naの影響ではなく、手術による機械的侵襲のためであると考えられる。また、スペキュラーマイクロスコープによる角膜内皮観察および平均細胞面積にほとんど変化が無いことから、HA-Naは猿眼角膜内皮細胞に障害をほとんど与えないものと考えられる。

今回使用した分子量約200万のHA-Naは、カニクイ猿眼に対してほとんど障害を与えず、その粘弾性に比して術後眼圧も比較的低く一過性であり今後の臨床応用が期待される。

擱筆にあたり増田寛次郎教授の御校閲に深謝致します。

文 献

- 1) Meyer K, Palmer JW: Polysaccharide of the vitreous humor. J Biol Chem 107: 629—634, 1934.
- 2) Balazs EA: Amino sugar-containing macromolecules in the tissues of the eye The Amino Sugars, New York, Academic Press Inc, 2, 401—460, 1960.
- 3) Nakamura T, Nagai Y: Development changes in the synthesis of glycosaminoglycans and collagen embryonic chick skin. J Biochem 87: 629—637, 1980.
- 4) Pape LG, Balazs EA: The use of sodium hyaluronate (Healon®) in human anterior segment surgery. Ophthalmol 87: 699—705, 1980.
- 5) Binkhorst CD: Inflammation and intraocular pressure after the use of Healon® in intraocular lens surgery. Am Intra-ocular Implant Soc J 6: 340—341, 1980.
- 6) Pape LG: Intraocular and extraocular technique of lens implantation with Healon®. Am Intra-ocular Implant Soc J 6: 342—343, 1980.
- 7) Miller D, Stegmann R: Use of sodium hyaluronate in human IOL implantation. Ann Ophthalmol 13: 811—815, 1981.
- 8) Polack FM: Sodium hyaluronate (Healon) in keratoplasty. Am Academy Ophthalmology Meetings p1—6, November, 1980.
- 9) Stegmann R, Miller D: Protective Function of Sodium Hyaluronate in Corneal Transplantation, Ocular Therapy and Surgery, Nov-Dec., 28—31, 1981.
- 10) Graue EL, Polack FM, Balazs EA: The protective effect of Na-hyaluronate to corneal endothelium. Exp Eye Res 31: 119—127, 1980.
- 11) 谷島輝雄, Ando EK, 松原正男他: ヒアルロン酸ナトリウム (SPH) に関する実験的研究—猿眼眼圧, 角膜厚, 角膜内皮, および隅角線維柱帯内皮細胞に及ぼす影響—. 日眼 89: 391—400, 1986.
- 12) MacRae ST, Edelhauser HF, Hyndiuk RA, et al: The effects of sodium hyaluronate, chondroitin sulfate, and methylcellulose on the corneal endothelium and intraocular pressure. Am J Ophthalmol 95: 332—341, 1983.
- 13) Iwata S, Miyauchi S: Biochemical studies on the use of sodium hyaluronate in the anterior eye segment. 3. Histological studies on distribution and efflux process of 5-Aminofluorocein-labeled hyaluronate. Jpn J Ophthalmol 29: 187—197, 1985.
- 14) 松本順三, 森川演夫, 上野則夫: 家兎前房内置換後の¹⁴C-標識ヒアルロン酸ナトリウム (¹⁴C-SPH) 眼

- 組織内分布, 第1報, 眼組織内濃度, 眼紀 36: 412—417, 1985.
- 15) **Laurent UBG, Fraser JRE**: Turnover of hyaluronate in the aqueous humor and vitreous body of the rabbit. *Exp Eye Res* 36: 493—504, 1983.
- 16) **Miyauchi S, Iwata S**: Evaluations on the use of viscous agents in anterior segment surgery. 1. The ability to maintain the deepness of anterior chamber. *J Ocular Pharmacol* 2: 267—274, 1986.
- 17) **Sweeney DB, Balazs EA**: Fate of collagen and hyaluronic acid gels and solutions injected into the vitreous of owl monkey. *Invest ophthalmol Vis Sci* 3: 473, 1964.
- 18) 村田忠彦, 福本純子他: 手術用眼内灌流液 S-MA₂ についての臨床的研究, 眼紀 35: 420—422, 1984.
- 19) 大鳥利文, 林 文彦, 宮田典男: S-MA₂の臨床応用についての研究, 第1報, 超音波白内障手術の角膜に及ぼす影響について, 眼紀 35: 1882—1888, 1984.
- 20) **Delinger JL, Balazs EA**: Replacement of the liquid vitreous with sodium hyaluronate in monkeys. 1. Short term evaluation. *Exp Eye Res* 31: 81—99, 1980.
- 21) **Mishima S, Hedbys BO**: Measurement of corneal thickness with the Haarg-Sterit pachometer. *Arch Ophthalmol* 81: 710—713, 1968.
- 22) 可児一孝, 萩田洋二, 阿部国臣: 広視野 Specular Microscope の試作, 眼紀 31: 28—32, 1980.
- 23) **Sawa M, Tanishima T**: The morphometry of the human corneal endothelium and follow up of postoperative changes. *Jpn J Ophthalmol* 23: 337—350, 1979.
- 24) **Iwata S, Miyauchi S**: Biochemical studies on use of sodium hyaluronate in the anterior eye segment. 1. Variation of protein and ascorbic acid concentration in rabbit aqueous humor. *Current Eye Res* 3: 605—610, 1984.
- 25) 増田寛次郎, 北澤克明, 金井 淳他: 各種前眼部手術におけるヒアルロン酸ナトリウムの臨床比較試験, 眼臨 79: 96—109, 1985.
- 26) **Miyake K, Sugiyama S, Norimatsu I, et al**: Prevention of cystoid macular edema after lens extraction by topical indomethacin. (III) Radioimmunoassay measurement of prostaglandins in the aqueous during and after lens extraction procedures. *Albrecht von Graefes Arch Ophthalmol* 209: 83—88, 1978.
- 27) 三宅謙作, 前久保久美子, 三宅芳子: 後房レンズ挿入術後のフィブリ反応の成因と治療, 眼科手術 1: 153—160, 1988.
- 28) **Berson FG, Patterson MM, Epstein DL**: Obstruction of aqueous human eyes. *Am J Ophthalmol* 95: 668—672, 1983.
-