

Epikeratophakia の創傷治癒過程に関する実験的研究

第3報：角膜レンズ実質の変化について

佐堀 彰彦, 上総 良三, 片上千加子, 山本 節

神戸大学医学部眼科学教室

要 約

今回、我々は白色家兎を用いて実験的に Epikeratophakia を施行し、術後の角膜レンズ実質における微細構造の変化を組織学的に検討した。Epikeratophakia は凍結切削加工して作製した角膜レンズを使用して行った。術後10・16・45・63・90日において、角膜厚を測定後強角膜片を摘出し、光学顕微鏡ならびに電子顕微鏡による組織学的検索を行った。術後16～63日では角膜レンズのコラーゲン線維密度はコントロール角膜の57～63%に減少していたが、術後90日では78%にまで回復していた。また、術後の角膜厚の増加は、術後10・16日の早期には予測値よりかなり厚みを増していたが、その後徐々に角膜厚は減少し、術後45日以降では逆に予測値を下まわる傾向にあった。術後45～90日では角膜レンズ実質内に、内腔が拡大し、よく発達した粗面小胞体を有し、コラーゲンを活発に産生していると思われる活性化した keratocyte が多数認められた。また、術後90日では特に上皮下領域において、偽足を伸展させ、phagocytosis を示唆させる keratocyte もまた観察された。これらの所見より、角膜レンズ内のコラーゲン線維は、凍結切削過程によるダメージから一部は術後脱落するが、その後徐々にコラーゲン産生能は高まり、術後90日以降においても角膜レンズ実質の再構築は継続していると考えられた。(日眼会誌 94:469-479, 1990)

キーワード：エピケラトファキア、角膜レンズ、コラーゲン線維密度、活性化した角膜実質細胞、角膜創傷治癒

The Ultrastructural Change of Keratolens Stroma in the Wound
Healing Process Following Epikeratophakia in Rabbits

Akihiko Sahori, Ryoza Kazusa, Chikako Katakami and Misao Yamamoto

Department of Ophthalmology, School of Medicine, Kobe University

Abstract

We investigated the ultrastructural change of keratolens stroma histologically following epikeratophakia in rabbits. Epikeratophakia was performed on rabbit corneas using cryolathed keratolens. At days 10, 16, 45, 63 and 90 after the operation, pachymetry was performed, and corneas were excised and analyzed histologically using an electron microscope. At days 16 to 63, collagen fibril density (CFD) in keratolens stroma decreased 57 to 63% of that in the control cornea, but returned to 78% at day 90. The results of pachymetry revealed that postoperative increase of corneal thickness was greater than the expected value at days 10 and 16. However, after that the corneal thickness decreased

別刷請求先：650 神戸市中央区楠町7-5-2 神戸大学医学部眼科学教室 佐堀 彰彦

(平成元年7月21日受付、平成元年10月16日改訂受理)

Reprint requests to: Akihiko Sahori, M.D. Dept. of Ophthalmol., School of Med., Kobe Univ.

7-5-2 Kusunoki-cho, Chuōku Kobe 650, Japan

(Received July 21, 1989 and accepted in revised form October 16, 1989)

gradually and became thinner than the expected value after 45 days postoperatively. At days 45 to 90, many activated keratocytes with dilated and well developed rough endoplasmic reticulum, suggestive of active collagen production, were observed in keratolens stroma. Furthermore, at day 90, keratocytes with extended pseudopodia that suggested phagocytic activity were also observed, especially in the subepithelial zone. These findings indicated that collagen fibrils in the keratolens stroma were damaged under the influence of the cryolathing process and partially exfoliated postoperatively, however collagen-producing activity increased gradually and the reconstruction of keratolens stroma continued through day 90 after the operation. (Acta Soc Ophthalmol Jpn 94: 469-479, 1990)

Key words: Epikeratophakia, Keratolens, Collagen fibril density, Activated keratocyte, Corneal wound healing

I 緒 言

Epikeratophakia (Epikeratoplasty)は、その術式の簡便性、安全性、また、もし角膜レンズに不都合が生じても容易に取り除いて再手術を行うことが可能であることなどから屈折矯正角膜手術のなかでも本流を担う有効な術式として注目されている。しかしながら、臨床的に、上皮の再生が著しく遅延して遷延性上皮欠損を生じたり、術後の屈折誤差（おもに undercorrection）や視力不良、角膜レンズの無菌性融解などを生じたために角膜レンズの除去を余儀なくされる症例が全体の5～10%存在している^{1)~3)}、角膜レンズの除去に至らぬまでも、術後の視力回復に長時間を要することは、特にコンタクトレンズ装用困難な小児の無水晶体眼に良い適応を有する Epikeratophakia としては大きな問題といえる。Epikeratophakia 術後の最大の問題点は上皮再生遅延と視力不良といわれているが、これらの点について組織学的に検討した報告は少ない。上皮再生遅延の問題についてはすでに前報（第2報）⁴⁾でその詳細を検討し、術後初期においては上皮の接着装置は未熟であり、上皮の細胞分化や厚みの回復にも3カ月以上の長時間を要し、それらのベースには凍結加工した角膜レンズにおける創傷治癒の悪さがあることを指摘した。一方、視力不良の要因として、dry eye や眼瞼炎を有する者など術前の不適切な患者選択、周辺部角膜切除のとりかたや縫合のしかたなどの手術操作による乱視の発生、不十分な術後管理などがあることはいうまでもないが、凍結レンズを使用することによる創傷治癒の悪さが最も重要な基本的問題点であると思われる。今回は実質の微細構造を電子顕微鏡で観察することにより、術後3カ月までの実質コラーゲン線維の配列・密度の変化、keratocyte の形態、間質浮

腫の変動などを経時的に検索し、若干の知見を得たので報告する。

II 実験方法

体重2～3kgの白色家兎（Japanese White）を対象とし、凍結切削加工した同種角膜レンズを用いて片眼に Epikeratophakia を施行した。角膜レンズはイソペンタン液体窒素で凍結した角膜を通常のコンタクトレンズ作成と同様の方法で optical zone 6.0mm, size 7.5 mm, power +10.0D, 厚さ350 μ m のレンティキュラータイプに切削加工したものをを用いた。手術は第1報⁵⁾と同様の方法で行い、上皮再生が順調であり、術後虹彩紋理が観察できる程度に角膜レンズの透明性の保たれているもの5羽5眼を選択し、Vida 55 Pachymeter で術前および眼球摘出前に角膜中央部の厚さを測定後、術後10・16・45・63・90日目に眼球を摘出した。同例の上皮再生状態については前報⁴⁾において詳述した。得られた強角膜片は2%グルタルアルデヒドで固定し、エポキシ樹脂に包埋後、薄切して実質の keratocyte およびコラーゲン線維を中心に電子顕微鏡で観察した。コラーゲン線維については、撮影した角膜レンズ実質の電顕写真より、コラーゲン線維束の垂直横断面を無作為に10カ所抽出して単位面積（ μ m²）当たりのコラーゲン線維密度（以下、線維密度とする）を計測し、その平均値と標準偏差を算出した。また、Epikeratophakia を施行していないコントロール眼の角膜と凍結切削加工した角膜レンズにおいても光学顕微鏡ならびに電子顕微鏡による検索、さらに線維密度の計測を行った。

III 結 果

術前の正常コントロール角膜および凍結切削加工し

た角膜レンズ, Epikeratophakia 術後10・16・45・63・90日目の角膜レンズにおける $1\mu\text{m}^2$ 当たりのコラーゲン線維密度と, 眼球摘出前の角膜厚から術前の角膜厚

を差し引いた角膜厚の増加分を表1に示す. また, 線維密度の変化と角膜厚の変化をグラフに表わすと図1のようになる. 術後期待される角膜厚の増加(予測値とする)は理論的には角膜レンズを host にのせた分の $350\mu\text{m}$ ということになるが, 角膜厚の増加は角膜レンズの変化(浮腫やコラーゲン線維の脱落など)のみならず, host 角膜実質における変化をも反映しているのでこの値をそのまま角膜レンズの厚さの変化とすることはできない.

正常コントロール角膜の実質をみると, コラーゲン線維は大小不同なく, 整然と格子状配列を保持しており, lamella の間には非常に扁平で, 大きな核を持ち, 細胞質の少ない keratocyte が観察された(図2). コント

表1 Epikeratophakia 術後のコラーゲン線維密度の変化と角膜厚の増加

術後期間 (日)	コラーゲン線維密度 (No./ $\mu\text{m}^2 \pm \text{SD}$)	角膜厚の増加 (μm)
コントロール角膜レンズ	264 ± 16 (100 %)	—
10	226 ± 13 (85.6%)	490
16	156 ± 13 (59.1%)	881
45	150 ± 33 (56.8%)	243
63	165 ± 18 (62.5%)	413
90	205 ± 24 (77.7%)	260

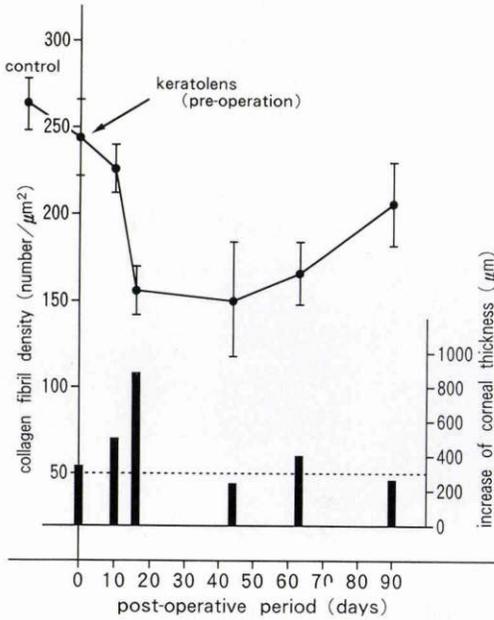


図1 Epikeratophakia 術後のコラーゲン線維密度の変化と角膜厚の増加

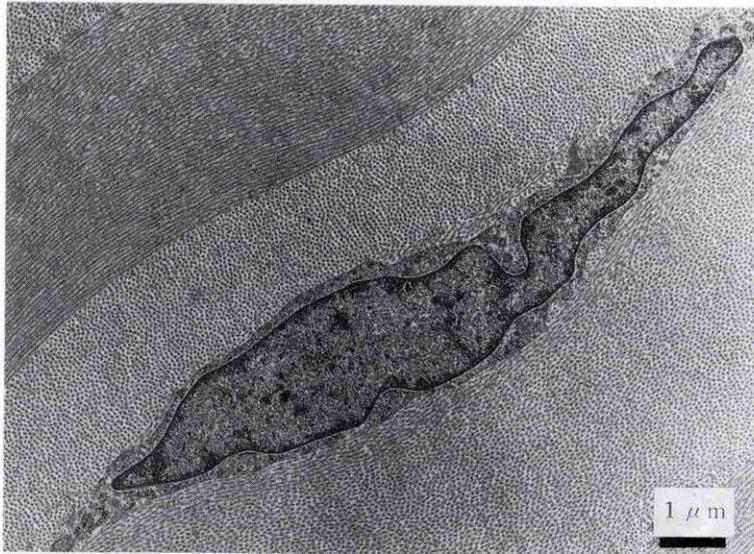


図2 正常コントロール角膜の実質(電顕写真), $\times 3,200$ コラーゲン線維は大小不同なく, 整然とした格子状配列を保持している. また, lamella の間には大きな核を有し, 細胞質の少ない, 扁平な keratocyte が観察される. 細胞内小器官はあまり発達していない.

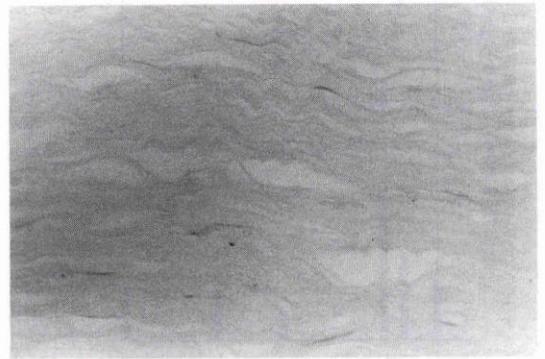
ロールの線維密度は 264 ± 16 であったが、凍結レンズでは 244 ± 21 で線維密度はやや減少していた。凍結レンズの実質を光学顕微鏡で観察すると keratocyte の核は染色されるが(図3), 電子顕微鏡でみると keratocyte の核は完全に崩壊し, 電子密度の高い均一の構造物として認められ, すべての keratocyte は変性・死滅していた(図4)。術後10日目, 16日目になると, 線維密度はそれぞれ 226 ± 13 , 156 ± 13 とかなり減少するが, そ

のばらつきは少なく, コラーゲン線維間距離はほぼ均等に増大しており, 線維径にも大小不同は認められなかった(図5)。この時点における角膜厚の増加はそれぞれ $490 \mu\text{m}$, $881 \mu\text{m}$ であり, 予測値の $350 \mu\text{m}$ よりかなり厚くなっていた。術後10日目では, 角膜レンズ内には keratocyte はほとんど存在しておらず(図6), 電子顕微鏡でみると凍結切削過程で死滅した変性 keratocyte やその debris が散見された(図7)。術後45日



a

図3 角膜レンズ (光顕写真), H-E 染色, a- $\times 50$, b- $\times 200$



b

Keratocyte の核がごくわずかに染色されるのみである。

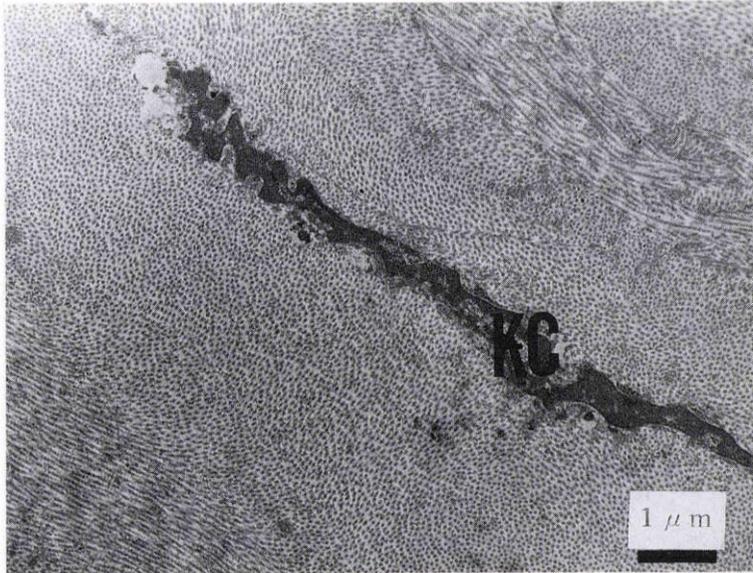


図4 角膜レンズ実質 (電顕写真), $\times 3,200$

Keratocyte の核は崩壊して電子密度の高い均一の構造物に置きかわり, 細胞内小器官も完全に破壊されている。また, keratocyte 周囲には変性 keratocyte の remnant と思われる, やや電子密度の高い斑状の物質が散見される。

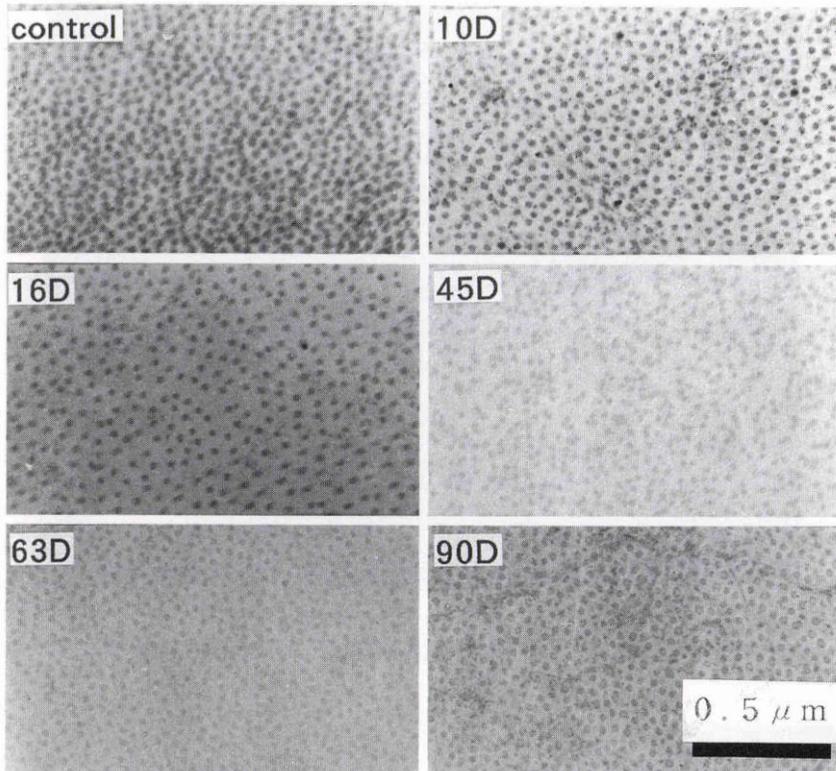


図5 術後の角膜レンズ実質のコラーゲン線維 (電顕写真), $\times 13,000$

術後10~45日では徐々にコラーゲン線維間距離が拡大し, またそのばらつきも増大している. その後, 線維密度は回復傾向にあるが, 術後90日ではコラーゲン線維径にやや大小不同がみられる.

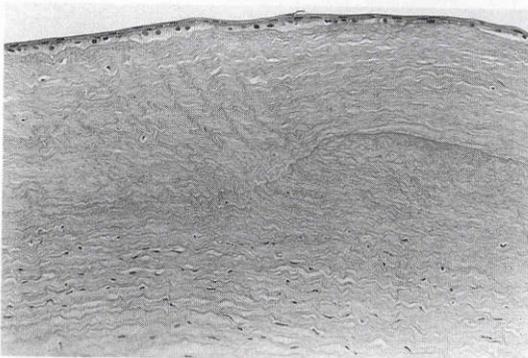


図6 術後10日目 (光顕写真). H-E 染色, $\times 50$
角膜レンズと host 角膜の接合部にわずかに re-populate しつつある keratocyte を認める. 角膜レンズ中央部と角膜レンズ直下の host 実質には無細胞領域が認められる. 角膜レンズと host 角膜の interface は明瞭に観察される.

目になると, 線維密度は 150 ± 33 とさらに大きく減少し, そのばらつきも増大していた. この時期, 角膜レンズの浮腫はほとんどなく, 透明性はよく保たれていたが(図8), 角膜厚の増加は $243 \mu\text{m}$ と術後10・16日とは逆に予測値を下まわっていた. 術後45日では角膜レンズ内への keratocyte の repopulation は十分とはいえず(図9), 角膜レンズ内の微細構造を観察すると, 一部でコラーゲン線維が脱落したと思われる interfibrillar space が多く認められた(図10). 角膜レンズ内に侵入した activated keratocyte は, 非常に扁平で細胞質の少ないコントロール眼の keratocyte に比して, 丸みを帯び, 粗面小胞体も発達していた. 術後63日になると線維密度は 165 ± 18 とやや回復しつつあり, 角膜厚の増加は $413 \mu\text{m}$ であった. この頃になると角膜レンズ内への keratocyte の repopulation は上皮下にやや無細胞領域を認めるのみになる⁹⁾が, その keratocyte の形態は内腔が拡大し, よく発達した粗面

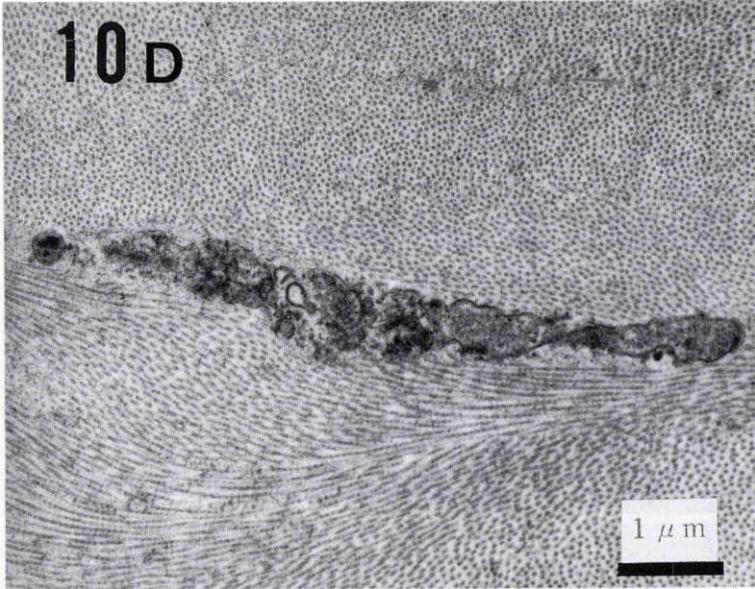


図7 術後10日目の角膜レンズ実質（電顕写真），×6,500
術前の角膜レンズでみられたのと同様，変性・死滅した keratocyte が観察される。

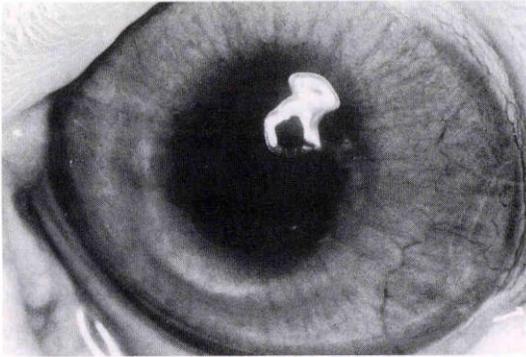


図8 術後45日目の前眼部写真
角膜耳側周辺部に表層性の新生血管を認めるも角膜レンズの透明性はよく保たれている。

小胞体を多く含むものであった(図11)。術後90日になると角膜レンズ内への keratocyte の repopulation はさらに進み，線維密度も 205 ± 24 とさらに回復する傾向にあったが，コラーゲン線維の径にはやや大小不同がみられ(図5)，角膜厚の増加は $260 \mu\text{m}$ であった。角膜レンズ内には術後63日目と同様に粗面小胞体のよく発達した activated keratocyte がまだ多数認められた(図12)。また上皮の一部では貪食空胞を含み，lamellaの垂直方向に偽足を伸展させ，phagocytosis を示唆させるような keratocyte も認められた(図13a, b)。

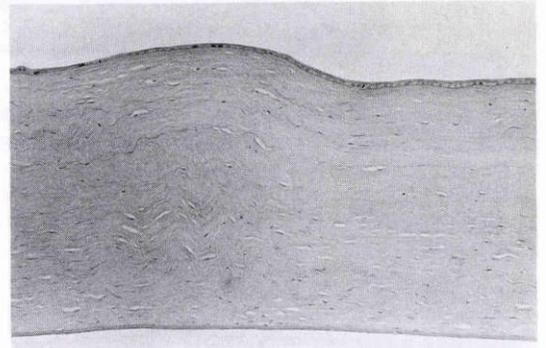


図9 術後45日目（光顕写真， ^3H -thymidine autoradiography の写真を転用）。H-E 染色，×33
角膜レンズ内への keratocyte の repopulation はかなり多くなっているが，コントロールに比べるとまだ十分であるとはいえない。角膜レンズと host 角膜の interface は明瞭で，それに沿って keratocyte の集積が認められる。

IV 考 按

Epikeratophakia (Epikeratoplasty) 術後の視力回復遅延は臨床上重要な問題であり，凍結切削加工した角膜レンズを使用することによる創傷治癒の悪さがベースにあることが推察される。実際，Epikeratopha-

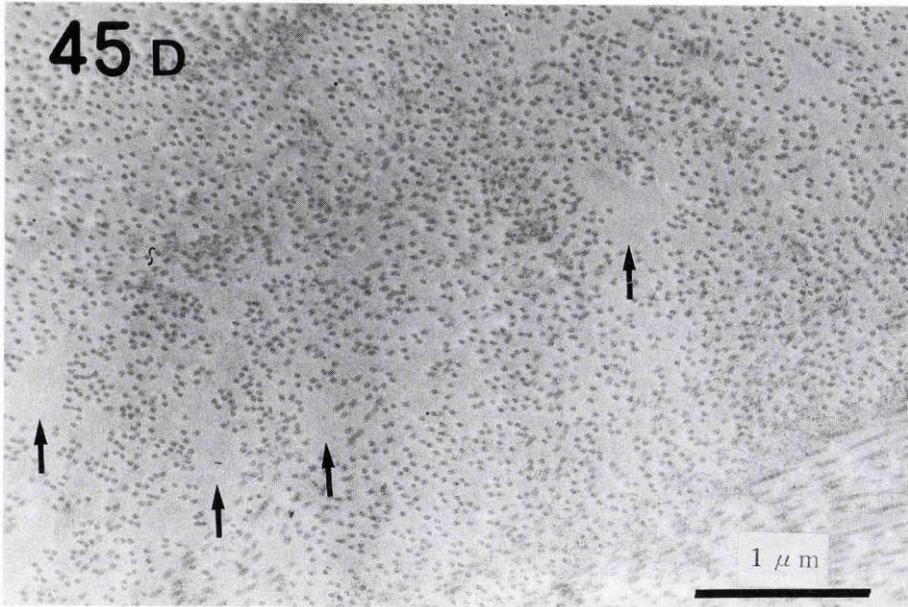


図10 術後45日目の角膜レンズ実質（電顕写真），×6,500
 一部でコラーゲン線維が脱落したと思われる interfibrillar space（矢印）を多数認める。

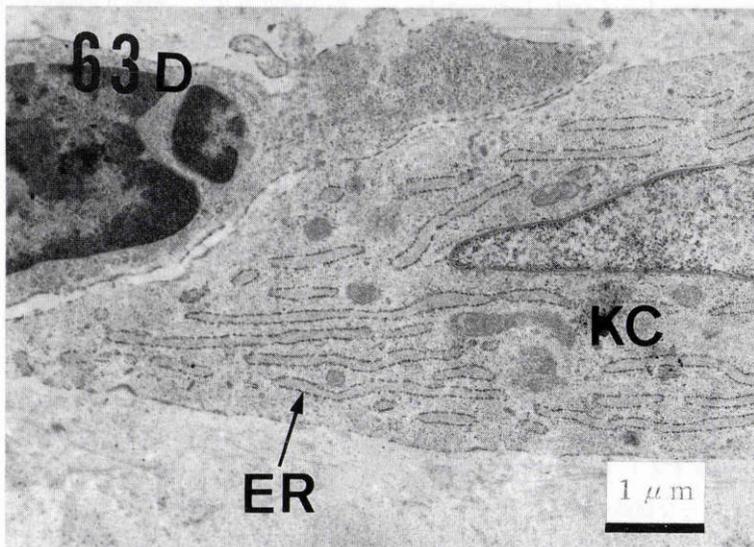


図11 術後63日目の角膜レンズ実質（電顕写真），×6,500
 内腔が拡大し，よく発達した粗面小胞体（ER）を有し，丸みを帯びた activated keratocyte（KC）が観察される。

kia および，同様に凍結レンズを用いる keratophakia や keratomileusis 術後の長期観察例についてはヒト，サル，ウサギでいくつかの報告があるが^{6)~9)}いずれの

術式においても術後5カ月～5年で上皮，keratocyte，実質コラーゲン線維等に異常所見が認められており，角膜の創傷治癒にはかなり長期間を要することが示唆

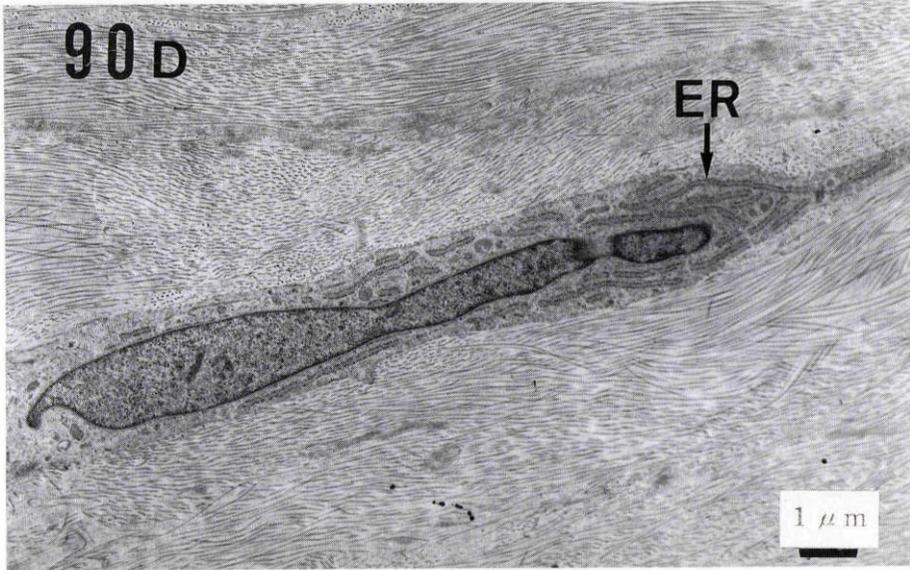


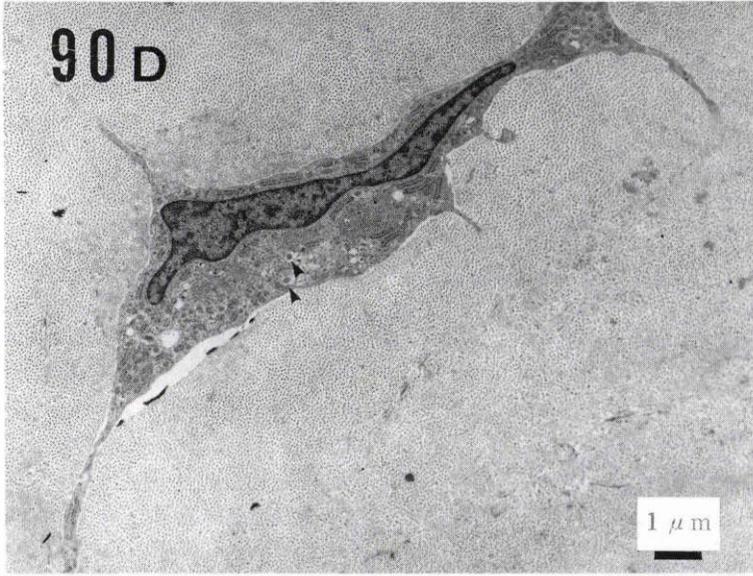
図12 術後90日目の角膜レンズ実質（電顕写真），×3,200
術後63日目と同様，角膜レンズ内の keratocyte の多くはその細胞質によく発達した粗面小胞体（ER）を有しており，活発なコラーゲン産生が示唆された。

されている。我々はすでに第1報⁵⁾で，keratocyte の存在しない角膜レンズ内への keratocyte の repopulation は術後10日頃より角膜レンズの edge(いわゆるウイングと呼ばれる部分)を通して徐々に進行すること，keratocyte は host および角膜レンズ内で blast 化し，正常角膜ではみられない細胞分裂を行っていること，keratocyte の repopulation は術後3カ月でも十分とはいえないこと，角膜レンズおよび host 実質内では術後3カ月においても活発なコラーゲン産生が継続していることなどを示した。今回は角膜レンズのコラーゲン線維の変化を中心に実質の微細構造の変化について検討した。

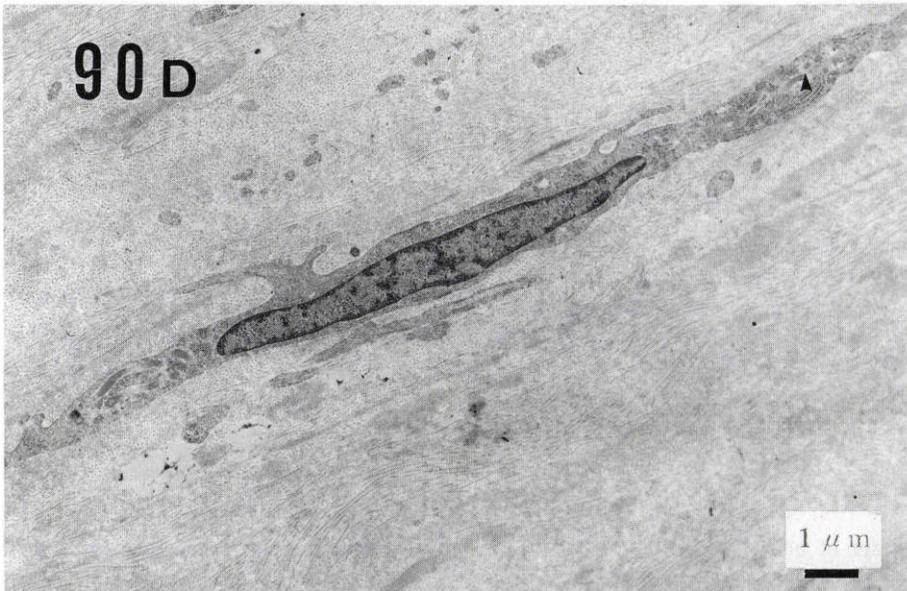
まず，角膜レンズを凍結切削加工することによる実質の damage について電子顕微鏡で検索した。角膜レンズの keratocyte を観察すると，核は染色体が濃縮された電子密度の高い，均一な構造に置き代わり，また細胞内小器官は完全に破壊されており，実質内の keratocyte はすべて変性・死滅していた。コラーゲン線維径に大小不同はなく，その配列もおおむね正常といえたが，コントロールに比べると非常にわずかではあるがコラーゲン線維間距離が拡大し，格子状配列に乱れを生じている部分が存在した。線維密度がコントロールより8%弱減少していることを考えると，これは graft の軽度の浮腫によるものと考えられた。また，

lamella の中には主に変性 keratocyte の周囲にやや電子密度の高い，顆粒状の物質が散見されたが，これは変性 keratocyte の remnant と思われた。角膜を凍結し，切削加工する過程において，実質の keratocyte や上皮に不可逆性の変化が起こるということは諸家^{10)~13)}により報告されており，変性・崩壊した keratocyte やコラーゲン線維の格子状配列のわずかな乱れについてはおおむね同様の結果であったが，Binder et al.¹³⁾が報告しているような4000Åもの大きな interlamellar space は認められなかった。

術後10・16日では線維密度の大幅な減少が認められたが，そのばらつきは正常と同程度であり，線維密度の減少に反比例して著明な角膜厚の増加を認めることから，この時期の線維密度減少の主因は間質の浮腫によるものと推察された。この時期，上皮は完全に被覆しているが，被覆直後であり1~2層と薄く，接着装置が未熟であることは前報⁴⁾ですでに示した。Epikeratophakia の術後初期においては角膜レンズ直下の host 実質においてもかなりの keratocyte が傷害されており，予測値を上回る角膜厚の著明な増加は角膜レンズの浮腫のみならず host 実質の浮腫も加わっているものと思われた。術後45日になると上皮はさらに成熟し⁴⁾，角膜レンズは透明性を保っており，角膜厚の増加も243μm とむしろ予測値を下回っているにもかかわらず



a



b

図13a, b 術後90日目の角膜レンズ実質(電顕写真), $\times 3,200$
上皮下の一部では食空腔を含み(矢頭), lamellaの垂直方向に偽足を伸展させた
phagocytic keratocyteも観察され, 角膜レンズ実質の再構築に関与しているものと
思われた。

らず, 線維密度は正常の約60%に減少したままでその
ばらつきも大きかった。また, 角膜レンズの一部には
コラーゲン線維が脱落したと思われる interfibrillar

spaceが多く認められる部位も混在しており, 線維密
度の低下は部分的な浮腫によるものだけとは考えにく
く, コラーゲン線維が変性・脱落している可能性が示

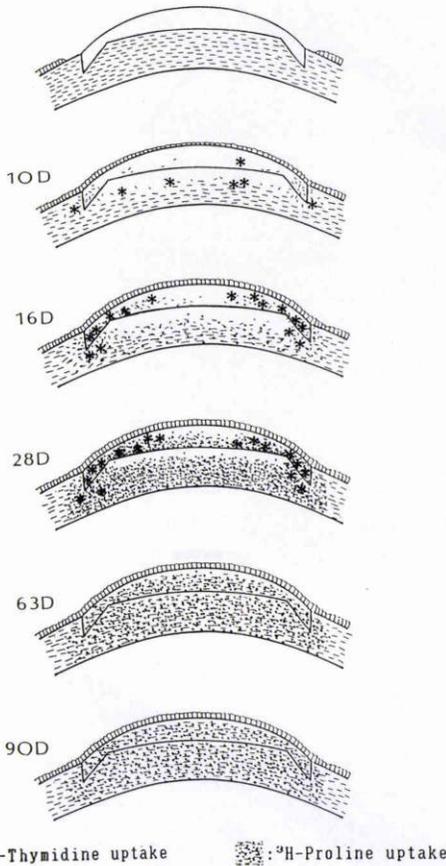


図14 Keratocyte の repopulation とコラーゲン産生の模式図 (第1報⁵⁾より転載)
 角膜レンズ内への keratocyte の repopulation は術後10日頃より始まり、その後時間とともに増加していくが術後90日でようやく正常に近い分布となる。また、実質内のコラーゲン産生は keratocyte の repopulation にやや遅れて増加し始め、術後90日においてもなお活発に継続している。

唆された。Binder et al.¹³⁾は凍結レンズを使用することによる潜在的な合併症として、上皮細胞の死滅、keratocyte の死滅、実質コラーゲン線維の損傷、ポーマン膜の断裂、基底膜の傷害、角膜レンズの穿孔などを挙げている。コラーゲン線維変性・脱落の原因としては、凍結レンズのコラーゲン線維には形態的には著明な変化は認められなかったものの、凍結加工による潜在的な damage があるところへ手術侵襲が加わったり、上皮再生の遅延や keratocyte の repopulation の悪さ、実質浮腫の長期継続などの因子が重なることによって脱落が生ずるのではないかと考えられた。術後63~90

日になると線維密度は徐々に回復する傾向にあり、角膜レンズ実質内には内腔が拡大し、よく発達した粗面小胞体を多数有する activated keratocyte や貪食空胞を含み、偽足を lamella の垂直方向に伸展させている phagocytic keratocyte が多くみられるようになる。粗面小胞体のよく発達した keratocyte の存在は角膜レンズ実質内における盛んなタンパク合成を示唆するものであり、術後63~90日において角膜レンズおよびその直下の host 実質内の keratocyte に著明な ^3H -proline の集積が認められたという第1報⁵⁾の結果(図14に模式図を示す)とよく相関しており、角膜レンズ内に repopulate した activated keratocyte によって、脱落したコラーゲン線維を補うべく活発なコラーゲン産生が行われている様子が伺われた。著者らは最近 Epikeratophakia 術後24日目と94日目の家兎角膜に対し、I型コラーゲンの cDNA を probe として in situ hybridization を施行し、両者の角膜レンズ内に repopulate した keratocyte において I型コラーゲンの mRNA の著明な局在が認められたことを報告しており¹⁴⁾、角膜レンズ内の activated keratocyte が I型コラーゲンを産生することを証明したが、その詳細については別報に譲る。以上の所見から考えると、45日目における線維密度の低さは、脱落したコラーゲン線維を補うべき keratocyte の角膜レンズ内への repopulation がまだ不十分であったことに起因するのではないかと推察された。その後、角膜レンズ内への activated keratocyte の repopulation が図14の如く増加するに従って線維密度には回復傾向がみられている。粗面小胞体の発達した activated keratocyte については、Tamaki et al.¹⁵⁾は術後3カ月9日のヒト眼の角膜レンズにおいて、その実質深部に認めたと報告している。また、偽足を伸展させた phagocytic keratocyte については、Samples et al.¹⁶⁾は術後5カ月、Binder et al.¹⁷⁾は Keratophakia 術後6カ月の両者ともヒト眼の角膜レンズにおいて認めたと報告している。これらの報告から考えると、Epikeratophakia 術後3カ月以降も角膜レンズ内ではなお活発な再構築が行われているものと思われる。今回の結果と前報までの結果からは、Epikeratophakia 術後初期より著明な実質の浮腫は上皮再生遅延などと関連してしばらく遷延していること、浮腫が消退しても角膜レンズ内のコラーゲン線維は一部脱落し、それを補うべく、角膜レンズ内に repopulate した keratocyte によるコラーゲン産生が始まること、この時期には角膜レンズ内へ

の keratocyte の repopulation が十分でないためコラーゲン産生の絶対量も少ないこと、その後角膜レンズ内への keratocyte の repopulation が増えるに従ってコラーゲン産生も徐々に増加し、コラーゲン線維密度も回復し始めること、術後3カ月以降も角膜レンズ内では活発なコラーゲン産生が継続しており、実質内コラーゲンの再構築がなお進行中であることなどが示唆され、臨床例における術後視力の回復遅延や視力の変動などに関連して興味深いものと思われた。今後さらにコラーゲン産生状態や線維密度の変化、keratocyte の動きなどを含め、術後3カ月以降の創傷治癒状態についても検索を進める予定である。

稿を終えるにあたり、角膜レンズの作製に多大な協力を頂きました(株)日本コンタクトレンズの栗秋政光氏に感謝致します。本論文の要旨は第54回日本中部眼科学会で発表しました。

文 献

- 1) McDonald MB, Kaufman HE, Aquavella JV, et al: The nationwide study of epikeratophakia for aphakia in adults. *Am J Ophthalmol* 103: 358-365, 1987.
- 2) Morgan KS, McDonald MB, Hiles DA, et al: The nationwide study of epikeratophakia for aphakia in children. *Am J Ophthalmol* 103: 366-374, 1987.
- 3) McDonald MB, Kaufman HE, Durrie DS, et al: Epikeratophakia for keratoconus: The nationwide study. *Arch Ophthalmol* 104: 1294-1300, 1986.
- 4) 佐堀彰彦, 上総良三, 片上千加子, 他: Epikeratophakia の創傷治癒過程に関する実験的研究. 第2報. 角膜レンズの上皮再生について. *日眼会誌* 93: 747-757, 1989.
- 5) 佐堀彰彦, 片上千加子, 上総良三: Epikeratophakia の創傷治癒過程に関する実験的研究. 第1報. keratocyte の動態について. *日眼会誌* 93: 375-383, 1989.
- 6) Jacobiec FA, Koch P, Iwamoto T, et al: Keratophakia and keratomileusis: Comparison of pathologic features in penetrating keratoplasty specimens. *Ophthalmology* 88: 1251-1259, 1981.
- 7) Yamaguchi T, Friedlander MH, Kimura T, et al: The ultrastructure of well-healed lenticules in keratomileusis. *Ophthalmology* 90: 1495-1506, 1983.
- 8) Bornfeld N, Hoffmann F, Mellin KB, et al: Ultrastructure of the rabbit corneal stroma after experimental keratomileusis. *Arch Ophthalmol* 104: 253-258, 1986.
- 9) 山口達夫, McDonald MB, 玉城宏一, 他: Epikeratophakia 施行後5年経過したサル角膜の組織学的検索. 第91回日眼抄録集, 277, 1987.
- 10) Schanzlin DJ, Jester JV, Kay ED: Cryolathe corneal injury. *Cornea* 2: 57-68, 1983.
- 11) Zavala EY, Binder PS, Deg JK, et al: Refractive keratoplasty: Lathing and cryopreservation. *CLAO J* 11: 155-162, 1985.
- 12) Baumgartner SD, Zavala EY, Binder PS: Refractive keratoplasty: Acute morphologic features. *CLAO J* 11: 163-169, 1985.
- 13) Binder PS, Zavala EY, Baumgartner SD, et al: Combined morphologic effects of cryolathing and lyophilization on epikeratoplasty lenticules. *Arch Ophthalmol* 104: 671-679, 1986.
- 14) 片上千加子, 藤沢久美子, 佐堀彰彦, 他: In situ hybridization 法による角膜創傷治癒過程のコラーゲン代謝についての検索. 第13回角膜カンファランス抄録集, 69, 1989.
- 15) Tamaki K, Yamaguchi T, McDonald MB, et al: Histological study of epikeratophakia tissue lenses for myopia removed from two patients. *Ophthalmology* 93: 1502-1508, 1986.
- 16) Samples JR, Deg JK, Binder PS, et al: Epikeratophakia: Clinical evaluation and histopathology of a non-human primate model. *Cornea* 3: 51-60, 1984.
- 17) Binder PS, Zavala EY, Baumgartner S, et al: Refractive keratoplasty: Keratophakia in a nonhuman primate. *Arch Ophthalmol* 102: 1671-1675, 1984.