

Automated Lamellar Keratoplasty 施行後の角膜組織変化

奈良県立医科大学眼科学教室

坂口 泰久, 名和 良晃, 魚里 博
原 嘉昭, 西 信元 嗣

HISTOPATHOLOGICAL CHANGE OF THE CORNEA FOLLOWING AUTOMATED LAMELLAR KERATOPLASTY

YASUHISA SAKAGUCHI, YOSHIKI NAWA, HIROSHI UOZATO,
YOSHIKI HARA and MOTOTSUGU SAISHIN

Department of Ophthalmology, Nara Medical University

Received June, 18, 1999

Abstract: We performed automated lamellar keratoplasty using rabbit eyes. Risks and benefits of microkeratome were explored by examining histopathological change of corneas following surgery. In cases with successful procedure, corneas were clear and smooth. However, in cases with troubles during surgery, severe scar formation and epithelial downgrowth were observed. Intraoperative warming and cooling had little influence on the outcome of surgery. For successful surgery using microkeratome, development of a more safe surgical system is considered to be necessary.

(奈医誌. J. Nara Med. Ass. **50**, 323~327, 1999)

Key words: ALK, LASIK, microkeratome, cooling

緒 言

1960年代, 角膜切除による屈折矯正を目的として, Barraquerにより開発されたmicrokeratome¹⁾は, その後改良を重ねられ, 現在では, Automated Lamellar Keratoplasty(ALK)やLaser assisted In situ Keratomileusis(LASIK)といった屈折矯正手術に用いられている。いずれの術式も, まずmicrokeratomeを用いて, 角膜フラップを作成した後, ALKではmicrokeratomeを用いて, またLASIKでは, エキシマレーザーを用いて, 角膜実質を切除することにより, 角膜屈折力を変化させることを目的とする。Photorefractive Keratectomy(PRK)やRadial Keratotomy(RK)といったmicrokeratomeを用いない屈折矯正手術に比べ, ALKやLASIKは, より強度の近視に対しても適応できる利点を有する。中でもLASIKは, PRKの術後の高い屈折予測性と角膜強度の保持性という利点に加え, 角膜上皮を温存することにより術後の早い視力回復が得られるこ

とから屈折矯正手術の主流となりつつある。最近では, Gimbel et al.²⁾の1000例を越えるLASIKの報告から, この手術における合併症の大部分が角膜フラップの作成時, すなわちmicrokeratomeの操作時に発生していることが分かり, また, Lin et al.³⁾の報告で角膜フラップ作成時の合併症は, 最初の100眼で6%, 次の600眼で2.3%, さらに次の300眼で0.3%であったことから, microkeratome操作の巧拙が術後の角膜組織変化に大きな影響を及ぼしていることが容易に推察できる。

一方, microkeratomeを用いない術式であるPRKでは, レーザー照射で熱が産生されることにより瘢痕形成が促進され, また, 術野を冷却すると瘢痕形成が抑制されることが報告されている⁴⁻⁶⁾。microkeratomeは高速で刃を振動させることにより角膜を切除するので操作中に熱が生じている可能性がある。その場合には, PRK同様, microkeratomeの操作中に術野を冷却すれば, 角膜の瘢痕抑制効果を期待できることになる。

microkeratomeで切除された角膜の組織変化を調べ

た報告は少ない。その理由として、人間用の吸引リングが角膜径の違う動物眼に適合しないことが挙げられる。そこで今回我々は、吸引リングに改良を加え、家兎に対して ALK を行い、角膜の組織学的変化を観察し、手術手技の巧拙および角膜切除時の術野の温度変化が術後角膜組織に与える影響について検討した。

対象と方法

ALK の対象として家兎 11 羽(22 眼)を用いた。動物の取り扱い、学内の動物実験規定に基づき、動物に苦痛を与えないよう配慮した。麻酔には、0.4%塩酸オキシブ

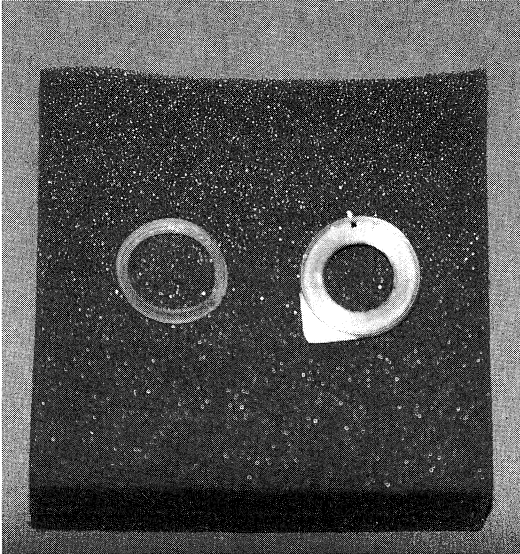


Fig. 1. Silicon band (left) to make suction ring (right) adapt to rabbit eye.

プロカインの点眼および塩酸ケタミン(20-40 mg/kg)とペントバルビタールナトリウム(20-60 mg/kg)の筋注を用いた。シリコンゴムの輪で内径を小さくし、家兎眼に適合できるように改良した吸引リング(Fig. 1)を家兎角膜上にのせ、十分陰圧をかけることにより、眼球を固定した。その後、microkeratome(Automated Corneal Shaper, Chiron 社製)(Fig. 2)の下部を吸引リングの溝にはめこみ、ケラトームを電動でギア送りし、以下のごとく ALK を施行した。1st cut にてまず角膜表面に蝶番付きの折り返せるフラップ(全例厚さ:130 μ m)を作成し、2nd cut にてフラップを折り返して露出した角膜実質をさらに切除した。2nd cut での角膜切除量は人間に対する ALK 試行時の 6 D 矯正量および 20 D 矯正量の 2 群とした。2nd cut 終了後、各群とも内眼手術用灌流液(BSS プラス)で露出した角膜実質部分を 1 分間灌流した。灌流液の温度は 4 $^{\circ}$ C、20 $^{\circ}$ C および 43 $^{\circ}$ C の 3 種類とした。

手術 1 ヶ月後、十分な深麻酔下で眼球を摘出し、4%パラホルムアルデヒド(in 0.1 MPBS, PH 7.4)中で眼球を固定した。1 時間後、眼科用尖刀を用いて角膜輪部で角膜を切除し、さらに、30 分固定後、固定液中で半切した。一方の角膜片はパラフィン包埋し、ヘマトキシエオジン(HE)にて染色し、光学顕微鏡で観察した。他方の角膜片は 4%パラホルムアルデヒド(in 0.1 PBS, PH 7.4)中で一晩固定後、OCT compound で包埋し、凍結切除標本を作成した。角膜癒痕のマーカー(一次抗体)として抗ヒト III 型コラーゲン mouse monoclonal IgG(Chemicon International)を標本と 37 $^{\circ}$ C で一時間反応させた。さらに二次抗体としてヤギ抗 mouse IgG, FITC 標識(Dako)を標本と一時間反応させた後、蛍光顕微鏡で観察した。

各対象眼の HE 染色標本については、角膜実質の癒痕

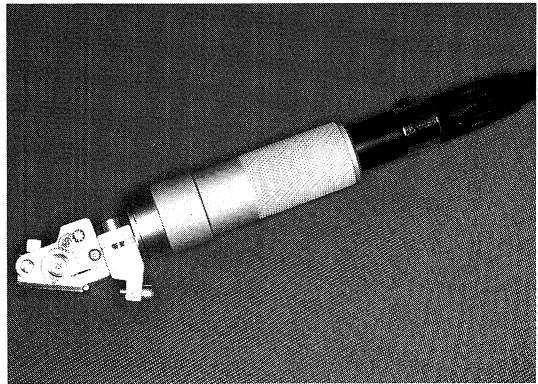
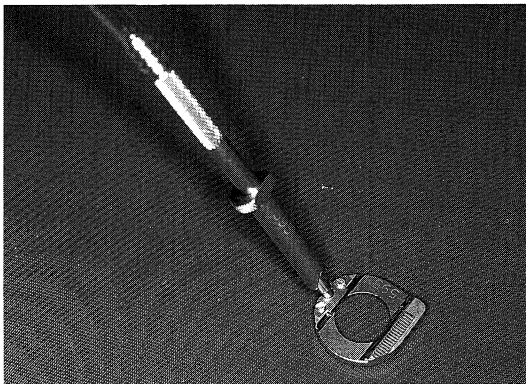


Fig. 2. Suction ring (left) and microkeratome (right).

形成を、3段階の点数評価(ほとんど瘢痕が観察されない:0点,軽度の瘢痕が観察される:1点,中等度以上の瘢痕が観察される:2点)した。2人の観察者の合計点数をその症例の瘢痕スコアとし、各温度群を統計学的に検討した(Kruskal-Wallis検定)。

結 果

各条件2眼の手術成功症例を得るまでに計10眼の手術不成功症例を経験した。不成功の原因は、麻酔が浅く手術中に眼球が動いた症例が3例,ケラトームの吸引リングへはめ込みが不十分であったため,刃先が途中で停止した症例が4例,吸引が不十分であったため眼球が動いた症例が3例であった。瘢痕スコア1の標本(Fig. 3)では,フラップとベッド,すなわち角膜フラップを折り返して露出した角膜実質の interface 周辺のコラーゲンの配列は整然としており,線維芽細胞も認められなかった。瘢痕スコア2(Fig. 4)の標本では,コラーゲンの配列が少し乱れ,一部線維芽細胞の集合が認められた。瘢痕スコア3の標本を Fig. 5 および 6 に示す。角膜の蝶番が

形成されずフラップが角膜から遊離したフリーフラップ症例では,実質全体に強い瘢痕を生じた(Fig. 5)。図 Fig. 6 ではフラップとベッドの間に epithelial downgrowth が観察された。抗ヒトⅢ型コラーゲン mouse monoclonal IgG による免疫染色では,手術不成功例で角膜上皮下に瘢痕形成を示す蛍光が観察された(Fig. 7)。手術



Fig. 5. Epithelial downgrowth is present. (×200)

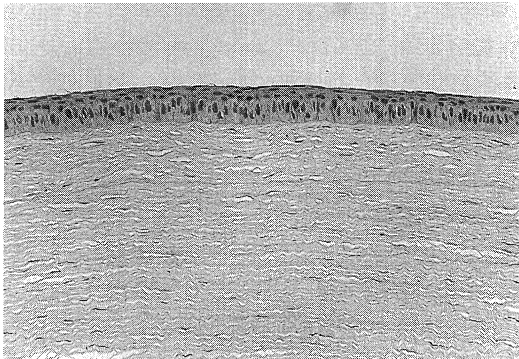


Fig. 3. Scar is not mostly formed around interface between corneal flap and stroma. (×200)

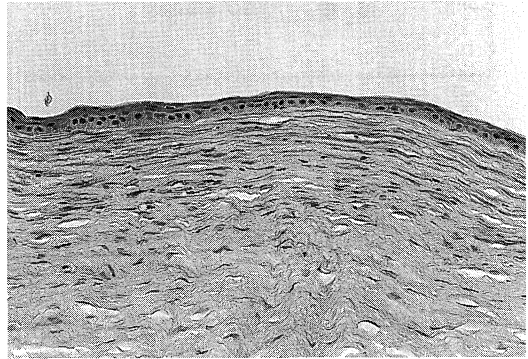


Fig. 6. Case of free flap : severe scar is present under epithelium. (×200)

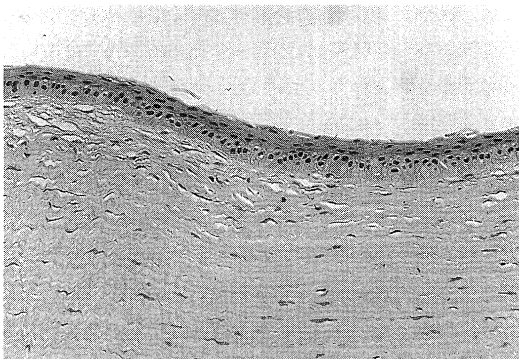


Fig. 4. Scar is slightly present under epithelium. (×200)

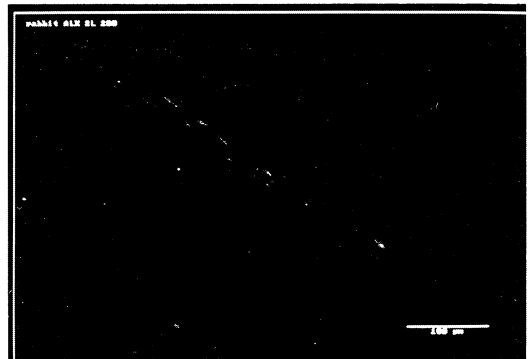


Fig. 7. Fluorescence microscope image of free flap case.

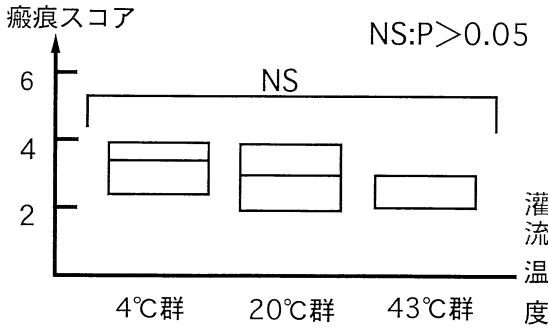


Fig. 8. Relation between scar formation and temperature of irrigating solution.

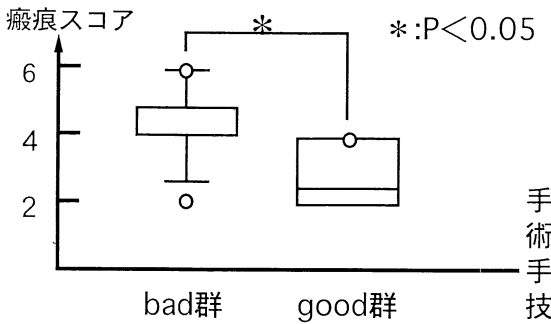


Fig. 9. Relation between scar formation and surgical skill.

成功例を用いて検討した術中温度と術後の瘢痕の程度の関係では、Fig. 8 に示したように、3 群ともほとんど瘢痕が形成されず、3 つの温度群に有意差は認められなかった。また、手術の巧拙と術後の瘢痕の程度の関係では、手術成功群で術後の瘢痕形成が有意に少ない結果が得られた(Fig. 9)。

考 察

今日の層状角膜切除による屈折矯正手術は Barraquer により始められた¹⁾。彼の方法では、まず、角膜中央部(直径約 7 mm)が角膜の 3 分の 2 から 4 分の 3 の厚みで切除される。切除片はクライオレース(冷凍旋盤)で冷凍され、近視や遠視を矯正できるよう形成された後、解凍され、患者の角膜に再縫合される。これは、かなり先進的な手術であったが、手技の難しさと不正乱視などの合併症の多さから普及しなかった。1980 年代に、Ruiz により、microkeratome の刃の動きをギア送りで自動化す

るように改良された。彼はこのケラトームを用い蝶番付きの角膜フラップを作成した後に角膜実質を切除して角膜屈折力を変化させる ALK を考案し、これが microkeratome が普及するきっかけとなった⁷⁾。1990 年代になり Pallikaris が ALK の第二段階の角膜実質切除をエキシマレーザー照射により行う LASIK を考案した⁸⁾。この術式は、ALK に比べ、術後の屈折度数の予測性が高い点で優れており、また従来のエキシマレーザー屈折矯正手術である PRK に比べ、強度近視の矯正が可能である、角膜中央部の上皮とボウマン膜を残すため術後の疼痛が極めて軽い、術後早期から安定した視力が得られる、haze といわれる上皮下の混濁の発生率が低い、などの利点を有することから、次世代の術式として期待されている⁹⁻¹¹⁾。

その一方で、microkeratome を用いた屈折矯正手術が普及するにつれて、microkeratome の操作中に眼球固定用の吸引が不十分であったり、刃先を送る歯車の回転が不良であると、角膜フラップの離断や喪失が起こり、術後、不正乱視や感染などの重篤な合併症が生じ得ることが報告されている¹²⁻¹⁴⁾。

今回の我々の実験では、手術操作が良好であった場合、いずれの灌流温度条件でも microkeratome により作成された角膜切除面は、極めて平滑であり、術後、視力障害の原因となるような瘢痕形成はほとんど認められなかった。一方、術中操作に支障があった症例や、術後、フラップが喪失した症例では、epithelial downgrowth や上皮下の実質組織中に瘢痕を生じた。

角膜上皮下に形成される瘢痕組織は、角膜中央部を切除する屈折矯正手術においてしばしば見られる haze と呼ばれる角膜上皮下混濁の原因とされている¹⁵⁾。haze は PRK 施行時に術野を手術用眼内灌流液で冷却すると、術後に減少することから、レーザー照射による術野の局所的な熱傷が原因と考えられている。ところが、既述のように、LASIK では、術野を灌流しなくても、haze の発生が少ない事実から、haze の発生に熱以外の要因が存在することが予想される。ALK 施行時におけるフリーキャップ症例は、角膜上皮を除去した後に、角膜実質を切除するという点では、PRK 施行時に角膜実質切除に用いるエキシマレーザーを microkeratome に置き換えたものとみなすことができる。PRK に比べて術中の熱発生が少ないと考えられる ALK においても、今回の実験で明らかかなようにフリーキャップ症例で実質の瘢痕形成が強かった。角膜上皮を除去すると露出した角膜実質表層の角膜実質細胞がアポトーシスに陥るとの報告がある¹⁶⁾ ことから、フリーフラップ症例では、角膜実質細胞の消失

に術後の眼瞼の動きによる機械的摩擦や乾燥による浸透圧の変化などが重なって瘢痕形成を促しているのではないかと推測された。

今回の実験から, microkeratome の操作の巧拙により術後の角膜瘢痕形成が大きく左右され, 術中の冷却操作は手術成績の改善には結びつかないと考えられた。屈折矯正手術が眼鏡やコンタクトレンズによって良好な矯正視力を得られる人を対象としている以上, 他の手術以上に高い安全性と術後予測性が要求されることは言うまでもない。microkeratome を用いた屈折矯正手術の普及のためには, 眼球固定リングの吸引圧が十分上がらない, あるいはギアに抵抗が生じるなどの合併症が生じ易い条件下では刃先が自動停止すると入った安全システムの開発と十分な術者の訓練が必要と考えられる。

謝 辞

本実験に際し多大な協力を賜りました, 増田紀子氏, 栢田浩三氏(以上奈良県立医科大学眼科)および小南雅也氏(町立大淀病院眼科)に深謝いたします。

文 献

- 1) Barraquer, J. : Queratomil para la correccion de la miopia. Arch. Soc. Ophthalmol. Optom. 5 : 27-47, 1964.
- 2) Gimbel, H. V. Anderson Penno, E. E. van Westenbrugge, J. A. et al. : Incidence and management of intraoperative and early postoperative complications in 1000 consecutive laser in situ keratomileusis cases. Ophthalmology 105 : 1839-1848, 1998.
- 3) Lin, R. T. and Molony, R. K. : Flap complications associated lamellar refractive surgery. Am. J. Ophthalmol. 127 : 129-136, 1999.
- 4) Tsubota, K. Toda, I. and Itoh, S. : Reduction of subepithelial haze after photorefractive keratectomy by cooling the cornea. Am. J. Ophthalmol. 115 : 820-821, 1993.
- 5) Kitazawa, Y. Tokoro, T. Ito, S. et al : The efficiency of cooling on excimer laser photorefractive keratectomy In rabbit eye. Surv. Ophthalmol. 42(Suppl) : S 82-S 88, 1997.
- 6) Niizuma, T. Hayashi, M. Futemma, M. et al : Cooling the cornea to prevent side effects of photorefractive keratectomy. J. Refract. Corneal. Surg. 10(Suppl) : S 262-S 266, 1994.
- 7) Ruiz, L. and Rowsey, J. : In situ keratomileusis. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 29(Suppl) : 392, 1998.
- 8) Pallkaris, I. G. Paratzanaki, M. E. Stathi, E. Z. et al : Laser in situ keratomileusis. Lasers. Surg. Med. 10 : 463-468, 1990.
- 9) Helmy, S. A. Salah, A. Badaway, T. T. et al : Photorefractive keratectomy and laser in situ keratomiluesis for myopia between 6.00 and 10.00 diopters. J. Refract. Surg. 12 : 417-421, 1996.
- 10) Hersh, P. S. Brint, S. F. Malony, R. K. et al : Photorefractive keratectomy versus laser in situ keratomileusis for moderate to high myopia. Ophthalmology 105 : 1512-1523, 1998.
- 11) Danasoury, M. Maghraby, A. E. Klyce, S. D. et al : Comparison of photorefractive keratectomy with excimer laser in situ karatomileusis in correcting low myopia. Ophthalmology 106 : 411-421, 1999.
- 12) Hoffman, C. J. Rapuano, C. J. Cohen, E. J. et al : Displacement of corneal lenticle after autometed lamellar keratoplasty. Am. J. Ophthalmol. 118 : 109-111, 1994.
- 13) Belmont, S. : Night halos automated lamellar keratoplasty. J. Refract. Surg. 12 : 809-812, 1996.
- 14) Haight, D. Rich, L. F. Kremer, F. B. et al : Slipped flap, irregular astigmatism, and undercorrection after automated lamellar keratoplasty. J. Refract. Surg. 12 : 645-648, 1996.
- 15) SundarRaj, N. Geiss, M. J. Fantes, et al : Healing of excimerlaser ablated monkey corneas. An Immunohistochemical evaluation. Arch. Ophthalmol. 108 : 1604-1610, 1990.
- 16) Wilson, S. E. Yu-Guan, H. E. Weng, J. et al : Epithelial injury induces keratocyte apoptosis : Hypothesized role for interleukin-1 system in modulation of corneal tissue or ganization and would healing. Exp. Eye. Res. 62 : 325-337, 1996.