

# エキシマレーザー照射による角膜の組織学的変化に関する 実験的研究

奈良県立医科大学眼科学教室

名 和 良 晃

## CORNEAL HISTOPATHOLOGICAL CHANGES AFTER EXCIMER LASER ABLATION IN RABBITS AND PORCINE EYES

YOSHIAKI NAWA

*Department of Ophthalmology, Nara Medical University*

Received March 21, 1996

**Abstract:** The present paper reports the investigation of corneal histopathological changes after excimer laser ablation in rabbits and fresh porcine eyes. In the ablated area, there are thickening of the epithelium, discontinuous basement membrane of the basal epithelial cells, and scarring of the superficial stroma. These changes are especially marked in severely ablated corneas, but they become less marked as time passes by. Linear electron-dense material is present in Descemet's membrane even in clinically weakly ablated eyes.

### Index Terms

excimer laser, keratorefractive surgery, corneal pathology

### 緒 言

現在屈折矯正手術に対する世間の関心が高まってきた。日本では屈折矯正手術は佐藤氏が1950年代を中心に行った角膜前後面放射状切開術が結果的に失敗に終わったために眼科医はその導入に慎重な姿勢を示してきたが、世界の趨勢で屈折矯正手術に本格的に取り組む必要を認め、日本眼科学会でも答申を発表した<sup>1)</sup>。屈折矯正手術の中でも1980年代半ばから<sup>2)</sup>行われているエキシマレーザーによる角膜面切除は最近特に注目されている方法であり、術者の技量にさほど影響されずに正確で安定した結果が得られると考えられている<sup>3)</sup>。日本では1995年10月現在治験中である。エキシマレーザーは角膜を正確に切除できると考えられているがやはり最終的な角膜の形状変化は角膜の創傷治癒に影響される。エキシマレーザーによる角膜の組織変化は従来から種々の報告がなされているが<sup>3-4)</sup>不明な点も多くあるため今回エキシマレーザーを家兎角膜及び豚眼に照射し、その形態変化及び創

傷治癒を組織学的に検索した。

### 材料と実験方法

使用材料及び動物は、新鮮な状態で入手した豚眼2眼と2.5-4.0 kgの成熟白色家兎50匹100眼である。まず照射直後の角膜の形態変化を観察するため新鮮な豚眼にPTK 200  $\mu$ mの条件で照射を行い、移行域の有無の差を含めて検討した。照射後眼球から角膜全体を切除し、半分は10%ホルマリンで固定しヘマトキシリンエオジン染色(HE染色)で光学顕微鏡的に観察し、また他の半分は2.5%グルタルアルデヒドで固定し角膜表面を走査型電子顕微鏡的に観察した。家兎の取り扱いには慎重に行い、苦痛を与えないように留意した。兎の麻酔は全身麻酔としてketamine hydrochloride(ケタラール、三共製薬)20-40 mg/kg、およびxylazine hydrochloride(セラクタル、バイエルジャパン)2-5 mg/kgを用い、局所麻酔として0.4%塩酸オキシプロカイン(ベノキシール、参天製薬)を点眼麻酔として併用した。麻酔下で兎眼にエキ

シマレーザ(NIDEK, EC-5000)を照射した。照射は角膜反射の中心にセンタリングし, Fluence 130 mJ/cm<sup>2</sup>, Ablation rate 1.0 μm, 光学域(治療域)5 mm, Repetition rate 30 Hz の条件で行った。兎は以下の条件に分け, 各条件で2-4匹に処置を行った。いずれの動物も右眼には1 mmの移行域を設定し, 左眼には設定しなかった。

PTK(Phototherapeutic keratectomy); 50, 100, 又は200 μm

PRK(Photorefractive keratectomy); -3, -6, 又は-12 D 矯正

PARK(Photoastigmatic refractive keratectomy); -3, -6, 又は-12 D 矯正(90°方向を矯正)全ての動物に照射直後抗生物質点眼としてクロラムフェニコール点眼(コリナコール, 日本点眼薬研究所)を施し, その後治療を加えず観察した。術後1, 3, 6か月後に充分量のネブプタール(120 mg/kg)を静脈注射し眼球摘出を行い, 輪部から角膜を剝離し, 10%ホルマリンで固定し, HE染色, マッソントリクロム染色又はアザン染色を施して照射中央部を光学顕微鏡的に観察した。上皮厚および実質瘢痕に関してはスコアを作成して数字にて比較できるようにした。術後3か月群に関してはPTK 50, 200 μm照射, PRK -3, -12 D 矯正, PARK -3, 及び-12 D 矯正群の各2眼についてカルノフスキー固定を行い透過型電子顕微鏡にて検索した。角膜の組織学的観察については, その上皮層の厚さにより, 変化なしを0, 50%以下を1, 2, 100%以上を3とした指標を設定し, また, 実

質の瘢痕については, 存在しない0, 10%以下1, 20%以下2, 30%以下3, 30%以上4とした指標を設定し観測した。

## 結 果

### 1. 照射直後の豚眼の角膜の形態変化

切除された角膜面は光学顕微鏡的にも走査型電子顕微鏡的にも平滑であり組織の収縮や変性はほとんど認められず(Fig. 1, 2), 移行後の照射辺縁も平滑に移行域の照射辺縁も平滑に移行していた(Fig. 3, 4)。

### 2. 照射後の兎眼の経時的組織学的変化

#### a. 上皮層

照射域上では上皮層が肥厚する傾向が見られ(Fig. 5), その上皮層の肥厚する部位は照射辺縁により著明であった。また上皮基底部分が上皮増生のためにやや不整になっていた(Fig. 6)。術後の上皮層の肥厚は照射量が多いほど著明で(最も弱い照射条件と最も強い照射条件の指標値を比較した場合PTK 1, 3か月, PRK 3か月, 及びPARK 1か月群でそれぞれp=0.000, 0.000, 0.000にてT検定で有意差あり), これは時間の経過とともに軽減する傾向にあった(1か月群と6か月群を比較した場合PTK 100 μm, 及びPARK 3D群でそれぞれp=0.008, 0.000でT検定で有意差あり)(Table 1)。透過型電子顕微鏡的には照射域上で基底膜の乱れ, 及びヘミデスマゾームの欠落が一部に見られた(Fig. 7)。

#### b. 実質

照射域の実質表層に瘢痕形成が見られた。術後の瘢痕

Table 1. Average score for the increase in the thickness of the epithelial layer in rabbit corneas after laser treatment

treatment	months after treatment		
	1	3	6
PTK 50μm	0 (2)	0 (4)	0 (4)
100μm	1.5(2)	1 (2)	0 (4)
200μm	2 (2)	2 (4)	0.5 (2)
PRK 3D	0.5(2)	1 (2)	0.75(4)
6D	0.5(2)	1 (2)	1.88(4)
12D	1.5(2)	2 (2)	0 (2)
PARK 3D	1 (2)	1.5(2)	0 (4)
6D	2.5(2)	0 (2)	2.5 (2)
12D	2 (2)	2 (2)	*

0: none 1: less than 50% increase 2: more than 50% and less than 100% 3: more than 100% ( ) number of eyes \*not available

Table 2. Average score for scar formation in the stroma of rabbit corneas after laser treatment

treatment	months after treatment		
	1	3	6
PTK 50μm	0 (2)	0.25(4)	0 (4)
100μm	1.5(2)	1 (2)	0 (4)
200μm	2.5(2)	2 (4)	1 (2)
PRK 3D	1 (2)	1 (2)	0.5 (4)
6D	2 (2)	1.5 (2)	0.75(4)
12D	1 (2)	2 (2)	0 (2)
PARK 3D	1 (2)	1 (2)	0.25(4)
6D	1 (2)	1 (2)	0.5 (2)
12D	1 (2)	1.5 (4)	*

0: none 1: less than 10% of the corneal thickness 2: more than 10% and less than 20% 3: more than 20% and less than 30% 4: more than 30% ( ) number of eyes \*not available

の程度は照射量が強いほど著明で(最も弱い照射条件と強い照射条件を比較した場合 PTK 1, 3 か月, 及び PRK 3 か月群でそれぞれ  $p=0.038, 0.032, 0.000$  で T 検定で有意差あり), また時間の経過とともに軽減する傾向があった(1 か月群と 6 か月群を比較した場合 PTK 100  $\mu\text{m}$ , PRK 6 D, 及び 12 D 群でそれぞれ  $p=0.008, 0.000$  で T 検定で有意差あり)(Fig. 8-10, Table 2). 移行域の有無は術後 1 か月ですでに不明となり, 認めがたいものが多かった。(Fig. 11, 12). 透過型電子顕微鏡的には実質の層構造の乱れ, 及び粗面小胞体の発達した線維芽細胞の存在が見られた(Fig. 12).

#### c. 内皮

光学顕微鏡的には内皮については著変は見られなかった. 透過型電子顕微鏡的には内皮の基底膜であるデスメ膜内の線状の電子密度を持つ物質の沈着が, 臨床的に比較的弱いと思われる照射量でも認められた(Fig. 14, 15).

## 考 察

1980 年代から臨床応用されるようになったエキシマレーザーは最初, 放射状角膜切開術(PK)における刃の代わりとして用いられた<sup>4-21</sup>. 照射縁平滑であり, 優れた手術方法であるとの報告が多く出された<sup>2,4,10,17,18,20</sup>. 術後の創傷治癒も特に問題ないという報告と<sup>11,13,15</sup>, エキシマレーザーによる切開後では以前の報告と比較して線維芽細胞の出現が多いという報告があった<sup>16</sup>. また角膜内皮変化はダイヤモンドと同様という報告があったが<sup>7</sup>エキシマレーザーによるとデスメ膜の 40  $\mu\text{m}$  以内への照射で内皮細胞が消失するという副作用の報告もあった<sup>6,8</sup>.

これらの報告以後はエキシマレーザーの屈折矯正手術における応用は主に角膜面切除が主体となった. これは角膜表面の光学値をコンピュータープログラムに基づき曲率を変化させるように削り屈折度を調整する手技である. この方法は角膜表面を自動プログラムで削るため従来の PK のような術者による結果のばらつきが少なく, また角膜の表面の方だけを削るので角膜の強度に変化がないという利点がある. しかし短所としては光学値を削るので術後の混濁によって視力が低下する場合がある<sup>3</sup>.

エキシマレーザー角膜面切除による角膜の組織変化は従来から種々の報告がある<sup>22-42</sup>.

照射直後の角膜表面は今回の検索でもかなり平滑であり, 従来からの刃の切開と比べ劣らないとの報告と一致する<sup>22</sup>. 今回は新しい所見として移行域の有無の違いの所見を得た. 照射直後では差異が明らかであるが術後 1 か月以降は創傷治癒によるせい組織的にその差異は認

められなかった. 移行域の存在は角膜の創傷治癒を円滑にするとと思われるが今回の実験では明らかではなく, この関係の検索には今後もっと術後早期の組織検査を要すると思われる.

術後早期の角膜上皮形成は兎や猿の実験では 1-2 日で完了する<sup>23,24</sup>が強い照射<sup>24</sup>や窒素ブロー使用下では<sup>34</sup>遅延する. 今回の実験では術後 1 か月以降では上皮形成が遅延する症例はなかった.

術後は角膜上皮は肥厚したり, あるいは過形成となることが従来より報告されている<sup>23,26,27,29,30,31,32,36,39,40</sup>. 角膜上皮層肥厚の部位は照射縁がもっとも著明という報告や<sup>23</sup>, 照射中央が最も著明という報告が<sup>42</sup>あるが今回の実験では部位によってどちらの場合もあった. 上皮層の過形成あるいは肥厚の時期は報告によって術後数日から<sup>26</sup>12 か月でピークとなる<sup>42</sup>ものまでであった. 上皮層の厚さは照射の深さに比例するとの報告<sup>36</sup>がある. 今回の実験では予想したように照射量が多いほど, また術後早期ほど上皮の厚みが多い傾向が認められたがかなり個体によってばらつきがあり, 創傷治癒の個体差による影響がかなりあると考えられた.

このような角膜上皮層の過形成や肥厚は一般的に実質が欠損する際によく観察される<sup>27,38</sup>. この際臨床的には角膜矯正手術後の屈折の戻りとなって現れるかもしれない. これは生体が欠損した実質を補いもとの形状に戻そうとする生体反応か<sup>27</sup>, あるいは実質が欠損した部位が眼瞼の運動による上皮層を剥ぎ取る動きから逃れ過形成を起こし易いかもしれない<sup>38</sup>.

上皮基底膜に関しては低照射量では兎で 1 週間以内に再生するとの報告があるが<sup>24</sup>術後 8 か月たっても基底膜の不整が見られたり<sup>23</sup>, 術後 6-15 か月後でも断裂が認められたり<sup>31</sup>, 術後 6-15 か月後でも基底細胞膜単位長さあたりの基底膜断面の面積は正常より少なかったり<sup>41</sup>して術後長期にわたって上皮基底膜への影響が持続すると考えられている. 今回の実験では術後 3 か月では強照射群で照射域で基底膜の断裂などの異常が散見された. これについては更に検討する必要がある.

この様に基底膜の不完全な再生によって臨床的に再発性角膜上皮剝離が生じることが懸念されるが現在その発生は余り知られていない. 今後注意深く見守っていく必要があろう.

実質の術後所見としてはまず術直後から実質前部に無細胞域が出現するという報告がある<sup>25</sup>. これは照射自体によるものよりむしろ手術操作で上皮層を剝離する際に浸透圧などの影響で実質前部の細胞が消失するせいかもしれない<sup>43</sup>. 今回の実験では術後 1 か月以前の組織検査

は行っていないためその様な所見は認められなかった。

エキシマレーザー照射術後の反応で最も著明なのは前部実質の瘢痕である<sup>23,26,28,29,30,31,32,37</sup>。まず前述のように手術で実質前部の細胞密度が減少し、その後実質を再構成しようと活動性の高い線維芽細胞が術後数週間から数か月にかけて出現し、実質の再構成を行う。術後3週間眼角膜実質細胞数は対照の3倍になるとの報告<sup>30</sup>。実質再構成の際種々のコラーゲンやプロテオグリカンの産生があり、瘢痕とともに臨床的に混濁として表われると思われる<sup>32</sup>。実質の再構成は6-9か月、あるいはそれ以上時間をかけて行われ、組織構造は少しずつ回復していく<sup>23,29,30,32</sup>。再照射の場合は激しい創傷治癒反応が見られる<sup>37</sup>。

当実験でも照射後1か月が最も瘢痕量が多く、時間と共に軽減した。術後6か月の時点でもまだ瘢痕が残存する部位もあり、この時点で実質の再構成は大体完成しているがわずかにまだ進行しているとの印象を得た。

従来報告でも照射深さと新生コラーゲンの厚みは比例するとの結果があり<sup>26</sup>、当実験でも検討したが大体照射強度と瘢痕の量は相関し、これは時間が経過するほど軽減する傾向にあった。

この結果を臨床的にあてはめると屈折矯正量が多いほど屈折結果のばらつき、術後屈折度の戻りが生じるという現在の臨床状況と一致する。

内皮の照射後の反応は従来より強照射で内皮細胞空胞化や密度の低下<sup>24</sup>が生じるが臨床的にさほど影響はないと考えられている<sup>43</sup>。しかし照射後デスメ膜に電子密度の高い物質が観察された例がある<sup>25,31</sup>。これはIV型コラーゲン、プロテオグリカン、フィブロンectin、及びラミニンからなると考えられている<sup>25</sup>。

今回の実験でもPRK 3Dという臨床的に弱いと思われる照射量でもこの物質が観察された。照射領域から離れているし、介在する後部実質にも異常が見られないのにもかかわらずこの物質が観察されたのはショック波のようなものか熱作用によるもの等種々の原因が考えられるが、長期的な臨床的意義とともにさらに研究が必要であると考えられる。

今回PTK, PRK, 及びPARKという3モードを照射したが組織学的変化にはモードによる差は余りないように思えた。PARKについては組織作成の際に軸を厳密にコントロールできず軸方向による差は検討できなかったがこれも今後の課題である。

## 結 語

エキシマレーザーの角膜への照射は照射量に応じた組

織反応を誘発し、これは時間と共に軽減する。創傷治癒の調整、及びデスメ膜の電子密度の高い物質の臨床的意義の解明がこれからの課題であると思われる。

## 謝 辞

稿を終えるにあたり、終止御懇篤なる御指導と御校閲を賜りました恩師西信元嗣教授および第2病理学教室日浅義雄教授に深謝いたします。また研究の実施にあたり多大な御尽力、御指導を頂いた眼科学教室の皆様、さらに病理組織標本の作製に御協力を頂いた第2病理学教室の松井技官、並びに環境ウイルス研究所の谷口先生に深謝いたします。

## 文 献

- 1) Refractive surgery commission report. J. Jpn. Ophthalmol. Soc. **97** : 1087-1089, 1993.
- 2) Trokel, S. L., Srinivasan, R. and Braren, B. : Excimer laser surgery of the cornea. Am. J. Ophthalmol. **96** : 710-715, 1983.
- 3) McDonnell, P. J. : Lans Lecture : Refractive surgery and your practice. Refractive & Corneal Surgery **9** : 121-128, 1993.
- 4) Cotliar, A. M., Schubert, H. D., Mandel, E. R. and Trokel, S. L. : Excimer laser radial keratotomy. Ophthalmology **92** : 206-208, 1985.
- 5) Puliafito, C. A., Steinert, R. E., Deutsch, T. F., Hillenkamp, F., Dehm, E. J. and Adler, C. M. : Excimer laser ablation of the cornea and lens. Experimental studies. Ophthalmology **92** : 741-748, 1985.
- 6) Marsall, J., Trokel, S., Rothery, S. and Schubert, H. : An ultrastructural study of corneal incisions induced by an excimer laser at 193 nm. Ophthalmology **92** : 749-758, 1985.
- 7) Dehm, E. J., Puliafito, C. A., Adler, C. M. and Steinert, R. F. : Corneal endothelial injury in rabbits following excimer laser ablation at 193 and 248 nm. Arch. Ophthalmol. **104** : 1364-1368, 1986.
- 8) Marshall, J., Trokel, S., Rothery, S. and Krueger, P. R. : A comparative study of corneal incisions induced by diamond and steel knives and two ultraviolet radiations from an excimer laser. Br. J. Ophthalmol. **70** : 482-501, 1986.
- 9) Puliafito, C. A., Wong, K. and Steinert, R. F. :

- Quantitative and ultrastructural studies of excimer laser ablation of the cornea at 193 and 248 nanometers. *Lasers Surg. Med.* **7** : 155-159, 1987.
- 10) **Kerr-Muir, M. G., Trokel, S. L., Marshall, J.** and **Rothery, S.** : Ultrastructural comparison of conventional surgical and argon fluoride excimer laser keratectomy. *Am. J. Ophthalmol.* **103** : 448-453, 1987.
- 11) **Aron-Rosa, D. S., Boerner, H. F., Bath, P., Carre, F., Gross, M., Timsit, J. C., True, L. and Hufnagel, T.** : Corneal wound healing after excimer laser keratotomy in a human eye. *Am. J. Ophthalmol.* **103** : 454-464, 1987.
- 12) **Seiler, T., Bende, T., Wollensak, J. and Trokel, S.** : Excimer laser keratectomy for correction of astigmatism. *Am. J. Ophthalmol.* **105** : 117-124, 1988.
- 13) **Rosa, D. S., Boerner, C. F., Gross, M., Timsit, J. C., Delacour, M. and Bath, P. E.** : Wound healing following excimer laser radial keratotomy. *J. Cataract. Refract. Surg.* **14** : 173-179, 1988.
- 14) **Berns, M. W., Liaw, L. H., Oliva, A., Andrews, J. J., Rasmussen, R. E. and Kimel, S.** : An acute light and electron microscopic study of ultraviolet 193-nm excimer laser corneal incisions. *Ophthalmology* **95** : 1422-1433, 1988.
- 15) **Serdarevic, O. N., Hanna, K., Gribomont, A. C., Savoldelli, M., Renard, G. and Pouliquen, Y.** : Excimer laser trephination in penetrating keratoplasty. Morphologic features and wound healing. *Ophthalmology* **95** : 493-505, 1988.
- 16) **Keates, R. H., Bloom, R. T., Ren, Q., Ringel, D. M. and Erdey, R. A.** : Fibronectin on excimer laser and diamond knife incisions. *J. Cataract. Refract. Surg.* **15** : 404-408, 1989.
- 17) **Gabay, S., Slomovic, A. and Jares, T.** : Excimer laser-processed donor corneal lenticules for lamellar keratoplasty. *Am. J. Ophthalmol.* **107** : 47-51, 1989.
- 18) **Thompson, K. P., Barraquer, E., Parel, J. M., Loertscher, H., Pflugfelder, S., Roussel, T., Holland, S. and Hanna, K.** : Potential use of lasers for penetrating keratoplasty. *J. Cataract. Refract. Surg.* **15** : 397-403, 1989.
- 19) **Lang, G. K., Schroeder, E., Koch, J. W., Yanoff, M. and Naumann, G. O.** : Excimer laser keratoplasty. Part 1 : Basic concepts. *Ophthalmic Surg.* **20** : 262-267, 1989.
- 20) **Lang, G. K., Schroeder, E., Koch, J. W., Yanoff, M. and Naumann, G. O.** : Excimer laser keratoplasty. Part 2 : Elliptical keratoplasty. *Ophthalmic Surg.* **20** : 342-346, 1989.
- 21) **Bansal, S., Salz, J. J., Tenner, A., Rao, N. and McDonnell, P. J.** : Clinicopathologic study of healing excimer laser radial excisions. *Refract. Corneal Surg.* **6** : 188-192, 1990.
- 22) **Munnerlyn, C. R., Koons, S. J. and Marshall, J.** : Photorefractive keratectomy : a technique for laser refractive surgery. *J. Cataract Refract. Surg.* **14** : 46-52, 1988.
- 23) **Berns, M. W., Liaw, L. H., Oliva, A., Andrews, J. J., Rasmussen, R. E. and Kimel, S.** : An acute light and electron microscopic study of ultraviolet 193-nm excimer laser corneal incisions. *Ophthalmology* **95** : 1422-1433, 1988.
- 24) **Gaster, R. N., Binder, P. S., Coalwell, K., Berns, M., McCord, R. C. and Burstein, N. L.** : Corneal surface ablation by 198 nm excimer laser and wound healing in rabbits. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* **30** : 90-98, 1989.
- 25) **Hanna, K. D., Pouliquen, Y., Waring, G. O. III, Savoldelli, M., Cotter, J., Morton, K. and Menasche, M.** : Corneal stromal wound healing in rabbits after 193-nm excimer laser surface ablation. *Arch. Ophthalmol.* **107** : 895-901, 1989.
- 26) **Taylor, D. M., L'Esperance, F. A. Jr., Del Pero, R. A., Roberts, A. D., Gigstad, E. E., Klintworth, G., Martin, C. A. and Warner, J.** : Human excimer laser lamellar keratectomy. A clinical study. *Ophthalmology* **96** : 654-664, 1989.
- 27) **Tuft, S. J., Zabel, R. W. and Marshall, J.** : Corneal repair following keratectomy. A comparison between conventional surgery and laser photoablation. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* **30** : 1769-1777, 1989.
- 28) **Goodman, G. L., Trokel, S. L., Stark, W. J., Munnerlyn, C. R. and Green, W. R.** : Corneal healing following laser refractive keratectomy. *Arch. Ophthalmol.* **107** : 1799-1803, 1989.
- 29) **Del Pero, R. A., Gigstad, J. E., Roberts, A. D.,**

- Klintworth, G. K., Martin, C. A., L'Esperance, F. A. Jr. and Taylor, D. M.** : A refractive and histopathologic study of excimer laser keratectomy in primates. *Am. J. Ophthalmol.* **109** : 419-429, 1990.
- 30) **Fantes, F. E., Hanna, K. D., Waring, G. O. III, Pouliquen, Y., Thomsson, K. P. and Savoldelli, M.** : Wound healing after excimer laser keratomileusis (photorefractive keratectomy) in monkeys. *Arch. Ophthalmol.* **108** : 665-675, 1990.
- 31) **Wu, W. C., Stark, W. J. and Grenn, W. R.** : Corneal wound healing after 193-nm excimer laser keratectomy. *Arch. Ophthalmol.* **109** : 1426-1432, 1991.
- 32) **Ozler, S. A., Liaw, L. H., Neev, J., Raney, D. and Berns, M. W.** : Acute ultrastructural changes of cornea after excimer laser ablation. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* **33** : 540-546, 1992.
- 33) **Lubatschowski, H. and Kermani, O.** : 193 nm Excimer laser photoablation of the cornea. Spectrum and transmission behavior of secondary irradiation. *Ophthalmologie* **89** : 134-138, 1992.
- 34) **Campos, R., Cuevas, K., Garbus, J., Lee, M. and McDonnell, P. J.** : Corneal wound healing after excimer laser ablation. Effects of nitrogen gas blower. *Ophthalmology* **99** : 893-897, 1992.
- 35) **McDonnell, J. M., Garbus, J. J. and McDonnell, P. J.** : Unsuccessful excimer laser phototherapeutic keratectomy. Clinicopathologic correlation. *Arch. Ophthalmol.* **110** : 977-979, 1992.
- 36) **Shieh, E., Moreira, H., D'Arcy, J., Clapham, T. N. and McDonnell, P. J.** : Quantitative analysis of wound healing after cylindrical and spherical excimer laser ablations. *Ophthalmology* **99** : 1050-1055, 1992.
- 37) **Hanna, K. D., Pouliquen, Y. M., Waring, G. O. III, Savoldelli, M., Fantes, F. and Thompson, K. P.** : Corneal wound healing in monkeys after repeated excimer laser photorefractive keratectomy. *Arch. Ophthalmol.* **110** : 1286-1291, 1992.
- 38) **Dillon, E. C., Eagle, R. C. Jr. and Laibson, P. R.** : Compensatory epithelial hyperplasia in human corneal disease. *Ophthalmic Surg.* **23** : 729-732, 1992.
- 39) **Maloney, R. K., Friedman, M., Harmon, T., Haywar, M., Hagen, K., Gailitis, R. P. and Waring, G. O. III.** : A prototype erodible mask delivery system for the excimer laser. *Ophthalmology* **100** : 542-549, 1993.
- 40) **Binder, P. S., Anderson, J. A., Rock, M. E. and Vrabc, M. P.** : Human excimer laser keratectomy. Clinical and histopathologic correlations. *Ophthalmology* **101** : 979-989, 1994.
- 41) **Fountain, T. R., de la Cruz, Z., Green, W. R., Stark, W. J. and Azar, D. T.** : Reassembly of corneal epithelial adhesion structures after excimer laser keratectomy in humans. *Arch. Ophthalmol.* **112** : 967-972, 1994.
- 42) **Beuerman, R. W., McDonald, M. B., Shofner, R. S., Munnerlyn, C. R., Clapham, T. N., Salmeron, B. and Kaufman, H. E.** : Quantitative histological studies of primate corneas after excimer laser photorefractive keratectomy. *Arch. Ophthalmol.* **112** : 1103-1110, 1994.
- 43) **Mardelli, P. G., Piebenga, L. W., Matta, C. S., Hyde, L. L. and Gira, J.** : Corneal endothelial status 12 to 55 months after excimer laser photorefractive keratectomy. *Ophthalmology* **102** : 544-549, 1995.

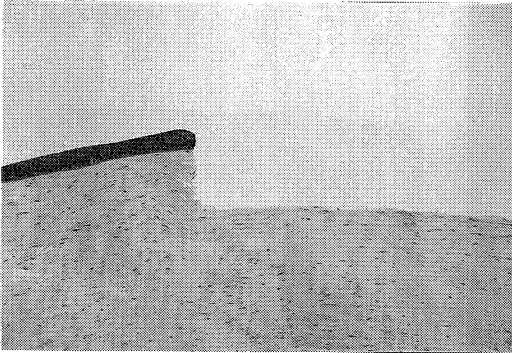


Fig. 1. A light microscopic photograph of a porcine cornea that had undergone PTK 200  $\mu\text{m}$  immediately before fixation. (Hematoxilin & eosin,  $\times 200$ )

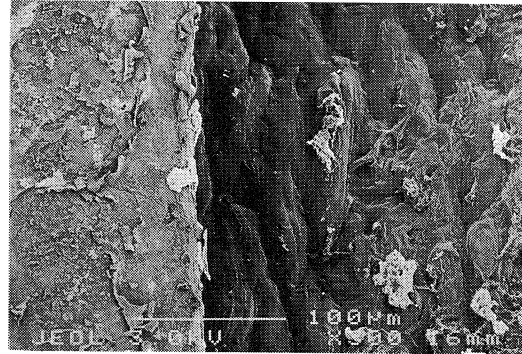


Fig. 2. A scanning electron microscopic photograph of a porcine cornea that had undergone PTK 200  $\mu\text{m}$  immediately before fixation. ( $\times 300$ )

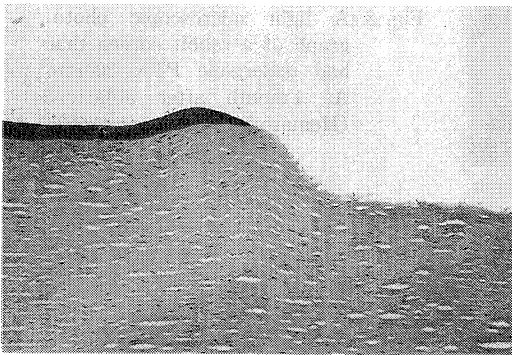


Fig. 3. A light microscopic photograph of a porcine cornea that had undergone PTK 200  $\mu\text{m}$  with a 1 mm transition zone immediately before fixation. (Hematoxilin & eosin,  $\times 200$ )

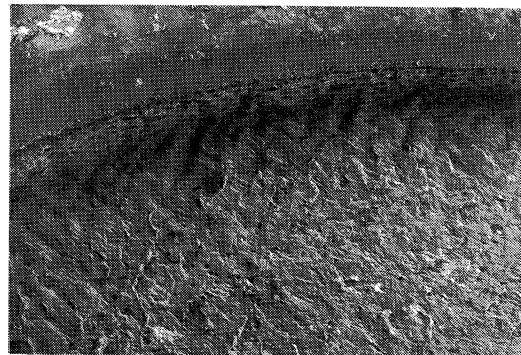


Fig. 4. A scanning electron microscopic photograph of a porcine cornea that had undergone PTK 200  $\mu\text{m}$  with a 1 mm transition zone immediately before fixation. ( $\times 100$ )

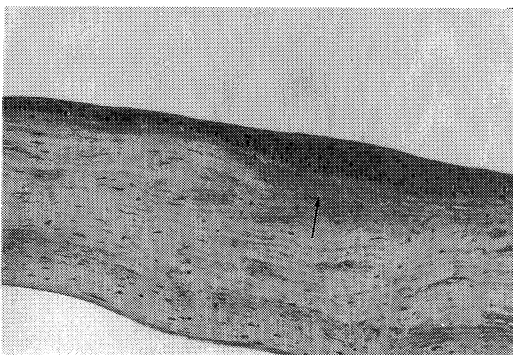


Fig. 5. A light microscopic photograph of a rabbit cornea that had undergone PTK 200  $\mu\text{m}$ . At 1 month after ablation. Arrow shows the thickened epithelium on the ablated area. (Masson trichrome,  $\times 200$ )

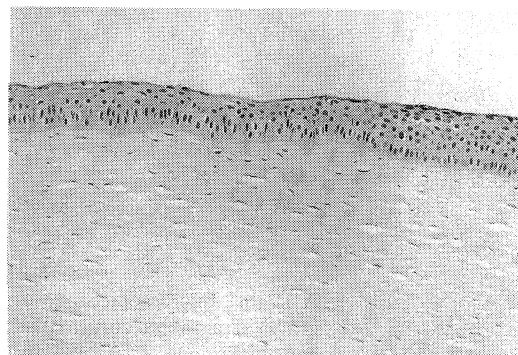


Fig. 6. A light microscopic photograph of a rabbit cornea that had undergone PRK 6 D. At 6 months after ablation. (Hematoxilin & eosin,  $\times 200$ )

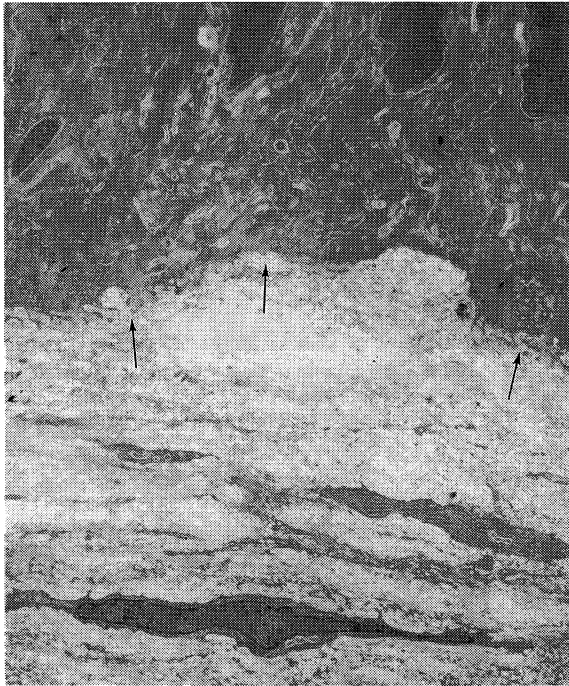


Fig. 7. A transmission electron microscopic photograph of a rabbit cornea that had undergone PRK 12 D. At 3 months after ablation. Arrows show discontinuation of the basement membrane of the epithelium. ( $\times 5000$ )

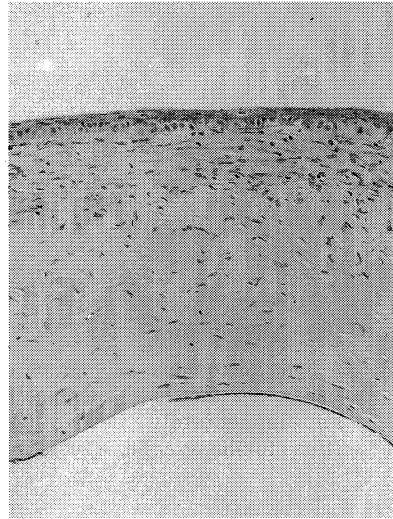


Fig. 8. A light microscopic photograph of a rabbit cornea that had undergone PTK  $200\mu\text{m}$ . At 1 month after ablation. (Hematoxilin & eosin,  $\times 200$ )

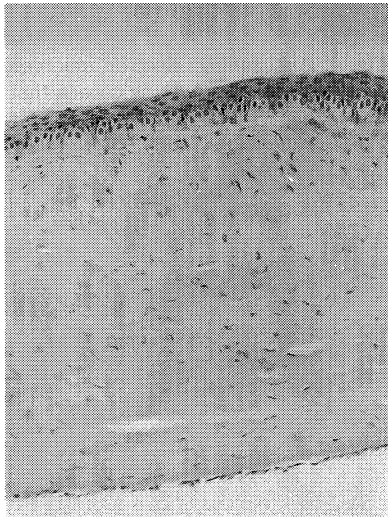


Fig. 9. A light microscopic photograph of a rabbit cornea that had undergone PTK  $100\mu\text{m}$ . At 1 month after ablation. (Hematoxilin & eosin,  $\times 200$ )



Fig. 10. A light microscopic photograph of a rabbit cornea that had undergone PTK  $200\mu\text{m}$ . At 6 months after ablation. Arrow shows an irregular lamellar structure of the superficial stroma. (Hematoxilin & eosin,  $\times 200$ )



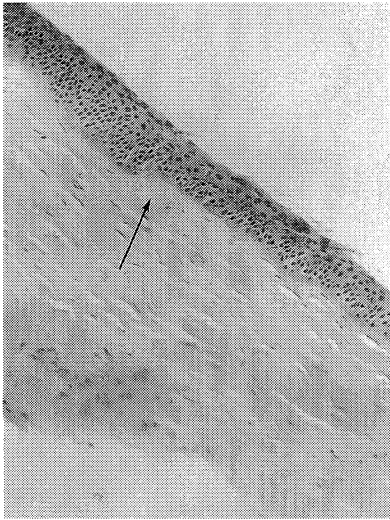


Fig. 11. A light microscopic photograph of a rabbit cornea that had undergone PRK 6 D with a 1 mm transition zone. At 1 month after ablation. Arrow shows the margin of the ablation. (Hematoxilin & eosin,  $\times 200$ )

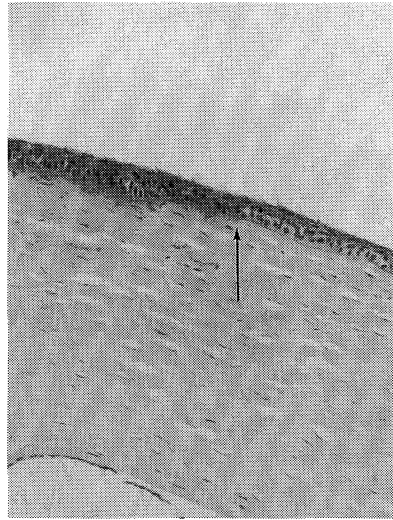


Fig. 12. A light microscopic photograph of a rabbit cornea that had undergone PRK 6 D without a transition zone. At 1 month after ablation. Arrow shows the margin of the ablation. (Hematoxilin & eosin,  $\times 200$ )

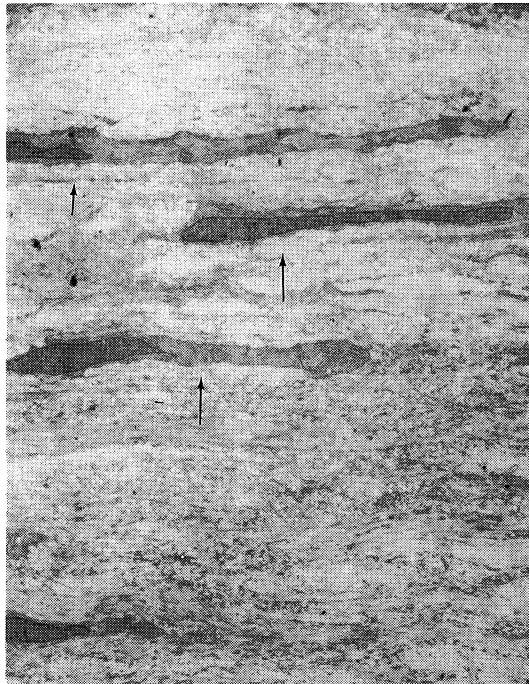


Fig. 13. A transmission electron microscopic photograph of a rabbit cornea that had undergone PRK 12 D. At 3 months after ablation. Active fibroblasts are evident (arrows). ( $\times 5000$ )



Fig. 14. A transmission electron microscopic photograph of a rabbit cornea that had undergone PRK 3 D. At 3 months after ablation. Linear electron-dense material is evident (arrows) in Descemet's membrane. ( $\times 6000$ )

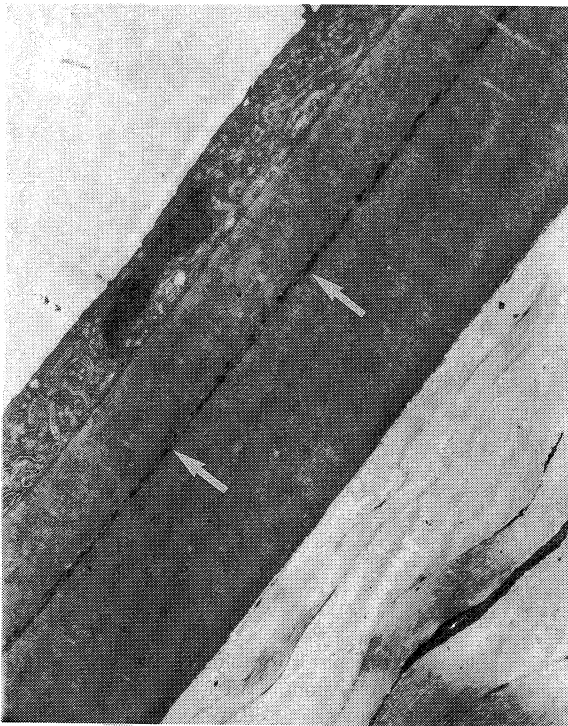


Fig. 15. A transmission electron microscopic photograph of a rabbit cornea that had undergone PRK 12 D. At 3 months after ablation. Linear electron-dense material is seen (arrows) in Descemet's membrane. ( $\times 6000$ )