

TABLE 1. Total Number of 266 Ocular Clinical Isolates

Bacteria	No. of isolates
All isolates	266 (100%)
Gram-positive species	258 (97.0%)
α -Hemolytic streptococci	43
<i>Staphylococcus aureus</i>	56
Methicillin-sensitive <i>S. aureus</i>	48
Methicillin-resistant <i>S. aureus</i>	8
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	140
Methicillin-sensitive <i>S. epidermidis</i>	59
Methicillin-resistant <i>S. epidermidis</i>	81
<i>Enterococcus faecalis</i>	14
Others	5
Gram-negative species	8 (3.0%)
<i>Pseudomonas</i> species	6
Others	2

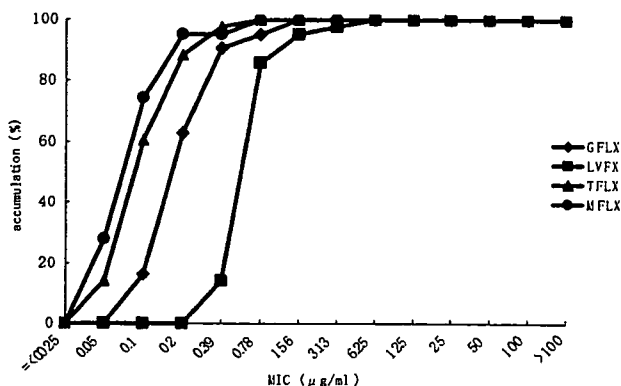


FIG. 1. The accumulation curves of the minimum inhibitory concentration (MIC) of the four fluoroquinolones against α -hemolytic streptococci ($n = 43$). Circle, moxifloxacin; triangle, tosufloxacin; diamond, gatifloxacin; square, levofloxacin.

for intraocular surgery at National Tokyo Medical Center from December 2004 to November 2005. The principles of the World Medical Association Declaration of Helsinki were followed. Each subject received a thorough explanation of the purpose of the study and all procedures involved in the study and provided written informed consent before enrollment. Approval for this investigation was granted by the Committee for the Protection of Human Subjects of National Tokyo Medical Center.

Scrapes of the inferior conjunctival fornix were taken preoperatively by using a sterile cotton swab without a topical anesthetic. The samples were immediately inoculated into the heart infusion bouillon, incubated for 24 hours at 37°C, and then inoculated into blood agar and MacConkey agar before incubating again for 24 hours at 37°C. Positive cultures were stored at -80°C until broth

dilution testing to determine the minimum inhibitory concentration (MIC).

For the broth dilution testing, frozen microdilution MIC plates with gatifloxacin, levofloxacin, tosufloxacin, and moxifloxacin were prepared according to the recommendations in the Clinical and Laboratory Standards Institute's Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing.¹¹ In this method, the concentration of antibiotic remains constant in each well, so organisms are exposed to identical concentrations for the duration of the test. Fluoroquinolone concentration ranged from 0.025 to 100 $\mu\text{g/mL}$.

The MIC of oxacillin (MIPIC) was also determined by the same method for *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*. When the MIC was greater than 4 $\mu\text{g/mL}$ for *S. aureus* and 0.5 $\mu\text{g/mL}$ for *S. epidermidis*, the strain was classified as methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) or methicillin-resistant *S. epidermidis* (MRSE).¹¹

RESULTS

Bacterial Isolates From Conjunctival Flora

Table 1 shows the type and frequency of the 266 ocular clinical isolates. Of the total 266 isolates, 258 (97.0%) strains were gram-positive and eight (3.0%) strains were gram-negative. *S. epidermidis* was the most common form of gram-positive bacteria with 140 strains, followed by 56 strains of *S. aureus*, 43 strains of α -hemolytic streptococci, and 14 strains of *Enterococcus faecalis*. Six of the eight strains of gram-negative bacteria were *Pseudomonas* species.

Antibacterial Activity of Fluoroquinolones

Figure 1 shows the MIC accumulation curves for the four study agents against α -hemolytic streptococci. The MIC₉₀ values of gatifloxacin, levofloxacin, tosufloxacin, and moxifloxacin were 0.39 $\mu\text{g/mL}$, 1.56 $\mu\text{g/mL}$, 0.39 $\mu\text{g/mL}$, and 0.20 $\mu\text{g/mL}$, respectively (Table 2). All strains of α -hemolytic streptococci were susceptible to all four study agents.

Figure 2 shows the MIC accumulation curves for the four study agents against *S. aureus*. Fifty-six isolates of *S. aureus* contained eight MRSA strains. The MIC₉₀ values of gatifloxacin, levofloxacin, tosufloxacin, and moxifloxacin were 1.56 $\mu\text{g/mL}$, 3.13 $\mu\text{g/mL}$, 0.78 $\mu\text{g/mL}$, and 0.78 $\mu\text{g/mL}$, respectively (Table 2). Almost all *S. aureus* strains susceptible to MIPIC were also susceptible to all four study agents, whereas MRSA strains were resistant to all four fluoroquinolones in general.

Figure 3 shows the MIC accumulation curves for the four study agents against *S. epidermidis*. One hundred forty isolates of *S. epidermidis* contained 81 MRSE strains. The accumulation curves of the MICs of all four fluoroquinolones were not linear but

TABLE 2. The Minimum Inhibitory Concentration of Four Fluoroquinolones Against Bacterial Isolates

Bacteria	MIC ₉₀ , $\mu\text{g/mL}$ (range of MIC)			
	Gatifloxacin	Levofloxacin	Tosufloxacin	Moxifloxacin
α -Hemolytic streptococci ($n = 43$)	0.39 (0.1–1.56)	1.56 (0.39–6.25)	0.39 (0.05–0.78)	0.20 (0.05–0.78)
<i>Staphylococcus aureus</i> ($n = 56$)	1.56 (0.05–50)	3.13 (0.1–>100)	0.78 (\leq 0.025–25)	0.78 (\leq 0.025–50)
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ($n = 140$)	1.56 (0.05–12.5)	3.13 (0.1–25)	3.13 (\leq 0.025–12.5)	0.78 (\leq 0.025–12.5)
<i>Enterococcus faecalis</i> ($n = 14$) ^a	0.39 (0.39–25)	1.56 (0.78–25)	0.2 (0.2–12.5)	0.2 (0.2–12.5)
<i>Pseudomonas</i> species ($n = 6$) ^a	0.78 (0.39–1.56)	0.78 (0.39–1.56)	0.2 (0.2–0.39)	1.56 (0.78–3.13)

^aFor *Enterococcus faecalis* and *Pseudomonas* species, the medians of the minimum inhibitory concentration (MIC) are listed because of insufficient sample numbers.

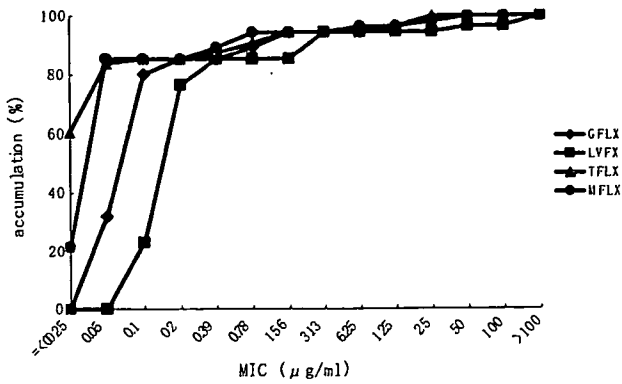


FIG. 2. The accumulation curves of the minimum inhibitory concentration (MIC) of the four fluoroquinolones against *Staphylococcus aureus* ($n = 56$). Triangle, tosufloxacin; circle, moxifloxacin; diamond, gatifloxacin; square, levofloxacin.

sigmoid and suggested the presence of drug-resistant strains. The MIC₉₀ values of gatifloxacin, levofloxacin, tosufloxacin, and moxifloxacin were 1.56 µg/mL, 3.13 µg/mL, 3.13 µg/mL, and 0.78 µg/mL, respectively (Table 2).

The MICs of fluoroquinolones and MPIPc were compared against *S. aureus* and *S. epidermidis*. The MIC of each fluoroquinolone was closely correlated with that of MPIPc for *S. aureus*, suggesting that MRSA was resistant to each fluoroquinolone. In contrast, there was no correlation between the MICs of MPIPc and the fluoroquinolones against *S. epidermidis* (Table 3).

DISCUSSION

One possible limitation of the current study is that samples originated from conjunctival cultures obtained from patients scheduled for intraocular surgery. Samples therefore should be regarded as conjunctival flora rather than ocular pathogens, because the patients did not have bacterial diseases at the time of sampling. However, in common ocular infections, such as bacterial conjunctivitis and bacterial keratitis, pathogens are frequently the normal bacterial flora residing on the ocular surface,^{12,13} even in cases of postoperative endophthalmitis, which is an infrequent but devastating form of ocular infection.¹⁴ In one study, organisms isolated from the vitreous were genetically identical to those collected from the ocular surface in 68% to 82% of patients with

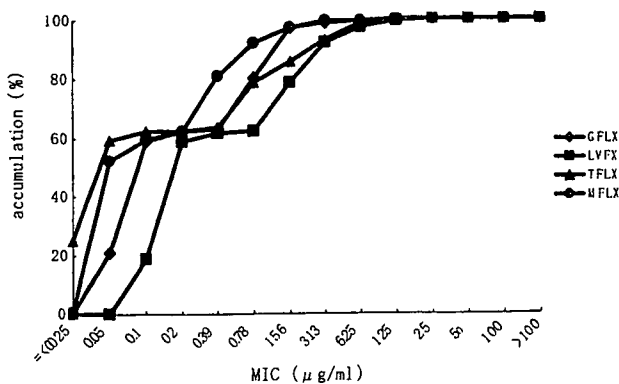


FIG. 3. The accumulation curves of the minimum inhibitory concentration (MIC) of the four fluoroquinolones against *Staphylococcus epidermidis* ($n = 140$). Triangle, tosufloxacin; circle, moxifloxacin; diamond, gatifloxacin; square, levofloxacin.

TABLE 3. Correlation Between the Minimum Inhibitory Concentration of Four Fluoroquinolones and Oxacillin Against *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*

Correlation versus oxacillin	Coefficient (P value)			
	Gatifloxacin	Levofloxacin	Tosufloxacin	Moxifloxacin
<i>Staphylococcus aureus</i> ($n = 56$)	0.85 ^a	0.88 ^a	0.85 ^a	0.84 ^a
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ($n = 140$)	0.37	0.11	0.34	0.33

^aP<0.0001.

postoperative endophthalmitis,¹⁵ suggesting it is a valid approach to study in vitro susceptibility of bacteria isolated from conjunctival flora to various fluoroquinolones.

A serious concern is a drug resistance. In the current study, fluoroquinolones and MPIPc were compared with respect to their MICs against *S. aureus* and *S. epidermidis*. In *S. aureus*, the MICs of each fluoroquinolone were closely related to those of MPIPc, suggesting that MRSA was also insusceptible to most fluoroquinolones. Therefore, when ocular pathogens are identified as MRSA, the use of fluoroquinolones, even gatifloxacin and moxifloxacin, are not recommended for treatment. In contrast, there was no relationship between the MICs of MPIPc and the fluoroquinolones for *S. epidermidis*. These results indicate that some strains of *S. epidermidis* are not susceptible to fluoroquinolones, regardless of their susceptibility to MPIPc. Differences between *S. aureus* and *S. epidermidis* may be of interest when studying drug resistance mechanisms.

This study also found that some strains of *S. epidermidis* were highly resistant to levofloxacin and tosufloxacin, but not to moxifloxacin and gatifloxacin. These strains were considered to be low-level fluoroquinolone-resistant bacterial isolates. These data may favor the selection of moxifloxacin and gatifloxacin, rather than levofloxacin or tosufloxacin, for prophylactic use or the treatment of ocular infections.

In this study, newer fluoroquinolones showed more potent antibacterial activity than levofloxacin, the fluoroquinolone most commonly used in Japan. The current results support the contention that the fourth-generation fluoroquinolones have enhanced activity against gram-positive bacteria while retaining potency against most gram-negative bacteria. These newer fluoroquinolones have also improved penetration into the ocular tissue.¹⁰ Increased in vivo efficacy of these newer fluoroquinolones in some animal models of ocular infections have also been reported.¹⁶ Some caution, however, should be exercised when interpreting the data presented. The success or failure of a given therapy is not necessarily predicted by MIC₉₀ values, because the MIC₉₀ determined through in vitro assays may not directly correlate with clinical results. The actual efficacy of these newer fluoroquinolones remains to be defined by clinical outcomes. The data of the current study may be used to predict relative in vivo potency among the fluoroquinolones.

REFERENCES

1. O'Brien TP. Bacterial keratitis. In: Krachmer JH, Mannis MJ, Holland EJ, eds. *Cornea and External Disease: Clinical Diagnosis and Management*, vol. II. St. Louis, Mosby-Year Book, 1997, pp 1139-1190.

2. Neu HC. Microbiologic aspects of fluoroquinolones. *Am J Ophthalmol* 1991;112:S15-S24.
3. Leibowitz HM. Clinical evaluation of ciprofloxacin 0.3% ophthalmic solution for treatment of bacterial keratitis. *Am J Ophthalmol* 1991; 112:S34-S47.
4. O'Brien TP, Maquire MG, Fink NE, et al. Efficacy of ofloxacin versus cefazolin and tobramycin in the therapy for bacterial keratitis: Report from the Bacterial Keratitis Study Research Group. *Arch Ophthalmol* 1995;113:1257-1265.
5. Hyndiuk RA, Eiferman RA, Caldwell DR, et al. Comparison of ciprofloxacin ophthalmic solution 0.3% to fortified tobramycin-cefazolin in treating bacterial corneal ulcers. *Ophthalmology* 1996;103: 1854-62.
6. Chalita MG, Hüfling-Lima AN, Paranhos A, et al. Shifting trends in in vitro antibiotic susceptibilities for common ocular isolates during period of 15 years. *Am J Ophthalmol* 2004;137:43-51.
7. Goldstein MH, Kowalski RP, Gordon YJ. Emerging fluoroquinolone resistance in bacterial keratitis. *Ophthalmology* 1999;106:1313-1318.
8. Kurokawa N, Hayashi K, Konishi M, et al. Increasing ofloxacin resistance of bacterial flora from conjunctival sac of preoperative ophthalmic patients in Japan. *Jpn J Ophthalmol* 2002;46:586-589.
9. Sakurai M, Hayashi K, Obazawa M, et al. Levofloxacin-resistant bacteria in conjunctival flora of patients undergoing intraocular surgery [in Japanese]. *J Eye* 2005;22:97-100.
10. Hwang DG. Fluoroquinolone resistance in ophthalmology and the potential role for newer ophthalmic fluoroquinolones. *Surv Ophthalmol* 2004;49:S79-S83.
11. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: Sixteenth informational supplement*. 2006;25:M100-S16.
12. Graves A, Henry M, O'Brien TP, et al. In vitro susceptibilities of bacterial ocular isolates to fluoroquinolones. *Cornea* 2001;20:301-305.
13. Stern GA. Contact lens associated bacterial keratitis: Past, present and future. *CLAO J* 1998;24:52-56.
14. Liesegang TJ. Use of antimicrobials to prevent postoperative infection in patients with cataract. *Curr Opin Ophthalmol* 2001;12:68-74.
15. Han DP, Wisniewski SR, Wilson LA, et al. Spectrum and susceptibilities of microbiologic isolates in the endophthalmitis vitrectomy study. *Am J Ophthalmol* 1996;122:1-17.
16. Tungsiripat T, Sarayba MA, Kaufman MB, et al. Fluoroquinolone therapy in multiple-drug resistant staphylococcal keratitis after lamellar keratectomy in a rabbit model. *Am J Ophthalmol* 2003; 136:76-81.

結膜嚢から分離されたブドウ球菌に対する二変量ノンパラメトリック密度を用いた薬剤感受性分布解析

羽藤 晋^{*1} 南川洋子^{*2} 山田昌和^{*1}

^{*1} 国立病院機構東京医療センター感覚器センター ^{*2} 千寿製薬株式会社

Antimicrobial Susceptibility Analysis of *Staphylococcus* Found in the Conjunctival Sacs Using Two-way Nonparametric Density Contours for Scatterplots

Shin Hatou¹⁾, Yoko Minagawa²⁾ and Masakazu Yamada¹⁾

¹⁾ National Institute of Sensory Organs, National Tokyo Medical Center, ²⁾ SENJU Pharmaceutical Co., Ltd.

目的：抗菌薬の細菌群に対する抗菌力の指標としては、ディスク法で感受性を示す菌株の割合や、最小発育阻止濃度 (MIC) から作成される累積発育阻止曲線および MIC₅₀, MIC₉₀ などが用いられてきた。今回、オキサシリン (MIPIC) と各種フルオロキノロン剤 [FQ 剤：ガチフロキサシン (GFLX), レボフロキサシン (LVFX), トスフロキサシン (TFLX), モキシフロキサシン (MFLX)] の MIC 値を用いて新しい三次元的な薬剤感受性の評価を試みた。方法：東京医療センターで術前患者の結膜嚢から分離された 56 株の黄色ブドウ球菌と 140 株の表皮ブドウ球菌を対象とした。各 FQ 剤の MIC を X 軸, MIPIC の MIC を Y 軸とし、散布図を二変量ノンパラメトリック密度に変換し等高線パターンを描出した。FQ 剤同士についても同様の方法で描出した。結果：黄色ブドウ球菌ではどの FQ 剤も MIPIC と交差耐性を示した。表皮ブドウ球菌は MIPIC と FQ 剤の感受性の差から細菌株が 5 群に群別され、交差耐性は認められなかった。FQ 剤同士での検討では黄色ブドウ球菌、表皮ブドウ球菌ともに交差耐性を示した。結論：本方法は薬剤感受性の分布が三次元的に描出でき、感受性分布の違いや交差耐性の判定に応用できる解析法と考えられた。

Susceptibilities of bacterial species have been determined using the disc diffusion method or minimum inhibitory concentrations (MIC). We demonstrated a new three-dimensional analysis of susceptibilities using the MIC of oxacillin (MIPIC) and fluoroquinolones (gatifloxacin : GFLX, levofloxacin : LVFX, tosofloxacin : TFLX, moxifloxacin : MFLX). We retrospectively reviewed the database on 56 isolates of *Staphylococcus aureus* and 140 isolates of *Staphylococcus epidermidis* found in the conjunctival sacs of patients at National Tokyo Medical Center. Scatterplots were made comparing the MIC of MIPIC (Y-axis) to the MIC of fluoroquinolones (X-axis), and were then represented by two-way nonparametric density contours. The scatterplots comparing each fluoroquinolone were also represented. On *Staphylococcus aureus*, scatterplots revealed cross-resistance between MIPIC and each fluoroquinolone. On *Staphylococcus epidermidis*, isolates distributed into 5 groups, and cross-resistance was not obvious between MIPIC and fluoroquinolones. On both *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*, cross-resistance was confirmed between each fluoroquinolone. This method can be used to analyze three-dimensional susceptibility distribution or cross-resistance.

(Atarashii Ganka (Journal of the Eye) 24(5) : 663~667, 2007)

Key words : 結膜, 薬剤感受性, フルオロキノロン, 黄色ブドウ球菌, 表皮ブドウ球菌, conjunctiva, drug susceptibility, fluoroquinolones, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*.

はじめに

抗菌薬に対する細菌の薬剤感受性検査とその判定法には、おもにディスク法や最小発育阻止濃度 (minimum inhibitory

concentration : MIC) の測定が用いられている。ディスク法では楽天培地での発育阻止円直径を測定し, sensitive, intermediate, resistant を定性的に判定する¹⁾。MIC は楽天

〔別刷請求先〕 羽藤 晋 : 〒152-8902 東京都目黒区東が丘 2-5-1 国立病院機構東京医療センター感覚器センター

Reprint requests : Shin Hatou, M.D., National Institute of Sensory Organs, National Tokyo Medical Center, 2-5-1 Higushigaoka, Meguro-ku, Tokyo 152-8902, JAPAN

平板希釈法や微量液体希釈法により測定され、細菌の薬剤感受性を定量的に表すことができる^{2,3)}。

個々の細菌株の薬剤感受性ではなく、細菌群の薬剤感受性の指標としては、ディスク法で感受性を示す菌株の割合や、MICから作成される累積発育阻止曲線が用いられている。累積発育阻止曲線は細菌群の薬剤感受性を視覚的に評価することができるだけでなく、MIC₅₀、MIC₉₀などを指標にして抗菌力の強さを示すことも可能である。

しかし、細菌群の薬剤感受性による分布傾向や極致の薬剤に対する薬剤感受性の評価については、従来の方法では表現が困難であった。今回、これらを視覚的に表現する新しい解析方法として、ノンパラメトリック密度を用いた等高線パターンによる薬剤感受性分析の試みを行ったので報告する。

I 対象および方法

国立病院機構東京医療センターで2004年11月から2005年7月に、眼手術の術前検査として結膜囊細菌培養検査を行った症例のうち、178例196眼(6~91歳)から分離された

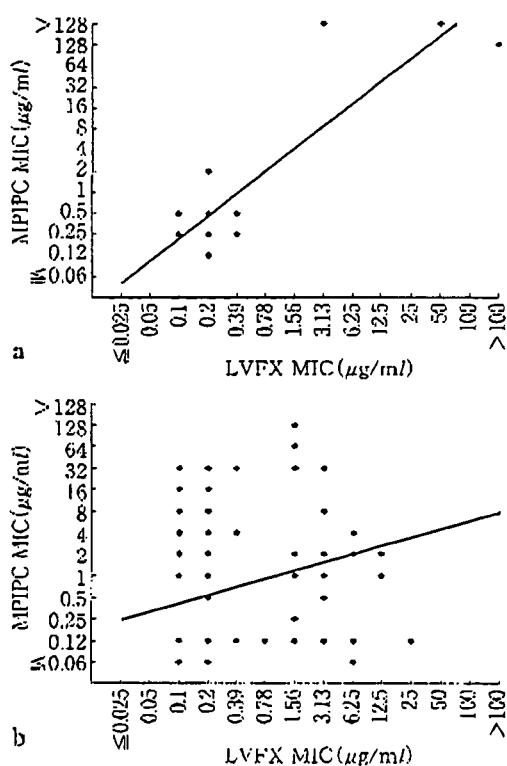


図1 オキサリリン(MPIPC)とフルオロキノロン剤(ここではLVFX)のMICを比較する散布図

a: 黄色ブドウ球菌, b: 表皮ブドウ球菌。LVFXのMICを対数でX軸に、MPIPCのMICを同じく対数でY軸にとり作成した。グラフ内の直線は回帰直線。相関係数は a: $r^2=0.729$, b: $r^2=0.117$ 。

黄色ブドウ球菌56株、表皮ブドウ球菌140株を対象とした。

各菌株を用いて、ガチフロキサシン(GFLX)、レボフロキサシン(LVFX)、トスフロキサシン(TFLX)、モキシフロキサシン(MFLX)の4種のフルオロキノロン剤について、日本化学療法学会標準法に基づき希釈系列0.025~100 μg/ml(TFLXの希釈系列のみ薬剤の溶解性により0.025~25 μg/ml)の寒天平板希釈法によってMICを測定した。また、オキサリリン(MPIPC)のMICはClinical and Laboratory Standards Institute(CLSI)の規定に基づき希釈系列0.06~128 μg/mlで測定した。CLSIの規定に基づき、黄色ブドウ球菌についてはオキサリリンのMICが4 μg/ml以上のものをメチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)、2 μg/ml以下のものをメチシリン感受性黄色ブドウ球菌(MSSA)とした⁴⁾。同様に、表皮ブドウ球菌については0.5 μg/ml以上のものをメチシリン耐性表皮ブドウ球菌(MRSE)、0.25 μg/ml以下のものをメチシリン感受性表皮ブドウ球菌(MSSE)と判定した⁴⁾。

黄色ブドウ球菌あるいは表皮ブドウ球菌について、比較する薬剤(例:LVFX)のMICを対数でX軸に、指標とする薬剤(例:MPIPC)のMICを同じく対数でY軸にとり散布図を作成した(図1a, b)。この散布図を基に二変量ノンパラメトリック密度の密度分布を等高線パターンで描出した。等高線パターンの描出および統計処理には、SAS社製JMP6を用いた。

II 結果

1. 黄色ブドウ球菌における薬剤感受性分布

黄色ブドウ球菌に関して、MPIPCのMICをY軸にとり、各フルオロキノロン剤のMICをX軸にとって、二変量ノンパラメトリック密度の等高線パターンを描出した図を示す(図2)。MSSAについては各フルオロキノロン剤の感受性も良好(MIC<0.39 μg/ml)で、MRSAについては各フルオロキノロン剤の感受性も不良(MIC≥0.39 μg/ml)である傾向が明らかに示されている。相関係数を求めるとGFLXで $r^2=0.723$ 、LVFXで $r^2=0.729$ 、TFLXで $r^2=0.769$ 、MFLXで $r^2=0.707$ という値であった。黄色ブドウ球菌に関してMPIPCと各フルオロキノロン剤の感受性には有意の高い正の相関があり、すなわち交差耐性があることが示された。

2. 表皮ブドウ球菌における薬剤感受性株分布

表皮ブドウ球菌に関して同様に、MPIPCのMICをY軸にとり、各フルオロキノロン剤のMICをX軸にとって、二変量ノンパラメトリック密度の等高線パターンを描出した図を示す(図3)。MPIPCと各フルオロキノロン剤の感受性は単純な相関を示さず、図内で計5つのグループに分かれる様子が描出された。

フルオロキノロン剤の感受性が良好(MIC<0.39 μg/ml)

図2 二変量ノンパラメトリック密度の等高線パターンを用いて表した黄色ブドウ球菌のMPIPICとフルオロキノロン剤とのMIC分布の比較
赤線は回帰直線。相関係数はGFLX: $r^2=0.723$, LVFX: $r^2=0.729$, TFLX: $r^2=0.769$, MFLX: $r^2=0.707$ 。
黄色ブドウ球菌では、MPIPICとフルオロキノロン剤とは交差耐性を示し、MSSAではフルオロキノロン剤の感受性もよく(A)、MRSAではフルオロキノロン剤の感受性も不良である(B)。

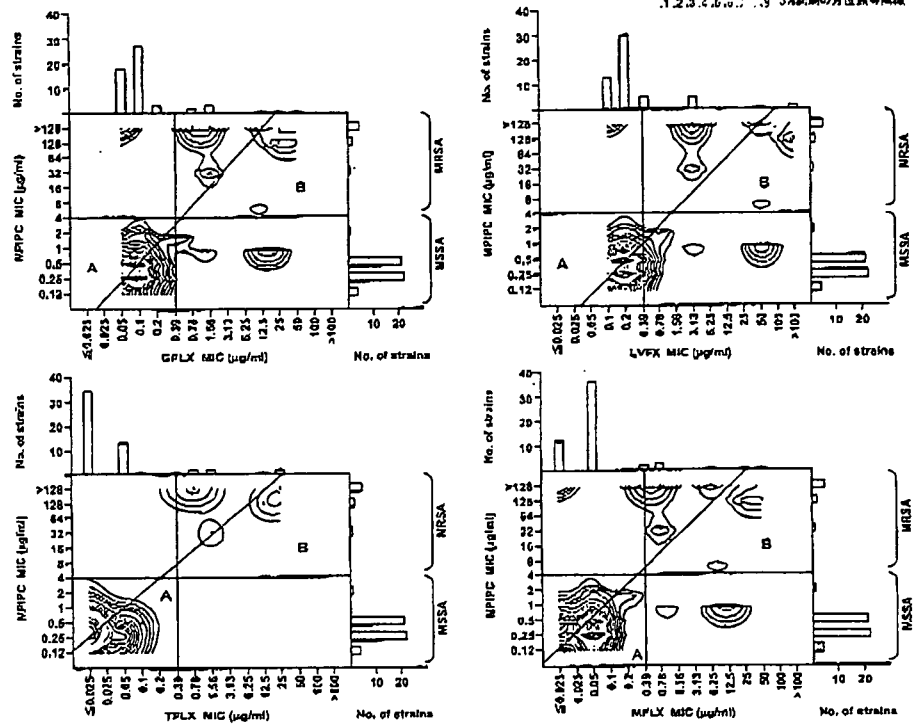
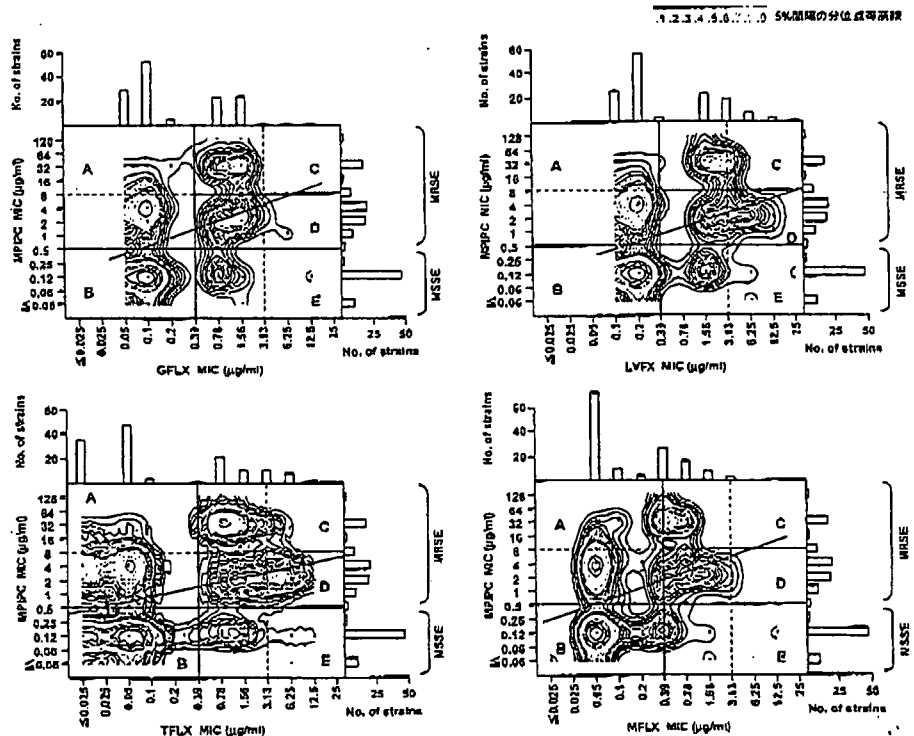


図3 二変量ノンパラメトリック密度の等高線パターンを用いて表した表皮ブドウ球菌のMPIPICとフルオロキノロン剤とのMIC分布の比較
赤線は回帰直線。相関係数はGFLX: $r^2=0.135$, LVFX: $r^2=0.117$, TFLX: $r^2=0.113$, MFLX: $r^2=0.108$ 。
表皮ブドウ球菌では、MPIPICとフルオロキノロン剤とは交差耐性を示さず、細菌株はAからEの5群に群別される。MPIPIC、フルオロキノロン剤ともに感受性不良であるC、D群についてみるとGFLXとMFLXはMIC<3.13 $\mu\text{g/ml}$ にとどまるが、LVFXとTFLXはMIC \geq 3.13 $\mu\text{g/ml}$ の領域に分布している。



である領域にはMPIPICの感受性が不良であるMRSE (0.5 $\mu\text{g/ml} \geq \text{MIC}$)の群と、良好であるMSSE (MIC < 0.5 $\mu\text{g/ml}$)の群の2群がみられた。フルオロキノロン剤の感受性が

不良 (MIC $\geq 0.39 \mu\text{g/ml}$) である領域には、MRSEのうちMPIPIC感受性がきわめて不良 (MIC $\geq 8.0 \mu\text{g/ml}$)の群と、それ以下 (0.5 $\mu\text{g/ml} \leq \text{MIC} < 8.0 \mu\text{g/ml}$)の群、MSSE (MIC

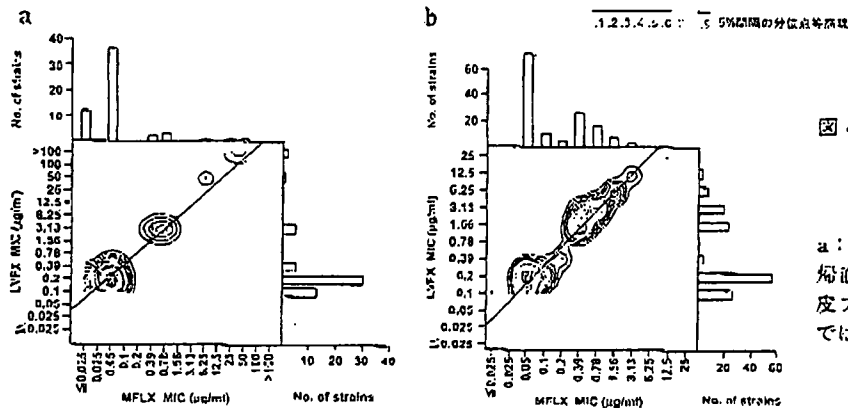


図4 二変量ノンパラメトリック密度の等高線パターンを用いて表したフルオロキノロン剤同士のMIC分布の比較の例(X軸:MFLX, Y軸:LVFX)
 a: 黄色ブドウ球菌, b: 表皮ブドウ球菌, 赤線は回帰直線, 相関係数は黄色ブドウ球菌: $r^2=0.876$, 表皮ブドウ球菌: $r^2=0.946$. フルオロキノロン剤同士では高い交差耐性があることを示している.

<0.5 µg/ml) の群の3群がみられた。表皮ブドウ球菌においては黄色ブドウ球菌でみられたようなMIPICとフルオロキノロン剤との高い正の相関はみられず、交差耐性はないことが示された。MIPICにもフルオロキノロン剤にも感受性が不良である群について各フルオロキノロン剤で比較すると、そのなかではGFLXとMFLXはMIC<3.13 µg/mlにとどまるが、LVFXとTFLXはMIC≥3.13 µg/mlを超えて分布する菌株がみられた。

3. フルオロキノロン剤同士での感受性の比較

フルオロキノロン剤同士の感受性を比較するためにフルオロキノロン剤同士をX軸とY軸にとって、二変量ノンパラメトリック密度の等高線パターンを描出した。例としてLVFXとMFLXについての黄色ブドウ球菌および表皮ブドウ球菌の感受性の分布を図4に示す。黄色ブドウ球菌、表皮ブドウ球菌いずれの場合でも両者には正の相関がみられ、交差耐性があることを示している。今回検討した4種類のフルオロキノロン剤のいずれの組み合わせの場合も正の相関がみられ、フルオロキノロン剤同士では交差耐性があることが示された。

III 考 按

細菌に対する薬剤感受性検査とその判定法には、おもにディスク法やMICの測定が用いられてきた。ディスク法はKirby-Bauer法が広く用いられており、これはMueller-Hinton 寒天培地を使用し、35°Cで24時間培養後、対象薬剤含有のディスク周囲の発育阻止円直径でsensitive, intermediate, resistantを定性的に判定する方法である¹⁾。個々の細菌株について多種の薬剤感受性を評価するのに簡便かつ有用であり、臨床の現場で広く用いられている。MICの測定はわが国では日本化学療法学会標準法による寒天平板希釈法や微量液体希釈法が用いられている。前者は対象薬剤の濃度を調整した寒天平板培地を用い、後者は液体のMueller-Hinton broth (2% NaCl, Ca²⁺ 50 mg/l, Mg²⁺ 25 mg/l を含む) を用いる。35°Cで24時間培養し発育阻止される最小濃度を

MICと測定する^{2,3)}。

MICの測定は定量的な評価を行うことができるため、個々の細菌についての薬剤感受性の判定のみならず、細菌群に対してMICを測定すれば累積発育阻止曲線を描出することができ、細菌群の薬剤感受性の傾向を視覚的に評価することが可能である。さらに累積発育阻止曲線からMIC₈₀、MIC₉₀を測定することで、その薬剤の対象となる細菌群についての感受性を定量的に示すことも可能である。

しかし、細菌群の感受性による群別化や、分布傾向を調べるには、1種類の薬剤に対する累積発育阻止曲線を描出しただけでは評価が困難である。そこで2種類の薬剤のMICをX軸、Y軸に組み合わせることで細菌群の感受性分布を二次元的な散布図として描出した。散布図の各点においてはMICが同一の複数の菌株が重なっていることがあり、単純な散布図だけではその菌株の「重なり」、すなわち密度の評価ができない。そこで散布図上の点の密度にカーネル平滑化法という統計技法を施し、密度の分布をなだらかに曲線化して、等高線で同じ密度を結んで描出した。この方法を二変量ノンパラメトリック密度の等高線パターン描出とよぶが、本方法を用いることで2種類の薬剤のMICの二次元分布に菌株の密度の一次元を含めた三次元的な散布図として評価することが可能となった。

黄色ブドウ球菌群に関して、MIPIC对各种フルオロキノロン剤のノンパラメトリック密度の等高線パターンを描出したところ、高い相関係数を示し、MIPICと各フルオロキノロン剤は黄色ブドウ球菌について交差耐性があることが示された。言い換えるとMSSAに対しては各種フルオロキノロン剤の感受性が良好である一方、MRSAにはどのフルオロキノロン剤も感受性が不良であることを示すものである。MRSAはβラクタム系薬剤に耐性を示すだけでなく、フルオロキノロン系を含めた多剤に対して耐性を示すことが問題となっており⁵⁻⁸⁾、今回の結果もその傾向に一致するものであった。

MIPICの作用機序はpenicillin binding protein (PBP):

PBPにはPBP-1, -2, -3, -4の4種類がある)への結合を介した細胞壁阻害であり, MRSAのMIPIC薬剤耐性はMIPICとの結合の親和性が低いPBP2'というPBP2の代替酵素をつくることによる。PBP2'を産生する遺伝子は*mecA*遺伝子とよばれる。一方でフルオロキノロン剤の作用機序はDNA gyraseとtopoisomerase IVを標的としたDNA複製阻害であり, MIPICの作用機序とは異なるものである。異なる薬剤作用機序をもつMIPICとフルオロキノロン剤がなぜ黄色ブドウ球菌に関して交差耐性を有するのかは, 不明の点も多いが, フルオロキノロン耐性の主要遺伝子である*gyrA*が, MIPIC耐性の*mec*近傍に局在していることが背景にあると考えられている⁹⁾。今回の方法でグループ分けができた菌株について, これらの遺伝子を標的とした遺伝子解析を行えば, 機序の解明に重要な知見が得られる可能性がある。

表皮ブドウ球菌に関してはMIPICとフルオロキノロン剤の相関は低く, 今回は5つのグループに分類された結果となった。これはMRSAと異なり, MRSEでは*gyrA*と*mec*が離れて局在していることが関係するのかもしれない¹⁰⁾。表皮ブドウ球菌の5つのグループのうち, 臨床的に重要と考えられるのはMIPICにもフルオロキノロン剤にも感受性が不良であるグループであるが, この細菌群に注目して各種フルオロキノロン剤での分布図を比較すると, GFLXとMFLXに関してはMIC値が3.13 µg/mlを超える領域には菌株は分布していない一方で, 他の2剤はMIC値が3.13 µg/mlを超える領域にも菌株が分布していた。これまでの報告でも, フルオロキノロン剤の中で比較的新しく開発されたGFLXとMFLXについては, 表皮ブドウ球菌に対して耐性菌の出現が少ないことが知られている¹⁰⁻¹²⁾。

また, 臨床的に汎用されているディスク法による薬剤感受性試験は全身投与での血中濃度を基準にしているが, 点眼された抗菌薬は高濃度であるため深刺感受性試験で耐性とされても点眼投与が臨床的に効果を示すことがあるという報告もある¹³⁾。今回の分布図で比較したように, どの程度のMIC値まで分布の広がり示すかを比較して評価することは, 抗菌薬の選択に関して一つの参考になると考えられる。また, 今後こうした分布の違いを示す菌株においてDNA解析を行うことも薬剤耐性の機序を解明するうえで重要と考えられる。

今回の方法において, フルオロキノロン剤同士で感受性の分布傾向をみてみると, 黄色ブドウ球菌, 表皮ブドウ球菌ともに高い正の相関を示し, フルオロキノロン剤同士では交差耐性を示すことが確認された。この方法を応用すれば, 同系

統あるいは異なる系統の薬剤に関して交差耐性の有無の判定をすることも可能である。

今回用いた解析方法を行うためには, 統計処理に通常は30株以上の菌株数が必要になること, それぞれの菌株について目的とする抗菌薬のMICを求める必要があることなどの短所はあるが, 細菌群の薬剤感受性について, その分布傾向や群別を視覚的に表現できる利点があると考えられた。

文 献

- 1) 島田 啓, 村尾裕史: MRSAについて, MRSA 感染症と薬物治療のコツ, 第1版, p2-10, ミクス, 1999
- 2) 日本化学療法学会: 最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法再改訂について (1968年制定, 1974年改訂), *Chemotherapy* 29: 76-79, 1981
- 3) 日本化学療法学会: 微量液体希釈法によるMIC測定法—日本化学療法学会標準法, 最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法再改訂について, *Chemotherapy* 38: 103-105, 1990
- 4) Clinical and Laboratory Standards Institute: Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; sixteenth information supplement. Vol. 26, No. 3, M100-S16. Clinical and Laboratory Standards Institute, 2006
- 5) 嶺谷謙司, 竹花和夫: 当院分離MRSAの各種抗菌薬に対する感受性の5年間の年次推移, *Jpn J Antibiotics* 57: 196-203, 2004
- 6) 平野真理, 平野耕治: メチシリン耐性ブドウ球菌感染性角膜炎の治療経験, *臨床眼* 59: 565-569, 2005
- 7) 櫻井美晴, 山田昌和, 田中好彦ほか: 内眼手術術前患者の結膜表層細菌叢のレボフロキサシン耐性率, あたらしい眼科 22: 97-100, 2005
- 8) Kowalski RP, Pandya AN, Kurechak LM et al: An in vitro resistance study of levofloxacin, ciprofloxacin, and ofloxacin using keratitis isolates of *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*, *Ophthalmology* 108: 1826-1829, 2001
- 9) 山口恵三, 大野 章, 櫻谷綾子ほか: 2002年に全国52施設から分離された臨床分離株11475株の各種抗菌薬に対する感受性サーベイランス, *Jpn J Antibiotics* 58: 17-44, 2005
- 10) 笹田映子, 近藤典子, 桑原京子ほか: Gatifloxacinの組織学的検討, 日本化学療法学会雑誌 47: 48-56, 1999
- 11) 松崎 薫, 小山英明, 渡部恵美子ほか: 眼科領域における細菌感染症起炎菌のgatifloxacin感受性について, *Jpn J Antibiotics* 58: 45-49, 2005
- 12) 河野 茂, 山口恵三, 渡辺晋一ほか: モキシフロキサシンの基礎と臨床—レスピラトリーキノロンとしての特徴と役割, *Jpn J Antibiotics* 58: 431-444, 2005
- 13) 外岡千恵: MRSA角膜炎感染症, あたらしい眼科 19: 991-997, 2002

* * *

Q 治療用コンタクトレンズの適応と管理の 注意点について教えてください

■回答者 山田 昌和*

A

1. 治療用コンタクトレンズ装用の基本的な作用機序は角膜上皮の機械的保護作用にある。
2. 上皮びらんの予防や上皮の脱落の抑制効果が期待でき、疼痛の軽減や視力改善が図れる場合もある。
3. 通常の点眼治療に反応しない難治例を適応とすべきで、治療への理解や協力が得られない患者には用いない。
4. 合併症の発生予防には、ドライアイと感染に対する対応が重要となる。

はじめに

コンタクトレンズ装用がドライアイ、アレルギー性結膜炎、感染性角膜炎などさまざまな角結膜合併症の原因となることはよく知られている。しかし、逆説的なようだがコンタクトレンズを角膜疾患の治療に用いる場合も少なくなく、治療用コンタクトレンズとよばれている。ここではその適応と管理の注意点について述べる。

治療用コンタクトレンズのメリット

治療用コンタクトレンズの適応となる角膜疾患にはさまざまなものがあるが、通常の点眼治療などに反応しない症例が適応となる(表1)。治療用としてのコンタクトレンズの基本的な作用機序は、角膜上皮の機械的保護作用であり、bandage lens という別名にその特徴がよく

表1 治療用コンタクトレンズの適応

上眼瞼とのスペーサーとして
再発性上皮びらん、水疱性角膜症、上輪部角結膜炎など 上皮の脱落の抑制、創傷治癒や分化の促進
糸状角膜炎、遷延性上皮欠損、薬剤起因性上皮障害など
創傷部の保護
角膜移植術後、phototherapeutic keratectomy (PRK) 術後など
前房の保持
角膜潰瘍穿孔、穿孔切迫など

表現されている¹⁾。

再発性上皮びらんや水疱性角膜症では、上眼瞼と角膜の間にスペーサーとして入ることで接着の弱い上皮を保護し、上皮びらん発作を抑制することができる(図1)。上皮の脱落を抑制することで、創傷治癒や正常な上皮への分化を促す作用も期待できる(図2)。糸状角膜炎や上輪部角結膜炎、遷延性上皮欠損、薬剤起因性上皮障害などではこの効果を期待して用いられることが多い¹⁾。

やや副次的だが临床上重要な効果としては、レンズ装用によって疼痛が軽減され、視力の改善も得られる場合があることがあげられる。図3に緑内障点眼薬による薬剤起因性上皮障害の症例を示す。密度の濃い点状表層角膜症がみられ、矯正視力は0.1まで低下していた。この症例では治療用レンズを用いた直後に(0.6)まで視力が改善し、異物感も軽減した。薬剤起因性上皮障害であるために角膜上皮障害の消失までには3カ月を要したが、角膜所見の改善の前にとりあえず、視力回復と鎮痛効果が得られることは治療用レンズの大きなメリットと考え

* Masakazu Yamada : 東京医療センター感覚器センター

[別刷請求先] 山田昌和 : 〒152-8902 東京都目黒区東が丘2-5-1 東京医療センター感覚器センター

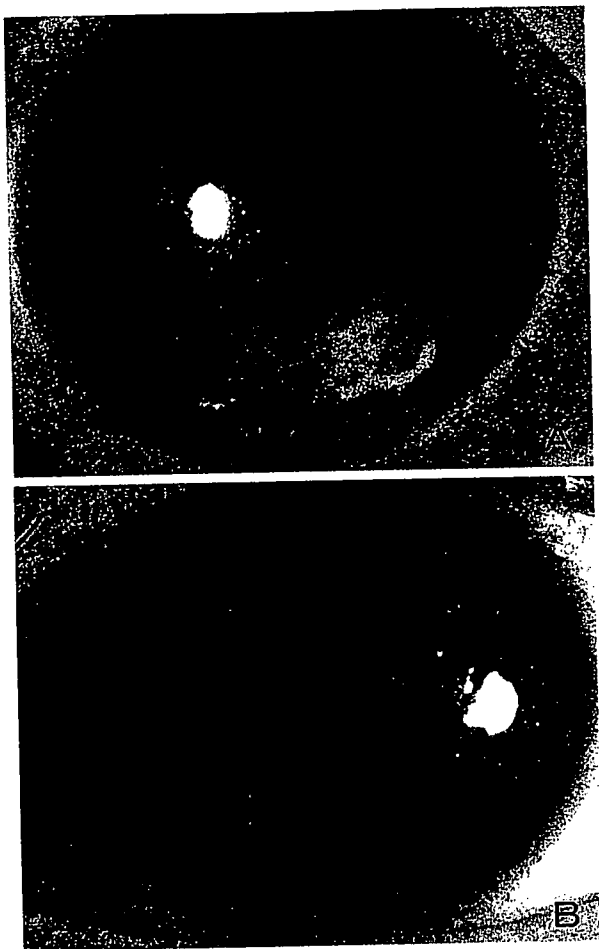


図1 脆弱な上皮の機械的保護作用

再発性上皮びらんや点眼や軟膏による治療に反応しない例(A)や格子状角膜ジストロフィで上皮びらんに繰り返す例(B)では、びらん発作の予防として治療用コンタクトレンズが適応となる。

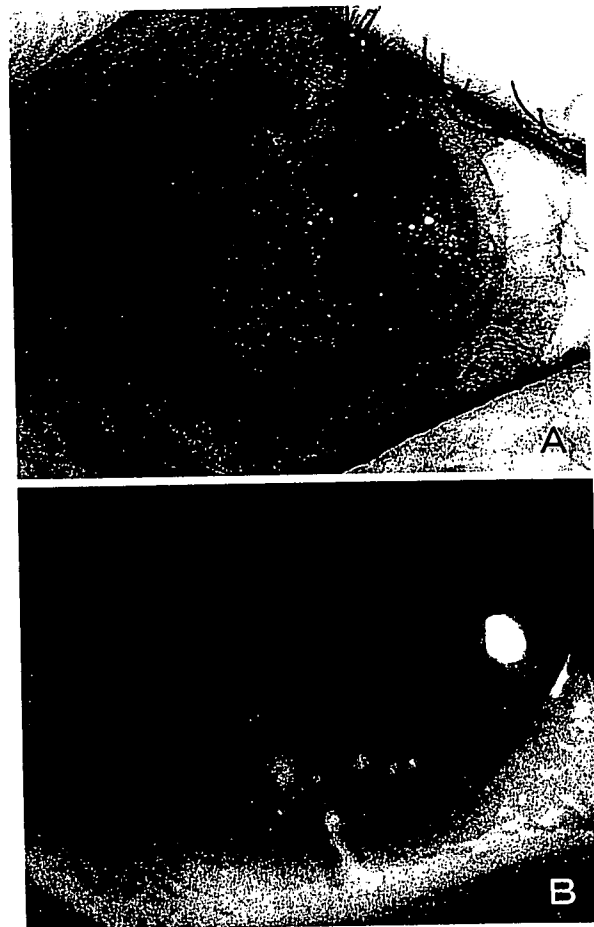


図2 上皮化や正常な分化の促進作用

遷延性上皮欠損(A)や糸状角膜炎(B)では、治療用コンタクトレンズにより上皮の脱落抑制による上皮化の促進、正常な分化が期待できる。

られる。

角膜移植術後や phototherapeutic keratectomy (PRK) 術後では、創傷部の保護とともに鎮痛効果を期待して用いられることが多い。また、角膜潰瘍穿孔例や穿孔切迫例には前房保持を期待して用いられることもある。この場合には、治療用レンズで前房を保持している間に原疾患の治療が奏効すれば、外科的治療を回避できることもある。

治療用コンタクトレンズのリスク管理

急性の単純性上皮びらの治療にコンタクトレンズを用いた論文が欧米では散見されるが、通常はあまり用いられない²⁾。これは単純性上皮びらんが数日以内に治癒

する予後良好な疾患であり、レンズ装用に伴うリスクがメリットを上回らないと判断されるからである。レンズのずれや脱落による原疾患の悪化の可能性に加えて、治療用レンズは連続装用で用いられるのが通例であり、就寝時の角膜酸素分圧の低下やレンズの固着による新たな角膜障害発生も懸念される³⁾。また、コンタクトレンズは連続装用で用いると感染性角膜炎の発症リスクが増大することが知られている⁴⁾。治療用コンタクトレンズを用いる場合には、これらの合併症のリスクについて常に注意を払う必要がある。

用いるコンタクトレンズとして問題となるのは、治療用として認可されているレンズは数種類しかなく、必ずしも酸素透過性が良好とはいえないことである。このために使い捨てコンタクトレンズや定期交換型レンズが使

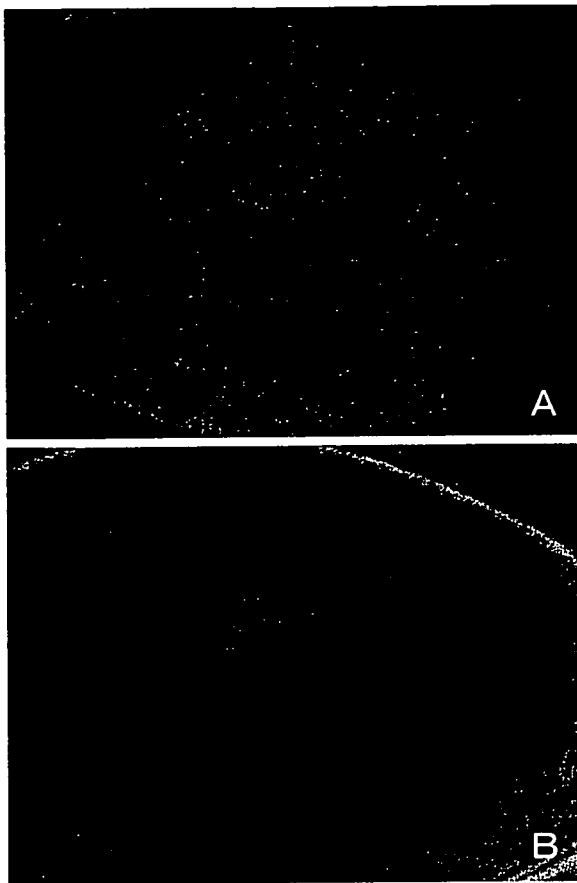


図3 視力や異物感の改善作用

密度の濃い点状表層角膜症のために矯正視力が0.1まで低下していた薬剤起因性上皮障害の例(A)では治療用レンズを用いた直後に(0.6)まで視力が改善し、異物感も軽減した。ただし、角膜上皮障害の消失までには3カ月の装用期間を要した(B)。

用されることが多いが^{1,5)}、認可されている用法ではないことを認識しておく必要がある。筆者はワンデーアキュビュー[®]またはO2 オプティクス[®]を用いることが多い。ワンデーアキュビュー[®]は装用感が良いのが利点であり、使いやすいレンズであるが、乾燥感が出やすく、ドライアイ合併例には使いにくい。O2 オプティク

ス[®]は酸素透過性が非常に高く、汚れにくい点など治療用レンズとして用いるのに有利な特性を持つが、固着に注意する必要がある。

合併症の発生を予防するには、ドライアイと感染に対する対応が重要と思われる。人工涙液やヒアルロン酸の点眼は、乾燥や固着の防止のために有用と思われる。ドライアイで涙液量が少なく、装用困難な場合には涙点プラグを用いて涙液量を増やしたうえで装用させるのも一つの手段である。また、感染予防として抗菌剤を処方する場合もあるが、薬剤起因性上皮障害や遷延性上皮欠損などでは点眼薬の薬剤毒性も考慮すべきであり、必ずしも必須ではないと考える。また、連続装用の期間が長くなると合併症への対応が遅れがちになるので、装用期間は原則的に1週間、長くても2週間程度にとどめるのが良いようである。

おわりに

以上、述べたように治療用コンタクトレンズは適応を間違えなければ、良好な治療効果を得ることができ、難治性角膜疾患治療のためにぜひ身につけておきたい治療手段の一つである。ただし、合併症のリスクもあるので、その対策を怠らないこと、治療への理解や協力が得られない患者には用いないことも重要と思われる。

文 献

- 1) 伏見典子, 糸井素純, 石川 隆ほか: 治療用コンタクトレンズ. 日コレ誌 43: 30-40, 2001
- 2) 山田昌和, 河合正孝, 真島行彦: 角膜上皮びらの治療法に関するメタアナリシス. 眼紀 52: 911-916, 2001
- 3) 山田昌和: コンタクトレンズと角膜の代謝機構. 日コレ誌 42: 182-186, 2001
- 4) 平沢 学, 山田昌和, 河合正孝ほか: 治療用コンタクトレンズの長期装用により生じた感染性角膜潰瘍の検討. 眼科 47: 1215-1219, 2005
- 5) 東原尚代: シリコンハイドロゲルコンタクトレンズの治療用コンタクトレンズとしての可能性. あたらしい眼科 22: 1339-1344, 2005

* * *

I 前眼部検査装置
1. 細隙灯顕微鏡

山田昌和

金原出版株式会社

1. 細隙灯顕微鏡

Slit-lamp biomicroscope

山田 昌和*

はじめに

細隙灯顕微鏡による観察は、眼科診療の基本となる検査であり、眼科を受診した患者に細隙灯顕微鏡検査を行わないことは稀なくらいである。細隙灯顕微鏡は基本的には前眼部・中間透光体の病変や異常所見を検出し、その程度や範囲、性状を把握するための生体顕微鏡であるが、その応用範囲は広い。フルオレセインなどの色素を用いて生体染色を施せば詳細に眼表面の状態を知ることができ、アプラネーショントノメータを用いれば眼圧を測定できるし、前置レンズや検査用コンタクトレンズを用いると網膜硝子体の病変の観察に用いることもできる。スペキュラーマイクロスコープやフレアセルメータなど細隙灯顕微鏡の原理や観察方法を用いて開発された検査機器も少なくない。

細隙灯顕微鏡検査はすべての眼科医が習熟すべき検査であり、さまざまな観察法や生体染色などテクニックを駆使すると、細隙灯顕微鏡だけでも非常に多くの生体情報を得ることができる。細隙灯顕微鏡検査には「習うより慣れよ」の側面もあるが、知らないとできない観察法も少なくない。ここでは、細隙灯顕微鏡の観察方法

について前眼部の病変を中心にして示すとともに、フルオレセインによる生体染色についても述べる。

1. 細隙灯顕微鏡の観察法

細隙灯顕微鏡での基本的な観察法を図1に示す。このなかには特に意識しなくても自然にできる観察法と意識しないと絶対にできない観察法がある。細隙灯顕微鏡を用いる際には、どの方法を用いると最も病変をよく把握できるか実際に試しながら観察するのが、上達のこつである。

1. 直接照明法

角膜や水晶体などの透光体を光学切片として観察する方法で、細隙灯顕微鏡の最も基本的な観察法のひとつである。観察する組織の厚みや奥行き、形状がわかるのが最大の特徴である。角膜の厚みや前房の深さなど奥行きの情報を与えてくれる(図2)。また角膜混濁や白内障などでは混濁の位置や深さを知ることがもできる。

直接照明法は、眼内炎症のパラメータである細胞やflareを観察する際に必須の方法であり、この場合には、前房内のスリット光の幅を細くし、できるだけ明るい光(overloadをかけられる機種ではかけたほうが観察しやすい)で観察を行う(図3)。

* Masakazu YAMADA 東京医療センター感覚器センター

Key words : 細隙灯顕微鏡, 角膜, フルオレセイン, slit-lamp biomicroscope, cornea, fluorescein

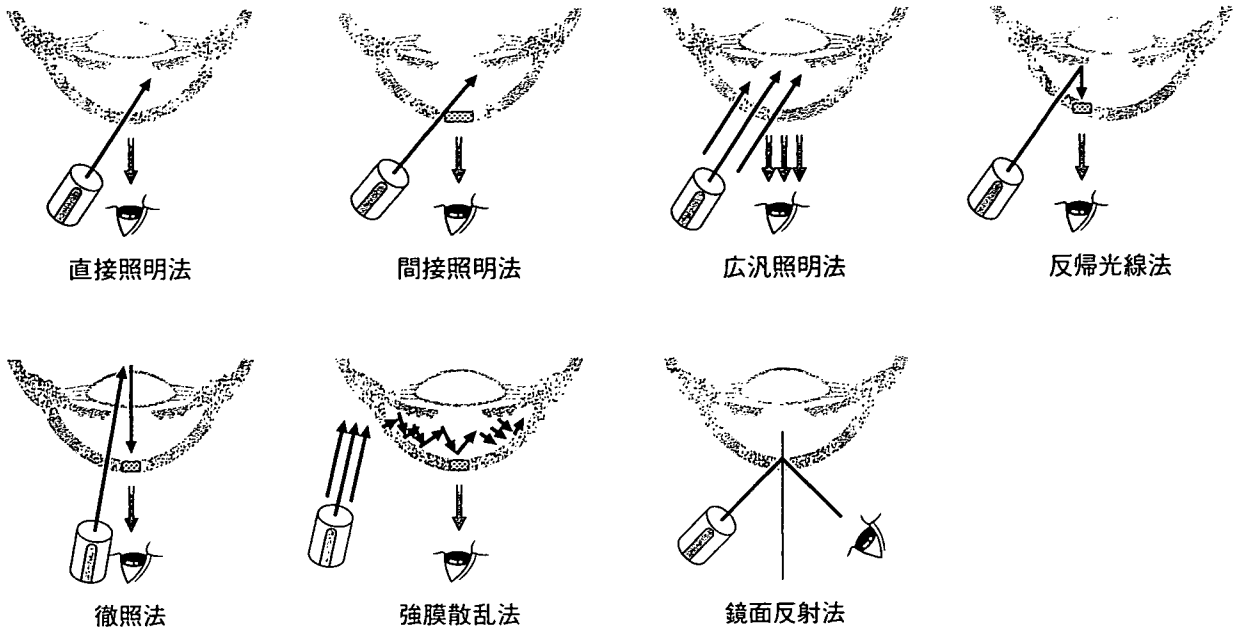


図1 細隙灯頭微鏡の観察法

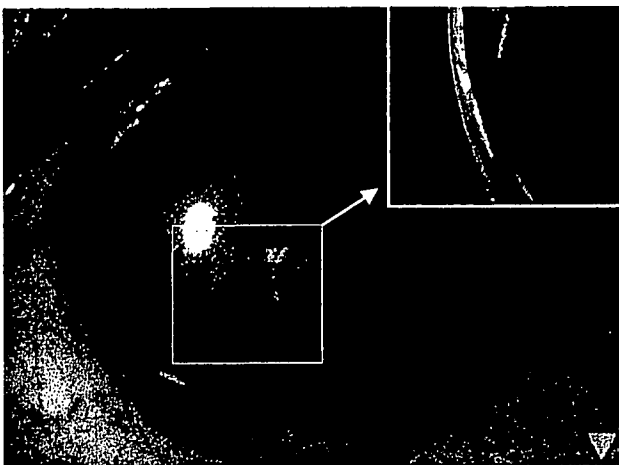


図2 直接照明法

症例は陈旧性の角膜白斑で点墨術を施されている。直接照明法では、虹彩前癒着が明らかとなる。奥行きや深さの情報を得るには直接照明法が必須である。

2. 間接照明法

スリット光が組織に当たった散乱光で、周囲の組織を観察する方法である。直接照明法のスリット光の幅を少しだけ拡げて観察すると間接照明が背景光代わりになって全体の位置関係が把握しやすくなる。実際には、こうした直接照明法と間接照明法が組み合わさったような状態で観察していることが多いと思われる(図4)。

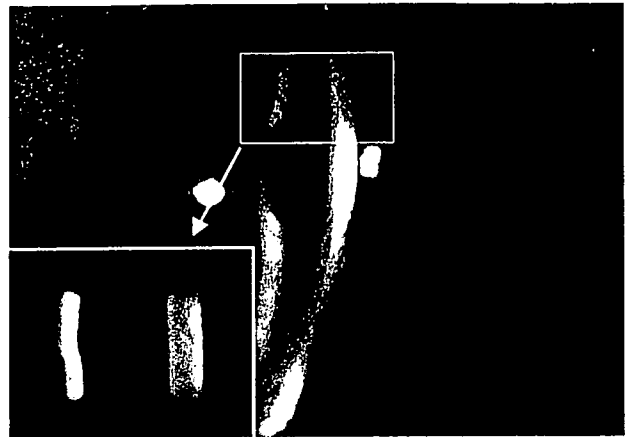


図3 直接照明法による前房内細胞の観察
前房内の細胞や flare を観察するには光束を明るく細くして用いると良い。

瘢痕性の角膜混濁、実質や上皮の浮腫、細胞浸潤、角膜後面沈着物などは、直接照明法よりも間接照明法のほうが観察しやすくなる場合がある。

3. 広汎照明法

スリット光ではなく、幅の広い光を当てて観察対象を面で捉える方法である。ランプの電圧を下げるかフィルターをかけて光量を落とした状態でスリット光の幅を広くする、もしくはディフューザーを用いると良い。ペンライトで

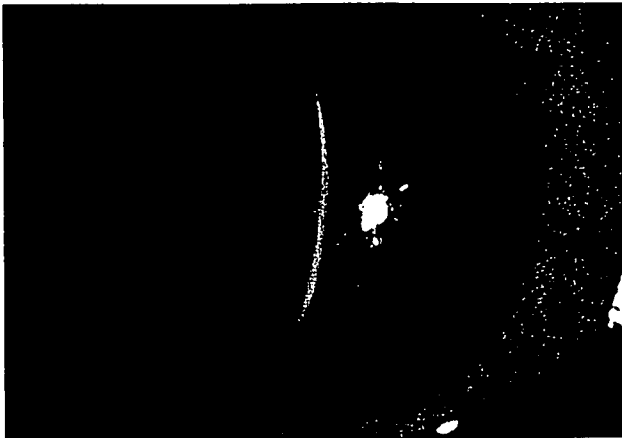


図4 間接照明法

水疱性角膜症の症例である。スリット光だけで撮影しているのに角膜や虹彩の全体像がわかるのは散乱光によるものである。

照明して拡大鏡で観察するのと同じ条件であり、病変全体の形がわかるのが大きなメリットとなる。薄い角膜混濁や角膜新生血管などでは広汎照明法でよく描出される場合もある(図5)。

広汎照明法は透光体ではない組織、結膜や強膜、眼瞼、虹彩を観察する場合には基本となる観察法である。結膜充血は直接照明法で観察すると反射光が強すぎて正確な所見を取りにくくなるからである。これ以外にも乳頭、濾胞やマイボーム腺開口部、虹彩紋理の所見はディフューザーを用いて低倍で観察を行うと最も良い結果が得られる。

4. 反帰光線法

反帰光線法はやや意識をしないとできない観察法のひとつである。スリット光を前眼部に当てると角膜の半透明の弓状の線とオレンジ色の虹彩の線が見える。スリット光が当たった部分に注目して観察すると直接照明法になってしまうが、オレンジ色の虹彩からの反射光が角膜に当たる部分に観察系のフォーカスを合わせるようにする(観察系と照明系を意識のなかでずらす)方法が虹彩からの反帰光線法である。

この方法を用いると、ほとんど透明に近い微細な角膜病変を映し出すことができる。薄い上

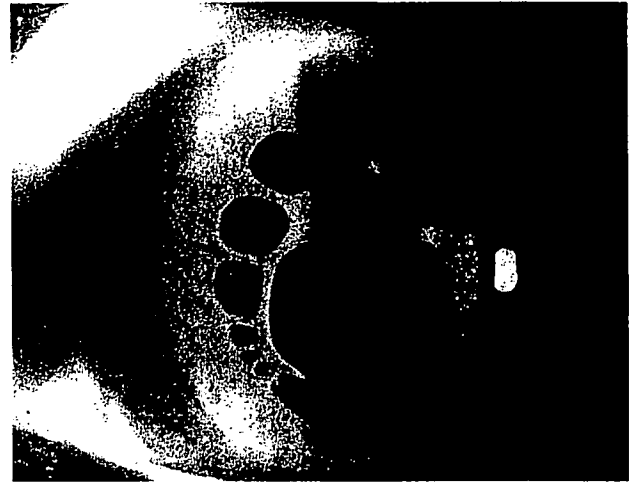


図5 広汎照明法

タイゲソン表層角膜炎の症例。光量を落とした幅の広い光で全体を観察する方法。面で観察できるため、病変の全体像を把握するのに良い方法である。

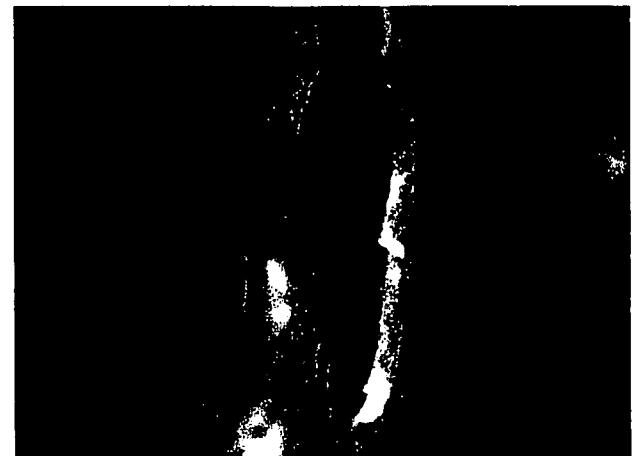


図6 反帰光線法

虹彩からの反射光が角膜に帰ってくる部分に観察系のフォーカスを合わせて観察する方法。写真は格子状角膜ジストロフィの症例で、線状の混濁が描出されている。

皮や実質の混濁、細い新生血管、マイクロシスト、角膜後面沈着物などがよい適応になる(図6)。

5. 徹照法

虹彩からの反射光を用いるのが反帰光線法で、散瞳した状態で眼底からの反射光を利用して角膜や水晶体の混濁病変を浮かびあがらせる観察法が徹照法である。観察系との角度をつけずに中等度の幅のスリット光を瞳孔縁より入れ、眼



図7 微照法

眼底からの反射光を利用し、角膜や水晶体の混濁病変を描出する方法。写真はアペリノ角膜ジストロフィ。

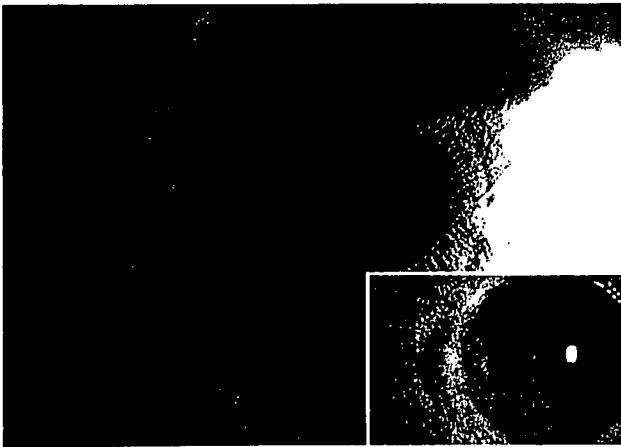


図8 強膜散乱法

強膜に幅広の明るい光を当て、その散乱光で角膜を観察する方法。写真は上皮内癌の症例で、淡く混濁した病変が拡がっている様子が描出されている。

底からのオレンジ色の明るい反射光が帰ってくるポイントを探す(図7)。病変の全体像をレリーフのように浮かびあがらせて観察できる点で非常に優れた方法であり、角膜や水晶体の混濁の形態を把握するのに有用である。

6. 強膜散乱法

強膜に幅広の明るい光を当て、その散乱光で角膜を観察する方法である。細隙灯顕微鏡では通常は照明系と観察系が同軸になっているので、これを解除してから観察する必要がある。観察

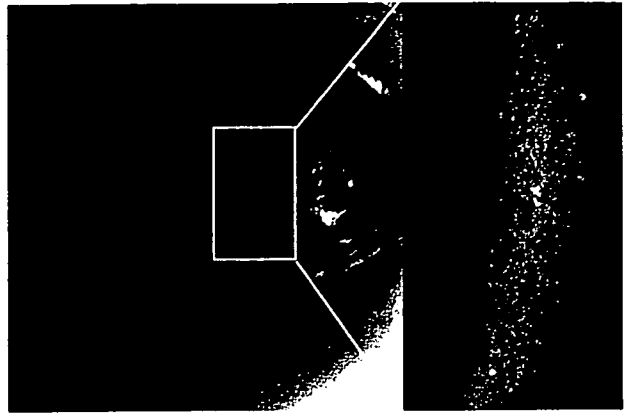


図9 鏡面反射法

角膜内皮細胞の定性的評価に有用な方法。写真は放射状角膜後面切開術後のもので、内皮細胞が粒状に観察され、細胞密度が減少していることがわかる。

系と照明系をわざとずらして観察する方法であり、意識的に行わないとできない観察法である。

角膜の微細な病変を浮かびあがらせて、病変の形や範囲を把握したいときに有用な方法なので、ぜひ覚えておきたい方法である(図8)。

7. 鏡面反射法

角膜内皮の評価にはスペキュラーマイクروسコープが用いられるが、その原理となっているのが細隙灯顕微鏡の鏡面反射法である。鏡面反射像を得るためには、観察眼に頭の中で垂線を引き、スリット光の方向と観察系の方向を垂線に対して線対称となるように置く。実際上は、この角度(垂線に対して30度くらい)を大体セットしておいて、角膜内皮に焦点を合わせ、入射光の角度を少しずつ変えていくことで鏡面反射(specular reflex)が得られるポイントを探すことになる(図9)。スリット光はやや広めにとり、角膜表面からの明るい反射の近辺の角膜後面を探すと良い。観察系の倍率は最初は16倍程度にしておき、鏡面反射像が確認できたら倍率を上げるようにする。

個々の内皮細胞の形態までは通常わからないが、内皮細胞ひとつひとつが小さな粒状に見え、定性的に内皮機能を評価することができる。

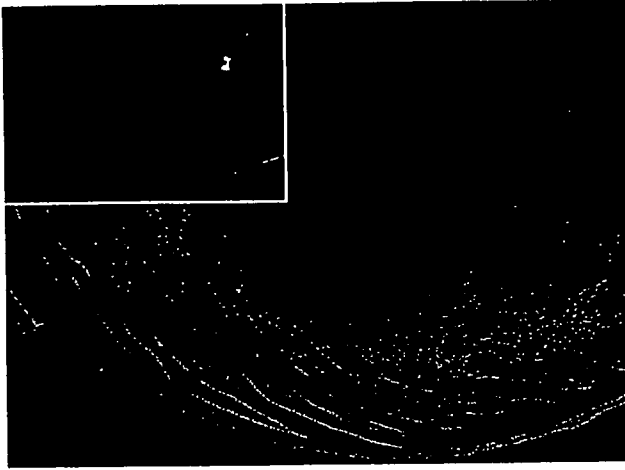


図10 ブルーフリーフィルターを用いた点状表層角膜症の観察
通常のブルーフィルターに比べて検出感度が大幅に向上する。

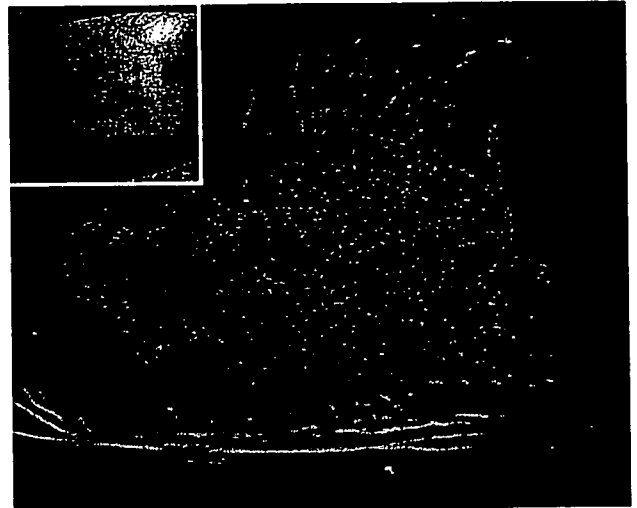


図11 ブルーフリーフィルターを用いた結膜上皮障害の観察
臨床的にはローズベンガル染色とほぼ同一の染色性を示す。

III. フルオレセインの活用

生体染色色素にはフルオレセイン、ローズベンガル、リサミングリーンなど種々のものがあるが、临床上最も利用され、かつ応用範囲が広いのはフルオレセインである。フルオレセインは蛍光色素であり、励起光として今まではブルーフィルターが用いられてきた。しかし、励起光の波長を変え観察系にブルーフリーフィルターを入れる(後者だけでもかなりの効果がある)と蛍光の観察効率はかなり向上する。蛍光眼底撮影と原理は同じであるがぜひ試してみたい(図10)。

フルオレセインには大きく分けると2つの役割がある。ひとつは角結膜上皮障害を検出する本来の意味の生体染色色素としての役割で、もうひとつは透明な涙液を可視化する役割である。

狭義の生体染色陽性とは、フルオレセインが角結膜上皮の欠落した部分を染色するという意味であり、点状表層角膜症や上皮びらんが相当する。結膜上皮障害も同じようにフルオレセインで染色されるが、結膜の皺の部分での pooling や結膜上皮の staining (結膜上皮はバリア機能

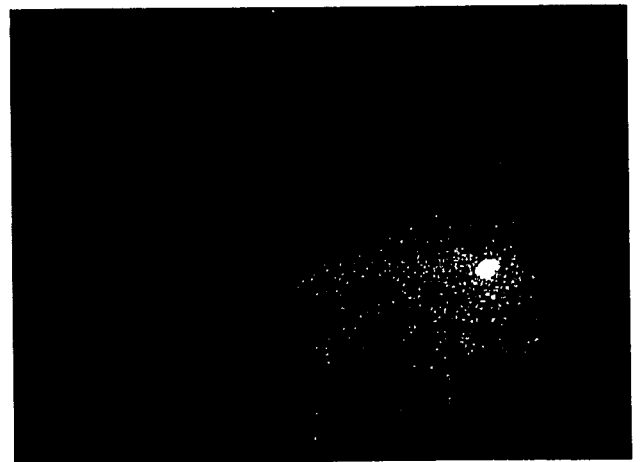


図12 フルオレセインによる上皮の質の評価
角膜移植後の遷延性上皮欠損が修復された直後の症例。フルオレセインで染色して数分経つと全体が淡く染色される。角膜上皮の透過性亢進を示す所見である。

が弱いために時間が経つとフルオレセインが透過して全体が染色されてしまう)が問題になり、見えかたに慣れるのに多少の経験が必要となる。ローズベンガルはムチンで被覆されない上皮細胞を染色するとされており、厳密な意味でフルオレセインの結膜染色と同一かどうかは議論があるが、少なくとも臨床的には同一部位が同程度に染色される(図11)。

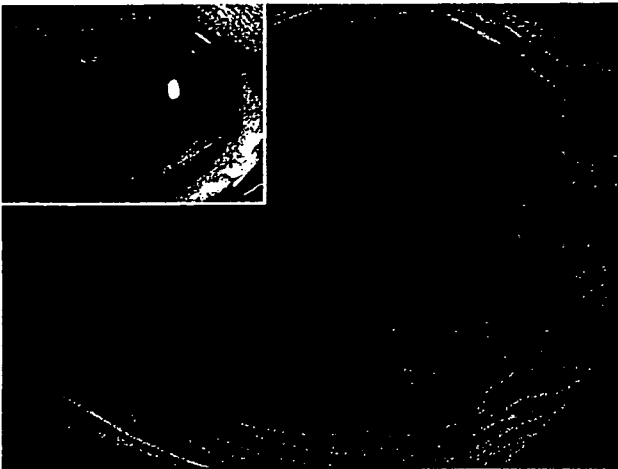


図13 フルオレセインによる異常上皮の検出
陳旧性の角膜混濁の症例だが、かなりの部分が結膜
上皮に覆われていることがわかる。

正常の角膜上皮は細胞間の接着装置が発達しており、時間が経ってもフルオレセインを透過しない。しかし質の悪い角膜上皮は色素を透過するし、結膜上皮も前述したようにフルオレセインを透過する。この性質を用いると、フルオレセインで上皮の質の評価が可能になる。図12は修復されたばかりの角膜上皮欠損であり、フルオレセインを点眼してから数分が経過したところである。角膜上皮が淡く染色され、バリア機能の障害があることがわかる。図13は陳旧性の角膜混濁で、一見すると正常角膜上皮に被覆されているように見えるが、フルオレセイン染色を施すと角膜の大半は実は結膜上皮で覆われていることがわかる。上皮の種類による染色性の違いは、眼瞼縁の粘膜皮膚移行部(結膜と眼瞼皮膚の境界)の観察にも応用できる。結膜は染色性が高く、皮膚は染色されないため、粘膜皮膚移行部は正常では1本の線として描出される(マイボライン、図14)。マイボーム腺機能不全では結膜の前方移動のためにこの線に凹凸が生じ、診断の根拠となる。

フルオレセインのもうひとつの大きなメリットは透明な涙液を可視化できることである。角膜上での涙液膜破綻の状態を観察すれば涙液の

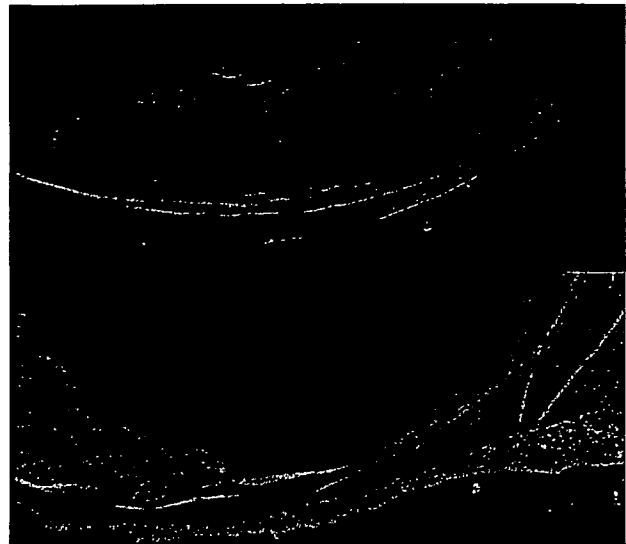
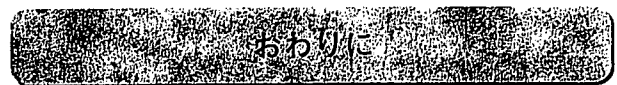


図14 フルオレセインによる粘膜皮膚移行部の
観察(マイボライン)

上の正常者では粘膜皮膚移行部が1本の線として観察されるが、下のマイボーム腺機能不全では凹凸が生じ、診断の根拠となる。

安定性を評価することができ、定量的には涙液層破碎時間として評価される。涙液の貯留部位であるメニスカスを観察するとその高さから涙液量が推定できる。またメニスカスの占拠病変である結膜弛緩の存在もわかりやすくなる。ハードレンズのフィッティング検査も涙液を可視化することで、レンズ後面と角膜前面の距離を評価していることに他ならない。



以上、細隙灯顕微鏡の観察法について生体染色を含めて概説した。病変を直接、自分の目で見ることは眼科診療の楽しみのひとつであり、細隙灯顕微鏡を使いこなすことでこの楽しみはより大きくなるはずである。診断や病態の理解のためには、細隙灯顕微鏡で得られた情報を問診や病歴などと総合することが重要であることを強調してこの稿の結びとしたい。



移植か虹彩付きコンタクトレンズか？

—美容的手術への対応—

国立病院機構東京医療センター感覚器センター 山田昌和

■見た目は「人生」を変える？

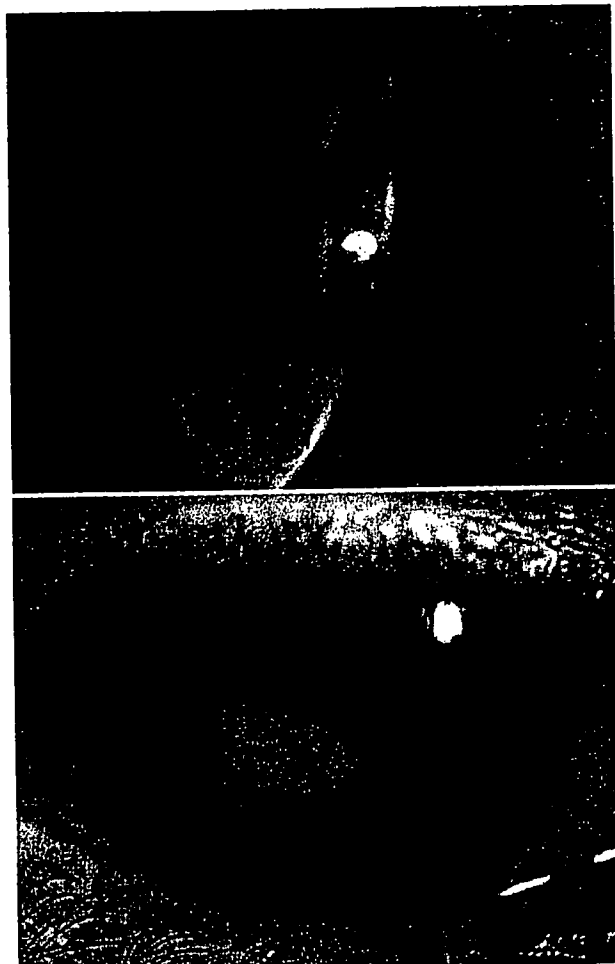
眼疾患には、後眼部疾患のように機能的に大きな損失があっても外見は変わらない場合と、角膜疾患や斜視のように視機能の損失に加えて外見の異常を伴う場合がある。整容的な問題は、実際に醜いかどうかはともかく、精神面への影響が大きい。目は顔の表情、人の印象を形成する大きな要素であり、目の外見異常は患者自身の社会的行動や精神状態、社会生活に影響を及ぼすことは容易に想像できる。実際に斜視の場合、患者の性格に内向的傾向がみられるという報告以外に、就職に不利になる、平均年収が低いなどの傾向が報告されている。さまざまな意味で、見た目は「人生」を変えともいえるわけである。輪部デルモイドや眼瞼下垂の手術などでは視機能の向上にあまり寄与しない場合もあるが、だからといって手術の効用が否定されるわけではない。

角膜混濁によって黒目が白くなっている患者が整容面の改善を期待して眼科を受診することがある。整容面だけでなく視力の改善が期待できる場合は角膜移植の選択がなされるが、問題は視機能の回復が期待できない場合である。どのようなオプションがあり、どのように選択がなされるべきなのだろうか。

■角膜混濁の整容的治療のオプション

角膜混濁を隠すための治療として考えられるのは、虹彩付きコンタクトレンズ、点墨術、義眼、角膜移植である。ただし、点墨術を行うことのできる眼科医の数はきわめて少なくなっており、現実的には選択しにくい。残りは3つになるが、いずれを選択するかは、患眼の視機能、角膜上皮の状態、僚眼の状態などを評価したうえで、それぞれの利点と欠点を患者自身に十分理解してもらったうえで決定することになる。

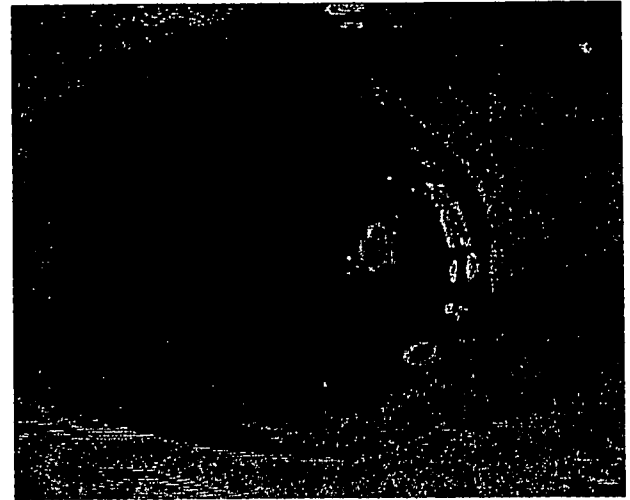
患眼の視機能の評価法についての詳述は避けるが、もし角膜が完全に透明になったとしたらどの程度の視機能が出ると期待されるか(視機能のポテンシャル)、その視機能を患者自身がどのくらい大切に考えるか、という観点で評価することが重要であ



〔図1〕角膜白斑の症例に虹彩付きコンタクトレンズを処方した例
瞳孔領に混濁が見えているが、整容的には問題となっていない。

る。また水疱性角膜症のように上皮が脆弱な場合には、コンタクトレンズの装用にはリスクが伴うことも考慮する必要がある。義眼の場合には、小眼球や眼球癆などではそのまま装用できるが、眼球の大きさや形が保たれている場合には装用がむずかしく、眼球摘出術や眼球内容除去術を行う必要があることが多い。

一方、純粋に整容面だけを考えた場合に最も優れているのは、義眼と思われる。次は虹彩付きコンタクトレンズで、角膜移植は整容面だけを考えた場合



【図2】角膜脂肪変性の症例に全層角膜移植を施行した例
耳側の混濁が残存しているが、整容的には一定の満足が得られている。

には最も劣る。視機能を考えた場合には順序は逆になり、角膜移植では視機能の改善が図れる場合があり、虹彩付きコンタクトレンズは視機能を温存できるが、義眼は視機能を考慮しえない。義眼を装用するための眼球を除去する手術には、精神的な抵抗が大きく、患者に受け入れられない場合もある。

■美容的治療の選択の実際

実際の症例をいくつか供覧する。図1は50歳代の女性で、幼少時の角膜実質炎後の瘢痕性混濁が気になって受診した症例である。角膜下方に白色の混濁があり、虹彩前癒着と瞳孔変形を伴っており、視力は0.08であった。傍眼にも軽い混濁があるが、視力は1.0と正常に保たれている。この症例では角膜移植によってある程度の視力改善が期待できそうであったが、本人は整容面だけの改善を希望したので、虹彩付きコンタクトレンズを処方した。スリット写真では瞳孔領の混濁が見えているが、肉眼的には大きな問題がなく、患者の満足を得ることができている。

図2は20歳代の女性で、もともとは輪部デルモイドの症例である。10代で腫瘍切除術を受けたが、

術後の炎症反応が強かったのか、偽翼状片と脂肪変性による混濁をきたしていた。視力は手動弁だったが、術前は1.0の視力があったという。この症例では視機能改善の見込みが大きいと思われたので、全層角膜移植を行った。術前はよくわからなかったが白内障があり、視力の改善は得られていないが、術前後で大きく変わったことが一つあった。この患者は髪が長く、いつも白濁した左眼を髪で隠すようにしていたのであるが、術後は髪をアップにして来院してきたのである。少なくとも整容面とこれに起因する精神面では、角膜移植が大きな威力を発揮したものと推測される。

図3は70歳代の男性で、鉗子分娩による水疱性角膜症の症例である。生下時から黒目が白かったということで、視力は光覚のみであり、視性刺激遮断弱視のことを考慮すると手術による形態覚獲得は困難と考えられた。角膜径が小さいこともあり、角膜移植では整容面での改善が十分でない可能性が強いこと、ときどき生じる上皮びらんによる痛みがあることなども考慮して、筆者は眼球内容除去を行って義眼とする方法を提示した。しかし、患者自身はこれを受け入れず、角膜移植を強く希望したので、径