

Table 1 Summary of postoperative VA

	Postoperative BCVA (%)	Postoperative VA at 36 months (%)
Improvement of VA (more than two lines)	79	42
Improvement of VA (more than one line)	95	53
No change	5	37
Decline	0	11

BCVA, best-corrected visual acuity; VA, visual acuity.

and symblepharon were significantly inhibited (figure 2). Corneal opacification tended to improve. All eyes manifested various degrees of superficial corneal vascularisation, but it gradually abated and its activity was comparatively stable from 6 months after surgery. We theorise that postoperative neovascularisation occurs because in vivo oral mucosa requires a vascular bed for maintenance.

Regarding the postoperative complications, a small but persistent epithelial defect was observed in 5–26% of the patients during the follow-up periods (table 2). Of the total 19 eyes, 7 eyes (37%) manifested PEDs once during the follow-up periods, while postoperative ocular hypertension was observed in 3 eyes (16%) (table 2). Although the intraocular pressure (IOP) of those three patients was occasionally high, they did not require glaucoma surgery. The occasional increase in IOP was mainly managed by the administration of carbonic anhydrase inhibitor (two eyes), or by the topical application of 0.05% latanoprost (one eye) or carteolol hydrochloride (one eye). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) was the only cause of postoperative corneal infection (one eye), and that corneal infection was observed only within 6 months after transplantation (table 2).

The clinical progress of three representative patients with total limbal stem cell deficiency arising from SJS and idiopathic OSD is shown in figure 3. Before transplantation all eyes manifested severe destruction of the ocular surface with limbal

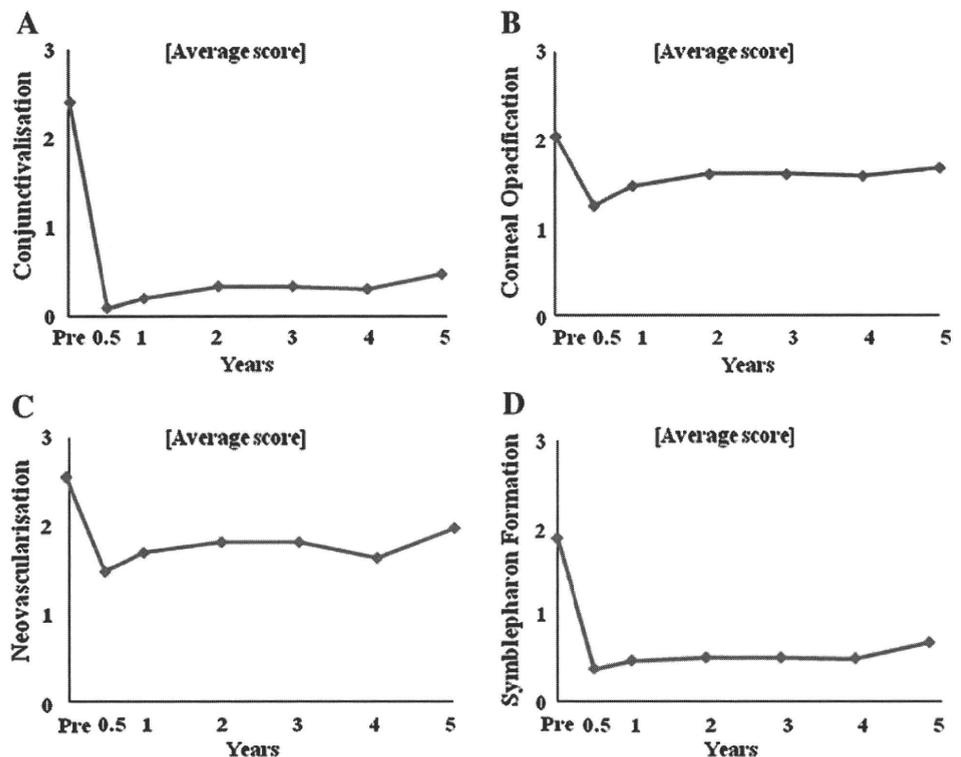
stem cell deficiency (figure 3A,C,E). Postoperative appearance at 50 (figure 3B) and 71 (figure 3D) months shows a relatively smooth, epithelialised corneal surface with minimal corneal neovascularisation, scarring and inflammation. Postoperative appearance at 72 months (figure 3F) shows that due to the PED during the follow-up periods, postoperative corneal opacity was stronger than in other cases with modest neovascularisation, finally affecting the transparency of the cornea even though the ocular surface was relatively stable.

DISCUSSION

Ocular surface reconstruction for severe OSD continues to be one of the most challenging fields in ophthalmology. COMET is the most recent therapeutic method for the treatment of severe OSD, and this study provides new information regarding the long-term results of this new treatment. We found through our earlier preliminary and mid-term clinical results^{14–18} that COMET is an efficacious treatment for severe OSD. The overall success rate, as measured by the improvement of BCVA and VA at the postoperative 36th month, was 95% and 53%, respectively. This success rate is similar to that of a previous report, and the patients who participated in this study were some of the most severe cases with their preoperative VA all being worse than 20/500, suggesting that our clinical results were fair and that COMET was useful for reconstructing the ocular surface of these patients with severe OSD.

In 1999, our group started the clinical application of allogeneic CLET and since 2002 we have been performing COMET for patients with severe OSD. Through these many years of clinical experience we have learned a great deal from our clinical and biological findings as follows: (1) Wearing a therapeutic soft contact lens in the early postoperative period is essential for the clinical success of COMET because it provides protection for the epithelial cells from mechanical ablation; we first used the relatively rigid-type soft contact lens (eg, the Plano B4), which is

Figure 2 The results of the postoperative observation time course of clinical grading score regarding conjunctivalisation (A), corneal opacity (B), corneal neovascularisation (C), and symblepharon formation (D).



Clinical science

Table 2 Time course of postoperative complications

	Pre	6M	12M	24M	36M	48M	60M
Persistent epithelial defect	5% (1/19)	26% (5/19)	5% (1/19)	5% (1/19)	5% (1/19)	8% (1/12)	0% (0/8)
Ocular hypertension	5% (1/19)	10% (2/19)	15% (3/19)	5% (1/19)	5% (1/19)	8% (1/12)	12% (1/8)
Infection	0% (0/19)	5% (1/19)	0% (0/19)	0% (0/19)	0% (0/19)	0% (0/12)	0% (0/8)

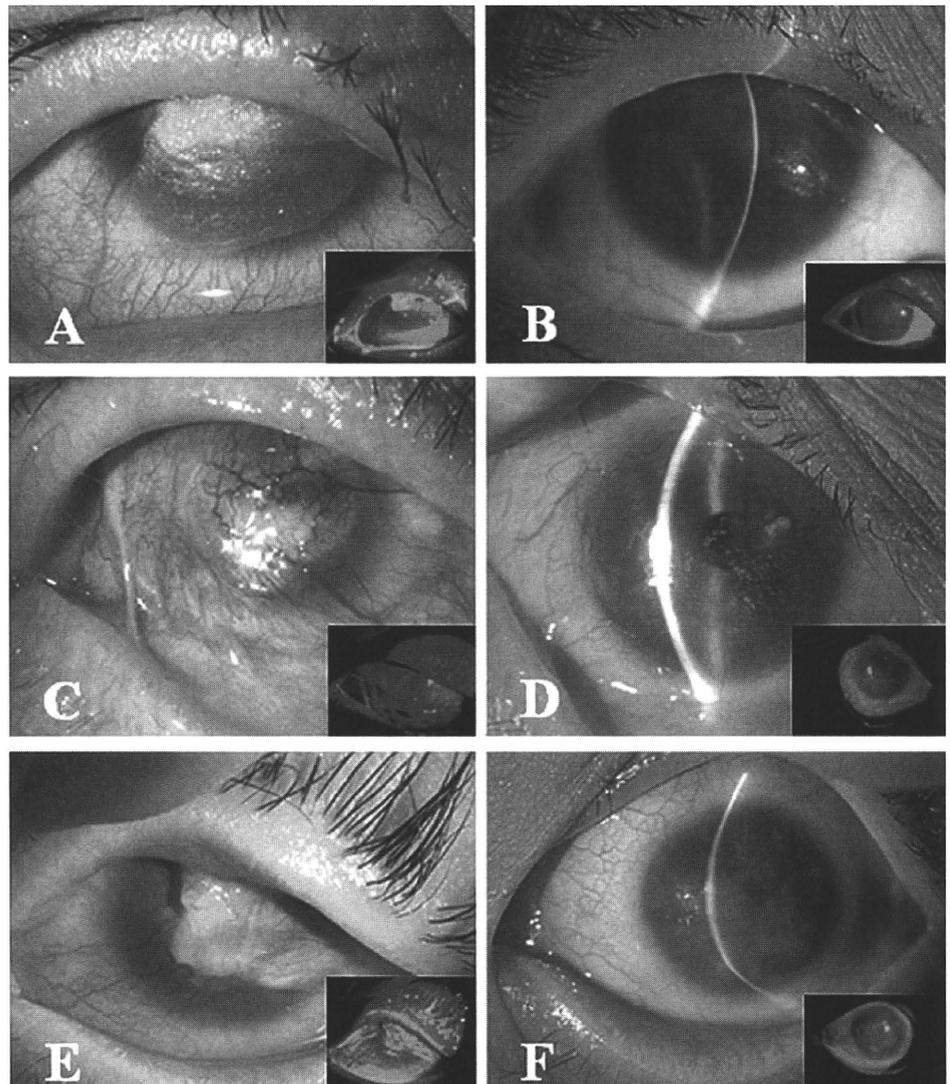
M, months.

difficult to take off, and then we used the highly hydrated-type soft contact lens (Acuvue, O₂ Optics) to improve the permeability of oxygen to the corneal surface and to prevent epithelial damage due to lack of oxygen. (2) Within 1 week of COMET, almost all patients encountered dry-eye conditions, the severity of which depended upon the individual patient. Therefore, artificial eye drops should be instilled frequently (from every 15 min to 2 h).

Even though the morphological appearance of a cultivated oral mucosal epithelial sheet is quite similar to that of a cultivated corneal limbal epithelial sheet, one of the most distinguishable characteristics of a cultivated oral mucosal epithelial sheet is its distinctive fluorescein staining pattern. From our clinical experience, its staining pattern is more like that of

superficial punctate keratopathy than conjunctival epithelium, but a strict discrimination between the two is somewhat difficult to observe by slit-lamp examination. Although the transplanted cultivated oral mucosal epithelial sheets in this study retained their transparency, there was a slightly high amount of light-scattering under the slit-lamp microscope examination, with or without fluorescein staining, thus affecting the postoperative corneal opacity and resulting in a BCVA of 20/40 in the 19 eyes treated by COMET. For most eyes, the BCVA was between 20/2000 and 20/200, suggesting that light-scattering on the transplanted oral mucosal epithelium on the cornea reached the level that controls VA at around 20/500. In contrast, the BCVA of some CLET patients reached 20/20, indicating that the biological character of the cells clearly affects the quality of VA.

Figure 3 The clinical progress of three representative patients with severe OSD arising from SJS (A, B), idiopathic OSD (C, D) and SJS (E, F). Before transplantation all eyes manifested severe destruction of the ocular surface with limbal stem cell deficiency (A, C and E). The postoperative appearance at 50 (B) and 71 (D) months shows a relatively smooth, epithelialised corneal surface with minimal corneal neovascularisation, scarring and inflammation. The postoperative appearance at 72 months (F) shows that due to the persistent epithelial defect during the follow-up periods, postoperative corneal opacity is somehow remarkable with modest neovascularisation, finally affecting the transparency of the cornea even though the ocular surface is relatively stable. OSD, ocular surface disease; SJS, Stevens–Johnson syndrome.



The patients with OSD reported here were the most severe cases we encountered, necessitating the reconstruction of not only the corneal surface but also the surrounding ocular surface. Of the 19 eyes in this study, 90% and 74% of the cases received treatment by MMC and AMT, respectively, to prevent the postoperative proliferation activity of the subconjunctival tissue and to reconstruct the ocular surface including the conjunctival fornix. After COMET, transplanted cultivated oral epithelial cells were always observed to migrate outwards on the AM, ultimately covering the complete ocular surface. Through the simultaneous combination of these procedures, postoperative symblepharon formation was significantly inhibited during the long-term follow-up and we believe that this is the one of the most beneficial advantages of COMET. In addition, of the 19 eyes, 26% of the cases simultaneously received cataract surgery to improve the VA. Even though the intraocular visibilities in patients with OSD were often very bad, we developed the surgical technique as a step-by-step process and can now perform it safely through the use of a surgical slit-lamp microscope and indocyanine green staining of the anterior lens capsule.

We carefully assessed the clinical safety of COMET and found that postoperative PED sometimes occurred in our series. Of the 19 eyes, PED occurred in 7 eyes (37%) at least once during the long-term follow-up. Of those seven eyes, five eyes (71%; all with SJS) were systemic primary OSD. It has been reported that the health of the oral mucosal epithelium *in vivo* depends on the existing diseases.²² Even though we were able to generate a cultivated oral mucosal epithelial sheet from systemic primary OSD, whose morphological features are quite similar to *in vivo* corneal epithelium, the biological ability of the oral epithelium cells may potentially be damaged in these patients. This issue is currently under investigation in our laboratory.

Of the 19 eyes, ocular hypertension was observed in a total of 3 eyes (16%) during the postoperative follow-up period. Since the transplanted cultivated sheets were not completely identical to *in vivo* epithelium, care must be taken in regard to postoperative epithelial damage caused by the use of antiseptic eye drops. Thus, a major clinical point is that in two eyes in this study, the occasional increase in IOP was found to be better managed by the administration of a carbonic anhydrase inhibitor.

In our series, postoperative corneal infections were relatively few (one eye, 5%) as compared to allogeneic CLET or limbal transplantation,^{9 23} simply because COMET is an autologous transplantation and patients did not need the intensive, prolonged postoperative immunosuppressant therapy, thus resulting in the avoidance of an immunocompromised state. Interestingly, in view of the findings in this study and our recent clinical experiences, the postoperative corneal infection in our cases mainly occurred within 6 months after surgery, and all of those cases were systemic OSD patients. Furthermore, all of those cases were detected to be caused by MRSA.²⁴ It has been reported that MRSA is frequently detected from the ocular surface in patients with SJS as compared with normal subjects; therefore, it is important to carefully observe the corneal surface in the early postoperative periods, especially in patients with SJS.

In conclusion, this is the first study that demonstrates the long-term clinical results of COMET for ocular surface reconstruction in the treatment of the scar phase of severe OSD. We found that COMET permits sustained reconstruction of the ocular surface epithelium in many eyes with severe OSD. The management of postoperative PED and neovascularisation may further increase the efficacy of this type of transplantation.

Acknowledgements We thank Mr J Bush for editing our manuscript, and Ms Saito, Horikiri and Mano for assisting with the culture procedures.

Funding Supported in part by Grants-in-Aid for scientific research from the Japanese Ministry of Health, Labour and Welfare (H16-Saisei-007), and the Japanese Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology (Kobe Translational Research Cluster), a research grant from the Kyoto Foundation for the Promotion of Medical Science, and the Intramural Research Fund of Kyoto Prefectural University of Medicine.

Competing interests None.

Ethics approval This study was conducted with the approval of the Institutional Review Board for Human Studies of Kyoto Prefectural University of Medicine.

Provenance and peer review Not commissioned; externally peer reviewed.

REFERENCES

1. Shapiro MS, Friend J, Thoft RA. Corneal re-epithelialization from the conjunctiva. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1981;**21**:135–42.
2. Dua H, Forrester JV. The corneoscleral limbus in human corneal epithelial wound healing. *Am J Ophthalmol* 1990;**110**:646–56.
3. Tsai RJF, Sun TT, Tseng SC. Comparison of limbal and conjunctival autograft transplantation in corneal surface reconstruction in rabbits. *Ophthalmology* 1990;**97**:446–55.
4. Thoft RA. Keratoepithelioplasty. *Am J Ophthalmol* 1984;**97**:1–6.
5. Kenyon KR, Tseng SC. Limbal autograft transplantation for ocular surface disorders. *Ophthalmology* 1989;**96**:709–23.
6. Pellegrini G, Traverso CE, Franz AT, *et al*. Long-term restoration of damaged corneal surfaces with autologous cultivated corneal epithelium. *Lancet* 1997;**349**:990–3.
7. Tsai RJ, Li LM, Chen JK. Reconstruction of damaged corneas by transplantation of autologous limbal epithelial cells. *N Engl J Med* 2000;**343**:86–93.
8. Schwab IR, Reyes M, Isseroff RR. Successful transplantation of bioengineered tissue replacements in patients with ocular surface disease. *Cornea* 2000;**19**:421–6.
9. Koizumi N, Inatomi T, Suzuki T, *et al*. Cultivated corneal epithelial stem cell transplantation in ocular surface disorders. *Ophthalmology* 2001;**108**:1569–74.
10. Rama P, Bonini S, Lambiase A, *et al*. Autologous fibrin-cultured limbal stem cells permanently restore the corneal surface of patients with total limbal stem cell deficiency. *Transplantation* 2001;**72**:1478–85.
11. Grueterich M, Espana EM, Touhami A, *et al*. Phenotypic study of a case with successful transplantation of ex vivo expanded human limbal epithelium for unilateral total limbal stem cell deficiency. *Ophthalmology* 2002;**109**:1547–52.
12. Shimazaki J, Aiba M, Goto E, *et al*. Transplantation of human limbal epithelium cultivated on amniotic membrane for the treatment of severe ocular surface disorders. *Ophthalmology* 2002;**109**:1285–90.
13. Nakamura T, Endo K, Cooper LJ, *et al*. The successful culture and autologous transplantation of rabbit oral mucosal epithelial cells on amniotic membrane. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003;**44**:106–16.
14. Nakamura T, Inatomi T, Sotozono C, *et al*. Transplantation of cultivated autologous oral mucosal epithelial cells in patients with severe ocular surface disorders. *Br J Ophthalmol* 2004;**88**:1280–4.
15. Inatomi T, Nakamura T, Koizumi N, *et al*. The mid-term results of ocular surface reconstruction using cultivated autologous oral mucosal epithelial transplantation. *Am J Ophthalmol* 2006;**141**:267–75.
16. Inatomi T, Nakamura T, Kojima M, *et al*. Ocular surface reconstruction with combination of cultivated autologous oral mucosal epithelial transplantation and penetrating keratoplasty. *Am J Ophthalmol* 2006;**142**:757–64.
17. Ang LPK, Nakamura T, Inatomi T, *et al*. Autologous serum-derived cultivated oral epithelial transplants for severe ocular surface disease. *Arch Ophthalmol* 2006;**124**:1543–51.
18. Nakamura T, Inatomi T, Cooper LJ, *et al*. Phenotypic investigation of human eyes with transplanted autologous cultivated oral mucosal epithelial sheets for severe ocular surface diseases. *Ophthalmology* 2007;**114**:1080–8.
19. Nishida K, Yamamoto M, Hayashida Y, *et al*. Corneal reconstruction with tissue-engineered cell sheets composed of autologous oral mucosal epithelium. *N Engl J Med* 2004;**351**:1187–96.
20. Satake Y, Dogru M, Yamane GY, *et al*. Barrier function and cytologic features of the ocular surface epithelium after autologous cultivated oral mucosal epithelial transplantation. *Arch Ophthalmol* 2008;**126**:23–8.
21. Sotozono C, Ang LPK, Koizumi N, *et al*. New grading system for the evaluation of chronic ocular manifestations in patients with Stevens-Johnson syndrome. *Ophthalmology* 2007;**114**:1294–302.
22. Scully C, Bagan J. Oral mucosal diseases: erythema multiforme. *Br J Oral Maxillofac Surg* 2008;**46**:90–5.
23. Tsubota K, Satake Y, Kaido M, *et al*. Treatment of severe ocular-surface disorders with corneal epithelial stem-cell transplantation. *N Engl J Med* 1999;**340**:1697–703.
24. Sotozono C, Inagaki K, Fujita A, *et al*. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant *Staphylococcus epidermidis* infections in the cornea. *Cornea* 2002;**21** (7 Suppl):S94–101.

初期アcantアメーバ角膜炎の臨床所見に関する検討

佐々木美帆, 外園 千恵, 千原 秀美, 上田真由美
 稲富 勉, 横井 則彦, 塩田 恒三, 木下 茂
 京都府立医科大学眼科学教室

要 約

目的: アcantアメーバ角膜炎(AK)の早期診断に有用な臨床像を明らかにするとともに, 副腎皮質ステロイド投与が臨床像に及ぼす影響を検討した。

方法: 2002年10月から2008年6月に京都府立医科大学附属病院眼科にて初期AKと診断した症例24例25眼を対象とし, その臨床像をレトロスペクティブに検討した。

結果: 全例がコンタクトレンズ使用者であり, 24例中23例(96%)が前医からの紹介受診であった。放射状角膜炎を25眼中20眼(80%), 偽樹枝状病変を15眼(60%)に認め, どちらも認めなかったものは1眼(4%)であった。前医で副腎皮質ステロイドが投与され

ていた10眼中6眼は, ステロイド中止後にこれらの所見を呈した。最終視力は副腎皮質ステロイド投与の有無にかかわらず良好であった。

結論: 放射状角膜炎および偽樹枝状病変は初期AKに特徴的な所見であり, 早期診断の重要な手掛かりとなる。副腎皮質ステロイド局所投与は, これらの特徴的な所見を隠蔽する可能性が高い。(日眼会誌114:1030-1035, 2010)

キーワード: 初期アcantアメーバ角膜炎, 放射状角膜炎, 偽樹枝状病変, ステロイド点眼

The Characteristic Appearances of Early-stage *Acanthamoeba* Keratitis

Miho Sasaki, Chie Sotozono, Hidemi Chihara, Mayumi Ueta, Tsutomu Inatomi
 Norihiko Yokoi, Tsunezou Shiota and Shigeru Kinoshita
 Department of Ophthalmology, Kyoto Prefectural University of Medicine

Abstract

Purpose: To clarify the characteristic appearances of early-stage *Acanthamoeba* keratitis (AK) and to investigate the effects of topical steroids on those appearances.

Subject and Methods: This study involved 25 eyes of 24 patients diagnosed as early-stage AK at Kyoto Prefectural University of Medicine between October 2002 and June 2008. All patients were contact lens wearers, and 23 patients (96%) were referred from other hospitals. Clinical findings in the medical records of all patients were analyzed retrospectively.

Results: Radial keratoneuritis was observed in 20 of 25 eyes (80%), and pseudodendritic lesions were observed in 15 eyes (60%). Only 1 eye (4%) showed neither of these two findings.

Of the 10 eyes treated with topical steroids until the

first presentation at our hospital, 6 eyes manifested radial keratoneuritis and/or pseudodendritic lesions after the discontinuation of that treatment.

The visual prognosis was good in both groups, with or without topical steroid treatment.

Conclusions: We found that radial keratoneuritis and pseudodendritic lesions are characteristic appearances of early-stage AK, and that topical steroid treatment might mask these characteristic findings. Nippon Ganka Gakkai Zasshi (J Jpn Ophthalmol Soc 114:1030-1035, 2010)

Key words: Early-stage *Acanthamoeba* keratitis, Radial keratoneuritis, Pseudodendritic lesion, Topical steroids

別刷請求先: 602-0841 京都市上京区河原町通広小路ル梶井町 465 京都府立医科大学眼科学教室 外園 千恵
 (平成 21 年 12 月 28 日受付, 平成 22 年 6 月 23 日改訂受理) E-mail: mihosasaki550317@yahoo.co.jp
 Reprint requests to: Chie Sotozono, M. D. Department of Ophthalmology, Kyoto Prefectural University of Medicine. 465
 Kajicho, Hirokouji-agaru, Kawaramachi-dori, Kamigyuu-ku, Kyoto 602-0841, Japan
 (Received December 28, 2009 and accepted in revised form June 23, 2010)

I 緒 言

アcantアメーバ角膜炎 (*Acanthamoeba keratitis*: AK) は 1974 年に英国, 1975 年に米国で報告された¹⁾²⁾. 本邦では 1988 年に石橋らが最初の症例を報告し, その後コンタクトレンズ (以下 CL) の普及に伴い近年増加傾向にある³⁾. 最近, 頻回交換型ソフトコンタクトレンズ (以下 SCL) 装用者における発症の多いことが指摘されている⁴⁾.

京都府立医科大学眼科 (以下, 当科) においても, AK の症例数は 2002 年までは年間 1 ないし 2 例であったが, 2002 年以降増加傾向にあり 2007 年には 13 例の症例を経験した. 特に初期に紹介されて, 当科にて確定診断される症例が増加している.

AK は進行するときわめて難治であり, 視力予後も不良であるが, 早期に診断されれば視力障害を残さないとされる^{5)~7)}. 早期診断を行うには, 患者背景, 症状, 角膜所見からの確に AK を疑う必要がある. 初期 AK には放射状角膜神経炎および偽樹枝状病変が特徴的とされるが⁸⁾⁹⁾, これらの発現頻度などを多数例で詳細に検討した報告は, 我々が調べた限りなかった.

そこで今回, 初期 AK の早期診断に有用となる臨床像を明らかにするため, 当科で 5 年 9 か月間に経験した 24 症例の初期 AK を対象として, その臨床的特徴, 微生物学的検査および視力予後についてレトロスペクティブに検討を行った. さらに前医での副腎皮質ステロイド投与が AK の臨床経過に及ぼす影響についても検討したので報告する.

II 対象と方法

対象は, 2002 年 10 月から 2008 年 6 月に当科を受診し, 初期 AK と診断した患者である. 臨床経過と角膜所見から本症を疑い, 角膜擦過物の位相差顕微鏡による直接鏡検または培養でアcantアメーバを検出した症例を AK とし, 臨床所見から AK が疑われても微生物学的検査で陽性とならなかった症例は除外した. 微生物学的検査の具体的な方法については以下のように行った. まず角膜擦過物の半量をスライドガラス上に滴下した滅菌蒸留水の中に取り, カバーガラスで覆って生標本を作製した. この生標本を位相差顕微鏡で観察し, アcantアメーバの嚢子および栄養体を確認した. また, 擦過物の残りの半量を平板普通寒天培地の中央に接種し, その 5~10 mm の周囲に熱殺大腸菌液を滴下した. その後 29°C で培養し, 擦過物から這い出してくる栄養型の有無を経目的に実体顕微鏡で観察した. 病期については石橋らの分類に従い¹⁰⁾, 同時期に AK と診断した 38 例のうち, 輪状浸潤や円板状混濁を呈した移行期, 完成期を省く 24 例を初期 AK と分類した. すなわち, 全経過を通じて輪状ないし円板状角膜混濁が出現せず, 病変が

上皮内に限局しており, 移行期より前の状態であるものを初期とみなした.

各々の症例について, 性別, 年齢, 発症背景, 自覚症状, 角膜所見, 前医での診断と治療, 角膜病変擦過物の直接鏡検および培養検査結果, 視力 (治療前後) を検討した. また, 確定診断前の副腎皮質ステロイド局所投与が, 角膜所見, 微生物学的検査結果, 視力予後に及ぼす影響についても検討を行った.

III 結 果

1. 対象症例

対象となった症例は 24 例 25 眼 (1 例は両眼性) であり, その内訳は男性 8 例 8 眼 (33%), 女性 16 例 17 眼 (67%) である. 経過観察期間は 1 か月~36 か月 (平均 5.2 か月) であった.

2. 年齢, 発症背景

患者の年齢は 14~43 歳 (平均 25 歳), 年代別では, 10 代が 8 例 (33%), 20 代が 10 例 (42%), 30 代が 4 例 (17%), 40 代が 2 例 (8%) であった.

全例が CL 使用者であり, その内訳は SCL が 23 例 (96%), ハードコンタクトレンズ (以下 HCL) が 1 例 (4%) であった. SCL 使用者のうち 19 例 (84%) は 2 週間頻回交換型 SCL (FRSCL) を使用しており, 1 日ディスプレイ SCL, 1 か月定期交換型 SCL, カラー SCL, 従来型 SCL が各々 1 例 (4%) ずつであった. 1 日ディスプレイ SCL を使用していた 1 例については同じレンズを毎日洗浄して 1 か月間使用していた.

3. 自覚症状

疼痛を 19 例 (79%), 異物感を 6 例 (25%) に認め, 全例で疼痛または異物感のいずれかを認めた. 発症時に 16 眼 (64%) で最良矯正視力 1.0 未満であったが, 主訴として視力低下を訴えたものは 1 例 (4%) であった. その他主訴となった症状としては, 流涙 2 例 (8%), 羞明 2 例 (8%) がみられた.

4. 前眼部所見

全例で結膜充血を認め, その程度は軽度 17 眼 (68%), 中等度 8 眼 (32%) であった. また, 毛様充血を 21 眼 (84%) に認め, その程度は軽度 14 眼 (67%), 中等度 7 眼 (33%) であった.

AK に特徴的な所見とされる放射状角膜神経炎を 25 眼中 20 眼 (80%) に, 偽樹枝状病変を 15 眼 (60%) に認め, 両者ともに認めた症例が 12 眼 (48%) であった (図 1).

どちらの所見も認めなかったものは 25 眼中 1 眼 (4%) であり, この症例では斑状の上皮下混濁が認められた. 放射状角膜神経炎の発現部位を検討すると, 角膜全周性に認めたものが 20 眼中 6 眼 (30%), 角膜の 1 象限のみに認めたものが 1 眼 (5%) であり, 残りの 13 眼 (65%) は 2~3 象限にわたって認めた (図 2). また偽樹枝状病変は, 15 眼中 10 眼 (67%) で皸裂部に認められた (図 3).

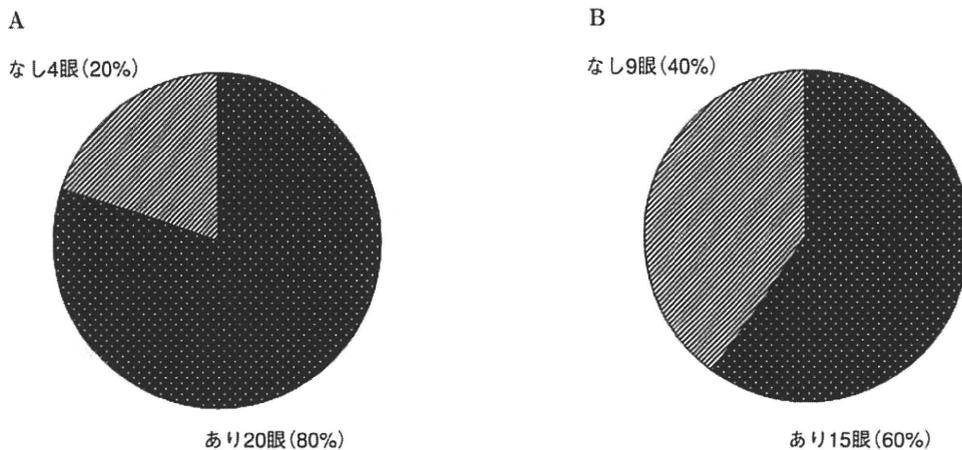


図 1 放射状角膜神経炎および偽樹枝状病変の出現頻度.
 25 眼について放射状角膜神経炎(A)および偽樹枝状病変(B)の出現頻度は、各々 20 眼(80%)、15 眼(60%)
 であり、12 眼(48%)では両所見を認めた。

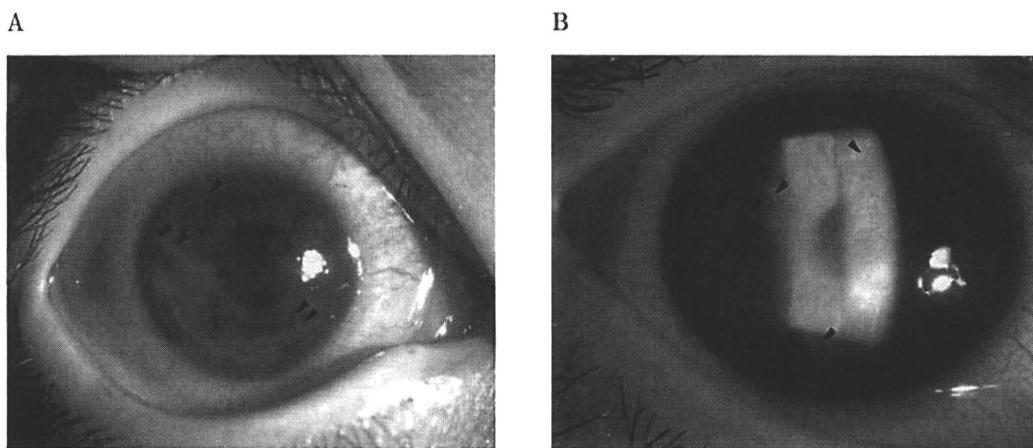


図 2 放射状角膜神経炎.
 A：全周性に認めた症例. B：1 象限のみに認めた症例. 矢頭は放射状角膜神経炎.

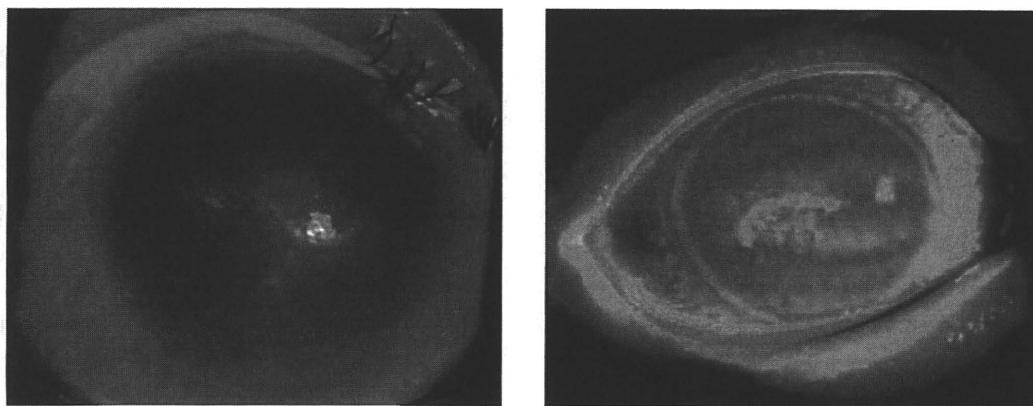


図 3 偽樹枝状病変.

症状出現から放射状角膜神経炎の所見確認までの期間は、副腎皮質ステロイド投与眼では 7~32 日(平均 16 日)、非投与眼では 2~19 日(平均 10 日)であった。また、症状出現から偽樹枝状病変確認までの期間は、副腎皮質ステロイド投与眼では 1~18 日(平均 11 日)、非投

与眼では 4~21 日(平均 14 日)であった。

5. 前医での診断と治療

今回の対象症例のうち 23 例(96%)が前医からの紹介患者であった。前医での診断はヘルペス性角膜炎が 9 例(39%)、AK 疑いが 7 例(30%)、細菌性角膜炎が 6 例(26

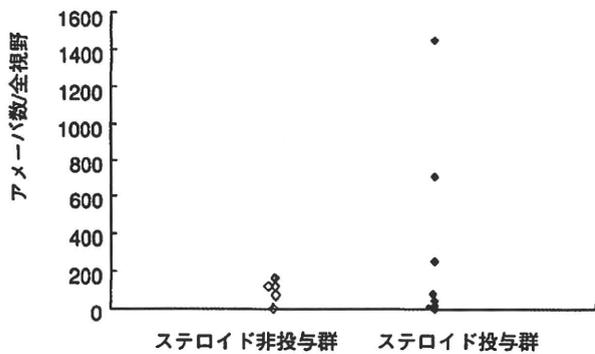


図 4 前医における副腎皮質ステロイド投与眼と非投与眼におけるアcantアメーバ個体数の比較。病巣擦過物の直接鏡検において検出されたアcantアメーバ個体数を副腎皮質ステロイド投与の有無別に比較した。

%), 真菌性角膜炎が 1 例(5%)であった。10 例(43%)で副腎皮質ステロイド(全例フルオロメトロン点眼)が局所投与されており, このうち 5 例(50%)がヘルペス性角膜炎の診断であった。

前医で副腎皮質ステロイドが投与されていなかった 13 例および当科に直接受診した 1 例のうち 13 例において, 当科初診時に放射状角膜神経炎または偽樹枝状病変を認めた。残り 1 例はこれらの所見を認めなかった症例である。一方, 前医で副腎皮質ステロイドが投与されていた 10 例中当科初診時に上記所見を認めたのは 4 例であり, 残り 6 例では当科初診時に両所見を認めず, 副腎皮質ステロイドを中止した後に上述した特徴的所見が出現した。そのうち, 放射状角膜神経炎は 5 例, 偽樹枝状病変は 4 例に認められ, 両所見ともに認めた症例は 3 例であった。また, ステロイド中止から放射状角膜神経炎または偽樹枝状病変出現までの期間は, 平均 7 日(1~18 日)であった。

6. 微生物学的検査

全例で初診時または 2 回目再診時に診断目的の角膜擦過を行い, 位相差顕微鏡による直接鏡検と平板寒天培地での培養を施行した。搔爬の回数 は 23 眼で 1 回, 2 眼で 2 回であり, 治療目的のみで搔爬を行った症例はなかった。直接鏡検で陽性であったものは 20 眼(80%)であり, 16 眼で嚢子, 4 眼で栄養型を検出した。これら 20 眼は全例で培養検査も陽性であった。直接鏡検で陰性であった 5 眼(20%)は, 培養検査で全例が陽性であった。また, 角膜擦過物のアcantアメーバ個体数は, 副腎皮質ステロイド非投与眼では全視野に数個~150 個体, 副腎皮質ステロイド投与眼では数個~1,450 個体であり, 副腎皮質ステロイド投与眼で多い傾向がみられた(図 4)。副腎皮質ステロイド投与群のうち, アcantアメーバ個体数が特に多かった 2 症例は, いずれも自覚症状出現後 2 日目から副腎皮質ステロイド点眼が施行されていた。この 2 症例の発症から当科初診までの期間はそ

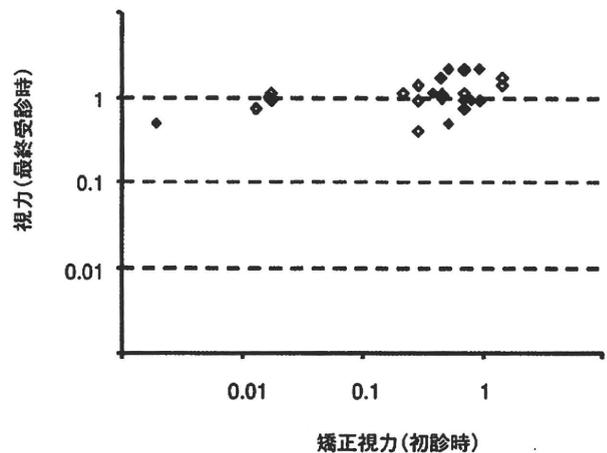


図 5 初診時視力と最終視力。経過観察中に浸潤病巣の癒痕化が確認できた 17 例 17 眼の初診時および最終受診時視力。◆: 副腎皮質ステロイド非投与群, ◇: 副腎皮質ステロイド投与群。

れぞれ 7 日間, 12 日間であった。

なお, 直接鏡検で嚢子が検出された 16 眼と栄養型が検出された 4 眼を比較したところ, AK の臨床所見には明らかな差を認めなかった。また, 発症から確定診断までの期間は嚢子が検出された群では 7~90 日(平均 21 日), 栄養型が検出された群では 6~27 日(平均 15 日)であった。

7. 治療と視力予後

アcantアメーバを検出して診断を確定してから, 消毒薬と抗真菌剤の局所投与を開始した。具体的には, 0.02% クロルヘキシジンまたは PHMB(polyhexamethylene biguanine)を毎 1 時間点眼(起床時から就眠まで), 0.1% フロリード液点眼 1 日 6 回, ピマリシン眼軟膏 1 日 4~6 回を行い, 一部の症例ではイトラコナゾール内服を併用した。角膜所見の改善を得るに従い, これらを漸減した。

図 5 に治療前後の視力を示す。当科での経過観察中に浸潤病巣の癒痕化が確認できた症例は 24 例中 17 例であり, 発症から癒痕化までの期間は平均 2.4 か月であった。2 例を除いて最終の最良矯正視力は 1.0 以上であり, 副腎皮質ステロイド投与の有無にかかわらず予後は良好であった。

IV 考 按

初期 AK の主な特徴的所見としては, 放射状角膜神経炎, 偽樹枝状病変, 点状, 斑状, 線状の上皮下混濁および強い毛様充血や輪部浮腫がある⁶⁾⁸⁾⁹⁾¹¹⁾。放射状角膜神経炎は, 角膜輪部から中央に向かう上皮下から角膜実質中層の淡い混濁であり, 角膜神経に沿って生じた白血球やリンパ球の細胞浸潤である¹²⁾¹³⁾。また, 偽樹枝状病変は, ヘルペスで見られる樹枝状病変との鑑別が困難で

あるが、terminal bulbがなく、ヘルペスでは樹枝状病変を囲むように上皮内浸潤がみられるのに対し、AKではそのような浸潤はみられない¹¹⁾¹³⁾。

今回の24症例25眼においては、放射状角膜神経炎を20眼(80%)に認め、角膜全体に認めた症例6眼(30%)よりも部分的に認めた症例14眼(70%)の方が多かった。角膜全体に放射状角膜神経炎を生ずる症例では本所見を判断しやすいのに対して、角膜の一部に生ずる症例では、発症背景や症状からAKを疑って強膜散乱法や間接照明法で入念に観察しなければ放射状角膜神経炎の存在に気付かない可能性がある。過去に当科で放射状角膜神経炎を認めた症例は全例でアカントアメーバを検出しており、放射状角膜神経炎が初期AKの診断に果たす役割は大きい。

一方、偽樹枝状病変は15眼(60%)に認められた。偽樹枝状病変は外傷性角膜びらの修復過程などでも認められるため、この所見だけではAKを強く疑う根拠とはなりにくい。しかし放射状角膜神経炎とともに認めた場合や、異物感や疼痛を訴えるCL使用者に認めた場合にはAKの可能性が高くなり、診断の一助となると考えられた。

また、どちらの所見も認めなかったものは24例中1例のみであったが、この1例では斑状の上皮下混濁を認めた。点状、斑状、線状の上皮下混濁も、初期AKの特徴的病変の一つとされる⁶⁾⁹⁾¹¹⁾が、上皮下混濁は他の角膜疾患でも生ずることから、斑状の上皮下混濁のみではAKと診断することはできない。この1例は、発症背景や自覚症状と合わせてAKを疑い、角膜擦過を行って確定診断に至った。逆に、この1例を除く23例では放射状角膜神経炎または偽樹枝状病変を認めており、いずれの所見も呈さないAKは少ないと考えられる。

以上から放射状角膜神経炎または偽樹枝状病変のいずれかを認めれば、初期AKを強く疑う根拠になる。これらの所見からAKを疑うことができれば、微生物学的検査を実施する、あるいは検査可能な施設に紹介するなどの方法により確定診断を行い、早期に治療を開始することが可能となる。

AKの臨床所見を検討した過去の報告では、自覚症状として疼痛を認めた症例が95%と高かった¹⁴⁾¹⁵⁾。他の報告でもAKでは強い疼痛が特徴であると指摘されてきたが¹⁶⁾¹⁷⁾、過去の報告では移行期や完成期の症例を含む。初期AKのみを対象とした今回の検討で疼痛を訴えた症例は79%であり、従来の報告と比較して疼痛の頻度が低かった。また、移行期、完成期の症例では鎮痛剤を毎日服用するほどの強い疼痛を示すことが多いのに対して、今回検討した初期例で鎮痛剤を必要とした症例はなく、初期AKでは進行期と比較して疼痛の程度が低いと思われた。

初期アカントアメーバ角膜炎において、80%(鏡検陽

性例では100%陽性)という高い培養陽性率を得たが、これは位相差顕微鏡によるところが大きいと考える。通常、直接鏡検ではKOHパーカーインク法、グラム染色などシストを染色してアメーバを検出する方法が用いられる。これらの染色法では乾燥後の標本を観察するため、乾燥に弱い栄養型の場合は乾燥させている間に死亡し、その検出は非常に困難である。さらに、擦過物中の上皮細胞などに紛れて存在する少数の栄養型は、染色では観察しにくく、栄養型の染色法は現在のところ確立されていない。このため、今回の我々の検討においては栄養型の観察に染色を用いていない。一方、位相差顕微鏡を用いて、擦過したままの乾燥していない検体を蒸留水中に滴下しカバーガラスをかけて観察すると、収縮泡を形成して運動している生きたアカントアメーバが認められる。また、位相差顕微鏡によって嚢子だけでなく栄養型の内部構造も明瞭に観察でき、これらが高い陽性率につながった要因であると思われる。ただし、位相差顕微鏡による観察は寄生虫学などの専門家には容易でも、眼科医には困難である。初期AKは移行期、完成期に比べて栄養型の状態で角膜表面に存在していることが多く¹⁸⁾、栄養型を検出できる簡便な方法の開発が望まれる。

今回対象とした初期AK症例のうち、前医で副腎皮質ステロイドが投与されていた症例は全体の42%であった。副腎皮質ステロイド点眼が処方されていた10例中6例で、ステロイド中止によって特徴的角膜所見が明瞭になったことは注意すべき事実である。AKに気付かず副腎皮質ステロイド投与を続けると、さらに進行していた可能性があると考えられた。石橋らは、副腎皮質ステロイド点眼により進行したAK症例を報告しており¹⁹⁾、副腎皮質ステロイド投与によって前眼部炎症所見は軽快するが、放射状角膜神経炎や偽樹枝状病変などの特徴的臨床所見が修飾され、一時的に改善したようにみえて、病変が進行することを指摘している。また、*in vitro*では、副腎皮質ステロイド添加によってアカントアメーバの脱シスト化、栄養体の増殖が生ずるとの報告がある²⁰⁾。欧米ではAKと診断した後に抗アメーバ治療と併用して副腎皮質ステロイドを使用することが多く²¹⁾、一概に副腎皮質ステロイド投与を避けるべきとはいえない。しかし診断がついていない段階で、消炎目的に副腎皮質ステロイドを投与することは確定診断の遅れにつながるため、避けるべきであると考えられた。

一方、同期間に当科を受診した移行期、完成期のAK症例14例では、発症から癒痕化までの平均期間は7.1か月であり、初期症例と比較して長期間の治療を要した。14例中10例(71%)で治療前視力が指数弁以下であり、治療により全例で視力改善がみられたものの、最終視力が1.0以上に改善したのは2例(14%)と、視力予後が不良であった。これら移行期、完成期の症例に関しては前医が複数存在しており、副腎皮質ステロイド投与の

有無に関しては不明な症例が多かった。しかしヘルペス性角膜炎と診断された症例が 9 例 (64%) であり、初期 AK に比べて多く、経過の中で副腎皮質ステロイドが投与された可能性が高いと考えられた。移行期以降の症例では、検出されたアcantアメーバ個体数は 3~5,226 個体 (平均 936 個体) とばらつきはあるものの、初期の症例と比較すると多い傾向がみられた。

早期診断ができれば、AK は数か月で治癒可能な疾患であり、視力予後も良好である⁶⁾。初期 AK の所見として、放射状角膜炎神経炎、偽樹枝状病変の頻度は高いとされてきた²²⁾²³⁾が、今回比較的多数の症例を対象にその出現頻度について検討することにより、これらの所見が AK の早期診断に有用であることが確認できた。また、副腎皮質ステロイド点眼により、これら特徴的所見を隠蔽しないことに留意を要する。

文 献

- 1) Naginton J, Watson PG, Playfair TJ, McGill J, Jones BR, Steele AD : Amoebic infection of the eye. *Lancet* 2 : 1537—1540, 1974.
- 2) Jones DB, Visvesvara GS, Robinson NM : *Acanthamoeba polyphaga* keratitis and *Acanthamoeba* uveitis associated with fatal meningoencephalitis. *Trans Ophthalmol Soc UK* 95 : 221—232, 1975.
- 3) 太刀川貴子, 石橋康久, 藤沢佐代子, 高沢朗子, Aung Kyaw Nyunt, 宮永嘉隆 : アメーバ性角膜炎—本邦における報告例の検討—. *日眼会誌* 99 : 68—75, 1995.
- 4) 福田昌彦 : コンタクトレンズ関連角膜炎感染症の実態と疫学. *日本の眼科* 80, 2009.
- 5) Moore MB, McCulley JP, Kaufman HE, Robin JB : Radial keratoneuritis as a presenting sign in *Acanthamoeba* keratitis. *Ophthalmology* 93 : 1310—1315, 1986.
- 6) 石橋康久 : アcantアメーバ角膜炎 37 自験例の分析. *眼科* 44 : 1233—1239, 2002.
- 7) Bacon AS, Dart JK, Ficker LA, Matheson MM, Wright P : *Acanthamoeba* keratitis. The value of early diagnosis. *Ophthalmology* 100 : 1238—1243, 1993.
- 8) Bernauer W, Duguid GI, Dart JK : Early clinical diagnosis of *Acanthamoeba* keratitis. A study of 70 eyes. *Klin Monatsbl Augenheilkd* 208 : 282—284, 1996.
- 9) Claerhout I, Kestelyn P : *Acanthamoeba* keratitis : a review. *Bull Soc Belge Ophtalmol* 274 : 71—82, 1999.
- 10) 石橋康久, 本村幸子 : アcantアメーバ角膜炎の診断と治療. *眼科* 33 : 1355—1361, 1991.
- 11) 浅利誠志, 石橋康久, 井上幸次, 宇野敏彦, 大橋裕一, 岡本茂樹, 他 : 感染性角膜炎診療ガイドライン. *日眼会誌* 111 : 771—809, 2007.
- 12) 石橋康久 : 【前眼部疾患と病変の診かた】疾患 角結膜 感染症 真菌性 (含 : アcantアメーバ). *眼科* 47 : 1551—1558, 2005.
- 13) 石橋康久, 亀井裕子, アウン・キョ・ニユン, 李偉, 宮永嘉隆 : 放射状角膜炎神経炎で診断された初期アcantアメーバ角膜炎の 2 例. *臨眼* 50 : 1881—1885, 1996.
- 14) Hargrave SL, McCulley JP, Hussein Z : Results of a trial of combined propamidine isethionate and neomycin therapy for *Acanthamoeba* keratitis. *Ophthalmology* 106 : 952—957, 1999.
- 15) Alizadeh H, Niederkorn JY, McCulley JP : Chapter 99 *Acanthamoeba* keratitis. In : Krachmer JH, et al (Eds) : *Cornea*. Mosby, St. Louis, 1267—1273, 1996.
- 16) 佐々木香, 吉田 稔, 春田恭照, 真野富也 : アcantアメーバ角膜炎の 2 症例から得られた知見. *あたらしい眼科* 21 : 379—383, 2004.
- 17) 塩田 洋 : アcantアメーバ角膜炎の臨床. *眼科* 33 : 707—712, 1991.
- 18) 塩田恒三, 稲富 勉, 外園千恵, 横井則彦, 千原秀美, 日比野佐和子, 他 : アcantアメーバ角膜炎 43 例の発症後検査までの日数と認めたアcantアメーバの発育ステージとの関係. *Clinical Parasitology* 19 : 26—29, 2008.
- 19) 太刀川貴子, 石橋康久, 高沢朗子, 宮永嘉隆, 渡邊亮子 : 初期から完成期に至るまで経過観察できたアcantアメーバ角膜炎の 1 例. *眼紀* 46 : 1035—1040, 1995.
- 20) McClellan K, Howard K, Niederkorn JY, Alizadeh H : Effect of steroids on *Acanthamoeba* cysts and trophozoites. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 42 : 2885—2893, 2001.
- 21) Dart JK, Saw VP, Kilvington S : *Acanthamoeba* keratitis : diagnosis and treatment update 2009. *Am J Ophthalmol* 148 : 487—499, 2009.
- 22) 石橋康久, 本村幸子 : アcantアメーバ角膜炎の臨床所見—初期から完成期まで—. *日本の眼科* 62 : 893—896, 1991.
- 23) 久高久美子, 松本光希, 高橋枝里, 池間宏介, 筒井順一郎, 谷原秀信, 他 : 角膜擦過, 鏡検にて診断に至ったアcantアメーバ角膜炎の 1 例. *眼紀* 57 : 54—57, 2007.

