

分泌减少性干眼症角膜共焦显微镜下的形态学改变

吴洁 程燕 杜蕊 程钰 朱秀萍 刘先宁

Morphologic alteration of secretion-reducing dry eye syndrome with corneal confocal microscope

Wu Jie, Cheng Yan, Du Rui, Cheng Yu, Zhu Xiuping, Liu Xianning. Xi'an Ophthalmologic Hospital, Ophthalmologic Research Institute of Shanxi Province, Xi'an 710002, China

Abstract Objective Corneal confocal microscope is an useful tool to the morphological observation of corneal epithelium, stroma and endothelium. The goal of this paper was to provide a safe and quick diagnostic method for dry eye syndrome patients by the use of corneal confocal microscopy. **Methods** Thirty-seven patients (73 eyes) confirmed as secretion-reducing dry eye syndrome were included in this study. The age range of patients was from 17 to 66 years old. In comparison with the corneal epithelia density of normal people in database, the degree of dryness was graded based on the quantitative impression cell test result, corneal epithelia density and the morphological change of the nerve fiber under the corneal confocal microscope. **Results** The corneal epithelial cell density was (629 ± 168) cells/mm² in 6 eyes, (615 ± 181) cells/mm² in 51 eyes and (605 ± 108) cells/mm² in 16 eyes, showing a statistically significant decrease in comparison with normal value $(1\ 200 \pm 370)$ cells/mm² ($P < 0.05$). Distinct corneal epithelioid cell obscission zone at the xeransis spot with strong glisten were found. Wideness of cell clearances, damage and sparse epithelioid cell, lessen of cell layers were observed. Ramus disarray and abnormal bend of nerve fibers under corneal epithelium, inequable thickening and changed hyperplasia occurred in 7 eyes. Based on the classification of Tseng, 6 eyes was for \leq II grade, 51 eyes for III grade and 16 eyes for \geq IV grade. **Conclusion** The decrease of epithelioid cell density and abnormal characteristic change of nerve fibers of subepithelium is closely related to the dryness. The disappearance and change of subepithelial nerve fiber may be related to the constitutional eye disease.

Key word cornea; confocal microscope; secretion-reducing dry eye syndrome; epithelioid cell density; subepithelial nerve fiber

摘要 目的 应用角膜共焦显微镜活体、无创观察分泌减少性干眼症患者的角膜上皮及上皮神经纤维的形态学改变。**方法** 选择临床确诊为分泌减少性干眼症的患者 37 例(73 眼)。印迹细胞学检查对患眼进行干燥程度分级,应用角膜共焦显微镜观察角膜上皮神经纤维的形态学改变,及角膜上皮细胞密度定量测定。**结果** 干眼症患者干燥斑处有明显的角膜上皮细胞坏死脱落区,反光极强;细胞间隙明显增宽,局限上皮细胞缺损、排列稀疏。部分患者呈扁平形浅表层角膜上皮细胞缺失。角膜上皮神经纤维出现分支紊乱、异常走行弯曲,神经纤维不均匀增粗、增生,7 眼未见上皮神经纤维。干燥程度分级 \leq II 级者 6 眼,角膜上皮细胞密度为 (629 ± 168) 个/mm²; III 级者 51 眼,细胞密度为 (615 ± 181) 个/mm²; \geq IV 级者 16 眼,细胞密度 (605 ± 108) 个/mm², 分别与正常眼比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** 分泌减少性干眼症角膜共焦显微镜下呈现角膜上皮细胞密度降低、上皮神经纤维的特征性异常改变,与干眼症干燥程度密切相关。

关键词 角膜; 共焦显微镜; 分泌减少性干眼症; 上皮细胞密度; 上皮神经纤维

分类号 R 777.2 **文献标识码** A **文章编号** 1003-0808(2009)04-0329-03

干眼是干眼症及干眼病的总称^[1-3]。干眼是由于泪液的质或量异常引起泪膜不稳定和眼表损害导致的最常见的眼表疾病之一。干眼症指有引起干眼的局部

及全身性原因,有干眼的症状而无眼表损害者。角膜结膜干燥症为干燥综合征(Sjögren syndrome, SS)的眼表改变,是干眼病的一种。共焦显微镜能对角膜组织进行实时、活体、无创检查^[4-5],包括角膜上皮、基质层和内皮层。本研究应用共焦显微镜对干眼症患者角膜

上皮及上皮下神经纤维的变化进行观察,旨在对干眼症的早期诊断提供一种安全快捷的方法。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选择临床确诊为分泌减少性干眼症的患者 37 例 (73 眼)。双眼发病者 36 例 (72 眼),单眼发病者 1 例 (1 眼);其中男 11 例 (22 眼),女 26 例 (51 眼);年龄 17 ~ 66 岁,平均 46.1 岁。诊断标准:眼部有干燥感、异物感、烧灼感、视疲劳、畏光、疼痛、流泪等,结合泪膜破裂时间 (break up time, BUT) ≤ 10 s, Shirmer I 试验泪液分泌时间 ≤ 10 mm/5 min, 印迹细胞学检查等对干眼进行诊断^[6]。同时排除角膜炎、结膜炎等其他眼表疾患。

1.2 方法

1.2.1 丫啶橙荧光染色结膜印迹细胞检查法^[7]检测干燥程度 取已制备的醋酸纤维素滤纸,0.5% 丁卡因表面麻醉后患眼鼻侧下眼睑结膜处取材,置于载玻片上。在滤膜上加 1 ~ 2 滴 100 mg/L 丫啶橙生理盐水溶液,染色 3 ~ 5 min,荧光显微镜下观察,并行细胞分级。根据滤纸片上细胞附着的多少,分别观察 1 ~ 3 个视野,然后按文献^[8]进行干燥程度分级 (共 0 ~ V 级),分级依据包括杯状细胞密度、上皮细胞的形态、核/浆比例 (N/C) 及标本染色后胞浆颜色的变化。

1.2.2 共焦显微镜观察角膜 采用共焦显微镜 Confoscan 3.0 半自动扫描 (日本 Nidek 公司),主要装置是 12 V/100 W 的卤素光源和红外线、紫外线滤过器;40 \times /0.75 W ∞ /0 水浸式物镜;CCD 照相机;高速数码录图像机;PC 计算机;LCDS-VGA15" 显示器;NAVIS 软件系统。(1)主要技术参数:放大倍数为 1 000 倍;水浸式物镜的视野为

330 mm \times 400 mm;景深 10 μ m,侧像分辨率为 1 ~ 2 μ m,物镜与角膜的距离为 2 mm;扫描频率为 20 HZ;每次扫描 350 幅图,完成 1 次扫描需 7 s。每幅图像大约可见 475 μ m \times 350 μ m 角膜组织,扫描厚度为 4.5 μ m,背景相对暗度为 10 DB,并确保物镜有恒定的扫描速度。(2)检查步骤:将患者的下颌及前额固

定在显微镜的检查托架上,用 0.4% 丁卡因滴眼液点眼行表面麻醉,置开睑器。在 40 倍水浸式圆锥状物镜表面涂上唯地息透明凝胶,将镜头缓慢前移,角膜内皮细胞可见,图像清晰地位于显示器视屏中央时按下摄录按钮,角膜各层的图像即可记录,通过显示器筛选需要的图像存盘。(3)对共焦显微镜所记录的清晰角膜上皮根据软件提供的比例尺进行计数,计算单位面积细胞个数,并观察上皮下神经纤维数量及形态。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 13.0 统计学软件对数据进行统计学分析。不同程度干眼症患者的角膜上皮细胞计数经 Levene 检验方差不齐,其与正常参考值的比较采用 Kruskal-Wallis H 检验,组间的两两比较采用 Nemenyi 秩和检验。P < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 干眼症患者共焦显微镜下形态学变化

干燥斑处有明显的角膜上皮细胞坏死脱落区,反光极强;细胞间隙明显增宽,局限上皮细胞缺损、排列稀疏,细胞排列层数、细胞密度下降 (图 1)。部分患者呈扁平形、有明亮细胞核的浅表层角膜上皮细胞缺失,可见位于上皮细胞中间层多角形无细胞核的细胞排列稀疏、细胞密度下降 (图 2)。角膜上皮神经纤维出现分支紊乱、异常走行弯曲,神经纤维不均匀增粗、增生改变 (图 3),检查中 7 眼未见上皮神经纤维。

2.2 角膜上皮细胞密度

37 例 (73 眼)中,干燥程度 \leq II 级者 6 眼,角膜上皮细胞密度为 (629 \pm 168) 个/mm²; III 级者 51 眼,细胞密度为 (615 \pm 181) 个/mm²,干燥程度 \geq IV 级者 16 眼,细胞密度为 (605 \pm 108) 个/mm²,与正常对照眼相比差



图 1 干燥斑处角膜上皮细胞全层缺失,角膜上皮细胞坏死脱落区反光极强,细胞间隙增宽,颞上方可见上皮基底细胞 图 2 角膜上皮细胞部分缺失,可见上皮细胞中间层的细胞排列稀疏、细胞密度下降 图 3 可见角膜上皮神经纤维分支紊乱,走行异常且弯曲,神经纤维不均匀增粗、增生改变

Fig. 1 Full-thickness absence of corneal epithelium is seen in xeransis spot. Glisten of apparent corneal epithelium exfoliation is strong, and wideness of cellular spaces, reduce of corneal epithelial cell density are also exhibited. Corneal basal cells can be seen in temple to cornea Fig. 2 Excalation of corneal epithelium in xeransis spot is found. The superficial epithelial cells of cornea with applanatus and light nuclear are absent. Interlayer corneal epithelium is raritas and cell density is decreased Fig. 3 Abnormal change of nerve fiber in subepithelium can be seen, including the disorder, asymmetrical thickness and hyperplasia of nerve branch

异均有统计学意义($P < 0.01$)。正常人角膜上皮细胞密度为 $(1\ 200 \pm 370)$ 个/ mm^2 。其中干燥程度 \leq Ⅱ级者6眼与正常人角膜上皮细胞密度相比,差异有统计学意义($P < 0.01$)。

2.3 不同级别干眼共焦显微镜观察分级

干燥程度 \leq Ⅱ级者,上皮局灶性缺损,上皮层基底细胞形态改变不明显;干燥程度为Ⅲ级者,上皮层浅层细胞消失,上皮神经纤维增生,基底细胞多形性改变;干燥程度 \geq Ⅳ级者,上皮面大量卷丝,上皮神经纤维增生、分叉,基底细胞变大,多形性改变。

3 讨论

3.1 共焦显微镜在眼部疾病中的应用

活体共焦显微镜 3.0 可提供实时、非侵入性和非接触性角膜各部分的连续图像,可用以分析和成像对比。其利用 Z 扫描从角膜内皮层到上皮层进行逐层扫描,按照设定间距进行,可见到清晰的角膜图像,包括角膜内皮细胞、角膜基质细胞、上皮神经纤维和角膜上皮细胞;并可对各层细胞及神经纤维进行计数。目前已知共焦显微镜在临床中应用于角膜变性疾病、角膜屈光术中及术后等的诊断,通过分析比较角膜各层细胞及细胞间质与正常角膜间的差异,提供重要的临床信息。同时,在感染性角膜病的诊断治疗中,共焦显微镜可以显示不同种类的炎性细胞、真菌菌丝、棘阿米巴包囊,对角膜感染可进行早期诊断及临床随访,这些在我院已广泛开展,国内外也有大量报道^[9-11]。但共焦显微镜应用于干眼症诊断,国内尚未见报道。

3.2 干眼的临床诊断和共焦显微镜观察

目前干眼症的诊断,主要依据眼部病史、症状、临床检查,包括裂隙灯检查、Schirmer I 和 Schirmer II 试验、BUT、眼表活体染色、泪液清除率、泪液渗透压、乳铁蛋白等^[12]。根据临床病例显示,共焦显微镜下显示干燥斑处有明显的角膜上皮细胞坏死区,反光极强,与裂隙灯下观察到的角膜上皮点染区相一致。角膜上皮细胞局限缺损,密度下降,当印迹细胞 $>$ Ⅱ级时,细胞密度明显下降,与正常值比较差异有统计学意义,推测其上皮细胞因泪液不足而坏死脱落导致细胞密度下降,这种改变可以在共焦显微镜上进行定量分析。随

印迹细胞级别的增加,干眼严重程度的增加,角膜上皮细胞密度也随之下降。并且可以观察到角膜上皮神经纤维出现分支紊乱、异常走行弯曲,神经纤维不均匀增粗、增生改变,其中部分病例未见上皮神经纤维。同样在其他眼表病变中,也可以观察到上皮神经纤维的改变,如病毒性角膜炎患者上皮神经纤维大多减少或消失,PRK 术后 1~2 个月可以观察到神经纤维的增加,故上皮神经纤维的改变是干眼的共焦显微镜表现的一部分,但并非特异性表现。干眼症共焦显微镜改变主要集中在上皮浅层,基质及内皮层均正常。其他眼病则不同程度地累及角膜各层,或在共焦显微镜检查到相应病原体,以资鉴别。

总之,共焦显微镜对干眼的诊断具有一定的价值,在观察到可疑的病变表现,应考虑到干眼症的可能性,可通过临床进一步的检查证实诊断,可避免干眼症的漏诊、误诊,此方面的研究尚有待于进一步深入。

参考文献

- 1 刘祖国,彭娟.干眼的诊断与治疗规范[J].眼科研究,2008,26(3):161-164
- 2 朱姝,贾奔.2 型糖尿病与干眼症的相关性分析[J].眼科研究,2007,25(8):602-604
- 3 宋秀君,王金华.干眼患者和正常人泪液中胰岛素含量的测定及比较[J].眼科研究,2007,25(5):367-369
- 4 胡蓉蓉,顾扬顺.共焦显微镜检查在眼表系统中的应用[J].眼科研究,2007,25(11):893-896
- 5 罗丽辉,刘祖国,陈家祺,等.正常角膜基质细胞密度和角膜厚度的研究[J].眼科研究,2004,2(25):512-515
- 6 刘祖国,钟铮,梁凌毅.干眼的诊治[J].食品与药品,2005,7(5A):1-4
- 7 孙秉基,徐锦堂.角膜病的理论基础与临床[M].北京:科学技术文献出版社,1994:154-157
- 8 Tsai RJ, Tseng SC. Human allograft transplantation for corneal surface construction[J]. Cornea, 1994, 13(5):389-400
- 9 Cavanagh HD, Petroll WM, Alizadeh H, et al. Clinical an diagnostic cause of in vivo confocal microscopy in patients with corneal disease[J]. Ophthalmology, 1993, 100:1433-1454
- 10 李航,王立,邹留河,等.共焦显微镜在棘阿米巴角膜炎临床诊断中的应用[J].眼科,2003,12(6):336-338
- 11 Leonardo M, Mario N. Confocal microscopy of the cornea[M]. Thorofare: SLACK Inc, 2002:7-14
- 12 刘祖国.干眼的诊断[J].中华眼科杂志,2002,38(5):318-320

(收稿:2008-06-12 修回:2009-02-25)

(本文编辑:王莉红)

读者·作者·编者

欢迎浏览本刊网站

《眼科研究》新的网站已经开通,欢迎浏览相关信息并留言。网站域名:<http://ykyj.chinajournal.net.cn>