

带角膜缘的深板层角膜移植联合自体结膜移植和羊膜移植治疗严重眼表烧伤

洪晶 刘广峰 杨德琪

【摘要】 目的 探讨带异体角膜缘干细胞的深板层角膜移植联合自体球结膜移植和羊膜移植治疗严重眼烧伤的临床疗效。方法 陈旧性热烧伤和化学腐蚀伤的患者 19 例 19 眼。无睑球粘连 6 眼, 轻度睑球粘连 5 眼, 重度睑球粘连 8 眼。采用带巩膜环的全厚角膜移植, 缺失的结膜组织用羊膜和自体结膜修补, 随访时间为 9m ~ 26m, 观察视力、角膜上皮修复情况、角膜透明性、睑球粘连复发情况及排斥反应的发生情况。结果 术后半年角膜植片透明率为 89.5%, 睑球粘连复发率为 23.1% (3/13); 术后矫正视力在 0.3 以上的为 52.6%, 在 0.1-0.3 为 89.5%, 2 例出现持续上皮缺损和排斥反应, 术后一年以上植片透明率为 57.8%, 睑球粘连复发率为 38.5% (5/13); 术后最佳矫正视力在 0.3 以上的为 36.8%, 在 0.1-0.3 为 57.9%, 有 8 例 (42.2%) 患者出现排斥反应同时有角膜上皮的缺损。结论 带异体角膜缘干细胞的深板层角膜移植手术是治疗重症眼烧伤角膜混浊的有效方法, 具有良好的光学性能 自体结膜联合羊膜移植是治疗重症睑球粘连的有效方法, 而羊膜在这类病例中只能起到暂时支架的作用, 排斥反应是异体角膜缘移植失败的主要原因。

【关键词】 角膜缘干细胞; 深板层角膜移植; 自体结膜移植; 羊膜移植; 眼烧伤

自角膜缘干细胞的理论问世后, 传统改良基地的板层角膜移植手术已被自体 and 异体角膜缘干细胞移植手术所取代, 眼表重建手术也越来越多地应用到临床。不同来源的干细胞如自体 and 异体的角膜缘干细胞作为种子细胞进行干细胞移植手术已取得了可喜的成绩。但对于严重眼烧伤已存在角膜基质混浊和睑球粘连的患者, 单纯干细胞移植手术虽改善了眼表结构但不能获得良好的视力, 常需二次穿透性角膜移植手术来获得透明的角膜。然而由于这样的患者角膜基质存在密集的新生血管, 移植后常出现严重的移植排斥反应, 此外二次手术还可导致角膜干细胞的丢失, 增加了患者的痛苦和经济负担。因此对于这类患者能否一次手术同时解决眼表干细胞和视力的问题? 我们采用带角膜缘干细胞的全厚角膜植片 (不包括后弹力层和内皮细胞) 进行移植手术, 合并睑球粘连的患者联合自体结膜移植手术治疗重症烧伤, 得到了较满意的效果, 下面对这组患者的临床效果和影响因素进行分析。

资料与方法

1. 病例来源: 2003 年 1 月——2005 年 9 月来院就诊的陈旧性热烧伤和化学腐蚀伤的患者, 资料齐全病例 19 例 19 眼。男 16 例, 女 3 例; 右 11 眼, 左 8 眼; 年龄最小 17 岁, 平均年龄 (32.4 ± 18.6) 岁; 受伤时间最短为 9m, 平均时间 (13.7 ± 7.4) m; 硷烧伤 5 眼, 酸烧伤 6 眼, 热烧伤 8 眼; 无睑连 6 眼, 轻度睑球粘连 (与角膜粘连 50% 以下包括 50%) 5 眼, 重度睑球粘连 (与角膜粘连 50% 以上) 8 眼。术前视力: 光感 (+) 12 例; 眼前手动 5 例; 眼前指数 2 例。7 例患者以前有羊膜移植手术的病史, 3 例患者有板层角膜移植手术的病史。

2. 材料来源: 角膜来源于中国医科大学眼库, 所有角膜材料均为离体时间 24h 内, 湿房保存的新鲜供体, 供体年龄为 (20-38) 岁。羊膜: 来源于健康剖宫产的孕妇, 血清学检查排除传染性疾病, -80℃ 保存于甘油: DMEM=1:1 的溶液中, 3m 内使用。结膜 所有患者均一眼受伤, 另眼健康, 结膜组织均取材于患者自体。

3. 手术方法: 所有手术均在局麻下进行, 均由一名手术医生完成。手术采用三种方式 (1) 带角膜缘的全角膜深板层角膜移植术: 选择病例为无睑球

作者单位: 100083 北京, 北京大学眼科中心; 北京大学第三医院眼科中心 (洪晶, 刘广峰) 110001 沈阳, 中国医科大学附属第一医院眼科 (杨德琪)

通讯作者: 洪晶

粘连的6例患者,为I组;(2)带角膜缘的全角膜深板层角膜移植术+羊膜移植术:选择病例为轻度睑球粘连的5例患者,为II组;(3)带角膜缘的全角膜深板层角膜移植术+自体结膜移植术+羊膜移植术:选择病例为重症睑球粘连的8例患者,为III组。手术步骤如下:局麻下,缝线开睑,剪开角膜表面的新生血管膜,彻底缓解粘连使眼球活动自如,尽量保留正常的结膜组织,13mm的环钻打印,剥离1/3厚度的巩膜至角膜缘,剥离角膜至3/4厚度,然后进行第二次剥离达后弹力层或后弹力层前仅存少量基质。13.5mm的带巩膜环(包含有角膜缘干细胞)的供体角膜,剥离掉后弹力膜,置于植床,保持供体和受体的角膜方向一致(水平和垂直位相一致),10-0的尼龙线间断缝合24针。对于轻度睑球粘连的病例,缺失的结膜组织用保存的羊膜修补,固定于浅层巩膜行间断缝合;重度睑球粘连的患者缺损的睑、球结膜用自体结膜修补,固定于睑板和浅层巩膜,不足区域用保存羊膜修补。结膜取材部位在角膜缘外1mm上、下球结膜,取材时保持健眼完整的Tenon's囊,取材大小为8×12mm,取材区不予以缝合。手术结束前所有患者均在患眼角膜表现覆盖羊膜。

4. 随访及观察指标:手术后1w内每日观察:术后1m内每周观察;术后3m内每2w观察;术后6m内每月观察;术后1y内每2m观察;术后2y内每3m观察。观察指标:视力、角膜上皮修复情况、角膜透明性、睑球粘连复发情况、及排斥反应的发生情况。

5. 手术后角药:术后全身应用激素(强的松)1mg/kg·d,半个月后按每周5mg递减,减至15mg时维持至6m,用药期间检测血压、血糖、血中离子水平,同时给予补钙、补钾。所有患者均用抗生素点眼液1m,2%CsA点眼液2y,激素点眼液2y,人工泪液1y~2y,随着手术后时间的延长点眼频度逐渐降低,由开始的6次/日递减至1次/日,有6例患者联合应用FK506。

结 果

术后患者的随访时间为9m-26m,平均(17.6±8.2)m。手术后6m及12m以上的随访结果见下列表1及表2。

由表1中可见,术后半年时角膜植片透明率为89.5%,睑球粘连复发率为23.1%(3/13),其中II组2例,III组1例;术后矫正视力在0.3以上的

为52.6%,最佳矫正视力0.6,在0.1或以上的为89.5%,有4例患者出现角膜上皮缺损,经羊膜覆盖术后,有2例患者角膜上皮修复,另2例出现持续上皮缺损,反复治疗无效,最后导致植片水肿混浊。由表2可见,术后一年以上时植片透明率为57.8%,睑球粘连复发率为38.5%,在0.1或以上的为57.9%,有6例患者出现角膜上皮缺损,经羊膜覆盖术后,有3例患者角膜上皮修复,另3例持续上皮缺损,反复治疗无效,最后导致植片水肿混浊。另外有5例患者出现严重的排斥反应,药物无法控制导致植片混浊。

表1 术后半年患者的临床观察结果及并发症情况

组别	总例数	随访时间(月)	术前最佳视力	术后视力			角膜透明	角膜混浊上皮缺损	睑球粘连复发
				0.3↑	0.1-0.3	0.1↓			
I	6	6.3±1.2	指数	3	3	0	6(100%)	0	0
II	5	5.8±1.7	手动	3	1	1	4(80%)	1(20%)	2(40%)
III	8	6.1±1.5	手动	4	3	1	7(87.5%)	1(12.5%)	1(12.5%)
合计	19	6.1±1.1		10	7	2	17(89.5%)	2(10.5%)	3(23.1%)

表2 术后一年以上患者的临床情况及并发症结果

组别	总例数	随访时间(月)	术前最佳视力	术后视力			角膜透明	角膜混浊上皮缺损	睑球粘连复发
				0.3↑	0.1-0.3	0.1↓			
I	6	18.3±8.6	指数	3	1	2	4(66.7%)	2(33.3%)	0
II	5	17.6±9.4	手动	1	1	3	2(40%)	3(60%)	3(40%)
III	8	16.8±7.2	手动	3	2	3	5(62.5%)	3(37.5%)	2(25%)
合计	19	17.6±8.2		7	4	8	11(57.8%)	8(42.2%)	5(38.5%)

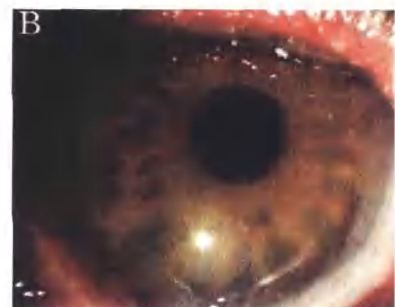


图1 陈旧性碱烧伤后一年,角膜血管化,行带角膜缘的深板层角膜移植术后二个月 A.术前 B.术后

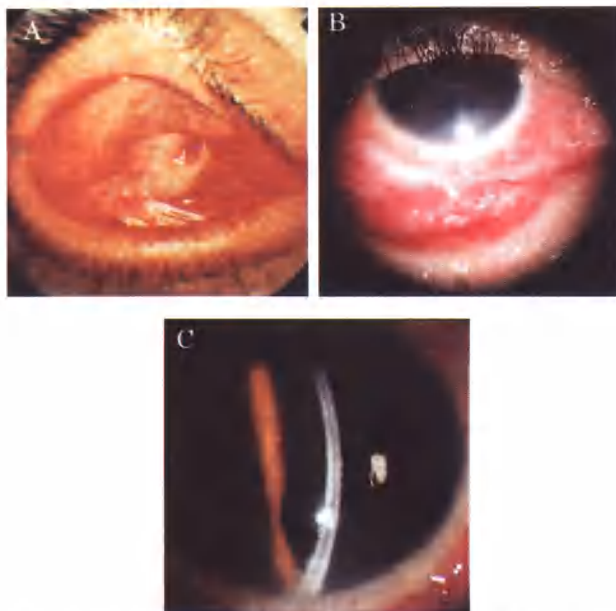


图2 陈旧性酸烧伤后二年,行板层角膜移植二次、羊膜移植四次,重症睑球粘连,此次手术行带角膜缘的深板层角膜移植联合自体结膜移植和羊膜移植,重建了眼表,术后半年 A.手术前外观照 B.术后外观照 C.术后裂隙照

讨 论

早在1977和1984^[1-2]提出的结膜移植术和角膜上皮细胞移植术时实际上已经包含了角膜缘干细胞的内容,只是当时对干细胞的定位和理论没有充分的理解,因此也没有把这一手术特别认为是角膜缘干细胞移植术。随着对这一理论的不认识,这项手术在临床上不断改善并得到了普遍的开展,利用自体 and 异体来源的角膜缘干细胞移植治疗严重眼表烧伤的患者取得了良好的效果^[3]。对于单纯角膜缘干细胞缺失,而角膜组织相对透明的患者,仅采用干细胞即可达到理想的效果,但对于合并角膜混浊、瘢痕的病人,必须联合角膜移植手术才能使患者获得有用的视力。化学腐蚀伤的角膜基质层内含有大量的新生血管,穿透角膜移植手术的失败率居所有角膜病因的首位。

深板层角膜移植术是板层角膜移植术的发展和更新,对于角膜内皮功能正常的患者,可以彻底清除病变的角膜基质组织,保留后弹力膜和角膜内皮,不进入前房,既降低了手术中并发症,同时大大减少了手术后排斥反应,同时手术后可获得清晰的视光区,恢复良好的视力。与常规的板层角膜移植相比,深板层角膜移植手术是一项费神,耗时的主要术中并发症,发生率在10%和20%之间。我

们在手术中有二例患者发生后弹力层撕裂而改行穿透角膜移植手术,这二例患者没列入本组观察中,有一例发生微穿孔,因破孔不大,经前房注气后与植片贴复良好,未改术式,列入本组观察中,我们发生后弹力层破孔的发生率为14.3%。在后期手术中我们不力求达到仅存后弹力层,而是剥离掉95%的角膜基质,在后弹力层表面残留有少许的基质纤维,采用这种方式避免了后弹力层破孔的发生,同时残留的植床仍然清澈透明,不会影响术后的视力。本组病例采用带异体角膜缘干细胞的深板层角膜移植术治疗严重眼烧伤的患者,半年时植片成活率为89.5%。这些结果足以说明深板层角膜移植术在视功能的改善上完全可以取代穿透角膜移植术。一年时植片成活率为57.8%,这一结果与Ilari^[4]报道的单纯异体角膜缘干细胞移植的植片成活率54%相符,但却明显高于异体角膜缘干细胞联合穿透性角膜移植手术的病例(14例患者,13例植片失败),说明深板层角膜移植手术本身排斥反应的发生率很低,本组病例排斥反应的原因主要取决于异体角膜缘干细胞。Vajpayee等^[5]报道应用大直径12-13mm的常规板层角膜移植手术治疗严重烧伤的病例,剥切的深度为300 μ m,没有尝试达到后弹力层,术后也没有应用免疫抑制剂,随访7.4 \pm 3.2个月,视力在0.25以上的占33%,大部分患者达到良好的上皮化,但因为观察的时间短因此长期的效果尚有待于观察。本组8例植片混浊的患者中有3例由于植片上皮持续缺损,无法治愈最后导致植片水肿、混浊,有5例患者首先出现植片的排斥反应,而后出现角膜上皮的缺损。分析原因我们认为角膜上皮细胞的持续缺损主要与下列二方面因素有关:一是与泪液的功能障碍有一定的内在关系,虽然在手术前我们试图检测患者泪膜功能和角膜知觉,但因睑球粘连穹隆难以发现及角膜表面凹凸不平等原因,使这项检查难以完成。但从我们的结果可见术后出现角膜上皮缺损的病例主要发生在II和III组,这二组患者均有不同程度的睑球粘连,说明结膜的损伤较重,结膜的杯状细胞丢失较多,影响了泪液中黏液的成分,同时睑球粘连的患者睑缘部位均有破坏,故又影响了脂液性的泪液分泌,因此泪膜功能障碍是角膜上皮缺损的原因之一;二与角膜移植片的排斥反应密切相关。我们的观察结果角膜移植片的透明率要低于Tseng^[6]等的报道结果,分析原因Tseng的观察组所有患者均给予全身应用免疫抑制剂环孢霉素,部分患者全身联合给予激素治疗,我们的病例均局部给

予 2% 环孢霉素和激素点眼, 全身激素应用半年的时间, 仅三例患者联合应用 FK506 (这三例患者截止最后一次复查, 植片一直保持透明)。目前的研究已经证明全身应用免疫移植剂可明显提高异体角膜缘干细胞植片的存活率, 其成功率为 87%^[6], 同时主张激素、免疫抑制剂联合应用, 持续时间为 12m ~ 18m。

本组病例中, 有 13 例 (68.4%) 患者手术前存在睑球粘连, 其中重度粘连患者为 8 例 (42.1%)。我们根据粘连范围的大小决定术式, 与角膜粘连小于 50% 的采用羊膜移植术重建结膜, 大于 50% 采用羊膜移植联合结膜移植重建结膜。结果表明羊膜移植术后半年即有 2 例 (40%) 复发, 术后一年时有 3 例 (60%) 复发, 而结膜和羊膜联合手术组术后半年有 1 例 (12.5%) 复发, 术后一年时有 2 例 (25%), 经统计学分析二组间有显著的差异, 并且 III 组病人的结膜缺失要远远大于 II 组病人。说明在结膜重建的先择上, 较大面积的结膜缺失羊膜非最好的选择, 必须联合自身的结膜组织才能达到长期稳定的治疗效果, 这些结果与国内史伟云^[7]的报道相符。羊膜是很好的组织生物膜, 1997 年 Lee 和 Tseng^[8]首次将其应用于角膜上皮缺损的患者, 此后羊膜移植手术被广泛应用于眼瘢痕性疾病^[9]、翼状胬肉及眼化学伤和热烧伤后眼表重建手术^[10]。羊膜移植已经表明可促进角膜上皮的修复、减轻炎症反应、减少血管化和瘢痕的形成。但羊膜作为生物组织, 对于大面积

的组织缺损只能充当暂时支架, 不能成为永久的组织替代物。

参 考 文 献

- 1 Thoft RA. Conjunctival transplantation. Arch Ophthalmol. 1977; 95: 1425-1427
- 2 Thoft RA. Keratoepithelioplasty. Am J Ophthalmol, 1984; 97: 1-6
- 3 Kim JY, Djalilian AR, Schwartz GS, Holland EJ. Ocular surface reconstruction: limbal stem cell transplantation. Ophthalmol Clin N Am 2003; 16: 67-77
- 4 Ilari L, Daya SM. Long-term outcomes of keratolimbal allograft for the treatment of severe ocular surface disorders. Ophthalmology 2002; 109: 1278-84
- 5 Vajpayee RB, Thomas S, Namrata S, et al. Large diameter lamellar keratoplasty in severe ocular burns. A technique of stem cell transplantation. Ophthalmology 2000; 107: 1765-1768
- 6 Solomon A, Ellies P, Anderson DF, et al. Long-term outcome of keratolimbal allograft with or without penetrating keratoplasty for total limbal stem cell deficiency. Ophthalmology 2002; 109: 1159-1166
- 7 史伟云, 王富华, 高华等. 眼烧伤后重度睑球粘连眼表重建的临床研究, 2005; 41 (9): 791-795
- 8 Lee S, Tseng SCG. Amniotic membrane transplantation for persistent epithelial defects with ulceration. Am J Ophthalmol, 1997; 123: 303-312
- 9 Prabhasawat P, Barton K, Burkett G, et al. Comparison of conjunctival autograft, amniotic membrane grafts and primary closure for pterygium excision. Ophthalmology, 1997; 104: 974-985
- 10 Tseng SCG, Prabhasawat P, Lee SH. Amniotic membrane transplantation for conjunctival reconstruction. Am J Ophthalmol, 1997; 124: 765-774

(收稿时间: 2006-05)