

# 活体共聚焦显微镜在干燥综合征眼表形态观察中的应用

刘瑞<sup>1</sup>, 李冰<sup>2</sup>, 盛敏杰<sup>2</sup>

基金项目: 国家自然科学基金项目(面上项目)资助(No. 81400373)

作者单位:<sup>1</sup>(200072)中国上海市, 同济大学附属第十人民医院眼科;<sup>2</sup>(200090)中国上海市, 同济大学附属杨浦医院眼科

作者简介: 刘瑞, 硕士, 住院医师, 研究方向: 白内障、角膜病。

通讯作者: 盛敏杰, 硕士, 主任医师, 研究方向: 白内障、角膜病。1532323@tongji.edu.cn

收稿日期: 2016-08-30 修回日期: 2016-11-02

## Application of *in vivo* confocal microscopy for ocular surface observing in patients with Sjögren's syndrome

Rui Liu<sup>1</sup>, Bing Li<sup>2</sup>, Min-Jie Sheng<sup>2</sup>

Foundation item: National Nature Science Foundation Project (No. 81400373)

<sup>1</sup>Department of Ophthalmology, Shanghai Tenth People's Hospital Affiliated to Tongji University, Shanghai 200072, China; <sup>2</sup>Department of Ophthalmology, Yangpu Hospital Affiliated to Tongji University, Shanghai 200090, China

Correspondence to: Min - Jie Sheng. Department of Ophthalmology, Yangpu Hospital Affiliated to Tongji University, Shanghai 200090, China. 1532323@tongji.edu.cn

Received: 2016-08-30 Accepted: 2016-11-02

### Abstract

• Sjögren's syndrome (SS) is a kind of chronic inflammation auto-immune disorder, which characterized by dysfunction and destruction of exocrine glands. The presentation of SS in eyes we called keratoconjunctivitis sicca (KCS). Although significant advances in both basic and clinical research have been made over the past years, the pathophysiological mechanisms of KCS are still imprecise. *In vivo* confocal microscopy (IVCM) is a newly emerging, noninvasive with high-resolution technology, which allows the observation of corneal cells, corneal nerves, immune and inflammatory cells, conjunctiva and meibomian gland structures on a cellular level. Therefore, it could improve the understanding of the pathogenesis and pathophysiology of the KCS. In this study, we reviewed the articles of IVCM to obtain an integrated, morphological and functional evaluation of the whole ocular surface in KCS patients with SS.

• KEYWORDS: Sjögren's syndrome; keratoconjunctivitis sicca; *in vivo* confocal microscopy; ocular surface; diagnosis

Citation: Liu R, Li B, Sheng MJ. Application of *in vivo* confocal microscopy for ocular surface observing in patients with Sjögren's syndrome. *Guoji Yanke Zazhi(Int Eye Sci)* 2016;16(12):2213-2216

### 摘要

干燥综合征(Sjögren Syndrome, SS)是一种以主要累及外分泌腺体的慢性炎症性自身免疫疾病, SS的眼部表现称为干燥性角结膜炎。尽管在过去的几年中, 与其相关的基础与临床研究获得了不少进展, 但其病理生理机制仍不十分明确。活体共聚焦显微镜作为一种新型光学显微镜, 具有无创、高分辨率等优点, 它使得人们在可以在细胞水平对角膜各层细胞、角膜神经、免疫及炎症细胞、结膜以及睑板腺结构进行观察。因此, 它可以帮助人们更好地理解干燥性角结膜炎的发病机制以及病理生理, 从而协助该病的诊断和治疗。本文就共聚焦显微镜检查在SS相关角结膜炎患者眼表形态观察中的应用作一综述。  
关键词: 干燥综合征; 干燥性角结膜炎; 活体共聚焦显微镜检查; 眼表; 诊断

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2016.12.10

引用: 刘瑞, 李冰, 盛敏杰. 活体共聚焦显微镜在干燥综合征眼表形态观察中的应用. 国际眼科杂志 2016;16(12):2213-2216

### 0 引言

干燥综合征(Sjögren Syndrome, SS)是一种以主要累及外分泌腺体的慢性炎症性自身免疫疾病。除主要累及泪腺及涎腺导致眼干、口干的症状外, 尚有其他外分泌腺及腺体外其他器官受累继而出现多系统损害的表现, 淋巴细胞浸润外分泌腺为其特征<sup>[1]</sup>。SS的眼部表现称为干燥性角结膜炎(keratoconjunctivitis sicca, KCS)<sup>[2]</sup>。SS相关KCS的发病机制目前尚未阐明。尽管KCS主要表现为泪液缺乏, 但有研究表明, 泪液分泌减少并不是引起其眼表上皮改变的主要原因, KCS可能是SS的眼表原发性疾病, 它的发生主要是由于眼表自身的病变引起, 炎症细胞、组织相容性抗原(histocompatibility antigens, HLA-DR)、P物质、黏蛋白5AC(MUCSA)等在角膜及结膜上皮的异常表达, 表明眼表上皮细胞参与了SS相关KCS发病机制中重要的炎症和免疫反应, 促炎反应和免疫调节机制间的失衡可能是导致组织损伤的元凶<sup>[3-8]</sup>。SS伴有角膜上皮和上皮下神经的改变, 以及由此导致的角膜敏感性改变。完整的角膜神经支配对角膜上皮细胞有局部的营养和支持作用, SS患者部分角膜细胞可能失去神经的支配, 角膜细胞与感觉神经的联系丧失, 同时角膜上皮细胞密度下降也加重了角膜神经的破坏<sup>[4]</sup>。

活体共聚焦显微镜(*in vivo* confocal microscopy, IVCM)作为一种新型光学显微镜, 具有无创、高分辨率、高放大倍数的优点, 可对干眼患者的角结膜组织在细胞

水平进行活体形态学的观察和研究,连续观察包括角膜上皮、基质层和内皮层等,揭示干眼的病理变化<sup>[1,9-11]</sup>。本文尝试对活体共聚焦显微镜在SS相关角结膜炎患者眼表形态观察中的应用作一综述。

## 1 角膜

**1.1 角膜上皮** 角膜上皮细胞层由外向内分为三层:表面上皮细胞层、翼状上皮细胞层和基底细胞层。基底细胞是单层柱状细胞,由角膜缘干细胞分化形成,细胞间连接致密,排列整齐。随着上皮组织的生长,成熟和老化的细胞逐渐被推向翼状细胞层,细胞形态也由柱状扁平化,逐渐分化成翼状上皮细胞。随着成熟程度的不同,细胞间的连接也变得疏松,体积不规则,表层可见凋亡脱落的细胞。翼状上皮细胞中的中间上皮细胞最终分化成表面上皮细胞。用IVCM观察时,上皮层由内向外,随细胞逐渐成熟,细胞与细胞核体积逐渐增大,细胞密度逐渐减少,细胞边界反光逐渐增强。有研究表明,基底细胞直径约10 $\mu\text{m}$ ,而最表层细胞直径增大至30~50 $\mu\text{m}$ <sup>[12]</sup>。SS患者角膜上皮细胞出现形态不规则并伴有斑片状改变、细胞间隙增宽、部分患者局限性上皮剥脱、微小囊肿、甚至发生糜烂,细胞数量显著减少<sup>[11,13-16]</sup>。用IVCM可观察到SS患者角膜表面上皮细胞的大小不均、密度下降,胞核呈分裂状<sup>[11,17]</sup>,干燥斑处角膜上皮细胞全层缺失。除此之外,还可见大量强反光区域(可能为损伤或脱落细胞)和朗格汉斯细胞的树突状强反光结构<sup>[18]</sup>。对于翼状细胞层和基底细胞层的细胞数量,不同学者持有不同的观点。多数研究表明SS患者的翼状细胞层和基底细胞层较正常人也是明显下降的<sup>[4,19]</sup>;也有研究表明SS患者的基底细胞与正常人之间的差异无统计学意义<sup>[16,20]</sup>,甚至增高<sup>[21-22]</sup>。此外,基底细胞的大小会因为干燥程度的不同而出现差异:程度越严重的干眼患者角膜基底细胞的改变越明显,往往表现为细胞增大,呈现多形性<sup>[15]</sup>。某些干眼症患者角膜上皮荧光素染色阳性,SS患者角膜结膜各区域染色阳性率较其他类型干眼高,中央、下方角膜和下方结膜更容易出现染色<sup>[23]</sup>。该体征经由IVCM观察证实是由于表面角膜上皮细胞异常,如紧密连接完整性受损、上皮通透性增加以及细胞凋亡等原因导致其摄取荧光素增加所造成,而非既往所认为的角膜上皮缺损处的着染<sup>[24]</sup>。

**1.2 角膜基质** 角膜基质层包括角膜基质细胞、纤维和基质。基质细胞在正常情况下处于休止状态,体积较小,呈长梭形,胞核小,染色质浓集,胞质少,浅基质层细胞密度最高,随着深度的加深,细胞密度逐渐下降。IVCM下,基质细胞胞核反光较强,形态为成骨细胞状、纺锤状等多种形态,胞质反光较弱<sup>[4,14]</sup>。

SS患者角膜基质细胞呈有突起的多角形,胞核与胞质边界不清,胞体与胞核体积都较大,胞质反光减弱,胞核反光增强<sup>[4]</sup>,浅基质层可见强反光。对于细胞呈异常高反光这一现象,有研究认为这是处于激活状态的基质细胞所表现,角膜基质细胞可能来源于骨髓细胞<sup>[17]</sup>。Stern等<sup>[25]</sup>在干眼动物模型中还发现了角膜基质细胞凋亡的增加,但目前尚无关于干眼角膜基质细胞激活与细胞凋亡关系的报道。Benitez del Castillo等<sup>[20]</sup>分别比较了干燥综合征干眼(dry eye associated with Sjögren syndrome, SS-DE)和非干燥综合征干眼(dry eye not associated with Sjögren syndrome, NSS-DE)之间的浅、深层

基质细胞密度,发现SS-DE患者的浅基质层细胞密度明显高于NSS-DE患者,而对于深基质层,两者之间不存在统计学差异。

**1.3 角膜内皮** 角膜内皮细胞层是一层单层扁平细胞,呈六角形,大小均等,紧密镶嵌,对维持角膜透明和相对脱水状态有重要作用。内皮细胞不能分裂增殖,数量随年龄增长而减少。IVCM下,内皮细胞呈六边形,目前尚未发现SS患者的内皮细胞密度与正常人相比有形态学上的改变<sup>[2]</sup>。

**1.4 角膜上皮神经** 角膜神经是“泪腺-眼表复合体”不可分割的组成部分,具有协调基础及刺激泪液分泌、维持瞬目、泪液清除等功能。同时,角膜神经所释放的神经营养因子对于维持角膜内皮细胞的正常生理学功能非常重要。

角膜神经起源于三叉神经眼支,是人体中神经支配最密集的组织之一。正常人角膜上皮基底细胞下层神经排列比较规则,平行走行,神经纤维弯曲度不大,神经纤维分支不多,纤维之间的交联很少,神经串珠清晰可见。Muller等<sup>[26]</sup>研究证实角膜细胞由角膜神经直接支配。角膜细胞与角膜神经相互作用,角膜细胞是维持神经纤维所必需的,神经营养因素也是角膜细胞存在必需的,其中任何一方数量的减少都会导致另一方数量降低<sup>[4]</sup>。

NSS-DE和SS-DE患者角膜上皮基底细胞下层神经发生明显的形态学改变,在IVCM下表现为神经纤维变细,排列比较杂乱,走行歪曲,神经弯曲度大,分支多,严重者神经连续性甚至中断,SS患者的改变更为明显<sup>[4]</sup>。有研究表明,神经纤维的以上变化,可能与神经纤维的受损与退化有关<sup>[21]</sup>,神经弯曲度增加,提示神经纤维可能正处于增生状态,而分支增多则是神经退行性变的表现<sup>[27]</sup>。但现阶段,对于神经纤维的数量改变以及神经串珠的数量改变尚且存在争议。Zhang等<sup>[28]</sup>通过比较泪液减少的NSS-DE患者与SS-DE患者的角膜上皮神经密度,发现SS患者角膜上皮神经密度较NSS-DE及对照组增多,这与Tuominen等<sup>[13]</sup>的研究结果一致,认为分支增多可被视为神经再生,正是由于眼干所致的负反馈机制引起神经出芽状再生从而导致角膜神经密度的增高,而分支增多则是神经退化的表现。Villani等<sup>[21]</sup>亦认为神经纤维的弯曲度增加与神经串珠的数量增多与神经的退行性变,以及生长因子调控的神经再生有密切联系。然而Benitez del Castillo等<sup>[20]</sup>同样比较了SS患者与NSS-DE患者的角膜下神经密度,与对照组相比,这两组的神经密度均降低,且SS组减少更为明显。此外,有研究者发现SS及NSS-DE患者角膜基底层下神经串珠形成数量明显增加,并认为这些特殊结构可能是含有代谢活性递质的神经纤维,其有助于角膜上皮营养异常情况的改善<sup>[21]</sup>,或是神经串珠的形成代表了神经的损伤,从而需要通过炎症反应来分泌神经生长因子促进修复<sup>[7]</sup>。但是,目前也有相当数量的研究表明,SS患者的角膜神经串珠数量是减少的<sup>[4,29]</sup>。之所以出现相互矛盾的结果,可能与其及所用设备的不同有一定关系,不同的研究采用了不同类型的共聚焦显微镜,分辨率、扫描深度及分析方法均有差异;此外,纳入实验的患者病情严重程度不一,神经损害程度不一,并且与样本数量也有一定的关系。Benitez del Castillo等<sup>[20]</sup>样本量仅为11例。若想得出更准确的结论,我们需要进一步的研究,对于干眼症状

的严重程度进行分级而后分别分析其与神经密度的相关性。

**1.5 免疫细胞** SS作为一种以主要累及外分泌腺体的慢性炎症性自身免疫疾病,活体观察角膜免疫状态的改变,对于SS的诊断、治疗均有重要意义。朗格汉斯细胞(Langerhans cell, LC)作为上皮的树突状细胞,是抗原提呈细胞中的重要成分,具有摄取、处理、呈递抗原的功能,可引起多种炎症细胞(包含其他白细胞)参与眼表免疫炎症反应。Kobayashi等<sup>[30]</sup>发现在IVCM下朗格汉斯细胞为树枝状强反光结构。传统的观点认为中央区角膜上皮层内没有朗格汉斯细胞的存在,但最近的激光角膜共焦显微镜观察发现正常人的中央区及周边部角膜上皮层内均存在一定数量的朗格汉斯细胞。正常人角膜内LC主要散在分布于翼状细胞层到上皮基底层下神经纤维层内,且周边区的LC密度明显高于中央区角膜;而在SS患者角膜中,无论是哪一种形态的LC,密度较正常人均显著提高<sup>[31-33]</sup>。根据林辉的报道,中央角膜上皮层内的LC密度与低分泌状态以及泪膜不稳定状态具负相关关系,而与角膜上皮细胞损害情况(FL得分)呈正相关性。从而证实,LC密度与干眼严重程度之间呈正相关关系,意味着这些SS患者的干眼状态与其免疫炎症反应之间可能存在相关性。因此,利用激光共焦角膜显微镜观察的LC密度及形态有望成为临床干眼患者眼表免疫炎症状态的指标之一。

## 2 结膜

自从2004年Kobayashi首次将共聚焦显微镜应用于人结膜形态的观察,我们对结膜组织的活体观察便提升到了细胞学水平。根据结膜的组织学定义,可将结膜分成上皮层和固有层。上皮层又可分为浅、中、深三层。球结膜浅层上皮细胞体积较大,排列松散,胞核呈低反光。中间层细胞卵圆形,体积较小,排列紧密,胞核呈点状高反光。基底层细胞呈多边形,排列规整,有清晰且高亮度反光的边界,细胞核多不可见;部分细胞质被一些高亮的颗粒样物质填充,细胞质低反光不可见。球结膜固有层由血管化的疏松结缔组织组成,可见大量丝状纤维的平行或交织排列、网状空格样纤维的交错、类似细胞样成分在血管中流动,正常人固有层中也可见一些免疫细胞散在分布<sup>[29,34]</sup>。

结膜杯状细胞是泪膜黏液蛋白层的主要来源,对于维持泪膜的稳定性起重要作用。IVCM下杯状细胞呈圆形,体积为周围上皮细胞的2~3倍,胞内充满透亮颗粒,成团或散在分布。关于微包囊结构,Efron等<sup>[34]</sup>在正常球结膜上皮首次进行报道。我国也有研究观察到数个类似包涵体形式的微包囊,推测其为杯状细胞的一种特殊形态,而位于表层上皮的孔样结构为已排出内容物的杯状细胞<sup>[35]</sup>。

SS患者由于自身免疫系统异常引起泪液分泌减少和眼表炎症破坏,炎症引起泪液渗透压升高并刺激眼表上皮细胞释放炎症因子,导致恶性循环,从荧光染色结果分析其对眼表上皮细胞的破坏分布于眼表的全部区域<sup>[23]</sup>。无论是睑结膜面还是球结膜面的上皮细胞,SS患者的细胞密度均低于正常人,但是多形核白细胞却显著高于正常人<sup>[21]</sup>。干眼患者的结膜上皮尤其是基底层的细胞密度显著下降,细胞形态不规则,且发现干眼患者表层上皮出现大量的片状、脱屑样上皮细胞,并伴有圆形、

点状炎性细胞的浸润<sup>[35]</sup>。炎性细胞与Alsuhaibani等<sup>[36]</sup>观察到的形态相似。除此以外,SS患者的树突状细胞也有所变化,树突状细胞较正常组多,且树枝长、分支多、呈成熟树突状细胞形态<sup>[35]</sup>。Kojima等<sup>[37]</sup>通过用IVCM对SS患者结膜的观察,发现SS患者球结膜上皮细胞的核浆比明显高于正常对照组,推测干眼患者共焦显微镜下球结膜形态和核浆比的评估有可能成为临床干眼诊断的重要参数。现阶段并无上皮细胞核浆比的相关定论,所以利用核浆比评价结膜干燥程度的实用性还需大样本研究支持。

SS患者结膜上皮微包囊显著增多,与结膜虎红染色阳性区域相对应。Wakamatsu等<sup>[38]</sup>使用共焦显微镜观察计数SS-DE、NSS-DE、正常对照组的结膜上皮微包囊,发现SS患者的结膜微包囊数量明显高于正常对照组;而NSS-DE患者和SS-DE、NSS-DE和正常对照组之间,数量差异无统计学意义。

## 3 睑板腺

IVCM下睑板腺腺泡细胞因光学切面不同,呈现不同形态。腺泡外圈为轮胎样上皮细胞,伴有高亮反光颗粒,胞腔内呈灰色偶伴点状高反光分泌物,团状聚集分布,排列不规则<sup>[39]</sup>。Villani等<sup>[40]</sup>发现SS患者的睑板腺泡壁及腺泡周围间质结构在IVCM图像中呈不均质性改变;无论原发性(I)还是继发性(II),SS患者的睑板腺泡的平均直径与对照组相比均无显著性差异。但是对于睑板腺开口直径,SS-I患者( $27.8 \pm 5.9$ )  $\mu\text{m}$ 和SS-II患者( $20.6 \pm 5.1$ )  $\mu\text{m}$ 均明显小于对照组( $34.7 \pm 4.3$ )  $\mu\text{m}$ 。此外,SS-I患者的睑板腺泡密度增加,SS-II患者则明显减少;分析眼表脂质层的反光度(分为1~4级),发现SS-I和SS-II组分别为( $1.7 \pm 0.6$ )和( $2.2 \pm 0.8$ ),均显著高于对照组( $1.1 \pm 0.7$ )<sup>[40]</sup>。SS引起的干眼以泪液分泌不足为特征,归为水液缺乏型干眼。但近期的研究中,有学者发现,SS患者同时还伴有睑板腺功能障碍(meibomian gland dysfunction, MGD)的主观症状,如BUT异常,泪膜不稳定等,提示SS所引起的干眼不仅仅是水液缺乏型干眼,也可能同时伴有MGD所导致的蒸发过强型干眼<sup>[41-42]</sup>。

综上所述,作为一种非侵入性的检查手段,IVCM可以对SS-DE患者的眼表组织进行观察,提供相关的诊断信息,借此对患者的病情程度分级,从而更好地协助治疗。因此IVCM在干眼诊断和分析中的临床价值应该受到重视,并通过进一步的深入研究和大数据的分析来制定相关评估指标和规范。

## 参考文献

- 中华医学会风湿病学分会. 干燥综合征诊断及治疗指南. 中华风湿病学杂志 2010; 14(11): 766-768
- 中华医学会眼科学分会角膜病学组. 干眼临床诊疗专家共识(2013年). 中华眼科杂志 2013; 49(1): 73-75
- 陈蔚, 陈金鹏, 瞿佳, 等. HLA-DR抗原在干眼患者结膜上皮细胞中的表达. 眼科研究 2009; 27(1): 40-43
- 王世明, 陈蔚, 王勤美, 等. Sj(o)gren综合征患者的角膜激光共焦显微镜活体观察. 眼科研究 2008; 26(2): 149-152
- 王金华, 宋秀君, 王健. 干眼患者泪液和正常人眼角膜、结膜P物质的表达及意义. 眼科研究 2007; 25(11): 847-849
- 王金华, 宋秀君, 王健. 干眼患者泪液、正常人眼角膜和结膜黏蛋白5AC的表达及意义. 山东医药 2007; 47(24): 89-90
- 余晨颖, 李莹. 活体共聚焦显微镜在干眼患者眼表形态观察中的

- 应用. 中华眼视光学与视觉科学杂志 2014; 16(9): 573-576
- 8 Stern ME, Gao J, Siemasko KF, *et al.* The role of the lacrimal functional unit in the pathophysiology of dry eye. *Exp Eye Res* 2004; 78(3): 409-416
- 9 Guthoff RF, Zhivov A, Stachs O. *In vivo* confocal microscopy, an inner vision of the cornea - a major review. *Clin Exp Ophthalmol* 2009; 37(1): 100-117
- 10 Ledbetter EC, Irby NL, Kim SG. *In vivo* confocal microscopy of equine fungal keratitis. *Vet Ophthalmol* 2011; 14(1): 1-9
- 11 胡蓉蓉, 顾扬顺. 共焦显微镜检查在眼表系统中的应用. 眼科研究 2007; 25(11): 893-896
- 12 张健, 邹留河, 李莹, 等. 应用共聚焦显微镜观察正常老年人角膜形态学的特点. 国际眼科杂志 2009; 9(2): 260-264
- 13 Tuominen IS, Kontinen YT, Vesaluoma MH, *et al.* Corneal innervation and morphology in primary Sjogren's syndrome. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003; 44(6): 2545-2549
- 14 谭业双, 周霞, 邓莹莹, 等. 不同程度干眼症患者中央角膜厚度的临床分析. 海南医学 2012; 23(21): 44-46
- 15 吴洁, 程燕, 杜蕊, 等. 分泌减少性干眼症角膜共焦显微镜下的形态学改变. 眼科研究 2009; 27(4): 329-331
- 16 李冰, 魏彤心, 赵炬伟. 干燥综合征患者活体角膜组织学变化的研究. 中国实用眼科杂志 2008; 26(11): 1186-1189
- 17 Villani E, Mantelli F, Nucci P. *In vivo* confocal microscopy of the ocular surface: ocular allergy and dry eye. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2013; 13(5): 569-576
- 18 程燕, 吴洁, 朱海峰, 等. 泪液缺乏性干眼治疗转归的定量检测. 国际眼科杂志 2012; 12(7): 1266-1269
- 19 Zhang X, Chen Q, Chen W, *et al.* Tear dynamics and corneal confocal microscopy of subjects with mild self-reported office dry eye. *Ophthalmology* 2011; 118(5): 902-907
- 20 Benitez del Castillo JM, Wasfy MA, Fernandez C, *et al.* An *in vivo* confocal masked study on corneal epithelium and subbasal nerves in patients with dry eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004; 45(9): 3030-3035
- 21 Villani E, Magnani F, Viola F, *et al.* *In vivo* confocal evaluation of the ocular surface morpho-functional unit in dry eye. *Optom Vis Sci* 2013; 90(6): 576-586
- 22 Gabbriellini G, Baldini C, Varanini V, *et al.* *In vivo* confocal scanning laser microscopy in patients with primary Sjogren's syndrome: a monocentric experience. *Mod Rheumatol* 2015; 25(4): 585-589
- 23 沈光林, 马晓萍. 干眼患者角膜结膜染色特点及相关因素分析. 复旦学报(医学版) 2015; 42(3): 384-388
- 24 Mokhtarzadeh M, Casey R, Glasgow BJ. Fluorescein punctate staining traced to superficial corneal epithelial cells by impression cytology and confocal microscopy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011; 52(5): 2127-2135
- 25 Stern ME, Beuerman RW, Fox RI, *et al.* The pathology of dry eye: the interaction between the ocular surface and lacrimal glands. *Cornea* 1998; 17(6): 584-589
- 26 Muller LJ, Marfurt CF, Kruse F, *et al.* Corneal nerves: structure, contents and function. *Exp Eye Res* 2003; 76(5): 521-542
- 27 Vitali C, Bombardieri S, Jonsson R, *et al.* Classification criteria for Sjogren's syndrome: a revised version of the European criteria proposed by the American-European Consensus Group. *Ann Rheum Dis* 2002; 61(6): 554-558
- 28 Zhang M, Chen J, Luo L, *et al.* Altered corneal nerves in aqueous tear deficiency viewed by *in vivo* confocal microscopy. *Cornea* 2005; 24(7): 818-824
- 29 张梅, 刘祖国, 罗丽辉, 等. Sjogren 综合征和非 Sjogren 水液缺乏性干眼患者角膜上皮基底层下神经的异常改变. 中华眼科杂志 2005; 41(10): 936-939
- 30 Kobayashi A, Yoshita T, Sugiyama K. *In vivo* findings of the bulbar/palpebral conjunctiva and presumed meibomian glands by laser scanning confocal microscopy. *Cornea* 2005; 24(8): 985-988
- 31 Zhivov A, Stave J, Vollmar B, *et al.* *In vivo* confocal microscopic evaluation of langerhans cell density and distribution in the corneal epithelium of healthy volunteers and contact lens wearers. *Cornea* 2007; 26(1): 47-54
- 32 Zhivov A, Stave J, Vollmar B, *et al.* *In vivo* confocal microscopic evaluation of Langerhans cell density and distribution in the normal human corneal epithelium. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2005; 243(10): 1056-1061
- 33 林辉. 应激及炎症因素在干眼发病中的作用. 中山大学 2009
- 34 Efron N, Al-Dossari M, Pritchard N. *In vivo* confocal microscopy of the palpebral conjunctiva and tarsal plate. *Optom Vis Sci* 2009; 86(11): 1303-1308
- 35 宋慧慧. 水液缺乏性干眼患者的球结膜共焦显微镜活体观察. 郑州大学 2011
- 36 Alsuhaibani AH, Sutphin JE, Wagoner MD. Confocal microscopy of subepithelial infiltrates occurring after epidemic keratoconjunctivitis. *Cornea* 2006; 25(9): 1102-1104
- 37 Kojima T, Matsumoto Y, Dogru M, *et al.* The application of *in vivo* laser scanning confocal microscopy as a tool of conjunctival *in vivo* cytology in the diagnosis of dry eye ocular surface disease. *Mol Vis* 2010; 16: 2457-2464
- 38 Wakamatsu TH, Sato EA, Matsumoto Y, *et al.* Conjunctival *in vivo* confocal scanning laser microscopy in patients with Sjogren syndrome. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010; 51(1): 144-150
- 39 魏安基. 活体共焦显微镜下正常人睑结膜及睑板腺的年龄变化及性别差异. 复旦大学 2010
- 40 Villani E, Beretta S, De Capitani M, *et al.* *In vivo* confocal microscopy of meibomian glands in Sjogren's syndrome. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011; 52(2): 933-939
- 41 王育新, 王新昌, 陈悦. 71 例干燥综合征干眼睑板腺病变的观察. 浙江医学 2013; (12): 1188-1189
- 42 张玉明, 王芳芳, 李宝贞, 等. 干燥综合征患者干眼病的临床分析. 中华风湿病学杂志 2012; 16(8): 523-526