

使用猪角膜脱细胞基质的人板层角膜移植治疗真菌性角膜炎的临床观察

廖福红, 余自忠, 胡斌

作者单位: (464000) 中国河南省信阳市中心医院眼科
作者简介: 廖福红, 毕业于佳木斯大学, 硕士, 主治医师, 研究方向: 角膜病。
通讯作者: 廖福红. liaofh2006@163.com
收稿日期: 2017-01-20 修回日期: 2017-08-02

Clinical study on human lamellar keratoplasty for fungal corneal ulcers with porcine acellular corneal stroma

Fu-Hong Liao, Zi-Zhong Yu, Bin Hu

Department of Ophthalmology, Xinyang Central Hospital, Xinyang 464000, Henan Province, China

Correspondence to: Fu-Hong Liao. Department of Ophthalmology, Xinyang Central Hospital, Xinyang 464000, Henan Province, China. liaofh2006@163.com

Received: 2017-01-20 Accepted: 2017-08-02

Abstract

• AIM: To observe the transplantation of acellular porcine corneal stroma on the treatment of superficial keratitis by drug-resistant fungal.

• METHODS: We performed a retrospective analysis of 16 cases of fungal keratitis received the transplantation of acellular porcine corneal matrix from June 2015 to March 2016 with a follow-up of 6mo. We analyzed on items as postoperative visual acuity, corneal graft status, postoperative recurrence and postoperative complications.

• RESULTS: We observed a healing time of corneal epithelium in 7 to 10d postoperatively generally and the absence of corneal edema in 1mo, while the cornea gradually returned transparent in the 16 cases. Two cases required medication for an epithelial recovery and 3 cases received intervention for decreasing intraocular pressure to a certain level. During the follow-up we observed no cases of cornea degeneration, recurrence of infection or rejection. The vision acuity showed 1.27 ± 0.22 , 1.11 ± 0.13 , 0.79 ± 0.22 in 1, 3 and 6mo after operation respectively. There was no statistical difference between vision in 1mo and the vision before surgery ($P=0.06$); while we found a statistical difference when comparing the vision of 3 and 6mo with vision before surgery ($P=0.01, 0.001$). The vision in 6mo increased with a statistic difference to the vision at 1 and 3mo ($P<0.001$) while no statistic difference was observed between 1 and 3mo ($P=0.11$).

• CONCLUSION: Transplantation of acellular porcine corneal matrix is a safe and efficient treatment for fungal keratitis.

• KEYWORDS: porcine acellular corneal stroma; corneal transplantation; fungal corneal

Citation: Liao FH, Yu ZZ, Hu B. Clinical study on human lamellar keratoplasty for fungal corneal ulcers with porcine acellular corneal stroma. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2017;17(9):1750-1752

摘要

目的: 观察猪角膜脱细胞基质构建的生物角膜支架用于人角膜板层移植术治疗药物难以控制的浅层真菌性角膜炎的效果。

方法: 对 2015-06/2016-03 我院收治的 16 例 16 眼真菌性角膜炎患者的临床资料进行回顾性分析。16 例真菌性角膜炎进行猪角膜脱细胞基质移植, 术后随访 6mo。对患者术后视力、角膜植片情况、并发症及复发情况进行分析。

结果: 术后 7~10d 植片角膜上皮化。16 例病例术后 1mo 角膜水肿, 1mo 后角膜水肿消失, 角膜逐渐透明。术后 1mo 有 2 例出现术眼角膜上皮缺损, 药物治疗均恢复。术后出现眼压高 3 例, 给予降眼压治疗后眼压控制。随访期间未出现角膜溶解、感染复发、排斥现象。术后 1、3、6mo 视力分别为 1.27 ± 0.22 , 1.11 ± 0.13 , 0.79 ± 0.22 , 术后视力均较术前明显提高, 术后 1mo 视力与术前相比无统计学差异 ($P=0.06$), 术后 3、6mo 视力与术前相比具有明显统计学差异 ($P=0.01, 0.001$); 其中术后 3mo 与术后 1mo 视力相比无明显提高, 结果无统计学差异 ($P=0.11$), 而术后 6mo 视力较术后 1、3mo 均有明显提高, 结果具有显著统计学差异 ($P<0.001$)。

结论: 猪角膜脱细胞基质移植治疗真菌性角膜炎是安全、有效的方法。

关键词: 猪角膜脱细胞基质; 角膜移植; 真菌性角膜炎

DOI: 10.3980/j.issn.1672-5123.2017.9.37

引用: 廖福红, 余自忠, 胡斌. 使用猪角膜脱细胞基质的人板层角膜移植治疗真菌性角膜炎的临床观察. 国际眼科杂志 2017;17(9):1750-1752

0 引言

真菌性角膜炎是致盲率很高的感染性角膜溃疡, 是目前发展中国家失明或眼球摘除第一位的角膜病变^[1-3]。真菌性角膜炎缺乏有效的抗菌药。对常规抗真菌治疗后炎症反应不能有效控制的真菌性角膜炎患者及时行板层角膜移植术, 可缩短病程并控制感染。我院眼科采用脱细

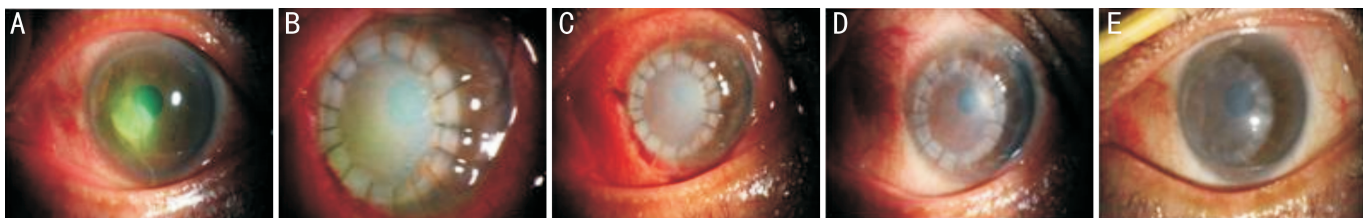


图1 患者术前及术后裂隙灯显微镜照相 A:术前角膜中央可见灰白色溃疡灶;B:术后第1d;C:术后第7d;D:术后1mo;E:术后6mo。

胞猪角膜基质进行深板层角膜移植 (deep lamellar keratoplasty, DLKP) 治疗 16 例, 取得满意效果, 现汇报如下。

1 对象和方法

1.1 对象 收集 2015-06/2016-03 在我院经抗真菌药物治疗无效, 行 DLKP 的 16 例 16 眼真菌性角膜炎患者, 其中男 7 例, 女 9 例; 年龄 38 ~ 73 (平均 54.75 ± 10.54) 岁。有外伤史者 10 例, 无明显诱因者 6 例。病程 10 ~ 25d, 均经角膜刮片或共焦显微镜检查发现菌丝确诊。术前角膜溃疡均累及视轴, 溃疡直径 4 ~ 7mm, 裂隙灯显微镜下显示角膜病灶为非全层溃疡, 全部角膜病灶深度为角膜厚度的 $1/3 \sim 1/2$ 。术前患者视力 0 ~ 3.0 (平均 1.94 ± 0.90)。排除标准: 经裂隙灯显微镜、眼前节 OCT、共聚焦显微镜检查病灶累及后弹力层者。本研究严格遵循世界医学学会《赫尔辛基宣言》的医学研究伦理原则^[4], 经医院医学伦理委员会同意。明确诊断后, 经患者及其家属同意治疗并签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 术前准备 患者术前均局部给予 10g/L 氟康唑滴眼液滴眼, 6 次/h; 50g/L 那他霉素滴眼液滴眼, 6 次/h; 睡前患眼涂氟康唑眼膏。

1.2.2 手术方法 手术指征: (1) 上述联合抗真菌药物治疗 ≥ 5 d, 角膜炎性反应未控制, 病灶继续扩大者; (2) 上述联合抗真菌药物治疗效果不佳, 病灶无扩大或缩小, 病程 3wk 者; (3) 病灶位于视轴的中、浅基质层, 且视力 ≤ 1 (LogMAR) 者; (4) 角膜溃疡直径 < 7 mm 或溃疡为偏中心的中、浅层溃疡者。患者全身麻醉, 采用 katena products 真空环钻, 环钻直径大于角膜溃疡直径 1mm。根据术前裂隙灯检查结果判断病灶深度, 预先钻取角膜厚度的 $2/3$ 。若 1 次剖切不彻底, 可从角膜病变周边开始多次行板层角膜切除直至植床透明, 所有患者剖切接近角膜后弹力层。氟康唑注射液冲洗植床 3 次。环钻钻取大于植床直径 0.25mm 脱细胞角膜植片, 厚度 $450 \mu\text{m}$ 。将植片置于植床上, 10-0 尼龙缝线间断缝合, 线结埋藏。术后绷带加压包扎。将术中取下的病变角膜行真菌培养, 阳性行菌属鉴定。

1.2.3 术后处理 局部氟康唑滴眼液滴眼, 2h/次; 那他霉素滴眼液滴眼, 2h/次; 氟康唑眼膏涂眼, 每晚 1 次; 玻璃酸钠滴眼液滴眼, 4 次/d; 他克莫司滴眼液滴眼, 3 次/d。术后 1mo, 如无复发, 停用抗真菌药物, 改用妥布霉素地塞米松滴眼液滴眼, 4 次/d; 妥布霉素地塞米松眼膏涂眼, 每晚 1 次; 玻璃酸钠滴眼液滴眼, 2h/次; 他克莫司滴眼液滴眼, 3 次/d。

1.2.4 术后随访 术后 1mo, 每周复查一次; 术后 2mo, 2wk 复查 1 次; 术后 3 ~ 6mo, 每月复查 1 次。复诊时检查

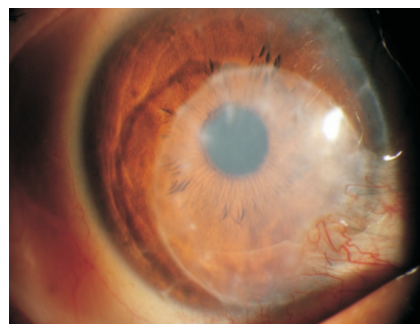


图2 术后6mo角膜新生血管。

视力、角膜植片透明情况及免疫排斥反应情况。

统计学分析: 采用 SPSS17.0 统计软件进行分析。采用病例观察实验设计, 将小数视力转换为 LogMAR 视力进行统计分析, 以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 手术前后不同时间点视力采用重复测量数据的方差分析; 两两比较采用 Dunnett T3 检验。 $P < 0.05$ 定义为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 术后视力 术后 1、3、6mo 视力分别为 1.0 ~ 2.0 (平均 1.27 ± 0.22)、1.0 ~ 1.3 (平均 1.11 ± 0.13)、0.5 ~ 1.1 (平均 0.79 ± 0.22), 术后视力均较术前明显提高, 各时间点视力差异具有显著统计学意义 ($F_{\text{时间}} = 17.121, P < 0.001$)。术后 1mo 与术前视力比较差异无统计学意义 ($P = 0.06$), 术后 3、6mo 视力与术前相比差异具有显著统计学意义 ($P = 0.01, 0.001$); 其中术后 3mo 视力与术后 1mo 相比无明显提高, 结果无统计学差异 ($P = 0.11$), 而术后 6mo 视力较术后 1、3mo 均有明显提高, 结果具有显著统计学差异 ($P < 0.001$)。

2.2 术后并发症 术后无真菌复发, 无植片排异现象。术后出现高眼压 3 例, 给予布林佐胺噻吗洛尔滴眼液、酒石酸溴莫尼定滴眼液, 1wk 后眼压降至正常。术后第 1d 术眼出现双前房 (植片与植床的间隙) 1 例, 术后 7d 消失, 植片、植床贴附好。术后 7 ~ 10d 植片角膜上皮化。术后 1mo 角膜水肿, 1mo 后角膜水肿消失, 角膜逐渐透明。术后 1mo 出现术眼角膜上皮缺损 2 例, 给予绷带镜、聚乙烯醇滴眼液、玻璃酸钠滴眼液、卡波姆眼用凝胶、小牛血去蛋白提取物眼用凝胶, 2wk 植片角膜上皮化。术后 2mo 内出现角膜新生血管 3 例, 及时拆线, 给予妥布霉素地塞米松滴眼液及他克莫司滴眼液均缓解 (图 1)。

2.3 真菌培养结果 术中取下的病变角膜行真菌培养, 阴性 3 例; 阳性 13 例, 其中镰刀菌属 10 例, 曲霉菌属 1 例, 念珠菌属 1 例, 青霉菌属 1 例。

2.4 随访情况 患者 16 例随访期间植床与植片愈合良好, 角膜透明, 无植片溶解现象, 有 1 例角膜仍有新生血管 (图 2)。

3 讨论

国内角膜供体缺乏成为制约角膜移植手术开展的主要因素^[5]。研发有效的角膜替代品是解决角膜供体不足的重要方法^[6]。研究证实,猪角膜与人角膜在解剖学、生理学以及生物力学特性上有很多相似之处,理论上猪角膜可以作为人角膜移植的理想材料,且符合伦理学要求^[7-10]。王智崇等^[14]研究认为角膜内皮的免疫原性最强,角膜上皮次之,角膜基质最弱。猪角膜脱细胞基质是一种基于细胞组织工程学的角膜替代材料,来源丰富,且通过脱细胞方法去除猪角膜的免疫原性,降低了移植后炎症反应和免疫排斥反应的发生率^[11-13]。

猪角膜脱细胞基质用于治疗真菌性角膜炎是安全有效的。体内研究表明,脱细胞的猪角膜植片进行异种移植时比完整新鲜猪角膜植片存活时间长^[15]。此外,脱细胞的角膜组织保留其天然的三维立体结构,并具有良好的生物相容性,优于合成的角膜植片替代物^[16-17]。有学者对47例真菌性角膜炎患者进行猪角膜脱细胞基质移植,41例患者术后视力均有不同程度提高,随访期间未发现排斥及感染复发病例^[18]。有研究将猪角膜脱细胞基质移植到人感染性角膜病患眼,术后立即使用妥布霉素地塞米松滴眼液和他克莫司滴眼液点眼,术后初期发现术眼炎症反应较重,随着时间的延长,炎症反应逐渐消退,到术后1mo时角膜透明,患者视力明显提高,术后9mo术眼视力相对稳定,随访期间未发生植片溶解或感染复发现象,表明猪角膜脱细胞基质在人眼中组织相容性较好^[19]。本研究发现,术后7~10d植片角膜上皮化,而有文献报道板层角膜移植术后7d,植片角膜上皮化,我们认为可能与术后频繁点抗真菌药物有关^[18]。本研究发现术后1mo内角膜水肿,1mo后角膜水肿消失,角膜逐渐透明。随访期间未出现角膜溶解、感染复发及排斥现象。术后1mo出现术眼角膜上皮缺损2例,考虑药物损伤,经药物治疗均恢复。术后出现眼压高3例,给予降眼压治疗后眼压控制,发现眼压高的原因尚不清楚。

猪角膜脱细胞基质移植用于治疗真菌性角膜炎已取得很好的疗效^[20-21]。本研究结果显示术后1、3、6mo视力分别为 1.27 ± 0.22 , 1.11 ± 0.13 , 0.79 ± 0.22 ,术后视力均较术前明显提高,而术后6mo视力较术后1、3mo均有明显提高,结果具有显著统计学差异。患者术后恢复情况取决于两方面:(1)真菌菌种。不同菌种的菌丝在角膜内有不同的生长方式。镰刀菌属和青霉菌的菌丝在角膜内呈水平生长,曲霉菌属和念珠菌属的菌丝在角膜内主要呈垂直生长,菌丝可以穿透后弹力层进入眼内,并发真菌性眼内炎。本研究中有镰刀菌属10例,曲霉菌属1例,念珠菌属1例,青霉菌属1例。(2)术中彻底清除病灶^[22]。术中根据角膜溃疡灶的深度用一次性负压环钻或普通环钻先钻取角膜厚度的2/3,争取一次清除病灶。剖切后氟康唑注射液冲洗植床,根据植床透明度决定是否再次剖切。每次剖切时植床均应干燥,避免植床反光导致剖切时穿孔。必要时可多次剖切,直到灰白色病灶显微镜下彻底不可见为止。

综上所述,猪角膜脱细胞基质治疗真菌性角膜炎是安全、有效的,但本研究观察的样本量较少,观察时间较短,其确切疗效、远期效果及安全性评价还需要更大样本量的长期观察和研究。

参考文献

- 1 Xie L, Zhong W, Shi W, et al. Spectrum of fungal keratitis in north China. *Ophthalmology* 2006;113(11):1943-1948
- 2 Nath R, Baruah S, Saikia L, et al. Mycotic corneal ulcers in upper Assam. *Indian J Ophthalmol* 2011; 59(5):367-371
- 3 Gopinathan U, Sharma S, Garg P, et al. Review of epidemiological features, microbiological diagnosis and treatment outcome of microbial keratitis; experience of over a decade. *Indian J Ophthalmol* 2009; 57(4):273-279
- 4 孟详东,董玉宽. 2013版《赫尔辛基宣言》对我国知情同意的借鉴. *医学与哲学* 2014;35(8):37-39
- 5 张明昌. 我国角膜移植材料的匮乏问题及解决对策. *中华眼科杂志* 2007;43(4):289-292
- 6 Lawlor M, Kerridge I, Ankeny R, et al. Specific unwillingness to donate eyes: the impact of disfigurement, knowledge and procurement on corneal donation. *Am J Transplant* 2010;10(3):657-663
- 7 Doughty MJ, Zaman ML. Human corneal thickness and its impact on intraocular pressure measures: a review and meta-analysis approach. *Surv Ophthalmol* 2000;44(5):367-408
- 8 Faber C, Scherfig E, Prause JU, et al. Corneal thickness in pigs measured by ultrasound pachymetry *in vivo*. *Scand J Lab Anim Sci* 2008; 35(1):39-43
- 9 Hara H, Cooper DK. Xenotransplantation the future of corneal transplantation? *Cornea* 2011;30(4):371-378
- 10 Cooper DK, Gollackner B, Sachs DH. Will the pig solve the transplantation backlog? *Annu Rev Med* 2002;53(53):133-147
- 11 Pang K, Du L, Wu X. A rabbit anterior cornea replacement derived from acellular porcine cornea matrix, epithelial cells and keratocytes. *Biomaterials* 2010;31(28):7257-7265
- 12 Li N, Wang X, Wan P, et al. Tectonic lamellar keratoplasty with acellular corneal stroma in high-risk corneal transplantation. *Mol Vis* 2011,17(17):1909-1917
- 13 Shao Y, Yu Y, Pei CG, et al. Evaluation of novel decellularizing corneal stroma for cornea tissue engineering applications. *Int J Ophthalmol* 2012;5(4):415-418
- 14 王智崇,葛坚,徐锦堂,等. 角膜不同组织免疫原性分析. *中华眼科杂志* 2002;38(9):535-538
- 15 Choi HJ, Kim MK, Lee HJ, et al. Efficacy of pig-to-rhesus lamellar corneal xenotransplantation. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011; 52(9):6643-6650
- 16 Lynch AP, Ahearn M. Strategies for developing decellularized corneal scaffolds. *Exp Eye Res* 2013;108(3):42-47
- 17 Obara T, Matsuura S, Narita S, et al. Bladder acellular matrix grafting regenerates urinary bladder in the spinal cord injury rat. *Urology* 2006;68(4):892-897
- 18 Zhang MC, Liu X, Jin Y, et al. Lamellar keratoplasty treatment of fungal corneal ulcers with acellular porcine corneal stroma. *Am J Transplant* 2015;15(4):1068-1075
- 19 王素娟,张月琴,李金,等. 生物角膜用于人角膜板层移植术后的临床疗效及激光扫描共焦显微镜动态观察. *中华实验眼科杂志* 2016;34(2):144-149
- 20 Abdel-Rhman MS, Soliman W, Habib F, et al. A new long-acting liposomal topical antifungal formula; human clinical study. *Cornea* 2012; 31(2):126-129
- 21 FlorCruz NV, Peczon IV, Evans JR. Medical interventions for fungal keratitis. *Cochrane Database Syst Rev* 2012;130(1):CD004241
- 22 史伟云,李绍伟,谢立信. 板层角膜移植术治疗真菌性角膜炎的临床疗效分析. *中华眼科杂志* 2002; 38(6):347-350