

自体血清联合重组人表皮生长因子对角膜创面的修复作用

车敬斌, 田甜, 张加宾, 袁祥文, 赵凤蕾

引用: 车敬斌, 田甜, 张加宾, 等. 自体血清联合重组人表皮生长因子对角膜创面的修复作用. 国际眼科杂志 2019; 19(4): 619-622

作者单位: (271100) 中国山东省济南市人民医院眼科

作者简介: 车敬斌, 毕业于中山大学, 硕士, 主治医师, 研究方向: 眼外伤、角膜病、白内障。

通讯作者: 车敬斌. 309604085@qq.com

收稿日期: 2018-07-16 修回日期: 2019-03-01

摘要

目的: 探讨自体血清联合重组人表皮生长因子对角膜异物剔除术后角膜创面的修复效果。

方法: 选取 2015-10/2016-03 于我院行角膜异物剔除手术的患者 92 例 110 眼, 随机分为治疗组和对照组, 术后对照组患者使用重组人表皮生长因子滴眼液点眼, 治疗组患者在对照组的基础上联合使用自体血清滴眼。手术前后, 采用 AS-OCT 观察角膜创面情况。术后评估两组患者的临床疗效及泪液中 TNF- α 和 IL-6 的浓度。

结果: 术后 1wk 治疗组患者治愈率(96.4% vs 78.2%) 和术后 2d 角膜荧光素染色阴性率(98.2% vs 83.6%) 均明显高于对照组, 泪液中 TNF- α 和 IL-6 (51.47 ± 7.83 、 5.29 ± 1.67 ng/L) 浓度均明显低于对照组 (143.62 ± 18.12 、 13.95 ± 3.44 ng/L)。术后治疗组患者角膜上皮愈合时间 (1.4 ± 0.6 d) 较对照组 (2.2 ± 1.3 d) 明显缩短。术后 1wk, AS-OCT 图像显示治疗组修复后的角膜基质形态更加接近术前正常水平。

结论: 自体血清联合重组人表皮生长因子对角膜异物剔除术后角膜创面的修复效果显著, 可以明显缩短角膜创面愈合时间, 减轻炎症反应, 对角膜基质具有良好的修复功能。

关键词: 角膜异物; 自体血清; 重组人表皮生长因子; 肿瘤坏死因子- α ; 白介素-6

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2019.4.20

Investigate the efficacy of autologous serum combined with recombinant human epidermal growth factor in repairing of corneal defect

Jing-Bin Che, Tian Tian, Jia-Bin Zhang, Xiang-Wen Yuan, Feng-Lei Zhao

Department of Ophthalmology, the People's Hospital of Jinan, Jinan 271100, Shandong Province, China

Correspondence to: Jing-Bin Che. Department of Ophthalmology, the People's Hospital of Jinan, Jinan 271100, Shandong Province, China. 309604085@qq.com

Received: 2018-07-16 Accepted: 2019-03-01

Abstract

• **AIM:** To investigate the efficacy of autologous serum combined with recombinant human epidermal growth factor in repairing of corneal defect after corneal foreign body eliminating operation.

• **METHODS:** Totally 92 patients with corneal foreign body (110 affected eyes) as the research object in our hospital from October 2015 to March 2016. All the patients were divided into the treatment group and the control group according to the random number table. There was no significant difference between the two groups in age, sex and disease course. Both groups received corneal foreign body elimination by slit lamp. The treatment group was given eye drops containing epidermal growth factor combined autologous serum and tobramycin after surgery, while the control group was only administrated with epidermal growth factor and tobramycin. Treatment effects were compared 1wk after treatment.

• **RESULTS:** One week after the treatment, the cure rate in the treatment group (96.4%) was much higher than that in the control group (78.2%). Two days after treatment, the fluorescein staining in the treatment group was 98.2%, it was higher than that in the control group (83.6%). The concentration of TNF- α and IL-6 of the treatment group was lower than that in the control group. One week after the treatment, AS-OCT images showed that the repair of corneal matrix in the treatment group was closer to the preoperative normal level.

• **CONCLUSION:** The treatment effect that AS combined rhEGF is much better than that only use rhEGF, shortened healing time of corneal epithelial wound. It is more effective and security to treat traumatic corneal epithelial defect, better repair function to corneal matrix.

• **KEYWORDS:** corneal foreign body; autologous serum; recombinant human epidermal growth factor; TNF- α ; IL-6

Citation: Che JB, Tian T, Zhang JB, et al. Investigate the efficacy of autologous serum combined with recombinant human epidermal growth factor in repairing of corneal defect. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2019; 19(4): 619-622

0 引言

角膜由于其位置的特殊性,极易受到损伤。角膜异物是角膜发生率最高的损伤,常见的异物有金属异物和植物性异物,其不仅会造成眼部的刺激症状,治疗不及时或不规范将会严重影响患者的视力和视觉质量。角膜是最重要的屈光介质,由于角膜本身无血管,其所需的营养物质靠房水和角膜缘的血液供应,在自身受到损伤时无法及时大量输送营养物质和抗体,抗感染能力差,故角膜异物剔除手术后常会引起继发感染和角膜溃疡。角膜伤口愈合后也常伴有云翳或斑翳形成,直接影响患者的视觉质量,因此术后预防角膜感染和加快角膜损伤面的修复进程是治疗的关键^[1]。研究证实,自体血清包含许多抗菌因子,如溶菌酶、补体、IgG等,它们具有明显的抑菌和杀菌作用,同时含有多种细胞因子和维生素,其可以有效改善眼组织营养,激发细胞再生,加速角膜组织修复^[2]。本研究旨在探讨自体血清联合重组人表皮生长因子对角膜异物剔除术后角膜创面的治疗效果,以期为临床治疗提供参考。

1 对象和方法

1.1 对象

前瞻性队列研究。选取2015-10/2016-03于我院行角膜异物剔除手术的患者92例110眼为研究对象,异物均为磨光机造成的铁屑异物,异物长径 1.8 ± 0.5 mm,异物均位于瞳孔区之外、角巩膜缘以内的中周边角膜上,眼前节光学相干断层扫描(AS-OCT)检查示异物均位于角膜前弹力层最深至角膜基质前 $1/2$ 。术前角膜异物发生时间为30min~12h,部分患者角膜异物周围轻度水肿,24眼视力和视觉质量受到影响,86眼视力和视觉质量无明显改变。根据随机数字表法进行分组,治疗组患者46例55眼,其中男40例48眼,女6例7眼,年龄20~55(平均 37.6 ± 2.2)岁,术前角膜异物发生时间为 6.5 ± 3.8 h。对照组46例55眼,其中男39例46眼,女7例9眼,年龄23~54(平均 38.4 ± 1.9)岁,术前角膜异物发生时间为 6.3 ± 3.4 h。纳入标准:(1)首次发生角膜异物损伤;(2)患眼伴有眼红、畏光、流泪、异物感等刺激症状;(3)患眼未发生角膜基底膜的深层损伤,角膜异物周围未出现溃疡;(4)按时完成随访,病历资料完整者。排除标准:(1)伴有高血压、糖尿病、心脏病等可能对角膜伤口的愈合产生影响的疾病;(2)伴有血液系统、免疫系统疾病;(3)既往有眼部外伤史、手术史及其它眼部疾病患者。两组患者年龄、性别构成比、术前角膜异物发生时间等一般资料差异均无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。为增加患者随诊的依从性,本组患者的治疗费、化验费及AS-OCT检查费用均实行减免。本研究经本院伦理委员会审批通过,告知患者该研究的具体内容及注意事项,均知情同意并签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 自体血清的制备

经严格的皮肤无菌消毒后,采用30mL一次性注射器在患者肘静脉处一次性抽取静脉血30mL,25℃静置1~2h,3500r/min离心10min,于超净工作台内分离自体血清,吸出后注入无菌眼药水瓶中,置于4℃恒温冰箱中备用^[3]。

1.2.2 治疗方法

所有患者均采用盐酸丙美卡因滴眼液行眼球表面麻醉,由同一名医师于裂隙灯下使用1mL一次性注射器针头进行角膜异物剔除,本组患者均一次性完整剔除角膜异物。术后,两组患者均使用妥布霉素滴眼液点眼(每2h 1次),对照组患者使用重组人表皮生长因子

滴眼液点眼(每2h 1次),治疗组患者在对照组的基础上联合使用自体血清滴眼液(每2h 1次,4次/d,滴用后置于4℃冰箱保存),每两种药物使用时间间隔均大于10min。

1.2.3 随访观察

术后,所有患者每天复查一次,直至患眼干涩感、异物感等刺激症状消失,角膜缺损区荧光染色阴性,角膜缺损区完全愈合,视力恢复正常,评定临床疗效,记录角膜上皮愈合时间。术后2d,所有患者结膜囊内滴入无菌生理盐水,嘱患者眼球转动约10s,用玻璃管收集泪液并存放于试管内,采用双抗体夹心酶联免疫吸附法(ELISA)检测泪液中肿瘤坏死因子- α (TNF- α)和白介素-6(IL-6)的浓度,ELISA试剂盒购自上海碧云天生物技术有限公司。2h后将荧光素试纸放置于患者下方结膜囊内染色5min,裂隙显微镜下观察角膜上皮愈合情况,角膜缺损区荧光染色阴性表示角膜上皮愈合。手术前后采用AS-OCT观察角膜创面的平整性。

临床疗效评定标准^[4-5]:(1)治愈:患眼干涩感、异物感等刺激症状消失,角膜上皮荧光染色阴性,角膜上皮完全愈合,视力恢复正常;(2)显效:眼部病情明显好转,充血基本消退,有轻微刺激症状,角膜上皮荧光素染色着色面积 $<$ 术前 $1/2$,视力显著提高;(3)有效:眼部病情好转,刺激症状减轻,角膜未愈合区占 $1/2 \sim 4/5$;(4)无效:角膜上皮未修复,刺激症状无改变或加剧,荧光素染色着色面积无变化,视力无提高甚至下降。

统计学分析:本研究应用SPSS17.0软件进行统计学分析。计量资料采用均数 \pm 标准差表示,组间比较采用独立样本 t 检验。计数资料采用率表示,组间比较采用卡方检验。 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者临床疗效

术后1wk,治疗组治愈53眼,显效2眼;对照组治愈43眼,显效5眼,有效7眼。两组患者治愈率比较(96.4% vs 78.2%),差异有统计学意义($\chi^2 = 8.077, P = 0.045$)。

2.2 两组患者角膜上皮愈合情况

术后2d,裂隙灯显微镜下观察角膜上皮愈合情况,治疗组患者眼局部刺激症状减轻,结膜充血消失,角膜透明,荧光素染色阴性者54眼(98.2%),对照组荧光素染色阴性者46眼(83.6%),差异有统计学意义($\chi^2 = 0.3333, P = 0.0464$)。术后治疗组患者角膜上皮愈合时间为1~3(平均 1.4 ± 0.6)d,对照组角膜上皮愈合时间为1~5(平均 2.2 ± 1.3)d,差异具有统计学意义($t = 0.5137, P = 0.0392$)。

2.3 泪液中炎症细胞因子的比较

术后2d,治疗组泪液中TNF- α 和IL-6($51.47 \pm 7.83, 5.29 \pm 1.67$ ng/L)浓度均明显低于对照组($143.62 \pm 18.12, 13.95 \pm 3.44$ ng/L),差异有统计学意义($t = 34.18, 11.39$,均 $P < 0.05$)。

2.4 两组患者不良反应情况

治疗过程中,治疗组患者未出现眼局部刺激症状及其它不良反应;对照组患者出现一过性眼部轻微刺激症状9例11眼,角膜上皮愈合(角膜上皮荧光染色阴性)后刺激症状消失。

2.5 两组患者OCT检查结果

术前,AS-OCT检查示本组患者角膜异物均位于角膜前弹力层最深至角膜基质前 $1/2$ 处。术后2d,对照组和治疗组角膜荧光染色阴性,AS-OCT检查示角膜上皮恢复完整性,角膜基质层未完全修复者分别为43例46眼(83.6%)和15例17眼(30.9%),差异有统计学意义($\chi^2 = 3.974, P = 0.002915$)。两组患者手术前后AS-OCT检查结果见图1~3。

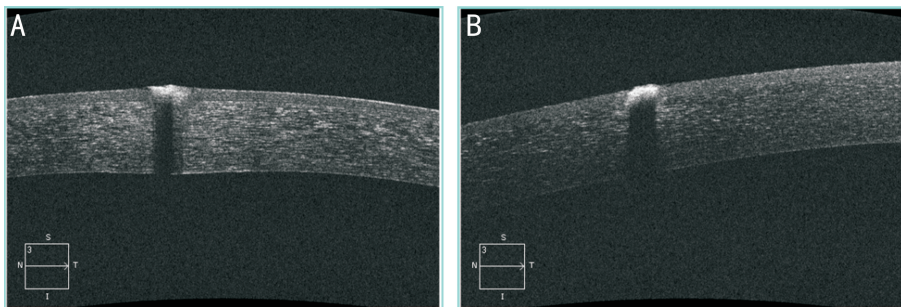


图1 术前两组患者 AS-OCT 检查结果 A:治疗组;B:对照组。

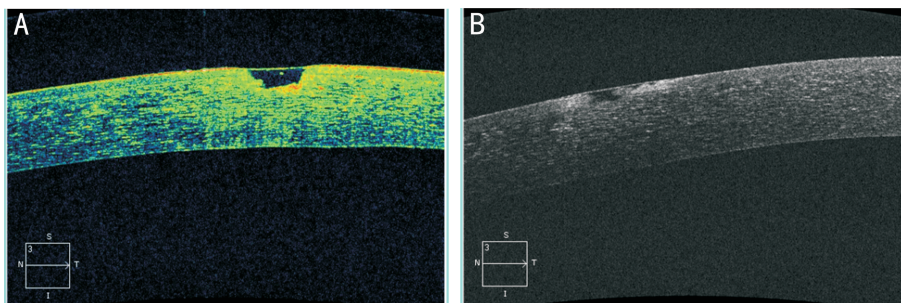


图2 术后2d图1同患者 AS-OCT 检查结果 A:治疗组;B:对照组。

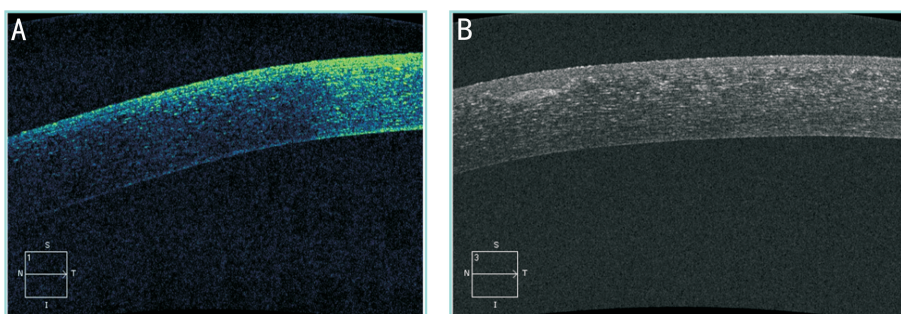


图3 术后1wk图1同患者 AS-OCT 检查结果 A:治疗组;B:对照组。

3 讨论

角膜异物伤是眼外伤中最常见的疾病,男性患者明显多于女性患者,这与劳动工种不同有关^[6-7]。本组病例以工人和农民居多,其中青壮年男性居多,角膜异物均位于角膜前弹力层最深至角膜基质前 1/2 处。由于角膜上皮细胞自身生长能有效覆盖角膜创面,因此浅表层的角膜异物损伤容易得到治愈,当损伤深达角膜基质层时,角膜损伤修复需要依靠成纤维细胞和胶原再生。若处理不当将会造成角膜组织的继发感染,从而影响视力和视觉质量。临床治疗中,应及时进行角膜异物的手术剔除,修复角膜上皮,避免损伤后的继发性损伤^[8]。

自体血清含有大量维持眼表皮细胞健康的必需成分,其生物化学特性和生物力学特征与正常泪液特别相似^[9-10]。目前已发现人自体血清中含有多种活性因子,如上皮生长因子、神经生长因子、成纤维细胞生长因子、转化生长因子等,此外还含有大量肽类、氨基酸等物质,其可以向眼表提供上皮修复所需的基本营养物质,加速角膜组织修复,刺激角膜细胞再生,改善角膜组织的营养,自体血清中的抗菌因子还能有效抑制细菌的生长和繁殖。因此,可将自体血清滴眼液作为一种血液标本进行大规模生产,其可以有效避免附加各类防腐剂的副作用,具有纯天然、不引起变态反应等优点。近年来,自体血清已在临床得到广泛应用,用于角膜上皮缺损的治疗^[11-14]。Quinto 等对常规

治疗失败,持续性角膜上皮缺损的患者 5 例应用自体血清联合绷带治疗,角膜上皮缺损完全愈合^[15]。Jeng 等^[16]采用自体血清治愈持续性角膜上皮缺损患者 25 例,证明角膜缺损治愈时间与开始使用自体血清的时间具有高度相关性,表明自体血清对持续性角膜上皮缺损效果显著,认为自体血清可作为一种常规的角膜创伤治疗方案。梁伟亮等^[17]将严重眼化学烧伤患者 22 例 30 眼随机分为两组,治疗组 11 例 15 眼应用自体血清进行治疗,对照组 11 例 15 眼未加用自体血清,其余治疗方法相同,结果显示,治疗组治愈率 80%,有效率 100%;对照组治愈率 33.3%,有效率 93.3%。治疗组平均疗程比对照组明显缩短 8d,认为在治疗严重眼化学烧伤时使用自体血清具有安全、有效、无毒副作用等优点。本研究中治疗组患者联合应用自体血清治疗角膜异物剔除术后的角膜上皮缺损,在治愈率、治愈时间、角膜上皮修复情况、角膜炎症反应方面,治疗组都明显优于对照组,表明自体血清在治疗角膜上皮缺损方面具有明显的优越性。此外,自体血清的制作既简便又经济,在危急时刻也可以采用自体全血治疗严重的角膜损伤,对其进行急救。

AS-OCT 采用红外线对眼前节进行扫描成像,分辨率极高,可充分观察角膜形态^[18-19]。本研究采用 AS-OCT 对角膜异物剔除术前和术后的角膜形态进行观察,以进一步明确角膜异物深度。术后 2d,对照组中 43 例患者角膜

荧光染色显示阴性,但 AS-OCT 检查示角膜上皮恢复完整性,角膜基质层未完全修复,而治疗组中仅 15 例为此类情况,说明角膜荧光染色仅对角膜上皮组织结构进行分析,而 AS-OCT 可充分观察角膜形态,其具有更加明显的优势。同时,术后 1wk 时我们通过 AS-OCT 图像发现,治疗组患者修复后的角膜基质形态更加接近正常,与周围角膜基质几乎无差异,对照组患者修复后的角膜基质形态与周围角膜基质有明显差异,表明自体血清对角膜基质具有良好的修复功能。此外,本研究通过检测泪液中的炎症因子 TNF- α 和 IL-6 的浓度发现,自体血清不仅在修复角膜上皮和角膜基质方面具有良好的效果,且能有效降低泪液中炎症因子的浓度,从而进一步降低了角膜感染的风险和几率。自体血清在急诊中也有广泛的应用,眼化学伤患者在急救时可以首选自体血清进行球结膜下注射,危急情况下也可以直接在球结膜下注射自体全血,能有效保护角膜。

综上所述,自体血清联合重组人表皮生长因子对角膜异物剔除术后角膜创面的修复效果显著,可以明显缩短角膜创面愈合时间,减轻炎症反应。自体血清具有极大的发展潜力,随着对其临床价值的进一步认识和发掘,其在眼科中的应用将会更加广泛。

参考文献

- 1 李洁,张健梅,黄蒂.重组人表皮生长因子滴眼液治疗角膜异物伤的临床观察.中华医院感染学杂志 2012;22(1):76
- 2 Holland S, Morck D, Schultz C. Treatment of corneal defects with delayed re-epithelization with a medical device/drug delivery system for epidermal growth factor. *Clin Exp Ophthalmol* 2012;40(7):662-668
- 3 刘治容,张悦,吴峥峥,等.高浓度自体血清滴眼液治疗眼表疾病.国际眼科杂志 2012;12(6):1111-1113
- 4 中华医学会眼科学分会角膜病学组.我国角膜上皮损伤临床诊治专家共识(2016年).中华眼科杂志 2016;9(52):644-648
- 5 陈虹丽,严晨曦,傅瑶.干细胞在角膜修复中的作用.中华实验眼科杂志 2018;11(36):883-886

- 6 张安民,周爱意,左冰.陕西省汉中地区眼外伤临床分析.国际眼科杂志 2006;6(4):959-960
- 7 孙凤海,许美玲,贾健.海洋石油渤海地区角膜异物伤 1021 例调查分析.眼外伤职业眼病杂志 2007;29(9):726-727
- 8 张改玲.手术显微镜下角膜异物剔除 100 例报告.眼外伤职业眼病杂志 2005;27(3):48-49
- 9 Quinto GG, Campos M, Behrens A. Autologous serum for ocular surface diseases. *Arq Bras Ophthalmol* 2008;71(6):47-54
- 10 曲忻,郝继龙.自体血清在眼表疾病治疗中的价值.中国实用眼科杂志 2005;23(10):1011-1014
- 11 Geerling G, Unterlauff JD, Kasper K, et al. Autologous serum and alternative blood products for the treatment of ocular surface disorders. *Ophthalmologe* 2008;105(7):623-631
- 12 Tsuboto K, Goto E, Shimmura S, et al. Treatment of persistent corneal epithelial defect by autologous serum application. *Ophthalmology* 1999;106(10):1984-1989
- 13 周媛,邹新蓉,祝肇荣.自体血清治疗持续性角膜上皮缺损的临床分析.眼外伤职业眼病杂志 2010;32(12):888-890
- 14 Liu L, Hartwig D, Harloff S, et al. An optimised protocol for the production autologous serum eyedrops. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2005;243(7):706-714
- 15 Ali TK, Gibbons A, Cartes C. Use of Autologous Serum Tears for the Treatment of Ocular Surface Disease from Patients with Systemic Autoimmune Diseases. *Am J Ophthalmol* 2018;189:65-70
- 16 Jeng BH, Dupps WJ Jr. Autologous serum 50% eyedrops in the treatment of persistent corneal epithelial defects. *Cornea* 2009;28(10):1104-1108
- 17 梁伟亮,关仕嫦,关卫文,等.自体血清治疗严重眼化学烧伤的临床研究.眼科新进展 2007;27(6):450-451
- 18 Rush SW, Han DY, Rush RB. Optical coherence tomography-guided transepithelial phototherapeutic keratectomy for the treatment of anterior corneal scarring. *Am J Ophthalmol* 2013;156(6):1088-1094
- 19 祁媛媛,张立军,董贺,等.前节 OCT 辅助准分子激光治疗性角膜切削术治疗真菌性角膜溃疡.眼科新进展 2017;37(3):263-266