

# 角膜胶原交联治疗角膜融解的研究进展

肖可人<sup>1</sup>, 何书喜<sup>2</sup>

作者单位:<sup>1</sup>(421001)中国湖南省衡阳市,南华大学医学院;  
<sup>2</sup>(410005)中国湖南省长沙市,湖南省人民医院眼视光学中心  
作者简介:肖可人,在读硕士研究生,研究方向:屈光学。  
通讯作者:何书喜,主任医师,硕士研究生导师,研究方向:屈光手术学. shuxi9918@163.com  
收稿日期:2016-02-17 修回日期:2016-05-06

## Progress of research on corneal collagen cross-linking for corneal melting

Ke-Ren Xiao<sup>1</sup>, Shu-Xi He<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Faculty of Medicine, University of South China, Hengyang 421001, Hunan Province, China; <sup>2</sup>Optic Center, Hunan Provincial People's Hospital, Changsha 410005, Hunan Province, China

Correspondence to: Shu-Xi He. Optic Center, Hunan Provincial People's Hospital, Changsha 410005, Hunan Province, China. shuxi9918@163.com

Received: 2016-02-17 Accepted: 2016-05-06

## Abstract

• Corneal collagen cross-linking (CXL) could increase the mechanical strength, biological stability and halt ectasia progression due to covalent bond formed by photochemical reaction between ultraviolet - A and emulsion of riboflavin between collagen fibers in corneal stroma. Corneal melting is an autoimmune related noninfectious corneal ulcer. The mechanism of corneal melting, major treatment, the basic fundamental of ultraviolet - A riboflavin induced CXL and the clinical researches status and experiment in CXL were summarized in the study.

• KEYWORDS: corneal collagen cross-linking; riboflavin; ultraviolet-A; corneal melting

Citation: Xiao KR, He SX. Progress of research on corneal collagen cross-linking for corneal melting. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2016;16(6):1060-1062

## 摘要

角膜胶原交联 (corneal collagen cross-linking, CXL) 技术是通过紫外光 A 和感光剂核黄素的光化学反应使角膜基质内胶原纤维形成共价键,从而增加胶原纤维机械强度、生物学稳定性及角膜抗扩张能力。角膜融解 (corneal melting) 是一种与自身免疫相关的非感染性角膜溃疡。我们对角膜融解发病机制、目前主要治疗手段及紫外光

A 核黄素介导角膜胶原交联术基本原理、在角膜融解方面的实验和临床研究现状等问题进行综述。

关键词:角膜胶原交联;核黄素;紫外光 A;角膜融解

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2016.6.14

引用:肖可人,何书喜.角膜胶原交联治疗角膜融解的研究进展.国际眼科杂志 2016;16(6):1060-1062

## 0 引言

角膜融解 (corneal melting) 是多种因素引起的非感染性角膜溃疡,可单独发生如 Mooren 角膜溃疡,也可伴发于多种胶原血管性疾病,影响眼表组织完整性因素也可导致角膜融解发生,如角膜碱烧伤、暴露性角膜炎、神经营养性角膜炎、眼部手术后引起的持续性上皮缺损等<sup>[1]</sup>。其发病机制目前尚不明确,目前主要治疗手段为早期局部及全身应用免疫抑制剂治疗(主要为糖皮质激素),根据病变累及角膜情况不同选择不同手术方式进行整复性治疗,如羊膜移植术、穿透性角膜移植术、板层角膜移植术、角膜巩膜修补术等。但因角膜融解复发,角膜移植术后植片发生融解等治疗效果欠佳<sup>[2-5]</sup>。此外若角膜融解早期得不到有效干预可发生继发感染,甚至发展成为角膜穿孔。然而与此同时因人口老龄化致眼内手术增多,胶原血管性疾病发病率增高,角膜融解的发病率也将随之增高。而因激光屈光手术的开展,异体角膜来源日益减少,这也促使我们探索新的、有效的治疗角膜融解的方法。

角膜胶原交联 (corneal collagen crosslinking, CXL) 最初提出是为了有效治疗医源性角膜扩张性疾病和进展期圆锥角膜引起的进展性视力下降<sup>[6]</sup>。此项技术经过多年的临床试验探索,其技术方法有了明显提高,适应证也有相应增加。从最初的治疗角膜扩张性疾病至现今被应用于原发性圆锥角膜(早、中期活动病变)、继发性角膜失代偿(LASIK 术后)、角膜局部变薄(炎症、变性)、角膜炎(细菌性、真菌性、阿米巴性)、角膜扩张(病源性、非炎症性)、延缓病理性近视进展(加固巩膜组织)、角膜溃疡(感染性、免疫性)、各种原因角膜融解、角膜移植术后复发的球形圆锥、严重不规则散光等。因为角膜胶原交联安全、操作简单、副作用较小,引起了眼科医生的关注。

## 1 角膜胶原交联基本原理

角膜基质层是构成角膜主要部分,占角膜厚度 90%,主要由胶原纤维、角膜基质细胞、细胞外粘性物质(粘多糖)组成<sup>[1]</sup>。自然状态下正常角膜胶原纤维之间存在共价交联<sup>[7]</sup>。角膜胶原交联技术原理是通过紫外光 A (ultraviolet A, UVA) 照射光敏剂核黄素(维生素 B2) 浸润的角膜,在波长为 370nm 的紫外光作用下,核黄素被激

发形成以单线氧为主的三重态活性氧簇(ROS)。ROS可诱导角膜胶原纤维之间及角膜胶原纤维与粘多糖之间发生光化学反应形成共价键,从而增强角膜胶原纤维机械强度、生物学稳定性及角膜抗扩张能力<sup>[8-10]</sup>。

## 2 角膜胶原交联治疗角膜融解的可能机制

**2.1 角膜融解发生可能机制** 正常的角膜组织在手术、外伤等因素作用导致角膜抗原性改变启动机体免疫系统发生炎性细胞浸润(以多核白细胞及巨噬细胞为主),与此同时释放炎性因子(如趋化因子、细胞因子等)形成复杂的免疫网络,浸润细胞与活化的角膜基质细胞可以使组织型胶原酶分泌增加,导致胶原过度分解引起角膜融解发生形成无菌性角膜溃疡<sup>[1-2,11]</sup>。其中中性粒细胞、角膜基质成纤维细胞、上皮细胞释放的基质金属蛋白酶(MMPs)及角膜基质细胞产生的金属蛋白酶抑制剂(TIMPs)之间的平衡被打破与角膜融解有关,MMPs经活化后形成有活性的胶原酶从而降解细胞外胶原。MMPs表达过程中受多种细胞因子(如IL-1、转化生长因子- $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 等)调控<sup>[12]</sup>。而抑制角膜融解可以减少角膜抗原产生,从而减少炎性细胞浸润及炎性因子释放,打破免疫网络,终止恶性循环,达到治疗角膜融解。

**2.2 角膜胶原交联治疗角膜融解机制实验研究** Spoel等<sup>[13]</sup>及Schilde等<sup>[14]</sup>分别对猪眼球进行紫外光A联合核黄素介导的胶原交联处理后,猪眼角膜对胶原酶、胃蛋白酶等融解作用耐受性明显增强,猪眼角膜胶原降解时间明显延长。据推测可能是因为胶原交联之后胶原纤维之间以及胶原纤维与粘多糖分子之间形成共价键,形成了新的空间结构,从而使胶原酶作用位点破坏。因此经紫外光A核黄素介导的角膜胶原交联处理后的猪角膜对各种酶融解的抵抗能力增强。赵旭东等在兔眼上制备角膜融解模型后进行角膜胶原交联实验,实验组发生角膜融解情况明显少于对照组且未出现角膜穿孔,此外从病理与免疫组化结果进行对比可以发现胶原交联治疗组角膜水肿程度轻,角膜胶原纤维破坏轻且排列更整齐,炎性细胞浸润明显减少,深层角膜组织受影响小。结果显示胶原交联可以抑制和延迟兔角膜烧伤后角膜融解的发生和发展,减轻角膜胶原纤维的破坏及减少角膜组织中炎性细胞的浸润<sup>[15]</sup>。综上角膜胶原交联治疗角膜融解的机制可能是:(1)经角膜胶原交联处理过后的角膜组织空间结构改变,破坏了胶原酶作用位点,而使得经处理后的角膜组织对胶原酶抵抗力增强;(2)经角膜胶原交联处理过后的角膜组织炎性细胞浸润减轻,抑制了多种细胞因子释放,从而抑制MMPs表达,达到治疗角膜融解。

## 3 角膜胶原交联治疗角膜融解临床研究现状

Al-Sabai等<sup>[16]</sup>在1例抗生素治疗无效的假单胞菌感染所致发生角膜融解的角膜溃疡病例中,为了避免角膜穿孔的发生,Al-Sabai等对其进行角膜胶原交联,术后患者角膜病变局限化,瘢痕形成,未出现角膜穿孔。类似的Makdoui等<sup>[17]</sup>在对7只伴有角膜融解的患眼行紫外光A联合核黄素介导的角膜胶原交联术后,角膜融解均得到有效控制,角膜再上皮化。Müller等<sup>[18]</sup>对6只出现角膜融解症状的感染性角膜溃疡患者行角膜胶原交联术,其中4只患眼角膜融解停止,溃疡渐愈合,另外2只患眼

角膜融解进程延缓后行角膜移植术。Zamani等<sup>[19]</sup>对8只经抗生素治疗无效出现角膜融解的角膜溃疡患者进行标准紫外光A联合核黄素介导的角膜胶原交联治疗,其中除了1只患眼因出现角膜穿孔而行急诊角膜移植手术,1只患眼因严重的角膜局限性变薄而行结膜瓣治疗,其余6只患眼角膜融解进程停止,并完成角膜再上皮化。此外在Said等<sup>[20]</sup>对合并角膜融解的晚期感染性角膜溃疡行PACK-CXL治疗的一项前瞻性研究表明PACK-CXL并不会缩短病程,但明显可减少并发症发生。上述临床试验都表明在治疗合并角膜融解的感染性角膜炎时,角膜胶原交联术可以起到使病变局限,可以起到治疗作用,或延缓角膜融解发展,为后续进一步治疗如角膜移植术等争取时间。角膜胶原交联为临床治疗各种因素引起的角膜融解提供了新的治疗途径。然而至今相关临床研究大多数聚焦于治疗感染因素所致角膜融解,对于因碱烧伤所致、伴发于风湿性疾病等角膜融解尚未有文献报道。在治疗Mooren角膜溃疡、伴发于风湿性疾病等角膜融解时的疗效,尚需进一步研究。

## 4 紫外光A联合核黄素介导的角膜胶原交联技术的安全性

角膜胶原交联技术的安全性主要与能否导致角膜缘干细胞,角膜内皮细胞,晶状体和视网膜的损伤有关。目前用于角膜胶原交联技术的紫外光A波长为370nm,能量约为 $5.4\text{J}/\text{cm}^2$ (相当于 $3\text{mW}/\text{cm}^2$ ),低于紫外光对角膜缘干细胞、角膜内皮细胞、晶状体和视网膜的损伤阈值。当角膜厚度大于 $400\mu\text{m}$ 时,穿透角膜组织的紫外光A经核黄素吸收后仅剩余5%左右,不会造成角膜内皮细胞损伤<sup>[6]</sup>。此外角膜胶原交联主要作用于前角膜基质层,可以增强角膜对水合作用的耐受能力,减轻角膜水肿,保护深层角膜组织<sup>[21-22]</sup>。晶状体仅吸收 $0.65\text{J}/\text{cm}^2$ ,远低于紫外光A所致白内障的阈值 $70\text{J}/\text{cm}^2$ ,也远低于视网膜视细胞损伤阈值 $81\text{mW}/\text{cm}^2$ <sup>[23]</sup>。因此为了避免眼内其他组织损伤,在进行角膜胶原交联术前应完善角膜厚度检查以排除角膜厚度小于 $400\mu\text{m}$ 的角膜。

## 5 小结

综上所述,近年来基础及临床研究表明,紫外光A联合核黄素介导的角膜胶原交联技术在各种因素导致的角膜融解治疗上可起到抑制和延缓作用。为各种原因所致角膜融解提供了新的治疗思路,减少了进行角膜移植的需求,有望成为此类疾病治疗的标准方案之一。然而现在角膜融解发病机制尚不明确,关于角膜胶原交联治疗角膜融解的基础及临床研究均较少,现仍处于临床动物实验阶段。根据本-罗二氏定律,在总能量保持不变条件下产生的光化学效应是类似的。现今角膜胶原交联技术已发展出标准角膜胶原交联、快速角膜胶原交联等方法。在角膜胶原交联术应用于角膜融解时的作用机制、最佳治疗方案、最佳干预时间等尚需大量实验研究。由于角膜胶原交联术在治疗角膜融解方面相关临床试验起步较晚,对于其预后有无并发症等情况尚需长期临床观察。

## 参考文献

1 孙秉基,徐锦堂.角膜病的理论与临床.北京:科学文献出版

- 社 1994;279-283
- 2 邹留河. 充分认识风湿相关性疾病的眼表病变. 眼科 2006;15(3):169-160
- 3 郭玲, 邹留河. 风湿病相关性角膜融解症 14 例临床分析. 眼科 2007;16(3):184-186
- 4 徐旭, 高明宏. 类风湿相关性角膜融解症整复性手术治疗的临床研究. 国际眼科杂志 2013;13(7):1363-1366
- 5 王梦雅, 李素霞, 李韵秋, 等. 类风湿相关性角膜病变的个体化临床治疗. 临床眼科杂志 2015;23(2):116-120
- 6 Wollensak G. Crosslinking treatment of progressive keratoconus: new hope. *Curr Opin Ophthalmol* 2006;17(4):356-360
- 7 Kou IC, Broman A, Pirouzmanesh A. Is there an association between diabetes and keratoconus. *Ophthalmology* 2006;113(2):184-190
- 8 Spoerl E, Mrochen M, Sliney D, et al. Safety of UVA-riboflavin cross-linking of the cornea. *Cornea* 2007;26(4):385-389
- 9 Zhang Y, Conrad AH, Conrad GW. Effects of ultraviolet-A and riboflavin on the interaction of collagen and proteoglycans during corneal cross-linking. *J Biol Chem* 2011;286(15):13011-13022
- 10 杨成香, 赵少贞. 光动力学角膜胶原交联对 LASIK 术后角膜瓣愈合影响的实验研究. 天津医科大学 2012
- 11 袁进, 陈家祺, 刘祖国, 等. IL-1ra 治疗角膜碱烧伤的免疫学机制研究. 眼科研究 2007;25(1):5-9
- 12 曲忻, 郝继龙. 非感染性角膜溃疡的病理机制研究进展. 吉林医学 2012;33(7):1462-1463
- 13 Spoerl E, Wollensak G, Seiler T. Increased resistance of cross-linked cornea against enzymatic digestion. *Curr Eye Res* 2004;29(1):35-40
- 14 Schilde T, Kohlhaas M, Spoerl E, et al. Enzymatic evidence of the depth dependence of stiffening on riboflavin/UVA treated corneas. *Ophthalmologie* 2008;105(2):165-169
- 15 Gao XW, Zhao XD, Li WJ, et al. Experimental study on the treatment of rabbit corneal melting after alkali burn with collagen cross-linking. *Int J Ophthalmol* 2012;5(2):147-150
- 16 Al-Sabai N, Koppen C, Tassignon MJ. UVA/riboflavin crosslinking as treatment for corneal melting. *Bull Soc Belge Ophthalmol* 2010; 35(1):13-17
- 17 Makdoui K, Mortensen J, Crafood S, et al. Infectious keratitis treated with corneal crosslinking. *Cornea* 2010;29(12):1353-1358
- 18 Müller L, Thiel MA, Kipfer-Kauer AI, et al. Corneal cross-linking as supplementary treatment option in melting keratitis: a case series. *Klin Monbl Augenheilkd* 2012;229(4):411-415
- 19 Zamani M, Panahi-Bazaz M, Assadi M. Corneal collagen cross-linking for treatment of non-healing corneal ulcer. *J Ophthalmic Vis Res* 2015;10(1):16-20
- 20 Said DG, Elalfy MS, Gatziofous Z, et al. Collagen cross-linking with photoactivated riboflavin (PACK-CXL) for the treatment of advanced infectious keratitis with corneal melting. *Ophthalmology* 2014; 121(7):1377-1387
- 21 Wollensak G, Aurich H, Wirbelauer C, et al. Potential use of riboflavin/UVA cross-linking in bullous keratopathy. *Ophthalmic Res* 2009; 41(2):114-117
- 22 Wollensak G, Aurich H, Wirbelauer C, et al. Hydration behavior of porcine cornea cross-linked with riboflavin and ultraviolet A. *J Cataract Refract Surg* 2007; 33(3):516-521
- 23 Zuclich JA. Ultraviolet-induced photochemical damage in ocular tissues. *Health Physics* 1989;56(5):671-682