

羊膜移植联合自体角膜缘干细胞移植治疗眼部烧伤

叶国宁, 田朋飞, 张敏, 杨苏云

作者单位: (324000) 中国浙江省衢州市, 浙江衢化医院眼科
作者简介: 叶国宁, 男, 毕业于浙江师范大学临床医学专业, 本科, 主治医师, 研究方向: 眼科临床。
通讯作者: 叶国宁. 13506700746@163.com
收稿日期: 2018-05-22 修回日期: 2018-08-27

Effects of amniotic membrane transplantation combined with limbal stem cell autograft transplantation on ocular burns

Guo-Ning Ye, Peng-Fei Tian, Min Zhang, Su-Yun Yang

Department of Ophthalmology, Zhejiang Quhua Hospital, Quzhou 324000, Zhejiang Province, China

Correspondence to: Guo-Ning Ye. Department of Ophthalmology, Zhejiang Quhua Hospital, Quzhou 324000, Zhejiang Province, China. 13506700746@163.com

Received: 2018-05-22 Accepted: 2018-08-27

Abstract

• **AIM:** To investigate the effects of amniotic membrane transplantation combined with limbal stem cell autograft transplantation on ocular surface repair time, repair rate and complications in patients with ocular burns.

• **METHODS:** The clinical data of each 61 cases (61 eyes) of patients with ocular burns who were treated by limbal stem cell autograft transplantation (control group) or amniotic membrane transplantation combined with limbal stem cell autograft transplantation (observation group) were retrospectively analyzed. The postoperative ocular surface repair rate, repair time, and visual acuity and complications (symblepharon, corneal neovascularization, and keratohelcosis) at 12wk after operation were recorded in the two groups, and the levels of cytokines [vascular endothelial growth factor (VEGF), transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1), insulin-like growth factor-1 (IGF-1)] were compared between the two groups before operation and at 2wk after operation.

• **RESULTS:** The postoperative ocular surface repair rate in observation group was higher than that in control group ($P < 0.05$) while the repair time was less than that in control group ($P < 0.05$). At 12wk after operation, the visual acuity in observation group was significantly better than that in control group ($P < 0.05$), and the total incidence rate of postoperative complications in observation group was significantly lower than that in control group ($P < 0.05$). At 2wk after operation, the levels of serum VEGF, TGF- β 1 and IGF-1 in the two groups

were significantly higher than those before operation ($P < 0.05$), and the levels in control group were higher than those in observation group ($P < 0.05$).

• **CONCLUSION:** Amniotic membrane transplantation combined with limbal stem cell autograft transplantation has significant treatment effects on patients with ocular burns, and it can promote ocular surface repair, improve postoperative visual acuity, and can also regulate corneal neovascularization, and it also has positive significance in reducing the risk of postoperative complications.

• **KEYWORDS:** ocular burns; amniotic membrane transplantation; limbal stem cell autograft transplantation; ocular surface repair; neovascularization

Citation: Ye GN, Tian PF, Zhang M, et al. Effects of amniotic membrane transplantation combined with limbal stem cell autograft transplantation on ocular burns. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2018;18(10):1886-1889

摘要

目的: 探究羊膜移植联合自体角膜缘干细胞移植治疗对眼部烧伤患者眼表修复时间、修复率及并发症的影响。

方法: 回顾性分析我院行自体角膜缘干细胞移植治疗(对照组)和行羊膜移植联合自体角膜缘干细胞移植治疗(观察组)的各61例眼部烧伤患者临床资料。记录两组术后眼表修复率、修复时间、术后12wk视力情况及并发症发生情况(睑球粘连、角膜新生血管、角膜溶解溃疡),并比较两组术前及术后2wk细胞因子[血管内皮生长因子(VEGF)、转化生长因子- β 1(TGF- β 1)、胰岛素样生长因子-1(IGF-1)]水平差异。

结果: 观察组术后眼表修复率高于对照组($P < 0.05$),且修复时间低于对照组($P < 0.05$)。术后12wk时,观察组视力情况明显优于对照组($P < 0.05$)。观察组术后并发症总发生率明显低于对照组($P < 0.05$)。术后2wk时,两组血清VEGF、TGF- β 1、IGF-1水平均较术前升高($P < 0.05$),且对照组高于观察组($P < 0.05$)。

结论: 羊膜移植联合自体角膜缘干细胞移植对眼部烧伤患者治疗效果显著,可促进患者眼表修复,改善术后视力,调节患者角膜血管新生情况,降低术后并发症风险。

关键词: 眼部烧伤;羊膜移植;自体角膜缘干细胞移植;眼表修复;新生血管

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2018.10.32

引用: 叶国宁,田朋飞,张敏,等. 羊膜移植联合自体角膜缘干细胞移植治疗眼部烧伤. 国际眼科杂志 2018;18(10):1886-1889

0 引言

眼部热烧伤或化学烧伤患者可出现角膜上皮缺损、局部溃疡、坏死等病理变化,导致患者视力明显降低,甚至引

表1 两组患者一般资料比较

组别	眼数	性别(例,%)		年龄($\bar{x}\pm s$,岁)	烧伤类型(眼,%)		烧伤分度(眼,%)		
		男	女		化学	热	II	III	IV
观察组	61	42(69)	19(31)	36.79 \pm 7.14	48(79)	13(21)	19(31)	29(48)	13(21)
对照组	61	44(72)	17(28)	36.28 \pm 7.03	46(75)	15(25)	21(34)	30(49)	10(16)

注:对照组:行自体角膜缘干细胞移植治疗;观察组:行羊膜移植联合自体角膜缘干细胞移植治疗。

起永久性失明,严重影响患者日常生活^[1]。不仅如此,眼部烧伤也能使角膜缘受到破坏,引起角膜缘干细胞功能衰竭,造成角膜上皮增殖能力丧失、角膜缘屏障功能下降,诱发持续性上皮糜烂、结膜组织长入等病理性损伤,不利于患者角膜修复^[2]。故有学者提出,使用自体角膜缘干细胞移植术弥补眼部烧伤患者角膜缘损伤,使患者角膜缘屏障功能改善,可促进患者视力恢复^[3]。另外,羊膜移植为近年来学术界研究的热点,可辅助修复受损的角膜缘基质环境,具有保护角膜创面、促进角膜上皮细胞生长等生物学特征,于眼部烧伤患者病情恢复也有积极意义^[4]。基于此,本研究回顾性分析我院行羊膜移植联合自体角膜缘干细胞移植治疗及仅行自体角膜缘干细胞移植治疗的眼部烧伤患者临床资料,以探究上述2种手术方法的治疗效果,现报告如下。

1 对象和方法

1.1 对象

回顾性分析2016-07/2017-10我院行自体角膜缘干细胞移植治疗(对照组)和行羊膜移植联合自体角膜缘干细胞移植治疗(观察组)的各61例眼部烧伤患者临床资料。纳入标准:单眼烧伤者;伤后至就诊时间 $<3d$ 者;年龄18~65岁者;临床资料完整者。排除标准:合并心、肝、肾等重要器官功能障碍者;伴糖尿病、高血压等慢性疾病者;烧伤前合并其他眼部疾病者;伴眼钝挫伤或眼球破裂者;全角膜缘损害者;相关治疗禁忌者。两组患者性别、年龄、烧伤类型、烧伤分度(全国眼外伤与职业性眼病研究协作组制定的眼外伤分度标准^[5])等一般资料比较,差异无统计学意义($P>0.05$),见表1。本研究经本院伦理委员会审批通过。

1.2 方法

1.2.1 术前处理

使用无菌生理盐水彻底冲洗外眼,至眼球表面及结膜囊残留物及坏死脱落组织完全洗净;应用维生素C注射液、氟米龙滴眼液、玻璃酸钠滴眼液等药物对眼部进行综合干预,并使用抗生素、维生素C、糖皮质激素类药物行全身治疗。

1.2.2 术中处理

对照组给予自体角膜缘干细胞移植治疗:(1)在显微镜的引导下行手术治疗;(2)清除患眼缺血坏死的角膜缘结膜及炎性组织,暴露巩膜2mm至角膜缘;(3)将角膜表面不正常的上皮及新生血管切除,直至显露基本透明的角膜,但切除的角膜深度不能超过1/3角膜厚度;(4)根据病灶范围采集植片,取健眼角膜缘0.5~1.0mm表层透明膜+2mm球结膜,植片采集后使用10-0可吸收线缝合;(5)将植片平铺于患侧暴露角膜缘,使植片的角膜缘侧与患侧角膜缘吻合,并将外侧缘固定缝合于巩膜浅层,结膜部分则与患侧周围球结膜缝合,结束手术。

观察组则予以羊膜移植联合自体角膜缘干细胞移植治疗:(1)制备新鲜羊膜,取乙肝表面抗原、衣原体、人免疫缺陷病毒及梅毒均为阴性的健康孕妇剖宫产获得的羊

表2 两组术后眼表修复率及修复时间比较 眼(%)

组别	眼数	修复率	修复时间		
			$\leq 3wk$	4~7wk	8~15wk
观察组	61	57(93)	17(30)	33(58)	7(12)
对照组	61	49(80)	9(18)	26(53)	14(29)
χ^2/Z		4.604		2.115	
P		0.032		0.034	

注:对照组:行自体角膜缘干细胞移植治疗;观察组:行羊膜移植联合自体角膜缘干细胞移植治疗。

膜,用无菌生理盐水冲洗后浸泡于抗生素溶液中,将绒毛膜从羊膜上钝性分离,并将羊膜的粗糙面与手术巾的粗糙面相贴,修剪成5cm \times 8cm大小,置于抗生素培养基12h后备用;(2)将2cm \times 2cm羊膜上皮面向上平铺于眼球表面,盖没整个角膜及角膜缘后1mm至球结膜,多余部分则塞入结膜下;(3)在角膜缘后2mm巩膜浅层,使用10-0尼龙线对称缝合,使羊膜紧贴深层创面,避免褶皱;(4)在角膜缘4方位(3:00、6:00、9:00、12:00)环状周围1mm作四针褥式缝合,缝线穿过浅层巩膜,使球结膜完全遮盖置于结膜下的羊膜;(5)冲洗视野,闭睑轻压1min后挤出羊膜与结膜下的残余积血;(6)术中尽可能地修复眼睑,并频繁地使用人工泪液,以避免羊膜迅速溶解,且在此基础上行自体角膜缘干细胞移植治疗,操作同上述对照组。

1.2.3 术后处理

两组术后均给予加压绷带包扎,3d后开放点眼,使用妥布霉素地塞米松滴眼液开放点眼,3~4次/d,术前涂妥布霉素地塞米松眼膏,术后2wk拆线。

1.2.4 观察指标

(1)术后眼表修复率、修复时间:观察术后羊膜溶解情况,并根据羊膜溶解后荧光素钠染色结果判定,荧光素钠染色阳性为眼表未修复,阴性为眼表修复。(2)术后12wk视力情况:检查两组最佳矫正视力。(3)术后并发症发生情况:记录两组术后睑球粘连、角膜新生血管、角膜溶解溃疡等情况。(4)术前及术后2wk细胞因子比较:使用酶联免疫分析法(试剂由美国R&D Systems公司生产)检测其血清血管内皮生长因子(VEGF)、转化生长因子- $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$)水平,采用放射免疫分析法(试剂由北京北方生物技术研究所生产)检测其血清胰岛素样生长因子-1(IGF-1)水平。

统计学分析:采用SPSS18.0统计学软件进行分析,两组间术后眼表修复率及并发症比较采用卡方检验,两组间眼表修复时间及术后视力情况比较采用Wilcoxon秩和检验;手术前后细胞因子比较使用配对样本 t 检验,两组间比较用独立样本 t 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组术后眼表修复率及修复时间比较

观察组术后眼表修复率高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$),且修复时间低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$),见表2。

表3 两组术后视力情况比较

眼(%)

组别	眼数	0.3~0.5	0.1~<0.3	0.05~<0.1	光感~<0.05
观察组	61	21(34)	28(46)	9(15)	3(5)
对照组	61	15(25)	21(34)	19(31)	6(10)

注:对照组:行自体角膜缘干细胞移植治疗;观察组:行羊膜移植联合自体角膜缘干细胞移植治疗。

表4 两组术后并发症发生情况比较

眼(%)

组别	眼数	睑球粘连	角膜新生血管	角膜溶解溃疡	总发生率
观察组	61	2(3)	3(5)	1(2)	6(10)
对照组	61	6(10)	7(11)	2(3)	15(25)
χ^2		-	-	-	4.659
<i>P</i>		>0.05	>0.05	>0.05	0.031

注:对照组:行自体角膜缘干细胞移植治疗;观察组:行羊膜移植联合自体角膜缘干细胞移植治疗。-: Fisher 精确检验。

表5 两组手术前后血清 VEGF、TGF- β 1、IGF-1 水平比较

$\bar{x} \pm s$

组别	眼数	VEGF($\mu\text{g/mL}$)		TGF- β 1($\mu\text{g/mL}$)		IGF-1(ng/mL)	
		术前	术后 2wk	术前	术后 2wk	术前	术后 2wk
观察组	61	0.152 \pm 0.031	0.356 \pm 0.053 ^a	3.375 \pm 1.132	4.796 \pm 1.167 ^a	31.524 \pm 5.682	47.532 \pm 6.439 ^a
对照组	61	0.154 \pm 0.030	0.427 \pm 0.057 ^a	3.261 \pm 1.127	5.921 \pm 1.183 ^a	32.165 \pm 5.257	53.721 \pm 6.148 ^a
<i>t</i>		0.362	7.125	0.557	5.288	0.647	5.430
<i>P</i>		0.718	<0.01	0.578	<0.01	0.519	<0.01

注:对照组:行自体角膜缘干细胞移植治疗;观察组:行羊膜移植联合自体角膜缘干细胞移植治疗。^a*P*<0.05 vs 本组术前。

2.2 两组术后视力情况比较 术后 12wk 时,两组羊膜均溶解吸收,且观察组视力情况明显优于对照组,差异有统计学意义($Z=2.190, P=0.029$),见表 3。

2.3 两组术后并发症发生情况比较 观察组术后并发症总发生率明显低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 4。

2.4 两组手术前后细胞因子水平比较 术后 2wk 时,两组血清 VEGF、TGF- β 1、IGF-1 水平均较术前升高,差异有统计学意义($P<0.05$),且对照组高于观察组,差异有统计学意义($P<0.01$),见表 5。

3 讨论

眼部烧伤多发生于化工厂、实验室及施工现场,患者经及时、彻底地冲洗眼部处理后可将损害降到最低,但部分烧伤较为严重的患者仍可发生角膜缘干细胞及结膜杯状细胞大量破坏,造成严重视力障碍^[6]。因此,及时手术治疗以修复角膜缘及结膜损伤,对患者预后非常重要。目前,临床常用的手术治疗有羊膜移植及自体角膜缘干细胞移植等方法^[7]。羊膜移植可抑制创面纤维组织增生,且能控制角膜的炎症、坏死及溶解,在重建眼表、支持上皮细胞生长上具有重要作用^[8];自体角膜缘干细胞移植可补充患眼角膜缘干细胞数量,并改善角膜缘屏障功能,促进角膜上皮增殖及分化,具有维持角膜上皮完整性作用^[9];则 2 种手术方法能修复患眼角膜损伤。然而,鲜少有学者将上述 2 种手术方法联合使用。对此,本研究就羊膜移植联合自体角膜缘干细胞移植对眼部烧伤患者治疗效果展开分析,为临床治疗眼部烧伤提供参考依据。

本研究结果显示,给予羊膜移植联合自体角膜缘干细胞移植治疗的观察组术后眼表修复率明显高于仅予以自体角膜缘干细胞移植治疗的对照组,且眼表修复所需时间也较对照组短。分析其原因与自体角膜缘干细胞移植可增强角膜上皮增殖能力,且干细胞能向病损区运动,使角

膜缘屏障功能提高,利于眼表修复^[10];而羊膜移植则能利用羊膜的生物学特性,促进上皮细胞分化,也增加结膜杯状细胞增殖,延缓并阻止上皮细胞凋亡,进一步加速眼表重建^[11]。

另外,国内学者研究发现,角膜新生血管及瘢痕为影响眼表烧伤患者术后视力的重要因素,可引起角膜透明度降低,造成视力障碍,而角膜内的调节因子在角膜新生血管形成过程中具有重要作用^[12]。其中 VEGF 为一种内皮细胞有丝分裂原,可刺激血管内皮细胞增殖,也能增加血管通透性,具有促血管生成及促组织纤维化的作用^[13];TGF- β 1 为一种促纤维化因子,可促进损伤角膜纤维化,造成瘢痕增生等不良后果^[14];IGF-1 则能通过促分裂原活化蛋白激酶途径,调控 VEGF 的表达,参与血管内皮增生过程,在提高成纤维细胞表达中也有重要作用^[15]。本研究结果也显示,观察组术后上述细胞因子升高幅度均小于对照组。提示羊膜调节角膜细胞凋亡成分的生物学特性,可减少相关细胞因子诱发的胶原纤维增生及新生血管形成,使术后患眼角膜透明度改善。另有学者将人羊膜匀浆提取液应用于角膜化学烧伤患者中,发现治疗后患者局部血管 VEGF 表达水平显著下降^[16]。这也进一步证实,羊膜对调节血管新生有积极意义。不仅如此,观察术后视力情况也优于对照组。这也说明,羊膜移植联合自体角膜缘干细胞移植可缓解患者视力障碍情况,于患者预后有利。

此外,本研究结果还发现,观察组术后并发症总发生率也明显低于对照组。推测此结果由以下 3 个因素共同作用引起:(1)羊膜移植可促进上皮细胞分化,而改善睑、球结膜上皮广泛缺血坏死情况,降低睑球粘连发生率^[17];(2)而羊膜移植还具有抑制 VEGF、TGF- β 1、IGF-1 等促血管新生细胞因子活性作用,可减少术后角膜新生血管形成^[18];(3)羊膜在损伤角膜及结膜表面覆盖,具有与生物

绷带镜相似的作用,可保护角膜创面,提高角膜屏障功能,避免术后角膜溶解溃疡等损伤^[19]。外国学者也得出类似结论,其同样认为,羊膜移植能提高眼部烧伤手术效果,且具有一定使用安全性,临床使用价值较高^[20]。而陆依等^[19]研究中,羊膜移植术后角膜新生血管发生率为28%,高于本研究对照组术后角膜新生血管发生率(11%)及观察组发生率(5%)。这也进一步证实,羊膜移植联合自体角膜缘干细胞移植能有效控制术后血管内皮细胞增殖情况,使新生血管减少,促进患者眼表修复。

综上所述,羊膜移植联合自体角膜缘干细胞移植可提高眼部烧伤患者眼表修复率,缩短修复所需时间,抑制促血管新生相关细胞因子活性,改善患者术后视力,且并发症较少。

参考文献

- 1 鲁铭,朱晶.不同浓度重组 Canstatin 蛋白对碱烧伤后角膜 MMP-2 及 TIMP-2 表达的影响. 国际眼科杂志 2016;16(2):224-227
- 2 白军强,赵世红,秦海峰,等.枸橼酸-磷酸氢二钠缓冲液冲洗对小鼠急性角膜化学伤眼表的保护作用. 中华实验眼科杂志 2017;35(2):122-127
- 3 宋青山,范慧雅,陈子林.角膜缘干细胞移植治疗翼状胬肉切除联合羊膜移植术后羊膜溶解. 国际眼科杂志 2016;16(2):365-366
- 4 邱培瑾,吴芳,万婷.全板层角膜联合羊膜移植重建活动期严重烧伤眼表的疗效观察. 中华急诊医学杂志 2017;26(3):351-353
- 5 全国眼外伤与职业性眼病研究协作组.眼部烧伤分度标准. 眼外伤与职业性眼病杂志 1983;5(2):120-121
- 6 范军华,熊成.生物羊膜眼片的研制及其在早期眼灼伤治疗中的应用. 中国实用眼科杂志 2016;34(9):945-948
- 7 刘迎庆,陈博宇.眼部碱烧伤 126 例综合治疗临床分析. 解放军医药杂志 2016;28(2):74-76
- 8 郭晓飞,肖青,肖凤枝,等.羊膜移植术治疗难治性角膜溃疡疗效观察. 中国实用眼科杂志 2017;35(3):318-321

- 9 鲁江,贺经,刘云.翼状胬肉切除联合自体角膜缘干细胞移植术后硬性角膜接触镜的干预效果. 国际眼科杂志 2017;17(6):1188-1190
- 10 高杨.自体角膜缘干细胞移植术治疗复发性翼状胬肉临床观察. 山东医药 2017;57(16):94-96
- 11 蒋波,李涛,王智,等.眼部化学灼伤 36 例治疗分析. 中国实用眼科杂志 2016;34(12):1317-1319
- 12 王群,姜严明,赵杰,等.血管内皮生长因子靶向抗体对大鼠角膜碱烧伤后新生血管抑制作用的研究. 眼科新进展 2017;37(11):1010-1014
- 13 吕亚男,宫媛媛.抗血管内皮生长因子(VEGF)治疗与视网膜下纤维化研究进展. 眼科新进展 2017;37(6):583-586
- 14 侯艳宏,崔红平.新生血管性青光眼患者房水和血浆中 VEGF、TGF- β 1 和 IL-6 的测定及意义. 中华实验眼科杂志 2016;34(7):624-629
- 15 田芳,东莉洁,吉洁,等.多聚嘧啶序列结合蛋白相关剪接因子对视网膜血管内皮细胞 IGF-1/VEGF 信号通路的抑制作用. 中华实验眼科杂志 2016;34(1):11-16
- 16 赵抒羽,郭小南,何锦贤.人羊膜匀浆提取液对角膜碱烧伤后新生血管 PEDF 和 VEGF 表达及角膜新生血管的影响. 国际眼科杂志 2017;17(8):1437-1440
- 17 谢敏,赵敏,羊薇,等.眼表重建手术治疗伴睑球粘连的复发性翼状胬肉. 川北医学院学报 2016;31(4):553-555
- 18 贾雍,田学敏,张百珂,等.塞来昔布与羊膜匀浆提取液对兔角膜热烧伤后角膜新生血管面积及基质金属蛋白酶-2(MMP-2)、基质金属蛋白酶-9(MMP-9)表达的影响. 眼科新进展 2017;37(4):321-325
- 19 陆依,黄波,吴闵星,等.新鲜羊膜移植治疗急性期眼化学伤的临床观察. 国际眼科杂志 2016;16(10):1967-1969
- 20 Westekemper H, Figueiredo FC, Siah WF, et al. Clinical outcomes of amniotic membrane transplantation in the management of acute ocular chemical injury. *Br J Ophthalmol* 2017;101(2):103-107