

# 结膜印迹细胞学检查在干眼症诊断中的应用

刘妍

作者单位:(411100)中国湖南省湘潭市中心医院眼科  
作者简介:刘妍,女,主治医师,研究方向:眼表疾病及眼外伤。  
通讯作者:刘妍. ly8214901@sina.com  
收稿日期:2010-06-03 修回日期:2010-07-13

## Application of conjunctival blotting cytological examination in diagnosis of dry eye

Yan Liu

Department of Ophthalmology, Xiangtan Central Hospital, Xiangtan 411100, Hunan Province, China

**Correspondence to:** Yan Liu. Department of Ophthalmology, Xiangtan Central Hospital, Xiangtan 411100, Hunan Province, China. ly8214901@sina.com

Received:2010-06-03 Accepted:2010-07-13

### Abstract

• **AIM:** To evaluate the effect of conjunctival blotting cytological examination in dry eye diagnosis.

• **METHODS:** Totally 36 patients 72 eyes with dry eye syndrome from April 2008 to September 2008 and 10 normal volunteers 20 eyes were analyzed. Conjunctival blotting cytology combined PAS staining were applied. Conjunctival epithelial cells and the number, morphology and changes of goblet cells were observed.

• **RESULTS:** Morphologically, 97% of the normal volunteer presented the Nelson grade 0, 84% of mild dry eye patients presented the Nelson grade 1, 79% of moderate dry eye patients presented the Nelson grade 2, 98% of severe dry eye patients presented the Nelson grade 3; The number of goblet cells was calculated using five visual fields randomly under high magnification. There was significant decrease in dry eye group (mild:  $101.67 \pm 15.64$ , moderate:  $40.77 \pm 5.39$ , severe:  $6.36 \pm 3.61$ ) compared with normal group ( $196.10 \pm 22.53$ ,  $P < 0.01$ ); There was significant decreased in severe dry eye group than in mild or moderate dry eye group and the difference was statistically significant ( $P < 0.01$ ).

• **CONCLUSION:** Conjunctival blotting cytological examination is a simple, accurate and objective method, when combined with other examination methods, it has good prospects for diagnosis of dry eye.

• **KEYWORDS:** conjunctival impression cytology; dry eye; classification

Liu Y. Application of conjunctival blotting cytological examination in diagnosis of dry eye. *Int J Ophthalmol (Guoji Yanke Zazhi)* 2010;10(8):1574-1576

### 摘要

**目的:**探讨结膜印迹细胞学检查在干眼症诊断中的作用。

**方法:**收集2008-04/2008-09眼科门诊干眼症患者36例72眼,正常人10例20眼,采用结膜印迹细胞学检查联合PAS染色,观察各组结膜上皮细胞和杯状细胞形态及数量变化情况。

**结果:**在形态学方面,97%的正常人表现为Nelson分级中的0级,84%轻度干眼症患者表现为Nelson分级中的1级,79%中度干眼症患者符合Nelson分级中的2级,98%重度干眼症患者符合Nelson分级中的3级;在高倍镜下任意选取五个视野,统计杯状细胞的数量,轻度干眼症组( $101.67 \pm 15.64$ ),中度干眼症组( $40.77 \pm 5.39$ )及重度干眼症组( $6.36 \pm 3.61$ )较正常组( $196.10 \pm 22.53$ )相比,杯状细胞数量明显减少, $P < 0.01$ ,重度与轻中度干眼症组比较,前者杯状细胞数量明显少于后两者,差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。

**结论:**结膜印迹细胞学检查操作简单易行,结果客观精确,联合其他检查方法用于干眼症诊断,有着良好的应用前景。

**关键词:**结膜印迹细胞学;干眼症;分级

DOI:10.3969/j.issn.1672-5123.2010.08.044

刘妍. 结膜印迹细胞学检查在干眼症诊断中的应用. 国际眼科杂志 2010;10(8):1574-1576

### 0 引言

干眼症作为一种常见的慢性眼表疾病,任何年龄组均可发病<sup>[1]</sup>,临床常见于老年女性。近年来,随着电脑、空调的普及和应用,发病率正逐步上升并呈现年轻化发展趋势。临床诊断干眼症常用的检查方法主要包括泪膜破裂时间(break up time, BUT)、泪液分泌试验(Schirmer I test, S I t)和角膜荧光素染色(corneal fluorescein staining, FL)等,但缺乏特异性高的检查指标。我们对本院门诊确诊的36例72眼干眼症患者行结膜印迹细胞学检查,为确诊干眼症提供一项客观准确的检查方法。

#### 1 对象和方法

**1.1 对象** 收集我院眼科门诊2008-04/2008-09干眼症患者36例72眼,其中男11例22眼,女25例50眼,男女比例1:2.27,年龄17~66(平均 $43.3 \pm 8.7$ )岁。正常人10例20眼作为对照。

#### 1.2 方法

**1.2.1 患者主诉** 眼干涩、视疲劳、眼痒、视力波动、异物感、烧灼感、眼红、眼胀眼痛、畏光流泪等。其中0分无症状;1分为出现上述症状频率 $< 3$ 次/wk;休息可缓解;5分经常出现,影响生活质量和工作,用药缓解;9分持续出现,严重影响生活质量,用药不能缓解。有症状者按照轻、中、重程度分三级,共1~9分<sup>[2]</sup>。

**1.2.2 BUT** 10g/L荧光素钠滴1滴于结膜囊内,嘱患者轻轻眨眼使其涂布均匀,观察最后一次瞬目后睁眼至角膜出

表 1 干眼症的轻、中、重度的分级

	干眼症相关症状(分)	BUT(s)	角膜荧光素染色(分)	S I t(mm/5min)
正常	0	≥10	0	≥10
轻度	1~3	7~9	1~4	7~9
中度	4~6	4~6	5~8	4~6
重度	7~9	0~3	9~12	0~3

表 2 不同组别结膜杯状细胞个数量改变情况 ( $\bar{x} \pm s, n=92$ )

	正常组	轻度干眼症组	中度干眼症组	重度干眼症组
眼数	20	36	22	14
杯状细胞/个数	196.10 ± 22.53	101.67 ± 15.64 <sup>b,d,f</sup>	40.77 ± 5.39 <sup>b,d</sup>	6.36 ± 3.61 <sup>b</sup>

<sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 正常组; <sup>d</sup> $P < 0.01$  vs 重度干眼症组; <sup>f</sup> $P < 0.01$  vs 中度干眼症组。

现第 1 个黑斑的时间。BUT > 10s 者正常, 5s < BUT ≤ 10s 者可疑, BUT ≤ 5s 者异常。

**1.2.3 S I t** 反映基础泪液分泌量, 在自然光照下, 用盐酸丙美卡因滴眼液(爱尔康公司)表面麻醉后, 将泪液检测滤纸条(天津晶明新技术开发有限公司)沿一端反折 5mm 置于眼睑中外部 1/3 处结膜囊内, 尽量避免接触角膜, 5min 后取出, 测量湿长。湿长 > 10mm 为正常, 5 ~ 10mm 者为低分泌, ≤ 5mm 者可诊断为干眼症。

**1.2.4 FL 染色** 阳性代表角膜上皮缺损, 提示角膜上皮细胞层的不连续性。荧光素染色的程度分为 0 ~ 3 级, 荧光素染色阴性为 0 分, 点状荧光素染色 < 5 点为 1 分, > 5 点为 2 分, 有丝状或块状荧光素染色则为 3 分。然后将角膜分为鼻上、鼻下、颞上及颞下 4 个象限, 每一象限均按以上原则评定。这样角膜总的染色程度分为 0 ~ 12 分<sup>[2]</sup>, 规定评分 < 1 分为正常。

**1.2.5 结膜印迹细胞学检查<sup>[3]</sup>** 将 0.22μm 醋酸纤维素膜(Minipore 公司)制备成 8mm × 4mm 半圆形小纸片, 三蒸水浸泡 4h, 以消除滤纸表面活性, 晾干、高压灭菌后干燥待用。让患者取半坐位或平卧位, 检查前用盐酸丙美卡因进行眼表表面麻醉, 3 ~ 5min 后, 滤纸片吸净结膜囊内泪液, 消毒无齿镊夹住硝酸纤维素一角, 粗糙面贴于距角膜缘 2mm 处上方球结膜表面, 用消毒玻棒轻轻加压 5 ~ 10s 后撕下, 置于 40g/L 甲醛中固定 30min 以上。行 PAS 染色, 具体步骤如下: 高碘酸氧化 10min, 自来水冲 5min, 三蒸水冲洗一遍, 无色品红作用 25min, 偏重亚硫酸钠漂洗 5min, 自来水冲洗 5 ~ 10min, Mayer's 苏木素复染 5min, 10g/L 盐酸乙醇脱色 30s ~ 1min, 自来水冲洗 5min, 95% 乙醇、100% 乙醇脱水各 1min, 二甲苯透明 20min, 中性树脂胶封片, 显微镜下观察。结膜印迹细胞学检查(impression cytology, IC)分级: 采用 Nelson<sup>[4]</sup> 分级标准: 0 级: 正常, 上皮小而圆, 易分辨, 细胞间结合紧密, 胞质嗜曙红, 核大, 核浆比为 1:1 ~ 1:2, 丰富的杯状细胞(>500/mm<sup>2</sup>), 杯状细胞大而圆, PAS 重染。1 级: 轻度鳞状上皮化生, 上皮较大, 多形, 易分辨, 细胞间距离较 0 级大, 细胞大, 核小, 核浆比为 1:3, 杯状细胞数量下降(350 ~ 500/mm<sup>2</sup>), 但仍圆而丰满, PAS 染色阳性持续。2 级: 中度鳞状化生, 上皮细胞大, 多形, 分辨差, 细胞间距大, 细胞质多形性, 细胞核可呈多核状, 核小, 核浆比 1:4 ~ 1:5, 无角质化, 杯状细胞严重减少(100 ~ 350/mm<sup>2</sup>), 形态小, 周边不清, PAS 染色差。3 级: 重度鳞状化生, 上皮大而多形, 孤立, 胞质偏蓝, 核小, 固缩并有较多的无核细胞, 核浆比 > 1:6, 杯状细胞数量下降甚至消失(<100/mm<sup>2</sup>), 可有角质化。

**1.2.6 诊断及分级** 正常对照组为经检查排除干眼症、睑缘炎、变应性结膜炎, 无眼睑形态和功能异常, 无角膜接触镜配戴和各种电离辐射史, 无高眼压病史, 无影响泪液分泌的全身与局部用药史, 无眼部手术史, 排除胶原血管病或糖尿病等影响泪膜质量的全身疾病史<sup>[5]</sup>。干眼的诊断标准: (1) 主观症状(必需): 如干涩感、眼疲劳、异物感、眼痒感、烧灼感、眼胀感、眼痛感、畏光、眼红等。(2) BUT 测定结果异常。(3) 泪液分泌减少: 泪液分泌功能测定, S I t ≤ 10mm/5min 为低分泌; 泪河弯曲面的曲率半径 ≤ 0.35mm。(4) 加强诊断试验, 荧光素、虎红、丽丝胺绿等染色剂对眼表染色, 清晰地观察眼表面损害情况。在排除眼部的轻、中、重度其他疾病后, BUT ≤ 5s 时, (1) + (2) 可确诊为干眼; 或 BUT ≤ 10s 时, (1) + (2) + (3) 或 (1) + (2) + (4) 可确诊为干眼<sup>[6]</sup>。依照上述诊断标准见表 1, 36 例 72 眼干眼症患者中, 其中轻度 18 例 36 眼, 中度 11 例 22 眼, 重度 7 例 14 眼。

统计学分析: 采用 SPSS 16.0 统计学软件处理数据。描述性统计值用平均值 ± 标准差表示。同时采用多组定量资料的方差分析和均数的两两比较, 检验水平 α = 0.05。

## 2 结果

**2.1 结膜杯状细胞及上皮细胞形态学特点** 正常组结膜上皮细胞小而圆, 数量多且连接紧密, 核圆形嗜碱性偏蓝色, 核浆比约 1:2 ~ 1:3, 杯状细胞外观类似“浆细胞”, 核圆而大, 强嗜碱性, 偏向胞质一侧, 胞质红染易辨认, 数量丰富排列有序, 96.7% 的正常人表现为 Nelson 分级中的 0 级(图 1A); 轻度干眼症患者 IC 表现结膜上皮细胞稍分散, 体积变大而形态多变, 核较正常时增大, 杯状细胞数量减少, 体积缩小, 84.1% 表现为 Nelson 分级中的 1 级(图 1B); 中度干眼症患者 IC 表现结膜上皮细胞分散明显, 核变小或呈现“蛇形核”, 杯状细胞数量明显减少, 形态小, 周边模糊, 79.4% 符合 Nelson 分级中的 2 级(图 1C); 重度干眼症患者 IC 表现结膜上皮细胞大而稀疏, 核极小甚至无核, 杯状细胞数量极少甚至消失, 98.5% 符合 Nelson 分级中的 3 级(图 1D)。

**2.2 各组间杯状细胞数量比较** 将不同组别的 PAS 染色图片在高倍镜下任意选取 5 个视野, 统计杯状细胞的数量, 取其均数进行两两比较。结果表明, 轻、中、重度干眼症患者与正常组比较, 其杯状细胞数量明显减少,  $P < 0.01$ ; 重度干眼症组的杯状细胞数量也明显少于轻、中度干眼症组, 差异有统计学意义( $P < 0.01$ ); 轻度干眼症患者和中度干眼症患者之间相比较, 杯状细胞数量明显增多, 差异有统计学意义( $P < 0.01$ , 表 2)。

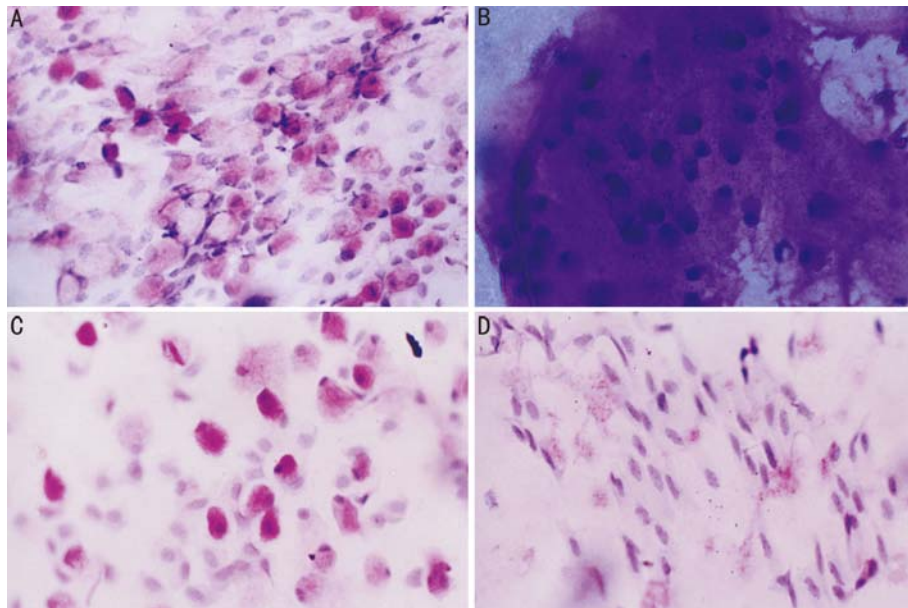


图1 光镜下结膜印迹细胞学PAS染色结果,Nalson分级分别为0~3级( $\times 400$ ) A:正常组;B:轻度干眼症患者;C:中度干眼症患者;D:重度干眼症患者。

### 3 结论

对于干眼症的诊断,传统的3项诊断性试验(BUT, SIt和FL染色)结果由于受到个体差异、检查者操作及主观判断等诸多因素影响,已不能满足临床需要。结膜印迹细胞学检查是通过一种带有微孔具有较强吸附力的滤膜在结膜面贴覆片刻后,能够得到杯状细胞分泌的黏蛋白印记,通过PAS联合苏木素染色可以显示黏蛋白及所有细胞核的分布,间接反映杯状细胞及结膜上皮细胞的形态和数量。属于病理形态学诊断,对于杯状细胞缺乏型干眼症的诊断堪称金标准,一经确诊,结论确凿。

本次检查结果表明,在干眼症患者中,结膜上皮细胞和杯状细胞的数量及质量均出现不同程度的病理改变,重度患者表现尤为明显。对于临床上单纯通过3项诊断性试验结果不确定或者不全阳性的干眼症患者,通过结膜印迹细胞学检查均可给与明确诊断,降低了可疑病例的误诊和漏诊率。值得注意的是,在实际操作过程中,如果患者分泌物较多,应用无菌生理盐水冲洗结膜囊后再用消毒滤

纸片吸尽结膜囊内残留的液体,然后再进行取材,否则过多的分泌物会影响检查结果,出现假阳性,误导诊断。结膜印迹细胞学检查联合其他检查方法应用于干眼症的诊断,可了解眼表结膜上皮细胞和杯状细胞的病理与生理变化,客观、准确、无创,且不会给患者带来任何痛苦,具有良好的临床应用前景。

### 参考文献

- 1 Wilson SE. Inflammation: a unifying theory for the origin of dry eye syndrome. *Manag Care* 2003;12(12):14-19
- 2 孙雯. 皮质类固醇滴眼液治疗中重度干眼的临床研究. 浙江大学医学院 2005:8
- 3 刘祖国. 眼表疾病学. 北京:人民卫生出版社 2003:206
- 4 Nelson JD. Impression cytology. *Cornea* 1988;7(1):71
- 5 肖位保,叶纹. 结膜印迹细胞学与干眼症常用检查方法的相关性研究. *中国病理生理杂志* 2008;24(5):1035-1037
- 6 邓新国,孙倩娜,高杨. 干眼症患者435例临床症状分析. *眼科新进展* 2008;28(10):763-765