

干燥综合征患者角膜神经纤维改变和炎症浸润程度与干眼症状相关性研究

杨 钊, 何文静, 陈丽妃, 蓝倩倩, 陈 琦

基金项目: 广西自然科学基金项目(编号:2018GXNSFAA050003); 广西卫生健康委科研课题(编号:Z20200920); 广西壮族自治区人民医院青年基金项目(编号:QN2019-10); 广西眼科疾病临床医学研究中心资助项目(编号:桂科 AD19245193)

作者单位: 530021 南宁, 广西壮族自治区人民医院眼科
作者简介: 杨 钊, 医学硕士, 主治医师, 研究方向: 眼前节疾病诊治。E-mail: 18376646866@163.com
通信作者: 陈 琦, 大学本科, 医学学士, 主任医师, 硕士研究生导师, 研究方向: 眼表疾病诊治。E-mail: 228699223@qq.com

[摘要] **目的** 应用活体共聚焦显微镜(IVCM)观察干燥综合征(SS)患者角膜神经纤维改变情况和炎症浸润程度,并探讨其与干眼症状之间的相关性。**方法** 选择 2017 年 1 月至 2019 年 10 月该院眼科收治的 SS 患者 22 例(观察组),另选择同期健康志愿者 22 名(对照组),均应用 IVCM 对其角膜中央区域的神经纤维形态、朗格汉斯细胞密度进行观察。检测和记录研究对象的泪膜破裂时间(BUT)、泪液分泌试验(ST)、泪河高度(TMh)结果,并分析其与眼表疾病指数(OSDI)评分的相关性。**结果** 观察组 BUT、ST、TMh 指标检测结果显著低于对照组($P<0.05$),OSDI 评分显著高于对照组($P<0.05$)。观察组角膜中央区上皮神经纤维变细,串珠数量增多,朗格汉斯细胞密度增大,与对照组比较差异有统计学意义($P<0.05$)。Pearson 相关分析结果显示,观察组 OSDI 评分与 BUT、ST 和神经纤维直径呈显著负相关($P<0.05$),与朗格汉斯细胞密度呈显著正相关($P<0.05$),但其与 TMh 和神经纤维串珠数无显著相关性($P>0.05$)。**结论** 应用 IVCM 可以观察角膜上皮神经纤维形态和朗格汉斯细胞浸润程度。SS 患者角膜上皮神经纤维直径变细,串珠数目增多,朗格汉斯细胞密度增大,其改变与干眼症状具有关联性。

[关键词] 活体共聚焦显微镜; 干燥综合征; 角膜
[中图分类号] R 777 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674-3806(2022)02-0147-04
doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2022.02.12

A study on the correlation of corneal nerve fiber changes and inflammatory infiltration degree with dry eye symptoms in patients with Sjögren's syndrome YANG Zhao, HE Wen-jing, CHEN Li-fei, et al. Department of Ophthalmology, the People's Hospital of Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nanning 530021, China

[Abstract] **Objective** To observe the changes of corneal nerve fibers and the degree of inflammatory infiltration in patients with Sjögren's syndrome(SS) by using in vivo confocal microscopy(IVCM), and to explore the correlation between them and dry eye symptoms. **Methods** From January 2017 to October 2019, 22 SS patients who were admitted to Department of Ophthalmology, the People's Hospital of Guangxi Zhuang Autonomous Region, were selected as the observation group, and 22 healthy volunteers during the same period were selected as the control group. The morphology of nerve fibers and Langerhans cell density in the central cornea were observed by using IVCM. The tear film break-up time(BUT), Schirmer's test(ST), and tear meniscus height(TMh) results of the research subjects were detected and recorded, and their relationships with Ocular Surface Disease Index(OSDI) scale score were analyzed. **Results** The detection results of BUT, ST and TMh indexes in the observation group were significantly lower than those in the control group($P<0.05$), and the OSDI scale scores in the observation group were significantly higher than those in the control group($P<0.05$). Compared with the control group, the observation group had thin subepithelial nerve fibers in the central cornea, increased number of beadings, and increased density of Langerhans cells, and the differences were statistically significant between the two groups($P<0.05$). The results of Pearson correlation analysis showed that the OSDI scale scores of the observation group were significantly negatively correlated with BUT, ST and nerve fiber diameter($P<0.05$), and were significantly positively correlated with Langerhans cell density($P<0.05$), but were not

significantly correlated with TMH and the number of nerve fiber beads ($P > 0.05$). **Conclusion** IVCM can be used to observe the morphology of corneal subepithelial nerve fibers and the degree of Langerhans cell infiltration. In SS patients, the diameter of corneal subepithelial nerve fibers becomes thin; the number of nerve fiber beads and the Langerhans cell density increase, and these changes are related to dry eye symptoms.

[Key words] In vivo confocal microscopy (IVCM); Sjögren's syndrome (SS); Cornea

干燥综合征 (Sjögren's syndrome, SS) 是一种主要以淋巴细胞累及外分泌腺体的慢性炎症性自身免疫疾病,除了存在泪腺和涎腺腺体上皮细胞发生炎症损害导致眼干、口干症状外,其他外分泌腺也受损害继而出现多系统症状^[1]。在眼科,SS 的主要临床特征为眼部出现干涩、灼烧感和异物感,角膜和结膜上皮广泛受损,视物模糊^[2]。对于这类患者,传统的检查手段包括角膜荧光素染色检查、泪液分泌试验 (Schirmer's test, ST) 和眼表综合分析仪检查等。近年来,活体共聚焦显微镜 (in vivo confocal microscopy, IVCM) 作为一种新型无创的检查技术,可对眼表组织形态进行观察。本研究旨在通过 IVCM 探讨 SS 患者角膜神经纤维改变和炎症浸润程度与干眼症状的关联性,为此类患者的治疗提供参考。

1 对象与方法

1.1 研究对象 选择 2017 年 1 月至 2019 年 10 月在广西壮族自治区人民医院眼科就诊的 SS 患者 22 例 (44 眼) 作为观察组,其中男性 6 例,女性 16 例;年龄 (53.55 ± 12.37) 岁。另选择同期健康志愿者 22 名 (44 眼) 作为对照组,其中男性 6 名,女性 16 名;年龄 (55.23 ± 12.23) 岁。两组年龄、性别比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。观察组纳入标准: (1) 符合 SS 的诊断标准^[3]; (2) 初次就诊,未接受过干眼症药物治疗。对照组纳入标准: (1) 无干眼症状; (2) 裂隙灯检查眼前段组织正常; (3) 泪膜破裂时间 (tear film break-up time, BUT) > 10 s, ST > 10 mm/5 min。排除有眼部疾病史、外伤史、用药史和手术史者,排除合并全身免疫性疾病者。所有研究对象均知情同意参与本研究。

1.2 观察指标与检测方法

1.2.1 眼表疾病指数 (Ocular Surface Disease Index, OSDI) 评分 详细了解研究对象病史并进行 OSDI 评分^[4], 问卷量表包括眼部症状、视觉功能和环境刺激 3 个方面评分, 总共 12 个问题, 每题 0 ~ 4 分, OSDI 评分 = 题目总分 $\times 25/12$ 。

1.2.2 ST 将泪液检测滤纸 (天津晶明新技术开发有限公司) 轻置于下眼睑中外 1/3 交界处结膜囊内, 避免触碰角膜, 另一端垂挂在下睑外部, 嘱患者

轻闭双眼 5 min, 取下并记录滤纸条的湿长。

1.2.3 BUT 使用荧光素钠眼科检测试纸 (天津晶明新技术开发有限公司) 湿润后接触下睑结膜穹隆部, 在裂隙灯下以钴蓝光计算 BUT, 应用秒表测量读数, 连续测 3 次取平均值。

1.2.4 泪河高度 (tear meniscus height, TMH) 应用眼表综合分析仪 (Oculus 公司, 德国) 对研究对象的眼表进行检查分析, 采用 Oculus Optikgerate 软件测量工具测量瞳孔区正下方的 TMH, 重复测量 3 次, 取平均值。

1.2.5 IVCM 检查 设备和检查参数: 活体共聚焦纤维镜 (德国 Heidelberg, 型号 HRT3-CM), 激光光源: 670 nm; 扫描模式: Section 模式; 物镜扫描范围: $400 \mu\text{m} \times 400 \mu\text{m}$; 放大倍率: 800 倍; 分辨率 $1 \mu\text{m}$, 扫描深度 $1500 \mu\text{m}$ 。操作步骤: 用盐酸丙美卡因滴眼液 (美国爱尔康) 进行表面麻醉, 物镜前端涂上卡波姆眼用凝胶 (博士伦公司), 套上无菌角膜接触帽, 用开睑器打开眼睑, 研究对象前额和下颌放置于检查托架上, 使其角膜接触帽与角膜轻微接触, 此时调节物镜焦点平面, 当图像为角膜上皮时, 设置此焦点平面为 $0 \mu\text{m}$, 对受检者眼部中央角膜 (约 5mm^2) 进行逐层扫描并拍取图片, 检查完毕后选取有价值的图片进行保存。随机取样 1 张角膜中央上皮神经的图片, 用 Image J 软件进行分析: (1) 神经纤维直径: 随机选取 3 段神经纤维测量, 取其平均值; (2) 神经纤维串珠数: 随机选取 3 段神经纤维 (每段 $100 \mu\text{m}$), 计算其神经串珠个数, 取其平均值; (3) 朗格汉斯细胞密度: 随机取样 3 张角膜中央上皮层面下的图片, 计算朗格汉斯细胞密度, 取其平均值。

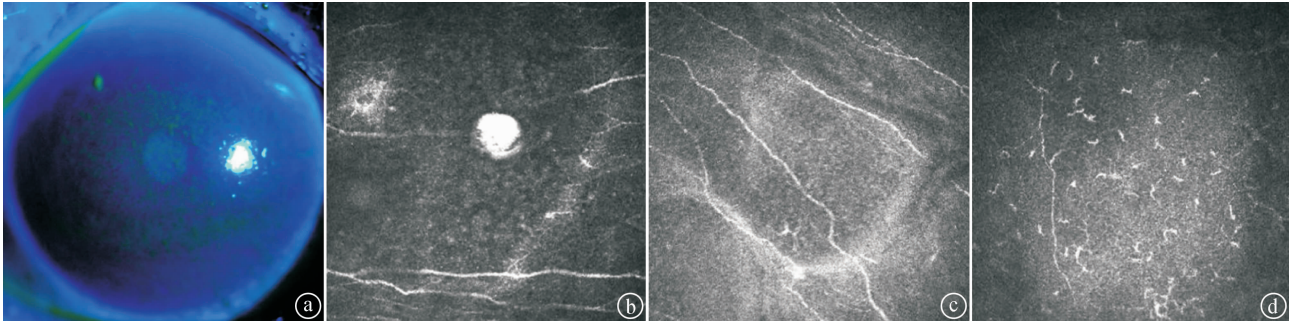
1.3 统计学方法 应用 SPSS23.0 统计软件进行数据分析。计量资料以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 组间比较采用成组 t 检验。计数资料以例数 (n) 表示, 组间比较采用 χ^2 检验。采用 Pearson 相关分析探讨两指标间的相关性。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组干眼症相关指标检测结果比较 观察组 BUT、ST、TMH 指标检测结果低于对照组, OSDI 评分高于对照组, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 两组干眼症相关指标检测结果比较($\bar{x} \pm s$)					
组 别	眼数	BUT (s)	ST (mm/5 min)	TMH (mm)	OSDI 评分 (分)
观察组	44	4.36 ± 2.43	3.51 ± 2.02	0.14 ± 0.06	30.68 ± 6.27
对照组	44	13.94 ± 4.72	14.57 ± 3.79	0.24 ± 0.07	11.05 ± 3.28
<i>t</i>	-	11.969	17.079	6.628	18.414
<i>P</i>	-	0.000	0.000	0.000	0.000

2.2 两组角膜中央区上皮神经纤维形态和朗格汉斯细胞密度比较 IVCN 检查结果显示,观察组角膜中央区上皮神经纤维变细,串珠数量增多,朗



①SS 角膜上皮散在损伤,在裂隙灯钴蓝色光下荧光素染色散在点、片状着色;②角膜上皮损害在 IVCN 可见角膜上皮不规则的高反光;③IVCN 下正常角膜上皮神经纤维走行大致平行,可见少许活化的朗格汉斯细胞;④IVCN 下 SS 角膜上皮神经纤维变细、部分中断,活化的朗格汉斯细胞明显增多

图 1 裂隙灯及 IVCN 检查所见

2.3 观察组 OSDI 评分与干眼症相关检查指标的相关性分析结果 Pearson 相关分析结果显示,观察组 OSDI 评分与 BUT($r = -0.342, P = 0.025$)、ST($r = -0.349, P = 0.020$)和神经纤维直径($r = -0.415, P = 0.005$)呈显著负相关,与朗格汉斯细胞密度呈正相关($r = 0.544, P = 0.000$),与 TMH($r = 0.292, P = 0.055$)和神经纤维串珠数($r = -0.062, P = 0.689$)无显著相关性。

3 讨论

3.1 SS 是一种以淋巴细胞浸润外分泌腺体的慢性炎症性自身免疫疾病,对于眼部其主要表现为干燥性角结膜炎,相比于原发性干眼症,其干眼症状更为严重,治疗上亦较困难,病理生理机制仍未完全明了。IVCM 是一种以共焦激光作为光源的光学显微镜,是一种近年来兴起的非侵入性检查技术,可以在活体细胞水平上对眼表疾病的病理生理结构变化进行评估。在眼科眼表领域中,IVCM 已被应用于角膜、球结膜、睑结膜和睑板腺的检查,可评估角膜表层、翼状和基底上皮细胞密度、角膜基质细胞密度、内皮细胞密度、神经纤维密度、串珠数、神经弯曲度、神经反射率、炎症细胞密度等形态学指标,是客观评价眼表形态变化的一种有效方法^[5-6]。

格汉斯细胞密度增大,与对照组比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2,图 1。

表 2 两组角膜中央区上皮神经纤维形态和朗格汉斯细胞密度比较($\bar{x} \pm s$)				
组 别	眼数	神经纤维直径 (μm)	神经纤维串珠数 (个/100 μm)	朗格汉斯细胞密度 (个/100 μm^2)
观察组	44	2.10 ± 0.69	7.23 ± 2.39	63.07 ± 38.85
对照组	44	3.11 ± 0.66	2.82 ± 1.45	10.86 ± 7.08
<i>t</i>	-	6.944	10.490	8.770
<i>P</i>	-	0.000	0.000	0.000

3.2 SS 引起干眼症的原因不仅仅是免疫性炎症反应侵犯泪腺及涎腺腺体上皮细胞导致泪液分泌减少,还包括眼表的自身免疫炎症病变及角膜上皮神经的改变^[2,7]。正常角膜的神经末梢对知觉十分敏感,角膜感觉神经主要源于三叉神经第一支眼支,在角膜内主要分为三大神经丛:上皮内神经丛、上皮神经丛和基质层神经丛^[8]。有研究表明 SS 患者角膜表层上皮细胞密度和基底膜层神经纤维密度均较正常人下降,且神经纤维密度下降的程度、活化树突细胞密度与角膜知觉减退程度呈相关性^[9-10]。国外有研究表明 SS 患者泪液中催泪蛋白含量明显较正常人降低,其与 ST、BUT、角膜荧光素染色评分和临床症状密切相关,同时角膜神经纤维密度、长度和直径均有下降^[11-12]。说明了角膜的神经纤维病变和自身免疫炎症反应与临床干眼程度具有关联性,神经纤维的病变和眼表炎症反应可导致角膜上皮细胞营养不良,进而引起功能失调、细胞水肿甚至病变,导致泪膜稳定性下降。

3.3 国内学者李冰等^[13]的研究报道显示,SS 患者角膜敏感度较正常人下降,且神经纤维直径、弯曲度改变与角膜敏感度呈相关性。表明神经纤维串珠和分支增多可能是由于神经损伤后存在某种再生机制,

由眼表干燥负反馈机制调控,导致神经纤维出芽再生和直径变细。SS 患者角膜上皮纤维受损后的表现除了直径变细、分支增多、弯曲增加和走行中断,还包括串珠数量的改变。Villani 等^[14]研究认为角膜上皮神经纤维的弯曲度增大、直径变细、串珠数量增多等改变意味着神经的损伤退行性变,串珠可能是含有代谢活性递质的神经纤维,有助于角膜上皮功能失调的恢复,也代表着神经纤维损伤,通过产生炎症反应来刺激神经生长因子分泌以促进修复。因此我们将角膜上皮神经纤维串珠数量纳入研究指标,发现观察组神经纤维串珠数明显增多,但未发现其与患者的 OSDI 评分存在显著相关性。

3.4 SS 相关干燥性角结膜炎(Keratoconjunctivitis sicca, KCS)的发病原因还包括眼表自身免疫炎症性病变引起,包括炎性细胞、自身免疫物质等在角膜及结膜上皮的异常表达,表明眼表上皮细胞在 SS 相关 KCS 发病过程中存在重要的炎症和免疫反应,炎症引起眼表感觉下降,导致泪液分泌进一步减少,促炎因子在眼表的浓度增加,形成一系列恶性循环,其促进炎症反应和免疫调节机制间的失衡可能是导致组织损伤的重要原因^[15-16]。相对于原发性干眼症,SS 引起的干眼症状重,角膜上皮朗格汉斯细胞密度大、炎性反应重^[10]。此外,Levy 等^[17]的研究表明,通过环孢霉素 A 眼表局部治疗有助于 SS 患者的角膜上皮神经纤维恢复,减少朗格汉斯细胞的浸润程度,使干眼症状得到缓解。

3.5 OSDI 干眼调查问卷是国际上普遍使用的干眼症状评估表,其信度、效度和诊断价值都得到了国际认可,具有快捷、高效和易操作等优点,亦比较适合我国人群使用^[4]。本次研究中,我们使用 OSDI 干眼评分,可以了解到受试者对于干眼的主观感受以及对日常生活质量的影响,使研究结果可信度更高。在眼科临床上,BUT、ST、角膜荧光素染色和视功能检查也是干眼症病情评估的重要指标^[18]。

综上所述,通过应用 IVCN 对 SS 患者的角膜神经纤维及朗格汉斯细胞活体观察,可以认识 SS 相关性干眼的角膜病理生理变化,以便分析与临床症状体征的相关性,为临床治疗提供理论基础,更好地帮助此类疾病治疗。

参考文献

- [1] 中华医学会风湿病学分会. 干燥综合征诊断及治疗指南[J]. 中华风湿病学杂志, 2010, 14(11): 766 – 768.
- [2] Rolando M. Sjögren's syndrome as seen by an ophthalmologist[J]. Scand J Rheumatol Suppl, 2001, 115: 27 – 33.
- [3] Manthorpe R. Sjögren's syndrome criteria[J]. Ann Rheum Dis,

2002, 61(6): 482 – 484.

- [4] 赵 慧, 刘祖国, 杨文照, 等. 我国干眼问卷的研制及评估[J]. 中华眼科杂志, 2015, 51(9): 647 – 654.
- [5] Matsumoto Y, Ibrahim OMA. Application of in vivo confocal microscopy in dry eye disease[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2018, 59(14): DES41 – DES47.
- [6] Alhathem A, Cavalcanti B, Hamrah P. In vivo confocal microscopy in dry eye disease and related conditions[J]. Semin Ophthalmol, 2012, 27(5 – 6): 138 – 148.
- [7] 中华医学会眼科学分会角膜病学组. 干眼临床诊疗专家共识(2013 年)[J]. 中华眼科杂志, 2013, 49(1): 73 – 75.
- [8] 朱志忠, 周道伐, 黎勉勤. 角膜病学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1986: 10 – 11.
- [9] Benítez-Del-Castillo JM, Acosta MC, Wassfi MA, et al. Relation between corneal innervation with confocal microscopy and corneal sensitivity with noncontact esthesiometry in patients with dry eye[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2007, 48(1): 173 – 181.
- [10] Tepelus TC, Chiu GB, Huang J, et al. Correlation between corneal innervation and inflammation evaluated with confocal microscopy and symptomatology in patients with dry eye syndromes: a preliminary study[J]. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol, 2017, 255(9): 1771 – 1778.
- [11] McNamara NA, Ge S, Lee SM, et al. Reduced levels of tear lactritin are associated with corneal neuropathy in patients with the ocular component of Sjögren's syndrome[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2016, 57(13): 5237 – 5243.
- [12] Cardigos J, Barcelos F, Carvalho H, et al. Tear meniscus and corneal sub-basal nerve plexus assessment in primary Sjögren syndrome and Sicca syndrome patients[J]. Cornea, 2019, 38(2): 221 – 228.
- [13] 李 冰, 魏彤心, 赵炬伟. 干燥综合征患者活体角膜组织学变化的研究[J]. 中国实用眼科杂志, 2008, 26(11): 1186 – 1189.
- [14] Villani E, Magnani F, Viola F, et al. In vivo confocal evaluation of the ocular surface morpho-functional unit in dry eye[J]. Optom Vis Sci, 2013, 90(6): 576 – 586.
- [15] Benítez del Castillo JM, Wasfy MA, Fernandez C, et al. An in vivo confocal masked study on corneal epithelium and subbasal nerves in patients with dry eye[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2004, 45(9): 3030 – 3035.
- [16] Patel DV, McGhee CN. In vivo confocal microscopy of human corneal nerves in health, in ocular and systemic disease, and following corneal surgery: a review[J]. Br J Ophthalmol, 2009, 93(7): 853 – 860.
- [17] Levy O, Labbé A, Borderie V, et al. Increased corneal sub-basal nerve density in patients with Sjögren syndrome treated with topical cyclosporine A[J]. Clin Exp Ophthalmol, 2017, 45(5): 455 – 463.
- [18] 林 泉, 刘伟民. 干眼诊断的研究进展[J]. 中国临床新医学, 2016, 9(3): 269 – 274.

[收稿日期 2020 – 09 – 26][本文编辑 余 军]

本文引用格式

杨 钊, 何文静, 陈丽妃, 等. 干燥综合征患者角膜神经纤维改变和炎性浸润程度与干眼症状相关性研究[J]. 中国临床新医学, 2022, 15(2): 147 – 150.