论著

文章编号:1000-5404(2005)23-2366-04

蚕蚀性角膜溃疡组织病理学的观察

赵长霖[1],谢汉平[1],陈代伦[2] (第三军医大学:[1]西南医院全军眼科中心,[2]中心实验室,重庆 400038)

提 要:目的 观察蚕蚀性角膜溃疡角膜、邻近球结膜的组织病理和超微病理特点。**方法** 将手术切下的角膜缘角膜、进行缘角膜、邻近球结膜组织制备成石蜡切片和超薄切片,分别在光镜和透射电镜下观察组织病理变化和超微结构变化。以Terrien角膜边缘变性的角结膜组织、细菌性角膜溃疡的角膜组织作对照。**结果** 蚕蚀性角膜溃疡的球结膜、巩膜中存在以淋巴细胞、浆细胞浸润为主的慢性免疫炎症反应;角膜缘处角膜上皮、前弹力膜、前基质层、邻近表层巩膜溶解消失,残存的基质层胶原结构紊乱;溃疡进行缘的角膜上皮基底膜结构破坏消失。Terrien角膜边缘变性的球结膜及角膜上皮内可见淋巴细胞浸润;角膜上皮基底膜正常;前弹力层自下向上破坏变薄。在细菌性角膜溃疡病变与正常组织交界处,基底膜未见改变。**结论** 蚕蚀性角膜溃疡的球结膜可能起着局部淋巴结作用。溃疡进行缘的角膜上皮基底膜首先被侵蚀,提示患者的基底膜可能存在异常,需要进一步研究。

关键词:角膜溃疡;组织病理学;超微结构

中图法分类号:R322.91;R772.210.2 **文献标识码**:A

Histopathological study on Mooren's ulcer

ZHAO Chang-lin[1], XIE Han-ping[1], CHEN Dai-lun[2] ([1]Department of Ophthalmology, Southwest Hospital, [2]Department of Electron Microscopy, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To observe the histopathologic and ultrastructural characteristics of cornea and adjacent conjunctiva in Mooren's ulcer. **Methods** The samples of limbal and central cornea and adjacent bulbar conjunctiva taken from active Mooren's ulcer after lamellar keratoplasty were cut into paraffin sections and ultrathin sections and observed by light and transmission electron microscopy. The samples taken from patients of a Terrien's marginal degeneration and a bacterial corneal ulcer were used as controls. **Results** Chronic inflammation including lymphocytes and plasma cells infiltrating existed in bulbar conjunctiva and sclera of Mooren's ulcer. Limbal corneal epithelium, Bowman's membrane, anterior stroma and adjacent superficial sclera melted and the inferior stromal collagen disorganized. The epithelial basement membrane of ulcer progressive edge had been destroyed while the epithelium and stroma kept quiescent. Lymphocytes infiltrated in conjunctiva and corneal epithelium of Terrien's marginal degeneration with normal epithelial basement membrane, while Bowman's membrane was destroyed. The epithelial basement membrane of bacterial corneal ulcer was intact. **Conclusion** Bulbar conjunctiva may act as a local lymph node of Mooren's ulcer. Epithelial basement membrane of Mooren's ulcer may have some abnormality as it was invaded first during ulcer progressing and it's valuable to have a further study.

Key words: corneal ulcer; histopathology; ultrastructure

蚕蚀性角膜溃疡(Mooren's ulcer)是一种少见的、致盲性周边角膜溃疡,病因及发病机制尚不清楚。早期的组织病理学观察在病变角结膜中发现淋巴细胞、浆细胞、中性粒细胞、嗜酸性粒细胞等炎症细胞,免疫学研究证实,溃疡局部及患者血清中存在自身免疫反应,从而推测这是一种自身免疫性疾病。对于病变组织超微结构的观察很少[1-3]。我们将收集的2例病变角膜、结膜组织进行光镜、透射电镜观察,同时取Ter-

作者简介:赵长霖(1975-),女,安徽省安庆市人,硕士,医师,主要从事角膜病防治方面的研究。电话:13658384193,E-mail:zcl1975@sina.com

通讯作者:谢汉平,电话:(023)68765377,E-mail:xiehanping@mail.tmmu.com.cn

收稿日期:2005-07-04;修回日期:2005-09-17

rien 角膜边缘变性（Terrien's marginal degeneration，TMD）的角结膜组织作对照，研究蚕蚀性角膜溃疡的结膜、角膜组织病理、超微结构特点。另外取细菌性角膜溃疡的角膜作对照，比较蚕蚀性角膜溃疡进行缘与其他类型角膜溃疡在溃疡交界处超微结构的异同，期望为该病发病机制的研究提供线索。

1　资料与方法

1.1　病例资料

选取 2004 年 5 月至 2005 年 4 月，在我院明确诊断并行角膜移植手术治疗的 4 例患者。

1.1.1　进行性蚕蚀性角膜溃疡　2 例 2 眼，男性，分别为 56、69 岁，均为初发性。溃疡分别累及 4 个和 3 个钟点位的角膜缘，宽度为 1.5～2 mm，深度为 1/2～2/3 CT。患者接受部分板层角膜移植手术治疗，切下的病变角膜、角巩膜缘、球结膜分为 2 等份，1 份用于制作石蜡切片，光镜下观察组织病理学改变；1 份制作超薄切片，电镜下观察超微结构变化。

1.1.2　Terrien 角膜边缘变性　1 例 1 眼，女性，31 岁。行部分板层角膜移植手术治疗，切下的病变角膜和邻近的球结膜分为 2 等份，分别用于制作石蜡切片和超薄切片。

1.1.3　临床确诊的细菌性角膜溃疡角膜穿孔　1 例，为男性成年患者。行穿透性角膜移植手术治疗，钻下的病变角膜片制备成透射电镜标本，标记角膜片的外周缘即溃疡与正常组织交界处为观察部位。

1.1.4　正常对照　以 1 只新鲜供体眼球行穿透性角膜移植手术后剩余的周边角膜制备成透射电镜标本作为正常对照，标记角膜环的内侧缘为观察部位。供体眼球由第三军医大学眼库提供，为健康人急性外伤死亡，无眼部疾病。

1.2　方法

1.2.1　光镜　将手术切下的结膜、角膜、角巩膜缘组织分别标记上皮面和基质病变侧。按常规方法，以基质病变侧作切面切片，切片厚度为 4 μm。常规苏木精-伊红染色，光镜下观察。

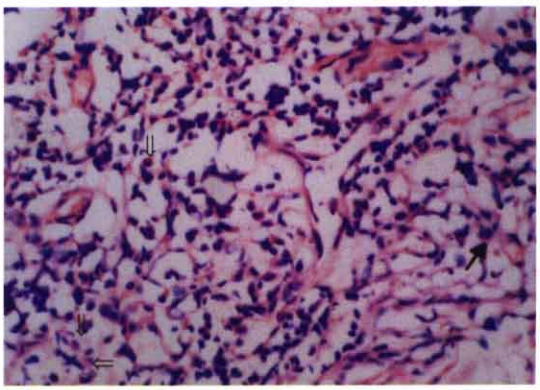
1.2.2　透射电镜　组织离体后按常规方法制超薄切片，铅染后在透射电镜（JEM-2000Ex 型，日本 JEOL 公司产品）下观察。

2　结果

2.1　光镜观察结果

2.1.1　蚕蚀性角膜溃疡　球结膜上皮层完整，基质层充血明显，纤维层胶原纤维排列成网状，炎性细胞主要是淋巴细胞分布于胶原纤维网眼间，偶见成纤维细胞。

角巩膜缘组织病理切片可见角膜上皮层、前弹力层及浅基质层缺失，残留的中层基质层胶原纤维结构紊乱，间隙增宽。巩膜上层胶原纤维束细小，血管异常丰富；其下的实质层胶原纤维束粗细不均，排列不规则；实质浅层胶原纤维束间布满小而圆的淋巴细胞，少量浆细胞，偶见组织细胞、中性粒细胞和嗜酸性粒细胞（图 1）。



⇒：Plasma cells；⟶：Histiocytes

图 1　蚕蚀性角膜溃疡角巩膜缘　（HE×400）

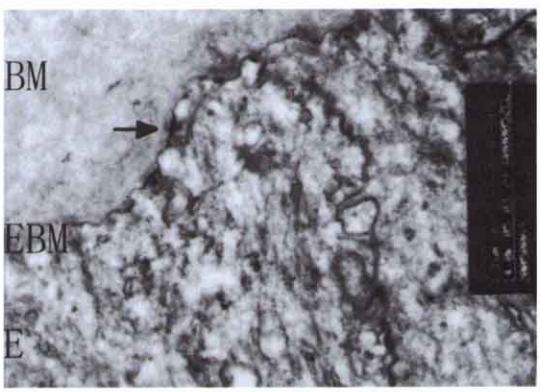
Fig 1　Mooren's ulcer sclera　（HE×400）

2 例 2 眼近中央侧病变角膜组织切片见上皮层及前弹力层溶解消失，溃疡处基质浅层有许多淋巴细胞浸润，主要是成纤维样细胞集聚，胶原纤维结构紊乱。深层胶原纤维排列疏松，纤维板间隙增宽，角膜细胞增生。

2.1.2　Terrien 角膜边缘变性　球结膜上皮层略增厚，基质层充血不明显，偶见淋巴细胞，成纤维细胞显著增多。角膜上皮层增厚，为 7～8 层，细胞间见淋巴细胞浸润。前弹力膜不连续，部分消失。基质层纤维板排列疏松，近前弹力层处较多梭形成纤维样细胞增生、聚集。

2.2　透射电镜结果

2.2.1　正常角膜　角膜上皮基底细胞与前弹力层之间为连续的、波浪状基底膜，可见半桥粒结构（图 2）。前弹力层厚度一致、电子密度均一；基质层胶原纤维板成层交错排列，胶原纤维平行排列。



E：Epithelium；EBM：Epithelial basement membrane；BM：Bowman's membrane；⟶：Hemidesmosome

图 2　正常角膜上皮基底膜　（TEM×14 000）

Fig 2　Epithelial basement membrane in normal cornea　（TEM×14 000）

2.2.2　蚕蚀性角膜溃疡　球结膜上皮细胞排列规则，约 11～12 层。基质层炎性充血、出血，淋巴细胞、浆细胞（图 3）浸

润，浆细胞粗面内质网池内颗粒成分较多；基质层成纤维细胞胞浆内细胞器丰富，内质网扩张，内质网池中见中等电子密度的絮状物。

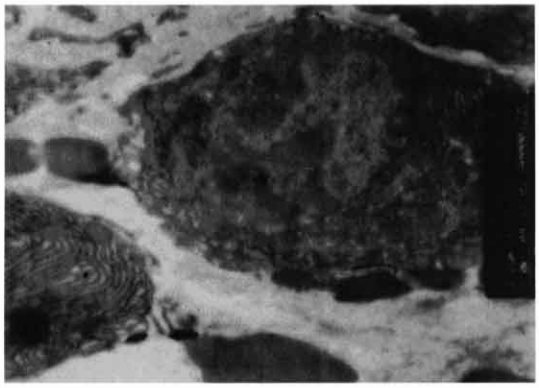


图3 Mooren's ulcer 球结膜内浆细胞浸润 （TEM ×7 000）

Fig 3 Plasma present in Mooren's ulcer conjunctiva （TEM ×7 000）

角巩膜缘超薄切片在电镜下明显成3层结构：表层溃疡处胶原肿胀、断裂、溶解等坏死性改变，大量淋巴细胞、单核细胞聚集；溃疡与正常实质层交界处成纤维细胞增生活跃，可见新生血管长入，血管内皮细胞间隙大，血管旁淋巴细胞渗出；实质深层基质结构基本正常。

溃疡处角膜上皮层、前弹力层消失；基质层胶原排列紊乱，胶原周期横纹增宽，板层结构破坏，角膜细胞核碎裂；其下的深基质层胶原排列整齐，角膜细胞增生活跃，向成纤维样细胞转化。

溃疡进行缘角膜上皮完整，基底细胞水肿，线粒体肿胀，胞浆内空泡形成。基底膜结构消失，上皮层与前弹力层完全分离，红细胞及无定形低电子密度的血浆成分聚集于基底细胞与前弹力层的间隙内；但前弹力层结构完好，其下的基质层结构也未见改变。

2.2.3 Terrien 角膜边缘变性　结膜血管充血，血管中淋巴细胞靠边，血管旁少许淋巴细胞，偶见肥大细胞。

角膜上皮完整，上皮细胞间淋巴细胞浸润；上皮基底细胞变性，线粒体肿胀，见空泡样改变，胞核异染色质边集，细胞突起延伸至前弹力层内；基底膜正常延续；前弹力层自下向上破坏，侵蚀区域前弹力层变薄，胶原纤维增粗，排列紊乱；角膜细胞肥大、变形，并自基质层移行至前弹力层内；基质层新生血管长入，血管内血栓形成，但未见炎细胞。

2.2.4 细菌性角膜溃疡　病变与正常组织交界处的角膜上皮层完整，细胞排列规则，基底膜结构基本完整，可见半桥粒成分；前弹力层未见变化；基质层胶原排列稍紊乱，角膜细胞无明显增生。

3 讨论

3.1 蚕蚀性角膜溃疡的病理特点

蚕蚀性角膜溃疡是独立于胶原血管性疾病、类风湿性关节炎等系统性疾病引起的周边角膜溃疡之外的一种角膜病。我们的结果显示，蚕蚀性角膜溃疡的结膜以慢性炎症改变为主，没有破坏性征象，表现为充血、出血、水肿，浆细胞、淋巴细胞为主的免疫细胞积聚。Kalogeropoulos 等[4]对6例双侧进行性蚕蚀性角膜溃疡患者溃疡邻近部位的球结膜进行组织病理学研究，观察结果与我们的一致。Brown 等[5]用直接免疫荧光法在患者结膜上皮间隙和上皮细胞内检测到免疫球蛋白沉积，补体与免疫球蛋白相结合。我们通过电镜发现浸润的浆细胞粗面内质网池内颗粒丰富，提示合成功能旺盛，可以解释这些免疫球蛋白的来源。我们在基质层血管周围还发现大量淋巴细胞。结膜的免疫组化实验显示其中以辅助性T细胞增多为主，且辅助性T细胞/抑制性T细胞的比例高达2.4:1[6]；而在TMD，这个比例仅为1:1。可见在蚕蚀性角膜溃疡球结膜局部微环境中即存在体液免疫和细胞免疫反应。

蚕蚀性角膜溃疡病灶邻近的角巩膜缘亦受到炎症累及，巩膜内大量淋巴细胞、浆细胞浸润，浅层溃疡，其下成纤维细胞代偿增生。溃疡处角膜上皮层、前弹力层缺失，基质层胶原蛋白溶解，角膜细胞坏死。在溃疡进行缘，上皮基底膜结构消失，上皮层与前弹力层完全分离，血浆成分分布于基底细胞与前弹力层的间隙内；但上皮细胞、前弹力层结构基本完好，其下的基质层胶原排列整齐，角膜细胞增生活跃。早年 Foster 等[3]观察了1例蚕蚀性角膜溃疡的超微病理变化，发现溃疡角膜周围有大量空泡样改变的中性粒细胞，胞浆内含吞噬小体。Young 等[2]对3例病人进行了长达10余年的随访，将最后一次手术取得的眼前段组织或角膜组织进行光镜和透射电镜观察，这是迄今为止，对本病的组织病理学研究最为系统的1篇报道。其中1例角巩膜缘标本显示，组织明显分成3层：表层基质坏死，表现为胶原纤维被弥散的小纤维取代，基质成分间散布着胞浆颗粒、细胞器、膜结构等细胞碎片；血管梗死、破坏与血管形成、长入同时存在，血管周围淋巴细胞、浆细胞浸润，少见多形核粒细胞；中间基质层损害不明显，未见白细胞，成纤维细胞活性增高；深层基质层胶原纤维完整，但有大量巨噬细胞浸润。在3例溃疡的角膜，溃疡缘近中央角膜侧上皮增厚，前弹力层破坏或缺失，溃疡的角膜基质中未见中性粒细胞浸润。这个结果与我们的光镜、电镜研究基本一致。可见在血液供应丰富的角膜缘，存在着强烈的免疫反应；而在透明角膜病变部位，主要以固有细胞坏死、细胞外基质成分降解为主。

3.2 蚕蚀性角膜溃疡和 Terrien 角膜边缘变性病理特点的比较

Terrien 角膜边缘变性也是一种双眼慢性进行性

病变，表现为角膜缘部伴有浅层新生血管形成的角膜实质层萎缩、沟状变薄，最终导致局部扩张甚至穿孔，病因不明，目前认为是一种自身免疫性疾病。临床上它与蚕蚀性角膜溃疡最显著的区别是：基质层变性区的外侧缘与角膜缘尚隔一透明角膜带，病程中角膜上皮始终完整直至穿孔；后者的溃疡累及角膜缘组织。考虑 TMD 与蚕蚀性角膜溃疡同为自身免疫性周边角膜病变，故取 TMD 患者的角、结膜作为对照。从我们的病理和超微病理组织切片来看，在结膜组织中，两病都存在着炎症反应，但蚕蚀性角膜溃疡的免疫细胞的数量和种类明显增多，提示结膜免疫反应更活跃。角膜病灶中，两者的病理学差异较大，TMD 的角巩膜缘正常，病灶处上皮增厚，基底膜正常，上皮层与前弹力层连接紧密，但前弹力层破坏明显。而蚕蚀性角膜溃疡的角巩膜缘亦有浅表溃疡，溃疡的角膜自上皮层到基质层均有溶解。可见：TMD 的病变可能是某种原因诱导周边角膜基质层的胶原蛋白变性溶解，并向前弹力层扩展；蚕蚀性角膜溃疡的病变则是邻近球结膜的过度免疫反应，导致蛋白水解酶、胶原酶异常分泌，进而引起角膜胶原蛋白溶解。

我们还发现，在蚕蚀性角膜溃疡的溃疡进行缘，前弹力层及基质层超微结构发生改变前，基底膜结构已被侵蚀消失。上皮细胞依赖基底膜连接复合体紧密附着于前弹力层上，当基底膜受损时，上皮细胞容易反复脱落；上皮长期缺损可引起基质层溃疡，而长期不愈的上皮缺损都伴有基底膜的异常和缺失[7]。因此，基底膜异常在角膜溃疡发病过程中具有重要意义。为了了解蚕蚀性角膜溃疡基底膜变化是否具有特异性，我们又选取感染性角膜溃疡的病例为对照，观察溃疡进行缘基底膜的变化特点。TEM 观察显示，在细菌性角膜溃疡中，病变从表向里发展，上皮层未完全破坏、溃疡未累及基质层时，基底膜结构基本完整。究竟是蚕蚀性角膜溃疡患者的基底膜本来存在缺陷，还是病变角膜的基底膜存在特异的抗原成分，被结膜中的免疫球蛋白结合发生免疫反应而首先破坏，继而导致上皮缺损和基质溃疡？这是一个值得进一步探索的问题，明确其中细节有助于对蚕蚀性角膜溃疡免疫发病机制的理解。

参考文献：

[1] Matsuo N, Okuda K, Matsuo H. Electron microscopy of Mooren's ulcer. 1. Scanning electron microscopic observations[J]. Nippon Ganka Kiyo, 1972, 23(1): 5-14.

[2] Young R D, Watson P G. Light and electron microscopy of corneal melting syndrome(Mooren's ulcer) [J]. Br J Ophthalmol, 1982, 66(6): 341-356.

[3] Foster C S, Kenyon K R, Greiner J, *et al*. The immunopathology of Mooren's ulcer[J]. Am J Ophthalmol, 1979, 88(2): 149-159.

[4] Kalogeropoulos C D, Malamou Mitsi V D, Aspiotis M B, *et al*. Bilateral Mooren's ulcer in six patients: diagnosis, surgery and histopathology [J]. Int Ophthalmol, 2004, 25(1): 1-8.

[5] Brown S I, Mondino B J, Rabin B S. Autoimmune phenomenon in Mooren's ulcer[J]. Am J Ophthalmol, 1976, 82(6): 835-840.

[6] Stock E L, Kurpakus M A, Sambol B, *et al*. Adhesion complex formation after small keratectomy wounds in the cornea[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 1992, 33(2): 304-313.

[7] Wong T T, Sethi C, Daniels J T, *et al*. Matrix metalloproteinases in disease and repair processes in the anterior segment[J]. Surv Ophthalmol, 2002, 47(3): 239-256.

（编辑　龙　亮）

关于医学符号的使用

统计学符号不论用哪种字母，也不论大写或小写一律都用斜体。要注意区分拉丁字母和希腊字母，例如均数的符号是字母 x，卡方的符号是希腊字母 χ^2，自由度的符号是希腊文"ν"，不是拉丁文"V"。样本的相关系数是英文"r"，不能误为希腊文"γ"。

化学元素及核素在医学写作时一般多采用符号，都是拉丁字母正体大写。离子态是在右上角用数字加"-"或"+"表示。例如 Na^+、Ca^{2+}、P^{3-} 等等，不采用 Ca^{++}、P^{---}、Al^{+3}、O^{-2} 表示，核素的核子素（质量数）应写在元素符号的左上角，例如：^{131}I、^{32}P。表示激发状态的 m 写在右上角，例如：$^{99m}Tc^{m}$、$^{113}In^{m}$。在科技论文和专著中不应写核素的中文名称，即不能写成^{131}碘、铟^{113m}、P^{32}、Tc^{99m}。

近几年分子生物学发展很快，并已渗透到许多学科，大多数分子生物学名词术语的符号已有统一的确定形式，要对符号的来源及其内涵有深刻的了解，使用时不致发生错误，例如：RNA 有 rRNA(ribosomal RNA)、tRNA(transfer RNA)、mRNA(messenger RNA)3 类。r、t、m 是表示类型的符号应小写，RNA 应大写。

本刊编辑部