维普资讯 http://www.cqvip.com

62-64

文章编号：0253-3626（2000）01-0062-03

R772.205 R779.65

22

深低温保存角膜缘干细胞移植治疗眼表疾病初步研究

周善璧[1]，陈家祺[2]，黄　挺[2]，陈龙山[2]，许丽英[2]

（1.重庆医科大学临床学院眼科 400016；2. 中山医科大学中山眼科中心 510060）

摘　要　目的：应用深低温保存的角膜缘干细胞同种异体移植治疗眼表疾病。方法：新鲜供体取穿透性移植片后剩下的角膜缘干细胞行程序降温，深低温保存，4例5眼临床眼表疾病应用深低温保存的角膜缘干细胞移植片行同种异体移植。结果：5眼角膜上皮修复且稳定，上皮平均愈合时间为7.6±5.7天，无感染、排斥等不良反应，除1眼视力无改变外，其余4眼视力均有不同程度提高。结论：深低温保存法能够将穿透性角膜移植剩下的角膜缘干细胞重新利用，为临床角膜缘干细胞移植治疗眼表疾病提供了可利用的材料。

关键词　深低温保存；角膜缘干细胞；治疗；眼表疾病

中国图书分类法分类号：R772.2　　**文献标识码**：A　　**收稿日期**：1999-06-22

An initial study of limbal stem cells transplantation with cryopreservation for ocular surface disorders

ZHOU Shan-bi, et al

Department of Ophthalmology, College of Clinical Medicine

Abstract: **Purpose**　To evaluat the effect of cryopreserved limbal stem cells allograft transplantation for ocular surface disorders (OSDs). **Methods**　The fresh limbal stem cells tissues after taking graft for keratoplasty were cryopreserved by program-controlled Bio-Freezer. Four (five eyes) patients with OSDs were treated by limbal stem cells allograft transplantation. **Results**　The corneal epthelium of Five eyes were healed in steady state with a mean time of 7.6 ± 5.7days. There was no bad reaction as inflammation or rejection. Four eyes have definite increase in vision except one eye. **Conclusions**　The remaining limbal stem cells after penetrating keratoplasty can be used by Cryopreservation and can provide more limbal stem cells grafts for clinical OSDs.

Key Words: Cryopreservation; Limbal stem cells; Treatment; OSDs

角膜缘干细胞移植治疗眼表疾病已被国内外所证实。但文献报告中所采用的材料均为新鲜角膜缘材料，新鲜材料难以满足临床不定时性需要，在一定程度上影响了角膜缘移植的广泛开展和角膜缘材料的相对浪费。动物实验证实，深低温保存法能够保存角膜缘干细胞活性[1]。我们采用深低温保存的角膜缘干细胞同种异体移植成功地治疗了临床眼表疾病。目前国内外未见类似报告，现将4例5眼初步临床研究报告如下。

1 材料与方法

1.1 眼表疾病患者

患者1　王某某，男，42岁，安徽人，因左眼被碱水烧伤6月，视力进行性下降3月入院。入院检查：左眼眼前手动，加片无助，结膜充血、水肿(+)，上睑轻度内翻倒睫伴睑球粘连，全角膜灰白色混浊，荧光素钠染色阳性，周边角膜有新生血管长入，色素性KP(++)，晶体灰白色混浊，眼压正常，诊断为左眼碱烧伤，持续性角膜上皮缺损，瘢痕性睑球粘连，上睑内翻倒睫，外伤性白内障。

患者2　方某某，男，67岁，广东人，因左眼膜样物增生10年，曾两次手术后复发入院。入院检查：左眼裸视0.2，加片无助，结膜无充血，鼻侧结膜增生侵入角膜缘内达6mm，呈钝头三角形，KP及Tyn(－)，双晶体皮质不均匀混浊。诊断为左眼复发性翼状胬肉，双眼老年性白内障初期。

患者3　梁某，男，65岁，广东人，因双眼经常红10年，视力逐渐下降6年入院。入院检查：视力 OD 0.3，OS 0.4，加片无助，结膜无充血，鼻侧结膜增生侵入角膜缘内6.5mm，呈三角形，几乎遮盖全部瞳孔，扩瞳见双眼晶体

作者介绍：周善璧（1964-02出生），男，主治医师，硕士

基金项目：本课题受美国中华医学基金会(CMB)资助，编号：90534

维普资讯 http://www.cqvip.com

表 深低温保存角膜缘干细胞同种异体移植

编号	性别/眼别	年龄	主要诊断	手术方式	术前视力	术后视力	上皮愈合时间(d)	随访时间(d)
1	男/左眼	42岁	持续性角膜上皮缺损	LALT	眼前手动	眼前手动	16	90
2	男/左眼	67岁	复发性翼状胬肉	胬肉切除+结膜瓣转位+LALT	0.2	0.4	5	83
3	男/双眼	65岁	翼状胬肉	胬肉切除+结膜瓣转位+LALT	0.3/0.4	0.5/0.6	3/3	60
4	男/右眼	44岁	假性胬肉	PKP+LALT	眼前手动	0.5	11	60

注：LALT：角膜缘同种异体移植 PKP：穿透性角膜移植

皮质混浊，诊断为双眼翼状胬肉，老年性白内障初期。

患者4 张某某，男，44岁，浙江人，因双眼被碱水烧伤，右眼视力下降3年入院。检查：右眼眼前手动，加片无助，左眼1.0，右下睑睑球粘连，全角膜被血管膜样组织覆盖，眼内结构无法看清，眼压正常，左眼正常，诊断为右眼陈旧性碱烧伤，假性胬肉，睑球粘连。

1.2 角膜缘干细胞深低温保存及复温[1]

新鲜供体眼球取穿透性角膜移植片后，沿角膜缘外2mm巩膜环行取下角膜缘，放入湿房，及时送眼库进行程序降温。即在超净台中，将角膜缘干细胞移植片从湿房移入装有2.5ml的1号抗冻剂(含92.5%的20%人血清白蛋白，5%二甲基亚砜，2.5%硫酸软骨素)的保存瓶中，置4℃冰箱10min，再将植片移入装有2.5ml的2号抗冻剂(含90.0%的20%人血清白蛋白，7.5%二甲基亚砜，2.5%硫酸软骨素)的保存瓶中，置4℃冰箱10min，然后移置于程序降温仪中进行程序降温。即以-1.5℃/min从4℃降至-5℃、以-2.5℃/min降至-10℃、以-1.5℃/min降至-30℃、以-8.0℃/min降至-80℃。最后将装有角膜缘干细胞移植片的2号保存瓶直接放入-196℃液氮罐内长期保存至少1月以上。需要时从液氮罐内取出，在40℃恒温水浴中快速复温，用20%白蛋白洗除2号保存液后，放入冰壶内送手术室备用。

1.3 角膜缘干细胞同种异体移植

首先将环行角膜缘组织缝于特制的玻璃纱布球上，用钻石刀切取尽可能薄的浅层角膜缘干细胞组织供移植用；切除术眼原发病灶（翼状胬肉）及浅层新生血管组织，将上述方法制备的板层角膜缘干细胞移植片，上皮面向上，置于术眼相应角膜缘部，用10-0尼龙线，分别在角膜侧及巩膜侧作间断缝合固定。翼状胬肉者同时作结膜瓣转位。陈旧性碱烧伤在作穿透性角膜移植时同时作角膜缘同种异体移植。手术后术眼局部滴点必舒及环孢霉素A眼液4～6月。

2 结 果

4例5眼眼表疾病患者行深低温保存角膜缘干细胞同种异体移植术后随访60～90天，平均70.6±14.7天。角膜缘移植片无坏死脱落及排斥反应，部分有新生血管长入，但未进入角膜内。术后角膜上皮全部愈合，愈合时间为术后3～16天，平均7.6±5.7天，且角膜上皮保持稳定。无感染及眼压升高。术后视力除第一例无改善外，其余4眼均有提高，第4例由眼前手动提高到0.5。详见表。

3 讨 论

眼表是指由睑缘粘膜上皮、睑结膜、穹隆结膜、球结膜、角膜缘及角膜等上皮组织组成，它是维持正常视觉的第一层防线，正常眼表功能的维持有赖于以下五个方面：①正常表型的结、角膜上皮；②正常的结、角膜上皮干细胞的解剖结构及功能；③必须能产生及维持一层正常且稳定的泪膜，它是眼表正常的根本保证；④正常的眼睑解剖生理及功能，以保护眼表及重整泪膜；⑤正常的神经支配及反射功能[2]。以上任何一个方面出现问题，即可发生眼表面泪液疾病，常称为眼表疾病。在各种眼表疾病中以角膜缘干细胞缺乏为特征的角膜病最为重要。各种原因所致的角膜缘干细胞或结膜干细胞缺乏，其最终结局均表现为角膜上皮结膜化，角膜溃疡、穿孔，角膜血管化，假性翼状胬肉，睑球粘连，甚至累及泪液系统，出现实质性干眼病，严重危及视力甚至失明。本文报告的4例5眼眼表疾病中，2眼碱烧伤及2例3眼翼状胬肉病人均因角膜缘干细胞缺乏或功能不良，导致严重的视力障碍。

眼表疾病的治疗一直是临床上非常棘手的问题[3]。直到1989年 Kenyon等[4]报告自体角膜缘干细胞移植治疗眼表疾病取得成功之后，人们才对眼表疾病的诊断及治疗有了新的认识。国内外许多作者相继对角膜缘干细胞移植治疗眼表疾病进行

维普资讯 http://www.cqvip.com

了大量研究，取得了满意的治疗效果[3]。但所用角膜缘干细胞移植片均为新鲜材料，临床上新鲜材料十分缺乏，且在应用的时间及空间性上受到限制，在一定程度上影响了临床工作的开展，而另一方面，穿透性角膜移植所剩下的角膜缘干细胞材料又未能得到充分利用，出现角膜缘干细胞材料相对浪费，我们将穿透性角膜移植所剩下的角膜缘干细胞材料收集起来进行程序降温，-196℃液氮深低温保存，经动物实验证实保存到2个月的角膜缘干细胞具有活性[1]，临床上4例5眼眼表疾病通过深低温保存1个月以上的角膜缘干细胞移植后，角膜上皮得到了修复，恢复了正常的眼表结构，经过1个月以上的随访，术后视力除1眼无改变外，其余4眼均有明显的提高。未发现排斥等不良反应。达到了显著的治疗效果。

我们通过深低温保存角膜缘干细胞移植治疗眼表疾病的初步临床研究，说明了深低温保存法能够有效地保持角膜缘干细胞的活性，能够将被丢弃的角膜缘干细胞重新利用，变废为宝，且深低温保存的材料结合中、短期保存液能够克服临床应用上时间及空间性的限制，为临床角膜缘干细胞移植治疗眼表疾病提供了可利用的材料。但本文所观察的病人数较少，随访的时间较短，深低温保存法保存的角膜缘干细胞的时间不长等许多问题还有待于进一步研究。

参 考 文 献

[1] 周善璧，陈家祺，黄　挺，等. 深低温保存角膜缘干细胞自体移植实验研究[J]. 眼科学报，1998;14(4):224~226,231

[2] Tseng SCG and Tsubota K. Important concepts for treating ocular surface and tear disorders[J]. AM J Ophthalmol，1997;124(6):825～835

[3] Tan DTH, Ficker LA and Buckley RJ. Limbal transplantation [J]. Ophthalmology，1996;103(1):29～36

[4] Kenyon KR and Tseng SCG. Limbal autograft transplantation for ocular surface disorders[J]. Ophthalmology，1989;96(5):709～723

(上接第84页)

由于病人普遍对在局麻下行胸腔闭式引流感到畏惧；入院后希望得到彻底的治疗，避免以后再发；而且盼望尽可能快的恢复工作和学习，避免长时间住院。基于以上原因，我们主张在运用TAMT法治疗复发性SP病人时，在入院当日即行急诊手术治疗而避免行术前胸腔闭式引流术。

总之，对SP病人采用腋下小切口的方法进行治疗顺应了当今“微创”外科的新潮流，该法疗效确切，缩短了术后住院时间，减轻了术后疼痛，具有明显的美容效果，值得推广。

参 考 文 献

[1] 顾恺时，主编. 胸心外科手术学[M].第一版.北京:人民卫生出版社，1992:278～280

[2] Murray KD,Matheny RG, Howanitz EP, et al.A limited axillary thoracotomy as primary treatment for recurrent spontaneous pneumothorax[J]. Chest, 1993;103(1):137～142

[3] 李良彬，林尚清，李法荫，等. 32例自发性血气胸外科治疗体会[J]. 重庆医学. 1993;22(1):68～70

[4] Kim KH, Kim HK, Han JY, et al.Transaxillary minithoracotomy versus video- assited thoracic surgery for spontaneous pneumothorax[J]. Ann Thorac Surg, 1996;61(5):1510～1512