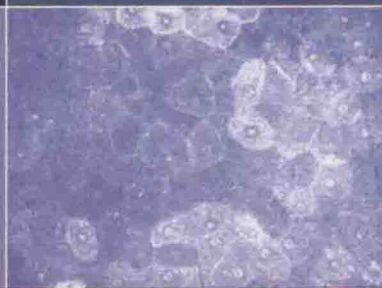
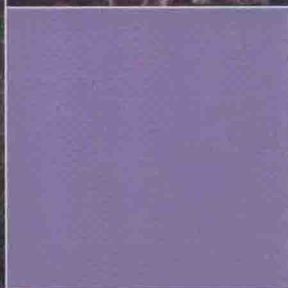
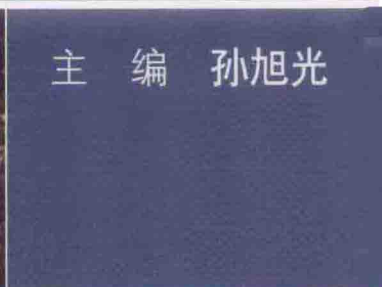
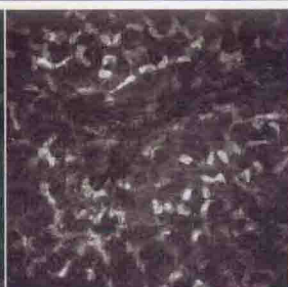


活体角膜激光共聚焦 显微镜图谱

IN VIVO LASER CONFOCAL MICROSCOPY
ATLAS OF CORNEA



人民军医出版社

PEOPLE'S MILITARY MEDICAL PRESS

IN VIVO LASER CONFOCAL MICROSCOPY
ATLAS OF CORNEA

活体角膜激光共聚焦 显微镜图谱

主 编 孙旭光

副主编 邓世靖

编 委 (以姓氏笔画为序)

王 森 王智群 邓世靖 刘 畅

孙旭光 李炜炜 张 琛 张小艳

张丰菊 侯文博 姜 超 梁庆丰



人民军医出版社
PEOPLE'S MILITARY MEDICAL PRESS

图书在版编目(CIP)数据

活体角膜激光共聚焦显微镜图谱/孙旭光主编. —北京:人民军医出版社, 2014. 4

ISBN 978-7-5091-7457-9

I. ①活… II. ①孙… III. ①角膜—共聚焦激光扫描显微镜—图谱
IV. ①R322.9-64

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2014)第 066659 号

策划编辑:张 田 张忠丽 文字编辑:魏 新 陈 鹏 责任审读:杜云祥

出版发行:人民军医出版社 经销:新华书店

通信地址:北京市 100036 信箱 188 分箱 邮编:100036

质量反馈电话:(010)51927290;(010)51927283

邮购电话:(010)51927252

策划编辑电话:(010)51927300-8225

网址:www.pmmp.com.cn

印、装:三河市春园印刷有限公司

开本:787mm×1092mm 1/16

印张:6.5 字数:84 千字

版、印次:2014 年 4 月第 1 版第 1 次印刷

印数:0001—1500

定价:56.00 元

版权所有 侵权必究

购买本社图书,凡有缺、倒、脱页者,本社负责调换

作者简介



孙旭光 北京同仁医院同仁眼科中心、北京市眼科研究所基础部主任,眼微生物室主任、研究员、博士生导师;中华医学会眼科学分会角膜学组副组长,中华眼科学分会专家会员,亚洲角膜病学会会员,亚洲干眼学会理事;《中华眼科杂志》《中华实验眼科杂志》《眼科》《中华眼视光学与视觉科学杂志》及《眼科新进展》等专业学术期刊编委。曾承担国家 863 项目、国家自然科学基金及北京市自然科学基金等多项课题。长期从事角膜病及感染性眼病的临床与研究工作。



邓世靖 北京同仁医院同仁眼科中心、北京市眼科研究所主治医师,眼科硕士。临床主要从事眼表疾病,尤其是感染性角膜病、眼表过敏症、干眼症、泪道疾病的诊断和治疗。近年进行了角结膜疾病的活体共聚焦显微镜研究,在 LASIK 术后角膜神经修复、羊膜移植治疗感染性角膜病等方面积累了丰富的经验。负责完成首都医学发展基金等多项科研项目。

内容提要

本图谱共分为 14 章,集中了作者及其课题组多年来积累的、典型角结膜疾病的活体角膜激光共聚焦显微镜观察图片和角膜外伤图片,共 312 幅,内容主要涉及正常角结膜组织、感染性角膜病、免疫性角膜病、角膜营养不良与变性、神经营养性角膜病变、角膜手术后、药源性角膜病变及全身疾病相关性角膜病与角膜外伤等。为了使广大眼科医师能够更好地将活体角膜激光共聚焦显微镜图像信息与临床相结合,本图谱编写中还在部分章节增加了疾病定义、主要临床表现及组织病理学特征改变,以期能够相互对照与参考分析。

前言

“工欲善其事，必先利其器”，是比喻要做好一件事，准备工作非常重要，同时也隐喻了得力工具的必要性。以往我们主要依靠刮片细胞学、组织病理学和电子显微镜等技术，在体外研究角膜及其疾病的组织细胞学改变。但是由于受到角膜组织取材的限制及离体后有些组织会很快发生变性和溶解（如角膜神经组织）等因素的影响，许多情况下很难实时、动态和客观的观察病变的本来“面目”及变化过程。

德国 Rostock 大学 Guthoff 教授及其研究小组，在眼底激光共聚焦显微镜的基础上，研发了活体角膜激光共聚焦显微镜，使眼科医师可以在活体上直接观察到角结膜及其众多疾病的组织细胞学变化。通过对角结膜组织无创、实时的观察，不仅能从近细胞水平来深入认识疾病，进一步探讨疾病的病理机制，而且可以帮助医师动态观察疾病的发展和转归，指导临床治疗及方案调整，为角膜疾病的诊断与治疗及临床与基础研究的深入提供了利器。

本图谱汇集了作者及课题组多年来应用活体角膜激光共聚焦显微镜观察的典型病例图片，是我们利用这项技术对指导临床角结膜病诊断及治疗方面的经验总结，希望能对广大眼科医师的临床及研究工作有所帮助。

随着共聚焦显微镜技术的不断改进与更新以及相关技术的不断发展，需要在共聚焦显微镜图像的观察与分析方面不断深入，因此，本图谱谨为抛砖引玉之作，敬请同道共同研究，指正不足。

孙旭光

2014 年 1 月于北京

致 谢

值此图谱出版之际,对北京同仁眼科中心角膜病专科的各位同仁,在提供角膜病病例方面给予的支持表示诚挚感谢。感谢北京市眼科研究所眼微生物室的技术人员张阳和罗时运老师,在病原微生物检验及相关资料收集方面所付出的努力。感谢北京协和医院李莹教授、解放军总医院黄一飞教授、北京大学第一医院眼科晏晓明教授以及北京大学第三医院眼科洪晶教授在提供疑难病例方面给予的帮助。

目 录

第 1 章	活体角膜激光共聚焦显微镜简介	(1)
	一、发展简史 / 1	
	二、结构与成像原理 / 1	
	三、检查方法 / 2	
	四、操作注意事项 / 3	
第 2 章	正常角膜共聚焦显微镜观察	(4)
	一、角膜上皮细胞层 / 4	
	二、角膜前弹力层 / 5	
	三、角膜上皮神经纤维丛 / 6	
	四、角膜基质层 / 6	
	五、郎格汉斯细胞 / 6	
	六、角膜后弹力层 / 7	
	七、角膜内皮层 / 7	
第 3 章	正常结膜共聚焦显微镜观察	(9)
	一、上皮细胞层 / 9	
	二、结膜上皮细胞层下结缔组织层 / 9	
第 4 章	常见感染性角膜炎共聚焦显微镜观察	(12)
	一、细菌性角膜炎 / 12	
	二、真菌性角膜炎 / 12	
	三、阿米巴角膜炎 / 16	
	四、病毒性角膜炎 / 19	
第 5 章	角膜变性共聚焦显微镜观察	(31)
	一、气候性滴状角膜变性 / 31	
	二、带状角膜变性 / 31	

三、圆锥角膜 / 33

第6章 角膜营养不良共聚焦显微镜观察 (37)

一、上皮基底膜营养不良 / 37

二、Thiel-Behnke 角膜营养不良 / 37

三、颗粒状角膜营养不良 / 39

四、格子样角膜营养不良 / 42

五、斑状角膜营养不良 / 43

六、施奈德角膜营养不良 / 46

七、后部多形性角膜营养不良 / 48

八、Fuchs 角膜内皮营养不良 / 49

第7章 免疫性角膜病共聚焦显微镜观察 (51)

一、蚕食性角膜溃疡 / 51

二、Thygeson 浅层点状角膜炎 / 51

三、眼部瘢痕性类天疱疮 / 54

四、Stevens-Johnson 综合征 / 55

五、Sjögren 综合征 / 56

第8章 屈光手术后共聚焦显微镜观察 (61)

一、上皮下神经纤维丛的修复 / 61

二、角膜手术界面的变化 / 61

三、手术并发症 / 64

第9章 角膜及羊膜移植术后共聚焦显微镜观察 (67)

一、角膜移植术后免疫排斥 / 67

二、羊膜移植术后羊膜及角膜改变 / 68

第10章 药源性角膜病变共聚焦显微镜观察 (70)

第11章 干眼角膜共聚焦显微镜观察 (74)

第12章 全身疾病相关角膜病变共聚焦显微镜观察 (75)

一、鱼鳞病 / 75

二、银屑病 / 76

三、脑瘤手术后 / 77

第13章 角膜外伤共聚焦显微镜观察 (80)

一、角膜异物 / 80

二、角膜热烧伤和化学烧伤 / 81

第 14 章 其他角结膜病共聚焦显微镜观察 (87)

一、春季卡他性结膜炎 / 87

二、蠕形螨性睑缘炎 / 87

三、角结膜上皮内上皮癌 / 91

活体角膜激光共聚焦显微镜简介

一、发展简史

共聚焦显微技术出现于 20 世纪 50 年代,1955 年 Marvin Minsky 发明了第一代共聚焦显微镜,最初是用于体外标本的观察。1968—1972 年,德国海德堡大学的 Thaeer 博士研制出了扫描共聚焦显微镜,后来发展成为可用于活体组织观察(包括眼组织)的检查设备。1994 年 James Hill 发明了 Tendam 眼科扫描共聚焦显微镜。

德国 Rostock 大学 Guthoff 教授及其研究小组,在眼底激光扫描共聚焦显微镜的基础上,研发了世界上第一台活体角膜激光扫描共聚焦显微镜,明显提高了采集图像的分辨率。

近年来,利用三维成像技术产生了三维的共聚焦图像,可更为直观地显示出病变的范围和位置。结合荧光染色技术的共聚焦显微镜及非接触性活体角膜激光扫描共聚焦显微镜不久也将面世。

二、结构与成像原理

1. 结构 活体角膜激光扫描共聚焦显微镜主要由 4 部分组成(图 1-1)。

(1)激光光源系统:激光波长 670nm。

(2)移动扫描裂隙系统:由两个在同一焦平面的裂隙孔组成。

(3)镜片系统:一系列光学镜片组成。

(4)图像采集处理分析系统:由数字图像采集器、计算机及其处理软件组成。

2. 成像原理 从激光光源系统发出的单波长激光光束,聚焦通过扫描裂隙系统的左裂隙孔,进入光学镜片系统,光束通过镜片系统左部,聚焦在角膜组织内的某一焦平面;从焦平面反射的光束,通过光学镜片系统右部聚焦后,再通过扫描裂

隙系统的右裂隙孔,最后光束被数字图像采集器采集,并输送到计算机系统进行处理分析,显示角膜焦平面的图像。

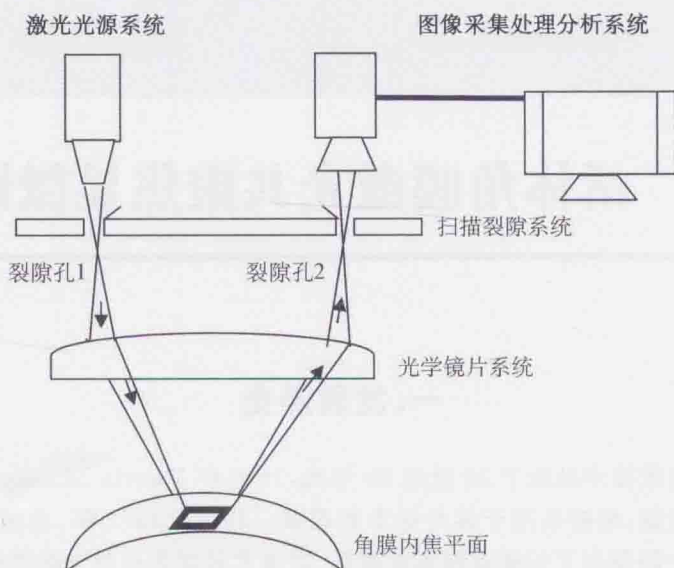


图 1-1 角膜激光扫描共聚焦显微镜结构示意图

由于只有在扫描裂隙系统的左右裂隙孔共同聚焦的光束才能被数字图像采集器采集,而其他非共同聚焦的光束均被阻隔,因此明显提高了焦平面图像的分辨率,使得激光扫描共聚焦显微镜的理论分辨率可达 $1\mu\text{m}$,平均放大率达到 800 倍,而且通过一次扫描,可获得 $400\mu\text{m} \times 400\mu\text{m}$ 面积范围的清晰图像。

三、检查方法

1. 被检查眼表面麻醉 2 次。
2. 将眼用凝胶滴于角膜显微物镜表面,盖上无菌角膜接触帽。
3. 患者将下颌及额部固定于托架上,嘱其注视固视灯,调整激光扫描摄像头位置,使激光光束位于角膜病变区(图 1-2)。
4. 向前缓慢推进摄像头,至接触帽距患者角膜 $5 \sim 10\text{mm}$ 时,微调摄像头位置,使角膜帽中央对准角膜病灶区的激光束反射光点,再缓慢推进摄像头,使接触帽与角膜轻微接触。
5. 设定两者接触的焦平面为 0,拧动激光扫描摄像头调节环改变焦平面,获得不同深度角膜图像。

6. 采集照片并保存图像,填写患者一般资料并存档。



图 1-2 激光共聚焦显微镜检查示意图

四、操作注意事项

1. 为获得清晰图像,可通过移动注视灯调整患者眼位,使观察区域角膜激光束反射光点始终位于所要观察的角膜病变部位的最前端,检查中应随时调整校正。

2. 检查过程中,嘱患者另一眼跟随注视灯移动,通过不断调整注视灯位置,观察角膜同一层面不同部位的病变。

3. 校正和调节能位或观察部位时,应先将激光扫描摄像头从角膜表面移开,校准后再次前移接触角膜,避免损伤角膜。

4. 检查中尽量让患者保持睁眼状态,如不能配合,或睑裂较小患者,可使用开睑器。

正常角膜共聚焦显微镜观察

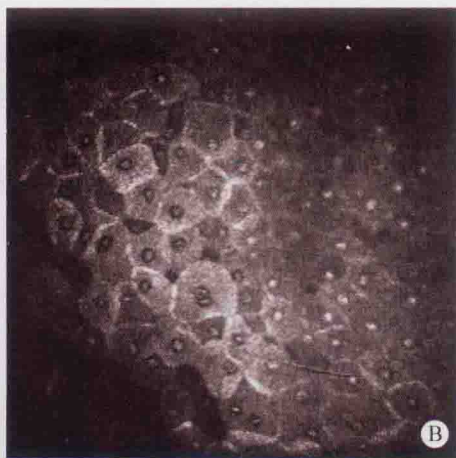
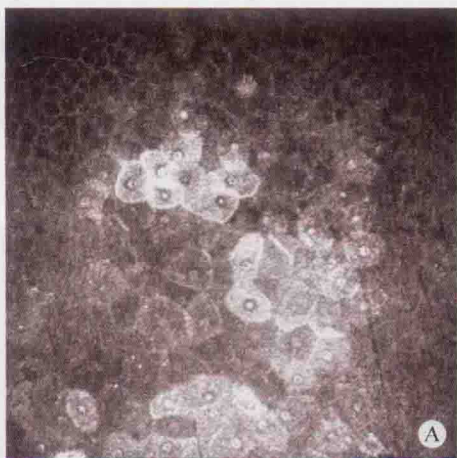
一、角膜上皮细胞层

上皮细胞层由浅至深,可观察到 3 种角膜细胞。

1. 表层细胞 细胞直径为 $25\sim 30\mu\text{m}$,扁平状,细胞壁高反光,细胞质多为亮灰或暗灰,细胞核居中、较小、低反光、圆形,细胞核中央为高反光(图 2-1A、B)。

2. 翼状细胞 多边形,胞体较表层上皮细胞小,排列紧密,细胞边界呈高反光,细胞体低反光,大小形状基本一致,细胞核一般难以见到(图 2-1C)。

3. 基底细胞 为明暗相间的多边形细胞,胞体小,密集排列,细胞边界高反光,细胞质为亮灰或低反光,细胞核不可见(图 2-1D)。



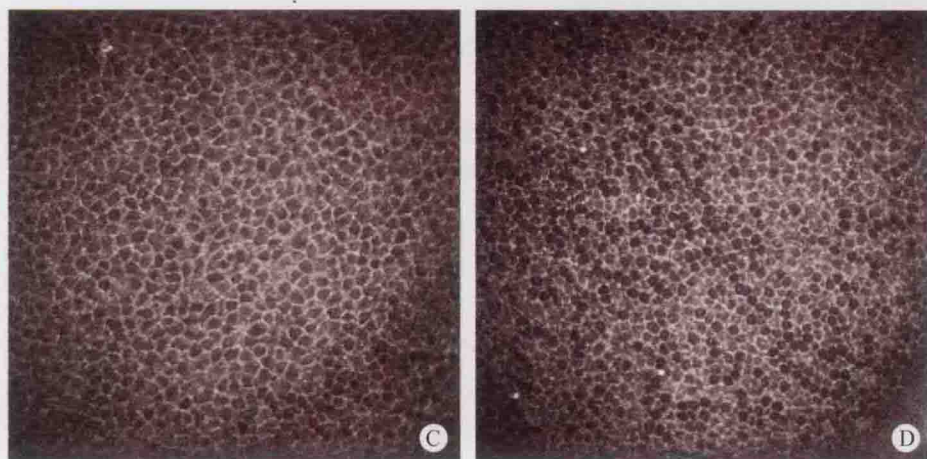


图 2-1 角膜上皮细胞层

- A. 表层细胞,直径约 $25\mu\text{m}$,扁平状,胞体高反光,细胞核低反光,细胞核中央高反光;
 B. 表层细胞,直径为 $25\sim 30\mu\text{m}$,扁平状,胞体中反光,细胞核低反光,细胞核中央高反光;
 C. 翼状细胞,表现为多边形结构,细胞边界高反光,细胞体低反光;D. 基底细胞,明暗相间多边形细胞,密集排列,细胞边界高反光,细胞质为亮灰或低反光,细胞核不可见

二、角膜前弹力层

前弹力层位于上皮细胞层与基质层之间,表现为无细胞成分的中度反光、暗反光界面(图 2-2A),其前界面可见高反光的串珠样上皮下神经纤维丛(图 2-2B)。

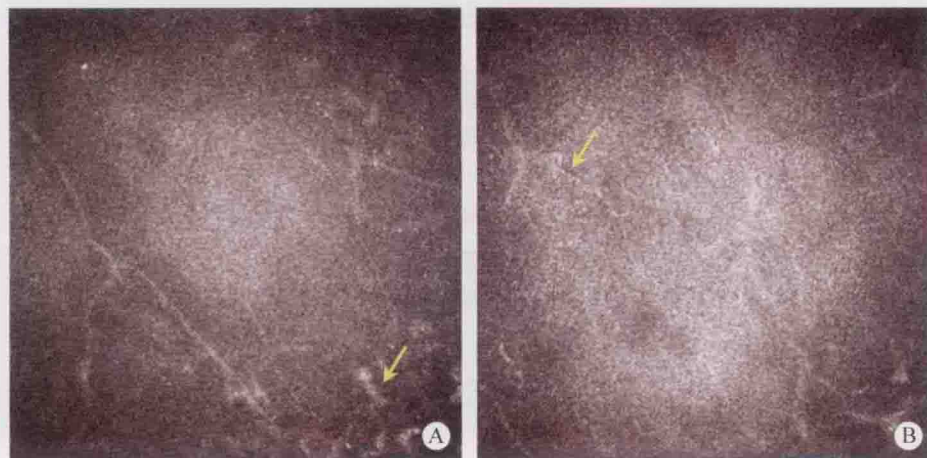


图 2-2 角膜前弹力层

- A. 前弹力层,表现为均质性中度反光,可透见其下的角膜基质细胞(箭头所示);B. 前弹力层,表现为均质性中度反光,可见神经纤维(箭头所示)

三、角膜上皮神经纤维丛

上皮神经纤维丛位于基底上皮细胞与前弹力层之间,表现为均一、高反光串珠样或线状结构,可见 Y 形分叉和 H 形神经纤维束连接(图 2-3A、图 2-3B)。

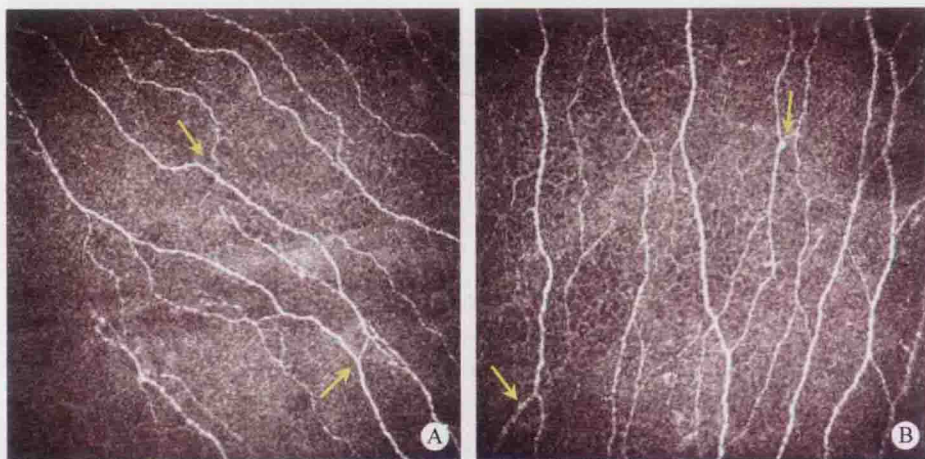


图 2-3 角膜上皮神经纤维丛

A. 上皮神经纤维丛,高反光串珠样或线状结构,可见 Y 形分叉和 H 形神经纤维束连接(箭头所示);B. 角膜中央上皮神经纤维丛,呈高反光串珠样或线状结构,可见 Y 形分叉和 H 形神经纤维束连接(箭头所示)

四、角膜基质层

共聚焦显微镜下,角膜胶原纤维和无定形基质不显示影像,形成无特征的暗反光背景,在此背景下可见长圆形的角膜细胞核。前部基质角膜细胞密度较高,后部基质角膜细胞密度较低,且较前部基质细胞核大而扁平(图 2-4A、图 2-4B、图 2-4C)。

在角膜基质前部和中部可观察到基质神经,较上皮细胞层下神经纤维粗且反光高,方向不一(图 2-4D),而且周边角膜基质内神经较中央区基质内神经粗大,分叉较多。中央区后部基质内通常观察不到基质神经。

五、郎格汉斯细胞

上皮基底细胞层和前弹力层间可见散在高反光树突状细胞,细胞形态多样。正常角膜中央区极少见到活化的郎格汉斯细胞(图 2-5A)。炎症刺激后细胞活化,可见到多树突的郎格汉斯细胞,形态各异,有时局部可互相连接成网状(图 2-5B)。

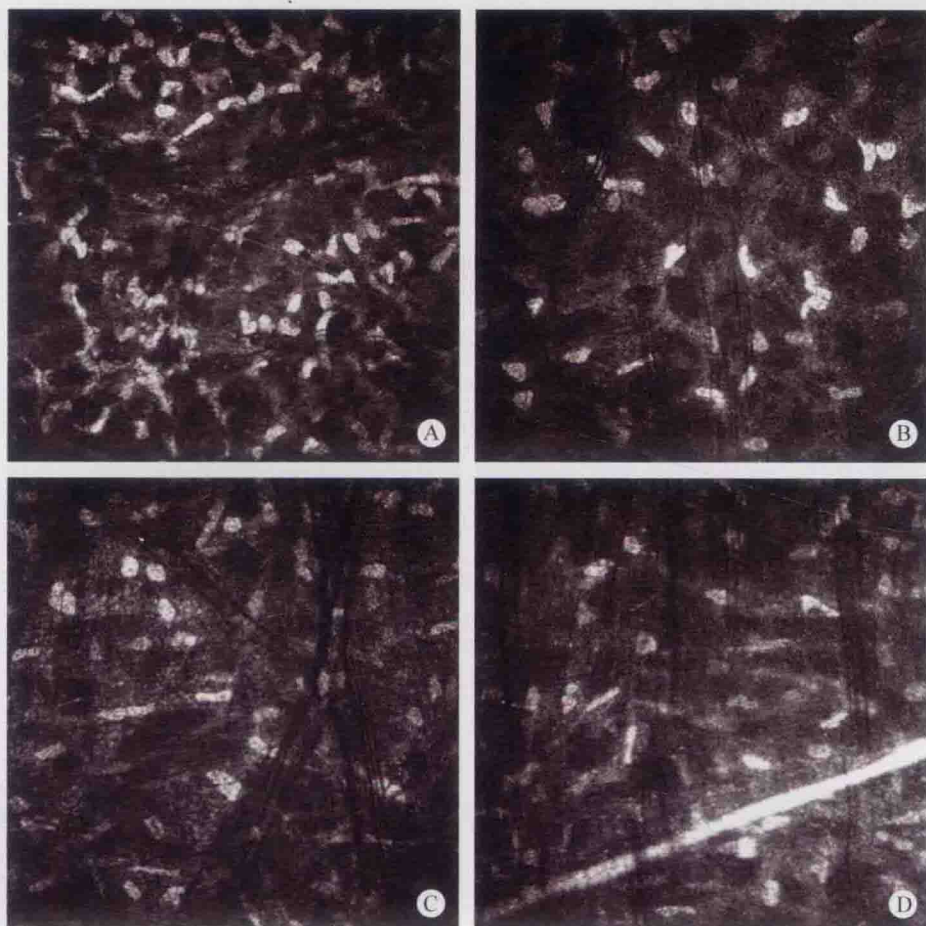


图 2-4 角膜基质层

A. 前部角膜基质,角膜细胞密度较高,核呈椭圆形高反光。胞体反光弱,呈网状相连;B. 中部角膜基质,角膜基质细胞密度较前部降低;C. 后部角膜基质,基质细胞密度更低;D. 角膜基质内粗大基质神经纤维

六、角膜后弹力层

角膜后弹力层同前弹力层一样为无特征性均质结构,多在从后基质到内皮细胞的扫描中出现,表现为无细胞结构的均质中反光结构,厚度约 $10\mu\text{m}$ (图 2-6)。

七、角膜内皮层

共聚焦显微镜下角膜内皮细胞为排列规则的 5~7 边形细胞,大小一致,边界