

*J*iaomo Quguang
Shoushu
Jingyao



● 李新宇 编著

角膜屈光手术

精要

华中科技大学出版社

<http://www.hustp.com>

角膜屈光手术精要

编 著 李新宇

华中科技大学出版社
中国·武汉

图书在版编目(CIP)数据

角膜屈光手术精要/李新宇 编著. —武汉:华中科技大学出版社,2009年9月
ISBN 978-7-5609-5696-1

I. 角… II. 李… III. 屈光不正-角膜-眼外科手术 IV. R779.65

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2009)第 169433 号

角膜屈光手术精要

李新宇 编著

策划编辑:柯其成 车 巍

责任编辑:许 杰

责任校对:汪世红

封面设计:刘 卉

责任监印:周治超

出版发行:华中科技大学出版社(中国·武汉)

武昌喻家山 邮编:430074 电话:(027)87557437

录 排:华中科技大学惠友文印中心

印 刷:湖北新华印务有限公司

开本:710 mm×1 000 mm 1/16

印张:7.25

字数:139 000

版次:2009年9月第1版

印次:2009年9月第1次印刷

定价:30.00 元

ISBN 978-7-5609-5696-1/R·139

(本书若有印装质量问题,请向出版社发行部调换)

内 容 提 要

本书较全面地介绍了角膜屈光手术的基础和临床进展,荟萃了屈光手术的新理论和新技术。全书共分六章,包括:角膜屈光手术相关的大体及显微解剖,角膜特殊的生理特性,不同手术方式对角膜的损伤及角膜的修复特点,对角膜板层刀的结构、工作原理、不同种类角膜板层刀的特点进行了介绍,对角膜瓣制作中及术后的并发症及处理进行了总结,介绍了飞秒激光技术的基础知识及其在眼科领域特别是在眼屈光手术领域的应用进展。力求基础理论与临床紧密结合。本书适合眼科医师、眼屈光手术医师及眼科研究生阅读。

作者简介

李新宇,男,1969年出生,现在华中科技大学同济医学院附属同济医院眼科工作,任副主任医师,硕士研究生导师,医学博士。2000年,作者开始专职从事屈光不正手术的基础和临床研究,并承担多项省、部级科研课题,发表科研论文二十余篇,在屈光不正治疗方式的选择、准分子激光治疗技术、角膜疾病治疗等方面有较丰富的经验。

前 言

全球每年角膜屈光手术的数量达到 200 万左右。随着手术技术的发展和相关研究的深入,角膜屈光手术成功的标准亦在不断提高,20 世纪 80 年代以前,术后裸眼视力大于 0.5 即为手术成功,而现在手术成功的标准已提高至裸眼视力不低于 1.0。随着角膜板层刀精确度和自动化程度的提高、准分子激光设备的不断改进、主动式眼球追踪系统的发展,角膜屈光手术的精确性已经得到显著提高,但是广大近视患者对角膜屈光手术疗效的期望仍在不断提升,对术后视觉质量也提出了更高的要求。

华中科技大学附属同济医院是卫生部部属医院,在广大患者中有着良好的口碑。在医院的大力支持下,1995 年 8 月,眼科成立了眼屈光治疗中心,1995 年 8 月在省内首次开展准分子激光角膜切削术(photorefractive keratectomy,PRK),1996 年 2 月开展省内首台准分子激光角膜原位磨镶术(laser in situ keratomileusis,LASIK)、2001 年 8 月开展准分子激光角膜上皮下磨镶术(laser subepithelial keratomileusis,LASEK),并指导全国各省市五十余家医院开展以上手术,目前屈光中心年手术量在 6 000 台左右。屈光治疗中心的发展见证了角膜屈光技术及设备的进步。我们屈光中心使用过的角膜板层刀有 Moria-CB、Moria-II、MK-2000、Hansatome、XP、SCHWIND 的 Carriazo-Pendular、AMO 的 Amadeus II 等,我们也密切关注飞秒激光取得的临床进展。在大量开展标准化手术的同时,个体化手术的比例也在不断增加。科学技术的不断发展,不同领域不同科技成果之间的互相促进,推动角膜屈光手术进入了新技术时代。

眼科屈光手术医生和广大患者的追求目标是更好的术后视力和视觉质量、更少的术后并发症。伴随着角膜板层刀的改进和飞秒激光的应用、个体化治疗的展开,手术的安全性、患者的满意度不断得以提升。这使部分患者甚至医生似乎认为角膜屈光手术是不需要多少技术含量的简单操作,然而角膜不是一块简单的塑料,而是一个有着独特生理结构且对外界刺激有极其复杂反应的特殊组织,接受屈光手术的患者比眼科其他手术患者有着更高的视力要求。角膜屈光手术是精密度要求极高的手术,对相关的解剖、生理、病理知识的认识,对角膜手术最新技术的了解,有助于屈光手术医生对手术及术后反应的理解和对手术并发症的预防及处理,本书对角膜屈光技术相关的基础及临床知识进行了较为系统的回顾,相信对临床有一定的指导意义。

李新宇

华中科技大学附属同济医院眼屈光治疗中心

2009 年 8 月

目 录

第一章 角膜解剖组织学.....	(1)
第一节 角膜屈光相关的大体解剖.....	(1)
第二节 角膜的显微解剖.....	(6)
第三节 角膜的神经解剖	(12)
参考文献	(13)
第二章 角膜生理	(15)
第一节 角膜上皮生理	(15)
第二节 角膜基质生理	(16)
第三节 角膜内皮生理	(18)
第四节 角膜的透明性	(20)
第五节 角膜的渗透性	(22)
第六节 角膜的营养代谢	(23)
第七节 角膜接触镜对角膜的影响	(24)
参考文献	(28)
第三章 角膜病理	(30)
第一节 角膜上皮损伤及修复	(30)
第二节 角膜基质损伤及修复	(33)
第三节 角膜神经损伤及修复	(34)
第四节 细胞因子对角膜损伤的调控	(37)
第五节 角膜对不同屈光性手术方式的组织病理学反应	(40)
参考文献	(43)
第四章 屈光手术的进展	(46)
第一节 角膜屈光手术的进展	(46)
第二节 晶状体屈光手术的进展	(53)
第三节 巩膜屈光手术的进展	(58)
参考文献	(59)
第五章 微型角膜板层刀技术	(61)
第一节 微型角膜板层刀的构造和工作原理	(61)
第二节 微型角膜板层刀的种类	(62)
第三节 微型角膜板层刀角膜瓣相关的并发症及处理	(69)
参考文献	(77)
第六章 飞秒激光的应用	(79)

第一节 激光基础知识	(79)
第二节 飞秒激光基础知识	(81)
第三节 飞秒激光技术在眼科领域的应用	(83)
第四节 飞秒激光机的发展及临床应用	(91)
第五节 目前市场上四种用于屈光手术的飞秒激光系统的比较	(96)
第六节 飞秒激光机的优缺点及可能出现的手术并发症	(98)
小结.....	(102)
参考文献.....	(102)
附件 手术同意书样本.....	(104)

第一章 角膜解剖组织学

第一节 角膜屈光相关的大体解剖

一、角膜的非球面形态及球差

角膜位于眼球的最前端,是无色素、无血管、神经丰富的透明薄膜,质地坚韧。角膜前表面面积约占眼球总面积的 1/4,其形态从前面看呈横椭圆形,成年人角膜横径为 11.5~12 mm,垂直径为 10.5~11 mm;从后面看呈直径约 11.7 mm 的圆形。一般认为角膜直径大于 12.5 mm 的为大角膜,小于 9 mm 的为小角膜。角膜直径的大小与屈光手术有较为密切的关系,对于可行手术治疗的正常角膜,应该根据角膜大小制作相应的角膜瓣,这样有利于提供合适的切削区,提高患者的术后视觉质量。角膜中央 4 mm 区域,其弧度为球形,周边部较扁平,角膜前表面的曲率半径为 7.8 mm,后表面的曲率半径为 6.8 mm,平行光线照射到角膜时,周边光线与旁中心轴线之间会形成焦点差异即为球差。人眼存在一定量的球差,球差导致远轴光线进入眼内时聚焦在近轴光线之前,在视网膜上形成弥散的光斑。理想化的角膜应该使进入眼内的光线为零球差。根据球差公式:球差= $h^4(n-1)/(R^3n^2)+h^4Q(n-1)/R^3$,当瞳孔直径 h 为 8 mm,角膜屈光指数 n 为 1.376,角膜曲率半径 R 为 7.72 时, Q 为 -0.528,球差方可为零。而实际人眼不可能为零球差,因为角膜周边与巩膜须有平滑的连接,而不能过于平坦。正常人眼角膜的非球面形态有利于减轻瞳孔散大时光线通过周边角膜产生的球差,使得进入眼内的光线虽处于不同的离轴位置而能聚焦于一点;而暗光下瞳孔直径较大,远轴光线形成的次焦点使视觉质量明显下降。生理状态下,角膜低水平的正性球差被晶状体的负性像差所中和,因此术前波前像差主要由慧差组成,而非球差。通过准分子激光的治疗,细微的角膜前表面形状改变达到了良好的屈光矫正效果,但是角膜前表面屈光力分布由中央高周边低(prolate)向中央低周边高(oblate)转化,同时人眼屈光系统的平衡状态被打破,球差显著增加,进而取代慧差成为术后人眼总体高阶像差中的主导性高阶像差。因此,球差是导致准分子激光治疗术后视觉质量降低的主导性因素。而目前临床的个体化非球面切削则是依据每位患者的术前角膜非球面性对角膜进行切削,使术后角膜非球面性相对保持不变,球差增大不显著,从而提高了患者术后的视觉质量和满意度。

二、角膜厚度及评价

正常成人角膜厚度并不均一,中央最薄,厚度为 0.5~0.55 mm,周边逐渐增厚,大约 1 mm 厚。角膜厚度值是屈光手术的重要参考指标,术前准确测量角膜厚度对行屈光手术有重要的指导意义。最简单、最直观判断角膜是否有病变的方式是观察角膜厚度变化:角膜偏薄提示圆锥角膜,或是其他角膜扩张性疾病;角膜过厚通常与角膜内皮功能不良有关。角膜厚度测量的设备主要有非接触式角膜内皮细胞镜、Orbscan 裂隙扫描眼前节系统、Pentacam 眼前节分析及测量系统、光学相干断层成像术(optical coherence tomography, OCT)、A 型超声角膜厚度测量仪、超声生物显微镜(ultrasound biomicroscopy, UBM)、部分相干干涉计、光学低相干反射计、共聚焦显微镜等。

目前,临床最常用的厚度测量方法是超声角膜厚度测量法。A 型超声角膜厚度测量法是 20 世纪 80 年代为适应屈光手术而发展起来的一种测量方法,与传统的光学测厚法相比,其可重复性更好、测量更准确,目前被认为是角膜厚度测量的“金标准”。A 型超声测厚仪探针上附带的超声振荡器发射超声波,系统探测到角膜后表面的回声,通过所获得的数据计算出声波到达角膜后表面所需时间,通过和声波在角膜中传播的速率来计算角膜厚度。声波在角膜中传播的速率可根据经验人为设定,经验声速为 1 640 m/s。探头可放置在角膜表面不同的位点,可测量角膜任意一点的厚度。探头的轴向分辨率高,对角膜厚度的测量精度可达 1 μm 。但是在实际测量中,超声在角膜后表面的反射界面很难准确定位,常波动于 Descemet 膜和前房之间。探头接触角膜时可以很轻易地移除 7~40 μm 厚的泪膜层,甚至可以压薄角膜上皮。在某些情况下,如角膜水肿、准分子激光角膜原位磨镶术(laser in situ keratomileusis, LASIK)术后,声波在角膜中的传播速率及反射界面都会发生变化,从而影响测量值的准确性。超声角膜测厚仪还有一个明显的缺点:测量时探头需要与角膜直接接触,因此可能引起角膜上皮损伤甚至继发感染。

角膜厚度特别是中央角膜厚度(central corneal thickness, CCT)的精确测量与临床治疗密切相关。屈光手术的切削量是根据正常角膜厚度的低限建立的,因此,比较不同仪器的测量结果时应特别小心。研究显示,Orbscan II CCT 测量值较 A 型超声角膜测厚仪测量值厚 23~28 μm ,而角膜内皮细胞镜低于 A 型超声角膜测厚仪的测量值,角膜内皮细胞镜测量值较 A 型超声角膜测厚仪的测量值平均小 33 μm ,Pentacam 平均小 13 μm 。与 A 型超声角膜测厚仪相比,Pentacam 测量值可重复性相对更高。Lackner 等分别使用 A 型超声角膜测厚仪、Orbscan II 及 Pentacam 测量 30 例正常眼 CCT,发现 Pentacam 测量值最低(542 μm),A 型超声角膜测厚仪其次(552 μm),Orbscan II 测量值最高(576 μm),但是用声学因子校正后,Orbscan II 的测量值最低(530 μm),Pentacam 测量值观察者间的可重复性优于另两种方法。与 Orbscan II 相比,Pentacam 测量值更接近 A 型超声角膜测量值,变异更小。一项对

21 例 42 眼近视患者的研究发现, OCT 测量值与 A 型超声角膜测厚仪的测量值高度相关。术前 OCT 测量值($546.9\ \mu\text{m}$)轻度小于超声测量值($553.3\ \mu\text{m}$)($P<0.001$), 相关系数 0.97; 术后 OCT 测量值($513.7\ \mu\text{m}$)高于超声测量值($498\ \mu\text{m}$)($P<0.001$), 相关系数 0.98。Muscat 等进行了一项有关 OCT 测量 CCT 可重复性的研究, 结果显示 OCT 测量值测量者间变异系数 0.118%, 测量者内变异系数 1.111%, 二者均小于 3%, 表明 OCT 测量的角膜厚度值几乎不受测量者及测量时空的影响。Pierro 等使用 UBM 和 A 型超声角膜测厚仪测量了 32 例 60 只眼的 CCT, 结果显示, UBM 测量值和超声测量值强相关($r=0.859$)。Javaloy 等对 25 例 50 只眼分别使用 UBM、A 型超声角膜测厚仪、Orbscan II 和共聚焦显微镜测量其 CCT, 发现 UBM 测量值最大。

目前, 普遍研究显示, 长期持续戴软性角膜接触镜者(2 年以上)及偶尔戴软性角膜接触镜者(少于 2 年)均与无角膜接触镜戴史者平均 CCT 的差异有显著的统计意义, 戴者的 CCT 明显薄于未戴者。一般认为, 戴角膜接触镜后导致角膜变薄的原因是多方面的, 涉及角膜氧供、表面氧水平及角膜代谢等。正常角膜能量代谢包括有氧氧化及无氧酵解, 由于角膜缺乏血管, 即使在正常情况下, 仍有 60% 能量代谢途径通过无氧酵解。戴角膜接触镜时, 角膜表面氧水平降低, 在缺氧状态下无氧代谢增强, 细胞合成胶原、糖蛋白和蛋白多糖的功能会受到影响。

不同个体角膜厚度与屈光度、年龄及性别无明显的相关性。

准分子激光角膜手术是通过切削部分角膜组织来达到矫正屈光不正的目的。Munnerlyn 提出矫正屈光度与切削深度之间的关系公式: 切削深度(μm) = 光学区(mm^2) $\times$ 矫正的屈光度(D)/3。从这个公式可以看出, 切削深度随着光学区面积的增加而增加。对于任何度数而言, 光学区很小量的增加, 切削组织都会呈几何倍数地增加。因为仪器存在差异, 受其他手术因素(术前角膜厚度和曲率、微角膜板层刀振动速率、负压吸力环压力等)的影响, 不能根据角膜刀制造商标明的值预测平均角膜瓣厚度。实际制作的瓣厚往往与预想的有一定差异, 此时术中总按经验的平均值去算角膜基质床厚度盲目性较大。为防止继发圆锥角膜, 除术前严格、准确地测量角膜厚度外, 术中可行实时 A 超监测角膜基质床厚度, 计算可供切削的角膜量, 保证术后剩余角膜基质床达到安全厚度, 减少手术的盲目性, 使手术风险降低, 安全度提高。尤其对于角膜偏薄和屈光度高的患者, 术中实时测量角膜厚度意义重大。目前公认的角膜瓣下基质床厚度应不低于 $250\ \mu\text{m}$, 提倡不少于 $280\ \mu\text{m}$, 甚至应在 $300\ \mu\text{m}$ 以上。

三、角膜曲率及评价

曲率是反映眼部形态及屈光状态的一项重要指标。谢立信等报道国人角膜曲率平均值为(43.531 ± 0.036)D, 左、右眼无差别, 生理散光平均值为 0.406 D, 生理性散光发生率为 71%。随着大量屈光性手术如老年性白内障人工晶体植入术、有晶体眼

人工晶体植入术、准分子激光角膜手术等的开展,对角膜曲率的准确判断越来越受到重视,其测量技术也有了进一步的探索和发展。目前主要的测量手段有手动式、自动式角膜曲率计和计算机辅助的角膜地形图。

手动式角膜曲率计测量前提是假设角膜光学面为球面或球柱面,基于光学反射原理,测量角膜前表面半径中央 3 mm 直径区域内两条互相垂直的径线的曲率半径值,并按修正后的角膜生理屈光指数 1.3375 计算出整个角膜总屈光力的扁平 K 值和陡峭 K 值。手动式角膜曲率计操作简单、价格便宜,对正常范围内屈光率(40~46 D)的规则角膜,具有很好的准确性和可重复性。但它仅能评估旁中心区角膜两个正交子午线上相距 3~4 mm 的四个位点,而无法显示除此之外的角膜光学信息。而自动角膜曲率计和角膜地形图系统结合了 Placido 盘反射及电脑分析程序,可以更快速、更稳定、更全面地获取角膜曲率值。由于各种仪器在硬件、软件及数据显示等方面存在很多差异,其测量结果可能也会有一定差异。我们分别用 Reichert 手动角膜曲率计(Leica 公司)、RKT-7700(NIDEK 公司)自动角膜曲率计和 Orbscan-II 眼前节系统(Bausch&Lomb 公司)对正常人群角膜曲率进行了测量,其结果分别为 $(42.33 \pm 1.37)D$ 、 $(43.63 \pm 1.50)D$ 、 $(43.42 \pm 1.45)D$ 。经统计学分析显示,手动式角膜曲率计测量值较另外两种低,差异有显著性。而自动式角膜曲率计与角膜地形图之间的测量结果没有显著性差异。在临床使用中,我们对不同测量结果的差异应有清楚的了解。特别是在 LASIK 术后,常用的角膜曲率计测量角膜中央屈光力时数值偏高,在计算 LASIK 术后患者的眼内晶体植入度数时,应将仪器测量的角膜中央屈光力的正性误差考虑在内。

大量的临床经验发现,LASIK 术中角膜曲率与瓣直径、瓣蒂的长度有关,还可能影响激光切削区的大小和角膜瓣复位后的稳定性。临床实践发现,高曲率角膜在术中更容易发生薄瓣、不规则瓣和纽扣孔,低曲率角膜在术中游离瓣的发生率会明显增加。一般认为,术后角膜曲率低于 35 D,则术后回退会增加;低于 32 D 回退会更加明显。术后曲率小于 32 D 者,会增加术后角膜扩张的危险性、诱导术后像差、降低功能性光学区,并引起 LASIK 术后角膜的多焦点。所以术前曲率的准确测量对准分子手术的设计及术后效果的预测有重要的参考价值。

原发性圆锥角膜是一种双侧非炎症性角膜疾病,通常起于青春期,可终止于任意年龄,以角膜扩张为特征,角膜中央或旁中央区变薄前凸呈圆锥形,导致角膜变形和曲率增大,产生高度近视和不规则散光。晚期后弹力层断裂可出现角膜急性水肿,形成瘢痕,视力显著减退。通常认为,原发性圆锥角膜平均发病率为 1:2 000。关于其病因及发病机制学说的研究较多,如遗传学说、代谢障碍学说、凋亡学说、胶原学说、感染学说等,尚无统一结论。目前研究认为,圆锥角膜的原发病变在基质细胞,可能机制为:基质细胞发生变性,引起角膜基质胶原、胶原酶合成分泌异常,同时胶原降解增加,结构和排列发生异常,角膜机械抵抗力下降,变薄前凸,加重了角膜上皮的损伤,引起角膜上皮细胞变性、死亡,释放蛋白水解酶作用于基底膜、Bowman 层及前基

质层,加速了角膜上皮细胞及基底膜的损害。Lema 等分析了圆锥角膜患者泪液中的一组炎性分子和基质金属蛋白酶含量,发现 IL-6、TNF、MMP-9 含量增高的程度与圆锥角膜的严重程度相关;并因此认为,慢性炎症也可能是圆锥角膜的致病机制之一。导致角膜基质细胞发生病变的原因和具体的作用机制尚待进一步研究。

传统的圆锥角膜诊断依据是患者的临床表现,结合裂隙灯、角膜曲率计、角膜厚度检查结果。近年来,随着科学技术的飞速发展,特别是计算机辅助的角膜地形图为圆锥角膜的早期诊断提供了非常重要的信息,成为目前诊断早期圆锥角膜的主要手段。以 Orbscan II 角膜地形图为例,国内外学者经过大量研究,提出以下早期圆锥角膜的诊断标准。①角膜前表面中央曲率大于 47 D;角膜中心下方 3 mm 处与上方 3 mm 处屈光率差值大于 3 D;双眼角膜中央前表面曲率差值大于 1 D。这三点均符合即可诊断。②随年龄增大,近视不断增加,伴有散光;局部前后表面高度图形状比较一致;后表面最佳拟合球面(best-fitting spherical surface, BFS)大于 55 D;半径 3 mm 区域内,屈光差异(轴屈光率)大于 3 D;中央角膜厚度小于 470 μm ;后表面高度图 7 mm 区内,最高—最低大于 100 μm 。符合上述四点以上即可诊断。③后表面 BFS 与前表面 BFS 比值大于 1.27,1.21~1.27 高度怀疑;内皮计数小于 1 800 个/ cm^2 ;后表面 BFS 大于 51 D;眼球下曲率大于上曲率。符合上述三点以上即可诊断。④厚度大于 500 μm 的角膜后表面前凸极值(Diff 值)为(0.032 $\pm$ 0.008) mm;厚度大于 500 μm 的角膜后表面 Diff 值为(0.044 $\pm$ 0.008) mm;Diff 值一般不超过 0.055 mm。⑤角膜后表面曲率:最高点大于-7.50 D,中心点大于-7.0 D,此时考虑有异常的可能。

圆锥角膜是 LASIK 的绝对禁忌证,而术后继发性圆锥角膜则是手术的严重并发症之一。目前,对近视患者 LASIK 术后继发性圆锥角膜的诊断标准尚不一致。Seiler 等提出的诊断标准是:LASIK 术后角膜地形图出现明显的、进行性、陡峭的中央小岛,并伴随屈光回退和暗视力等。Seitz 等认为,继发性圆锥角膜的定义是:至少在 4 mm 直径范围内,在不同的角膜表面高度图上,角膜凸起度大于 15 μm ,并且观察 3 个月,随访期间呈现进行性凸起。Pallikaris 等提出的诊断标准是:视力下降、屈光状态不稳定,不稳定的角膜地形图(随访 6 个月,变陡大于 1.00 D),在随访期间,角膜厚度减少 30 μm ,后表面变陡。Twa 等根据近视患者 LASIK 术后继发圆锥角膜的临床观察得出的诊断标准,其特异性和敏感性较高。主要包括:①最佳矫正视力低于 0.8 或者更低;②散光增加 1.25 D 以上;③角膜地形图显示,不对称的角膜曲率 1.40 D 或者更大,或者在最陡子午线的角膜屈光力至少增加 2.00 D;④剩余的近视至少 2.00 D 或者大于预期的屈光力;⑤剩余角膜总的厚度不大于 400 μm ;⑥估计的切削深度至少 76 μm ;⑦最佳矫正视力下降 2 行或者以上;⑧角膜总的厚度至少减少 25 μm 。然而即使根据这些特征,某些时候仍不足以诊断为继发性圆锥角膜,还必须与个人的整个临床特征相结合进行综合判断。我们在临床中对可疑的圆锥角膜,可以利用角膜地形图进行动态观察。这对临床诊断有重要帮助。

第二节 角膜的显微解剖

角膜是一种用于光线折射和传送的高度特殊的组织。尽管角膜无血管,组织结构简单,但它具有高度规则和精密排列的特点。角膜组织整体上具有一致的排列,使光线可以精确地折射和传送到视网膜。角膜分为五层,由前向后依次为:上皮细胞层(epithelium)、前弹力层(lamina elastica anterior)、基质层(stroma)、后弹力层(lamina elastica posterior)和内皮细胞层(endothelium)。

一、上皮细胞层

人类角膜上皮有5~7层细胞,全层厚约50 μm 。在人体内所有的复层鳞状上皮中,它具有其独特性。位于透明角膜表面的角膜上皮要求其具有透明性,且存在于无血管的结缔组织之上。除维持角膜表面透明性的独特功能外,角膜上层和所有具有保护作用的上皮一样,具有清洁管理功能,这包括防止液体丢失和防御外界不良环境的侵害,以及对眼内压力的抵抗。角膜防止液体丢失屏障作用是通过顶部细胞侧面周围的紧密连接实现的,对病原物的防御作用是通过顶部表面黏液素的连接实现的。角膜抵抗压力的功能要求每一个角膜上皮细胞必须特异性地与相邻的上皮细胞及其下的细胞外基质紧密连接。最后,由于角膜与外界环境直接接触,因此,要求上皮层对伤害要有快速反应的能力。

上皮细胞分为三种:表层细胞(superficial cells)、翼状细胞(wing cells)和基底细胞(basal cells)。在基底细胞和翼状细胞间偶尔可见淋巴细胞及吞噬细胞。

(1) 表层细胞。是3~4层扁平鳞状上皮细胞,细胞长约45 μm ,厚约4 μm 。最外层的顶层细胞有微皱褶及微绒毛,微绒毛高为0.5~1.0 μm ,粗约0.5 μm ,微皱褶高0.5 μm ,粗0.5 μm ,形成嵴状的折叠,造成横断面切片规则的波浪状外观。微绒毛及微皱褶是表面上皮细胞正常结构的一部分,对角膜前泪膜的维持起到重要作用。角膜表面的扫描电镜显示顶层细胞因散射极少的电子而呈现黑区,“黑色细胞”是眼表“最老的”细胞,它们的出现提示细胞即将脱落。而“年轻的”表层上皮颜色较亮。这种波动起伏的外观、特殊化的顶层细胞膜显示隆突的丝状多糖复合体。蛋白多糖复合体与水液层的粘蛋白相连,并且通过泪液层在眼表面散播。蛋白多糖复合体的主要成分是膜相关粘蛋白,利用分子技术发现粘蛋白表达在杯状细胞及角膜上皮表面,在微皱褶的顶部格外明显,起到维护眼表面泪膜的作用,它们的改变是导致玫瑰红染色中干燥斑形成的基础。对这些粘蛋白的表达调控的研究将有助于治疗干眼症和眼表角质化疾病的治疗。表层细胞的连接依靠粘连小带,较深的细胞曲折镶嵌,这些结构加强了上皮的屏障作用。

(2) 翼状细胞。中层的1~3层上皮细胞,为多角形,前面凸起,后面为凹面,侧

面有薄的翼状延伸,故被称为翼状细胞。翼状细胞的细胞核为长椭圆形,核质致密。细胞相互之间及与基底细胞之间为桥粒连接,细胞膜显示出明显的交错对插。

(3) 基底细胞。是一层单层的柱状细胞。角膜上皮具有自我更新能力,完全的上皮再生在 5~7 天完成。基底细胞是角膜上皮中有丝分裂活跃细胞,在有丝分裂后,其子代细胞保留在基底层,其他的子代细胞迁移至基底细胞层上。使用溴脱氧尿苷标记细胞可以观察到基底细胞的子代向顶部表层移动的现象。

基底细胞底部的细胞膜厚约 8 nm,其对侧有一层基底膜。底部细胞膜与基底膜之间有 11 nm 宽的间隙,沿底部细胞膜有许多半桥粒,从半桥粒发出微细的纤维,穿过间隙与基底膜相连接,甚至继续向深部延伸,进入前弹力层。上皮层的基底细胞与它各自的基底膜和其下基质通过一种锚状复合体相黏附,基底膜与后面的前弹力层混合在一起,界线不清楚。基底细胞黏附于基底膜及其下面的结缔组织基质,通过一系列被统称为锚状复合体的结构相关联,这些结构和基底膜是上皮基底细胞的产物。十字交叉的锚状纤维延伸入基底膜,穿过前弹力层前 1~2 μm ,形成复杂的网状结构,与胶原纤维相交织,这种网状结构用于维持上皮的基底膜相对于基质的稳定性。

或许为了保持角膜透明性的需要,所有角膜上皮的细胞层有相对稀疏的细胞浆性细胞器(如线粒体、高尔基体和内质网)的聚集。在所有细胞中,在外质网周围稀疏分布着线粒体和内质网,并且可见明显的高尔基体。在底部细胞,高尔基体位于细胞核上的明显位置。在鳞状上皮细胞层,显著的特征是高尔基池和小的、有包膜囊泡在大小和功能上与高尔基联合囊泡保持一致。

二、前弹力层

前弹力层(又称 Bowman's 膜)为无细胞层,由致密交织的胶原纤维和交联粘蛋白构成,随机排列成毡样基质。前弹力层位于上皮基底膜后面,厚为 8~14 μm 。用光镜观察是一层相当均匀的非细胞层,但通过电镜观察,该层是类似基质的特殊层,并非真正的膜,而是表层基质的致密层。该层不能再生,损坏后会成为不透明的疤痕组织。该层上有小孔,角膜神经由此到达上皮。该层主要分布有 I 型胶原纤维。前弹力层的胶原纤维比基质层细,排列松散且不规则,单条胶原纤维直径约 15 nm,从角膜缘拉伸到另一角膜缘,并且厚度逐渐减小,终止于角膜缘。根据超微结构的标准,认为前弹力层在胚胎时期由基质细胞分化而来,但也有研究认为上皮层有可能参与前弹力层的构成。前弹力层被破坏后不能再生。当角膜出现浅层缺损时,上皮修复较快,在其表面形成角膜小面,此时角膜透明。后期角膜小面逐渐被瘢痕组织填平,表面平整,角膜反而混浊。前弹力层功能不明,有学说假设其形成光滑、坚韧的基底,以维持上皮均匀性,并因此形成了适当的屈光力。其他学说提出无细胞层是避免角膜上皮细胞和基质细胞之间接触的必要结构,因为太靠近可导致基质细胞“活跃”,而形成不恰当的细胞外间质聚集。还有学说认为,前弹力层是在上皮-基质间互相作用下形成的,而且无特殊功能。准分子激光表面切削手术中,前弹力层受到破坏,可

能出现术后角膜雾状混浊,而 LASIK 术中前弹力层完整,术后角膜透明,其中前弹力层发挥了怎样的作用及作用机制如何,都还没有明确的认识。目前对于前弹力层的功能还没有确切的解释。

三、角膜基质

人角膜基质为中层结缔组织,厚约 $500\mu\text{m}$,占角膜厚度的 90%。它是任何个体中独一无二的,是所有结缔组织中高度机化、最透明的组织,除了作为光线通过的窗口外,围绕巩膜结缔组织的基质网构成了坚韧的结构,以维持眼压,并因此对光路有一定的调节作用。

角膜基质板层由胶原纤维组成,胶原纤维同向排列,集成扁平的纤维束,纤维束互相连合,形成规则的、扁平的纤维薄板。超微结构观察显示人角膜纤维板层数量为 200~250,每个板层均延伸整个角膜, $2\mu\text{m}$ 厚, $9\sim 260\mu\text{m}$ 宽。前 1/3 基质的薄层之间则为斜角排列,后部的薄板层形成规则的直角排列。这些纤维束中的每一胶原纤维直径为 $30\sim 35\text{ nm}$,较前弹力层的粗大。

基质层主要由基质成纤维细胞分泌而成,这些细胞通常位于角膜薄板层之间,形态非常扁平,从中央细胞体向各方延伸出许多长的分支,逐渐变细。这些分支的末端与邻近的细胞分支突起相连接,在连接部位往往有间隙,宽约 20 nm 。因此,基质细胞的两个细胞之间构成了网状结构。基质成纤维细胞胞浆中粗面内质网和高尔基体丰富,从而维持了成纤维细胞作为基质板层支持细胞和合成器的功能。但线粒体小且不多见。

角膜基质由角膜细胞及细胞外基质(extracellular matrix, ECM)构成。细胞外基质位于细胞外,是由不同的氨基酸组成的特殊的多肽序列蛋白,大体上可分为胶原、聚合蛋白多糖和其他糖蛋白三大类。胶原蛋白赋予细胞外基质抗牵拉张力;蛋白多糖则结合大量的水分,使组织具有弹性,可以缓冲碰撞与挤压;糖蛋白既有与细胞之间相互作用的能力与特性,又通过蛋白-蛋白之间的相互作用,影响细胞外基质的组装过程。

(1) 胶原。角膜中胶原占角膜干重的 70%。一个胶原分子中胶原肽链的胶原区域形成螺旋状结构,与另两个胶原分子聚集成三倍体螺旋,互相之间交叉相连,形成极强的强度和弹性。胶原类型是由多肽链决定的,多肽链存在于三倍体螺旋结构中。每个个体中不同的多肽链由不同的基因编码而成,含有不同的氨基酸序列。每一种胶原型包含 3 种多肽链,基于多肽链的组成成分,人类组织中有 21 种胶原型。

I 型胶原在人角膜主要分布于基质中,其次分布在上皮层和内皮层。I 型胶原占角膜胶原总量的 64%,起支架作用,它是保持机械张力的重要因素之一, I 型胶原的减少将会导致角膜的稳定性降低。

II 型胶原主要存在于角膜基质层,其次分布在前弹力层。II 型胶原的减少和增多,可干扰调节结缔组织中胶原束的组成。

Ⅲ型胶原在人角膜基质中只占有很小一部分,平滑肌、成纤维细胞可以合成Ⅲ型胶原。有人认为Ⅲ型胶原在人角膜中含量较低,其主要分布在角膜基质层,其次分布在上皮层和内皮层;但也有报道在人角膜中不含Ⅲ型胶原。这些检测结果的不同可能与抗原的暴露和检测方法有关。也有人证明,Ⅲ型胶原只出现在婴儿角膜中。

Ⅳ型胶原在正常情况下主要存在于基膜,由上皮来源的细胞合成表达,也可由某些间质细胞合成,构成基膜的网状支架,调节着细胞的分化和增殖。而细胞周围Ⅳ型胶原的出现,是细胞保持其形态学稳定性的特征。角膜组织中Ⅳ型胶原主要分布在前弹力层及后弹力层。

Ⅴ型胶原由角膜的成纤维细胞合成,它存在于Ⅰ型胶原组成的纤维中,为Ⅰ型胶原纤维形成支架。Ⅰ型、Ⅴ型胶原相互作用调节小纤维直径的大小,对角膜的透明性起重要作用。角膜组织中Ⅴ型胶原主要分布在上皮层、前弹力层,是纹状纤维的组成成分,在基膜和基质之间起着“桥梁”的作用。Ⅰ型、Ⅴ型胶原相互结合组成了一个异型的纤维帽覆盖Ⅴ型胶原的螺旋状抗原表位,这个表位可以抑制Ⅴ型胶原的特异性单克隆抗体结合,异型纤维与Ⅴ型胶原的相互作用提示它可能对于调节纤维的同一性起作用。

Ⅵ型胶原在角膜中含量丰富,分布在前弹力层、后弹力层和基质层,主要在基质层中表达,是纤维间基质的构成成分,并是胶原连接组织的主要成分,与角膜基质及细胞外基质蛋白均可发生作用,与细胞间质间黏附有关,并且与细胞外基质成分相互作用,包括胶原、透明质酸及蛋白多糖。作为一种结构蛋白,Ⅵ型胶原对于组织内部固定基底层间接触有重要作用,并可限制胶原原纤维向侧方移位,建立和维持合适的胶原原纤维间隙,从而维持角膜透明。

Ⅶ型胶原被认为是细胞间的和细胞-基质间的一种跨膜蛋白。它存在于正常角膜、圆锥角膜与疤痕角膜中。在正常人类角膜中,通过免疫定位的方法检测出Ⅶ型胶原主要分布在角膜上皮层中,其次分布于角膜基质层中。然而对于圆锥角膜,在前弹力层破裂的区域,上皮层中的Ⅶ型胶原减少,基质层中的Ⅶ型胶原呈现强免疫荧光表达。对于疤痕角膜,疤痕区域的基质层中的Ⅶ型胶原免疫荧光表达明显增强,而疤痕周围区域的荧光表达则有所减弱。

Ⅶ型胶原主要局限在正常角膜的基底细胞中,它的作用可能是将角膜上皮细胞相互黏合在一起及将它们与基底膜结合,同时,在角膜疤痕中的高表达表明它参与了角膜损伤的愈合过程。

角膜基质的独特性之一是胶原纤维的规则排列,这种排列决定了角膜透明性的维持及组织的力量。另一个独特性是胶原纤维的直径一致(30~35 nm),在其他组织中,胶原直径大而且不均一。胶原分子的合成及它们相交联形成胶原纤维需要一系列的变化过程。这些过程包括单个分子的羟基化和糖基化作用及随后的蛋白分解过程和交联。在多数其他组织,包括肌腱和巩膜,Ⅴ型胶原只占总胶原的2%~5%;在角膜中,Ⅴ型胶原却占总胶原的15%~20%。一些实验已经显示,Ⅴ型胶原和Ⅰ型胶原形成角膜中的异型胶原纤维,并且异型胶原纤维的直径大小被存在的Ⅴ型胶