

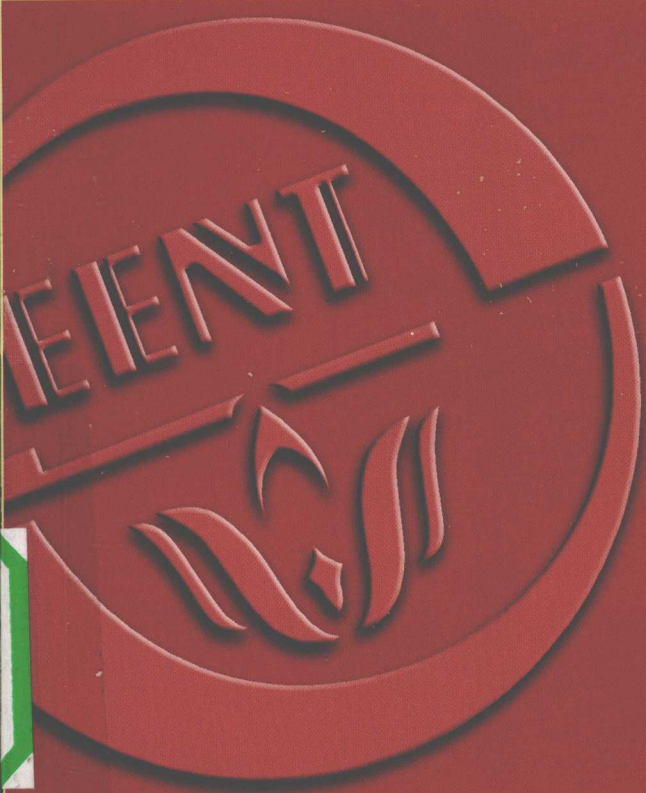
眼科新技术应用丛书

总主编 孙兴怀

眼表活体共聚焦显微镜

YANBIAO HUOTI GONGJUJIAO XIANWEIJING

主编 徐建江 乐琦骅



 复旦大学出版社
www.fudanpress.com.cn

眼科新技术应用丛书

总主编 孙兴怀

眼表活体共聚焦显微镜

主 编 徐建江 乐琦骅

副主编 洪佳旭

 复旦大学出版社

图书在版编目(CIP)数据

眼表活体共聚焦显微镜/徐建江,乐琦骅主编. —上海:
复旦大学出版社,2009.6
(眼科新技术应用丛书/孙兴怀总主编)
ISBN 978-7-309-06558-9

I. 眼… II. ①徐…②乐… III. 眼科检查-激光显微镜 IV. R770.41

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2009)第 041524 号

眼表活体共聚焦显微镜

徐建江 乐琦骅 主编

出版发行 复旦大学出版社 上海市国权路 579 号 邮编 200433
86-21-65642857(门市零售)
86-21-65100562(团体订购) 86-21-65109143(外埠邮购)
fupnet@fudanpress.com <http://www.fudanpress.com>

责任编辑 王龙妹

出品人 贺圣遂

印 刷 上海浦东东北联印刷厂
开 本 787 × 1092 1/16
印 张 16
字 数 200 千
版 次 2009 年 6 月第一版第一次印刷

书 号 ISBN 978-7-309-06558-9/R · 1079
定 价 100.00 元

如有印装质量问题,请向复旦大学出版社发行部调换。

版权所有 侵权必究

致 谢



感谢卫生部部属医院临床学科重点项目基金（2007~2009）、上海市市级医院新兴前沿技术联合攻关项目（SHDCI 2007104）及“985工程”生物医学创新平台的资助。

序

纵观目前国内外眼科学的进展，可以发现这些日新月异的变化，均不同程度地受益于各项关键技术和设备的创新突破。在探讨相关新理论、新知识、新认识的同时，如何根据我国实际状况适宜地引入国外新技术的应用？本着客观评价的态度，如何合理选择国际上的新设备来促进我国眼科事业的发展？对已购置眼科新设备的单位，怎样才能更快地熟练相关设备的操作技术并发挥其更大作用？针对这些与临床工作密切相关的问题，复旦大学附属眼耳鼻喉科医院眼科同仁们在充分引入、利用国际上最先进的眼科诊治技术和设备的基础上，通过不断认识、探索、实践及改进，经过大量的临床病例诊治应用，积累了极为丰富的临床资料，结合实际工作认真总结临床诊治经验，在国家重点学科“211”工程三期建设经费的支持下，精心组织编写了“眼科新技术应用丛书”这套系列专著。

“眼科新技术应用丛书”旨在反映当今全球临床眼科学发展趋势及其最新眼科疾病诊断、治疗新技术、新方法和新设备，定位于提高临床诊断、治疗水平，着眼于众多其他学科原理和技术与医学科学的密切结合，以及促进将医学科学研究转化为临床医学实际应用提供注重实用性的临床指导。此外，在借鉴国外经验的同时，还侧重交流了直接针对本国人群运用新技术的心得体会。

“眼科新技术应用丛书”共有10余本，包括《眼表活体共聚焦

显微镜》、《多焦视觉电生理》、《眼前节光学相干断层成像》、《眼后节光学相干断层成像》、《超声生物显微镜》、《眼底血管造影》、《视网膜神经纤维形态检测》、《角膜地形图》、《眼压测量》、《视野及微视野》、《眼科激光》、《眼激光动力学》等。相信这套丛书的陆续出版，将受到广大眼科工作者的欢迎，并给我国眼科界带来新的气息。

当然，所有的新鲜事物，都是相对和暂时的，唯有不断创新才会有可持续的发展。对于眼科理论和技术而言，也唯有通过丰富的临床应用才能得到不断完善。让我们共同努力，以创新的思维、务实的作风、积极的实践，为眼科学的繁荣做出更大的贡献。

孙兴怀

2009年4月

前言



眼表活体共聚焦显微镜是近年来出现的一种新型的高精密度、高放大倍率显微镜。作为一种临床实践性很强的辅助诊断设备，眼表活体共聚焦显微镜能对活体角膜及结膜组织进行无创、实时动态和四维（三维加时间）观察，并可观察各层组织之间的相互关系，因而得到临床医师及科研人员的广泛重视。它的出现使角膜病的活体组织形态学研究和诊断水平向前推进了一大步，被认为是目前临床上对角膜病研究最有价值的工具之一。然而，目前市场上尚无以国人资料出版的相关专著，特别是适于临床医师学习使用的图谱更是凤毛麟角。因此，在卫生部部属临床学科重点项目的资助下，我们汇总了近年来本院收集的患者资料及图片，着重对活体共聚焦显微镜在角膜和其他眼表疾病的诊断、治疗和随访中的应用，以图文并茂的方式介绍，适于医师及研究生使用。

出版一本内容丰富、高质量的专著并非易事，患者的眼球运动往往会使图像畸变，对图像质量造成很大的影响，加之书籍中还有其他一些不足之处，欢迎读者们予以批评指正。

本书在编写过程中得到复旦大学出版社领导的关怀和医院领导的支持，在此深表谢意。同时，对本书编者的辛苦付出也表示感谢。

徐建江

2009年2月于上海

目 录



第一章 共聚焦显微镜的发展历史和背景 /1

第二章 共聚焦显微镜简介 /5

一、组成结构 /5

二、类型 /5

三、检查方法 /9

四、适应证和禁忌证 /10

第三章 正常角膜和结膜在共聚焦显微镜下的表现 /13

第一节 角膜上皮层 /13

第二节 角膜前弹力层 /17

第三节 角膜基质层 /20

第四节 角膜后弹力层 /26

第五节 角膜内皮层 /27

第六节 角巩膜缘 /30

第七节 角膜测厚 /44

第八节 正常结膜 /47

第四章 共聚焦显微镜在角膜疾病中的应用 /61

第一节 共聚焦显微镜在感染性角膜疾病中的应用 /61

- 一、真菌性角膜炎 /61
- 二、棘阿米巴性角膜炎 /65
- 三、细菌性角膜炎 /67
- 四、单纯疱疹病毒性角膜炎 /70

第二节 共聚焦显微镜在穿透性角膜移植术后随访中的应用 /72

- 一、PKP术后情况的观察 /73
- 二、PKP术后移植排斥反应的表现和诊断 /80

第三节 共聚焦显微镜在成分角膜移植术后随访中的应用 /86

- 一、传统板层角膜移植术 /86
- 二、深板层角膜移植术 /91
- 三、深板层角膜内皮移植术及角膜后弹力层剥除
联合内皮移植术 /99
- 四、全板层角膜移植术 /111

第四节 共聚焦显微镜在角膜营养不良疾病中的应用 /119

- 一、Meesmann角膜营养不良 /119
- 二、上皮基底膜营养不良 /123
- 三、Reis-Buckler角膜营养不良 /129
- 四、颗粒状角膜营养不良 /133
- 五、格子状角膜营养不良 /135
- 六、Fuchs角膜内皮营养不良 /141
- 七、后部多形性角膜内皮营养不良 /145

第五节 共聚焦显微镜在角膜变性类疾病中的应用 /148

一、虹膜角膜内皮综合征 /148

二、圆锥角膜 /157

第六节 共聚焦显微镜在角膜内沉积物随访中的应用 /162

一、长期接触镜佩戴者 /162

二、角膜后沉着物 /165

三、角膜内硅油颗粒沉积 /167

第七节 共聚焦显微镜在角膜屈光手术中的应用 /173

一、手术后角膜修复过程的观察 /173

二、术后并发症的诊断 /180

第八节 共聚焦显微镜在其他角膜病中的应用 /184

一、干眼症 /184

二、眼类天疱疮 /187

三、Sjögren综合征 /190

四、类风湿关节炎伴发干眼病 /193

五、丝状角膜病变 /196

第五章 共聚焦显微镜在结膜疾病中的应用 /214

一、翼状胬肉 /214

二、眼表新生物 /218

三、青光眼滤过性手术后 /222

第六章 共聚焦显微镜在严重眼表化学伤中的应用 /228



第一章

共聚焦显微镜的发展历史和背景

1955 年, Marvin Minsky 等首先提出了共聚焦显微镜的概念, 并将其用于研究活体脑组织中的神经网络。它的原理是利用聚光镜将光线聚焦到神经组织的很小范围内, 同时将显微镜的物镜也准确聚焦在同一位置。由于聚光镜和物镜的焦点是相同的, 所以这种显微镜被称为共聚焦显微镜。此后, Wilson 和 Sheppard 等对其光学理论作了进一步的发展。1974 年, Maurice 首次将共聚焦光学理论应用于眼科领域, 其主要发明是角膜内皮镜原型。而后, Bourne 和 Koester 等对其作了进一步的改进, 并最终得到了可用于临床的角膜内皮镜。角膜内皮镜目前仍在眼库、眼科辅助检查等临床实践中广泛应用。但是, 角膜内皮镜也有缺点。由于角膜内皮镜使用较宽的扫描裂隙检测器($500\ \mu\text{m}$)代替衍射限制的点状($20\ \mu\text{m}$)或裂隙状光源, 并且光线被物镜分为两条路径(入射光/检测器), 所以这种仪器虽然可以获得较大范围内的图像, 但是图像的水平 and 轴向分辨率比使用相同有效光圈数量物镜的共聚焦显微镜要小得多。

1994 年, Master 和 Thaer 等报道的可用于对活体角膜进行可变裂隙、实时、非接触型观察的角膜共聚焦显微镜具有里程碑式的意义。经过 10 余年的发展, 目前, 眼科临床型共聚焦显微镜已发展得比较成熟,



在角膜的病理、生理、创伤愈合及疾病诊断方面都具备以往其他检查设备无可比拟的优势。

现代临床中应用于角膜成像的共聚焦显微镜是将点状或裂隙状(即光的衍射极限)光源,聚焦到活体角膜很小的一个体积范围内,同时使用一个共聚焦的点状(小孔)或者裂隙状探测器来接受信号(图 1-1)。与此同时,经过光学校准可以排除或减少物镜所确定的聚焦平面(或体积)以上或以下的离焦反射信号,从而使得横断面(x 、 y 轴)和轴向(z 轴)的分辨率和对比度均有明显提高(图 1-2)。尽管聚焦区域内的分辨

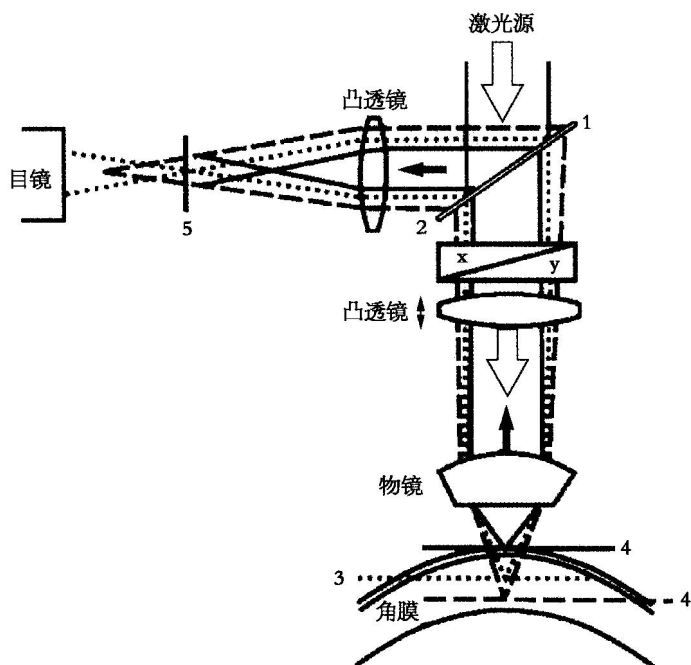


图 1-1 共聚焦显微镜成像原理

注:激光光束通过一个光扫描装置(2)和一个凸透镜后聚焦在角膜表面上,然后光线从角膜表面反射,通过光线分离器(1)聚焦在目镜上。如果光线聚焦在角膜基质内(3),则反射到目镜的图像需要通过一个小孔镜(5)进行聚焦。如光线在物镜焦距以外的范围(4),则图像不能在目镜上成像

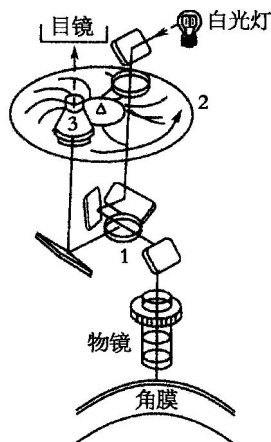


图 1-2 共聚焦显微镜裂隙扫描成像过程

注：光线通过一个带有很多小孔镜的 Nipkow 旋转盘(2)后，经物镜聚焦在观察的样本上，反射光线直接被一个光分离器(1)反射到 Nipkow 盘的另一侧相同孔径内(3)，并聚焦在目镜上

率获得明显提高，但是每个点状或裂隙状光源探测器每次观察到的聚焦区域也仅仅是角膜的很小一部分，所以仪器必须通过快速扫描以获得更大的观察野，以利于从整体上对角膜进行观察。上述过程的实现有赖于照明装置和检测装置的同步运动。值得一提的是，操作者在角膜上通过沿 z 轴方向改变光源和检测器的聚焦平面，不需要移动就可获得非侵袭性观察角膜光学切面。这种情况使得操作者能在足够大的放大倍数下原位观察角膜的正常结构及其病理生理过程，实现对细胞和亚细胞结构进行四维动态观察(x 、 y 、 z 轴和时间)。

目前应用于眼科临床的共聚焦显微镜均属于实时、无创的裂隙光扫描共聚焦显微镜。与早期的共聚焦显微镜相比，有两大明显的优势：① 通过连续调整裂隙，从而调节焦点在 z 轴的深度，可以使信噪比达到最大，从而保证组织深度增加时光学切面影像仍有较高的对比度；② 使用裂隙光源可得到较强的信号，当联合使用有效光圈数较高



的物镜时,可通过调整裂隙连续获得共聚焦点,进而得到高清晰度的视频影像。由此,共聚焦显微镜可以实现对活体组织超微结构的无创性观察。

(乐琦骅 洪佳旭 孙兴怀)

参 考 文 献

1. Bourne WM, McCarey BE, Kaufman HE. Clinical specular microscopy. Trans Am Acad Ophthalmol Otdaryngol, 1976, 81:743~753
2. Cavanagh HD, Jester JV, Essepian J, et al. Confocal microscopy of the living eye. CLAO J, 1990, 16:65~73
3. Jester JV, Andrews PM, Petroll WM, et al. In vivo, real-time confocal imaging. J Electron Microsc Tech, 1991, 18(1):50~60
4. Koester CJ. Scanning mirror microscope with optical sectioning characteristics: applications in ophthalmology. Appl Optics, 1980, 19:1749~1757
5. Master BR, Thaer AA. Real-time scanning slit confocal microscopy of the in vivo human cornea. Appl Optics, 1994, 33:695~701
6. Maurice DM. A scanning slit optical microscopy. Invest Ophthalmol Vis Sci, 1974, 13:1033~1037
7. Minsky M. Memoir on inventing the confocal scanning microscope. Scanning, 1988, 10:128~138
8. Petroll WM, Jester JV, Cavanagh HD. In vivo confocal imaging: general principles and applications. Scanning, 1994, 16(3):131~149
9. Wilson T, Sheppard C. Theory and practice of scanning optical microscopy. London: Academic Press, 1984



第二章

共聚焦显微镜简介

一、组成结构

共聚焦显微镜主要由三大部分组成。

1. 主机 由一个一维的扫描裂隙装置和一个与图像光路相一致的物体聚焦盘组成,可在一维的光切面上做三维的点状分层扫描。

2. 光学传输系统 用于将连续的光扫描信号同步传输到计算机屏幕上显示,并将信号储存在计算机硬盘内。

3. 计算机分析系统 通过系统自带的分析软件,可对记录在电脑内的图像进行分析。一般来说,不同厂商生产的共聚焦显微镜均带有厂商自主研发的分析软件,彼此之间不能互相通用或兼容。

二、类型

根据使用光源的不同,目前临床上常用的眼科用共聚焦显微镜可分为两大类。

1. 以卤素灯为光源的眼科用共聚焦显微镜 目前市场上 NIDEK 公司生产的 Confoscan(CS)系列即属这一类型(图 2-1)。具有自动、半自动和手动 3 种不同的扫描模式。3 种模式均通过类似裂隙灯的手柄操作控制探头的前进和后退,易被眼科医师熟悉和接受(图 2-2)。以自



动模式为例,每次扫描可完成对角膜全层组织的来回 2 次扫描,扫描间隔固定为 $1.5\ \mu\text{m}$,共可获得 350 幅连续动态图像。一旦扫描启动,探头自动前进和后退,无需操作者再进行调节,所以操作方便、简单易学。



图 2-1 NIDEK 公司生产的 CS3 共聚焦显微镜外观

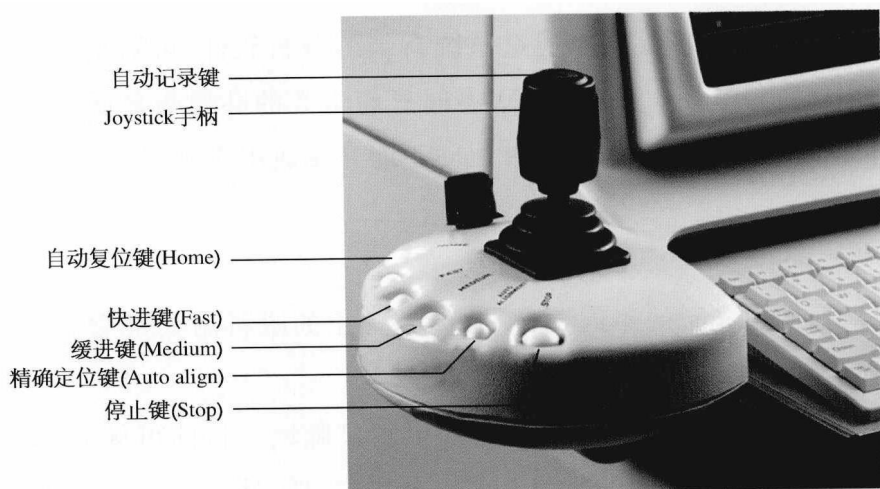


图 2-2 CS3 共聚焦显微镜的控制面板和手柄按钮分布图

此外,CS 系列还配有 Z-scan 模式,可对不同部位的组织或病变进行深度定位。除了操作简单、模式多样外,这一类型的共聚焦显微镜还具有许多优点,如放大倍率高达 1 000 倍,最佳分辨精度可达 $1\mu\text{m}$;它的探头以凝胶为介质,与角膜表面保持约 1.98 mm 的安全距离,并不直接与角膜表面接触(图 2-3,2-4),无创伤性,易被患者接受;部分高端产品还配有注视光源,容易控制患者眼位,使患者更好地配合检查。它的缺点是,由于以卤素光为光源,因此光源的穿透力有限,更适用于对透明角膜的观察;在角膜水肿、混浊较明显的情况下,由于光线大多在浅层组织被反射或散射,难以到达深层组织,因此深层组织不能较好显影。此外,每次检查完毕镜头表面仅能使用 75%乙醇擦拭消毒,故有发生医源性交叉感染的可能。

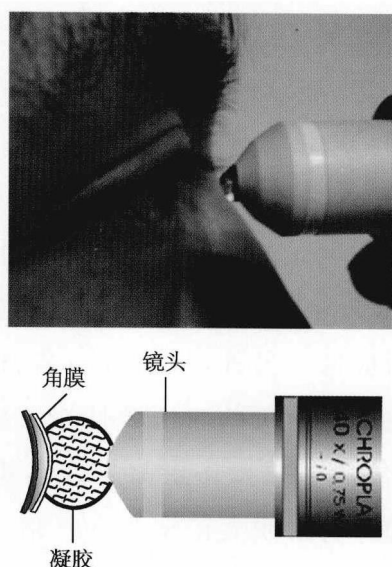


图 2-3 共聚焦显微镜检查示意图

注:CS 系列共聚焦显微镜进行检查时,镜头与角膜表面不直接接触,以凝胶作为介质