

DCD 角膜移植术后角膜内皮细胞与排斥反应的相关性分析

曹倩, 李兰, 李云川, 李勇, 梁毓琳, 董洁, 徐晓莉, 邹莹, 范雅馨, 孔令宇

基金项目: 昆明市科技局计划重点项目 (No. 2014-04-A-S-02-2091)

作者单位: (650000) 中国云南省昆明市第一人民医院甘美医院眼科

作者简介: 曹倩, 女, 硕士研究生, 主治医师, 研究方向: 眼表疾病及角膜移植、青光眼、眼整形。

通讯作者: 李兰, 女, 硕士研究生, 博士研究生导师, 主任医师, 昆明市第一人民医院副院长, 研究方向: 眼表疾病、角膜移植、小儿眼科. 641106144@qq.com

收稿日期: 2017-07-26 修回日期: 2017-11-28

Correlation analysis of reject reaction and corneal endothelial cells after penetrating keratoplasty from donation after cardiac death

Qian Cao, Lan Li, Yun-Chuan Li, Yong Li, Yu-Lin Liang, Jie Dong, Xiao-Li Xu, Ying Zou, Ya-Xin Fan, Ling-Yu Kong

Foundation item: Key Plan Project of Kunming Science and Technology Bureau (No. 2014-04-A-S-02-2091)

Department of Ophthalmology, Calmette Hospital of First People's Hospital of Kunming, Kunming 650000, Yunnan Province, China

Correspondence to: Lan Li. Department of Ophthalmology, Calmette Hospital of First People's Hospital of Kunming, Kunming 650000, Yunnan Province, China. 641106144@qq.com

Received: 2017-07-26 Accepted: 2017-11-28

Abstract

• **AIM:** To study the relativity between reject reaction from donation after cardiac death (DCD) and corneal endothelial cell source of corneal graft after penetrating keratoplasty.

• **METHODS:** Totally 28 cases of corneal graft rejection after penetrating keratoplasty with cardiac death donor cornea were analyzed using corneal endothelial microscope at less than 1mo, 2-3mo, 4-6mo, 7-12mo after operation.

• **RESULTS:** Coefficient variation of corneal endothelial cell of the 28 cases at less than 1mo, 2-3mo, 4-6mo and 7-12mo were 38.23%, 49.56%, 57.18%, 65.04%. Corneal endothelial cell density were 2071.15 ± 311.47, 1771.33 ± 348.18, 1626.59 ± 353.92, 1553.14 ± 307.31. The coefficient variation of corneal endothelial cells was positively correlated with rejection ($r = 0.95, P < 0.05$). The postoperative corneal endothelial cell density was negatively correlated with rejection ($r = -0.93, P < 0.05$).

• **CONCLUSION:** The corneal endothelial cell coefficient variation increased gradually and the corneal endothelial cell density decreased gradually after DCD corneal allograft rejection. Corneal endothelial cell coefficient variation and corneal endothelial cell density can be used as indicators of early detection of postoperative rejection.

• **KEYWORDS:** donation after cardiac death; penetrating keratoplasty; reject reaction; corneal endothelial cell density; corneal endothelial cell mutation rate

Citation: Cao Q, Li L, Li YC, et al. Correlation analysis of reject reaction and corneal endothelial cells after penetrating keratoplasty from donation after cardiac death. *Guoji Yanke Zazhi* 2018;18(1): 147-149

摘要

目的: 探讨心脏死亡供体器官捐献 (donation after cardiac death, DCD) 来源角膜植片术后排斥反应与角膜内皮细胞的相关性。

方法: 用角膜内皮显微镜对心脏死亡供体来源角膜植片行穿透性角膜移植术后发生排斥反应的 28 例 28 眼角膜植片分别于术后 <1、2~3、4~6、7~12mo 行角膜内皮镜检查。

结果: 28 例患者术后 <1、2~3、4~6、7~12mo 的角膜内皮细胞变异系数分别为 38.23%、49.56%、57.18%、65.04%; 角膜内皮细胞密度分别为 2071.15 ± 311.47、1771.33 ± 348.18、1626.59 ± 353.92、1553.14 ± 307.31 个/mm²; 角膜内皮细胞变异系数与排斥反应呈正相关关系 ($r = 0.95, P < 0.05$); 术后角膜内皮细胞密度与排斥反应呈负相关关系 ($r = -0.93, P < 0.05$)。

结论: DCD 穿透性角膜移植术后发生排斥反应时有角膜内皮细胞变异系数逐步增高, 角膜内皮细胞密度逐步降低的趋势; 角膜内皮细胞变异系数、角膜内皮细胞密度可作为早期检测术后排斥反应的指标。

关键词: 心脏死亡供体器官捐献; 角膜移植; 排斥反应; 角膜内皮细胞密度; 角膜内皮细胞变异率

DOI: 10.3980/j.issn.1672-5123.2018.1.36

引用: 曹倩, 李兰, 李云川, 等. DCD 角膜移植术后角膜内皮细胞与排斥反应的相关性分析. *国际眼科杂志* 2018;18(1): 147-149

0 引言

我国是世界上盲人最多的国家之一 (双眼盲人达 600~900 万), 约 400 万角膜盲患者亟待手术^[1-2], 而且每年以 10% 比率增加。目前角膜移植手术是角膜盲患者复明的唯一方式^[2], 但每年角膜移植手术却不足万例^[3]。角

膜植片严重缺乏是阻碍角膜移植手术发展的瓶颈。我国自2015-01-01起全面停止使用死刑犯作为移植器官来源,公民逝世后自愿捐献器官将成为尸供器官的唯一来源,心脏死亡器官捐献(donation after cardiac death, DCD)供体角膜成为角膜植片的主要来源。我院是云南省开展角膜移植例数最多的医院,自我院开展DCD角膜移植术后,很大程度上缓解了我省角膜移植材料短缺的问题,也提高了我省角膜盲的角膜移植手术率。但角膜移植术后免疫排斥仍是手术失败的主要原因^[4]。即使部分较好DCD角膜材料来源受术者也会在术后早期(术后3mo)出现急性角膜排斥反应,眼前房相关免疫偏离(ACAID)消失,免疫反应不被赦免,进而发生迟发型超敏反应^[5-7],而存在移植失败的潜在可能。角膜内皮细胞对于角膜植片的透明及正常功能的维持起着决定性作用。研究穿透性角膜移植术后发生排斥反应时移植片内皮细胞的变化对判断手术预后及对于检测早期排斥反应指标的选择有重要的临床意义。对移植片内皮细胞密度、细胞大小和形态的研究结果已早有报道,但对DCD供眼角膜移植术后发生排斥反应时角膜内皮细胞变异系数、角膜内皮细胞丢失率与排斥反应的相关性目前尚无相关报道。我院自2014-01-01/2017-06-30共行DCD供体来源穿透性角膜移植手术191例191眼,其中48例48眼发生排斥反应,排斥反应发生率为25.1%。48例48眼患者中有28例28眼患者角膜内皮镜检查可以检测出结果,现将我院28例28眼DCD穿透性角膜移植术后发生排斥反应的情况报告如下。

1 对象和方法

1.1 对象 选择2014-01-01/2017-06-30在我院接受DCD供体来源角膜移植术后发生排斥反应且有角膜内皮镜连续记录结果的患者28例28眼,男19例19眼,女9例9眼,年龄23~75(平均46±8)岁。原发病中角膜白斑15眼、角膜穿孔7眼、圆锥角膜1眼、角膜变性2眼、碱烧伤3眼。

1.2 方法 术前常规测视力、眼压、角膜地形图、泪膜破裂时间、角膜内皮镜、眼前段照相、眼部AB超、前节OCT、黄斑区OCT、VEP,术后定期测视力、眼压。裂隙灯下查移植片透明度、厚度及眼前段照相,查眼底排除眼底病对视力的影响。用角膜内皮显微镜检查角膜内皮形态、数量变化及角膜厚度、角膜内皮细胞变异系数、角膜内皮细胞丢失率。手术方法:所有供体角膜来源于DCD供体。从供眼球切取角膜巩膜片后放至角膜保存液,按常规操作把其内皮面向上放在角膜钻台上压切出植片,植床大小6.25~8.25mm,制作植片比植床大0.25~0.5mm,把植片内皮面朝向前房置于植床,创口用10-0缝线间断或连续缝合至水密状态。用BSS置换前房内黏弹剂并形成前房。术后处理:根据《我国角膜移植手术用药专家共识》2016版^[8]常规角膜移植手术后1~3d全身使用糖皮质激素。局部给药:术后早期通常使用中高浓度糖皮质激素,如10g/L醋酸泼尼松龙或地塞米松制剂,4~6次/d,睡前给予地塞米松眼膏。每月减量1次,减至2次/d,术后6mo改为1g/L,氟米龙眼液或醋酸泼尼松眼液1~2次/d。术后1wk左右观察角膜上皮完整时加用免疫抑制剂环孢素眼液或其他克莫司眼液2次/d,6mo后逐渐减量为1次/d,长期维持使用。

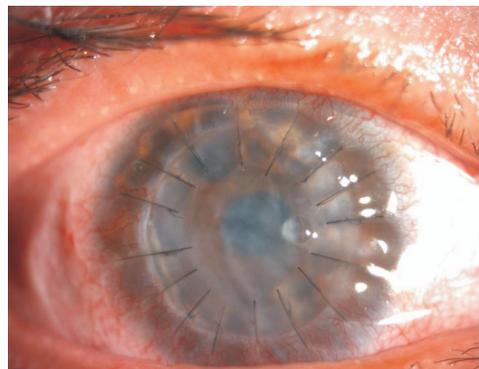


图1 DCD穿透性角膜移植术后2mo,角膜内皮型排斥反应(角膜植片水肿、混浊,内皮皱褶)。

统计学分析:采用统计软件包SPSS19.0对术后角膜内皮细胞变异系数、角膜内皮细胞丢失率与排斥反应发生率进行秩相关分析;不同时间段角膜内皮细胞变异系数用中位数(M)表示,直接进行比较;术后内皮细胞密度用 $\bar{x}\pm s$ 表示,不同时间段间采用单因素方差分析(one-way ANOVA),组间两两比较采用LSD-t法, $P<0.05$ 时差异有统计学意义。

2 结果

DCD角膜移植手术发生排斥反应28眼,发生排斥反应的原发病以角膜白斑和角膜穿孔为主,排斥反应类型有上皮型、基质型、内皮型排斥反应,内皮型排斥反应见图1。角膜移植术后1mo内,角膜内皮细胞变异系数为38.23%,排斥反应发生率为1.3%,角膜内皮细胞密度为 2071.15 ± 311.47 个/ mm^2 ;角膜移植术后2~3mo,角膜内皮细胞变异系数为49.56%,排斥反应发生率为3.8%,角膜内皮细胞密度为 1771.33 ± 348.18 个/ mm^2 ;角膜移植术后4~6mo,角膜内皮细胞变异系数为57.18%,排斥反应发生率为15.4%,角膜内皮细胞密度为 1626.59 ± 353.92 个/ mm^2 ;角膜移植术后7~12mo,角膜内皮细胞变异系数为65.04%,排斥反应发生率为23.6%,角膜内皮细胞密度为 1553.14 ± 307.31 个/ mm^2 。DCD供体角膜术后内皮细胞变异系数、排斥反应发生率各个时间段比较,<1mo最低,7~12mo最高,可认为随术后时间增加变异及排斥反应发生率增加,见图2、3。角膜内皮细胞变异系数与排斥反应呈正相关关系($r=0.95, P<0.05$)。DCD供体角膜术后内皮细胞密度随时间呈减少趋势,见图4。术后角膜内皮细胞密度与排斥反应呈负相关关系($r=-0.93, P<0.05$)。对术后各时间段角膜内皮细胞密度进行单因素方差分析($F=9.12, P<0.01$),各组间两两比较采用LSD-t法,<1mo与2~3mo比较差异有统计学意义($t=6.965, P=0.012$),<1mo与4~6mo比较差异有统计学意义($t=7.031, P=0.011$),<1mo与7~12mo比较差异有统计学意义($t=10.324, P<0.01$),2~3mo与4~6mo比较差异有统计学意义($t=7.025, P=0.010$),2~3mo与7~12mo比较差异有统计学意义($t=10.324, P<0.010$),4~6mo与7~12mo比较差异有统计学意义($t=4.303, P=0.021$)。

3 讨论

角膜内皮细胞层是由位于角膜最后面的单层六边形细胞镶嵌而成,主要靠缝隙连接,其屏障功能和生物泵功

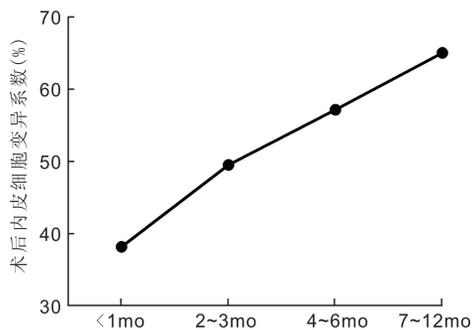


图2 术后不同时间段角膜内皮细胞变异系数的变化。

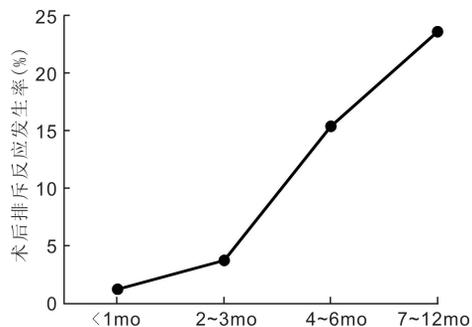


图3 术后不同时间段排斥反应的反生率。

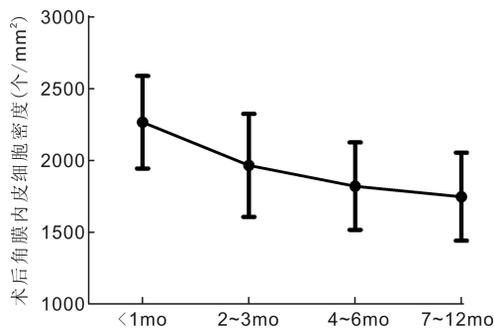


图4 角膜移植术后不同时间段角膜内皮细胞密度的改变。

能对角膜的透明性有着关键的作用。低氧、外伤、疾病或眼内手术等物理和化学因素极易损害角膜内皮细胞,导致角膜内皮细胞气泡形成、细胞大小、形态不一致、细胞内和细胞间异常结构出现以及数量缺失。因此角膜移植术后角膜内皮细胞的功能对角膜植片的透明程度影响重大。角膜移植后内皮细胞数量的损失与移植片的存活和透明度密切相关^[9-10]。

健康人的角膜内皮细胞随年龄增加的生理损失率约为0.6%,角膜移植术后即使没有发生排斥反应,术后1~3a角膜植片内皮细胞损失率约每年20%,角膜移植手术是导致角膜内皮细胞超生理下降的主要原因;角膜移植后免疫排斥反应过程中,内皮细胞层是炎性细胞和炎性因子攻击的最主要细胞。Sagoo等^[11]表明在角膜移植后的炎性微环境下,炎性细胞释放的炎性因子参与了诱导小鼠角膜内皮细胞凋亡的过程,有学者在角膜移植2wk后的小鼠中采用TUNEL法并结合共聚焦显微镜观察到植片内皮细胞的凋亡^[12-13]。此外,有研究表明供体角膜储存过程中内皮细胞的凋亡是内皮细胞丢失的主要原因,从而决定着角膜移植的成功与否^[14]。Albon等^[15]发现,在角膜保存过程中内皮细胞的数目和分布与角膜皱褶和角膜内皮细胞层的正常状态紧密相关。角膜内皮细胞受损后不可以再生,而是通过临近细胞的移行、扩大,进行修复;本研究发现发生排斥反应的角膜植片角膜内皮细胞密度显著降低,从而影响角膜内皮细胞发挥Na泵的功能,不能将基质

内的水分泵入前房引起角膜水肿,进而影响角膜植片的透明度,诱发基质型排斥反应。

本研究发现术后7~12mo,角膜内皮细胞变异系数增加至65.04%。角膜内皮细胞变异系数(平均内皮细胞面积的标准差/平均内皮细胞面积)直接反映内皮细胞大小不均的程度,预示角膜功能储备状况,是表示角膜内皮细胞稳定与否的敏感指标,正常情况下此值应<0.3,平均约为0.25^[16]。当角膜上皮或内皮受到化学、物理或各种辐射损伤时,角膜基质随之发生水肿,当上皮完全修复时,水肿很快消失,内皮损伤后果严重,内皮细胞广泛性的破坏可以引起明显的,有时是永久性的水肿。本研究发现角膜内皮细胞变异系数与术后排斥反应呈正相关关系,表明术后角膜内皮细胞的变异系数越高,发生排斥反应的几率越高。

综上所述,本研究发现DCD供体来源角膜植片行穿透性角膜移植术后发生排斥反应时角膜密度降低,变异率均有显著增加,可将该两项检查指标作为临床中观察评价早期角膜移植术后排斥反应的参考指标。但DCD角膜移植早期排斥反应时植片角膜内皮细胞功能失代偿的内皮细胞密度、变异率临界值还有待研究。

参考文献

- Pascolini D, Mariotti SP. Global estimates of visual impairment. 2010. *Br J Ophthalmol* 2012;96(5):614-618
- 潘志强,梁庆丰,重视角膜移植手术的供体材料问题. *中华眼科杂志* 2016;9(9):641-643
- 牟彦,赵敏. 世界眼库发展及角膜捐献现状. *中国实用眼科杂志* 2011;29(4):304-307
- Jonas JB, Rank RM, Budde WM. Immunologic graft rejection after allogeneic penetrating keratoplasty. *Am J Ophthalmol* 2002;133(4):437-443
- Jerry Y, Niederkorn D, Frank P. Immune privilege of corneal allografts. *Ocul Immunol Inflamm* 2010;18(3):162-171
- Jerry Y. Corneal transplantation and immune privilege. *Int Rev Immunol* 2013;32(1):57-67
- Chen WL, Chen YM, Chu HS, et al. Mechanisms controlling the effects of bevacizumab (avastin) on the inhibition of early but not late formed corneal neovascularization. *PLoS One* 2014;9(4):e94205
- 中华医学会眼科学分会角膜病学组. 我国角膜移植手术用药专家共识(2016年). *中华眼科杂志* 2016;52(10):733-737
- Sun JP, Hu FR, Chen YM, et al. Change of recipient corneal endothelial cells after non-descemet's stripping automated endothelial keratoplasty in a rabbit model. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2014;55(12):8467-8474
- Ishii N, Yamaguchi T, Yazu H, et al. Factors associated with graft survival and endothelial cell density after Descemet's strip - ping automated endothelial keratoplasty. *Sci Rep* 2016;28(6):252-276
- Sagoo P, Chan G, Larkin DFP, et al. Inflammatory cytokines induce apoptosis of corneal endothelium through nitric oxide. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004;45(11):3964-3973
- Barcia RN, Dana MR, Kaslauskas A. Corneal graft rejection is accompanied by apoptosis of the endothelium and is prevented by gene therapy with Bcl-xL. *Am J Transplantation* 2007;7(9):2082-2089
- Gruenert AK, Czugała M, Mueller C, et al. Self-complementary adeno-associated virus vectors improve transduction efficiency of corneal endothelial cells. *PLoS One* 2016;11(3):e0152589
- 耿雯雯,王婷. 细胞凋亡与角膜移植排斥和免疫耐受诱导的研究进展. *国际眼科纵览* 2016;40(5):352-356
- Albon J, Tullo AB, Aktar S, et al. Apoptosis in the endothelium of human corneas for transplantation. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000;41(10):2887-2893
- 刘家琦,李凤明,吴静安,等. *实用眼科学(第2版)*. 北京:人民卫生出版社 2005:250-251