

活体共焦显微镜在单纯疱疹病毒性角膜炎中的应用

赵波 综述 邓应平 审校

【摘要】 单纯疱疹病毒性角膜炎(HSK)是单眼致盲的首要感染因素,临床常用检查方式仅限于大体观察。活体共焦显微镜(IVCM)实现从细胞水平观察 HSK 活体角膜组织结构的细微变化,不仅为 HSK 的病理机制研究提供了进一步的临床证据,也为其临床预防、诊断、治疗、随访 HSK 提供了一种新的方法。回顾近年来应用 IVCM 对 HSK 进行临床观察获得的重要研究结果,就 IVCM 下 HSK 角膜各层结构的形态学改变、其特异性及 IVCM 在 HSK 诊治中应用的最新进展进行综述。

【关键词】 活体共焦显微镜; 单纯疱疹病毒性角膜炎; 上皮下神经丛

Research advance on application of *in vivo* confocal microscopy in herpes simplex keratitis Zhao Bo, Deng Yingping. Department of Ophthalmology, West China Hospital of Sichuan University, Chengdu 610041, China
Corresponding author: Deng Yingping, Email: dyp558@163. com

【Abstract】 Herpes simplex keratitis (HSK) is the first inflammatory cause for uniocular blindness. The clinical inspection methods commonly used are limited to general observation, while *in vivo* confocal microscopy (IVCM) can provide details of cellular changes in an intravitral HSK. IVCM not only gives more clinical evidence for pathology studying of HSK, but also serves as a new technology for the whole progress of HSK epidemiology. This article reviewed current researches of applying IVCM for HSK clinical observation and summarized these latest results. Morphological changes of each layer of the cornea, the specificity of these changes and clinical application of IVCM had been discussed in this article.

【Key words】 *In vivo* confocal microscopy; Herpes simplex keratitis; Subepithelial plexus

单纯疱疹病毒性角膜炎(herpes simplex keratitis, HSK)是由单纯疱疹病毒(herpes simplex virus, HSV)引起的一种严重致盲的感染性角膜病。HSV 在人群中感染率极高,HSV-1 血清抗体阳性率在不同国家和地区不同年龄的人群中可达 23% ~ 80%^[1]。HSV 在幼年原发感染时被机体迅速清除,剩余 HSV 可潜伏于三叉神经节、角膜基质和角膜内皮^[2-4],一定条件下再次活化,从三叉神经元移至上皮的神经纤维^[5],引起角膜炎。HSK 常单眼发病,病程迁延、反复。Holland 等^[6]和 Liesenberg^[7]根据 HSK 的临床特点将其分为 4 型:上皮型角膜炎、神经营养型角膜病、基质型角膜炎和内皮炎。临床诊断 HSK 主要依据病史和裂隙灯显微镜检查。就活体共焦显微镜(*in vivo* confocal microscopy, IVCM)在 HSK 的临床研究中,观察各层角膜组织细胞水平细微改变进行综述。

1 IVCM 下 HSK 角膜各层的形态特点

1.1 角膜上皮

在 IVCM 下可见 HSK 的角膜表层上皮细胞面积增大,形态

不规则,密度降低,高反光细胞比例增高,上皮基底层可见树枝状高反光物质聚集^[8-10]。Hamrah 等^[8]通过观察 32 例上皮型 HSK 患者发现,角膜表层上皮细胞面积增大,密度降低,高反光细胞比例增高。上皮基底层细胞和角膜基质细胞的改变不明显;同时还发现,角膜上皮下神经支配越少,角膜知觉减退越重,表层上皮细胞改变程度越大。有趣的是,将 HSK 对侧眼(单眼 HSK 患者的对侧健眼)与志愿者的正常角膜对比发现,HSK 对侧眼也存在上皮下神经的减少,但并未表现出角膜表层的形态改变和密度降低,该研究认为,角膜的神经支配对于维持完整的角膜上皮细胞数量和形态有重要作用,并通过计算得出维持完整角膜上皮和正常角膜知觉的神经纤维最低密度为 1 064 μm /视野。另一些研究的结果也证实神经细胞分泌的神经肽会影响角膜上皮的内环境稳态,进而影响细胞增生平衡,细胞形态和数量^[11-15]。Martone 等^[9]使用 IVCM 观察 1 例双眼活动期 HSK,裂隙灯显微镜检查发现双眼树枝状溃疡及角膜水肿,IVCM 下角膜损伤区周围的上皮细胞形态严重失真,损伤区内外聚集很多不规则的高反光沉积物,损伤区边缘可见线状高亮区。这些形态不规则、大小不一的高反光物质被认为是各类炎性细胞,如中性粒细胞、巨噬细胞、T 细胞等^[16-17]。出现在上皮基底层及上皮下神经纤维之间的树枝状高反光物质,推测是炎症活动相关的朗格汉斯细胞^[17-18],治疗 1 周后其数量

DOI:10. 3760/cma. j. issn. 2095-0160. 2015. 05. 018

作者单位:610041 成都,四川大学华西医院眼科

通信作者:邓应平,Email:dyp558@163. com

明显减少。

1.2 上皮下神经

目前的理论认为 HSV 初次感染后可潜伏于三叉神经节, 一定条件下可引起角膜炎再次发病。由于 HSV 嗜神经的特点, HSK 角膜神经损伤的观察十分关键。传统检查设备要在活体角膜上观察神经改变很困难, IVCN 能很好地解决这个问题。IVCM 观察到的 HSK 上皮下神经丛 (subepithelial plexus, SEP) 改变包括: 神经纤维密度 (每视野中神经的长度) 降低, 神经主干的分支数降低, 神经纤维直径变小, 可见弯曲或串珠样改变^[10,19-20]。神经纤维损伤在角膜炎发病后迅速发生, 并长期存在。

Rosenberg 等^[10]最早报道使用 IVCN 活体观察 HSK 角膜神经改变, 对比有 HSK 病史的眼及其对侧眼, 仅发现少数病例 SEP 有改变: 16 例 HSK 患者中有 3 例角膜的上皮下神经纤维比对侧眼减少, 2 例神经纤维缺失, 由此推测 HSV 造成的神经损害是永久性的。Hamrah 等^[19]使用 IVCN 观察了 31 例 HSK (7 例急性期上皮受累的 HSK 和 24 例发病时上皮和浅基质受累的稳定期 HSK)、25 例对侧健眼以及 15 名志愿者的正常双眼角膜。评估指标包括: (1) 单个视野内神经密度 (单个视野内神经纤维的总长度)。 (2) 每视野神经干数量。 (3) 神经干的分支数。 (4) 每视野神经总数 (神经干数量 + 神经干分支数)。 (5) 神经纤维弯曲度。 HSK 患者双眼均使用 Cochet-Bonnet 角膜知觉计测量角膜知觉, 分为正常 (>5.5 cm)、中度减弱 (>2.5 cm 且 ≤ 5.5 cm)、重度减弱 (≤ 2.5 cm) 3 个组。结果显示 HSK 角膜组及对侧眼组的神经数量比正常组均有下降。 HSK 角膜知觉程度不同的 3 个组, 对应的神经纤维数量也有明显差异, 但神经纤维弯曲度差异无统计学意义。 Hamrah 等^[19]将获得的结果进行定量回归分析发现, 神经密度低于 $835 \mu\text{m}/\text{视野}$ 时会引起角膜知觉异常 (≤ 5.5 cm), 而保持正常的角膜感觉 (>6.0 cm) 所需的最低神经密度约为 $1064 \mu\text{m}/\text{视野}$, 对侧眼的神经较正常组有明显损害, 但仍能维持正常角膜知觉功能。 这项结果支持了有关 HSV 逆神经轴突行至三叉神经节潜伏的论点。 Bastian 等^[2]和 Baringer 等^[3] 2 个团队猜测发病时 HSV 重新进入外周的途径可能是通过神经间吻合或者经由中脑三叉神经核传出的三叉神经节, 从而引起对侧眼神经丛损害而无临床表现。 通过比较急性期和稳定期 HSK 的 SEP, 损害程度无明显差别, 提示神经损害在发病后迅速发生, 随后长期存在。 另外研究者还发现年龄、复发次数、病程长短等因素也会对神经丛的密度和角膜知觉产生影响, 在排除年龄因素后, HSK 的角膜知觉减退与神经密度减少仍密切相关。 Nagasato 等^[20]基于 4 种临床分型^[6-7]使用 IVCN 观察了上皮型、基质型、内皮型 3 种 HSK 的 SEP 形态特点, 发现上皮型和基质型 2 个组的神经数量以及角膜知觉与正常组比较其下降程度明显大于内皮型下降的程度, 提示 HSV 的反复感染对 SEP 的损害在坏死性角膜基质炎中表现最严重; 内皮型 HSK 中的病毒更可能是来自睫状体或房水等其他途径。

1.3 角膜基质

HSV 引起基质受累的原因有很多^[6], 可以是病毒直接作用

或免疫反应所致损伤。一旦 HSK 累及基质, 即使炎症得到控制也都会影响视力。因此基质损伤情况的评估和监测对于 HSK 的治疗和预后判断有非常重要的作用。IVCM 观察基质层改变包括高反光基质细胞的比例增高^[9], 基质全层可有炎性细胞浸润, 但浅基质受累比例更高^[21-22]。使用 Z 轴扫描功能计算角膜各层反射度可有效评估 HSK 基质炎症情况, 并在长期随访中体现出很高的价值^[22]。Mocan 等^[21]根据文献^[23]的分型方法利用 IVCN 详细研究了 21 例急性期非上皮型 HSK 的基质炎症活动特点。IVCM 下可见一些较基质细胞小的圆形或树枝形细胞, 细胞核高反光并被一些微小的沉积物包绕。基质全层均可出现炎性细胞浸润, 但各型 HSK 浅层基质受累比例最高。炎性细胞在浅基质层聚集而在深基质层分布比较弥散, 且浅基质层的炎性灶与 SEP 直接相关或接近。这再次证实了 Ohara 等^[5]的理论: HSV-1 从三叉神经元移动至角膜基质的浅表神经分支进而引起角膜上皮感染, 在此过程中浅基质层通常会受累。一些炎症较重的角膜可见基质细胞高反光或缺失。

Hillenaar 等^[22]使用 IVCN 对基质型 HSK 患者角膜做 Z 轴扫描可获得角膜各层的反射度^[24-25], 角膜各层的炎症浸润越重, 反射度越高 (HSK 急性期角膜水肿可能干扰结果的变化趋势)。反射度的最高值多出现在角膜基质的前 1/3 层。活动期 HSK 的角膜反射度明显升高, 经过治疗, 1 年后随访角膜反射度较急性期虽有明显下降, 但仍然在正常范围以外。反射度测量具有很好的稳定性和敏感性, 一方面可用于 HSK 治疗方案选择的参考, 另一方面可结合裂隙灯显微镜检查在随访期间预测 HSK 复发。

1.4 角膜内皮

临床上观察到 HSK 中出现角膜后沉着物 (keratic precipitates, KP) 通常被认为是角膜内皮炎的证据^[6]。裂隙灯显微镜观察内皮情况常受到角膜基质水肿和混浊的影响。Hillenaar 等^[26]根据动物角膜研究的结果^[27-30], 设定 IVCN 下出现内皮滴状改变、细胞间隙增宽、炎性细胞浸润、细胞边界不清、点状空洞、内皮剥脱改变中的任意一种或多种即判断为内皮受累。通过观察 263 例 HSK 角膜、214 例对侧眼角膜、112 例健康角膜和 68 例其他角膜病的角膜 (包含感染性和非感染性) 共 4 个组的角膜内皮, 得出以下结论: (1) 内皮形态 除了内皮剥脱, 其他形态改变在抗病毒和抗炎治疗后 1~3 周缓解。不同临床分型的角膜炎有不同程度的内皮受累, 其中坏死性角膜基质炎内皮受累较轻, 但其比例仍有 21%, 单纯的内皮型角膜炎中内皮受累比例为 67%。3 例单纯内皮发病的角膜炎中有 2 例在 IVCN 下观察到内皮受累。内皮形态改变发生的原因: 内皮滴状改变、内皮细胞边缘不清以及细胞间隙增宽都是细胞内或细胞间水肿所致^[28,31-32], 在内皮层观察到的点状空洞是单个内皮细胞脱落的表现, 内皮剥脱则是更大面积内皮细胞丢失的情况, 浸润的炎性细胞被证实是单核细胞或中性粒细胞^[27,33-34]。(2) 内皮细胞密度 (endothelial cell density, ECD) 的改变 在首次和末次受访时测量各组角膜的 ECD, 将 HSK 角膜分为有内皮受累 A 组和无内皮受累表现的 B 组, 结果显示 HSK 角膜 ECD 比对侧眼明显减少; A 组治疗后内皮受累形

态特征已完全消失,但前后 2 次 ECD 测量减少的细胞数仍有 (201 ± 390) 个/ mm^2 ; A 组 ECD 下降对比 B 组、对侧角膜组、正常角膜组的 ECD 前后改变差异有统计学意义; B 组 ECD 下降与对侧角膜组、正常角膜组的 ECD 改变比较差异无统计学意义。将 ECD 下降的量换算成平均每年改变量也是相同的结果。可得出的结论是,即使内皮炎特征性形态改变得到缓解,角膜内皮的损害并不能完全缓解。

2 IVCM 下 HSK 角膜改变的特异性

IVCM 下观察 HSK 角膜的形态改变,发现 HSK 特征性改变较少。Hamrah 等^[8]研究发现上皮型 HSK 的角膜浅表上皮细胞面积增大、上皮细胞密度降低,但在干眼、干燥综合征也可以有类似表现^[35-37],高反光细胞比例增高亦可见于 Stevens-Johnson 综合征^[38]和翼状胬肉^[39]等眼表疾病。在上皮基底层、基质层以及内皮层观察到树枝状的朗格汉斯细胞和其他炎性细胞在正常角膜和其他角膜疾病中也可见到^[18,40]。上下神经支配的减少更是多种疾病,如干眼、神经营养性角膜病(neurotrophic keratopathy, NTK)的一种表现,甚至会随着年龄的增长而有生理性的减少^[20]。Hillenaar 等^[26]同时观察了其他角膜病的角膜内皮,发现使用 IVCM 鉴别感染性和非感染性因素所致角膜内皮改变是不可行的。对比巨细胞病毒感染特有的角膜内皮鹰眼样改变^[41-42],并未发现 IVCM 下 HSK 内皮改变具有特异性。Mocan 等^[21]分析 IVCM 下观察到的 4 种不同形态的 KP,也非 HSK 特有。

3 IVCM 的临床应用

3.1 评估病情

IVCM 能够在 HSK 临床表现出现前发现细胞的细微改变,及时预测病情变化,早期给予干预,预防严重并发症的发生。Hamrah 等^[8]根据角膜上皮改变与神经支配的关系,使用 IVCM 监测角膜上皮细胞形态和密度,进而推测角膜神经支配的情况,减少 HSK 或角膜穿孔、角膜溶解等严重 NTK 并发症的发生。IVCM 未发现 HSK 特异的内皮形态,但几种内皮形态改变可作为评价角膜炎性活动的指标^[26]。Hillenaar 等^[22]认为用 IVCM 的 Z 轴测量角膜反射度的方法,结合裂隙灯显微镜的检查可提高预测 HSK 复发的准确性。

3.2 指导治疗

糖皮质激素的使用已成为 HSK 治疗中的重要环节, Hillenaar 等^[26]认为使用 IVCM 监测 HSK 内皮改变情况,相应调整糖皮质激素的使用方案更合理。在板层角膜移植术前使用 IVCM 观察可疑为静止期 HSK 的内皮情况可防止术后复发。

3.3 优势和限制

IVCM 的高分辨率可以发现重要的细微改变,但 IVCM 高分辨率视野有限。IVCM 最多能观察角膜总面积的 0.14%^[26],研究过程中检查者容易发现角膜中心的改变而忽略角膜周边的改变。另外,IVCM 对操作人员的专业性要求较高,需要熟悉 IVCM 图像中正常角膜及变异的角膜形态才能正确鉴别^[40,43]。IVCM 在 HSK 应用领域有着广阔的发展前景,但 IVCM 目前仍

需要结合裂隙灯显微镜等传统方法完成临床检验工作。

4 展望

IVCM 检查结果是细胞水平的形态改变,要找到 HSV 感染角膜特有的形态学改变以及不同分型 HSK 的形态特点,还需要更多优秀的实验设计和临床观察结果及总结。毋庸置疑的是,IVCM 给临床医师提供了新的高度认识活体 HSK 的角膜环境,也为 HSK 发病机制的研究寻找到更多有力的证据。根据 2011 年中国《感染性角膜病临床诊疗专家共识》,HSK 的临床分型包括上皮型、基质型和内皮型。不同类型 HSK 的诊疗和转归各有其特点,临床诊疗决策仍由临床医师根据临床经验并结合裂隙灯显微镜观察结果决定。IVCM 提供分型的帮助可能有限,但有助于鉴别其他病原体感染以及确定 HSK 的治疗方案。相信随着技术的进步和认识水平的提高,IVCM 会在 HSK 病程中表现出更高的参考价值。

参考文献

- [1] Liesegang TJ. Herpes simplex virus epidemiology and ocular importance[J]. *Cornea*, 2001, 20(1): 1-13.
- [2] Bastian FO, Rabson AS, Yee CL, et al. Herpesvirus hominis: isolation from human trigeminal ganglion[J]. *Science*, 1972, 178(4058): 306-307. doi:10.1126/science.178.4058.306.
- [3] Baringer J, Swoveland P. Recovery of herpes-simplex virus from human trigeminal ganglions[J]. *N Engl J Med*, 1973, 288(13): 648-650. doi:10.1056/NEJM197303292881303.
- [4] 谢立信,史伟云. 角膜病学[M]. 北京:人民卫生出版社, 2007: 159-160.
- [5] Ohara PT, Chin MS, Lavail J. The spread of herpes simplex virus type 1 from trigeminal neurons to the murine cornea; an immunoelectron microscopy study[J]. *J Virol*, 2000, 74(10): 4776-4786. doi:10.1128/JVI.74.10.4776-4786.2000.
- [6] Holland EJ, Schwartz GS. Classification of herpes simplex virus keratitis[J]. *Cornea*, 1999, 18(2): 144-154.
- [7] Liesenberg TJ. Classification of herpes simplex virus keratitis and anterior uveitis[J]. *Cornea*, 1999, 18(2): 127-143.
- [8] Hamrah P, Sahin A, Dastjerdi MH, et al. Cellular changes of the corneal epithelium and stroma in herpes simplex keratitis: an in vivo confocal microscopy study[J]. *Ophthalmology*, 2012, 119(9): 1791-1797. doi:10.1016/j.ophtha.2012.03.005.
- [9] Martone G, Alegente M, Balestrazzi A, et al. In vivo confocal microscopy in bilateral herpetic keratitis: a case report[J]. *Eur J Ophthalmol*, 2008, 18(6): 994-997.
- [10] Rosenberg ME, Tervo TM, Müller LJ, et al. In vivo confocal microscopy after herpes keratitis[J]. *Cornea*, 2002, 21(3): 265-269.
- [11] Beuerman RW, Schimmelpfennig B. Sensory denervation of the rabbit cornea affects epithelial properties[J]. *Exp Neurol*, 1980, 69(1): 196-201.
- [12] Nakamura M, Chikama T, Nishida T. Synergistic effect with Phe-Gly-Leu-Met-NH₂ of the C-terminal of substance P and insulin-like growth factor-1 on epithelial wound healing of rabbit cornea[J]. *Br J Pharmacol*, 1999, 127(2): 489-497. doi:10.1038/sj.bjp.0702550.
- [13] Bonini S, Lambiase A, Rama P, et al. Topical treatment with nerve growth factor for neurotrophic keratitis[J]. *Ophthalmology*, 2000, 107(7): 1347-1351. doi:10.1016/S0161-6420(00)00163-9.
- [14] Lambiase A, Manni L, Bonini S, et al. Nerve growth factor promotes corneal healing: structural, biochemical, and molecular analyses of rat and human corneas[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2000, 41(5): 1063-1069.
- [15] Drucker DJ. Glucagon-like peptides: regulators of cell proliferation, differentiation, and apoptosis[J]. *Mol Endocrinol*, 2003, 17(2): 161-171. doi:10.1210/me.2002-0306.

- [16] Maertzdorf J, Verjans GM, Remeijer L, et al. Restricted T cell receptor beta-chain variable region protein use by cornea-derived CD4⁺ and CD8⁺ herpes simplex virus specific T cells in patients with herpetic stromal keratitis[J]. *J Infect Dis*, 2003, 187(4): 550-558. doi: 10.1086/367991.
- [17] Thiel MA, Bossart W, Bernauer W. Improved impression cytology techniques for the immunopathological diagnosis of superficial viral infections[J]. *Br J Ophthalmol*, 1997, 81(11): 984-988. doi: 10.1136/bjo.81.11.984.
- [18] Mastropasqua L, Nubile M, Lanzini M, et al. Epithelial dendritic cell distribution in normal and inflamed human cornea; in vivo confocal microscopy study[J]. *Am J Ophthalmol*, 2006, 142(5): 736-744. doi: 10.1016/j.ajo.2006.06.057.
- [19] Hamrah P, Cruzat A, Dastjerdi MH, et al. Corneal sensation and subbasal nerve alterations in patients with herpes simplex keratitis-an in vivo confocal microscopy study[J]. *Ophthalmology*, 2010, 117(10): 1930-1936. doi: 10.1016/j.ophtha.2010.07.010.
- [20] Nagasato D, Araki-Sasaki K, Kojima T, et al. Morphological changes of corneal subepithelial nerve plexus in different types of herpetic keratitis[J]. *Jpn J Ophthalmol*, 2011, 55(5): 444-450. doi: 10.1007/s10384-011-0068-5.
- [21] Mocan MC, Irkeç M, Mikropoulos DG, et al. In vivo confocal microscopic evaluation of the inflammatory response in non-epithelial herpes simplex keratitis[J]. *Corr Eye Res*, 2012, 37(12): 1099-1106. doi: 10.3109/02713683.2012.707270.
- [22] Hillenaar T, van Cleynebreugel H, Verjans GM, et al. Monitoring the inflammatory process in herpetic stromal keratitis; the role of in vivo confocal microscopy[J]. *Ophthalmology*, 2012, 119(6): 1102-1110. doi: 10.1016/j.ophtha.2011.12.002.
- [23] Khan BF, Pavan-Langston D. Clinical manifestations and treatment modalities in herpes simplex virus of the ocular anterior segment[J]. *Int Ophthalmol Clin*, 2004, 44(3): 103-133. doi: 10.1097/00004397-20040443-00012.
- [24] Hillenaar T, Cals RH, Eilers PH, et al. Normative database for corneal backscatter analysis by in vivo confocal microscopy[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2011, 52(10): 7274-7281. doi: 10.1167/iovs.11-7747.
- [25] Hillenaar T, Sicam VA, Vermeer KA, et al. Wide-range calibration of corneal backscatter analysis by in vivo confocal microscopy[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2011, 52(5): 2136-2146. doi: 10.1167/iovs.10-6314.
- [26] Hillenaar T, Weenen C, Wubbels RJ, et al. Endothelial involvement in herpes simplex virus keratitis; an in vivo confocal microscopy study[J]. *Ophthalmology*, 2009, 116(11): 2077-2086. doi: 10.1016/j.ophtha.2009.04.022.
- [27] Zheng X, Yamaguchi M, Goto T, et al. Experimental corneal endotheliitis in rabbit[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2000, 41(2): 377-385.
- [28] Nagy RM, McFall RC, Sery TW, et al. Scanning electron microscope study of herpes simplex virus experimental disciform keratitis[J]. *Br J Ophthalmol*, 1978, 62(12): 838-842.
- [29] Oh JO. Endothelial lesions of rabbit cornea produced by herpes simplex virus[J]. *Invest Ophthalmol*, 1970, 9(3): 196-205.
- [30] O'Brien WJ, Guy J, Taylor JL. Pathogenesis of corneal oedema associated with herpetic eye disease[J]. *Br J Ophthalmol*, 1990, 74(12): 723-730.
- [31] Krachmer JH, Schnitzer JI, Fratkin J. Cornea pseudoguttata: a clinical and histopathologic description of endothelial cell edema[J]. *Arch Ophthalmol*, 1981, 99(8): 1377-1381. doi: 10.1001/archophth.1981.03930020251007.
- [32] Slezak H, Grabner G, Stur M. Cornea pseudoguttata[J]. *Klin Monatsbl Augenheilkd*, 1983, 182(1): 7-9. doi: 10.1055/s-2008-1054697.
- [33] Sery TW, Nagy RM. Cellular reaction in experimental herpetic disciform keratitis[J]. *Am J Ophthalmol*, 1977, 84(5): 675-680.
- [34] Trinh L, Brignole-Baudouin F, Labbe A, et al. The corneal endothelium in an endotoxin-induced uveitis model; correlation between in vivo confocal microscopy and immunohistochemistry[J]. *Mol Vis*, 2008, 14: 1149-1156.
- [35] Benitez del Castillo JM, Wasfy MA, Fernandez C, et al. An in vivo confocal masked study on corneal epithelium and subbasal nerves in patients with dry eye[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2004, 45(9): 3030-3035. doi: 10.1167/iovs.04-0251.
- [36] Villani E, Galimberti D, Viola F, et al. The cornea in Sjögren's syndrome; an in vivo confocal study[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2007, 48(5): 2017-2022. doi: 10.1167/iovs.06-1129.
- [37] Erdelyi B, Kraak R, Zhivov A, et al. In vivo confocal laser scanning microscopy of the cornea in dry eye[J]. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 2007, 245(1): 39-44.
- [38] Vera LS, Gueudry J, Delcampe A, et al. In vivo confocal microscopic evaluation of corneal changes in chronic Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis[J]. *Cornea*, 2009, 28(4): 401-407. doi: 10.1097/IC.0b013e31818cd299.
- [39] Labbe A, Gheck L, Iordanidou V, et al. An in vivo confocal microscopy and impression cytology evaluation of pterygium activity[J]. *Cornea*, 2010, 29(4): 392-399. doi: 10.1097/ICO.0b013e3181bd44ce.
- [40] Niederer RL, McGhee CN. Clinical in vivo confocal microscopy of the human cornea in health and disease[J]. *Prog Retin Eye Res*, 2010, 29(1): 30-58. doi: 10.1016/j.preteyeres.2009.11.001.
- [41] Shiraishi A, Hara Y, Takahashi M, et al. Demonstration of "owl's eye" morphology by confocal microscopy in a patient with presumed cytomegalovirus corneal endotheliitis[J]. *Am J Ophthalmol*, 2007, 143(4): 715-717. doi: 10.1016/j.ajo.2006.11.026.
- [42] Kobayashi A, Yokogawa H, Higashide T, et al. Clinical significance of owl eye morphologic features by in vivo laser confocal microscopy in patients with cytomegalovirus corneal endotheliitis[J]. *Am J Ophthalmol*, 2012, 153(3): 445-453. doi: 10.1016/j.ajo.2011.07.026.
- [43] Hillenaar T, van Cleynebreugel H, Remeijer L. How normal is the transparent cornea? Effects of aging on corneal morphology[J]. *Ophthalmology*, 2012, 119(2): 241-248. doi: 10.1016/j.ophtha.2011.07.041.

(收稿日期: 2015-01-04)

(本文编辑: 尹卫靖 杜娟)

读者·作者·编者

本刊对一稿两投的处理

作者投稿请勿一稿两投或一稿多投。本刊编辑部发现一稿两投并经证实后,稿件将不予审理并对作者进行告知。如果发现一稿两用,本刊将做出如下处理:(1)在本刊杂志及网站上刊登撤销该论文及该文系重复发表的声明,并在中华医学会系列杂志上通报。(2)向作者所在单位和该领域内的其他科技期刊进行通报。(3)2年内拒绝发表其作为第一作者或通信作者的任何来稿。

文章未在公开发表物上发表者、以不同文字分别投往国外期刊和国内期刊以供不同受众者阅读者不属于一稿两投的行为,但本刊严格遵照国际医学期刊编辑委员会《国际生物医学期刊投稿统一要求》(http://www.icmje.org/urm_main.html),属于以不同语言文字二次发表者,请作者在首次接受稿件的期刊发表后1周再另行投稿,并请提供首次发表期刊同意以不同语言发表的同意函。

(本刊编辑部)