doi: 10.12419/2312260003
View this article at: https://dx.doi.org/10.12419/2312260003

·综述·

前弹力层 Inlay 和 Onlay 移植治疗晚期圆锥角膜的进展

郭林薪，蒋孟洋 综述，周春阳 审校

(成都中医药大学眼科学院，成都 610075)

[摘　要]　随着角膜疾病治疗技术的不断进步，前弹力层移植技术(包括Inlay和Onlay技术)已成为晚期圆锥角膜治疗的重要手段，能有效改善患者的角膜地形图和视力结果，稳定角膜扩张，提高患者的生活质量。该文综述了前弹力层移植技术的理论基础、移植物的来源与制备技术、手术技术、临床疗效以及相关并发症，为晚期圆锥角膜的治疗提供了新的视角。研究表明，这种先进的移植技术相较于传统方法，在减少手术风险、简化手术流程以及加快术后恢复方面具有明显优势，特别是在降低异体移植物排斥反应及手术并发症的风险上，前弹力层移植表现出色。Onlay技术作为一种近期开发的新方法，其独特优势是无需剖离角膜，更好地保护角膜结构。此外这种技术的高度适应性和可逆性，为患者提供了更多的治疗选择和更好的视觉恢复。尽管如此，技术细节如移植物的尺寸和形状定制、手术深度的最优化等方面仍需进一步研究和优化，以提高整体治疗效果。

[关键词]　前弹力层移植；角膜移植术；圆锥角膜；角膜地形图；疗效

引用本文：郭林薪, 蒋孟洋, 周春阳. 前弹力层Inlay和Onlay移植治疗晚期圆锥角膜的进展[J]. 眼科学报, 2023, 38(11): 764-769. doi: 10.12419/2312260003

Progress on the treatment of advanced keratoconus with bowman layer Inlay and Onlay transplantation

GUO Linxin, JIANG Mengyang, ZHOU Chunyang

(Eye College of Chengdu University of TCM, Chengdu 610075, China)

Abstract　With the continuous advancement of corneal disease treatment technology, Bowman layer transplantation (including Inlay and Onlay technology) has become an important means for the treatment of advanced progressive keratoconus,

收稿日期(Date of reception): 2023-12-26
通信作者(Corresponding author): 周春阳，Email: zhouchunyang@cdutcm.edu.cn
基金项目(Foundation item): 四川省中医药管理局科研项目(2021MS296)。This work was supported by Sichuan Province Pharmaceutical Administration Scientific Research Project, China(2021MS296).
作者贡献声明: 构思设计: 郭林薪; 行政支持: 周春阳; 提供研究材料: 郭林薪; 数据收集与汇总: 蒋孟洋; 数据分析与解读: 周春阳; 稿件撰写: 所有作者; 稿件最终修订与同意: 所有作者
Contributions: Conception and design: GUO Linxin; Administrative support: ZHOU Chunyang; Provision of study materials: GUO Linxin; Collection and assembly of data: JIANG Mengyang; Data analysis and interpretation: ZHOU Chunyang; Manuscript writing: All authors; Final approval of manuscript: All authors

电子全文

which can effectively improve the corneal topography and visual acuity of patients, stabilize corneal dilation, and improve the quality of life of patients. This article reviews the theoretical basis of Bowman layer transplantation, the source and preparation of grafts, surgical techniques, clinical efficacy, and related complications, which provides a new perspective for the treatment of advanced keratoconus. It is stated in the research that this advanced transplantation technique has significant advantages over traditional methods in reducing surgical risks, simplifying the surgical procedures, and improving postoperative recovery. Especially in reducing the risk of allograft rejection and surgical complications, the bowman layer transplantation performs excellently. As a novel developed method, Onlay technology has the unique advantage of eliminating the need to dissect the cornea, which better protects the corneal structure. In addition, due to the highly adaptable and reversible nature of this technique, it provides patients with more treatment options and better visual recovery. However, in terms of technical details such as customizing the size and shape of the transplant, optimizing the surgical depth, etc., it is needed to conduct further research and optimization to improve the overall treatment effect.

Keywords bowman layer transplantation; corneal transplantation; keratoconus; corneal topography;efficacy

Cite this article as: GUO Linxin, JIANG Mengyang, ZHOU Chunyang. Progress on the treatment of advanced keratoconus with bowman layer Inlay and Onlay transplantation[J]. Yan Ke Xue Bao, 2023, 38(11): 764-769. doi: 10.12419/2312260003

圆锥角膜(keratoconus,KC)是一种非炎症性疾病，其特征是角膜进行性变薄和锥形突出，导致不规则散光、视力受损。早中期圆锥通常是佩戴硬性隐形眼镜、角膜基质环植入术(intrastromal corneal ring implantation,ICRS)、角膜胶原交联手术(corneal collagen cross-linking,CXL)延缓圆锥角膜的进展。然而，由于角膜过度变薄(<400 μm)或变陡(角膜最大曲率>69 D)，不符合CXL或ICRS的条件。在圆锥角膜的晚期阶段，建议进行穿透性角膜移植术(penetrating keratoplasty,PK)或深板层角膜移植术(deep anterior lamellar keratoplasty,DALK)矫正。然而已有广泛报道，PK和DALK术后可能出现角膜散光严重、角膜切口不稳定、角膜排斥反应、缝合相关问题等并发症[1]，且需要长期随访管理。前弹力层移植(bowman layer transplantation,BLT)可以纠正和稳定角膜曲率，保证日常隐形眼镜的佩戴，保持最佳矫正视力，以推迟角膜移植。目前，BLT是进行性圆锥角膜晚期治疗的方案之一。

1 BLT相关理论基础

前弹力层是位于上皮基底膜后方和基质前方的无细胞和非再生层，由随机定向的胶原原纤维组成[2]。BLT被建议用于治疗和阻止圆锥角膜的进展，有以下原因：①KC的组织学检查中常见前弹力层的断裂或破坏[3]；②前弹力层植片表现出与周围受体角膜基质相似的硬度[4]，可能对维持角膜形状或强度很有价值；③前弹力层是无细胞角膜结构，同种异体移植排斥的风险极小。van Dijk等[5]推测供体前弹力层会将前角膜表面拉平，从而产生更均匀的表面形貌。通过前弹力层夹板、宿主基质和前弹力层移植物之间的伤口愈合反应，来获得长期的角膜稳定性。

然而，针对于前弹力层的生物力学功能尚具争议。Tong等[6]认为，前弹力层在维持角膜形状、保持角膜稳定性方面具有机械作用。但是Torres等[7]提出，前弹力层的存在与否并未显示角膜硬度的显著差异。

2 前弹力层移植物来源与制备技术

前弹力层移植物供体的来源可以是死后不到24 h的整个供体眼球(不适用于PK或角膜内皮移植术)，也可以是剥离后弹力层角膜内皮移植术(descemet membrane endothelial keratoplasty,DMEK)所需后弹力层和内皮层后的角膜前层。目前，安尼特兰眼库(荷兰鹿特丹)是唯一定期准备前弹力层移植物的眼库。

2.1 人工剖离法

人工剖离法通过从供体角膜的前基质人工剖离前弹力层来收获供体植片。它可以从安装在支架上的整个供体球体或安装在人工前房上的角巩膜边缘收

获[8]。该法依赖制备者的经验来识别所需手动力的细微差别，具有挑战性，报告的成功率为70.8%[9]。制备失败的原因有前弹力层组织撕裂(29.2%)、前弹力层植片过厚(2.7%)[10]。前弹力层植片附着部分前基质可能导致移植物-受体界面混浊，降低移植后的视觉质量。Son等[11]对比三种前弹力层剖离技术，发现使用Kelman-McPherson 镊和 Moorfield镊获取的植片厚度最薄，为18.7 μm，所有技术均未获得无前基质的纯前弹力层移植物。

2.2 飞秒激光辅助剖离法

飞秒激光制备移植物需将供体角巩膜边缘安装在人工前房上，激光设置切割90 μm厚、直径在8.3~9.3 mm之间的植片，应用激光后，去除植片的上皮[12]。与人工解剖移植物相比，飞秒激光植片含有较多角膜基质，并且激光设置切割最小厚度可能限制在90 μm，未来方向应该是进一步细化削薄组织，以获得更好的移植后视觉质量。

3 前弹力层Inlay移植

3.1 手术技术

3.1.1 人工解剖基质袋法

2014年“Inlay”技术首次被van Dijk等[5]应用于晚期圆锥角膜患者，即通过中基质前弹力层移植，使晚期圆锥角膜扁平强化的手术技术。于角膜缘的12点钟位置制作一个浅表巩膜切口，再利用空气内皮反射，用解剖刮刀在角膜中基质创建360°基质袋，随后将前弹力层滑动植入到基质袋中，展开居中。在薄而不规则的角膜中手动创建基质夹层具有挑战性，如果有角膜基质瘢痕或混浊的情况，难度将进一步提高。因此Tong等[13]在BLT术中应用前段光学相干断层扫描(intraoperative anterior segment optical coherence tomo-graphy, iAS-OCT)，该技术具有以下作用：基质瘢痕遮挡下显示夹层平面、检测多个错误解剖平面、确认植入物位置是否正确。关于前弹力层的植入技术，近年来已有报道[10]使用人工晶状体注射器将植片放置在基质内口袋中，该技术使用方法简单，且不接触角膜上皮表面，减少上皮细胞滞留在口袋中引起上皮向内生长、弥漫性层状角膜炎和感染的风险。

3.1.2 飞秒激光辅助解剖基质袋法

近年来，出现了在受体角膜中采用飞秒激光制作基质袋的新方法。使用飞秒激光制作一个受体角膜基质袋，激光设置为50° 角膜上周切口，基质袋直径比移植物大0.5 mm，深度为最薄基质的50%。解剖基质袋后，将植片插入、展开、居中并拉伸到受体角膜的周围。这可能是一种更快、可重复、更可预测的口袋创建，同时还可以降低基质穿孔的风险。在大多数的研究中[15-16]通过手动解剖和飞秒激光为前弹力层移植准备了50%的解剖深度。然而，在Mittal等[10,14]的研究中，基质袋在距离宿主角膜表面130 μm处，作者解释，移植物放在前基质中可以提供最大的强度，且避免飞秒能量传递靠近内皮。未来的研究可以在BLT期间使用飞秒激光尝试不同的基质内深度，以确定移植在安全性，生物相容性和有效性方面的最佳位置。

3.2 临床疗效

3.2.1 人工解剖基质袋前弹力层移植

角膜最大曲率是评估圆锥角膜的严重程度的重要指标。大多研究[15,17-18]表明BLT术后初始1个月平均角膜最大曲率下降7~8 D，之后长期保持稳定[15,19-21]，最长随访时间为8年，未见进一步变化[18]。

随着角膜手术的发展，研究者更加意识到角膜后散光在屈光结果中的重要性。Shah等[20]报道，11例行BLT手术的晚期圆锥角膜患者平均后表面曲率术后18个月较术前明显减少。Tourkmani等[22]研究发现5例患者术前至术后1年，平均后表面曲率、平均后角膜散光、平均后表面高度均没有显著变化。据Luceri等[23]报道，术前至术后1年角膜前后表面高阶像差(high-order aberrations,HOAs)均明显下降，在移植物被放置的角膜中央和后层，角膜后向散射值增加，可能是前弹力层移植物和宿主基质之间的界面不规则或折射率差异导致的。此外，一项研究[19]发现术后1年，相比于前角膜3 mm区域，Holladay报告中4.5 mm和6.0 mm区域角膜散光的减少更大，说明BLT术后可能集中在中央或中央旁角膜改变。

最薄点角膜厚度(thinnest corneal thickness,TCT)在术后早期通常增厚显著，之后长期保持稳定[18,20]。在一项研究中[15]，TCT术后前2年明显增加；在2~5年保持稳定；术后5年，中央角膜厚度(central corneal thickness,CCT)没有明显变化 。术后8年，CCT仍保持稳定[18]。

据Van Dijk等[15]报道，平均最佳球镜矫正视力(best spectacle-corrected visual acuity,BSCVA)在术后1年较术前初步改善，术后1~5年持续稳定；此外，Zygoura等[21]报道术后94%(16/17)的眼睛配戴巩膜镜片， 6%(1/17) 的

眼睛配戴混合隐形眼镜，均适应良好，术后5~7年内最佳角膜接触镜矫正视力(best contact lens corrected visual acuity,BCLVA)较术前没有变化。

3.2.2 飞秒激光辅助前弹力层移植(femtosecond laser-assisted bowman layer transplantation, FLABOLT)

飞秒激光用于从人眼库供体角膜产生包含前弹力层和前基质的移植物(bowman-stromal inlay,BSI)，并在宿主角膜中形成基质内袋。de Oteyza等[16]使用飞秒激光(VisuMax,Carl Zeiss Meditec AG)在中间基质(最薄点厚度的50%)创建一个0.50 mm的基质袋，术后3个月两例Ⅳ期KC患者的视力、角膜曲率、角膜厚度均较术前改善，并且可适应隐形眼镜。在一项45只眼行FLABOLT的研究中[12]，供体移植物制备和受体中基质袋的准确解剖的成功率分别为96% 和 100%；在(13.2 ± 4.9)个月的随访中，92%的眼睛没有出现进展。Mittal等[10]使用飞秒激光制作均匀厚度的BSI，术后没有看到角膜明显扁平化，但是术后增加的角膜厚度与BSI厚度一致。此外，Mittal等[14]也尝试同时使用飞秒激光和准分子激光将BSI定制为负透镜形状，目的是增加术后角膜扁平化的机会，术后1年视力及屈光度均改善，角膜最大曲率明显下降，但是实际CCT不达预期。

4 前弹力层Onlay移植

4.1 手术技术

为降低“Inlay”技术难度及术中并发症风险，“Onlay”技术运用到BLT，即角膜浅表应用前弹力层移植物，可促进其被更多角膜外科医生广泛采用。前弹力层Onlay移植手术步骤如下[24]：去除角膜上皮，如果有前间质瘢痕，则小心刮掉。将前弹力层移植物染色后，放置在前基质表面，即更自然的上皮下位置，干燥植片后，放置绷带镜。此技术对于角膜瘢痕患者具有优势，可在去上皮后行浅表角膜切除术。

4.2 临床疗效

2021年，Dapena等[24]初次将“Onlay”应用于晚期圆锥角膜患者以改善角膜前曲率，控制角膜扩张，观察到5例术眼术后2~3周内显示完全的再上皮化及移植物整合良好，术后1年角膜最大曲率明显减少，BSCVA改善，BCLVA保持稳定，所有眼睛完全耐受隐形眼镜。角膜前后像差，特别是角膜前表面的低阶像差均有改善，推测是由于植片放置于前表面基质。前弹力层Onlay移植用于治疗晚期圆锥角膜作为一种的新方法，目前只有上述研究结果可用，且样本数量不足，缺乏中长期的临床观察，还需进一步研究。此前有病例报道，“Onlay”技术用于治疗放射状角膜切开术后视力波动[25]、地图-点状-指纹状营养不良伴复发性角膜糜烂[26]、因疱疹性角膜炎而形成的前基质瘢痕[27]，以恢复角膜表面，均显示术后移植物再上皮化，前表面相对“平滑”或清晰度改善，证明该手术方式是安全、有效的。

5 结局和并发症

Kaplan-Meier分析可以估计前弹力层移植的成功概率，成功被定义为稳定(角膜曲率不再变陡)和无并发症。van Dijk等[15]报道Kaplan-Meier分析手术总体5年成功率约为84%；在另一项研究中[18]，Kaplan-Meier分析1组(术前角膜最大曲率＞69 D)5~8 年手术成功率为 85%，2组(术前角膜最大曲率＜69 D)5~7 年手术成功率为 75%。角膜穿孔是术中出现的并发症，Van Dijk等[17]报道，在手动解剖宿主口袋进行前弹力层移植期间，有 9% 的病例出现穿孔。术后3~6年可能出现急性角膜水肿，相关病例均出现特应性病史合并持续揉眼[15,21]，持续揉眼也被认为是诱发水肿的危险行为[18]。此外，前弹力层插入导致基质的减弱，可能使流体以“流体湖状低密度区域”或水肿的形式积聚。然而，有报道[28]称水肿可自发吸收。无菌性角膜坏死是BLT术后严重罕见的并发症，目前只有一篇病例报道[29]，推测可能是人工剖离角膜太深，妨碍葡萄糖和其他代谢物到达角膜上层，因此建议使用飞秒激光创建基质口袋，更加准确、安全。

6 结语

前弹力层移植，是一种完全的眼外和无缝线的手术，较DALK、PK或其他(板层)角膜移植技术更有优势。异体移植物排斥反应的风险极低，目前尚未报告同种异体移植排斥反应发作。因此，手术后局部皮质类固醇使用应减少，以降低白内障和眼压升高等并发症风险[15]。此外，供体组织得到更有效地使用，因为前弹力层移植物可以从不适用于PK、DALK或DMEK剩余角膜组织中剥离[8]。值得一提的是，“Onlay”技术不需剖离角膜，保护角膜结构。此外，该过程只需要切除宿主上皮细胞，如果结果不满意，可以随时移除移植物，以便探索其他选择。

从另一方面来看，“Inlay”技术在圆锥角膜中切割胶原纤维可能降低强度，增加扩张机会。然而，大部分病例未出现扩张，可能因前弹力层或BSI强化作用抵消了减弱效应。若随访中角膜恶化扩张，可进行角膜交联，因为BLT术后角膜厚度增加，对内皮更安全。

总之，前弹力层移植技术在手术便利性、无并发症、角膜地形图稳定、可预测的角膜增厚等方面有优势，同时为未来使用准分子激光进行视力康复和交联安全性提供条件。虽然该技术已经取得了一定的成功，但仍有改进空间，如确定理想的移植物直径和厚度、最佳基质袋深度，根据角膜地形定制移植物形状，将该技术与角膜交联相结合，以提高治疗效果。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

开放获取声明

本文适用于知识共享许可协议(Creative Commons)，允许第三方用户按照署名(BY)-非商业性使用(NC)-禁止演绎(ND)(CC BY-NC-ND)的方式共享，即允许第三方对本刊发表的文章进行复制、发行、展览、表演、放映、广播或通过信息网络向公众传播，但在这些过程中必须保留作者署名、仅限于非商业性目的、不得进行演绎创作。详情请访问：https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/。

参考文献

1. Parker JS, van Dijk K, Melles GRJ. Treatment options for advanced keratoconus: a re-view[J]. Surv Ophthalmol, 2015, 60(5): 459-480.
2. Tisdale AS, Spurr-Michaud SJ, Rodrigues M, et al. Development of the anchoring struc-tures of the epithelium in rabbit and human fetal corneas[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 1988, 29(5): 727-736.
3. Kim WJ, Rabinowitz YS, Meisler DM, et al. Keratocyte apoptosis associated with kerato-conus[J]. Exp Eye Res, 1999, 69(5): 475-481.
4. Coskunseven E, Kymionis GD, Tsiklis NS, et al. Complications of intrastromal corneal ring segment implantation using a femtosecond laser for channel creation: a survey of 850 eyes with keratoconus[J]. Acta Ophthalmol, 2011, 89(1): 54-57.
5. van Dijk K, Parker J, Tong CM, et al. Midstromal isolated Bowman layer graft for reduc-tion of advanced keratoconus: a technique to postpone penetrating or deep anterior lamellar keratoplasty[J]. JAMA Ophthalmol, 2014, 132(4): 495-501.
6. Tong CM, van Dijk K, Melles GRJ. Update on Bowman layer transplantation[J]. Curr Opin Ophthalmol, 2019, 30(4): 249-255.
7. Torres-Netto EA, Hafezi F, Spiru B, et al. Contribution of Bowman layer to corneal bio-mechanics[J]. J Cataract Refract Surg, 2021, 47(7): 927-932.
8. Groeneveld-van Beek EA, Parker J, Lie JT, et al. Donor tissue preparation for bowman layer transplantation[J]. Cornea, 2016, 35(12): 1499-1502.
9. Sharma B, Dubey A, Prakash G, et al. Bowman's layer transplantation: evidence to date[J]. Clin Ophthalmol, 2018, 12: 433-437.
10. Mittal V, Rathod D, Sehdev N. Bowman-stromal inlay using an intraocular lens injector for management of keratoconus[J]. J Cataract Refract Surg, 2021, 47(12): e49-e55.
11. Son HS, Moon L, Wang J, et al. Histological comparative analysis of bowman layer grafts procured using 3 different techniques[J]. Cornea, 2023, 42(7): 888-893.
12. Barbosa Gonçalves T, Forseto ADS, Martins AL, et al. Femtosecond laser-assisted Bow-man layer transplantation for advanced keratoconus[J]. Eur J Ophthalmol, 2022: 11206721221143163.
13. Tong CM, Parker JS, Dockery PW, et al. Use of intraoperative anterior segment optical coherence tomography for Bowman layer transplantation[J]. Acta Ophthalmol, 2019, 97(7): e1031-e1032.
14. Mittal V, Jain N, Pandya Y, et al. Customized bowman-stromal inlay: an attempt to change the topography of the keratoconus cornea[J]. Cornea, 2023, 42(6): 739-743.
15. van Dijk K, Parker JS, Baydoun L, et al. Bowman layer transplantation: 5-year results[J]. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol, 2018, 256(6): 1151-1158.
16. García de Oteyza G, González Dibildox LA, Vázquez-Romo KA, et al. Bowman layer transplantation using a femtosecond laser[J]. J Cataract Refract Surg, 2019, 45(3): 261-266.
17. van Dijk K, Liarakos VS, Parker J, et al. Bowman layer transplantation to reduce and sta-bilize progressive, advanced keratoconus[J]. Ophthalmology, 2015, 122(5): 909-917.
18. van der Star L, van Dijk K, Vasiliauskaitė I, et al. Long-term outcomes of bowman layer inlay transplantation for the treatment of progressive keratoconus[J]. Cornea, 2022, 41(9): 1150-1157.
19. Tourkmani AK, Mohammad T, McCance E, et al. One-year front versus central and pa-racentral corneal changes after bowman layer transplantation for keratoconus[J]. Cornea, 2022, 41(2): 165-170.
20. Shah Z, Hussain I, Borroni D, et al. Bowman's layer transplantation in advanced kerato-conus; 18-months outcomes[J]. Int Ophthalmol, 2022, 42(4): 1161-1173.

21. Zygoura V, Birbal RS, van Dijk K, et al. Validity of Bowman layer transplantation for ke-ratoconus: visual performance at 5-7 years[J]. Acta Ophthalmol, 2018, 96(7): e901-e902.
22. Tourkmani AK, Lyons C, Hossain PN, et al. 1 year posterior corneal changes after Bow-man Layer Transplant for keratoconus[J]. Eur J Ophthalmol, 2022, 32(3): 1370-1374.
23. Luceri S, Parker J, Dapena I, et al. Corneal densitometry and higher order aberrations after bowman layer transplantation: 1-year results[J]. Cornea, 2016, 35(7): 959-966.
24. Dapena I, van der Star L, Groeneveld-van Beek EA, et al. Bowman layer onlay grafting: proof-of-concept of a new technique to flatten corneal curvature and reduce progression in keratoconus[J]. Cornea, 2021, 40(12): 1561-1566.
25. Parker JS, Dockery PW, Parker JS, et al. Bowman layer onlay graft for reducing fluctua-tion in visual acuity after previous radial keratotomy[J]. Cornea, 2020, 39(10): 1303-1306.
26. Mulders-Al-Saady R, van der Star L, van Dijk K, et al. Bowman layer onlay graft for re-current corneal erosions in map-dot-fingerprint dystrophy[J]. Cornea, 2022, 41(8): 1062-1063.
27. Dapena I, Musayeva A, Dragnea DC, et al. Bowman layer onlay transplantation to man-age herpes corneal scar[J]. Cornea, 2020, 39(9): 1164-1166.
28. Musayeva A, Santander-García D, Quilendrino R, et al. Acute hydrops after bowman layer transplantation for keratoconus may indicate that descemet membrane rupture is secondary to hydrops[J]. Cornea, 2022, 41(12): 1512-1518.
29. Orive Bañuelos A, Santamaría Carro A, Feijóo Lera R, et al. Sterile corneal necrosis after bowman layer transplantation[J]. Eur J Ophthalmol, 2023, 33(4): 1558-1566.

（**责任编委**：林丽霞；**责任编辑**：李扬杵）