

·论著·临床研究·

小牛血去蛋白提取物眼凝胶治疗角膜上皮缺损的多中心临床研究

周世有 金涛 邹留河 张月琴 谢汉平 朱美玲 陈家祺

【摘要】目的 以碱性成纤维细胞生长因子滴眼液为阳性对照药物,通过随机、双盲的多中心平行对照临床试验,评价小牛血去蛋白提取物眼凝胶治疗角膜上皮缺损的疗效和安全性。**方法** 对外伤或手术所致角膜上皮缺损的 240 只眼进行随机双盲分组,试验组和对照组各 120 只眼。试验组用小牛血去蛋白提取物眼凝胶,对照组用碱性成纤维细胞生长因子滴眼液,每日 4 次,每次 1 滴,连续用药 2 周。用药后对患者的症状(疼痛、畏光和流泪)、体征(睫状或结膜充血、角膜缺损面积和角膜新生血管)和用药依从性等记录,每周检查至少两次,连续观察 2 周,并进行统计学分析。**结果** 此研究实际入选 239 只眼,试验组 120 只眼,对照组 119 只眼。其中角膜移植术后角膜上皮缺损 61 只眼,翼状胬肉术后角膜上皮缺损 106 只眼,玻璃体切割术后角膜上皮缺损 24 只眼,化学机械性角膜上皮损伤 36 只眼,其他病因导致的角膜上皮缺损 12 只眼。在试验过程中试验组脱落 3 例、对照组脱落 2 例。有 10/239 只眼滴用药物后出现一过性眼局部轻微的烧灼感或少许刺痛感,没有严重不良事件出现。从症状积分、体征积分和总积分的比较看,试验组和对照组治疗后的各项主观观指标均较前有明显改善,但各阶段两组间各指标改善程度比较其差异全部没有统计学意义。试验组的角膜上皮缺损修复的平均时间为 (5.03 ± 3.58) d,对照组为 (4.84 ± 2.87) d,试验组和对照组之间差异没有统计学意义($t=0.446, P=0.656$)。从疗效四级评分和综合有效率两个疗效综合评价指标进行 PP 和 ITT 分析,试验组和对照组间差异全部无统计学意义。**结论** 小牛血去蛋白提取物眼凝胶(每天 4 次点眼)治疗角膜上皮缺损的疗效和安全性与碱性成纤维细胞生长因子滴眼液相似,能迅速有效地帮助修复缺损的角膜上皮,疗效肯定,耐受性好,安全性高。

【关键词】 角膜上皮缺损;小牛血去蛋白提取物

Multicenter Clinical Trial on Protein-free Calf Blood Extract Eye Gel for Corneal Epithelial Defect

ZHOU Shi-you, JIN Tao, ZOU Liu-he, ZHANG Yue-lin, XIE Hah-ping, ZHU Mci-ling, CHEN Jia-qi. State Key Laboratory of Ophthalmology & Zhongshan Ophthalmic Center, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510060, China.

【Abstract】 Objective To evaluate the safety and effectiveness of protein-free calf blood extract eye gel for repairing corneal epithelial defect by multiple centers, double mask and randomized clinical study with parrel contrast of bFGF eye gel as positive control. **Methods** Two hundred forty eyes with corneal epithelial defect due to bumps or surgery were randomized into experimental and control groups, then protein-free calf blood extract eye gel and basic fibroblast growth factor (bFGF) eye gel were double maskly used for 2 weeks (q. i. d). Every patient was checked at least twice a week until the end of observation. The symptom and signs after drug administration has been recorded and analyzed statistically. **Results** 239 eyes (120 eyes in experimental group and 119 eyes in control group) were actually enrolled into the investigation. Among them, 61 eyes with corneal epithelial defect suffered from corneal transplantation, 106 eyes from pterygium excision, 24 eyes from corneal epithelial scraping during vitrectomy, 36 eyes from mechanical abrasion, and 12 eyes from other dis-

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1006-4443.2009.02.024

基金项目:广东省科技计划项目(编号:2007B031002010),中山大学临床医学研究 5010 计划(编号:2007034)

作者单位:510060 广州,中山大学中山眼科中心,中山大学眼科学国家重点实验室(周世有,陈家祺); 100730 北京,首都医科大学附属北京同仁医院(金涛 邹留河); 450003 郑州,河南省眼科研究所(张月琴); 400038 重庆,第三军医大学西南医院眼科(谢汉平); 230022 合肥,安徽医科大学附属第一医院眼科(朱美玲)

通信作者:陈家祺, Email: gdeyeb@mail.sysu.edu.cn

eases. During observation, 10 of 239 eyes have temporary mild burning and little pain after drug installation. There were no significant differences statistically in the symptoms, signs and effectiveness between experimental and control groups, though all the cases showed improved signs. The average time for fully corned epithelial repair in experimental group was (5.034 ± 3.58) days, but (4.84 ± 2.87) days in control group ($t=0.446, P=0.656$). **Conclusion** Protein-free calf blood extract eye gel (q.i.d) is safe and effective for repairing defective corneal epithelium as bFGF eye gel do.

【Key words】 Corneal epithelial defect; Protein-free calf blood extract

小牛血去蛋白提取物 (protein-free calf blood extract) 是从 1~6 个月检疫合格小牛的血液中通过超滤、浓缩等工艺纯化得到的生物活性物质, 是一种细胞呼吸激活剂, 主要含有小分子质量多肽、氨基酸、核苷酸等物质。其主要药理作用是增强细胞对氧和葡萄糖的摄取和利用, 增强 ATP 的合成, 促进营养物质的运送, 促进组织的修复和再生^[1]。其已经用于治疗脑代谢紊乱和脑供血不全的病人, 也可用于治疗各种病因引起的溃疡、损伤、褥疮以及整容、整形和矫形等外科手术^[2]。

小牛血去蛋白提取物和素高捷疗眼凝胶成分基本相同。素高捷疗眼凝胶在 20 世纪 80 年代中期进口我国, 临床用量较大, 疗效确切, 用于治疗角膜上皮损伤 (如化学烧伤、手术或机械造成的损伤)^[3]。但近年, 由于欧洲疯牛病的影响, 我国已经禁止进口素高捷疗眼凝胶。小牛血去蛋白提取物是否能和素高捷疗眼凝胶一样促进角膜上皮缺损的修复尚不清楚。

本研究的目的是, 就是拟通过随机双盲的多中心临床对比研究, 来验证小牛血去蛋白提取物眼凝胶是否能有效治疗角膜上皮缺损, 并评估其安全性。本临床试验遵循赫尔辛基宣言和中国临床试验研究规范 (GCP)。在本试验开始之前, 已经得到本试验研究组长单位中山大学医学伦理委员会的批准 (临床研究批件号: 2004L00900)。

资料和方法

1. 试验设计: 采用多中心、随机双盲、阳性药物平行对照临床试验。本研究采用多中心随机双盲的方法, 患者根据入选病例序号 (即试验药品编号见下表 1) 入组。由中山大学公共卫生学院医学统计与流行病学系进行随机分组, 根据生成的随机表将患者入选试验组和对照组各 120 例。具体分配任务见表 1。

2. 患者入选标准: 选择 18~65 岁、因外伤或手术 (如角膜移植、翼状胬肉、玻璃体切割术角膜上皮刮除或机械、化学伤等损伤) 所致角膜上皮缺损, 且泪液分泌功能正常的患者入选本研究。所有入选患者的角膜缘干细胞缺乏不得超过三分之一周的角膜缘

表 1 各单位病例分配和病例序列号

参加单位	病例数	随机序列号
广东中山眼科中心	60	1001-1050, 3001-3009, 3011
河南省眼科研究所	60	2001-2050, 3010, 3012-3020
北京同仁医院眼科	40	4001-4040
重庆西南医院	50	5001-5040, 3021-3030
安徽医大第一医院	30	6001-603

范围, 并且没有角膜内皮失代偿、眼睑闭合不全、严重葡萄膜炎等病变, 也不伴有明显的角膜基质病变者。妊娠期及哺乳期妇女、肾功能不全或免疫功能低下者、神经精神疾病及严重内分泌疾病患者以及过敏体质者均不进入本研究。同一病例由同一位医生负责观察记录; 双眼患者均选取右眼为试验眼。

3. 试验药品分配和给药方案: 将统一使用同样大小、外观、颜色等规格的小牛血去蛋白提取物眼凝胶 (5ml/瓶, 2~8℃ 遮光, 密闭冷藏保存, 合肥兆峰科药业有限公司) 和碱性成纤维细胞生长因子滴眼液 (5ml/瓶, 2~8℃ 遮光, 密闭冷藏保存, 珠海亿胜生物制药有限公司) 进行药物编盲和编码, 按每位患者就诊先后顺序和药物编号发放药品, 在患者取新药和结束试验时回收试验药物。

试验药品滴入结膜囊内每次 2 滴, 每日 4 次, 共 2 周。如果在 2 周内角膜上皮缺损已痊愈, 即可结束临床试验观察, 进行疗效评价。用药期间可以使用敷料包眼, 但不可以绷带包扎。研究期间常规使用泰利必妥或妥布霉素滴眼液防止继发感染, 其他任何合并用药治疗都要记录在病例记录表中, 要注明药品的名称、剂量及使用时间。

4. 疗效观察及评分标准: 每周检查至少两次, 连续观察 2 周。如果患者用药在试验期间即角膜上皮愈合, 可以结束临床试验观察, 其后的时间自然算为有效用药时间。试验期间应翔细观察症状 (疼痛, 畏光, 异物感)、体征 (睫状或结膜充血, 角膜上皮点状染色, 角膜上皮缺损, 角膜新生血管) 和不良事件, 逐项记录, 参照文献报告的记分标准依次记分^[4,5]。其中: 用裂隙灯目镜尺计算荧光素染色后的面积作为角膜上皮缺损面积 (mm²), 测量并记录角膜上皮缺

损的长径(mm)×短径(mm)。对入选病例翔细询问并记录发生的所有不良事件,并按照不良事件与用药之间的关系进行 6 个等级的具体评估和记录,按照规定进行报告和处理。

5. 疗效评价:患者依从性判定分为好、中和差。综合疗效评价指标分为痊愈(症状和体征改善总分改善≥80%)、显效(80%>症状和体征改善≥50%)、进步(50%>症状和体征改善≥20%)、无效(改善<20%)四级。痊愈与显效合计为有效,计算有效率。然后分别计算症状、体征各项观察指标于治疗前后的总积分,最后计算出疗效改善情况。即:疗效指标改善积分=治疗前积分-治疗后积分,或者计算疗效指标改善百分比=(治疗前-治疗后)/治疗前×100%。角膜缺损面积改善情况计算公式为:角膜缺损改善面积=用药后角膜缺损总面积-初始角膜缺损总面积(mm²)。

6. 数据管理和统计学分析:由中山大学公共卫生学院统计学教研室采用 SPSS13.0 for Windows 软件录入、管理数据和统计计算。在盲态审核并确认建立的数据库正确后进行数据锁定,然后由保存盲底的中山大大学药品临床研究基地工作人员第一次揭盲,完成统计分析总、分报告后进行第二次揭盲。

所有的统计检验均采用双侧检验,P 值小于或等于 0.05 将被认为所检验的差异有统计学意义。总体有效性分析采用符合方案集分析法(Per-Protocol population, PP 分析)和意向病例集分析法(Intention-To-Treat, ITT 分析),安全性分析采用安全分析集(Full Analysis Set, FAS 分析),采用 Ridit 法检验。不同试验组各次就诊的计量资料将采用均数±标准差进行统计描述,与治疗前的基础值进行比较,采用配对 t 检验比较组内前后差异;两组治疗前后的变化采用方差分析(ANOVA)进行比较。用方差分析或卡方检验来比较人口学资料和其他基础值指标,以衡量两组均衡性如何。采用卡方检验分析方法评估角膜上皮愈合情况。两组总脱落率和不良事件发生率的比较采用卡方检验。

结 果

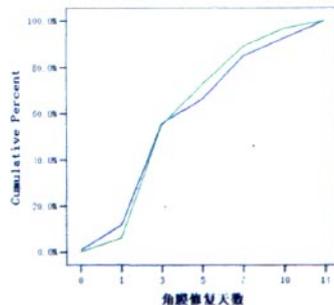
本试验从 2005 年 1 月 1 日开始,至 2005 年 4 月 30 日结束。实际入选 239 只眼,试验组入选 120 例,对照组入选 119 例。其中角膜移植术后角膜上皮缺损 61 只眼,翼状胬肉术后角膜上皮缺损 106 只眼,玻璃体切割术后角膜上皮缺损 24 只眼,化学机

械性角膜上皮损伤 36 只眼,其他病因导致的角膜上皮缺损眼 12 只眼。在试验进行过程中共有 4 例因没能坚持随访至试验结果而失访,1 例因发生不良事件而中断治疗。最后进行 PP 分析的试验组和对照组各 117 例,进行 ITT 和安全性分析的试验组 120 例、对照组 119 例。

从病例分布、剔除与脱落、依从性等情况分析来看,本实验的资料可以认为具有可靠性。从病人的人口学特征(性别和年龄)、生命体征(身高、体重、血压、脉搏和呼吸)、疾病情况(入选病例的角膜病种和合并疾病)、症状体征的结果分析来看,可认为两组病人基线情况具有可比性。

从症状积分、体征积分和总积分的比较看,试验组和对照组治疗后的各项主客观指标均较前有明显改善,但各阶段两组间各指标改善程度比较其差异全部没有统计学意义。试验组的角膜上皮缺损修复的平均时间为(5.03±3.58)d,对照组为(4.84±2.87)d,试验组和对照组之间差异没有统计学意义(t=0.446, P=0.656)。两组角膜修复趋势如图 1。从疗效四级评分和综合有效率两个疗效综合评价指标进行 PP 和 ITT 分析,试验组和对照组间差异全部无统计学意义。

本试验过程中有 10/239 例(6 例滴碱性成纤维



A:小牛血去蛋白提取物眼凝胶组;
B:碱性成纤维细胞生长因子眼凝胶组。

图1 试验组和对照组中患者角膜上皮修复天数趋势图

细胞生长因子眼凝胶,4 例滴小牛血去蛋白提取物眼凝胶)发生点眼后不良事件,表现为对滴用药物后出现一过性眼局部轻微的烧灼感或少许刺痛感,均为轻度。因持续时间短,不影响治疗没有停止用药,也没进行处理或改变用药,全部继续使用至试验结束。各阶段均无严重不良事件出现。各阶段不良事件发生数和不良事件构成以及对它们进行评价等的两组比较无统计学意义。

讨 论

小牛血去蛋白提取物是一种细胞呼吸激活剂,其成分和我国 20 世纪 80 年代中期进口的药物素高捷疗眼凝胶基本相同。素高捷疗眼凝胶可以有效治疗角膜上皮损伤(如化学烧伤、手术或机械造成的损伤),但近年由于欧洲疯牛病的影响,我国已经禁止进口素高捷疗眼凝胶^[6,7]。

碱性成纤维细胞生长因子则广泛存在于人体和动物的多种正常组织中,是一种生物活性较强的促分裂原。实验显示:FGF 可增强膜的流动及皱褶性;如同表皮生长因子一样,它可以促肌动蛋白的细胞支架的动力结构起着迅速变化,刺激细胞的 DNA、多核糖体及蛋白合成,使细胞发生多型及有丝分裂反应^[8,9]。还能刺激多种细胞包括成纤维细胞、角膜及晶状体上皮细胞等分裂增生,具有促进角膜生长和修复角膜损伤的功能。

根据本研究获得的资料和进行的统计分析,从疗效总体评价、各阶段疗效、症状与体征疗效等方面以及不良事件、不良反应、严重不良事件等分析来看,可以认为,小牛血去蛋白提取物眼凝胶与碱性成纤维细胞生长因子滴眼液的疗效和安全性相仿,都能帮助缺损的角膜上皮得到迅速的修复,并且具有良好的安全性。

相关的动物实验证实,小牛血去蛋白提取物可促进细胞内线粒体的呼吸功能,加强葡萄糖和氧的利用,增加 ATP 的生成,加速毛细血管新生,改善微循环和局部缺血组织的营养,阻止烧伤组织的继发性损害,从而防止烧伤坏死组织范围的扩大和加深,促进组织的再生与修复^[1]。本研究的结果表明,将其应用于眼表疾病,可以促进角膜上皮生长,加速角膜上皮缺损的修复。至于小牛血去蛋白提取物在眼部有没有可能像其在烧伤领域的应用一样会加速角膜结膜基质的再生和修复?尚需进一步研究。

由于在角膜缘功能正常的情况下,角膜上皮缺损有自行修复的倾向,所以治疗组和对照组治疗后的各项主观指标均得以改善。试验组的角膜上皮缺损修复的平均时间为 $(5.03 \pm 3.58)d$, 对照组为 $(4.84 \pm 2.87)d$, 试验组和对照组之间差异没有统计学意义($t=0.466, P=0.656$)。经过 5 家医院共 239 例的验证结果表明,两组病例的角膜上皮修复时间之

间差异无统计学意义。

本试验过程中有 4/120 例发生点小牛血去蛋白提取物眼凝膏后出现一过性眼局部轻微的烧灼感或少许刺痛感,虽然程度轻、持续时间短,也不影响患者的用药依从性,但还是应该在日后使用本药时告诉患者可能的不适感,甚至是潜在的过敏反应。小牛血去蛋白提取物眼凝胶本身无抗感染及抗病毒作用,所以在治疗细菌和病毒性角膜炎导致的角膜上皮缺损时,应同时联合抗细菌和抗病毒药物来治疗致病因素。

总之,通过本次对小牛血去蛋白提取物眼凝胶的随机双盲、以碱性成纤维细胞生长因子眼凝胶为阳性对照的临床试验研究,结果证明:小牛血去蛋白提取物眼凝胶治疗角膜上皮缺损的疗效和安全性与碱性成纤维细胞生长因子眼凝胶相似,疗效肯定,耐受性好,安全性高,值得向临床推荐应用。

参考文献

- 1 De Groot H, Brecht M, Machica F. Evidence for a factor protective against hypoxic liver parenchymal cell injury in a protein-free blood extract. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol*, 1990, 68(1): 125-128.
- 2 Hettich R. Interactions between local and generalized bum edema. *Resuscitation*, 1986, 14(1-2): 105-112.
- 3 徐国兴, 林发森, 韩晓丽, 等. 素高捷疗眼膏治疗角膜病的疗效观察. *中国实用眼科杂志*, 1994, 12(8): 491-492.
- 4 林跃生, 陈家洪, 郭彦, 等. HypoTear Gel 优乐沛人工泪液凝胶治疗眼表疾病的初步临床评价. *眼科新进展*, 2000, 20(1): 27-29.
- 5 吴志洁, 肖霞. 治疗角膜上皮疾病新药: 爱丽滴眼液的临床应用. *中国实用眼科杂志*, 1997, 15(6): 365-367.
- 6 Erbe W, Herman R, Komer WF, et al. Our experience with Solcoseryl Eye-Gel in the treatment of corneal lesions. A randomized double-blind study (with 1 color plate). *Ophthalmologica*, 1984, 188(1): 1-4.
- 7 Smirennia E, Sheludchenko V, Kourenkova N, et al. Management of corneal epithelial defects following laser in situ keratomileusis. *J Refract Surg*, 2001, 17(2 Suppl): 196-199.
- 8 Pancholi S, Tullo A, Khaliq A, et al. The effects of growth factors and conditioned media on the proliferation of human corneal epithelial cells and keratocytes. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 1998, 236(1): 1-8.
- 9 Rieck P, Assouline M, Hartmann C, et al. Effect of recombinant human basic fibroblast growth factor (rh-bFGF) on wound healing of the corneal epithelium. *Ophthalmologie*, 1993, 90(6): 646-651.

(2008-06 收稿)