

的建立可缓解视网膜缺血和缺氧状态。

相比而言,采用经玻璃体内电凝法建立 RVO 模型是一种新的尝试。虽然是侵入性手术,但血管定位准确,即时即可判定,血栓形成较可靠,是一种可行的方法。我们选用家兔为造模动物主要是考虑其眼球较大及手术、FFA 摄影条件稳定,如果选择猪、狗或灵长类的猕猴造模,由于其视网膜血供系统和人类较接近,相信结果会更令人满意。

#### 4 参考文献

1 Hayreh SS, van Heuven WA, Hayreh MS. Experimental retinal vascular occlusion. I. Pathogenesis of central retinal vein occlusion. Arch Ophthalmol, 1978, 96:311-323.

2 Tamura M. Neovascularization in experimental retinal venous obstruction in rabbits. Jpn J Ophthalmol, 2001, 45:144-150.  
3 Takei K, Sato T, Nonoyama T, et al. A new model of transient complete obstruction of retinal vessels induced by endothelin-1 injection into the posterior vitreous body in rabbits. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol, 1993, 231:476-481.  
4 Genevois O, Paques M, Simonutti M, et al. Microvascular remodeling after occlusion-recanalization of a branch retinal vein in rats. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2004, 45:594-600.  
5 周正中,王玲,王康孙. 视网膜静脉阻塞的动物模型. 中国实用眼科杂志, 2003;447-451.  
6 Larsson J, Carlsson J, Olsson SB. Ultrasound enhanced thrombolysis in experimental retinal vein occlusion in the rabbit. Br J Ophthalmol, 1998, 82:1438-1440.

(收稿日期:2004-12-16)

(本文编辑:朱敏)

## 白细胞介素-1 $\beta$ 促人视网膜色素上皮细胞分泌 细胞间黏附分子和整合素 $\beta_1$

万华 邝国平 郭丽花 姜德咏

【关键词】 白细胞介素 1; 色素上皮,眼; 细胞粘着分子; 抗原,CD29

中图分类号:R774.1 R446-39

增生性玻璃体视网膜病变(PVR)的病程进展与细胞粘附、移行和增生的能力密切相关。细胞黏附分子(CAMs)中的整合素  $\beta_1$  和细胞间黏附分子-1(ICAM-1)介导了细胞-基质及细胞-细胞间的相互作用,调节细胞的移行、分化和增生,与 PVR 相关性较大。我们选择二者作为研究对象,检测它们在炎症因子白细胞介素(IL)-1 $\beta$  作用下视网膜色素上皮(RPE)细胞中的表达情况,旨在探讨 CAMs 在 PVR 炎症过度修复病理过程中的作用及炎症因子 IL-1 $\beta$ 、CAMs 在 PVR 发病机制中的相互关系。

### 1 材料和方法

#### 1.1 材料

从意外死亡的健康成年男性获得 3 个供体眼球分离培养,获得人 RPE 细胞进行原代培养,传代及鉴定;取 3~6 代细胞进行实验。IL-1 $\beta$  购自深圳晶美公司,整合素  $\beta_1$  mRNA 原位杂交试剂盒购自武汉博士德公司,双抗体夹心法酶联免疫检测人 ICAM-1 试剂盒购自深圳晶美公司。

#### 1.2 实验方法

收集 RPE 细胞,以  $5 \times 10^4$  个/ml 的细胞密度接种,常规培养 24 h,细胞铺满孔底近融合时,换为无血清培养基同步,继续孵育 24 h,分别加入终浓度为 0(对照组)、50、100、200、400、800 U/ml 的 IL-1 $\beta$ ,于 24、48 h 两个时间点收集上清液,其中 100 U/ml 组另设三孔于 12 h 收集上清液,以离心半径 2.5 cm、

1 000 r/min 离心 5 min,  $-20^\circ\text{C}$  保存待测。细胞用多聚甲醛固定后,磷酸盐缓冲液(PBS)洗 3 次,晾干备用。

整合素 DNA-mRNA 原位杂具体操作步骤参照试剂盒说明书,显色后在光学显微镜下观察并进行计算机图像分析。ICAM-1 酶联免疫吸附试验(ELISA)具体操作步骤参照试剂盒说明书,显色后在酶标仪 450 nm 处测吸光度[A,旧称光密度(OD)]值,绘制标准曲线,算出待测标本的浓度;以上实验每组设 3 个平行孔,重复 3 次,各种指标检测取平均值。行原位杂交标本计算机图像分析,将图像输入计算机,采用 BioMass99 分析系统对图像进行彩色分割,半二值化处理,测定每幅图像的阳性面积、平均 A 值及积分 A 值。阳性面积表示阳性反应区域大小,平均 A 值表示各点的阳性反应程度,积分 A 值为视野中各阳性部位的平均 A 值与面积乘积的和。每张标本取 5 个点分析,取平均值。

#### 1.3 统计学方法

所有数据均用 SPSS for Windows(10.0)软件包建立数据库,两组样本之间的比较采用 *t* 检验,多组均数的比较采用方差分析和 *q* 检验。

### 2 结果

原代培养的人 RPE 细胞呈卵圆形或多角形,核大透明,细胞浆内充满黑色素粒,传 3 代色素基本消失。免疫细胞化学染色结果显示,RPE 细胞细胞浆内呈特异性棕褐色网状阳性染色。

加入 IL-1 $\beta$ (0~800 U/ml)后 24、48 h,检测 RPE 细胞中整

作者单位:410011 长沙,中南大学湘雅二医院眼科(万华,现在广州空军医院)

通讯作者:万华,Email: drwan32@hotmail.com

合素  $\beta_1$  mRNA 的表达情况,不同时间点各组的阳性细胞率为 16%~60%,而不同浓度组之间阳性细胞率无显著差别。IL-1 $\beta$  浓度为 100 U/ml 的细胞标本计算机图像分析结果显示,实验组中整合素  $\beta_1$  mRNA 的阳性面积均明显大于对照组 ( $P < 0.01$ ),积分 A 值明显高于对照组 ( $P < 0.01$ ),而平均 A 值并无明显差异 ( $P > 0.05$ ),各项指标均随 IL-1 $\beta$  作用时间延长而增高。

对不同浓度 IL-1 $\beta$  作用 24、48 h 后的 RPE 细胞培养液进行 ICAM-1 酶联免疫吸附试验结果显示,当 IL-1 $\beta$  浓度达到 50 U/ml 时,RPE 细胞表达 ICAM-1 明显增强,与对照组相比,其 ICAM-1 的含量显著增加 ( $P < 0.01$ )。进一步增加 IL-1 $\beta$  的浓度后,同一作用时间内 RPE 细胞分泌的 ICAM-1 含量并未随之增加 ( $P > 0.05$ )。相同浓度 IL-1 $\beta$ (100 U/ml) 分别作用 RPE 细胞 12、24、48 h 后产生 ICAM-1 的含量随低浓度 IL-1 $\beta$  作用时间延长而增加。

### 3 讨论

细胞介导的牵拉性视网膜脱离是 PVR 严重结果之一,其中细胞粘附、移行和增生是这一步骤的重要环节,CAMs 在此过程中发挥了重要的作用<sup>[1]</sup>。CAMs 中的整合素和 ICAM-1 介导了细胞-基质以及细胞-细胞间的相互作用,调节细胞的移行、分化和增生,其表达可受炎症因子的影响。

IL-1 $\beta$  是巨噬细胞分泌的一种炎症因子,在炎症再生中起重要作用,同时还促进整合素  $\beta$  亚单位与细胞间质中的纤维连接蛋白的结合,参与瘢痕形成及收缩的过程<sup>[2]</sup>。Brem 等<sup>[3]</sup>认为,细胞介导胶原纤维收缩主要依靠细胞外信号经过整合素膜蛋白受体从胶原传递到细胞内,进而通过整合素分子的亚单位与细胞的肌动蛋白细胞骨架相互作用,使胶原纤维对视网膜产生牵拉力,进而形成牵拉性视网膜脱离。王秋等<sup>[1]</sup>也认为整合素是整合素家族在 PVR 发病机制中起作用的主要成分,并通过免疫组织化学方法检测出 PVR 患者视网膜前膜中 integrin 及纤维连接蛋白的过度表达。ICAM-1 是免疫球蛋白超家族黏附分子中的一种,正常情况下细胞呈低表达。大量研究结果表明,

ICAM-1 在 PVR 患者的玻璃体液、视网膜下液、视网膜前膜中均有明显表达,说明 ICAM-1 与 PVR 的发病机制密切相关<sup>[5]</sup>。

本实验中,正常情况下 RPE 细胞可表达低浓度的整合素  $\beta_1$  mRNA 和 ICAM-1,加入 IL-1 $\beta$  干预因素后表达明显增强,且表达水平随时间延长而提高,但进一步提高 IL-1 $\beta$  浓度后表达并不随之增强。结果说明,当 IL-1 $\beta$  浓度达到一定水平时,即可启动 CAMs 的分泌过程,这一分泌过程的维持依赖于 IL-1 $\beta$  刺激信号的存在。我们认为,PVR 发生时,视网膜屏障损伤,炎症因子大量释放,IL-1 $\beta$  在损伤部位的局部浓度达一定水平,即可启动 CAMs 整合素和 ICAM-1 的分泌,通过刺激信号持续存在的方式维持 CAMs 的分泌过程,但 CAMs 的分泌水平不受 IL-1 $\beta$  剂量的调控,IL-1 $\beta$  可能仅仅只是 CAMs 分泌的启动信号,对其分泌量的调控并不存在正反馈机制或者还受其它调控机制的综合影响。IL-1 $\beta$  启动 CAMs 大量分泌后,各种炎症细胞与 RPE 细胞、成纤维细胞及血管内皮细胞粘附聚集,促使胶原纤维等炎症组织大量增生过度修复,牵拉视网膜,形成视网膜脱离及 PVR。因此,整合素、ICAM-1 和 IL-1 $\beta$  相互作用,共同参与了 PVR 的病理过程。进一步研究它们的相互关系及制约机制,对于寻找临床上防治 PVR 的有效方法具有重大的意义和深远的影响。

### 4 参考文献

- 1 Alvaro M. Adhesion molecules and asthma. *Allergol Immunopathol Madr*, 2000, 28:110-115.
- 2 Kon CH. Expression of vitreous cytokines in proliferative vitreoretinopathy: a prospective study. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 1999, 40: 705.
- 3 Brem RB, Robbin SG, Wilson DJ, et al. Immunolocalization of integrins in proliferative retinal membranes. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 1994, 35:3475-3485.
- 4 王秋,王桂云,张晓光. 纤维连接蛋白及其整合素受体在视网膜前膜中的表达. *中华眼底病杂志*, 2001, 17: 119-121.
- 5 Limb GA, Chignell AH. Vitreous levels of intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) as a risk indicator of proliferative vitreoretinopathy. *Br J Ophthalmol*, 1999, 83: 953-956.

(收稿日期:2005-02-21)

(本文编辑:朱敏)

## 双目间接检眼镜检查对入伍新兵周边视网膜病变检出率的评价

魏世辉 马成 姚为京 方俊

【关键词】 视网膜疾病; 检眼镜检查; 视力试验

中图分类号:R770.4

基金项目:解放军总后勤部十五项目;吴阶平医学基金会资助项目  
作者单位:100853 北京,解放军总医院眼科(魏世辉);解放军第五医院眼科(马成);山东省莱阳市中心医院眼科(姚为京);北京大学公共卫生学院流行病学与卫生统计学系(方俊)  
通讯作者:魏世辉,Email:weishihui706@sohu.com

尚未累及黄斑区的周边视网膜脱离等病变早期多无明显自觉症状,如不能及时发现和干预,有可能发展为严重的玻璃体视网膜病变,影响视功能甚至生活质量。军人作为特殊的群体,对视功能的要求尤其严格;同时,由于军人需要接受大量的体能训练,有可能使原有的视网膜病变进展。现行新兵入伍体