论著

文章编号:1000-5404(2010)19-2066-05

二十碳五烯酸对大鼠角膜新生血管血管内皮生长因子及其受体表达的抑制作用

包永琴,马景学,杜颖华,王淑芬 (050000 石家庄,河北医科大学第二医院眼科)

【摘要】 目的 探讨二十碳五烯酸(eicosapentaenoic acid, EPA)对大鼠角膜新生血管(corneal neovascularization, CNV)血管内皮生长因子(VEGF)及其受体Flk-1表达的影响及作用机制。方法 78只SD大鼠按随机数字表法分为碱烧伤0.02 mg EPA治疗组(A组,24只)、碱烧伤0.03 mg EPA治疗组(B组,24只)、碱烧伤对照组(C组,24只)、正常组(D组,6只),除正常组外,均选用右眼制作碱烧伤模型。A、B、C组碱烧伤后立即分别球结膜下注射0.02 mg/0.04 ml EPA、0.03 mg/0.04 ml EPA、0.04 ml生理盐水。每日裂隙灯显微镜下观察角膜水肿、新生血管情况。碱烧伤后1、4、7、14 d,用免疫组织化学方法检测角膜新生血管内皮细胞CD34表达,用逆转录聚合酶链反应(RT-PCR)及蛋白印迹法分别检测角膜VEGF的mRNA表达及Flk-1的蛋白表达。结果 碱烧伤7 d和14 d,角膜新生血管相对面积A组:(15.80±6.43)%、(11.06±2.14)%,B组:(16.10±7.41)%、(11.06±2.51)%,均显著少于C组:(84.74±7.77)%、(89.63±7.50)% ($P<0.05$)。碱烧伤后7 d,C组CD34在CNV内皮细胞强阳性表达,A、B组未见CNV内皮细胞,CD34无表达。C组Flk-1蛋白及VEGF的mRNA表达,碱烧伤后1 d最高,持续高表达至4 d,随后逐渐下降。碱烧伤4 d,A、B组VEGF的mRNA表达及Flk-1的蛋白表达显著低于C组($P<0.05$)。结论 EPA能通过VEGF途径,抑制VEGF及其受体Flk-1的表达,从而显著抑制角膜新生血管的生长。

【关键词】 角膜新生血管化;二十碳五烯酸;血管内皮生长因子;血管内皮生长因子受体2
【中图法分类号】 R779.1;R977.6;R322.13 【文献标志码】 A

Inhibitory effect of eicosapentaenoic acid on expression of vascular endothelial growth factor and its receptor Flk-1 in corneal neovascularization of rats

Bao Yongqin, Ma Jingxue, Du Yinghua, Wang Shufen (Department of Ophthalmology, Second Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang, Hebei Province, 050000, China)

【Abstract】 Objective To study the effect of eicosapentaenoic acid (EPA) on expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptor Flk-1 in corneal neovascularization (CNV) of rats and its mechanism of action. Methods Seventy-eight Sprayue-Dawley rats were randomly divided into group A treated with 0.02 mg EPA ($n=24$), group B treated with 0.03 mg EPA ($n=24$), group C (control group, $n=24$), and group D (normal group, $n=6$). A model of right eye injury was induced by alkali cauterization. A solution containing 0.02 mg/0.04 ml and 0.03 mg/0.04 ml of EPA and 0.04 ml of saline was injected subconjunctivally in groups A, B and C immediately after alkali cauterization. CNV and corneal edema were observed daily under a slitlamp biomicroscope. On days 1, 4, 7 and 14 after operation, vascular endothelial cells were stained with CD34 using immunohistochemical method. VEGF mRNA and Flk-1protein expressions were detected by reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) and Western blot analysis. Results The relative area of CNV in groups A and C was 15.80%±6.43% and 11.06%±2.14%, 16.10%±7.41% and 11.06%±2.51%, 84.74%±7.77% and 89.63%±7.50%, respectively, in 7 and 14 d after injury induced by alkali cauterization. The relative area of CNV was significantly lower in groups A and B than in control group in 7 and 14 d after injury induced by alkali cauterization ($P<0.05$). The vascular endothelial cells in corneal stroma of group C were strongly stained with CD34 and the endothelial marker was negatively stained in EPA-treated avascular stroma. The VEGF mRNA and Flk-1 protein expression levels were the highest in groups C in 1 and 4 d after injury induced by alkali cauterization, and then decreased, and were significantly lower in groups A and B than in control group in 4 d after injury induced by alkali cauterization ($P<0.05$).

【通信作者】 马景学,电话:(0311)66002561, E-mail:majingxue2003@yahoo.com.cn

Conclusion Topical application of EPA can inhibit the expression of VEGF and its receptor Flk-1 through the VEGF pathway, thus significantly suppressing CNV.

[Key words] corneal neovascularization; eicosapentaenoic acid; vascular endothelial growth factor; Flk-1

Corresponding author: Ma Jingxue, Tel: 86-311-66002561, E-mail: majingxue2003@yahoo.com.cn

正常角膜组织没有血管。在病理条件下,角膜缘血管网所形成的新生血管逐渐侵入角膜而形成角膜新生血管(corneal neovascularization, CNV)[1,2]。角膜新生血管的发生机制有细胞因子平衡学说和炎症学说等。正常情况下,血管形成促进因子和抑制因子处于平衡状态,使角膜保持透明无血管性。血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor ,VEGF)是最主要的促血管生成因子[3]。VEGF的生物学效应是通过其特异性受体VEGFR介导的,其中血管内皮生长因子受体2(kinase insert domain receptor/fetal liver kinase 1,KDR/Flk-1)在VEGF的信号转导及血管内皮细胞血管生成中起主导作用[4]。二十碳五烯酸(eicosapentaenoic acid,EPA)是一种多不饱和脂肪酸,主要来源于鱼油,也来源于螺旋藻和微藻类,有抗肿瘤作用[5]。我们将不同浓度的EPA,局部治疗碱烧伤诱导的大鼠角膜新生血管模型,探讨EPA对CNV的VEGF及Flk-1的影响,探讨EPA影响CNV形成的机制。

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器

取EPA(10 mg,Sigma公司)原液,用无血清的DMEM培养液稀释至2 ml,即EPA浓度为5 g/L,滤过灭菌,分装后冻存。临用前取出融化,用生理盐水稀释至最终浓度。鼠抗鼠Flk-1单克隆抗体、鼠抗鼠β-actin单克隆抗体(美国Santa Cruz公司),兔抗鼠CD34多克隆抗体、辣根过氧化物酶(HRP)标记的羊抗鼠第二抗体(北京博奥森生物技术有限公司),PV6001试剂盒和DAB-试剂盒(北京中杉金桥生物技术有限公司),逆转录试剂盒、PCR试剂盒、DNA引物(TaKaRa公司),总RNA抽提试剂盒(Trizol, 美国Invitrogen公司),引物VEGF由北京塞百盛基因技术有限公司合成。PE9600型PCR扩增仪(美国PE公司),BIO-PROFIF凝胶图像分析系统(法国VL公司)。

1.2 方法

1.2.1 动物分组 SD健康成年大鼠78只(河北医科大学实验动物中心提供),雌雄不限,体质量200~250 g,裂隙灯显微镜检查无眼前节病变。按随机数字法分为碱烧伤0.02 mg EPA治疗组24只(A组)、碱烧伤0.03 mg EPA治疗组24只(B组)、碱烧伤对照组24只(C组)、正常组6只(D组)。

1.2.2 动物模型的制备 10%水合氯醛(3.5 ml/kg)腹腔注射麻醉。滴0.5%爱尔卡因2次行角膜、结膜表面麻醉。将直径3 mm圆形滤纸浸入1 mol/L氢氧化钠溶液5 s,快速贴于右眼角膜中央表面30 s,取下滤纸,立即用生理盐水冲洗角膜及结膜囊1 min。将碱烧伤后的A、B、C组立即分别球结膜下注射0.02 mg/0.04 ml EPA、0.03 mg/0.04 ml EPA、生理盐水0.04 ml。在预实验中,我们将大鼠右眼角膜碱烧伤后立即分别球结膜下注射0.005 mg/0.04 ml EPA,0.01 mg/0.04 ml EPA,0.02 mg/0.04 ml EPA,0.03 mg/0.04 ml EPA,0.04 mg/0.04 ml EPA和生理盐水0.04 ml(碱烧伤对照组),与碱烧伤对照组相比较,0.02 mg/0.04 ml EPA,0.03 mg/0.04 ml EPA组在碱烧伤后7 d和14 d均明显抑制角膜新生血管。浓度高于0.03 mg/0.04 ml EPA或低于0.02 mg/0.04 ml EPA组均无明显抑制角膜新生血管的作用。因此选用0.02 mg/0.04 ml、0.03 mg/0.04 ml为治疗组EPA浓度。我们先从碱烧伤对照组免疫印迹法和RT-PCR结果观察到,碱烧伤后1 d,Flk-1蛋白和VEGF mRNA表达最高;推断出EPA越早干预,其抑制大鼠角膜碱烧伤VEGF与Flk-1表达的作用越强;EPA常温下易于氧化;同时,我们在预实验中观察了3周,一次球结膜下注射治疗浓度的EPA后,角膜新生血管明显受到抑制而无复发,而碱烧伤对照组角膜新生血管在碱烧伤后2周,角膜新生血管面积达到最大,以后逐渐缩小。因此,在碱烧伤的同时迅速球结膜下注射解冻后的EPA 1次,就能取得良好的治疗效果。

1.2.3 CNV观察 A、B、C组均于碱烧伤后1 d开始,每日行裂隙灯显微镜观察,测量自角膜缘长出的CNV长度并照相。计算CNV的生长面积(A),$A = C/12 \times 3.14 \times [r^2 - (r - L)^2]$[6,7]及CNV的相对面积(B),$B = A/(3.14 \times r^2)$[8](其中C为CNV累及角膜的圆周钟点数,L为CNV从角膜缘伸入角膜的长度,r为大鼠角膜半径(3.75 mm)。

1.2.4 取材与标本处理 分别于角膜碱烧伤后24 h、4 d、7 d、14 d每组过量麻醉处死6只SD大鼠,取全角膜。每只角膜分为2份,其中一半均分为2份,置于消毒EP管中,-80 ℃保存,1/4角膜备蛋白印迹检测、1/4备RT-PCR检测。另一半带1 mm巩膜的角膜经4%多聚甲醛固定24 h,石蜡包埋,备苏木精-伊红(HE)染色和免疫组织化学分析。

1.2.5 HE染色和免疫组织化学染色 免疫组织化学检测CD34表达。CD34标记血管内皮细胞,其特异性高[3]。具体操作步骤按说明书进行,阳性对照为大鼠肾脏;阴性对照以PBS代替一抗。阳性结果判定:CD34为细胞质和细胞核内出现棕黄色颗粒。

1.2.6 免疫印迹法检测Flk-1蛋白的表达 取500~600 mg组织加1 ml提取液匀浆提取,4 ℃,12 000 r/min离心5 min,取上清,加入等体积2×SDS上样缓冲液,100 ℃中煮沸5 min。进行聚丙烯酰胺凝胶电泳,每孔上样等量总蛋白。利用水浴式电印迹法将蛋白转移至膜上。室温振荡封闭膜2 h后,加入1∶250第1抗体(Flk-1、β-actin),室温缓慢摇动2 h,用PBS-Tween洗膜3次后,再加入1∶5000 HRP标记第2抗体,室温振摇1 h,PBS-Tween充分洗膜后,将膜浸入DAB显色液中,室温充分显色后,用蒸馏水洗膜,将膜转入PBS中观察、照相。生物电泳图像分析系统分析目的蛋白Flk-1和内参β-actin电泳条带的灰

度值,将目的条带的灰度值与同一样本内参的灰度值相比,得出目的蛋白的相对表达量。

1.2.7 半定量RT-PCR法检测VEGF mRNA的表达 取-80 ℃冻存的大鼠角膜,用一步法提取总RNA,检测总RNA浓度。取2 μg总RNA,按逆转录试剂盒说明合成cDNA,以cDNA为模板进行PCR扩增。VEGF上下游引物分别为5′-AAGCCCATGAAGTGGTGAAGTT-3′, 5′-CAAACAAATGCTTTCTCCGCTCT-3′,扩增片段为432 bp。内参GAPDH上下游引物分别为5′-CGCTAACATCAAATGGGGTG-3′,5′-ACAACCTGGTCCTCAGTGTA-3′,扩增片段为600 bp。PCR反应条件:94 ℃预变性2 min;94 ℃变性40 s;56 ℃退火50 s;72 ℃延伸90 s,共30个循环;最后72 ℃延伸10 min。取每个样品的扩增产物6 μl,1%的琼脂糖凝胶电泳,用紫外透射仪观察电泳条带,数码相机照相,用凝胶图像分析系统对其进行分析,以相应的内参GAPDH电泳条带作为参照,相对积分吸光度比值(relative integral absorbance,RIA)=目的基因积分吸光度/GAPDH积分吸光度,表示样品中VEGF mRNA的相对表达量。

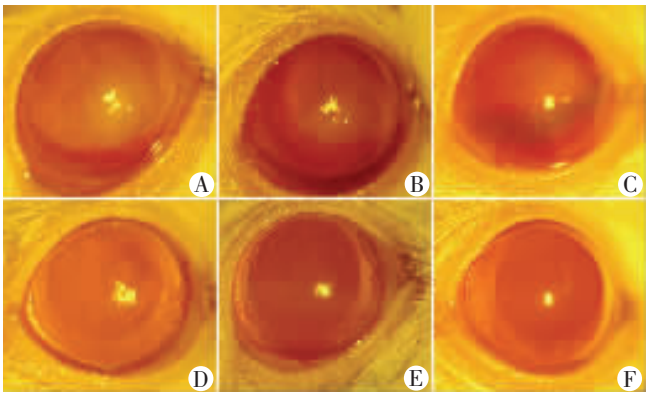
1.3 统计学处理

采用SPSS 13.0统计分析软件,根据资料类型分别采用独立样本t检验(2组间比较)、单因素方差分析(多组比较)、SNK(多组间两两比较)检验。两变量间线性关系行直线相关分析。

2 结果

2.1 CNV生长情况

C组碱烧伤后24 h,角膜缘血管网充盈,角膜中央水肿,混浊;2 d后角膜缘CNV向透明角膜生长;2~4 d,CNV缓慢生长,角膜水肿明显,上皮缺损;7~10 d,CNV显著变长,血管扩张明显,面积增加,角膜水肿减轻;14 d,CNV面积达到最大,血管变细。A、B组各时间点变化基本一致。碱烧伤后24 h至2 d,A、B组与C组变化基本一致;4~14 d,A、B组角膜水肿均较同一时间点C组轻,CNV面积均较同一时间点C组小(图1)。同一组角膜碱烧伤后7 d与14 d,CNV相对面积差异无统计学意义($P>0.05$)。角膜碱烧伤后7 d和14 d,角膜新生血管相对面积A组:(15.80±6.43)%、(11.06±2.14)%,B组:(16.10±7.41)%、(11.06±2.51)%,均显著少于C组:(84.74±7.77)%、(89.63±7.50)%,差异有统计学意义($P=0.000$),但A组和B组之间差异无统计学意义($P>0.05$)。

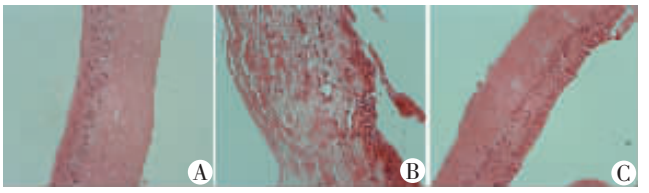


A~C:对照组碱烧伤后4、7、14 d;D~F:0.03 mg EPA治疗组碱烧伤后4、7、14 d

图1 碱烧伤后不同时间点EPA治疗组和对照组角膜新生血管的生长情况

2.2 HE染色和免疫组织化学检测

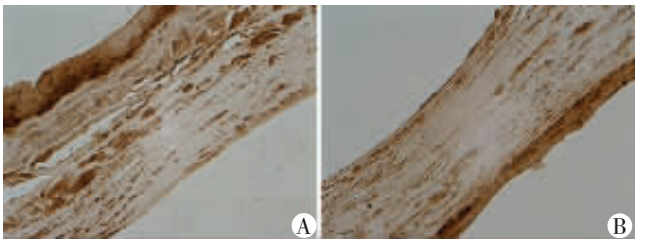
HE染色结果显示:正常角膜基质层无炎性细胞,无新生血管(图2A)。碱烧伤后7 d,碱烧伤对照组角膜上皮部分缺损,基质层水肿明显,见较多炎性细胞,大量新生血管(图2B)。碱烧伤后7 d,碱烧伤0.03 mg EPA治疗组与碱烧伤0.02 mg EPA治疗组结果相似,见角膜上皮修复,基质层水肿较对照组轻,少量炎性细胞,未见新生血管(图2C)。



A:正常角膜全层;B:碱烧伤后7 d对照组;C:碱烧伤后7 d 0.02 mg EPA治疗组

图2 HE染色观察各组角膜炎症及新生血管情况 (×400)

免疫组化结果显示:CD34在正常角膜上皮细胞核、细胞质阳性表达,在基质层无表达。碱烧伤后7 d,对照组CD34在角膜基质层新生血管内皮细胞强阳性表达,在上皮细胞细胞质阳性表达。碱烧伤后7 d,0.03 mg EPA治疗组与0.02 mg EPA治疗组结果相似,角膜基质层无新生血管内皮细胞,CD34无表达,CD34在上皮细胞细胞质阳性表达(图3)。



A:对照组,CD34强阳性表达;B:0.02 mg EPA治疗组,CD34无表达

图3 免疫组化染色观察碱烧伤后7 d 2组大鼠角膜新生血管内皮细胞CD34的表达 (PV ×400)

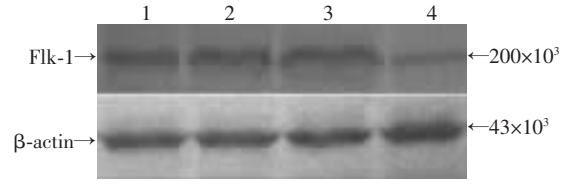
2.3 免疫印迹法检测Flk-1的表达

碱烧伤后各时间点,大鼠角膜FLK-1表达较正常(0.067±0.004)明显提高($P<0.05$),其下降呈时间依赖性,任两时间点间差异有统计学意义($P<0.05$)。碱烧伤后1 d,FLK-1表达最高(0.761±0.009),持续高表达至4 d(0.747±0.008),随后逐渐下降(7 d:0.426±0.004,14 d:0.231±0.002)。因此,我们选择4 d进行各组间的比较,结果显示,碱烧伤后4 d,大鼠角膜FlK-1表达(0.476±0.060)较正常(0.062±0.009)明显提高($P<0.05$)。EPA治疗组大鼠角膜中FlK-1表达较对照组明显下降($P<0.05$),其下降呈浓度依赖性,即0.03 mg EPA治疗组(0.151±0.037)较0.02 mg EPA治疗组(0.369±0.041)下降明显($P<0.05$,图4)。

2.4 半定量RT-PCR法测VEGF mRNA的表达

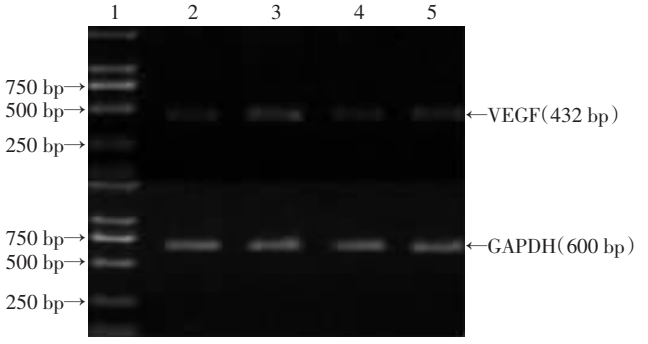
碱烧伤后对照组各时间点,除14 d外,大鼠角膜VEGF mRNA表达较正常(0.117±0.001)提高;碱烧伤后VEGF mRNA

表达,1 ~4 d 较高(1 d 0.356 ± 0.003,4 d 0.311 ± 0.003),以后逐渐下降(7 d:0.170 ± 0.002),至 14 d(0.113 ± 0.001)回到正常水平,与 FLK-1 蛋白表达高度相关($P < 0.05$)。因此,我们选择碱烧伤后 4 d 进行各组 VEGF mRNA 表达量的比较。碱烧伤后 4 d,大鼠角膜 VEGF mRNA 表达(0.280 ± 0.003)较正常(0.117 ± 0.001)明显提高($P < 0.05$)。EPA 治疗组大鼠角膜中 VEGF mRNA 表达较对照组明显下降($P < 0.05$),0.02 mg EPA 治疗组(0.117 ± 0.001)较 0.03 mg EPA 治疗组(0.152 ± 0.001)下降明显($P < 0.05$,图 5)。



1:0.03 mg EPA 治疗组;2:0.02 mg EPA 治疗组;3:碱烧伤对照组;4:正常组

图 4 免疫印迹法检测碱烧伤后 4 d 各组大鼠角膜 Flk-1 蛋白的表达



1:标准;2:正常组;3:碱烧伤对照组;4:0.02 mg EPA 治疗组;5:0.03 mg EPA 治疗组

图 5 各组大鼠碱烧伤后 4 d 角膜 VEGF mRNA 的表达

3 讨论

3.1 VEGF 及 Flk-1 在角膜新生血管中的表达

在角膜新生血管性眼病中,VEGF 及 Flk-1 高表达[9]。本实验免疫印迹法结果显示,碱烧伤后各时间点,大鼠角膜 Flk-1 表达较正常提高,其下降呈时间依赖性。碱烧伤后 1 d,Flk-1 表达最高,持续高表达至 4 d,随后逐渐下降。RT-PCR 结果显示,碱烧伤后各时间点,除 14 d 外,大鼠角膜 VEGF mRNA 表达较正常提高;碱烧伤后 VEGF mRNA 表达,碱烧伤后 1 d,VEGF mRNA 表达最高,持续高表达至 4 d,以后逐渐下降,至 14 d 回到正常水平。VEGF 与 Flk-1 表达高度相关,均在碱烧伤后 1 ~4 d 持续高表达。而 CNV 在碱烧伤后 7 ~ 10 d 生长显著,血管扩张明显,至 14 d,CNV 面积达到最大,血管变细。说明 VEGF 与其受体 Flk-1 高表达提前于 CNV 管腔的形成,说明 VEGF 与 Flk-1 是新生血管形成的促发因素,碱烧伤后尽早的干预降低 VEGF 与 Flk-1 的表达可能提高抑制 CNV 的作用。

3.2 EPA 对 VEGF 及 Flk-1 表达的影响

二十碳五烯酸(EPA)是 VEGF 受体 Flk-1 封闭剂[10]。EPA 通过抑制 VEGF 酪氨酸激酶受体的激活和表达,从而抑制血管内皮细胞的增殖和血管管腔的形成。Koto 等[11]研究发现,EPA 能降低脉络膜新生血管中 VEGF 的表达和明显减少脉络膜新生血管。本实验结果示,VEGF 与 Flk-1 均在碱烧伤后 1 ~4 d 持续高表达。因此,我们选择碱烧伤后 4 d 进行各组间的比较,结果显示 EPA 治疗组大鼠角膜中 VEGF 与 Flk-1 表达均较对照组下降。即 EPA 有抑制大鼠角膜碱烧伤 VEGF 与 Flk-1 表达的作用。

3.3 EPA 对角膜新生血管的抑制作用及机制

我们通过建立大鼠角膜碱烧伤动物模型,成功制备出 CNV 模型,将不同浓度的 EPA,在动物模型制备后立即球结膜下注射于实验组大鼠。结果发现 EPA 能显著抑制 CNV 的生长,EPA 治疗组 CNV 的相对面积从 7 d 的 16% 降至 14 d 的 11%;而非治疗组从 7 d 的 85% 反而升至 14 d 的 90%,但 0.02 mg/0.04 ml EPA 与 0.03 mg/0.04 ml EPA 对 CNV 的抑制无差别。这样,我们在造模的同时进行干预 1 次,就达到了非常好的治疗效果。免疫组织化学 CD34 阳性细胞 EPA 治疗组明显低于非治疗组也应证了这一点。免疫印迹法和 RT-PCR 法发现,EPA 能抑制 Flk-1 蛋白的表达,其抑制作用呈浓度依赖性,EPA 能抑制 VEGF mRNA 的表达,0.02 mg/0.04 ml EPA 对其抑制作用大于 0.03 mg/0.04 ml EPA。即 EPA 通过抑制 VEGF 及其受体 Flk-1 的表达,进而抑制 CNV 的形成。

综上所述,EPA 能通过抑制 VEGF 与 Flk-1 的双重表达,使细胞分泌的 VEGF 减少,VEGF 与其血管内皮细胞表面的受体 Flk-1 的结合减少,改变细胞内信号在传导通路中的传递,影响血管内皮细胞的增殖能力等,从而抑制 CNV 的生长。EPA 有望成为 CNV 防治的一种有效的药物,为临床治疗 CNV 类疾病提供重要的理论依据和实验基础。但 EPA 治疗 CNV 的剂型,不同剂型的最佳药物浓度及药物使用频度等尚待进一步的研究,EPA 用于临床治疗 CNV 类疾病还有许多工作要做。

参考文献:

[1] 刘丹宁,谢汉平,卞修武,等. 诺帝滴眼液对碱烧伤诱导角膜新生血管的抑制作用[J]. 第三军医大学学报,2006,28(6):

580－583.

[2] Chen W L, Lin C T, Lin N T, *et al*. Subconjunctival injection of bevacizumab (avastin) on corneal neovascularization in different rabbit models of corneal angiogenesis[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2009, 50(4):1659－1665.

[3] 刘志刚，陈芳育，蒋立辉，等. 血管抑素下调人舌鳞癌细胞血管内皮生长因子的表达[J]. 第三军医大学学报，2008，30(16)：1557－1560.

[4] Holmes K, Roberts O L, Thomas A M, *et al*. Vascular endothelial growth factor receptor-2:structure, function, intracellular signalling and therapeutic inhibition[J]. Cell Signal, 2007, 19(10):2003－2012.

[5] Allred C D, Talbert D R, Southard R C, *et al*. PPARgamma1 as a molecular target of eicosapentaenoic acid in human colon cancer (HT-29) cells[J]. J Nutr, 2008, 138(2):250－256.

[6] 董媛，张明昌. 环氧合酶-2及其抑制剂对角膜新生血管作用的研究[J]. 眼科研究，2007，25(6)：424－427.

[7] Zhang Z, Ma J X, Gao G, *et al*. Plasminogen kringle 5 inhibits alkali-burn-induced corneal neovascularization[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2005, 46(11):4062－4071.

[8] Dratviman-Storobinsky O, Lubin B C, Hasanreisoglu M, *et al*. Effect of subconjuctival and intraocular bevacizumab injection on angiogenic gene expression levels in a mouse model of corneal neovascularization[J]. Mol Vis, 2009, 15:2326－2338.

[9] Jin Y, Arita M, Zhang Q, *et al*. Anti-angiogenesis effect of the novel anti-inflammatory and pro-resolving lipid mediators[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2009, 50(10):4743－4752.

[10] Murota S I, Onodera M, Morita I. Regulation of angiogenesis by controlling VEGF receptor[J]. Ann N Y Acad Sci, 2000, 902:208－213.

[11] Koto T, Nagai N, Mochimaru H, *et al*. Eicosapentaenoic acid is anti-inflammatory in preventing choroidal neovascularization in mice[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2007, 48(9):4328－4334.

(收稿：2010-04-21 修回：2010-05-15)

(编辑 张 维)

(上接2057页)

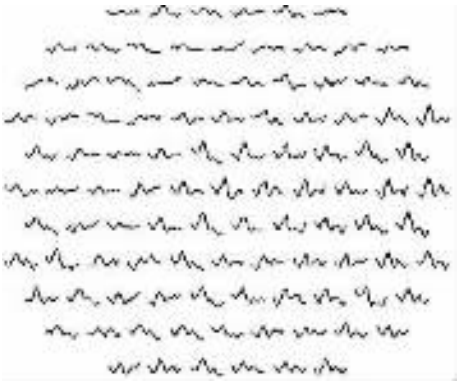


图2 视盘玻璃膜疣患者闪光视网膜电图检查

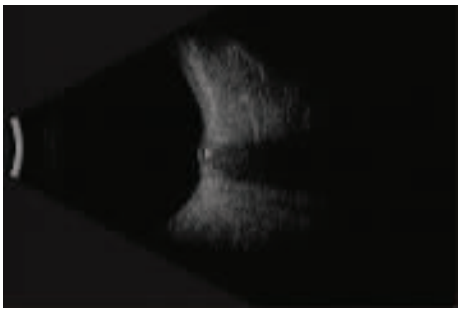


图3 视盘玻璃膜疣患者B型超声检查

2 讨论

视盘埋藏性玻璃膜疣发病原因不明，是由于神经轴索代谢异常导致的细胞内线粒体钙化或细胞外钙质沉着。可分为普通型和巨大型。普通的浅表型和巨大型视盘玻璃膜疣眼底检查容易诊断，表现为眼底视乳头边界不清楚，局部或全部隆起。但普通的埋藏型视盘玻璃膜疣因眼底镜下看不清玻璃膜疣，诊断比较困难。FFA和B型超声波检查有助于视盘玻璃膜疣临床诊断和鉴别诊断。在造影早期有荧光素着色，随着造影进程，荧光逐渐强烈，到造影后期背景荧光消失后，玻璃膜疣荧光染色明显，显示强荧光，但始终无荧光渗漏[1]。B型超声波表现为视盘表面的不规则结节状强回声。本例为单眼发病，无家族性或视网膜色素变性，眼底未见视盘玻璃膜疣样改变，可能是由于玻璃膜疣小，被完全埋藏于视乳头深部，故眼底检查和裂隙灯检查均未见异常。但视野检查右眼正常，左眼上方视野缺损。PVEP检查双眼P_{100}潜时幅值正常，视神经功能还没有受损。FERG左眼5项反应均低于右眼，视网膜的功能可能开始有改变。mfERG：左眼上方振幅密度明显降低，尤其4象限明显，说明视野和电生理检查均提示上方视野缺损，这可能与完全埋藏的玻璃膜疣压迫视神经，致使视神经缺血有关。国外有文献报道：44.7%的显性玻璃膜疣电生理检查表现VEP异常，20%埋藏性玻璃体膜疣VEP异常。但视野的缺损最常见形式为盲点扩大和神经纤维束缺损，或视野长期维持不变。视野测量结果的变化与视力缺失和VEP异常是紧密相关的[2,3]。本例发病机制不明显，VEP正常，视野和mfERG异常。目前国内对视盘玻璃膜疣视功能的观察尚少，值得大家关注，有其重要的临床意义。

参考文献：

[1] 龙心光，王映芬. 视乳头玻璃膜疣伴黄斑玻璃膜疣一例[J]. 眼科研究，2000，18(2)：176.

[2] Grippo T M, Ezon I, Kanadani F N, *et al*. The effects of optic disc drusen on the latency of the pattern-reversal checkerboard and multifocal visual evoked potentials[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2009, 50(9):4199－4204.

[3] Obuchowska I, Mariak Z. Visual field defects in the optic disc drusen[J]. Klin Oczna, 2008, 110(10/12):357－360.

(收稿：2010-04-14 修回：2010-07-15)

(编辑 邓强庭)