

·临床研究·

晶状体上皮细胞清除预防后囊混浊

刘欣华, 刘奕志

(中山医科大学中山眼科中心, 广东 广州 510060)

摘要:【目的】探讨应用晶状体上皮细胞清除的方法预防后囊混浊。【方法】应用新西兰白兔 10 只, 将 20 眼随机分 2 组, 分别为对照组和胰蛋白酶组。晶状体囊袋内超声乳化吸出晶状体皮质, 保留完整囊袋, 胰蛋白酶组向囊袋内注入 2.5 g/L 胰蛋白酶保留 1 min, 冲洗清除晶状体上皮细胞, 最后撕去前囊。对照组将胰蛋白酶换为平衡盐水, 其他方法相同, 术后观察后囊混浊的发生情况。【结果】术后 4 周, 胰蛋白酶处理组 8 眼晶状体囊保持透明, 后囊无混浊, 2 眼轻度混浊。对照组 10 眼均有不同程度的后囊混浊。两组后囊混浊情况经统计学处理有显著差异($P < 0.01$)。【结论】应用胰蛋白酶清除晶状体上皮细胞可以显著预防后囊混浊的发生。

关键词: 胰蛋白酶; 晶状体; 上皮细胞; 后囊混浊

中图分类号: R776 文献标识码: A 文章编号: 1000-257X(2001)06-0447-04

Removal of Lens Epithelial Cells to Prevent Posterior Capsule Opacification

LIU Xin-hua, LIU Yi-zhi

(Ophthalmic Center, Sun Yat-sen University of Medical Sciences, Guangzhou 510060, China)

Abstract: 【Objective】To investigate the prevention of posterior capsule opacification by clearance of lens epithelial cell. 【Methods】Ten New Zealand rabbits were used for experiment. Twenty eyes were divided into two groups. One is trypsin treated group, the other is control group. Endocapsular phacoemulsification was performed, lens cortex was extracted. The capsular bag was filled by 2.5 g/L of trypsin in trypsin treated group. About one minute after the injection, the lens epithelial cells were removed by irrigation/aspiration. The anterior capsule was removed at last. Trypsin was replaced by balance salt solution in control group. Other procedures were the same with trypsin treated group. Posterior capsule opacification was observed for 4 weeks. 【Results】The lens posterior capsules of 8 eyes were clear 4 weeks after operation in trypsin treated group, mild opacification was observed in 2 eyes. Posterior capsule opacification was found in all eyes in control group. There was statistically significant difference between the two groups($P < 0.01$). 【Conclusion】Posterior capsule opacification can be prevented by removing of lens epithelial cells with trypsin.

Key words: trypsin; lens; epithelial cells; posterior capsule opacification

超声乳化、现代白内障囊外摘出联合后房型人工晶状体植入术是目前白内障患者主要复明手术, 但术后晚期发生的后囊膜混浊是目前影响白内障患者视力恢复的主要因素, 预防后囊混浊的发生有着非常重要的实际意义。以往大量的研究主要集中在应用抗代谢药物抑制晶状体上皮细胞增殖, 很

少对如何清除晶状体上皮细胞进行研究。由于抗代谢药物对眼组织毒性强, 难以在临床上应用, 而细胞清除法安全有效。我们正是基于此种设想, 采用胰蛋白酶在兔眼上清除晶状体上皮细胞, 研究预防后囊混浊的新方法, 现报道如下。

收稿日期: 2001-05-30

基金项目: 广东省重点科技攻关项目(2KM05204S)

作者简介: 刘欣华(1965-), 男, 河南平顶山人, 博士生, 主要从事眼科白内障的临床与研究工

1 材料与方 法

1.1 材 料

选用体质量 2~3 kg 新西兰白兔共 10 只, 麻醉药应用盐酸氯胺酮和盐酸氯丙嗪混合液(2:1 体积混合), 散瞳药应用复方托品酰胺, 实验药物应用胰蛋白酶(上海生工)。超声乳化仪使用 optima 2000 型超声乳化仪, 手术显微镜使用 MOLLER-WEDEL 手术显微镜, 手术器械使用普通显微手术器械。

1.2 方 法

1.2.1 消化液的制备 取 0.25 g 胰蛋白酶, 溶于 100 mL PBS 平衡盐液中, 配成 2.5 g/L 胰蛋白酶溶液, 在无菌条件下用 0.22 μ m 微孔滤膜过滤除菌。

1.2.2 手 术 新西兰白兔 10 只, 复方托品酰胺散瞳, 将 10 只兔随机编号, 一眼做胰蛋白酶组, 另一眼对照组, 2 组每组 10 眼, 盐酸氯胺酮和盐酸氯丙嗪混合液(2:1 体积混合), 按 2.0 mL/kg 肌肉注射麻醉。复方碘伏消毒术眼, 角膜缘切口, 在上方晶状体囊周边部刺开约 2.5 mm 前囊切口, 囊袋内超声乳化吸出晶状体皮质, 保留完整囊袋。胰蛋白酶组先向囊袋内及前房内注入空气, 然后向囊袋内注入 2.5 g/L 胰蛋白酶 0.1 mL, 保留 1 min, 用灌注/冲洗(I/A)清洗出胰蛋白酶及清除晶状体上皮细胞, 吸力 26.7 kPa(200 mmHg), 最后撕去中央部前囊。对照组用生理盐水代替 2.5 g/L 胰蛋白酶, 其他操作相同。

1.2.3 观 察 裂隙灯观察术后 1 d、3 d、1 周、2 周、3 周、4 周眼前段, 检眼镜观察眼底, 测量手术前后眼压, 组织病理学检查。晶状体后囊混浊分级^[1]: 0 级: 后囊无混浊; I 级: 后囊轻度混浊, 眼底可见; II 级: 后囊中度混浊, 眼底部分可见; III 级: 后囊重度混浊, 眼底完全不可见。

2 结 果

2.1 临床观察

裂隙灯显微镜观察兔眼手术后第 1 天, 对照组和胰蛋白酶组兔眼均有轻微角膜水肿+~++、前房内有少量纤维素样渗出物, 前房闪辉+~++, 散瞳后晶状体后囊透明、无皱折。术后 3 d, 两组角膜水肿消失, 角膜透明, 前房闪辉(-), 前房内纤维素样渗出物消失, 散瞳后晶状体囊透明、无皱折。术后 1 周, 对照组后囊轻微皱折, 出现部分混浊。胰蛋白酶组晶状体囊透明, 无皱折, 无混浊。术后 2 周, 对照组晶状体囊皱折明显, 后囊出现上皮细胞增生现象, 后囊呈灰白色混浊, 多分布在后囊周边部。胰蛋白酶组晶状体囊保持透明, 无明显上皮细胞增生现象, 无混浊。术后 3 周, 对照组晶状体囊皱折加重, 上皮细胞增生现象明显, 混浊加重; 胰蛋白酶组晶状体囊保持透明, 无混浊。术后 4 周, 胰蛋白酶组 8 眼晶状体后囊保持透明, 无混浊, 裂隙灯检查后囊光带均一, 边缘清晰(图 1), 2 眼赤道部上皮细胞有增生现象, 后囊部分混浊, 范围约 1/4 象限。对照组 10 眼均不同程度的晶状体后囊皱折, 混浊明显, 晶状体上皮细胞增生在赤道部形成 Soemmering 环, 裂隙灯检查后囊混浊厚度不均, 反光带边缘不清晰(图 2)。统计学检验结果显示术后 4 周两组后囊混浊程度有显著差异(χ^2 检验, $P < 0.01$, 表 1)。

表 1 术后 4 周后囊混浊情况

Table 1 Posterior capsule opacification after operation for 4 weeks

	n	Grading of opacification			
		0	I	II	III
Control	10	0	1	6	3
Trypsin	10	8	1	1	0

2.2 眼 压

手术前及手术后 1 d、3 d、1 周分别测量兔眼眼压, 手术后 3 d 眼压轻度升高, 1 周时恢复正常(表 2), 两组相比, 差异无显著性($P > 0.05$)。

2.3 组织病理学

手术后 4 周对照组有明显的上皮细胞增生现

表 2 手术前后眼压

Table 2 Intraocular tension preoperative and postoperative

	Preoperative	1 d postoperative	3 d postoperative	1 week postoperative
Trypsin	2.53 \pm 0.32	4.02 \pm 1.02	2.86 \pm 0.74	2.35 \pm 0.36
Control	2.49 \pm 0.38	3.85 \pm 0.86	2.45 \pm 0.56	2.27 \pm 0.25

象,晶状体上皮细胞增生较多,可见纤维细胞及纤维化的晶状体上皮细胞,赤道部上皮细胞增生形成 Soemmering 环。胰蛋白酶组晶状体后囊完整,中央部无明显的残留上皮细胞增殖,赤道部无或只有少量上皮细胞,增生现象不明显,无 Soemmering 环形成。两组角膜内皮细胞均呈单层整齐排列,贴附于内弹力层上,角膜实质层无水肿,未见角膜损伤现象。两组房角结构完整,可见小梁组织及 Schlemm 管,未见损害现象。

3 讨论

3.1 后囊混浊的机理

白内障摘除术后 2~3 年内约有 30%~50% 患者发生后囊混浊,后囊混浊使患者术后得以恢复的视力再度下降,是现代白内障摘出术后影响视力的最主要并发症^[2,3]。因此,研究后囊混浊的发生机理及预防后囊混浊的发生有着非常重要的实际意义。在后囊混浊发生机理研究中已经证实,形成后囊混浊的根本原因在于白内障手术后残留的前囊膜下及赤道部晶状体上皮细胞因失去了“接触抑制”而增生,转化为纤维细胞,向后囊迁徙、增殖,并合成细胞外基质。晶状体上皮细胞在后囊混浊的发生机理中起着关键性作用,残留的晶状体上皮细胞是后囊混浊形成的物质基础。我们认为术中清除晶状体上皮细胞是避免残留的晶状体上皮细胞增生、预防后囊混浊的重要途径之一。因此,我们进行了晶状体上皮细胞清除的实验研究,利用胰蛋白酶去除细胞增殖的物质基础,从根本上预防后囊混浊。

3.2 后囊混浊的防治方法

目前国内外预防后囊混浊的研究主要集中在应用药物抑制残留的晶状体上皮细胞增殖、迁移及细胞外基质的合成方面,极少对如何清除晶状体上皮细胞进行研究。利用药物和免疫方法^[4,5]抑制晶状体上皮细胞的增殖和纤维化,此方面研究较多的有抗代谢类药物。体外培养证明,柔红霉素(daunomycin)、5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil, 5-Fu)、秋水仙素(colchicine)、骆驼蓬总碱(total alkaloid of harmaline, TAH)及肝素等均能有效抑制晶状体上皮细胞的增殖和迁徙^[6-9],但抗代谢药物无细胞特异性,对眼内其他组织的毒副作用普遍较强,且临床应用效果尚不肯定,难以在临床上应用。术中清

除晶状体上皮细胞的方法有:机械刮除与冲洗、超声波、冷冻及酶类处理。机械刮除是在手术显微镜下仔细刮除和冲洗,可除去部分上皮细胞,但该方法能清除的上皮细胞有限。超声波和冷冻都不能清除全部上皮细胞,且易造成周围组织损伤。

在细胞培养的研究过程中,有一个重要的步骤是应用胰蛋白酶和 EDTA 使贴壁生长的细胞连接松弛,消化脱离以供进一步研究。根据此原理,应用酶类处理晶状体囊膜,理论上几乎可以清除所有的上皮细胞,去除后囊混浊形成的细胞增殖基础,可以很好地预防后囊混浊的发生,这一方法在临床上具有重要应用价值。本研究证实 2.5 g/L 胰蛋白酶可以有效的清除兔眼晶状体上皮细胞而对眼内组织无明显损伤,可以有效的预防后囊混浊的发生。术后 4 周,胰蛋白酶组与对照组之间后囊混浊的发生情况有明显差异,胰蛋白酶组多数眼后囊无或只有轻度混浊,对照组多数为中度或重度混浊,两组经统计学检验具有显著性差异。病理显示胰蛋白酶组晶状体后囊大部分无上皮细胞,为均一透明的后囊膜组织,少部分赤道部有少量上皮细胞,增生现象不明显。这说明胰蛋白酶可以清除大部分上皮细胞,但并未完全清除所有晶状体上皮细胞。由于赤道部藏匿于虹膜下,完全清除赤道部上皮细胞有一定困难,因此清除赤道部细胞应特别小心、反复进行。

手术中为了尽量减少胰蛋白酶向周围组织扩散而引起的副作用,前囊开口尽可能小,尽量保持晶状体囊袋的完整性,减少对周围组织的损伤。前房内注入空气泡,使囊袋内的胰蛋白酶与角膜内皮之间存在隔离空间,避免胰蛋白酶与角膜内皮相接触,从而避免损伤角膜内皮细胞,术后病理证实角膜内皮细胞形态正常,无损伤表现。手术后裂隙灯显微镜检查、眼压测定、病理结果证实 2.5 g/L 胰蛋白酶对眼组织无明显毒副作用。裂隙灯观察术后第 1 天,对照组和胰蛋白酶组兔眼均有轻度角膜水肿、前房内少量渗出物及前房闪辉,系手术后的正常炎症反应,两组炎症程度无明显差异。术后 3 d,两组炎症反应消失,角膜透明,前房闪辉及渗出物消失。这说明胰蛋白酶并未加重或延长术后炎症反应。术后早期两组眼压均有轻度升高,1 周后恢复正常,统计学处理两组无差异显著性,说明术后早期眼压升高与炎症反应有关,与胰蛋白酶无关。病理结果显示两组房角结构完整,未见损害现

象,这与正常眼压相一致。两组角膜内皮细胞均排列整齐,角膜实质层无水肿,未见角膜损伤现象。这说明 2.5 g/L 胰蛋白酶对眼组织无明显毒副作用,应用 2.5 g/L 胰蛋白酶清除晶状体上皮细胞预防后囊混浊是安全可靠的,但临床应用尚须进一步的临床研究。

此类研究国外仅有 Nishi 等作过尝试性实验,且并没有成熟的方法在临床上应用^[10, 11]。本实验旨在通过研究酶类对上皮细胞的清除作用,探索出成熟的临床应用方法,从根本上解决后囊混浊的问题,在临床上有非常广阔的应用前景。

(本文图 1, 图 2 见插页 3)

参考文献:

- [1] Odlich M G, Hall S J, Worgul S L, *et al.* Posterior capsule opacification: experimental analyses [J]. *Ophthalmic Res*, 1985, 17(2): 75.
- [2] Spalton D J. Posterior capsular opacification after cataract surgery [J]. *Eye*, 1999, 13(3): 489.
- [3] Apple D J, Solomon K D, Tetz M R, *et al.* Posterior capsule opacification [J]. *Surv Ophthalmol*, 1992, 37(2): 73.
- [4] Duncan G, Wormstone I M, Liu C S, *et al.* Thapsigargin coated intraocular lenses inhibit human lens cell growth [J]. *Nat Med*, 1997, 3(9): 1026.
- [5] Tarsio J F, Kelleher P J, Tarsio M, *et al.* Inhibition of cell proliferation on lens capsules by 4197X-ricin A immunconjugate [J]. *J Cataract Refract Surg*, 1997, 23(2): 260.
- [6] Power W J, Neylan D, Collum L M. Daunomycin as an inhibitor of human lens epithelial cell proliferation in culture [J]. *J Cataract Refract Surg*, 1994, 20(3): 287.
- [7] 王翔, 李家臣, 马凤莲, 等. 应用肝素灌注预防后囊混浊的实验研究 [J]. *眼科研究*, 1999, 17(5): 341.
- [8] 吴明星, 利华明, 李绍珍, 等. 骆驼蓬总碱及其脂质体对兔晶状体上皮细胞的抑制作用 [J]. *眼科研究*, 1999, 17(4): 275.
- [9] 吴明星, 利华明, 李绍珍. 柔毛霉素、骆驼蓬总碱防治兔后发性白内障的实验研究 [J]. *中国实用眼科杂志*, 1999, 17(4): 204.
- [10] Nishi O, Nishi K, Hikida M. Removal of lens epithelial cells by dispersion with enzymatic treatment followed by aspiration [J]. *Ophthalmic Surg*, 1991, 22(8): 444.
- [11] Nishi O, Nishi K, Hikida M. Removal of lens epithelial cells following loosening of the junctional complex [J]. *J Cataract Refract Surg*, 1993, 19(1): 56.

(编辑 刘清海)

(上接第 438 页)

- [3] Ichinose H, Kurosawa Y, Titani K, *et al.* Isolation and characterization of a cDNA clone encoding human aromatic *L*-amino acid decarboxylase [J]. *Biophys Res Commun*, 1989, 164(3): 1024.
- [4] Sumi-Ichinose C, Ichinose H, Takahashi E, *et al.* Molecular cloning of genomic DNA and chromosomal assignment of the gene for human aromatic *L*-amino acid decarboxylase, the catecholamine and serotonin synthesis [J]. *Biochem*, 1992, 31(8): 2229.
- [5] Ichinose H, Sumi-Ichinose C, Ohye T, *et al.* Tissue-specific alternative splicing of the first exon generates two types of mRNAs in human aromatic *L*-amino acid decarboxylase [J]. *Biochem*, 1992, 31(46): 11546.
- [6] Paterson IA, Juorio AV, Boulton AA. 2-Phenylethylamine: a modulator of catecholamine transmission in the central nervous system? [J]. *J Neurochem*, 1990, 55(3): 1827.
- [7] Speight G, Turic D, Austin J, *et al.* Comparative sequencing and association studies of aromatic *L*-amino acid decarboxylase in schizophrenia and bipolar disorder [J]. *Mol Psychiatry* 2000, 5(3): 327.
- [8] Koob G F, Bloom F E. Cellular and molecular mechanisms of drug dependence [J]. *Science*, 1988, 242(4879): 715.
- [9] Kuwabara H, Cumming P, Yasuhara Y, *et al.* Regional striatal DOPA transport and decarboxylase activity in Parkinson's disease [J]. *J Nucl Med*, 1995, 36(7): 1226.
- [10] Imaoka T, Date I, Ohmoto T, *et al.* Significant behavioral recovery in Parkinson's disease model by direct intracerebral gene transfer using continuous injection of a plasmid DNA-liposome complex [J]. *Hum Gene Ther*, 1998, 9(7): 1093.
- [11] Fisher A, Starr MS. Opposite effects of glutamate antagonists and antiparkinsonian drugs on the activities of DOPA decarboxylase and 5-HTP decarboxylase in the rat brain [J]. *Brain Res* 2000, 868(2): 268.
- [12] Jahng JW, Wessel TC, Houpt TA, *et al.* Alternate promoters in the rat aromatic *L*-amino acid decarboxylase gene for neuronal and nonneuronal expression: an in situ hybridization study [J]. *J Neurochem*, 1996, 66(1): 14.

(编辑 刘清海)

晶状体上皮细胞清除预防后囊混浊 (正文见第 447 页)

Removal of Lens Epithelial Cells to Prevent Posterior Capsule Opacification (Text in page 447)

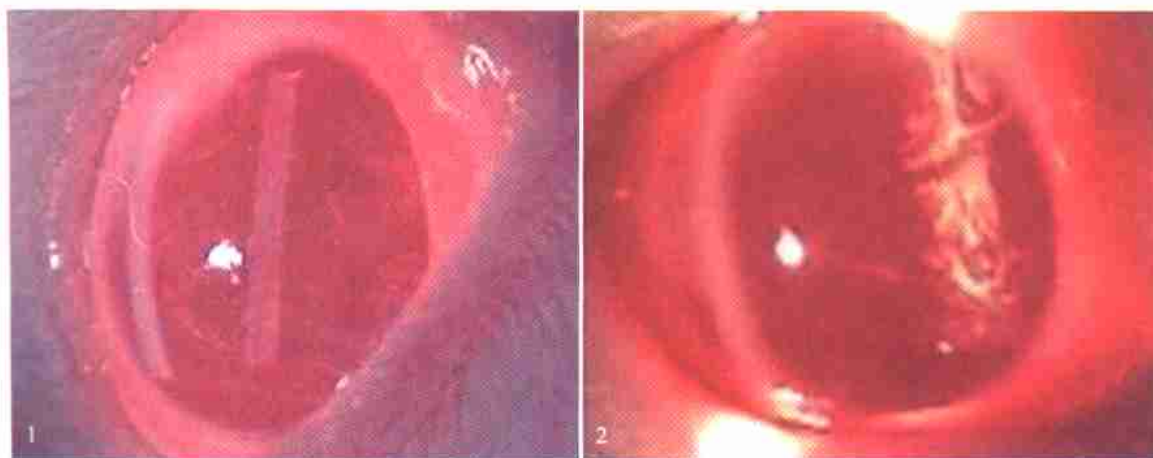


图 1 胰蛋白酶组术后 4 周裂隙灯观察

图 2 对照组术后 4 周裂隙灯观察

Fig. 1 Trypsin treated group 4 weeks after operation

The lens posterior capsules were clear, no opacification was observed

Fig. 2 Control group 4 weeks after operation

The lens posterior capsules were unclear, posterior capsule opacification was observed

伤寒杆菌内毒素诱导的 SD 大鼠全葡萄膜炎 (正文见第 451 页)

Panuveitis Induced by *Salmonella Typhimurium* Lipopolysaccharide in Sprague-Dawley Rats (Text in page 451)

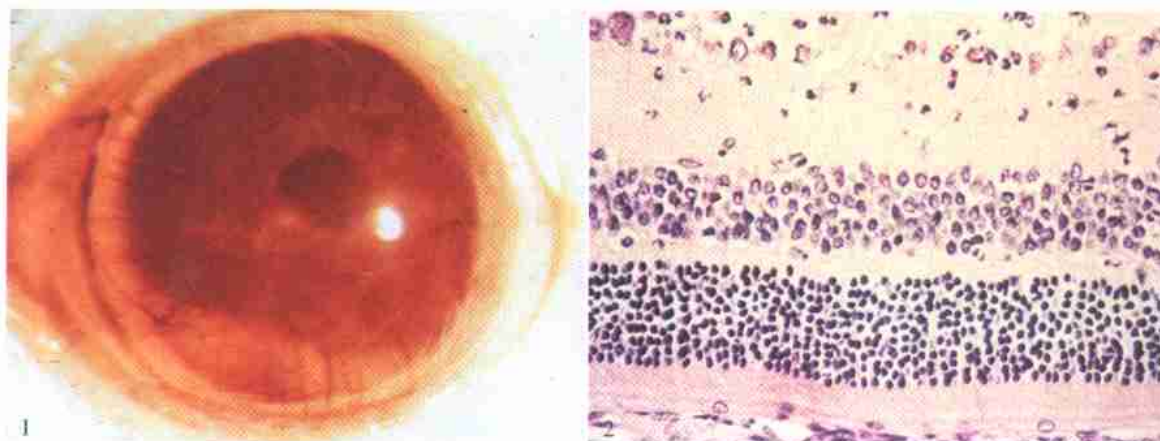


图 1 伤寒杆菌内毒素在 SD 大鼠诱导的眼前段改变

图 2 伤寒杆菌内毒素在 SD 大鼠诱导的视网膜组织学改变

Fig. 1 Changes of anterior segment induced by Lipopolysaccharide in SD rat

Fig. 2 Retinal histological changes induced by Lipopolysaccharide in SD rat