

共同性外斜视弱侧眼外肌的病理改变及 TGF- β 1 的表达

荆小娟¹, 徐莹², 张德秀³

作者单位:¹(710061) 中国陕西省西安市, 西安交通大学医学院;²(710003) 中国陕西省西安市儿童医院眼科;³(710061) 中国陕西省西安市, 西安交大医学院附属西安医院眼科

作者简介:荆小娟, 在职硕士研究生。

通讯作者:张德秀, 主任医师, 教授, 博士研究生导师, 研究方向: 青光眼病. zhangdexiu@mail.xjtu.edu.cn

收稿日期:2011-01-06 修回日期:2012-02-02

Pathological changes in weak side extraocular muscle of concomitant exotropia and TGF- β 1 expression

Xiao-Juan Jing¹, Ying Xu², De-Xiu Zhang³

¹Xi'an Jiaotong University College of Medicine, Xi'an 710061, Shaanxi Province, China; ²Department of Ophthalmology, Xi'an Children's Hospital, Xi'an 710003, Shaanxi Province, China; ³Department of Ophthalmology, Xi'an Hospital, Xi'an Jiaotong University School of Medicine, Xi'an 710061, Shaanxi Province, China

Correspondence to: De-Xiu Zhang. Department of Ophthalmology, Xi'an Hospital, Xi'an Jiaotong University School of Medicine, Xi'an 710061, Shaanxi Province, China. zhangdexiu@mail.xjtu.edu.cn

Received: 2011-01-06 Accepted: 2012-02-02

Abstract

• AIM: To discover the pathogenesis of concomitant exotropia by comparing the microstructure pathological changes and the expression of transforming growth factor (TGF- β 1) of extraocular muscle of concomitant exotropia with normal humans.

• METHODS: Thirty pieces of extraocular muscle of concomitant exotropia patients were divided into three groups, each group included ten pieces of extraocular muscle, the fourth group included six pieces of extraocular muscle of normal humans. Each group was observed by the light microscopy and Masson trichrome collagen staining, and TGF- β 1 was determined with immunohistochemistry.

• RESULTS: Muscle tissue atrophy, muscle fiber size and number decreases, fibrosis, hyalinization and degeneration of muscle fibers were found in the weak side muscle of concomitant exotropia under microscope and a lot of blue collagen fibers were found between muscle bundles and the surrounding of muscle cells in the weak side muscle of concomitant exotropia after Masson trichrome collagen staining. All the extraocular muscle expressed TGF- β 1, which showed buffy granules deposited in cytoplasm regularly. The expression of TGF- β 1 in congenital

exotropia group and constant exotropia group was higher than that in the normal human, the difference was statistically significant.

• CONCLUSION: In the pathological changing of extraocular muscle of concomitant exotropia, TGF- β 1 plays a facilitating role.

• KEYWORDS: concomitant exotropia; pathological changes in extraocular muscle; transforming growth factor

Jing XJ, Xu Y, Zhang DX. Pathological changes in weak side extraocular muscle of concomitant exotropia and TGF- β 1 expression. *Guji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2012;12(3):427-429

摘要

目的:通过研究共同性外斜视弱侧肌的病理改变及转化生长因子(TGF- β 1)的表达,探讨共同性外斜视的发病机制。

方法:收集共同性外斜视患者弱侧肌(作用力与眼位偏斜方向相反的眼外肌)30例,分成3组,每组10例,正常人眼外肌6例,分别行光镜和Masson三色胶原染色,采用免疫组化方法对弱侧眼外肌中TGF- β 1定量研究。

结果:共同性外斜视弱侧肌不同程度地显示肌组织萎缩,肌纤维体积减小、数量减少,纤维化、玻璃样变及肌纤维变性,正常人眼外肌和共同性外斜视患者弱侧眼外肌中均有TGF- β 1阳性表达,先天性外斜视组、恒定性外斜视组的TGF- β 1的表达高于对照组,其差异具有显著性意义。

结论:共同性外斜视眼外肌发生病理改变的过程中,TGF- β 1起到了促进作用。

关键词:斜视;眼外肌病理改变;转化生长因子

DOI:10.3969/j.issn.1672-5123.2012.03.15

荆小娟,徐莹,张德秀.共同性外斜视弱侧眼外肌的病理改变及TGF- β 1的表达.国际眼科杂志2012;12(3):427-429

0 引言

共同性外斜视是眼科临床工作中常见的一类斜视,其发病率高,危害较大,对于儿童患者,往往形成弱视,破坏双眼视觉功能。为更深入探讨共同性外斜视的发病机制,我们取30例在斜视矫正术中切除的眼肌进行HE染色病理学研究,用Masson三色胶原染色法观察胶原的增生情况;采用免疫组化方法对弱侧眼外肌中TGF- β 1定量研究,现将结果报道如下。

1 对象和方法

1.1 对象 收集我院及西京医院眼科于2011-07/09收治患者30例,并分为先天性外斜视组、间歇性外斜视组、恒定性外斜视组各10例。将斜视手术时截取的内直肌作为标本。取同期健康眼角膜移植供体内直肌6例作为对照组。斜视组病例中男18例,女12例;年龄3~40(平均

13.4)岁;病程3~32a;斜视度检查以三棱镜检查为准,斜视度 $-45^{\Delta} \sim -100^{\Delta}$,平均斜度 -80^{Δ} 。所有病例行全面眼肌检查、三棱镜遮盖、同视机测定各诊断眼位的斜视角与视觉三级功能检查。第一斜视角等于第二斜视角,无复视及眼球运动障碍。术前常规查体并检查视力、屈光状态、外眼、裂隙灯、眼底以排除其它器质性眼病。所有患者无明显屈光不正或有屈光不正但经戴镜矫正6mo以上无变化者,伴有弱视的患者戴镜矫正屈光不正后行弱视治疗双眼视力基本正常且6mo以上无变化者。

1.2 方法 于手术中收集斜视患者截除的内直肌30例及角膜移植供体的健康人内直肌6例,立即置于中性甲醛固定液中,固定24h后,常规脱水,定向石蜡包埋切片3张,分别用于常规HE染色,Masson三色胶原染色及免疫组化,HE染色按常规方法进行。Masson染色步骤如下:(1)石蜡切片脱蜡至水。(2)苏木素染色液8min。(3)5g/L盐酸酒精分化水洗,流水蓝化。(4)10g/L丽春红酸性品红染色8min。(5)水洗。(6)10g/L磷铝酸染色2min。(7)2g/L亮绿5min,水洗。(8)脱水,透明封片。免疫组化试剂及方法;所用试剂:(1)一抗:兔抗人TGF- β 1多克隆抗体,购自武汉博士德公司。(2)通用型SP系列工作液试剂盒,生物素标记羊抗兔IgG,购自北京中杉金桥生物技术有限公司。(3)DAB显色试剂盒,购自武汉博士德公司。(4)PBS缓冲液。(5)0.01mol/L枸橼酸盐缓冲液。以上试剂中PBS缓冲液及0.01mol/L枸橼酸盐缓冲液自备。实验步骤按试剂盒说明书进行,磷酸盐缓冲液(PBS, pH=7.4)代替一抗作阴性对照,已知阳性组织切片作为阳性对照。结果观察;Masson三色胶原染色,红色为肌纤维,蓝色为胶原纤维,每张切片在 10×10 倍镜下随机取5个不重叠视野,比较4个不同组之间肌纤维与胶原纤维的变化。免疫组化染色,呈棕黄色区域为阳性部位,每张切片在 10×40 倍镜下随机取5个不重叠视野,利用Motic Med 6.0数码医学图像分析系统,测定阳性目标平均灰度,以5个视野的均值为每张切片的平均灰度值。

统计学分析:应用SPSS 17.0软件进行统计分析,各组数据均采用 $\bar{x} \pm s$ 表示。所得实验数据经方差齐性检验后,采用独立样本的 t 检验, $P < 0.05$ 为差异具有显著性。

2 结果

光镜下眼外肌形态:对照组6例眼外肌标本均显示肌纤维分布均匀,大小、形态正常,走行一致,排列整齐规则,肌纤维间质成分较少,肌横纹清晰可见,均未见纤维组织增生(图1)。病例组中30例眼外肌标本不同程度地显示肌组织萎缩,肌纤维体积减小、数量减少,排列紊乱,肌纤维间隙增宽,可见纤维组织、脂肪组织和小血管增生,严重者出现肌纤维变性、结构改变,肌细胞横纹消失(图2)。先天性外斜视组、恒定性外斜视组眼外肌标本显示出不同程度的眼外肌纤维化、玻璃样变及肌纤维变性、结构消失等改变。间歇性外斜视组可见肌纤维体积减小、数量减少,排列紊乱,肌肉部分萎缩、肌纤维间隙增宽,胶原含量增多、玻璃样变性等改变。病程相对较长的恒定性斜视组患者改变更为明显。

Masson三色胶原染色比较:对照组中肌细胞和肌束排列整齐规则,肌细胞间极少见蓝色的胶原纤维,仅在肌

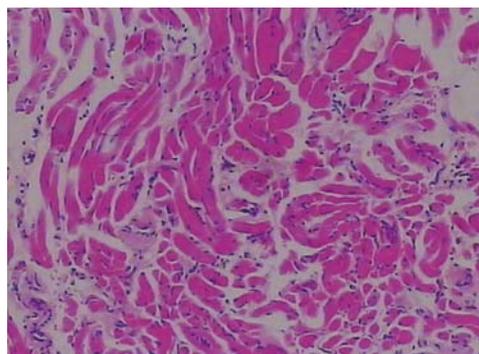


图1 对照组眼外肌形态(HE染色 $\times 100$)。

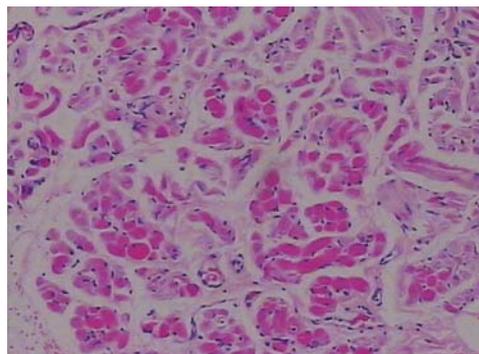


图2 病例组眼外肌形态(HE染色 $\times 100$)。

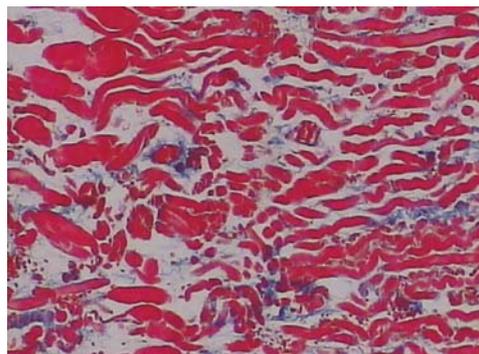


图3 对照组形态(Masson染色 $\times 100$)。

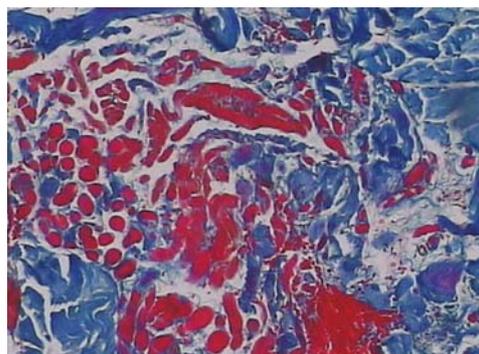


图4 病例组形态(Masson染色 $\times 100$)。

束间及小血管附近见少量的胶原纤维(图3)。病变组中在肌束间及肌细胞周围见大量的蓝色的胶原纤维增生,肌细胞及肌束排列不规律,肌细胞有不同程度的萎缩(图4)。

先天性外斜视组、间歇性外斜视组、恒定性外斜视组、对照组标本中TGF- β 1的测定分别为 146.67 ± 8.67 , 139.75 ± 7.48 , 143.61 ± 8.27 , 132.89 ± 8.40 。先天性外斜视组、恒定性外斜视组的TGF- β 1的表达高于对照组,其差异具有显著性意义($P < 0.05$)。而间歇性外斜视组的TGF- β 1的表达与对照组无明显差异($P > 0.05$)。

3 讨论

共同性斜视是指双眼视轴分离、眼球运动无障碍、各诊断眼位斜视角无改变的斜视,可分为共同性内斜视与共同性外斜视。外斜视可表现为外隐斜视、间歇性外斜视及恒定性外斜视。小儿眼科中还可见到部分先天性外斜视患儿。先天性外斜视一般指生后1岁以内发生的恒定性共同性外斜视。

外斜视不仅影响美观,给患者心理上造成严重创伤,而且严重影响双眼视觉的形成与发育,形成弱视,有的终身不能恢复正常视力,不能适应现代社会发展对双眼视觉的严格要求。国内报道的发病率在1%~4%^[1,2],国外报道临床发病率大约在2%~4%^[3]。

外斜视的确切发病原因和发病机制尚未完全清楚,目前多认为与眼眶解剖(如眼眶的方向、大小、形状、瞳距)、眼外肌附着点和走行异常、筋膜结构异常(如外直肌节制韧带过强、外直肌和下直肌肌间膜的异常联系和增厚)有关,此外,也与异常的神经支配导致集合与分开功能之间平衡失调、集合功能不足和融合功能低下有关^[4]。

近年来对于斜视眼弱侧眼外肌的病理改变多有报道。栾瑛、王淑霞等发现斜视眼弱侧肌肉,大部分均表现为肌纤维排列疏松,肌纤维较少,方向不一致,间质成分多。在两个不同年龄组,大龄组中有的未见肌纤维,可见大量胶原组织。有些肌纤维极少,排列紊乱、疏松,间隙变大,胶原增多。电镜下表现对照组的眼外肌细胞膜完整,肌原纤维排列整齐、紧密、肌节整齐,明、暗带及Z线、H带结构清晰、线粒体分布均匀、含少量糖元。斜视眼弱侧眼肌均有不同程度的病变,主要表现为肌细胞萎缩、退变或发育不良改变,重者肌细胞坏死消失,代之以纤维组织。具体表现为多数肌纤维体积变小,肌膜不完整,有大量肌膜下包涵物,肌丝成分变少致质膜塌陷皱缩;局灶节段性肌丝排列紊乱较多,有的区域肌丝溶解消失或肌丝排列稀疏,肌节不明显或Z线呈水纹状改变,H带结构不清;线粒体可轻度增多,大小形态不一致,嵴可增生呈同心圆排列或水肿断裂,有的肌细胞质膜下见成堆的线粒体;肌质网扩张较常见,肌核内移较明显;间质胶原纤维增生,成纤维细胞较多见,弹力纤维较少见,有髓或无髓神经纤维均可见,但数量减少,有些髓鞘层次结构不明显,轴突轻度水肿,神经肌接头处突触小泡丰富,突触间隙较宽。随病程延长斜视度增大,肌纤维病变加剧,有些病例肌纤维几乎全部退化为纤维组织^[5]。与我们观察到的结果相符。对于引起这些改变的原因,很多学者进行了探讨,陈永东等^[6]研究了共同性斜视眼外肌神经生长因子(NGF)的表达后认为正常人眼外肌和共同性斜视患者弱侧肌中均有NGF阳性表达,阳性着色主要位于肌细胞胞浆,共同性斜视弱侧肌中NGF表达明显比正常人弱,其差异具有非常显著性意义。由此推测共同性斜视患者弱侧肌呈现类似于骨骼肌失神经支配后的萎缩,退行性变可能与神经支配减弱所致的NGF活性下降有关。徐国兴等^[7]研究了肌动蛋白和肌球蛋白在共同性斜视眼外肌的表达后发现共同性斜视组慢肌纤维和快肌纤维数目明显减少,但未见肌纤维类型优势分布和肌纤维群组化现象,肌动蛋白和肌球蛋白的表达明显下降,眼外肌纤维减少和收缩蛋白表达减弱在共同性斜

视的发病中可能起重要作用;眼外肌快肌纤维和慢肌纤维的数目比例失衡可能不是共同性斜视产生眼位偏斜的原因。

近年来,转化生长因子的研究是一个热点,大量研究表明转化生长因子TGF- β 1(transforming growth factor- β 1, TGF- β 1)是一种多功能细胞因子,TGF- β 1是细胞因子TGF- β 超家族成员之一,最初是1970年代末从血小板中分离出来的,因其能促进成纤维细胞的转化生长而得名。其广泛存在于动物正常组织细胞及转化细胞中,以骨组织和血小板中含量最多,是体内最重要的致纤维化因子,是作用最强和最广泛的影响纤维产生的细胞因子。TGF- β 1对机体组织产生的损伤反应主要归因于它的自分泌环路机制,能够使组织修复过程变成一种慢性的、进行性的过程,因而最终导致组织器官发生纤维化、硬化、结构破坏、功能丧失。有关报道已见于肝、肺、肾等器官发生纤维化、皮肤瘢痕组织形成(真皮纤维化)、肺动脉高血压、动脉粥样硬化、心肌梗死后纤维化和术后腹内粘连等方面^[8]。那么,我们观察到的外斜视弱侧眼外肌病理改变会不会与TGF- β 1的异常表达有关呢?我们对共同性外斜视患者弱侧眼外肌及对照组眼外肌TGF- β 1的表达进行了对照研究,结果表明正常人眼外肌和共同性外斜视患者弱侧眼外肌中均有TGF- β 1阳性表达,阳性着色主要位于肌细胞胞浆。先天性外斜视组、恒定性外斜视组的TGF- β 1的表达高于对照组,其差异具有显著性意义($P < 0.05$)。而间歇性外斜视组的TGF- β 1的表达与对照组无明显差异。由此我们推测,共同性外斜视弱侧眼外肌不同程度的病理变化与TGF- β 1的表达有关。先天性外斜视组、恒定性外斜视组眼外肌的病理改变更明显,出现了不同程度的眼外肌纤维化、玻璃样变及肌纤维变性、结构消失等变化,相应的其TGF- β 1的表达显著增加。而间歇性外斜视组的病理改变较轻,其TGF- β 1的表达与对照组无明显差异。提示我们在外斜视眼外肌发生病理改变的过程中,TGF- β 1起到了促进作用,其表达的增加与病理改变的程度呈正相关。进一步研究在眼外肌病理变化中TGF- β 1发生表达增加的具体机制,有可能阐明眼外肌发生病理改变的原因。

参考文献

- 1 杨美琼,黄灵聪,许宽宪.厦门市10585名儿童弱视调查及防治.中国斜视与小儿眼科杂志2002;10(3):117-121
- 2 韩芝明,姚瑞珍,张云云,等.天水市儿童视力及斜视调查.中国斜视与小儿眼科杂志2005;13(4):167-168
- 3 Marilyn T, Mahmood F. Computed tomography scanning in the evaluation of ocular motility disorders. *Radio Clin N Am* 1987; 25(4):733
- 4 阎洪禄,高建鲁.小儿眼科学.北京:人民卫生出版社2002:28
- 5 栾瑛,王淑霞,刘斌,等.共同性斜视眼外肌病理改变的研究.国际眼科杂志2008;8(1):94-96
- 6 陈永东,刘双珍,吴小影,等.共同性斜视眼外肌神经生长因子的表达与形态结构改变的关系.中国斜视与小儿眼科杂志2004;12(2):66-68
- 7 徐国兴,吴松一,马少青.肌动蛋白和肌球蛋白在共同性斜视眼外肌的表达研究.海峡科学2007;12:18-19
- 8 刘纯杰,王德文,郑兆荣.转化生长因子 β 与器官纤维化.军事医学科学院院刊1997;21(4):285-288