

Bcl-2 和 Bax 在结膜松弛症患者结膜组织中的表达

董利群¹, 刘 鹤¹, 张兴儒²

基金项目:上海市嘉定区科委基金(No. 2010023)

作者单位:¹(201800)中国上海市嘉定区中心医院眼科;

²(200062)中国上海市,上海中医药大学附属普陀医院眼科

作者简介:董利群,女,副主任医师,研究方向:白内障、青光眼。

通讯作者:刘鹤,女,硕士,主治医师,研究方向:眼科临床. lulu_z@live.cn

收稿日期:2013-10-24 修回日期:2014-01-10

Expression of Bcl - 2 and Bax of conjunctivochalasis patients

Li-Qun Dong¹, Dong Liu¹, Xing-Ru Zhang²

Foundation item: Science and Technology Commission of Jiading District, Shanghai (No. 2010023)

¹Department of Ophthalmology, Central Hospital of Jiading District, Shanghai 201800, China; ²Department of Ophthalmology, Affiliated Putuo Hospital of Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200062, China

Correspondence to: Dong Liu. Department of Ophthalmology, Central Hospital of Jiading District, Shanghai 201800, China. lulu_z@live.cn

Received:2013-10-24 Accepted:2014-01-10

Abstract

• **AIM:** To study expression of Bcl - 2 and Bax in conjunctival tissue samples of conjunctivochalasis patients.

• **METHODS:** To observe the histopathological change of conjunctivochalasis by HE staining of conjunctival tissue. Immunohistochemical staining was applied to compare the expression situation of Bcl-2 and Bax in conjunctival tissue of conjunctivochalasis patient (20 samples) and the normal conjunctiva tissue (10 samples).

• **RESULTS:** There were lymphocyte and plasmocyte infiltration in the conjunctivochalasis tissue. The expression of Bcl - 2 in the conjunctivochalasis was similar with the normal conjunctiva tissue ($P>0.05$). The expression of Bax in the two tissues showed significant difference ($P<0.05$). Spearman rank correlation analysis ($r = 0.432, P > 0.05$) indicated that there was no correlation between the expression of Bcl-2 and Bax.

• **CONCLUSION:** Unbalanced expression of Bcl-2 and Bax in conjunctival tissue may play a significant role in the occurrence and development of conjunctivochalasis.

• **KEYWORDS:** conjunctivochalasis; immunohistochemistry; Bcl-2; Bax

Citation: Dong LQ, Liu D, Zhang XR. Expression of Bcl-2 and

Bax of conjunctivochalasis patients. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2014;14(2):365-367

摘要

目的:研究 Bcl-2 和 Bax 在结膜松弛症患者的结膜组织中的表达状况。

方法:HE 染色观察松弛结膜组织的组织特点,免疫组织化学方法检测 20 例结膜松弛症患者松弛结膜组织中 Bcl-2 和 Bax 的表达状况,并与 10 例正常结膜组织进行比较。

结果:松弛结膜组织鳞状上皮增生间质中有淋巴、浆细胞浸润,Bcl-2 在松弛结膜组织中表达与对照组比较差别无显著性意义($P>0.05$),Bax 在松弛结膜组织中表达明显增加,与对照组比较差别有显著性意义($P<0.05$),经 Spearman 等级相关分析($r = 0.432, P > 0.05$),Bcl-2 与 Bax 阳性表达间无相关性。

结论:Bcl-2 和 Bax 表达失衡可能在结膜松弛症的发生和发展中起着重要的作用。

关键词:结膜松弛症;免疫组织化学;Bcl-2; Bax

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2014.02.50

引用:董利群,刘鹤,张兴儒. Bcl-2 和 Bax 在结膜松弛症患者结膜组织中的表达. *国际眼科杂志* 2014;14(2):365-367

0 引言

结膜松弛症(conjunctivochalasis, CCh)是年龄相关性老年人常见眼病^[1],是由于球结膜过度松弛和/或下睑张力高,造成松弛球结膜堆积在眼球与下睑缘、内、外眦部之间形成皱褶,引起眼表泪液学异常,并伴有眼部不适等症状的疾病^[2]。其发病与球结膜、泪液和睑缘三者平衡失调有关,并与年龄相关,是多因素作用的结果,但确切的病因和发展机制尚不清楚。研究表明,Bcl-2 和 Bax 基因在调控细胞凋亡的过程中发挥着重要作用,为探讨结膜松弛的发病是否有细胞凋亡的参与,以便进一步了解结膜松弛症的发病机制,从而为预防其发生、发展提供新的线索,我们检测了结膜松弛症患者松弛结膜组织细胞中 Bcl-2 和 Bax 的表达。

1 对象和方法

1.1 对象 结膜松弛症标本选自 2010-09/2013-04 上海中医药大学附属普陀医院及上海市嘉定区中心医院 20 例结膜松弛症患者切除的松弛结膜组织(试验组)。按照 Zhang 等^[3]的结膜松弛症分级标准,Ⅱ级 6 眼,Ⅲ级 12 眼,Ⅳ级 2 眼,其中男 12 例,女 8 例,年龄 52 ~ 71(平均 62.3)岁;对照组选择裂隙灯检查角膜、结膜等眼表结构无异常的白内障患者结膜组织 10 例,其中男 6 例,女 4 例,年龄 55 ~ 75(平均 68.6)岁。

1.2 方法

1.2.1 检测方法 标本经 40g/L 甲醛固定,常规石蜡包埋,

表1 两组中 Bcl-2 和 Bax 的表达

例

分组	n(例)	Bcl-2						Bax					
		阴性	1级	2级	3级	4级	阳性率(%)	阴性	1级	2级	3级	4级	阳性率(%)
对照组	10	7	2	1	0	0	30	8	1	1	0	0	20
试验组	20	10	6	3	1	0	50	4	8	3	4	1	80

作 3μm 连续切片,分别进行 HE 染色和免疫组织化学染色,30mL/L 过氧化氢消除内源性过氧化物酶活性,蒸馏水冲洗,微波炉抗原修复,Bcl-2、Bax 一抗孵育 37℃,30min,用普通小鼠 IgG 及 PBS 代替一抗作阴性及空白对照,PBS 漂洗,滴加生物素聚合物,37℃,30min,PBS 漂洗,二氨基联苯胺显色,苏木素复染,中性树胶封片,显微镜观察照相。

1.2.2 染色结果判断 光镜下每张切片取任 5 个视野进行细胞计数,至少计数 500 个细胞,以表达 Bcl-2 或 Bax 蛋白阳性细胞占细胞总数的百分率表示阳性表达程度。未见阳性细胞着色为阴性,阳性细胞数<10%为 1 级,10%~25%为 2 级,26%~50%为 3 级,>50%为 4 级。

统计学分析:所有数据均用 SPSS 11.5 统计软件处理,率的比较应用 χ^2 检验,Bcl-2 与 Bax 阳性表达的相关分析采用 Spearman 等级相关分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 HE 染色 试验组较对照组结膜表面弯曲皱褶增加,鳞状上皮增生,上皮厚薄不均,有的表层细胞轻度角化不全,基底细胞有不等的色素沉着,固有层血管淤血、扩张,间质中有淋巴、浆细胞浸润(图 1,2)。

2.2 Bcl-2 和 Bax 免疫组化表达结果 Bcl-2 在正常结膜上皮中仅少数表达于上皮基底层细胞中,结膜松弛症患者 Bcl-2 表达阳性率升高,胞浆、胞膜内可见棕黄色颗粒均匀分布,主要见于上皮基底层(图 3),但与对照组比较差别无显著性意义($\chi^2 = 1.346, P>0.05$,表 1)。Bax 在正常结膜上皮中可见弱的表达,结膜松弛症患者 Bax 表达明显增强,与 Bcl-2 表达类似,在胞浆、胞膜内可见棕黄色颗粒均匀分布,亦主要见于上皮基底层(图 4),与对照组比较有显著性差异($\chi^2 = 10.625, P<0.05$,表 1)。

结果表明,试验组中 Bcl-2 蛋白表达与对照组对比差异无显著性,Bax 蛋白表达在两组间对比则差异有显著性,表明松弛结膜组织中存在 Bcl-2 与 Bax 表达失衡,经 Spearman 等级相关分析($r = 0.432, P>0.05$),Bcl-2 与 Bax 阳性表达间无相关性。

3 讨论

结膜松弛症是眼科常见病,常常出现在老年人,易误为正常的老年性改变而忽略,近年来随着老龄人口的增长,结膜松弛症逐渐被重视,但其发病机制尚不十分明确。本研究拟在观察松弛结膜组织的病理特征及 Bcl-2、Bax 细胞凋亡因子在该疾病中的作用。张兴儒等^[4]对结膜松弛症病理学研究显示结膜松弛症患者结膜表面弯曲皱褶增加,鳞状上皮增生,上皮厚薄不均,有的表层细胞轻度角化不全,基底细胞有不等的色素沉着,固有层血管淤血、扩张,间质中有淋巴、浆细胞浸润,与本研究病理学改变相一致。

细胞凋亡是细胞内在的决定细胞发育和组织平衡的一个重要机制,而 Bcl-2 和 Bax 是目前公认的重要的调节

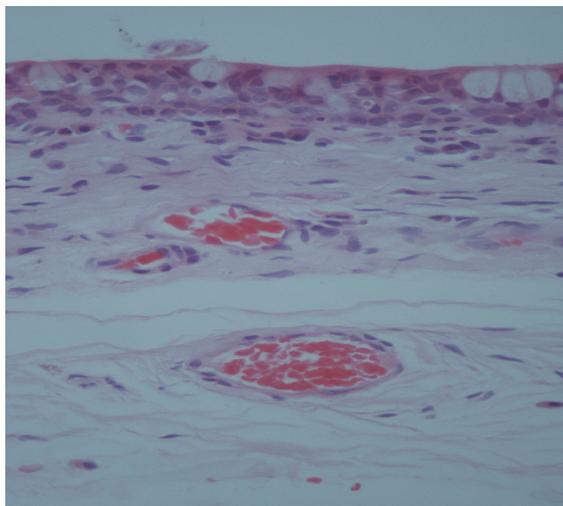


图1 正常结膜 HE 染色(×400)。

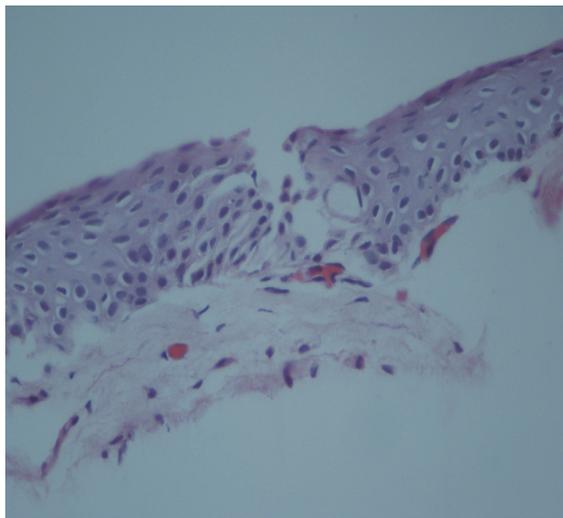


图2 松弛结膜组织 HE 染色(×400)。

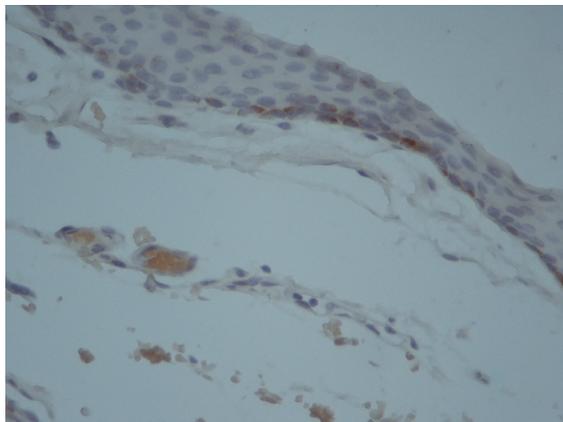


图3 松弛结膜中 Bcl-2 呈阳性着色,胞浆、胞膜内可见棕黄色颗粒均匀分布,主要见于上皮基底层(×400)。

凋亡的基因蛋白,其中 Bcl-2 抑制细胞凋亡,Bcl-2 抑制凋亡必须通过与 Bax 形成异源二聚体来实现,Bax 促进细

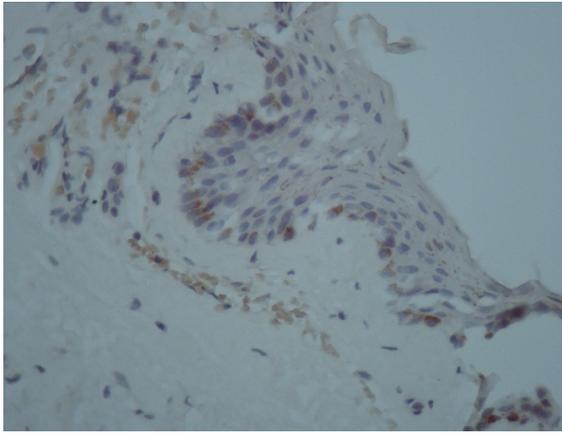


图4 松弛结膜中 Bax 呈阳性着染,胞浆、胞膜内可见棕黄色颗粒均匀分布,主要见于上皮基底层($\times 400$)。

胞凋亡并起抑制 Bcl-2 的作用,二者的比例决定细胞接受凋亡信号后的存活与否^[5,6]。本研究中 Bcl-2 在正常结膜上皮中仅少数表达于上皮基底层细胞中,结膜松弛症患者 Bcl-2 表达阳性率升高,但与对照组比较差别无显著性意义,而 Bax 在松弛结膜组织中表达为 80%,明显高于正常结膜组织,且在各层均有表达,多见于上皮层尤其是基底层,与对照组比较有显著性差异,同时 Spearman 等级相关分析,Bcl-2 与 Bax 阳性表达间无相关性,提示松弛结膜组织中存在 Bcl-2 与 Bax 表达失衡。研究表明在松弛结膜组织中凋亡基因启动,打破了组织的自身平衡,引起结膜组织上皮基底细胞发生凋亡。2000 年 Li 等^[7]报道了结膜松弛症与基质金属蛋白酶的过度表达和增生活跃有关,在结膜松弛症患者的患者中可以观察到弹力纤维变性。松弛结膜组织胶原纤维溶解,弹力纤维变性,结膜组织变薄^[8,9],结膜弹性下降,张力降低,形成皱褶,在瞬目或眨眼及下睑张力增高的情况下,松弛结膜就会堆积在下睑缘上、内、外眦之间,影响泪液流动性改变,泪液中蛋白质及酶的表达异常^[10]以及由于各种刺激引起球结膜多种细胞

因子 TNF- α , IL-6, IL-8 等的异常分泌^[11]直接或间接通过某种信号启动凋亡基因,Bax 表达明显增高,松弛结膜组织中 Bcl-2 与 Bax 表达失衡,细胞凋亡增加,增殖能力减弱,使球结膜上皮基底细胞发生凋亡,可能是结膜松弛发生、发展的机制之一。

参考文献

- 1 Zhang X, Li Q, Zou H, *et al.* Assessing the severity of conjunctivochalasis in a senile population; a community - based epidemiology study in Shanghai, China. *BMC Public Health* 2011; 11:198-204
- 2 张兴儒,许琰,李青松,等. 结膜松弛症临床与基础研究. *中国实用眼科杂志* 2005;23(1):83-87
- 3 Zhang XR, Zou HD, Li QS, *et al.* Comparison study of two diagnostic and grading systems for conjunctivochalasis. *Chin Med J* 2013; 126: 3118-3123
- 4 张兴儒,蔡瑞霞,王宝华,等. 结膜松弛症的组织病理学观察. *中华眼科杂志* 2004;40(1):37-39
- 5 Kimura T, Nishino T, Maruyama N, *et al.* Expression of bcl-2 and bax in hypokalemic nephropathy in rats. *Pathobiology* 2001; 69(5): 237-248
- 6 Chen T, Li M, Zhang R, *et al.* Dihydroartemisinin induces apoptosis and sensitizes human ovarian cancer cells to carboplatin therapy. *J Cell Mol Med* 2009;13(7):1358-1370
- 7 Li DQ, Meller D, Liu YQ, *et al.* Overexpression of MMP-1 and MMP-3 by cultured conjunctivochalasis fibroblasts. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000; 41(2):404-410
- 8 Zhang XR, Zhang ZY, Hoffman MR, *et al.* The effect of age and conjunctivochalasis on conjunctival thickness. *Curr Eye Res* 2013;38(3): 331-334
- 9 Zhang XR, Li QS, Xiang MH, *et al.* Bulbar conjunctival thickness measurements with optical coherence tomography in healthy chinese subjects. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2013;54(7):4705-4709
- 10 项敏泓,张兴儒,李青松,等. 液体芯片-飞行时间质谱对结膜松弛症患者泪液蛋白质的分析. *眼科研究* 2010;28(9):864-868
- 11 项敏泓,张兴儒,张迅轶,等. 结膜松弛症泪液中细胞因子的检测. *国际眼科杂志* 2010;10(9):1702-1703