

特发性视网膜前膜的临床分类及胶原测定

汪向利, 马建军

作者单位: (730000) 中国甘肃省兰州市, 甘肃省人民医院眼科
作者简介: 汪向利, 毕业于兰州大学第二临床医学院眼科学专业, 硕士, 副主任医师, 甘肃省医学会眼科专业委员会眼底病学组副组长, 研究方向: 眼底病。

通讯作者: 马建军, 主任医师, 眼科主任, 中华医学会眼科学分会委员, 甘肃省医学会眼科专业委员会主任委员, 甘肃省医师协会眼科医师分会常务理事, 甘肃省防盲技术指导组副组长, 研究方向: 白内障、青光眼。Mjj6481@sina.com

收稿日期: 2016-12-03 修回日期: 2017-03-07

Clinical classification and collagen measurement for idiopathic epiretinal membrane

Xiang-Li Wang, Jian-Jun Ma

Department of Ophthalmology, Gansu Provincial Hospital, Lanzhou 730000, Gansu Province, China

Correspondence to: Jian-Jun Ma, Department of Ophthalmology, Gansu Provincial Hospital, Lanzhou 730000, Gansu Province, China. Mjj6481@sina.com

Received: 2016-12-03 Accepted: 2017-03-07

Abstract

• AIM: To decide the type of the idiopathic epiretinal membrane by measuring collagens.

• METHODS: Totally 25 cases (25 eyes) were divided into cellophane macular reflex membrane (CMRM) and preretinal macular fibrosis membrane (PMFM) by fundus manifestation. Then the specimens of peeled idiopathic epiretinal membranes were made immunohistochemistry and measured for the collagen of VI and I and II. The coincidence rate were tested between the fundus examination and pathological examination.

• RESULTS: The idiopathic epiretinal membranes were classified into 10 CMRM and 15 PMFM by fundus manifestation. The immunohistochemical specimens were classified into 16 VI collagens and 9 I or II collagens.

• CONCLUSION: The pathological examination is the means of the type of the idiopathic epiretinal membranes.

• KEYWORDS: idiopathic epiretinal membrane, immunohistochemistry; collagen

Citation: Wang XL, Ma JJ. Clinical classification and collagen measurement for idiopathic epiretinal membrane. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2017;17(4):775-777

摘要

目的:通过对特发性视网膜前膜的两种胶原测定决定前膜类型。

方法:对 25 例 25 眼特发性视网膜前膜依据眼底表现进行分类, 包括玻璃体纸样黄斑反射膜 (cellophane macular reflex membrane, CMRM) 型和视网膜前黄斑纤维膜 (preretinal macular fibrosis membrane, PMFM) 型, 并对手术获取的该 25 例 25 眼特发性视网膜前膜行免疫组织化学, 测定组织中 VI 型及 I、II 型胶原, 比较眼底检查与病理检查的符合率。

结果:依据眼底表现将特发性视网膜前膜分 CMRM 型共 10 例 10 眼, PMFM 型共 15 例 15 眼; 对手术获取的标本行免疫组化结果: VI 型胶原纤维为主者 16 例 16 眼, I、II 型胶原为主者 9 例 9 眼。

结论:特发性视网膜前膜类型应以病理特征为主。

关键词:特发性视网膜前膜; 免疫组化; 胶原

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2017.4.51

引用:汪向利, 马建军. 特发性视网膜前膜的临床分类及胶原测定. *国际眼科杂志* 2017;17(4):775-777

0 引言

特发性视网膜前膜是发生于视网膜玻璃体交界面的纤维增殖组织, 是老年人中较常见的眼底疾病类型。自觉症状可以为无视觉障碍, 也可以有明显的中心视力受损和视物变形; 眼底表现可以仅为透明膜状, 黄斑区视网膜反光增强, 也可为灰白色硬质增殖物, 明显牵拉周围血管及视网膜。文献中依据特发性黄斑前膜的眼底表现将半透明、视网膜内表面不规则反射团块称为玻璃体纸样黄斑反射膜 (cellophane macular reflex membrane, CMRM) 型, 将更不透明、发灰或发白色膜称为视网膜前黄斑纤维膜 (preretinal macular fibrosis membrane, PMFM) 型, 并从透射电镜及免疫组织化学角度证实两种膜组织的区别为 CMRM 型含有 VI 型胶原纤维, PMFM 型含有 I、II 型胶原^[1]。本研究主要验证眼底分型与病理分型的符合率。

1 对象和方法

1.1 对象 纳入标准: 年龄 50 岁以上老年人, 无其他眼病 (如眼部外伤、玻璃体炎症、眼底血管病变等), 无或有不影响眼底观察的白内障患者。眼底表现分型: 对 25 例 25 眼符合标准的特发性视网膜前膜患者依据眼底表现特征分类, 对患者行眼底照相和光学相干断层扫描 (OCT) 检查, 并依据文献标准, 将透明的斑块或视网膜内表面不规则反射增强的斑块称为 CMRM 型; 将视网膜表面更加不透明的、发灰或发白的外观称为 PMFM 型。

1.2 方法

1.2.1 手术取标本 患者 25 例 25 眼均行 23G 经睫状体标准三切口玻璃体切割手术, 术中未经曲安奈德染色, 基本完整剥除黄斑区视网膜前膜组织, 铺平于方块滤纸片后经 10% 甲醛固定。

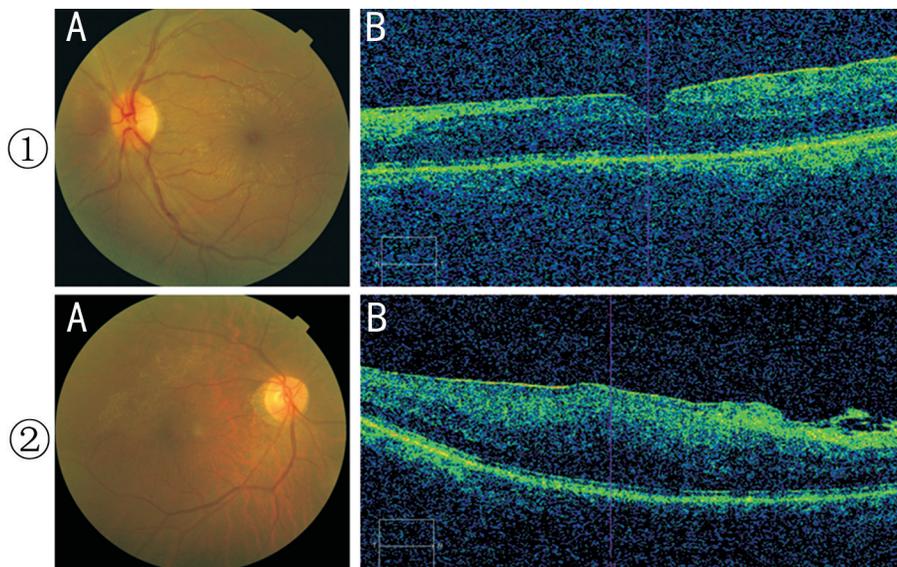


图1 按眼底表现对特发性视网膜前膜分型 ①:CMRM型;②:PMFM型;A:眼底照相;B:OCT图像。

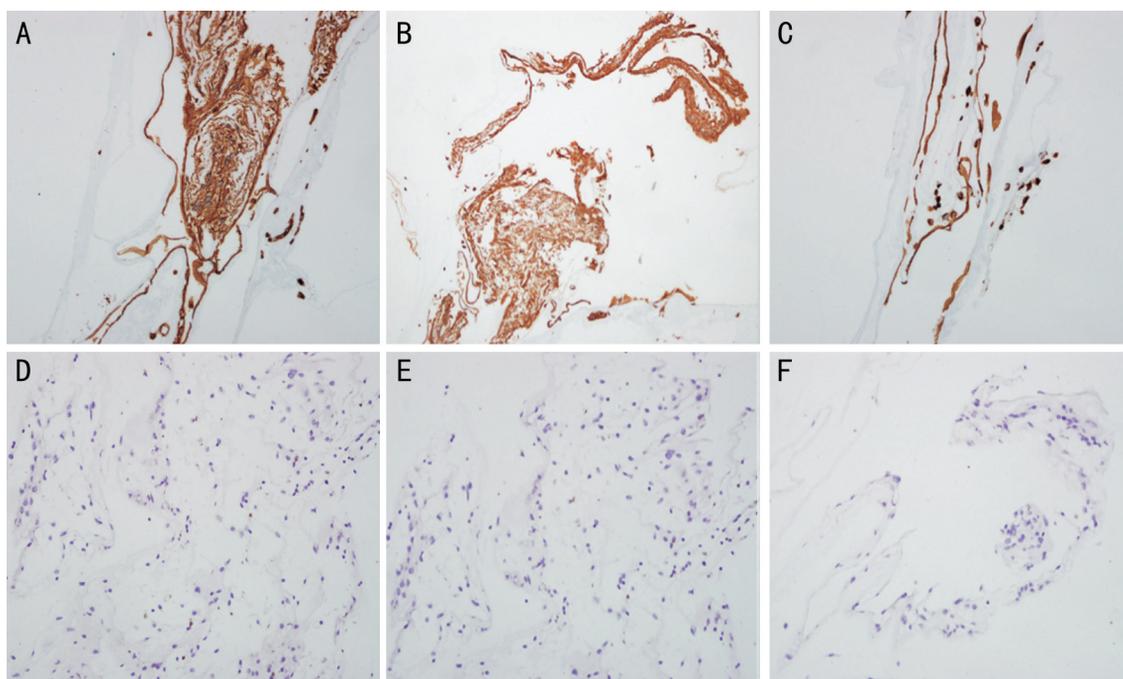


图2 黄斑区视网膜前膜组织免疫组织化学图片($\times 200$) A: I型胶原阳性;B: II型胶原阳性;C: VI型胶原阳性; D: I型胶原阴性;E: II型胶原阴性;F: VI型胶原阴性。

1.2.2 黄斑区视网膜前膜组织免疫组织化学 所用试剂鼠抗人单克隆胶原VI型、I型、II型胶原抗体均购自福州迈新生物技术开发有限公司。石蜡切片及常规二甲苯脱蜡,梯度乙醇脱苯,3mL/L过氧化氢溶液封闭内源性过氧化氢酶10min,抗原修复后,分别滴加抗VI、I、II型胶原抗体工作液,于4℃冰箱过夜。滴加二抗37℃水浴箱中孵育30min。采用免疫组织化学Elivision两步法染色,DBA显色,苏木精复染,封固。以不加一抗的切片作为阴性对照。

1.2.3 结果判断标准 VI型、I型、II型胶原表达于细胞浆内,呈棕黄色颗粒者为阳性。光镜($\times 400$)下观察至少5个视野,按染色强度计分:无阳性着色为0分,淡黄色为1分,棕黄色为2分,棕褐色为3分。按阳性细胞占计数细胞百分比计分:无阳性细胞为0分,阳性细胞数 $\leq 10\%$ 为1分,11%~50%为2分,51%~75%为3分,>75%为4分。

将染色强度与阳性细胞百分比的乘积为最终结果:0分为(-),1~3分为(+),>3分为(++);其中(-)为阴性,(+),(++)均为阳性,其中(+)表示标本满视野均匀染色,(++)强染色。进一步分析各组中VI型、I型、II型胶原的表达,并观察阳性结果中呈(+)或(++)所占比例。

统计学分析:采用SPSS19.0软件进行统计学分析,对经眼底表现分型的患者与经免疫组织化学证实的胶原类型行符合率比较(两独立样本的校正 χ^2 检验)。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 眼底表现特征分类 经眼底照相和光学相干断层扫描(OCT)将25例25眼特发性黄斑前膜分为CMRM型10例10眼,PMFM型15例15眼(图1)。

2.2 手术标本行免疫组织化学分析 黄斑区视网膜前膜组织免疫组织化学染色见图2。结果示VI型胶原纤维为

主者 16 例 16 眼, I、II 型胶原为主者 9 例 9 眼。其中, CMRM 型中 VI 型胶原(++)者 5 例 5 眼,(+)者 5 例 5 眼; PMFM 型中 I 型胶原(++)者 4 例 4 眼, I 型胶原(+)者 5 例 5 眼, II 型胶原(++)者 4 例 4 眼, II 型胶原(+)者 5 例 5 眼, VI 型胶原(++)者 2 例 2 眼, VI 型胶原(+)者 4 例 4 眼。对患者临床分型与病理分型进行比较, 差异有统计学意义 ($\chi^2=1.14, P=0.046<0.05$)。

3 讨论

特发性视网膜前膜是玻璃体视网膜界面最常见的一种纤维细胞增殖疾病, 和年龄有明显相关性。这种膜组织如果表现为很薄且透明的类型, 患者可以毫无症状, 如为半透明、较厚、且有收缩性引起黄斑变形的类型, 则可出现视物变形和视力下降的症状。通过对手术获取的视网膜前膜标本行组织学检查发现, 特发性视网膜前膜形成和进展的关键因素为细胞成分向成肌纤维细胞的转化。成肌纤维细胞又对过量的胶原形成和沉积发挥主要作用。膜的硬度主要是由各种胶原成分的存在以及胶原和非胶原成分的比例决定的。膜组织含有多种胶原(如胶原 I、II、III、IV、VI 型), 各种蛋白(如纤维连接蛋白、层黏连蛋白等)。文献中(the Beaver Dam Eye Study, the Blue Mountains Eye Study, the Los Angeles Latino Eye Study)依据流行病学研究将特发性视网膜前膜按眼底表现区分为不太严重的“玻璃纸样黄斑反射膜”(CMRM)、更严重的“视网膜前黄斑纤维膜”(PMFM)^[2-4]。CMRM 型表现为透明的斑块或视网膜内表面不规则反射增强的斑块; PMFM 型表现为视网膜表面更加不透明的、发灰或发白的外观。手术中的区别为 CMRM 型可较完整剥除, 而 PMFM 型则因膜较厚且僵硬, 不易完整剥除, 通常需分成不同的碎片多次重复去除。通过对手术获取的视网膜前膜行免疫组织化学观察, CMRM 型主要以 VI 型胶原为主, 而 I 型、II 型胶原弱表达或无表达; PMFM 型则以 I 型、II 型胶原为主, 而 VI 型胶原为弱表达或无表达; III 型、IV 型胶原及纤维连接蛋白、层黏连蛋白在两种类型中都有表达^[1]。因而, 病理学分析似乎更能区分两种膜组织类型。本研究的出发点正是验证常规眼底检查与病理学检查的符合程度。按纳入排除标准, 并按眼底表现特征, 收集 CMRM 型 10 例 10 眼, PMFM 型 15 例 15 眼, 行眼 OCT 发现 CMRM 型视网膜前膜牵拉黄斑区程度为轻至中度, 引起黄斑区视网膜神经上皮层水肿增厚程度为轻至中度, PMFM 型牵拉黄斑区则更明显, 引起黄斑区视网膜神经上皮层水肿增厚较严重, 黄斑中心正常形态消失。经手术获取的视网膜前膜组织行免疫组织化学后发现, 对 VI 型胶原抗体有较强免疫活性者 16 例 16 眼, 该 16 例 16 眼中对胶原 I 型、II 型抗体表

现为弱的免疫活性或无反应, 而对胶原 I 型、II 型抗体表现为较强免疫活性者 9 例 9 眼, 该 9 例 9 眼中对 VI 型胶原抗体表现为弱的免疫活性或无反应。VI 型胶原是一种普遍存在的细胞外基质蛋白, 电镜下为直径 6~15nm 的纤细纤维蛋白, 而纤维连接蛋白与层黏连蛋白直径比 VI 型胶原更细, 因此主要含有 VI 型胶原的膜外观上表现为“玻璃纸样黄斑反射膜”; 该型胶原通过 IV 型胶原与基底膜组织(内界膜)紧密相连^[5], 因而沿视网膜经线方向可较完整剥除。I 型、II 型胶原分别为直径 19~28nm 与 37~55nm 的较粗的纤维蛋白^[6-7], 结合其他共性胶原及纤维连接蛋白、层黏连蛋白, 外观上表现为较厚且发灰或发白的“视网膜前黄斑纤维膜”, 因无或较少 VI 型胶原而不能通过 IV 型胶原与内界膜紧密相连, 剥膜时容易撕为碎块。该研究中明确显示, 眼底分型与病理分型结果不相符, 原因为眼底分型主观性较强, 且随每位医生的临床经验及认识而大有不同; 病理学分析则明确显示两种膜组织中胶原成分的差异, 结果较为客观。

文献中也有通过免疫金标记或 western blotting 方法验证两种膜组织相同的胶原类型区别^[8]。因此, 膜组织类型应以病理学分型为基础。不过, 两种膜组织是否为特发性视网膜前膜的不同阶段表现尚未可知。

参考文献

- 1 Kritzenberger M, Junglas B, Framme C, et al. Different collagen types define two type of idiopathic epiretinal membrane. *Histopathology* 2011; 58(6):953-965
- 2 Mitchell P, Smith W, Chey T, et al. Prevalence and associations of epiretinal membranes. The Blue Mountains Eye Study, Australia. *Ophthalmology* 1997;104(6):1033-1040
- 3 Klein R, Klein BE, Wang Q, et al. The epidemiology of epiretinal membranes. *Trans Am Ophthalmol Soc* 1994;92:403-425
- 4 Fraser-Bell S, Ying-Lai M, Klein R, et al. Prevalence and associations of epiretinal membranes in Latinos: the Los Angeles Latino Eye Study. *Invest Ophthalmol* 2004;45(6):1732-1736
- 5 Tamm E, Jungkunz W, Marsch WC, et al. Increase in types IV and VI collagen in cherry haemangiomas. *Arch Dermatol Res* 1992; 284(5):275-282
- 6 Knupp C, Chong NH, Munro PM, et al. Analysis of the collagen VI assemblies associated with Sorsby's fundus dystrophy. *J Struct Biol* 2002; 137(1-2):31-40
- 7 Ponsoen TL, van Luyn MJ, van der Worp RJ, et al. Collagen distribution in the human vitreoretinal interface. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008;49(9):4089-4095
- 8 Okada M, Ogino N, Matsumura M, et al. Histological and immunohistochemical study of idiopathic epiretinal membrane. *Ophthalmic Res* 1995;27(2):118-128