

CD146 在角膜新生血管形成中的动态表达及其意义

王贺 李明新

221000 徐州医科大学附属医院眼科

通信作者:王贺,Email:wanghe1111@163.com

DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2018.08.005

【摘要】目的 探讨 CD146 在角膜新生血管中的表达及其定位。**方法** 8 周龄 SPF 级健康雄性 SD 大鼠 50 只,采用随机数字表法将 50 只大鼠随机分为碱烧伤后 1 d 组、碱烧伤后 3 d 组、碱烧伤后 7 d 组、碱烧伤后 14 d 组和正常对照组,每组 10 只。采用 NaOH 碱烧伤法构建角膜新生血管模型,裂隙灯显微镜下观察碱烧伤后不同时间点角膜新生血管面积,随后制备角膜组织切片,采用逆转录 PCR 法检测 CD146 mRNA 的表达,Western blot 法检测 CD146 蛋白的表达,采用免疫组织化学染色检测角膜组织中 CD146 的表达和定位。**结果** 碱烧伤后 3 d 裂隙灯显微镜下可观察到角膜新生血管,碱烧伤后 7 d 角膜新生血管形成达高峰,随后逐渐消退。碱烧伤后 1、3、7 和 14 d 组角膜新生血管面积分别为 (1.9 ± 0.7) 、 (10.3 ± 1.1) 、 (29.6 ± 2.4) 和 (11.8 ± 1.0) mm²,整体比较差异有统计学意义 ($F=650.976, P=0.000$),其中碱烧伤后 7 d 组角膜新生血管面积最大,碱烧伤后 1、3 和 14 d 组与碱烧伤后 7 d 组比较,差异均有统计学意义 ($t=-33.293, -20.475, 20.744$, 均 $P=0.000$)。碱烧伤后 1、3、7 和 14 d 组 CD146 mRNA 的相对表达量分别为 $0.3 \pm 0.1, 1.1 \pm 0.2, 3.5 \pm 0.4$ 和 1.3 ± 0.3 ,各组蛋白的相对表达量分别为 $0.2 \pm 0.1, 1.4 \pm 0.2, 4.1 \pm 0.5$ 和 1.3 ± 0.2 ,各组间整体比较差异均有统计学意义 ($F=1176.920, P=0.000; F=233.127, P=0.000$),其中碱烧伤后 7 d 组 CD146 mRNA 和蛋白的相对表达量均最高,碱烧伤后 1、3 和 14 d 组与碱烧伤后 7 d 组比较,差异均有统计学意义 (mRNA: $t=-58.109, -33.725, 31.006$, 均 $P=0.000$; 蛋白: $t=-59.873, -38.762, 39.153$, 均 $P=0.000$)。免疫组织化学染色结果显示,CD146 于碱烧伤后 7 d 在角膜新生血管内皮细胞中高表达,形成管腔结构,而碱烧伤后 14 d 在成熟的角膜新生血管中仅有微量 CD146 表达。**结论** CD146 与角膜新生血管形成关系密切,有望作为抗新生血管治疗新的靶点。

【关键词】 角膜新生血管; CD146; 动物模型

The dynamic expression of CD146 in corneal neovascularization and its significance Wang He, Li Mingxin

Department of Ophthalmology, Affiliated Hospital of Xuzhou Medical University, Xuzhou 221000, China

Corresponding author: Wang He, Email: wanghe1111@163.com

【Abstract】Objective To investigate the expression and localization of CD146 in corneal neovascularization.

Methods Fifty SPF male SD rats with the age of 8 weeks were randomly divided into 1 day group, 3 days group, 7 days group, 14 days group and normal control group by using random number table method, 10 rats for each group. Corneal neovascularization models were established by sticking the filter papers with NaOH on the central corneas. The area of corneal neovascularization was observed at different time points by slit lamp microscopy. The expression of CD146 mRNA and protein were detected by reverse transcription PCR and Western blot, respectively. The location of CD146 expression was observed by using immunohistochemical staining method. The animal feeding and use was in accordance with the standards set by the ARVO, and the experiment was approved by the Ethic Committee for Experimental Animal of Affiliated Hospital of Xuzhou Medical University (2016012). **Results** Corneal neovascularization occurred at 3 days and peaked at 7 days after alkali burn, then gradually subsided. The area of corneal neovascularization was (1.9 ± 0.7) , (10.3 ± 1.1) , (29.6 ± 2.4) and (11.8 ± 1.0) mm² in 1 day, 3 days, 7 days and 14 days after alkali burn, respectively, the overall difference was statistically significant ($F=650.976, P=0.000$), and the area of corneal neovascularization in 1 day group, 3 days group, 14 days group was significantly shrunk compared with that in the 7 days group after alkali burn, with significant differences between them ($t=-33.293, -20.475, 20.744$, all at $P=0.000$), while there was no significant differences between the other groups (all at $P>0.05$). The relative expression levels of CD146 mRNA in the 1 day, 3 days, 7 days and 14 days group after alkali burn was $0.3 \pm 0.1, 1.1 \pm 0.2, 3.5 \pm 0.4$ and 1.3 ± 0.3 , and the relative expression levels of CD146 protein was $0.2 \pm 0.1, 1.4 \pm 0.2, 4.1 \pm 0.5$ and 1.3 ± 0.2 , respectively, the overall differences between the four groups were statistically significant ($F=1176.920, P=0.000; F=233.127, P=0.000$), and the relative expression levels of CD146 mRNA and protein in the 1 day, 3 days, 7 days and 14 days group were lower than those in the 7 days group after alkali burn, with significant differences between them (mRNA: $t=-58.109, -33.725, 31.006$; all at $P=0.000$).

protein; $t = -59.873, -38.762, 39.153$, all at $P = 0.000$). Immunohistochemical results showed that CD146 was highly expressed in corneal neovascular endothelial cells at 7 days after alkali burn, forming lumen structure, while only weak expression of CD146 could be detected in mature corneal neovascularization at 14 days after modeling. **Conclusions**

CD146 is closely related to corneal neovascularization formation, and it is promising as a new target for treatment.

[Key words] Corneal neovascularization; CD146; Animal model

新生血管形成是一个复杂的病理生理过程,包括血管内皮细胞的分化、成熟、增生、迁移和管腔形成等。正常情况下,角膜透明无血管,周围血管终止于角膜缘。在感染、外伤、缺氧、炎症等病理情况下,血管内皮细胞降解细胞外基质,增生,迁移,以出芽方式由角膜缘向角膜基质内生长,形成角膜新生血管^[1]。角膜新生血管形成已经成为严重威胁患者视力的一个重要因素,甚至最终可致盲,目前其发病机制仍不完全清楚。CD146 是近年发现的一种单链跨膜糖蛋白,属于 Ig 基因超家族成员。目前研究表明,CD146 是一种新的肿瘤血管标志分子,在肿瘤新生血管中特异表达,并参与肿瘤血管的生成,而在角膜新生血管研究领域,尚缺乏 CD146 相关研究。本研究中拟探讨 CD146 在角膜新生血管中的表达及定位,为进一步研究角膜新生血管的发病机制提供实验基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物及分组 8 周龄 SPF 级健康雄性 SD 大鼠 50 只购自上海中科院斯莱克动物中心,体质量 150~200 g。采用随机数字表法将 50 只大鼠随机分为碱烧伤后 1 d 组、碱烧伤后 3 d 组、碱烧伤后 7 d 组、碱烧伤后 14 d 组和正常对照组,每组 10 只。实验动物的使用遵循 ARVO 声明。本研究通过徐州医科大学实验动物伦理委员会批准(批准号:2016012)。

1.1.2 主要试剂 引物由宝生物工程(大连)有限公司合成;水合氯醛(天津市光复精细化工研究所);TRIzol 提取液(美国 Invitrogen 公司);DAPI(美国 Vector 公司);Fast Red 染色试剂盒、山羊抗兔 AP 试剂盒(美国 Sigma 公司);蛋白 Marker(立陶宛 Fermentas 公司);多聚甲醛(上海生物工程有限公司);兔抗大鼠 CD146 单克隆抗体(英国 Abcam 公司)。

1.2 方法

1.2.1 角膜碱烧伤新生血管模型的构建 取 SD 大鼠 40 只,用质量分数 10% 水合氯醛腹腔内注射进行麻醉。将直径约 3 mm 的滤纸片浸泡在 1 mol/L NaOH 溶液中 15 s,饱和后置于 SD 大鼠左眼中央角膜 45 s,之后用 10 ml 生理盐水冲洗眼球,清除残留的 NaOH。正常对照组不做任何处理。碱烧伤后 1、3、7、14 d 分

别行裂隙灯显微镜检查,随后处死各组大鼠,每组各取 4 只大鼠角膜组织提取 mRNA,4 只大鼠角膜组织提取蛋白,并摘取 2 只大鼠眼球行组织病理学检查。

1.2.2 角膜新生血管面积评估 利用裂隙灯显微镜每天观察角膜新生血管形成情况,采用 NIH Image J 软件对新生血管面积行图像分析。在每个时间点标记新生血管生长情况。并用数码相机照相,测量长入角膜的新生血管长度。每次测量以连续弯曲度小、朝向角膜混浊中心生长的最长血管的垂直长度为准。计算角膜新生血管生长面积,公式为 $S = C/12 \times 3.1416 \times [r^2 - (r-l)^2]$,其中 S 为角膜新生血管生长面积, C 为新生血管累及角膜的圆周钟点, r 为角膜半径, l 为角膜新生血管从角膜缘深入角膜的长度^[2]。

1.2.3 逆转录 PCR 法检测角膜组织中 CD146 mRNA 的表达 使用剪刀沿角膜缘内侧完整剪取整个角膜组织,使用 TRIzol RNA 提取液抽提角膜组织总 RNA,使用 DNase 试剂盒清除残留的 DNA 后逆转录成 cDNA。应用 CD146 受体引物扩增相应基因,CD146 上游引物为 5'-CCCTCAACCCCACTTCACTA-3',下游引物为 5'-CACCTTCTCTCCTTTGCTG-3'; β -actin 上游引物为 5'-CAACCTTCTTGACGCTCCTC-3',下游引物为 5'-CAGTCCGCCTAGAAGCATTT-3'。质量分数 1.5% 琼脂糖凝胶电泳扩增产物,EB 染色,凝胶成像仪拍照。使用 Image J 软件分析其条带灰度值。以 β -actin 为内参,计算 mRNA 相对表达量。

1.2.4 Western blot 法检测角膜组织中 CD146 蛋白的表达 使用剪刀沿角膜缘内侧完整剪取整个角膜组织,用组织裂解液裂解角膜组织后,离心取上清,用 BCA 蛋白定量试剂盒测定蛋白总量。取正常角膜及碱烧伤后 1、3、7、14 d 角膜样本各 15 μ g,按 4:1 加入上样缓冲液,100 $^{\circ}$ C 变性 3 min。在 4 $^{\circ}$ C、非还原状态下行质量分数 10% SDS-PAGE 120 V 电泳 2 h,将蛋白质转移至硝酸纤维素滤膜上 110 mA 作用 2 h,封闭液(1 倍 TBS 50.00 ml, Tween 0.25 ml, 脱脂奶粉 2.5 g)室温下封闭硝酸纤维素滤膜的非特异性免疫球蛋白结合位点 1 h,将滤膜与兔抗鼠 CD146 单克隆抗体一抗(1:800 稀释于封闭液)孵育,4 $^{\circ}$ C 振荡过夜, TBST 缓冲液(10 倍 TBS 15.00 ml, 蒸馏水 135.00 ml, Tween 0.15 ml)冲洗滤膜 3 次,将滤膜转移至 HRP 标记山羊抗兔 IgG 二

抗(1:800 稀释于封闭液)中室温孵育 1 h。TBST 缓冲液再次冲洗滤膜,用 ECL 发光试剂与硝酸纤维素膜作用 3 min,在暗室内曝光,X 射线显影。所得条带经凝胶成像分析系统分析得到的灰度值,以 β -actin 为内参,计算蛋白相对表达量。

1.2.5 免疫组织化学法检测角膜组织中 CD146 的表达分布 角膜组织标本经 4% 多聚甲醛固定,常规石蜡包埋。行 4 μ m 厚连续切片,二甲苯脱蜡,梯度乙醇水化。1 倍 PBS 缓冲液洗 3 次,每次 3 ~ 5 min。每片载玻片上的一个标本用划圈笔划圈后滴加一滴 H_2O_2 组织封闭液,室温孵育 40 min。HRP 阻断液室温孵育 1 h,倾去 HRP 阻断液,1 倍 PBS 缓冲液洗涤 3 次,每次 3 ~ 5 min。滴入用 1% BSA 配制好的兔抗大鼠 CD146 单克隆抗体(1:200),4 $^{\circ}C$ 湿房中孵育过夜。置于常温下,复温 20 min 后,倾去一抗,PBS 浸洗 3 次,每次 5 min。加入羊抗兔碱性磷酸酶免疫聚合物二抗,4 $^{\circ}C$ 湿房中孵育 2 h。倾去二抗,PBS 浸洗 3 次,每次 5 min。加 AP-Fast Red 工作液,显微镜下观察,当出现明显的红色显色反应时,双蒸水冲洗终止显色反应。PBS 浸洗 3 次,每次 5 min。用 DAPI 染细胞核 5 min 后封片(甘油与 PBS 等容积混合),显微照相系统下观察,并拍照储存。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 18.0 统计学软件进行统计分析。本研究检测指标的数据资料经 Shapiro-Wilk 检验证实呈正态分布,以 $\bar{x} \pm s$ 表示,经 Levene 检验证实各组间样本均数方差齐。碱烧伤后不同观察时间点角膜新生血管面积的差异比较以及蛋白、mRNA 在角膜中表达的灰度值差异比较均采用单因素方差分析,两两比较采用 LSD-t 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 角膜碱烧伤后不同时间点新生血管形成比较

碱烧伤后 1 d,角膜基质混浊,球结膜充血,角膜组织几乎无新生血管长入;碱烧伤后 3 d,可见新生血管由角膜缘长入角膜;碱烧伤后 7 d,角膜新生血管的形成达高峰;碱烧伤后 14 d,新生血管逐渐消退,角膜混浊减轻,部分新生血管可长期稳定保留。碱烧伤后 1、3、7 和 14 d 组角膜新生血管面积分别为(1.9 \pm 0.7)、(10.3 \pm 1.1)、(29.6 \pm 2.4)和(11.8 \pm 1.0)mm²,整体比较差异有统计学意义($F = 650.976, P = 0.000$);其中碱烧伤后 7 d 组角膜新生血管面积最大,碱烧伤后 1 d 组、碱烧伤后 3 d 组、碱烧伤后 14 d 组与碱烧伤后 7 d 组比较,差异均有统计学意义($t = -33.293、-20.475、$

20.744,均 $P = 0.000$),其余各组之间两两比较差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$)(图 1)。

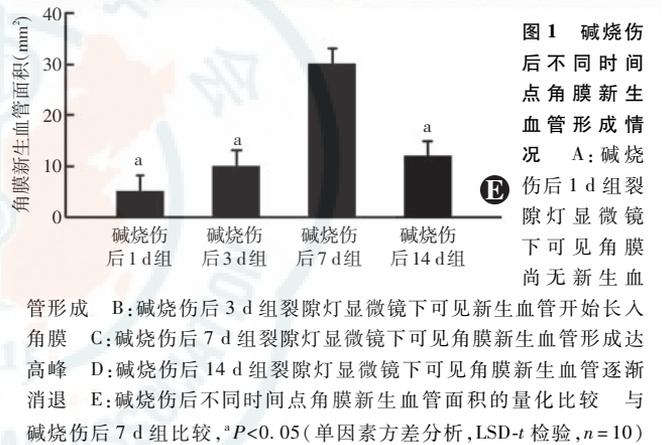
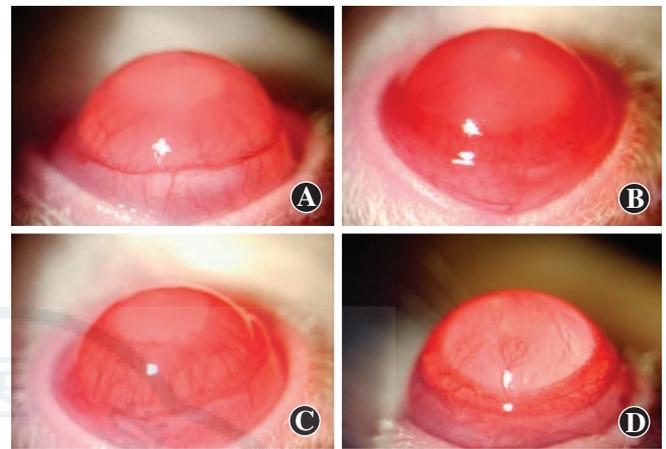


图 1 碱烧伤后不同时间点角膜新生血管形成情况 A:碱烧伤后 1 d 组裂隙灯显微镜下可见角膜尚无新生血管形成 B:碱烧伤后 3 d 组裂隙灯显微镜下可见新生血管开始长入角膜 C:碱烧伤后 7 d 组裂隙灯显微镜下可见角膜新生血管形成达高峰 D:碱烧伤后 14 d 组裂隙灯显微镜下可见角膜新生血管逐渐消退 E:碱烧伤后不同时间点角膜新生血管面积的量化比较 与碱烧伤后 7 d 组比较,* $P < 0.05$ (单因素方差分析,LSD-t 检验, $n = 10$)

2.2 逆转录 PCR 及 Western blot 检测 CD146 在角膜组织中的表达

逆转录 PCR 结果显示,正常角膜基本无 CD146 表达,碱烧伤后 1 d 角膜组织中仅有微量 CD146 mRNA 表达,碱烧伤后 3 d 表达量逐渐增多,碱烧伤后 7 d 达峰值,碱烧伤后 14 d 明显降低。碱烧伤后 1 d 组、碱烧伤后 3 d 组、碱烧伤后 7 d 组和碱烧伤后 14 d 组 CD146 mRNA 的相对表达量分别为 0.3 \pm 0.1、1.1 \pm 0.2、3.5 \pm 0.4 和 1.3 \pm 0.3,各组间整体比较差异有统计学意义($F = 1176.920, P = 0.000$)。其中碱烧伤后 7 d 组 CD146 mRNA 的相对表达量最高,碱烧伤后 1 d 组、碱烧伤后 3 d 组、碱烧伤后 14 d 组 CD146 mRNA 的相对表达量与碱烧伤后 7 d 组比较,差异均有统计学意义($t = -58.109、-33.725、31.006$,均 $P = 0.000$),其他各组之间两两比较差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$)。

Western blot 检测结果显示,角膜组织中 CD146 蛋白的表达水平与 mRNA 的变化曲线基本一致。碱烧伤后 1 d 组、碱烧伤后 3 d 组、碱烧伤后 7 d 组和碱烧伤后 14 d 组 CD146 蛋白的相对表达量分别为 0.2 \pm 0.1、

1.4±0.2、4.1±0.5 和 1.3±0.2, 各组间整体比较差异有统计学意义 ($F=233.127, P=0.000$)。其中碱烧伤后 7 d 组 CD146 蛋白的相对表达量最高, 碱烧伤后 1 d 组、碱烧伤后 3 d 组、碱烧伤后 14 d 组与碱烧伤后 7 d 组比较, 差异均有统计学意义 ($t=-59.873、-38.762、39.153$, 均 $P=0.000$), 其他各组之间两两比较差异均无统计学意义 (均 $P>0.05$) (图 2)。

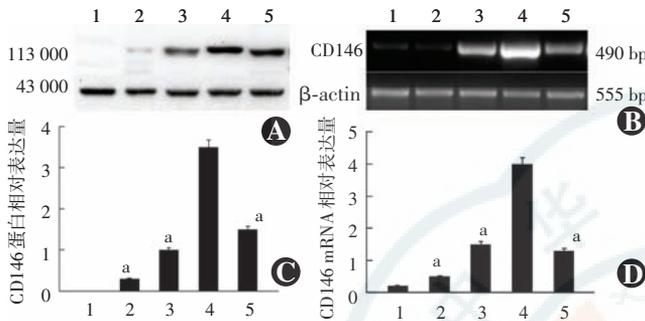


图 2 Western blot 及逆转录 PCR 法检测 CD146 蛋白和 mRNA 在碱烧伤后不同时间点的表达比较 A: Western blot 检测的凝胶成像图片 B: 逆转录 PCR 检测结果 C: 碱烧伤后不同时间点 CD146 蛋白相对表达量的比较 与碱烧伤后 7 d 组比较, $^*P<0.05$ (单因素方差分析, LSD- t 检验, $n=4$) D: 碱烧伤后不同时间点 CD146 mRNA 相对表达量的比较 与碱烧伤后 7 d 组比较, $^*P<0.05$ (单因素方差分析, LSD- t 检验, $n=4$) 1: 正常角膜 2: 碱烧伤后 1 d 3: 碱烧伤后 3 d 4: 碱烧伤后 7 d 5: 碱烧伤后 14 d

2.3 免疫组织化学法检测 CD146 表达的定位

角膜免疫组织化学结果显示, 碱烧伤后 3 d, 临近角膜缘处角膜基质内可见 CD146 染色阳性细胞, 围绕成管腔结构, 红细胞数量较少; 碱烧伤 7 d, 角膜基质内可见大量 CD146 染色阳性细胞, 细胞基质围成大小不一的管腔结构, 管腔形态不规则, 红细胞部分位于管腔中, 部分渗漏于管腔外, 提示此时血管尚未成熟, 通透性较强。红色荧光与细胞核融合后提示 CD146 染色阳性细胞为血管内皮细胞; 碱烧伤后 14 d, 数个血管内皮细胞包绕形成管腔结构, 红细胞无渗漏现象, CD146 仅有微弱表达 (图 3)。

3 讨论

新生血管可破坏角膜免疫赦免, 继发角膜水肿、混浊, 从而影响视力, 甚至致盲^[3-4]。角膜新生血管模型是研究角膜以及眼部其他部位新生血管病理过程和发病因素的重要工具^[5]。新生血管的发病机制至今尚未完全清楚, 传统观点认为新生血管形成是促血管生成因子和抑制血管生成因子失衡的结果, 血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 在其中可能发挥关键作用, 但多种细胞因子之间的相互作

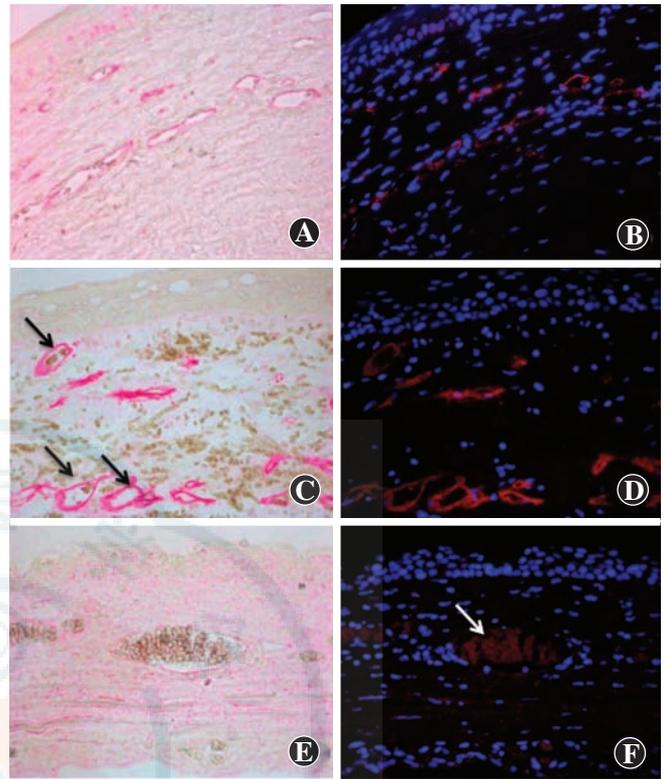


图 3 免疫组织化学法检测 CD146 的表达定位 (AP-Fast Red, DAPI, $\times 400$) A: 碱烧伤后 3 d, 角膜缘内侧见少量 CD146 染色阳性血管内皮细胞, 围成大小不一的管腔结构 B: 碱烧伤后 3 d 核染色后融合图片, 可见 CD146 表达于血管内皮细胞 C: 碱烧伤后 7 d 角膜基质内可见大量 CD146 染色阳性血管内皮细胞, 围成管腔结构 (黑色箭头), 红细胞渗漏于管腔之外 D: 碱烧伤后 7 d 核染色后融合图片, 可见血管内皮细胞上 CD146 荧光强度较碱烧伤后 3 d 明显增加 E: 碱烧伤后 14 d, CD146 仅有微弱表达 F: 碱烧伤后 14 d 核染色后融合图片, 可见数个血管内皮细胞共同组成成熟管腔结构, CD146 仅有微弱表达 (白色箭头)

用尚不明确^[6-7]。

CD146 属于免疫球蛋白超家族成员, 是一个细胞间或细胞与间质间的黏附分子, 首先在恶性黑色素瘤中报道高表达, 并且是其预后不良的指标^[8-9]。最新的研究认为, CD146 不仅在不同的癌细胞中高表达, 同时也表达于血管内皮细胞, 是肿瘤血管生成的重要因素^[10-11]。体内外试验均显示, CD146 的特异性抗体 mAbAA98 有显著抑制肿瘤内血管新生的作用, 并抑制人脐静脉内皮细胞的增生和迁移^[12]。Kang 等^[13]通过敲除内皮细胞 CD146 RNA 的研究证明其可促进内皮细胞的黏附、增生和迁移。

本研究中采用碱烧伤诱导的角膜新生血管模型, 在角膜新生血管形成过程中观察 CD146 的表达情况, 结果显示 CD146 的表达与新生血管的发生和发展基本一致, 免疫组织化学染色显示该细胞因子仅表达于早期的新生血管内皮细胞, 在碱烧伤后 14 d, 成熟的血管管腔中几乎不表达 CD146。在角膜新生血管生成早

期,血管内皮细胞的增生、迁移最为活跃,提示 CD146 在角膜新生血管的管腔形成、血管内皮细胞黏附中可能发挥重要作用。

CD146 在血管生成中的作用机制尚不清楚。有报道称 CD146 是 p38/IKK/核因子(nuclear factor, NF)-κB 信号通路活化必不可少的因子,并上调 NF-κB 下游的促血管生成素,包括白细胞介素-8、VEGF、细胞间黏附分子-1 和基质金属蛋白酶-9,从而参与肿瘤微血管的形成^[14]。同时,有研究发现肿瘤分泌物中的 VEGF 能促进 CD146 的二聚化,CD146 二聚化介导了 VEGF 诱导的信号转导及血管生成^[15],近期有报道显示 CD146 可以作为 VEGFR2 的共受体^[16],提示 CD146 和 VEGF 信号通路之间可能存在相互调节的关系,但其具体的调节机制尚需进一步探讨。

综上所述,本研究结果显示 CD146 与角膜新生血管形成关系密切,CD146 可能成为抗新生血管治疗新的靶点。

参考文献

[1] Li Z, Yao L, Li J, et al. Celastrol nanoparticles inhibit corneal neovascularization induced by suturing in rats[J]. *Int J Nanomedicine*, 2012, 7: 1163-1173. DOI:10.2147/IJN.S27860.

[2] D'Amato RJ, Loughnan MS, Flynn E, et al. Thalidomide is an inhibitor of angiogenesis [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1994, 91 (9) : 4082-4085.

[3] Bachmann B, Taylor RS, Cursiefen C. The association between corneal neovascularization and visual acuity: a systematic review [J]. *Acta Ophthalmol*, 2013, 91 (1) : 12-19. DOI:10.1111/j.1755-3768.2011.02312.x.

[4] 侯培莉,陆燕,黄振平.角膜新生血管与微环境研究进展[J]. *中华实验眼科杂志*, 2016, 34 (2) : 184-188. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2016.02.019.

Hou PL, Lu Y, Huang ZP. Research progress in corneal neovascularization and microenvironment[J]. *Chin J Exp Ophthalmol*, 2016, 34 (2) : 184-188. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2016.02.019.

[5] Kather JN, Kroll J. Transgenic mouse models of corneal neovascularization;

new perspectives for angiogenesis research[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2014, 55(11) : 7637-7651. DOI:10.1167/iovs.14-15430.

[6] Chang JH, Garg NK, Lunde E, et al. Corneal neovascularization: an anti-VEGF therapy review [J]. *Surv Ophthalmol*, 2012, 57 (5) : 415-429. DOI:10.1016/j.survophthal.2012.01.007.

[7] 王群,黄一飞.角膜新生血管治疗中以 VEGF/VEGFR 为靶点药物的研究进展[J]. *中华实验眼科杂志*, 2015, 33 (12) : 1138-1143. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2015.12.018.

Wang Q, Huang YF. Advances in anti-VEGF/VEGFR targeting drugs for corneal neovascularization [J]. *Chin J Exp Ophthalmol*, 2015, 33 (12) : 1138-1143. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2015.12.018.

[8] Lehmann JM, Holzmann B, Breitbart EW, et al. Discrimination between benign and malignant cells of melanocytic lineage by two novel antigens, a glycoprotein with a molecular weight of 113,000 and a protein with a molecular weight of 76,000 [J]. *Cancer Res*, 1987, 47 (3) : 841-845.

[9] Rapanotti MC, Campione E, Spallone G, et al. Minimal residual disease in melanoma: circulating melanoma cells and predictive role of MCAM/MUC18/MelCAM/CD146 [J/OL]. *Cell Death Discov*, 2017, 3 : 17005 [2018-01-23]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5337524/>. DOI:10.1038/cddiscovery.2017.5.

[10] Wang WM, Zhao ZL, Zhang WF, et al. Role of hypoxia-inducible factor-1α and CD146 in epidermal growth factor receptor-mediated angiogenesis in salivary gland adenoid cystic carcinoma [J]. *Mol Med Rep*, 2015, 12 (3) : 3432-3438. DOI:10.3892/mmr.2015.3815.

[11] Zeng Q, Wu Z, Duan H, et al. Impaired tumor angiogenesis and VEGF-induced pathway in endothelial CD146 knockout mice [J]. *Protein Cell*, 2014, 5 (6) : 445-456. DOI:10.1007/s13238-014-0047-y.

[12] Yan X, Lin Y, Yang D, et al. A novel anti-CD146 monoclonal antibody, AA98, inhibits angiogenesis and tumor growth [J]. *Blood*, 2003, 102 (1) : 184-191. DOI:10.1182/blood-2002-04-1004.

[13] Kang Y, Wang F, Feng J, et al. Knockdown of CD146 reduces the migration and proliferation of human endothelial cells [J]. *Cell Res*, 2006, 16 (3) : 313-318. DOI:10.1038/sj.cr.7310039.

[14] Bu P, Gao L, Zhuang J, et al. Anti-CD146 monoclonal antibody AA98 inhibits angiogenesis via suppression of nuclear factor-kappaB activation [J]. *Mol Cancer Ther*, 2006, 5 (11) : 2872-2878. DOI:10.1158/1535-7163.MCT-06-0260.

[15] Zhuang J, Jiang T, Lu D, et al. NADPH oxidase 4 mediates reactive oxygen species induction of CD146 dimerization in VEGF signal transduction [J]. *Free Radic Biol Med*, 2010, 49 (2) : 227-236. DOI:10.1016/j.freeradbiomed.2010.04.007.

[16] Jiang T, Zhuang J, Duan H, et al. CD146 is a coreceptor for VEGFR-2 in tumor angiogenesis [J]. *Blood*, 2012, 120 (11) : 2330-2339. DOI:10.1182/blood-2012-01-406108.

(收稿日期:2018-03-15 修回日期:2018-06-24)

(本文编辑:刘艳)

· 病例报告 ·

男性双眼脉络膜骨瘤一例

刘溢

214000 无锡,南通大学第三附属医院眼科

通信作者:刘溢,Email:1471938959@qq.com

DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2018.08.006

患者,男,29岁,以右眼视力下降3d为主诉就诊。患者全身无其他疾病,平时无不良嗜好,无遗传病等家族史。视力右眼0.15,矫正无助,左眼0.6,矫正视力1.0;双眼外眼及眼前段未见明显异常;非接触式眼压计测量眼压,右眼16mmHg(1mmHg=0.133kPa),左眼15mmHg。彩色眼底照相示,扩瞳见双眼后极部视网膜黄白色地图状病灶,直径约6PD×7PD,边界欠清,与周

边视网膜色泽差异大,右眼黄斑区小片状出血(图1)。光相干断层扫描(optical coherence tomography, OCT)示右眼黄斑中心凹下方神经上皮层浅脱离,伴液性暗区,上方黄斑区脉络膜隆起伴高信号,IS/OS层次结构反射不清(图2)。眼眶CT检查示双侧眼球后部视盘周围新月形弧状高密度钙化影(图3)。眼部B型超声检查示双眼后极部球壁欠平整,局部增厚,见弧形