

· 实验研究 ·

白血病抑制因子对视网膜光感受器细胞光损伤的保护作用及其机制

董淑倩 刘双珍 李秋明

450052 郑州, 郑州大学第一附属医院眼科 河南省眼科医院(董淑倩、李秋明); 410008 长沙, 中南大学湘雅医院眼科(刘双珍)

通信作者: 李秋明, Email: liqiuming63@163.com

DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2018.06.007

【摘要】 目的 探讨白血病抑制因子(LIF)对视网膜光感受器细胞光损伤的保护作用及其机制。**方法** 选取 50 只 5~6 周龄 BALB/c 小鼠按照随机数字表法随机分为正常对照组 10 只、光损伤+LIF 组 20 只和光损伤+PBS 组 20 只。于光照前 4 d, 光损伤+LIF 组小鼠右眼行玻璃体腔 LIF 注药, 光损伤+PBS 组小鼠右眼行玻璃体腔 PBS 注药。采用 4 000 lx 白色冷光源对光损伤+LIF 组和光损伤+PBS 组小鼠持续照射 4 h 建立小鼠视网膜光损伤模型。分别采用闪光视网膜电图(fERG)和组织病理学检查检测视网膜光感受器细胞的功能和形态学变化。应用实时荧光定量 PCR 法检测小鼠视网膜中 Jak3、STAT3 及凋亡相关因子 Bcl-2、Bax mRNA 的相对表达水平。**结果** 暗适应 ERG 检查结果显示, 0.01、1、100、200、400 cd·s/m² 光强度下光损伤+PBS 组 a 波振幅较正常对照组和光损伤+LIF 组低, 差异均有统计学意义(均 $P<0.05$); 明适应 ERG 检查结果显示, 在白光、绿光和蓝光刺激下, 光损伤+PBS 组 b 波振幅较正常对照组和光损伤+LIF 组低, 差异均有统计学意义(均 $P<0.05$)。光损伤+PBS 组外核层光感受器细胞数量显著低于正常对照组和光损伤+LIF 组, 差异均有统计学意义(均 $P<0.05$)。与光损伤+PBS 组相比, 光损伤+LIF 组 Jak3、STAT3、Bcl-2 mRNA 的相对表达量显著增加, Bax mRNA 的相对表达量显著下降, 差异均有统计学意义(均 $P<0.05$)。**结论** LIF 对视网膜光感受器细胞光损伤具有保护作用, 其可能通过激活 Jak3/STAT3 信号通道抑制下游 Bax/Bcl-2 凋亡通道而发挥作用。

【关键词】 白细胞抑制因子; 光感受器细胞; 光损伤; 神经保护**基金项目:** 河南省医学科技攻关计划项目 (201602080)

Protective effect of leukemia inhibitory factor on light induced retinal photoreceptors damage and its mechanisms Dong Shuqian, Liu Shuangzhen, Li Qiuming

Department of Ophthalmology, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Henan Provincial Ophthalmic Hospital, Zhengzhou 450052, China (Dong SQ, Li QM); Department of Ophthalmology, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410008, China (Liu SZ)

Corresponding author: Li Qiuming, Email: liqiuming63@163.com

[Abstract] Objective To investigate the role of leukemia inhibitory factor (LIF) on retinal photoreceptor cells and the underlying mechanism after light damage. **Methods** Fifty 5–6 weeks old BALB/c mice were randomly divided into normal control group (10 mice), light damage+LIF group (20 mice) and light damage+PBS group (20 mice). Four days before exposing to light, the right eye of each animal in light damage+LIF group and light damage+PBS group was injected with LIF and PBS, respectively; then the mice in the light damage+LIF group and light damage+PBS group were exposed to 4 000 lx intensity of cool white fluorescent light for 4 hours to establish the experimental model of retinal light damage. The function and morphology of retinal photoreceptor cells were detected by flash electroretinogram (fERG) and histopathological examination. Real-time PCR was used to detect the mRNA expression of Jak3, STAT3, and apoptosis-related factor Bcl-2 and Bax. The use of animals is guided by the State Science and Technology Commission's regulations on the management of experimental animals. **Results** The amplitudes of scotopic ERG a wave of 0.01, 1, 100, 200, 400 cd·s/m² light in the light damage+PBS group were significantly lower than those in the normal control group and light damage+LIF group (all at $P<0.05$). The amplitudes of photopic ERG b wave of different color light in the light damage+PBS group were significantly lower than those in the normal control group and light damage+LIF group (all at $P<0.05$). The number of photoreceptor nuclei in the light damage+PBS group was significantly lower than that in the normal control group and light damage+

LIF group (both at $P < 0.05$). Compared with light damage+PBS group, the relative expression of Jak3, STAT3, Bcl-2 mRNA in light damage+LIF group were significantly increased (all at $P < 0.05$), and the relative expression of Bax mRNA were significantly decreased ($P < 0.05$). **Conclusions** LIF can protect retinal photoreceptor cells from light damage, which may result from the activation of Jak3/STAT3 signaling pathway and inhibition of its downstream Bax/Bcl-2 apoptotic pathway.

[Key words] Leukemia inhibitory factor; Photoreceptor; Light damage; Neuroprotection

Fund program: General Project of Medical Science and Technology of Henan Province (201602080)

视网膜退行性病变是严重影响人类视功能的重要疾病之一,它与视网膜光感受器细胞的损伤及凋亡密切相关,目前尚无有效的治疗方法,主要通过抑制视网膜光感受器细胞凋亡来达到保护视网膜形态和功能的目的^[1]。白血病抑制因子(leukemia inhibitory factor, LIF)是一种多功能细胞因子,对损伤后中枢神经元的存活及修复起重要作用,但其对视网膜光感受器细胞的作用在国内鲜见报道^[2]。由于长时间的光辐射损伤与年龄相关性黄斑变性、视网膜色素变性等视网膜退行性病变的病理改变相似,因此本研究中通过建立视网膜光损伤模型研究 LIF 对视网膜光感受器细胞的保护作用及机制,为 LIF 治疗视网膜退行性病变的可行性研究提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 取 5~6 周龄清洁级 BALB/c 小鼠 50 只,雌雄不限,体质量为 15~18 g。严格遵守无特殊病原级小鼠饲养条件。所有动物在室温(23 ± 1)℃、暗循环光照(光/暗:12 h/12 h,光照度约为 40 lx)环境中饲养 2 d。动物可自由进食和饮水。实验动物的使用遵循国家科学技术委员会的《实验动物管理条例》。

1.1.2 主要试剂及仪器 实时荧光定量 PCR 试剂盒 PrimeScript RT reagent Kit (Perfect Real Time)、SYBR Premix Ex Taq II 染料法荧光定量试剂盒(大连宝生物公司);LIF(英国 Abcam 公司);甲苯噻嗪盐酸盐、盐酸氯胺酮(美国 Sigma 公司)。生物显微镜(日本奥林巴斯株式会社);视网膜电图仪(美国 Diagnosys 公司)。

1.2 方法

1.2.1 实验分组及处理 将 50 只小鼠按照随机数字表法随机分为 3 个组:正常对照组 10 只、光损伤+LIF 组 20 只和光损伤+PBS 组 20 只。光损伤+LIF 组和光损伤+PBS 组小鼠称质量后用甲苯噻嗪(20 mg/kg)和氯胺酮(40 mg/kg)腹腔内注射麻醉。将麻醉后的小鼠侧放于自制的手术台上,局部消毒后暴露手术视野,质量分数 0.4% 盐酸奥布卡因滴眼液点右眼行表面麻醉。在解剖显微镜下于右眼鼻侧角巩膜缘后方 0.5~

1.0 mm 处进针,光损伤+LIF 组小鼠右眼玻璃体腔注入 1 μ l 含 0.4 μ g LIF 的 0.01 mol/L PBS;光损伤+PBS 组小鼠右眼玻璃体腔注入 1 μ l 0.01 mol/L PBS^[3]。术后涂氧氟沙星眼膏。注射后 4 d 对小鼠进行眼部检查,剔除已有白内障、玻璃体积血、视网膜脱离和眼内炎者,并补足小鼠。

1.2.2 小鼠视网膜光损伤模型的建立 取光损伤+PBS 组和光损伤+LIF 组小鼠,根据文献[3]中建立小鼠视网膜光损伤模型的方法,并结合预实验结果选择光照强度为 4 000 lx 白色冷光源进行照射造模。BALB/c 小鼠暗适应 12 h,复方托吡卡胺滴眼液点眼扩瞳后置于自制光照箱中,每个光照箱内放置 2 只体积相近的小鼠。光照箱内温度维持在(23 ± 1)℃,小鼠可自由进食和饮水,不限制活动。数字式光强度测量仪检测光照箱内光强度,4 000 lx 持续照射 4 h(20:00 至 24:00)^[4]。光照后置于暗环境下饲养 24 h 后移至正常光照环境下(光/暗:12 h/12 h,光照强度约为 40 lx),常规饲养 5 d 后行闪光视网膜电图(flash electroretinogram, fERG)检测。

1.2.3 fERG 检测视网膜光感受器细胞功能学变化 小鼠先置于暗室内暗适应 12~16 h。小鼠称质量后用甲苯噻嗪(20 mg/kg)和氯胺酮(40 mg/kg)腹腔内注射麻醉,复方托吡卡胺滴眼液点眼扩瞳。小鼠置于 37℃ 的加热垫上以维持麻醉后体温。0.4% 盐酸奥布卡因滴眼液点双眼行表面麻醉。双眼角膜中央放置自制环状黄金丝电极,尽量保持电极与角膜产生最大接触,质量分数 1% 羧甲基纤维素钠滴眼液点眼,避免产生尖端接触,电极线固定。黄金参考电极成钩状置于脸颊,接地电极呈针状置于尾部。内置摄像头检测动物状态及电极位置。暗适应 ERG 在暗室内微弱的红光下进行,分别给予 0.001、0.01、1、100、200、400 $\text{cd} \cdot \text{s}/\text{m}^2$ 强度的单次白光全视野闪烁刺激,检测视杆细胞的功能。暗适应 ERG 完成后,小鼠在 50 $\text{cd} \cdot \text{s}/\text{m}^2$ 强度白色光线亮适应 10 min 后,分别用白光(2 000 $\text{cd} \cdot \text{s}/\text{m}^2$)、绿光(13 $\text{cd} \cdot \text{s}/\text{m}^2$)和蓝光(1 $\text{cd} \cdot \text{s}/\text{m}^2$)3 种不同强度和颜色的光进行明适应 ERG 检测视锥细胞的功能。操作时每种刺激按仪器设置多次重复测量。暗适应 ERG

记录 a 波振幅,明适应 ERG 记录 b 波振幅。

1.2.4 小鼠视网膜的组织病理学检查 各组小鼠于 iERG 检测后颈椎脱臼处死。摘除正常对照组、光损伤+PBS 组和光损伤+LIF 组各 10 只小鼠右眼眼球。所取眼球经生理盐水清洗,剪除眼球外软组织,立即放入质量分数 4% 多聚甲醛固定小鼠眼球 24 h,逐级乙醇脱水,二甲苯透明,沿视神经矢状轴以颞侧向下包埋眼球。常规脱蜡后制备视网膜 5 μm 厚切片,用苏木精-伊红染色。光学显微镜下对外核层光感受器细胞的数量进行计数。以视盘为中心,以 0.48 mm 的间隔向上方和下方视网膜各数 4 列,8 列外核层光感受器细胞的数量之和即为外核层光感受器细胞数量。

1.2.5 实时荧光定量 PCR 法检测小鼠视网膜中 Jak3、STAT3 及凋亡相关因子 Bcl-2、Bax mRNA 的相对表达水平 摘除正常对照组(10 只)小鼠左眼眼球,光损伤+PBS 组(10 只)和光损伤+LIF 组(10 只)小鼠右眼眼球。剥离小鼠视网膜,用 Trizol 试剂提取总 RNA,并用紫外分光光度计定量。总 RNA 逆转录合成 cDNA,以其为模板进行实时荧光定量 PCR。根据 GenBank 中 Jak3、STAT3、Bcl-2 和 Bax 基因序列设计引物。Jak3 引物序列:上游引物序列为 5'-AGGCACCTACATTCTCCG-3',下游引物序列为 5'-CCTTCGCACCACGATC-3',产物长度为 115 bp。STAT3 引物序列:上游引物序列为 5'-ACCAAGAACCTACGCATCCAGTGT-3',下游引物序列为 5'-CACCAGCTTGAGTACACAGTCGAA-3',产物长度为 105 bp。Bcl-2 引物序列:上游引物序列为 5'-ACAAGAGCAGATTGCCCTGGATGT-3',下游引物序列为 5'-ATTCCGCCGTATCCATTCTCCTGT-3',产物长度为 100 bp。Bax 引物序列:上游引物序列为 5'-TGAAGTGGACAACAACATGGAG-3',下游引物序列为 5'-AGGAAAGTAGAAAAGGGCAACC-3',产物长度为 148 bp。PCR 反应条件:95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 3 min;95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 30 s,57 $^{\circ}\text{C}$ 退火及延伸 30 s,共循环 40 次。熔解曲线温度 65~95 $^{\circ}\text{C}$ 。以 $\beta\text{-actin}$ 基因为内参照,采用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 法对

Jak3、STAT3、Bcl-2 和 Bax mRNA 相对表达量进行计算。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 16.0 统计学软件进行统计分析。本研究实验中实验数据经 K-S 检验呈正态分布,以 $\bar{x}\pm s$ 表示。3 个组间暗适应 ERG a 波振幅、明适应 ERG b 波振幅比较采用重复测量两因素方差分析,视网膜外核层细胞核数量以及各因子 mRNA 的相对表达量比较采用单因素方差分析,组间差异比较采用 LSD- t 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组小鼠视网膜光感受器细胞功能变化

暗适应 ERG 检查结果显示,不同强度光刺激下各组总体比较差异均有统计学意义($F_{\text{分组}}=17.874, P=0.000$; $F_{\text{光强度}}=27.899, P=0.000$)。0.01、1、100、200、400 $\text{cd}\cdot\text{s}/\text{m}^2$ 光强度下光损伤+PBS 组 a 波振幅较正常对照组和光损伤+LIF 组低,差异均有统计学意义(均 $P<0.05$)(表 1)。明适应 ERG 检查结果显示,不同强度和颜色的光刺激下各组 b 波振幅总体比较,差异均有统计学意义($F_{\text{分组}}=86.484, P=0.000$; $F_{\text{光强度}}=5.368, P=0.008$)。在白光、绿光和蓝光刺激下,光损伤+PBS 组 b 波振幅较正常对照组和光损伤+PBS 组低,差异均有统计学意义(均 $P<0.05$)(表 2)。

2.2 各组小鼠视网膜光感受器细胞组织病理学变化

组织病理学检查结果显示,正常对照组视网膜各层结构排列整齐;光损伤+PBS 组视网膜外核层厚度明显变薄,光感受器细胞内、外节结构崩解、紊乱;光损伤+LIF 组视网膜外核层厚度较光损伤+PBS 组增厚,光感受器细胞外节结构崩解、紊乱(图 1)。正常对照组、光损伤+PBS 组和光损伤+LIF 组外核层光感受器细胞数量分别为 80.49 ± 8.57 、 40.94 ± 3.56 和 62.65 ± 5.28 ,总体比较差异有统计学意义($F=220.123, P=0.000$)。光损伤+PBS 组外核层光感受器细胞数量显著低于正常对照组和光损伤+LIF 组,差异均有统计学意义(均 $P<0.05$)(图 2)。

表 1 各组不同强度光刺激下暗适应 ERG a 波振幅比较($\bar{x}\pm s, \mu\text{V}$)

组别	眼数	不同光强度下 a 波振幅					
		0.001 $\text{cd}\cdot\text{s}/\text{m}^2$	0.01 $\text{cd}\cdot\text{s}/\text{m}^2$	1 $\text{cd}\cdot\text{s}/\text{m}^2$	100 $\text{cd}\cdot\text{s}/\text{m}^2$	200 $\text{cd}\cdot\text{s}/\text{m}^2$	400 $\text{cd}\cdot\text{s}/\text{m}^2$
正常对照组	20	14.40 $\pm$ 1.14	39.00 $\pm$ 8.72	217.20 $\pm$ 23.04	376.80 $\pm$ 12.24	410.20 $\pm$ 28.74	420.80 $\pm$ 20.69
光损伤+PBS 组	20	13.83 $\pm$ 1.47	28.33 $\pm$ 6.83 ^a	103.00 $\pm$ 8.27 ^a	116.17 $\pm$ 13.50 ^a	119.17 $\pm$ 26.81 ^a	122.19 $\pm$ 16.16 ^a
光损伤+LIF 组	20	14.17 $\pm$ 0.75	37.83 $\pm$ 7.65 ^b	138.17 $\pm$ 13.14 ^{ab}	198.67 $\pm$ 15.28 ^{ab}	216.67 $\pm$ 21.60 ^{ab}	250.06 $\pm$ 14.49 ^{ab}

注: $F_{\text{分组}}=17.874, P=0.000$; $F_{\text{光强度}}=27.899, P=0.000$ 。与同一光强度下正常对照组比较,^a $P<0.05$;与同一光强度下光损伤+PBS 组比较,^b $P<0.05$ (重复测量两因素方差分析, LSD- t 检验) ERG:视网膜电图;LIF:白血病抑制因子

表 2 各组不同强度和颜色光刺激下明适应 ERG b 波振幅比较 ($\bar{x} \pm s, \mu V$)

组别	眼数	不同强度和颜色光刺激下 b 波振幅		
		白光 (2 000 cd · s/m ²)	绿光 (13 cd · s/m ²)	蓝光 (1 cd · s/m ²)
正常对照组	20	151.33 ± 16.02	121.17 ± 10.81	101.17 ± 7.75
光损伤+PBS 组	20	58.67 ± 6.02 ^a	40.33 ± 3.51 ^a	35.17 ± 3.18 ^a
光损伤+LIF 组	20	128.17 ± 9.05 ^{ab}	100.50 ± 7.34 ^{ab}	85.33 ± 3.28 ^{ab}

注: $F_{\text{分组}} = 86.484, P = 0.000$; $F_{\text{光强度}} = 5.368, P = 0.008$. 与同一光强度正常对照组比较, ^a $P < 0.05$; 与同一光强度光损伤+PBS 组比较, ^b $P < 0.05$ (重复测量两因素方差分析, LSD-*t* 检验) ERG: 视网膜电图; LIF: 白血抑制因子

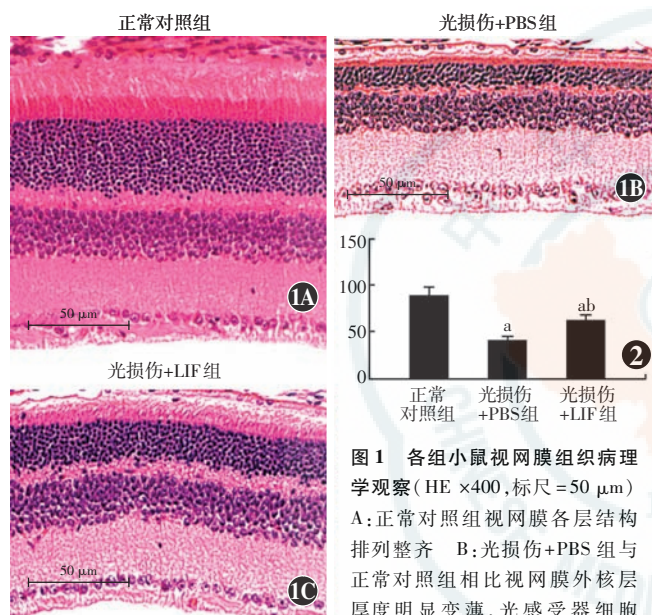


图 1 各组小鼠视网膜组织病理学观察 (HE × 400, 标尺 = 50 μm)

A: 正常对照组视网膜各层结构排列整齐 B: 光损伤+PBS 组与正常对照组相比视网膜外核层厚度明显变薄, 光感受器细胞内、外节结构崩解、紊乱 C: 光损伤+LIF 组与正常对照组相比视网膜外核层厚度略变薄, 光感受器细胞外节结构崩解、紊乱 ONL: 视网膜外核层; LIF: 白血抑制因子

图 2 各组视网膜外核层光感受器细胞核数量比较 $F = 220.123, P = 0.000$. 与正常对照组比较, ^a $P < 0.05$; 与光损伤+PBS 组比较, ^b $P < 0.05$ (单因素方差分析, LSD-*t* 检验, $n = 10$) LIF: 白血抑制因子

2.3 各组小鼠视网膜中 Jak3 和 STAT3 mRNA 相对表达量变化

正常对照组、光损伤+PBS 组和光损伤+LIF 组 Jak3 mRNA 的相对表达量分别为 0.119 ± 0.013 , 0.127 ± 0.002 和 0.359 ± 0.038 , 总体比较差异有统计学意义 ($F = 162.804, P = 0.000$)。光损伤+LIF 组 Jak3 mRNA 的相对表达量显著高于正常对照组和光损伤+PBS 组, 差异均有统计学意义 (均 $P < 0.05$) (图 3)。

正常对照组、光损伤+PBS 组和光损伤+LIF 组 STAT3 mRNA 的相对表达量分别为 0.305 ± 0.082 , 1.229 ± 0.105 和 2.217 ± 0.187 , 总体比较差异有统计学意义 ($F = 211.013, P = 0.000$)。光损伤+LIF 组 STAT3 mRNA 的相对表达量明显高于正常对照组和光

损伤+PBS 组, 差异均有统计学意义 (均 $P < 0.05$) (图 4)。

2.4 各组小鼠视网膜中凋亡相关因子 Bcl-2 和 Bax mRNA 相对表达量变化

正常对照组、光损伤+PBS 组和光损伤+LIF 组 Bcl-2 mRNA 的相对表达量分别为 0.097 ± 0.016 , 0.191 ± 0.025 和 2.053 ± 0.282 , 总体比较差异有统计学意义 ($F = 68.742, P = 0.000$)。光损伤+LIF 组 Bcl-2 mRNA 的相对表达量明显高于正常对照组和光损伤+PBS 组, 差异均有统计学意义 (均 $P = 0.000$) (图 5)。

正常对照组、光损伤+PBS 组和光损伤+LIF 组 Bax mRNA 的相对表达量分别为 0.329 ± 0.051 , 1.586 ± 0.218 和 0.668 ± 0.091 , 总体比较差异有统计学意义 ($F = 202.782, P = 0.000$)。光损伤+PBS 组 Bax mRNA 的相对表达量显著高于正常对照组和光损伤+LIF 组, 差异均有统计学意义 (均 $P = 0.000$) (图 6)。

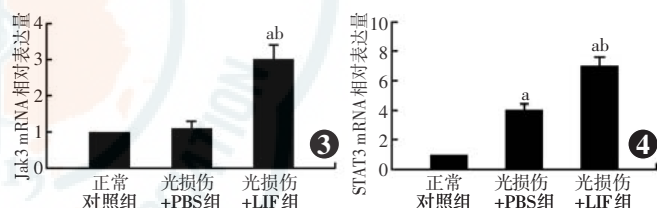
图 3 各组 Jak3 mRNA 相对表达量比较 $F = 162.804, P = 0.000$. 与正常对照组比较, ^a $P < 0.05$; 与光损伤+PBS 组比较, ^b $P < 0.05$ (单因素方差分析, LSD-*t* 检验, $n = 10$) LIF: 白血抑制因子

图 4 各组 STAT3 mRNA 相对表达量比较 $F = 211.013, P = 0.000$. 与正常对照组比较, ^a $P < 0.05$; 与光损伤+PBS 组比较, ^b $P < 0.05$ (单因素方差分析, LSD-*t* 检验, $n = 10$) LIF: 白血抑制因子

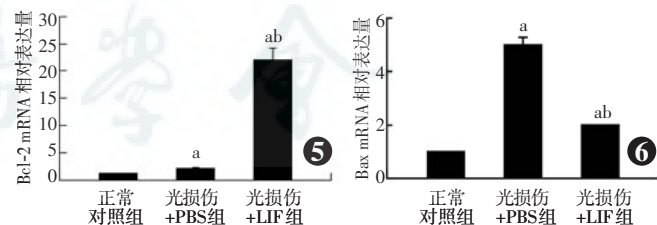
图 5 各组 Bcl-2 mRNA 相对表达量比较 $F = 68.742, P = 0.000$. 与正常对照组比较, ^a $P < 0.05$; 与光损伤+PBS 组比较, ^b $P < 0.05$ (单因素方差分析, LSD-*t* 检验, $n = 10$) LIF: 白血抑制因子

图 6 各组 Bax mRNA 相对表达量比较 $F = 202.782, P = 0.000$. 与正常对照组比较, ^a $P < 0.05$; 与光损伤+PBS 组比较, ^b $P < 0.05$ (单因素方差分析, LSD-*t* 检验, $n = 10$) LIF: 白血抑制因子

3 讨论

视网膜退行性病变是先天性或后天性视网膜各级神经元的结构和功能性异常, 导致光感受器细胞死亡, 进而引起患者视力不可逆性损害的一组致盲疾病。至

今尚无维持或改善视网膜退行性病变的有效治疗方法。由于神经因子在阻止和延缓神经退行性病变中发挥着巨大的治疗潜力,目前很多学者致力于神经因子对视网膜退行性病变的保护作用及其作用机制的研究。LIF 是白细胞介素-6(interleukin 6, IL-6)家族中的一员,最早因能抑制 M1 髓系白血病细胞增生以及诱导其向巨噬细胞分化而得名。LIF 对视网膜光感受器细胞保护作用的研究也日益引起研究者的关注^[5-7]。另外,国内外文献报道长时间光照导致的视网膜损伤发生部位与视网膜退行性病变病理改变相似,即外层视网膜,尤其是光感受器细胞明显受累,表现为光感受器细胞的凋亡^[8]。本研究预实验发现 4 000 lx 白色冷光源对 BALB/c 小鼠进行 4 h 持续照射可致小鼠外核层厚度减少一半以上,有利于观察 LIF 对视网膜光感受器细胞光损伤的保护作用。因此,本研究中采用此条件建立小鼠视网膜光损伤模型。

LIF 通过与白血病抑制因子受体(leukemia inhibitory factor receptor, LIFR)/糖蛋白 130(glycoprotein 130, gp130)异构杂合受体结合来发挥生物学作用^[9]。LIFR 和 gp130 在中枢神经系统的神经元和胶质细胞中广泛表达,配体与 LIFR/gp130 复合体结合可激活 Jak/STAT3、ERK1/2 和 PI3K/Akt 信号转导通路,从而发挥神经保护作用^[10],但在视网膜光损伤动物模型中已明确证实 LIFR/gp130 复合体仅激活 Jak/STAT3 信号转导通路^[3]。我们前期体外细胞实验发现,在正常和氧化应激损伤条件下,外源性 LIF 均可激活光感受器视锥细胞株(661W 细胞)STAT3 信号通路,且呈浓度和时间依赖性;运用 STAT3 特异性阻断剂 S3I201 阻断 STAT3 信号通路可显著削弱 LIF 对 661W 细胞的保护作用,这表明 LIF/STAT3 信号通道对 661W 细胞具有直接保护作用^[11]。本研究通过体内实验也发现,光损伤+LIF 组 Jak 和 STAT3 mRNA 表达较正常对照组和光损伤+PBS 组显著增加,即在光损伤条件下,外源性 LIF 可激活视网膜 Jak/STAT3 信号通道。

活化的 STAT3 形成同源二聚体并转移到细胞核内与靶基因的启动子结合,可诱导靶基因的转录发挥生物学作用。许多 STAT3 的靶基因已经被确定,其中包括 Bcl-2 凋亡基因家族^[12]。Bcl-2 是一个多基因家族,在细胞凋亡的过程中处于调控机制的终末部分,其中 Bcl-2 和 Bax 是此家族的 2 个主要成员。Bcl-2 和 Bax 是目前已知线粒体通路凋亡调控过程中一对功能对立的重要的调控基因,Bcl-2 有抗凋亡的作用,而 Bax 则有促凋亡作用,它们的表达量及相对比例对凋亡有重要影响^[13]。Bax 在细胞内高表达时,细胞对死

亡信号的反应性增强,启动凋亡;而 Bcl-2 高表达时,可对抗 Bax 诱导凋亡的作用,使细胞存活期延长。本研究结果发现,视网膜光损伤模型中 Bcl-2 表达稍增加,Bax 表达显著增加;而在外源性 LIF 作用下,Bcl-2 表达增加达 10 倍,Bax 表达减少。本研究推测 Bax/Bcl-2 凋亡通道可能作为 Jak/STAT3 神经通路的下游重要靶基因在视网膜光感受器细胞光损伤过程中发挥重要作用。

综上所述,LIF 对视网膜光感受器细胞光损伤具有直接保护作用,可能通过 LIF-Jak3/STAT3-Bax/Bcl-2 信号通路来抑制细胞凋亡。这一结果为预防视网膜退行性病变及相关治疗手段的研发开辟新的思路,LIF 有可能成为治疗视网膜退行性病变的可行性药物。

参考文献

- [1] Jacobson SG, Cideciyan AV. Treatment possibilities for retinitis pigmentosa[J]. N Engl J Med, 2010, 363(17): 1669-1671. DOI: 10.1056/NEJMcibr1007685.
- [2] Zang DW, Cheema SS. Leukemia inhibitory factor promotes recovery of locomotor function following spinal cord injury in the mouse[J]. J Neurotrauma, 2003, 20(11): 1215-1222. DOI: 10.1089/089771503770802880.
- [3] Ueki Y, Wang J, Chollangi S, et al. STAT3 activation in photoreceptors by leukemia inhibitory factor is associated with protection from light damage[J]. J Neurochem, 2008, 105(3): 784-796. DOI: 10.1111/j.1471-4159.2007.05180.x.
- [4] Chollangi S, Wang J, Martin A, et al. Preconditioning-induced protection from oxidative injury is mediated by leukemia inhibitory factor receptor (LIFR) and its ligands in the retina[J]. Neurobiol Dis, 2009, 34(3): 535-544. DOI: 10.1016/j.nbd.2009.03.012.
- [5] Kauper K, McGovern C, Sherman S, et al. Two-year intraocular delivery of ciliary neurotrophic factor by encapsulated cell technology implants in patients with chronic retinal degenerative diseases[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2012, 53(12): 7484-7491. DOI: 10.1167/iovs.12-9970.
- [6] Majumder A, Banerjee S, Harrill JA, et al. Neurotrophic effects of leukemia inhibitory factor on neural cells derived from human embryonic stem cells[J]. Stem Cells, 2012, 30(11): 2387-2399. DOI: 10.1002/stem.1201.
- [7] Bürgi S, Samardzija M, Grimm C. Endogenous leukemia inhibitory factor protects photoreceptor cells against light-induced degeneration[J]. Mol Vis, 2009, 15: 1631-1637.
- [8] Jager RD, Mieler WF, Miller JW. Age-related macular degeneration[J]. N Engl J Med, 2008, 358(24): 2606-2617. DOI: 10.1056/NEJMr0801537.
- [9] Suthaus J, Adam N, Gröttinger J, et al. Viral interleukin-6: structure, pathophysiology and strategies of neutralization[J]. Eur J Cell Biol, 2011, 90(6-7): 495-504. DOI: 10.1016/j.ejcb.2010.10.016.
- [10] Ali SA, Kaur G, Kaushik JK, et al. Examination of pathways involved in leukemia inhibitory factor (LIF)-induced cell growth arrest using label-free proteomics approach[J]. J Proteomics, 2017, 168: 37-52. DOI: 10.1016/j.jprot.2017.07.014.
- [11] 董淑倩, 李秋明, 刘双珍. 白血病抑制因子(LIF)对视网膜视锥细胞氧化损伤的保护作用及机制[J]. 眼科新进展, 2017, 37(6): 506-510. DOI: 10.13389/j.cnki.rao.2017.0128.
- [12] Dong SQ, Li QM, Liu SZ. Protective effects and mechanisms of LIF on cone photoreceptors from oxidant injury[J]. Rec Adv Ophthalmol, 2017, 37(6): 506-510. DOI: 10.13389/j.cnki.rao.2017.0128.

- [12] Alas S, Bonavida B. Rituximab inactivates signal transducer and activation of transcription 3 (STAT3) activity in B-non-Hodgkin's lymphoma through inhibition of the interleukin 10 autocrine/paracrine loop and results in down-regulation of Bcl-2 and sensitization to cytotoxic drugs[J]. Cancer Res, 2001, 61 (13) : 5137-5144.
- [13] 李红, 吕建平, 蔡善君, 等. 蓝光照射致人视网膜色素上皮细胞线粒体凋亡的途径及机制[J]. 中华实验眼科杂志, 2015, 33 (1) : 16-20. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2015.01.004.

Li H, Lyu JP, Cai SJ, et al. Mitochondrial pathway of retinal pigment epithelial cell apoptosis induced by blue light *in vitro* [J]. Chin J Exp Ophthalmol, 2015, 33 (1) : 16-20. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2015.01.004.

(收稿日期: 2017-12-18 修回日期: 2018-04-23)

(本文编辑: 张宇)

· 病例报告 ·

视网膜下囊尾蚴一例

张森 魏文斌

518040 深圳市眼科医院/深圳市眼科学重点实验室 暨南大学附属深圳市眼科医院 深圳大学眼视光学院(张森);

100073 首都医科大学附属北京同仁医院 北京同仁眼科中心 眼内肿瘤诊治研究北京市重点实验室 北京市眼科学与视觉科学重点实验室(魏文斌)

通信作者: 魏文斌, Email: weibenbin@163.com

DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2018.06.008

基金项目: 国家自然科学基金项目(81570891、81272981); 北京市医院管理局临床医学发展专项经费资助(扬帆计划)项目(ZYLX201307); 北京市自然科学基金项目(7151003); 北京市医院管理局“登峰”人才培养计划项目(DFL20150201); 眼内肿瘤诊治研究北京市重点实验室 2015 年度科技创新基地培育与发展专项项目(Z151100001615052); 北京市卫生系统高层次卫生技术人才培养计划项目(2014-2-003)

患者, 女, 45 岁, 2015 年 3 月因左眼视物模糊、眼前黑影遮挡感 4 个月于北京同仁医院就诊。患者籍贯贵州, 既往有食用腌制生猪肉的习惯, 否认外伤史、糖尿病、高血压及家族疾病史。眼科检查: 右眼裸眼视力 0.7, 矫正视力为 1.0, 左眼裸眼视力 0.3, 矫正无提高; 眼压右眼 17.7 mmHg (1 mmHg=0.133 kPa), 左眼 14.5 mmHg。双眼前段未见明显异常。左眼玻璃体混浊, 眼底后极部鼻下方可见视网膜隆起, 视网膜表面大量增生条带, 血管闭锁呈白线, 囊体周围视网膜浅脱离, 脱离范围为囊体周围外约 3 mm, 透见黄白色囊样物, 边界清楚, 约 6 PD 大小, 其间有致密白色斑点, 在强光下可见囊体蠕动, 囊泡表面波动。右眼未见异常。当地医院行彩色多普勒成像 (color doppler imaging, CDI) 显示左眼视网膜下囊肿; 眼部 MRI 显示为左眼球内上象限低密度结节。眼底照相可见猪囊尾蚴位于视网膜前, 有一白色、较致密的头节包裹凹陷入囊泡内 (图 1); 眼部 B 型超声检查可见玻璃体腔内一圆形或椭圆形囊泡样回声光团, 囊泡内为弱回声光团, 高回声光斑为囊尾蚴头节, 合并有视网膜脱离, 可见渗出所致的强弱不等的回声光团和囊状物

的自发性蠕动 (图 2); 光相干断层扫描 (optical coherence tomography, OCT) 检查可清晰见囊尾蚴虫节 (图 3); 眼底造影显示左眼脉络膜占位, 疑似寄生虫感染, 继发性葡萄膜炎 (图 4); 眼眶 MRI 显示左眼球鼻侧壁及右眼眶下直肌旁异常信号影, 左侧丘脑及双侧额颞叶、颞肌内多发异常信号影, 考虑为寄生虫感染 (图 5); 血常规检查示嗜酸性粒细胞百分比 (EOS%) 为 11% (参考值: 0.5%~5%), 嗜酸性粒细胞绝对值 (EOS#) 为 $0.61 \times 10^9/L$ (参考值: $0.1 \times 10^9 \sim 0.5 \times 10^9/L$)。诊断: (1) 左眼葡萄膜炎;

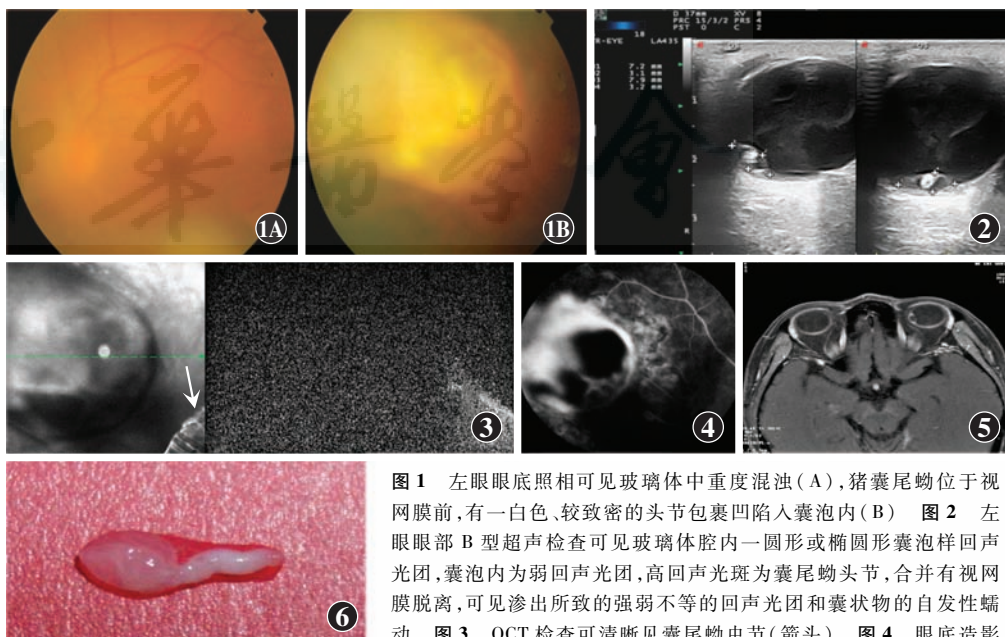


图 1 左眼眼底照相可见玻璃体中重度混浊 (A), 猪囊尾蚴位于视网膜前, 有一白色、较致密的头节包裹凹陷入囊泡内 (B) 图 2 左眼眼部 B 型超声检查可见玻璃体腔内一圆形或椭圆形囊泡样回声光团, 囊泡内为弱回声光团, 高回声光斑为囊尾蚴头节, 合并有视网膜脱离, 可见渗出所致的强弱不等的回声光团和囊状物 图 3 OCT 检查可清晰见囊尾蚴虫节 (箭头) 图 4 眼底造影显示左眼脉络膜占位, 继发性葡萄膜炎 图 5 眼眶 MRI 显示左眼球鼻侧壁及右眼眶下直肌旁异常信号影, 左侧丘脑及双侧额颞叶、颞肌内多发异常信号影, 考虑为寄生虫感染 图 6 术中取出的猪带状绦虫囊尾蚴