

· 实验研究 ·

组织蛋白酶 B 和血管内皮生长因子在高氧诱导的视网膜新生血管中的作用

王文娟 周国宏

030002 太原, 山西省眼科医院泪道病科

通信作者: 周国宏, Email: guohongzhou2005@163.com

DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2017.10.003

【摘要】背景 血管内皮生长因子(VEGF)在血管发育和新生血管形成中起着关键作用。研究表明,组织蛋白酶 B(Cathepsin B)参与新生血管的生成,但其具体机制尚不明确。**目的** 探讨 Cathepsin B 和 VEGF 在高氧诱导小鼠视网膜新生血管中的表达及二者之间的关系。**方法** 应用随机数字表法将 44 只 7 日龄清洁级 C57BL/6J 小鼠随机分为正常对照组、高氧诱导组、空白对照(NC)-绿色荧光蛋白(GFP)-慢病毒(Lv)组和 Cathepsin B-RNA 干扰(RNAi)-Lv 组,每组 11 只小鼠 22 只眼。正常对照组小鼠在自然环境中生长;其余 3 个组 7 日龄小鼠置于氧体积分数为($75\pm2\%$)的密闭氧箱内饲养 5 d,之后返回到正常环境中。高氧诱导组的 12 日龄小鼠不给予任何药物干预;NC-GFP-Lv 组和 Cathepsin B-RNAi-Lv 组的 12 日龄小鼠分别给予玻璃体腔注射 NC-GFP-Lv 和 Cathepsin B-RNAi-Lv 各 1 μ l。取各组 17 日龄小鼠,颈椎脱臼法处死后剥取视网膜,分别采用 real-time PCR 和 Western blot 法检测小鼠视网膜中 Cathepsin B 和 VEGF mRNA 及蛋白的相对表达量。

结果 荧光显微镜下 Cathepsin B-RNAi-Lv 组视网膜新生血管分层和分支均较高氧诱导组和 NC-GFP-Lv 组少。各组 Cathepsin B 和 VEGF mRNA 总体比较,差异均有统计学意义($F=444.89, P=0.00$; $F=519.78, P=0.00$),其中高氧诱导组、NC-GFP-Lv 组和 Cathepsin B-RNAi-Lv 组小鼠视网膜中 Cathepsin B 和 VEGF mRNA 的相对表达量均明显高于正常对照组,Cathepsin B-RNAi-Lv 组小鼠视网膜中 Cathepsin B 和 VEGF mRNA 的相对表达量均明显低于高氧诱导组和 NC-GFP-Lv 组,差异均有统计学意义(均 $P<0.05$)。各组 Cathepsin B 和 VEGF 蛋白总体比较,差异均有统计学意义($F=54.37, P=0.00$; $F=79.65, P=0.00$),其中高氧诱导组、NC-GFP-Lv 组和 Cathepsin B-RNAi-Lv 组小鼠视网膜中 Cathepsin B 和 VEGF 蛋白的相对表达水平均明显高于正常对照组,Cathepsin B-RNAi-Lv 组小鼠视网膜中 Cathepsin B 和 VEGF 蛋白的相对表达水平均明显低于高氧诱导组和 NC-GFP-Lv 组,差异均有统计学意义(均 $P<0.05$)。 **结论** 高氧诱导的视网膜新生血管中 Cathepsin B 和 VEGF 高表达,Cathepsin B-RNAi-Lv 可以抑制 Cathepsin B 和 VEGF mRNA 和蛋白的表达水平,VEGF 表达的改变可能是受 Cathepsin B 表达的影响。

【关键词】 组织蛋白酶 B; 血管内皮生长因子; 视网膜新生血管

基金项目: 山西省自然科学基金项目(2014011043-7); 山西省卫生厅科技攻关计划项目(2011057)

Effect of Cathepsin B and vascular endothelial growth factor on the retinal neovascularization induced by hyperoxia Wang Wenjuan, Zhou Guohong

Department of Lacrimal Duct Diseases, Shanxi Eye Hospital, Taiyuan 030002, China

Corresponding author: Zhou Guohong, Email: guohongzhou2005@163.com

[Abstract] **Background** Vascular endothelial growth factor (VEGF) plays a key role in the vascular development and neovascularization. Studies have proved that Cathepsin B is related to the formation of neovascularization, but its mechanism is unclear. **Objective** This study was to investigate the expression of Cathepsin B and VEGF in the retinal neovascularization induced by hyperoxia and the relationship between them.

Methods Forty-four 7-day-old C57BL/6J mice were randomly assigned into 4 groups: normal control group, hyperoxia-induced group, normal control (NC)-green fluorescent protein (GFP)-lentivirus (Lv) group and Cathepsin B-RNA interference (RNAi)-Lv group, with 11 mice 22 eyes for each group. The mice in normal control group were survival in natural environment. The other three groups of 7-day-old mice were put in a sealed box of oxygen volume fraction ($75\pm2\%$) for 5 days and then sent back to normal environment. The mice of hyperoxia-induced group did not

have any drug intervention, while the 12-day-old mice of NC-GFP-Lv group and Cathepsin B-RNAi-Lv group received intravitreal injection of NC-GFP-Lv 1 μ l or Cathepsin B-RNAi-Lv 1 μ l. All 17-day-old mice were sacrificed and the retinas were collected. The mRNA expression levels of Cathepsin B and VEGF were performed by real-time PCR; the protein expression levels of Cathepsin B and VEGF were detected by Western blot. **Results** Fluorescence microscope results showed that the layer and branch of retinal neovascularization were less in the Cathepsin B-RNAi-Lv group than those in the NC-GFP-Lv group and hyperoxia-induced group. The relative expression levels of Cathepsin B and VEGF mRNA in each group were significantly different ($F = 444.89, P = 0.00$; $F = 519.78, P = 0.00$). The relative expression levels of Cathepsin B and VEGF mRNA in hyperoxia-induced group, NC-GFP-Lv group and Cathepsin B-RNAi-Lv group were higher than those in normal control group, and the relative expression levels of Cathepsin B and VEGF mRNA in Cathepsin B-RNAi-Lv group were lower than those in hyperoxia-induced group and NC-GFP-Lv group, with significant differences between them (all at $P < 0.05$). The relative expression levels of Cathepsin B and VEGF protein in each group were significantly different ($F = 54.37, P = 0.00$; $F = 79.65, P = 0.00$). The relative expression levels of Cathepsin B and VEGF protein in hyperoxia-induced group, NC-GFP-Lv group and Cathepsin B-RNAi-Lv group were higher than those in normal control group, and the relative expression levels of Cathepsin B and VEGF protein in Cathepsin B-RNAi-Lv group were lower than those in hyperoxia-induced group and NC-GFP-Lv group, with significant differences between them (all at $P < 0.05$). **Conclusions** The expression levels of Cathepsin B and VEGF in retinal neovascularization of hyperoxia-induced group were significantly higher than those in normal control group, Cathepsin B-RNAi-Lv can inhibit the mRNA and protein expression of Cathepsin B and VEGF, the expression of VEGF may be influenced by the expression of Cathepsin B.

[Key words] Cathepsin B; Vascular endothelial growth factor; Retinal neovascularization

Fund program: Natural Science Foundation of Shanxi Province (2014011043-7); Science and Technology Research Project of Shanxi Health Department (2011057)

视网膜新生血管性眼病是临幊上重要的致盲眼病之一,对视网膜新生血管发病机制的研究也成为近几年眼幊研究的热点之一。众所周知,新生血管的生成是在血管生成促进因子和血管生成抑制因子的共同调控下完成的,当调控失衡,向促进因子方向发展时,形成新生血管^[1]。组织蛋白酶 B(Cathepsin B)属于木瓜蛋白酶型半胱氨酸蛋白酶,具有广谱蛋白水解活性^[2],众多研究证实,通过将其转运到细胞表面可介导肿瘤的血管形成^[3-4]。血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)是内皮细胞的特异性有丝分裂原,是目前发现作用最强和专一的刺激内皮细胞增生因子,介导生理性和病理性的血管生成^[5]。可见,Cathepsin B 和 VEGF 均与血管的发生关系密切,但二者在视网膜新生血管中可能存在的关系尚不清楚。本实验通过高氧诱导小鼠视网膜产生新生血管,观察小鼠视网膜 Cathepsin B 和 VEGF 的表达,并进一步探讨两者在新生血管中的作用及可能存在的关系。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物及分组 自行培育的 7 日龄清洁级 C57BL/6J 小鼠 44 只,雌雄不限,与母鼠共同饲养。应用随机数字表法将小鼠分为正常对照组、高氧诱导组、空白对照(normal control, NC)-绿色荧光蛋白(green

fluorescent protein, GFP)-慢病毒(lentivirus, Lv)组和 Cathepsin B-RNA 干扰(RNA interference, RNAi)-Lv 组,每组 11 只小鼠 22 只眼。实验动物的使用和喂养遵循国家科学技术委员会颁布的《实验动物管理条例》。

1.1.2 主要试剂及仪器 PrimeScriptTM RT reagent Kit 试剂盒和引物合成(日本 Takara 公司);RNA 裂解酶(美国 Sigma 公司);EZNATM Total RNA Kit I(美国 Omega 公司);兔抗鼠 Cathepsin B 抗体、鼠抗鼠 VEGF 抗体、HRP 标记羊抗兔 IgG 二抗、HRP 标记羊抗鼠 IgG 二抗(美国 Santa Cruz 公司);NC-GFP-Lv、Cathepsin B-RNAi-Lv(上海吉凯基因有限公司)。氧箱(青岛科凯电子研究所有限公司);荧光显微镜(德国 Leica 公司);PCR 仪(德国 Eppendorf 公司);多功能数字凝胶成像分析系统(美国 Bio-Rad 公司)。

1.2 方法

1.2.1 实验动物的分组处理 正常对照组小鼠在自然环境中生长;其余 3 个组 7 日龄小鼠置于氧体积分数为($75 \pm 2\%$)的密闭氧箱内饲养 5 d 后返回到正常环境中。高氧诱导组的 12 日龄小鼠不给予任何药物干预;NC-GFP-Lv 组和 Cathepsin B-RNAi-Lv 组的 12 日龄小鼠分别给予玻璃体腔注射 NC-GFP-Lv 和 Cathepsin B-RNAi-Lv 各 1 μ l。

1.2.2 荧光显微镜下观察视网膜血管形态 应用随机数字表法随机取各组 2 只 17 日龄小鼠,颈椎脱臼法

处死, 经 FITC-dextran 心腔灌注后, 摘取双侧眼球, 在解剖显微镜下去除角膜和晶状体后, 剥离视网膜后铺片, 在荧光显微镜下观察并拍照。

1.2.3 Real-time PCR 法检测小鼠视网膜内 Cathepsin B 和 VEGF mRNA 的表达 应用随机数字表法随机取每组 17 日龄小鼠各 4 只, 摘取双侧眼球, 获取视网膜, 按 EZNATM Total RNA Kit I 说明书提取小鼠视网膜总 RNA, 37 ℃ 逆转录反应 15 min, 然后 85 ℃ 反应 5 s, 灭活逆转录酶, 完成 RNA 逆转录为 cDNA 的过程。根据小鼠 Cathepsin B 和 VEGF mRNA 序列, 应用 Primer 3 软件设计 PCR 引物。*Cathepsin B* 基因上游引物: 5'-CACGTGAATGTGGAGGTCTC-3', 下游引物: 5'-GGTCTTCAGGTTCGAGGTC-3'; *VEGF* 基因上游引物: 5'-CTACCTCCACCATGCCAAGT-3', 下游引物: 5'-GCTCTGGAACCACCTGTAGA-3'; 加入 PCR 反应液。PCR 反应条件: 94 ℃ 预变性 10 min; 94 ℃ 变性 15 s, 60 ℃ 退火和延伸 60 s, 共 45 个循环。反应结束后提取 real-time PCR 的扩增曲线和熔解曲线数据。以 β -actin 作为内参照, 采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算各组 β -actin、Cathepsin B 和 VEGF mRNA 的相对表达量。

1.2.4 Western blot 法检测小鼠视网膜内 Cathepsin B 和 VEGF 蛋白的表达 应用随机数字表法随机取每组 17 日龄小鼠各 5 只, 摘取双侧眼球, 获取视网膜, 用裂解液裂解小鼠视网膜, 置于 1.5 ml Eppendorf 管中, 95 ℃ 作用 5 min, 迅速冰浴, 4 ℃ 条件下 10 000 $\times g$ 离心 10 min, 收集上清; SDS-PAGE 电泳法(质量分数 5% 积层胶, 质量分数 10% 分离胶)分离蛋白样本; 电转印法

将电泳条带转印到 PVDF 膜上, 质量分数 5% 牛血清白蛋白溶液 4 ℃ 封闭过夜; 依次加入兔抗鼠 Cathepsin B 抗体(1:1 000)和鼠抗鼠 VEGF 抗体(1:1 000), 室温孵育, PBS 洗涤, 再加入 HRP 标记的羊抗兔二抗(1:10 000)和羊抗鼠 IgG 二抗(1:10 000)二抗, 室温孵育, PBS 洗涤; 底物化学发光法显影, 定影, 扫描, 测定各条带的吸光度(A)值。以 β -actin 为内参, 计算 Cathepsin B 和 VEGF 蛋白的相对表达量。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 16.0 统计学软件进行统计分析。本研究中测试指标的数据资料经 Shapiro-Wilk 检验证实呈正态分布, 经 Levene 检验证实方差齐。采用完全随机分组三水平实验设计, 各组 Cathepsin B 和 VEGF mRNA 及蛋白相对表达量的总体比较采用单因素方差分析, 组间多重比较采用 SNK-q 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组小鼠视网膜血管的形态

荧光显微镜下可清晰地显示视网膜主要小血管和毛细血管的形态, 正常对照组视网膜血管走形相对柔和, 分支少, 毛细血管数目相对较少(图 1A); 高氧诱导组和 NC-GFP-Lv 组血管分层和分支较多, 毛细血管丰富且吻合点多, 新生血管扭曲且向深部走行(图 1B, C); Cathepsin B-RNAi-Lv 组小鼠视网膜血管分层和分支较少, 毛细血管数目相对较少(图 1D)。

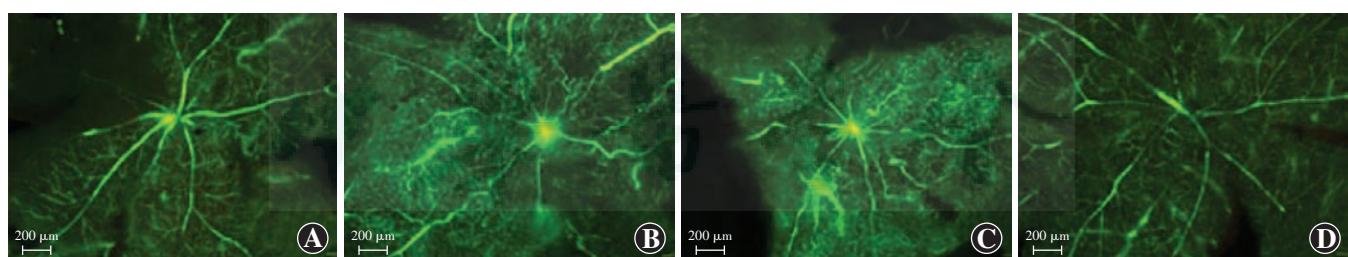


图 1 荧光显微镜下各组小鼠视网膜新生血管形态比较(FITC, 标尺=200 μm) A: 正常对照组视网膜血管走形相对柔和, 分支少, 毛细血管数目相对较少 B: 高氧诱导组新生血管丰富, 扭曲且向深部走行, 吻合点多 C: NC-GFP-Lv 组新生血管丰富, 扭曲且向深部走行, 吻合点多 D: Cathepsin B-RNAi-Lv 组小鼠视网膜新生血管分层和分支较少

2.2 各组小鼠视网膜中 Cathepsin B 和 VEGF mRNA 相对表达量的比较

各组 Cathepsin B mRNA 和 VEGF mRNA 相对表达量总体比较, 差异均有统计学意义($F = 444.89, P = 0.00$; $F = 519.78, P = 0.00$), 其中高氧诱导组、NC-GFP-Lv 组和 Cathepsin B-RNAi-Lv 组小鼠视网膜中 Cathepsin B 和 VEGF mRNA 的相对表达水平均明显高

于正常对照组, 差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$); Cathepsin B-RNAi-Lv 组小鼠视网膜中 Cathepsin B 和 VEGF mRNA 的相对表达水平均明显低于高氧诱导组和 NC-GFP-Lv 组, 差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$); 高氧诱导组与 NC-GFP-Lv 组 Cathepsin B 和 VEGF mRNA 相对表达水平比较, 差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$) (表 1)。

表 1 各组小鼠视网膜 Cathepsin B 和 VEGF mRNA 相对表达量比较($\bar{x}\pm s$)

组别	样本量	Cathepsin B mRNA	VEGF mRNA
正常对照组	8	0.60±0.04	0.70±0.20
高氧诱导组	8	1.65±0.18 ^a	27.00±0.09 ^a
NC-GFP-Lv 组	8	1.58±0.07 ^a	26.88±0.90 ^a
Cathepsin B-RNAi-Lv 组	8	0.74±0.05 ^{abc}	18.99±0.48 ^{abc}
F 值		444.89	519.78
P 值		0.00	0.00

注:与正常对照组比较,^a $P < 0.05$;与高氧诱导组比较,^b $P < 0.05$;与 NC-GFP-Lv 组比较,^c $P < 0.05$ (单因素方差分析,SNK-q 检验)
Cathepsin B:组织蛋白酶 B;VEGF:血管内皮生长因子;NC:空白对照;
GFP:绿色荧光蛋白;Lv:慢病毒;RNAi:RNA 干扰

2.3 各组小鼠视网膜中 Cathepsin B 和 VEGF 蛋白表达水平的比较

各组 Cathepsin B 和 VEGF 蛋白相对表达量的比较,差异均有统计学意义 ($F = 54.37, P = 0.00$; $F = 79.65, P = 0.00$), 其中高氧诱导组、NC-GFP-Lv 组和 Cathepsin B-RNAi-Lv 组小鼠视网膜中 Cathepsin B 和 VEGF 蛋白的表达水平均明显高于正常对照组, 差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$); Cathepsin B-RNAi-Lv 组小鼠视网膜中 Cathepsin B 和 VEGF 蛋白的表达水平均明显低于高氧诱导组和 NC-GFP-Lv 组, 差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$); 高氧诱导组和 NC-GFP-Lv 组 Cathepsin B 和 VEGF 蛋白的相对表达量比较, 差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$)(图 2, 表 2)。



图 2 Western blot 法检测各组小鼠视网膜中 Cathepsin B 和 VEGF 蛋白的表达 1:高氧诱导组 2:NC-GFP-Lv 组 3:Cathepsin B-RNAi-Lv 组 4:正常对照组

表 2 各组小鼠视网膜 Cathepsin B 和 VEGF 蛋白相对表达量的比较($\bar{x}\pm s$)

组别	样本量	Cathepsin B	VEGF
正常对照组	10	0.65±0.25	0.69±0.02
高氧诱导组	10	0.90±0.22 ^a	1.12±0.09 ^a
NC-GFP-Lv 组	10	0.93±0.09 ^a	1.13±0.06 ^a
Cathepsin B-RNAi-Lv 组	10	0.76±0.01 ^{abc}	0.90±0.03 ^{abc}
F 值		54.37	79.65
P 值		0.00	0.00

注:与正常对照组比较,^a $P < 0.05$;与高氧诱导组比较,^b $P < 0.05$;与 NC-GFP-Lv 组比较,^c $P < 0.05$ (单因素方差分析,SNK-q 检验)
Cathepsin B:组织蛋白酶 B;VEGF:血管内皮生长因子;NC:空白对照;
GFP:绿色荧光蛋白;Lv:慢病毒;RNAi:RNA 干扰

3 讨论

早期的研究表明,当眼球缺血、缺氧时,组织细胞会释放一些与血管增生相关的物质,这些物质能引起视网膜新生血管的生成^[6]。研究发现,小鼠由高氧环境转到低氧环境后,会诱发视网膜新生血管性眼病,且视网膜中 Cathepsin B 过度表达^[7],与本研究结果一致,且高氧诱导组 Cathepsin B 的表达高于 Cathepsin B-RNAi-Lv 组和正常对照组;而 VEGF 的表达以 P14~P17 显著^[8],其中,P17 时小鼠视网膜新生血管形成最显著,本研究结果提示,高氧诱导组 VEGF 在 P17 的表达高于 Cathepsin B-RNAi-Lv 组和正常对照组。这表明在高氧诱导的小鼠视网膜新生血管中,Cathepsin B 和 VEGF 均呈高表达,参与了新生血管的形成。

Malla 等^[9]通过敲除 Cathepsin B 和尿激酶型纤溶酶原激活剂受体 (urokinase plasminogen activator receptor,uPAR) 后,抑制了 VEGF 的表达,抑制了神经胶质瘤诱发血管生成;Chang 等^[10]通过静脉注射 VEGF 可干扰 Cathepsin 抑制剂的平衡,使基底膜降解和促进血管母细胞增生,诱导血管新生;通过这些研究,可以推断 Cathepsin B 的表达可正向调节 VEGF 的表达,而 VEGF 又可促进 Cathepsin 类物质的表达。另有研究表明,活化 JAK2/STAT3 通路能够上调 VEGF 的表达^[11];而抑制 Cathepsin B、uPAR 的表达可抑制 JAK1/STAT3 通路的水平^[9],因此,本研究推断 Cathepsin B 和 VEGF 在小鼠视网膜新生血管的形成中可能是通过激活 JAK1/STAT3 和 JAK2/STAT3 的某 1 条或某 2 条通路实现的,这需要我们在今后的研究中进一步证实。

一直以来,早期的视网膜新生血管性眼病以药物治疗为主,而 VEGF 是研究中最肯定的促血管生成因子,也是抗新生血管药物治疗的重要研究靶点。本研究表明,抑制 Cathepsin B 的表达可抑制 VEGF 的表达,抑制视网膜新生血管的发生,这为今后研究小鼠视网膜新生血管性眼病中 Cathepsin B 和 VEGF 的相关性提供了理论依据,也为视网膜新生血管性眼病的治疗提供了更为广阔前景。

参考文献

- [1] 李超飞,章雄,刘琰.血管成熟机制研究进展[J].中华损伤与修复杂志:电子版,2011,6(2):279~284. DOI:10.3877/cma.j.issn.1673-9450.2011.02.019.
- [2] Li CF, Zhang X, Liu Y. Progress of research on mechanisms of vascular maturation [J]. Chin J Injury Repair Wound Healing (Electronic Edition), 2011, 6(2): 279~284. DOI:10.3877/cma.j.issn.1673-9450.2011.02.019.

- [2] Bergers G, Brekken R, McMahon G, et al. Matrix metalloproteinase-9 triggers the angiogenic switch during carcinogenesis [J]. *Nat Cell Biol*, 2000, 2(10): 737–744. DOI: 10.1038/35036374.
- [3] Shimizu A, Nakayama H, Wang P, et al. Netrin-1 promotes glioblastoma cell invasiveness and angiogenesis by multiple pathways including activation of RhoA, cathepsin B, and cAMP-response element-binding protein [J]. *J Biol Chem*, 2013, 288(4): 2210–2222. DOI: 10.1074/jbc.M112.397398.
- [4] Chen WN, Chen JY, Jiao BY, et al. Interaction of the hepatitis B spliced protein with cathepsin B promotes hepatoma cell migration and invasion [J]. *J Virol*, 2012, 86(24): 13533–13541. DOI: 10.1128/JVI.02095-12.
- [5] Shams N, Ianchulev T. Role of vascular endothelial growth factor in ocular angiogenesis [J]. *Ophthalmol Clin North Am*, 2006, 19(3): 335–344. DOI: 10.1016/j.ohc.2006.05.005.
- [6] Campochiaro PA. Ocular neovascularization [J]. *J Mol Med (Berl)*, 2013, 91(3): 311–321. DOI: 10.1007/s00109-013-0993-5.
- [7] 周国宏, 孔丽. Cathepsin B-RNAi-lentivirus 抑制小鼠视网膜新生血管形成的研究 [J]. 中华实验眼科杂志, 2013, 31(5): 452–455. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2013.05.009.
- Zhou GH, Kong L. Inhibitory effect of cathepsin B-RNAi-lentivirus on mouse retinal neovascularization [J]. *Chin J Exp Ophthalmol*, 2013, 31(5): 452–455. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2013.05.009.
- [8] 底煜, 盖春柳, 郑坤, 等. 血管内皮生长因子和色素上皮衍生因子在
- 实验性视网膜新生血管中表达 [J]. 中国实用眼科杂志, 2011, 29(10): 1091–1093. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1006-4443.2011.10.028.
- Di Y, Gai CL, Zheng K, et al. Expression of VEGF and PEDF in experimental retinal neovascularization [J]. *Chin J Pract Ophthalmol (CJPO)*, 2011, 29(10): 1091–1093. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1006-4443.2011.10.028.
- [9] Malla RR, Gopinath S, Gondi CS, et al. Cathepsin B and uPAR knockdown inhibits tumor-induced angiogenesis by modulating VEGF expression in glioma [J]. *Cancer Gene Ther*, 2011, 18(6): 419–434. DOI: 10.1038/cgt.2011.9.
- [10] Chang SH, Kanasaki K, Gocheva V, et al. VEGF-A induces angiogenesis by perturbing the cathepsin-cysteine protease inhibitor balance in venules, causing basement membrane degradation and mother vessel formation [J]. *Cancer Res*, 2009, 69(10): 4537–4544. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-08-4539.
- [11] Zhao M, Gao FH, Wang JY, et al. JAK2/STAT3 signaling pathway activation mediates tumor angiogenesis by upregulation of VEGF and bFGF in non-small-cell lung cancer [J]. *Lung Cancer*, 2011, 73(3): 366–374. DOI: 10.1016/j.lungcan.2011.01.002.

(收稿日期: 2017-03-08)

(本文编辑: 刘艳)

· 病例报告 ·

IgG4 阳性的眶黏膜相关性淋巴样组织淋巴瘤一例

李静 葛心 马建民

100730 北京同仁眼科中心 首都医科大学附属北京同仁医院 北京市眼科研究所 北京市眼科学与视觉科学重点实验室

通信作者: 马建民, Email: jmma@sina.com

DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2017.10.004

基金项目: 国家自然科学基金项目(81170875)

患者,女,50岁,因偶然发现右眼球突出1年余,1个月前加重,于2012年11月至北京同仁医院眼肿瘤科就诊。眼部检查:视力右眼0.9,左眼1.0,双眼眼压正常,眼位正,眼球运动可,眼球突出度右眼22mm,左眼13mm,眶距101mm,右眼下睑可触及大小约1.2cm×1.0cm肿物,表面光滑,质中,活动度可,边界清,无触痛。左眼前节及眼底检查未见异常。眼眶MRI示,右侧眼眶内下象限肌锥内外间隙占位性病变,考虑炎性假瘤可能性大,不排除淋巴瘤。双眼球及眼眶其余组织结构未见明显异常。血常规、尿常规及生物化学检查未见异常。胸部CT及上腹部CT均未见异常。初步诊断:右眼眼眶占位性病

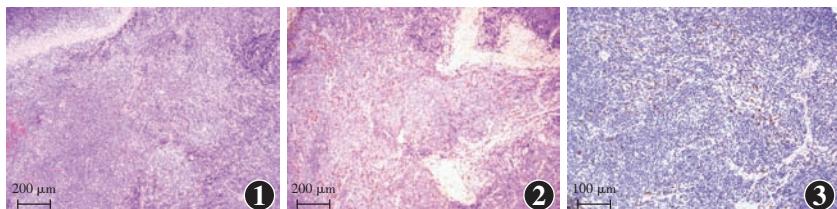


图1 术后常规组织病理学检查(标尺=200 μm, HE ×100) 右眼眶肿物内可见高度增生的淋巴组织,部分区域符合黏膜相关B细胞淋巴瘤 图2 术后免疫组织化学染色(标尺=200 μm, ×100) 显示 IgG(++) 图3 术后免疫组织化学染色(标尺=100 μm, ×200) 显示 IgG4(+)。

变,特发性眼眶炎性假瘤可能性大。

经患者同意行右眼眶内肿物切除术。术后病理组织学检查显示,右眼眶肿物内高度增生的淋巴组织,部分区域符合黏膜相关B细胞淋巴瘤(图1)。免疫组织化学检查显示,CD20(+),CD79(+),Bcl-2(+),λ(+),κ(-),PAX5(+),Mum-1(-),CD5(+),CD10(-),CyclinD1(-),Bcl-6(-),CD45RO(-),CD3(-),CD23(+),CD21FDC网(+),CD35(-),ki-67指数约为10%,EBER(-),IgG(++) (图2),IgG4(+) (图3)。血清IgG4质量浓度为318 mg/dl(正常值范围为4~87 mg/dl)。修正诊断:右眼眶黏膜相关B细胞淋巴瘤。术后7d患者拆线出院。

密切随访至今未见复发,全身情况良好,半年后复查血清IgG4质量浓度已降至正常水平。

讨论:眼附属器黏膜相关性淋巴样组织(mucosa-associated lymphoid tissue, MALT)淋巴瘤,即MALT淋巴瘤,是最多见的眼附属器淋巴瘤,可发生在眼眶、结膜、泪腺和眼睑等,多见于中老年人^[1-2]。近年MALT淋巴瘤的发病率不断上升,在中国占眼眶淋巴瘤的80%以上^[3]。迄今为止,MALT淋巴瘤的具体病因及发病机制尚不明确,但是已有较多证据表明其与微生