

# 翼状胬肉组织中 ATP 结合盒转运蛋白 B5 的表达变化及意义

蔡岩 赵旭东 王炜 尹娜 王慧娴 高晓唯

830013 乌鲁木齐,解放军 474 医院 全军眼科中心

通信作者:高晓唯,Email:gxwgaoxw@263.net

DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2017.12.004

**【摘要】** 背景 角膜缘干细胞(LSCs)缺乏可引起多种眼表疾病,如翼状胬肉等。ATP 结合盒转运蛋白 B5(ABCB5)是新发现的特异性 LSCs 标志物,研究 ABCB5 在翼状胬肉组织中的表达变化对于翼状胬肉的防治具有重要的临床意义。目的 研究 ABCB5 在翼状胬肉组织中的表达变化,探讨其在翼状胬肉发生和发展中的作用。方法 收集 2015 年 1—11 月在解放军 474 医院行原发性翼状胬肉切除术的手术标本 37 例,同期收集年龄匹配的行斜视矫正术和视网膜脱离复位术患者的正常结膜组织 22 例。采用免疫组织化学法检测 ABCB5 在翼状胬肉组织标本中的表达和定位,分别采用 Western blot 和实时荧光定量 PCR 法检测翼状胬肉标本中 ABCB5 蛋白及其 mRNA 的相对表达量,并与正常结膜标本进行比较。结果 ABCB5 蛋白表达于所有 22 例正常结膜复层扁平细胞的细胞质和细胞核中,以基底层细胞中表达更为明显,呈现明显极性。在 37 例翼状胬肉标本中,可见 ABCB5 阳性表达者 34 例,占 91.89%,ABCB5 表达阴性者 3 例,占 8.11%。正常结膜组和翼状胬肉组 ABCB5 蛋白相对表达量分别为  $0.90 \pm 0.31$  和  $0.59 \pm 0.41$ ,ABCB5 mRNA 表达量分别为  $1.01 \pm 0.26$  和  $0.65 \pm 0.32$ ,翼状胬肉组 ABCB5 蛋白和 mRNA 的相对表达量均明显低于正常结膜组,差异均有统计学意义( $t = -0.266, P = 0.011; t = -4.560, P = 0.000$ )。结论 LSCs 标志物 ABCB5 的表达下调提示 LSCs 的减少和缺失与翼状胬肉的发生和发展有关,提示 ABCB5 检测可能作为翼状胬肉发生和发展、术后复发及疗效评估的观察指标之一,也可能成为翼状胬肉的治疗靶点。

**【关键词】** ATP 结合盒转运蛋白; 生物标志物/代谢; 角膜缘/细胞学; 干细胞; 翼状胬肉/病理状态

**基金项目:** 新疆维吾尔自治区科技支疆项目(201491171)

**Expression changes and significance of ATP-binding cassette transporter B5 in pterygium** Cai Yan, Zhao

Xudong, Wang Wei, Yin Na, Wang Huixian, Gao Xiaowei

Ophthalmic Center, 474 Hospital of Chinese PLA, Urumqi 830013, China

Corresponding author: Gao Xiaowei, Email: gxwgaoxw@263.net

**【Abstract】** **Background** Limbal stem cells (LSCs) deficiency leads to many ocular surface diseases, such as pterygium and so on. ATP-binding cassette transporter B5 (ABCB5) is a recently discovered marker of LSCs. Understanding the expression changes of ABCB5 in pterygium tissue has an important clinical significance for pterygium. **Objective** This study was to investigate the expression changes of ABCB5 in pterygium tissue. **Methods** Thirty-seven pterygium tissue specimens were collected from primary pterygium patients who received pterygium surgery, and 22 normal conjunctival tissue specimens were obtained from the strabismus patients and retinal detachment patients during surgery in 474 Hospital of Chinese PLA from January 2015 to November 2015. Immunohistochemistry was employed to detect the expression and location of ABCB5 in the specimens, and the protein and mRNA expressions of ABCB5 were detected by Western blot and real-time fluorescence quantitative PCR, respectively. The results were compared between normal conjunctival tissues and pterygium tissue. **Results** ABCB5 protein was expressed in the cytoplasm and nuclei of stratified squamous epithelium of 22 normal conjunctival tissue specimens, especially in the basal layer cells, and showed obvious polarity in normal conjunctiva. In pterygium group, ABCB5 protein was positively expressed in 91.89% specimens (34/37) and the expression was absent in 8.11% specimens (3/37). The relative expression levels of ABCB5 protein were  $0.90 \pm 0.31$  and  $0.59 \pm$

0.41, and those of ABCB5 mRNA were  $1.01 \pm 0.26$  and  $0.65 \pm 0.32$  in the normal conjunctival tissues and pterygium tissue, respectively, showing significant differences between them (protein:  $t = -0.266$ ,  $P = 0.011$ ; mRNA:  $t = -4.560$ ,  $P = 0.000$ ). **Conclusions** Down-regulation of ABCB5 in pterygium indicates the decreasing and losing of LSCs, which may play an important role in the development of pterygium. ABCB5 may be a useful indicator for the prediction of development and recurrence of pterygium and has an important implication for treating evaluation, and it may also be a target for the management of pterygium.

[Key words] ATP-binding cassette transporters; Biomarkers/metabolism; Corneal limbus/cytology; Stem cells; Pterygium/pathology

**Fund program:** Science and Technology Aiding Project of Xinjiang Uygur Autonomous Region (201491171)

翼状胬肉是一种呈翼状增生并侵及角膜的良性纤维血管病变,有研究表明其与角膜缘干细胞缺乏(limbal stem cell deficiency, LSCD)有关<sup>[1]</sup>,但目前认为此结论尚缺乏直接证据<sup>[2]</sup>。ATP 结合盒转运蛋白 B5(ATP-binding cassette transporter B5, ABCB5)是新发现的角膜缘干细胞(limbal stem cells, LSCs)特异性生物因子,在对 LSCs 维持角膜的正常发育和组织修复的评估中发挥重要作用<sup>[3]</sup>,研究 ABCB5 在翼状胬肉组织中的表达变化对于翼状胬肉的防治具有重要的临床意义。本研究拟观察 ABCB5 在翼状胬肉组织中的表达变化,探讨 LSCs 在翼状胬肉发生和进展中的作用及其意义。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

**1.1.1 标本的来源及收集** 于 2015 年 1—11 月收集在解放军 474 医院行翼状胬肉切除术的翼状胬肉标本 37 例,标本均来源于原发性静止期翼状胬肉患者,其中男 18 例,女 19 例;年龄 30 ~ 76 岁,平均( $57.2 \pm 10.7$ )岁。纳入标准:(1)按照诊断标准确诊为鼻侧静止期翼状胬肉;(2)翼状胬肉头部侵入角膜 2 ~ 4 mm。排除标准:(1)既往有眼部手术史;(2)有活动性眼部炎症性病变;(3)假性翼状胬肉;(4)单眼多发翼状胬肉。同期收集视网膜脱离或斜视手术中切除的正常结膜组织 22 例,其中男 11 例,女 11 例;年龄 41 ~ 69 岁,平均( $52.9 \pm 7.7$ )岁。标本的采集和使用遵循赫尔辛基宣言及医学伦理学原则,经解放军 474 医院医学伦理委员会批准(批文号:2014-伦审字-27),所有患者均知情并签署知情同意书。翼状胬肉切除患者均行自体球结膜移植术。

**1.1.2 主要试剂及仪器** 小鼠抗人 ABCB5 单克隆抗体(抗体编号:BM1700,武汉博士德公司);SP 一步法免疫组织化学染色试剂盒、DAB 试剂盒(北京中杉金桥公司);BCA 法蛋白定量试剂盒(南京建成生物研究所);Trizol(美国 Invitrogen 公司);逆转录试剂盒(美

国 Promega 公司);PCR 引物(上海生物工程技术服务有限公司);实时定量 PCR 试剂盒(德国 QIAGEN 公司)。BX51 型光学显微镜(日本 Olympus 公司);PowerPac™ 蛋白电泳系统、GEL DOC XR 凝胶成像系统、IQ™5 实时荧光定量 PCR 仪(美国 Bio-Rad 公司)。

### 1.2 方法

**1.2.1 标本处理** 将收集的组织标本用生理盐水冲洗干净,沿轴线等分为 3 份,分别用于免疫组织化学检测、Western blot 检测和实时荧光定量 PCR 检测。用于免疫组织化学检测的组织标本用质量分数 4% 多聚甲醛溶液固定;Western blot 检测的组织标本置于  $-80^{\circ}\text{C}$  低温冰箱中冷冻保存;实时荧光定量 PCR 检测标本用 1 ml Trizol 处理后置于  $-80^{\circ}\text{C}$  低温冰箱中冷冻保存。

**1.2.2 免疫组织化学法检测标本中 ABCB5 蛋白的表达** 翼状胬肉标本和正常结膜组织经 4% 多聚甲醛固定 24 h 后乙醇脱水、透明、浸蜡和石蜡包埋,行  $4\ \mu\text{m}$  厚连续切片。采用 SP 一步法 ABCB5 免疫组织化学染色,滴加一抗(1:100),DAB 显色,苏木素复染。空白对照为不加一抗的平行染色,光学显微镜下观察 ABCB5 蛋白的表达,组织切片中表达阳性标准为细胞质或细胞核染色为淡黄色至棕色。

**1.2.3 Western blot 法测定标本中 ABCB5 蛋白的相对表达量** 在翼状胬肉标本中加入细胞裂解液匀浆,冰上裂解,离心,提取上清,BCA 法蛋白定量。加入 5 倍上样缓冲液,煮沸 10 min,按每个样本 20  $\mu\text{g}$  总蛋白上样,行聚丙烯酰胺凝胶电泳,配置质量分数为 10% 分离胶和 5% 浓缩胶,上样后 80 V 恒压电泳,待溴酚蓝至浓缩胶与分离胶交界处换恒压 100 V 电泳,使溴酚蓝电泳至分离胶最底部。电转法将分离胶上的蛋白转移到硝酸纤维素膜(100 V, 90 min),硝酸纤维素膜用质量分数 5% 脱脂奶粉溶液  $37^{\circ}\text{C}$  封闭 1 h,滴加 ABCB5 一抗  $4^{\circ}\text{C}$  过夜(1:500),次日滴加碱性磷酸酯酶标记的二抗(1:10 000),室温孵育 1 h,AP 显色试剂盒显色后扫描。以  $\beta$ -actin 作为内参照,采用 Kodar Digital Science 1D 软件分析 ABCB5 蛋白表达的灰度值,以

ABCB5 条带与内参照条带灰度值的比值作为 ABCB5 表达的相对量。

**1.2.4 实时荧光定量 PCR 测定标本中 ABCB5 mRNA 的相对表达量** 已合成的 cDNA 模板采用实时荧光定量 PCR 系统进行检测,实验方案参照 QuantiTect SYBR Green PCR Kit 说明书,应用 20  $\mu$ l 反应体系。用于扩增特定基因产物的引物序列见表 1。反应条件:95  $^{\circ}$ C 预变性 5 min,95  $^{\circ}$ C 变性 5 s,各基因最适退火温度延伸 30 s,共 40 个循环,每个循环的延伸末期检测荧光信号。扩增程序结束后计算机自动绘制各目标基因的扩增曲线和溶解曲线,并显示阈值循环数(threshold cycles,Ct)。以  $\beta$ -actin 基因表达量作为内参校正目的基因的表达量,计算公式:目的基因相对表达量 =  $2^{-\Delta\Delta Ct}$ , $\Delta Ct = Ct_{目的基因} - Ct_{\beta-actin}$ , $\Delta\Delta Ct = \Delta Ct_{实验组} - \Delta Ct_{对照组}$ 。

表 1 实时荧光定量 PCR 扩增引物序列

引物	序列	片段长度
ABCB5	F:5'-ATTGGACTGGTTACTCAAGAGCC-3'	81 bp
	R:5'-AGTCACATCATCTCGTCCATACT-3'	
$\beta$ -actin	F:5'-CATGTACGTTGCTATCCAGGC-3'	250 bp
	R:5'-CTCCTTAATGTCACGCACGAT-3'	

注:ABCB5:ATP 结合盒转运蛋白 B5

### 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 K-S 检验证实呈正态分布,以  $\bar{x} \pm s$  表示,采用均衡分组两水平研究设计,正常结膜组与翼状胬肉组组织中 ABCB5 蛋白及其 mRNA 相对表达量的差异比较均采用独立样本 *t* 检验。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 ABCB5 在翼状胬肉中的表达及定位

ABCB5 蛋白表达于所有 22 例正常结膜复层扁平细胞的细胞质和细胞核中,且以基底细胞中表达更为明显,即呈现明显极性(图 1A)。翼状胬肉组织中 ABCB5 表达强度减弱,阳性细胞数量减少,在 37 例翼状胬肉标本中,ABCB5 表达阳性者 34 例,占 91.89%;ABCB5 表达阴性者 3 例,占 8.11%,ABCB5 表达失去极性者 37 例,占 100%,ABCB5 主要表达于血管周围(图 1B)。

### 2.2 ABCB5 蛋白及其 mRNA 在翼状胬肉组织中表达量的变化

Western blot 检测结果显示,正常结膜组织和翼状胬肉组织中 ABCB5 蛋白的相对表达量分别为  $0.90 \pm$

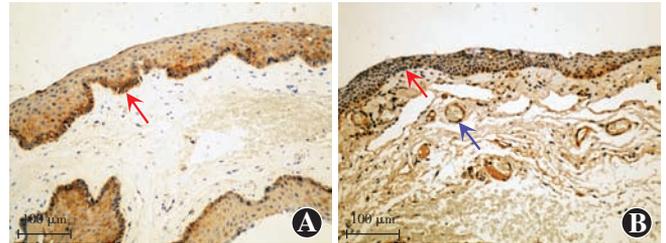


图 1 免疫组织化学染色检测标本中 ABCB5 的表达(DAB  $\times 200$ , 标尺 = 100  $\mu$ m) A:正常结膜组织中 ABCB5 主要表达于结膜基底细胞(红色箭头) B:翼状胬肉中 ABCB5 阳性细胞数量减少(红色箭头),主要表达于血管附近(蓝色箭头)

0.31 和  $0.59 \pm 0.41$ ,翼状胬肉组织中 ABCB5 蛋白相对表达量明显低于正常组织,差异有统计学意义( $t = -0.266, P = 0.011$ );实时荧光定量 PCR 检测结果显示翼状胬肉组织中 ABCB5 mRNA 相对表达量为  $0.65 \pm 0.32$ ,明显低于正常结膜组织中的  $1.01 \pm 0.26$ ,差异有统计学意义( $t = -4.560, P = 0.000$ )(图 2)。

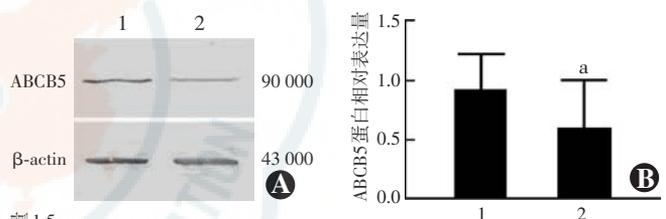


图 2 ABCB5 蛋白和 mRNA 在翼状胬肉组织中相对表达量变化 A:Western blot 检测正常结膜和翼状胬肉中 ABCB5 蛋白的电泳图 翼状胬肉组织中 ABCB5 蛋白的表达条带明显弱于正常结膜组织 B:正常结膜组织与翼状胬肉组织中 ABCB5 蛋白相对表达量的量化比较 与正常结膜组织相比较, $P < 0.05$ (独立样本 *t* 检验,翼状胬肉标本  $n = 37$ ,正常结膜标本  $n = 22$ ) C:实时荧光定量 PCR 检测的正常结膜组织与翼状胬肉组织中 ABCB5 mRNA 相对表达量的量化比较 与正常结膜组织相比较, $P < 0.01$ (独立样本 *t* 检验,翼状胬肉标本  $n = 37$ ,正常结膜标本  $n = 22$ ) 1:正常结膜组织 2:翼状胬肉组织 ABCB5:ATP 结合盒转运蛋白 B5

## 3 讨论

LSCs 位于角膜和球结膜之间的角膜缘,由少量角膜缘克隆细胞和 95% 以上的非自我更新且增生能力有限的祖细胞构成,是角膜上皮增生、分化和移行的主要来源<sup>[4]</sup>。LSCs 具有干细胞所具有的生物学特性,如分化程度低、细胞周期长、对创伤和增生刺激反应快、具有极大的增生潜能等特点,并通过向心性移动和角膜上皮基底细胞的分裂、迁移来补充角膜表面脱落的上皮细胞,保持上皮细胞更新过程的动态平衡<sup>[5-7]</sup>。某些因素破坏了 LSCs 或者维持 LSCs 生存的微环境则可能发生 LSCD,导致角膜上皮缺损、新生血管长入、不

同程度角膜结膜化等,甚至出现反复上皮缺损、基质瘢痕和溶解,最终导致眼痛和盲<sup>[8-10]</sup>。LSCD 已成为世界范围内主要的致盲原因<sup>[6,11]</sup>。

翼状胬肉是 LSCD 疾病的一种,但 LSCs 在翼状胬肉发生和发展中的具体作用尚不明确,临床治疗以手术为主,术后翼状胬肉复发是临床医师面临的主要问题<sup>[11-13]</sup>。Kheirkhah 等<sup>[14]</sup>比较了自体结膜移植术和结膜角膜缘移植术的疗效,发现结膜角膜缘移植术组术后无复发,而自体结膜移植术组术后复发 2 眼,但两组间复发率的差异无统计学意义;另一项随访 10 年的研究表明,与术中应用丝裂霉素相比,自体结膜移植术后翼状胬肉复发率更低<sup>[15]</sup>。目前认为自体结膜角膜缘移植术是治疗翼状胬肉有效的手术方式,术后复发率一般不超过 5%,可能是因为 LSCs 具有细胞更新和组织再生能力,不断地分裂增生,最终产生终末分化细胞以补充脱落的角膜上皮,重建眼表结构和功能,维持眼表平衡,同时完整的角膜缘作为一种屏障能阻止增生结膜组织和新生血管长入角膜,从而达到阻止翼状胬肉复发的目的,对保持角膜的透明性和正常生理功能具有重要意义<sup>[16-17]</sup>。

ABCB5 是 ATP 结合盒 B 家族成员 5,是表皮祖细胞和黑色素瘤干细胞的标志物<sup>[18]</sup>。Ksander 等<sup>[3]</sup>通过多项证据证实 ABCB5 是哺乳类动物 LSCs 的标志物,其功能在于保持 LSCs 的数量和功能,并且为角膜发育和修复所必需。本研究以 LSCD 的常见疾病翼状胬肉为切入点,证实在正常结膜组织中 ABCB5 表达阳性,且呈明显极性,与其在口腔黏膜组织中的表达相似<sup>[19]</sup>,而翼状胬肉组织中 ABCB5 表达量减少,甚至缺失,提示翼状胬肉中 LSCs 减少和 LSCs 微环境发生变化,与翼状胬肉的发生和发展有关。ABCB5 不仅在蛋白水平表达减少,其在 mRNA 水平表达同样减少,提示翼状胬肉组织中 ABCB5 转录水平下调,引起了 ABCB5 蛋白减少,使 LSCs 减少和 LSCs 微环境异常。本研究中还发现正常球结膜表层上皮细胞为扁平形,基底层细胞略呈立方形,为 4~6 层的复层鳞状上皮,形态变化较大,排列规则但较松散,表层下组织为疏松结缔组织,血管较少;翼状胬肉组织上皮则呈明显的增生状态,细胞层数较正常球结膜明显增多,且细胞排列紊乱,无明显极性,同时结膜上皮下疏松结缔组织内存在较多血管,管腔内有大量红细胞,与董诺等<sup>[20]</sup>的研究结果一致。本研究中免疫组织化学检测结果发现,ABCB5 在翼状胬肉组织血管附近表达,提示 ABCB5 与翼状胬肉血管密切相关,与 ABCB5 在血管生成拟态中表达阳性一致<sup>[21-23]</sup>。本研究中显示,翼状胬肉组织

中 3 例患者 ABCB5 表达缺如,提示 LSCs 完全缺乏和 LSCs 正常微环境完全被破坏,对于此类患者是否需要行对侧眼的正常结膜移植,尚需进一步研究。

本研究探讨翼状胬肉中 LSCs 标志物 ABCB5 的表达,证实其在对翼状胬肉的发生和发展过程中 LSCs 缺失情况的评估中发挥重要作用,为翼状胬肉复发的预测和防治提供了新的思路。

## 参考文献

- [1] Das P, Gokani A, Bagchi K, et al. Limbal epithelial stem-microenvironmental alteration leads to pterygium development [J]. *Mol Cell Biochem*, 2015, 402(1-2): 123-139. DOI: 10.1007/s11010-014-2320-z.
- [2] Hernández-Bogantes E, Amescua G, Navas A, et al. Minor ipsilateral simple limbal epithelial transplantation (mini-SLET) for pterygium treatment [J]. *Br J Ophthalmol*, 2015, 99(12): 1598-1600. DOI: 10.1136/bjophthalmol-2015-306857.
- [3] Ksander BR, Kolovou PE, Wilson BJ, et al. ABCB5 is a limbal stem cell gene required for corneal development and repair [J]. *Nature*, 2014, 511(7509): 353-357. DOI: 10.1038/nature13426.
- [4] Pellegrini G, Golisano O, Paterna P, et al. Location and clonal analysis of stem cells and their differentiated progeny in the human ocular surface [J]. *J Cell Biol*, 1999, 145(4): 769-782.
- [5] 曹静洁, 张琛, 赵少贞. 组织工程角膜上皮种子细胞的研究进展 [J]. *中华实验眼科杂志*, 2015, 33(9): 857-860. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2015.09.020.
- [6] Cao JJ, Zhang C, Zhao SZ. Current researches of tissue engineering corneal epithelium seed cells [J]. *Chin J Exp Ophthalmol*, 2015, 33(9): 857-860. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2015.09.020.
- [7] Dua HS, Joseph A, Shanmuganathan VA, et al. Stem cell differentiation and the effects of deficiency [J]. *Eye (Lond)*, 2003, 17(8): 877-885. DOI: 10.1038/sj.eye.6700573.
- [8] 刘志平, 沙翔垠, 王智崇, 等. 胚胎干细胞微环境增强人角膜缘干细胞的干性和抑制凋亡的机制 [J]. *中华实验眼科杂志*, 2015, 33(5): 389-399. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2015.05.002.
- [9] Liu ZP, Sha XY, Wang ZC, et al. Mechanism of embryonic stem cells microenvironment enhancing stemness and inhibiting apoptosis of human limbal stem cells [J]. *Chin J Exp Ophthalmol*, 2015, 33(5): 389-399. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2015.05.002.
- [10] 潘志强. 重视角膜缘干细胞移植术后效果的合理评价 [J]. *中华眼科杂志*, 2010, 46(9): 769-770. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0412-4081.2010.09.001.
- [11] Pan ZQ. The importance of therapeutic evaluation on limbal stem cells transplantation [J]. *Chin J Ophthalmol*, 2010, 46(9): 769-770. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0412-4081.2010.09.001.
- [12] Kim BY, Riaz KM, Bakhtiari P, et al. Medically reversible limbal stem cell disease: clinical features and management strategies [J]. *Ophthalmology*, 2014, 121(10): 2053-2058. DOI: 10.1016/j.ophtha.2014.04.025.
- [13] 柯红琴, 刘磊, 栗静, 等. 兔全角膜缘干细胞缺乏模型的构建和鉴定 [J]. *中华实验眼科杂志*, 2013, 31(2): 151-155. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2013.02.010.
- [14] Ke HQ, Liu L, Li J, et al. Establishment of assessment of rabbit model of total limbal stem cell deficiency [J]. *Chin J Exp Ophthalmol*, 2013, 31(2): 151-155. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2013.02.010.
- [15] Scholz SL, Thomasen H, Hestermann K, et al. Long-term results of autologous transplantation of limbal epithelium cultivated *ex vivo* for limbal stem cell deficiency [J]. *Ophthalmology*, 2016, 113(4): 321-329. DOI: 10.1007/s00347-015-0110-y.

- [12] Di GN, Chui J, Wakefield D, et al. Cultured human ocular surface epithelium on therapeutic contact lenses [J]. *Br J Ophthalmol*, 2007, 91(4): 459-464. DOI: 10.1136/bjo.2006.103895.
- [13] Prabhakar SK. Safety profile and complications of autologous limbal conjunctival transplantation for primary pterygium [J]. *Saudi J Ophthalmol*, 2014, 28(4): 262-267. DOI: 10.1016/j.sjopt.2014.03.006.
- [14] Kheirkhah A, Hashemi H, Adelpour M, et al. Randomized trial of pterygium surgery with mitomycin C application using conjunctival autograft versus conjunctival-limbal autograft [J]. *Ophthalmology*, 2012, 119(2): 227-232. DOI: 10.1016/j.ophtha.2011.08.002.
- [15] Young AL, Ho M, Jhanji V, et al. Ten-year results of a randomized controlled trial comparing 0.02% mitomycin C and limbal conjunctival autograft in pterygium surgery [J]. *Ophthalmology*, 2013, 120(12): 2390-2395. DOI: 10.1016/j.ophtha.2013.05.033.
- [16] Xu Y, Zhou HM, Li J, et al. Efficacy of treatment for pterygium by autologous conjunctival transplantation and mitomycin C [J]. *Chin Med J (Engl)*, 2012, 125(25): 3730-3734.
- [17] Kim YJ, Yoo SH, Chung JK. Reconstruction of the limbal vasculature after limbal-conjunctival autograft transplantation in pterygium surgery: an angiography study [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2014, 55(12): 7925-7933. DOI: 10.1167/iovs.14-15288.
- [18] Frank NY, Pendse SS, Lapchak PH, et al. Regulation of progenitor cell fusion by ABCB5 P-glycoprotein, a novel human ATP-binding cassette transporter [J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(47): 47156-47165. DOI: 10.1074/jbc.M308700200.
- [19] Grimm M, Cetindis M, Lehmann M, et al. Apoptosis resistance-related ABCB5 and DNaseX (Apo10) expression in oral carcinogenesis [J]. *Acta Odontol Scand*, 2015, 73(5): 336-342. DOI: 10.3109/00016357.2014.961029.
- [20] 董诺, 吴护平, 李程, 等. 翼状胬肉上皮鳞状化生与泪膜稳定性的研究 [J]. *中华眼科杂志*, 2013, 49(5): 422-427. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0412-4081.2013.05.009.
- Dong N, Wu HP, Li C, et al. Abnormal epithelial differentiation and tear film alteration in pterygium [J]. *Chin J Ophthalmol*, 2013, 49(5): 422-427. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0412-4081.2013.05.009.
- [21] Frank NY, Schatton T, Kim S, et al. VEGFR-1 expressed by malignant melanoma-initiating cells is required for tumor growth [J]. *Cancer Res*, 2011, 71(4): 1474-1485. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-10-1660.
- [22] Volpicelli ER, Lezcano C, Zhan Q, et al. The multidrug-resistance transporter ABCB5 is expressed in human placenta [J]. *Int J Gynecol Pathol*, 2014, 33(1): 45-51. DOI: 10.1097/PGP.0b013e31829e677f.
- [23] Lai CY, Schwartz BE, Hsu MY. CD133<sup>+</sup> melanoma subpopulations contribute to perivascular niche morphogenesis and tumorigenicity through vasculogenic mimicry [J]. *Cancer Res*, 2012, 72(19): 5111-5118. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-12-0624.

(收稿日期: 2017-04-20 修回日期: 2017-10-17)

(本文编辑: 尹卫靖)

## · 病例报告 ·

## 持续高眼压 7 年伴角膜内皮正常一例

张玉秋 孙兴怀

200031 上海, 复旦大学附属眼耳鼻喉科医院眼科 复旦大学上海医学院眼科学与视觉科学系卫生部近视眼重点实验室  
上海市视觉损害与重建重点实验室

通信作者: 孙兴怀, Email: xhsun@shmu.edu.cn

DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2017.12.005

患者, 男, 49 岁, 因右眼视物不见 3 个月 2007 年 6 月于复旦大学附属眼耳鼻喉科医院就诊。眼部检查: 视力右眼无光感, 左眼裸眼视力 0.3, +1.50/-2.50×175=0.8<sup>-</sup>; 裂隙灯显微镜 (YZ11D, 苏州六六视觉科技股份有限公司) 检查见双眼结膜无充血, 角膜透明, 前房中深; 右眼 7:00 位虹膜根部膨隆, 瞳孔圆, 直径约 3.0 mm, 对光反射消失, 晶状体密度增高, 玻璃体絮状混浊。左眼 5:00 位虹膜根部膨隆, 瞳孔圆, 直径约 2.5 mm, 对光反射迟钝, 晶状体密度增高, 玻璃体少量絮状混浊。眼底检查可见右眼视盘边界清晰, 色苍白, C/D ≈ 1.0, 视盘凹陷, 血管屈膝状爬行; 左眼视盘边界清晰, C/D ≈ 0.9, 见盘沿切迹, 未见盘周出血。房角镜检查: 右眼 7:00 位虹膜根部膨隆, 颞下、颞侧房角关闭, 其余房角窄。左眼 5:00 位虹膜根部膨隆, 颞上、颞侧房角关闭, 其余房角窄。压平眼压计 (BQ900, 瑞士 Haag-Streit 集团) 测量眼压, 右眼 12 mmHg (1 mmHg = 0.133 kPa), 左眼 16 mmHg。A 型超声 (IOLMaster 500, 德国 Zeiss 公司) 检查示, 眼轴右眼 22.50 mm, 左眼 21.72 mm; 角膜曲率右眼 7.45 D, 左眼 7.53 D。2007 年 7 月 24 日入院, 入院诊断: 双眼继发性青

光眼 (右眼: 绝对期, 左眼: 晚期); 双眼睫状上皮囊肿。入院后局部麻醉下行左眼小梁切除术, 术后给予抗炎及抗瘢痕化处理。出院后患者按时复查, 病情平稳。2012 年 5 月 21 日角膜内皮镜 (EM3000, 日本 Tomey 公司) 检查示右眼角膜内皮细胞密度 (cell density, CD) 为 2 677/mm<sup>2</sup>, 平均细胞面积 (average size, AVG) 为 374 μm<sup>2</sup>, 细胞面积的标准差 (standard deviation, SD) 为 122 μm<sup>2</sup>, 细胞面积变异系数 (coefficient of variation, CV) 为 33, 内皮细胞的最大细胞面积 (maximum size, Max) 为 1 002 μm<sup>2</sup>, 内皮细胞的最小细胞面积 (minimum size, Min) 为 150 μm<sup>2</sup>; 左眼 CD 为 2 901/mm<sup>2</sup>, 细胞面积 AVG 为 345 μm<sup>2</sup>, SD 为 114 μm<sup>2</sup>, CV 为 33, Max 为 672 μm<sup>2</sup>, Min 为 83 μm<sup>2</sup>, 中央角膜厚度 (central corneal thickness, CCT) 为 481 μm。两年半后复查角膜内皮镜示: 右眼 CD 为 2 647/mm<sup>2</sup>, 细胞面积 AVG 为 378 μm<sup>2</sup>, SD 为 176 μm<sup>2</sup>, CV 为 47, Max 为 1 188 μm<sup>2</sup>, Min 为 94 μm<sup>2</sup>; 左眼 CD 为 2 885/mm<sup>2</sup>, 细胞面积 AVG 为 347 μm<sup>2</sup>, SD 为 116 μm<sup>2</sup>, CV 为 34, Max 为 754 μm<sup>2</sup>, Min 为 124 μm<sup>2</sup>, CCT 为 485 μm。超声生物显微镜 (ultrasound biomicroscopy, UBM) (MD-300L, 天津迈达