

人胚胎干细胞来源的视网膜色素上皮细胞超微结构观察方法的优化

吴畏 屈娅 王磊 曾玉晓 徐海伟 阴正勤

400038 重庆,西南医院全军眼科中心 视觉损伤与再生修复重庆市重点实验室(吴畏、屈娅、曾玉晓、徐海伟、阴正勤);100101 北京,中国科学院动物研究所 干细胞与生殖生物学国家重点实验室(王磊)

通信作者:屈娅,Email:quya417@163.com

DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2016.09.004

【摘要】 背景 视网膜色素上皮(RPE)细胞的正常超微结构是其执行正常生理功能的解剖基础,目前用透射电子显微镜(TEM)检测 RPE 细胞的超微结构时常用细胞沉淀法,但经过胰蛋白酶消化的细胞会破坏原有的细胞生长状态,无法真实地反映出体外培养的 RPE 细胞的超微结构。目的 探索一种能够简单、真实地反映体外培养的人胚胎干细胞(hESC)来源的 RPE 细胞超微结构的方法。方法 将 hESC 经自然分化法诱导为 hESC 来源的 RPE(hESC-RPE)细胞,采用免疫荧光法检测 hESC-RPE 细胞特异性蛋白小眼畸形相关转录因子(MITF)和人类配对盒基因 6(PAX6)的表达。将 hESC-RPE 细胞种植于 Transwell 小室上进行培养,待细胞形成细胞片后通过 TEM 进行超微结构的观察,并与细胞沉淀法制备的 hESC-RPE 细胞标本的超微结构和 90 日龄 Long Evans 大鼠体内 RPE 细胞的超微结构进行比较。结果 hESC-RPE 细胞 MITF 和 PAX6 表达阳性。TEM 下可见大鼠体内 RPE 细胞正常的超微结构,包括顶端微绒毛、极性分布的 RPE 细胞色素颗粒和细胞核、细胞基底膜和细胞间紧密连接。细胞片法 TEM 下可见 Transwell 小室上细胞片中 hESC-RPE 细胞形成了类似于大鼠体内 RPE 细胞的超微结构,但细胞顶端微绒毛较短,而细胞沉淀法观察到 hESC-RPE 细胞的细胞质中散在分布的色素颗粒、非极性的细胞核和少量的微绒毛。结论 TEM 观察细胞超微结构时细胞片法不经过细胞的消化过程,保留了 hESC-RPE 细胞的正常结构,能简单、真实地反映体外培养 RPE 细胞的超微结构。

【关键词】 视网膜色素上皮/细胞; 胚胎干细胞; 透射电子显微镜; 细胞分化/生理; 细胞培养; 大鼠; 人视网膜色素上皮细胞片

基金项目: 重庆市自然科学基金计划项目(cstc2012jjA10068)

Optimization of ultrastructure observation of human embryonic stem cell-derived retinal pigment epithelial cells

Wu Wei, Qu Ya, Wang Lei, Zeng Yuxiao, Xu Haiwei, Yin Zhengqin

Key Lab of Visual Damage and Regeneration & Restoration of Chongqing, Southwest Eye Hospital, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China (Wu W, Qu Y, Zeng YX, Xu HW, Yin ZQ); State Key of Stem Cells and Laboratory of Reproductive Biology, Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China (Wang L)

Corresponding author: Qu Ya, Email: quya417@163.com

【Abstract】 **Background** Normal ultrastructure is the anatomical basis of retinal pigment epithelial (RPE) cells to perform normal physiological function. At present the precipitation method is often used to detect the ultrastructure of RPE cells with transmission electron microscopy (TEM). **Objective** The aim of this study was to explore a simple and feasible approach to examine the ultrastructure of human embryonic stem cell-derived retinal pigment epithelial (hESC-RPE) cells. **Methods** hESCs were induced and differentiated into RPE cells by the spontaneous differentiation method, and the expressions of microphthalmia associated transcription factor MITF and paired-box gene 6 (PAX6), specific protein of RPE cells, in the cells were detected by immunofluorescence assay. hESC-RPE cells were inoculated into Transwell filter, and the ultrastructure of the cell sheet was examined under the TEM. Then the ultrastructure of the cell sheet specimens was compared with those of hESC-RPE cells from cell precipitation and RPE cell specimens of 90-day-old Long Evans rats. **Results** MITF and PAX6 were positively expressed in hESC-RPE cells. The normal ultrastructure were visible in the RPE cells of rats under the TEM, including apical microvilli, polarized melanin granules, cellular nucleus, basement membrane and intercellular junctions, and the

ultrastructure of hESC-RPE cell sheet on Transwell was similar to the RPE cells in rats. However, only scatter melanin granules, nonpolar nucleus and scanty microvilli were observed under the TEM in the hESC-RPE cells by cell precipitation method. **Conclusions** Without digestion process, hESC-RPE cell sheet on Transwell can retain the normal ultrastructure of hESC-RPE cells under the TEM, with a more simple and reliable advantage.

[Key words] Retinal pigment epithelium/cytology; Embryonic stem cells; Microscopy, electron, transmission; Cell differentiation/physiology; Cells, cultured; Rats; Retinal pigment epithelial sheets, human

Fund program: Natural Science Foundation Project of Chongqing (cstc2012jjA10068)

年龄相关性黄斑变性 (age-related macular degeneration, AMD) 是发达国家 50 岁以上人群的主要致盲眼病, 近年来中国 AMD 的发病率有逐年升高的趋势^[1-2]。AMD 的主要病理改变是视网膜色素上皮 (retinal pigment epithelium, RPE) 细胞变性, 继而导致光感受器的丢失^[3], 因此深入研究 RPE 细胞的结构和功能对于 AMD 的防治具有重要的临床意义。RPE 是神经视网膜与 Bruch 膜之间的具有极性的单层细胞, 其超微结构的正常与否与视网膜正常生理功能的维持密切相关^[4], 如细胞顶端的微绒毛参与对感光细胞外节的吞噬过程、细胞的极性可影响营养因子的分泌、细胞内的色素颗粒具有抗氧化应激的能力、细胞间的紧密连接参与血-视网膜屏障的形成等^[5]。透射电子显微镜 (transmission electron microscope, TEM) 是检测细胞超微结构的常用工具, 目前许多研究用 TEM 检测 RPE 细胞超微结构时是将体外培养的 RPE 细胞消化后观察沉淀的细胞^[6-10], 但该方法会破坏 RPE 细胞原本的生长状态, 不能真实地反映体外培养 RPE 细胞的超微结构。本研究中将人胚胎干细胞 (human embryonic stem cell, hESC) 来源的 RPE (hESC-RPE) 细胞培养在 Transwell 滤膜上, 采用 TEM 观察未经消化的 hESC-RPE 细胞片的超微结构, 并与常规的细胞沉淀法进行比较, 以探索检测 RPE 细胞超微结构的最佳方法。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 细胞来源 hESC 株由中国科学院动物研究所周琪院士惠赠。

1.1.2 实验动物 1 只 90 日龄的 Long Evans 大鼠由第三军医大学实验动物中心提供。所有实验动物操作程序符合《实验动物管理和使用指南》规定, 并经第三军医大学医学伦理委员会批准。

1.1.3 主要试剂及仪器 ESC 培养基 (加拿大 Stem cell 公司); Y-27632 (美国 Sigma 公司); 基质胶 (Matrigel, 美国 BD 公司); 激酶抑制剂 (kinase suppressor of Ras, KSR) (美国 Gibco 公司); 兔抗小眼畸形相关转录

因子 (microphthalmia associated transcription factor, MITF) 一抗 (ab20663, 1 : 300)、兔抗人类配对盒基因 6 (paired-box gene 6, PAX6) 一抗 (ab5790, 1 : 200) (英国 Abcam 公司); FITC 标记山羊抗兔二抗 (F-2765)、Cy3 标记的山羊抗兔二抗 (A10520) (美国 Life Technologies 公司)。Transwell 细胞培养小室 (美国 Corning 公司); 激光扫描共焦显微镜 (德国 Leica 公司); TEM (日本电子株式会社)。

1.2 方法

1.2.1 hESC-RPE 细胞的诱导分化及培养 采用自发分化法诱导 hESC 分化为 RPE 细胞^[11]。hESC 传代后, 使细胞生长至超级融合状态, 每个克隆之间的边界互相接触。传代培养约 1 周后去除原培养基中的碱性成纤维生长因子 (basic fibroblast growth factor, bFGF), 隔日换液 1 次, 约 20 d 待细胞中出现色素灶时继续培养 2 周, 解剖显微镜下用玻璃电极将色素灶挑出, 移至铺有基质胶的培养皿。分离的色素灶继续培养 4 周后进行传代, 每 2 ~ 3 天更换培养基, 可见 RPE 细胞从色素灶单层爬出。

1.2.2 免疫荧光法鉴定 hESC-RPE 细胞 将第 3 代 hESC-RPE 细胞接种于 RPE 细胞爬片上, 4 °C 条件下用质量分数 4% 多聚甲醛固定 15 min; PBS 漂洗 3 遍, 加入体积分数 0.25% Triton X-100, 室温下静置 10 min, 加入含体积分数 5% 山羊血清的封闭液, 室温孵育 1 h; 吸干封闭液后分别加入 MITF 和 PAX6 一抗, 4 °C 孵育过夜; PBS 漂洗 3 遍, 分别加入 FITC 和 Cy3 标记的山羊抗兔二抗, 37 °C 孵育 1 h, PBS 漂洗, 加入 DAPI 核染色, PBS 漂洗 3 遍; 用抗荧光淬灭剂封片, 激光扫描共焦显微镜下观察细胞中 MITF 和 PAX6 的荧光表达。

1.2.3 大鼠体内 RPE 超微结构的观察 过量麻醉法处死 Long Evans 大鼠, 摘取双侧眼球; 行角膜穿刺后立即将眼球置于质量分数 2.5% 戊二醛中 4 °C 固定 30 min, 去除眼前节和玻璃体, 将眼杯修剪为适当大小, 置于 2.5% 戊二醛中 4 °C 固定 2 h; 弃上清, PBS 漂洗 2 次, 每次 30 min, 加入质量分数 1% 锇酸, 室温下固定 2 h; 弃上清, 0.1 mol/L PBS 漂洗 3 次, 每次 5 min,

再将样品用丙酮梯度脱水,每次 5 min;加入环氧树脂 618 包埋,半薄切片定位,行超薄切片,加入醋酸铀和铅染液,电子染色,TEM 下观察细胞的超微结构。

1.2.4 细胞片法观察 hESC-RPE 细胞超微结构 将第 3 代 hESC-RPE 细胞接种于 Transwell 小室上,常规培养 3 周,用 2.5% 戊二醛中 4 ℃ 固定过夜,弃上清, PBS 漂洗 2 次,每次 30 min,加入 1% 锇酸,室温固定 2 h;弃上清,0.1 mol/L PBS 漂洗 3 次,每次 5 min,用丙酮梯度脱水,每次 5 min;将 PET 膜从 Transwell 培养小室中撕下,裁剪成适当大小后加入环氧树脂 618 包埋,半薄切片定位,超薄切片,加入醋酸铀和铅染液,电子染色,TEM 下观察细胞的超微结构。

1.2.5 细胞沉淀法观察 hESC-RPE 细胞超微结构 将第 3 代 hESC-RPE 细胞接种于 6 孔板,常规培养 3 周,加入质量分数 0.25% 胰蛋白酶消化成单细胞,终止消化后收集细胞,离心半径 16 cm,室温下 1 200 r/min 离心 3 min,去上清,小心加入 2.5% 戊二醛,4 ℃ 下固定过夜;弃上清, PBS 漂洗 2 次,每次 30 min,加入 1% 锇酸,室温下固定 2 h;弃上清,0.1 mol/L PBS 漂洗 3 次,每次 5 min,丙酮梯度脱水,每次 5 min;加入环氧树脂 618 包埋,半薄切片定位,超薄切片,加入醋酸铀和铅染液,电子染色,TEM 下观察细胞的超微结构。

2 结果

2.1 hESC-RPE 细胞的形态及鉴定

倒置相差显微镜下可见第 3 代 hESC-RPE 细胞呈典型的铺路石样排列,细胞连接紧密,细胞中可见黑色素(图 1A,B)。免疫荧光检测显示细胞中 RPE 细胞的特异性标志蛋白 MITF 和 PAX6 呈阳性表达,分别呈红色荧光和绿色荧光(图 1C~F),即 hESC 自然分化为 RPE 细胞。

2.2 大鼠 RPE 细胞的超微结构

体内 RPE 细胞位于感光细胞与 Bruch 膜之间,呈明显的细胞极性。RPE 细胞顶端(朝向感光细胞)有大量的微绒毛伸入感光细胞外节中,RPE 细胞的色素颗粒主要集中于细胞上方,细胞核位于细胞下方,细胞间出现电子密度高的紧密连接,细胞底端为基底膜,是 Bruch 膜的一部分(图 2)。

2.3 Transwell 滤膜上的 hESC-RPE 细胞的超微结构

TEM 下可见 hESC-RPE 细胞也出现明显的细胞极性,细胞顶端有密集的微绒毛,但较大鼠体内 RPE 细胞的微绒毛短。hESC-RPE 细胞中的色素颗粒集中于细胞上方,细胞核位于细胞下方,细胞之间形成紧密连接,细胞底端为较平滑的基底膜(图 3)。

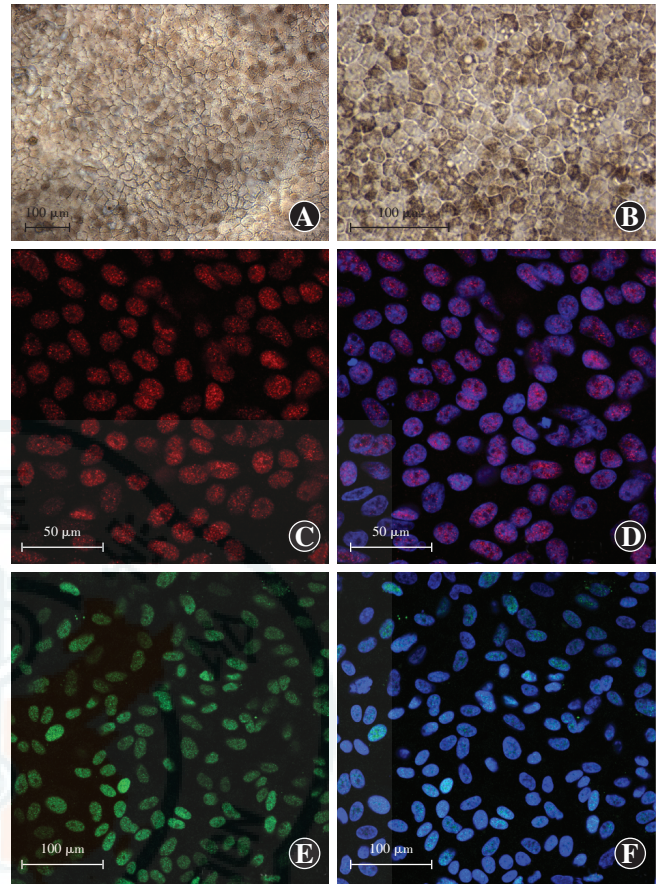


图 1 HESC-RPE 细胞的形态及鉴定 A:倒置相差显微镜下可见第 3 代细胞呈铺路石样排列(标尺=100 μm) B:倒置相差显微镜下可见第 3 代细胞间连接紧密(标尺=100 μm) C:第 3 代 hESC-RPE 细胞中 MITF 表达阳性,呈红色荧光(Cy3 标尺=50 μm) D:FITC 和 DAPI 双染后第 3 代 hESC-RPE 细胞中 MITF 阳性表达,呈红色荧光,细胞核呈蓝色荧光(标尺=50 μm) E:第 3 代 hESC-RPE 细胞中 PAX6 表达阳性,呈绿色荧光(FITC 标尺=100 μm) F:FITC 和 DAPI 双染后第 3 代 hESC-RPE 细胞中 PAX6 呈绿色荧光,细胞核呈蓝色荧光(标尺=100 μm)

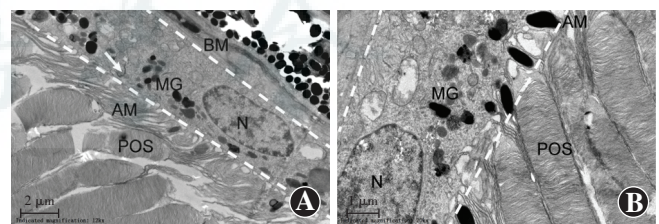


图 2 TEM 观察 90 日龄大鼠 RPE 的超微结构 A:可见 MG、N、BM、POS、AM 和相邻 RPE 细胞间的紧密连接(箭头)(标尺=2 μm)白色虚线之间为 RPE 细胞 B:图 A 的放大图(标尺=1 μm) MG:色素颗粒;BM:基底膜;AM:顶端微绒毛;POS:感光细胞外节;N:细胞核

2.4 沉淀 hESC-RPE 细胞的超微结构

TEM 下可见细胞沉淀法破坏了 hESC-RPE 细胞的极性,细胞质中仅显示散在的色素颗粒、细胞核和少量微绒毛,未见细胞间连接和基底膜等结构(图 4)。

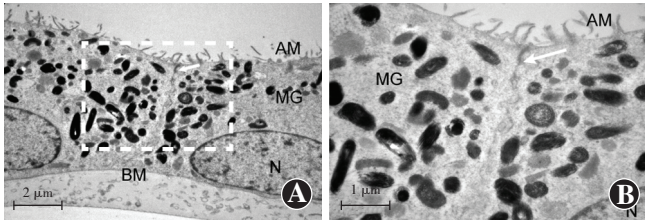


图3 TEM观察培养在Transwell滤膜上的hESC-RPE细胞的超微结构 A:可见MG、N、BM、AM和相邻RPE细胞间的紧密连接(箭头)(标尺=2 μm) B:图A白色虚框内的放大图(标尺=1 μm) MG:色素颗粒;N:细胞核;BM:基底膜;AM:顶端微绒毛

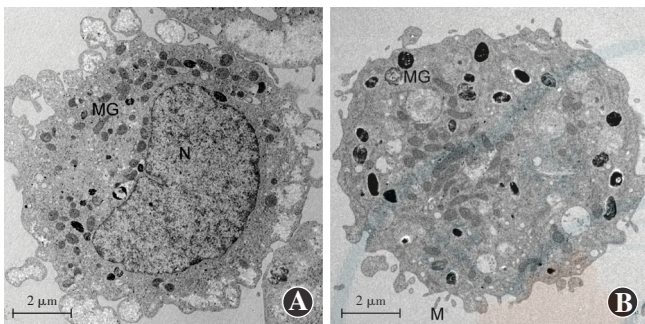


图4 TEM观察hESC-RPE细胞沉淀的超微结构 A:可见MG和N,细胞间连接被破坏(标尺=2 μm) B:可见少量MG和M(标尺=2 μm) MG:色素颗粒;N:细胞核

3 讨论

RPE的超微结构与RPE细胞的功能密切相关,TEM是检测RPE细胞超微结构的重要方法,但更为简便和真实地通过TEM反映出RPE细胞超微结构的方法学值得深入探讨。本研究中将hESC-RPE细胞培养在Transwell滤膜上,细胞不经过胰蛋白酶的消化,采用TEM观察hESC-RPE细胞片的超微结构,发现hESC-RPE细胞的超微结构类似于体内RPE细胞,而细胞沉淀法则较大程度地破坏了体外培养的hESC-RPE细胞的超微结构,表明在用TEM检测RPE细胞超微结构时,细胞片观察法更为简便和可靠。

ESC具有无限增生、自我更新和多向分化的能力,同时细胞性状稳定,可用于大规模标准化生产RPE细胞,适合在相关的临床研究中应用^[12-13]。研究发现,hESC-RPE具有类似于体内RPE细胞的形态、结构和功能^[11,14-15],这类细胞已进入临床试验阶段^[16-18]。本研究中采用自发分化法诱导hESC细胞分化为RPE细胞,经鉴定hESC-RPE细胞具有典型的铺路石样形态,并且能够表达RPE细胞特异性蛋白。此外,本研究由于伦理学的限制无法采用人体内RPE细胞进行体外培养和诱导而作为阳性对照,因此使用了与人体内RPE细胞超微结构十分相似的大鼠体内RPE细胞^[19]。本研究结果发现,细胞片法培养的hESC-RPE

细胞形成了类似于体内RPE细胞的超微结构,包括清晰可见的顶端微绒毛、极性分布的色素颗粒和细胞核以及完整的细胞基底膜和细胞间紧密连接,而细胞沉淀法得到的hESC-RPE细胞由于经过了胰蛋白酶的消化,破坏了其原本的生长状态,所以对RPE细胞的超微结构破坏较大,只观察到细胞质中散在分布的色素颗粒、非极性的细胞核和少量的微绒毛,未见细胞间连接和基底膜等结构。因此,本研究认为细胞片法可以更真实地反映出体外培养RPE细胞的超微结构,为相应的基础和临床研究提供可靠依据,并且在实验操作过程中,细胞片法只需将hESC-RPE细胞培养在商业化的Transwell滤膜上,减少了消化细胞的步骤,操作更为简单,但与体内RPE细胞相比,体外培养的hESC-RPE细胞的微绒毛明显较短,细胞色素颗粒明显增多,这可能是体内微环境与体外培养条件的不同所致。

本研究采用细胞片法观察了hESC-RPE细胞的超微结构,该方法较细胞沉淀法操作更为简单和可靠,此外也证实细胞片法培养和诱导的hESC-RPE细胞的超微结构较为接近体内RPE细胞。

参考文献

- [1] Wong WL, Su X, Li X, et al. Global prevalence of age-related macular degeneration and disease burden projection for 2020 and 2040: a systematic review and meta-analysis [J]. *Lancet Glob Health*, 2014, 2(2): 106-116. DOI:10.1016/S2214-109X(13)70145-1.
- [2] Ye H, Zhang Q, Liu X, et al. Prevalence of age-related macular degeneration in an elderly urban Chinese population in China: the Jiangning Eye Study [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2014, 55(10): 6374-6380. DOI:10.1167/iovs.14-14899.
- [3] Zarbin M. Cell-based therapy for degenerative retinal disease [J]. *Trends Mol Med*, 2016, 22(2): 115-134. DOI:10.1016/j.molmed.2015.12.007.
- [4] Strauss O. The retinal pigment epithelium in visual function [J]. *Physiol Rev*, 2005, 85(3): 845-881. DOI:10.1152/physrev.00021.2004.
- [5] Pfeffer BA, Philp NJ. Cell culture of retinal pigment epithelium: Special Issue [J]. *Exp Eye Res*, 2014, 126: 1-4. DOI:10.1016/j.exer.2014.07.010.
- [6] 蔡善君, 严密, 毛咏秋, 等. 蓝光致人视网膜色素上皮细胞凋亡与线粒体膜电位和细胞色素C的关系 [J]. *中华眼科杂志*, 2006, 42(12): 1095-1102. Cai SJ, Yan M, Mao YQ, et al. Relationship between blue light-induced apoptosis and mitochondrial membrane potential and cytochrome C in cultured human retinal pigment epithelium cells [J]. *Chin J Ophthalmol*, 2006, 42(12): 1095-1102.
- [7] 刘敏, 王雨生, 赵炜, 等. 缺氧诱导体外培养人视网膜色素上皮细胞凋亡 [J]. *国际眼科杂志*, 2008, 8(4): 679-682. Liu M, Wang YS, Zhao W, et al. Hypoxia induces apoptosis of the cultured human retinal pigment epithelial cells [J]. *Int J Ophthalmol*, 2008, 8(4): 679-682.
- [8] 张秋阳, 宋志宇, 宋忆淑, 等. 猪RPE细胞原代培养及其透射电镜观察 [J]. *中国老年学杂志*, 2006, 26(1): 81-82.
- [9] 林琳, 吴雅臻. 苏拉明联合地塞米松对体外培养的视网膜色素上皮细胞增殖的影响 [J]. *国际眼科杂志*, 2010, 10(11): 2080-2082. DOI:10.3969/j.issn.1672-5123.2010.11.012. Lin L, Wu YZ. Effects of suramin combined with dexamethasone on proliferation of cultured retinal pigment epithelial cells *in vitro* [J]. *Int J Ophthalmol*, 2010, 10(11): 2080-2082. DOI:10.3969/j.issn.1672-5123.2010.11.012.
- [10] 陈冬红, 褚仁远, 周国民, 等. 人视网膜色素上皮细胞的培养和超微结构观察 [J]. *眼科研究*, 2003, 21(2): 150-152. Chen DH, Chu RY, Zhou GM, et al. The culture and ultrastructure of human fetal retinal pigment epithelium [J]. *Chin Ophthalmic Res*, 2003, 21(2): 150-152.
- [11] Vugler A, Carr AJ, Lawrence J, et al. Elucidating the phenomenon of hESC-derived RPE: anatomy of cell genesis, expansion and retinal

transplantation[J]. *Exp Neurol*, 2008, 214 (2) : 347-361. DOI: 10.1016/j.expneurol.2008.09.007.

[12] Bharti K, Rao M, Hull SC, et al. Developing cellular therapies for retinal degenerative diseases [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2014, 55 (2) : 1191-1202. DOI:10.1167/iovs.13-13481.

[13] 刘琦, 陈维平. 胚胎干细胞体外培养及在眼科的研究进展 [J]. *眼科研究*, 2009, 27 (5) : 429-433. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2009.05.016.

Liu Q, Chen WP. Research progress in the application of embryonic stem cells *in vitro* culture system in ophthalmology [J]. *Chin Ophthalmic Res*, 2009, 27 (5) : 429-433. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2009.05.016.

[14] Klimanskaya I, Hipp J, Rezaei KA, et al. Derivation and comparative assessment of retinal pigment epithelium from human embryonic stem cells using transcriptomics [J]. *Cloning Stem Cells*, 2004, 6 (3) : 217-245. DOI:10.1089/clo.2004.6.217.

[15] Peng SM, Gan GL, Qiu CH, et al. Engineering a blood-retinal barrier with human embryonic stem cell-derived retinal pigment epithelium: transcriptome and functional analysis [J]. *Stem Cells Transl Med*, 2013, 2 (7) : 534-544. DOI:10.5966/sctm.2012-0134.

[16] Schwartz SD, Hubschman JP, Heilwell G, et al. Embryonic stem cell trials for macular degeneration; a preliminary report [J]. *Lancet*, 2012, 379 (9817) : 713-720. DOI:10.1016/S0140-6736(12)60028-2.

[17] Schwartz SD, Regillo CD, Lam BL, et al. Human embryonic stem cell-derived retinal pigment epithelium in patients with age-related macular degeneration and Stargardt's macular dystrophy: follow-up of two open-label phase 1/2 studies [J]. *Lancet*, 2015, 385 (9967) : 509-516. DOI:10.1016/S0140-6736(14)61376-3.

[18] Song WK, Park KM, Kim HJ, et al. Treatment of macular degeneration using embryonic stem cell-derived retinal pigment epithelium: preliminary results in Asian patients [J]. *Stem Cell Reports*, 2015, 4 (5) : 860-872. DOI:10.1016/j.stemcr.2015.04.005.

[19] Tezel TH, Del Priore LV, Kaplan HJ. Harvest and storage of adult human retinal pigment epithelial sheets [J]. *Curr Eye Res*, 1997, 16 (8) : 802-809. DOI:10.1076/ceyr.16.8.802.8981.

(收稿日期:2016-03-05)

(本文编辑:尹卫靖 杜娟)

· 病例报告 ·

抗 VEGF 治疗息肉状脉络膜血管病变后并发视网膜色素上皮撕裂一例

吴婵 陈有信 戴荣平 王尔茜 杜虹 李东辉

100730 北京, 中国医学科学院北京协和医学院 北京协和医院眼科

通信作者: 陈有信, Email: chenyouxinpumch@163.com

DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2016.09.005

患者,男,61岁,2014年2月因右眼视力下降伴视物变形9个月就诊于北京协和医院眼科。既往史无特殊。眼部检查:最佳矫正视力右眼0.2,左眼0.8。眼压:右眼14 mmHg(1 mmHg=0.133 kPa),左眼15 mmHg。双眼晶状体轻度混浊,余眼前节未见明显异常。右眼后极部可见灰红色圆形隆起,其周散在黄白色硬性渗出,中央隐约可见橘红色病灶(图1);左眼底未见异常。右眼荧光素眼底血管造影(fundus fluorescein angiography, FFA)早期可见后极部圆形低荧光区,随时间延长逐渐充盈,晚期呈圆形荧光积存区,未见明显荧光素渗漏(图2);吲哚青绿血管造影(indocyanine green angiography, ICGA)早晚期均可见后极部圆形低荧光区,其内可见异常分支血管网,末端呈息肉状膨大(图2)。右眼OCT可见黄斑区视网膜色素上皮脱离,边缘呈指状突起,其下中高度信号与低信号夹杂,其上可见神经上皮脱离(图3)。诊断:右眼息肉状脉络膜血管病变(polypoidal

choroidal vasculopathy, PCV)。给予雷珠单抗(商品名:Lucentis)0.5 mg 右眼玻璃体腔注射。

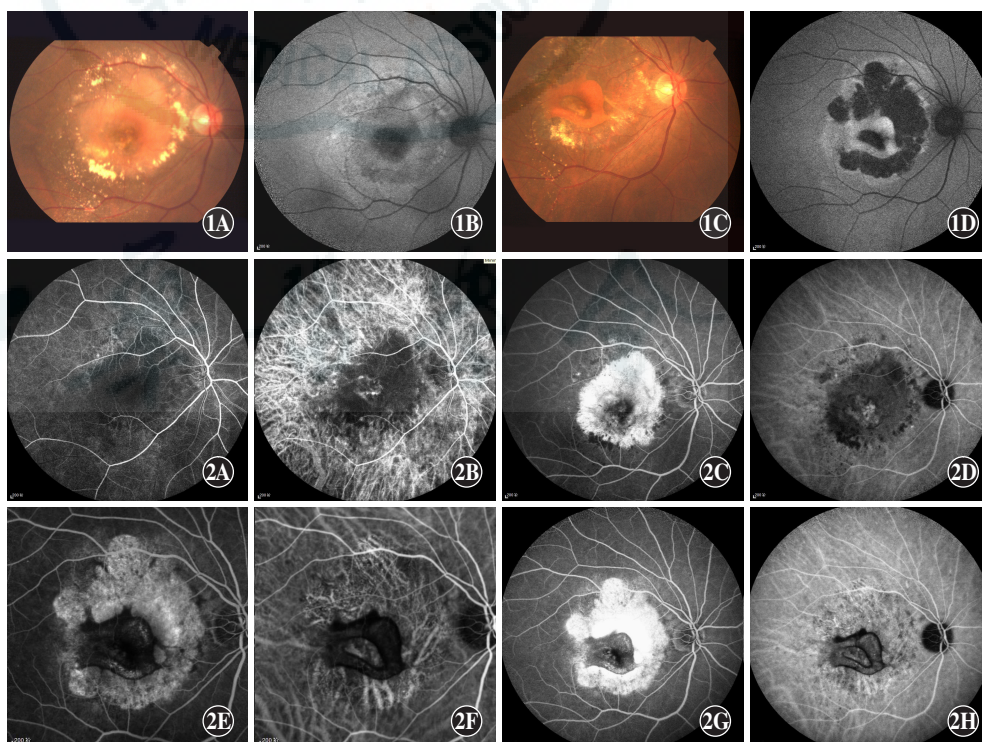


图1 患者治疗前及 RPE 撕裂后彩色眼底照相及 FAF 图像 A: 治疗前右眼彩色眼底照相 B: 治疗前右眼 FAF C: 发生 RPE 撕裂后右眼彩色眼底照相 D: 发生 RPE 撕裂后右眼 FAF 图2 患者治疗前及 RPE 撕裂后 FFA 及 ICGA 图像 A: 治疗前右眼眼底早期 FFA B: 治疗前右眼眼底早期 ICGA C: 治疗前右眼眼底晚期 FFA D: 治疗前右眼眼底晚期 ICGA E: RPE 撕裂后右眼眼底早期 FFA F: 发生 RPE 撕裂后右眼眼底早期 ICGA G: RPE 撕裂后右眼眼底晚期 FFA H: 发生 RPE 撕裂后右眼眼底晚期 ICGA