

# 莱菔硫烷对体外培养牛眼小梁细胞硫氧还蛋白表达的影响及其机制

苏静 王强 刘玉震

256603 山东省滨州市,滨州医学院临床医学院(苏静、刘玉震);256600 山东省滨州市,滨州医学院附属医院眼科(王强)

通信作者:王强,Email:bywq001@126.com

DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2016.06.006

**【摘要】** **背景** 研究证实莱菔硫烷(SFN)可以激活多条通路,促进机体内抗氧化蛋白的表达。硫氧还蛋白(Trx)是维持细胞内氧化还原稳态的重要抗氧化蛋白之一。**目的** 研究 SFN 对体外培养的牛眼小梁细胞内 Trx 表达的影响及其机制。**方法** 体外培养牛眼小梁细胞并进行形态学观察,取第 3 代培养的牛眼小梁细胞,分别加入终浓度为 0、10、20 和 30  $\mu\text{mol/L}$  SFN 培养 30 min,应用实时荧光定量 PCR 技术检测细胞内 Trx mRNA 的表达。将细胞按照随机抽样的方法分为 6 个组,即空白对照组、LY294002 组、U0126 组、SFN 组、LY294002+SFN 组和 U0126+SFN 组。采用 Western blot 法检测各组细胞中 Nrf2 蛋白和 Trx 蛋白的相对表达量。**结果** 体外成功培养牛眼小梁细胞。不同浓度 SFN 干预下,细胞 Trx mRNA 相对表达量总体比较差异有统计学意义( $F=88.090, P<0.01$ )。LY294002+SFN 组、U0126+SFN 组和 SFN 组细胞中 Trx 蛋白和 Nrf2 蛋白相对表达量显著高于空白对照组,差异均有统计学意义(均  $P<0.01$ )。LY294002+SFN 组和 U0126+SFN 组细胞中 Trx 蛋白和 Nrf2 蛋白相对表达量显著高于 SFN 组,差异均有统计学意义(均  $P<0.01$ )。**结论** SFN 可通过磷脂酰肌醇-3 激酶(PI3K)/蛋白激酶 B(Akt)通路与丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)/细胞外调节蛋白激酶 1/2(ERK1/2)通路活化 Nrf2,促进小梁细胞 Trx mRNA 及其蛋白的合成,保护细胞抵抗氧化应激损伤。

**【关键词】** 莱菔硫烷; 硫氧还蛋白; 磷脂酰肌醇-3 激酶; 丝裂原活化蛋白激酶; Nrf2; 小梁细胞

**基金项目:** 山东省科技发展计划政策引导类项目(2012YD18117)

**Effects of sulforaphane on thioredoxin expression in bovine trabecular meshwork cells** Su Jing, Wang Qiang, Liu Yuzhen

Binzhou Medical University Clinical Medicine College, Binzhou 256603, China (Su J, Liu YZ); Department of Ophthalmology, Affiliated Hospital of Binzhou Medical University, Binzhou 256600, China (Wang Q)

Corresponding author: Wang Qiang, Email: bywq001@126.com

**【Abstract】** **Background** Recent studies have confirmed that sulforaphane (SFN) can activate multiple pathways, and promote the expression of the antioxidants in cells. Thioredoxin (Trx) plays an important role in maintaining the intracellular redox in the steady state. **Objective** This study was to investigate the effect and mechanism of SFN on Trx expression in bovine trabecular meshwork cells (BTMCs) cultured *in vitro*. **Methods** BTMCs were cultured *in vitro* and identified by morphological evaluation. The third generation of BTMCs were cultured in the medium with 0, 10, 20 and 30  $\mu\text{mol/L}$  SFN for 30 minutes. Real-time PCR was applied to measure the expression of Trx mRNA in BTMCs. The BTMCs were randomly divided into normal control group, LY294002 group, U0126 group, SFN group, LY294002+SFN group and U0126+SFN group. The expressions of Nrf2 protein and Trx protein in each group were measured by Western blot. **Results** The BTMCs was successfully cultured *in vitro*. The expressions of Trx mRNA were significantly different among the different concentrations of SFN treatment ( $F=88.090, P<0.01$ ). The expressions of Trx protein and Nrf2 protein in the LY294002+SFN group, U0126+SFN group and SFN group were significantly higher than those in the normal control group (all at  $P<0.01$ ). The expressions of Trx protein and Nrf2 protein in the LY294002+SFN group and U0126+SFN group were significantly higher than those in the SFN group (all at  $P<0.01$ ). **Conclusions** SFN can activate Nrf2 by phosphatidylinositol-3-kinase (PI3K)/protein kinase B (Akt) and mitogen-activated protein kinase (MAPK)/extracellular regulated

protein kinases 1/2 (ERK1/2) signaling pathways, which can increase the expression level of Trx in BTMCs cultured *in vitro*.

[Key words] Sulforaphane; Thioredoxin; Phosphatidylinositol-3-kinase; Mitogen-activated protein kinase; Nrf2; Trabecular meshwork cell

Fund program: Shandong Provincial Science and Technology Development Plan Policy Guidance Class (2012YD18117)

原发性开角型青光眼 (primary open angle glaucoma, POAG) 是眼科常见的致盲疾病。近年的研究表明,氧化应激是小梁网损伤、眼压升高继而致盲的重要因素之一<sup>[1]</sup>。硫氧还蛋白 (thioredoxin, Trx) 是一种由 Nrf2 介导的抗氧化蛋白,对维持细胞内氧化还原稳态起着重要作用<sup>[2-3]</sup>,但 Nrf2 转录因子和 Trx 是否能够通过抗氧化应激作用对 POAG 进行预防和治疗及其机制尚不清楚。近期研究表明,莱菔硫烷 (sulforaphane, SFN) 可以在生物体中发挥抗炎以及抗氧化应激损伤的作用以维持内环境稳态。作为一种多功能的诱导物, SFN 可通过激活 Nrf2/ARE 介导的多条促抗氧化蛋白表达的通路,发挥其维持机体细胞的氧化还原稳态、抗氧化应激损伤的功能。本研究中观察 SFN 对体外培养牛眼小梁细胞 Trx 表达的影响及其作用机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 材料来源 收集屠宰场新鲜摘取的 48 月龄以下的公牛眼球,置于 4 °C 含庆大霉素的生理盐水中保存并迅速运回实验室。

1.1.2 主要试剂及仪器 SFN (美国 Cayman Chemical 公司); DMEM 高糖培养基、胎牛血清、胰蛋白酶 (美国 Hyclone 公司); EDTA (美国 Sigma 公司); 庆大霉素、青链霉素双抗 (济南山东鲁抗医药股份有限公司); 逆转录试剂盒、实时荧光定量 PCR 试剂盒 (日本 TaKaRa 公司); 细胞核蛋白与细胞质蛋白抽提试剂盒、BCA 蛋白浓度测定试剂盒 (上海碧云天生物技术公司); 兔抗人 Nrf2 单克隆抗体 (抗体编号: 12721)、兔抗人 Trx 单克隆抗体 (抗体编号: 2429)、鼠抗兔 IgG (抗体编号: 3677)、LY294002、U0126 (美国 Cell Signaling Technology 公司)。体式显微镜、倒置显微镜 (日本 Olympus 公司); 激光扫描共焦显微镜 (德国 LEICA 公司)。

### 1.2 方法

1.2.1 牛眼小梁细胞的体外培养及鉴定 参照本实验室既往实验方法培养牛眼小梁细胞<sup>[4]</sup>。剪去眼球周围组织,将新鲜眼球浸泡于体积分数 60% 乙醇中

3 ~ 5 min,待角变为苍白色时取出。在超净工作台上沿角巩膜缘外 5 mm 处剪开眼球,剔除晶状体和玻璃体,暴露眼杯内侧巩膜。在体式显微镜下小心撕去睫状体和虹膜,使用显微镊沿巩膜突内侧夹取小梁网组织,迅速移入均匀铺有 1 ml 胎牛血清的 10 cm 培养皿中,置于 37 °C、体积分数 5% CO<sub>2</sub>、饱和湿度的培养箱内,静置 0.5 ~ 1 h。待组织块贴壁后向培养皿中缓慢滴加含体积分数 20% 胎牛血清的 DMEM 高糖培养基 10 ml,然后再次置于恒温培养箱内,培养至 4 d 半量换液,倒置显微镜下观察细胞生长情况和细胞形态变化。培养至 10 d 时用含 0.2 g/L EDTA 的 2.5 g/L 胰蛋白酶对细胞进行消化及传代。待细胞传至第 3 代时于激光扫描共焦显微镜下行细胞形态学鉴定。

1.2.2 不同浓度 SFN 对培养细胞的干预 将 SFN 溶解至无水乙醇中,使质量浓度为 5 mg/ml; 使用高糖 DMEM 培养基将 SFN 稀释至 10 μmol/L,制成工作液。取传至第 3 代生长良好的牛眼小梁细胞,随机抽样法将细胞分为 4 个组,弃去原有的培养基, PBS 冲洗 2 次,每组加入 2 ml 含有 20% 胎牛血清的高糖 DMEM 培养基。于细胞培养瓶内加入稀释后的 SFN 溶液,终浓度分别为 0、10、20 和 30 μmol/L,置于 37 °C、5% CO<sub>2</sub>、饱和湿度的恒温培养箱内继续培养 6 h。

1.2.3 实时荧光定量 PCR 法检测各组细胞 Trx 的表达 收集不同浓度 SFN 干预后培养的细胞,提取细胞内总 mRNA,使用逆转录试剂盒逆转录为 cDNA。Trx 特异性引物由上海生工生物技术有限公司合成, Trx 上游引物序列为 5' -AAGGGACAGAAGGTGGGTGA-3', 下游引物序列为 5' -AATGGCTGTCATGTCTT CAG-3', 产物大小为 681 bp。β-actin 上游引物序列为 5' -CCTCGCCTTTGCCGATCC-3', 下游引物序列为 5' -GGATCTTCATGAGGTAGTCAGTC-3', 产物大小为 661 bp。选用 10.0 μl 反应体系,取 1.0 μl cDNA,上下游引物各 0.5 μl, DNA 聚合酶 (TAKARA Ex Taq) 5.5 μl。反应条件: 95 °C 预变性 30 s; 95 °C 变性 5 s, 60 °C 退火及延伸 30 s, 循环 40 次。以 β-actin 为内参照,采用 2<sup>-ΔΔCt</sup> 值计算 Trx mRNA 的相对表达量。

1.2.4 实验分组 将 1.5 mg 磷脂酰肌醇-3 激酶 (phosphatidylinositol-3-kinase, PI3K)/蛋白激酶 B

(protein kinase B, Akt) 通路抑制剂 LY294002 溶解于 488  $\mu\text{l}$  DMSO 中, 5 mg 丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK)/细胞外调节蛋白激酶 1/2 (extracellular regulated protein kinases 1/2, ERK1/2) 通路抑制剂 U0126 溶解于 1.31 ml DMSO 中制成工作液。将第 3 代生长良好的牛眼小梁细胞均分为空白对照组、SFN 组、LY294002 组、U0126 组、LY294002 + SFN 组和 U0126 + SFN 组。倾去细胞原有培养基, 使用 PBS 冲洗 2 遍; 空白对照组加入 2 ml 含 20% 胎牛血清的高糖 DMEM, LY294002 组和 U0126 组分别于正常培养的细胞培养液中加入相应药物, 使其终浓度均为 10  $\mu\text{mol/L}$ ; LY294002 + SFN 组和 U0126 + SFN 组分别于细胞培养液中加入 LY294002 和 U0126 后, 再加入 SFN 工作液, 使 SFN 终浓度为 20  $\mu\text{mol/L}$ , 继续培养 6 h; SFN 组在细胞培养液中仅加入 SFN 工作液, 使其终浓度为 20  $\mu\text{mol/L}$ 。

**1.2.5 Western blot 法检测各组细胞中 Trx 和转录因子 Nrf2 蛋白的表达** 用 PBS 冲洗各组细胞, 沥净液体后用细胞刮将细胞分别收集于标记好的 6 个组 EP 管中。按照细胞核蛋白及细胞质蛋白抽提试剂盒说明书的要求分别提取细胞质蛋白和细胞核蛋白, BCA 法测定蛋白浓度。分别取各组蛋白 40 mg, SDS-PAGE 凝胶电泳 (电压 100 V, 时间 1.5 ~ 2 h)。将蛋白转印至 PVDF 膜, 200 mA 恒流转膜 2.5 h。TBST 洗膜 3 次, 每次 5 min; 质量分数 5% 脱脂奶粉封闭 1.5 h。用 5% 脱脂奶粉稀释一抗 (1:1 000), 将膜完全浸入一抗内, 4  $^{\circ}\text{C}$  孵育过夜。TBST 洗膜 3 次, 每次 10 min。TBST 稀释二抗 (1:10 000), 与膜共同置于培养皿中, 室温震荡孵育 1.5 h。显色, X 射线胶片上曝光, 显影并定影。扫描胶片结果, 行灰度值分析。以  $\beta$ -actin 为内参, 计算各目的蛋白的相对表达量。

### 1.3 统计学方法

采用 SPSS 20.0 统计学软件进行统计分析。本研究中测量指标的数据资料经 Shapiro-Wilk 检验呈正态分布, 以  $\bar{x} \pm s$  表示。采用均衡分组多水平实验设计, 不同浓度 SFN 干预后细胞中 Trx mRNA 相对表达量的总体差异比较及各组细胞中 Trx 蛋白和 Nrf2 蛋白相对表达量的总体差异比较均采用单因素方差分析, 组间多重比较采用 LSD-*t* 检验。  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 体外培养牛眼小梁细胞的形态学鉴定

激光扫描共焦显微镜下显示, 原代培养 8 ~ 10 d

的牛眼小梁细胞自组织块向外爬出, 其细胞形态多样, 可呈梭形、圆形及多边形。细胞以组织块为中心单层贴壁生长, 内密外疏 (图 1)。第 3 代牛眼小梁细胞形态趋于稳定, 细胞质内有较多黑色颗粒, 可见细胞分支, 符合牛眼小梁细胞形态学特点 (图 2)。

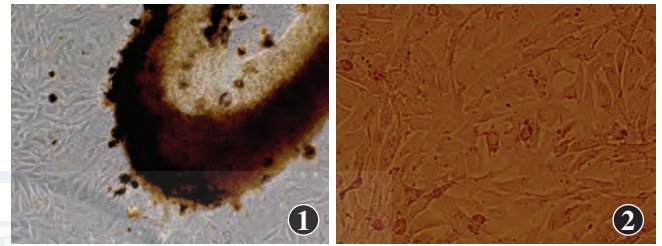


图 1 原代培养的牛眼小梁细胞形态 ( $\times 200$ ) 细胞单层贴壁生长, 呈梭形、圆形及多边形 图 2 第 3 代牛眼小梁细胞的形态 ( $\times 200$ ) 细胞质内黑色颗粒增多, 可见细胞分支

### 2.2 不同浓度 SFN 干预后细胞中 Trx mRNA 的表达变化

0、10、20 和 30  $\mu\text{mol/L}$  SFN 干预后细胞中 Trx mRNA 的相对表达量明显不同, 以 20  $\mu\text{mol/L}$  SFN 组表达量最高, 各浓度 SFN 组间细胞中 Trx mRNA 相对表达量的总体比较差异有统计学意义 ( $F = 88.090$ ,  $P < 0.01$ ), 其中 10、20 和 30  $\mu\text{mol/L}$  SFN 组细胞中 Trx mRNA 的相对表达量均明显高于 0  $\mu\text{mol/L}$  SFN 组, 30  $\mu\text{mol/L}$  SFN 组细胞中 Trx mRNA 相对表达量明显低于 20  $\mu\text{mol/L}$  SFN 组, 差异均有统计学意义 (均  $P < 0.01$ ) (表 1)。

表 1 不同浓度 SFN 干预后细胞中 Trx mRNA 相对表达量比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

SFN 浓度 ( $\mu\text{mol/L}$ )	样本量	Trx mRNA 相对表达量
0	6	1.00
10	6	3.74 $\pm$ 0.35 <sup>a</sup>
20	6	4.70 $\pm$ 0.44 <sup>ab</sup>
30	6	2.44 $\pm$ 0.20 <sup>abc</sup>
<i>F</i>		88.090
<i>P</i>		<0.01

注: 与 0  $\mu\text{mol/L}$  SFN 组比较, <sup>a</sup> $P < 0.01$ ; 与 10  $\mu\text{mol/L}$  SFN 比较, <sup>b</sup> $P < 0.01$ ; 与 20  $\mu\text{mol/L}$  SFN 比较, <sup>c</sup> $P < 0.01$  (单因素方差分析, LSD-*t* 检验) SFN: 莱菔硫烷; Trx: 硫氧还蛋白

### 2.3 各组细胞中 Trx 蛋白和 Nrf2 蛋白相对表达量变化

各组细胞中 Trx 蛋白和 Nrf2 蛋白相对表达量总体比较, 差异均有统计学意义 ( $F = 184.122$ 、76.065, 均  $P < 0.01$ ), 其中 LY294002 + SFN 组、U0126 + SFN 组和 SFN 组细胞中 Trx 蛋白和 Nrf2 蛋白相对表达量均明显

高于空白对照组,差异均有统计学意义(均  $P < 0.01$ ), LY294002+SFN 组和 U0126+SFN 组细胞中 Trx 蛋白和 Nrf2 蛋白相对表达量明显高于 SFN 组,差异均有统计学意义(均  $P < 0.01$ )(图 3,4,表 2)。

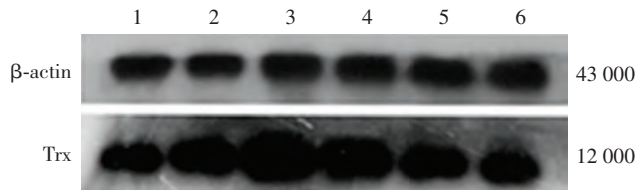


图 3 Western blot 法检测各组细胞中 Trx 的相对表达 1:U0126 组 2:U0126+SFN 组 3:SFN 组 4:LY294002+SFN 组 5:LY294002 组 6:空白对照组 Trx:硫氧还蛋白

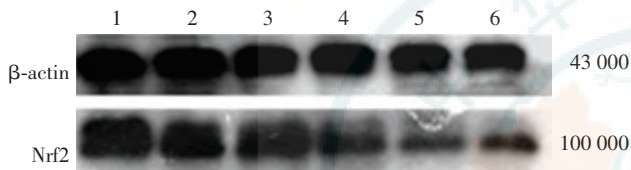


图 4 Western blot 法检测各组细胞中 Nrf2 蛋白的表达 1:SFN 组 2:U0126+SFN 组 3:LY294002+SFN 组 4:U0126 组 5:LY294002 组 6:空白对照组

表 2 各组细胞中 Trx 蛋白及 Nrf2 蛋白相对表达量的比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	样本量	Trx 蛋白相对表达量	Nrf2 蛋白相对表达量
空白对照组	3	0.568±0.041	0.420±0.039
SFN 组	3	1.470±0.094 <sup>a</sup>	0.803±0.035 <sup>a</sup>
LY294002 组	3	0.567±0.016	0.387±0.020
U0126 组	3	0.547±0.035	0.379±0.019
LY294002+SFN 组	3	0.884±0.015 <sup>ab</sup>	0.526±0.036 <sup>ab</sup>
U0126+SFN 组	3	0.846±0.011 <sup>ab</sup>	0.528±0.034 <sup>ab</sup>
F		184.122	76.065
P		<0.01	<0.01

注:与空白对照组比较,<sup>a</sup> $P < 0.01$ ;与 SFN 组比较,<sup>b</sup> $P < 0.01$ (单因素方差分析,LSD-*t* 检验) Trx:硫氧还蛋白;SFN:莱菔硫烷

### 3 讨论

青光眼是一种常见的致盲眼病,其对视功能造成的损害是不可逆的。POAG 的病因和发病机制并不清楚,有研究认为小梁网结构的异常或损伤可使网眼变小,导致房水流出受阻,进而造成眼压升高是引发 POAG 的重要原因<sup>[5]</sup>。小梁细胞功能失调所导致的活性氧簇(reactive oxygen species, ROS)的大量产生可能是导致 POAG 患者小梁组织功能低下的重要因素<sup>[6]</sup>。氧化应激反应使机体产生大量的 ROS,而抗氧化蛋白可以清除过多的 ROS,保护细胞与组织免受氧化应激反应损伤。作为一种抗氧化因子,Trx 与氧化应激有关疾病,如糖尿病、心血管疾病、肺部损伤等的发生和

发展密切相关<sup>[7-9]</sup>。另有研究认为,糖尿病可诱导小梁细胞产生大量 ROS,引起氧化应激反应,是引起 POAG 发生和发展的原因之一<sup>[10-11]</sup>。因此,推测促进抗氧化蛋白表达的药物可保护小梁细胞免受氧化应激损伤,从而起到降低眼压,保护视功能的作用。

小梁细胞抗氧化应激主要有 3 条通路:PI3K/Akt 通路、MAPK/ERK1/2 通路和 p38/MAPK 通路<sup>[12]</sup>。有研究发现,PI3K 通路和 MAPK 通路可通过 Nrf2-Keap1 解耦联而活化 Nrf2,活化的 Nrf2 转移至细胞核内作为转录因子与抗氧化反应元件(antioxidant response element, ARE)发生作用<sup>[13]</sup>,进而调控 ARE 依赖的一系列抗氧化基因的转录<sup>[14-15]</sup>。Tanito 等<sup>[16]</sup>发现,给予小鼠外源性的 SFN 能够诱导视网膜色素上皮层与神经细胞层 Trx 的合成,并且证实了此过程中有 ARE 的参与。本研究中发现,PI3K/Akt 通路和 MAPK/ERK1/2 通路均参与 SFN 上调牛眼小梁细胞核内游离 Nrf2 水平及细胞中 Trx 表达的过程,由此推测,PI3K/Akt 通路与 MAPK/ERK1/2 通路的激活均可通过活化 Nrf2 促进小梁细胞内 Trx 的表达,认为 Nrf2 是小梁细胞抗氧化应激损伤的重要调控因子。Nrf2 还可诱导一系列的 II 相解毒酶及其他抗氧化蛋白的表达,增强细胞清除 ROS 的能力,保护细胞免受氧化应激反应损伤。进一步研究 PI3K/Akt 通路与 MAPK/ERK1/2 通路及其转录因子 Nrf2 在药物干预下对抗氧化基因表达的影响对阐明 POAG 的发病机制及其临床治疗具有重要意义。

### 参考文献

- [1] Caballero M, Liton PB, Challa P, et al. Effects of donor age on proteasome activity and senescence in trabecular meshwork cells [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2004, 323 (3) : 1048-1054. DOI: 10.1016/j.bbrc.2004.08.195.
- [2] 李航,段惠军. Nrf2/ARE 信号通路及其调控的抗氧化蛋白[J]. 中国药理学通报, 2011, 27 (3) : 300-303.  
Li H, Duan HJ. Nrf2/ARE pathway and downstream antioxidant genes [J]. Chin Pharmacological Bulletin, 2011, 27 (3) : 300-303.
- [3] Tanito M, Masutani H, Kim YC, et al. Sulforaphane induces thioredoxin through the antioxidant-responsive element and attenuates retinal light damage in mice [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2005, 46 (3) : 979-987. DOI: 10.1167/iovs.04-1120.
- [4] 张强,王强. 肿瘤坏死因子- $\alpha$  对体外培养牛眼小梁细胞纤维连接蛋白的影响[J]. 眼科新进展, 2009, 29 (11) : 811-814.  
Zhang Q, Wang Q. Effects of tumor necrosis factor- $\alpha$  on fibronectin of cultured bovine trabecular meshwork cells *in vitro* [J]. Rec Adv Ophthalmol, 2009, 29 (11) : 811-814.
- [5] Porter KM, Epstein DL, Liton PB. Up-regulated expression of extracellular matrix remodeling genes in phagocytically challenged trabecular meshwork cells [J/OL]. PLoS One, 2012, 7 (4) : e34792 [2016-01-10]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/>

PMC3329506/. DOI:10.1371/journal.pone.0034792.

[6] Porter K, Hirt J, Stamer WD, et al. Autophagic dysregulation in glaucomatous trabecular meshwork cells [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2015, 1852(3): 379-385. DOI:10.1016/j.bbadis.2014.11.021.

[7] Zhao X, Zhang Y, Li X, et al. Variations of thioredoxin system contributes to increased susceptibility to apoptosis in cardiomyocytes of type 2 diabetic rats [J]. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*, 2014, 46(4): 318-329. DOI:10.1093/abbs/gmu006.

[8] Shim YK, Kim JT, Seong MH, et al. Serum thioredoxin 1 level has close relation with myocardial damage amount in acute myocardial infarction patients [J]. *J Korean Med Sci*, 2012, 27(10): 1162-1169. DOI:10.3346/jkms.2012.27.10.1162.

[9] 黄蜜,戴爱国,蒋永亮. 硫氧还蛋白与肺部疾病的研究进展 [J]. *临床与病理杂志*, 2014, 34(5): 606-610. DOI:10.11714/j.issn.2095-6959.2014.05.030.

Huang M, Dai AG, Jiang YL. Recent progress of thioredoxin and lung-related diseases [J]. *J Clin Pathol Res*, 2014, 34(5): 606-610. DOI:10.11714/j.issn.2095-6959.2014.05.030.

[10] 张敏,王强,王康. 糖基化终末产物对体外培养牛眼小梁细胞氧化应激及凋亡的影响 [J]. *眼科新进展*, 2014, 34(7): 640-642, 646. DOI:10.13389/j.cnki.rao.2014.0175.

Zhang M, Wang Q, Wang K. Effects of advanced glycation end products on oxidative stress and apoptosis of bovine trabecular meshwork cells cultured *in vitro* [J]. *Rec Adv Ophthalmol*, 2014, 34(7): 640-642, 646. DOI:10.13389/j.cnki.rao.2014.0175.

[11] 薛蔚,杜蜀华,李勇,等. 压力对牛眼小梁细胞诱导型一氧化氮合酶 mRNA 的表达及蛋白质合成的影响 [J]. *中华眼科杂志*, 2000, 36(4): 295-298.

Xue W, Du SH, Li Y, et al. Pressure influence on mRNA expression and protein synthesis of inducible nitric oxide synthetase in bovine trabecular meshwork cell [J]. *Chin J Ophthalmol*, 2000, 36(4): 295-298.

[12] Awai-Kasaoka N, Inoue T, Kameda T, et al. Oxidative stress response signaling pathways in trabecular meshwork cells and their effects on cell viability [J]. *Mol Vis*, 2013, 19: 1332-1340.

[13] 边江,曲明俐,王瑶,等. 角膜基质细胞 Nrf2-ARE 信号通路活化缺陷在圆锥角膜发病中的作用 [J]. *中华实验眼科杂志*, 2015, 33(2): 109-114. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2015.02.003.

Bian J, Qu ML, Wang Y, et al. Defect of Nrf2-ARE signaling activation in corneal stromal cells of keratoconus [J]. *Chin J Exp Ophthalmol*, 2015, 33(2): 109-114. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2015.02.003.

[14] Tkachev VO, Menshchikova EB, Zenkov NK. Mechanism of the Nrf2/Keap1/ARE signaling system [J]. *Biochemistry (Mosc)*, 2011, 76(4): 407-422.

[15] Niture SK, Kaspar JW, Shen J, et al. Nrf2 signaling and cell survival [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2010, 244(1): 37-42. DOI:10.1016/j.taap.2009.06.009.

[16] Tanito M, Masutani H, Kim YC, et al. Sulforaphane induces thioredoxin through the antioxidant-responsive element and attenuates retinal light damage in mice [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2005, 46(3): 979-987. DOI:10.1167/iovs.04-1120.

(收稿日期:2016-02-16)

(本文编辑:刘艳 张宇)

· 病例报告 ·

### 斯特奇-韦伯综合征一例

王志学 王文英

061000 河北省沧州市,沧州市中心医院眼科功能检查室

通信作者:王志学,Email:wangzhixue5@163.com

DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2016.06.007

患者,女,42岁。2015年9月因左眼视物不清1个月于沧州市中心医院就诊,左侧颜面部可见血管瘤(图1)。眼科检查:视力右眼1.0,左眼0.1,右眼前后节未见异常,左眼鼻侧球结膜血管迂曲扩张,颞侧球结膜表面可见肿物,突出于眼表(图2),角膜透明,晶状体无明显混浊,玻璃体检查未见明显异常,眼底检查可见黄斑区

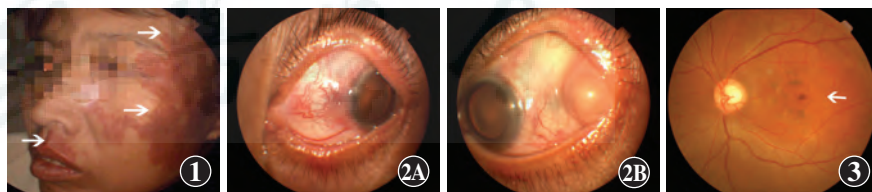


图1 患者面部表现 患者左侧前额和上唇可见血管瘤(白箭) 图2 左眼眼前节照片 A:鼻侧球结膜血管迂曲扩张 B:颞侧球结膜可见黄白色肿物 图3 左眼彩色眼底照相可见黄斑区类圆形橘黄色隆起,大小约为4 PD(白箭),其上可见色素沉着

类圆形橘黄色隆起,大小约为4个视盘直径(papillary diameter, PD)(图3)。颅脑CT未见异常;荧光素眼底血管造影(fundus fluorescein angiography, FFA)显示左眼静脉期黄斑区脉络膜高低荧光相间,病灶下方可见点片状高荧光,晚期黄斑区及其下方荧光素稍渗漏(图4);眼部B型超声检查显示左眼球壁局限性卵圆形隆起,突向玻璃体腔,表面光滑,内回声均匀,中等强度,其边缘可探及带状回声(图5);眼部彩色超声检查显示左眼颞侧靠近球壁可见一囊性结构,形态规则,其内呈现液性区,

内透声可,彩色多普勒血流显像(color doppler flow imaging, CDFI)示其内未见血流信号,视盘颞侧可见一偏强回声,内部回声均匀,其内可见丰富血流信号,该处视网膜稍隆起,并可见一带状回声与之相连(图6);OCT显示黄斑区脉络膜及其上结构高度隆起,相应处视网膜神经上皮层浆液性脱离,层间水肿,视网膜色素上皮(retinal pigment epithelium, RPE)/脉络膜毛细血管光带不完整(图7)。诊断:斯特奇-韦伯综合征(Sturge-Weber syndrome, SWS)。