

# 氯化锂对人 Tenon 囊成纤维细胞增生抑制作用的机制研究

邹会会<sup>1</sup> 刘珊珊<sup>2</sup> 梁玲<sup>1</sup> 范晓军<sup>2</sup> 王继兵<sup>2</sup>

<sup>1</sup>德州市人民医院眼科 潍坊医学院附属德州市人民医院 253014; <sup>2</sup>潍坊眼科医院 潍坊医学院硕士研究生培养基地 261041

通信作者:王继兵, Email: wangjb918@163.com

**【摘要】** 目的 探讨氯化锂对人 Tenon 囊成纤维细胞 (HTFs) 缝隙连接细胞间通讯 (GJIC) 的影响及其可能的作用机制。方法 收集 2019 年 4 月于德州市人民医院眼科行斜视手术的 1 例患者的 Tenon 囊组织, 剪成 1 mm×1 mm×1 mm 的组织块, 进行原代培养并传代, 取第 4 代 HTFs 进行实验。将 HTFs 分为对照组和氯化锂处理组, 对照组加入不含氯化锂的细胞培养基, 氯化锂处理组加入含 80 mmol/L 氯化锂的细胞培养基, 继续培养 48 h。采用细胞划痕染料标记示踪法标记偶联指数, 评估 GJIC 功能; 采用细胞免疫荧光法检测 HTFs 中 Cx43 的表达和定位; 采用实时荧光定量 PCR 和 Western blot 法检测 HTFs 中 Cx43 mRNA 及蛋白的表达水平。结果 培养的细胞呈长梭形并呈单层放射状或涡旋状贴壁生长, 细胞质 vimentin 染色呈阳性。细胞划痕染料示踪实验结果显示, 氯化锂处理组细胞偶联指数为  $9.04 \pm 0.53$ , 明显高于对照组的  $4.94 \pm 0.39$ , 差异有统计学意义 ( $t = -18.79, P < 0.01$ )。免疫荧光染色结果显示, 对照组可见 Cx43 荧光呈点状分布于细胞相连处的细胞膜上, 氯化锂处理组 Cx43 染色明显增强。实时荧光定量 PCR 结果显示, 对照组 Cx43 mRNA 相对表达量设为 1, 氯化锂处理组 Cx43 mRNA 相对表达量明显升高, 为  $1.97 \pm 0.23$ , 差异有统计学意义 ( $t = -14.426, P < 0.01$ )。Western blot 检测结果显示, 氯化锂处理组 Cx43 蛋白相对表达量为  $0.871 \pm 0.057$ , 明显高于对照组的  $0.446 \pm 0.028$ , 差异有统计学意义 ( $t = -11.682, P < 0.01$ )。结论 氯化锂可上调 HTFs 中 Cx43 mRNA 及蛋白表达并增强 HTFs 间 GJIC 功能, 提示氯化锂增强 GJIC 的功能可能是其抑制 HTFs 增生的机制之一。

**【关键词】** 氯化锂; 缝隙连接; 人 Tenon 囊成纤维细胞; 青光眼

DOI: 10.3760/cma.j.cn115989-20200324-00196

## Studies on the mechanism of inhibitory effect of lithium chloride on the proliferation of human Tenon capsule fibroblasts

Zou Huihui<sup>1</sup>, Liu Shanshan<sup>2</sup>, Liang Ling<sup>1</sup>, Fan Xiaojun<sup>2</sup>, Wang Jibing<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Ophthalmology, Dezhou People's Hospital, Dezhou People's Hospital Affiliated to Weifang Medical College, Dezhou 253014, China; <sup>2</sup>Weifang Eye Hospital, Postgraduate Training Base of Weifang Medical College, Weifang 261041, China

Corresponding author: Wang Jibing, Email: wangjb918@163.com

**[Abstract]** **Objective** To investigate the effect of lithium chloride (LiCl) on the gap junctional intercellular communication (GJIC) in human Tenon capsule fibroblasts (HTFs) and its underlying mechanism. **Methods** The Tenon capsule tissue of a patient who underwent strabismus surgery in Dezhou People's Hospital in April 2019 was collected and cut into tissue blocks of dimensions 1 mm×1 mm×1 mm. Primary culture and subculture were carried out, and the 4th-generation HTFs were taken for experiment. HTFs were divided into the control group and LiCl treatment group and were cultured with cell medium without or with 80 mmol/L LiCl for another 48 hours according to grouping. The cell scratch and dye labeling technique were used to label the coupling index and evaluate the GJIC function. The expression and localization of Cx43 in HTFs were detected by immunofluorescence staining. The expression levels of Cx43 mRNA and protein were detected by real-time fluorescence quantitative PCR and Western blot, respectively. The study protocol was approved by an Ethics Committee of Dezhou People's Hospital (No. 2019-

023). Written informed consent was obtained from the subject. **Results** The cultured spindle-shaped HTFs grew adhering to the wall showing radial monolayer or vortexlike, and the cytoplasm was vimentin positive. Results of dye tracer experiment of cell scratch showed that the cell coupling index of LiCl treatment group was  $9.04 \pm 0.53$ , which was significantly higher than  $4.94 \pm 0.39$  of the control group ( $t = -18.79, P < 0.01$ ). Immunofluorescence staining showed that the Cx43 fluorescence was dotted in the cell membrane between adjacent cells in the control group, and Cx43 staining was obviously enhanced in the LiCl treatment group. The results of real-time fluorescence quantitative PCR showed that with relative expression level of Cx43 mRNA in the control group set to 1, the relative expression level of Cx43 in the LiCl treatment group was significantly increased to  $1.97 \pm 0.23$ , showing a statistical significance between them ( $t = -14.426, P < 0.01$ ). Western blot showed that the relative expression level of Cx43 protein was  $0.871 \pm 0.057$  in the LiCl treatment group, which was significantly higher than  $0.446 \pm 0.028$  in the control group ( $t = -11.682, P < 0.01$ ). **Conclusions** LiCl can enhance the GJIC function between HTFs by upregulating the expression levels of Cx43 mRNA and protein, suggesting that the enhanced GJIC function by LiCl may be one of the mechanisms of its inhibition on HTFs proliferation.

**[Key words]** Lithium chloride; Gap junction; Human Tenon capsule fibroblasts; Glaucoma

DOI: 10.3760/cma.j.cn115989-20200324-00196

青光眼滤过手术是治疗青光眼常用的方法,术后人眼 Tenon 囊成纤维细胞 (human Tenon capsule fibroblasts, HTFs) 过度增生导致瘢痕化是青光眼滤过手术失败的主要原因。目前临床上常用的抗瘢痕代谢药物有丝裂霉素 C 和 5-氟尿嘧啶<sup>[1-2]</sup>, 临床实践证明这类药物能抑制滤过通道组织的瘢痕化, 提高青光眼手术的成功率, 但药物相关的毒性作用和不良反应不容小觑。青光眼术后滤过通道瘢痕化一直是困扰医学界的难题, 探索不同机制的抑制瘢痕化药物对于提高滤过手术的成功率具有重要意义。研究发现, 在创伤愈合过程中缝隙连接细胞间通讯 (gap junctional intercellular communication, GJIC) 功能下降, 提示 GJIC 功能降低对创伤愈合具有重要的促进作用<sup>[3]</sup>。已有研究通过划痕负荷法观察到氯化锂对体外培养的成纤维细胞具有上调 GJIC 的作用, 同时发现其能够促进大鼠肉芽组织的成熟, 并且肉芽组织成纤维细胞 GJIC 的表达水平影响伤口愈合过程中肉芽组织沉积物的质量和数量<sup>[4]</sup>。研究表明, 体外培养的 HTFs 具有较强的 GJIC 功能, 通过连接蛋白 (connexin, Cx) 43 介导 GJIC 赋予细胞能够相互传递信息的能力, 提示在人眼创伤愈合过程中 GJIC 在成纤维细胞功能同步化方面发挥着重要作用<sup>[5]</sup>。本课题组先前的研究证实, 作为 GJIC 上调剂的氯化锂、芹黄素对体外培养的 HTFs 具有增生抑制作用, 且氯化锂在  $40 \sim 160$  mmol/L 范围内对 HTFs 的增生抑制作用呈时间和浓度依赖性<sup>[6-7]</sup>。本研究拟探讨氯化锂对 HTFs 的增生抑制作用是否与上调 GJIC 功能有关, 以期氯化锂用于青光眼滤过手术提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

**1.1.1 标本来源** 收集 2019 年 4 月于德州市人民医院眼科行斜视手术的 1 例 11 岁女性斜视患者的 Tenon 囊组织。本研究经德州市人民医院伦理委员会批准 (批文号: 2019-023), 标本提供者知晓本研究目的并签署知情同意书。

**1.1.2 主要试剂及仪器** 氯化锂、荧光黄染料 (Lucifer yellow dye, LY)、罗丹明-葡聚糖 (Rhodamine-Dextran, RD) (美国 Sigma 公司); DMEM 培养基、胎牛血清 (美国 HyClone 公司); 鼠抗人波形蛋白 (vimentin) 单克隆抗体 (OT15D7, 北京中杉金桥生物技术有限公司); FITC 标记的兔抗鼠 IgG 二抗 (ab6724, 英国 Abcam 公司); 鼠抗人 Cx43 单克隆抗体 (CX-1B1, 美国 Invitrogen 公司); 逆转录试剂盒、实时荧光定量 PCR 试剂盒 (大连宝生物工程有限公司)。Forma CO<sub>2</sub> 培养箱 (美国 Thermo Fisher 公司); 光学倒置显微镜 (TH4-200, 日本 Olympus 公司); PCR 仪、实时定量 PCR 仪 (澳大利亚 Corbett 公司); 激光扫描共焦显微镜 (德国 Leica TCS SPE 公司)。

### 1.2 方法

**1.2.1 HTFs 培养** 将斜视手术中所取的结膜下 Tenon 囊组织块剪成  $1 \text{ mm} \times 1 \text{ mm} \times 1 \text{ mm}$  的小组织块, 接种于培养皿中, 周围滴加  $1 \text{ ml}$  含体积分数 15% 胎牛血清、 $100 \text{ U/ml}$  (商品单位) 青霉素、 $100 \text{ U/ml}$  链霉素的 DMEM 培养基, 置于  $37 \text{ }^\circ\text{C}$ 、体积分数 5% CO<sub>2</sub> 培养箱中培养 3 h, 待组织块贴壁牢固后, 向培养皿中加入  $5 \text{ ml}$  DMEM 培养基, 使组织块浸入其中, 进行传代培

养,取第 4 代细胞用于实验。

**1.2.2 HTFs 鉴定** 将生长良好的第 4 代 HTFs 接种于 6 孔板中,生长达 85% 融合后,采用 0.01 mol/L 磷酸盐缓冲液(phosphate buffered saline, PBS)洗涤 2 次,质量分数 4% 多聚甲醛溶液固定 60 min, PBS 洗 3 次,每次 3 min,体积分数 0.3% TritonX-100 室温孵育 20 min, PBS 洗 3 次,每次 3 min,质量分数 10% 正常山羊血清封闭液 37 °C 孵育 30 min,弃去封闭液,加入鼠抗人 vimentin 单克隆抗体(1:200)4 °C 过夜, PBS 洗 3 次,每次 3 min,加入稀释的 FITC 标记兔抗鼠 IgG 二抗(1:100)37 °C 孵育 2 h, PBS 洗 3 次,每次 3 min,荧光显微镜下观察并拍照。采用 PBS 代替一抗作为阴性对照。

**1.2.3 HTFs 分组及处理** 将细胞体透亮、细胞质丰富的第 4 代细胞接种于 6 孔板,待细胞达 60%~70% 融合后,将 6 孔板培养的细胞分成对照组和氯化锂处理组,对照组加入不含氯化锂的细胞培养基,氯化锂处理组加入含 80 mmol/L 氯化锂的细胞培养基,继续培养 48 h。

**1.2.4 细胞划痕染料示踪法评估 GJIC 功能** 取 6 孔板培养的细胞,弃去培养液,用 PBS 洗涤细胞 3 次,加入相对分子质量为 457.24、质量浓度为 0.5 g/L 的 LY 1 ml 和相对分子质量为 70 000、质量浓度为 0.5 g/L 的 RD 染料 1 ml,用手术刀片在平皿底部轻轻划数条线,静置 5 min,吸出染液, PBS 洗 3 次,去除游离的荧光染料及脱落的细胞。滴加 4% 多聚甲醛固定 20 min 后置于光学显微镜下观察并拍照,记录偶联指数。RD 只能局限于划痕旁损伤的细胞中,不能通过 GJIC 传递,LY 可以通过 GJIC 传递。偶联指数=呈现黄绿色荧光的 LY 标记细胞数/呈现红色荧光的 RD 标记细胞数,偶联指数越高,与 GJIC 相关联的成纤维细胞数量越多。实验重复 3 次,取平均值。

**1.2.5 细胞免疫荧光法检测 HTFs 中 Cx43 的表达和定位** 取 6 孔板培养的细胞,弃去培养液,用 PBS 洗涤细胞 3 次,每次 3 min。4% 多聚甲醛固定 60 min, PBS 洗 3 次,每次 3 min。体积分数 10% 正常山羊血清封闭液 37 °C 孵育 30 min,弃去封闭液,加入稀释的鼠抗人 Cx43 抗体(1:250)4 °C 过夜, PBS 洗 3 次,每次 3 min,加入稀释的 FITC 标记的兔抗鼠 IgG 二抗(1:100)37 °C 孵育 2 h, PBS 洗 3 次,每次 3 min, Hoeschst33258 染核 20 min, PBS 洗 3 次,每次 3 min。采用体积分数 50% 无荧光缓冲甘油封片,在激光扫描共焦显微镜下观察并拍照。Cx43 主要分布于细胞相连处的细胞膜上,呈绿色荧光,细胞核呈蓝色荧光。

**1.2.6 实时荧光定量 PCR 法检测 HTFs 中 Cx43**

**mRNA 表达** 取 6 孔板中的培养细胞,按照说明书提取总 RNA,将其逆转录为 cDNA。Cx43 正向引物序列为 5'-ATAGACGGATCTGAGTGCCTGAA-3',反向引物序列为 5'-GCTCCAGTCACCCATGTTG-3'; GAPDH 正向引物序列为 5'-GCACCGTCAAGGCTGAGAAC-3',反向引物序列为 5'-TGGTGAAGACGCCAGTGGA-3'。反应条件为 95 °C 预变性 5 s; 95 °C 变性 30 s, 58 °C 退火及延伸 20 s,循环 40 次。采用熔解曲线验证扩增产物纯度。以 GAPDH 为内参照,各实验组采用 3 管平行扩增,重复 3 次。采用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  法计算 Cx43 mRNA 相对表达量。

**1.2.7 Western blot 法检测 HTFs 中 Cx43 蛋白表达** 收集 HTFs,加入细胞裂解液提取细胞总蛋白,测定蛋白浓度,样品在 95 °C 下变性 5 min,每孔蛋白上样量为 30  $\mu$ g,行聚丙烯酰胺凝胶电泳,电转至聚偏氟乙烯膜上。质量分数 5% 脱脂奶粉封闭 1 h,加入鼠抗人 Cx43 单克隆抗体(1:250)4 °C 过夜, PBS 漂洗,加入辣根过氧化物酶标记的羊抗鼠 IgG(1:2 500)室温孵育 1 min, X 线曝光,以  $\beta$ -actin 作为内参,进行图像扫描分析。Cx43 蛋白相对表达量=Cx43 蛋白条带灰度值/ $\beta$ -actin 条带灰度值。

### 1.3 统计学方法

采用 SPSS 21.0 统计学软件进行统计分析,计量资料数据经 Shapiro-Wilk 检验证实符合正态分布,以 mean $\pm$ SD 描述,采用 Levene 检验证实组间数据资料方差齐,计数资料以频数和百分数描述。采用均衡分组单因素干预两水平研究设计,对照组与氯化锂处理组间偶联指数、Cx43 mRNA 和蛋白相对表达量比较均采用独立样本 *t* 检验。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

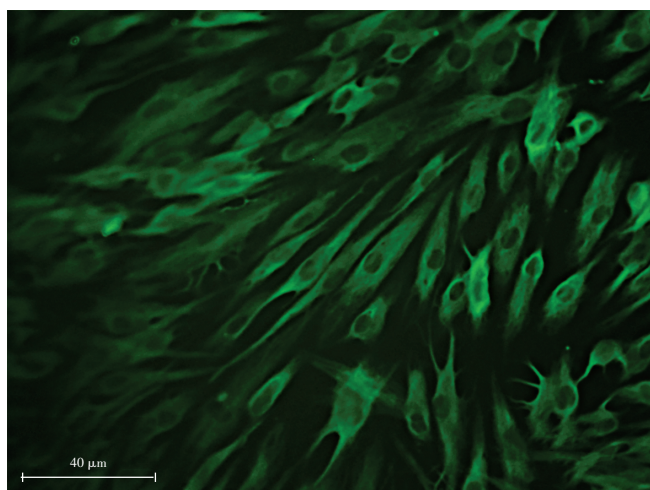
## 2 结果

### 2.1 HTFs 鉴定

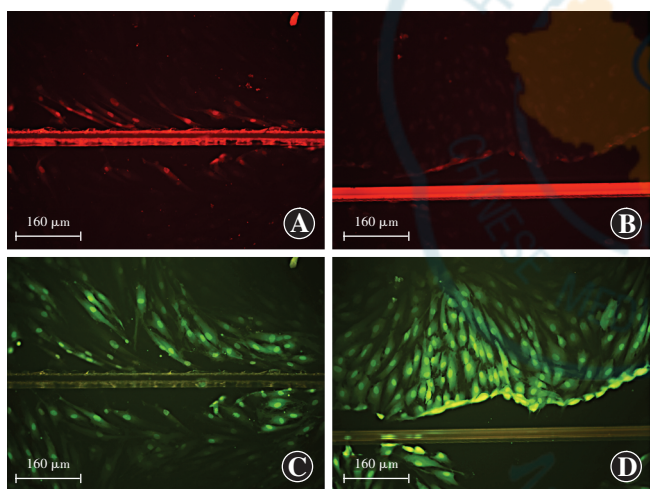
HTFs 组织块接种后约 8 d 可见细胞由组织块周围游离出来,细胞呈典型的长梭形,细胞体透亮,细胞质丰富,细胞核呈圆形或椭圆形。3 周左右长满培养皿并融合,细胞呈单层放射状或涡旋状贴壁生长。培养细胞的细胞质中可见 vimentin 阳性表达,呈均匀的绿色荧光,细胞核为无荧光暗区(图 1)。根据取材部位、细胞形态及免疫荧光检测可确定为 HTFs。

### 2.2 2 个组 HTFs 偶联指数比较

细胞划痕染料示踪实验显示,氯化锂处理组 LY 传递的细胞层数明显增多(图 2)。氯化锂处理组细胞偶联指数为  $9.04 \pm 0.53$ ,明显高于对照组的  $4.94 \pm 0.39$ ,差异有统计学意义( $t = -18.79, P < 0.01$ )。



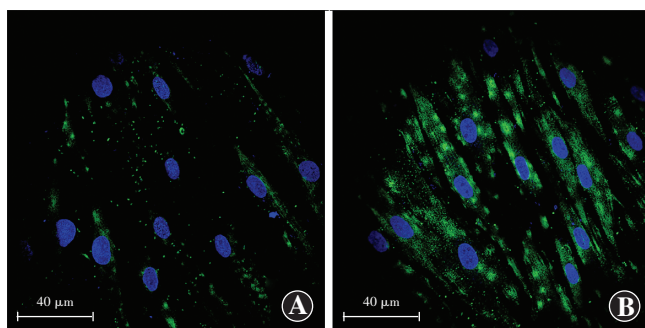
**图 1 培养细胞中 vimentin 免疫荧光染色图 (FITC ×400, 标尺 = 40 μm)** 培养细胞的细胞质中 vimentin 呈阳性表达, 为绿色荧光  
**Figure 1 Immunofluorescence staining of vimentin in cultured cells (FITC ×400, bar = 40 μm)** Vimentin-positive expression (green fluorescence) was observed in the cytoplasm



**图 2 2 个组 HTFs 细胞划痕染料示踪法测定 (×100, 标尺 = 160 μm)** 带有 RD 染料的细胞呈红色荧光, 带有 LY 染料的细胞呈绿色荧光, RD 仅局限于划痕旁损伤的细胞中, LY 通过 GJIC 向周围细胞内传递, 氯化锂处理组 LY 传递的细胞层数明显增多 A: 对照组 RD 荧光染色 B: 氯化锂处理组 RD 荧光染色 C: 对照组 LY 荧光染色 D: 氯化锂处理组 LY 荧光染色  
**Figure 2 Scrape-loading and dye transfer of HTFs in the two groups (×100, bar = 160 μm)** Cells with RD dye showed red fluorescence and cells with LY dye presented green fluorescence. RD was restricted to cells with paracratch damage, and LY could be delivered to the surrounding cells through GJIC. The number of cell layers stained with LY was significantly increased in the LiCl treatment group A: Control group with RD staining B: LiCl treatment group with RD staining C: Control group with LY staining D: LiCl treatment group with LY staining

### 2.3 2 个组 HTFs 中 Cx43 的表达及定位比较

免疫荧光染色结果显示, 对照组 HTFs 中 Cx43 荧光呈点状分布于细胞相连处的细胞膜上, 呈绿色荧光, 氯化锂处理组 HTFs 中 Cx43 荧光强度较对照组明显增强 (图 3)。



**图 3 2 个组 HTFs 中 Cx43 免疫荧光染色图 (Hoeschst33258 ×400, 标尺 = 40 μm)** Cx43 主要分布于细胞相连处的细胞膜上, 呈绿色荧光, 细胞核呈蓝色荧光; 与对照组相比, 氯化锂处理组 Cx43 染色明显增强 A: 对照组 B: 氯化锂处理组

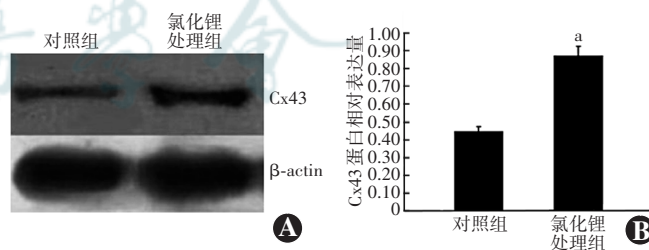
**Figure 3 Immunofluorescence staining of Cx43 in HTFs of the two groups (Hoeschst33258 ×400, bar = 40 μm)** Cx43 expression (green fluorescence) was observed in the cell membrane between adjacent cells, and the nuclei showed blue fluorescence. Compared with the control group, Cx43 staining was obviously enhanced in the LiCl treatment group A: Control group B: LiCl treatment group

### 2.4 2 个组 HTFs 中 Cx43 mRNA 表达比较

对照组 Cx43 mRNA 的相对表达量设为 1, 氯化锂处理组 Cx43 mRNA 的相对表达量为  $1.97 \pm 0.23$ , 明显高于对照组, 差异有统计学意义 ( $t = -14.426, P < 0.05$ )。

### 2.5 2 个组 HTFs 中 Cx43 蛋白表达比较

Western blot 检测结果显示, 氯化锂处理组 Cx43 蛋白表达条带亮度显著强于对照组; 氯化锂处理组 Cx43 蛋白相对表达量为  $0.871 \pm 0.057$ , 明显高于对照组的  $0.446 \pm 0.028$ , 差异有统计学意义 ( $t = -11.682, P < 0.01$ ) (图 4)。



**图 4 2 个组 Cx43 蛋白表达比较** A: Western blot 法检测 Cx43 蛋白表达电泳图 与对照组比较, 氯化锂处理组 HTFs 中 Cx43 蛋白表达条带明显增强 B: 2 个组 Cx43 蛋白相对表达量比较 与对照组比较,  $^a P < 0.05$  (独立样本  $t$  检验,  $n = 3$ ) Cx: 连接蛋白;  $\beta$ -actin:  $\beta$  肌动蛋白

**Figure 4 Comparison of Cx43 protein expression between the two groups** A: Electrophoretogram of Cx43 protein expression by Western blot Compared with the control group, the expression band of Cx43 protein in the LiCl treatment group was significantly enhanced B: Comparison of the relative expression levels of Cx43 protein between the two groups Compared with the control group,  $^a P < 0.05$  (Independent-samples  $t$  test,  $n = 3$ ) Cx: connexin

### 3 讨论

青光眼是以病理性眼压升高造成特征性视神经损害和视野缺损的一组疾病,若不及时进行有效治疗会导致致盲。2020 年全球原发性青光眼患病人数超过 7 600 万,2040 年将超过 1 亿<sup>[8]</sup>。中国是青光眼患者人数较多的国家,2020 年中国青光眼患者人数约为 2 100 万,致盲人数达 567 万<sup>[9-10]</sup>。对于药物难以控制的青光眼,滤过性手术是首选的治疗方法。为了提高手术成功率,术中常规应用丝裂霉素、5-氟尿嘧啶等抗代谢药物来抑制滤过通道的纤维瘢痕化,但术后滤过泡渗漏、疱疹感染、化脓性眼内炎、慢性低眼压、低眼压性黄斑病变和角膜上皮细胞毒性等并发症也随之增多,使得其临床应用效果不佳<sup>[11]</sup>。因此,寻求新的瘢痕愈合调控方法成为眼科界面临的挑战。

缝隙连接是细胞与外界环境进行离子交换的膜通道结构,对于维持细胞内外离子动态平衡具有重要作用<sup>[12]</sup>。Cx43 是哺乳动物体内表达广泛的 Cx,某些信号分子与 Cx43 的羧基端特定位点相互作用可以调节缝隙连接通道的开放与关闭<sup>[13]</sup>。缝隙连接在创伤愈合的研究主要集中于皮肤,有研究证实,与正常成纤维细胞相比,增生性瘢痕中成纤维细胞间通讯受到抑制,瘢痕疙瘩中成纤维细胞间通讯被阻断<sup>[14]</sup>。另有研究发现,正常成纤维细胞一旦相互接触后则停止生长,而增生性瘢痕中的部分成纤维细胞和瘢痕疙瘩中成纤维细胞接触后仍继续增生<sup>[15-16]</sup>。这些研究表明,细胞间正常的通讯功能被抑制可能是导致瘢痕形成的原因之一。有研究发现,创伤后 1~2 d,伤口边缘细胞中 Cx43 的表达及细胞间的通讯连接功能短暂降低以促进细胞增生,随着伤口的不断愈合,Cx43 的表达量逐渐升高,形成更多的 GJIC,以便于细胞间的信息交流,而大量增生的细胞会逐渐凋亡<sup>[17]</sup>。降低伤口处 Cx43 蛋白的表达水平会显著加快伤口愈合的速度和质量,具体表现在角化细胞迁移和增生加快、纤维细胞分化为肌成纤维细胞的速度加快、肉芽组织形成及成熟提前等<sup>[18-21]</sup>。这些研究提示我们,在创伤愈合过程中,缝隙连接蛋白表达异常和 GJIC 功能异常可能是细胞增生活跃导致瘢痕形成的原因之一。青光眼术后术区成纤维细胞过度增生导致瘢痕形成是手术失败的主要原因,然而其瘢痕化和皮肤中瘢痕形成的原因是否一致,通过 GJIC 调节剂能否对青光眼滤过术区成纤维细胞进行有效干预仍不清楚,这是本课题研究的重点。

本实验采用氯化锂干预体外培养的 HTFs 48 h,结果显示 HTFs 间偶联指数明显高于对照组,证实氯

化锂具有上调 GJIC 功能的作用。氯化锂处理组 Cx43 mRNA 和蛋白的相对表达量明显高于对照组,对照组 Cx43 荧光呈点状分布于细胞相连处的细胞膜上,氯化锂处理组 Cx43 荧光染色明显增强,证实氯化锂能够促进 Cx43 表达。由此推断,氯化锂增强 GJIC 功能是抑制 HTFs 增生的机制之一。这不仅为氯化锂应用于抗青光眼滤过手术瘢痕化提供了证据,也为调控青光眼滤过术后瘢痕化的治疗提供了新的思路。然而,这一实验是基于体外培养的 HTFs 完成,而氯化锂在活体内的抑制作用是否与体外一致,以及 GJIC 调节剂的确切疗效和安全范围等仍有待进一步在动物体内验证。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

**作者贡献声明** 邹会会:实验研究的执行人,完成数据整理与分析及论文写作;刘姗姗:参与实验研究和实验结果分析;梁玲:协助完成细胞培养中的取材部分,参与指导实验研究;范晓军:参与数据整理与统计分析;王继兵:本研究的设计者,制定整体的研究目标,指导并修改论文

### 参考文献

- [1] Yamanaka O, Kitano-Izutani A, Tomoyose K, et al. Pathobiology of wound healing after glaucoma filtration surgery [ J/OL ]. BMC Ophthalmol, 2015, 15 Suppl 1 : 157 [ 2021-03-07 ]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4895697/>. DOI: 10.1186/s12886-015-0134-8.
- [2] Bayoumi NH. Mitomycin C in filtering surgery for primary congenital glaucoma; a comparison of exposure durations [ J ]. J Pediatr Ophthalmol Strabismus, 2018, 55 ( 3 ) : 164 - 170. DOI: 10.3928/01913913-20171129-02.
- [3] Ehrlich HP. A snapshot of direct cell-cell communications in wound healing and scarring [ J ]. Adv Wound Care ( New Rochelle ), 2013, 2(4) : 113-121. DOI: 10.1089/wound.2012.0414.
- [4] Moyer KE, Davis A, Siggers GC, et al. Wound healing: the role of gap junctional communication in rat granulation tissue maturation [ J ]. Exp Mol Pathol, 2002, 72(1) : 10-16. DOI: 10.1006/exmp.2001.2406.
- [5] 王继兵,黄旭东,邹会会,等.人眼 Tenon 囊成纤维细胞缝隙连接细胞间通讯的检测 [ J ]. 国际眼科杂志, 2011, 11(10) : 1707-1709. DOI: 10.3969/j.issn.1672-5123.2011.10.006.  
Wang JB, Huang XD, Zou HH, et al. Detection of gap junctional intercellular communication in cultured human Tenon's capsule fibroblasts [ J ]. Int Eye Sci, 2011, 11(10) : 1707-1709. DOI: 10.3969/j.issn.1672-5123.2011.10.006.
- [6] 邹会会,王继兵,黄旭东,等.氯化锂对人眼 Tenon 囊成纤维细胞增殖的影响 [ J ]. 国际眼科杂志, 2012, 12(7) : 1237-1241. DOI: 10.3969/j.issn.1672-5123.2012.07.04.  
Zou HH, Wang JB, Huang XD, et al. Inhibitory effects of Lithium chloride on human Tenon's capsule fibroblasts [ J ]. Int Eye Sci, 2012, 12(7) : 1237-1241. DOI: 10.3969/j.issn.1672-5123.2012.07.04.
- [7] 邹会会,王继兵,黄旭东,等.芹黄素对人眼 Tenon 囊成纤维细胞增殖的影响 [ J ]. 中华实验眼科杂志, 2013, 31(3) : 233-237. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2013.03.007.  
Zou HH, Wang JB, Huang XD, et al. Inhibitory effect of apigenin on human Tenon capsule fibroblasts [ J ]. Chin J Exp Ophthalmol, 2013, 31(3) : 233-237. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2013.03.007.
- [8] Tham YC, Li X, Wong TY, et al. Global prevalence of glaucoma and projections of glaucoma burden through 2040: a systematic review and meta-analysis [ J ]. Ophthalmology, 2014, 121(11) : 2081-2090. DOI: 10.1016/j.ophtha.2014.05.013.
- [9] Quigley HA, Broman AT. The number of people with glaucoma world wide in 2010 and 2020 [ J ]. Br J Ophthalmol, 2006, 90(3) : 262-267.

- DOI:10.1136/bjo.2005.081224.
- [10] Cheng CY, Wang N, Wong TY, et al. Prevalence and causes of vision loss in East Asia in 2015: magnitude, temporal trends and projections [J]. *Br J Ophthalmol*, 2020, 104 (5) : 616-622. DOI: 10.1136/bjophthalmol-2018-313308.
- [11] Holló G. Wound healing and glaucoma surgery: modulating the scarring process with conventional antimetabolites and new molecules [J]. *Dev Ophthalmol*, 2017, 59 : 80-89. DOI: 10.1159/000458488.
- [12] Akanuma SI, Higashi H, Maruyama S, et al. Expression and function of connexin 43 protein in mouse and human retinal pigment epithelial cells as hemichannels and gap junction proteins [J]. *Exp Eye Res*, 2018, 168 : 128-137. DOI: 10.1016/j.exer.2018.01.016.
- [13] Schulz R, Görge PM, Görbe A, et al. Connexin 43 is an emerging therapeutic target in ischemia/reperfusion injury, cardioprotection and neuroprotection [J]. *Pharmacol Ther*, 2015, 153 : 90-106. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2015.06.005.
- [14] 鲁峰, 高建华, 黎小间. 病理性瘢痕和正常皮肤成纤维细胞间隙连接介导的细胞间通讯 [J]. *中华整形外科杂志*, 2001, 17 (2) : 96-98. DOI: 10.3760/j.issn:1009-4598.2001.02.010.
- Lu F, Gao JH, Li XJ. Differences of gap junctional communication among fibroblasts derived from pathological scars and normal skin [J]. *Chin J Plast Surg*, 2001, 17 (2) : 96-98. DOI: 10.3760/j.issn:1009-4598.2001.02.010.
- [15] Coutinho P, Qiu C, Frank S, et al. Limiting burn extension by transient inhibition of Connexin43 expression at the site of injury [J]. *Br J Plast Surg*, 2005, 58 (5) : 658-667. DOI: 10.1016/j.bjps.2004.12.022.
- [16] Moyer KE, Sagers GC, Ehrlich HP. Mast cells promote fibroblast populated collagen lattice contraction through gap junction intercellular communication [J]. *Wound Repair Regen*, 2004, 12 (3) : 269-275. DOI: 10.1111/j.1067-1927.2004.012310.x.
- [17] Kretz M, Maass K, Willecke K. Expression and function of connexins in the epidermis, analyzed with transgenic mouse mutants [J]. *Eur J Cell Biol*, 2004, 83 (11-12) : 647-654. DOI: 10.1078/0171-9335-00422.
- [18] Mendoza-Naranjo A, Cormie P, Serrano AE, et al. Targeting Cx43 and N-cadherin, which are abnormally upregulated in venous leg ulcers, influences migration, adhesion and activation of Rho GTPases [J/OL]. *PLoS One*, 2012, 7 (5) : e37374 [2021-03-16]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22615994/>. DOI: 10.1371/journal.pone.0037374.
- [19] Ongstad EL, O'Quinn MP, Ghatnekar GS, et al. A Connexin43 mimetic peptide promotes regenerative healing and improves mechanical properties in skin and heart [J]. *Adv Wound Care (New Rochelle)*, 2013, 2 (2) : 55-62. DOI: 10.1089/wound.2011.0341.
- [20] Wright CS, van Steensel MA, Hodgins MB, et al. Connexin mimetic peptides improve cell migration rates of human epidermal keratinocytes and dermal fibroblasts *in vitro* [J]. *Wound Repair Regen*, 2009, 17 (2) : 240-249. DOI: 10.1111/j.1524-475X.2009.00471.x.
- [21] Shao Q, Wang H, McLachlan E, et al. Down-regulation of Cx43 by retroviral delivery of small interfering RNA promotes an aggressive breast cancer cell phenotype [J]. *Cancer Res*, 2005, 65 (7) : 2705-2711. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-04-2367.

(收稿日期:2021-03-24 修回日期:2021-08-23)

(本文编辑:刘艳 施晓萌)

读者·作者·编者

## 眼科常用英文缩略语名词解释

- AMD: 年龄相关性黄斑变性 (age-related macular degeneration)
- ANOVA: 单因素方差分析 (one-way analysis of variance)
- BUT: 泪膜破裂时间 (breakup time of tear film)
- DR: 糖尿病视网膜病变 (diabetic retinopathy)
- EAU: 实验性自身免疫性葡萄膜炎 (experimental autoimmune uveitis)
- EGF: 表皮生长因子 (epidermal growth factor)
- ELISA: 酶联免疫吸附测定 (enzyme-linked immunosorbent assay)
- ERG: 视网膜电图 (electroretinogram)
- FFA: 荧光素眼底血管造影 (fundus fluorescein angiography)
- FGF: 成纤维细胞生长因子 (fibroblast growth factor)
- GFP: 绿色荧光蛋白 (green fluorescent protein)
- IFN- $\gamma$ :  $\gamma$  干扰素 (interferon- $\gamma$ )
- IL: 白细胞介素 (interleukin)
- IOL: 人工晶状体 (intraocular lens)
- IRBP: 光间受体视黄类物质结合蛋白 (interphotoreceptor retinoid binding protein)
- LASIK: 准分子激光角膜原位磨镶术 (laser in situ keratomileusis)
- ICGA: 吲哚菁绿血管造影 (indocyanine green angiography)
- LECs: 晶状体上皮细胞 (lens epithelial cells)
- miRNA: 微小 RNA (microRNA)
- MMP: 基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinase)
- mTOR: 哺乳动物类雷帕霉素靶蛋白 (mammalian target of rapamycin)
- MTT: 四甲基偶氮唑盐 (methyl thiazolyl tetrazolium)
- NF: 核转录因子 (nuclear factor)
- OCT: 光相干断层扫描 (optical coherence tomography)
- OR: 优势比 (odds ratio)
- PACG: 原发性闭角型青光眼 (primary angle-closure glaucoma)
- PCR: 聚合酶链式反应 (polymerase chain reaction)
- RGCs: 视网膜节细胞 (retinal ganglion cells)
- POAG: 原发性开角型青光眼 (primary open angle glaucoma)
- RB: 视网膜母细胞瘤 (retinoblastoma)
- RPE: 视网膜色素上皮 (retinal pigment epithelium)
- RNV: 视网膜新生血管 (retinal neovascularization)
- RP: 视网膜色素变性 (retinitis pigmentosa)
- S I t: 基础泪液分泌试验 (Schirmer I test)
- shRNA: 小发夹 RNA (short hairpin RNA)
- siRNA: 小干扰 RNA (small interfering RNA)
- $\alpha$ -SMA:  $\alpha$ -平滑肌肌动蛋白 ( $\alpha$ -smooth muscle actin)
- TAO: 甲状腺相关眼病 (thyroid-associated ophthalmopathy)
- TGF: 转化生长因子 (transforming growth factor)
- TNF: 肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor)
- UBM: 超声生物显微镜 (ultrasound biomicroscope)
- VEGF: 血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor)
- VEP: 视觉诱发电位 (visual evoked potential)

(本刊编辑部)

