

· 实验研究 ·

不同程度单纯性先天性上睑下垂患者 提上睑肌的病理研究

罗彦竹¹ 黎冬平² 周娜¹ 李俊萍¹ 王育红²

¹中南大学爱尔眼科学院,长沙 410015;²武汉爱尔眼科医院汉口医院眼科 430021

通信作者:王育红,Email:443866951@qq.com

【摘要】 目的 观察不同程度单纯性先天性上睑下垂(SCP)患者的提上睑肌病理变化。**方法** 收集2018年8月至2019年10月在武汉爱尔眼科医院汉口医院行提上睑肌缩短术的SCP患者68例102眼的提上睑肌标本作为观察组,按上睑下垂的严重程度分为遮盖范围 ≤ 4 mm组35眼、遮盖范围 >4 mm $\sim\leq 6$ mm组30眼和遮盖范围 >6 mm组37眼,同时选取由武汉红十字会爱尔眼库提供的8名正常供体的新鲜提上睑肌组织作为对照组。分别对提上睑肌标本进行Masson三色染色和 α -平滑肌肌动蛋白(α -SMA)免疫组织化学染色,并使用ImageJ软件测量标本的胶原纤维面积比、骨骼肌纤维面积比及 α -SMA的积分吸光度(IA)值。选取17个标本(对照组标本2个,遮盖范围 ≤ 4 mm组、遮盖范围 >4 mm $\sim\leq 6$ mm组和遮盖范围 >6 mm组各5个)行透射电子显微镜观察。**结果** 光学显微镜下可见,与对照组相比,观察组标本中骨骼肌纤维数量减少,肌纤维走行紊乱,部分肌横纹消失,细胞间质中纤维结缔组织增生。遮盖范围 ≤ 4 mm组、遮盖范围 >4 mm $\sim\leq 6$ mm组、遮盖范围 >6 mm组胶原纤维面积比明显高于对照组,骨骼肌纤维面积比明显低于对照组,差异均有统计学意义(均 $P<0.0083$)。观察组标本含有较多的平滑肌纤维,肌纤维中可见 α -SMA呈阳性表达。遮盖范围 ≤ 4 mm组、遮盖范围 >4 mm $\sim\leq 6$ mm组、遮盖范围 >6 mm组标本中 α -SMA的IA值分别为7 195.28(5 935.69, 14 058.29)、55 584.18(33 861.88, 80 419.32)和166 507.76(119 121.95, 187 890.86),高于对照组的5 543.03(4 867.67, 8 312.02),其中遮盖范围 >4 mm $\sim\leq 6$ mm组和遮盖范围 >6 mm组与对照组比较差异均有统计学意义(均 $P<0.0083$)。透射电子显微镜下观察结果显示,观察组标本中的平滑肌细胞质内含有丰富的细胞器,部分线粒体损伤,未见密丝及密体等平滑肌细胞的特征性结构。**结论** SCP患者的提上睑肌中存在异常的平滑肌细胞,提上睑肌的发育不良可能与这类异常的肌细胞有关。

【关键词】 上睑下垂, 先天性; 眼肌; 病理学; 提上睑肌

基金项目: 湖北省卫健委科研项目(WJ2019Q005); 湖南省科技厅自然科学基金项目(2018SK50110); 爱尔眼科集团科研项目(AF1910D3)

DOI: 10.3760/cma.j.cn115989-20200917-00653

Pathological study of the levator palpebrae superioris muscle in patients with different severities of simple congenital ptosis

Luo Yanzhu¹, Li Dongping², Zhou Na¹, Li Junping¹, Wang Yuhong²

¹Aier School of Ophthalmology, Central South University, Changsha 410015, China; ²Department of Ophthalmology, Wuhan Aier Hankou Eye Hospital, Wuhan 430021, China

Corresponding author: Wang Yuhong, Email:443866951@qq.com

【Abstract】 Objective To observe the pathological changes of levator palpebrae superioris muscle in patients with different severities of simple congenital ptosis (SCP). **Methods** Levator palpebrae superioris muscle specimens from 102 eyes of 68 patients with SCP who received levator palpebrae superioris muscle shortening surgery at Wuhan Aier Hankou Eye Hospital from August 2018 to October 2019 were collected as the observation group. According to the severity of ptosis, the specimens were divided into three groups, coverage ≤ 4 mm group ($n=35$), coverage >4 mm to ≤ 6 mm group ($n=30$), and coverage >6 mm group ($n=37$). Fresh levator palpebrae superioris muscle tissues from 8 normal donors in Aier Eye Bank of Wuhan Red Cross were selected as the control group. All specimens were performed with Masson trichrome staining and immunohistochemical staining for α -smooth muscle actin (α -SMA), and ImageJ software was used to measure the collagen fiber area ratio, skeletal muscle fiber area

ratio and the integrated absorbance (IA) value of α -SMA. Seventeen specimens (2 from the control group, 5 from coverage ≤ 4 mm group/coverage >4 mm to ≤ 6 mm group/coverage >6 mm group) were observed with a transmission electron microscope (TEM). This study protocol adhered to the Declaration of Helsinki and was approved by an Ethics Committee of Wuhan Aier Hankou Eye Hospital (No. HKAIER2018IRB-005-01). All patients and their legal guardians were well informed about the treatment method and the purpose of sampling and voluntarily signed informed consent. **Results** Compared with the control group, the skeletal muscle fiber was reduced in number and was in disordered arrangement, and the striation of some muscle fibers disappeared, and hyperplastic fibrous connective tissue was found in intercellular substances in the observation group. The collagen fiber area ratio of the coverage ≤ 4 mm group, coverage >4 mm to ≤ 6 mm group, coverage >6 mm group were significantly higher than that of the control group, and the skeletal muscle fiber area ratio of the three groups was significantly lower than that of the control group (all at $P < 0.0083$). There were more smooth muscle fibers and positive expression of α -SMA found in the specimens of the observation group. The IA value of α -SMA of the coverage ≤ 4 mm group, coverage >4 mm to ≤ 6 mm group, coverage >6 mm group was 7 195.28 (5 935.69, 14 058.29), 55 584.18 (33 861.88, 80 419.32), 166 507.76 (119 121.95, 187 890.86), respectively, which were all higher than 5 543.03 (4 867.67, 8 312.02) of the control group, among which, there were statistically significant differences between the control group and the coverage >4 mm to ≤ 6 mm group, coverage >6 mm group (both at $P < 0.0083$). Abundant organelles and some damaged mitochondria were found in smooth muscle cytoplasm in the observation group with a TEM. But no characteristic structure of smooth muscle cells such as dense patch and dense body was detected. **Conclusions** There are abnormal smooth muscle cells in the levator palpebrae superiors muscle of SCP patients, and the dysgenesis of the levator palpebrae superiors muscle may be related to this abnormal muscle cell.

[Key words] Blepharoptosis, congenital; Oculomotor muscles; Pathology; Levator palpebrae superiors muscle

Fund program: Scientific Research Project of Health Commission of Hubei Province (WJ2019Q005); Natural Science Foundation of Hunan Provincial Science & Technology Department (2018SK50110); Aier Eye Group Scientific Research Project (AF1910D3)

DOI:10.3760/cma.j.cn115989-20200917-00653

上睑下垂指平视前方时,上眼睑遮盖角膜上缘的范围超过 2 mm^[1]。单纯性先天性上睑下垂 (simple congenital ptosis, SCP) 是临床上常见的一种上睑下垂亚型,不仅影响患者的美观,还可能导致视觉及心理发育障碍^[2-5]。研究表明,SCP 可能有多种发病机制,大多数病例是由于提上睑肌或动眼神经核的发育不良所致,少数病例是由于提上睑肌内外角以及上方的节制韧带过紧,或是眶隔纤维化,从而限制了提上睑肌的活动^[6-10]。也有研究提出 SCP 提上睑肌的病理学改变应归纳为营养不良而非发育不良^[11-12],故关于 SCP 的发病机制仍无定论。在进行病理学观察时,某些提上睑肌标本中可能无法观察到骨骼肌纤维,反而可以观察到较多的平滑肌纤维,这类肌纤维在过去往往被认为是 Müller 肌^[13]。但 Alshehri 等^[14]观察到 SCP 患者的 Müller 肌呈萎缩性改变,肌肉中的平滑肌数目明显少于腱膜性上睑下垂患者。有研究发现,正常人的提上睑肌腱膜中也含有少量独立的平滑肌纤维,并且免疫组织化学检测提示 α -平滑肌肌动蛋白 (α -smooth muscle actin, α -SMA) 在这些肌纤维中呈阳性表

达^[15-16]。以上研究表明将 SCP 患者提上睑肌标本中的平滑肌纤维完全视为 Müller 肌的观点可能并不准确。鉴于此,本研究拟通过光学显微镜观察 SCP 患者提上睑肌中的骨骼肌纤维,为肌肉病理学的分类提供更多证据;并通过平滑肌标志性蛋白的免疫组织化学检测和肌细胞的透射电子显微镜观察等方法,对患者提上睑肌中的平滑肌纤维进行定性研究,探讨 SCP 的发病机制。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 取材及组织来源 收集 2018 年 8 月至 2019 年 10 月于武汉爱尔眼科医院汉口医院行提上睑肌缩短术的 SCP 患者 68 例 102 眼的提上睑肌标本作为观察组,其中男 48 例,女 20 例;年龄 2~36 岁,中位数年龄为 7.50 岁;单侧上睑下垂患者 34 例,双侧上睑下垂患者 34 例。同时选取武汉市红十字会爱尔眼库提供的 8 名正常供体的新鲜提上睑肌腱膜和肌腹组织作为对照组,其中男 5 名,女 3 名;年龄 55~70 岁,中位数

年龄为 63.5 岁。参照《上睑下垂诊治专家共识》^[1], 上睑下垂的诊断标准为患者平视前方, 抵消额肌力量后, 上睑缘遮盖角膜上缘的范围大于 2 mm。观察组纳入标准: (1) 明确诊断为 SCP, 且拟接受手术治疗的患者; (2) 患者依从性好。排除标准: (1) 其他类型的先天性上睑下垂或后天性上睑下垂患者; (2) 重症肌无力、进行性肌营养不良等全身骨骼肌疾病合并有局部上睑下垂表现者; (3) 既往有眼睑外伤史、手术史者; (4) 提上睑肌肌力差, 需联合筋膜鞘手术或额肌悬吊术的患者。对照组纳入标准: (1) 签署中国人体器官捐献志愿登记卡, 供者家属知情同意; (2) 死亡时间不超过 12 h。排除标准: (1) 既往有眼睑外伤史、手术史者; (2) 患者死亡前即有明确的上睑下垂表现。参照上眼睑遮盖角膜的范围将所有观察组标本分为遮盖范围 ≤ 4 mm 组 35 眼、遮盖范围 > 4 mm ~ ≤ 6 mm 组 30 眼和遮盖范围 > 6 mm 组 37 眼, 观察组提上睑肌标本的临床特征见表 1。所有患者均接受提上睑肌缩短术, 术中取材时尽可能剔除 Müller 肌, 将靠近肌腹部的提上睑肌标本用于病理学研究。本研究遵循《赫尔辛基宣言》, 研究方案经武汉爱尔眼科医院汉口医院医学伦理委员会审核批准(批文号: HKAIER2018IRB-005-01), 所有患者及其法定监护人了解治疗方法和取材目的并自愿签署知情同意书。

1.1.2 主要试剂及仪器 苏木精-伊红染色试剂盒、Masson 三色染色试剂盒、二氨基联苯胺(diaminobenzidine, DAB) 试剂盒、鼠抗人 α-SMA 单克隆抗体 (BM0002) (武汉博士德生物工程有限公司); 辣根过氧化物酶 (horseradish peroxidase, HRP) 标记山羊抗小鼠二抗 (5220-0341) (武汉安诺伦生物科技有限公司)。脱水机、包埋机、冻台、组织摊片机 (武汉俊杰电子有限公司); 病理切片 (上海徠卡仪器有限公司); 烤箱 (天津市莱玻瑞仪器设备有限公司); 微波炉 (广东格兰仕微波炉电器有限公司); 水浴锅 (金坛市江南仪器厂); 脱色摇床 (北京六一仪器厂); 涡旋混合器 (南京天悦

电子科技股份有限公司); 正置光学显微镜、成像系统 (日本 Nikon 公司); 钻石切片刀 (瑞士戴通公司); 透射电子显微镜 (美国 FEI 公司)。

1.2 方法

1.2.1 提上睑肌取材及石蜡切片的制作 观察组所有患者术前均详细询问病史, 行常规眼部及全身检查, 与上睑下垂相关的专科检查包括上睑缘遮盖角膜上缘的范围、睑裂大小、提上睑肌肌力、额肌肌力、Bell 征、新斯的明试验及咀嚼试验。所有患者均由同一位经验丰富的手术医师行提上睑肌缩短术, 术中截取 Whitnall 韧带以上的提上睑肌组织进行病理学观察, 若缩短的范围未达到 Whitnall 韧带, 则尽可能靠近肌腹端取材, 截取组织长度约 5 mm。将术中留取的提上睑肌标本用手术贴膜覆盖, 尽量减小牵拉、挫伤与挤压等机械损伤, 使用弯剪快速截取约 1 mm × 1 mm × 1 mm 大小的标本, 于 1 min 内浸入体积分数 2.5% 戊二醛溶液, 4 °C 固定 24 h, 以备制作透射电子显微镜切片。另一部分放置在质量分数 4% 多聚甲醛溶液中固定, 行常规石蜡包埋, 3 μm 厚连续切片, 备用。

1.2.2 Masson 三色染色法检测肌纤维面积 将石蜡切片依次放入二甲苯 I、二甲苯 II、二甲苯 III 溶液各 15 min 脱蜡, 逐级放入无水乙醇、体积分数 95% 乙醇、85% 乙醇各 5 min, 自来水清洗。将切片放入质量分数 3% 重铬酸钾溶液中浸泡过夜, 水洗; 铁苏木素染液 (铁苏木素 A 液与 B 液等体积混合) 染色 3 min, 分化, 水洗, 返蓝, 流水冲洗; 丽春红酸性品红染色 5 ~ 10 min, 漂洗。将切片放入磷钼酸水溶液浸染 1 ~ 3 min, 苯胺蓝染液染 3 ~ 6 min。切片用质量分数 1% 冰醋酸分化, 连续快速浸入 2 缸无水乙醇洗掉醋酸和部分水, 并浸入第 3 缸无水乙醇中彻底脱水 5 min, 二甲苯透明 5 min, 中性树脂胶封片。每张 Masson 染色切片于 40 倍光学显微镜下任意选取 3 个视野拍照, 采用 ImageJ 1.52a 图像分析软件分别计算图像中胶原纤维及骨骼肌纤维面积, 分别除以组织总面积, 将结果取平均值进

而得出每个标本的胶原纤维面积比及骨骼肌纤维面积比。胶原纤维呈蓝色, 肌纤维呈红色。骨骼肌纤维呈长柱形, 肌细胞内含多个细胞核, 位于肌膜的下方; 平滑肌纤维呈长梭形, 肌细胞内含单个呈长椭圆形或杆状的细胞核, 位于细胞中央。染色结果由 2 位病理科医师进行双盲读片, 结果不一致则共同讨论决定。

表 1 各组 SCP 患者提上睑肌标本临床特征比较 [M(Q₁, Q₃), mm]
Table 1 Comparison of clinical features of levator palpebrae superiors muscle specimens among the three groups in SCP patients [M(Q₁, Q₃), mm]

组别	眼数	提上睑肌肌力	上睑遮盖范围	手术缩短量
遮盖范围 ≤ 4 mm 组	35	11.00 (10.00, 13.00)	3.00 (2.50, 3.00)	10.00 (8.00, 14.00)
遮盖范围 > 4 mm ~ ≤ 6 mm	30	7.00 (5.00, 8.00)	5.00 (4.63, 5.88)	16.00 (15.00, 24.00)
遮盖范围 > 6 mm 组	37	3.50 (3.00, 4.00)	7.00 (7.00, 8.00)	24.00 (20.00, 26.00)
H 值		73.090	74.370	63.430
P 值		<0.05	<0.05	<0.05

注: (Kruskal-Wallis H 检验) SCP: 单纯性先天性上睑下垂
 Note: (Kruskal-Wallis H test) SCP: simple congenital ptosis

1.2.3 免疫组织化学染色法测定标本中 α -SMA 表达 将石蜡切片置于 65 °C 烘箱中烘片 2 h, 常规脱蜡至水, 置于 EDTA 修复液中微波修复; 冷却后磷酸盐缓冲液 (phosphate buffered saline, PBS) 冲洗 15 min, 质量分数 3% 牛血清白蛋白封闭 30 min, 加入 50 μ l 鼠抗人 α -SMA 单克隆抗体 (1:100), 4 °C 过夜孵育; PBS 冲洗, 加入 50 μ l HRP 标记山羊抗小鼠抗体 (1:100), 常温孵育 50 min; PBS 冲洗, 加 50 μ l DAB 溶液显色; 显色完全后水洗, 苏木素复染, 体积分数 1% 盐酸乙醇分化, 水洗, 返蓝, 脱水, 透明封片。每张免疫组织化学染色切片于光学显微镜下任意选取 3 个视野拍照, 染色结果由 2 位病理科医师进行双盲读片, 结果不一致则共同讨论决定。采用 ImageJ 1.52a 图像分析软件计算 α -SMA 的积分吸光度 (integrated absorbance, IA) 值。

1.2.4 透射电子显微镜下观察标本组织的超微结构 采用简单随机抽样方法选取 17 个 (对照组 2 个, 遮盖范围 ≤ 4 mm 组、遮盖范围 > 4 mm $\sim \leq 6$ mm 组、遮盖范围 > 6 mm 组各 5 个) 提上睑肌标本行透射电子显微镜检查。将所取组织加入 0.1 mol/L PBS (pH 7.4) 漂洗 3 次, 每次 15 min; 0.1 mol/L PBS (pH 7.4) 配置的质量分数 1% 锇酸固定液室温 (20 °C) 固定 2 h, 0.1 mol/L PBS (pH 7.4) 漂洗。将组织放入不同体积分数乙醇中梯度脱水, 每次 15 min; 丙酮和 812 包埋剂等体积混合液渗透过夜, 纯 812 包埋剂渗透过夜, 60 °C 聚合 48 h。使用切片机将组织纵向切为 60 ~ 80 nm 超薄切片, 铀铅双染色 (质量分数 2% 醋酸铀饱和水溶液和枸橼酸铅各染色 15 min), 室温干燥过夜。透射电子显微镜下观察并采集图像, 由 2 位病理科医

师进行双盲读片, 结果不一致则共同讨论决定。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 21.0 统计学软件进行统计分析。采用 Shapiro-Wilk 检验分析所有计量资料的正态性, 提上睑肌肌力、上睑遮盖范围、手术缩短量、胶原纤维和骨骼肌纤维面积比、 α -SMA 的 IA 值均不符合正态分布, 以 $M(Q_1, Q_3)$ 表示。遮盖范围 ≤ 4 mm 组、遮盖范围 > 4 mm $\sim \leq 6$ mm 组、遮盖范围 > 6 mm 组和对照组各检测指标总体差异比较采用 Kruskal-Wallis H 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。组间两两比较采用 Bonferroni 法, 调整检验水准 $\alpha' = 0.05/6 = 0.0083$ 。

2 结果

2.1 各组提上睑肌标本的组织病理学表现

光学显微镜下观察可见, 对照组标本的肌腹部为排列整齐、连接紧密的骨骼肌纤维, 肌细胞膜结构完整且有清晰的横纹, 细胞核位于周边, 肌细胞间结缔组织分布均匀且稀疏。观察组 102 个标本中共有 18 个标本 (遮盖范围 ≤ 4 mm 组 10 个、遮盖范围 > 4 mm $\sim \leq 6$ mm 组 6 个、遮盖范围 > 6 mm 组 2 个) 检测到骨骼肌纤维, 遮盖范围 ≤ 4 mm 组 8 个标本中仅含有纤维结缔组织而无肌纤维。与对照组相比, 观察组标本中肌纤维数量均明显减少, 细胞间质中胶原纤维及脂肪组织增生, 部分骨骼肌细胞横纹消失, 肌内膜不完整 (图 1)。遮盖范围 > 6 mm 组与遮盖范围 > 4 mm $\sim \leq 6$ mm 组骨骼肌纤维病理改变相似。对照组、遮盖范围 ≤ 4 mm 组、遮盖范围 > 4 mm $\sim \leq 6$ mm 组与遮盖范围 > 6 mm 组标本的胶原纤维面积比分别为 16.03% (14.85%,

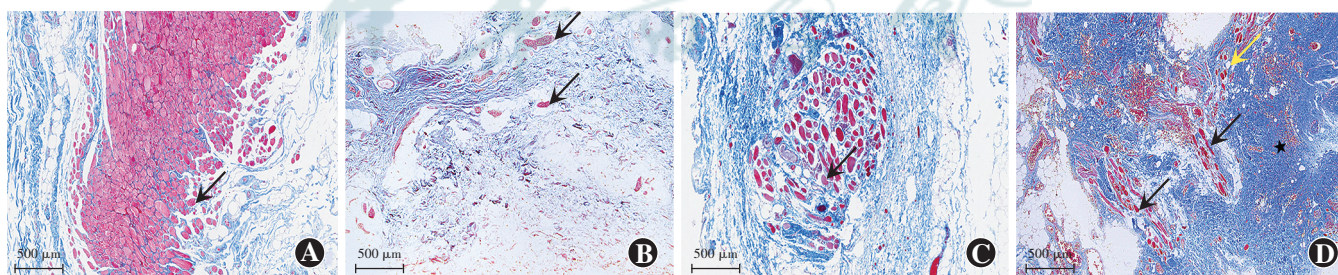


图 1 各组提上睑肌标本中骨骼肌纤维的组织病理学表现 (Masson ×40, 标尺 = 500 μ m) A: 对照组标本的肌腹部含有丰富的骨骼肌纤维 (黑色箭头) B: 遮盖范围 ≤ 4 mm 组标本中无肌纤维分布, 仅观察到胶原纤维和血管 (黑色箭头) C: 遮盖范围 ≤ 4 mm 组标本骨骼肌纤维数量减少, 排列稀疏, 部分肌纤维横纹消失, 肌内膜不完整 (黑色箭头) D: 遮盖范围 > 4 mm $\sim \leq 6$ mm 组标本中骨骼肌纤维数量减少, 走行紊乱, 部分肌纤维横纹消失, 肌内膜不完整 (黑色箭头), 细胞间质中胶原纤维及脂肪组织大量增生 (★), 部分标本中可同时观察到梭状的平滑肌纤维 (黄色箭头)

Figure 1 Histopathological manifestations of skeletal muscle fibers in levator palpebrae superiors muscle specimens of each group (Masson ×40, bar = 500 μ m) A: The muscle belly of specimens in the control group was rich in skeletal muscle fibers (black arrow) B: No muscle fiber was found in specimens of coverage ≤ 4 mm group, only collagen fibers and blood vessels (black arrows) were observed C: In specimens of coverage ≤ 4 mm group, the skeletal muscle fibers in the specimens were reduced and sparsely arranged; the striation of some muscle fibers disappeared; the endomysium (black arrow) was incomplete D: In specimens of coverage > 4 mm to ≤ 6 mm group, the skeletal muscle fibers were reduced and disordered; the striation of some muscle fiber disappeared, and the endomysium (black arrow) was incomplete; collagen fibers and adipose tissue (★) in the intercellular substance were proliferated; spindle-shaped smooth muscle fibers (yellow arrow) were found in some specimens

17.18%)、35.87% (26.75%, 45.14%)、25.33% (23.10%, 29.53%) 和 31.37% (25.72%, 34.27%)，总体比较差异有统计学意义 ($H = 37.488, P < 0.05$)，其中遮盖范围 ≤ 4 mm 组、遮盖范围 > 4 mm $\sim \leq 6$ mm 组及遮盖范围 > 6 mm 组的胶原纤维面积比明显高于对照组，遮盖范围 ≤ 4 mm 组标本的胶原纤维面积比明显高于遮盖范围 > 4 mm $\sim \leq 6$ mm 组标本，差异均有统计学意义 (均 $P < 0.0083$)。对照组、遮盖范围 ≤ 4 mm 组、遮盖范围 > 4 mm $\sim \leq 6$ mm 组和遮盖范围 > 6 mm 组标本的骨骼肌纤维面积比分别为 43.74% (40.47%, 48.37%)、0.00% (0.00%, 11.98%)、0.00% (0.00%, 0.00%) 和 0.00% (0.00%, 0.00%)，总体比较差异有统计学意义 ($H = 45.336, P < 0.05$)，其中对照组标本的骨骼肌纤维面积比明显高于遮盖范围 ≤ 4 mm 组、遮盖范围 > 4 mm $\sim \leq 6$ mm 组及遮盖范围 > 6 mm 组，差异均有统计学意义 (均 $P < 0.0083$)，遮盖范围 ≤ 4 mm 组标本骨骼肌纤维面积比高于遮盖范围 > 4 mm $\sim \leq 6$ mm 组及遮盖范围 > 6 mm 组，但 3 个组间两两比较差异均无统计学意义 (均 $P \geq 0.0083$) (图 2)。

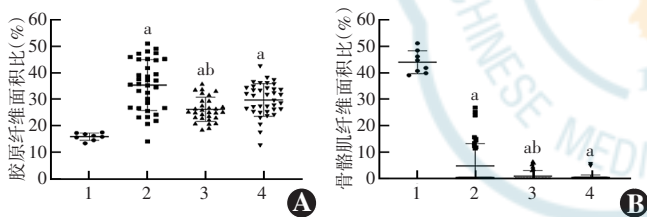


图 2 各组提上睑肌中胶原纤维面积比及骨骼肌纤维面积比的比较 与对照组比较, $^a P < 0.0083$; 与遮盖范围 ≤ 4 mm 组比较, $^b P < 0.0083$ (Kruskal-Wallis H 检验, Bonferroni 校正法, $n = 6$) A: 各组胶原纤维面积比 B: 各组骨骼肌纤维面积比 1: 对照组; 2: 遮盖范围 ≤ 4 mm 组; 3: 遮盖范围 > 4 mm $\sim \leq 6$ mm 组; 4: 遮盖范围 > 6 mm 组
Figure 2 Comparison of collagen fiber area ratio and skeletal muscle fiber area ratio in levator palpebrae superiors muscle specimens among various groups Compared with the control group, $^a P < 0.0083$; compared with the coverage ≤ 4 mm group, $^b P < 0.0083$ (Kruskal-Wallis H test, Bonferroni correction, $n = 6$) A: Collagen fiber area ratio among various groups B: Skeletal muscle fiber area ratio among various groups 1: Control group; 2: Coverage ≤ 4 mm group; 3: Coverage > 4 mm to ≤ 6 mm group; 4: Coverage > 6 mm group

对照组提上睑肌腱膜标本中主要为纤维结缔组织, 含有少量稀疏分布的平滑肌纤维, 肌纤维呈梭状, 无横纹结构, 单个细胞核位于中央。观察组标本中共有 78 个标本 (遮盖范围 ≤ 4 mm 组 17 个、遮盖范围 > 4 mm $\sim \leq 6$ mm 组 26 个、遮盖范围 > 6 mm 组 35 个) 检测到平滑肌纤维, 遮盖范围 > 4 mm $\sim \leq 6$ mm 组有 2 个标本同时观察到骨骼肌和平滑肌纤维。观察组标本平滑肌纤维数量多于对照组, 排列较紊乱, 着色程度

深浅不一, 细胞间质可观察到胶原纤维和脂肪组织增生, 3 个组标本的平滑肌纤维数量、胶原纤维和脂肪组织的增生程度存在差异 (图 3)。

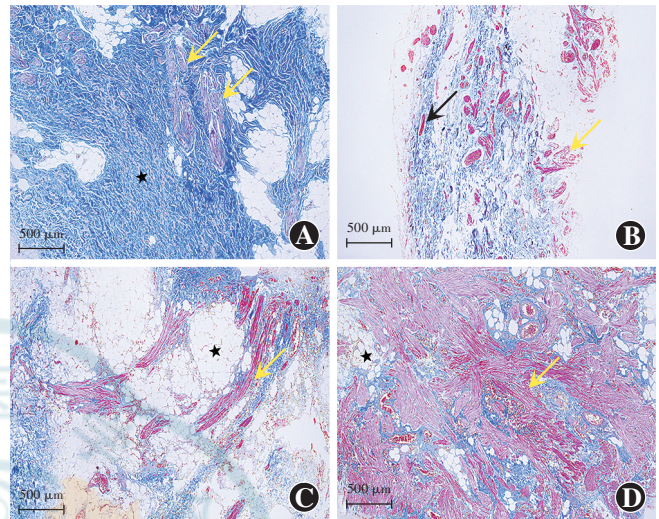


图 3 各组提上睑肌中平滑肌纤维组织病理学表现 (Masson $\times 40$, 标尺 = 500 μm) A: 对照组的提上睑肌腱膜含有丰富的胶原纤维 (★) 和少量平滑肌纤维 (黄色箭头) B: 遮盖范围 ≤ 4 mm 组标本中观察到稀疏分布的平滑肌纤维 (黄色箭头) 和血管 (黑色箭头) C: 遮盖范围 > 4 mm $\sim \leq 6$ mm 组标本中观察到较多的平滑肌纤维 (黄色箭头), 细胞间质中可见较多的胶原纤维和脂肪组织增生 (★) D: 遮盖范围 > 6 mm 组标本中观察到大量平滑肌纤维 (黄色箭头), 细胞间质中可见大量胶原纤维和脂肪组织增生 (★)

Figure 3 Histopathological manifestations of smooth muscle fibers in levator palpebrae superiors muscle specimens of each group (Masson $\times 40$, bar = 500 μm) A: Levator aponeurosis of the control group contained abundant collagen fibers (★) and a small amount of smooth muscle fibers (yellow arrows) B: Sparsely distributed smooth muscle fibers (yellow arrows) and blood vessels (black arrows) were found in specimens of the coverage ≤ 4 mm group C: More smooth muscle fibers (yellow arrows), collagen fibers and adipose tissue hyperplasia (★) were found in specimens of the coverage > 4 mm to ≤ 6 mm group D: Abundant smooth muscle fibers (yellow arrows), collagen fibers and adipose tissue hyperplasia (★) were found in specimens of the coverage > 6 mm group

2.2 各组提上睑肌标本中 α -SMA 表达情况比较

免疫组织化学染色结果显示, α -SMA 在提上睑肌的平滑肌和血管平滑肌中均有阳性表达, 对照组和遮盖范围 ≤ 4 mm 组标本中可见少量的 α -SMA 阳性表达, 遮盖范围 > 4 mm $\sim \leq 6$ mm 组和遮盖范围 > 6 mm 组标本中 α -SMA 阳性表达面积明显多于对照组和遮盖范围 ≤ 4 mm 组 (图 4)。各组提上睑肌标本中 α -SMA 的 IA 值总体比较差异有统计学意义 ($H = 60.573, P < 0.05$)。遮盖范围 > 4 mm $\sim \leq 6$ mm 组和遮盖范围 > 6 mm 组的 IA 值明显大于对照组和遮盖范围 ≤ 4 mm 组, 遮盖范围 > 6 mm 组标本的 IA 值明显大于遮盖范围 > 4 mm $\sim \leq 6$ mm 组, 差异均有统计学意义 (均 $P < 0.0083$) (表 2)。

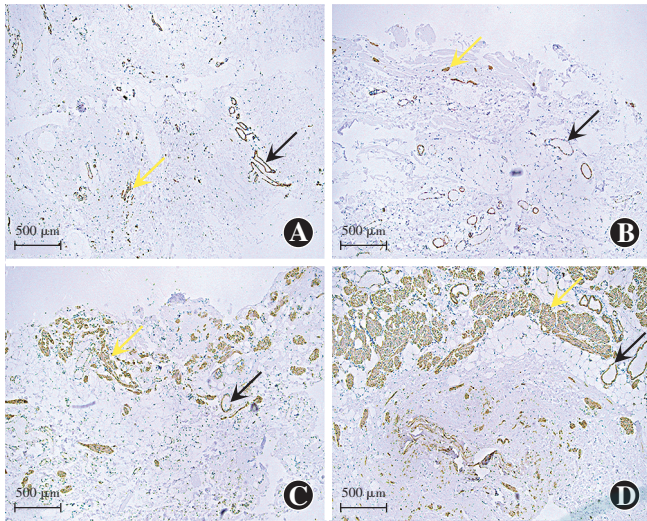


图 4 各组提上睑肌标本中 α -SMA 的免疫组织化学染色结果 ($\times 40$, 标尺 = $500 \mu\text{m}$) 遮盖范围 $> 4 \text{ mm} \sim \leq 6 \text{ mm}$ 组和遮盖范围 $> 6 \text{ mm}$ 组提上睑肌的平滑肌纤维 (黄色箭头) 和血管平滑肌纤维 (黑色箭头) 中 α -SMA 的阳性表达面积明显多于对照组和遮盖范围 $\leq 4 \text{ mm}$ 组 A: 对照组 B: 遮盖范围 $\leq 4 \text{ mm}$ 组 C: 遮盖范围 $> 4 \text{ mm} \sim \leq 6 \text{ mm}$ 组 D: 遮盖范围 $> 6 \text{ mm}$ 组

Figure 4 Immunohistochemical staining results of α -SMA in levator palpebrae superiors muscle specimens in each group ($\times 40$, bar = $500 \mu\text{m}$) Positive expression area of α -SMA in smooth muscle fibers (yellow arrow) and vascular smooth muscle fibers (black arrow) in the coverage $> 4 \text{ mm}$ to $\leq 6 \text{ mm}$ group and coverage $\geq 6 \text{ mm}$ group were significantly larger than that in the control group and coverage $\leq 4 \text{ mm}$ group A: Control group B: Coverage $\leq 4 \text{ mm}$ group C: Coverage $> 4 \text{ mm}$ to $\leq 6 \text{ mm}$ group D: Coverage $> 6 \text{ mm}$ group

表 2 各组患者提上睑肌标本中 α -SMA 的 IA 值比较 [$M(Q_1, Q_3)$]

Table 2 Comparison of the IA value of α -SMA in levator palpebrae superiors muscle specimens among the four groups [$M(Q_1, Q_3)$]

组别	眼数	IA 值
对照组	8	5 543.03(4 867.67, 8 312.02)
遮盖范围 $\leq 4 \text{ mm}$ 组	17	7 195.28(5 935.69, 14 058.29)
遮盖范围 $> 4 \text{ mm} \sim \leq 6 \text{ mm}$ 组	26	55 584.18(33 861.88, 80 419.32) ^{ab}
遮盖范围 $> 6 \text{ mm}$ 组	35	166 507.76(119 121.95, 187 890.86) ^{abc}
H 值		60.573
P 值		< 0.05

注:与对照组比较,^a $P < 0.008 3$;与遮盖范围 $\leq 4 \text{ mm}$ 组比较,^b $P < 0.008 3$;与遮盖范围 $> 4 \text{ mm} \sim \leq 6 \text{ mm}$ 组比较,^c $P < 0.008 3$ (Kruskal-Wallis H 检验, Bonferroni 校正法) α -SMA: α -平滑肌肌动蛋白; IA: 积分吸光度

Note: Compared with the control group, ^a $P < 0.008 3$; compared with the coverage $\leq 4 \text{ mm}$ group, ^b $P < 0.008 3$; compared with the coverage $> 4 \text{ mm}$ to $\leq 6 \text{ mm}$ group, ^c $P < 0.008 3$ (Kruskal-Wallis H test, Bonferroni correction) α -SMA: α -smooth muscle actin; IA: integrated absorbance

2.3 观察组提上睑肌标本中平滑肌细胞的超微结构观察

透射电子显微镜下观察到 10 个标本 (遮盖范围 $\leq 4 \text{ mm}$ 组 1 个、遮盖范围 $> 4 \text{ mm} \sim \leq 6 \text{ mm}$ 组 4 个、

遮盖范围 $> 6 \text{ mm}$ 组 5 个) 中的平滑肌细胞呈长梭状, 细胞核较大, 位于细胞中心, 细胞质内含有丰富的细胞器, 部分线粒体损伤, 细胞质内可见大量排列紊乱的肌丝, 未见明显的密斑及密体结构, 肌细胞膜表面可见大量胶原纤维附着, 细胞外基质中观察到异常细胞外物质分布 (图 5)。其余 7 个标本未见平滑肌细胞, 仅观察到胶原纤维。

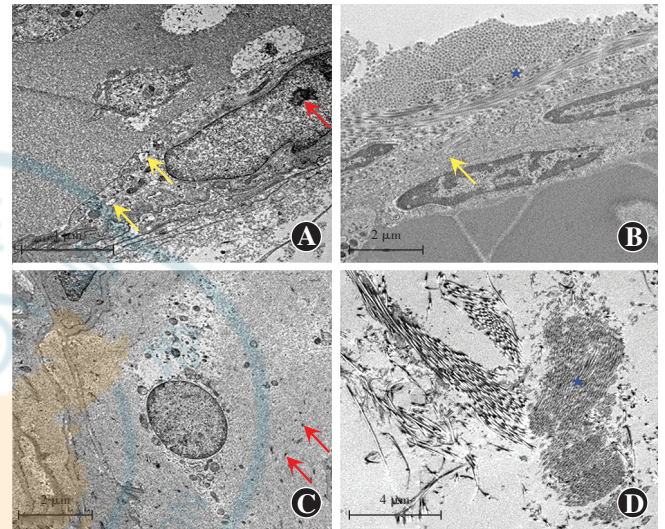


图 5 SCP 患者提上睑肌标本中平滑肌细胞的透射电子显微镜观察 A: 视野内为纵切面的平滑肌细胞, 细胞质内含有丰富的细胞器, 细胞核内异染色质着色较深 (红色箭头); 部分线粒体损伤, 线粒体脊坏死、溶解, 线粒体内可见因溶解形成的空泡 (黄色箭头) ($\times 1 700$, 标尺 = $4 \mu\text{m}$) B: 视野内为纵切面的平滑肌细胞, 细胞膜表面附着有胶原纤维 (黄色箭头), 细胞间质可见大量排列紊乱的胶原纤维 (★) ($\times 2 500$, 标尺 = $2 \mu\text{m}$) C: 视野内为横切面的平滑肌细胞, 细胞质内可见大量排列紊乱的肌丝, 可见异常着色物质 (红色箭头) ($\times 2 500$, 标尺 = $2 \mu\text{m}$) D: 细胞外基质中可见异常着色物质 (★) ($\times 1 700$, 标尺 = $4 \mu\text{m}$)

Figure 5 Smooth muscle cells in the levator palpebrae superiors muscle specimens of the SCP patients observed by transmission electron microscopy

A: The longitudinal section of smooth muscle cells was showed. The cytoplasm contained abundant organelles. The heterochromatin staining (red arrow) in the nucleus was deep; some mitochondria were damaged with necrotic and dissolved mitochondrial ridges, and visible vacuoles (yellow arrows) caused by dissolution ($\times 1 700$, bar = $4 \mu\text{m}$) B: The longitudinal section of smooth muscle cells was presented. Collagen fibers (yellow arrows) were attached to the cell membrane surface. A large number of disordered collagen fibers (★) were found in the intercellular substance ($\times 2 500$, bar = $2 \mu\text{m}$) C: The transverse section of smooth muscle cells was displayed. Abundant and disordered myofilaments, and abnormally stained substances (red arrow) were found in the cytoplasm ($\times 2 500$, bar = $2 \mu\text{m}$) D: Abnormally stained substances (★) was found in the extracellular matrix ($\times 1 700$, bar = $4 \mu\text{m}$)

3 讨论

对 SCP 患者的提上睑肌标本进行病理学观察是研究其发病机制的主要方法。本研究结果显示, 与对照组相比, 观察组骨骼肌纤维的病理改变为肌横纹消失、数量减少及走行紊乱, 并伴有纤维组织和脂肪组

织增生,与既往研究报道一致^[1,7-8,10]。由于不同下垂程度患者术中的提上睑肌缩短量有较大差异,遮盖范围 ≤ 4 mm 组标本仅含有少量的提上睑肌肌腹部组织,而遮盖范围 >4 mm $\sim\leq 6$ mm 组及遮盖范围 >6 mm 组标本中含有的肌肉组织普遍多于遮盖范围 ≤ 4 mm 组,但遮盖范围 >4 mm $\sim\leq 6$ mm 组及遮盖范围 >6 mm 组标本的骨骼肌纤维面积比低于遮盖范围 ≤ 4 mm 组,SCP 患者提上睑肌中骨骼肌纤维的减少程度与上睑下垂的严重程度相关,与既往研究结果相符^[7-8]。在不同程度 SCP 患者的提上睑肌标本中,我们观察到遮盖范围 ≤ 4 mm 组标本纤维化程度最高,这可能是由于其标本中含有较多的提上睑肌腱膜组织,而腱膜组织富含胶原纤维。研究表明,提上睑肌在 Whitnall 韧带附近逐渐移行为腱膜组织,在显微镜下可以观察到骨骼肌纤维逐渐转变为胶原纤维^[15]。本研究中遮盖范围 ≤ 4 mm 组部分标本中不含肌纤维而仅含纤维结缔组织,术中提上睑肌缩短量普遍小于 10 mm,这表明靠近上睑板的提上睑肌腱膜组织不含骨骼肌纤维。此外,在 SCP 患者 3 个组标本中均未观察到再生肌纤维、萎缩性肌纤维和炎性细胞浸润等骨骼肌营养不良的特征性病理改变。从临床表现来看,SCP 患者的上睑下垂症状大多自出生起即被发现,并且无明显的进行性加重,这与骨骼肌营养不良的典型临床表现不符^[17],因此本研究结果支持 SCP 的发病机制为骨骼肌发育不全。

本研究的创新点在于观察到 SCP 患者的提上睑肌中含有平滑肌细胞,这类肌细胞是位于提上睑肌肌腹部而非 Müller 肌中。Müller 肌是上眼睑的平滑肌,其从睑板上 10~14 mm 处、提上睑肌的下侧发出,与提上睑肌腱膜共同附着于上睑板,形成提上睑肌腱膜-Müller 肌复合体^[18]。在提上睑肌缩短术中获得的标本可能是该复合体^[13]。因此同时观察到骨骼肌和平滑肌时,平滑肌常被视为 Müller 肌,然而,Müller 肌位于上睑板和 Whitnall 韧带之间,其与提上睑肌腱膜连接疏松而与结膜连接紧密,术者沿着腱膜后间隙能够尽可能将其与提上睑肌分离^[19-20]。本研究在取材时发现,遮盖范围 ≤ 4 mm 组患者术中提上睑肌的分离范围大多位于 Whitnall 韧带之下,因此其标本可能混有少量 Müller 肌。但在遮盖范围 >4 mm 患者的手术中,提上睑肌分离的位置往往在 Whitnall 韧带之上,取材时基本不会截取到 Müller 肌,因此按照理论来说,遮盖范围 >4 mm 患者标本中应几乎不含有平滑肌纤维。但本研究中遮盖范围 >4 mm $\sim\leq 6$ mm 组及遮盖范围 >6 mm 组大部分标本中仍可观察到较多平滑肌纤

维,这表明遮盖范围 >4 mm 患者提上睑肌中含有平滑肌细胞。Alshehri 等^[14]研究发现,SCP 患者 Müller 肌中的平滑肌纤维数量减少,Müller 肌呈纤维化改变,其病理特征与本研究遮盖范围 >4 mm $\sim\leq 6$ mm 组及遮盖范围 >6 mm 组标本中平滑肌纤维增多的病理特征并不相符,这也进一步证实了本研究的观点。

研究显示,提上睑肌中的骨骼肌细胞是由眶周间充质细胞分化而来,Müller 肌中平滑肌细胞的来源尚存争议,但有研究推测其也可能来源于眶周间充质细胞,表明二者在组织学上可能具有同源性^[21-23]。在正常人提上睑肌和 Müller 肌的连续组织切片上可以观察到骨骼肌和平滑肌细胞在一定区域内互相交织在一起,解剖学上该区域大致定位在 Whitnall 韧带附近^[24]。正常人的这 2 种肌细胞为发育正常的骨骼肌与平滑肌细胞,而本研究在 SCP 患者 Whitnall 韧带以上的提上睑肌组织中观察到的平滑肌细胞不具有平滑肌细胞所特有的密斑、密体等结构,细胞质中肌丝排列紊乱,部分细胞器出现损伤,但免疫组织化学染色显示 α -SMA 在该细胞内呈阳性表达,证明了其为平滑肌源性,因此称之为异常的平滑肌细胞。胚胎学研究表明,提上睑肌、上直肌和上斜肌均由上中胚层复合体形成,提上睑肌在胚胎发育的第 16 周与上直肌分离后进一步发育^[11,19]。提上睑肌中骨骼肌细胞的发育受肌肉神经分布和多种信号通路的调节,其在胚胎发育至分娩后 6 个月期间对内部因素的改变都十分敏感^[21]。由于平滑肌的神经支配、分化调节因子及信号传导通路均与骨骼肌有较大差异^[25-26],因此本研究认为这类异常的平滑肌细胞可能会直接或间接影响提上睑肌,尤其是提上睑肌前部的骨骼肌发育过程,与骨骼肌纤维数量减少相关,这可以解释为何其他研究在影像学上观察到患者提上睑肌前部的病理改变更加严重^[27]。目前尚不清楚是何种因素导致了 SCP 患者的提上睑肌中平滑肌细胞异常,具体的分子病理学机制也有待进一步研究。本研究结果表明,SCP 的发病机制可能不仅是提上睑肌中骨骼肌纤维的病变,还涉及到提上睑肌中平滑肌纤维的病理改变,这为 SCP 的基础研究提供了新的思路。

本研究仍存在一定的局限性。由于目前暂无合适的方法获取到同年龄段的正常标本进行病理观察,本研究中对照组标本均来自于遗体捐献者,人群以 50 岁以上的中老年人为主,与观察组年龄不匹配。SCP 患者提上睑肌的病理改变与年龄的相关性目前尚存争议^[8-9,11],后续的研究需选取相同下垂程度的不同年龄段患者,进一步探讨这些病理改变与年龄的相关性。

尽管本研究中所有手术均由同一位经验丰富的眼整形科医生进行,并遵循靠近提上睑肌肌腹部取材的原则,然而不同下垂程度患者的取材部位仍然存在差异,故在进行病理分析时,需将病理标本的观察结果与其取材部位相结合,以便更合理地探讨 SCP 的发病机制。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

志谢 武汉科技大学附属天佑医院病理科刘蓓、亢铭淇医师参与本研究的病理阅片,透射电子显微镜的检查结果由中国科学院武汉病毒研究所提供

作者贡献声明 罗彦竹:采集数据,研究实施,参与选题、设计及资料的分析 and 解释,统计分析,论文撰写;黎冬平、王育红:酝酿和设计实验,分析数据,对文章的知识性内容作批判性审阅,提供经费;周娜、李俊萍:采集数据、分析数据,修改论文关键性结果和结论

参考文献

- [1] 杨军,李冬梅,欧阳天祥,等. 上睑下垂诊治专家共识[J]. 中华医学杂志, 2017, 97(6): 406-411. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 0376-2491. 2017. 06. 002.
- [2] SooHoo JR, Davies BW, Allard FD, et al. Congenital ptosis [J]. Surv Ophthalmol, 2014, 59(5): 483-492. DOI: 10. 1016/j. survophthal. 2014. 01. 005.
- [3] Griepentrog GJ, Diehl NN, Mohney BG. Incidence and demographics of childhood ptosis [J]. Ophthalmology, 2011, 118(6): 1180-1183. DOI: 10. 1016/j. ophtha. 2010. 10. 026.
- [4] Wang Y, Xu Y, Liu X, et al. Amblyopia, strabismus and refractive errors in congenital ptosis: a systematic review and meta-analysis [J/OL]. Sci Rep, 2018, 8(1): 8320 [2021-05-01]. https://pubmed. ncbi. nlm. nih. gov/29844360/. DOI: 10. 1038/s41598-018-26671-3.
- [5] 胡蓉,李冬梅,侯志嘉,等. 先天性上睑下垂的屈光状态及弱视情况 [J]. 中华眼视光学与视觉科学杂志, 2016, 18(5): 302-305. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 1674-845X. 2016. 05. 011.
Hu R, Li DM, Hou ZJ, et al. Refractive error and amblyopia in congenital ptosis [J]. Chin J Optom Ophthalmol Vis Sci, 2016, 18(5): 302-305. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 1674-845X. 2016. 05. 011.
- [6] Baldwin HC, Manners RM. Congenital blepharoptosis: a literature review of the histology of levator palpebrae superioris muscle [J]. Ophthalmic Plast Reconstr Surg, 2002, 18(4): 301-307. DOI: 10. 1097/01. IOP. 0000021973. 72318. 07.
- [7] 李洋,李彬,李冬梅,等. 先天性上睑下垂患者提上睑肌腱膜的病理改变 [J]. 中华实验眼科杂志, 2013, 31(12): 1125-1130. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 2095-0160. 2013. 12. 007.
Li Y, Li B, Li DM, et al. Histopathological change of levator aponeurosis in patients with congenital blepharoptosis [J]. Chin J Exp Ophthalmol, 2013, 31(12): 1125-1130. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 2095-0160. 2013. 12. 007.
- [8] Surve A, Sharma MC, Pushker N, et al. A study of changes in levator muscle in congenital ptosis [J]. Int Ophthalmol, 2019, 39(6): 1231-1238. DOI: 10. 1007/s10792-018-0931-1.
- [9] Nalci Baytaroglu H, Kaya B, Korkusuz P, et al. A study of histopathologic evaluation and clinical correlation for isolated congenital myogenic ptosis and aponeurotic ptosis [J]. Ophthalmic Plast Reconstr Surg, 2020, 36(4): 380-384. DOI: 10. 1097/IOP. 0000000000001564.
- [10] Edmunds B, Manners RM, Weller RO, et al. Levator palpebrae superioris fibre size in normals and patients with congenital ptosis [J]. Eye (Lond), 1998, 12(Pt 1): 47-50. DOI: 10. 1038/eye. 1998. 8.
- [11] Quaranta-Leoni FM, Secondi R, Quaranta-Leoni F, et al. Histological findings of levator muscle in unilateral congenital ptosis in different age groups [J/OL]. Acta Ophthalmol, 2020, 98(3): e363-e367 [2021-04-26]. https://pubmed. ncbi. nlm. nih. gov/31654462/. DOI: 10. 1111/aos. 14284.
- [12] Wabbels B, Schroeder JA, Voll B, et al. Electron microscopic findings in levator muscle biopsies of patients with isolated congenital or acquired ptosis [J]. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol, 2007, 245(10): 1533-1541. DOI: 10. 1007/s00417-007-0603-8.
- [13] Iljin A, Zielinska A, Karasek M, et al. Structural abnormalities in the levator palpebrae superioris muscle in patients with congenital blepharoptosis [J]. Ophthalmic Surg Lasers Imaging, 2007, 38(4): 283-289. DOI: 10. 3928/15428877-20070701-03.
- [14] Alshehri MD, Al-Fakey YH, Alkhalidi HM, et al. Microscopic and ultrastructural changes of Müller's muscle in patients with simple congenital ptosis [J]. Ophthalmic Plast Reconstr Surg, 2014, 30(4): 337-341. DOI: 10. 1097/IOP. 000000000000104.
- [15] Kakizaki H, Zako M, Nakano T, et al. The levator aponeurosis consists of two layers that include smooth muscle [J]. Ophthalmic Plast Reconstr Surg, 2005, 21(5): 379-382.
- [16] Pan E, Nie YF, Wang ZJ, et al. Aponeurosis of the levator palpebrae superioris in Chinese subjects: a live gross anatomy and cadaveric histological study [J/OL]. Medicine (Baltimore), 2016, 95(31): e4469 [2021-04-27]. https://pubmed. ncbi. nlm. nih. gov/27495084/. DOI: 10. 1097/MD. 0000000000004469.
- [17] Mercuri E, Muntoni F. Muscular dystrophies [J]. Lancet, 2013, 381(9869): 845-860. DOI: 10. 1016/S0140-6736(12)61897-2.
- [18] Ng SK, Chan W, Marcet MM, et al. Levator palpebrae superioris: an anatomical update [J]. Orbit, 2013, 32(1): 76-84. DOI: 10. 3109/01676830. 2012. 736602.
- [19] Morris CL, Morris WR, Fleming JC. A histological analysis of the Müllerectomy: redefining its mechanism in ptosis repair [J]. Plast Reconstr Surg, 2011, 127(6): 2333-2341. DOI: 10. 1097/PRS. 0b013e318213a0cc.
- [20] Takahashi Y, Nakano T, Ikeda H, et al. Post-levator aponeurosis fat pad [J]. J Craniofac Surg, 2016, 27(8): 2171-2172. DOI: 10. 1097/SCS. 00000000000003088.
- [21] Ploock J, Contaldo C, von Lüdinghausen M. Levator palpebrae superioris muscle in human fetuses: anatomical findings and their clinical relevance [J]. Clin Anat, 2005, 18(7): 473-480. DOI: 10. 1002/ca. 20192.
- [22] Sevel D. A reappraisal of the development of the eyelids [J]. Eye (Lond), 1988, 2(Pt 2): 123-129. DOI: 10. 1038/eye. 1988. 25.
- [23] Zhang Y, Kao WW, Pelosi E, et al. Notch gain of function in mouse periorbital mesenchyme downregulates FoxL2 and impairs eyelid levator muscle formation, leading to congenital blepharophimosis [J]. J Cell Sci, 2011, 124(Pt 15): 2561-2572. DOI: 10. 1242/jcs. 085001.
- [24] Kakizaki H, Ikeda H, Nakano T, et al. Junctional variations of the levator palpebrae superioris muscle, the levator aponeurosis, and Müller muscle in Asian upper eyelid [J]. Ophthalmic Plast Reconstr Surg, 2011, 27(5): 380-383. DOI: 10. 1097/IOP. 0b013e318213f5d9.
- [25] Liu CY. Wakayama Symposium: Notch-FoxL2- α -SMA axis in eyelid levator muscle development and congenital blepharophimosis [J]. Ocul Surf, 2012, 10(4): 221-223. DOI: 10. 1016/j. jtos. 2012. 07. 003.
- [26] Ye L, Yao Y, Guo H, et al. Exogenous skeletal muscle satellite cells promote the repair of levator palpebrae superioris mechanical damage in rat [J]. Connect Tissue Res, 2019, 60(2): 128-135. DOI: 10. 1080/03008207. 2018. 1465054.
- [27] 孙倩,李冬梅,姜虹,等. 单纯性先天性上睑下垂患者提上睑肌形态学磁共振测量研究 [J]. 眼科, 2012, 21(3): 201-205.
Sun Q, Li DM, Jiang H, et al. Levator palpebrae superioris evaluation in congenital blepharoptosis: pathogenesis investigation by magnetic resonance imaging analysis [J]. Ophthalmol CHN, 2012, 21(3): 201-205.

(收稿日期:2021-05-17 修回日期:2021-11-01)

(本文编辑:刘艳 施晓萌)