

· 实验研究 ·

# 基于体外分区囊袋模型的不同类型人工晶状体对晶状体上皮细胞迁移的抑制作用

廉飞玥 李阳 姜凌峰 沈皓月 赵江月 严肖啸 于佳明 秦宇

中国医科大学附属第四医院眼科 辽宁省晶状体学重点实验室, 沈阳 110005

通信作者: 秦宇, Email: qinyubb@126.com

**【摘要】** 目的 构建体外分区囊袋模型, 探讨不同类型 360° 连续直角边缘人工晶状体 (IOL) 对晶状体上皮细胞 (LECs) 迁移的抑制作用。方法 使用 Transwell 小室、细胞爬片、人源 IV 型胶原、IOL 建立后发性白内障 (PCO) 体外分区囊袋模型作为模型组, 并设置一个空白处理的 Transwell 小室作为对照组。人 LECs 细胞系 SRA01/04 培养于各组 Transwell 小室中, 应用倒置显微镜观察各组中 PCO 早期病理表现; 采用苏木精-伊红染色观察各组细胞形态改变。根据体外分区囊袋模型植入的 IOL 类型分为平台板式 HydroSmart 组、C 型 HydroSmart 组、C 型补偿 Hydrophobic 组, 并设置不植入 IOL 为空白对照组。应用 Transwell 法检测各组 IOL 前囊膜区迁移细胞数目并计算前囊膜细胞迁移抑制率; 应用细胞排斥区分析法检测各组 IOL 后囊膜区细胞迁移数目并计算后囊膜细胞迁移抑制率。结果 模型组细胞培养 48 h 后体外分区囊袋模型后囊膜区可见细胞形成类似早期 Soemmering 环和小型 Elschnig 珍珠样小体等 PCO 特征性病理表现; 苏木精-伊红染色显示模型组迁移的细胞呈纤维状。对照组中均未见类似细胞分布及形态改变。平台板式 HydroSmart 组、C 型 HydroSmart 组、C 型补偿 Hydrophobic 组前囊膜区域单位面积迁移细胞计数分别为  $18.80 \pm 5.53$ 、 $24.67 \pm 9.80$  和  $34.47 \pm 10.80$ , 后囊膜光学部移行区迁移细胞计数分别为  $56.43 \pm 9.00$ 、 $162.20 \pm 16.38$  和  $121.30 \pm 12.01$ , IOL 前囊膜细胞迁移抑制率分别为  $(92.02 \pm 1.94)\%$ 、 $(89.76 \pm 3.10)\%$  和  $(86.27 \pm 4.54)\%$ ; 后囊膜细胞迁移抑制率分别为  $(91.60 \pm 3.65)\%$ 、 $(70.14 \pm 5.35)\%$  和  $(78.43 \pm 3.48)\%$ 。平台板式 HydroSmart 组前囊膜区迁移细胞数目明显少于 C 型补偿 Hydrophobic 组, 细胞迁移抑制率明显高于 C 型补偿 Hydrophobic 组, 差异均有统计学意义 (均  $P < 0.05$ ); 平台板式 HydroSmart 组后囊膜光学部移行区迁移细胞数、细胞迁移抑制率明显高于 C 型 HydroSmart 组和 C 型补偿 Hydrophobic 组, 差异均有统计学意义 (均  $P < 0.001$ )。结论 成功构建体外分区囊袋模型。与 C 型 HydroSmart IOL、C 型补偿 Hydrophobic IOL 相比, HydroSmart 平台板式 IOL 能更有效抑制 LECs 的迁移。

**【关键词】** 白内障; 后囊膜混浊; 细胞迁移抑制; 人工晶状体; 晶状体上皮细胞; 体外囊袋模型

**基金项目:** 国家自然科学基金青年基金项目 (81600717); 辽宁省自然科学基金项目 (201602851、2021-MS-200); “双一流” 国家自然科学基金培育项目 (114-3111210504)

DOI: 10.3760/cma.j.cn115989-20200514-00346

## Inhibition of lens epithelial cell migration using different square-edge intraocular lenses in an *in vitro* capsular bag model

Lian Feiyue, Li Yang, Jiang Lingfeng, Shen Haoyue, Zhao Jiangyue, Yan Xiaoxiao, Yu Jiaming, Qin Yu

Department of Ophthalmology, the Fourth Affiliated Hospital of China Medical University, Key Lens Research Laboratory of Liaoning Province, Shenyang 110005, China

Corresponding author: Qin Yu, Email: qinyubb@126.com

**[Abstract]** **Objective** To establish an *in vitro* capsular bag model and compare the inhibitory effects of different 360° square-edge intraocular lens (IOL) on lens epithelial cells (LECs) migration. **Methods** *In vitro* capsular bag model with posterior capsule opacification (PCO) was established using Transwell compartment, cell climbing slices, human collagen type IV, and IOL. The models were divided into Plate-loop HydroSmart group, C-loop HydroSmart group, and C-compensation-loop Hydrophobic group according to the different square-edge IOL implanted. A blank control group was set using the Transwell compartment without IOL. The early PCO pathological manifestations in lens epithelial cell line SRA01/04 cultured in the Transwell compartment were observed with an inverted microscope. The cell morphology in different groups was observed by hematoxylin and eosin staining. The cell counting and cell migration inhibition rate of anterior capsule and posterior capsule were calculated by Transwell assay and cell-exclusion zone assay, respectively. **Results** The early pathological characteristics of PCO, such as early Soemmering ring and small Elschnig pearl, could be found in cells in the *in vitro* capsular bag model after 48-hour

culture. The migrating cells in model groups were fibrous. No changes mentioned above were found in blank control group. The number of migrating cells in the anterior capsule of Plate-loop HydroSmart group, C-loop HydroSmart group, C-compensation-loop Hydrophobic group was  $18.80 \pm 5.53$ ,  $24.67 \pm 9.80$ , and  $34.47 \pm 10.80$ , respectively, and the number of migrating cells in the optical area of the posterior capsule of the three groups was  $56.43 \pm 9.00$ ,  $162.20 \pm 16.38$ , and  $121.30 \pm 12.01$ , respectively. The cell migration inhibition rate in the anterior capsule of Plate-loop HydroSmart group, C-loop HydroSmart group, C-compensation-loop Hydrophobic group was  $(92.02 \pm 1.94)\%$ ,  $(89.76 \pm 3.10)\%$ ,  $(86.27 \pm 4.54)\%$ , respectively, and the cell migration inhibition rate in optical area of the posterior capsule of the three groups was  $(91.60 \pm 3.65)\%$ ,  $(70.14 \pm 5.35)\%$ ,  $(78.43 \pm 3.48)\%$ , respectively. The number of migrating cells in the anterior capsule was lower and the cell migration rate inhibition was higher in Plate-loop HydroSmart group than C-compensation-loop Hydrophobic group, with significant differences (both at  $P < 0.05$ ). The number of migrating cells in the optical area of the posterior capsule and the cell migration inhibition rate was greater than those of C-loop HydroSmart group and C-compensation-loop Hydrophobic group, showing statistically significant differences (all at  $P < 0.001$ ).

**Conclusions** The *in vitro* capsular bag model can be used in PCO research. Compared with C-loop HydroSmart IOL and C-compensation-loop Hydrophobic IOL, Plate-loop HydroSmart IOL can more effectively inhibit the migration of LECs to the optical area of the posterior capsule.

**[Key words]** Cataract; Capsule opacification; Cell migration inhibition; Lenses, intraocular; Lens epithelial cells; *In vitro* capsular bag model

**Fund program:** Youth Program of the National Natural Science Foundation of China (81600717); Natural Science Foundation of Liaoning Province (201602851, 2021-MS-200); the National Natural Science Foundation of China (Nuture) (114-3111210504)

DOI: 10.3760/cma.j.cn115989-20200514-00346

后发性白内障 (posterior capsular opacification, PCO) 是白内障术后严重影响视觉质量的并发症之一, 目前主要治疗方式为 YAG 激光和二次手术。随着患者对术后视觉质量要求的不断提高, 激光或手术治疗带来的人工晶状体 (intraocular lens, IOL) 损伤或移位等并发症逐渐得到重视。已有研究表明,  $360^\circ$  连续直角边缘 IOL 能有效抑制晶状体上皮细胞 (lens epithelial cells, LECs) 向后囊膜迁移, 而不同  $360^\circ$  连续直角边缘 IOL 的 PCO 发生率存在差异<sup>[1]</sup>。目前, 关于不同  $360^\circ$  连续直角边缘 IOL 在 PCO 预防中作用的体外实验研究仍然较少, 其中一部分原因可能在于囊袋模型构建的限制<sup>[2-4]</sup>。早期囊袋模型是由动物眼球囊袋及人晶状体囊袋构建, 除囊袋来源受限外, 模型的稳定性也较差<sup>[5-11]</sup>。近年来, 使用细胞培养小室构建 PCO 体外囊袋模型的新方法出现<sup>[12-14]</sup>, 但该类模型尚无法准确模拟术后晶状体囊内 IOL 与前、后囊膜的位置关系, 缺乏对囊袋不同部位 LECs 状态的反映, 这些问题也是 PCO 预防研究的关键<sup>[15-18]</sup>。本研究拟设计体外分区囊袋模型, 为现有体外囊袋模型存在的问题提出可能的解决方案。同时, 本研究拟使用体外分区囊袋模型比较目前常用的 3 种类型  $360^\circ$  连续直角边缘 IOL 对 LECs 迁移的抑制作用, 为 IOL 改良以预防 PCO 提供新的参考和依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

**1.1.1 细胞来源** 人 LECs 细胞系 SRA01/04 购于 ATCC 细胞库, 经过细胞 STR 验证。

**1.1.2 IOL 类型** 使用 3 种一片式、光学部光滑无雕刻、后表面  $360^\circ$  连续直角边缘设计的 IOL: 平台板式祥 HydroSmart IOL、C 型祥 HydroSmart IOL 和 C 型补偿祥 Hydrophobic IOL, 其中平台板式祥 HydroSmart 和 C 型祥 HydroSmart 光学设计为双等凸  $0^\circ$  祥夹角, C 型补偿祥 Hydrophobic 为后凸型。

**1.1.3 主要试剂及仪器** Transwell 小室 (REF3422, 美国 Corning 公司); 细胞爬片 (WHB24CS、WHB48CS, 上海卧宏生物科技有限公司); 人源 IV 型胶原 (C7521)、转化生长因子  $\beta$  (transforming growth factor- $\beta$ , TGF- $\beta$ ) (GF113)、二甲基亚砜 (dimethyl sulfoxide, DMSO) (CAS-67685) (美国 Sigma 公司); 胎牛血清 (fetal bovine serum, FBS) (FBSSA500-S, 澳大利亚 AusGeneX 公司); DMEM 高糖培养液 (SH30021)、青-链霉素双抗 (SV-30010) (美国 HyClone 公司); 苏木素染液 (MB9798-2)、伊红染液 (MA0164) (大连美仑生物技术有限公司)。荧光照相显微镜、解剖显微镜 (日本 Olympus 公司); 凝胶成像及分析系统 (美国 Alpha Iromotech 公司); 低温超速离心机 (美国 Thermo 公司); 多功能酶标仪 (德国 Berthold 公司)。

### 1.2 方法

**1.2.1 体外分区囊袋模型构建及细胞培养** 将 IV 型胶原均匀涂布于小室迁移膜上底面中央 5 mm 直径范

围。于 37 ℃ 湿润环境中静置 8~24 h, 直至形成稳定的胶原膜; 同样的方法制备 8 mm 和 14 mm 胶原膜细胞爬片, 构建体外分区囊袋模型。体外分区囊袋模型可分为前囊膜区(小室下表面区)和后囊膜区(爬片区), 后囊膜区又可分为后囊膜边缘区(14 mm 爬片区)和后囊膜祥光学部移行区(8 mm 爬片区)(图 1)。将 SRA01/04 细胞培养于含体积分数 10% FBS、100 U/ml(U 为商品单位)青霉素和 100 mg/ml 链霉素的 DMEM 培养液中, 于 37 ℃、体积分数 5% CO<sub>2</sub> 培养箱中常规培养, 待细胞达 75% 融合时以质量分数 0.25% 胰蛋白酶消化细胞并传代。调整细胞密度约  $5 \times 10^3$ /ml, 均匀接种于 Transwell 小室上底面和细胞爬片的周围区域, 培养 6~8 h 待细胞贴壁后, 向小室中加入 10 ng/ml 的 TGF- $\beta$ , 植入 C 型祥 HydroSmart IOL 作为模型组; 并设置未植入 IOL 的 Transwell 小室作为对照组, 细胞按同样密度均匀接种于小室上底面及下室对应爬片的周围区域。各组细胞分别于 37 ℃、5% CO<sub>2</sub> 细胞培养箱中培养 48 h, 进行后续实验。

**1.2.2 倒置显微镜下观察体外分区囊袋模型早期 PCO 病理表现** 体外培养细胞 48 h, 将体外分区囊袋模型 Transwell 小室、8 mm 及 14 mm 细胞爬片拆分后各自放入含有 DMEM 培养液的 24 孔板中, 倒置显微镜下观察各区细胞分布, 并观察早期 Sommering 环和小型 Elschnig 珍珠样小体等 PCO 特征性病理表现。

**1.2.3 苏木精-伊红染色观察体外分区囊袋模型细胞形态变化** 体外培养细胞 48 h, 吸除 Transwell 小室培养孔细胞培养液及各爬片培养孔内细胞培养液, 磷

酸盐缓冲液(phosphate buffer solution, PBS)浸洗 2 次; 取上室下表面及下室细胞爬片上的细胞, 质量分数 4% 多聚甲醛固定 20 min, PBS 轻柔浸洗; 苏木素染液浸染 15~20 min, 无菌水浸洗 1 次, 伊红浸染 3~5 min, 无菌水浸洗去除杂色; 光学显微镜下观察细胞纤维化状态并拍照。

**1.2.4 实验分组处理** 根据 IOL 类型将实验分为平台板式祥 HydroSmart 组、C 型祥 HydroSmart 组和 C 型补偿祥 Hydrophobic 组, 将相应类型 IOL 分别植入体外分区囊袋模型中, 同时设置不植入 IOL 的体外分区囊袋模型作为空白对照组。参照 1.2.1 方法进行细胞接种和培养。

**1.2.5 Transwell 法检测 IOL 前囊膜区细胞迁移** 各组细胞培养 48 h, 移除模型上室及下室细胞培养液, PBS 浸洗 30 s, 于模型上室加入 250  $\mu$ l 含 5% FBS 的新鲜培养液, 下室加入 500  $\mu$ l 含 15% FBS 的新鲜培养液, 并置于 37 ℃、5% CO<sub>2</sub> 细胞培养箱中继续培养 10 h; 吸除小室培养液, 用棉签拭去上室上底面细胞, 4% 多聚甲醛固定后行苏木精-伊红染色。随机选取前囊膜区 3 个等距视野作为计数区域(图 2A), 倒置显微镜下拍照, 采用 ImageJ 软件计数迁移细胞; 每组设置 5 个平行对照, 计数单位面积为 500  $\mu$ m $\times$ 400  $\mu$ m, 每张照片重复计数 3 次, 取各组细胞计数的平均值作为最终细胞计数结果。前囊膜细胞迁移抑制率=(空白对照组前囊膜区单位面积细胞数-IOL 组前囊膜区计数区域单位面积细胞数)/空白对照组前囊膜区单位面积细胞数 $\times$ 100%。

**1.2.6 细胞排斥区分析法检测 IOL 后囊膜祥光学部移行区细胞迁移** 各组细胞培养 48 h, 移除后囊膜区原细胞培养液、Transwell 小室上室及 IOL, PBS 浸洗培养孔后加入不含血清的新鲜培养液, 置于 37 ℃、5% CO<sub>2</sub> 细胞培养箱中继续培养 24 h; 取各组模型体系后囊膜区 8 mm 细胞爬片于新的 24 孔板细胞培养孔中, PBS 浸洗、4% 多聚甲醛固定, 行苏木精-伊红染色。选取后囊膜祥光学部移行区 2 个对称区域作为计数区域(图 2B), 倒置显微镜下拍照, 采用 ImageJ 软件进行迁移细胞计数; 每组设置 5 个平行对照, 计数区域单位面积为 1 500  $\mu$ m $\times$ 1 200  $\mu$ m, 每张照片重复计数 3 次, 取平均值作为最终细胞计数结果。后囊膜细胞迁移抑制率=(空白对照组后囊膜祥光学部移行区单位面积细胞数-IOL 组后囊膜祥光学部移行区单位面积细胞数)/空白对照组后囊膜祥光学部移行区单位面积细胞数 $\times$ 100%。

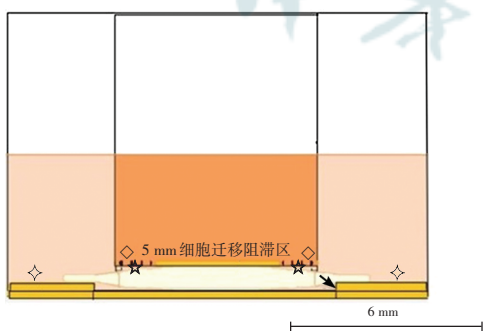


图 1 体外分区囊袋模型示意图(标尺=6 mm) ◇:小室上底面晶状体上皮细胞培养区;☆:迁移至小室下表面的晶状体上皮细胞;◇:细胞爬片周围区域;↑:8 mm 及 14 mm 细胞爬片

**Figure 1 The diagrammatic sketch of *in vitro* capsular bag model** (bar = 6 mm) ◇: Lens epithelial cells on the upper surface of the chamber; ☆: Lens epithelial cells that migrated to the lower surface of the chamber; ◇: Area around cell slides; ↑: 8 mm and 14 mm cell slides

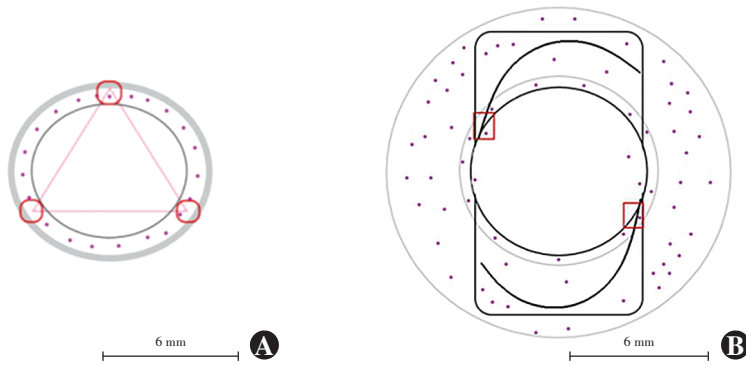


图 2 体外分区囊袋模型计数区域示意图(标尺=6 mm) 红色标记框内为计数区域  
A:前囊膜区计数区域 计数单位面积为  $500\ \mu\text{m}\times 400\ \mu\text{m}$  B:后囊膜祥光学部移行区计数区域 计数单位面积为  $1\ 500\ \mu\text{m}\times 1\ 200\ \mu\text{m}$

**Figure 2 Cell counting areas in the *in vitro* capsular bag model (bar = 6 mm)** Areas within red boxes were cell counting areas A: Anterior capsule Cell counting area of  $500\ \mu\text{m}\times 400\ \mu\text{m}$  B: Optical area of posterior capsule Cell counting area of  $1\ 500\ \mu\text{m}\times 1\ 200\ \mu\text{m}$

### 1.3 统计学方法

采用 GraphPad Prism 8.0.2 软件进行统计分析。本研究中定量资料经 Skenwnness-Kurtosis 检验符合正态分布,以  $\bar{x}\pm s$  表示。各组细胞迁移抑制率总体差异比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 LSD-*t* 检验。 $P<0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 体外分区囊袋模型验证

培养 48 h 后,倒置显微镜下观察可见模型组后囊膜区细胞主要分布于后囊膜边缘,迁移至 IOL 下方的细胞数目较少;后囊膜边缘区可见类似早期 Soemmering 环的形态,并可见由后囊膜边缘区向后囊膜中央迁入的不具有典型 LECs 结构、相对于人 LECs 体积较小的小型 Elschmig 珍珠样小体形态。对照组下室对应区域未见类似形态改变(图 3)。

### 2.2 体外分区囊袋模型细胞形态改变

苏木精-伊红染色结果显示,模型组小室下表面前囊膜区可见细胞的细胞质红染,呈梭形、纺锤形,而对照组细胞呈三角形、长方形、椭圆形等;模型组后囊膜区可见迁移的细胞,细胞呈纤维状,胞质较少,对照组下室对应区域可见细胞的细胞质较丰富且形态多样(图 4)。

### 2.3 各组前囊膜区迁移细胞数目及细胞迁移抑制率比较

平台板式祥 HydroSmart 组、C 型祥 HydroSmart 组、C 型补偿祥 Hydrophobic 组和空白对照组前囊膜区迁移细胞数总体比较,差异有统计学意义( $F=1\ 287.00$ ,  $P<0.001$ ),其中平台板式祥 HydroSmart 组、C 型祥

HydroSmart 组、C 型补偿祥 Hydrophobic 组迁移至前囊膜区的细胞数目明显少于空白对照组,C 型补偿祥 Hydrophobic 组迁移细胞数目明显多于平台板式祥 HydroSmart 组和 C 型祥 HydroSmart 组,差异均有统计学意义(均  $P<0.05$ ) (图 5,表 1)。各 IOL 组前囊膜区细胞迁移抑制率总体比较差异有统计学意义( $F=11.12$ ,  $P<0.001$ ),其中 C 型补偿祥 Hydrophobic 组迁移抑制率明显低于平台板式祥 HydroSmart 组和 C 型祥 HydroSmart 组,差异均有统计学意义(均  $P<0.01$ ) (表 2)。

### 2.4 各组后囊膜祥光学部移行区迁移细胞数及细胞迁移抑制率比较

各组后囊膜祥光学部移行区细胞计数总体比较差异有统计学意义( $F=4\ 018.00$ ,  $P<0.001$ ),其中平台板式祥 HydroSmart 组、补偿祥 Hydrophobic 组和 C 型祥 HydroSmart 组迁移细胞计数依次增加,各组间比较差异均有统计学意义(均  $P<0.001$ ) (图 5,表 3)。各 IOL 组移行区细胞迁移抑制率总体比较差异有统计学意义( $F=87.04$ ,  $P<0.001$ ),其中平台板式祥 HydroSmart 组、补偿祥 Hydrophobic 组和 C 型祥 HydroSmart 组细胞迁移抑制率依次降低,组间差异均有统计学意义(均  $P<0.001$ ) (表 4)。

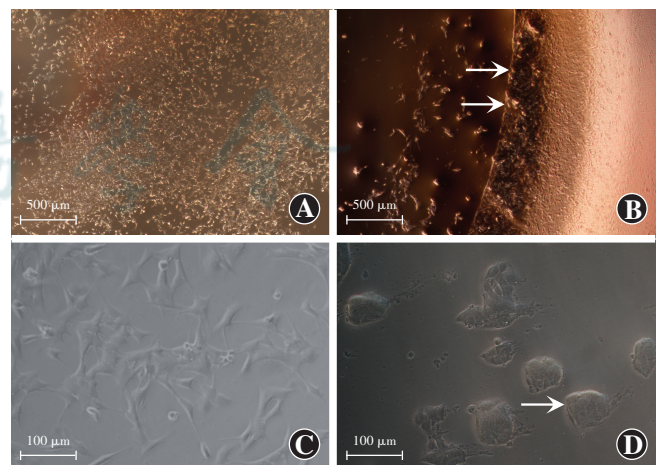


图 3 模型组与对照组体外分区囊袋模型对比观察 A:对照组(标尺=500  $\mu\text{m}$ ) B:模型组(标尺=500  $\mu\text{m}$ ) 可见早期 Soemmering 环形态(箭头) C:对照组细胞形态高倍镜图(标尺=100  $\mu\text{m}$ ) D:模型组细胞形态高倍镜图(标尺=100  $\mu\text{m}$ ) 可见小型 Elschmig 珍珠样小体(箭头)

**Figure 3 Morphological observation of model group and control group** A: Control group (bar =  $500\ \mu\text{m}$ ) B: Model group (bar =  $500\ \mu\text{m}$ ) Soemmering ring (arrow) in the early phase was observed C: High magnification image of control group (bar =  $100\ \mu\text{m}$ ) D: High magnification image of model group (bar =  $100\ \mu\text{m}$ ) Small Elschmig pearls (arrow) were found

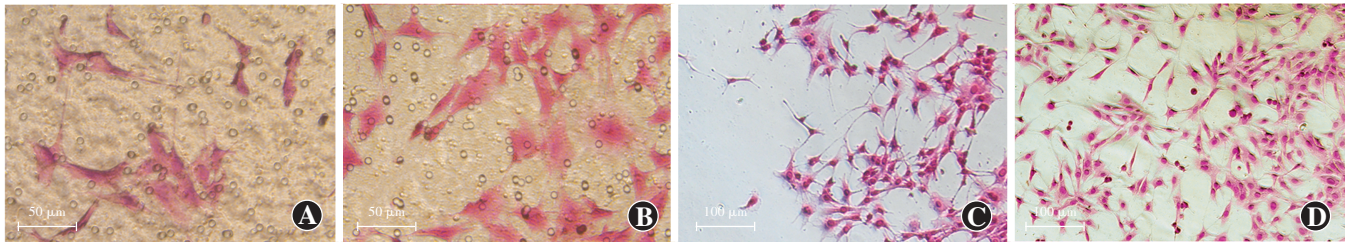


图 4 体外分区囊袋模型各分区细胞苏木精-伊红染色观察 A:模型组前囊膜区细胞(标尺=50 μm) 细胞质红染,呈梭形、纺锤形 B:对照组前囊膜区细胞(标尺=50 μm) 细胞呈三角形、长方形、椭圆形 C:模型组后囊膜区细胞(标尺=100 μm) 细胞呈纤维状,细胞质较少 D:对照组后囊膜区细胞(标尺=100 μm) 细胞质较丰富、形态多样

**Figure 4 Morphological observation of cells by hematoxylin and eosin staining in the *in vitro* capsular bag model** A:Cells in the anterior capsule of model group (bar=50 μm) Cytoplasm showed red staining, fusiform and spindle-shaped B:Cells in the anterior capsule of control group (bar=50 μm) Cells were triangular, rectangular, and oval C:Cells in the posterior capsule of model group (bar=100 μm) Cells were fibrous with little cytoplasm D:Cells in the posterior capsule of control group (bar=100 μm) Cells were with abundant cytoplasm and had diverse shapes

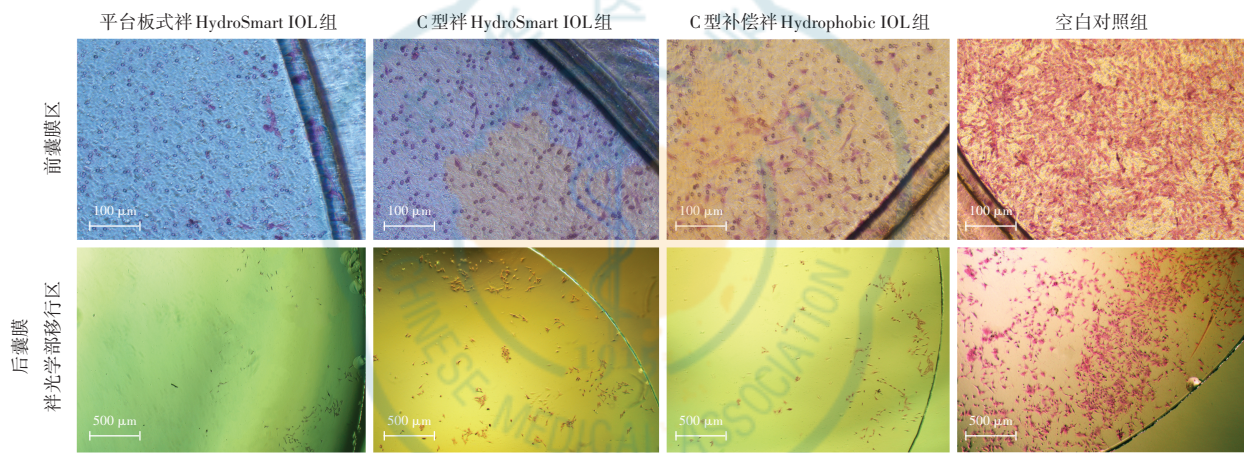


图 5 各组体外分区囊袋模型前、后囊膜计数区域细胞苏木精-伊红染色(前囊膜区:标尺=100 μm;后囊膜祥光学部移行区:标尺=500 μm)

**Figure 5 Hematoxylin and eosin staining of cells in cell counting areas of the anterior capsule and posterior capsule** (Anterior capsule; bar=100 μm; Optical area of the posterior capsule; bar=500 μm)

**表 1 各组体外分区囊袋模型前囊膜区迁移细胞数比较( $\bar{x}\pm s$ )**  
**Table 1 Comparison of the number of migrating cells in the anterior capsule among different groups ( $\bar{x}\pm s$ )**

组别	样本量	迁移细胞数目
空白对照组	15	236.70±40.02
C 型补偿祥 Hydrophobic 组	15	34.47±10.80 <sup>a</sup>
C 型祥 HydroSmart 组	15	24.67±9.80 <sup>ab</sup>
平台板式祥 HydroSmart 组	15	18.80±5.53 <sup>ab</sup>
F 值		1 287.00
P 值		<0.001

注:与空白对照组比较,<sup>a</sup> $P<0.001$ ;与 C 型补偿祥 Hydrophobic 组比较,<sup>b</sup> $P<0.05$ (单因素方差分析, LSD-*t* 检验)

Note: Compared with blank control group, <sup>a</sup> $P<0.001$ ; compared with C-compensation-loop Hydrophobic group, <sup>b</sup> $P<0.05$  (One-way ANOVA, LSD-*t* test)

**表 2 各 IOL 组体外分区囊袋模型前囊膜区细胞迁移抑制率比较( $\bar{x}\pm s, \%$ )**  
**Table 2 Comparison of cell migration inhibition rate in the anterior capsule among different groups ( $\bar{x}\pm s, \%$ )**

组别	样本量	细胞迁移抑制率
C 型补偿祥 Hydrophobic 组	15	86.27±4.54
C 型祥 HydroSmart 组	15	89.76±3.10 <sup>a</sup>
平台板式祥 HydroSmart 组	15	92.02±1.94 <sup>a</sup>
F 值		11.12
P 值		<0.001

注:与 C 型补偿祥 Hydrophobic 组比较,<sup>a</sup> $P<0.01$ (单因素方差分析, LSD-*t* 检验) IOL:人工晶状体

Note: Compared with C-compensation-loop Hydrophobic group, <sup>a</sup> $P<0.01$  (One-way ANOVA, LSD-*t* test) IOL: intraocular lens

**表 3 各组体外分区囊袋模型后囊膜祥光学部移行区  
迁移细胞数比较 ( $\bar{x} \pm s$ )**

**Table 3 Comparison of the number of migrating cells  
in the optical area of the posterior capsule among  
different groups ( $\bar{x} \pm s$ )**

组别	样本量	迁移细胞数目
空白对照组	10	568.60±82.53
C 型补偿祥 Hydrophobic 组	10	121.30±12.01 <sup>a</sup>
C 型祥 HydroSmart 组	10	162.20±16.38 <sup>ab</sup>
平台板式祥 HydroSmart 组	10	56.43±9.00 <sup>abc</sup>
F 值		4 018.00
P 值		<0.001

注:与空白对照组比较,<sup>a</sup> $P < 0.001$ ;与 C 型补偿祥 Hydrophobic 组比较,<sup>b</sup> $P < 0.001$ ;与 C 型祥 HydroSmart 组比较,<sup>c</sup> $P < 0.001$ (单因素方差分析, LSD-*t* 检验)

Note: Compared with blank control group, <sup>a</sup> $P < 0.001$ ; compared with C-compensation-loop Hydrophobic group, <sup>b</sup> $P < 0.001$ ; compared with C-loop HydroSmart group, <sup>c</sup> $P < 0.001$  (One-way ANOVA, LSD-*t* test)

**表 4 各 IOL 组体外分区囊袋模型后囊膜祥光学部移行区  
细胞迁移抑制率比较 ( $\bar{x} \pm s, \%$ )**

**Table 4 Comparison of cell migration inhibition rate  
in the optical area of the posterior capsule among  
different groups ( $\bar{x} \pm s, \%$ )**

组别	样本量	细胞迁移抑制率
C 型补偿祥 Hydrophobic 组	10	78.43±3.48
C 型祥 HydroSmart 组	10	70.14±5.35 <sup>a</sup>
平台板式祥 HydroSmart 组	10	91.60±3.65 <sup>ab</sup>
F 值		87.04
P 值		<0.001

注:与 C 型补偿祥 Hydrophobic 组比较,<sup>a</sup> $P < 0.001$ ;与 C 型祥 HydroSmart 组比较,<sup>b</sup> $P < 0.001$ (单因素方差分析, LSD-*t* 检验) IOL: 人工晶状体

Note: Compared with C-compensation-loop Hydrophobic group, <sup>a</sup> $P < 0.001$ ; compared with C-loop HydroSmart group, <sup>b</sup> $P < 0.001$  (One-way ANOVA, LSD-*t* test) IOL: intraocular lens

### 3 讨论

PCO 是白内障手术 IOL 植入后重要的并发症之一,其特征性改变为形成 Elschnig 珍珠样小体和 Soemmering 环<sup>[19]</sup>。LECs 绕过前囊膜边缘或由晶状体囊赤道部向后囊膜光学部中心区域迁移是 PCO 的早期改变,发生这一变化的主要原因是术后血-房水屏障破坏,大量细胞因子和炎症因子涌入前房和晶状体囊内,导致 LECs 异常迁移。目前常见的生物囊袋模型和细胞孔室模型稳定性较差,且无法反映前后囊膜与 IOL 间的位置关系,关于 PCO 体外囊袋模型的构建与评估目前尚未形成统一的标准。体外分区囊袋模型利用 IV 型胶原形成的胶原膜构建一个 48 h 内相对稳定的囊内微环境<sup>[20]</sup>,从而更好地模拟人 LECs、晶状体

囊膜及 IOL 间的相互作用,实现了对晶状体囊不同部位的分区模拟,有助于更精准、高效地探讨不同设计特点的新型 IOL 对 PCO 的预防和治疗作用,为 IOL 预防 PCO 的相关研究提供了一种新方法。尽管如此,体外分区囊袋模型依然有很大的局限性,例如该模型尚无法模拟术后液体环境中细胞因子等的动态变化,下一步可以在模型中增加一个梯度缓释系统<sup>[21-22]</sup>。另外,体外分区囊袋模型目前只能用于评估 PCO 早期细胞的迁移,尚无法体现更长期的病理改变,如囊膜皱缩等,未来可以通过选择更多新型材料,如玻璃胶原膜等来代替现有模型中的胶原膜<sup>[23]</sup>,既保持了体外分区囊袋模型的稳定性,也更好地模拟了晶状体囊,从而实现长期的研究观察。

目前关于 IOL 改良预防 PCO 的研究主要可以分为材质、形状设计及药物浸润,本研究主要讨论 IOL 的材质与形状设计,根据材质分为 HydroSmart 型和 Hydrophobic 型,根据 IOL 祥的设计特点分为平台板式祥和 C 型祥,根据祥光学部移行区设计特点分为双等凸球面和补偿祥。有临床研究结果显示,Hydrophobic 型 IOL 能有效预防 PCO 的发生<sup>[24-27]</sup>。近年来,一些新型材质 IOL 也被证明能有效预防 PCO 的发生<sup>[28-30]</sup>。而对近几年出现的 HydroSmart 型 IOL 预防 PCO 作用的研究仍较少。本研究结果表明,平台板式祥 HydroSmart 型 IOL 在 LECs 迁移抑制中的作用优于 C 型祥 HydroSmart 型 IOL 及 C 型补偿祥 Hydrophobic 型 IOL。本研究在体外分区囊袋模型中观察到 HydroSmart 型 IOL 在细胞培养过程中有一定程度的体积增大,这可能钝化了 IOL 后表面的直角边缘,但使其与囊膜的贴合度更好,这可能是导致细胞迁移抑制率较其他材质 IOL 高的原因。同时,本研究发现平台板式祥 IOL 和 C 型补偿祥 IOL 相对于 C 型祥 IOL 对人 LECs 向后囊膜中央区迁移有更强的抑制作用。近年研究表明圆盘中空祥 IOL、后表面雕刻 IOL 及可调节折叠 IOL 能有效预防 PCO<sup>[31-33]</sup>;但也有研究结果显示不同 IOL 祥的数目和形状对 PCO 的预防作用差异无统计学意义<sup>[34-37]</sup>。结合本研究结果,我们有理由认为增加 IOL 祥边缘与晶状体囊袋的接触面积、减少 IOL 祥光学部移行区与祥边缘区的连接以及增加 IOL 与囊袋接触的摩擦力可能会增强 IOL 对 PCO 的抑制作用,这也为将来更多新型 IOL 的设计提供了方向。

综上,本研究成功建立一种体外分区囊袋模型,并且通过体外实验结果证实,与 C 型祥 HydroSmart IOL、C 型补偿祥 Hydrophobic IOL 相比,平台板式祥 HydroSmart IOL 更有利于抑制 LECs 向前后囊膜的迁

移。本研究结果仍需进一步结合临床研究进行验证和完善。

**利益冲突** 本研究曾受到蔡司、高视远望和眼力健公司的资助,所有作者均声明不存在其他利益冲突

**作者贡献声明** 廉飞玥:实施研究、论文撰写;李阳:实施研究;姜凌峰、沈皓月、肖肖:数据整理、统计分析;赵江月、于佳明:论文修改;秦宇:酝酿和设计实验、研究指导、论文修改及定稿

## 参考文献

- Neumayer T, Findl O, Buehl W, et al. Daily changes in the morphology of Elschnig pearls [J]. *Am J Ophthalmol*, 2006, 141 (3) : 517-523. DOI: 10.1016/j.ajo.2005.11.019.
- Lin YX, Hu XF, Zhao Y, et al. Photothermal ring integrated intraocular lens for high-efficient eye disease treatment [J/OL]. *Adv Mater*, 2017, 29(34) : 1701617 [2021-04-06]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28714205>. DOI: 10.1002/adma.201701617.
- Apple DJ, Peng Q, Visessook N, et al. Eradication of posterior capsule opacification: documentation of a marked decrease in Nd: YAG laser posterior capsulotomy rates noted in an analysis of 5416 pseudophakic human eyes obtained postmortem [J]. *Ophthalmology*, 2020, 127(4S) : S29-S42. DOI: 10.1016/j.ophtha.2020.01.026.
- Nishi O, Nishi K. Preventing posterior capsule opacification by creating a discontinuous sharp bend in the capsule [J]. *J Cataract Refract Surg*, 1999, 25(4) : 521-526. DOI: 10.1016/s0886-3350(99)80049-2.
- Duncan G, Wang L, Neilson GJ, et al. Lens cell survival after exposure to stress in the closed capsular bag [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2007, 48(6) : 2701-2707. DOI: 10.1167/iovs.06-1345.
- Mansfield KJ, Cerra A, Chamberlain CG. FGF-2 counteracts loss of TGF $\beta$  affected cells from rat lens explants: implications for PCO (after cataract) [J]. *Mol Vis*, 2004, 10 : 521-532.
- Dawes LJ, Illingworth CD, Wormstone IM. A fully human *in vitro* capsular bag model to permit intraocular lens evaluation [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2012, 53(1) : 23-29. DOI: 10.1167/iovs.11-8851.
- Cleary G, Spalton DJ, Zhang JJ, et al. *In vitro* lens capsule model for investigation of posterior capsule opacification [J]. *J Cataract Refract Surg*, 2010, 36(8) : 1249-1252. DOI: 10.1016/j.jcrs.2010.05.006.
- Eldred JA, Spalton DJ, Wormstone IM. An *in vitro* evaluation of the Anew Zephyr open-bag IOL in the prevention of posterior capsule opacification using a human capsular bag model [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2014, 55(11) : 7057-7064. DOI: 10.1167/iovs.14-15302.
- Eldred JA, Zheng J, Chen S, et al. An *in vitro* human lens capsular bag model adopting a graded culture regime to assess putative impact of IOLs on PCO formation [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2019, 60(1) : 113-122. DOI: 10.1167/iovs.18-25930.
- Spalton DJ, Russell SL, Evans-Gowing R, et al. Effect of total lens epithelial cell destruction on intraocular lens fixation in the human capsular bag [J]. *J Cataract Refract Surg*, 2014, 40(2) : 306-312. DOI: 10.1016/j.jcrs.2013.06.030.
- Jun JH, Sohn WJ, Lee Y, et al. Experimental lens capsular bag model for posterior capsule opacification [J]. *Cell Tissue Res*, 2014, 357(1) : 101-108. DOI: 10.1007/s00441-014-1870-4.
- Gartaganis SP, Prahs P, Lazari ED, et al. Calcification of hydrophilic acrylic intraocular lenses with a hydrophobic surface: laboratory analysis of 6 cases [J]. *Am J Ophthalmol*, 2016, 168 : 68-77. DOI: 10.1016/j.ajo.2016.04.018.
- Okajima Y, Saika S, Sawa M. Effect of surface coating an acrylic intraocular lens with poly (2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine) polymer on lens epithelial cell line behavior [J]. *J Cataract Refract Surg*, 2006, 32(4) : 666-671. DOI: 10.1016/j.jcrs.2006.01.039.
- Huang Q, Li J. Capsulo-hyaloidal hydroseparation for primary posterior laser capsulotomy [J]. *J Cataract Refract Surg*, 2020, 46(4) : 652-653. DOI: 10.1097/j.jcrs.000000000000113.
- Linnola RJ, Sund M, Ylönen R, et al. Adhesion of soluble fibronectin, vitronectin, and collagen type IV to intraocular lens materials [J]. *J Cataract Refract Surg*, 2003, 29(1) : 146-152. DOI: 10.1016/s0886-3350(02)01422-0.
- Tam RY, Smith LJ, Shoichet MS. Engineering cellular microenvironments with photo- and enzymatically responsive hydrogels: toward biomimetic 3D cell culture models [J]. *Acc Chem Res*, 2017, 50(4) : 703-713. DOI: 10.1021/acs.accounts.6b00543.
- Chen M, Shah MP, Shelper TB, et al. Naked liquid marbles: a robust three-dimensional low-volume cell-culturing system [J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2019, 11(10) : 9814-9823. DOI: 10.1021/acsami.8b22036.
- Tassignon MJ. Elimination of posterior capsule opacification [J]. *Ophthalmology*, 2020, 127(4S) : S27-S28. DOI: 10.1016/j.ophtha.2019.12.029.
- Mohammed D, Pardon G, Versaevael M, et al. Producing collagen microstrips with aligned fibers for cell migration assays [J]. *Cell Mol Bioeng*, 2020, 13(1) : 87-98. DOI: 10.1007/s12195-019-00600-4.
- Abdeltawab H, Svirskis D, Sharma M. Formulation strategies to modulate drug release from poloxamer based in situ gelling systems [J]. *Expert Opin Drug Deliv*, 2020, 17(4) : 495-509. DOI: 10.1080/17425247.2020.1731469.
- Zhang Z, Suner SS, Blake DA, et al. Antimicrobial activity and biocompatibility of slow-release hyaluronic acid-antibiotic conjugated particles [J/OL]. *Int J Pharm*, 2020, 576 : 119024 [2021-06-16]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31926974>. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2020.119024.
- Akpek EK, Van Court S, Glass S, et al. Short-term clinical outcomes of a novel corneal prosthetic device in a rabbit model [J]. *Cornea*, 2020, 39(6) : 706-712. DOI: 10.1097/ICO.0000000000002266.
- Hayashi K, Hayashi H. Influence on posterior capsule opacification and visual function of intraocular lens optic material [J]. *Am J Ophthalmol*, 2007, 144(2) : 195-202. DOI: 10.1016/j.ajo.2007.04.044.
- Werner L, Ellis N, Hezko JB, et al. *In vivo* evaluation of a new hydrophobic acrylic intraocular lens in the rabbit model [J]. *J Cataract Refract Surg*, 2018, 44(12) : 1497-1502. DOI: 10.1016/j.jcrs.2018.07.040.
- Ursell PG, Dhariwal M, Majirska K, et al. Three-year incidence of Nd: YAG capsulotomy and posterior capsule opacification and its relationship to monofocal acrylic IOL biomaterial: a UK real world evidence study [J]. *Eye (Lond)*, 2018, 32(10) : 1579-1589. DOI: 10.1038/s41433-018-0131-2.
- Bang SP, Moon K, Lee JH, et al. Subsurface calcification of hydrophilic refractive multifocal intraocular lenses with a hydrophobic surface: a case series [J/OL]. *Medicine (Baltimore)*, 2019, 98(50) : e18379 [2021-06-28]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31852151>. DOI: 10.1097/MD.00000000000018379.
- Zhong L, Jin J, Zheng D, et al. Influence of super-hydrophobic silicone rubber substrate on the growth and differentiation of human lens epithelial cells [J/OL]. *J Mater Sci Mater Med*, 2018, 29(11) : 176 [2021-06-28]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30426241>. DOI: 10.1007/s10856-018-6182-x.
- Han Y, Xu X, Tang J, et al. Bottom-up fabrication of zwitterionic polymer brushes on intraocular lens for improved biocompatibility [J]. *Int J Nanomedicine*, 2017, 12 : 127-135. DOI: 10.2147/IJN.S107491.
- Oshika T, Fujita Y, Inamura M, et al. Mid-term and long-term clinical assessments of a new I-piece hydrophobic acrylic IOL with hydroxyethyl methacrylate [J]. *J Cataract Refract Surg*, 2020, 46(5) : 682-687. DOI: 10.1097/j.jcrs.0000000000000142.
- Leishman L, Werner L, Bodnar Z, et al. Prevention of capsular bag opacification with a modified hydrophilic acrylic disk-shaped intraocular lens [J]. *J Cataract Refract Surg*, 2012, 38(9) : 1664-1670. DOI: 10.1016/j.jcrs.2012.04.040.
- Floyd AM, Werner L, Liu E, et al. Capsular bag opacification with a new accommodating intraocular lens [J]. *J Cataract Refract Surg*, 2013, 39(9) : 1415-1420. DOI: 10.1016/j.jcrs.2013.01.051.
- Ellis N, Werner L, Balendiran V, et al. Posterior capsule opacification prevention by an intraocular lens incorporating a micropatterned membrane on the posterior surface [J]. *J Cataract Refract Surg*, 2020, 46(1) : 102-107. DOI: 10.1016/j.jcrs.2019.08.003.
- Choi M, Lazo MZ, Kang M, et al. Effect of number and position of intraocular lens haptics on anterior capsule contraction: a randomized, prospective trial [J/OL]. *BMC Ophthalmol*, 2018, 18(1) : 78 [2021-07-16]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29558909>. DOI: 10.1186/s12886-018-0742-1.
- Hirschschall N, Nishi Y, Crnej A, et al. Capsular bag stability and



posterior capsule opacification of a plate-haptic design microincision cataract surgery intraocular lens: 3-year results of a randomised trial [J]. Br J Ophthalmol, 2013, 97 (12): 1565-1568. DOI: 10.1136/bjophthalmol-2013-303710.

[36] Jaitli A, Roy J, McMahan S, et al. An *in vitro* system to investigate IOL: lens capsule interaction [J/OL]. Exp Eye Res, 2021, 203: 108430 [2022-03-26]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/33422509>. DOI: 10.1016/j.exer.2020.108430.

[37] Jaitli A, Roy J, Chatila A, et al. Effect of time and temperature-

dependent changes of IOL material properties on IOL: Lens capsule interactions [J/OL]. Exp Eye Res, 2021, 211: 108726 [2022-03-26]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/34403680>. DOI: 10.1016/j.exer.2021.108726.

(收稿日期: 2021-09-13 修回日期: 2022-03-31)

(本文编辑: 张宇 骆世平)

## · 病例报告 ·

# 醋甲唑胺片致中毒性表皮坏死松解症诊疗 1 例

古秋梅<sup>1</sup> 范家明<sup>2</sup> 曲超<sup>3</sup>

<sup>1</sup>成都中医药大学眼科学院, 成都 610075; <sup>2</sup>四川省医学科学院·四川省人民医院皮肤科, 成都 610072;

<sup>3</sup>四川省医学科学院·四川省人民医院眼科, 成都 610072

通信作者: 曲超, Email: lucyjeffersonqu@hotmail.com

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (82171026)

DOI: 10.3760/cma.j.cn115989-20210730-00436

### Diagnosis and treatment of methazolamide-induced toxic epidermal necrolysis: a case report

Gu Qiumei<sup>1</sup>, Fan Jiaming<sup>2</sup>, Qu Chao<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Eye School of Chengdu University of TCM, Chengdu 610075, China; <sup>2</sup>Department of Dermatology, Sichuan Academy of Medical

Sciences-Sichuan Provincial People's Hospital, Chengdu 610072, China; <sup>3</sup>Department of Ophthalmology, Sichuan Academy of

Medical Sciences-Sichuan Provincial People's Hospital, Chengdu 610072, China

Corresponding author: Qu Chao, Email: lucyjeffersonqu@hotmail.com

Fund program: National Natural Science Foundation of China (82171026)

DOI: 10.3760/cma.j.cn115989-20210730-00436

患者, 女, 55 岁, 彝族, 于 2020 年 7 月 15 日因双眼被混凝土击伤 2 个月于四川省人民医院眼科就诊, 诊断为双眼钝挫伤、左眼视网膜脱离、右眼晶状体半脱位, 并行左眼后入路玻璃体切割+视网膜复位+硅油填充术, 术后恢复良好; 8 月 26 日患者因右眼视物不清, 偶感眼痛、眼胀再次就诊。患者否认药物过敏史, 入院专科查体: 视力右眼 0.04, 左眼数指/30 cm; 右眼角膜透明, 前房浅, 瞳孔正圆, 4:00 位可见虹膜后粘连, 对光反射迟钝, 晶状体混浊、向前移位, 玻璃体混浊, 视网膜平伏; 左眼玻璃体腔硅油填充, 眼底散在激光斑, 视网膜平伏, 其余眼部结构无异常; 眼压右眼 35.5 mmHg (1 mmHg = 0.133 kPa), 左眼 15.2 mmHg。入院诊断: 右眼钝挫伤、右眼外伤性白内障、右眼晶状体半脱位、右眼继发性青光眼、左眼硅油眼。术前 1 d 口服醋甲唑胺片 25 mg (杭州澳医保灵药业有限公司, 国药准字 H20000035) 每日 2 次, 20% 甘露醇 250 ml 静脉滴注每日 1 次, 左氧氟沙星滴眼液点右眼每日 3 次。于 8 月 27 日行右眼超声乳化白内障吸除+张力环植入+人工晶状体植入术, 术中见右眼晶状体 4:00~11:00 位晶状体悬韧带断裂。术后第 1 天右眼视力 0.15, 前房偏浅, 瞳孔正圆, 对光反射迟钝, 人工晶状体位正, 其余眼部结构无异常; 左眼同术前。术后右眼高眼压, 最高时 40.2 mmHg, 继续口服醋甲唑胺片 25 mg 每日 2 次, 连续服用 14 d; 20% 甘露醇 250 ml 静脉滴注每日 1 次, 连续用药 2 d; 头孢硫脒 2 g 静脉滴注每日 2 次, 连续用药 3 d 以预防感染; 右眼

予以左氧氟沙星滴眼液、醋酸泼尼松龙滴眼液点眼每日 3 次。9 月 8 日门诊复查患者眼压右眼 13.6 mmHg, 左眼 15.4 mmHg, 停用醋甲唑胺片及左氧氟沙星滴眼液、醋酸泼尼松龙滴眼液。

9 月 18 日患者以全身红斑伴刺痛 7 d 到四川省人民医院皮肤科就诊并收治入院。患者诉 7 d 前出现双手掌皮疹伴刺痛, 5 d 前皮疹加重, 蔓延及外生殖器。入院初步诊断 Stevens-Johnson 综合征 (Stevens-Johnson Syndrome, SJS)。查体: 双眼睑水肿, 角结膜未见异常; 口腔黏膜糜烂, 全身大量红斑 (图 1A); 予以甲强龙 300 mg 静脉滴注每日 1 次, 1 d 后逐渐减量, 同时全身对症支持治疗并行烧伤理疗护理。9 月 20 日患者体温 38.5 °C; 全身多处皮肤剥脱, 面积超过体表面积 80% 以上, 尼氏征阳性 (图 1B), 修正诊断: 中毒性表皮坏死松解症 (toxic epidermal necrolysis, TEN); 予以丙种球蛋白 20 g 静脉滴注每日 1 次。10 月 13 日患者全身皮损糜烂面结痂 (图 1C); 激素减量期间未见新发皮损, 好转并出院。门诊随访病情稳定, 无再发皮疹。基于《赫尔辛基宣言》原则, 征得患者及家属同意, 收集患者唾液样本, 并行 HLA 基因分型检测: HLA-A \* 11: 01 / \* 24: 02 (HLA-A \* 24: 02 呈阳性)、HLA-B \* 15: 25 / \* 55: 12 (HLA-B \* 55: 01 呈阴性) HLA-C \* 01: 02 / \* 04: 03 (HLA-C \* 01: 02 呈阳性)。

讨论 SJS/TEN 是一种急重症皮肤病, 根据皮肤剥脱程度对其进行划分: SJS 为皮肤剥脱 < 10%; SJS/TEN 重叠为 10% ~ 30% 皮肤剥脱; TEN 为皮肤剥脱 > 30%。SJS/TEN 特点是发病