

【基础研究】

通信作者:黄悦(1976-),女,天津人,博士,副主任医师,研究方向:角膜病、屈光不正与白内障;E-mail:Berthhv@sohu.com

group was significantly longer than that in the normal control group ($F = 50.306, P < 0.05$); but there was no significant difference in the vitreous cavity depth between the high myopia group and super-high myopia group ($P > 0.05$). Axial oculi length of pigmented guinea pigs in high myopia group, super-high myopia group and normal control group was (7.95 ± 0.45), (8.10 ± 0.27) and (7.63 ± 0.21) mm respectively; the axial oculi length in high myopia group and super-high myopia group was significantly longer than that in the normal control group ($F = 4.924, P < 0.05$); but there was no significant difference in axis oculi length between the high myopia group and super-high myopia group ($P > 0.05$). In normal control group, the sclera thickness was normal, the distribution of collagen fiber was even, the collagen fiber arranged in order, and the extracellular matrix was less. In the high myopia group, the sclera was thinner; the collagen fiber distribution and arrangement was sparse, slender and disordered, and there was more extracellular matrix. The above changes in super-high myopia group was more significant.

Conclusions The refractive status, axis oculi length and the morphological changes of sclera in guinea pigs with spontaneous congenital myopia are in consistence with the changes of pathological myopia. So guinea pigs with spontaneous congenital myopia can be used for researching myopia.

Key words: congenital myopia; high myopia; pathological myopia; guinea pig; sclera

近视是全球发生率最高的屈光不正,且呈日益增高的趋势^[1]。单纯性近视只影响裸眼视力,而病理性近视(变性近视)常伴发其他严重的、致盲性的眼部并发症,如黄斑出血、视网膜脱离、视网膜脉络膜萎缩等,已成为致盲的主要原因之一,也是导致低视力的首要因素^[2-3]。目前,国内对先天性变性近视豚鼠的研究报道较少,本研究从拟作形觉剥夺性近视模型的动物中验光发现了 6 只双眼先天性近视豚鼠,同时,选用同批正常视力豚鼠(排除了可能影响眼球发育与屈光变化的因素,如日龄、体质量等)为正常对照组,进行眼球生物学参数测量及巩膜病理观察,以了解先天性近视豚鼠眼球的生物学特征,为进一步探寻先天性近视豚鼠是否可作为近视研究的动物模型提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组 本实验室在 40 只 3 周龄英国种短毛三色豚鼠中验光发现先天性近视豚鼠 6 只 12 眼,体质量 120 ~ 180 g,雌性 4 只,雄性 2 只,12 眼经视网膜检影验光发现屈光度为 $-6.00 \sim -12.00$ D,以 -10.00 D 为界分为高度近视组(< -10.00 D, 7 眼)和超高度近视组(≥ -10.00 D, 5 眼)。同期随机选用同一批同种同体质量范围的豚鼠 6 只(12 眼)作为正常对照组,雌雄兼用。动物购自中国医学科学院放射性研究所动物中心,普通级。3 组豚鼠外眼均正常,屈光间质清晰,无全身性疾病。实验过程符合《实验动物伦理条例》。

1.2 屈光度测量 豚鼠在安静状态下行视网膜检影, $10 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 复方托吡吡胺结膜囊内滴眼 3 次,每次间隔 5 min, 30 min 后于暗室内验光(动物头部位置固定,工作距离 0.50 m,以 0.25 D 间隔,在水平及垂直子午线上带状光检影,确保是中央区的影光散光以半量计入球镜)。

1.3 生物学参数测量 采用 CinescanA/B 超诊断仪(法国光太集团)A 超探头测量豚鼠眼球。探头有效直径 5 mm,频率 11 MHz,脉冲式接收,手动模式,测量时探头垂直于角膜平面对准瞳孔中心。出现理想波形时进行标记,每眼测量 10 次,取平均值。角膜前顶点至后极部视网膜前表面距离为眼轴长度,角膜前顶点至晶状体前表面的距离为前房深度,晶状体前顶点至后顶点距离为晶状体厚度,后顶点至后极部视网膜前表面为玻璃体腔长度^[4]。

1.4 病理检查 豚鼠用 $100 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 水合氯醛 $0.03 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ 深度麻醉致死,分别取 3 组豚鼠眼球浸入 $40 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 多聚甲醛中固定 24 h,常规梯度脱水、浸蜡、包埋,制成 $4 \mu\text{m}$ 巩膜垂直断面的切片,经苏木精-伊红染色(hematoxylin-eosin staining, HE)后在 10×40 倍光学显微镜下双盲阅片。

1.5 统计学处理 所有数据应用 SPSS 17.0 软件包进行统计分析,将计量资料进行正态分布及 Levene 方差齐性检验后,以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,3 组之间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用最小显著性差异法(least-significant difference, LSD)- t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 3 组豚鼠眼屈光状态比较 正常对照组、高度近视组和超高度近视组豚鼠眼平均屈光度分别为($+2.38 \pm 1.54$)、(-7.64 ± 1.31)和(-10.80 ± 0.76)D, 3 组豚鼠平均屈光度比较差异有统计学意义($F = 216.305, P < 0.05$),且 3 组豚鼠眼平均屈光度两两比较差异均有统计学意义($P < 0.05$)。

2.2 3 组豚鼠眼球生物学参数比较 结果见表 1。3 组豚鼠眼球的前房深度和晶状体厚度比较差异均无统计学意义($F = 0.112, P > 0.05$; $F = 0.100, P > 0.05$)。高度近视组、超高度近视组豚鼠眼球的玻

璃体腔长度显著长于正常对照组,差异有统计学意义($F=50.306, P<0.05$),但高度近视组与超高度近视组豚鼠眼球的玻璃体腔长度比较差异无统计学意义($P>0.05$)。高度近视组、超高度近视组豚鼠

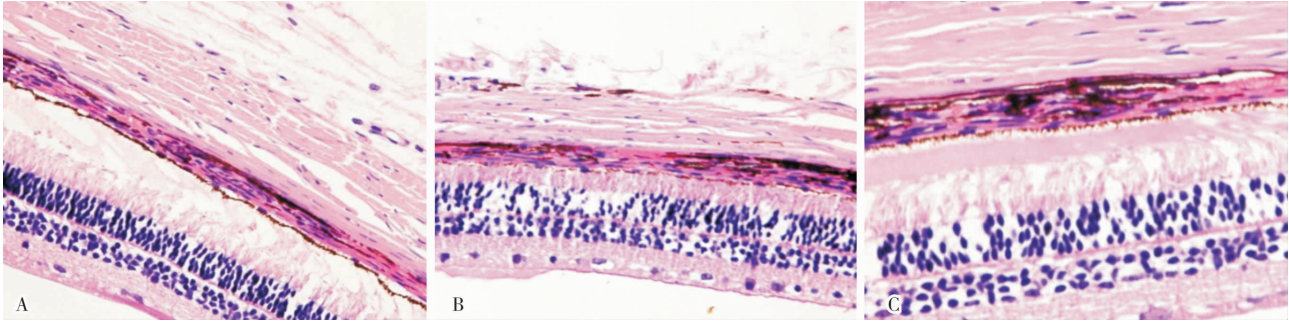
表1 3组豚鼠眼球生物学参数比较

Tab.1 Comparison of biological parameters of guinea pigs among the three groups					($\bar{x} \pm s$)
组别	<i>n</i>	前房深度/mm	晶状体厚度/mm	玻璃体腔长度/mm	眼轴长度/mm
正常对照组	12	1.21 ± 0.03	3.28 ± 0.02	3.41 ± 0.07	7.63 ± 0.21
高度近视组	7	1.21 ± 0.02	3.29 ± 0.08	3.75 ± 0.09 ^a	7.95 ± 0.45 ^a
超高度近视组	5	1.22 ± 0.03	3.29 ± 0.43	3.79 ± 0.13 ^a	8.10 ± 0.27 ^a
<i>F</i>		0.112	0.100	50.306	4.924
<i>P</i>		0.895	0.905	0.000	0.018

注:与正常对照组比较^a $P<0.05$ 。

2.3 3组豚鼠眼病理学观察 结果见图1。正常对照组豚鼠眼巩膜厚度正常,胶原纤维排列整齐,走行正常,直径均匀,细胞外基质少且分布均匀;高度近视组豚鼠巩膜明显变薄,胶原纤维分布稀疏,直径明

显减小,纤细,排列紊乱,有断裂、分离现象,纤维间空隙增大,细胞外基质增多;超高度近视组豚鼠较高度近视组以上改变更加显著。



A:高度近视组;B:超高度近视组;C:正常对照组。

图1 豚鼠巩膜病理学变化(HE染色,×400)

Fig.1 Pathological changes of sclera in guinea pigs(HE staining, ×400)

3 讨论

由于近视自身的复杂多样性及人们认识上的差异,目前分类未能规范统一,仅1956~1989年各个国家的分类方法就有16种^[5]。按照目前我国较公认的分类方法,本研究中发现的豚鼠按近视性质应称为“先天性变性近视眼”或者“原发性病理性近视眼”,按近视程度分为“高度近视眼”和“超高度近视眼”。先天性变性近视实质上是由于先天因素引起的以眼轴延长为主,表现有典型近视性屈光不正及伴有眼底变性等改变的一类原发性眼病,出生后近视可继续进展,眼球病理改变持续一生。病理性近视的含义常与高度近视重叠,一般指屈光度在-6.00 D以上、且伴有眼轴高度延长的一种屈光不正,是导致视力损害和致盲的重要原因之一,-10.00 D以上通常称为超高度近视。近视度数持续进行性加深除可造成视功能的严重损害外,还常伴有近视弧形斑、豹纹状眼底、视网膜脉络膜萎缩、黄斑部改变等眼底的退行性改变,并可发生视网膜

脱离、黄斑出血等一系列的致盲性并发症,成为全球性的一种医学社会问题^[3,6]。先天性变性近视多起因于遗传,也有可能为环境因素(如妊娠期中毒、患病等)作用下引起的胚胎发育异常,绝大多数为高度或超高度、轴性、病理性、进行性的变性近视眼。因此,先天性近视不全是遗传性近视。先天性近视的病理改变包括解剖、生理、生物化学等多方面的变化,其中眼轴及巩膜的变化是最重要和最基础的病理改变。

本研究中,屈光度-6.00~-10.00 D的高度近视7眼,≥-10.00 D的超高度近视5眼,最高近视度数达-12.00 D,其中仅有3眼为-1.00~-2.00 D的复性近视散光,轴位在90°,为生理源性散光。本研究结果显示,正常对照组、高度近视组和超高度近视组豚鼠的眼轴长度逐步递增,证实本次发现的先天性变性近视豚鼠的屈光度的增长是以轴性近视加深为主,而非屈光性近视。本研究中,高度近视组和超高度近视组豚鼠的眼轴明显延长,主要表现为眼球玻璃体腔纵径的增大,而前房深度及晶

状体厚度比较差异均无统计学意义,这与此前对人类高度近视眼的生物参数测量及眼轴的研究相吻合^[7]。巩膜是近视的靶器官,视网膜接受视觉刺激发出的信号分子通过脉络膜最终作用于巩膜,导致巩膜重塑。本研究发现,高度近视组和超高度近视组豚鼠的巩膜明显变薄,胶原纤维分布稀疏,直径纤细,排列紊乱,细胞外基质增多,这些纤维和细胞外基质的病理形态学改变可能导致巩膜抗压能力降低,眼轴增长。在哺乳动物树鼯的研究中发现,近视的发展伴随着巩膜成纤维细胞有丝分裂活动降低,巩膜胶原及蛋白多糖合成减少,降解增加,胶原纤维直径变细^[8],这些病理改变降低了巩膜硬度,使眼轴易于延展而发生近视。此结果提示,阻止后巩膜延伸、增强巩膜抗力,对预防和治疗病理性近视具有重要意义。已应用于临床多年的后巩膜加固术和正处于动物实验阶段的巩膜胶原交联技术正是基于此理论。

近视的发病机制尚未明确,与人类疾病相似的动物模型是医学研究的必要手段和工具。目前,近视研究中多用形觉剥夺(如缝合眼睑、戴不透明眼罩^[9]、戴弥散镜片)和光学离焦(戴光学透镜^[10-11])等手段制造近视眼动物模型,也有研究者尝试喂饲外源性视黄酸^[12]诱导豚鼠近视模型。豚鼠属于哺乳纲动物,性情温顺,出生即能睁眼活动,具有较好的视力^[13],其视网膜电图与大鼠和人类相似^[14],是近年来最常用的动物模型。豚鼠眼球在解剖结构、生理功能等方面与人类及其他灵长类动物有相似之处,且眼球较大,有利于参数的测量,巩膜组织在近视发生、发展过程中也有细胞外基质降解现象。由于人类先天性近视的发病分散,能够跟踪研究的样本量有限。先天性变性近视豚鼠因其表现出与人类相似的特性,可以作为先天性变性近视相关研究的理想受试对象。由于本研究中观察到的先天性近视豚鼠例数有限,且受方法和条件限制,许多问题未能进一步研究。田小芸等^[15-19]通过遗传育种手段将5只自然突变先天性白内障大鼠的白内障基因固定,繁殖传代,初步培育成一个先天遗传性的白内障大鼠模型。遗传因素在高度近视的形成中起关键性的作用已经得到公认,如有实验动物繁育学方向的研究者能够通过遗传学手段培育出一株先天性变性近视豚鼠动物模型,将会对研究近视发病机制、寻找药物靶点及制定防治措施等生物医学研究具有非常重要的意义。

参考文献:

- [1] PAN C W, RAMAMURTHY D, SAW S M. Worldwide prevalence and risk factors for myopia[J]. *Ophthalmic Physiological Optics*, 2012, 32(1): 3-16.
- [2] HOLDEN B, SANKARIDURG P, SMITH E, et al. Myopia, an underrated global challenge to vision; where the current data takes US on myopia control[J]. *Eye*, 2014, 28(2): 142-146.
- [3] MITRY D, ZAMBARAKJI H. Recent trends in the management of maculopathy secondary to pathological myopia[J]. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 2012, 250(1): 3-13.
- [4] 龙克利, 蒋丽琴, 李翌, 等. 豚鼠形觉剥夺性近视发生及恢复期眼球生物参数变化的研究[J]. *中华眼科杂志*, 2010, 46(6): 550-555.
- [5] 汪芳润, 尹忠贵, 杨晨皓. 论近视眼的分类[J]. *眼科*, 2007, 16(5): 294-297.
- [6] 庄文娟. 中国人群 IGF-1 基因多态性与高度近视的相关性研究[D]. 重庆: 重庆医科大学, 2012.
- [7] 袁南菱, 王超英, 贺江美, 等. 高度近视眼轴的初步研究[J]. *中国实用眼科杂志*, 1998, 16(5): 290.
- [8] FROST M R, NORTON T T. Alterations in protein expression in tree shrew sclera during development of lens-induced myopia and recovery[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2012, 53(1): 322-336.
- [9] 李勇子, 刘桂香, 王玲, 等. TIMP-2 基因转染 FDM 豚鼠模型早期后极部巩膜中 MMP-2 的动态表达[J]. *眼科新进展*, 2012, 32(12): 1104-1109.
- [10] 李国平, 吴建峰, 叶翔, 等. 负透镜诱导型近视豚鼠视网膜中谷氨酸及其受体的表达[J]. *眼科新进展*, 2016, 36(10): 910-914.
- [11] 曾官鹏, 严丽英, 徐双, 等. MFN1 在透镜诱导豚鼠近视模型视网膜上的表达及其意义[J]. *眼科新进展*, 2016, 36(1): 1-3, 11.
- [12] 李传旭, 崔冬梅, 霍丽君, 等. 外源性视黄酸诱导的豚鼠近视模型的建立[J]. *眼科新进展*, 2012, 32(8): 705-707.
- [13] 史剑波, 徐锦堂, 夏潮涌, 等. 豚鼠视网膜正常结构的定量研究[J]. *眼科研究*, 1999, 17(2): 98-100.
- [14] 余继锋, 马飞, 龙潭, 等. 正常豚鼠视网膜电图的特点及记录方法[J]. *眼科新进展*, 2005, 25(6): 535-537.
- [15] 田小芸, 吴波, 章如松, 等. 先天性白内障大鼠晶状体的病理学研究[J]. *医学研究生学报*, 2015, 28(8): 820-823.
- [16] 田小芸, 董敏, 尤金炜, 等. 先天性白内障大鼠培育初报[J]. *实验动物与比较医学*, 2013, 33(5): 358-360.
- [17] 田小芸, 尤金炜, 董敏, 等. 先天性白内障大鼠的繁殖性能及其生长发育[J]. *中国比较医学杂志*, 2013, 23(12): 10-12.
- [18] 田小芸, 赵志刚, 许龙祥, 等. 先天性白内障大鼠主要脏器重量与脏器系数[J]. *实验动物与比较医学*, 2014, 34(5): 1-3.
- [19] 田小芸, 尤金炜, 董敏, 等. 先天性白内障大鼠血液生化及血液流变学分析[J]. *中国比较医学杂志*, 2014, 24(3): 20-24.

(本文编辑:徐刚珍 英文编辑:孟月)