

引文格式: 赵宁, 张瑞君, 刘磊, 李佳, 刘宁宁. PTEN 基因对兔晶状体上皮细胞增殖抑制作用的实验研究 [J]. 眼科新进展, 2014, 34 (1): 25-29. doi:10.13389/j.cnki.rao.2014.0007

【实验研究】

PTEN 基因对兔晶状体上皮细胞增殖抑制作用的实验研究[△]

赵宁 张瑞君 刘磊 李佳 刘宁宁

作者简介: 赵宁, 女, 1977 年 3 月出生, 河北定州人。硕士, 主治医师。研究方向: 白内障、眼底病。联系电话: 15040129007; E-mail: ningnin1977@163.com

About ZHAO Ning: Female, born in March, 1977. Master degree. Tel: 15040129007; E-mail: ningnin1977@163.com

收稿日期: 2013-06-04

修回日期: 2013-09-16

本文编辑: 付中静

△基金项目: 辽宁省自然科学基金资助 (编号: 201102259)

作者单位: 110001 辽宁省沈阳市, 中国医科大学附属第一医院眼科
通讯作者: 张瑞君, E-mail: zhangwn1991@126.com

Received date: Jun 4, 2013

Accepted date: Sep 16, 2013

Foundation item: Supported by Liaoning Natural and Science Foundation (No: 201102259)

From the Department of Ophthalmology, the First Affiliated Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning Province, China

Responsible author: ZHANG Rui-Jun, E-mail: zhangwn1991@126.com

Inhibitive effects of PTEN gene on lens epithelial cell proliferation of rabbits

ZHAO Ning, ZHANG Rui-Jun, LIU Lei, LI Jia, LIU Ning-Ning

【Key words】 lens epithelial cell; proliferating cell nuclear antigen; posterior capsular opacification

【Abstract】 **Objective** To identify the inhibitive effects of gene PTEN on PI-3k/PKB signal pathway during the process of lens epithelial cells proliferation of rabbit after cataract surgery, and prefer the experimental evidence for posterior capsular opacification prevention. **Methods** A total of 42 white healthy rabbits were randomly divided into experimental group (36 cases) and control group (6 cases). The rabbits in experimental group received lens cortex absorption of both eyes, and control group untreated. Every 6 rabbits randomly selected in experimental group were sacrificed and prepared the lenses for test at postoperative 1 day, 3 days, 1 week, 2 weeks, 1 month and 2 months. Immunohistochemistry, mount in situ hybridization and RT-PCR were used to detect the expression of proliferating cell nuclear antigen (PCNA), PTEN mRNA, PKB mRNA and Ser473-R in lens epithelial cells (LEC). **Results** There was weakly positive expression of PCNA in LEC of control group, the value of absorption optical density in experimental group at postoperative 1 day was 0.86 ± 0.02 , there was significant difference compared with control group ($P < 0.001$). The expression of PCNA maintained at the high level from postoperative 1 day to 7 days, decreased from postoperative 2 weeks, and returned to normal at postoperative 1 month and 2 months. PTEN mRNA expressed in the cytoplasm of LEC in control group, the value of absorption optical density was 0.54 ± 0.03 . The expression of PTEN mRNA in experimental group decreased obviously at postoperative 1 day (0.20 ± 0.02) ($P < 0.001$), gradually increased at postoperative 1 week (0.25 ± 0.04) ($P < 0.001$), and returned to preoperative level at postoperative 1 month (0.53 ± 0.04) ($P < 0.001$). There was no statistical difference in PKB mRNA at each time point between two groups (all $P > 0.05$). The expression of Ser473-R in the cytoplasm of LEC in control group was weak positive (0.15 ± 0.01), and in experimental group was strongest at postoperative 1 day (0.54 ± 0.03), there was statistical difference compared with control group ($P < 0.001$), and the expression maintained high level from postoperative 1 day to 3 days. After 1 week, the expression was gradually decreased, and restored to preoperative level at 1 month and 2 months. There was negative correlation between PTEN mRNA and PCNA ($r = -0.954, P < 0.001$), negative correlation between PKB mRNA and PCNA ($r = -0.319, P = 0.039$), positive correlation between Ser473-R and PCNA ($r = 0.955, P < 0.001$), and significant negative correlation between Ser473-R and PTEN mRNA ($r = -0.969, P < 0.001$). **Conclusion** The expression of PTEN mRNA in the cytoplasm of normal LEC is positive. After cataract surgery, PTEN mRNA may inhibit the LEC proliferation through preventing the phosphorylation of PI-3k signal pathway.

[Rec Adv Ophthalmol. 2014, 34 (1): 25-29]

【关键词】 晶状体上皮细胞; 增殖细胞核抗原; 后囊膜混浊

【摘要】 **目的** 研究白内障术后晶状体上皮细胞增殖过程中是否存在 PTEN 基因对 PI-3k/PKB 信号转导途径的抑制作用, 为后发性白内障的防治提供实验依据。 **方法** 将健康白色家兔 42 只 (84 眼) 随机分入实验组 (36 只) 和对照组 (6 只)。实验组兔行双眼透明晶状体皮质吸出术, 对照组不做处理。在术后 1 d、3 d、1 周、2 周、1 个月和 2 个月各处死随机选择的 6 只实验组兔。应用免疫组织化学、原位杂交和 RT-PCR 方法检测赤道部晶状体上皮细胞中增殖细胞核抗原 (proliferating cell nuclear antigen, PCNA) 及 PTEN mRNA、PKB mRNA、Ser473-R 的表达。 **结果** 对照组赤道部 LEC 核可见 PCNA 弱阳性表达, 实验组术后 1 d 时吸光度 (A) 值迅速升高为 0.86 ± 0.02 , 与对照组相比, 差异有显著统计学意义 ($P < 0.001$); 术后 1~7 d PCNA 的表达维持在高水平状态; 2 周后, 随着时间的延长, PCNA 表达逐渐减弱; 术后 1 个月、2 个月时大致恢复至术前状态。对照组兔晶状体上皮细胞胞浆中有 PTEN mRNA 的表达, 吸光度值 (A) 为 0.54 ± 0.03 。实验组术后 1 d PTEN mRNA 相对含量明显下降为 $0.20 \pm$

0.02 ($P < 0.001$), 术后1周时略有恢复 0.25 ± 0.04 ($P < 0.001$), 术后1个月时恢复术前水平 0.53 ± 0.04 ($P < 0.001$)。PKB mRNA 的表达恒定, 对照组与实验组各时间点差异均无统计学意义 (均为 $P > 0.05$)。对照组晶状体上皮细胞中 Ser473-R 的表达较少 (0.15 ± 0.01), 实验组术后1d时 Ser473-R 的吸光度(A)值迅速升高为 0.54 ± 0.03 , 两组差异有显著统计学意义 ($P < 0.001$); 术后1~3d Ser473-R 的表达维持在高水平状态; 1周时, Ser473-R 表达开始减弱; 术后1个月、2个月时大致恢复术前状态。PTEN mRNA 与 PCNA 的表达呈负相关 ($r = -0.954, P < 0.001$); PKB mRNA 相对含量与 PCNA 表达呈负相关 ($r = -0.319, P = 0.039$); Ser473-R 与 PCNA 的表达呈显著正相关 ($r = 0.955, P < 0.001$); Ser473-R 与 PTEN mRNA 的表达呈显著负相关 ($r = -0.969, P < 0.001$)。结论 PTEN mRNA 在正常兔晶状体上皮细胞中有表达, 在白内障术后, 它可能通过抑制 PI-3k 信号转导途径中的磷酸化过程而抑制晶状体上皮细胞的增殖。

[眼科新进展, 2014, 34 (1): 25-29]

白内障是世界范围内的主要致盲性眼病。白内障囊外摘出及超声乳化白内障吸出联合人工晶状体植入术是现代治疗白内障的常用方法。然而晶状体后囊膜混浊 (posterior capsule opacification, PCO) 是白内障术后的常见并发症, 严重影响患者术后视力^[1]。细胞因子刺激晶状体上皮细胞 (lens epithelial cells, LEC) 增殖, 占据原先无细胞的后囊膜, 是形成 PCO 的主要原因。细胞因子与细胞膜表面分布的相应受体结合后, 通过多种途径将信号传递到胞核内, 促进或抑制特定靶基因的表达, 调节细胞生长。

在细胞因子受体介导的信号转导途径中, 磷脂酰肌醇三磷酸激酶 (phosphatidylinositol-3 kinase, PI-3k)/蛋白激酶 B (protein kinase B, PKB) 信号转导途径是调控细胞骨架及凋亡的重要途径^[2-3]。PKB 是 PI-3k/PKB 信号转导系统中重要的下游激酶, PKB 磷酸化后才能表现出活性^[4-5]。已有研究表明, PI3K 信号转导途径参与 LEC 的迁移、分化^[6-7]。而 PTEN 是至今为止发现的第一个具有磷酸酶活性的抑癌基因, 主要通过其脂质磷酸酶活性阻断 PI-3k 信号转导途径, 从而诱导细胞凋亡、抑制细胞生长、调节细胞迁移与黏附, 在肿瘤研究领域得到大量证实^[8-10]。本研究旨在为研究白内障术后 LEC 增殖过程中是否存在 PTEN 基因对 PI-3k/PKB 信号转导途径的抑制作用, 为防治后发性白内障提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物与分组 选用中国医科大学实验动物部提供的健康白色家兔 42 只 (84 眼), 8~10 周龄, 雌雄各半, 体质量 (1.5 ± 0.3) kg, 随机分为实验组 (36 只) 和对照组 (6 只)。

1.2 试剂与仪器 PTEN mRNA 原位杂交检测试剂盒、鼠抗兔 PCNA 单克隆抗体、小鼠 IgG 链酶亲合素生物素复合物免疫组织化学试剂盒、二氨基联苯胺 (diaminobenzidine, DAB) 显色试剂盒、焦碳酸二乙酯 (diethyl pyrocarbonate, DEPC) 均为武汉博士德公司产品。鼠抗兔 Ser473-R 多克隆抗体 (美国 Santa Cruz Biotechnology, Inc 公司)。RT-PCR 试剂盒、 β -actin 引物由大连宝 (Takara) 生物工程有限公司提供。PKB 引物由上海博亚生物技术有限公司提供。CataRhex 型超声乳化仪 (瑞士 Oerthli Instrumente AG 公司产品); YZ20P 型手术显微镜 (苏州六六视觉科

技股份有限公司产品); Ax70 型显微镜系统 (日本 Olympus 公司产品); 显微图像分析采用 Metamorph 软件 (美国 UIC 公司产品)。

1.3 动物模型及标本制备 对照组未做处理; 实验组速眠新 ($0.1 \sim 0.3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 肌肉注射麻醉, Mydrin-P 散瞳, 由专人行双眼透明晶状体皮质吸出术: 直径 3.2 mm 角巩膜缘隧道切口, 前房注入黏弹剂, 行 4.0 mm 直径开罐式截囊, 注吸皮质后切口不缝合。术后 $10 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 阿托品眼膏散瞳。分别在术后 1d、3d、1周、2周、1个月和2个月各处死随机选择的 6 只实验组兔。摘除双眼, 在手术显微镜下剪除角膜及虹膜, 剪断晶状体悬韧带, 取出晶状体。每组 3 只 (6 眼) 晶状体取出后立即用 $40 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 多聚甲醛固定 24 h, 石蜡包埋; 然后制作连续切片, 片厚 5 μm (玻片经体积分数 0.1% DEPC 处理, 并用体积分数 0.1% DEPC 捞片); 分别行 HE、PCNA 及 Ser473-R 免疫组织化学染色、PTEN mRNA 原位杂交; 以 PBS 取代 PCNA、Ser473-R 一抗作为阴性对照; 已知 PCNA、Ser473-R 染色阳性的膀胱癌组织切片作为阳性对照。每组另 3 只 (6 眼) 晶状体取出后, 以赤道内 2.0 mm 为界留取赤道部, 置灭菌 Eppendorf 管中, -70°C 冻存, 待行 RT-PCR 检测; 以 PBS 取代 PTEN 探针及 PCNA 一抗作为阴性对照; 已知 PTEN mRNA 染色阳性的乳腺癌组织切片作为阳性对照。

1.4 指标检测方法

1.4.1 免疫组织化学 SABC 法检测 PCNA、Ser473-R 的表达 石蜡切片常规梯度乙醇脱蜡, 按试剂说明书操作, 封闭内源性过氧化物酶, 修复抗原后, 滴加 PCNA、Ser473-R 一抗和二抗, 加 SABC。DAB 显色, 苏木素复染, 常规脱水、透明、封片。检测术前及术后各时间点 PCNA、Ser473-R 的表达。

1.4.2 原位杂交检测 PTEN mRNA 的变化 石蜡切片常规脱蜡, 体积分数 0.1% DEPC 冲洗, 体积分数 3% H_2O_2 于室温下浸泡 10 min, 37°C 下胃蛋白酶消化 10 min; 每片滴加地高辛标记的 PTEN 寡核苷酸探针杂交液 20 μL , 37°C 下过夜; 杂交后在 37°C 下梯度 SSC 充分洗涤, 滴加稳定液, 37°C 下静置 5 h; 室温下加封闭液静置 30 min, 37°C 下生物素化抗地高辛抗体反应 20 min; DAB 显色, 苏木素复染, 脱水、透明、封片。检测术前及术后各时间点 PTEN mRNA 表达。

1.4.3 RT-PCR 检测 PKB mRNA 的表达 将冻存的兔赤道部晶状体上皮组织提取总 RNA, 逆转录获得 cDNA。以 cDNA 为模板, 参照 Takara RT-PCR 试剂盒方法 PCR 扩增 PKB 的目的基因。检测术前及术后各时间点 PKB mRNA 的含量。

1.4.4 结果分析 免疫组织化学检测 PCNA 阳性为胞核呈棕黄色, Ser473-R 与 PKB mRNA 阳性表达信号为胞浆呈棕黄色, PTEN mRNA 阳性表达信号为胞浆呈棕黄色。在 40 倍物镜下摄取每组切片随机选取的晶状体赤道部视野图像共 6 张, 转存入计算机, 用 Metamorph 软件计算标本晶状体赤道部单位面积 PCNA 和 PTEN mRNA 阳性细胞吸光度 (A) 值。

RT-PCR 凝胶图像分析系统观察电泳结果并摄像, 经 Kodak 1D 图像分析软件进行分析, 计算目的基因 mRNA 的相对含量。目的基因 mRNA 的相对含量 = (目的基因 mRNA mass 值 ÷ 内参照基因 mRNA mass 值) × 100。

1.5 统计学方法 所有数据均采用 SPSS 统计软件包 (12.0 版本) 分析。计量资料采用均数 ± 标准差表示。各组间的对比分析采用成组设计的独立样本 *t* 检验。各指标之间的相关性采用 Person 相关系数进行统计学分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 PCNA 免疫组织化学染色检测结果 对照组赤道部 LEC 核可见 PCNA 弱阳性表达, 胞核被染成弱棕黄色, 术后不同时期的表达情况见表 1。实验组术后 1 d 时吸光度 (A) 值迅速升高为 0.86 ± 0.02 , 与对照组相比, 差异有显著统计学意义 ($P < 0.001$, 见表 1), 提示 PCNA 的表达迅速升高; 术后 1 ~ 7 d PCNA 的表达维持在高水平状态; 2 周后, 随着时间的延长, PCNA 表达逐渐减弱; 术后 1 个月、2 个月时大致恢复至术前状态。

2.2 Ser473-R 免疫组织化学染色检测结果 对照组赤道部 LEC 中 Ser473-R 的表达极弱, 胞浆中几乎看不到棕色颗粒, 吸光度 (A) 值最小。实验组术后 1 d 时 A 值迅速升高为 0.54 ± 0.03 , 与对照组相比, 差异有显著统计学意义 ($P < 0.001$, 见表 1)。

Table 1 Value of absorption optical density of Ser473-R and PCNA in two groups

Time	Ser473-R			PCNA		
	$\bar{x} \pm s$	t^*	P^*	$\bar{x} \pm s$	t^*	P^*
Control group	0.15 ± 0.01	-	-	0.46 ± 0.04	-	-
Experimental group						
Postoperative 1 day	0.54 ± 0.03	30.209	<0.001	0.86 ± 0.02	21.909	<0.001
Postoperative 3 days	0.53 ± 0.03	29.435	<0.001	0.83 ± 0.02	20.266	<0.001
Postoperative 1 week	0.43 ± 0.03	21.689	<0.001	0.79 ± 0.02	18.075	<0.001
Postoperative 2 weeks	0.25 ± 0.02	10.955	<0.001	0.67 ± 0.03	10.288	<0.001
Postoperative 1 month	0.17 ± 0.02	2.191	0.053	0.49 ± 0.03	1.470	0.172
Postoperative 2 months	0.16 ± 0.02	1.095	0.299	0.50 ± 0.02	2.191	0.053

Note: *: Compared with control group

异有显著统计学意义 ($P < 0.001$, 见表 1); 术后 1 ~ 3 d Ser473-R 的表达维持在高水平状态; 1 周时, Ser473-R 表达开始减弱; 术后 1 个月、2 个月时恢复术前水平 (表 1)。

2.3 PKB mRNA RT-PCR 检测结果 对照组兔晶状体上皮组织中 PKB 表达产物片段长为 261 bp, 内参照 β -actin 为 690 bp。从 PKB mRNA 的相对含量中可知, PKB mRNA 的表达恒定, 对照组与实验组各时间点 PKB mRNA 表达差异均无统计学意义 (均为 $P > 0.05$, 见表 2)。

表 2 实验组与对照组兔 LEC 中 PKB mRNA 的相对含量

Table 2 Relative content of PKB mRNA in LEC of two groups

Time	<i>n</i>	$\bar{x} \pm s$	t^*	P^*
Control group	6	120.96 ± 3.15	-	-
Experimental group				
Postoperative 1 day	6	120.04 ± 4.92	0.386	0.708
Postoperative 3 days	6	121.26 ± 3.82	0.148	0.885
Postoperative 1 week	6	120.36 ± 4.39	0.272	0.791
Postoperative 2 weeks	6	121.09 ± 3.84	0.064	0.950
Postoperative 1 month	6	121.17 ± 4.37	0.096	0.926
Postoperative 2 months	6	120.30 ± 3.53	0.342	0.740

Note: *: Compared with control group

2.4 PTEN mRNA 原位杂交染色检测结果 对照组 LEC 有 PTEN mRNA 表达 (图 1), 吸光度 (A 值) 为 0.54 ± 0.03 。实验组术后 1 d 时显著低于对照组 ($t = 23.099$, $P < 0.001$, 见图 2、表 3), 提示 PTEN mRNA 表达明显下降; 术后 3 d 时, 表达仍处于低水平状态。随着时间的延长; 术后 1 周时略有恢复 (图 3); 2 周时趋于明显好转; 术后 1 个月、2 个月时恢复术前水平 (表 3)。

Figure 1 PTEN mRNA expressed brownish yellow in cytoplasm of LEC in control group 对照组 PTEN mRNA 阳性表达信号为胞浆呈棕黄色

2.5 PKB mRNA、Ser473-R 与 PCNA 表达的相关性分析 PKB mRNA 相对含量与 PCNA 的阳性细胞平均吸光度 (A) 值呈负相关 ($r = -0.319$, $P = 0.039$)。Ser473-R 与 PCNA 的阳性细胞吸光度 (A) 值呈明显正相关 ($r = 0.955$, $P < 0.001$)。

Figure 2 PTEN mRNA expressed weak brownish yellow at postoperative 1 day (situ hybridization, $\times 400$) 术后1 d时 PTEN mRNA 表达呈弱阳性(原位杂交, $\times 400$)

Figure 3 Expression of PTEN mRNA restored at postoperative 1 week (situ hybridization, $\times 400$) 术后1周时 PTEN mRNA 表达有所恢复(原位杂交, $\times 400$)

表3 实验组与对照组兔 LEC 中 PTEN mRNA 吸光度(A)值

Table 3 Value of absorption optical density of PTEN mRNA in two groups

Time	n	$\bar{x} \pm s$	t*	P*
Control group	6	0.54 \pm 0.03	-	-
Experimental group				
Postoperative 1 day	6	0.20 \pm 0.02	23.099	<0.001
Postoperative 3 days	6	0.19 \pm 0.02	23.778	<0.001
Postoperative 1 week	6	0.25 \pm 0.04	14.207	<0.001
Postoperative 2 weeks	6	0.42 \pm 0.03	6.928	<0.001
Postoperative 1 month	6	0.53 \pm 0.04	0.490	0.635
Postoperative 2 months	6	0.55 \pm 0.04	0.490	0.635

Note: *: Compared with control group

2.6 PTEN mRNA 与 PCNA、Ser473-R 表达的相关性分析 PTEN mRNA 与 PCNA 的阳性细胞平均吸光度(A)值呈负相关($r = -0.954, P < 0.001$)。Ser473-R 与 PTEN mRNA 变化显著,两者呈明显负相关($r = -0.969, P < 0.001$)。

3 讨论

PCNA 是真核细胞 DNA 合成所必需的一种核蛋白,是 DNA 多聚酶 δ 的辅助因子,是细胞增殖的可信指标^[11]。本研究再次以 PCNA 作为细胞增殖指

标,对兔晶状体皮质吸出后 LEC 增殖过程中 PKB 的表达情况进行研究。结果显示,术后 1 d PCNA 表达迅速增强并达峰值,说明术后残留的 LEC 此时已大量进入增殖期。随着术后时间的延长,PCNA 表达逐渐减弱,术后 1~2 个月时恢复术前水平,说明术后 1 个月是 LEC 增殖最活跃的时期。

对照组和实验组术后不同时期 PKB mRNA 的相对含量恒定,组间差异均无统计学意义(均为 $P > 0.05$),与文献报道 PKB mRNA 的表达不随细胞增殖情况而变化的结果一致^[4]。PKB mRNA 相对含量与 PCNA 的阳性细胞吸光度(A)值之间呈负相关,说明细胞增殖不依赖 PKB 的含量,而是与它的活性有关。

PKB 家族蛋白分子为单链结构,由 3 个结构域组成,其中第 412~480 位氨基酸构成 C 末端调节区,富含疏水氨基酸和脯氨酸可以和 SH3(SRC 同源序列 3)区结合,有一个丝氨酸位点(Ser473/Ser474)。当调节区的 Ser473 磷酸化以后,引发其构型改变,解除其对催化区的抑制而表现出酶活性,磷酸化的 Ser473 可代表 PKB 的活性,Ser473-R 可以与磷酸化的 Ser473 结合,从而反映 PKB 的活性^[12]。Ser473-R 在术后处于高水平状态,Ser473-R 与 PCNA 的阳性细胞吸光度(A)值之间呈明显正相关,说明 LEC 的增殖与 PKB 的活化密切相关。

PTEN 基因作为一种抑制基因,在细胞的生长发育以及增殖与凋亡中有复杂而重要的作用。PTEN 基因是否在眼内调节 LEC 的增殖尚未完全明确,有报道在先天性后囊下白内障时出现了 PTEN 基因的突变^[13]。在对照组的兔 LEC 中我们检测到了 PTEN mRNA 的表达,说明正常状态下的 LEC 自然的增殖、分化、生长可能也受到 PTEN mRNA 的调控。术后 1~3 d,PTEN mRNA 的表达明显减少;1 周时,PTEN mRNA 的表达有所恢复;2 周后,逐渐恢复 PTEN mRNA 的表达。在增殖的兔 LEC 中 PTEN mRNA 的表达与 PCNA 的表达呈负相关,提示 PCNA 和 PTEN 在控制细胞增殖、生长的过程中可能相互拮抗,PTEN 可能对 LEC 增殖有负调控作用。

有研究证实,PTEN 基因是通过影响 PI-3k 途径而调节细胞增殖的^[10]。本研究中 Ser473-R 与 PTEN mRNA 之间呈明显负相关,而 Ser473-R 与 PCNA 之间呈明显正相关,提示 PTEN mRNA 可能通过抑制 Ser473 的磷酸化,使 PKB 活性降低,影响 PI-3k 通路的形成,从而抑制细胞增殖和生长。在白内障术后,PTEN 基因可能通过阻断 PI-3k 信号转导通路,对 LEC 的增殖有抑制作用。

随着分子生物学技术的不断发展,人们对 PTEN 基因的认识逐渐深入,PTEN 有非依赖 P13K 激酶途径调控细胞增殖、生长的作用。通过促进 PTEN 基因的表达来抑制 LEC 的增殖、分化,是否能防止 PCO 的发生,还需要大量的实验来证实。

引文格式:陈雪,李海平,张培,曹安民.小胶质细胞在视网膜母细胞瘤中的活化及分布研究[J].
眼科新进展,2014,34(1):29-33. doi:10.13389/j.cnki.rao.2014.0008

【实验研究】

小胶质细胞在视网膜母细胞瘤中的活化及分布研究

陈雪 李海平 张培 曹安民

作者简介:陈雪,女,1971年2月出生,江苏无锡人,医学博士,主治医师。主要从事眼科病理、眼部肿瘤及老年性眼病方面的研究。美国视觉科学研究协会会员。联系电话:010-59277037; E-mail: chenxue2006@yahoo.com.cn

About CHEN Xue: Female, born in February, 1971. Doctor degree. Tel: +86-10-59267037; E-mail: chenxue2006@yahoo.com.cn

收稿日期:2013-01-27

修回日期:2013-03-24

本文编辑:董建军

作者单位:100015 北京市,北京和陆医院眼科(陈雪);100191 北京市,北京大学第三医院眼科(李海平,张培);21287 美国巴尔的摩,霍普金斯大学医学院威尔玛眼科研究所(曹安民)

Received date: Jan 27, 2013

Accepted date: Mar 24, 2013

From the Department of Ophthalmology, Beijing Family United Hospital and Clinics (CHEN Xue), Beijing 100015, China; Department of Ophthalmology, Peking University Third Hospital (LI Hai-Ping, ZHANG Pei), Beijing 100191, China; Wilmer Eye Institute, Johns Hopkins University (CAO An-Min), Baltimore MD 21287, USA

学染色和免疫荧光双标染色。应用SPSS软件对数据进行 χ^2 检验,分析小胶质细胞分布与肿瘤分化情况及肿瘤侵犯情况

Activation and distribution of microglia in retinoblastoma

CHEN Xue, LI Hai-Ping, ZHANG Pei, CAO An-Min

【Key words】 microglia; retinoblastoma; tumor differentiation

【Abstract】 **Objective** To analyze the activation of retinal microglia in human retinoblastoma and its correlation with retinoblastoma differentiation and tumor invasion, and investigate its active degree and distribution. **Methods** Thirty-three cases of retinoblastoma (33 eyes) were examined, and the clinical and histology data were summarized. Paraffin embedded tumor sections were stained with MHCII as marker of activated microglia and MAP-2 as marker of tumor cells in immunohistochemistry staining. The correlation of immunoreactivity with degree of tumor differentiation and tumor invasion of choroid and optic nerve were analyzed. Chi-square analysis was carried out with SPSS software. **Results** Positive MHCII cells in human retinoblastoma were closely related with differentiation of tumors ($OR = 4.8$). In poorly differentiated tumor, proportion of high MHCII expression was 38.46%, while, in moderate and well differentiated tumor, the proportion of high MHCII expression was 75.00%, there was statistical difference ($P < 0.05$). The positive MHCII cell was not statistically associated with invasion of tumor or previous chemo/radio therapy. Positive MAP-2 tumor cells did not express MHCII. **Conclusion** The microglia is activated in retinoblastoma, its distribution is closely related with differentiation of tumor, and the involved biological significance and pathways need further exploration.

【Rec Adv Ophthalmol, 2014, 34 (1) : 29-33】

【关键词】 小胶质细胞; 视网膜母细胞瘤; 肿瘤分化

【摘要】 目的 对人视网膜母细胞瘤标本中小胶质细胞的活跃性及其与肿瘤分化程度、肿瘤侵袭性的相关性进行分析,了解小胶质细胞在视网膜母细胞瘤中的活化程度和分布特点。方法 共收集32例33眼人视网膜母细胞瘤病例标本,总结其临床资料及肿瘤细胞分化特点。以MHCII作为小胶质细胞标志物、MAP-2为肿瘤细胞标志物进行免疫组织化学染色和免疫荧光双标染色。应用SPSS软件对数据进行 χ^2 检验,分析小胶质细胞分布与肿瘤分化情况及肿瘤侵犯情况

参考文献

- Huang W, Huang G, Wang D, Yin Q, Foster PJ, He M. Outcomes of cataract surgery in urban southern China: the Liwan Eye Study [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2011, 52 (1) : 16-20.
- Hawkins PT, Anderson KE, Davidson K, Stephens LR. Signalling through Class I PI3Ks in mammalian cells [J]. *Biochem Soc Trans*, 2006, 34 (Pt 5) : 647-662.
- Rajeeve V, Pearce W, Cascante M, Vanhaesebroeck B, Cutillas PR. Polyamine production is downstream and upstream of oncogenic PI3K signalling and contributes to tumour cell growth [J]. *Biochem J*, 2013, 450 (3) : 619-628.
- Hemmings BA, Restuccia DF. PI3K-PKB/Akt pathway [J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2012, 4 (9) : a011189.
- Xue G, Hemmings BA. PKB/Akt-Dependent Regulation of Cell Motility [J]. *J Natl Cancer Inst*, 2013, 105 (6) : 393-404.
- Weber GF, Menko AS. Phosphatidylinositol 3-kinase is necessary for lens fiber cell differentiation and survival [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2006, 47 (10) : 4490-4499.
- Xiong W, Cheng BH, Jia SB, Tang LS. Involvement of the PI3K/Akt signaling pathway in platelet-derived growth factor-induced migration of human lens epithelial cells [J]. *Curr Eye Res*, 2010, 35 (5) : 389-401.
- Oudit GY, Penninger JM. Cardiac regulation by phosphoinositide 3-kinases and PTEN [J]. *Cardiovasc Res*, 2009, 82 (2) : 250-260.
- Matsuda S, Kobayashi M, Kitagishi Y. Roles for PI3K/AKT/PTEN Pathway in Cell Signaling of Nonalcoholic Fatty Liver Disease [J]. *ISRN Endocrinol*, 2013; 2013: 472432. doi: 10.1155/2013/472432.
- Camero A, Blanco-Aparicio C, Renner O, Link W, Leal JF. The PTEN/PI3K/AKT signalling pathway in cancer, therapeutic implications [J]. *Curr Cancer Drug Targets*, 2008, 8 (3) : 187-198.
- Mahler M, Miyachi K, Peebles C, Fritzler MJ. The clinical significance of autoantibodies to the proliferating cell nuclear antigen (PCNA) [J]. *Autoimmun Rev*, 2012, 11 (10) : 771-775.
- Fayard E, Xue G, Parcellier A, Bozulic L, Hemmings BA. Protein kinase B (PKB/Akt), a key mediator of the PI3K signaling pathway [J]. *Curr Top Microbiol Immunol*, 2010, 346: 31-56.
- Boccone L, Dessi V, Serra G, Zibordi F, Loudianos G, Bannayan-Riley-Ruvalcaba syndrome with posterior subcapsular congenital cataract and a consensus sequence splicing PTEN mutation [J]. *Am J Med Genet A*, 2008, 146 (2) : 257-260.