

儿童先天性晶状体半脱位术后房水中细胞因子的连续观察和临床分析

丁 宁 宋旭东 陶 靖

摘 要 **目的** 分析儿童先天性晶状体半脱位术前与术后不同时间房水中多种细胞因子的表达情况,探讨术后早期细胞因子的表达变化规律以及相关的临床意义。**方法** 收集先天性晶状体半脱位患儿的房水样本 31 眼进行定量分析。其中术前取房水样本 31 眼,术后 1 周取房水样本 10 眼,术后 1 个月取房水样本 13 眼,术后 2 个月取房水样本 8 眼。房水样本应用流式细胞术微球阵列法(cytometric bead array, CBA)检测 IL-1 β 、IL-2、IL-4、IL-5、IL-6、IL-10、TNF- α 、IFN- γ 8 种细胞因子的表达情况。**结果** 术后 1 周患儿房水中 IL-4(151.26 $\pm$ 20.77fg/ml)、IL-6(153089.74 $\pm$ 76980.97fg/ml)的表达量较术前升高,差异有统计学意义($P < 0.05$)。术后 1 个月患儿房水中 IL-2(344.89 $\pm$ 84.81fg/ml)、IL-4(149.89 $\pm$ 37.14fg/ml)、IL-6[200000.00(129045.55)fg/ml]、TNF- α (274.32 $\pm$ 57.40fg/ml)的表达量较术前升高,差异有统计学意义($P < 0.05$)。术后 2 个月患儿房水中 IL-2(347.68 $\pm$ 105.65fg/ml)、IL-4(153.92 $\pm$ 29.69fg/ml)、IL-5(135.46 $\pm$ 34.90fg/ml)、IL-6(123661.66 $\pm$ 87444.85fg/ml)、IL-10(176.79 $\pm$ 25.35fg/ml)、TNF- α (314.30 $\pm$ 41.46fg/ml)的表达量仍高于术前,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。IL-1 β 、IFN- γ 表达差异无统计学意义($P > 0.05$)。**结论** 儿童先天性晶状体半脱位患者手术前后房水中细胞因子的表达量可发生明显变化,术后房水细胞因子的表达升高可能与患儿手术后炎症反应及并发症的发生和疾病的预后有关。IL-4、TNF- α 可能是对术后炎症反应变化较敏感的细胞因子;IL-6 可能是术后炎症反应强度的预测因子。儿童内眼手术后应用抗炎药物的时间应适当延长。

关键词 晶状体半脱位 房水 细胞因子 儿童

中图分类号 R77

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2015.12.013

Postoperative Progression of Cytokines in Aqueous Humor and Clinical Analysis of Children with Congenital Lens Subluxation. Ding Ning, Song Xudong, Tao Jing. Beijing Tongren Eye Centre, Beijing Tongren Hospital, Capital Medical University; Beijing Ophthalmology and Visual Science Key Lab, Beijing 100730, China

Abstract Objective To investigate concentration of various cytokines in the aqueous humor of children with congenital lens subluxation and prospectively analyses the changes and clinical significance in the immediate postoperative period. **Methods** The staging operation was performed in 31 eyes of children with congenital lens subluxation and aqueous samples were collected at baseline (31 eyes), 1 week (10 eyes), 1 month (13 eyes) and 2 months (8 eyes) after surgery. Each sample was measured for 8 cytokines (IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, TNF- α , IFN- γ) using cytometric bead arrays (CBA), and we conducted quantitative analysis on the data. **Results** Aqueous humor levels of IL-4(151.26 $\pm$ 20.77fg/ml) and IL-6(153089.74 $\pm$ 76980.97fg/ml) were elevated at 1 week after surgery from baseline ($P < 0.05$). IL-2(344.89 $\pm$ 84.81fg/ml), IL-4(149.89 $\pm$ 37.14fg/ml), IL-6[200000.00(129045.55)fg/ml] and TNF- α (274.32 $\pm$ 57.40fg/ml) concentrations continued to steadily increase over the month ($P < 0.05$). We found statistically significant differences for IL-2(347.68 $\pm$ 105.65fg/ml), IL-4(153.92 $\pm$ 29.69fg/ml), IL-5(135.46 $\pm$ 34.90fg/ml), IL-6(123661.66 $\pm$ 87444.85fg/ml) and TNF- α (314.30 $\pm$ 41.46fg/ml) between baseline and 2 months after surgery ($P < 0.05$). We observed no significant differences concerning IL-1 β and IFN- γ concentrations ($P > 0.05$). **Conclusion** Great changes have taken place in cytokine concentrations in aqueous humor of children with congenital lens subluxation before and after surgery. Increased postoperative expression of cytokines in aqueous humor may contribute to the pathogenesis of inflammation and complications, and might be related to the prognosis of the disease. IL-4 and TNF- α are probably more sensitive to changes of the postoperative inflammatory response. IL-6 may be a predictor of inflammatory intensity after surgery. Anti-inflammatory drugs should be used appropriately extended in children after eye operation.

Key words Lens subluxation; Aqueous humor; Cytokine; Children

基金项目:吴阶平医学基金会临床科研专项基金资助项目(320.6750.1365)

作者单位:100730 首都医科大学附属北京同仁医院、北京同仁眼科中心、北京市眼科学与视觉科学重点实验室

通讯作者:宋旭东,电子信箱:drxdong@sina.com

儿童晶状体半脱位是影响患儿视力和生存质量的眼部疾病,严重者需要行手术治疗。但是儿童眼部手术后可能出现明显的炎症反应及并发症,影响手术效果及视力恢复,是目前眼科界有待解决的难题之一。众多研究表明,房水中细胞因子在免疫和炎症反应中起重要调控作用,在眼部手术前后会出现明显差别,可能与炎症有关。

房水分析是一种有用的方法,能够帮助了解许多眼部疾病的病理生理变化和治疗反应。然而,房水量少,房水中细胞因子的浓度低,既往的检测技术的不足常限制了其分析的结果。流式细胞术微球阵列法(cytometric bead array, CBA)具有检测迅速、灵敏度高、重复性好等特点,通过流式细胞仪检测抗体的荧光强度就能对目的蛋白进行定性和定量。与传统的检测方法相比, CBA 法可在同一份样本中分析多种细胞因子,所需样本用量少,因此通常可用于房水、玻璃体或者泪液的样本检测^[1]。可重复对比之前的实验结果,基于同一流式细胞仪检测平台同时、快速、定量检测多份样本。可对炎症因子、趋化因子、细胞内信号分子、抗体等多种蛋白提供精确稳定的定量分析。

本研究检测儿童先天性晶状体半脱位手术前后房水中细胞因子的表达水平,应用流式细胞术微球阵列法进行定量分析,寻求其含量的变化规律及对术后炎症反应的影响。检测白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、白细胞介素-2(interleukin 2, IL-2)、白细胞介素-4(interleukin 4, IL-4)、白细胞介素-5(interleukin 5, IL-5)、白细胞介素-6(interleukin 6, IL-6)、白细胞介素-10(interleukin 10, IL-10)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、干扰素- γ (interferon- γ , IFN- γ)共8种细胞因子,在分子水平对儿童晶状体手术后炎症反应的发生机制进行探讨,为其防治提供理论基础和新思路。

资料与方法

1. 一般资料:选取2013年7月~2014年1月就诊于笔者医院眼科白内障中心的先天性晶状体半脱位患儿31眼,包括Marfan综合征及单纯性晶状体半脱位。患儿年龄2~14岁,均在全身麻醉下进行分期手术治疗。一期施行超声乳化晶状体摘除联合张力环及人工晶状体种植术,术后二期行张力环单点巩膜缝合固定术。分别于一期手术及手术后不同时间行二期手术时取房水样本。其中一期手术术前取房水样本31眼,术后1周取房水样本10眼,术后1个月取房水样本13眼,

术后2个月取房水样本8眼(表1)。排除标准:除外先天性晶状体半脱位以外的其他眼部疾病(如青光眼、色素膜炎等),无眼部外伤史及手术史,全身情况良好,无明显全身麻醉手术禁忌证。

2. 主要仪器及试剂:流式细胞仪(FACSCanto™ II 美国BD公司)、低温高速离心机(Contifuge Stratos 德国 Heraeus 公司)。CBA人超敏检测试剂盒(IL-1 β 、IL-2、IL-4、IL-5、IL-6、IL-10、TNF- α 、IFN- γ , 美国BD公司)。

3. 方法:(1)手术方案:对儿童晶状体半脱位患者开展治疗效果较好的创新性分期手术治疗,分期手术方案为术后早期房水收集提供可能。采用一期手术摘除脱位的晶状体并植入囊袋张力环(CTR)和人工晶状体(IOL)。术后1~2个月晶状体囊膜机化后,二期行CTR单点巩膜缝合固定术纠正IOL偏位,为术后弱视治疗提供基础。(2)标本采集:手术均由同一位经验丰富的医师完成。全身麻醉后,常规消毒铺巾,开睑器开睑,聚维酮碘溶液冲洗结膜囊。在开始其他操作之前,以1ml一次性无菌注射器,于角膜缘内0.5mm处无血管区行前房穿刺,在中央瞳孔区抽吸少量房水,注意避免触及虹膜、晶状体及角膜内皮,抽取房水0.1~0.2ml。即刻移入已消毒的0.5ml Eppendorf管,并放置于-80℃深低温冰箱中冻存,等待定量测定分析。

4. 流式细胞术微球阵列法检测细胞因子浓度:BD CBA系统利用流式细胞仪荧光检测灵敏度高的特点,通过微球表面免疫分析,达到检测可溶性蛋白的目的。本试验过程由专业技术人员操作,严格按照试剂盒说明书完成样品孵育步骤。①复溶标准品,倍比稀释抗体和微球,混匀;②制备捕获微球混悬液:先高速离心每个微球瓶,然后充分摇匀3个捕获微球试剂瓶;加入微球富集血清稀释液将微球稀释50倍再分到各管,充分混匀;③样本制备:把微球按照20 μ l/管,加入样本和标准品管。样本管加入50 μ l血清,标准品管加入50 μ l倍比稀释的标准品。阴性对照管加入50 μ l分析稀释液(Assay Diluent),轻轻混匀,避光2h;④配制检测抗体:以检测试剂稀释液将每种抗体原液稀释50倍,混匀避光备用。2h后,抗体按照每管20 μ l加入样本管和标准曲线管,混匀避光孵育2h;⑤配制PE染料:每种抗体加入检测试剂稀释液,室温放置15min。然后取出500 μ l加入离心管,补充4.5ml,混匀避光备用。1h后,抗体按照每管100 μ l加入样本管和标准曲线管,混匀避光孵育1h;⑥上机检测:用流式细胞仪和BD CBA软件获取数据并分析。

5. 统计学方法:采用SPSS 19.0软件进行统计分析。计量资料符合正态分布时以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,手术前后房水中细胞因子的均数比较采用配对 t 检验,多组间比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA)和SNK- q 检验;非正态分布资料以中位数、四分位数间距[M(QR)]表示,采用非参数检验,手术前后房水中细胞因子的表达水平比较采用Wilcoxon符号秩检验,多组间比较采用Kruskal-Wallis检验成对比较。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 基本资料:患儿 31 眼,其中男性 21 眼,女性 10 眼,患儿年龄 2~14 岁。各组间年龄比较差异无统计学意义($P=0.995$,表 1)。

2. 手术前后各细胞因子表达量的比较:与术前相比,术后 1 周时患儿房水中 IL-4、IL-6、TNF- α 的表达量明显升高($P<0.05$,表 2);术后 1 个月时患儿房水中 IL-2、IL-4、IL-5、IL-6、IL-10、TNF- α 表达量升高($P<0.05$,表 3);术后 2 个月

时患儿房水中 IL-4、IL-6、TNF- α 表达量仍较高($P<0.05$,表 4)。

表 1 先天性晶状体半脱位患儿的一般临床资料 ($\bar{x} \pm s$)

项目	术前	术后 1 周	术后 1 个月	术后 2 个月
眼数	31	10	13	8
男性	21	7	11	3
女性	10	3	2	5
年龄(岁)	5.32 $\pm$ 2.87	5.50 $\pm$ 3.27	5.31 $\pm$ 2.02	5.13 $\pm$ 3.80

表 2 患儿手术前与术后 1 周房水中细胞因子表达水平的比较 ($\bar{x} \pm s$,fg/ml)

细胞因子	<i>n</i>	IL-1 β	IL-2	IL-4	IL-5	IL-6	IL-10	IFN- γ	TNF- α
术前	10	217.08 $\pm$ 42.96	252.12 $\pm$ 21.01	100.38 $\pm$ 34.07	105.30 $\pm$ 35.87	4417.78 $\pm$ 5422.87	131.85 $\pm$ 25.57	616.86 $\pm$ 134.91	197.78 $\pm$ 54.33
术后 1 周	10	235.27 $\pm$ 56.19	302.00 $\pm$ 71.48	151.26 $\pm$ 20.77	118.68 $\pm$ 26.57	153089.74 $\pm$ 76980.97	174.27 $\pm$ 71.56	662.68 $\pm$ 170.57	255.75 $\pm$ 25.62
<i>t</i>		0.604	1.597	3.954	1.127	5.858	1.954	0.551	3.366
<i>P</i>		0.561	0.145	0.003	0.289	0.000	0.082	0.595	0.008

表 3 患儿手术前与术后 1 个月房水中细胞因子表达水平的比较 [$\bar{x} \pm s$ 或 *M*(*QR*),fg/ml]

细胞因子	<i>n</i>	IL-1 β	IL-2	IL-4	IL-5	IL-6	IL-10	IFN- γ	TNF- α
术前	13	220.76 $\pm$ 56.11	219.64 $\pm$ 59.01	95.39 $\pm$ 28.42	92.97 $\pm$ 23.71	8498.07 $\pm$ 14250.79	132.69 $\pm$ 24.17	653.95 $\pm$ 223.74	199.18 $\pm$ 73.83
术后 1 个月	13	247.22 $\pm$ 62.02	344.89 $\pm$ 84.81	149.89 $\pm$ 37.14	129.38 $\pm$ 24.20	200000(129045.55)	185.24 $\pm$ 76.65	661.49 $\pm$ 193.26	274.32 $\pm$ 57.40
<i>t/Z</i>		1.047	4.517	4.882	3.798	3.180 ^Δ	2.627	0.085	2.694
<i>P</i>		0.316	0.001	0.000	0.003	0.001	0.022	0.934	0.020

^Δ Wilcoxon 符号秩检验

表 4 患儿手术前与术后 2 个月房水中细胞因子表达水平的比较 ($\bar{x} \pm s$,fg/ml)

细胞因子	<i>n</i>	IL-1 β	IL-2	IL-4	IL-5	IL-6	IL-10	IFN- γ	TNF- α
术前	8	249.02 $\pm$ 43.76	260.36 $\pm$ 76.43	114.77 $\pm$ 43.18	109.63 $\pm$ 34.03	3118.65 $\pm$ 944.31	154.17 $\pm$ 25.17	684.08 $\pm$ 173.12	221.85 $\pm$ 83.99
术后 2 个月	8	259.17 $\pm$ 72.56	347.68 $\pm$ 105.65	153.92 $\pm$ 29.69	135.46 $\pm$ 34.90	123661.66 $\pm$ 87444.85	176.79 $\pm$ 25.35	684.18 $\pm$ 153.74	314.30 $\pm$ 41.46
<i>t</i>		0.265	2.100	3.049	1.616	3.909	1.926	0.001	3.395
<i>P</i>		0.799	0.074	0.019	0.150	0.006	0.095	0.999	0.012

3. 手术后不同时间多组间表达量的比较:由表 5 所示,术后 1 周时患儿房水中 IL-4、IL-6 表达量开始升高($P<0.05$);术后 1 个月时患儿房水中 IL-2、IL-4、IL-6、TNF- α 表达量较术前升高($P<0.05$);术后 2 个月时患儿房水中 IL-2、IL-4、IL-

5、IL-6、IL-10、TNF- α 表达量仍高于术前($P<0.05$);其他各组间的表达量相比较差异无统计学意义。IL-1 β 、IFN- γ 表达量在手术后变化不大,其组间差异无统计学意义($P>0.05$)。

表 5 患儿手术前后房水中细胞因子表达水平的比较 [$\bar{x} \pm s$ 或 *M*(*QR*),fg/ml]

细胞因子	术前(<i>n</i> =31)	术后 1 周(<i>n</i> =10)	术后 1 个月(<i>n</i> =13)	术后 2 个月(<i>n</i> =8)	<i>F</i> / χ^2	<i>P</i>
IL-1 β	226.86 $\pm$ 49.39	235.27 $\pm$ 56.19	247.22 $\pm$ 62.02	259.17 $\pm$ 72.56	0.890	0.452
IL-2	240.63 $\pm$ 66.48	302.00 $\pm$ 71.48	344.89 $\pm$ 84.81 [*]	347.68 $\pm$ 105.65 [*]	7.998	0.000
IL-4	102.00 $\pm$ 34.20	151.26 $\pm$ 20.77 [*]	149.89 $\pm$ 37.14 [*]	153.92 $\pm$ 29.69 [*]	11.866	0.000
IL-5	101.25 $\pm$ 30.58	118.68 $\pm$ 26.57	129.38 $\pm$ 24.20	135.46 $\pm$ 34.90 [*]	4.648	0.006
IL-6 ^Δ	5793.61 $\pm$ 9796.57	153089.74 $\pm$ 76980.97 [*]	200000.00(129045.55) [*]	123661.66 $\pm$ 87444.85 [*]	44.316	0.000
IL-10	137.96 $\pm$ 25.93	174.27 $\pm$ 71.56	185.24 $\pm$ 76.65	176.79 $\pm$ 25.35 [*]	3.768	0.015
IFN- γ	649.77 $\pm$ 182.10	662.68 $\pm$ 170.57	661.49 $\pm$ 193.26	684.18 $\pm$ 153.74	0.082	0.970
TNF- α	204.58 $\pm$ 69.42	255.75 $\pm$ 25.62	274.32 $\pm$ 57.40 [*]	314.30 $\pm$ 41.46 [*]	9.634	0.000

^Δ Kruskal-Wallis 检验,其余 SNK-q 检验;与术前比较,^{*} $P<0.05$

4. 不同随访期各细胞因子表达量的动态变化:术后1周均有所上升,随随访时间延长无明显下降(图1);IL-6的表达量超高,在术后2个月时呈现轻度下降趋势(图2,图3)。

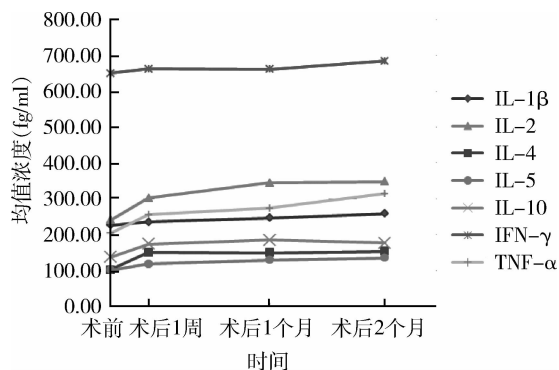


图1 手术前后7种细胞因子均值浓度的变化图

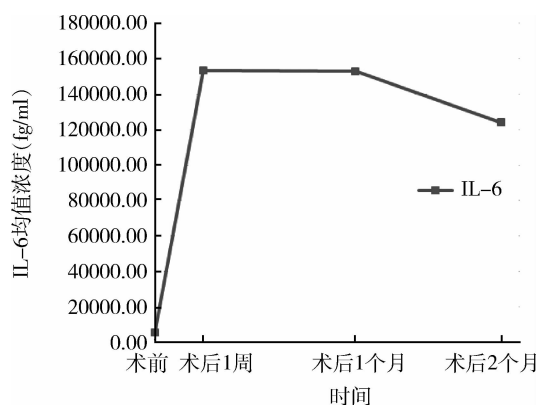


图2 手术前后IL-6均值浓度的变化趋势图

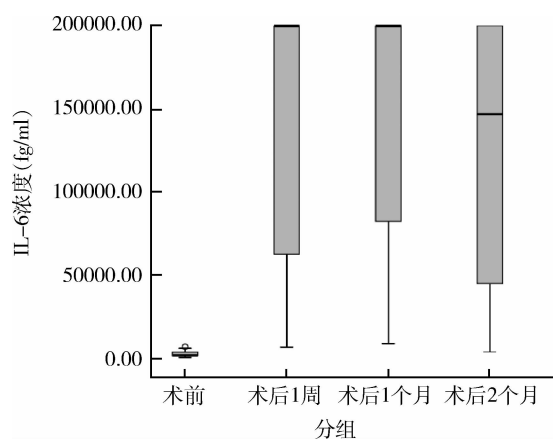


图3 手术前后IL-6浓度的动态变化图

讨 论

儿童晶状体摘除联合人工晶状体种植术后,由于血-房水屏障的破坏、手术损伤及种植物的使用,使血浆成分及细胞外基质进入前房,产生大量的细胞因

子,造成不同程度的炎症反应。因此,对房水中细胞因子的定量分析能够最直接地反应眼内炎症的变化情况,以便于了解在炎症发展中细胞因子的可能作用。

由于伦理学原因,对于房水的分析几乎全部都是在手术前单一时间点取材,进行细胞因子检测,来研究免疫反应的发展,但无法观察活体内细胞因子的动态变化。通过多个时间点取房水的观察研究基本限于动物实验。Patel^[2]进行了极少数的房水细胞因子的动态观察,但遗憾的是由于依从性原因,房水样本采集不完整,无法进行统计分析,只进行了趋势预测。研究发现在伴有糖尿病视网膜病变的患者中,白内障术后第1天IL-1 β 的含量急剧升高,术后7天下降,1个月时恢复基线浓度。魏英丽等^[3]报道,先天性晶状体半脱位患儿,房水标本中IL-6的含量在术后2~5天左右的患者组中明显升高,在术后30天左右的患者组中含量仍较高。张玲等^[4]报道,玻璃体切除联合硅油填充术后并发性白内障患者中,术后3个月以上其房水中IL-6、IL-10含量仍然较高。张小文等^[5]报道,兔晶状体囊外摘除术后房水中兔房水IL-1 β 和IL-6含量于术后3~30天明显升高,术后7~14天达最高值,30天后逐渐降低,90天时恢复正常水平,其含量变化规律与房水炎性细胞的变化和眼内炎症反应的发生规律一致。吴柏青等^[6]研究发现,犬在超声乳化手术后,TNF- α 在术后3~12天明显升高,以后逐渐降低;术后3~24天,同步种植人工晶状体组TNF- α 含量较仅行超声乳化手术组高。该作者在之后的研究也得出了相同的结论,手术方式由超声乳化改为晶状体囊外摘除,同样在手术后3~6天TNF- α 含量达到最高值,以后逐渐降低;术后24天,只进行晶状体摘除组的TNF- α 含量恢复到正常值时间比晶状体摘除联合人工晶状体种植组恢复快,后者在第6天后TNF- α 呈明显的下降趋势,最后完全恢复^[7]。这两项研究说明即使种植物的生物相容性理想,无论采用何种手术方式,有晶状体种植犬眼TNF- α 含量的恢复时间均比无晶状体种植的犬眼长。

在国内外发表的文献中,未见儿童晶状体手术前后房水细胞因子的表达研究。儿童房水样本量少,手术需要在全身麻醉下进行。其眼部解剖结构特点为巩膜薄,眼球相对较小较软。全身麻醉后眼球后房压力增高,玻璃体前移,致前房变浅,手术操作困难。本研究对儿童晶状体半脱位的患者采用治疗效果较好的创新性分期手术方案,分期手术为术后早期多个时

间点(术前、术后 1 周、术后 1 个月及术后 2 个月)收集房水进行连续观察及定量分析提供可能,对儿童术后炎症反应的发展及预后的判断提供更为明确的依据。

IL-1 β 是一种血管源性的促炎因子,能够上调多种炎症介质的表达,包括 IL-1 β 本身、TNF- α 及趋化因子等^[8]。在炎症反应的活动期或初期,辅助性 T 细胞 1 型(T helper cells 1, Th1)因子如 IL-2、IFN- γ 、TNF- α 表达升高,而 IL-2 在炎症反应的持续阶段,尤其是可观察到临床体征时,通常表达量下降^[9]。辅助性 T 细胞 2 型(T helper cells 2, Th2)细胞因子主要包括 IL-4、IL-5、IL-6、IL-10。炎症早期 IL-4 的增加是机体的一种保护作用,其表达增加是为了抑制 Th1(IFN- γ) 因子的破坏作用, Th2 因子(IL-4)的高表达可能有助于诱导免疫耐受。IFN- γ 的作用主要是激活巨噬细胞,促进主要组织相容性复合体(MHC)分子表达和抗原递呈,抑制 Th2 因子^[10]。Th1 因子和 Th2 因子相互作用,互相制约。

IL-6 是一种多功能的促炎因子,由 T 细胞和巨噬细胞分泌。易被 TNF- α 、IFN- γ 、IL-1 诱导,能够促进 B 细胞分化为浆细胞并诱导急性相蛋白的合成,如纤维蛋白原和 C 反应蛋白^[11]。能激发外伤后的免疫反应或者引发炎症导致的其他组织损伤。此外,IL-6 能增加血管通透性并通过诱导血管内皮生长因子(VEGF)促进血管生成^[12]。有关新生血管性青光眼的研究中,房水中 IL-6 的表达量升高与虹膜新生血管的严重程度相关^[13]。虽然在葡萄膜炎的患者房水中 IL-6 表达明显升高,然而在炎症非急性期也发现有 IL-6 的显著升高^[14,15]。另有研究表明,房水中细胞计数与对照组相似,房水闪光值与 IL-6 升高正相关,说明 IL-6 的存在不是炎症急性过程的表现,而是由血-房水屏障的长期破坏造成的^[16]。因此可以解释,在术后 1~2 个月由于手术创伤所引起的炎症逐渐消退后,其表达量仍然维持较高水平。而其高水平的表达可能导致儿童术后的炎症反应更重,纤维增殖更明显有关。

IL-10 是由单核-吞噬细胞产生的主要抗炎细胞因子,通过减少促炎细胞因子(IL-1、IL-2 和 TNF- α 等)的合成,以及抑制细胞因子受体的表达和活化抑制炎症反应^[9]。此外,IL-10 还通过下调 VEGF 的表达阻止血管生成^[17]。在葡萄膜炎活动期检测 IL-10 表达水平结果各不相同,有的报道发现

其水平升高,有的甚至没有检测到其表达^[14,18]。另有研究者在外周血单核细胞培养中发现,在炎症的静止期出现了 IL-10 的高表达。因此,IL-10 水平可能与预后相关,而不是疾病的活动性^[16]。

TNF- α 由巨噬细胞、单核细胞、嗜中性粒细胞,自然杀伤细胞及 T 细胞合成,是眼表组织中表达的主要的促炎和促纤维化细胞因子之一。房水中 TNF- α 表达升高刺激单核-吞噬细胞趋化蛋白-1(MCP-1)基因和蛋白表达,使单核-吞噬细胞的数目增加,加速了炎症和纤维化。此外,TNF- α 表达升高刺激新生血管形成和较强的创伤愈合反应^[11]。TNF- α 、IL-6 在特发性葡萄膜炎、白塞病和 Fuchs 综合征的患者房水中均发现表达增加,在葡萄膜炎继发青光眼的患者中,也是小梁切除术后出现过度瘢痕增殖的危险因素。

本研究中 IL-4、IL-6 的表达量于术后 1 周明显上升,与术前比较其差异有统计学意义。IL-2、IL-4、IL-6、TNF- α 的表达量于手术后继续上升,术后 1 个月时其表达量与术前相比其差异有统计学意义。IL-2、IL-4、IL-5、IL-6、IL-10、TNF- α 的表达量在术后 2 个月时仍高于术前,未见明显下降,仅 IL-6 呈现轻度下降趋势,其表达量与术前相比其差异有统计学意义。IL-1 β 、IFN- γ 表达量的差异无统计学意义($P>0.05$)。在炎症的急性期,促炎因子与抗炎因子均会表达升高,而在亚急性期时,则只有抗炎因子表达升高,与本研究结果基本一致。由于细胞因子是一个错综复杂的网络,各种细胞因子之间具体的作用机制和相互关系,还需要进一步研究证明。抗炎药物能降低房水中细胞因子的浓度,但具体关联强度尚未明确。在本研究中,可以大致了解手术前后房水中细胞因子的变化规律:术后 1 周明显上升,术后 1~2 个月无明显下降。细胞因子表达水平较长时间的升高可能与以下几方面的原因有关:①研究对象为儿童:本身增殖修复能力强,其术后反应通常较成人重。各组间患儿的年龄比较,差异无统计学意义($P>0.05$),考虑年龄因素对于术后细胞因子的表达水平无明显影响;②术中种植物:由于儿童血-房水屏障发育不完善,术中于囊袋内同时种植 CTR 及 IOL,其眼内组织产生的异物反应可能更明显,恢复术前正常水平的时间更长;③术后常规应用的抗炎药物为妥布霉素地塞米松滴眼液(美国爱尔康眼药厂比利时分厂,批号 H20080661)和普拉洛芬滴眼液(日本千寿制药株式会社生产,批号 H20080279)。用药

时间通常为3周,前2周两种药物均为每日4次,第3周起减量为每日2次。术后2个月时患儿均已停用抗炎药物,因而可能导致术后1~2个月时细胞因子表达水平的下降程度变化不大。

本研究采用了超敏试剂盒和敏感度高的试验方法,因而检测到了大部分细胞因子的细微变化。结果分析提示,IL-4、TNF- α 的表达趋势由初期明显上升到术后1~2个月逐渐平稳,可能是对术后炎症反应变化较敏感的细胞因子,术后2个月停药以后的平稳状态正是炎症抑制与纤维增殖相互作用的结果;IL-6是各因子中组间差异最显著的细胞因子,其表达量要大大高于以往文献中对成人术后检测的数值,可能是术后炎症反应强度的预测因子,血-房水屏障破坏所致的高表达提示术后炎症反应及纤维增殖更明显,也提示儿童术后炎症反应更强烈,修复增殖过程较成人更显著。以上结果对临床工作有一定的指导意义。儿童术后的炎症反应时间较成人长,因而术后儿童应用抗炎药物可能需要更长时间,以减少并发症的发生,如炎症性高眼压、后发性白内障等,并且需要长期监测眼压的变化情况。可以在抗炎药物逐渐减量的情况下适当延长其使用时间到术后1~2个月;在炎症控制的更为稳定后,再行二期缝合固定手术,二次手术的间隔时间应安排在初次手术后至少2个月以上,眼内炎症反应趋于平稳或下降至接近正常水平以后,以减轻二次炎症介质释放及纤维增殖;并且术后1~2个月囊袋机化不易撕裂,也降低了张力环弹出、人工晶状体偏位等并发症发生的风险。

由于本研究的样本量较少,随访时间较短,未能发现细胞因子下降到接近正常水平的时间点。本研究在术后1~2个月取材时,各因子均未出现显著下降,与儿童术后反应较成人更明显、增殖更重的临床表现相吻合。在今后的研究中,应注意适当延长随访时间,如将术后1、3、6个月细胞因子情况比较,观察细胞因子的下降时间与变化规律,从而能够更全面地了解术后房水中细胞因子的动态变化过程,以及术后抗炎药物对眼内细胞因子的影响,更进一步研究验证相关因子的生物学功能。

参考文献

- Borkenstein A, Faschinger C, Maier R, *et al.* Measurement of tumor necrosis factor - α , interleukin - 6, Fas ligand, interleukin - 1 α , and interleukin - 1 β in the aqueous humor of patients with open angle glaucoma using multiplex bead analysis [J]. *Mol Vis*, 2013, 19: 2306 - 2311
- Patel PJ, Hykin PG, Cree IA. Diabetic cataract removal: postoperative progression of maculopathy - growth factor and clinical analysis [J]. *Br J Ophthalmol*, 2006, 90(6): 697 - 701
- 魏英丽, 宋旭东, 张玲, 等. 先天性晶状体半脱位患者手术前后房水细胞因子的定量分析 [J]. *中华眼科医学杂志: 电子版*, 2014, 4(1): 32 - 36
- 张玲, 宋旭东, 陶靖, 等. 细胞因子在玻璃体切除联合硅油填充术后并发性白内障患者房水中的表达 [J]. *眼科*, 2013, 22(4): 269 - 272
- 张小文, 蔡小军, 李琴, 等. 兔后发性白内障房水中白细胞介素 - 1 β 和白细胞介素 - 6 的含量 [J]. *眼视光学杂志*, 2005, 7(1): 33 - 36
- 吴柏青, 郑小波. 超声乳化犬晶状体和植入人工晶状体后房水肿瘤坏死因子 - α 和一氧化氮实验研究 [J]. *畜牧兽医科技信息*, 2006, 4: 25 - 26
- 吴柏青, 郑小波, 肖榕. 犬晶状体摘除及同步植入人工晶状体肿瘤坏死因子 - α 和一氧化氮试验 [J]. *中国兽医杂志*, 2011, 47(11): 63 - 64
- Gustavsson C, Agardh CD, Agardh E. Profile of intraocular tumour necrosis factor - α and interleukin - 6 in diabetic subjects with different degrees of diabetic retinopathy [J]. *Acta Ophthalmol*, 2013, 91(5): 445 - 452
- Maier P, Heizmann U, Böhlinger D, *et al.* Distinct cytokine pattern in aqueous humor during immune reactions following penetrating keratoplasty [J]. *Mol Vis*, 2010, 16: 53 - 60
- 宫玉波, 陆晓和, 柯晓云, 等. CD25 单克隆抗体对大鼠角膜移植术后房水中细胞因子表达的影响 [J]. *南方医科大学学报*, 2008, 28(9): 1523 - 1529
- Cvenkel B, Kopitar AN, Ihan A. Inflammatory molecules in aqueous humor and on ocular surface and glaucoma surgery outcome [J]. *Mediators Inflamm*, 2010; 2010: 939602
- Funatsu H, Yamashita H, Ikeda T, *et al.* Vitreous levels of interleukin - 6 and vascular endothelial growth factor are related to diabetic macular edema [J]. *Ophthalmology*, 2003, 110(9): 1690 - 1696
- Chen KH, Wu CC, Roy S, *et al.* Increased interleukin - 6 in aqueous humor of neovascular glaucoma [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 1999, 40(11): 2627 - 2632
- Sugita S, Kawazoe Y, Imai A, *et al.* Inhibition of Th17 differentiation by anti - TNF - α therapy in uveitis patients with Behcet's disease [J]. *Arthritis Res Ther*, 2012, 14: R99
- Evereklioglu C, Er H, Türköz Y, *et al.* Serum levels of TNF - α , sIL - 2R, IL - 6, and IL - 8 are increased and associated with elevated lipid peroxidation in patients with Behçet's disease [J]. *Mediators Inflamm*, 2002, 11(2): 87 - 93
- Chen W, Lin H, Zhong X, *et al.* Discrepant expression of cytokines in inflammation - and age - related cataract patients [J]. *PLoS One*, 2014, 9(10): e109647
- Silvestre JS, Mallat Z, Duriez M, *et al.* Antiangiogenic effect of interleukin - 10 in ischemia - induced angiogenesis in mice hindlimb [J]. *Circ Res*, 2000, 87(6): 448 - 452
- El - Asrar AMA, Struyf S, Kangave D, *et al.* Cytokine profiles in aqueous humor of patients with different clinical entities of endogenous uveitis [J]. *Clin Immunol*, 2011, 139(2): 177 - 184

(收稿日期: 2015 - 04 - 27)

(修回日期: 2015 - 05 - 22)