

雌雄激素对去卵巢雌鼠泪液分泌及泪腺凋亡基因表达的影响

赵萍 宋秀君 赵霞

The effect of estrogen and androgen on lacrimal secretion and expression of apoptosis genes in lachrymal gland in ovariectomized rat

Zhao Ping, Song Xiujun, Zhao Xia. Department of Ophthalmology, Third Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050051, China

Abstract Objective Some scholars considered that dry eye is associated to serum sex level in elder female population. But, how the estrogen and/or androgen play role in dry eye is still in controversy. The goal of the present study was to investigate the effect of estrogen and androgen on lacrimal secretion and expression of apoptosis genes in the lachrymal gland in ovariectomized rat. **Methods** Sixty-four female Wistar rats were divided into normal control group, sham operation group and experiment group randomly. Ovariectomy (OVX) was performed in the rats of the experiment group and only partial fat tissue in abdominal cavity was cut in the sham operation group. Lacrimal secretion (Schirmer I test), tear film breakup time (BUT) and corneal fluorescence staining examinations were measured in all rats before and 1, 2, 3, 4 and 5 months after the operation. Corn oil, estrogen and androgen were systemically and topically applied 5 months after the operation for six weeks in the OVX experiment group. The experimental rats were sacrificed and the lachrymal glands were obtained for pathohistological examination. The serum estrogen and androgen levels were detected before and 5 months after the operation and before death. The expressions of bax and bcl-2 were detected by immunohistochemistry in the different groups. **Results** The serum estrogen and androgen levels were significantly decreased after OVX in comparison with before OVX ($P < 0.05$). The BUT was obviously shorter in the 1 month after OVX group ($P < 0.05$). The result of the Schirmer I test decreased to 50% in 3 months after OVX ($P < 0.01$). Corneal fluorescence staining showed positive staining 4 months after OVX and stronger staining 5 months after OVX. In the sixth week after use of androgen, the results of BUT and Schirmer I test were considerably decreased but stronger corneal fluorescence staining was seen. However, a complete contrary outcome was found in systemic androgen treatment rats. The expression of bax in lacrimal epithelium cells was increased after estrogen treatment and declined after androgen treatment. The expression of bcl-2 in lacrimal epithelium cells was declined after estrogen treatment and increased after androgen treatment. **Conclusion** It is supposed that decrease of lacrimal secretion in OVX rats is associated with the decrease of serum androgen. The treatment with androgen can improve lacrimal secretion and decrease the expression of apoptosis gene in lachrymal gland in ovariectomized rat. The apoptosis of lachrymal gland epithelium is one of mechanisms of dry eye.

Key words dry eye; estrogen; androgen; apoptosis; bax; bcl-2

摘要 目的 探讨雌雄激素对去卵巢雌鼠泪液分泌和泪腺凋亡基因表达的影响。 **方法** 雌性成熟 Wistar 大鼠 64 只, 随机分为正常对照组 8 只、假手术组 8 只、实验组 48 只。假手术组仅打开腹腔, 切除部分脂肪, 实验组行双侧卵巢切除术 (OVX)。分别于术前及术后 1、2、3、4、5 个月, 行泪液分泌量 (Schirmer I test, S I t)、泪膜破裂时间 (BUT)、角膜荧光素染色检查。于 OVX 术后 5 个月将实验组随机分为 3 组, 分别全身及局部给予玉米油、苯甲酸雌二醇、丙酸睾酮, 观察给药 6 周后 S I t、BUT、角膜荧光素染色结果, 并处死动物, 取其泪腺行组织病理学检查及免疫组织化学法检测凋亡基因 bax 和 bcl-2 的表达。 **结果** OVX 术后 5 个月大鼠血清雌二醇及睾酮质量浓度均降低 ($P < 0.05$)。OVX 术后 1 个

本课题为河北省自然科学基金资助 (C2006000841)

作者单位: 050051 石家庄, 河北医科大学第三医院眼科 [赵萍 (研究生, 现在河北医科大学第四医院眼科, 石家庄 050011)、宋秀君、赵霞 (研究生, 现在北京市崇文区第一人民医院眼科 100075)]

通讯作者: 宋秀君 (Email: xiujuns2000@yahoo.com.cn)

月 BUT 缩短 ($P < 0.01$); OVX 术后 3 个月 S I t 较 OVX 术前缩短 50% ($P < 0.01$); OVX 术后 4 个月角膜染色阳性 (+), 5 个月时加重 (++)。全身给予雌激素治疗 6 周后 BUT 缩短 ($P < 0.01$); S I t 缩短 ($P < 0.05$); 角膜荧光素染色加重 (+++)。全身给予雄激素治疗 6 周后 BUT 延长 ($P < 0.05$); S I t 延长 ($P < 0.05$); 角膜荧光素染色减轻 (+)。全身雌激素治疗 6 周后泪腺上皮细胞 bax 表达增加, bcl-2 表达减少。全身雄激素治疗 6 周后泪腺上皮细胞 bax 表达减少, bcl-2 表达增加。 **结论** 推测去卵巢雌鼠泪液分泌减少及泪膜稳定性下降与血清睾酮水平下降有关, 雄激素改善泪液分泌及泪膜稳定性, 而雌激素作用与之相反, 且泪腺上皮细胞凋亡可能是其作用机制之一。

关键词 干眼症; 雌激素; 雄激素; 凋亡; bax; bcl-2

分类号 R 777.34 **文献标识码** A **文章编号** 1003-0808(2009)12-1057-06

干眼是眼科常见疾病之一, 其发病率为 14.6% ~ 40%^[1-2], 尤其多见于绝经后妇女, 有学者认为其发生和严重程度可能与体内雌激素水平有关^[1,3]。但是由于雌激素过剩还是不足、雄激素的缺乏和/或雌雄激素之间的不平衡导致干眼尚有争议。本研究于 2007 年 12 月—2008 年 6 月对雌性性成熟 Wistar 大鼠行双侧卵巢切除术 (ovariectomy, OVX), 模拟人工绝经状态, 分别测定给予雌雄激素前后泪液分泌量、泪膜稳定性变化, 取其泪腺标本行免疫组织化学染色检测泪腺凋亡因子 bax 和 bcl-2 的表达, 旨在探讨雌雄激素对去卵巢雌鼠泪液分泌及泪腺凋亡的影响。

1 材料与方 法

1.1 材 料

1.1.1 实验动物及分组 清洁级健康成年雌性性成熟 Wistar 大鼠 64 只, 3 月龄; 体重 230 ~ 250 g, 由河北医科大学动物中心提供。饲养于无特殊病菌的恒温条件下, 自动引水瓶给水。按随机数字表法将实验动物分为正常对照组 (A 组) 8 只、假手术组 (B 组) 8 只、实验组 48 只。实验组大鼠行 OVX。B 组大鼠仅打开腹腔, 不切除卵巢。OVX 术后 5 个月将实验组动物按随机数字表法分为空白对照组 (C 组)、赋形剂组 (D 组)、全身雌二醇治疗组 (E 组)、雌二醇点眼组 (F 组)、全身睾酮治疗组 (G 组)、睾酮点眼组 (H 组), 每组 8 只。D 组皮下注射玉米油 100 μ L, 每 3 日 1 次; E 组给予苯甲酸雌二醇 200 μ g/kg 稀释于 100 μ L 玉米油中皮下注射, 每 3 日 1 次; F 组苯甲酸雌二醇点眼, 每日 4 次; G 组肌肉注射丙酸睾酮 3.75 mg/kg, 每 3 日 1 次; H 组 2.5% 丙酸睾酮点眼, 每日 4 次。6 周后处死所有大鼠, 摘取泪腺。

1.1.2 主要试剂及仪器 1 mg/1 mL 苯甲酸雌二醇、25 mg/mL 丙酸睾酮 (天津金耀氨基酸公司); Schirmer 试纸 (天津晶明新技术开发公司); 全自动酶免发光分析仪 (美国雅培公司); 裂隙灯 (YZ5S) 及眼前节照相系统 (苏州六六视觉科技公司); Bax 和 bcl-2 试剂 (美国 Santa Cruz 公司); 光学显微镜 (日本奥林巴

斯公司); 多功能细胞图像分析管理系统 (Image-Pro Plus, 美国 Media Cybernetics 公司)。

1.2 方 法

1.2.1 泪液分泌及泪膜稳定性检查 泪液分泌及泪膜稳定性检查均由同一医师完成, 每次检查时间、地点、照明亮度、温度和湿度相同。所有实验动物分别于 OVX 术前和 OVX 术后 1、2、3、4、5 个月及给药后 6 周行泪液分泌量试验 (Schirmer I test, S I t)、泪膜破裂时间 (break-up time, BUT) 及角膜荧光素染色检查。S I t: 根据 Tsutomu 等^[4]报道采用改良的 Schirmer 试验, 将试纸裁成 1 mm \times 17 mm, 一端折弯 2.5 mm, 置于下睑外侧 1/3 结膜囊内, 其余部分悬垂于皮肤表面。闭眼, 1 min 后测量滤纸被浸湿的长度 (不包括反折), 浸湿长度减少 50% 即可确诊。角膜荧光素染色: 荧光素涂抹于下睑结膜囊内, 裂隙灯下观察, 无着色点为 (-); 着色 \leq 1/8 象限为 (+); 1/8 象限 $<$ 着色 \leq 1/4 象限为 (++) ; 1/4 象限 $<$ 着色 \leq 1/2 象限为 (+++) ; $>$ 1/2 象限着色 ~ 全部象限着色为 (++++)^[5]。

1.2.2 血清雌雄激素的测定 分别于 OVX 术前及术后 5 个月及给药后 6 周经心脏穿刺采血 2 mL, 以 3 000 r/min 离心 5 min, 取上清液检测血清雌二醇和睾酮质量浓度。

1.2.3 免疫组织化学染色检测凋亡基因的表达 标本置于 4% 多聚甲醛液中固定, 经脱水、包埋、切片, 光学显微镜下进行组织病理学观察, 采用免疫组织化学 SP 法观察泪腺组织上皮细胞凋亡基因 bax 和 bcl-2 的表达, 采用计算机显微图像分析系统进行光密度值 (OD 值) 的测定。OD 值越大, 说明阳性反应程度越高。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 13.0 统计学软件进行统计学分析。各测试指标以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 实验组 OVX 术前和术后不同时间点 S I t 和 BUT 试验的比较采用重复测试的方差分析, 术后各时间点与术前值的两两比较采用 Dunnett *t* 检验。不同组给药前和药物干预后 6 周 S I t 和 BUT 试验结果的比较采用配对 *t* 检验。6 个组凋亡基因在

泪腺上皮细胞中表达量的总体比较采用单因素方差分析,组间的两两比较采用 Dunnett *t* 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 角膜荧光素染色结果

正常组大鼠角膜染色(-),实验组大鼠去卵巢 4 个月起角膜染色阳性(+),5 个月时加重(++)。给药 6 周后 E 组角膜染色加重(+++),给药 6 周后 G 组角膜染色减轻(+)。其余组角膜染色无明显变化。

2.2 SIt 结果

实验组大鼠 OVX 术后 3 个月 SIt 结果为(3.39 ± 1.15)mm,较术前(7.32 ± 1.61)mm 下降 50%(表 1)。

表 1 正常对照组、假手术组与实验组 OVX 术前及术后 SIt 结果(mm)

Table 1 Comparison of Schirmer I test result of normal group, sham group and OVX group(mm)

Group	Before OVX	Schirmer I test value after OVX				
		1 month	2 months	3 months	4 months	5 months
Normal control	7.13 ± 1.76	7.16 ± 1.29	7.06 ± 1.11	7.34 ± 1.66	7.09 ± 1.43	7.19 ± 1.11
Sham operation	7.21 ± 1.81	7.03 ± 1.16	7.25 ± 1.37	7.22 ± 1.55	7.13 ± 1.26	7.18 ± 2.06
OVX	7.32 ± 1.61	5.93 ± 2.00	4.30 ± 1.46	3.39 ± 1.15	2.97 ± 1.22	2.34 ± 1.24

给药后 6 周 E 组 SIt 结果较给药前缩短($P < 0.05$),G 组 SIt 结果较给药前延长($P < 0.05$),其余组治疗前后差异无统计学意义($P > 0.05$)(表 2)。

表 2 给药前和实验后 6 周各组 SIt 结果(mm)

Table 2 Result of Schirmer I test before treatment and 6 weeks after treatment in different groups (mm)

Group	Pre-treatment	Post-treatment	<i>t</i>	<i>P</i>
Vehicle	2.38 ± 1.13	2.46 ± 1.58	0.207	>0.05
Systemic estrogen	2.19 ± 1.01	1.47 ± 0.85	2.228	<0.05
Topical estrogen	2.15 ± 1.30	2.31 ± 1.36	0.553	>0.05
Systemic androgen	2.38 ± 1.20	3.66 ± 1.90	2.741	<0.05
Topical androgen	2.56 ± 1.49	3.16 ± 1.89	1.117	>0.05

(Paired *t* test)

2.3 BUT 试验结果

OVX 术后 1 个月 BUT 为(9.98 ± 1.00)s,OVX 术前为(10.53 ± 0.79)s,术后明显缩短,差异有统计学意义($P < 0.01$)。给药后 6 周 E 组 BUT 为(3.65 ± 0.55)s,给药前为(5.28 ± 0.81)s,给药后明显

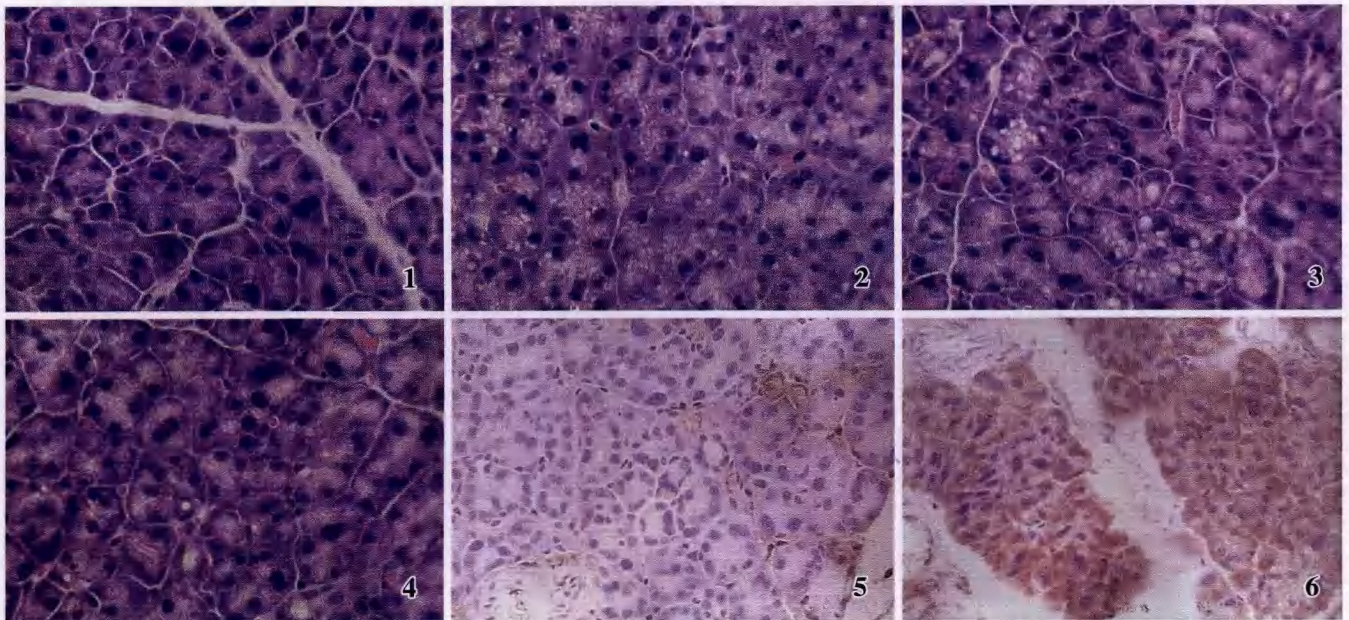


图 1 正常组泪腺腺泡大小均匀,腺泡内层为柱状上皮细胞,核居基底部(×400) 图 2 空白对照组泪腺上皮细胞小,细胞质淡染,可见空泡,核大小不一(×400) 图 3 全身雌激素治疗组血管扩张,腺泡结构排列紊乱,核大小不一,细胞质可见大量空泡(×400) 图 4 全身雄激素治疗组腺泡细胞大小均匀,细胞核大小一致,腺上皮细胞质中空泡变明显减少(×400) 图 5 正常组泪腺上皮细胞 bax 表达阴性(×400) 图 6 空白对照组泪腺上皮细胞 bax 表达阳性(×400)

Fig. 1 The gland alveolus is uniformity and endothecium of gland alveolus is columnoepithelialis and nucleus is at basilar part in normal lacrimal epithelium cell(×400) Fig. 2 The gland alveolus is small and nucleus is in different size. The endochylema is dyed lightly with vacuolus in blank control group (×400) Fig. 3 The alignment of gland alveolus is disorder with angiectasis, and nucleus is in different size with many vacuolus in systemic estrogen group (×400) Fig. 4 The gland alveolus is uniformity and nucleus is in the same size with little vacuolus in endochylema in systemic androgen group(×400) Fig. 5 Bax is absently expressed in normal lacrimal epithelium cell(×400) Fig. 6 Bax is positively expressed in lacrimal epithelium cell in blank control group (×400)

缩短, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。给药后 6 周 G 组 BUT 为 (6.03 ± 1.48) s, 给药前为 (5.08 ± 0.40) s,

给药后明显延长, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。其余组治疗前后 BUT 差异无统计学意义 ($P > 0.05$) (表 3, 4)。

表 3 正常对照组、假手术组与实验组 OVX 术前及术后 BUT 结果 (s)
Table 3 Comparison of BUT result among normal group, sham group and OVX group (s)

Group	Before operation	BUT value after operation					F	P
		1 month	2 months	3 months	4 months	5 months		
Normal control	10.94 ± 0.66	11.02 ± 0.56	11.11 ± 0.75	11.08 ± 0.64	10.99 ± 0.66	10.74 ± 0.79	0.196	>0.05
Sham operation	10.98 ± 1.04	10.94 ± 0.62	10.98 ± 0.71	11.01 ± 0.69	11.20 ± 0.81	10.49 ± 0.99	0.519	>0.05
OVX	10.53 ± 0.79	9.98 ± 1.00 ^c	8.46 ± 0.91 ^c	6.00 ± 1.22 ^c	5.18 ± 0.90 ^c	5.16 ± 0.83 ^c	613.270	<0.01

^c $P < 0.01$ vs respective before operation value (ANOVA, Dunnett *t* test)

表 4 给药前和给药后 6 周各组 BUT 结果 (s)
Table 4 Result of BUT before treatment and 6 weeks after treatment in different groups (s)

Group	Pre-treatment	Post-treatment	<i>t</i>	<i>P</i>
Vehicle	5.16 ± 1.04	4.90 ± 1.11	0.910	>0.05
Systemic estrogen	5.28 ± 0.81	3.65 ± 0.55	6.594	<0.01
Topical estrogen	5.02 ± 1.12	5.38 ± 0.96	0.743	>0.05
Systemic androgen	5.08 ± 0.40	6.03 ± 1.48	2.155	<0.05
Topical androgen	5.19 ± 0.75	5.09 ± 0.96	0.303	>0.05

(Paired *t* test)

2.4 组织病理学检测

正常泪腺结缔组织深入实质将腺组织分割成大小不等的小叶。腺泡大小均匀, 腺泡内层为柱状上皮细胞, 核居基底部。C 组泪腺腺上皮细胞小, 胞浆淡染, 可见空泡。E 组给药后 6 周, 泪腺血管扩张, 腺泡萎缩融合, 大小不一, 结构排列紊乱, 核大小不一, 可见空泡融合。G 组给药后 6 周, 泪腺腺泡细胞大小均匀,

细胞核大小一致, 腺上皮细胞质中空泡变明显减少 (图 1~4)。

2.5 泪腺上皮细胞凋亡相关基因的表达

凋亡相关基因 *bax* 和 *bcl-2* 在泪腺上皮细胞中的表达为细胞质中的棕黄色染色, 免疫组织化学染色结果表明 *bax* 在雌激素应用组表达最强, 而 *bcl-2* 表达在雌激素组表达较弱 (图 5~11)。正常组泪腺上皮中 *bax* 的 OD 值为 0.06 ± 0.02 , C 组为 0.20 ± 0.03 , 2 组比较差异有统计学意义 ($P < 0.01$); E 组给药 6 周后为 0.34 ± 0.06 , 与 C 组相比明显增加 ($P < 0.01$); G 组给药 6 周后为 0.14 ± 0.03 , 与 C 组相比降低 ($P < 0.05$)。正常组泪腺上皮中 *bcl-2* 的 OD 值为 0.27 ± 0.04 , C 组为 0.14 ± 0.03 , 2 组比较差异有统计学意义 ($P < 0.01$); E 组给药 6 周后为 0.09 ± 0.04 , 与 C 组相比降低 ($P < 0.01$)。G 组给药 6 周后为 0.24 ± 0.04 , 与 C 组相比升高 ($P < 0.01$) (表 5)。

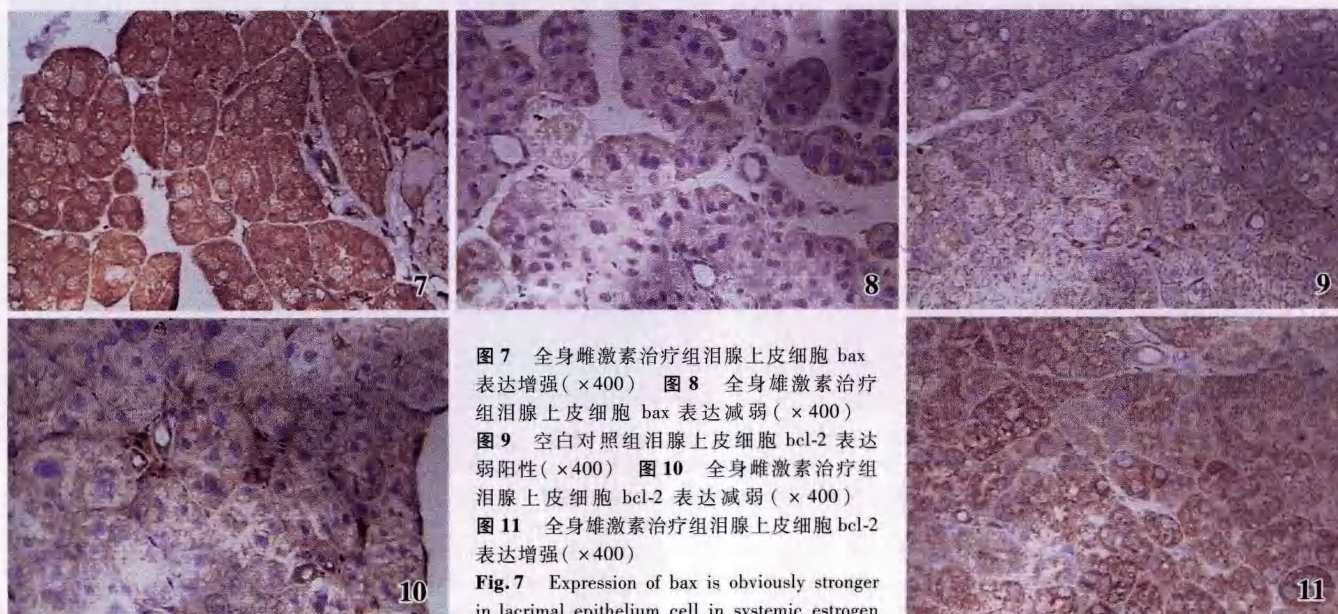


图 7 全身雌激素治疗组泪腺上皮细胞 *bax* 表达增强 ($\times 400$) 图 8 全身雄激素治疗组泪腺上皮细胞 *bax* 表达减弱 ($\times 400$)
图 9 空白对照组泪腺上皮细胞 *bcl-2* 表达弱阳性 ($\times 400$) 图 10 全身雌激素治疗组泪腺上皮细胞 *bcl-2* 表达减弱 ($\times 400$)
图 11 全身雄激素治疗组泪腺上皮细胞 *bcl-2* 表达增强 ($\times 400$)

Fig. 7 Expression of *bax* is obviously stronger in lacrimal epithelium cell in systemic estrogen group ($\times 400$) Fig. 8 Bax is weakly expressed in lacrimal epithelium cell in systemic androgen group ($\times 400$) Fig. 9 Bcl-2 is faintly expressed in lacrimal epithelium cell in control group ($\times 400$) Fig. 10 Weaker positive expression of *bcl-2* is seen in lacrimal epithelium cell in systemic estrogen group ($\times 400$) Fig. 11 Expression of *bcl-2* is enhanced in lacrimal epithelium cell in systemic androgen group ($\times 400$)

group ($\times 400$) Fig. 8 Bax is weakly expressed in lacrimal epithelium cell in systemic androgen group ($\times 400$) Fig. 9 Bcl-2 is faintly expressed in lacrimal epithelium cell in control group ($\times 400$) Fig. 10 Weaker positive expression of *bcl-2* is seen in lacrimal epithelium cell in systemic estrogen group ($\times 400$) Fig. 11 Expression of *bcl-2* is enhanced in lacrimal epithelium cell in systemic androgen group ($\times 400$)

表 5 用药 6 周后各组 bax 和 bcl-2 基因在泪腺上皮中的表达 ($\bar{x} \pm s$, OD 值)

Table 5 Expressions of bax and bcl-2 in lacrimal epithelium cell in different groups after 6 weeks of administration of drugs ($\bar{x} \pm s$, OD value)

Group	OD value	
	Bax	Bcl-2
Blank control	0.20 ± 0.03	0.14 ± 0.03
Vehicle	0.25 ± 0.04	0.17 ± 0.05
Systemic estrogen	0.34 ± 0.06 ^c	0.09 ± 0.04 ^c
Topical estrogen	0.23 ± 0.04	0.11 ± 0.06
Systemic androgen	0.14 ± 0.03 ^b	0.24 ± 0.04 ^c
Topical androgen	0.17 ± 0.05	0.17 ± 0.04
F	13.355	6.705
P	<0.01	<0.01

^b $P < 0.05$, ^c $P < 0.01$ vs respective blank control group (One-way ANOVA, Dunnett *t* test)

2.6 血清雌雄激素质量浓度

OVX 术后 5 个月大鼠血清雌二醇质量浓度为 (23.03 ± 3.81) pg/mL, OVX 术前为 (44.40 ± 9.76) pg/mL, 二者比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。OVX 术后 5 个月血清睾酮质量浓度为 (1.87 ± 0.15) ng/mL, OVX 术前为 (2.42 ± 0.28) ng/mL, 二者比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。E 组给药 6 周后血清雌激素质量浓度上升为 (35.40 ± 3.36) pg/mL。G 组给药 6 周后血清睾酮质量浓度上升为 (3.53 ± 0.67) ng/mL。

3 讨论

干眼症多发生于绝经后的妇女。大规模的流行病学资料证实, 女性发病率为男性的 2~4 倍^[6]。绝经后妇女主要的内分泌变化是由于卵泡消失所致的雌激素分泌减少^[7], 也有报道血浆雄激素水平下降^[8]。女性雌激素水平的降低常与雄激素利用度的降低相关^[9]。本实验通过对雌性性成熟大鼠行 OVX, 模拟人工绝经状态, 结果显示: OVX 术后 5 个月大鼠血清雌二醇和血清睾酮水平均低于 OVX 术前, 且泪液分泌量减少, 泪膜稳定性下降, 雄激素治疗后缓解, 雌激素治疗后加重。由绝经、衰老、自身免疫性疾病、抗雄激素药物等引起雄激素缺乏的原因均可引起干眼症^[10]。泪腺是雄激素的靶器官, 雄激素通过受体发挥作用^[11-12]。雄激素可促进泪腺细胞的增生^[13], 且对泪腺分泌起着十分重要的作用^[14-15]。研究发现干眼症患者雄激素水平降低是导致泪腺功能降低十分重要的原因^[14]。有研究表明雌激素一定程度上能影响泪腺功能, 但机制尚不清楚^[15]。雌激素可能会导致泪腺的退行性变, 使其代谢功能降低, 泪液分泌量减少^[16]。

细胞凋亡是一个复杂的生理过程, 可能受多种信号的协同调控, 最重要的细胞凋亡的调节因子是 bcl-2 及其相关基因, 其中 bax 促进凋亡的发生, bcl-2 抑制凋亡的发生。本实验结果表明: 全身雌激素治疗 6 周后泪腺组织上皮细胞 bax 表达增加, bcl-2 表达减少。全身雄激素治疗 6 周后泪腺组织上皮细胞 bax 表达减少, bcl-2 表达增加。该结果提示雌激素加重去卵巢大鼠泪腺上皮细胞的凋亡, 雄激素减轻去卵巢大鼠泪腺上皮细胞的凋亡。Azzarolo 等^[17]研究发现施行双侧 OVX 后的动物会出现泪腺腺泡细胞与间质细胞的凋亡, 从而导致腺体的萎缩和功能障碍。这种改变可以通过接受雄激素治疗而得到改善, 与本研究结果一致。Toda 等^[18]研究发现 MRL/lpr 雌鼠泪腺中 bcl-2 显著高于雄鼠。应用雄激素后, 除使腺体中淋巴细胞浸润程度明显减轻外, 泪腺中 bax mRNA 也明显减少, 而 bcl-2 明显增加, 而且 bcl-2、bax 蛋白的表达水平与雄激素水平有密切的关系, 并推测这可能是女性易患干眼症的原因之一。有研究发现干眼症的发病机制中炎症和凋亡之间相互作用密切, 而雌激素起到加速凋亡的作用^[19]。研究表明, 雄激素促进去卵巢雌鼠泪腺中 TGF- β_1 的表达^[20]。

本实验通过切除大鼠双侧卵巢并给予雌激素、雄激素治疗, 证实 OVX 术后血清雌雄激素水平均降低且泪液分泌减少, 泪膜稳定性下降, 全身雄激素治疗 6 周后泪液分泌增加, 泪膜稳定性得以改善, 全身雌激素治疗 6 周泪液分泌减少, 泪膜稳定性下降。推测去卵巢雌鼠泪液分泌减少, 泪膜稳定性下降, 与血清睾酮水平下降相关, 且泪腺上皮细胞凋亡可能是其作用机制之一。从而为临床绝经后妇女干眼症的治疗提供理论依据, 提示应用雌激素替代疗法可能会加重绝经后妇女干眼症状。而性激素在干眼症治疗中的作用机制以及其用药途径、用药剂量尚有待于进一步的研究。

参考文献

- Lange C, Fernandez J, Shim D, et al. Mucin gene expression is not regulated by estrogen and/or progesterone in the ocular surface epithelia of mice [J]. *Exp Eye Res*, 2003, 77(1): 59-68
- Shein OD, Munoz B, Tielsh JM, et al. Prevalence of dry eye among the elderly [J]. *Am J Ophthalmol*, 1997, 124: 723-728
- Marcuzzi G, Liberati V, Madia F, et al. Age and gender related differences in human lacrimal fluid peroxidase activity [J]. *Ophthalmologica*, 2003, 217(4): 294-297
- Tsutomu F, Tadaihiro M, Hiromi F, et al. Improvement of corneal barrier function by the P2Y₂ agonist INS365 in a rat dry eye model [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2001, 42: 96-100
- Lekhanont K, Leyngold IM, Suwan-Apichono O, et al. Comparison of topical dry eye medications for the treatment of keratoconjunctivitis sicca in a botulinum toxin B-induced mouse model [J]. *Cornea*, 2007, 26: 84-89

6 Schaumberg DA, Sullivan DA, Dana MR. Epidemiology of dry eye syndrome[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2002, 506: 989 - 998

7 Carr BR. Disorders of the ovaries and female reproductive tract. // *Williams Textbooks of Endocrinology* [M]. 9th ed. Philadelphia: WB Saunders Co, 1998: 776 - 777

8 Labrie F, Belanger A, Cusan L, et al. Marked decline in serum concentrations of adrenal C19 sex steroid precursors and conjugated androgen metabolites during aging[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 1997, 82: 2396 - 2402

9 潘兰兰, 贾卉. 性激素在干眼症发病机制方面的研究进展[J]. *中国实用眼科杂志*, 2006, 24: 1236 - 1239

10 刘祖国, 杨文照. 干眼症的发病机制[J]. *眼科*, 2005, 14: 342 - 345

11 Ono M, Rocha FJ, Sullivan DA. Immunocytochemical location and hormonal control of androgen receptors in lacrimal tissues of the female MRL/Mp-lpr/lpr mouse model of Sjögren's syndrome[J]. *Exp Eye Res*, 1995, 61: 659 - 666

12 Bizzro A, Valentini G, Dimartino G, et al. Influence of testosterone therapy on clinical and immunologic features of autoimmune disease associated with Klinefelter's syndrome[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 1987, 64: 32 - 35

13 Schonthal AH, Warren DW, Stevenson D, et al. Proliferation of lacrimal gland acinar cells primary culture. Stimulation by extracellular matrix, EGF, and DHT[J]. *Exp Eye Res*, 2000, 70: 639 - 649

14 Sullivan DA, Wickham LA, Rocha EM, et al. Androgens and dry eye in Sjögren's syndrome [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 1999, 876: 312 - 324

15 Azzarolo AM, Mircheff AK, Kaswan RL, et al. Androgen support of lacrimal gland function[J]. *Endocrine*, 1997, 6: 39 - 45

16 Schaumberg DA, Buring JE, Sullivan DA, et al. Hormone re-placement therapy and dry eye syndrome[J]. *JAMA*, 2001, 286: 2114 - 2119

17 Azzarolo AM, Wood RL, Mircheff AK, et al. Androgen influence on lacrimal gland apoptosis necrosis and lymphocytic infiltration[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 1999, 40(3): 592 - 602

18 Toda I, Sullivan BD, Wickham LA, et al. Gender- and androgen-related influence on the expression of protooncogenes and apoptotic factors mRNA in lacrimal glands of autoimmune and non-autoimmune mice[J]. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 1999, 71: 49 - 61

19 Scott G, Yiu SC, Wasilewski D, et al. Combined esterified estrogen and methyltestosterone treatment for dry eye syndrome in postmenopausal women[J]. *Am J Ophthalmol*, 2005, 139(6): 1109 - 1110

20 赵萍, 宋秀君, 赵霞. 雌雄激素对去卵巢雌鼠泪腺 TGF-β₁ 表达的影响[J]. *眼科研究*, 2009, 27(4): 307 - 311

(收稿: 2009-02-16 修回: 2009-10-23)

(本文编辑: 尹卫靖)

· 病例报告 ·

脉络膜恶性黑色素瘤继发于黑色素细胞瘤一例

陈雪 张培 王薇

患者, 男, 41岁, 汉族, 10 d前无明显诱因出现左眼视物遮挡, 无疼痛或红肿, 配镜视力不能提高。于外院就诊时发现左眼眼球颞侧壁占位性病变伴周围异常信号, 考虑脉络膜黑色素瘤合并视网膜脱离, 视网膜脱离下积液可能性大。于2007年8月13日门诊以“左眼脉络膜占位”收入我院。该患者无特殊既往史, 否认高血压、糖尿病、心血管疾病史等, 无眼部手术、外伤或疾病史。入院后查体: 全身检查未见异常; 经国际标准视力表查裸眼视力, 右眼 1.2, 左眼 0.2; 双眼结膜无充血, 角膜透明; 左眼前房稍浅, 丁达尔现象(Tyn)(-); 虹膜无新生血管; 瞳孔圆, 直径约3 mm, 直接、间接对光反射存在; 晶状体透明; 玻璃体透明; 视盘边界清楚, 颜色正常, 颞侧视网膜半圆形隆起, 呈灰黑色, 周围视网膜浅脱离, 鼻侧视网膜未见明显异常(图1)。眼球活动不受限, 指测眼压正常。眼科B型超声检查显示: 左眼颞下方球壁前可探及一球形的强回声隆起, 向玻璃体内突入, 其边界较清楚, 前界可见弧形的强回声, 内回声欠均匀, 范围约11.9 mm × 18.6 mm, 隆起度约12.1 mm, 压缩性(-)。彩色多普勒超声: 内见较丰富血流信号, 呈高阻力型动脉血流, 流速15 cm/s, 阻力指

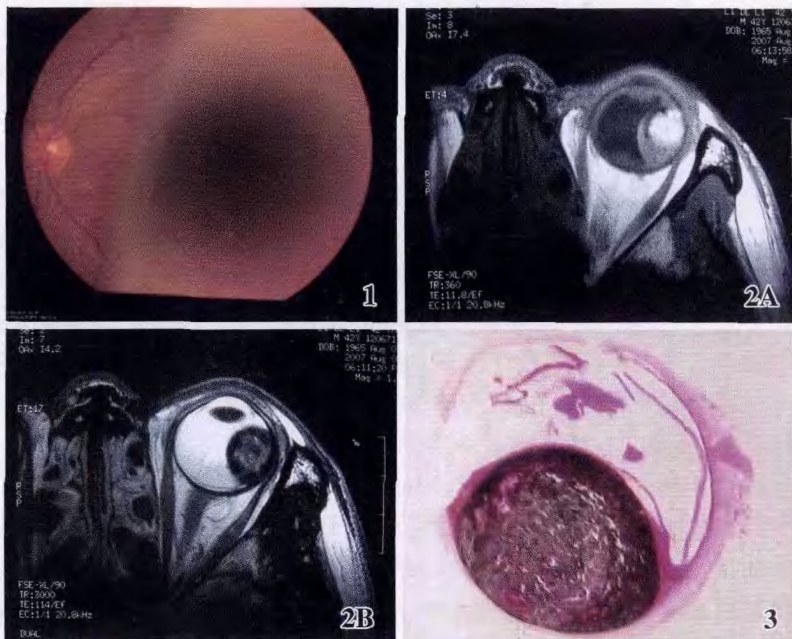


图1 患者颞侧视网膜可见半圆形隆起, 呈灰黑色, 周围视网膜浅脱离 图2 磁共振检查 A: 病变T₁WI呈高信号 B: T₂WI呈低信号 图3 肿瘤切面与巩膜交界的基底部宽17 mm, 厚度12 mm

数: 0.88。荧光素眼底血管造影(FFA)可见左眼视网膜颞侧斑状高低荧光显影。磁共振检查: 病变T₁WI呈高信号, T₂WI呈低信号(图2)。血常规、生化、胸部X线片、腹部B型超声检查

作者单位: 100191 北京大学第三医院眼科
通讯作者: 陈雪 (Email: chenxuer2006@yahoo.com.cn)