

# 配戴软性角膜接触镜者结膜 MUC5AC 表达的改变

赵茂竹<sup>1</sup>, 郑洋<sup>2</sup>, 乔一平<sup>2</sup>

基金项目: 中国四川省教育厅 2004 年重点基金项目(No. 2004. 329)  
作者单位:<sup>1</sup>(610110) 中国四川省成都市, 四川省医学科学院 四川省人民医院城东病区眼科;<sup>2</sup>(646000) 中国四川省泸州市, 泸州医学院眼科  
作者简介: 赵茂竹, 毕业于泸州医学院, 硕士, 住院医师。  
通讯作者: 郑洋, 毕业于泸州医学院, 硕士, 主治医师. springbreeze1998@yahoo.com.cn  
收稿日期: 2009-11-10 修回日期: 2010-05-09

## Change of MUC5AC induced by long-term soft contact lens wear

Mao-Zhu Zhao<sup>1</sup>, Yang Zheng<sup>2</sup>, Yi-Ping Qiao<sup>2</sup>

Foundation item: Key Science Research Foundation of Department of Education, China (No. 2004. 329)

<sup>1</sup>Department of Ophthalmology, chengdong endemic area, the People's Hospital of Sichuan Province, Chengdu 610110, Sichuan Province, China; <sup>2</sup>Department of Ophthalmology, Luzhou medical university, Luzhou 646000, Sichuan Province, China

Correspondence to: Yang Zheng. Department of Ophthalmology, Luzhou medical university, Luzhou 646000, Sichuan Province, China. springbreeze1998@yahoo.com.cn

Received: 2009-11-10 Accepted: 2010-05-09

### Abstract

• AIM: To observe the change of mucus MUC5AC (Mucin5AC) selected by goblet cell in normal subjects and in soft contact lens (SCL) wear subjects.

• METHODS: Conjunctival impression cytology (CIC) were used to collect goblet cell, immunohistochemistry was used to detect the express level of MUC5AC selected by goblet cell in normal subjects and in SCL wear subjects.

• RESULTS: A significant decrease of MUC5AC was observed in the long-term (>5 years) and short-term (<5 years) SCL group compared with the control group ( $P_1 < 0.01$ ;  $P_2 < 0.01$ ), but analysis of the two SCL groups had no significant difference.

• CONCLUSION: This study confirms difference in expression of the mucin MUC5AC in SCL and the health adult. It demonstrates a significant increase of dry eye symptom in SCL compared with the normals.

• KEYWORDS: conjunctival impression cytology; contact lens wear; MUC5AC; dry eye

Zhao MZ, Zheng Yang, Qiao YP. Change of MUC5AC induced by long-term soft contact lens wear. *Int J Ophthalmol (Guji Yanke Zazhi)*

2010;10(6):1086-1088

### 摘要

目的: 观察正常人和配戴软性角膜接触镜 (soft contact lens, SCL) 人群结膜杯状细胞分泌的黏蛋白 MUC5AC 表达改变。

方法: 采用结膜印迹细胞学 (conjunctival impression cytology, CIC) 收集结膜杯状细胞, 免疫组化 SABC 法测定正常人及配戴软性角膜接触镜者 MUC5AC 的表达水平。

结果: 长期配戴软性角膜接触镜 MUC5AC 表达 (>5a) 组及 (<5a) 组较正常人组相比显著减少 ( $P_1 < 0.01$ ;  $P_2 < 0.01$ ), 但前两者之间无明显改变。

结论: 长期配戴软性角膜接触镜者 MUC5AC 明显减少, 发生干眼症状增加。

关键词: 印迹细胞学; 软性角膜接触镜; MUC5AC; 干眼症

DOI: 10.3969/j.issn.1672-5123.2010.06.020

赵茂竹, 郑洋, 乔一平. 配戴软性角膜接触镜者结膜 MUC5AC 表达的改变. 国际眼科杂志 2010;10(6):1086-1088

### 0 引言

黏蛋白 MUC5AC 由眼表杯状细胞分泌, 是构成泪膜黏液层的最主要成分。刺激和炎症会诱导黏蛋白的表达。Sjögren 综合征患者 MUC5AC 明显减少, 杯状细胞数量明显减少<sup>[1]</sup>。软性角膜接触镜 (soft contact lens, SCL) 也会导致眼表的亚临床改变。配戴软性角膜接触镜者发生的过敏性结膜炎与眼表受到的刺激和炎症有关, 而且可能会影响眼表黏蛋白的表达。我们采用印迹细胞学和免疫组织化学方法测定 MUC5AC, 以探讨长期配戴软性角膜接触镜与干眼症的相关性。

### 1 对象和方法

1.1 对象 2007-04/2008-04 进行 LASIK 术前检查 18~40 岁之间健康成年人。其中正常对照组 29 例 54 眼, 男 14 例, 女 15 例, 年龄 18~28 (平均 22.0) 岁; 配戴 SCL 1~4 (平均 2)a, 26 例 45 眼, 男 10 例, 女 16 例, 年龄 18~37 (平均 20.0) 岁; 配戴 SCL 5.5~17 (平均 7.5)a, 39 例 68 眼, 男 7 例, 女 32 例, 年龄 21~40 (平均 26.0) 岁。受试者均身体健康, 无吸烟史, 无长期电脑操作史, 近 2wk 内未滴任何眼液并经检查排除实质性角结膜干燥症和 Sjögren 综合征及由其他原因引起的眼部疾病。

1.2 方法 醋酸纤维膜 8cm × 10cm (浙江台州四青塑料厂); 鼠抗人黏蛋白 MUC5ACmAb (一抗) 北京中衫公司; 生物素化的羊抗鼠多克隆抗体及过氧化物标记的链霉卵白素染色试剂盒, 武汉博士德生物试剂公司。醋酸纤维膜剪成 5mm × 7mm 大小, 环氧乙烷消毒备用。取材时用眼科无齿镊夹持纤维膜, 将粗糙面置于受试者颞侧球结膜表

表 1 MUC5AC 在正常人组及配戴接触镜者间的比较 眼

| 组别           | MUC5AC 表达强度 |    |    |     | 合计  |
|--------------|-------------|----|----|-----|-----|
|              | -           | +  | ++ | +++ |     |
| 正常对照组        | 6           | 29 | 18 | 1   | 54  |
| 配戴 SCL( <5a) | 37          | 7  | 1  | 0   | 45  |
| 配戴 SCL( >5a) | 57          | 10 | 1  | 0   | 68  |
| 合计           | 100         | 46 | 20 | 1   | 167 |

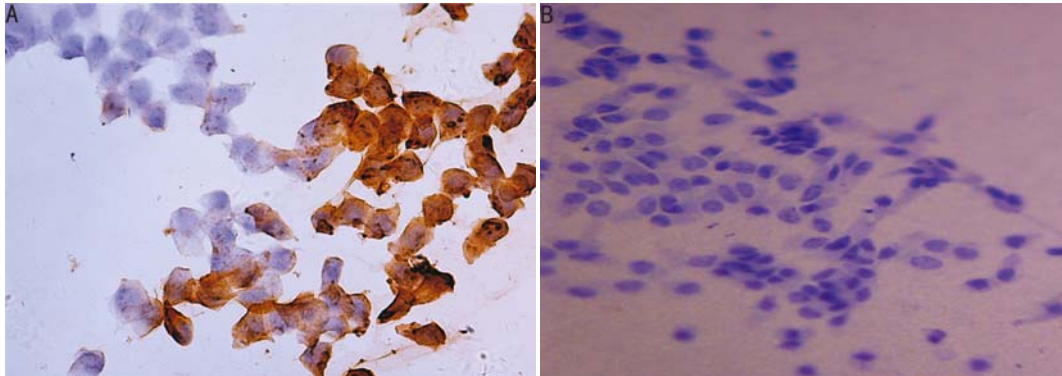


图 1 结膜 MUC5AC 表达 SABC( ×400) A: 正常人; B: 配戴 SCL。

面,玻璃棒轻压约 10s 取出,待滤纸条稍干燥后放入 40g/L 多聚甲醛溶液中固定 1.5h 后 PBS 洗涤样本 5min × 2 次,用 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 阻断内源性过氧化物酶室温孵育 15min,以减低非特异性染色,蒸馏水洗涤 1min; 3g/L Triton 液处理 5min, PBS 冲洗 3 次,每次 2min; 50g/L BSA 液室温处理 20min 封闭非特异性抗体;去掉多余液体后加入鼠抗人 MUC5AC 核心肽的 mAb(1 : 100)在 4℃ 孵育过夜; PBS 冲洗 2min × 3 次后将生物素标记的羊抗小鼠抗体和抗生物素-过氧化物酶连接物室温分别孵育 20min; PBS 冲洗 5min × 4 次后 DAB(3,3-二氨基联苯胺)显色约 5min,待纤维膜染为浅棕色后蒸馏水终止反应;苏木素衬染 3min,自来水冲洗;盐酸乙醇分化 10s,自来水冲洗;梯度乙醇脱水各 2min × 2 次;二甲苯透明 15min,中性树脂封片,光镜观察。PBS 代替一抗作为阴性对照,阳性细胞染成棕色或棕黄色于细胞浆内,细胞核为蓝色;阴性细胞胞质和胞核均呈蓝色。每张切片 400 倍光镜下随机选取 5 个视野寻找阳性细胞,计算阳性细胞率(阳性细胞数/视野内细胞总数)。( - ):未见阳性细胞;( + ):阳性细胞占细胞总数的 1% ~ 25%;( + + ):阳性细胞占细胞总数的 26% ~ 50%;( + + + ):阳性细胞占细胞总数的 51% ~ 75%;( + + + + ):阳性细胞占细胞总数的 76% ~ 100%。

统计学分析:采用 SPSS 13.0 软件进行统计学处理,对各组间年龄和配戴时间采用中位数统计方法, MUC5AC 数据采用非参数统计方法 Kruskal-Wallis 分析软件进行分析。检验标准  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

正常对照组,1 眼表达 MUC5AC( + + + )占 1.8%, 18 眼表达( + + )占 33.3%, 29 眼表达为( + )占 53.7%, 6 眼表达为( - )占 11.1%;配戴 SCL( <5a)组,1 眼表达( + + )占 2.2%, 7 眼表达( + )占 15.5%, 37 眼表达( - )占 82.2%;配戴 SCL( >5a)组,1 眼表达( + + )占 1.4%, 10 眼表达( + )占 14.7%, 57 眼表达( - )占 83.8%(表 1)。

MUC5AC 在正常人组和配戴 SCL 者组之间表达的 SABC 法染色结果(图 1)。3 个组的 MUC5AC 表达强度有统计学差异,做两两比较,正常组和配戴 <5a 组  $P = 0.00041$ , 正常组和配戴 >5a 组  $P = 0.00096$ ,配戴 <5a 组和配戴 >5a 组  $P = 0.814$ 。可见正常组与 2 个配戴组的 MUC5AC 表达强度有统计学差异,而两个配戴组间的 MUC5AC 表达强度没有统计学差异。经 Kruskal-Wallis 分析,  $\chi^2 = 83.53$ ,  $df = 2$ ,  $P = 0.0007$ ,可见 3 个组的 MUC5AC 表达强度有统计学差异。做两两比较用 Mann-Whitney 统计分析,正常组和配戴 <5a 组  $P = 0.00041$ ,正常组和配戴 >5a 组  $P = 0.00096$ ,配戴 <5a 和配戴 >5a 组  $P = 0.814$ 。可见正常组与 2 个配戴 SCL 组的 MUC5AC 表达强度有统计学差异,而两个配戴 SCL 组间的 MUC5AC 表达强度没有统计学差异。

## 3 讨论

存在于眼表的黏蛋白有 MUC1, MUC2, MUC4, MUC5AC, MUC7 和 MUC16<sup>[1]</sup>。膜相关黏蛋白 MUC1, MUC4, MUC2 和 MUC16 都是由结膜和角膜复层上皮细胞分泌, MUC7 是一种大分子量的胶状黏蛋白,由泪腺上皮细胞所分泌<sup>[2]</sup>,分泌型蛋白 MUC5AC 是由结膜杯状细胞分泌,是泪膜中的主要黏蛋白<sup>[3]</sup>。由于黏蛋白的亲水特性,它能够吸引和保持泪液,从而防止泪膜干燥<sup>[4]</sup>。在眨眼时黏蛋白能够润滑眼球表面,从而保持角膜的正常屈光功能,黏蛋白还能够阻挡并清除碎屑,阻止病菌入侵<sup>[5]</sup>。刺激和炎症会诱导黏蛋白的表达。患有过敏性结膜炎的患者,尤其是巨乳头状结膜炎(GPC),春季和特应性角(结)膜炎(VKC 和 AKC),会有大量的黏液性分泌物或者其他黏液,还会出现瘙痒、烧灼和干涩的症状。Balaram 等<sup>[6]</sup>报道, MUC5AC 在 Sjögren 综合征患者中明显减少,杯状细胞数量明显减少。角膜接触镜也会导致眼表的亚临床改变。配戴角膜接触镜,如发生的过敏性结膜炎,与眼表受到的刺激和炎症有关,而且可能会影响眼表黏蛋白的表达。

我们的研究显示,在配戴软性角膜接触镜人群中 MUC5AC 的表达明显减少,原因可能是由于角膜接触镜使泪膜的黏液层出现异常,黏液碎屑过多,干扰正常角膜表面的湿润机制。长期配戴角膜接触镜可对结膜杯状细胞的密度产生影响,配戴时间越长,结膜上皮细胞角化程度越高,杯状细胞数目越少,甚至消失<sup>[7]</sup>;杯状细胞数量减少,可导致其分泌的 MUC5AC 分泌量减少。这在部分无症状患者亦是明显改变的,这一结论和 Yasueda 等<sup>[8]</sup>的结果一致。然而在短期配戴 SCL 者和长期配戴 SCL 人群中, MUC5AC 的表达减少无明显差异,原因可能是由于角膜接触镜在配戴过程中出现了一定程度的耐受现象。有研究表明患者在短期配戴角膜接触镜时可表现出眼痒、干涩感、异物感等症状,随着时间延长,这一系列的症状慢慢减轻,这可能与患者自身对 SCL 出现耐受有关。我们的研究证明,配戴软性角膜接触镜者,不管其配戴时间长短,都会对 MUC5AC 的表达产生影响,这也间接与接触镜配戴引起的干眼症有一定关联。然而 SCL 的配戴是否会对泪膜其他成分产生影响,还需要我们进一步的研究。我们认为,有必要对配戴软性角膜接触镜患者的眼表泪液状况进行深入研究,为临床更好的诊治软性角膜接触镜配戴

引起的干眼症提供理论依据。

#### 参考文献

- 1 Gipson IK. Distribution of mucins at the ocular surface. *Exp Eye Res* 2004;78:379-388
- 2 Corrales RM, Calonge M, Victoria S, et al. Chaves, Human epithelium from conjunctival impression cytology expresses MUC7 mucin gene. *Cornea* 2003;22(1):41-45
- 3 Zhao C, James E, Thomas O, Marcia M. Jumblatt, Quantification of MUC5AC Protein in Human Tear. *Cornea* 2001;20(8):873-877
- 4 Gipson IK, Inatomi T, Mucin genes expressed by the ocular surface epithelium. *Prog Retin Eye Res* 1997;16:81-98
- 5 Paulsen F, Corfeild A, Hinz M, et al. Characterization of mucins in human lacrimal sac and nasolacrimal duct. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003;44(5):1809-1813
- 6 Pablo A, Balaram M, Sandra S, et al. Keutmann, M. Reza Da, Ilene K. Gipson, Decreased levels of the goblet cell mucin MUC5AC in tears of patients with sjo gren syndrome. *Invest Ophthalmol Vis* 2002;43(4):1004-1011
- 7 Ader S. Conjunctival impression cytology in patients wearing contact lens. *Cornea* 1997;3:289-294
- 8 Yasueda I, Kazuhiro Y, Yasuharu N, et al. Decreased mucin concentrations in tear fluids of contact lens wearers. *J Pharm Biomed Anal* 2005;39:187-195