

# 新型生物活性物质尾加压素 II 降眼压作用的实验研究

李坤鹏<sup>1</sup>, 黄秀榕<sup>1</sup>, 祁明信<sup>2</sup>, 陈 义<sup>1</sup>

基金项目: 中国福建省中医药重点科研资助项目 (No. Wzz-b0601)

作者单位:<sup>1</sup>(350003) 中国福建省福州市, 福建中医药大学病理生理研究中心;<sup>2</sup>(350003) 中国福建省福州市, 福建中医药大学附属第二人民医院眼科

作者简介: 李坤鹏, 男, 硕士, 研究方向: 白内障。

通讯作者: 黄秀榕, 女, 教授, 博士研究生导师, 研究方向: 白内障. qihuang@netease. com

收稿日期: 2011-04-22 修回日期: 2011-06-27

## Experimental study of intraocular pressure decreased by new biological activity substance of Urotensin II

Kun-Peng Li<sup>1</sup>, Xiu-Rong Huang<sup>1</sup>, Ming-Xin Qi<sup>2</sup>, Yi Chen<sup>1</sup>

**Foundation item:** Traditional Chinese Medicine key Scientific Reseach Project Funded by Fujian Province, China (No. Wzz-b0601)

<sup>1</sup>Research Center of Pathophysiology, Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350003, Fujian Province, China;

<sup>2</sup>Department of Ophthalmology, the Second Affiliated Hospital, Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350003, Fujian Province, China

**Correspondence to:** Xiu-Rong Huang, Research Center of Pathophysiology, Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350003, Fujian Province, China. qihuang@netease. com

Received: 2011-04-22 Accepted: 2011-06-27

## Abstract

• **AIM:** To study the effect of Urotensin II (U-II) on intraocular pressure (IOP).

• **METHODS:** Different concentrations of U-II (10pg/ $\mu$ L, 100pg/ $\mu$ L, 1ng/ $\mu$ L, 10ng/ $\mu$ L) were injected into anterior vitreous body of eyes in New Zealand rabbits. Schiøtz impression tonometer were used with double balances after 0, 1 hour; 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24, 36 hours; 2, 3, 4, 5, 6 days.

• **RESULTS:** IOP decreased 17.5%, 33.7%, 54.7% and 56.4% ( $P < 0.001$ ) in groups of 0.1ng U-II, 1ng U-II, 10ng U-II and 100ng U-II after 10-12 hours, 8 hours, 6 hours and 6 hours respectively; The effects of IOP decreases continued until 24 hours; 2, 3, 4 days respectively.

• **CONCLUSION:** U-II can decrease intraocular pressure (IOP) rapidly, intensively and continuously. U-II, the new biological activity substance may become an effective medicine to prevent and treat glaucoma.

• **KEYWORDS:** Urotensin II; intraocular pressure;

glaucoma; rabbit

Li KP, Huang XR, Qi MX, *et al.* Experimental study of intraocular pressure decreased by new biological activity substance of Urotensin II. *Guji Yanke Zazhi (Int J Ophthalmol)* 2011; 11(8):1334-1336

## 摘要

**目的:** 探讨尾加压素 II (urotensin II, U-II) 对兔眼压的影响。

**方法:** 将 10, 100pg/ $\mu$ L 和 1, 10ng/ $\mu$ L 浓度的 U-II 溶液 10 $\mu$ L 分别注射到新西兰白兔眼玻璃体前部, 于注射后即刻 (0h), 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24, 36h; 2, 3, 4, 5, 6d 不同时间点, 用修兹眼压计行双砝码法眼压测量。

**结果:** 0.1ng U-II 组在 10 ~ 12h 使眼压降低 17.5% ( $P < 0.001$ ); 1ng U-II 组在 8h 使眼压降低 33.7% ( $P < 0.001$ ); 10ng U-II 组在 6h 使眼压降低 54.7% ( $P < 0.001$ ); 100ng U-II 组在 6h 使眼压降低 56.4% ( $P < 0.001$ )。四组降压作用分别持续 24h; 2, 3, 4d。

**结论:** U-II 具有快速、强效、持久的降低眼压的作用, 有可能成为防治青光眼的有效药物。

**关键词:** 尾加压素 II; 眼压; 青光眼; 兔

DOI: 10.3969/j.issn.1672-5123.2011.08.008

李坤鹏, 黄秀榕, 祁明信, 等. 新型生物活性物质尾加压素 II 降压作用的实验研究. 国际眼科杂志 2011; 11(8):1334-1336

## 0 引言

尾加压素 II (urotensin II, U-II) 最早是从硬骨鱼的尾部下垂体中提取的一种神经肽。1998 年首次从人体中克隆出人 U-II (hU-II)。研究表明<sup>[1-3]</sup>, U-II 是具有多种生物学效应的新型生物活性物质, 体内多种组织中含有 U-II, 血管和神经组织中的 U-II 含量较多。本课题组以往的研究曾发现, 眼部各组织均含有 U-II, 并对晶状体上皮细胞有促进增殖的作用<sup>[4,5]</sup>。

近年来的研究还表明, 血管组织中富含 U-II, U-II 是迄今为止发现的最强的缩血管肽。Maguire 等<sup>[6]</sup>报道 hU-II 可收缩人冠状动脉、乳动脉、隐静脉、脐静脉, 其收缩动脉血管的作用是内皮素-1 (endothelin-1, ET-1) 的 50 多倍, 收缩静脉血管的作用是 ET-1 的 10 倍。睫状体是眼血管膜 (又称色素膜) 的一部分, 血管极其丰富。睫状体的血流量与其生成的房水量密切相关。房水产生过多或排出减少引起的高眼压是造成青光眼视神经损害的直接原因之一。本文研究外源性 U-II 对眼压的影响, 探讨其对睫状体血管收缩及血流调控的作用, 为寻求防治青光眼的有效途径提供科学的实验依据。

## 1 材料和方法

1.1 材料 健康新西兰白兔 20 只, 雌雄不限, 体质量 2  $\pm$

表1 正常兔眼压波动情况 ( $\bar{x} \pm s$ , mmHg)

时间点	n(眼)	眼压		
		1d	2d	3d
8:00	8	21.6 ± 1.43	21.3 ± 1.40	21.2 ± 2.00
12:00	8	21.6 ± 1.17	21.7 ± 1.70	22.1 ± 1.70
16:00	8	20.7 ± 1.25	20.7 ± 1.80	21.3 ± 1.60
20:00	8	21.1 ± 1.70	21.5 ± 1.90	22.0 ± 1.90

0.3kg,由上海实验动物中心提供,经变焦摄影裂隙灯显微镜检查双眼正常。实验期间正常饮食、正常喂养。试剂:hU-II为美国Sigma公司产品,DMEM培养液(Dulbecco's Modified Eagle's Medium)为美国Gibco公司产品,表面麻醉剂爱尔卡因为美国Alcon公司产品。仪器:修兹眼压计为浙江医疗用品公司产品,10 $\mu$ L微量注射器系江苏精密仪器制造厂生产。

**1.2 方法** 试剂配制:将500 $\mu$ g U-II溶解于0.5mL双蒸水中,配制成U-II母液。取适量U-II母液和DMEM溶液配制成10ng/ $\mu$ L U-II溶液,再用DMEM溶液稀释得到10,1ng/ $\mu$ L和100,10pg/ $\mu$ L 4种浓度的U-II溶液置4 $^{\circ}$ C冰箱备用。实验分组:实验共分为5组,每组4只新西兰白兔(8眼)。空白对照组:DMEM溶液10 $\mu$ L;0.1ng U-II组:10pg/ $\mu$ L U-II溶液10 $\mu$ L;1.0ng U-II组:100pg/ $\mu$ L U-II溶液10 $\mu$ L;10.0ng U-II组:1ng/ $\mu$ L U-II溶液10 $\mu$ L;100.0ng U-II组:10ng/ $\mu$ L U-II溶液10 $\mu$ L。正常眼压测量:参照王强等兔眼压测量方法<sup>[5]</sup>将兔置于兔盒内,固定兔头并使兔眼朝向上方。在兔眼结膜囊内滴入爱尔卡因麻醉,每次2滴,3min 1次,连续3次。分开兔睑裂,用修兹眼压计进行双砵码法眼压测量。每天在北京时间8:00,12:00,16:00和20:00测量眼压各1次,连续3d,获得正常兔眼压值,以了解24h内眼压波动情况。前玻璃体内注入U-II溶液:兔固定与麻醉方法同上,分开兔睑裂,用有齿眼科镊夹住上直肌以固定眼球,在兔眼角膜缘后约4mm处,于睫状体平坦部垂直进针5~6mm至玻璃体前部,针尖刺到瞳孔中央位置时,按实验分组注入不同浓度的U-II溶液。注射前后眼压测量:分别于注射后即刻(0h),1,2,4,6,8,10,12,24,36h;2,3,4,5,6d不同时间点,按上述方法用修兹眼压计进行双砵码法眼压测量并详细记录。其他观察:用变焦摄影裂隙灯显微镜分别在上述时间点观察兔眼角膜、前房、瞳孔、虹膜、晶状体,并用直接眼底镜观察眼底,记录。注意虹膜和视网膜血管及颜色是否改变。

统计学分析:用SPSS 12.0统计软件分析。所有结果用均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示。采用单因素方差分析进行差异的显著性检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 正常兔眼压** 表1显示3d内正常兔眼压及波动情况。3d内12个时间点眼压波动于20.7 $\pm$ 1.8和22.1 $\pm$ 1.7mmHg。经统计学分析发现,每天4个时间点眼压波动无显著性差异( $P > 0.05$ )。连续观察3d,每天眼压的差别也无统计学意义( $P > 0.05$ )。

**2.2 U-II注射对兔眼压的影响** 注射的U-II浓度越高,降压作用开始时间越早、降低眼压的作用越强、降压作用持续时间越长(表2)。注射后即刻(0h)各组眼压均有短暂升高,对照组与实验组无差异( $P > 0.05$ ),各组动物在眼内注射后即刻(0h),从注射前平均正常兔眼压21.4 $\pm$

1.6mmHg升高到24.1 $\pm$ 2.1mmHg,经统计学处理有显著差异( $P < 0.01$ );0h对照组眼压(24.1 $\pm$ 2.2mmHg)与不同浓度的U-II组眼压之间无差异( $P > 0.05$ )。眼内注射4种不同浓度的U-II后,均显示有不同程度的降低眼压的作用:0.1ng U-II组在10~12h发挥到最大的降眼压效应,眼压从对照组的21.1mmHg降到17.4mmHg,降低17.5%( $P < 0.001$ );1ng U-II组在8h发挥到最大的降眼压效应,眼压从对照组的20.8mmHg降到13.8mmHg,降低33.7%( $P < 0.001$ );10ng U-II组在6h发挥到最大的降眼压效应,眼压从对照组的22.5mmHg降到10.2mmHg,降低54.7%( $P < 0.001$ );100ng U-II组在6h发挥到最大的降眼压效应,眼压从对照组的22.5mmHg降到9.8mmHg,降低56.4%( $P < 0.001$ )。眼内注射0.1,1,10,100ng的U-II后,开始发挥降眼压效应的时间分别是注射U-II后10,6,2和2h;降低眼压持续的时间分别为10~24h,6h~2d,2h~3d和2h~4d。对照组在注射后2h~6d之内眼压均无显著变化( $P > 0.05$ )。

**2.3 眼部观察** 用变焦摄影裂隙灯显微镜观察兔眼角膜、前房、瞳孔、晶状体,均未见明显改变,虹膜血管和颜色无明显变化;直接眼底镜观察眼底未见动脉血管明显收缩。

## 3 讨论

自从发现U-II以来,许多研究<sup>[3]</sup>表明,U-II是具有多种生物学效应的新型生物活性物质。U-II收缩人动脉和静脉的作用是ET-1的10倍以上,因其强力收缩血管作用可引起麻醉猴循环衰竭,从而提出hU-II是迄今为止最强的血管收缩物质。但也有研究发现,U-II可使某些血管产生舒张效应,Stirrat报道hU-II能扩张人肺和胃的阻力血管。U-II对眼部是否有舒缩血管的效应从而对眼压产生影响,至今尚未见国内外文献报道。本研究采用不同浓度的外源性U-II,向新西兰白兔作眼玻璃体前部注射,观察注射后不同时间对眼压的影响。研究结果发现,0.1,1,10,100ngU-II眼内注射都具有一定程度的降眼压效应。其最大降眼压效应分别是使眼压降低17.5%,33.7%,54.7%和56.4%,其中10ng与100ng剂量的U-II的最大降眼压效应相似(54.7%和56.4%)。本研究结果与其他学者眼内注射ET-1的研究比较,U-II的降眼压作用强于ET-1。说明U-II是一种具有强效降眼压作用的生物活性物质。本研究结果显示,在一定的浓度范围内(0.1~100ng)U-II引起兔眼压降低。剂量大时,降压效应较明显。本研究还表明,U-II是一种长效的降眼压物质。10ng U-II可将眼压降低到14mmHg水平以下,并持续4~6h;100ngU-II可将眼压降低到14mmHg水平以下并持续3d之久。说明剂量越大,降压持续时间越长。0.1,1,10,100ng组分别在注射后10,6,2,2h开始发挥降眼压效应,说明剂量越大,发挥效应越快,但10ng和100ngU-II发挥效应的时间相同。本结果提示,注射10ng U-II是最大有效剂量,超过此剂量只是降压效应持续时间较长。100ng剂量的U-II使降低眼压的效应持续3d左右。本实验通过在1d内的不同时间点并连续测量3d正常兔眼压的方法,发现兔眼压在24h内的波动无显著差别,因此可以排除眼压波动因素对本研究中眼压的影响。此外,本实验发现对照组和实验组在眼前玻璃体注射后即刻均发生短暂的眼压升高,这可能是由于实验操作刺激所致。因对照组和实验组发生的情况相同,且注射后很快恢复正常,故并不影响实验结果。

表2 眼内注射 U-II 对兔眼压的影响 ( $\bar{x} \pm s, \text{mmHg}, n=8$ )

时间	眼压					F
	对照组	0.1ng U-II	1ng U-II	10ng U-II	100ng U-II	
0h	24.1 ± 2.2	24.9 ± 2.3	24.1 ± 2.3	24.0 ± 2.1	23.4 ± 1.6	0.860
2h	21.3 ± 1.7	20.6 ± 2.2	22.6 ± 3.3	18.9 ± 3.1 <sup>a</sup>	14.9 ± 2.8 <sup>b</sup>	15.350
4h	22.1 ± 1.6	22.4 ± 4.1	20.8 ± 2.5	15.5 ± 4.7 <sup>b</sup>	14.3 ± 1.6 <sup>b</sup>	40.981
6h	2.5 ± 1.5	20.0 ± 3.3	16.1 ± 2.2 <sup>b</sup>	10.2 ± 5.2 <sup>b</sup>	9.8 ± 1.4 <sup>b</sup>	115.061
8h	20.8 ± 1.4	19.5 ± 1.3	13.8 ± 4.3 <sup>b</sup>	11.2 ± 1.7 <sup>b</sup>	10.4 ± 1.6 <sup>b</sup>	173.626
10h	21.1 ± 1.6	17.4 ± 2.0 <sup>b</sup>	15.6 ± 4.0 <sup>b</sup>	13.0 ± 1.8 <sup>b</sup>	10.8 ± 1.8 <sup>b</sup>	83.080
12h	21.1 ± 1.3	17.4 ± 1.5 <sup>b</sup>	15.9 ± 1.8 <sup>b</sup>	15.0 ± 1.3 <sup>b</sup>	11.9 ± 1.4 <sup>b</sup>	157.916
24h	21.8 ± 1.5	17.8 ± 1.6 <sup>b</sup>	19.1 ± 3.2 <sup>a</sup>	15.9 ± 3.4 <sup>b</sup>	13.0 ± 2.5 <sup>b</sup>	46.355
36h	21.0 ± 1.6	20.4 ± 1.9	17.9 ± 1.1 <sup>b</sup>	17.2 ± 1.9 <sup>b</sup>	13.5 ± 1.5 <sup>b</sup>	100.229
2d	21.1 ± 1.4	20.4 ± 1.9	17.9 ± 2.4 <sup>b</sup>	18.5 ± 1.9 <sup>a</sup>	13.0 ± 1.4 <sup>b</sup>	83.943
3d	20.5 ± 1.4	20.8 ± 2.0	20.3 ± 2.9	19.1 ± 2.5	13.9 ± 1.6 <sup>b</sup>	66.213
4d	21.5 ± 1.4	21.3 ± 1.6	21.0 ± 1.5	20.8 ± 1.3	17.5 ± 1.6 <sup>b</sup>	9.841
5d	21.5 ± 1.6	20.9 ± 1.5	21.0 ± 1.5	20.3 ± 1.9	22.1 ± 1.6	0.842
6d	21.5 ± 1.6	21.8 ± 2.0	21.3 ± 1.8	21.9 ± 2.1	22.1 ± 1.1	0.747

<sup>a</sup>P < 0.05, <sup>b</sup>P < 0.01 vs 对照组。

眼压的产生主要依赖于房水的不断生成与排出。房水主要是由睫状体分泌的,由这一途径产生的房水约占总量的85%,因此睫状体在眼压的维持过程中起着十分重要的作用。睫状体血管极其丰富,睫状体的血流量与其生成的房水量密切相关。在其他条件不变的情况下,减少睫状体的血流量会使房水的分泌减少,而当房水分泌较大幅度减少时眼压就会降低。由于U-II强烈的缩血管效应,当其在眼部发挥效应时,有可能使眼睫状体血管收缩,从而降低睫状体血流量,使得房水的生成减少,导致眼压下降。本研究中眼压大幅度降低很可能与睫状体的这些改变有关。本研究并未观察到兔瞳孔在注射U-II前后有明显改变,这表明前房角的开放程度可能并没有受到明显的影响,房水外流的阻力可能没有改变。因此本研究观察到的U-II降眼压效应可能与房水外流阻力的改变无关。

测量眼压有很多方法,目前主要有压陷式和压平式两种类型。这些眼压计都是为人眼设计的,因为兔眼和人眼的解剖结构有很大的差别,以测量人眼的方法来测量兔眼压,其结果未必准确。王强等<sup>[7]</sup>兔眼压测量方法的研究发现,利用压陷式眼压计按双砝码法测量兔眼压时,如果用5.5g与10.0g,7.5g与15.0g对读,所测得的数据与兔眼压实际值非常接近,其差值不超过2mmHg。本实验采用的是修兹眼压计双砝码法测量,并且每次测量均读数3次取其均值,因此实验数据及结果是比较可靠的。

有报道指出,生理盐水及PBS平衡液等灌注液对兔眼角膜内皮细胞有较大损害,现已不在临床应用。目前多采用含多种平衡盐及活性成分的眼内灌注液。DMEM属于此类灌注液,能较好地维持细胞活性,且不会产生不良反应。本实验发现,注射10μL DMEM会在1h内使兔眼压略有增高,但随即恢复至正常水平。这可能是由于注入一定量的液体使兔眼球内压力增大的缘故。本实验通过裂隙灯显微镜及直接眼底镜从实验开始至实验结束共观

察6d发现,注射DMEM培养液的对照组动物的角膜、前房、晶状体、玻璃体和视网膜等眼内组织均无明显改变;6d内眼压亦无明显改变。结果提示DMEM培养液对兔眼是一种安全的注入液,兔眼压的变化不是由DMEM溶液引起的,确是由外源性U-II所致。

原发性青光眼的发病机制至今尚未完全明了。房水产生过多或排出减少引起的高眼压是造成青光眼视神经损害的直接原因。将眼压控制在较低的水平、防止高眼压对神经纤维的损害是防治青光眼的关键。本研究在国内外首次发现U-II具有快速强效持久的降眼压作用,为将U-II作为一种新型的降眼压药物提供了科学的实验依据,开拓了一个新的思路。

#### 参考文献

- 1 竺晓鸣,杜冠华. 尾加压素II生物学效应研究进展. 中国药理学通报 2006; 22(6):651-654
- 2 Matsushita M, Shichiri M, Fukai N, et al. Urotensin II is an autocrine/paracrine growth factor for the porcine renal epithelial cell line. *Endocrinology* 2003;144(5):1825-1831
- 3 Watanabe T, Arita S, Shiraishi Y, et al. Human urotensin II promotes hypertension and atherosclerotic cardiovascular diseases. *Curr Med Chem* 2009;16(5):550-563
- 4 黄秀榕,祁明信,李坤鹏,等. 尾加压素II体外促进晶状体上皮细胞增殖的细胞信号转导机制. 国际眼科杂志 2010;10(3):432-434
- 5 黄秀榕,祁明信,李坤鹏,等. 新型生物活性物质尾加压素II促进晶状体上皮细胞增殖的实验研究. 国际眼科杂志 2010;10(3):435-436
- 6 Maguire JJ, Kuc RE, Davenport AP. Ophen-receptor ligand human urotensin II: receptor localization in human tissues and comparison of vasoconstrictor responses with endothelin-1. *Br J Pharmacol* 2000; 131(3):441-446
- 7 王强,魏厚仁,樊郑军. 家兔眼压测量的标定问题. 眼科研究 1994; 12(4):224-229