

# Lat-B 对家兔房水葡萄膜巩膜引流通路的影响

李卫国<sup>1</sup>, 何湘珍<sup>2</sup>

基金项目: 中国湖南省卫生厅资助课题(No. B2005105)

作者单位:<sup>1</sup>(256600) 中国山东省滨州市, 滨州医学院附属医院眼科;<sup>2</sup>(421001) 中国湖南省衡阳市, 南华大学第二附属医院眼科

作者简介: 李卫国, 男, 硕士, 主治医师, 研究方向: 青光眼、玻璃体视网膜病。

通讯作者: 何湘珍, 主任医师, 教授, 硕士研究生导师, 研究方向: 白内障. liwg868994@sina.com

收稿日期: 2010-03-17 修回日期: 2010-06-28

## Effect of Latrunculin-B on rabbit uveoscleral outflow

Wei-Guo Li<sup>1</sup>, Xiang-Zhen He<sup>2</sup>

**Foundation item:** Research Foundation of Hunan Provincial Department of Health(No. B2005105)

<sup>1</sup>Department of Ophthalmology, the Affiliated Hospital of Binzhou Medical College, Binzhou 256600, Shandong Province, China;

<sup>2</sup>Department of Ophthalmology, the Second Affiliated Hospital of Nanhua University, Hengyang 421001, Hunan Province, China

**Correspondence to:** Xiang-Zhen He, Department of Ophthalmology, the Second Affiliated Hospital of Nanhua University, Hengyang 421001, Hunan Province, China. liwg868994@sina.com

Received: 2010-03-17 Accepted: 2010-06-28

## Abstract

• **AIM:** To determine the effects of Latrunculin-B (Lat-B) on intraocular pressure (IOP), aqueous humor flow (AHF), uveoscleral outflow.

• **METHODS:** Topical Lat-B was administered to one eye, and vehicle to the other. IOP was measured by Goldmann tonometry. The IOP were measured at 1 hour before administration and 1 hour, 2, 3, 4, 5, 6, 24 hours after administration respectively; immunofluorescence was detected by instillation of FITC-BSA into anterior chamber, at 2, 4, 6, 8, 10 hours, 2 rabbits were killed and frozen section of the eyes were done, and then the fluorescence intensity of ciliary body, epichoroidal space, anterior and posterior sclera were detected respectively.

• **RESULTS:** Lat-B could decrease the IOP, compared with the IOP before drug administration, the difference was significant ( $P < 0.05$ ), and this effect occurred within 1 hour, some IOP effect may remained for 24 hours, but the IOP of BSS group and DMSO group were not decreased. The fluorescence intensity of ciliary body, epichoroidal space, anterior and posterior sclera after drug administration of Lat-B were higher than that of BSS group and DMSO group ( $P < 0.05$ ), there was no difference between BSS group and DMSO group ( $P > 0.05$ ).

• **CONCLUSION:** Lat-B can decrease IOP and this effect occurred within 1 hour, remained effective at 24 hours; Lat-B may be used in the therapy of glaucoma by increasing the uveoscleral outflow facility, especially in NTG and POAG.

• **KEYWORDS:** Lat-B; glaucoma; cytoskeleton remodeling; uveoscleral outflow

Li WG, He XZ. Effect of Latrunculin-B on rabbit uveoscleral outflow. *Int J Ophthalmol (Guji Yanke Zazhi)* 2010;10(7):1277-1280

## 摘要

**目的:** 研究 Lat-B 对家兔眼内压、葡萄膜巩膜通路的影响。

**方法:** 兔眼局部应用 Lat-B, BSS 和 DMSO, 于用药前 1h 及用药后 1, 2, 3, 4, 5, 6, 24h 测量眼压后部分免疫荧光组通过前房内注入微量示踪剂异硫氰酸荧光素牛血清白蛋白 (fluorescein isothiocyanate bovine serum albumin, FITC-BSA), 于点眼后 2, 4, 6, 8, 10h 各处死家兔 2 只, 摘除双侧眼球作冰冻切片, 于荧光显微镜下观察并确定睫状体、脉络膜上腔、前、后巩膜和脉络膜的荧光强度等级。

**结果:** Lat-B 滴眼后处理眼眼压不同时间点与滴眼前比较眼压呈下降趋势, 差异有显著性 ( $P < 0.05$ ), 1h 即可引起眼压降低, 24h 仍有效, BSS 组与 DMSO 组未引起眼压下降; 葡萄膜巩膜途径通路 3 组之间在睫状体、脉络膜上腔、前、后巩膜和脉络膜的荧光强度, 各部位均为 Lat-B 组最强, Lat-B 与 BSS 组和 DMSO 组相比差异均有显著性 ( $P < 0.05$ ), BSS 组和 DMSO 组相比差异无显著性。

**结论:** Lat-B 能够有效降低眼压, 1h 即可起效, 且 24h 仍有效。Lat-B 可以增加葡萄膜巩膜途径通路的房水流出率, 具有治疗青光眼的临床应用前景, 尤其是正常眼压性青光眼、开角性青光眼。

**关键词:** Lat-B; 青光眼; 细胞骨架重塑; 葡萄膜巩膜通路

DOI: 10.3969/j.issn.1672-5123.2010.07.012

李卫国, 何湘珍. Lat-B 对家兔房水葡萄膜巩膜引流通路的影响. *国际眼科杂志* 2010;10(7):1277-1280

## 0 引言

青光眼是一组以特征性视神经萎缩和视野缺损为共同特征的疾病, 病理性眼压增高是其主要危险因素之一, 大量的临床和实验证据表明, 升高的眼压是发生青光眼视神经损害的重要而且迄今唯一可以确定和人为干预的危险因素。青光眼的诊断确立后, 降眼压是最主要的治疗手段。目前临床上使用的降眼压药物主要有胆碱能拟似药 (如毛果芸香碱)、交感神经拟似药 (如肾上腺素)、 $\alpha$ -肾上腺素促效剂 (如 apraclonidine)、 $\beta$ -肾上腺素能受体阻断剂 (如噻吗心安)、碳酸酐酶抑制剂 (如乙酰唑胺)、前列腺素类 (如拉坦前列素) 及高渗剂等, 上述药物均有不同程度的副作用, 有的还相当严重。Latrunculins 是从海生

的海藻(*Latrunculia magnifica*)中分离出来的大环内酯类药物 Latrunculin B (Lat-B) 是肌动蛋白敏感剂,可与肌动蛋白的单体结合,防止肌动蛋白的微丝形成。Lat-B 为组织非特异性药物,可以作用于所有细胞的细胞骨架结构,故在传统的小梁网通路受到药物作用的同时,亦不能排除葡萄膜巩膜通路受到了影响,我们研究 Lat-B 作用机制,增加对房水排出通道及青光眼发病的认识,并有助于寻找新的药物作用靶点,为抗青光眼治疗药物的研究奠定基础。Lat-B 有可能成为新一代的降眼压药物。因此,全面阐明 Lat-B 对葡萄膜巩膜通路的影响对于阐明 Lat-B 作用机制及开发应用具有十分重要的意义。

### 1 材料和方法

**1.1 材料** 健康家兔 36 只,体质量 2.5 ~ 3.0kg,南华大学医学实验动物中心提供,雌雄兼用,随机分为 BSS, DMSO 和 Lat-B 组,每组 12 只,6 只用于光学显微镜观察,每组 2 只,另 30 只用于荧光显微镜观察,每组 10 只。Lat-B 浓度为 2mmol/L 溶解在 DMSO 中-20℃ 储存(美国威斯康辛大学研究院研究员刘旭阳教授提供)实验中用 BSS(美国爱尔康公司)稀释为 500μmol/L 浓度,250g/L DMSO(Amresco)也由 BSS 稀释,所有用药均为实验当日配制。

**1.2 方法** 每组家兔的实验眼随机选择,左右眼各半,实验开始前 1h,每只眼测 2 ~ 3 次眼内压(intraocular pressure, IOP)取平均值作为基线,4 × 5μL 的 500μmol/L Lat-B,4 × 5μL 的 250g/L DMSO,4 × 5μL 的 BSS 点眼后,兔眼被要求向上维持 15min,眼睑保持张开状态,利于药物充分渗入,减少全身吸收,用药后每小时测 1 次 IOP,持续 6h,另外在 24h 测 1 次,每次测眼压前用速眠新 II(长春军事医学科学院军事兽医研究所)按 0.05mL/kg 给予耳缘静脉麻醉,使兔安静不动但保持清醒状态,另加 1 滴 10g/L 爱尔卡因于眼表,滴 2.5g/L 荧光素钠滴眼液,使角膜表面泪膜染色,眼压用 Goldmann 眼压计(德国)测量,兔头部固定于裂隙灯(德国)下颌托上,将钴蓝色滤光玻璃置于裂隙灯光前方,被照射的泪膜呈鲜绿色,并将裂隙开至最宽,使测压头照明亮度达最大,光源投射角约为 60°将测压头转至裂隙灯显微镜目镜正前方,采用低倍目镜并用单眼观察。滴眼后 90min 在速眠新 II 麻醉下用 10μL 微量进样器,吸取 64.2mmol/L FITC-BSA,手术显微镜下(Topcon 610 型)从角膜缘内向双眼前房各注入 5μL,震荡眼球使之均匀,注入前用非皮质类固醇滴眼 3 次,间隔 30min。药物滴眼后 2,4,6,8,10h 各处死家兔 2 只,迅速摘除双侧眼球冷冻 1h,每眼作子午线冰冻切片 7 张,厚 8μm,甘油封片 3h 后在荧光显微镜(Olympus 公司)下观察睫状体、脉络膜上腔、前、后巩膜(赤道部为界)和脉络膜的荧光强度,确定其等级,等级判定标准为:(-)无或微弱的荧光,(+)仅见稍亮的荧光,(++)有明亮荧光,(+++ )耀眼的荧光。

统计学分析:数据采用  $\bar{x} \pm s$  表示,应用 SPSS 11.5 软件进行统计分析。多样本均数间的多重比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA),眼压比较采用配对 *t* 检验,荧光强度等级比较采用秩和检验, $P < 0.05$  示差异有统计学意义。

### 2 结果

**2.1 眼压变化** Lat-B 滴眼后眼压下降,差异有显著性( $P < 0.05$ ),1h 即可引起眼压降低,最大眼压下降出现在 5h,且

表 1 BSS 与 Lat-B 组眼压 IOP 变化 ( $n = 12, \bar{x} \pm s, \text{mmHg}$ )

用药/h	BSS 组	Lat-B 组 <sup>b</sup>	DMSO 组
前 1	19.0 ± 2.0	19.0 ± 2.6	19.8 ± 1.9
后 1	19.1 ± 2.2	17.4 ± 2.6	19.8 ± 1.7
2	19.0 ± 2.4	16.9 ± 2.3	19.5 ± 2.0
3	19.0 ± 2.1	16.6 ± 2.5	19.4 ± 2.1
4	18.6 ± 2.2	15.9 ± 2.4	20.1 ± 1.8
5	19.0 ± 2.0	15.3 ± 2.2	19.1 ± 2.5
6	18.9 ± 2.4	15.4 ± 2.1	19.0 ± 2.0
24	18.6 ± 2.0	15.5 ± 2.1	19.6 ± 1.8

<sup>b</sup> $P < 0.01$  vs BSS 组和 DMSO 组。

表 2 各部位荧光强度 (%)

部位	BSS 组 ( $n = 20$ )	Lat-B 组 ( $n = 10$ )	DMSO 组 ( $n = 10$ )
睫状体	-(34)	-(3)	-(36)
	+(48)	+(37)	+(44)
	++(18)	++(36)	++(20)
	+++ (0)	+++ (24)	+++ (0)
脉络膜上腔	-(46)	-(3)	-(50)
	+(39)	+(36)	+(40)
	++(15)	++(41)	++(10)
	+++ (0)	+++ (20)	+++ (0)
前巩膜	-(48)	-(2)	-(44)
	+(36)	+(36)	+(44)
	++(16)	++(40)	++(12)
	+++ (0)	+++ (21)	+++ (0)
后巩膜	-(91)	-(63)	-(87)
	+(9)	+(26)	+(9)
	++(0)	++(11)	++(4)
	+++ (0)	+++ (0)	+++ (0)
脉络膜	-(93)	-(73)	-(87)
	+(7)	+(20)	+(10)
	++(0)	++(7)	++(3)
	+++ (0)	+++ (0)	+++ (0)

能持续 24h; Lat-B 与 DMSO 组及 BSS 组比较差异有显著性( $P < 0.01$ );正常对照组 BSS 滴眼后眼压最大升高或下降幅度均为 1.19mmHg,不同时间点眼压与滴眼前比较,差异无显著性( $P > 0.05$ );DMSO 滴眼后眼压最大升高或下降幅度均为 1.04mmHg,不同时间点眼压与滴眼前比较,差异无显著性( $P > 0.05$ ,表 1);BSS 与 DMSO 组间比较各时间点均无明显差异。

**2.2 荧光强度** 在睫状体、脉络膜上腔、前、后巩膜和脉络膜的荧光强度均为 Lat-B 组最强,Lat-B 与 BSS 组和 DMSO 组相比差异均有显著性( $P < 0.05$ ,表 2),BSS 组和 DMSO 组相比差异无显著性( $P > 0.05$ ,表 2)。比较 3 组在葡萄膜巩膜途径各部位之间的荧光强度,均表现为睫状体和脉络膜上腔最强,二者之间差异无显著性( $P > 0.05$ );前巩膜次之;后巩膜与脉络膜最弱,三者之间的差异均有显著性( $P < 0.05$ ,图 1)。

### 3 讨论

Latrunculins 是肌动蛋白敏感剂,可与肌动蛋白的单体结合,防止肌动蛋白的微丝形成,刘旭阳等<sup>[1-4]</sup>的研究表明,Lat-A 能降解细胞肌动蛋白以及相关的细胞连结。而

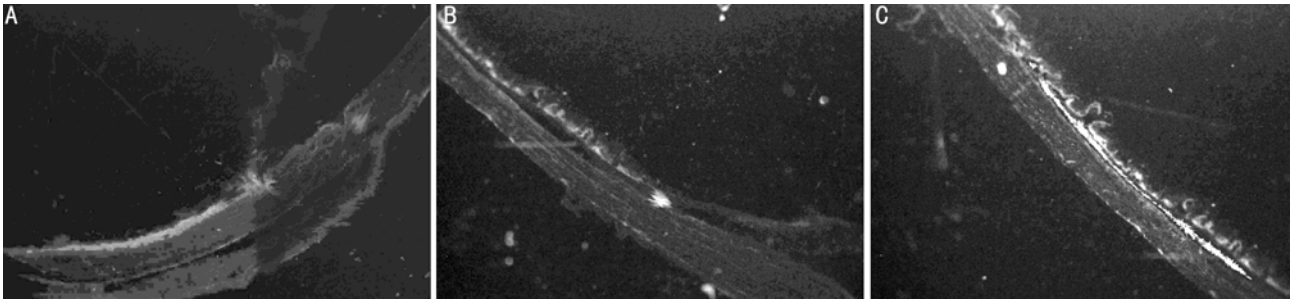


图1 免疫荧光(×400) A: BSS(+ + +); B: DMSO(+ +); C: Lat-B(+ + +)。

将该药物滴于眼表面或经前房灌注导入猴眼,则可出现时间、剂量相关性的眼压降低及房水流畅度增加。Lat-B 与 Lat-A 有相似的结构,在培养的细胞中也具有肌动蛋白松弛的活性 Lat-B 在接触组织 48h 后会被未知的血浆成分缓慢灭活,细胞完全恢复,并具有发育良好的张力纤维系统。在离体的猪眼上 Lat-B 可以增加房水流出。而将 Lat-B 滴于眼表面或经前房灌注导入猴眼,亦可出现时间、剂量相关性的眼压降低及房水流畅度增加<sup>[5,6]</sup>。我们在兔正常流出率的情况下, Lat-B 滴眼后处理眼眼压不同时间点与滴眼前比较眼压,差异有显著性( $P < 0.05$ ), 1h 即可引起眼压降低,最大眼压下降出现在 5h,且能持续 24h; Lat-B 与 DMSO 组间比较各时间点差异有显著性( $P < 0.05$ ); Lat-B 与 BSS 组间比较各时间点差异有显著性( $P < 0.05$ ); 正常对照组 BSS 滴眼后眼压最大升高或下降幅度均为 1.19mmHg,不同时间点眼压与滴眼前比较,差异无显著性( $P > 0.05$ ); DMSO 滴眼后眼压最大升高或下降幅度均为 1.04mmHg,不同时间点眼压与滴眼前比较,差异无显著性( $P > 0.05$ ); BSS 与 DMSO 组间比较各时间点均无明显差异( $P > 0.05$ )。Lat-B 在家兔正常眼压情况下亦可引起眼压下降,并持续 24h,这或许意味 Lat-B 对正常眼压青光眼或已被其他药物降低眼压的青光眼更有效。Lat-B 有可能成为新一代的降眼压药物。因此,全面阐明 Lat-B 对眼组织的影响对于阐明 Lat-B 作用机制及开发应用具有十分重要意义。

在正常眼压性青光眼(normal tension glaucoma, NTG)小梁网通路的房水引流并非总是减少的。通过增加小梁网通路的房水引流来降低眼压受到巩膜表静脉压限制。当正常眼压性青光眼患者的眼压低于巩膜表静脉压(8~10mmHg)时,增加小梁网通路的房水引流的药物如 pilocarpine 就失去了作用。部分 NTG 在夜间眼压升高,血压下降,是青光眼视神经损害的原因。由于夜间房水生成量低于  $\beta$ -阻滞剂起作用所需的最低量,  $\beta$ -阻滞剂在夜间无效。相反,葡萄膜巩膜房水引流是非眼压依赖性的,只要眼压  $> 4\text{mmHg}$  就能起作用<sup>[4]</sup>。因此,葡萄膜巩膜房水引流在 NTG 的治疗中是非常重要的。鉴于该类药物,例如 Lat-B 为组织非特异性药物,可以作用于所有细胞的细胞骨架结构,且我们给药一般为局部点眼,由外向内渗透,很难使其局限作用于某一部位组织,有理由考虑其会使大部分前节组织受到影响,故在传统的小梁网通路受到药物作用的同时,亦不能排除葡萄膜巩膜通路受到了影响,并且其由外向内作用的是结膜、角膜、巩膜,巩膜作为致密的结缔组织,其在限制药物渗透的同时亦会被药物所作用。我们用 FITC-BSA 作为示踪剂研究 FU 通路的形态变

化<sup>[7-9]</sup>,选用 FITC- BSA 示踪剂 70000 是基于下面因素考虑的, Mr 4000 ~ 150000 之间的 FITC-Dex-tran 极少进入葡萄膜血管,主要通过睫状肌间隙进入脉络膜上腔经巩膜排出, Mr 过小可部分扩散到脉络膜血管, Mr 过大可使示踪剂在葡萄膜巩膜组织内穿行困难。FI 的 Mr 仅 332, 容易因扩散而部分丢失, 进入葡萄膜巩膜组织内的量少; 而 FITC-BSA 的 Mr 为 70000, 性质稳定, 溶液中荧光素解离极少, 易于进入睫状肌间隙流至脉络膜上腔, 极少进入脉络膜血管, 与非荧光组织对比度好, 从而建立较为理想的研究葡萄膜巩膜途径的荧光分布模型, 且用免疫学方法容易制备, 价格便宜, 可以作为评估某些药物或技术对葡萄膜巩膜作用效果的实验中采用的示踪剂。形态分布情况。朱子诚等<sup>[10]</sup>的实验结果表明 FITC-BSA 在睫状体、脉络膜上腔、前巩膜、后巩膜和脉络膜的荧光强度均明显强于 FI 组相同部位, 不同部位的荧光强度顺序相似表现为: 睫状体、脉络膜上腔  $>$  前巩膜  $>$  脉络膜、后巩膜, 说明房水及其示踪剂由睫状肌间隙进入脉络膜上腔主要经前巩膜流出, 并与用 FITC-BSA 示踪所测得流出量的结果相同。从而也说明用 FITC-BSA 作为示踪剂用于葡萄膜巩膜途径形态学上的研究是可行的, 但这种结果不能精确地量化反映分布。葡萄膜巩膜途径的房水流出量有明显的种属差异, 不同动物与人眼各不相同。葡萄膜巩膜流出量在人眼约占总排出量的 5% ~ 25%, 在猴眼为 35% ~ 60%, 兔眼约占 5% ~ 8%。由于在人眼不能进行上述实验, 我们以家兔为对象选用 FITC-BSA 为示踪剂, 其 Mr 70000 与 FITC-Dextran 相同, 溶液中较为稳定, 荧光显微镜下呈黄绿色荧光易于观察, 与非荧光组织对比度好, 且易于穿过睫状肌组织间隙进入脉络膜上腔, 不易扩散进入虹膜血管, 是研究葡萄膜巩膜途径的可行方法。我们的实验 3 组之间在睫状体、脉络膜上腔、前、后巩膜和脉络膜的荧光强度, 各部位均为 Lat-B 组最强, Lat-B 与 BSS 组和 DMSO 组相比差异均有显著性( $P < 0.05$ ), BSS 组和 DMSO 组相比差异无显著性( $P > 0.05$ )。比较三组在 FU 各部位之间的荧光强度, 均表现为睫状体和脉络膜上腔最强, 二者之间差异无显著性( $P > 0.05$ ); 前巩膜次之; 后巩膜与脉络膜最弱, 三者之间的差异均有显著性( $P < 0.05$ )。可以说明 Lat-B 增加了家兔的葡萄膜巩膜流出易度。在家兔眼, 前巩膜无紧密连接, 后巩膜及脉络膜内均有由成纤维细胞形成的紧密连接, 而紧密连接限制房水及其 FITC-BSA 进入后巩膜及脉络膜, 导致后巩膜及脉络膜的荧光强度低于前巩膜。至于后巩膜和脉络膜荧光强度双眼之间无显著性差异, 可能是由于紧密连接使位于这二部位的 FITC-BSA 本来就相当低, 而葡萄膜巩膜途径仅占家兔房水总排出量的 5% ~ 8%,

故即使 Lat-B 增加葡萄膜巩膜途径,但表现在后巩膜及脉络膜的荧光强度双眼之间却不显示出显著性差异。而 Lat-B 同时具有的增加房水传统排出途径的作用,即:细胞收缩、细胞间密度降低及细胞外基质疏松等,使潜在房水排出通路开放,扩张房角丛(在家兔无 Schlemm 管,而为类似结构房角丛所代替)周围的小血管以及收缩睫状肌后家兔小梁网结构发生改变利于房水排出的作用增强,另外加上葡萄膜巩膜途径的作用,其总的结果是增加房水排出而显示出较强的降眼压作用。

正常情况下前房的压力高于脉络膜上腔的流体静压,这种压力差使房水比较容易从前房经睫状体细胞外间隙进入睫状体和脉络膜上腔。这一过程应是液体流动而非扩散,房水穿通巩膜也主要依赖于眼内的流体静压。一方面巩膜内薄的细胞突起形成许多渗透“窗”,但巩膜内厚的细胞外基质,尤其是后巩膜棕黑层和脉络膜内成纤维细胞所形成的紧密连结成为房水排出的屏障,故房水主要由前巩膜通过细胞外间隙排出。巩膜上存在分子量依存的“筛”效果,大分子量物质不易通过,可以想见示踪剂 FITC-BSA 的巩膜通透性低于房水,其分布形态并不完全代表房水的流体分布。对于 FU 通路,通过巩膜基质的巩膜液流可能是重要的,示踪剂研究证实大分子从前房到达巩膜间隙,也在巩膜的正常血管和神经周围的细胞外间隙中被发现,另有证据表明存在从眼球内部到外部的经巩膜的孔,因此,在完整的眼球,脉络膜间隙的分子要移动到眶外脂肪间隙,可能存在几条通路,不同通路对整体的相对贡献仍不明确,尚需进一步研究 Lat-B 所致的巩膜通透性增加对于 FU 流出率增加和眼内压下降的影响。其对增

加房水流出的作用机制及对眼内正常组织是否有毒副作用有进一步深入研究的价值。

#### 参考文献

- 1 Tian B, Geiger B, Epstein DL, et al. Cytoskeletal involvement in the regulation of aqueous humor outflow. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000;41(3):619-623
- 2 Filla M, Liu X, Nguyen T, et al. TIGR/MYOC interactions with trabecular meshwork extracellular matrix proteins. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2002;43:151-161
- 3 Liu X, Cai S, Glasser A, et al. Effect of H-7 on cultured human trabecular meshwork cells. *Mol Vis* 2001;7:145-153
- 4 Liu X, Wu Z, Sheibani N, et al. Low dose Latrunculin-A inhibits dexamethason-induced changes in the actin cytoskeleton and alters extracellular matrix protein expression in cultured human trabecular meshwork cells. *Exp Eye Res* 2003;77(2):181-188
- 5 Peterson JA, Tian BH, McLaren JW, et al. Latrunculins' effects on intraocular pressure aqueous humor flow and corneal endothelium. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000;41(7):1749-1758
- 6 Peterson JA, Tian BH, Geiger J, et al. Effect of latrunculin-B on outflow facility in monkeys. *Exp Eye Res* 2000;70(3):307-313
- 7 Ambati JK, Canakis CS, Miller Gragoudas ES, et al. Diffusion of high molecular weight compounds through sclera. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000;41(5):1181-1185
- 8 喻应贵,孙乃学,王建明. 匹罗卡品对兔眼 I 葡萄膜巩膜途径作用的形态学研究. *中国实用眼科杂志* 2001;19(7):528-530
- 9 刘百臣,张卯年,刘铁城,等. 实验性兔眼 aPVR 房水经葡萄膜巩膜流出量的测定. *军医进修学院学报* 2001;22(4):253-255
- 10 朱子诚,袁华音,张国梅. FITC-BSA 与 FI 在葡萄膜巩膜模型中分布的对比研究. *国际眼科杂志* 2004;4(3)417-419