

# 趋化因子受体 CXCR3 在围绝经期干眼患者中的表达

张宏, 陈雪艺

基金项目: 新疆维吾尔自治区自然科学基金面上项目 (No. 2011211A082)

作者单位: (830054) 中国新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市, 新疆医科大学第一附属医院眼科

作者简介: 张宏, 副主任医师, 研究方向: 眼表疾病的发病机制及干预治疗。

通讯作者: 陈雪艺, 主任医师, 主任, 研究方向: 眼底病. ykcancel@126.com

收稿日期: 2013-04-07 修回日期: 2013-07-30

## Expression of chemokine receptor CXCR3 in female patients with dry eye at perimenopause

Hong Zhang, Xue-Yi Chen

**Foundation item:** Natural Science Foundation of Xinjiang Uygur Autonomous Region, China (General Program, No. 2011211A082) Department of Ophthalmology, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

**Correspondence to:** Xue-Yi Chen. Department of Ophthalmology, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China. ykcancel@126.com

Received: 2013-04-07 Accepted: 2013-07-30

### Abstract

• **AIM:** To explore the expression and clinical significance of chemotactic factor receptor - 3 (CXCR3) of female patients conjunctival with dry eye at perimenopause.

• **METHODS:** Thirty dry eye case (60 eyes) in the patient at perimenopause of the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University and thirty dry eye cases (60 eyes) in patient at non-perimenopause were selected. The conjunctival epithelial cells at perimenopause and non-perimenopause in dry eye cases were obtained by impression cytology methods, and then immersed into the centrifugal tube with corresponding number respectively and the expression of CXCR3 in conjunctival epithelium of at perimenopause and non-perimenopause in dry eye cases were detected by flow cytometry.

• **RESULTS:** The break-up time (BUT) and Schirmer I test result of perimenopause was significantly lower than those of non-perimenopause ( $F=4.076, 5.023; P<0.05$ ). Positive expression rate of CXCR3 at non-perimenopause

in dry eye cases was more obvious than that at perimenopause in dry eye syndrome cases ( $P<0.01$ ). Expression rate of CXCR3 in dry eye cases was negatively correlated with BUT and Schirmer I test ( $r=-0.753, r=-0.684; P<0.05$ ). However, it was non-related with corneal fluorescence staining ( $P>0.05$ ).

• **CONCLUSION:** CXCR3 plays an inflammatory mediators role in dry eye mechanism and its expression level reflects the progress of dry eye at perimenopause.

• **KEYWORDS:** dry eye; perimenopause; chemokine receptor CXCR3

**Citation:** Zhang H, Chen XY. Expression of chemokine receptor CXCR3 in female patients with dry eye at perimenopause. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2013;13(9):1848-1850

### 摘要

**目的:** 探讨分析以 CXCR3 为代表的趋化因子受体家族在围绝经期干眼患者中干眼发生、发展过程中的特征及临床意义。

**方法:** 选择围绝经期干眼患者 30 例, 非围绝经期干眼患者 30 例, 用印迹细胞学的方法分别取围绝经期、非围绝经期干眼患者结膜上皮细胞, 经流式细胞学分析, 比较两组 CXCR3 阳性细胞表达率的差异。

**结果:** 围绝经期干眼组泪膜破裂时间 (BUT)、基础泪液分泌 (Schirmer I test) 值均显著低于非围绝经期干眼组 ( $F=4.076, 5.023, P<0.05$ ); 围绝经期干眼组 CXCR3 阳性细胞表达率显著高于非围绝经期的表达率 ( $P<0.01$ )。CXCR3 阳性细胞表达率与泪膜破裂时间、基础泪液分泌值均呈显著的负相关 ( $r=-0.753, -0.684, P<0.05$ )。

**结论:** 可能由于性激素失衡, CXCR3 及其配体介导的干眼眼表炎症在围绝经期是高发时期, 其表达变化与干眼症临床检查指标密切相关。

**关键词:** 干眼; 围绝经期; CXCR3

DOI: 10.3980/j.issn.1672-5123.2013.09.34

**引用:** 张宏, 陈雪艺. 趋化因子受体 CXCR3 在围绝经期干眼患者中的表达. *国际眼科杂志* 2013;13(9):1848-1850

### 0 引言

干眼是眼科常见疾病之一, 其最突出的特征是主要发生在女性, 女性出现干眼症是同龄男性的 2~4 倍<sup>[1,2]</sup>。干眼尤其多发生于围绝经期妇女, 且这个患者人群的干眼症状很难治疗<sup>[3]</sup>。近年来的研究表明所有类型的干眼都与眼表的炎症相关, 而趋化因子及其受体对淋巴细胞趋化、聚

表1 研究对象一般资料

一般资料	围绝经期干眼患者组	非围绝经期干眼患者组	P
例数	30	30	
性别	女	女	
眼数	60	60	
年龄( $\bar{x}\pm s$ ,岁)	47.81±17.37	49.36±19.32	>0.05
BUT( $\bar{x}\pm s$ ,s)	2.90±1.37	4.44±1.94	<0.05
Schirmer I test( $\bar{x}\pm s$ ,mm/5min)	4.00±2.49	6.67±2.69	<0.05
FLS( $\bar{x}\pm s$ )	0.90±0.57	1.00±1.32	>0.05

集到炎症部位起着关键的作用<sup>[4]</sup>。CXCR3 是 CXCL 趋化因子亚家族的受体之一,属于 Th1 细胞趋化因子受体,其配体 CXCL9, CXCL10, CXCL11 在诱导炎症发生中起重要的调节作用<sup>[5,6]</sup>。在以往的研究中,我们发现干眼患者结膜上皮细胞伴随着炎性细胞的浸润,其过程是否与 CXCR3 及其配体的参与相关尚未可知,本研究对围绝经期干眼患者结膜上皮细胞标志物 CXCR3 进行流式细胞仪定量检测,以期找出趋化因子受体 CXCR3 在围绝经期干眼患者发病过程的作用,旨在探讨以 CXCR3 为表面特异性标志的 Th<sub>1</sub> 在结膜上皮细胞中的浸润作用。

### 1 对象和方法

**1.1 对象** 选择 2012-06/12 我院门诊就诊符合纳入、诊断、排除标准的女性干眼患者 60 例 120 眼,其中围绝经期干眼患者 30 例,非围绝经期干眼患者 30 例。纳入标准:(1)有典型的干眼症状;(2)对有干眼症状的患者行干眼症 3 项检查:1)泪液分泌试验(Schirmer I test):泪液试纸条湿长<10mm/5min 为阳性;2)泪膜破裂时间(BUT):<10s 为异常;3)角膜结膜荧光素染色(FLS):角膜上皮着色为阳性。症状加检查结果两项阳性者诊断为干眼。

### 1.2 方法

**1.2.1 临床检查** 两组均行泪膜破裂时间和角膜荧光素染色检查及 Schirmer I 试验,分别记录 BUT 和角膜荧光素染色检查的评分及 Schirmer I 试验滤纸的湿度长度。Schirmer I 试验:(1)撕开包装袋,用小镊子将泪液检测滤纸条取出。(2)从开口处用小镊子折叠成直角,夹在下眼睑内侧 1/3 处的结膜囊内,另一端垂直挂在下眼睑外部,轻闭双眼稍向上视,可以随意瞬目。(3)5min 时取出滤纸条,2min 后再观察滤纸的湿度长,湿长在 10~25mm 之间为正常(不包括反折),<10mm 及>25mm 者为异常,但老年人<10mm 者,若无症状仍属于正常。BUT 和角膜荧光素染色检查:将浸润荧光素钠的部分放在下睑结膜囊内,嘱闭合眼睑,使荧光素均匀分布于角膜表面,充分暴露角膜,用钴蓝光照射,在裂隙灯下观察,从最后一次瞬目开始计时,记录泪膜上出现第 1 个破裂点的时间,重复测定 3 次,取平均值,BUT 值<10s 判定为异常。角膜荧光素染色检查:荧光素染色条放置结膜囊内湿润后取出,瞬目后,裂隙灯下钴蓝光下观察,荧光素染色评分>1 分为阳性(将角膜分为 4 个象限,规定无染色为 0,有染色分轻、中、重 3 级,因此共 0~12 分)。

**1.2.2 荧光染色及流式细胞仪分析** 将 4mm×1mm 大小的乙酸纤维素薄膜纸条消毒后,用眼科无齿镊夹住乙酸纤

维素薄膜一角轻轻置于患者颞侧球结膜表面,用玻璃棒轻压 3~5min 后取出,浸放在装有 1mL PBS 液的离心管中,置于 1640 培养液中,并反复用 PBS 缓冲液冲洗、振荡,取出硝酸纤维素膜后,进行细胞计数,并调整细胞浓度为 1×10<sup>6</sup>/mL,取 500μL 细胞悬浮液加入稀释后 PE 标记的鼠抗人 CXCR3 抗体 40μL,避光 20min 后 1200r/min 离心 8min,并用 PBS 洗一遍,然后上流式细胞仪检测和分析,读取细胞数 10 000 个,鼠抗人 IgG<sub>1</sub> 作为对照抗体同时检测。

统计学分析:数据用 SPSS 13.0 统计软件分析。表中的各项指标以均值±标准差( $\bar{x}\pm s$ )表示,采用单因素方差分析进行组间比较,率的比较采用  $\chi^2$  检验, $P<0.05$  为差异有统计学意义。

### 2 结果

**2.1 干眼症相关指标的比较** 围绝经期干眼患者 30 例 60 眼,年龄 42~53(平均 47.81±17.37)岁,非围绝经期干眼患者 30 例 60 眼,年龄 39~55(平均 49.36±19.32)岁,两组的民族、性别相同的情况下,年龄经比较均无显著性差异。两组患者比较干眼症相关指标发现,围绝经期干眼组泪膜破裂时间、基础泪液分泌值均显著低于非围绝经期干眼组( $F=4.076, 5.023, P<0.05$ ),而角膜荧光素染色评分则两组无差异( $F=0.048, P>0.05$ ,表 1)。

**2.2 两组 CXCR3 阳性表达率的比较** 围绝经期干眼组 CXCR3 阳性细胞表达率为(2.64±0.47)%,显著高于非围绝经期的表达率(0.62±0.07)%,两组比较有极显著的统计学意义( $P<0.01$ ,图 1,2)。

**2.3 CXCR3 阳性表达率与干眼相关指标的相关分析** CXCR3 阳性表达率与泪膜破裂时间、基础泪液分泌值均呈显著的负相关( $r=-0.753, -0.684, P<0.05$ );然而 CXCR3 阳性表达率与角膜荧光素染色评分则无相关( $r=0.201, P>0.05$ )。

### 3 讨论

近年来随着人们居住、饮食环境的恶化,干眼的发病率有明显增高趋势。目前研究发生干眼症发病原因和机制复杂多样,可能包括年龄、性激素失调、自身免疫性疾病、角膜接触镜的配戴、炎症、神经调节异常和病毒损害等<sup>[7,8]</sup>。Bacman 等<sup>[9]</sup>首先发现泪膜的稳定性与结膜上皮炎症状态和增生情况密切相关,而这种由细胞因子受体介导的炎症反应可能为各种类型干眼的共同发病机制。而后的大量研究表明,趋化因子超家族及其受体在炎症的发生和炎性细胞的浸润过程中起到重要的作用,其中 CXCR3 主要表达在 T 细胞、自然杀伤细胞活性上,有的上

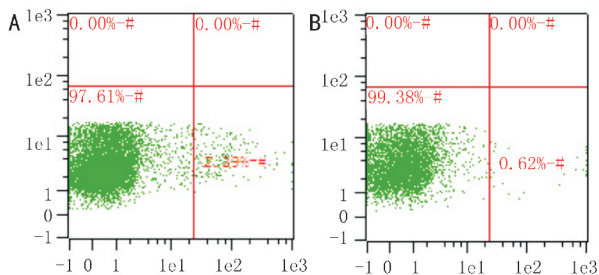


图1 PE标记的CXCR3在两组患者结膜上皮细胞的细胞流式图 A组:围绝经期干眼组;B:非围绝经期干眼组。

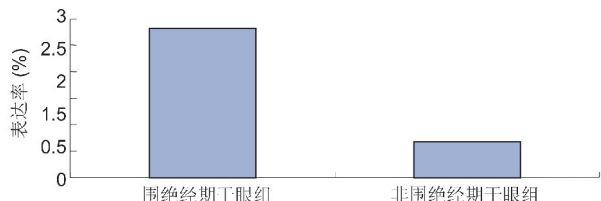


图2 PE标记的CXCR3在两组干眼患者结膜上皮细胞中的表达率。

皮细胞和一些内皮细胞也表达CXCR3,1型辅助T细胞(Th1)优先表达CXCR3及CCR5,CXCR3与配体相互作用引起Th1的迁移,并促进Th1成熟。Oshda等<sup>[10]</sup>采集干眼患者泪液,结果发现干眼患者泪液中TNF- $\alpha$ 浓度增高,且与角膜上皮受损正相关;朱俊雕等<sup>[11]</sup>则发现趋化因子受体5在新疆维吾尔族干眼症患者中起到炎症介质的作用,其表达水平变化反映了干眼症的进展过程。为了了解趋化因子受体CXCR3在结膜上皮细胞中的表达变化及其作用,本研究比较了围绝经期干眼患者和非围绝经期干眼患者结膜上皮细胞中CXCR3阳性细胞的表达变化,结果显示围绝经期干眼患者的CXCR3阳性细胞表达率显著高于非围绝经期干眼患者的水平( $P < 0.05$ ),且与泪膜破裂时间、基础泪液分泌值均呈显著的负相关( $r = -0.753, -0.684, P < 0.05$ )。该结果说明围绝经期干眼患者可能由

于性激素失衡,而在干眼的发生过程中,更为明显的伴随着趋化因子和其受体介导的炎症的发生和炎症细胞的浸润,从而导致干眼的加剧和不可逆转。

综上所述,CXCR3及其配体介导的炎症发生,在围绝经期是高发时期,CXCR3的表达可能是由围绝经期性激素水平失衡引起的,其表达变化与干眼临床检查指标密切相关。

参考文献

- 1 Caffery BE, Richter D, Simpson T, et al. The Canadian dry eye epidemiology study. *Adv Exp Med Biol* 1998;438:805-806
- 2 Schaumberg DA, Sullivan DA, Dana MR. Epidemiology of dry eye syndrome. *Adv Exp Med Biol* 2002;506(PtB):989-998
- 3 Wenderlein M, Mattes S. The "dry eye" phenomenon and ovarian function: Study of 700 women pre- and postmenopausal. *Zentralbl Gynakol* 1996;118(12):643-649
- 4 Pflugfelder SC. Antiinflammatory therapy for dry eye. *Am J Ophthalmol* 2004;137(2):337-342
- 5 Lohmann T, Laue S, Nietzschmann U, et al. Reduced expression of Th1 associated chemokine receptors on peripheral blood lymphocytes at diagnosis of type 1 diabetes. *Diabetes* 2002;51(8):2474-2480
- 6 Aljada A, Ghanim H, Saadeh R, et al. Insulin inhibits NF- $\kappa$ B and MCP-1 expression in human aortic endothelial cells. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86(1):450-453
- 7 Subcommittee of the International Dry Eye WorkShop. The definition and classification of dry eye disease: report of the definition and classification. *The Ocular Surface* 2007;5(2):75-92
- 8 刘祖国. 干眼症的发病机制. *眼科* 2005;14(5):342-345
- 9 Bacman S, Berra A, Sterin-Borda L, et al. Muscarinic acetylcholine receptor antibodies as a new marker of dry eye Sjogren syndrome. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001;42(2):321-327
- 10 Oshida T, Iwata M, Sakimoto T, et al. Tumornecrosis is factor-alpha in tears of patients with Sjogren syndrome. *Nippon Ganka Gakkai Zasshi* 2004;42(2):297-301
- 11 朱俊雕,陈雪燕,陈雪艺. 新疆维吾尔族干眼症与趋化因子受体-5的相关性研究. *国际眼科杂志* 2012;12(1):43-45