

论著·临床研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2021.03.025
网络首发 [https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20201223.1658.004.html\(2020-12-24\)](https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20201223.1658.004.html(2020-12-24))

共同性外斜视眼外肌 MYH13 水平与病理形态学及预后的关系研究

杨 英,王 炜,马芳芳
(新疆军区总医院北京路医疗区眼科三病区,乌鲁木齐 830013)

[摘要] **目的** 探讨共同性外斜视患者眼外肌肌球蛋白重链 13 基因(MYH13)水平与病理形态学及预后的关系。**方法** 选取 2017 年 10 月至 2018 年 10 月该院眼科收治的 86 例行斜视矫正术治疗的共同性外斜视患者作为斜视组,另选取 28 例因外伤所致需眼球摘除患者的眼外肌作为对照组,观察两组 MYH13 mRNA 与蛋白水平变化及与病理形态学和预后的关系。**结果** 斜视组眼外肌 MYH13 mRNA 相对表达水平低于对照组 $[(0.21\pm0.06) vs. (0.79\pm0.20), P<0.05]$,斜视组眼外肌 MYH13 蛋白水平低于对照组 $[(0.19\pm0.05) vs. (0.72\pm0.15), P<0.05]$;MYH13 高表达共同性外斜视患者内直肌肌纤维平均横截面积、肌纤维含量高于 MYH13 低表达患者($P<0.05$);术后 6 个月,MYH13 高表达患者外斜视度数低于 MYH13 低表达患者,同时视、融合范围、立体视优于 MYH13 低表达患者($P<0.05$)。**结论** 共同性斜视患者眼外肌 MYH13 低表达,与眼外肌病变程度及术后视觉功能恢复有关。

[关键词] 共同性外斜视;动眼肌;肌球蛋白重链基因 13;病理形态学;视觉,眼

[中图分类号] R77 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2021)03-0470-05

Study on the relationships between the level of MYH13 and pathological morphology,prognosis in concomitant exotropia

YANG Ying ,WANG Wei ,MA Fangfang
(Department of Ophthalmology ,Xinjiang Military Region General Hospital Beijing Road Medical District ,Urumqi ,Xinjiang 830013 ,China)

[Abstract] **Objective** To investigate the relationships between the level of extraocular myosin heavy chain 13 gene (MYH13) and pathological morphology,prognosis in concomitant exotropia patients. **Methods** A total of 86 patients with concomitant exotropia who underwent strabismus correction from October 2017 to October 2018 were selected as the exotropia group,the extraocular muscles of 28 patients who needed eyeball removal due to trauma were selected as the control group,and the changes of MYH13 mRNA and protein levels and their relationships with pathological morphology and prognosis were observed. **Results** The relative expression of MYH13 in the exotropia group was lower than that of the control group $[(0.21\pm0.06) vs. (0.79\pm0.20), P<0.05]$. The level of MYH13 protein in the exotropia group was lower than that of the control group $[(0.19\pm0.05) vs. (0.72\pm0.15), P<0.05]$. The average cross-sectional area and muscle fiber content of medial rectus muscle fibers of concomitant exotropia patients in the MYH13 high expression patients were higher than those in the MYH13 low expression patients ($P<0.05$). After six months of operation,the strabismus degree in the MYH13 high expression patients was lower than that of the MYH13 low expression patients,and the visual acuity,fusion range and stereopsis of the MYH13 high expression patients were higher than those of the MYH13 low expression patients ($P<0.05$). **Conclusion** The expression of MYH13 in extraocular muscles of concomitant strabismus patients is low,and it is related to the degree of extraocular muscle lesion and the recovery of postoperative visual function.

[Key words] concomitant exotropia;oculomotor muscles;myosin heavy chain gene 13;pathomorphology;vision,ocular

作者简介:杨英(1981—),主治医师,本科,主要从事小儿斜弱视和白内障研究。

斜视是眼科常见疾病之一,也是引发双眼视觉功能障碍最常见原因,其发病率高,为 3%~5%,严重影响患者生活与工作^[1]。共同性斜视是斜视最常见类型,其斜视角度不因注视方向、注视眼别的改变而变化,其发病率约占斜视总发病率的 80%^[2]。共同性斜视临床常用治疗方法有保守治疗与手术治疗,而手术治疗是其第一治疗方案,可达到功能性治愈目的^[3]。有研究发现,斜视眼外肌中一些基因表达变化与肌纤维形态、数量等相关,肌球蛋白重链 13 基因(myosin heavy chain gene 13, MYH13)在眼外肌中表达,在眼外肌高速扫视收缩中发挥重要作用^[4]。但关于 MYH13 在共同性外斜视患者眼外肌中表达的研究较少,因此,本研究初步探讨 MYH13 与共同性外斜视患者眼外肌病理形态学及预后的关系,旨在为其治疗及分子机制研究提供参考资料,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2017 年 5 月至 2018 年 10 月本院眼科收治的 86 例行斜视矫正术治疗的共同性外斜视患者作为研究对象(斜视组),依据眼外肌(内直肌)中 MYH13 mRNA 水平中位数分为 MYH13 高表达组和 MYH13 低表达组。纳入标准:(1)符合共同性外斜视诊断标准^[5];(2)双眼球各方向运动不受限;(3)第一、二斜视角相等;(4)年龄大于 1 岁;(5)患者及家属知情,签署知情同意书;(4)经本院伦理委员会审核批准。排除标准:(1)智力发育障碍,无法配合检查者;(2)有眼部手术史者;(3)伴眼部器质性病变者;(4)高度近视、远视、弱视、屈光参差大于 2.00 D 及散光者;(5)垂直斜视者;(6)合并神经系统疾病者;(7)全身器质性疾病者;(8)术后随访资料不完整者。共同性外斜视组男 39 例,女 47 例,年龄 3~28 岁,平均(11.89±3.42)岁;发病年龄 1.3~7.8 岁,平均(3.50±1.10)岁;病程 3.2~11.6 年,平均(5.46±1.13)年,外斜视度数 45°~90°,平均(67.50±8.50)°。另选取 28 例因外伤所致需眼球摘除患者(无斜视)的眼外肌(内直肌)作为对照组,其中男 13 例,女 15 例;年龄 7~32 岁,平均(13.18±3.13)岁;19 例为眼球破裂,9 例为眼球贯通伤。斜视组和对照组性别、年龄比较,差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。

1.2 方法

1.2.1 眼外肌 MYH13 mRNA 表达检测

采用实时荧光定量 PCR(quantitative real-time PCR, qRT-PCR)检测 MYH13 mRNA 表达,MYH13 引物序列:上游为 5'-TGA CCG CAG CAT CTC

TAG GAA GAC G-3',下游为 5'-TTC CGG AGG TAG GGA GCT GCT TC-3',内参基因 GAPDH 引物序列:上游为 5'-CCC GCT TCG CTC TCT GCT CC-3',下游为 5'-ACC AG G CGC CCA ATA CGA CC-3'。Trizol(美国 Invitrogen 公司)法提取总 RNA,逆转录试剂盒(日本 TAKARA 公司)合成 cDNA, qRT-PCR 试剂盒(日本 TAKARA 公司)配制反应体系,进行 PCR 扩增,采用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 方法计算眼外肌 MYH13 mRNA 相对表达水平。

1.2.2 眼外肌 MYH13 蛋白水平检测

提取总蛋白,采用 BCA 法测定蛋白浓度,取蛋白于 10%的十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶上进行电泳,将目的蛋白转移至聚偏氟乙烯(PVDF)膜上,加山羊抗 MYH13(美国 Santa Cruz 公司),兔抗 GAPDH,分别加入辣根过氧化物酶标记的兔抗山羊、鼠抗兔二抗,ECL 染色,胶片曝光,显影,定影,计算 MYH13 蛋白表达水平。

1.2.3 眼外肌病理形态学检查

取眼外肌标本,常规脱水,石蜡包埋,制作厚度 3 μm 眼外肌纵向切片,切片进行二甲苯脱蜡,酒精脱水,苏木精染色,盐酸乙醇分化,伊红染色,脱水、透明,封片;采用 Olympusl X50 倒置显微镜与 PM304 曝光控制系统观察苏木精-伊红(HE)染色图片及纤维照相,高倍镜下随机取 5 个视野,计算肌纤维数量,以平均数作为每例标本肌纤维含量;采用 Motic Med6.0 图片分析系统测量肌细胞的横截面积,每张切片随机测量 20 个肌细胞,取平均数。

1.2.4 术后视觉三级功能检测

采用同视机和 Titmus 立体图检测患者视觉 3 级功能,I 级同时视:采用猴子和熊猫图片检测有无同时视;II 级融合功能:在 I 级基础上用猫捉蝴蝶图片检测有无融合功能和融合范围;III 级立体视:采用 Titmus 立体图检测近距离立体视情况,患者配戴偏振光镜片,观察不同级别圆环图,记录患者能否分辨出凹凸层次感的最小视差, $\leq 60''$ 者记为立体视功能正常, $>60''$ 者即无正常立体视。

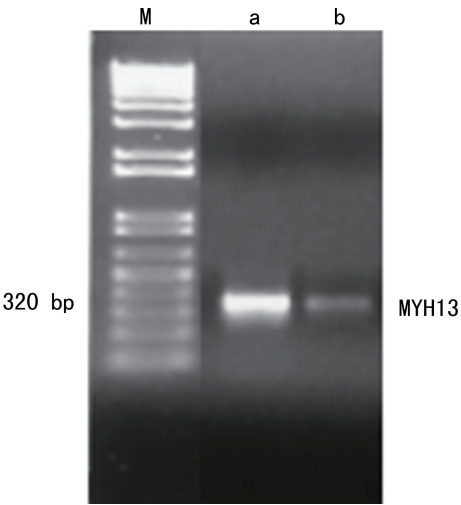
1.3 统计学处理

采用 SPSS19.0 软件进行数据分析,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,比较采用 t 检验;计数资料以频数或百分率表示,比较采用 χ^2 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 斜视组和对照组眼外肌 MYH13 mRNA 表达水平比较

斜视组眼外肌 MYH13 mRNA 相对表达水平为 0.21 ± 0.06 , 对照组为 0.79 ± 0.20 , 两组比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见图 1、2。



M: Marker; a: 对照组; b: 斜视组。

图 1 斜视组和对照组眼外肌 MYH13 电泳图

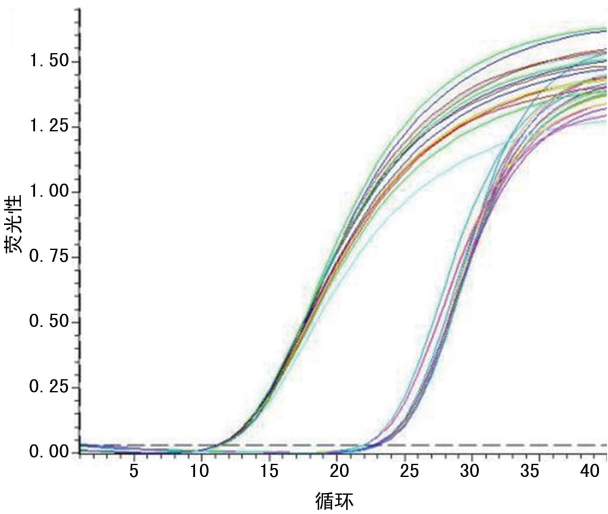


图 2 qRT-PCR 扩增曲线图

2.2 斜视组和对照组眼外肌 MYH13 蛋白水平比较

斜视组眼外肌 MYH13 蛋白水平为 0.19 ± 0.05 , 对照组为 0.71 ± 0.15 , 两组比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见图 3。

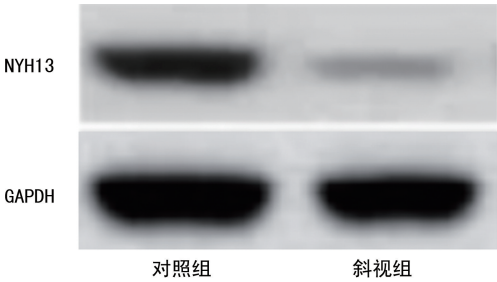


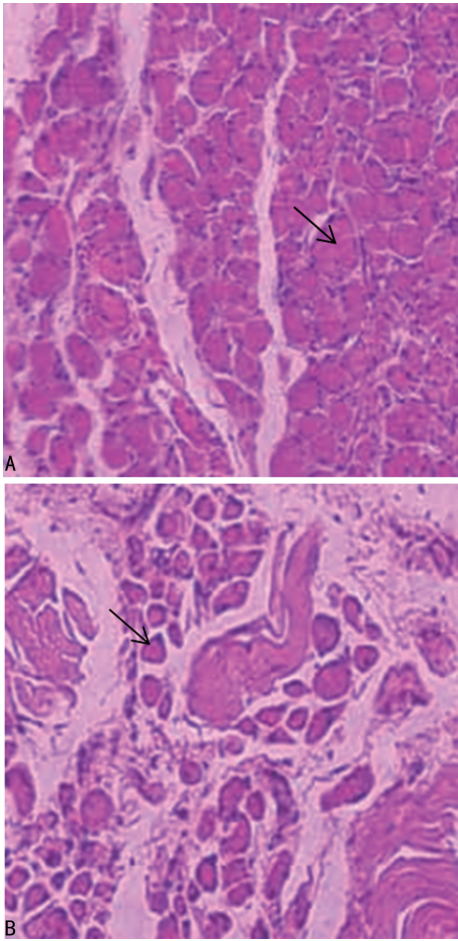
图 3 斜视组和对照组眼外肌 MYH13 蛋白表达

2.3 MYH13 水平与共同性外斜视患者内直肌病理形态的关系

MYH13 高表达组内直肌肌纤维平均横截面积、肌纤维含量高于 MYH13 低表达组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见表 1、图 4。

表 1 斜视组内直肌病理形态学比较 ($\bar{x} \pm s$)

项目	MYH13 高表达组 (n=41)	MYH13 低表达组 (n=45)	t	P
内直肌肌纤维平均横截面积(μm^2)	367.88 ± 61.43	335.27 ± 58.56	2.520	0.014
肌纤维含量(个)	21.04 ± 3.07	19.32 ± 2.53	2.845	0.006



A: MYH13 高表达组; B: MYH13 低表达组; 箭头: 肌纤维。

图 4 内直肌形态(HE, 400 $\times$)

2.4 眼外肌 MYH13 水平与共同性外斜视患者术后斜视度数比较

术后 6 个月, MYH13 高表达组斜视度数明显低于 MYH13 低表达组 [$4(2, 5)^\circ$ vs. $9(5, 12)^\circ$], 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

2.5 眼外肌 MYH13 水平与共同性外斜视患者术后视觉三级功能的关系

术后 6 个月, MYH13 高表达组同时视、融合范围、立体视高于 MYH13 低表达组 ($P < 0.05$), 两组融合功能比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见表 2。

表 2 斜视组术后视觉三级功能比较

项目	MYH13 高表达组 (n=41)	MYH13 低表达组 (n=45)	χ^2/t	P
同时视[n(%)]			3.968	0.046
有	27(65.85)	20(44.44)		
无	14(34.15)	25(55.56)		
融合功能[n(%)]			2.284	0.131
有	24(58.54)	19(42.22)		
无	17(41.46)	26(57.73)		
融合范围($\bar{x} \pm s, \%$)	12.19 $\pm$ 3.94	10.25 $\pm$ 3.11	2.546	0.013
立体视[n(%)]			4.490	0.034
有	20(48.78)	12(26.67)		
无	21(51.22)	33(73.33)		

3 讨 论

共同性斜视以双眼视觉不稳定或未巩固完善的儿童多见,6岁前多发,3岁内为发病最集中年龄段,发病率为0.43%~1.70%,而12岁后发病率明显降低^[6]。在儿童时期,斜视可导致出现弱视、双眼障碍等不可逆性的视觉中枢缺陷,成人期发病,则可导致复视发生^[7]。斜视不仅导致患者双眼视觉功能障碍,还影响患者面部美感,同时给患者造成严重心理创伤。因此,寻找该病发病机制及有效治疗方法成为医学研究的热点。

眼外肌是控制眼球运动的肌肉,由4条直肌与2条斜肌组成,有较强的收缩性与抗疲劳性,眼外肌的横纹肌的低张力、高速度的收缩特性和眼外肌型肌球蛋白重链(myosin heavy chain,MHC)的表达密切相关,而眼外肌型MHC主要由MYH13编码^[8-9]。MYH13是人类17号染色体快速/发育MYH基因簇的重要成员之一,也是祖先骨骼肌与心肌肌球蛋白分化后在快速/发育簇中出现的第1个特异性肌球蛋白,具有物种间高度保守性,对眼外肌收缩特性有重要调控作用^[10]。CHENG等^[11]对黑暗饲养大鼠和单眼剥夺的猴子模型进行研究发现,眼外肌转录组发生改变,在斜视、弱视及先天性白内障模型中MYH13表达受到抑制,导致视觉运动发育不良。田亮等^[12]研究发现,共同性内斜视患者眼外肌MYH13表达缺失,在其发生、发展中发挥重要作用。本研究结果显示,共同性外斜视组眼外肌MYH13 mRNA水平与蛋白水平表达均低于对照组,与上述结果相似,提示共同性外斜视患者眼外肌MYH13低表达。研究发现,共同性外斜视患者内直肌肌纤维横截面积明显减

小,肌纤维数量减少,排列紊乱及胶原纤维增生等病理性改变^[13]。本研究结果显示,MYH13高表达组内直肌肌纤维平均横截面积、肌纤维含量高于MYH13低表达组,提示MYH13高表达共同性外斜视患者内直肌病变程度较轻,推测MYH13高表达可能有利于内直肌中肌球蛋白维持在较高水平,有利于内直肌结构及功能维持^[10]。

斜视是造成双眼视觉功能异常最主要疾病之一,斜视和双眼视觉功能之间的关系一直是医学研究的热点^[14]。双眼视觉是最完善的高级视觉功能,主要分为同时视、融合功能及立体视三级^[15-16]。斜视不仅能对儿童时期双眼视觉造成影响,同时也可破坏发育成熟的双眼视觉,双眼视觉功能的恢复及重建是斜视治疗的首要目的,也是术后预后评定的重要指标之一^[17-18]。本研究结果显示,术后6个月,MYH13高表达组共同性外斜视患者斜视度数低于MYH13低表达组,同时视、融合范围、立体视均优于MYH13低表达组,提示MYH13高表达共同性外斜视患者术后斜视矫正效果较优,双眼视觉功能恢复较好,推测MYH13高表达可能有助于共同性外斜视患者眼外肌结构恢复,从而有利于其视觉功能恢复。

综上所述,共同性外斜视患者眼外肌MYH13 mRNA与蛋白水平均低表达,MYH13高表达患者内直肌肌纤维平均横截面积较大、肌纤维含量较高,有利于术后斜视度数矫正和双眼视觉功能恢复。然而本研究样本量较少,为单中心研究,且未对不同年龄段患者进行区分研究,可能会造成一定结果偏差,后续研究将扩大样本量、丰富类型进一步验证。

参考文献

[1] RASMUSSEN F, THORÉN K, CAINES E, et al. Suitability of the lang II random dot stereotest for detecting manifest strabismus in 3-year-old children at child health centres in Sweden[J]. Acta Paediatr, 2015, 89(7): 824-829.

[2] HUANG X, LI H J, ZHANG Y, et al. Microstructural changes of the whole brain in patients with comitant strabismus: evidence from a diffusion tensor imaging study[J]. Neuropsychiatr Dis Treat, 2016, 12(5): 2007-2014.

[3] 齐梦, 赵博文, 周金琼, 等. 斜视矫正术对共同性斜视患者双眼视觉功能的影响[J]. 眼科, 2015, 24(6): 384-387.

- [4] BRIGGS M M, SCHACHAT F. The superfast extraocular myosin (MYH13) is localized to the innervation zone in both the global and orbital layers of rabbit extraocular muscle[J]. J Exp Biol, 2002, 205(20): 3133.
- [5] 张旭东. 实用眼科学[M]. 北京: 科学出版社, 2015: 126-131.
- [6] 王小琴, 谢青, 鲁宏, 等. 共同性斜视患者大脑皮层激活强度的功能磁共振研究[J]. 眼科新进展, 2015, 35(3): 258-262.
- [7] 徐婷婷, 杨先, 刘静, 等. 间歇性外斜视儿童眼位控制力与融像性集合参数相关性研究[J]. 中国实用眼科杂志, 2016, 34(3): 216-219.
- [8] LUCAS C A, HSM R, JFY H. Changes in myosin heavy chain isoforms along the length of orbital fibers in rabbit extraocular muscle[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2018, 59(3): 1178-1190.
- [9] FISCHER M D, BUDAK M T, BAKAY M, et al. Definition of the unique human extraocular muscle allotype by expression profiling [J]. Physiol Genomics, 2005, 22(3): 283-291.
- [10] WANG K S, ZHANG Q, LIU X, et al. PKNX2 is associated with formal thought disorder in schizophrenia: a meta-analysis of two genome-wide association studies [J]. J Mol Neurosci, 2012, 48(1): 265-272.
- [11] CHENG G, MUSTARI M J, KHANNA S, et al. Comprehensive evaluation of the extraocular muscle critical period by expression profiling in the dark-reared rat and monocularly deprived monkey[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2003, 44(9): 3842-3855.
- [12] 田亮, 邓大明, 申煌煌. 共同性内斜视患者眼外肌中肌球蛋白重链表达的研究[J]. 眼科新进展, 2011, 31(6): 508-510.
- [13] 罗琪, 周炼红, 易贝茜, 等. 共同性斜视眼外肌的病理变化及肝细胞生长因子表达研究[J]. 中华眼视光学与视觉科学杂志, 2015, 17(10): 621-624.
- [14] 华文娟, 顾永辉, 徐丹丹. 双眼视觉在间歇性外斜视手术前后变化及手术效果相关研究[J]. 国际眼科杂志, 2015, 15(4): 681-683.
- [15] 李妍. 视觉训练对斜视患者术后双眼视觉功能恢复的影响分析[J]. 中国全科医学, 2018, 21(1): 115-116.
- [16] 刘香, 李京, 褚航, 等. 儿童间歇性外斜视术后行视觉短塑性训练对立体视功能恢复的临床研究[J]. 中国斜视与小儿眼科杂志, 2016, 24(4): 30-33.
- [17] 李月平, 张伟, 丁娟, 等. Knapp 手术与 Foster 缝线改良 Knapp 手术在双上转肌麻痹治疗中的作用[J]. 中华眼科杂志, 2017, 53(12): 903-907.
- [18] 杨侃, 陈蔚柏, 郝红艳, 等. 间歇性外斜视患者手术矫正前后的双眼融合功能和立体视锐度对比研究[J]. 中国临床研究, 2017, 30(2): 248-250.

(收稿日期: 2020-03-18 修回日期: 2020-08-02)

(上接第 469 页)

- [12] BASI S, FESLER P, MIMRAN A, et al. Microalbuminuria in type 2 diabetes and hypertension: a marker, treatment target, or innocent bystander? [J]. Diabetes Care, 2008, 31(Suppl 2): 194-201.
- [13] KOPEL J, PENA-HERNANDEZ C, NUGENT K. Evolving spectrum of diabetic nephropathy [J]. World J Diabetes, 2019, 10(5): 269-279.
- [14] 陈卫锋, 李平, 李旭. 新诊断 2 型糖尿病并早期肾病相关危险因素分析[J]. 农垦医学, 2019, 45(6): 509-512.
- [15] 梁爽, 蔡广研. 糖尿病肾病诊治的难点与重点 [J]. 中国临床医生杂志, 2020, 48(5): 505-507.
- [16] HYUN E, RAMACHANDRAN R, HOLLENBERG M D, et al. Mechanisms behind the anti-inflammatory actions of insulin [J]. Crit Rev Immunol, 2011, 31(4): 307-340.

(收稿日期: 2020-04-18 修回日期: 2020-10-13)