

文章编号: 1001-3806(2002)01-0017-03

IL-1ra 对激光角膜烧伤的治疗作用

单清 张杰 任华 王登龙 姜严明 钱焕文
(军事医学科学院放射医学研究所, 北京, 100850)

摘要: 白介素 1 受体拮抗剂(IL-1ra)可阻断 IL-1 在机体的免疫应答、感染、炎症反应和组织损伤中的作用。采用日本大耳白兔, 造成角膜激光烧伤模型, 观察研究 IL-1ra 的治疗作用。通过裂隙灯与病理组织学观察, 角膜 OD 值与角膜上皮细胞活性测定, 以及烧伤斑图像分析, 实验结果表明, IL-1ra 对激光角膜烧伤具有一定疗效。

关键词: 激光; 角膜烧伤; 治疗

中图分类号: R318.51 文献标识码: A

Therapeutical effect of IL-1ra on laser-burnt cornea

Shan Qing, Zhang Jie, Ren Hua, Wang Denglong, Jiang Yanming, Qian Huanwen
(Institute of Radiation Medicine, Academy of Military Medical Sciences, Beijing, 100850)

Abstract: Interleukin-1 receptor antagonist (IL-1ra) can interrupt effects of IL-1 in immunity response, infection, inflammation and injury of body. The laser burnt rabbit cornea has been used to study the therapeutical effect of IL-1ra. Through observation of slit-lamp and pathology, determination OD value of cornea and activity of corneal epithelial cell and burnt cornea image analysis, the results indicate that IL-1ra is medicable for laser burnt cornea.

Key words: laser; burnt cornea; therapy

引言

IL-1ra 是首次发现的细胞因子拮抗剂, 它特异性地与 IL-1 受体结合, 可阻断 IL-1 在机体的免疫应答、感染、炎症反应和组织损伤中的作用。曾有人以热损伤和化学损伤造兔角膜溃疡模型, 观察 IL-1ra 抑制新生血管形成的效果, 结果表明, IL-1ra 对角膜新生血管有明显的抑制作用^[1]。角膜烧伤是一种常见的角膜外伤, 各种因素造成的角膜损伤不但导致角膜本身的器质性损伤, 从而影响视力, 还可产生各种并发症, 严重者导致失明。本实验用 CO₂ 激光造成日本大耳白兔角膜烧伤, 应用不同剂量的 IL-1ra 溶液滴眼, 并与地塞米松进行比较, 研究观察 IL-1ra 对激光造成的角膜烧伤的治疗作用, 为激光角膜烧伤的治疗寻找新的手段。

1 材料与方

1.1 材料

采用本院实验动物中心提供的日本大耳白兔,

作者简介: 单清, 女, 1960 年出生。副研究员。现从事激光眼效应与激光眼损伤治疗研究工作。

收稿日期: 2000-10-17; 收到修改稿日期: 2001-01-20

年龄 7 周; 体重 1.5~2.0kg。白细胞介素 1 受体拮抗剂由北京医科大学联合生物工程公司提供。

1.2 实验方法

用 1% 盐酸丁卡因滴眼液行角膜表面麻醉, 将直径 5mm 的光阑置于兔眼前, 用 CO₂ 激光照射角膜, 照射能量约 29mJ, 功率约 8.6W, 时间为 0.5s。于角膜中央造成白色圆形烧伤斑。

根据有关文献 IL-1ra 用药量 50 μ g/mL 和本实验预试结果, 作为本受试药的给药剂量设置依据^[2]。共分大、中、小 3 个剂量组, 即 IL-1ra 25 μ g/mL 组、IL-1ra 50 μ g/mL 组和 IL-1ra 100 μ g/mL 组。药物滴眼剂量标示单位采用 μ g/mL 表示。将动物随机分成 6 组: 激光烧伤组, IL-1ra 25 μ g/mL 组, IL-1ra 50 μ g/mL 组, IL-1ra 100 μ g/mL 组、地塞米松 1mg/mL 组及正常对照组。每组 5 只, 雌雄各半。各用药组均于烧伤后即刻开始, 以 50 μ L 药物滴眼, 每日 3 次。

于烧伤后 21d 内每日用裂隙灯观察各组动物角膜烧伤临床表现, 包括结膜囊内分泌物、结膜充血、角膜水肿、角膜烧伤斑混浊程度等。烧伤后 7d, 14d 和 21d 施行眼球摘除术, 分别进行病理组织学观察、角膜 OD 值测定、MTT 法角膜上皮细胞活性检测和烧伤斑图像分析。实验数据用 SAS 软件统计处理。

2 结果

2.1 裂隙灯观察

通过角膜裂隙灯显微镜观察, II-1ra 各剂量组的结膜囊内分泌物明显少于烧伤组。II-1ra 组与激光烧伤组比较, 结膜充血、水肿反应明显较烧伤组轻, 角膜烧伤斑的混浊程度也较轻。

2.2 病理组织学观察

角膜激光烧伤后 1 周, 损伤斑仍明显水肿, 局限性增厚, 边界较清晰; 角膜上皮细胞层薄。激光烧伤后 2 周, 角膜上皮细胞层和内皮细胞层均与基质层分离, 形成间隙。3 周时角膜上皮细胞有明显增生, 基质中也有大量成纤维细胞增生, 但上皮细胞层与基质层之间仍然存在间隙。II-1ra 各剂量组于激光烧伤后 1 周角膜水肿基本消退, 上皮细胞生长良好, 小剂量组中在角膜内皮细胞内侧有少许成纤维细胞。地塞米松组与早期角膜水肿增厚得到部分控制, 但 2 至 3 周时有所反复, 且角膜上皮细胞层与基质层分离, 形成间隙。

2.3 角膜 OD 值测定

角膜透光率的大小直接决定了视物的清晰程度, 即视力的恢复程度。因此, 角膜 OD 值测定可以间接反应角膜烧伤的恢复情况。激光烧伤后 7d 和 14d, II-1ra 中、大剂量组与烧伤组比较有显著性差异($p < 0.001$), 其中伤后 14d II-1ra 各剂量组与地塞米松组比较有显著性差异($p < 0.001$)。烧伤后

21d, II-1ra 各剂量组和地塞米松组与烧伤组比较, 均有显著性差异($p < 0.001$)。如表 1 所示, 激光烧伤后 21d, 烧伤组、中剂量组和地塞米松组的角膜透光率分别为 66.500, 72.413 和 70.828。

2.4 MTT 法角膜上皮活性检测

MTT 检测结果显示, 激光烧伤后 7d, 14d 和 21d, II-1ra 中剂量组与烧伤组比较, 有显著差异($p < 0.05 \sim 0.001$)。此外, 烧伤后 7d 小剂量组和大剂量组以及 21d 大剂量组与烧伤组比较, 也有显著性差异($p < 0.05 \sim 0.01$)。地塞米松组与烧伤组之间无显著性差异(见表 2)。

2.5 角膜烧伤斑图像分析

2.5.1 角膜平均灰度 平均灰度的数值越高, 表明角膜的透光度越大。激光烧伤后 14d, II-1ra 小、中剂量组和地塞米松的角膜平均灰度与烧伤组比较均有显著性差异($p < 0.05 \sim 0.01$); II-1ra 中剂量组与地塞米松组比较也有显著性差异($p < 0.05$)。烧伤后 21d, II-1ra 小、中剂量组与烧伤组和地塞米松组比较均有显著性差异($p < 0.001$)。如表 3 所示, 激光烧伤后 21d, 烧伤组的角膜平均灰度为 79.970, II-1ra 小剂量为 92.880, 中剂量组为 89.810。

2.5.2 角膜平均光密度值(OD 值) 平均光密度值越低, 表明角膜透光率越高。激光烧伤后 14d, II-1ra 中剂量和大剂量组的角膜平均光密度值与烧伤组和地塞米松组比较, 均有显著性差异($p < 0.05 \sim 0.01$)。烧伤后 21d, II-1ra 小、中剂量组与烧伤

Table 1 The optical density(OD) value of cornea after laser burn

time / d	laser burn (n=200)	II-1ra 25 μ g/mL (n=200)	II-1ra 50 μ g/mL (n=200)	II-1ra 100 μ g/mL (n=200)	DM 1mg/mL (n=200)
7	66.651 \pm 7.673	67.349 \pm 8.950	68.268 \pm 8.609	69.517 \pm 8.378	68.282 \pm 5.922
14	67.951 \pm 9.905	81.459 \pm 6.912 * * * * # # #	80.505 \pm 9.097 * * * * # # #	75.945 \pm 8.162 * * * * # # # #	67.006 \pm 7.407
21	66.500 \pm 7.934	70.550 \pm 5.476 * * * *	72.413 \pm 5.489 * * * *	71.633 \pm 5.186 * * * *	70.828 \pm 5.354 * * * *

compared with the laser burn group * $p < 0.05$, * * $p < 0.01$, * * * $p < 0.001$

compared with the DM 1mg/mL group # $p < 0.05$, # # $p < 0.01$, # # # $p < 0.001$

Table 2 MTT colorimetric assay of activity of the corneal epithelium cells after laser burn

time / d	normal control (n=10)	laser burn (n=10)	II-1ra 25 μ g/mL (n=10)	II-1ra 50 μ g/mL (n=10)	II-1ra 100 μ g/mL (n=10)	DM 1mg/mL (n=10)
7	0.191 \pm 0.032	0.109 \pm 0.021	0.145 \pm 0.030 * * *	0.156 \pm 0.032 * * *	0.153 \pm 0.031 *	0.128 \pm 0.027
14	0.241 \pm 0.014	0.133 \pm 0.049	0.151 \pm 0.030	0.169 \pm 0.026 *	0.157 \pm 0.018	0.152 \pm 0.025
21	0.225 \pm 0.025	0.160 \pm 0.042	0.174 \pm 0.040	0.235 \pm 0.057 * * * *	0.187 \pm 0.058 *	0.174 \pm 0.032

compared with the laser burn group * $p < 0.05$, * * $p < 0.01$, * * * $p < 0.001$

compared with the DM 1mg/mL group # $p < 0.05$, # # $p < 0.01$, # # # $p < 0.001$

Table 3 The average gray levels of corneal lesion after laser burn

time / d	laser burn (n=10)	II-1ra 25μg/mL (n=10)	II-1ra 50μg/mL (n=10)	II-1ra 100μg/mL (n=10)	DM 1mg/mL (n=10)
7	78.962±7.735	80.060±4.885	81.530±8.207	80.488±5.951	82.700±6.768
14	71.000±6.912	79.500±8.758	83.387±10.331	71.922±6.428	80.966±4.766
21	79.970±9.362	92.880±8.355	89.810±13.290	85.422±7.387	78.662±9.888

compared with the laser burn group * p < 0.05, ** p < 0.01, *** p < 0.001

compared with the DM 1mg/mL group # p < 0.05, ## p < 0.01, ### p < 0.001

Table 4 The optical density levels of corneal lesion after laser burn

time / d	laser burn (n=10)	II-1ra 25μg/mL (n=10)	II-1ra 50μg/mL (n=10)	II-1ra 100μg/mL (n=10)	DM 1mg/mL (n=10)
7	0.250±0.038	0.243±0.027	0.237±0.044	0.235±0.034	0.226±0.036
14	0.297±0.039	0.247±0.047	0.227±0.053	0.238±0.027	0.291±0.037
21	0.246±0.050	0.181±0.038	0.198±0.065	0.216±0.036	0.248±0.054

compared with the laser burn group * p < 0.05, ** p < 0.01, *** p < 0.001

compared with the DM 1mg/mL group # p < 0.05, ## p < 0.01, ### p < 0.001

Table 5 The integral optical density levels of corneal lesion after laser burn

time / d	laser burn (n=10)	II-1ra 25μg/mL (n=10)	II-1ra 50μg/mL (n=10)	II-1ra 100μg/mL (n=10)	DM 1mg/mL (n=10)
7	5.541±1.300	4.475±1.071	3.903±1.252	5.631±1.595	4.778±0.828
14	7.255±2.383	4.552±1.370	4.930±1.719	6.182±1.700	5.976±1.210
21	2.842±1.112	1.215±0.427	1.482±1.074	2.081±0.616	2.338±0.366

compared with the laser burn group * p < 0.05, ** p < 0.01, *** p < 0.001

compared with the DM 1mg/mL group # p < 0.05, ## p < 0.01, ### p < 0.001

Table 6 The area of corneal lesion after laser burn/mm²

time / d	laser burn (n=10)	II-1ra 25μg/mL (n=10)	II-1ra 50μg/mL (n=10)	II-1ra 100μg/mL (n=10)	DM 1mg/mL (n=10)
7	22.560±4.047	18.628±2.794	16.593±2.761	24.024±4.722	21.610±1.400
14	24.526±6.890	20.795±4.708	19.476±5.357	21.363±4.128	25.485±3.173
21	11.577±3.146	6.757±1.176	7.078±2.638	10.051±3.309	9.876±1.937

compared with the laser burn group * p < 0.05, ** p < 0.01, *** p < 0.001

compared with the DM 1mg/mL group # p < 0.05, ## p < 0.01, ### p < 0.01

组和地塞米松组比较,均有显著性差异(p < 0.05~0.01)。地塞米松组与烧伤组之间无显著性差异。如表 4 所示,激光烧伤后 21d,烧伤组、II-1ra 小剂量组和中剂量组的角膜平均光密度值分别为 0.246, 0.181 和 0.198。

2.5.3 角膜积分光密度值(IOD) 积分光密度是对角膜烧伤面积上的光密度值进行积分。积分光密度值越低,表明角膜的透光性越好。激光烧伤后 7d, 14d 和 21d, II-1ra 中剂量组的角膜平均光密度值与烧伤组比较有显著性差异(p < 0.05~0.001), 其中, 7d 时与地塞米松组比较也有显著性差异

(p < 0.05)。II-1ra 小剂量组在伤后 14d 和 21d 与烧伤组比较有显著性差异(p < 0.05~0.01)。地塞米松组在 3 个时间点上的角膜积分光密度值均较烧伤组低,但无显著性差异。如表 5 所示,激光烧伤后 21d,烧伤组、II-1ra 小剂量组和中剂量组的角膜平均积分光密度值分别为 2.842, 1.215 和 1.482。

2.5.4 角膜烧伤面积 激光烧伤后 7d, 14d 和 21d, II-1ra 小、中剂量组的角膜烧伤面积与烧伤组比较有显著性差异(p < 0.05~60.01)。此外, 7d 时

(下转第 22 页)

出,抗蚀剂图形与设计图形间的偏差在曝光显影过程中进一步加大,而理想掩模和激光直写加工的掩模的抗蚀剂图形也有一定的差别。计算表明,理想掩模的投影光刻抗蚀剂图形的面积偏差为21.1%,而激光直写加工的掩模的投影光刻抗蚀剂图形面积偏差为25.1%。

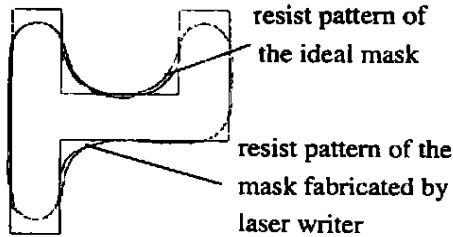


Fig. 4 Comparison of the 2D resist profiles

4 分析和结论

针对研究制作 0.34 μ m 光刻图形,我们从掩模加工到投影成像,再到曝光显影进行了全过程的计算机模拟分析。尽管空间像的畸变是影响光刻图形质量主要因素,但掩模制作和曝光显影过程中的邻近效应对光刻图形质量也产生严重影响(引入邻近畸变的面积偏差都在 5% 以上),并导致最终光刻图形

大大超过工业光刻的偏差允许极限。值得注意的是,激光直写加工的掩模经投影光刻过程后,所获得抗蚀剂图形的相对面积偏差与理想掩模投影光刻的结果相比只增大了 4%,小于掩模图形本身的面积偏差 5.1%。这说明投影光刻图形传递过程存在许多非线性因素,掩模设计时合理采用预畸变掩模形状的方法,可减少最终光刻图形的畸变,改善光刻图形质量。目前,投影光刻成像和曝光显影的邻近效应已引起人们的注意^[4,5],而对掩模制作中的邻近效应对光刻图形的影响讨论尚少。总体来看,掩模图形的偏差达 5.1%,可使最终光刻图形相对面积偏差增大 4%,应在邻近效应精细校正中予以总体考虑,以期获得最佳的光刻图形效果。有关邻近效应一体化考虑的校正方法和实验结果,我们将在以后予以报道。

参 考 文 献

- [1] Langlois P. SPIE, 1992, 1751: 2~ 12.
- [2] Guo L R, Guo Y K. 光子学报, 1994, 23(22): 43~ 52.
- [3] Du J L, Gao F H. Opt. Engng, 2000, 39(3): 771~ 775.
- [4] Du J L, Su J Q, Luo K J *et al.* 光学学报, 2000, 20(4): 518~ 524.
- [5] Maurer W, Dolainsky C, Thiele J *et al.* SPIE, 1998, 3334: 245~ 253.

(上接第 19 页)

中剂量组以及 14d 时小、中剂量组与地塞米松组比较,有显著性差异($p < 0.050 \sim 0.01$)。地塞米松组与烧伤组之间无显著性差异。如表 6 所示,激光烧伤后 21d,烧伤组、II-1ra 小剂量组和中剂量组的角膜烧伤面积分别为 11.577mm², 6.757mm² 和 7.078mm²。

3 讨 论

已有研究证明,在机体对烧伤和感染的反应中,细胞因子作为炎症介质起着重要作用。烧伤后,II-1 释放增加,在疾病过程中相互诱导、协调,增加炎症介质的连锁作用。II-1ra 能特异性与 II-1 受体结合,从而阻断其在机体中的炎症反应和组织损伤作用。

本实验中通过角膜裂隙灯观察表明,II-1ra 能减轻激光角膜烧伤的各种炎症反应。病理组织学观

察进一步证明,II-1ra 可明显减轻角膜基质水肿,抑制炎症细胞浸润,有利于角膜上皮细胞再生。此外,II-1ra 有利于角膜透光率的恢复,并对激光烧伤后角膜上皮细胞活性的恢复具有促进作用。图像分析也表明,II-1ra 有利于角膜透明度的恢复以及角膜烧伤混浊斑的缩小。

II-1ra 作为首个被发现的细胞因子拮抗剂,不仅具有治疗作用,而且副作用小,安全性高,这些特点使之有望成为治疗角膜烧伤的新型药物。本实验首次将 II-1ra 用于激光角膜烧伤的治疗,尚未见报道,它为激光烧伤的治疗开辟了新途径。

参 考 文 献

- [1] 白晋,陈国民. 中国实用眼科杂志, 1997, 15(7): 416~ 418.
- [2] 张文华,孙旭光,武宇影 *et al.* 眼科, 1997, 6(3): 135~ 136.
- [3] 孙旭光,张文华. 眼科, 1996, 5(2): 110~ 111.