

撤稿声明

撤稿文章名: 双氯芬酸钠滴眼液与翼状胬肉中增殖细胞核抗原表达水平的关系
作者: 孙兆义*, 李红玉, 卫冬, 张海龙, 陈硕然
* 通讯作者.
邮箱: zww0458@163.com
期刊名: 眼科学 (HJO)
年份: 2019
卷数: 8
期数: 4
页码 (从X页到X页): 119-126
DOI (to PDF): <https://doi.org/10.12677/hjo.2019.84020>
文章ID: 2230251
文章页面: <https://www.hanspub.org/journal/PaperInformation.aspx?paperID=33119>
撤稿日期: 2020-3-17

撤稿原因 (可多选):

- 所有作者
 部分作者:
 编辑收到通知来自于 出版商
 科研机构:
 读者:
 其他:

撤稿生效日期: 2020-3-17

撤稿类型 (可多选):

- 结果不实 实验错误 数据不一致 分析错误 内容有失偏颇
 其他:
- 结果不可再得
 未揭示可能会影响理解与结论的主要利益冲突
 不符合道德
- 欺诈 编造数据 虚假出版 其他:
 抄袭 自我抄袭 重复抄袭 重复发表 *
 侵权 其他法律相关:
- 编辑错误 操作错误 无效评审 决策错误 其他:
- 其他原因:

出版结果 (只可单选)

- 仍然有效.
 完全无效.

作者行为 失误(只可单选):

- 诚信问题
 学术不端
 无 (不适用此条, 如编辑错误)

* 重复发表: "出版或试图出版同一篇文章于不同期刊."

历史

作者回应:

- 是, 日期: yyyy-mm-dd
 否

信息改正:

- 是, 日期: yyyy-mm-dd
 否

说明:

“双氯芬酸钠滴眼液与翼状胬肉中增殖细胞核抗原表达水平的关系”一文刊登在 2019 年 12 月出版的《眼科学》2019 年第 8 卷第 4 期第 119-126 页上。因该文研究内容另作他用, 作者主动申请撤稿。根据国际出版流程, 编委会现决定撤除此重复稿件, 保留原出版出处:

孙兆义, 李红玉, 卫冬, 张海龙, 陈硕然. 双氯芬酸钠滴眼液与翼状胬肉中增殖细胞核抗原表达水平的关系[J]. 眼科学, 2019, 8(4): 119-126. <https://doi.org/10.12677/HJO.2019.84020>

所有作者签名:

孙兆义 李红玉、卫冬、张海龙、陈硕然。

Relationship between Diclofenac Sodium Eye Drops and Expression of Proliferating Cell Nuclear Antigen in Pterygium

Zhaoyi Sun^{1*}, Hongyu Li², Dong Wei¹, Hailong Zhang³, Shuoran Chen²

¹Hongqi Hospital Affiliated to Mudanjiang Medical University, Mudanjiang Heilongjiang

²Mudanjiang Medical University, Mudanjiang Heilongjiang

³Department of Medical Psychology, School of Public Health, Mudanjiang Medical College, Mudanjiang Heilongjiang

Email: *zww0458@163.com

Received: Oct. 28th, 2019; accepted: Nov. 18th, 2019; published: Nov. 25th, 2019

Abstract

Objective: To observe the expression of proliferating cell nuclear antigen (PCNA) in primary pterygium and recurrent pterygium and the changes after administration. **Methods:** 100 cases of pterygium (including 55 cases of primary pterygium, 45 cases of recurrent pterygium) and 10 cases of normal conjunctival tissue were randomly divided into five groups: 10 cases of normal conjunctival tissue in group I. There were 28 cases of pterygium, 24 cases of recurrent pterygium in group II and III respectively. 27 cases of primary pterygium in group IV, and 2 cases of recurrent pterygium in group V are with Diclofenac sodium eye drops applied locally before operation. Five groups of specimens were subjected to PCNA detection by immunohistochemistry method. **Results:** The positive rate of PCNA in group I was 20%, 64.29% in group II ($P > 0.05$), 87.50% in group III ($P < 0.01$), 29.63% in group IV, and 61.90% in group V. **Conclusion:** PCNA is expressed in pterygium tissues, and PCNA expression in recurrent pterygium is higher than that in primary pterygium. Preoperative application of diclofenac sodium eye drops can inhibit PCNA expression, with primary pterygium. The positive rate of PCNA expression in tissues was significantly decreased.

Keywords

Pterygium, Proliferating Cell Nuclear Antigen, Diclofenac Sodium

双氯芬酸钠滴眼液与翼状胬肉中增殖细胞核抗原表达水平的关系

孙兆义^{1*}, 李红玉², 卫冬¹, 张海龙³, 陈硕然²

*通讯作者。

文章引用: 孙兆义, 李红玉, 卫冬, 张海龙, 陈硕然. 双氯芬酸钠滴眼液与翼状胬肉中增殖细胞核抗原表达水平的关系[J]. 眼科学, 2019, 8(4): 119-126.

DOI: 10.12677/hjo.2019.84020

¹牡丹江医学院附属红旗医院，黑龙江 牡丹江

²牡丹江医学院，黑龙江 牡丹江

³牡丹江医学院公共卫生学院医学心理教研室，黑龙江 牡丹江

Email: zww0458@163.com

收稿日期：2019年10月28日；录用日期：2019年11月18日；发布日期：2019年11月25日

摘要

目的：观察增殖细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen, PCNA)在初发性翼状胬肉和复发性翼状胬肉组织的表达情况及用药后的变化。方法：翼状胬肉100例(包括初发性翼状胬肉55例，复发性翼状胬肉45例)和正常结膜组织10例，随机分为五组：I组正常结膜组织10例，II组初发性翼状胬肉28例，III组复发性翼状胬肉24例，IV组初发性翼状胬肉27例术前局部应用双氯芬酸钠滴眼液，V组复发性翼状胬肉21例术前局部应用双氯芬酸钠滴眼液。采用免疫组织化学方法对5组标本进行PCNA检测。结果：I组PCNA阳性率为20%，II组为64.29%，III组为87.50%，IV组为29.63%，V组为61.90%。结论：PCNA在翼状胬肉组织中有表达，且PCNA在复发性翼状胬肉中的表达高于初发性翼状胬肉，术前应用双氯芬酸钠滴眼液可抑制PCNA表达，以初发性翼状胬组织中PCNA阳性表达率下降较为明显。

关键词

翼状胬肉，增殖细胞核抗原，双氯芬酸钠

Copyright © 2019 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

翼状胬肉是一种常见的眼表疾病，其特征是由鼻结膜向周围角膜延伸的翼状病理组织[1]。由肥大结膜上皮和上皮下纤维结缔组织组成的异常组织可导致一系列眼部症状，包括刺激、规则散光和不规则散光、视力损害[2]。尽管翼状胬肉被描述为一种变性疾病和增生性疾病[3]，但翼状胬肉的发病机制仍不清楚。PCNA 是一种在真核生物中，分子质量为 36 KU 的酸性核蛋白，是细胞增殖的关键核抗原，它对于 DNA 的复制、DNA 的损伤修复、染色质结构的维持以及细胞周期进展位点都是必不可少的。它还参与了肿瘤的发展过程，在一些肿瘤中表达失调[4]。我们应用免疫组织化学方法观察翼状胬肉中 PCNA 的表达及用药后改变。报告如下。

2. 资料和方法

2.1. 对象

被纳入研究的对象选自牡丹江医学院附属红旗医院眼科 2017~2019 年 100 例(100 只眼)住院接受单侧翼状胬肉切除的患者，均为静止期，这项研究排除标准是任何眼科或全身疾病或使用局部或全身药物。参与研究的所有合格参与者均获得知情同意。手术切除翼状胬肉组织，而在 10 例患有结膜松弛症的囊外白内障摘除手术中，在 12 点钟位置从角膜缘周围结膜获得正常结膜组织。选择这个区域是因为上盖保护

它不受紫外线照射。55名接受初发翼状胬肉切除术的患者(31名男性和24名女性, 年龄 71.4 ± 6.2 岁(平均标准差))及45名接受复发翼状胬肉切除术的患者(24名男性和21名女性, 年龄 78.4 ± 5.4 岁(平均标准差))和10名接受囊外白内障手术但患有结膜松弛症的健康个体(7名男性和3名女性, 年龄 74.5 ± 8.2 岁(平均标准差))被纳入研究。本研究经过牡丹江市医学院附属红旗医院伦理委员会批准, 并取得患者的知情同意。

2.2. 方法

用药组分别在术前2周于翼状胬肉眼应用0.1%双氯芬酸钠50微升, 日4次, 一次1滴(II组) (III组)。

2.3. 标本处理

从翼状胬肉和正常结膜获得标本, 福尔马林固定, 石蜡包埋系列切片使用PCNA多克隆抗体进行免疫染色、HE染色。柠檬酸盐抗原修复液微波抗原修复(温度在95℃~98℃, 时间10 min), 冷却室温后, 在室温避光下加过氧化物酶阻断溶液1滴, 孵育10 min, 滴山羊血清工作液作封闭用, 在37℃恒温箱中1 h (上海博迅GZX-9070MBE), 组织切片滴加稀释为1:100的50微升PCNA多克隆抗体(一抗, SAB公司提供), 4℃冰箱冷藏过夜(约12 h)。然后在加入生物素化的山羊抗兔二抗体之前, 在PBS缓冲液(pH 7.3)中广泛洗涤它们, DAB显色光镜下观察5 S后, 用自来水冲洗, 苏木素复染2分钟(兔SP试剂盒、DAB由北京中杉金桥公司提供)。免疫染色后, 使用光学显微镜仔细检查组织切片。该技术的阴性对照在没有第一抗体的情况下完成随后对提取的数据进行了分析。

2.4. 染色结果判断

光镜下观察, 细胞核呈浅黄色或深棕色染色的细胞为PCNA阳性细胞; 细胞浆或细胞膜呈浅黄色或深棕色的细胞为假染色以及无棕黄色染色的细胞均视为PCNA阴性细胞。每张切片在高倍显微镜下(200倍)随机选取5个视野, 计算每个视野阳性细胞率, 取平均值作为该标本的阳性细胞率。表达结果分为阴性(-): 无阳性细胞; 弱阳性(+): 阳性细胞率<50%; 强阳性(++): 阳性细胞率>50%。

2.5. 统计学处理

应用SPSS21.0统计软件, 计数资料采用 χ^2 检验, 以P<0.05为差异有显著性。

3. 结果

3.1. 形态学观察

正常对照组: 即正常结膜, 分为上皮层和基质层。上皮层由3~5层细胞组成, 表层为扁平细胞, 中层为多边形细胞, 基底层为立方形或柱形细胞。基质层为疏松结缔组织, 其间由散在的毛细血管, 少量成纤维细胞、淋巴细胞和中性粒细胞(图1)。

翼状胬肉组: 翼状胬肉组织上皮层及纤维组织均可见不同程度增生, 上皮层厚者可达十余层, 厚薄不均。上皮下组织可见成纤维细胞增生活跃、有丰富的毛细血管, 并见上皮囊肿, 符合翼状胬肉病理改变(图2、图3)。

3.2. PCNA在翼状胬肉及正常结膜中的表达

与正常结膜相比, 翼状胬肉组织中PCNA的表达增加。更具体地说, 与正常结膜相比, 免疫组化研究提供了64.29%初发及87.50%复发胬肉组织标本中PCNA蛋白表达增加的证据, 高于正常结膜组, 三

组间比较，差异有统计学意义($P = 0.001$) (表 1)。在所有研究的样品中，观察到 PCNA 阳性细胞定位于正常结膜的上皮基底部且散在分布(图 4)，在初发胬肉中增多，且向表层发展(图 5)，在复发胬肉中明显增多，定位于上皮全层且染色深(图 6)。目前的发现并不归因于翼状胬肉患者和正常结膜患者的年龄差异，因为两组患者的平均年龄没有统计学上的显著差异。

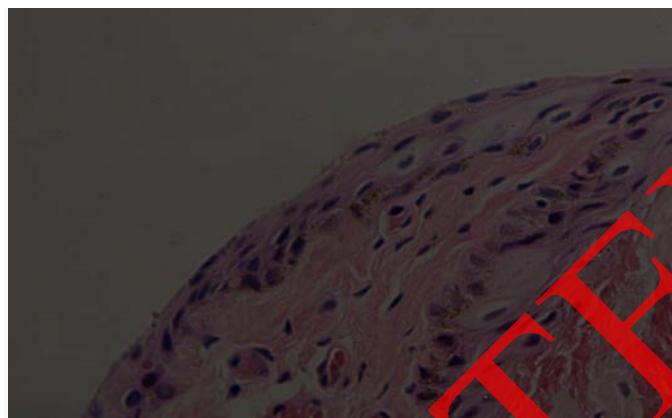


Figure 1. Normal conjunctiva HE staining ($\times 400$)
图 1. 正常结膜 HE 染色($\times 400$)

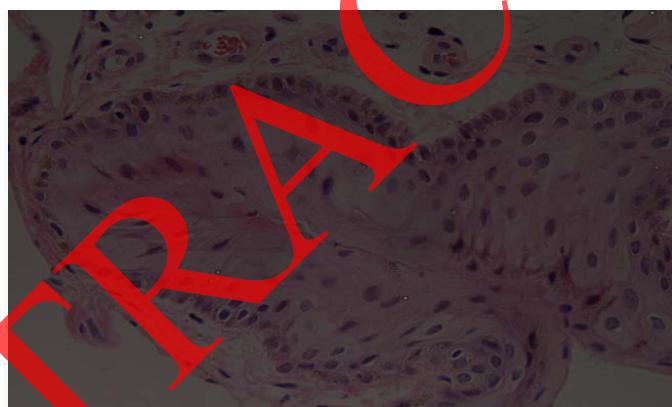


Figure 2. HE staining of primary pterygium ($\times 400$)
图 2. 初发性翼状胬肉组织 HE 染色($\times 400$)

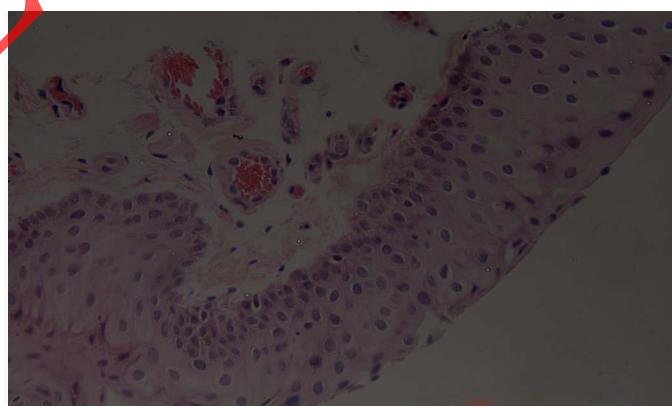


Figure 3. HE staining of recurrent pterygium ($\times 400$)
图 3. 复发性翼状胬肉组织 HE 染色($\times 400$)

Table 1. Expression of PCNA in pterygium and conjunctiva
表 1. PCNA 在翼状胬肉及正常结膜的表达情况

	例数	-	+	++	阳性率(%)	χ^2	P
I 组	10	8	2	0	20.00		
II 组	28	10	11	7	64.29	14.436	0.001***
III 组	24	3	8	13	87.50		

注: **显著性为 0.05 ***显著性为 0.001。

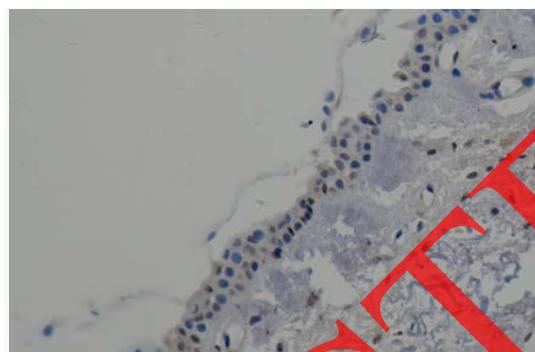


Figure 4. Expression of PCNA in conjunctiva ($\times 200$)
图 4. 正常结膜组织 PCNA 的表达($\times 200$)

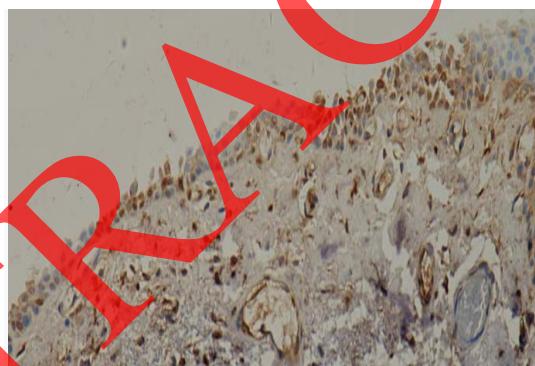


Figure 5. Expression of PCNA in primary pterygium ($\times 200$)
图 5. 初发性翼状胬肉 PCNA 的表达($\times 200$)

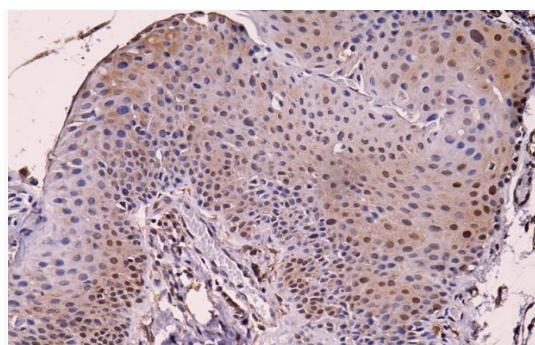


Figure 6. Expression of PCNA in recurrent pterygium ($\times 200$)
图 6. 复发性翼状胬肉 PCNA 的表达($\times 200$)

3.3. 用药后改变

见表 2~4 及图 7、图 8。经统计学分析, 初发性翼状胬肉组(II 组)与用药后初发性翼状胬肉组(IV 组)比较, 差异有显著性($\chi^2 = 6.623$, $P = 0.010$); 复发性翼状胬肉组 PCNA (III 组)与用药后复发性翼状胬肉组(V 组)比较, 差异有显著性($\chi^2 = 3.973$, $P = 0.046$); 用药后初发性翼状胬肉组(IV 组)与用药后复发性翼状胬肉组(V 组)比较, 差异有显著性($\chi^2 = 5.000$, $P = 0.025$)。在用药后的研究样品中, 观察到初发胬肉的上皮层 PCNA 阳性细胞减少(图 7), 而用药后的复发胬肉中 PCNA 阳性细胞明显减少, 毛细血管壁中 PCNA 阳性细胞减少(图 8)。

Table 2. Expression of PCNA in pterygium and pterygium after medication

表 2. PCNA 在初发胬肉及用药后的初发胬肉的表达情况

	例数	-	+	++	阳性率(%)	χ^2	P
II 组	28	10	11	7	64.29	6.623	0.010**
IV 组	27	19	6	2	29.63		

注: **显著性为 0.05, ***显著性为 0.001。

Table 3. Expression of PCNA in and after recurrent pterygium

表 3. PCNA 在复发胬肉及用药后的复发胬肉的表达情况

	例数	-	+	++	阳性率(%)	χ^2	P
III 组	24	3	8	13	87.50	3.973	0.046**
V 组	21	8	7	6	61.90		

注: **显著性为 0.05, ***显著性为 0.001。

Table 4. Expression of PCNA in pterygium after administration and pterygium after administration

表 4. PCNA 在用药后的初发胬肉和用药后复发胬肉的表达情况

	例数	-	+	++	阳性率(%)	χ^2	P
IV 组	27	19	6	2	29.63	5.000	0.025**
V 组	21	8	7	6	61.90		

注: **显著性为 0.05, ***显著性为 0.001。

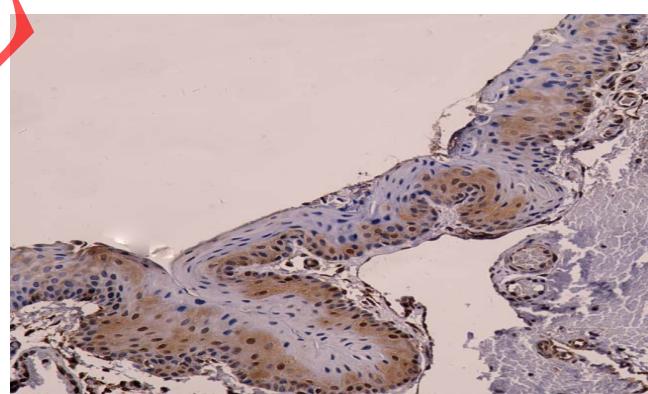


Figure 7. Expression of PCNA after initial pterygium administration ($\times 200$)

图 7. 初发性胬肉用药后 PCNA 的表达($\times 200$)

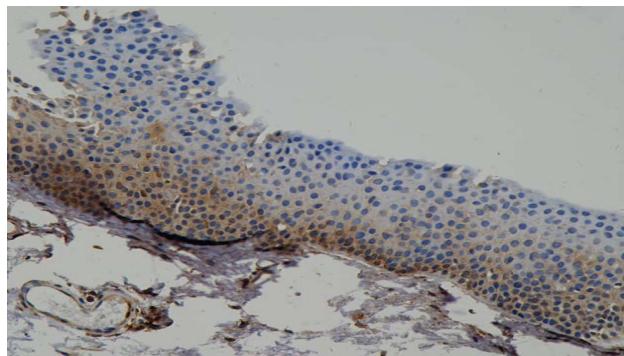


Figure 8. Expression of PCNA after administration of recurrent pterygium ($\times 200$)

图 8. 复发性胬肉用药后 PCNA 的表达($\times 200$)

4. 讨论

翼状胬肉是角膜球结膜的三角形纤维血管增生。是一种高增殖行为的眼表疾病，特别是花大量的时间在户外的热带国家的人[5]。它通过细胞增殖、基质重塑、血管生成和炎症活跃侵犯中央角膜，不仅影响患者的眼表状况和外观，而且由于翼状胬肉体积引起的张力而引起不适和角膜散光。翼状胬肉的发生和发展有多种理论，包括紫外线照射、免疫机制、病毒感染、肿瘤和角膜缘干细胞缺乏[6]。迄今为止，发病确切机制尚不清楚，没有公认的理论。一些研究者认为翼状胬肉的发生与上皮细胞的增殖有关，增殖可能是其发生和发展的关键因素，如凯西[7]等人研究指出上皮细胞的增殖可以导致翼状胬肉的发生和发展。聂聪[8]等人研究结果认为翼状胬肉上皮的增殖潜能高于正常结膜上皮。因此寻找安全、有效的抗增殖药是许多学者所面临的研究课题。PCNA 是一种环绕着脱氧核糖核酸的环状蛋白质，它在脱氧核糖核酸复制、细胞分裂和增殖中起着重要作用[9]，PCNA 的表达可以作为细胞增殖状态的指标。非甾体抗炎药是一种具有解热、镇痛、抗炎等作用的药物。在某些方面比类固醇激素更具优势，不仅抗炎镇痛、改善患者术后主观症状效果显著，还具有抑制翼状胬肉术后复发的作用[10]。因此，近年来各种非甾体抗炎药在眼科的局部用药得到广泛的使用。双氯芬酸钠是一种常用的非甾体类抗炎药，其作用机制是通过抑制环氧酶，阻止前列腺素的生物合成及释放，阻止炎症介质对眼部的刺激及损害，发挥较强的抗过敏、缓解痉挛、消炎及止痛作用。但也有多项研究显示，环氧酶抑制剂具有显著的抗肿瘤细胞增殖作用，认为非甾体抗炎药可能通过环氧酶依赖性和环氧酶非依赖性途径发挥抗癌作用，抑制细胞增殖，阻断细胞周期，诱导细胞凋亡[11]。

本研究发现，翼状胬肉组织中 PCNA 阳性率显著高于正常结膜组织，且复发性翼状胬肉表达高于初发性翼状胬肉，提示翼状胬肉内存在明显细胞增殖和活跃的物质合成；术前局部应用双氯芬酸钠眼药水，可抑制翼状胬肉组织中 PCNA 表达，以复发性翼状胬肉组织中 PCNA 阳性表达率下降较为明显，提示双氯芬酸钠具有抑制 PCNA 表达的作用。但到目前为止，对于双氯芬酸钠抑制翼状胬肉中 PCNA 表达的机制尚不清楚，因此进一步研究双氯芬酸钠如何对 PCNA 介导的信号通路进行干扰，在已有的初步成果的基础上继续进行深入系统的探讨，为翼状胬肉的病因和发病机制提供理论依据，对翼状胬肉的预防、治疗及防治术后复发有重要的研究价值。

参考文献

- [1] Marmamula, S., Khanna, R.C. and Rao, G.N. (2013) Population-Based Assessment of Prevalence and Risk Factors for Pterygium in the South Indian State of Andhra Pradesh: The Andhra Pradesh Eye Disease Study. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, **54**, 5359-5366. <https://doi.org/10.1167/iovs.13-12529>

- [2] Kim, K.W., Park, S.H. and Kim, J.C. (2016) Fibroblast Biology in Pterygia. *Experimental Eye Research*, **142**, 32-39. <https://doi.org/10.1016/j.exer.2015.01.010>
- [3] Saw, S.M. and Tan, D. (1999) Pterygium: Prevalence, Demography and Risk Factors. *Ophthalmic Epidemiology*, **6**, 219-228. <https://doi.org/10.1076/opep.6.3.219.1504>
- [4] Zeng, R. (2016) Expression of p53, p21, PCNA and COX-2 and Its Relationship with Recurrence in the Early-Stage Laryngeal Cancer with Negative Surgical Margin. *Journal of Clinical Otorhinolaryngology Head and Neck Surgery*, **30**, 349-352+356.
- [5] Rezvan, F., Khabazkhoob, M., Hooshmand, E., et al. (2018) Prevalence and Risk Factors of Pterygium: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Survey of Ophthalmology*, **63**, 719-735. <https://doi.org/10.1016/j.survophthal.2018.03.001>
- [6] Chui, J., Di Girolamo, N., Wakefield, D., et al. (2008) The Pathogenesis of Pterygium: Current Concepts and Their Therapeutic Implications. *The Ocular Surface*, **6**, 24-43. [https://doi.org/10.1016/S1542-0124\(12\)70103-9](https://doi.org/10.1016/S1542-0124(12)70103-9)
- [7] Kase, S., Takahashi, S., Sato, I., et al. (2007) Expression of p27(KIP1) and Cyclin D1, and Cell Proliferation in Human Pterygium. *British Journal of Ophthalmology*, **91**, 958-961. <https://doi.org/10.1136/bjo.2006.110387>
- [8] Nie, C., Zhang, X., Xu, S.Y., et al. (2018) Pterygial Body Epithelium Domination of Pterygial Proliferation with TCF4 as a Potential Key Factor. *International Journal of Ophthalmology*, **11**, 1467-1474.
- [9] Melo, R.M., Martins, Y.S., Luz, R.K., Rizzo, E. and Bazzoli, N. (2015) PCNA and Apoptosis during Post-Spawning Ovarian Remodeling in the Teleost *Oreochromis niloticus*. *Tissue and Cell*, **47**, 541-549. <https://doi.org/10.1016/j.tice.2015.10.002>
- [10] 徐志蓉, 严浩, 冯梅. 双氯芬酸钠滴眼液控制翼状胬肉术后复发的疗效观察[J]. 国际眼科杂志, 2014,14(9): 1712-1714.
- [11] Fei, S.J., Xiao, S.D., Peng, Y.S., Chen, X.Y. and Shi, Y. (2006) Chemopreventive Effects of Rofecoxib and Folic Acid on Gastric Carcinogenesis Induced by N-Methyl-N'-Nitro-N-Nitrosoguanidine in Rats. *Chinese Journal of Digestive Diseases*, **7**, 134-140. <https://doi.org/10.1111/j.1443-9573.2006.00258.x>

RETRACED