

大鼠眼内组织对内毒素特异敏感的原因

严伟明^{1,2}, 陈涛², 龙盘³, 危冬昱², 安晶², 陈梅珠¹, 张作明²

引用: 严伟明, 陈涛, 龙盘, 等. 大鼠眼内组织对内毒素特异敏感的原因. 国际眼科杂志 2020;20(1):49-51

基金项目: 联勤保障部队第九〇〇医院院内课题杰出青年培育专项 (No.2018Q02)

作者单位:¹(350025) 中国福建省福州市, 中国人民解放军联勤保障部队第九〇〇医院 福建医科大学福总临床医学学院 厦门大学附属东方医院眼科;²(710032) 中国陕西省西安市, 中国人民解放军空军军医大学航空航天临床医学中心;³(610083) 中国四川省成都市, 中国人民解放军西部战区总医院眼科

作者简介: 严伟明, 男, 博士, 主治医师, 研究方向: 视觉电生理、视网膜变性疾病、葡萄膜炎。

通讯作者: 陈梅珠, 博士, 主任医师, 硕士研究生导师, 研究方向: 眼表疾病. jumychen@126.com; 张作明, 博士, 主任医师, 博士研究生导师, 研究方向: 视功能鉴定与防护. zhangzm@fmmu.edu.cn
收稿日期: 2019-03-13 修回日期: 2019-11-26

摘要

内毒素诱导的葡萄膜炎 (endotoxin-induced uveitis, EIU) 是革兰氏阴性菌感染相关的人类内源性葡萄膜炎的常用模型。然而在全身注射内毒素诱导的大鼠 EIU 中, 尽管眼内组织表现出明显炎症, 但在其它器官组织观察不到明显的病理组织学变化。大鼠眼内组织选择性被内毒素感染的现象提示, 其眼内组织对内毒素可能具有某种未知的特殊敏感性。本文就大鼠眼内组织对内毒素特异敏感的可能原因进行综述分析, 以期能为临床治疗葡萄膜炎提供新思路。

关键词: 内毒素; 葡萄膜炎; 受体; 固有组织巨噬细胞; 血管内皮细胞

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2020.1.11

Reason for the particular sensitivity of rats' ocular tissues to endotoxin

Wei-Ming Yan^{1,2}, Tao Chen², Pan Long³, Dong-Yu Wei², Jing An², Mei-Zhu Chen¹, Zuo-Ming Zhang²

Foundation item: The Scientific Research Project of the 900th Hospital of the Logistic Team of Chinese PLA in 2018 (No. 2018Q02)

¹Department of Ophthalmology, the 900th Hospital of the Logistic Team of Chinese PLA (Clinical Medical College of Fujian Medical University, Dongfang Hospital Affiliated to Xiamen University), Fuzhou 350025, Fujian Province, China; ²Center of Clinical Aerospace Medicine, Air Force Medical University, Xi'an 710032, Shaanxi Province, China; ³Department of Ophthalmology, the West General Hospital of Chinese PLA, Chengdu 610083, Sichuan Province, China

Correspondence to: Mei-Zhu Chen. Department of Ophthalmology, the 900th Hospital of the Logistic Team of Chinese PLA, Fuzhou 350025, Fujian Province, China. jumychen@126.com; Zuo-Ming Zhang. Center of Clinical Aerospace Medicine, Air force Medical University, Xi'an 710032, Shaanxi Province, China. zhangzm@fmmu.edu.cn

Received: 2019-03-13 Accepted: 2019-11-26

Abstract

• Endotoxin-induced uveitis (EIU) has been established as a common model of a special kind of human uveitis, which has been linked to the infection of Gram-negative bacilli. Despite the florid ocular inflammation, there are no significant histopathological abnormalities in other organs or tissues of rats during EIU induced by systemic injection of endotoxin. The phenomenon that rats' ocular tissues are electively affected by endotoxin may reveal some unknown particular sensitivity of rat's ocular tissues. This article would review published papers on the reason for the particular sensitivity of rats' ocular tissues to endotoxin, which might help to provide new ideas for clinical treatment of human uveitis.

• KEYWORDS: endotoxin; uveitis; receptor; resident tissue macrophage; vascular endothelial cell

Citation: Yan WM, Chen T, Long P, et al. Reason for the particular sensitivity of rats' ocular tissues to endotoxin. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2020;20(1):49-51

0 引言

葡萄膜炎是一种常见的、易复发的、可致盲性眼疾, 其病因较复杂, 发病机制仍未完全研究清楚。临床上对葡萄膜炎进行深入探索其发病机制存在诸多限制 (如除了个别尸检外, 无法获取标本进行病理组织学检查), 因此选用合适的葡萄膜炎动物模型对人类葡萄膜炎进行相关研究具有重要意义。内毒素诱导的葡萄膜炎模型 (endotoxin-induced uveitis, EIU) 是一种常用的葡萄膜炎动物模型, 可模拟与革兰氏阴性菌感染相关的人类内源性葡萄膜炎, 被广泛应用于葡萄膜炎的发病机制、预防、治疗等方面的研究^[1]。EIU 可通过在动物 (包括大鼠、小鼠、家兔等) 眼内、皮下、腹腔或静脉等部位注射内毒素诱导产生典型的葡萄膜炎体征, 如虹膜充血、瞳孔缩小、前房积脓等^[2-3]。然而, 在通过全身给药途径 (皮下、腹腔或静脉) 注射内毒素诱导的大鼠 EIU 中, 尽管其眼内组织表现出明显炎症反应, 而其它组织器官并没有产生相应明显的病理组织学变化。这种现象早在 1980 年就被发现^[4], 但至今尚未完全研究清楚。本文将就大鼠眼内组织对内毒素特异敏感的可能原因进行综述分析, 以期能为临床治疗葡萄膜炎提供新思路。

1 大鼠眼内组织对内毒素特异敏感的现象

内毒素(endotoxin)又称脂多糖(lipopolysaccharides, LPS),是革兰氏阴性菌细胞壁的一个组成部分,是革兰氏阴性菌的主要致病物质。1980年Rosenbaum等^[4]发现,在多种品系大鼠上通过全身给药途径注射内毒素可诱导出大鼠双眼急性前葡萄膜炎体征,并在病理组织学上得到证实。这种葡萄膜炎模型被称为EIU,为人类葡萄膜炎研究提供了一种可行的动物模型。大鼠EIU可通过全身给药途径(如足底皮下、腹腔或静脉)注射内毒素诱导产生^[5];而直接在大鼠眼内注射(玻璃体腔注射)内毒素也可诱导出EIU^[6]。大鼠EIU主要表现为双眼急性前葡萄膜炎,体征包括虹膜充血、瞳孔缩小、房水闪辉、虹膜睫状体和前房中炎症细胞浸润,甚至前房积脓。EIU的炎症反应一般在注射内毒素24h后达到高峰,之后开始缓解,约在96h后消失^[1]。

在Rosenbaum等研究中,除了发现内毒素可诱导出大鼠EIU模型外,还发现当逐渐增加内毒素的注射剂量达到足够在大鼠眼内组织产生炎症时,全身其它组织器官(心、肺、肝、肾、脾、皮肤、小肠和骨髓等)均观察不到明显的病理组织学变化。Mochizuki等研究也发现相同的现象^[7-8]。大鼠眼内组织较其它器官组织对内毒素更容易产生炎症反应的这种现象,引起了不少学者的关注,并对其可能原因进行了相关探索。

2 大鼠眼内组织对内毒素特异敏感的可能原因

2.1 内毒素诱导其它疾病模型与EIU比较

内毒素也可运用于诱导其它疾病模型,如肝损伤、脑损伤、弥漫性血管内凝血、内毒素血症和内毒素性休克等模型。这些模型造模所采用的内毒素给药途径多为静脉或腹腔注射,而其所运用的内毒素造模剂量均较EIU造模所用的大(EIU造模剂量为1mg/kg,其它模型为5、8、10mg/kg等^[9])。这些模型是在全身给予足够剂量的内毒素后,引起机体产生明显的内毒素血症,导致相应组织器官内产生大量的炎症介质,造成血管收缩,微循环障碍,组织细胞缺血、缺氧,从而引起相应组织器官的损伤。在这些模型中,经全身给药途径给予内毒素能引起相应组织器官产生炎症性病理组织学改变。其它一些由内毒素诱导的疾病模型,如急性肺损伤模型、慢性支气管炎模型等,可采用小剂量内毒素(200 μ g)通过局部给予途径(如支气管内给药)在相应组织器官直接接触诱导出相应病变^[10]。此种内毒素给予方式也能在相应器官组织产生明显的病理组织学变化。

与上述内毒素诱导的这些疾病模型不同,EIU模型可通过在大鼠眼球外部位(如足底皮下、腹腔、静脉)注射小剂量内毒素,在其眼内组织诱发出明显的病理组织学改变,而其它组织器官几乎没有病理组织学变化。这提示大鼠眼内组织可能存在某种特殊性,造成其对内毒素敏感。

2.2 内毒素并不在眼内组织特异聚集

关于EIU中大鼠眼内组织选择性被感染的原因,有一种观点认为是因为内毒素更容易结合在大鼠眼内组织^[11]。葡萄膜(包括虹膜、睫状体、脉络膜三部分)内含丰富的血管,是免疫细胞的储备库,易对循环中的抗原产生反应而造成组织损伤。不少学者认为葡萄膜内的血管血流量较大,加之其毛细血管内皮细胞间隙较大,使其较容易聚集较多量的内毒素,并

由此激活巨噬细胞,引起不可逆的炎症级联反应。葡萄膜内这种血管结构的特殊性可能是造成大鼠眼内组织对血液循环中的内毒素高度敏感的原因^[11]。然而,有研究通过在大鼠上静脉注射带有放射性物质标记的内毒素后发现,在各个不同时间点,大鼠眼内组织内毒素的浓度均明显低于肝、肾或脾等器官^[12]。Bhattacharjee等^[13]发现将1ng内毒素直接注射到大鼠玻璃体腔内与皮下注射200000ng(200 μ g)内毒素后所产生的眼内组织炎症反应相似,甚至更重。此外,前期我们通过一项实验研究发现,将EIU造模的内毒素造模剂量从常规的1mg/kg减少到1/8(mg/kg)时,所获得的葡萄膜炎程度相对较轻^[14],房水内蛋白总量明显下降,但仍可见较明显的虹膜充血、前房积脓等葡萄膜炎体征^[15]。

以上相关研究结果提示,大鼠眼内组织并不比其它组织器官特异性地结合更多量的内毒素。EIU中大鼠眼内组织产生明显炎症与其中所含的内毒素剂量没有直接相关性,而可能是大鼠眼内组织本身可能存在某种特殊性,使其对内毒素高度敏感。因此,即使注射很小剂量的内毒素,在其它组织器官未出现明显病理组织学变化时,大鼠眼内组织也可先产生明显的炎症反应。

2.3 大鼠眼内组织血管内皮细胞的特殊性

血管内皮细胞损伤是炎症发展的重要因素之一。血栓素B2(thromboxane B2, TXB2)是血栓素A2(TXA2)的代谢物,其在血小板和中性粒细胞内含量丰富。研究发现,在大鼠足底皮下注射内毒素1h后,房水中就有TXB2出现^[8],提示在EIU早期大鼠虹膜睫状体血管内即有血小板和中性粒细胞聚集。MHC II类抗原阳性表达提示组织内存在有炎症反应,而在大鼠上注射内毒素6h后,在虹膜睫状体血管周围就有MHC II类抗原染色存在^[16],提示虹膜睫状体血管参与了EIU的炎症反应。另有研究在大鼠玻璃体腔内注射内毒素后,发现其虹膜睫状体血管出现明显扩张,并有微血栓形成;而在后期,炎症减轻消失后,虹膜睫状体的血管仍存在阻塞现象^[17]。由此可见,虹膜睫状体血管除具有高血流量和有孔毛细血管特点外,可能还具有某种未知的特殊性,在EIU发病中起着重要作用。

不同解剖位置的血管内皮细胞特性可能不同,而眼内组织,主要是虹膜睫状体的血管内皮细胞可能对内毒素的直接或间接作用高度敏感。这种虹膜睫状体血管对内毒素的特殊敏感性,可能表现在其内皮细胞上表达某种对内毒素敏感的特异受体。足底皮下注射内毒素所导致的血-房水屏障破坏,可能是由于血液循环中内毒素与虹膜睫状体血管内皮细胞的特异受体结合,激活内皮细胞,引起血管通透性增加所导致的。关于虹膜睫状体血管上是否存在这种内毒素特异受体,仍未有较一致的观点。可以明确的是,内毒素与虹膜睫状体血管内皮细胞间可能发生某种未知的相互作用,有研究证实内毒素可特异地诱导虹膜睫状体血管内皮细胞释放炎症因子^[18]。此外,另一种可能的原因是,虹膜睫状体血管内皮细胞表达某些特殊分子,或比其它器官血管内皮细胞更易表达黏附分子或选择素分子等,使其在受到内毒素刺激时,更易于募集中性粒细胞等炎症细胞,引起明显炎症反应。

虹膜睫状体血管内皮细胞的特殊性可能是EIU中大鼠眼内组织产生明显炎症表现的可能原因之一。

2.4 大鼠眼内组织 TLR4 受体的特殊性 在 EIU 致病过程中,内毒素发挥作用需要与 TLR4 受体结合,从而启动一系列炎症反应。Chang 等发现,在人类葡萄膜中 TLR4 受体大多表达于抗原递呈细胞中(主要是巨噬细胞和树突状细胞),而这些表达 TLR4 受体的细胞多位于虹膜根部和睫状体,以虹膜基质血管周围和上皮多[14,19]。TLR4 受体这种分布方式利于监视眼内组织中出现的内毒素,并对相应病原菌感染做出及时反应;而研究发现大鼠葡萄膜中也存在 TLR4 这种分布方式[20]。

TLR4 受体在大鼠眼内组织的这种特殊分布方式可能是大鼠眼内组织对内毒素特异敏感的可能原因之一。

2.5 大鼠眼内组织固有巨噬细胞的特殊性 巨噬细胞在 EIU 致病过程中起着关键的作用,特别是虹膜睫状体内的组织固有巨噬细胞。它是多种细胞因子的来源,其产生的细胞因子参与 EIU 的发生、发展过程[21-22]。研究发现,从大鼠的虹膜基底到瞳孔边缘存在一个广泛的组织固有巨噬细胞的调节网络,这些细胞大部分存在于睫状体基部及睫状突处的血管旁[23],而人类的葡萄膜中可能也存在一个类似的组织固有巨噬细胞网络结构。这些组织固有巨噬细胞易与血管内皮细胞黏附,吞噬血液中外来的和天然存在的炎症刺激物质,如内毒素。这些巨噬细胞被内毒素激活后,释放大量的细胞因子,介导了炎症反应。组织固有巨噬细胞在虹膜睫状体内的特殊分布方式,可能是造成大鼠眼内组织对内毒素特异敏感的原因之一。

3 小结

综上所述,在内毒素诱导的大鼠葡萄膜炎模型中,其眼内组织对内毒素产生明显炎症反应的原因,并不是由于内毒素在其眼内组织特异性蓄积导致的,而可能是其虹膜睫状体血管内皮细胞表达某种内毒素敏感性受体,加上固有组织巨噬细胞及其表面 TLR4 受体在虹膜睫状体血管旁的聚集性分布,造成眼内组织较其它组织器官对血液循环中的内毒素更敏感,更易产生细胞因子和炎症介质,从而产生明显的炎症。或许,通过比较大鼠虹膜睫状体与其它组织器官上血管内皮细胞和固有组织巨噬细胞的差异,可能解开大鼠眼内组织未知的特殊性,从而为临床上治疗人类葡萄膜炎提供新的思路。

参考文献

- 1 Yadav U, Ramana KV. Endotoxin - Induced Uveitis in Rodents. *Methods Mol Biol* 2019;1960:161-168
- 2 Ando Y, Keino H, Kudo A, et al. Anti - Inflammatory Effect of Dehydroxy methylepoxyquinomicin, a Nuclear factor - kappaB Inhibitor, on Endotoxin - Induced Uveitis in Rats *In vivo* and *In vitro*. *Ocul Immunol Inflamm* 2019 [Epub ahead of print]
- 3 Sakamoto K, Inukai M, Mori A, et al. Brilliant Blue G protects against photoreceptor injury in a murine endotoxin - induced uveitis model. *Exp Eye Res* 2018;177: 45-49
- 4 Rosenbaum JT, Mcdevitt HO, Guss RB, et al. Endotoxin - induced uveitis in rats as a model for human disease. *Nature* 1980;286(5773): 611-613
- 5 Uchida T, Honjo M, Yamagishi R, et al. The Anti - Inflammatory Effect of Ripasudil (K-115), a Rho Kinase (ROCK) Inhibitor, on Endotoxin - Induced Uveitis in Rats. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2017; 58 (12) : 5584-5593

- 6 Gu R, Lei B, Shu Q, et al. Glucocorticoid - induced leucine zipper overexpression inhibits lipopolysaccharide - induced retinal inflammation in rats. *Exp Eye Res* 2017;165:151-163
- 7 Okumura A, Mochizuki M. Endotoxin - induced uveitis in rats: morphological and biochemical study. *Jpn J Ophthalmol* 1988; 32 (4) : 457-465
- 8 Herbot CP, Okumura A, Mochizuki M. Endotoxin - induced uveitis in the rat. A study of the role of inflammation mediators. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 1988;226(6) : 553-558
- 9 Zheng XF, Hu XY, Ma B, et al. Interleukin - 35 Attenuates D - Galactosamine/Lipopolysaccharide - Induced Liver Injury via Enhancing Interleukin - 10 Production in Kupffer Cells. *Front Pharmacol* 2018; 9:959
- 10 Huang Y, Li J, Cao Q, et al. Anti - oxidative effect of triterpene acids of *Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl. leaf in chronic bronchitis rats. *Life Sci* 2006;78(23) :2749-2757
- 11 Herbot CP, Chan CC, Nussenblatt RB. Endotoxin - induced uveitis in the rat: a hypothesis for preferential involvement of the anterior uvea. *Curr Eye Res* 1990;9(Suppl) :119-124
- 12 Rosenbaum JT, Hendricks PA, Shively JE, et al. Distribution of radiolabeled endotoxin with particular reference to the eye: concise communication. *J Nucl Med* 1983;24(1) :29-33
- 13 Bhattacharjee P, Williams RN, Eakins KE. An evaluation of ocular inflammation following the injection of bacterial endotoxin into the rat foot pad. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1983;24(2) :196-202
- 14 Yan WM, Zhang L, Chen T, et al. Effects of hydrogen - rich saline on endotoxin - induced uveitis. *Med Gas Res* 2017;7(1) :9-18
- 15 Yan W, Chen T, Long P, et al. Effects of Post - Treatment Hydrogen Gas Inhalation on Uveitis Induced by Endotoxin in Rats. *Med Sci Monit* 2018;24:3840-3847
- 16 Yang P, de Vos AF, Kijlstra A. Macrophages and MHC class II positive cells in the choroid during endotoxin induced uveitis. *Br J Ophthalmol* 1997;81(5) :396-401
- 17 Forrester JV, Worgul BV, Merriam GJ. Endotoxin - induced uveitis in the rat. *Albrecht Von Graefes Arch Klin Exp Ophthalmol* 1980;213(4) : 221-233
- 18 Zhao Z, Hu J, Gao X, et al. Activation of AMPK attenuates lipopolysaccharide - impaired integrity and function of blood - brain barrier in human brain microvascular endothelial cells. *Exp Mol Pathol* 2014;97 (3) :386-392
- 19 Chang JH, Mccluskey P, Wakefield D. Expression of toll - like receptor 4 and its associated lipopolysaccharide receptor complex by resident antigen - presenting cells in the human uvea. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004;45(6) :1871-1878
- 20 Chen W, Hu X, Zhao L, et al. Expression of toll - like receptor 4 in uvea - resident tissue macrophages during endotoxin - induced uveitis. *Mol Vis* 2009;15:619-628
- 21 Yang S, Lu H, Wang J, et al. The effect of toll - like receptor 4 on macrophage cytokines during endotoxin induced uveitis. *Int J Mol Sci* 2012;13(6) :7508-7520
- 22 Pouvreau I, Zech JC, Thillaye - Goldenberg B, et al. Effect of macrophage depletion by liposomes containing dichloromethylene - diphosphonate on endotoxin - induced uveitis. *J Neuroimmunol* 1998;86 (2) :171-181
- 23 陈巍,胡小凤,赵丽,等. 内毒素诱导的大鼠葡萄膜炎的巨噬细胞中 Toll 样受体 4 的表达. *中华眼科杂志*. 2010;46(4) : 355-361