

## 不同单次剂量中波紫外线照射对大鼠角膜的影响

王婷婷, 黄巧红, 林鑫鑫, 杨倩, 朱镜谕, 黄焱

福建医科大学医学技术与工程学院眼视光学系, 福建 福州 350004

**【摘要】目的:**探究在中波紫外线(UVB)照射总剂量恒定的情况下,不同单次剂量照射对大鼠角膜结构和功能的影响。**方法:**40只健康SD大鼠随机分为4组(每组各10只),对照组自然光环境下饲养,第42天取材,实验组每日UVB的照射强度为 $146\mu\text{W}/\text{cm}^2$ ,每组累计照射总剂量一致,分为单次低剂量组、中剂量组、高剂量组,分别每日照射12、24、48 min,于连续照射第84、42、21天取材,行裂隙灯显微镜检查、角膜荧光素钠染色、泪膜破裂时间(BUT)测定,TUNEL检测角膜细胞凋亡,ELISA检测醛脱氢酶(ALDH)的活性及表达量。**结果:**对照组大鼠角膜透明,实验组随单次照射剂量的升高,大鼠角膜混浊程度加重。对照组大鼠角膜荧光素钠染色评分为0分,实验组大鼠分别为 $(4.30\pm 1.42)$ 分、 $(8.90\pm 1.73)$ 分、 $(11.10\pm 1.97)$ 分。实验组大鼠BUT值均较对照组下降( $P<0.05$ ),且随单次照射剂量的升高而降低。实验组大鼠角膜细胞凋亡指数均较对照组升高( $P<0.05$ ),且随单次照射剂量的升高而升高。单次低剂量组与对照组大鼠角膜厚度比较,差异没有统计学意义( $P>0.05$ ),单次中剂量组、单次高剂量组大鼠角膜厚度均比对照组降低( $P<0.05$ )。实验组大鼠角膜ALDH活性及表达量均较对照组降低( $P<0.05$ ),且随单次照射剂量的升高而降低更加显著。**结论:**UVB照射总剂量恒定,单次高剂量UVB照射导致大鼠角膜混浊、角膜变薄且可能诱发圆锥角膜。这些损伤与ALDH活性及表达量下降导致的抗氧化能力下降有关,提示可以通过提高ALDH活性保护角膜减少紫外线损伤。

**【关键词】**紫外线;照射剂量;角膜;醛脱氢酶

**【中图分类号】**R772.2

**【文献标志码】**A

**【文章编号】**1005-202X(2023)04-0473-07

## Effects of different single doses of ultraviolet B on cornea of rats

WANG Tingting, HUANG Qiaohong, LIN Xinxin, YANG Qian, ZHU Jingyu, HUANG Yan

Department of Ophthalmology and Optometry, School of Medical Technology and Engineering, Fujian Medical University, Fuzhou 350004, China

**Abstract: Objective** To explore the effects of different single doses of ultraviolet B (UVB) on the structure and function of rat cornea under the condition that the total dose of UVB irradiation is constant. **Methods** Forty healthy SD rats were randomly divided into 4 groups (10 rats in each group). The rats in control group were raised under natural light, and the samples were taken on day 42. The daily UVB irradiation intensity in experimental groups remained at  $146\mu\text{W}/\text{cm}^2$ , and each group had the same cumulative irradiation dose. The rats in single low-, medium- and high-dose groups were exposed to daily UVB irradiation for 12, 24 and 48 min, respectively. On the 84th, 42nd and 21st days of continuous irradiation, the samples were collected for slit-lamp examination, corneal fluorescein sodium staining, and tear film break-up time (BUT) test. TUNEL was adopted to detect corneal cell apoptosis, and ELISA was used to detect the activity and expression of aldehyde dehydrogenase (ALDH). **Results** The rats in control group maintain corneal transparency, while in experimental groups, with the increase of the single irradiation dose, the degree of corneal opacity was aggravated. The corneal fluorescein sodium staining scores in control group and experimental groups were 0,  $(4.30\pm 1.42)$ ,  $(8.90\pm 1.73)$ , and  $(11.10\pm 1.97)$ , respectively. Compared with control group, experimental groups had shorter BUT ( $P<0.05$ ) which was shortened with the increase of the single irradiation dose, and higher apoptosis index ( $P<0.05$ ) which was increased with the increase of single irradiation dose. There was no significant difference in corneal thickness between single low-dose group and control group ( $P>0.05$ ), but the corneal thickness were thinner in single medium- and high-dose groups than in control group ( $P<0.05$ ). The activity and expression of corneal ALDH in experimental groups were lower than those in control group ( $P<0.05$ ), and the decrease was more

**【收稿日期】**2022-10-18

**【基金项目】**福建省自然科学基金(2020J01652)

**【作者简介】**王婷婷,硕士研究生,研究方向:眼视光学,E-mail: 502193390@qq.com

**【通信作者】**黄焱,博士,教授,研究方向:眼视光学、眼科学,E-mail: fjhyan2005@139.com

significant with the increase of single irradiation dose. **Conclusion** When the total dose of UVB irradiation is constant, single high dose of UVB irradiation results in corneal opacity and corneal thinning in rats and may induce keratoconus. These damages are related to the decreased antioxidant capacity caused by the decreased activity and expression of ALDH, which suggests that it can protect the cornea and reduce UV damage by increasing the activity of ALDH.

**Keywords:** ultraviolet; irradiation dose; cornea; aldehyde dehydrogenase

## 前言

近年来,全球范围内臭氧含量不断下降,人们对紫外线致眼损伤问题的重视程度也随之提高。紫外线光谱波长为180~400 nm,根据波长可以分为长波紫外线(UVA, 315~400 nm)、中波紫外线(UVB, 280~315 nm)和短波紫外线(UVC, 100~280 nm)3个波段。正常的角膜结构与功能对良好的视力形成至关重要,角膜是眼球过滤紫外线的第一道防线,大部分UVB主要被角膜吸收<sup>[1]</sup>,而角膜能够有效处理紫外线诱导的早期氧化反应<sup>[2]</sup>,但过量的紫外线照射可导致角膜损伤,如电光性角膜炎<sup>[3]</sup>。紫外线的流行病学调查和生物学效应研究均表明紫外线对组织的损伤程度不仅取决于紫外线的波长,还取决于照射强度和照射时间<sup>[4]</sup>。当控制紫外线照射总剂量恒定时,长时间低强度的紫外线照射引起皮肤溃疡面积明显大于短时间高强度的紫外线照射<sup>[4]</sup>。本课题组前期研究,通过延长单次照射时间或提高照射强度,增加照射总剂量,发现随着照射总剂量增加,大鼠眼组织损伤加重<sup>[5]</sup>。然而,目前尚无报道UVB照射总剂量恒定时,单次照射剂量不同对眼组织的影响。

醛脱氢酶(Aldehyde Dehydrogenase, ALDH)是一类以多种内源性和外源性醛为底物的酶类。ALDH超家族的一些成员(特别是ALDH3A1和ALDH1A1)在哺乳动物的角膜和晶状体中高度表达。研究表明,ALDH可以直接吸收紫外线、代谢脂质过氧化产生的有毒醛类化合物、清除活性氧自由基、补充抗氧化剂,使角膜免受早期紫外线照射引起的混浊<sup>[6-7]</sup>。

本课题观察UVB照射总剂量恒定的条件下,不同单次照射剂量对大鼠角膜结构与功能的影响,通过检测ALDH活性的变化探究紫外线致角膜损伤的机制,为防治紫外线对角膜的损伤提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物

40只健康6周龄SD大鼠,体质量160~180 g(福建医科大学动物实验中心提供),饲养于室温18~25℃,标准饲料喂养,自由摄食、饮水。本研究实验动物的使用均遵循国家科学技术部颁布的《实验动物管理条例》。

### 1.2 仪器与试剂

紫外线照度计(台湾泰纳TN2340),裂隙灯显微镜(江苏六六视觉科技有限公司),酶标仪(芬兰LabSystems Multiskan MS 352型),病理切片机(上海Leica仪器有限公司),大鼠ALDH ELISA试剂盒(上海酶联生物科技有限公司),BCA蛋白检测试剂盒(上海酶联生物科技有限公司),TUNEL试剂盒(瑞士Roche公司),DAB显色试剂盒(丹麦DAKO公司),荧光素钠眼科检测试纸(天津晶明新技术开发有限公司),眼球固定液(武汉赛维尔生物科技有限公司)等。

根据本课题组前期研究<sup>[8]</sup>,自制UVB照射箱(图1)。制作1个60 cm×50 cm的铁丝网底座,并在其上固定6个间距相等的17 cm×8 cm×9 cm长方体铁丝网,长方体铁丝网顶部为可拆卸的盖子,网笼间的间距略大于灯管的直径。另外制作1个57 cm×49 cm×62.5 cm的无底箱子,可将铁丝网作为底面,并在照射箱顶部安装3根紫外线灯管(UVB-313 nm),使用数字式光照强度计测得每个网笼内的紫外线强度约为146 μW/cm<sup>2</sup>。

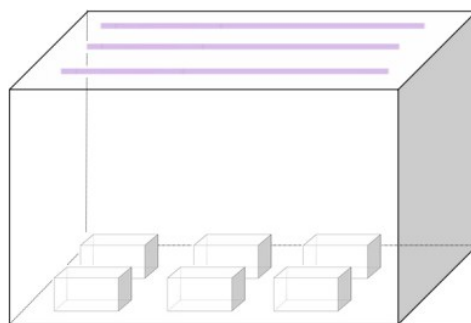


图1 UVB照射箱示意图

Figure 1 Schematic diagram of UVB irradiation box

### 1.3 分组与建模

适应性喂养7 d后,根据随机数目表法,40只SD大鼠随机分为对照组、单次低剂量组、单次中剂量组、单次高剂量组,每组各10只(20眼)。对照组置于自然光下,第42天取材。单次低剂量组每日UVB照射12 min,即剂量105.12 mJ/cm<sup>2</sup>,连续84 d;单次中剂量组每日连续UVB照射24 min,即剂量210.24 mJ/cm<sup>2</sup>,

连续 42 d; 单次高剂量组每日连续 UVB 照射 48 min, 即剂量 420.48 mJ/cm<sup>2</sup>, 连续 21 d。各组 UVB 照射总剂量均为 8 830.08 mJ/cm<sup>2</sup>。各组照射完毕后, 行裂隙灯显微镜检查、角膜荧光素钠染色及泪膜破裂时间 (BUT) 测定, 之后行眼组织取材, 其中每组各取 3 粒大鼠眼球用于 TUNEL 检测角膜细胞凋亡, 其余 17 粒眼球用于 ELISA 检测角膜醛脱氢酶活性和表达量。

1.4 观察指标

1.4.1 裂隙灯显微镜观察角膜形态 弥散光照射法观察角膜整体透明度, 使用裂隙光观察角膜曲率及厚度, 并观察角膜各层是否水肿或混浊 (如穿孔、瘢痕等), 是否存在角膜后沉积物。

1.4.2 角膜荧光素钠染色评分及 BUT 使用生理盐水沾湿后的荧光素钠滤纸条接触大鼠下方结膜囊, 使大鼠瞬目数次后, 荧光素钠均匀分布于大鼠角结膜, 在裂隙灯显微镜的钴蓝光下观察大鼠角膜, 记录角膜被荧光素钠染色的部位、大小、深浅。按染色的程度分为 4 个等级: 0 分为无染色, 1 分为分散点状染色, 2 分为密集点状染色, 3 分为丝状、片状或块状染色。角结膜分成 4 个部分: 角膜、颞侧结膜、上方球结膜、下方球结膜, 4 个部分分别计分, 总分为 0~12 分。荧光素钠染色总分 <3 分为阴性, 总分 3~6 分为弱阳性, 总分 7~9 分为阳性, 总分 10~12 分为强阳性<sup>[5]</sup>。

使用裂隙灯显微镜的钴蓝光下观察大鼠角膜, 秒表记录自最后一次瞬目后睁眼至角膜出现首个黑斑的时间, 记录为 BUT 值。测 3 次, 取平均值。

1.4.3 HE 染色观察角膜组织 眼组织取材后做石蜡切片, 之后脱蜡、水化, 苏木素染色及伊红染色, 封片后在显微镜下观察角膜组织各层结构。

1.4.4 角膜细胞凋亡指数及厚度 TUNEL 法检测角膜细胞凋亡指数, 角膜凋亡细胞核呈棕褐色。在显微镜下观察角膜形态, 随机选取每张切片的 5 个视

野, 计数角膜凋亡细胞和总细胞, 计算细胞凋亡指数 = 凋亡细胞数/细胞总数 × 100%。另外测量角膜厚度, 为角膜上皮至角膜内皮的垂直距离, 每间隔 150 μm 测量 1 次, 测量 10 次, 取平均值。

1.4.5 ALDH 活性及表达量 将 200 μL 的磷酸盐缓冲液加入角膜组织中并充分匀浆, 在 0℃、2 000~3 000 rpm 的条件下离心 20 min 后收集上清液。用 BCA 法测定蛋白质质量浓度, 使用酶标仪测定 560 nm 波长下的吸光度 (OD 值), 计算蛋白质的质量浓度 (g/L)。根据试剂说明书, 记录 M5 型多功能酶标仪在 340 nm 波长下的吸光度 (OD 值), 重复测定 3 次, 取其平均值, 记录为 ALDH 活性 (单位: IU/L)。根据试剂说明书, 采用双抗体夹心法检测大鼠角膜中的 ALDH 质量分数, 采用 M5 型多功能酶标仪在 540 nm 波长下测定 A540 值, 重复测量 3 次, 绘制质量分数曲线图并计算 ALDH 质量浓度 (ng/mL), 取平均值<sup>[9]</sup>。

1.5 统计学方法

使用 SPSS 26.0 统计分析软件进行数据处理。计量资料应用 Shapiro-Wilk 检验数据正态性, 应用 Levene 检验方差齐性, 符合正态分布的计量资料用均数 ± 标准差表示, 4 组数据间的比较采用单因素方差分析, 事后两两比较采用 Bonferroni 方法。P < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 裂隙灯显微镜观察角膜改变

对照组大鼠角膜透明, 单次低剂量组大鼠角膜上方瞳孔缘区轻度混浊, 上方角膜缘麦穗样新生血管, 单次中剂量组大鼠角膜灰白色混浊, 遮盖大部分瞳孔, 树枝样新生血管由角膜缘向中央瞳孔区生长, 单次高剂量组大鼠角膜混浊, 瞳孔区片状、网状新生血管 (图 2)。

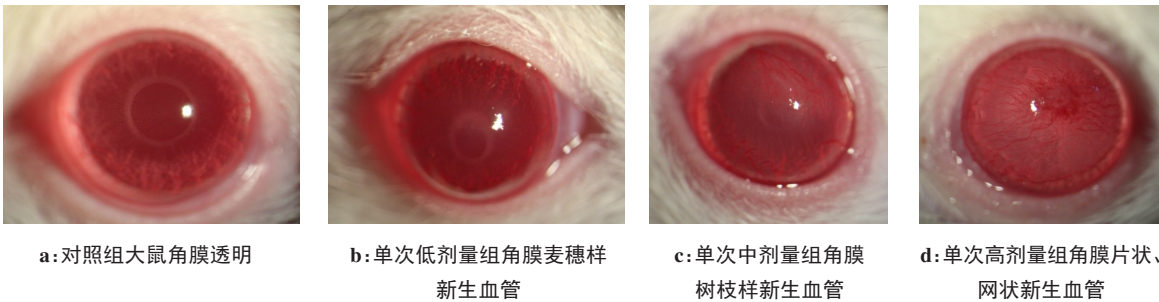


图 2 各组大鼠角膜裂隙灯检查  
Figure 2 Corneal slit-lamp examination results

2.2 角膜荧光素钠染色

对照组大鼠角膜透明, 无荧光素钠着染, 单次低

剂量组大鼠角膜多处点状着染, 单次中剂量组大鼠角膜中央条状着染, 单次高剂量组大鼠角膜荧光素



钠块状、片状着染,见图3。对照组、单次低剂量组、单次中剂量组、单次高剂量组大鼠角膜荧光素钠染色

色评分结果分别为阴性、弱阳性、阳性和强阳性,两组间比较,差异均有统计学意义( $P<0.05$ )(表1)。

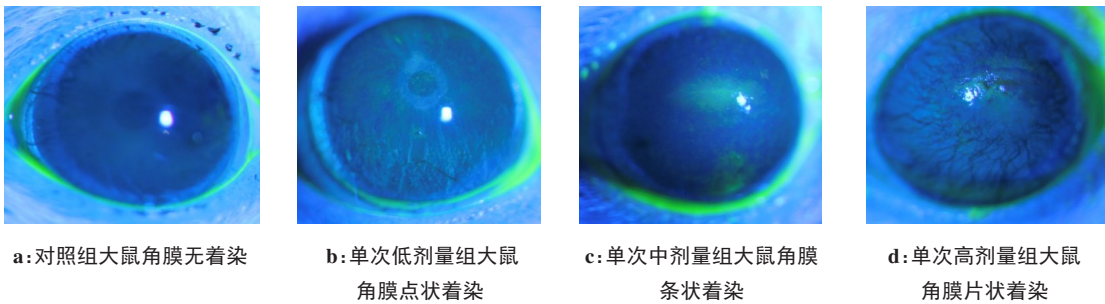


图3 各组大鼠角膜荧光素钠染色

Figure 3 Corneal fluorescein sodium staining results

表1 4组大鼠照射后角膜荧光素钠染色评分(分)

Table 1 Corneal fluorescein sodium staining scores after irradiation (scores)

组别	角膜	颞侧结膜	上方球结膜	下方球结膜	总分	评分结果
对照组	0	0	0	0	0	阴性
单次低剂量组	1.00±0.47*#	1.00±0.47*#	1.10±0.57*#	1.20±0.42*#	4.30±1.42*#	弱阳性
单次中剂量组	2.30±0.82*#	1.90±0.88*#	2.00±0.20*#	2.30±0.82*#	8.90±1.73*#	阳性
单次高剂量组	3.20±0.63*#	2.50±0.97*#	2.40±0.97*#	3.00±0.63*#	11.10±1.97*#	强阳性

各实验组与对照组比较,\* $P<0.05$ ;实验组间两两比较,# $P<0.05$

2.3 BUT

对照组、单次低剂量组、单次中剂量组、单次高剂量组 BUT 值分别为(23.70±5.93) s、(10.19±1.74) s、(7.93±1.15) s、(4.36±1.17) s。单次低剂量组、单次中

剂量组、单次高剂量组大鼠 BUT 值均较对照组下降( $P<0.05$ ),且实验组间两两比较,差异均有统计学意义( $P<0.05$ )(表2)。

表2 各组大鼠 BUT、角膜细胞凋亡指数及角膜厚度比较

Table 2 Comparison of BUT, corneal apoptosis index and corneal thickness

组别	泪膜破裂时间/s	角膜细胞凋亡指数/%	角膜厚度/μm
对照组	23.70±5.93	7.04±1.17	179.02±33.73
单次低剂量组	10.19±1.74*#	17.69±3.49*#	178.22±3.37#
单次中剂量组	7.93±1.15*#	28.79±4.36*#	152.23±6.96*#
单次高剂量组	4.36±1.17*#	44.83±5.80*#	132.01±2.64*#

各实验组与对照组比较,\* $P<0.05$ ;实验组间两两比较,# $P<0.05$

2.4 角膜形态和组织学观察

对照组大鼠角膜5层边界清晰可见,细胞排列整齐,上皮细胞层细胞大小均一,基质层胶原纤维走行一致。与对照组相比,单次低剂量组大鼠角膜上皮细胞排列稍紊乱,细胞数量减少,存在少量棕褐色凋亡细胞,基底层细胞核固缩、边缘化,可见空泡,基质层胶原纤维细胞扁平。单次中剂量组大鼠角膜上皮细胞排列轻度

紊乱,可见少量凋亡细胞,基质层胶原纤维排列紊乱,细胞走向不规则,纤维间存在微囊,内皮细胞可见大量空泡。单次高剂量组大鼠角膜上皮部分脱落、向外隆起,上皮细胞层变薄,凋亡细胞数量增多,细胞核固缩、边缘化,空泡数量明显增加,基质层胶原纤维排列紊乱,存在大量新生血管、空泡,内皮细胞排列不规则,细胞密度明显减少(图4)。

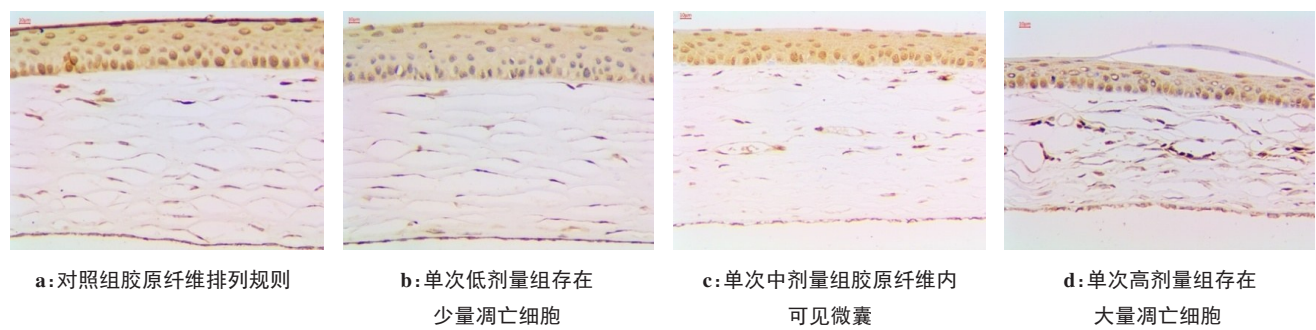


图4 各组大鼠角膜组织 TUNEL 检测

Figure 4 TUNEL detection of rat corneal tissues

对照组、单次低剂量组、单次中剂量组、单次高剂量组大鼠角膜细胞凋亡指数分别为 $(7.04\pm1.17)\%$ 、 $(17.69\pm3.49)\%$ 、 $(28.79\pm4.36)\%$ 、 $(44.83\pm5.80)\%$ 。单次低剂量组、单次中剂量组、单次高剂量组大鼠角膜细胞凋亡指数均较对照组增加( $P<0.05$ ),且实验组间两两比较,差异均有统计学意义( $P<0.05$ )(表2)。

对照组、单次低剂量组角膜中央部扁平,厚度均一,单次中剂量组、单次高剂量组角膜中央部扩张、变薄,向前突出,曲率增加,对照组/单次低剂量组、单次中剂量组、

单次高剂量组角膜前突程度逐渐增加(图5和图6)。对照组、单次低剂量组、单次中剂量组、单次高剂量组大鼠角膜厚度分别为 $(179.02\pm33.73)\mu\text{m}$ 、 $(178.22\pm3.37)\mu\text{m}$ 、 $(152.23\pm6.96)\mu\text{m}$ 、 $(132.01\pm2.64)\mu\text{m}$ 。单次低剂量组与对照组大鼠角膜厚度比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ ),单次中剂量组、单次高剂量组大鼠角膜厚度均比对照组和单次低剂量组降低( $P<0.05$ ),且单次高剂量组大鼠角膜厚度较单次中剂量组降低( $P<0.05$ )(表2)。

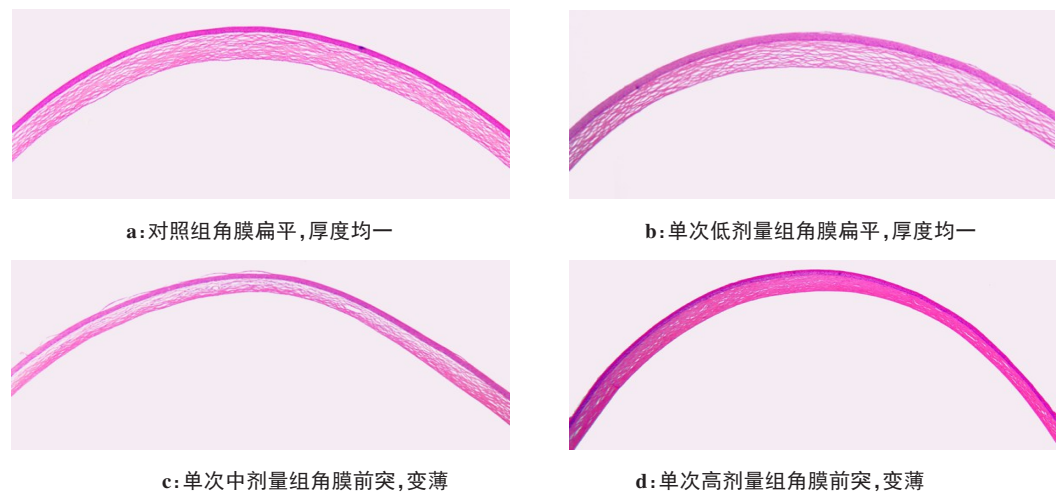


图5 光学显微镜下各组大鼠角膜中央部结构

Figure 5 Central part of the cornea under an optical microscope

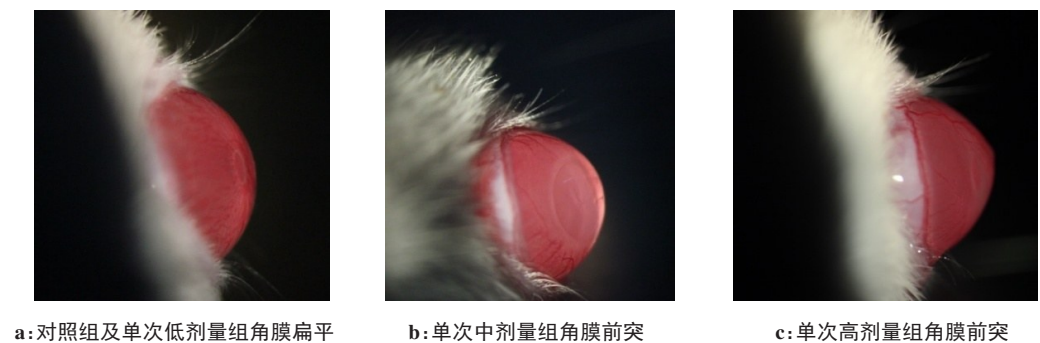


图6 各组大鼠裂隙灯显微镜下角膜侧面观

Figure 6 Lateral view of the cornea under a slit-amp microscope

2.5 ALDH 活性及表达量

UVB 照射后,对照组、单次低剂量组、单次中剂量组、单次高剂量组角膜 ALDH 活性分别为(92.53±2.73) IU/L、(79.13±2.50) IU/L、(70.24±1.16) IU/L、(60.05±3.33) IU/L, 单次低剂量组、单次中剂量组、单次高剂量组角膜 ALDH 活性均较对照组降低( $P<0.05$ ),实验组间两两比较,差异均有统计学意义( $P<0.05$ )(表 3)。对照组、单次低剂量组、单次中剂量组、单次高剂量组角膜 ALDH 表达量分别为(63.23±3.19) ng/mL、(54.81±1.40) ng/mL、(46.04±1.87) ng/mL、(36.82±2.49) ng/mL, 单次低剂量组、单次中剂量组、单次高剂量组角膜中 ALDH 表达量均较对照组降低( $P<0.05$ ),实验组间两两比较,差异均有统计学意义( $P<0.05$ )(表 3)。

表 3 各组大鼠角膜 ALDH 活性及表达量比较

Table 3 Comparison of the activity and expression of ALDH in the cornea

组别	眼球粒数	ALDH 活性/IU·L <sup>-1</sup>	ALDH 表达量/ng·mL <sup>-1</sup>
对照组	17	92.53±2.73	63.23±3.19
单次低剂量组	17	79.13±2.50*#	54.81±1.40*#
单次中剂量组	17	70.24±1.16*#	46.04±1.87*#
单次高剂量组	17	60.05±3.33*#	36.82±2.49*#

各实验组与对照组比较,\* $P<0.05$ ;实验组间两两比较,# $P<0.05$

3 讨论

紫外线介导的生物学效应通常以紫外线照射剂量评估,紫外线照射总剂量( $\text{mJ}/\text{cm}^2$ )=照射强度( $\text{mW}/\text{cm}^2$ )×总照射时间( $\text{s}$ )<sup>[4]</sup>,总照射时间=单次照射时间( $\text{s}$ )×次数(天数),则单次照射剂量=照射强度( $\text{mW}/\text{cm}^2$ )×单次照射时间( $\text{s}$ )。本课题组在前期研究中发现,146  $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ 的照射强度下,每日紫外线照射 24 min,连续照射 42 d,即可引起较明显的角膜损伤,据此设置照射总剂量为 8 830.08  $\text{mJ}/\text{cm}^2$ ,在 UVB 照射总剂量恒定的前提下,再分别设置单次低剂量、单次中剂量、单次高剂量组,探讨不同单次照射剂量对大鼠角膜结构与功能的影响。

紫外线诱导细胞中产生活性氧自由基,而活性氧自由基激活氧化损伤的扩增机制,使细胞内产生毒性更大的脂源性醛,抑制细胞生长、抑制蛋白质的合成和降解等<sup>[10]</sup>。角膜具有吸收紫外线的作用,还可以有效处理紫外线诱导的早期氧化反应<sup>[2]</sup>。本研究通过裂隙灯显微镜观察发现,在早期接受紫外线的阶段,实验组大鼠角膜透明,均无角膜荧光素钠着染。因此推测,在该阶段,角膜自身的抗氧化酶及防御系统可及时清除过多的过氧化产物,从而保持角膜透明。

在抗氧化酶系统中,ALDH 是以多种机体醛类为底物的酶,对维持角膜透明、屈光、调节细胞周期具有重要作用<sup>[11-13]</sup>。ALDH 通过阻止内源性或外源性过程产生的醛类物质,减轻细胞和组织水平的氧化损伤,抵抗脂质过氧化衍生的醛类的抗增殖作用<sup>[14-15]</sup>。Stagos 等<sup>[16]</sup>发现 ALDH 定位于角膜上皮细胞的细胞核中,可以清除细胞内的醛类,维持角膜透明。因此推测,ALDH 早期清除紫外线诱导的活性氧自由基和脂质过氧化反应产生的毒性醛,角膜的氧化应激和抗氧化机制处于平衡状态,维持角膜透明。

过量的紫外线暴露会引起角膜损伤,有研究显示,紫外线照射导致小鼠角膜 ALDH 活性降低 85%,ALDH 活性的降低可能导致角膜基质蛋白聚集和变性,从而破坏角膜整体的生物学功能<sup>[17]</sup>。本研究发现,随着单次 UVB 照射剂量增加,大鼠角膜混浊程度加深,新生血管范围扩大,角膜荧光素钠着染加重,ALDH 活性及表达量下降更显著。Downes 等<sup>[18]</sup>报道,紫外线照射后小鼠眼 ALDH 及乙醇脱氢酶活性降低,与本研究结果一致。因此推测,在紫外线诱导氧化应激后期,角膜的氧化应激和抗氧化机制处于平衡状态被打破,ALDH 作为抗氧化剂遭到破坏,表现为活性及表达量下降,导致其抗氧化能力降低,角膜氧化应激损害加剧,表现为角膜混浊、荧光素钠着染。

本研究发现,单次中剂量组和单次高剂量组出现角膜曲率增加,中央和旁中央区角膜基质变薄、呈圆锥形突出,且随着单次照射剂量的增加,该现象越显著。多项研究表明,圆锥角膜的发生发展与紫外线暴露密切相关,过量的紫外线引起角膜氧化应激,抗氧化酶类(如超氧化物歧化酶、ALDH 等)的减少会加剧这种氧化应激反应<sup>[19-21]</sup>。Newkirk 等<sup>[22]</sup>发现紫外线损伤小鼠出现角膜基质变薄、圆锥角膜、角膜穿孔等现象,认为 UV 诱导的透明质酸及抗氧化剂下降,导致氧自由基增多,角膜脂质过氧化,产生活性醛,引起角膜变性,也可能是 UV 诱导的 ALDH 含量下降引起角膜基质蛋白聚集变性,导致角膜基质变薄。Rozalen 等<sup>[23]</sup>研究表明,在圆锥角膜的病程进展中发现脂质过氧化产物异常表达,角膜抗氧化能力下降,表明氧化应激可能参与该疾病的发展。ALDH 作为清除氧自由基和代谢毒性醛的酶,大量存在于角膜中,本研究大鼠圆锥角膜的发生可能与 ALDH 活性及表达量的减少有关。

紫外线引起的角膜损伤与泪液脂质成分改变有关<sup>[24]</sup>。正常人泪液中含有多种抗氧化剂,如抗坏血酸、乳铁蛋白等,可以保护角膜免受自由基氧化损害。大量紫外线照射使角膜处于氧化应激状态,破



坏抗氧化剂的生成,泪液脂质成分改变,导致泪液蒸发过强,结膜杯状细胞密度下降,泪液生成减少,最终导致BUT值下降<sup>[25]</sup>。本研究发现角膜出现点状或片状上皮缺损,可能与作为抗氧化剂的ALDH减少、氧化应激加剧有关。

本研究设置了UVB照射总剂量恒定,单次照射剂量增加,角膜ALDH的活性和表达量降低,角膜抗氧化能力降低,氧化损伤加剧,角膜细胞凋亡增加,角膜变薄,并介导圆锥角膜的发生。本研究结果为探究圆锥角膜发生的可能机制拓宽了新的思路,也建议人们在户外活动时,短时间间歇晒太阳对身体健康有益处<sup>[26]</sup>,但要避免持续长时间的单次高剂量的紫外线照射,或使用激活ALDH的抗氧化剂,以减少紫外线对角膜的损害。

## 【参考文献】

- [1] Volatier T, Schumacher B, Cursiefen C, et al. UV protection in the cornea: failure and rescue[J]. *Biology (Basel)*, 2022, 10, 11(2): 278.
- [2] Zinflou C, Rochette PJ. Ultraviolet A-induced oxidation in cornea: characterization of the early oxidation-related events[J]. *Free Radic Biol Med*, 2017, 108: 118-128.
- [3] Wang Y, Lou J, Ji Y, et al. Increased photokeratitis during the coronavirus disease 2019 pandemic: clinical and epidemiological features and preventive measures[J]. *Medicine (Baltimore)*, 2021, 100 (24): e26343.
- [4] Iida M, Nakano C, Tamaki M, et al. Different biological effects of a constant dose for single UVB irradiation with different intensities and exposure times[J]. *Exp Dermatol*, 2016, 25(5): 386-388.
- [5] 刘维焯, 吴鑫娜, 黄焱, 等. 紫外线照射对大鼠泪膜稳定性和角膜组织的影响[J]. *眼科*, 2017, 26(2): 96-100.  
Liu WY, Wu XN, Huang Y, et al. Effect of ultraviolet irradiation on the stability of tear film and corneal tissue of rats[J]. *Ophthalmology in China*, 2017, 26(2): 96-100.
- [6] Rodriguez-Zavala JS, Calleja LF, Moreno-Sanchez R, et al. Role of aldehyde dehydrogenases in physio pathological processes[J]. *Chem Res Toxicol*, 2019, 32(3): 405-420.
- [7] Shortall K, Djeghader A, Magner E, et al. Insights into aldehyde dehydrogenase enzymes: a structural perspective[J]. *Front Mol Biosci*, 2021, 14(8): 659550.
- [8] 黄巧红, 黄焱, 王婷婷, 等. 不同剂量紫外线照射对大鼠视网膜醛脱氢酶的活性及表达量的影响[J]. *眼科*, 2019, 28(2): 129-134.  
Huang QH, Huang Y, Wang TT, et al. Effect of different doses of ultraviolet radiation on the activity and expression of aldehyde dehydrogenase in retina of rats[J]. *Ophthalmology in China*, 2019, 28 (2): 129-134.
- [9] 王明玲, 胡淑芳, 曹建雄, 等. 糖尿病大鼠眼组织中醛脱氢酶活性及表达量的变化及其意义[J]. *中华实验眼科杂志*, 2013, 31(1): 70-74.  
Wang ML, Hu SF, Cao JX, et al. Activity and expression of aldehyde dehydrogenases in the ocular tissue of diabetic rats[J]. *Chinese Journal of Experimental Ophthalmology*, 2013, 31(1): 70-74.
- [10] 葛佳佳, 苏胜, 刘平. 眼内醛脱氢酶在防止紫外线辐射损伤中的作用[J]. *国际眼科纵览*, 2014, 38(4): 232-235.  
Ge JJ, Su S, Liu P. The roles of aldehyde dehydrogenase in the eyes against ultraviolet radiation injury [J]. *International Review of Ophthalmology*, 2014, 38(4): 232-235.
- [11] Singh S, Brocker C, Koppaka V, et al. Aldehyde dehydrogenases in cellular responses to oxidative/electrophilic stress[J]. *Free Radic Biol Med*, 2013, 56(3): 89-101.
- [12] Chang JM, Seo J, Kwan MM, et al. Determining the toxicity of UV radiation and chemicals on primary and immortalized human corneal epithelial cells[J]. *J Vis Exp*, 2021(173): e62675.
- [13] Kaluzhny Y, Kinuthia MW, Lapointe AM, et al. Oxidative stress in corneal injuries of different origin: utilization of 3D human corneal epithelial tissue model[J]. *Exp Eye Res*, 2020, 190: 107867.
- [14] Chen Y, Thompson DC, Koppaka V, et al. Ocular aldehyde dehydrogenases: protection against ultraviolet damage and maintenance of transparency for vision[J]. *Prog Retin Eye Res*, 2013, 33: 28-39.
- [15] Koppaka V, Chen Y, Mehta G, et al. ALDH3A1 plays a functional role in maintenance of corneal epithelial homeostasis[J]. *PLoS One*, 2016, 11(1): e0146433.
- [16] Stagos D, Chen Y, Cantore M, et al. Corneal aldehyde dehydrogenases: multiple functions and novel nuclear localization[J]. *Brain Res Bull*, 2010, 81(2-3): 211-218.
- [17] Manzer R, Pappa A, Estey T, et al. Ultraviolet radiation decreases expression and induces aggregation of corneal ALDH3A1[J]. *Chem Biol Interact*, 2003, 143/144(0): 45-53.
- [18] Downes JE, Swann PG, Holmes RS. Ultraviolet light-induced pathology in the eye: associated changes in ocular aldehyde dehydrogenase and alcohol dehydrogenase activities[J]. *Cornea*, 1993, 12(3): 241-248.
- [19] 徐丽妍, 杨凯丽. 圆锥角膜的危险因素研究进展[J]. *中华实验眼科杂志*, 2020, 38(6): 543-547.  
Xu LY, Yang KL. Research progress on risk factors of keratoconus[J]. *Chinese Journal of Experimental Ophthalmology*, 2020, 38(6): 543-547.
- [20] Crawford AZ, Zhang J, Gokul A, et al. The enigma of environmental factors in keratoconus[J]. *Asia Pac J Ophthalmol (Phila)*, 2020, 9(6): 549-556.
- [21] Gulpamuk B, Koc M, Karatepe MS, et al. Novel assay assessment of oxidative stress biomarkers in patients with keratoconus: Thiol-disulfide homeostasis[J]. *Curr Eye Res*, 2017, 42(9): 1215-1219.
- [22] Newkirk KM, Chandler HL, Parent AE, et al. Ultraviolet radiation-induced corneal degeneration in 129 mice[J]. *Toxicol Pathol*, 2007, 35(6): 819-826.
- [23] Rozalen JM, Peris-Martinez C. Oxidative stress in keratoconus[J]. *Acta Ophthalmol*, 2012, 90(s249): 8592-8597.
- [24] Chistyakov DV, Azbukina NV, Goriainov SV, et al. Inflammatory metabolites of arachidonic acid in tear fluid in UV-induced corneal damage[J]. *Biomed Khim*, 2019, 65(1): 33-40.
- [25] Dogru M, Kojima T, Simsek C, et al. Potential role of oxidative stress in ocular surface inflammation and dry eye disease [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2018, 59(14): DES163-DES168.
- [26] Cela EM, Gonzalez CD, Friedrich A, et al. Daily very low UV dose exposure enhances adaptive immunity, compared with a single high-dose exposure. Consequences for the control of a skin infection[J]. *Immunology*, 2018, 154(3): 510-521.

(编辑:陈丽霞)