

行政院國家科學委員會專題研究計畫成果報告

計畫名稱：雷射光凝固對兔子眼前房水及玻璃體生長因子 VEGF 和 bFGF 的影響

英文：Effects of argon laser photocoagulation on the introcular levels of vascular endothelial growth factor and basic fibroblast growth factor

計畫類別：個別型計畫

計畫編號：NSC-89-2314-B-002-245

執行期間：88 年 8 月 1 日至 89 年 7 月 31 日

計畫主持人：陳慕師

共同主持人：何子昌

執行單位：台大醫學院眼科

中華民國八十九年十月二十一日

摘 要

利用有色兔子的網膜做泛網膜光凝固作用，而探討其前房和玻璃體生長因子 VEGF 和 bFGF 變動的情形。結果顯示出於光凝固作用後第一天玻璃體 VEGF 之上昇值最為明顯，而於第二天及其後追蹤檢查皆為正常。

關鍵字：雷射光凝固、眼內生長因子

SUMMARY

Panretinal photocoagulation was performed on the retina of pigmented rabbit with argon laser photocoagulator with moderate intense laser burns. Aqueous and vitreous growth factors were measured. The results showed the vitreous VEGF increased most markedly one day after photocoagulation and returned to normal level two days after photocoagulation.

Key words: laser photocoagulation, intraocular growth factors

前 言

雷射光凝固療法(laser photocoagulation)目前廣泛使用於視網膜疾病的治療，尤其泛網膜光凝固療法(panretinal photocoagulation)目前常使用於糖尿病視網膜病變和中心視網膜脈閉塞等眼疾的治療。由於光凝固作用可使眼內處於發炎狀態，因此泛網膜光凝固療法常分成數次進行，以免引起黃斑部水腫等變化。理論上，應於每次光凝固作用後等發炎狀態消退之後再做第二次光凝固作用對眼內其他部位的影響最小。

視網膜新生血管的形成，目前認為和血管內皮細胞生長因子(VEGF)和鹽基性芽細胞生長因子(bFGF)有關，而光凝固療法對視網膜新生血管的抑制機轉尚未完全瞭解。

本研究對有兔子視網膜做泛網膜光凝固作用，而觀察其前房和玻璃生長因子 VEGF 和 bFGF 濃度變化的情形，此研究應可對施行泛網膜光凝固療法之作用機轉提供最好的資料。

材 料 與 方 法

本研究使用的動物為成熟有色兔子，體重為 2.5 至 3.5 公斤，於 Ketamine 和 Rompam 全身麻醉後進行實驗，光凝固作用所使用的儀器為 Coherent 公司所生產氬雷射光凝固器，使用氬綠雷射光做實驗，條件為 0.1 秒，大小為 100 μ ，強度為 150mW，每眼做 400 點雷射斑，使用的透鏡為 Rodenstock 公司的全眼底使用透鏡，所產生的雷射斑強度為第三度的灰白色雷射斑，所有兔子皆選擇右眼做光凝固作用。

所有兔子皆於雷射光凝固作用後第 1 天、第 2 天、第 3 天、1 週、2 週、4 週、6 週和第 8 週做研究，檢查光凝固作用和非光凝固作用眼前房水和玻璃體內各種生長因子之濃度，各時段之兔子數目皆為 5 隻。兔子於麻醉作用下。做眼球摘除手術，眼球摘出後，以針頭抽取出兩眼之前房水，而後以角鞏膜剪刀去除眼球前部，再用攝子仔細取下玻璃體，玻璃體於取下後置於-70°C 冷凍櫃中保存，於進行定量檢查時，由冷凍櫃中取出而回溫至室溫後，利用超音波振盪器作用使玻璃體得以液化，再進行檢查。

前房水和玻璃體液內生長因子之測量法為使用 Immunoassay 的方法，檢查前房水和玻璃體內 VEGF 和 bFGF 的量，利用此 ELISA 的方法檢查 VEGF 的步驟如下：

- (1) 置 100 μ l 的 assay diluent 於 well 中
- (2) 置 100 μ l 的 standard 或 sample 於 well 中
- (3) 於室溫下 incubation 2 小時
- (4) 置 200 μ l 的 conjugate 於 well 中
- (5) 於室溫下 incubation 2 小時
- (6) 加入 200 μ l 的 substrate solution 於各 well 中
- (7) 於室溫下 incubation 25 minutes
- (8) 加入 50 μ l stop solution 於各 well 中
- (9) 於 450nm 下測量 optical density

而對於 bFGF 之 ELISA 檢查方法大致相同，不同處為使用 50 μ l assay diluent 和 200 μ l 的 standard 及 sample.

結 果

於光凝固作用前，5 隻兔子右眼前房蛋白和玻璃體 VEGF 平均濃度為 49.05 pg/ml 和 7.63 pg/ml，左眼為 41.5 pg/ml 和 4.43 pg/ml，於光凝固作用後第一天玻璃體 VEGF 上昇值最為明顯，為 24.56 pg/ml 於光凝固作用後一天呈有意義的變化，於第 2 天、3 天、1 週、2 週亦皆不呈有意義的差別。

討 論

Johnson 等人報告出玻璃體切除術合併矽油注入玻璃體內引起二例前房蓄膿的報告，他認為可能由於強度的眼內泛網膜光凝固作用所引起，雖然已有不少報告指出泛網膜光凝作用可對眼球功能引起不少的不良反應，但並沒有報告指出單純泛網膜光凝固作用所引起的前房變化。

泛網膜光凝固術目前最常用方法為分成數次施行，而每次施行之間的時間為一星期，但最理想的狀態應為每次光凝固施行所引起的消炎狀態消失之後，再做第二次光凝固作用，對眼球所可能引起的損害作用最小，由於雷射眼前房蛋白細胞測量計為檢查眼內發炎很好的儀器，以前的研究利用此儀器做研究。結果顯示出光凝固作用後，前房蛋白質上昇最高而後逐漸下降，於第二週時可恢復正常，此結果可於臨床上做泛網膜光凝固療法時，每次間隔二週可能是最好的選擇。

光凝固作用後對視網膜新生血管的抑制作用機轉仍未明，視網膜新生血管的形成目前認為和生長因子 VEGF 及 bFGF 息息有關，此研究顯示出光凝固作用後玻璃體內 VEGF 有上昇的現象，其和光凝固作用機轉間的關係仍需將來進一步的研究始能確定。

參 考 文 獻

1. Sawa M: Clinical application of laser flare-cell meter. *Jpn J Ophthalmol* 34:346-363, 1990.
2. Noth JM, Vygantas C, Cunha-vaz JGF: Vitreous fluorophotometry evaluation of xenon photocoagulation. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 17:1206-1209, 1978.
3. Wallow IH: Repair of the pigment epithelial barrier following photocoagulation. *Arch Ophthalmol* 102:126-135, 1984.
4. Sivalingam A, Kenney J, Brown GC, Benson WE: Donosol Basic fibroblast growth factor level in the vitreous of patients with proliferative diabetic retinopathy. *Arch Ophthalmol* 108:869-872, 1990.
5. Leung DW, Cachianes G, Kuang WJ, Goeddel DV, Ferrara N: Vascular endothelial growth factor is a secreted angiogenic mitogen. *Science* 246:1306, 1989.
6. Schweik D, Intin A, Soffer D, Keshet E: Vascular growth factor induced by hypoxia may mediate hypoxia – initiated angiogenesis. *Nature* 359:843, 1992.
7. Admis AP, Miller JW, Bernal MT, D'Amico DJ, Folkman J, Yeo TK, Yeo KT: Increased vascular endothelial growth factor levels in the vitreous of eyes with proliferative diabetic retinopathy. *Am J Ophthalmol* 118:445-450, 1994.
8. Amin RH, Frank RN, Kennedy A, Elliott D, Puklin JE, Abrams GW: Vascular endothelial growth factor is present in glial cells of the retina and optic nerve of human subjects with nonproliferative diabetic retinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 38:36-37, 1997.
9. Hoffman S, Gopalakrishna R, Gundimeda U, Murata T, Spee C, Ryan SJ, Hinton DR: Verapamil inhibits proliferation, migration and protein kinase C activity in human retinal pigment epithelial cells. *Exp Res* 67:45-52, 1998.