

Combretastatin A4 Phosphate 对人晶状体上皮细胞增殖及迁移的影响

王 艳, 朱丽媛, 刘 畅, 刘良平, 叶少碧, 吴明星*, 刘奕志
(中山大学中山眼科中心//眼科学国家重点实验室, 广东 广州 510060)

摘 要:【目的】研究 Combretastatin A4 Phosphate (CA4P) 对晶状体上皮细胞系 SRA01/04 增殖及迁移影响, 初步探讨其抑制细胞增殖的机制。【方法】以晶状体上皮细胞系 SRA01/04 为实验对象, 设空白对照组及 CA4P 组, 分别以 PBS 或 1 $\mu\text{mol/L}$ CA4P 处理 15 min, 于 0、24、48、72 h 后进行检测。通过 WST-1 法检测细胞增殖能力; 划痕试验检测细胞迁移能力; Annexin V-FITC/PI 双染法检测细胞死亡方式; PI 染色法检测细胞周期; 免疫荧光法检测细胞骨架蛋白(α -微管蛋白、F-肌动蛋白)及细胞形态。【结果】CA4P 对细胞增殖的抑制作用呈时间依赖性, 24、48、72 h 细胞相对增殖活性分别为 73%、40%、34% ($P < 0.05$)。空白对照组细胞划痕面见大量细胞覆盖; CA4P 组划痕面无细胞覆盖, 细胞呈细小圆形, 可见部分细胞脱落漂浮。CA4P 组 24、48、72 h 细胞凋亡率为 19.7%、43.6%、72.2%, 明显高于对照组 (1.7%、2.2%、3.6%; $P < 0.05$)。CA4P 组各时间点 G2/M 期分布分别为 30.3%、55.4%、70.8%, 明显高于对照组 (4.4%、9.0%、7.9%; $P < 0.05$)。CA4P 组细胞内微管纤维丝状结构消失, 可见多核、巨核等有丝分裂障碍表现, 但 F-肌动蛋白未见明显变化。【结论】1 $\mu\text{mol/L}$ CA4P 短时间作用于 SRA01/04 晶状体上皮细胞可明显抑制其增殖和迁移, 且作用呈时间依赖性。CA4P 抑制细胞增殖可能机制是通过解聚微管蛋白, 诱导有丝分裂停止而诱发 SRA01/04 细胞凋亡。

关键词: 后发性白内障; 晶状体上皮细胞; Combretastatin A4 Phosphate; 微管蛋白

中图分类号: R77 **文献标志码:** A **文章编号:** 1672-3554(2012)01-0008-08

Effect of Combretastatin A4 Phosphate on Proliferation and Migration of Lens Epithelial Cells

WANG Yan, ZHU Li-yuan, LIU Chang, LIU Liang-ping, YE Shao-bi, WU Ming-xing*, LIU Yi-zhi
(State Key Laboratory of Ophthalmology, Zhongshan Ophthalmic Center, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510060, China)

Abstract: 【Objective】To study the effect of combretastatin A4 phosphate (CA4P) on proliferation and migration of lens epithelial cells line SRA01/04 and discuss the mechanism on CA4P inhibiting cell proliferation. 【Methods】The experimental object was lens epithelial cells line SRA01/04. We divided them into the control group and CA4P group, treating respectively by PBS or 1 $\mu\text{mol/L}$ CA4P for 15 min. The testing time were 0 h, 24 h, 48 h, and 72 h after drug-treating. Cell proliferation capability was detected by WST-1. Cell migration was detected by wound test. Way of cell death was detected by Annexin V-FITC/PI. Cell cycle was detected by PI streaming. Cytoskeleton protein (α microtubules protein, F-actin) and cell morphology were detected by immunofluorescence. 【Results】Inhibition of cell proliferation by CA4P presented time dependent. After 24 h 48 h, and 72 h treated by CA4P, the cell viability were 73%, 40%, and 34%. Wound test showed a large number of cells covers scratches in the control group. Scratches in CA4P group was smooth. Cells become tiny and round, falling off the basement to floating. Cell apoptosis in CA4P group were 19.7%, 43.6%, and 72.2% in 24 h, 48 h, and 72 h, respectively. It was conspicuously higher than those in the control group (1.7%, 3.6%, and 2.2%). G2/M period distribution in CA4P group were 30.3%, 55.4%, and 70.8% in each test points respectively, which was significantly higher than those in the control group (4.4% 9.0%, and 7.9%). Microtubules fiber filamentous structure disappeared in CA4P group. Cells appeared mitotic obstacle performances, such as multi-core and huge nuclear. But F-actin showed no changes. 【Conclusion】1 $\mu\text{mol/L}$ CA4P obviously inhibit the proliferation and migration of lens epithelial cells by short-term incubation. The effect is time dependent. The mechanism of CA4P inhibiting cell proliferation probably relate to depolymerization

收稿日期: 2011-08-21

基金项目: 国家自然科学基金(81070719); 卫生部临床学科重点项目(20100439)

作者简介: 王艳, 硕士, 研究方向: 白内障的防治; E-mail: lisary609@163.com * 通信作者: 吴明星, 博士, 主任医师, E-mail: wumingx@mail.sysu.edu.cn

microtubules protein which induce mitotic catastrophe and apoptosis.

Key words: posterior capsule opacification; lens epithelial cell; combretastatin A4 phosphate; microtubules protein

[J SUN Yat-sen Univ (Med Sci), 2012, 33(1): 8-15]

后发性白内障 (posterior capsule opacification, PCO) 仍是术后最常见的并发症, 可导致患者术后视力再度下降, 严重者甚至会引起人工晶状体瞳孔夹持、脱位或再度致盲。目前, Nd:YAG 激光后囊膜切开术是临床上治疗 PCO 最常用且有效的方法, 但其并不能早期控制 PCO 的发生、发展, 且治疗费用昂贵, 常伴有人工晶状体损伤、人工晶状体脱位、眼压升高、玻璃体后脱离、视网膜脱离及黄斑囊样水肿等并发症的发生^[1-3]。因此, 无论在医学上还是经济上, 如何有效预防 PCO 已成为眼科研究中的重要课题之一, 而应用药物防治 PCO 则是研究的热点之一。微管 (microtubule) 是细胞骨架的重要组成部分, 几乎存在于所有的真核细胞中, 参与维持细胞形态、细胞运动、物质运输、信号转导等生命活动, 已成为一个备受关注的抗细胞增殖研究靶点^[4]。Combretastatin A4 Phosphate (CA4P) 是微管解聚药 Combretastatin A4 (CA4) 的水溶性前药, 与传统微管蛋白抑制剂相比, CA4 与微管蛋白结合/解离快, 半衰期较短, 体内消除快, 在小于 1/10 最大耐受剂量时即可发挥抗肿瘤作用^[5]。本实验尝试将 CA4P 应用于体外培养的人晶状体上皮细胞系 SRA01/04, 观察其对晶状体上皮细胞 (lens epithelial cell, LEC) 增殖及迁移的影响。

1 材料与方 法

1.1 实验材料

本实验所用人晶状体上皮细胞系 SRA01/04 由美国 Tuft 大学商福教授提供。实验试剂: CA4P (OXiGENE 公司)、低糖 DMEM 培养基 (Gibco 公司)、胰蛋白酶 (上海生工)、胎牛血清 (Gibco 公司)、WST-1 (Roche 公司)、Annexin V-FITC 试剂盒 (Biovision 公司)、细胞周期试剂盒 (Biovision 公司)、小鼠抗人 α -tubulin 蛋白 (Abcam 公司)、鬼笔环肽 (Sigma 公司)、羊抗小鼠 IgG (北京普利莱基因技术有限公司)、Hochest33342 (广州锐博生物技术公司)。实验仪器: CO₂ 培养箱 (Shellab 公司), 超净工作台 (苏州安泰空气技术有限公司), 一次性培养板、培养皿 (Corning 公司)、离心机

(Eppendorf 公司)、CKX41 型倒置相差显微镜 (OLYMPUS 公司)、荧光生物显微镜 (Zesis 公司)、流式细胞仪 (Becton Dickinson 公司)。

1.2 细胞培养

SRA01/04 细胞用含 100 mL/L 胎牛血清、100 $\times 10^3$ U/L 青霉素、100 mg/L 链霉素的低糖 DMEM 培养基培养, 体积分数 5% CO₂、37 $^{\circ}$ C 下培养箱传代培养。

1.3 WST-1 法检测细胞增殖

取对数生长期细胞, 以 1 000 个/孔接种于 96 孔板, 每孔细胞悬液 200 μ L, 培养箱内体积分数 5% CO₂、37 $^{\circ}$ C 下培养 24 h。分别加入 PBS 及 1 μ mol/L CA4P 溶液, 避光处理细胞 15 min, 以 PBS 冲洗 3 遍。每组设 5 个复孔, 继续培养 0、24、48、72 h, 每孔加入 20 μ L WST-1 孵育 4 h, 酶标仪 488 nm 波长测量吸光值, 计算细胞增殖抑制率。

1.4 划痕试验检测对细胞迁移

取对数生长期细胞, 以 3 $\times 10^5$ /孔密度接种于 6 孔板, 培养箱内 5% CO₂、37 $^{\circ}$ C 下培养 24 h。以 20 μ L 枪头于细胞面划痕, PBS 洗涤 3 遍。分别加入 PBS 及 1 μ mol/L CA4P 溶液, 避光处理细胞 15 min, 以 PBS 洗涤 3 遍。加入无血清低糖 DMEM 培养基继续培养, 于 0、6、12、24 h 观察细胞迁移情况并拍照记录。

1.5 Annexin V/PI 双染法检测细胞凋亡

取对数生长期的 SRA01/04 细胞, 分别加入 PBS 及 1 μ mol/L CA4P 溶液, 避光处理细胞 15 min, 以 PBS 冲洗 3 遍, 继续培养 0、24、48、72 h。收集细胞 5 $\times 10^5$, 以 PBS 洗涤两遍, 800 $\times g$ 离心 90 s, 以凋亡检测固定液 500 μ L 重悬细胞, 加入 Annexin V-FITC 5 μ L 及 PI 10 μ L, 于室温下避光孵育 15 min 后以流式细胞仪检测。

1.6 PI 染色法检测细胞周期

取对数生长期的 SRA01/04 细胞, 分别加入 PBS 及 1 μ mol/L CA4P 溶液, 避光处理细胞 15 min, 以 PBS 冲洗 3 遍, 继续培养 0、24、48、72 h。收集细胞 5 $\times 10^5$, 以 PBS 洗涤两遍, 800 $\times g$ 离心 90 s, 以 PI 500 μ L 重悬细胞, 于室温下避光孵育 30 min 后以流式细胞仪检测。

1.7 免疫荧光法检测细胞骨架蛋白

取对数生长期细胞,接种于盖玻片,培养箱内 5% CO₂、37℃下培养 24 h。分别加入 PBS 及 1 μmol/L CA4P 溶液,避光处理细胞 15 min,以 PBS 冲洗 3 遍。继续培养 0、24、48、72 h,取出细胞爬片,以 PBS 洗涤 3 遍。40 g/L 多聚甲醛溶液固定细胞 20 min,PBS 洗涤 3 遍。Triton X-100 打孔处理 30 min,5% BCA 封闭 30 min。小鼠抗人 α-tubulin 蛋白 (1:200)4℃孵育 16 h, PBS 洗涤 3 遍。羊抗小鼠 IgG (1:64) 室温孵育 1 h,PBS 洗涤 3 遍。0.5% Hoechst33342 室温孵育 5 min, PBST 洗涤 1 遍, PBS 洗涤 2 遍。抗荧光淬灭剂封片,荧光显微镜检测。

1.8 统计学分析

运用 SPSS 11.0 软件进行统计学分析,两组比较采用非参数检验方法 (Kruskal-Wallis Test);组内不同时间点比较采用单因素方差分析 (ANOVA) 及 Bonferroni 法。 P 值小于 0.05 认为具有统计学意义。

2 结 果

2.1 CA4P 对细胞增殖的抑制作用

与对照组比较,CA4P 组细胞生长活性出现趋势性变化。24、48、72 h 细胞相对增殖活性分别为 73%、40%、34%(图 1)。CA4P 对于细胞增殖的抑制作用随时间延长愈加明显,差异具统计学意义 ($P < 0.05$)。

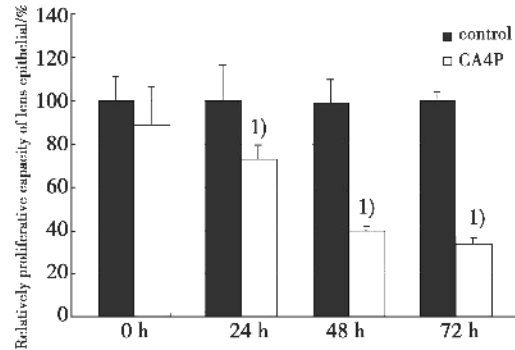


图 1 晶状体上皮细胞增殖活性

Fig.1 Proliferative capacity of lens epithelial cell

1) $P < 0.05$ vs Control.

2.2 CA4P 对细胞迁移的抑制作用

对照组于 6 h 后划痕下方细胞开始向划痕面迁移;12 h 后细胞向划痕内迁移数量明显增多,上方细胞亦可见移行;24 h 后移行细胞已覆盖约 1/2 划痕面。与对照组相比,CA4P 于 12 h 后仅可见零星细胞向划痕内迁移,24 h 后划痕内移行细胞数量明显少于对照组(图 2)。同时,细胞形态亦见明显改变。对照组细胞于 6 h 后开始出现梭形改变;12 h 后可见划痕周围细胞胞体更为细长;24 h 后划痕内细胞伸出明显“伪足”,表现出较强迁移能力。CA4P 组于药物处理 6 h 后见少量细胞形态变圆,随处理时间延长,变形细胞逐渐增多,24 h 后可见大量圆形细胞聚集成簇,失去迁移活性(图 3)。

2.3 CA4P 诱导细胞死亡方式

对照组细胞比例于各时间点均未见明显变

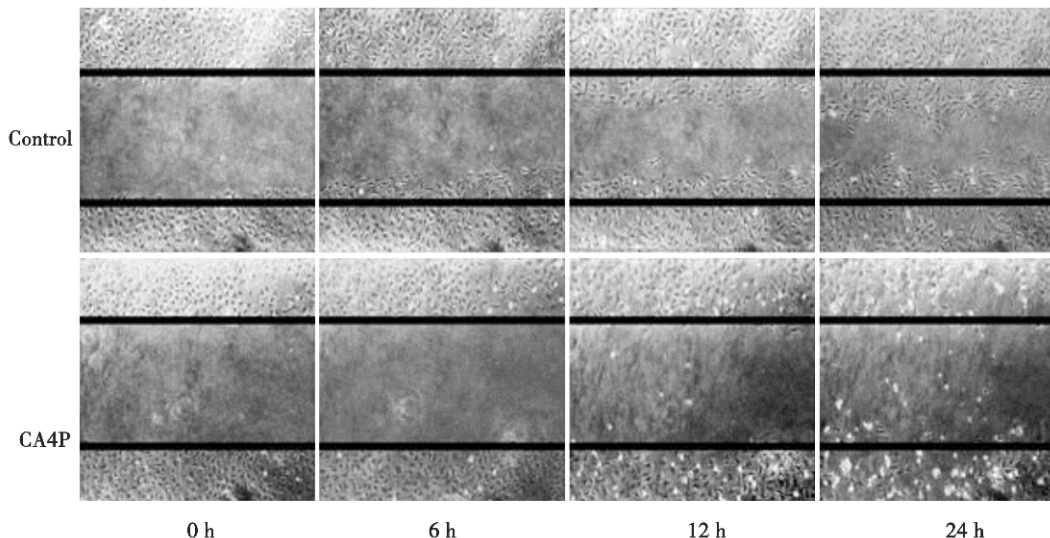


图 2 晶状体上皮细胞迁移能力 ($\times 10$)

Fig.2 Migrating capacity of lens epithelial cell ($\times 10$)

化,其中活细胞比率均可达 95%以上,可见少量晚期凋亡细胞,早期凋亡细胞、坏死细胞少见。CA4P 组于药物处理后活细胞比例显著下降,同时凋亡细胞于处理后 24、48、72 h 均较对照组增多,差异具统计学意义($P < 0.05$);凋亡率随处理时间延长逐渐增高($P < 0.05$)。CA4P 组 48 h、72 h 坏死细胞率较对照组增多($P < 0.05$),且也表现为随处理时间升高趋势,但占总细胞比率较低(图 4,表 1)。

2.4 CA4P 对细胞周期的影响

对照组细胞于各时间点均主要处于 G1 期,G2/M 期细胞则少于 10%。CA4P 组于药物处理后 24、48、72 h G2/M 期细胞均较对照组增多,G1 期细胞则出现明显减少($P < 0.05$);G2/M 期细胞所占比率与检测时间呈正相关,即随处理时间延长 G2/M 期细胞逐渐增多($P < 0.05$),细胞表现为明显 G2/M 期阻滞。S 期细胞于 24 h 达高峰后下降(图 5,表 2)。

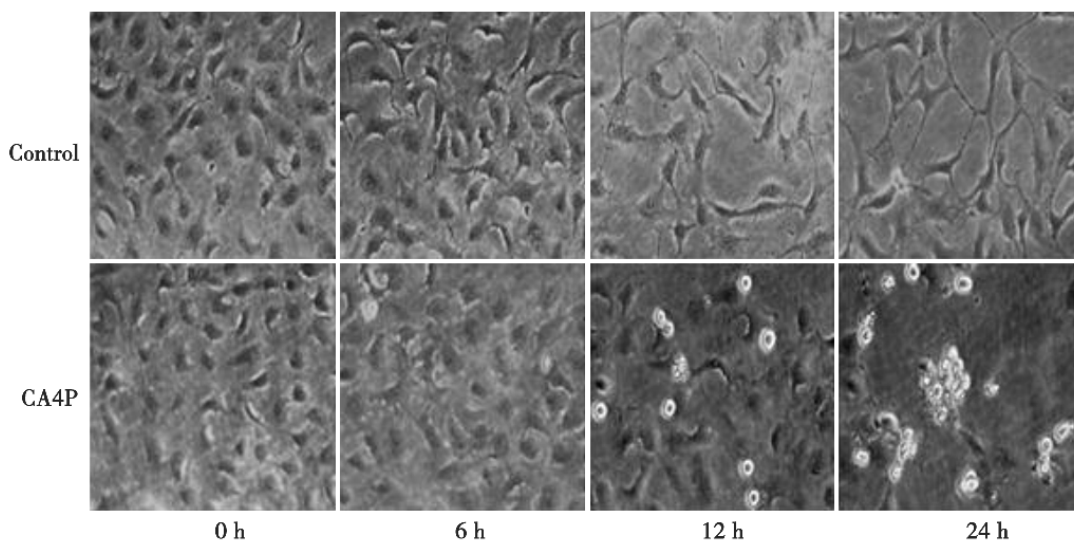


图 3 晶状体上皮细胞迁移过程中形态改变($\times 40$)

Fig.3 Transform of lens epithelial cell during migration($\times 40$)

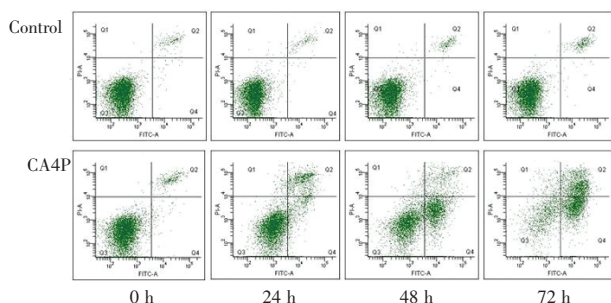


图 4 晶状体上皮细胞凋亡情况

Fig.4 Apoptosis of lens epithelial cell

Q1;necrotic cell(Annexin V-FITC -, PI+);Q2:late apoptosis cell (Annexin V-FITC + , PI+);Q3:live cell(Annexin V-FITC -, PI-);Q4:early apoptosis cell (Annexin V-FITC + , PI-)

2.5 CA4P 对细胞骨架蛋白及核形态影响

对照组细胞内 α -微管蛋白表达量高,微管蛋白聚集形成纤维丝状结构,布满整个胞体,细胞形态正常,胞核呈椭圆形。而 CA4P 组细胞于 24 h 后即可见胞体肿胀变圆,胞浆内出现大量空泡,部分胞核出现异常分裂现象;48 h 及 72 h 后细胞形态

不清,胞浆内微管蛋白纤维丝状结构消失(图 6),蛋白表达量随检测时间延长逐渐减少(图 7),可见较多多核细胞出现,胞核分裂为大小不一的碎片于胞内聚集成簇或呈花冠状排列,细胞有丝分裂障碍表现明显(图 6,如箭头所示)。但对对照组及 CA4P 组细胞内 F-肌动蛋白表达量均未见明显差异,蛋白表达量不随检测时间延长而改变(图 8)。

3 讨论

3.1 CA4P 作用于 LEC 后细胞增殖与迁移活性的变化

眼内应用药物防治后发性白内障应具备下述特点:①有效抑制 LEC 的增殖和迁移;②药物适合注入前房,且能长时间发挥作用;③对眼内其他组织无毒性作用。因此,在低浓度下即可长期有效抑制残留 LEC 增殖、迁移的药物是防治 PCO 的极佳选择。

在以往报道中,研究者大多选用 5-氟尿嘧

表 1 两实验组不同时间点晶状体上皮细胞状态分布

Table 1 Distribution of lens epithelial cell in different test point between control and CA4P group

Test-Point/h	Live Cell/%		Early Apoptosis Cell/%		Late Apoptosis Cell/%		Necrotic Cell/%	
	Control	CA4P	Control	CA4P	Control	CA4P	Control	CA4P
0	97.9 ± 0.3	97.6 ± 0.5	0.3 ± 0.1	0.3 ± 0.2	1.7 ± 0.3	1.9 ± 0.6	0.03 ± 0.1	0.2 ± 0.2
24	98.0 ± 0.3	79.5 ± 4.2	0.2 ± 0.2	9.6 ± 2.7	1.5 ± 0.3	10.1 ± 2.0	0.2 ± 0.3	1.0 ± 0.2
48	97.5 ± 0.6	53.6 ± 2.7	0.1 ± 0.1	35.1 ± 1.9	2.1 ± 0.7	8.5 ± 0.3	0.2 ± 0.2	2.8 ± 0.7
72	96.0 ± 0.8	24.0 ± 0.6	0.6 ± 0.5	41.1 ± 0.9	2.9 ± 0.9	31.1 ± 0.9	0.5 ± 0.7	3.8 ± 0.2

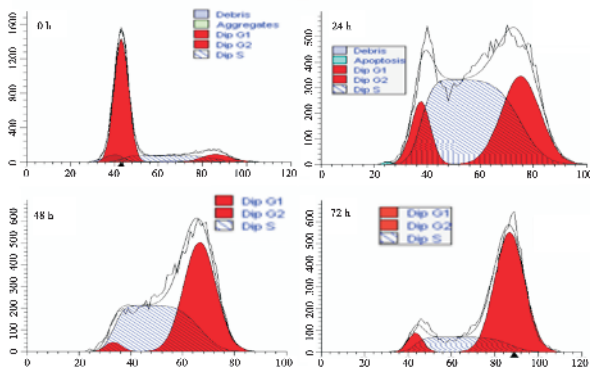


图 5 经 CA4P 处理后晶状体上皮细胞周期分布情况
Fig.5 Distribution of cell cycle in lens epithelial cell treated with CA4P

啉、丝裂霉素-C、环保菌素、双氯芬酸及倍他米松等药物眼内应用以预防 PCO^[6-9], 试验结果虽表明上述药物的有效性, 但其有效浓度通常高于 0.2 mg/mL^[10]。而 Chew 等^[11]研究更证实以 0.1 mg/mL 的丝裂霉素囊袋内给药不能有效地预防术后发性白内障的发生。但在本实验中, 仅以 1 μmol/L CA4P 处理 LEC 后, 细胞活性即随处理时间延长逐渐下降, 72 h 时仅为对照组的 34%。而细胞划痕实验结果显示, 药物处理细胞 6 h 后其迁移速度即明显落后于对照组, 24 h 后 CA4P 组大量细胞形态变圆并聚集成簇, 迁移活性受到明显抑制。实验结果证实, CA4P 可以远低于以往药物的起效浓度于体外显著抑制 LEC 增殖、迁移, 而且抑制作用

表 2 两实验组于不同时间点细胞周期具体分布

Table 2 Specific distribution of cell cycle in lens epithelial cell between control and CA4P group

Cell Cycle / %	Test-Point / h							
	0		24		48		72	
	Control	CA4P	Control	CA4P	Control	CA4P	Control	CA4P
G1	72.6	73.0	75.8	10.7	71.9	2.2	71.2	5.6
S	20.4	20.0	19.8	59.0	19.1	42.3	20.9	23.6
G2/M	7.0	7.1	4.4	30.3	9.0	55.4	7.9	70.8

呈明显时间依赖性, 随处理后时间延长, 其抑制 LEC 增殖及迁移的作用逐渐增强。

3.2 CA4P 的给药方式

目前, 防治 PCO 的眼内给药方式主要分为以下几种: ①眼内植入药物修饰的人工晶状体; ②囊袋内植入药物缓释载体; ③术中灌注液内加入药物; ④术中囊袋内给药。灌注液中加入药物可使其与眼内组织产生广泛接触, 因容易引起毒性反应已几乎不再使用。而改良的囊袋张力环(capsular tension ring, CTR)、药物修饰的人工晶状体及缓释载体装置眼内植入后即可与 LEC 紧密接触, 产生

较高的药物浓度又能维持较长的药物释放时间, 因此是目前药物防治 PCO 研究的热点之一。Menapace、Hara 及 Nagamoto 等^[12-14]应用具有矩形断面及锐角边缘的新型 CTR 阻碍赤道部细胞迁移及撕囊口与 IOL 表面的接触, 从而抑制 PCO 发展。而 Weidmann 及 Garty 等^[15-16]学者则在 CTR 或 IOL 表面结合载药微粒, 通过眼内药物缓释作用抑制 LEC 增殖。但目前应用此类方法一旦产生毒副作用, 只能通过手术方法取出, 增加了患者的痛苦。而术中囊袋内给药与上述方式相比, 即能靶向杀伤囊袋内残留 LEC, 减少对周围组织的损伤, 又

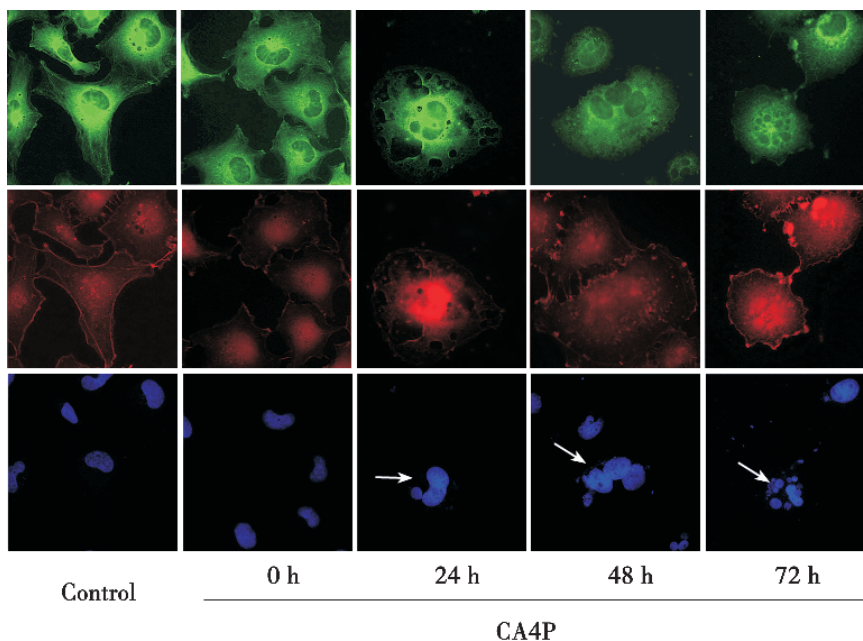


图 6 晶状体上皮细胞骨架蛋白及胞核形态
Fig.6 Morphology of cytoskeletal protein and nucleolus

The micrograph of immunofluorescence reflected transformation in morphology of cytoskeletal protein and nucleolus. The α -tubulin was marked by green fluorescence, F-actin was marked by red fluorescence, and nucleolus was marked by blue fluorescence. $\times 400$

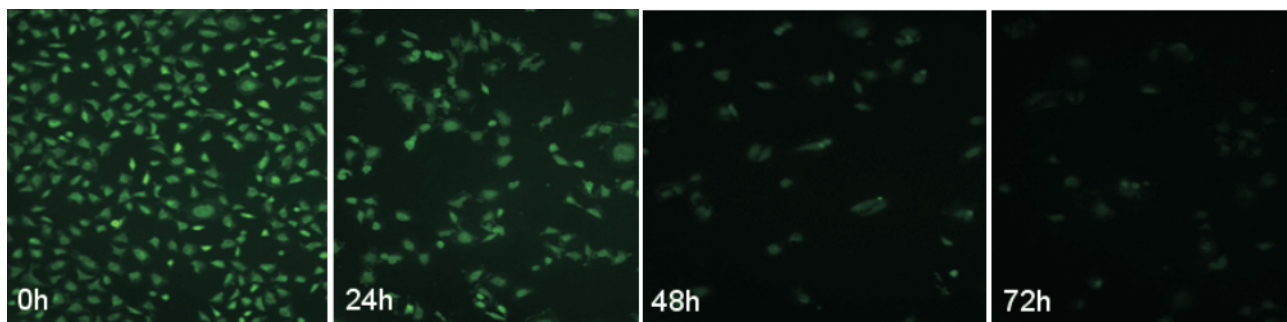


图 7 经 CA4P 处理后晶状体上皮细胞 α -微管蛋白表达量变化 ($\times 100$)
Fig.7 Change of α -tubulin in lens epithelial cell treated with CA4P ($\times 100$)

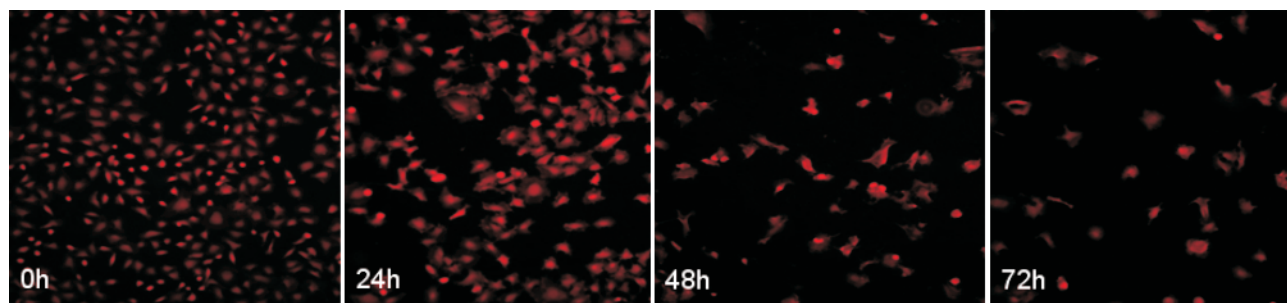


图 8 经 CA4P 处理后晶状体上皮细胞 F-肌动蛋白表达量变化
Fig.8 Change of F-actin in lens epithelial cell treated with CA4P, $\times 100$

没有二次手术风险,是一种即简单易行的方式,而近年来新型囊袋内给药装置-Perfect Capsule Irrigation device^[6]的出现又进一步提高了其应用的

安全性。

术中囊袋内给药对晶状体上皮细胞杀伤作用与给药浓度有关^[10-11],但过高浓度的药物又必然

导致明显的周围眼组织毒性反应。因此,术中囊袋内用药成功应用的关键是选择一种有效作用浓度低、眼内代谢快的药物。CA4P 作为一代新型抗微管聚合药物,与同类药物秋水仙素相比,在小于后者 1/10 最大耐受剂量时即可发挥作用。本实验亦证明 CA4P 可在低浓度下于体外表现出显著抑制晶状体上皮细胞增殖及迁移的能力。此外,本实验进一步在体外模拟囊袋内单次缓释给药模式,采用短时间给药方式处理细胞,初步证实了术中应用 CA4P 囊袋内给药治疗后发性白内障的可行性。

3.3 CA4P 作用于 LEC 后抑制细胞增殖的可能机制

有关 CA4P 抑制细胞增殖的机制有各种报道。Nabha 等^[17]研究发现以 CA4P 对人 B 型淋巴瘤进行处理后,只有少数细胞呈现细胞凋亡的特征,而多数细胞出现巨核、多核现象等有丝分裂灾难(mitotic catastrophe)的主要特征,推测 CA4P 主要通过有丝分裂灾难而不是细胞凋亡诱导细胞死亡。Kanthou 等学者^[18]发现,CA4P 特异性阻断脐静脉上皮细胞周期,出现 G2/M 期停滞,细胞形态上出现巨核,多核等类似有丝分裂灾难的特征,且凋亡表现最早出现于发生分裂停滞的多形核细胞,说明有丝分裂停滞可能是 CA4P 引起细胞凋亡的起始阶段。但 Vincent^[19]及 Petit 等^[20]的研究表明,CA4P 在低浓度下即可通过引起应力纤维重构,影响 VE-cadherin/ β -catenin 复合物及 VCAM-1 功能,导致细胞与细胞之间粘附作用失调而引起细胞坏死。

通过本实验,我们发现 CA4P 抑制细胞增殖方式以凋亡为主,坏死细胞比例极少。Quan 及 Shen 等^[21-22]以 CA4P 孵育不同种属的肿瘤细胞后亦发现细胞内微管解聚、多形核及巨核细胞大量出现、G2/M 期停滞等表现。此外,Quan 等^[21]亦认为 CA4P 并不会引起构成应力纤维的 F-肌动蛋白解聚合。由此,我们推测 CA4P 抑制晶状体上皮细胞增殖的可能机制如下:CA4P 首先引起细胞核内微管解聚,阻碍分裂中期纺锤体形成或错误组装,使有丝分裂中染色体不能经由微管引导顺利向两极移动进入两个子细胞中,从而引起细胞 G2/M 期停滞及多核、巨核等表现,并最终诱导细胞进入凋亡过程。而近来研究发现 CA4P 可诱导肺癌细胞 H460 内异常出现大量中心体结构,进一步证明了该机

制的可能性^[23]。

本研究应用新型抗微管聚合药物 CA4P(浓度 1 $\mu\text{mol/L}$) 于体外短时间干预人晶状体上皮细胞系 SRA01/04,观察到实验细胞组(CA4P 组及空白对照组)不同时间点的晶状体上皮细胞的生长活性、迁移能力及细胞形态变化,以及晶状体上皮细胞周期、凋亡和细胞内骨架蛋白随药物处理时间延长出现的相应改变。揭示了 CA4P 于体外抑制人晶状体上皮细胞生长增殖、迁移的有效性,并初步探讨了其抑制细胞增殖的可能机制,为药物防治后发性白内障的研究提供了新的思路及初步的实验依据。

参考文献:

- [1] Javitt JC, Wilkinson CP, Tielsch JM, et al. National outcomes of cataract extraction; increased risk of retinal complications associated with Nd: YAG laser capsulotomy [J]. *Ophthalmology*, 1992, 99 (10): 1487-1498.
- [2] Findl O, Drexler W, Menapace R, et al. Changes in intraocular lens position after neodymium: YAG capsulotomy[J]. *J Cataract Refract Surg*, 1999, 25(5): 659-662.
- [3] Nielsen NE, Naeser K. Epidemiology of retinal detachment following extracapsular cataract extraction; a follow-up study with an analysis of risk factors [J]. *J Cataract Refract Surg*, 1993, 19(6): 675-680.
- [4] Jordan MA. Mechanism of action of antitumor drugs that interact with microtubules and tubulin [J]. *Curr Med Chem Anticancer Agents*, 2002, 2(1):1-17.
- [5] Dark GG, Hill SA, Prise VE, et al. Combretastatin A-4, an agent that displays potent and selective toxicity toward tumor vasculature [J]. *Cancer Res*, 1997, 57 (10): 1829-1834.
- [6] Abdelwahab MT, Kugelberg M, Seregard S, et al. Safety of irrigation with 5-fluorouracil in a sealed-capsule irrigation device in the rabbit eye [J]. *J Cataract Refract Surg*, 2007, 33(9): 1619-1623.
- [7] Kim SY, Kim JH, Choi JS, et al. Comparison of posterior capsule opacification in rabbits receiving either mitomycin-C or distilled water for sealed-capsule irrigation during cataract surgery [J]. *Clin Experiment Ophthalmol*, 2007, 35(8):755-758.
- [8] Totan Y, Yağci R, Erdurmus M, et al. Cyclosporin effectively inhibits posterior capsule opacification after phacoemulsification in rabbits; a preliminary study [J].

- Clin Experiment Ophthalmol, 2008, 36(1): 62-66.
- [9] Mukai K, Matsushima H, Gotoh N, et al. Efficacy of ophthalmic nonsteroidal antiinflammatory drugs in suppressing anterior capsule contraction and secondary posterior capsule opacification [J]. J Cataract Refract Surg, 2009, 35(9): 1614-1618.
- [10] Chung HS, Lim SJ, Kim HB. Effect of mitomycin-C on posterior capsule opacification in rabbit eyes [J]. J Cataract Refract Surg, 2000, 26(10): 1537-1542.
- [11] Chew J, Werner L, Stevens S, et al. Evaluation of the effects of hydrodissection with antimetotics using a rabbit model of Soemmering's ring formation [J]. Clin Exp Ophthalmol, 2006, 34(5): 449-456.
- [12] Menapace R, Sacu S, Georgopoulos M, et al. Efficacy and safety of capsular bending ring implantation to prevent posterior capsule opacification: three-year results of a randomized clinical trial [J]. J Cataract Refract Surg, 2008, 34(8): 1318-1328.
- [13] Hara T, Hara T, Narita M, et al. Long-term study of posterior capsular opacification prevention with endocapsular equator rings in humans [J]. Arch Ophthalmol, 2011, 129(7): 855-863.
- [14] Nagamoto T, Tanaka N, Fujiwara T. Inhibition of posterior capsule opacification by a capsular adhesion-preventing ring [J]. Arch Ophthalmol, 2009, 127(4): 471-474.
- [15] Weidmann A, Kwittner S, Beck R, et al. Prevention of lens epithelial cell growth in vitro using mibefradil-containing PLGA micro particles [J]. Open Ophthalmol J, 2008, 12(2): 112-118.
- [16] Garty S, Shirakawa R, Warsen A, et al. Sustained antibiotic release from an intraocular lens-hydrogel assembly for cataract surgery [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2011, 52(9): 6109-6116.
- [17] Nabha SM, Wall NR, Mohammad RM, et al. Effects of combretastatin A-4 prodrug against a panel of malignant human B-lymphoid cell lines [J]. Anti-Cancer Drugs, 2000, 11(5): 385-392.
- [18] Kanthou C, Greco O, Stratford A, et al. The tubulin-binding agent combretastatin A-4-phosphate arrests endothelial cells in mitosis and induces mitotic cell death [J]. Am J Pathol, 2004, 165(4): 1401-1411.
- [19] Vincent L, Kermani P, Young LM, et al. Combretastatin A4 phosphate induces rapid regression of tumor neovessels and growth through interference with vascular endothelial-cadherin signaling [J]. J Clin Invest, 2005, 115(8): 2992-3006.
- [20] Petit I, Karajannis MA, Vincent L, et al. The microtubule-targeting agent CA4P regresses leukemic xenografts by disrupting interaction with vascular cells and mitochondrial-dependent cell death [J]. Blood, 2008, 111(9): 1951-1961.
- [21] Quan H, Xu Y, Lou L. p38 MAPK, but not ERK1/2, is critically involved in the cytotoxicity of the novel vascular disrupting agent combretastatin A4 [J]. Int J Cancer, 2008, 122(9): 1730-1737.
- [22] Shen CH, Shee JJ, Wu JY, et al. Combretastatin A-4 inhibits cell growth and metastasis in bladder cancer cells and retards tumour growth in a murine orthotopic bladder tumour model [J]. Br J Pharmacol, 2010, 160(9): 2008-2027.
- [23] Cenciarelli C, Tanzarella C, Vitale I, et al. The tubulin-depolymerising agent combretastatin-4 induces ectopic aster assembly and mitotic catastrophe in lung cancer cells H460 [J]. Apoptosis, 2008, 13(5): 659-669.

(编辑 刘清海)