

·基础研究·

## 环缩酚肽抑制视网膜表达 VEGF 及 PECAM 基因和血管增生

梁小玲, 黄永盛, 陈浩宇, 郭晓会, 于珊珊, 谢素贞, 颜 坚, 唐仕波  
(中山大学中山眼科中心, 广东 广州 510060)

**摘要:**【目的】观察两种环缩酚肽衍生物(Hep-A 和 Hep-B)对氧诱导的小鼠视网膜表达血管内皮生长因子(VEGF)和细胞黏附分子(PECAM; ICAM-1; VCAM-1)基因的影响及血管增生的变化。【方法】建立氧诱导的血管增殖性视网膜病变模型, 12 d 开始给小鼠皮下注射安慰剂(第1组,  $n=7$ )、Hep-A 10 mg/kg(第2组,  $n=6$ )或者 Hep-B 10 mg/kg(第3组,  $n=6$ ), 每天两次。5 d 后取出左侧眼, 分离视网膜并抽提 RNA, 用荧光定量 PCR 测出上述基因含量, 并分别求出每个靶基因与标准基因 S16 含量的比率; 右眼经心脏荧光素灌注后取眼球做视网膜平铺片, 用图像分析软件定量计算视网膜新生血管的面积。【结果】视网膜中 VEGF/S16 的 mRNA 比率为: 第1组( $0.554 \pm 0.050$ ), 第2组( $0.355 \pm 0.037$ ), 第3组( $0.287 \pm 0.051$ ); PECAM/S16 为: 第1组( $2.050 \pm 0.249$ ), 第2组( $1.228 \pm 0.153$ ), 第3组( $1.027 \pm 0.210$ )。经 ANOVA 分析, 第2组和第3组分别与第1组比较, 视网膜中 VEGF 基因表达分别减少 36% 和 48.2% ( $P = 0.001$ ); PECAM 基因表达分别减少 40.1% ( $P < 0.05$ ) 和 49.9% ( $P < 0.01$ ); 而 VCAM-1 和 ICAM-1 表达无明显差异。视网膜平片检测视网膜新生血管面积: 第1组为( $1.06 \pm 0.03$ ) $\text{mm}^2/\text{眼}$ , 第2组为( $0.17 \pm 0.01$ ) $\text{mm}^2/\text{眼}$ , 第3组为( $0.11 \pm 0.01$ ) $\text{mm}^2/\text{眼}$ ; 经 ANOVA 分析, 第2组和第3组分别与第1组比较, 视网膜新生血管的面积明显减少( $P < 0.001$ )。【结论】两种环缩酚肽衍生物均抑制氧诱导的小鼠视网膜表达 VEGF 和 PECAM 基因, 并抑制其形成视网膜新生血管。

**关键词:**环缩酚肽衍生物; 荧光定量 PCR; 血管内皮生长因子; 细胞黏附分子; 视网膜新生血管

中图分类号: R744.1

文献标识码: A

文章编号: 1672-3554(2005)06-0607-05

### Inhibition of Gene Expression of VEGF, PECAM and Neovascularization of Retina by Cyclic Heptadepsipeptide

LIANG Xiao-ling, HUANG Yong-sheng, CHEN Hao-yu, GUO Xiao-hui, YU Shan-shan,  
XIE Su-zhen, YAN Jian, TANG Shi-bo

(Zhongshan Ophthalmic Center, SUN Yat-sen University, Guangzhou, 510060, China)

**Abstract:**【Objective】To investigate the effects of two novel fungus-derived cyclic heptadepsipeptide (Hep-A and Hep-B) on retinal gene expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) and cellular adhesion molecules (PECAM, ICAM-1, and VCAM-1) and neovascularization in a mice model of oxygen-induced ischemic retinopathy.【Methods】To set up the ischemic retinopathy mice model. At 12 d the mice were put back in room air and treated with subcutaneous injection of vehicle (Group 1,  $n=7$ ) 10 mg/kg Hep-A (Group 2,  $n=6$ ), 10 mg/kg Hep-B (Group 3,  $n=6$ ), or twice a day. Five days later the left eyes were nucleated, the retina was dissected and the RNA was extracted immediately then to perform the real time RT-PCR. The cDNA ratio of each above target gene/S16 (housekeeping gene) was calculated. After nucleated the left eye, the mouse was perfused with fluorescein-dextran and the right eye was nucleated and the retinal flat-mount was made. The areas of the retinal neovascularization was tested under microscopy and recorded by a video camera and frame grabber, and then quantitated by Image-Pro Plus software. The data were analyzed by ANOVA software.【Results】The retinal VEGF/S16 cDNA ratios were: Group 1 ( $0.554 \pm$

收稿日期: 2005-07-30

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30471848); 科技部十五攻关重点资助项目 (2004330); 教育部留学回国人员基金资助项目 (2004527); 广东省自然科学基金重点资助项目 (C036653); 广东省中医药管理局基金资助项目 (20030085); 中山大学中山眼科中心留学回国人员科研启动基金资助项目 (200303); “211 工程”重点学科建设基金资助项目 (98006)

作者简介: 梁小玲 (1963-), 女, 广东广州人, 博士, 副教授。E-mail: liangxsums@yahoo.com.cn

0.050), Group 2 (0.355±0.037), Group 3 (0.287±0.051). The PECAM/s16 ratios were: Group 1 (2.050±0.249), Group 2 (1.228±0.153), Group 3 (1.027±0.210). Compared to vehicle-treated mice, VEGF mRNA expression decreased 36% and 48.2% ( $P=0.001$ ), PECAM mRNA expression decreased 40.1% ( $P<0.05$ ) and 49.9% ( $P<0.01$ ) respectively in the retina of mice treated with Hep-A or Hep-B. ICAM-1 and VCAM-1 gene expression did not change. The retinal neovascularization areas were: Group 1 (1.06±0.03)mm<sup>2</sup>/eye, Group 2 (0.17±0.01)mm<sup>2</sup>/eye, Group 3 (0.11±0.01)mm<sup>2</sup>/eye. The area of retinal neovascularization in Hep-A or Hep-B treated mice was significantly reduced ( $P<0.001$ ) compared to vehicle-treated mice.【Conclusion】The analogs of cyclic heptadepsipeptide potently inhibit VEGF, PECAM gene expression and retinal neovascularization in oxygen-induced ischemic retinopathy mice.

**Key words:** cyclic heptadepsipeptide; vascular endothelial growth factor; cellular adhesion molecule; retinal neovascularization

[J SUN Yat-sen Univ (Med Sci), 2005, 26(6):607-611, 621]

视网膜血管增生可由许多疾病如糖尿病、视网膜中央静脉阻塞、早产儿视网膜病变等引起,最终因视网膜新生血管增殖、出血和牵引性视网膜脱离而导致失明,给患者及其家庭和社会带来沉重的负担。其发病机制未明,现有的治疗方法欠佳。以往的研究发现,机体内刺激和抑制新生血管生成的因素不平衡是导致视网膜新生血管形成的主要原因<sup>[1,2]</sup>,而血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF)是刺激新生血管生成的关键因子<sup>[3,4]</sup>。VEGF 受体的拮抗剂能减少视网膜新生血管的产生,机制未明<sup>[5]</sup>。我们曾报道环缩酚肽的两种化学衍生物(Hep-A 和 Hep-B)可以抑制氧诱导的小鼠形成视网膜新生血管<sup>[6]</sup>、减少无灌注区;抑制 VEGF 介导的血-视网膜屏障破坏<sup>[7]</sup>。在此,我们进一步研究环缩酚肽对缺氧小鼠视网膜 VEGF 及细胞黏附分子(血小板内皮细胞黏附分子,platelet endothelial cell adhesion molecule, PECAM; 细胞间黏附分子-1, intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1; 血管细胞黏附分子,vascular cell adhesion molecule, VCAM-1)基因表达的影响,以探讨环缩酚肽治疗血管增殖性视网膜病变的机制。

## 1 材料和方法

### 1.1 氧诱导的血管增殖性视网膜病变小鼠模型的建立

参照我们以往报道的方法<sup>[6]</sup>, C57BL/6 小鼠在生后 7 d 与母鼠一起放入含氧体积分数为 75%±3%的饲养箱中,饲养温度维持在 23°C±2°C,用氧气分析仪 (BioSperix, 美国) 监测并调控箱内氧气含量。生后 12 d 放回正常室内空气中饲养,这时造成小鼠视网膜相对缺氧,生后 17 d 视网膜内有大量的新生血管形成。

### 1.2 实验分组

将 C57BL/6 小鼠 (Jackson, 美国) 19 只分为 3 组:第 1 组为安慰剂对照组,共 7 只小鼠;第 2 组和第 3 组分别为环缩酚肽-A 和环缩酚肽-B 治疗组,每组各 6 只鼠。均按上法建立血管增殖性视网膜病变模型。其中左眼抽提视网膜的 RNA,右眼做视网膜平片检查。

### 1.3 给药方法

将 4 mg Hep 粉剂溶解到 100 μL 溶解剂中,每次注射前用等渗葡萄糖溶液稀释到最后的浓度 2 g/L。从生后 12 d 取出小鼠到室内环境开始,对小鼠皮下注射 Hep-A 或 Hep-B 10 mg/kg 或者安慰剂,每天两次,持续 5 d。

### 1.4 视网膜基因表达的测定

1.4.1 视网膜总 RNA 抽提 生后 17 d, 麻醉小鼠摘除左眼,分离出视网膜即放入 Trizol 液 (Invitrogen, USA) 中,用吸管碎裂组织变成匀浆;加入氯仿用力摇匀 5 min,室温培养 5 min 后离心,吸出含有 RNA 的无色上清液,用异丙醇使 RNA 沉淀,DEPC 水制的 75%酒精清洗之,半风干后用 0.01 mL DEPC 水溶解并长期保存。用分光光度计 (U-2000, Hitachi, 日本) 测定所得总 RNA 的浓度。

1.4.2 逆转录 PCR (reverse translated PCR) 从上述标本中取 1.0 μg 总 RNA,用 SuperscriptII 试剂盒 (Invitrogen, USA) 将其逆转录为 cDNA。

1.4.3 PCR 引物设计和合成 血管内皮生长因子 (VEGF), 血小板内皮细胞黏附分子 (PECAM), 细胞间黏附分子 (ICAM-1), 血管细胞黏附分子 (VCAM-1) 和标准基因核糖体蛋白 S16 的特异性内、外引物 (表 1) 按 WhiteHead Institute for Biomedical Research 软件设计 (美国), 由 Intergrated DNA Technologies 公司 (美国) 合成。

1.4.4 实时荧光定量 PCR 测定 在 Lightcycler 快

表1 用于实时荧光定量 PCR 的基因特异性引物

Table 1 Gene-specific primer for real-time RT-PCR

Gene	Inner-primer	Outer-primer	Product size (bp)
ICAM-1	5'CATCGGGGTGGTGAAGTCTGT3	5'TGTCGGGGGAAGTGTGGTC3	625
PECAM	5'GTGGAAGTGTCCCTCCCTTGA3	5'GCCATTAAGTACGCGCTCTG3	340
S16	5'TGAGATGGACTGTCCGATGG3	5'CACTGCAAACGGGGAAATGG3	240
VCAM-1	5'CAGGATTTTGGGAGCTGGTA3	5'CCCAGGTGGAGGTCTACTCA3	449
VEGF	5'TTACTGCTGTACCTCCACC3	5'ACAGGACGGCTTGAAGATG3	189

ICAM-1: intercellular adhesion molecule-1, PECAM: platelet endothelial cell adhesion molecule, VCAM-1: vascular cell adhesion molecule-1, VEGF: vascular endothelial growth factor

速热循环系统(Roche Molecular Biochemicals, USA)上,使用透光反应管进行实时 PCR。20  $\mu$ L 的总反应体系包括 2  $\mu$ L cDNA, 0.4~0.5  $\mu$ mol/L 引物, 3~4 mmol/L MgCl<sub>2</sub>, 含有 TaqDNA 聚合酶和缓冲液的 SYBR Green 1 反应复合物 (Roche Molecular Biochemicals, USA)。荧光 PCR 循环条件: 95 $^{\circ}$ C 热启动 3 min; 目标基因放大 92 $^{\circ}$ C 15 s, 55~64 $^{\circ}$ C 5 s, 72 $^{\circ}$ C 10 s, 共 45 个循环; 溶解曲线分析 65 $^{\circ}$ C 15 s, 1 个循环; 冷却阶段 40 $^{\circ}$ C 30 s, 1 个循环。

1.4.5 结果判断 通过两步法进行数据定量分析。首先,不同稀释浓度的标准样本作标准曲线,待测样本与此比较作线性回归分析,按 LightCycler 软件要求他们的(浓度对数比循环数)的斜率(-1/效能的对数)在-3.00 和-4.00 之间,  $r = -1.00$ , 平均误差平方 < 0.25。所有样本单次 PCR 效能的标准误都不大于 0.15。同一 cDNA 样本, 分别进行两次荧光 PCR 测定,二次测定的结果比较  $r^2 < 0.87$ , 然后取两次测定的平均值作为测出样本的含量。每个视网膜, 分别将测出的 ICAM-1, PECAM-1, VCAM-1 和 VEGF 的基因含量与标准基因 S16 的含量相除, 该比率作为最后的结果用作分析, 以控制 RNA 抽提和逆转录过程中产生的差异。

### 1.5 视网膜平片新生血管面积测定

生后 17 d, 麻醉小鼠摘除左眼后, 固定四肢, 快速分离并暴露心脏, 经左心室快速注入 50 g/L 荧光素标记的葡聚糖(Sigma, 美国) 1 mL, 处死小鼠, 取下右眼球, 室温下在 100 mL/L 的甲醛中固定 1 h。显微镜下去除角膜、虹膜和晶体, 小心地从眼杯中完整地剥离视网膜, 从视网膜的锯齿缘到 4 个象限的赤道部做放射状切开, 视网膜平铺在玻片上, 封口, 加盖玻片。用荧光显微镜检测平铺的视网膜, Image-Pro Plus 软件测量视网膜新生血管的面积。

### 1.6 统计学处理

所有数据输入 SPSS for Window 12.0 统计软件, 首先对各组总体方差进行齐性检验, 如果方差齐同, 则按照完全随机设计, 采用单因素方差分析 (analysis of variance, ANOVA) 进行统计, 当总的比较差异有统计学意义后再采用最小显著性差异 (Least significant difference, LSD) 检验作各组均数间的两两比较, 取双侧检验,  $\alpha = 0.05$ 。

## 2 结果

### 2.1 视网膜基因表达

2.1.1 视网膜内 VEGF mRNA 的表达 测出的视网膜中 VEGF/S16 mRNA 比率见图 1, 首先进行方差齐性检验, 结果  $P=0.529$ , 各组方差齐性, 接着进行方差分析, 结果  $F=8.952$ ,  $P=0.002$ , 表明各组间至少有两组的结果有显著性差异。接着进行 LSD 检验做两两比较, 结果表明 Hep-A 治疗组和 Hep-B 治疗组的 VEGF/S16 mRNA 比率显著低于安慰剂治疗组,  $P$  值均等于 0.001, 而 Hep-A 治疗组和 Hep-B 治疗组之间没有显著性差异,  $P=0.336$ 。

2.1.2 视网膜内 PECAM mRNA 的表达 测出的视

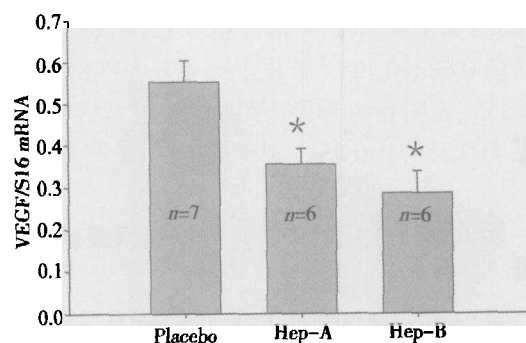


图1 小鼠视网膜 VEGF/S16 mRNA 表达率

Fig. 1 Ratio of VEGF/S16 mRNA expression

\*  $P = 0.001$ , compared to placebo group, LSD-t test

网膜中 PECAM/S16 mRNA 比率见图 2, 首先进行方差齐性检验, 结果  $P=0.590$ , 表明各组方差齐性, 接着进行方差分析, 结果  $F=6.710$ ,  $P=0.008$ , 表明各组间至少有两组的结果有显著性差异。接着进行 LSD 检验做两两比较, 结果表明 Hep-A 治疗组和 Hep-B 治疗组的 PECAM/S16 mRNA 比率显著低于安慰剂治疗组, 分别  $P=0.014$  和  $0.004$ , 而 Hep-A 治疗组和 Hep-B 治疗组之间没有显著性差异,  $P=0.525$ 。

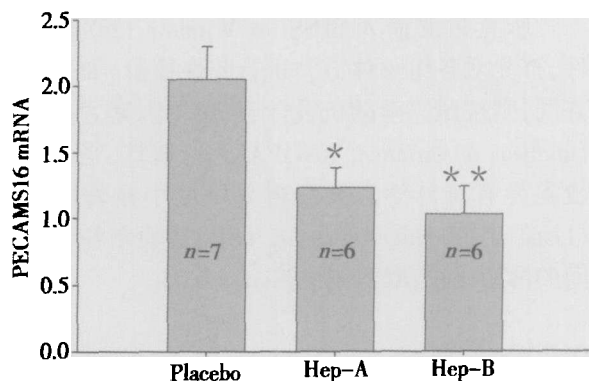


图 2 小鼠视网膜 PECAM/S16 mRNA 表达率

Fig. 2 Ratio of PECAM/S16 mRNA expression

\*  $P < 0.01$ , compared to placebo group, LSD- $t$  test, \*\*  $P < 0.05$ , compared to placebo group, LSD- $t$  test

2.1.3 视网膜内 ICAM-1 mRNA 的表达 测出的视网膜中 ICAM-1/S16 mRNA 比率为: 安慰剂治疗组  $0.833 \pm 0.099$ , Hep-A 治疗组  $0.933 \pm 0.159$ , Hep-B 治疗组  $0.500 \pm 0.101$ 。首先进行方差齐性检验, 结果  $P=0.2180$ , 表明各组方差齐性, 接着进行方差分析, 结果  $F=0.802$ ,  $P=0.466$ , 表明各组间没有显著性差异。

2.1.4 视网膜内 VCAM-1 mRNA 的表达 测出的视网膜中 VCAM-1/S16 mRNA 比率为: 安慰剂治疗组  $0.853 \pm 0.156$ , Hep-A 治疗组  $0.712 \pm 0.082$ , Hep-B 治疗组  $0.628 \pm 0.125$ 。首先进行方差齐性检验, 结果  $P=0.355$ , 表明各组方差齐性, 接着进行方差分析, 结果  $F=3.356$ ,  $P=0.061$ , 表明各组间没有显著性差异。

## 2.2 荧光素灌注视网膜平片检测视网膜新生血管面积

第一组为  $(1.06 \pm 0.03) \text{mm}^2/\text{眼}$  ( $n=7$ ), 第二组为  $(0.17 \pm 0.01) \text{mm}^2/\text{眼}$  ( $n=6$ ), 第三组为  $(0.11 \pm 0.01) \text{mm}^2/\text{眼}$  ( $n=6$ )。进行方差齐性检验, 结果  $P=0.102$ , 各组方差齐性, 方差分析, 结果  $F=2859.525$ ,  $P < 0.001$ , 表

明各组间视网膜新生血管面积有显著性差异。LSD 检验, Hep-A 治疗组和 Hep-B 治疗组的视网膜新生血管面积显著低于安慰剂治疗组(见图 3), 各  $P$  均  $< 0.001$ , 而 Hep-A 治疗组和 Hep-B 治疗组之间没有显著性差异,  $P=0.103$ 。

## 3 讨论

视网膜血管增生目前临床上还没有理想的治疗方法。近年来随着对其发病机制的研究深入认为是刺激和抑制新生血管形成的因素在机体内失平衡是导致视网膜新生血管形成的主要原因<sup>[1,2]</sup>。其中 VEGF 是刺激新生血管形成的关键因子<sup>[3,4]</sup>, 它可以引起血管通透性增加, 血管内皮细胞增殖、游走和分泌各种细胞因子、黏附分子, 刺激新生血管形成。细胞黏附分子可诱导血小板、炎症细胞黏附到视网膜血管内皮细胞上, 引起视网膜血管阻塞, 加重视网膜缺血<sup>[5]</sup>。为探索视网膜血管增生的新疗法, 许多学者以 VEGF 及发病过程中的关键分子为靶点进行的研究, 开发新的治疗药物。我们曾报道环缩酚肽的两种化学衍生物(Hep-A 和 Hep-B)可以抑制氧诱导的血管增殖性视网膜病变小鼠形成视网膜新生血管<sup>[6]</sup>, 减少视网膜无灌注区的面积; 发现它还能抑制 VEGF 介导的血-视网膜屏障破坏<sup>[7]</sup>, 但治疗机制尚不明了。因此, 我们在本实验中进一步研究了环缩酚肽对缺氧小鼠视网膜表达 VEGF 和细胞黏附分子基因的影响, 以探讨它治疗视网膜血管增生的机制。为确保所测基因确有其病理学依据, 我们用荧光素灌注视网膜平片的方法监测新生血管的形成。

我们的结果显示, 在氧诱导的血管增殖性视网膜病变小鼠的体内实验中, 环缩酚肽明显抑制视网膜新生血管生成, 同时显著抑制 VEGF 的 mRNA 水平。VEGF 可以直接引起视网膜新生血管形成, 本结果表明抑制 VEGF 的表达, 可抑制视网膜新生血管产生, 这与 Ozaki 等<sup>[8]</sup>的研究结果一致, 说明 VEGF 通道是视网膜血管增生中的关键通道。

血小板内皮细胞黏附分子 PECAM 是免疫球蛋白超家族的成员, 在血小板、白细胞和内皮细胞上均有表达, PECAM 促使血小板在血管内皮上黏附和微血栓形成, 导致毛细血管闭塞, 刺激内皮细胞分泌 VEGF; 同时 PECAM 在内皮细胞的基底连接上的表达可以维持内皮细胞的屏障功能, 有学者

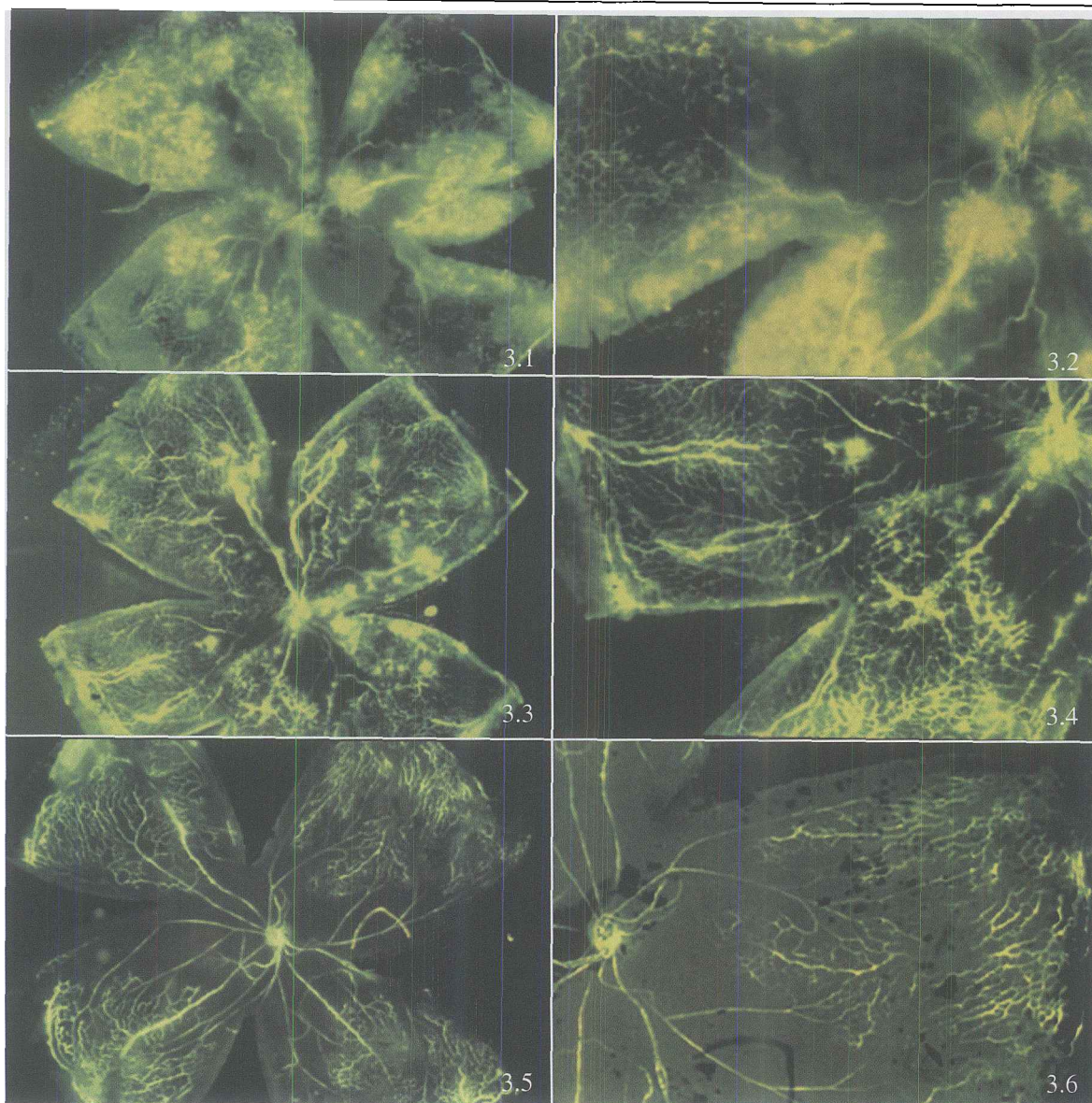


图3 Hep-A 和 Hep-B 抑制视网膜新生血管的荧光素灌注视网膜平片改变

Fig. 3 Fluorescein-labeled retinal whole mount changes of the inhibition to neovascularization by Hep-A and Hep-B

3.1 ( $\times 100$ ) and 3.2 ( $\times 400$ ): Placebo-treated mouse with ischemic retinopathy, large area of nonperfusion close to center of the retina and extensive high fluorescein of neovascularization; 3.3 ( $\times 100$ ) and 3.4 ( $\times 400$ ): Hep-A treated mouse with ischemic retinopathy, smaller avascular area and a few patches of neovascularization; 3.5 ( $\times 100$ ) and 3.6 ( $\times 400$ ): Hep-B treated mouse with ischemic retinopathy, smaller avascular area and tiny patches of neovascularization

应用抗 PECAM 的阻断性抗体可以抑制新生血管形成,但也可以导致明显的血管渗漏<sup>[8]</sup>。本结果表明环缩酚肽抑制 VEGF 的同时减少了 PECAM 基因的表达,推测它可能通过减少血小板黏附,减轻毛细血管闭塞,在 VEGF 减少的协同作用下,最终使新生血管减少。这样,它避免了 VEGF 信号通路阻断所引起的血管闭塞,也避免了 PECAM 通路阻断所引起的血管渗漏,达到较好的结果,说明它具有更深入研究的意义。

环缩酚肽在本实验中只表现对 PECAM 基因的表达的影响,对 VCAM-1 和 ICAM-1 的 mRNA 水平无影响,提示它抑制视网膜新生血管形成是通过抑制视网膜 VEGF 和 PECAM 的 mRNA 表达来实现的,血小板与血管内皮细胞之间的作用值得今后作更多的研究;单纯抑制 VEGF 和 PECAM 的基因表达已可抑制视网膜血管增生。VCAM-1 主要影响血管细胞间的黏附,ICAM-1 影响炎症细胞间的

(下转第 621 页 to page 621)

- inhibitory factor in rheumatoid arthritis: evidence of proinflammatory function and regulation by glucocorticoids[J]. *Arthritis Rheum*, 1999, 42(8):1601-8.
- [4] Lan HY, Mu W, Yang N, *et al.* *De novo* renal expression of macrophage migration inhibitory factor during the development of rat crescentic glomerulonephritis[J]. *Am J Pathol*, 1996, 149(4):1119-27.
- [5] Bozza M, Satskar AR, Lin G, *et al.* Targeted disruption of migration inhibitory factor gene reveals its critical role in sepsis[J]. *J Exp Med*, 1999, 189(2):341-6.
- [6] Lin SG, Yu XY, Chen YX, *et al.* *De novo* expression of macrophage migration inhibitory factor in atherogenesis in rabbits[J]. *Circ Res*, 2000, 87(12):1202-8.
- [7] Schober A, Bernhagen J, Thiele M, *et al.* Stabilization of atherosclerotic plaques by blockade of macrophage migration inhibitory factor after vascular injury in apolipoprotein E-deficient mice[J]. *Circulation*, 2004, 109(3):380-5.
- [8] O'Brien K, McDonald TO, Chait A, *et al.* Neovascular expression of E-selectin, intercellular adhesion molecule-1, and vascular cell adhesion molecule-1 in human atherosclerosis and their relation to intimal leukocyte content[J]. *Circulation*, 1996, 93 (4): 672-82.
- [9] 单志新,余细勇,林秋雄,等. 细菌-酵母穿梭表达质粒 pGBKT7-MIF 的构建和转化 [J]. *中山医科大学学报*, 2002,23(5):333-5.
- [10] Thurman GB, Stull HB, Miller PJ, *et al.* Utilization of purified human monocytes in the agarose droplet assay for measuring macrophage migration inhibitory factor [J]. *J Immunol Methods*, 1983, 65(1-2):41-5.
- [11] Jeziorska M, Woolley DE. Local neovascularization and cellular composition within vulnerable regions of atherosclerotic plaques of human carotid arteries [J]. *J Pathol*, 1999, 188(2): 189-96.
- [12] Depre C, Havaux X, Wijns W. Neovascularization in human coronary atherosclerotic lesions [J]. *Cathet Cardiovasc Diagn*, 1996, 39(3): 215-20.
- [13] 李智,林素暇,梁惠珍,等.巨噬细胞移动抑制因子与鼻咽癌微血管生成和淋巴结转移的关系[J].*中山大学学报(医学科学版)*, 2005, 26(1):24-8.

(编辑 黄小延)

(上接第 611 页 from page 611)

行为,它们与新生血管形成之间的关系,还有待今后更多的研究来探讨。环缩酚酞的药理效应可能非常复杂,在不同的条件下所表现出来的效应不一定相同,以后需要进一步的研究来阐明其药理效应。

## 参考文献:

- [1] 梁小玲,高汝龙,李绍珍,等.生长因子在玻璃体视网膜增殖膜中的免疫组化研究[J].*中山医科大学学报*,1998, 19(4):356-8.
- [2] Liang X, Tang S, Li C, *et al.* Platelet-derived growth factor and basic fibroblast growth factor immunolocalized in proliferative retinal diseases [J]. *Chin Med J (Engl)*, 2000, 113(2): 144-7.
- [3] Shen J, Liang X, Campochiaro P, *et al.* Deficiency of neuropilin 2 suppresses VEGF-induced retinal neovascularization[J]. *Mol Med*, 2004, 10(1-6): 12-8.
- [4] Oshima Y, Liang X, Campochiaro P, *et al.* Intraocular gutless adenoviral-vectored VEGF stimulates anterior segment but not retinal neovascularization [J]. *J Cell Physiol*, 2004, 199(3):399-411.
- [5] Ozaki H, Seo MS, Ozaki K, *et al.* Blockade of vascular endothelial cell growth factor receptor signaling is sufficient to completely prevent retinal neovascularization[J]. *Am J Pathol*, 2000, 156(2): 697-707.
- [6] 梁小玲,刘汉生,陈浩宇,等.环缩酚酞抑制小鼠血管增殖性视网膜病变的研究[J].*中山大学学报(医学科学版)*, 2003, 24(6): 532-5.
- [7] 梁小玲,陈浩宇,黄永盛,等.环缩酚酞抑制 VEGF 介导的小鼠血-视网膜屏障破坏[J].*中华眼底病杂志*, 2004, 20 (6): 352-4.
- [8] Distler JH, Hirth A, Kurowska-Stolarska M, *et al.* Angiogenic and angiostatic factors in the molecular control of angiogenesis[J]. *Q J Nucl Med*, 2003, 47(3): 149-61.

(编辑 刘清海)