

引文格式: 高小燕, 何守志. 核因子- κ B 在 BN 大鼠脉络膜新生血管中的表达 [J]. 眼科新进展, 2014, 34 (2): 114-118.
doi:10.13389/j.cnki.rao.2014.0029

【实验研究】

核因子- κ B 在 BN 大鼠脉络膜新生血管中的表达[△]

高小燕 何守志

作者简介: 高小燕, 女, 1976 年 5 月
出生, 山东青岛人, 博士, 主治医师。
联系电话: 010-88803257 (O); E-
mail: gaoy76@sina.com

About GAO Xiao-Yan: Female, born
in May, 1976. Medical Doctor. Tel: +
86-10-88803257 (O); E-mail: gaoy76
@sina.com

收稿日期: 2013-09-09

修回日期: 2013-11-13

本文编辑: 盛丽娜

△基金项目: 全军“十五”科研基金

资助项目 (编号: 02M014)

作者单位: 100144 北京市, 北方工

业大学医院眼科 (高小燕); 100853

北京市, 解放军总医院眼科, 全军眼

科中心 (何守志)

通讯作者: 何守志, E-mail: heshouzhi

@sina.com

Received date: Sep 9, 2013

Accepted date: Nov 13, 2013

Foundation item: Tenth Five-Year

Research Foundation of PLA (No:

02M014)

From the Department of Ophthalmolo-

gy, North China University of Technol-

ogy Hospital (GAO Xiao-Yan), Beijing

100144, China; Department of Oph-

thalmology, General Hospital of PLA,

PLA Eye Center (HE Shou-Zhi), Bei-

jing 100853, China

Responsible author: HE Shou-Zhi, E-

mail: heshouzhi@sina.com

Expression of NF- κ B in choroidal neovascularization of BN rat

GAO Xiao-Yan, HE Shou-Zhi

【Key words】 choroidal neovascularization; nuclear factor-kappa B; monocyte chemoattractant protein-1; vascular endothelial growth factor; rat

【Abstract】 **Objective** To observe the expression of nuclear factor-kappa B (NF- κ B) in choroidal neovascularization (CNV) induced by krypton of Brown Norway (BN) rat. **Methods** One eye of 48 Healthy male BN rats was chosen randomly as experimental eye, the other eye as normal eye. CNV models were established, FFA examination was made at postoperative 1 week, 2 weeks, 3 weeks, 4 weeks, 5 weeks, 6 weeks, 7 weeks, 8 weeks, then eyes of 6 BN rats were enucleated at each time point for histological slices. The expression of NF- κ B, monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) were examined by immunohistochemistry, the expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) mRNA was observed by in situ hybridization, the most area of CNV was measured and integrated optical density (IOD) of fluorescence leakage was observed by FFA. **Results** CNV gradually formed after photocoagulation, the area of CNV increased with the time prolong, there were statistical differences in CNV area between different time points (all $P < 0.05$). The expression of NF- κ B and MCP-1 protein all increased after photocoagulation, there were statistical differences in CNV area between different time points (all $P < 0.05$). The expression of VEGF mRNA gradually strengthened, there were statistical differences in CNV area between different time points (all $P < 0.05$). There were positive correlation between NF- κ B protein expression and CNV area, MCP-1 protein, VEGF mRNA, FFA (IOD) ($r = 0.951, 0.924, 0.976, 0.824$, all $P < 0.05$). **Conclusion** NF- κ B plays an important role in the development of CNV, which may be one of the prospective targets in treating CNV.

【Rec Adv Ophthalmol, 2014, 34 (2): 114-118】

【关键词】 脉络膜新生血管; 核因子- κ B; 单核细胞趋化蛋白-1; 血管内皮生长因子; 大鼠

【摘要】 **目的** 观察核因子- κ B (nuclear factor-kappa B, NF- κ B) 在氩激光诱导的 BN 大鼠脉络膜新生血管 (choroidal neovascularization, CNV) 中的表达。 **方法** 健康雄性 BN 大鼠 48 只, 随机选择一眼作为实验眼, 建立 CNV 动物模型。于光凝后 1 周、2 周、3 周、4 周、5 周、6 周、7 周、8 周行 FFA 检查后, 分别于不同时间点各摘除 6 只 BN 大鼠的眼球, 检测 NF- κ B 蛋白和单核细胞趋化蛋白-1 (monocyte chemoattractant protein-1, MCP-1) 的表达及 VEGF mRNA 的情况, 并测量不同时期 CNV 面积及 FFA 检查时荧光渗漏情况。 **结果** 病理切片观察及 FFA 检测发现, 光凝后 CNV 逐渐形成, CNV 面积随时间推移不断增大, 不同时间点间 CNV 面积差异均有统计学意义 (均为 $P < 0.05$)。免疫组织化学检测结果表明, 光凝后 NF- κ B 蛋白、MCP-1 蛋白的表达均显著增加, 不同时间点间差异均有统计学意义 (均为 $P < 0.05$)。原位杂交检测结果表明, 光凝后不同时间 VEGF mRNA 的表达逐渐增强, 各时间点间差异均有统计学意义 (均为 $P < 0.05$)。相关性研究结果表明, NF- κ B 蛋白表达情况与 CNV 面积、MCP-1、VEGF mRNA 及 FFA (IOD) 均呈显著正相关 ($r = 0.951, 0.924, 0.976, 0.824$, 均为 $P < 0.05$)。 **结论** NF- κ B 可能在 CNV 发生发展中起了很重要的作用, 可能成为将来治疗 CNV 很好的靶点。

【眼科新进展, 2014, 34 (2): 114-118】

核因子- κ B (nuclear factor-kappa B, NF- κ B) 是 1986 年首先从 B 细胞核中提取到, 近年在肿瘤中研究较热的一个核转录因子, 参与多种炎症细胞因子、趋化因子及免疫基因表达的转录和调节。一般情况下, NF- κ B 与其抑制蛋白 I κ B (inhibitory κ B, I κ B) 结合呈非活性状态, 但受刺激后可以和 I κ B 解离, 进入

细胞核内, 参与细胞因子、黏附分子、生长因子和急性蛋白等因子的转录调控, 在疾病的调节, 尤其是炎症性疾病的启动中起重要作用^[1]。近年来研究的焦点在于 NF- κ B 在新生血管形成中的作用^[2-3]。本实验仅就 NF- κ B 在脉络膜新生血管 (choroidal neovascularization, CNV) 中的表达作一研究。

1 材料与方法

1.1 仪器设备与主要药品试剂 氦激光机(美国 Coherent 公司,型号为 Novua 2000);FFA 摄像机(德国 Heideberg 公司);Image-Pro Plus 5.1 图像分析系统(美国 Media Cybernetics 公司)。小鼠抗大鼠 NF- κ B 单克隆抗体 0.1 mL、AEC 显色试剂盒(北京中杉金桥生物技术有限公司);兔抗大鼠单核细胞趋化蛋白-1(monocyte chemoattractant protein-1, MCP-1)多克隆抗体、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)原位杂交检测试剂盒、即用型 SABC 试剂盒、0.01 mol \cdot L⁻¹ 枸橼酸盐缓冲液、SP-9002 免疫组织化学染色试剂盒(武汉博士德生物工程有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 BN 大鼠 CNV 模型的建立 48 只健康雄性棕色 BN 大鼠由中国医学科学院实验动物中心提供,系清洁级动物,体质量 200 ~ 220 g,随机选取一眼作为实验眼。0.5 g \cdot L⁻¹ 复方托品酰胺滴眼液滴双眼散瞳,左下腹腔内注射 100 g \cdot L⁻¹ 水合氯醛溶液(3.0 mL \cdot kg⁻¹)麻醉,检查双眼前节和眼底均正常。依照赵世红等^[4]的方法建立 CNV 动物模型,实验眼前放置 -53 D 的接触镜,氦激光(647 nm)距视盘等距离围绕视盘视网膜光凝 20 点。激光参数:功率 360 mW,光斑直径 100 μ m,曝光时间 0.05 s。

1.2.2 FFA 检查 分别于视网膜光凝后 1 周、2 周、3 周、4 周、5 周、6 周、7 周、8 周,各选取 6 只大鼠进行全身麻醉、散瞳,腹腔内注射 100 g \cdot L⁻¹ 荧光素钠 0.3 mL,行 FFA 检查。每个时间点选取 6 张 FFA 图像,进行积分光密度(integrated optical density, IOD)值计算,取其平均值。

1.2.3 病理标本的制作 分别在 1 周、2 周、3 周、4 周、5 周、6 周、7 周、8 周深度麻醉下,随机摘除 6 只 BN 大鼠的双眼眼球,使用二乙基焦碳酸酯(diethyl-procarbonate, DEPC)处理过的蒸馏水冲洗,置于 40 g \cdot L⁻¹ 多聚甲醛-0.1 mol \cdot L⁻¹ PBS-DEPC 液中固定 2 h。梯度酒精脱水、透明、浸蜡、包埋,蜡块 4 $^{\circ}$ C 保存备用。眼球组织 5 μ m 厚度连续切片,置于 50 $^{\circ}$ C DEPC 处理过的蒸馏水中展片,捞片,置烤箱 37 $^{\circ}$ C 烤片 12 h 后,4 $^{\circ}$ C 保存,备用做 HE 染色、免疫组织化学检测及原位杂交检测。400 倍显微镜下观察 CNV 生长情况,免疫组织化学方法检测 NF- κ B、MCP-1 蛋白表达及 VEGF mRNA 的转录情况,并测量不同时期 CNV 面积。

1.2.4 NF- κ B 与 MCP-1 的免疫组织化学检测 石蜡切片,常规脱蜡至水;体积分数 30% H₂O₂ 室温孵育 10 min,阻断内源性过氧化物酶活性;微波中火加热 15 min 进行抗原微波炉热修复;免疫组织化学检测步骤依照试剂盒说明书进行,分别滴加一抗兔抗大鼠 MCP-1 多克隆抗体(1 : 70)和小鼠抗大鼠的

NF- κ B 单克隆抗体(1 : 70),4 $^{\circ}$ C 过夜;滴加 AEC 显色剂,室温显色,镜下控制反应时间(3 ~ 10 min);苏木素轻度复染 10 s,水溶性封片剂封片。0.01 mmol \cdot L⁻¹ 的 PBS 取代一抗孵育,作为阴性对照,试剂盒中已知阳性切片作为阳性对照。切片内被染成红色的点或团簇为阳性反应物。400 倍光镜下,选取每个眼球连续切片中含有最大 CNV 直径的切片,对每张切片的 NF- κ B 与 MCP-1 蛋白表达的免疫着色 IOD 值进行测量,取 5 张切片的平均 IOD 值作为每个标本的观察值,并观察 CNV 生长及细胞浸润情况。

1.2.5 VEGF 的原位杂交检测 石蜡切片常规脱蜡至 DEPC 水;体积分数 30% H₂O₂ 室温作用 10 min,灭活内源性酶;切片上滴加 30 g \cdot L⁻¹ 胃蛋白酶室温消化 10 min 暴露 mRNA 片段;10 g \cdot L⁻¹ 多聚甲醛 0.1 mol \cdot L⁻¹ PBS-DEPC 室温固定 10 min;滴加 20 μ L 预杂交液,于杂交湿盒中 40 $^{\circ}$ C 预杂交 3 h;滴加含 VEGF 寡核苷酸标记探针的杂交液 20 μ L,原位杂交专用盖玻片盖在玻片上,置湿盒中于 42 $^{\circ}$ C 杂交 18 h,依照试剂盒说明书进行杂交;AEC 室温显色,镜下控制反应时间,苏木素复染 20 s,GVA 水溶性封片剂封片。呈团簇、点状的红色着色为阳性。用不含探针的杂交液进行杂交作为阴性对照,试剂盒中已知阳性切片作为阳性对照。400 倍光镜下,选取每个眼球连续切片中含有最大 CNV 直径的切片,对每张切片的 VEGF mRNA 阳性着色的 IOD 值进行测量,取 5 张切片的平均 IOD 值作为每个标本的观察值,并观察 CNV 生长及细胞浸润情况。

1.3 图像分析与数据处理 应用 Image-Pro Plus 5.1 图像分析系统对 NF- κ B、MCP-1 蛋白表达的阳性着色及 VEGF mRNA 的阳性着色、CNV 面积、FFA 检查结果(IOD 值)进行半定量分析。

1.4 统计学处理 应用 SPSS 13.0 统计软件包进行统计学处理,实验测试指标的数据资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,不同时间点内组内差异的显著性情况用单因素方差分析,组间两两比较用 S-N-K 检验。同时,分别对 NF- κ B 蛋白与 MCP-1、VEGF mRNA、CNV 面积、FFA 检查结果(IOD 值)进行相关性分析。

2 结果

2.1 光凝后不同时间点 CNV 面积及 FFA (IOD 值)情况 由 BN 大鼠的病理切片可见,正常 BN 大鼠视网膜、脉络膜各层组织结构清晰,光凝后 1 周可见 Bruch 膜破裂,少量 CNV 形成,之后 CNV 面积逐渐增加,至光凝后 8 周可见明显 CNV 形成(图 1),不同时间点 CNV 面积间差异均有统计学意义(均为 $P < 0.05$;见表 1)。FFA 检查结果示,光凝后早期可见在激光光凝损伤区小的、沿光凝斑较淡的云雾状荧光渗漏,2 周后荧光渗漏明显增强,之后荧光渗漏扩散,表现为晚期强荧光。不同时间点荧光渗漏的

IOD 值检测结果表明,随时间推移 IOD 呈逐渐增加趋势(表 1)。

2.2 光凝后不同时间点 NF- κ B 蛋白、MCP-1 和 VEGF mRNA 的表达情况 免疫组织化学检测结果显示,NF- κ B 蛋白在光凝后 1 周即有表达,主要表达于 CNV 组织中的色素上皮细胞、巨噬细胞及血管内皮细胞,之后表达逐渐增多,至 8 周时达到高峰(图 2);IOD 检测结果显示,光凝后不同时间点间 NF- κ B

蛋白表达差异均有统计学意义(均为 $P < 0.05$;见表 2)。光凝后 1 周 MCP-1 呈微弱点状表达,之后表达逐渐增强,至第 8 周时达到高峰(图 3,表 2)。原位杂交检测结果表明,VEGF mRNA 的表达主要位于 CNV 的新生血管组织中,可见红色的阳性表达物随时间延长逐渐增加,不同时间点间差异均具有统计学意义(均为 $P < 0.05$;见表 2)。

Figure 1 Changes of CNV after photocoagulation. A: At 1 week after photocoagulation, broken bruch membrane could be obviously seen, a small amount of CNV formed; B: At 8 weeks after photocoagulation, CNV obvious formed 光凝后 CNV 的变化。A: 光凝后 1 周,可见 Bruch 膜破裂,少量 CNV 形成; B: 光凝后 8 周,可见明显的 CNV 形成

Figure 2 Expression of NF- κ B in CNV. A: At 1 week after photocoagulation, NF- κ B in CNV tissues weakly expressed and scattered; B: At 8 weeks after photocoagulation, NF- κ B expression reached the peak NF- κ B 蛋白在 CNV 中的表达。A: 光凝后 1 周, NF- κ B 在 CNV 组织中散在微弱表达; B: 光凝后 8 周, NF- κ B 表达达到高峰

Figure 3 Expression of MCP-1 in CNV. A: At 1 week after photocoagulation, MCP-1 protein was weakly expressed; B: At 8 weeks after photocoagulation, MCP-1 expression reached the peak MCP-1 蛋白在 CNV 中的表达。A: 光凝后 1 周 MCP-1 呈微弱点状表达; B: 光凝后 8 周, MCP-1 表达达到高峰

表1 不同时间点 CNV 面积和 FFA 检查结果
Table 1 Changes of CNV area and FFA (IOD) at different time points after photocoagulation

($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Time	CNV area ($S/\mu m^2$)	IOD
1 week	3981.42 \pm 608.07	268.38 \pm 61.91
2 weeks	4864.28 \pm 146.80 *	557.88 \pm 94.58 *
3 weeks	5381.77 \pm 170.64 *	663.30 \pm 69.13 *
4 weeks	6122.99 \pm 202.08 *	718.12 \pm 33.14
5 weeks	6631.10 \pm 517.24 *	828.66 \pm 40.75 *
6 weeks	7448.10 \pm 423.42 *	872.87 \pm 64.63
7 weeks	9368.43 \pm 435.50 *	906.57 \pm 40.19
8 weeks	10 470.63 \pm 353.90 *	967.57 \pm 33.78

Note: Compared with previous group, * $P < 0.05$

表2 不同时间点 NF- κ B 蛋白、MCP-1 和 VEGF mRNA 的表达变化

Table 2 Changes of NF- κ B, MCP-1, VEGF mRNA expression at different time points after photocoagulation

($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Time	NF- κ B	MCP-1	VEGF mRNA
1 week	14.50 \pm 3.47	11.96 \pm 4.87	16.72 \pm 4.22
2 weeks	31.48 \pm 8.37 *	58.23 \pm 8.94 *	60.64 \pm 6.49 *
3 weeks	55.21 \pm 12.02 *	100.04 \pm 12.73 *	81.83 \pm 13.15 *
4 weeks	89.89 \pm 12.76 *	130.09 \pm 4.71 *	116.41 \pm 11.42 *
5 weeks	125.42 \pm 7.35 *	180.02 \pm 10.24 *	151.35 \pm 12.63 *
6 weeks	174.57 \pm 9.03 *	330.31 \pm 15.11 *	212.92 \pm 12.92 *
7 weeks	215.26 \pm 11.33 *	390.51 \pm 11.97 *	322.01 \pm 9.88 *
8 weeks	379.96 \pm 12.66 *	421.88 \pm 9.13 *	417.41 \pm 18.66 *

Note: Compared with previous group, * $P < 0.05$

2.3 相关性分析 将 NF- κ B 蛋白表达情况与 CNV 面积、MCP-1、VEGF mRNA 及 FFA (IOD) 结果进行相关性分析发现, NF- κ B 蛋白与上述各因素间均呈显著正相关 ($r = 0.951, 0.924, 0.976, 0.824$, 均为 $P < 0.05$)。

3 讨论

NF- κ B 是一个普遍存在的转录因子, 具有广泛的生物学活性。1986 年, Sen 和 Baltimore 首先从 B 淋巴细胞核抽提物中检出 NF- κ B, 它是可与免疫球蛋白的轻链基因增强子 κ B 序列 (GGGACTTTCC) 特异结合的核蛋白因子。在哺乳动物细胞中最常见的二聚体是 p50/RelA 异源二聚体, 也称 NF- κ B。NF- κ B 的结合位点可接受多种免疫刺激, 细胞浆中 NF- κ B/I κ B 复合物中 I κ B 磷酸化而与 NF- κ B 解离, 继而 NF- κ B 进入细胞核, 作用于靶基因, 迅速诱导基因的表达, 并产生级联效应。NF- κ B 作为具有多向调节功能的转录因子, 广泛参与许多基因的转录调控, 如趋化因子和酶的表达调控, 防止凋亡和死亡, 以及编码血管形成因子或黏附分子等的基因调控^[5-7]。目前的研究表明, NF- κ B 可能对血管形成具有核心的调节作用^[7-8]。尽管目前对 NF- κ B 在新生血管形成中的参与机制还没有详细的阐明, 但现有证据表明 NF- κ B 在毛细血管形成中起到一定作用, 并且它也

是视网膜新生血管形成的必要因子^[6-9]。

NF- κ B 总是被缺氧诱导^[5], Yoshida 等^[10] 和 Hammes 等^[11] 在视网膜新生血管模型中研究发现, 因为视网膜血管主要供应视网膜内层结构, 在视网膜相对缺氧状态下, NF- κ B 主要在视网膜内核层和神经纤维层的胶质细胞和内皮细胞的细胞核中表达。缺氧是缺血性视网膜病变和年龄相关性黄斑变性患者中 CNV 的共同启动因素。在本实验的 BN 大鼠 CNV 模型中, 激光光凝导致脉络膜毛细血管萎缩, 故引起 RPE、外层视网膜和脉络膜组织的缺血缺氧。我们在 BN 大鼠的眼球组织切片中, 采用小鼠抗大鼠的 NF- κ B 单克隆抗体检测其表达定位, 在正常的视网膜、脉络膜组织中几乎不能检测到 NF- κ B 的表达, 而 CNV 组织中的血管内皮细胞、巨噬细胞、增生的色素上皮细胞及少量的视网膜外颗粒层组织均有 NF- κ B 的表达。除了损伤区的缺血缺氧致 NF- κ B 表达增加外, 直接的激光损伤导致的在视网膜和脉络膜组织中的防御和修复反应, 也引起了 NF- κ B 的表达增加。在 1 ~ 8 周内 NF- κ B 的表达与 CNV 面积、FFA (IOD)、VEGF mRNA 呈正相关, 揭示 NF- κ B 在 CNV 的形成中起了重要作用。这点与以往报道^[12] 结果一致。在本实验中, NF- κ B 除在增生的新生血管内皮细胞表达外, 也在迁移增生的色素上皮细胞中表达, 我们推测 NF- κ B 可能介导了血管内皮细胞和色素上皮细胞的增生。有研究者在体外实验模型中发现, NF- κ B 反义寡核苷酸和 PDTC (NF- κ B 活化的抑制剂) 可以抑制新生血管形成^[6]。因此我们推测, NF- κ B 为治疗视网膜新生血管及 CNV 提供了一个干预点。还有实验者发现在激光诱导的小鼠 CNV 中, 姜黄素降低了 MCP-1 的表达及 NF- κ B 的活化, 抑制了 CNV 的形成^[13]。

NF- κ B 对于毛细血管的形成是很重要的, 尽管不能确定到底是在哪一步依赖于 NF- κ B, 但是 NF- κ B 对于抑制凋亡是必需的, 许多黏附分子的激活也需要 NF- κ B。此外, NF- κ B 可以诱导基质金属蛋白酶和 VEGF 受体 flk-1 的表达, 对 VEGF 可能有正向调节作用^[14-15], VEGF 基因包含转录因子 NF- κ B 和 AP-1 的识别位点^[16]。Shono 等^[6] 研究证实 NF- κ B 可以在体外调节新生血管形成, 这进一步证明了 NF- κ B 的强有力的促血管形成功能。在本实验研究中, 可见 VEGF mRNA 的基因表达主要位于 CNV 中的新生血管组织内, 且在 CNV 发展的 8 周内, 呈逐渐增加的趋势, 随 NF- κ B 蛋白表达的增强而增强, 二者的表达呈正相关 ($P < 0.05$), 说明 VEGF 在缺氧状态下可在眼内组织中表达, 且 NF- κ B 的活化对于它的表达是必要的。此外, NF- κ B 正向调节 VEGF mRNA 转录水平, VEGF 反过来又能增强 NF- κ B 的结合能力, 共同促进新生血管的形成^[1]。

MCP-1 是已知最有效的巨噬细胞趋化因子, 主要由单核细胞、淋巴细胞、成纤维细胞、内皮细胞以

及视网膜色素上皮细胞^[17-18]产生,但几乎所有的细胞和组织经适当刺激后均能产生 MCP-1。细胞在缺氧状态下, NF- κ B 活化引起 MCP-1 的产生增加^[19]。本研究证实, MCP-1 主要在 CNV 的新生血管内皮细胞周围及色素上皮细胞和巨噬细胞周围表达,并且随时间推移而增加。MCP-1 参与了炎症细胞在 CNV 部位的聚集,在实验模型及手术剥离的 CNV 中已经证实巨噬细胞存在于 CNV 的基质中^[20],由巨噬细胞产生的炎症因子和生长因子参与了血管形成和 CNV 的细胞移行。大量巨噬细胞和增生的视网膜色素上皮细胞浸润在 CNV 组织中,与 MCP-1 的表达增加有一定关系。Shyy 等^[21]曾报道, MCP-1 基因的 5' 侧翼序列区有几个作用元件与 NF- κ B 的结合基序具有同源性。NF- κ B 一旦活化,可以产生信号级联反应导致磷酸化和 I κ B 降解; NF- κ B 在摆脱了 I κ B 后,可以易位到细胞核内,引起 MCP-1 基因的转录。本研究结果可见,光凝后 1~8 周 MCP-1 的表达与 NF- κ B 呈正相关。

Jo 等^[22]采用以脂质体为载体视网膜下注射的方法在实验性 CNV 中转染,以对抗 NF- κ B 在核内结合位点的顺式作用元件的“decoy”(一段双链磷硫寡核苷酸),成功地将“decoy”转染到 CNV 的色素上皮细胞和巨噬细胞中。FFA 显示激光诱导的 CNV 的形成被抑制。表明以 NF- κ B 为靶点的“decoy”是一个很有效的治疗新生血管的方法。Hara 等^[23]利用小鼠 CNV 模型中腹腔注射 N-乙酰半胱氨酸,发现可以抑制 NF- κ B 活化从而抑制 CNV 形成。

总之, NF- κ B 可激活前炎症性细胞因子、趋化因子、细胞间黏附分子等的靶基因,上调这些细胞因子的表达,这些靶基因的表达产物又反过来激活 NF- κ B,从而形成恶性循环加重局部和全身炎症反应^[23], NF- κ B 在 CNV 中表达持续增加,可能在 CNV 的起始和发展中起了很重要的作用。

参考文献

- Chen F, Eriksson P, Hansson GK, Herzfeld I, Klein M, Hansson LO, et al. Expression of matrix metalloproteinase 9 and its regulators in the unstable coronary atherosclerotic plaque [J]. *Int J Mol Med*, 2005, 15 (1): 57-65.
- Arjamaa O, Nikinmaa M, Salminen A, Kaamiranta K. Regulatory role of HIF-1 α in the pathogenesis of age-related macular degeneration (AMD) [J]. *Ageing Res Rev*, 2009, 8 (4): 349-358.
- Moreira EF, Larrayoz IM, Lee JW, Rodríguez IR. 7-Ketocholesterol is present in lipid deposits in the primate retina: Potential implication in the induction of VEGF and CNV formation [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2009, 50 (2): 523-532.
- 赵世红, 何守志. 氮激光诱导的大鼠脉络膜新生血管模型研究 [J]. *中华眼科杂志*, 2003, 39 (5): 298-302.
- Grilli M, Chiu JJ, Lenardo MJ. NF- κ B and Rel: Participants in a multifactorial transcriptional regulatory system [J]. *Int Rev Cytol*, 1993, 143 (1): 1-62.
- Shono T, Ono M, Izumi H, Jimi SI, Matsushima K, Okamoto T, et al. Involvement of the transcription factor NF- κ B in tubular morphogenesis of human microvascular endothelial cells by oxidative stress [J]. *Mol Cell Biol*, 1996, 16 (8): 4231-4239.
- Yoshida S, Ono M, Shono T, Izumi H, Ishibashi T, Suzuki H, et al. Involvement of interleukin-8, vascular endothelial growth factor, and basic fibroblast growth factor in tumor necrosis factor α -dependent angiogenesis [J]. *Mol Cell Biol*, 1997, 17 (7): 4015-4023.
- Oitzinger W, Hofer-Warbinek R, Schmid JA, Koshelnick Y, Binder BR, de Martin R. Adenovirus-mediated expression of a mutant I κ B kinase 2 inhibits the response of endothelial cells to inflammatory stimuli [J]. *Blood*, 2001, 97 (6): 1611-1617.
- 陈慷, 盛艳娟. 核因子- κ B 在糖尿病大鼠视网膜中的表达和意义 [J]. *眼科新进展*, 2010, 30 (1): 31-34.
- Yoshida A, Yoshida S, Hata Y, Khalil AK, Ishibashi T, Inomata H. The role of NF- κ B in retinal neovascularization in the rat: Possible involvement of cytokine-induced neutrophil chemoattractant (CINC), a member of the interleukin-8 family [J]. *J Histochem Cytochem*, 1998, 46 (4): 429-436.
- Hammes HP, Hoerauf H, Alt A, Schleicher E, Clausen JT, Bretzel RG, et al. N(epsilon)-carboxymethyl lysin and the AGE receptor RAGE colocalize in age-related macular degeneration [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 1999, 40 (8): 1855-1859.
- Wu T, Handa JT, Gottsch JD. Light-induced oxidative stress in choroidal endothelial cells in mice [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2005, 46 (4): 1117-1123.
- Xie P, Zhang W, Yuan S, Chen Z, Yang Q, Yuan D, et al. Suppression of experimental choroidal neovascularization by curcumin in mice [J]. *PLoS One*, 2012, 7 (12): e53329-53334.
- Yu HG, Zhong X, Yang YN, Luo HS, Yu JP, Meier JJ, et al. Increased expression of nuclear factor-kappaB/RelA is correlated with tumor angiogenesis in human colorectal cancer [J]. *Int J Colorectal Dis*, 2004, 19 (1): 18-22.
- Nagineni CN, Kommineni VK, William A, Detrick B, Hooks JJ. Regulation of VEGF expression in human retinal cells by cytokines: implications for the role of inflammation in age-related macular degeneration [J]. *J Cell Physiol*, 2012, 227 (1): 116-126.
- Bancroft CC, Chen Z, Dong G, Sunwoo JB, Yeh N, Park C, et al. Coexpression of proangiogenic factors IL-8 and VEGF by human head and neck squamous cell carcinoma involves coactivation by MEK-MAPK and IKK-NF- κ B signal pathways [J]. *Clin Cancer Res*, 2001, 7 (2): 435-442.
- Bian ZM, Elner VM, Yoshida A, Kunkel SL, Elner SG. Signaling pathways for glycated human serum albumin-induced IL-8 and MCP-1 secretion in human RPE cells [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2001, 42 (7): 1660-1668.
- Bian ZM, Elner SG, Yoshida A, Elner VM. Differential involvement of phosphoinositide 3-kinase/Akt in human RPE MCP-1 and IL-8 expression [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2004, 45 (6): 1887-1896.
- Lakshminarayanan V, Lewallen M, Frangogiannis NG, Evans AJ, Wedin KE, Michael LH, et al. Reactive oxygen intermediates induce monocyte chemotactic protein-1 in vascular endothelium after brief ischemia [J]. *Am J Pathol*, 2001, 159 (4): 1301-1311.
- Grossniklaus HE, Hutchinson AK, Capone A, Woolfson J, Lambert HM. Clinicopathologic features of surgically excised choroidal neovascular membranes [J]. *Ophthalmology*, 1994, 101 (6): 1099-1111.
- Shyy Y, Li Y, Kolattukudy PE. Structure of human monocyte chemotactic protein gene and its regulation by TPA [J]. *Biochem Biophys Res Comm*, 1990, 169 (2): 346-351.
- Jo N, Ogata N, Aoki M, Otsuji T, Morishita R, Kaneda Y, et al. Effective transfection of a cis element “decoy” of the nuclear factor-kappa B binding site into the experimental choroidal neovascularization [J]. *Curr Eye Res*, 2002, 24 (6): 465-473.
- Hara R, Inomata Y, Kawaji T, Sagara N, Inatani M, Fukushima M, et al. Suppression of choroidal neovascularization by N-acetyl-cysteine in mice [J]. *Curr Eye Res*, 2010, 35 (11): 1012-1020.