

引文格式: 田丽丽, 任兵, 高晓唯, 罗英, 蔡岩, 周琨, 等. 玻璃体内注射索拉非尼对大鼠氧诱导视网膜病变模型新生血管的作用[J]. 眼科新进展, 2014, 34 (2): 140-143. doi: 10.13389/j.cnki.rao.2014.0035

【实验研究】

玻璃体内注射索拉非尼对大鼠氧诱导视网膜病变模型新生血管的作用

田丽丽 任兵 高晓唯 罗英 蔡岩 周琨 杜安杰

作者简介: 田丽丽, 女, 1986年12月出生, 山东日照人, 在读硕士研究生。研究方向: 眼底病和眼肌学。联系电话: 0991-6871801; E-mail: sophia119@yeah.net, 599104481@qq.com

About TIAN Li-Li: Female, born in December, 1986. Master degree. Tel: +86-991-6871801; E-mail: sophia119@yeah.net, 599104481@qq.com

收稿日期: 2013-09-11
修回日期: 2013-11-05

本文编辑: 盛丽娜

作者单位: 830002 新疆维吾尔自治区石河子市, 石河子大学医学院 (田丽丽, 周琨); 830013 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市, 解放军第474医院 全军眼科中心 (田丽丽, 任兵, 高晓唯, 罗英, 蔡岩, 周琨); 044000 山西省运城市中心医院眼科 (杜安杰)

通讯作者: 任兵, E-mail: Rb54391@sohu.com

Received date: Sep 11, 2013

Accepted date: Nov 5, 2013

From the Medical College of Shihezi University (TIAN Li-Li, ZHOU Kun), Shihezi 830002, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China; Ophthalmic Center, No. 474 Hospital of Chinese PLA (TIAN Li-Li, REN Bing, GAO Xiao-Wei, LUO Ying, CAI Yan, ZHOU Kun), Urumqi 830013, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China; Department of Ophthalmology, Yuncheng Central Hospital (DU An-Jie), Yuncheng 044000, Shanxi Province, China

Responsible author: REN Bing, E-mail: Rb54391@sohu.com

group B and group C (all $P < 0.05$). **Conclusion** In the rat OIR model, sorafenib can inhibit retinal neovascularization in a dose dependent manner.

[Rec Adv Ophthalmol, 2014, 34 (2): 140-143]

【关键词】 索拉非尼; 氧诱导视网膜病变; 新生血管; 酪氨酸激酶抑制剂

【摘要】 目的 探讨玻璃体内注射索拉非尼对氧诱导视网膜病变 (oxygen-induced retinopathy, OIR) 大鼠模型视网膜新生血管的作用。方法 7 d 龄 SD 乳鼠 144 只, 随机分为 6 组: A 组: 对照组; B 组: ROP 组; C 组: ROP 溶媒对照组; D 组: ROP + 5 μg 索拉非尼组; E 组: ROP + 20 μg 索拉非尼组; F 组: ROP + 80 μg 索拉非尼组。除 A 组在正常氧环境下饲养外, 其余各组乳鼠均建立 OIR 模型。乳鼠于生后第 12 天出氧箱后给予玻璃体内注射 DMSO 及相应剂量的索拉非尼, 于生后第 17 天处死, 做视网膜铺片, 并于激光共聚焦显微镜下观察视网膜血管形态并在高倍视野下计数血管分支点数目; 组织切片 HE 染色观察视网膜组织形

Effects of intravitreal injection of sorafenib on neovascularization in oxygen-induced retinopathy of rat

TIAN Li-Li, REN Bing, GAO Xiao-Wei, LUO Ying, CAI Yan, ZHOU Kun, DU An-Jie

【Key words】 sorafenib; oxygen-induced retinopathy; neovascularization; tyrosine kinase inhibitors

【Abstract】 **Objective** To investigate the effects of intravitreal injection of sorafenib on neovascularization model of oxygen-induced retinopathy (OIR) of rat. **Methods** Seven-day-old Sprague-Dawley rats (144 cases) were randomly divided into controlled group (group A), ROP group (group B), vehicle-treated ROP group (group C), 5 μg sorafenib-treated ROP group (group D), 20 μg sorafenib-treated ROP group (group E) and 80 μg sorafenib-treated ROP group (group F). Group A received normal partial oxygen pressure, and group B, C, D, E and F were established the OIR model. Then, at postnatal 12 days, the rats were returned to normal oxygen till P17. The rats in groups D, E and F were received intravitreal injections of sorafenib (5 μg , 20 μg and 80 μg , respectively) at postnatal 12 days. The rats in groups C were received intravitreal injections of DMSO. Then the retinas were whole-mounted and imaged with a confocal microscope. The vascular branching points were counted to quantify neovascularization in high magnification at postnatal 17 days. Cross-sections of the retina were stained with HE. The nuclei of new vessels breaking through the internal limiting membrane were counted to quantify the proliferative neovascular response. **Results** Retinal flat mounts shows that the retinal vessel in group B and C turned into tortuosity. Moreover, great deals of neovascularization were observed. Sorafenib-treated rats had significantly less neovascularization as compared with vehicle-treated and control rats in a dose dependent manner. The number of vascular branching points in group A, B, C, D, E and F were 16.50 ± 3.90 , 37.44 ± 6.47 , 37.08 ± 5.10 , 30.80 ± 6.85 , 26.08 ± 5.08 and 19.83 ± 3.51 , respectively, there were statistical differences between each group except for group B and group C (all $P < 0.05$). HE staining showed that there were large numbers of retinal new vessel nuclei in group B and C. After treated with sorafenib, the number reduced significantly with a dose dependent manner. The number of retinal new vessel nuclei breaking through the internal limiting membrane in group A, B, C, D, E and F were 0.22 ± 0.42 , 35.66 ± 4.70 , 35.30 ± 4.54 , 27.30 ± 4.28 , 21.41 ± 3.53 and 7.41 ± 2.87 , respectively. There were significant differences between each group except for group B and group C (all $P < 0.05$). **Conclusion** In the rat OIR model, sorafenib can inhibit retinal neovascularization in a dose dependent manner.

态并计数突破内界膜的血管内皮细胞核数。**结果** 视网膜铺片显示,B组和C组视网膜血管迂曲扩张并形成大量新生血管,经索拉非尼治疗后,视网膜新生血管大幅度减少,且呈剂量依赖性。A组、B组、C组、D组、E组、F组血管分支点数目分别为 (16.50 ± 3.90) 个、 (37.44 ± 6.47) 个、 (37.08 ± 5.10) 个、 (30.80 ± 6.85) 个、 (26.08 ± 5.08) 个、 (19.83 ± 3.51) 个;除B组与C组差异无统计学意义外,其余各组间差异均有统计学意义(均为 $P < 0.05$)。HE染色显示,B组和C组有大量突破内界膜的血管内皮细胞核,经索拉非尼治疗后,突破内界膜的血管内皮细胞核明显减少,且呈剂量依赖性。A组、B组、C组、D组、E组、F组突破视网膜内界膜的血管内皮细胞核数分别为 (0.22 ± 0.42) 个、 (35.66 ± 4.70) 个、 (35.30 ± 4.54) 个、 (27.30 ± 4.28) 个、 (21.41 ± 3.53) 个、 (7.41 ± 2.87) 个;除B组与C组间差异无统计学意义外,其余各组间差异均有统计学意义(均为 $P < 0.05$)。**结论** 索拉非尼能够有效抑制大鼠OIR模型视网膜新生血管的生成,且抑制效果呈剂量依赖性。

[眼科新进展,2014,34(2):140-143]

早产儿视网膜病变(retinopathy of prematurity, ROP)是发生于早产儿或低体质量儿的增生性视网膜病变,是儿童致盲性眼病之一^[1]。近年来随着围产期医疗水平的提高,超低出生体质量儿存活率不断提高,同时ROP发病率也随之提升^[1-3]。虽然激光冷冻治疗对ROP有良好的效果,但激光冷冻治疗会造成患儿视野缺损、视力下降等并发症甚至导致失明^[3-5];而且手术治疗对医疗设备和医生的技术要求很高,不适宜推广。因此,寻求一种简单、微创、安全、适于推广的治疗方式迫在眉睫。本实验选择视网膜血管病理改变与人类ROP的病理过程高度相似的氧诱导视网膜病变(oxygen-induced retinopathy, OIR)的大鼠模型,通过玻璃体内注射不同剂量的索拉非尼,观察索拉非尼对视网膜新生血管的抑制作用,为ROP的治疗提供新的思路 and 理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料 实验动物:7 d龄健康SD大鼠144只(新疆医科大学动物中心提供),体质量约14 g,系清洁级动物,雌雄不限,与哺乳母鼠共同饲养。所有实验动物都遵循视觉和眼科研究(research in vision and ophthalmology)中陈述的动物使用原则。

主要试剂和仪器:索拉非尼(Selleckchem,美国),荧光素标记的isolectin B4(Vector,英国)。数字测氧仪(梅城电化分析仪器厂,中国),微量进样器(hamilton,美国),激光共聚焦显微镜(Leica TCS SP8,德国),手术显微镜(TOPCON,OMS-110,日本)。

1.2 方法

1.2.1 实验动物分组 144只7 d龄SD大鼠随机分为6组,每组24只,分别为:A:对照组;B:ROP组;C:ROP溶媒对照组;D:ROP+5 μg 索拉非尼组;E:ROP+20 μg 索拉非尼组;F:ROP+80 μg 索拉非尼组。

1.2.2 OIR模型的建立 A组乳鼠置于正常氧环境中饲养,至生后第17天处死。其余7 d龄SD乳鼠置于体积分数为 $85\% \pm 2\%$ 的氧箱中饲养至生后第12天,然后再放于空气中饲养至生后第17天处死。母鼠伴随乳鼠共同饲养。每48 h开箱替换母鼠,更换垫料,添加饲料、水,开箱时间控制在15 min内。

1.2.3 玻璃体内注药 将5 μg 、20 μg 、80 μg 索拉

非尼分别溶于DMSO中,配制成不同浓度的索拉非尼溶液:1 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、4 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、16 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。C组、D组、E组、F组于生后第12天经腹腔注射43 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 水合氯醛0.01 $\text{mL} \cdot \text{g}^{-1}$ 麻醉,复方托吡卡胺散瞳,抗生素眼液、倍诺喜眼液术前滴眼,角巩膜缘后1 mm垂直进针,左眼分别玻璃体内注射5 μL 的DMSO溶液及1 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、4 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、16 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的索拉非尼溶液。注射后均每日氧氟沙星滴眼。

1.2.4 视网膜铺片 至生后第17天时,各组随机取12只乳鼠经43 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 水合氯醛0.01 $\text{mL} \cdot \text{g}^{-1}$ 腹腔注射过量麻醉,再经40 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 多聚甲醛心脏灌注后,迅速取下左眼球置于40 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 多聚甲醛中固定45 min,手术显微镜下去除眼前节,钝性分离视网膜,做4个放射状切口。PBS溶液置换固定液,荧光素标记的GSL I-isolectin B4(稀释比例1:1000)-HEPES 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育12 h,TBST换液洗涤3次;将视网膜铺片铺展在载玻片上,体积分数80%甘油封片,4 $^{\circ}\text{C}$ 避光保存。激光共聚焦显微镜下观察并拍照。每张铺片高倍镜下随机选3个视野计数血管分支点。

1.2.5 HE染色 至生后第17天取各组剩余的12只乳鼠,同1.2.4方法摘取左眼球,置于40 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 多聚甲醛中固定24 h后常规脱水,石蜡包埋,平行于角膜至视盘矢状位的3个平面连续切片,贴片,厚度5 μm ,每个平面间隔75 μm ,每只眼球选取6张切片(去掉有视神经的切片)用于检查。每组各随机抽取36张切片行HE染色,在显微镜下计数突破视网膜内界膜的血管内皮细胞核数目,计数时仅计数与内界膜有联系的血管内皮细胞核。

1.3 统计学分析 采用SPSS 17.0统计学软件进行统计学处理,实验计量数据采用均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,各组突破视网膜内界膜的血管内皮细胞核数目和血管分支点数进行多个样本均数比较的方差分析;多个样本均数间的两两比较采用SNK- q 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 视网膜铺片血管形态观察 A组视网膜血管由中央视盘发出,向四周放射状均匀分布,血管网络清晰,走行规则,血管形态正常。B组、C组视网膜大

分支血管迂曲扩张,深浅两层血管结构模糊不清,血管密度增加,尤其是中周部;血管走行极度紊乱,可见大量新生血管簇及微血管瘤形成。D组大血管迂曲,新生血管稍减少,深浅两层血管结构仍模糊。E组大血管迂曲现象明显好转,新生血管减少,深浅两层血管结构较清楚。F组新生血管明显减少,深浅两层血管结构基本正常(图1)。高倍视野下观察:A组血管网络清晰,走行规则,无血管迂曲;B组、C组血管纹理紊乱,血管层模糊,分支繁杂不规则,血管扩张迂曲变形;D组血管扩张有所减轻,走形仍紊乱,但较B组、C组稍好,血管分支稍减少;E组血管扩张明显减轻,走行渐规则,血管网较清晰,分支减少;F组管腔恢复正常,血管网络清晰,走形基本规则。

2.2 血管分支点计数 计数血管分支点数目:A组、B组、C组、D组、E组、F组分别为($16.50 \pm$

3.90)个、(37.44 ± 6.47)个、(37.08 ± 5.10)个、(30.80 ± 6.85)个、(26.08 ± 5.08)个、(19.83 ± 3.51)个,经统计学处理,各组间差异有统计学意义($F=97.97, P=0.00$);进一步两两比较,除B组与C组间差异无统计学意义($P=0.77$)外,其他各组间差异均有统计学意义(均为 $P<0.05$)。

2.3 视网膜 HE 染色 A组:视网膜各层结构完整,内界膜结构均一,血管内皮细胞排列整齐,几乎见不到血管内皮细胞突破内界膜;B组和C组:大量血管内皮细胞突破内界膜,单独或成簇出现,部分形成管腔,神经节细胞排列紊乱;D组:突破内界膜的细胞核稍减少,但仍有管腔形成;E组:突破内界膜的血管内皮细胞明显减少,未形成新生血管管腔;F组:内界膜结构基本均一,少量血管内皮细胞突破内界膜(图2)。

Figure 1 At postnatal 17 days, rat retinal flat mounts were stained with isolectin B4 and scanned with laser scanning confocal microscope of each group ($\times 100$). A: Group A; B: Group B; C: Group C; D: Group D; E: Group E; F: Group F 生后第17天时各组大鼠视网膜铺片(isolectin B4染色,激光共聚焦显微镜观察, $\times 100$)。A: A组; B: B组; C: C组; D: D组; E: E组; F: F组

Figure 2 At postnatal 17 days, rat retinal flat mounts were stained with HE of each group ($\times 200$). A: Group A; B: Group B; C: Group C; D: Group D; E: Group E; F: Group F 生后第17天时各组大鼠视网膜切片 HE 染色($\times 200$)。A: A组; B: B组; C: C组; D: D组; E: E组; F: F组

2.4 突破视网膜内界膜血管内皮细胞核计数 A组、B组、C组、D组、E组、F组突破视网膜内界膜的血管内皮细胞核数分别为(0.22 ± 0.42)个、(35.66 ± 4.70)个、(35.30 ± 4.54)个、(27.30 ± 4.28)个、(21.41 ± 3.53)个和(7.41 ± 2.87)个,经统计学处理,各组间差异有统计学意义($F=566.47, P=0.00$);进一步两两比较,除B组与C组间差异无统计学意义($P=0.68$)外,其他各组间比较差异均有统计学意义(均为 $P<0.05$)。

3 讨论

ROP发病机制尚未完全清楚,目前认为其病理生理过程主要分为两个阶段:(1)视网膜在高氧状态下,抑制血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)和其受体(VEGFR)-2的表达,血管闭塞消失;(2)暴露于室内空气中,视网膜处于

相对缺氧状态,VEGF和VEGFR-2的表达明显上调,导致病理性新生血管生成^[6-8]。

索拉非尼是小分子多靶点酪氨酸激酶抑制剂,已获得美国食品药品监督管理局(FDA)认证用于口服治疗晚期肾细胞癌。临床研究显示,索拉非尼通过作用于RAF/MEK/ERK信号转导通路抑制RAF激酶、VEGFR-2、血小板源性生长因子受体(platelet derived growth factor receptor, PDGFR)- β 、KIT和FLT-3表达,从而抑制血管新生和肿瘤生长^[9]。索拉非尼分子含有醚键、亲水性的酰胺基团和亲脂性的吡啶,使其具有良好的生物活性,加之其相对分子质量小、组织渗透力强、易于吸收^[10],而且其半衰期长^[11],可以减少眼内注射次数。同时,相对于重组人单克隆抗体贝伐单抗来说,索拉非尼是合成的尿素衍生物,其免疫原性风险较低。通过本实验的研究发现,索拉非尼能够有效地抑制大鼠OIR视网膜新生血管。暴

露于高氧的视网膜血管纹理紊乱,血管层模糊,分支繁杂不规则,血管扩张迂曲变形,微血管瘤众多,整个视网膜新生血管密度增加。制作视网膜铺片时发现视网膜血管脆性增加,易出血,周边部出血点显示为高荧光信号团块及周围散在高荧光点;而经索拉非尼治疗后,制作视网膜铺片出血明显减少,而正常组出血很少见,推测可能缺氧破坏了血管内皮细胞及内皮细胞间的紧密连接,致使血管脆性增加。血管密度越大,出血的几率也就越高。HE染色证实暴露于高氧的大鼠有大量突破内界膜的内皮细胞核,而且有相当一部分新生血管的内皮细胞核已进入玻璃体。这些内皮细胞可形成较大管腔,其内可见成串的红细胞,视网膜各层中也可见大量血管内皮细胞核,神经节细胞排列紊乱。经过玻璃体内注射 $1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $4 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $16 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 3个浓度梯度的索拉非尼之后,视网膜血管迂曲扩张不同程度减轻,大部分新生血管衰退,新生血管密度降低,血管纹理渐清,突破内界膜的内皮细胞减少。注射 $16 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 索拉非尼的新生血管抑制程度最大,血管结构基本恢复正常,说明剂量越大抑制效果越明显。

目前国内外关于 VEGFR、PDGFR 联合靶点的研究大多局限于抗肿瘤领域,在眼科抗视网膜新生血管方面的研究甚少。国外已有文献报道,口服索拉非尼可以减少渗出性年龄相关性黄斑变性患者的脉络膜新生血管(choroidal neovascularization, CNV)渗漏和黄斑水肿,使患者的视力有所改善^[12-13]。Kernt等^[14-15]的后续研究显示,索拉非尼能降低光诱导的视网膜 VEGF 和 PDGF 的过度表达。同时,动物实验也证实,索拉非尼可使 CNV 衰退,抑制 CNV 的生长^[16-17]。这些都与本实验的结论一致。

本实验通过建立 OIR 大鼠模型,玻璃体内注射索拉非尼,探讨其对视网膜新生血管的抑制作用。视网膜铺片采用荧光素标记的 GSL I-isolectin B4 染色,不论新生血管是否有血液灌注,isolectin GS 均能将异常增生的内皮细胞特异性地标记出来,新生血管与正常血管界限清楚,能更全面地反映视网膜新生血管增生的实际情况^[18],是目前较理想的量化视网膜新生血管的方法。而且通过激光共聚焦显微镜可以对铺片进行光学切片和 3D 重建技术,选取水平面导出完整图片,能更清晰、全面地观察到各层血管分支及新生血管的情况。而且采用玻璃体内注射这种局部给药方式可以短时间内达到有效药物浓度,与全身用药相比可以减少血药浓度,进而减轻药物的副作用。

已有研究发现,在治疗肾细胞癌患者时,长期连续全身给予索拉非尼会出现皮疹、腹泻、血压升高以及手掌或足底部发红、疼痛、肿胀或出现水疱等症状。但本实验大鼠玻璃体内注射索拉非尼后并未见到有异常,与 Park 等^[17]报道结果一致。因本实验样

本量较小,关于索拉非尼的最佳剂量及最大安全剂量的确定仍需要深入研究。

参考文献

- 1 黎晓新. 我国早产儿视网膜病变特点和筛查指南[J]. 中华眼底病杂志, 2004, 20 (6): 384-386.
- 2 O' Connor AR, Spencer R, Birch EE. Predicting long-term visual outcome in children with birth weight under 1001 g [J]. *J AAPOS*, 2007, 11 (6): 541-545.
- 3 王雨生, 李蓉. 重视我国早产儿视网膜病变的防治工作[J]. 中华眼科杂志, 2011, 47 (6): 483-486.
- 4 Caldwell RB, Bartoli M, Behzadian MA, El-Remessy AEB, Al-Shabraway M, Platt DH, et al. Vascular endothelial growth factor and diabetic retinopathy: Role of oxidative stress [J]. *Curr Drug Targets*, 2005, 6 (4): 511-524.
- 5 宋湘梅, 郑敏科, 郭金莲, 张国明, 唐松. 早产儿视网膜病变变冷凝术后视功能及屈光状态[J]. 眼科新进展, 2010, 30 (6): 560-561.
- 6 Moravski CJ, Kelly DJ, Cooper ME, Gilbert RE, Bertram JF, Shalhinfar S, et al. Retinal neovascularization is prevented by blockade of the renin-angiotensin system [J]. *Hypertension*, 2000, 36 (6): 1099-1104.
- 7 Stone J, Chan-Ling T, Pe'er J, Itin A, Gnessin H, Keshet E. Roles of vascular endothelial growth factor and astrocyte degeneration in the genesis of retinopathy of prematurity [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 1996, 37 (2): 290-299.
- 8 Suzuma K, Takagi H, Otani A, Suzuma I, Honda Y. Increased expression of KDR/Flk-1 (VEGFR-2) in murine model of ischemia-induced retinal neovascularization [J]. *Microvasc Res*, 1998, 56 (3): 183-191.
- 9 Rini BI. Vascular endothelial growth factor-targeted therapy in renal cell carcinoma: Current status and future directions [J]. *Clin Cancer Res*, 2007, 13 (4): 1098-1106.
- 10 Motzer RJ, Hutson TE, Olsen MR, Hudes GR, Burke JM, Edenfield WJ, et al. Randomized phase II trial of sunitinib on an intermittent versus continuous dosing schedule as first-line therapy for advanced renal cell carcinoma [J]. *J Clin Oncol*, 2012, 30 (12): 1371-1377.
- 11 Strumberg D, Richly H, Hilger RA, Schleucher N, Korfee S, Tewes M, et al. Phase I clinical and pharmacokinetic study of the novel Raf kinase and vascular endothelial growth factor receptor inhibitor BAY 43-9006 in patients with advanced refractory solid tumors [J]. *J Clin Oncol*, 2005, 23 (5): 965-972.
- 12 Kernt M, Staehler M, Stief C, Kampik A, Neubauer AS. Resolution of macular oedema in occult choroidal neovascularization under oral sorafenib treatment [J]. *Acta Ophthalmol*, 2008, 86 (4): 456-458.
- 13 Diago T, Pulido JS, Molina JR, Molina JR, Collet LC, Link TP, et al. Ranibizumab combined with low-dose sorafenib for exudative age-related macular degeneration [J]. *Mayo Clinic Proc*, 2008, 83 (2): 231-234.
- 14 Kernt M, Liegl RG, Rueping J, Neubauer AS, Haritoglou C, Lackerbauer CA, et al. Sorafenib protects human optic nerve head astrocytes from light-induced overexpression of vascular endothelial growth factor, platelet-derived growth factor, and placenta growth factor [J]. *Growth Factors*, 2010, 28 (3): 211-220.
- 15 Kernt M, Thiele S, Himeiss C, Neubauer AS, Lackerbauer CA, Wolf A, et al. Cytoprotective and antiangiogenic effects of the multikinase inhibitor sorafenib on human retinal pigment epithelium [J]. *Der Ophthalmol*, 2011, 108 (5): 445-451.
- 16 Chung EJ, Yoo S, Lim HJ, Byeon SH, Lee JH, Koh HJ. Inhibition of choroidal neovascularisation in mice by systemic administration of the multikinase inhibitor, sorafenib [J]. *Br J Ophthalmol*, 2009, 93 (7): 958-963.
- 17 Park YH, Roh SY, Lee YC. Effect of sorafenib on experimental choroidal neovascularization in the rat [J]. *Clin Exp Ophthalmol*, 2010, 38 (7): 718-726.
- 18 Ritter MR, Banin E, Moreno SK, Aguilar E, Dorrell MI, Friedlander M. Myeloid progenitors differentiate into microglia and promote vascular repair in a model of ischemic retinopathy [J]. *J Clin Invest*, 2006, 116 (12): 3266-3276.