

引文格式:徐曼华,李开明,康刚劲. 非瑟酮对人晶状体上皮细胞增殖和凋亡的影响[J]. 眼科新进展,2014,34(8): 722-724,728. doi:10.13389/j.cnki.rao.2014.0197

【实验研究】

# 非瑟酮对人晶状体上皮细胞增殖和凋亡的影响<sup>△</sup>

徐曼华 李开明 康刚劲

## Effects of fisetin on proliferation and apoptosis of human lens epithelial cells

XU Man-Hua, LI Kai-Ming, KANG Gang-Jin

【Key words】 fisetin; human lens epithelial cells; proliferation; apoptosis; oxidative stress

【Abstract】 **Objective** To investigate the effects of fisetin (Fis) on the proliferation and apoptosis of cultured human lens epithelial cells (HLEC) under the physiologic condition or oxidative injury. **Methods** After HLEC was cultured in vitro, the oxidative damage model was established through the H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> oxidative damage stress, the collected cells were divided into normal control group, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> group, Fis group, Fis + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> group. According to the concentration of Fis (5 μg · mL<sup>-1</sup>, 10 μg · mL<sup>-1</sup> and 20 μg · mL<sup>-1</sup>), the Fis group and Fis + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> groups were divided into 3 subgroups. After cultured for 12 hours and 24 hours, growth condition and morphologic feature in each group were observed under invert microscope. The cell viability was assayed by MTT. The cell apoptotic rate was determined by flow cytometry. **Results** At the 12 hours and 24 hours, compared with the control group, many cells of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> group appeared typical morphology of apoptosis, the cell proliferation was obviously decreased (0.117 6 ± 0.015 0 and 0.117 2 ± 0.006 1), the apoptotic rate was significantly increased (12.35% ± 1.23% at 24 hours), there were significant differences (all *P* < 0.01). At the 12 hours and 24 hours, the morphology and the proliferation of Fis groups didn't change evidently (*P* > 0.05). Compared with the H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> group, the Fis + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> group appeared less morphology change and the cell proliferation was improved in a time and dose-dependent manner (the peak was 0.3994 ± 0.0257) (*P* < 0.05). Compared with the H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> group, the apoptotic rate in Fis + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> group with different dose of Fis were (9.99 ± 1.53)%, (5.80 ± 1.55)%, (3.58 ± 0.73)%, respectively, there was statistical difference (*P* < 0.05). **Conclusion** Under the physiologic condition, fis does not affect the proliferation of HLEC in a certain time and concentration. On the condition of oxidative stress, Fis improves the proliferation of HLEC in a time and dose-dependent manner, and decrease the apoptotic rate of HLEC in a dose-dependent manner.

[Rec Adv Ophthalmol, 2014, 34(8): 722-724, 728]

【关键词】 非瑟酮; 人晶状体上皮细胞; 增殖; 凋亡; 氧化应激

【摘要】 **目的** 研究非瑟酮 (fisetin, Fis) 在生理状态下及氧化应激状态下对人晶状体上皮细胞 (human lens epithelial cell, HLEC) 增殖和凋亡的影响。 **方法** 体外培养 HLEC, 通过 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 氧化损伤建立氧化应激模型, 设置空白对照组、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 组、Fis 组和 Fis + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 组, 其中 Fis 组和 Fis + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 组按 Fis 浓度 (5 μg · mL<sup>-1</sup>、10 μg · mL<sup>-1</sup> 和 20 μg · mL<sup>-1</sup>) 分为 3 个亚组。分别于培养 12 h 及 24 h 后, 倒置相差显微镜下观察各组细胞的形态学改变, 运用 MTT 法检测细胞增殖的变化, 运用流式细胞技术检测细胞凋亡率的变化。 **结果** 与空白对照组比较, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 组较多细胞出现典型的形态学改变, 细胞增殖能力明显降低 (12 h、24 h 后分别为 0.117 6 ± 0.015 0 和 0.117 2 ± 0.006 1), 凋亡率明显增加 (24 h 后为 12.35% ± 1.23%), 差异均有统计学意义 (均为 *P* < 0.01)。不同浓度 Fis 组间的细胞在培养 12 h 及 24 h 后细胞形态均无明显改变, 细胞增殖也无明显变化 (*P* > 0.05)。培养 12 及 24 h 后, 与 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 组比较, Fis + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 组发生形态改变的细胞减少, 细胞增殖能力明显改善, 且随时间、Fis 浓度增加其作用更明显 (最高为 0.399 4 ± 0.025 7) (*P* < 0.05)。培养 24 h 后, 与 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 组凋亡率比较, 不同浓度 Fis + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 组的细胞凋亡率逐渐降低, 依次为 (9.99 ± 1.53)%、(5.80 ± 1.55)%、(3.58 ± 0.73)%, 差异有统计学意义 (*P* < 0.05)。 **结论** 一定浓度的 Fis 在一定时段对生理状态下的 HLEC 增殖无明显影响。在氧化应激状态下, Fis 呈时间和浓度依赖性地改善 HLEC 增殖能力, 呈浓度依赖性地降低 HLEC 凋亡率。

[眼科新进展, 2014, 34(8): 722-724, 728]

白内障是世界范围内的首要致盲眼病, 晶状体上皮细胞 (lens epithelial cell, LEC) 的生长活性状态

与晶状体的透明性密切相关。研究发现, LEC 凋亡是导致除先天性白内障外多种类型白内障形成的共

同细胞学基础<sup>[1]</sup>,而白内障摘出术后 LEC 大量增殖则是后发性白内障的重要原因<sup>[2]</sup>。近年来国内外学者研究发现植物中的某些类黄酮物质能抑制 LEC 凋亡,起到延缓白内障发生发展的作用<sup>[3-4]</sup>。此外,还有一些类黄酮反而能抑制 LEC 增殖,诱导其凋亡,促进后发性白内障的发生<sup>[5-7]</sup>。非瑟酮(fisetin, Fis)是新发现的一种类黄酮物质。Yao 等<sup>[8]</sup>发现 Fis 能有效抑制活性氧自由基的产生,减少人类 LEC(human LEC, HLEC)氧化损伤,其机制可能与活化 NF- $\kappa$ B 和 MAPK 信号通路有关,但是 Fis 对 HLEC 增殖和凋亡的影响具体机制并不清楚。本研究通过建立氧化应激致细胞凋亡模型,应用 Fis 对体外培养的 HLEC 进行干预,分别观察在生理状态下和氧化应激状态下 HLEC 增殖和凋亡的变化,进而为白内障的防治提供新的理论依据。

## 1 材料与方法

**1.1 材料与仪器** HLEC 细胞株(SRA01/04,泸州医学院附院分子生物实验室),四甲基偶氮唑盐、Fis(美国 Sigma 公司),低糖 DMEM 培养基、胎牛血清(美国 Hyclone 公司), $H_2O_2$ 、二甲基亚砜、胰蛋白酶(碧云天公司),Annexin V-FITC 凋亡测定试剂盒(凯基生物公司)。全自动倒置相差显微镜(德国 Leica 公司),10-240 VAC 酶标仪(美国 Thermo 公司),Beckman 流式细胞仪(美国 Beckman 公司)。

### 1.2 方法

**1.2.1 实验分组** 将体外培养的 HLEC 随机分为 4 组,即空白对照组:HLEC + 培养液(含体积分数 10% 胎牛血清的低糖 DMEM 培养液组);不同浓度 Fis 组:HLEC + 培养液 + Fis( $5\ \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、 $10\ \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、 $20\ \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ); $H_2O_2$  组:HLEC + 培养液 +  $H_2O_2$ ( $300\ \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ );Fis +  $H_2O_2$  组:HLEC + 培养液 +  $H_2O_2$ ( $300\ \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) + Fis( $5\ \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、 $10\ \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、 $20\ \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )。每小组 6 孔,各组取 3 孔分别于培养 12 h、24 h 后进行检测。

**1.2.2 HLEC 复苏与培养** 将 HLEC 自液氮中取出,37℃ 水浴快速复苏后移入培养瓶中,加入完全培养液,置于 37℃、含体积分数 5%  $CO_2$  恒温培养箱中培养,显微镜下观察细胞生长至对数生长期时用于进一步实验。

**1.2.3 倒置相差显微镜下观察细胞形态学特征** 培养 12 h、24 h 后倒置相差显微镜下观察各组细胞的形态学改变,随机照相( $\times 100$ 、 $\times 200$ ),对比各组细胞形态学变化。

**1.2.4 MTT 法测定细胞增殖** 待细胞融合至(80~90)%时,以  $2.5\ \text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  胰蛋白酶消化细胞后,调整细胞密度为  $20 \times 10^3\ \text{mL}^{-1}$  接种于 96 孔培养板,每孔加入细胞悬液 100  $\mu\text{L}$ ,置于培养箱中培养,待细胞长至(60~80)%融合时,换成含体积分数 0.5% 胎牛血清

的低糖 DMEM 培养液 100  $\mu\text{L}$  继续培养 24 h,使细胞同步后按上述分组,每组设置 6 孔,加药后分别继续培养,按 12 h、24 h 分 2 批(每批各组取 3 孔)处理各孔。每孔吸弃上清后,加入  $5\ \text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  的 MTT 溶液 10  $\mu\text{L}$  和不含血清的培养液 100  $\mu\text{L}$ ,继续孵育 4 h,吸弃上清,每孔加入 DMSO 100  $\mu\text{L}$  稍振荡待有色物质充分溶解后,置于全自动酶标仪上 490 nm 波长进行比色,减去调零孔后测定各孔吸光度值(A 值)。以每组 3 个孔的平均吸光度值表示各组细胞增殖情况。

**1.2.5 流式细胞术测定细胞凋亡率** 将细胞接种于 6 孔培养板并同步化后分组同前,每组设置 3 孔,加药后继续培养 24 h 后处理各孔。每孔用不含 EDTA 的  $2.5\ \text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  胰蛋白酶消化后,1000  $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 5 min 收集细胞制成单细胞悬液,置于 5 mL 流式管中,PBS 离心洗涤细胞 2 次,加入 200  $\mu\text{L}$  的 Binding Buffer 悬浮细胞,然后加入 FITC-Annexin V、PI 各 5  $\mu\text{L}$  混匀,室温避光反应 10 min,然后再加入 300  $\mu\text{L}$  的 Binding Buffer 重悬细胞(细胞密度应大于  $100 \times 10^3\ \text{mL}^{-1}$ ),立即在 Beckman 流式细胞仪上检测,计算各组细胞的凋亡率。

**1.3 统计学分析** 使用 SPSS 13.0 统计软件处理数据,各组数据用均数  $\pm$  标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,多组间比较采用单因素设计的方差分析(ANOVA),两两比较采用 LSD 法。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 倒置相差显微镜下观察各组 HLEC 的形态学特征** 空白对照组:HLEC 贴壁良好,呈不规则形,胞体无色透亮,折光性强,胞内有粗细不均的致密颗粒,细胞间有长的凸起相互连接生长,24 h 后随着密度增大,细胞逐渐融合成镶嵌紧密排列的单层上皮细胞覆盖瓶底(图 1A)。Fis 组培养 12 h、24 h 后细胞形态与空白对照组相比无明显差异(图 1B)。 $H_2O_2$  组培养 12 h、24 h 后,多数细胞呈现胞体和核变扁平,胞体内致密颗粒、空泡成分增多,细胞伸出的凸起变细长,平均细胞密度降低等活性降低的形态学改变(图 1C),与 12 h 相比,24 h 时以上改变更明显。 $H_2O_2$  + Fis 组培养 12 h、24 h 后,与  $H_2O_2$  组比较,细胞形态明显改善,胞体较丰满,胞内致密颗粒减少,细胞密度增加(图 1D)。

**2.2 Fis 对 HLEC 增殖的影响** 在正常培养条件下分别培养 12 h、24 h 后,与空白对照组增殖活性比较,Fis 组细胞增殖无明显变化,差异无统计学意义( $P > 0.05$ ,见表 1)。在氧化应激条件下,与空白对照组比较, $H_2O_2$  组细胞增殖能力明显降低,差异有显著统计学意义( $P < 0.01$ )。加入 Fis 处理后,除培养 12 h 的  $5\ \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  Fis +  $H_2O_2$  组外,其余 Fis +  $H_2O_2$  组的细胞增殖能力明显改善,且具有明显的时间和浓度依赖性,与  $H_2O_2$  组比较,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ,见表 2)。

**Figure 1** Morphological characteristic of HLEC after cultured for 24 hours (×100). A: Control group; B: Fis group; C: H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> group; D: Fis + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> group 培养24 h时 HLEC 形态学改变(×100)。A: 对照组; B: Fis 组; C: H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 组; D: Fis + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 组

表 1 生理条件下 Fis 对 HLEC 增殖的影响

**Table 1** Effects of Fis on proliferation of HLEC under physiologic condition ( $\bar{x} \pm s$ )

Group	Cell viability	
	12 hours	24 hours
Control	0.713 0 ± 0.018 2	0.713 7 ± 0.013 3 <sup>#</sup>
5 μg · mL <sup>-1</sup> Fis	0.715 8 ± 0.010 6 <sup>*</sup>	0.723 6 ± 0.004 1 <sup>**</sup>
10 μg · mL <sup>-1</sup> Fis	0.725 8 ± 0.004 1 <sup>*</sup>	0.709 7 ± 0.009 8 <sup>**</sup>
20 μg · mL <sup>-1</sup> Fis	0.710 6 ± 0.010 3 <sup>*</sup>	0.726 6 ± 0.002 9 <sup>**</sup>

Note: Compared with control group, <sup>\*</sup>  $P > 0.05$ ; Compared with 12 hours, <sup>#</sup>  $P > 0.05$

**2.3 Fis 对 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 诱导的 HLEC 凋亡的影响** 培养 24 h 后,流式细胞仪检测结果发现与空白对照组的细胞凋亡率(3.22 ± 0.43)% 比较,H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 组凋亡率(12.35 ± 1.23)% 明显增加,差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。与 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 组比较,Fis + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 组细胞凋

表 2 氧化应激条件下 Fis 对 HLEC 增殖的影响

**Table 2** Effects of Fis on proliferation of HLEC under condition of oxidative stress ( $\bar{x} \pm s$ )

Group	Cell viability	
	12 hours	24 hours
Control	0.713 0 ± 0.018 2	0.713 7 ± 0.013 3
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	0.117 6 ± 0.015 0 <sup>*</sup>	0.117 2 ± 0.006 1 <sup>*</sup>
5 μg · mL <sup>-1</sup> Fis + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	0.114 6 ± 0.016 0	0.164 7 ± 0.021 3 <sup>t#</sup>
10 μg · mL <sup>-1</sup> Fis + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	0.287 3 ± 0.040 0 <sup>ts</sup>	0.338 8 ± 0.045 8 <sup>ts#</sup>
20 μg · mL <sup>-1</sup> Fis + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	0.354 5 ± 0.017 7 <sup>ts0</sup>	0.399 4 ± 0.025 7 <sup>ts0#</sup>

Note: Compared with control group, <sup>\*</sup>  $P < 0.01$ ; Compared with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> group, <sup>t</sup>  $P < 0.05$ ; Compared with 5 μg · mL<sup>-1</sup> Fis + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> group, <sup>s</sup>  $P < 0.05$ ; Compared with 10 μg · mL<sup>-1</sup> Fis + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> group, <sup>0</sup>  $P < 0.05$ ; Compared with 12 hours, <sup>#</sup>  $P < 0.05$

亡率降低,且随 Fis 浓度的增加凋亡率下降明显,依次为(9.99 ± 1.53)%、(5.80 ± 1.55)%、(3.58 ± 0.73)% ,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ,见图 2)。

**Figure 2** Apoptotic rate of HLEC induced by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and Fis by flow cytometry assay (24 hours). A: Control group; B: H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> group; C: 5 μg · mL<sup>-1</sup> Fis + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> group; D: 10 μg · mL<sup>-1</sup> Fis + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> group; E: 20 μg · mL<sup>-1</sup> Fis + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> group H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 诱导下不同浓度 Fis 对 HLEC 凋亡率影响的流式细胞仪检测(24 h)。A: 对照组; B: H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 组; C: 5 μg · mL<sup>-1</sup> Fis + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 组; D: 10 μg · mL<sup>-1</sup> Fis + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 组; E: 20 μg · mL<sup>-1</sup> Fis + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 组

3 讨论

白内障的发病机制是多因素综合作用的结果。研究发现,自由基氧化损伤可导致 LEC 的 DNA 断裂和细胞凋亡<sup>[9]</sup>,而 LEC 大量凋亡使晶状体防御屏障受损,导致除先天性白内障外其他多种类型白内障的形成<sup>[1]</sup>。反之,白内障摘出术后残留的囊膜或赤道部 LEC 大量增殖、向后囊膜迁移并分泌胶原和基底膜样物质又导致后发性白内障的发生<sup>[2]</sup>。本实验分别建立了生理状态下和氧化应激状态下 HLEC 生长模型<sup>[10]</sup>,通过分别观察这两种状态下 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 和 Fis 对细胞增殖和凋亡活性的影响,从而进一步探讨白内障的发病机制。

生物类黄酮是植物中的有机营养成分,以往研究发现<sup>[11-13]</sup>,它具有抗炎,抗癌,抗心、脑、肾细胞氧化损伤的作用,其机制可能是通过清除氧自由基来抑制氧化损伤导致的细胞凋亡<sup>[14]</sup>。Gao 等<sup>[15]</sup>发现,

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 产生的氧自由基能诱导晶状体蛋白和脂质的过氧化反应,造成体外培养的 HLEC 氧化损伤和 DNA 断裂,而类黄酮能通过改善细胞内丙二醛等过氧化氢酶类的活性,调节氧化还原水平,从而发挥抗氧化损伤的作用。近年来研究发现<sup>[3-7]</sup>,许多类黄酮物质对 LEC 增殖和凋亡活性具有明显影响,如表儿茶素能抑制体外培养的 HLEC 增殖,而且其机制可能是通过 p38 信号通路完成的<sup>[7]</sup>,这表明类黄酮可能对保护晶状体、延缓白内障发生发展具有积极作用。本实验通过体外培养 HLEC 复制生理状态下细胞生长模型,加入不同浓度 Fis 干预后发现,Fis 组的细胞增殖无明显变化,这就说明在本实验浓度和作用时间范围内,Fis 不能抑制 HLEC 大量增殖,可能对后发性白内障无治疗作用。相反,H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 复制的细胞受到氧化应激并且发生凋亡的实验模型使 HLEC 增殖活性降低、凋亡率增加,而在加入 Fis 进行干预 (下转第 728 页)

翼状胬肉的防治具有潜在的应用前景。但本研究仅限于体外实验,且目前还没有成熟的翼状胬肉模型,故将 Decorin 应用于临床防治翼状胬肉或降低其术后复发率还需进一步研究。

参考文献

1 Bianchi E, Scarinci F, Grande C, Plateroti R, Plateroti P, Plateroti AM, et al. Immunohistochemical profile of VEGF, TGF-β and PGE<sub>2</sub> in human pterygium and normal conjunctiva: experimental study and review of the literature [J]. *Int J Immunopathol Pharmacol*, 2012, 25(3): 607-615.  
2 刘艳艳, 罗丽卿, 吴平. 转化生长因子-β 及结缔组织生长与翼状胬肉关系的研究现状[J]. 广东医学院学报, 2011, 29(2): 73-76.  
3 Yamaguchi Y, Mann DM, Ruoslahti E. Negative regulation of transforming growth factor-β by the proteoglycan decorin[J]. *Nature*, 1990, 346(6281): 281-284.  
4 Neill T, Schaefer L, Iozzo RV. Decorin: a guardian from the matrix[J]. *Am J Pathol*, 2012, 181(2): 380-387.  
5 Grisanti S, Szurman P, Warga M, Kaczmarek R, Ziemssen F, Tatar O, et al. Decorin modulates wound healing in experimental glaucoma filtration surgery: a pilot study[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2005, 46(1): 191-196.  
6 石一宁, 张纯涛. TGF-β<sub>1</sub>、TGF-β<sub>2</sub> 及 Smad4 蛋白在原发性翼状胬肉中的表达[J]. 眼科新进展, 2010, 30(5): 430-437.  
7 Chen JK, Tsai RJ, Lin SS. Fibroblast isolated from human pterygia exhibit transformed cell characteristics[J]. *Cell Dev Biol Anim*, 1994, 30(4): 243-248.

8 Lee SB, Li DQ, Tan DT, Meller DC, Tseng SC. Suppression of TGF-beta signaling in both normal conjunctival fibroblasts and pterygial body fibroblasts by amniotic membrane[J]. *Curr Eye Res*, 2000, 20(4): 325-334.  
9 史伟云, 王富华. 翼状胬肉手术中慎用丝裂霉素 C[J]. 中华眼科杂志, 2013, 49(10): 869-871.  
10 Dudás D, Kovalszky I, Gallai M, Naqy JO, Schaff Z, Knittel T, et al. Expression of decorin, transforming growth factor-beta1, tissue inhibitor metalloproteinase 1 and 2, and type IV collagenases in chronic hepatitis[J]. *Am J Clin Pathol*, 2001, 115(5): 725-735.  
11 Tralhão JG, Schaefer L, Micegova M, Evaristo C, Schönherr E, Kayal S, et al. In vivo selective and distant killing of cancer cells using adenovirus-mediated decorin gene transfer[J]. *FASEB J*, 2003, 17(3): 464-466.  
12 Bi X, Pohi NM, Qian Z, Yang GR, Gou Y, Guzman G, et al. Decorin-mediated inhibition of colorectal cancer growth and migration is associated with E-cadherin in vitro and in mice[J]. *Carcinogenesis*, 2012, 33(2): 326-330.  
13 Nassar K, Lüke J, Lüke M, Kamal M, Abd EI-Nabi E, Soliman M, et al. The novel use of decorin in prevention of the development of proliferative vitreoretinopathy (PVR) [J]. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 2011, 249(11): 1649-1660.  
14 Mohan RR, Tovey JC, Sharma A, Schultz GS, Cowden JW, Tandon A. Targeted decorin gene therapy delivered with adeno-associated virus effectively retards corneal neovascularization in vivo[J]. *PLoS One*, 2011, 6(10): e26432.  
15 向建南, 张桂兰, 张海江, 王国华, 霍鸣. 核心蛋白多糖对兔晶状体上皮细胞增生的抑制作用[J]. 眼科新进展, 2011, 31(4): 327-331.

(上接第 724 页)

后,细胞的生长状态和增殖活性较 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 组明显改善,细胞的凋亡率明显降低,且随 Fis 浓度增加表现更明显。由此可见,在本实验浓度和作用时间范围内, Fis 能很好地保护 HLEC,减少氧化损伤,维持细胞增殖活性状态、抑制凋亡,因此, Fis 可能对白内障防治具有积极作用。

综上所述,本实验从细胞形态结构、增殖、凋亡等不同角度进行了研究,初步了解了 Fis 对 HLEC 的作用特性,为临床探索白内障的发病机制和研究防治白内障的方法提供了实验依据。

参考文献

1 Li WC, Kuszak JR, Dunn K, Wang RR, Ma W, Wang GM, et al. Lens epithelial cell apoptosis appears to be a common cellular basis for non-congenital cataract development in humans and animals[J]. *J Cell Biol*, 1995, 130(1): 169-181.  
2 Cobo LM, Ohsawa E, Chandler D, Arguello R, George G. Pathogenesis of capsular opacification after extracapsular cataract extraction: an animal model[J]. *Ophthalmology*, 1984, 91(7): 857-863.  
3 Majumdar S, Srirangam R. Potential of the bioflavonoids in the prevention/ treatment of ocular disorders[J]. *J Pharm Pharmacol*, 2010, 62(8): 951-965.  
4 Liu H, Smith AJ, Lott MC, Bao Y, Bowater RP, Reddan JR, et al. Sulforaphane can protect lens cells against oxidative stress: implications for cataract prevention[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2013, 54(8): 5236-5248.  
5 Miyata Y, Oshitari T, Okuyama Y, Shimada A, Takahashi H, Nat-sugari H, et al. Polymethoxyflavones as agents that prevent for-

mation of cataract: nobiletin congeners show potent growth inhibitory effects in human lens epithelial cells[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2013, 23(1): 183-187.  
6 徐哲, 刘谊, 贾崇岚. 姜黄素对人晶状体上皮细胞增殖的抑制作用[J]. 眼科新进展, 2008, 28(12): 894-897.  
7 Huang W, Liu Y, Zeng J, Wu M. Role of p38MAPKs pathway in the growth inhibition of rabbit lens epithelial cells induced by EGCG[J]. *Yan Ke Xue Bao*, 2003, 19(4): 236-238, 247.  
8 Yao K, Zhang L, Zhang Y, Ye P, Zhu N. The flavonoid, fisetin, inhibits UV radiation-induced oxidative stress and the activation of NF-kappaB and MAPK signaling in human lens epithelial cells[J]. *Mol Vis*, 2008, 14: 1865-1871.  
9 Spector A. Oxidative stress-induced cataract: mechanism of action[J]. *FASEB J*, 1995, 9(12): 1173-1182.  
10 West-Mays JA, Pino G, Lovicu FJ. Development and use of the lens epithelial explant system to study lens differentiation and cataractogenesis[J]. *Prog Retin Eye Res*, 2010, 29(2): 135-143.  
11 Fu Y, Koo MW. EGCG protects HT-22 cells against glutamate induced oxidative stress[J]. *Neurotox Res*, 2006, 10: 23-30.  
12 Hirai M, Hotta Y, Ishikawa N, Wakida Y, Fukuzawa Y, Isobe F, et al. Protective effects of EGCG or GCg, a green tea catechin epimer, against postischemic myocardial dysfunction in guinea-pig hearts[J]. *Life Sci*, 2007, 80: 1020-1032.  
13 Itoh Y, Yasui T, Okada A, Tozawa K, Hayashi Y, Kohri K. Examination of the anti-oxidative effect in renal tubular cells and apoptosis by oxidative stress[J]. *Urol Res*, 2005, 33: 261-266.  
14 Vladimirov YA, Proskurnina EV, Demin EM, Matveeva NS, Lubitskiy OB, Novikov AA, et al. Dihydroquercetin (taxifolin) and other flavonoids as inhibitors of free radical formation at key stages of apoptosis[J]. *Biochemistry (Moscow)*, 2009, 74(3): 301-307.  
15 Gao S, Qin T, Liu Z, Caceres MA, Ronchi CF, Chen CY, et al. Lutein and zeaxanthin supplementation reduces H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced oxidative damage in human lens epithelial cells[J]. *Mol Vis*, 2011, 17: 3180-3190.