

引文格式:钱道卫,廖燕秋,李远存,郭海科,伍岚. 沉默信息调节因子相关酶1(SIRT1)调控 p38MAPK 信号通路对糖尿病视网膜病变大鼠视网膜神经节细胞的保护作用及机制[J]. 眼科新进展,2017,37(10):926-930. doi: 10.13389/j.cnki.rao.2017.0235

【实验研究】

# 沉默信息调节因子相关酶 1(SIRT1)调控 p38MAPK 信号通路对糖尿病视网膜病变大鼠视网膜神经节细胞的保护作用及机制<sup>△</sup>

钱道卫 廖燕秋 李远存 郭海科 伍岚

作者简介:钱道卫,男,1968年10月出生,湖北省郧西县人,博士,副主任医师。研究方向:白内障和眼底病。E-mail: qdandw355@163.com; ORCID:0000-0002-9085-5621

About QIAN Dao-Wei: Male, born in October, 1968. Doctor degree, associate chief physician. E-mail: qdandw355@163.com; ORCID: 0000-0002-9085-5621

收稿日期:2017-03-11  
修回日期:2017-04-10

本文编辑:董建军

△基金项目:深圳市科技计划创新项目(编号:JCYJ20140416095712-709);深圳市坪山新区卫生科研项目(编号:201517)

作者单位:518118 广东省深圳市,深圳市坪山区人民医院眼科(钱道卫,廖燕秋,伍岚);510080 广东省广州市,广东省人民医院眼科(李远存);450001 河南省郑州市,郑州市爱尔眼科医院(郭海科)

Received date: Mar 11, 2017

Accepted date: Apr 10, 2017

Foundation item: Science and Technology Innovation Plan of Shenzhen (No: JCYJ20140416095712709); Health Plan of Scientific Research of Pingshan New District of Shenzhen (No: 201517)

From the Department of Ophthalmology, Pingshan District People's Hospital of Shenzhen (QIAN Dao-Wei, LIAO Yan-Qiu, WU Lan), Shenzhen 518118, Guangdong Province, China; Department of Ophthalmology, Guangdong General Hospital (LI Yuan-Cun), Guangzhou 510080, Guangdong Province, China; Zhengzhou Aier Eye Hospital (GUO Hai-Ke), Zhengzhou 450001, Henan Province, China

## Protective effects and mechanism of SIRT1 for the regulation of p38 MAPK pathway on retinal ganglion cells in rats with diabetic retinopathy

QIAN Dao-Wei, LIAO Yan-Qiu, LI Yuan-Cun, GUO Hai-Ke, WU Lan

【Key words】 diabetic retinopathy; sirtuin type 1; p38 mitogen-activated protein kinase pathway; retina ganglion cells

【Abstract】 Objective To investigate the effect of silment information regulator factor related enzymes 1 (SIRT1) on the apoptosis of retinal ganglion cells (RGCs) in rats with diabetic retinopathy and its downstream molecular mechanisms. Methods

Together 60 healthy male Sprague-Dawley rats were collected and randomly divided into normal group, diabetic group, SIRT1 activator-resveratrol treatment group (treatment group), and diabetic rat model was induced by intraperitoneal injection of streptozotocin at 60 mg · kg<sup>-1</sup> in the latter two group rats, while the normal group was injected with sodium citrate buffer at 60 mg · kg<sup>-1</sup>. Then, after 72 h, rats with blood glucose > 16.7 mmol · L<sup>-1</sup> were designated as diabetic rats by blood glucose test. Then each rat in the treatment group was treated with SIRT1 activator-resveratrol at 20 g · kg<sup>-1</sup> once a day at the 2nd day after the success of the model, and the normal group and diabetic group were given methylene chloride. Finally, after immunohistochemical staining for retina, TUNEL assay was used to evaluate the apoptosis of RGCs, while the expression of SIRT1, p38 MAPK and Caspase-3 protein was detected by Western blot. Results

The apoptotic index of RGCs in the normal group, diabetic group and treatment group was (0.848 ± 0.131)%, (19.038 ± 1.327)%, (10.461 ± 1.089)% respectively at 8 weeks, and the difference among the three groups was statistically significant ( $F = 670.497, P = 0.000$ ), while the differences between each two groups were also statistically significant (all  $P = 0.000$ ). Furthermore, when compared with the normal group (0.132 ± 0.043), the expression of SIRT1 protein in the diabetic group (0.060 ± 0.028) and the treatment group (0.073 ± 0.026) was significantly decreased, and the overall difference among the three groups was statistically significant ( $F = 1310.663, P = 0.000$ ), while the differences between each two groups were also statistically significant (all  $P = 0.000$ ). The expression levels of p38 MAPK and Caspase-3 were increased in diabetic group (1.121 ± 0.082, 0.266 ± 0.005) and treatment group (0.574 ± 0.012, 0.190 ± 0.060) respectively, and the overall difference and pairwise comparison in the three groups approached statistical significance (all  $P = 0.000, 0.000$ ). Conclusion

Up-regulation of SIRT1, can inhibit the apoptosis of RGCs, and protect RGCs against apoptosis in rat model of diabetic retinopathy, which may be correlated with the down-regulation of p38 MAPK signal pathway.

【中图分类号】 R774

【关键词】 糖尿病视网膜病变;沉默信息调节因子相关酶1;p38 MAPK 信号通路;视网膜神经节细胞

【摘要】 目的 探讨沉默信息调节因子相关酶1(silment information regulator factor related enzymes 1, SIRT1)对糖尿病视网膜病变大鼠视网膜神经节细胞(retinal ganglion cells, RGCs)的保护作用及其机制。方法 取健康清洁级雄性 Sprague-Dawley 大鼠 60 只,应用随机数字表法分为正常对照组(正常组)、糖尿病组(病变组)、SIRT1 激动剂白藜芦醇治疗组(治疗组)。病变组和治疗组大鼠按 60 mg · kg<sup>-1</sup> 单次腹腔注射链脲佐菌素以诱导糖尿病大鼠模型;正常组按 60 mg · kg<sup>-1</sup> 腹腔注射枸橼酸钠缓冲液。72 h 后取鼠尾静脉血检测血糖,血糖值 > 16.7 mmol · L<sup>-1</sup> 定为糖尿病大鼠。自造模成功后第 2 天起治疗组每天每只鼠给予白藜芦醇 20 g · kg<sup>-1</sup> 灌胃,正常组和病变组每天每只鼠给予亚甲酮灌胃。8 周后进行视网膜免疫组织化学染色, TUNEL 法检测视网

膜 RGCs 凋亡,Western blot 检测 SIRT1、p38 MAPK、Caspase-3 蛋白的表达。**结果** 正常组、病变组、治疗组 8 周后 RGCs 凋亡指数分别为:(0.848±0.131)%、(19.038±1.327)%、(10.461±1.089)%,三组间差异有统计学意义( $F=670.497,P=0.000$ )。进一步两两比较:正常组 RGCs 凋亡指数与病变组、治疗组间差异均有统计学意义(均为  $P=0.000$ );治疗组与病变组间差异亦有统计学意义( $P=0.000$ )。与正常组(0.132±0.043)相比,病变组(0.060±0.028)和治疗组(0.073±0.026)大鼠视网膜 SIRT1 蛋白表达降低,总体差异有统计学意义( $F=1310.663,P=0.000$ )。进一步两两比较,病变组和治疗组与正常组间,以及病变组与治疗组间差异均有统计学意义(均为  $P=0.000$ )。病变组(1.121±0.082,0.266±0.005)和治疗组(0.574±0.012,0.190±0.060)大鼠视网膜 p38 MAPK、Caspase-3 蛋白表达较正常组(0.402±0.012,0.156±0.006)明显增加,总体差异有统计学意义( $F=604.500,1056.709,P=0.000,0.000$ )。进一步两两比较:p38 MAPK、Caspase-3 蛋白表达在正常组与病变组间、正常组与治疗组间以及病变组与治疗组间差异均有统计学意义(均为  $P=0.000$ )。**结论** 在糖尿病视网膜病变模型中,SIRT1 表达上调,抑制 RGCs 的凋亡,对糖尿病视网膜病变 RGCs 起保护作用。其抗凋亡作用机制可能与其抑制 p38 MAPK 的表达相关。p38 MAPK 信号通路是糖尿病视网膜病变中 SIRT1 介导的神经保护作用的重要通路之一。

糖尿病视网膜病变(diabetic retinopathy,DR)是糖尿病常见且严重的眼部并发症,不仅是发达国家成年人致盲的主要原因,也是我国成年人致盲的主要原因<sup>[1-2]</sup>。目前认为 DR 是一种神经血管性病变,神经组织的损伤出现在微血管系统病变前,其病理特征包括神经元凋亡、神经胶质细胞活跃及内层视网膜变薄<sup>[3-4]</sup>。细胞凋亡是糖尿病大鼠视网膜神经元损害的主要形式。由于神经组织损伤后的再生能力较差,目前越来越多的研究开始关注神经保护在 DR 治疗中的重要作用<sup>[5-6]</sup>。

沉默信息调节因子相关酶 1(silment information regulator factor related enzymes 1,SIRT1)是依赖 NAD 作用于组蛋白的去乙酰化酶,与 DR 发病相关。可通过抑制炎症反应,抑制氧化应激对视网膜细胞造成的损伤作用,影响血管内皮生长因子的表达,抑制视网膜细胞凋亡,从而影响 DR 的发病及进展<sup>[7]</sup>,但其具体机制尚不明确。p38 丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase,p38 MAPK)信号通路是介导细胞反应的重要信号系统,在 DR 的形成及发展中起着非常重要的作用,其介导的凋亡信号转导直接参与 DR 的发生发展<sup>[8]</sup>。

本实验通过建立大鼠糖尿病模型,给以 SIRT1 激动剂白藜芦醇,观察糖尿病大鼠视网膜 SIRT1、p38 MAPK 和 Caspase-3 蛋白表达的变化及视网膜神经节细胞(retinal ganglion cells,RGCs)凋亡情况,旨在探讨 SIRT1 对 DR 的神经保护作用及其可能机制,为 DR 的临床治疗提供理论依据及思路。

## 1 材料与方法

**1.1 材料** 取健康清洁级雄性 Sprague-Dawley 大鼠 60 只,体质量 200~250 g,2~3 个月龄(广州中山大学动物中心提供),排除眼部疾患。实验动物的使用遵循 ARVO 声明。

主要实验仪器及试剂:全自动正立荧光显微镜(德国 Zeiss 公司),One Touch II 型血糖仪(美国堡灵曼公司),SIRT1 和 p38 MAPK 抗体(英国 Abcam 公司),Caspase-3 抗体(美国 CST 公司),白藜芦醇(美国 Sigma 公司),链脲佐菌素(迈新生物技术开发公司),TUNEL 细胞凋亡检测试剂盒(美国 Promega 公司)。

**1.2 糖尿病大鼠模型的制备及分组** 所有大鼠适

应性喂养 1 周后,应用随机数字表法分为正常对照组(正常组)、糖尿病组(病变组)、SIRT1 激动剂白藜芦醇治疗组(治疗组),每组 20 只。禁食 12 h,称体质量,将链脲佐菌素溶解于 0.1 mol·L<sup>-1</sup>枸橼酸钠溶液(pH=4.5),病变组和治疗组大鼠按 60 mg·kg<sup>-1</sup>单次腹腔注射链脲佐菌素以诱导糖尿病大鼠模型;正常组按 60 mg·kg<sup>-1</sup>腹腔注射枸橼酸钠缓冲液。72 h 后取鼠尾静脉血检测血糖,血糖值>16.7 mmol·L<sup>-1</sup>定为糖尿病大鼠。自造模成功后第 2 天起治疗组每天每只鼠给予白藜芦醇 20 g·kg<sup>-1</sup>灌胃,正常组和病变组每天每只鼠给予亚甲矾灌胃。

模型建立后每周 1 次测大鼠血糖、体质量,同时记录饮食、饮水量、精神状态等变化情况。分组饲养 8 周后,在末次给药第 2 天腹腔内注射 100 mg·kg<sup>-1</sup>水合氯醛进行麻醉后,处死大鼠,取出双眼眼球,进行检测。

**1.3 视网膜免疫组织化学染色** 常规石蜡切片,脱水,加山羊血清封闭抗体。加 1:100 比例稀释的一抗和生物素化的二抗,DAB 显色,苏木素复染。观察视网膜形态结构。

**1.4 TUNEL 法检测视网膜 RGCs 凋亡情况** 常规制备视网膜石蜡切片,按照试剂盒说明书操作步骤进行,Mounting media 封片剂封片,阴性对照不加 TdT 酶,其余步骤与之相同。全自动正立荧光显微镜观察。计数 RGCs 凋亡数:每个标本抽取连续 3 张切片,每张切片连续读取 5 个高倍视野,计数每个视野中的 TUNEL 阳性细胞(绿色)数,取其均数作为该只大鼠 RGCs 的凋亡细胞数,计算凋亡指数=(凋亡细胞数量/细胞总数量)×100%。

**1.5 Western blot 检测 SIRT1、p38 MAPK、Caspase-3 蛋白的表达** 制备视网膜组织匀浆,经 SDS-PAGE 电泳后将蛋白转至 PVDF 膜上,加入相应的一抗 Caspase-3(1:500)、SIRT1(1:1000)、p38 MAPK(1:200),4℃孵育过夜。用 HRP 标记二抗(1:1000),室温下孵育 1 h 后,进行化学发光显影(ECL 显色)。采用 Image J 分析目标条带的光密度值。以 GAPDH(1:5000)作为内参照,比较不同处理后目的蛋白表达的差异,结果由计算机凝胶图像分析系统分析。

**1.6 统计学分析** 采用 SPSS 13.0 统计学软件进行

统计分析。计量资料以均数 ± 标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 组间均数经 Bartlette 检验方差齐。多组间比较采用单因素方差分析, 多重比较采用 LSD-*t* 检验。  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 体征情况 实验期间, 正常组大鼠状态良好、健壮、皮毛油亮有光泽, 自主活动正常, 对外界反应灵敏, 全部存活。与正常组大鼠相比较, 链脲佐菌素

造模 2 周后, 大鼠渐显消瘦, 精神萎靡, 皮毛无光泽, 多饮、多食及体质量减轻。病变组有 2 只大鼠死亡, 治疗组有 1 只大鼠死亡。

2.2 免疫组织化学检测结果 正常组大鼠视网膜各层细胞层次清楚、细胞形态完好, 排列整齐, 无 RGCs 凋亡或可见少量 RGCs 凋亡。病变组大鼠视网膜内外核层界限模糊, 细胞排列稀疏紊乱, 可见 RGCs 减少, 神经纤维层水肿。治疗组大鼠视网膜组织各层结构较正常组略疏松, RGCs 数减少 (图 1)。

图 1 各组大鼠视网膜组织病理学变化 (×400)。A: 正常组; B: 病变组; C: 治疗组

2.3 RGCs 凋亡的观察 凋亡阳性细胞的细胞核被特异性染成绿色, 而未发生凋亡的细胞核复染为蓝紫色。正常组大鼠视网膜各层未见凋亡阳性染色或见少许凋亡阳性染色; 与正常组相比, 治疗组大鼠视网膜阳性染色增加, 但低于病变组, 总体差异有统计学意义 ( $F = 670.497, P = 0.000$ )。进一步两两比较: 正常组 RGCs 凋亡指数 ( $0.848 \pm 0.131$ )% 与病变组 ( $19.038 \pm 1.327$ )%、治疗组 ( $10.461 \pm 1.089$ )% 间差异均有统计学意义 (均为  $P = 0.000$ ); 治疗组与病变组间差异亦有统计学意义 ( $P = 0.000$ , 图 2)。

组和治疗组大鼠视网膜 SIRT1 蛋白表达降低, 总体差异有统计学意义 ( $F = 1310.663, P = 0.000$ )。进一步两两比较, 病变组和治疗组与正常组间, 以及病变组与治疗组间差异均有统计学意义 (均为  $P = 0.000$ )。病变组和治疗组大鼠视网膜 p38 MAPK、Caspase-3 蛋白表达均较正常组明显增加, 总体差异有统计学意义 ( $F = 604.500、1056.709, P = 0.000、0.000$ )。进一步两两比较: p38 MAPK、Caspase-3 蛋白表达在正常组与病变组间、正常组与治疗组间以及病变组与治疗组间差异均有统计学意义 (均为  $P = 0.000$ )。

图 2 TUNEL 检测 RGCs 凋亡情况 (×200)。A: 正常组大鼠视网膜各层未见阳性染色; B: 病变组大鼠视网膜阳性染色增加 (绿色); C: 治疗组大鼠视网膜阳性染色亦增加但低于病变组 (绿色)

2.4 大鼠视网膜 SIRT1、p38 MAPK、Caspase-3 蛋白表达情况 Western blot 检测结果: 各组视网膜相关蛋白表达情况见图 3 和表 1。与正常组相比, 病变

图 3 Western blot 检测各组大鼠视网膜 SIRT1、p38 MAPK、Caspase-3 蛋白表达情况。A: 正常组; B: 病变组; C: 治疗组

3 讨论

DR 是成年人致盲的重要原因之一。越来越多的研究发现早在微血管病变之前, 已经出现视网膜

表 1 Western blot 检测 SIRT1、p38 MAPK、Caspase-3 蛋白表达 (x̄±s)

组别	n	SIRT1	p38 MAPK	Caspase-3
正常组	10	0.132±0.043	0.402±0.012	0.156±0.006
病变组	10	0.060±0.028	1.121±0.082	0.266±0.005
治疗组	10	0.073±0.026	0.574±0.012	0.190±0.060
F 值		1310.663	604.500	1056.709
P 值		0.000	0.000	0.000

神经病变,主要是内层视网膜神经元 RGCs 的病 变<sup>[9]</sup>,是患者视力受损、视力下降的重要原因。作为 视觉转导通路中的枢纽,RGCs 数量和功能的改变在 DR 发病中的作用尤为重要,早期有效地抑制 RGCs 的受损及凋亡是遏制 DR 的发生和发展以及保护糖 尿病患者视功能的关键<sup>[10]</sup>。由于 RGCs 对细胞损伤 和神经毒性作用高度敏感,为糖尿病视网膜早期病 变提供了一个非常有效的检测对象。

SIRT1 是一种细胞代谢辅酶 NAD 依赖的组蛋白 脱乙酰基蛋白酶,作为一种广泛参与细胞能量代谢、 周期控制和免疫应答等生命过程的重要蛋白,SIRT1 具有明显的神经元保护作用。在培养的 Alzheimer 病、多发性硬化以及谷氨酰胺中毒的组织模型中,过 表达 SIRT1 可阻止神经元的死亡<sup>[11]</sup>。在模拟多发 性硬化的动物模型实验性自身免疫性脑脊髓炎中, SIRT1 表现出明显的视神经保护作用,表明 SIRT1 活 性的提高对小鼠自身免疫性脑脊髓炎的 RGCs 具有 直接保护作用<sup>[12]</sup>。白藜芦醇是非黄酮类多酚化合 物,是 SIRT1 的天然激动剂,有研究认为白藜芦醇能 够降低氧化应激和炎症反应,显著提高 SIRT1 酶活 性<sup>[13]</sup>,并通过别构调节提高乙酰化底物的亲和 力<sup>[14]</sup>。这些研究证实 SIRT1 及其激动剂白藜芦醇 具有明显的抗氧化应激作用,可避免高糖、高脂诱导 的氧化应激损伤,从而在糖尿病及其并发症的防治 中发挥重要作用。LI 等<sup>[15]</sup>研究发现在链脲佐菌素 诱导的急性糖尿病大鼠中,Caspase 依赖的凋亡途径 是 RGCs 凋亡的主要方式。Caspase-3 蛋白在糖尿病 大鼠的视网膜表达增加,说明 DR 时凋亡程序被激 活而促进 RGCs 凋亡<sup>[16]</sup>。糖尿病大鼠视网膜 RGCs 的凋亡指数明显高于正常组,且凋亡指数的增加随 着病程的延长呈时间依赖性改变<sup>[17]</sup>。本研究发现 糖尿病大鼠给予 SIRT1 激动剂白藜芦醇干预后,一 方面,大鼠视网膜 Caspase-3 蛋白表达降低,RGCs 凋 亡减少,进一步揭示了 SIRT1 激动剂白藜芦醇能有 效地保护 RGCs;另一方面,Caspase-3 蛋白表达降低, 可能也间接揭示 SIRT1 激动剂干预后改善了 RGCs 的功能,表现出良好的保护作用。

p38 MAPK 信号转导通路是介导细胞反应的重 要信号系统,是一种应激反应通路,它可被不同的外 部与细胞内刺激所激活。活化的 p38 MAPK 进入细 胞核内,引发细胞产生炎症或免疫反应,或者导致细 胞周期停滞、衰老、凋亡等<sup>[18]</sup>。其调控凋亡的机制

非常复杂,至少通过以下途径:增强 c-myc 表达,磷 酸化 P53,参与 Fas/FasL 介导的凋亡,激活 c-jun 和 c- fos,诱导 Bax 转位等。在 NO 通过刺激 Bax 流入线粒 体而导致神经元细胞凋亡的过程中,p38 MAPK 的活 化起到关键作用;p38 MAPK 亦可增强 TNF-α 表达, 进而 TNF-α 活化 p38 MAPK 诱导凋亡<sup>[19]</sup>。李永浩 等<sup>[20]</sup>研究发现 p38 MAPK 抑制剂 SB203580 能够减 轻鼠糖尿病早期血视网膜屏障的破坏和 RGCs 凋亡, 提示 p38 MAPK 信号通路在糖尿病早期对 DR 的发 展起着一定的作用。

高血糖是 p38 MAPK 的激活剂,高糖环境下氧 化应激增强,促进周细胞凋亡。SIRT1 可以通过组蛋 白脱乙酰基作用,发挥抗凋亡和抗氧化应激的作 用<sup>[21]</sup>。我们的实验发现,糖尿病大鼠视网膜 p38 MAPK 磷酸化水平升高,Caspase-3 蛋白表达增加,提 示 p38 MAPK 通路被激活,RGCs 凋亡增加。给予 SIRT1 激动剂白藜芦醇治疗后,p38 MAPK 磷酸化水 平有所降低,Caspase-3 蛋白表达下降,糖尿病早期 RGCs 的凋亡减少,提示 SIRT1 激动剂白藜芦醇可 能是通过抑制 p38 MAPK 通路的激活,减少糖尿病大 鼠视网膜 Caspase-3 阳性神经节细胞凋亡,从而发挥 神经保护作用。

综上所述,由于 DR 所致的盲常常难以逆转,所 以对于 DR 发病机制研究尤其重要。在我们的实验 中,通过建立 DR 模型,早期应用 SIRT1 激动剂白藜 芦醇可提高 SIRT1 酶的活性而改善和延缓 DR 的发 展,对 DR RGCs 起到保护作用,其抗凋亡作用机制 可能与其抑制 p38 MAPK 的表达相关。p38 MAPK 信号通路是 DR 中 SIRT1 介导的神经保护作用的重 要通路之一,这可能为临床治疗早期 DR 提供了一种 新的途径。

参考文献

[1] SIMO R, HERNANDEZ C. Novel approaches for treating diabetic retinopathy based on recent pathogenic evidence[J]. *Prog Retin Eye Res*, 2015, 48(9):160-180.

[2] 中华医学会糖尿病学分会. 中国 2 型糖尿病防治指南(2013 年版)[J]. *中华内分泌代谢杂志*, 2014, 30(10):893-942. CHINESE DIABETES SOCIETY. China guideline for type 2 diabetes mellitus (2013 Edition) [J]. *Chin J Endocrinol Metab*, 2014, 30(10):893-942.

[3] 王月欣, 陈松. 糖尿病视网膜病变神经损伤的发病机制和保护防治研究进展[J]. *中华眼底病杂志*, 2014, 30(2):209-211. WANG YX, CHEN S. Research advance of nerve lesions in the pathogenesis of diabetic retinopathy and treatment of nerve protection[J]. *Chin J Ocul Fundus Dis*, 2014, 30(2):209-211.

[4] HERNANDEZ C, DLMONTE M, SIMO R, CASINI G. Neuroprotection as a therapeutic target for diabetic retinopathy[J]. *J Diabetes Res*, 2016, 2016(24):9508541.

[5] SIMO R, HERNANDEZ C. Neurodegeneration is an early event in diabetic retinopathy; therapeutic implications[J]. *Br J Ophthalmol*, 2012, 96(10):1285-1290.

[6] HERNANDEZ C, GARCIA-RAMIREZ M, CORRALIZA L, FERNANDEZ-CARNEADO J, FARRERA-SINFREU J, PONSATI B, et al. Topical administration of somatostatin prevents retinal neurodegeneration in experimental diabetes [J]. *Diabetes*, 2013, 62(7):2569-2578.

[7] 刘姝林,陈有信. SIRT1 在糖尿病视网膜病变发病机制中的作用[J]. 国际眼科纵览,2013,37(6):374-378.  
LIU SL,CHEN YX. The role of SIRT1 in the pathogenesis of diabetic retinopathy[J]. *Int Rev Ophthalmol*,2013,37(6):374-378.

[8] 彭惠,洪苏玲,李平华. p38 丝裂原活化蛋白激酶信号通路在糖尿病性视网膜病变中的作用研究进展[J]. 眼视光学杂志,2007,9(2):139-141.  
PENG H,HONG SL,LI PH. Recent progress in research on the p38 MAPK cell signal pathway in diabetic retinopathy[J]. *Chin J Opt Ophthalmol*,2007,9(2):139-141.

[9] 李东洁,吴迪,张旭乡. 糖尿病视网膜神经节细胞损伤的研究进展[J]. 国际眼科杂志,2016,16(4):670-672.  
LI DJ,WU D,ZHANG XX. Research advance of diabetic retinal ganglion cell lesions[J]. *Int Eye Sci*,2016,16(4):670-672.

[10] 于常红,韩彦裴,曹玉,安明,时肖,杨军廷,等. 左卡尼汀对糖尿病大鼠视网膜神经节细胞保护作用的实验研究[J]. 中国药理学通报,2013,29(11):1502-1505.  
YU CH,HAN YT,CAO Y,AN M,SHI X,YANG JT,et al. Protective effect of L carnitine on retinal ganglion cells in the diabetic rat[J]. *Chin Pharmacol Bulletin*,2013,(11):1502-1505.

[11] KIM D,NGUYEN MD,DOBBIN MM,FISCHER A,SANAN-BENESI F,RODGERS JT,et al. SIRT1 deacetylase protects against neurodegeneration in models for Alzheimer's disease and amyotrophic lateral sclerosis[J]. *EMBO J*,2007,26(13):3169-3179.

[12] 诸葛淳淳,徐国彤,徐晶莹. 去乙酰化酶 Sirt1 在视神经视网膜疾病中的神经保护作用[J]. 国际眼科纵览,2012,36(4):222-227.  
ZHU-GE CC,XU GT,XU JY. The neuroprotective role of Sirt1 in retinal and optic nerve diseases[J]. *Int Rev Ophthalmol*,2012,36(4):222-227.

[13] BORRA MT,SMITH BC,DENU JM. Mechanism of human SIRT1 activation by resveratrol[J]. *J Biol Chem*,2005,280(17):17187-17195.

[14] CAO D,WANG M,QIU X,LIU D,JIANG H,YANG N,et al. Structural basis for allosteric, substrate-dependent stimulation of SIRT1 activity by resveratrol[J]. *Genes Dev*,2015,29(12):1316-1325.

[15] LI YH,ZHUO YH,LU L,CHEN LY,HUANG XH,ZHANG JL,et al. Caspase-dependent retinal ganglion cell apoptosis in the rat model of acute diabetes[J]. *Chin Med J (Engl)*,2008,121(24):2566-2571.

[16] ADAMIEC-MROCZEK J,ZZJAC-PYTRUS H,MISIUK-HOJLO M. Caspase-dependent apoptosis of retinal ganglion cells during the development of diabetic retinopathy[J]. *Adv Clin Exp Med*,2015,24(3):531-535.

[17] 荀文军,吕红彬,杨旭,李恒,刘灵琳,李利文,等. 罗格列酮对糖尿病大鼠视网膜神经节细胞凋亡的影响[J]. 眼科新进展,2016,36(9):818-821.  
GOU WJ,LV HB,YANG X,LI H,LIU LL,LI LW,et al. Effects of rosiglitazone on retinal ganglion cells apoptosis in rats with diabetes mellitus[J]. *Rec Adv Ophthalmol*,2016,36(9):818-821.

[18] 李德冠,樊飞跃,孟爱民. p38 MAPK 通路在造血系统调节中的作用[J]. 中国药理学通报,2011,27(1):4-6.  
LI DG,FAN FY,MENG AM. p38 MAPK signaling pathways in the regulation of hematopoietic system[J]. *Chin Pharmacol Bull*,2011,27(1):4-6.

[19] 章必成,张巍. TNF, p38 MAPK 与细胞凋亡[J]. 国外医学(生理、病理科学与临床分册),2001,21(6):464-466.  
ZHANG BC,ZHANG W. p38 MAPK and cell apoptosis[J]. *Foreign Med Sci (Sec Pathophysiol Clin Med)*,2001,21(6):464-466.

[20] 李永浩,吕林,陈凌燕,黄新华,张静琳,李石毅,等. P38 丝裂素活化蛋白激酶信号通路阻断对糖尿病鼠早期血视网膜屏障和视网膜神经节细胞的保护作用[J]. 中华眼底病杂志,2010,26(2):139-142.  
LI TH,LV L,CHEN LY,HUANG XH,ZHANG JL,LI SY,et al. Protective effect of blocking the signal path of p38 mitogen activated protein kinase on blood retinal barrier and retinal ganglion cells in early diabetic rats[J]. *Chin J Ocul Fundus Dis*,2010,26(2):139-142.

[21] KUME S,KITADA M,KANASAKI K,MAEGAWA H,KOYA D. Anti-aging molecule, Sirt1: a novel therapeutic target for diabetic nephropathy[J]. *Arch Pharm Res*,2013,36(2):230-236.

## 关于我刊文后参考文献引用和著录规则的说明

### 1 不同文献类型的引用和著录格式

**1.1 阅读型参考文献 (reading reference)** 著者为撰写或编辑论著而阅读过的信息资源,或供读者进一步阅读的信息资源。著录时需要标注文章的起始页。

**1.2 引文参考文献 (cited reference)** 著者为撰写或编辑论著而引用的信息资源。页码只需著录引用信息所在页。

著录格式示例如下:

阅读型参考文献:邵毅,余静,余瑶,高桂平,杨继玲,裴重刚,等. 无缝线骨髓间充质干细胞羊膜移植预防角膜缘干细胞缺乏的实验研究[J]. 眼科新进展,2013,33(11):1011-1015.

SHAO Y,YU J,YU Y,GAO GP,YANG JL,PEI ZG,et al. Novel sutureless bone marrow mesenchymal stem cells with amniotic membrane transplantation for corneal limbus stem cells defect in rabbit model[J]. *Rec Adv Ophthalmol*,2013,33(11):1011-1015.

引文参考文献:杨秀梅,王雨生. MEK/ERK 参与大鼠脉络膜新生血管基质金属蛋白酶-2 和基质金属蛋白酶-9 的表达调控[J]. 眼科新进展,2015,25(6):504.

YANG XM,WANG YS. Contribution of MEK/ERK pathway in regulation of MMP-2 and MMP-9 expression in rat choroidal neovascularization[J]. *Rec Adv Ophthalmol*,2015,25(6):504.

### 2 著者的著录新规则

著者的著录时要求其姓全部著录,字母全大写,名可缩写为首字母,缩写名后省略缩写点。

著录格式示例如下:

[1] COOKE CA,LUM DJ,WHEELDON CE,TEOH H,MCGHEE CN. Surgical approach, histopathology, and pathogenesis in cataract associated with true lens exfoliation[J]. *J Cataract Refract Surg*,2007,33(4):735-738.

### 3 标识符号

论文正文和文献表中的序号均要使用“[ ]”括起,正文中连续序号和文献表中连续页码间用短横线连接。

需要注意的是,国家新标准新增了4个文献类型及其标识:(1)档案,A:分类保存以备查考的文件和材料,如人事档案、科技档案、法律法规、政府文件等。(2)舆图,CM:世界、国家、区域的地图。(3)数据集,DS:一种由数据所组成的集合,又称为资料集、数据集合或资料集合。(4)其他,Z:凡是归不进前面15个类型的文献,均可放到“Z”中。

本刊编辑部