

引文格式:董淑倩,刘双珍,李秋明.光预适应对小鼠视网膜光感受器细胞光损伤的保护作用研究[J].眼科新进展,2018,38(5):412-415,420. doi:10.13389/j.cnki.rao.2018.0096

【实验研究】

光预适应对小鼠视网膜光感受器细胞光损伤的保护作用[△]

董淑倩 刘双珍 李秋明

作者简介:董淑倩,女,1983年9月出生,博士,主治医师。研究方向:脉络膜、视网膜及玻璃体相关疾病。联系电话:0371-66862221;E-mail:dongshuqian2006@163.com;ORCID:0000-0003-0538-6902

About DONG Shu-Qian: Female, born in September, 1983. Doctor degree, attending doctor. Tel: +86-371-66862221; E-mail: dongshuqian2006@163.com; ORCID: 0000-0003-0538-6902

收稿日期:2018-01-04

修回日期:2018-02-20

本文编辑:方红玲

△基金项目:国家自然科学基金联合基金项目(编号:U1304812);河南省医学科技攻关计划普通项目(编号:201602080)

作者单位:450052 河南省郑州市,郑州大学第一附属医院眼科(董淑倩,李秋明);410008 湖南省长沙市,中南大学湘雅医院眼科(董淑倩,刘双珍)

通讯作者:李秋明, E-mail: liqiuming63@163.com; ORCID: 0000-0002-0722-9807

Received date: Jan 4, 2018

Accepted date: Feb 20, 2018

Foundation item: Joint Project of National Natural Science Foundation of China (No: U1304812); General Project of Medical Science and Technology of Henan Province (No: 201602080)

From the Department of Ophthalmology, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Henan Provincial Ophthalmic Hospital (DONG Shu-Qian, LI Qiu-Ming), Zhengzhou 450052, Henan Province, China; Department of Ophthalmology, Xiangya Hospital, Central South University (DONG Shu-Qian, LIU Shuang-Zhen), Changsha 410008, Hunan Province, China

Responsible author: LI Qiu-Ming, E-mail: liqiuming63@163.com; ORCID: 0000-0002-0722-9807

饲养不同时间(2 d、4 d和6 d)。正常对照组、光损伤组和光预适应+光损伤组分别采用闪光视网膜电图(flash electroretinogram, FERG)和组织病理学检查检测视网膜光感受器细胞的功能和形态学变化。光预适应组运用实时荧光定量PCR法检测光预适应对小鼠视网膜中白血病抑制因子(leukemia inhibitory factor, LIF)mRNA相对表达水平的影响;运用Western blot法检测光预适应对信号转导子和转录激活因子3(STAT3)蛋白磷酸化水平的影响。结果 FERG检查结果显示,与正常对照组相比,光损伤组暗适应ERG a波振幅下降,差异有统计学意义(P=0.000);与光损伤组相比,光预适应+光损伤组暗适应ERG a波振幅显著增加,差异有统计学意义(P=0.000)。组织病理学检查结果显示,与正常对照组相比,光损伤组小鼠视网膜外核层细胞核数

Protective effects of light preconditioning on retinal photoreceptor cells against light damage

DONG Shu-Qian, LIU Shuang-Zhen, LI Qiu-Ming

[Abstract] Objective To investigate the protective role of light preconditioning in retinal photoreceptor cells and the underlying mechanisms after light damage. **Methods** Together 42 BALB/c mice were randomly divided into normal control group, light damage group, light preconditioning + light damage group and light preconditioning group. Mice in the light damage group were exposed to 4000 Lux intensity of cool white fluorescent light for 4 h continually; mice in the light preconditioning + light damage group were maintained in 600 Lux cyclic bright light for preconditioning (12 h ON and 12 h OFF) for 6 days, and then exposed to 4000 Lux bright-light for the induction of the damage; mice in the light preconditioning group were maintained in 600 Lux cyclic bright light for preconditioning (12 h ON and 12 h OFF) for 2 days, 4 days, 6 days. Then the function and morphology of retinal photoreceptor cells were detected by flash electroretinogram (FERG) and histopathological examination in the normal control group, light damage group and light preconditioning + light damage group, while real-time polymerase chain reaction (PCR) was used to detect the mRNA relative expression of leukemia inhibitory factor (LIF) and Western blot analysis was used to detect the phosphoprotein relative expression of signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3) in the light preconditioning group. **Results** FERG results showed the amplitudes of scotopic ERG a wave of the light damage group were decreased when compared with the normal control group, with significant difference (P=0.000). Compared with the light damage group, the amplitudes of scotopic ERG a wave of the light preconditioning + light damage group were increased significantly (P=0.000). Histopathological examination results showed that the number of photoreceptor nuclei in the light damage group was decreased compared with the normal control group, and the difference was statistically significant (P=0.000). Compared with light damage group, the number of photoreceptor nuclei in light preconditioning + light damage group was increased significantly (P=0.000). Real-time PCR results showed light preconditioning enhanced the LIF mRNA relative expression in a time-dependent manner (F=128.776, P=0.000). Western blot results showed light preconditioning up-regulated the phosphoprotein relative expression of STAT3 protein in a time-dependent manner (F=73.493, P=0.000). **Conclusion** Light preconditioning can protect retinal photoreceptor cells against light damage which may result from the activation of LIF/STAT3 signaling pathway.

[Key words] light preconditioning; photoreceptor; leukemia inhibitory factor; light damage

【摘要】 目的 探讨光预适应对视网膜光感受器细胞光损伤的保护作用及其机制。**方法** 42只小鼠随机分为正常对照组、光损伤组、光预适应+光损伤组和光预适应组。光损伤组采用4000 Lux白色冷光源对BALB/c小鼠进行4 h持续照射;光预适应+光损伤组先采用600 Lux白色冷光源与黑暗(12 h/12 h)交替环境下饲养6 d,然后采用4000 Lux白色冷光源持续照射4 h;光预适应组仅采用600 Lux白色冷光源与黑暗(12 h/12 h)交替环境下饲养不同时间(2 d、4 d和6 d)。正常对照组、光损伤组和光预适应+光损伤组分别采用闪光视网膜电图(flash electroretinogram, FERG)和组织病理学检查检测视网膜光感受器细胞的功能和形态学变化。光预适应组运用实时荧光定量PCR法检测光预适应对小鼠视网膜中白血病抑制因子(leukemia inhibitory factor, LIF)mRNA相对表达水平的影响;运用Western blot法检测光预适应对信号转导子和转录激活因子3(STAT3)蛋白磷酸化水平的影响。**结果** FERG检查结果显示,与正常对照组相比,光损伤组暗适应ERG a波振幅下降,差异有统计学意义(P=0.000);与光损伤组相比,光预适应+光损伤组暗适应ERG a波振幅显著增加,差异有统计学意义(P=0.000)。组织病理学检查结果显示,与正常对照组相比,光损伤组小鼠视网膜外核层细胞核数

量明显减少,差异有统计学意义($P=0.000$);与光损伤组相比,光预适应+光损伤组外核层细胞核数量明显增多,差异有统计学意义($P=0.000$)。实时荧光定量PCR检测结果显示,光预适应显著增加LIF mRNA的相对表达量,且呈时间依赖性($F=128.776$, $P=0.000$)。Western blot检测结果显示,光预适应显著增加STAT3蛋白磷酸化的相对表达量,且呈时间依赖性($F=73.493$, $P=0.000$)。结论 光预适应对视网膜光感受器细胞光损伤具有保护作用,其可能通过激活LIF/STAT3信号通道发挥作用。

【关键词】 光预适应;光感受器;白血病抑制因子;光损伤

【中图分类号】 R774.1

光是视觉系统进化和发育的动力,功能正常的视网膜可感受外界光线形成视觉图像;但是,当光线的光强度、光照时间等超过了视网膜的承受力,将会造成视网膜光损伤,最终导致光感受器细胞死亡,继而引起患者视力不可逆性损害。大量流行病学和实验研究表明,长期接受强光照射是视网膜退行性病变的高危因素,强光照射引起的视网膜光损伤被作为研究视网膜退行性疾病主要的模型系统^[1]。视网膜具有内源性自我保护机制,运用非致死性刺激作为预适应可以增加视网膜对致死强度刺激的抵抗能力^[2]。本研究通过建立小鼠光损伤动物模型来模拟视网膜光感受器细胞退行性病变,采用中度光照射作为预刺激,研究光预适应是否对视网膜光感受器细胞光损伤起保护作用及其可能的机制。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 选用健康清洁级BALB/c小鼠42只,5~6周龄,体质量15~18g,雌雄兼用,排除眼部疾患。实验动物的使用遵循ARVO声明。所有小鼠饲养温度维持在(23 ± 1) $^{\circ}\text{C}$,小鼠可自由获得食物和饮水,不限制活动。

1.1.2 主要试剂及仪器 生物显微镜(日本奥林巴斯株式会社);视网膜电图仪(美国Diagnosys公司);实时荧光定量PCR试剂盒PrimeScript RT reagent Kit (Perfect Real Time);SYBR Premix Ex TaqII染料法荧光定量试剂盒(大连宝生物公司);兔抗小鼠兔多克隆STAT3蛋白抗体、兔抗小鼠兔多克隆p-Tyr705-STAT3蛋白抗体(美国Cell Signaling Technology公司)。

1.2 方法

1.2.1 动物模型的建立

1.2.1.1 实验分组 42只小鼠随机分为正常对照组(12只)、光损伤组(6只)、光预适应+光损伤组(6只)和光预适应组(18只)。其中正常对照组中6只(12眼)小鼠行闪光视网膜电图(flash electroretinogram, FERG)和组织病理学检查,另外6只(12眼)小鼠分别行实时荧光定量PCR检测6眼和Western blot法检测6眼;18只光预适应组小鼠根据光预适应时间分为2d组(6只)、4d组(6只)和6d组(6只),各亚组小鼠分别行荧光定量PCR检测(6眼)和Western blot法检测(6眼)。

1.2.1.2 小鼠视网膜光损伤模型的建立 BALB/c小鼠暗适应12h,托品酰胺滴眼液滴眼散大瞳孔后放置于自制木质的光照箱中,光强度维持在4000

Lux进行4h持续照射。光照后置小鼠于暗环境下饲养8h后移至正常光照环境下(光/暗:12h/12h,光照强度约为60Lux),常规饲养5d后行FERG功能学检测和视网膜组织病理学检查。

1.2.1.3 小鼠视网膜光预适应 光预适应组小鼠在正常光照环境下(光/暗:12h/12h,光照强度约为60Lux)常规饲养7d后进行光预适应(光/暗:12h/12h,光照强度约为600Lux),于光预适应后2d、4d和6d分别提取小鼠视网膜总RNA和蛋白行实时荧光定量PCR检测和Western blot法检测。光预适应+光损伤组小鼠在光预适应(光/暗:12h/12h,光照强度约为600Lux)后6d,进行4000Lux持续照射4h,后置小鼠于暗环境下饲养8h后移至正常光照环境下(光/暗:12h/12h,光照强度约为60Lux),常规饲养5d后行FERG功能学检测和视网膜组织病理学检查。

1.2.2 FERG检测视网膜光感受器细胞功能学变化 小鼠先置于暗室内进行暗适应12~16h,暗适应ERG在暗室内微弱的红光下进行。小鼠称体质量后用甲苯噻嗪($20\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)和氯胺酮($40\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)腹腔注射麻醉,托品酰胺眼液滴眼散大瞳孔后将小鼠放置在 37°C 的加热垫上, $4\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 倍诺喜眼液双眼表面麻醉。黄金参考电极和接地电极插入小鼠脸颊结膜面和尾部,双眼角膜中央安放自制环状黄金丝电极。暗适应ERG给予 $0.001\text{ cd} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$ 、 $0.010\text{ cd} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$ 、 $1.000\text{ cd} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$ 、 $100.000\text{ cd} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$ 、 $200.000\text{ cd} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$ 、 $400.000\text{ cd} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$ 6种不同强度的单次白光全视野闪烁刺激检测视网膜光感受器细胞的功能。操作时每种刺激按仪器设置多次重复测量。记录暗适应ERG a波振幅。

1.2.3 小鼠视网膜的组织病理学检查 颈椎脱臼法处死各组小鼠后摘除眼球,放入 $40\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 多聚甲醛中固定24h,逐级乙醇脱水,二甲苯透明,沿视神经矢状轴以颞侧向下包埋眼球。常规脱蜡后制备视网膜切片,切片厚 $5\text{ }\mu\text{m}$,置于预处理的防脱载玻片上,用苏木精-伊红(HE)染色。光学显微镜下对外核层光感受器细胞的数量进行计数。计数方法:视盘为中心,以 0.48 mm 的间隔向上方和下方视网膜各数4列。

1.2.4 实时荧光定量PCR检测小鼠视网膜中白血病抑制因子mRNA的相对表达水平 颈椎脱臼法处死小鼠后剥离视网膜,用Trizol试剂提取总RNA,并用紫外分光光度法定量。行逆转录反应合成cDNA,以其为模板进行实时荧光定量PCR。根据GenBank中LIF基因序列设计引物。LIF引物序列:

上游引物:5'-TGAGATGCAGGGATTGTGCCCTTA-3'、下游引物:5'-AAATGAAGAGAGCATTGGCGCTGC-3',长度187 bp。PCR反应条件:95℃预变性10 min,95℃变性30 s,60℃退火30 s,共循环40次。溶解曲线温度65~95℃。对小鼠视网膜中白血病抑制因子(leukemia inhibitory factor,LIF)mRNA相对表达量进行计算。

1.2.5 Western blot 法检测小鼠视网膜 STAT3 蛋白磷酸化水平 颈椎脱臼法处死小鼠后剥离视网膜,提取蛋白质。孵育信号转导子和转录激活因子3(signal transducer and activator of transcription 3,STAT3)及其磷酸化蛋白(phosphorylated signal transducer and activator of transcription 3,pSTAT3)的一抗体后进行辣根过氧化物酶标记的二抗孵育,然后进行显色、显影、定影。采用BandsScan 5.0软件分析条带的吸光度(A)值。pSTAT3蛋白相对表达量 = pSTAT3蛋白A值/STAT3蛋白A值。

1.3 统计学方法 实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用SPSS 16.0统计软件包进行统计学分析。正常对照组、光损伤组和光预适应+光损伤组三组间暗适应ERG a波、视网膜外核层细胞核数量以及组间LIF mRNA和pSTAT3蛋白相对表达量的比较采用方差分析对均数进行比较,各组两两之间的差异采用LSD-t检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 光预适应对小鼠视网膜光感受器细胞功能的影响 暗适应ERG检查结果显示,6种不同强度光

刺激下,三组间a波振幅差异有统计学意义($F = 19.553, P = 0.000$)。与正常对照组相比,光损伤组a波振幅下降,差异有统计学意义($P = 0.000$);与光损伤组相比,光预适应+光损伤组a波振幅显著增加,差异有统计学意义($P = 0.000$),见图1。

图1 三组间a波振幅比较。与正常对照组相比,^a $P < 0.05$;与光损伤组相比,^b $P < 0.05$

2.2 光预适应对小鼠视网膜光感受器细胞组织病理学的影响 组织病理学检查结果显示(图2),三组间细胞核数量比较差异有统计学意义($F = 14.945, P = 0.005$)。与正常对照组[(77.96 ± 6.21)个]相比,光损伤组视网膜外核层每列细胞核数量[(46.53 ± 6.09)个]明显减少,即外核层变薄,差异有统计学意义($P = 0.000$)。与光损伤组相比,光预适应+光损伤组外核层每列细胞核数量[(69.18 ± 8.26)个]明显增多,差异有统计学意义($P = 0.000$),见图3。

图2 小鼠视网膜组织病理学检查结果(HE染色,×40)。A:正常对照组;B:光损伤组;C:光预适应+光损伤组。ONL:视网膜外核层

2.3 光预适应对LIF mRNA相对表达量的影响 实时荧光定量PCR检测结果显示,光预适应显著增加LIF mRNA的相对表达量,且呈时间依赖性($F = 128.776, P = 0.000$),见图4。与正常对照组相比,光预适应6 d时LIF mRNA的相对表达量增加157倍($P = 0.000$)。

2.4 光预适应对pSTAT3蛋白相对表达量的影响 Western blot检测结果显示,光预适应可显著增加pSTAT3蛋白的相对表达量,且呈时间依赖性($F = 73.493, P = 0.000$),见图5。与正常对照组相比,光预适应6 d时pSTAT3蛋白的相对表达量增加15倍

($t = 24.249, P = 0.000$)。

3 讨论

年龄相关性黄斑变性、视网膜色素变性等视网膜退行性病变是严重影响人类视功能的重要疾病,目前其发病率有明显上升趋势。视网膜退行性病变与视网膜光感受器细胞的损伤及凋亡密切相关,目前尚无有效的治疗方法^[3]。已有实验证明高强度的光照可能会引起视网膜光感受器细胞的凋亡,加快视网膜退行性疾病的进展。因此,本研究采用4000 Lux白色冷光源对BALB/c小鼠进行4 h持续照射

及其机制。

有研究发现,机体预先经受一次或多次非致死性刺激后可获得对更严重致死性损伤的耐受性,多数学者发现这种内源性保护现象广泛存在于肝、脑、肾等多种组织和器官^[4]。还有学者发现低氧预刺激可增加视网膜对致死强度光刺激和缺血刺激的抵抗能力,其机制尚不明确,可能通过反应性上调各种保护因子,激活大量的受体和信号通道而延迟光感受器细胞的凋亡^[2,5]。本研究采用 600 Lux 光强度作为光预刺激,研究中等强度光预适应对视网膜光感受器细胞光损伤的作用。本研究发现,光预适应对视网膜光感受器细胞光损伤的功能和形态均具有保护作用,而且光预适应可显著增加 LIF mRNA 和 pSTAT3 蛋白的相对表达量,且均呈时间依赖性。

LIF 是白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)家族中的一员,其相对分子质量为 20 000,最早因能抑制 M1 髓系白血病细胞增殖以及诱导其向巨噬细胞分化而得名。外源性 LIF 呈剂量依赖性保护视网膜的功能和形态,在光损伤和遗传性视网膜退行性病变动物模型中 LIF 均表达上调;基因敲除 LIF 极大加速了遗传性视网膜退行性病变动物模型视杆细胞的凋亡^[6]。LIF 通过白血病抑制因子受体(leukemia inhibitory factor receptor, LIFR)和糖蛋白 130(glycoprotein 130, gp130)异构杂合受体发挥生物学作用^[7]。视网膜光损伤动物模型中已明确证实 LIFR/gp130 复合体的保护系统仅有 Jak/STAT3 信号转导通路参与其中^[8]。我们前期体外实验发现,在正常和氧化损伤条件下,外源性 LIF 均可激活光感受器视锥细胞株(661W 细胞)STAT3 信号通路,呈浓度和时间依赖性。运用 STAT3 特异性阻断剂 S31201 阻断 STAT3 信号通路,可显著削弱 LIF 对 661W 细胞的保护作用,这表明 LIF/STAT3 信号通道对 661W 细胞具有直接保护作用^[9-10]。本研究通过体内实验也发现,光损伤条件下,中等强度光预刺激可激活视网膜 LIF/STAT3 信号通道。

综上所述,中等强度光预刺激对视网膜光感受器细胞光损伤具有保护作用,可能通过激活 LIF/STAT3 信号通路而发挥其作用。这一结果为预防视网膜退行性病变及相关治疗手段的研发开辟了新的思路。

参考文献

- [1] JAGER RD, MIELER WF, MILLER JW. Age-related macular degeneration[J]. *N Engl J Med*, 2008, 358(24):2606-2617.
 - [2] XIAO ZX, ZHAO YS, WANG XL, LI CL. Effects of hypoxia preconditioning on expression of HIF-1 α and HO-1 in rats with retinal ischemia-reperfusion injury[J]. *Rec Adv Ophthalmol*, 2015, 35(4):310-313, 317.
- 肖正霞,赵岩松,王晓莉,李聪伶.低氧预适应对缺血再灌注损伤大鼠视网膜低氧诱导因子-1 α 和血红素氧合酶-1表达的影响[J].眼科新进展,2015,35(4):310-313,317.

图3 视网膜外核层每列光感受器细胞核数量

图4 实时荧光定量 PCR 检测 LIF mRNA 相对表达量的分析图。与正常对照组相比,^a $P < 0.05$

图5 Western blot 检测 pSTAT3 蛋白相对表达量的分析图。A: Western blot 结果代表性图形;B: Western blot 灰度值扫描分析图。与正常对照组相比,^a $P < 0.05$

制作小鼠视网膜光损伤模型来模拟视网膜变性,并探讨光预适应对视网膜光感受器细胞光损伤的作用

治疗或预防 DR 的报道尚少。因此,本研究采用基因沉默技术抑制 HMGB1 的表达,观察其能否减轻或逆转 DR 的发生发展。

RNA 干扰是转录后基因沉默的有力工具,是研究基因功能的新方法^[15-16]。本研究中采用基因沉默的方法,将 HMGB1 siRNA 转染入 HRECs 中,抑制 HMGB1 的蛋白表达,以观察其对 HRECs 的影响。

本研究发现,高糖可导致 HRECs 细胞凋亡,呈明显的时间和剂量依赖性,这也与一些学者的研究相似^[17-18]。而 HMGB1 siRNA 可以逆转高糖环境下的 HRECs 细胞凋亡。在流式细胞仪检测的结果中,我们发现 HMGB1 siRNA 只能抑制细胞凋亡的早期阶段,对坏死的细胞没有太大的影响。这些有待于今后的实验进一步研究。Western blot 检测结果表明, HMGB1 siRNA 可以降低 cleaved-caspase 3 蛋白的表达,增加 Bcl-2 蛋白表达。这表明 HMGB1 siRNA 的抗凋亡作用是通过抑制 cleaved-caspase 3 蛋白和促进 Bcl-2 蛋白的表达实现的。

当然,本研究也存在一些不足之处,主要为我们模拟的是体外实验部分, HMGB1 siRNA 在体内是否能发挥同样的作用尚不十分清楚,需要在今后的实验中进一步验证。综上,本研究结果表明, HMGB1 在 DR 的发生发展中起着重要的作用, HMGB1 siRNA 的基因治疗可能是 DR 的一个新的治疗策略。

参考文献

[1] HWAIZ R, HASAN Z, RAHMAN M, ZHANG S, PALANI K, SYK I, et al. Rac1 signaling regulates sepsis-induced pathologic inflammation in the lung via attenuation of Mac-1 expression and CXC chemokine formation[J]. *J Surg Res*, 2013, 183(2): 798-807.

[2] OMBRELLINO M, WANG H, AJEMIAN MS, TALHOUK A, SCHER LA, FRIEDMAN SG, et al. Increased serum concentrations of high-mobility-group protein 1 in haemorrhagic shock [J]. *Lancet*, 1999, 354(9188): 1446-1447.

[3] TSUNG A, TOHME S, BILLIAR TR. High-mobility group box-1 in sterile inflammation[J]. *J Intern Med*, 2014, 276(5): 425-443.

[4] HUEBENER P, HERNANDEZ C, SCHWABE RF. HMGB1 and injury amplification [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(27): 23048-

23049.

[5] JIANG S, CHEN X. Expression of high-mobility group box 1 protein (HMGB1) and toll-like receptor 9 (TLR9) in retinas of diabetic rats[J]. *Med Sci Monit*, 2017, 23: 3115-3122.

[6] JIANG S, CHEN X. HMGB1 siRNA can reduce damage to retinal cells induced by high glucose *in vitro* and *in vivo* [J]. *Drug Des Devel Ther*, 2017, 11: 783-795.

[7] SHIN ES, SORENSON CM, SHEIBANI N. Diabetes and retinal vascular dysfunction[J]. *J Ophthalmic Vis Res*, 2014, 9(3): 362-373.

[8] RASK-MADSEN C, KING GL. Vascular complications of diabetes; mechanisms of injury and protective factors [J]. *Cell Metab*, 2013, 17(1): 20-33.

[9] YU Y, YANG L, LV J, HUANG X, YI J, PEI C, et al. The role of high mobility group box 1 (HMGB-1) in the diabetic retinopathy inflammation and apoptosis [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(6): 6807-6813.

[10] ABU EAM, NAWAZ MI, KANGAVE D, ABOUMMOH M, MOHAMMAD G. High-mobility group box-1 and endothelial cell angiogenic markers in the vitreous from patients with proliferative diabetic retinopathy [J]. *Mediators Inflamm*, 2012, 2012: 697489.

[11] YANG S, XU L, YANG T, WANG F. High-mobility group box-1 and its role in angiogenesis [J]. *J Leukoc Biol*, 2014, 95(4): 563-574.

[12] MOHAMMAD G, SIDDIQUEI MM, OTHMAN A, AL-SHABRAW-EY M, ABU EAM. High-mobility group box-1 protein activates inflammatory signaling pathway components and disrupts retinal vascular-barrier in the diabetic retina [J]. *Exp Eye Res*, 2013, 107: 101-109.

[13] ABU EAM, MOHAMMAD G, NAWAZ MI, SIDDIQUEI MM. High-mobility group box-1 modulates the expression of inflammatory and angiogenic signaling pathways in diabetic retina [J]. *Curr Eye Res*, 2015, 40(11): 1141-1152.

[14] ZHAO H, ZHANG J, YU J. HMGB-1 as a potential target for the treatment of diabetic retinopathy [J]. *Med Sci Monit*, 2015, 21: 3062-3067.

[15] HANRAHAN F, HUMPHRIES P, CAMPBELL M. RNAi-mediated barrier modulation; synergies of the brain and eye [J]. *Ther Deliv*, 2010, 1(4): 587-594.

[16] ZHANG YF, WEI W, LI L, TU G, ZHANG Y. Sirt1 and HMGB1 regulate the AGE-induced pro-inflammatory cytokines in human retinal cells [J]. *Clin Lab*, 2015, 61(8): 999-1008.

[17] CHEN XL, ZHANG XD, LI YY, CHEN XM, TANG DR, RAN RJ. Involvement of HMGB1 mediated signalling pathway in diabetic retinopathy: evidence from type 2 diabetic rats and ARPE-19 cells under diabetic condition [J]. *Br J Ophthalmol*, 2013, 97(12): 1598-1603.

[18] AGARWAL A, SOLIMAN MK, SEPAH YJ, DO DV, NGUYEN QD. Diabetic retinopathy: variations in patient therapeutic outcomes and pharmacogenomics [J]. *Pharmacogenomics Pers Med*, 2014, 7: 399-409.

(上接第 415 页)

[3] JACOBSON SG, CIDEJYAN AV. Treatment possibilities for retinitis pigmentosa [J]. *N Engl J Med*, 2010, 363(17): 1669-1671.

[4] GRIMM C, WENZEL A, ACAR N, KELLER S, SEELIGER M, GASSMANN M. Hypoxic preconditioning and erythropoietin protect retinal neurons from degeneration [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2006, 588(2): 119-131.

[5] ZHAO YS, ZHAO KX, WANG XL, MU QL, WANG L. Effects of hypoxia preconditioning on expression of EPO and active Caspase-3 protein in retina after ischemia reperfusion injury [J]. *Rec Adv Ophthalmol*, 2013, 33(1): 5-8.

赵岩松, 赵堪兴, 王晓莉, 牟青杰, 王丽, 毕学辉. 低氧预适应对缺血再灌注损伤大鼠视网膜促红细胞生成素及活性 Caspase-3 蛋白表达的影响 [J]. 眼科新进展, 2013, 33(1): 5-8.

[6] BÜRGI S, SAMARDZLIJA M, GRIMM C. Endogenous leukemia inhibitory factor protects photoreceptor cells against light-induced degeneration [J]. *Mol Vis*, 2009, 15: 1631-1637.

[7] SUTHAUS J, ADAM N, GROTZINGER J, SCHELLER J, ROSE-JOHN S. Viral interleukin-6 structure, pathophysiology and strategies of neutralization [J]. *Eur J Cell*, 2011, 90(6-7): 495-504.

[8] UEKI Y, WANG JG, CHOLLANGI S, AAH JD. STAT3 activation in photoreceptors by leukemia inhibitory factor is associated with protection from light damage [J]. *J Neuro*, 2008, 105(3): 784-796.

[9] DONG SQ, LI QM, LIU SZ. Protective effects and mechanisms of LIF on cone photoreceptors from oxidant injury [J]. *Rec Adv Ophthalmol*, 2017, 37(6): 506-510.

董淑倩, 李秋明, 刘双珍. 白血病抑制因子 (LIF) 对视网膜视锥细胞氧化损伤的保护作用及机制 [J]. 眼科新进展, 2017, 37(6): 506-510.

[10] DONG SQ, XU HZ, XIA XB, WANG S, ZHANG LX, LIU SZ. Activation of the ERK 1/2 and STAT3 signaling pathways is required for 661W cell survival following oxidant injury [J]. *Int J Ophthalmol*, 2012, 5(2): 138-142.