

新生血管性青光眼的研究进展

李钰洁, 侯旭, 胡丹

基金项目:陕西省自然科学基金项目(No. 2013JM4018)
作者单位:(710032) 中国陕西省西安市, 第四军医大学第一附属医院眼科
作者简介:李钰洁, 女, 在读硕士研究生, 研究方向: 视神经保护、眼外伤。
通讯作者:胡丹, 博士, 主任医师, 教授, 硕士研究生导师, 副主任, 研究方向: 视神经保护、眼外伤. hoodan@fmmu.edu.cn
收稿日期:2015-03-09 **修回日期:**2015-06-08

Progression in the basic research on neovascular glaucoma

Yu-Jie Li, Xu Hou, Dan Hu

Foundation item: Shaanxi Provincial Natural Science Basic Research Project(No. 2013JM4018)
Department of Ophthalmology, the First Affiliated Hospital of the Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, Shaanxi Province, China
Correspondence to: Dan Hu. Department of Ophthalmology, the First Affiliated Hospital of the Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, Shaanxi Province, China. hoodan@fmmu.edu.cn
Received:2015-03-09 Accepted:2015-06-08

Abstract

• Neovascular glaucoma (NVG) is a series of blinding and intractable eye diseases, which caused by various intraocular or extraocular diseases. The iris and angle neovascularization and vascular membrane fiber contraction may eventually lead to progressive elevation of intraocular pressure and angle closure. Because of complex etiology, the treatment of NVG is intractable and inefficient. Based on the articles published in recent years, we reviewed the progressions of the relevant cytokines and animal models.

• **KEYWORDS:** neovascular glaucoma; cytokine; animal model; nanoparticle; fibrin glue

Citation: Li YJ, Hou X, Hu D. Progression in the basic research on neovascular glaucoma. *Guoji Yanke Zazhi(Int Eye Sci)* 2015; 15(7):1179-1183

摘要

新生血管性青光眼(neovascular glaucoma, NVG)是由于各种眼内或眼外疾病导致的一种难治性、严重致盲的眼病,其虹膜和房角新生血管及纤维血管膜的收缩最终有可能导致进行性眼压升高和房角关闭。由于其复杂的病因,临

床治疗较为困难且疗效不佳。本文依据近年文献报道,围绕新生血管性青光眼的相关细胞因子、动物模型进展做一综述。

关键词: 新生血管性青光眼; 细胞因子; 动物模型; 纳米微粒; 纤维蛋白胶

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2015.7.16

引用: 李钰洁, 侯旭, 胡丹. 新生血管性青光眼的研究进展. 国际眼科杂志 2015; 15(7):1179-1183

0 引言

新生血管性青光眼(neovascular glaucoma, NVG)是一组以虹膜和房角新生血管为特征的难治性青光眼。其病因主要是视网膜缺血、炎症或手术外伤等,可继发于多达40余种不同疾病,其中视网膜中央静脉阻塞和糖尿病性视网膜病变占到了病因的近70%,是一种破坏性强、严重致盲的眼病^[1]。目前, NVG具体的发病机制尚不十分清楚,但近年来有大量NVG的实验研究,并出现了一些新的治疗方法。

1 细胞因子和新生血管性青光眼

1.1 血管内皮生长因子 在众多血管生长因子中,血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)在新生血管性青光眼形成中发挥着重要作用, VEGF家族包括VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E和胎盘生长因子6种,它们通过激活酪氨酸激酶受体VEGFR-1, VEGFR-2, VEGFR-3激活不同的信号级联在新生血管形成中发挥重要作用,包括促进细胞的有丝分裂和参与多种血管生成的过程(内皮细胞的增殖、迁移、生存和趋化性)^[2],目前VEGF-A已知的亚型有VEGF121, VEGF165, VEGF189, VEGF206, VEGF145, VEGF183, VEGF162和VEGF165b8种^[3],其中VEGF121和VEGF165为最主要的亚型。正常眼中含有微量的VEGF,其对于正常眼部的血液供应和维持视网膜正常发育发挥重要作用,但过量VEGF的表达可诱发病理性新生血管。Pe'er等的研究表明,缺血缺氧可诱发VEGF过量表达并促使视网膜和虹膜产生新生血管,并指出视网膜是眼内唯一表达VEGF mRNA的组织,其VEGF主要由视网膜神经细胞层表达,并且视网膜全层细胞均有助于增强VEGF的表达^[4]。Tripathi等^[5]比较新生血管性青光眼、原发性开角型青光眼(primary open angle glaucoma, POAG)、白内障和健康人房水VEGF的含量,结果表明NVG患者VEGF的含量分别是POAG和白内障患者VEGF含量的40和113倍。目前,许多针对VEGF的靶向治疗药物已在临床中得以应用,主要有Pegaptanib(Macugen), Ranibizumab(Lucentis)和Bevacizumab(Avastin),前两者已通过美国FDA批准用

于临床治疗湿性年龄相关性黄斑变性。一系列研究证明,抗 VEGF 制剂也能应用于 NVG 治疗,其通过抑制眼前节新生血管的生长,起到预防虹膜新生血管和控制房角关闭的作用^[6,7],其 Bevacizumab 应用最广泛,是世界上首个批准上市的 VEGF 抑制剂,用于结直肠癌的治疗,近年来也用于眼内各种视网膜缺血性疾病和 NVG 的治疗。

1.2 血小板源性生长因子 上世纪,人们一直认为血小板源性生长因子(platelet-derived growth factor, PDGF)家族包括 PDGF-A 和 PDGF-B,有三个亚型即同源二聚体(PDGF-AA 和 PDGF-BB)和异源二聚体(PDGF-AB),分别通过受体 PDGFR- α 和 PDGFR- β 结合发挥作用^[8]。有报道发现 PDGF 与 VEGF 有显著的同源性,也能增加血管的渗透性,促进内皮细胞的生长、血管的生成^[9]。Betsholtz 等^[10]发现缺氧、炎症等刺激因素促进病理性新生血管的形成,但若新生血管不被周细胞所包裹将可自发消退,作为血管生长因子之一的 PDGF(未提示亚型的一般指 PDGF-A)是一种强大的有丝分裂原,可促进周细胞的包裹,从而增加血管的稳定性,促进新生血管分支的不断延伸。同时发现减少周细胞或 PDGF 的水平与糖尿病性视网膜病变新生血管的形成息息相关^[11]。大量文献表明,PDGF 在眼内新生血管性疾病中发挥着与 VEGF 举足轻重的作用。然而对于 PDGF 与新生血管性青光眼(NVG)相关的文献少有报道,国内郭斌等^[12]用 ELISA 的方法检测 NVG 患者房水和玻璃体内 VEGF 和 PDGF 的含量发现:NVG 组房水和玻璃体液中 VEGF 和 PDGF 含量均呈正相关($r=0.305, P=0.025; r=0.303, P=0.026$); CRVO 组玻璃体液中 VEGF 和 PDGF 含量呈正相关($r=0.503, P=0.040$); DR 组房水中 VEGF 和 PDGF 含量呈正相关($r=0.462, P=0.030$)。VEGF 和 PDGF 的含量变化与其原发病和虹膜新生血管的严重程度有关。

近年来人们逐渐发现 PDGF 家族的新成员 PDGF-C^[13]和 PDGF-D^[14]。Hou 等^[15]发现 PDGF-C 中和抗体和 shRNA 阻断 PDGF-C 功能和表达后,能够显著抑制病理性新生血管生成和血管渗漏,并进一步发现 PDGF-C 能显著激活 PDGFR- α 和 Akt,并调控 GSK3 β 的表达和磷酸化,应用 GSK3 β 激动剂或者阻断剂能够调控 PDGF-C 在新生血管生成中所发挥的作用,从而提示 PDGF-C 参与了眼内病理性新生血管的生成。也有研究发现 PDGF-D 在病理性血管的表达上调,抑制 PDGF-D 能抑制视网膜和脉络膜新生血管的形成,此外 PDGF-D 调节 GSK3 β 和许多重要的血管生成和抑制的基因,由于 PDGF-D 对血管细胞多效性的影响,故可作为抗新生血管的一个重要目标基因^[16]。综上所述,PDGF(PDGF-A, PDGF-B, PDGF-C 和 PDGF-D)有可能参与新生血管性青光眼的病理过程,抑制 PDGF 将可能为 NVG 提供新的治疗选择。

1.3 低氧诱导因子 低氧诱导因子(hypoxia-inducible factor, HIF)广泛分布于生物的细胞和组织间隙,是一种异质二聚体的转录因子蛋白^[17],由受氧含量水平调控的 HIF α 亚单位和恒定地起表达作用的 HIF- β 亚单位组成。当氧含量正常时^[18],HIF- α 迅速被羟甲基化酶氧化,当细胞缺氧时,羟甲基化酶的活性低,HIF- α 与芳香烃受体核转运蛋白(ARNT)形成二聚体,二聚体进一步招募转录激活因

子最终引起缺氧诱导基因 mRNA 的产生和表达,引发一系列下游活动^[19]。视网膜缺血缺氧是 NVG 的发病基础,虽然目前具体的发病机制还不能完全解释。但视网膜缺血缺氧引起 HIF 的水平升高,HIF 作为缺血缺氧刺激的“总开关”引起一系列的血管活性因子包括 VEGF, PDGF-B, PLGF(胎盘生长因子), SDF-1(基质细胞衍生因子)以及上述因子的受体和 ANGPT2(血管生成素 2)水平上调,进而共同作用引起眼部新生血管生成^[20]。在所有氧依赖性的视网膜疾病中,HIF- α 转录因子是增加或减少血管生成的调节中心,可以作为缺血性视网膜疾病治疗的新靶点^[21,22]。

Farzin 等在缺氧的条件下用干扰 RNA(RNAi)来抑制视网膜色素上皮细胞的 VEGF 和 HIF- α ,发现 VEGF 和 HIF- α 的 RNAi 均可潜在性地治疗缺血性视网膜疾病,然而在抑制新生血管方面 VEGF 比 HIF- α 更有效^[23]。可此结论尚有争论,Tsunehiko 等建立视网膜和脉络膜新生血管的小鼠模型,注射地高辛直至眼内新生血管减少 $\geq 70\%$,并证实地高辛通过减少 HIF 的水平,即同时阻断包括 VEGF 信号通路的几种促进血管生成的途径来抑制视网膜和脉络膜的新生血管,并指出抑制 HIF 通路优于 VEGF 拮抗剂治疗眼内及其它组织的新生血管^[24]。Divya 等研究也指出,抑制 HIF 优于 VEGF 通路在治疗眼部新生血管方面^[25]。目前,HIF 系统的几种小分子抑制剂已被开发用于癌症疾病的治疗,并进入了临床试验的第 1 阶段^[26],虽然还没有关于 HIF 用于缺血性视网膜疾病和新生血管性青光眼的临床研究,但癌症方面临床治疗的研究报道也许能指导我们下一步的临床研究。

1.4 成纤维细胞生长因子 在哺乳动物中,成纤维细胞生长因子(fibroblast growth factor, FGF)家族是由 22 个结构相关的蛋白组成,并分别有不同的分泌机制和信号通路,通过与酪氨酸激酶 FGF 受体高度的亲和性,最终表现为不同的生物学功能。FGF 蛋白根据其遗传和功能上的相似性进一步分为若干亚家族,包括 FGF1 亚家族(FGF1 和 FGF2)、FGF4 亚家族(FGF4, FGF5, FGF6)等^[27,28]。FGF 信号参与调节细胞的增殖、分化、存活,以及血管生成和伤口愈合^[29],大量的实验证明,FGF1 亚家族在体内外有强烈的促进血管生成作用^[30,31],其中研究最多的为碱性成纤维细胞生长因子(FGF2/bFGF),FGF2 通过激活内皮细胞表面的第二信使整合素、酪氨酸激酶成纤维细胞生长因子受体(TKFGFRs)、硫酸乙酰肝素蛋白多糖(HSPGs),最终汇聚于 Raf/MEK/MAPK 通路引起基因的激活并促进血管生成^[32]。有实验表明,FGF2 也通过自分泌和旁分泌机制激活 VEGF/VEGFR 系统间接引起新生血管的形成。王丹等研究碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)在糖尿病引发的新生血管性青光眼虹膜组织的表达,发现糖尿病引发的新生血管性青光眼虹膜组织 bFGF 阳性检出率明显高于慢性闭角型青光眼和正常对照,即 bFGF 在糖尿病引发的新生血管性青光眼虹膜组织中强烈表达^[33]。

目前,国内外有大量 FGF 与全身肿瘤及治疗的研究,部分 FGF 抑制剂作为抗癌药物已进入了临床阶段^[34]。FGF 与新生血管性青光眼的研究甚少,但在体外三维血管生成系统定量蛋白的促血管生成实验中发现,VEGF 和

FGF1 在促进血管的生成方面有一定的协同作用^[35]。也有人发现 PDGF-B 和 FGF2 以 1:2 的量化形式绑定, FGF2 促进血管生成的作用对 PDGF-B 起协同作用^[36,37]。Castellon 等^[38]也报道 VEGF, FGF 亚家族、PDGF-B 等血管生长因子在增殖性糖尿病视网膜病变的血管生成方面有一定的协同作用。这就表明虽然可能 VEGF 和 PDGF 等血管生长因子促血管新生的作用优于 FGF, 但 FGF 能协同多种血管生长因子发挥作用, 在 NVG 中也发挥着举足轻重的作用。

1.5 其它细胞生长因子 除 VEGF, PDGF, HIF 和 FGF 外, 其它与新生血管性青光眼相关的因子以及多因子的共同作用也受到关注。其中包括胰岛素样生长因子 (insulin-like growth factor, IGF-I 和 IGF-II)、白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6)、肝细胞生长因子 (hepatocyte growth factor, HGF)、转化生长因子 (transforming growth factor, TGF)、色素上皮细胞衍生因子 (pigment epithelium-derived factor, PEDF)、结缔组织生长因子 (connective tissue growth factor, CTGF) 和基质细胞衍生因子-1 (stromal-derived factor-1, SDF-1) 等。

2 新生血管性青光眼的动物模型

NVG 的形成是一个动态的发展变化过程, 分为青光眼前期、开角型青光眼期及闭角型青光眼期三期, 虹膜新生血管 (iris neovascularization, NVI) 的形成是 NVG 的前提, 即 NVI 不及时防治会进一步发生房角关闭, 诱发眼压升高而继发 NVG。目前, NVG 研究的难题之一是缺乏理想的动物模型, 而 NVG 模型的关键在于 NVI 模型的建立。

2.1 传统 NVG 模型的建立 基于 NVG 的发病机制, 目前最基本的、研究最多的有视网膜静脉阻塞模型、糖尿病相关动物模型和眼前节缺血致 NVG 模型等。

2.1.1 静脉阻塞 上世纪, Viridi 等^[39]用氩激光光凝阻塞猴双颞侧视网膜分支静脉, 经眼底荧光素血管造影 (FFA) 证实静脉阻塞成功, 5d 后 50% (3/6) 眼虹膜荧光素血管造影 (IFA) 显示较正常对照组荧光素渗漏明显, NVI 形成。其余 3 眼行第 2 次激光光凝, 阻塞后 1~3d IFA 证实 NVI 形成。Mahmoud 等在前人基础上用氩激光光凝术阻塞猴眼 4 条视网膜分支静脉, 7d 后 IFA 证实 8 眼均成功诱导出了 NVI^[40]。该模型理论上有一定的可行性, 大量文献报道中也有 NVI 发生、发展及继发 NVG 的详细观察资料, 且 NVI 程度可用虹膜血管造影方法分级评定。但由于动物来源有限, 研究费用较昂贵, 很难大样本临床研究。

2.1.2 糖尿病 Alan 等给予结晶牛胰岛素致敏猴 3wk 后, 玻璃体内注射不同剂量的结晶牛胰岛素成功诱导了 NVI^[41]。该模型的机制可能是机体致敏后再次注药将引起眼前节的超敏反应诱导出 NVI, 但是否具有可重复性未见后续报道, 有待考证。有报道糖尿病大鼠与正常雄性大鼠交配得到 F1 代, 进一步保存糖尿病大鼠的基因优化选育, 得到 100% 糖尿病雄性大鼠 F9 代 (由日本 CLEA 公司发布), 在 61~82wk 时 100% 出现糖尿病视网膜病变, 经病理学证实进一步发展为 NVG^[42]。该模型虽然简单方便, 但 NVG 出现的同时, 大鼠也出现糖尿病的全身并发症, 且动物来源费用较高, 很难大样本研究。

2.1.3 眼前节缺血 Tawara 等^[43]用直接烧灼电凝法阻塞

兔子的双侧睫状动脉, 术后第 9d 经光学显微镜检查虹膜和小梁网出现新生血管, 术后 14d 增生的纤维血管组织阻塞房角, 但视网膜和脉络膜未发现组织学变化且没有 VEGF mRNA 高表达, 证实该方法致 NVI 模型无后节因素参与。国内有报道切断家兔眼的上、下、内、外四条直肌, 术后第 3d 开始出现新生血管, 第 7d 所有动物虹膜荧光素血管造影 (IFA) 显示渗漏明显, 房水中 VEGF 的质量浓度也随新生血管的形成先升高后降低, NVI 模型成功。该方法的临床基础在于眼外肌手术和视网膜脱离巩膜环扎术后常合并眼前节供血障碍, 部分患者可出现 NVI^[44]。该方法动物来源广泛, 价格低廉, 但操作方法复杂, 且有报道指出该方法晚期并未发现眼压升高, 与临床上 NVI 晚期常合并眼压升高致 NVG 有所差异。

2.1.4 其它模型 除上述常用的建立 NVG 模型的方法外, 有报道^[45]实验性豚鼠行晶状体摘除术后将部分皮质回注入前房, 术后第 4d 裂隙灯检查发现所有动物的虹膜均出现散在新生血管, 第 7d NVI 达到高峰。该方法的理论机制尚不太清楚, 可能是晶状体皮质的各种细胞及因子共同诱发了 NVI。该模型如能保证有良好的可重复性, 且在观察 NVI 的同时严密监测眼压并延长观察时间, 将有望在传统 NVG 模型中发挥重要作用。

李明武等^[46]的回顾性研究中发现, 经玻璃体切割和晶状体手术的糖尿病性视网膜病变患者的 NVI 形成率高达 42.4%, 国外有学者尝试利用该机制建立 NVI 模型, Leonard 等在前人的基础上利用猫眼实施晶状体玻璃体切除联合视网膜分支静脉的灼烧术, 术后 1~7wk 经裂隙灯检查发现 12/14 眼出现 NVI, 8/14 眼发生葡萄膜外翻, 4~12wk 虹膜新生血管回归^[47]。该模型虽然动物来源不受限制, 但操作复杂, 对研究者及实验设备的水平要求较高, 故很难得到推广。

2.2 近年来 NVG 模型的探索

2.2.1 纳米微粒缓释 大量文献证明, 各种细胞因子尤其是 VEGF 在新生血管性青光眼的形成中发挥着至关重要的作用。基于此理论, 上世纪 Michael 等向猴眼玻璃体内注射 VEGF165, 经 IFA 显示可产生虹膜新生血管并发展为 NVG^[48], Oshima 等^[49]研究也证明了此结论。尽管该模型在理论基础及应用上得到了一致认可, 但由于 VEGF 的生物半衰期短, 即使在缺氧条件下也只能持续 4~6h^[50], 所以难以提供持续、有效的浓度, 需要连续数天注射才可诱导出 NVG 模型, 而 VEGF 抗原的价格比较昂贵, 难以进行大样本的研究, 且容易出现眼部并发症。在该研究的基础上, 如果能提供一个缓释系统作为生长因子的载体将大大提高该方法的实用性。

近年来 Sampaio 等^[51]在兔子玻璃体腔内注射含不同剂量乳胶 LAF (橡胶树中提取出来的能促进血管的生成) 的纳米微粒 (PLGA), 加入空白组作为对照, 2wk 后注射含乳胶的纳米微粒的兔子, 经视网膜荧光素血管造影均出现了新生血管。在此研究的基础上 Paula 等^[52]也用同样的方法在兔子的玻璃体腔内注射含 LAF 的 PLGA, 4wk 后所有兔子均出现了明显的血管扩张和虹膜新生血管形成。该方法应用纳米粒承载生长因子, 使生长因子持续释放维持在有利的浓内, 解决了生长因子半衰期短的问题。

2.2.2 纤维蛋白胶缓释 有大量报道表明,纤维蛋白胶是具有稳定三维结构的纤维蛋白多聚体,是可生物降解材料,组织相容性好,也可以作为细胞因子等药物的缓释载体^[53,54]。李占武等^[50]报道用生物蛋白胶局部缓释 VEGF,促进兔子血管的新生,进而提高肠吻合口的愈合率,纤维蛋白胶作为载体与 VEGF 均匀混合,不仅避免了 VEGF 在水溶液中的降解,且能使其不易流失,VEGF 将随着纤维蛋白胶的逐渐吸收持续缓慢释放,在较长时间内发挥生物学作用。相对于传统的 NVI 和 NVG 模型,采用缓释体承载生长因子的方法具有操作简单易行,形成机制单一,持续时间可控制,发生时间早且成功率高等一系列优点,具有一定的新颖性和挑战性。目前,国内尚未发现关于缓释系统承载生长因子致 NVG 模型的研究报道,但该方法为生长因子释放的有效方式,优于直接应用,如能在前人基础上将观察指标具体化、量化,该方法将具有良好的发展前景。

综上所述,新生血管性青光眼由于虹膜、房角新生血管及纤维血管膜收缩最终有可能形成难以控制的高眼压,严重威胁患者的视力。目前临床治疗尚无统一标准,且疗效不佳,相关细胞因子研究的不断深入,一方面有助于我们阐明 NVG 复杂的发病机制,为 NVG 病因治疗奠定基础;另一方面不同靶点抑制新生血管促进因子释放是 NVG 治疗的一个新方向,目前已有大量 VEGF 抑制剂在 NVG 治疗中取得良好效果的报道,多种细胞因子的研究将有望实现多靶点联合抑制眼部新生血管,使 NVG 新生血管的消退更迅速有效,为全视网膜光凝术和抗青光眼手术的实施提供条件和可能性,并有助于手术发挥更好的疗效。NVG 动物模型制作方法的不断改进,尤其是近年来分子生物学技术在 NVI 模型中的应用,改善了传统模型中操作复杂、周期长、重复性差等特点,使制作方法简单易行、动物来源不限、可重复性好、成功率高,促使 NVG 模型制作进入了新的阶段。虽然该方法尚属于探索阶段,缺乏将观察指标具体化、量化,且没有 NVI 程度分级等详细观察资料,也没有监测眼压及延长观察时间致 NVG 模型的后续报道,但分子生物学技术存在巨大的潜力和研究空间,我们相信终究会出现合适的 NVG 模型,为我们研究新生血管性青光眼的发病机制及治疗提供更好的条件。

参考文献

- 1 Brown GC, Magargal LE, Schachat A, et al. Neovascular glaucoma. Etiologic considerations. *Ophthalmology* 1984;91(4):315-320
- 2 Ho QT, Kuo CJ. Vascular endothelial growth factor: Biology and therapeutic applications. *Int J Biochem Cell Biol* 2007;39(7-8):1349-1357
- 3 Ferrara N. Vascular endothelial growth factor: basic science and clinical progress. *Endocr Rev* 2004;25(4):581-611
- 4 Adamis AP, Shima DT. The role of vascular endothelial growth factor in ocular health and disease. *Retina* 2005;25(2):111-118
- 5 Tripathi RC, Li J, Tripathi BJ, et al. Increased level of vascular endothelial growth factor in aqueous humor of patients with neovascular glaucoma. *Ophthalmology* 1998;105(2):232-237
- 6 Kodjikian L. Neovascular glaucoma treatment in 2012: role of anti-VEGF agents. *J Fr Ophthalmol* 2013;36(5):461-465
- 7 Kotecha A, Spratt A, Ogunbowale L, et al. Intravitreal bevacizumab in refractory neovascular glaucoma: a prospective, observational case

- series. *Arch Ophthalmol* 2011;129(2):14550
- 8 Kazlauskas A. A new member of an old family. *Nat Cell Biol* 2000;2(5):E78-79
- 9 Fredriksson L, Li H, Eriksson U. The PDGF family: four gene products form five dimeric isoforms. *Cytokine Growth Factor Rev* 2004;15(4):197-204
- 10 Betsholtz C, Lindblom P, Gerhardt H. Role of pericytes in vascular morphogenesis. *EXS* 2005;(94):115-125
- 11 Enge M, Bjarnegard M, Gerhardt H. Endothelium-specific platelet derived growth factor-B ablation mimics diabetic retinopathy. *EMBO J* 2002;21(16):4307-4316
- 12 郭斌,杨新光,范钦华,等. 新生血管性青光眼血管内皮生长因子和血小板衍生生长因子含量及其相关影响因素. *中华眼视光学与视觉科学杂志* 2011;13(2):111-115
- 13 Kazlauskas A. A new member of an old family. *Nat Cell Biol* 2000;2(5):E78-9
- 14 LaRochelle WJ, Jeffers M, McDonald WF. PDGF-D, a new protease-activated growth factor. *Nat Cell Biol* 2001;3(5):517-521
- 15 Hou X, Kumar A, Lee C, et al. PDGF-CC blockade inhibits pathological angiogenesis by acting on multiple cellular and molecular targets. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010;107(27):12216-12221
- 16 Kumar A, Hou X, Lee C, et al. Platelet-derived Growth Factor-DD Targeting Arrests Pathological Angiogenesis by Modulating Glycogen Synthase Kinase-3 Phosphorylation. *J Biol Chem* 2010;285(20):15500-15510
- 17 Semenza GL. Hypoxia-inducible factor 1: master regulator of O₂ homeostasis. *Curr Opin Genet Dev* 1998;8(5):588-594
- 18 Arjamaa O, Nikinmaa M. Oxygen-dependent diseases in the retina: Role of hypoxia-inducible factors. *Exp Eye Res* 2006;83(3):473-483
- 19 Kallio PJ, Wilson WJ, O'Brien S. Regulation of the hypoxia-inducible transcription factor 1 alpha by the ubiquitin-proteasome pathway. *J Biol Chem* 1999;274(10):6519-6525
- 20 Campochiaro PA. Ocular neovascularization. *J Mol Med (Berl)* 2013;91(3):311-321
- 21 Nikinmaa M, Rees BB. Oxygen-dependent gene expression in fishes. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2005;288(5):R1079-1090
- 22 Hewitson KS, Schofield CJ. The HIF pathway as a therapeutic target. *Drug Discov Today* 2004;9(16):704-711
- 23 Foroughian F, Das B. Anti-Angiogenic Effects of Ribonucleic Acid Interference Targeting Vascular Endothelial Growth Factor and Hypoxia-Inducible Factor-1. *Am J Ophthalmol* 2007;144(5):7618
- 24 Yoshida T, Zhang H, Iwase T. Digoxin inhibits retinal ischemia-induced HIF-1 expression and ocular neovascularization. *FASEB J* 2010;24(6):1759-1767
- 25 Vavilala DT, O'Bryhim BE, Ponnaluri VK. Honokiol inhibits pathological retinal neovascularization in oxygen-induced retinopathy mouse model. *Biochem Biophys Res Commun* 2013;438(4):697-702
- 26 Hewitson KS, Schofield CJ. The HIF pathway as a therapeutic target. *Drug Discov Today* 2004;9(16):704-711
- 27 Itoh N, Ornitz DM. Evolution of the Fgf and Fgfr gene families. *Trends Genet* 2004;20(11):5639
- 28 Imamura T. Physiological Functions and Underlying Mechanisms of fibroblast Growth Factor (FGF) Family Members: Recent Findings and Implications for Their Pharmacological Application. *Biol Pharm Bull* 2014;37(7):1081-1089
- 29 Lieu C, Heymach, Overman M. Beyond VEGF: Inhibition of the Fibroblast Growth Factor pathway and Antiangiogenesis. *Clin Cancer Res* 2011;17(19):6130-6139

- 30 Presta M, Dell'Era P, Mitola S, *et al.* Fibroblast growth factor/fibroblast growth factor receptor system in angiogenesis. *Cytokine Growth Factor Rev* 2005;16(2):159-178
- 31 Javerzat S, Auguste P, Bikfalvi A. The role of fibroblast growth factors in vascular development. *Trends Mol Med* 2002;8(10):483-489
- 32 Rusnati M, Presta M. Fibroblast Growth Factors/Fibroblast Growth Factor Receptors as Targets for the Development of Anti-Angiogenesis Strategies. *Curr Pharm Des* 2007;13(20):2025-2044
- 33 王丹, 张岩, 王淑霞. 碱性成纤维细胞生长因子在糖尿病新生血管性青光眼虹膜组织中的表达. *中国实验诊断学* 2008;12(12):1517-1519
- 34 Ho HK, Yeo AH, Kang TS, *et al.* Current strategies for inhibiting FGFR activities in clinical applications; opportunities, challenges and toxicological considerations. *Drug Discov Today* 2014;19(1):5162
- 35 Xue L, Greisler HP. Angiogenic effect of fibroblast growth factor-1 and vascular endothelial growth factor and their synergism in a novel *in vitro* quantitative fibrin-based 3-dimensional angiogenesis system. *Surgery* 2002;132(2):259-267
- 36 Russo K, Ragone R, Facchiano AM. Platelet-derived growth factor-BB and basic fibroblast growth factor directly interact *in vitro* with high affinity. *J Biol Chem* 2002;277(2):1284-1291
- 37 De Marchis F, Ribatti D, Giampietri C. Platelet-derived growth factor inhibits basic fibroblast growth factor angiogenic properties *in vitro* and *in vivo* through its alpha receptor. *Blood* 2002;99(6):2045-2053
- 38 Castellon R, Hamdi HK, Sacerio I. Effects of angiogenic growth factor combinations on retinal endothelial cells. *Exp Eye Res* 2002;74(4):523-535
- 39 Virdi PS, Hayreh SS. Ocular neovascularization with retinal vascular occlusion. Association with experimental retinal vein occlusion. *Arch Ophthalmol* 1982;100(2):331-341
- 40 Genaidy M, Kazi AA, Peyman GA. Effect of aqualamine on iris neovascularization in monkeys. *Retina* 2002;22(6):772-778
- 41 Shabo AL, Maxwell DS, Shintaku P. Experimental immunogenic rubeosis iridis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1977;16(4):343-352
- 42 Sasase T, Ohta T, Masuyama T. NVG The Spontaneously Diabetic Torii Rat; An Animal Model of Nonobese Type 2 Diabetes with Severe Diabetic. *J Diabetes Res* 2013;2013:976209
- 43 Tawara A, Kubota T, Hata Y. Neovascularization in the anterior segment of the rabbit eye by experimental anterior ischemia. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2002;240(2):14453
- 44 成洪波, 应方微, 周凤, 等. 兔眼前段缺血诱发虹膜新生血管的研究. *眼科研究* 2008;12 26(12):901-903
- 45 刘琳, 李永平, 李燕, 等. 晶状体皮质诱导虹膜新生血管形成的实验研究. *眼科新进展* 2010;30(11):1009
- 46 李明武, 黎晓新, 姜燕荣, 等. 晶状体手术对增生型糖尿病视网膜病变患者玻璃体切割术后虹膜新生血管形成的影响. *眼科研究* 2000;18(1):60-62
- 47 Hjelmeland LM, Stewart MW, Li J. An experimental model of ectropion uveae and iris neovascularization in the cat. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1992;33(5):1796-1803
- 48 Tolentino MJ, Miller JW, Gragoudas ES. Vascular Endothelial Growth Factor Is Sufficient to Produce Iris Neovascularization and Neovascular Glaucoma in a Nonhuman Primate. *Arch Ophthalmol* 1996;114(8):964-970
- 49 Oshima Y, Takahashi K, Oshima S, *et al.* Intraocular gutless adenoviral vectored VEGF stimulates anterior segment but not retinal neovascularization. *J Cell Physiol* 2004;199(3):399-411
- 50 李占武, 王利, 李方毅, 等. 局部缓释血管内皮生长因子促进肠吻合口愈合的研究. *中国普外基础与临床杂志* 2010;17(11):1141-1146
- 51 Sampaio RB, Mendonca RJ, Simioni AR. Rabbit Retinal Neovascularization Induced by Latex Angiogenic-Derived Fraction: An Experimental Model. *Curr Eye Res* 2010;35(1):56-62
- 52 Paula JS, Ribeiro VR, Sampaio RB. Rabbit Rubeosis Iridis Induced by Intravitreal Latex-derived Angiogenic Fraction. *Curr Eye Res* 2011;36(9):857-859
- 53 Shireman PK, Greisler HP. Mitogenicity and release of vascular endothelial growth factor with and without heparin from fibrin glue. *J Vasc Surg* 2000;31(5):936-943
- 54 Cruysberg LP, Nuijts RM, Gilbert JA. *In vitro* sustained human transscleral drug delivery of fluorescein-labeled dexamethasone and methotrexate with fibrin sealant. *Curr Eye Res* 2005;30(8):653-660