

高糖对人视网膜色素上皮细胞神经钙黏连蛋白和纤维连接蛋白表达的影响

毕文娇, 李睿姝, 侯定善, 范妍, 张晓梅

作者单位: (150001) 中国黑龙江省哈尔滨市, 哈尔滨医科大学附属第一医院眼科

作者简介: 毕文娇, 在读硕士研究生, 研究方向: 眼底病的发病及防治。

通讯作者: 张晓梅, 医学博士, 博士研究生导师, 教授, 主任医师, 研究方向: 眼底病的发病及防治. zhangxm667@163.com

收稿日期: 2014-04-22 修回日期: 2014-07-29

High glucose on the expression of N-cadherin and fibronectin in retinal pigment epithelium cells

Wen-Jiao Bi, Rui-Shu Li, Ding-Shan Hou, Yan Fan, Xiao-Mei Zhang

Department of Ophthalmology, the First Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150001, Heilongjiang Province, China

Correspondence to: Xiao-Mei Zhang. Department of Ophthalmology, the First Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150001, Heilongjiang Province, China. zhangxm667@163.com

Received: 2014-04-22 Accepted: 2014-07-29

Abstract

• AIM: To observe the expression of N-cadherin and fibronectin in retinal pigment epithelium (RPE) cells *in vitro* under high glucose conditions, furthermore, to explore the effects of high glucose on epithelial-mesenchymal transition (EMT) in RPE cells.

• METHODS: Human RPE (hRPE) cells were cultured *in vitro*. Containing a final concentration of 60mmol/L glucose was used for high glucose treatment. The cells were divided into normal glucose group (5.5mmol/L, NG) and high glucose group (24, 48 and 72h) respectively. The expression of N-cadherin and fibronectin in hRPE cells were evaluated by immunofluorescence and real-time PCR.

• RESULTS: RPE cells became disorganized and swollen over time under high glucose conditions, especially in 72h subgroup. Immunohistochemical analysis revealed that the expression of N-cadherin in RPE cells under high glucose conditions was decreased compared with that in the control group, while the expression of fibronectin was increased. Real-time PCR results showed that the expression of N-cadherin mRNA in high glucose group was decreased at 24h compared with that in the control group, and declined markedly at 72h ($F = 12.252, P = 0.000$). There were no significant differences between the control group and the high glucose group at 24h, while

the differences between the control group and the high glucose group (48 and 72h) were significant respectively ($P < 0.05$). Meanwhile, the expression of fibronectin mRNA in RPE cells was increased in high glucose group at 24h, and reached the peak at 72h ($F = 50.543, P = 0.000$). There were no significant differences between the control group and the high glucose group at 24h. Compared with the control group, the expression of fibronectin mRNA in hRPE cells was increased significantly in high glucose group (48 and 72h) respectively ($P = 0.000, P = 0.000$).

• CONCLUSION: The expression of epithelium marker N-cadherin is down-regulated under high glucose conditions in hRPE cells *in vitro*. Meanwhile, the expression of mesenchymal maker fibronectin is induced and appeared to EMT changes. Results of this study will enrich our growing understanding in proliferative diabetic retinopathy and hopefully lead to novel insights for the pathogenesis and therapeutic treatments.

• KEYWORDS: human retinal pigment epithelial cell; high glucose; epithelial-mesenchymal transition; N-cadherin; fibronectin

Citation: Bi WJ, Li RS, Hou DS, *et al*. High glucose on the expression of N-cadherin and fibronectin in retinal pigment epithelium cells. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2014;14(9):1578-1583

摘要

目的: 体外建立高糖培养人视网膜色素上皮(hRPE)细胞模型, 观察高糖条件下RPE细胞神经钙黏连蛋白(N-cadherin)和纤维连接蛋白(fibronectin)的表达变化, 探讨高糖对RPE细胞发生上皮间质转化(EMT)的影响。

方法: 体外培养hRPE细胞, 以60mmol/L的葡萄糖建立高糖模型, 实验分对照组(5.5mmol/L的葡萄糖)和高糖24, 48, 72h组, 用免疫组织化学法及Real-time PCR技术检测各组RPE细胞N-cadherin和fibronectin的表达。

结果: 高糖组RPE细胞出现排列紊乱, 胞体变长变大, 高糖72h组最明显。免疫组织化学法检测结果显示: 与对照组相比, 高糖组RPE细胞N-cadherin表达呈下降趋势; 而fibronectin表达出现并呈升高趋势。Real-time PCR检测结果显示: 与对照组相比, 高糖组RPE细胞N-cadherin mRNA表达水平在24h时出现下降, 72h时降低最明显($F = 12.252, P = 0.000$), 24h组与对照组相比差异无统计学意义, 48h及72h组分别与对照组相比差异有统计学意义($P < 0.05$); 与对照组相比, 高糖组RPE细胞fibronectin mRNA表达水平在24h时出现升高, 72h时升高最明显($F = 50.543, P = 0.000$), 24h组与对照组相比差异无统计学意义, 48h及72h组fibronectin mRNA表达水平明显升高, 分

别与对照组相比差异有统计学意义($P=0.000, P=0.000$)。
结论:高糖条件下 RPE 细胞上皮标记物 N-cadherin 表达下调, 间质标记物 fibronectin 表达出现, 发生 EMT 改变, 这一现象为探讨增生性糖尿病视网膜病变的发病机制及其防治提供新的思路。

关键词:人视网膜色素上皮细胞; 高糖; 上皮间质转化; 神经钙黏连蛋白; 纤维连接蛋白

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2014.09.05

引用:毕文娇, 李睿妹, 侯定善, 等. 高糖对人视网膜色素上皮细胞神经钙黏连蛋白和纤维连接蛋白表达的影响. 国际眼科杂志 2014;14(9):1578-1583

0 引言

糖尿病视网膜病变(diabetic retinopathy, DR)是糖尿病最常见的微血管并发症之一, 是成人失明的重要原因。增生性糖尿病视网膜病变(proliferative diabetic retinopathy, PDR), 被认为是 DR 致盲的主要原因, 以晚期视网膜新生血管及纤维性增生前膜形成为标志性的病理改变。然而, PDR 增生前膜的形成机制尚未阐明。目前研究表明视网膜色素上皮(retinal pigment epithelium, RPE)细胞是 PDR 增生膜中的细胞成分之一^[1]。研究表明, RPE 细胞经上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)的机制, 发生迁移、增生, 并转化为成纤维样细胞, 参与视网膜增生膜的形成^[2]。长期慢性高血糖可以造成 RPE 细胞损伤, 影响视网膜屏障功能, 是 DR 发生发展的重要病理基础^[3]。既往研究表明, 高糖可以导致 RPE 细胞出现异常增生^[4], 但对高糖影响 RPE 细胞发生 EMT 的研究甚少。本实验通过体外建立 RPE 细胞的高糖模型并检测其间质化指标的表达变化, 来探讨高糖对 RPE 细胞发生 EMT 的影响及其在 PDR 发病机制中可能存在的作用。

1 材料和方法

1.1 材料 人视网膜色素上皮(hRPE)细胞株 D407(购自湘雅医学院中心实验室); DMEM/F12 培养基、胎牛血清、青霉素及链霉素溶液(美国 Hyclone 公司); 胰蛋白酶(美国 Gibco 公司); 一抗(鼠抗人 anti-N-cadherin、兔抗人 anti-fibronectin)及二抗(美国 sigma 公司); 辣根酶(HRP)标记山羊抗小鼠 Giga (H+L)、DAB 显色剂(北京中杉金桥生物技术有限公司)。总 RNA 提取试剂盒、cDNA 第一链反转录试剂盒、SYBR green Real-time PCR 定量试剂盒、96 孔荧光定量 PCR 板、荧光定量 PCR 封板膜、Rnase Free H₂O、TE Buffer(HaiGene 公司); D-葡萄糖粉(美国 Sigma 公司)。

1.2 方法

1.2.1 RPE 细胞的培养及实验分组 RPE 细胞用含质量分数 100g/L 胎牛血清及 10g/L 双抗的 DMEM/F12 培养基在 37℃、50g/L CO₂ 孵育箱中培养, 2~3d 换液一次, 用质量分数 1.25g/L 胰蛋白酶和质量分数 0.1g/L EDTA 的消化液 1.5mL, 以 1:2 消化传代, 取生长状态良好的同一代次对数期 RPE 细胞用于实验。实验分别设立: 对照组、高糖 24, 48, 72h 组, 对照组为 5.5mmol/L 葡萄糖培养液; 高糖组为 60mmol/L 葡萄糖培养液, 由葡萄糖粉与高糖型 DMEM 培养基配制。

1.2.2 细胞形态学观察 将 RPE 细胞以 1×10^5 /孔的密度接种在 24 孔细胞培养板中, 待细胞生长至 80% 的融合状

态, 换为 5g/L 胎牛血清的培养液, 继续孵育 24h, 使细胞周期同步化。按不同分组添加相应干预措施后继续培养 72h, 倒置相差显微镜下观察细胞形态的变化。

1.2.3 免疫组织化学方法检测 N-cadherin 和 fibronectin 的表达 将悬浮细胞种植在附有玻片的六孔板中, 待细胞贴壁后用如前所述分组处理, 取出盖玻片, PBS 洗净晾干, 用 4% 多聚甲醛固定 60min; PBS 冲洗后加入 30mL/L H₂O₂ 浸泡 10min; PBS 冲洗后山羊血清封闭, 室温下放置 20min; 37℃ 下一抗孵育 2h; PBS 冲洗后 37℃ 下二抗孵育 20min; DAB 显色; 苏木素复染; 酒精脱水; 中性树脂封片。具体步骤按照试剂盒说明进行, 阴性对照用 PBS 代替一抗。N-cadherin 和 fibronectin 蛋白主要表达于 RPE 细胞膜和细胞质中。免疫组化结果以背景清晰、细胞质及细胞膜淡黄色染色记为弱阳性, 黄色为阳性, 棕黄色为强阳性, 每个标本观察 5 个视野。

1.2.4 Real-time PCR 检测 N-cadherin mRNA 和 fibronectin mRNA 的表达 对照组直接提取总 RNA, 高糖组在相应的时间点提取总 RNA, 按 Trizol 试剂说明书流程进行, 使用紫外分光光度计测出每个样品 RNA 的浓度, 然后用 Rnase Free H₂O 稀释至浓度为 1μg/μL。在 PCR 仪上按 30℃ 15min, 55℃ 30min, 85℃ 10min 条件进行反转录反应, 所得 cDNA 进行 Real-time PCR 实验。PCR 反应总体积 30μL, 包括双蒸水 9μL, cDNA 模板 4μL, 2 x SYBR green PCR Mix 染料 15μL, 上下游引物各 1μL。基因序列从 Genebank 中查阅, 根据引物设计原则, 利用 Primers 软件设计(引物序列见表 1)。反应条件: 95℃ 预变性 5min, 随后 40 个循环, 包括 95℃ 变性 10s, 60℃ 退火并延伸 30s。每组设 3 复孔, 实验重复 3 次。实验结果均采用基因 Human Actin 表达量做为内参进行半定量矫正, 数据分析采用 $\Delta\Delta ct$ 法。基因表达半定量数值再以对照组进行标准化处理。

统计学分析: 采用 SPSS 17.0 软件系统进行统计学分析。所有数据资料经 *W* 检验呈正态分布, 结果以均数±标准差表示, Levene 检验方差齐。各组 RPE 细胞中 N-cadherin mRNA 及 fibronectin mRNA 表达相对值的差异比较采用单因素方差分析, 组间多重比较采用 Dunnett-*t* 检验, 显著性检验水准为 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 高糖对 RPE 细胞形态学的影响 正常培养的 RPE 细胞排列规则, 单层生长, 呈扁平多角形, 胞质透明, 充有少许黑色或褐色色素颗粒, 细胞核呈圆形或卵圆形, 核仁明显, 边界清晰; 高糖组 RPE 细胞出现排列紊乱, 胞体变长变大, 形态不规则, 可见部分脱落细胞, 其中高糖 72h 组 RPE 细胞形态改变最明显(图 1)。

2.2 高糖对 RPE 细胞 N-cadherin 及 fibronectin 表达的影响 免疫组织化学法检测 RPE 细胞 N-cadherin 及 fibronectin 结果显示: RPE 细胞 N-cadherin 在对照组及高糖 24h 组呈强阳性表达, 48h 及 72h 组均呈阳性表达(图 2); RPE 细胞 fibronectin 在对照组及高糖 24h 组均为阴性表达, 高糖 48h 及 72h 组均呈强阳性表达(图 3)。

2.3 高糖对 RPE 细胞 N-cadherin 及 fibronectin mRNA 表达的影响 Real-time PCR 检测 RPE 细胞 N-cadherin 及 fibronectin mRNA 的表达, 图 4 示基因扩增结果良好, 熔解曲线呈单一峰型。与对照组相比, 高糖组 RPE 细胞 N-cadherin mRNA 表达水平在 24h 时出现下降, 72h 时降低

表1 各基因引物序列

基因	引物序列(5'-3')	Gene Bank 登记号	产物(bp)
人肌动蛋白	F:TCGTGCGTGACATTAAGGAGAAG R:GTTGAAGGTAGTTTCCTGGATGC	NM_001101.3	218
神经钙黏连蛋白	F:GGACTATGATTACCTGAACGACTG R:GATATTCCTCTGAGCCCAAATTG	NM_001792	372
纤维连接蛋白	F:AAGGAATATCTCGGTGCCATTTG R:TTACTCTCGGAATCTTCTCTGTC	AB191261	234

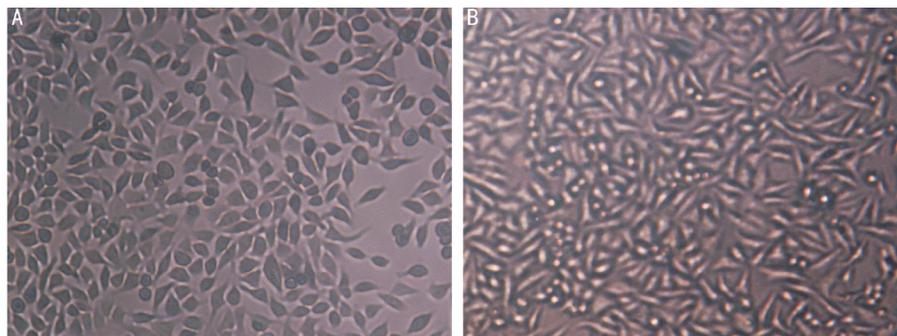


图1 hRPE 细胞的形态($\times 200$) A:对照组;B:高糖 72h 组。

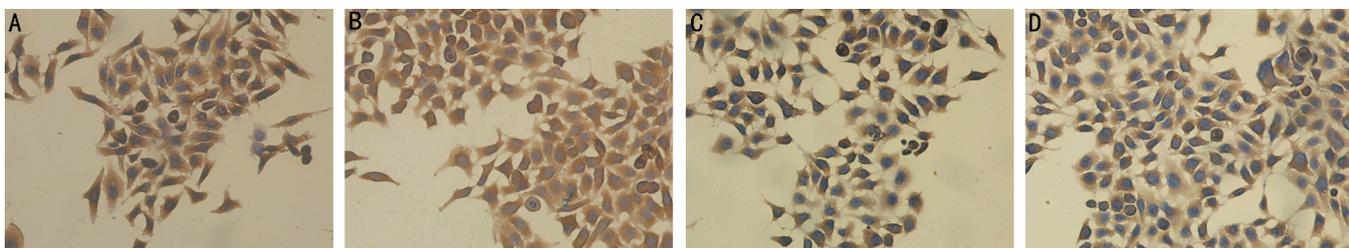


图2 免疫组织化学染色检测体外培养 hRPE 细胞中 N-cadherin 的表达(免疫组织化学法,DAB 染色,苏木素复染, $\times 40$) A:对照组;B:高糖 24h 组;C:高糖 48h 组;D:高糖 72h 组。

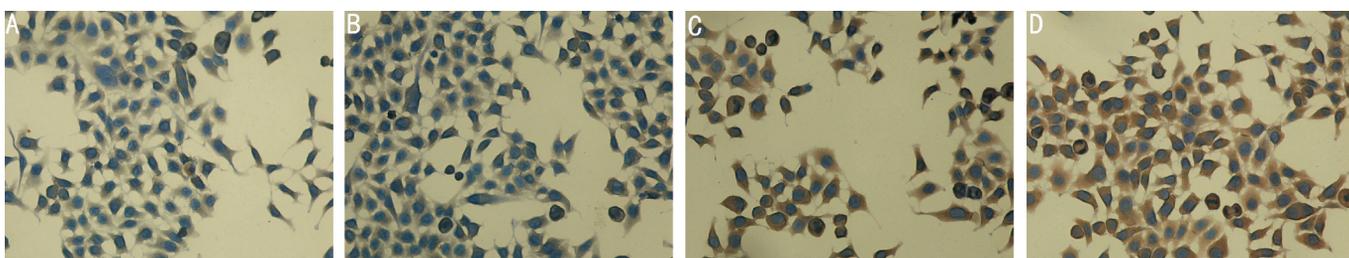


图3 免疫组织化学染色检测体外培养 hRPE 细胞中 fibronectin 的表达(免疫组织化学法,DAB 染色,苏木素复染, $\times 40$) A:对照组;B:高糖 24h 组;C:高糖 48h 组;D:高糖 72h 组。

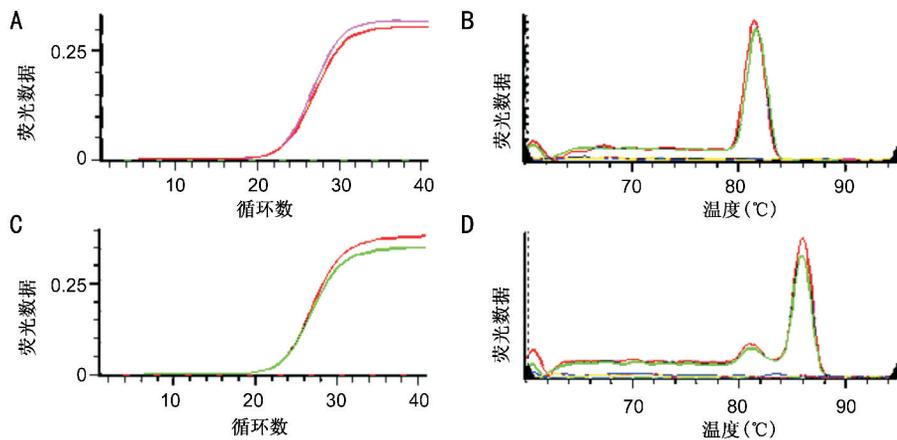


图4 Real-time PCR 扩增、熔解曲线图 A:N-cadherin 扩增曲线;B:N-cadherin 熔解曲线;C: fibronectin 扩增曲线;D: fibronectin 熔解曲线。

最明显 ($F=12.252, P=0.000$), 高糖 24h 组与对照组相比差异无统计学意义, 高糖 48h 组及 72h 组分别与对照组相

比差异有统计学意义 ($P<0.05$, 图 5); 与对照组相比, 高糖组 RPE 细胞 fibronectin mRNA 表达水平在 24h 时出现

升高,72h 时升高最明显 ($F=50.543, P=0.000$),高糖 24h 组与对照组相比差异无统计学意义,高糖 48h 及 72h 组 fibronectin mRNA 表达水平明显升高,分别与对照组相比差异有统计学意义 ($P=0.000, P=0.000$,图 6)。

3 讨论

DR 的发病机制目前未完全明确,持续的缺氧和高糖状态可造成 RPE 细胞不同程度的损伤,是导致 DR 的发生发展重要因素^[5]。RPE 细胞是一种单层矮柱状上皮细胞,细胞之间依靠紧密连接规则排列构成血-视网膜屏障,在脉络膜和视网膜细胞之间营养、水、电解质等物质的转运中起关键作用。RPE 细胞可以转运大量葡萄糖为视网膜神经感觉层提供能量,因而更易受到血糖波动的影响^[6]。由于体液环境复杂,不能明确影响因素为高糖,故我们在体外培养条件下,单纯应用高浓度葡萄糖作为刺激因素,发现高糖作用 hRPE 细胞 72h 后,细胞比对照组更密集,胞体变长变大,说明高糖在一定时间内促进 hRPE 细胞的增生。体外培养时 25~30mmol/L 的高糖浓度,可近似地等同于糖尿病时体内高糖状态^[7]。韩小霞等^[8]体外实验结果显示,30mmol/L 的葡萄糖作用于 hRPE,其生长曲线与正常葡萄糖浓度条件下的细胞生长曲线没有明显统计学差异,其考虑由于 RPE 细胞转运葡萄糖的作用,其承受高糖的能力较强,单纯 30mmol/L 的高糖不足以对其生理功能造成影响。我们在预实验中采用 30, 60, 90mmol/L 的高糖浓度体外培养 hRPE 24, 48, 72h,发现 60mmol/L 的高糖浓度对 hRPE 的影响最明显。故本实验选用 60mmol/L 的葡萄糖浓度模拟体内绝对高糖环境。

EMT 是一种基本的病理生理现象,参与胚胎发育、肿瘤转移和器官纤维化等过程,以上皮细胞表型的缺失及间质特性的获得为重要特征,主要表现为具有极性的上皮细胞转化成具有活动能力、能够在细胞基质间自由迁移的间质细胞。越来越多的证据表明 EMT 在多种眼部疾病(角膜损伤后瘢痕修复^[9]、后发性白内障^[10]、视网膜新生血管性病变^[11]等)中扮演着重要角色。近年来,RPE 细胞发生 EMT 改变参与视网膜增生前膜形成的机制逐渐被人们发现^[12,13]。

研究表明,PDR 患者的视网膜前膜组织中可以观察到含色素颗粒的 RPE 细胞,并且发现部分 RPE 细胞形态类似纤维样细胞^[14]。Guidry 等^[15]对 PDR 增生性前膜的研究表明,在 PDR 增生膜组织的发生过程中,有可能通过表达细胞转型调控因子,诱导增生膜内 RPE 细胞经 EMT 机制发生细胞转型,增强了细胞迁移和增生能力,在趋化因子的诱导下,通过内界膜迁移到视网膜表面形成增生性前膜。此外,既往研究表明^[16],视网膜损伤及炎症反应可以激活 RPE 细胞发生细胞表型的改变,转化成具有收缩能力的纤维样细胞,增生、迁移到视网膜表面,与其它炎症细胞及胶原纤维等成分共同形成了增生性玻璃体视网膜病变(PVR)的增生膜,从而导致牵拉性视网膜脱离的发生。因此,了解高糖条件对 RPE 细胞发生 EMT 的影响,可能为探索 PDR 的发病机制提供新的思路。

上皮细胞发生间质细胞转化时会出现形态学及分子生物学特征的变化。形态学上,上皮细胞顶-底极性消失,

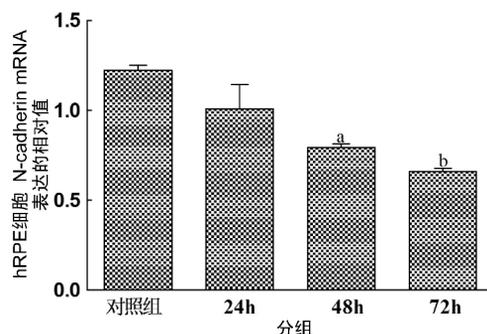


图5 Real-time PCR 检测高糖状态下 hRPE 细胞 N-cadherin mRNA 表达的相对值 ^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ vs 对照组。

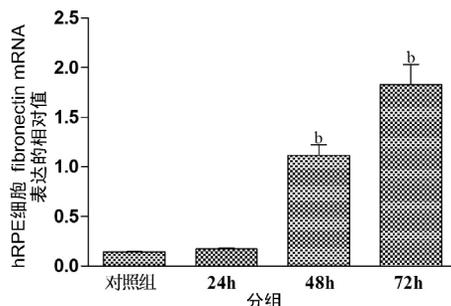


图6 Real-time PCR 检测高糖状态下 hRPE 细胞 fibronectin mRNA 表达的相对值 ^b $P < 0.01$ vs 对照组。

细胞间连接减弱,细胞骨架成分由角蛋白为主变为以波形蛋白为主,从而引起细胞形态的改变,即立方上皮细胞外形演变为纺锤形纤维细胞形态,从而增强了迁移能力^[17]。分子生物学上表现为上皮细胞标记物下调和间质细胞标记物的表达。其中 RPE 细胞表达的上皮标记物主要有钙黏连蛋白(N-cadherin)、紧密连接蛋白(ZO-1)等,间质标记物包括 α -平滑肌肌动蛋白(α -SMA)、纤维连接蛋白(fibronectin)等,这些细胞间连接蛋白,以不同的机制参与 RPE 细胞间及其与基质间的连接,通过介导细胞聚集或连接参与细胞形态结构的转化。细胞间连接的结构、功能受到调控或某些因素影响而改变是启动 EMT 的早期事件。Li 等^[18]和 Parapuram 等^[19]研究表明,RPE 细胞可以在细胞因子 TGF- β 、EGF 作用下 N-cadherin、ZO-1 表达下调, α -SMA、fibronectin、vimentin 出现表达,发生上皮间质转化,参与视网膜增生前膜的发生。我们前期的研究结果证实,RPE 细胞在高糖条件下出现上皮标记物 ZO-1 表达下调,间质标记物 α -SMA 表达,发生了 EMT 的改变。在本实验中,我们选用上皮标记物 N-cadherin 及间质标记物 fibronectin,采用更为直观的免疫组织化学法和 Real-time PCR 方法的来检测以上两种标记物在 RPE 细胞的表达变化,从另一角度来证实高糖对 RPE 细胞发生 EMT 的诱导作用。

钙黏连蛋白是依赖 Ca^{2+} 参与的一类黏附分子,介导同种细胞间的识别和黏附。包括 N、P、E 和 VE-钙黏连蛋白四种类型。其中研究最多的是上皮钙黏连蛋白(E-cadherin)和神经钙黏连蛋白(N-cadherin)。Li 等^[18]研究认为,RPE 细胞发生上皮间质转化时,其上皮标记物 E-cadherin 表达下调。但既往研究表明,大多数哺乳动物的上皮细胞主要表达 E-cadherin,但人 RPE 细胞主要表达 N-

cadherin^[20]。Chen等^[21]研究表明,体外培养的RPE细胞未检测到E-cadherin的表达,而发现N-cadherin在RPE细胞上的表达占优势,N-cadherin是RPE细胞间连接的重要成分,当细胞间连接解离并在细胞因子作用下发生EMT时,N-cadherin的表达是下调的。本实验选用N-cadherin作为上皮标记物检测的指标,结果表明RPE细胞在高糖条件下N-cadherin表达下调,出现EMT的改变,与Chen等的研究相一致。

纤维连接蛋白(fibronectin)是一种具有重要生物学活性的非胶原糖蛋白,其二聚体溶解于血浆中,多聚体存在于多种细胞表面及结缔组织有关的基底膜中。Fibronectin的主要作用是介导细胞之间及其与基质间的黏附,调控细胞的迁移、增生及分化。研究发现fibronectin对RPE细胞的迁移具有明显的趋化作用^[22],干扰fibronectin与其特异性配体的结合,能够明显抑制RPE细胞诱导的PVR的发生^[23]。Hiscott等^[24,25]研究发现,正常视网膜组织中不表达fibronectin,而在视网膜前膜及视网膜下膜中的RPE细胞上有fibronectin的表达。Casaroli等^[26,27]研究表明,fibronectin是PDR及PVR视网膜增生膜中重要的细胞外基质成分之一,并在增生膜形成过程中起重要作用。本实验中,我们用免疫组织化学、Real-time PCR两种方法来检测N-cadherin及fibronectin在RPE细胞的表达,结果显示:正常培养的RPE细胞N-cadherin呈高水平表达,而fibronectin几乎不表达。体外高糖条件下,RPE细胞上皮标记物N-cadherin表达水平随高糖作用时间的延长而呈下降趋势;而间质标记物fibronectin的表达随高糖作用时间延长出现并呈升高趋势。实验结果表明,在高糖条件下,体外培养的RPE细胞发生了上皮间质转化。但两个标记物在高糖作用24h时的表达水平与对照组相比差异均无统计学意义,考虑可能是由于高糖作用时间较短,不足以对RPE细胞N-cadherin及fibronectin表达的调控过程造成影响。

RPE细胞具有分泌多种细胞因子(如成纤维细胞因子FGF-1、FGF-2,转化生长因子TGF- β 等)的功能,其可在自身或其他相关细胞分泌的细胞因子作用下,活化、增生、细胞表型发生转化而出现EMT^[28]。TGF- β 是目前已知的最有效促使EMT发生的细胞因子,可由压力负荷、高血糖、血管紧张素等多种因素刺激产生^[29]。刘廷等^[14]在PDR患者视网膜前膜中发现TGF- β 1表达升高,并认为其可能是增生膜内细胞发生表型变化的原因之一。研究表明,TGF- β 与其受体1、2结合,激活smad2、smad3,活化的smad2/3复合体与smad4结合进入细胞核,与转录因子snail结合调节目标基因的转录,从而介导EMT的发生^[30,31];故我们推测在高糖条件下RPE细胞可能是通过TGF- β 等细胞因子介导的相关通路发生上皮间质转化,并参与PDR的视网膜增生膜的发生发展。具体通路及相关调控靶点有待于进一步实验研究。本研究证实,体外培养RPE细胞在高糖条件下出现上皮标记物N-cadherin的表达下调及间质标记物fibronectin的表达出现,发生上皮间质转化的改变,这一现象为探索PDR的发病机制及其防治提供新的思路。

参考文献

- 1 许艺民,冯云,马志中. PDR、PVR增生膜组织超微结构及生长因子受体表达生物学特点的比较研究. 眼科研究 2005;23(2):147-150
- 2 Leiderman YI, Miller JW. Proliferative vitreoretinopathy: pathobiology and therapeutic targets. *J Semin Ophthalmol* 2009;24(2):62-69
- 3 Giebel SJ, Menicucci G, McGuire PG, et al. Matrix metalloproteinases in early diabetic retinopathy and their role in alteration of the blood-retinal barrier. *J Lab Invest* 2005;85(5):597-607
- 4 谢佩玉,松仓诚,藤井绩,等. 新型海藻多糖化合物保护高糖诱导的RPE细胞异常增殖. 国际眼科杂志 2011;11(3):409-410
- 5 蔡莉,易敬林. 视网膜色素上皮细胞损伤机制研究进展. 眼科新进展 2012;32(9):898-900
- 6 Udono T, Takahashi K, Nakayama M, et al. Induction of adrenomedullin by hypoxia in cultured retinal pigment epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001;42(5):1080-1086
- 7 Du Y, Miller CM, Kern TS. Hyperglycemia increases mitochondrial superoxide in retina and retinal cells. *J Free Radic Biol Med* 2003;35(11):1491-1499
- 8 韩小霞,惠延年,宋虎平,等. 高浓度葡萄糖对培养的人视网膜色素上皮细胞细胞表面黏附分子-1的影响. 国际眼科杂志 2006;6(2):317-320
- 9 Aomatsu K, Arao T, Abe K, et al. Slug is upregulated during wound healing and regulates cellular phenotypes in corneal epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012;53(2):751-756
- 10 Suetsugu-Maki R, Maki N, Fox TP, et al. A complement receptor C5a antagonist regulates epithelial to mesenchymal transition and crystallin expression after lens cataract surgery in mice. *Mol Vis* 2011;19(7):949-964
- 11 马健利. 眼部疾病中上皮细胞转型相关信号通路的研究进展. 眼科研究 2010;28(7):678-683
- 12 Parapuram SK, Chang B, Li L, et al. Differential Effects of TGF beta and Vitreous on the Transformation of Retinal Pigment Epithelial Cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2009;50(12):5965-5974
- 13 Saika S, Yamanaka O, Flanders KC, et al. Epithelial-mesenchymal transition as a therapeutic target for prevention of ocular tissue fibrosis. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets* 2008;8(1):69-76
- 14 刘廷,原公强,于滨. 增生性糖尿病视网膜病变增生前膜的观察及细胞表型的检测. 眼科新进展 2009;29(10):721-725
- 15 Guidry C, King JL, Mason JO 3rd. Fibrocontractive muller cell phenotypes in proliferative diabetic retinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2009;50(4):1929-1939
- 16 贾洪真,韩泉洪,惠延年,等. 培养人视网膜色素上皮细胞机械损伤后IL-8的表达. 眼科新进展 2011;31(6):542-543
- 17 Thiery JP. Epithelial-mesenchymal transitions in development and pathologies. *Curr Opin Cell Biol* 2003;15(6):740-746
- 18 Li H, Wang H, Wang F. Snail involves in the transforming growth factor β 1-mediated epithelial-mesenchymal transition of retinal pigment epithelial cells. *PLoS One* 2011;6(8):1-9
- 19 Parapuram SK, Chang B, Li L, et al. Differential effects of TGF beta and vitreous on the transformation of retinal pigment epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2009;50(12):5965-5974
- 20 McKay BS, Irving PE, Skumatz CM, et al. Cell-cell adhesion molecules and the development of an epithelial phenotype in cultured human retinal pigment epithelial cells. *Exp Eye Res* 1997;65(5):661-671
- 21 Chen HC, Zhu YT, Chen SY, et al. Wnt signaling induces epithelial-mesenchymal transition with proliferation in ARPE-19 cells upon loss of contact inhibition. *Lab Invest* 2012;92(5):676-687

22 Campochiaro PA, Jerdan JA, Glaser BM. Serum contains chemoattractants for human retinal pigment epithelial cells. *Arch Ophthalmol* 1984;102(12):1830-1833

23 Yang CH, Huang TF, Liu KR, et al. Inhibition of retinal pigment epithelial cell-induced tractional retinal detachment by disintegrins, a group of Arg-Gly-Asp-containing peptides from viper venom. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1996;37(5):843-854

24 Hiscott P, Waller HA, Grierson L, et al. Local production of fibronectin by ectopic human retinal cell. *Cell Tissue Res* 1992;267(1):185-192

25 Hiscott P, Waller HA, Grierson L, et al. Fibronectin synthesis in subretinal membranes of proliferative vitreoretinopathy. *Br J Ophthalmol* 1992;76(8):486-490

26 Casaroli Marano RP, Preissner KT, Vilaro S. Fibronectin, laminin, vitronectin and their receptors on newly-formed capillaries in proliferative diabetic retinopathy. *Exp Eye Res* 1995;60(1):5-17

27 Casaroli Marano RP, Vilaro S. The role of fibronectin, laminin, vitronectin and their receptors on cellular adhesion in proliferative vitreoretinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1994;35(6):2791-2803

28 Lee H, O'Meara SJ, O'Brien C, et al. The role of gremlin, a BMP antagonist, and epithelial-to-mesenchymal transition in proliferative vitreoretinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007;48(9):4291-4299

29 Li JH, Huang XR, Zhu HJ, et al. Role of TGF-beta signaling in extracellular matrix production under high glucose conditions. *J Kidney Int* 2003;63(6):2010-2019

30 Medici D, Potenta S, Kalluri R. Transforming growth factor-beta promotes Snail-mediated endothelial-mesenchymal transition through convergence of Smad-dependent and Smad-independent signaling. *Biochem J* 2011;437(3):515-520

31 Saika S, Yamanaka O, Flanders KC, et al. Epithelial-mesenchymal transition as a therapeutic target for prevention of ocular tissue fibrosis. *Metabolic Immune Disorders Drug Targets* 2008;8(1):69-76

第十五届国际眼科学学术会议通知

由上海市医学会眼科分会、全国十一省医学会眼科分会、复旦大学附属眼耳鼻喉科医院、温州医科大学眼视光学院共同主办;复旦大学附属眼耳鼻喉科医院、上海瑞欧展览服务有限公司承办的“第十五届国际眼科学学术会议”和“第十五届国际视光学学术会议”将于2015年3月27日-29日在上海跨国采购会展中心(上海市普陀区中江路35号)举行。详情请登陆大会官方网站:www.cooc.org.cn

来自中国、美国、亚欧部分国家的眼科学领域和视光学领域的医生、专家、学者和知名厂商将云集上海出席本届会议。注册本届会议并符合相关要求的参会代表可获得国家级I类继续教育学分8分,参加眼科继续教育学习班者可获得国家级I类继续教育学分10分。同期将举行“第二届国际角膜塑形学术论坛”,欢迎国内外医生踊跃投稿、注册参会。

论文投稿截止日期为2015年2月20日。论文投稿只需论文摘要。

摘要要求:① 500字以内的规范格式书写。

② 四段式基本形式(包括目的、方法、结果、结论)。

③ 投稿方式:在线上传。

大会秘书处:上海瑞欧展览服务有限公司 联系人:汤雅萍 黄嘉菲

地址:上海市中山北路2790号1007室 邮编:200063

电话:021-52665618 传真:021-52668178

E-mail:realexpo@cooc.org.cn