

# ω-3 多不饱和脂肪酸抑制小鼠视网膜新生血管的实验研究

李 琴, 黎 智, 张蝶念, 张少维

基金项目: 湖北省自然科学基金项目 (No. 2014CFB214); 湖北省卫计委青年人才项目 (No. WJ2017Q039)

作者单位: (441021) 中国湖北省襄阳市, 湖北文理学院附属襄阳市中心医院眼科

作者简介: 李琴, 硕士, 主治医师, 研究方向: 眼底病。

通讯作者: 黎智, 博士, 副主任医师, 眼科副主任, 研究方向: 眼底病。1103945483@qq.com

收稿日期: 2017-06-04 修回日期: 2017-12-06

## Regulation of diet containing omega - 3 polyunsaturated fatty acids on retinal neovascularization in mice

Qin Li, Zhi Li, Die-Nian Zhang, Shao-Wei Zhang

**Foundation items:** Natural Science Foundation of Hubei (No. 2014CFB214); Youth Talent Supporting Project by Health and Family Planning Commission of Hubei (No. WJ2017Q039)

Department of Ophthalmology, Xiangyang Central Hospital Affiliated to Hubei University of Arts and Science, Xiangyang 441021, Hubei Province, China

**Correspondence to:** Zhi Li. Department of Ophthalmology, Xiangyang Central Hospital Affiliated to Hubei University of Arts and Science, Xiangyang 441021, Hubei Province, China. 1103945483@qq.com

Received: 2017-06-04 Accepted: 2017-12-06

### Abstract

• **AIM:** To study the regulation mechanism of diet containing omega - 3 polyunsaturated fatty acids (ω - 3 PUFAs) on retinal neovascularization in an oxygen - induced retinopathy (OIR) mouse model.

• **METHODS:** Sixty C57BL /6J mice, seven - day - old, were classified into 3 groups: A the normal control group, B the OIR model group, C the ω - 3 PUFAs diet group. Each group has twenty mice and separated fed by their lactating mice. The normal control group was fed in a standard atmosphere environment, B, C groups were first fed in a hyper - oxygen atmosphere of (75 ± 2)% oxygen percentage for 5d, then continue fed in a standard atmosphere. The ω - 3 PUFAs diet group was fed with dose base on their weight by 7.5mg/kg/d. All mice were sacrificed when they were seventeen - day - old, the relative neovascularization areas (NA) were calculated by

fluorescein angiography on flat - mounted retina. The number of endothelial cell nuclei breaking through the inner limiting membrane (ILM) was counted on hematoxylin and eosin - stained retinal section. The ω - 3PUFAs/ω - 6PUFAs relative amount and ratio was measured by GC-MS in the retina. A real-time PCR and Western Blot method were used to detect the mRNA, peroxisome proliferator - activated receptor - γ (RPAR - γ), vascular endothelial growth factor - A (VEGF - A) and vascular endothelial growth factor receptor 2 (VEGFR - 2) in the retina.

• **RESULTS:** There was a significant different in all groups on the relative neovascularization areas and the number of endothelial cell nuclei breaking through the ILM ( $F_{NA} = 20.45, P < 0.05$ ;  $F_{ILM} = 48.66, P < 0.05$ ). NA between Group A and B had a significant difference ( $t = 8.64, P < 0.05$ ), the same between Group C and B ( $t = 8.91, P < 0.05$ ). The cell nuclei breaking through ILM in Group A and B was significantly different ( $t = 38.51, P < 0.05$ ), the same in Group C and B ( $t = 19.86, P < 0.05$ ). For the relative contain in retina of ω - 3PUFAs and ω - 6PUFAs, there was a significant different among all groups ( $F = 129.86, F = 112.44$ ; all  $P < 0.05$ ). That of Group C was significant different than other two groups ( $t = 23.15, 25.42; t = 16.43, 11.95; P < 0.05$ ). There were significant different among all groups on ω - 3PUFAs/ω - 6PUFAs ratio, retinal RPAR - γ mRNA expression, retinal VEGF - A mRNA expression and VEGFR - 2 mRNA expression ( $F_{\omega-3/6} = 10.30, F_{RPAR-\gamma} = 138.24, F_{VEGF-A} = 69.12, F_{VEGFR-2} = 52.45; P < 0.05$ ). The ω - 3PUFAs/ω - 6PUFAs ratio of Group C was higher than that of Group B ( $P < 0.05$ ). Compared to Group B, on one hand Group C had a higher expression ( $P < 0.05$ ), on other hand Group C had a lower expression on VEGF - A mRNA and VEGFR - 2 mRNA ( $P < 0.05$ ).

• **CONCLUSION:** The diet rich with ω - 3 PUFAs uplifts the ω - 3PUFAs/ω - 6PUFAs ratio and activates RPAR - γ to lower expression of VEGF - A and VEGFR - 2 to inhibit oxygen induced retinal neovascularization.

• **KEYWORDS:** retinal neovascularization; omega - 3 polyunsaturated fatty acids; peroxisome proliferator - activated receptor - γ; vascular endothelial growth factor - A; vascular endothelial growth factor - 2

**Citation:** Li Q, Li Z, Zhang DN, *et al.* Regulation of diet containing omega - 3 polyunsaturated fatty acids on retinal angiogenesis in mice. *Guoji Yanke Zazhi* 2018;18(1):27-31

## 摘要

**目的:**探讨膳食途径摄入  $\omega-3$  多不饱和脂肪酸 (polyunsaturated fatty acids, PUFAs) 抑制小鼠视网膜新生血管的作用及其机制。

**方法:**选取 60 只 7 日龄 C57BL/6J 小鼠随机分为 3 组: A 组在正常环境中给予普通膳食饲养; B、C 组是将小鼠与哺乳母鼠共同置于氧浓度为  $75\% \pm 2\%$  的氧箱内饲养 5d 后转移至正常氧环境中饲养 5d 建立氧诱导视网膜病变模型, 其中 C 组按体质量给予  $\omega-3$ PUFAs  $7.5\text{mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$  饲养, B 组给予普通膳食饲养。分别于出生后 17d 时处死小鼠, 铺片法计算视网膜新生血管相对面积, HE 染色检测突破内界膜的血管内皮细胞核数目, GC-MS 检测视网膜组织中  $\omega-3$ PUFAs/ $\omega-6$ PUFAs 相对含量和比例, 实时荧光定量聚合酶链反应 (Real-Time PCR) 分析视网膜组织中过氧化物酶增殖活化受体- $\gamma$  (preoxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$ , PPAR- $\gamma$ )、血管内皮生长因子-A (VEGF-A) 和血管内皮生长因子受体 2 (VEGFR-2) 的 mRNA 表达。

**结果:**出生后 17d 三组小鼠间新生血管面积及突破视网膜内界膜的血管内皮细胞核数比较差异有统计学意义 ( $F_{\text{新生血管面积}} = 20.45, P < 0.05$ ;  $F_{\text{内皮细胞核数}} = 48.66, P < 0.05$ ), 新生血管面积 A 组与 B 组之间比较, 差异有统计学意义 ( $t = 8.64, P < 0.05$ ), C 组与 B 组之间比较, 差异有统计学意义 ( $t = 8.91, P < 0.05$ )。HE 染色法观察内皮细胞核数, A 组与 B 组比较差异有统计学意义 ( $t = 38.51, P < 0.05$ ); C 组与 B 组比较差异有统计学意义 ( $t = 19.86, P < 0.05$ )。三组小鼠视网膜  $\omega-3$ PUFAs 和  $\omega-6$ PUFAs 相对含量比较, 差异有统计学意义 ( $F = 129.86, 112.44, \text{均 } P < 0.05$ ), C 组含量分别与 A、B 组比较, 差异均有统计学意义 ( $t = 23.15, 25.42; t = 16.43, 11.95, \text{均 } P < 0.05$ ); 三组小鼠视网膜  $\omega-3$ PUFAs/ $\omega-6$ PUFAs 比例、视网膜 PPAR- $\gamma$  mRNA 表达、视网膜 VEGF-A mRNA 表达、视网膜 VEGFR-2 mRNA 表达比较, 差异有统计学意义 ( $F_{\text{比例}} = 10.30, F_{\text{PPAR-}\gamma} = 138.24, F_{\text{VEGF-A}} = 69.12, F_{\text{VEGFR-2}} = 52.45, \text{均 } P < 0.05$ ), C 组  $\omega-3$ PUFAs/ $\omega-6$ PUFAs 比例与 B 组比较提高, 差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); C 组 PPAR- $\gamma$  mRNA 表达水平明显高于 B 组, C 组 VEGF-A mRNA 表达水平及 VEGFR-2 mRNA 表达水平低于 B 组, 差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。

**结论:**通过膳食途径摄入一定量的  $\omega-3$ PUFAs, 可能通过上调  $\omega-3$ PUFAs/ $\omega-6$ PUFAs 比例, 激活 PPAR- $\gamma$ , 进而减少 VEGF-A 和 VEGFR-2 表达, 抑制视网膜新生血管形成。

**关键词:**视网膜新生血管;  $\omega-3$ PUFAs; PPAR- $\gamma$ ; VEGF-A; VEGFR-2

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2018.1.06

**引用:**李琴, 黎智, 张蝶念, 等.  $\omega-3$  多不饱和脂肪酸抑制小鼠视网膜新生血管的实验研究. 国际眼科杂志 2018;18(1):27-31

## 0 引言

视网膜新生血管形成是多种视网膜病变发展到增殖期的标志, 是最严重的致盲性眼病之一, 视网膜新生血管形成以及其导致的视网膜出血、黄斑水肿甚至视网膜的膜

性增殖导致牵拉性脱离是许多眼底病致盲的病理基础。 $\omega-3$  多不饱和脂肪酸 (polyunsaturated fatty acids, PUFAs) 是视网膜中主要脂肪酸。PPAR- $\gamma$  是核激素受体超家族一员, 是一种配体诱导型转录调控因子。VEGF-A 属于 VEGF 家族, VEGFR-2 是众多 VEGF 受体中的一员, 本实验通过观察  $\omega-3$ PUFAs 在正常及氧诱导模型小鼠视网膜的表达情况, 以及通过膳食摄入  $\omega-3$ PUFAs 后观察视网膜 PPAR- $\gamma$ 、VEGF-A 和 VEGFR-2 的 mRNA 表达, 探讨  $\omega-3$ PUFAs 及其受体 PPAR- $\gamma$  在视网膜新生血管形成的作用及其机制, 以期治疗视网膜新生血管性疾病提供新的策略。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

**1.1.1 动物及分组** 新生清洁级 7 日龄 C57BL/6J 小鼠 60 只, 体质量  $4.62 \pm 0.34\text{g}$ , 雌雄兼有 (湖北文理学院医学院实验动物中心提供)。采用随机数字表法分为 3 组: 每组 20 只, 分别与哺乳母鼠一起饲养。A 组在正常环境中给予普通膳食饲养。B、C 组在自制密闭玻璃容器内, 一端进气孔, 另一端出气孔, 接入纯氧, 控制氧箱内氧气流速在  $0.5 \sim 1.0\text{L}/\text{min}$ , 控制温度在  $25\text{ }^\circ\text{C}$  左右, 每天 4~6 次检测氧箱内的氧浓度以保证氧浓度为  $75\% \pm 2\%$ , 日光照明, 每天更换垫料、加食、换水。在  $75\% \pm 2\%$  的高氧环境中饲养 5d 后转至正常空气中饲养 5d 建立氧诱导视网膜病变 (OIR) 模型, 其中 C 组按体质量给予  $\omega-3$ PUFAs  $7.5\text{mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$  饲养, B 组给予普通等量膳食饲养。该实验严格遵循动物实验中对实验动物保护和伦理学的基本要求。

**1.1.2 主要试剂和仪器** 逆转录试剂盒 (上海 ToYoBo 公司); CY-12C 型测氧仪 (建德市梅城电化分析仪器厂), Rotor-Gene3000 实时定量 PCR 仪 (澳大利亚 Corbett Research 公司), 低温高速离心机 (德国 HERAENA 公司), 色谱分析仪 AMD5 (常州磐诺仪器公司)。

### 1.2 方法

**1.2.1 视网膜铺片计算新生血管面积** 三组小鼠分别于出生后 17d 时各随机取 5 只 (10 眼), 将荧光素溶于 1mL 的甲醛中, 经左心室灌注 ( $30\text{mL}/\text{kg}$ ) 摘除眼球, 游离视网膜于甲醛液中固定 1h。以视盘为中心切开, 加盖玻片。用荧光显微镜照相并测量新生血管面积。

**1.2.2 新生血管内皮细胞核计数** 三组小鼠分别于出生后 17d 时各组另取小鼠 5 只 (10 眼), 眼球于甲醛中固定脱水, 石蜡包埋, 矢状位连续切片, HE 染色。每只眼取 10 张切片分析, 同一操作者随机、盲法在显微镜下对切片样本计数, 排除与内界膜无联系的血管内皮细胞核。

**1.2.3 GC-MS 分析检测  $\omega-3$ PUFAs/ $\omega-6$ PUFAs 含量** 三组小鼠分别于出生后 17d 时另取各组小鼠 5 只 (10 眼) 视网膜组织进行 GC-MS 分析。色谱条件: 载气为纯度 99.99% 的氦气; 弹性石英毛细管柱 DB-5MS  $60\text{m} \times 0.25\text{mm}$ ; 进样口温度  $250\text{ }^\circ\text{C}$ ; 柱初温  $110\text{ }^\circ\text{C}$ , 保温 10min, 以  $10\text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$  升温速率升至  $250\text{ }^\circ\text{C}$ , 保温 13min。柱前压  $90\text{kPa}$ , 分流比 50:1, 进样量  $1\mu\text{L}$ 。质谱条件: 接口温度  $280\text{ }^\circ\text{C}$ , 离子源选用 EI 源, 电子能量  $70\text{eV}$ , 离子源温度  $230\text{ }^\circ\text{C}$ , 光电倍增管电压  $2200\text{V}$ , 扫描范围  $29.0 \sim 450.0\text{amu}$ 。检测结果采用峰面积归一化计算  $\omega-3$ PUFAs/ $\omega-6$ PUFAs 各组分相对含量。



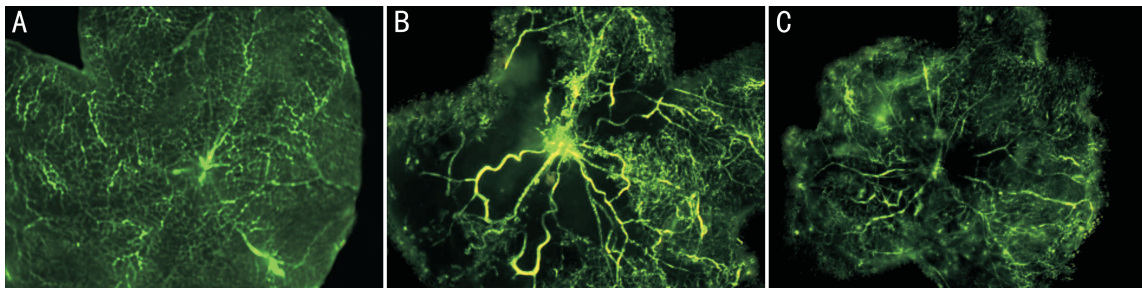


图1 出生后17d视网膜铺片结果( $\times 400$ ) A组:视网膜血管发育正常,未见新生血管;B组:视网膜血管高度扩张、迂曲,大量新生血管形成;C组:可见视网膜少量无灌注区及少许新生血管渗漏。

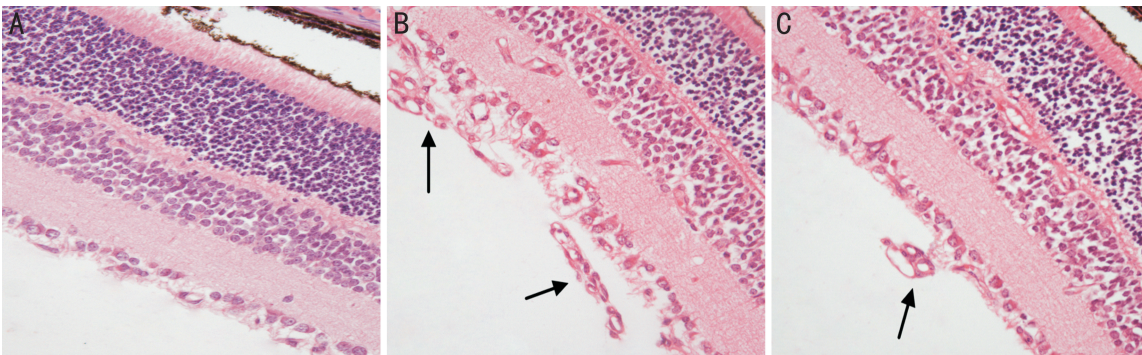


图2 出生后17d突破视网膜内界膜的血管内皮细胞核(HE染色 $\times 400$ ) A组:未见突破视网膜内界膜的新生血管芽;B组可见大量呈簇状突破视网膜内界膜的新生血管芽;C组可见少量突破视网膜内界膜的新生血管芽。

1.2.4 Real-Time PCR 检测 PPAR- $\gamma$ 、VEGF-A 和 VEGFR-2 的 mRNA 表达 三组小鼠分别于出生后17d另取各组5只小鼠,提取视网膜组织总RNA,逆转录合成cDNA。配置25 $\mu$ L PCR反应体系进行PCR反应。PPAR- $\gamma$ 上游引物序列:5'-CTG AGA GGG AAA TCG TGC GT-3',下游引物序列:5'-CCA CAG GAT TCC ATA CCC AAG A-3';VEGF-A上游引物序列:5'-GCT ACT GCC GTC CGA TTG AG-3',下游引物序列:5'-GGC TTT GTT CTG TCTTTC TTT GG-3';VEGFR-2上游引物序列:5'-TCG AGC CCT CAT GTC TGA AC-3',下游引物序列:5'-TGA TGC TGT CCA AGC GTC TT-3';内参 $\beta$ -actin上游引物序列:5'-TCCTGTGGCATCCACGAAACT-3',下游引物序列:5'-GAAGCATTTCGGGTGGACGAT-3'。PCR反应条件:95 $^{\circ}$ 预变性1min,95 $^{\circ}$ 变性15s,58 $^{\circ}$ 退火15s,72 $^{\circ}$ 延伸45s,共进行40个循环。所有标本均重复3次,采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 相对定量法进行结果计算。

统计学分析:采用统计软件SPSS 20.0分析,计量资料以均数 $\pm$ 标准差表示,组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用LSD- $t$ 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 视网膜铺片结果 出生后17d,A组小鼠视网膜血管发育正常,未见新生血管形成。B组视网膜血管高度扩张、迂曲,大片无灌注区及大量新生血管形成,每眼新生血管面积为 $1.68 \pm 0.02 \text{mm}^2$ 。C组视网膜无灌注区及新生血管明显减少,新生血管面积为每眼 $0.24 \pm 0.02 \text{mm}^2$ 。出生后17d新生血管面积各组间比较差异有统计学意义( $F = 20.45, P < 0.05$ ),其中A组与B组之间比较,差异有统计学意义( $t = 8.64, P < 0.05$ ),表明高氧诱导小鼠视网膜血管形成;C组与B组之间比较,差

表1 GC-MS分析检测各组小鼠视网膜 $\omega$ -3PUFAs/ $\omega$ -6PUFAs相对含量

组别	眼数	$\omega$ -3PUFAs (EPA+DHA)	$\omega$ -6PUFAs (LA+AA)	$\omega$ -3PUFAs/ $\omega$ -6PUFAs
A组	10	18.68 $\pm$ 1.02	20.52 $\pm$ 0.22	0.91
B组	10	17.74 $\pm$ 0.23	16.82 $\pm$ 0.28	1.05
C组	10	28.76 $\pm$ 0.04	13.64 $\pm$ 0.02	2.10

注: $\omega$ -3PUFAs富含二十碳五烯酸(EPA)和二十二碳六烯酸(DHA); $\omega$ -6PUFAs富含亚油酸(LA)和花生四烯酸(AA)。A组:在正常环境中给予普通膳食饲养;B组:氧诱导模型+普通膳食饲养;C组:氧诱导模型+ $\omega$ -3PUFAs 7.5mg/(kg $\cdot$ d)饲养。

异有统计学意义( $t = 8.91, P < 0.05$ ),表明 $\omega$ -3PUFAs能够抑制小鼠视网膜新生血管形成,见图1。

2.2 HE染色结果 出生后17d,A、B、C组血管内皮细胞核计数分别为 $0.30 \pm 0.06, 26.20 \pm 1.20, 3.12 \pm 0.16$ 个/HP。各组间突破视网膜内界膜的血管内皮细胞核数,差异有统计学意义( $F = 48.66, P < 0.05$ )。A组与B组比较差异有统计学意义( $t = 38.51, P < 0.05$ );C组与B组比较差异有统计学意义( $t = 19.86, P < 0.05$ ),见图2。

2.3 GC-MS分析检测结果 各组小鼠视网膜 $\omega$ -3PUFAs、 $\omega$ -6PUFAs相对含量比较,差异有统计学意义( $F = 129.86, 112.44$ ,均 $P < 0.05$ );C组分别与A组、B组比较,差异有统计学意义( $t = 23.15, 25.42, t = 16.43, 11.95$ ,均 $P < 0.05$ )。各组小鼠视网膜 $\omega$ -3PUFAs/ $\omega$ -6PUFAs比例比较,差异有统计学意义( $F = 10.30, P < 0.05$ ),C组 $\omega$ -3PUFAs/ $\omega$ -6PUFAs比例相对于B组明显上调,差异有统计学意义( $t = 6.34, P < 0.05$ ),见表1。

2.4 Real-Time PCR检测结果 三组间视网膜PPAR- $\gamma$  mRNA表达比较,差异有统计学意义( $F = 138.24, P <$

表2 各组小鼠 PPAR- $\gamma$ 、VEGF-A 和 VEGFR-2 mRNA 相对表达量  $\bar{x} \pm s$

组别	眼数	PPAR- $\gamma$	VEGF-A	VEGFR-2
A组	10	1.52 $\pm$ 0.02	0.95 $\pm$ 0.01	0.83 $\pm$ 0.01
B组	10	0.64 $\pm$ 0.01	3.62 $\pm$ 0.02	2.39 $\pm$ 0.02
C组	10	2.24 $\pm$ 0.02	0.81 $\pm$ 0.01	1.02 $\pm$ 0.03

注:A组:在正常环境中给予普通膳食饲养;B组:氧诱导模型+普通膳食饲养;C组:氧诱导模型+ $\omega$ -3PUFAs 7.5mg/(kg·d)饲养。

0.05),C组 PPAR- $\gamma$  mRNA 表达水平明显高于 B 组( $t=19.11, P<0.05$ )。三组间视网膜 VEGF-A mRNA 表达比较,差异有统计学意义( $F=69.12, P<0.05$ ),C 组 VEGF-A mRNA 表达水平低于 B 组,差异有统计学意义( $t=30.62, P<0.05$ )。三组间视网膜 VEGFR-2 mRNA 表达比较,差异有统计学意义( $F=52.45, P<0.05$ ),C 组 VEGFR-2 mRNA 表达水平低于 B 组,差异有统计学意义( $t=23.15, P<0.05$ ),见表 2。

### 3 讨论

OIR 小鼠模型是研究视网膜新生血管发病机制的主要实验动物模型之一,此种方法可重复性高<sup>[1]</sup>。本次研究中,B、C 组中产生的新生血管与 A 组比较存在显著性差异,证明 OIR 模型成功建立<sup>[2]</sup>。出生后 17d B 组见大量结构异常的新生血管,并伴有血管的扩张、扭曲和闭塞,而 C 组视网膜新生血管较少,扩张和闭塞的程度较轻。在本实验中,出生后 17d B 组中突破内界膜的新生血管内皮细胞核数目与 A 组相比差异有统计学意义( $P<0.05$ ),而 C 组视网膜新生血管面积和突破内界膜的新生血管内皮细胞核数目明显低于 B 组,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。说明通过膳食摄入一定量的  $\omega$ -3 多不饱和脂肪酸可以有效抑制视网膜新生血管形成。Fu 等<sup>[3]</sup>与 Gong 等<sup>[4]</sup>研究发现在大鼠黄斑区脉络膜新生血管(choroidal neovascularization, CNV)模型中给予一定量的  $\omega$ -3 多不饱和脂肪酸后新生血管出现消退,与我们的实验结论相同,为我们将来在人类视网膜新生血管性疾病的治疗提供了新的方向。

$\omega$ -3PUFAs 又名多烯酸,属必需脂肪酸<sup>[5]</sup>,有研究证实  $\omega$ -3PUFAs 是视网膜中的主要脂肪酸,是细胞膜磷脂的主要成分,人体内不能合成,必须从食物中获得,在神经、视网膜各系统组织发育的关键时期,需要摄入一定的  $\omega$ -3PUFAs<sup>[6-7]</sup>以促进其发育。 $\omega$ -3 脂肪酸衍生物 EPA 是前列腺素的前体物质,在脂氧化酶和环氧化酶的作用下可生成 PGE5、PGI3、LTB5、TXA3 等活性物质,调控机体诸多的生化反应,而 DHA 则是大脑、神经、视网膜等组织的主要结构物质。San 等<sup>[8]</sup>认为  $\omega$ -3PUFAs 可抑制 VEGF 表达,EPA 可以有效抑制 VEGF 受体的激活及表达。 $\omega$ -3PUFAs 通过竞争抑制作用减少花生四烯酸(AA)类炎症介质;改变膜流动性和酶的活性以及激素与受体的结合和信号的传递;介导核转录因子 NF- $\kappa$ B 信号的失活发挥抗炎作用<sup>[9]</sup>,NF- $\kappa$ B 参与炎症细胞因子和其他相关基因的上调<sup>[10]</sup>。当组织发生缺血或炎症时,NF- $\kappa$ B 活性增加,通过调节细胞黏附分子、白介素-8 等促进 VEGF 的表达。

NF- $\kappa$ B 可以增强 VEGF 蛋白的表达水平<sup>[11]</sup>;而 VEGF 又能增强 NF- $\kappa$ B 的结合能力。因此,我们推测,在血管增殖性视网膜病变中,当视网膜处于相对缺氧状态时,可能首先是 NF- $\kappa$ B 活性的增加,继而 VEGF 的表达增强,有关的机制仍待进一步研究。本研究发现,氧诱导模型组小鼠随着时间延长,视网膜新生血管不断增加,VEGF 和 VEGFR-2 也表达增加,在 17d 时 VEGF 和 VEGFR-2 的表达最强。而 C 组视网膜新生血管较氧诱导模型组少,VEGF 和 VEGFR-2 的表达也下调,进一步说明通过膳食摄入  $\omega$ -3PUFAs 可有效抑制视网膜新生血管形成。 $\omega$ -6PUFAs 富含亚油酸 LA 和花生四烯酸 AA 可以引起炎症反应, $\omega$ -3PUFAs 和  $\omega$ -6PUFAs 虽然不能互相转化,但能互相抑制对方的合成,因此  $\omega$ -3PUFAs/ $\omega$ -6PUFAs 比例上调有助于抑制炎症反应。

PPAR- $\gamma$  是配体激活的核转录因子<sup>[12]</sup>。PPAR- $\gamma$  在保护心血管损伤、抑制炎症反应、改善胰岛素抵抗中起作用<sup>[13-14]</sup>。研究显示,PPAR- $\gamma$  可以通过竞争性抑制核转录因子等炎症信号通路来调节炎症介质的生成从而起到抑制炎症反应的作用<sup>[15]</sup>。在哺乳动物眼部,PPAR- $\gamma$  主要分布于视网膜色素上皮、光感受器外节以及脉络膜毛细血管<sup>[16]</sup>。PPAR- $\gamma$  抑制新生血管的作用可能与下调 VEGF 及 VEGF 受体的表达有关<sup>[17]</sup>。本实验研究发现,在 C 组中 PPAR- $\gamma$  表达明显高于其他两组,新生血管面积明显低于模型组,证实了 PPAR- $\gamma$  在抑制新生血管形成中的作用。

VEGF 可以促进血管新生和增殖,其表达决定了新生血管性疾病的状态。VEGF 通过直接刺激血管细胞上的 VEGF 受体从而诱导血管形成。在本实验中,出生后 17d B 组中的 VEGF 表达较 A 组和 C 组高,提示通过膳食摄入可抑制 VEGF 的表达,减少新生血管的形成。C 组摄入一定量的  $\omega$ -3PUFAs 可减少 VEGF 的表达从而减少新生血管形成。由此,我们推测  $\omega$ -3PUFAs 通过调节 PPAR- $\gamma$  水平进而调控 VEGF 表达。本研究 C 组中  $\omega$ -3PUFAs 和 PPAR- $\gamma$  的表达均增强,可能表明  $\omega$ -3PUFAs 对视网膜 PPAR- $\gamma$  的表达具有促进作用。C 组中 VEGFR-2 的表达下降,说明通过膳食摄入  $\omega$ -3PUFAs 促进 PPAR- $\gamma$  表达而下调 VEGFR-2 的表达,继而抑制新生血管形成。综上所述, $\omega$ -3PUFAs 可能为我们将来治疗视网膜新生血管性疾病找到新的突破点。

### 参考文献

- 1 Stahl A, Connor KM, Sapieha P, et al. The mouse retina as an angiogenesis model. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010 51(6):2813-2826
- 2 白贤明,朱丹. 早产儿视网膜病变模型研究进展. 国际眼科杂志 2011;11(7):1176-1178
- 3 Fu Z, Liegl R, Wang Z, et al. Adiponectin mediates dietary omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acid protection against choroidal neovascularization in mice. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2017; 58(10):3862-3870
- 4 Gong Y, Fu Z, Edin ML, et al. Cytochrome P450 Oxidase 2C inhibition adds to  $\omega$ -3 long-chain polyunsaturated fatty acids protection against retinal and choroidal neovascularization. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2016;36(9):1919-1927
- 5 Hull MA. Omega-3 polyunsaturated fatty acids. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2011;25(4-5):547-554



- 6 Bradbury J. Docosahexaenoic acid (DHA): an ancient nutrient for the modern human brain. *Nutrients* 2011;3(5):529-554
- 7 Simopoulos AP. Evolutionary aspects of diet: the omega-6/omega-3 ratio and the brain. *Mol Neurobiol* 2011;44(2):203-215
- 8 San GJP, Chew EY. The role of omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acids in health and disease of the retina. *Prog Retin Eye Res* 2005;24(1):87-138
- 9 Xue B, Yang Z, Wang X, et al. Omega-3 polyunsaturated fatty acids antagonize macrophage inflammation via activation of AMPK/SIRT1 pathway. *PLoS One* 2012;7(10):e45990
- 10 柳先丽,舒晓亮,徐涵,等.  $\omega$ -3 多不饱和脂肪酸对疾病炎症反应影响的 Meta 分析. 同济大学学报(医学版)2014;35(6):17-22
- 11 刘昉,袁进. 核转录因子- $\kappa$ B 在氧诱导血管增殖性视网膜病变小鼠中的表达. 眼科新进展 2014;34(12):1101-1104
- 12 Nadra K, Quignodon L, Sardella C, et al. PPA Rgamma in placental Angiogenesis. *Endocrinology* 2010;151(10):4969-4981
- 13 Carvajal K, Hernández-Esquivel ML, Moreno-Sánchez R, et al. PPARs, metabolic syndrome and cardiac diseases. *Arch Cardiol Mex* 2007;77(4):66-76
- 14 Yu Y, Correll PH, Vanden Heuvel JP, et al. Conjugated linoleic acid decreases production of pro-inflammatory products in macrophages: evidence for a PPAR gamma-dependent mechanism. *Biochim Biophys Acta* 2002;1581(3):89-99
- 15 Chen F, Wang M, O'Connor JP, et al. Phosphorylation of PPARgamma via active ERK1/2 leads to its physical association with p65 and inhibition of NF-kappabeta. *J Cell Biochem* 2003;90(4):732-744
- 16 Herzlich AA, Tuo J, Chan CC. Peroxisome proliferator-activated receptor and age-related macular degeneration. *PPAR Res* 2008;2008:389507
- 17 Mattos RT, Bosco AA, Nogueira-Machado JA. Rosiglitazone, a PPAR- $\gamma$  agonist, inhibits VEGF secretion by peripheral blood mononuclear cells and ROS production by human leukocytes. *Inflamm Res* 2012;61(1):37-41

## 2016 中国眼科期刊 CiteScore 世界排名 (全球共收录 101 种)

近期,学术出版巨头爱思唯尔(Elsevier)依据 Scopus 数据库发布了 2016 年度期刊引用指数榜 CiteScore。CiteScore,这是一个全新的衡量期刊影响因子的指标。计算方法是:期刊连续 3 年论文在第 4 年度的篇均引用次数,且不剔除任何类型的文章。以下是 2016 CiteScore 中国眼科期刊在全球 101 种眼科期刊的排名:

刊名	出版地	语言	CiteScore	排名
International Journal of Ophthalmology (国际眼科杂志英文版)	中国大陆	英文	1.31	44/101
Asia-Pacific Journal of Ophthalmology (亚太眼科杂志)	中国香港	英文	0.35	74/101
Chinese Journal of Ophthalmology (中华眼科杂志)	中国大陆	中文	0.26	79/101
Chinese Journal of Experimental Ophthalmology (中华实验眼科杂志)	中国大陆	中文	0.14	82/101
Taiwan Journal of Ophthalmology (台湾眼科杂志)	中国台湾	英文	0.11	84/101
International Eye Science (国际眼科杂志中文版)	中国大陆	中文	0.03	93/101
Ophthalmology in China (眼科)	中国大陆	中文	0.03	93/101

源自:<https://journalmetrics.scopus.com>