

橙皮苷对翼状胬肉成纤维细胞增殖及 cyclin D 表达的影响

刘琳琳¹, 吴晶², 王辉¹, 刘锦荣², 吴维霖¹, 唐爱东¹, 蒋贻平¹, 胡成全¹

引用:刘琳琳,吴晶,王辉,等. 橙皮苷对翼状胬肉成纤维细胞增殖及 cyclin D 表达的影响.国际眼科杂志 2019;19(12):2022-2025

基金项目:江西省卫生健康委员会中医药计划项目(No. 2016B096)

作者单位:¹(341000)中国江西省赣州市,赣南医学院第一附属医院眼科;²(341000)中国江西省赣州市,赣南医学院

作者简介:刘琳琳,硕士研究生,副主任医师,副教授,研究方向:青光眼、眼表疾病及小儿眼病。

通讯作者:王辉,主任医师,教授,科主任,研究方向:白内障、眼表疾病. gyfywanghui@163.com

收稿日期:2019-02-17 修回日期:2019-11-08

摘要

目的:评价橙皮苷对体外培养的人翼状胬肉成纤维细胞(HPF)增殖的抑制作用及对周期蛋白D(cyclin D)表达的影响。

方法:将人翼状胬肉新鲜组织进行体外贴壁细胞常规培养,并采用免疫荧光染色法进行鉴定。通过MTT法检测不同浓度丝裂霉素C(MMC)(1.5、7.5、30.0 μ mol/L)和橙皮苷(24、48、64、72、96、120 μ mol/L)作用不同时间(24、48、72h)对细胞增殖的抑制,筛选适宜的作用浓度和时间。采用Western blot法检测cyclin D在HPF细胞中的相对表达量。

结果:分别采用48、72 μ mol/L橙皮苷和7.5 μ mol/L MMC作用于HPF细胞48h,Western blot检测结果显示,空白对照组(正常培养)、MMC组、48 μ mol/L橙皮苷组、72 μ mol/L橙皮苷组细胞cyclin D蛋白相对表达量分别为 1.20 ± 0.02 、 0.60 ± 0.03 、 0.54 ± 0.02 、 0.45 ± 0.07 ($F = 73.025$, $P = 0.001$),MMC组和橙皮苷组细胞cyclin D蛋白相对表达量均低于空白对照组($P < 0.05$),但MMC组和橙皮苷组(48、72 μ mol/L)细胞cyclin D蛋白相对表达量均无差异($P > 0.05$)。

结论:橙皮苷能抑制翼状胬肉HPF细胞增殖,该过程与其降低cyclin D的表达有关。

关键词:橙皮苷;翼状胬肉;细胞增殖;cyclin D

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2019.12.05

Effects of hesperidin on the proliferation and expression of cyclin D in human pterygium fibroblasts

Lin-Lin Liu¹, Jing Wu², Hui Wang¹, Jin-Rong Liu², Wei-Lin Wu¹, Ai-Dong Tang¹, Yi-Ping Jiang¹, Cheng-Quan Hu¹

Foundation item: Traditional Chinese Medicine Program of Jiangxi Provincial Health Commission (No.2016B096)

¹Department of Ophthalmology, the First Affiliated Hospital of Gannan Medical University, Ganzhou 341000, Jiangxi Province, China; ²Gannan Medical University, Ganzhou 341000, Jiangxi Province, China

Correspondence to: Hui Wang, Department of Ophthalmology, the First Affiliated Hospital of Gannan Medical University, Ganzhou 341000, Jiangxi Province, China. gyfywanghui@163.com

Received:2019-02-17 Accepted:2019-11-08

Abstract

• AIM: To evaluate hesperidin's inhibitory effect on the proliferation of human pterygium fibroblasts (HPF) cultured *in vitro* and its influence on the expression of cyclin D.

• METHODS: The fresh tissue of human pterygium was cultivated by adherent cell culture *in vitro* and adherent cells were appraised by immune fluorescence staining. HPF cells were treated with hesperidin (24 μ mol/L, 48 μ mol/L, 64 μ mol/L, 72 μ mol/L, 96 μ mol/L, 120 μ mol/L) and MMC (1.5 μ mol/L, 7.5 μ mol/L and 30.0 μ mol/L). The inhibition rate of cell proliferation was detected by MTT assay 24h, 48h and 72h after treatment, and appropriate concentration and time were selected. The relative expression of cyclin D in HPF was detected by Western blot.

• RESULTS: When HPF were treated respectively with hesperidin (48 μ mol/L, 72 μ mol/L) and MMC (7.5 μ mol/L) for 48h, Western blot results showed the relative expressions of cyclin D in blank control group (normal culture), MMC group, hesperidin (48 μ mol/L) group and hesperidin (72 μ mol/L) group to be 1.20 ± 0.02 , 0.60 ± 0.03 , 0.54 ± 0.02 , 0.45 ± 0.07 ($F = 73.025$, $P = 0.001$) respectively. The relative expressions of cyclin D in MMC group and hesperidin group were lower than that of blank control group ($P < 0.05$); while the relative expressions of cyclin D in MMC group and hesperidin (48 μ mol/L, 72 μ mol/L) group showed no significant difference ($P > 0.05$).

• CONCLUSION: Hesperidin can inhibit the proliferation of HPF by reducing the relative expression of cyclin D.

• KEYWORDS: hesperidin; human pterygium fibroblasts; cell proliferation; cyclin D

Citation: Liu LL, Wu J, Wang H, et al. Effects of hesperidin on the proliferation and expression of cyclin D in human pterygium fibroblasts. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2019; 19(12): 2022-2025

0 引言

翼状胬肉是结膜纤维血管组织异常增生侵犯角膜的一种眼表疾病,其发病人群主要集中于常年在户外工作者^[1]。现有研究表明,胬肉的发病机制涉及基因表达、调

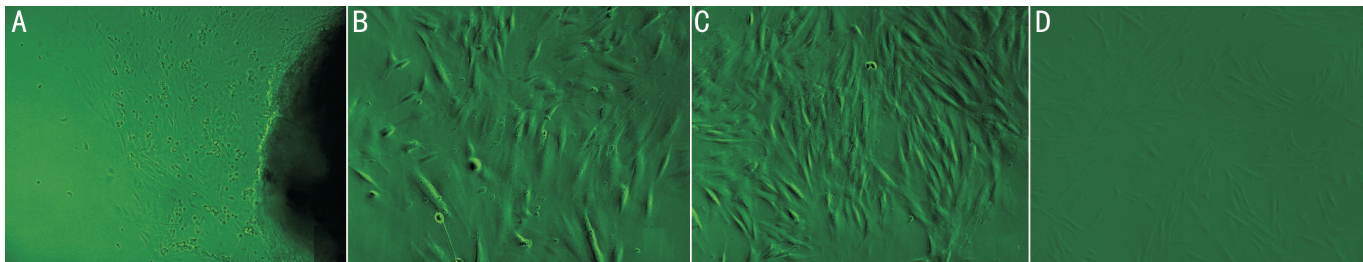


图1 倒置相差显微镜下观察翼状胬肉 HPF 细胞 A:原代细胞($\times 40$);B:第一代细胞($\times 200$);C:第二代细胞($\times 100$);D:第三代细胞($\times 100$)。

亡机制及细胞分子生物学等^[2]。角膜缘干细胞的高增殖对结膜上皮具有抑制作用,若角膜缘干细胞发生损害,则人翼状胬肉成纤维细胞(human pterygium fibroblasts, HPF)增殖与凋亡平衡机制将会被打破而导致异常增生^[3-4]。调查显示,正常情况下,翼状胬肉术后复发率为 19.4%~75%,术后给予丝裂霉素 C(mitomycin C, MMC)治疗后,复发率降为 10.3%^[5]。MMC 可通过抑制 DNA 的合成以抑制 HPF 的增殖^[6],从而抑制翼状胬肉的复发,但使用 MMC 的患者容易引起角膜溶解、巩膜溶解及干眼等并发症^[7]。

有研究表明,橙皮苷可通过阻断细胞周期从而抑制癌细胞的增殖^[8],周期蛋白 D(cyclin D)主要在细胞 G1 期早期产生,到 G1 期晚期时达到高峰,在与 CDK4/CDK6 结合后进入细胞核,形成 cyclin D-CDK4/CDK6 复合体使 Rb 蛋白、P107 蛋白及 P130 蛋白磷酸化,解除对 E₂F 等转录因子的抑制作用,启动细胞基因转录,从而启动细胞周期^[9]。本研究就橙皮苷对翼状胬肉 HPF 细胞的增殖抑制作用及 cyclin D 蛋白表达的影响进行探讨。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 标本取材 选取原发性翼状胬肉患者 30 例 30 眼,其中男 15 例,女 15 例,年龄 30~60 岁。纳入标准:(1)符合原发性翼状胬肉的诊断标准;(2)胬肉头端侵入角膜上皮约 2.5~3.5mm。排除标准:(1)复发及假性翼状胬肉;(2)翼状胬肉伴其他结膜疾病;(3)既往有眼部手术;(4)有活动性眼部炎症性病变。本研究通过伦理委员会审查。所有患者均于手术室无菌条件下取胬肉组织进行原代及传代培养,术前均与患者签订手术知情同意书。

1.1.2 主要试剂和设备 1640 基础培养基、胎牛血清、胰蛋白酶(美国 Gibco 公司),抗青-链霉素(北京索莱宝科技有限公司),免疫荧光试剂盒、Annexin V-FITC 细胞凋亡检测试剂盒、cyclin D 蛋白抗体、 β -actin 蛋白抗体、鼠源波形蛋白抗体(vimentin mouse monoclonal antibody)试剂盒(上海碧云天生物技术有限公司),MTT 检测试剂盒、DMSO、酶标仪、橙皮苷(成都德瑞克公司),细胞周期检测试剂盒(美国 BD Pharmingen 公司),MMC 针剂(北京百奥莱博科技有限公司);共聚焦显微镜(美国蔡司 880),倒置荧光显微镜(日本 OLYMPUS IX71),电泳仪、凝胶数字成像系统(英国 Biorad 公司)。

1.2 方法

1.2.1 原代细胞培养 无菌条件下取原发性翼状胬肉组织置于冰上,PBS 缓冲液冲洗 2~3 次,将组织中血细胞尽量冲洗尽,再将胬肉组织剪碎成大小约 0.5mm \times 0.5mm \times 0.5mm。接种于斜口培养瓶中,组织块之间间隔 0.5cm,

加入含 12%胎牛血清的 1640 培养基至刚好没过组织块,2~3d 后可见长梭形细胞从组织块边缘爬出,约 1wk 后可长满培养瓶,胰酶消化后接种于培养瓶中,每 2d 换 1 次液,以后每 4~6d 可传代一次,取第三代细胞进行实验(图 1)。

1.2.2 细胞鉴别 将直径为 1.5cm 无菌圆形玻片置于 6 孔板底部,取对数期细胞接种于 6 孔板中,每孔 2mL,接种密度为 1×10^4 个/mL。待细胞长满圆形玻片后用 PBS 缓冲液轻柔冲洗玻片,将细胞爬片放入 -20 $^{\circ}$ C 冰甲醇固定 5min,PBST(0.1% Tween20/PBS)清洗 2 次,加入 500 μ L blocking buffer(2% BSA、0.1% Tween20/PBS)室温摇匀静置 30min,再用鼠源波形蛋白抗体试剂盒及免疫荧光试剂盒-抗小鼠 FITC 对细胞进行染色,在共聚焦显微镜下以 492nm 波长进行激发,用 4,6-联脒-2-苯基吲哚(4,6-diamidino-2-phenylindole, DAPI)对细胞核进行染色,以 358nm 波长进行激发。着染细胞为扁平纺锤形或星形,核呈规则的卵圆形,则符合 HPF 的形态学特征。

1.2.3 MTT 法检测细胞增殖抑制率 取对数期生长细胞接种于 96 孔板中,接种密度为 3×10^4 个/mL,每孔加入细胞悬液 100 μ L,每板均设空白对照组、无处理细胞对照组、不同浓度 MMC 组(1.5、7.5、30.0 μ mol/L)、不同浓度橙皮苷组(24、48、64、72、96、120 μ mol/L);每个组设 5 个复孔。待细胞贴壁后更换含 12%胎牛血清的 1640 培养基培养 12h,分别加入各组浓度药物培养于 24、48、72h,每孔加入 20 μ L MTT 溶液再培养 4h 后将混合液吸尽,每孔再加入 150 μ L DMSO,避光低速震荡 10min 后酶标仪 570nm 波长检测光密度(OD)值。计算细胞增殖抑制率,筛选橙皮苷和 MMC 作用浓度和时间。细胞增殖抑制率 = [1 - (加药组 OD 值 - 空白对照组 OD 值) / (无处理细胞对照组 OD 值 - 空白对照组 OD 值)] $\times 100\%$ 。

1.2.4 Western blot 法检测 cyclin D 的表达 将对数期生长细胞接种于 60cm 培养皿中,接种密度为 5×10^4 个/mL,每皿加入 4mL 细胞悬液,设空白对照组(正常培养)、MMC 组(7.5 μ mol/L)、橙皮苷组(48、72 μ mol/L),待细胞贴壁后更换含 12%胎牛血清的 1640 培养基培养 24h,加入各组浓度药物培养 48h 后吸尽培养液,3mL 预冷 PBS 缓冲液清洗 2 次,加入细胞裂解液(RIPA)200 μ L 和苯甲基磺酰氟(PMSF)2 μ L,摇匀置于冰上 30min,细胞刮收裂解液,4 $^{\circ}$ C 下 1 200r/min 离心 5min,取上清分装至 0.5mL 离心管中。BSA 法测蛋白浓度,每孔上样 202 μ g 蛋白总量,80V 电泳 2h,200mA 转膜 70min,脱脂奶粉封闭抗体 1h,4 $^{\circ}$ C 孵育一抗(稀释比例 1:200)过夜,常温孵育二抗(稀释比例 1:1000)1h,加入显影剂放入凝胶数字成像系统曝光成像。

统计学分析:采用 SPSS 22.0 统计软件处理数据。计

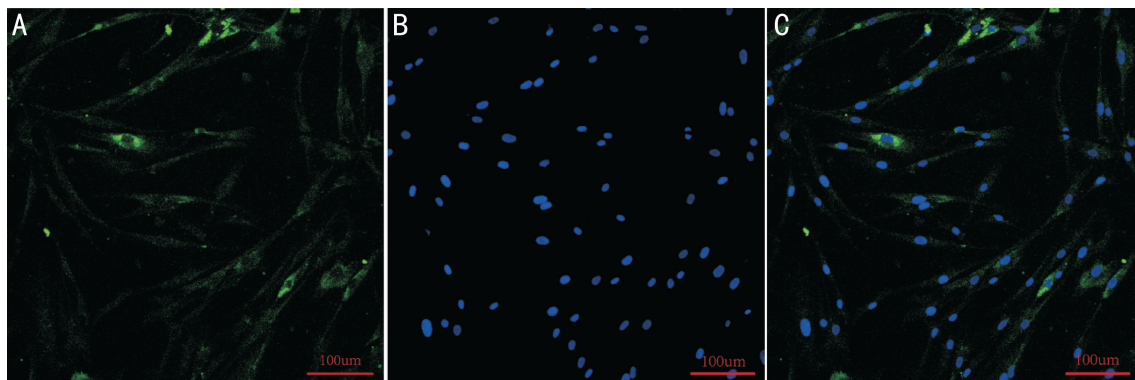


图2 免疫荧光染色法鉴定翼状胬肉 HPF 细胞($\times 630$) A:翼状胬肉 HPF 细胞呈波形蛋白阳性表达;B:细胞核 DAPI 染色呈阳性表达;C:细胞骨架和核染共同显色。

表1 橙皮苷对翼状胬肉 HPF 细胞增殖的抑制 ($\bar{x} \pm s, \%$)

浓度($\mu\text{mol/L}$)	作用时间(h)		
	24	48	72
24	9.91 \pm 1.31	31.78 \pm 4.34	14.51 \pm 3.43
48	17.80 \pm 1.87	45.58 \pm 2.49	20.81 \pm 3.09
64	33.62 \pm 13.31	51.82 \pm 0.71	27.24 \pm 1.35
72	35.03 \pm 4.73	69.44 \pm 2.74	51.70 \pm 1.09
96	39.98 \pm 1.55	78.31 \pm 0.67	64.00 \pm 4.99
120	44.87 \pm 1.14	81.83 \pm 0.57	67.09 \pm 0.62

注: $F_{\text{浓度}} = 220.192, P_{\text{浓度}} = 0.002; F_{\text{时间}} = 94.648, P_{\text{时间}} = 0.005; F_{\text{浓度} \times \text{时间}} = 9.835, P_{\text{浓度} \times \text{时间}} = 0.062。$

表2 MMC对翼状胬肉 HPF 细胞增殖的抑制 ($\bar{x} \pm s, \%$)

浓度($\mu\text{mol/L}$)	作用时间(h)		
	24	48	72
1.5	12.85 \pm 1.71	39.55 \pm 1.33	54.71 \pm 3.59
7.5	26.35 \pm 2.72	72.57 \pm 3.23	84.45 \pm 1.35
30.0	48.70 \pm 1.83	84.82 \pm 0.86	90.04 \pm 0.90

注: $F_{\text{浓度}} = 317.660, P_{\text{浓度}} < 0.001; F_{\text{时间}} = 1173.218, P_{\text{时间}} < 0.001; F_{\text{浓度} \times \text{时间}} = 192.491, P_{\text{浓度} \times \text{时间}} = 0.001。$

量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间多个时间点均值的比较采用重复测量数据的方差分析;多组间均值的比较采用单因素方差分析,进一步两两比较采用 LSD- t 检验。 $P < 0.05$ 时差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 细胞鉴别 波形蛋白为细胞的骨架蛋白,免疫荧光染色结果显示,鼠源波形蛋白抗体对人翼状胬肉 HPF 细胞波形蛋白染色呈阳性,共聚焦显微镜下呈绿色,细胞呈纺锤形、长梭形或星形扁平状结构;DAPI 可穿透细胞膜与细胞核中 DNA 双链结合,共聚焦显微镜下呈蓝色卵圆形,符合 HPF 细胞形态结构(图2)。

2.2 橙皮苷对翼状胬肉 HPF 细胞增殖的抑制 MTT 检测结果显示,橙皮苷对翼状胬肉 HPF 细胞的增殖抑制率随橙皮苷作用浓度的增加而升高,随橙皮苷作用时间的延长先升高后降低,但橙皮苷作用浓度与时间之间无交互效应(表1)。MMC 对翼状胬肉 HPF 细胞的增殖抑制率随 MMC 浓度增加而升高,随 MMC 作用时间的延长逐渐增加,且 MMC 作用浓度与时间之间存在交互效应(表2)。通过橙皮苷和 MMC 对细胞增殖抑制率的检测结果进行

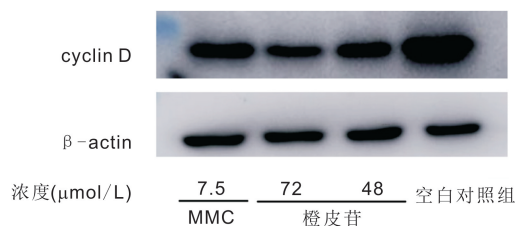


图3 Western blot 法检测橙皮苷对 cyclin D 表达的影响。

初筛,后续实验根据药物的半抑制率(IC_{50})选择药物干预剂量,橙皮苷浓度为 48、72 $\mu\text{mol/L}$,MMC 浓度为 7.5 $\mu\text{mol/L}$,作用时间选择 48h。

2.3 橙皮苷对翼状胬肉 HPF 细胞 cyclin D 表达的影响

Western blot 检测结果显示(图3),空白对照组、MMC 组(7.5 $\mu\text{mol/L}$)、橙皮苷组(48、72 $\mu\text{mol/L}$)细胞 cyclin D 蛋白相对表达量分别为 1.20 \pm 0.02、0.60 \pm 0.03、0.54 \pm 0.02、0.45 \pm 0.07,差异有统计学意义($F = 73.025, P = 0.001$),MMC 组和橙皮苷组(48、72 $\mu\text{mol/L}$)细胞 cyclin D 蛋白相对表达量均低于空白对照组,差异均有统计学意义($P < 0.05$),MMC 组和橙皮苷组(48、72 $\mu\text{mol/L}$)细胞 cyclin D 蛋白相对表达量差异无统计学意义($P > 0.05$)。

3 讨论

翼状胬肉是一种眼表疾病,发病率高,主要症状为球结膜组织增生,侵及角膜,朝其中央生长,头部多为三角状,常见于鼻侧,偶有位于颞侧。不但给患者带来容貌的困扰,若增生的球结膜将瞳孔覆盖,则明显影响视力,严重者致盲^[10]。翼状胬肉的主要发病机制尚无定论,但近年研究表明,紫外线等多种致病因素在翼状胬肉的形成过程中发挥着重要作用。有研究发现,翼状胬肉的发病机制类似于肿瘤,其表皮细胞活性十分高,增殖速度快^[11]。陈祎祎等^[12]观察翼状胬肉复发与病理组织变化的关系发现,复发的胬肉病理组织变化多以细胞增生为主。目前,翼状胬肉治疗仍然主张以手术为主,药物及其他治疗为辅的联合疗法。传统手术切除的复发率相当高,国外报道的复发率为 24%~89%^[13],国内报道的为 20%~70%^[14]。为了抑制翼状胬肉复发,很多学者进行了相关研究。在手术治疗方面,有学者提出羊膜移植、自体角膜缘联合干细胞结膜移植等改良方法^[15];在药物治疗方面,联合激素或抗代谢药物(如 MMC)进行辅助药物治疗,虽然有效降低了翼状胬肉的术后复发率,但是改良手术对正常的眼表组织有一定的损伤,抗代谢药物对眼表的毒性作用较强,容易

引起角结膜上皮修复不良及角膜巩膜溶解等严重并发症,并不能完全抑制胬肉的复发。临床上较常用的抗代谢药物 MMC 可有效抑制细胞 DNA 的增殖及复制等,同时具有杀伤作用^[16]。因此,在翼状胬肉手术过程中使用 MMC 可通过其药理特征清理残留的胬肉组织,显著降低翼状胬肉术后复发率。但其对眼表的毒性作用较强,且持续时间较长,需要引起重视。此外,史伟云等^[10]认为翼状胬肉术后并发症与 MMC 诱发局部细胞凋亡及巩膜和角巩膜缘缺血有密切的关系。因此,寻找一种既能抑制翼状胬肉增生复发,又对眼表组织无毒副作用的药物至关重要。

橙皮苷(hesperidin)是橙皮素与芸香糖形成的糖苷,为二氢黄酮衍生物。橙皮苷是柑橘果肉和果皮的重要成分,其含量可达柑桔幼果鲜重的 1.4%^[17]。赣南脐橙产量富足,因此可作为获取橙皮苷的主要原料。因橙皮苷在植物中分布较为广泛,其药理活性的研究一直得到人们的广泛关注,且在中药新药的创制和研发中,橙皮苷常常被选为指标成分而用于定性和定量研究。橙皮苷提取物天然无毒,具有抗氧化、抗炎、抑制前列腺素合成、抗癌变、对药物代谢酶进行调节、抗肿瘤等多种生物活性^[18-19]。目前,橙皮苷抗肿瘤活性已受到广泛关注,其能抑制多种癌细胞的增殖分化。罗晓婷等^[20]研究赣南脐橙果皮提取物橙皮苷对人低分化鼻咽癌上皮细胞株细胞增殖与细胞周期的影响发现,橙皮苷能抑制细胞的分裂增殖,诱导细胞周期特异性的细胞凋亡。已有研究表明,橙皮苷通过阻滞 TGF- β /Smad 信号通路抑制细胞增殖^[21],而橙皮苷对正常的机体组织无明显毒副作用。

目前,关于橙皮苷在眼科的应用较少有研究报道。本研究通过观察橙皮苷对体外培养的人翼状胬肉 HPF 细胞增殖及 cyclin D 表达的影响,以期寻找辅助治疗及预防翼状胬肉复发的中医中药方法。本研究发现,随着时间和浓度的增加,橙皮苷对翼状胬肉 HPF 细胞增殖的抑制逐渐增加,橙皮苷作用 48h,浓度为 48~72 μ mol/L 时抑制效果增加最明显,抑制率已快速达到 50% 及以上,说明橙皮苷对翼状胬肉 HPF 的增殖具有抑制作用,随着浓度的不断增加,抑制率的增加幅度逐渐减慢,随着时间的迁延抑制率逐渐降低。此外,我们发现,橙皮苷可降低人翼状胬肉 HPF 细胞中 cyclin D 的表达,48、72 μ mol/L 浓度橙皮苷对 cyclin D 表达均有明显的抑制作用,其效果与 7.5 μ mol/L MMC 相当。表明橙皮苷与 MMC 促凋亡作用机制具有相似性。由于橙皮苷具有天然无毒的优势,其应用于临床控制翼状胬肉的生长及抑制翼状胬肉术后复发具有更大的优势。

综上所述,本研究证实橙皮苷对人翼状胬肉 HPF 细胞具有较强的抗增殖作用,提示橙皮苷具有成为新型抗增殖药物的可能,但尚需进一步研究其对 cyclin D 的调控机制。鉴于药物作用在体外有一定的差异,我们将进一步观察橙皮苷对活体的疗效及毒理学研究,为寻找新的预防翼状胬肉复发的方法提供科学依据。

参考文献

- Threlfall TJ, English DR. Sun exposure and pterygium of the eye: a dose-response curve. *Am J Ophthalmol* 1999; 128(3): 280-287
- Feng QY, Hu ZX, Song XL, et al. Aberrant expression of genes and proteins in pterygium and their implications in the pathogenesis. *Int J Ophthalmol* 2017; 10(6): 973-981
- Busin M, Breda C, Bertolin M, et al. Corneal Epithelial Stem Cells Repopulate the Donor Area within 1 Year from Limbus Removal for Limbal Autograft. *Ophthalmology* 2016; 123(12): 2481-2488
- Chen P, Zhou Q, Wang J, et al. Characterization of the corneal surface in limbal stem cell deficiency and after transplantation of cultured allogeneic limbal epithelial cells. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2016; 254(9): 1765-1777
- Hwang S, Choi S. A Comparative Study of Topical Mitomycin C, Cyclosporine, and Bevacizumab after Primary Pterygium Surgery. *Korean J Ophthalmol* 2015; 29(6): 375-381
- Kawase K, Matsushita H, Yamamoto T, et al. Mitomycin concentration in rabbit and human ocular tissues after topical administration. *Ophthalmology* 1992; 99(2): 203-207
- Lindquist TP, Lee WB. Mitomycin C-associated scleral stromalysis after pterygium surgery. *Cornea* 2015; 34(4): 398-401
- 尹素改, 江华, 吴耀松, 等. 橙皮苷对人食管癌 Eca9706 细胞增殖的抑制研究. *河南大学学报(自然科学版)* 2014; 44(5): 586-590
- Baker GL, Landis MW, Hinds PW. Multiple functions of D-type cyclins can antagonize pRb-mediated suppression of proliferation. *Cell Cycle* 2005; 4(2): 330-338
- 史伟云, 王富华. 翼状胬肉手术中慎用丝裂霉素 C. *中华眼科杂志* 2013; 49(10): 869-872
- Peng J, Sha XY, Liu Y, et al. Pterygium epithelium abnormal differentiation related to activation of extracellular signal-regulated kinase signaling pathway *in vitro*. *Int J Ophthalmol* 2015; 8(6): 1118-1125
- 陈祎祎, 杨桂芳. 翼状胬肉复发与病理组织变化的关系. *中国医学创新* 2013; 9(11): 130-131
- Kormanovski A, Parra F, Jarillo-Luna A, et al. Oxidant/antioxidant state in tissue of primary and recurrent pterygium. *BMC Ophthalmol* 2014; 14: 149
- Ozsuteu M, Ayintap E, Akkan JC, et al. Repeated bevacizumab injections versus mitomycin C in rotational conjunctival flap for prevention of pterygium recurrence. *Indian J Ophthalmol* 2014; 62(4): 407-411
- 张岩, 孔令普, 王翠, 等. 不同术式治疗原发性翼状胬肉临床效果分析. *国际眼科杂志* 2015; 15(2): 361-363
- 张海江, 霍鸣, 董洁玉, 等. 核心蛋白多糖抑制翼状胬肉成纤维细胞增生的实验研究. *眼科新进展* 2014; 34(8): 725-728
- 罗晓婷, 李舒梅. 橙皮苷生物学活性研究进展. *赣南医学院学报* 2008; 28(2): 301-304
- Çetin A, Çiftçi O, Otlu A. Protective effect of hesperidin on oxidative and histological liver damage following carbon tetrachloride administration in Wistar rats. *Arch Med Sci* 2016; 12(3): 486-493
- Santos G, Giraldez-Alvarez LD, Ávila-Rodríguez M, et al. SUR1 Receptor Interaction with Hesperidin and Linarin Predicts Possible Mechanisms of Action of Valeriana officinalis in Parkinson. *Front Aging Neurosci* 2016; 8: 97
- 罗晓婷, 熊亮, 李思思, 等. 橙皮苷提取物对人鼻咽癌 CNE-2Z 细胞增殖和细胞周期的影响. *时珍国医国药* 2011; 22(9): 2202-2204
- 任周新, 赵丹瑞, 李丽. 橙皮苷对 TGF- β 1 诱导的人胚肺 HPF 活化的影响. *中国现代中药* 2017; 19(9): 1270-1272