

玻璃体腔注射 TA 对光化学诱导大鼠 BRVO 模型血管生成及 Notch 通路的影响

韩莎莎, 张贺鹏, 李跃峰

引用: 韩莎莎, 张贺鹏, 李跃峰. 玻璃体腔注射 TA 对光化学诱导大鼠 BRVO 模型血管生成及 Notch 通路的影响. 国际眼科杂志 2020;20(6):951-955

作者单位: (053000) 中国河北省衡水市人民医院眼科

作者简介: 韩莎莎, 本科, 医师, 研究方向: 眼表疾病、青光眼、眼外伤。

通讯作者: 李跃峰, 本科, 主任医师, 副主任, 研究方向: 白内障、眼底病. xiaow68@126.com

收稿日期: 2019-07-28 修回日期: 2020-05-12

摘要

目的: 探讨玻璃体腔注射曲安奈德 (TA) 对光化学诱导大鼠视网膜分支静脉阻塞 (BRVO) 模型血管生成及 Notch 通路的影响。

方法: 制备光化学诱导 BRVO 大鼠模型, 随机分为 BRVO 模型组、玻璃体腔注射 TA 后 1、7、21d 组; 同时设置空白对照组进行对照。眼压计测量大鼠眼压状况; 眼底彩照、荧光素眼底血管造影 (FFA) 和光学相干断层扫描 (OCT) 观察大鼠眼底情况; 蛋白免疫印迹法 (WB) 检测大鼠视网膜血管生成相关因子血管内皮细胞生长因子 (VEGF)、血管内皮生长因子受体 2 (VEGFR2), Notch 通路重要因子 Notch1、Jagged1、DLL4 蛋白表达情况。

结果: 正常对照组眼底血管排列整齐、状态清晰。BRVO 模型组眼底出现水肿, 视网膜变白, 血管排列紊乱, 视盘凹消失, 视网膜血管收缩。玻璃体腔注射 TA 后 1、7、21d 组水肿逐渐减轻, 血管扩张和弯曲逐渐减缓, 视盘凹恢复。与空白对照组相比, BRVO 模型组眼压升高, 损伤处视网膜、损伤 250 μ m 处视网膜厚度增加, VEGF、VEGFR2、Notch1、Jagged1 蛋白表达升高, DLL4 蛋白表达降低 ($P < 0.05$)。与 BRVO 模型组相比, 玻璃体腔注射 TA 后 1d 组损伤 250 μ m 处视网膜厚度减少, VEGFR2、Notch1、Jagged1 蛋白表达降低, DLL4 蛋白表达升高; 玻璃体腔注射 TA 后 7d 组损伤处视网膜、损伤 250 μ m 处视网膜厚度减少, VEGFR2、Notch1、Jagged1 蛋白表达降低, DLL4 蛋白表达升高; 玻璃体腔注射 TA 后 21d 组眼压降低, 损伤处视网膜、损伤 250 μ m 处视网膜厚度减少, VEGF、VEGFR2、Notch1、Jagged1 蛋白表达降低, DLL4 蛋白表达升高 ($P < 0.05$)。

结论: 玻璃体腔注射 TA 可能通过调控 Notch 通路抑制 VEGF 激活从而抑制血管生成, 实现对 BRVO 大鼠视网膜保护作用。

关键词: 曲安奈德; 光化学法; 视网膜分支静脉阻塞; 血管生成; Notch 通路

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2020.6.05

Effects of intravitreal injection of triamcinolone acetonide on angiogenesis and Notch pathway in photochemistry-induced retinal branch vein occlusion model in rats

Sha-Sha Han, He-Peng Zhang, Yue-Feng Li

Department of Ophthalmology, Hengshui People's Hospital, Hengshui 053000, Hebei Province, China

Correspondence to: Yue-Feng Li. Department of Ophthalmology, Hengshui People's Hospital, Hengshui 053000, Hebei Province, China. xiaow68@126.com

Received: 2019-07-28 Accepted: 2020-05-12

Abstract

• **AIM:** To investigate the effects of intravitreal injection of triamcinolone acetonide (TA) on angiogenesis and Notch pathway in photochemistry induced branch retinal vein occlusion (BRVO) model in rats.

• **METHODS:** BRVO model rats were induced by photochemistry induction and randomly divided into BRVO model group and TA (1, 7, 21) d groups; at the same time, blank control group was set for comparison. The intraocular pressure of rats was measured by ophthalmotonometer; the condition of rat fundus was observed fluorescein fundus color photography (FFA) and optical coherence tomography (OCT); retinal angiogenesis related factors vascular endothelial growth factor (VEGF) and vascular endothelial growth factor receptor 2 (VEGFR2), the protein expressions of Notch pathway important factors Notch 1, Jagged 1 and DLL4 were detected in rat retina by Western blotting (WB).

• **RESULTS:** In the normal control group, the fundus vessels were arranged neatly and in a clear state. In the BRVO model group, edema appeared in the fundus, the retina turned white, the arrangement of blood vessels was disordered, the optic disc pit was disappeared, retinal vessels were in the state of vasoconstriction. In TA 1, 7 and 21d groups, edema gradually decreased, blood vessels expansion and bending gradually slowed down, and the optic disc pit was restored. Compared with the blank control group, the intraocular pressure of BRVO model group increased, the thickness of the retina increased at the injured site and 250 μ m far from injured site, the protein expressions of VEGF, VEGFR2, Notch1 and Jagged1 increased, the protein expression of DLL4

protein was decreased ($P < 0.05$). Compared with the BRVO model group, in TA 1d group, the retinal thickness decreased at 250 μ m far from injured site, the protein expressions of VEGFR2, Notch1 and Jagged1 decreased, the protein expression of DLL4 protein increased; in TA 7d group, the retinal thickness was decreased at the injured site and 250 μ m far from injured site, the protein expressions of VEGFR2, Notch1 and Jagged1 decreased, the protein expression of DLL4 protein increased; the intraocular pressure of TA 21d group decreased, the thickness of the retina decreased at the injured site and 250 μ m far from injured site, the protein expressions of VEGF, VEGF R2, Notch1 and Jagged1 decreased, the protein expression of DLL4 protein increased ($P < 0.05$).

• **CONCLUSION:** Vitreous injection of TA may inhibit angiogenesis by regulating Notch pathway to inhibit the activation of VEGF, thus achieving the retinal protection in BRVO rats.

• **KEYWORDS:** triamcinolone acetonide; photochemical method; branch retinal vein occlusion; angiogenesis; Notch pathway

Citation: Han SS, Zhang HP, Li YF. Effects of intravitreal injection of triamcinolone acetonide on angiogenesis and Notch pathway in photochemistry-induced retinal branch vein occlusion model in rats. *Guoji Yanke Zazhi(Int Eye Sci)* 2020;20(6):951-955

0 引言

视网膜静脉阻塞(retinal vein occlusion, RVO)是视网膜血管病变造成的眼部血管病,影响视力,严重时使患者失明^[1],视网膜分支静脉阻塞(branch retinal vein occlusion, BRVO)是其中一种类型,可通过治疗缓解症状。曲安奈德(triamcinolone acetonide, TA)属于肾上腺皮质激素类药物,因抗炎和抗过敏作用强且时间久在眼科疾病中应用广泛,可减少BRVO患者眼内新生血管生成^[2],但具体作用机制尚不明确。新生血管受多种基因调控,其中血管内皮细胞生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)是作用最强、特异性最高的血管生长因子之一,几乎参与血管形成的所有步骤^[3];Notch信号通路在血管生成中的作用已明确,可促进血管生成^[4],能促进VEGF激活从而发挥促血管生成作用等^[5]。本研究通过构建化学诱导大鼠BRVO模型,观察TA对BRVO大鼠的新生血管的抑制作用并探讨其作用机制,旨在揭示其抑制血管新生的分子机制。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 **实验动物** 雄性SD大鼠购自广州医科大学实验动物中心,许可证号:SYXK(粤)2016-0158,体质量200~230g,SPF级。所有大鼠均饲养于温度23 \pm 2 $^{\circ}$ C、湿度50% \pm 10%,光照/黑暗12h/12h环境中,均自由饮水饮食。所有实验均经本院动物实验伦理委员会批准。

1.1.2 **试剂与仪器** 眼内灌注液(美国Alcon,进口注册标准:YZB/USA 0661),孟加拉红钠盐(上海北诺生物科技有限公司,货号:330000-1G),戊巴比妥钠缓冲液(吉林省神经精神病医院制药厂,国药准字:H1400546),40mg/mL

TA注射液(昆明积大制药股份有限公司,国药准字:H53021604),荧光素钠注射液(广州白云山明兴制药有限公司,国药准字:H44023401),匀浆缓冲液(上海谷研实业有限公司,货号:GOY-0993),一抗VEGF、血管内皮生长因子受体(VEGF receptor 2, VEGFR2)、Notch1、Jagged1、DLL4、GADPH,二抗羊抗兔、羊抗鼠(英国abcam)。

眼科裂隙灯显微镜(意大利CSO,型号:SL990/SL980),Tonolab系眼压计(上海玉研科学仪器有限公司,型号:iCare Tonnlab),眼底荧光造影仪(日本Canon、型号:CF-60UD)、光学相干断层扫描仪(日本Topcon,型号:3D OCT-1 Maestro)、蛋白印记(Western Blot, WB)曝光仪(上海天能科技有限公司,型号:Tanon4600)。

1.2 方法

1.2.1 **制备光化学诱导BRVO大鼠模型** 实验前对所有大鼠眼科裂隙灯显微镜下检查眼部,未发现异常。60只大鼠参照文献中方法右眼单眼构建BRVO模型^[6-7]。实验前用眼内灌注液配置好质量浓度为50mg/mL的孟加拉红钠盐,4 $^{\circ}$ C避光保存备用。术前用2.5%戊巴比妥钠缓冲液45mg/kg腹腔注射麻醉并扩瞳。尾静脉注射孟加拉红钠盐溶液50mg/kg,1min后放置角膜接触三面镜。显微镜下按照龙盘等^[6]操作方法寻找视盘颞侧第一个视网膜静脉主干分叉,光凝波长647nm、功率360mW、光斑大小100 μ m、持续时间0.05s激光光凝,单点光凝20点。镜下观察血流中断、形成静脉血栓,完全阻塞3个视网膜分支静脉即为造模成功。造模后4只死亡、3只白内障、1只视网膜凹陷、4只视网膜脱落严重,造模成功48只做后续实验。空白对照组14只大鼠注射同样体积的眼内灌注液处理。

1.2.2 **实验分组** 按随机数字法分为BRVO模型组14只、TA组34只,TA组术后按参照文献中方法给药8 μ L TA^[8]。30G针头颞侧角膜缘后0.5mm做一穿刺口,微量注射器从穿刺口垂直进针约1.5mm,针尖可观察到在玻璃体内,缓慢注入8 μ L TA,显微镊子轻夹穿刺口片刻易于穿刺口闭合。TA组分别在玻璃体腔注射TA后1、7、21d进行观察。BRVO模型组和空白对照组按上述方法注入等体积、等渗眼内灌注液,BRVO模型组在光凝后1d做对照实验,空白对照组同一天进行实验。

每组随机选4只大鼠眼压计测量眼压状况;眼底彩照、荧光素眼底血管造影(fundus fluorescein angiography, FFA)及光学相干断层扫描(optical coherence tomography, OCT)观察大鼠眼底血管情况。空白对照组、BRVO组另外10只,TA组其余大鼠中TA注射1、7、21d选10只WB检测血管生成相关因子VEGF、VEGFR2,Notch通路重要因子Notch1、Jagged1、DLL4蛋白表达情况。

1.2.3 **眼压计测量眼压状况** 空白对照组、BRVO模型组、玻璃体腔注射TA后1、7、21d组分别在早上9:00按1.2.1方法麻醉大鼠,麻醉10min后眼压计测每只大鼠右眼眼压,每只眼睛测量3次,取平均值。

1.2.4 **FFA及OCT检测大鼠眼底血管情况** 各组大鼠检测眼压后散瞳,10% 2mL/kg荧光素钠注射液腹腔注射,待荧光素钠循环至眼底,眼底荧光造影仪按规范操作以视盘和激光光凝点为中心对大鼠右眼行FFA检查;FFA检查后行OCT检查,之后再行眼底照相。测量损伤处视

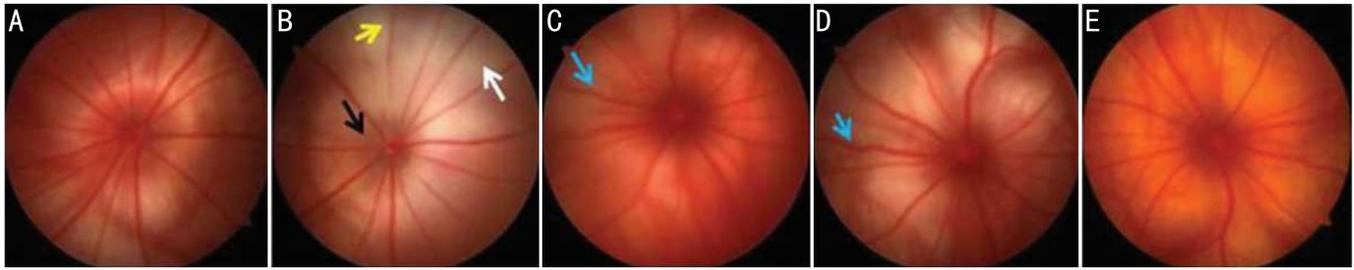


图1 各组大鼠眼底照相观察视网膜情况比较 A:空白对照组;B:BRVO模型组;C:玻璃体腔注射TA后1d组;D:玻璃体腔注射TA后7d组;E:玻璃体腔注射TA后21d组。白色箭头:视网膜变白;黑色箭头:视盘凹消失;黄色箭头:视网膜血管收缩;蓝色箭头:血管扩张和弯曲。

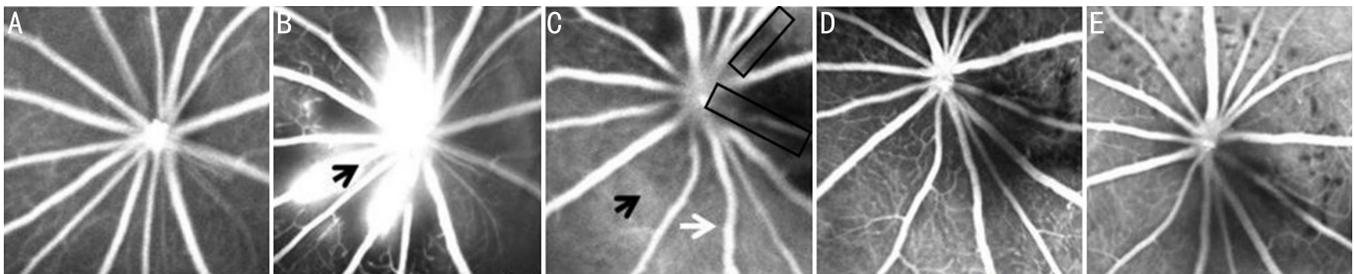


图2 各组大鼠FFA情况比较 A:空白对照组;B:BRVO模型组;C:玻璃体腔注射TA后1d组;D:玻璃体腔注射TA后7d组;E:玻璃体腔注射TA后21d组。黑色箭头:荧光渗漏;白色箭头:血管扩张和弯曲;矩形:血管阻塞。

网膜及损伤250 μ m处视网膜厚度,由两位操作熟练的工作人员测量和分析结果,取两位测量人员测量平均值为损伤处视网膜和损伤250 μ m处视网膜厚度。

1.2.5 WB检测大鼠视网膜VEGF、VEGFR2、Notch1、Jagged1、DLL4蛋白表达情况 各组选取10只大鼠快速处死,解剖显微镜下摘取大鼠右眼视网膜,WB检测大鼠视网膜VEGF、VEGFR2、Notch1、Jagged1、DLL4蛋白表达情况。-80 $^{\circ}$ C冰箱保存待用。

冰箱中取出视网膜,每个组织加100 μ L匀浆缓冲液,冰上匀浆,低温离心机4 $^{\circ}$ C、10000r/min离心15min,取上清放入新的离心管中测总蛋白。每孔总蛋白上样量20 μ L,经SDS-凝胶电泳分离后,蛋白质转至PVDF膜上,5%脱脂奶粉室温封闭2h,3%牛血清白蛋白稀释VEGF、VEGFR2、Notch1、Jagged1、DLL4、GADPH,一抗4 $^{\circ}$ C孵育过夜;加入对应二抗室温孵育1h。WB曝光仪检测目标蛋白信号并分析。

统计学分析:采用SPSS 22.0软件进行统计学分析,计量数据均采用均数 \pm 标准差表示,先采用单因素方差分析各组间总体比较,若存在差异则使用Dunnett-t检验行组间两两比较,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠各项指标比较 各组大鼠眼压比较差异有统计学意义($F=3.3817, P=0.025$)。各组大鼠损伤处视网膜厚度比较差异有统计学意义($F=5.292, P=0.007$)。各组大鼠损伤250 μ m处视网膜厚度比较差异有统计学意义($F=10.982, P<0.001$)。各组大鼠VEGF蛋白含量比较差异有统计学意义($F=73.272, P<0.001$)。各组大鼠VEGFR2蛋白含量比较差异有统计学意义($F=23.636, P<0.001$),见表1。

2.2 各组大鼠眼底照相情况比较 空白对照组眼底血管排列整齐、状态清晰。BRVO模型组眼底出现水肿,视网膜变白,血管排列紊乱,并伴随有视盘凹消失、视网膜血管

收缩症状。玻璃体腔注射TA后1d组水肿减轻,视网膜苍白减少,出现血管扩张和弯曲,视网膜血管紊乱。玻璃体腔注射TA后7d组视网膜变白加重,血管扩张和弯曲现象严重。玻璃体腔注射TA后21d组血管弯曲减轻、视网膜变白消失,视盘凹恢复,见图1。

2.3 各组大鼠FFA情况比较 正常组视网膜荧光在血管中均匀分布。BRVO模型组视网膜血管荧光素渗漏明显。玻璃体腔注射TA后1d组未观察到荧光渗漏情况,但血管扩张弯曲严重、血管部分血管荧光不完整。玻璃体腔注射TA后7、21d组无荧光现象,血管弯曲现象逐渐缓解,见图2。

2.4 各组大鼠OCT检查比较 与正常对照组相比,BRVO模型组损伤处视网膜、损伤250 μ m处视网膜厚度增加,差异均有统计学意义($P=0.050, 0.016$)。与BRVO模型组相比,玻璃体腔注射TA后1d组损伤250 μ m处视网膜厚度减少,差异有统计学意义($P=0.048$);玻璃体腔注射TA后7、21d组损伤处视网膜、损伤250 μ m处视网膜厚度均减少,差异均有统计学意义($P<0.05$),见表1,图3。

2.5 各组大鼠视网膜血管生成相关因子VEGF、VEGFR2蛋白表达情况 与空白对照组相比,BRVO模型组VEGF、VEGFR2蛋白表达升高,差异均有统计学意义($P<0.05$)。与BRVO模型组相比,玻璃体腔注射TA后1、7d组VEGFR2蛋白表达降低,玻璃体腔注射TA后21d组VEGF、VEGFR2蛋白表达均降低,差异均有统计学意义($P<0.05$),见表1,图4。

2.6 各组大鼠视网膜Notch通路重要因子Notch1、Jagged1、DLL4蛋白表达情况 与空白对照组相比,BRVO模型组Notch1、Jagged1蛋白表达升高,DLL4蛋白表达降低,差异均有统计学意义($P<0.05$)。与BRVO模型组相比,玻璃体腔注射TA后1、7、21d组Notch1、Jagged1蛋白表达降低,玻璃体腔注射TA后7、21d组DLL4蛋白表达升高,差异均有统计学意义($P<0.05$),见表2,图5。

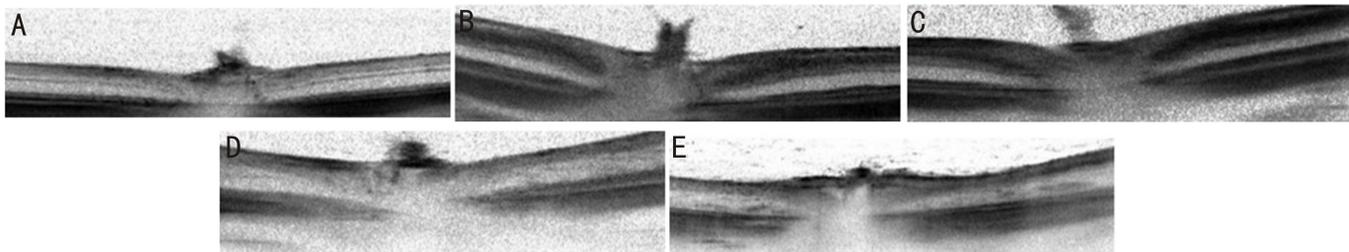


图3 各组大鼠 OCT 检查比较 A:空白对照组;B:BRVO 模型组;C:玻璃体腔注射 TA 后 1d 组;D:玻璃体腔注射 TA 后 7d 组;E:玻璃体腔注射 TA 后 21d 组。

表 1 各组大鼠各项指标比较

组别	眼压	损伤处视网膜	损伤 250 μ m 处视网膜	VEGF($n=10$)	VEGFR2($n=10$)
	($n=4$, mmHg)	厚度($n=4$, μ m)	厚度($n=4$, μ m)		
空白对照组	17.58 \pm 0.85	186.88 \pm 51.56	191.52 \pm 16.32	0.04 \pm 0.02	0.39 \pm 0.13
BRVO 模型组	23.85 \pm 3.66 ^a	286.77 \pm 63.22 ^a	245.53 \pm 27.88 ^a	0.76 \pm 0.21 ^a	0.56 \pm 0.09 ^a
玻璃体腔注射 TA 后 1d 组	25.63 \pm 5.62	217.85 \pm 69.37	208.17 \pm 11.52 ^c	0.81 \pm 0.13	0.47 \pm 0.08 ^c
玻璃体腔注射 TA 后 7d 组	21.56 \pm 3.57	110.88 \pm 57.34 ^c	167.56 \pm 16.41 ^c	0.68 \pm 0.12	0.35 \pm 0.11 ^c
玻璃体腔注射 TA 后 21d 组	18.81 \pm 0.86 ^c	156.23 \pm 42.56 ^c	186.68 \pm 11.56 ^c	0.21 \pm 0.09 ^c	0.17 \pm 0.04 ^c
<i>F</i>	3.3817	5.292	10.982	73.272	23.636
<i>P</i>	0.025	0.007	<0.001	<0.001	<0.001

注:^a $P<0.05$ vs 空白对照组;^c $P<0.05$ vs BRVO 模型组。

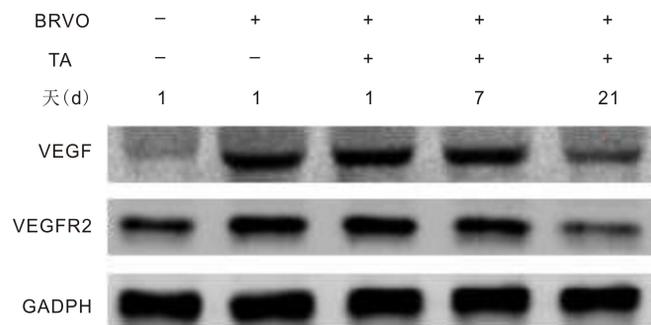


图4 各组大鼠视网膜 VEGF、VEGFR2 表达情况。

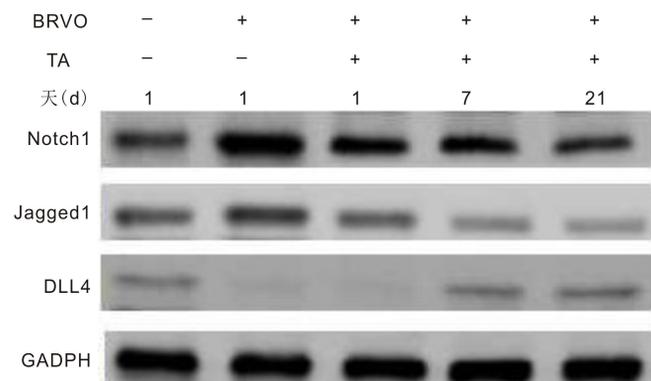


图5 各组大鼠视网膜 Notch 通路重要因子 Notch1、Jagged1、DLL4 蛋白表达情况。

3 讨论

RVO 属常见的眼底血管病,临床表现为视网膜血液瘀滞、静脉迂曲扩张、视网膜出血和水肿等血管异常症状,会导致患者视力下降或部分视野缺陷,分为中央 RVO 和 BRVO,且 BRVO 发病率高于中央 RVO^[9]。Khayat 等^[10] 研究结果发现,视网膜缺血会造成视力丧失、增加新血管并发症风险。本研究发现 BRVO 模型组眼底彩照发现视网

表 2 各组大鼠视网膜 Notch1、Jagged1、DLL4 蛋白表达情况

组别	(n=10, $\bar{x}\pm s$)		
	Notch1	Jagged1	DLL4
空白对照组	0.24 \pm 0.06	0.17 \pm 0.06	0.12 \pm 0.03
BRVO 模型组	1.21 \pm 0.42 ^a	0.36 \pm 0.08 ^a	0.01 \pm 0.00 ^a
玻璃体腔注射 TA 后 1d 组	0.68 \pm 0.21 ^c	0.16 \pm 0.04 ^c	0.02 \pm 0.01
玻璃体腔注射 TA 后 7d 组	0.63 \pm 0.19 ^c	0.13 \pm 0.02 ^c	0.11 \pm 0.02 ^c
玻璃体腔注射 TA 后 21d 组	0.28 \pm 0.06 ^c	0.12 \pm 0.02 ^c	0.13 \pm 0.02 ^c
<i>F</i>	28.956	38.992	93.611
<i>P</i>	<0.001	<0.001	<0.001

注:^a $P<0.05$ vs 空白对照组;^c $P<0.05$ vs BRVO 模型组。

膜变白,血管排列紊乱,视盘凹消失,视网膜血管收缩,FFA 发现视网膜血管荧光素渗漏明显,出现血管不完整,阻塞现象,造模成功。进一步研究发现,BRVO 模型组损伤处视网膜、损伤 250 μ m 处视网膜厚度增加,眼压升高,BRVO 使眼压升高,视网膜受到损害,血管出现异常。玻璃体腔注射 TA 可缓解大鼠 BRVO 症状^[11],TA 作为肾上腺皮质激素类药物,可减轻充血,降低毛细血管的通透性,在眼科疾病中应用广泛,可缓解 BRVO 引起的血管增生现象^[12]。本研究发现,与 BRVO 模型组相比,随着时间延长,TA 使视网膜水肿减轻、视网膜苍白减少、血管扩张和弯曲、视盘凹恢复,血管弯曲现象逐渐缓解,损伤处视网膜、损伤 250 μ m 处视网膜厚度降低,眼压降低。提示 TA 可使眼底血管水肿、视网膜血管收缩现象逐渐好转,可缓解视网膜及其 250 μ m 处视网膜损伤症状,可缓解 BRVO 带来眼压升高症状,对治疗 BRVO 有一定的疗效,但具体机制尚未清楚。

VEGF 是血管生成中最关键的血管生成刺激因子,几乎参与所有生理和病理性血管生成过程,已被验证可以促进血管生成^[13]。VEGFR2 是 VEGF 介导血管生成的主要

受体, VEGF 过表达可激活 VEGFR2, 激活后的 VEGFR2 可促进内皮细胞分裂、促进细胞增殖, 进而促进血管生成^[14]。临床上抗 VEGF 注射联合玻璃体切除的动静脉鞘管切开术可用于治疗 BRVO^[15]。本研究发现, 与空白对照组相比, BRVO 模型组 VEGF、VEGFR2 蛋白表达升高。与 BRVO 模型组相比, 玻璃体腔注射 TA 后 7d 组 VEGFR2 蛋白表达降低, 玻璃体腔注射 TA 后 21d 组 VEGF、VEGFR2 蛋白表达降低。提示 BRVO 可使促血管生成因子 VEGF、VEGFR2 表达量升高进而促进血管形成, 加快 BRVO 疾病进程; TA 可降低促血管生成因子生成, 缓解血管生成, 从而治疗 BRVO。

Notch 信号通路可使血管稳定性加强、促进血管平滑肌细胞分化以及促进血管动静分化, 加速血管生成^[16]。在信号通路中 Notch1 可促进血管新生及血管发展, Jagged1 和 DLL4 是 Notch 信号通路中两个重要配体, 在血管形成中存在平衡关系, 起相反作用。Jagged1 能促进血管动脉化和促进造血干细胞形成, 可抑制 DLL4 的激活从而加强血管生成作用, 同时还发现可激活 VEGF^[17]。DLL4 可抑制血管出芽过程中端细胞的形成从而抑制血管新生^[18]。但是尚未发现 Notch 信号通路在 BRVO 中相关研究。本研究发现, 与空白对照组相比, BRVO 模型组 Notch1、Jagged1 蛋白表达升高, DLL4 蛋白表达降低, 提示 BRVO 可能通过激活 Notch 信号通路, 促进血管动脉化和促进造血干细胞形成、抑制端细胞形成、从而加速血管形成。与 BRVO 模型组相比, 玻璃体腔注射 TA 后 1、7、21d 组 Notch1、Jagged1 蛋白表达降低, 玻璃体腔注射 TA 后 7、21d 组 DLL4 蛋白表达升高, 提示 TA 可缓解 BRVO 激活的 Notch 信号通路, 减少血管动脉化和造血干细胞生成, 促进端细胞形成, 抑制血管形成; 同时抑制血管生成刺激因子 VEGF 的表达, 使血管生成相关细胞的分裂、增殖受到抑制, 进而抑制血管形成, 达到缓解 BRVO 疾病目的。

综上所述, TA 可能通过抑制 Notch 通路激活, 抑制 VEGF 表达, 减轻血管生成, 实现对 BRVO 保护作用。本研究只对 BRVO 模型组光凝 1d 进行了研究, 没有做后期对照研究, 是本文不足之处, 也是下一步研究重点; 且深入探讨 Notch 通路与 VEGF 的作用机制是下一步需要深入探讨的内容。

参考文献

- 1 Nguyen QD, De Falco S, Behar-Cohen F, *et al.* Placental growth factor and its potential role in diabetic retinopathy and other ocular neovascular diseases. *Acta Ophthalmol* 2018; 96(1):1-9
- 2 Willoughby AS, Vuong VS, Cunefare D, *et al.* Choroidal Changes After Suprachoroidal Injection of Triamcinolone Acetonide in Eyes With Macular Edema Secondary to Retinal Vein Occlusion. *Am J Ophthalmol* 2017; 186(2):144-151

- 3 Pan L, Xiao H, Liao R, *et al.* Fatty acid binding protein 5 promotes tumor angiogenesis and activates the IL6/STAT3/VEGFA pathway in hepatocellular carcinoma. *Biomed Pharmacother* 2018; 106(10):68-76
- 4 Xue S, He L, Zhang X, *et al.* Expression of Jagged1/Notch3 Signaling Pathway and their Relationship with the Tumor Angiogenesis in TNBC. *Arch Med Res* 2017; 48(2):169-179
- 5 Cheng D, Yan X, Qiu G, *et al.* Contraction of basal filopodia controls periodic feather branching via Notch and FGF signaling. *Nat Commun* 2018; 9(1):1345-1353
- 6 龙盘, 严伟明, 陈涛, 等. 光化学法建立视网膜分支静脉阻塞大鼠模型及相关研究. *国际眼科杂志* 2018; 18(5):801-806
- 7 Takamura Y, Shimura M, Katome T, *et al.* Effect of intravitreal triamcinolone acetonide injection at the end of vitrectomy for vitreous haemorrhage related to proliferative diabetic retinopathy. *Br J Ophthalmol* 2018; 11(1):1-7
- 8 Mcallister IL, Vijayasekaran S, Zhang D, *et al.* Neuronal degeneration and associated alterations in cytokine and protein in an experimental branch retinal venous occlusion model. *Exp Eye Res* 2018; 174(16):133-146
- 9 江慧娟, 庞东渤. 视网膜光凝联合玻璃体内注射雷珠单抗治疗缺血型视网膜分支静脉阻塞(BRVO)致黄斑水肿的疗效. *眼科新进展* 2018; 38(4):348-351
- 10 Khayat M, Williams M, Lois N. Ischemic Retinal Vein Occlusion: characterizing the more severe spectrum of retinal vein occlusion. *Surv Ophthalmol* 2018; 63(6):816-850
- 11 徐娜, 高荣玉, 徐鑫彦, 等. 玻璃体腔注射康柏西普对视网膜分支静脉阻塞引发的不同类型黄斑水肿的疗效. *中华实验眼科杂志* 2018; 36(8):619-623
- 12 张鹏, 马景学. 抗 VEGF 类药物与曲安奈德玻璃体腔注射治疗视网膜中央静脉阻塞继发黄斑水肿的 Meta 分析. *中华实验眼科杂志* 2016; 34(12):1097-1101
- 13 Fantin A, Lampropoulou A, Senatore V, *et al.* VEGF165-induced vascular permeability requires NRP1 for ABL-mediated SRC family kinase activation. *J Exp Med* 2017; 214(4):1049-1064
- 14 Lakshminathan S, Sobczak M, Calzi SL, *et al.* Rap1B promotes VEGF-induced endothelial permeability and is required for dynamic regulation of endothelial barrier. *J Cell Sci* 2018; 131(207):605-609
- 15 Maeno, Takatoshi, Hashimoto, *et al.* Efficacy of combination therapy with arteriovenous sheathotomy without vitrectomy and anti-VEGF injections for BRVO. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2018; 59(9):4271
- 16 Hasan SS, Tsaryk R, Lange M, *et al.* Endothelial Notch signalling limits angiogenesis via control of artery formation. *Nat Cell Biol* 2017; 19(8):928-940
- 17 Qiu XX, Chen L, Wang CH, *et al.* The Vascular Notch Ligands Delta-Like Ligand 4 (DLL4) and Jagged1 (JAG1) Have Opposing Correlations with Microvascularization but a Uniform Prognostic Effect in Primary Glioblastoma: A Preliminary Study. *World Neurosurg* 2016; 88(4):447-458
- 18 Sakaue T, Maekawa M, Nakayama H, *et al.* Prospect of divergent roles for the CUL3 system in vascular endothelial cell function and angiogenesis. *J Biochem* 2017; 162(4):237-245