

黄连素对高糖培养下大鼠视网膜 Müller 细胞增殖的影响

金轶平, 朱皓皓

引用: 金轶平, 朱皓皓. 黄连素对高糖培养下大鼠视网膜 Müller 细胞增殖的影响. 国际眼科杂志 2019; 19(5): 745-748

基金项目: 上海市闵行区自然科学研究课题资助 (No. 2013MHZ010); 复旦大学附属上海市第五人民医院院级课题资助 (No. 2013WYYJ09)

作者单位: (200240) 中国上海市, 复旦大学附属上海市第五人民医院眼科

作者简介: 金轶平, 毕业于同济大学医学院, 硕士研究生, 主治医师, 研究方向: 玻璃体视网膜疾病。

通讯作者: 金轶平. jypangeline@126.com

收稿日期: 2018-11-06 修回日期: 2019-04-02

摘要

目的: 研究黄连素对体外高糖环境下的 SD 大鼠视网膜 Müller 细胞增殖的影响。

方法: 采用酶消化法原代培养 SD 大鼠视网膜 Müller 细胞, 将第 2 代 Müller 细胞随机分为正常糖浓度 (5mmol/L) 组、高糖浓度 (25mmol/L) 组、高糖+不同浓度 (5、10、25、50、100 μ mol/L) 黄连素组, 分别培养 24、48、72h 后, 采用 CCK-8 法检测细胞增殖活性。

结果: 培养 24、48、72h 时, 高糖浓度组 Müller 细胞吸光度值较正常糖浓度组明显降低 (均 $P < 0.01$); 10、25、50、100 μ mol/L 黄连素组细胞吸光度值较高糖浓度组明显升高 (均 $P < 0.05$), 且呈剂量依赖性; 5 μ mol/L 黄连素组细胞吸光度值与高糖浓度组无明显差异 ($P > 0.05$)。

结论: 黄连素在一定程度上能够减轻高糖对 Müller 细胞增殖活性的抑制作用, 其作用强度与黄连素浓度呈正相关。

关键词: 黄连素; 视网膜 Müller 细胞; 糖尿病视网膜病变

DOI: 10.3980/j.issn.1672-5123.2019.5.08

Effect of berberine on proliferation of rat retinal Müller cells in high glucose environment

Yi-Ping Jin, Hao-Hao Zhu

Foundation items: Research topic of Natural Science in Minhang district, Shanghai (No.2013MHZ010); The Fifth People's Hospital of Shanghai, Affiliated to Fudan University Project (No. 2013WYYJ09).

Department of Ophthalmology, the Fifth People's Hospital of Shanghai, Fudan University, Shanghai 200240, China

Correspondence to: Yi-Ping Jin. Department of Ophthalmology, the Fifth People's Hospital of Shanghai, Fudan University, Shanghai 200240, China. jypangeline@126.com

Received: 2018-11-06 Accepted: 2019-04-02

Abstract

• AIM: To investigate the protective effects of berberine on Sprague-Dawley (SD) rat retinal Müller cells with high concentration glucose *in vitro*.

• METHODS: The retinal Müller cells of SD rats were primary cultured by enzyme digestion. The second generation of Müller cells were randomly divided into 7 groups. They were normal glucose concentration (5mmol/L glucose) group, high glucose concentration (25mmol/L glucose) group, high glucose + berberine group (5, 10, 25, 50 and 100 μ mol/L). After cultured for 24h, 48h and 72h, the cell proliferative viability was measured by CCK-8 method.

• RESULTS: After cultured for 24h, 48h and 72h, compared to the normal glucose concentration group, the absorbance of cells in the high glucose concentration group reduced significantly (All $P < 0.01$). Compared to the high glucose concentration group, the absorbance of cells in different concentration berberine (10, 25, 50 and 100 μ mol/L) groups increased significantly (All $P < 0.05$). It showed a dose-dependent effect. There was no statistically significant difference on the cells absorbance between high glucose+5 μ mol/L berberine group and high glucose group ($P > 0.05$).

• CONCLUSION: Berberine could reduce the inhibitory effect of high glucose on the proliferative viability of Müller cells to some extent. The intensity of effect was positively correlated with the berberine concentration.

• KEYWORDS: berberine; retinal Müller cell; diabetic retinopathy

Citation: Jin YP, Zhu HH. Effect of berberine on proliferation of rat retinal Müller cells in high glucose environment. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2019; 19(5): 745-748

0 引言

糖尿病视网膜病变 (diabetic retinopathy, DR) 是糖尿病患者最常见的并发症, 是成年人失明的首要原因^[1]。目前, 治疗 DR 的方法主要有激光光凝、玻璃体切割手术以及抗血管内皮生长因子 (VEGF) 药物或糖皮质激素等药物的运用, 但这些方法并不能完全阻止 DR 的发展, 因此更多有效的治疗方法有待发现和研^[2]。Müller 神经胶质细胞是视网膜中数量最多的细胞, 位于视网膜神经和血管之间, 为视网膜提供结构和神经营养支持, 具有调节突触发育、神经血管耦合、电解质平衡和细胞代谢等多种生理功能, 在维持视网膜组织的健康和结构完整性方面具有至关重要的作用^[3-4]。谷氨酰胺合成酶 (glutamine synthetase, GS) 在视网膜中只存在于 Müller 细胞中, 为

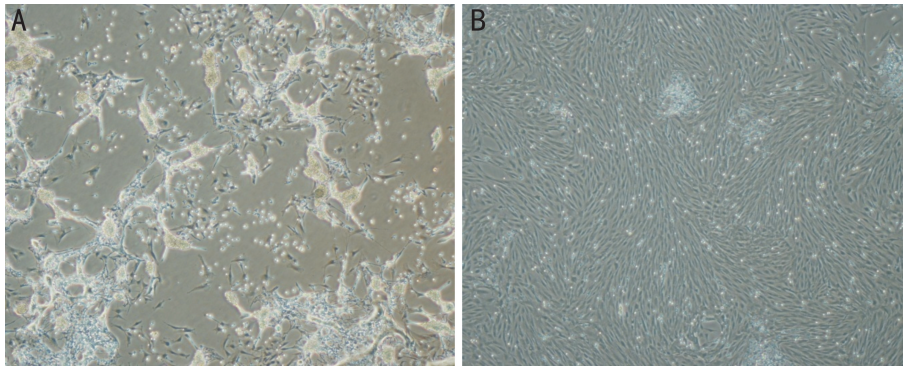


图1 大鼠视网膜 Müller 细胞形态观察($\times 100$) A:原代培养 3d,视网膜组织块周围不断有视网膜细胞爬出,贴壁细胞形态多样,呈梭形、多角形、不规则形,突起可有多条;B:原代培养 10d,细胞融合。

Müller 细胞特异性标记。黄连素作为我国应用已久的传统中药,可从黄连等多种植物中提取,亦可人工合成,对于糖尿病肾病、糖尿病性神经病、心脑血管疾病等多种糖尿病并发症均有明确的抑制和改善作用^[5-8]。本研究以 25mmol/L 葡萄糖培养基模拟高糖状态,用不同浓度黄连素作用于大鼠视网膜 Müller 细胞,研究黄连素对高糖培养下 Müller 细胞增殖的影响,探讨黄连素在 DR 治疗中的可能作用。

1 材料和方法

1.1 材料 实验动物:出生 4~7d 的 Sprague Dawley (SD) 大鼠(雌雄不限,SPF 级)购自上海斯莱克实验动物有限公司。主要试剂:黄连素[美国 Sigma 公司,14050, $\geq 90\%$ (AT),分子量 371.81, $C_{20}H_{18}ClNO_4 \cdot xH_2O$], DMSO(美国 Sigma 公司),胎牛血清(美国 Gibco 公司),RPMI-1640(美国 Hyclon 公司),青链霉素混合液(100 \times),0.25%胰蛋白酶-EDTA 消化液(美国 Solarbio 公司),CCK-8 细胞增殖及细胞毒性检测试剂盒(美国 SAB 公司),兔抗鼠 GS 抗体(美国 Abcam 公司,Ab49873),FITC 标记山羊抗兔 IgG 抗体(上海碧云天生物技术有限公司,A0562)、DAPI(上海碧云天生物技术有限公司)。主要仪器设备:酶标分析仪(北京普朗新技术有限公司),CO₂ 恒温培养箱(美国 Thermo 公司),荧光显微镜(日本 Nikon 公司),倒置相差显微镜(日本 Olympus 公司)。本研究获得复旦大学附属上海市第五人民医院动物实验伦理委员会批准。

1.2 方法

1.2.1 大鼠视网膜 Müller 细胞的原代培养和传代 出生 4~7d 的 SD 大鼠腹腔注射戊巴比妥钠麻醉后取出眼球,在碘伏及含 100U/mL 青链霉素混合液的 D-Hank 液中各浸泡 10min,D-Hank 液冲洗,去除眼球外筋膜组织,沿角膜缘后 1mm 剪开眼球壁,去除眼前节及玻璃体,分离视网膜,将视网膜剪成小碎片,0.25%胰蛋白酶-EDTA 消化液消化 20min,吸管吹打,用含 10%胎牛血清、1%青链霉素混合液的 RPMI-1640 培养液终止消化,铜网过滤,将过滤液离心,弃上清液,沉淀物加细胞培养液吹打稀释,接种于塑料培养瓶中,置于 37 $^{\circ}C$ 、5%CO₂ 培养箱中进行培养,每 3d 换液 1 次,去除悬浮细胞,待细胞贴壁达到 80%融合后按 1:2 传代。本实验所用细胞为传至 2 代细胞。

1.2.2 大鼠 Müller 细胞的鉴定 取第 2 代细胞接种于放置经多聚赖氨酸处理的盖玻片的六孔板内,细胞贴壁后弃培养液,用 PBS 液清洗,4%多聚甲醛固定 10min,PBS 液

清洗,0.5% Triton 穿孔 15min,PBS 液清洗,5%山羊血清封闭 30min,加 GS 一抗(1:200),4 $^{\circ}C$ 过夜,PBS 液漂洗,加山羊抗兔 FITC 二抗(1:500)37 $^{\circ}C$ 杂交 1h,PBS 液漂洗,加 DAPI 染核,PBS 液漂洗,甘油封片,荧光显微镜下观察。

1.2.3 Müller 细胞分组 预先将黄连素溶解于 50mmol/L DMSO 溶液中,调整各组中黄连素浓度,同时保证各组中 DMSO 浓度 $\leq 0.05\%$ 。将处于对数生长期的大鼠视网膜 Müller 细胞分为正常糖浓度(5mmol/L)组、高糖浓度(25mmol/L)组、高糖 + 5 μ mol/L 黄连素组、高糖 + 10 μ mol/L 黄连素组、高糖 + 25 μ mol/L 黄连素组、高糖 + 50 μ mol/L 黄连素组和高糖 + 100 μ mol/L 黄连素组。

1.2.4 CCK-8 法检测 Müller 细胞增殖活性 对数生长期的细胞经胰酶消化,在显微镜下计数后制成 3×10^4 个/mL 的细胞悬液。接种至 96 孔培养板,每孔 100 μ L,每组设 3 个复孔,置于培养箱分别培养 24、48、72h 后,按 1:10 体积比混合 CCK-8 溶液和无血清培养基,每孔 100 μ L 加入待测孔中,培养箱中孵育 1h 后,用酶标仪测定在 450nm 波长处的吸光度(A)值并记录。

统计学分析:采用 SPSS20.0 统计学软件进行统计分析。计量资料经 Shapiro-Wilk 检验呈正态分布,以 $\bar{x} \pm s$ 表示,并经 Levene 检验证明方差齐,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 LSD-*t* 检验。细胞吸光度值与黄连素浓度之间的关系采用 Pearson 相关分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 大鼠视网膜 Müller 细胞形态观察 大鼠视网膜 Müller 细胞原代培养 24h 后,部分视网膜细胞贴壁;2~3d 后视网膜组织块周围不断有视网膜细胞爬出,首次换液去除未贴壁细胞及悬浮组织,贴壁细胞形态多样,呈梭形、多角形、不规则形,突起可有多条;7~10d 原代细胞不断增生融合,生长抑制,细胞开始老化,此时予以传代,传代后第 2、3 代细胞生长活跃,细胞形态较一致,呈梭形、多角形、不规则形,可有数条突起,传至第 4 代后细胞老化明显,呈成纤维细胞样改变(图 1)。

2.2 大鼠视网膜 Müller 细胞的鉴定 本研究培养的大鼠视网膜 Müller 细胞 GS 表达阳性率达 90%以上,几乎所有细胞的细胞浆内均表达 GS,细胞核周围局部可见点状高荧光聚集;DAPI 染色显示 Müller 细胞核完整,呈蓝色荧光(图 2)。

2.3 黄连素对高糖培养下 Müller 细胞增殖的影响 CCK-8

表 1 不同浓度黄连素处理不同时间对大鼠 Müller 细胞增殖的影响

组别	24h	48h	72h
正常糖浓度组	0.432±0.020	0.643±0.016	0.952±0.014
高糖浓度组	0.386±0.016 ^b	0.553±0.023 ^b	0.655±0.007 ^b
高糖+5μmol/L 黄连素组	0.400±0.015 ^a	0.555±0.010 ^b	0.679±0.019 ^b
高糖+10μmol/L 黄连素组	0.412±0.006 ^c	0.587±0.020 ^{a,c}	0.761±0.049 ^{b,d,e}
高糖+25μmol/L 黄连素组	0.418±0.012 ^c	0.615±0.012 ^{a,d,e}	0.841±0.015 ^{b,d,f,g}
高糖+50μmol/L 黄连素组	0.418±0.009 ^c	0.622±0.014 ^{d,e}	0.866±0.012 ^{b,d,f,h}
高糖+100μmol/L 黄连素组	0.420±0.009 ^c	0.627±0.009 ^{d,e}	0.877±0.016 ^{a,d,f,h}
<i>F</i>	4.026	20.735	68.704
<i>P</i>	0.015	<0.001	<0.001

注:^a $P<0.05$,^b $P<0.01$ vs 同一时间正常糖浓度组;^c $P<0.05$,^d $P<0.01$ vs 同一时间高糖浓度组;^e $P<0.05$,^f $P<0.01$ vs 同一时间高糖+5μmol/L 黄连素组;^g $P<0.05$,^h $P<0.01$ vs 同一时间高糖+10μmol/L 黄连素组。

检测结果(表 1)显示,正常糖浓度组、高糖浓度组、高糖+5μmol/L 黄连素组、高糖+10μmol/L 黄连素组、高糖+25μmol/L 黄连素组、高糖+50μmol/L 黄连素组和高糖+100μmol/L 黄连素组细胞分别培养 24、48、72h 吸光度值比较,差异均有统计学意义($P<0.05$)。与正常糖浓度组相比,高糖浓度组细胞分别培养 24、48、72h 吸光度值均明显降低,差异均有统计学意义($P<0.01$)。与高糖浓度组相比,培养 24h 时,10、25、50、100μmol/L 黄连素组细胞吸光度值明显上升,差异均有统计学意义($P<0.05$);培养 48h 时,5μmol/L 黄连素组细胞吸光度值无明显变化,10、25、50、100μmol/L 黄连素组细胞吸光度值均明显上升,且 25、50、100μmol/L 黄连素组细胞吸光度值组间均无明显差异,但均高于 5μmol/L 黄连素组,差异均有统计学意义($P<0.05$);培养 72h 时,5μmol/L 黄连素组细胞吸光度值仍无明显变化,10、25、50、100μmol/L 黄连素组细胞吸光度值均明显上升,且均高于 5μmol/L 黄连素组,而 25、50、100μmol/L 黄连素组细胞吸光度值组间无明显差异,但均高于 10μmol/L 黄连素组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。表明黄连素能促进高糖条件下 Müller 细胞的增殖活性。

2.4 黄连素浓度与高糖培养下 Müller 细胞增殖的关系

不同浓度黄连素组细胞培养 72h 的吸光度值与黄连素浓度呈正相关($r=0.7890$, $P<0.001$),见图 3,表明高糖环境下,随着黄连素浓度的增加,Müller 细胞的增殖活性逐渐增强,高糖诱导细胞活性降低的效应逐渐减弱。

3 讨论

Müller 细胞在高糖环境下尤其容易受到损伤,被认为是 DR 发生和发展的关键因素^[9]。大量研究证实,体外高糖环境能够诱导 Müller 细胞发生凋亡,细胞增殖活性减弱^[10-12]。本研究采用 25mmol/L 浓度的葡萄糖培养基模拟糖尿病患者体内的高糖状态,培养 SD 大鼠 Müller 细胞后,利用 CCK-8 法检测细胞增殖活性。CCK-8 试剂中含有 WST-8,其在电子载体(1-Methoxy PMS)的作用下被细胞中的脱氢酶还原为具有高度水溶性的橙黄色甲瓚产物,生成的甲瓚的量与活细胞的数量成正比。结果发现,高糖浓度组 Müller 细胞吸光度值显著低于正常糖浓度组,提示高糖可导致细胞增殖活性降低,而 25、50、100μmol/L 黄连素组细胞吸光度值组间无明显差异,表明上述三组细胞增殖活性无明显差别,25μmol/L 浓度的黄连素即可减轻高

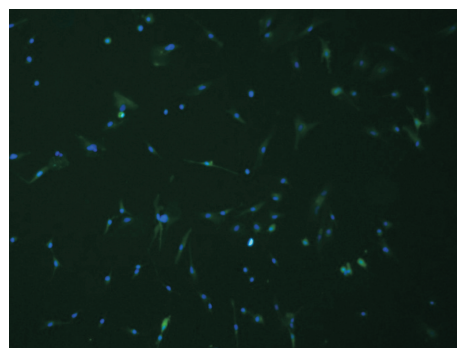


图 2 大鼠视网膜 Müller 细胞的鉴定($\times 200$) 绿色表示大鼠视网膜 Müller 细胞 GS 阳性表达;蓝色表示细胞核 DAPI 染色结果。

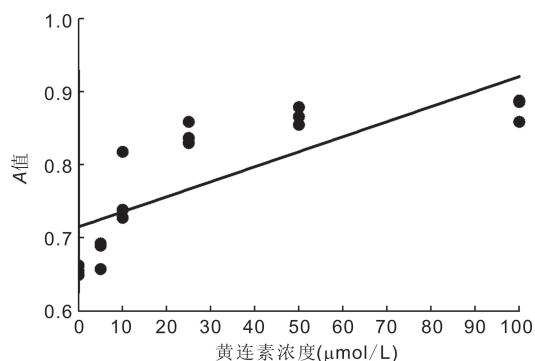


图 3 黄连素浓度与高糖培养下 Müller 细胞吸光度值的关系。

糖对大鼠视网膜 Müller 细胞增殖的抑制作用。

黄连素药源广泛,价格低廉,具有降脂、降血糖、抗氧化、抗炎等多重作用^[13-16]。研究表明,黄连素可以减轻由高糖、高脂诱导的人内皮细胞损伤,提高细胞存活率^[16],还可显著抑制由链脲佐菌素诱导的小鼠胰岛细胞死亡^[17]。高度氧化糖化的低密度脂蛋白(HOG-LDL)可显著降低人视网膜 Müller 细胞的活性,而黄连素可有效抑制 HOG-LDL 诱导的细胞损伤^[18]。但黄连素对单一高糖作用下 Müller 细胞的作用效果及与其浓度的关系仍有待于进一步研究。本研究所采用的黄连素需溶解于 DMSO 溶液中,而 DMSO 具有一定的细胞毒性,含浓度为 0.2% DMSO 的培养液会抑制人视网膜色素上皮细胞(ARPE-19)的增殖,而含浓度为 0.05% DMSO 的培养液则对细胞增殖无明显影响^[19]。为排除 DMSO 的干扰,本研究不同浓度黄连

素组中的 DMSO 浓度 $\leq 0.05\%$, 在高糖培养基中同时加入不同浓度 (5、10、25、50、100 $\mu\text{mol/L}$) 黄连素培养 Müller 细胞发现, 10 $\mu\text{mol/L}$ 浓度黄连素即可有效抑制由高糖导致的细胞活性降低, 且随着黄连素浓度的增加, 作用效果逐渐加强, 这与既往研究表明 0~20 $\mu\text{mol/L}$ 黄连素能够抑制细胞凋亡, 且具有明显的浓度和时间依赖性^[18-19] 的结果一致。

氧化应激是糖尿病相关并发症的共同致病机制。体外高糖环境可使 Müller 细胞产生氧化应激反应, 从而降低细胞活性。研究发现, 核转录相关因子 2 (nuclear factor erythroid 2-related factor 2, Nrf2) 可结合抗氧化反应元件诱导内源性抗氧化系统蛋白的表达, 在 Müller 细胞氧化应激反应中具有重要作用^[20]。Nrf2 激活剂 dh404 不仅能减少氧诱导的视网膜病变中 Müller 细胞的胶质增生, 同时通过增加 Nrf2 反应性抗氧化物减少缺氧诱导的 Müller 细胞中活性氧 (ROS) 及血管生成因子的升高^[21]。Nrf2 激活剂 RS9 能减轻光诱导的 Müller 细胞死亡^[22]。另有研究表明, 黄连素能显著降低糖尿病肾损伤大鼠的血糖水平和 ROS、Kelch 样环氧丙烷相关蛋白-1 (Keap1)、还原型辅酶 II 氧化酶 4 (NOX₄) 的水平, 增强血清超氧化物歧化酶 (SOD) 活性以及 Nrf2 水平^[23-24]。因此, 黄连素可能通过调控 Keap1-Nrf2/ARE 信号通路缓解氧化应激, 改善小鼠糖尿病肾病。黄连素还可明显促进抗氧化相关蛋白 Nrf2 的表达, 抑制 Keap1 的表达, 从而抑制由缺氧再复氧造成的心肌细胞活力降低和凋亡增加^[25]。本研究发现, 黄连素能有效抑制高糖诱导的细胞活性降低, 分析可能是通过调控 Nrf2 信号通路, 缓解高糖诱导产生的氧化应激反应而发挥抗氧化作用。

综上所述, 高糖会抑制 Müller 细胞增殖活性, 而经黄连素处理后可有效抑制由高糖诱导的细胞活性降低, 且作用效果与黄连素浓度呈正相关, 为黄连素应用于治疗 DR 提供了一定的实验依据。本研究后续将对黄连素 0~50 $\mu\text{mol/L}$ 浓度梯度内, 高糖环境下视网膜 Müller 细胞凋亡、炎症因子的变化、氧化应激反应及其相关作用机制和作用靶点做进一步探索。

参考文献

- 1 Stitt AW, Curtis TM, Chen M, et al. The progress in understanding and treatment of diabetic retinopathy. *Prog Retin Eye Res* 2016; 51: 156-186
- 2 刘玉华, 高玲. 糖尿病视网膜病变治疗研究现状、问题与展望. *中华眼底病杂志* 2016;32(2):206-210
- 3 Vecino E, Rodriguez FD, Ruzafa N, et al. Glia-neuron interactions in the mammalian retina. *Prog Retin Eye Res* 2016;51:1-40
- 4 Wang J, O'Sullivan ML, Mukherjee D, et al. Anatomy and spatial organization of Müller glia in mouse retina. *J Comp Neurol* 2017; 525(8):1759-1777
- 5 Qiu YY, Tang LQ, Wei W. Berberine exerts renoprotective effects by regulating the AGEs-RAGE signaling pathway in mesangial cells during diabetic nephropathy. *Mol Cell Endocrinol* 2017;443:89-105
- 6 Ma YG, Zhang YB, Bai YG, et al. Berberine alleviates the cerebrovascular contractility in streptozotocin-induced diabetic rats through modulation of intracellular Ca²⁺ handling in smooth muscle cells.

- Cardiovasc Diabetol* 2016;15:63
- 7 Zan Y, Kuai CX, Qiu ZX, et al. Berberine Ameliorates Diabetic Neuropathy: TRPV1 Modulation by PKC Pathway. *Am J Chin Med* 2017; 45(8):1709-1723
- 8 Chang W, Zhang M, Meng Z, et al. Berberine treatment prevents cardiac dysfunction and remodeling through activation of 5'-adenosine monophosphate-activated protein kinase in type 2 diabetic rats and in palmitate-induced hypertrophic H9c2 cells. *Eur J Pharmacol* 2015;769: 55-63
- 9 Bringmann A, Pannicke T, Grosche J, et al. Müller cells in the healthy and diseased retina. *Prog Retin Eye Res* 2006;25(4):397-424
- 10 曾凯宏, 杨咏涛, 王静, 等. 高糖诱导的视网膜胶质细胞凋亡以及牛磺酸的防护效应研究. *成都医学院学报* 2012;7(1):37-40
- 11 Han N, Yu L, Song Z, et al. Agmatine protects Müller cells from high-concentration glucose-induced cell damage via N-methyl-D-aspartic acid receptor inhibition. *Mol Med Rep* 2015;12(1):1098-1106
- 12 石瑜珍, 过贵元, 郑彦. 葡萄糖浓度波动对兔视网膜 Müller 细胞生长活性和 iNOS 表达的影响. *中国体视学与图像分析* 2012;17(1): 90-94
- 13 Kong W, Wei J, Abidi P, et al. Berberine is a novel cholesterol-lowering drug working through a unique mechanism distinct from statins. *Nat Med* 2004;10(12):1344-1351
- 14 Bhutada P, Mundhada Y, Bansod K, et al. Protection of cholinergic and antioxidant system contributes to the effect of berberine ameliorating memory dysfunction in rat model of streptozotocin-induced diabetes. *Behav Brain Res* 2011;220(1):30-41
- 15 Wang Q, Qi J, Hu R, et al. Effect of berberine on proinflammatory cytokine production by ARPE-19 cells following stimulation with tumor necrosis factor- α . *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012;53(4):2395-2402
- 16 邵明柏, 何秀婷, 李杰. 盐酸小檗碱对高糖、高脂联合诱导内皮细胞分泌 TNF- α 的干预作用. *中国老年学杂志* 2013;33(18):4496-4498
- 17 Chueh WH, Lin JY. Berberine, an isoquinoline alkaloid, inhibits streptozotocin-induced apoptosis in mouse pancreatic islets through down-regulating Bax/Bcl-2 gene expression ratio. *Food Chem* 2012;132(1):252-260
- 18 Fu D, Yu JY, Connell AR, et al. Beneficial Effects of Berberine on Oxidized LDL-Induced Cytotoxicity to Human Retinal Müller Cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2016;57(7):3369-3379
- 19 Cui HS, Hayasaka S, Zhang XY, et al. Effect of berberine on barrier function in a human retinal pigment epithelial cell line. *Jpn J Ophthalmol* 2007;51(1):64-67
- 20 颜赛梅, 常青. 糖尿病视网膜病变中 Müller 细胞氧化还原状态研究. *中国眼耳鼻喉科杂志* 2009;9(4):261-263
- 21 Deliyanti D, Lee JY, Petratos S, et al. A potent Nrf2 activator, dh404, bolsters antioxidant capacity in glial cells and attenuates ischaemic retinopathy. *Clin Sci (Lond)* 2016;130(15):1375-1387
- 22 Inoue Y, Shimazawa M, Noda Y, et al. RS9, a novel Nrf2 activator, attenuates light-induced death of cells of photoreceptor cells and Müller glia cells. *J Neurochem* 2017;141(5):750-765
- 23 刘慰华, 黄河清, 邓艳辉, 等. 黄连素对糖尿病肾损伤大鼠肾功能、氧化应激、肾脏醛糖还原酶的影响. *中国药理学通报* 2008;24(7):955-959
- 24 盛冬琴. Keap1-Nrf2/ARE 信号通路介导黄连素调节氧化应激改善小鼠糖尿病肾病. *医学研究杂志* 2017;46(8):176-180
- 25 王松海, 车奕宏, 陈捷. 黄连素对缺氧复氧诱导大鼠心肌细胞内 Nrf2/Keap1 的影响. *中国临床解剖学杂志* 2017;35(3):282-285