

PKC 对豚鼠近视眼视网膜 Müller 细胞近视因子基因的调控作用

毛俊峰 刘双珍 秦文娟 李凤云 吴小影 夏朝华

The modulation effects of PKC on gene expression of myopic factors in retinal Müller cells in myopic eye of guinea pig

Mao Junfeng, Liu Shuangzhen, Qin Wenjuan, Li Fengyun, Wu Xiaoying, Xia Zhaohua. Department of Ophthalmology, Xiangya Hospital of Central South University, Changsha 410008, China

Abstract Objective Present paper was to investigate the effects of Protein kinase C (PKC) on tyrosine hydroxylase (TH), inducible nitric oxide synthase (iNOS), neuronal nitric oxide synthase (nNOS), basic fibroblast growth factor (bFGF), transforming growth factor- β (TGF β) in retinal Müller cells of the guinea pig myopic eye. **Methods** The myopia model was induced in the right eyes of 20 3-week-old guinea pigs by translucent goggles for 10 days, and 10 normal guinea pigs were as control. Retinal Müller cells from the model and control pigs were separated and cultured using enzyme-digesting method in DMEM containing 20% fetal bovine serum. The Müller cells were identified by immunocytochemistry. According to different intervening factors, retinal Müller cells were divided into normal control, myopia group, myopia plus GF109203X group, myopia plus phorbol-12-myristate-13-acetate (PMA) group and myopia plus DMSO group. The mRNA expression of TH, iNOS, nNOS, bFGF and TGF β in retinal Müller cells were analyzed by real-time polymerase chain reaction (RT-PCR). **Results** The ocular axle was elongated and the diopter was (-3.12 ± 0.50)D in occluded eyes, showing statistically significant difference in comparison with control eyes ($P < 0.05$). The over 95% cultured cells were showed the positive reaction for GFAP. Compared with normal control group, the expression of mRNA of iNOS, nNOS, bFGF and TGF β was significantly up-regulated in retinal Müller cells but down-regulated in TH mRNA expression in the myopic eyes ($P < 0.05$). The expression of nNOS, iNOS, TH and bFGF was increased in cultured Müller cells in myopia plus PMA group compared with control group ($P < 0.05$). However, the PKC activity was significantly reduced, and the mRNA of nNOS, iNOS, TH and bFGF was down-regulated in cultured cells in myopia plus GF109203X group ($P < 0.05$). **Conclusion** The gene expression of nNOS, iNOS, bFGF and TH is modulated by PKC in retinal Müller cells in myopia of guinea pig. It is likely that Müller cells is an important source of the retinal myopic signal factors.

Key words protein kinase C; Müller cell; retina; myopic factor

摘要 目的 研究蛋白激酶 C (PKC) 对豚鼠近视眼视网膜 Müller 细胞中酪氨酸羟化酶 (TH)、诱导型 NO 合成酶 (iNOS)、神经型 NO 合成酶 (nNOS)、碱性成纤维细胞生长因子 (bFGF)、转化生长因子 β (TGF β) 基因表达的调控作用。 **方法** 眼罩遮盖法建立豚鼠近视眼模型, 酶消化法原代培养其视网膜 Müller 细胞, GFAP 免疫组织化学染色进行细胞鉴定。根据干预因素不同, 把 Müller 细胞分为正常对照组、近视组、近视 + GF109203X 组、近视 + PMA 组和近视 + DMSO 组。RT-PCR 检测 TH、iNOS、nNOS、bFGF 和 TGF β mRNA 的表达情况。 **结果** 与正常对照组比较, 近视眼视网膜 Müller 细胞 iNOS、nNOS、bFGF 和 TGF β mRNA 表达上调, TH mRNA 表达下调 ($P < 0.05$)。PKC 激活剂 (PMA) 激活 PKC 后, 近视眼视网膜 Müller 细胞表达 nNOS、iNOS、TH 和 bFGF mRNA 上调 ($P < 0.05$); GF109203X 抑制 PKC 活性后, 这些因子的 mRNA 表达下调 ($P < 0.05$)。 **结论** 豚鼠近视眼视网膜 Müller 细胞 nNOS、iNOS、bFGF 和 TH 基因的表达受 PKC 调控, Müller 细胞可能为近视信号因子的一个重要来源。

关键词 蛋白激酶 C; Müller 细胞; 视网膜; 近视因子

分类号 R 774.03 **文献标识码** A **文章编号** 1003-0808(2009)02-0086-05

本课题为国家自然科学基金项目资助(30600694)
 作者单位: 410008 长沙, 中南大学湘雅医院眼科
 通讯作者: 毛俊峰 (Email: mao_junfeng@163.com)

在近视眼动物模型的研究中发现, 多巴胺 (dopamine, DA)^[1]、一氧化氮 (NO)^[2]、碱性成纤维细

胞生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF)^[3-4]、转化生长因子 β (transforming growth factor- β , TGF β)^[3] 是参与调控近视发生、发展的视网膜因子。Müller 细胞是视网膜最主要的神经胶质细胞,在视网膜的生理、病理过程中起重要作用^[5]。研究发现,蛋白激酶 C (protein kinase C, PKC) 在视网膜 Müller 细胞内信号传递过程中发挥重要作用^[6-7]。因此,我们利用已原代培养的豚鼠近视眼视网膜 Müller 细胞^[8],研究酪氨酸羟化酶 (tyrosine hydroxylase, TH)-DA 合成酶、诱导型 NO 合成酶 (inducible nitric oxide synthase, iNOS)、神经型 NO 合成酶 (neuronal nitric oxide synthase, nNOS)、bFGF 和 TGF β 基因在 Müller 细胞的表达情况,并分别用 PKC 激活剂 (phorbol-12-myristate-13-acetate, PMA) 和抑制剂 (GF109203X) 进行干预,分析 PKC 对其是否有调控作用。

1 材料与方法

1.1 豚鼠近视眼模型制作

3 周龄的断乳三色豚鼠 30 只(中南大学动物部提供),体重 180 ~ 220 g,雌雄不限。0.3% 戊巴比妥钠 (30 mg/kg) 腹腔注射麻醉 20 只豚鼠,用自制半透明眼罩(材料为乳白色乳胶手套)遮盖右眼,缝 3 ~ 4 针把眼罩固定于眼眶周围组织,以对侧未遮盖眼作自身对照。剩余的 10 只豚鼠作为正常对照。遮盖 10 d 后,豚鼠腹腔注射 0.3% 戊巴比妥钠 (30 mg/kg) 麻醉,角膜曲率计测量角膜曲率半径,托吡卡胺散瞳检验验光测屈光度, A 型超声测量眼轴长度(精确到 0.01 mm),测 3 次,取其平均值。

1.2 豚鼠视网膜 Müller 细胞的培养

豚鼠腹腔注射 0.3% 戊巴比妥钠 (30 mg/kg) 麻醉后,75% 乙醇浸泡消毒 5 min。在超净工作台内摘除右眼眼球,清除眼球外筋膜组织, D-Hanks 液漂洗 3 次。沿角膜缘后 1 mm 剪开眼球壁,去除眼前段,分离出神经视网膜,洗净附着的色素上皮。将其移入完全培养液 (100 mL 完全培养液由 DMEM 80 mL、20% 胎牛血清 20 mL、青霉素 100 U/mL、链霉素 100 μ g/mL) 中,用眼科显微剪刀把神经视网膜剪成小碎片,0.25% 胰蛋白酶消化 10 min,吸管吹打,制成细胞悬液。每只眼球的视网膜接种于 1 个 50 mL (25 cm²) 培养瓶内,置于 37 $^{\circ}$ C 5% CO₂ 的自动培养箱内培养,24 h 后首次换液,去除悬浮细胞,以后每 3 ~ 4 d 换液 1 次,待细胞汇合成片、贴壁细胞达 80% 以上时按 1:2 传代。每日用倒置显微镜观察 Müller 细胞的生长状况。取第 2 代 Müller 细胞接种于盖玻片上,用于 GFAP 免疫组织化学染色,进行细胞鉴定,一抗

为 GFAP 多抗(美国 Santa Cruz 公司,浓度 1:100)。

1.3 药物干预及实验分组

PMA、GF109203X(德国 Merck 公司)分别溶解于二甲基亚砜 (Dimethyl sulfoxide, DMSO),将其加入培养的第 2 代视网膜 Müller 细胞,作用 3 h。PMA 浓度为 100 nmol/L, GF109203X 浓度为 1 μ mol/L。根据不同处理因素,把 Müller 细胞分为 5 组:正常对照组 (A)、近视组 (B)、近视 + GF109203X 组 (C)、近视 + PMA 组 (D) 和近视 + DMSO 组 (E)。

1.4 RT-PCR 检测近视因子 mRNA 表达

取第 2 代 Müller 细胞, PBS 洗涤,用细胞刮子将其刮下,吸至 1.5 mL 离心管内,按照 Trizol RNA 提取试剂盒(美国 Gibco BRL 公司)说明书操作,提取 Müller 细胞总 RNA。甲醛变性凝胶电泳检测 RNA 的完整性, DU-640 紫外分光光度计测定 RNA 的浓度。按照 ReverTra Ace- α -TM First Strand cDNA 合成试剂盒(日本 Toyobo 公司)说明书进行操作,合成 cDNA。根据 Genbank 中的基因序列,以 Primer Premier 5.0 软件设计特异性引物,由上海生工生物工程技术有限公司合成,PCR 引物见表 1,以 G3PDH 和 β -actin 为内参。按照 TaKaRa LA PCR Kit Ver. 2.1(日本 TaKaRa 公司)说明书建立 20 μ L 反应体系,PCR 反应条件:变性 T1 95 $^{\circ}$ C 5 min, T2 94 $^{\circ}$ C 30 s;退火 53 $^{\circ}$ C (iNOS)、55 $^{\circ}$ C (TH, bFGF)、56 $^{\circ}$ C (nNOS, TGF β) 30 s;延伸 72 $^{\circ}$ C 30 s;共 35 个循环,再延伸 72 $^{\circ}$ C 5 min。取 PCR 产物 10 μ L, 1.5% 琼脂糖凝胶电泳 1 h (电压 80 V)。Gelpro 4 凝胶光密度分析软件测量目的条带 IOD 值,计算目的条带 mRNA 相对表达量(目的条带 mRNA 相对表达量 = 目的条带 IOD 值/内参条带 IOD 值)。

表 1 视网膜近视因子的 PCR 引物
Table 1 PCR primers of the myopic factors in retina

Primer	Sequence	Length (bp)
TH	sense: 5'-GTCTACTGTCTGCCCGTATT-3' antisense: 3'-CTAGTTTGGATGGTCGGCCA-5'	415
iNOS	sense: 5'-GAAACGGTAACAAGGACATACA-3' antisense: 3'-TAAGCGGACTAGAACACGA-5'	482
nNOS	sense: 5'-CTCTGCCACCGACTCCTTCA-3' antisense: 3'-CGAGTTGATAGCCGAGTGGC-5'	149
bFGF	sense: 5'-GTATGTGGCACTGAAACGAACTG-3' antisense: 3'-TCGAAACCAACTGGGTAC-5'	271
TGF β	sense: 5'-GGGTGACCTGGCTGCTATTC-3' antisense: 3'-CGAGATGTAAGGCGGCTTC-5'	182
G3PDH	sense: 5'-ACCACAGTCCATGCCATCAC-3' antisense: 3'-ATGTCGTTGTCCCACCACT-5'	450
β -actin	sense: 5'-CGTGGACATCCGCAAAGAC-3' antisense: 3'-CGGAGCGACAGTGAAGG-5'	200

1.5 统计学方法

所有数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS 11.0 统计学

软件进行统计学分析。豚鼠角膜曲率半径、眼球屈光度、眼轴长度及近视因子 mRNA 相对表达量的比较均采用单因素方差分析,组间的两两比较采用 LSD-t 检验。P < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 豚鼠近视眼模型

遮盖 10 d 后,豚鼠遮盖眼眼轴延长、近视形成,其屈光度为 (-3.12 ± 0.50)D 与自身对照眼 (+1.35 ± 0.21)D、正常对照眼 (+1.20 ± 0.24)D 相比差异有统计学意义 (P < 0.05);遮盖眼眼轴长度为 (8.35 ± 0.05)mm,与自身对照眼 (8.21 ± 0.02)mm、正常对照眼 (8.23 ± 0.03)mm 相比差异均有统计学意义 (P < 0.05),但角膜曲率半径无明显变化(表 2)。

表 2 豚鼠角膜曲率、眼球屈光度、眼轴长度的变化($\bar{x} \pm s$)
Table 2 Change of corneal curvature, ocular refraction, axial length in guinea pig ($\bar{x} \pm s$)

Group	n	Corneal curvature (mm)	Refraction (D)	Axial length (mm)
Normal control	10	3.55 ± 0.03	+1.20 ± 0.24 ^b	8.23 ± 0.03 ^b
Self-control	20	3.56 ± 0.02	+1.35 ± 0.21 ^b	8.21 ± 0.02 ^b
Deprivation	20	3.56 ± 0.04	-3.12 ± 0.50	8.35 ± 0.05
F		0.450	20.463	6.140
P		0.671	0.000	0.017

^bP < 0.05 vs respective deprivation group (One-way ANOVA, LSD-t test)

2.2 豚鼠近视眼视网膜 Müller 细胞的培养和鉴定

原代培养接种 24 h 后,部分视网膜细胞贴壁,部分细胞呈椭圆形,有的堆积成团。首次换液去除大部分混杂细胞(如神经节细胞、光感受器细胞、双极细胞等),贴壁的 Müller 细胞分裂旺盛,长出小突起,伸展,胞体饱满。10 d 后 Müller 细胞形态基本稳定,胞体较大、扁平,呈三角形、多角形或梭形等,折光性暗,胞核

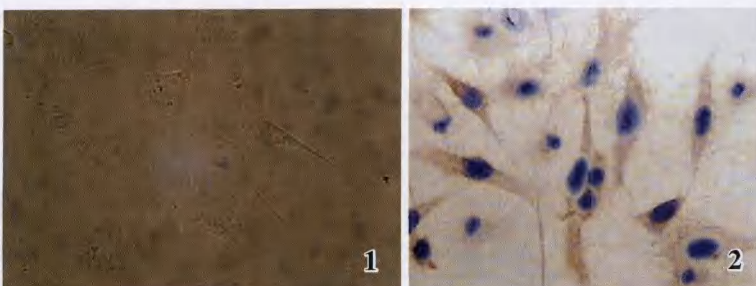


图 1 原代培养的豚鼠近视眼视网膜 Müller 细胞(GFAP × 400) 图 2 豚鼠近视眼视网膜 Müller 细胞阳性表达(GFAP × 400)

Fig. 1 Primary cultured retinal Müller cells in the guinea pig myopic eyes (GFAP × 400) Fig. 2 Positive expression for GFAP in the guinea pig myopic retinal Müller cells (GFAP × 400)

多为椭圆形,位于胞体中央或略偏位(图 1)。一般 30 ~ 35 d Müller 细胞融合成片,相互交错或平行排列,进行传代。传代细胞多在 15 ~ 20 d 基本融合。90% 以上的培养细胞阳性表达 GFAP(图 2),胞浆内有大量棕黄色颗粒。

2.3 视网膜 Müller 细胞近视因子 mRNA 的表达变化

甲醛变性凝胶电泳显示:各实验组视网膜 Müller 细胞的总 RNA 电泳均有 28 S、18 S 和 5 S 条带,且 28 S 和 18 S 条带清晰、无弥散,28 S 条带的亮度约是 18 S 的 2 倍,表明所提取的 RNA 完整(图 3)。正常对照组、近视组、近视 + GF109203X 组、近视 + PMA 组和近视 + DMSO 组视网膜 Müller 细胞 RNA 的 OD_{260/280} 分别为 1.93、1.91、1.93、1.89、1.92,证明所提取的 RNA 无污染。

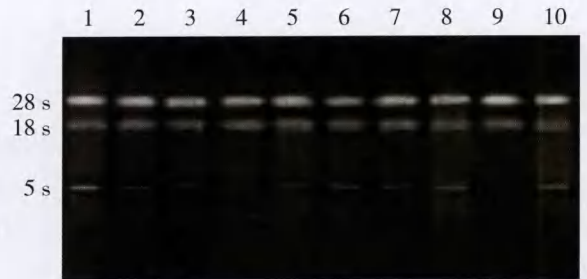


图 3 豚鼠视网膜 Müller 细胞 RNA 甲醛变性凝胶电泳图 M:marker 1,2:正常对照组 3,4:近视组 5,6:近视 + GF109203X 组 7,8:近视 + PMA 组 9,10:近视 + DMSO 组

Fig. 3 The formaldehyde denaturalization agarose gel electrophoresis of retinal Müller cell mRNA in guinea pig M:marker 1,2: normal control group 3,4: deprivation group 5,6: deprivation + GF109203X group 7,8: deprivation + PMA group 9,10: deprivation + DMSO group

RT-PCR 检测显示:正常对照组和近视组视网膜 Müller 细胞均阳性表达 nNOS、bFGF、TH、TGFβ 的 mRNA,且 nNOS、bFGF 和 TGFβ mRNA 在近视组表达上调、TH mRNA 在近视组表达下调,与正常对照组比较差异有统计学意义 (P < 0.05);iNOS mRNA 在正常对照组视网膜 Müller 细胞不表达,但阳性表达于近视组;加入 GF109203X 后,nNOS、iNOS、bFGF、TH 的 mRNA 在近视眼视网膜 Müller 细胞的表达下调 (P < 0.05),但 TGFβ mRNA 的表达无变化 (P > 0.05);加入 PMA 后,nNOS、iNOS、bFGF、TH 的 mRNA 在近视眼视网膜 Müller 细胞中的表达上调 (P < 0.05),但 TGFβ mRNA 的表达无变化 (P > 0.05);加入

DMSO 对 nNOS、iNOS、bFGF、TH 和 TGFβ mRNA 的表达无影响,与近视组比较差异无统计学意义($P > 0.05$) (图 4,表 3)。

表 3 豚鼠视网膜 Müller 细胞近视因子 mRNA 的表达变化($\bar{x} \pm s$)
Table 3 Change of myopic factors mRNA in retinal Müller cell of guinea pig($\bar{x} \pm s$)

Group	nNOS	iNOS	bFGF	TH	TGFβ
Normal control	0.03 ± 0.01	0	0.14 ± 0.02	0.37 ± 0.08	0.12 ± 0.05
Deprivation	0.20 ± 0.05 ^b	0.35 ± 0.06	0.50 ± 0.12 ^b	0.12 ± 0.03 ^b	0.63 ± 0.24 ^b
Deprivation + GF109203X	0.04 ± 0.01 ^c	0.12 ± 0.03 ^c	0.17 ± 0.05 ^c	0.08 ± 0.03 ^b	0.62 ± 0.17 ^b
Deprivation + PMA	0.66 ± 0.04 ^{bc}	0.92 ± 0.27 ^a	1.21 ± 0.26 ^{bc}	0.71 ± 0.15 ^{bc}	0.68 ± 0.30 ^b
Deprivation + DMSO	0.23 ± 0.04 ^b	0.30 ± 0.08	0.62 ± 0.10 ^b	0.13 ± 0.05 ^b	0.73 ± 0.28 ^b
F	12.379	18.326	16.209	15.816	5.269
P	0.001	0.000	0.000	0.000	0.022

^b $P < 0.05$ vs respective normal control group, ^c $P < 0.05$ vs respective deprivation group(One-way ANOVA, LSD-*t* test)

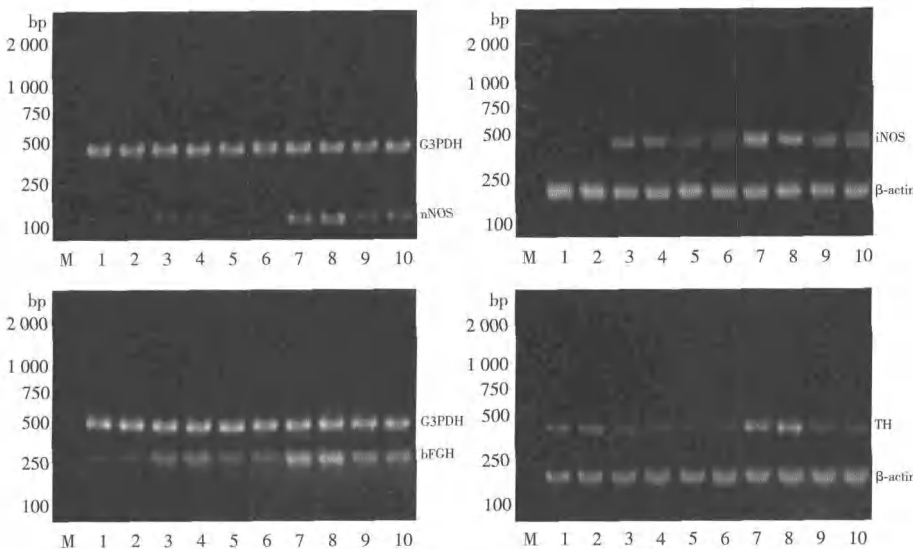


图 4 RT-PCR 检测 nNOS、iNOS、bFGF、TH、TGFβ mRNA 在豚鼠视网膜 Müller 细胞中的表达 M: 分子标记 1、2: 正常对照组 3、4: 近视组 5、6: 近视 + GF109203X 组 7、8: 近视 + PMA 组 9、10: 近视 + DMSO 组

Fig.4 The mRNA expression of nNOS, iNOS, bFGF, TH and TGFβ in guinea pig retinal Müller cell M: marker 1, 2: normal control group 3, 4: deprivation group 5, 6: deprivation + GF109203X group 7, 8: deprivation + PMA group 9, 10: deprivation + DMSO group

3 讨论

近视发病机制的研究是眼科领域的研究热点之一,目前已公认近视的发生是在视网膜调控下巩膜主动重塑的结果。大量研究证实,视网膜对近视发生的调控,与其合成、分泌一些信号因子(如 DA、NO、

bFGF、TGFβ 等)密切相关。近视眼发生过程中,视网膜 NO^[2]、TGFβ^[3] 和夜间 bFGF^[3-4] 的质量浓度升高,而 DA 质量浓度下降^[1],这些信号因子参与构成近视眼的视网膜神经调控网络,影响着近视眼的发生和发展。

Müller 细胞呈细长形,胞体从视网膜内界膜贯穿至外界膜,其突起广泛分布于视网膜各类神经元胞体和神经纤维之间,与神经元组成“神经元-神经胶质”调控网络,在视网膜的功能活动中发挥重要作用,包括支持和营养神经元、维持细胞外离子稳定、参与谷氨酸循环及突触传递、感受神经元信号和调节神经元活动等^[5]。研究发现视网膜 Müller 细胞能合成、分泌多种神经活性物质及信号因子。Kubrusly 等^[9]报道视网膜 Müller 细胞能表达 DA 受体和 TH,参与视网膜 DA 代谢。另外, Müller 细胞还能合成 bFGF^[10]、TGF-β^[11]、

NO^[12]、nNOS^[13] 和 iNOS^[12-13]。由于这些因子与近视眼的发生有密切关系,视网膜 Müller 细胞有可能通过合成、分泌这些信号因子,参与近视的形成。我们在研究中发现,豚鼠正常对照眼和近视眼视网膜 Müller 细胞均表达 TH、nNOS、bFGF 和 TGFβ 的 mRNA,且 TH mRNA 在近视眼表达下调, nNOS、bFGF 和 TGFβ mRNA 在近视眼表达上调; iNOS mRNA 仅阳性表达于近视眼的视网膜 Müller 细胞。众所周知,TH 是 DA 的合成酶, iNOS 和 nNOS 是 NO 的合成酶。由于 nNOS、iNOS、TH、bFGF 和 TGFβ mRNA 在豚鼠近视眼视网膜 Müller 细胞的表达变化,与近视眼发生过程中视网膜 NO、DA、bFGF 和 TGFβ 的变化趋势是一致的。因此, Müller 细胞可能是豚鼠近视眼视网膜信号因子 NO、DA、bFGF 和 TGFβ 的一个重要来源。

PKC 是一类重要的蛋白质磷酸化激酶,通过对多种底物蛋白磷酸化而参与细胞的跨膜信号传递,在细胞的生长、分化、增生、凋亡、基因表达调节、神经传导、肿瘤发生等过程中发挥重要作用。PKC 通常处于失活状态,激活后由细胞质转位至细胞膜,引起底物蛋白的丝氨酸/苏氨酸磷酸化而发挥作用。许多研究证实,细胞内 bFGF^[14]、TGFβ^[15]、

TH^[16]和NO^[17]的合成受PKC信号通路的调控。目前已发现视网膜Müller细胞内存在PKC信号传导通路。可见,豚鼠视网膜Müller细胞TH、iNOS、nNOS、bFGF和TGFβ的mRNA的表达可能受PKC信号的调控。GF109203X是PKC的特异性抑制剂,其结构与星孢菌素类似,能够竞争性抑制PKC的ATP结合位点,从而选择性抑制PKC活性。PMA是一种最常用的佛波酯,能够特异性结合,并激活PKC,进而引发细胞内一系列的生物反应。本研究中,我们用PMA激活豚鼠近视眼视网膜Müller细胞PKC活性后,nNOS、iNOS、TH和bFGF的mRNA表达上调,GF109203X则引起nNOS、iNOS、TH和bFGF的mRNA表达下调,但PMA和GF109203X对TGFβmRNA的表达均无影响。可见,豚鼠近视眼视网膜Müller细胞nNOS、iNOS、TH和bFGFmRNA的表达受PKC的调控,而TGFβmRNA的表达与PKC无关。

总之,nNOS、iNOS、bFGF和TGFβ基因在豚鼠近视眼视网膜Müller细胞中的表达升高,而TH基因表达降低。其中,nNOS、iNOS、bFGF和TH基因的表达受PKC的调控。Müller细胞可能是近视信号因子NO、DA、bFGF和TGFβ的一个重要来源,能够通过PKC调控nNOS、iNOS、bFGF和TH的基因表达,参与近视眼的视网膜神经调控网络。

参考文献

- 魏欣,刘双珍,王洁月,等.豚鼠形觉剥夺性近视视网膜早基因c-fos与酪氨酸羟化酶关系的研究[J].中华眼底病杂志,2007,23(5):358-359
- Wu J, Liu Q, Yang X, et al. Time-course of changes to nitric oxide signaling pathways in form-deprivation myopia in guinea pigs[J]. Brain Res, 2007, 1186: 155-163
- Seko Y, Shimokawa H, Tokoro T. Expression of bFGF and TGF-β₂ in experimental myopia in chickens[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 1995, 36(6):1183-1187
- Rohrer B, Tao J, Stell WK. Basic fibroblast growth factor, its high- and low-affinity receptors, and their relationship to form-deprivation myopia in the chick[J]. Neuroscience, 1997, 79(3):775-787
- 苟琳,张作明,许汉鹏.视网膜Müller细胞在视网膜病变中的作用和研究现状[J].眼科研究,2003,21(2):217-220
- Swiatek-DeLange M, Stampfl A, Hauck SM, et al. Membrane-initiated effects of progesterone on calcium dependent signaling and activation of VEGF gene expression in retinal glial cells[J]. Glia, 2007, 55(10):1061-1073
- González MI, López-Colom AM, Ortega A. Sodium-dependent glutamate transport in Müller glial cells: regulation by phorbol esters[J]. Brain Res, 1999, 831(1-2):140-145
- 毛俊峰,刘双珍,秦文娟,等.用饲养细胞辅助原代培养豚鼠近视眼视网膜Müller细胞的研究[J].眼科研究,2008,26(8):612
- Kubrusly RC, daCunha MC, Reis RA, et al. Expression of functional receptors and transmitter enzymes in cultured Müller cells[J]. Brain Res, 2005, 1038(2):141-149
- Harada T, Harada C, Kohsaka S, et al. Microglia-Müller glia cell interactions control neurotrophic factor production during light-induced retinal degeneration[J]. J Neurosci, 2002, 22(21):9228-9236
- Eichler W, Yafai Y, Wiedemann P, et al. Angiogenesis-related factors derived from retinal glial (Müller) cells in hypoxia[J]. Neuroreport, 2004, 15(10):1633-1637
- Du Y, Sarthy VP, Kern TS. Interaction between NO and COX pathways in retinal cells exposed to elevated glucose and retina of diabetic rats[J]. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, 2004, 287(4):R735-741
- Kobayashi M, Kuroiwa T, Shimokawa R, et al. Nitric oxide synthase expression in ischemic rat retinas[J]. Jpn J Ophthalmol, 2000, 44(3):235-244
- Cheng T, Cao W, Wen R, et al. Prostaglandin E2 induces vascular endothelial growth factor and basic fibroblast growth factor mRNA expression in cultured rat Müller cells[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 1998, 39(3):581-591
- Cacace AM, Ueffing M, Han EK, et al. Overexpression of PKC epsilon in R6 fibroblasts causes increased production of active TGFbeta[J]. J Cell Physiol, 1998, 175(3):314-322
- Zhang D, Kanthasamy A, Yang Y, et al. Protein kinase C delta negatively regulates tyrosine hydroxylase activity and dopamine synthesis by enhancing protein phosphatase-2A activity in dopaminergic neurons[J]. J Neurosci, 2007, 27(20):5349-5362
- Teng JC, Kay H, Chen Q, et al. Mechanisms related to the cardioprotective effects of protein kinase C epsilon (PKC varepsilon) peptide activator or inhibitor in rat ischemia/reperfusion injury[J]. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol, 2008, 378(1):1-15

(收稿:2008-09-10 修回:2008-12-20)

(本文编辑:高红)

本刊对中英文摘要的写作要求

论著正文前附300字内的中文摘要,包括目的、方法、结果、结论四要素,关键词3~8个;英文摘要应比中文摘要详细,300个实词左右。英文摘要的目的部分应概括写出本研究的研究背景和目的;方法部分应写明研究对象的数目、来源、分组情况及所用的研究方法和工具;结果部分应包括研究结果的主要形态学改变、染色的具体形态和具体数据。英文摘要的方法和结果部分内容的描述应用一般过去时态。英文关键词3~8个,应与中文关键词一致。

综述的中英文摘要不用四要素的写法,可写成指示性文摘,亦给出中英文关键词各3~8个;摘要用第三人称撰写,不用“本文”、“作者”等作主语。

(本刊编辑部)