

芪参益气滴丸对糖尿病大鼠视网膜谷氨酸转运体及谷氨酰胺合成酶表达的影响

罗 钢 蔡丽英

(黄石市中心医院,黄石,435000)

摘要 目的:探讨芪参益气滴丸对糖尿病大鼠视网膜谷氨酰胺合成酶及谷氨酸转运体的表达水平的影响。方法:选择维通利华实验动物研究所提供的六周龄 SPF 级 SD 大鼠 80 只,体重 180 ~ 220 g,雄性,根据随机数字表法分为实验组(例数 = 70)、正常组(例数 = 10),进行链脲佐菌素(Streptozotocin,STZ),一次性注射腹腔对胰岛 β 细胞进行选择破坏,诱发实验性糖尿病;应用时由 PH 4.4、0.1 mmol/L 无菌的柠檬酸钠缓冲液配制为 1% STZ 溶液,根据大鼠体重予以 65 mg/kg 左下腹腔一次性注射 1% STZ,正常组注射相同体积的生理盐水,72 h 后应用快速血糖仪检测血糖水平;血糖水平超过 16.7 mmol/L 者为糖尿病大鼠模型;随机分为对照组(多贝斯对照组)(20 只)、治疗组(芪参益气滴丸组)(30 只)、糖尿病模型组(模型组)(20 只)、正常组(例数 = 10),应用 RT-PCR 法检测 4 组大鼠视网膜 GFAP mRNA 表达水平;应用免疫组织化学染色法(Labelled Streptavidin Biotin Method,LSAB 法)检测 4 组视网膜的谷氨酸转运体(Glutamate/aspartate Transporter,GLAST)表达水平;应用免疫组织化学染色法(LSAB 法)检测视网膜上谷氨酰胺合成酶(Glutamine Synthetase,GS)的表达水平情况。结果:对照组、模型组、治疗组的大鼠视网膜 GFAP 阳性表达 IOD 值显著低于正常组,差异有统计学意义($P < 0.05$);治疗组、对照组的大鼠视网膜神经胶质原纤维酸性蛋白(Glialfibrillaryacidprotein,GFAP)阳性表达 IOD 值显著高于模型组,差异有统计学意义($P < 0.05$);治疗组的大鼠视网膜 GFAP 阳性表达 IOD 值显著高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$);对照组、模型组、治疗组的大鼠视网膜 GS 阳性表达 IOD 值显著低于正常组,差异有统计学意义($P < 0.05$);治疗组、对照组的大鼠视网膜 GS 阳性表达 IOD 值显著高于模型组,差异有统计学意义($P < 0.05$);治疗组的大鼠视网膜谷氨酰胺合成酶(Glutamine Synthetase,GS)阳性表达 IOD 值显著高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论:芪参益气滴丸可促进视网膜 GS 和 GLAST 的表达,降低谷氨酸的高浓度兴奋性毒性功能,保护视网膜神经细胞。

关键词 糖尿病;谷氨酸;芪参益气滴丸;谷氨酰胺合成酶;谷氨酸转运体

Effect of Qishen Yiqi Dripping Pills on the Expression of Glutamate Transporter and Glutamine Synthetase in Diabetic Rats

Luo Gang, Cai Liying

(Huangshi Central Hospital, Hubei Institute of Science and Technology, Hubei 435000, China)

Abstract Objective: To investigate the effect of Shenqi Yiqi dripping pills on the expression of glutamine synthetase and glutamate transporters in the retina of diabetic rats. **Methods:** SD male rats 80, weight 180 ~ 220 g were randomly divided into experimental group ($n = 70$) and normal group ($n = 10$). The rats were modeled by STZ injection to induce experimental diabetes. The 1% STZ sterile solution was prepared by sodium citrate buffer PH4.4, 0.1 mmol/L, and it was given according to the body weight of rats (65 mg/kg) through left lower abdominal cavity. Common saline were injected of the same volume on the normal group, and blood glucose level was examined by fast blood glucose meter examination after 72 h; mice whose blood glucose level over 16.7 mmol/L were categorized as the model diabetes group, and were randomly divided into the control group (calciumdobesilate control group) ($n = 20$), treatment group (Qishen Yiqi group) ($n = 30$), and diabetic model group (model group) (20 rats). RT-PCR method was used to detect the expression level of mRNA GFAP in four groups of rats. The expression level of glutamate transporter (GLAST) was detected by immunohistochemical staining (LSAB method) and the expression level of glutamine synthetase (GS) was detected by LSAB in four groups. **Results:** The positive expression of GFAP (Glial fibrillary acid protein) IOD value of the control group, model group, and treatment group were higher than the normal group with statistical difference ($P < 0.05$). The GFAP IOD value in the treatment group and control group were higher than that of the model group ($P < 0.05$). The GFPA IOD value in the treatment group was higher than that of the control group ($P < 0.05$). The positive expression of GS (Glutamine syn-

基金项目:湖北省黄石市医药卫生科研项目(编号:2010-04)

作者简介:罗钢(1975.09—),男,嘉鱼人,硕士研究生,湖北省黄石市中心医院主治医师,研究方向:眼科视神经损伤修复、青光眼、眼外伤、白内障等,E-mail:178536802@qq.com

通信作者:蔡丽英(1977.12—),女,汉族,大学本科,黄石市中心医院眼科,研究方向:眼底病、角膜病眼底病、青光眼白内障,E-mail:3326884804@qq.com

thetase) IOD value of the control group, model group, and treatment group were higher than the normal group with statistical difference ($P < 0.05$). The GS IOD value in the treatment group and control group were higher than that of the model group ($P < 0.05$). The GS value in the treatment group was higher than that of the control group ($P < 0.05$). **Conclusion:** The expression of and GS and GLAST can be promoted by Qishen Yiqi dripping pills, which can low the toxin of high concentration of glutamate, and thus protecting retinal nerve cells.

Key Words Diabetes mellitus; Glutamic acid; Qishen Yiqi dripping pill; Glutamine synthetase; Glutamate transporter

中图分类号: R285.5 文献标识码: A doi: 10.3969/j.issn.1673-7202.2016.09.054

引发视网膜神经细胞严重受损的主要原因之一为谷氨酸的高浓度兴奋性毒性。大量研究表明,糖尿病视网膜病变早期可出现谷氨酸循环缓慢,细胞外堆积大量的谷氨酸,浓度上升,导致视网膜神经节细胞凋亡^[1-2]。传统糖尿病性视网膜病变的主要研究重点为视网膜毛细血管微循环障碍,且设定为血管病变导致视觉的缺失及视网膜神经细胞的变性^[3-4];糖尿病患者发生眼底可见的微血管变化之前即发生视神经胶质细胞的存活力及细胞功能变化、视网膜神经纤维功能的降低;近年来研究发现,糖尿病视网膜病变除微血管受损外,糖尿病视网膜病变是一种慢性神经阻滞细胞的退行性病变,包括谷氨酰胺代谢病变、激活小胶质细胞、大胶质细胞反应性增生、神经细胞凋亡加速,视网膜血管病变的主要原因可能为神经胶质及神经元的变化^[5-6];血管内皮细胞、神经胶质细胞、神经元细胞是形成糖尿病视网膜病变的重要因素,神经胶质细胞、神经元细胞的功能变化、结构可改变血管的通透性,视网膜血管通透性变化导致谷氨酸由血液进入视网膜实质,引发视网膜神经退行性改变^[7-8];同时与缺乏神经营养因子密切相关,Müller 细胞因是神经元与血-视网膜屏障的桥梁,其功能及结构具有独特性,在导致视网膜血管病变的同时,可引发神经元功能障碍^[9-10]。视网膜内的重要神经胶质细胞为 Müller 细胞,细胞突起由内界膜向外界膜伸展,内核层为细胞体,细胞突起可贯穿全层视网膜,将全部视网膜神经元突起及胞体均包绕及接触^[11-12];与视网膜神经元的功能及结构密切相关;糖尿病状态下 Müller 细胞的改变为表达 GFAP 水平升高,GFAP 为胶质纤维酸性蛋白,是特征性神经胶质细胞标记,最早在大脑星形胶质细胞中的中间丝结构蛋白中发现,其表达水平升高是视网膜神经元受损的间接性指标^[13-14];糖尿病视网膜可表现为胶质反应性活跃性增生,糖尿病视网膜进展的病理性改变为视网膜组织内胶质细胞反应性增生,视网膜中表达 GFAP 水平显著升高^[15]。活血益气类药物可营养周围神经、中枢神经因子功能,可促进变性受损的神经细胞修复功能,增强胶

质细胞的代偿功能,对视网膜神经组织细胞具有保护神经功能,促使神经细胞突起生长功能。探析活血益气法对糖尿病视网膜病变大鼠的谷氨酰胺合成酶及谷氨酸转运体的表达水平的影响具有重要的临床价值,故本文建立糖尿病视网膜病变大鼠模型,检测糖尿病视网膜病变大鼠的视神经胶质细胞的谷氨酰胺合成酶、谷氨酸转运体的表达水平,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 实验动物 维通利华实验动物研究所提供的六周龄 SD 大鼠 SPF 级 80 只,体重 180 ~ 220 g。

1.2 实验药物与试剂 芪参益气滴丸(天津天士力制药集团股份有限公司生产,国药准字 Z20030139),羟苯磺酸钙胶囊(商品名:多贝斯,西安利君制药有限责任公司生产,国药准字 H20000713);Dako 公司提供的 LSAB 通用试剂盒, Sigma 公司生产的 DAB 显色剂, Roche 公司提供的细胞凋亡检测盒, Sigma 公司提供的 STZ。

1.3 实验仪器 Kodak 公司提供的 Image Plus Pro 6.0 图像分析系统; SAKURA CRM-440 型病理切片机, SAKURA PS-53 型展片器, 日本 SAKURA Tissue-Tek TECTM5 SM C1-042-SO 型组织包埋机, 日本 OLYMPUS BH-2 型显微照相系统, 日本日立 H-600 型电子显微镜, 日本 Olypus BH-2 型光学显微镜, 日本 Olypus BX-51 型数码相机装置, HANNA Instrumrnts-PH-200 型酸度计, Mettler Toledo-AB54 型精密电子天平, Roche GLUCOTREND 型快速血糖仪。

1.4 实验方法 1) 六周龄 SPF 级 SD 大鼠 80 只, 体重 180 ~ 220 g, 均为雄性, 饲养室相对湿度 55% ~ 70%, 室温 22 ~ 25 °C; 实验期间大鼠可自由饮水及进食, 适应性饲养 7d 后, 随机分为正常组(例数 = 10)、实验组(例数 = 70), 进行 STZ 一次性腹腔注射, 对胰岛 β 细胞进行选择性破坏, 诱发实验性糖尿病; 临时将 pH 4.4、0.1 mmol/L 无菌柠檬酸钠缓冲液配制为 1% 的 STZ 溶液, 根据大鼠体重, 进行 1% STZ 一次性左下腹腔注射, 65 mg/kg, 正常组注射体积相同的 0.9% 氯化钠注射液, 建立模型前大鼠 12 h

禁食,72 h 后尾静脉取血,予以快速血糖仪检测血糖;血糖超过 16.7 mmol/L 者则为糖尿病大鼠模型;随机分为对照组(多贝斯对照组)(20 只)、治疗组(芪参益气滴丸组)(30 只)、糖尿病模型组(模型组)(20 只)、正常组(例数 = 10);成功建立大鼠模型后第二天对照组及治疗组给药,灌胃给药 1 次/d,剂量均为 0.5 g/kg,应用蒸馏水配制羟苯磺酸钙胶囊、芪参益气滴丸,配制药物溶液为 100 mg/mL,1 次/周,于 4 ℃ 冰箱内置存;正常组大鼠予以 1 mL 0.9% 氯化钠溶液灌胃;实验周期为 10 个月,期间予以大鼠血糖和体重定期检测;视网膜切片制备:结束试验后将大鼠处死,由颈动脉处放血,将眼球摘除,24 h 内在 4 ℃ 下应用 4% 多聚甲醛固定,顺角膜边缘将眼球壁剪开,将玻璃体、晶体、角膜除去,剩下的眼杯置入固定液内再次 48 g 固定,梯度乙醇脱水,石蜡包埋,二甲苯透明,SAKURA CRM-440 型病理切片连续切片,3 μm 切片厚度;进行标记链霉亲和素-生物素过氧化物酶法(LSAB)进行 GS、GLAST 免疫组织化学染色:1)石蜡切片脱蜡,梯度乙醇水化;2)5 min 流水漂洗,5 min 磷酸盐缓冲液,洗涤两次;3)15 min 3% 双氧水氧化,将内源性过氧化物酶消除,5 min 流水漂洗,5 min PBS 洗涤两次;4)室温下 10% 正常牛血清(BSA)滴加,20 min 湿盒孵育;5)在不同的切片内滴加一抗:兔抗人 GS 多抗 1:50 和兔抗人 GLAST 多抗 1:1800,24 h 室温下孵育湿盒,5 min PBS 洗涤三次;6)LSAB 二抗滴加,90 min 室温下湿盒孵育,5 min PBS 洗涤三次;7)LSAB 三抗滴加,90 min 室温下湿盒孵育,5 min PBS 洗涤三次;8)0.5 min-1 min 部分切片苏木素复染,未复染部分 3 min 流水冲洗,进行图像分析;梯度乙醇脱水,风干,二甲苯透明,树脂中性封片;在光学显微镜下监测所得切片,予以 Image Plus Pro6.0 图像分析系统定量分析未复染切片,每只大鼠取切片两张,200 倍下随机选择视野 10 处,计算阳性表达积分密度值(IOD), $IOD = \text{平均光密度} \times \text{面积}$ 。见图 1 ~ 图 8。

1.5 统计学方法 全部数据进行 SPSS 18.0 软件系统处理,计量资料进行 *t* 检验,用($\bar{x} \pm s$)表示, $P < 0.05$ 差异则具有统计学意义。

2 结果

2.1 4 组视网膜表达 GLAST 表达 IOD 值情况 对照组、模型组、治疗组的大鼠视网膜 GFAP 阳性表达 IOD 值显著低于正常组,差异有统计学意义($P < 0.05$);治疗组、对照组的大鼠视网膜 GFAP 阳性表达 IOD 值显著高于模型组,差异有统计学意义($P <$

0.05);治疗组的大鼠视网膜 GFAP 阳性表达 IOD 值显著高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

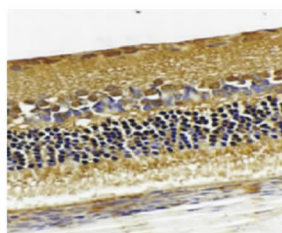


图 1 GLAST 在正常组视网膜的表达,LSAB 法 ×400, 苏木素复染。

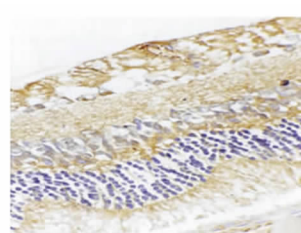


图 2 GLAST 在模型组视网膜的表达,LSAB 法 ×400, 苏木素复染。

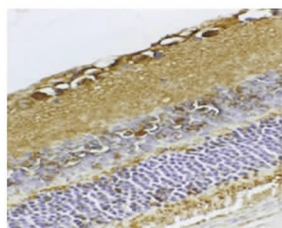


图 3 GLAST 在治疗组视网膜的表达,LSAB 法 ×400, 苏木素复染。



图 4 GLAST 在对照组视网膜的表达,LSAB 法 ×400, 苏木素复染。



图 5 GS 在正常组大鼠视网膜的表达,LSAB 法 ×400, 未复染。



图 6 GS 在模型组大鼠视网膜的表达,LSAB 法 ×400, 未复染。

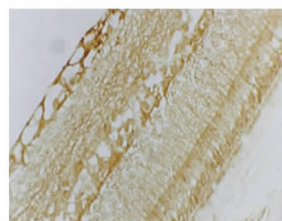


图 7 GS 在治疗组大鼠视网膜的表达,LSAB 法 ×400, 未复染。

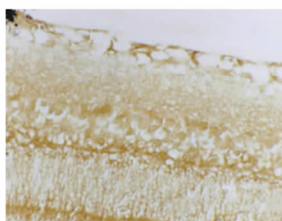


图 8 GS 在对照组大鼠视网膜的表达,LSAB 法 ×400, 未复染。

2.2 4 组视网膜表达 GS 表达 IOD 值变化情况 对照组、模型组、治疗组的大鼠视网膜 GS 阳性表达 IOD 值显著低于正常组,差异有统计学意义($P < 0.05$);治疗组、对照组的大鼠视网膜 GS 阳性表达 IOD 值显著高于模型组,差异有统计学意义($P < 0.05$);治疗组的大鼠视网膜 GS 阳性表达 IOD 值显著高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

表 1 4 组视网膜表达 GLAST 阳性表达 IOD 值情况 ($\bar{x} \pm s$)

组别	GLAST 阳性表达 IOD 值
正常组 (例数 = 10)	7.103 ± 1.519
治疗组 (例数 = 30)	5.332 ± 1.235
模型组 (例数 = 20)	3.852 ± 0.593
对照组 (例数 = 20)	4.304 ± 0.686
t/P1	8.478, <0.05
t/P2	3.708, <0.05
t/P3	7.016, <0.05
t/P4	4.978, <0.05
t/P5	3.383, <0.05
t/P6	2.229, 0.032

注: t/P1 为模型组与正常组比较, $P < 0.05$; t/P2 为治疗组与正常组比较, $P < 0.05$; t/P3 为对照组与正常组比较, $P < 0.05$; t/P4 为治疗组与模型组比较, $P < 0.05$; t/P5 为治疗组与对照组比较, $P < 0.05$; t/P6 为对照组与模型组比较, $P < 0.05$ 。

表 2 4 组视网膜表达 GS 表达 IOD 值变化情况 ($\bar{x} \pm s$)

组别	GLAST 阳性表达 IOD 值
正常组 (n = 10)	8.215 ± 1.621
治疗组 (n = 30)	5.411 ± 1.124
模型组 (n = 20)	3.761 ± 0.562
对照组 (n = 20)	4.415 ± 0.797
t/P1	11.176, <0.05
t/P2	6.097, <0.05
t/P3	8.687, <0.05
t/P4	6.064, <0.05
t/P5	3.425, <0.05
t/P6	3.000, <0.05

注: t/P1 为模型组与正常组比较, $P < 0.05$; t/P2 为治疗组与正常组比较, $P < 0.05$; t/P3 为对照组与正常组比较, $P < 0.05$; t/P4 为治疗组与模型组比较, $P < 0.05$; t/P5 为治疗组与对照组比较, $P < 0.05$; t/P6 为对照组与模型组比较, $P < 0.05$ 。

3 讨论

本研究探析糖尿病大鼠予以芪参益气滴丸对大鼠视网膜谷氨酰胺合成酶及谷氨酸转运体的表达影响, 研究结果与马栋等^[16]的研究结果大体一致, 谷氨酸为视网膜的最重要的兴奋性神经递质, 神经节细胞、双极细胞、光感受器的递质均为谷氨酸, 谷氨酸的浓度不同, 其传递的信号也具有一定的差异, 而谷氨酸高浓度具有兴奋性毒性, 谷氨酸的清除降低或生成增加是导致神经细胞凋亡的主要病理机制, 视网膜中的双极细胞及神经节细胞中谷氨酸的唯一源头为 Müller 细胞, 同时可清除视网膜内外过量的谷氨酸, 其细胞内的谷氨酰胺合成酶及包膜的谷氨酸转运体是谷氨酸降解、转运的重要过程^[17]; 谷氨酰胺合成酶只在 Müller 细胞内存在, Müller 细胞对 RGCs 避免谷氨酸度毒性侵害的作用与 GLAST 的数量及功能密切相关; 在谷氨酰胺合成酶的作用下, 谷氨酸可转化为谷氨酸胺, 由 Müller 细胞向细胞外释

放, 同时神经细胞摄取 Gln; 传统医学认为, 糖尿病属于“消渴”范畴, 素体燥热偏盛, 阴津亏损, 伤阴耗气, 引发阴阳两虚、气阴两虚, 瘀阻络脉, 血行不畅; 燥热阴虚、气弱脾虚, 阴损及阳, 目失所养是糖尿病视网膜病变的基础病机; 糖尿病视网膜病变的进展病机为气弱脾虚, 因虚致瘀, 闭塞目窍, 其证候特征为虚实夹杂, 本虚标实; 糖尿病视网膜病变的增殖前期及单纯期均为气阴两虚证, 增殖期为血瘀气滞、阴阳两虚; 对糖尿病进行活血益气疗法可防止病变向阴阳两虚状态转变; 芪参益气滴丸有降香、三七、丹参、黄芪组成, 方中降香辛散气香, 行滞温通; 三七和丹参可通络祛瘀活血, 同为臣药; 黄芪为君药, 可补气, 祛瘀不伤正, 气旺则血行, 促进津液运行; 现代药理研究表明, 黄芪的主要有效成分为微量元素、氨基酸、黄酮、皂苷、多糖; 其中黄芪多糖可提高机体的缺氧耐受能力, 通过抗氧化功能, 促使抗氧化酶的 GSH-Px、SOD 的活性增强, 促使细胞膜稳定, 促使凋亡抑制基因 bcl-2 的表达水平提高, p53 促凋亡基因的表达下降, 降低损伤神经细胞, 延缓神经细胞凋亡进程; 可促进受损后恢复神经功能, 对神经胶质细胞急性脑缺血期的过量表达水平进行抑制; 丹参酮及丹参素可缓解微循环障碍, 全血粘度下降, 对血小板集聚功能进行抑制; 避免脂质的过氧化, 阻断生成羟自由基。综上所述, 芪参益气滴丸可促进视网膜 GS 和 GLAST 的表达, 降低谷氨酸的高浓度兴奋性毒性功能, 保护视网膜神经细胞。

参考文献

[1] 许建斌, 谢茂松, 胡建章, 等. 早期糖尿病大鼠视网膜 Hsp27 表达的研究[J]. 中国实用眼科杂志, 2015, 33(3): 307-310.

[2] 邓辉, 金明, 苑维, 等. 芪参益气滴丸对糖尿病大鼠视网膜谷氨酸转运体及谷氨酰胺合成酶表达的影响[J]. 中国中医眼科杂志, 2011, 21(4): 197-200.

[3] 曾凯宏, 许红霞, 张亚洁, 等. 牛磺酸对糖尿病大鼠视网膜谷氨酰胺合成酶表达的影响[J]. 中国糖尿病杂志, 2009, 17(4): 302-304.

[4] 张海宁, 惠延年. 高浓度葡萄糖对体外培养大鼠 Müller 细胞 P2Y2 受体的影响[J]. 国际眼科杂志, 2011, 8(4): 714-720.

[5] 曾凯宏, 许红霞, 糜漫天, 等. 牛磺酸对高糖刺激大鼠视网膜 Müller 细胞 GLAST 和 GS 表达的影响[J]. 国际眼科杂志, 2013, 8(1): 41-44.

[6] 李悦, 魏锐利. 小鼠视网膜急性谷氨酸损伤后囊泡膜与质膜谷氨酸转运体的表达[J]. 国际眼科杂志, 2009, 9(6): 1051-1055.

[7] 熊鲲, 黄菊芳, 蒋丽珠, 等. 脑源性神经营养因子对急性高眼压后大鼠视网膜 Müller 细胞的影响[J]. 解剖学杂志, 2012, 29(1): 14-17, 109.

意义 ($P < 0.01$)。同桔梗单用组比较,桔梗配伍不同中药组的抑制作用较强,其中桔梗配伍麦冬组及桔梗配伍蛇床子组效果显著 ($P < 0.01$),桔梗配伍莪术组在抑制作用方面虽然由于桔梗单用组,但差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 2,图 2、图 3。

4 结论

从上述实验结果可以看出,桔梗含药血清对于 4T1 细胞的增殖具有抑制作用,且在配伍麦冬、莪术、蛇床子后,其含药血清的抑制作用更强,特别是桔梗配伍莪术组,效果显著。在抑制细胞侵袭方面,桔梗单用组含药血清同对照组比较差异有统计学意义,且配伍不同中药后,效果更为明显,其中桔梗配伍麦冬及桔梗配伍蛇床子组效果最优。

综上所述,中药桔梗配伍不同治则含药血清对 4T1 细胞的增殖及侵袭确有不同程度抑制作用,其具体作用机制仍需进一步实验研究。

参考文献

[1] Seow A, Duffy S, McGee M, et al. Breast cancer in Singapore: trends in incidence 1968-1992. *Int J Epidemiol*, 1996, 25(1): 40-45.

- [2] Lag R, Harkins D, Krapcho M, et al. SEER Cancer Statistics Review, 1975-2006, National Cancer Institute [M]. Bethesda, MD: My Publications, 2006.
- [3] Jemal A, Bray F, Center MM, et al. Global cancer statistics [J]. *CA Cancer J Clin*, 2011, 61(2): 69-90.
- [4] 邱梅清, 佟仲生, 郝春芳, 等. 乳腺癌肺转移 117 例临床病例特征及预后相关因素分析 [J]. *肿瘤*, 2012, 32(11): 907-912.
- [5] 赫捷, 赵平, 陈万青. 2011 中国肿瘤登记年报 [M]. 北京: 军事医学科学出版社, 2012: 89-90.
- [6] 刘玲琳, 刘胜. 乳移平配伍肺经引经药桔梗抗乳腺癌肺转移作用及机制的实验研究 [J]. *上海中医药杂志*, 2010, 44(10): 61-65.
- [7] Klover P, Hennighausen L. Postnatal body growth is dependent on the transcription factors signal transducers and activators of transcription 5a/b in muscle: a role for autocrine/paracrine insulin-like growth factor I [J]. *Endocrinology*, 2007, 148(4): 1489-1497.
- [8] 胡啸明, 刘胜. 乳腺癌肺转移的机制研究进展及其临床指导作用 [J]. *癌症进展*, 2016, 14(1): 43-45.
- [9] 俞泓波, 刘胜, 胡啸明, 等. 桔梗配伍对乳腺癌肺转移细胞株的干预作用 [J]. *上海中医药大学学报*, 2016, 30(2): 52-56.
- [10] 徐书云. 药理实验方法学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 882-906.

(2015-01-27 收稿 责任编辑: 张文婷)

(上接第 1855 页)

- [8] 杨琨, 董方田. 新生大鼠视网膜 Müller 细胞原代培养方法的改良 [J]. *中华实验眼科杂志*, 2012, 30(4): 336-339.
- [9] 周臻, 张绍丹, 李颖, 等. Müller 细胞在视网膜绿光损伤模型中的激活反应 [J]. *中国实验动物学报*, 2011, 19(4): 287-291.
- [10] 陈惠军, 宋舜意, 李志萍, 等. 雌激素干预对高浓度氧致新生大鼠视网膜细胞损伤的影响 [J]. *中国新生儿科杂志*, 2011, 26(6): 411-415.
- [11] 郭龙, 许惠卓, 夏晓波, 等. 高糖对视网膜 Müller 细胞 VEGF、EPO 和 EPORmRNA 表达的影响 [J]. *国际眼科杂志*, 2010, 10(3): 449-452.
- [12] 薛黎萍, 丁鹏, 吴开力, 等. Nestin 和 GFAP 在缺氧大鼠视网膜神经胶质细胞中的表达及高氧治疗的作用 [J]. *中国病理生理杂志*, 2009, 25(6): 1214-1216, 1243.

- [13] 薛黎萍, 丁鹏, 吴开力, 等. Nestin 在视神经横断大鼠视网膜 Müller 细胞上的诱导表达 [J]. *国际眼科杂志*, 2014, 9(3): 433-436.
- [14] 刘坤, 万瑾, 郑华, 等. 小鼠视神经 Müller 细胞在深层血管发育中的作用 [J]. *中国循环研究杂志*, 2011, 1(1): 12-15.
- [15] 郝长英, 陈明霞, 郭平, 等. 糖网明目颗粒对糖尿病大鼠视网膜病变防治作用及机制研究 [J]. *中国中医药信息杂志*, 2015, 1(3): 62-66.
- [16] 马栋, 王静波, 郭承伟, 等. 络治法对 STZ 诱导的糖尿病大鼠视网膜 NF- κ B 表达的影响 [J]. *中国中医眼科杂志*, 2015, 2(4): 82-86.
- [17] 何洁, 韩静, 郝改梅, 等. 糖尿病大鼠视网膜血管消化铺片技术的改进及技巧探讨 [J]. *中国中医眼科杂志*, 2015, 1(1): 1-5.

(2015-12-02 收稿 责任编辑: 张文婷)