

人羊膜匀浆上清液抑制兔角膜新生血管的研究

韩玉萍 李 冰 王丽洁

Suppression of corneal neovascularization by human amniotic homogenate in rabbits

Han Yuping, Li Bing, Wang Lijie. Shanxi Ophthalmic Hospital, Taiyuan 030002, China

Abstract Objective Corneal neovascularization (CNV) is a long-lasting problem in clinic, and it is a major factor leading to blindness. Present study aimed to investigate the effects of human amniotic homogenate on corneal neovascularization in rabbits. **Methods** Intermediate CNV model was induced by putting the 1 mol/L NaOH filter in the central cornea for 1 minute and identified on the Hughes' s grade in 60 New Zealand white rabbits, and 3 normal New Zealand white rabbits were as control group. Sixty model rabbits were randomly assigned to four groups. The protein level in human amniotic homogenate was determined by Bradford method. 50, 200 and 400 $\mu\text{g}/\text{mL}$ amniotic supernatant was topically used for 6 times daily in model eyes of group B, C, D separately, and PBS was topically used at the same way in normal eyes and model eyes of group A. The area of CNV was calculated by computer image analysis system at 1, 3, 5, 7, 14 and 28 days. Three rabbits of every group were killed at 1, 5, 7, 14 and 28 days for histopathological examination under the light microscope. Polymorphonuclear leukocyte (PMNL), capillary vessels and the expression of VEGF in corneas were detected with computer image analysis system. **Results** Areas of the CNV was gradually increased with time in PBS group. However, the CNV area was smaller after different dose of amniotic supernatant treated, showing statistically significant differences upon the drug dose and time ($P < 0.01$). The significant differences were seen in capillary vessels number, PMNL infiltration and VEGF expression in cornea between 1, 5, 7, 14 and 28 days groups ($P < 0.01$) with the most significant difference in 400 $\mu\text{g}/\text{mL}$ amniotic supernatant group. A positive correlation was found between VEGF expression and PMNL infiltration ($r = 0.861, P < 0.01$) or between VEGF expression and the number of capillary vessel ($r = 0.656, P < 0.01$). **Conclusion** Supernatant of fresh homogenized amnion can inhibit and restrain the growth of corneal new blood vessel through inhibition of PMNL releasing VEGF, and the suppression effect is stronger in the dose of 400 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

Key words amniotic membrane; alkali burn; corneal neovascularization; vascular endothelial growth factor; polymorphonuclear leukocyte

摘要 目的 观察人羊膜匀浆上清液对家兔角膜新生血管(CNV)的抑制作用。**方法** 63只新西兰白兔随机选取3只作为正常对照组,余60只制作双眼碱烧伤模型,随机分为4个组:A组为碱烧伤对照组滴用PBS液,B、C、D组为实验组分别滴用50、200、400 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的羊膜匀浆上清液。术后1、5、7、14、28 d 每组分别随机处死3只兔子,行组织病理学检查,测量微血管数量、多形核白细胞(PMNL)含量、血管内皮生长因子(VEGF)的表达量。**结果** 碱烧伤1、5、7、14、28 d 各时间点 CNV 的生长面积、微血管计数、PMNL 浸润、VEGF 的表达4个组差异均有统计学意义($P < 0.01$),其中D组均数最小。VEGF、PMNL、微血管计数三者呈正相关($P < 0.01$)。**结论** 羊膜匀浆上清液有减轻角膜血管化的作用,呈质量浓度依赖性,质量浓度达到400 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时抑制作用显著增强。

关键词 羊膜; 碱烧伤; 角膜新生血管; 血管内皮生长因子; 多形核白细胞

分类号 R 772 **文献标识码** A **文章编号** 1003-0808(2009)01-0015-04

角膜新生血管(corneal neovascularization, CNV)常见于角膜炎、角膜化学烧伤等疾病。CNV能破坏角膜

正常微环境,从而破坏眼前节生理免疫赦免状态,亦是角膜移植术后发生排斥反应的高危因素^[1]。目前虽有多种治疗方法,但效果均不理想。近年来羊膜移植在眼表烧伤方面应用的研究日益受到重视,但羊膜匀浆上清液对碱烧伤治疗的研究报道甚少。

本课题为山西省卫生厅科技攻关项目资助(200320)

作者单位:030002 太原,山西省眼科医院

通讯作者:韩玉萍 (Email: hypwrj1999@yahoo.com.cn)

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物及分组 健康成年新西兰白兔 63 只 (山西医科大学动物中心提供), 雄性, 体重 2 ~ 3 kg, 选取 60 只制作双眼碱烧伤模型, 其余 3 只作为正常对照组。采用抽签法将其随机分为 A、B、C、D 组, 每组 15 只。A 组为碱烧伤对照组, B、C、D 组为实验组。

1.1.2 主要试剂 Elivition™ plus 免疫组织化学染色盒、酶标羊抗鼠/兔聚合物 DAB 显色液 (福建迈新生物技术开发公司), 鼠/兔抗人血管内皮生长因子 (vascular endothelial factor, VEGF) 多克隆抗体 (美国 Labvision 公司)。

1.2 方法

1.2.1 动物模型的建立 采用碱烧伤的方法建立兔 CNV 模型, 并依据 Hughes 分度法^[2] 确认为中度。

1.2.2 测定羊膜匀浆上清液蛋白含量 制备羊膜匀浆上清液^[3], 采用 Bradford 法^[4] 测定羊膜匀浆上清液光密度值, 根据标准曲线得出方程式计算蛋白质量浓度 (近似 800 mg/L)。

1.2.3 CNV 的动态定量分析 碱烧伤前 3 d 所有实验兔双眼给予泰利必妥滴眼液点眼, 每日 2 次。裂隙灯检查排除眼部病变。碱烧伤后即刻分别给予 B、C、D 组各 50、200、400 μg/mL 羊膜匀浆上清液点眼, 每日 6 次, 每次 2 滴; A 组和正常对照组均给予 PBS 液点眼, 每日 6 次, 每次 2 滴。所有兔同时给予泰利必妥滴眼液点眼预防感染, 每日 4 次。烧伤后 24 h 裂隙灯下观察新生血管长度、数目、累及角膜范围, 分别于术后 1、3、5、7、14、28 d 行兔双眼照相, 记录 CNV 长度并计算面积。长度计算: 以连续弯曲度小、CNV 朝向角膜混浊中心生长的最长血管为准, 并计算 CNV 面积, 计算公式见文献^[5]。

1.2.4 组织病理学检查 分别于术后 1、5、7、14、28 d 每组随机处死 3 只白兔, 无菌条件下取带 2 mm 宽巩膜的兔角膜组织 (一分为二, 分别做苏木精 - 伊红染色和免疫组织化学染色), 10% 甲醛固定, 常规石蜡包埋, 垂直于角膜表面连续切片, 厚约 5 μm。采用 Elivition™ plus 免疫组织化学染色盒进行染色。其中一抗为鼠/兔抗人 VEGF 多克隆抗体, 染色过程中加入内源性过氧化物酶阻断剂, 二抗为酶标羊抗鼠/兔聚合物 DAB 显色液, 阳性显色为棕褐色; 每次染色均用 PBS 代替一抗作为阴性对

照。利用 Image-Pro Plus 5.0 图像分析系统对苏木精 - 伊红染色切片行微血管计数及多形核白细胞 (polymorphonuclear leukocyte, PMNL) 计数, 对免疫组织化学染色切片行 VEGF 积分吸光度值测量。规定细胞浆黄色为 (+), 棕色为 (++) , 棕黑色为 (+++)。

1.3 统计学方法

计量资料所有数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 SPSS 13.0 统计学软件对数据进行统计学处理。对各组、各时间点微血管计数、PMNL 计数及 VEGF 积分吸光度值的总体差异进行方差分析, 采用 SNK-q 检验进行组间两两比较, 对微血管计数与 PMNL 计数进行相关分析。P < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 裂隙灯观察结果

正常对照组角膜透明, 表面光滑 (图 1)。A 组碱烧伤 1 d 时可见损伤区角膜上皮高度水肿, 角膜缘重度睫状充血; 3 d 时可见角膜缘处有新生血管芽呈毛刷状伸入透明角膜区, 14 d 时 CNV 累及范围 > 3/4 象限, 交织成网状 (图 2), 28 d 时, CNV 逐渐退化。D 组 CNV 出现时间最早为 6 d, 与对照组相比差异有统计学意义 (P < 0.01); B 组、C 组与对照组相比差异均无统计学意义 (P > 0.05); 实验组碱烧伤 1 d 时角膜损伤程度较轻; 14 d 时血管管径较细、分布稀疏, 累及范围 < 3/4, 其中 D 组 CNV 累及范围 < 1/2 象限 (图 3); 28 d 时, 大部分毛细血管已退化, 仅剩成熟血管。CNV 面积在各个时间点 4 个组间比较差异均有统计学意义 (P < 0.05), 各组均数比较 D 组 CNV 面积最小 (表 1)。

2.2 病理组织切片观察及微血管计数、PMNL 计数

正常对照组角膜各层排列规则 (图 4)。A 组碱烧伤 1 d 时, 上皮层缺失, 无 CNV, 有散在 PMNL; 5 d 时, 上皮层仍未修复, 基质层胶原纤维断裂溶解, 可见大量 CNV, 管腔小, 腔内无红细胞, 其周围 PMNL 浸润明显增多; 14 d 时, 单层角膜上皮细胞排列疏松、紊乱, 全基

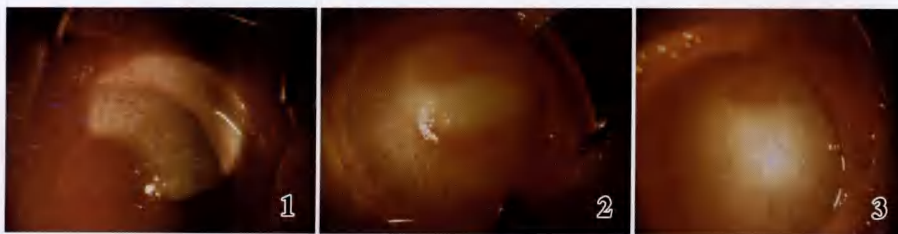


图 1 正常对照组 图 2 对照组碱烧伤 14 d, 大量 CNV 深入角膜中央, 累及整个角膜缘 (×16)

图 3 400 μg/mL 羊膜匀浆上清液组 CNV 进一步减少, 腔小、径细, 累及范围 < 1/2

Fig. 1 Normal control group Fig. 2 At day 14 after alkali burn, lots of new blood vessels were observed in the center of cornea in PBS group (×16) Fig. 3 At day 14 after alkali burn, CNV was obviously decreased with finer channel in < 1/2 limbus in 400 μg/mL amniotic supernatant group (×16)

表 1 不同羊膜匀浆上清液组与对照组 CNV 的比较($\bar{x} \pm s, \text{mm}^2$)

Table 1 Comparison of the CNV in experimental groups and control group($\bar{x} \pm s, \text{mm}^2$)

Group	n	CNV in different time after corneal alkali burn			
		5 d	7 d	14 d	28 d
PBS	6	33.39 ± 0.13	46.39 ± 1.06	47.77 ± 0.30	43.13 ± 0.59
50 μg/mL AM	6	28.55 ± 2.08 ^c	36.14 ± 3.56 ^{efi}	43.77 ± 0.26 ^{ef}	36.98 ± 4.62 ^{efi}
200 μg/mL AM	6	17.79 ± 2.71 ^c	26.22 ± 2.61 ^{efi}	31.84 ± 1.23 ^{ef}	24.94 ± 2.46 ^{efi}
400 μg/mL AM	6	0	13.93 ± 2.98 ^c	17.53 ± 0.68 ^c	13.84 ± 1.85 ^c

$F_{\text{group}} = 3162.41, P < 0.01; F_{\text{time}} = 11145.05, P < 0.01; ^c P < 0.01$ vs respective PBS group, $^f P < 0.01$ vs respective 5 days value, $^i P < 0.01$ vs respective 14 days value group (Two-way ANOVA, SNK-q test)

AM: amniotic homogenate supernatant

质层大量 PMNL 浸润, CNV 管腔扩大, 管腔内有成熟红细胞(图 5); 28 d 时, 上皮细胞增至 4~5 层, 仍排列紊乱, PMNL 浸润轻微, 残留大量成熟血管。实验组碱烧伤 1 d 时, 上皮部分缺失, 未见 CNV 及明显 PMNL 浸润; 5 d 时, 上皮层基本愈合, 排列尚整齐, B 组、C 组浅基质层有散在炎性细胞浸润, 周围可见 CNV, D 组 PMNL 浸润较轻, 未见 CNV; 14 d 时, PMNL 浸润较 5 d 时均有所增加(图 6); 28 d 时, CNV 基本退化, D 组 CNV 最少、上皮细胞排列最接近正常、基质排列更整齐、增生不明显。微血管计数、PMNL 计数各个时间点各组比较差异均有统计学意义($P < 0.01$)。D 组微血管密度最低、PMNL 浸润最轻。微血管计数与 PMNL 计数呈正相关($r = 0.835, P < 0.01$)(表 2, 3)。

2.3 免疫组织化学染色检测 VEGF 的表达

正常对照组兔角膜上皮细胞染色阳性。碱烧伤 1 d 时, A 组角膜缘处散在的炎性细胞胞浆内 VEGF 阳性染色积分吸光度值较低; 实验组未见 VEGF 染色阳性。5 d 时, 阳性表达向角膜中央及基质层延伸, 在浅基质层、角膜缘及新生血管内皮细胞, A 组 VEGF 阳性染色积分吸光度值明显增加; B 组、C 组染色(+) ; D 组染色(-)。14 d 时, A 组 VEGF 分布于整个血管化的角膜, 阳性染色(+++) ; B 组、C 组染色(++); D 组染色(+)。28 d 时, A 组及实验组 VEGF 表达均减弱。VEGF 积分吸光度值, 各个时间点 4 个组比较差异有统计学意义($P < 0.05$), 各组均数比较 D 组 VEGF 表达最少(表 4)。VEGF 积分吸光度值与 PMNL 计数呈正相关($r = 0.861, P < 0.01$), VEGF 与微血管计数呈正相关($r = 0.656, P < 0.01$)。

表 2 不同羊膜匀浆上清液组与对照组微血管计数均数的比较($\bar{x} \pm s, \text{支/视野}$)

Table 2 Comparison of the capillary vessels in experimental groups and control group($\bar{x} \pm s, \text{branches/field}$)

Group	n	Capillary vessel in different time after corneal alkali burn			
		5 d	7 d	14 d	28 d
PBS	6	12.33 ± 2.08	23.33 ± 2.07	34.32 ± 2.52	22.67 ± 1.53
50 μg/mL AM	6	9.67 ± 1.53 ^c	19.64 ± 2.52 ^{efi}	26.00 ± 2.00 ^{ef}	18.33 ± 2.52 ^{efi}
200 μg/mL AM	6	6.00 ± 1.00 ^c	16.00 ± 1.01 ^{efi}	25.00 ± 2.00 ^{ef}	16.67 ± 2.52 ^{efi}
400 μg/mL AM	6	0	6.00 ± 1.73 ^c	13.33 ± 2.08 ^c	9.00 ± 2.00 ^c

$F_{\text{group}} = 63.92, P < 0.01; F_{\text{time}} = 404.551, P < 0.01; ^c P < 0.01$ vs respective PBS group, $^f P < 0.01$ vs respective 5 days value, $^i P < 0.01$ vs respective 14 days value (Two-way ANOVA, SNK-q test)

AM: amniotic homogenate supernatant

表 3 不同羊膜匀浆上清液组与对照组 PMNL 计数均数的比较($\bar{x} \pm s, \text{个/视野}$)

Table 3 Comparison of the PMNL in experimental groups and control group($\bar{x} \pm s, \text{cells/field}$)

Group	n	PMNL in different time after corneal alkali burn			
		5 d	7 d	14 d	28 d
PBS	6	14.28 ± 0.65	19.72 ± 0.47	25.84 ± 0.58	31.00 ± 0.53
50 μg/mL AM	6	13.13 ± 0.12 ^c	17.44 ± 0.47 ^{ef}	19.76 ± 0.50 ^{efi}	28.94 ± 0.41 ^{efi}
200 μg/mL AM	6	9.27 ± 0.25 ^c	13.10 ± 0.87 ^{ef}	18.65 ± 0.50 ^{efi}	24.58 ± 0.52 ^{efi}
400 μg/mL AM	6	4.93 ± 0.30 ^c	6.81 ± 0.42 ^c	11.53 ± 0.68 ^{efi}	14.18 ± 0.29 ^{efi}

$F_{\text{group}} = 1080.29, P < 0.01; F_{\text{time}} = 1516.973, P < 0.01; ^c P < 0.01$ vs respective PBS group, $^f P < 0.01$ vs respective 5 days value, $^i P < 0.01$ vs respective 7 days value, $^i P < 0.01$ vs respective 14 days value (Two-way ANOVA, SNK-q test)

AM: amniotic homogenate supernatant

3 讨论

角膜内无血管是维持角膜透明和角膜免疫赦免的必要条件, 缺氧、炎症、感染及外伤等均可诱发 CNV。VEGF 有很强的促进血管内皮细胞分裂、增生、迁移和增强血管通透性的作用, 通过介导单核细胞、血管平滑肌细胞趋化以及转化生长因子 β , 参与调控 CNV 的形成; 并且 VEGF 受体广泛存在于血管内皮细胞中, 其他因子的促血管生成作用是全部或部分通过 VEGF 的作

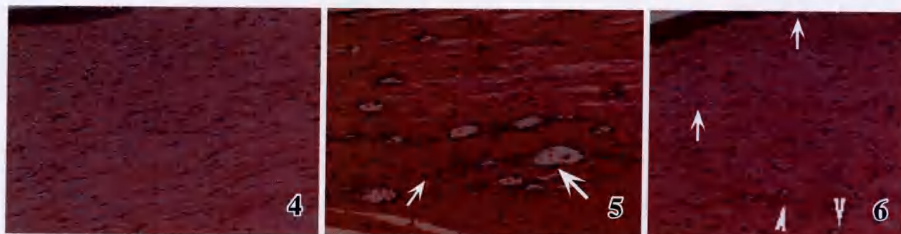


图 4 正常对照组 14 d, 无 CNV 及 PMNL 浸润 (HE × 100) 图 5 碱烧伤对照组 14 d, 大量 CNV, 腔大、壁厚, 内有红细胞(粗箭头), 全基质层大量 PMNL 浸润(细箭头) (HE × 100) 图 6 400 μg/mL 羊膜匀浆上清液组碱烧伤 14 d, CNV 进一步减少(粗箭头), PMNL 浸润进一步减少(细箭头) (HE × 100)

Fig. 4 There was no CNV and PMNL infiltration at day 14 in normal control group (HE × 100) Fig. 5 Lots of neovascularization with bigger channel, thicker wall, red cells (thick arrow) and massive PMNL infiltration could be seen in whole corneal stroma (thin arrow) at day 14 in control group (HE × 100) Fig. 6 There were much less CNV (thick arrow) and much less PMNL infiltration (thin arrow) at day 14 in 400 μg/mL amniotic supernatant group (HE × 100)

表4 不同羊膜匀浆上清液组与对照组 VEGF 积分光密度值的比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 4 OD value of VEGF in experimental groups and control group ($\bar{x} \pm s$)

Group	n	OD value in different time after corneal alkali burn				
		1 d	5 d	7 d	14 d	28 d
PBS	6	180.90 ± 0.40	283.72 ± 0.57	368.87 ± 0.67	418.20 ± 0.26	341.87 ± 2.89
50 μg/mL AM	6	170.43 ± 0.78 ^c	230.63 ± 1.76 ^{cf}	309.50 ± 9.57 ^{ci}	329.37 ± 10.04 ^{cl}	280.67 ± 0.96 ^{co}
200 μg/mL AM	6	136.87 ± 5.27 ^c	188.10 ± 7.38 ^{cf}	242.40 ± 4.19 ^{ci}	283.20 ± 2.75 ^{cl}	198.47 ± 2.22 ^{co}
400 μg/mL AM	6	103.93 ± 0.35 ^c	128.83 ± 1.56 ^{cf}	168.40 ± 3.20 ^{ci}	190.07 ± 1.39 ^{cl}	99.00 ± 1.14 ^{co}

$F_{\text{group}} = 606.52, P < 0.01; F_{\text{time}} = 22182.91, P < 0.01; ^c P < 0.01$ vs respective PBS group, $^f P < 0.01$ vs respective 1 day value, $^i P < 0.01$ vs respective 5 days value, $^l P < 0.01$ vs respective 7 days value, $^o P < 0.01$ vs respective 14 days value (Two-way ANOVA, SNK-q test)

AM: amniotic homogenate supernatant

用得以实现的^[6]。近年来,国内外对 CNV 的治疗在药物治疗、基因治疗、光动力疗法、同位素疗法、眼表重建术等方面做了大量的研究,但效果仍不理想^[7-10]。

羊膜薄而半透明,无血管及神经,其对角膜完全不引起免疫反应,可以看作免疫赦免组织。其本身可以表达多种生长因子促进上皮生长;含有多种新生血管抑制因子,并可以表达多种抗血管形成和抗炎蛋白,如金属蛋白酶组织抑制因子^[11]和血小板反应蛋白-1等,以抑制眼部炎症和新生血管形成。同时,羊膜还能抑制角膜细胞转化为肌成纤维细胞,减少瘢痕形成^[12]。目前临床上已将羊膜移植用于眼表重建,并已取得较为满意的效果,但手术操作较为精细复杂,且部分患者需多次手术。我们将羊膜制成匀浆提取其上清液,观察其对 CNV 的作用,此方法在国内少见报道。

3.1 VEGF 与 CNV 的关系

本研究结果显示对照组碱烧伤 14 d 时新生血管处于增生期,碱烧伤 28 d 为血管退行期,血管密度降低、生长停滞,CNV 的这种形态学变化与碱烧伤后临床上根据眼部组织损伤程度和病变性质的分期基本一致^[13]。对照组碱烧伤 14 d 时角膜 VEGF 表达量显著增加,并达顶峰,28 d 时角膜 VEGF 表达量显著下降,VEGF 表达最初始于角膜缘,逐渐向角膜前 1/3 基质及全角膜基质发展,与 CNV 发生位置一致,且 VEGF 大量表达于 PMNL 胞浆,由此表明 VEGF 是一种重要的新生血管形成因子,其表达与 CNV 密切相关。吴娟等^[14]通过建立大鼠角膜碱烧伤模型,证实 VEGF 表达与角膜炎性反应程度平行,推测 PMNL 浸润可能是 CNV 形成的关键因素,本实验中也观察到相同结果。本实验进一步发现角膜 VEGF 的表达量,在对照组碱烧伤 1 d 即显著升高,CNV 到碱烧伤 4 ~ 5 d

出现,推测 VEGF 对 CNV 的形成有一定的诱导作用。

3.2 羊膜匀浆上清液与 CNV 及 VEGF 之间的关系

我们观察到,PMNL 浸润和 VEGF 表达水平同时下降,且 CNV 的出现较晚、生长速度变慢,认为羊膜匀浆上清液可能是通过抑制 PMNL 释放 VEGF 而抑制炎症性 CNV 形成,与方林彬等^[15]的研究结果一致。将羊膜匀浆上清液分成不同质量浓度治疗碱烧伤,发现当质量浓度为 50 μg/mL 时即可抑制炎症反应及 CNV 形成,且随着质量浓度的增加抑制作用增强,当质量浓度为 400 μg/mL 时可以显著抑制 PMNL 浸润,减少 CNV 面积,推迟 CNV 出现。提示羊膜匀浆上清液中活性物质确实具有抑制 CNV 的作用,主要是通过抑制 PMNL 浸润及抑制 VEGF 表达发挥作用的。

参考文献

- George AJ, Arancibia-carcamo CV, Awad HM, et al. Gene delivery to the corneal endothelium [J]. Am J Respir Crit Care Med, 2000, 162 (2): 194 - 200
- 郑晓汾, 冯克孝, 李冰. 兔角膜碱烧伤后不同时期的组织病理学变化 [J]. 国际眼科杂志, 2005, 5 (3): 449 - 450
- 马翔, Bazan H, 李军. 羊膜培养液抑制角膜新生血管的实验研究 [J]. 中华眼科杂志, 2003, 39 (12): 753 - 755
- 李娟, 张辉庭. 应用考马斯亮蓝法测定总蛋白含量 [J]. 中国生物制品杂志, 2000, 13 (2): 118 - 120
- Tseng SCG, Prabhasawa P, Lee SH. Amniotic membrane transplantation for conjunctival surface reconstruction [J]. Am J Ophthalmol, 1997, 124: 765 - 774
- Zhang QX, Magovern CJ, Mack CA, et al. Vascular endothelial growth factor is the major angiogenic factor in omentum mechanism of the omentum mediated angiogenesis [J]. J Surg Res, 1997, 67 (2): 147 - 154
- Morad Y, Banin E, Averbukh E, et al. Treatment of tissues exposed to nitrogen mustard beneficial effect of zine desferrioxamine combined with steroids [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2005, 46 (5): 1640 - 1646
- Chung JH, Kang YG, Kim HJ. Effect of 0.1% dexamethasone on epithelial healing in experimental corneal alkali wounds: morphological changes during the repair process [J]. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol, 1998, 236 (7): 537 - 545
- 戴超, 卞修武, 史景泉. 诺帝抑制糖尿病大鼠视网膜 VEGF 和 iNOS 的表达及意义 [J]. 第三军医大学学报, 2005, 27 (12): 1232 - 1235
- 孙广莉, 张明昌. 角膜新生血管的治疗研究进展 [J]. 眼科新进展, 2006, 4 (26): 313 - 316
- 杨燕宁, 童林利, 邢怡桥, 等. 小鼠角膜碱烧伤行羊膜移植对 MMP-9、TIMP-1 在新生血管形成中的影响 [J]. 眼科新进展, 2006, 26 (7): 499 - 503
- 邓世靖, 孙旭光. 羊膜在眼科领域应用的基础及临床研究进展 [J]. 国外医学·眼科学分册, 2002, 26 (6): 344 - 348
- 孙秉基, 徐锦堂. 角膜病的理论基础与临床 [M]. 北京: 北京科学技术出版社, 1994: 321 - 322
- 吴娟, 张熙. 血管内皮生长因子与角膜碱烧伤血管新生 [J]. 眼外伤职业眼病杂志, 2005, 27 (5): 321 - 323
- 方林彬, 柯锋, 黄少兰. 抑制碱烧伤兔眼角膜 VEGF 表达的实验研究 [J]. 现代预防医学, 2005, 32 (12): 1634 - 1636

(收稿: 2008-03-02 修回: 2008-11-10)

(本文编辑: 胡纯钢 刘艳)