

牛磺酸对低氧诱导的大鼠视网膜 Müller 细胞 细胞骨架蛋白的影响

陈 芳 糜漫天 陈 卡 许红霞

The effects of taurine on hypoxia-induced retinal Müller cell cytoskeleton damage in rat

Chen Fang, Mi Mantian, Chen Ka, Xu Hongxia. Department of Nutrition and Food Hygiene, College of Preventive Medicine, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China

Abstract Objective Our previous studies have determined that protection of taurine against hypoxia-induced retinal damage is associated with the function of Müller cells. Present study was to explore the effects of taurine on characterized skeleton proteins of retinal Müller cell cultured in hypoxia. **Methods** Retinal Müller cells were isolated from the SD rats aged 7 days. The cells were digested in 0.125% and 0.25% trypsin respectively and passaged 3 days later. Cultured cells were identified by the detect of expression of glial fibrillary acidic protein (GFAP), Vimentin and S-100, the components of cytoskeleton using immunofluorescence. Müller cells were cultured in incubator without air and divided into hypoxia cells group, hypoxia + 0.1 mmol/L taurine group, hypoxia + 1 mmol/L taurine group, hypoxia + 10 mmol/L taurine group, and the cells under the normxia condition were divided into four groups at the same way. Flow cytometry was used to detect the cell cycle of the Müller cells. The cytoskeleton change was studied after 24 hours of hypoxia culture using immunofluorescence. **Results** Cultured cells showed the green or red fluorescense for GFAP, Vimentin respectively and green + red fluorescense for GFAP + S-100 and Vimentin + S-100. The cell cycle distribution under the normxia was 72.57% in G_0/G_1 phase, 18.32% in S phase and 9.12% in G_2/M phase; while the cells was obviously increased, and that of S and G_2/M phase was decreased under the hypoxia condition. The cells was obviously proliferated in S and G_2/M phase but cells was significant decreased in G_0/G_1 phase after treatment of taurine. The positive cells for GFAP and Vimentin increased but the expression ratio of nuclear-cytoplasmic of S-100 decreased in hypoxia group. The overexpression of GFAP and Vimentin in the cells was amended and expression of returned to normal level gradually after pretreated with 0.1, 1 and 10 mmol/L of taurine respectively. **Conclusion** The in vitro study suggests that taurine could decrease or inhibit change of specific protein of Müller cells induced by hypoxia.

Key words hypoxia; retina; taurine; cytoskeleton

摘要 目的 观察牛磺酸对低氧培养的视网膜 Müller 细胞特征性骨架蛋白的影响。 **方法** 体外纯化培养并鉴定大鼠视网膜 Müller 细胞,流式细胞技术检测低氧培养时牛磺酸干预对细胞周期的影响,免疫荧光法观察细胞中的胶质纤维酸性蛋白(GFAP)、波形蛋白和 S-100 的变化。 **结果** 低氧降低 Müller 细胞 24 h 活性,牛磺酸促进阻滞于 G_0/G_1 期的细胞进入 S 期和 G_2/M 期。低氧引起 Müller 细胞 GFAP 和波形蛋白表达增强,S-100 表达核质比降低。0.1、1、10 mmol/L 的牛磺酸预处理减弱低氧引起的 GFAP 和波形蛋白的过表达。S-100 表达核质比在牛磺酸处理后趋于正常。 **结论** 低氧导致的 Müller 细胞特征性蛋白表达变化可被牛磺酸减轻或阻止。

关键词 低氧; 视网膜; 牛磺酸; 细胞骨架

分类号 R 774.1 **文献标识码** A **文章编号** 1003-0808(2009)06-0457-05

本课题为军队“十一五”专项基金资助(06Z028)

作者单位:400038 重庆,第三军医大学军事预防医学院营养卫生学教研室

通讯作者:糜漫天(Email:mimtl@sina.com)

前期实验已证实体内牛磺酸防护视网膜低氧损伤与 Müller 细胞功能相关^[1-2]。Müller 细胞是视网膜代谢的中心^[3-4],在视网膜感染、糖尿病视网膜病变、视网膜缺血低氧等病变中起主要作用^[5-7]。体外研究

证明,低氧时 Müller 细胞对神经细胞有保护作用,提示 Müller 细胞不仅是代谢中心,还参与低氧适应调节。本实验以纯化 Müller 细胞为研究对象,探讨低氧对其功能的影响及牛磺酸的保护效应。通过观察 Müller 细胞的生长特性及周期变化,Müller 细胞特征蛋白胶质纤维酸性蛋白(glia fibrillary acidic protein, GFAP)、波形蛋白和 S-100 的表达,进一步揭示牛磺酸促进 Müller 细胞低氧适应的机制。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验细胞 原代混养的 SD 大鼠视网膜细胞与纯化培养的 Müller 细胞。

1.1.2 主要试剂 DMEM 培养基(德国 Hyclone 公司);胎牛血清(fetal bovine serum, FBS)(奥地利 PAA 公司);鼠抗大鼠波形蛋白抗体、兔抗大鼠 S-100 抗体、兔抗大鼠 GFAP 抗体(武汉博士德公司);羊抗鼠 FITC、羊抗兔 FITC、羊抗兔 TRITC(美国 Santa Cruz 公司);其余试剂均购自美国 Sigma 公司。

1.1.3 主要仪器 Shel Lab 2300 培养箱(美国 Sheldon 公司)、SW-CJ-IC 型超净工作台(苏州安泰公司)、ELx800 酶标仪(美国 Bio TeK 公司)、FACS440 流式细胞仪(美国 BD 公司)、TCS-NT 型激光共焦扫描显微镜(德国 Leica 公司)。自制低氧罐:具有开口盖子的直径为 30 cm 的干燥器,开口处以橡皮塞密封,通过 2 根管子与外界相通,干燥器下层为硫酸铜溶液,上层用于放置细胞培养瓶和培养板。2 根管子各接 2 个出口,管子分别与配制的混合气体罐和真空泵相连。抽气时关闭混合气管,充气时关闭真空泵管。

1.2 方法

1.2.1 大鼠视网膜 Müller 细胞的纯化培养 无菌条件下取生后 7 d 的 SD 大鼠的眼球,青霉素和链霉素双抗 PBS 漂洗 2 次,剥离视网膜,置于 0.125% 胰蛋白酶(含 DNA 酶)中,37 °C 孵育 15 ~ 20 min。充分吹打,含血清的培养基终止消化,不锈钢滤网过滤。800 ~ 1 000 r/min 离心 5 min × 2 次,培养基重悬。调节细胞悬液密度为 3×10^5 个/mL 并接种到培养皿中,37 °C 贴壁 30 min 后将未贴壁的细胞重悬,接种到 50 mL 培养瓶。培养到第 9 天,将培养瓶密封,放入恒温摇床 200 r/min 振荡 24 h。弃去培养基,PBS 漂洗细胞,加入 0.25% 胰蛋白酶消化 15 min,以 1:2 进行首次传代,6 h 细胞贴壁,更换培养基,3 d 后进行第 2 次传代,作为低氧实验细胞。

1.2.2 低氧模型的建立和实验分组 低氧处理参照

王培勇等^[8]的方法进行。将培养细胞置于低氧罐中,密封好后用真空泵抽出罐内空气,然后灌注 95% N₂、5% CO₂ 混合气体,如此反复多次后罐内 O₂ 含量在 1% 以下,将低氧罐放入 37 °C 培养箱进行培养。根据实验设计的低氧时间进行低氧处理。实验分为 8 组:(1)正常对照组;(2)牛磺酸低剂量组:牛磺酸终浓度为 0.1 mmol/L;(3)牛磺酸中剂量组:牛磺酸终浓度为 1 mmol/L;(4)牛磺酸高剂量组:牛磺酸终浓度为 10 mmol/L;(5)低氧组;(6)低氧 + 牛磺酸低剂量组:牛磺酸终浓度为 0.1 mmol/L;(7)低氧 + 牛磺酸中剂量组:牛磺酸终浓度为 1 mmol/L;(8)低氧 + 牛磺酸高剂量组:牛磺酸终浓度为 10 mmol/L。

1.2.3 Müller 细胞的形态观察及鉴定 每日以倒置显微镜观察细胞形态,观察细胞突起长度及细胞贴壁情况。Müller 细胞鉴定用标志物 GFAP、波形蛋白、S-100 联合,免疫细胞荧光双染鉴定。具体步骤:细胞爬片以 4% 多聚甲醛固定 30 min;0.3% H₂O₂ 甲醇溶液室温处理 30 min,灭活内源性过氧化物酶;5% ~ 10% 正常山羊血清封闭 10 min;弃血清,爬片分为 3 组,均滴加 40 μL 的一抗,分别为鼠抗波形蛋白抗体、鼠抗 S-100 抗体、兔抗 GFAP 抗体(阴性对照实验以 PBS 代替一抗),37 °C 孵育 1 h 或室温振荡 30 min 后,4 °C 过夜;PBS 漂洗 3 次后,滴加 100 μL 第一种荧光素标记的二抗工作液,分别是羊抗鼠 FITC、羊抗鼠 FITC、羊抗兔 FITC 37 °C,孵育 30 min;PBS 漂洗,滴加 40 μL 第二抗体的一抗,分别是兔抗 GFAP 抗体、兔抗 S-100 抗体、兔抗 S-100 抗体,37 °C 孵育 1 h 或室温振荡 30 min 后,4 °C 过夜;PBS 漂洗 3 次后,滴加 100 μL 第二种荧光素标记的二抗工作液,均是羊抗兔 TRITC,37 °C 孵育 30 min;PBS 充分漂洗后 10% 甘油封片,激光共焦显微镜观察照相(最大激发波长:490 ~ 500 nm,最大发射波长 510 ~ 520 nm)。

1.2.4 流式细胞术检测细胞周期 以纯化的 Müller 细胞制备细胞密度为 3×10^5 个/mL 的细胞悬液,接种于 50 mL 培养瓶,每瓶接种 5 mL,6 h 后换液分组,处理组加入牛磺酸处理 24 h 后换液,加入新培养基和牛磺酸,立即进行低氧处理。24 h 后取出培养瓶,消化收集各组细胞,800 ~ 1 000 r/min 离心 5 min,PBS 漂洗,再离心,反复 3 次后细胞沉淀以少量 PBS 反复吹散成单细胞悬液。以 -20 °C 的 70% 冷乙醇吹打,继续置于 4 °C 冰箱固定 12 h 以上,期间颠倒混合细胞数次,制得单细胞悬液,密度调整至 10^5 个/mL。加入 RNase 37 °C 反应 30 min,冰浴中止反应,碘化丙啶 4 °C 闭光染色 30 min,用 300 目尼龙网过滤后上流式细胞仪,测定 10 000 个细

胞 DNA 含量和 G₀/G₁、S 及 G₂/M 期细胞比例。

1.2.5 免疫细胞化学荧光染色方法检测骨架蛋白
低氧 24 h 后 Müller 细胞特征蛋白 GFAP、波形蛋白和 S-100 表达,方法同 1.2.3。分析 50 个细胞的相对荧光值。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 10.0 统计学软件对数据进行统计学处理。计量资料所有数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,对所有数据资料的方差齐性检验进行 Levene 分析示方差齐。不同浓度牛磺酸处理后低氧培养的 Müller 细胞在不同细胞周期的分布比较采用单因素方差分析,不同浓度牛磺酸处理组间的多重比较采用 LSD-*t* 检验。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Müller 细胞的纯化培养

原代视网膜细胞培养 24 h 后,细胞聚集并贴壁。接种第 3 天,细胞逐渐爬出细胞团。第 7 天,细胞分散生长,下层细胞平铺于培养瓶表面,上层细胞有大量突起长出(图 1A)。混养的视网膜细胞培养至第 9 天,经过振摇 24 h 后,上层细胞减少至 5% 以下,培养基中含有大量细胞碎片和小细胞;下层细胞分布均匀,生长良好。经过消化传代,细胞贴壁快,30 min 细胞开始贴

壁,并且很快铺展长出突起,4 h 有 80% 细胞贴壁,6 h 有 90% 细胞贴壁,更换培养基后继续培养至细胞长至铺满瓶底,继续传代,得到第 2 代细胞(图 1B)。以 Müller 细胞特征性标识物波形蛋白、S-100 和 GFAP 对细胞进行鉴定,结果所有细胞的 3 种抗体染色均呈阳性(图 1C, D, E),证明经过纯化处理后的细胞是 Müller 细胞。

2.2 纯化 Müller 细胞的生长特性及牛磺酸对低氧下细胞活性的影响

纯化的 Müller 细胞在传代 1 ~ 3 d 处于增生期,4 ~ 7 d 处于稳定生长期,继续培养 1 周后开始衰退。我们采用第 2 代细胞进行低氧实验,低氧时间处于细胞的增生期。流式细胞术检测分析表明,正常氧条件下 Müller 细胞增生活跃,其周期分布: G₀/G₁ 期为 72.57%, S 期为 18.32%, G₂/M 期为 9.12%。低氧可导致 Müller 细胞增生严重受抑, G₀/G₁ 期细胞显著增加, S 期和 G₂/M 期细胞大大减少。牛磺酸处理组处于 S 期和 G₂/M 期的细胞明显增多, G₀/G₁ 期的细胞随着牛磺酸剂量的增加而减少,由低氧时的 90.88% 降为 85.28%、80.25% 和 77.93%,但仍然高于正常对照。牛磺酸处理组 S 期细胞分别提高至 10.81%、13.77% 和 15.40%, G₂/M 期细胞分别提高至 3.91%、5.98% 和 6.67% (表 1)。低氧使细胞周期阻滞于 G₀/G₁ 期,牛磺酸使阻滞于 G₀/G₁ 期的细胞减少而 S 期和 G₂/M 期细胞增多,细胞增生能力得到提高,但仍低于正常水平。

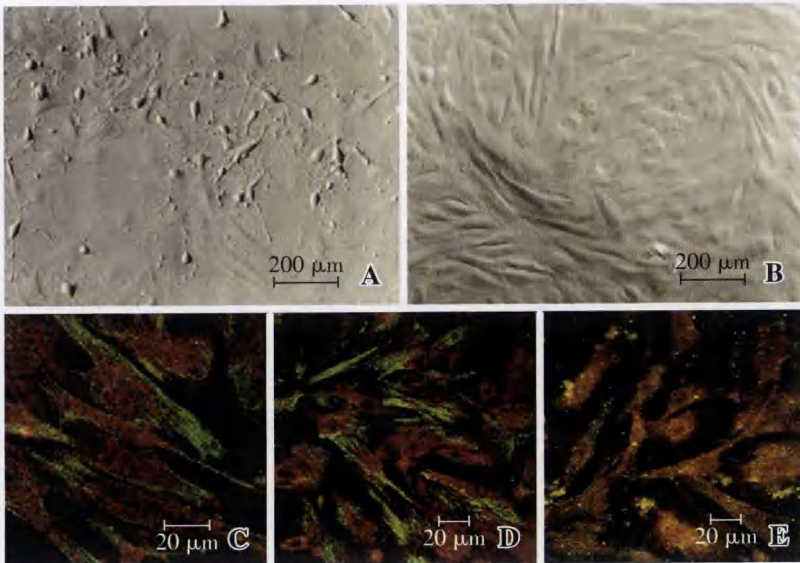


图 1 Müller 细胞的培养及鉴定 A: 原代视网膜混养细胞培养 7 d B: 纯化的第 2 代 Müller 细胞 C: Vimetin (绿色) 联合 GFAP (红色) 鉴定 Müller 细胞 D: Vimetin (绿色) 联合 S-100 (红色) 鉴定 Müller 细胞 E: GFAP (绿色) 联合 S-100 (红色) 鉴定 Müller 细胞

Fig.1 Culture and identification of Müller cell A: 7 days after primary culture of Müller cells B: Purified Müller cells C: Cultured cells show the green and red fluorescence for Vimetin + GFAP D: Cultured cells show the green and red fluorescence for Vimetin + S-100 E: Cultured cells show the green and red fluorescence for GFAP + S-100

表 1 牛磺酸对低氧 Müller 细胞周期的影响 (n = 3)
Table 1 Effect of taurine on cell cycle under the hypoxia condition (n = 3)

Group	Cells in different cycles (%)		
	G ₀ /G ₁	S	G ₂ /M
Control	72.57 ± 1.55	18.32 ± 0.76	9.12 ± 0.66
Hyp	90.88 ± 0.60 ^b	7.79 ± 0.46 ^b	1.33 ± 0.39 ^b
Hyp + L-Tau	85.28 ± 0.58 ^{bc}	10.81 ± 1.03 ^{bc}	3.91 ± 0.41 ^{bc}
Hyp + M-Tau	80.25 ± 1.34 ^{bc}	13.77 ± 1.29 ^{bc}	5.98 ± 0.58 ^{bc}
Hyp + H-Tau	77.93 ± 2.10 ^{bc}	15.40 ± 0.67 ^{bc}	6.67 ± 0.75 ^{bc}
F	57.660	40.590	52.100
P	0.002	0.015	0.007

^b *P* < 0.05 vs respective control value; ^c *P* < 0.05 vs hypovale (One-way ANOVA, LSD-*t* test)

Hyp: hypoxia group, Hyp + L-Tau: hypoxia + 0.1 mmol/L taurine group, Hyp + M-Tau: hypoxia + 1 mmol/L taurine group, Hyp + H-Tau: hypoxia + 10 mmol/L taurine group

2.3 低氧条件下 Müller 细胞特征蛋白的变化
GFAP、波形蛋白、S-100 为 Müller 细胞

的细胞骨架成分。免疫细胞化学荧光染色结果显示,低氧后胞浆 GFAP 的表达均增强,牛磺酸预处理后,其表达下降,0.1 mmol/L、1 mmol/L 的牛磺酸使 GFAP 下降至正常水平,10 mmol/L 的牛磺酸降低 GFAP 至正常水平以下。低氧使 GFAP 表达强度提高了 0.56%,0.1 mmol/L、1 mmol/L 的牛磺酸使低氧后的 GFAP 荧光强度与对照组比较,差异均无统计学意义;10 mmol/L 的牛磺酸低氧组荧光强度减至正常的 0.84% (图 2A),表明牛磺酸能明显降低低氧诱导的 Müller 细胞 GFAP 的过表达。波形蛋白为 Müller 细胞中间丝成分,正常氧条件下,牛磺酸使波形蛋白的表达略有降低,0.1、1、10 mmol/L 的牛磺酸仅使 Vimentin 表达下降了 1.25%、5.03% 和 8.22%。低氧使波形蛋白表达明显提高,为对照组的 2.32 倍,牛磺酸使升高的波形蛋白下降,下降程度与牛磺酸剂量有关,0.1、1、10 mmol/L

的牛磺酸使波形蛋白表达下降了 18.20%、30.88% 和 37.65% (图 2B),明显高于正常氧条件下的表达,提示牛磺酸在低氧时降低波形蛋白表达的作用更强,但无论是否加入牛磺酸,低氧使波形蛋白表达增强的作用是显著的。S-100 在胞浆、胞核中均有表达,胞核中表达较强。低氧和牛磺酸对其表达的影响主要是引起表达部位出现了改变,表现为低氧后胞浆中表达增强,在胞核中表达减弱,即核质比降低,牛磺酸的作用使核质比上升。定量分析结果表明,低氧 24 h 后,S-100 核质比降低到正常对照的 65.39%。正常氧条件下 0.1、1、10 mmol/L 的牛磺酸使 S-100 的核质比提高了 2.28%、3.33% 和 5.32%,低氧下则使核质比提高了 29.00%、31.95% 和 33.20% (图 2C),提示牛磺酸提高 S-100 核质比的作用在低氧时更强。就剂量对核质比的影响来说,实验设定的 3 个剂量的效果差别不大。

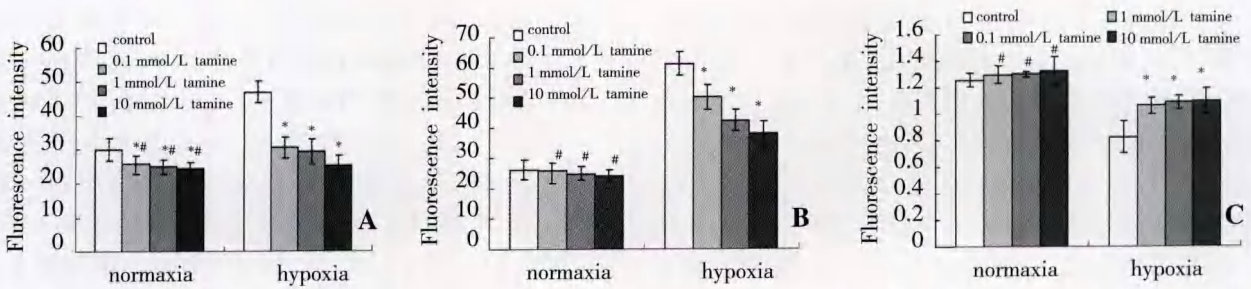


图 2 牛磺酸对低氧下 Müller 细胞特征蛋白的影响 A:GFAP 表达 B:波形蛋白表达 C:S-100 表达 * $P < 0.05$ vs 各自的 control 值, # $P < 0.05$ vs 各自的 hyp 值 (A: $F = 43.010, P = 0.032$ B: $F = 102.540, P = 0.001$ C: $F = 39.540, P = 0.038$)
 Fig. 2 Effect of taurine on characteristic protein of Müller cell in hypoxia A:GFAP expression B:Vimentin expression C:S-100 expression * $P < 0.05$ vs respective control value; # $P < 0.05$ vs respective hyp value (A: $F = 43.010, P = 0.032$ B: $F = 102.540, P = 0.001$ C: $F = 39.540, P = 0.038$)

3 讨论

视网膜节细胞死亡是视神经疾病的最后通路,低浓度的谷氨酸 (25 $\mu\text{mol/L}$) 即可降低节细胞的存活率,当节细胞与 Müller 细胞共培养时,其存活率有所提高。研究发现 Müller 细胞不仅对神经元起营养支持作用,同时还参与了视网膜内神经递质/抑质的调节,其本身也可能产生兴奋性作用。低氧引起神经细胞代谢紊乱,进而刺激 Müller 细胞分泌细胞活性物质,为了避免视网膜神经细胞的影响,单独研究 Müller 细胞对低氧的反应及牛磺酸对 Müller 细胞的直接作用。本实验通过三步法制备纯化的 Müller 细胞进行低氧研究。即利用成纤维细胞的快速贴壁性、Müller 细胞在成熟期具有的强贴壁性和神经细胞在体外不增生、不能传代的特性,通过 1 次短时贴壁,1 次振摇,2 次传代获得纯化的 Müller 细胞,经过鉴定获得的

Müller 细胞纯化度极高,在传代第 2~5 代性能稳定,存活时间长,细胞形态理想,适于评价牛磺酸的抗低氧效应。在猪肾细胞的低氧实验中加入 1、10、20 mmol/L 的牛磺酸时,以台盼蓝染色评价细胞存活率和复氧后的能量状态,发现预先在培养介质中加入牛磺酸的细胞活性呈现剂量-效应关系,在低氧后加入牛磺酸则无效^[9]。因此,牛磺酸给药时间在低氧前 24 h。对细胞周期的分析发现,低氧使大部分细胞滞留于 G_0/G_1 期,S 期和 G_2/M 期细胞大量减少,牛磺酸以剂量依赖方式促进细胞进入 S 期和 G_2/M 期,牛磺酸促进了 Müller 细胞的增生。因此,牛磺酸可能通过改变细胞周期而提高细胞的活性。

GFAP、波形蛋白、S-100 为 Müller 细胞的特征蛋白^[10-11]。在视网膜病理改变中可见其表达异常。链尿佐菌素诱导的糖尿病大鼠 5~6 周可发现 Müller 细胞的 GFAP 表达上升。糖尿病时毛细血管周围胶质细

胞反应性增强,同时伴有 S-100 表达的明显上升。但当毛细血管堵塞时,周围胶质细胞 S-100 表达则无明显变化^[12-14]。波形蛋白为 Müller 细胞的骨架成分之一,对 Müller 细胞起支持作用。GFAP、S-100 在细胞浆和细胞核中均有表达,S-100 在细胞核中表达高,说明 GFAP 和 S-100 参与构成 Müller 细胞的基本形态,可能与 Müller 细胞多种生理活动有关。本实验中观察到在 Müller 细胞细胞浆中波形蛋白大量表达,波形蛋白在 Müller 细胞突起中含量丰富,其分布方向与突起伸展方向一致,可能与参与了突起的位置定向。在细胞核中未见波形蛋白表达,说明波形蛋白不参与核内活动。低氧对 Müller 细胞特征蛋白的影响为,低氧引起 GFAP 和波形蛋白表达增强,表明 Müller 细胞低氧时 GFAP 和波形蛋白反应性增强。波形蛋白的荧光染色可见细胞中间丝排列紊乱,说明低氧对 Müller 细胞骨架系统造成损伤。S-100 表达核质比降低,S-100 在细胞核中表达下降提示低氧也影响到 Müller 细胞核内某些活动。0.1、1、10 mmol/L 的牛磺酸引起 GFAP 和波形蛋白表达增强减弱,S-100 表达核质比在 0.1、1、10 mmol/L 的牛磺酸处理后增强。这些结果提示牛磺酸可影响 Müller 细胞核内的活动,而 HIF-1 的激活是在核内进行的,前期的体内实验证实牛磺酸能够调控 HIF-1 通路的某些因子^[15],因此,牛磺酸对低氧时 Müller 细胞 GFAP、波形蛋白、S-100 的调节与 Müller 细胞的低氧适应有关。

参考文献

- 1 陈芳,糜漫天,白雪.牛磺酸对高原缺氧大鼠视网膜形态结构及 SDH、LDH 活性的影响[J].第三军医大学学报,2006,28(6):565-568
- 2 陈芳,糜漫天,陈卡,等.牛磺酸降低高原低氧时对视网膜谷氨酸兴奋性及其机制[J].营养学报,2008,30(3):243-248
- 3 Reichenbach A, Faude F, Enzmann V, et al. The Müller (glial) cell in normal and diseased retina: a case for single-cell electrophysiology[J]. *Ophthalmic Res*, 1997, 29(5): 326-340
- 4 Newman E, Reichenbach A. The Müller cell: a functional element of the retina[J]. *Trends Neurosci*, 1996, 19(8): 307-312
- 5 Tretiach M, Madigan MC, Wen L, et al. Effect of Müller cell co-culture on in vitro permeability of bovine retinal vascular endothelium in normoxic and hypoxic conditions[J]. *Neurosci Lett*, 2005, 378(3): 160-165
- 6 Pannicke T, Uckermann O, Iandiev I, et al. Ocular inflammation alters swelling and membrane characteristics of rat Müller glial cells[J]. *J Neuroimmunol*, 2005, 161(1-2): 145-154
- 7 Guidry C. The role of Müller cells in fibrocontractive retinal disorders[J]. *Prog Retin Eye Res*, 2005, 24(1): 75-86
- 8 王培勇,刘健,于中和,等.缺氧时肺动脉内皮细胞与肺动脉平滑肌细胞增殖的相互影响[J].生理学报,1998,50(2):199-205
- 9 Wingenfeld P, Gehrman U, Strubind S, et al. Long-lasting hypoxic preservation of porcine kidney cells. Beneficial effect of taurine on viability and metabolism in a simplified transplantation model[J]. *Adv Exp Med Biol*, 1996, 403: 203-212
- 10 Sarthy PV, Fu M, Huang J. Developmental expression of the glial fibrillary acidic protein (GFAP) gene in the mouse retina[J]. *Cell Mol Neurobiol*, 1991, 11(6): 623-637
- 11 Scheef E, Wang S, Sorenson CM, et al. Isolation and characterization of murine retinal astrocytes[J]. *Mol Vis*, 2005, 11: 613-624
- 12 Inayama Y, Hanashi M, Yazawa T, et al. Massive gliosis of the retina: report of a case investigated by immunohistochemistry and clonality assays[J]. *Hum Pathol*, 2005, 36(6): 702-705
- 13 Kaur C, Sivakumar V, Foulds WS. Early response of neurons and glial cells to hypoxia in the retina[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2006, 47(3): 1126-1141
- 14 de Guevara R, Pairault C, Pinganaud G. Expression of vimentin and GFAP and development of the retina in the trout[J]. *CR Acad Sci III*, 1994, 317(8): 737-741
- 15 陈芳,糜漫天,许红霞,等.牛磺酸对缺氧大鼠视网膜缺氧诱导因子-1 α 表达的影响[J].第三军医大学学报,2006,28(7):662-664

(收稿:2009-02-19 修回:2009-03-24)

(本文编辑:刘艳)

消息

眼科基础研究培训班通知

为提高广大眼科工作者基础研究的实际操作技术,为眼科工作者提供眼科基础研究的大方向及具有迫切性的研究目标,天津医科大学眼科中心与 Overseas Chinese Association for Vision and Eye Research 将于 2009 年 8 月 31 日—9 月 1 日举办眼科基础研究培训班。本次培训班主要针对研究生、年轻的临床医师及研究人员,会议邀请到美国南加州大学 Doheny 眼科研究所、美国瑞吉那研究所以及天津医科大学眼科中心有着丰富经验的教授进行演讲并现场给予指导,并为眼科工作者及研究生提供交流及学习机会。希望通过培训班达到“聚焦眼科进展,推动眼科基础研究,追踪国内外眼科领域先进技术、理论”的目标。此次活动为眼科基础教育增添了新的内容,将积极推动眼科继续教育事业。会议请于 2009 年 8 月 15 日前注册,不收取注册费,统一安排食宿,费用自理,授予省市级继续教育学分 4 分。请于 www.tmu.ec.com 下载注册表。

联系人:王新 地址:天津医科大学眼科中心 天津市和平区同安道 64 号 邮编:300070

电话:022 23540610 022 23346430 传真:022 23346434

E-mail: iiite1989@163.com

(天津医科大学眼科中心)