

# 玻璃体内注射塞来昔布对激光诱导大鼠脉络膜新生血管的抑制作用

蔡 岩 王雨生 徐建锋 石圆圆 张朝霞 马吉献

## Inhibiting effect of celecoxib intravitreal injection on choroidal neovascularization in a rat model

Cai Yan, Wang Yusheng, Xu Jianfeng, Shi Yuanyuan, Zhang Zhaoxia, Ma Jixian. Department of Ophthalmology, Institute of Ophthalmology of Chinese PLA, Xijing Hospital, Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, China

**Abstract Objective** Our previous study showed that cyclooxygenase-2 (COX-2) and vascular endothelial growth factor (VEGF) are expressed in choroidal neovascularization (CNV) and the expression of COX-2 is prior to VEGF, indicating that COX-2 is probably one of upstream regulatory factors of VEGF. The aim of this study was to observe inhibition and mechanism of intravitreal injection of celecoxib, a selective COX-2 inhibitor, on experimental choroidal neovascularization in a laser-induced rat model. **Methods** Retinal photocoagulation was performed in 36 right eyes of 36 male Brown Norway rats to establish CNV models with the laser parameter as follows: wavelength 532 nm, power 80 mW, spot diameter 100  $\mu\text{m}$  and time shutter 100 ms. Eight or ten spots were irradiated in the position of 1.5 - 2.0 PD to optic disc. Celecoxib or normal saline solution was intravitreally injected via scleral incision in 18 right eyes of 18 rats, respectively. The thickness and area of CNV were qualified by HE staining ( $n = 3$ ) and by choroidal flatmount ( $n = 3$ ) at day 14 after photocoagulation under the light microscope. The expressions of VEGF and COX-2 in RPE-choroid-sclera complex were examined by Western blot ( $n = 6$ ) and RT-PCR ( $n = 6$ ) at day 7 after photocoagulation. The experimental procedure followed the Standard of Association for Research in Vision and Ophthalmology. The license for animal administration was obtained. **Results** After intravitreal injection with celecoxib, the thickness and area of CNV were significantly smaller in celecoxib group than normal saline group on 14 days ( $69.75 \mu\text{m} \pm 7.50 \mu\text{m}$  vs  $45.84 \mu\text{m} \pm 5.59 \mu\text{m}$  in thickness and  $87\ 854 \text{ pixel}^2 \pm 6\ 735 \text{ pixel}^2$  vs  $61\ 101 \text{ pixel}^2 \pm 6\ 314 \text{ pixel}^2$  in area,  $P = 0.00$ ). The expressions of VEGF protein and mRNA were obviously lower in celecoxib group compared with normal saline group ( $t = 3.755, P = 0.02; t = 3.155, P = 0.03$ ). No significant difference was found in expression of COX-2 mRNA between the two groups ( $t = 0.581, P = 0.59$ ). **Conclusion** Intravitreal injection of celecoxib can effectively inhibit CNV by downregulating VEGF level, which is a new approach for the treatment of CNV.

**Key words** choroidal neovascularization; cyclooxygenase-2; celecoxib; vascular endothelial growth factor

**摘要 目的** 观察选择性环氧化酶-2 (COX-2) 抑制剂塞来昔布对实验性大鼠脉络膜新生血管 (CNV) 的影响及其机制。 **方法** 雄性棕色挪威大鼠 36 只, 以右眼为实验眼, 激光光凝诱导实验性 CNV 模型。模型建立成功后, 36 只大鼠立即随机分为治疗组 ( $n = 18$ ) 和对照组 ( $n = 18$ ), 分别玻璃体内注射 10  $\mu\text{L}$  塞来昔布 (1 mg/mL) 和 10  $\mu\text{L}$  生理盐水。光凝后 7 d 采用 Western blot ( $n = 6$ ) 和 RT-PCR ( $n = 6$ ) 分别检测血管内皮生长因子 (VEGF) 蛋白及其 mRNA 以及 COX-2 mRNA 的表达; 光凝后 14 d 采用苏木精 - 伊红染色 ( $n = 3$ ) 和脉络膜铺片 ( $n = 3$ ) 法分别检测 CNV 的厚度和面积。 **结果** 经塞来昔布治疗后, CNV 的厚度和面积均明显减小 ( $P = 0.00$ ), VEGF 蛋白及其 mRNA 表达均明显下降 ( $P = 0.02, P = 0.03$ ), 而 COX-2 mRNA 无明显变化 ( $P = 0.59$ )。 **结论** 玻璃体内注射塞来昔布能够有效地抑制实验性 CNV, 其可能是通过抑制 VEGF 的表达而发挥作用的, 为临床防治 CNV 相关性眼病提供新思路。

本课题为国家自然科学基金资助 (30371516, 30672291)

作者单位: 710032 西安, 第四军医大学西京医院眼科 全军眼科研究所

通讯作者: 王雨生 (Email: wangys@fmmu.edu.cn)

**关键词** 脉络膜新生血管; 环氧化酶-2; 塞来昔布; 血管内皮生长因子

**分类号** R 773.4 **文献标识码** A **文章编号** 1003-0808(2009)11-0945-05

脉络膜新生血管(choroidal neovascularization, CNV)是许多视网膜、脉络膜疾病共有的病理改变<sup>[1]</sup>,可能与缺氧、炎症、Bruch膜损伤和细胞外基质改变等有关<sup>[2]</sup>,其治疗仍是眼科学研究领域的热点和难点之一<sup>[1]</sup>。我们前期的研究证实,环氧化酶-2(cyclooxygenase-2, COX-2)和血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)在激光诱导大鼠 CNV 中表达部位一致, CNV 形成过程中 COX-2 表达早于 VEGF,提示 COX-2 可能是 VEGF 表达的重要上游调控因子之一<sup>[3]</sup>。本研究通过玻璃体内注射选择性 COX-2 抑制剂——塞来昔布,观察其对激光诱导大鼠 CNV 的影响,为临床防治与 CNV 相关性眼病提供新的思路。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材 料

**1.1.1 实验动物** 雄性棕色挪威(Brown-Norway, BN)大鼠 36 只,8~12 周龄,体重 180~220 g,由北京维通利华实验动物有限公司提供。饲养条件:温度 24~26℃,湿度 60%,明暗各 12 h。实验前双眼前节和眼底检查均正常。

**1.1.2 主要仪器** 532 nm 倍频 Nd:YAG 激光器(法国 Quantel medical 公司);Leica DM LB2 光学显微镜(德国 Leica 公司);凝胶成像系统(美国 Alpha innotech 公司);LV 100 激光共焦显微镜(日本 Olympus 公司)。

**1.1.3 主要试剂** 复方托品酰胺滴眼液(沈阳兴齐制药厂);戊巴比妥钠(美国 Sigma 公司);医用透明质酸钠凝胶(山东正大福瑞达制药有限公司);若丹明标记的蓖麻子凝集素(美国 Vector 公司);小鼠抗大鼠 VEGF 单克隆抗体一抗(美国 Santa Cruz 公司);辣根过氧化物酶标记的兔抗小鼠二抗(北京中杉金桥生物技术有限公司);BCA 法蛋白定量试剂盒(北京普利莱公司);Trizol(美国 Invitrogen 公司);反转录试剂盒(立陶宛 Fermentas 公司);上下游引物(上海生物工程技术有限公司)。

### 1.2 方 法

**1.2.1 动物分组** 36 只大鼠随机分为治疗组和对照组各 18 只,右眼为实验眼(36 只眼),其中用于苏木精-伊红染色和脉络膜铺片检测各 3 只大鼠,用于 Western blot 和 RT-PCR 检测各 6 只大鼠。

**1.2.2 动物模型** 腹腔内注射 1% 戊巴比妥钠

(50 mg/kg)麻醉大鼠,右眼复方托吡卡胺滴眼液散瞳,点用医用透明质酸钠凝胶,眼前放置 -53.0 D 角膜接触镜,经裂隙灯用 532 nm 激光(参数:功率 80 mW,光斑直径 100 μm,曝光时间 100 ms),距离视盘 1.5~2 PD 等距离光凝 8~10 个点。光凝后有气泡产生或伴有轻度出血(有时伴有轻响)标志击破 Bruch 膜,记为有效点<sup>[4]</sup>。所有实验及操作均遵循 ARVO 原则。研究者已获得实验动物许可证。

**1.2.3 玻璃体内注射给药的方法** 光凝后,立即给予大鼠玻璃体内注射给药。大鼠右眼局部点用 1% 盐酸丁卡因滴眼液表面麻醉(此时仍处于全身麻醉状态下),显微镜直视下分离球结膜(靠近大鼠耳朵侧偏上方),充分暴露巩膜壁;首先采用 27 G 的注射针头在巩膜处穿刺一 0.5 mm 切口,然后用 50 μL 微量注射器抽取已配制的塞来昔布(1 mg/mL)或生理盐水 10 μL 沿切口处进针,方向正对视盘分别注入玻璃体腔内,并确认药物在玻璃体内及其位置<sup>[5]</sup>。

**1.2.4 苏木精-伊红染色检测 CNV 厚度** 激光光凝后 14 d,过量麻醉处死大鼠,摘除眼球置于新型 Bouin 液中固定 24 h,沿角巩膜缘剪开,去除角膜和晶状体,制眼杯(包括视盘及激光斑)。经乙醇脱水、透明、浸蜡、石蜡包埋后连续切片,片厚 3 μm,苏木精-伊红染色封片。将每个含有光凝斑的切片分别采用 200 倍视野观察并照相。少部分光凝斑由于以下原因而未纳入计算:(1)部分含有光凝斑的组织丢失。(2)光凝斑内纤维血管增生从一个激光损害处侵入相邻的光斑处而无法辨认清楚。通过 Image Pro Plus 6.0 专业图像处理软件分析,测量 CNV 的厚度[正常视网膜色素上皮(retinal pigment epithelium, RPE)层至新生组织最高点的垂直距离]。对于同一光凝斑,以连续切片中厚度最大者作为其 CNV 的厚度,单位 μm。实验数据由 2 名专业人员进行独立的双盲评估测量<sup>[5-6]</sup>。

**1.2.5 脉络膜铺片检测 CNV 面积** 激光光凝后 14 d,过量麻醉大鼠,经心脏灌注 400 mL 生理盐水和 400 mL 4% 多聚甲醛。摘除眼球,在 4% 多聚甲醛中后固定 30 min,然后置 PBS 中 2 h。显微镜下去除角膜、晶状体和视网膜神经感觉层。在剩余的 RPE-脉络膜-巩膜复合体做 6~8 个放射状切口,使之展平。将铺片置于 1% Triton X-100 中室温放置 24 h。接着与若丹明标记的蓖麻子凝集素(1:1 000)在室温下避光孵育 24 h。最后于 TBS 缓冲液中避光洗涤 24 h。将铺片

在载玻片上展平,水性封片剂封片后激光共焦显微镜下观察并拍照。采用 Image pro plus 6.0 专业图像处理软件测量红色荧光的表面积<sup>[7]</sup>。

**1.2.6 Western blot 检测蛋白表达** 激光光凝后 7 d, 过量麻醉大鼠,经心脏灌注 400 mL 生理盐水,摘除眼球分离出 RPE - 脉络膜 - 巩膜复合物,以 2 只眼球的 RPE-脉络膜 - 巩膜复合物作为一个样本。加入细胞裂解液匀浆,冰上裂解,离心,提取上清,BCA 法蛋白定量,加入 5 × 上样缓冲液,煮沸 5 min,制成样本。按每个样本 40 mg 总蛋白上样进行聚丙烯酰胺凝胶电泳,配置 12% 的分离胶和 5% 的浓缩胶,上样后 80 V 恒压电泳,待溴酚蓝至浓缩胶与分离胶交界处,换恒压 100 V 电泳,使溴酚蓝电泳至分离胶最底部。电转法将分离胶上的蛋白转移到硝酸纤维膜 (100 V, 90 min)。硝酸纤维膜用 5% 的脱脂奶粉溶液 37 °C 封闭 1 h,一抗 4 °C 过夜 (工作浓度均为 1:200),辣根过氧化物酶标记的二抗 (1:20 000) 室温孵育 1 h,ECL 显色系统压片,洗片后扫描。以 β-actin 作为内参照,Kodak digital science 1D 数据分析软件分析灰度值,以 VEGF 条带灰度值与内参照条带灰度值的比值作为 VEGF 表达的相对量<sup>[7]</sup>。

**1.2.7 RT-PCR 检测 mRNA** 激光光凝后 7 d,过量麻醉大鼠,迅速摘除眼球分离 RPE - 脉络膜 - 巩膜复合物,以 2 只眼球的 RPE - 脉络膜 - 巩膜复合物作为一个样本。一步法提取总 RNA,检测 OD 值和总 RNA 浓度,测得 OD 值为 1.8 ~ 2.0。取 2 μg 总 RNA,按逆转录试剂盒说明合成 cDNA,以 cDNA 为模板进行 PCR 扩增 (表 1)。取各自扩增产物 5 μL,1.2% 琼脂糖凝胶电泳,溴化乙锭染色,鉴定 RT-PCR 产物。结果用 Innotech 凝胶成像系统照相,Kodak digital science 1D 数据分析软件分析光密度值。以 COX-2 和 VEGF 的 RT-PCR 产物条带与其相应 β-actin 的 RT-PCR 产物条带

的光密度比值作为 COX-2、VEGF 表达的相对量<sup>[7]</sup>。

表 1 PCR 扩增引物序列

Table 1 The primer sequence of PCR amplification

Primer	Sequence	Fragment length
COX-2	Forward:5'-ACACTCTATCACTGGCATCC-3' Reverse:5'-GAAGGGACACCCCTTCACAT-3'	561 bp <sup>[8]</sup>
VEGF	Forward:5'-AGCCCATGAAGTGGTAA-3' Reverse:5'-TGCGGATCTTGGACAAAC-3'	383 bp <sup>[8]</sup>
β-actin	Forward:5'-CACCCGCGACTACAACCTTC-3' Reverse:5'-CCCATACCCACCATCACACC-3'	207 bp <sup>[8]</sup>

1.3 统计学方法

应用 SPSS 12.0 统计学软件对数据资料进行统计学分析。实验测试数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,对塞来昔布与生理盐水组间苏木精 - 伊红染色、脉络膜铺片、Western blot 和 RT-PCR 测试数据的比较采用独立样本的 *t* 检验。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 CNV 厚度和面积

塞来昔布治疗后 14 d,苏木精 - 伊红染色结果显示,治疗组 CNV 厚度 (45.84 ± 5.59) μm (*n* = 13) 较对照组 CNV 厚度 (69.75 ± 7.50) μm (*n* = 11) 明显减小 (*t* = 8.939, *P* = 0.00) (图 1)。脉络膜铺片结果显示,治疗组 CNV 面积 (61 101 ± 6 314) pixel<sup>2</sup> (*n* = 13) 较对照组 CNV 面积 (87 854 ± 6 735) pixel<sup>2</sup> (*n* = 11) 明显缩小 (*t* = 10.033, *P* = 0.00) (图 2)。

2.2 VEGF 和 COX-2 的表达

RT-PCR 检测表明,治疗组 VEGF mRNA 表达较对照组降低 (*t* = 3.155, *P* = 0.03),而治疗组 COX-2 mRNA 表达与对照组相比差异无统计学意义 (*t* = 0.581, *P* = 0.59) (图 3);塞来昔布治疗后 7 d,Western blot 检测表明,治疗组 VEGF 蛋白表达较对照组降低 (*t* = 3.755, *P* = 0.02) (图 4)。

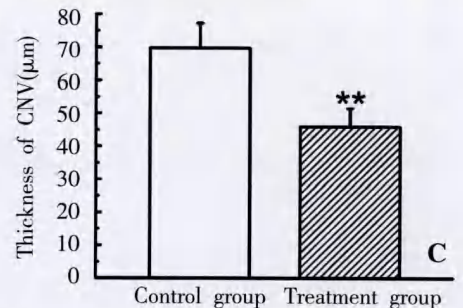
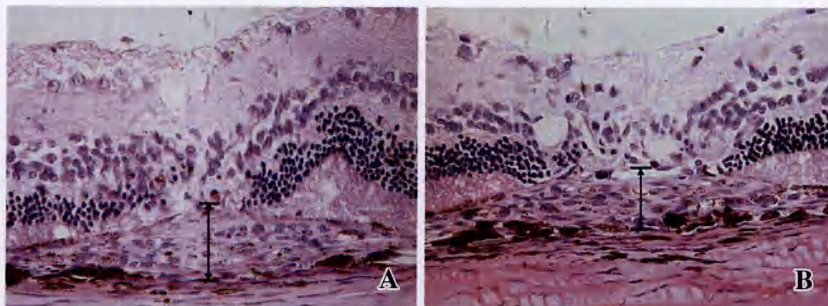


图 1 苏木精 - 伊红染色 A: 对照组 CNV 厚度 (bar = 100 μm) B: 治疗组 CNV 厚度 (bar = 100 μm) C: 对照组和治疗组 CNV 厚度的比较 治疗组 CNV 厚度较对照组 CNV 厚度明显减小 (*t* = 8.939, \*\* *P* < 0.01)

Fig. 1 Images of HE staining A: The thickness of CNV in normal saline group (bar = 100 μm) B: The thickness of CNV in celecoxib group (bar = 100 μm) C: Comparison of CNV thickness between normal saline group and celecoxib group The CNV thickness value in celecoxib group is smaller than that in normal saline group (*t* = 8.939, \*\* *P* = 0.000)

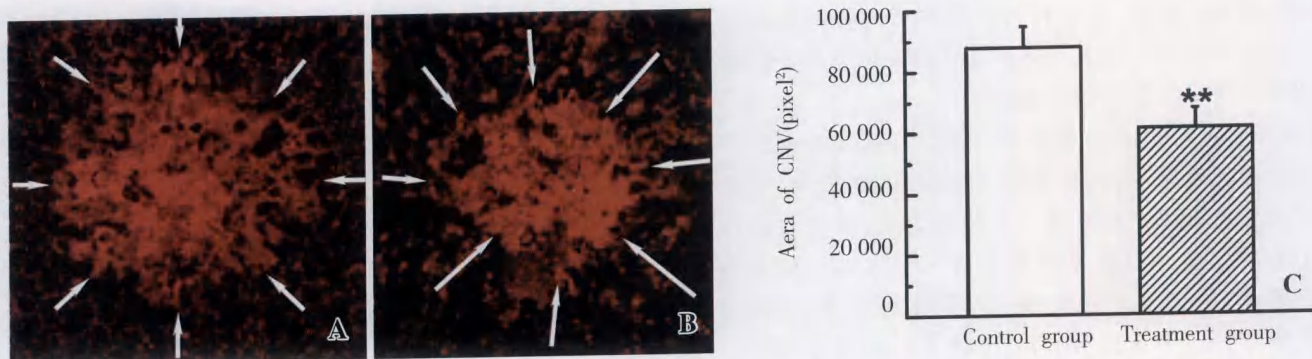


图2 脉络膜铺片 A:对照组 CNV 面积(bar = 100 pixel) B:治疗组 CNV 面积(bar = 100 pixel) C:对照组与治疗组 CNV 面积的比较 治疗组 CNV 面积较对照组 CNV 面积明显减小( $t = 10.033$ ,  $** P < 0.01$ )

Fig.2 Images of choroidal flatmount A:The area of CNV in normal saline group(bar = 100 pixel) B:The area of CNV in treatment group(bar = 100 pixel) C:Comparison of CNV area between normal saline group and celecoxib group The CNV area in celecoxib group is smaller than that in normal saline group( $t = 10.033$ ,  $** P = 0.00$ )

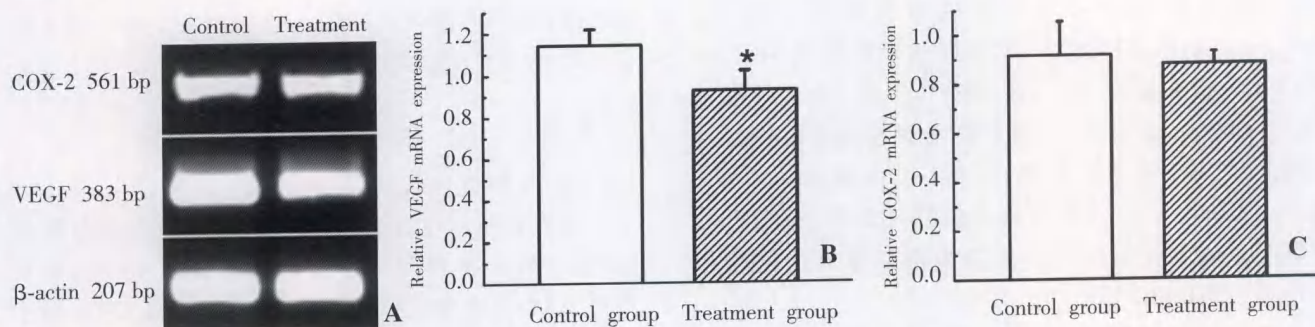


图3 RT-PCR 检测结果 A:RT-PCR 电泳图 B:VEGF mRNA 的 RT-PCR 统计图( $t = 3.155$ ,  $* P < 0.05$ ) C:COX-2 mRNA 的 RT-PCR 统计图( $t = 0.581$ ,  $P > 0.05$ )

Fig.3 The expression of VEGF mRNA and COX-2 mRNA detected by RT-PCR in RPE-choroid-sclera complex A:The electrophoresis graph of RT-PCR B:The comparison of expression of VEGF mRNA The expression of VEGF mRNA is less in celecoxib group than normal saline group ( $t = 3.155$ ,  $P = 0.030$ ) C:The comparison of expression of COX-2 mRNA No significant difference in expression of COX-2 mRNA between normal saline group and celecoxib group ( $t = 0.581$ ,  $P = 0.590$ )

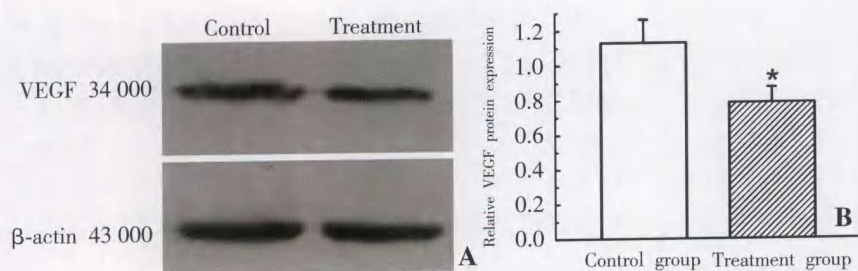


图4 Western blot 检测结果 A:Western blot 电泳图 B:Western blot 统计图 治疗组 VEGF 蛋白表达较对照组明显降低( $t = 3.755$ ,  $* P = 0.020$ )

Fig.4 The expression of VEGF protein by Western blot in RPE-choroid-sclera complex A:The electrophoresis graph of VEGF protein B:The comparison of expression of VEGF protein The expression of VEGF protein is less in celecoxib group than normal saline group( $t = 3.755$ ,  $* P = 0.020$ )

### 3 讨论

CNV 是源自于脉络膜毛细血管的新生血管,增生并穿过 Bruch 膜后,进入 Bruch 膜与 RPE 之间或 RPE 与视网膜神经感觉层之间<sup>[1]</sup>,易发生渗出、出血,因好发于黄斑而严重损伤视力,甚至致盲。局部促血管生成因子和抑血管生成因子的失衡是其关键促发因素。

在众多促血管生成因子中,VEGF 是目前发现最强的促血管生成因子<sup>[9]</sup>,临床采用玻璃体内注射抗 VEGF 单克隆抗体治疗 CNV 已取得良好疗效。但同时越来越多的研究发现,单一抑制 VEGF 并不能理想地控制 CNV 的发生发展,因此有必要探讨较 VEGF 更为有效地治疗新生血管发生的靶分子。

COX-2 是合成参与炎症反应的前列腺素类 (prostaglandins, PGs) 的

关键酶,在正常生理状态下多数组织内检测不到,而炎症因子、生长因子、细胞因子和激素等可以诱导其表达<sup>[10]</sup>。COX-2 可能主要通过以下 3 个关键途径调节新生血管的生成:(1)调节 VEGF 合成和 VEGF 生理功能的发挥。(2)调控内皮细胞移行。(3)抑制内皮细胞凋亡。有研究证实 COX-2 的表达与 VEGF 呈正相关,且表达位置一致<sup>[8]</sup>,COX-2 能够促进 VEGF 表

达<sup>[11]</sup>,且其抑制剂能够抑制 VEGF 的表达<sup>[12]</sup>。

在眼部疾病中,COX-2 与 VEGF 的相互关系也逐渐被重视。在角膜新生血管和糖尿病视网膜病变中,COX-2 与 VEGF 之间亦存在关联;COX-2 抑制剂能够抑制 VEGF 及其 mRNA 表达,从而达到抑制眼新生血管的目的<sup>[13-14]</sup>。在手术切除的人 CNV 中有 COX-2 表达,并且与年龄呈正相关<sup>[15]</sup>;小鼠 CNV 免疫组织化学染色证实,COX-2 在新生血管区域和许多基质细胞中均有表达<sup>[16]</sup>,提示 COX-2 在 CNV 发生过程中可能起到作用。我们的前期研究已经证实在激光诱导大鼠 CNV 生成过程中 COX-2 与 VEGF 表达位置一致,且 COX-2 可能是 VEGF 的上游调节因子<sup>[3]</sup>,但尚未观察到 COX-2 抑制剂能否抑制实验性大鼠 CNV 及其可能机制。

本研究通过玻璃体内注射选择性 COX-2 抑制剂塞来昔布,发现其能够抑制实验性大鼠 CNV 生成的厚度和面积。这一结果与多数研究报道结果相同。Hu 等<sup>[17]</sup>和乔岗等<sup>[18]</sup>证实给予实验动物激光光凝前 7 d,连续口服选择性 COX-2 抑制剂,每日 1 次,能够抑制实验性 CNV 的渗漏及生成厚度;Takahashi 等<sup>[16]</sup>证实光凝后立即给予选择性 COX-2 抑制剂口服同样能够抑制 CNV 的渗漏、厚度及面积。但也有实验报道,激光光凝后立即给予小鼠选择性 COX-2 抑制剂皮下注射连续 10 d,脉络膜铺片检测发现其并未对 CNV 面积产生抑制,该研究认为出现此结果的原因可能为眼内存在不依赖于 COX-2 调节 VEGF 的其他途径<sup>[19]</sup>,除此之外可能还与检测手段单一有关。关于塞来昔布的作用机制存在不同观点:有学者认为塞来昔布是通过抑制 COX-2 的活性抑制视网膜 VEGF 的表达,而对 COX-2 表达无影响<sup>[20]</sup>;但也有学者观察到给予塞来昔布后不但抑制了 VEGF 表达,还抑制了 COX-2 的表达<sup>[8,18]</sup>,本研究证明了前者的观点,其具体作用机制尚需进一步研究。本研究参考国外研究采用的局部给药浓度<sup>[21]</sup>,并且选择玻璃体内注射药物直接作用于 CNV,证实塞来昔布确实能够抑制实验性 CNV 的生成,结合我们前期的研究,首次证实其对实验性大鼠 CNV 的抑制作用可能是通过调控 VEGF 产生的,从而为 COX-2 可能是 VEGF 的上游调节因子增加了证据。有关塞来昔布的抑制作用是否具有量效关系和玻璃体内注射是否具有视网膜毒性等方面尚需深入研究。从本实验结果看来,应用选择性 COX-2 抑制剂治疗人类 CNV 是可行的,COX-2 抑制剂在预防和治疗 CNV 方面有广阔的应用前景。

[志谢:本研究得到德国洪堡基金会(Alexander von Humboldt Foundation)仪器设备捐赠基金(V-8151/02085,To YS

Wang)资助]

## 参考文献

- 1 王雨生. 脉络膜新生血管性疾病[M]. 北京:人民卫生出版社,2007:1-3
- 2 张雷,王康孙. 脉络膜新生血管[J]. 国外医学·眼科学分册,2003,27(5):301-305
- 3 蔡岩,王雨生,徐建锋,等. 环氧合酶-2 和血管内皮生长因子在激光诱导的大鼠脉络膜新生血管中表达的相关性[J]. 眼科新进展,2009,29(4):241-245
- 4 杨秀梅,王雨生,徐建锋,等. 激光诱导有色大鼠脉络膜新生血管的形态学观察[J]. 眼科新进展,2006,26(3):161-166
- 5 Xu J, Wang Y, Li Y, et al. Inhibitory efficacy of intravitreal dexamethasone acetate-loaded PLGA nanoparticles on choroidal neovascularization in a laser-induced rat model [J]. *J Ocul Pharmacol Ther*, 2007, 23 (6): 527-540
- 6 Yanagi Y, Tamaki Y, Obata R, et al. Subconjunctival administration of bucillamine suppresses choroidal neovascularization in rat [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2002, 43 (11): 3495-3499
- 7 Yang XM, Wang YS, Zhang J, et al. Role of PI3K/Akt and MEK/ERK in mediating hypoxia-induced expression of HIF-1 $\alpha$  and VEGF in laser-induced rat choroidal neovascularization [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2009, 50 (4): 1873-1879
- 8 董媛,张明昌. 环氧合酶-2 及其抑制剂对角膜新生血管作用的研究 [J]. 眼科研究,2007,25(6):424-427
- 9 Bhutto IA, McLeod DS, Hasegawa T, et al. Pigment epithelium-derived factor (PEDF) and vascular endothelial growth factor (VEGF) in aged human choroid and eyes with age-related macular degeneration [J]. *Exp Eye Res*, 2006, 82 (1): 99-110
- 10 Dubois RN, Abramson SB, Crofford L, et al. Cyclooxygenase in biology and disease [J]. *FASEB J*, 1998, 12(12):1063-1073
- 11 Farooqui M, Li Y, Rogers T, et al. COX-2 inhibitor celecoxib prevents chronic morphine-induced promotion of angiogenesis, tumour growth, metastasis and mortality, without compromising analgesia [J]. *Br J Cancer*, 2007, 97 (11): 1523-1531
- 12 Williams CS, Tsujii M, Reese J, et al. Host cyclooxygenase-2 modulates carcinoma growth [J]. *J Clin Invest*, 2000, 105 (11): 1511-1513
- 13 Pakneshan P, Birsner AE, Adini I, et al. Differential suppression of vascular permeability and corneal angiogenesis by nonsteroidal anti-inflammatory drugs [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2008, 49 (9): 3909-3913
- 14 El-Asrar AM, Missotten L, Geboes K. Expression of cyclooxygenase-2 and downstream enzymes in diabetic fibrovascular epiretinal membranes [J]. *Br J Ophthalmol*, 2008, 92 (11): 1534-1539
- 15 Maloney SC, Fernandes BF, Castiglione E, et al. Expression of cyclooxygenase-2 in choroidal neovascular membranes from age-related macular degeneration patients [J]. *Retina*, 2009, 29 (2): 176-180
- 16 Takahashi H, Yanagi Y, Tamaki Y, et al. COX-2 selective inhibitor, etodolac, suppresses choroidal neovascularization in a mice model [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2004, 325 (2): 461-466
- 17 Hu W, Criswell MH, Ottlecz A, et al. Oral administration of lumiracoxib reduces choroidal neovascular membrane development in the rat laser-trauma model [J]. *Retina*, 2005, 25 (8): 1054-1064
- 18 乔岗,周希瓊,邓鑫,等. 塞内昔布抑制兔脉络膜新生血管的形成 [J]. 眼视光学杂志,2005,7(4):257-260
- 19 Castro MR, Lutz D, Edelman JL. Effect of COX inhibitors on VEGF-induced retinal vascular leakage and experimental corneal and choroidal neovascularization [J]. *Exp Eye Res*, 2004, 79 (2): 275-285
- 20 付金玲,王桂云. 塞来昔布对糖尿病大鼠视网膜血管内皮生长因子表达的影响 [J]. 中华眼底病杂志,2007,23(4):265-268
- 21 Cheruvu NP, Amrite AC, Kompella UB. Effect of eye pigmentation on transscleral drug delivery [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2008, 49(1): 333-341

(收稿:2009-08-06 修回:2009-09-22)

(本文编辑:尹卫靖)