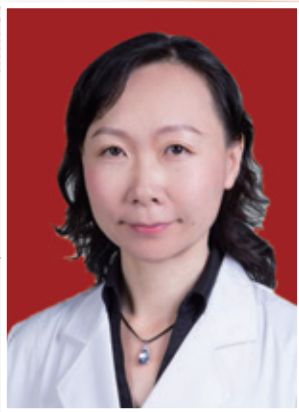


上海交通大学医学院



学者介绍

Author introduction



宫媛媛 博士

主任医师、硕士生导师

ORCID ID: 0000-0002-9250-8957

GONG Yuan-yuan

Ph.D

Chief Physician, Master's Supervisor

ORCID ID: 0000-0002-9250-8957

宫媛媛 (1973—), 上海交通大学附属第一人民医院眼科主任医师。2008 年获得上海交通大学医学院眼科学博士学位。2009 年获得德国海瑟堡大学曼海姆医学院生物医学光学硕士学位。2009 年于美国加州大学圣地亚哥分校 Shily 眼科中心做访问学者。现任上海眼科学会眼底病学组组员、中国中西医结合学会眼科专业委员会全国青年委员、上海眼科学会葡萄膜炎神经眼科学组秘书。

• 长期从事视网膜色素上皮细胞氧化应激损伤研究, 综合应用分子生物学、细胞生物学等技术手段, 探讨视网膜色素上皮损伤在年龄相关性黄斑变性发生发展中的作用。在国内外著名期刊发表论文 20 余篇。目前主持国家自然科学基金 1 项、上海市科学技术委员会自然科学基金 1 项及上海市第一人民医院临床项目 1 项。作为主要研究者参加国内外多中心临床试验研究项目, 如年龄相关性黄斑变性之 Dragon 研究和 Luminous 研究, 息肉样脉络膜血管病变之 Star 研究和 Shiny 研究。

• 该研究依托上海交通大学医学院“双一流”暨高水平地方高校建设“一流学科——临床医学—临床科研支撑体系建设”项目。

GONG Yuan-yuan born in 1973, chief physician of Department of Ophthalmology, Shanghai General Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine. She got her Ph.D of ophthalmology from Shanghai Jiao Tong University School of Medicine in 2008. She obtained her master's degree in biomedical optics from the University of Heidelberg, Germany in 2009. As a visiting scholar, she worked at the Shily Eye Center of the University of California, San Diego in 2009. Now, she is the member of Fundus Disease Group of Shanghai Ophthalmology Society, the national youth committee of Specialty Commission of Ophthalmology of Chinese Association of Integrative Medicine, and the secretary of Shanghai Ophthalmology Society's Uveitis Neuro-Ophthalmology Group.

• The goal of Dr. GONG's laboratory is to understand the mechanisms of oxidative stress damage in retinal pigment epithelial cells, and their roles in age-related macular degeneration (AMD) by technology of molecular biology and cell biology. She has published more than 20 papers in famous journals at home and abroad. She has been supported by National Natural Science Foundation of China, Natural Science Foundation of Shanghai and Clinical Project of Shanghai General Hospital. Also, she was enrolled into many multi-center clinical trial research projects, such as AMD Dragon Research and Luminous Research, and PCV (polypoidal choroidal vasculopathy) Star Research and Shiny Research.

• The research relies on the project of Clinical Research Supporting System, Clinical Medicine, First-Class Discipline of “National Double First-Class” and “Shanghai-Top-Level” high education initiative at Shanghai Jiao Tong University School of Medicine.



论著·基础研究

叶黄素对转化生长因子- β 2 诱导的视网膜色素上皮细胞 上皮-间质转化的影响

吕亚男, 顾 青, 李东丽, 宫媛媛

上海交通大学附属第一人民医院眼科, 上海市眼底病重点实验室, 上海市眼视觉及光医学工程研究中心, 上海 200080

[摘要] **目的**·建立转化生长因子- β 2 (transforming growth factor- β 2, TGF- β 2) 诱导的人视网膜色素上皮细胞 (retinal pigment epithelium cell, RPE) 上皮-间质转化 (epithelial-mesenchymal transformation, EMT) 模型, 探讨叶黄素的作用及其机制。**方法**·体外培养 ARPE-19 细胞, 分为空白组、TGF- β 2 组、TGF- β 2+ 叶黄素组、叶黄素组。采用 real-time PCR 检测各组细胞 α -平滑肌肌动蛋白 (α -smooth muscle actin, α -SMA)、纤连蛋白 (fibronectin, FN)、上皮钙黏素 (E-cadherin) mRNA 的表达。Western blotting 检测各组细胞中 α -SMA、FN、闭合蛋白 (occludin) 的蛋白表达。采用免疫荧光检测 α -SMA 的表达。同时用 Western blotting 检测 TGF- β /Smad 通路下游 Smad3 的磷酸化水平。**结果**·TGF- β 2+ 叶黄素组 EMT 程度有明显减轻。纤维化指标 α -SMA、FN 的 mRNA、蛋白表达下降, 与 TGF- β 2 组相比差异有统计学意义 (均 $P<0.05$)。同时, 上皮细胞相关指标 E-cadherin mRNA、occludin 蛋白的表达上调 (均 $P<0.05$)。免疫荧光结果显示, 叶黄素可明显抑制上皮细胞转化为肌成纤维细胞。此外, TGF- β 2 诱导 ARPE-19 细胞 EMT 过程中发生 Smad3 磷酸化水平升高现象可被叶黄素干预 ($P=0.001$)。**结论**·叶黄素通过调控 TGF- β /Smad 信号通路抑制 ARPE-19 细胞 EMT 过程, 具有潜在的抑制视网膜下纤维化的作用。

[关键词] 视网膜下纤维化; 叶黄素; 转化生长因子- β 2; 上皮-间质转化; 视网膜色素上皮细胞

[DOI] 10.3969/j.issn.1674-8115.2019.06.003 **[中图分类号]** R774.1 **[文献标志码]** A

Effects of lutein on transforming growth factor- β 2 induced epithelial-mesenchymal transition in ARPE-19 cells

LÜ Ya-nan, GU Qing, LI Dong-li, GONG Yuan-yuan

Shanghai Engineering Center for Visual Science and Photomedicine, Shanghai Key Laboratory of Ocular Fundus Disease, Department of Ophthalmology, Shanghai General Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200080, China

[Abstract] **Objective**·To establish the transforming growth factor- β 2 (TGF- β 2) induced epithelial-mesenchymal transition (EMT) model of retinal pigment epithelium cells, and investigate the effect and mechanism of lutein on EMT. **Methods**·ARPE-19 cells were cultured and divided into 4 groups including control group, TGF- β 2 group, TGF- β 2+lutein group and lutein group. The mRNA levels of α -smooth muscle actin (α -SMA), fibronectin (FN) and E-cadherin were analyzed by real-time PCR. The protein expression of α -SMA, FN and occludin were assayed by Western blotting. Immunofluorescence was used to detect the change of α -SMA. Meanwhile, Western blotting was performed to detect the expression levels of pSmad3 in the TGF- β /Smad signaling pathway. **Results**·TGF- β 2 induced EMT was inhibited by lutein. Lutein decreased the mRNA and protein levels of the mesenchymal markers α -SMA and FN, and increased the expression of the epithelial markers E-cadherin and occludin (all $P<0.05$). Immunofluorescence showed that lutein can inhibit the conversion of epithelial cells into myofibroblasts. Lutein significantly downregulated the high expression of pSmad3 in TGF- β 2 treated ARPE-19 cells ($P=0.001$). **Conclusion**·Lutein inhibits TGF- β 2 induced EMT by downregulating the expression of pSmad3 in TGF- β /Smad signaling pathway, indicating it may attenuate subretinal fibrosis.

[Key words] subretinal fibrosis; lutein; transforming growth factor- β 2 (TGF- β 2); epithelial-mesenchymal transformation (EMT); retinal pigment epithelium cell (RPE)

湿性年龄相关性黄斑变性 (age-related macular degeneration, AMD) 是造成老年人群视力丧失的主要原因, 黄斑区脉络膜新生血管 (choroidal neovascularization,

CNV) 是其主要病理特征。一旦这些新的异常血管开始生长, 它们会导致出血, 引起进一步的伤口愈合反应和视网膜下纤维化^[1]。尽管抗血管内皮生长因子 (vascular

[基金项目] 国家重点研发计划 (2016YFC0904800); 上海市第一人民医院临床研究创新团队建设项目 (CTCCR-2018BP04) (National Key R&D Plan of China, 2016YFC0904800; Clinical Research Innovation Plan of Shanghai General Hospital, CTCCR-2018BP04)。

[作者简介] 吕亚男 (1993—), 女, 硕士生; 电子信箱: lyyanan@sjtu.edu.cn。

[通信作者] 宫媛媛, 电子信箱: gyydr@126.com。



endothelial growth factor, VEGF) 治疗可以稳定和改善 AMD 患者的视功能, 但在抗 VEGF 治疗后 2 年内, 大约一半的治疗眼会发生视网膜下纤维化, 是预后不佳的主要原因^[2-3]。目前, 尚无针对视网膜下纤维化有效的治疗药物。

视网膜色素上皮细胞 (retinal pigment epithelial, RPE) 通过上皮-间质转化 (epithelial-mesenchymal transition, EMT) 向肌成纤维细胞样细胞的转化在视网膜下纤维化中起着重要作用^[4-7]。在 EMT 转化过程中, α-平滑肌肌动蛋白 (α-smooth muscle actin, α-SMA)、纤连蛋白 (fibronectin, FN) 等间质细胞标志物的表达上调, RPE 细胞在表达间质细胞标志物后失去其上皮特征的同时上皮细胞标志物的表达也发生下调^[8]。转化生长因子-β (transforming growth factor-β, TGF-β) 在诱导 RPE 细胞 EMT 过程中发挥着重要作用, 而 Smad 信号通路介导了 TGF-β 对 EMT 的诱导作用^[6-7, 9]。

叶黄素是一种天然的抗氧化剂, 可以特异性积聚在黄斑区^[10]。已有研究^[11]表明通过调节眼部和全身炎症系统, 叶黄素可以降低 AMD 的发病风险。然而, 叶黄素在视网膜下纤维化中的作用还未见报道。本研究通过 TGF-β2 诱导 RPE 细胞 EMT 模型, 观察叶黄素对 EMT 的调控作用及机制, 以期为临床治疗视网膜下纤维化提供新思路。

1 材料与方法

1.1 实验材料

人 ARPE-19 细胞株 (美国 ATCC 细胞库), DMEM/F12 培养基、胎牛血清、胰蛋白酶消化液 (美国 Gibco 公司), TGF-β2 (终浓度 10 ng/mL, 美国 Peprotech 公司), 叶黄素 (终浓度 40 μg/mL, 上海纯优生物科技有限公司), 总 RNA 提取试剂盒、反转录试剂盒、一步法 PCR 试剂盒 (天根生化科技有限公司), 闭合蛋白 (occludin) 抗体 (美国 Sigma 公司), FN 抗体、辣根过氧化物酶标记的二抗、荧光二抗 (美国 CST 公司), β-actin 抗体、α-SMA 抗体、pSmad3 抗体 (英国 Abcam 公司), BCA 法蛋白质定量试剂盒 (南京碧云天生物技术有限公司), 倒置显微镜 (德国 Zeiss 公司), 荧光显微镜 (日本 Olympus 公司), PAGE 凝胶电泳及转膜系统、PCR 扩增仪 (美国 Bio-Rad 公司), 全自动凝胶成像分析系统 (瑞典 Amersham 公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 TGF-β2 及叶黄素工作浓度的确定 参照文献^[5-6, 11]进行预实验, TGF-β2 取 2.5、5、10、20 ng/mL, 观察细胞形态出现 EMT 改变而不影响细胞生长的合适浓度。叶

黄素取 10、20、40、80、160 μg/mL, 观察其阻断 TGF-β2 对细胞形态的改变同时不影响细胞生长的最适浓度。最终确定 TGF-β2 工作浓度为 10 ng/mL, 叶黄素为 40 μg/mL。

1.2.2 细胞培养及分组 取出冻存的 ARPE-19 细胞, 37 °C 水浴, 快速摇晃 1 min 至冻存液完全融化, 移入 10 mL 离心管, 939 × g 下离心 5 ~ 10 min, 吸出冻存液, 加入适量含 10% 胎牛血清的 DMEM/F12 培养基, 调整细胞浓度 (4 × 10⁵ 个/孔), 均匀种于培养皿, 置于 37 °C、5% CO₂ 恒温培养箱中培养, 观察并记录细胞的生长情况。当细胞生长至接近 90% 融合时, 更换为无血清 DMEM/F12 培养基继续培养作饥饿处理。24 h 后将培养细胞分为对照组 (无血清培养基)、TGF-β2 组 (10 ng/mL TGF-β2)、TGF-β2+ 叶黄素组 (10 ng/mL TGF-β2+40 μg/mL 叶黄素) 和叶黄素组 (40 μg/mL 叶黄素), 按组别分别给予不同药物刺激细胞, 继续培养 48 h, 光学显微镜下观察细胞形态。

1.2.3 Real-time PCR 检测各组细胞 α-SMA、FN、E-cadherin mRNA 水平 细胞分组处理后, 用总 RNA 提取试剂盒提取总 RNA, 并测定其浓度。根据一步法 PCR 试剂盒说明书加样进行反转录和扩增, 使用荧光定量 PCR 仪进行检测, 95 °C 预变性 15 min, 94 °C 变性 45 s, 60 °C 退火 45 s, 72 °C 延伸 60 s, 共 40 个循环。检测结果使用 2^{-ΔΔCt} 相对定量分析方法计算。每组设 3 个复孔, 人 β-actin 作为内参。本研究使用的引物均由上海 BioTNT 有限公司合成, 引物序列见表 1。

表 1 Real-time PCR 引物序列
Tab 1 Primer sequences for real-time PCR

引物名称	序列	扩增长度 /bp
β-actin	F: 5'-AAG GTG ACA GCA GTC GGT T-3'	195
	R: 5'-TGT GTG GAC TTG GGA GAG G-3'	
α-SMA	F: 5'-GGA CAT CAA GGA GAA ACT GT-3'	105
	R: 5'-CCA TCA GGC AAC TCG TAA CT-3'	
FN	F: 5'-GTG AAC GAC ACA TTC CAC AA-3'	96
	R: 5'-GAC GGG ATC ACA CTT CCA-3'	
E-cadherin	F: 5'-CCT TCC TCC CAA TAC ATC TCC-3'	80
	R: 5'-GGT CGT TGT ACT GAA TGG TCC-3'	

1.2.4 Western blotting 检测各组细胞 α-SMA、FN、occludin、pSmad3 蛋白的表达 细胞分组处理后, 用含苯甲基磺酰氧 (phenylmethylsulfonyl fluoride, PMSF) 和磷酸酐酶抑制剂的 RIPA 蛋白裂解液提取总蛋白, 用 BCA 法测量蛋白质量浓度。蛋白加样 20 μg 进行凝胶电泳, 转膜后使用 5% 脱脂牛奶室温封闭 2 h。分别加入一抗 (α-SMA 抗体、occludin 抗体、FN 抗体、pSmad3 抗体, 均 1:1 000), 4 °C 摇床上孵育过夜。使用 TBST 洗膜 3 次后加入二抗 (1:1 000) 室温孵育

1 h, TBST 洗膜 3 次后, 加入 ECL 发光液, 然后在化学发光凝胶成像系统中进行曝光。使用 ImageJ 软件分析灰度值, 以目的条带与内参条带灰度值的比值为相对表达量。

1.2.5 细胞免疫荧光检测各组细胞 α -SMA 的表达 细胞分组处理后, 经 Triton 溶液作用 5 min 后用 PBS 洗 3 遍, 用 3% BSA 溶液室温封闭 30 min, 加入一抗 (α -SMA, 1:100), 4 °C 冰箱湿盒孵育过夜。PBS 洗 3 遍, 孵育二抗 (1:500) 1 h, PBS 洗 3 遍, DAPI 避光染核孵育 10 min, PBS 洗 3 遍。用含抗荧光淬灭剂的封片液封片, 然后在荧光显微镜下观察并采集图像分析。

1.3 统计学方法

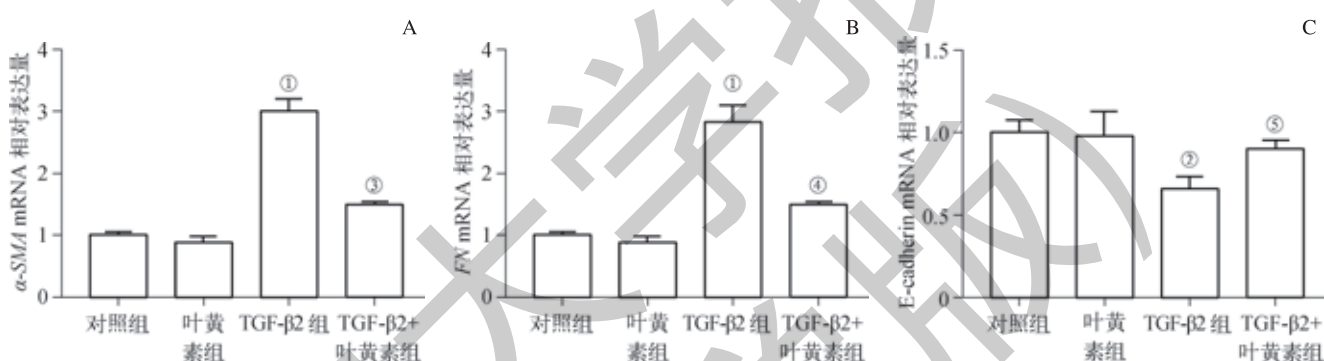
所有实验均重复 3 次。采用 SPSS 20.0 软件进行统计

学分析, 定量数据以 $\bar{x} \pm s$ 来表示。各组间指标比较采用单因素方差分析, 2 组间指标比较采用 t 检验。 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 叶黄素对 TGF- β 2 诱导的 EMT 相关 mRNA 的影响

TGF- β 2 组 α -SMA、FN mRNA 表达量明显高于对照组 (均 $P=0.000$), E-cadherin mRNA 表达量低于对照组 ($P=0.007$)。叶黄素 (40 $\mu\text{g/mL}$) 干预可以抑制 TGF- β 2 的作用, 明显降低间质细胞标志物 α -SMA、FN mRNA 表达量 ($P=0.000$, $P=0.001$), 升高上皮细胞标志物 E-cadherin mRNA 表达量 ($P=0.018$) (图 1)。



注: A. α -SMA mRNA 的相对表达量; B. FN mRNA 的相对表达量; C. E-cadherin mRNA 的相对表达量。^① $P=0.000$, ^② $P=0.007$, 与对照组比较; ^③ $P=0.000$, ^④ $P=0.001$, ^⑤ $P=0.018$, 与 TGF- β 2 组比较。

图 1 Real-time PCR 检测 ARPE-19 细胞 α -SMA、FN、E-cadherin mRNA 表达水平

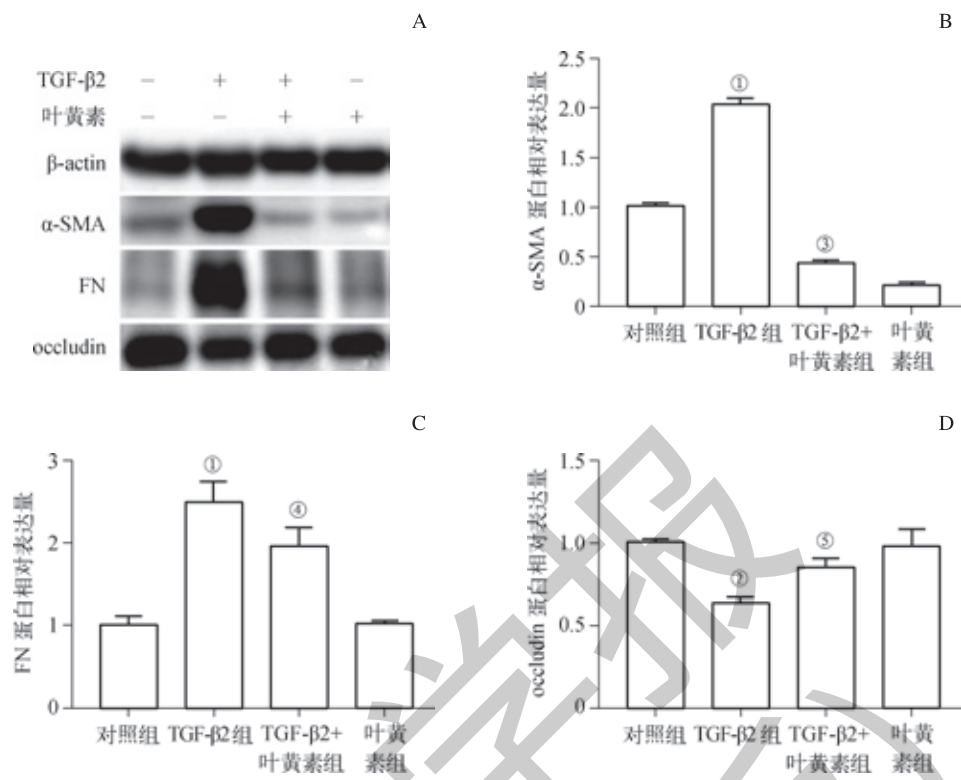
Fig 1 Expression of α -SMA, FN, and E-cadherin mRNA in ARPE-19 cells by real-time PCR

2.2 叶黄素对 TGF- β 2 诱导的 EMT 相关蛋白的影响

TGF- β 2 组 α -SMA、FN 表达量明显高于对照组 (均 $P=0.006$), occludin 蛋白表达量明显低于对照组 ($P=0.000$)。叶黄素 (40 $\mu\text{g/mL}$) 干预可以下调 α -SMA、FN 蛋白表达 ($P=0.005$, $P=0.003$), 上调 occludin 蛋白表达 ($P=0.007$) (图 2)。

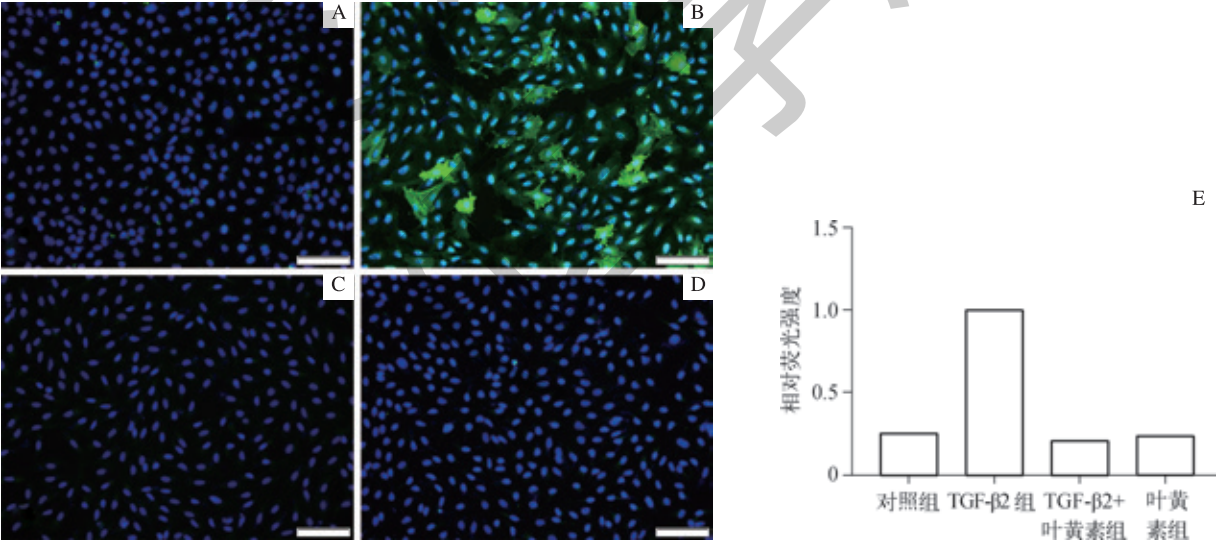
2.3 叶黄素对 TGF- β 2 诱导的 EMT 过程中 α -SMA 表达的影响

免疫荧光检测显示 (图 3), 叶黄素干预组 (TGF- β 2+叶黄素组) 的荧光强度较 TGF- β 2 组明显减弱, α -SMA 表达下降。与对照组相比, TGF- β 2 组中可见 α -SMA 标记, 提示肌成纤维细胞的增殖, 而叶黄素可以明显抑制肌成纤维细胞的增殖。



注: A. Western blotting 检测 EMT 相关蛋白条带; B. α -SMA 蛋白的相对表达量; C. FN 蛋白的相对表达量; D. occludin 蛋白的相对表达量。^① $P=0.006$, ^② $P=0.000$, 与对照组比较; ^③ $P=0.005$, ^④ $P=0.003$, ^⑤ $P=0.007$, 与 TGF-β2 组比较。

图 2 Western blotting 检测 ARPE-19 细胞 α -SMA、FN、occludin 蛋白表达水平
Fig 2 Expression of α -SMA, FN, and occludin in ARPE-19 cells by Western blotting



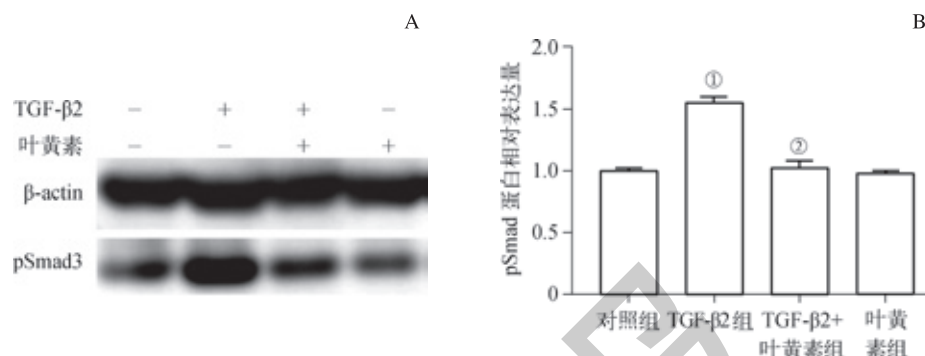
注: A ~ D. 免疫荧光照片, 分别对应对照组 (A)、TGF-β2 组 (B)、TGF-β2+叶黄素组 (C)、叶黄素组 (D), 标尺为 100 μ m; E. 免疫荧光半定量分析。

图 3 免疫荧光检测 ARPE-19 细胞 α -SMA 的表达
Fig 3 Expression of α -SMA in ARPE-19 cells by immunofluorescence

2.4 叶黄素对 EMT 信号通路下游因子 Smad3 磷酸化的影响

Western blotting 结果表明 (图 4), 与对照组相比, TGF- β 2 组中 pSmad3 表达上调 ($P=0.000$)。而叶黄素可

逆转 TGF- β 2 诱导的 pSmad3 表达的上调 ($P=0.001$)。结果表明, 叶黄素可能通过抑制 Smad3 的磷酸化来抑制 TGF- β 2 诱导的 EMT。



注: A. Western blotting 检测 EMT 相关蛋白条带; B. pSmad3 蛋白的相对表达量。^① $P=0.000$, 与对照组比较; ^② $P=0.001$, 与 TGF- β 2 组比较。

图 4 Western blotting 检测 ARPE-19 细胞 pSmad3 蛋白表达水平

Fig 4 Expression of pSmad3 in ARPE-19 cells by Western blotting

3 讨论

在湿性 AMD 患者中, CNV 最终发生纤维化形成瘢痕, 影响了患者的视力和抗 VEGF 药物的预后^[12]。视网膜下纤维化由过度的损伤愈合反应引起, EMT 过程是受损的 RPE 上皮细胞转化为肌成纤维细胞样间质细胞的生物学过程, 其特征在于间质标志物如 α -SMA、FN 的表达, 以及上皮细胞标志物如 E-cadherin、occludin 表达的下调^[13-14]。EMT 过程在视网膜下纤维化、肾纤维化、肺纤维化、肝纤维化的过程中均可被观察到^[6, 15-18]。肌成纤维细胞是纤维化组织中的主要细胞成分, 该细胞对 α -SMA 具有特异的免疫反应性, 可以被 α -SMA 标记。TGF- β 已被公认为是促进 EMT 发生的关键性细胞因子, 可以诱导 RPE 细胞发生 EMT。既往研究证明了多种因子可以通过调节 EMT 来介导视网膜下纤维化。Wu 等^[18]研究表明, 半乳糖凝集素-1 (galectin-1) 作为关键促进剂, 在 AMD 患眼 CNV 和 EMT 介导的视网膜下纤维化中具有重要作用。Ishikawa 等^[5]发现, α B-晶状体蛋白 (α B-crystallin) 也是 EMT 的重要调节因子, 下调 α B-晶状体蛋白后可以抑制视网膜下纤维化的发展。Kimura 等^[6]则发现, 视黄酸受体- γ (retinoic acid receptors- γ , RAR- γ) 激动剂可以抑制小鼠 RPE 细胞的 EMT 和小鼠模型中视网膜下纤维化的发展, 从而在治疗与 AMD 相关的视网膜下纤维化中发挥作用。然而, 这些研究结果应用于临床治疗还需要更多的证据支持。叶黄素是一种常见、安全的保健品, 有明显的抗氧化作用^[19-20]。已有研究^[21-22]证实了叶黄素在其他器官中的抗纤维化作用。叶黄素在眼科已有应用, 治疗前景较好。本研究应用文献报道中常用的 TGF- β 2

(10 ng/mL), 刺激 ARPE-19 细胞发生 EMT, 建立视网膜下纤维化细胞模型。研究结果表明, 与 TGF- β 2 组相比, 叶黄素干预后可逆转 TGF- β 2 刺激细胞引起的 EMT 相关间质细胞标志物 α -SMA、FN mRNA 和蛋白的表达水平上调以及上皮细胞标志物 E-cadherin mRNA 和 occludin 蛋白的表达水平下调。同时叶黄素也可抑制肌成纤维细胞的增殖, 从而抑制 TGF- β 2 诱导 RPE 细胞的 EMT 过程。

具有 Smad 家族蛋白激活 (即磷酸化和核转位) 功能的 TGF- β -TGF- β 受体 (T β R) I/II 信号转导系统是组织重塑和纤维化中 EMT 的主要触发因素^[18]。多种研究^[9, 23-24]表明, 在 RPE 细胞发生 EMT 的过程中, TGF- β /Smad 通路是主要的作用途径。活化的 TGF- β 配体通过结合 I 型和 II 型受体丝氨酸/苏氨酸激酶来启动信号转导。受体激活后, Smad 与 TGF- β 受体复合物结合发生磷酸化, 磷酸化的 Smad 易位至细胞核发挥作用^[25]。本实验也证实, Smad3 在 TGF- β 2 刺激后活化, 磷酸化水平明显增高。而叶黄素干预后, Smad3 的磷酸化程度较 TGF- β 2 作用时显著下降, 表明 Smad3 介导了 TGF- β 2 触发的 EMT。由此可见, 叶黄素可以通过抑制 Smad3 的磷酸化, 阻断 RPE 细胞的 EMT 过程。虽然上述研究结果在体外实验中得到证实, 但是仍需在内体实验中进一步验证。

综上所述, 本实验基于公认的 EMT 模型, 探讨了叶黄素抗视网膜下纤维化的作用。证实叶黄素可通过 TGF- β 2/Smad 信号通路调控 TGF- β 2 诱导的 RPE 细胞 EMT, 从而实现抑制视网膜下纤维化的作用, 有望为叶黄素用于 AMD 和其他增生性视网膜疾病相关纤维化的预防和治疗提供新思路。

参·考·文·献

- [1] Friedlander M. Fibrosis and diseases of the eye[J]. J Clin Invest, 2007, 117(3): 576-586.
- [2] Daniel E, Toth CA, Grunwald JE, et al. Risk of scar in the comparison of age-related macular degeneration treatments trials[J]. Ophthalmology, 2014, 121(3): 656-666.
- [3] Bloch SB, Lund-Andersen H, Sander B, et al. Subfoveal fibrosis in eyes with neovascular age-related macular degeneration treated with intravitreal ranibizumab[J]. Am J Ophthalmol, 2013, 156(1): 116-124.
- [4] Ishikawa K, Kannan R, Hinton DR. Molecular mechanisms of subretinal fibrosis in age-related macular degeneration[J]. Exp Eye Res, 2016, 142: 19-25.
- [5] Ishikawa K, Sreekumar PG, Spee C, et al. α B-crystallin regulates subretinal fibrosis by modulation of epithelial-mesenchymal transition[J]. Am J Pathol, 2016, 186(4): 859-873.
- [6] Kimura K, Orita T, Liu Y, et al. Attenuation of EMT in RPE cells and subretinal fibrosis by an RAR- γ agonist[J]. J Mol Med (Berl), 2015, 93(7): 749-758.
- [7] Saika S, Kono-Saika S, Tanaka T, et al. Smad3 is required for dedifferentiation of retinal pigment epithelium following retinal detachment in mice[J]. Lab Invest, 2004, 84(10): 1245-1258.
- [8] Guarino M, Tosoni A, Nebuloni M. Direct contribution of epithelium to organ fibrosis: epithelial-mesenchymal transition[J]. Hum Pathol, 2009, 40(10): 1365-1376.
- [9] Saika S, Kono-Saika S, Tanaka T, et al. Smad3 is required for dedifferentiation of retinal pigment epithelium following retinal detachment in mice[J]. Lab Invest, 2004, 84(10): 1245-1258.
- [10] Sindhu ER, Firdous AP, Preethi KC, et al. Carotenoid lutein protects rats from paracetamol-, carbon tetrachloride- and ethanol-induced hepatic damage[J]. J Pharm Pharmacol, 2010, 62(8): 1054-1060.
- [11] Bian Q, Qin T, Ren Z, et al. Lutein or zeaxanthin supplementation suppresses inflammatory responses in retinal pigment epithelial cells and macrophages[J]. Adv Exp Med Biol, 2012, 723: 43-50.
- [12] Lim LS, Mitchell P, Seddon JM, et al. Age-related macular degeneration[J]. Lancet, 2012, 379(9827): 1728-1738.
- [13] Kalluri R, Neilson EG. Epithelial-mesenchymal transition and its implications for fibrosis[J]. J Clin Invest, 2003, 112(12): 1776-1784.
- [14] Kalluri R, Weinberg RA. The basics of epithelial-mesenchymal transition[J]. J Clin Invest, 2009, 119(6): 1420-1428.
- [15] Carew RM, Wang B, Kantharidis P. The role of EMT in renal fibrosis[J]. Cell Tissue Res, 2012, 347(1): 103-116.
- [16] Chapman HA. Epithelial-mesenchymal interactions in pulmonary fibrosis[J]. Annu Rev Physiol, 2011, 73: 413-435.
- [17] Lee SJ, Kim KH, Park KK. Mechanisms of fibrogenesis in liver cirrhosis: the molecular aspects of epithelial-mesenchymal transition[J]. World J Hepatol, 2014, 6(4): 207-216.
- [18] Wu D, Kanda A, Liu Y, et al. Galectin-1 promotes choroidal neovascularization and subretinal fibrosis mediated via epithelial-mesenchymal transition[J]. FASEB J, 2019, 33(2): 2498-2513.
- [19] Canfield LM, Forage JW, Valenzuela JG. Carotenoids as cellular antioxidants[J]. Proc Soc Exp Biol Med, 1992, 200(2): 260-265.
- [20] Liu H, Liu W, Zhou X, et al. Protective effect of lutein on ARPE-19 cells upon H_2O_2 -induced G2/M arrest[J]. Mol Med Rep, 2017, 16(2): 2069-2074.
- [21] 赵丽晶, 李贺, 赵宗仁, 等. 叶黄素对大鼠心肌纤维化保护作用[J]. 中国公共卫生, 2017, 33(11): 1603-1606.
- [22] 赵华, 艾亮, 齐芳迎. 叶黄素对博来霉素所致的小鼠肺纤维化治疗作用及其对小鼠氧化应激水平影响的研究[J]. 安徽医药, 2016, 20(12): 2234-2237.
- [23] Hirasawa M, Noda K, Noda S, et al. Transcriptional factors associated with epithelial-mesenchymal transition in choroidal neovascularization[J]. Mol Vis, 2011, 17: 1222-1230.
- [24] Tamiya S, Liu L, Kaplan HJ. Epithelial-mesenchymal transition and proliferation of retinal pigment epithelial cells initiated upon loss of cell-cell contact[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2010, 51(5): 2755-2763.
- [25] Tanaka T, Goto K, Iino M. Sec8 modulates TGF- β induced EMT by controlling N-cadherin via regulation of Smad3/4[J]. Cell Signal, 2017, 29: 115-126.

[收稿日期] 2019-01-11

[本文编辑] 邵碧云

“双一流”暨高水平地方高校建设项目

一流学科——口腔医学

优化学科布局, 坚持有所为、有所不为的理念, 强化优势专业、凸显学科特色; 建立起以国际战略科学家组成的领军人才为主导、相关人才为补充和配套的学科人才集群; 加大科研投入, 扩充学科体量, 提升科研水平; 改革学科建设绩效考核方式, 创造良好创新氛围。部分优势学科如口腔颌面外科、口腔修复科等进入世界一流学科行列。

