

· 实验研究 ·

细胞周期蛋白激酶抑制因子 p21 和 p27 在兔视网膜中的表达与细胞增生的关系

王晓辉 谢茂松 陈鲤敏 徐国兴

【摘要】 背景 细胞周期调节不平衡可诱发增生性玻璃体视网膜病变(PVR),研究周期蛋白依赖性激酶(CDK)及其抑制因子(CKI)对PVR形成过程中视网膜色素上皮(RPE)细胞和成纤维细胞病理增生过程中细胞周期的调控对PVR的防治具有重要意义。**目的** 研究CKI p21和p27在不同发育阶段正常兔视网膜中的表达规律,探讨p21和p27表达与细胞生长的关系。**方法** 按照兔龄将9只新西兰白兔分为10周龄组、20周龄组和30周龄组,每组3只。实验兔处死后取出双眼分别用于p21和p27在转录水平和翻译水平表达的检测。分离视网膜组织,采用real-time PCR和Western blot法分别检测不同周龄兔视网膜中p21和p27 mRNA及其蛋白的表达变化。**结果** 10周龄组、20周龄组和30周龄组兔视网膜组织中p21 mRNA的相对表达量分别为 1.631 ± 0.063 、 1.506 ± 0.012 和 1.585 ± 0.015 ,p27 mRNA的相对表达量分别为 1.581 ± 0.048 、 1.470 ± 0.012 和 1.490 ± 0.013 ,总体比较差异均有统计学意义($p_{21}: F=9.311, P=0.014$; $p_{27}: F=12.360, P=0.007$),其中10周龄组和30周龄组兔视网膜组织中p21和p27 mRNA的表达量均明显高于20周龄组,差异均有统计学意义(均 $P<0.05$)。10周龄组、20周龄组和30周龄组兔视网膜组织中p21蛋白的相对表达量分别为 0.675 ± 0.061 、 0.089 ± 0.001 和 0.200 ± 0.007 ,p27蛋白的相对表达量分别为 0.928 ± 0.019 、 0.183 ± 0.005 和 0.576 ± 0.089 ,总体比较差异均有统计学意义($p_{21}: F=228.905, P<0.001$; $p_{27}: F=148.957, P<0.001$),其中10周龄组和30周龄组兔视网膜组织中p21和p27蛋白的表达量均明显高于20周龄组,差异均有统计学意义(均 $P<0.01$)。兔视网膜中p21与p27间mRNA及蛋白的相对表达量均呈正相关(mRNA: $r=0.906, P<0.01$; 蛋白: $r=0.913, P<0.01$)。**结论** p21和p27在生长发育期的兔视网膜中表达量升高,随着生长过程变缓其表达量降低,之后随着视网膜组织老年性变化发生病理性表达增加,在细胞周期调控过程中可能起着平衡作用。

【关键词】 视网膜; 视网膜色素上皮/细胞学; 增生; 周期蛋白依赖性激酶/代谢; 周期蛋白依赖性激酶抑制因子/代谢; 细胞周期; 兔

Expressions of cyclin dependent kinase inhibitors p21 and p27 in rabbit retina and their association with proliferation Wang Xiaohui, Xie Maosong, Chen Limin, Xu Guoxing. Department of Ophthalmology, First Affiliated Hospital of Fujian Medical University, Fuzhou 350005, China

Corresponding author: Xu Guoxing, Email: fjmuxuguoxing@hotmail.com

[Abstract] Background The imbalance of cell cycle regulation results in proliferative vitreoretinopathy (PVR). Studying the effects of cyclin dependent kinase (CDK) and CDK inhibitor (CKI) on the cell cycle regulation of retinal pigment epithelial (RPE) cells and fibroblasts in PVR formation is of important significance. **Objective** This study was to investigate the expressing trend of p21, p27 and CDK inhibitors in retinas of different ages of rabbits and explore the relationship between p21 or p27 and cell growth. **Methods** Nine clean New Zealand rabbits were assigned to 10-week group, 20-week group and 30-week group according to the age and 3 rabbits for each. The eyeballs were enucleated binocularly after the animals were sacrificed and retinas were isolated. Real-time PCR and Western blot were employed to detect the expressions of p21 and p27 mRNA and their proteins in retinas of the rabbits. The

DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2015.11.003

基金项目:国家自然科学基金项目(81271026);福建省科技平台建设基金项目(2010Y2003);福建医科大学苗圃科研基金项目(2010MP014)

作者单位:350005 福州,福建医科大学附属第一医院眼科

通信作者:徐国兴,Email: fjmuxuguoxing@hotmail.com

use and care of the animals followed the Regulations for the Administration of Affairs Concerning Experimental Animals by State Science and Technology Committee. **Results** The relative expressing levels of p21 mRNA were 1.631 ± 0.063 , 1.506 ± 0.012 and 1.585 ± 0.015 , and those of p27 mRNA were 1.581 ± 0.048 , 1.470 ± 0.012 and 1.490 ± 0.013 in the 10-week group, 20-week group and 30-week group, respectively, showing significant differences among the groups (p21 mRNA: $F = 9.311$, $P = 0.014$; p27 mRNA: $F = 12.360$, $P = 0.007$), and the p21 and p27 mRNA expressing levels were significantly higher in the 10-week group and 30-week group than those in the 20-week group (all at $P < 0.05$). The expressing levels of p21 protein were 0.675 ± 0.061 , 0.089 ± 0.001 and 0.200 ± 0.007 , and those of p27 protein were 0.928 ± 0.019 , 0.183 ± 0.005 and 0.576 ± 0.089 in the 10-week group, 20-week group and 30-week group, respectively, with remarkable differences among the groups (p21: $F = 228.905$, $P < 0.001$; p27: $F = 148.957$, $P < 0.001$), and the expressions were significantly raised in the 10-week group and 30-week group in comparison with the 20-week group (all at $P < 0.01$). Significantly positive correlations were found in the expressing levels of p21 and p27 both in transcriptional and protein levels (mRNA: $r = 0.906$, $P < 0.01$; protein: $r = 0.913$, $P < 0.01$). **Conclusions** The expressions of p21 and p27 up-regulate in the retinas of developing stage of rabbits but gradually reduce with adulthood. However, p21 and p27 levels appear to be increasingly raised with aging of the rabbits. It is implied that p21 and p27 play a balancing role in the process of cycle regulation in retina cells.

[Key words] Retina; Retinal pigment epithelium/cytology; Proliferation; Cyclin-dependent kinase/metabolism; Cyclin-dependent kinase inhibitor/metabolism; Cell cycle; Rabbits

增生性玻璃体视网膜病变 (proliferative vitreoretinopathy, PVR) 的基本病理特征是由于细胞周期调节不平衡所致的视网膜色素上皮 (retinal pigment epithelium, RPE) 细胞的异常增生^[1]。影响细胞周期调控的决定因素是周期蛋白依赖性激酶 (cyclin dependent kinase, CDK) 与 CDK 抑制因子 (cyclin-dependent kinase inhibitor, CKI) 之间的平衡状态^[2]。p21 基因属于 CKI 基因, p27 基因是一种与细胞周期调控有关的重要基因之一, 是属于非特异 CKI, 在阻止细胞周期的进程中起关键作用, 可有效地抑制细胞增生^[3]。本研究组前期研究表明, 在兔晶状体上皮细胞 (lens epithelial cells, LECs) 中 p21 和 p27 的表达有一定规律, p21 和 p27 与兔 LECs 增生有关^[4], 但是目前 p21 和 p27 与视网膜增生病变的关系尚不完全清楚。本研究中检测兔视网膜组织中 p21 和 p27 的表达水平, 研究 p21 和 p27 与视网膜组织生长的关系及其机制, 为寻求防治 PVR 的方法提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 清洁级健康雄性新西兰兔 9 只 (上海市松江区松联实验动物场, 许可证号: 2007001100659), 均行常规裂隙灯显微镜、检眼镜检查, 以排除眼组织异常。按兔龄分为 10 周龄组 (体质量 $0.8 \sim 1.2$ kg)、20 周龄组 (体质量 $1.4 \sim 1.6$ kg) 和 30 周龄组 (体质量 $1.9 \sim 2.2$ kg), 每组 3 只^[5]。实验动物使用和喂养符合国家颁布的《实验动物管理条例》。

1.1.2 主要试剂 鼠抗兔 p21 单克隆抗体 (ab118)、鼠抗兔 p27 单克隆抗体 (ab79196) (英国 Abcam 公司); 羊抗鼠 HRP 标记二抗 (ZB-2305, 北京中杉金桥公司); 鼠抗兔 GAPDH 单克隆抗体 (sc-51907, 日本 Santa cruz 公司); BCA 法蛋白定量试剂盒 (PP1001)、UltraECL 底物化学发光检测试剂盒 (PP2101)、RIPA 裂解液 (PP1901) (北京百泰克生物技术有限公司); 逆转录试剂盒 (D6110A)、荧光定量试剂盒 (DRR041A) (大连 TAKARA 公司); Trizol (15596-018, 美国 Invitrogen 公司)。

1.2 方法

1.2.1 取材 10 周龄组、20 周龄组、30 周龄组新西兰兔均采用空气栓塞法处死, 立即摘出双侧眼球, 分离视网膜组织。每只兔的左眼用于 real-time PCR 检测, 右眼用于 Western blot 检测。

1.2.2 Real-time PCR 法检测兔视网膜组织中 p21 和 p27 mRNA 的相对表达 分别按 Trizol 提取说明书提取视网膜组织总 RNA; 按逆转录试剂盒说明书合成 cDNA。各引物序列用 primer 5.0 软件设计而成, 并参照 GenBank 序列 (表 1)。p21 反应条件: 95°C 变性 30 s, 60°C 退火 5 s, 72°C 延伸 30 s。p27 反应条件: 95°C 变性 15 s, 60°C 退火 30 s, 95°C 延伸 15 s, 40 次循环。反应体系 $25.0\ \mu\text{l}$, 上下游引物各 $0.5\ \mu\text{l}$, 2 倍 SYBR Premix Ex TaqTM $12.5\ \mu\text{l}$, ddH₂O $9.5\ \mu\text{l}$, DNA 模板 $2.0\ \mu\text{l}$ 。完成扩增后分析融解曲线, 判断其是否属于单峰曲线, 内参为 GAPDH, 采用 real-time PCR 仪测量波长为 497 nm 处吸光度 (A) 值, 目的基因 A 值与内参

的比值作为相对表达量。

表 1 p21、p27 及 GAPDH 引物序列

基因	引物序列(5'-3')
p21	上游:CGGAACGGCCTGAGGACT
	下游:GACGAGTCGGCGTTTGA
p27	上游:AGAAGCACTGCAGAGACATGGA
	下游:CTGTTGGCTCTTTTCTTTGAGG
GAPDH	上游:AGCACCAGAGGAGGACGAGA
	下游:TCTGGGATGGAACCTGTGAAGA

1.2.3 Western blot 法检测兔视网膜组织中 p21 和 p27 蛋白的表达水平 视网膜组织置入于液氮中冷冻,研磨,提取处理液行 SDS-PAGE 电泳,转膜,用 TBST 液(含质量分数 5% 脱脂奶粉)封闭 1 h。洗膜后,用封闭处理的 PVDF 膜与鼠抗兔 GAPDH、p21 和 p27 单克隆抗体(1:1 000)4℃ 孵育过夜。洗膜,室温下与辣根过氧化物酶标记的羊抗鼠二抗(1:5 000)孵育 1 h。再洗膜,加免疫印迹化学发光试剂后显影,洗片并晾干。使用凝胶图像分析仪扫描照片,检测各年龄组兔视网膜组织特异性蛋白的表达量,以目的蛋白与内参 GAPDH 灰度值的比值作为表达量。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 16.0 统计学软件进行统计分析。本研究测量指标的数据资料经 Shapiro-Wilk 检验呈正态分布,以 $\bar{x} \pm s$ 表示。采用均衡分组单因素干预三水平实验设计,10 周龄组、20 周龄组和 30 周龄组兔视网膜中 p21 和 p27 mRNA 和蛋白相对表达量的总体差异比较均采用单因素方差分析,组间多重比较采用 LSD-*t* 检验。p21 与 p27 间 mRNA 和蛋白表达量的关系分析均采用 Pearson 直线相关分析法,并对相关系数进行假设检验。采用双尾检验法,检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

2.1 不同兔龄组视网膜中 p21 和 p27 mRNA 相对表达量变化

10 周龄、20 周龄和 30 周龄组兔视网膜组织中 p21 mRNA 的相对表达量分别为 1.631 ± 0.063 、 1.506 ± 0.012 和 1.585 ± 0.015 ,总体比较差异有统计学意义($F = 9.311$, $P = 0.014$),其中 10 周龄组视网膜组织中 p21 mRNA 相对表达量最高,20 周龄组最低,2 个组间比较差异有统计学意义($P = 0.005$),30 周龄组兔视网膜中 p21 mRNA 相对表达量高于 20 周龄组,差异有统计学意义($P = 0.036$),而 10 周龄组与 30 周龄组间比较差异无统计学意义($P = 0.167$)。10 周龄、20 周龄

和 30 周龄组兔视网膜组织中 p27 mRNA 的相对表达量分别为 1.581 ± 0.048 、 1.470 ± 0.012 和 1.490 ± 0.013 ,总体比较差异有统计学意义($F = 12.360$, $P = 0.007$),10 周龄组兔视网膜组织中 p27 mRNA 相对表达量明显高于 20 周龄组和 30 周龄组,差异均有统计学意义($P = 0.003$ 、 0.009),30 周龄组兔视网膜中 p27 mRNA 相对表达量高于 20 周龄组,但组间比较差异无统计学意义($P = 0.429$)(图 1)。各组兔视网膜中 p21 mRNA 的相对表达量与 p27 mRNA 相对表达量呈正相关($r = 0.906$, $P < 0.01$)(图 2)。

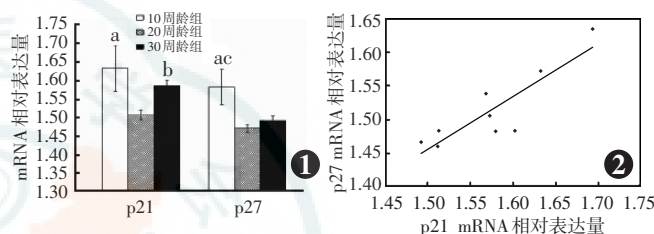


图 1 不同兔龄组视网膜中 p21 和 p27 mRNA 的相对表达量比较

p21: $F = 9.311$, $P = 0.014$ 。与 20 周龄组比较, $^a P < 0.01$, $^b P < 0.05$; p27: $F = 12.360$, $P = 0.007$ 。与 20 周龄组比较, $^a P < 0.01$; 与 30 周龄组比较, $^c P < 0.01$ (单因素方差分析, LSD-*t* 检验, $n = 3$) 图 2 兔视网膜中 p21 mRNA 与 p27 mRNA 相对表达量的相关分析 兔视网膜中 p21 mRNA 与 p27 mRNA 相对表达量呈正相关($r = 0.906$, $P < 0.01$)(Pearson 直线相关分析, $n = 9$)

2.2 不同周龄兔视网膜中 p21 和 p27 蛋白相对表达量的变化

Western blot 法检测发现,10 周龄组、20 周龄组和 30 周龄组均可见到 p21 蛋白和 p27 蛋白表达条带,其中 10 周龄组蛋白表达强度最强,20 周龄组表达最弱(图 3A)。10 周龄组、20 周龄组和 30 周龄组兔视网膜组织中 p21 蛋白的相对表达量分别为 0.675 ± 0.061 、 0.089 ± 0.001 和 0.200 ± 0.007 ,总体比较差异有统计学意义($F = 228.905$, $P < 0.001$),其中 10 周龄组视网膜组织中 p21 相对表达量最高,20 周龄组最低,10 周龄组兔视网膜组织中 p21 相对表达量明显高于 20 周龄和 30 周龄组,差异均有统计学意义(均 $P < 0.001$),30 周龄组兔视网膜组织中 p21 相对表达量明显高于 20 周龄组,差异有统计学意义($P = 0.009$);10 周龄组、20 周龄组和 30 周龄组兔视网膜组织中 p27 蛋白的相对表达量分别为 0.928 ± 0.019 、 0.183 ± 0.005 和 0.576 ± 0.089 ,总体比较差异有统计学意义($F = 148.957$, $P < 0.001$),其中与 10 周龄组比较,20 周龄组和 30 周龄组兔视网膜中 p27 蛋白的相对表达量均明显下降,差异均有统计学意义(均 $P < 0.001$),30 周龄组兔视网膜中 p27 蛋白的相对表达量明显高于 20 周

龄组,差异有统计学意义($P < 0.001$)(图 3B)。各组兔视网膜中 p21 蛋白的相对表达量与 p27 蛋白的相对表达量呈正相关($r = 0.913, P < 0.01$)(图 4)。

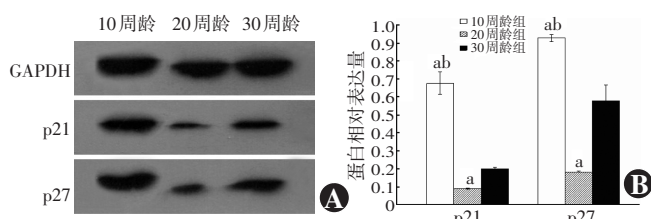


图3 Western blot法检测不同周龄兔视网膜中 p21 和 p27 蛋白的相对表达 A:凝胶电泳图可见 10 周龄兔视网膜中 p21 和 p27 蛋白条带表达最强,而 20 周龄组表达最弱 B:不同周龄组视网膜中 p21 和 p27 蛋白的量化比较 p21: $F = 228.905, P < 0.001$. 与 30 周龄组比较, $^a P < 0.01$; 与 20 周龄组比较, $^b P < 0.01$. p27: $F = 148.957, P < 0.001$. 与 30 周龄组比较, $^a P < 0.01$; 与 20 周龄组比较, $^b P < 0.01$ (单因素方差分析, LSD- t 检验, $n = 3$)

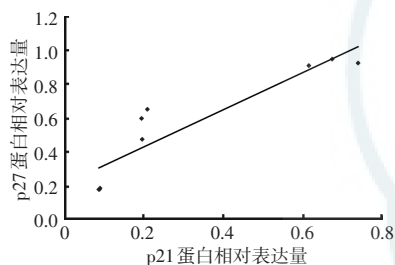


图4 兔视网膜中 p21 和 p27 蛋白相对表达量的相关分析 兔视网膜中 p21 与 p27 蛋白表达量呈正相关($r = 0.913, P < 0.01$) (Pearson 直线相关分析, $n = 9$)

3 讨论

PVR 形成的主要病理生理过程是 RPE 增生,伴有神经胶质细胞、成纤维细胞等细胞的增生和纤维膜的形成^[6],而 RPE 增生的基本特征是由于周期调控失衡而发生增生性改变^[1]。p21 基因是早期发现的 CKI 基因之一,是目前已知的具有广泛激酶抑制活性的细胞周期抑制蛋白,在细胞周期中发挥重要作用^[7],对 CDK2、CDK4、CDK6 的活性起到明显的抑制作用,而这 3 种 CDK 可对细胞周期的 G₁期至 S 期阶段发挥调控作用^[8-9]。增生细胞核抗原 (proliferating cell nuclear antigen, PCNA) 是近年来发现的与启动细胞增生高度相关的因子, p21 能与 PCNA 结合,使 DNA 合成受阻,抑制细胞增生^[10]。研究表明,当 RPE 细胞发生增生形成多层上皮时,上皮细胞中绝大多数 RPE 细胞都是 PCNA 阳性,而且 p21 的表达量明显升高,进一步说明 p21 对视网膜细胞增生有抑制作用^[11]。

p27 蛋白是细胞周期的抑制因子,可降低甚至阻断各种细胞周期蛋白和激酶的生物学活性,可能是影响 G₁/S 限制点最直接的调节因子。p27 是细胞周期中细胞增生、分化和凋亡的调控中起重要作用的因子,

在 G₀期细胞中含量较高,而进入细胞周期后则明显下降,表明 p27 可能是使细胞周期维持在静止状态的主要因子^[12-13]。敲除 p27 基因的鼠器官组织增生,视网膜异常生长,表明 p27 在控制细胞分化方面具有重要作用^[12]。研究发现,在胚胎 RPE 细胞发育后期 p27 表达上调,出生后下调,是阻止胚胎鼠视网膜细胞周期按顺序持续进展的定时器^[14-16]。这与细胞周期激动剂 PCNA 的表达恰恰相反,提示 p27 在细胞周期的负调控中起着关键作用。p21 与 p27 在氨基酸水平上具有高度相似的分子排列和结构,其 N 端的氨基酸顺序较为接近,因此二者在此区域都具有能够抑制 CDK 活性的结合位点^[17]。这些基因及其表达产物通过相互作用使细胞周期处于一种动态平衡。CDK、Cyclin、CKI 异常表达可能会引起细胞增生或生长抑制^[18]。本研究中采用 real-time PCR 和 Western blot 法检测了不同发育阶段兔视网膜组织中 p21 和 p27 的表达,以探讨 p21 和 p27 在兔视网膜组织中的表达规律。研究显示, p21 和 p27 可以表达于正常的兔视网膜组织中,在不同发育阶段表达水平呈现规律性变化,其中 10 周龄组兔视网膜中 p21 和 p27 表达水平最高,而 20 周龄组兔表达水平最低。根据生物生长的规律推测其原因是由于 10 周龄兔的视网膜组织增生处于较为活跃的阶段,故 p21 和 p27 表达增高,从而抑制细胞过度增生,维持正常的组织生长和发育;20 周龄后,兔视网膜细胞生长速度减慢,视网膜组织中 p21 和 p27 的表达量降低。在年龄相关性黄斑变性的研究中发现,年老者由于视网膜的长期感光性损伤、叶黄素等营养缺失、RPE 代谢异常等原因,导致 RPE、Bruch 膜及视细胞发生变性和增生^[19],因此推测 30 周龄兔视网膜组织增生水平相对于 20 周龄组缓慢上升, p21 和 p27 含量亦随之升高,对细胞发挥的抑制作用。本研究结果也表明, p21 和 p27 在视网膜中的表达水平呈正相关,这是由于 p21 与 p27 在氨基酸水平上具有高度同源性,二者均能抑制 CDK 活性的结合位点,通过协同作用来负向调控细胞周期,从而共同抑制视网膜细胞的增生,反之亦然。

综上所述,上述的各种因素打破了视网膜中 p21/p27 表达与 RPE 细胞生物活性之间的动态平衡,导致 RPE 细胞过度增生,从而引起 PVR。因此,影响或干预视网膜组织中 p21/p27 的表达对 PVR 的防治可能具有重要意义。

参考文献

[1] 韩勇娟,曾水清,胡义珍,等. p21-GFP 融合基因表达载体的构建与

- 在视网膜色素上皮细胞的表达定位[J]. 临床眼科杂志, 2005, 13(3): 277-279. doi:10.3969/j.issn.1006-8422.2005.03.032.
- [2] Charteris DG, Downie J, Aylward GW, et al. Intraretinal and periretinal pathology in anterior proliferative vitreoretinopathy[J]. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol, 2007, 245(1): 93-100.
- [3] Kuo CN, Chen CY, Lai CH, et al. Cell cycle regulation by bevacizumab in ARPE-19 human retinal pigment epithelial cells[J]. Mol Med Rep, 2012, 6(4): 701-704. doi:10.3892/mm.2012.986.
- [4] 王晓辉, 谢茂松, 徐国兴. p21 和 p27 在兔晶状体上皮细胞中的表达[J]. 国际眼科杂志, 2012, 12(9): 1629-1632. doi:10.3969/j.issn.1672-5123.2012.09.06.
- [5] 陈维毅, 冯鹏飞, 王晓君, 等. 年龄对兔眼晶状体刚度影响的实验研究[J]. 太原理工大学学报, 2012, 43(3): 243-246. doi:10.3969/j.issn.1007-9432.2012.03.010.
- [6] Leiderman YI, Miller JW. Proliferative vitreoretinopathy: pathobiology and therapeutic targets[J]. Semin Ophthalmol, 2009, 24(2): 62-69. doi:10.1080/08820530902800082.
- [7] Gartel AL. The conflicting roles of the cdk inhibitor p21(CIP1/WAF1) in apoptosis[J]. Leuk Res, 2005, 29(11): 1237-1238.
- [8] Muñoz-Espín D, Cañamero M, Maraver A, et al. Programmed cell senescence during mammalian embryonic development[J]. Cell, 2013, 155(5): 1104-1118. doi:10.1016/j.cell.2013.10.019.
- [9] 杨建刚, 熊全臣, 孙乃学, 等. 细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂在眼科的研究进展[J]. 世界核心医学期刊文摘: 眼科学分册, 2005, 1(8): 1-2.
- [10] Bishop AJ, Kosaras B, Hollander MC, et al. p21 controls patterning but not homologous recombination in RPE development[J]. DNA Repair (Amst), 2006, 5(1): 111-120. doi:10.1016/j.dnarep.2005.08.015.
- [11] Takamura Y. Increased expression of p21(WAF-1/CIP-1) in the lens epithelium of rat sugar cataract[J]. Exp Eye Res, 2002, 74(2): 245-254. doi:10.1006/exer.2001.1120.
- [12] Vernon AE, Devine C, Philpott A. The cdk inhibitor p27Kip1 is required for differentiation of primary neurones in *Xenopus* [J]. Development, 2003, 130(1): 85-92.
- [13] Sakamoto K, Ohki K, Saito M, et al. Small molecule cyclin-dependent kinase inhibitors protect against neuronal cell death in the ischemic-reperfused rat retina[J]. J Ocul Pharmacol Ther, 2011, 27(5): 419-425. doi:10.1089/jop.2010.0141.
- [14] Defoe DM, Levine EM. Expression of the cyclin-dependent kinase inhibitor p27 Kip1 by developing retinal pigment epithelium[J]. Gene Expr Patterns, 2003, 3(5): 615-619.
- [15] Yoshida K, Nakayama K, Kase S, et al. Involvement of p27(KIP1) in proliferation of the retinal pigment epithelium and ciliary body[J]. Anat Embryol (Berl), 2004, 208(2): 145-150.
- [16] Tokita-Ishikawa Y, Wakusawa R, Abe T. Evaluation of retinal degeneration in P27KIP1 null mouse[J]. Adv Exp Med Biol, 2010, 664: 467-471. doi:10.1007/978-1-4419-1399-9_53.
- [17] Menon VR, Peterson EJ, Valerie K, et al. Ligand modulation of a dinuclear platinum compound leads to mechanistic differences in cell cycle progression and arrest[J]. Biochem Pharmacol, 2013, 86(12): 1708-1720. doi:10.1016/j.bcp.2013.10.012.
- [18] 吴明星, 李绍珍, 曾骏文, 等. 外源性细胞周期蛋白激酶抑制因子 p21 基因对人晶状体上皮细胞周期的影响[J]. 中华眼科杂志, 2003, 39(4): 209-214. doi:10.3760/j.issn:0412-4081.2003.04.00.
- [19] Bowes Rickman C, Farsiu S, Toth CA, et al. Dry age-related macular degeneration: mechanisms, therapeutic targets, and imaging[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2013, 54(14): 68-80. doi:10.1167/iov.13-12757.

(收稿日期: 2015-06-22 修回日期: 2015-08-11)

(本文编辑: 尹卫靖 杜娟)

读者·作者·编者

本刊对一稿两投的处理

作者投稿请勿一稿两投或一稿多投。本刊编辑部发现一稿两投并经证实后,稿件将不予审理并对作者进行告知。如果发现一稿两用,本刊将做出如下处理:(1)在本刊杂志及网站上刊登撤销该论文及该文系重复发表的声明,并在中华医学会系列杂志上通报。(2)向作者所在单位和该领域内的其他科技期刊进行通报。(3)2年内拒绝发表其作为第一作者或通信作者的任何来稿。

文章未在公开发表物上发表者,以不同文字分别投往国外期刊和国内期刊以供不同受众者阅读者不属于一稿两投的行为,但本刊严格遵照国际医学期刊编辑委员会《国际生物医学期刊投稿统一要求》(http://www.icmje.org/urm_main.html),属于以不同语言文字二次发表者,请作者在首次接受稿件的期刊发表后1周再另行投稿,并请提供首次发表期刊同意以不同语言发表的同意函。

本刊对来稿中作者署名的著录要求

作者向本刊投稿时署名应符合以下条件:(1)参与课题的选题和实验设计,参与实验资料的收集、分析和论证。(2)参与论文的起草或能够对论文中的方法学或关键部分进行修改。(3)能对审稿专家和编辑提出的修改意见进行核修,能够答辩并承担责任。仅参与筹得资金或收集资料者以及仅对科研小组进行一般管理者均不宜署名为作者。文中如有外籍作者,应附外籍作者亲笔签名在本刊发表的同意函。集体署名的文章应于题名下列出署名单位,于文末列出论文整理者的姓名,并须明确该文的主要责任者。

作者署名的名次应按对论文贡献大小顺序排列于文题下方,每篇论文须列出通信作者1名。如无特殊约定,则视第一作者为通信作者。作者(包括通信作者)的署名及其排序应在投稿前由所有研究者共同讨论确定,在编排过程中不宜变更或增减,尤其是通信作者和前三名作者,若确需变动者须提供所有署名作者的签名同意函并出示单位证明。有英文文题的论著和综述应有全部作者姓名的汉语拼音,列于英文文题之下。

(本刊编辑部)