

细胞间黏附分子-1 在氩激光诱发的大鼠脉络膜新生血管中的动态表达变化

高小燕 何守志

【摘要】 背景 细胞外基质 (ECM) 的种类繁多, 具有重要的生物学功能, 它在脉络膜新生血管 (CNV) 生长过程中的重要作用日益受到人们的关注, 细胞间黏附分子-1 (ICAM-1) 就是其中之一。ICAM-1 参与新生血管的生成, 但目前 CNV 与 ICAM-1 相关性研究仍较少。目的 观察 ICAM-1 在激光诱发的大鼠脉络膜新生血管 (CNV) 中的动态表达变化, 探讨其在 CNV 形成过程中的作用, 为 CNV 的靶向治疗提供依据。方法 按照随机数字表法将 48 只健康雄性清洁级 BN 大鼠随机分为光凝后 1、2、3、4、5、6、7 和 8 周组, 每组 6 只, 每只大鼠任意选取一眼作为实验眼, 另一眼作为正常对照。采用氩激光光凝法建立 CNV 大鼠模型, 每组大鼠实验眼于光凝后相应时间点行荧光素眼底血管造影 (FFA) 检查, 计算荧光素渗漏量 (吸光度, A 值), 检查后各组摘取眼球制备石蜡切片, 采用苏木精-伊红染色法检测大鼠 CNV 面积; 分别采用免疫组织化学法和原位杂交技术测定大鼠 CNV 中 ICAM-1 蛋白及其 mRNA 的表达, 并计算其相对表达量 (A 值)。结果 苏木精-伊红染色结果显示激光光凝后视网膜内外颗粒层连续性断裂并内陷, Bruch 膜断裂, 巨噬细胞迁移至光凝斑区, 可见纤维母细胞及血管内皮细胞增生。免疫组织化学染色结果显示 ICAM-1 蛋白主要表达于血管内皮细胞、视网膜色素上皮 (RPE) 细胞和巨噬细胞中。原位杂交染色结果显示 ICAM-1 mRNA 主要表达于视网膜外颗粒层细胞中。视网膜光凝后不同时间组间 CNV 面积、荧光素渗漏量、ICAM-1 蛋白及其 mRNA 相对表达量的总体比较差异均有统计学意义 ($F=194.43, 178.84, 739.08, 2463.51$, 均 $P<0.05$)。随着光凝后时间的延长, 大鼠 CNV 面积逐渐增加, 荧光素渗漏量增多, ICAM-1 蛋白及其 mRNA 相对表达量均呈逐渐增长的趋势, 均于光凝后 8 周达到最高水平。结论 大鼠 CNV 区 ICAM-1 的表达量随在光凝后时间的延长而升高, 其表达趋势与 CNV 面积和荧光素渗漏程度相吻合。ICAM-1 可能在 CNV 的发生和发展过程中起重要作用。

【关键词】 脉络膜新生血管; 细胞间黏附分子-1/代谢; 免疫组织化学; 原位杂交技术; 疾病模型; BN 大鼠

Dynamic expression of intercellular adhesion molecule-1 in laser-induced choroidal neovascularization in Brown Norway rats Gao Xiaoyan, He Shouzhi. Department of Ophthalmology, China University of Technology Hospital, Beijing 100144, China

Corresponding author: He Shouzhi, Email: heshouzhi@sina.com

【Abstract】 **Background** Extracellular matrix (ECM) has various kinds of types and important biological function. The important role of ECM during choroidal neovascularization (CNV) arouse attention. Intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1), which is one of ECMs, involves in the formation of blood vessels, but the relationship between CNV and ICAM-1 is still unknown. **Objective** This study was to observe the dynamic expression of ICAM-1 in krypton laser-induced CNV and explore the effect of ICAM-1 on CNV. **Methods** Forty-eight healthy male clean BN rats were randomly divided into post-photocoagulation 1-week group, 2-week group, 3-week group, 4-week group, 5-week group, 6-week group, 7-week group and 8-week group. Laser-induced CNV models were monocularly established and the fellow eyes served as the normal controls. Fundus fluorescein angiography (FFA) was carried out to quantitate the leakage degree (absorbency). The eyeballs were enucleated on various time points, and CNV areas were assessed by hematoxylin and eosin staining; immunohistochemistry and in situ hybridization assay

DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2015.12.011

基金项目: 全军“十五”科研基金资助项目 (02M014)

作者单位: 100144 北京, 北方工业大学医院眼科 (高小燕); 100853 北京, 中国人民解放军总医院, 全军眼科中心 (何守志)

通信作者: 何守志, Email: heshouzhi@sina.com

were employed, respectively, for the detection of relative expression levels of ICAM-1 protein and mRNA (absorbency). The use and care of the animals complied with the Regulations for the Administration of Affairs Concerning Experimental Animals by State Science and Technology Committee. **Results** After laser photocoagulation, the retinal inner and outer nuclear layers were ruptured and invaginated. Disruption of Bruch membrane and macrophages migrating to the photocoagulation zone were seen under the optical microscope. The proliferation of fibroblasts and vascular endothelial cells was exhibited. ICAM-1 protein was mainly expressed in vascular endothelial cells, retinal pigment epithelium (RPE) cells and macrophages, and ICAM-1 mRNA was mainly expressed in the outer nuclear layer. Statistically significant differences were found in the fluorescence leakage degree, the relative expression levels of ICAM-1 protein and mRNA as well as CNV areas among the groups ($F=178.839, 739.077, 2463.508, 194.434$, all at $P<0.05$). The gradually enlarged CNV area, increased fluorescence leakage, up-regulation of ICAM-1 protein and mRNA expressions were matched with the extension of time after photocoagulation and peaked in the post-photocoagulation 8-week group. **Conclusions** The expressions of ICAM-1 protein and mRNA up-regulate upon the increase of CNV area and fluorescein leakage, suggesting that ICAM-1 might play an important role in CNV development.

[Key words] Choroidal neovascularization; Intercellular adhesion molecule-1/metabolism; Immunocytochemistry; In situ hybridization assay; Disease model; Brown Norway rats

细胞黏附是血管生成的前提,多种细胞黏附分子参与血管形成^[1]。细胞间黏附分子-1 (intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1) 是 Rothlein 等在 1986 年研究淋巴细胞黏附时发现的一种单链糖蛋白,在血管内皮细胞表面表达最高,参与缺血-再灌注后的炎症损伤过程。有研究发现 ICAM-1 的过度表达导致光凝后的细胞浸润^[2],这可能是 CNV 形成的重要原因。Koch 等^[3]发现当白细胞黏附到内皮细胞上时,内皮细胞上的 ICAM 脱落并结合到邻近内皮细胞,直接导致新生血管的生成。核因子- κ B (nuclear factor-kappa B, NF- κ B) 等转录调节因子通过调节 ICAM-1 等的表达来影响新生血管生成^[4]。ICAM-1 表达及其引起的细胞浸润可能对于 CNV 的形成具有重要意义。近年来,对眼内新生血管的基础和临床研究以及治疗方面的探讨一直是眼科界关注的热点,本研究就 ICAM-1 在 CNV 中的表达作一初步研究。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 主要试剂及仪器 兔抗大鼠 ICAM-1 多克隆抗体、ICAM-1 原位杂交检测试剂盒、生物素标记山羊抗兔 IgG 二抗 (武汉博士德生物工程有限公司)。Novua 2000 型氩激光仪 (美国 Coherent 公司); 荧光素眼底血管造影 (fluorescence fundus angiography, FFA) 摄像机 (德国 Heideberg 公司); Image-Pro Plus 5.1 图像分析系统 (美国 Media Cybernetics 公司)。

1.1.2 实验动物 清洁级 8~12 周龄健康雄性 BN 大鼠 48 只,体质量 200~220 g,由中国医学科学院实验动物中心提供,大鼠双眼前节及眼底未见异常。动

物的使用和管理遵循国家科学技术委员会颁布的《实验动物管理条例》。

1.2 方法

1.2.1 大鼠 CNV 模型的建立及分组 按照随机数字表法将大鼠分为光凝后 1、2、3、4、5、6、7 和 8 周组,每组 6 只。每只大鼠任意选取一眼作为实验眼,另一眼为正常对照眼。参照本实验室 CNV 造模方法^[5],采用氩激光 (647 nm) 距视盘等距离围绕视盘光凝大鼠视网膜。激光参数:功率为 360 mW,光斑直径为 100 μ m,曝光时间为 0.05 s。

1.2.2 FFA 法检测各组大鼠眼底血管渗漏情况 各组大鼠分别于相应时间点深度麻醉、扩瞳,腹腔内注射质量分数 10% 荧光素钠 0.3 ml,进行 FFA 检查。采用 Image-Pro Plus 5.1 图像分析软件计算各组大鼠 FFA 图像,计算荧光素渗漏的吸光度 (A) 值。

1.2.3 组织病理学方法检测各组大鼠视网膜脉络膜组织结构变化 各组大鼠分别于相应时间点过量麻醉法处死,摘取一侧眼球,二乙基焦碳酸酯 (diethylprocarbonate, DEPC) 处理过的蒸馏水冲洗,置于含有质量分数 4% 多聚甲醛的 DEPC 溶液 (含 PBS 0.1 mol/L) 中固定 2 h,沿角膜缘剪去角膜,去除晶状体和玻璃体,将眼杯制作蜡块,4 $^{\circ}$ C 保存备用。将眼球蜡块组织行 5 μ m 厚连续切片,常规脱蜡,行苏木精-伊红染色。光学显微镜下观察并拍照。采用 Image-Pro Plus 5.1 图像分析软件计算 400 倍光学显微镜下 CNV 面积,每个标本平行测量 5 张切片,取其平均值。

1.2.4 免疫组织化学法检测大鼠 CNV 中 ICAM-1 蛋白的表达与分布 取石蜡切片,常规脱蜡至水化,体积

分数 3% H₂O₂ 室温孵育 10 min, 阻断内源性过氧化物酶活性; 切片置于盛有 0.01 mol/L 枸橼酸盐缓冲液的抗原修复盒中, 微波中火加热 15 min 进行抗原热修复; 滴加兔抗大鼠 ICAM-1 多克隆抗体 (1:70) 4 °C 孵育过夜; 滴加生物素标记山羊抗兔 IgG 二抗, 37 °C 孵育 20 min; 滴加 AEC 显色剂, 室温显色 3 ~ 10 min。以 0.01 mol/L PBS 代替一抗作为阴性对照, 以试剂盒提供的大鼠肺肿瘤组织切片作为阳性对照。切片呈团簇、点状的红色着色者为阳性染色。光学显微镜下观察并拍照。采用 Image-Pro Plus 5.1 图像分析软件计算 400 倍光学显微镜下阳性染色区域吸光度 (A), 每个标本平行测量 5 张切片, 取其平均值。

1.2.5 原位杂交法检测大鼠 CNV 中 ICAM-1 mRNA 的表达分布 取石蜡切片常规脱蜡至 DEPC-H₂O, 3% H₂O₂ 室温孵育 10 min, 滴加质量分数 3% 胃蛋白酶室温消化 10 min, 暴露 mRNA 片段; 杂交湿盒中 40 °C 预杂交 3 h; 滴加含 ICAM-1 寡核苷酸标记探针的杂交液 20 μl, 置湿盒中于 42 °C 杂交 18 h; 滴加 AEC, 室温显色 3 ~ 10 min。用不含探针的杂交液进行杂交作为阴性对照, 以试剂盒提供的大鼠肺肿瘤组织切片作为阳性对照。切片呈团簇、点状的红色着色为阳性染色。光学显微镜下观察并拍照。采用 Image-Pro Plus 5.1 图像分析软件计算 400 倍显微镜下阳性染色区域 A 值, 每个标本平行测量 5 张切片, 取其平均值。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 13.0 统计学软件进行统计分析。本研究测量指标的数据资料经 W 检验证实呈正态分布, 以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间均数经 Levene 检验方差齐。采用完全随机分组单因素干预多水平实验设计, 光凝后不同时间组小鼠 CNV 面积、荧光素渗漏量 (A 值)、ICAM-1 蛋白和 mRNA 相对表达量 (A 值) 的总体差异比较采用单因素方差分析, 组间两两比较采用 LSD-t 检验。P < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 光凝后不同时间点大鼠 CNV 面积和荧光素渗漏情况

大鼠正常对照眼视网膜脉络膜组织各层结构清晰 (图 1A); 光凝后 2 周可见视网膜内外颗粒层连续性中断并内陷, Bruch 膜断裂, 含色素的巨噬细胞迁移至光凝损伤区, 纤维母细胞及血管内皮细胞增生 (图 1B); 随着光凝后时间的延长, CNV 区逐渐形成管腔, 其中含红细胞, CNV 区中的巨噬细胞减少, 纤维细胞成分增加, 色素沉积并包绕在 CNV 的边缘及上方 (图 1C)。

随着光凝后时间的延长, CNV 面积逐渐增加, 各组大鼠模型眼 CNV 面积的总体比较差异有统计学意义 ($F = 194.43, P = 0.00$); 各组间大鼠视网膜荧光素渗漏量 (A 值) 总体比较差异有统计学意义 ($F = 178.84, P = 0.00$) (表 1)。FFA 结果显示, 光凝后 1 周光凝斑周围出现较淡的云雾状荧光素渗漏, 光凝后 2 周荧光素渗漏量明显增加, 荧光强度增加, 此后, 随着光凝后时间的延长, 荧光素渗漏的荧光强度逐渐增强, 于光凝后 8 周扩大为边界模糊的高荧光斑 (图 2)。

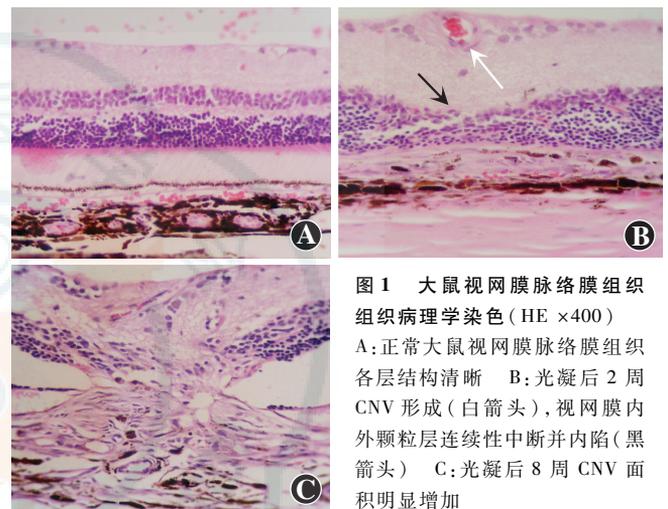


图 1 大鼠视网膜脉络膜组织组织病理学染色 (HE ×400) A: 正常大鼠视网膜脉络膜组织各层结构清晰 B: 光凝后 2 周 CNV 形成 (白箭头), 视网膜内外颗粒层连续性中断并内陷 (黑箭头) C: 光凝后 8 周 CNV 面积明显增加

表 1 光凝后不同时间点大鼠 CNV 面积和荧光素渗漏量的比较 ($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | 样本量 | CNV 面积 (μm ²) | 荧光素渗漏量 (A 值) |
|----------|-----|---------------------------------|-----------------------------|
| 光凝后 1 周组 | 6 | 3 981.42 ± 608.07 | 268.38 ± 61.91 |
| 光凝后 2 周组 | 6 | 4 864.28 ± 146.80 ^a | 557.88 ± 94.58 ^a |
| 光凝后 3 周组 | 6 | 5 381.77 ± 170.64 ^b | 663.30 ± 69.13 ^b |
| 光凝后 4 周组 | 6 | 6 122.99 ± 202.08 ^c | 718.12 ± 33.14 |
| 光凝后 5 周组 | 6 | 6 631.10 ± 517.24 ^d | 828.66 ± 40.75 ^d |
| 光凝后 6 周组 | 6 | 7 448.10 ± 423.42 ^e | 872.87 ± 64.63 |
| 光凝后 7 周组 | 6 | 9 368.43 ± 435.50 ^f | 906.57 ± 40.19 |
| 光凝后 8 周组 | 6 | 10 470.63 ± 353.90 ^g | 967.57 ± 33.78 |
| F | | 194.43 | 178.84 |
| P | | 0.00 | 0.00 |

注: 与各自光凝后 1 周组比较, ^aP < 0.05; 与各自光凝后 2 周组比较, ^bP < 0.05; 与各自光凝后 3 周组比较, ^cP < 0.05; 与各自光凝后 4 周组比较, ^dP < 0.05; 与各自光凝后 5 周组比较, ^eP < 0.05; 与各自光凝后 6 周组比较, ^fP < 0.05; 与各自光凝后 7 周组比较, ^gP < 0.05 (单因素方差分析, LSD-t 检验)

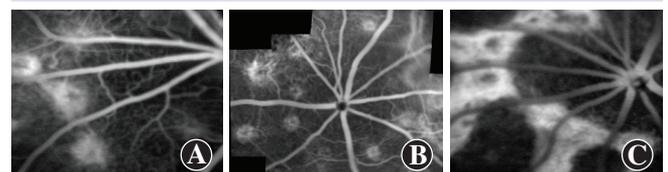


图 2 FFA 检查光凝后荧光素渗漏情况 A: 光凝后 2 周组荧光素渗漏明显 B: 光凝后 4 周组荧光素渗漏进一步增多 C: 光凝后 8 周组荧光素渗漏量最多, 渗漏处融合形成高荧光斑

2.2 光凝后不同时间组大鼠 CNV 中 ICAM-1 蛋白及其 mRNA 的表达

光凝后 4 周组可见在大鼠 CNV 区及视网膜外颗粒层细胞中有 ICAM-1 蛋白的强阳性表达,光凝后 6 周组 ICAM-1 表达进一步增强,光凝后 8 周组 ICAM-1 在 CNV 中的表达最强(图 3)。光凝后 1 周组可见 ICAM-1 mRNA 在 CNV 区及视网膜外颗粒层细胞中有微弱的表达,光凝后 2 周组其表达逐渐增强,光凝后 8 周组 ICAM-1 mRNA 在 CNV 中的表达最强(图 4);随着光凝后时间的延长,各组大鼠 CNV 中 ICAM-1 蛋白的表达量(A 值)逐渐增加,组间总体比较差异有统计学意义($F = 739.08, P = 0.00$);各组间大鼠 CNV 中 ICAM-1 mRNA 表达量(A 值)的总体比较差异有统计学意义($F = 2463.51, P = 0.00$),其中光凝后各时间组的 CNV 中 ICAM-1 mRNA 表达量较相邻的前一个时间点组均明显增加,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)(表 2)。

表 2 光凝后不同时间组大鼠 CNV 中 ICAM-1 mRNA 和蛋白的相对表达量的比较($\bar{x} \pm s, A$ 值)

| 组别 | 样本量 | ICAM-1 mRNA | ICAM-1 蛋白 |
|----------|-----|--------------------------|---------------------------|
| 光凝后 1 周组 | 6 | 7.77±1.46 | 17.78± 7.19 |
| 光凝后 2 周组 | 6 | 21.21±4.90 ^a | 52.21±13.00 ^a |
| 光凝后 3 周组 | 6 | 38.48±2.91 ^b | 78.94± 5.01 ^b |
| 光凝后 4 周组 | 6 | 49.76±3.20 ^c | 123.43±15.97 ^c |
| 光凝后 5 周组 | 6 | 61.50±4.27 ^d | 156.73±17.01 ^d |
| 光凝后 6 周组 | 6 | 104.72±5.44 ^e | 230.27±12.90 ^e |
| 光凝后 7 周组 | 6 | 129.25±4.32 ^f | 339.65±14.29 ^f |
| 光凝后 8 周组 | 6 | 294.32±7.47 ^g | 442.23±16.20 ^g |
| <i>F</i> | | 2463.51 | 739.08 |
| <i>P</i> | | 0.00 | 0.00 |

注:与各自光凝后 1 周组比较,^a $P < 0.05$;与各自光凝后 2 周组比较,^b $P < 0.05$;与各自光凝后 3 周组比较,^c $P < 0.05$;与各自光凝后 4 周组比较,^d $P < 0.05$;与各自光凝后 5 周组比较,^e $P < 0.05$;与各自光凝后 6 周组比较,^f $P < 0.05$;与各自光凝后 7 周组比较,^g $P < 0.05$ (单因素方差分析, LSD-*t* 检验)

3 讨论

在不同的疾病过程中,新生血管的形成虽有各自的特点,但也有其共同之处,如血管内皮细胞的激活、细胞外基质(extracellular matrix, ECM)的降解、内皮细胞的移行和增生、管腔结构的形成以及血管外膜的形成。多种细胞因子参与 CNV 的形成过程,其中炎症细胞因子是血管疾病主要的危险因素。

细胞黏附分子分为三大家族,即免疫球蛋白超家族(Ig)、整合素家族和选择素家族,属于黏附分子免疫球蛋白超家族。其广泛表达于多种细胞中,在血管内皮细胞中表达量最多,能与白细胞表面的淋巴细胞功能相关抗原-1、巨噬细胞-1 结合,有稳定白细胞与血管内皮细胞间黏附的作用,参与缺血-再灌注损伤的炎症过程。血管内皮细胞中的 ICAM-1 识别白细胞表面的整合素,使白细胞在血管中贴壁伸展,通过血管壁进入周围组织。趋化因子单核细胞趋化蛋白-1(monocyte chemotactic protein 1, MCP-1)和白细胞介素-8(interleukin-8, IL-8)可引起 ICAM-1 的受体-整合素的构象发生变化,从而使 ICAM-1 与其配体相结合^[6]。

在新生血管形成过程中,血管内皮细胞必须穿过 ECM,而此过程中细胞表面黏附分子发挥关键作用。研究发现,野生型 C57BL/6J 小鼠视网膜光凝斑区聚集着大量 CD18 阳性和 ICAM-1 阳性细胞,而 ICAM-1 基因缺陷小鼠的 CNV 形成受到抑制^[7]。Yeh 等^[8]研究发现 ICAM-1 在人眼黄斑下 CNV 膜中的表达量明显高于正常脉络膜血管和视网膜色素上皮(retinal pigment epithelium, RPE)。在本研究可见在光凝后 1~8 周内,随光凝时间的延长,CNV 面积呈增长趋势,

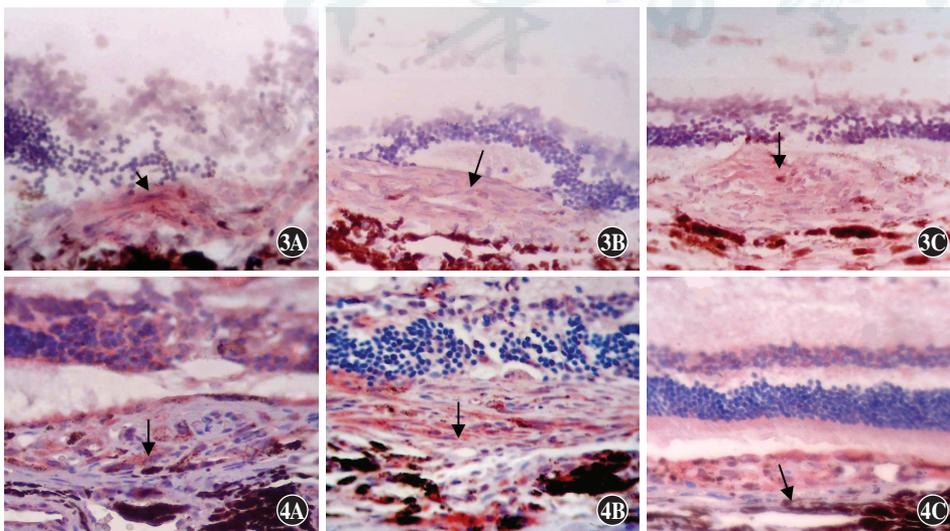


图 3 光凝后大鼠 CNV 中 ICAM-1 蛋白的动态表达(AEC ×400)(箭头所指为 CNV 区域) A:光凝后 4 周组大鼠 CNV 区及视网膜外颗粒层细胞中 ICAM-1 表达 B:光凝后 6 周组大鼠 CNV 中 ICAM-1 表达较 4 周组增强 C:光凝后 8 周组大鼠 CNV 中 ICAM-1 表达最强 图 4 光凝后大鼠 CNV 中 ICAM-1 mRNA 的动态表达(AEC ×400)(箭头所指为 CNV 区域) A:光凝后 1 周组大鼠 CNV 中 ICAM-1 mRNA 微弱表达 B:光凝后 2 周组大鼠 CNV 中 ICAM-1 mRNA 表达较 1 周组增强 C:光凝后 8 周组大鼠 CNV 中 ICAM-1 mRNA 表达最强

随 CNV 的生长, ICAM-1 的表达也逐渐增加, CNV 早期可见在类似于管腔结构的组织中有微量 ICAM-1 的表达, 随 RPE 细胞增生及巨噬细胞浸润, ICAM-1 在 CNV 中的表达量逐渐增多, 推测 ICAM-1 可能介导了白细胞对血管内皮细胞的黏附, 是导致 CNV 形成的因素之一。多个研究给予不同的药物干预激光诱导的 CNV 模型小鼠的 CNV 形成, 其机制均与下调 ICAM-1 的表达量有关, 如 Dong 等^[9] 研究发现, 模型鼠腹腔注射富含丝氨酸/精氨酸蛋白激酶 CNV 区 ICAM-1 的表达量明显下降, CNV 明显减少; Xie 等^[10] 研究发现姜黄素可抑制光凝区 ICAM-1 和 NF- κ B 的表达, 同时 CNV 减少; Fukuhara^[11] 等发现皮下注射激肽释放酶可抑制 CNV 形成, 同时抑制 ICAM-1 和血管内皮生长因子的表达; Izumi-Nagai 等^[12] 发现叶黄素可通过抑制 NF- κ B 的活化以及炎症细胞因子如 ICAM-1 等的表达来抑制 CNV 的发生和发展。本研究结果显示, 大鼠的 CNV 组织中 ICAM-1 mRNA 及蛋白的表达量明显升高, ICAM-1 在光凝斑部位的脉络膜层和 RPE 层大量表达, 主要分布于 CNV 区血管内皮细胞处, 与 Shen 等^[2] 的观察结果一致。

ICAM-1 存在于视网膜和脉络膜血管内皮细胞和炎症刺激活化后的 RPE 细胞中, 在内皮细胞形成管状结构过程中, 从一维的基因调节向三维的血管结构转化过程中发挥着至关重要的作用^[13-15]。有学者发现靶向抑制 *CD18* 和 *ICAM-1* 基因可以抑制 CNV^[7]。ICAM-1 是白细胞迁移所必不可少的细胞因子, 视网膜激光光凝可诱导其在小鼠脉络膜和视网膜血管内皮细胞中的表达上调^[16]。因此我们认为, 激光光凝可引起局部组织的炎症反应, 诱导血管内皮细胞活化并上调 ICAM-1 表达, ICAM-1 与 CD18 结合后介导白细胞-血管内皮细胞的黏附和迁移, 进而诱导 CNV。局部使用抑制黏附分子的药物有可能成为治疗 CNV 的新方法, 但进一步的研究应该关注 ICAM-1 来源于哪种细胞, 以及 ICAM-1 在 CNV 形成过程中具体的功能等。

参考文献

[1] Dorecka M, Siemianowicz K, Francuz T, et al. Exendin-4 and GLP-1 decreases induced expression of ICAM-1, VCAM-1 and RAGE in human retinal pigment epithelial cells[J]. *Pharmacol Rep*, 2013, 65(4): 884-890.

[2] Shen WY, Yu MJ, Barry CJ, et al. Expression of cell adhesion molecules and vascular endothelial growth factor in experimental choroidal neovascularisation in the rat[J]. *Br J Ophthalmol*, 1998, 82(9): 1063-1071. doi:10.1136/bjo.82.9.1063.

[3] Koch AE, Halloran MM, Haskell CJ, et al. Angiogenesis mediated by soluble forms of E-selectin and vascular adhesion molecule-1[J]. *Nature*, 1995, 376(6540): 517-519. doi:10.1038/376517a0.

[4] Dieterich LC, Huang H, Massena S, et al. α B-crystallin/HspB5 regulates endothelial-leukocyte interactions by enhancing NF- κ B-induced up-regulation of adhesion molecules ICAM-1, VCAM-1 and E-selectin[J]. *Angiogenesis*, 2013, 16(4): 975-983. doi:10.1007/s10456-013-9367-4.

[5] 高小燕, 何守志, 张新秀. 单核细胞趋化蛋白-1 在大鼠脉络膜新生血管中的表达[J]. *眼科研究*, 2010, 28(8): 707-711. doi:10.3969/j.issn.1003-0808.2010.08.006.

[6] Lasky LA. A 'roll' in acute inflammation[J]. *Current Biol*, 1993, 3(10): 680-682.

[7] Sakurai E, Taguchi H, Anand A, et al. Targeted disruption of the CD18 or ICAM-1 gene inhibits choroidal neovascularization[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2003, 44(6): 2743-2749.

[8] Yeh DC, Bula DV, Miller JW, et al. Expression of leukocyte adhesion molecules in human subfoveal choroidal neovascular membranes treated with and without photodynamic therapy[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2004, 45(7): 2368-2373.

[9] Dong Z, Noda K, Kanda A, et al. Specific inhibition of serine/arginine-rich protein kinase attenuates choroidal neovascularization[J]. *Mol Vis*, 2013, 19: 536-543.

[10] Xie P, Zhang W, Yuan S, et al. Suppression of experimental choroidal neovascularization by curcumin in mice[J/OL]. *PLoS One*, 2012, 7(12): e53329 [2015-04-11]. <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0053329>. doi:10.1371/journal.pone.0053329.

[11] Fukuhara J, Noda K, Murata M, et al. Tissue kallikrein attenuates choroidal neovascularization via cleavage of vascular endothelial growth factor[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2013, 54(1): 274-279. doi:10.1167/iovs.12-10512.

[12] Izumi-Nagai K, Nagai N, Ohgami K, et al. Macular pigment lutein is antiinflammatory in preventing choroidal neovascularization[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2007, 27(12): 2555-2562. doi:10.1161/ATVBAHA.107.151431.

[13] Ma N, Hunt NH, Madigan MC, et al. Correlation between enhanced vascular permeability, up-regulation of cellular adhesion molecules and monocyte adhesion to the endothelium in the retina during the development of fatal murine cerebral malaria[J]. *Am J Pathol*, 1996, 149(5): 1745-1762.

[14] Platts KE, Benson MT, Rennie IG, et al. Cytokine modulation of adhesion molecule expression on human retinal pigment epithelial cells[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 1995, 36(11): 2262-2269.

[15] Vernon RB, Sage EH. Between molecules and morphology. Extracellular matrix and creation of vascular form[J]. *Am J Pathol*, 1995, 147(4): 873-883.

[16] Hirano Y, Sakurai E, Matsubara A, et al. Suppression of ICAM-1 in retinal and choroidal endothelial cells by plasmid small-interfering RNAs in vivo[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2010, 51(1): 508-515. doi:10.1167/iovs.09-3457.

(收稿日期: 2015-06-10)

(本文编辑: 尹卫靖 张宇)