

白内障患者外周血中一氧化氮合酶的表达及其临床意义

叶荷花 张济明 陆云峰 钱益勇

【摘要】 背景 已有研究表明,白内障患者晶状体和房水中一氧化氮合酶(NOS)含量增加,但检测较为困难,而确定人体血液中 NOS 的过度表达是否与白内障有关对于白内障的临床检测和早期预防具有重要意义。目的 探讨白内障患者外周血中 NOS 的表达变化及其临床意义。方法 采用前瞻性队列研究设计,选择 2014 年 1—6 月在苏州大学附属第一医院及上海交通大学医学院附属新华医院眼科就诊的年龄相关性白内障患者 25 例、糖尿病性白内障患者 12 例和同期体检的健康者 20 名,3 个组患者基线特征匹配。收集所有受检者的外周血样本 2.0 ml,离心法获得沉淀细胞。分别采用逆转录 PCR(RT-PCR)法和流式细胞术检测受检者外周血中总 NOS mRNA 和诱导型 NOS(iNOS)mRNA 及其蛋白的表达水平,对各组间的检测结果进行比较。结果 年龄相关性白内障组、糖尿病性白内障组和健康对照组受检者外周血细胞中总 NOS mRNA 的相对表达值分别为 1.46 ± 0.31 、 1.59 ± 0.28 和 1.22 ± 0.23 ,3 个组间的总体比较差异有统计学意义($F=7.572$, $P=0.001$),其中年龄相关性白内障组、糖尿病性白内障组受检者外周血中 NOS mRNA 的相对表达值明显高于健康对照组,差异均有统计学意义($q=4.095$ 、 5.170 ,均 $P<0.01$);年龄相关性白内障组、糖尿病性白内障组和健康对照组受检者外周血细胞中 iNOS mRNA 的相对表达值分别为 1.17 ± 0.21 、 1.08 ± 0.15 和 0.89 ± 0.17 ,3 个组间的总体比较差异有统计学意义($F=12.801$, $P=0.000$),其中年龄相关性白内障组、糖尿病性白内障组受检者外周血中 iNOS mRNA 的相对表达值明显高于健康对照组,差异均有统计学意义($q=7.112$ 、 3.932 ,均 $P<0.01$)。年龄相关性白内障组、糖尿病性白内障组和健康对照组受检者外周血细胞中总 NOS 蛋白的相对表达值分别为 15.82 ± 2.11 、 17.19 ± 3.37 和 10.63 ± 2.28 ,总体比较差异有统计学意义($F=34.895$, $P=0.000$),其中年龄相关性白内障组、糖尿病性白内障组受检者外周血中 NOS 蛋白的相对表达值明显高于健康对照组,差异均有统计学意义($q=9.885$ 、 10.266 ,均 $P<0.01$)。结论 年龄相关性白内障和糖尿病性白内障患者血液中 NOS 含量增加,可能在白内障的形成和进展过程中发挥重要作用,外周血中 NOS 的检测可作为白内障防治的监测指标。

【关键词】 一氧化氮合酶; 一氧化氮; 白内障; 外周血; 逆转录 PCR; 流式细胞术

Change of nitric oxide synthase in peripheral blood of cataract patients Ye Hehua, Zhang Jiming, Lu Yunfeng, Qian Yiyong. Department of Ophthalmology, Xinhua Hospital Affiliated to Shanghai Jiaotong University School of Medicine, Shanghai 200092, China

Corresponding author: Qian Yiyong, Email: tsien@suda.edu.cn

[Abstract] **Background** Studies showed that the content of nitric oxide synthase (NOS) in aqueous and lenses elevates in cataract eyes. But it is difficult to measure the NOS content in eye tissue. So to determine whether the overexpression of NOS is associated with cataractogenesis is significant for the prevention and treatment of cataract.

Objective This study was to detect the expression of NOS in the peripheral blood of cataract patients and evaluate the association of blood NOS with cataractogenesis. **Methods** Twenty-five patients with age-related cataract and 12 patients with diabetic cataract were collected from January to June 2014 in Affiliated First Hospital of Soochow University and Xinhua Hospital Affiliated to Shanghai Jiaotong University School of Medicine, and 20 matched healthy

DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2015.04.013

基金项目:苏州大学青年教师自然科学基金项目(Q312203010)

作者单位:200092 上海交通大学医学院附属新华医院眼科(叶荷花);215006 苏州大学附属第一医院眼科(张济明、陆云峰、钱益勇)

通信作者:钱益勇,Email:tsien@suda.edu.cn

volunteers were enrolled in the Health Check Centre in the same duration. The 2.0 ml peripheral blood was collected from each subject under the informed consent. The blood specimens were centrifuged to obtain cell pellets. The contents of NOS mRNA and inducible nitric oxide synthase (iNOS) mRNA and their proteins in leukocytes were measured by reverse transcription PCR (RT-PCR) and flow cytometry. **Results** The relative expression levels of total NOS mRNA were 1.46 ± 0.31 , 1.59 ± 0.28 and 1.22 ± 0.23 in the age-related cataract group, the diabetic cataract group and the healthy control group, respectively, with a significant difference among the three groups ($F = 7.572$, $P = 0.001$). The relative expression level of total NOS mRNA was significantly higher in the age-related cataract group and the diabetic cataract group than that of the healthy control group ($q = 4.095, 5.170$, both at $P < 0.01$). The relative expression levels of iNOS in blood were 1.17 ± 0.21 , 1.08 ± 0.15 and 0.89 ± 0.17 in the age-related cataract group, the diabetic cataract group and the healthy control group, respectively, showing a significant difference among the three groups ($F = 12.801$, $P = 0.000$), and the level of iNOS in blood was significantly increased in the age-related cataract group and the diabetic cataract group compared with the healthy control group ($q = 7.112, 3.932$, both at $P < 0.01$). The expressions of total NOS protein in the age-related cataract group, the diabetic cataract group and the healthy control group were 15.82 ± 2.11 , 17.19 ± 3.37 and 10.63 ± 2.28 , with a significant difference among them ($F = 34.895$, $P = 0.000$), and the expressions of total NOS protein were significantly elevated in the age-related cataract group and the diabetic cataract group in comparison with the healthy control group ($q = 9.885, 10.266$, both at $P < 0.01$). **Conclusions** NOS content in periphery blood elevates in age-related and diabetic cataract patients. These results indicate that blood NOS may be associated with cataractogenesis. The measurement of blood NOS may be a useful indicator in monitoring and preventing cataract formation and development.

[Key words] Nitric oxide synthase; Nitric oxide; Cataract; Peripheral blood; Reverse transcription PCR; Flow cytometry

白内障是全球首位的致盲眼病,据研究推测,如能使白内障的发生推迟 10 年,白内障的手术量将减少近一半^[1],因此,探讨白内障的发病机制、研究白内障的早期预防和干预措施具有重要意义。一氧化氮(nitric oxide, NO)是一种内源性血管扩张剂、炎性介质、细胞信使及神经递质,在体内发挥重要的生理作用;同时 NO 也是一种自由基,其在体内的过度表达能引起细胞损伤,故与多种疾病的发生有密切关系^[2]。NO 由一氧化氮合酶(nitric oxide synthase, NOS)催化 L-精氨酸和分子氧生成,在体内存留时间短暂,因此检测其含量比较困难,而 NOS 作为其合成的限速酶,可以间接反映 NO 的水平^[3]。NO/NOS 在眼病的发生和发展中均起重要作用,已有文献报道白内障患者 NOS 水平升高,但这些研究仅局限于对离体晶状体或房水标本的测定^[4-7],其检测难度较大,而关于外周血中 NOS 含量与白内障发病相关性的研究报道较少。本研究选择年龄相关性白内障以及糖尿病性白内障患者为研究对象,通过测定其外周血中 NOS 的表达,探讨 NOS 与白内障发病的相关性,为白内障的临床防治提供新的线索和依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料

1.1.1 对象 采用前瞻性队列研究设计,选择 2014

年 1—6 月在苏州大学附属第一医院及上海交通大学医学院附属新华医院就诊的白内障患者 37 例,其中男 15 例,女 22 例;皮质性白内障 15 例,核性白内障 16 例,后囊下白内障 6 例。患者中包括年龄相关性白内障患者 25 例和糖尿病性白内障患者 12 例。白内障患者入选标准:(1)年龄 50~75 岁。(2)初诊患者。(3)未经白内障摘除手术以及其他相关药物治疗。排除标准:过熟期白内障、青光眼、高度近视、葡萄膜炎、眼外伤等其他眼部病变以及有长期放射线接触史等;年龄相关性白内障患者排除高血压、糖尿病等其他全身性疾病;糖尿病性白内障患者有 2 型糖尿病史 5 年以上,除糖尿病及糖尿病相关性并发症外,排除其他全身性疾病。纳入患者的晶状体混浊程度均符合白内障手术适应证,入院后行常规超声乳化白内障摘出联合人工晶状体植入术。另外选择 20 名上海交通大学医学院附属新华医院 50~75 岁同期健康体检正常者作为健康对照组,无眼部及全身疾病史,扩瞳后裂隙灯显微镜下检查双眼未发现晶状体混浊。本研究遵循 Helsinki 宣言,由苏州大学附属第一医院及上海交通大学医学院附属新华医院伦理委员会审批通过,所有受试者均签署知情同意书。

年龄相关性白内障组患者 25 例,平均年龄(63.3 ± 5.1)岁;其中男 9 例,女 16 例;单眼发病 13 例,双眼发病 12 例。糖尿病性白内障组患者 12 例,平

均年龄(60.5±6.1岁);其中男6例,女6例;单眼发病7例,双眼发病5例。健康对照组20人,平均年龄(59.0±6.9)岁;其中男9人,女11人。各组年龄、性别构成比比较差异均无统计学意义(年龄: $F=2.953, P=0.061$;性别构成比: $\chi^2=0.758, P=0.685$)。

1.1.2 主要试剂 小鼠抗人 NOS 一抗(CAT:MA3-030, 克隆号:NOS-3F7-B11 B5)、藻红蛋白(phycoerythrin, PE) 标记的羊抗小鼠二抗(CAT:M35018)(美国 BD 公司);小牛血清、PBS 缓冲液(美国 Gibco 公司);溶血剂(美国 Invitrogen 公司);其他试剂均为国产分析纯。引物由英潍捷基(上海)贸易有限公司设计并合成。

1.2 方法

1.2.1 外周血样本的采集 使用枸橼酸钠抗凝管收集研究对象外周血约 2.0 ml, 4℃ 保存。样本经离心、溶血剂溶血后清除红细胞, PBS 洗涤, 获取白细胞。每份白细胞样本分成两管, 分别用于 NOS 基因和蛋白水平的检测。

1.2.2 逆转录 PCR 检测白细胞中 NOS mRNA 的相对表达 利用微量 RNA 抽提试剂盒提取人外周血白细胞中总 RNA, DNase 试剂盒清除总 RNA 中残留的基因组 DNA 后逆转录成 cDNA。以 cDNA 为模板, PCR 法扩增总 NOS 和诱导型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)。反应条件: 94℃ 预变性 2 min, 94℃ 变性 30 s, 56℃ 退火 30 s, 72℃ 延伸 30 s, 37 个循环后, 72℃ 再延伸 10 min。扩增产物加入 2 μl 混有凝胶红的进样缓冲液, 质量分数 1% 琼脂糖凝胶上样电泳后用凝胶成像仪观察并拍照, 计算目的基因的相对表达量, 即目的基因/内参基因。引物序列及反应条件见表 1。

表 1 RT-PCR 引物序列

基因	引物序列	退火温度(℃)	循环数
总 NOS	上游 5'-CTCACTCCCCATGCCAAC-3'	58	37
	下游 5'-CCACTGGTGAGAAGGCTCAG-3'		
iNOS	上游 5'-TGCTTCTGTGCTAATGCCGA-3'	58	37
	下游 5'-CAACTTGGTGTGAAGGCG-3'		
GAPDH	上游 5'-ACCACAGTCCATGCCATCAC-3'	58	25
	下游 5'-TCCACCACCCTGTGCTGTA-3'		

注: NOS: 一氧化氮合酶; iNOS: 诱导型一氧化氮合酶; GAPDH: 甘油醛-3-磷酸脱氢酶

1.2.3 流式细胞术检测白细胞中 NOS 蛋白的表达 将人外周血白细胞重悬于 100 μl PBS 中, 设阴性对照管和 NOS 实验管。在实验管中加入一抗(1:100) 1 μl, 对照管中加入小鼠 IgG 同型对照抗体 1 μl, 4℃ 避光反应 30 min, 洗涤离心后加二抗(1:1000) 10 μl,

4℃ 避光反应 30 min 后洗涤、离心, 每管加入 0.5 ml PBS, 混匀, 上流式细胞仪检测。所有流式检测选用 PE 标记抗体, 选择 FL2 检测通道。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 15.0 统计学软件(IBM-SPSS, Chicago, IL, USA) 进行统计分析。本研究测定指标的数据资料经 K-S 检验呈正态分布, 以 $\bar{x} \pm s$ 表示。采用单因素分析均衡分组 3 水平试验设计, 年龄相关性白内障组、糖尿病性白内障组和健康对照组间受试者外周血中总 NOS mRNA 及其蛋白相对表达量、iNOS mRNA 相对表达量的总体差异比较均采用单因素方差分析, 组间的多重比较采用 SNK-q 检验。P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组受试者外周血中 NOS mRNA 的表达

年龄相关性白内障组、糖尿病性白内障组和健康对照组受试者外周血中总 NOS mRNA 的相对表达值分别为 1.46±0.31、1.59±0.28 和 1.22±0.23, 3 个组间总体比较差异有统计学意义($F=7.572, P=0.001$), 其中年龄相关性白内障组和糖尿病性白内障组患者外周血中总 NOS mRNA 相对表达量明显高于健康对照组, 差异均有统计学意义($q=4.095, 5.170$, 均 $P<0.01$)。年龄相关性白内障组与糖尿病性白内障组总 NOS mRNA 相对表达值的比较, 差异无统计学意义($q=-1.877, P>0.05$)(图 1)。

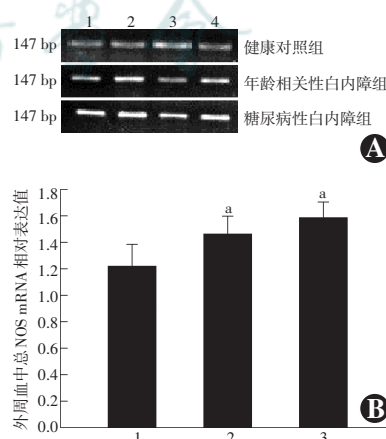


图 1 各组受试者外周血总 NOS mRNA 的表达 A: 凝胶电泳图 1~4: 受试者代表性凝胶电泳图 B: 各组间受试者外周血总 NOS mRNA 表达的量化比较 $F=7.572, P=0.001$ 。与健康对照组比较, $^a P<0.05$ (单因素方差分析, SNK-q 检验) 1: 健康对照组 2: 年龄相关性白内障组 3: 糖尿病性白内障组 NOS: 一氧化氮合酶

2.2 各组受试者外周血中 iNOS mRNA 的表达

年龄相关性白内障组、糖尿病性白内障组和健康对照组受试者外周血中 iNOS mRNA 的相对表达值分别为 1.17±0.21、1.08±0.15 和 0.89±0.17, 3 个组间总体比较差异有统计学意义($F=12.801, P=0.000$), 其中年龄相关性白内障组和糖尿病性白内障组患者外

周血中 iNOS mRNA 相对表达值明显高于健康对照组, 差异均有统计学意义 ($q = 7.112, 3.932$, 均 $P < 0.01$), 而年龄相关性白内障组与糖尿病性白内障组间患者外周血中 iNOS mRNA 相对表达值的差异无统计学意义 ($q = 1.987, P > 0.05$) (图 2)。

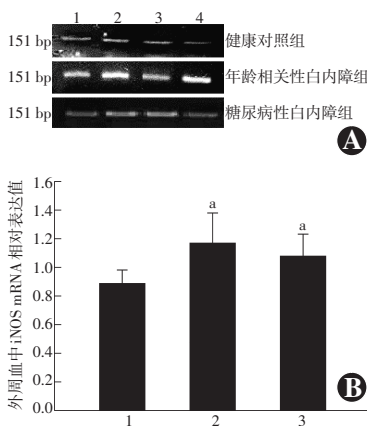


图 2 各组受检者外周血中 iNOS mRNA 的表达
A: 凝胶电泳图 1~4: 受检者代表性凝胶电泳图
B: 各组间受检者外周血中 iNOS mRNA 表达的量化比较 $F = 12.801, P = 0.000$. 与健康对照组比较, $^a P < 0.05$ (单因素方差分析, SNK- q 检验)
1: 健康对照组 2: 年龄相关性白内障组 3: 糖尿病性白内障组 iNOS: 诱导型一氧化氮合酶

2.3 各组受检者外周血中 NOS 蛋白的表达

年龄相关性白内障组、糖尿病性白内障组和健康对照组受检者外周血样本中总 NOS 蛋白的相对表达值 (NOS 阳性表达细胞百分比) 分别为 15.82 ± 2.11 、 17.19 ± 3.37 和 10.63 ± 2.28 , 3 个组间总体比较差异有统计学意义 ($F = 34.895, P = 0.000$), 其中年龄相关性白内障组和糖尿病性白内障组受检者外周血中总 NOS 蛋白表达水平明显高于健康对照组, 差异均有统计学意义 ($q = 9.885, 10.266$, 均 $P < 0.01$), 而年龄相关性白内障组与糖尿病性白内障组间的差异无统计学意义 ($q = -2.230, P > 0.05$) (图 3)。

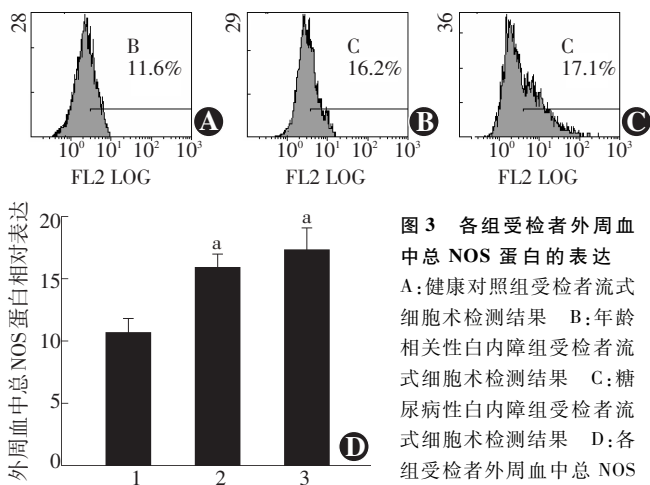


图 3 各组受检者外周血中总 NOS 蛋白的表达
A: 健康对照组受检者流式细胞术检测结果 B: 年龄相关性白内障组受检者流式细胞术检测结果 C: 糖尿病性白内障组受检者流式细胞术检测结果 D: 各组受检者外周血中总 NOS 蛋白相对表达值的量化比较 $F = 34.895, P = 0.000$. 与健康对照组比较, $^a P < 0.05$ (单因素方差分析, SNK- q 检验) 1: 健康对照组 2: 年龄相关性白内障组 3: 糖尿病性白内障组 NOS: 一氧化氮合酶

3 讨论

白内障的形成是多因素参与的结果, 与年龄、环境以及遗传等因素相关, 但白内障发生和发展的确切机制至今尚未明确。

流行病学以及分子生物学研究结果表明, 白内障的发生与晶状体的氧化损伤密切相关, 尤其是自由基对晶状体的损害^[8-9]。自由基反应是机体正常生物代谢过程中必不可少的重要环节。在细胞内许多酶促反应和电子传递过程中, 均有自由基及其中介代谢产物发生。晶状体细胞中有一套完整的抗氧化防御体系以抵御自由基等导致的氧化损伤, 包括谷胱甘肽过氧化物酶、还原型谷胱甘肽等, 但随着年龄老化或者晶状体内代谢发生改变, 自由基与抗氧化系统之间发生失衡, 活性自由基在机体及眼内过量堆积, 产生氧化应力, 攻击细胞膜, 导致脂质过氧化、DNA 损伤和细胞内蛋白质变性, 导致晶状体混浊。目前已报道的自由基包括羟基自由基、超氧阴离子和过氧自由基等^[10]。

NO 是一种半衰期仅数秒的小分子自由气体, 是体内重要的生物信使分子之一, 也是一种氧化能力较强的自由基, 能通过直接损伤作用、氧化生成过氧化亚硝酸离子 (OONO⁻)、cGMP/非 cGMP 依赖方式作用于细胞凋亡基因、干扰细胞能量代谢等途径诱导细胞凋亡。NO 在体内由 NOS 催化 L-精氨酸和分子氧生成, NOS 是其合成的限速酶。由于体内直接检测 NO 较困难, 通常选择检测 NOS 的表达间接反应 NO 的含量^[3]。NOS 在体内分布广泛, 根据 NOS 来源及基因编码的不同将 NOS 分为神经元型 NOS (neuronal NOS, nNOS)、内皮型 NOS (endothelial NOS, eNOS) 和 iNOS 3 种类型^[11], 其中 nNOS 和 eNOS 合称结构型 NOS, 其激活依赖于 Ca²⁺/CaM 的作用, 不受内毒素等的诱导, 通常参与生理状态下 NO 的生成; 而 iNOS 不依赖于 Ca²⁺/CaM, 生理状态下一般不表达, 在病理状态下可在内毒素、细菌脂多糖、白细胞介素-1 等介质的刺激下产生大量的 iNOS, 进而生成过量 NO 发挥细胞毒效应^[12-13]。

在眼部各组织, 包括脉络膜、视网膜、睫状体、小梁网以及角膜结膜等组织中均有 NOS 的表达, 但生理情况下含量较低^[14-17]。NOS 的过度表达与白内障、青光眼、葡萄膜炎、糖尿病性视网膜病变以及角膜新生血管等眼部病变相关^[18-22]。已有研究表明, 白内障患者晶状体中的 NOS 表达升高^[4-7], 而本研究旨在通过检测外周血中 NOS 的表达, 进一步分析其与白内障发病是否有关联。结果表明, 年龄相关性白内障和糖尿病性

白内障患者外周血细胞中总 NOS 的基因表达以及蛋白表达均较健康对照组增高,主要是 iNOS 的增加,提示白内障患者外周血中 NOS 表达增高可能参与了白内障的发病过程,可以认为白内障患者体内存在诱导 iNOS 表达的病理条件。这提示我们可以通过 NOS 作为靶分子从源头上进行干预,以对白内障进行防治。鉴于本研究样本量相对较小,未来还需要更大样本量的研究证实,并结合房水和晶状体内 NOS 表达变化等因素,深入研究体内 iNOS 表达升高在白内障形成中的具体机制。

总之,本研究结果表明白内障患者外周血中 NOS 的表达增加,为 NO 参与白内障发生和发展的病理过程扩展了证据,将为药物防治白内障提供新的有价值的线索和方法。

参考文献

- [1] Asbell PA, Dualan I, Mindel J, et al. Age-related cataract [J]. Lancet, 2005, 365(9459): 599-609. doi:10.1016/S0140-6736(05)17911-2.
- [2] Archer SL, Huang JM, Hampl V, et al. Nitric oxide and cGMP cause vasorelaxation by activation of a charybdotoxin-sensitive K channel by cGMP-dependent protein kinase [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1994, 91(16): 7583-7587. doi:10.1073/pnas.91.16.7583.
- [3] Bredt DS, Hwang PM, Snyder SH. Localization of nitric oxide synthase indicating a neural role for nitric oxide [J]. Nature, 1990, 347(6295): 768-770. doi:10.1038/347768a0.
- [4] 牛耘丽, 王惠英. 老年性白内障晶体 NO 和 NOS 的生化研究 [J]. 同济大学学报: 医学版, 2005, 26(1): 30-31. doi:10.3969/j.issn.1008-0392.2005.01.008.
- [5] 马红宇, 周之南, 付波, 等. 一氧化氮与白内障相关性的临床研究 [J]. 中国医师进修杂志, 2006, 29(27): 20-21. doi:10.3760/cma.j.issn.1673-4904.2006.27.008.
- [6] 王冬兰, 朱耘丽, 杨笑天, 等. 老年性白内障晶体一氧化氮和一氧化氮合成酶的生化检测 [J]. 中国实用眼科杂志, 2001, 19(2): 120-121. doi:10.3760/cma.j.issn.1006-4443.2001.02.012.
- [7] Li Y, Liu D, Liu Y, et al. Protein nitration promotes inducible nitric oxide synthase transcription mediated by NF-kappaB in high glucose-stimulated human lens epithelial cells [J]. Mol Cell Endocrinol, 2013, 370(1-2): 78-86. doi:10.1016/j.mce.2013.02.015.
- [8] Truscott RJ. Age-related nuclear cataract-oxidation is the key [J]. Exp Eye Res, 2005, 80(5): 709-725. doi:10.1016/j.exer.2004.12.007.
- [9] Chung SS, Ho EC, Lam KS, et al. Contribution of polyol pathway to diabetes-induced oxidative stress [J]. J Am Soc Nephrol, 2003, 14(8 Suppl 3): S233-S236. doi:10.1097/01.ASN.0000077408.15865.06.
- [10] Fatma N, Singh DP, Shinohara T, et al. Transcriptional regulation of the antioxidant protein 2 gene, a thiol-specific antioxidant, by lens epithelium-derived growth factor to protect cells from oxidative stress [J]. J Biol Chem, 2001, 276(52): 48899-48907. doi:10.1074/jbc.M100733200.
- [11] Billiar TR. Nitric oxide. Novel biology with clinical relevance [J]. Ann Surg, 1995, 221(4): 339-349. doi:10.1097/0000658-199504000-00003.
- [12] Bohme GA, Bon C, Stutzmann JM, et al. Possible involvement of nitric oxide in long-term potentiation [J]. Eur J Pharmacol, 1991, 199(3): 379-381. doi:10.1016/0014-2999(91)90505-K.
- [13] Liu RH, Hotchkiss JH. Potential genotoxicity of chronically elevated nitric oxide: a review [J]. Mutat Res, 1995, 339(2): 73-89. doi:10.1016/0165-1110(95)90004-7.
- [14] 高建华, 张东泉, 宫枢政. 一氧化氮合成酶在正常幼猫视觉系统的分布 [J]. 眼科研究, 2000, 18(1): 22-24. doi:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2000.01.007.
- [15] Wu RY, Ma N. Expression of nitric oxide synthase and guanylate cyclase in the human ciliary body and trabecular meshwork [J]. Chin Med J (Engl), 2012, 125(1): 129-133. doi:10.3760/cma.j.issn.0366-6999.2012.01.024.
- [16] Park CS, Park R, Krishna G. Constitutive expression and structural diversity of inducible isoform of nitric oxide synthase in human tissues [J]. Life Sci, 1996, 59(3): 219-225. doi:10.1016/0024-3205(96)00287-1.
- [17] Chakravarthy U, Stitt AW, McNally J, et al. Nitric oxide synthase activity and expression in retinal capillary endothelial cells and pericytes [J]. Curr Eye Res, 1995, 14(4): 285-294. doi:10.3109/02713689509033528.
- [18] Bogdan C. Nitric oxide and the regulation of gene expression [J]. Trends Cell Biol, 2001, 11(2): 66-75. doi:10.1016/S0962-8924(00)01900-0.
- [19] 刘高勤, 陈源, 陈磊, 等. 一氧化氮合成酶及其抑制剂在碱烧伤诱导的角膜新生血管中的作用 [J]. 中华实验眼科杂志, 2013, 31(10): 908-913. doi:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2013.10.002.
- [20] 归东梅, 杨颀, 李迅, 等. 缺氧诱导因子-1 α 、诱导型一氧化氮合成酶及环氧合酶-2 在慢性高血压大鼠视网膜中的表达 [J]. 眼科研究, 2010, 28(9): 805-809. doi:10.3969/j.issn.1003-0808.2010.09.002.
- [21] Silva KC, Rosales MA, de Faria JB, et al. Reduction of inducible nitric oxide synthase via angiotensin receptor blocker prevents the oxidative retinal damage in diabetic hypertensive rats [J]. Curr Eye Res, 2010, 35(6): 519-528. doi:10.3109/02713681003664923.
- [22] Yu QR, Zhang ZP, Zhang H, et al. Inducible nitric oxide synthase is involved in the oxidation stress induced by HIV-1 gp120 in human retina pigment epithelial cells [J]. Chin Med J (Engl), 2008, 121(24): 2578-2583. doi:10.3760/j.issn.0366-6999.2008.24.020.

(收稿日期:2015-01-13)

(本文编辑:尹卫靖)

读者·作者·编者

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)参与课题的选题和研究设计,参与研究资料的收集、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)