

论著·临床研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2016.23.013

整合素连接激酶抑制剂 QLT0267 对 TEMT 过程中 P38MAPK 表达的影响*

林智峰¹, 贾林², 赵丹¹, 马莉², 唐玉玲², 杨锐², 杨晓萍^{1△}

(1. 石河子大学医学院第一附属医院肾病科, 新疆石河子 832008; 2. 石河子大学医学院, 新疆石河子 832008)

[摘要] 目的 探讨在高糖诱导肾小管上皮细胞-肌成纤维细胞转分化(TEMT)过程中,整合素连接激酶(ILK)抑制剂 QLT0267 对 P38 丝裂原活化蛋白激酶(P38MAPK)表达的影响。方法 体外培养人近端肾小管上皮细胞(HK-2),分 10 组,每组给予不同浓度葡萄糖及 QLT0267,干预 48 h。四甲基偶氮唑蓝(MTT)法检测细胞增殖情况,计算半数抑制浓度(IC₅₀);随后选取对照组、高糖组、DMSO 组、QLT0267(IC₅₀)组(使用 QLT0267 后, HK-2 细胞数量减少一半所需的 QLT0267 药物浓度),免疫荧光法检测各组 ILK、P-P38MAPK 的表达;Western blot 检测各组 ILK、蛋白激酶 B(AKT)、磷酸化-蛋白激酶 B(P-AKT)、P-P38MAPK、P38MAPK、 α -平滑肌肌动蛋白(α -SMA)的表达,观察各组表达差异性,探讨在 TEMT 过程中 QLT0267 对 P38MAPK 的影响。结果 30 mmol/L 的葡萄糖干预 48 h HK-2 细胞增殖显著,同时上调细胞中 ILK、P-AKT、P-P38MAPK、 α -SMA 的表达;QLT0267 在抑制 HK-2 细胞增殖的同时,可以通过下调 ILK 下游 P-AKT 的表达,阻止 P38MAPK 活化,进而减少 HK-2 细胞中 α -SMA 的表达,延缓 TEMT 进程。结论 QLT0267 可能通过部分阻止 P38MAPK 的活化,从而延缓 HK-2 细胞 TEMT 进程。

[关键词] 糖尿病肾病;近端小管上皮细胞;转分化;整合素连接激酶;P38 丝裂原活化蛋白激酶;QLT0267

[中图分类号] R692 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2016)23-3206-04

The effect of QLT0267 which is inhibitor of ILK on P38MAPK in process of HK-2 cells TEMT*

Lin Zhifeng¹, Jia Lin², Zhao Dan¹, Ma Li², Tang Yuling², Yang Rui², Yang Xiaoping^{1△}

(1. Division of Nephrology, the First Affiliated Hospital, College of Medicine, Shihezi University, Shihezi, the Xinjiang Uygur Autonomous Region 832008, China; 2. Medical College of Shihezi University, Shihezi, the Xinjiang Uygur Autonomous Region 832008, China)

[Abstract] **Objective** To observe the effect of different concentrations of QLT0267 which is the inhibitor of integrin-linked kinase(ILK) on P38 mitogen activated protein kinase (P38MAPK), in process of high glucose-induced tubular epithelial-myofibroblast transdifferentiation (TEMT). **Methods** The cultured human renal tubular epithelial(HK-2) cell were divided into 10 groups by the different concentrations of GS and QLT0267, cultured 48 h. The inhibition ratio in each group was calculated by the method of MTT, and found concentration which inhibit rate was 50% (IC₅₀). Then we selected control group, high-glucose group, DMSO group and QLT0267(IC₅₀) group(The concentration of QLT0267, which led to the HK-2 cell reduced by half). The protein of ILK, AKT, P-AKT, P38MAPK, P-P38MAPK and α -smooth muscle actin (α -SMA) were detected by the method of immunofluorescence and Western blot. We observed the differences in each group and explored the relationship between ILK and P38MAPK in the process of TEMT. **Results** HK-2 cell proliferated significantly after 30 mmol/L glucose intervention for 48 h, and at the same time it upregulated the expression of ILK, P-AKT, P-P38MAPK, α -SMA. 50% HK-2 cell inhibited at the concentration of 28 μ mol/L QLT0267. It decreased both the expression of P-AKT which down-regulated the expression of ILK, and the expression of P-P38MAPK, thereby reducing the expression of α -SMA and delaying process of TEMT at the concentrations of 28 μ mol/L QLT0267 in HK-2 cell. **Conclusion** 28 μ mol/L QLT0267 might inhibit HK-2 cell TEMT by decreasing the expression of P38MAPK.

[Key words] diabetic nephropathy; kidney tubules epithelial cells; epithelial-mesenchymal transition; ILK; P-38MAPK; QLT0267

随着病情进展,糖尿病肾病终将发展为肾间质纤维化(renal interstitial fibrosis, RIF),而 RIF 是终末期肾脏病的主要病理基础之一,危害性大,是近年来的研究热点。报道证实,肾小管上皮细胞-肌成纤维细胞转分化(tubular epithelial-myofibroblast transdifferentiation, TEMT)在 RIF 过程中起着重要的作用^[1]。因此,探究 TEMT 过程的发生机制,寻找有效的作用靶点,早干预,早治疗,对延缓 RIF 病程进展有着十分重要的意义。

众所周知,整合素连接激酶(integrin-linked kinase, ILK)

是丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)家族上游信号分子,在正常肾小管上皮细胞中不表达或仅少量表达, TEMT 后表达增高,是信号传导的重要枢纽^[2]。P38 丝裂原活化蛋白激酶(P38MAPK)是 MAPK 家族成员之一,其活化在一定程度上可以加速 TEMT 的进程^[3],然而,ILK 是否通过 P38MAPK 信号途径参与 TEMT 的病程进展目前鲜有文献报道,因此本研究拟用不同浓度 ILK 抑制剂 QLT0267,旨在观察 QLT0267 对 P38MAPK 表达的影响,探讨在高糖诱导 TEMT 过程中 ILK 与 P38MAPK 的关系。

* 基金项目:石河子大学科学技术研究发展计划基金资助项目(2013ZRKXYQ-YD16)。 作者简介:林智峰(1981-),主治医师,硕士,主要从事肾小管疾病研究。△ 通讯作者, E-mail: sbkxyp@163.com。

1 材料与方 法

1.1 材 料

1.1.1 主要材料 人近端肾小管上皮细胞(HK-2,上海通派公司),胎牛血清(FBS,BI公司),DMEM(无糖)/F12培养基(Gibicol公司),0.25%胰蛋白酶+乙二胺四乙酸(EDTA,Heclon公司),四甲基偶氮唑蓝(MTT,Solarbio公司),QLT0267、二甲基亚砷(DMSO,上海前尘生物科技有限公司,QLT0267溶剂),兔抗人ILK抗体(Abcam公司),兔抗人蛋白激酶B(AKT抗体)、兔抗人磷酸化-蛋白激酶B(P-AKT)抗体、兔抗人P38MAPK抗体、兔抗人P-P38MAPK抗体(Cell Signaling公司),鼠抗人 α -SMA抗体(Abcam公司)、多聚甲醛(博士德生物公司)、山羊血清(中杉金桥公司)。

1.1.2 主要仪器 xMark酶联免疫检测仪(BIO-RAD公司)、显微镜(Olympus公司),LSM 510META共聚焦显微镜(Zeiss公司),XR+凝胶成像仪(BIO-RAD公司)。

1.2 方 法

1.2.1 细胞培养及分组 购置HK-2细胞株,用含10%FBS的DMEM/F12培养液传代培养,取第2~7代细胞用于试验。分为10组:(1)对照组(5.5 mmol/L葡萄糖);(2)高糖组(30.0 mmol/L葡萄糖);(3)DMSO组(30.0 mmol/L葡萄糖+与Q30组剂量相同的DMSO);(4)Q0.05组(30.0 mmol/L葡萄糖+0.05 μ mol/L QLT0267);(5)Q0.5组(30.0 mmol/L葡萄糖+0.50 μ mol/L QLT0267);(6)Q10组(30.0 mmol/L葡萄糖+10.00 μ mol/L QLT0267);(7)Q20组(30.0 mmol/L葡萄糖+20.00 μ mol/L QLT0267);(8)Q30组(30.0 mmol/L葡萄糖+30.00 μ mol/L QLT0267);(9)Q50组(30.0 mmol/L葡萄糖+50.00 μ mol/L QLT0267);(10)Q100组(30.0 mmol/L葡萄糖+100.00 μ mol/L QLT0267)干预48 h。倒置相差显微镜下观察细胞形态。

1.2.2 MTT法检测HK-2细胞增殖 收集对数期HK-2细胞,接种于96孔板内,次日同步化12 h,按上述分组加药,每组6个复孔,干预48 h;换液后每孔加入100 μ L完全培养液及20 μ L MTT溶液(5 mg/mL,即0.5%MTT);继续培养4 h后,吸去孔内培养液,加入150 μ L DMSO,酶标仪中低速振荡3次,使结晶物充分溶解。在酶联免疫检测仪490 nm处测量各孔光密度(OD)值;试验重复3次,并按以下公式计算抑制率,抑制率=[OD高糖组-OD QLT0267(IC₅₀)组]/OD高糖组 \times 100%,SPSS法计算半数抑制浓度(IC₅₀)^[4],选取QLT0267(IC₅₀)组。

1.2.3 免疫荧光法检测 取对数期细胞于6孔板中爬片,细胞数约8 000/张,按对照组、高糖组、DMSO组、QLT0267(IC₅₀)组加药干预48 h。4%多聚甲醛固定,10%山羊血清封闭30 min,滴加兔抗人单克隆ILK(1:400)、P-AKT(1:1 000)、P-P38MAPK(1:800)抗体,4 $^{\circ}$ C孵育过夜,FITC标记山羊抗兔抗体(1:100)室温孵育1.5 h,封片,采图,AIM examiner系统进行荧光强度分析。

1.2.4 Western blot检测 取对数期细胞种板,按对照组、高糖组、DMSO组、QLT0267(IC₅₀)组加药,干预48 h后冰上裂解并收集细胞,12 000 r/min 4 $^{\circ}$ C离心25 min,提取蛋白,蛋白质定量试剂盒(BCA法)测蛋白浓度,配平后加入5 \times loading buffer煮沸,使蛋白变性,上样电泳,聚偏二氟乙烯膜(PVDF膜)转膜,5%脱脂奶粉或BSA室温封闭2 h,兔抗人单克隆ILK、P-AKT、AKT、P-P38MAPK、P38MAPK抗体(1:1 000~1:2 000)或鼠抗人单克隆 α -SMA抗体(1:500)4 $^{\circ}$ C

孵育过夜,二抗(1:20 000)室温孵育2 h,暗室曝光,凝胶成像和Gel-Pro analyzer分析系统进行灰度分析。

1.3 统计学处理 采用SPSS17.0统计软件分析,计量资料用 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较用LSD-q检验,检验水准 $\alpha=0.05$,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

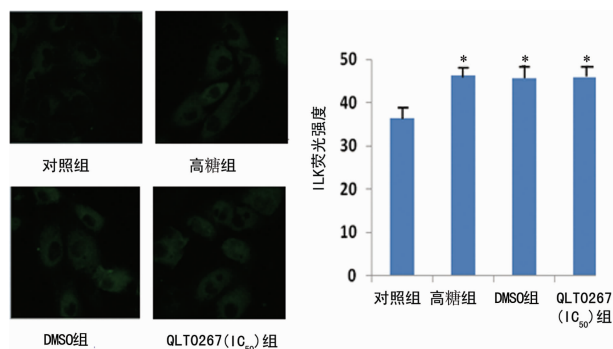
2 结 果

2.1 不同浓度QLT0267干预48 h对HK-2细胞增殖的影响 与对照组相比,高糖组、DMSO组、Q0.05组、Q0.5组HK-2细胞OD值增高($P<0.05$),Q10、Q20、Q30、Q50、Q100组HK-2细胞OD值降低($P<0.05$)。与高糖组相比,DMSO组及浓度低于0.5 μ mol/L的QLT0267对细胞无显著抑制作用($P>0.05$),Q10、Q20、Q30、Q50、Q100组细胞数目明显减少($P<0.05$),细胞增殖抑制率分别为23.8%、48.7%、65.0%、75.1%、84.9%(表1)。根据上述细胞增殖抑制率的情况,通过SPSS计算QLT0267的IC₅₀浓度(用QLT0267后活细胞数量增殖抑制率为50%的浓度),约为24.5~32.1 μ mol/L,故依据前期试验结果选取28 μ mol/L为QLT0267的IC₅₀浓度,即为QLT0267(IC₅₀)组。

表 1 干预 48 h 后各组 HK-2 细胞 OD 值

组别	OD 值($\bar{x}\pm s$)	抑制率(%)
对照组	0.336 \pm 0.062	
高糖组	0.417 \pm 0.072 ^a	
DMSO 组	0.411 \pm 0.077 ^a	
Q0.05 组	0.430 \pm 0.057 ^a	-0.7
Q0.5 组	0.398 \pm 0.082 ^a	4.2
Q10 组	0.318 \pm 0.044 ^{ab}	23.8
Q20 组	0.214 \pm 0.041 ^{ab}	48.7
Q30 组	0.146 \pm 0.027 ^{ab}	65.0
Q50 组	0.104 \pm 0.028 ^{ab}	75.1
Q100 组	0.063 \pm 0.010 ^{ab}	84.9

^a: $P<0.05$,与对照组比较。



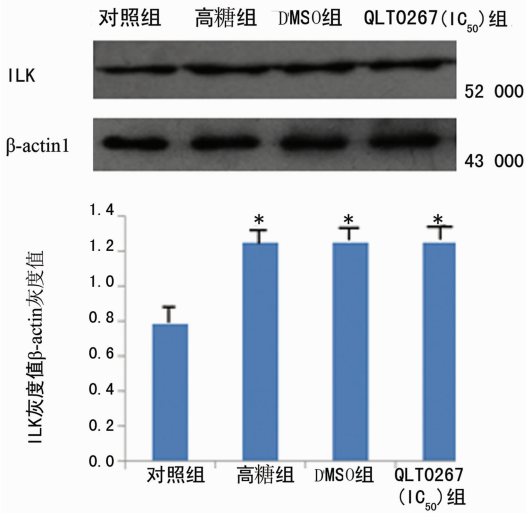
*: $P<0.05$,与对照组比较。

图 1 激光共聚焦法、Western blot 检测 HK-2 细胞中 ILK 的表达($\times 200$)

2.2 QLT0267作用48 h对HK-2细胞中ILK表达的影响 激光共聚焦法、Western blot检测各组中ILK表达情况显示,对照组中ILK蛋白表达量较低,与对照组相比,高糖组、DMSO组、QLT0267(IC₅₀)组ILK荧光强度显著增高($F=12.382$, $P<0.05$),但3组间荧光强度差异无统计学意义($P>0.05$)。Western印迹法结果与免疫荧光法结果一致($F=1.090$,0.078,

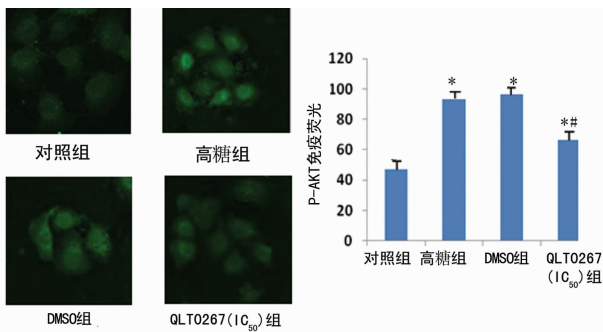
$P < 0.05$), 见图 1、2。

2.3 QLT0267 干预 48 h 对 HK-2 细胞中 AKT、P-AKT 表达的影响 对照组中 P-AKT 灰度值较低, 且其蛋白表达量低于其余 3 组 ($F = 16\ 979.843, P < 0.05$); 高糖组与 DMSO 组组间 P-AKT 灰度值差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 与高糖组相比, QLT0267 (IC_{50}) 组灰度值降低, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。两种方法检测细胞蛋白水平差异无统计学意义 ($F = 105.62, P < 0.05$)。各组间 AKT 灰度值差异无统计学意义 ($F = 1.103, P > 0.05$), 见图 3、4。



*: $P < 0.05$, 与对照组比较。

图 2 Western blot 检测 QLT0267 干预 48 h 对 HK-2 细胞中 ILK 表达的影响



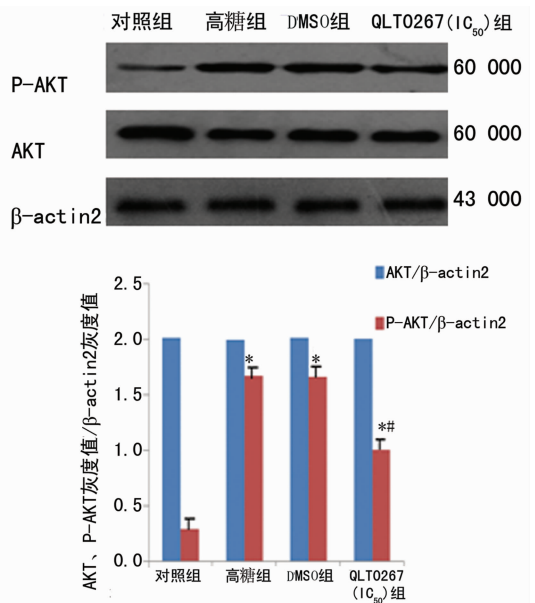
*: $P < 0.05$, 与对照组比较; #: $P < 0.05$, 与高糖组比较。

图 3 免疫荧光检测 HK-2 细胞中 P-AKT 的表达 ($\times 200$)

2.4 QLT0267 干预 48 h 对 HK-2 细胞中 P38MAPK、P-P38MAPK 表达的影响 对照组中 P-P38MAPK 灰度值最低。与对照组相比, 高糖组、DMSO 组、QLT0267 (IC_{50}) 组 P-P38MAPK 灰度值显著增高 ($F = 1\ 027.973, P < 0.05$); 与高糖组相比, DMSO 组中 P-P38MAPK 蛋白差异无统计学意义 ($P > 0.05$), QLT0267 (IC_{50}) 组中 P-P38MAPK 蛋白表达量下调 ($P < 0.05$)。各组间 P38MAPK 灰度值不随药物干预而变化 ($F = 1.125, P > 0.05$)。免疫荧光法检测细胞中 P-P38MAPK 表达, 结果较前基本一致 ($F = 40.885, P < 0.05$), 见图 5、6。

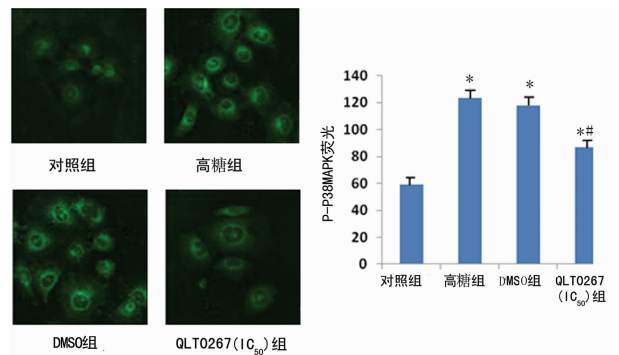
2.5 QLT0267 干预 48 h 对 HK-2 细胞中 α -SMA 表达的影响 对照组中 α -SMA 仅少量表达, 与对照组相比, 其余 3 组 α -SMA 表达均增高 ($F = 1\ 051.225, P < 0.05$)。与高糖组相比, DMSO 组不能显著下调 TEMT 后 HK-2 细胞中 α -SMA 的表达 ($P > 0.05$), QLT0267 (IC_{50}) 组可以使 α -SMA 蛋白表达量显

著降低 ($P < 0.05$), 见图 7。



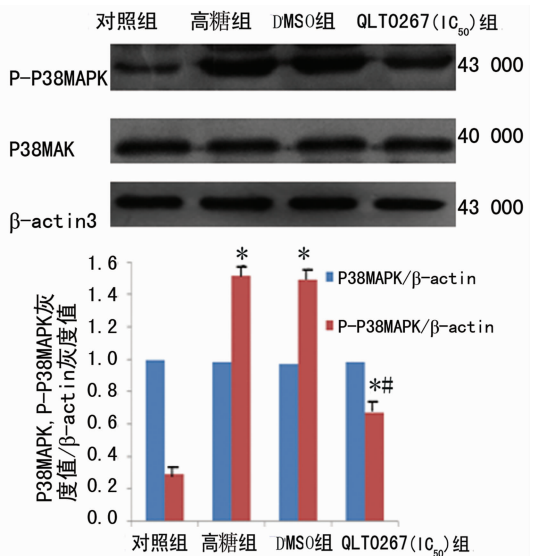
*: $P < 0.05$, 与对照组比较; #: $P < 0.05$, 与高糖组比较。

图 4 Western blot 法检测各组 HK-2 细胞中 AKT、P-AKT 表达



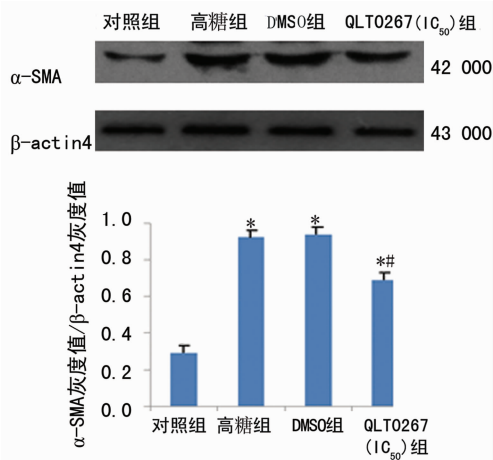
*: $P < 0.05$, 与对照组比较; #: $P < 0.05$, 与高糖组比较。

图 5 免疫荧光检测 HK-2 细胞中 P-P38MAPK 的表达 ($\times 200$)



*: $P < 0.05$, 与对照组比较; #: $P < 0.05$, 与高糖组比较。

图 6 Western blot 检测 HK-2 细胞中 P38MAPK、P-P38MAPK 的表达



*: $P < 0.05$, 与对照组比较; #: $P < 0.05$, 与高糖组比较。

图 7 Western blot 检测 HK-2 细胞中 α -SMA 的表达

3 讨论

正常肾间质中,细胞外基质(ECM)的生成与降解始终处于动态平衡状态,病理情况下,平衡遭到破坏,导致过量的ECM在肾间质内蓄积,最终引起RIF。研究表明TEM T与RIF关系密切,其严重程度与预后密切相关^[4],而表达 α -SMA的肌成纤维细胞的出现是TEM T开始的标志^[5]。本试验证实,30 mmol/L葡萄糖作用48 h,可促进HK-2细胞增殖,同时 α -SMA表达增高,佐证转分化模型成功。在此过程中ILK、P-P38MAPK表达均增高,而ILK作为MAPK家族上游蛋白,是否能够通过活化的MAPK家族成员P38MAPK参与TEM T过程值得讨论。

ILK是一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,是细胞-细胞外基质连接处的重要分子骨架,对ECM具有调控作用^[6],其特异性抑制剂QLT0267可以通过抑制ILK下游AKT磷酸化进而发挥其抑制效果^[7]。研究发现,在抑制肿瘤细胞生长、降低糖尿病大鼠尿清蛋白/肌酐比值等过程中,QLT0267可通过上述途径发挥治疗作用^[8-16]。同时,周娟等^[10]也发现,多条信号通路参与了TEM T过程,TGF- β /ILK是其中之一,在该过程中ILK表达增高,与本试验结果一致。此外,本研究发现,QLT0267可以抑制ILK下游AKT活化进而使 α -SMA表达降低,延缓TEM T进展。

p38MAPK表达于所有类型的细胞中,在控制细胞增殖、分化、转化及凋亡等生理过程中起主要作用^[11-12]。P38MAPK被磷酸化为P-P38MAPK而激活,进而完成调节相关基因转录^[13]。在TEM T过程中,P38MAPK通过保守的三级激酶级联形式激活,抑制P38MAPK的磷酸化,改善糖尿病肾病中肾脏的炎性病变,延缓TEM T的进程^[14]。

目前已有报道纳米材料可以激活ILK/p38MAPK通路,引起成骨细胞分化,证实P38MAPK是ILK下游的效应分子^[15];同时,Smeeton等^[16]也发现ILK可通过P38MAPK信号通路阻碍发育过程中输尿管胚芽的生长。本研究通过免疫荧光法、Western blot法证实,在TEM T过程中,QLT0267可以通过下调P-AKT的表达,显著抑制P38MAPK活化,而不改变P38MAPK总蛋白表达量,但其P-P38MAPK表达量仍高于对照组,提示多条信号途径参与TEM T过程;ILK可能可以通过活化P38MAPK以外的其他信号途径参与TEM T过程;QLT0267尚不能完全抑制ILK下游蛋白活化;ILK阻断P38MAPK活化可能具有平台效应。与此同时, α -SMA表达

亦减少,提示TEM T得到改善。

综上所述,QLT0267可以通过特异性阻止ILK下游蛋白AKT的活化,有可能抑制部分的细胞增殖,下调高糖诱导TEM T过程中P-P38MAPK的表达,延缓DN过程中TEM T的进程。

参考文献

- [1] Liu C, Chen F, Han X, et al. Role of TGF- β 1/p38 MAPK pathway in hepatitis B virus-induced tubular epithelial-myofibroblast transdifferentiation [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2014, 7(11): 7923-7930.
- [2] Li Y, Tan X, Dai C, et al. Inhibition of integrin-linked kinase attenuates renal interstitial fibrosis [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2009, 20(9): 1907-1918.
- [3] 赵斌, 葛金芳, 朱娟娟, 等. 小议在MTT法测细胞增殖抑制率中IC₅₀的计算方法[J]. *安徽医药*, 2007, 11(9): 834-836.
- [4] Hills CE, Squires PE. The role of TGF- β and epithelial-to-mesenchymal transition in diabetic nephropathy [J]. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2011, 22(3): 131-139.
- [5] Rhyu DY, Yang Y, Ha H, et al. Role of reactive Oxygen species in TGF- β 1-induced mitogen-activated protein kinase activation and epithelial-mesenchymal transition in renal tubular epithelial cells [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2005, 16(3): 667-675.
- [6] 闫喆, 姚芳, 张丽萍, 等. ILK siRNA对高糖刺激的人肾小管上皮细胞GSK-3 β 及 β -catenin表达的影响[J]. *中国病理生理杂志*, 2014, 30(3): 503-508.
- [7] Kalra J, Dragowska WH, Bally MB. Using pharmacokinetic profiles and digital quantification of stained tissue microarrays as a medium-throughput, quantitative method for measuring the kinetics of early signaling changes following integrin-linked kinase inhibition in an in vivo model of cancer [J]. *J Histochem Cytochem*, 2015, 63(9): 691-709.
- [8] Edwards LA, Woo J, Huxham LA, et al. Suppression of VEGF secretion and changes in glioblastoma microenvironment by inhibition of integrin-linked kinase (ILK) [J]. *Mol Cancer Ther*, 2008, 7(1): 59-70.
- [9] Chen T, Zheng LY, Xiao W, et al. Emodin ameliorates high glucose induced-podocyte epithelial-mesenchymal transition in-vitro and in-vivo [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2015, 35(4): 1425-1436.
- [10] 周娟, 秦晓华, 李瑾, 等. 红细胞生成素对白蛋白诱导HK-2细胞转分化中TGF β 1/ILK通路的调控作用[J]. *中国现代医学杂志*, 2013, 23(6): 24-28.
- [11] Wei L, Li Y, Suo Z. TSPAN8 promotes gastric cancer growth and metastasis via ERK MAPK pathway [J]. *Int J Clin Exp Med*, 2015, 8(6): 8599-8607.
- [12] 奚培培, 徐玉音, 黄新忠, 等. 前列腺素E2受体激动剂对转化生长因子 β 1诱导的小鼠系膜细胞损伤的保护作用[J]. *中华肾脏病杂志*, 2013, 29(10): 761-767.
- [13] 肖瑛, 方开云, 石明隽, 等. p38MAPK介导高糖下调肾小管上皮细胞表达BMP-7 [J]. *中国病理生理杂志*, 2010, 26(9): 1759-1763.

手术方式,并且对于儿童青光眼患者可以作为首选的治疗方式,本研究中儿童青光眼患者有 10 例,均有良好的手术效果。

本研究发生率最高的并发症为前房积血,与研究对象原发疾病中新生血管性青光眼所占比例较高有关(54.8%),TSCPC 使睫状体凝固性坏死,术后 IOP 显著降低,可能导致原本功能不良的新生血管破裂出血。另一主要并发症为视力下降(16.7%),可能与手术前后 IOP 剧烈波动导致视网膜神经节细胞缺血-再灌注损伤,炎症反应加重,低 IOP 性黄斑水肿等因素有关。睫状体破坏性手术常见的另一并发症为疼痛,本研究在总结初期病例(5 例剧烈疼痛的患者均为初期治疗病例),加强局部抗炎和改进镇痛措施后,术后疼痛的发生率大大降低。

TSCPC 具有简便、快捷、经济、体积小、易携带、造价低等优点,目前有学者认为在手术条件落后或无法负担常规诊疗或随访费用的地区可将 TSCPC 作为原发性青光眼的的首选治疗^[8,16]。有报道发现 TSCPC 术后发生巩膜溶解穿孔这一严重并发症,与内眼手术后色素嵌顿于巩膜层间有关^[17],故行 TSCPC 时应避开巩膜瘢痕区域。然而上述研究样本量较小,随访时间较短,本研究中尚未出现巩膜溶解穿孔这一并发症,对于视功能尚存的青光眼患者是否普遍使用尚存争议,有待增加样本量,延长随访时间来进一步证实。

参考文献

- [1] Joshi AB, Parrish RK, Feuer WF. 2002 survey of the American glaucoma society-practice preferences for glaucoma surgery and antifibrotic use[J]. *J Glaucoma*, 2005, 14(2):172-174.
- [2] Gedde SJ, Schiffman JC, Feuer WJ, et al. Treatment outcomes in the tube versus trabeculectomy (TVT) study after five years of follow-up[J]. *Am J Ophthalmol*, 2012, 153(5):789-803.
- [3] Mckelvie PA, Walland MJ. Pathology of cyclodiode laser: a series of nine enucleated eyes[J]. *Br J Ophthalmol*, 2002, 86(4):381-386.
- [4] Piirtola A, Puska P, Kivelä T. Red laser cyclophotocoagulation in the treatment of secondary glaucoma in eyes with uveal melanoma[J]. *Glaucoma*, 2014, 23(1):50-55.
- [5] 李维娜, 梁宗宝, 邓艺萍, 等. 睫状体光凝术与小梁切除术治疗原发性急性闭角型青光眼持续性高眼压疗效比较[J]. *中华实验眼科杂志*, 2014, 32(3):266-269.
- [6] 范虹, 刘五存, 蔡鸿英, 等. 改良二极管激光睫状体光凝术

治疗中晚期青光眼[J]. *眼科新进展*, 2012, 32(4):376-378.

- [7] 宋鹤翔, 苗林, 曹西友. 不同脉冲时间半导体激光经巩膜睫状体光凝治疗难治性青光眼临床疗效比较[J]. *医学临床研究*, 2013, 30(5):912-914.
- [8] 李维娜, 张育谋, 李学喜, 等. 原发性急性闭角型青光眼持续性高眼压睫状体光凝后行小梁切除手术的疗效观察[J]. *眼科新进展*, 2013, 33(5):472-474.
- [9] 李爽, 张舒心. 二极管激光经巩膜睫状体光凝术治疗难治性青光眼[J]. *眼科新进展*, 2010, 30(1):78-80.
- [10] Ness PJ, Khaimi MA, Feldman RM, et al. Intermediate term safety and efficacy of transscleral cyclophotocoagulation after tube shunt failure[J]. *J Glaucoma*, 2012, 21(2):83-88.
- [11] Panarelli JF, Banitt MR, Sidoti PA. Transscleral diode laser cyclophotocoagulation after baerveldt glaucoma implant surgery[J]. *J Glaucoma*, 2014, 23(6):405-409.
- [12] Frezzotti P, Mittica V, Martone G, et al. Longterm follow-up of diode laser transscleral cyclophotocoagulation in the treatment of refractory glaucoma[J]. *Acta Ophthalmol*, 2010, 88(1):150-155.
- [13] 郑霄, 谢琳, 李翔骥, 等. 经巩膜睫状体光凝术治疗难治性青光眼的疗效观察[J]. *中华解剖与临床杂志*, 2014, 19(6):503-506.
- [14] Ghosh S, Manvikar S, Ray-Chaudhuri N, et al. Efficacy of transscleral diode laser cyclophotocoagulation in patients with good visual acuity[J]. *Eur J Ophthalmol*, 2014, 24(3):375-381.
- [15] Kraus CL, Tychsen L, Lueder GT, et al. Comparison of the effectiveness and safety of transscleral cyclophotocoagulation and endoscopic cyclophotocoagulation in pediatric glaucoma[J]. *J Pediatr Ophthalmol Strabismus*, 2014, 51(2):120-127.
- [16] Manna A, Foster P, Papadopoulos M, et al. Cyclodiode laser in the treatment of acute angle closure[J]. *Eye*, 2012, 26(5):742-745.
- [17] 冯星, 张风. 经巩膜睫状体光凝术致巩膜组织损伤临床观察[J]. *眼科新进展*, 2011, 31(10):985-986.

(收稿日期:2016-04-02 修回日期:2016-06-25)

(上接第 3209 页)

- [14] Huang YR, Wan YG, Sun W, et al. Effects and mechanisms of multi-glycoside of *Tripterygium wilfordii* improving glomerular inflammatory injury by regulating p38MAPK signaling activation in diabetic nephropathy rats[J]. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*, 2014, 39(21):4102-4109.
- [15] Wang W, Liu Q, Zhang Y, et al. Involvement of ILK/ERK1/2 and ILK/p38 pathways in mediating the en-

hanced osteoblast differentiation by micro/nanotopography[J]. *Acta Biomater*, 2014, 10(8):3705-3715.

- [16] Smeeton J, Zhang X, Bulus N, et al. Integrin-linked kinase regulates p38 MAPK-dependent cell cycle arrest in ureteric bud development[J]. *Development*, 2010, 137(19):3233-3243.

(收稿日期:2016-04-24 修回日期:2016-07-24)