

# 氯化锂对人眼 Tenon 囊成纤维细胞增殖的影响

邹会会<sup>1</sup>, 王继兵<sup>2</sup>, 黄旭东<sup>2</sup>, 刘姗姗<sup>1</sup>, 满 辉<sup>2</sup>

**基金项目:**山东省自然科学基金资助项目(No. ZR2010HM015)  
**作者单位:**<sup>1</sup>(261041)中国山东省潍坊市, 潍坊医学院眼科学;  
<sup>2</sup>(261042)中国山东省潍坊市, 潍坊眼科医院青光眼学组  
**作者简介:**邹会会, 女, 硕士, 研究方向: 青光眼。  
**通讯作者:**王继兵, 男, 博士, 主任医师, 硕士研究生导师, 研究方向: 青光眼防治。Wangjb918@163.com  
**收稿日期:**2012-05-11 **修回日期:**2012-06-06

## Inhibitory effects of Lithium chloride on human Tenon's capsule fibroblasts

Hui-Hui Zou<sup>1</sup>, Ji-Bing Wang<sup>2</sup>, Xu-Dong Huang<sup>2</sup>, Shan-Shan Liu<sup>1</sup>, Hui Man<sup>2</sup>

**Foundation item:** Shandong Provincial Natural Science Foundation Project, China (No. ZR2010HM015)

<sup>1</sup>Weifang Medical University, Ophthalmology, Weifang 261041, Shandong Province, China; <sup>2</sup>Weifang Eye Hospital, Weifang 261042, Shandong Province, China

**Correspondence to:** Ji-Bing Wang, Weifang Eye Hospital, Weifang 261042, Shandong Province, China. Wangjb918@163.com

Received: 2012-05-11 Accepted: 2012-06-06

## Abstract

• **AIM:** To investigate the inhibitory effect of Lithium chloride on human Tenon's capsule fibroblasts (HTFs) and explore its mechanism.

• **METHODS:** The SRB and BrdU methods were used to observe the activity of HTFs after treated with Lithium chloride *in vitro*, apoptosis percentage and cell cycle were analyzed by flow cytometry (FCM). Morphological changes in apoptotic cells were observed by Hoechst 33258 fluorescence staining.

• **RESULTS:** The cultured HTFs were significantly inhibited by Lithium chloride in concentration of 40, 80, 160mmol/L compared with the control group and it was dose-dependent and time-dependent. It was demonstrated that Lithium chloride could evoke G<sub>2</sub>/M cell cycle arrest and induce apoptosis, especially in the high concentration groups.

• **CONCLUSION:** Lithium chloride could restrain growth of HTFs by evoke G<sub>2</sub>/M cell cycle arrest and induce apoptosis.

• **KEYWORDS:** Lithium chloride; human Tenon's capsule; fibroblasts; growth inhibition

**Citation:** Zou HH, Wang JB, Huang XD, *et al.* Inhibitory effects of Lithium chloride on human Tenon's capsule fibroblasts. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2012;12(7):1237-1241

## 摘要

**目的:** 观察氯化锂(Lithium chloride)对人眼 Tenon 囊成纤维细胞(human Tenon's capsule fibroblasts, HTFs)体外生长的抑制效应,并探讨其作用机制。

**方法:** 磺基罗丹明(SRB)法和 BrdU 法检测细胞生长抑制率;采用流式细胞技术(FCM)检测细胞凋亡和细胞周期的变化;Hoechst 33258 染色后荧光显微镜观察细胞形态学的改变。

**结果:** 在 40 ~ 160mmol/L 范围内,氯化锂能够抑制 HTFs 的增殖,且呈剂量与时间依赖性。氯化锂使 HTFs 阻滞于 G<sub>2</sub>/M 期,且能诱导细胞凋亡,高浓度组尤为明显。

**结论:** 氯化锂能抑制 HTFs 增殖,机制为诱导细胞凋亡,并将细胞阻滞于 G<sub>2</sub>/M 期。

**关键词:** 氯化锂;人眼 Tenon 囊;成纤维细胞;生长抑制

DOI:10.3969/j.issn.1672-5123.2012.07.04

**引用:** 邹会会,王继兵,黄旭东,等. 氯化锂对人眼 Tenon 囊成纤维细胞增殖的影响. 国际眼科杂志 2012;12(7):1237-1241

## 0 引言

青光眼在全球是仅次于白内障的、导致视力丧失的主要原因。病理性眼压升高是导致视功能损害的主要原因,滤过性手术仍然是降低眼压、保护视功能的有效治疗方法,而术后滤过道的过度纤维瘢痕化是造成手术失败的最主要原因。目前临床上采用抗代谢药物,如丝裂霉素 C(MMC)和 5-氟尿嘧啶(5-FU)等抑制瘢痕化以达到提高手术成功率的目的,但存在可控性及预测性差、用药繁琐且产生并发症等较多弊病,使临床应用不尽人意。因此,迫切要求新的解决途径。锂是一种具有高度活性的单价阳离子,与钾、钠同族。锂盐能抑制多种细胞增殖,包胚胎瘤细胞<sup>[1]</sup>、骨肉瘤细胞<sup>[1]</sup>、前列腺癌细胞<sup>[2]</sup>、肝癌细胞<sup>[3]</sup>等。早在 30a 前就有报道,锂盐对肿瘤细胞有抑制作用,最近临床调查显示锂的服用与恶性肿瘤发生呈负性关系<sup>[4]</sup>。目前,氯化锂对人眼 Tenon 囊成纤维细胞(human Tenon's capsule fibroblasts, HTFs)的作用尚未见报道,本研究观察氯化锂对体外培养的 HTFs 抗增殖作用,为用于青光眼滤过手术提供依据。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** DMEM 培养基(Hyclone),胎牛血清(Hyclone),氯化锂(Sigma 公司),磺基罗丹明 B(Sigma-Aldrich 公司),鼠抗人波形蛋白单克隆抗体(北京中杉公司),FITC 标记的兔抗鼠 IgG 二抗(北京中杉公司),流式凋亡试剂盒(上海贝博生物),流式周期试剂盒(南京凯基生物科技发展有限公司)。CO<sub>2</sub> 培养箱(Thermo Forma, 美国),光学倒置显微镜(Olympus TH4-200, 日本),酶标仪(Labsystems),流式细胞仪(Beckman Coulter, 美国)。

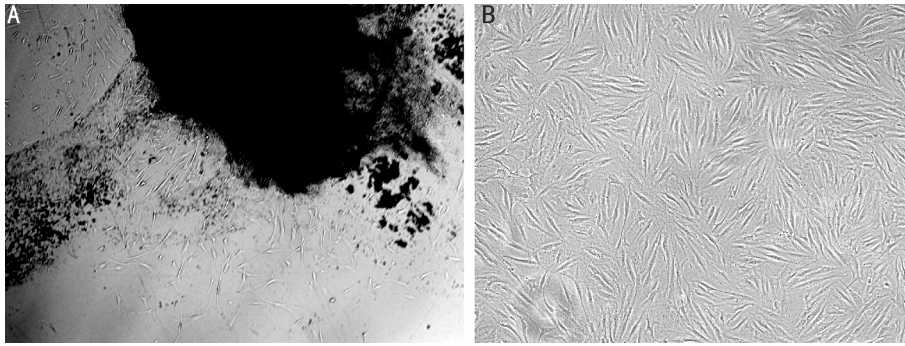


图1 HTFs的原代培养( $\times 100$ ) A:培养8d;B:培养3wk。

## 1.2 方法

**1.2.1 HTFs的培养** 将斜视手术中所取的人眼球结膜下 Tenon 囊组织剪成  $1\text{mm}\times 1\text{mm}\times 1\text{mm}$  大小组织块(经医院伦理委员会同意),贴于培养皿中,周围滴少许 DMEM 培养基(含  $150\text{mL/L}$  胎牛血清,  $100\text{U/mL}$  青霉素,  $100\text{U/mL}$  链霉素),将其放入  $37^\circ\text{C}$ ,  $50\text{mL/L}$   $\text{CO}_2$  培养箱中培养 3h 左右后,组织块贴壁牢固,向培养皿中加入培养液,使组织块浸入其中,继续培养,取第 3~5 代细胞用于实验。

**1.2.2 HTFs的鉴定** 将生长良好的成纤维细胞接种于 6 孔板中,生长达 85% 融合后,用  $0.01\text{mol/L}$  PBS 洗涤 2 遍,  $40\text{mL/L}$  多聚甲醛固定 60min, PBS 洗  $3\text{min}\times 3$  次,  $3\text{mL/L}$  TritonX-100 室温孵育 20min, PBS 洗  $3\text{min}\times 3$  次,  $100\text{mL/L}$  正常山羊血清封闭液  $37^\circ\text{C}$  孵育 30min, 弃掉封闭液,加入稀释的鼠抗人波形蛋白单克隆抗体(1:200)  $4^\circ\text{C}$  过夜, PBS 洗  $3\text{min}\times 3$  次,加入稀释的 FITC 标记的兔抗鼠 IgG 二抗(1:100)  $37^\circ\text{C}$  孵育 2h, PBS 洗  $3\text{min}\times 3$  次, 荧光显微镜下观察照相。用 PBS 代替一抗作为阴性对照。

**1.2.3 磺基罗丹明 B (SRB) 法测定细胞增殖能力** 将生长良好的细胞按  $1\times 10^4$ /孔的密度接种至 3 块 96 孔板中,每组设 4 个复孔,孵育过夜后加入不同浓度的氯化锂(0, 20, 40, 80, 160mmol/L)后继续培养,于 24, 48 和 72h 分别取一块 96 孔板,每孔加入预冷的三氯醋酸  $25\mu\text{L}$ , 静置 5min 后,置于  $4^\circ\text{C}$  1h,去离子水洗 5 遍,空气干燥后,加入  $4\text{g/L}$  SRB 染色 15~30min,用  $10\text{mL/L}$  醋酸洗涤 5 遍,空气干燥,最后加入  $10\text{mmol/L}$  Tris 液  $150\mu\text{L}$  溶解,在酶联免疫检测仪上  $560\text{nm}$  波长测 OD 值。实验共重复 3 次。

**1.2.4 BrdU 掺入法检测细胞增殖状态** 将生长良好的细胞接种 6 孔板中,孵育过夜后,加入各浓度的氯化锂(0, 40, 80mmol/L),同时加入终浓度为  $10\mu\text{g/L}$  BrdU,继续培养 48h 后,弃掉培养液, PBS 洗涤细胞 2 次,  $40\text{mL/L}$  多聚甲醛固定 60min, PBS 洗  $3\text{min}\times 3$  次,胃酶消化 10min,  $37^\circ\text{C}$ ,  $2\text{mol/L}$  HCl 孵育 30min,  $37^\circ\text{C}$ , PBS 洗  $3\text{min}\times 3$  次,  $3\text{mL/L}$  TritonX-100 室温孵育 15min, PBS 洗  $3\text{min}\times 3$  次,正常羊血清封闭 10~15min,弃掉封闭液,加入稀释的小鼠抗 BrdU 抗体  $4^\circ\text{C}$  过夜, PBS 洗  $3\text{min}\times 3$  次,加入稀释的 FITC 标记的兔抗鼠 IgG 二抗  $37^\circ\text{C}$  孵育 2h, PBS 洗  $3\text{min}\times 3$  次, 荧光显微镜下观察照相,同一个视野分别拍荧光和普通光镜两张照片,计算 BrdU 标记率。

**1.2.5 Hoechst 33258 染色法观察细胞凋亡的形态学变化** 将生长良好的细胞接种 6 孔板中,孵育过夜后,加入各浓度的氯化锂(0, 40, 80mmol/L),继续培养 48h 后,弃掉培养液, PBS 洗涤细胞 2 次,  $40\text{mL/L}$  多聚甲醛固定 60min, PBS 洗  $3\text{min}\times 3$  次,终浓度为  $5\text{mg/L}$  的 Hoechst

33258 染色 15min, PBS 洗  $3\text{min}\times 3$  次, 荧光显微镜下观察照相。

**1.2.6 流式细胞技术检测细胞周期的变化** 将生长良好的细胞接种于 6 孔板中,孵育过夜后,加入各浓度的氯化锂(0, 40, 80mmol/L),作用 48h 后,弃掉培养液, PBS 洗涤细胞 1 次,收集细胞,再用 PBS 洗涤细胞 1 次(离心  $2000\text{r/min}$ , 5min)收集并调整细胞浓度为  $1\times 10^6/\text{mL}$ ,  $700\text{mL/L}$  乙醇固定,  $4^\circ\text{C}$  保存过夜, PBS 洗去固定液,加入  $100\mu\text{L}$  RNase  $37^\circ\text{C}$  水浴 30min,再加入  $400\mu\text{L}$  PI 染色混匀,  $4^\circ\text{C}$  避光 30min, 上机检测。

**1.2.7 流式细胞术检测细胞凋亡** 将生长良好的细胞接种于 6 孔板中,孵育过夜后,加入各种浓度的氯化锂(0, 40, 80, 160mmol/L),作用 72h 后,弃掉培养液,收集细胞, PBS 洗涤细胞 2 次(离心  $2000\text{r/min}$ , 5min)收集并调整细胞浓度为  $1\times 10^5/\text{mL}$ ,加入  $400\mu\text{L}$  的 Binding Buffer 悬浮细胞,加入  $5\mu\text{L}$  AnnexinV-FITC 混匀后  $4^\circ\text{C}$  避光 10min,再加入  $10\mu\text{L}$  Propidium Iodide 混匀后  $4^\circ\text{C}$  避光 5min,最后室温、避光反应 5~15min 后流式细胞仪检测。

统计学分析:采用 SPSS 19.0 统计软件进行分析。实验数据用均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x}\pm s$ )表示。多组均数间用单因素方差分析,  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 HTFs的形态特征和生长特性** HTFs 组织块接种后,倒置显微镜下观察,约第 8d 可见细胞由组织块周围游离出来(图 1A),细胞呈典型的长梭形,胞体透亮,胞浆丰富,胞核圆形或椭圆形。成纤维细胞繁殖较快,3wk 左右长满融合,细胞呈单层放射状或涡旋状贴壁生长(图 1B)。

**2.2 HTFs的免疫细胞荧光鉴定** 体外培养的 HTFs 经免疫荧光,可见胞浆中波形蛋白阳性,呈均匀的绿色荧光,胞核区为无荧光暗区(图 2)。根据取材部位、细胞形态及免疫荧光鉴定,可以确定培养的细胞为 HTFs。

**2.3 SRB 法检测氯化锂对 HTFs 增殖能力的影响** SRB 法测定结果显示,氯化锂从浓度  $40\text{mmol/L}$  开始,对 HTFs 表现出增殖抑制作用,并随药物浓度的升高和时间的延长,氯化锂对 HTFs 抑制作用逐渐增强(表 1,图 3)。

**2.4 Hoechst 33258 染色观察 HTFs 的凋亡形态学变化结果** 荧光显微镜下观察,氯化锂组细胞数目减少,部分细胞核体积变小,核固缩,细胞核出现碎裂,呈现致密的蓝色颗粒状荧光,表现为典型的凋亡形态学改变; $0\text{mmol/L}$  氯化锂组细胞核呈圆形或椭圆形,大小及染色均匀,荧光染色较浅(图 4)。 $0\text{mmol/L}$  氯化锂组细胞核呈圆形或椭圆形,大小及染色均匀,荧光染色较浅;氯化锂组与阴性对照组相比,细胞数目减少,部分细胞核体积变小,核固缩,细胞

表1 不同浓度氯化锂对 Tenon 囊成纤维细胞增殖的影响

氯化锂浓度 (mmol/L)	24h		48h		72h	
	OD 值	生长抑制率(%)	OD 值	生长抑制率(%)	OD 值	生长抑制率(%)
0	0.497±0.005	-	0.848±0.022	-	0.986±0.032	-
20	0.451±0.004	0.089	0.847±0.016	0.001	0.885±0.015	0.102
40	0.386±0.010 <sup>a</sup>	0.223	0.611±0.013 <sup>a</sup>	0.279	0.569±0.026 <sup>a</sup>	0.422
80	0.315±0.015 <sup>a,c</sup>	0.366	0.502±0.007 <sup>a,c</sup>	0.408	0.369±0.022 <sup>a,c</sup>	0.625
160	0.265±0.013 <sup>a,c</sup>	0.534	0.332±0.019 <sup>a,c</sup>	0.608	0.068±0.019 <sup>a,c</sup>	0.931

<sup>a</sup>P<0.05 vs 0mmol/L 组; <sup>c</sup>P<0.05 vs 40mmol/L 组; <sup>e</sup>P<0.05 vs 80mmol/L 组。

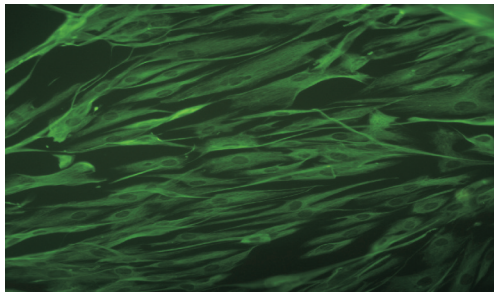


图2 细胞波形蛋白的免疫荧光(×400)。

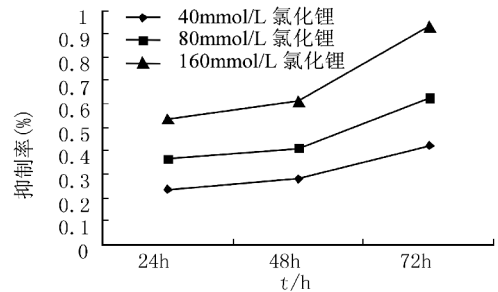


图3 不同浓度氯化锂对 HTFs 的抑制率变化。

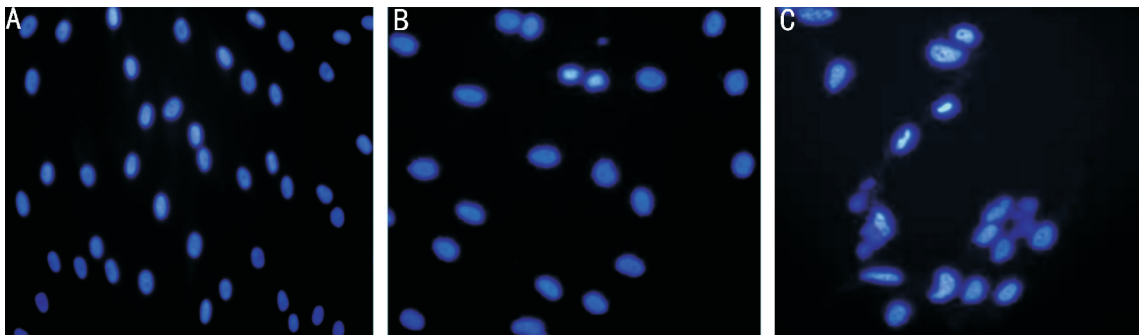


图4 各组 HTFs 的 Hoechse 33258 染色(×400) A:0mmol/L 氯化锂组; B:40mmol/L 氯化锂组; C:80mmol/L 氯化锂组。

核出现碎裂,呈现致密的蓝色颗粒状荧光,表现为典型的凋亡形态学改变,高浓度组尤为明显。

**2.5 BrdU 检测 HTFs 增殖的结果** BrdU 是一种胸腺嘧啶类似物,在细胞合成期可以代替胸腺嘧啶掺入到 DNA 双链中,通过 BrdU 标记可显示新增殖的细胞,从而检测细胞的增殖能力。不同浓度氯化锂(0,40,80mmol/L)作用 HTFs 48h 后 BrdU 的标记率分别为(87.86±0.632)%,(57.32±3.942)%,(23.48±4.472)%,各组之间均有统计学意义(P<0.05,图5)。

**2.6 氯化锂对 HTFs 周期及凋亡的影响** 经氯化锂处理 48h 后,细胞周期发生变化,G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 期细胞含量减少,S 期和 G<sub>2</sub>/M 期细胞增加,呈剂量依赖性,差异均有统计学意义(P<0.05,表2,图6)。氯化锂使 HTFs 发生凋亡,呈剂量依赖性,0,40,80,160mmol/L 组作用 72h 后,细胞的凋亡率分别为(4.77±0.21)%,(15.24±1.35)%,(22.91±1.86)%和(41.38±2.57)%,各组之间的差异均有统计学意义(P<0.05)。根据不同浓度氯化锂组在 48h 后对细胞的凋亡率绘制剂量-效应图(图7,8)。

### 3 讨论

据 WHO 统计,全球约有 7 千万青光眼患者,青光眼是导致视力丧失的主要原因,减少青光眼导致的盲和视力损害是防盲的重要内容<sup>[5]</sup>。目前,滤过性手术仍是青光眼治疗的重要措施之一,但术后伤口的纤维瘢痕化是导致手

术失败的最主要原因。青光眼术后瘢痕形成过程是一个相当复杂的病理生理过程<sup>[6-8]</sup>,一般认为主要是成纤维细胞大量增殖和凋亡抑制、部分细胞因子大量产生、细胞外基质中胶原合成与降解失衡及三者的关系构成了病理性瘢痕的生物学基础,而其中成纤维细胞是主要的功能细胞,若能有效地抑制成纤维细胞的增殖,便可控制手术区的瘢痕化。

锂盐作为一种情绪稳定剂应用于临床已有 50a 的历史,据报道,它不仅具有稳定的抗抑郁作用,而且对许多细胞的增殖也具有抑制作用,如胎瘤细胞、骨肉瘤细胞、前列腺癌细胞、肝癌细胞等。本实验观察到氯化锂对 HTFs 也有增殖抑制作用,并诱导细胞凋亡,将细胞阻滞于 G<sub>2</sub>/M 期。

SRB 是一种蛋白结合染料,可与细胞中的碱性氨基酸结合,其颜色变化与活细胞成正比。SRB 法实验前先用 TCA 固定细胞,再进行 SRB 染色蛋白测定,其稳定性相对较好,所测的 OD 值与实际细胞数目有相当好的相关性<sup>[9]</sup>。本实验应用 SRB 法测定氯化锂对 HTFs 的增殖能力,结果显示,氯化锂在 ≥40mmol/L 时,可以抑制 HTFs 增殖,在 24~72h 范围内,呈时间和剂量依赖关系。BrdU 是一种胸腺嘧啶的衍生物,可以代替胸腺嘧啶在 DNA 合成期掺入到新增殖的细胞中,客观地显示细胞增殖情况,有荧光染料的细胞为发生分裂增殖的细胞,此技术已经越来越

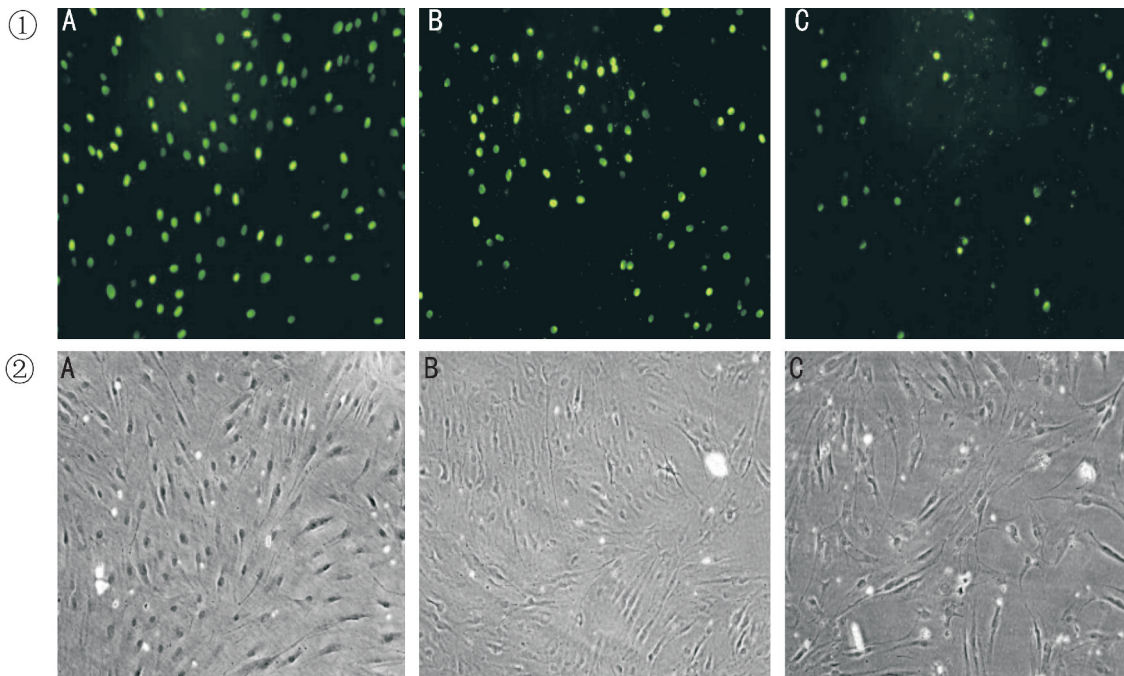


图5 HTFs经氯化锂作用48h后的BrdU荧光( $\times 200$ ) ①:普通光镜下细胞图像;②:同一视野的BrdU荧光图片新增殖细胞的胞核表现为绿色荧光。A:0mmol/L氯化锂组;B:40mmol/L组氯化锂;C:80mmol/L氯化锂组。

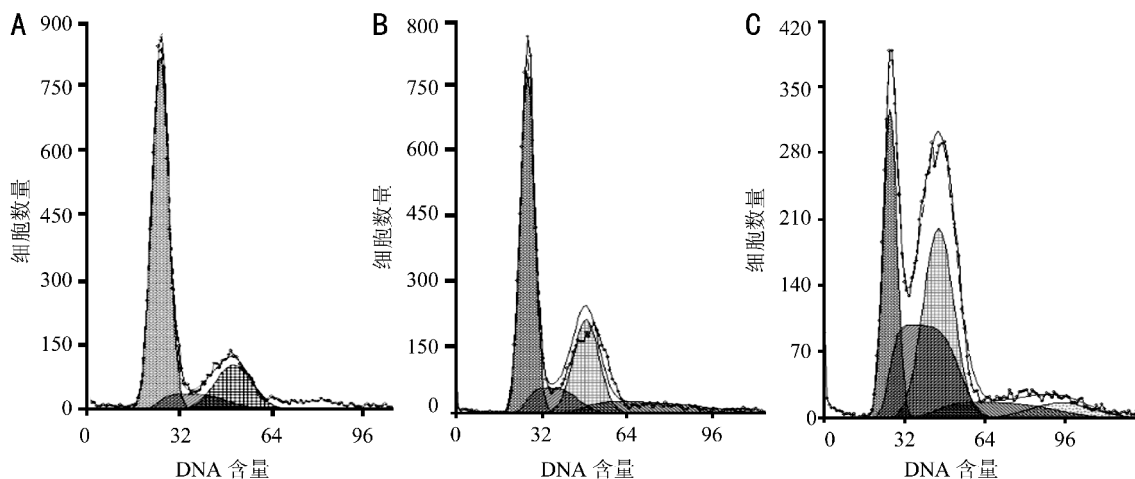


图6 不同浓度氯化锂对HTFs增殖周期影响 A:0mmol/L氯化锂组;B:40mmol/L氯化锂组;C:80mmol/L氯化锂组。

表2 不同浓度氯化锂对HTFs增殖周期影响 ( $\bar{x} \pm s, \%$ )

组别	G <sub>0</sub> /G <sub>1</sub> 期	S期	G <sub>2</sub> /M期
0mmol/L氯化锂组	75.490±1.576	8.209±0.364	16.431±0.578
40mmol/L氯化锂组	63.751±1.893 <sup>a</sup>	12.161±0.209 <sup>a</sup>	25.087±0.492 <sup>a</sup>
80mmol/L氯化锂组	44.861±3.051 <sup>a,c</sup>	23.389±0.175 <sup>a,c</sup>	32.750±0.437 <sup>a,c</sup>

<sup>a</sup>P<0.05 vs 0mmol/L组; <sup>c</sup>P<0.05 vs 40mmol/L组。

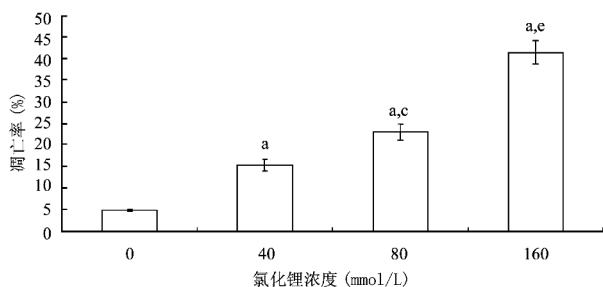


图7 不同浓度氯化锂作用细胞72h后的细胞凋亡率 <sup>a</sup>P<0.05 vs 0mmol/L组; <sup>c</sup>P<0.05 vs 40mmol/L组; <sup>c</sup>P<0.05 vs 80mmol/L组。

越多地应用到细胞增殖动力学的检测中<sup>[10]</sup>。流式周期检测发现,氯化锂可使成纤维细胞的周期发生改变,G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub>期细胞比例减少,S和G<sub>2</sub>/M期细胞比例增加。锂盐诱导G<sub>2</sub>/M期阻滞的现象此前也有报道<sup>[1,11]</sup>,但都没有深入探讨其机制。王晓明等研究表明,氯化锂诱导G<sub>2</sub>/M期阻滞的机制为通过Chk1诱导G<sub>2</sub>期阻滞,而且无需Chk1磷酸化,氯化锂诱导G<sub>2</sub>期阻滞的另一个机制是下调cdc25C磷酸酶。凋亡是细胞在基因调控下的一种主动死亡,大部分抗增殖的药物都能引起细胞的凋亡,本实验中流式凋亡检测发现,氯化锂可以诱导细胞凋亡,呈剂量依赖性;Hoechst 33258染色发现显著增多的凋亡小体,其从形态学上进一步

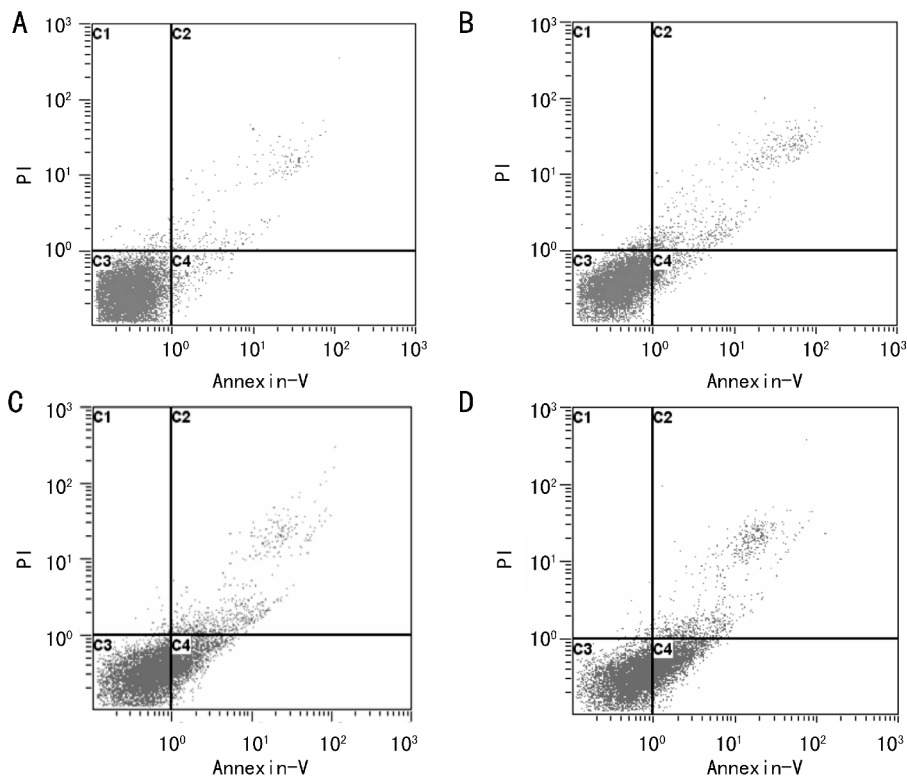


图8 不同浓度氯化锂作用细胞72h后的流式凋亡散点图 A;0mmol/L氯化锂组; B;40mmol/L氯化锂组;C;80mmol/L氯化锂组;D;160mmol/L氯化锂组。

步验证了细胞流式凋亡的结果,提示氯化锂可通过诱导凋亡而抑制 HTFs 的增殖。

本研究结果表明,阻滞细胞周期和诱导细胞凋亡可能是氯化锂抑制 HTFs 生长的机制之一。是否还存在其他作用机制有待于进一步深入研究。Moyer 等<sup>[12]</sup>应用划痕负荷的方法观察了 LiCl 对体外培养的成纤维细胞间具有上调 GJIC 的功能,并同时发现 LiCl 促进了种植海绵的大鼠肉芽的成熟,并且肉芽组织成纤维细胞间的 GJIC 的水平影响着伤口愈合过程中肉芽组织沉积物的质量和数量。王继兵等<sup>[13]</sup>也已证实,HTFs 间存在丰富的 GJIC。氯化锂对 HTFs 的增殖抑制是否与上调 GJIC 这一机制有关,目前研究正在进行中。

#### 参考文献

- 1 Smits VA, Essers MA, Loomans DS, *et al.* Inhibition of cell proliferation by lithium is associated with interference in cdc2 activation. *FEBS Lett* 1999;457(1):23-27
- 2 Sun A, Shanmugam L, Song J, *et al.* Lithium suppresses cell proliferation by interrupting E2F-DNA interaction and subsequently reducing S-Phase gene expression in Prostate cancer. *Prostate* 2007;67(9):976-988
- 3 Erdal E, Ozturk N, Cagatay T, *et al.* Lithium-mediated downregulation of PKB/Akt and cyclin E with growth inhibition in hepatocellular carcinoma cells. *Int J Cancer* 2005;115(6):903-910
- 4 Cohen Y, Chetrit A, Cohen Y, *et al.* Cancer morbidity in psychiatric

patients: influence of lithium carbonate treatment. *Med Oncol* 1998;15(1):32-36

- 5 赵家良. 减少青光眼导致的盲和视力损伤是防盲的重要内容. *中华眼科杂志* 2009;45(10):865-867
- 6 林辉,王宁利,叶天才. 青光眼滤过手术的抗瘢痕化研究进展. *国外医学眼科学分册* 2004;28(1):25-28
- 7 廖海兰,梁轩伟,魏建初. 抗 TGF- $\beta$ 2 抗体对滤过泡瘢痕成纤维细胞 I、III 型胶原蛋白表达的影响. *眼科研究* 2008;26(7):508-511
- 8 Kbw PT, Chang L, Wong TTL, *et al.* Modulation of wound healing after glaucoma surgery. *Curr Opin Ophthalmol* 2001;12(9):143-148
- 9 周思朗,屈艳妮,张建,等. SRB 法与 MTT 法细胞计数应用比较. *中国现代医学杂志* 2005;17(17):2615-2617
- 10 Wildemann B, Schmidmaier G, Ordell S, *et al.* Cell proliferation and differentiation during fracture healing are influenced by locally applied IGF-1 and TGF- $\beta$ 1; comparison of two proliferation markers, PCNA and BrdU. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2003;65(1):150-156
- 11 Pardo R, Andreolotti AG, Ramos B, *et al.* Opposed effects of Lithium on the MEK-ERK pathway in neural cells: inhibition in astrocytes and stimulation in neurons by GSK3 independent mechanisms. *J Neurochem* 2003;87(2):417-426
- 12 Moyer KE, Davis A, Saggars GC, *et al.* Wound healing; the role of gap junctional communication in rat granulation tissue maturation. *Exp Mol Pathol* 2002;72(1):10-16
- 13 王继兵,黄旭东,邹会会,等. 人眼 Tenon 囊成纤维细胞缝隙连接细胞间通讯的检测. *国际眼科杂志* 2011;11(10):1707-1709