

# 羟基喜树碱对人眼 Tenon's 囊成纤维细胞的抑制作用

罗莎莎<sup>1</sup>, 范莲<sup>2</sup>, 孙松<sup>1</sup>, 武志峰<sup>1</sup>

作者单位:<sup>1</sup>(214002)中国江苏省无锡市第二人民医院眼科;  
<sup>2</sup>(215003)中国江苏省苏州市,苏州大学附属儿童医院  
作者简介:罗莎莎,毕业于南京医科大学,硕士,住院医师,研究方向:青光眼。

通讯作者:武志峰,在读博士研究生,主任医师,主任,研究方向:眼底病. zhifengwu@hotmail.com

收稿日期:2013-09-14 修回日期:2013-12-31

## Inhibition of hydroxycamptothecin on human Tenon's capsule fibroblasts

Sha-Sha Luo<sup>1</sup>, Lian Fan<sup>2</sup>, Song Sun<sup>1</sup>, Zhi-Feng Wu<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Ophthalmology, Wuxi No. 2 People's Hospital, Wuxi 214002, Jiangsu Province, China; <sup>2</sup>Soochow University Affiliated Children's Hospital, Suzhou 215003, Jiangsu Province, China

**Correspondence to:** Zhi-Feng Wu. Department of Ophthalmology, Wuxi No. 2 People's Hospital, Wuxi 214002, Jiangsu Province, China, zhifengwu@hotmail.com

Received:2013-09-14 Accepted:2013-12-31

### Abstract

• **AIM:** To investigate the effect of different concentrations of 10-hydroxycamptothecin (HCPT) on the cell cycle and cytotoxicity of human Tenon's capsule fibroblasts (HTFs), and to explore its mechanism in anti-fibrosis.

• **METHODS:** The Tenon's capsule tissue of fresh eyes (<6h) of our hospital eye bank was taken, *in vitro* culture of fibroblasts was done by tissue block culture; A flow cytometry (FCM) was used to evaluate the effect of different concentrations of HCPT (0, 0.25, 1, 4mg/L) and mitomycin C (MMC; 0, 0.025, 0.1, 0.4mg/L) on HTFs cell cycle; Trypan blue staining was adopted to determine whether the inhibitory effect of HCPT and MMC on HTFs was caused by their cytotoxicity; RT-PCR was employed to detect the level of Smad7 mRNA gene expression of HTFs after HCPT and MMC were used for 24h.

• **RESULTS:** HTFs were cultured successfully *in vitro*, and can be used in our study; compared with the control groups, the cell cycle of HTFs which was affected by different concentrations of HCPT was significantly different in G2 phase ( $P<0.05$ ). As for MMC, there were significant differences in G1 phase between groups with different concentrations of MMC and the control group ( $P<0.05$ ). There was no significant difference in the rate of HTFs living cells between HCPT group (or MMC group) to which HCPT and MMC were added for 24h and the control group ( $P>0.05$ ). After HTFs was affected by

0.4mg/L MMC or 4mg/L HCPT for 24h, RT PCR found that the level of Smad7 mRNA expression was significantly increased ( $P<0.05$ ).

• **CONCLUSION:** HCPT mainly blocks HTFs in G2 phase, MMC mainly impacts the G1 phase. The inhibitory effect of HCPT and MMC on HTFs proliferation is not relevant to cytotoxicity induced by the two drugs. The mechanism that HCPT inhibits the proliferation of HTFs may be due to the increasing Smad7 mRNA expression to block TGF- $\beta$  signaling pathway.

• **KEYWORDS:** hydroxycamptothecin; mitomycin C; human Tenon's capsule fibroblasts; inhibition

**Citation:** Luo SS, Fan L, Sun S, *et al.* Inhibition of hydroxycamptothecin on human Tenon's capsule fibroblasts. *Guoji Yanke Zazhi(Int Eye Sci)* 2014;14(2):214-218

### 摘要

**目的:**研究羟基喜树碱(HCPT)对人眼 Tenon's 囊成纤维细胞(human Tenon's capsule fibroblasts, HTFs)的细胞周期、细胞毒性的影响,探讨其抗纤维化作用机制。

**方法:**取本院眼库新鲜眼球(<6h)的 Tenon's 囊组织,用组织块培养法进行成纤维细胞体外培养;流式细胞仪测定 HCPT 和丝裂霉素 C(MMC)对 HTFs 细胞周期的影响;台盼蓝染色法鉴定 HCPT 和 MMC 对 HTFs 的抑制作用是否由药物的细胞毒性引起;RT-PCR 检测 HCPT、MMC 作用 24h 后 HTFs 的 Smad7 mRNA 基因表达。

**结果:**HTFs 体外生长良好,可用于实验研究。不同浓度 HCPT (0,0.25,1,4mg/L) 作用后的 HTFs 细胞周期与对照组相比,G2 期细胞百分数的组间差异均有统计学意义 ( $P<0.05$ );不同浓度 MMC(0,0.025,0.1,0.4mg/L) 作用后的 HTFs 细胞周期与对照组相比,G1 期细胞百分数的组间差异均有统计学意义 ( $P<0.05$ )。不同浓度 HCPT 和 MMC 作用后的 HTFs 活细胞率和空白对照组比较,差异均无统计学意义 ( $P>0.05$ )。4mg/L HCPT,0.4mg/L MMC 作用 HTFs 24h 后,Smad7 mRNA 表达水平与空白对照组比较差异有统计学意义 ( $P<0.05$ )。

**结论:**HCPT 将 HTFs 阻滞于 G2 期,MMC 将 HTFs 阻滞于 G1 期;HCPT,MMC 抑制 HTFs 的作用和药物的细胞毒性无关;HCPT 抑制 HTFs 的增殖可能是通过上调 Smad7 mRNA 的表达阻断 TGF- $\beta$  信号通路实现的。

**关键词:**羟基喜树碱;丝裂霉素 C;人眼 Tenon's 囊成纤维细胞;抑制作用

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2014.02.05

**引用:**罗莎莎,范莲,孙松,等.羟基喜树碱对人眼 Tenon's 囊成纤维细胞的抑制作用.国际眼科杂志 2014;14(2):214-218

## 0 引言

HCPT 是从我国特有的喜树中提纯的抗癌药物,由 Wall 等<sup>[1]</sup>首次分离得到,其通过与拓扑异构酶 I/单链 DNA 复合体形成稳定的结合体,抑制拓扑异构酶 I 解旋和再连接功能,诱导 DNA 不可逆性断裂,从而启动细胞周期阻滞和凋亡信号通路等机制发挥抗肿瘤、抑制细胞增殖作用<sup>[2-4]</sup>。喜树碱类药物在眼科抗组织纤维化方面的研究有新的进展,汤伟等<sup>[5]</sup>发现青光眼滤过手术后,体外用 HCPT 可诱导球结膜下瘢痕组织成纤维细胞凋亡,具有浓度依赖性;毕燕龙等<sup>[6]</sup>研究发现羟基喜树碱能抑制兔增生性玻璃体视网膜病(PVR)纤维增殖膜形成,较好控制 PVR 的发展。其他,如对于病理性瘢痕成纤维细胞增殖的研究,为防治青光眼滤过性手术区瘢痕形成提供有益启示<sup>[7-9]</sup>。本文拟观察 HCPT 对体外培养 HTFs 的细胞周期和细胞毒性的影响,探讨其抗纤维化作用机制,与 MMC 对比以期寻找抗青光眼术后瘢痕化更为安全有效的药物。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

**1.1.1 主要试剂** HCPT 注射液(湖北黄石第二制药厂)、DMEM 培养基、胰蛋白酶(美国 Gibco 公司),Smad7、GAPDH(上海英俊公司),微量 RNA 提取试剂盒及微量反转录试剂盒(QIAGEN 公司),荧光定量 PCR 试剂(TaRaKa 公司),台盼蓝粉末(碧云天公司)。

**1.1.2 主要仪器** 净化工作台(苏州净化仪器厂),CO<sub>2</sub> 细胞培养箱(美国 Thermo 公司),倒置显微镜(TMS,日本 Nikon 公司),荧光显微镜(BX51 型,日本 Olympus 公司),FACS can 激光流式细胞仪(美国 BD 公司),离心机,恒温水浴箱,荧光定量 PCR 仪(7300 型)。

### 1.2 方法

**1.2.1 HTFs 细胞培养** 取本院眼库新鲜眼球(<6h)的 Tenon's 囊组织,剪下后立即放入含 10% FBS 的 DMEM 培养液中,按王宁利等<sup>[10]</sup>的方法使组织块贴壁培养。每日倒置显微镜下观察,至细胞长满瓶壁融合 80%~90% 后传代。取 3~6 代细胞进行实验。

**1.2.2 流式细胞仪检测细胞周期** 取对数生长期细胞,分别加入 HCPT 或 MMC,使其终浓度为 HCPT(0,0.25,1,4mg/L),MMC(0,0.025,0.1,0.4mg/L),作用 24h 后,4℃ 固定细胞过夜;PI 染色液 4℃ 避光染色 30min;流式细胞仪检测细胞周期,应用 CELL Quest 软件采样并将结果存入计算机存储,每次至少计数 5000 个细胞,采用 Modifit 软件进行分析处理。

**1.2.3 台盼蓝染色** 取对数生长期细胞,分别加入 HCPT 或 MMC,使其终浓度为 HCPT(0,0.25,0.5,1,2,4mg/L),MMC(0,0.025,0.05,0.1,0.2,0.4mg/L),分别作用 24h;0.4% 台盼蓝溶液染色;在 3min 内,分别计数活细胞和死细胞。根据下述公式计算细胞存活率:细胞存活率=(细胞总数-蓝色细胞数)/细胞总数×100%。

**1.2.4 RT-PCR** 取对数生长期细胞,分别加入 HCPT、MMC,使其终浓度为 HCPT(4mg/L),MMC(0.4mg/L),作用 24h 后,按 RNA 提取试剂盒步骤提取总 RNA;按 RT-PCR 试剂盒步骤进行逆转录反应。实验所用引物见表 1。

统计学分析:采用 SPSS 13.0 软件处理。各细胞周期细胞比例及细胞死亡率用统计量平均值±标准差( $\bar{x}\pm s$ )

表 1 PCR 实验引物序列

基因	引物	序列	大小(bp)
Smad7	Forward	TGGTGCCTGGTGGCATACT	222
	Reverse	GTACCAACAGCGCTCTGGAGT	
GAPDH	Forward	GAAGGTCGGAGTCAACGGATTT	223
	Reverse	CTGGAAGATGCTGATGGGATTTT	

描述;用 *t* 检验比较两组间 HTFs 细胞百分数、活细胞率的差异,用 SNK 法对多组间 HTFs 细胞百分数、活细胞率的差异进行两两比较,以  $P<0.05$  表示差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 体外培养 HTFs 的形态特征及生物特性** 原代培养的人眼 Tenon's 囊组织块贴壁,约 3d 可见有长梭形细胞由组织块中游离出来,在 2~3wk 长满融合,镜下呈单层长梭形贴壁细胞,细胞密集呈束状排列(图 1A)。传代培养的细胞约 24h 贴壁,胞体延长,7~10d 基本融合铺满瓶底(图 1B)。

**2.2 HTFs 的免疫荧光鉴定结果** 细胞鉴定结果波形蛋白呈阳性反应(图 2A),细胞质呈绿色荧光,细胞呈梭形,多角形,边界清楚,细胞核成蓝色荧光(图 2B),胞核呈圆形或椭圆形,核膜、核仁清晰可见。角蛋白抗体的反应呈阴性(图 3)。

**2.3 流式细胞仪分析不同浓度 HCPT、MMC 对 HTFs 细胞周期影响** 不同浓度 HCPT 作用 HTFs 后,不同浓度作用组 G2 期的 HTFs 细胞百分比明显高于空白对照组( $P<0.05$ );不同浓度作用组 G1 期和 S 期的 HTFs 细胞百分比明显低于空白对照组( $P<0.05$ )。说明各浓度组 HCPT 将 HTFs 细胞周期阻滞在 G2 期。G2 期不同浓度(0.25,1,4mg/L)作用组 HTFs 细胞百分比组间差异两两比较均有统计学意义( $P<0.05$ ),且 HCPT 作用浓度越高 HTFs 细胞百分比越低,说明细胞周期阻滞作用和药物浓度有关(表 2,图 4)。不同浓度 MMC 作用 HTFs 后,不同浓度作用组 G1 期的 HTFs 细胞百分比明显高于空白对照组( $P<0.05$ );不同浓度作用组的 G2 期(除 0.025mg/L 作用组的 G2 期)和 S 期 HTFs 细胞百分比明显低于空白对照组( $P<0.05$ )。说明各浓度组 MMC 将 HTFs 细胞周期阻滞在 G1 期。不同浓度(0.025,0.1,0.4mg/L)作用组的 G1 期 HTFs 细胞百分比组间差异两两比较均有统计学意义( $P<0.05$ ),且 MMC 作用浓度越高 HTFs 细胞百分比越高,说明 MMC 将 HTFs 阻滞在 G1 期具有浓度依赖性(表 3,图 5)。

**2.4 台盼蓝染色检测 HCPT、MMC 的毒性** 台盼蓝染色检测 HCPT、MMC 的细胞毒性,表 4,5 显示不同浓度 HCPT(0,0.25,0.5,1,2,4mg/L)、MMC(0,0.025,0.05,0.1,0.2,0.4mg/L)作用后 HTFs 的活细胞率与空白对照组比较,差异均无统计学意义( $P>0.05$ )。说明 HCPT、MMC 作用后 HTFs 的增殖能力下降并不是由于药物的细胞毒性引起。

**2.5 Smad7 mRNA 表达** 未加药组、4mg/L HCPT、0.4mg/L MMC 作用 24h 后,微量提取 RNA 并进行 RT-PCR 分析,结果显示 4mg/L HCPT、0.4mg/L MMC 作用 HTFs 24h 后,Smad7 mRNA 表达量显著高于空白对照组( $P<0.05$ );4mg/mL HCPT 组与 0.4mg/mL MMC 作用组 Smad7 mRNA 表达量比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ ,图 6)。

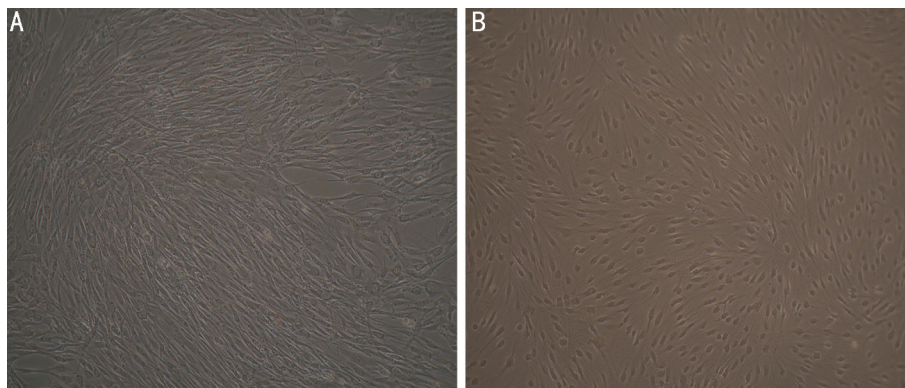


图1 A:HTFs的原代培养;B:HTFs的传代培养。

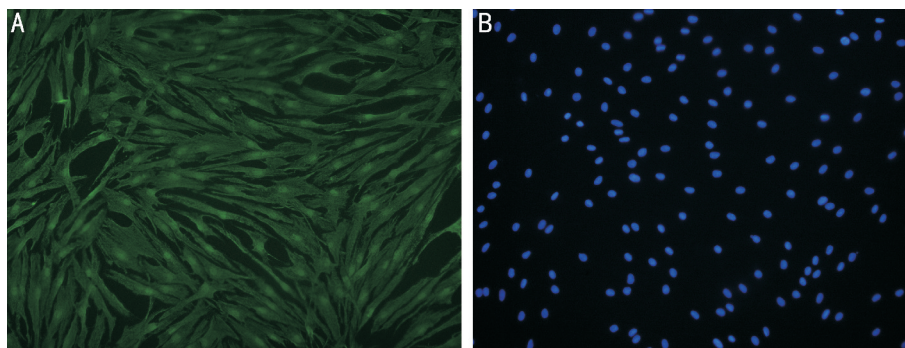


图2 A:波形蛋白表达阳性( $\times 100$ );B:核呈蓝色荧光( $\times 100$ )。

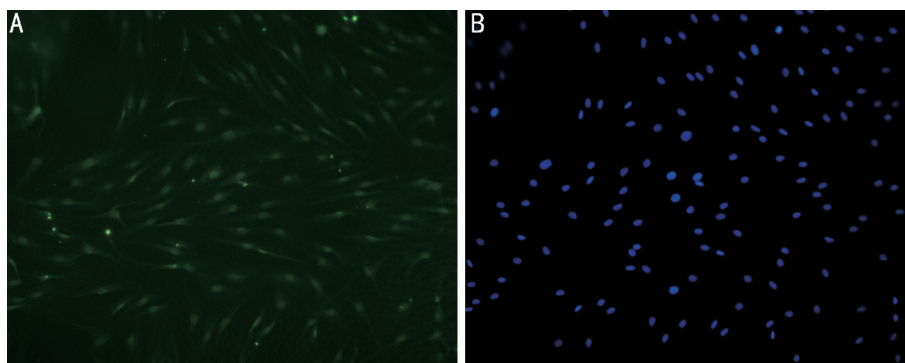


图3 A:角蛋白表达阴性( $\times 100$ );B:核呈蓝色荧光( $\times 100$ )。

表2 HTFs细胞百分比在HCPT作用组与空白对照组之间的比较

浓度(mg/L)	G1期		G2期		S期	
	( $\bar{x} \pm s, \%$ )	<i>P</i>	( $\bar{x} \pm s, \%$ )	<i>P</i>	( $\bar{x} \pm s, \%$ )	<i>P</i>
0	85.11 $\pm$ 1.21		11.25 $\pm$ 0.91		3.65 $\pm$ 0.53	
0.25	76.72 $\pm$ 1.70	0.000	21.97 $\pm$ 1.38	0.000	1.32 $\pm$ 0.39	0.000
1	78.64 $\pm$ 0.57	0.000	19.36 $\pm$ 0.45	0.000	2.01 $\pm$ 0.30	0.002
4	80.02 $\pm$ 1.63	0.002	17.26 $\pm$ 1.33	0.000	2.72 $\pm$ 0.40	0.031

注:G2期各浓度组组间差异均具有统计学意义( $P < 0.05$ )。

表3 HTFs细胞百分比在MMC作用组与空白对照组之间的比较

浓度(mg/L)	G1期		G2期		S期	
	( $\bar{x} \pm s, \%$ )	<i>P</i>	( $\bar{x} \pm s, \%$ )	<i>P</i>	( $\bar{x} \pm s, \%$ )	<i>P</i>
0	85.11 $\pm$ 1.21		11.25 $\pm$ 0.91		3.65 $\pm$ 0.53	
0.025	88.45 $\pm$ 0.53	0.002	10.65 $\pm$ 0.47	0.286	0.91 $\pm$ 0.07	0.000
0.1	90.48 $\pm$ 0.50	0.000	8.64 $\pm$ 0.43	0.002	0.88 $\pm$ 0.06	0.000
0.4	91.78 $\pm$ 0.58	0.000	7.34 $\pm$ 0.054	0.000	0.88 $\pm$ 0.05	0.000

注:G1期各浓度组组间差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。

表 4 HCPT 作用组与空白对照组之间 HTFs 活细胞率的比较

浓度 (mg/L)	HTFs 活细胞率( $\bar{x}\pm s, \%$ )	P
0	89.35±2.15	
0.25	88.16±1.77	0.319
0.5	88.08±1.73	0.285
1	88.04±1.73	0.272
2	87.81±1.91	0.220
4	87.72±1.78	0.183

表 5 MMC 作用组与空白对照组之间 HTFs 活细胞率的比较

浓度 (mg/L)	HTFs 活细胞率( $\bar{x}\pm s, \%$ )	P
0	89.35±2.15	
0.025	87.95±2.23	0.293
0.05	87.77±1.84	0.200
0.1	87.80±1.96	0.221
0.2	87.74±2.14	0.221
0.4	87.69±2.22	0.219

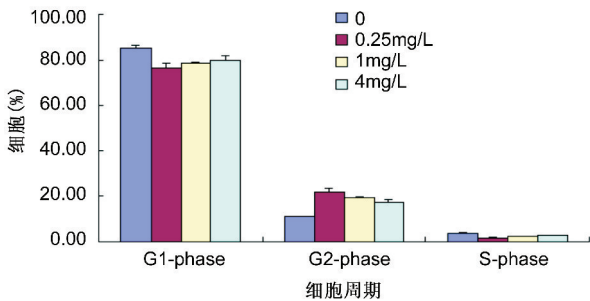


图 4 不同浓度 HCPT 作用 24h 后 HTFs 细胞周期的改变。

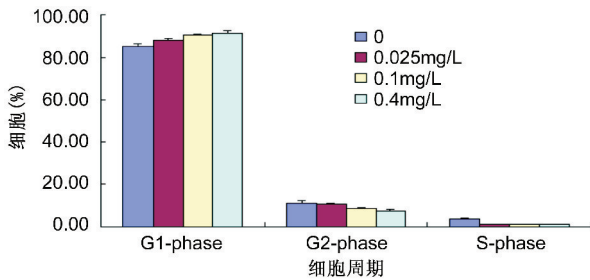


图 5 不同浓度 MMC 作用 24h 后 HTFs 细胞周期的改变。

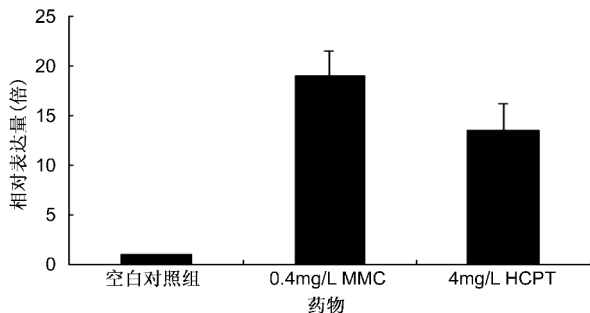


图 6 RT-PCR 检测 HCPT、MMC 作用 HTFs 24h 后 Smad7 mRNA 表达水平。

### 3 讨论

青光眼作为世界第二大致盲性眼病,滤过性手术仍是目前治疗的主要手段之一。手术失败的主要原因是术后滤过通道瘢痕化,解决青光眼术后瘢痕化时防止滤过泡漏成为眼科界关注的热点。本研究用 HCPT 作用于体外培养的 HTFs,观察 HCPT 对 HTFs 细胞周期的影响,检测其细胞毒性,探讨 HCPT 发挥抗纤维化的机制,并与临床上

应用较广的 MMC 进行对比。

HCPT 作用的靶物质为拓扑异构酶 I (Topo I)<sup>[11]</sup>,抑制其功能,促使细胞 DNA 降解,使 DNA 不能复制而导致细胞死亡。本研究结果显示:HCPT 主要将 HTFs 阻滞在 G2 期,阻滞 HTFs 进入细胞分裂期,但随着药物浓度的增加,滞留在 G2 期的细胞比例逐渐减少,这可能与药物毒性相关,其细胞周期阻滞作用和药物浓度有关。Song 等<sup>[12]</sup>的研究表明 HCPT 可作用于肺癌 A549 细胞周期的 S 期,并诱导其凋亡<sup>[13]</sup>; Zhang 等<sup>[14]</sup>研究证实低浓度的 HCPT(5-20 $\mu$ g/L)作用 6d 后可将肝癌细胞明显阻滞于 G2 期; Chai 等<sup>[15]</sup>用低剂量的 HCPT 作用于喉鳞癌细胞,表现出 G2/M 的阻滞,高剂量时表现出 S 期细胞的阻滞。本实验中 HCPT 对 HTFs 细胞周期的影响与上述文献报道相似,但存在浓度的差异,这可能与不同种属的细胞、或同一种属但不同组织的细胞有关。而 MMC 为细胞周期非特异性药物,可作用于 G1、G2 及 M 期,并对 S、G2 期有延缓作用,本实验结果显示 MMC 主要将 HTFs 阻滞于 G1 期,说明 MMC 将 HTFs 阻滞在静止期,抑制细胞进入 DNA 合成期,并且这种阻滞作用具有浓度依赖性,浓度越高阻滞效果越明显。

台盼蓝染色法是一种检测细胞活力的方法。当细胞损伤或死亡时,台盼蓝可穿透细胞膜,与解体的 DNA 结合,使其着色,而活细胞能阻止台盼蓝进入细胞内,可借此鉴别死细胞与活细胞,从而确定细胞活力。本研究结果显示,与空白对照组比较,HCPT(0.25, 0.5, 1, 2, 4mg/L)、MMC(0.025, 0.05, 0.1, 0.2, 0.4mg/L)作用组的 HTFs 活细胞率均无统计学差异,说明 HCPT、MMC 抑制 HTFs 增殖与药物的细胞毒性作用无关。我们可以认为在作用浓度范围内,HCPT、MMC 抑制 HTFs 增殖迁移与其细胞毒性无关。

TGF- $\beta$  是创伤愈合过程中最重要的生长因子之一。青光眼患者的房水中 TGF- $\beta_2$  大量存在,被认为是伤口处细胞外基质积聚收缩和异常修复的关键性调控因素。TGF- $\beta$  家族可以通过多种信号通路产生效应,其中最为经典的一条信号转导是 Smads 信号途径。抑制型 Smads 包括 Smad6 和 Smad7,有研究表明 Smad6 主要抑制 BMP 的信号转导,而 Smad7 对 TGF- $\beta$  和 BMP 信号转导途径均起抑制作用。Smad7 的细胞水平是决定 TGF- $\beta$  反应性的主要因素,从而调节 TGF- $\beta$  信号的强度和持续时间<sup>[16]</sup>。参考以往研究,我们选择 4mg/L HCPT 和 0.4mg/L MMC 作为实验浓度,作用 HTFs 24h 后,两实验组 Smad7 mRNA 水平显著高于空白对照组,差异有统计学意义。说明 HCPT、MMC 可能通过上调 Smad7 mRNA 的表达阻断 TGF- $\beta$  信号通路以抑制瘢痕化。两实验组比较,Smad7 mRNA 表达无统计学差异,说明 MMC、HCPT 都具有抑制效应,MMC 对 HTFs 的抑制效应强于 HCPT 约 10 倍,HCPT 较 MMC 安全。在以往文献报道中, Lan 等<sup>[17]</sup>研究发现,转染 Smad7 基因至单侧输尿管梗阻大鼠的肾脏, Smad7 基因表达提高 5 倍,同时 Smad2 和 Smad3 活性明显受抑,肌成纤维细胞积聚下降 85%,肾小管间质纤维化程度明显减轻。陈君毅等<sup>[18,19]</sup>研究发现将含有 Smad7 的质粒转染至 HTFs 后能显著降低 HTFs I 型胶原蛋白 mRNA 的表达和 I 型胶原蛋白的合成。本研究与以往文献报道结果相似。HCPT 是通过什么样的途径来上调 Smad7 mRNA 的表达,以及是否涉及其它的信号通路还有待进一步的探讨。 Yang

等<sup>[20]</sup>、Tang等<sup>[21]</sup>就认为 HCPT 通过某一些途径激活了凋亡蛋白 caspase-3,-9 来达到促使胰腺细胞、人眼成纤维细胞凋亡的目的。

综上所述,HCPT 主要将 HTFs 阻滞在 G2 期,阻滞 HTFs 进入细胞分裂期,其细胞周期阻滞作用和药物浓度有关;MMC 主要将 HTFs 阻滞于 G1 期,将 HTFs 阻滞在静止期,抑制细胞进入 DNA 合成期,并且这种阻滞作用具有浓度依赖性。HCPT、MMC 可能通过上调 Smad7 mRNA 的表达阻断 TGF- $\beta$  信号通路以抑制瘢痕化。本研究为羟基喜树碱在抗青光眼滤过术区瘢痕化的应用提供了理论依据,HCPT 可能作为抗青光眼术后瘢痕化的新型药物应用于临床。

#### 参考文献

- 1 Wall ME, Wani MC, Cook CE, et al. Plant antitumor agents. I. The isolation and structure of camptothecin, a novel alkaloidal leukemia and tumor inhibitor from *Camptotheca acuminata*. *J Am Chem Soc* 1966; 88: 3888
- 2 Zhu MM, Tong JL, Xu Q. Increased JNK1 signaling pathway is responsible for ABCG2-mediated multidrug resistance in human colon cancer. *Plos One* 2012;7(8):e41763
- 3 Li J, Zhang JL, Liu Y. Increased expression of DNA repair gene XPF enhances resistance to hydroxycamptothecin in bladder cancer. *Med Sci Monit* 2012;18(4):156-162
- 4 Tong JL, Zhang CP, Nie F. MicroRNA 506 regulates expression of PPAR alpha in hydroxycamptothecin-resistant human colon cancer cells. *FEBS Lett* 2011;585(22):3560-3568
- 5 汤伟,钱朝旭,袁志兰. 羟基喜树碱对青光眼滤过手术失败后球结膜下瘢痕成纤维细胞的影响及其机制研究. *眼科* 2012;21(4):273-277
- 6 毕燕龙,容翱,胡桃筋,等. HCPT 联合 Ver 防治实验性增生性玻璃体视网膜病变的初步研究. *眼科新进展* 2002;22(3):166-169
- 7 廖立新,潘登,陈刚泉等. 拓扑异构酶 I 在人病理性瘢痕组织中的表达分析. *中国组织工程研究与临床康复* 2009;13(37):7291-7295
- 8 潘登,廖立新,陈刚泉. HCPT 对病理性瘢痕成纤维细胞活性和凋亡的影响. *中国现代药物用* 2008;2(9):26-28
- 9 李莉,廖立新,陈刚泉. HCPT 对人增生性瘢痕成纤维细胞胶原蛋

白分泌的影响. *江西医学院学报* 2009;49(10):1-3

- 10 王宁利,陈凤华. 人 Tenon 囊成纤维细胞的离体培养及生长特性观察. *山东大学耳鼻喉眼学报* 2008;22(4):350-353
- 11 Hsiang YH, Hertzberg R, Hecht S, et al. Camptothecin induces protein-linked DNA breaks via mammalian DNA topoisomerase I. *J Biol Chem* 1985;260:14873-14878
- 12 Song H, Hu H. Hydroxycamptothecin inhibits proliferation of human lung carcinoma cell line A549 and down-regulates its Bcl-2 gene expression *in vitro*. *J South Med Univ* 2012;32(9):1341-1345
- 13 Hu W, Zhang C, Fang Y, et al. Anticancer properties of 10-hydroxycamptothecin in a murine melanoma pulmonary metastasis model *in vitro* and *in vivo*. *Toxicol In Vitro* 2011;25(2):513-520
- 14 Zhang XW, Jiang JF, Xu B, et al. Differentiation-inducing action of 10-hydroxycamptothecin on human hepatoma Hep G2 cells. *Acta Pharmacol Sin* 2000;21(4):364-368
- 15 Chai LP, Su ZZ, Xian ZX. Inhibition of hydroxycamptothecin on laryngeal squamous carcinoma cell line. *Ai Zheng* 2003;22(4):372-375
- 16 Fukasawa H, Yamamoto T, Togawa A, et al. Down-regulation of Smad7 expression by ubiquitin-dependent degradation contributes to renal fibrosis in obstructive nephropathy in mice. *Proc Natl Acad Sci* 2004;101(23):8687
- 17 Lan HY, Mu W, Tomita N, et al. Inhibition of renal fibrosis by gene transfer of inducible Smad7 using ultrasound-microbubble system in rat UUO model. *J Am Soc Nephrol* 2003;14(6):1535-1548
- 18 陈君毅,孙兴怀. 转染 Smad7 基因的人 Tenon 囊成纤维细胞 Smad2 及 I 型胶原蛋白表达的改变. *分子细胞生物学报* 2006;39(3):265-269
- 19 陈君毅,孙兴怀. 转染 Smad7 基因的人眼球筋膜成纤维细胞 I 型胶原蛋白及纤维连接蛋白表达的改变. *中华眼科杂志* 2007;43(2):124-128
- 20 Yang SW, Wang W, Xie XY, et al. *In vitro* synergistic cytotoxic effect of triptolide combined with hydroxycamptothecin on pancreatic cancer cells. *Am J Chin Med* 2011;39(1):121-134
- 21 Tang W, Zhang YJ, Qian CX, et al. Apoptosis and mechanism of human Tenon's capsule fibroblast induced by hydroxycamptothecin. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012;53(8):4874-4880