

兔角膜移植后房水中血管内皮生长因子及肿瘤坏死因子 α 表达与高压氧的影响**

谢迎宾, 王强, 雷宁玉, 张磊, 任莉

Effects of hyperbaric oxygen on the expression of vascular endothelial growth factor and tumor necrosis factor alpha in the aqueous humour after penetrating keratoplasty in rabbits

Xie Ying-bin, Wang Qiang, Lei Ning-yu, Zhang Lei, Ren Li

文章亮点:

高压氧可通过下调肿瘤坏死因子 α 和血管内皮生长因子的含量减少新生血管的形成, 进而抑制角膜移植后排斥反应的程度。

Abstract

BACKGROUND: Studies had demonstrated that vascular endothelial growth factor (VEGF) and tumor necrosis factor α (TNF- α) may play an important role in immunologic rejection after penetrating keratoplasty, but the interactions between hyperbaric oxygen, VEGF and TNF- α remains unclear.

OBJECTIVE: To investigate the effects of hyperbaric oxygen on the expression of VEGF and TNF- α in the aqueous humour after penetrating keratoplasty, and to study the relationship between VEGF, TNF- α and cornea transplantation immunologic rejection.

METHODS: We used the chicken to rabbit model of penetrating heterograft. Sixteen healthy New Zealand rabbits were randomly divided into two groups: control group and hyperbaric oxygen group. The rabbits in the hyperbaric oxygen group were treated with hyperbaric oxygen from the 1st day to the 6th day after operation, and the rabbits in the control group were not treated with hyperbaric oxygen. The level of VEGF and TNF- α were determined dynamically by enzyme linked immunosorbent assay on 3, 7, 14, and 28 days after surgery.

RESULTS AND CONCLUSION: The TNF- α and VEGF expression could be seen in the aqueous humour of normal rabbits, and the levels were increased in early postoperative days, which had a significant difference statistically before and after surgery ($P < 0.05$). In the acute rejection period, at 14 days after transplantation, the quantity of TNF- α and VEGF reached their peak respectively, The content of TNF- α and VEGF in the hyperbaric oxygen group were obviously lower than those in the control group ($P < 0.05$). Hyperbaric oxygen can effectively reduce the level of VEGF and TNF- α and inhibit the immune response after keratoplasty.

Xie YB, Wang Q, Lei NY, Zhang L, Ren L. Effects of hyperbaric oxygen on the expression of vascular endothelial growth factor and tumor necrosis factor alpha in the aqueous humour after penetrating keratoplasty in rabbits. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu. 2012;16(31): 5763-5767. [http://www.crter.cn http://en.zglckf.com]

摘要

背景: 血管内皮生长因子和肿瘤坏死因子 α 在角膜移植免疫反应中起重要作用, 但二者与高压氧之间的关系尚不明确。

目的: 探讨高压氧对角膜移植后房水中血管内皮生长因子及肿瘤坏死因子 α 表达的影响及其与角膜移植免疫反应的关系。

方法: 分别以鸡、兔为供、受体建立异种异体穿透性角膜移植模型。将健康新西兰白兔16只随机分为2组, 高压氧组从手术当日至术后第6天行高压氧治疗, 对照组未行高压氧治疗。分别于角膜移植后第3, 7, 14, 28天抽取房水, 应用ELISA双抗体夹心法检测房水中肿瘤坏死因子 α 及血管内皮生长因子水平的变化。

结果与结论: 正常兔眼房水中均可检测到少量的肿瘤坏死因子 α 和血管内皮生长因子。移植后早期两组房水中肿瘤坏死因子 α 和血管内皮生长因子水平即升高, 与移植前比差异均有显著性意义($P < 0.05$)。在移植后14d左右急性排斥反应期, 肿瘤坏死因子 α 和血管内皮生长因子达最高值。高压氧组中肿瘤坏死因子 α 和血管内皮生长因子的水平均明显低于对照组($P < 0.05$)。结果表明高压氧可通过降低房水中肿瘤坏死因子 α 和血管内皮生长因子的含量, 抑制角膜移植后的免疫反应。

关键词: 血管内皮生长因子; 肿瘤坏死因子 α ; 角膜移植; 免疫排斥; 高压氧

谢迎宾, 王强, 雷宁玉, 张磊, 任莉. 兔角膜移植后房水中血管内皮生长因子及肿瘤坏死因子 α 表达与高压氧的影响[J]. 中国组织工程研究, 2012, 16(31): 5763-5767. [http://www.crter.org http://cn.zglckf.com]

Department of Ophthalmology, Affiliated Hospital of Binzhou Medical College, Binzhou 256603, Shandong Province, China

Xie Ying-bin★, Master, Attending physician, Department of Ophthalmology, Affiliated Hospital of Binzhou Medical College, Binzhou 256603, Shandong Province, China] xieyingbin0529@163.com

Supported by: Science and Technology Project of Binzhou Medical College, No.BY2010-KJ004*

doi:10.3969/j.issn.2095-4344.2012.31.015

Received:2011-12-07 Accepted:2012-01-28

滨州医学院附属医院眼科, 山东省滨州市 256603

谢迎宾★, 男, 1973年生, 山东省滨州市人, 2008年青岛大学毕业, 硕士, 主治医师, 主要从事角膜病、白内障方面的研究。 xieyingbin0529@163.com

中图分类号:R617
文献标识码:A
文章编号:2095-4344 (2012)31-05763-05

收稿日期:2011-12-07
修回日期:2012-01-28
(20111107003/M·C)

0 引言

目前角膜移植是治疗各种严重角膜病最为有效的方法,也是组织器官移植中成功率最高的手术。但免疫排斥反应仍是角膜移植手术失败的主要原因,据报道,穿透性角膜移植的排斥反应发生率仍占10%~30%^[1],尤其在血管化、严重感染、大植片角膜移植、二次移植手术等,免疫排斥反应发生率高达60%^[2]。因此,积极探索角膜移植免疫排斥反应的机制及干预方法对提高植片的存活率和患者的视力水平具有重要的意义。

肿瘤坏死因子 α 是1975年由Cars Well等首次提出的一种具有广泛生物学活性的免疫调节因子,与肿瘤坏死因子受体相互作用发挥其广泛的生物学效应,参与多种病理生理过程^[3-4]。研究表明:肿瘤坏死因子 α 水平变化与角膜移植排斥反应的发生密切相关,通过监测血清中肿瘤坏死因子 α 水平变化可对排斥反应进行预测及早期诊断。血管内皮生长因子是目前确定的一种最直接的新生血管形成因子,其能特异性刺激血管内皮细胞增殖及新生血管形成^[5],因而与角膜新生血管关系密切。

高压氧疗法是指在高于大气压的环境中吸氧,使血中氧的物理溶解和血氧含量增加,短时间内组织迅速获得大量氧气。有研究表明,通过高压氧治疗可以有效地提高眼部的氧浓度,使血液、泪液中的氧含量迅速增加,随着研究的不断进展,高压氧正做为一种新的治疗手段被用于抑制角膜新生血管。本实验以鸡-兔异种异体角膜移植为实验模型^[6],检测移植后不同时期房水中血管内皮生长因子和肿瘤坏死因子 α 水平,探讨其与角膜移植排斥反应的关系,并观察高压氧环境对角膜移植后排斥反应及房水中血管内皮生长因子和肿瘤坏死因子 α 的影响,从而为临床抗角膜移植免疫排斥反应寻找新的方法和依据。

1 材料和方法

设计: 随机对照动物实验。

时间及地点: 实验于2011-04/07在滨州医学院附属医院中心实验室完成。

材料:

实验动物: ①受体: 雄性健康新西兰白兔16只,四五个月龄,体质量2.0~2.5 kg,购自济南西岭角养殖繁育中心。②供体: 本地农户庭院放养健壮公鸡,1岁左右,体质量1.5~2.0 kg。

主要仪器和试剂:

仪器及试剂	来源
肿瘤坏死因子 α 、血管内皮生长因子酶联免疫吸附定量检测试剂盒	华美生物工程公司
酶标仪	美国 Bio-Rad
超低温冰箱	上海精洪实验设备有限公司
5415R 高速离心机	Eppendorf 公司

实验方法:

实验分组: 将健康新西兰白兔16只随机分为2组: 对照组8只, 高压氧组8只。

角膜移植手术方法: 公鸡宰杀后立即切下头部,生理盐水冲洗污物,然后无菌操作下取出眼球,以1:4 000的庆大霉素生理盐水冲洗,再将鸡眼球置于生理盐水纱垫上,使其角膜朝上,上面覆盖生理盐水纱垫形成湿房,置于0~4℃冰箱中备用。新西兰白兔全部取右眼行角膜移植术,左眼留觅食用。术前肌注氯胺酮50 mg/kg和氯丙嗪25 mg/kg进行全麻,角膜表面麻醉用1%地卡因,术前10 min点眼3次。全麻成功后用6-0丝线做术眼上下直肌固定缝线,以15°一次性穿刺刀于颞侧角膜缘处斜行穿刺入前房,注入适量玻璃酸钠以术中维持前房及术后备用取房水,6 mm环钻切割制作植床,深度达角膜2/3以上,穿刺刀穿透前房,角膜剪沿环钻切割线环形仔细剪下角膜片,植床准备完毕。助手取纱布包裹鸡眼球巩膜部分,适当加压以利钻取角膜植片,6 mm环钻旋转切割制作植片,深度达角膜2/3以上,仔细剪下角膜片,植片准备完毕。以10-0眼科尼龙线于12, 6, 3, 9点各固定一针,使植片展平,再继续缝合共12针,使植片与植床紧密固定,注入林格氏液检查达水密状态。球结膜下注射庆大霉素 1×10^4 U,涂1%阿托品眼膏+红霉素眼膏,术毕。

术后处理: 术后给予0.25%氯霉素眼水滴眼,3次/d,1%阿托品眼凝胶滴眼,1次/d,0.5%红霉素眼膏点眼,1次/d。

高压氧治疗方案: 高压氧组从手术当日至术后第6天行高压氧治疗。治疗时把兔放入实验用高压氧舱内(滨州医学院附属医院高压氧科提供),采用临床常规治疗方法:用纯氧洗舱10 min,加压20 min至2个标准大气压,氧体积分数为99.2%,稳压1 h,中间换气10 min,减压20 min,2次/d。

标本采集: 分别于术后第3, 7, 14, 28天由双人配合按压新西兰兔在1%地卡因表面麻醉下用4.5号针头于角膜缘穿刺口处抽取房水0.05~0.08 mL,置-70℃保存

备检, 穿刺口自行闭合。

房水中血管内皮生长因子及肿瘤坏死因子 α 水平测定: 用酶链免疫吸附双抗体夹心法定量检测房水中血管内皮生长因子和肿瘤坏死因子 α 水平的变化。

临床观察: 自移植后第1天开始, 每日在裂隙灯下观察角膜移植眼及健眼情况。排斥反应采用Larkin评分标准^[7], 即将角膜植片水肿、混浊及新生血管三项评分相加之和为排斥反应指数。①植片浑浊0~4级: 0级为完全透明; 1级为透明度轻度丢失; 2级为透明度中度丢失, 可见虹膜血管; 3级为虹膜血管窥不清, 但瞳孔轮廓可见; 4级为瞳孔轮廓不清。②植片水肿0~2级: 0级为无水肿, 1级为中度水肿, 2级为伴有植片增厚的显著水肿。③植片新生血管0~4级: 0级为无新生血管; 1级为新生血管在任何象限伸入达到植片半径的25%, 2级为新生血管达到植片半径50%, 3级为新生血管达到植片半径的75%, 4级为新生血管达到植片的中央。排斥反应指数 < 5 为植片存活, 排斥反应指数 ≥ 5 时, 或植片浑浊单项达到3时为排斥反应发生。

统计学分析: 研究数据采用SPSS for windows 8.0软件进行分析, 对数据的统计学处理采用 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有显著性意义。

2 结果

2.1 角膜植片存活情况 两组14 d时的角膜植片水肿、混浊、新生血管和排斥指数见表1。

表1 移植后第14天角膜植片混浊、水肿、新生血管和排斥指数的比较
Table 1 Comparison of corneal opacity, edema, vascularization and rejection index in each group at 14 d post-operation ($\bar{x} \pm s$)

Group	Edema	Opacity	Vascularization	Rejection index
Control	1.93±0.74	3.30±0.99	3.65±0.87	9.06±1.35
HPO	1.07±0.67 ^a	2.84±0.86 ^a	2.55±0.46 ^a	6.39±0.77 ^a

^a $P < 0.05$, vs. control group; HPO: hyperbaric oxygen

两组均发生排斥反应, 对照组移植后因植片感染导致手术失败1眼, 不列入统计结果。对照组移植后第5天角膜开始水肿和混浊, 以后则渐趋加重, 出现明显的角膜植片水肿、混浊、新生血管, 平均在14 d左右植片可见明显混浊、水肿、角膜后沉积物、房水混浊, 并可见上皮或内皮排斥线, 至观察期末有4只兔角膜新生血管长满植片, 植片平均存活时间为(21.3±1.9) d; 高压氧组角膜排斥反应发生的时间、程度均较对照组明显减

轻, 植片平均存活时间为(26.5±2.2) d。

2.2 角膜新生血管情况 对照组移植后第1天见角膜轻度水肿, 角膜缘血管网轻度扩张充血, 未见新生血管生长; 第3天可见角膜缘处开始有新生血管芽出现, 呈刷状, 较稀疏; 第7天见新生血管生长变长, 朝向角膜中央方向, 较密集; 第10天新生血管明显较前生长旺盛, 顶端开始分叉, 并交织呈网状, 血管较前增粗; 至排斥反应发生一直保持旺盛生长。高压氧组移植后第1~3天均未见新生血管生长; 第6天开始出现新生血管芽, 明显稀疏; 第7天可见新生血管芽缓慢生长, 仍较稀疏; 第11天新生血管开始较前变长, 但明显较对照组稀疏, 血管呈半透明状; 至观察期末均较对照组明显稀疏、管径细、色淡。

2.3 房水中血管内皮生长因子和肿瘤坏死因子 α 水平的动态变化 正常兔眼房水中均可检测到少量血管内皮生长因子和肿瘤坏死因子 α , 其质量浓度分别为(147.81±26.17) ng/L, (30.77±5.96) ng/L。角膜移植后早期两组房水中血管内皮生长因子和肿瘤坏死因子 α 水平平均升高, 与正常对照组相比差异有非常显著性意义($P < 0.01$), 其中对照组于移植后14 d左右排斥反应发生前达最高水平, 并在整个观察期内维持高水平, 高压氧组术后升高规律与对照组相同, 但各时间点均较对照组明显降低($P < 0.05$), 见表2, 3。

表2 移植后不同时间各组房水肿瘤坏死因子 α 水平变化
Table 2 The content of tumor necrosis factor α in the aqueous humor at different time points after transplantation ($\bar{x} \pm s$, ng/L)

Group	3 d	7 d	14 d	28 d
Control	156.25±16.36	223.26±21.16	272.61±25.34	265.35±28.95
HPO	136.69±15.32 ^a	178.43±17.58 ^a	223.02±29.62 ^a	219.26±27.84 ^a

^a $P < 0.05$, vs. control group; HPO: hyperbaric oxygen

表3 移植后不同时间各组房水血管内皮生长因子水平变化
Table 3 The content of vascular endothelial growth factor in the aqueous humor at different time points after transplantation ($\bar{x} \pm s$, ng/L)

Group	3 d	7 d	14 d	28 d
Control	592.56±56.26	716.32±65.26	1 124.25±156.69	1 248.28±142.35
HPO	336.76±41.68 ^a	449.35±65.39 ^a	790.49±69.63 ^a	787.05±98.30 ^a

^a $P < 0.05$, vs. control group; HPO: hyperbaric oxygen

3 讨论

角膜移植是多种严重角膜病的惟一选择, 移植排斥是角膜移植失败的最主要原因, 尤其在二次移植或有

新生血管生长的高危角膜移植中, 其正常的免疫豁免被破坏, 排斥反应发生早而且严重。角膜移植排斥反应的发生是一个多种因素共同参与的复杂过程, 移植后一两周是移植免疫反应最活跃的时期, 若缺乏有效的免疫抑制措施, 机体免疫细胞必然大量致敏、增殖, 产生大量效应细胞和免疫因子, 诱发排斥反应的发生。糖皮质激素的应用使角膜移植的成功率显著提高, 但是, 激素可以导致许多严重的并发症如感染、白内障、青光眼、角膜变薄等是众所周知的。因此, 积极研究角膜移植排斥反应的发生机制, 寻找安全可靠的干预方法, 对提高移植成功率, 保护患者的视功能具有重要的意义。

角膜新生血管是与角膜损伤密切相关的病理现象。新生血管的形成破坏了角膜的免疫赦免性^[8-10], 使角膜移植发生不同程度的排斥反应, 是角膜移植失败的重要原因。新生血管的形成是一个复杂的过程, 与各种原因引起的促新生血管生成因子和抑新生血管生成因子之间的平衡失调有关。在多种促新生血管形成因子中血管内皮生长因子起着核心作用^[11-13], 房水中血管内皮生长因子的表达情况能够反映角膜损伤的修复及进程, 血管内皮生长因子是目前确定的一种最直接的眼内新生血管形成因子, 其能特异性刺激血管内皮细胞增殖及新生血管形成^[14], 在新生血管的形成及免疫排斥反应中起着重要作用。

肿瘤坏死因子 α 是机体炎症反应时最早释放的细胞因子之一, 故各种角膜移植后所发生的非特异性炎症必然伴随肿瘤坏死因子 α 的释放, 而大量肿瘤坏死因子 α 又可增加角膜组织中MHC-II类抗原的表达, 提高巨噬细胞提取及呈递抗原的能力, 同时激活T淋巴细胞并促进其他各种细胞因子的释放, 这样即可形成复杂的细胞因子网络, 从而诱发排斥反应的发生并加剧其反应程度。同时, 研究发现肿瘤坏死因子 α 与新生血管的形成也关系密切, 1987年Leihovich等^[15]证实肿瘤坏死因子 α 可诱发小鼠角膜新生血管的形成, 而且肿瘤坏死因子 α 多克隆抗体可完全阻断由活化的巨噬细胞所介导的新生血管化过程, 因而推论巨噬细胞所介导的新生血管化是由其分泌的肿瘤坏死因子 α 所介导的。

角膜的营养来自泪膜、房水及周围血管网, 而房水又构成了角膜内皮细胞的局部微环境, 因而角膜移植排斥反应的发生与房水中某些成分或物质的改变密切相关。为此, 本实验通过抽取兔角膜移植术后不同时期的房水研究肿瘤坏死因子 α 和血管内皮生长因子水平的动态变化, 发现在角膜移植后早期肿瘤坏死因子 α 和血管

内皮生长因子的含量即有明显升高, 且随时间延长含量逐渐增高, 平均在14 d左右免疫反应最强烈时达高峰, 之后在观察期内始终保持高水平。肿瘤坏死因子 α 和血管内皮生长因子的升高与裂隙灯观察角膜植片的排斥反应及新生血管的形成时间一致, 说明肿瘤坏死因子 α 和血管内皮生长因子水平的升高与角膜排斥反应的发生密切相关。

高压氧疗法是指在高于大气压的环境中吸氧, 增加了血中氧的物理溶解和血氧含量, 使组织短时间内迅速获得大量氧气, 从而干预某些疾病的方法。随着新生血管研究的不断进展, 高压氧正作为一种新的治疗手段被用于抑制角膜新生血管。目前, 许多研究已证实, 缺氧是刺激血管内皮生长因子表达及新生血管形成的最强因素^[16], 高浓度氧可明显降低血管内皮生长因子的表达水平^[17]。通过高压氧治疗可以提高血氧张力, 增加血氧含量, 增加组织的氧含量和氧储量。有研究表明, 高压氧可以有效地提高眼部的氧浓度, 使血液、泪液中的含氧量显著增加, 从而使角膜及其他眼组织短时间获得高浓度的氧进行有氧代谢, 减少新生血管形成。Edelman等^[18]将角膜化学烧伤后的大鼠置于体积分数70%氧和平衡氮气环境中, 结果, 高浓度氧可明显抑制血管内皮生长因子蛋白的表达, 显著降低新生血管的密度。

本实验中高压氧组的肿瘤坏死因子 α 和血管内皮生长因子水平在各时间段的升高趋势与对照组相同, 在2周时达最高值, 之后至28 d略有下降, 但两组相比, 高压氧组各时间段均明显低于对照组, 并且角膜新生血管及植片的水肿及排斥反应程度均低于对照组, 与房水中肿瘤坏死因子 α 和血管内皮生长因子水平成正相关。该实验结果与Edelman等^[19]的研究基本相同, 证实了高浓度氧对新生血管的抑制作用。本实验结果证明高压氧可通过下调肿瘤坏死因子 α 和血管内皮生长因子水平减少新生血管的形成并进而抑制排斥反应的程度, 可为临床应用高压氧辅助治疗角膜移植术后新生血管及排斥反应提供理论依据。但关于高压氧治疗的最佳方案、最佳时机、持续时间、与其他方法的联合应用及是否有更理想的给氧途径等问题尚待进一步研究。

4 参考文献

- [1] Liu ZG, Zhang H. Zhonghua Yanke Zazhi. 2006;42(8): 673-675.
刘祖国, 张慧. 重视我国角膜病的基础研究[J]. 中华眼科杂志, 2006, 42(8):673-675.

- [2] Chen JQ, Yuan J, Yanke. 2007;16(3):145-148.
陈家祺,袁进.重视和规范我国感染性角膜病的药物治疗[J].眼科,2007,16(3):145-148.
- [3] Xu JT, Li C, Li JL. Yanke Yanjiu. 1994;12(4):217-220.
徐锦堂,李辰,李佳荔.实验性异种穿透性角膜移植排斥反应的特点及其治疗的探讨[J].眼科研究,1994,12(4):217-220.
- [4] Li GR, Zhang SS, Kang FY, et al. Zhongguo Shiyong Yanke Zazhi. 2002;20(11):858-860.
李贵仁,张士胜,康凤英,等.肿瘤坏死因子- α 在角膜移植免疫排斥反应中作用的实验研究[J].中国实用眼科杂志, 2002,20(11):858-860.
- [5] Chen HT. Beijing: China Agriculture Press. 2006:104.
陈怀涛.兽医病理解剖学[M].3版.北京:中国农业出版社,2006:104.
- [6] Wang Y, Li GR, Kang FY, et al. Yanke Xinjinzhan. 2003;23(2):111-113.
王艳,李贵仁,康凤英,等.角膜移植术后肿瘤坏死因子- α 含量的变化[J].眼科新进展,2003,23(2):111-113.
- [7] Larkin DFP, Calder VL, Lightman SL. Identification and characterization of cells infiltrating the graft and aqueous humour in rat corneal allograft rejection. Clin Exp Immunol. 1997; 107(2): 381-391.
- [8] Li L, Xi XH. Guoji Yanke Zazhi. 2008;8(4):807-809.
李灵,席兴华.角膜新生血管的药物治疗进展[J].国际眼科杂志, 2008, 8(4):807-809.
- [9] Parker DG, Brereton HM, Coster DJ, et al. The potential of viral vector-mediated gene transfer to prolong corneal allograft survival. Curr Gene Ther. 2009;9(1):33-44.
- [10] Kim SW, Ha BJ, Kim EK, et al. The effect of topical bevacizumab on corneal neovascularization. Ophthalmology. 2008;115(6): e33-e38.
- [11] Kim TI, Chung JL, Hong JP, et al. Bevacizumab application delays epithelial healing in rabbit cornea. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2009;50(10):4653-4659.
- [12] Saxena S, Kishore P, Pandey S, et al. Topical bevacizumab for corneal neovascularization after penetrating keratoplasty. Eur J Ophthalmol. 2009;19(5):870-872.
- [13] Guo ZF, Pang DB, Shan W. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2010;14(15):2718-2721.
郭作锋,庞东渤,单伟.螺内酯对碱烧伤诱导大鼠角膜新生血管形成的影响及其机制研究[J].中国组织工程研究与临床康复, 2010, 14(15):2718-2721.
- [14] Oh H, Takagi H, Otani A, et al. Selective induction of neuropilin-1 by vascular endothelial growth factor (VEGF): a mechanism contributing to VEGF-induced angiogenesis. Proc Natl Acad Sci U S A. 2002;99(1):383-388.
- [15] Leibovich SJ, Polverini PJ, Shepard HM, et al. Macrophage-induced angiogenesis is mediated by tumour necrosis factor- α . Nature. 1987;329(6140):630-632.
- [16] Kuroki M, Voest EE, Amano S, et al. Reactive oxygen intermediates increase valvular endothelial growth factor expression in vitro and in vivo. J Clin Invest. 1996; 98(7):1667-1675.
- [17] van Setten GB. Vascular endothelial growth factor (VEGF) in normal human corneal epithelium: detection and physiological importance. Acta Ophthalmol Scand. 1997;75(6):649-652.
- [18] Edelman JL, Castro MR, Wen Y. Correlation of VEGF expression by leukocytes with the growth and regression of blood vessels in the rat cornea. Invest Ophthalmol Vis Sci. 1999;40(6):1112-1123.

来自本文课题的更多信息——

基金声明: 滨州医学院科技计划项目 (BY2010-KJ004), 项目名称: 高压氧联合抗代谢药物对兔角膜移植后新生血管影响的实验研究。

作者贡献: 实验设计为谢迎宾、王强, 实验实施为谢迎宾、张磊, 实验评估为王强、雷宁玉, 资料收集为谢迎宾、任莉。谢迎宾成文, 王强审校, 谢迎宾对文章负责。

利益冲突: 课题未涉及任何厂家及相关雇主或其他经济组织直接或间接的经济或利益的赞助。

伦理要求: 实验过程中对动物的处置应符合 2009 年《Ethical issues in animal experimentation》相关动物伦理学标准的条例。

研究的创新之处: 实验创新性的将高压氧应用于研究之中, 观察高压氧对兔角膜移植后新生血管形成及房水中血管内皮生长因子和肿瘤坏死因子 α 的影响, 从而为临床抗角膜移植免疫排斥反应寻找新的方法和提供理论依据。