

· 论著 ·

极低频电磁场对体外培养人视网膜色素上皮细胞的影响

王洁 朱煌 杜尔罡

【摘要】 目的 研究极低频电磁场(ELF-EMF)作用下体外培养的人视网膜色素上皮细胞(hRPE)的分子病理改变,探讨其在近视发生发展中的可能作用机制。方法 实验研究。根据细胞是否暴露于 50 Hz 电磁场分为暴露组和非暴露组,观察 hRPE 细胞形态的改变,CCK8 检测 hRPE 细胞的增殖活性,应用实时定量聚合酶链反应(Real-time PCR)法检测 hRPE 细胞表达基质金属蛋白酶 2(MMP-2)、基质金属蛋白酶组织抑制因子-2(TIMP-2)、转化生长因子- β 2(TGF- β 2)及成纤维细胞生长因子 2(FGF-2)的情况。ELISA 检测 hRPE 细胞培养上清中 TGF- β 2 及 FGF-2 的表达情况,并用独立样本 t 检验进行分析。结果 与非暴露组相比,暴露组 hRPE 细胞形态发生改变;hRPE 细胞的增殖活性降低,差异有统计学意义(6×10^3 /孔, $t = -7.069, P < 0.01$; 8×10^3 /孔, $t = -3.652, P < 0.05$; 10×10^3 /孔, $t = -6.974, P < 0.05$); RT-PCR 分析显示,暴露组 hRPE 细胞 MMP-2、TIMP-2 及 TGF- β 2 mRNA 表达水平较非暴露组均增高,差异有统计学意义($t = 10.562, 6.277, 4.940, P < 0.01$);而暴露组 FGF-2 mRNA 表达水平较非暴露组低,差异有统计学意义($t = -6.905, P < 0.01$)。ELISA 检测显示暴露组 hRPE 细胞上清中 TGF- β 2 表达上调,FGF-2 表达下降,与非暴露组相比差异有统计学意义($t = -4.079, 4.441, P < 0.05$)。结论 ELF-EMF 在一定范围内影响体外培养的 hRPE 细胞的增生及相关细胞因子和基质金属蛋白酶的表达,ELF-EMF 可能通过调控 hRPE 细胞病理改变进而诱导近视的发生发展。

【关键词】 辐射,电离; 色素上皮,眼; 近视; 基质金属蛋白酶 2; 转化生长因子 β ; 成纤维细胞生长因子 2

Effects of extremely low frequency electromagnetic fields on human retinal pigment epithelium cells Wang Jie, Zhu Huang, Du Ergang. Department of Ophthalmology, Zhejiang Chinese Medical Hospital, Hangzhou 310006, China

Corresponding author: Du Ergang, Email: ykduergang@126.com

【Abstract】 Objective To investigate pathological changes in the molecules of human retinal pigment epithelium (hRPE) exposed to an extremely low frequency electromagnetic field (ELF-EMF), and study its possible significance in the occurrence and development of myopia. **Methods** In this experimental study, the experimental group was composed of hRPE exposed to 50 Hz electromagnetic fields; the untreated group was composed of hRPE without exposure. The changes in hRPE cell morphology were observed and cell proliferation in hRPE was measured by a CCK8 assay. The expressions of matrix metallo-proteinase-2 (MMP-2), tissue inhibitor of metalloproteinase 2 (TIMP-2), transforming growth factor- β 2 (TGF- β 2) and fibroblast growth factor 2 (FGF-2) mRNA in hRPE were detected by reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR). The concentrations of TGF- β 2 and FGF-2 in the culture medium of hRPE were assayed by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The difference between the two group using independent t test. **Results** hRPE cell morphology changed, and the proliferation of hRPE was inhibited ($t = -7.069, -3.652, -6.974, P < 0.05$). The mRNA expressions of MMP-2, TIMP-2 and TGF- β 2 were up-regulated significantly ($t = 10.562, 6.277, 4.940, P < 0.01$). However, the mRNA expression of FGF-2 was down-regulated significantly ($t = -6.905, P < 0.01$). The results of ELISA indicated that after exposure to ELF-EMF,

DOI:10.3760/cma.j.issn.1674-845X.2015.07.010

基金项目:浙江省金华市科技局重点基金项目

作者单位:310006 杭州,浙江省中医院眼科(王洁、杜尔罡);200092 上海交通大学医学院附属新华医院眼科(朱煌)

通信作者:杜尔罡,Email:ykduergang@126.com

the expression of TGF- β 2 in hRPE supernatant medium was up-regulated significantly ($t=4.079$, $P<0.05$). However, the expression of FGF-2 in hRPE supernatant medium was down-regulated ($t=4.441$, $P<0.05$). **Conclusion** ELF-EMF changed the proliferation of hRPE, and also changed the expressions of MMP-2, TIMP-2, TGF- β 2 and FGF-2 mRNA in hRPE, which might induce the occurrence of myopia through pathological changes in the molecules of hRPE.

【Key words】 Radiation, ionizing; Pigment epithelium, eye; Myopia; Matrix metallo-proteinase-2; Transforming growth factor beta; Fibroblast growth factor 2

近年来,随着电视、电脑及手机等视频终端的普及和迅速发展,人类受电磁场的影响越来越严重,电磁场对眼睛的影响及导致近视发生的机制引起人们的关注,本课题组前期研究发现,在极低频电磁场(extremely low frequency electromagnetic field, ELF-EMF)作用下体外培养的人巩膜成纤维细胞会发生病理改变^[1-2];动物实验显示在极低频电磁场作用下豚鼠眼轴会增长^[3]。通过分泌转化生长因子 β (transforming growth factor- β , TGF- β)、成纤维细胞生长因子(fibroblast growth factors, FGF)等调控眼球的生长及巩膜重塑^[4]。但在电磁场作用下,视网膜色素上皮(RPE)细胞的病理改变,及其在近视发生发展中的作用鲜见报道。因此,本课题组拟观察 ELF-EMF 作用下, RPE 细胞的分子病理改变,探讨其在近视发生发展中可能机制,为防治近视提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 主要试剂及仪器

DMEM 培养基(美国 Gibco 公司), Superscript First Strand 试剂盒(日本 Formentas 公司), Real-time PCR 试剂盒(美国 BIO-RAD 公司), CCK8 试剂盒(日本 Dojindo 公司), 荧光实时定量 PCR 仪(美国 BIO-RAD 公司), 电磁辐射分析仪 TES-1393(台湾泰仕公司)。基质金属蛋白酶 2(matrix metallo-proteinase-2, MMP-2)、基质金属蛋白酶组织抑制因子-2(tissue inhibitor of metalloproteinase 2, TIMP-2)、TGF- β 2 及 FGF-2 的引物由上海生工生物技术公司合成。ELF-EMFs 辐射系统由 1 对周长 60 cm、高度 8 cm, 168 匝的 Helmholtz 线圈, 1 只等长等高、60 匝的中置补偿线圈, 2 只变压器构成。

1.2 RPE 细胞的体外培养

人视网膜色素上皮(human RPE, hRPE)细胞系(ARPE19)购自美国模式培养物集存库(American type culture collection, ATCC)公司。hRPE 细胞用 DMEM 培养液, 每 48 h 更换新鲜培养液, 按 1:3 的比例消化传代。每次实验均取自同一批传代细胞。暴露时间为 24 h, 暴露强度为 0.2 mT。

1.3 光镜观察 ELF-EMFs 对 RPE 细胞形态的改变

hRPE 细胞经胰蛋白酶消化后分别以 1×10^4 /孔接种至 25 mm² 培养瓶中, 将细胞分为暴露组和非暴露组。培养 24 h 后, 更换新的培养基, 暴露组放置于 0.2 mT 的 ELF-EMFs 中辐射, 非暴露组放置于培养箱中不进行辐射。辐射 24 h 后, 100 倍光镜下观察细胞形态的改变。

1.4 CCK8 法检测 ELF-EMFs 对 hRPE 细胞增殖的影响

hRPE 细胞经胰蛋白酶消化后分别以 2×10^3 /孔、 4×10^3 /孔、 6×10^3 /孔、 8×10^3 /孔、 10×10^3 /孔接种至 96 孔板, 并将细胞悬液分为暴露组和非暴露组, 每组 3 个孔。培养 24 h 后, 更换新的培养基, 暴露组放置于 0.2 mT 的 ELF-EMFs 中辐射, 非暴露组放置于培养箱中不进行辐射。培养 24 h 后, 每孔加入 10 μ l 的 CCK8 试剂, 继续培养 2 h 后, 酶标仪波长 450 nm 测定吸光度(A)值。计算每组 A 值的平均值。

1.5 Real-time PCR 检测 hRPE 中 MMP-2、TIMP-2、TGF β -2 及 FGF-2 mRNA 表达水平

用 Trizol 试剂抽提 hRPE 细胞中 RNA, 用逆转录试剂盒进行逆转录反应, MMP-2、TIMP-2、TGF β -2、FGF-2 及 GAPDH 引物序列见表 1。所有 PCR 反应由 PCR 仪完成。

表 1 MMP-2、TIMP-2、TGF- β 2、FGF-2 及 GAPDH 引物序列

MMP-2	F 5' GGAAAAGATTGATCGG 3'	NM_004530.4
	R 5' GGTGCTGGCTGACTAG 3'	
TIMP-2	F: 5' TGGGACACCCCTGAGCA 3'	NM_003255.4
	R: 5' GGGGAGGAGATGTAGCAC 3'	
TGF- β 2	F: 5' ATCTGGTCACGGTCGC 3'	NM_003238.2
	R: 5' GTCCTGGTGCTGTG 3'	
FGF-2	F: 5' CGTTACCTGGCTATGA 3'	NM_002006.4
	R: 5' CAACTGGTGATTTTCT 3'	
GAPDH	F 5' CTCCTCCACCTTTGACGC 3'	NM_002046.3
	R 5' CCACCACCCTGTTGCTGT 3'	

注: MMP-2 为基质金属蛋白酶 2; TIMP-2 为基质金属蛋白酶组织抑制因子 2; TGF- β 2 为转化生长因子- β 2; FGF-2 为成纤维细胞生长因子 2

1.6 ELISA 检测 hRPE 细胞上清中 TGF- β 2 及 FGF-2 的含量

将 5×10^5 的 hRPE 细胞种植在 25 mm^2 培养瓶中,用不含胎牛血清的 DMEM 培养基进行培养并辐射 24 h 后,将细胞上清转移到浓缩管中,放置到低温离心机中,4 000 r/min 离心 25 min, 收集浓缩好的上清根据 ELISA 试剂盒说明测 TGF- β 2 及 FGF-2 的含量(pg/ml)。

1.7 统计学方法

实验研究。采用 SAS 8.0 统计学软件对数据进行分析。实验检测指标的数据资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示。各样本均数经 Kolmogorov-Smirnov 法分析均为正态性分布,方差齐性经 Levene 检验。暴露组与非暴露组间数据的比较采用独立样本 *t* 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 ELF-EMF 对 hRPE 细胞形态的影响

倒置显微镜下,体外培养的 hRPE 细胞经 ELF-EMF 辐射前细胞呈多角形,贴壁生长融合后呈铺路石样,而在 0.2 mT 的 ELF-EMF 作用 24 h 后,RPE

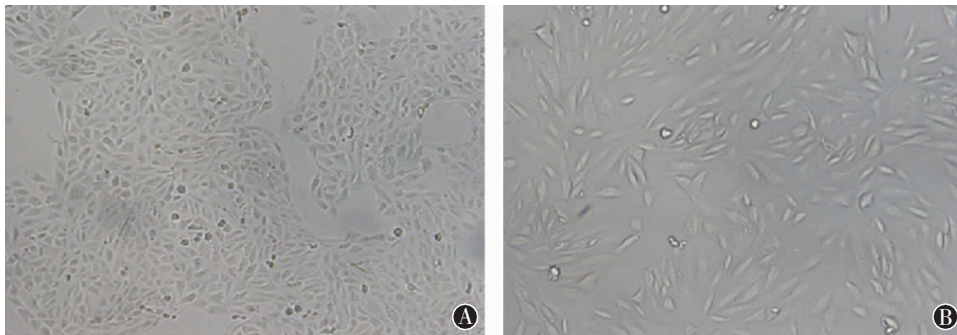
细胞呈长梭形。见图 1。

2.2 ELF-EMFs 对 hRPE 细胞增殖的影响

ELF-EMFs 辐射 hRPE 细胞 24 h 后(0.2 mT), CCK8 检测结果显示,ELF-EMFs 能显著抑制 hRPE 的增殖(6×10^3 /孔, $t = -7.069, P < 0.01$; 8×10^3 /孔, $t = -3.652, P < 0.05$; 10×10^3 /孔, $t = -6.974, P < 0.05$), 2×10^3 /孔、 4×10^3 /孔未显示有统计学意义的差异。见图 2。

2.3 ELF-EMF 作用后 hRPE 细胞中 MMP-2、TIMP-2 mRNA 表达水平的变化

ELF-EMF 作用 24 h 后(0.2 mT),hRPE MMP-2 mRNA/GAPDH mRNA、TIMP-2 mRNA/GAPDH mRNA 分别是 $(2.25 \pm 0.18) \times 10^{-4}$ 、 $(91.61 \pm 5.11) \times 10^{-4}$,未经辐射的细胞在培养 24 h 后,hRPE MMP-2 mRNA/GAPDH mRNA、TIMP-2 mRNA/GAPDH mRNA 分别为 $(0.64 \pm 0.11) \times 10^{-4}$ 、 $(52.18 \pm 2.91) \times 10^{-4}$,即与非暴露组相比,ELF-EMFs 作用 hRPE 细胞 24 h 后,MMP-2 及 TIMP-2 mRNA 表达水平均上调,MMP-2 mRNA 上调了约 3.5 倍,而 TIMP-2 mRNA 上调了约 1.75 倍($t = 10.562, 6.277, P < 0.01$)。见图 3。



A, 干预前;B, 干预后
图 1 极低频电磁场辐射前后人 RPE 细胞的形态变化($\times 100$) (24 h, 0.2 mT, 50 Hz 电磁场)

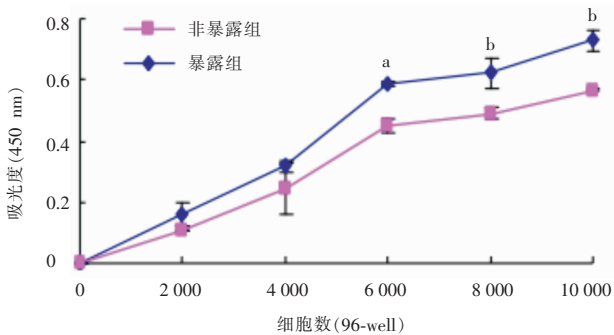


图 2 极低频电磁场对人 RPE 细胞增殖的影响(24 h, 0.2 mT, 50 Hz 电磁场)(^a $P < 0.05$; ^b $P < 0.01$)

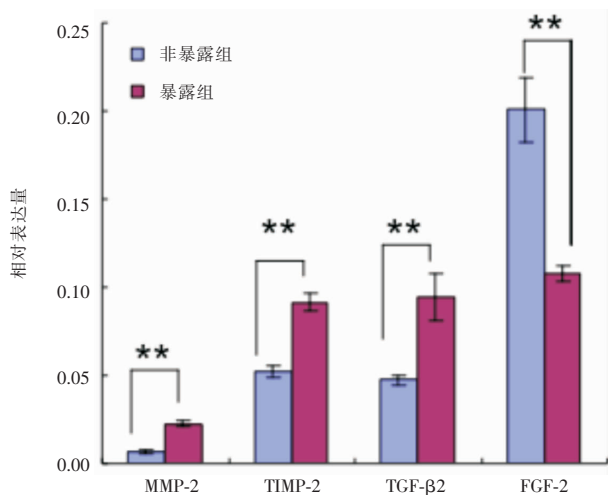


图 3 极低频电磁场对人 RPE 细胞基质金属蛋白酶 2 (MMP-2)、基质金属蛋白酶组织抑制因子-2(TIMP-2)、转化生长因子 β 2(TGF- β 2) 及成纤维细胞生长因子 2(FGF-2)mRNA 水平的影响(24 h, 0.2 mT, 50 Hz 电磁场)(** $P < 0.01$)

2.4 ELF-EMF 作用后 hRPE 细胞中 TGF- β 2、FGF-2 mRNA 表达水平的变化

ELF-EMF 作用 24 h 后(0.2 mT),hRPE TGF- β 2 mRNA/GAPDH mRNA 及 FGF-2 mRNA/GAPDH mRNA 分别是 $(94.77 \pm 13.20) \times 10^{-4}$ 及 $(1\ 078.39 \pm 42.54) \times 10^{-4}$, 未经辐射的细胞在培养 24 h 后, hRPE TGF- β 2 mRNA/GAPDH mRNA 及 FGF-2 mRNA/GAPDH mRNA 分别是 $(47.49 \pm 3.04) \times 10^{-4}$ 及 $(2\ 005.93 \pm 185.00) \times 10^{-4}$, TGF- β 2 的暴露组 mRNA 表达水平较非暴露组相比上调了约 2 倍, 差异有统计学意义 ($t=4.940, P<0.01$); 而 FGF-2 暴露组 mRNA 表达水平较非暴露组相比表达降低了约 50%, 差异有统计学意义 ($t=-6.905, P<0.01$)。见图 3。

2.5 ELF-EMF 作用后 hRPE 细胞上清中 TGF- β 2 及 FGF-2 的含量的变化

ELF-EMF 作用 24 h(0.2 mT)和未经辐射的细胞培养 24 h 后, hRPE 细胞上清中 TGF- β 2 表达量分别是 (551.64 ± 23.72) pg/ml、 (442.70 ± 39.71) pg/ml, 差异有统计学意义 ($t=-4.079, P<0.05$); 暴露组和非暴露组 hRPE 细胞上清中 FGF-2 的表达量分别是 (63.33 ± 9.43) pg/ml、 (91.68 ± 5.78) pg/ml 差异有统计学意义 ($t=4.441, P<0.05$)。见图 4。

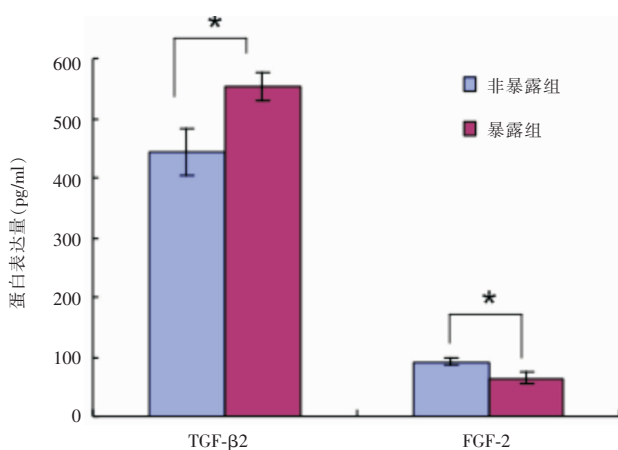


图 4 极低频电磁场对人 RPE 细胞分泌转化生长因子 β 2(TGF- β 2) 及成纤维细胞生长因子 2(FGF-2)水平的影响 (24 h, 0.2 mT, 50 Hz 电磁场)(* $P<0.05$)

3 讨论

视网膜作为眼部的中枢, 在调控巩膜重塑等近视发生发展过程中发挥重要作用。在异常视觉信息的作用下, 视网膜、脉络膜内多种神经递质和生长因子的表达发生改变, 可启动视网膜-视网膜色素上皮层-脉络膜信号转导系统, 把局部视网膜信号转化为

调控巩膜重塑信号, 引起巩膜细胞外基质(extracellular matrix, ECM)过多降解, 巩膜组织过度丢失并进行性变薄, 巩膜重塑, 眼轴不断延伸, 脉络膜视网膜膜承受机械性张力增加最终导致视功能受损及并发症发生^[5]。在巩膜重塑过程中, RPE 被认为是视网膜信号传递至效应器巩膜的不可或缺的中间环节^[6]。

微波等异常环境因素可引起体外 RPE 细胞中 DNA 片段化, 导致细胞的死亡^[7-9]。本研究中发现 ELF-EMF 干预后, hRPE 细胞形态明显改变, 辐照前 hRPE 细胞呈圆形, 集落样生长, 辐照 24 h 后细胞变得细长, 形态呈梭形或不规则形, 类似成纤维细胞。暴露于 ELF-EMF 后, hRPE 增殖能力减弱。说明 ELF-EMF 可能通过影响 RPE 细胞的增殖和形态, 进而改变 RPE 细胞的调控功能。

RPE 细胞可以表达分泌多种细胞因子, 其表达的 TGF- β 和 FGF, 2 种因子在巩膜生长中分别起“启动”和“停止”作用, 二者失衡则可能导致近视的发生发展^[10-12]。TGF- β 共有 5 种亚型, 眼部生物学活性以 TGF- β 2 为主。本研究采用 TGF- β 2 作为检测指标, Matrisian^[13] 研究显示在成纤维细胞和视网膜内皮细胞中, TGF- β 2 具有上调 MMP 的作用。还有研究发现 TGF- β 2 通过上调体外培养的 hRPE 细胞中 MMP-2 mRNA 的表达, 引起 MMP-TIMP 平衡的直接改变^[14]。我们发现 ELF-EMF 处理过的 hRPE 中 TGF- β 2 和 MMP-2 表达均上调, MMP-2 表达量的异常, 使 ECM 的正常组织结构和生理功能遭到破坏, 眼轴长度发生改变。另外, TGF- β 还可调控纤溶酶原激活物(plasminogen activator, PA)的活性, PA 激活的纤溶酶可直接降解纤维蛋白及其他 ECM 成分, 还可激活其下游的基质金属蛋白酶(MMP), 从而影响 ECM 的降解^[15]。这些结果从理论上提示我们, ELF-EMF 可能通过改变 hRPE 细胞表达 TGF- β 2 的量, 调控 MMP-2 的表达, 干扰 ECM 的正常组织和生理功能, 进而促进近视的发生发展。

在横断视神经的动物实验中, FGF 能维持成年动物视网膜神经节细胞的存活, 诱导鸡胚视网膜从 RPE 细胞中重建^[16]。FGF 不仅能维持神经细胞的存活, 而且在损伤修复中也起着重要的作用, 可以降低外界因素对视网膜的损伤^[17]。在离体培养中, FGF 可刺激停止生长的 RPE 和巩膜成纤维细胞增生^[18]。Rohrer 和 Stell^[19]研究还发现 FGF-2 和 TGF- β 在调节眼球生长过程中起着相反的作用, 共同调节眼球的生长。FGF-2/TGF- β 之间平衡紊乱也可能是导致眼球异常增长的因素之一。RPE 细胞分泌 FGF、

TGF- β 等生长因子,这些生长因子的受体在巩膜上亦有相应的表达,由此可见 RPE 所分泌的 FGF 等生长因子与巩膜重塑关系密切。本实验结果表明,RPE 中表达 FGF-2 mRNA,并且 FGF-2 mRNA 在 ELF-EMF 辐照后的 hRPE 中表达下调,可能是 ELF-EMF 通过降低 FGF-2 的表达,减少 FGF-2 对视网膜的保护作用,并引起眼球异常增长。

本研究还显示,培养的 RPE 细胞中 MMP-2 和 TIMP-2 mRNA 均有表达,经 ELF-EMF 干预后,MMP-2 和 TIMP-2 mRNA 表达均上调,其中 MMP-2 mRNA 上调了约 3.5 倍,而 TIMP-2 mRNA 上调了约 1.75 倍,这个结果表明 ELF-EMF 刺激培养的 hRPE 细胞后,TIMP-2 的表达水平不能与 MMP-2 相对应增高,引起 MMP-TIMP 平衡的直接改变,可能促进基底膜及 RPE 细胞周围细胞外基质蛋白水解,使 ECM 的正常组织结构和生理功能遭到破坏。

本研究仅初步证实了 hRPE 细胞在 ELF-EMF 暴露下,MMP-2、TIMP-2、TGF- β 2 及 FGF-2 表达的变化。在近视的形成过程中,其生物学机制异常复杂,并不仅仅是某一种因子在起作用,而可能是许多生物活性物质同时起作用,因此,未来我们还需要进一步探讨 RPE 细胞在 ELF-EMF 的影响下,其分泌的其他生长因子的变化及其在调控近视发生发展中的作用。

参考文献:

- [1] Wang J, Cui J, Zhu H. Suppression of type I collagen in human scleral fibroblasts treated with extremely low-frequency electromagnetic fields[J]. *Mol Vis*, 2013, 19: 885-893.
- [2] 王洁, 崔杰峰, 朱煌, 等. 极低频电磁场作用下人胚胎眼巩膜成纤维细胞的分子病理改变[J]. *中华实验眼科杂志*, 2012, 30(5): 403-407.
- [3] 田甜, 朱煌. 极低频电磁辐射下 HFS 中 MMP-2 的表达及作用[J]. *中华眼视光学与视觉科学杂志*, 2015, 17(6): 331-334.
- [4] Rohrer B, Stell WK. Basic fibroblast growth factor (bFGF) and transforming growth factor beta (TGF-beta) act as stop and go signals to modulate postnatal ocular growth in the chick [J]. *Exp Eye Res*, 1994, 58(5): 553-561.
- [5] Barathi VA, Weon SR, Beuerman RW. Expression of muscarinic receptors in human and mouse sclera and their role in the regulation of scleral fibroblasts proliferation[J]. *Mol Vis*, 2009, 15: 1277-1293.
- [6] Seko Y, Tanaka Y, Tokoro T. Scleral cell growth is influenced by retinal pigment epithelium in vitro[J]. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 1994, 32(9): 545-552.
- [7] Liang YG, Jorgensen AG, Kaestel CG, et al. Bcl-2, Bax, and c-Fos expression correlates to RPE cell apoptosis induced by UV-light and daunorubicin[J]. *Curr Eye Res*, 2000, 20(1): 25-34.
- [8] 杨瑞华, 陈景元, 刘学东, 等. 微波对培养视网膜神经节细胞过氧化损伤的实验[J]. *第四军医大学学报*, 1999, 20(9): 831-832.
- [9] 刘秀红, 申洪, 史永亮, 等. 微波辐射对培养的人视网膜色素上皮细胞基因转录的影响[J]. *第四军医大学学报*, 2002, 23(5): 402-405.
- [10] Seko Y, Shimokawa H, Tokoro T. Expression of bFGF and TGF-beta 2 in experimental myopia in chicks[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 1995, 36(6): 1183-1187.
- [11] Lam DS, Lee WS, Leung YF, et al. TGFbeta-induced factor: a candidate gene for high myopia[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2003, 44(3): 1012-1015.
- [12] Zhou G, Williams RW. Eye1 and Eye2: gene loci that modulate eye size, lens weight, and retinal area in the mouse[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 1999, 40(5): 817-825.
- [13] Matrisian LM. Metalloproteinases and their inhibitors in matrix remodeling[J]. *Trends Genet*, 1990, 6(4): 121-125.
- [14] 曾爱萍, 曾水清, 程扬, 等. 转化生长因子 β 1 对培养的人 RPE 细胞 MMP 和 TIMP-1 mRNA 表达的影响[J]. *眼科新进展*, 2006, 26(2): 81-84.
- [15] 林海燕, 王红梅, 祝诚, 等. 转化生长因子- β 对基质金属蛋白酶其组织抑制因子调控的研究进展[J]. *生物化学与生物物理进展*, 2003, 30(1): 7-12.
- [16] Kijlstra A. Cytokines: their role in uveal disease [J]. *Eye (Lond)*, 1997, 11(Pt 2): 200-205.
- [17] Casson RJ, Wood JP, Melena J, et al. The effect of ischemic preconditioning on light-induced photoreceptor injury[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2003, 44(3): 1348-1354.
- [18] Raghavachari N, Fahl WE. Targeted gene delivery to skin cells in vivo: a comparative study of liposomes and polymers as delivery vehicles[J]. *J Pharm Sci*, 2002, 91(3): 615-622.
- [19] Rohrer B, Stell WK. Basic fibroblast growth factor (bFGF) and transforming growth factor beta (TGF-beta) act as stop and go signals to modulate postnatal ocular growth in the chick [J]. *Exp Eye Res*, 1994, 58(5): 553-561.

(收稿日期: 2015-01-25)

(本文编辑: 季魏红)