

d- δ -生育酚抑制人晶状体上皮 SRA 细胞生长及相关机制

秦程¹, 曾新生², 彭勃², 唐玉妮¹, 周友弟¹, 宋博¹

引用: 秦程, 曾新生, 彭勃, 等. d- δ -生育酚抑制人晶状体上皮 SRA 细胞生长及相关机制. 国际眼科杂志 2020; 20(9): 1493-1497

基金项目: 广西壮族自治区自筹课题资助 (No.Z20190526)

作者单位: ¹(541199) 中国广西壮族自治区桂林市, 桂林医学院第二附属医院眼科; ²(541100) 中国广西壮族自治区桂林市, 桂林医学院附属医院眼科

作者简介: 秦程, 男, 本科, 副主任医师, 眼科主任, 研究方向: 白内障、玻璃体视网膜疾病。

通讯作者: 宋博, 男, 硕士研究生, 住院医师, 研究方向: 白内障及眼底病. song826536312@163.com

收稿日期: 2019-11-28 修回日期: 2020-08-07

摘要

目的: 探究 d- δ -生育酚对人晶状体上皮 SRA 细胞生长的影响以及相关分子机制, 为 d- δ -生育酚用于治疗与预防后发性白内障提供实验依据。

方法: 实验分为 6 组, 即空白对照组及实验组, 即 5 个不同浓度的 d- δ -生育酚 (40、60、80、100、120 $\mu\text{mol/L}$), 噻唑兰 (MTT) 法检测各组细胞的增殖抑制率。在倒置显微镜下观察人晶状体上皮 SRA 细胞形态。流式细胞仪检测细胞周期, 蛋白印迹法 (Western blot) 检测 bcl-2、bax、Cyclin D1、P21 蛋白表达。

结果: 随着 d- δ -生育酚的浓度逐渐增加, SRA 细胞较对照组细胞明显减少; 作用时间的延长, SRA 细胞增殖抑制率逐渐增高 ($P < 0.05$); S 期细胞所占比例与对照组比较逐渐增高, 细胞被阻滞于 S 期 ($P < 0.05$); d- δ -生育酚干预人晶状体上皮 SRA 细胞 48h 后, 人晶状体上皮 SRA 细胞 P21、Cyclin D1 和 bcl-2 表达量逐渐降低, bax 表达量逐渐增高 ($P < 0.01$)。

结论: d- δ -生育酚能明显抑制人晶状体上皮 SRA 细胞的增殖, 阻滞细胞周期于 S 期。其机制可能是通过抑制 bcl-2、P21、Cyclin D1 的表达, 诱导 bax 的表达实现的。

关键词: 后发性白内障; d- δ -生育酚; 人晶状体上皮 SRA 细胞; 增殖

DOI: 10.3980/j.issn.1672-5123.2020.9.05

d- δ -tocopherol inhibits the growth of human lens epithelial SRA cells and its related mechanisms

Cheng Qin¹, Xin-Sheng Zeng², Bo Peng², Yu-Ni Tang¹, You-Di Zhou¹, Bo Song¹

Foundation item: Self-financing Projects in Guangxi Zhuang

Autonomous Region (No.Z20190526)

¹Department of Ophthalmology, the Second Affiliated Hospital of Guilin Medical University, Guilin 541199, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China; ²Department of Ophthalmology, Affiliated Hospital of Guilin Medical University, Guilin 541100, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Correspondence to: Bo Song. Department of Ophthalmology, the Second Affiliated Hospital of Guilin Medical University, Guilin 541199, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. song826536312@163.com

Received: 2019-11-28 Accepted: 2020-08-07

Abstract

• **AIM:** To investigate the effect of d- δ -tocopherol on the growth of human lens epithelial SRA cells and its related molecular mechanism, and to provide experimental basis for the treatment and prevention of posterior cataract with d- δ -tocopherol.

• **METHODS:** The experiment was divided into 6 groups, blank control group and experimental group, that is, five different concentrations of d- δ -tocopherol (40, 60, 80, 100, 120) $\mu\text{mol/L}$. The proliferation inhibition rate of each group was detected by thiazolam (MTT) assay. The morphology of human lens epithelial SRA cells was observed under inverted microscope. Cell cycle was detected by flow cytometry and the expression of bcl-2, bax, Cyclin D1, P21 protein was detected by Western Blot (WB).

• **RESULTS:** With the increase of d- δ -tocopherol concentration, the SRA cells decreased significantly compared with the control group; the MTT results showed that with the increase of d- δ -tocopherol concentration, the inhibition rate of cell proliferation increased gradually, the difference was statistically significant ($P < 0.05$); cell cycle: with the increase of the concentration of tocopherol drugs in the experimental group, the proportion of cells in the S phase increased gradually compared with the control group, the cells were blocked in the S phase, the difference was statistically significant ($P < 0.05$); Western blotting: after 48h of d- δ -tocopherol intervention human lens epithelial SRA cells, the P21, Cyclin D1 and bcl-2 expression of human lens epithelial cells gradually decreased, and the expression of bax gradually increased, which was statistically significant ($P < 0.01$).

• **CONCLUSION:** d- δ -tocopherol can significantly inhibit the proliferation of human lens epithelial SRA cells and block the cell cycle in S phase. d- δ -tocopherol can inhibit the proliferation of human lens epithelial cells. The

proliferation of human lens epithelial SRA cells may be achieved by inhibiting the expression of bcl-2, P21, Cyclin D1 and inducing the expression of bax.

• KEYWORDS: posterior cataract; d- δ -tocopherol; human lens epithelial SRA cells; proliferation

Citation: Qin C, Zeng XS, Peng B, *et al.* d- δ -tocopherol inhibits the growth of human lens epithelial SRA cells and its related mechanisms. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2020; 20 (9): 1493-1497

0 引言

白内障超声乳化吸除术联合人工晶状体植入术已成为治疗白内障的主要手段。然而,术后后囊膜混浊 (posterior capsule opacification, PCO) 仍是影响治疗效果的重要因素。术后 PCO 即后发性白内障是白内障手术后常见的并发症,是影响治疗效果的主要因素。PCO 的形成主要是术后残留的晶状体上皮细胞过度增殖并移行于后囊膜,转化为成纤维细胞,产生胶原、分泌基底膜样物质而引起^[1]。

天然维生素 E (natural vitamin E), 学名生育酚 (tocopherols), 生育酚同系物在自然界中广泛分布并且主要存在于各种植物中。d- δ -生育酚是其中的一种^[2]。研究表明 d- δ -生育酚在减少炎症、细胞增殖和肿瘤负担方面表现出了更大的能力^[3]。我们通过实验探究 d- δ -生育酚对人晶状体上皮 SRA 细胞生长的影响以及所涉及的相关分子机制,可能与凋亡相关蛋白 bcl-2、bax 或者与细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂 CyclinD1、P21 相关,以便发现其发挥作用的具体靶点,为 d- δ -生育酚发挥其药理学功能,也为治疗及预防 PCO 提供理论支持。

1 材料和方法

1.1 材料 实验用细胞株:人晶状体上皮 SRA 细胞(中国医学科学院肿瘤医院肿瘤研究所)、d- δ -生育酚(北京索莱宝科技有限公司)、RIPA 裂解液、MTT 试剂、二甲基亚砜、碘化丙啶、新生牛血清、1640 培养基 (Gibco 公司)。主要仪器:分选型流式细胞仪(美国 BD 公司)、超高速冷冻离心机(德国 Zeiss 公司)、光栅型连续波长酶标仪、研究级倒置荧光显微镜、CO₂ 培养箱、倒置相差显微镜(日本 Olympus)、MLDEL 酶标仪(美国 Coulter 公司), P21、Cyclin D1、bax 及 bcl-2 抗体均产自英国 Abcam 公司。

1.2 方法 通过预实验,MTT 检测结果及 IC₅₀ (半抑制率)值,筛选出 5 个实验浓度。将此次实验分为空白对照组(0 μ mol/L)及实验组,实验组设 5 个不同浓度的 d- δ -生育酚(40、60、80、100、120 μ mol/L),分别处理人晶状体上皮 SRA 细胞 24、48、72h,使用 20%胎牛血清的 DMEM 低糖培养液培养人晶状体上皮 SRA 细胞,在 5.0% CO₂ 饱和度和 37 $^{\circ}$ C 恒温培养箱中培养。

1.2.1 细胞形态学观察 d- δ -生育酚处理人晶状体上皮 SRA 细胞 24、48、72h 后,显微镜下观察人晶状体上皮 SRA 细胞的增殖及细胞形态的变化,拍照记录结果。

1.2.2 MTT 法检测细胞增殖 取生长状态良好的 SRA 细胞,胰酶消化、离心、计数,使细胞密度为 3.5 \times 10⁶/L,接种到 96 孔板,每个孔加入 200 μ L,放于 37.0 $^{\circ}$ C、5.0% CO₂ 恒温培养箱中培养,次日更换培养液,按所设药物浓度分别加入 d- δ -生育酚,培养 24、48、72h 后,每孔加入 20 μ L 的

MTT 培养 4h 后终止培养,吸净旧液,每孔加入 200 μ L DMSO (二甲基亚砜),使用波长为 490nm,酶标仪上检测 OD 值,以上实验重复 3 次,计算 d- δ -生育酚对细胞增殖率的影响,细胞增殖抑制率(%)=(1-加药组 OD 值/对照组 OD 值) \times 100%。

1.2.3 流式细胞仪分析细胞周期 取对数期生长状态良好细胞接种于培养瓶中。往培养瓶中加入 d- δ -生育酚,使其浓度分别为设定浓度,药物作用 48h 后用 PBS 洗两遍,用无 EDTA 的胰酶消化细胞,1000r/min, 5min,离心,加入 5mL 75.0% 预冷乙醇中,轻轻吹打均匀,-20 $^{\circ}$ C 固定保存。1000r/min, 5min,离心,PBS 轻轻吹打细胞,洗两遍。0.5mL PBS 重悬细胞,加入 PI 和 RNaseA 至终浓度 50 μ g/mL,37.0 $^{\circ}$ C 温浴 30min。上机检测细胞周期。

1.2.4 Western blot 法检测 d- δ -生育酚刺激人晶状体上皮 SRA 细胞 P21、Cyclin D1、bax、bcl-2 蛋白表达情况 将人晶状体上皮 SRA 细胞传代后分 6 组。使其浓度分别为设定浓度,提取细胞蛋白,BCA 法蛋白浓度定量,配制好 15% 的分离胶和 5% 的浓缩胶,每孔加入 30 μ g 为蛋白上样量,上样前沸水中煮沸 5min 使蛋白变性。准备电泳,先 80V 恒压,30min,等待浓缩胶跟分离胶分离之后,再调整电压至 120V,50min。电泳结束后,恒定电流 260mA,50min 转膜,把转好的膜放入 5% 的脱脂奶粉封闭液中,摇床上室温封闭 2h,封闭结束后,TBST 洗 3 次,一次 10min,放入提前配好的一抗孵育盒中(P21 为 1:500;Cyclin D1 为 1:500;bax 为 1:1000;bcl-2 为 1:1000),4 $^{\circ}$ C 慢摇过夜,次日用 TBST 洗 3 次,一次 10min,放入二抗孵育盒中,室温下慢摇 1h,TBST 洗 3 次,一次 10min,发光。发光结束后得到目的条带,使用 Gel-Pro Analyzer 软件分析蛋白的相对表达量。

统计学分析:使用 SPSS 21.0 软件进行统计分析,蛋白表达水平和 S 期细胞率为计量资料,用均值 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,六组差异比较采用单因素方差分析,差异有统计学意义时,进一步采用 LSD-*t* 进行两两比较,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 倒置相差显微镜下观察 d- δ -生育酚对 SRA 细胞形态的影响 体外培养人晶状体 SRA 细胞呈多边形,胞体边界清楚,贴壁生长,胞质均匀,折光性强,生长速度快。d- δ -生育酚处理细胞 48h 后,倒置相差显微镜下观察,随着 d- δ -生育酚的浓度逐渐增加,SRA 细胞较对照组细胞明显减少,细胞密度逐渐变低,漂浮的死亡细胞逐渐增多,部分细胞皱缩变圆、贴壁不牢,见图 1。

2.2 不同浓度 d- δ -生育酚对人晶状体上皮 SRA 细胞增殖的影响 MTT 法结果显示,d- δ -生育酚分别作用于人晶状体上皮 SRA 细胞 24、48、72h 后,SRA 细胞的增殖受到抑制,随着 d- δ -生育酚浓度的逐渐增加,人晶状体上皮 SRA 细胞的增殖率也逐渐降低,随着 d- δ -生育酚浓度的增高、作用时间的延长,SRA 细胞增殖抑制率逐渐增高,且呈剂量-效应关系,这种关系范围在(40~120 μ mol/L)之间最为明显。分析结果显示,24、48、72h,六组抑制率差异均有统计学意义($P < 0.001$),进一步做两两比较,三个时点结果都表现为对照组 < 40 μ mol/L 组 < 60 μ mol/L 组 < 80 μ mol/L 组 < 100 μ mol/L 组 < 120 μ mol/L 组,两组间差异均有统计学意义($P < 0.05$),见表 1。

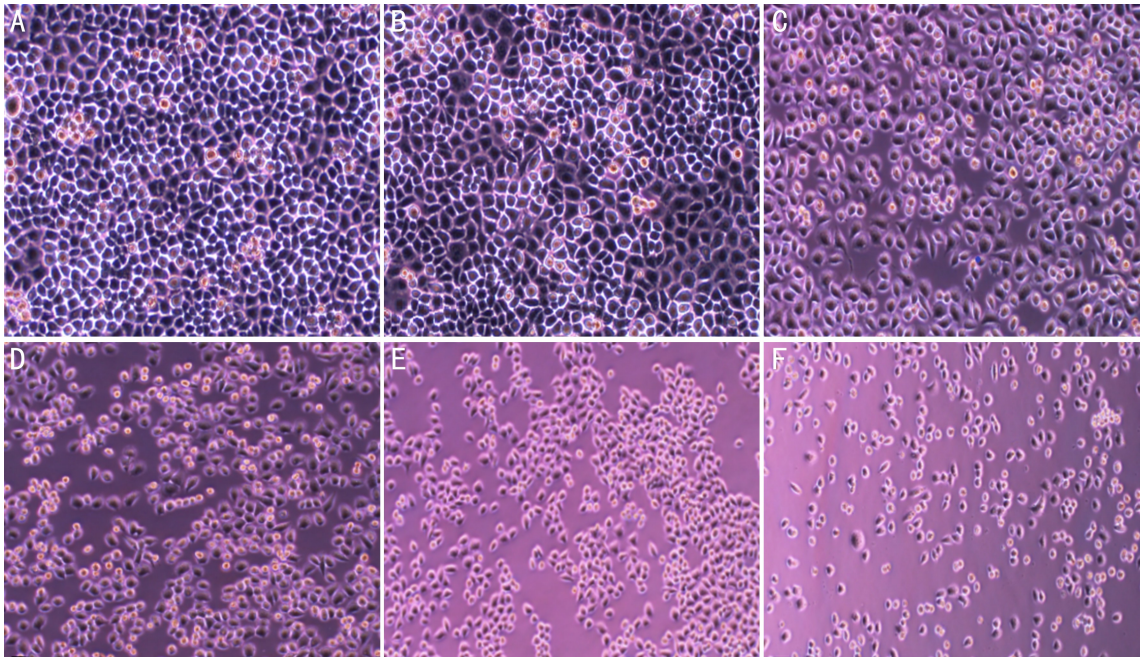


图1 倒置相差显微镜下观察48h后d-δ-生育酚对SRA细胞增殖的影响(100×) A:对照组;B:40μmol/L组;C:60μmol/L组;D:80μmol/L组;E:100μmol/L组;F:120μmol/L组。

表1 不同浓度组不同时间抑制率比较

组别	n	24h	48h	72h
对照组	3	0	0	0
40μmol/L组	3	4.28±0.89 ^a	10.90±1.10 ^a	29.91±2.15 ^a
60μmol/L组	3	7.95±0.53 ^{a,c}	19.06±1.31 ^{a,c}	41.57±1.64 ^{a,c}
80μmol/L组	3	16.95±3.16 ^{a,c,e}	40.62±2.75 ^{a,c,e}	63.68±1.56 ^{a,c,e}
100μmol/L组	3	24.13±1.31 ^{a,c,e,g}	58.86±2.57 ^{a,c,e,g}	75.20±1.46 ^{a,c,e,g}
120μmol/L组	3	38.21±1.77 ^{a,c,e,g,i}	70.19±2.26 ^{a,c,e,g,i}	86.08±2.06 ^{a,c,e,g,i}
F		229.840	629.282	1140.753
P		<0.001	<0.001	<0.001

注:^aP<0.05 vs 同时时间点对照组;^cP<0.05 vs 同时时间点40μmol/L组;^eP<0.05 vs 同时时间点60μmol/L组;^gP<0.05 vs 同时时间点80μmol/L组;ⁱP<0.05 vs 同时时间点100μmol/L组。

2.3 d-δ-生育酚对人晶状体上皮SRA细胞周期的影响

根据MTT的结果分析,人晶状体上皮SRA细胞使用d-δ-生育酚处理48h后,药物达到最有效抑制细胞增殖效果,故选取d-δ-生育酚处理细胞48h后作为实验对象。如图2示细胞被阻滞于S期,六组S期细胞率差异有统计学意义(F=69.447,P<0.001),两两比较结果见表2。

2.4 Western blot检测Cyclin D1、P21、bax和bcl-2的表达

d-δ-生育酚干预人晶状体上皮SRA细胞48h后,人晶状体上皮SRA细胞P21、Cyclin D1和bcl-2表达量逐渐降低,bax表达量逐渐增高,见图3。不同浓度组各蛋白表达水平比较,差异均有统计学意义(P<0.001),各蛋白两两组间比较结果,见表3。

3 讨论

正常的人晶状体上皮细胞为单层立方上皮,主要位于前囊下和赤道部,具有增殖和分化的能力,并且不断的产生晶状体纤维^[4]。白内障摘除术后,人晶状体上皮细胞失去单层性及晶状体皮质的压力,加速转化为成纤维细胞^[5],形成后发性白内障。据报道,多达20%~30%的患者术后会发生后发性白内障^[6],成人在2~5a内后发性白内障的发生率高达50%,儿童术后早期即可发生严重的

表2 不同浓度组S期细胞率比较

组别	n	S期细胞率
对照组	3	25.10±0.90
40μmol/L组	3	28.70±1.50 ^a
60μmol/L组	3	30.94±1.32 ^a
80μmol/L组	3	33.20±1.68 ^{a,c}
100μmol/L组	3	36.24±1.20 ^{a,c,e}
120μmol/L组	3	49.66±3.16 ^{a,c,e,g,i}

注:^aP<0.05 vs 对照组;^cP<0.05 vs 40μmol/L组;^eP<0.05 vs 60μmol/L组;^gP<0.05 vs 80μmol/L组;ⁱP<0.05 vs 100μmol/L组。

PCO,儿童晶状体上皮细胞增殖能力强,因而PCO的发生概率高达100%^[7]。目前治疗后天发性白内障主要是激光后囊膜切开术,激光后囊膜切开术会伴有人工晶状体(intraocular lens,IOL)偏离、眼压升高、葡萄膜炎、黄斑水肿、甚至视网膜脱离等并发症^[8-9]。除了手术治疗后天发性白内障之外,目前临床上对后天发性白内障的药物防治也有了大量的研究。许多药物已被证实可有效抑制人晶状体上皮细胞增生,如地塞米松、双氯芬酸钠、皂草素、

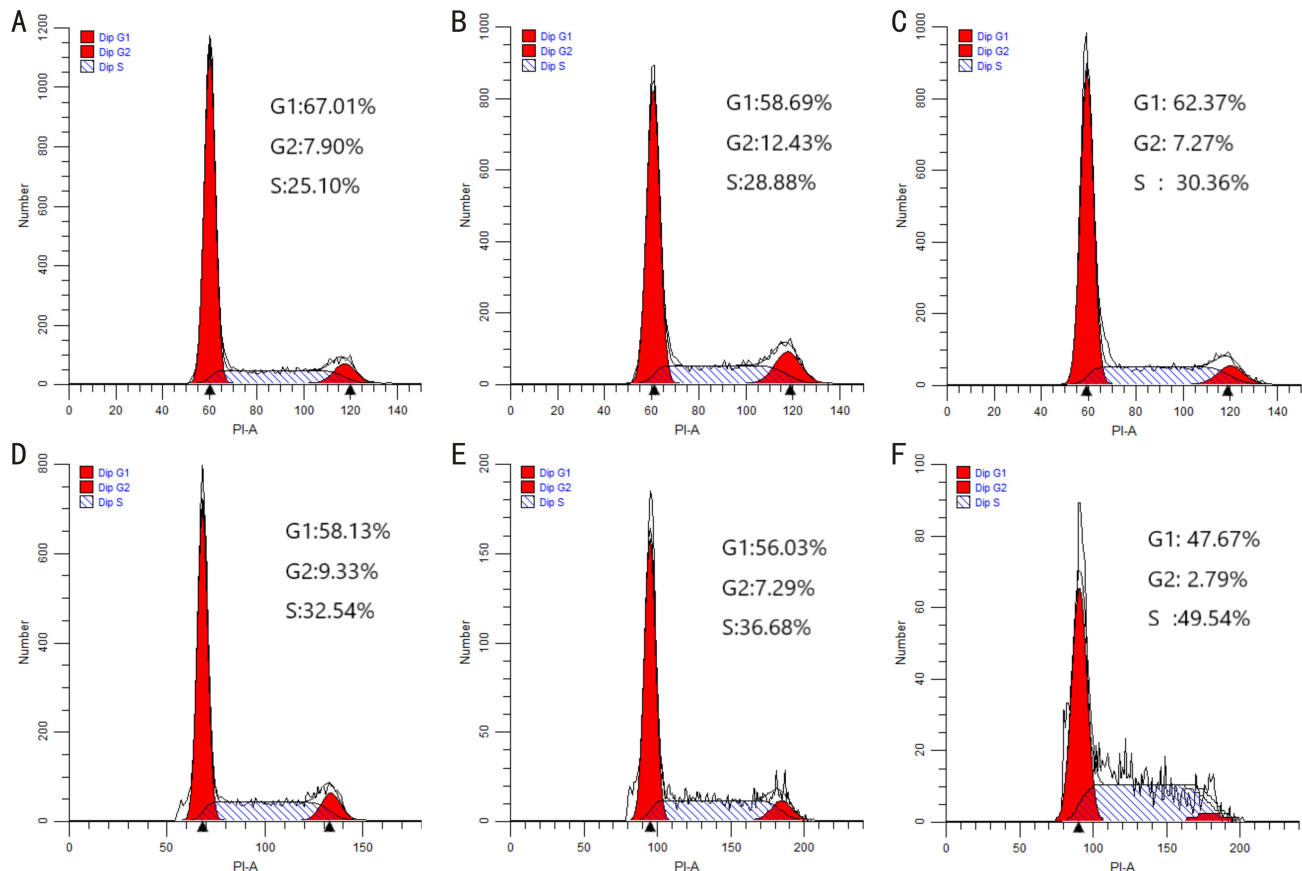


图2 d- δ -生育酚对人晶状体上皮 SRA 细胞周期的影响 A: 对照组; B: 40 μ mol/L 组; C: 60 μ mol/L 组; D: 80 μ mol/L 组; E: 100 μ mol/L 组; F: 120 μ mol/L 组。

表3 不同浓度组各蛋白表达水平比较

组别	n	bax	bcl-2	Cyclin D1	P21	$\bar{x} \pm s$
对照组	3	0.149 \pm 0.016	1.000 \pm 0.000	1.000 \pm 0.000	1.000 \pm 0.000	
40 μ mol/L 组	3	0.164 \pm 0.022	0.539 \pm 0.100 ^a	0.222 \pm 0.033 ^a	0.505 \pm 0.283 ^a	
60 μ mol/L 组	3	0.180 \pm 0.018	0.482 \pm 0.100 ^a	0.170 \pm 0.024 ^{a,c}	0.210 \pm 0.065 ^{a,c}	
80 μ mol/L 组	3	0.306 \pm 0.012 ^{a,c,e}	0.285 \pm 0.058 ^{a,c,e}	0.147 \pm 0.015 ^{a,c}	0.141 \pm 0.005 ^{a,c}	
100 μ mol/L 组	3	0.872 \pm 0.030 ^{a,c,e,g}	0.146 \pm 0.058 ^{a,c,e,g}	0.128 \pm 0.041 ^{a,c}	0.077 \pm 0.039 ^{a,c}	
120 μ mol/L 组	3	1.000 \pm 0.000 ^{a,c,e,g,i}	0.080 \pm 0.017 ^{a,c,e,g}	0.104 \pm 0.017 ^{a,c,e}	0.055 \pm 0.028 ^{a,c}	
F		1272.009	75.179	574.210	27.853	
P		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	

注: ^aP<0.05 vs 对照组; ^cP<0.05 vs 40 μ mol/L 组; ^eP<0.05 vs 60 μ mol/L 组; ^gP<0.05 vs 80 μ mol/L 组; ⁱP<0.05 vs 100 μ mol/L 组。

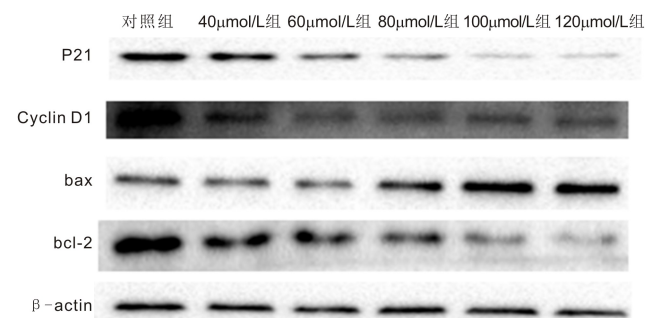


图3 Western blot 检测 Cyclin D1、P21、bax 和 bcl-2 的表达。

姜黄素等。有研究表明,通过 IOL 而释放药物是药物作用的最佳途径,其原理是将抑制细胞增殖的药物以不同方式修饰于 IOL 表面或浸润、装载于 IOL 中,这种方式可以使白内障术后的药物逐渐释放从而抑制 PCO 的形成^[10]。

但是这些药物在起效的同时对眼内其他结构,包括对角膜内皮细胞、视网膜细胞等产生损害,可引起虹膜色素沉着、暂时性角膜水肿和黄斑水肿等并发症。这也是这些药物使用的限制性因素。而 d- δ -生育酚在绿色植物中容易获得且安全,是一种天然药物,与其他药物相比有更好的优越性,并发症少。研究发现 d- δ -生育酚在减少炎症、细胞增殖和肿瘤负担方面表现出了更大的能力^[3]。而人晶状体上皮细胞的增殖与癌细胞的不断增殖有共性。因此推测 d- δ -生育酚可能通过某些作用机制而抑制人晶状体上皮细胞的增殖。本研究发现,在显微镜下观察,对照组人晶状体上皮 SRA 细胞呈多边形,胞体边界清楚,胞质均匀,生长速度快。而实验组 SRA 细胞数量明显减少,细胞密度变低,漂浮的死亡细胞明显增多。随着 d- δ -生育酚的浓度逐渐增加,细胞的增殖明显受抑制,具有剂量-效应关系。120 μ mol/L 的 d- δ -生育酚作用 48h 后,抑制率

达(70.19±2.26)%。

细胞周期结果显示:d-δ-生育酚能明显抑制人晶状体上皮 SRA 细胞的增殖,并阻滞细胞周期于 S 期。Western blot 检测结果分析,d-δ-生育酚抑制人晶状体上皮 SRA 细胞的增殖可能是通过抑制 bcl-2、P21、Cyclin D1 的表达,诱导 bax 的表达实现的。本研究结果对 d-δ-生育酚用于后发性白内障的靶向治疗提供一种新的思路。

Western blot 检测结果与对照组相比,经 d-δ-生育酚干预的人晶状体上皮 SRA 细胞随着药物浓度的增加,P21 表达量逐渐降低,与预期的结果相反,分析其原因可能有:(1)有研究表明,P21 在不同组织如在肾脏、鼻咽癌细胞株等组织或者恶性肿瘤中表现为表达下降,对其细胞的增殖呈负向调控作用^[11-12],而在心脏、食管鳞状细胞癌等组织中 P21 表现为高表达,对其细胞增殖的正向调控作用^[13-14]。本研究在人晶状体上皮 SRA 细胞研究中获得低表达的结果提示 P21 在不同组织中的表达可能具有组织特异性,或者不同的药物的作用机制可能对 P21 产生不同的调控作用。这一结果提示在人晶状体上皮 SRA 细胞中,调控 SRA 细胞增殖的可能是 CKI 家族的其它成员,如 Cyclin D1 等。(2)P21 蛋白为最早发现并克隆的 CKI,可与多种 CDK 竞争结合 Cyclin D1,从而抑制细胞的增殖,并且可与 PCNA 结合,阻断 PCNA 依赖的 DNA 复制,抑制 CDK 活性,从而使细胞生长受阻于 G1 期^[15]。而细胞周期的结果显示 d-δ-生育酚使细胞的生长阻滞在了 S 期,说明 d-δ-生育酚诱导人晶状体上皮 SRA 细胞周期阻滞的途径与 P21 无关。(3)P21 除了具有促进细胞凋亡的功能外,也具有抗凋亡的双重功能,本组人晶状体上皮 SRA 细胞中 P21 低表达,是否发挥了抗细胞凋亡的作用,其确切关系有待进一步探讨。

总之,本实验从几个方面初步探讨了 d-δ-生育酚对人晶状体上皮 SRA 细胞的生长的影响,能够抑制人晶状体上皮 SRA 细胞的增殖。但是本实验还有许多不足之处,抑制细胞增殖和诱导细胞凋亡的因子很多,这些因子是否发挥了凋亡的作用等,对于确切的机制我们还需要进一步的研究。d-δ-生育酚大量存在于绿色植物中,安全易获取,值得深入研究。因此,我们将进一步研究 d-δ-生育酚在动物模型体内的应用前景,以更好地为临床 PCO 的防治提供理论与实验依据。

参考文献

- 1 李璐, 向秋. 后发性白内障的治疗研究进展. 华夏医学 2017;30(2):192-195
- 2 任其龙, 杨亦文, 苏云等. 高纯度 α 型天然维生素 E 生产技术开发研究. 浙江大学 2002
- 3 Smolarek AK, Suh N. Chemopreventive activity of vitamin E in breast cancer: a focus on γ- and δ-tocopherol. *Nutrients* 2011;3(11):962-966
- 4 Shan SM, Spalton DJ. Changes in anterior chamber flare and cells following cataract surgery. *Br J Ophthalmol* 1994;7(8):91-94
- 5 Pallikaris IG, Stojanovic NR, Ginis HS. A new endocapsular open ring for prevention of anterior and posterior capsule opacification. *Clin Ophthalmol* 2016;10:2205-2212
- 6 Zukin LM, Pedler MG, Groman-Lupa S, et al. Aldose Reductase Inhibition Prevents Development of Posterior Capsular Opacification in an *in vivo* Model of Cataract Surgery. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2018;59(8):3591-3598
- 7 Huang W, Huang G, Wang D, et al. Outcomes of cataract surgery in urban southern China: the Liwan Eye Study. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011;52(1):16-20
- 8 Aslam TM, Devlin H, Dhillon B. Use of Nd:YAG laser capsulotomy. *Surv Ophthalmol* 2003;48(6):594-612
- 9 Bhargava R, Kumar P, Phogat H, et al. Neodymium - yttrium aluminium garnet laser capsulotomy energy levels for posterior capsule opacification. *J Ophthalmic Vis Res* 2015;10(1):37-42
- 10 梁燕华, 罗莉霞. 后发性白内障防治的研究新进展. 国际眼科杂志 2017;17(9):1659-1662
- 11 高山, 庄哲, 刘钊, 等. 加味地黄饮子对衰老小鼠肾脏组织 P21、P53 蛋白及其 mRNA 表达的影响. 安徽中医药大学学报 2018;37(4):83-87
- 12 彭纲, 陈静, 邹枕玮, 等. SHP-1/P21/CDK6/CyclinD1 在不同放射敏感度鼻咽癌细胞中的表达. 肿瘤防治研究 2012;39(10):1193-1196
- 13 Hauck L, Grothe D, Billia F. p21 (CIP1/WAF1) - dependent inhibition of cardiac hypertrophy in response to Angiotensin II involves Akt/Myc and pRb signaling. *Peptides* 2016;83:38-48
- 14 张凡, 彭钧, 李波凌. p21 在食管鳞状细胞癌及食管鳞状上皮良性增生性病变中表达的临床意义. 蚌埠医学院学报 2010;35(4):372-373, 376
- 15 吴明星, 李绍珍, 曾骏文, 等. 外源性细胞周期蛋白激酶抑制因子 p21 基因对人晶状体上皮细胞周期的影响. 中华眼科杂志 2003;39(4):209-212