

八子补肾胶囊对快速衰老小鼠视网膜的保护作用

龚博炀¹, 徐 喆¹, 李兆栋¹, 王 莹¹, 舒容丽¹, 侯云龙², 周会芳^{1*}, 边育红^{1*}

1. 天津中医药大学, 天津 301617

2. 河北医科大学, 河北 石家庄 050017

摘要: 目的 研究八子补肾胶囊(BZBS)对快速衰老小鼠视网膜的保护作用。方法 将快速衰老小鼠SAMP6随机分为模型组和BZBS(2.8 g·kg⁻¹)组, 取抗快速老化SAMR1小鼠作为同源对照(对照组), 每天ig给药1次, 对照组与模型组ig 0.9%氯化钠溶液, 连续给药9周。HE染色观察视网膜组织病理变化; 试剂盒法检测各组小鼠视网膜组织总抗氧化能力(T-AOC)、超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)水平; Western blotting法检测各组小鼠视网膜组织中衰老蛋白P21、P16和自噬蛋白P62、LC3 II/I表达水平。结果 与对照组相比, 模型组小鼠视网膜外节段呈现空泡样改变, 内外核层细胞数量减少且排列不连续, 中间的丛状层变薄; T-AOC、SOD水平显著下降, MDA水平显著上升($P < 0.001$); 衰老蛋白P16、P21表达显著上调($P < 0.001$), 自噬蛋白P62、LC3 II/I表达显著下调($P < 0.001$)。与模型组比较, BZBS组小鼠视网膜病理改变得得到明显缓解; T-AOC、SOD水平均显著上升, MDA水平显著下降($P < 0.05, 0.01$); 衰老蛋白P16、P21表达显著下调($P < 0.001$), 自噬蛋白P62、LC3 II/I表达均显著上调($P < 0.05, 0.01$)。结论 BZBS对快速衰老小鼠视网膜有保护作用, 能够减少视网膜病理改变, 降低衰老蛋白表达, 提高视网膜抗氧化水平; 其作用机制可能与激活p62-LC3 II/I从而增强自噬有关。

关键词: 年龄相关性黄斑变性; 八子补肾胶囊; 氧化应激; 自噬; 快速衰老

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2023)09-1929-06

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2023.09.012

Protective effect of Bazi Bushen Capsule on retina of rapidly aging mice

GONG Boyang¹, XU Zhe¹, LI Zhaodong¹, WANG Ying¹, SHU Rongli¹, HOU Yunlong¹, ZHOU Huifang², BIAN Yuhong¹

1. Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301617, China

2. Hebei Medical University, Shijiazhuang 050017, China

Abstract: Objective To study on the protective effect of Bazi Bushen Capsule (BZBS) on the retina of rapidly aging mice. Methods The rapidly aging SAMP6 mice were randomly divided into model group and BZBS (2.8 g·kg⁻¹) group. The anti-rapidly aging SAMR1 mice were selected as homologous control group (control group). Mice in the model group and control group were given 0.9% sodium chloride solution, ig once a day for nine consecutive weeks. The total antioxidant capacity (T-AOC), the level of superoxide dismutase (SOD) and malondialdehyde (MDA) in the retina of mice in each group were tested by reagent kit method. HE staining was used to observe the pathological changes of retina. The expression of aging protein P21, P16 and autophagy protein P62, LC3 II/I in the retina of mice in each group were detected by Western blotting. Results Compared with control group, the outer segment of the retina in model group showed vacuolar changes, the number of cells in the inner and outer nuclear layers was reduced and the arrangement was discontinuous, and the middle plexiform layer was thinner. The content of T-AOC ($P < 0.001$) and SOD ($P < 0.01$) decreased significantly, while the content of MDA increased significantly ($P < 0.001$). The expression of aging proteins P16 ($P < 0.001$) and P21 ($P < 0.001$) was upregulated, while the expression of autophagy proteins P62 and LC3 II/I was downregulated ($P < 0.001$). After treatment with BZBS, the pathological changes in the retina of mice were alleviated, and the levels

收稿日期: 2023-02-28

基金项目: 天津市教委科研计划项目(2021KJ137)

第一作者: 龚博炀(1999—), 男, 硕士研究生在读, 研究方向为中西医结合抗衰老研究。E-mail: 2912630691@qq.com

*共同通信作者: 周会芳 E-mail: zhouchuifang@hfm.edu.cn

边育红 E-mail: bianyuhong_2012@163.com

of T-AOC ($P < 0.05$) and SOD ($P < 0.01$) were significantly increased, while the content of MDA was significantly decreased ($P < 0.01$). The expression of aging proteins P16 ($P < 0.001$) and P21 ($P < 0.001$) was down regulated, while the expression of autophagy proteins P62 ($P < 0.001$) and LC3 II/I ($P < 0.05$) were up regulated. **Conclusion** BZBS has protective effect on the retina of age-related macular degeneration model mice, can reduce the pathological changes of retina, reduce the expression of aging protein, and improve the antioxidant level of retina. Its mechanism may be related to the activation of p62-LC3 II/I to enhance autophagy.

Key words: age-related macular degeneration; Bazi Bushen Capsule; oxidative stress; autophagy; rapidly aging

年龄相关性黄斑变性(AMD)是一种导致视力进行性丢失的疾病,主要影响视网膜中央凹黄斑区域,多见于60岁以上的老人,是全球范围内老年人视力不可逆转障碍的主要原因^[1-2]。流行病学研究发现,中国AMD患者已超过4 000万^[3]。随着人口老龄化加剧,全球范围内,受AMD影响的人数预计将在2040年增加到2.88亿,从而构成一个具有重大社会经济影响的公共卫生问题^[4]。目前对于AMD尚无特效治疗方法,常见的治疗方法有药物治疗、激光治疗、放射疗法及手术治疗。目前国际上多家公司正全力开展新药研发,但至今尚未取得突破^[5]。氧化应激和视网膜衰老是造成AMD的主要原因^[6-7],有研究表明提高自噬能够改善氧化应激从而延缓视网膜衰老^[8]。八子补肾胶囊(BZBS)是在气络学说精气神理论指导下研发的抗衰老代表性中成药^[9],临幊上对于多系统功能减退及衰老相关疾病均有良好的改善作用^[10]。本研究探讨BZBS对快速衰老小鼠视网膜的保护作用以及潜在的作用机制,为临床推广应用提供参考。

1 材料

1.1 实验动物

20只12周龄的雄性SAMP6小鼠,10只同源对照SAMR1小鼠,体质量25~35 g,购自北京大学实验动物科学系,实验动物生产许可证号SCXK(JING)2016-0010。将小鼠在(24.5±0.5)℃的条件下,在12 h的光-暗循环中随意用水和食物进行驯化。实验由天津中医药大学实验动物福利伦理委员会批准(TCM-LAEC2021218)。

1.2 实验药物及主要试剂

BZBS由菟丝子、枸杞子、五味子、蛇床子、金樱子、覆盆子、韭菜子、川楝子、淫羊藿、巴戟天、肉苁蓉、地黄、川牛膝、人参、鹿茸、海马组成,并由石家庄以岭药业有限公司根据国家食品药品监督管理局批准的标准程序(编号B20020585)制备提供(0.4 g×10粒,批号A2102001)。

超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)和总抗氧化能力(T-AOC)的商用试剂盒购自南京建成生

物工程研究所;兔 GAPDH 单克隆抗体(货号 ab181602)和山羊抗兔免疫球蛋白 IgG H&L(货号 ab150080)购自 Abcam Co., Ltd;兔 LC3 I/II 单克隆抗体(货号#12741)、兔 SQSTM1/p62 单克隆抗体(货号#23214),购自 Cell Signaling Technology;兔 P16 多克隆抗体(货号 10883-1-AP)、兔 P21 多克隆抗体(货号 10355-1-AP)购自 Proteintech Group, Inc。

1.3 主要仪器

台式4 °C冷冻离心机、小型台式离心机、-80 °C超低温冰箱、酶标仪(赛默飞世尔科技公司);石蜡包埋机、脱水机、手动轮转式石蜡切片机、摊片机(徕卡系统);精密可编程热风循环烘箱(立德泰勃科学仪器有限公司);水浴箱(上海培因实验仪器有限公司);研究级倒置荧光显微镜(Olympus 公司);超纯水机(Millipore 公司);移液器(德国 Eppendorf);恒温空气摇床(常州兆圣实验设备有限公司)。

2 方法

2.1 动物造模与分组

雄性抗快速老化SAMR1品系小鼠10只作为同源对照组(对照组);雄性SAMP6品系快速衰老小鼠共20只,随机分为2组:模型组、BZBS($2.8 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$,剂量根据团队前期资料并结合文献报道^[10-12]确定)组。BZBS组ig BZBS水溶液,对照组和模型组小鼠ig 0.9%氯化钠溶液,给药体积均为 $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$,共9周。

2.2 HE染色

用灭菌弯镊从小鼠眼球外眦部垂直探入,至眼球下方夹住视神经,快速向上提起摘除眼球,取出眼球立即放入4%多聚甲醛中固定。固定24 h,乙醇梯度脱水,二甲苯透明后浸蜡,石蜡包埋,石蜡切片机在视神经处做 $5 \mu\text{m}$ 连续切片。随后视网膜组织石蜡切片分别行HE染色,显微镜下观察视网膜组织。

2.3 视网膜眼组织T-AOC、SOD、MDA检测

随机处死小鼠,摘取小鼠眼球分离视网膜组织并裂解、离心、取上清。按照试剂盒说明

进行T-AOC、SOD、MDA检测。

2.4 Western blotting检测小鼠视网膜中P16、P21、P62、LC3 II/I蛋白表达水平

将小鼠视网膜中添加蛋白裂解液后冰上研磨,4 °C、12 000 r·min⁻¹离心15 min,取上清。BCA试剂盒测蛋白浓度,蛋白变性后取10 μg上样,经凝胶电泳分离、PVDF膜转膜,快速封闭液室温封闭15 min,添加一抗P16、P21、P62、LC3 II/I、GAPDH,4 °C孵育过夜;洗膜后添加二抗,室温孵育1 h,暗室内将曝光液混匀进行曝光,蛋白凝胶成像系统拍照,Image J软件进行灰度值转换,计算各蛋白的相对表达量。

2.5 统计学方法

采用SPSS 22.0统计学软件进行分析,实验数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示,符合正态分布和方差齐性的采用方差分析,不符合正态分布和方差齐性则采用非参数秩和检验。

3 结果

3.1 BZBS对小鼠视网膜病理组织形态的影响

HE染色结果显示(图1),对照组小鼠视网膜各

层细胞排列规则整齐,密度均匀;模型组小鼠视网膜外节段呈现空泡样改变,内外核层细胞数量减少且排列不连续,中间的从状层变薄;BZBS组视网膜外节段空泡样改变得到缓解,各层细胞逐渐排列整齐且紧密,从状层变厚。

3.2 BZBS对小鼠视网膜T-AOC、SOD及MDA水平的影响

各组小鼠视网膜T-AOC、SOD及MDA水平检测结果见图2。与对照组相比,模型组T-AOC、SOD水平显著下降,MDA水平显著上升($P<0.001$);与模型组相比,BZBS组T-AOC、SOD水平均显著上升,MDA水平显著下降($P<0.05$ 、 0.01)。

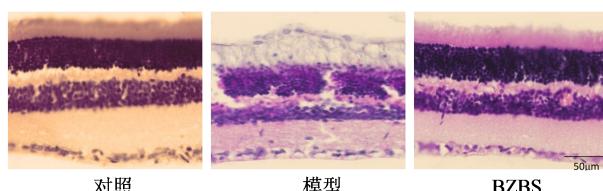


图1 小鼠视网膜HE染色($\times 200$)

Fig. 1 HE staining of mice retina ($\times 200$)

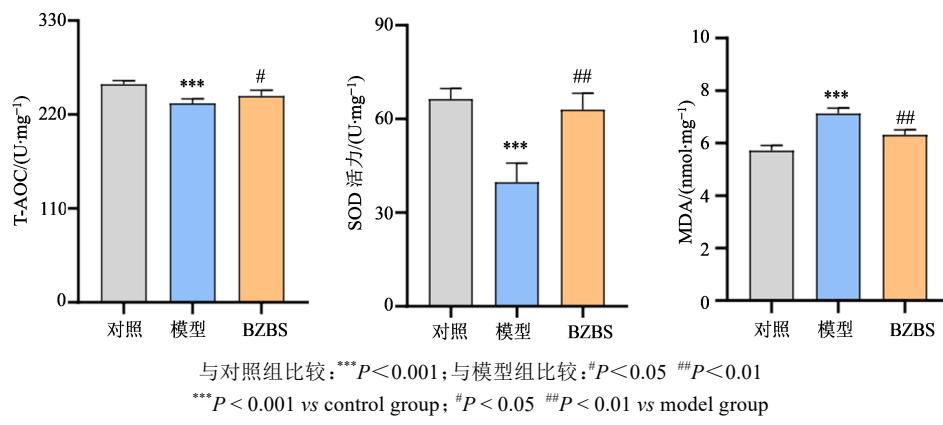


图2 各组小鼠视网膜T-AOC、SOD及MDA水平比较($\bar{x}\pm s, n=6$)

Fig. 2 Comparison of T-AOC, SOD, and MDA contents in retina of mice in each group ($\bar{x}\pm s, n=6$)

3.3 BZBS对小鼠视网膜衰老相关蛋白的影响

各组小鼠视网膜P16、P21蛋白表达结果见图3,与对照组相比,模型组衰老蛋白P16、P21表达均显著上调($P<0.001$);与模型组相比,BZBS组衰老蛋白P16、P21表达均显著下调($P<0.001$)。

3.4 BZBS对小鼠自噬相关蛋白表达的影响

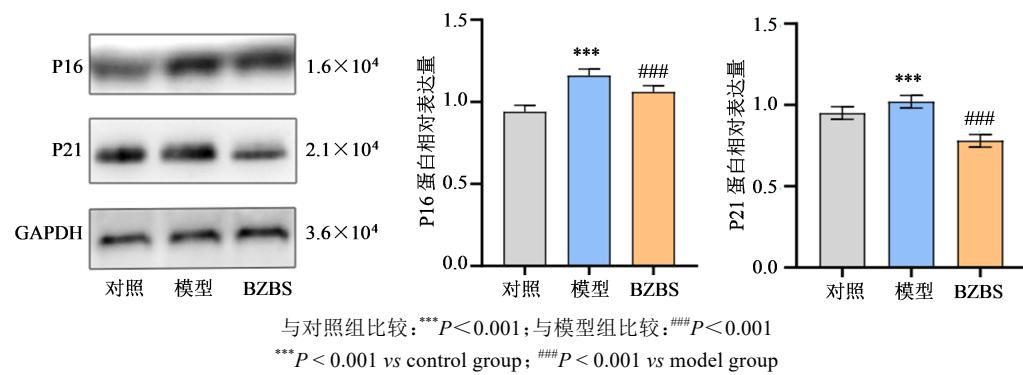
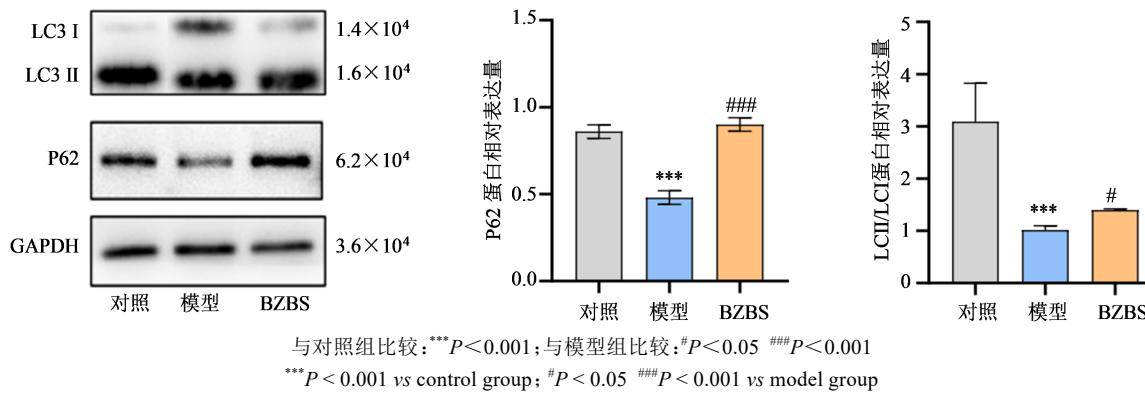
如图4所示,与对照组相比,模型组自噬蛋白P62、LC3 II/I表达显著下调($P<0.001$);与模型组相比,BZBS组自噬蛋白P62、LC3 II/I表达均上调($P<0.05$ 、 0.010)。

4 讨论

AMD是与年龄密切相关的黄斑区视网膜及脉

络膜退行性改变的眼底疾病^[13]。AMD在临幊上早期、进展期主要表现为黄斑区出现少量小玻璃疣(Drusen)、视网膜色素上皮(RPE)异常及脉络膜内层(Bruch膜)增厚,晚期则出现RPE局灶性退行性变和光感受器丢失,又称“地图样萎缩(GA)”,甚至发展为脉络膜新生血管(CNV),最终导致中心视力的丧失^[14]。

AMD发幊因素是复杂且多样的,可能与年龄、遗传易感性、生活方式(吸烟、营养摄入、肥胖)及环境因素(阳光照射)等有关。各种因素相互作用、共同导致AMD的发生^[15]。视网膜衰老是AMD发幊的重要因素,减缓视网膜的衰老将从源头上减少

图 3 各组小鼠视网膜衰老相关蛋白表达水平 ($\bar{x} \pm s, n=6$)Fig. 3 Expression levels of retinal aging related proteins of mice in each group ($\bar{x} \pm s, n=6$)图 4 各组小鼠视网膜自噬相关蛋白表达水平 ($\bar{x} \pm s, n=6$)Fig. 4 Expression levels of retinal autophagy related proteins of mice in each group ($\bar{x} \pm s, n=6$)

AMD 的发病率，并减慢其病程进展^[16]。研究表明细胞衰老与氧化应激存在密切联系，氧化应激能促进细胞衰老进展。正常生理条件下，RPE 是需要大量活性氧(ROS)来满足代谢及信号转导的需求，这就使黄斑区域的 RPE 层始终处于氧化应激的高危环境中^[17]。ROS 产生过程中氧化与抗氧化系统处于动态平衡中，但随着年龄的不断增长，平衡不断遭到破坏，ROS 产生过多并与 Bruch 膜与 RPE 之间残留的脂蛋白发生氧化代谢后形成有毒的中间产物，RPE 因氧化损伤而加速衰老，最终死亡形成玻璃疣^[18]。

自噬在 AMD 中起着至关重要的作用，RPE 细胞具有较强的自噬能力，能有效地清除有毒性细胞代谢物，从而保护 RPE 免受氧化损伤，缓解 AMD 的进展^[19]。P62 能够加速自噬作用，减少受损蛋白对细胞的毒害作用。在现有的研究中，已确认 p62 通过加强自噬清理作用和活化抗氧化信号通路来保护视网膜色素上皮细胞^[20]。

AMD 属中医“视瞻昏渺”“云雾移睛”“暴盲”等范畴，中医眼科学将 AMD 辨证分为 3 个证型：肝肾亏虚、脾虚气弱、阴虚火旺。《素问·上古天真论》

言：“肾者主水，受五脏六腑之精而藏之”，表明肾精充足则目窍得养；《仁斋直指方》^[21]继云“肝肾之气充，则精采光明，肝肾之气乏，则昏朦运眩”，指出肝肾不足，则目昏目眩，视物不明。综上 AMD 的主要病机为年老精亏、肾气不足导致神光失养而视物不明。中医认为目受“五脏六腑之精气”，圆润明亮；而子实亦是植物精华汇聚而成，形圆光润，因此古人认为多数子类药物均有明目之效，所谓取像比类。《中医眼科学》^[22]录入常用眼科方剂共 128 首，其中含子类药物的有 67 首；《目经大成》^[23]共计 248 方，其中内服方 229 个，外用方 19 个，种子果实类中药使用次数 62，频率 25%，临幊上常根据具体病症活用子类药。

BZBS 以 8 种种子药滋填肾精为主，药用菟丝子、枸杞子、五味子、蛇床子、金樱子、覆盆子、韭菜子、川楝子，药专力宏。BZBS 以气络学说精气神理论为指导，补肾填精为主，温扶元气为辅，使目得精则重现光明。现代药理研究^[24-25]发现枸杞的主要成分枸杞多糖具有抗氧化、抗衰老、抗肿瘤、降血糖、调节机体免疫等多种作用，而实验结果^[26]表明枸杞子通过提高 SOD 的活性，增强 Bcl-2 蛋白表达，抑制

Bax蛋白表达来实现对RPE光受损细胞的保护作用。其他子类药如五味子、覆盆子、菟丝子等均具有抗氧化作用,能预防由氧自由基和脂质过氧化损伤造成的RPE损伤^[27]。相关实验研究表明^[28],以子类药为主方的加减驻景丸减少Bruch膜增厚、RPE下沉积物面积,起到治疗小鼠AMD的作用。

本研究所选用的动物为快速衰老小鼠(SAM),是将AKR/J品系小鼠进行选择性近交得到。SAMP小鼠寿命更短,在8月龄时即可具有SAMR小鼠双倍的衰老特征,且能表现出AMD的主要特征^[29-30]。研究结果显示,BZBS可以改善小鼠视网膜结构;同时下调视网膜P21、P16衰老蛋白的表达,缓解了细胞周期停滞,延缓了视网膜衰老;BZBS还增强了视网膜抗氧化能力,提高了视网膜T-AOC、SOD水平,降低了MDA含量,从而起到保护快速衰老小鼠视网膜免受氧化损伤的作用。研究也发现BZBS可上调自噬调节蛋白P62和激活标志蛋白LC3 II/I的表达,表明BZBS可增强自噬,加快清除氧化损伤的细胞器,从而减轻快速衰老小鼠视网膜进一步损伤。

BZBS对快速衰老小鼠视网膜有保护作用,能够改善视网膜结构、缓解病理改变。并且降低衰老蛋白表达,提高T-AOC、SOD抗氧化水平,清除MDA。其作用机制可能与激活P62-LC3II/I从而增强自噬相关,自噬的增强抑制了视网膜氧化应激,达到了延缓视网膜衰老的作用。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Lee K S, Lin S X, Copland D A, et al. Cellular senescence in the aging retina and developments of senotherapies for age-related macular degeneration [J]. *J Neuroinflamm*, 2021, 18(1): 32.
- [2] Ammar M J, Hsu J, Chiang A, et al. Age-related macular degeneration therapy: A review [J]. *Curr Opin Ophthalmol*, 2020, 31(3): 215-221.
- [3] Yang K, Liang Y B, Gao L Q, et al. Prevalence of age-related macular degeneration in a rural Chinese population: The Handan Eye Study [J]. *Ophthalmology*, 2011, 118(7): 1395-1401.
- [4] Wong W L, Su X Y, Li X, et al. Global prevalence of age-related macular degeneration and disease burden projection for 2020 and 2040: A systematic review and meta-analysis [J]. *Lancet Glob Health*, 2014, 2(2): e106-e116.
- [5] Evans J B, Syed B A. New hope for dry AMD? [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2013, 12(7): 501-502.
- [6] 陈海霞, 张璐. 年龄相关性黄斑变性与氧化应激相关性研究进展 [J]. 国际眼科杂志, 2017, 17(4): 652-654.
Chen H X, Zhang L. Research advance in the correlation between age related macular degeneration and oxidative stress [J]. *Int Eye Sci*, 2017, 17(4): 652-654.
- [7] 何世坤, 姜岩. 衰老与年龄相关性黄斑变性 [J]. 中华眼科杂志, 2006(3): 278-282.
He S K, Jiang Y. Aging and age-related macular degeneration [J]. *Chin J Ophthalmol*, 2006(3): 278-282.
- [8] Kaarniranta K, Tokarz P, Koskela A, et al. Autophagy regulates death of retinal pigment epithelium cells in age-related macular degeneration [J]. *Cell Biol Toxicol*, 2017, 33(2): 113-128.
- [9] 李红蓉, 魏聪, 贾振华, 等. 气络学说指导抗衰老研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2022, 28(1): 7-15.
Li H R, Wei C, Jia Z H, et al. Research on anti-aging guided by qiluo doctrine [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*, 2022, 28(1): 7-15.
- [10] 李红蓉, 魏聪, 集川原, 等. 八子补肾胶囊的抗衰老研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2022, 28(7): 239-246.
Li H R, Wei C, Ji C Y, et al. Bazi Bushen capsules on anti-aging: A review [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*, 2022, 28(7): 239-246.
- [11] Li L, Chen B B, An T, et al. BaZiBuShen alleviates altered testicular morphology and spermatogenesis and modulates Sirt6/P53 and Sirt6/NF-κB pathways in aging mice induced by D-galactose and NaNO₂ [J]. *J Ethnopharmacol*, 2021, 271: 113810.
- [12] Li L, Zhang H, Chen B B, et al. BaZiBuShen alleviates cognitive deficits and regulates Sirt6/NRF2/HO-1 and Sirt6/P53-PGC-1α-TERT signaling pathways in aging mice [J]. *J Ethnopharmacol*, 2022, 282: 114653.
- [13] Yang K, Liang Y B, Gao L Q, et al. Prevalence of age-related macular degeneration in a rural Chinese population: The Handan Eye Study [J]. *Ophthalmology*, 2011, 118(7): 1395-1401.
- [14] Wong C W, Yanagi Y, Lee W K, et al. Age-related macular degeneration and polypoidal choroidal vasculopathy in asians [J]. *Prog Retin Eye Res*, 2016, 53: 107-139.
- [15] Lambert N G, ElShelmani H, Singh M K, et al. Risk factors and biomarkers of age-related macular degeneration [J]. *Prog Retin Eye Res*, 2016, 54: 64-102.
- [16] Blasiak J, Glowacki S, Kauppinen A, et al. Mitochondrial and nuclear DNA damage and repair in age-related macular degeneration [J]. *Int J Mol Sci*, 2013, 14(2): 2996-3010.
- [17] Winkler B S, Boulton M E, Gottsch J D, et al. Oxidative damage and age-related macular degeneration [J]. *Mol*

- Vis, 1999, 5: 32.
- [18] Kim S H, Park J W. Morin hydrate attenuates CSE-induced lipid accumulation, ER stress, and oxidative stress in RPE cells: Implications for age-related macular degeneration [J]. Free Radic Res, 2019, 53(8): 865-874.
- [19] Perusek L, Sahu B, Parmar T, et al. Di-retinoid-pyridinium-ethanolamine (A2E) accumulation and the maintenance of the visual cycle are independent of Atg7-mediated autophagy in the retinal pigmented epithelium [J]. J Biol Chem, 2015, 290(48): 29035-29044.
- [20] Copple I M, Lister A, Obeng A D, et al. Physical and functional interaction of sequestosome 1 with Keap1 regulates the Keap1-Nrf2 cell defense pathway [J]. J Biol Chem, 2010, 285(22): 16782-16788.
- [21] 杨威, 王霜, 屈伸, 等. «仁斋直指方论»“五藏所主”学术思想研究 [J]. 中国中医基础医学杂志, 2020, 26(2): 148-151, 180.
- Yang W, Wang S, Qu S, et al. Research on the academic thought of "five zangs being the master" in Ren Zhai Zhi Zhi Fang Lun [J]. J Basic Chin Med, 2020, 26(2): 148-151, 180.
- [22] 曾庆华. 中医眼科学 [M]. 北京: 中国中医药出版社, 2003.
- Zeng Q H. *Traditional Chinese Medicine Ophthalmology* [M]. Beijing: China Traditional Chinese Medicine Press, 2003.
- [23] (清)黄庭镜. 目经大成 [M]. 北京: 中医古籍出版社, 1987.
- Huang T J (Qing Dynasty). *Mujing Dacheng* [M]. Beijing: Traditional Chinese Medicine Ancient Books Publishing House, 1987.
- [24] Cheng J, Zhou Z W, Sheng H P, et al. An evidence-based update on the pharmacological activities and possible molecular targets of *Lycium barbarum* polysaccharides [J]. Drug Des Devel Ther, 2015, 9: 33-78.
- [25] Chang R C C, So K F. Use of anti-aging herbal medicine, *Lycium barbarum*, against aging-associated diseases. What do we know so far? [J]. Cell Mol Neurobiol, 2008, 28(5): 643-652.
- [26] 俞洋, 冯振娥, 李楠, 等. 枸杞子含药血清对兔视网膜色素上皮细胞光损伤保护的实验研究 [J]. 中华中医药杂志, 2012, 27(11): 2950-2952.
- Yu Y, Feng Z E, Li N, et al. Experiment research of serum containing *Fructus Lycii* on the rabbit retinal pigment epithelium cells damaged by light [J]. China J Tradit Chin Med Pharm, 2012, 27(11): 2950-2952.
- [27] 王忠忠, 鲁晓丽, 张自萍. 枸杞子明目作用的研究进展 [J]. 中国新药杂志, 2013, 22(14): 1648-1651.
- Wang Z Z, Lu X L, Zhang Z P. Research progress in the improving effect of *Fructus Lycii* on eyesight [J]. Chin J New Drugs, 2013, 22(14): 1648-1651.
- [28] 柯玲玲. 基于p62-keap1/Nrf2通路研究驻景丸加减方对干性AMD模型小鼠视网膜保护作用机制 [D]. 南京: 南京中医药大学, 2020.
- Ke L L. Based on p62-keap1/Nrf2 pathway, the protective mechanism of modified Zhujing Pill on retina of dry AMD model mice was studied [D]. Nanjing: Nanjing University of Chinese Medicine, 2020.
- [29] Majji A B, Cao J, Chang K Y, et al. Age-related retinal pigment epithelium and Bruch's membrane degeneration in senescence-accelerated mouse [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2000, 41(12): 3936-3942.
- [30] Ogawa T, Ohira A, Amemiya T, et al. Superoxide dismutase in senescence-accelerated mouse retina [J]. Histochem J, 2001, 33(1): 43-50.

[责任编辑 兰新新]