

鼓槌石斛对小鼠非增殖性糖尿病视网膜病变的改善作用及其机制研究

余增洋¹, 盛雨辰^{2*}, 周玲玉¹, 陆 宾¹, 季莉莉¹

1. 上海中医药大学中药研究所 上海市复方中药重点实验室, 中药标准化教育部重点实验室, 上海 201203

2. 上海中医药大学 药物安全评价研究中心, 上海 201203

摘要: 目的 观察鼓槌石斛乙醇提取物 (ethanol extract of *Dendrobium chrysotoxum*, EEDC) 对链脲佐菌素 (STZ) 诱导糖尿病小鼠非增殖性糖尿病视网膜病变 (NPDR) 的改善作用及其机制。方法 采用 STZ 诱导小鼠发生糖尿病, 进而建立糖尿病并发症 NPDR 实验动物模型, 再给予 EEDC 进行干预。采用视网膜组织伊文思蓝渗漏实验观察 NPDR 小鼠中血-视网膜屏障 (BRB) 的破坏情况; 采用 real-time PCR (RT-PCR) 检测视网膜组织中白细胞介素-6 (IL-6)、IL-1 β 、肿瘤坏死因子 (TNF- α) 及早期生长反应因子 (Egr-1)、组织因子 (TF)、纤溶酶原激活物抑制剂 1 (Serpine 1) 的基因表达; 进一步采用酶联免疫实验 (ELISA) 检测血清中 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 及 TF、Serpine 1 的量。结果 与对照组相比, 模型组小鼠视网膜组织伊文思蓝渗漏量明显增加, EEDC 能够减少视网膜组织伊文思蓝渗透量; EEDC 能够显著降低模型小鼠视网膜组织中增加的 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 及 Egr-1、TF、Serpine 1 的基因表达; EEDC 能够明显下调模型小鼠血清中增加的 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 及 TF、Serpine 1 的量。结论 EEDC 具有改善 STZ 诱导小鼠 NPDR 的作用, 其机制为通过抑制 NPDR 小鼠视网膜和血清中增加的炎症因子 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 以及与凝血/纤溶相关基因 TF、Serpine 1 的基因表达, 缓解 BRB 的破坏, 从而发挥改善 NPDR 的作用。

关键词: 鼓槌石斛; 糖尿病; 非增殖性糖尿病视网膜病变; 血-视网膜屏障; 炎症因子

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2016)11-1908-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2016.11.016

Study on amelioration of *Dendrobium chrysotoxum* on STZ-induced non-proliferative diabetic retinopathy and its engaged mechanism

YU Zeng-yang¹, SHENG Yu-chen², ZHOU Ling-yu¹, LU Bin¹, JI Li-li¹

1. The Shanghai Key Laboratory of Complex Prescription and the Key Laboratory for Standardization of Chinese Medicines, Ministry of Education, Institute of Chinese Materia Medica, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China

2. Drug Safety Evaluation and Research Center, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China

Abstract: Objective To observe the amelioration of ethanol extract from *Dendrobium chrysotoxum* (EEDC) on non-proliferative diabetic retinopathy (NPDR) induced by streptozotocin (STZ), and further to investigate its engaged mechanism. **Methods** NPDR was induced by STZ injection in C57 mice and then the diabetic mice were orally given EEDC. The retinal blood-retinal barrier (BRB) breakdown was evaluated using Evans blue leakage assay. The mRNA expression of interleukin (IL)-1 β , IL-6, tumor necrosis factor (TNF) α , early growth response-1 (Egr-1), tissue factor (TF), and Serpine 1 in retinas was detected by real-time PCR. The amount of IL-1 β , IL-6, TNF- α , TF, and Serpine 1 in serum was detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). **Results** EEDC at both doses reduced the increased Evans blue leakage in STZ-induced NPDR in mice. Results of Real-Time PCR showed that EEDC reduced the increased retinal mRNA expression of IL-1 β , IL-6, TNF α and Egr-1, TF, Serpine 1 in STZ-induced NPDR in mice. ELISA results also confirmed that EEDC reduced the increased serum levels of IL-1 β , IL-6, TNF- α , TF, and Serpine 1 in STZ-induced NPDR in mice. **Conclusion** EEDC could ameliorate the STZ-induced NPDR in mice via inhibiting retinal BRB breakdown by reducing the expression of pro-inflammatory cytokines including IL-1 β , IL-6, TNF- α , and coagulation-fibrinolysis related signals such as TF and Serpine 1.

Key words: *Dendrobium chrysotoxum* Lindl.; diabetes; non-proliferative diabetic retinopathy; blood-retinal barrier; inflammatory cytokines

收稿日期: 2015-10-19

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81173517)

作者简介: 余增洋 (1988—), 男, 硕士生, 研究方向为中药活性成分调控血管新生的研究。Tel: (021)51322497 E-mail: 330246941@qq.com

*通信作者 盛雨辰 (1976—), 男, 硕士, 副研究员, 硕士生导师, 研究方向为中药药理与毒理学。Tel: (021)51322402 E-mail: shengych@163.com

据统计, 2013 年我国糖尿病患者约为 9 840 万, 已逐渐成为世界上患者最多的国家^[1]。糖尿病的严重并发症包括糖尿病视网膜病变 (diabetic retinopathy, DR)、糖尿病肾病 (diabetic nephropathy, DN) 等, 严重影响了糖尿病患者的生活质量。临床上, 根据 DR 的发病过程分为 2 个阶段: 早期非增殖性糖尿病视网膜病变 (NPDR) 和后期增殖性糖尿病视网膜病变 (PDR)^[2]。NPDR 阶段的一个显著标志是血-视网膜屏障 (blood-retinal barrier, BRB) 的破坏^[3]。内皮细胞间存在的紧密连接、缝隙连接、黏附连接, 以及连接神经元与血管的胶质细胞的终足与缝隙连接等一起构成 BRB, BRB 在调节血管通透性、神经-视网膜组织营养物质输送和供氧等过程中有重要作用^[3]。在一些条件如糖尿病代谢紊乱、炎症反应等能导致内皮细胞和周细胞受损、凋亡, 进而造成紧密连接破坏, 导致 BRB 的破坏, 加剧血管渗漏、闭塞和无灌注区形成, 造成缺血、缺氧状态, 引发促血管新生因素如血管生长因子 (VEGF) 等上调, 导致血管病理性增生和严重视力损害^[3-5]。

鼓槌石斛 *Dendrobium chrysotoxum* Lindl. 是石斛的一种, 石斛自古以来就被列为我国传统名贵中药, 具有滋阴清热、生津益胃、明目之功效, 以石斛为君药的石斛明目丸、石斛夜光丸临床上常用于消渴日久、燥热阴虚所致视物不清、夜盲昏花等。现代研究发现, 石斛的化学成分主要包括生物碱类、多糖、联苳类、黄酮类、倍半萜类、酚类等, 已有研究表明石斛具有抗肿瘤、抗氧化、延缓衰老、增强免疫力、抗血栓形成、改善眼部微循环等药理作用^[6-9]。本实验通过链脲佐菌素 (STZ) 诱导 NPDR 小鼠模型, 观察鼓槌石斛乙醇提取物 (ethanol extract from *Dendrobium chrysotoxum*, EEDC) 对 NPDR 模型小鼠 BRB 的保护作用, 进一步检测视网膜组织、血清中炎症因子、调控血液凝血/纤溶相关因子的基因表达水平来探讨其可能的机制。

1 材料

1.1 药物

鼓槌石斛药材由南京金陵制药厂馈赠, 由上海中医药大学中药研究所吴立宏教授鉴定为鼓槌石斛 *Dendrobium chrysotoxum* Lindl., EEDC 参考文献方法自制^[10], 其中联苳类化合物毛兰素、杓唇石斛素、石斛酚的质量分数分别为 0.71%、0.03%、0.11%。称取适量 EEDC 浸膏, 加入 0.5% CMC-Na 研磨溶解, 配成给药溶液。

1.2 试剂

STZ (Sigma 公司); 柠檬酸、柠檬酸三钠、多聚甲醛、牛血清白蛋白 (BSA, 国药集团化学试剂有限公司); 伊文思蓝 (Sigma 公司); Trizol 试剂 (Life Technology 公司); PrimeScript[®] RT Master Mix、SYBR[®] Premix Ex TaqTM (Takara 公司); 用于 real-time PCR (RT-PCR) 特异性引物序列 (购自上海捷瑞公司) 见表 1; ELISA kits 均购自 RapidBio (West Hills, CA)。其余试剂均购自 Sigma 公司。各炎症因子试剂盒均购自 RapidBio 公司。

表 1 RT-PCR 引物序列
Table 1 Sequences of primers for RT-PCR

引物	序列	退火温度/℃
β-actin	正向 5'-TTCGTTGCCGGTCCACACCC-3'	60
	反向 5'-GCTTGCACATGCCGAGCC-3'	
IL-1β	正向 5'-AAAAAAGCCTCGTGCTGTCG-3'	60
	反向 5'-GTCGTTGCTTGTTCTCTTCTG-3'	
IL-6	正向 5'-ACAAAGCCAGAGTCCTTCAGAGAG-3'	62
	反向 5'-TTGGATGGTCTTGGTCCTTAGCC-3'	
TNF-α	正向 5'-CTGAACCTTCGGGGTGATCGGT-3'	62
	反向 5'-TCCTCCACTTGGTGGTTTGCTAC-3'	
Egr-1	正向 5'-GGCGATGGTGGAGACGAGTTAT-3'	58
	反向 5'-CAAAGTGTGCCACTGTTGGGT-3'	
TF	正向 5'-ACACAAACCTTGACAGCCAGTAA-3'	59
	反向 5'-CTTCCCGTGCTTGAGCCTTT-3'	
Serpine 1	正向 5'-ACAGCTCATGCCCTCCGCCA-3'	62
	反向 5'-CACCAGGCGTGTCAGCTCGTC-3'	

1.3 仪器

便携式血糖仪 (Johnson 公司); 解剖显微镜 (Olympus 公司); 酶标仪 (Gene 公司); Real-Time PCR 仪 (ABI Step-one Plus 公司); 微量移液器、低温离心机 (Eppendorf 公司); -80 ℃ 低温冰箱 (Thermo Fish 公司); 超纯水过滤仪 (Millipore 公司); 分析天平 (Mettler Toledo 公司); 超声波细胞粉碎仪 (宁波新芝生物科技公司)。

1.4 实验动物

SPF 级健康雄性 C57BL/6J 小鼠, 体质量 18~22 g, 购自中国科学院上海实验动物中心, 动物合格证号 SCXK (沪) 2012-0002, 饲养于上海中医药大学实验动物中心, 温度 (22±1) ℃, 湿度 (55±5) %, 12 h 光暗循环, 饲料与水消毒后自由摄取, 适应性饲养 1 周后使用。实验严格按照国家和上海中医药大学实验动物中心动物使用管理条例进行。

2 方法

2.1 造模、分组及给药

分别配制 0.1 mol/L 柠檬酸和柠檬酸三钠溶液，柠檬酸溶液与柠檬酸三钠溶液以 14:11 比例混匀，调 pH 值至 4.2，配成 STZ 溶解缓冲液，置于冰上待用。称取 STZ 粉末避光溶解于缓冲液中，立即 ip 给予已禁食 12 h 的小鼠，终剂量 55 mg/kg。连续给药 5 d 造模。造模 1 周后尾静脉取血测血糖值，随机血糖值高于 16.7 mmol/L 被认为糖尿病造模成功。糖尿病造模成功小鼠随机分为 3 组：模型组及 EEDC 50、200 mg/kg 组。未造模小鼠（ip 给予相同体积 STZ 溶解缓冲液）作为对照组。造模成功 1 个月后各组开始 ig 给药，对照组和模型组 ig 等量 0.5% CMC-Na，连续给药 30 d。实验过程中监测体质量和血糖值。

2.2 小鼠视网膜伊文思蓝渗漏检测

末次给药后，各组随机取 6 只小鼠，ip 2%伊文思蓝（PBS）10 μ L/g，循环 2 h 后，左心室灌洗生理盐水（37 $^{\circ}$ C）以清除小鼠体循环中伊文思蓝。然后摘取眼球，于解剖显微镜下取出视网膜组织，放于真空干燥箱中 55 $^{\circ}$ C 真空干燥 5 h，称取视网膜组织干燥后质量。加入 120 μ L 甲酰胺，于 70 $^{\circ}$ C 水浴 18 h 萃取出伊文思蓝。萃取液 10 000 $\times$ g 离心 1 h，吸取上清 60 μ L 于酶标仪 620 nm 测吸光度值，代入标准曲线，计算出伊文思蓝的量，计算伊文思蓝的量与视网膜组织干燥后质量的比值，即得视网膜组织中伊文思蓝渗漏量（ng/g）。

2.3 RT-PCR 检测小鼠视网膜组织相关基因表达

末次给药后，各组其余小鼠乌拉坦麻醉，腹主动脉取血，立即摘取眼球。摘取的小鼠眼球，放置

于 DEPC-treated Water 中，于解剖显微镜下取出视网膜组织（若不立即进行后续实验，样本组织存放于 -80 $^{\circ}$ C）。用 Trizol 试剂提取视网膜组织总 mRNA，总 mRNA 溶解于 RNase-free H₂O 中，1 μ g 总 mRNA 按照试剂盒（TaKaRa）方法逆转录合成 cDNA，RT-PCR 扩增按照试剂盒（TaKaRa）方法，相对基因表达分析采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法。

2.4 ELISA 实验

小鼠血液于 860 $\times$ g 离心 10 min，移取上清即得血清，血清中白细胞介素-6（IL-6）、IL-1 β 、肿瘤坏死因子 α （TNF- α ）及早期生长反应因子（Egr-1）、组织因子（TF）、纤溶酶原激活物抑制剂 1（Serpine 1）检测按照试剂盒方法操作。

2.5 数据分析

实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示，采用 SPSS 16.0 软件进行统计，用 One-Way ANOVA 统计方法进行方差分析。

3 结果

3.1 各组小鼠体质量与血糖变化

从图 1-A 可见，各造模组小鼠体质量明显低于对照组，增加均不明显；而对照组小鼠体质量增加符合其生长曲线。从图 1-B 可见，各造模组小鼠血糖值均 ≥ 16.7 mmol/L，且维持稳定。从以上 2 指标可以看出糖尿病小鼠造模成功。同时，EEDC 对糖尿病小鼠的血糖和体质量无明显影响。

3.2 对小鼠视网膜伊文思蓝渗漏的影响

从图 2 可见，模型组小鼠视网膜伊文思蓝渗漏量较对照组明显增加（ $P < 0.001$ ），说明 NPDR 模型诱导成功。EEDC（50、200 mg/kg）能够明显降低模型小鼠视网膜组织中的伊文思蓝渗漏量（ $P < 0.001$ ）。

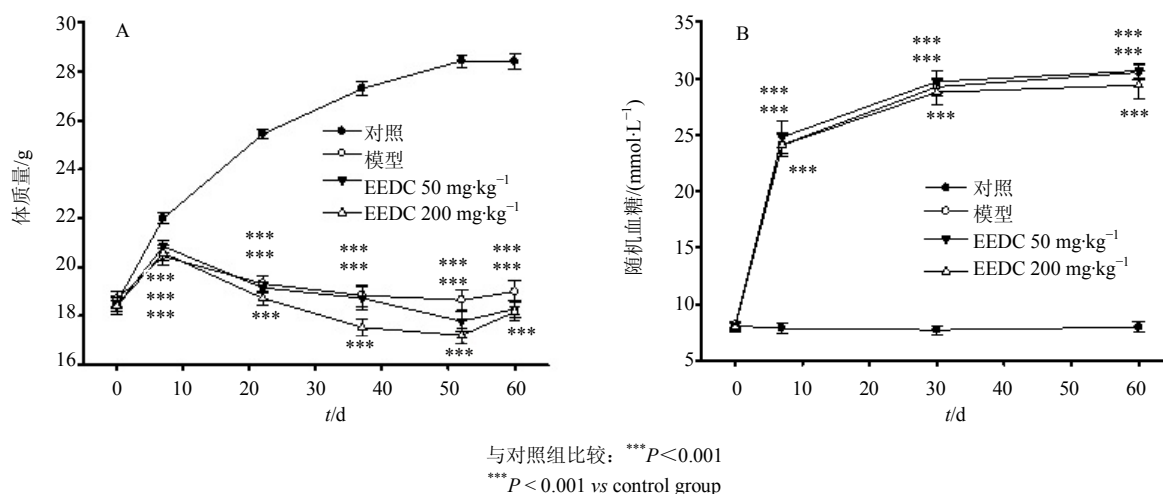
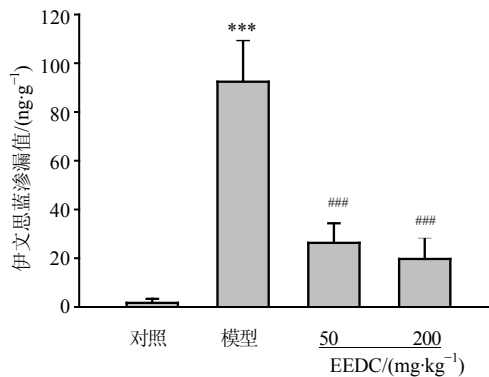


图 1 各组小鼠体质量 (A) 和随机血糖 (B) 比较 ($\bar{x} \pm s$, $n = 12$)

Fig. 1 Comparison on body weight (A) and serum glucose level (B) of mice in each group ($\bar{x} \pm s$, $n = 12$)

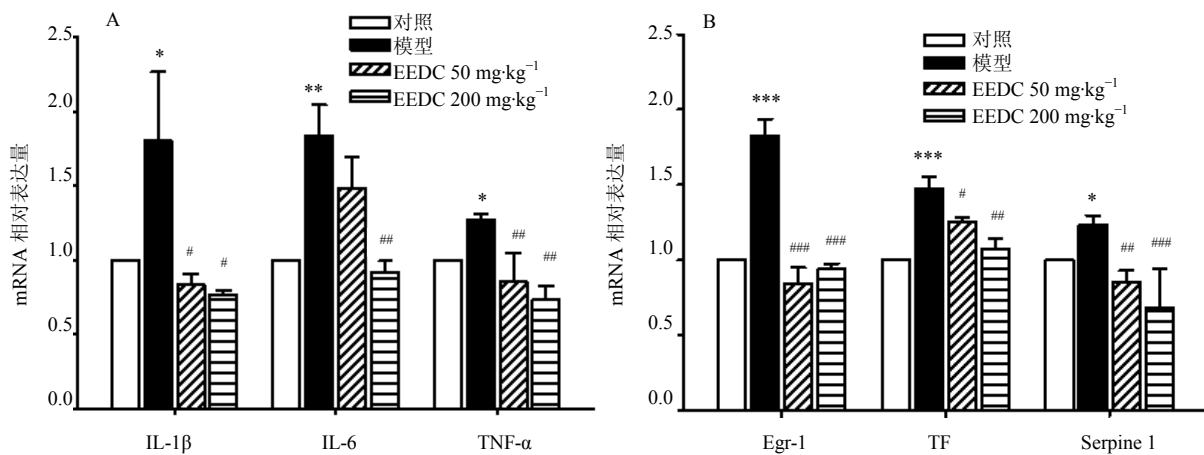


与对照组比较: *** $P < 0.001$; 与模型组比较: ### $P < 0.001$

*** $P < 0.001$ vs control group; ### $P < 0.001$ vs model group

图 2 各组小鼠视网膜伊文思蓝渗漏量比较 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 2 Comparison on Evans blue leakage assay in retina of mice in each group ($\bar{x} \pm s, n = 6$)



与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$; 与模型组比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ ### $P < 0.001$, 下同
* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs control group; # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ ### $P < 0.001$ vs model group, same as below

图 3 EEDC 对小鼠视网膜组织炎症 (A) 和凝血/止血 (B) 相关基因表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 3 Effect of EEDC on mRNA expression of related gene of inflammation (A) and coagulation/hemostasis (B) in retinal tissue of mice ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

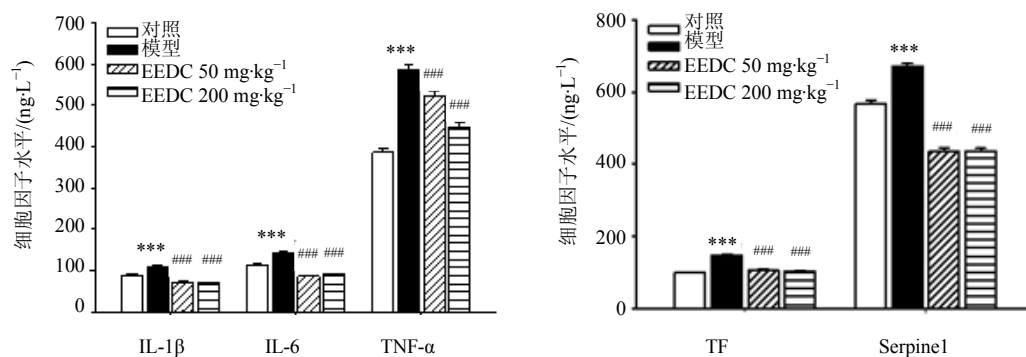


图 4 EEDC 对小鼠血清中 IL-1β、IL-6、TNF-α、TF 和 Serpine 1 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 4 Effect of EEDC on levels of IL-1β, IL-6, TNF-α, TF, and Serpine 1 in serum of mice ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

3.3 对小鼠视网膜组织相关基因表达的影响

从图 3 可见, 模型组小鼠视网膜中 IL-1β、IL-6、TNF-α 的表达显著增加, 而给予 EEDC 干预后可以显著降低各基因表达, 且高剂量作用显著。模型组小鼠视网膜中 Egr-1 及受其调控的下游 TF、Serpine 1 基因表达均显著增加, 而 EEDC 能够降低各基因表达, 且高剂量作用显著。

3.4 对小鼠血清中相关细胞因子水平的影响

从图 4 可见, 模型组小鼠血清中 IL-1β、IL-6、TNF-α 的量显著增加 ($P < 0.001$), EEDC 可以降低血清中 IL-1β、IL-6、TNF-α 的量 ($P < 0.001$), 且高剂量作用显著。模型组血清中 TF、Serpine 1 的量显著增加 ($P < 0.001$), EEDC 亦能够降低血清中 TF、Serpine 1 的量 ($P < 0.001$), 且高剂量作用显著。

4 讨论

本实验中,血糖与体质量数据均表明 STZ 诱导小鼠 1 型糖尿病模型成功,而 EEDC 给药后未见对糖尿病小鼠血糖和体质量产生明显影响。糖尿病 2 月龄时小鼠视网膜中伊文思蓝的渗漏量升高显著,是对照组的 90 倍左右,说明糖尿病小鼠 BRB 的完整性被显著破坏,而 EEDC 可以明显降低 NPDR 小鼠视网膜中升高的伊文思蓝渗漏量,显示出保护 NPDR 小鼠 BRB 的活性。

DR 发病过程中炎症因子水平升高与 BRB 破坏有密切联系^[11-12]。通过分别检测视网膜组织和血清中 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 的表达水平可知, NPDR 小鼠视网膜组织和血清中 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 的表达均明显上调,而 EEDC 均能显著逆转此过程,并可见剂量依赖性。提示 EEDC 改善 NPDR 小鼠 BRB 的破坏与其降低 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 等促炎因子的表达有关。

Egr-1 是近来受到较多关注的一种核转录因子,参与调控细胞的生长、分化和凋亡^[13-14]。有报道称, Egr-1 可参与调控 DR 病理过程中炎症反应、血管新生和纤维化等过程^[15]。受 Egr-1 启动转录的细胞因子包括 TF 和 Serpine 1,两者都参与生理凝血/止血过程。正常情况下,TF 位于血管壁外膜细胞,包绕血管的成纤维细胞,当血管壁的完整性遭到破坏时 TF 暴露于循环血液,通过激活凝固级联反应发挥止血作用;Serpine 1 又称 PAI-1 (plasminogen activator inhibitor 1),是 tPA (tissue plasminogen activator) 的抑制因子,在血液纤溶平衡中起重要作用;两者都参与调控细胞外基质的降解和血管新生的过程^[16-17]。据报道,DR 发病过程中 TF、Serpine 1 的表达明显升高^[18-20]。本实验结果显示, NPDR 小鼠视网膜组织 Egr-1、TF、Serpine 1 mRNA 表达及血清中 TF、Serpine 1 量均明显升高,给予 EEDC 干预后均能降低其表达。提示 EEDC 改善 NPDR 的作用可能与其抑制 Egr-1、TF、Serpine 1 表达水平有关。

综上,本研究发现 EEDC 对 STZ 诱导的 NPDR 小鼠视网膜 BRB 损坏有明显的改善作用;进一步研究其机制发现, EEDC 通过降低 NPDR 过程中炎症因子 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平,而且还可以降低 Egr-1 以及其下游调控的凝血/止血相关基因 TF、Serpine 1 基因的表达,从而缓解视网膜 BRB 的破坏,发挥其改善 NPDR 的活性。

参考文献

- [1] Chan J C, Cho N H, Tajima N, *et al.* Diabetes in the Western Pacific Region--past, present and future [J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2014, 103(2): 244-255.
- [2] Frank R N. Diabetic retinopathy [J]. *N Engl J Med*, 2004, 350(1): 48-58.
- [3] Zhang C, Wang H, Nie J, *et al.* Protective factors in diabetic retinopathy: focus on blood-retinal barrier [J]. *Discov Med*, 2014, 18(98): 105-112.
- [4] Reis A, Mateus C, Melo P, *et al.* Neuroretinal dysfunction with intact blood-retinal barrier and absent vasculopathy in type 1 diabetes [J]. *Diabetes*, 2014, 63(11): 3926-3937.
- [5] Frey T, Antonetti D A. Alterations to the blood-retinal barrier in diabetes: cytokines and reactive oxygen species [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2011, 15(5): 1271-1284.
- [6] 张光浓,毕志明,王峥涛,等. 石斛属植物化学成分研究进展 [J]. 中草药, 2003, 34(6): 附 5-附 8.
- [7] 陈晓梅,郭顺星. 石斛属植物化学成分和药理作用的研究进展 [J]. 天然产物研究与开发, 2001, 13(1): 70-75.
- [8] 张利华. 石斛的现代药理学进展 [J]. 内蒙古中医药, 2014, 33(5): 50-51.
- [9] 宋广青,刘新民,王 琼,等. 石斛药理作用研究进展 [J]. 中草药, 2014, 45(17): 2576-2581.
- [10] Gong C Y, Yu Z Y, Lu B, *et al.* Ethanol extract of *Dendrobium chrysotoxum* Lindl ameliorates diabetic retinopathy and its mechanism [J]. *Vascul Pharmacol*, 2014, 62(3): 134-142.
- [11] Adamis, A P, Berman A J. Immunological mechanisms in the pathogenesis of diabetic retinopathy [J]. *Semin Immunopathol*, 2008, 30(2): 65-84.
- [12] Bertoni A G, Burke G L, Owusu J A, *et al.* Inflammation and the incidence of type 2 diabetes: the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA) [J]. *Diabetes Care*, 2010, 33(4): 804-810.
- [13] Gashler A, Sukhatme V P. Early growth response protein 1 (Egr-1): prototype of a zinc finger family of transcription factors [J]. *Prog Nucl Acid Res Mol Biol*, 1995, 50: 191-224.
- [14] Liu C, Calogero A, Ragona G, *et al.* EGR-1, the reluctant suppression factor: EGR-1 is known to function in the regulation of growth, differentiation, and also has significant tumor suppressor activity and a mechanism involving the induction of TGF- β 1 is postulated to account for this suppressor activity [J]. *Crit Rev Oncog*, 1996, 7(1/2): 101-125.
- [15] Aljada A, Ghanim H, Mohanty P, *et al.* Insulin inhibits the pro-inflammatory transcription factor early growth

- response gene-1 (Egr)-1 expression in mononuclear cells (MNC) and reduces plasma tissue factor (TF) and plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) concentrations [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2002, 87(3): 1419-1422.
- [16] Fernandez P M, Rickles F R. Tissue factor and angiogenesis in cancer [J]. *Curr Opin Hematol*, 2002, 9(5): 401-406.
- [17] Carmeliet P, Stassen J M, Schoonjans L, et al. Plasminogen activator inhibitor-1 gene-deficient mice. II. Effects on hemostasis, thrombosis, and thrombolysis [J]. *J Clin Invest*, 1993, 92(6): 2756-2760.
- [18] Sakamoto T, Ito S, Yoshikawa H, et al. Tissue factor increases in the aqueous humor of proliferative diabetic retinopathy [J]. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 2001, 239(11): 865-871.
- [19] Zhong Z L, Chen S. Plasma plasminogen activator inhibitor-1 is associated with end-stage proliferative diabetic retinopathy in the northern Chinese Han population [J]. *Exp Diabetes Res*, 2012. doi: 10.1155/2012/350852.
- [20] Grant M B, Ellis E A, Caballero S, et al. Plasminogen activator inhibitor-1 overexpression in nonproliferative diabetic retinopathy [J]. *Exp Eye Res*, 1996, 63(3): 233-244.

2016 慕尼黑上海分析生化展观众预登记正式启动

慕尼黑上海分析生化展 (analytica China) 是分析和生化技术领域的国际性博览会, 每两年在上海举办一次, 已成功举办 7 届, 是业内领军企业全面展示新技术、产品和解决方案的最佳平台。2016 年 10 月 10—12 日, 展会将在上海新国际博览中心 N1、N2、N3 馆如期举行, 展示面积达 35 000 平方米。近 800 家行业领先企业将展示包括分析仪器、测试测量、生命科学、生物技术、实验室建设、试剂耗材和通用实验室设备在内的最新产品及应用。目前, 展会在线观众预登记已全面开通, 立即登陆 www.analyticachina.com.cn 进行在线注册, 即可轻松获取电子观众胸卡。

(本刊讯)