

· 银杏叶提取物相关研究专题 ·

[编者按] 银杏叶提取物为银杏科植物银杏 *Ginkgo biloba* 的干燥叶经加工制成的提取物,为浅棕黄色至棕褐色的粉末,味微苦。银杏叶提取物有效成分主要是黄酮类和萜内酯类化合物,黄酮类物质主要是黄酮醇苷及其苷元,总黄酮质量分数不低于 24%,萜内酯化合物主要包括银杏内酯 A,B,C,J,K,L,M,N,P,Q,总萜内酯质量分数不低于 6%,银杏酸类化合物为其毒性物质,主要由白果酸、白果新酸、氯化白果酸、十七烷一烯银杏酸以及十七烷二烯银杏酸组成,2015 年版《中国药典》规定其总含量不得高于 $10 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 。银杏叶提取物对心脑血管疾病具有良好的效果,能够扩张血管,改善脑功能障碍,其对动脉硬化、高血压、眩晕、耳鸣、头痛、老年痴呆、记忆力减退等亦有明显的效果。目前银杏叶提取物制剂,如金纳多片,银杏叶片,舒血宁注射液等现代中药制剂已成为心脑血管系统疾病治疗的一线用药,且安全范围大,已逐渐获得各国医学界的认可。

银杏叶提取物对 NF- κ B 活性抑制人视网膜色素上皮细胞炎症反应的影响

南娜¹, 赵萍^{1*}, 张睿²

(1. 河北医科大学第四医院, 石家庄 050011; 2. 河北医科大学第一医院, 石家庄 050031)

[摘要] 目的:观察银杏叶提取物对高糖诱导的人视网膜色素上皮细胞 ARPE-19 炎症的影响及核转录因子- κ B(NF- κ B)通路的变化,探讨其作用机制。方法:体外培养 ARPE-19 细胞株,分为正常组($5.5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 葡萄糖),高糖组($30 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 葡萄糖),银杏叶提取物不同剂量组($30 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 葡萄糖 + $12.5, 25, 50, 100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 银杏叶提取物)。噻唑蓝(MTT)比色法检测细胞活性;流式细胞术测定细胞中肿瘤坏死因子- α (TNF- α),白细胞介素- 1β (IL- 1β)的含量;实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)和蛋白质免疫印迹法(Western blot)测定炎症因子(NIK/p-NIK, IKK α /p-IKK α , I κ B/p-I κ B)表达;Western blot 检测 NF- κ B 磷酸化及核 NF- κ B 表达。结果:与正常组比较,高糖组吸光度 A 明显降低($P < 0.05$),细胞 TNF- α , IL- 1β 含量明显升高($P < 0.05$), p-NIK, p-IKK α , p-I κ B 表达水平明显升高($P < 0.05$), p-NF- κ B, 核 NF- κ B 表达水平明显升高($P < 0.05$);与高糖组比较, $12.5, 25, 50, 100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 银杏叶提取物组吸光度 A 明显升高($P < 0.05$);细胞 TNF- α , IL- 1β 含量明显降低($P < 0.05$), p-NIK, p-IKK α , p-I κ B 水平明显降低($P < 0.05$), p-NF- κ B, 核 NF- κ B 表达水平明显降低($P < 0.05$)。结论:银杏叶提取物能通过抑制 NF- κ B 活性抑制炎症反应,保护视网膜色素上皮细胞,用于糖尿病视网膜病变的防治。

[关键词] 银杏叶提取物; 高糖; 糖尿病视网膜病变; 炎症反应; 核转录因子 κ B 活性

[中图分类号] R587;R285.5 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2017)18-0163-05

[doi] 10.13422/j.cnki.sjfx.2017180163

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20170628.1604.008.html>

[网络出版时间] 2017-06-28 16:04

Inflammation Inhibitory Effect of Ginkgo Leaves Extract on NF- κ B Activity in Human Retinal Pigment Epithelial Cells

NAN Na¹, ZHAO Ping^{1*}, ZHANG Rui²

(1. The Fourth Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050011, China; 2. The First Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050031, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the effect of ginkgo leaves extract on the inflammation of human

[收稿日期] 20170425(007)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81400812)

[第一作者] 南娜,主管护士,从事眼科疾病的临床及护理研究, Tel:13673166180, E-mail:nanna1976@126.com

[通讯作者] * 赵萍,博士,教授,从事眼科疾病的临床研究, Tel:13931109626, E-mail:yknanna@sina.com

esophageal epithelial cell ARPE-19 line and the changes in nuclear factor-kappaB (NF- κ B) pathway, in order to explore its mechanism. **Method:** *In vitro*, ARPE-19 cells was divided into normal control group (5.5 mmol·L⁻¹ glucose), high-glucose group (30 mmol·L⁻¹ glucose) and ginkgo leaves extract group (30 mmol·L⁻¹ glucose + 12.5, 25, 50, 100 mg·L⁻¹ ginkgo leaves extract). MTT assay was used to detect cell viability. The levels of tumor necrosis factor- α (TNF- α) and interleukin-1 β (IL-1 β) in the cells were determined by flow cytometry. NIK/p-NIK, IKK α /p-IKK α and I κ B/p-I κ B expressions were measured by Real-time PCR and Western blot. Western blot was used to detect the phosphorylation of NF- κ B and the expression of nuclear NF- κ B. **Result:** The A value of the high-glucose group was significantly lower than that of the control group, ginkgo leaves extract groups (12.5, 25, 50, 100 mg·L⁻¹) were significantly higher than those of the high-glucose group ($P < 0.05$). Levels of TNF- α and IL-1 β of the high-glucose group was significantly higher than that of the control group, and those of ginkgo leaves extract group (12.5, 25, 50, 100 mg·L⁻¹) were significantly lower than those of high glucose group ($P < 0.05$). Compared with the control group, the expressions of p-NIK, p-IKK α , p-I κ B in the high-glucose group increased, and the expressions of p-NIK, p-IKK α , p-I κ B were decreased in ginkgo leaves extract (12.5, 25, 50 and 100 mg·L⁻¹) groups ($P < 0.05$). The phosphorylation and nuclear NF- κ B protein expression were increased in the high-glucose group compared with the control group, and the NF- κ B expression were decreased in ginkgo leaves extract groups (12.5, 25, 50, 100 mg·L⁻¹, $P < 0.05$). **Conclusion:** ginkgo leaves extract can inhibit the inflammatory response by inhibiting NF- κ B activity and protect retinal pigment epithelial cells, so as to prevent and treat diabetic retinopathy.

[**Key words**] Ginkgo leaves extract; High glucose; inflammatory response; nuclear factor kappaB activity

糖尿病视网膜病变在糖尿病患者中较为常见,严重危害了糖尿病人的生活质量^[1],高糖、视网膜缺血、缺氧、炎症等均会引起糖尿病视网膜病变的病理生理变化^[2-3]。但其机制目前尚未完全清楚,并还缺乏有效治疗此病的中药或西药产品。炎症反应是糖尿病视网膜损伤的重要机制之一,随后有学者提出糖尿病视网膜病变是一种“炎症疾病”,多种炎症因子参与了视网膜损伤的发生发展^[4]。银杏叶提取物来源于银杏的干燥叶,在临床上被用于治疗心脑血管和神经系统疾病^[5-6],具有抗氧化、保护神经细胞、扩细胞等药理作用^[7-8],近期有文献陆续报道了银杏叶提取物对轻中度糖尿病视网膜病变患者有非常好的确切疗效^[9-10]。本实验通过高糖诱导人视网膜色素上皮细胞建立糖尿病视网膜病变损伤模型,观察银杏叶提取物对糖尿病视网膜病变的作用及可能作用机制。

1 材料

1.1 细胞 人视网膜色素上皮细胞 ARPE-19 细胞株购自 ATCC 公司(批号 CRL-2302)。

1.2 药物及试剂 银杏叶提取物注射液(台湾济生化学制药厂股份有限公司,批号 H4002);trizol(美国 Invitrogen 公司,批号 79402);Trans Script™ One-Step RT-PCR Super Mix(大连宝生物有限公司,批号 RR047A);蛋白定量分析试剂盒(美国 Pierce

公司,批号 23225);肿瘤坏死因子- α (TNF- α ,批号 ab6671),白细胞介素-1 β (IL-1 β ,批号 ab2105),核转录因子- κ B(NF- κ B,批号 ab16502),磷酸化 NF- κ B(批号 ab86299),NF- κ B 诱导激酶(NIK,批号 ab37712),I κ B 激酶 α (IKK α ,批号 ab32041),抑制性蛋白 κ B α (I κ B α ,批号 ab7217), β -肌动蛋白(β -actin,批号 ob8227)均由 Abcam 公司提供。

1.3 仪器 7300 型荧光定量 PCR 仪(美国 ABI 公司),Gel Doc XR + 型凝胶成像分析仪(美国 Bio-Rad),Epics XL 型流式细胞仪(美国 Beckman Coulter 公司)。

2 方法

2.1 银杏叶提取物溶液配制 参照文献[11]将市售银杏叶提取物注射液(5 mL 含 17.5 mg 银杏叶提取物,即 3 500 mg·L⁻¹)用无血清的 DMEM 培养基稀释至 12.5,25,50,100 mg·L⁻¹共 4 个质量浓度。

2.2 细胞培养 ARPE-19 细胞株,调整细胞密度为 5 × 10⁴ 个/mL 接种到培养瓶中,在 37 °C 5% CO₂ 条件下常规培养,培养基为 10% 胎牛血清、青霉素(100 U·mL⁻¹),链霉素(100 U·mL⁻¹)的低糖 DMEM 培养基。取对数生长期的 ARPE-19 细胞用于实验,分为正常组(5.5 mmol·L⁻¹葡萄糖),高糖组(30 mmol·L⁻¹葡萄糖),银杏叶提取物不同剂量组(30 mmol·L⁻¹葡萄糖 + 12.5,25,50,100 mg·L⁻¹

银杏叶提取物)。作用 48 h 后,收集细胞。

2.3 噻唑蓝(MTT)比色法检测细胞活力 药物作用 ARPE-19 细胞 48 h 后,每孔加入 MTT 液 10 μL 孵育 4 h,弃去上清液,加入二甲基亚砷(DMSO)溶液 100 μL ,充分振荡 10 min,选用 570 nm 波长的酶标仪测定各孔的吸光度 A 。每组设 6 个复孔,实验重复 3 次。

2.4 流式细胞仪(FCM)检测细胞中 TNF- α , IL-1 α 含量 收集细胞,PBS 洗涤后离心,制备单细胞悬液,加入 TNF- α (1:100),IL-1 β (1:50)一抗,采用 Annexin V-FITC/PI 双染法上机检测,用自带软件分析 1 万个细胞中阳性细胞数反应 TNF- α , IL-1 α 含量。

2.5 实时荧光定量 PCR(Real-time PCR)检测细胞 NIK, IKK α , I κ B α mRNA 表达 收集细胞,PBS 洗涤,加入 trizol 试剂,提取总 RNA,鉴定 RNA 纯度和浓度,按 RNA 试剂盒要求依次加入试剂,将总 RNA 逆转录成 cDNA,后按荧光定量扩增试剂盒要求依次加入 NIK,IKK α ,I κ B α 引物和反应试剂,ABI 荧光定量 PCR 仪上机检测,将 β -actin 设为内参,正常组设为 1,以 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 反映目的基因 mRNA 相对表达水平。引物序列见表 1。

表 1 引物序列

Table 1 Primer sequence

基因	引物序列(5'-3')	序列长度/bp
NIK	上游 TGGAGAAGGCCCTGTGTTTC	65
	下游 TGTGCCCTTGTAATCACC	
IKK α	上游 GATACAGCGAGCAGATGACC	97
	下游 CCAACCTCAGCATAGTGGATG	
I κ B α	上游 TTGGGTGCTGATGTCAATG	138
	下游 GCCCTGTAAGTAACTCTGTTG	
β -actin	上游 GGTCATCACCATTGGCAA	105
	下游 GAGTTGAAGGTAGTTTCGTGGA	

2.6 Western blot 检测细胞 NIK, IKK α , I κ B α 蛋白表达及 NF- κ B, 磷酸化 NF- κ B, 核 NF- κ B 蛋白表达 收集细胞,PBS 洗涤,加入细胞裂解液,提取总蛋白,或用核蛋白提取试剂盒提取核蛋白,取上清,BCA 方法测定蛋白浓度,变性后转移至 PVDF 膜,脱脂奶粉室温封闭,加入 10 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, NIK, 0.016 3 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ IKK α , 0.091 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ I κ B α 及 0.5 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NF- κ B, 0.1 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 磷酸化 NF- κ B 的一抗孵育过夜,加入稀释合适浓度的二抗(1:5 000),室温孵育反应后洗膜,胶片发光显影后定影扫描。

以 β -actin 做为内参,以目的蛋白与内参灰度值比值反映蛋白的相对表达水平。

2.7 统计学处理 各组数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,用 SPSS 13.0 统计软件采用单因素方差分析结合 Dunnett t 检验进行分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 银杏叶提取物对 ARPE-19 细胞活性的影响 与正常组比较,高糖组细胞 A 明显降低($P < 0.05$),银杏叶提取物孵育后,与高糖组比较,12.5, 25, 50, 100 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 银杏叶提取物组 A 明显升高($P < 0.05$),表明银杏叶提取物能促进 ARPE-19 细胞活性。见表 2。

表 2 银杏叶提取物对 ARPE-19 细胞活性的影响($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 2 Effect of ginkgo leaves extract on cell viability in ARPE-19 cells($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	质量浓度/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	A_{570}
正常	-	0.85 \pm 0.10
高糖	-	0.37 \pm 0.03 ¹⁾
银杏叶提取物	12.5	0.50 \pm 0.05 ^{1,2)}
	25	0.69 \pm 0.09 ^{1,2)}
	50	0.75 \pm 0.09 ^{1,2)}
	100	0.82 \pm 0.07 ²⁾

注:与正常组比较¹⁾ $P < 0.05$;与高糖组比较²⁾ $P < 0.05$ 。(表 3 ~ 5 同)。

3.2 银杏叶提取物对 ARPE-19 细胞 TNF- α , IL-1 α 含量的影响 与正常组比较,高糖组细胞 TNF- α , IL-1 β 含量明显高于对照组($P < 0.05$),12.5, 25, 50, 100 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 银杏叶提取物组比高糖组 TNF- α , IL-1 β 含量明显降低($P < 0.05$)。见表 3。

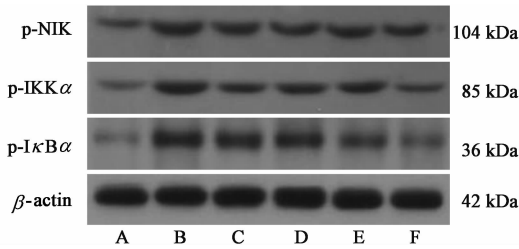
表 3 银杏叶提取物对 ARPE-19 细胞 TNF- α , IL-1 β 含量的影响($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 3 Effect of ginkgo leaves extract on TNF- α , IL-1 β contents in ARPE-19 cells($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	质量浓度/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	TNF- α	IL-1 β
正常	-	3.02 \pm 0.60	5.23 \pm 0.82
高糖	-	12.01 \pm 1.52 ¹⁾	31.29 \pm 4.10 ¹⁾
银杏叶提取物	12.5	10.23 \pm 1.96 ^{1,2)}	15.87 \pm 2.13 ^{1,2)}
	25	8.13 \pm 1.11 ^{1,2)}	10.22 \pm 1.18 ^{1,2)}
	50	6.21 \pm 0.92 ^{1,2)}	9.40 \pm 1.55 ^{1,2)}
	100	5.29 \pm 0.90 ²⁾	8.09 \pm 1.32 ^{1,2)}

3.3 银杏叶提取物对 ARPE-19 细胞 NIK, IKK α , I κ B α 及磷酸化表达的影响 与正常组比较,高糖组细胞 p-NIK, p-IKK α , p-I κ B α 蛋白表达明显升高($P < 0.05$),与高糖组比较,12.5, 25, 50, 100 $\text{mg} \cdot$

L⁻¹银杏叶提取物组 p-NIK, p-IKK α , p-I κ B α 表达均降低 ($P < 0.05$), NIK, IKK α , I κ B α mRNA 和蛋白表达各组无明显差异。见图 1, 表 4。



A. 正常组; B. 高糖组; C ~ F. 银杏叶提取物 (12.5, 25, 50, 100 mg·L⁻¹) 剂量组 (图 2 同)

图 1 银杏叶提取物对 ARPE-19 细胞 p-NIK, p-IKK α 和 p-I κ B α 蛋白表达的影响

Fig.1 Effect of ginkgo leaves extract on p-NIK, p-IKK α , p-I κ B α protein expression in ARPE-19 cells

表 4 银杏叶提取物对 ARPE-19 细胞 p-NIK, p-IKK α 和 p-I κ B α 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 4 Effect of ginkgo leaves extract on p-NIK, p-IKK α , p-I κ B α protein expression in ARPE-19 cells ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	质量浓度/mg·L ⁻¹	p-NIK / β -actin	p-IKK α / β -actin	p-I κ B α / β -actin
正常	-	0.14 \pm 0.03	0.05 \pm 0.01	0.06 \pm 0.01
高糖	-	0.61 \pm 0.12 ¹⁾	0.52 \pm 0.07 ¹⁾	0.71 \pm 0.12 ¹⁾
银杏叶提取物	12.5	0.40 \pm 0.06 ^{1,2)}	0.36 \pm 0.05 ^{1,2)}	0.44 \pm 0.06 ^{1,2)}
	25	0.32 \pm 0.05 ^{1,2)}	0.27 \pm 0.04 ^{1,2)}	0.36 \pm 0.06 ^{1,2)}
	50	0.24 \pm 0.04 ^{1,2)}	0.20 \pm 0.02 ^{1,2)}	0.18 \pm 0.02 ^{1,2)}
	100	0.19 \pm 0.03 ²⁾	0.09 \pm 0.02 ^{1,2)}	0.10 \pm 0.02 ²⁾

表 5 银杏叶提取物对 ARPE-19 细胞 NF- κ B 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 5 Effect of ginkgo leaves extract on NF- κ B protein expression in ARPE-19 cells ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	质量浓度/mg·L ⁻¹	p-NF- κ B/ β -actin	核 NF- κ B/ β -actin	NF- κ B/ β -actin
正常	-	0.27 \pm 0.06	0.29 \pm 0.08	0.59 \pm 0.04
高糖	-	0.80 \pm 0.10 ¹⁾	0.85 \pm 0.07 ¹⁾	0.66 \pm 0.05
银杏叶提取物	12.5	0.70 \pm 0.10 ¹⁾	0.64 \pm 0.05 ^{1,2)}	0.63 \pm 0.08
	25	0.49 \pm 0.02 ^{1,2)}	0.58 \pm 0.08 ^{1,2)}	0.66 \pm 0.05
	50	0.40 \pm 0.10 ²⁾	0.41 \pm 0.08 ²⁾	0.65 \pm 0.05
	100	0.33 \pm 0.04 ²⁾	0.34 \pm 0.03 ²⁾	0.64 \pm 0.08

4 讨论

炎症反应在糖尿病视网膜病变中占有重要地位, 临床研究结果显示糖尿病视网膜病变患者血清、玻璃体、房水中炎症因子, 如 TNF- α , ICAM-1, IL-6, IL-1 α 等多种因子含量增加, 表明全身或局部炎症因子均参与了糖尿病视网膜病变损伤的发生发展^[12-13]。笔者通过体外培养人视网膜色素上皮细胞 ARPE-19 细胞, 采用高糖诱导形成了体外糖尿病视网膜损伤模型, 观察到炎症因子 TNF- α , IL-1 α 含量异常升高, 提示了炎症因子参与了人视网膜色素

3.4 银杏叶提取物对 ARPE-19 细胞 NF- κ B 通路的影响 与正常组比较, 高糖组细胞 p-NF- κ B, 核 NF- κ B 蛋白表达升高 ($P < 0.05$), 与高糖组相比, 12.5, 25, 50, 100 mg·L⁻¹ 银杏叶提取物组 p-NF- κ B, 核 NF- κ B 蛋白表达均降低 ($P < 0.05$), 总 NF- κ B 蛋白表达无差异。见图 2, 表 5。

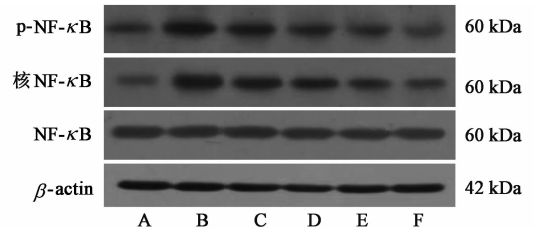


图 2 银杏叶提取物对 ARPE-19 细胞 NF- κ B 蛋白表达的影响

Fig.2 Effect of ginkgo leaves extract on NF- κ B protein expression in ARPE-19 cells

上皮细胞的病变过程。临床上常用 35 ~ 140 mg·L⁻¹ 银杏叶提取物注射液治疗脑部、周围血流循环障碍, 因此笔者依据参照文献^[11]并结合预实验, 选择 12.5, 25, 50, 100 mg·L⁻¹ 银杏叶提取物作为实验浓度, 给予银杏叶提取物干预后, 观察到银杏叶提取物能促进 ARPE-19 细胞活性, 降低 TNF- α , IL-1 α 含量, 确切表明了银杏叶提取物降低炎症因子, 保护人视网膜色素上皮细胞。

高糖刺激引起了视网膜病变, 产生的大量炎症基因表达被炎症转录因子调控, 其中 NF- κ B 信号

通路在炎症扩大和持续的过程中的重要作用已被大量报道^[14]。经典的炎症与 NF- κ B 信号级联过程为炎症强烈刺激致使 IKK 磷酸化,激活的 IKK 进一步引起 NF- κ B 内源性抑制性蛋白 I κ B α 磷酸化,磷酸化的 I κ B α 被泛素化降解,从而与 NF- κ B 解离,释放 NF- κ B 进入细胞核,调控炎症因子等基因转录。本实验观察到高糖诱导的人视网膜色素上皮细胞,p-NIK,p-IKK α ,p-I κ B α 表达均明显上升,核 NF- κ B 和 NF- κ B 磷酸化表达上升,不同剂量的银杏叶提取物能逆转这一过程,抑制了 NIK/IKK α /I κ B α 磷酸化,进一步抑制 NF- κ B 入核和磷酸化,提示了银杏叶提取物参与 NF- κ B 信号通路调控炎症的过程,保护人视网膜色素上皮细胞。但 NF- κ B 是否是唯一信号途径,是否有其他作用机制参与银杏叶提取物保护视网膜细胞尚待进一步研究。

[参考文献]

[1] Behl T, Kotwani A. Proposed mechanisms of *Terminalia catappa* in hyperglycaemia and associated diabetic complications[J]. J Pharm Pharmacol, 2017, 69(2): 123-134.

[2] De Moraes G, Layton C J. Therapeutic targeting of diabetic retinal neuropathy as a strategy in preventing diabetic retinopathy[J]. Clin Exp Ophthalmol, 2016, 44(9):838-852.

[3] Mrugacz M, Bryl A, Bossowski A. Neuroretinal apoptosis as a vascular dysfunction in diabetic patients [J]. Curr Neuropharmacol, 2016, 14(8):826-830.

[4] Murugesan N, Üstunkaya T, Feener E P. Thrombosis and hemorrhage in diabetic retinopathy: a perspective from an inflammatory standpoint [J]. Semin Thromb Hemost, 2015, 41(6):659-664.

[5] 李淑琴,朱嘉宝,武宇洲. 银杏叶提取物防治心脑血管疾病的研究进展[J]. 中国新药杂志,2016,25(1):

76-81.

[6] 于广娜. 银杏叶提取物注射液联合多奈呱齐治疗血管性痴呆的疗效及作用机制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014,20(20):210-213.

[7] Yallapragada P R, Velaga M K. Effect of Ginkgo leaves extract on lead-induced oxidative stress in different regions of rat brain[J]. J Environ Pathol Toxicol Oncol, 2015, 34(2): 161-173.

[8] 秦劭晨,陈捷,黑赏艳,等. 银杏叶提取物治疗急性脑梗死随机对照试验的 Meta 分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2015,21(12):190-195.

[9] 朱成义,伊琼,马金力,等. 银杏叶提取物对糖尿病视网膜病变的临床疗效评价[J]. 国际眼科杂志, 2016,16(2): 361-364.

[10] 江蕊,郑永征,任秉仪,等. 银杏叶提取液对糖尿病视网膜病变神经保护的影响[J]. 国际眼科杂志, 2015,15(8):1327-1331.

[11] 王俞方,彭辉灿,燕建军,等. 银杏叶提取物在高糖环境下对人视网膜微血管内皮细胞的作用及可能机制[J]. 眼科新进展,2013,33(9):822-825.

[12] Suzuki Y, Nakazawa M, Suzuki K, et al. Expression profiles of cytokines and chemokines in vitreous fluid in diabetic retinopathy and centralretinal vein occlusion [J]. Jpn J Ophthalmol, 2011, 55(3):256-263.

[13] Koleva-Georgieva D N, Sivkova N P, Terzieva D. Serum inflammatory cytokines IL-1beta, IL-6, TNF-alpha and VEGF have influence on the development of diabetic retinopathy[J]. Folia Med (Plovdiv), 2011, 53(2):44-50.

[14] Ghosh S, Hayden M S. New regulators of NF-kappaB in inflammation[J]. Nat Rev Immunol, 2008, 8(11):837-848.

[责任编辑 邹晓翠]