

# 不同浓度重组 Canstatin 蛋白对碱烧伤后角膜 MMP-2 及 TIMP-2 表达的影响

鲁 铭,朱 晶

作者单位:(430022)中国湖北省武汉市第一医院眼科  
作者简介:鲁铭,毕业于同济医科大学,副主任医师,研究方向:  
白内障、眼表及泪器疾病。  
通讯作者:朱晶,硕士,主治医师,研究方向:角膜及眼底病。  
anita777@163.com  
收稿日期:2015-10-16 修回日期:2016-01-18

## Effect of recombinant canstatin proteins with different concentrations on the expression of matrix metalloproteinase-2 and tissue inhibitor of metalloproteinase-2 in mice with corneal alkaline burn

Ming Lu, Jing Zhu

Department of Ophthalmology, Wuhan No. 1 Hospital, Wuhan 430022, Hubei Province, China

Correspondence to: Jing Zhu. Department of Ophthalmology, Wuhan No. 1 Hospital, Wuhan 430022, Hubei Province, China. anita777@163.com

Received:2015-10-16 Accepted:2016-01-18

### Abstract

• AIM: To investigate the effect of recombinant canstatin proteins with different concentration on the expressions of matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) and tissue inhibitor of metalloproteinase-2 (TIMP-2) in mice with corneal alkali burn.

• METHODS: Sixty BALB/c mice were divided into three groups (experimental group A, experimental group B and control group C), 20 mice in every group and their corneas in the right eyes were burned with alkali (1mol/L NaOH). The experimental group A received recombinant canstatin proteins drops with 3 $\mu$ g/mL. The experimental group B received recombinant canstatin proteins drops with 5 $\mu$ g/mL and the control group C was treated with physiologic saline. At different time points (1, 3, 7 and 14 d) after alkali burns, the mice were killed and the growth of epithelial defect and corneal neovascularization (CNV) were observed with an operation microscope. The expressions of MMP-2 and TIMP-2 in cornea were measured by the Western blot technique, and the results were analyzed by enhanced chemiluminescent (ECL).

• RESULTS: The areas of epithelial defect and corneal neovascularization significantly reduced in mice treated with recombinant canstatin proteins compared to mice treated with physiologic saline at 3, 7 and 14d after alkali-

induced injury (all  $P < 0.01$ ); the neovascularization was suppressed and the area of CNV was less than that in control group C (all  $P < 0.01$ ). Western blot analysis showed that the expression levels of MMP-2 in experimental group A and B were significantly lower than that in control group C ( $P < 0.01$ ) and the expressions of TIMP-2 in experimental group A and B were significantly higher ( $P < 0.01$ ); the level of MMP-2 in experimental group B were lower than that in experimental group A on day 14 ( $P < 0.05$ ), while the level of TIMP-2 in experimental group B were significantly higher than that in experimental group A on day 7 and day 14 ( $P < 0.05$ ).

• CONCLUSION: Recombinant canstatin proteins may suppress the expression of MMP-2, upregulate the expression of TIMP-2 in cornea cells and the infiltrated inflammatory cells, lower the rapid resolution of cornea and ulceration, and play a vital role in the remodeling of alkali treated cornea in mice.

• KEYWORDS: alkali burn; recombinant canstatin protein; matrix metalloproteinase-2; tissue inhibitor of metalloproteinase-2

Citation: Lu M, Zhu J. Effect of recombinant canstatin proteins with different concentrations on the expression of matrix metalloproteinase-2 and tissue inhibitor of metalloproteinase-2 in mice with corneal alkaline burn. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2016;16(2):224-227

### 摘要

目的:探讨不同浓度重组 Canstatin 蛋白对碱烧伤后小鼠角膜基质金属蛋白酶-2(matrix metalloproteinase-2, MMP-2)及其组织抑制剂-2(tissue inhibitor of metalloproteinase-2, TIMP-2)表达的影响及其调节作用。

方法: BALB/c 小鼠 60 只随机分为实验组 A、实验 B 及对照组 C, 每组 20 只。采用 1mol/L 氢氧化钠溶液烧伤小鼠右眼角膜, 建立炎症性角膜碱烧伤动物模型, 分别予以 A 组、B 组重组 Canstatin 蛋白 3 $\mu$ g/mL、5 $\mu$ g/mL 点右眼, 4 次/d, 对照组 C 组予以生理盐水点右眼。在碱烧伤后第 1、3、7、14d 以形态学分析评价角膜上皮损伤面积及新生血管生长的情况, 并于碱烧伤后第 1、3、7、14d 应用 Western-blot 检测角膜 MMP-2 和 TIMP-2 的表达, 增强化学发光法(ECL)对结果进行分析。

结果:形态学分析显示, A 组和 B 组小鼠在碱烧伤后第 3d 起各时间点角膜上皮缺损面积均小于对照组 ( $P < 0.01$ ), 角膜新生血管均得到抑制, CNV 面积明显小于对照组 ( $P < 0.01$ )。Western-blot 结果显示, 碱烧伤后各时间点 MMP-2 的表达, A 组和 B 组均明显低于对照组 ( $P < 0.01$ ), TIMP-2 的

表达高于对照组 ( $P < 0.01$ ), 且 A 组和 B 组间 MMP-2 的表达在第 14d 比较差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), TIMP-2 的表达在第 7d 及第 14d 比较差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。

**结论:**重组 Canstatin 蛋白可通过抑制角膜细胞及浸润的炎性细胞产生 MMP-2, 促进 TIMP-2 表达, 从而抑制和延迟碱烧伤后角膜融解的发生和发展, 对碱烧伤后角膜的重塑起着重要作用。

**关键词:**碱烧伤; 重组 Canstatin 蛋白; 基质金属蛋白酶-2; 基质金属蛋白酶组织抑制剂-2

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2016.2.06

**引用:**鲁铭, 朱晶. 不同浓度重组 Canstatin 蛋白对碱烧伤后角膜 MMP-2 及 TIMP-2 表达的影响. 国际眼科杂志 2016; 16(2):224-227

## 0 引言

角膜碱烧伤是一种常见的眼表疾病, 可导致角膜溶解、新生血管形成、溃疡穿孔及角膜瘢痕等严重病理改变, 严重影响患者视力甚至失明。近年的研究认为, 碱烧伤后角膜病变的发生发展系多种因素综合作用的结果<sup>[1-2]</sup>, 与血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF)、碱性成纤维细胞生长因子 (basic fibroblast growth factor, bFGF)、基质金属蛋白酶-2 (matrix metalloproteinase-2, MMP-2) 及一氧化氮 (NO) 等多种细胞因子的作用密切相关, 一方面通过 VEGF、bFGF 等因子诱导血管生成, 使得促血管生成因子和抑制因子平衡失调, 从而促进角膜新生血管 (corneal neovascularization, CNV) 的形成; 另一方面是炎性细胞因子的激活及细胞外基质的重建。Canstatin 是新发现的一种 IV 型胶原来源的内源性血管抑制因子, 越来越多的证据显示 Canstatin 不仅可以直接抑制新生血管的形成, 而且对血管形成能力也具有一定的抑制作用<sup>[3]</sup>。本研究组前期业已证明, 重组 Canstatin 蛋白对 CNV 形成中 VEGF 和 bFGF 的表达有明显的抑制作用<sup>[4]</sup>, 因此我们以小鼠碱烧伤为模型, 通过观察不同浓度重组 Canstatin 蛋白对碱烧伤后小鼠角膜中 MMP-2 及 TIMP-2 表达的影响及相互作用, 进一步探讨其在碱烧伤后延迟角膜溶解、抑制角膜炎症及新生血管形成的机制。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

**1.1.1 实验动物及分组** 选用鼠龄为 6~8 周龄, 体质量 15~18g, 经眼科检查无任何眼科疾病的雌性 BALB/c 小鼠 (武汉大学动物中心提供) 作为实验对象。采用随机数字表法将动物分为实验组 (A 组)、实验组 (B 组) 及对照组 (C 组), 每组 20 只小鼠, 均取右眼为实验眼。实验过程中, 对动物的饲养和使用遵循国家科学技术部 2006 年颁布的《关于善待实验动物的指导性意见》要求。

**1.1.2 主要试剂** MMP-2、TIMP-2 兔抗鼠单克隆抗体, 辣根过氧化物酶标记山羊抗兔 IgG 均购自北京中杉金桥技术有限公司; BCA<sup>TM</sup> 蛋白定量试剂盒及增强化学发光剂 (enhanced chemiluminescence, ECL) 购于美国 Pierce 公司; 重组 Canstatin 蛋白由武汉大学药学院提供, 通过从人胎盘组织中提取总 RNA, 构建克隆质粒, 分离并纯化出重组 Canstatin 蛋白。

## 1.2 方法

**1.2.1 碱烧伤模型建立** 60 只小鼠均灼烧右眼, 采用 1% 地卡因表面麻醉, 充分暴露眼前段表面, 将统一规格直径 2.0mm 的单层圆形滤纸片浸于 1mol/L 氢氧化钠溶液中, 使其达饱和状态, 吸水纸吸除多余液体, 将滤纸片置于暴露的小鼠角膜中央, 灼烧 10s, 移去滤纸后, 立即用生理盐水冲洗结膜囊 1min。造模后 A 组和 B 组分别给予重组 Canstatin 蛋白 3 $\mu$ g/mL 和 5 $\mu$ g/mL 点右眼, 4 次/d; 对照组给予生理盐水点右眼, 4 次/d。所有实验小鼠每日给予氯霉素眼水点眼 3 次预防感染, 并给予阿托品眼膏涂眼 1 次。对两组小鼠在各个时间点 (碱烧伤后第 1、3、7、14d) 处死前进行裂隙灯和眼底镜检查, 临床评价依据角膜上皮损伤面积及测量计算角膜新生血管 (corneal neovascularization, CNV) 生长面积评分。上皮病变的评分标准为: 0, 无上皮损伤; 1+, 上皮损伤面积少于 25%; 2+, 上皮损伤面积少于 50%; 3+, 上皮损伤面积少于 75%; 4+, 上皮损伤面积为 75%~100%。计算 CNV 生长面积  $A$ , 公式  $A = C/12 \times 3.1416 [r^2 - (r-L)^2]$ , 其中  $C$  为新生血管累及角膜的圆周钟点数,  $L$  为新生血管从角膜缘伸入角膜的长度,  $r$  为角膜半径。

**1.2.2 Western-blot 检测小鼠碱烧伤后角膜 MMP-2 及 TIMP-2 的表达** 于各时间点 (碱烧伤后第 1、3、7、14d) 颈椎脱臼法处死小鼠, 其中每个时间点各 5 只小鼠。取出小鼠角膜片, -80 $^{\circ}$ C 保存。采用组织裂解液裂解角膜组织后离心取上清, 用 BCA<sup>TM</sup> 蛋白定量试剂盒测定蛋白总量。各取 15 $\mu$ g 不同时间点角膜样本按 4:1 加入上样缓冲液, 100 $^{\circ}$ C, 3min 变性。在非还原状态下行 10% SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE) 2h 后 (4 $^{\circ}$ C, 电压 120V), 电泳法将蛋白质转移至硝酸纤维素滤膜上 (110mA, 2h), 封闭液 (50mL 封闭液: 1 $\times$ TBS 50mL; Tween 0.25mL; 脱脂奶粉 2.5g) 室温下封闭硝酸纤维素滤膜的非特异性免疫球蛋白结合位点 1h, 将滤膜与单克隆第一抗体 (1:1000 稀释于封闭液) 孵育 4 $^{\circ}$ C 摇动过夜, TBST 缓冲液 (1 $\times$ TBST 150mL; 10 $\times$ TBS 15mL; 超纯水 135mL; Tween 0.15mL) 冲洗滤膜 3 次后, 将滤膜转移至 HRP 耦联的第二抗体中 (1:1000 稀释于封闭液) 室温孵育 1h。TBST 缓冲液再次冲洗滤膜后, 用 ECL 发光试剂与硝酸纤维素膜作用 3min 后在暗室曝光, X 线显影。所得条带经凝胶成像分析系统分析得到的灰度值 (OD)。

统计学分析: 所有实验数据均采用均数 $\pm$ 标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 实验数据经计算机 SPSS 15.0 软件进行分析。对照组和实验组的不同时间点 MMP-2 和 TIMP-2 的 OD 值比较采用完全随机多水平单因素方差分析 (one-way ANOVA), 两组间比较采用独立样本  $t$  检验。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 实验组与对照组的临床评价** 观察对照组, BALB/c 小鼠在碱烧伤后即可见角膜中央有一与滤纸片直径相同的灰白色混浊区, 第 1d 可见角膜上皮水肿及缺损; 第 3d 可见角膜基质混浊、局部溃疡形成, 部分新生血管长入透明角膜; 第 7d 可见角膜基质坏死、局部溃疡、新生血管化; 在第 14d 可见严重的角膜基质炎性浸润、坏死及显著的新生血管及溃疡形成, 1 眼角膜穿孔。观察实验组, A 组小鼠在碱烧伤后第 1d 角膜上皮见少许缺损, 轻度水肿, 未见

新生血管;2d后角膜炎症反应较对照组减轻,角膜缘新生血管稀疏;第7、14d见新生血管长入,其中2眼超过角膜半径,但角膜上皮缺损及新生血管形成较对照组显著减少。B组第1d角膜上皮见少许缺损,轻度水肿;第3d见角膜水肿略加重,但未见明显新生血管形成;第7d及第14d见新生血管长入,但未见越过瞳孔缘。碱烧伤后各时间点各实验组角膜上皮缺损及 CNV 面积均较对照组小( $F=8.226, P=0.002; F=12.049, P=0.000; F=13.352, P=0.000$ ),角膜上皮缺损面积在第7d及14d时A组和B组间比较差异有统计学意义( $t=2.588, P=0.029; t=3.245, P=0.004$ ),CNV面积在第14d时A组和B组间比较差异有统计学意义( $t=2.198, P=0.033$ ;表1,2)。

**2.2 小鼠碱烧伤后角膜 MMP-2 及 TIMP-2 的表达** 实验结果(图1)显示在对照组,第0d角膜中 MMP-2 仅有微弱表达,在第1d表达增强,随后表达逐渐增强,于第14d达峰值;TIMP-2 早期仅有微弱表达,第2d表达略增强,早期变化不明显,之后逐渐增强。实验组第2d MMP-2 阳性表达较对照组即开始减弱,各时间点 MMP-2 的表达均低于对照组,其差异均有显著统计学意义( $P<0.01$ );TIMP-2 阳性表达增强,各时间点的表达均明显高于对照组,其差异均有明显统计学意义( $P<0.01$ )。实验组 TIMP-2 的表达水平随重组 Canstatin 蛋白浓度的增加而升高,其中在第7d和14d时A组与B组比较,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),而A组在碱烧伤后早期(第3~7d)抑制 MMP-2 与B组间差异无统计学意义,仅在第14d两组间比较差异有统计学意义( $P<0.05$ )。扫描的灰度值见表3(灰度值的设置白色是255,黑色是0,因此 Western-blot 条带所得到的灰度值越小,说明样品含量越高)。

### 3 讨论

眼外伤(尤其是化学伤)引起的角膜盲已成为眼科学目前面临最突出的问题之一,其中以碱烧伤最为严重,尽管在种种努力下其致盲率仍居高不下。已有研究显示由于中性粒细胞的浸润,活化及其释放的蛋白水解酶(包括基质金属蛋白酶)可降解角膜基质,并最终导致角膜溃疡穿孔<sup>[5]</sup>。基质金属蛋白酶(MMPs)是一族能降解细胞外基质(ECM)及基底膜成分的内源性蛋白裂解酶,受其组织型抑制剂(TIMPs)的调节,参与角膜组织重建并在角膜瘢痕形成中起着重要作用<sup>[6]</sup>。根据作用底物不同,MMPs可分为胶原酶、明胶酶、基质溶素和膜型金属蛋白酶四大类,其中 MMP-2 属于明胶酶类,能降解明胶、IV型及V型胶原和弹性蛋白<sup>[7]</sup>。MMPs 不仅由角膜上皮细胞和基质细胞表达,同时 MMPs 还受多种细胞因子的调控,IL-1,IL-6, TNF- $\alpha$  等可促进 MMPs 的表达。TIMPs 是组织中主要的内源性 MMP 活性调节子,通过与 MMPs 形成 1:1 的复合物抑制 MMPs 的活化及酶解活性<sup>[8]</sup>,它的表达在生理状态和组织的重塑中被严密地控制以保持细胞外模板的代谢平衡。研究显示,TIMPs 对已知的所有 MMP 均有抑制作用,其中 TIMP-2 是最主要的调节因素,MMP-2 与 TIMP-2 的调节平衡是保持细胞外基质(ECM)稳定及完整性的前提条件。

Canstatin 是 Kamphaus 发现的一种新的血管生成抑制因子,目前在体外实验中发现 Canstatin 具有抑制血管内皮细胞的增生和迁移,诱导内皮细胞凋亡,抑制新生血管基底膜和细胞外基质的降解和更新,最终抑制新生血管生成的作用<sup>[9]</sup>。我们研究中发现,碱烧伤后第1~3d角膜上

表1 小鼠碱烧伤后各时间点角膜上皮损伤面积 ( $\bar{x}\pm s, mm^2$ )

组别	眼数	3d	7d	14d
C组	5	2.8±0.4	3.2±0.5	3.5±0.4
A组	5	1.8±0.6 <sup>b</sup>	2.1±0.4 <sup>b</sup>	2.6±0.5 <sup>b</sup>
B组	5	1.7±0.5 <sup>b</sup>	1.8±0.4 <sup>b,c</sup>	2.2±0.7 <sup>b,c</sup>

注:<sup>b</sup> $P<0.01$  vs C组;<sup>c</sup> $P<0.05$  vs A组;A组:重组 Canstatin 蛋白 3 $\mu$ g/mL组;B组:重组 Canstatin 蛋白 5 $\mu$ g/mL组;C:对照组。

表2 小鼠碱烧伤后各时间点 CNV 面积 ( $\bar{x}\pm s, mm^2$ )

组别	眼数	3d	7d	14d
C组	5	2.87±0.46	8.12±0.61	12.31±0.92
A组	5	2.08±0.42 <sup>b</sup>	7.02±0.66 <sup>b</sup>	10.97±0.83 <sup>b</sup>
B组	5	1.96±0.41 <sup>b</sup>	6.29±0.38 <sup>b</sup>	9.81±0.75 <sup>b,c</sup>
F		0.613	1.554	4.739
P		0.922	0.680	0.031

注:<sup>b</sup> $P<0.01$  vs C组;<sup>c</sup> $P<0.05$  vs A组;A组:重组 Canstatin 蛋白 3 $\mu$ g/mL组;B组:重组 Canstatin 蛋白 5 $\mu$ g/mL组;C:对照组。

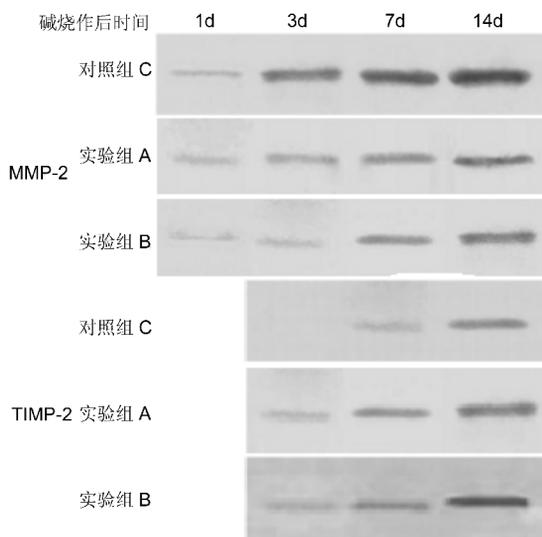


图1 小鼠碱烧伤后角膜 MMP-2 及 TIMP-2 的表达 A组:重组 Canstatin 蛋白 3 $\mu$ g/mL组;B组:重组 Canstatin 蛋白 5 $\mu$ g/mL组;C:对照组。

皮缺损,局部开始出现溃疡灶,第4~7d新生血管生长最明显,第7d开始基质炎症反应明显加重,局部坏死甚至出现角膜穿孔等症状。通过 Western-blot 分析发现角膜 MMP-2 的表达在碱烧伤后24h开始增加,尤其是角膜溃疡形成后溃疡处可见 MMP-2 表达显著增加,随后表达逐渐增强,于第14d达峰值,说明 MMP-2 表达的升高和角膜病变的严重程度是相对应的。已有研究显示小鼠碱烧伤后角膜细胞及浸润的炎性细胞可直接分泌产生 MMP-2<sup>[9]</sup>;而早期 TIMP-2 的表达并不明显,不足以抑制 MMP-2 的活性,证明 MMP-2 在碱烧伤早期积极参与了角膜组织的溶解破坏,通过破坏降解 ECM 促进新生血管及角膜溃疡的形成。

实验组在碱烧伤后角膜上皮损伤及 CNV 形成较对照组明显减少,MMP-2 的表达在碱烧伤后各个时间点均有明显下降( $P<0.01$ ),而 TIMP-2 的表达显著增加,且实验组角膜溃疡的严重程度也显著降低。Wang 等<sup>[10]</sup>研究发现碱烧伤小鼠模型行 Canstatin 治疗后第7d,ELISA 测定

表3 小鼠不同时间点角膜组织中 MMP-2 和 TIMP-2 条带灰度值分析  $\bar{x} \pm s$ 

分组		1d	3d	7d	14d
MMP-2	C 组	176.3±6.5	136.4±5.7	120.2±5.0	89.1±3.6
	A 组	182.8±6.4 <sup>b</sup>	172.3±4.4 <sup>b</sup>	133.6±2.6 <sup>b</sup>	119.2±3.1 <sup>b</sup>
	B 组	179.5±5.7 <sup>b</sup>	169.6±5.0 <sup>b</sup>	128.3±4.2 <sup>b</sup>	103.8±3.4 <sup>b,c</sup>
TIMP-2	C 组		207.7±3.7	168.9±3.5	122.8±3.2
	A 组		187.1±3.6 <sup>b</sup>	137.2±3.3 <sup>b</sup>	109.5±3.4 <sup>b</sup>
	B 组		166.4±3.9 <sup>b</sup>	121.7±3.5 <sup>b,c</sup>	94.5±4.5 <sup>b,c</sup>

注:<sup>b</sup> $P<0.01$  vs C 组;<sup>c</sup> $P<0.05$  vs A 组; A 组:重组 Canstatin 蛋白 3 $\mu$ g/mL 组; B 组:重组 Canstatin 蛋白 5 $\mu$ g/mL 组; C:对照组。

角膜 TNF- $\alpha$  含量明显降低,这也与我们的研究结果相一致。由此推测,重组 Canstatin 蛋白可能是通过促进角膜中 TIMP-2 的表达而抑制 MMP-2 的生成及活化,降低了 MMP-2 与 TIMP-2 的表达比例,抑制 ECM 含量的降低和组织结构的弱化,同时下调了某些细胞因子(如 IL-1、TNF- $\alpha$  等),直接或间接增加 TIMPs 的活性及表达,延迟细胞外基质的降解,防止或延缓角膜溃疡的发生发展,抑制角膜新生血管的形成。同时我们研究中也发现,实验组 TIMP-2 的表达水平随重组 Canstatin 蛋白浓度的增加而升高,其中在第 7d 和 14d 时 A 组与 B 组比较,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),而 A 组在碱烧伤后早期(第 3~7d)抑制 MMP-2 与 B 组间差异无统计学意义,B 组在第 14d MMP-2 含量明显降低,A 组和 B 组间比较差异有显著统计学意义( $P<0.01$ ),提示 3 $\mu$ g/mL 重组 Canstatin 蛋白在碱烧伤后早期明显抑制 MMP-2,但其有效性不足以维持到伤后第 14d,因此必须达到某个阈值才能起到连续抑制的作用,可能有浓度依赖关系。

本研究认为,碱烧伤后角膜病变的发生发展是一个复杂的病理过程,MMP-2 与 TIMP-2 在角膜组织中比例失衡可能只是各因素综合作用的结果或是其中的环节之一。我们研究发现,重组 Canstatin 蛋白在碱烧伤后早期可有效抑制明胶酶 MMP-2 表达,增加 TIMP-2 的表达,可能通过对 MMP-2/TIMP-2 的调节有效地抑制角膜炎症反应,降低角膜溃疡及新生血管的形成,并促进修复过程,减少角膜血管化、角膜穿孔等并发症的发生,对碱烧伤后角膜溃疡及瘢痕愈合、保护视力具有重要意义,但对其调节 MMP-2 和 TIMP-2 之间平衡的具体机制,尚有待于进一步研究。

#### 参考文献

- Azar DT. Corneal angiogenic privilege; angiogenic and antiangiogenic factors in corneal avascularity, vasculogenesis and wound healing. *Trans Am Ophthalmol Soc* 2006;104(1):264-302
- Kvanta A, Sarman S, Fagerholm P, et al. Expression of matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) and vascular endothelial growth factor (VEGF) in inflammation-associated corneal neovascularization. *Exp Eye Res* 2000;70(4):419-428
- Hwang-Bo J, Yoo KH, Park JH, et al. Recombinant canstatin inhibits angiopoietin-1-induced angiogenesis and lymphangiogenesis. *Int J Cancer* 2012;131(2):298-309
- 朱晶,程旭康. 重组 canstatin 蛋白对碱烧伤诱导的角膜新生血管的抑制作用. *中华实验眼科杂志* 2013;31(2):147-150
- Zhang H, Li C, Baciu PC. Expression of integrins and MMPs during alkaline-burn-induced corneal angiogenesis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2002;43(4):955-962
- Sivak JM, Fini ME. MMPs in the eye: emerging roles for matrix metalloproteinases in ocular physiology. *Prog Retin Eye Res* 2002;21(1):1-14
- Wong TT, Sethi C, Daniels JT, et al. Matrix metalloproteinases in disease and repair processes in the anterior segment. *Surv Ophthalmol* 2002;47(3):239-256
- Ikema K, Matsumoto K, Inomata Y, et al. Induction of matrix metalloproteinases (MMPs) and tissue inhibitors of MMPs correlates with outcome of acute experimental pseudomonal keratitis. *Exp Eye Res* 2006;83(6):1396-1404
- Li YY, Qian GS, Huang GJ, et al. Enhancement of antiangiogenic effects of human canstatin with a hypoxia-regulated transgene vector in lung cancer model. *Cancer J* 2006;12(2):136-146
- Wang Y, Yin H, Chen P, et al. Inhibitory effect of canstatin in alkali burn-induced corneal neovascularization. *Ophthalmic Res* 2011;46(2):66-72