

外伤性视神经病变的神经再生研究进展

陈海英 综述 黄正如 审校

215500 常熟市第二人民医院眼科

通信作者:黄正如,Email:hzzru@sina.com

DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2018.01.016

【摘要】 外伤性视神经病变(TON)是头面部外伤后视功能损害的重要原因之一。与成年哺乳动物中枢神经系统(CNS)神经元一样,视网膜神经节细胞(RGC)的轴突在视神经损伤后通常不能自发再生,从而导致不可逆的视功能丧失。RGC轴突不能再生的原因被归结为视神经损伤后RGC的凋亡、成熟神经元丧失固有的再生能力、缺乏合适的再生刺激信号、视神经损伤局部的抑制性细胞外微环境。本文阐述了激活RGC的再生潜能、阻断抑制轴突再生的信号传导、给予适当的再生刺激信号等途径促进视神经再生的研究现状,以及腺相关病毒为载体的基因治疗在视神经再生中的应用潜能。

【关键词】 外伤性视神经病变;神经再生;腺相关病毒;基因治疗

基金项目:江苏省卫生计划生育委员会面上项目(H201653);常熟市科学技术局重点项目(CS201616)

Research progress in neuroregeneration of traumatic optic neuropathy Chen Haiying, Huang Zhengru

Department of Ophthalmology, Changshu NO. 2 People's Hospital, Changshu 215500, China

Corresponding author: Huang Zhengru, Email: hzzru@sina.com

【Abstract】 Traumatic optic neuropathy (TON) is commonly associated with blunt ocular trauma and craniofacial injuries, leading irreversible visual impairment. Like other mammalian mature central nerve system (CNS) neurons, retinal ganglion cell (RGC) is normally unable to regenerate axon spontaneously after optic nerve injury. The failure of axon regeneration has been attributed to the apoptosis of RGC, loss of intrinsic growth capacity of mature neurons, lack of suitable stimuli, and inhibition of extracellular environment. Via activating the intrinsic growth capacity of mature RGC, overcoming the inhibitory extracellular environment of damaged optic nerve, and providing appropriate inflammatory stimuli to initiate the regeneration process, mature RGC can be transformed into an active regenerative state allowing these neurons to survive axotomy and to regenerate axons in the injured optic nerve. Moreover, exploiting gene therapy based on adeno-associated virus may be a promising translatable treatment strategy for TON.

【Key words】 Traumatic optic neuropathy; Neuroregeneration; Adeno-associated virus; Gene therapy

Fund program: Research Foundation of Jiangsu Provincial Commission of Health and Family Planning of China (H201653); Changshu Science and Technology Bureau of China (CS201616)

外伤性视神经病变(tramaumatic optic neuropathy, TON)是头面部外伤后视功能损害的重要原因之一。部分面部外伤患者视力能自然恢复,但常见的后果是永久性视功能损害。目前临床证据表明糖皮质激素治疗或视神经管手术减压术并无显著疗效^[1-2]。TON发生率仅有0.7%~2.5%^[3],但其中79%~85%是青壮年男性^[4],因此避免视神经损伤后的视功能损害是临床亟需解决的问题^[5]。由于成年哺乳动物的视神经损伤后,视网膜神经节细胞(retinal ganglion cell, RGC)的轴突通常不能自发再生,因而导致不可逆的视功能损伤。本文就促进视神经损伤后RGC的存活、激活RGC固有的再生能力、给予适当的再

生刺激信号,以及改善视神经损伤部位的细胞外微环境等方面综述促进视神经再生的研究现状。

1 阻止视神经损伤诱发的成熟RGC凋亡不能促进轴突再生

眶内视神经损伤后5~6d视网膜神经节细胞(retinal ganglion cell, RGC)开始不可逆地死亡,14d时仅有不到10%的RGC存活^[6]。视神经损伤后诱发RGC死亡的机制尚未完全明了,研究认为与轴突离断后剥夺中枢神经系统(central nervous system, CNS)的靶源性神经营养因子逆行运输至RGC胞体有关^[7],也与损伤导致一些信号分子、蛋白质合成并运输至RGC

胞体而启动凋亡有关^[8]。既往的研究集中于补充多种外源性神经营养因子,包括神经生长因子(nerve growth factor, NGF)、脑源性神经营养因子(brain-derived neurotrophic factor, BDNF)、营养因子 4/5 (neurotrophin 4/5, NT4/5) 和 NT3 以弥补轴突切断引起的靶源性神经营养因子剥夺。这些营养因子通过 RGC 酪氨酸激酶受体发挥不同程度的保护作用,其中 BDNF 对轴突切断后 RGC 存活的保护作用最强^[9]。其他一些营养因子也能通过各自的受体发挥 RGC 保护作用。研究表明,胶质源性营养因子(glia-derived neurotrophic factor, GDNF)能通过 RGC、Müller 细胞的 GDNF 家族受体 $\alpha 1$ (Ret/GFR $\alpha 1$) 保护 RGC 和光感受器细胞^[10]。但 BDNF 等营养因子对 RGC 的保护作用是暂时的,只是延迟了 RGC 的死亡,即使持续给予也不能避免 RGC 的死亡结局,更不能促进 RGC 轴突再生^[11]。RGC 存活是其轴突再生的先决条件,因此保护视神经损伤后的 RGC 免于死亡是促进视神经再生的基础。

2 发育成熟的 RGC 轴突再生能力低下的机制

近年来的研究表明,视神经损伤后轴突不能再生的原因除了轴突切断导致 RGC 凋亡外,还与视神经损伤处的生长抑制性环境、缺乏理想的再生刺激信号和成熟 RGC 丧失固有的再生能力有关^[11-12]。

2.1 视神经损伤后的局部抑制性环境不利于轴突再生

视神经纤维切断后存活的 RGC 不能自发地再生轴突,部分归因于 CNS 的抑制性环境。损伤的 RGC 轴突暴露于来自变性 CNS 髓磷脂的生长抑制性配体和初期的神经胶质瘢痕中。一些髓磷脂来源的抑制分子,包括 Nogo、髓磷脂相关糖蛋白(myelin-associated glycoprotein, MAG)、少突胶质细胞-髓磷脂糖蛋白(oligodendrocyte-myelin glycoprotein, OMgp),能结合于 Nogo-66 受体(Nogo receptor 1, NgR1)^[11]。NgR1 的配体-受体信号需要跨膜联合受体 p75NTR/TROY、LINGO-1/AMIGO-3,后继信号传导集中于 Ras 同源基因 A/rho 相关蛋白激酶(RhoA/ROCK)途径,并导致轴突生长锥的崩解^[13]。

视神经切断后损伤部位的胶质瘢痕在 8 d 内开始形成,神经胶质瘢痕的形成与小胶质细胞的肥大增生有关;也与脑膜成纤维细胞、巨噬细胞的聚集有关,其分泌抑制性分子,包括硫酸软骨素蛋白多糖(chondroitin sulfate proteoglycans, CSPG)、ephrins 和信号素。这些抑制性分子也通过其同族受体传导 RhoA 介导的生长抑制信号^[14]。髓磷脂和瘢痕来源的抑制因子分别通过调节 LIM 激酶/Cofilin 和糖原合成酶激酶(glycogen synthase kinase, GSK3 β) 信号途径导致轴突生长锥崩解^[15]。

2.2 再生能力的发育性下调致成熟的 RGC 轴突再生能力低下

在发育过程中,神经元轴突被导向它们的目标,在胚胎向成年转化的过程中中枢神经元轴突的再生能力下降以稳定突触联系^[16]。胚胎 RGC 的生长能力非常强,但在发育晚期显著下降,成年 RGC 的生长能力进一步降低并对轴突切断异常敏感^[17]。不是仅仅反应成熟 CNS 的抑制性环境,发育依赖性的生长能力下降是 CNS 神经元的内在特性^[18]。随着发育成熟,

几乎所有中枢神经元先天的生长能力发育性丧失,导致其损伤后的再生能力极其有限。目前,对 CNS 未成熟神经元的旺盛生长向成熟神经元停止生长转变的机制了解依然不多。已有研究显示,环磷酸腺苷(cyclic adenosine monophosphate, cAMP)、磷脂酰肌醇 3-激酶/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(phosphatidylinositol 3-kinase/mammalian target of rapamycin, PI3K/mTOR)、后期促进复合物(anaphase-promoting complex, APC)等的发育性下调与视神经再生能力的发育依赖性下降有关^[16]。

2.3 cAMP 的发育性下调影响 RGC 轴突的再生能力

cAMP 是细胞内信号传导的第二信使。在动物神经系统, cAMP 是发育过程中轴突生长能力的内在调节因子^[19]。胚胎神经元中内源性 cAMP 水平显著高于胚胎晚期的神经元,并在出生后降至更低水平^[20]。神经元内 cAMP 的水平与生长中的轴突对髓磷脂、MAG 的不同反应直接相关。研究表明,当胚胎神经元内 cAMP 高水平表达时, MAG 促进轴突生长;而出生后神经元内 cAMP 水平降低, MAG 又抑制轴突生长^[20]。研究也证实了出生后 1 d 的小鼠背根神经节神经元的细胞内 cAMP 水平与其神经突起在髓磷脂和 MAG 中生长呈正相关,但出生后 3~4 d 背根神经节神经元内 cAMP 水平急剧降低,与此同时髓磷脂和 MAG 也开始抑制神经突起的生长^[20]。因此,发育依赖的神经元 cAMP 下降与 CNS 髓磷脂相关因子抑制神经轴突生长直接相关。cAMP 能刺激细胞表面的生长因子受体聚集,下调细胞因子信号转导抑制因子 3(suppressor of cytokine signaling 3, SOCS3)的活性,增强癌钙调蛋白介导的轴突生长作用^[21-22]。但视神经损伤后 RGC 的 cAMP 水平进一步下降,在缺乏神经营养因子的情况下外源性 cAMP 不能促进神经元存活。神经元对 cAMP 的反应依赖于蛋白激酶 A(protein kinase A, PKA)和 cAMP 激活的交换蛋白(Epac)的不同信号。经 Epac 和 PKA 各自途径的 cAMP 介导的发育依赖信号为基础,轴突生长锥显示吸引或排斥,而且 Epac 信号促进成年脊柱神经元的轴突再生。

2.4 mTOR 活性的发育性降低导致 RGC 轴突再生能力的发育性下调

在成年动物 CNS 中,同源性磷酸酶-张力蛋白(phosphatase and tensin homolog, PTEN)主要表达于各种神经元,特别是浦肯野神经元、嗅冠和大伞形神经元。小鼠大脑内的 PTEN 在出生当天开始表达^[23]。PTEN 将磷脂酰肌醇 3,4,5 三磷酸(PIP3)脱磷酸化成磷脂酰肌醇 4,5 三磷酸(PIP2)而阻断 PI3K/蛋白激酶 B(protein kinase B, AKT)信号传导。mTOR 是 AKT 的下游信号调控对象,能调节发育过程中的蛋白合成和轴突生长^[24]。CNS 神经元 mTOR 的活性随发育过程下调,而发育成熟后残留的有限 mTOR 活性在视神经轴突切断后进一步下降^[19]。与之相反,周围神经系统的成熟神经元损伤后 mTOR 的活性升高,轴突也能良好地再生^[25-26]。mTOR 活性两阶段性下降的机制尚未阐明,但与 CNS 神经元轴突再生所需的蛋白质的合成下降有关。

2.5 Krüppel 类因子影响 RGC 轴突的再生能力

Krüppel 类因子(Krüppel-like factors, KLFs)是一类翻译因

子,已经被证实是 RGC 轴突生长的发育依赖性调节因子^[27]。斑马鱼能在视神经受伤后出现强烈的再生反应,而基因表达分析发现再生 RGC 中许多表达上调的基因,包括 *KLF6* 和 *KLF7*; 敲除 *KLF6* 和 *KLF7* 基因后轴突再生显著减弱^[28]。*KLF4* 是胚胎 RGC 轴突生长的强抑制因子,研究显示缺乏 *KLF4* 的 RGC 轴突生长能力增强;促进再生作用的 *KLFs6*、*KLF7* 在出生后下调,而生长抑制的 *KLFs4*、*KLF9* 于出生后上调^[29-30]。但 *KLFs* 如何影响 RGC 轴突再生能力以及是否与 mTOR 信号途径直接相关尚无明确的研究结论。

2.6 缺乏合适的再生刺激信号启动轴突再生

在胚胎发育阶段,中枢神经元的突起能长距离生长,并与大脑内的靶组织形成突触联系,这种旺盛的生长状态与某些基因的表达相关,也与一些特异性信号的激活有关^[27,31]。胚胎 RGC 在体内外均具有旺盛的轴突生长能力,但是这种生长能力在胚胎 21 d、出生后 2 d 显著下降并在成年后进一步降低^[17]。成年哺乳动物的 RGC 在轴突损伤后不能转为旺盛的再生状态^[32-33],即使消除或阻断细胞外的抑制信号也不能获得足够的再生能力^[34-35],证实了需要适当的刺激信号才能启动有意义的神经再生。

晶状体损伤能诱导轴突切断的 RGC 的显著再生反应,轴突切断导致的 RGC 凋亡明显延缓^[36],而且这些 RGC 的轴突能再生到移植的周围神经中^[37],也能在轴突切断或夹伤的抑制性环境中再生^[37]。基因芯片研究发现视神经损伤后 3~4 d, RGC 的一些再生相关基因的表达增高,表明这些轴突切断的 RGC 在晶状体损伤后转入了活化再生状态^[38]。进一步研究发现其机制为晶状体 β 和 γ 晶状体蛋白通过刺激星形胶质细胞和 Müller 细胞持续分泌睫状神经营养因子(ciliary neurotrophic factor, CNTF)和白血病抑制因子(leukemia inhibitory factor, LIF),并通过 PI3K/mTOR、Janus 激酶/信号转导子和转录激活子(Janus Kinases/signal transducers and activators of transcription 3, JAKs-STAT3)、丝裂原活化蛋白激酶/细胞外信号调节激酶(mitogen-activated protein kinase/extracellular signal regulated kinase, MAPK/ERK)途径 RGC 再生^[39-40]。玻璃体腔注射晶状体蛋白能诱导活化的巨噬细胞向眼内浸润^[32],说明这种刺激的本质是炎症。因此胶质细胞源性的 CNTF、LIF 是促进 RGC 存活和轴突再生的主要因子。

3 促进视神经再生的途径

RGC 轴突损伤后不能自发再生,但近十余年的研究表明成熟 RGC 在特定状态下能激活再生能力,使其能在轴突切断的情况下存活并再生相当长的轴突,虽然这些再生的轴突尚不足以恢复有用的视功能。已有研究显示,克服视神经损伤后的有害微环境、激活内在的再生潜能、给予适当的轴突再生刺激信号等的综合治疗是最有希望和效果的治疗方式。

3.1 激活 PI3K/mTOR 信号通路促进 RGC 轴突再生

研究显示 mTOR 的活性是 CNS 神经元轴突再生的内在决定因素之一^[41-42]。mTOR 活性丧失或许是 CNS 神经元损伤后轴突再生障碍的主要内在因素之一^[43-44]。激活 PI3K/mTOR

信号通路似乎是有效的神经保护和轴突再生的途径。已有研究显示, mTOR 是中枢神经元再生的决定性内在因素^[41-43]。*PTEN* 基因敲除和 AKT 活化后, mTOR 的活性提高。通过敲除 *PTEN* 基因能提高轴突切断后的 RGC 存活和刺激轴突再生^[44],其神经保护作用与晶状体蛋白的刺激作用相当^[45]。但是 mTOR 介导 CNTF、LIF 促进轴突再生的过程比较复杂。CNTF 和 LIF 通过 PI3K/mTOR 信号通路抑制轴突切断导致的 mTOR 活性下调,但是雷帕霉素抑制 mTOR 活性并不能在体外消除 CNTF 诱导轴突生长的作用,也不能在体内阻止 CNTF 诱导轴突切断的 RGC 转入再生状态^[11]。此外, TSC1 是 mTOR 上游信号的负调节因子,失活 TSC1 或敲除其基因的效应与敲除 *PTEN* 基因的效应相当。雷帕霉素只是影响 CNTF 诱导轴突切断的 RGC 长距离再生轴突,对长度较短的再生轴突并无影响,因此有研究认为 mTOR 活性对 RGC 维持再生状态尤为重要^[46]。mTOR 也通过 PI3K/AKT 信号通路参与轴突再生信号传导的调节^[46]。最近的研究显示, mTOR 复合物 1 能通过 AKT 信号通路促进视神经再生,而 mTOR 复合物 2 和 GSK3 β 却通过 AKT 信号通路抑制视神经再生^[47]。

3.2 阻断轴突再生的抑制性信号利于 RGC 轴突再生

髓磷脂相关抑制分子 Nogo-A、MAG、OMgp 以及胶质瘢痕分泌的 CSPG、ephrins、信号素等细胞内抑制信号最终集中于 RhoA/ROCK,通过 LIM 激酶传导和 Cofilin 刺激导致肌动蛋白解聚,最终肌动蛋白丝降解而是轴突生长锥溃变或失活^[48]。因此,直接阻断 RhoA/ROCK 的信号传导而不是拮抗各种抑制分子的受体或许更能有效地克服视神经损伤处的局部轴突生长抑制^[11]。ADP 核糖基转移酶 C3 能有效而不可逆地失活 RhoA。原代培养的 RGC 经 ADP 核糖基转移酶 C3 处理后能消除 MAG 对其轴突生长的抑制作用^[49];而应用 ADP 核糖基转移酶 C3 于视神经损伤部位后能使 RGC 轴突生长至损伤部远端^[50]。以腺相关病毒(adeno-associated virus, AAV)为载体的 RNA 干扰沉默 ROCK 基因也能有效促进视神经切断后的 RGC 轴突再生至损伤部远端^[51]。但消除损伤部位的抑制性信号只能引起适度的轴突生长,不能达到 RGC 轴突的功能性再生^[52]。

3.3 给予适当的再生刺激信号启动 RGC 轴突再生

CNTF 和 LIF 是视神经轴突再生的刺激信号的主要介导因子,因此促进星形胶质细胞和 Müller 细胞分泌或补充外源性 CNTF、LIF 能启动轴突切断的 RGC 的轴突再生。以病毒为载体的转基因手段能促使星形胶质细胞和 Müller 细胞持续分泌 CNTF 和 LIF,获得的轴突再生效果优于玻璃体腔注射外源性 CNTF 和 LIF 的效果^[32,40]。其原因可能是外源性 CNTF 和 LIF 的半衰期短,不能持续刺激 RGC 轴突生长。同时提高细胞内 cAMP 水平能抑制 SOCS3 的负反馈调节而协同提高 CNTF 和 LIF 的生长刺激作用^[53]。

3.4 利用 cAMP 的协同作用加强 RGC 轴突再生

cAMP 在神经元轴突生长和导向过程中发挥重要作用。中枢神经元 cAMP 水平的发育性下降使轴突在损伤后对抑制性信号异常敏感。cAMP 通过激活 cAMP 反应原件结合蛋白(cAMP response element binding protein, CREB)而上调一些生长

相关基因,如精氨酸酶 1 和 IL-6 的表达,这些基因的表达能促进损伤后的脊椎再生。但是单独应用 cAMP 并不能促进轴突损伤后的 RGC 存活,也不能刺激轴突明显再生^[19]。研究显示,cAMP 能刺激细胞表面的生长因子受体聚集,下调生长抑制因子 SOCS3 的活性^[21-22,53],因而能协同增强 *PTEN* 基因敲除、CNTF 等的轴突再生作用^[53-54]。

3.5 以 AAV 为载体的 TON 基因治疗

基因治疗是将外源性正确的 DNA 转导入基因缺陷细胞而改变其基因表达的治疗手段,包括基因添加、基因修正/改变、基因敲除/沉默。基因治疗的最终目的是将治疗基因只转导到受影响的靶细胞而恢复其至正常状态,但是靶细胞通常与邻近细胞密切相关,因此通常难以达到此目的。病毒载体具有通过假病毒而改变其细胞趋向性和通过细胞特异性启动子而将转到基因限制于靶细胞的特点。

AAV 具有无致病性、转基因表达时间长、转染细胞类型广泛、免疫原性弱的特点,是目前眼病基因治疗中应用最早、最广泛的转基因载体,其作为转基因载体治疗眼病的潜在可能性已经被一些临床试验所证实^[55-56]。AAV 是非致病性无包膜的微小病毒,衣壳内包含 1 条约 4.7 kb 的线性单链 DNA,包含 1 个内含子,病毒基因组的两端是 2 个开放性阅读框架,分别是 *rep* 基因和 *cap* 基因;3 个启动子分别为 P5、P19 和 P40;侧面是 2 条 145 bp 的末端反向重复序列 (ITR)。P5 启动子有 2 种 RNA 转录产物,它们通过不同的剪切方式编码生成 Rep78 蛋白和 Rep68 蛋白,在病毒的复制和基因的表达调控中起重要作用。重组 AAV 2 载体是由野生型病毒去除全部病毒编码序列 (*rep* 和 *cap*),并代之以报告基因或治疗基因。仅保留很短的 ITR 重组病毒基因并去除 *rep* 序列后,病毒不能在宿主体内进行复制转染,故基因可长时间表达。在重组 AAV 载体中,4.7 kb 的染色体绝大部分被去除,因此具有约 5 kb 的基因转运空间。眼球具有容易进行显微操作而容易给予载体、相对较小的封闭腔隙使少量载体能有效而稳定转染以及相对的免疫赦免状态使转基因表达相对稳定等作为基因治疗靶器官的优势,因此以 AAV 为载体是当前转基因治疗眼病的最优选择^[57-58]。近年来,不同血清型的 AAV 通过不同给药途径用于湿性年龄相关性黄斑变性、Leber 病、视网膜色素变性、Stargardt 病等眼科疾病的基因治疗已被报道^[59-60]。

不同血清型 AAV 经不同给药途径的细胞趋向性有所不同。经视网膜下注射时,AAV1、AAV2、AAV4、AAV5、AAV7、AAV8、AAV9 能转染 RPE 细胞;AAV2、AAV5、AAV7、AAV8、AAV9 能转染光感受器细胞;AAV8、AAV9 能转染 Müller 细胞。AAV5、AAV7、AAV8、AAV9 的转染效率和速度优于 AAV2,其中 AAV8 转染光感受器细胞的效能所有血清型中最高^[61]。但玻璃体腔注射时,唯一能有效转染 RGC 的血清型是 AAV2^[62],因此能将治疗基因转导至视网膜内层细胞。AAV2 也是目前为止治疗青光眼性视神经病变唯一合适的病毒载体^[63]。TON 与青光眼性视神经病变的共同病理特点是 RGC 凋亡,因此 AAV2 也是治疗外伤性视神经病变合适的病毒载体。近年来研究显示,AAV 衣壳表面的酪氨酸残基 (Y) 突变为苯丙氨酸 (F) 能显

著提高转染效率和速度^[64]。

不同血清型的 AAV 在 TON 轴突再生的基因治疗中得到应用。针对不同的靶细胞和不同的病理环节选择不同的 AAV 血清型和转导不同的治疗基因。Koch 等^[51]以 AAV2 为基因载体沉默 RhoA/ROCK 信号通路,使轴突切断后的 RGC 一定程度恢复轴突再生功能。为了促进 RGC 持续表达 CNTF 以刺激轴突再生,Hellström 等^[65]以 AAV2 为载体携带 *CNTF* 基因玻璃体腔注射转染 RGC,获得了一定距离的轴突再生。而以 AAV2 为载体转基因表达 CNTF 的同时介导 shRNA 干扰 RhoA 能使 RGC 轴突再生更长的距离^[66]。最近的研究显示,以 Y444F 突变的 AAV2 为载体介导 shRNA 沉默 *PTEN* 基因、上调 mTOR 复合物-1 的活性能刺激视神经纤维再生至视交叉^[67]。de Lima 等^[68]研究发现,以 AAV2 为载体条件敲除 *PTEN* 基因的同时球内注射酵母聚糖 (Zymosan) 和 cAMP 拟似物 8-对氯苯硫基环腺苷酸 (CPT-cAMP) 能促进 RGC 轴突再生至上丘脑,并恢复了一定的视觉感受。这些研究结果提示,以 AAV2 为载体针对多种因素的联合治疗在促进视神经再生中具有重要的应用价值。

4 总结

尽管在过去的 20 年中,视神经再生研究取得了巨大的进展,认识了成熟 RGC 轴突不能再生的分子机制,成功地克服了这些障碍并促进了视神经损伤后的 RGC 存活和诱导其轴突再生至 CNS。但这些研究成果和具有临床意义的视觉恢复仍有很大的差距。已有的途径只能使小部分的 RGC 轴突再生至脑内,而视觉功能性恢复需要更多的 RGC 在视神经损伤后存活并长距离轴突再生;再生的 RGC 轴突也需要精确地投射至视觉中枢并和中枢神经元重建准确的突触联系。因此,有必要探索新的促进视神经再生的途径。目前研究注重于激活 RGC 再生潜能和克服再生障碍而促进 RGC 存活及其轴突再生。在此基础上,联合中枢靶向诱导轴突再生或许是未来新的研究方向。

参考文献

- [1] Yu-Wai-Man P, Griffiths PG. Steroids for traumatic optic neuropathy [DB]. Cochrane Database Syst Rev, 2013, (6): CD006032. DOI:10.1002/14651858. CD006032. pub4.
- [2] Kumaran AM, Sundar G, Chye LT. Traumatic optic neuropathy: a review [J]. Craniomaxillofac Trauma Reconstr, 2015, 8(1): 31-41. DOI:10.1055/s-0034-1393734.
- [3] al-Qurainy IA, Stassen LF, Dutton GN, et al. The characteristics of midfacial fractures and the association with ocular injury: a prospective study [J]. Br J Oral Maxillofac Surg, 1991, 29(5): 291-301.
- [4] Lee V, Ford RL, Xing W, et al. Surveillance of traumatic optic neuropathy in the UK [J]. Eye (Lond), 2010, 24(2): 240-250. DOI: 10.1038/eye.2009.79.
- [5] Selvaraj VK, Viswanathan R, Devanathan V. Traumatic optic neuropathy-a conundrum [J/OL]. J Clin Diagn Res, 2016, 10(3): OD01-02 [2017-03-15]. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4843299/. DOI:10.7860/JCDR/2016/16612.7333.
- [6] Berkelaar M, Clarke DB, Wang YC, et al. Axotomy results in delayed death and apoptosis of retinal ganglion cells in adult rats [J]. J Neurosci, 1994, 14(7): 4368-4374.
- [7] Almasieh M, Wilson AM, Morquette B, et al. The molecular basis of retinal ganglion cell death in glaucoma [J]. Prog Retin Eye Res, 2012,

- 31(2) : 152-181. DOI:10.1016/j.preteyeres.2011.11.002.
- [8] Fernandes KA, Harder JM, Fornarola LB, et al. JNK2 and JNK3 are major regulators of axonal injury-induced retinal ganglion cell death [J]. *Neurobiol Dis*, 2012, 46(2) : 393-401. DOI:10.1016/j.nbd.2012.02.003.
- [9] Huang ZR, Guan HJ, Ding F, et al. Protective effects of nerve regeneration factor and brain-derived neurotrophic factor on retinal ganglion cells in a rabbit model of acute hyper-intraocular pressure [J]. *Neural Regen Res*, 2010, 5(6) : 445-449.
- [10] Kimura A, Namekata K, Guo X, et al. Neuroprotection, growth factors and BDNF-TrkB signalling in retinal degeneration [J]. *Int J Mol Sci*, 2016, 17(9) : 553-559. DOI:10.3390/ijms17091584.
- [11] Fischer D, Leibinger M. Promoting optic nerve regeneration [J]. *Prog Retin Eye Res*, 2012, 31(6) : 688-701. DOI:10.1016/j.preteyeres.2012.06.005.
- [12] Moore DL, Goldberg JL. Four steps to optic nerve regeneration [J]. *J Neuroophthalmol*, 2010, 30(4) : 347-360. DOI:10.1097/WNO.0b013e3181e755af.
- [13] Tan HB, Zhong YS, Cheng Y, et al. Rho/ROCK pathway and neural regeneration: a potential therapeutic target for central nervous system and optic nerve damage [J]. *Int J Ophthalmol*, 2011, 4(6) : 652-657. DOI:10.3980/j.issn.2222-3959.2011.06.16.
- [14] Tang BL. Inhibitors of neuronal regeneration: mediators and signaling mechanisms [J]. *Neurochem Int*, 2003, 42(3) : 189-203.
- [15] Fuchs C, Trazzi S, Torricella R, et al. Loss of CDKL5 impairs survival and dendritic growth of newborn neurons by altering AKT/GSK-3 β signaling [J]. *Neurobiol Dis*, 2014, 70 : 53-68. DOI:10.1016/j.nbd.2014.06.006.
- [16] Yang P, Yang Z. Enhancing intrinsic growth capacity promotes adult CNS regeneration [J]. *J Neurol Sci*, 2012, 312(1-2) : 1-6. DOI:10.1016/j.jns.2011.08.037.
- [17] Goldberg JL, Espinosa JS, Xu Y, et al. Retinal ganglion cells do not extend axons by default; promotion by neurotrophic signaling and electrical activity [J]. *Neuron*, 2002, 33(5) : 689-702.
- [18] Fields WS, Bell RM, Ellingson RJ, et al. Special procedures and equipment in the diagnosis and management of stroke [J]. *Stroke*, 1973, 4(1) : 111-137.
- [19] Benowitz LI, He Z, Goldberg JL. Reaching the brain: advances in optic nerve regeneration [J]. *Exp Neurol*, 2017, 287(Pt 3) : 365-373. DOI:10.1016/j.expneurol.2015.12.015.
- [20] Cai D, Qiu J, Cao Z, et al. Neuronal cyclic AMP controls the developmental loss in ability of axons to regenerate [J]. *J Neurosci*, 2001, 21(13) : 4731-4739.
- [21] Meyer-Franke A, Wilkinson GA, Kruttgen A, et al. Depolarization and cAMP elevation rapidly recruit TrkB to the plasma membrane of CNS neurons [J]. *Neuron*, 1998, 21(4) : 681-693.
- [22] Yin Y, Cui Q, Gilbert HY, et al. Oncomodulin links inflammation to optic nerve regeneration [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2009, 106(46) : 19587-19592. DOI:10.1073/pnas.0907085106.
- [23] Lachyankar MB, Sultana N, Schonhoff CM, et al. A role for nuclear PTEN in neuronal differentiation [J]. *J Neurosci*, 2000, 20(4) : 1404-1413.
- [24] Lu Y, Belin S, He Z. Signaling regulations of neuronal regenerative ability [J]. *Curr Opin Neurobiol*, 2014, 27 : 135-142. DOI:10.1016/j.conb.2014.03.007.
- [25] Christie KJ, Webber CA, Martinez JA, et al. PTEN inhibition to facilitate intrinsic regenerative outgrowth of adult peripheral axons [J]. *J Neurosci*, 2010, 30(27) : 9306-9315. DOI:10.1523/JNEUROSCI.6271-09.2010.
- [26] Abe N, Borson SH, Gambello MJ, et al. Mammalian target of rapamycin (mTOR) activation increases axonal growth capacity of injured peripheral nerves [J]. *J Biol Chem*, 2010, 285(36) : 28034-28043. DOI:10.1074/jbc.M110.125336.
- [27] Moore DL, Blackmore MG, Hu Y, et al. KLF family members regulate intrinsic axon regeneration ability [J]. *Science*, 2009, 326(5950) : 298-301. DOI:10.1126/science.1175737.
- [28] Morgan-Warren PJ, Berry M, Ahmed Z, et al. Exploiting mTOR signaling: a novel translatable treatment strategy for traumatic optic neuropathy? [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2013, 54(10) : 6903-6916. DOI:10.1167/iovs.13-12803.
- [29] Moore DL, Aparra A, Goldberg JL. Krüppel-like transcription factors in the nervous system: novel players in neurite outgrowth and axon regeneration [J]. *Mol Cell Neurosci*, 2011, 47(4) : 233-243. DOI:10.1016/j.mcn.2011.05.005.
- [30] Blackmore MG, Wang Z, Lerch JK, et al. Krüppel-like factor 7 engineered for transcriptional activation promotes axon regeneration in the adult corticospinal tract [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2012, 109(19) : 7517-7522. DOI:10.1073/pnas.1120684109.
- [31] Goldberg JL, Klassen MP, Hua Y, et al. Amacrine-signaled loss of intrinsic axon growth ability by retinal ganglion cells [J]. *Science*, 2002, 296(5574) : 1860-1864. DOI:10.1126/science.1068428.
- [32] Müller A, Hauk TG, Fischer D. Astrocyte-derived CNTF switches mature RGCs to a regenerative state following inflammatory stimulation [J]. *Brain*, 2007, 130(Pt 12) : 3308-3320. DOI:10.1093/brain/awn257.
- [33] Grozdanov V, Muller A, Sengottuvel V, et al. A method for preparing primary retinal cell cultures for evaluating the neuroprotective and neuritogenic effect of factors on axotomized mature CNS neurons [M]. *Curr Protoc Neurosci*, 2010(10), Chapter 3 : Unit3. 22.
- [34] Sengottuvel V, Fischer D. Facilitating axon regeneration in the injured CNS by microtubules stabilization [J]. *Commun Integr Biol*, 2011, 4(4) : 391-393. DOI:10.4161/cib.4.4.15552.
- [35] Sengottuvel V, Leibinger M, Pfeimer M, et al. Taxol facilitates axon regeneration in the mature CNS [J]. *J Neurosci*, 2011, 31(7) : 2688-2699. DOI:10.1523/JNEUROSCI.4885-10.2011.
- [36] Fischer D, Pavlidis M, Thanos S. Cataractogenic lens injury prevents traumatic ganglion cell death and promotes axonal regeneration both *in vivo* and in culture [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2000, 41(12) : 3943-3954.
- [37] Yin Y, Cui Q, Li Y, et al. Macrophage-derived factors stimulate optic nerve regeneration [J]. *J Neurosci*, 2003, 23(6) : 2284-2293.
- [38] Fischer D, Petkova V, Thanos S, et al. Switching mature retinal ganglion cells to a robust growth state *in vivo*: gene expression and synergy with RhoA inactivation [J]. *J Neurosci*, 2004, 24(40) : 8726-8740. DOI:10.1523/JNEUROSCI.2774-04.2004.
- [39] Liedtke T, Schwamborn JC, Schröer U, et al. Elongation of axons during regeneration involves retinal crystallin beta 2 (crybb2) [J]. *Mol Cell Proteomics*, 2007, 6(5) : 895-907. DOI:10.1074/mcp.M600245-MCP200.
- [40] Leibinger M, Müller A, Andreadaki A, et al. Neuroprotective and axon growth-promoting effects following inflammatory stimulation on mature retinal ganglion cells in mice depend on ciliary neurotrophic factor and leukemia inhibitory factor [J]. *J Neurosci*, 2009, 29(45) : 14334-14341. DOI:10.1523/JNEUROSCI.2770-09.2009.
- [41] Liu K, Lu Y, Lee JK, et al. PTEN deletion enhances the regenerative ability of adult corticospinal neurons [J]. *Nat Neurosci*, 2010, 13(9) : 1075-1081. DOI:10.1038/nn.2603.
- [42] Park KK, Liu K, Hu Y, et al. PTEN/mTOR and axon regeneration [J]. *Exp Neurol*, 2010, 223(1) : 45-50. DOI:10.1016/j.expneurol.2009.12.032.
- [43] Smith PD, Sun F, Park KK, et al. SOCS3 deletion promotes optic nerve regeneration *in vivo* [J]. *Neuron*, 2009, 64(5) : 617-623. DOI:10.1016/j.neuron.2009.11.021.
- [44] Park KK, Liu K, Hu Y, et al. Promoting axon regeneration in the adult CNS by modulation of the PTEN/mTOR pathway [J]. *Science*, 2008, 322(5903) : 963-966. DOI:10.1126/science.1161566.
- [45] Sun F, Park KK, Belin S, et al. Sustained axon regeneration induced by co-deletion of PTEN and SOCS3 [J]. *Nature*, 2011, 480(7377) : 372-375. DOI:10.1038/nature10594.
- [46] Leibinger M, Andreadaki A, Fischer D. Role of mTOR in neuroprotection and axon regeneration after inflammatory stimulation [J]. *Neurobiol Dis*, 2012, 46(2) : 314-324. DOI:10.1016/j.nbd.2012.01.004.
- [47] Miao L, Yang L, Huang H, et al. mTORC1 is necessary but mTORC2 and GSK3 β are inhibitory for AKT3-induced axon regeneration in the

- central nervous system [J/OL]. *Elife*, 2016, 5 : e14908 [2016-12-04]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4841781/>. DOI:10.7554/eLife.14908.
- [48] Lingor P, Teusch N, Schwarz K, et al. Inhibition of Rho kinase (ROCK) increases neurite outgrowth on chondroitin sulphate proteoglycan *in vitro* and axonal regeneration in the adult optic nerve *in vivo* [J]. *J Neurochem*, 2007, 103 (1) : 181-189. DOI:10.1111/j.1471-4159.2007.04756.x.
- [49] Lehmann M, Fournier A, Selles-Navarro I, et al. Inactivation of Rho signaling pathway promotes CNS axon regeneration [J]. *J Neurosci*, 1999, 19 (17) : 7537-7547.
- [50] Bertrand J, Winton MJ, Rodriguez-Hernandez N, et al. Application of Rho antagonist to neuronal cell bodies promotes neurite growth in compartmented cultures and regeneration of retinal ganglion cell axons in the optic nerve of adult rats [J]. *J Neurosci*, 2005, 25 (5) : 1113-1121. DOI:10.1523/JNEUROSCI.3931-04.2005.
- [51] Koch JC, Tönges L, Barski E, et al. ROCK2 is a major regulator of axonal degeneration, neuronal death and axonal regeneration in the CNS [J/OL]. *Cell Death Dis*, 2014, 5 : e1225 [2017-01-23]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4047920/>. DOI:10.1038/cddis.2014.191.
- [52] Geoffroy CG, Zheng B. Myelin-associated inhibitors in axonal growth after CNS injury [J]. *Curr Opin Neurobiol*, 2014, 27 : 31-38. DOI:10.1016/j.conb.2014.02.012.
- [53] Park KK, Hu Y, Muhling J, et al. Cytokine-induced SOCS expression is inhibited by cAMP analogue; impact on regeneration in injured retina [J]. *Mol Cell Neurosci*, 2009, 41 (3) : 313-324. DOI:10.1016/j.mcn.2009.04.002.
- [54] Kurimoto T, Yin Y, Omura K, et al. Long-distance axon regeneration in the mature optic nerve: contributions of oncomodulin, cAMP, and pten gene deletion [J]. *J Neurosci*, 2010, 30 (46) : 15654-15663. DOI:10.1523/JNEUROSCI.4340-10.2010.
- [55] Weleber RG, Pennesi ME, Wilson DJ, et al. Results at 2 years after gene therapy for RPE65-deficient Leber congenital amaurosis and severe early-childhood-onset retinal dystrophy [J]. *Ophthalmology*, 2016, 123 (7) : 1606-1620. DOI:10.1016/j.ophtha.2016.03.003.
- [56] Bainbridge JW, Mehat MS, Sundaram V, et al. Long-term effect of gene therapy on Leber's congenital amaurosis [J]. *N Engl J Med*, 2015, 372 (20) : 1887-1897. DOI:10.1056/NEJMoa1414221.
- [57] Igarashi T, Miyake N, Fujimoto C, et al. Adeno-associated virus type 8 vector-mediated expression of siRNA targeting vascular endothelial growth factor efficiently inhibits neovascularization in a murine choroidal neovascularization model [J]. *Mol Vis*, 2014, 20 : 488-496.
- [58] 姜晓璇. 视神经损伤后基因治疗技术的研究进展 [J]. *中华实验眼科杂志*, 2014, 32 (8) : 748-751. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2014.08.017.
- Jiang XX. Current researches in gene therapy for optic nerve injury [J]. *Chin J Exp Ophthalmol*, 2014, 32 (8) : 748-751. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2014.08.017.
- [59] Lipinski DM, Thake M, MacLaren RE. Clinical applications of retinal gene therapy [J]. *Prog Retin Eye Res*, 2013, 32 : 22-47. DOI:10.1016/j.preteyeres.2012.09.001.
- [60] Hauswirth WW. Retinal gene therapy using adeno-associated viral vectors: multiple applications for a small virus [J]. *Hum Gene Ther*, 2014, 25 (8) : 671-678. DOI:10.1089/hum.2014.2530.
- [61] Askou AL. Development of gene therapy for treatment of age-related macular degeneration [J]. *Acta Ophthalmol*, 2014, 92 Thesis3 : 1-38. DOI:10.1111/aos.12452.
- [62] Yin L, Greenberg K, Hunter JJ, et al. Intravitreal injection of AAV2 transduces macaque inner retina [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2011, 52 (5) : 2775-2783. DOI:10.1167/iovs.10-6250.
- [63] Harvey AR, Hu Y, Leaver SG, et al. Gene therapy and transplantation in CNS repair: the visual system [J]. *Prog Retin Eye Res*, 2006, 25 (5) : 449-489. DOI:10.1016/j.preteyeres.2006.07.002.
- [64] Peters-Silva H, Dinculescu A, Li Q, et al. Novel properties of tyrosine-mutant AAV2 vectors in the mouse retina [J]. *Mol Ther*, 2011, 19 (2) : 293-301. DOI:10.1038/mt.2010.234.
- [65] Hellström M, Pollett MA, Harvey AR. Post-injury delivery of rAAV2-CNTF combined with short-term pharmacotherapy is neuroprotective and promotes extensive axonal regeneration after optic nerve trauma [J]. *J Neurotrauma*, 2011, 28 (12) : 2475-2483. DOI:10.1089/neu.2011.1928.
- [66] Cen LP, Liang JJ, Chen JH, et al. AAV-mediated transfer of RhoA shRNA and CNTF promotes retinal ganglion cell survival and axon regeneration [J]. *Neuroscience*, 2017, 343 : 472-482. DOI:10.1016/j.neuroscience.2016.12.027.
- [67] Huang Z, Hu Z, Xie P, et al. Tyrosine-mutated AAV2-mediated shRNA silencing of PTEN promotes axon regeneration of adult optic nerve [J/OL]. *PLoS One*, 2017, 12 (3) : e0174096 [2017-03-23]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5360277/>. DOI:10.1371/journal.pone.0174096.
- [68] de Lima S, Koriyama Y, Kurimoto T, et al. Full-length axon regeneration in the adult mouse optic nerve and partial recovery of simple visual behaviors [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2012, 109 (23) : 9149-9154. DOI:10.1073/pnas.1119449109.

(收稿日期:2017-05-21 修回日期:2017-11-28)

(本文编辑:杜娟)

消息

新书《过敏性结膜炎》正式出版发行

北京大学第一医院眼科晏晓明教授和北京同仁眼科中心、北京市眼科研究所孙旭光教授共同主编的《过敏性结膜炎》一书已由人民卫生出版社正式出版。本书为“眼表疾病临床系列”中的一册,共分为3篇10章,内容包括结膜基础知识、过敏性结膜炎总论及各论。基础篇简要阐述了结膜解剖结构、组织学、结膜炎症及免疫反应等,以帮助读者更好地理解过敏性结膜炎的病理过程。另外,本书附增值服务,通过扫描书中二维码可观看结膜印记细胞学检查和结膜刮片检查方法等相关视频。总论部分涵盖了过敏性结膜炎的流行病学、分类、影响因素、病因、临床表现、诊断标准和程度分级,并根据程度分级所推荐的相应治疗原则。书中的各论部分详述了各型过敏性结膜炎的临床特征、诊断、鉴别诊断及治疗方案,其中首次系统地阐述了接触性过敏性结膜炎。本书图文并茂,附有疾病相关的典型图片约90帧以及各型过敏性结膜炎的典型病例,有助于眼科医生掌握疾病的诊治方法。本书约15万字,精装,彩色印刷,定价99.00元,全国各大新华书店、医药书店、当当网、卓越亚马逊网均有销售,也可登陆人民卫生出版社网站(<http://www.pmph.com>)、人民卫生出版社天猫旗舰店或联系人民卫生出版社销售部(电话:010-597872265/010-59787074)。

(晏晓明)