

微小 RNA 与视网膜发育相关性研究进展

刘晓晨 综述 吴敏 审校

650021 昆明医科大学第四附属医院眼科 云南省眼科疾病防治研究重点实验室 云南省第二人民医院白内障与眼底疾病防治省创新团队 云南省眼科研究所

通信作者:吴敏,Email:ynwumin@126.com

DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2017.08.021

【摘要】 微小 RNA(miRNA)是相对分子质量较小、性质稳定的 RNA,通过与目的 mRNA 的部分互补序列碱基互补配对而在转录后水平调节动物、植物的基因表达及抑制蛋白质合成。目前发现在视网膜中表达的 miRNA 有 200 多种,miRNA 对基因的表达调控影响了视网膜的正常发育,与神经视网膜的发生、视网膜光感受器的分型及正常数量维持、神经节细胞的存活及轴突生长、视网膜色素上皮层的发育均有密切联系。此外,miRNA 的调控还与视网膜损伤后的再生有关。miRNA 对视网膜发育的调控主要通过直接靶向调节与此有关的某些目的基因的表达,或通过调节某些信号通路组分来实现,在视网膜发育过程中,miRNA 功能的正常发挥为视网膜正常形态结构的形成提供了保障,从而为其发挥正常的生理功能提供了物质基础。现就脊椎动物视网膜中 miRNA 的生物学功能与视网膜发育的相关性研究进展进行综述。

【关键词】 微小 RNA; 神经视网膜; 视网膜色素上皮; 视网膜发育

Research progress on correlation between microRNA and retinal development Liu Xiaochen, Wu Min

Department of Ophthalmology, the Fourth Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Key Laboratory of Yunnan Province for the Prevention and Treatment of Ophthalmology, Provincial Innovation Team for Cataract and Ocular Fundus Disease, The Second People's Hospital of Yunnan Province, Yunnan Eye Institute, Kunming 650021, China

Corresponding author: Wu Min, Email: ynwumin@126.com

【Abstract】 MicroRNAs (miRNAs) are small, stable RNA molecules that post-transcriptionally regulate gene expression in plants and animals by base pairing to partially complementary sequences on target mRNAs to inhibit protein synthesis. More than 200 miRNAs are reportedly expressed in the retina, and miRNA gene regulation has been shown to affect retinal development and is related to the development of both neural retina and retinal pigment epithelium, their gene-regulating function is also closely tied with the differentiation and the survival of both photoreceptor and retinal ganglion cells. Furthermore, miRNA gene regulation is also associated with retinal regeneration after injury. MiRNA controls the development of retina mainly by direct regulating the expression of some related target gene or by adjusting the components of certain signaling pathways. During the development of retina, the normal function of miRNA ensures the correct structure formation of retina, which also provides a substance basis for its normal physiological function. Herein we reviewed the recent research progress of the relevance between functional roles of retinal miRNAs and the retinal development of vertebrate.

【Key words】 MicroRNA; Neural retina; Retinal pigment epithelium; Retinal development

微小 RNA (microRNA, miRNA) 是一种长 20 ~ 25 个碱基、性质稳定的 RNA, 通过与目的 mRNA 部分互补序列碱基互补配对结合而在转录后水平抑制 mRNA 的翻译并影响其稳定性。miRNA 在秀丽隐杆线虫中首次被发现^[1-3], 在动物、植物中均大量表达并参与基因表达的调节^[4-7]。miRNA 首先在细胞核内由独立存在的基因或编码蛋白质基因的内含子转录形成含有发夹样结构的初级 miRNA (primary miRNA, pri-miRNA) 并被“微处理器”复合物识别, 在核内被 Drosha 酶剪切为含约 70 个

碱基的前体 miRNA (precursor microRNA, pre-miRNA), 这些 pre-miRNA 被核输出蛋白 5 运输至细胞质后, 最终在 Dicer 酶的催化下形成成熟的 miRNA^[8-9]。成熟的 miRNA 被装配入 miRNA 沉默诱导复合物 (RNA-induced silencing complex, RISC), 其核心组件包括与 miRNA 直接结合的 AGO 蛋白家族、抑制 mRNA 翻译及降解 mRNA 的 GW182 蛋白家族^[10-13]。RISC 通过 miRNA 与目的 mRNA 的结合位点 (通常为 3' UTR) 不完全互补配对而抑制其翻译或将其降解。与视网膜复杂的生理功能一

致,哺乳动物视网膜中的 miRNA 转录组分析也呈现出多样性,视网膜内大量不同种类的 miRNA 通过在转录后水平调控基因的表达,对视网膜的正常发育起着至关重要的作用。本文就 miRNA 在脊椎动物(主要为哺乳动物模型)视网膜中的生物学作用及其与神经视网膜和视网膜色素上皮(retinal pigment epithelium, RPE)发育相关性的研究进展进行综述。

1 miRNA 在脊椎动物视网膜中的表达

研究发现,miRNA 在多种脊椎动物的视网膜中均有表达,且在其不同发育阶段及不同部位的表达有较大差异。Xu 等^[14]对小鼠视网膜、脑及心脏组织进行比较性研究发现,至少有 78 种 miRNA 在成年小鼠视网膜中表达,其中,miR-96、miR-182、miR-183、miR-184、miR-210 和 miR-140-AS 为小鼠视网膜特异表达的 miRNA,且 miR-183、miR-182、miR-96、miR-9_AS、miR-184、miR-211、miR-151_AS 和 miR-140_AS 的表达随小鼠的胚胎发育逐渐增加。Loscher 等^[15]利用 miRNA 芯片技术检测出小鼠视网膜中 miR-691 和 miR-26b 的表达。Wienholds 等^[16]发现斑马鱼视网膜全局均有 miR-9、miR-216、miR-217 和 miR-155 的表达,miR-182、miR-183 和 miR-96 仅表达于视网膜感光细胞、双极细胞和内核层;miR-213、miR-181a、miR-181b 在视网膜神经节细胞(retinal ganglion cells, RGCs)层表达,而 miR-124a 在视网膜发育的各个阶段均有表达,Kapsimali 等^[17]对斑马鱼视网膜中表达的 miRNA 进行分析,发现 miR-184 在 RPE 中呈高表达;miR-182、miR-183 和 miR-96 在视网膜光感受器细胞和内核层的中间神经元表达;miR-204 在 RPE 层、RGCs 层和内核层的无长突细胞表达显著;miR-29c 在光感受器细胞和双极细胞表达显著;miR-181a 在 RGCs 层和内核层表达。Kutty 等^[18]发现 let-7b、let-7a、miR-125b、miR-24、miR-320、miR-23b、let-7e 和 let-7d 为正常人 RPE 内表达丰富的 miRNA,这些 miRNA 与调节细胞生长、分化和发育有关。

2 miRNA 与视网膜的发育

脊椎动物的中枢神经系统发育为有序的不同神经元和神经胶质细胞的发育构成,这种特征在视网膜中表现得最为明显。在视网膜发育过程中,视网膜祖细胞(retinal progenitor cells, RPCs)通过不断改变细胞的表型和功能而实现组织特定顺序的发育。研究发现,小鼠视网膜按照特定模式发育与特定的 miRNA 作用有关,其中,let-7、miR-125 和 miR-9 在调控 RPCs 发育分化方面起着关键作用,他们通过靶向抑制 Protogenin (Prtg)和 Lin28b 的表达而促进 RPCs 的分化和发育,而 Prtg 和 Lin28b 的过表达均可使视网膜停滞在发育的早期阶段^[19]。近期研究也表明,Let-7 可能通过抑制大鼠 RPCs 自我更新时产生的一种 DNA 结构蛋白——高迁移率族蛋白 A2(high mobility group A2, Hmga2)的表达起到共同促进 RPCs 向视网膜神经细胞及 Müller 细胞分化的作用,从而促进大鼠视网膜的发育^[20]。与此相反,miR-7a 对小鼠视网膜 Müller 细胞的分化主要起抑制作用,其功能的发挥主要通过下调 Notch3 的表达实现^[21]。Conte 等^[22]研究发现,选择性敲除 miR-204 的青鳉鱼导致其小

眼畸形、晶状体形成异常、视网膜背腹侧(D-V)极性形态改变、视杯发育异常及眼组织缺损的发生,分析可能的原因为敲除 miR-204 的青鳉鱼胚胎 Meis2 靶向上调,引起下游分子 Pax6 表达升高^[23],诱导上述眼部发育缺陷的发生,且这种发育缺陷可通过改变 Meis2 及 Pax6 的表达水平来补救。Olena 等^[24]近期发现,miR-216a 可以通过靶向抑制 snx5 的表达而在斑马鱼视网膜发育过程中调控 Notch 信号通路的传递,从而影响视网膜的发育。上述研究表明,miRNA 可通过靶向调控不同目的基因的表达而直接影响哺乳动物的视网膜发育,或通过调节某些信号通路中的某个或某几个组分的表达而间接促进视网膜向正常的形态结构发育,以便发挥其正常的生理功能。

2.1 miRNA 与神经视网膜的发育

miRNA 参与调控哺乳动物神经视网膜不同组织的发育可能通过抑制细胞凋亡及抑制某些生物因子的表达而维持其形态学结构的发育,并阻止其向其他组织的分化,对眼的正常形态发生和功能发挥起到重要作用。Hu 等^[25]研究发现,在小鼠未分化的 RPCs 中,miR-9 表达水平较低,但当其进入分化过程后,表达水平迅速上调,过表达的 miR-9 通过靶向下调核受体 TLX 的表达而抑制 RPCs 的增生,同时,促进 RPCs 向神经元和神经胶质细胞的分化,而抑制 TLX 的表达引起 miR-9 表达上调,进一步促进 RPCs 的分化,miR-9 与 TLX 之间的正反馈调节能更好地促进和维持 RPCs 的分化向着单方向进行。Walker 等^[26]研究发现,表达于非洲爪蟾神经视网膜的 miR-24a 可能通过靶向抑制促凋亡因子 apaf1 和 caspase9 的表达而抑制视网膜发育过程中细胞的程序性死亡,在非洲爪蟾眼球发育过程中,降低 miR-24a 的表达水平可引起视网膜细胞的凋亡显著增加,眼球缩小。另外,在非洲爪蟾胚胎视网膜发育早期阶段大量表达的 miR-129、miR-155、miR-214 和 miR-222,可通过抑制 Xotx2 和 Xvsx1 的翻译而抑制视网膜双极细胞的分化^[27]。Xu 等^[14]研究发现,小鼠染色体 6qA3 上由同一 pri-miRNA 多顺反子加工而成的、在感觉器官特异表达的同源 miRNA 簇 miR-96/-182/-183 与人 7q32.2 染色体具有共线性,在出生后小鼠视网膜光感受器细胞、双极细胞、无长突细胞中均大量表达,在成熟视网膜内表达量达高峰。在神经 RPCs 和成熟双极细胞中表达的转录因子 Chx10 可能通过与 miR-96/-182/-183 基因簇启动子结合而增强其表达,从而抑制人小眼畸形相关转录因子(microphthalmia-associated transcription factor, MITF)的翻译;另一方面,Chx10 依赖性成纤维生长因子信号对神经视网膜中 MITF 的表达也有重要的抑制作用,Chx10 缺乏的小鼠,因神经视网膜祖细胞中 MITF 的过表达而丧失形态和功能特征,向着“RPE 样”细胞转化,上述因 miR-96/-182 缺乏所导致的神经视网膜发育的异常形态学变化证实了 miR-96/-182 通过直接靶向调节 MITF 的表达水平对出生后神经视网膜细胞分化起重要作用^[27]。

2.1.1 miRNA 参与视网膜光感受器细胞的分化 Daido 等^[28]研究发现,miR-726 和 miR-729 对光感受器细胞亚型的分化具有潜在的调节作用。在日本青鳉鱼视网膜内,编码 miR-726 和 miR-729 的基因分别位于红视蛋白基因 *LES-A* 和紫外视蛋白基

因 *SWS1* 内,且在特定的视锥细胞亚型中,这些 miRNA 与其相应的视蛋白共同表达,并受共同的顺式作用元件调节,而 miR-726 和 miR-729 的预测调节靶点为一些调节光感受器发育的转录因子,推测视网膜光感受器细胞的发育分型受到转录及转录后水平的共同调节。视锥细胞外节对外界光线的吸收为色觉产生的重要基础,miR-182/183 的表达量占视锥细胞表达的所有 miRNA 总量的 68%,miR-182/183 的足量表达对视锥细胞外节的形态维持、内节及连接纤毛的形成、干细胞源性的视网膜细胞光应答都必不可少,miR-182/183 的预测靶基因与细胞膜运输、脂质代谢及纤毛形成有关,miR-182/183 表达不足所引起的视锥细胞外节形态及功能异常可能与 miR-182/183 缺乏引起的膜代谢异常,最终引起细胞膜向视锥细胞末端流动异常有关^[29]。miR-183/96/182 敲除的动物,不仅 *Arr3* 和 *Opn1mw* 等与视锥细胞光传导相关的基因表达减低^[30],视锥细胞特异性基因的表达也发生下调^[31],说明 miR-182/183 的缺失将使视锥细胞失去其基因特征。此外,miR-124a 通过靶向抑制 *LHX-2* 的表达在小鼠视网膜发育中抑制细胞凋亡,尤其与维持视锥细胞的增生有关^[32]。由上述研究可知,miRNA 在视网膜光感受器的分型,视锥细胞的正常分化及形态结构形成、膜代谢及正常光应答,视锥细胞正常的数量维持中均起着重要的调节作用。

2.1.2 miRNA 参与维持视网膜神经节细胞存活并促进轴突生长 在哺乳动物视网膜的发育过程中,miRNA 对 RGCs 的发育也起着重要的调节作用,其调节功能主要与对转录因子 *Brn-3b*、*Sema-3A*、*Rho* 家族 GTP 酶激活蛋白 (GTPase-activating protein, GAP) p250 的表达调控及对 MAPK/ERK 信号通路的负性调节有关,miRNA 对 RGCs 发育的调节并非为其单独作用的结果,也与其他生物活性物质联合作用以达到其调节目的。国外研究发现,各种原因引起的转录因子 *Brn-3b* 下调导致的细胞死亡与 *casepase-3/7* 表达增多有关,*Brn-3b* 在细胞内起着抑制细胞凋亡的作用。近年研究发现,在 RGC-5 细胞系内 *Brn-3b* mRNA 的下调必须由 miR-23 和 miR-124 共同参与才能完成^[33],而 miR-23a 和 miR-374 在视网膜发育的早期阶段 (E10 ~ 19、PN1 ~ 7) 及成熟视网膜中表达上调,协同调节 *Brn3b* 的表达,使得 *Brn3b* 在 RGCs 发育过程中形成了 2 个表达峰^[34],在 E14 形成的第 1 个表达峰促使大量 RGCs 的产生,在视网膜发育的中间阶段,RGCs 内 *Brn3b* 表达下调,诱导 RGCs 大量凋亡或分化为其他细胞,而发生于 PN1 阶段的第 2 个 *Brn-3b* 表达峰维持经历中间阶段剩余的 RGCs 存活,并促进其分化和轴突延长,这 3 个阶段构成了 RGCs 分化的完整过程^[35]。多种 miRNA 对 *Brn-3b* 的协同调节作用可能是一个防止具有维持 RGCs 存活功能的分子被意外下调的安全调控机制。*Sema3A* 是一种强有力的轴突导向和神经损伤修复抑制因子,并可诱发神经生长锥的崩解、轴突延长不良及神经祖细胞的凋亡^[36],近期研究发现,miR-30b 可靶向抑制 *Sema3A* 的表达而促进 RGCs 的生长,但 *Sema3A* 的表达可能不仅受 miR-30b 的调节^[37]。Baudet 等^[38] 研究发现,miR-124 通过靶向抑制 *CoREST* 的表达而促使神经营养因子 1 (neurotrophic factor 1, NR1) 的表达上调,进而提高非洲爪蟾 RGCs 轴索生长锥对 *Sema3A* 的敏感性来控制其生

长。RGCs 随着轴索生长锥的生长阶段不同而改变对某些因子的敏感性,开始时表现出对 NPR——*Netrin-1* 的敏感性,而对生长抑制物 *Sema3A* 和 *Slit2* 不敏感,随着神经纤维的生长这种情况可发生逆转,神经纤维的这种自我调节帮助其更好地适应环境并有序生长。在小鼠 RGCs 中,脑源性 NPR 可引起 miR-132 表达上调,过表达的 miR-132 通过靶向抑制 GAP p250 的表达,从而促进 RGCs 轴突分支形成及 RGCs 轴突与上丘和顶盖的联接^[39]。此外,Carrella 等^[40] 研究发现,miR-181a/b 在青鳉鱼视网膜发育中起到调节视网膜轴突特化及发育的重要作用,其通过对 MAPK/ERK 信号通路的负性调节作用诱导 RhoA 蛋白的下调,继而引发 RGCs 及无长突细胞的细胞骨架重排并促进其神经突生成,为视网膜内丛状层的正常发育所必需。视网膜发育过程中,miR-181a/b 的缺失导致无长突细胞轴索发育障碍及 RGCs 轴突发育的延迟,这些形态学的改变最终引发视功能的丧失。刘中男等^[41] 研究发现,在大鼠视网膜缺血-再灌注损伤模型中,miR-181a 表达量与 RGCs 数量均随着缺血-再灌注时间的延长而明显降低,miR-181a 可能参与 RGCs 凋亡的调控,*TNF- α* 是其可能的下游靶基因之一。miRNA 在 RGCs 的正常形态学发育中起着非常重要的作用。

2.2 miRNA 与 RPE 细胞的发育

RPE 在眼部参与构成血-视网膜屏障,参加血液与光感受器细胞之间的物质转运,并将视网膜下多余水分转运至血管内,保持视网膜的相对干燥状态,具有吸收多余的光线、分泌生长因子、吞噬光感受器细胞外节等功能。近期有研究表明,在人胚胎干细胞 (human embryonic stem cells, hESCs) 分化为 RPE 的过程中,有 21 种 miRNA 发生上调,而这些 miRNA 可能与促进 RPE 的分化有关,其中,大部分 RPE 特征性表达的 miRNA (miR-184, miR-200b, miR-222, miR-204) 在分化过程中发生上调^[42],而下调的 49 种 miRNA (如 miR-300) 多与维持细胞的多能性有关,研究者运用生物医学预测软件得知,一些 RPE 的特征性基因为下调的 miRNA 的作用靶点,暗示 RPE 的正常分化发育可能通过下调一些 mRNA 的表达,从而促进 RPE 特征性基因的表达来完成^[43]。miR-204/miR-302 家族成员 (miR-302a-d) 在 hESCs 向 RPE 的分化过程中自始至终发生明显下调,miR-204 在发育过程中通过维持 Wnt/ β -catenin 信号通路的激活状态而促进视网膜发育^[42]。miR-302 对维持干细胞多功能分化潜能具有重要作用^[44],miR-302 在 hESCs 的分化过程中发生下调导致其对转化生长因子 β_2 受体 (transforming growth factor beta receptor type 2, TGFBR2) 的抑制减弱, TGFBR2 蛋白表达增多而促进细胞的分化。除此之外,这些表达改变的 miRNA 预测的调控靶点与 TGF- β 通路的不同组分有关,暗示了 miRNA 介导的对 TGF- β 通路调控在 RPE 发育中的作用。Adijanto 等^[45] 研究发现,由于 MITF 调控包含着 miR-211 pri-miRNA 序列的 *TRPM1* 基因转录,因此,在 RPE 中高度表达的 miR-204 和 miR-211 可通过 MITF 依赖途径促进 RPE 细胞的分化,并维持 PRE 细胞的分化状态, MITF 突变的小鼠因视网膜背侧部 RPE 的终末分化受阻和 RPE 前体细胞向视网膜神经细胞的转化而致小眼畸形。Loscher 等^[15] 分析了视网膜色素变性

(retinitis pigmentosa, RP)小鼠模型视网膜 miRNA 的表达谱,与野生型比较,其视网膜特异性 miRNA 的表达量仅有野生型小鼠的一半,miR-96 和 miR-183 的表达量较正常增加了 3 倍,上调的 miRNA 可能通过抑制 MITF 的表达而诱导 RP 的发生。对 RPE Dicer1 条件性突变(缺陷)的小鼠进行研究发现^[46],小鼠 RPE 中所表达的对视网膜功能有显著影响的 4 种 miRNA 家族 miR-221/222、miR-20b/106a、miR-155、miR-204/211 均发生明显下调,而这些 miRNA 的改变虽然对于 RPE 细胞的形成和存活无明显影响,但却为 RPE 细胞的正常发育及生物学特性的获得所必需,Dicer1 缺陷的小鼠发生 RPE 分化停滞,可能与上述几种 miRNA 下调引起 Otx1、Pax6 和 Meis2 的表达水平升高有关。Dicer-1 缺陷的小鼠 RPE 中,视觉循环通路相关基因 *Rpe65* 和 *Lrat*、色素沉着相关基因 *MlanA* 和 *Gpr143* 及细胞黏附相关基因 *Cdh4* 和 *Itgal1* 的表达均发生下调。此外,RPE 中所表达的 miRNA 对临近光感受器细胞的成熟,尤其是外节的形态发生是必需的,大部分缺乏 PRE 的其他干细胞,如胚胎干细胞诱导分化的光感受器并无细胞外节形成^[47],这也证明了 RPE 中表达的 miRNA 对光感受器细胞发育成熟的必要性。miRNA 的调节不仅促使 RPE 向着正确的方向分化,也为其功能的正常发挥提供了形态学基础,视网膜光感受器的正常发育也依赖于临近 RPE 所产生的 miRNA 的作用。

3 miRNA 与视网膜的再生

近期对斑马鱼视网膜损伤后发生的视网膜再生的研究发现,其视网膜的再生分为以下 2 个步骤:(1) Müller 细胞去分化,且发生非对称性分裂以产生 RPCs 群^[48];(2) Müller 细胞源性的 RPCs 增生、移行至损伤的视网膜层并发生特定分化,let-7 表达水平下调促进 Müller 细胞去分化的发生^[49]。一些多潜能性诱导因子及再生相关基因在未受损伤视网膜 Müller 细胞中的低表达状态也暗示了 let-7 通过抑制相关基因在维持正常 Müller 细胞分化状态中的作用。Rajaram 等^[50]研究发现,miR-203 通过靶向抑制 pax6b 的表达而起到抑制 Müller 细胞源性 RPCs 增生的作用,而不影响 Müller 细胞的去分化过程,因此在斑马鱼视网膜再生时必须下调 miR-203 的表达水平,才能促使 Müller 细胞源性的 RPCs 增生形成细胞群。miR-142b、miR-146a、miR-7a、miR-27c 和 miR-31 的表达下调抑制了斑马鱼视网膜光损伤后内核层的修复,表明斑马鱼视网膜损伤后的再生与其他 miRNA 的作用也有密切联系^[51],在斑马鱼视网膜光损伤修复时敲除 Dicer 酶的表达致使 Müller 细胞源性的 RPCs 大量减少,也证明了 miRNA 在斑马鱼视网膜再生中的重要作用。斑马鱼的视网膜再生主要通过 Müller 细胞的去分化及再生形成,而所有的哺乳动物视网膜中均存在 Müller 细胞使人视网膜损伤后的再生成为可能^[52],但目前还未发现人视网膜存在类似情况,而是是否可以通过改变人视网膜中某些 miRNA 的表达量来实现人视网膜再生这一过程尚不清楚。

4 结论与展望

对于脊椎动物视网膜发育及胚胎干细胞向着视网膜细胞

分化的研究表明,特定的 miRNA 通过在不同的视网膜组织及视网膜发育的不同阶段发生上调或下调,进而靶向调节与视网膜发育密切相关的某些蛋白质分子,对视网膜的正常发育及视网膜细胞获得正常的组织学形态和生物学功能起重要作用。视网膜不同组织的发育对同一分子的表达水平有着不同的需求,而这些分子的表达变化均伴随有 miRNA 的变化。此外,一些 miRNA 的转录基因存在于某些视网膜细胞内的功能蛋白基因中,并受共同的顺式作用元件调节,这种细胞的发育分化可能受到转录及转录后水平的公共调节。miRNA 对视网膜发育的调控及对斑马鱼视网膜损伤后发生视网膜再生的研究使人视网膜损伤后的再生成为可能。但目前有关哺乳动物视网膜 miRNA 的研究尚处于起步阶段,主要研究内容为对某一组织的 miRNA 表达谱或发育过程中 miRNA 表达谱的变化进行分析,对于单个 miRNA 在视网膜发育中的作用也有一些涉及,miRNA 的研究主要通过 miRNA 的功能预测软件分析后对其预测靶基因所表达的蛋白质进行定量检测,研究方式相对单一。未来更加多元化的研究手段和对视网膜中多种 miRNA 之间的相互影响及其所形成的庞大调控网络在视网膜发育中所发挥作用的研究将有助于进一步揭示其在视网膜发育中的作用。

参考文献

- [1] Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V. The *C. elegans* heterochronic gene lin-4 encodes small RNAs with antisense complementarity to lin-14 [J]. *Cell*, 1993, 75 (5) : 843-854.
- [2] Wightman B, Bürglin TR, Gatto J, et al. Negative regulatory sequences in the lin-14 3'-untranslated region are necessary to generate a temporal switch during *Caenorhabditis elegans* development [J]. *Genes Dev*, 1991, 5 (10) : 1813-1824.
- [3] Wightman B, Ha I, Ruvkun G. Posttranscriptional regulation of the heterochronic gene lin-14 by lin-4 mediates temporal pattern formation in *C. elegans* [J]. *Cell*, 1993, 75 (5) : 855-862.
- [4] Lagos-Quintana M, Rauhut R, Lendeckel W, et al. Identification of novel genes coding for small expressed RNAs [J]. *Science*, 2001, 294 (5543) : 853-858. DOI: 10. 1126/science. 1064921.
- [5] Lau NC, Lim LP, Weinstein EG, et al. An abundant class of tiny RNAs with probable regulatory roles in *Caenorhabditis elegans* [J]. *Science*, 2001, 294 (5543) : 858-862. DOI: 10. 1126/science. 1065062.
- [6] Lee RC, Ambros V. An extensive class of small RNAs in *Caenorhabditis elegans* [J]. *Science*, 2001, 294 (5543) : 862-864. DOI: 10. 1126/science. 1065329.
- [7] Pasquinelli AE, Reinhart BJ, Slack F, et al. Conservation of the sequence and temporal expression of let-7 heterochronic regulatory RNA [J]. *Nature*, 2000, 408 (6808) : 86-89. DOI: 10. 1038/35040556.
- [8] Newman MA, Hammond SM. Emerging paradigms of regulated microRNA processing [J]. *Genes Dev*, 2010, 24 (11) : 1086-1092. DOI: 10. 1101/gad. 1919710.
- [9] Siomi H, Siomi MC. Posttranscriptional regulation of microRNA biogenesis in animals [J]. *Mol Cell*, 2010, 38 (3) : 323-332. DOI: 10. 1016/j. molcel. 2010. 03. 013.
- [10] Braun JE, Huntzinger E, Fauser M, et al. GW182 proteins directly recruit cytoplasmic deadenylase complexes to miRNA targets [J]. *Mol Cell*, 2011, 44 (1) : 120-133. DOI: 10. 1016/j. molcel. 2011. 09. 007.
- [11] Chekulaeva M, Mathys H, Zipprich JT, et al. miRNA repression involves GW182-mediated recruitment of CCR4-NOT through conserved W-containing motifs [J]. *Nat Struct Mol Biol*, 2011, 18 (11) : 1218-1226. DOI: 10. 1038/nsmb. 2166.
- [12] Fabian MR, Cieplak MK, Frank F, et al. miRNA-mediated deadenylation is orchestrated by GW182 through two conserved motifs that interact with CCR4-NOT [J]. *Nat Struct Mol Biol*, 2011, 18 (11) : 1211-1217. DOI: 10. 1038/nsmb. 2149.
- [13] Tritschler F, Huntzinger E, Izaurralde E. Role of GW182 proteins and PABPC1 in the miRNA pathway: a sense of déjà vu [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2010, 11 (5) : 379-384. DOI: 10. 1038/nrm2885.
- [14] Xu S, Witmer PD, Lumayag S, et al. MicroRNA (miRNA) transcriptome of mouse retina and identification of a sensory organ-specific miRNA cluster [J]. *J Biol Chem*, 2007, 282 (34) : 25053-25066.

- DOI:10.1074/jbc.M700501200.
- [15] Loscher CJ, Hokamp K, Kenna PF, et al. Altered retinal microRNA expression profile in a mouse model of retinitis pigmentosa [J/OL]. *Genome Biol*, 2007, 8(11): R248 [2016-06-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2258196/>. DOI: 10.1186/gb-2007-8-11-r248.
- [16] Wienholds E, Kloosterman WP, Miska E, et al. MicroRNA expression in zebrafish embryonic development [J]. *Science*, 2005, 309(5732): 310-311. DOI:10.1126/science.1114519.
- [17] Kapsimali M, Kloosterman WP, de Bruijn E, et al. MicroRNAs show a wide diversity of expression profiles in the developing and mature central nervous system [J/OL]. *Genome Biol*, 2007, 8(8): R173 [2016-06-12]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2375003/>. DOI:10.1186/gb-2007-8-8-r173.
- [18] Kutty RK, Samuel W, Jaworski C, et al. MicroRNA expression in human retinal pigment epithelial (ARPE-19) cells; increased expression of microRNA-9 by N-(4-hydroxyphenyl) retinamide [J]. *Mol Vis*, 2010, 16: 1475-1486.
- [19] La Torre A, Georgi S, Reh TA. Conserved microRNA pathway regulates developmental timing of retinal neurogenesis [J/OL]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2013, 110(26): E2362-2370 [2016-07-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3696811>. DOI: 10.1073/pnas.1301837110.
- [20] Xia X, Ahmad I. let-7 microRNA regulates neurogenesis in the mammalian retina through Hmga2 [J]. *Dev Biol*, 2016, 410(1): 70-85. DOI:10.1016/j.ydbio.2015.12.010.
- [21] Baba Y, Aihara Y, Watanabe S. MicroRNA-7a regulates Müller glia differentiation by attenuating Notch3 expression [J]. *Exp Eye Res*, 2015, 138: 59-65. DOI:10.1016/j.exer.2015.06.022.
- [22] Conte I, Carrella S, Avellino R, et al. miR-204 is required for lens and retinal development via Meis2 targeting [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010, 107(35): 15491-15496. DOI:10.1073/pnas.0914785107.
- [23] Bessa J, Tavares MJ, Santos J, et al. meisl1 regulates cyclin D1 and c-myc expression, and controls the proliferation of the multipotent cells in the early developing zebrafish eye [J]. *Development*, 2008, 135(5): 799-803. DOI:10.1242/dev.011932.
- [24] Olena AF, Rao MB, Thatcher EJ, et al. miR-216a regulates snx5, a novel notch signaling pathway component, during zebrafish retinal development [J]. *Dev Biol*, 2015, 400(1): 72-81. DOI:10.1016/j.ydbio.2015.01.016.
- [25] Hu Y, Luo M, Ni N, et al. Reciprocal actions of microRNA-9 and TLX in the proliferation and differentiation of retinal progenitor cells [J]. *Stem Cells Dev*, 2014, 23(22): 2771-2781. DOI:10.1089/scd.2014.0021.
- [26] Walker JC, Harland RM. microRNA-24a is required to repress apoptosis in the developing neural retina [J]. *Genes Dev*, 2009, 23(9): 1046-1051. DOI:10.1101/gad.1777709.
- [27] Decembrini S, Bressan D, Vignali R, et al. MicroRNAs couple cell fate and developmental timing in retina [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2009, 106(50): 21179-21184. DOI:10.1073/pnas.0909167106.
- [28] Daido Y, Hamanishi S, Kusakabe TG. Transcriptional co-regulation of evolutionarily conserved microRNA/cone opsin gene pairs; implications for photoreceptor subtype specification [J]. *Dev Biol*, 2014, 392(1): 117-129. DOI:10.1016/j.ydbio.2014.04.021.
- [29] Busskamp V, Krol J, Nelidova D, et al. miRNAs 182 and 183 are necessary to maintain adult cone photoreceptor outer segments and visual function [J]. *Neuron*, 2014, 83(3): 586-600. DOI:10.1016/j.neuron.2014.06.020.
- [30] Lumayag S, Haldin CE, Corbett NJ, et al. Inactivation of the microRNA-183/96/182 cluster results in syndromic retinal degeneration [J/OL]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2013, 110(6): E507-516 [2016-08-10]. <http://www.pnas.org/content/110/6/E507.long>. DOI: 10.1073/pnas.1212655110.
- [31] Siegert S, Cabuy E, Scherf BG, et al. Transcriptional code and disease map for adult retinal cell types [J]. *Nat Neurosci*, 2012, 15(3): 487-495, S1-2. DOI:10.1038/nn.3032.
- [32] Sanuki R, Onishi A, Koike C, et al. miR-124a is required for hippocampal axogenesis and retinal cone survival through Lhx2 suppression [J]. *Nat Neurosci*, 2011, 14(9): 1125-1134. DOI: 10.1038/nn.2897.
- [33] Calissano M, Latchman DS. Cell-specific regulation of the pro-survival Brn-3b transcription factor by microRNAs [J]. *Mol Cell Neurosci*, 2010, 45(4): 317-323. DOI:10.1016/j.mcn.2010.06.015.
- [34] Rasheed VA, Sreekanth S, Dhanesh SB, et al. Developmental wave of Brn3b expression leading to RGC fate specification is synergistically maintained by miR-23a and miR-374 [J]. *Dev Neurobiol*, 2014, 74(12): 1155-1171. DOI:10.1002/dneu.22191.
- [35] Qiu F, Jiang H, Xiang M. A comprehensive negative regulatory program controlled by Brn3b to ensure ganglion cell specification from multipotential retinal precursors [J]. *J Neurosci*, 2008, 28(13): 3392-3403. DOI:10.1523/JNEUROSCI.0043-08.2008.
- [36] Nitzan A, Kermer P, Shirvan A, et al. Examination of cellular and molecular events associated with optic nerve axotomy [J]. *Glia*, 2006, 54(6): 545-556. DOI:10.1002/glia.20398.
- [37] Han F, Huo Y, Huang CJ, et al. MicroRNA-30b promotes axon outgrowth of retinal ganglion cells by inhibiting Semaphorin3A expression [J]. *Brain Res*, 2015, 1611: 65-73. DOI: 10.1016/j.brainres.2015.03.014.
- [38] Baudet ML, Zivraj KH, Abreu-Goodger C, et al. miR-124 acts through CoREST to control onset of Sema3A sensitivity in navigating retinal growth cones [J]. *Nat Neurosci*, 2011, 15(1): 29-38. DOI:10.1038/nn.2979.
- [39] Marler KJ, Suetterlin P, Dopplapudi A, et al. BDNF promotes axon branching of retinal ganglion cells via miRNA-132 and p250GAP [J]. *J Neurosci*, 2014, 34(3): 969-979. DOI:10.1523/JNEUROSCI.1910-13.2014.
- [40] Carrella S, D'Agostino Y, Barbato S, et al. miR-181a/b control the assembly of visual circuitry by regulating retinal axon specification and growth [J]. *Dev Neurobiol*, 2015, 75(11): 1252-1267. DOI:10.1002/dneu.22282.
- [41] 刘中男, 何宇, 张军军, 等. 微小 RNA-181a 与视网膜节细胞在视网膜缺血-再灌注中的关系及其作用机制探讨 [J]. *中华实验眼科杂志*, 2015, 33(11): 985-990. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2015.11.006.
- [42] Liu JN, He Y, Zhang JJ, et al. A pilot study on the relationship between miR-181a and RGCs in retinal ischemia-reperfusion injury model [J]. *Chin J Exp Ophthalmol*, 2015, 33(11): 985-990. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2015.11.006.
- [43] Li WB, Zhang YS, Lu ZY, et al. Development of retinal pigment epithelium from human parthenogenetic embryonic stem cells and microRNA signature [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2012, 53(9): 5334-5343. DOI:10.1167/iovs.12-8303.
- [44] Hu G, Huang K, Yu J, et al. Identification of miRNA signatures during the differentiation of hESCs into retinal pigment epithelial cells [J/OL]. *PLoS One*, 2012, 7(7): e37224 [2016-06-12]. <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0037224>. DOI:10.1371/journal.pone.0037224.
- [45] Stadler B, Ivanovska I, Mehta K, et al. Characterization of microRNAs involved in embryonic stem cell states [J]. *Stem Cells Dev*, 2010, 19(7): 935-950. DOI:10.1089/scd.2009.0426.
- [46] Adijanto J, Castorino JJ, Wang ZX, et al. Microphthalmia-associated transcription factor (MITF) promotes differentiation of human retinal pigment epithelium (RPE) by regulating microRNAs-204/211 expression [J]. *J Biol Chem*, 2012, 287(24): 20491-20503. DOI:10.1074/jbc.M112.354761.
- [47] Ohana R, Weiman-Kelman B, Raviv S, et al. MicroRNAs are essential for differentiation of the retinal pigmented epithelium and maturation of adjacent photoreceptors [J]. *Development*, 2015, 142(14): 2487-2498. DOI:10.1242/dev.121533.
- [48] Meyer JS, Shearer RL, Capowski EE, et al. Modeling early retinal development with human embryonic and induced pluripotent stem cells [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2009, 106(39): 16698-16703. DOI: 10.1073/pnas.0905245106.
- [49] Nagashima M, Barthel LK, Raymond PA. A self-renewing division of zebrafish Müller glial cells generates neuronal progenitors that require N-cadherin to regenerate retinal neurons [J]. *Development*, 2013, 140(22): 4510-4521. DOI:10.1242/dev.090738.
- [50] Ramachandran R, Fausett BV, Goldman D. Ascl1 regulates Müller glia differentiation and retinal regeneration through a Lin-28-dependent, let-7 microRNA signalling pathway [J]. *Nat Cell Biol*, 2010, 12(11): 1101-1107. DOI:10.1038/ncb2115.
- [51] Rajaram K, Harding RL, Hyde DR, et al. miR-203 regulates progenitor cell proliferation during adult zebrafish retina regeneration [J]. *Dev Biol*, 2014, 392(2): 393-403. DOI:10.1016/j.ydbio.2014.05.005.
- [52] Rajaram K, Harding RL, Bailey T, et al. Dynamic miRNA expression patterns during retinal regeneration in zebrafish; reduced dicer or miRNA expression suppresses proliferation of Müller glia-derived neuronal progenitor cells [J]. *Dev Dyn*, 2014, 243(12): 1591-1605. DOI:10.1002/dvdy.24188.
- [53] Lamba D, Karl M, Reh T. Neural regeneration and cell replacement; a view from the eye [J]. *Cell Stem Cell*, 2008, 2(6): 538-549. DOI:10.1016/j.stem.2008.05.002.

(收稿日期:2016-12-11)

(本文编辑:刘艳)